

〈報告〉

当院におけるカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌によるアウトブレイクに関する分子生物学的疫学的検討ならびに環境調査報告

大塚 健悟・宮尾 直樹

The Epidemiological and Environmental Investigation for the Outbreak of Carbapenemase-Producing Enterobacterales in our Hospital

Kengo OHTSUKA and Naoki MIYAO

Department of Respiratory Medicine, Nippon Kokan Hospital

(2022年5月12日受付・2023年2月8日受理)

要 旨

当院において、2019年9月から11月にかけてカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (Carbapenemase-Producing *Enterobacterales*: CPE) によるアウトブレイクが発生した。同一病棟より計4名の患者からCPEが検出された。当該患者のうち3名は同室の期間があり、他1名は隣室であった。当該病棟患者の保菌調査ならびに病棟内のシンク、洗面台等の水回り箇所を中心に計163箇所の環境調査を施行した。新たに他患者よりCPEの検出はなかったものの、シンクおよび吸引器周囲を中心に計13箇所からCPEが分離された。パルスフィールドゲル電気泳動法、ポリメラーゼ連鎖反応法を用いた分子生物学的疫学的検討を施行した結果、同室であった患者3名のCPEはIMP-19型、患者1名ならびに環境培養からのCPEはIMP-1型であることが判明した。患者は、ほぼ全介助の日常生活動作であったことより、スタッフによる水平伝播の可能性が考えられた。標準予防策、環境清掃の徹底ならびに環境除菌を施行しアウトブレイクは終息した。およそ1年後に、環境調査を再度施行した。調査の結果、CPEの検出は器具洗浄シンクの1箇所のみにとどまった。

環境除菌に加え手指衛生の強化ならびに水回り箇所の清掃の徹底が再発防止に重要であると考えられた。

Key words: カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌, アウトブレイク, パルスフィールドゲル電気泳動法, ポリメラーゼ連鎖反応法, 環境除菌

序 文

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (Carbapenem-Resistant *Enterobacterales*: CRE) は、メロペネムに耐性であること、もしくはイミペネムかつセフトラゾールに耐性であることを示す腸内細菌目細菌の総称である¹⁾。CREがカルバペネム系抗菌薬に耐性を獲得する分子メカニズムとして、①βラクタマーゼの産生の増加と外膜蛋白の変化、②カルバペネマーゼの産生に大別され、後者の機序による細菌をカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (Carbapenemase-Producing *Enterobacterales* :

CPE) と呼称している。CPEのなかには、薬剤感受性検査でカルバペネム系抗菌薬の最小発育阻止濃度がCREの基準を満たさない菌株もあり注意が必要とされている^{2,3)}。

CRE感染症は治療薬の選択肢が限られ、CREに関連した死亡率は26~44%とのメタ解析の報告もあり⁴⁾、日常診療において問題となっている。わが国においても、2019年に年間1799件のCRE感染症の報告がされている⁵⁾。現在、CRE感染症を含む多剤耐性アクションプランが公表されており、感染予防ならびに管理が重要視されている。一方で、CREによるアウトブレイクの報告も散見される⁶⁾。アウトブレイク時の対応として保菌者

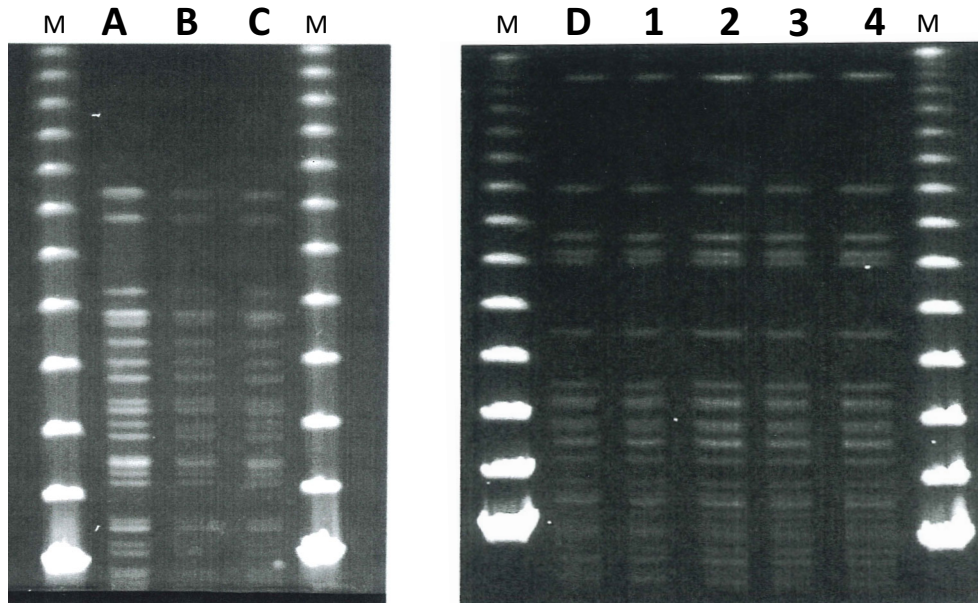


図1 パルスフィールドゲル電気泳動法

M：マーカー，A：患者A，B：患者B，C：患者C，D：患者D，1：ナースステーション 手洗いシンク蛇口，2：575号室洗面台配管，3：575号室吸引機周囲，4：575号室吸引機ノズル先端

に対する接触対策を含めた標準予防策に加え，CRE/CPEはシンクなどの水回りに生息し環境側からの水平感染の可能性もあることから，感染源の対策も同時に求められている³⁾。当院において，2019年にCPEによるアウトブレイクを経験し，環境調査ならびに水回り環境に対して化学的除菌を施行した。さらに，職員に対して耐性菌に関する教育を行い，手指衛生，環境の清拭清掃を徹底することを指導した。対策を継続し，除菌およそ1年後に再度，環境調査を施行した。環境除菌後，長期間が経過した後の環境調査の報告は乏しく，当院でのアウトブレイクの経過ならびに環境調査の結果について報告する。

アウトブレイクの経過

2019年9月下旬に，同年8月上旬より入院していた患者Aの喀痰培養検査よりCPE (*Enterobacter cloacae*) が検出された。当該患者は，抗菌薬の長期使用歴があり，CPE検出の数日後に死亡退院となった。患者Aの状態悪化の原因として心不全の増悪が考えられたため，CPEに対する加療は行われなかった。また，CPEの検出当時，患者Aは個室で入院加療されていたことから，標準予防策の教育を行い対応した。同年10月中旬に，7月末より入院していた患者Bの喀痰培養検査よりCPE (*Enterobacter cloacae*) が検出された。当該患者は，抗菌薬の長期使用歴があり，CPE検出の5日後に死亡退院となった。患者Bは担癌状態であり，誤嚥性肺炎を繰り返していた経緯もあり，CPEに対する加療は行われなかった。検出当時，患者Bは個室での入

院加療とされていたため，個室管理を継続した。後ろ向き調査により，患者A，Bは同室の時期があったことが判明したため，両者の関連を調査する目的に健康安全研究センターにおいて，菌株に対してパルスフィールドゲル電気泳動 (Pulsed-Field Gel Electrophoresis : PFGE) 法ならびにポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase Chain Reaction : PCR) 法を施行した。一方で，10月末日に同月下旬より入院していた患者Cの尿培養検査よりCPE (*Enterobacter cloacae*) が検出された。検出当時，患者Cは大部屋での入院加療とされていたため，個室隔離とした。その翌日に，提出していた患者AおよびBのPFGE法ならびにPCR法の結果が判明し，患者A，Bの菌株は，ともにIMP-19型と遺伝子型の一致がみられた (図1)。後ろ向き調査で患者Cは，患者Aと同室の時期があったことが判明し，患者Aからの水平感染の可能性が考えられ，アウトブレイクと判断した。

その後，11月初旬に患者Dの尿培養検査よりCPE (*Enterobacter cloacae*) が検出された。患者Dは9月下旬まで，患者A，B，Cと隣室であったことが判明した。患者C，Dより検出されたCPEは，発熱の直接原因ではなく保菌状態であると考えられたため，CPEに対する加療は行われなかった。検出当時，患者Dは個室で加療されていたため，個室管理を継続とした。

後に，患者C，DのPFGE法ならびにPCR法の結果が判明した。患者Cの菌株はIMP-19型と判明し患者A，Bと遺伝子型の一致がみられたが，患者Dの菌株はIMP-1型と判明し遺伝子型は異なるものであった (図1)。一方，当該患者のCPEに対する薬剤感受性試験の結果

表 1 CPE 検出患者のラインリスト

症例	年代	検出検体	検出日	遺伝子型	入院日	療養部屋推移	入室日	退室日	主治医	備考
患者 A	70 代	喀痰	9 月 28 日	IMP-19 型	8 月 7 日	551 号室 573B 号室	8 月 7 日 9 月 28 日	9 月 28 日 9 月 30 日	医師 A	死亡退院
患者 B	70 代	喀痰	10 月 11 日	IMP-19 型	7 月 29 日	553 号室 551 号室 571 号室 572 号室	7 月 29 日 8 月 16 日 9 月 10 日 9 月 24 日	8 月 16 日 9 月 10 日 9 月 24 日 10 月 15 日	医師 B	
患者 C	50 代	尿	10 月 30 日	IMP-19 型	9 月 17 日 10 月 23 日	551 号室 580 号室	9 月 17 日 10 月 23 日	10 月 15 日	医師 C	死亡退院 再入院
患者 D	80 代	尿	11 月 7 日	IMP-1 型	5 月 28 日	552 号室 573B 号室 575 号室	5 月 28 日 10 月 2 日 10 月 17 日	10 月 2 日 10 月 17 日	医師 A	

はいずれもメロペネム，イミペネム，セフメタゾールに対して耐性を示していた。当該患者の部屋移動の経路については、ラインリストに示した（表 1）。

対 応

患者 A, B, C のいずれかと同室の時期があり、11 月初旬時点で入院していた 6 名の患者を対象に便，尿，痰のスクリーニング検査を実施した。

患者 D は 3 名とは隣室であったことから、当該患者と同室、隣室であった、もしくは処置内容が類似していた患者 11 名を対象に便，尿，痰のスクリーニング培養検査を追加で実施した。各検体はチョコレート寒天培地、血液寒天培地、BTB 寒天培地を用い、培養ならびに同定検査を行った。さらに CRE が疑われた際には、菌株をミューラーヒントン培地に塗布しメタロβ-ラクタマーゼ (metallo-β-lactamase : MBL) 産生の有無をディスク法で確認した。当該患者は、CPE の検出が判明した時点より個室隔離とし接触予防策を行った。

後日、患者間で異なる遺伝子型であったことが判明したため、感染経路を特定する目的で、排水口、蛇口を含めた水回り箇所ならびにドアノブ、ベッド柵、パソコン、吸引器周囲等を含めた頻回接触箇所を中心に環境調査を施行した。環境調査では、スワブを用いて採取場所を念入りに拭い取り、滅菌生理食塩水に 5 秒程度しみ込ませ検体を提出した。採取検体は、一般検体と同様に処理し、MBL 産生の有無についても確認した。また、環境調査より検出された CPE 株に対しては、追加で PFGE 法ならびに PCR 法を施行した。

ICT (医師、看護師、薬剤師、検査技師) を中心に、アウトブレイクの対策を行った。耐性菌の教育として、全職員を対象に医師による講義ならびに判定テストを行った。さらに、ICT の看護師を介して処置毎の手指衛生の徹底を現場スタッフに指導すると同時に、ICT による環境ラウンドを頻回に施行し確認を行った。また、抗菌薬の長期使用、不適切使用例に対して、ICT の医

師より主治医に直接指摘し対応した。環境対策として水回り箇所の清掃を徹底し可能な限り、乾燥状態を保つように現場スタッフに指導した。加えて、ベッドの手すり、吸引機、ドアノブ等の高頻度接触箇所についてはアルコールを用いて最低 1 日 1 回は清掃、清拭を行うよう指導した。さらに、耐性菌のリザーバーと考えられた排水口を中心に環境除菌を行った。業者により実施され、水酸化ナトリウム水溶液を排水口より流し、3 時間経過後に蛇口を全開にして 10 分間、流水で洗浄し除菌を行った。

除菌約 1 年後に、前回の環境調査で耐性菌が検出された箇所を中心に再度、環境調査を施行した。

なお本研究は、日本鋼管病院倫理委員会に承認された (承認番号 : 202203)。

結 果

患者を対象としたスクリーニング培養検査からは、新規の CPE の検出はなかった。

一方で環境調査の結果、水回り箇所を中心に CPE (*Enterobacter cloacae*) を含めた多数の耐性菌の検出を認めた (図 2)。環境調査より検出された CPE 株に対して PFGE 法ならびに PCR 法を施行したところ、IMP-1 型であることが判明し、患者 D の CPE 株と遺伝子型が一致した (図 1)。

再度施行した 1 年後の環境調査では、器具洗浄シンクより CPE (*Enterobacter cloacae*)、トイレの洗浄シンクより MBL 産生 *Escherichia coli*、MBL 産生 *Pseudomonas oryzae* が検出された (表 2)。

ICT による介入の約 1 年後には手指衛生回数は 5.5 から 12 回/日と上昇し、広域抗菌薬の抗菌薬使用密度 (antimicrobial use density : AUD) は、4.4 から 3.8 DDDs/100beds-days と減少した。

介入後は、入院患者の臨床検体より CPE の新規発生はなく経過し、アウトブレイクの終息を確認した。



図 2 環境培養結果

* CPE (*Enterobacter cloacae*)

考 察

CPE におけるカルバペネム系薬剤耐性の主要なメカニズムはカルバペネマーゼの産生であり、遺伝子の菌株間および菌種間の水平伝播を可能にする伝達性プラスミドやカルバペネマーゼの遺伝子を媒介する可動性遺伝子の獲得が、CPE の急速な広がりにも寄与している⁷⁾。多数のカルバペネマーゼのうち、IMP 型 MBL が 1991 年に世界で初めてわが国より検出され⁸⁾、以降も海外とは異なりこの IMP 型 MBL 陽性株の報告が多い^{5,9)}。当院では、当該患者ならびに環境から IMP 型の CPE が検出された。患者 3 名のカルバペネマーゼ遺伝子型は IMP-19 型であったが、患者 1 名および環境からの遺伝子型は IMP-1 型の CPE であった。現在、アミノ酸配列の違いにより IMP-1 から 58 までが登録されているが¹⁰⁾、わが国では IMP-1 型および IMP-6 型の報告が多く、IMP-19 型の報告は乏しい^{5,11)}。IMP-19 型が検出された 3 名は、同室での滞在期間があった。また、日常生活動作 (Activities of Daily Living : ADL) は、車椅子移乗に介助が必要な状況であり、ベッド上での生活が主であった。同患者が使用した可能性のあった環境からは、IMP-19 型の検出がみられなかったことや患者自身が自由に動ける ADL ではなかったことから、患者間の感染経路として医療従事者の手指を介した水平感染の可能性が考えられた。患者 D より検出された CPE は IMP-1 型であり他患

者と遺伝子型は異なっていた。一方で、滞在していた部屋を含めた環境より検出された CPE と遺伝子型が一致した。IMP-1 型の CPE は、流行地域からの伝播の可能性も考えられたが、入院時から検出に至るまでの患者 D の検体からは CPE の検出はなく、持ち込みは否定的であった。当該患者も、入院当初よりベッド上での生活が主であり、自力での水回り箇所の使用は困難であった。以上から、感染経路として医療従事者の手指を介し、環境もしくは医療器具からの水平感染の可能性が考えられた。

今回の CPE のアウトブレイクでは、患者 D の CPE 株のみ遺伝子型が異なっていた。環境調査により、患者 A, B, C の使用していた部屋からは IMP-1 型の検出はなく、患者 D の使用していた部屋からは IMP-1 型の検出があったことが判明した。また、医療従事者が患者 D と他患を同時に受け持つことがなかったことも判明した。一方で、アウトブレイク発生時には、すでに退院している患者もいたため、過去に同室であった患者を含めたすべての患者の保菌状態を把握することは困難であった。感染経路として、患者 A, B, C は以前に入院していた患者を含めた同室内での患者同士による水平感染、患者 D は環境からの水平感染が考えられた。

アウトブレイクの発生、複数の遺伝子型が確認された要因のひとつとして、当該病棟では、医療従事者の 1 日

表 2 介入前後環境培養結果

			2019年11月実施	2020年9月実施
ナース ステーション	手洗い専用シンク	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
	手洗い専用シンク	蛇口周囲	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
	器具洗浄シンク	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)
552号室	洗面台	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
557号室	キッチン	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
	浴槽	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
571号室	前室洗面台	蛇口周囲	MBL産生 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	陰性
	室内洗面台	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
572号室	室内洗面台	蛇口周囲	MBL産生 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	陰性
	前室洗面台	蛇口周囲	MBL産生 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	陰性
573号室	洗面台	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
	洗面台	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
575号室	洗面台	蛇口周囲	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
	吸引器周囲	ON/OFF ノズル	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
	吸引器チューブ先端		CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
576号室	洗面台	蛇口周囲	MBL産生 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	陰性
580号室	洗面台	蛇口周囲	MBL産生 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	陰性
583号室	洗面台	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
給湯室	シンク	配管	CPE (<i>Enterobacter cloacae</i>)	陰性
汚物室	女性側蓄尿ラック	下段(洗い上げ籠)	MBL産生 <i>Acinetobacter lwoffii</i>	陰性
			MBL産生 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	陰性
車椅子トイレ	トイレ	便座内側	MBL産生 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	陰性
	手洗いシンク	蛇口周囲	MBL産生 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	MBL産生 <i>Escherichia coli</i>
男子トイレ	3番目男性用	便器	CPE (<i>Citrobacter freundii</i>)	陰性
	洗浄シンク	配管	CPE (<i>Citrobacter freundii</i>)	MBL産生 <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>

MBL：メタロβラクタマーゼ，CPE：カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌

あたりの手指衛生回数が他病棟と比較して5.5回/日と少なかったことが考えられた。また、病棟の環境調査を施行したところCPEに留まらずMBL産生緑膿菌など多数の耐性菌が水回り箇所を中心に検出された。水回り箇所はグラム陰性桿菌の生息に適した環境であり、特にシンクがグラム陰性薬剤耐性菌のリザーバーとなり、アウトブレイクの原因として報告されている^{12,13)}。当該病棟においては、水回り箇所の拭き残しなどが目立ち、同部位がリザーバーになっていた可能性が考えられた。以上より、当該病棟では、標準予防策が徹底されていなく容易に患者同士もしくは環境より水平感染しやすい状況であったといえる。

環境除菌の失敗例の報告も散見されるが^{13,14)}、当院での環境除菌後の再調査では、CPEの検出は器具洗浄エ

リアの一部にとどまった。また、ICTの介入以降は、臨床検体からのCPEの検出はなく経過した。CRE/CPEの保菌リスクを高める因子として、広域抗菌薬の使用、デバイスの使用、周囲の環境が報告されている¹²⁾。今回、ICTラウンドの強化により、水回り箇所の清掃の徹底および手指衛生の回数も上昇がみられた。また、抗菌薬使用量も減少がみられた。環境清掃、手指衛生を含めた標準予防策の徹底、医師への抗菌薬使用に対する教育を行ったことが、アウトブレイクの終息につながった可能性が考えられた。

今回、CPEによるアウトブレイクを経験した。PFGE法およびPCR法による遺伝子型の検索が原因探索に有用であった。また、環境除菌に加え、教育がアウトブレイクの終息に寄与したと考えられ報告した。

謝辞：ICT活動ならびに環境調査に尽力いただきました浦山英子氏、安次嶺ゆか氏、座間隆行氏、佐藤真理子氏、荒木裕美氏に深く感謝申し上げます。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文献

- 厚生労働省：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症、感染症法に基づく医師及び獣医師の届出について：<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-140912-1.html>：2022年4月20日現在。
- IASR 2020; 40: 17-32.
- 一般社団法人日本環境感染学会：多剤耐性グラム陰性菌感染制御のためのポジションペーパー第2版。日環境感染誌 2017; 32(Suppl): S1-26.
- Falagas ME, Tansarli GS, Karageorgopoulos DE, Vardakas KZ: Deaths attributable to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Emerg Infect Dis* 2014; 20: 1170-5.
- IASR 2021; 42: 123-4.
- 国立病院機構大阪医療センターにおけるメタロβ-ラクタマーゼ (MBL) 産生腸内細菌科の集積に関する外部調査委員会：国立病院機構大阪医療センターにおけるメタロβ-ラクタマーゼ (MBL) 産生腸内細菌科の集積に関する外部調査報告書：http://www.onh.go.jp/ict/img/pdf/MBL_201601.pdf：2022年4月20日現在。
- 長野則之、長野由紀子、荒川宣親：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌。臨床検査 2016; 60: 92-9.
- Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S: Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 147-51.
- Kelly AM, Mathema B, Larson EL: Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in the Community: a scoping review. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 50: 127-34.
- NCBI Beta-lactamase Data Resources: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/beta-lactamase-data-resources/>. accessed April 20, 2022.
- Kayama S, Shigemoto N, Kuwahara R, Oshima K, Hirakawa H, Hisatsune J, *et al.*: Complete Nucleotide Sequence of the IncN Plasmid Encoding IMP-6 and CTX-M-2 from Emerging Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in Japan 2015. *Antimicrob Agents Chemother* 59: 1356-9.
- Loon K, Holt A, Vos M: A Systematic Review and Meta-Analyses of the Clinical Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 62: e01730-17.
- Vergara-López S, Domínguez M, Conejo M, Pascual Á, Rodríguez-Baño J: Wastewater drainage system as an occult reservoir in a protracted clonal outbreak due to metallo-β-lactamase-producing *Klebsiella oxytoca*. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: E490-8.
- Kizny Gordon AE, Mathers AJ, Cheong EYL, Gottlieb T, Kotay S, Walker AS, *et al.*: The hospital water environment as a reservoir for carbapenem-resistant organisms causing hospital-acquired infections—a systematic review of the literature. *Clin Infect Dis* 2017; 64: 1435-44.

(連絡先：〒210-0852 神奈川県川崎市川崎区鋼管通 1-2-1
日本鋼管病院 大塚健悟
E-mail: batterno23@yahoo.co.jp)

The Epidemiological and Environmental Investigation for the Outbreak of Carbapenemase-Producing Enterobacterales in our Hospital

Kengo OHTSUKA and Naoki MIYAO

Department of Respiratory Medicine, Nippon Kokan Hospital

Abstract

The outbreak occurred due to carbapenemase-producing *Enterobacterales* (CPE) in our hospital from September to November 2019. CPE was detected in four patients in the same ward. Three patients stayed in the same room, and the other was in the next room. The active screening was performed on patients in the ward. We also underwent 163 environmental surveillances including sampling from faucets, drainage systems, and sink surfaces. Although there were no reports of new CPE carriage from other patients, CPE was isolated from 13 locations, mostly around the drainage systems. Molecular carbapenemase identification with the pulsed-field gel electrophoresis and the polymerase chain reaction were performed. The gene identified included bla_{IMP-19} in the three patients who had been in the same room and bla_{IMP-1} in the other patient and drainage systems. All patients required assistance with daily activities, and person-to-person transmission via the hands of medical staff was the primary conduit for transmitting resistant pathogens. Implementation of standard precautions and environmental sterilization could terminate the outbreak due to CPE. Approximately 1 year later, the environmental survey was performed again. CPE isolation was limited to only one location in the waste drain. In addition to environmental sterilization, standard precautions including hand hygiene and cleaning the water environment were significant to prevent recurrence.

Key words: carbapenemase-producing *Enterobacterales*, outbreak, pulsed-field gel electrophoresis, polymerase chain reaction, environmental sterilization