

2 New Delhi Metallo-β-lactamase (NDM-1) 産生大腸菌

菱 沼 昭

獨協医科大学 感染制御・臨床検査医学

New Delhi Metallo-β-lactamase (NDM-1)
producing *E. coli*

Akira HISHINUMA

Dokkyo Medical University,

Department of Infection Control and Clinical Laboratory Medicine

はじめに

New Delhi Metallo-β-Lactamase (NDM-1) はインドやパキスタンを起点として全世界に広まりつつある。その特徴はカルバペネムを含め高度の多剤耐性菌であること、大腸菌や肺炎桿菌等の腸内細菌に検出されることである。今回我々は、本邦初のNDM-1産生大腸菌 (NDM-1Dok01) を検出した。

さらに詳しい検討では、コリスチン、ポリミキシンBのMIC (minimal inhibitory concentration) がそれぞれ2mg/ml, リファンピシンが16mg/ml, フォスフォマイシンが32mg/mlであった。アザクタムのMICは126mg/ml以上と耐性であった。メタロベータラクタマーゼの産生試験はSMA (メルカプト酢酸ナトリウム) ディスク法によったが、阻止円の拡大は5mmに足らず、メタロベータラクタマーゼは陰性と判定された (図1)。

症 例

症例は54歳、男性。インドから帰国後の2009年4月当院に入院となった。入院1カ月後、発熱を認め、血液培養2セット (動脈血と静脈血) 4本のボトルからESBL産生大腸菌と多剤耐性大腸菌を同時に検出した。

多剤耐性大腸菌の薬剤感受性成績の結果を表1に示す。ミノサイクリンにのみ感受性であり、カルバペネム系薬を含むすべての抗菌薬に耐性であ

表1 薬剤感受性成績

抗菌薬	MIC (μg/ml)	判定	抗菌薬	MIC (μg/ml)	判定
ABPC	>16	R	MEPM	>8	R
PIPC	>64	R	CVA/AMPC	>16	R
CEZ	>16	R	TAZ/PIPC	>64	R
CTX	>32	R	GM	>8	R
CAZ	>16	R	AMK	>32	R
CZOP	>16	R	MINO	<=2	S
CFPM	>16	R	LVFX	>4	R
CPDX	>4	R	CPFX	>2	R
FMOX	>32	R	ST	>2	R

Reprint requests to: Akira HISHINUMA
Dokkyo Medical University
Department of Infection Control and Clinical
Laboratory Medicine
880 Kitakobayashi Mibu,
Tochigi 321 - 0293 Japan

別刷請求先：
〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林 880
獨協医科大学 感染制御・臨床検査医学 菱 沼 昭

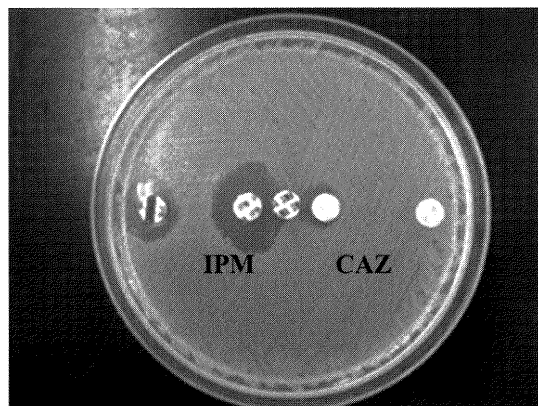


図1 SMA ディスク判定

大腸菌でこのような多剤耐性菌はまれであるので、16s rRNA の塩基配列で確認したが、菌種は大腸菌で間違いなかった。カルバペネム系薬に耐性であったため、IMP-1 および VIM-2 型メタロベータラクタマーゼ遺伝子を検索したが陰性であった。ただし、aacA7 (class 1 integron aminoglycoside acetyltransferase-6' type Ib) は陽性であったため、プラスミッド性の耐性遺伝子を保有していることが示唆された。

カルバペネム耐性遺伝子が不明のまま1年以上経過した。2010年8月11日に Lancet Infectious Disease 電子版に NDM-1 関連の論文¹⁾ が掲載され、8月18日に厚生労働省より医療機関に注意喚起の事務連絡がきたため、NDM-1 遺伝子検査を施行した。4種類のプライマーセットすべてで陽性バンドが検出され、遺伝子配列解析の結果 NDM-1 遺伝子と確認された²⁾。

当症例は約5か月の入院の後、退院した。血液培養から多剤耐性大腸菌が検出されたのは1回のみであった。有効な抗菌薬は投与されていなかったが、本菌が以降検出されなくなったのは、自然治癒したものと思われる。獨協医科大学病院では、その後、多剤耐性大腸菌の検出はない。

他の耐性遺伝子

NDM-1Dok01 は CMY-4 と CTX-M-15 耐性遺伝子も保有していた。CMY-4 は AmpC 型のクラス C ベーラクタマーゼに属する。CMY-4 遺伝子は NDM-1 遺伝子が最初に報告されていた肺炎桿菌にも同一のプラスミッド上に報告されている³⁾。CTX-M-15 はクラス A ベーラクタマーゼに属するが ESBL 型の耐性遺伝子として世界的に増加している。

血清型と MLST

NDM-1Dok01 の血清型は O1 で、同時に検出された ESBL 産生大腸菌は日本で市販の血清には反応しなかった。また、MLST 解析では NDM-1Dok01 は ST38 に属し、ESBL 産生大腸菌は新しい ST タイプ (ST2000) であった。以上の結果より NDM-1Dok01 と同時に検出された ESBL 産生大腸菌は異なる起源の菌であることがわかった。海外での NDM-1 産生大腸菌は ST101 との報告もあるが、遺伝子系統樹では ST38 と ST101 はかけ離れた遺伝子グループに属する。ST38 大腸菌の地域特異性は認められない。日本で ESBL 産生大腸菌に ST38 が多いとの報告があるため、ST38 大腸菌はプラスミッドを取り込み易い性質があるのかも知れない。

薬剤耐性パターン

インドおよびイギリスで報告されている NDM-1 産生菌の薬剤感受性パターンを表 2 に示す。海外株と本菌の大きく異なる点はミノサイクリンに対する感受性であり、NDM-1Dok01 はミノサイクリンに感受性であるが海外株は 100% 耐性である。従って、インド、パキスタンが起源と仮定すると、両菌は異なった株に由来していると思われる。実際、インドより検出された株であっても異なったプラスミッドを保持しているとの報告がある¹⁾。これは多種のホストが存在し、しかもプラスミッドも多様であることを示唆している。

表2 地域別NDM-1産生菌の薬剤感受性
パターンの比較

抗菌薬	イギリス(37株)	Chennai(44株)	Haryana(26株)
MEPM	3%	3%	3%
TAZ/PIPC	0%	0%	0%
CTX	0%	0%	0%
CTM	0%	0%	0%
AZT	11%	0%	8%
CPFX	8%	8%	8%
GM	3%	3%	3%
MINO	0%	0%	0%
TGC	64%	56%	67%
CL	89%	94%	100%

表3

薬剤	MIC値	判定
PAPM	>8	R
IPM	8	I
MEPM	>8	R
BIPM	≤4	S
DRPM	8	I
TBPM	>2	R

カルバペネム系薬と感受性

異なるカルバペネム系薬に対する感受性試験の結果を表3に示す。同じカルバペネム系薬でも感受性が異なり、IPM, DRPM に対してはI判定で、BIPMにはMIC < 4mg/mlとS判定になっている。NDM-1の酵素としての性質はベータラクタム薬に結合力が強いものの、分解速度は遅い。基質の特異性に関しては今後の検討を要する。

メタロベータラクタマーゼスクリーニングテスト
について

NDM-1Dok1はSMAデスク法ではメタロベータラクタマーゼ産生菌とは判定されなかった。これを解消するにはSMAとIPMのデスク間の距離を調節すること、IPMではなくMEPMを使用することが推奨された。われわれの検討でも、

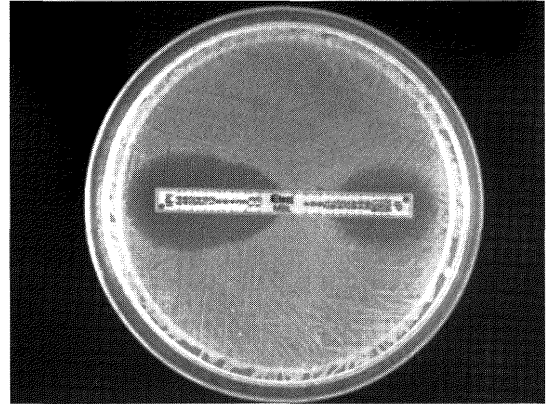


図2

SMA 400mg/mlの添加によりIMPのMICは2mg/mlより0.5mg/mlに低下したが、MEPMでは4mg/mlより0.5mg/mlに低下したことに関連する。キレーターとしてはEDTAの方が強力で、細菌に対しての直接作用もあるものの、スクリーニング検査としては有効である(図2)。欧米ではmodified Hodge試験が行われているが、本株では陰性である。

おわりに

NDM-1産生菌はインド、パキスタンで医療を受けた人から検出されていたが、現在では交通網の発達により、多数の国より報告されている。従って、南アジアよりの帰国者のみならず、不特定の国より持ち込まれる危険性があり、インド、パキスタンと限定できなくなっている。

国内ではわれわれが検出した後、1か月程してさいたま市民医療センターより高齢女性の尿検体より検出されている。菌種は肺炎桿菌と異なり、薬剤感受性のパターンからも異なったプラスミッドにより伝播されていると考えられている。われわれの症例はインドで医療行為を受けた患者より検出されたが、埼玉の症例は海外への渡航歴もなく、感染経路も不明である。NDM-1産生菌の持ち込みを防止する手だてはないと考えてもいいと

思われる。むしろ、われわれはそういう危険性にさらされているという認識のもと、検出されたら広げないという努力をすべきであろう。

しかしながら、保菌していてもすぐに症状がでるわけではないことが事態を複雑にしている。大腸菌や肺炎桿菌は緑膿菌やアシネトバクターに比べて病原性は強いというものの、腸管に常在しており、免疫能が保たれている人に対しては病原性は少ないと言える。耐性菌を選択しないためにも、かえって、検出したからというだけで抗菌薬を投与するのは慎むべきである。

文 献

- 1) Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, Chaudhary U, Doumith M, Giske CG, Irfan S, Krishnan P, Kumar AV, Maharjan S, Mushtaq S, Noorie T, Paterson DL, Pearson A, Perry C, Pike R, Rao B, Ray U, Sarma JB, Sharma M, Sheridan E, Thirunarayan MA, Turton J, Upadhyay S, Warner M, Welfare W, Livermore DM and Woodford N: Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 10: 597-602, 2010.
- 2) Chihara S, Okuzumi K, Yamamoto Y, Oikawa S and Hishinuma A: First Case of New Delhi Metallo- β -Lactamase 1 (NDM-1) Producing *Escherichia coli* Infection in Japan. *Clin Infect Dis* 2011 (accepted)
- 3) Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K and Walsh TR: Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *bla* (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* 53: 5046-5054, 2009.