

Enterobacter cloacae complex 染色体性 AmpC による mCIM 偽陽性の検討

～ACT-28 以外でも起こりうるか～

◎加藤 由夏¹⁾、望月 真希²⁾、小池 祐史²⁾、古株 利紀³⁾、矢下 翔士⁴⁾、秋谷 学⁴⁾、加藤 翔也⁵⁾、品川 雅明²⁾

日本医療大学 保健医療学部 臨床検査学科 学生¹⁾、学校法人 日本医療大学²⁾、旭川赤十字病院³⁾、医療法人 徳洲会 札幌東徳洲会病院⁴⁾、医療法人 徳洲会 札幌徳洲会病院⁵⁾

【目的】*Enterobacter cloacae* complex (ECC) における染色体性 AmpC は、従来カルバペネム系抗菌薬を直接加水分解することはないと考えられていた。しかし 2019 年、*Enterobacter kobei* において、カルバペネム系抗菌薬に対し弱い加水分解活性を示す染色体性 AmpC (ACT-28) が初めて報告された。それ以降、他の染色体性 AmpC 遺伝子型による報告は現在のところ存在しない。そこで本研究では、北海道で分離されたカルバペネマーゼ非産生 ECC 70 株を対象に、全ゲノム解析により菌種同定および AmpC 遺伝子型を特定し、カルバペネム系抗菌薬に対する加水分解能を有する株の存在の有無を検討した。【対象および方法】対象とした ECC 70 株について、全ゲノム配列に基づく ANI 解析により菌種同定および AmpC 遺伝子型を解析した。カルバペネム系抗菌薬に対する加水分解能の評価には、modified carbapenem inactivation method (mCIM) を用いた。

【結果】ECC 70 株は、8 菌種 (6 亜種) に同定され、AmpC 遺伝子型は 28 種類に分類された。このうち、mCIM 陽性を示した株は 9 株 (12.9%) であり、菌種別の内訳では *E. kobei*

で 10 株中 4 株 (40%)、*E. roggenkampii* で 8 株中 4 株 (50%)、*E. sichuanensis* で 2 株中 1 株 (50%) であった。また、遺伝子型別の内訳では ACT-28 が 6 株中 2 株 (33%)、ACT-52 が 4 株中 2 株 (50%)、ACT-50 が 2 株中 1 株 (50%)、MIR-9 が 3 株中 2 株 (67%)、MIR-10 および MIR-21 は、それぞれ 1 株中 1 株 (100%) であった。すなわち、同一菌種および同一遺伝子型において mCIM 陽性株と陰性株が混在する結果であった。【考察】染色体性 AmpC における mCIM 偽陽性は、これまで *E. kobei* 由来の ACT-28 のみが報告されていたが、本研究により、*E. roggenkampii* や *E. sichuanensis* においても mCIM 偽陽性株が存在することが明らかとなった。さらに、ACT-50、ACT-52、MIR-9、MIR-10、MIR-21 といった複数の遺伝子型においても、カルバペネム系抗菌薬に対する加水分解能を有する株の存在が確認され、新たな知見が得られた。また、同一遺伝子型内に mCIM 陽性株と陰性株が混在していたことから、AmpC の発現量や構造的要因の違いが mCIM 偽陽性に関与している可能性が示唆された。 連絡先：011-351-6100

Enterobacter cloacae complex 染色体性 AmpC における mCIM 偽陽性機序の解析

◎三戸部 天奏¹⁾、望月 真希²⁾、小池 祐史²⁾、古株 利紀³⁾、矢下 翔士⁴⁾、加藤 翔也⁵⁾、和田 直樹⁵⁾、品川 雅明²⁾
 日本医療大学 保健医療学部 臨床検査学科 学生¹⁾、学校法人 日本医療大学²⁾、旭川赤十字病院³⁾、医療法人 徳洲会 札幌東徳洲会病院⁴⁾、医療法人 徳洲会 札幌徳洲会病院⁵⁾

【目的】我々は、カルバペネマーゼ非産生 *Enterobacter cloacae* complex (ECC) 70 株を対象に、mCIM を実施した結果、9 株 (12.9%) が偽陽性を示した。そこで本研究では、mCIM 陽性を示す機序として、AmpC の過剰産生やタンパク質構造変化の有無を検討した。また、mCIM は菌体外に放出された β -ラクタマーゼ活性を検出する手法であるが、 β -ラクタマーゼは通常ペリプラズム内に局在しており、AmpC が菌体外に放出されるか否かについては、これまで報告がない。そこで、AmpC が菌体外に放出される可能性についても併せて検討した。【対象および方法】全ゲノム解析により染色体性 AmpC 遺伝子型が同定され、かつカルバペネマーゼ非産生 ECC 70 株のうち、同一 AmpC 遺伝子型内で mCIM 陽性株と陰性株が混在していた株を対象とした。mCIM 陽性株数/陰性株数は、ACT-28(2 株/4 株)、ACT-52(2 株/2 株)、ACT-50(1 株/1 株)、MIR-9(2 株/1 株)であった。① AmpC 発現量は、転写レベルとして mRNA 発現量をリアルタイム PCR による相対定量で評価した。また、 β -ラクタマーゼ活性量は、 β -Lactamase Activity Assay Kit (Sigma-

Aldrich) を用いた。②AmpC の菌体外放出については、ブロス培養後に培養上清と菌体に分離し、それぞれの β -ラクタマーゼ活性量を測定した。③AmpC のタンパク質構造変化については、各 AmpC 遺伝子配列を解析し、アミノ酸変異の有無を確認した。【結果】各 AmpC 遺伝子型における mRNA 発現量は、いずれの型においても mCIM 陰性株に比べ mCIM 陽性株で高く、最大で 2,883 倍の差が認められた。 β -ラクタマーゼ活性量も同様に高値を示した。さらに、ブロス培養において、 β -ラクタマーゼ活性のうち 21~43% が培養上清に検出され、AmpC が菌体外に放出されている可能性が示唆された。また、mCIM 偽陽性が AmpC の構造変化によるものか検討したが、mCIM 陽性株に特異的なアミノ酸変異は確認されなかった。【考察】本検討では、カルバペネマーゼ非産生 ECC における mCIM 偽陽性株は、AmpC が転写レベルで亢進し発現量が増加していることを確認した。また、AmpC が菌体外に放出される可能性も示唆され、これらが染色体性 AmpC に起因する mCIM 偽陽性の要因である可能性が考えられた。連絡先：011-351-6100

耐性菌鑑別試薬の結果が乖離した NDM 型 β ラクタマーゼ産生大腸菌の 1 例

◎角屋 勇氣¹⁾、石丸 季代美¹⁾、小熊 裕弥¹⁾
社会医療法人 崇徳会 長岡西病院¹⁾

【はじめに】

院内感染対策上、臨床検体からの薬剤耐性菌の検出は必要不可欠であり、耐性菌の検出にはいろいろな耐性菌鑑別用試薬を併用する必要がある。

今回、シカ β テストとカルバペネマーゼ鑑別ディスクの結果が乖離し、結果の判定に難渋した NDM 型 β ラクタマーゼ産生菌を検出した一例を経験したので報告する。

【症例】

50 代男性

海外旅行から帰宅した 2 日後から下痢症状。

旅行中はキャンプで生水を飲んでいた。

発症後 3 日後に当院内科受診。

当日血液検査、便培養提出。

【結果】

起炎菌と思われる一般菌分離：陰性

しかし、コロニー-ESBL に藤色コロニー、mCCDA 選択培地に白色コロニーを認めたため薬剤耐性菌を疑い、感受性試験を実施した。

【薬剤感受性結果】ペニシリン系およびセフェム系、カルバペネム系抗菌薬すべてに耐性だった。

【各種検査結果】シカ β テストにて ESBLs 産生菌。カルバペネマーゼ鑑別ディスクにて MBL 産生菌および OXA-48 産生菌との判定であった。

【遺伝子検査結果】

NDM 型遺伝子陽性。

【まとめ】

今回、シカ β テストとカルバペネマーゼ鑑別ディスクの結果が乖離し、結果の判定に難渋した NDM 型 β ラクタマーゼ産生大腸菌を検出した一例を経験した。

NDM 型 β ラクタマーゼ産生菌は ESBL を同時産生していることがしばしばあり、結果が乖離したと思われる。市販の耐性菌検出試薬では対応できないこともある為、種々の β ラクタマーゼの特徴を理解し、ディスク拡散法で確認できるよう知識の整理と試薬の準備をすべきと考えられた。

連絡先 長岡西病院臨床検査 0258-27-8715 (直通)