

[症例報告]

海外渡航歴のない入院患者より FRI 型カルバペネマーゼの新規バリエーション *bla*_{FRI-7} を保有する *Enterobacter cloacae* complex を検出した一症例

上地あゆみ¹⁾²⁾・大城春奈¹⁾・下地法明¹⁾・玉城 格¹⁾・原國政直³⁾
宮城哲哉⁴⁾・高良武俊⁵⁾・木村太一⁶⁾・松井真理⁷⁾・鈴木里和⁷⁾
菅井基行⁷⁾・関塚剛史⁸⁾・黒田 誠⁸⁾・栗国徳幸¹⁾・手登根稔¹⁾

¹⁾ 浦添総合病院臨床検査部

²⁾ 琉球大学病院検査・輸血部

³⁾ 浦添総合病院感染防止対策室

⁴⁾ 浦添総合病院脳神経内科

⁵⁾ 沖縄県衛生環境研究所

⁶⁾ 沖縄県南部保健所

⁷⁾ 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター

⁸⁾ 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター

(令和2年6月18日受付, 令和2年8月3日受理)

症例は80歳代, 女性。副腎皮質機能低下症のためヒドロコルチゾンを内服している患者であり, 近医において外来通院中, 尿路感染症による発熱が疑われ, 当院へ救急搬送された。抗菌薬治療および弛緩性膀胱への尿道留置カテーテル処置が行われた。排尿障害により尿道留置カテーテルの使用は継続され, 入院中に複数回, 発熱を認め各種培養検査が実施された。第46病日に提出された尿培養よりカルバペネム耐性 *Enterobacter cloacae* complex が検出された。modified carbapenem inactivation method (mCIM) 陽性結果に基づき, カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (CPE) として嚴重な感染対策が行われた。本症例より分離された *E. cloacae* complex の耐性遺伝子は, 主要なカルバペネマーゼ遺伝子型である IMP 型, NDM 型, KPC 型, OXA-48 型等に該当せず, 詳細なゲノム解析により新規バリエーション *bla*_{FRI-7} を保有する事が確認された。海外渡航歴のない患者からの分離であることより FRI 型カルバペネマーゼ産生菌の国内での潜在的な存在の可能性が示唆された。

Key words: FRI-7, Ambler Class A カルバペネマーゼ, Carbapenemase-producing *Enterobacteriales* (CPE), *Enterobacter cloacae* complex

序 文

カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (Carbapenemase-producing *Enterobacteriales*: CPE) の出現と, その世界的な拡がりは脅威である¹⁾。カルバペネマーゼは一般的に, ほぼ全てのβ-ラクタム系抗菌薬を不活性化することが可能であり²⁾, また, カルバペネマーゼ産生菌は, 非β-ラクタム系抗菌薬を耐性とするメカニズムを伴うことも多く²⁾³⁾, 多剤耐性となり治療薬が限定されるため感染を起こした際には治療困難になることが懸念される。これらのカルバペネマーゼ遺伝子の多くはプラスミド上に存在しており, 腸内細菌目細菌の異なる菌種間で移行し, 耐性の伝播が起こる³⁾。そのため, 医療機関における感染対策を行う上で CPE の迅速かつ正確な検出および同定は非常に重要である⁴⁾。

腸内細菌目細菌由来のカルバペネマーゼとして *Enterobacter cloacae* の染色体上にコードされた NMC-A が 1993 年に世界で初めて報告され⁵⁾, それ以降, 多種多様なカルバペネマーゼが世界中で報告されている⁶⁾。カルバペネマーゼは Ambler 分類にてクラス A, クラス D のセリン-β-ラクタマーゼおよび, クラス B のメタロ-β-ラクタマーゼに分類される⁷⁾。2018 年に日本国内で報告されているカルバペネマーゼは, その多くがクラス B の IMP 型 (85.5%) であり, 次いで同じくクラス B の NDM 型 (10.4%), クラス A の KPC 型 (3.4%) が報告されており⁸⁾, 国内における KPC 型以外のクラス A カルバペネマーゼの報告はその他の遺伝子型 (0.7%) に含まれており, 未だ報告数は少数であることが分かる。

今回, 我々は海外渡航歴のない入院患者より Ambler クラス A β-ラクタマーゼである FRI 型カルバペネマーゼの新規バリエーション *bla*_{FRI-7} を保有する *Enterobacter cloacae* complex を検出した症例を経験した。院内において CPE に対する迅速な感染対策を講じる上で, 細菌検査室における CPE 検出体制の構築が重要であると, 本症例を通し改めて認識し

著者連絡先: (〒903-0215) 沖縄県中頭郡西原町字上原 207 番地
国立大学法人琉球大学病院検査・輸血部
上地あゆみ
TEL: 098-895-3331 (内線 3332)
E-mail: au03193@med.u-ryukyuu.ac.jp

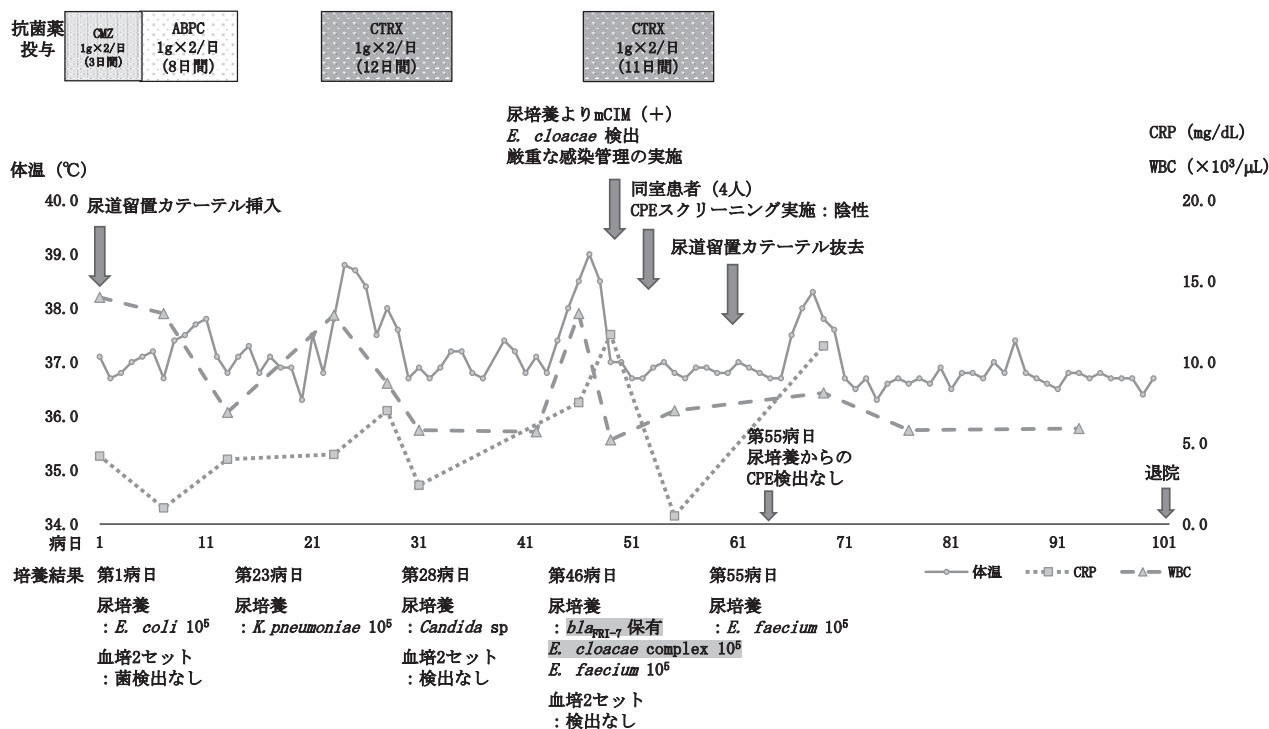


図1. *bla*_{FRL7} 保有 *E. cloacae* complex 検出後の臨床経過および感染対策

た。

症 例

・患者：80歳代，女性。
 ・既往歴：両側副腎腫瘍摘出（50歳代），レビー小体型認知症，骨粗鬆症
 ・海外渡航歴なし。
 ・現病歴および臨床経過：副腎皮質機能低下症のためヒドロコルチゾンの内服処方を受けている患者であり，入院半年前より発熱を繰り返していた。近医にて外来診療を受ける中，尿路感染症による発熱が疑われ，当院へ救急搬送された。入院後，各種培養検査を実施，抗菌薬治療および弛緩性膀胱への尿道留置カテーテル処置が行われた。解熱し，全身状態の改善を認めたが，改善は限定的で，その後も全身管理の継続と服薬調整が続けられた。排尿障害により尿道留置カテーテルの使用は継続され，入院中に複数回，発熱を認め各種培養検査が実施された（図1）。

第46病日に提出された尿培養検査よりカルバペネム系抗菌薬が耐性である *E. cloacae* complex が検出された。同時に採取された血液培養2セットからは，いずれも菌検出は認めなかった。すでに使用されていた ceftriaxone (CTRX) で改善を認めていたことより，主治医および Infection control team (ICT) による協議の結果，カルバペネム耐性 *E. cloacae* complex は保菌と判断され，同薬での治療が続けられた。また，排尿障害のため長期使用されていた尿道留置カテーテルは，耐性菌を保菌した原因と考えられたため患者の全身状態改善に伴い抜去され，病棟において適宜導尿の尿路管理が実施された。その後，入院後も服用されていたヒドロコルチゾ

ンの減量調整が行われ，病棟看護師による尿路管理の下，尿路感染を発症すること無く，軽快退院された（図1）。

微生物学的検査および同室者スクリーニング

尿培養検査はヒツジ血液寒天培地（日本ベクトン・ディッキンソン：日本BD），CLED寒天培地（日水製薬）を用い，好気条件下にて35℃，18時間培養を行った。本症例において計5回（入院時，第23病日，第28病日，第46病日，第55病日）の尿培養が実施され（図1），第46病日の尿検体のグラム染色（フェイバーG・日水製薬）において多形核白血球およびグラム陰性桿菌が観察された。同定検査はVITEK 2 compact GN 同定カード（ビオメリュー・ジャパン）を用い，*E. cloacae* complex と同定された。

血液培養検査はBACTEC FX（日本BD）にて23F好気用レズンボトルと22F嫌気用レズンボトルを用いて行った。入院時，第28病日，第46病日に各2セット採取し，培養を実施したが，全て陰性であった（図1）。

本症例と同室であった患者4人のCPE保菌スクリーニング検査は，クロモアガー mSuper CARBA（関東化学）を用い，便検体を好気条件下にて35℃，18時間培養を行ったが，全て陰性であった（図1）。

第46病日の尿検体より検出された *bla*_{FRL7} 保有 *E. cloacae* complex の薬剤感受性検査はドライプレート栄研（栄研化学）を使用し，微量液体希釈法にて最小発育阻止濃度（MIC）の測定を行い，Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) document M100-S22 に基づき判定を行った（表1）。カルバペネム系抗菌薬である imipenem (IPM) および meropenem (MEPM) のMIC値とともに4 μg/ml と耐性を示し

た。カルバペネマーゼ産生確認試験として modified carbapenem inactivation method (mCIM) を実施したところ陽性の結果が得られたが (阻止円直径: 6 mm), メルカプト酢酸ナトリウム (SMA) ディスク (栄研化学) を用いたメタロ-β-ラクタマーゼ阻害確認試験は陰性であった。以上より, Ambler クラス B 以外のカルバペネマーゼ産生が推測された。

遺伝子検査

本症例に関して, 院内感染対策を実施する上で精査が必要

表 1. bla_{FRI7} 保有 *E. cloacae* complex の薬剤感受性検査結果

薬剤	MIC (μg/mL)	判定
Piperacillin	>64	R
Piperacillin/Tazobactam	>64	R
Cefotaxime	32	R
Ceftazidime	32	R
Ceftriaxone	2	I
Cefepime	0.5	S
Aztreonam	>16	R
Imipenem	4	R
Meropenem	4	R
Gentamicin	1	S
Amikacin	1	S
Levofloxacin	<0.12	S
Ciprofloxacin	<0.06	S
Trimethoprim/sulfamethoxazole	<0.5/9.5	S

であると考え, 当院の ICT より沖縄県南部保健所へ相談と報告を行い, その後, 沖縄県衛生環境研究所において遺伝子検査が行われた。ESBL 遺伝子検査は TEM 型, SHV 型, CTX-M 型について行われたが検出されず, AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子検査において EBC 型が検出された⁹⁾。沖縄県衛生環境研究所にて追加で実施された CARBA NP test の結果も陽性であったが, 主要なカルバペネマーゼ遺伝子である IMP 型, NDM 型, KPC 型, OXA-48 型に加え, VIM 型, SMB 型, KHM 型, GES 型, IMI 型の遺伝子型が PCR 法にて検出されなかったことより, 稀なカルバペネマーゼ遺伝子の保有が疑われた。その後, 国立感染症研究所薬剤耐性研究センターおよび病原体ゲノム解析研究センターにおいて全ゲノム解析が行われた。菌株の DNA プラグを作成し, S1 nuclease 処理後パルスフィールド電気泳動によりプラスミド DNA と染色体 DNA を分離した。約 100 kbp のサイズのプラスミド DNA バンドを切り出し, DNA 抽出後, Miseq ベンチトップ型次世代シーケンサー (illumina) により配列解読を実施したところ, Class A β-ラクタマーゼ遺伝子である bla_{FRI4} と相同性の高い配列の耐性遺伝子が検出された。本症例で検出された bla_{FRI} 配列は bla_{FRI4} と 3 アミノ酸置換を伴う 9 塩基の違いがあり (図 2), 一致する配列はデータベース上に確認されなかったことから, 新規バリエーションであることが判明した。その後, 新規バリエーション bla_{FRI7} として GenBank へ登録された。(Accession No. NG_064722)。

また, より詳細なプラスミド配列確認のため, 全ゲノムを抽出し, 次世代シーケンサー Sequel (Pacific Biosciences)

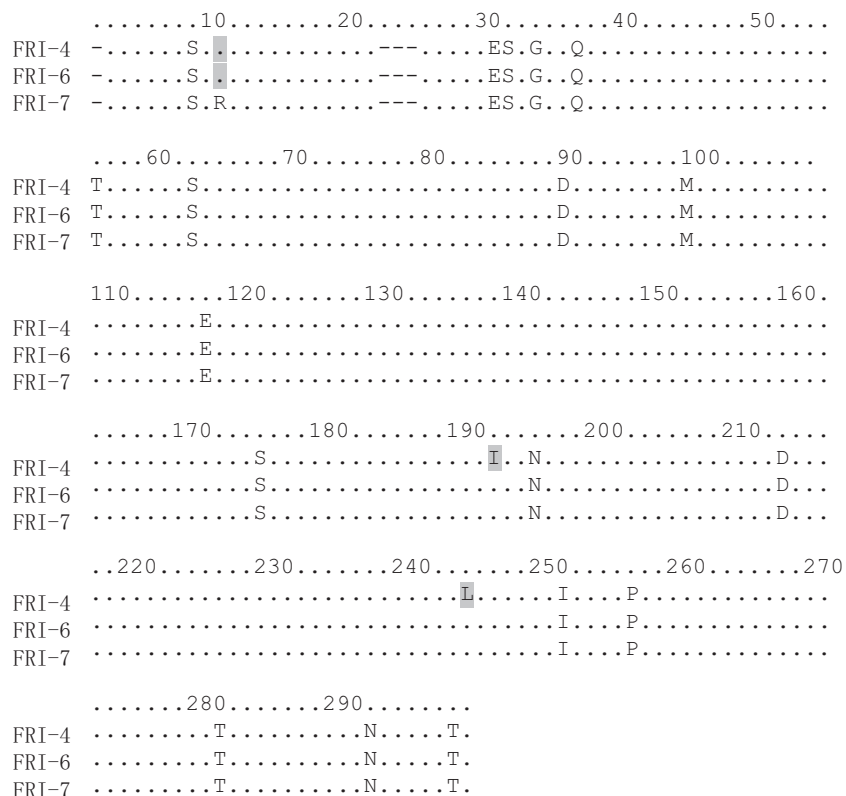


図 2. FRI-7 と FRI-4 および FRI-6 のアミノ酸配列の比較

表2. FRI 型バリエント検出状況

遺伝子型	報告年	検出国	検体種	検出菌	文献
<i>bla</i> _{FRI-1}	2015年	フランス	尿	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	11)
<i>bla</i> _{FRI-2}	2017年	イギリス	直腸スワブ	<i>Enterobacter asburiae</i>	12)
<i>bla</i> _{FRI-3}	2017年	ドイツ	直腸スワブ	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	13)
<i>bla</i> _{FRI-4}	2017年	日本	便	<i>Enterobacter asburiae</i>	14)
<i>bla</i> _{FRI-5}	2018年	日本	便	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	15)
<i>bla</i> _{FRI-6}	2018年	カナダ	直腸スワブ	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	16)
<i>bla</i> _{FRI-7}	2019年	日本	尿	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	本症例
<i>bla</i> _{FRI-8}	2019年	日本	河川	<i>Enterobacter</i> sp.	BLDB
<i>bla</i> _{FRI-9}	2019年	日本	尿	<i>Enterobacter asburiae</i>	BLDB

BLDB, Beta-Lactamase DataBase (<http://www.bldb.eu/>)

による配列解読を実施したところ, replicon type IncF II (pECLA) の 101,731 bp の完全配列長が得られた (pMRY18-106 EAS_1, Accession No.AP019534)。その結果, プラスミドに *bla*_{FRI-7} を含む領域が 2 か所存在していることが確認された。

考 察

Ambler クラス A β-ラクタマーゼにおける主要なカルバペネマーゼは, 染色体上にコードされている SME, NmcA, SFC-1, BIC-1, PenA, FPH-1, SHV-38, プラスミド上にコードされている KPC, GES, FRI, また染色体およびプラスミドいずれかにコードされている IMI が挙げられる¹⁰⁾。Ambler クラス A カルバペネマーゼの検出は世界中から報告されているが, 依然として KPC 以外の遺伝子型は稀であり, その報告数は日本国内においても少数である⁸⁾。

FRI (French imipenemase) 型 β-ラクタマーゼは, 2015 年にフランスで FRI-1 として初めて報告された Ambler クラス A カルバペネマーゼである¹¹⁾。FRI-1 の検出以降, 本症例の FRI-7 を含めて現在までに FRI 型カルバペネマーゼのバリエントは FRI-1 から FRI-9 の 9 種同定されており (Beta-Lactamase DataBase (BLDB), <http://bldb.eu/BLDB.php?prot=A#FRI>)¹⁷⁾, 全て *Enterobacter* 属の報告であった。初めて報告された FRI-1 はフランスで検出され¹¹⁾¹⁷⁾, 続いて報告された FRI-2 はイギリス¹²⁾¹⁷⁾, FRI-3 はドイツ¹³⁾¹⁷⁾, FRI-6 はカナダ¹⁶⁾¹⁷⁾, そして FRI-4¹⁴⁾¹⁷⁾, FRI-5¹⁵⁾¹⁷⁾, FRI-8¹⁷⁾, FRI-9¹⁷⁾ および本症例で検出された FRI-7 は日本において報告されており, FRI 型カルバペネマーゼが世界で散見されていることが分かる (表 2)。

FRI-1 ではプラスミドの replicon type が分類不可能であったが¹¹⁾, FRI-2 は IncF/IncR¹²⁾, FRI-3 は IncF II (pECLA)/IncFIA_H II¹³⁾, FRI-4 は IncF II (pECLA)/IncR¹⁴⁾, FRI-5 は 98% のヌクレオチド同一性を超える replicon type を検出せず, IncF II (Yp) とは 87.7% 一致する新規の replicon type であると考えられた¹⁵⁾。本症例の *bla*_{FRI-7} 検出プラスミド pMRY18-106EAS_1 の replicon type は IncF II (pECLA) であった。また, 他の *bla*_{FRI} バリエントと同様に, LysR 転写調節因子をコードする *friR* が *bla*_{FRI-7} に隣接している特徴が確認された^{11)~16)}。現在, 検出されている *bla*_{FRI-1} から *bla*_{FRI-9} のうち, *bla*_{FRI-7} と最も相同性が高いバリエントは 1 つのアミノ酸が置換している *bla*_{FRI-6} であった (図 2)。

FRI 型カルバペネマーゼは, ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), cefalotin (CET), aztreonam (AZT), IPM, MEPM を分解する特徴を有し, カルバペネムにおいて MEPM よりも IPM の分解効率が高いと報告されている^{11)~16)}。一方, cefotaxime (CTX), cefepime (CFPM) は分解されない^{11)~16)}。また, 多くのクラス A カルバペネマーゼと同様に⁷⁾, β-ラクタマーゼ阻害剤である tazobactam (TAZ), clavulanic acid (CVA), avibactam (AVI) で阻害されると報告されている^{11)~16)}。今回の症例で検出された *bla*_{FRI-7} を保有する *E. cloacae* complex は他の *bla*_{FRI} バリエントを保有する株と同様に AZT, IPM, MEPM に耐性を示し, CFPM は感性を示していた。CTX, ceftazidime (CAZ) が耐性, CTRX が中間であったが, 本菌は AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子である EBC を保有しており, AmpC β-ラクタマーゼの過剰産生により第 3 世代セファロスポリンが耐性または, 中間になった可能性がある。使用されていた CTRX の MIC は 2 μg/ml と感性ではなかったが, 投与開始後, 患者の状態は改善傾向にあったため, ICT および主治医との協議により *bla*_{FRI-7} 保有 *E. cloacae* complex は保菌と判断され, 抗菌薬の変更はせず継続して使用された。

FRI 型カルバペネマーゼはカルバペネマーゼ産生確認試験である modified Hodge test, CARBA NP test, mCIM において陽性となると報告されている^{11)~16)}。本症例は mCIM 陽性の結果に基づき, 詳細な遺伝子型の判明前に, カルバペネマーゼ産生 *E. cloacae* complex を疑い, CPE に対する院内感染対策を講じた。CPE の院内伝播防止のために個室隔離による嚴重な感染対策を行い, 同室患者の CPE 保菌スクリーニング検査を実施したが, *bla*_{FRI-7} 保有 *E. cloacae* complex の保菌は確認されなかった。本症例の *bla*_{FRI-7} 保有 *E. cloacae* complex の獲得経路としては, 患者は入院時に *bla*_{FRI-7} 保有 *E. cloacae* complex を保菌しておらず, 院内で何らかの経路により *bla*_{FRI-7} を獲得した医療関連感染の可能性と, 入院当初より患者の腸管に保菌していた *bla*_{FRI-7} 保有 *E. cloacae* complex が, 抗菌薬および長期の尿道留置カテーテル使用を契機として尿より検出された 2 つの可能性が推測された。しかし, 入院時に患者の便検体にて CPE 保菌スクリーニングを実施しておらず, 本症例の CPE 獲得経路および獲得時期は不明であった。その後, 第 55 病日の尿培養からは *bla*_{FRI-7} を保有する *E. cloacae* complex は検出されず, 尿道留置カテーテルを抜去し, 適宜導尿の尿路管理が行われることにより,

抗菌薬治療終了後も尿路感染を発症すること無く、軽快退院された。

今回、本症例に関する対応を通し、当院のCPEに関連する院内感染対策に関する不備な点が判明し、その改善と構築を行う契機となった。まず、bla_{FRI-7} 保有 *E. cloacae* complex の獲得の原因として医療関連感染の可能性が懸念されたことより、感染対策の基本である標準予防策の徹底、および手指衛生の遵守率を向上させることが重要であると考え、ICTが中心となり職員全体への周知・推進活動を行った。当時は直接観察法による手指衛生遵守率が30%台と低値であったが、その後、院内全体で手指衛生の重要性が認識され、現在では70%台へ改善されている。

また、当時はCPE関連院内感染対策マニュアルが整備されておらず、本症例の対応と並行して作成を進行していたため、対応として不足した点が見られた。その一つに、CPE検出患者のCPE陰性確認方法および、隔離解除の基準を定めていなかったことが挙げられる。本症例では、第55病日の尿培養からのbla_{FRI-7} 保有 *E. cloacae* complex 陰性確認と尿道留置カテーテル抜去および抗菌薬使用終了によりCPE感染に関するリスクが除外されたことを確認し、隔離解除を行った。本来であればCPE保菌スクリーニングの検体としてはCPEが腸管内細菌叢の中で長期間にわたり定着する特徴があることより、便・直腸スワブを検体とする方が望ましいと考えられる。しかし、本症例において便・直腸スワブによるCPE保菌および陰性化の確認は実施されなかった。尿培養でCPEは陰性化していたが、腸管にCPEを保菌していた可能性が否定出来ていない状況で隔離解除を行っていた事は、CPE関連院内感染対策として不足していたと考える。その後、CDCガイドライン「医療環境における多剤耐性菌の管理2006年」¹⁸⁾を参考に「CPEを検出した臨床検体および便・直腸スワブ検体ともに培養を実施し、3日以上あけて、3回CPEが検出されないことを確認後、個室隔離を解除する」と当院のCPE関連院内感染対策マニュアルを作成し、記載を行った。院内感染対策の基本である手指衛生遵守率向上へ向けての取り組みや、CPE関連のマニュアル整備を含め、当院における院内感染対策の再構築を行う契機となった非常に重要な事例であった。

院内においてCPEに関する適切な感染対策を講じるためには、細菌検査室において迅速かつ正確なCPE検出体制の構築および最新の知識を備えることが重要である。本症例以後、当細菌検査室においてEUCASTが定めるCPE検出スクリーニングのカットオフ値¹⁹⁾に合わせ、MEPMのMIC値測定可能最小濃度の引き下げ、またlatamoxefおよびfaropenemをCPEスクリーニング薬として導入し、CPE検出体制の整備を行った²⁰⁾²¹⁾。

しかし、CPEの同定および、遺伝子型の確定に必要である遺伝子検査の自施設への導入には未だ至っておらず、今後の課題である。遺伝子検査が導入されていない施設においては、院内感染対策上、耐性遺伝子の解析が望まれる場合、地方衛生環境研究所や大学病院などの専門機関において遺伝子検査を実施して頂く環境を整えておく必要がある。

一方で、本症例のように、稀なカルバペネマーゼが検出された場合、代表的なカルバペネマーゼ遺伝子型であるIMP

型、NDM型、KPC型、OXA-48型が検出可能である耐性遺伝子検出機器においては結果が陰性となるため、遺伝子検査結果の判断に注意しなければならない。FRI型の様に稀なカルバペネマーゼ遺伝子型の特異性は詳細なゲノム解析により同定が可能である。しかし、詳細な遺伝子型の判明までには時間を要するため、その結果を待たずに表現型によるカルバペネマーゼ産生確認試験結果に基づき、院内感染対策を講じることが必要である。

本症例で検出されたbla_{FRI-7}、およびbla_{FRI-4}、bla_{FRI-5}は、海外渡航歴のない患者から検出されており¹⁴⁾¹⁵⁾、FRI型カルバペネマーゼの国内での潜在的な存在の可能性が示唆される。また、2017年以降、日本において5つのbla_{FRI}バリエーションが同定されていることより、今後のFRI型カルバペネマーゼ産生菌の検出動向について注視が必要である。

本症例の様に稀なカルバペネマーゼ遺伝子型を保有するCPEを検出する可能性を念頭に置いて細菌検査を実施し、その結果を解釈する必要性を再認識した。

本論文の要旨については第31回日本臨床微生物学会総会・学術集会(2020年2月)において発表を行った。

謝辞:本研究は、厚生労働科学研究費補助金「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークを強化するための研究」(19HA1001)及び、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の課題番号JP19fk0108048の支援によって実施された。

利益相反:申告すべき利益相反なし。

文 献

- 1) Nordmann, P, T Naas, L Poirel. 2011. Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis* 17: 1791-1798.
- 2) Nordmann, P, L Poirel. 2013. Strategies for identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 68: 487-489.
- 3) van, DD, KS Kaye, EA Neuner, et al. 2013. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: a review of treatment and outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 75: 115-120.
- 4) Nordmann, P, M Gniadkowski, CG Giske, et al. 2012. Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect* 18: 432-438.
- 5) Naas, T, P Nordmann. 1994. Analysis of a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase from *Enterobacter cloacae* and of its LysR-type regulatory protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 7693-7697.
- 6) Potter, R.F., AW D'Souza, G Dantas. 2016. The rapid spread of carbapenem-resistant. *Drug Resist Updat* 29: 30-46.
- 7) Queenan, A.M., K Bush. 2007. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 20: 440-458.
- 8) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター, 国立感染症研究所感染症疫学センター, 全国地方衛生研究所. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌病原体サーベイランス, 2018年. 国立感染症研究所.
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/cre-m/cre-iasrd/9124-475d01.html> 2019年12月20日現在.

- 9) Perez-Perez, F.J., ND Hanson. 2002. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 40: 2153-2162.
- 10) Naas, T, L Dortet, BI Iorga. 2016. Structural and Functional Aspects of Class A Carbapenemases. *Curr Drug Targets* 17: 1006-1028.
- 11) Dortet, L, L Poirel, S Abbas, et al. 2015. Genetic and Biochemical Characterization of FRI-1, a Carbapenem-Hydrolyzing Class A β -Lactamase from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 59: 7420-7425.
- 12) Meunier, D, J Findlay, M Doumith, et al. 2017. FRI-2 carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* complex in the UK. *J Antimicrob Chemother* 72: 2478-2482.
- 13) Schauer, J, SG Gatermann, M Marschal, et al. 2019. Genetic and biochemical characterization of FRI-3, a novel variant of the Ambler class A carbapenemase FRI-1. *J Antimicrob Chemother* 74: 2891-2894.
- 14) Kubota, H, Y Uwamino, M Matsui, et al. 2018. FRI-4 carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* complex isolated in Tokyo, Japan. *J Antimicrob Chemother* 73: 2969-2972.
- 15) Uwamino, Y, H Kubota, T Sasaki, et al. 2019. Recovery of FRI-5 carbapenemase at a Japanese hospital where FRI-4 carbapenemase was discovered. *J Antimicrob Chemother* 74: 3390-3392.
- 16) Boyd, D.A., B Lefebvre, LF Mataseje, et al. 2020. *Enterobacter* sp. N18-03635 harbouring *bla*_{FRI-6} class A carbapenemase, Canada. *J Antimicrob Chemother* 75: 486-488.
- 17) Naas, T, S Oueslati, RA Bonnin, et al. 2017. Beta-lactamase database (BLDB) - structure and function. *J Enzyme Inhib Med Chem* 32: 917-919
<http://bldb.eu/BLDB.php?prot=A#FRI> 2019年12月20日現在.
- 18) Management of Multidrug-Resistant Organisms In Healthcare Settings, 2006.
<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/ar/mdroGuideline2006.pdf>.
- 19) EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, Version 2.0. July 2017.
- 20) Imai, W, M Sasaki, K Aoki, et al. 2017. Simple Screening for Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* by Moxalactam Susceptibility Testing. *J Clin Microbiol* 55: 2276-2279.
- 21) 中村竜也, 小林沙織, 大沼健一郎, 他. 2017. カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) のディスク拡散法を用いたスクリーニング検査に関する検討. *感染症誌* 91: 14-19.

First description of an *Enterobacter cloacae* complex clinical isolate carrying *bla*_{FRI-7}, a novel FRI carbapenemase variant

Ayumi Uechi^{1) 2)}, Haruna Ohshiro¹⁾, Noriaki Shimoji¹⁾, Itaru Tamaki¹⁾, Masanao Harakuni³⁾, Tetsuya Miyagi⁴⁾,
Taketoshi Takara⁵⁾, Taichi Kimura⁶⁾, Mari Matsui⁷⁾, Satowa Suzuki⁷⁾, Motoyuki Sugai⁷⁾,
Tsuyoshi Sekizuka⁸⁾, Makoto Kurota⁸⁾, Noriyuki Aguni¹⁾, Minoru Tedokon¹⁾

¹⁾Division of Clinical Laboratory, Urasoe General Hospital

²⁾Division of Clinical Laboratory and Blood Transfusion, University Hospital of the Ryukyus

³⁾Infection Prevention Section, Urasoe General Hospital

⁴⁾Department of Neurology, Urasoe General Hospital

⁵⁾Okinawa Prefectural Institute of Health and Environment

⁶⁾Okinawa Prefectural Nanbu Public Health Center

⁷⁾Antimicrobial Resistance Research Center, National Institute of Infectious Diseases

⁸⁾Pathogen Genomics Center, National Institute of Infectious Diseases

A carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* complex isolate was recovered from urine of an inpatient in Okinawa, Japan, with no travel history. The minimum inhibitory concentration for both imipenem and meropenem was 4 μ g/ml, whereas that for cefepime was 0.5 μ g/ml. Carbapenemase production was confirmed by the modified carbapenem inactivation method and the Carba NP test. However, PCR amplification for the major carbapenemase genes, such as *bla*_{KPC}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, and *bla*_{OXA-48-like}, was negative. Whole-genome sequencing, using the Illumina MiSeq platform, detected a novel FRI carbapenemase gene variant, *bla*_{FRI-7} (Accession No. NG_064722), with three amino acid substitutions as compared to FRI-4. FRI-7 was encoded by a plasmid, whose sequence was determined using the PacBio Sequel System long-read sequencing instrument. The plasmid contained two *bla*_{FRI-7} containing regions, and had a total nucleotide length of 101,731 bp (pMRY18-106EAS_1). This report highlights the need to monitor the less common type of carbapenemase, FRI, in addition to the four major carbapenemases.