

[原 著]

日本赤十字社和歌山医療センターでアウトブレイクが疑われた ESBL および
プラスミド性 AmpC 同時産生 *Klebsiella pneumoniae* に関する解析

中家歩美¹⁾・山崎勝利³⁾・近藤孝美⁴⁾・井戸向昌哉¹⁾

池田紀男¹⁾・久保健児²⁾・大津聡子²⁾

¹⁾ 日本赤十字社和歌山医療センター検査部

²⁾ 日本赤十字社和歌山医療センター感染症科

³⁾ 和歌山労災病院中央検査部

⁴⁾ シスメックス株式会社学術三課第一係

(平成 25 年 10 月 26 日受付, 平成 26 年 3 月 28 日受理)

2007 年 10 月から 2008 年 11 月にかけて日本赤十字社和歌山医療センターにおいて, セファロスポリン系薬, セファマイシン系薬, およびオキサセフェム系薬に耐性を示す *Klebsiella pneumoniae* が同一病棟で複数株検出されアウトブレイクが疑われた。我々はこれらの株の拡散状況を調査するため, 遺伝子解析と患者背景の調査を行った。その結果, 22 株の *K. pneumoniae* から CTX-M-9 型 extended-spectrum β -lactamase (ESBL) と DHA 型プラスミド性 AmpC (PABL) 遺伝子が検出された。これらの株は antibiogram と DiversiLab による解析により 6 つのクローンに分類され, 3 つのクローン株の ESBL と PABL を同時産生する *K. pneumoniae* による施設内拡散が明らかとなった。

Key words: ESBLs, plasmid-mediated AmpC β -lactamases, *Klebsiella pneumoniae*, アウトブレイク, DiversiLab

1. 序文

Klebsiella pneumoniae は腸内細菌科のグラム陰性桿菌であり, ヒトの腸管や咽頭などの常在細菌の一種である。よって身体の多くの部位から分離されるが, 日和見感染として呼吸器感染症や重篤な尿路感染症などを引き起こし, グラム陰性菌による敗血症の原因菌としても, *Escherichia coli* に次いで多いことが知られている¹⁾。

Klebsiella spp. は染色体上に Ambler の分類²⁾でクラス A の β -ラクタマーゼ遺伝子を持つため, ペニシリン系薬に自然耐性を示す。クラス A β -ラクタマー

ゼは第 1 世代セファロスポリン系薬にも結合親和性があるが, 第 2 世代以降のセファロスポリン系薬, モノバクタム系薬, およびカルバペネム系薬はほとんど分解しないので *Klebsiella* spp. はこれらの抗菌薬に感性を示す。しかし, 染色体外遺伝子であるプラスミドにコードされた耐性遺伝子を獲得することで, これらの抗菌薬にも耐性化する。

1983 年に第 3 世代を含むセファロスポリン系薬とモノバクタム系薬まで分解する基質拡張型 β -ラクタマーゼ (extended-spectrum β -lactamases : ESBLs) を産生する *K. pneumoniae* がドイツで最初に報告され³⁾, わが国では 1993 年に石井らにより CTX-M-44 (Toho-1) 型 ESBL 産生 *E. coli* が報告された⁴⁾。以来, ESBL 産生菌は国内外を問わず数多く検出されており⁵⁾⁶⁾, アウトブレイクも報告されている⁷⁾⁸⁾。諸外国では SHV 型や TEM 型の ESBL が主流であったが, 近年では本邦と同じ *Kluyvella* spp. の染色体に由来する CTX-M 型が主となってきている⁹⁾。

一方, *Klebsiella* spp. や *Proteus mirabilis* などを除

著者連絡先: (〒640-8558) 和歌山県和歌山市小松原通四丁目 20 番地

日本赤十字社和歌山医療センター検査部

中家歩美

TEL: 073-422-4171

FAX: 073-426-1168

E-mail: pafe-cake@hotmail.co.jp

く腸内細菌科の菌や *Pseudomonas aeruginosa* の染色体上には *ampC* 遺伝子が存在し、この遺伝子を保有する菌株は AmpC β -ラクタマーゼを産生する。AmpC β -ラクタマーゼはペニシリン系薬とセファロスポリン系薬を効率よく分解する。この染色体性 *ampC* 遺伝子がプラスミドに転移したと考えられる CMY-1 型酵素を持つ *K. pneumoniae* が 1989 年に韓国で報告され^{10,11}、我が国では 1993 年に堀井らにより MOX-1 型酵素産生 *K. pneumoniae* が報告された¹²。その後、日本を含め様々な国や地域でプラスミド性 AmpC β -ラクタマーゼ (plasmid-mediated AmpC β -lactamase : PABL) が報告されている^{13,14}。PABL 遺伝子は *Enterobacter* spp. 由来の ACT-1/MIR-1 型、*Citrobacter freundii* 由来の CMY/LAT 型、*Morganella morganii* 由来の DHA 型、*Hafnia alvei* 由来の ACC-1 型、および *Aeromonas* spp. 由来の CMY/MOX 型と FOX 型の 6 群に分類される¹⁴。

2007 年 10 月から 2008 年 11 月にかけて、日本赤十字社和歌山医療センターにおいてセファマイシン系薬とオキサセフェム系薬に耐性傾向を示す ESBL 産生 *K. pneumoniae* が同一病棟で複数株検出されアウトブレイクが疑われた。我々はこれらの株の拡散状況を調査するため、遺伝子解析と患者背景の調査を行った。

II. 材料と方法

1. 解析の対象および患者背景調査

2007 年 10 月から 2008 年 12 月に当センターで分離された *K. pneumoniae* 472 株を対象とした。この 472 株は、重複を避けるため、同一患者同一検体からの検出は最初に検出された検体のみを対象とした。ただし ESBL 産生株は別株とみなし集計した。*K. pneumoniae* の同定および MIC 測定には Neg Combo 6.11J パネルを用い MicroScan WalkAway 96 system (シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社) により実施し、amikacin, gentamicin, levofloxacin, および sulfamethoxazole-trimethoprim を antibiogram に使用した。また、患者背景は患者の入退院日、院内での滞在病棟、および使用抗菌薬を電子カルテより調査した。

2. β -ラクタマーゼの解析

Cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), ceftriaxone, aztreonam のいずれかの薬剤の MIC 値が $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上、もしくは、cefpodoxime (CPDX) の MIC 値が $8 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上である *K. pneumoniae* に対して ESBL 確認試験を行った。ESBL 確認試験は、CTX,

CAZ, CPDX の単剤ディスクと clavulanic acid (CVA) が添加された CTX/CVA, CAZ/CVA, CPDX/CVA ディスク (栄研化学株式会社) を用い、それぞれの CVA 添加ディスクの阻止円の差が 5 mm 以上拡大した場合に、ESBL 産生菌とした。

ESBL 産生菌と判定された 53 株について、ボロン酸添加試験¹⁵と cefoxitin (CFX) ディスクを用いた Hodge テスト¹⁶を用いて AmpC 産生を確認した。ボロン酸添加試験は、CTX と CAZ の単剤ディスクと、それぞれのボロン酸添加ディスクの阻止円のいずれかにおいて 5 mm 以上の拡大を示した場合に陽性とした (Fig. 1)。Hodge テストは、*E. coli* ATCC25922 を接種したミュラーヒントン寒天培地平板の中央に CFX ディスクを配置し、ディスク端から外側に被検菌を塗布後培養し、塗布部分と阻止円が交差した地点に発育増強を認めたものを陽性とした (Fig. 2)。

3. β -ラクタマーゼ遺伝子の検索

ESBL および AmpC 同時産生が疑われた株に関して、PCR 法により β -ラクタマーゼ遺伝子型を決定した。ESBL 遺伝子の増幅には TEM 型¹⁷、SHV 型¹⁷、CTX-M-1 型¹⁸、CTX-M-2 型¹⁸、CTX-M-8 型¹⁸、CTX-M-9 型¹⁸ の特異プライマーを、PABL 遺伝子の増幅には CMY/MOX 型¹⁹、CMY/LAT 型¹⁹、DHA 型¹⁹、ACC 型¹⁹、ACT-1/MIR-1 型¹⁹、および FOX 型¹⁹ の特異プライマーを用いた。

4. 菌株間の相同性の確認

菌株間のゲノム配列の相同性を確認するため、repetitive-sequenced-based PCR (rep-PCR) を実施した。rep-PCR は DiversiLab Microbial Genotyping System (DiversiLab) (BioMerieux Inc.) を用いた。BTB 乳糖加寒天培地にて 24 時間培養した菌集落より $2 \mu\text{l}$ 相当量を白金耳で採取し、UltraClean Microbial DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Inc.) にて DNA を抽出した。抽出された DNA は DiversiLab Klebsiella キット (BioMerieux Inc.) を使用し rep-PCR 増幅を行った。rep-PCR 増幅産物の解析には Ajilent 2100 バイオアナライザーを用いて DNA LabChip による増幅断片の分離と検出を行った。検出された電気泳動結果は DiversiLab ソフトウェア (version3.4) を用い、ピアソン相関係数による系統樹を作成してクラスタ分類を行った。

III. 結果

1. ESBL および AmpC 同時産生 *K. pneumoniae* の分離頻度と遺伝子型

2007 年 10 月から 2008 年 12 月に当センターで分離

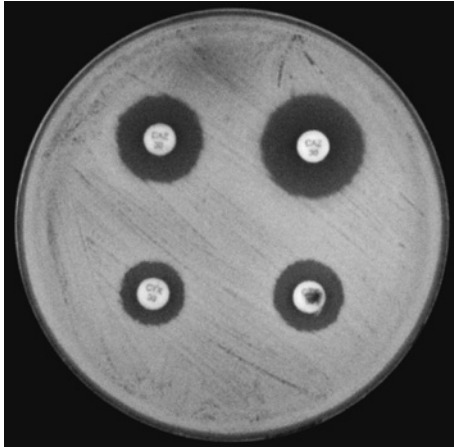


Fig. 1. Representative results of boronic acid disk test for isolates

The upper disks are CAZ disks, and the lower disks are CTX disks. The amount of 3-aminophenylboronic acid (APB) added to the right side disks was 300 μ g.

AmpC-producer (strain no. 1): The diameter of the growth-inhibitory zone is expanded around the disk containing APB.

された *K. pneumoniae* は 472 株であり、ESBL 確認試験により ESBL 産生株と判定されたのは 53 株 (11.2%) であった。

ESBL と判定された 53 株のうち、ポロン酸添加試験および Hodge テストが共に陽性を示した株は 38 株 (8.1%) で 22 患者より分離された。この 22 患者において最初に検出された 22 株全てから CTX-M-9 型 ESBL 産生遺伝子と DHA 型 PABL 遺伝子が検出された。

2. 菌株間の相同性

ESBL および AmpC 同時産生が疑われた 22 株を対象に rep-PCR による相同性解析を実施した結果、98% 以上の相同性を示すタイプが認められ、それぞれのタイプを rep-PCR type a, b, c, d とした。rep-PCR type a は 3 株、rep-PCR type b は 1 株、rep-PCR type c は 9 株、rep-PCR type d は 9 株であった (Fig. 3)。

3. 患者背景調査

ESBL および AmpC 同時産生が疑われた 22 株が各患者において最初に検出された材料は、尿が 16 株、喀痰が 6 株であり、18 株が B 病棟、2 株が A 病棟、1 株が C 病棟、残り 1 株は外来から分離された (Table)。

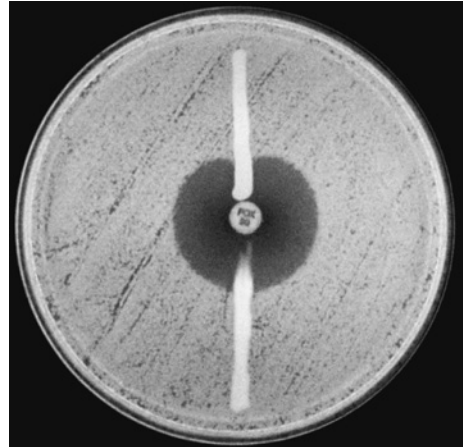


Fig. 2. Growth patterns of AmpC-producer and -non-producer in the modified Hodge test with CFX disk

A Mueller-Hinton agar plate was inoculated with *E. coli* ATCC25922 as an indicator organism. A CFX disk was put at the center and the test isolates were streaked from the edge of the disk to the periphery of the plate and incubated overnight.

Top: distorted inhibition zone of the indicator organism by AmpC-producer (strain no. 1). Bottom: no effect on the zone of the indicator organism by AmpC-nonproducer.

菌が分離される 2 週間以前より抗菌薬を使用していたのは 20 例であり、その中で β -ラクタム系薬を使用していた患者は 14 例であり、カルバペネム系薬が 3 例で投与されていた。

菌検出後、1 週間以内に抗菌薬の変更があった患者は 12 例であり、菌検出後、ESBL 産生および PABL 同時産生 *K. pneumoniae* に対し、有効と思われる抗菌薬に変更していたのは 4 例であった。

IV. 考察

当センターの調査期間中の ESBL 産生 *K. pneumoniae* の検出率は 11.2% (472 株中 53 株) であり、近畿地区における *K. pneumoniae* の ESBL 産生比率 (2009 年, 2.4%)⁵⁾ より著しく高かった。その原因としては今回調査した ESBL 産生およびプラスミド性 AmpC 産生 *K. pneumoniae* のアウトブレイクが関与していると考えられるが、アウトブレイク以前から当センターにおける ESBL 産生 *K. pneumoniae* の検出頻度は高いことから、地域性も考えられた²⁰⁾。

当センターで検出された *K. pneumoniae* は CTX-

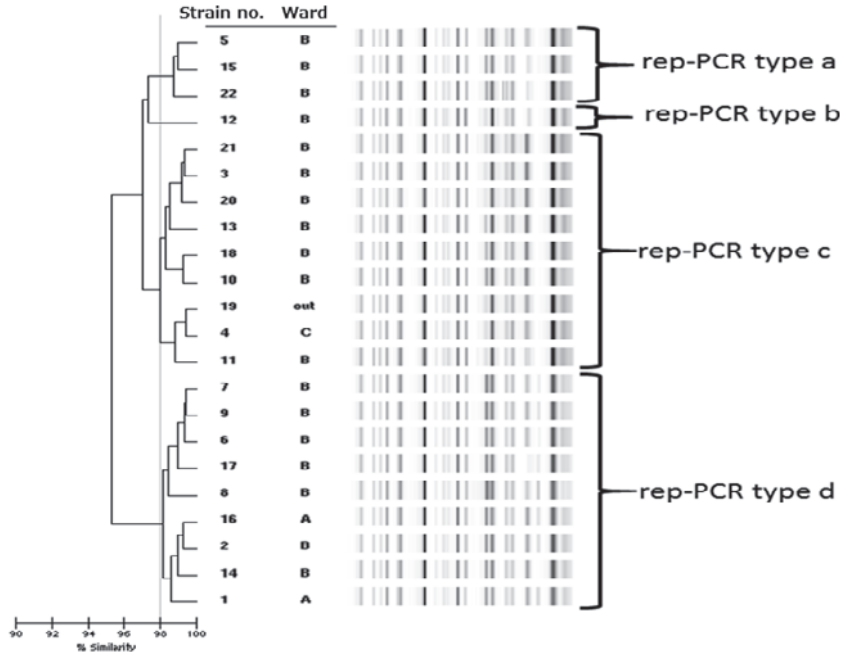


Fig. 3. Cluster analysis and virtual gel image from DiversiLab-generated fingerprints of the 22 *K. pneumoniae* strains tested

The virtual gel image fingerprints of samples with $\geq 98\%$ similarity were collapsed so that one representative fingerprint is shown.

M-2型とDHA型の2つの酵素を同時に産生する株であり、ESBLとPABLの各産生酵素において、近畿地区で優位に検出されている酵素型と一致した⁵⁾¹³⁾。ESBLとPABLを同時産生する*K. pneumoniae*は稀であるが¹³⁾、アウトブレイクも報告されている^{21)~23)}。A病棟から分離された2株(菌株1と16)はantibiogramとrep-PCR type(タイプa)が同一であり同一診療科から分離され、施設内拡散の可能性が示唆された。B病棟から分離された18株(菌株2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 20, 21, および22)は、rep-PCR typeで4つに分類された(タイプa, b, c, およびd)。しかし、菌株5と菌株17はrep-PCR typeではタイプaとdであったが、他のタイプa, dの菌株とはantibiogramがそれぞれ異なった。よって、B病棟から検出された菌株は6つのクローンに分類された。結果として、B病棟から複数株検出された同一クローン株は、タイプaの2株(菌株15と22)とタイプcの7株(菌株3, 10, 11, 13, 18, 20, および21)、そして、タイプdの6株(菌株2, 6, 7, 8, 9, および14)であった。したがって、多くの株が検出されたB病棟ではタイプaとタイプc

およびタイプdの3つのクローン株による施設内拡散が明らかとなった。タイプcはC病棟と外来(菌株4と19)、タイプdはA病棟(菌株1と16)からも検出されていたので、検出時より過去に遡ってB病棟への入出を調査した。患者16は2007年11月12日から12月4日までB病棟での入院歴があった。しかし、残りの患者にはB病棟への入院歴はなく、B病棟との因果関係は不明であった。今回、CTX-M-9型とDHA型を同時産生する*K. pneumoniae*が6クローンに分類されたのは、おそらく接合伝達によるプラスミドの伝播またはトランスポゾンを経た耐性遺伝子の伝播によると考えられた。また、今回の調査ではESBL確認試験により、ESBL産生菌と判断された株に対し、ポロン酸添加試験とHodgeテストを行いAmpC産生を確認した。しかしAmpCを多量に産生する株では、AmpCによりCVAの阻害がマスクされる場合がある。よって本研究ではESBLおよびPABL同時産生株の中で、AmpCを多く産生する株を見逃している可能性が考えられた。

また、imipenemのMICが $2\mu\text{g}/\text{ml}$ と軽度上昇している株が5株存在した。これら5株についてmero-

Table. MICs of β -lactams, antibiogram, rep-PCR types for 22 strains and clinical backgrounds of 22 patients

| Pa- tients and of age/ strain Sex. no. | Decade of age/ Sex. | Speciality | Ward | Speci- men | Isolation day (dy/ mo./yr) | β -lactamase type (s) | MIC (μ g/ml) ^a | | | | | | | Antibiogram ^b | DiversiLab rep-PCR profiles |
|--|---------------------------|----------------------------------|------|---------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|------|-----|--------------------------|-----------------------------------|
| | | | | | | | PIPC | CTX | CAZ | CPR | CMZ | FMOX | IPM | | |
| 1 | 80/M | Urology | A | Urine | 29/10/2007 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | 32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | d |
| 2 | 80/F | Urology | B | Urine | 06/11/2007 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | 32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | d |
| 3 | 70/F | Neurological surgery | B | Sputum | 14/11/2007 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | >32 | 2 | GM, LVFX, ST | c |
| 4 | 70/M | Neurological surgery | C | Urine | 18/02/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | >32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | c |
| 5 | 80/F | Neurological surgery | B | Urine | 17/03/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | a |
| 6 | 50/F | Neurological surgery | B | Urine | 18/03/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | d |
| 7 | 60/F | Neurological surgery | B | Urine | 24/03/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | d |
| 8 | 80/M | Neurological surgery | B | Sputum | 25/03/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | d |
| 9 | 90/F | Neurological surgery | B | Sputum | 27/03/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | d |
| 10 | 60/F | Neurological surgery | B | Sputum | 04/04/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | c |
| 11 | 50/M | Neurology neurological Institute | B | Urine | 05/07/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | c |
| 12 | 60/M | Urology | B | Urine | 19/05/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | 2 | GM, LVFX, ST | b |
| 13 | 60/M | Neurological surgery | B | Sputum | 27/05/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | c |
| 14 | 70/M | Neurological surgery | B | Sputum | 28/07/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | d |
| 15 | 70/F | Neurological surgery | B | Urine | 18/08/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | 2 | LVFX | a |
| 16 | 70/F | Urology | A | Urine | 01/09/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | d |
| 17 | 50/M | Neurological surgery | B | Urine | 01/09/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | 2 | LVFX, ST | d |
| 18 | 70/F | Urology | B | Urine | 02/09/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | c |
| 19 | 70/M | Urology | Out | Urine | 06/10/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | >32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | c |
| 20 | 20/F | Neurology neurological Institute | B | Urine | 10/10/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | 32 | 2 | GM, LVFX, ST | c |
| 21 | 80/M | Neurological surgery | B | Urine | 05/11/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | >32 | ≤1 | GM, LVFX, ST | c |
| 22 | 60/M | Urology | B | Urine | 25/11/2008 | DHA, CTX-M9 | >64 | >32 | >16 | >16 | >32 | >32 | ≤1 | LVFX | a |

^aPIPC, piperacillin; CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; CPR, cefepime; CMZ, ceftazidime; FMOX, flomoxef; IPM, imipenem.

^bAntibiogram: AMK, amikacin (64 μ g/ml); GM, gentamicin (16 μ g/ml); LVFX, levofloxacin (8 μ g/ml); ST, sulfamethoxazole/trimethoprim (76/4 μ g/ml).

penem ディスクを用いた modified Hodge テストを実施したが陰性であった (data not shown)。したがって膜蛋白の欠損や減少により²⁴⁾、カルバペネム系薬の MIC が上昇したと推測された。ESBL および PABL 同時産生株は β -ラクタム系薬以外に耐性を示す傾向があり²¹⁾、今回の株も β -ラクタム系薬以外に同時耐性を認め治療薬選択を狭める要因となる株であった。

当センターにおいて、セファマイシン系薬とオキサセフェム系薬に耐性傾向を示す ESBL 産生 *K. pneumoniae* の発生を検知し、同定感受性試験の結果から ESBL および AmpC 保有の *K. pneumoniae* によるアウトブレイクを疑い、infection control team (ICT) に報告した。ICT は尿の回収方法の改善や手指衛生の徹底等の感染対策を強化し、アウトブレイクは終息した。B 病棟からの検出数が 18 株と最も多かったことから、感染ルートを特定するため、感染源を探ったが特定には至らなかった (data not shown)。後日、PCR 法による β -ラクタマーゼ遺伝子の検索、antibiogram、および DiversiLab によるゲノムタイピング解析により、CTX-M-9 型 ESBL かつ DHA 型 PABL 遺伝子保有 *K. pneumoniae* の 3 つのクローン株によるアウトブレイクを証明できた。PCR 法などの遺伝子検査を行わなくとも、薬剤感受性パターンとポロン酸添加試験や Hodge テスト等のディスク法を用いることで、薬剤耐性因子を推定することは可能である²⁵⁾。しかしながら、本研究が示すように antibiogram だけでは散発例と多発例を判別するのは不十分であり、DiversiLab などの遺伝子タイピング解析を用いることで、より確実な感染対策を行うことが可能であると考えられた。

利益相反： 申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) 大曲貴夫, 高倉俊二, 松村康史, 他. 2012. 日本の病院における血液培養採取状況および陽性率の実態調査—パイロットスタディー—. 日臨微誌 22: 13-19.
- 2) Ambler, R.P. 1980. The structure of β -lactamases. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 289: 321-331.
- 3) Knothe, H., P. Shah, Y. Krcmery, et al. 1983. Transferable resistance to cefotaxime, ceftaxime, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection 11: 315-317.
- 4) Ishii, Y., A. Ohno, H. Taguchi, et al. 1995. Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-

hydrolyzing class A β -lactamase isolated from *Escherichia coli*. Antimicrob. Agents Chemother. 39: 2269-2275.

- 5) Nakamura, T., M. Komatsu, K. Yamasaki, et al. 2012. Epidemiology of *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Proteus mirabilis* strains producing extended-spectrum β -lactamases from clinical samples in the Kinki region of Japan. Am J Clin Pathol. 137: 620-626.
- 6) Paterson, D.L., R.A. Bonomo. 2005. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 18: 657-686.
- 7) Komatsu, M., N. Ikeda, M. Aihara, et al. 2001. Hospital outbreak of MEN-1-derived extended spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. J Infect Chemother. 7: 94-101.
- 8) Filippa, N., A. Carricajo, F. Grattard, et al. 2013. Outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying *qnrBI* and *bla_{CTX-M15}* in a French intensive care unit. Ann Intensive Care 3: 18-21.
- 9) 石井良和. 2009. 薬剤感受性測定法と耐性菌 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌, AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生菌, メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌. 臨床と微生物 36: 615-622.
- 10) Bauernfeind, A., Y. Chong, S. Schweighart. 1989. Extended broad spectrum β -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* including resistance to cephamycins. Infection 17: 316-321.
- 11) Bauernfeind, A., I. Stemplinger, R. Jungwirth, et al. 1996. Comparative characterization of the cephamycinase *bla_{CMY-1}* gene and its relationship with other β -lactamase genes. Antimicrob. Agents Chemother. 40: 1926-1930.
- 12) Horii, T., Y. Arakawa, M. Ohta, et al. 1993. Plasmid-mediated AmpC-type β -lactamase isolated from *Klebsiella pneumoniae* confers resistance to broad-spectrum β -lactams, including moxalactam. Antimicrob. Agents Chemother. 37: 984-990.
- 13) Yamasaki, K., M. Komatsu, N. Abe, et al. 2010. Laboratory surveillance for prospective plasmid-mediated AmpC β -lactamases in the Kinki region of Japan. Journal of Clinical Microbiology 48: 3267-3273.
- 14) Philippon, A., G. Arlet, G.A. Jacoby. 2002. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 1-11.
- 15) Yagi, T., J. Wachino, H. Kurokawa, et al. 2005. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β -lactamase-producing *Klebsiella*

- pneumoniae* and *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 143: 2551-2558.
- 16) Yong, D., R. Park, J. Yum, et al. 2002. Further modification of the Hodge test to screen AmpC β -lactamase (CMY-1)-producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. J. Microbiol. Methods 51: 407-410.
- 17) Arlet, G., A. Philippon. 1991. Construction by polymerase chain reaction and intragenic DNA probes for three main types of transferable β -lactamases (TEM, SHV, CARB). FEMS Microbiol Lett 82: 19-26.
- 18) Pitout, J.D., A. Hossain, N.D. Hanson. 2004. Phenotypic and molecular detection of CTX-M- β -lactamases produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp.. J Clin Microbiol 42: 5715-5721.
- 19) Pérez-Pérez, F.J., N.D. Hanson. 2002. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. J. Clin. Microbiol. 40: 2153-2162.
- 20) 中家歩美, 西 春香, 原 幹也, 他. 2012. 当センターにおける基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌の検出率および薬剤感性状況. 和医誌 30: 57-62.
- 21) Wei, Z-Q., Y-G. Chen, Y-S. Yu, et al. 2005. Nosocomial spread of multi-resistant *Klebsiella pneumoniae* containing a plasmid encoding multiple β -lactamases. J. Microbiol. Methods 54: 885-888.
- 22) Song, W., K.M. Lee, H-S. Kim, et al. 2006. Clonal spread of both oxyimino-cephalosporin- and ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates co-producing SHV-2a and DHA-1 β -lactamase at a burns intensive care unit. Int. J. Antimicrob. Agents 28: 520-524.
- 23) Roh, K.H., Y. Uh, H.S. Kim, et al. 2008. First outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing both SHV-12-type extended-spectrum β -lactamase and DHA-1-type AmpC β -lactamase at a Korean hospital. Yonsei Med J. 49: 53-57.
- 24) Bradford, P.A., C. Urban, N. Mariano, et al. 1997. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC β -lactamase, and the loss of an outer membrane protein. Antimicrob. Agents Chemother. 41: 563-569.
- 25) 中村竜也. 2011. 耐性菌クイズ: 感受性パターンを読む. Medical Technology 39: 744-756.

Analysis of the outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing both extended-spectrum β -lactamase and plasmid-mediated AmpC β -lactamase in Japanese Red Cross Society Wakayama Medical Center

Ayumi Nakaie¹⁾, Katsutoshi Yamasaki³⁾, Takami Kondo⁴⁾, Masaya Idomuki¹⁾,
Norio Ikeda¹⁾, Kenji Kubo²⁾, Satoko Otsu²⁾

¹⁾Department of Laboratory Medicine, Japanese Red Cross Society, Wakayama Medical Center

²⁾Division of Infection, Japanese Red Cross Society, Wakayama Medical Center

³⁾Department of Clinical Laboratory, Wakayama Rosai Hospital

⁴⁾Scientific Research Department, Scientific Affairs Division, Sysmex Corporation

Twenty two *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates resistant to various cephalosporins, cephamycins, and oxacephems, were identified in Japanese Red Cross Society Wakayama Medical Center between October 2007 and November 2008. All isolates carried *bla*_{CTX-M-9} and *bla*_{DHA}. Antibiogram and the DiversiLab system for DNA fingerprinting revealed that these 22 *K. pneumoniae* strains originated from 6 clones, and that the 3 clones were spread in the hospital.