

【症例報告】

UOE-1 (CTX-M-15) type β -lactamase 産生 *Escherichia coli* による
敗血症患者の臨床経過と細菌学的検討大隈 雅紀¹⁾・村谷 哲郎²⁾・松本 哲朗²⁾・東 修一³⁾・後藤 令子⁴⁾・小林とも子⁴⁾¹⁾ 社会保険大牟田天領病院検査室*²⁾ 産業医科大学医学部泌尿器科³⁾ 社会保険大牟田天領病院内科⁴⁾ 株式会社キューリン

(平成16年1月19日受付・平成16年3月1日受理)

症例は89歳女性で40.7℃の高熱がみられ、同日の血液培養より *Escherichia coli* (*E. coli*) が分離された。その後、2月7日のカテーテル尿および2月8日の便からも同様の薬剤感受性を示す *E. coli* が分離された。治療抗菌薬は cefpirome + isepamicin の点滴静注を開始したが、薬剤感受性試験の結果より、基質特異性拡張型 β -lactamase 産生菌であると推定されたため、imipenem (IPM) + fosfomycin (FOM) の点滴静注に変更した。IPM は薬疹のため中止し、FOM 点滴静注単独としたが体温、炎症反応は速やかに改善した。 β -lactamase 遺伝子の塩基配列を決定したところ、UOE-1 type と同定された。血液培養、尿、便から検出された株の染色体 DNA の *Not I* 切断パターンをパルスフィールドゲル電気泳動により比較したところ、同一株であることが判明した。便由来の上行性尿路感染症からの urosepsis と考えられた。

Key words: UOE-1, extended-spectrum β -lactamases, sepsis, fosfomycin, ESBL-Screening test

Escherichia coli (*E. coli*) は、腸管内に多量に存在するため、宿主側の状況により、尿路感染症をはじめとする各種感染症を引き起こす。*E. coli* は、penicillin 薬に耐性を示す株は存在するが、第2世代以降の cephem 薬に耐性を示す株は少なく、特に cefpirome (CPR) などの第4世代 cephem 薬は、*E. coli* が産生する Class C β -lactamase にも安定であり、耐性株は稀であった。しかしながら、近年 *E. coli* において、第2世代以降の cephalosporin 薬にも耐性を示す基質特異性拡張型 β -lactamase (ESBL) 産生菌の分離に関する報告も散見されるようになった^{1,2)}。National Committee Clinical Laboratory Standard³⁾では、ESBL スクリーニング試験として、cefotaxime (CTX)、ceftazidime (CAZ)、aztreonam (AZT) または ceftriaxone の MIC が 2 μ g/mL 以上または cefpodoxime (CPDX) の MIC が 8 μ g/mL 以上を示す *E. coli* または *Klebsiella* sp. を陽性株とし、スクリーニング陽性の株に対して、CTX または CAZ と clavulanic acid (CVA) を併用した場合に8倍以上の MIC の低下が認められた場合を ESBL 産生株としている。いい換えれば、ESBL とは、第2世代以降の cephalosporin 薬および monobactam 薬をも分解する plasmid 性の Class A および Class D β -lactamase のことをいい、これらに該当する β -lactamase としては、TEM, SHV, OXA type の他に CTX-M

type などが存在する。特に国内では、CTX-M type の報告が多く、この type の β -lactamase は、第4世代 cephem 薬に高度耐性を示すのが特徴である。われわれはインフルエンザ A 型に罹患した入院患者の血液、尿および便から UOE-1 (CTX-M-15) type β -lactamase 産生 *E. coli* を分離した。この患者の臨床経過とその起炎菌について細菌学的検討を行ったので、報告する。

I. 症 例

1. 臨床経過

対象患者は89歳女性で、76歳時に胆石症手術、84歳時に多発性脳梗塞の既往がある。2001年1月に特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の診断にて他院にてステロイド治療をうけ、血小板 200,000/ μ L 前後まで改善した。その後転院し経過観察されていたが2003年1月より血小板 40,000/ μ L 前後まで再度減少したため1月25日、精査加療目的で社会保険大牟田天領病院へ紹介入院となった。前医にて methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) キャリアであるとの情報があり、入院時に細菌検査を実施した結果、咽頭粘液より MRSA (2+)、カテーテル尿より、MRSA ($>10^5$ cfu/mL)、*Enterococcus faecalis* (極少量) が分離された。尿中白血球数は、 >100 個/hpf であり、慢性複雑性膀胱炎と考えられた。入院時の検査所見は、血小板数減少 (57,000/ μ L)、PT 延長 (69.2%)、

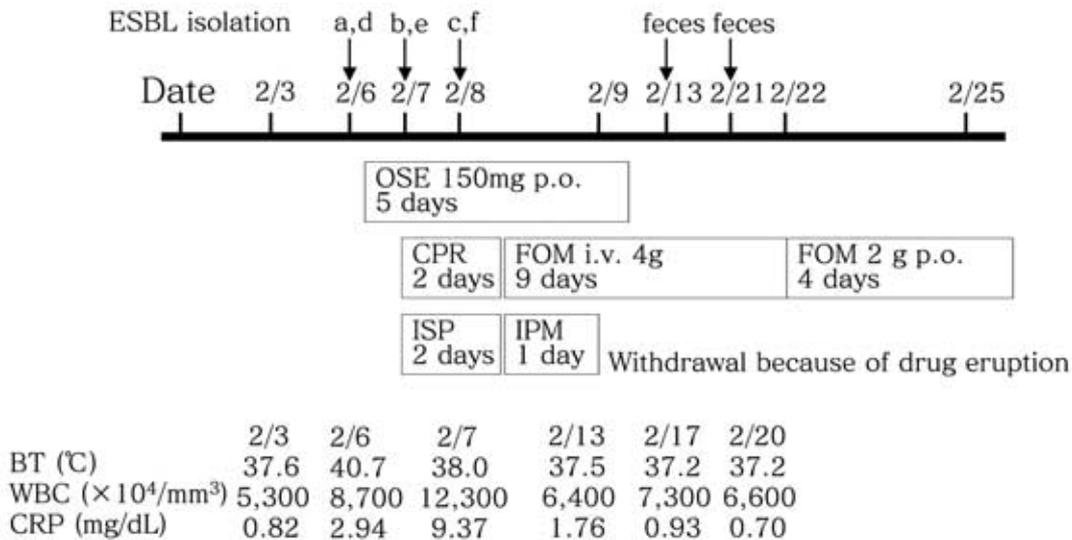


Fig. 1. Clinical course of the patient with urosepsis caused by UOE-1 producing *Escherichia coli*.
 a, Rec2291 from blood; b, Rec2292 from urine; c, Rec2293 from feces; d, Rec2367 from blood; e, Rec2368 from urine; f, Rec2369 from feces.
 Abbreviations: CPR (cefpirome), ISP (isepamicin), IPM (imipenem), FOM (fosfomycin), OSE (oseltamivir)

FDP 高値 (24.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) であり、播種性血管内凝固症候群 (DIC) と診断された。

発熱後の臨床経過、治療経過および細菌学的検索結果を Fig. 1 に示す。患者は多発性脳梗塞による見当意識障害および左半身麻痺を有しほぼ寝たきり状態であった。バルーンカテーテルが尿道に留置されており排泄はオムツを使用していた。入院後、血小板数は無治療にて増加傾向となり 2 月 6 日転院予定となった。2 月 6 日早朝より 40.7 の高熱がみられインフルエンザウイルス抗原検査と血液培養 (静脈血) を施行した。その結果、インフルエンザ A 型陽性であったためオセルタミビル 75 mg 1 日 2 回 5 日間の内服を開始した。翌日、血液培養陽性となり、グラム染色を実施したところ、グラム陰性桿菌を認めため、CPR 1 g 1 日 2 回 + isepamicin (ISP) 400 mg 1 日 1 回点滴静注を開始した。2 月 8 日、薬剤感受性試験の結果、cefoperazone/sulbactam (SBT/CPZ), cephamycin, imipenem (IPM) 以外の CPR を含む β -lactam 薬に耐性を示す *E. coli* であることが判明し、ESBL 産生菌が推定された。カテーテル尿および 2 月 8 日の便からも同様の感受性を示す *E. coli* が分離され、インフルエンザを契機として、発症した尿路敗血症であると推察された。CPR は耐性、ISP の薬剤感受性はルチンでは実施していないため不明であったので、感受性のある IPM 1 g 1 日 2 回 + fosfomycin (FOM) 2 g 1 日 2 回の点滴静注へ変更した。しかし翌日に四肢および背部に赤色皮疹が出現し IPM による薬疹と推定し、IPM を中止したところ、皮疹はほぼ消失した。FOM 点滴静注のみとしたが体温、炎症反応は速やかに改善した。CRP がほぼ陰性化した 2 月

21 日まで FOM の点滴静注を行い、2 月 22 日から 25 日は FOM 1g 1 日 2 回の経口投与とした。臨床症状の悪化を認めないため 2 月 27 日退院となった。ESBL 産生菌は 2 月 18 日のカテーテル尿からは、検出されなかったが、21 日の便からは分離された。

2. 細菌学的検討

血液培養、カテーテル尿、便からは、それぞれコロニー形態の異なる 2 種類の *E. coli* が 2 月 6 日血液由来 2 株 (Rec2291, Rec2367)、2 月 7 日尿由来 2 株 (Rec2292, Rec2368)、2 月 8 日便由来 2 株 (Rec2293, Rec2369) の計 6 株が分離された。各種薬剤に対する分離された 6 株の *E. coli* の MIC 値を Table 1 に示す。CAZ の MIC は、8~16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と他の cephalosporin 薬よりは低い MIC を示したが、CVA 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の添加により、32~64 倍 MIC が低下した。CPR は、256~1,024 倍、CPDX は、512 倍以上の低下を認めた。cephamycin 薬である CMZ と LMOX と carbapenem 薬である IPM および meropenem は感受性を示し、 β -lactamase 阻害薬との合剤である piperacillin/tazobactam は感受性であったが、ABPC/SBT および amoxicillin/CVA は 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と単剤よりも MIC は 32 倍以上低下していたが、耐性であった。経口抗菌薬では、faropenem, FOM, minocycline, tetracycline が感受性を示したが、キノロンおよび ST 合剤は、高度耐性を示した。Rec2293 株の CTM および CMZ の MIC は他の株よりも 4 倍高い値を示したが、その他は、ほぼ同じ値を示した。

3. β -lactamase の同定

各種 ESBL に対する Primer を用いた ESBL スクリー

Table 1. MICs of various antimicrobials for *E. coli* isolates from a patient with urosepsis

Antimicrobial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					
	Rec 2291	Rec 2292	Rec 2293	Rec 2367	Rec 2368	Rec 2369
Piperacillin	256	256	> 256	256	256	256
Piperacillin/tazobactam	8/2	8/2	4/1	8/2	8/2	8/2
Cefazolin	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256	> 256
Cefotiam	32	32	128	32	32	32
Cefotaxime	64	64	128	64	64	64
Ceftazidime	16	8	16	8	8	8
Ceftazidime + clavulanic acid*	0.25	0.25	0.25	0.25	0.125	0.125
Cefmetazole	1	1	4	1	1	1
Latamoxef	0.5	0.5	1	0.25	0.25	0.25
Cefpirome	16	16	64	16	32	32
Cefpirome + clavulanic acid*	0.063	0.063	0.063	0.063	0.063	0.063
Aztreonam	16	16	32	16	32	32
Imipenem	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125
Meropenem	0.016	0.016	0.031	0.016	0.016	0.016
Cefpodoxime	256	256	> 256	256	256	256
Cefpodoxime + clavulanic acid*	0.5	0.5	1	0.5	0.5	0.5
Faropenem	1	1	1	1	1	1
Ciprofloxacin	128	128	32	128	64	64
Levofloxacin	16	16	32	16	16	16
Minocycline	1	1	1	1	0.5	0.5
Gentamicin	1	1	0.5	1	1	1
Ampicillin	> 256	> 256				
Ampicillin/sulbactam	16	16				
Amoxicillin	> 256	> 256				
Amoxicillin/clavulanic acid* (2/1)	16	16				
Fosfomycin	1	1				
Trimethoprim/sulfamethoxazole	> 16/ > 304	> 16/ > 304				
Tetracycline	1	1				
Amikacin	8	8				
Isepamicin	2	2				

*: 4 $\mu\text{g/mL}$ of clavulanate added

Rec2291 and Rec2367 were isolated from blood on 6 January 2003

Rec2292 and Rec2368 were isolated from urine on 7 January 2003

Rec2293 and Rec2369 were isolated from feces on 8 January 2003

ニング試験の結果, CTX-M-3 type β -lactamase および TEM type β -lactamase の存在が確認された。PCR の電気泳動の結果を Fig. 2 に示す。Rec2291 と Rec2292 について, 両 β -lactamase の構造遺伝子の塩基配列を決定した結果, UOE-1 および TEM-1 と 100% 一致した。

4. DNA 切断パターンの比較

UOE-1 を保有する *E. coli* 6 株の DNA 切断パターンを Fig. 3 に示す。対象として他施設から分離された UOE-1 保有 *E. coli* である SEC164 (g) と Rec795 (h) を同時に泳動した。SEC164 (g) および Rec795 (h) は, いずれの株ともまったく異なったパターンを示したが, 尿由来の Rec2292 (b) を除く 5 株は完全に同一パターンを示し,

Rec2292 (b) も異なるバンドが 2 本認められるが, その他のバンドは一致しており, 由来は同一であると考えられた。Rec2293 は, cephem 薬の MIC が他の株より若干高い値を示したが, PFGE パターンは同一であった。

II. 考察

近年, 国内においても ESBL 産生株に関する報告が増加しており, 社会保険大牟田天領病院においても, 1999 年から分離されはじめ, 増加傾向にある。今回, われわれは血液, 尿, 便から UOE-1 type β -lactamase 産生 *E. coli* による敗血症患者を経験した。UOE-1 は, CTX-M-3 と 1 塩基異の違により, アミノ酸が 1 つ異なっているだけの違いである。UOE 1 type β -lactamase は Muratani らに

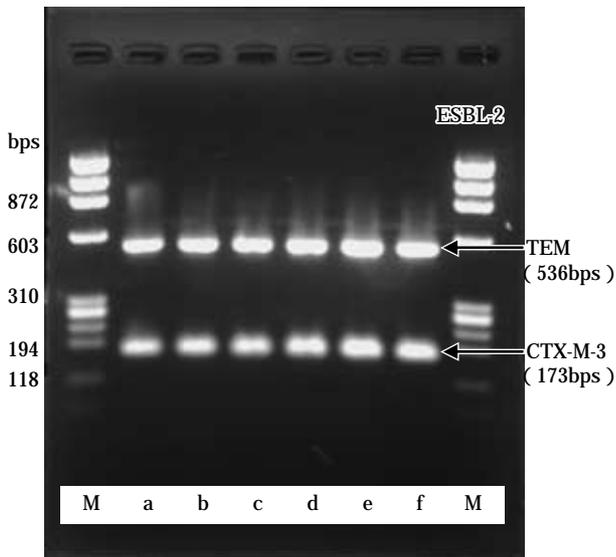


Fig. 2. PCR detection of the TEM type and CTX-M-3 type β -lactamase gene in 6 *E. coli* isolates.

a, Rec2291 from blood; b, Rec2292 from urine; c, Rec2293 from feces; d, Rec2367 from blood; e, Rec2368 from urine; f, Rec2369 from feces.

Used primer (CTX-M-1/3: gggAcgAtgTCACTggC, gCgg-TgTTTAACgTCggC, TEM: TAAgAgAATTATgCAGTgCT-gCC, ATATgAgTAAACTTggTCTgACAG)

Sequence analysis of the CTX-M-3 type β -lactamase and TEM type β -lactamase was revealed that the β -lactamases were UOE-1 and TEM-1 by ABI377 sequencer.

より, Gene Bank に登録³⁾され, Karim らにより CTX-M-15 として報告されている⁴⁾. 本邦での報告例は少ないが, 海外ではアウトブレイクが報告されている⁵⁻⁷⁾. TEM および SHV type の ESBL と CTX-M type の β -lactamase の薬剤感受性パターンを比較すると, CTX-M type に対しては, CAZ や AZT の MIC が低く, CTX や CPR の MIC が高い特徴があるが, 今回の株の CAZ の MIC は, 8 ~ 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と高い値を示した. CVA の併用により, 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ まで低下していることから, UOE-1 type β -lactamase により, CAZ が分解を受け 8 ~ 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ まで MIC が上昇したと考えられる. UOE-1 は, CTX-M-3 と比較すると CAZ に対する Km 値が小さく, より効率よく CAZ を分解することが報告されている⁸⁾. 今後, UOE-1 type のような基質特異性の広い ESBL 産生株が蔓延しないよう監視が必要である.

ESBL 産生菌による重症感染症患者に対する治療抗菌薬は, カルバペネム薬, β -lactamase 阻害薬との合剤である CPZ/SBT や TAZ/PIPC または, β -lactam 以外の薬剤が選択肢となる. 伊藤ら⁹⁾は TAZ/PIPC が有効であった尿路敗血症の症例を報告している. 本症例は, 血液培養ボトルの鏡頭の結果, グラム陰性桿菌であることが判明したため, 腸内細菌科の薬剤に優れた抗菌力を有する CPR と β -lactam 薬との相乗作用が期待できるアミノ配

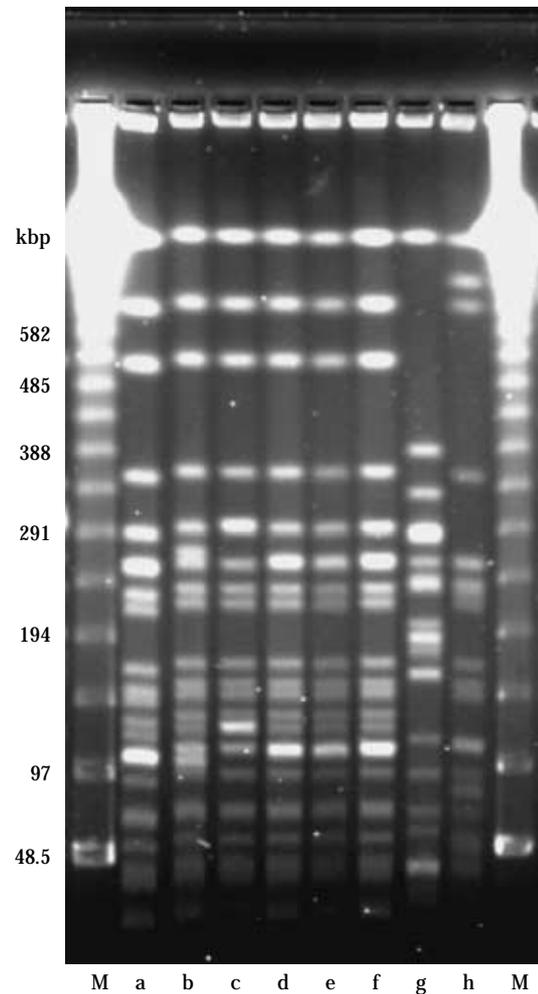


Fig. 3. *Not I* restriction patterns of chromosomal DNAs from UOE-1 producing *E. coli* isolates by pulse field gel electrophoresis.

M, λ DNA ladders; a, Rec2291 from blood; b, Rec2292 from urine; c, Rec2293 from feces; d, Rec2367 from blood; e, Rec2368 from urine; f, Rec2369 from feces; g, SEC164 from another patient; h, Rec795 from another patient.

This test was performed by the method of Smith¹⁰⁾

糖体薬の ISP を使用した. 薬剤感受性試験の結果 CPR 耐性であり, ESBL 産生菌と考え, IPM と, ルチン検査により, 感受性であった FOM を使用した. FOM は先行投与することにより, 他剤との相乗効果が期待できる薬剤であるため, IPM 投与 1 時間前に投与した. しかし IPM は薬疹のため中止し他剤との併用を考慮したが血小板減少をきたす薬剤は不相当と考え, 抗原性が低い FOM 単独投与としたが, 感受性があることがわかっていることと, 3 日目には臨床症状の改善傾向が認められたため継続投与した. ISP の感受性試験は, ルチン検査では実施していないために変更したが, 今回投与された薬剤の MIC は, ISP 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CPR 16 ~ 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, IPM 0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$, FOM 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, CPR 以外は感受性を示して

おり、敗血症判明時点より、有効な薬剤が投与されていたことになる。

パルスフィールドゲル電気泳動の結果、血液、カテーテル尿、便由来株は同一の ESBL 産生 *E. coli* であり感染経路は、発症時泥状多量の下痢便があり糞便由来の上行性 UTI からの urosepsis と考えられる。インフルエンザ A 型ウイルス抗原陽性で高熱がみられ、体内の水分が急激に減少し不感蒸泄が増加し脱水状態になったことが、敗血症を誘発した要因の一つに推定される。2 月 21 日の固形便からも ESBL 産生菌が分離されたことより本症例は自己の腸管内に保有していた ESBL 産生菌による内因性感染症と考えられた。

通常ルーチン検査で便から分離した *E. coli* の場合、病原性大腸菌を目的に血清学的型別試験を実施し、陰性の場合には薬剤感受性試験は実施しない。*K. pneumoniae* が便から分離された場合は、常在菌として扱っている。長期入院患者で抗菌薬が頻回に使用された患者では腸管内に ESBL 産生菌を保有している可能性が高いと考えられる。感染防御機構が低下した患者は、腸内細菌による内因性感染症を引き起こす可能性が高いので、感染症発症時に速やかに適切な抗菌薬が使用できるように、一定の基準を設けて、便の監視培養を行う必要があると考える。

文 献

- 1) Yagi T, Kurokawa H, Shibata N, et al: A preliminary survey of extended-spectrum β -lactamases(ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. FEMS Microbiol Lett 184: 53

~ 56, 2000

- 2) 小松 方, 相原雅典, 島川宏一, 他: 糞便中からの Extended-spectrum β -lactamases 産生性腸内細菌の検出. 感染症学雑誌 74: 250 ~ 258, 2000
- 3) Muratani T, Takahashi K, Matsumoto T: Gene Bank Accession No. AY013478, 2002
- 4) Karim A, Poirel L, Nagarajan S, et al: Plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence ISEcp 1. FEMS Microbiol Lett 201: 237 ~ 241, 2001
- 5) Baraniak A, Fiett J, Hryniewicz W, et al: Ceftazidime-hydrolysing CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) in Poland. J Antimicrob Chemother 50: 393 ~ 396, 2002
- 6) Lartigue M F, Poirel L, Heritier C, et al: First description of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in Turkey. J Antimicrob Chemother 52: 315 ~ 316, 2003
- 7) Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, et al: Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. Antimicrob Agents Chemother 47: 3724 ~ 3732, 2003
- 8) Poirel L, Gniadkowski M, Nordmann P: Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolysing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15 and of its structurally related beta-lactamase CTX-M-3. J Antimicrob Chemother 50: 1031 ~ 1034, 2002
- 9) 伊藤重彦, 中村司朗, 村谷哲郎, 他: Tazobactam/piperacillin が有効であった ESBL 産生大腸菌による急性腎盂腎炎の 1 症例. 日化療会誌 51: 347 ~ 351, 2003
- 10) Smith C L, Cantor C R: Purification, specific fragmentation and separation of large DNA molecules. Methods ENZYMOLOGY 155: 449 ~ 467, 1987

Clinical and bacteriological studies of a case of urosepsis caused by UOE-1 type extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*

Masanori Ohkuma¹⁾, Tetsuro Muratani²⁾, Tetsuro Matsumoto²⁾,
Shuichi Higashi³⁾, Reiko Gotoh⁴⁾ and Tomoko Kobayashi⁴⁾

¹⁾Department of laboratory, Social Insurance Ohmuta-Tenryo Hospital,
1 100 Tenryo-cho, Ohmuta, Fukuoka, Japan

²⁾Department of Urology, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health

³⁾Department of Internal Medicine, Social Insurance Ohmuta-Tenryo Hospital

⁴⁾Kyurin Corporation

A 89-year-old woman was found to have a high-grade fever. *Escherichia coli* were isolated in cultures of blood, urine, and feces. The result of antibiotic susceptibility against the isolates was predicted the presence of Extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing strain. We switched the antibiotics to imipenem (IPM) and fosfomycin (FOM). But, the patient developed a drug-induced exanthema as an adverse effect of IPM, however, and intravenous administration of FOM alone was continued for 2 weeks. FOM was effective, and the fever and abnormal laboratory findings improved immediately. The result of the sequence analysis of the ESBL revealed that the β -lactamase was UOE-1. The *Not I* restriction patterns of the chromosomal DNA of the pulse-field gel electrophoresis showed that the isolates from blood, urine, and feces were identical. We concluded that the urosepsis had developed as a result of urinary tract contamination by feces.