

6.微生物学的検査（抗菌薬感受性）

調査目的と意義

抗菌薬感受性部門での精度管理調査は、感染症起因菌の正確な同定を前提に抗菌薬感受性検査を実施した。アフターコロナにおける国際的な往来再開を想定し、輸入感染症として考えておくべき薬剤耐性菌を取り上げた。今回も例年通り抗菌薬耐性菌の耐性メカニズムの推定と、その結果を適切に解釈して必要な情報を臨床にフィードバックすることができるかを問う内容とした。衛生検査所の微生物検査は主として、クリニックなどの小規模医療機関から中規模の微生物検査室を設置していない医療機関までの検体を引き受けており、感染対策専門の部署を有していない施設が比較的多いと考えられることから、同定菌名・薬剤感受性検査のみならず、耐性菌対策のコメントが求められる。

今回の調査ではオープン調査・ブラインド調査ともに多剤耐性アシネトバクター属菌 (Multidrug-resistant *Acinetobacter* sp. : MDRA) を配付した。JANIS (厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業) における 2021 年の報告 (https://janis.mhlw.go.jp/report/open_report/2021/3/1/ken_Open_Report_202100.pdf) では入院検体における多剤耐性アシネトバクター属は 0.003% の検出率であり、院内感染で最も問題となっているメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の 6.02% と比較し圧倒的に少なく、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の 0.05% と比較しても少ないことから、本邦では比較的稀な耐性菌と考えられる。しかし、SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (<https://www.jmilabs.com/sentry-surveillance-program/>) での 2013~2019 年の世界のアシネトバクター属菌の薬剤耐性率は、メロペネム 60.9%、イミペネム 59.3%、アミカシン 50.5%、レボフロキサシン 61.6% であり世界の状況は本邦と大きく異なることから、国際的な往来の増加により検出頻度が高まる恐れがある。また、アシネトバクター属菌はどの医療機関でも分離されうる細菌であり、MDRA は感染症法で規定されている薬剤耐性菌であることから正確な薬剤感受性検査が求められるため、今回の薬剤感受性検査の精度管理調査の出題菌としてとりあげた。

1) 試料と出題背景

オープン調査

試料：MB5

検査材料：膿

患者症例：60 歳、男性

主訴：発熱

既往歴：特になし

現病歴：インドネシアで交通事故による外傷(右前腕橈骨開放骨折)を負い、現地にて手術を受けた。術後に帰国したところ、手術創の化膿が認められたため、起因菌検出目的で培養を提出した。

ブラインド調査

試料：MB5'

検査材料：尿

患者症例：70 歳、男性

主訴：発熱

既往歴：脊髄損傷、神経因性膀胱

現病歴：褥瘡治療のため入院加療を繰り返している。退院3日後に発熱・尿混濁を認めたことから近医を受診した。尿路感染が疑われたため尿培養を提出した。

2) 抗菌薬感受性成績の評価方法

① 菌種同定と薬剤感受性検査精度

薬剤感受性検査成績は何れも CLSI(Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; M100-ED30)のドキュメントに基づく抗菌薬感受性カテゴリ感性「S」、中間「I」、耐性「R」を正しく判定できるか評価した。

各抗菌薬に対する各菌株の感受性カテゴリは、リファレンス施設である東京都健康安全研究センターと大学病院3施設の抗菌薬感受性カテゴリを基準とした。各施設が求めたカテゴリと基準値を比較して以下のように評価した。very major error は、耐性「R」を感性「S」と報告した判定で、無効な抗菌薬投与に繋がる重大なエラーである。major error は感性「S」を耐性「R」と報告した場合で、very major error と比較して無効抗菌薬投与に繋がらないが結果が異なる重大なエラーである。これらを基準に下記の評価ランク分類を行った。評価Aと評価Bを正解とし、評価Dについては指導対象施設とする。

評価 A レファレンス施設の薬剤感受性結果と一致する

評価 B minor error が認められる

評価 C major error が認められる（または感染症法で定める薬剤耐性菌基準に偽陽性を示す場合）

評価 D very major error が認められる（または感染症法で定める薬剤耐性菌基準に偽陰性を示す場合）

今回供試した菌株はカルバペネム系薬剤、フルオロキノロン系薬剤、アミノグリコシド系薬剤に耐性を示す多剤耐性アシネトバクター (MDRA)である。これら3系統について基準を満たし、かつ起因菌と考えられる場合について届出が必要となる。したがって本精度管理については3系統の薬剤について評価を行った。

評価対象薬剤は次の通りである。

カルバペネム系薬剤、フルオロキノロン系薬剤、アミノグリコシド系薬剤の薬剤感受性検査

②耐性因子検出

MDRA と正しく判定されることを主目的としているため耐性因子検出については評価対象とはしていない。供試菌の MDRA は IMP 型メタロ β -ラクタマーゼを産生するが、どのような手法で実施・報告を行っているのかを調べる実態調査とした。

※日常検査では治療と感染対策の観点からカルバペネム耐性またはカルバペネマーゼ産生を疑う場合には、カルバペネマーゼを検出し報告することが望ましい。

3)結果および評価

①精度管理

臨床検査は結果の信頼性を担保するために精度管理が必須であり、医療法によりその実施が求められている。薬剤感受性検査についても、安全な感染症治療を担保するため精度管理の実施は重要である。本サーベイランスでは、精度管理株として施設が *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 または *Escherichia coli* ATCC 25922 株を使用していた。付表 46-5 に精度管理株の薬剤感受性検査結果を示す。ATCC 株を用いた精度管理については規定範囲内に収まっており問題は認められなかった。

②オープン調査(MB5)同定および薬剤感受性検査結果

オープン調査の同定検査には 13 施設が参加した。同定方法はマイクロキャンが 4 施設、バイテックが 2 施設、質量分析による同定は MALDI Biotyper が 6 施設、バイテック MS が 2 施設、アピによる同定が 1 施設、その他の方法が 2 施設であった (4 施設はマイクロキャン、バイテックまたはアピと質量分析の併用) (表 1)。

薬剤感受性検査は 13 施設が参加し、2 施設がディスク拡散法、11 施設が微量液体希釈法であった (ディスク拡散法併用もあり) (表 2)。

参加した 13 施設すべてが、正しく *Acinetobacter baumannii*、*Acinetobacter baumannii* complex、*Acinetobacter* sp. と同定していた。菌種同定は、生化学的性状などの表現型や質量分析では困難であることから許容できる回答を正答とした。

供試菌についての薬剤感受性検査を表 3 に示す。

カルバペネム系薬剤 (IPM, MEPM) は微量液体希釈法、ディスク法すべての施設が耐性であった。

アミノグリコシド系薬剤 (AMK) はディスク法の 2 施設が耐性、微量液体希釈法は 3 施設が 32 μ g/mL で中間、8 施設が耐性となった。

フルオロキノロン系薬剤 (CPFX, LVFX) は CPFX が微量液体希釈法 8 施設、ディスク法

2 施設の 10 施設すべてが耐性となった。LVFX は微量液体希釈法 4 施設が中間となったが残りの施設とディスク法による施設はいずれも耐性の報告となった。いずれもリファレンスの結果と一致するため、評価対象の 3 系統の薬剤に対してすべての施設が評価 A となった。

評価対象外の薬剤も概ね一致していたが、ST 合剤については、2 施設が耐性 $>40\mu\text{g/mL}$ (No.22、No.50)、3 施設が $\leq 40\mu\text{g/mL}$ となり乖離を認めた。リファレンス施設の結果は 2 施設が測定しておりどちらも $\leq 40\mu\text{g/mL}$ の結果であった。ただし、ST 合剤は Trailing によりばらつきやすい性質をもつ薬剤であり評価が難しいことを記す。

追加で実施した耐性菌検査 (表 4) について、mCIM を除いたカルバペネマーゼの鑑別検査の実施状況は複数回答も含め以下のようなになる。

- ・メルカプト化合物によるメタロ- β -ラクタマーゼの確認 12 施設
- ・イムノクロマト法によるカルバペネマーゼ産生菌検出試薬 1 施設
- ・市販カルバペネマーゼ鑑別ディスク 1 施設
- ・遺伝子検査 1 施設

参加 13 施設すべてがいずれかの耐性菌検査を実施し(一部併用あり)、市販カルバペネマーゼ鑑別ディスクを使用した 1 施設が判定不能となったほかはすべて検出した結果となっている。

MDRA については菌名またはコメントにて 13 施設すべてが MDRA について報告していた。5 類感染症についてのコメントも同様にすべての施設が実施していた。ただし、院内感染対策の注意喚起は 10 施設であった。

③ブラインド調査(MB5')同定および薬剤感受性検査結果 (付表 46-3)

ブラインド調査はオープン調査で使用した MB5 と同じ菌株を用いた疑似尿検体を作成し、13 の協力医療機関から提出された。同定検査についてはすべての施設で正しく同定・報告されていた (付表 44-6)。また、評価対象となるカルバペネム系薬剤、フルオロキノロン系薬剤、アミノグリコシド系薬剤の薬剤感受性検査はすべてリファレンス施設の結果と一致した。すべての施設が MDRA として報告を実施していたが、感染症法についてのコメントは 8 施設、院内感染対策のコメントは 6 施設にとどまった。また、定量値を報告している施設は 6 施設にとどまった。

まとめ

オープン調査、ブラインド調査どちらもすべての施設が同定検査ならびに評価薬剤について正しい薬剤感受性検査結果を示し、それをもとに正しく MDRA を報告していた。オープン調査においては院内感染対策の注意喚起、ブラインド調査では 5 類感染症および院内

感染対策の注意喚起を実施していない施設が認められた。ユーザーである医療機関に伝達すべき情報であり、必ず注意喚起を実施していただきたい。

表1. オープン調査参加施設が採用している同定方法

施設No.	簡易同定キット・自動同定機器
22	マイクロスキャン
33A	バイテックMS
36	バイテック
	MALDI Biotyper
38	マイクロスキャン
47	Rapid ID 32 E
50	マイクロスキャン
	MALDI Biotyper
58	バイテック
64	MALDI Biotyper
	アピ20
74	IDテスト NF-18
151	MALDI Biotyper
152A	マイクロスキャン
	バイテックMS
154	MALDI Biotyper
157	MALDI Biotyper

表2. オープン調査参加施設が採用している薬剤感受性検査方法(各施設の回答をそのまま記載)

施設No.	検査方法	自動感受性測定機器
22	微量液体希釈法	MicroScan WalkAway96plus
33A	微量液体希釈法	DPS MIC192/ID
36	微量液体希釈法	DPS MIC 192/ID
38	微量液体希釈法	MicroScan WalkAway DxM1096
47	ディスク拡散法	KBディスク(栄研)
50	微量液体希釈法	MicroScan Walk away96
58	微量液体希釈法	回答無し
	ディスク拡散法	センシディスク(BBL)
64	微量液体希釈法	DPS MIC192/ID
74	ディスク拡散法	センシディスク(BBL)
151	微量液体希釈法	MicroScan WalkAway DxM1096
	ディスク拡散法	KBディスク(栄研)
152A	微量液体希釈法	マイクロスキャンWalkAway Plus
154	微量液体希釈法	IA20MIC mkII
157	微量液体希釈法	MicroScan WalkAway DxM1096
	ディスク拡散法	KBディスク(栄研)

表3. 抗菌薬感受性試験成績

(MB5) *Acinetobacter baumannii* complex (code No.001)

施設No.	機能	PIPC		ST		ABPC/SBT		TAZ/PIPC		CTR		CAZ		CTX		CFPM		IPM		MEPM		AZT				
22	1			MIC	R	>2/38								MIC	R	>16			MIC	R	>8					
33A	1	MIC	R	>64	MIC	S	≤40			MIC	R	64			MIC	R	>32			MIC	R	>16				
36	1	MIC	R	>64				MIC	R	>16/8			MIC	R	>16			MIC	R	>16	MIC	R	>8			
38	1	MIC	I	64	MIC	S	≤2/38							MIC	R	>16			MIC	R	>8	MIC	R	>8		
47	1							KB	R	6							KB	R	6	KB	R	6				
50	1	MIC	R	≥128	MIC	R	≥76/4					MIC	R	≥128			MIC	R	≥32	MIC	R	≥16	MIC	R	≥16	
58	1	MIC	I	64										MIC	R	>32	MIC	R	>32			MIC	R	>8		
64	1	MIC	I	64						MIC	I	32			MIC	R	>16			MIC	R	>16	MIC	R	>8	
74	1							BBL	R	11					BBL	R	0			BBL	R	0				
152A	1											MIC	I	64			MIC	R	>16			MIC	R	>16		
154	1	MIC	R	>64	MIC	S	2	MIC	I	16			MIC	R	>32			MIC	R	>16	MIC	R	>8	MIC	R	>8

施設No.	機能	GM		TOB		AMK		MINO		DRPM		CL		LVFX		CPFX		OFLX							
22	1	MIC	S	≤2	MIC	S	4	MIC	R	>32	MIC	S	≤2	MIC	R	>4	MIC	R	>2						
33A	1	MIC	S	≤2				MIC	R	>32	MIC	S	≤4				MIC	R	>2						
36	1							MIC	R	>32	MIC	S	≤0.25			MIC	R	>4	MIC	R	>2				
38	1	MIC	S	≤4				MIC	I	32	MIC	S	≤4			MIC	I	4	MIC	R	>2				
47	1							KB	R	6	KB	S	30					KB	R	6					
50	1	MIC	S	≤4	MIC	S	≤4	MIC	R	≥64	MIC	S	≤4	MIC	S	≤2	MIC	R	≥8						
58	1	MIC	S	≤2				MIC	R	>32	MIC	S	≤2					MIC	R	>4			BBL	R	7
64	1	MIC	S	≤2	MIC	S	≤2	MIC	I	32	MIC	S	≤2					MIC	R	>4	MIC	R	>2		
74	1							BBL	R	12	BBL	S	25					BBL	R	13	BBL	R	0		
152A	1	MIC	S	≤2				MIC	I	32	MIC	S	≤2					MIC	R	>4					
154	1							MIC	R	>32	MIC	S	≤1					MIC	I	4	MIC	R	>2		

施設No.	機能	使用培地	製造会社
22	1	5%ヒツジ血液寒天培地,チョコレート寒天培地,BTB乳糖加寒天培地,プルセラHK寒天培地	日本ベクトンディッキンソン(BD),日本ベクトンディッキンソン(BD),日本ベクトンディッキンソン(BD),極東製薬工業株式会社
33A	1	ドライプレート栄研192プレート	栄研化学
36	1		
38	1	BTB乳糖加寒天培地,トリブチケース ノイ 5%ヒツジ血液寒天培地,BYチョコレート寒天培地	
47	1	Mueller Hinton II	日本ベクトンディッキンソン株式会社
50	1	TSA5%ヒツジ血液寒天培地,BTB/緑膿菌培地,チョコレートII寒天培地,CA添加SB/チョコレートII寒天培地	日本ベクトン・ディッキンソン,バクテクス株式会社,日本ベクトン・ディッキンソン,日本ベクトン・ディッキンソン
58	1	TSA II 5%ヒツジ血液寒天培地,DHL寒天培地,チョコレート寒天培地	BD,BD,BD
64	1	TSA II 5%羊血液寒天培地,チョコレートII寒天培地,ボア-DHL-S寒天培地	日本BD,日本BD,栄研化学
74	1	血液寒天培地(ウマ),チョコレート寒天培地No.2,ドリガルスキー改良培地,GM加GAM寒天培地,チオグリコロート	極東製薬,極東製薬,日本製薬,日本製薬,栄研化学
152A	1	5%羊血液寒天培地,BTB寒天培地,チョコレート寒天培地,プルセラ寒天培地	日本BD,日本BD,日本BD,極東製薬工業株式会社
154	1	羊血液寒天培地,チョコレート寒天培地,BTB乳糖加寒天培地,OPA II 寒天培地	日本ベクトンディッキンソン,日本ベクトンディッキンソン,日本ベクトンディッキンソン,日本ベクトンディッキンソン

(MB5) *Acinetobacter* spp. (code No.005)

施設No.	機能	PIPC		ST		ABPC/SBT		TAZ/PIPC		CTR		CAZ		CTX		CFPM		IPM		MEPM		AZT				
151	1	MIC	I	32									MIC	R	≥32			MIC	R	≥32	KB	R	9	MIC	R	≥16
157	1	MIC	I	64									MIC	R	≥32			MIC	R	≥32	KB	R	9	MIC	R	≥16

施設No.	機能	GM		TOB		AMK		MINO		DRPM		CL		LVFX		CPFX		OFLX			
151	1	MIC	S	≤1	MIC	S	2	MIC	R	≥64	MIC	S	≤1	MIC	S	≤1	MIC	R	≥8		
157	1	MIC	S	2	MIC	S	2	MIC	R	≥64	MIC	S	≤1	MIC	S	≤1	MIC	R	≥8		

施設No.	機能	使用培地	製造会社
151	1	5%羊血液寒天培地,BTB寒天培地,チョコレート寒天培地No2,アネロRS血液寒天培地	極東製薬工業株式会社,極東製薬工業株式会社,極東製薬工業株式会社,コージンバイオ株式会社
157	1	5%ヒツジ血液寒天培地,BTB乳糖加寒天培地,チョコレート寒天培地No2,アネロRS血液寒天培地	極東製薬工業株式会社,極東製薬工業株式会社,極東製薬工業株式会社,コージンバイオ株式会社

表4. 追加で実施した耐性菌検査

No	耐性菌検査	項目	結果
22	メルカプト化合物を用いた阻害試験	MBL(+)	SMAディスクを用いたメタロβラクタマーゼ試験
33A	メルカプト化合物を用いた阻害試験	+	メタロβラクタマーゼSMA(栄研)
36	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method) その他のカルバペネマーゼ確認検査 メルカプト化合物を用いた阻害試験	陽性 IMP型:陽性 陽性	NG-Test CARBA5(日水製薬) メタロβラクタマーゼSMAディスク(栄研化学)
38	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	判定できず	カルバペネマーゼ鑑別ディスク Plus
47	メルカプト化合物を用いた阻害試験	陽性	栄研 メタロβラクタマーゼ SMA '栄研'
50	メルカプト化合物を用いた阻害試験 耐性遺伝子検出用市販遺伝子検査	陽性 IMP-1group 陽性	メタロβラクタマーゼ SMA '栄研' シカジーニアス® カルバペネマーゼ遺伝子型検出キット2
58	ニトロセフィン法 メルカプト化合物を用いた阻害試験	陽性 5mm以上の拡大を認める	セフィナーゼディスク(BD) メタロβラクタマーゼ(栄研)
64	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method) メルカプト化合物を用いた阻害試験	陽性 陽性	BDセンシ・ディスク メタロβラクタマーゼSMA'栄研'
74	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method) メルカプト化合物を用いた阻害試験	陽性 陽性	メタロβラクタマーゼSMA(栄研)
151	メルカプト化合物を用いた阻害試験	陽性(MBL産生)	メタロβラクタマーゼSMA'栄研'
152A	その他のカルバペネマーゼ確認検査	メタロβラクタマーゼ陽性	メルカプト酢酸(SMA)法
154	メルカプト化合物を用いた阻害試験	+	メタロβラクタマーゼSMA(栄研化学)
157	メルカプト化合物を用いた阻害試験	陽性(MBL産生)	メタロβラクタマーゼSMA'栄研'