

同一病棟で長期に渡り分離された CTX-M-14 型 ESBLs 産生

Escherichia coli の検討¹⁾ 名古屋医療センター臨床検査科, ²⁾ 同 感染制御対策室, ³⁾ 愛知県衛生研究所, ⁴⁾ JA 厚生連岐阜東濃厚生病院安永さおり¹⁾ 寺田さと子¹⁾ 早川 恭江¹⁾²⁾ 加藤 千景²⁾
鈴木 匡弘³⁾ 山田 和弘³⁾ 柴田 尚宏⁴⁾

(平成 22 年 8 月 2 日受付)

(平成 23 年 4 月 5 日受理)

Key words: ESBLs, CTX-M-14, *Escherichia coli*, nosocomial infection

要 旨

2006 年 4 月から 2009 年 3 月までの 3 年間に、当院の神経内科病棟の入院患者検体より分離された cephalosporins 耐性 *Escherichia coli* 株 19 症例 30 株について、細菌学的・遺伝子学的解析および患者背景を調査し、比較検討を行った。検体材料別は、尿 19/30 株 (63%)、喀痰 6/30 株 (20%)、血液 3/30 株 (10%) であった。ESBLs 産生確認試験を行い、すべて ESBLs 産生性が確認された。PCR 法とシーケンスによる遺伝子解析結果は CTX-M-14 型が 25/30 株 (83%)、CTX-M-2 型が 5/30 株 (17%) であった。CTX-M-14 型保有株のうち、PFGE 法では 2 つのクラスター群 (I・II) 得られた。特にクラスター I 群について、約 1 年半の長期に渡り、同一病室での検出が続いていた。患者背景として、尿カテーテル留置例が 13/19 例 (68%) と高く、既往歴に脳血管疾患や糖尿病・高血圧の罹患が多かった。

今回の調査において、PFGE 解析で同一クラスター株が病院内に定着し拡散していた可能性が示唆された。その原因は接触感染対策の実施の不徹底や、患者の免疫状態やリスクファクターの存在が考えられた。

〔感染症誌 85 : 347~354, 2011〕

序 文

Escherichia coli (以下、*E. coli*) は腸内細菌科に属するグラム陰性桿菌で、ヒトおよび動物の腸管において正常細菌叢を構成する代表的な菌種である。特定の病原因子が同定されない通常の大腸菌においても健康人に尿路感染症や外傷感染を引き起こすことがある。さらに、免疫能の低下した易感染状態では、上記感染症に加え肺炎などの呼吸器感染、敗血症などの血流感染の起炎菌となり、最終的に死に至る場合がある¹⁾。

本来、*E. coli* は penicillin 系および cephalosporin 系を含む β -lactam 系抗菌薬や carbapenem 系抗菌薬、aminoglycoside 系抗菌薬、quinolone 系抗菌薬など多くの抗菌薬に感性である。しかし、近年、この *E. coli* を含む腸内細菌科において、基質特異性拡張型 β -lactamases (Extended-spectrum β -lactamases :

ESBLs) 遺伝子を獲得し、cephalosporin 系抗菌薬に耐性を示す株が問題となっている¹⁾²⁾。ESBLs は、TEM、SHV、CTX-M 型などが知られており、第四世代を含む多くの cephalosporin 系抗菌薬および monobactam 系抗菌薬を分解可能な β -lactamases である。しかし、cephamycin 系抗菌薬や oxacephem 系抗菌薬、carbapenem 系抗菌薬は通常分解できない。また、 β -lactamases 阻害薬である clavulanic acid (以下、CVA) は主な ESBLs を特異的に阻害するのが特徴である。

ESBLs 産生菌は、1983 年にドイツで Knothe らにより、第二・三世代 cephalosporin 系抗菌薬に耐性を示す *Klebsiella pneumoniae* および *Serratia marcescens* が最初に報告された³⁾。1990 年代には、アメリカ各地で TEM 型 ESBLs 産生 *E. coli* や *K. pneumoniae* が検出されるようになった²⁾。日本では、1988 年に Matsumoto らにより oxyiminocephalosporin 系抗菌薬に耐性を示す *E. coli* が cephalosporin の体内動態の実験に用いた犬より分離されており、後にこの株は CTX-M

別刷請求先：(〒460-0001) 愛知県名古屋市中区三の丸四丁目 1 番 1 号
独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター
臨床検査科 安永さおり

型 β -lactamases と近縁であることが確認された⁴⁾。1995 年に初めて Ishii らにより、cefotaxime (以下、CTX) に耐性を示す Toho-1 (現在の CTX-M-44) 型 β -lactamases を産生する *E. coli* の臨床分離株が報告された⁵⁾。その後、1997 年に八木らにより Toho-1-Like *E. coli* が報告された⁶⁾。以降、*E. coli*、*K. pneumoniae* を中心に CTX-M-型 β -lactamases 産生菌が本邦でも各地で報告されている⁷⁾。CTX-M 型 β -lactamases は、CTX-M-1、M-2、M-8、M-9、M-25 の 5 つのクラスターに分類されている。近年、本邦では CTX-M-9 グループ *E. coli* のうち CTX-M-14 型 β -lactamases 産生 *E. coli* の報告が多い⁸⁾⁹⁾。

CTX-M-型 β -lactamases は、欧米で多いとされる TEM-、SHV-型 ESBLs とは遺伝子学的に異なっており、TEM-、SHV-型が主として ceftazidime (以下、CAZ) を分解するのに対し、CTX-M-型は CTX を分解する特徴を持っている。このような ESBLs 遺伝子は伝達性プラスミド上に存在するため、同一菌種のみならず異菌種間に拡散する性質を持っている。近年、この ESBLs 産生菌は、市中における感染拡大も問題となっているが、医療機関では、院内感染につながる可能性がある。このような院内感染事例は多数報告されている。例えば、国内¹⁰⁾では、大阪の大学病院で CTX-M-3 型 ESBLs 産生 *Enterobacter cloacae* による院内感染事例が報告されている。また海外にてにおいても報告が多く見られ¹¹⁾、シカゴの病院や介護施設で TEM-型 ESBLs 産生菌の院内感染事例が報告されている²⁾。

今回、名古屋医療センター (以下：当院) においても、約 3 年間に渡り、同一病棟から cephalosporin 耐性 *E. coli* の分離例が多くみられた。当時は菌側の解析が実施できておらず、ラウンドやサーベイランスなどの臨床背景のみで感染制御対策を行っていた。今回、これらの症例について、改めてレトロスペクティブに患者背景や検出時期・場所を解析するとともに、細菌学的、遺伝子学的に疫学調査を行った。

対象と方法

1. 菌種の同定と薬剤感受性試験

菌株は、当院の神経内科病棟において、2006 年 4 月から 2009 年 3 月までに検出された *E. coli* 163 株のうち、cephalosporin 耐性を示した 19 症例 30 株を対象とした。

同定・薬剤感受性試験は、Microscan WalkAway (SIEMENS 社) を用いて、専用パネル Neg. Combo 6.11J を使用した。薬剤感受性試験は、CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 法 (M07-A8, 2009 M100-S19) に準拠した微量液体希釈法により行った。以下に測定した薬剤を示す。Ampicillin (ABPC)、Piperacillin (PIPC)、Cefazolin (CEZ)、Ce-

fotiam (CTM)、Cefotaxime (CTX)、Ceftazidime (CAZ)、Cefpirome (CPR)、Cefpodoxime (CPDX)、Cefmetazole (CMZ)、Flomoxef (FMOX)、Aztreonam (AZT)、Imipenem (IPM)、Clavulanic acid/Amoxicillin (CVA/AMPC)、Sulbactam/Cefoperazone (SBT/CPZ)、Levofloxacin (LVFX)

2. ESBLs 産生性の確認

ESBLs 産生性が疑われた菌株について、ESBLs 専用パネル NMIC3.31E (SIEMENS 社) による確認試験と、ディスク拡散法 (Double Disk Synergy Test; DDST)²⁾ による確認試験を行った。

3. PCR 法による ESBLs 遺伝子の検出およびシーケンス解析

ESBLs 遺伝子型を特定するため、Shibata らの方法にて⁷⁾⁸⁾、TEM-、SHV-、CTX-M-1、CTX-M-2、CTX-M-8、CTX-M-9、CTX-M-14 型各グループの β -lactamases 遺伝子の検出を行った。さらに、CTX-M-14 型遺伝子のシーケンス解析には、 β -lactamases 遺伝子のコーディング領域全体を含むシーケンス用プライマーを用い、BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kits (Applied Biosystems) でラベリング後、ABI PRISM3731 シーケンサーでシーケンス解析を行い β -lactamases 遺伝子を確定した。

4. パルスフィールドゲル電気泳動 (pulsed-field gel electrophoresis; PFGE) による遺伝子型タイピング

既存の方法に従い¹²⁾、制限酵素 XbaI で処理後、パルスフィールド電気泳動装置 CHEF DRIII システム (Bio-Rad) を用いて泳動した。泳動条件は、6V/cm、パルスタイム 2.2~54.2 秒、14℃ で 20 時間行った。PFGE パターンは、FingerprintingII (Bio-Rad) で画像解析を行い、ホモロジー 80% 以上の場合、同一クラスターとした。

5. PFGE 解析結果と臨床的背景との比較

1) PFGE 結果と検出時期との検討、2) PFGE 結果と検出場所 (病室) との検討について、入院期間と検出時期および病室 MAP による検出場所を調査し、PFGE 結果と照らし合わせ、院内伝播の可能性について検討した。

6. ESBLs 産生菌検出患者の背景調査

ESBLs 産生菌検出患者 19 名のカルテより、年齢、性別、検体材料、入院期間、基礎疾患、医療デバイスの有無、集中治療の有無、抗菌薬投与歴について調査した。さらに、体温、白血球数、CRP 値などの炎症所見を調べ、分離菌が起炎菌であったかについても確認した。

結 果

1. 菌種の同定と薬剤感受性試験

Table 1 Antibiotic ESBL-producing *E. coli* isolate susceptibility

Strain No	Subject No	Isolated	Specimen source	MIC (μg/mL)														
				ABPC	PIPC	CEZ	CTM	CMZ	CPR	CTX	CAZ	CPDX	AZT	FMOX	IPM	CVA/AMPC	S/C	LVFX
1	A	2006/4/13	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	16	>32	>4
2	B	2006/10/20	pus	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	16	>32	<=1
3	C	2006/11/01	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	<=8	>32	<=1
4	D	2006/11/22	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	16	32	>4
5	E	2007/1/04	urine	>16	>64	>16	>16	8	>16	>32	2	>4	>16	<=8	<=1	16	>32	>4
6	F	2007/1/13	sputum	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	<=8	>32	<=1
7	E	2007/1/26	blood	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
8	G	2007/2/12	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
9	H	2007/2/14	sputum	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	16	<=16	>4
10	I	2007/4/25	sputum	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	<=8	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
11	I	2007/4/28	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
12	I	2007/5/21	sputum	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	16	>32	>4
13	I	2007/5/21	catheter	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
14	I	2007/5/22	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
15	J	2007/6/20	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	<=1	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
16	K	2007/7/06	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	<=8	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
17	K	2007/7/12	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	<=8	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
18	L	2008/2/18	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
19	M	2008/5/28	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
20	M	2008/6/17	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
21	N	2008/6/26	urine	>16	>64	>16	>16	8	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	16	>32	>4
22	O	2008/7/14	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	4	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
23	M	2008/7/22	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	<=8	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
24	P	2008/8/22	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	8	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
25	Q	2009/1/26	sputum	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	4	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
26	Q	2009/1/26	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	4	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
27	R	2009/2/13	sputum	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	4	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
28	Q	2009/3/21	blood	>16	>64	>16	>16	8	>16	>32	4	>4	>16	<=8	<=1	<=8	32	>4
29	Q	2009/3/21	urine	>16	>64	>16	>16	<=4	>16	>32	4	>4	>16	<=8	<=1	<=8	<=16	>4
30	S	2009/3/29	urine	>16	>64	>16	>16	16	>16	>32	4	>4	>16	<=8	<=1	16	>32	>4

E. coli 30 株の薬剤感受性試験を Table 1 に示した。30 株は、CLSI (M100-S19) の ESBL スクリーニング基準である、CTX \geq 2μg/mL, CAZ \geq 2μg/mL, CTRX \geq 2μg/mL, CPDX \geq 2μg/mL, AZT \geq 2μg/mL のいずれかを満たしていた。ABPC や PIPC などの penicillin 系や cephalosporin 系の CTX, CAZ, CPDX, monobactam 系の AZT などの薬剤は高い MIC 値を示した。quinolone 系薬剤の LVFX については 27/30 (90%) が耐性であった。

2. ESBLs 産生性の確認

専用パネルによる確認試験では、CVA を含む薬剤が CVA を含まない薬剤の MIC 値に比べ 3 管差以上低下した場合、ESBLs 産生性陽性と判定した。今回、すべての株において、ESBLs 産生性が確認できた。

DDST では、AMPC/CVA ディスクと CAZ, CTX ディスク間および SBT/ABPC ディスクと CTX, CAZ ディスク間に発育阻止円の拡大が確認できたことにより、ESBLs 産生菌が強く示唆された。また、30 株すべてが CTX に耐性を示し、CAZ に感性であったため、CTX-M 型 ESBLs 産生菌と推定された。

3. PCR 法による ESBLs 遺伝子の検出およびシーケンス解析

PCR 法の結果、25/30 (83%) 株が CTX-M-14 型、5/30 (17%) 株が CTX-M-2 型と推定された。CTX-M-14 型と推定された増幅産物のシーケンス解析を行ったところ、我が国に多く検出されている CTX-M-14 型に類似していた。

4. PFGE 法による遺伝子型タイピング (Fig. 1)

PFGE 法による解析の結果、2 つのクラスター (I・II) が得られた。Fig. 1 より、13 株はクラスター I 群、6 株はクラスター II 群に分類された。残りの 5 株はそれぞれ異なる PFGE パターンであった。また、3 株について PFGE パターンが得られなかった。クラスター I 群および II 群に分類された 19 株は全て CTX-M-14 型 ESBLs 遺伝子を保有していた。

5. PFGE 解析結果と臨床的背景との比較

1) PFGE 結果と検出時期との検討

患者の入院期間、ESBLs 検出時期及び、PFGE パターンの関係を Fig. 2 に示した。症例 E・I・K・M・Q は入院期間中に ESBLs 産生 *E. coli* が複数回検出された。また症例 Q は 3 度の入院歴があり、2 度目の入

院終盤に2回検出された後、退院期間を経て、3度目の入院時に再び2回検出された。

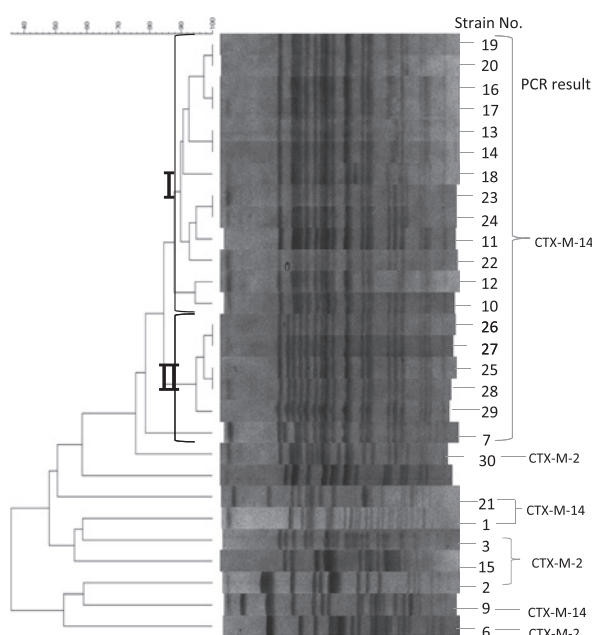
i) PFGE クラスター I 群の6症例株は、2007年4月から2008年9月までの約1年半検出された。また、最初の2症例 (I, K) と、後の4症例 (L, M, O, P) の間の約半年間 ESBLs 産生菌は検出されなかった。

ii) PFGE クラスター II 群では、症例 Q の株25および26と症例 R の検出時期はほぼ同時期であった。

2) PFGE 結果と検出場所 (病室) との検討

検出場所と PFGE パターンの関係について検討を

Fig. 1 ESBL-producing *E. coli* isolate PFGE patterns



行い、Fig. 3に示した。

i) PFGE クラスター I 群の株が検出された6症例のうち、症例 I と M, L と O は同じ病室に入院しており、K と P は他と異なる病室に入院していた。また、症例 I は、菌株 No.10 の検出後、重症患者部屋へ移動し、担当看護師と担当看護エリアが変更された。

ii) PFGE クラスター II 群の株が検出された2症例 (Q, R) は、それぞれ異なる病室に入院していたが、担当看護エリアが同じであった。

6. ESBL 産生菌検出患者の臨床的背景 (Table 2)

ESBLs 産生菌の検出検体は尿が19/30株 (63%) と最も多かった。血液検体からの検出も認められたが、菌血症による死亡例はなかった。基礎疾患は、脳梗塞などの脳血管疾患が13/19症例 (68%) と最も多く、糖尿病や高血圧なども多数認められた。また、医療デバイスの使用としては、尿カテーテル留置症例が13/19 (68%) 例と多く見られ、オムツ装着例も認められた。起炎菌と判定した症例は、炎症所見や疾患歴より10/19例認められた。起炎菌と判定した10症例中、尿カテーテル留置例が8例、導尿使用例が1例あり、また、カテーテル尿からの検出が8症例であった。

考 察

ESBLs 遺伝子は伝達性プラスミド上に存在しているため、腸内細菌科を含む多数のグラム陰性桿菌から分離される可能性が指摘されている。腸内細菌科の中でも、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* の ESBLs 産生菌が臨床的に問題となっている。特に、*E. coli* は病原性が高く、臨床材料からの分離頻度も高い。高齢者や易感染者では、尿路感染症、呼吸器感染症、血流感染症、手術部位感染症などを起こし、最終的には死

Fig. 2 PFGE cluster analysis and detection stage

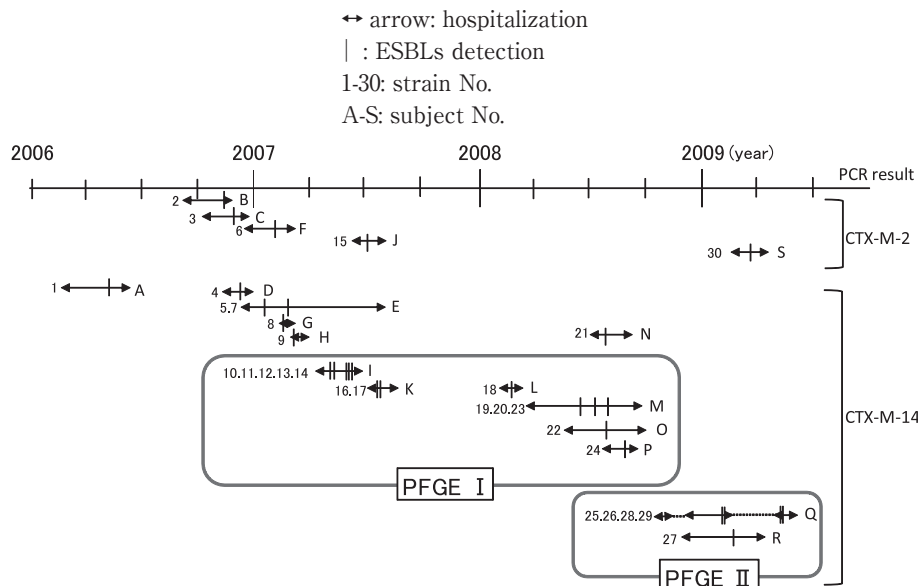


Fig. 3 Detection-room analysis PFGE I and II pattern

7-29: strain No.

(E) - (R): subject No.

High-care unit: word containing the seriously ill

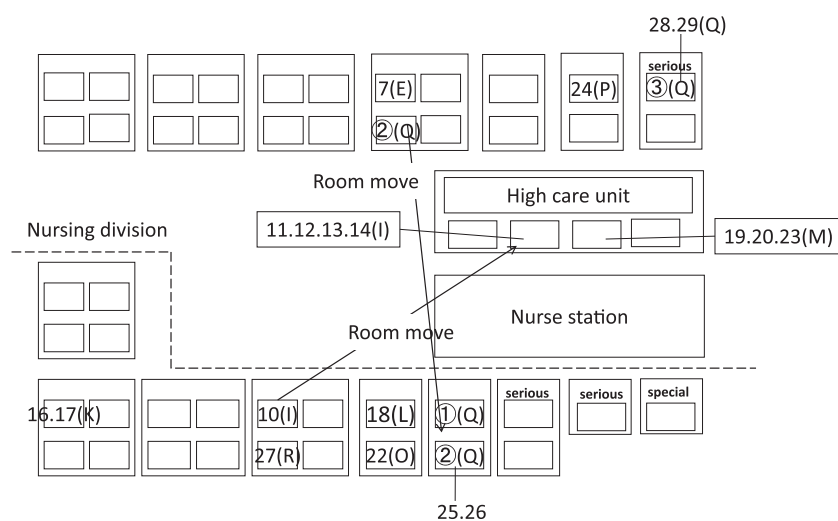


Table 2 Subject summaries

No	Age	Gender	Hospitalized (days)	Disease				Device			Intensive care	Antibiotic therapy
				CVD	DM	Hypertension	UTI	Urinary catheter	Nasogastric tube	Mechanical ventilation		
A	66	male	106	●	●		●	○	○	○	○	○
B	77	male	56	●	●						○	○
C	70	male	88		●			○			○	○
D	66	female	46	●	●	●					○	
E	77	male	66	●			●	○	○			○
F	81	male	50	●			●	○	○		○	○
G	71	female	6			●	●	○				
H	87	female	11				●					
I	91	male	70	●	●	●	●				○	○
J	69	male	49	●	●			○	○		○	○
K	61	male	35	●		●		○	○		○	
L	80	female	63	●		●	●	○	○		○	○
M	79	male	201		●		●	○	○	○	○	○
N	65	male	43	●	●	●	●	○			○	○
O	52	female	122	●				○	○			○
P	63	female	61	●	●			○	○		○	○
Q	67	male	30.57.12★		●		●	○	○			○
R	84	male	120	●	●	●			○		○	○
S	81	female	51			●	●					○

★ Hospitalized 3 times

●, ○: Positive

CVD: cerebrovascular disease

DM: diabetes mellitus

UTI: urinary tract infection

に至る場合もある。さらに院内感染の様相を呈する場合も報告されている¹⁾²⁾。

今回の検討において注目すべき点は、同一耐性遺伝子を持った同一クラスター株が、長期に渡り同じエリ

ア内および病室に存在し続け、伝播した可能性が示唆されたことである。

クラスターI株は、Fig. 2に示すように、検出期間は約1年半と長期に渡っていた。検出場所はFig. 3に

示した通りである。最初の症例は、一般病室での耐性菌検出後、重症患者病室へ移動し、担当看護エリアが変更されていた。この移動により、ESBLs 産生菌が、一般病室から、看護エリアを超えて重症患者病室へ持ち込まれた可能性が強く示唆された。また、この最初の症例を起点に、移動前の看護エリア内でも、長期に渡り定着していた可能性が考えられた。その結果、同一病棟内で持続的に ESBLs 産生菌が検出されたと考えられた。

この長期に渡る ESBLs 産生菌検出の要因として以下が考えられた。1つは、医療従事者の医療行為やケア後、そのスタッフの手指や接触部分を通して、患者あるいは環境に伝播した可能性である。もう1つは、医療従事者が保菌状態となり、患者や環境へ伝播した可能性である。両者とも患者へ伝播した場合には、ESBLs 産生菌が感染症を引き起こすときと、保菌となるときが考えられる。保菌状態の場合には、見逃されやすく拡散の要因となり得る。また環境へ伝播した場合は、その後接触した人全員に ESBLs 産生菌が感染する危険性がある。環境中の ESBLs 産生菌の調査から、Andriatahina ら¹³⁾は、小児病棟の病室から約 13% の割合で ESBLs 産生菌が検出されたと報告している。また、医療従事者の保菌調査から、Valverde ら¹⁴⁾は、健康な医療従事者の便から ESBLs 産生菌の検出報告をしており、便中に存在する ESBLs 産生腸内細菌が ESBLs 感染の媒介となっていることを示唆している。Andriatahina らも、調査対象医療従事者の約 49% の便から ESBLs 産生菌検出を報告している。しかし、当院での今回の調査はレトロスペクティブな解析のため、環境検査や医療従事者の保菌調査を行っておらず、当院の当時の状況は不明である。

クラスター II 株の検出期間は約 2 カ月間であり、検出場所は 2 症例とも一般病室であった。始めの症例患者は、尿路感染症による入退院を繰り返していた。また、この患者は 2 度目の入院期間中に、部屋移動があり担当看護エリアも変更されていた。移動先の看護エリアの一般病室から次の症例株が検出されたことから、保菌患者の部屋移動により他病室への伝播が示唆された。

クラスター I 株は、ESBLs 検出症例の退院によって伝播が終息したが、根本的な感染制御対策を見直していなかったため、後にクラスター II 株が持ち込まれた際に、再び院内伝播が発生したと考えられた。しかし、クラスター II 株は、クラスター I 株のように、リスクファクターの多い重症患者からの検出ではなく、一般病室入院患者から検出されたため、保菌症例患者が退院したことによって早期に終息したのではないかと考えられた。

CTX-M-2 型の株については、クラスターを形成せず、同一起源株とはみなされなかった。そのため、院内伝播とは考えられなかった。

ESBL 産生菌感染症は重症疾患患者や医療デバイスを使用している患者に多く認められるという報告がある。Paterson ら²⁾は、ESBLs 感染症のリスクファクターとして、年齢、長期入院、疾患、医療デバイスの有無、抗菌薬の投与などを挙げている。当院の調査においても、対象患者は、脳血管疾患による長期臥床や、糖尿病、高血圧などによる易感染状態で ADL の低い患者が多く、入院期間が 200 日を超える例も認められた。また尿カテーテルを始めとする医療デバイスの使用例が多く認められ、尿路感染症症例が多数認められた。すなわち医療デバイスの存在が、ESBLs 産生菌定着のリスクファクターとなった可能性が高いと考えられた。また本調査において、15/19 症例に抗菌薬の投与が実施されていたが、抗菌薬の種類や投与期間・投与量は様々であり、特定の抗菌薬使用など偏った傾向は見られなかった。

今回の調査では、PFGE クラスター I・II 群の症例は、同一病棟における菌の伝播を推測したが、クラスターを形成していない症例は、プラスミド伝播の可能性もあると考えられる。しかし、プラスミド伝播の可能性については解析できていないため、同一のプラスミドによる拡散は証明できなかった。しかし、他病棟や市中からの持ち込み株の可能性や、他菌種からの伝播も否定できないため、今後も調査と監視・感染防止を行っていく必要があると考えられた。

今回の調査期間に実施していた院内感染対策は、基本的な標準予防策と接触感染対策である。手袋やガウンの装着、患者毎の手指衛生などを行っていたが、徹底が不十分であったことも考えられた。すなわち、手指衛生の徹底不足や環境の清掃不十分、個室管理やコホートなどの適切な患者配置の徹底不足、患者の家族や見舞客への感染対策の指導不足などが考えられた。当院ではこれらを踏まえて、調査期間後、感染対策を見直した。清掃業者には清掃順序経路や清掃手順を指導し、医療従事者には手指衛生の励行を呼びかけ、菌拡散の可能性の高い医療行為の操作手順を再確認した。そして、病院内の医療従事者にポータブルの手指消毒剤を配布し、病棟や病室の入り口や外来に手指消毒剤を設置し、病棟では使用量を確認している。イギリス¹⁵⁾では、個室管理やコホートが耐性菌の拡散を減少させると報告されている。そこで当院においても、ESBLs 産生菌感染症を疑う場合あるいは保菌を疑う場合もすべて個室管理またはコホートを徹底することとした。感染対策見直し後、耐性菌伝播を示唆する事例は起こっていない。今回、レトロスペクティブな解

析ではあるが、菌側の解析と臨床背景の調査を行うことにより、同一株による院内拡散の証明やその伝播経路の推測がされた。双方の解析が、効率的な院内感染制御対策には欠かせないと考えられた。近年, quinolone 系抗菌薬耐性 ESBLs 産生株¹⁶⁾¹⁷⁾や, KPC 型 β -lactamases 産生グラム陰性桿菌の検出が報告されている¹⁸⁾。このような耐性菌株を増加, 拡散させないためにも, 施設内での感染対策や抗菌薬の適正使用などが重要であると考えられた。

文 献

- 1) Paterson DL, Bonomo RA : Extended-spectrum β -lactamases : a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005 ; 18 (4) : 65—86.
- 2) Bradford PA : Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21 st Century : Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. Clin Microbiol Rev 2001 ; 933—51.
- 3) Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S : Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole resistance to clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection 1983 ; 11 (6) : 315—7.
- 4) Matsumoto Y, Ikeda F, Kamimura T, Yokota Y, Mine Y : Novel plasmid-mediated β -lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. Antimicrob. Agents Chemother 1988 ; 32 (8) : 1243—6.
- 5) Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, Imajo S, Ishiguro M, Matsuzawa H : Cloning and sequence of the gene encoding a Cefotaxime-hydrolyzing class A β -lactamase isolated from *Escherichia coli*. Antimicrob. Agents Chemother 1995 ; 39 : 2269—75.
- 6) Yagi T, Kurokawa H, Senda K, Ichiyama S, Ito H, Ohsuka S, *et al.* : Nosocomial Spread of Cephem-Resistant *Escherichia coli* Strains Carrying Multiple Toho-1-Like β -Lactamase Genes. Antimicrob. Agents Chemother 1997 ; 41 (12) : 2606—11.
- 7) Yagi T, Kurokawa H, Shibata N, Shibayama K, Arakawa Y : A preliminary survey of extended-spectrum β -Lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. FEMS Microbiol. Lett 2000 ; 184 : 53—6.
- 8) Shibata N, Kurokawa H, Doi Y, Yagi T, Yamane K, Wachino J, *et al.* : PCR classification of CTX-M-type β -lactamase genes identified in clinically isolated Gram-negative bacilli in Japan. Antimicrob. Agents Chemother 2006 ; 50 : 791—5.
- 9) Suzuki S, Shibata N, Yamane K, Wachino J, Ito K, Arakawa Y : Change in the prevalence of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. Antimicrob. Agents Chemother 2009 ; 63 : 72—9.
- 10) Moriguchi N, Itahashi Y, Tabata N, Yamazumi T, Furuta I, Shibata N, *et al.* : Outbreak of CTX-M-3-type extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* in a pediatric ward. J Infect Chemother 2007 ; 13 : 263—6.
- 11) Pitout JDD, Gregson DB, Church DL, Elsayed S, Laupland KB : Community-wide outbreaks of clonally related CTX-M-14 beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains in the Calgary health region. J Clin Microbiol 2005 ; 43 (6) : 2844—9.
- 12) Shibata N, Doi Y, Yamane K, Yagi T, Kurokawa H, Shibayama K, *et al.* : PCR typing of genetic determinants for metallo- β -lactamases and integrase carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. J Clin. Microbiol 2003 ; 41 (12) : 5407—13.
- 13) Andriatahina T, Randrianirina F, Hariniana ER, Talarmin A, Raobijaona H, Buisson Y, *et al.* : High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric unit in Madagascar. BMC Infectious Diseases 2010 ; 10 : 204.
- 14) Valverde A, Coque TM, Sánchez-Moreno MP, Rollán A, Baquero F, Cantón R : Dramatic Increase in Prevalence of Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* during Nonoutbreak Situations in Spain. Journal of Clinical Microbiology 2004 ; 4769—75.
- 15) Cepeda JA, Whitehouse T, Cooper B, Hails J, Jones K, Kwaku F, *et al.* : Isolation of patients in single rooms of cohorts to reduce spread of MRSA in intensive-care units : prospective two-centre study. Lancet 2005 ; 365 : 295—304.
- 16) Potron A, Poirel L, Bernabeu S, Monnet X, Richard C, Nordmann P : Nosocomial spread of ESBL-positive *Enterobacter cloacae* co-expressing plasmid-mediated quinolone resistance Qnr determinants in one hospital in France. Journal of Antimicrobial Chemotherapy doi : 10.1093.
- 17) Ode T, Saito R, Kumita W, Sato K, Okugawa S, Moriya K, *et al.* : Analysis of plasmid-mediated multidrug resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella oxytoca* isolates from clinical specimens in Japan. International Journal of Antimicrobial Agents 2009 ; 34 : 347—50.
- 18) Endimiani A, Hujer AM, Perez F, Bethel CR, Hujer KM, Kroeger J, *et al.* : Characterization of blaKPC-containing *Klebsiella pneumoniae* isolates detected in different institutions in the Eastern USA. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2009 ; 63 : 427—37.

Analysis of Extended-spectrum CTX-M-14 β -lactamase (ESBLs) Producing *Escherichia coli* Isolates in the Same Ward Over the Long Term

Saori YASUNAGA¹⁾, Satoko TERADA¹⁾, Yasue HAYAKAWA¹⁾²⁾, Chikage KATO²⁾, Masahiro SUZUKI³⁾,
Kazuhiro YAMADA³⁾ & Naohiro SHIBATA⁴⁾

¹⁾Department of Laboratory Medicine and ²⁾Department of Infection Control, National Hospital Organization Nagoya Medical Center, ³⁾Department of Microbiology, Aichi Prefectural Institute of Public Health, ⁴⁾JA Koseiren Gifu Tohno Kousei Hospital

We bacteriologically and genetically analysed 30 cephalosporin-resistant *Escherichia coli* strains isolated from specimens from 19 neurology-ward inpatients at our hospital over the 3 years from April 2006 to March 2009, surveying and comparing subjects' backgrounds. Of the 30, 19 (63%) were urine, 6 (20%) sputum, and 3 (10%) blood. We tested extended-spectrum β -lactamase (ESBLs) production, found in all samples. PCR and gene sequencing showed that 25 strains (83%) were CTX-M-14 and 5 (17%) CTX-M-2. Among CTX-M-14 strains, two cluster groups I and II, were obtained using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Cluster group I in particular, continued to be detected for 18 months in the same hospital room. The detection rate was high at 13 (68%) in subjects with urinary catheters and morbidity was high in those with a history of cerebrovascular disease, diabetes, and hypertension.

Our findings suggest that genetically identical strains may become established and spread in hospitals possibly due to inadequate contact prevention, subjects' immune status, and risk factor existence.