

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、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (carbapenem-resistant *Enterobacterales* : CRE) を出題した。CRE 感染症は感染症法が定める5類感染症(全数届出)であり、その正確な報告は公衆衛生学的意義が大きい。

オープン調査、ブラインド調査ともにカルバペネム耐性の *Klebsiella pneumoniae* を出題菌とし、腸内細菌目細菌に対して日常的に行われている薬剤セットで検査を実施いただき、そのうち重要な薬剤を選択し評価を行った。

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2023年の公開情報 (https://janis.mhlw.go.jp/report/open_report/2023/3/1/ken_Open_Report_202300.pdf)では、*K. pneumoniae* のイミペネム、メロペネムの耐性率はそれぞれ0.2%、0.3%であり本邦におけるカルバペネム耐性 *K. pneumoniae* の分離頻度は低い。しかしながら、医療機関でのCREアウトブレイクは多く報告されており、その正確な同定は意義が大きいため、今回の出題菌とした。また、近年、CREに有効な新規薬剤が複数上市され、それらの薬剤の有効性が耐性機序により異なることから、各施設での耐性機序に関する検査の実施状況の情報を得ることも目的の一つとした。

1) 試料と出題背景

オープン調査

試料：MB5

材料：血液

症例：67歳、女性

主訴：発熱

既往歴：腭頭部がん

現病歴：腭頭部がんのため3年前に腭頭十二指腸切除術(胆管空腸吻合を伴う)を実施された。これまで腫瘍の再発はないが、胆管炎で複数回の入院歴がある。

今回、3日前からの最高体温38.2℃の発熱を主訴に来院した。発熱の精査のために血液培養検査が提出された。

ブラインド調査

試料：MB5

材料：尿

症例：60歳、女性

主訴：発熱、右腰背部痛

既往歴：子宮体がん

現病歴：3年前に子宮体がんに対して広汎子宮全摘、両側付属器切除術を受けたが、その後再発した。腹膜播種に伴う右水腎症の治療として尿管ステントが挿入されており、尿路感染症で複数回の入院歴がある。今回、前日からの右腰背部痛を伴う最高体温38.7℃の発熱を主訴に来院した。発熱の精査のために尿培養検査が採取された。

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いずれもCLSI (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100)のガイドラインに基づく抗菌薬感受性カテゴリー感性的「S」、中間「I」、耐性「R」を正しく判定できるかを評価した。

各抗菌薬に対する感受性カテゴリーは、レファレンス施設の抗菌薬感受性カテゴリーを基準とし(表1)、各施設が報告し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。

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 (「I」を「S」や「R」と判定、「S」や「R」を「I」と判定)が認められる

評価C：Major Error (「S」を「R」と報告)が認められる

評価D：Very Major Error (「R」を「S」と報告)が認められる

Very Major Error は無効な抗菌薬の投与、すなわち患者の予後悪化につながりうる最も重大なエラーである。Major Error は無効な抗菌薬投与にはつながらないものの、抗菌薬適正使用や院内感染対策の観点からは重大なエラーである。今回は、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。

本年度の精度管理調査では主に *K. pneumoniae* を含めた腸内細菌目細菌感染症の治療に一定以上の頻度で使用される薬剤である、ABPC（アンピシリン）、PIPC/TAZ（ピペラシリン・タゾバクタム）、CEZ（セファゾリン）、CMZ（セフメタゾール）、CTX（セフォタキシム）、CTRX（セフトリアキソン）、CFPM（セフェピム）、IPM（イミペネム）、MEPM（メロペネム）、AMK（アミカシン）、LVFX（レボフロキサシン）を評価対象とした。

② 耐性因子検出

今回供試した菌株はカルバペネマーゼ非産生、AmpC β -ラクタマーゼ産生のカルバペネム耐性 *K. pneumoniae* である。カルバペネム耐性に関わる耐性因子の検出検査の実施は必須ではないが、上記の通り、院内感染対策や治療薬選択における意義を有するため、評価対象としないものの、参加施設の実施状況を把握した。

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日常の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、精度管理株としてオープン調査に参加した全 12 施設が *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 12 施設が参加した。同定方法は自動同定機器を用いた同定がマイクロスキャン 3 施設、バイテック 2 施設、ライサス 1 施設、質量分析装置を用いた同定が MALDI Biotyper 5 施設（うち、バイテックとの併用が 1 施設）とバイテック MS 1 施設、他に ID テスト EB-10 を用いた同定が 1 施設であった（表 2）。

薬剤感受性検査は 12 施設が参加し、2 施設がセンシディスク（BBL）を用いたディスク拡散法、11 施設が自動感受性測定機器を用いた微量液体希釈法であった（1 施設で両者を併用）（表 3）。

同定検査について、参加した 12 施設すべての施設が正しく *Klebsiella pneumoniae* (code No. 282)、または *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* (code No. 284) と同定していた（表 4）。生化学的性状などの表現型や質量分析で十分に同定可能であり、期待していた通りにすべての施設が正答であった。

薬剤感受性検査について、参加 12 施設のうち ABPC は 11 施設、PIPC/TAZ は 7 施設、CEZ は 6 施設、CMZ は 11 施設、CTX は 7 施設、CTRX は 5 施設、CFPM は 6 施設、IPM は 10 施設、MEPM は 11 施設、AMK は 11 施設、LVFX は 12 施設で測定が実施されていた（表 4）。今回の供試菌株には当てはまらないものの、一部のカルバペネマーゼ産生 CRE は IPM には感性を示すことが知られており、この性質を持った CRE のアウトブレイクも報告されているため、腸内細菌目細菌の測定薬剤には MEPM を含めることが望ましい。また、CFPM も耐性度の高い腸内細菌目細菌の主要な治療薬であり、耐性因子の推定にも有用な薬剤であることから測定薬剤に含めることが望ましい。上記の対象薬剤の薬剤感受性試験結果判定について、2 施設の CFPM の判定で Minor Error（「R」を「I」と判定）が認められて B 評価となったほかはすべて A 評価であった。

カルバペネム耐性に関わる耐性因子の検出について全ての参加施設で感度・特異度の高いカルバペネマーゼ産生検出法である mCIM が実施され、結果は 9 施設で陰性、2 施設で判定保留、1 施設で陽性であった（表 5）。供試菌株はカルバペネマーゼ非産生株であるが、レファレンス施設においても判定保留となった施設があったことから、一定の割合で存在する判定困難な菌株であったことが推測され、このことが施設間の判定結果のばらつきの背景にあると思われる。mCIM 以外にも施設ごとに選択された耐性因子の検出試験が追加実施され、5 施設では本菌株の AmpC β -ラクタマーゼ産生を正しく検出していた。

③ ブラインド調査 (MB5') 同定および薬剤感受性検査結果

参加した延べ 18 施設（施設 No.23, 45 は 2 か所、施設 No.33 は 3 か所の医療機関から依頼されたため、実質的には 14 施設）すべてが正しく *Klebsiella pneumoniae* (code No. 282) と同定していた（付表 44 - 6）。

薬剤感受性検査は参加 18 施設のうち ABPC は 18 施設、PIPC/TAZ は 5 施設、CEZ は 16 施

設、CMZ は 17 施設、CTX は 12 施設、CTRX は 8 施設、CFPM は 8 施設、IPM は 16 施設、MEPM は 11 施設、AMK は 17 施設、LVFX は 18 施設で測定が実施されていた（付表 46 - 3）。前述の通り、MEPM や CFPM の薬剤感受性測定は全ての施設で実施することが望ましい。

上記の対象薬剤の薬剤感受性試験結果判定について、オープン調査と同様に 4 施設の CFPM の判定で Minor Error（「R」を「I」と判定）が認められて B 評価となったほかはすべて A 評価であった。

まとめ

菌種同定、精度管理については問題なく良好な結果であった。薬剤感受性判定についても判定結果には問題がなかったが検査対象薬剤の選定には施設間差があり、治療薬選択や耐性菌検出において必要性が高い薬剤が含まれていない事例があることが示唆された。耐性因子の検出検査は現在では必須とはされていないものの医療機関の多剤耐性菌対応においては近年、重要性が高まっており、実際に多くの医療機関で実施されていることが認識された。

表1. レンファレンス測定結果

		抗菌薬																							
		ABPC	CEZ	CAZ	CTRX	CFPM	CMZ	LMOX	AZT	IPM	MEPM	AMPC/CVA	ABPC/SBT	PIPC/TAZ	PIPC	GM	AMK	CPFX	LVFX	ST	CTX	TAZ/CTLZ	CFDC	TOB	
ディスク拡散法(mm)	KBディスク(栄研)	6	6	6	6	6	6	6	6	10	14	6	6	6	6	23	23	6	6	6	6	6	6	23-24	19-21
	センシディスク(BD)	6	6	6	6	18	6	6	6	9-10	12	6	6	6	6	22-23	23-24	6	6	6	6	6	6	19-20	
	微量液体希釈法(μg/mL)																								
	レファレンス施設A	>16	>16	>8	>16	>16	>32	>16	>8	>2	>2					≤2	≤8		>4	>2/38	>2				
レファレンス施設B	>16	>16	>16	>8	16	>32	>8	>8	8	8					≤1	≤8		>8							
レファレンス施設C	>16	>16	>16	>32	16	>32	>16	>16	8	8					≤2	≤4		>4	>4/76						
判定		R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	

表2. 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
33	バイテックMS
36	バイテック
38	MALDI Biotyper
47	マイクロスキャン
50	ライサス
52	MALDI Biotyper
64	バイテック
74	MALDI Biotyper
152	IDテスト・EB-10
154	マイクロスキャン
157	MALDI Biotyper

表3. 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
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	マイクロスキャン WalkAway Plus
47	微量液体希釈法	ライサスS4
50	微量液体希釈法	マイクロスキャン
52	微量液体希釈法	記載なし
64	ディスク拡散法	センシディスク(BBL)
74	微量液体希釈法	DPS MIC192/ID
152	ディスク拡散法	センシディスク(BBL)
154	微量液体希釈法	マイクロスキャン WalkAway Plus
157	微量液体希釈法	IA20MIC mkII
		マイクロスキャン WalkAwayDxM1096

表 4. 抗菌薬感受性試験成績

(MB5) *Klebsiella pneumoniae* (code No.282)

施設No.	機能	ABPC	ABPC	PIPC	FOM	ST	AMPC/CVA	ABPC/SBT	PIPC/TAZ	CP	CEZ	CMZ	CTPX	CAZ	CTX
22	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >64		MIC R >2/38		MIC R >16	MIC R >64/4		MIC R >4	MIC R >32	MIC R >32	MIC R >8	
33	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >64				MIC R >16/8	MIC R >64		MIC R >16	MIC R >32	MIC R >32		
38	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >64				MIC R >16/8	MIC R >64		MIC R >16	MIC R >32	MIC R >32		
50	1	MIC R >32	MIC R >32	MIC R >64				MIC R >16	MIC R >128		MIC R >4	MIC R >64	MIC R >64	MIC R >16	
64	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >64		MIC R >40	MIC R >16	MIC R >16			MIC R >4	BBL R 0	BBL R 0	MIC R >2	
74	1	BBL R 0	BBL R 0				BBL R 0					MIC R >32	MIC R >32	MIC R >128	
152	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >64		MIC R >2						MIC R >32	MIC R >32	MIC R >128	
154	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >64							MIC R >16	MIC R >32	MIC R >32	MIC R >128	
157	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >64							MIC R >16	MIC R >32	MIC R >32	MIC R >128	

施設No.	機能	CPM	CPM	CPDX	IPM	MEPM	AZT	GM	AMK	MINO	CTX/CVA	CAZ/CVA	LVFX	CPTX	OFIX
22	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >2	MIC R >2	MIC R >8	MIC S ≤2	MIC S ≤4	MIC R >8			MIC R >4		
33	1	MIC R 16	MIC R >8	MIC R >16	MIC R >8	MIC R >8		MIC S ≤2	MIC S ≤4	MIC R >8			MIC R >4		
38	1	MIC R >16	MIC R >8	MIC R >16	MIC R >8	MIC R >8		MIC S ≤2	MIC S ≤4	MIC R >8			MIC R >4		
50	1	MIC R >32	MIC R >8	MIC R >16	MIC R >4	MIC R >4		MIC S ≤2	MIC S ≤4	MIC R >16			MIC R >8		
64	1	MIC R >16	MIC R >2	MIC R >16	MIC R >2	MIC R >2		MIC S ≤2	MIC S ≤4	MIC R >16			MIC R >2		
74	1	BBL I 20	BBL R 13	BBL R 13	BBL R 13	BBL R 13		MIC S ≤2	MIC S ≤4				BBL R 0		
152	1		MIC R >2	MIC R >16	MIC R >2	MIC R >2		MIC S ≤2	MIC S ≤4	MIC R >32/4			MIC R >4		
154	1		MIC R >8	MIC R >16	MIC R >8	MIC R >8		MIC S ≤1	MIC S ≤4	MIC R >4			MIC R >4		
157	1		MIC R >4	MIC R >16	MIC R >4	MIC R >4		MIC S ≤1	MIC S ≤4	MIC R >8			MIC R >4		

施設No.	機能	使用培地
22	1	チヨコレート寒天培地,5%ブドウ糖加寒天培地
33	1	チヨコレート寒天培地,BTB乳糖加寒天培地
38	1	トリアレート寒天培地,5%ブドウ糖加寒天培地
50	1	BTB寒天培地,羊血液寒天培地,チヨコレートHP寒天培地,ニューラセントII寒天培地
64	1	CA添加トリブチン5%ブドウ糖加寒天培地,VCM添加チヨコレート寒天培地
74	1	TS&5%羊血液寒天培地,チヨコレートII寒天培地,ボアDHL-S寒天培地,ブルセラHK-RS寒天培地
152	1	ニューラセントII寒天培地
154	1	15%羊血液寒天培地,BTB寒天培地,チヨコレート寒天培地,ブルセラHK寒天培地
157	1	羊血液寒天培地,チヨコレート寒天培地,BTB乳糖加寒天培地,MRSA-G培地

施設No.	機能	ABPC	ABPC	PIPC	FOM	ST	AMPC/CVA	ABPC/SBT	PIPC/TAZ	CP	CEZ	CMZ	CTPX	CAZ	CTX
36	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >64		MIC R >2/38		MIC R >16	MIC R >64/4		MIC R >16	MIC R >32	MIC R >32	MIC R >16	
47	1	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >64				MIC R >16	MIC R >64/4		MIC R >16	MIC R >32	MIC R >32	MIC R >16	
52	1	MIC R >32	MIC R >32	MIC R >128				MIC R >32	MIC R >64	BBL R 6	MIC R >32	MIC R >64	MIC R >32	MIC R >32	MIC R >32

施設No.	機能	CPM	CPM	CPDX	IPM	MEPM	AZT	GM	AMK	MINO	CTX/CVA	CAZ/CVA	LVFX	CPTX	OFIX
36	1	MIC I 8	MIC R >8	MIC R >8	MIC R >8	MIC R 8		MIC S ≤0.25	MIC S ≤1	MIC R >8			MIC R >4		
47	1		MIC R >8	MIC R >8	MIC R 8	MIC R 8		KB S 24	KB S 27	MIC R >8			MIC R >4		
52	1		MIC R >16	MIC R >16	MIC R >16	MIC R >16		MIC S ≤2	MIC S ≤2	MIC R >16			MIC R >8	BBL R 6	

施設No.	機能	使用培地
36	1	
47	1	羊血液寒天培地,M58,チヨコレート寒天培地,IBTB寒天培地
52	1	TS&II5%ブドウ糖加寒天培地,DHL寒天培地,チヨコレート寒天培地

製造会社
 日本ペントンディンクンボン(BD),日本ペントンディンクンボン(BD),日本ペントンディンクンボン(BD)
 栄研化学
 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,BD株式会社
 日本BD,日本BD
 日本BD,日本BD,栄研化学,極東製薬
 BBL
 日本BD,日本BD,日本BD,極東製薬
 日本ペントンディンクンボン,日本ペントンディンクンボン,極東製薬株式会社,極東製薬株式会社
 極東製薬,極東製薬,極東製薬,コージンバイオ

表5. 追加で実施した耐性菌検査

No	耐性菌検査	結果	(試薬名・方法名・製品名)	備考
22	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	該当なし	AmpC/ESBL鑑別ディスク	
	微量液体希釈法によるESBLs確認検査(CLSI法)	ESBL(←)		
33	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	陰性		
	メルカプト化合物を用いた阻害試験	陰性	メタローβ-ラクタマーゼSMA'栄研'	
	Double Disk Synergy Test(DDST)法	-		
	メルカプト化合物を用いた阻害試験	-	メタローβ-ラクタマーゼSMA(栄研)	
	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	-		
36	ディスク拡散法によるESBLs確認検査(CLSI法)	陰性	ESBLs-CTX/CVA(栄研化学), ESBLs-CPX/CVA(栄研化学)	セフトキシム:6mm, セフトキシム:6mm, ESBLs-CTX/CVA:6mm, ESBLs-CPX/CVA:6mm
	MHT(modified hodge test)	陽性	セフメゾノール(日本BD)	セフトキシム系使用
38	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	陰性	メロペネム(日本BD)	22mm
	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	AmpCかつ外膜透過性変異株:陽性	カルハバペネマーゼ鑑別ディスクPlus(関東化学)	A:6mm, B:6mm, C:11mm, D:11mm, E:18mm
	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	陰性	mCIM	
	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	AmpC+外膜透過変異株	関東化学 カルハバペネマーゼ鑑別ディスク	
47	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	判定不能(AmpC過剰産生株疑い)	関東化学 AmpC/ESBL鑑別ディスク	阻止円:20mm, 阻止円内部に複数のコロニーがある
	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	判定保留		
50	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	該当なし	AmpC/ESBL鑑別ディスク	
	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	該当なし	カルハバペネマーゼ鑑別ディスク	
	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	陰性		
	メルカプト化合物を用いた阻害試験	陰性	メタローβ-ラクタマーゼ SMA 栄研'	
52	ポロン酸による阻害確認	陽性		
	用手法による遺伝子検査	AmpC陽性		
64	二トセフィン法	陽性	セフイナーゼディスク(BD)	
	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	陽性	メロペネム(BD)	15mm 阻止円内にピンポイントコロニー存在
74	ディスク拡散法によるESBLs確認検査(CLSI法)	陰性	ESBLs-CTX/CVA, ESBLs-CAZ/CVA(栄研)	CTX:6mm, CTX/CVA:6mm, CAZ:6mm, CAZ/CVA:6mm
	メルカプト化合物を用いた阻害試験	陰性	メタローβ-ラクタマーゼSMA(栄研)	CAZ:6mm, CAZ-SMA:6mm, IPM:11mm, IPM-SMA:12mm
152	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	判定保留	Muelter Hinton寒天培地, KBディスク	阻止円径19mm, 阻止
	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	AmpC(+)	AmpC/ESBL鑑別ディスク	
154	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	外膜透過性変異(+)/AmpC(+)	カルハバペネマーゼ鑑別ディスクPlus	
	ポロン酸による阻害確認	AmpC(+)		
157	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	陰性	カルハバペネマーゼ(←)	
	メルカプト化合物を用いた阻害試験	陰性	メタローβ-ラクタマーゼSMA(栄研化学)	22mm
157	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	-	KBディスク(栄研化学)	
	メルカプト化合物を用いた阻害試験	陰性	メタローβ-ラクタマーゼSMA'栄研'	イミペネム, メロペネム, セフトジジム, セフエビムの各薬剤で、5mm以上の阻止帯拡大は認めず。
その他のカルハバペネマーゼ確認検査	mCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)	陰性	KBディスク'栄研'メロペネム	メロペネム:22mm
	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	判定不能	AmpC/ESBL鑑別ディスク	A:6mm, B:6mm, C:10mm, D:10mm。
	その他のカルハバペネマーゼ確認検査	AmpC型β-ラクタマーゼ産生かつ外膜透過性変異	カルハバペネマーゼ鑑別ディスクPlus	A:6mm, B:9mm, C:11mm, D:11mm, E:16mm