

## [原 著]

愛知県3病院におけるIMP-型メタロ-β-ラクタマーゼ産生  
ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の検出例の検討

松波充子<sup>1)</sup>・奈田 俊<sup>2)</sup>・土屋洋子<sup>3)</sup>・竹田良一<sup>1)</sup>  
佐藤伸子<sup>3)</sup>・馬場尚志<sup>2), 4)</sup>・柴田尚宏<sup>5)</sup>・荒川宜親<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> 西尾市民病院診療技術部臨床検査室

<sup>2)</sup> 名古屋大学医学部附属病院検査部

<sup>3)</sup> 一宮市民病院臨床検査科

<sup>4)</sup> 名古屋大学医学部附属病院難治感染症部

<sup>5)</sup> 国立感染症研究所細菌第二部

(平成19年6月8日受付, 平成20年4月23日受理)

愛知県内3病院(A, B, C)において, 2002年5月から2003年9月までに, 12名の患者から24株のメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌を分離した。A病院では, 外科病棟3名の患者から *Acinetobacter baumannii*, B病院では, 血液内科病棟5名の患者から *Pseudomonas putida*, C病院では, 内科, 泌尿器科病棟および外来で4名の患者から *Alcaligenes xylosoxidans* が分離された。それぞれの菌株について薬剤感受性試験, SMA ディスクを用いた MBL 産生性の確認, PCR 法を用いた IMP-1 型グループの β-ラクタマーゼ遺伝子の検査を行った。また, 同一病院内で複数の患者から MBL 産生菌が分離されたため, 同一菌の伝播を疑いパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による遺伝子型の解析を行った。全菌株は IMP-1 型グループの β-ラクタマーゼ遺伝子を有し多剤に耐性を示した。同一患者から分離された菌株はすべて PFGE の解析において同一パターンを示した。また, 同一病院由来の3菌種は, A病院の3名中1名からの *A. baumannii* を除き, それぞれ PFGE 型の解析において同一パターンを示した。臨床的背景を調査した結果, 基礎疾患, 手術, 術後の医療デバイス, 長期入院など共通のリスクファクターを有する患者が多く見られた。現時点においては, これらブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌群に属する菌種はいずれも臨床検体からの分離頻度は低いが, 長期間にわたり同一病棟に定着する可能性があるため警戒が必要である。

**Key words:** メタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) 産生菌, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas putida*, *Alcaligenes xylosoxidans*, IMP-1

## 序 文

ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌 (非発酵菌) は, 院内の湿潤環境に棲息し, 薬剤や消毒薬に耐性を示すことが多く, 病原性は比較的弱いものの易感染者に日和

見感染や院内感染を惹起する起因菌となりうる<sup>1)</sup>。近年, 臓器移植など高度医療に伴い, これらの菌種に対する注意と監視がますます求められている。非発酵菌群の中で *Pseudomonas aeruginosa* は, 臨床検体からの分離頻度が最も高い代表的な菌種であり, カルバペネム, ニューキノロン, アミノグリコシドの3系統の薬剤に耐性を獲得した菌株は, 治療に難渋することもあり, 院内感染対策上監視すべき対象菌である<sup>2)</sup>。

臨床微生物検査室で見逃してはならない耐性機序の一つとしてメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌が知られている。MBL は, 入院患者の治療に汎用されているカルバペネム系抗菌薬を効率よく分解し, さらにペニシ

---

著者連絡先: (〒445-8510) 愛知県西尾市熊味町上泡原  
6 番地  
西尾市民病院診療技術部臨床検査室  
松波充子  
TEL: 0563-56-3171  
FAX: 0563-56-3484  
E-mail: siminbyouin@city.nishio.lg.jp

リン系, セフェム系,  $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤に至るまでの各種 $\beta$ -ラクタム剤を不活化できる強力な酵素である<sup>3)</sup>。本酵素はその活性中心に亜鉛を有し, この亜鉛に結合している水分子が $\beta$ -ラクタム環に直接作用して, 各種 $\beta$ -ラクタム剤を加水分解し, ペニシリン系, セフェム系, カルバペネム系,  $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤に至るまでの薬剤を不活性化する。さらに, 伝達性プラスミドにより菌種を超えて他のグラム陰性桿菌に拡散する場合もあるため, 臨床上大きな脅威となっている<sup>3)</sup>。

腸内細菌科に属する菌種では *Serratia marcescens*, 非発酵菌では *P. aeruginosa* を中心として種々の菌種で MBL 産生の報告例がある<sup>4)</sup>。また, 院内感染事例を含めた多剤耐性緑膿菌 (MDRP) の報告<sup>5), 6)</sup>や, *P. aeruginosa* 以外の非発酵菌による MBL 産生の報告例<sup>7), 8)</sup>もある。杉野らは, 愛知県内 3 施設からカルバペネム耐性または中間耐性を示した *P. aeruginosa* 106

株, *Acinetobacter* spp. 64 株の耐性機序について検討した結果, MBL 産生株は *P. aeruginosa* には存在せず, *Acinetobacter* spp. には 12.5%認められ, しかも多剤耐性傾向を示したと報告している<sup>7)</sup>。

筆者らは, 同時期に愛知県内の 3 病院において日常検査法で MBL 産生 *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas putida*, *Alcaligenes xylosoxidans* を相次いで分離し, それぞれ異なった検出状況の特徴が認められたため比較検討した。

## 対象と方法

### 1. 対象菌株の収集

愛知県内の 3 病院 (A, B, C) において 2002 年 5 月から 2003 年 9 月の期間に各病院において, 菌種, 薬剤感受性パターンが同一の耐性菌が複数患者より頻回に検出され, 同一病棟であることや分離時期が特定の短い期間であることなどから院内伝播が疑われた非発

Table 1. Isolation of MBL producing bacteria

| Hospital | Case | Date of test | Specimens        | Isolate                |
|----------|------|--------------|------------------|------------------------|
| A        | 1    | 2003/8/4     | bile PTCD        | <i>A. baumannii</i>    |
|          |      | 2003/8/6     | peritoneal drain | <i>A. baumannii</i>    |
|          |      | 2003/8/6     | peritoneal drain | <i>A. baumannii</i>    |
|          |      | 2003/8/12    | peritoneal drain | <i>A. baumannii</i>    |
|          |      | 2003/8/12    | bile PTCD        | <i>A. baumannii</i>    |
|          | 2    | 2003/8/21    | bile PTCD        | <i>A. baumannii</i>    |
|          |      | 2003/8/28    | bile PTCD        | <i>A. baumannii</i>    |
|          |      | 2003/9/4     | bile PTCD        | <i>A. baumannii</i>    |
|          | 3    | 2003/8/14    | bile PTCD        | <i>A. baumannii</i>    |
| B        | 4    | 2002/6/4     | feces            | <i>P. putida</i>       |
|          | 5    | 2002/10/18   | feces            | <i>P. putida</i>       |
|          | 6    | 2002/12/20   | feces            | <i>P. putida</i>       |
|          | 7    | 2003/2/19    | feces            | <i>P. putida</i>       |
|          | 8    | 2003/4/11    | feces            | <i>P. putida</i>       |
| C        | 9    | 2002/12/21   | blood            | <i>A. xylosoxidans</i> |
|          |      | 2002/12/21   | urine catheter   | <i>A. xylosoxidans</i> |
|          |      | 2003/2/10    | urine catheter   | <i>A. xylosoxidans</i> |
|          |      | 2003/3/11    | urine            | <i>A. xylosoxidans</i> |
|          |      | 2003/5/6     | urine            | <i>A. xylosoxidans</i> |
|          |      | 2003/6/10    | urine            | <i>A. xylosoxidans</i> |
|          | 10   | 2003/6/20    | urine            | <i>A. xylosoxidans</i> |
|          | 11   | 2003/8/12    | urine catheter   | <i>A. xylosoxidans</i> |
|          |      | 2003/8/21    | urine catheter   | <i>A. xylosoxidans</i> |
|          | 12   | 2003/8/22    | urine catheter   | <i>A. xylosoxidans</i> |

PTCD: percutaneous transhepatic cholangio-drainage

酵母菌を調査検討した。各病院の調査期間に *A. baumannii* 202 株 (A 病院 32 株, B 病院 105 株, C 病院 65 株), *P. putida* 23 株 (A 病院 2 株, B 病院 14 株, C 病院 7 株), *A. xylosoxidans* 20 株 (A 病院 2 株, B 病院 8 株, C 病院 10 株) が分離され, そのうちセフトジウム耐性およびイミペネム感受性以外を示した菌株を対象とした。集計方法は, 1 カ月以内の同一患者, 同一菌種の重複例は除いて行い, 今回の調査には, Table 1 に示した 3 菌種 24 株を用いた。

さらに, 院内伝播が疑われた株に関しては, 詳細な臨床的背景を調べた。

## 2. 菌種の同定法と薬剤感受性試験

MicroScan WalkAway (シーメンス) を用いて, 専用パネルの Neg Combo 4B で同定および薬剤感受性試験を実施したが, 菌名が確定できなかった菌についてはアピ 20NE (日本ビオメリュー) を用いて同定した。薬剤感受性試験は National Committee for Clinical Laboratory Standards I (NCCLS), (現: Clinical and Laboratory Standards Institute) M7-A6<sup>9)</sup> に準拠した微量液体希釈法による MIC 測定を実施し, カテゴリ判定で感受性 (susceptible), 中間 (intermediate), 耐性 (resistant) に区分した。

使用薬剤の種類と希釈系列の範囲 (単位は  $\mu\text{g/ml}$ ) は次のとおりであった。piperacillin (PIPC: 8~64), ceftazidime (CAZ: 2~16), cefpirome (CPR: 2~16), cefepime (CFPM: 2~16), cefozopran (CZOP: 2~16), imipenem (IPM: 1~8), meropenem (MEPM: 1~8), aztreonam (AZT: 2~16), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ: 2/16~4/32), gentamicin (GM: 1~8), tobramycin (TOB: 1~8), isepamicin (ISP: 2~16), amikacin (AMK: 4~32), minocycline (MINO: 2~8), levofloxacin (LVFX: 0.5~4), sulfamethoxazole/trimethoprim (S/T: 2/38) の 16 剤を用いた。

## 3. SMA ディスク拡散法を用いた MBL 産生性の確認

MBL 産生菌の検出法は, Arakawa らが考案した sodium mercaptoacetic acid (SMA) のディスク (炭研化学) を用いて行った<sup>10)</sup>。方法はミューラーヒントン寒天培地 (日本ベクトンディッキンソン) に濁度計で調整した McFarland 0.5 の菌液を綿棒で塗布し, 3 cm 以上離して CAZ ディスク (日本ベクトンディッキンソン) を置いた。次に一方の CAZ ディスクの中心から 1.5~2 cm 離して, SMA ディスクを配置し 35°C 16~18 時間培養した。判定は CAZ の阻止帯より SMA に隣接した CAZ の発育阻止帯が, SMA と CAZ のディスクの中心をつないだ軸方向に対して垂

直方向に 5 mm 以上の拡大を認めた場合 (ただし CAZ 単独で阻止帯が認められないときは 12 mm 以上の阻止帯を形成した場合), MBL 産生菌と判定した<sup>3)</sup>。

## 4. PCR 法を用いた IMP-1 型グループの $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の検出

PCR 法による IMP-1 型グループの MBL 遺伝子の検出に関しては, 柴田らのプライマーデザインおよび PCR 条件を用いて行った<sup>2), 3)</sup>。増幅産物は 2% アガロースゲルを用いて, 電気泳動を行い 587 bp 付近サイズのバンドの有無を確認した。

## 5. パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) の解析

PFGE は, Senda らの方法に従い実施した<sup>11)</sup>。*A. baumannii* は制限酵素 *Sma*I で処理後, 泳動条件は, パルスタイム 0.5~60 秒, 泳動時間 20 時間, 電圧 6 V/cm, 泳動 buffer 温度 11°C で行った<sup>12)</sup>。*A. xylosoxidans* と *P. putida* は制限酵素 *Spe*I で処理後, パルスタイム 10~45 秒, 泳動時間 22 時間, 電圧 6 V/cm, 泳動 buffer 温度 14°C で行った<sup>11)</sup>。PFGE 装置は CHEEF DR II Pulsed field electrophoresis system (Bio-Rad Laboratories) を用いた。

## 6. MBL 産生菌検出患者の臨床背景

MBL 産生菌検出患者 12 名のカルテから年齢, 性別, 入院期間, 入院病棟, 基礎疾患, 手術の有無, 医療デバイスの有無, 転帰について調査した。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どうか確認した。

## 結 果

### 1. 菌株同定および薬剤感受性試験結果

同定検査の結果は, Table 1 に示すように, それぞれ *A. baumannii*, *P. putida*, *A. xylosoxidans* が確認された。12 症例の MBL 産生菌に対する 16 薬剤の MIC 値とカテゴリ判定を Table 2 に示した。*A. baumannii* は, SBT/CPZ 以外の  $\beta$ -ラクタム薬剤すべてと S/T に耐性を示し, アミノグリコシド, ニューキノロンなど他の薬剤には感受性を示した。*P. putida* は 16 薬剤すべてに耐性であり, *A. xylosoxidans* は PIPC と MINO 以外の薬剤に耐性を示した。

### 2. 各病院における MBL 産生疑い菌株の分離状況

A, B, C 各病院の調査期間において当該菌種の MBL 産生が疑われた菌の分離株数 (分離率) は, それぞれ *A. baumannii* 4 株 (12.5%), *P. putida* 5 株 (36%), *A. xylosoxidans* が 8 株 (80%) であった。また, MBL 産生が疑われた菌は, 他の菌種でも分離されており, A 病院では *P. putida* 2 株中 1 株, と *A. xylosoxidans* 2

Table 2. Drug susceptibility of metallo-β-lactamase producing bacteria

| Hospital | Case No. | Isolate                | MIC values of each drug (μg/ml) |          |          |          |          |         |         |          |          |         |         |          |          |         |           |            |
|----------|----------|------------------------|---------------------------------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|----------|---------|---------|----------|----------|---------|-----------|------------|
|          |          |                        | PIPC                            | CAZ      | CPR      | CFPM     | CZOP     | IPM     | MEPM    | AZT      | SBT/CPZ  | GM      | TOB     | ISP      | AMK      | MINO    | LVFX      | ST         |
| A        | 1, 2     | <i>A. baumannii</i>    | >64<br>R                        | >16<br>R | >16<br>R | >16<br>R | >16<br>R | >8<br>R | >8<br>R | >16<br>R | 8<br>S   | ≤1<br>S | 2<br>S  | 4<br>S   | 8<br>S   | ≤2<br>S | ≤0.5<br>S | >2/38<br>R |
|          | 3        | <i>A. baumannii</i>    | >64<br>R                        | >16<br>R | >16<br>R | >16<br>R | >16<br>R | >8<br>R | >8<br>R | 16<br>I  | ≤4<br>S  | 2<br>S  | 4<br>S  | 8<br>S   | 8<br>S   | ≤2<br>S | ≤0.5<br>S | >2/38<br>R |
| B        | 4-8      | <i>P. putida</i>       | >64<br>R                        | >16<br>R | >16<br>R | 16<br>R  | >16<br>R | >8<br>R | >8<br>R | >16<br>R | >32<br>R | >8<br>R | >8<br>R | >16<br>R | >32<br>R | >8<br>R | >4<br>R   | >2/38<br>R |
| C        | 9-12     | <i>A. xylosoxidans</i> | ≤8<br>S                         | >16<br>R | >16<br>R | 16<br>R  | >16<br>R | >8<br>R | >8<br>R | >16<br>R | >32<br>R | >8<br>R | >8<br>R | >16<br>R | >32<br>R | 4<br>S  | >4<br>R   | >2/38<br>R |

PIPC: piperacillin, CAZ: ceftazidime, CPR: cefpirome, CFPM: cefepime, CZOP: ceftazopran, IPM: imipenem, MEPM: meropenem, AZT: aztreonam, SBT/CPZ: sulbactam/cefoperazone, GM: gentamicin, TOB: tobramycin, ISP: isepamicin, AMK: amikacin, MINO: minocycline, LVFX: levofloxacin, ST: sulfamethoxazole/trimethoprim

株中 2 株があり、B 病院では *A. baumannii* 105 株中 1 株であった。

3. MBL 産生性の確認結果

SMA ディスク拡散法では、スクリーニングで得られたすべての菌株において阻止円の拡大が認められ、MBL 産生が示唆された。

4. PCR 法を用いた IMP-1 型グループの MBL 遺伝子の検出結果

PCR 法では、すべてに予測される 587 bp 付近に増幅産物が認められ、IMP-1 型グループの MBL 遺伝子の保有が確認された。

5. PFGE を用いた遺伝子型の解析結果

PFGE 型は、A, B, C の病院ごとに異なっていた。Fig. 1 には、薬剤感受性パターンが類似している代表的菌株を選び示した。*A. baumannii* は 2 種類の PFGE 型を示していたが、*P. putida* と *A. xylosoxidans* はそれぞれ同一型であった。

6. MBL 産生菌の臨床的背景

(1) 各病院における検出菌、基礎疾患、検出検体の特徴

A 病院 (Table 1, Fig. 2) では、*A. baumannii* が分離され、すべて癌の手術目的の患者であり、検体は胆汁、腹腔ドレーンであった。1 から 3 のすべての症例で percutaneous transhepatic cholangio-drainage (PTCD) ドレーンが使用されていた<sup>13)</sup>。B 病院 (Table 1, Fig. 3) では、*P. putida* が分離され、すべて血液疾患の患者の便から監視培養で検出されていることが特徴的であった。C 病院 (Table 1, Fig. 4) の 4 例は手術目的の患者

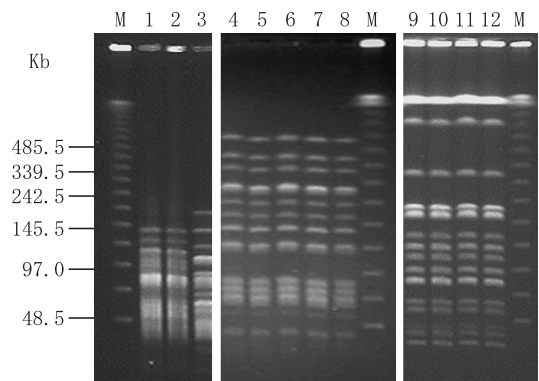


Fig. 1. PFGE Pattern of MBL-producing bacteria.

M: lambda ladder marker, lane 1-3: *Acinetobacter baumannii* (case 1-3 at hospital A), lane 4-8: *Pseudomonas putida* (case 4-8 at hospital B), lane 9-12: *Alcaligenes xylosoxidans* (case 9-12 at hospital C).

で、いずれも術後に *A. xylosoxidans* が分離された。症例 9 では、MBL 産生菌が 6 回分離されたうちの 1 回は血液検体からであり、それ以外は他の症例も含めすべて尿から分離されていた。

(2) 検出時期と検出病棟の調査について

A 病院では、2 例は術後に 1 例は術前に検出された。B 病院においては、血液内科の同じ病棟で時期をずらして検出された。C 病院では、症例 12 以外は同一病棟であり、すべて術後に検出された。

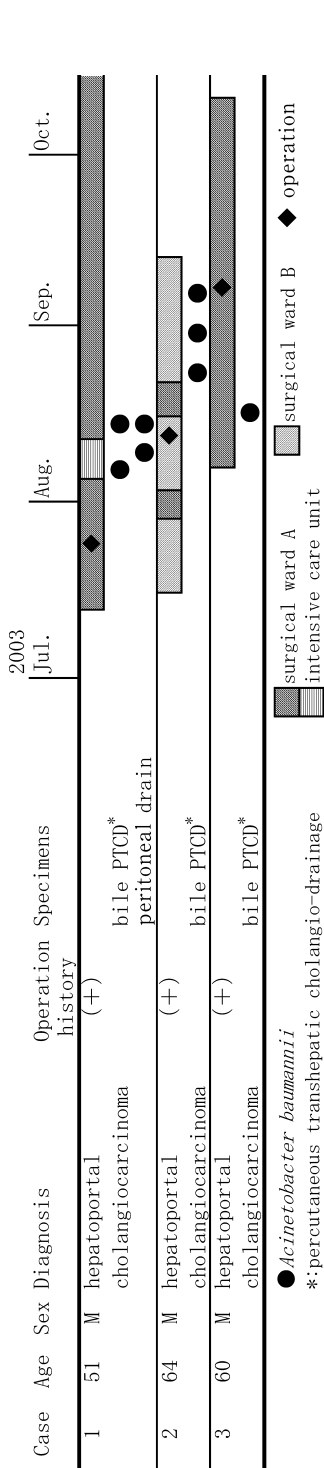


Fig. 2. Clinical course and isolation of MBL-producing *Acinetobacter baumannii* at hospital A.

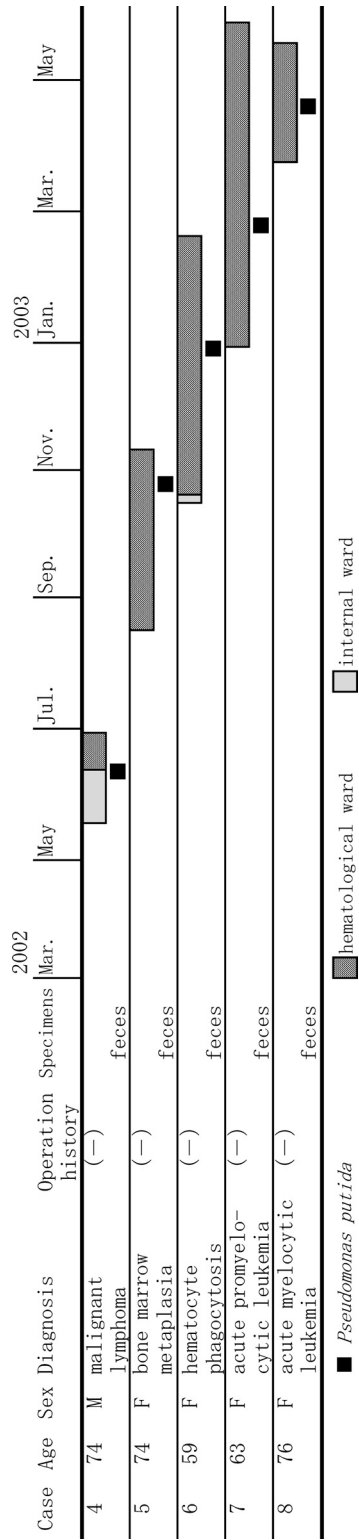


Fig. 3. Clinical course and isolation of MBL-producing *Pseudomonas putida* at hospital B.

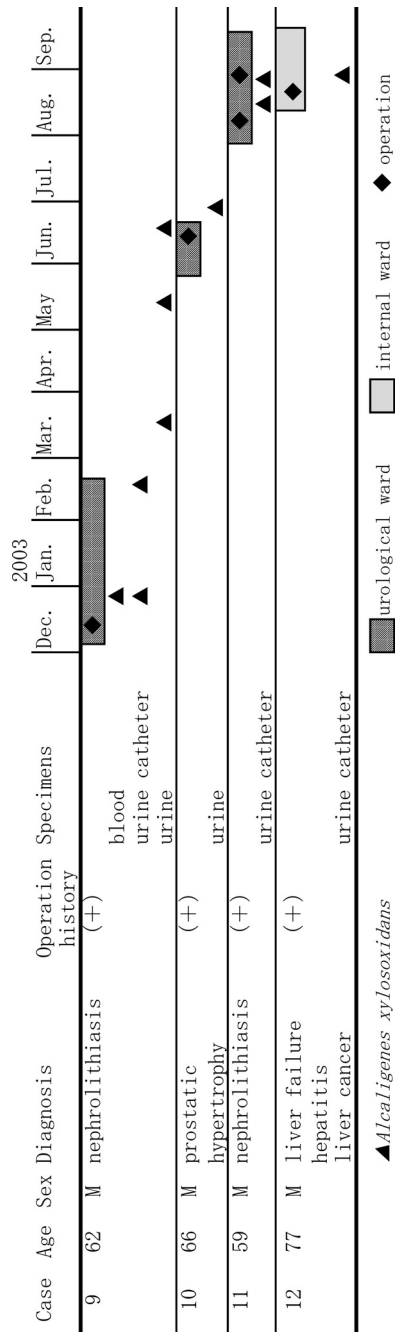


Fig. 4. Clinical course and isolation of MBL-producing *Alcaligenes xylosoxidans* at hospital C.



## (3) デバイス使用の有無の確認

B病院の5症例を除きA病院ではPTCDドレーン、C病院では尿道留置カテーテルが使用されていた。

## (4) 起炎菌の可能性の調査

症例1と9においては、MBL産生菌検出時に炎症反応があり感染所見が確認されたが、他の症例においては、起炎菌の可能性は明らかではなかった。

## 考 察

3病院においてMBL産生菌の分離状況は、それぞれ異なっており、院内に伝播した可能性のある菌種に違いが認められた。しかし、一方でMBL産生菌が検出された臨床的背景は類似しており、白血球、癌などの基礎疾患を有し、術後の免疫力の低下した患者、医療デバイスの使用、長期入院などの共通したリスクファクターが多く見られる傾向にあった。さらに、手術後は必然的に医療デバイスの使用が多くなるため、ドレーン、カテーテル交換時に手技を介しての伝播、拡散の危険性が高くなると考えられた。また、*A. baumannii*, *P. putida*, *A. xylosoxidans* におけるMBL産生菌は、圧倒的に尿検体や糞便検体からの分離が多いことが報告されている<sup>6)~8), 14)~16)</sup>。これらの耐性菌は、長期にわたり検出される傾向があり、院内感染対策を強化する必要がある。今回の調査でも、胆道ドレーンからの検出も含め、尿検体や糞便検体からの検出が多い傾向にあった。また、山田らは、MBL産生菌が検出された患者の背景因子に注目し、何が耐性菌検出の危険因子となるか解析を行った。それによると抗癌剤投与はMBL産生群に多く見られたが、基礎疾患、デバイス使用に有意差はなかったと報告しており<sup>17)</sup>、筆者らの結果と異なるところであった。一方、グラム陰性桿菌における耐性菌の定着、感染症のリスクファクターとして、重症患者の長期入院、尿道カテーテルや中心静脈ラインなどさまざまな医療デバイスの長期保有、抗菌薬の濫用などが報告されており<sup>18)</sup>、今回の調査と共通性があると考えられた。また、*P. putida* は重篤な血液疾患のため化学療法が施行されていた患者の検体を監視培養することによって分離された。この菌による感染症状は認められず、保菌状態であった。

易感染患者や抗菌薬投与を受けている患者では、菌交代により耐性菌が保菌状態にあることも多く、院内伝播するリスクがあり、監視培養の必要性が求められる。四方田らはMBL産生*P. putida*を環境由来株と患者由来株のPFGE型を比較して、同一な型を示す株があり、しかも長期にわたって院内に定着していた

と報告している<sup>8)</sup>。今回調査を行った各病院でも院内環境に長期に定着があった可能性を考慮する必要がある。筆者らの調査した期間には、MBL産生緑膿菌は分離されなかったが、Hirakataらは、1991年から1996年までにMBL産生菌80株を分離し、そのうち*P. aeruginosa*が53株、その他の非発酵菌が13株であり、*P. aeruginosa*の検体別内訳は尿路系40%、呼吸器系18.8%であったと報告している<sup>6)</sup>。また、MBL産生*A. xylosoxidans*の臨床報告例は少ない。最近、Shibataらの報告では、*P. putida*は検出率において、グラム陰性桿菌431株中53株が確認され、*P. aeruginosa*に次いで多く検出しており、今後臨床的に注目すべきであると考えられる<sup>4)</sup>。

非発酵菌は元来、土壌や水中などの自然環境に広く分布し、厳しい環境においても棲息し、従来弱毒菌とされているが、日和見感染症の起原因菌として注意が必要である。院内環境ではシンクなどの水周りや、医療器具から検出されることも多いため、感染防御能力の低下した患者を看護する集中治療室をはじめ、病棟においても、菌の検出状況を監視、警戒をする必要がある。非発酵菌の中で、各種検体から分離される頻度の高い菌種は*P. aeruginosa*であり、MBL産生菌、多剤耐性菌が院内感染の原因菌として報告例<sup>1), 5), 6), 11)</sup>も多く院内感染対策上重要視されている。しかし、緑膿菌以外の菌種で分離頻度が低い菌種においても、特に*A. xylosoxidans*と*P. putida*はMDRPと同様にカルバペネム、ニューキノロン、アミノグリコシドの3系統の抗菌薬に耐性を獲得した多剤耐性菌であることが明らかとなった。

今回は、少なくとも2例の症例でMBL産生菌による感染症が疑われたが、同じ菌種が保菌状態で長期にわたり定着することが確認された。日常検査において、薬剤感受性試験の判定には、常に耐性菌を念頭におき、IPM, CAZに耐性を示しMBL産生菌を疑う薬剤感受性パターンが認められた場合は、臨床微生物検査室で簡単に実施できるディスク法でスクリーニング検査を行うことが必要である。このような耐性菌を分離した場合には、速やかに感染対策責任者に報告すべきであると考えられる。

## 文 献

- 1) 岡崎充宏, 小野川傑, 荒木光二, 他. 1997. 本院における多剤耐性緑膿菌の分離状況と生物学的特徴. 感染症学雑誌 71: 1181-1185.
- 2) 荒川宜親. 2000. 遺伝子検査法の実践(耐性遺伝子の検出と型別) 3. 多剤耐性緑膿菌. 臨床病理

- 111: 100-108.
- 3) 柴田尚宏, 荒川宜親. 2000. 遺伝子検査法の実際 (耐性遺伝子の検出と型別) 4. メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼの検出法. 臨床病理 111: 109-116.
  - 4) Shibata, N., Y. Doi, K. Yamane, et al. 2003. PCR typing of genetic determinants for metallo- $\beta$ -lactamases and integrases carried by Gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the Class 3 integron. J. Clin. Microbiol. 41: 5407-5413.
  - 5) 相原雅典, 小松 方. 2000. 院内感染 (4) 緑膿菌. 臨床病理 48: 1051-1058.
  - 6) Hirakata, Y., K. Izumikawa, T. Yamaguchi, et al. 1998. Rapid Detection and Evaluation of clinical characteristics of emerging multiple-drug-resistant Gram-negative rods carrying the metallo- $\beta$ -lactamase gene *bla*<sub>IMP</sub>. Antimicrob. Agents Chemother. 42: 2006-2011.
  - 7) 杉野安輝, 飯沼由嗣, 奈田 俊, 他. 2001. カルバペネム耐性 *Pseudomonas aeruginosa* および *Acinetobacter* spp. における薬剤感受性とカルバペネム耐性機序の検討. 感染症学雑誌 75: 662-670.
  - 8) 四方田幸恵, 高橋綾子, 大久保豊司, 他. 2003. カルバペネム系薬耐性 *Pseudomonas putida* の分離状況とその遺伝子学的背景. 日本化学療法学会雑誌 51: 8-12.
  - 9) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 6<sup>th</sup> ed. Approved standard NCCLS publication no. M7-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards; Wayne, PA.
  - 10) Arakawa, Y., N. Shibata, K. Shibayama, et al. 2000. Convenient test for screening metallo- $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative bacteria by using thiol compounds. J. Clin. Microbiol. 38: 40-43.
  - 11) Senda, K., Y. Arakawa, K. Nakashima, et al. 1996. Multifocal outbreak of metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* resistant to broad-spectrum  $\beta$ -lactams, including carbapenems. Antimicrob. Agents Chemother. 40: 349-353.
  - 12) Jeon, B.-C., S. H. Jeong, I. K. Bae, et al. 2005. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23  $\beta$ -lactamase in Korea. J. Clin. Microbiol. 43: 2241-2245.
  - 13) 奈田 俊. 2006. 臨床微生物学 (感染症学) に関する基礎知識. 臨床検査 Yearbook 2006. 臨床病理 (特集第 134 号): 109-118.
  - 14) Borgmann, S., C. Wolz, S. Grobner, et al. 2004. Metallo- $\beta$ -lactamase expressing multi-resistant *Acinetobacter baumannii* transmitted in the operation area. J. Hospital Infection. 57: 308-315.
  - 15) Lee, K., J. B. Lim, J. H. Yum, et al., 2002. *bla*<sub>VIM-2</sub> Cassette-containing novel integrons in metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* isolates disseminated in a Korean hospital. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 1053-1058.
  - 16) 中野哲司, 平松和史, 平田範夫, 他. 2001. メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子 *bla*<sub>IMP</sub> 陽性グラム陰性桿菌検出症例の臨床的検討. 感染症学雑誌 75: 946-954.
  - 17) 山田友紀, 横山茂樹, 諏訪部 章. 2006. 岩手医科大学附属病院におけるメタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ産生 *Acinetobacter baumannii* の検出要因に関する検討. 臨床病理 54: 785-791.
  - 18) Paterson, D. L., R. A. Bonomo. 2005. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: A clinical update. Clin. Microbiol. Reviews 18: 657-686.



## Study on IMP-type Metallo- $\beta$ -lactamase-producing Glucose-non-fermentative Gram-negative Bacteria Isolated from Three Hospitals in Aichi Prefecture

Atsuko Matsunami<sup>1)</sup>, Toshi Nada<sup>2)</sup>, Hiroko Tsuchiya<sup>3)</sup>, Ryoichi Takeda<sup>1)</sup>,  
Nobuko Sato<sup>3)</sup>, Hisashi Baba<sup>2), 4)</sup>, Naohiro Shibata<sup>5)</sup>, Yoshichika Arakawa<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Clinical Laboratory, Nishio Municipal Hospital

<sup>2)</sup> Department of Clinical Laboratory, Nagoya University Hospital

<sup>3)</sup> Department of Clinical Laboratory, Ichinomiya Municipal Hospital

<sup>4)</sup> Department of Infectious Diseases, Nagoya University Hospital

<sup>5)</sup> Department of Bacterial Pathogenic and Infection Control, National  
Institute of Infection Diseases

We isolated three species of IMP-1 metallo- $\beta$ -lactamase (MBL)-producing glucose-nonfermentative gram-negative bacteria at three hospitals (*Acinetobacter baumannii* from 3 patients in a surgical ward at Hospital A, *Pseudomonas putida* from 5 in a hematological ward at Hospital B, and *Alcaligenes xylosoxidans* from 4 in a urological ward at Hospital C, respectively) in Aichi Prefecture from May 2002 to September 2003. Drug susceptibilities were tested, and MBL productivity using a disk diffusion test, IMP-1 gene detection by PCR, and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) were performed. All 24 strains, in total, produced IMP-1 type MBL, and showed multi-drug resistance. All strains from each patient showed the same pattern in PFGE. In addition, all strains belonging to each single species, with the exception of *A. baumannii* from one of the three patients, also showed the same pattern in PFGE. Most of the patients had some of the common risk factors including underlying diseases, operations, medical devices and long periods of hospitalization. The frequencies for isolating these glucose-nonfermentative gram-negative bacteria are relatively low for the moment. However, due precautions should be taken, since they might colonize in a ward over a long period.