

## [症例報告]

### *bla*<sub>GES-5</sub> 保有 *Serratia marcescens* が検出された 1 症例

福田千恵美<sup>1)</sup>・松田明日香<sup>2)</sup>・松井真理<sup>3)</sup>・鈴木里和<sup>3)</sup>  
関塚剛史<sup>4)</sup>・黒田 誠<sup>4)</sup>・菅井基行<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 香川県環境保健研究センター微生物担当

<sup>2)</sup> 高松赤十字病院検査部

<sup>3)</sup> 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター

<sup>4)</sup> 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 7 月 13 日受付, 令和 2 年 9 月 9 日受理)

多剤耐性菌の増加と蔓延が世界的に問題となっている。今回、カルバペネム系薬剤に耐性を示す *Serratia marcescens* が分離され、当センターでの遺伝子解析によりカルバペネマーゼ遺伝子 *bla*<sub>GES-5</sub> を検出した。

薬剤感受性は、imipenem 中等度耐性、meropenem 耐性であったが、第三、四世代セファロsporin系薬剤には感性を示した。Carba NP test および mCIM は陰性で、β-ラクタマーゼ阻害剤を用いたディスク法は、3-aminophenylboronic acid 添加による meropenem, cefmetazole 阻止円直径の拡張がみられたが、cloxacillin 添加では meropenem, cefmetazole いずれも阻止円拡張は見られなかった。表現型に基づく検査では、GES 型カルバペネマーゼの判定が困難であり、その検出には遺伝子解析が有用であった。

**Key words:** カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE), GES-5, Carba NP test, Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM)

## 序 文

多剤耐性菌の増加と蔓延が世界的に問題となり、国において平成 28 年 4 月 5 日「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン」が策定された。その中では、感染症発生動向調査 (National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases: NESID) の強化の取組が示されている。それを受け、平成 29 年 3 月 28 日付の厚生労働省健康局結核感染症課長通知「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症等に係る試験検査の実施について」により、地方衛生研究所での薬剤耐性菌病原体サーベイランスが開始された。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: CRE) では、カルバペネマーゼ産生菌 (carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: CPE) が院内感染対策上重要である。CPE は国内で分離頻度が高いカルバペネマーゼである IMP 型産生菌のほか、海外で流行し、国内での蔓延が警戒されている NDM 型, KPC 型, OXA-48 型産生菌がある。その他、分離数は少ないものの、GES 型, IMI 型, SMB 型, SME 型など多くのカルバペネマーゼの型が報告されており<sup>1)</sup>、表現型だけでは判断が困難な場合がある。

県内の医療機関で meropenem 耐性 *Serratia marcescens*

が分離された。保菌と判断され CRE 感染症の届出対象ではなかったが、meropenem 耐性 *S. marcescens* の分離は当該医療機関で経験がなく、CPE の可能性も考慮し当センターに薬剤耐性遺伝子等の精査の依頼があった。分離株は、第三世代セファロsporin系薬剤に感性、カルバペネム系薬剤に耐性を示し、表現型試験では CPE と明確に判定できる結果は得られなかったが、遺伝子検査の結果、カルバペネマーゼ遺伝子 *bla*<sub>GES-5</sub> の保有が確認されたので報告する。

## 症 例

### 1. 患者: 65 歳 男性

臨床経過: 膀胱全摘術を受け代用膀胱を造設した患者で、術後 5 日目に感染有無の確認のために提出されたカテーテル尿培養より meropenem に耐性を示す *S. marcescens* が検出された。術後 12 日目に再度提出されたカテーテル尿培養からも同様の感受性を示す *S. marcescens* が検出された。グラム染色所見、臨床症状および血液検査所見からは感染徴候は示唆されず、持続膀胱洗浄のみで経過観察となった。以後著変なく、術後 34 日目に軽快、退院となった。患者の渡航歴は東南アジアへ複数回、香港に 1 年ほどの滞在歴があったが、直近 90 日以内の渡航はなかった。

### 2. 分離培養同定および薬剤感受性検査

カテーテル尿からの分離培養にはヒツジ血液寒天培地 (日水製薬)、ドリガルスキー寒天培地 (日水製薬) を用い、35.0℃ 18 時間好気培養した。

同定感受性検査は MicroScan Walk Away 96 Plus (BECKMAN COULTER) により Neg EN Combo 1J パネルを用いて実施した。菌名は *S. marcescens* と同定され、imipenem

著者連絡先: (〒760-0065) 香川県高松市朝日町 5-3-105  
香川県環境保健研究センター微生物担当  
福田千恵美  
TEL: 087-825-0412(内線: 310)  
FAX: 087-825-0416  
E-mail: cx3141@pref.kagawa.lg.jp

表. 術後5日目に患者から分離された *S. marcescens* の薬剤感受性結果

| 抗菌薬                     | MicroScan Neg EN<br>Combo 1J |    | Etest                       |    |
|-------------------------|------------------------------|----|-----------------------------|----|
|                         | MIC<br>( $\mu\text{g/mL}$ )  | 判定 | MIC<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | 判定 |
| ampicillin              | >16                          | R  |                             |    |
| piperacillin            | $\leq 8$                     | S  |                             |    |
| cefazolin               | >16                          | R  |                             |    |
| ceftriaxone             | $\leq 1$                     | S  |                             |    |
| ceftazidime             | $\leq 4$                     | S  |                             |    |
| cefotaxime              | $\leq 1$                     | S  |                             |    |
| cefepime                | $\leq 2$                     | S  |                             |    |
| ceftazidime             | >32                          | R  |                             |    |
| flomoxef                | >32                          | R  |                             |    |
| imipenem                | 2                            | I  | 4                           | R  |
| meropenem               | >2                           | R  | 32                          | R  |
| aztreonam               | $\leq 4$                     | S  |                             |    |
| ampicillin/sulbactam    | >16                          | R  |                             |    |
| cefoperazone/sulbactam  | 32                           | I  |                             |    |
| piperacillin/tazobactam | $\leq 16$                    | S  |                             |    |
| gentamicin              | $\leq 2$                     | S  |                             |    |
| amikacin                | $\leq 4$                     | S  |                             |    |
| minocyclin              | 8                            | I  |                             |    |
| levofloxacin            | >4                           | R  |                             |    |

に中等度耐性, meropenem, cefmetazole に耐性を示し CRE と判定されたが, ceftazidime, cefotaxime には感性を示した。また, 自動検査機器で使用したパネルではカルバペネム系薬剤の MIC  $2 \mu\text{g/mL}$  を超える値は測定できないため, Etest (ビオメリュー) により imipenem 及び meropenem の MIC 値を再測定した。薬剤感受性結果の判定は CLSI M100-S22 に準じた。術後5日目に検出された菌株の薬剤感受性検査結果を表に示す。

なお, 菌同定薬剤感受性検査の精度管理には *Escherichia coli* ATCC 25922 を使用し, 精度管理範囲内であることを確認した。

### 3. カルバペネム耐性機序の解析

#### (1) 表現型検査に基づく $\beta$ -ラクタマーゼ産生性の確認<sup>2)</sup>

meropenem, ceftazidime とメタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ SMA '栄研' (栄研化学) による阻害試験では阻害は認めず, メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ産生は否定的であった。3-aminophenylboronic acid (APB) 添加 ( $500 \mu\text{g}$ /ディスク) (東京化成工業を用い自家調整) により, cefmetazole 阻止円直径は  $6 \text{ mm}$  から  $12 \text{ mm}$  に, meropenem 阻止円直径は  $8 \text{ mm}$  から  $16 \text{ mm}$  に, それぞれ拡張が見られた。また, cloxacillin 添加 ( $200 \mu\text{g}$ /ディスク)<sup>3)</sup> (東京化成工業を用い自家調整) では, cefmetazole, meropenem とともに拡張は見られず, 阻止円直径は cloxacillin 添加の有無にかかわらずともに cefmetazole  $6 \text{ mm}$ , meropenem  $8 \text{ mm}$  であった。また, Carba NP test (イミペネム一水和物: 富士フィルム和光純薬を用い自家調整) は陰性, mCIM は阻止円直径が  $20 \text{ mm}$  で陰性であった。なお, mCIM は CLSI M100-S27 記載の方法に準じて実施した。

#### (2) PCR 法による $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子検出

IMP 型, VIM 型, NDM 型, KPC 型, GES 型, OXA-48 型のカルバペネム- $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子<sup>2)</sup>に加え, クラス A  $\beta$ -ラクタマーゼ (TEM 型, SHV 型<sup>4)</sup>, CTX-M-1 group, CTX-M-2 group, CTX-M-9 group<sup>5)</sup>, プラスミド性 AmpC  $\beta$ -ラクタマーゼ (MOX 型, CIT 型, DHA 型, ACC 型, EBC 型, FOX 型)<sup>6)</sup> 遺伝子について PCR 法にて検索した。TaKaRa Ex Taq Hot Start Version (TaKaRa) を用い, TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice TP-650 (TaKaRa) にて増幅後, Agarose 1600 (富士フィルム和光純薬),  $1 \times \text{TAE Buffer}$  (インビトロジェン) を用い  $50 \text{ min}$  泳動後, EtBr 染色にて確認した。その結果, GES 型のみが検出された。

#### (3) シークエンス解析

菌株の DNA をアガロースゲルに包埋したプラグを作製し, S1 nuclease (TaKaRa) 処理後, パルスフィールドゲル電気泳動により染色体 DNA とプラスミド DNA を分離した。SYBR Gold Nucleotide Gel Stain (Invitrogen) で染色したゲルより, 染色体 DNA バンドと 2 つのプラスミド DNA バンドを切り出し, Wizard SV Gel and PCR clean-up System (Promega) を用いて DNA を抽出, Nextera XT DNA Sample Prep Kit (Illumina) のプロトコルに準じて DNA ライブラリを作成し, MiSeq ベンチトップ型次世代シークエンサー (Illumina) によりそれぞれ解読した。得られたシークエンスリード配列は, A5-Miseq<sup>7)</sup> による assembly を行い, 得られた連結配列に存在する薬剤耐性遺伝子及びプラスミドの replicon type の配列を, ResFinder 及び PlasmidFinder などのデータベース<sup>8)</sup> を参照し探索した。その結果, 一方のプラスミド DNA バンドには既知の薬剤耐性遺伝子は検出されなかったが, もう一方の総塩基長  $28,764 \text{ bp}$  のプラスミド

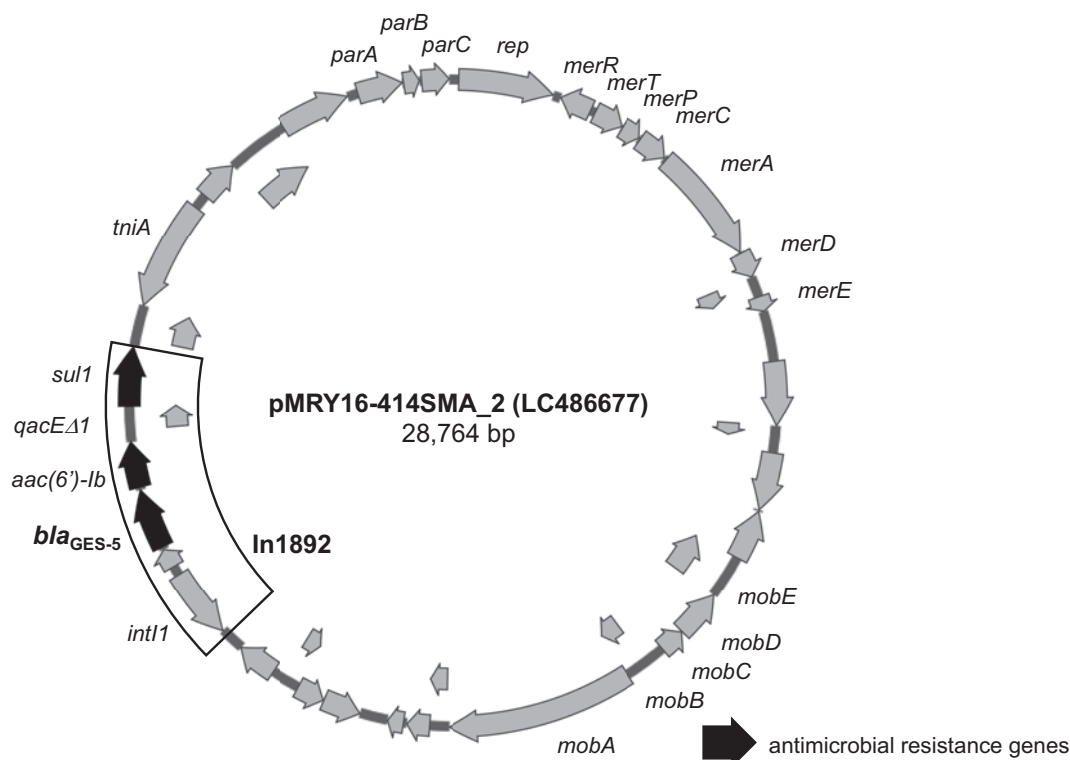


図. *bla*<sub>GES-5</sub> が検出されたプラスミド pMRY16-414SMA\_2

(pMRY16-414SMA\_2)に、*bla*<sub>GES-5</sub> 参照配列 (GenBank Accession No. NG\_049137) と 1 塩基のみ異なる配列が検出され、そのアミノ酸配列は GES-5 β-ラクタマーゼ配列と一致した。それ以外の獲得型 β-ラクタマーゼ遺伝子は、染色体 DNA、プラスミド DNA いずれにも検出されなかった。pMRY16-414SMA\_2 は replicon type IncP(6) のプラスミドであり、*bla*<sub>GES-5</sub> はクラス 1 インテグロンの *intI1* (5'-conserved segment; CS) と *qacEΔ1*, *sul1* の 3'-CS の間に、機能未知遺伝子、アミノグリコシド修飾酵素産生に関わる遺伝子 *aac* (6')-Ib と共に挿入されていた。クラス 1 インテグロンの遺伝子カセット配列は In1892 としてインテグロンデータベース<sup>9)</sup>に新規登録し、pMRY16-414SMA\_2 プラスミド全長の塩基配列は、GenBank Accession No. LC486677 に登録した (図)。

## 考 察

今回、第三世代セファロsporin系薬剤に感性、カルバペネム系薬剤に耐性を示し、表現型のみでは CPE の判断が困難であった *S. marcescens* よりカルバペネマーゼ遺伝子 *bla*<sub>GES-5</sub> が検出された。

GES 型 β-ラクタマーゼは Ambler の分類においてクラス A に属するセリン β-ラクタマーゼであり、43 種類の variant が報告されている<sup>10)</sup> (2020 年 7 月 7 日現在)。最初に報告された GES-1 は、*Klebsiella pneumoniae* で検出された基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (extended-spectrum β-lactamase: ESBL) であったが、170 番目のアミノ酸が Gly から Ser または Asn に変わった variant (GES-

2, -4, -5, -6, -14, -15, -16, -18, -20, -21, -24) は、カルバペネマーゼとされており<sup>11)</sup>、その判定は塩基配列を確認する必要がある。Gly170Ser に変異した GES-5 では GES-1 に比べ、カルバペネムおよびセファマイシン系薬剤の加水分解活性は増加するが、ceftazidime に対する活性は低下することが報告されている<sup>12)</sup>。本症例株はカルバペネム系薬剤、cefmetazole に耐性を示し、第三、四世代セファロsporin は感性であった。GES 型カルバペネマーゼ産生株は、NDM 型、KPC 型、IMP 型、OXA-48 型産生株に比べると報告数は世界的にも限られているが、ギリシャ、ブラジル、南アフリカ、韓国等、様々な地域で報告があり<sup>10)</sup>、国内では *K. pneumoniae* (GES-4)<sup>13)</sup>、*Pseudomonas aeruginosa* (GES-5)<sup>14)</sup>、*Enterobacter cloacae*, *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* (GES-24)<sup>15)</sup> が検出されている。

GES 型カルバペネマーゼは、カルバペネマーゼ活性が弱く<sup>16)</sup>、Carba NP test, mCIM では陽性率が低かった<sup>17)</sup>との報告がある。本菌においても Carba NP test, mCIM は陰性であり、これらの試験ではカルバペネマーゼ産生の判定は出来なかった。

GES 型を含むクラス A カルバペネマーゼ産生株のスクリーニング方法として、Pasteran らは、β-ラクタマーゼ阻害剤として 3-aminophenylboronic acid (Sigma Chemicals, St. Louis, MO) を使用した方法を提唱している<sup>18)</sup>。その方法は、imipenem の MIC 1 μg/mL 以上の腸内細菌科細菌をスクリーニング試験の対象とし、APB 添加 (300 μg/ディスク) により imipenem の阻止円直径が 4 mm 以上拡張する、あるいは APB 添加により imipenem の MIC 値が 3 管以上低下



する株は、クラス A カルバペネマーゼ産生株の可能性が高いというものであり、文献では KPC 型、GES 型、SME 型、IMI 型、NMC-A 型の各種クラス A カルバペネマーゼ産生株を用いて評価を行っている。ただし、imipenem の代わりに meropenem や ertapenem を用いた場合は、感度及び特異度ともにやや低下することが示されている。当センターで通常実施している APB 試験は、Pasteran らの最も推奨する方法とは使用薬剤と APB の添加量が異なるものの、APB 試験陽性の結果は、クラス A カルバペネマーゼ産生を疑う特徴であると考えられた。今回検出された株を用いて Pastran らの推奨する APB 試験 (300 µg/ディスク) を追加実施したところ、imipenem の阻止円直径は 16 mm から 17 mm の 1 mm のみの拡張であり陰性と判定されたが、meropenem の阻止円直径は 9 mm から 14 mm と 5 mm の拡張を認め、陽性と判定された。本菌株は imipenem に比べて meropenem の MIC が高い、すなわち meropenem の阻止円のほうが小さいため、APB の阻害効果が明瞭に確認できたと推察された。また、APB は、cloxacillin と同様 AmpC β-ラクタマーゼ阻害剤としても用いられる。今回検出された *S. marcescens* は染色体性 AmpC β-ラクタマーゼ産生菌種であることから<sup>19)</sup>、APB、cloxacillin 両方の阻害が予想されたが、APB 阻害試験のみ陽性であった。かつ、第 3 世代セファロsporin 系薬剤に対して感性であったことから、本菌株のカルバペネム系及びセファマイシン系薬剤耐性には AmpC β-ラクタマーゼよりも GES-5 カルバペネマーゼの寄与が大きいものと推察された。

プラスミド DNA 塩基配列解析の結果、*bla*<sub>GES-5</sub> は IncP(6) プラスミド上のクラス 1 インテグロンに存在した。IncP に分類されるプラスミドは宿主域が広く、*P. aeruginosa* や腸内細菌科細菌で報告がある<sup>20)</sup>。国内の *bla*<sub>GES-5</sub> は、大阪で薬剤耐性緑膿菌から検出され<sup>14)</sup>、その後、国内各地で分離された薬剤耐性緑膿菌でも報告があるが、染色体上に存在するクラス 1 インテグロンに検出されている<sup>21)</sup>。今回検出された株と、*P. aeruginosa* との関連性は現時点では不明である。

GES 型カルバペネマーゼは、表現型だけでは判別が困難であり遺伝子検査による同定が必要であった。CRE 病原体サーベイランス 2018 年データによると、GES 型カルバペネマーゼ遺伝子陽性株は全国で 2 株のみ報告され<sup>22)</sup>、同サーベイランスの四国 4 県の 2017 年～2019 年データでは、その検出報告はなかった<sup>23)</sup>。国内での GES 型カルバペネマーゼ遺伝子陽性株の検出は限られているようであるが、引き続きその動向に注視していきたい。

**謝辞：**本症例の報告にあたりご助言を賜りました高松赤十字病院腎臓外科部長山中正人先生に深謝いたします。

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) 松井真理, 鈴木里和, 柴山恵吾, 他. 2014. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査. 国立感染症研究所. IASR 35: 285-287.  
<http://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-sp/2302-related-articles/related-articles-418/5205-dj4183.html>
- 2) 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌 令和 2 年 6 月改訂版 Ver2.0. 国立感染症研究所.  
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/ResistantBacteria20200604.pdf>
- 3) Tan, T., Y.L. Ng, J. He, et al. 2009. Evaluation of Screening Methods to Detect Plasmid-Mediated AmpC in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis*. Antimicrob. Agents Chemother. 53 (1): 146-149.
- 4) Yagi, T., H. Kurokawa, N. Shibata, et al. 2000. A preliminary survey of extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. FEMS Microbiol. Lett. 184 (1): 53-56.
- 5) Shibata, N., H. Kurokawa, Y. Doi, et al. 2006. PCR classification of CTX-M-type β-lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan. Antimicrob. Agents Chemother. 50 (2): 791-795.
- 6) 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 (6): 2153-2162.
- 7) Coli, D., G. Jospin, A.E. Darling. 2015. A5-miseq: An updated pipeline to assemble microbial genomes from Illumina MiSeq data. Bioinformatics 31 (4): 587-589.
- 8) Center for Epidemiology.  
<https://cge.cbs.dtu.dk/services/> 2020 年 5 月 21 日現在
- 9) Moura, A., M. Soares, C. Pereira, et al. 2009. INTEGRALL: a database and search engine for integrons, integrases and gene cassettes. Bioinformatics 25: 1096-1098.
- 10) National Center for Biotechnology Information (NCBI), Reference Gene Catalog, Database version 2020-06-11.1.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/isolates#/refgene/GES> 2020 年 7 月 7 日現在
- 11) Bontron, S., L. Poirel, P. Nordmann, et al. 2015. *In Vitro* prediction of the evolution of GES-1 β-lactamase hydrolytic activity. Antimicrob. Agents Chemother. 59 (3): 1664-1670.
- 12) Kotsakis, S., V. Miriagou, E. Tzelepi, et al. 2010. Comparative biochemical and computational study of the role of naturally occurring mutations at Ambler positions 104 and 170 in GES β-lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 54 (11): 4864-4871.
- 13) Yamasaki, K., M. Komatsu, T. Ono, et al. 2017. Nosocomial spread of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing *bla*<sub>GES-4</sub> carbapenemase at a Japanese hospital. J. Infect. Chemother. 23 (1): 40-44.
- 14) 金山敦宏, 田渕文子, 山岸拓也, 他. 2014. 高槻市保健所管内 X 病院における多剤耐性緑膿菌分離症例の集積について. IASR 35: 227-228.  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/dr-b-m/dr-b-iasrd/4981-kj4154.html>

- 15) 仙波敬子, 園部祥代, 木村俊也, 他. 2016. 愛媛県の医療機関で分離された薬剤耐性菌株の遺伝子解析. 平成 28 年度愛媛衛環研年報 19 (2016).  
[https://www.pref.ehime.jp/h25115/book/documents/2016\\_01-01.pdf](https://www.pref.ehime.jp/h25115/book/documents/2016_01-01.pdf)
- 16) Stewart, N.K., C.A. Smith, H. Frase, et al. 2015. Kinetic and structural requirements for carbapenemase activity in GES-type  $\beta$ -lactamases. *Biochemistry* 54 (2): 588-597.
- 17) Kim, H.S., J.O. Kim, J.E. Lee, et al. 2019. Performance of a novel fluorogenic assay for detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from bacterial colonies and directly from positive blood cultures. *J Clin Microbiol.* 58 (1): e01026-19.
- 18) Pasteran, F., T. Mendez, L. Guerriero, et al. 2009. Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.* 47 (6): 1631-1639.
- 19) Mahlen, S.D., S.S. Morrow, B. Abdalhamid, et al. 2003. Analyses of ampC gene expression in *Serratia marcescens* reveal new regulatory properties. *J. Antimicrob. Chemother.* 51: 791-802.
- 20) Carattoli, A. 2009. Resistance plasmid families in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53 (6): 2227-2238.
- 21) Hishinuma, T., T. Tada, K. Kuwahara-Arai, et al. 2018. Spread of GES-5 carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Japan due to clonal expansion of ST235. *PLoS One.* 13 (11): e0207134.
- 22) 2018. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, CRE) 病原体サーベイランス. 病原微生物検出情報 40 (9): 157-158.
- 23) 四国 4 県薬剤耐性菌検出状況.  
[https://www.pref.kagawa.lg.jp/content/etc/subsite/e\\_center/upfiles/s8sy1w190305083117\\_f01.pdf](https://www.pref.kagawa.lg.jp/content/etc/subsite/e_center/upfiles/s8sy1w190305083117_f01.pdf) 2020 年 7 月 7 日 現在

### Detection of carbapenem-resistant *Serratia marcescens* harboring bla<sub>GES-5</sub>

Chiemi Fukuda<sup>1)</sup>, Asuka Matsuda<sup>2)</sup>, Mari Matsui<sup>3)</sup>, Satowa Suzuki<sup>3)</sup>, Tsuyoshi Sekizuka<sup>4)</sup>,  
Makoto Kuroda<sup>4)</sup>, Motoyuki Sugai<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Microbiology, Kagawa Prefectural Research Institute for Environmental Sciences and Public Health

<sup>2)</sup>Clinical Laboratory, Takamatsu Red Cross Hospital

<sup>3)</sup>Antimicrobial Resistance Research Center, National Institute of Infectious Diseases

<sup>4)</sup>Pathogen Genomics Center, National Institute of Infectious Diseases

The increase and spread of bacterial multidrug resistance have emerged as global concerns. Herein, carbapenem-resistant *Serratia marcescens* was isolated from a urine sample of a 65-year-old male inpatient in Kagawa, Japan. The isolate was resistant to carbapenems (minimum inhibitory concentration [MIC] of imipenem, 4  $\mu$ g/mL; meropenem, 32  $\mu$ g/mL) but susceptible to broad-spectrum cephalosporins (MICs of ceftriaxone,  $\leq 1$   $\mu$ g/mL; ceftazidime  $\leq 4$   $\mu$ g/mL). The Carba NP test and modified carbapenem inactivation method indicated negative results. The combined-disc test using meropenem with 3-aminophenylboronic acid and with cloxacillin revealed positive and negative results, respectively. PCR screening for major carbapenemase genes including bla<sub>IMP</sub>, bla<sub>NDM</sub>, bla<sub>KPC</sub>, and bla<sub>OXA-48-like</sub> yielded negative results; however, positive results were obtained for bla<sub>GES</sub>. Whole-genome sequencing revealed that bla<sub>GES-5</sub> is present in the class 1 integron (In1892) located on replicon type IncP(6) plasmid pMRY16-414SMA\_2, having a total nucleotide length of 28,764 bp (GenBank Accession No. AY494717). It was challenging to determine whether the isolate produce the GES-type carbapenemase through phenotypic tests alone, and the genotypic test helped confirm these findings. This study highlights the need to monitor the less common type of carbapenemase, GES, along with the major carbapenemases.