

## 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。今回も近年問題となっている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から中規模の微生物検査室を設置していない医療機関からの検体を引き受けていると考えられ、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は強く求められる。

今回の調査ではオープン調査としてバンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin resistant-Enterococci:VRE) を配付した。欧米では院内感染の主要な起因菌となっている VRE であるが、本邦においては地域的なアウトブレイクが散発しているものの、医療関連感染の起因菌としての報告は少ない。カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE) におけるステルス型のようなタイプは問題となっていないため、正しい同定検査と薬剤感受性検査の組み合わせでスクリーニング出来る病原体である。しかし、検査室でバンコマイシンやテイコプラニンなどのグリコペプチド系抗菌薬のデータ異常に気付かなければ、VRE として報告出来ない恐れがある。また、感染症法では起因菌として VRE を検出した場合には5類感染症として届出義務が発生するため、漏れなく適切なコメント報告が求められる。院内感染対策の面からも、施設内に留まらず地域にまで拡散する恐れがあるため速やかで確実な報告が求められる。

### オープン調査

#### 1) 試料と出題背景

試料：MB5

調査：オープン調査

検体材料：尿

症例：63歳、男性

主訴：発熱

既往歴：1型糖尿病

現病歴：クモ膜下出血の手術後、長期療養型病床に入院中で、半身麻痺が残っている。2週間前にリハビリ中の転倒で大腿骨折、尿道カテーテルを挿入している。2日前から 39.2℃ の発熱あり。尿混濁のため培養を提出した。

菌種：Enterococcus faecalis (VRE: vanB)

#### 2) 抗菌薬感受性成績の評価方法

##### ① 菌種同定と感受性検査精度

本年度の調査 (オープン調査のみ) は 15 施設が参加し (付表 46 - 1)、同定検査について、3 施設がマイクロスキャン WalkAway (ベックマン・コールター)、2 施設が VITEK (ビオメリュージャパン)、質量分析装置は 5 施設が MALDI Biotyper (ブルカー・ジャパン)、3 施設が VITEK MS (ビオメリュージャパン) となり質量分析装置による同定が過半数となった (それぞれ 1 施設ずつマイクロスキャンを併用)。その他は、同定キットである Crystal GP (日本ベクトン・ディッキンソン) が 1 施設と回答無しが 1 施設であった (表 1)。

薬剤感受性検査については、微量液体希釈法の実施施設が 13 施設で、使用自動機器については 6 施設がマイクロスキャン WalkAway (ベックマン・コールター)、4 施設が DPS MIC 192/ID (栄研化学)、IA20 MICmkII (高電工業) が 1 施設、VITEK2 が 1 施設、回答無しが 1 施設であった。ディスク拡散法は 2 施設あり、どちらもセンシディスク (日本ベクトン・ディッキンソン) を利用していた (表 2)。

得られた薬剤感受性検査成績は何れも CLSI (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; M100-ED29) のドキュメン

トに基づく抗菌薬感受性カテゴリー感性「S」、中間「I」、耐性「R」を正しく判定し得たかを評価した。

各抗菌薬に対する各菌株の感受性カテゴリーは、レファレンス施設である東京都健康安全研究センターの抗菌薬感受性カテゴリーを基準とした。各施設が求めたカテゴリー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。

## ② 耐性因子検出

今回供試した菌株である *Enterococcus faecalis* (VRE: *vanB*) は、バンコマイシンに耐性を示すことから、薬剤感受性検査のみでVREの判定が可能となる。また、*vanB*型はバンコマイシンに中等度から高度耐性で、テイコプラニンに感性を示すという特徴を持つことから薬剤感受性結果から *vanB*型を推測することは比較的容易である。したがってほとんどの施設でPCRによる耐性因子検出は行われていない。

## 3) 結果および評価

### ① 精度管理

すべての臨床検査は、結果の信頼性を担保するために精度管理が必要であり、医療法改正に伴い、法によりその実施が求められている。薬剤感受性検査も例外なく精度管理が必要で、安全な感染症治療を担保するためにも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 *S. aureus* ATCC 25923 株が2施設、*S. aureus* ATCC 29213 株が2施設、*E. faecalis* ATCC 29212 株が11施設で利用されていた。付表46-4に薬剤感受性検査結果を示す。

### ② オープン調査 VRE の同定および感受性検査結果

参加した15施設すべてが、正しく *E. faecalis* と菌種名を同定した。また、すべての施設がバ

ンコマイシンに耐性を示す結果から、菌名またはコメントでバンコマイシン耐性腸球菌について言及しており、VREとして正しく報告されていた。感染症法についてもすべての施設が5類感染症としての届け出が必要であるコメントを漏れなく記載している。院内感染対策についての注意喚起は13施設が言及している。これらのことから、VREについての最低限必要な情報提供はされているものと考えられる(表3)。供試菌についての薬剤感受性検査(付表46-2、3)は微量液体希釈法を採用している施設では、バンコマイシン、テイコプラニン、リネゾリド、レボフロキサシンについては上下1管の許容誤差範囲に収まっており、問題ないと考えられる。施設No.23のアンピシリンについて+2管差の結果となり、ATCC 29212 *E. faecalis* の測定結果においても同様にアンピシリンが+2管差で高い値となっていたため、原因の追求および是正が必要と考えられる。また、施設No.33はダプトマイシンの結果が4 $\mu$ g/mLと高い値となった。CLSI M100-ED28(2018)までは腸球菌に対するダプトマイシンのブレイクポイントは菌種に関わらず4 $\mu$ g/mL以下を感性とするものであったが、CLSI M100-ED29(2019)から、*E. faecium* とその他の *Enterococcus* 属菌に区別され、*E. faecium* の場合、 $\leq 4 \mu\text{g/mL}$  が感性、 $\geq 8 \mu\text{g/mL}$  が耐性となり、その他の *Enterococcus* 属菌は $\leq 2 \mu\text{g/mL}$  が感性、4 $\mu\text{g/mL}$  が中間、 $\geq 8 \mu\text{g/mL}$  が耐性の判定となる。従って今回のダプトマイシンの4 $\mu\text{g/mL}$ という結果は使用するCLSIドキュメントにより感性または中間と判定が変わるため注意が必要であり、再検査を実施すべき結果と考えられる。臨床側がダプトマイシンを投与または投与を検討している場合には、治療失敗に繋がる恐れがある。ただし、施設No.33はATCC 29212 *E. faecalis* の測定結果は4 $\mu\text{g/mL}$ で精度管理限界値に入っており日常的な精度管理は問題なく実施されていると考えられる。しかし、精度管理は個々の菌株の全ての結果を保証するわけではないことを理解しておく必要が

ある。ディスク拡散法を実施した2施設については概ね良好な結果であった。

1施設がPCRを実施して*vanE* 遺伝子を検出としていた。記載ミスの可能性も考えられるが、今一度PCR法の手技、報告に至るまでのプロセスの見直しが求められる。

#### 4)まとめ

今回はオープン調査で1菌種の実施であったが、感染症法により5類感染症に指定され、この菌による感染症の場合には7日以内に届け出る義務がある。したがって確実な耐性検出と臨床への確実な情報伝達が求められる病原体であり、すべての参加施設が耐性ならびに感染症

法について言及していたことは評価出来る。また、2施設を除き院内感染対策の注意喚起もコメントされており、VREに対する取り組みは概ね達成出来ていると考えられる。

薬剤感受性検査は抗菌薬感受性カテゴリー感性「S」、中間「I」、耐性「R」について、参加施設は正しく判定出来ていた。判定カテゴリーだけではなく、菌種固有の感受性パターン、内因性耐性などを総合的に考慮し、精度管理株、臨床分離株すべてに対して通常想定されるMICレンジから外れた薬剤感受性結果について監視することが正しい判定カテゴリー報告に繋がる。

表1. オープン調査参加施設が採用している簡易同定キット・自動機器

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
23	バイテックMS
33	バイテックMS
36	MALDI Biotyper
38	マイクロスキャン
47	BD BBL CRYSTAL GP
50	マイクロスキャン
52	MALDI Biotyper
58	バイテック
74	回答無し
92	マイクロスキャン
	MALDI Biotyper
93	バイテック
94	マイクロスキャン
	バイテックMS
96	MALDI Biotyper
99	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

施設 No.	検査方法	自動感受性測定機器またはディスク名
22	微量液体希釈法	MicroScan WalkAway96plus
23	微量液体希釈法	DPS MIC 192/ID
33	微量液体希釈法	DPS MIC 192/ID
36	微量液体希釈法	DPS MIC 192/ID
38	微量液体希釈法	Micro Scan WalkAway96SI
47	ディスク拡散法	センシディスク(BBL)
50	微量液体希釈法	マイクロスキャン
52	微量液体希釈法	DPS MIC192/ID
58	微量液体希釈法	VITEK2
74	ディスク拡散法	センシディスク(BBL)
92	微量液体希釈法	Microscan WalkAway
93	微量液体希釈法	WalkAway
94	微量液体希釈法	WalkAway
96	微量液体希釈法	IA20MICmk II
99	微量液体希釈法	回答無し

表3. オープン調査参加施設の同定結果と薬剤感受性成績をもとに付されたコメント  
(各施設からのコメントをそのまま記載)

報告番号	菌名	提出医へ報告すべきコメント
22	<i>Enterococcus faecalis</i>	バンコマイシン耐性の <i>Enterococcus faecalis</i> が検出されました。本菌による感染症と診断された場合、5類感染症の届け出が必要です。感染予防策は、標準予防策に加え接触予防策を実施して下さい。
23	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE 疑い)	本菌の遺伝子検査は行っていませんがバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE: <i>vanB</i> タイプ)の可能性があります。本菌が感染症の起因菌と判定された場合、バンコマイシン耐性腸球菌感染症は5類感染症全数把握疾患に定められており、7日以内に保健所に届出が必要で、患者を個室隔離し、接触予防策をとるなどの院内感染防止策が重要です。
33	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	VRE ( <i>VanB</i> タイプ)の可能性が考えられます。検出された菌が感染症の起因菌と判定された場合、5類感染症として取り扱い、保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要があります。病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられます。
36	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	選択薬剤: ドライプレート栄研(192プレート) EP02に含まれ、CLSI M100-ED30に判定基準がある薬剤を選択して報告した。附加コメント: VRE ( <i>VanB</i> 型を疑う)が検出されました。院内感染に注意して下さい。接触予防策を実施して下さい。起因菌の場合は、5類感染症として保健所へ届出が必要です。
38	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	薬剤感受性試験より <i>vanB</i> 型耐性遺伝子保有の VRE が推定されます。 <i>van</i> 遺伝子の確定には遺伝子検査が必要となります。VRE は5類感染症全数把握疾患であり届け出が必要です。また、院内感染対策上重要な菌です。
47	vancomycin resistant <i>Enterococcus faecalis</i>	<i>VanB</i> が疑われます。院内感染に注意してください。VRE は5類感染症に指定されているので、届け出が必要です。
50	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	VRE が検出されました。病院内感染にご注意下さい。VRE 感染症は、5類感染症として届け出が必要です。
52	<i>Enterococcus faecalis</i> (腸球菌 .VRE)	5類感染症指定菌が分離されました。起因菌の場合は保健所に届け出が必要です。
58	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	バンコマイシン耐性腸球菌感染症は、5類感染症で届け出が必要。
74	<i>E.faecalis</i> (VRE)	<i>VanB</i> タイプの VRE が疑われます。確定には遺伝子検査が必要です。感染症法の5類感染症全数把握疾患に定められており、届け出が必要です。院内感染防止対策上、重要な菌であると考えられます。当検査室では実施していませんが、アミノグリコシド高度耐性の可能性もあります。ただ、尿検体からの検出菌であるためアミノグリコシド高度耐性スクリーニングの実施の必要性は少ないと考えます。
92	vancomycin resistant <i>Enterococcus faecalis</i>	起因菌と考えられる場合は5類感染症のため、7日以内に届け出が必要です。テイコプラニン $\leq$ 2、バンコマイシン $>$ 16であることから <i>vanB</i> 型が考えられ、院内感染対策上重要である。
93	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	VRE が検出されました。感染管理にご配慮ください。感染症法における5類感染症の取り扱いに準じ、所轄の保健所への報告をお願いします。
94	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	検出された菌は VCM と TEIC の結果より VRE ( <i>VanB</i> )が推定されます。起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられます。院内感染対策の必要があります。5類感染症として取り扱ってください。
96	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	VRE が検出されました。標準予防策に加え、接触感染予防の徹底を図り、院内感染防止に努めて下さい。起因菌の場合は5類感染症として、保健所への届出が必要となります。
99	<i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・薬剤感受性検査にて VRE (バンコマイシン耐性腸球菌)と判定されました。</li> <li>・感染症法における5類感染症の取り扱いに準じ、所轄の保健所への報告をお願いします。</li> <li>・薬剤耐性菌が検出されています。感染管理にご配慮下さい。</li> </ul>