

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、バンコマイシン耐性の *Enterococcus faecium* (vancomycin-resistant Enterococci : VRE) を出題した。VRE 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バンコマイシン耐性の *Enterococcus faecium* を出題菌とし、腸球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2024年の公開情報 (https://janis.mhlw.go.jp/report/open_report/2024/3/1/ken_Open_Report_202400.pdf)では、入院検体における *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* のバンコマイシンの耐性率はそれぞれ0.1%未満、2.0%であり本邦におけるVREの分離頻度は低い。しかしながら、近年、バンコマイシン耐性の *E. faecium* の検出頻度は増加傾向にあり、特に一部の県では他県よりも顕著に高い耐性率がみられている。また、今回出題対象としたVREはVanB型であり、バンコマイシン耐性な一方で、テイコプラニンには感性である。VREについては数少ない有効性のある治療薬の感受性を報告に含められるかどうか重要な点である。

1) 試料と出題背景

オープン調査

試料：MB5

検査材料：尿

患者症例：76歳、男性

主訴：発熱

既往歴：なし

現病歴：前立腺がんに対して前立腺全摘術を実施された患者。術後8日目に発熱を認めたが全身状態は良好で術創部の発

赤、腫脹、排膿は認めなかった。原因精査のための検査の一つとして尿培養検査が提出された。

ブラインド調査

試料：MB5

検査材料：尿

患者症例：71歳、女性

主訴：発熱

既往歴：脳梗塞

現病歴：受診14日前から誤嚥性肺炎のため入院していた患者。アンピシリン・スルバクタム投与により解熱し、呼吸状態も改善したため7日前に退院したが、発熱を主訴に外来受診し、原因精査のための検査の一つとして尿培養検査が提出された。なお、脳梗塞による神経因性膀胱のため、入院中は尿道カテーテルが留置され、退院後は間欠的自己導尿を行っている。

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「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腸球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 PCG（ペニシリン）、ABPC（アンピシリン）、VCM（バンコマイシン）、TEIC（テイコプラニン）、DAP（ダプトマイシン）、LZD（リネゾリド）、LVFX（レボフロキサシン）を評価対象とした。

なお、上記の感受性カテゴリーの一致による評価とは別に「精度管理株の感受性判定が精度管理外の結果であった場合」「検査対象薬剤の選定に大きな問題がある場合（必要な薬剤について著しく報告が欠落している場合）」も評価 D とした。

② 耐性因子検出

今回供試した菌株は VanB 型のバンコマイシン耐性 *E. faecium* である。バンコマイシン耐性因子の検査の実施は必須ではないが、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。付表 46 - 5 に精度管理株の薬剤感受性検査結果を示す。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 12 施設のうち、8 施設が *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 株 (MIC 測定)、3 施設が *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 株 (MIC 測定)、1 施設が *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 株 (ディスク拡散法) を用いていた。

評価対象とした薬剤のうち、PCG が *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 株を用いた 1 施設 (No. 22) で、ABPC が *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 株を用いた 2 施設 (No. 22, 50) で精度管理範囲外の結果であったため、これらの 2 施設を評価 D とした。

② オープン調査 (MB5) 同定および薬剤感受性検査結果

オープン調査には 12 施設が参加した。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 *Enterococcus faecium* (code No. 202)、または *Enterococcus faecium* (VRE) (code No. 204) と同定していた。

薬剤感受性検査について、参加 12 施設のうち PCG は 8 施設、ABPC は 12 施設、VCM は 12 施設、TEIC は 10 施設、DAP は 4 施設、LZD は 11 施設、LVFX は 12 施設で測定が実施されていた (表 4)。いずれの薬剤についてもレファレンス施設の結果と判定カテゴリーは一致しており、評価 A であった (ただし、精度管理株の評価で評価 D となった 2 施設を除く)。なお、DAP については、レファレンス施設の結果は「S」であったが、CLSI M100 の最新の判定基準 (ED35) では「SDD」(用量依存的感性) と判定される結果であるため、「S」あるいは「I」と判定されていればカテゴリー一致とみなした (SDD と報告した施設はなかった)。今回の出題菌株が VRE であり、治療薬の選択肢が極めて限定されていることを考えると、その候補となりうる TEIC、DAP、LZD の全てについて薬剤感受性試験結果を報告することが望ましい。

バンコマイシン耐性因子について 1 つの参加施設で的手法により遺伝子検査が実施され、正しく「VanB 遺伝子陽性」の結果を得ていた。

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 17 施設 (施設 No.33 は 3 か所、施設 No.152 は 2 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

Enterococcus faecium (VRE) (code No. 204) と同定していた (付表 46 - 3)。

薬剤感受性検査は参加 17 施設のうち PCG は 8 施設、ABPC は 16 施設、VCM は 15 施設、TEIC は 13 施設、DAP は 2 施設、LZD は 8 施設、LVFX は 17 施設で測定が実施されていた。いずれの薬剤についてもレファレンス施設の結果と判定カテゴリーは一致していた (DAP の判定に関してはオープン調査と同様に対応)。

VCM の薬剤感受性を判定していない 2 施設 (No. 33D, 152B) についても VRE としての報告はなされていたので、VCM の感受性を報告しなかった経緯は不明である。この 2 施設については、腸球菌においては自然耐性であり感受性試験を実施すべきではないセファロスポリン系抗菌薬について、多数の薬剤の感受性試験を実施しており、一方で、必要性の高い VCM、TEIC、LZD、DAP についてはいずれの薬剤の感受性試験も実施しておらず、対象薬剤の選定に大きな問題があると考えられたため評価 D とした (それ以外の 15 施設は評価 A)。

まとめ

VRE の判定はいずれの施設でも問題なく実施できており、また、薬剤感受性試験の結果も、実施された範囲内では正確であった。しかしながら、薬剤感受性試験の実施対象薬剤の選定に

は施設間差があり、一部の施設では大きな不適切な選定が認められた。

抗菌薬感受性試験についてのアンケート

今年度は、感染症法における多剤耐性菌の届出基準の変更への対応状況や、カンジダ・アウリスの検査体制についてのアンケートを実施した。

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌検査の対応状況については、カルバペネマーゼ検査である mCIM 法の実施は半数にとどまった (表 10)。また、カルバペネム感性のカルバペネマーゼ産生菌の届出に必要となるカルバペネマーゼの型別検査については、12 施設中 10 施設が対応していないと回答した (表 8)。ペニシリン耐性肺炎球菌やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の検査については、ほとんどの施設が対応しているとの回答であった (表 12、13)。カンジダ・アウリスの検査対応については、カンジダ属菌の薬剤感受性試験は無菌検体から検出された場合や依頼があった場合に実施していると回答した施設がほとんどであった (表 15)。カンジダ・アウリスの同定は、12 施設中 8 施設が質量分析で対応可能とのことであった (表 16)。一方で、*clade* 解析については対応している施設はなかった (表 18)。

表 1. レファレンス測定結果

		抗菌薬											
		PCG	ABPC	VCM	TEIC	LZD	CPFX	LVFX	GM(高濃度)	EM	MINO	RFP	DAP
ディスク拡散法 (mm)													
KBディスク (栄研)	6	6	6	6	19-21	29-30	6	6	22				
センシディスク (BD)	6	6	6	6	18-19	28-30	6	6	22				
微量液体希釈法 ($\mu\text{g/mL}$)													
レファレンス施設 A	>8	>8	>16	>16	≤ 2	2	>4	>4	4	8	>2		
レファレンス施設 B	>1*	>8	>16	>16	≤ 2	2	>4	>4	4**	8	>2		>1*
レファレンス施設 C	>8	>8	>16	>16	≤ 0.5	2			4	8			4

※ ウェルの都合上ブレイクポイントが出せないため、判定なし
 ※※ 尿路分離株のため、判定なし

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	VITEK MS
36	パイアテック
38	MALDI Biotyper
47	マイクロスキャン
50	ライサス
52	MALDI Biotyper
64	パイアテック
74	MALDI Biotyper
152	MALDI Biotyper
154	使用していない
157	マイクロスキャン
	MALDI Biotyper
	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	VITEK II
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)
152	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 mk II
157	微量液体希釈法	DPS192Ark

表4. 抗菌薬感受性試験成績

(MB5) *Enterococcus faecium* (code No.202)

施設No.	機能	PCG	ABPC	VCM	TEBC	LZD	LVFX	EM	MINO	DAP
33	1	MIC R >8	MIC R >16	MIC R >4	MIC S ≤2	MIC S ≤2	MIC R >4		MIC I 8	
152	1	MIC R >8	MIC R >16	MIC R >4	MIC S ≤2	MIC S 2	MIC R >4	MIC I 4	MIC I 8	
154	1	MIC R >8	MIC R >16	MIC R >4	MIC S =0.5	MIC S =1	MIC R >4			
157	1	MIC R >8	MIC R >16	MIC R >4	MIC S ≤8	MIC S ≤2	MIC R >4		MIC I 8	MIC I 2

製造会社
 1 ドライアクト 栄研1927レポート 栄研化学
 1 15%羊血液薬天培地,BTB寒天培地 日本BD,日本BD
 1 羊血液薬天培地,テコロレト寒天培地,BTB乳糖加薬天培地,MRSA-CI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,極東製薬株式会社,極東製薬株式会社
 1 15%羊血液薬天培地,BTB寒天培地 極東製薬工業株式会社,極東製薬工業株式会社

(MB5) vancomycin resistant *Enterococcus faecium* (code No.204)

施設No.	機能	PCG	ABPC	VCM	TEBC	LZD	LVFX	EM	MINO	DAP	FOM	IPM	MBPM	TC
22	1	MIC R >8	MIC R >8	MIC R >16	MIC S ≤2	MIC S 2	MIC R >4		MIC I 8	MIC S 2				
36	1	MIC R >8	MIC R >8	MIC R >16	MIC S ≤0.5	MIC S 2	MIC R >4		MIC I 8	MIC I 2				
38	1	MIC R ≥16	MIC R ≥16	MIC R ≥32	MIC S ≤8	MIC S ≤2	MIC R ≥8		MIC I 8					
47	1	MIC R >8	MIC R >8	MIC R >16	MIC S ≤8	MIC S ≤2	MIC R >4		MIC I 8					
50	1	MIC R ≥16	MIC R ≥16	MIC R ≥32	MIC S ≤1	MIC S 2	MIC R ≥8	MIC I 4	MIC I 8			MIC R ≥16		
52	1	MIC R ≥16	MIC R ≥16	MIC R ≥32	MIC S ≤0.5	MIC S 2	MIC R ≥8	MIC I 2	MIC R ≥16			MIC R ≥16		
64	1	MIC R >8	MIC R >8	MIC R >16	MIC S 20	MIC S ≤1	MIC R >4		MIC R 12	MIC S ≤1	MIC R >128			
74	1	BBL R 6	BBL R 9	BBL R 9	BBL S 20	BBL S 27	BBL R 6	BBL I 16	BBL R 12					BBL R 9

製造会社
 1 15%EPJ血液薬天培地,BTB乳糖加薬天培地 製造会社
 1 15%EPJ血液薬天培地,BTB乳糖加薬天培地 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)
 1 BTB寒天培地,羊血液薬天培地,メチ7カ-VREbhu生培地 極東製薬工業株式会社,極東製薬工業株式会社,関東化学株式会社
 1 羊血液薬天培地,M58,BTB寒天培地 栄研化学,栄研化学
 1 CA添加EPJ血液薬天培地,オリエンション寒天培地,VRE選択培地 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
 1 TSA II 6%羊血液薬天培地,BTB乳糖加薬天培地 BD,BD
 1 TSA II 6%羊血液薬天培地,BTB乳糖加薬天培地 日本BD,日本BD
 1 血液薬天培地(ヴァ),テコロレト寒天培地No.2,BTB寒天培地 極東製薬,極東製薬,極東製薬

表5. 追加で実施した耐性菌検査

No	耐性菌検査	結果	(試験名・方法名・製品名)	備考
50	的手法による遺伝子検査	Van B遺伝子陽性	PCR法	

◎抗菌薬感受性試験についての設問

1. 「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第12条第1項及び第14条第2項に基づく届出の基準等について(一部改正)(令和7年3月26日、感感発0326第8号)」により、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症、ペニシリン耐性肺炎球菌感染症及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症の届出のために必要な検査所見が、以下のように変更となりました(抜粋)。

○カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症

分離・同定による腸内細菌目細菌の検出かつ、次のいずれかを満たすことを確認

ア メロペネムのMICが $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク(KB)の阻止円直径が 22mm 以下であること

イ 薬剤感受性試験の結果が上記、アを満たさない場合であっても、イムノクロマト法によるカルバペネマーゼ産生、又はカルバペネマーゼ遺伝子が確認されること

○ペニシリン耐性肺炎球菌感染症

分離・同定による肺炎球菌の検出、かつペニシリンのMICが $0.125\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上であること

○メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症

・オキサシリンのMICが $4\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上

・セフォキシチンのMICが $8\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上、又はセフォキシチンの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が 21mm 以下

2. 「多剤耐性で重篤な感染症を引き起こす恐れのあるカンジダ・アウリスの連絡体制(情報提供及び依頼)の改正について(令和5年5月1日 令和7年1月30日改正、厚生労働省 事務連絡)」により、カンジダ・アウリスを確定するための微生物学的検査が、以下のように定められました。

○カンジダ・アウリス確定株とする場合

・質量分析法を用いた菌種同定において、MALDI biotyper(score value 2.0以上)もしくはVITEK MSにおいて、カンジダ・アウリスと同定された場合

・遺伝子検査において、国立感染症研究所で示した方法を用いたカンジダ・アウリスの特異的プライマーによる定性PCR検査もしくは真菌特異的rRNA遺伝子(ITS領域、D1/D2領域)の塩基配列解析において、カンジダ・アウリスと同定された場合

○カンジダ・アウリス疑い株とする場合

・カンジダ・アウリスが分離培養可能なカンジダ属菌の選択分離培地(CHROMagar™カンジダプラス、関東化学)での典型的な発育が認められる場合

・生化学性状を用いた自動機器等において、カンジダ・ヘムロニー種複合体(Candida haemulonii species complex)を含めたカンジダ・アウリスの近縁種に同定、もしくは同定困難なカンジダ属が分離された場合

・FilmArray® BCID2 パネル(ビオメリュー)において、カンジダ・アウリスが検出された場合

表6 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌について、メロペネムの判定について
対応可能な方法 *重複回答あり

全体(施設数)	12	
MICが2 μ g/mL以上であること	11	(91.7%)
ディスク拡散法の阻止円直径が22mm以下であること	9	(81.8%)
対応していない	0	(0.0%)

表7 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌について、メロペネムのMICによる判定が
可能な場合の測定下限値

全体(施設数)	11	
0.12 μ g/mL	4	(36.4%)
0.125 μ g/mL	1	(9.1%)
\leq 0.25 μ g/mL	1	(9.1%)
0.25 μ g/mL	2	(18.2%)
1 μ g/mL	3	(27.3%)

表8 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌について、カルバペネマーゼ産生又は
カルバペネマーゼ遺伝子の判定で対応可能な方法 *重複回答あり

全体(施設数)	12	
イムノクロマト法	1	(8.3%)
遺伝子検査	1	(8.3%)
関東ディスクやmCIM法 [*] などを行い、疑いを報告している。	1	(8.3%)
対応していない	10	(83.3%)

^{*}mCIM法(modified Carbapenem Inactivation Method):メロペネムディスクを被検菌懸濁液と反応させたのち、メロペネム感性菌(E. coli ATCC25922)を塗布した培地に置き形成される阻止円直径を測定する。カルバペネマーゼ産生菌の場合、メロペネムが分解されるため、形成される阻止円直径が小さくなることを利用した方法(病原体検出マニュアルより抜粋)

表9 表8の確認試験を実施する薬剤感受性の基準

全体(施設数)	3	
mCIM「陽性」もしくは「判定保留」の場合。または、mCIM「陰性」であってもセフェム系およびカルバペネム系薬剤の耐性傾向が強く、ESBLsやAmp-C等の耐性機序に当てはまらない場合に実施する。	1	(33.3%)
MEPM MIC : 2 μ g/mL以上	1	(33.3%)
メロペネムのMIC>0.25および各種 β ラクタム薬のMIC値から	1	(33.3%)

表10 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌について、mCIM法^{*}の実施の有無

全体(施設数)	12	
実施している	6	(50.0%)
実施していない	5	(41.7%)
通常検査で依頼はないが精度管理で対応できるように薬剤は準備している	1	(8.3%)

表11 表10のmCIM法を実施する基準

全体(施設数)	6	
メロペネムのMICが2 μ g/mL以上	3	(50.0%)
MEPMのMIC \geq 0.25 μ g/mLの場合	1	(16.7%)
メロペネムのMIC>0.25 μ g/mLおよび各種 β ラクタム薬のMIC値から	1	(16.7%)
①CAZが耐性で、PIPC/TZP・CTRX・CMZ・CFPM・FRPMのうちいずれか3薬剤以上が耐性の場合。		
②MPMのMICが0.5 μ g/mL以上で、CAZ・PIPC/TZP・CTRX・CMZ・CFPM・FRPMのうちいずれか3薬剤以上が耐性であった場合。	1	(16.7%)
③MPMのMICが0.25 μ g/mL以下でCAZ・PIPC/TZP・CTRX・CMZ・CFPM・FRPMのうちいずれか4薬剤以上が耐性であった場合。		
①～③のいずれかの条件を満たし、SMAディスクによる酵素阻害試験で「陰性」または「判定保留」になった場合に実施する。		
カルバペネム耐性腸内細菌科細菌を疑ったときに実施	1	(16.7%)

表12 ペニシリン耐性肺炎球菌の判定について、
「ペニシリンのMICが0.125 μ g/mL以上であること」の対応の有無

全体(施設数)	12	
対応している	11	(91.7%)
対応していない	1	(8.3%)

表13 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の判定について、対応可能な方法 *重複回答あり

全体(施設数)	12	
オキサシリンMIC測定が4 μ g/mL以上であること	11	(91.7%)
セフォキシチンMIC測定が8 μ g/mL以上であること	11	(91.7%)
セフォキシチンディスク拡散法の阻止円直径が21mm以下であること	10	(90.9%)
対応していない	0	(0.0%)

表14 Candida属同定の実施基準

全体(施設数)	12	
無菌検体のみ(血液、腹水、胸水、髄液、その他の通常無菌的であるべき検体)	2	(16.7%)
起因菌と判断された場合のみ	1	(8.3%)
同定依頼があった場合	4	(33.3%)
無菌検体かつ同定依頼があった場合	2	(16.7%)
血液・髄液・カテーテル先端および左記以外の検体で同定依頼があった場合	1	(8.3%)
無菌材料から酵母様真菌が検出された場合または、真菌培養の依頼があった場合	1	(8.3%)
カンジダの依頼があった場合	1	(8.3%)

表15 Candida属の薬剤感受性検査を実施する基準

全体(施設数)	12	
無菌検体のみ(血液、腹水、胸水、髄液、その他の通常無菌的であるべき検体)	1	(8.3%)
同定依頼があった場合	2	(16.7%)
血液で同定依頼があった場合	1	(8.3%)
薬剤感受性検査依頼があった場合	7	(58.3%)
感受性検査の依頼が少ないためディスク拡散法を実施しています。そのため、Candida属の薬剤感受性検査の実施は対応しておりません。	1	(8.3%)

表16 カンジダ・アウリス確定株とする場合、対応可能な方法 * 重複回答あり

全体(施設数)		12
MALDI Biotyper	8	(66.7%)
VITEK MS	2	(16.7%)
遺伝子検査	0	(0.0%)
対応していない	4	(33.3%)

表17 カンジダ・アウリス疑い株とする場合、対応可能な方法

全体(施設数)		12
CHROMagar™カンジダプラス	2	(16.7%)
FilmArray® BCID2 パネル	0	(0.0%)
CHROMagar™カンジダ II 培地	1	(8.3%)
対応していない	9	(75.0%)

表18 カンジダ・アウリスのclade I~IV解析の対応の有無

全体(施設数)		12
対応している	0	(0.0%)
対応していない	12	(100.0%)