

原 著

三重県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症

永井佑樹, 小林章人, 赤地重宏

Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae Infectious Diseases in Mie Prefecture

Yuhki NAGAI, Akihito KOBAYASHI and Shigehiro AKACHI

2017年4月から2019年3月までに三重県内の医療機関で検出されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 53株について, 詳細な解析を実施した. 分離された CRE 53株のうちカルバペネマーゼ産生株 (CPE) は19株 (35.8%) 確認され, IMP型が18株, KPC型が1株であった. 検出されたカルバペネマーゼ遺伝子のバリエーション型は, IMP型の18株は全て *bla*_{IMP-6}, KPC型の1株は *bla*_{KPC-2} であることが確認された. また今回検出された *bla*_{IMP-6} を保有する株は全て IncN プラスミドを保持しており, 18株のうち15株は CTX-M-2 group の ESBL (Extended spectrum β -lactamase) を同時に保有していた. この *bla*_{IMP-6} 産生株はいわゆるステルス型と呼ばれるタイプでイミペネムに感受性を示すことがあり, 今回検出された *bla*_{IMP-6} 産生株も18株中16株がイミペネムに感受性であった. また今回海外型カルバペネマーゼである *bla*_{KPC-2} 産生株が1株確認され, MLST (Multi Locus Sequence Typing) 解析の結果は ST48 (CG43) であった. 以上の結果から三重県においても CPE が複数株検出され, 海外型を除けば全てが *bla*_{IMP-6} 産生株であることが明らかとなった. また海外型 CPE も1株確認されたことから, 海外から侵入してくる新型の CPE をできるだけ早期に探知し, 国内に定着させないことが非常に重要であると思われた.

キーワード: CRE, CPE, *bla*_{IMP-6}, *bla*_{KPC-2}, ステルス型

はじめに

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae: CRE) 感染症は, メロペネムなどのカルバペネム系抗菌薬および広域 β -ラクタム剤に対して耐性を示す腸内細菌科細菌による感染症である. カルバペネム系薬剤は, 腸内細菌における感染症において最も重要な治療薬の一つであり, 耐性菌の出現は医療上の大きな問題となる. 近年, 世界的にも CRE の増加が懸念されており, わが国でも海外からの輸入事例の早期探知, 国内での感染拡大防止を目的として, 平成26年9月から「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(感染症法) 上の5類全数把握対象疾患に指定されている.

また平成29年3月付け厚労省通知において¹⁾, CRE 感染症の届出がなされた場合は, 地域における薬剤耐性菌の蔓延などの流行状況を把握する為, 病原体

の収集および詳細な解析を行い, 検査結果については感染症サーベイランスシステムによって厚労省に報告するよう示された. これを受け当所では CRE の検査体制を整備し, 2017年4月から医療機関協力のもと患者から分離された CRE 菌株の検査を三重県感染症発生動向調査事業に基づき実施している. また CRE の中でもカルバペネマーゼを産生する腸内細菌科細菌 (Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae: CPE) は临床上, さらに院内感染対策上も重大な問題となるが, 三重県における CPE の分布状況や遺伝子型についてはこれまで明らかにされていない. そこで今回2017年4月から2019年3月までの間に当所に搬入された CRE の菌株について, 詳細な調査を実施したので, その結果について報告する.

方 法

1. 被検材料

2017年4月から2019年3月に医療機関でCRE感染症の患者から分離され、当所に搬入された53株（患者47名）を対象とした。

2. スクリーニング検査

β -ラクタマーゼの産生性確認試験として、通知¹⁾に示された β -ラクタマーゼ阻害剤であるメルカプト酢酸(SMA)および3-アミノフェニルボロン酸(APB)を用いたディスク法を実施した(Figure 1)。阻害剤の存在下で、阻止円径の拡張がみられたものを阻害あり(陽性)とし、SMAによりセフトアジジム(CAZ)またはカルバペネム系薬剤の阻止円が拡張した場合はカルバペネマーゼ産生、APBの添加によりカルバペネム系薬剤の阻止円径が拡張した場合は、AmpC β -ラクタマーゼ産生疑い株と判定した。

3. PCR法による β -ラクタマーゼ遺伝子の検出

カルバペネマーゼ遺伝子の検出は国立感染症研究所の薬剤耐性菌研修会資料²⁾および病原体検出マニュアル³⁾に従い実施した。対象の遺伝子は、IMP-1型、IMP-2型、VIM-2型、KPC型、NDM型、OXA-48型とした。またESBL(Extended spectrum β -lactamase)遺伝子はShibataら⁴⁾の方法に従いTEM, SHV, CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9およびCTX-M-8/25 groupの検出を行った。さらにPerezら⁵⁾の方法によりplasmid AmpCの遺伝子(MOX, CMY-2, DHA, ACC, EBC, FOX)についてもPCRを実施した。

4. β -ラクタマーゼ遺伝子のvariant型別

PCRによりカルバペネマーゼおよびESBL遺伝子が陽性となった検体については、ダイレクトシーケンシングにより塩基配列を決定しバリエーション型別を実施した。シーケンシングはBigDye Terminators v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)を使用し、3130または3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)により塩基配列を決定した。またカルバペネマーゼのIMP型については、一部の検体についてmultiplex PCRにより bla_{IMP-1} と bla_{IMP-6} の鑑別を実施した⁶⁾。

5. KPC産生株のMLST解析

KPC陽性の*Klebsiella pneumoniae*についてはMLST(Multi Locus Sequence Typing)解析を行った。MLST型別はInstitut Pasteur *K. pneumoniae* MLST Database (www.pasteur.fr/mlst)に基づいて実施した。

6. 薬剤感受性試験

供試菌株のうち β -ラクタマーゼ産生株の25株を対象に薬剤感受性試験を実施した。感受性試験はCLSIの抗菌薬ディスク感受性試験実施基準に基づき、市販の感受性試験用ディスク(センシディスク, BD)を用いて実施した。供試薬剤はクロラムフェニコール(CP), テトラサイクリン(TC), ストレプトマイシン(SM), カナマイシン(KM), スルファメトキサゾールトリメトプリム(ST), ナリジクス酸(NA), ノルフロキサシン(NFLX), ゲンタマイシン(GM), ホスホマイシン(FOM), シプロフロキサシン(CPFX), イミペネム(IPM), コリスチン(CL)の12薬剤とした。

7. 系統発生群(phylogenetic groups)解析

搬入された菌株のうち大腸菌についてはClermont⁷⁾らの方法により、系統発生群分類を実施し、4つのグループ(A群, B1群, B2群, D群)に分類した。

8. POT法による分子疫学解析

大腸菌の分子疫学解析としてPCR-based Open Reading Frame Typing (POT)法を実施した。解析はシカジーニアス分子疫学解析POTキット(大腸菌用)(関東化学)を用いて行った。2組のmultiplex PCRを実施した後、PCR産物を4% Nusieve 3:1 agarose (Lonza)を用いて電気泳動を行った。電気泳動像から、各POTナンバーのバンドの有無を確認し、各菌株のPOT型(POT 1-2-3)を決定した。また電気泳動には分子量マーカーとして50bp DNA ladder(日本ジェネティクス)を使用した。

Table 1. Distribution of species and β -lactamases isolates from CRE patients in Mie prefecture.

Species	CRE	CPE	AmpC	ESBL
<i>Klebsiella aerogenes</i>	19	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	12	1	7	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	8	0	9
<i>Escherichia coli</i>	7	6	0	5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	3	0	3
<i>Serratia marcescens</i>	2	0	0	0
<i>Morganella morganii</i>	1	1	1	1
total	53	19	8	18

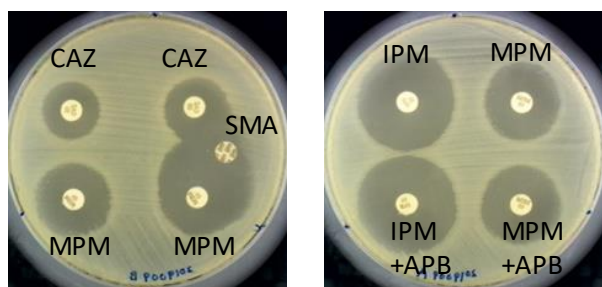


Figure 1. Phenotypic test for carbapenemase producing isolates.

IPM: Imipenem disc
 CAZ: Ceftazidime disc
 MPM: Meropenem disc
 APB: 3-Aminophenylboronic acid
 SMA: Sodium mercaptoacetic acid

9. ST131 およびサブクローン H30の検出

POT 法の POT ナンバー1 のスコアから ST131 クローンの判定を行った。また ST131 と同定された株については、Colpan⁸⁾らの方法に従い ST131 のサブクローンである H30 (allele 30 of *fimH*) を検出した。さらに H30 サブクローンのうちキノロン耐性株については H30R と定義した。

10. replicon typing

PCR で β -ラクタマーゼ遺伝子 (カルバペネマーゼ, ESBL, AmpC) が陽性となった検体については、既報に従い、プラスミドのレプリコンタイプを解析した^{9,10)}。

結 果

1. 試供菌株

搬入された 53 株 (47 名) の由来は、性別では男性が 32 名で、女性 (15 名) の約 2 倍であった。年齢は 36 歳から 102 歳 (平均 75.3 歳) で 80~89 歳が最も多く、60 歳以上の高齢者が 85% 以上 (40/47) を占めた。菌種は *Klebsiella aerogenes* が 19 株と最も多く、次いで *Enterobacter cloacae* が 12 株、*Klebsiella pneumoniae* が 9 株、*Escherichia coli* が 7 株、*Klebsiella oxytoca* が 3 株、*Serratia marcescens* が 2 株、*Morganella morganii* が 1 株であった。

2. CRE 感染症由来株の β -ラクタマーゼ遺伝子保有状況

県内の医療機関で分離された CRE 感染症由来株 53 株のうちカルバペネマーゼ遺伝子を保有していたのは 19 株、AmpC 遺伝子を保有していたのは 8 株 (重複 2 株含む) であった (Table 1)。その内訳として、カルバペネマーゼ遺伝子は IMP

型が 18 株、KPC 型が 1 株であった。AmpC 遺伝子では、EBC が 7 株、DHA が 1 株であり EBC 遺伝子陽性株は全て *Enterobacter cloacae* であった。また 53 株のうち 15 株は ESBL 遺伝子を保有しており (他遺伝子との重複を含む)、15 株が CTX-M-2 group, 2 株が CTX-M-9 group, 1 株が CTX-M-1 group を保有していた。なお 15 株のうち 3 株は CTX-M 型遺伝子を二つ保持していた。

3. β -ラクタマーゼ遺伝子の variant 型別

カルバペネマーゼ遺伝子 IMP 型の 18 株の塩基配列を解析した結果、18 株全て *bla*_{IMP-6} であった。また KPC 型の 1 株についても塩基配列解析の結果、*bla*_{KPC-2} であることが確認された。

ESBL についても塩基配列を決定した結果、CTX-M-2 group は *bla*_{CTX-M-2} が 12 株、*bla*_{CTX-M-44} が 3 株、CTX-M-9 group は *bla*_{CTX-M-27} が 2 株、CTX-M-1 group は *bla*_{CTX-M-15} が 1 株であった。

4. KPC 産生株の MLST 解析

KPC 産生株の MLST 解析を行った結果、ST48 (CG43) であることが確認された (Allele: *mdh* 2, *pgi* 2, *phoE* 7, *rpoB* 1, *gapA* 2, *infB* 5, *tonB* 10)。

5. 薬剤感受性試験

感受性試験の結果、各薬剤における耐性率は CP ; 3.8% (1/26), Tc ; 65.4% (17/26), SM ; 57.7% (15/26), KM ; 73.1% (19/26), GM ; 7.7% (2/26), ST ; 38.5% (10/26), FOM ; 69.2% (18/26), N/A ; 38.5% (10/26), NFLX ; 26.9% (7/26), CPFX ; 26.9% (7/26), CL ; 3.8% (1/26), IPM ; 7.7% (2/26) となった。各遺伝子型における平均耐性薬剤数は、*bla*_{IMP-6} 単独が平均 7 剤 (n=2), *bla*_{IMP-6+CTX-M} 型が 5 剤 (n=15), *bla*_{IMP-6+EBC} が 5 剤 (n=1), KPC 型が 10 剤 (n=1), SHV が 1 剤 (n=1), EBC が 0.7 剤 (n=6) であった。また *bla*_{IMP-6} 産生株の IPM に対する感受性は 18 株中 16 株が感受性であった。さらに今回、コリスチン耐性が 1 株 (No.2017133, Table 2) 確認された。

6. 系統発生群

解析した大腸菌 7 株のうち、B2 群が最も多く 5 株 (71.4%)、次いで A 群と D 群が 1 株ずつであった。

7. POT 法による分子疫学解析

POT 法を実施した大腸菌 7 株のうち、POT 型は全部で 6 種類確認された (同一 POT 型は検出されず、1 株は判定不能)。

Table 2. Characterization of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* isolated in Mie Prefecture

Strain No	Sex	Age	Area	Hospital	Isolates	Beta-lactamase	ST type	Replicon typing
2017094	M	81	Ise	G	<i>Escherichia coli</i>	IMP-6, CTX-M-44	ST131	FIA, FIB, N
2017133	F	59	Tsu	M	<i>Morganella morganii</i>	IMP-6, CTX-M-44, DHA		N
2017184	M	70	Ise	H	<i>Escherichia coli</i>	IMP-6, CTX-M-44	ST131	N
2017201	F	77	Yokkaichi	D	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-6, EBC		N
2017203	M	86	Matsusaka	I	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-6, CTX-M-2, SHV		N
2018001	F	68	Tsu	O	<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP-6		N
2018018	M	65	Tsu	M	<i>Escherichia coli</i>	IMP-6	ST131	FIB, N
2018029	F	88	Matsusaka	E	<i>Escherichia coli</i>	IMP-6, CTX-M-2, CTX-M-27	ST131	FIA, N
2018091	M	90	Matsusaka	E	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-6, CTX-M-2, SHV		N
2018092	M	57	Kuwana	B	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, CTX-M-15, TEM, SHV	ST48	ND
2018109	F	78	Ise	A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-6, CTX-M-2, SHV		N
2018120	M	85	Matsusaka	E	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-6, CTX-M-2, SHV		N
2018121	F	98	Matsusaka	E	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-6, CTX-M-2, TEM, SHV		N
2018149	F	91	Ise	A	<i>Escherichia coli</i>	IMP-6, CTX-M-2, CTX-M-27	ST131	FIA, FIB, N
2018150	M	65	Tsu	K	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-6, CTX-M-2		N
2018181	F	87	Matsusaka	J	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-6, CTX-M-2		N
2018194	M	78	Matsusaka	J	<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP-6, CTX-M-2		N
2018213	same as	as	Matsusaka	E	<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP-6, CTX-M-2, CTX-M-8		N
2018214	2018194		Matsusaka		<i>Escherichia coli</i>	IMP-6, CTX-M-2		B/O, FIB, N

8. ST131 およびサブクローン H30

今回 POT 型が得られた 6 株のうち 5 株が ST131 クローンと判定された。また今回検出された ST131 クローン 5 株は、すべて *bla*_{IMP-6} を保持しており、系統分類も全て B2 群であった。さらに ST131 のサブクローンを同定したところ、5 株全てが H30R であった。

9. replicon typing

耐性遺伝子を担うプラスミドのレプリコンタイプを解析したところ、解析した 26 株のうち 18 株が IncN プラスミド、7 株が IncF グループ (FIA, FIB) のプラスミド、1 株が IncK/B を保有していた。また今回 *bla*_{IMP-6} を保有する 18 株は全て IncN プラスミドを保持していた (Table 2)。

考 察

今回検査対象となった CRE 53 株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子が陽性となった検体 (CPE) は 19 株 (35.8%) であった。これは全国のデータ (28% ; 239/865) と比較するとやや高い傾向がみられた¹¹⁾。検出されたカルバペネマーゼは IMP 型が 18 株、KPC 型が 1 株確認され、バリエーション型別の結果、IMP 型は全て *bla*_{IMP-6}、KPC 型は *bla*_{KPC-2} であった。国内での CPE の分布を調査した報告では、東日本では *bla*_{IMP-1}、西日本では *bla*_{IMP-6} を保有する株が多く検出されており、地域差があることがわかっている。三重県に近い愛知県や岐阜県では、*bla*_{IMP-1} および *bla*_{IMP-6} の両方が検出され、そのうち *bla*_{IMP-1} が多く検出されている^{12,13)}。なぜ地域差があるのかは分かっていないが、東海地方を境に *bla*_{IMP-1} と *bla*_{IMP-6} の分布状況に変化が

みられ、三重県から以西は *bla*_{IMP-6} が優勢となる可能性が示唆された。

また今回検出された *bla*_{IMP-6} を保有する 18 株は全て IncN プラスミドを保持しており、さらに 18 株のうち 15 株は CTX-M-2 group (*bla*_{CTX-M-2} or *bla*_{CTX-M-44}) の ESBL を同時に保有していた。Kayama ら¹⁴⁾は、ステルス型のカルバペネム耐性 *K. pneumoniae* を全ゲノムシーケンスにより解析した結果、IncN プラスミド上に *bla*_{IMP-6} と *bla*_{CTX-M-2} の両方が保持されていることを確認しており、今回三重県で確認された *bla*_{IMP-6} 産生株もこれと同じタイプの株であると考えられた。このステルス型と呼ばれる *bla*_{IMP-6} 産生株は、イミペネムに対して感受性と判定されることがあり、感受性試験で使用する抗菌薬の種類によっては検出できない可能性が指摘されている¹⁵⁾。今回我々が実施した検査でも、*bla*_{IMP-6} 産生株 18 株中 16 株がイミペネムに感受性を示していた。したがって実際に届出されている以上に *bla*_{IMP-6} 産生株が潜在的に存在している可能性は否定できない。以上のことから、CRE の感受性検査ではメロペネムの併用や、低濃度カルバペネム系薬で測定をするなどの対策が必要と考えられる。

また *bla*_{IMP-6} 産生株のうち大腸菌が 6 株確認されたが、そのうち 5 株が B2-ST131-H30R であった。このクローンは近年 ESBL 産生大腸菌が市中で急激に増加している要因の一つと考えられており、非常に拡散しやすいクローンとして世界的にも警戒されている¹⁶⁾。ESBL と同じように CRE が市中に拡がれば、より対策が困難になるため、今後も継続して *bla*_{IMP-6} 産生株の動向を注視していく必要があると考えられた。

一方、今回渡航歴のある患者から KPC 産生株が 1 株確認された。KPC は classA に属するセリン-β-ラクタマーゼで、2001 年に米国で初めて報告された¹⁷⁾。検出頻度の高い地域として中国、北米など広範な地域があげられる。地理的に近い韓国や中国で検出されるカルバペネマーゼとしては KPC が最も多く、IMP 型の多い日本の状況とは大きく異なっている。しかしながら近年メディカルツーリズムが盛んになるに従い、患者の国際的移動に伴う耐性菌の移動頻度も増加しており、今後、海外型の耐性菌が国内に入ってくる可能性は高くなるものと思われる。実際、国内でも KPC 型によるアウトブレイクが報告されており¹¹⁾、今後も引き続き警戒が必要である。

感受性試験の結果では、今回コリスチン耐性が 1 株 (No. 2017133, Table 2) 確認された。コリスチンは 1949 年に日本で発見された抗菌薬で 1960～1970 年代に使用されていたが、腎機能障害や神経毒性などの強い副作用を有することから 2004 年に承認が取り消された。しかしながら近年の多剤耐性グラム陰性桿菌の世界的な拡散により、抗菌薬の選択肢も限られてきていたことから、国内では 2015 年に注射剤が再承認されている。現在このコリスチンは、多剤耐性グラム陰性桿菌に対して「最後の砦」として使用されているが、2015 年に中国で初めてプラスミド性のコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* が発見された¹⁸⁾。その後、瞬く間に世界各地の動物や食肉、さらには人から *mcr-1* の分離報告がなされ、世界的な脅威となっている。今回、耐性を示した株は *bla*_{IMP-6}, *bla*_{CTX-M-44}, DHA の同時産生株であり、今後耐性機序を調査する必要がある。

以上の結果から三重県においても CPE が複数株検出され、海外型を除けば全てが *bla*_{IMP-6} 産生株であることが明らかとなり、今後も継続して動向を注視していく必要があると考えられた。また海外型の *bla*_{KPC-2} 産生株も 1 株確認されたことから、海外から侵入してくる新型の CPE をできるだけ早期に探知し、国内に定着させないことが非常に重要であると思われた。

謝 辞

本研究の実施にあたり検体を提供頂いた各医療機関の先生方に深謝致します。また検体の収集等にご協力いただきました各保健所の関係各位にお礼申し上げます。

文 献

1) 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 (健感

発 0328 号第 4 号平成 29 年 3 月 28 日)。

- 2) 国立感染症研究所 薬剤耐性菌研究センター：薬剤耐性菌研修会資料 (2016-2018)。
- 3) 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル：薬剤耐性菌 (2017)。
- 4) Shibata N, Kurokawa H, Doi Y, et al: PCR classification of CTX-M-type beta-lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* **50**:791-795 (2006).
- 5) Pérez-Pérez FJ, Hanson ND: Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* **40**:2153-2162 (2002).
- 6) Nakano A, Nakano R, Suzuki Y, et al: Rapid identification of *bla*_{IMP-1} and *bla*_{IMP-6} by multiplex amplification refractory mutation system PCR. *Ann Lab Med.* **38**:378-380 (2018).
- 7) Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E: Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol.* **66**:4555-4558 (2000).
- 8) Colpan A, Johnston B, Porter S, et al: *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) subclone *H30* as an emergent multidrug-resistant pathogen among US veterans. *Clin Infect Dis.* **57**:1256-1265 (2013).
- 9) Carattoli A, Bertini A, Villa L, et al: Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J Microbiol Methods.* **63**:219-228 (2005).
- 10) Johnson TJ, Wannemuehler YM, Johnson SJ, et al: Plasmid replicon typing of commensal and pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Appl Environ Microbiol.* **73**:1976-1983 (2007).
- 11) 病原微生物検出情報 Vol.40 No.2 (2019.2).
- 12) 坂梨大輔, 山岸由佳, 川本柚香 他: 愛知県で臨床分離されたカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌と meropenem 最小発育阻止濃度によるスクリーニングの検討. *医学検査*, **67**: 294-298 (2018).
- 13) 野田万希子, 門倉由紀子, 酢谷奈津 他: 岐阜県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の届出情報と患者由来株のカルバペネム耐性機序の解析 (2014-2017 年). *岐阜県保健環境研究所報*, **26**: 11-15(2018).
- 14) Kayama S, Shigemoto N, Kuwahara R, et al: Complete nucleotide sequence of the IncN plasmid encoding IMP-6 and CTX-M-2 from emerging carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in

- Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* **59**: 1356-1359 (2015).
- 15) Shigemoto N, Kuwahara R, Kayama S, et al: Emergence in Japan of an imipenem-susceptible, meropenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying blaIMP-6. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **72**: 109-112 (2012).
- 16) Price LB, Johnson JR, Aziz M, et al: The epidemic of extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* ST131 is driven by a single highly pathogenic subclone, *H30-Rx*. *MBio.* **4**:e00377-13 (2013).
- 17) Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al: Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* **45**:1151-1161 (2001).
- 18) Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al: Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* **16**:161-168 (2016).

Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Infection in Mie Prefecture

Yuhki NAGAI, Akihito KOBAYASHI and Shigehiro AKACHI

Keywords: CRE, CPE, *bla*_{IMP-6}, *bla*_{KPC-2}, stealth-type

We investigated the molecular characteristics of 53 CRE isolated from hospitals in Mie Prefecture between April 2017 to March 2019. Of 53 CRE isolates, CPE (Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae) were detected in 19 (35.8%). The most dominant carbapenemase genotype was IMP (18/19), followed by KPC (1/19). Variant of IMP was all *bla*_{IMP-6} (18/18) with IncN plasmid, and 83% (15/18) of the strains were simultaneous CTX-M-2 group producers. Recent study showed that the combination of *bla*_{IMP-6} and *bla*_{CTX-M-2} gives stealth phenotype not detectable with imipenem. Indeed, 16 isolates of 18 *bla*_{IMP-6} were susceptible to imipenem. Meanwhile, KPC variant was *bla*_{KPC-2}. Multilocus sequence typing (MLST) of a subset of *bla*_{KPC-2} isolate identified ST48 (CG43). Our data suggest that CPE (*bla*_{IMP-6}) have already emerged in Mie Prefecture. Further, as *bla*_{KPC-2} was detected in Mie prefecture, active surveillance of CPE from abroad will be an effective strategy to limit the spread of CPE.