

当院における薬剤耐性菌の検出状況と検査法について

◎長谷部 淳¹⁾
松山赤十字病院¹⁾

【はじめに】

薬剤耐性(antimicrobial resistance : AMR)は、日本を含め世界中で問題視されており、2019年には全世界で127万人が耐性菌を直接の原因として死亡したことが報告された。また、このまま何も対策を取らないと2050年には1,000万人が耐性菌関連感染症で死亡するのではないかと推定されている。医療現場におけるAMR対策は、抗菌薬適正使用と感染対策が非常に大切な鍵となり、それらを実践することが現在あるいは近い将来、耐性菌によって失われる命も守ることに繋がると考えられる。我々検査技師はAMR対策の一環として①迅速な検査結果報告、②耐性菌を見落とさない、③得られた結果を適正な抗菌薬治療に繋げる、④院内伝播防止など、様々な役割を担うことができる。本シンポジウムでは当院における薬剤耐性菌の検出状況やその検査法、抗菌薬適正使用や院内伝播防止に向けた取り組みを紹介したい。なお、本抄録では当院の取り組みの一部を抜粋して記載する。

【迅速な検査結果報告に向けた取り組み】

当院では、2016年から同定検査に質量分析装置MALDI Biotyper(Bruker)をメインとして運用しており迅速な同定が可能となった。特に血液培養検査では培養液からの直接同定により陽性シグナル検出から1時間以内に菌名まで報告している。一方で、菌名は判明しても感受性試験結果報告には従来通り1~3日間を要し、治療薬は広域抗菌薬あるいはアンチバイオグラムを活用し感性率の高い抗菌薬の使用を主治医に一任せざるを得なかった。そこで、我々は日常的に遭遇する耐性菌であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)や基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生の有無をスクリーニング培地やKBディスクを用いることで一日でも早く推定し、適正治療に繋げる取り組みを行ってきた。現在は上記の他に、さらなる報告時間短縮のため、*S. aureus*では新型コロナ流行時に導入した遺伝子検査装置GeneXpert(Cepheid)を活用して血液培養陽性時には直接同定で*S. aureus*と確定後約1時間でMRSAとMSSAとの鑑別、*E. coli*では当院考案法(詳細は発表で)によりESBL産生性の有無を菌名判明から約2時間で報告することにより、初期治療における適正抗菌薬の選択に貢献をしている。

【耐性菌を見落とさない~腸内細菌目細菌を中心に~】

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌(CRE)、カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌(CPE)、ESBL産生菌およびAmpC型β-ラクタマーゼ(AmpC)産生菌は、いずれも腸内細菌目細菌に共通した薬剤耐性菌である。中でもCRE(CPE)やESBL産生菌は、2017年にWHOが発表した抗生物質に耐性を示す「優先度の高い(新規抗生物質の必要性)病原菌」のCritical(最高レベル)に分類されている。日本においてもESBL産生菌は既に市中に蔓延し、CRE(CPE)も頻度は高くないが散見される。特にCPEはプラスミド性のカルバペネマーゼを産生し、多剤耐性となるのみならず菌種を超えて伝播することから危険性が高い。5月には新型コロナ感染症が5類へ移行し、今後は海外との往来が活発になるとCPEの国内への持ち込みのリスクも増加すると想定されるため、感染対策においてCPE検出は重要と考えられる。当院では、検出頻度やコスト等の問題から遺伝子検査やスクリーニング培地等を用いての積極的なCPEの検出は実施していないが、ステルス型とされるCPE(メロペネムやイミペネムのMIC<2mg/L)を見落とさない対策としてEUCASTのCPEスクリーニング基準であるメロペネムのMIC>0.125(≧0.25)mg/Lの際にはm、eCIMを実施している。また、感度・特異度の問題からMEPMだけではなく、ピペラシリン/タゾバクタムやラタモキシセフのMICも参考にしている。

【まとめ】

AMR対策として抗菌薬適正使用と感染対策は重要な両輪であり、我々微生物検査技師にはそれらの基となる正確な微生物検査結果報告が求められる。各施設においては、導入している検査機器や試薬の面で検査実施に限界はあると思われるが、各施設が最大限のパフォーマンスを発揮することがAMR対策に繋がり、現在あるいは未来の耐性菌によって失われる命を救うことに繋がると考えられる。本シンポジウムで紹介する我々の取り組みが、多少なりとも明日からの皆様が実施する検査の一助になれば幸いである。

連絡先 : 089-924-1111 (内線 6233)

当院における薬剤耐性菌検査の実際

◎林 菜穂¹⁾
高知赤十字病院¹⁾

【はじめに】

薬剤耐性菌による感染症の報告は年々増え続けており、その対策は世界規模で実施されている。微生物検査室には、迅速かつ正確な薬剤耐性菌の検出が求められるが、その検出方法は施設により異なっているのが現状である。

今回、当院が日常的に行っている主な薬剤耐性菌の検査方法や報告体制、検出状況について共有させていただきたいと思う。

【当院の薬剤耐性菌の検査方法】

・ MRSA：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌

喀痰全例とグラム染色でブドウ球菌が推定された検体では、スクリーニング培地としてアキュレート™MS-CFX 寒天培地（島津ダイアグノスティクス株式会社）を使用している。ハローを形成した黄色の集落を認めただけの場合には MRSA を推定し、質量分析装置で同定を行い、薬剤感受性検査を実施する。

血液培養陽性検体で *Staphylococcus aureus* が同定または推定された場合には、GeneXpert MRSA/SA BC「セフイェド」（ベックマン・コールター）にてリアルタイムPCRを実施する場合もある。

・ ESBL 産生グラム陰性桿菌

グラム染色で腸内細菌目を推定する陰性桿菌を認めた場合には、スクリーニング培地としてクロモアガーオリエンタシオン/ESBL 分画培地（関東化学株式会社）を使用している。ESBL 確認試験は AmpC/ESBL 鑑別ディスク（関東化学株式会社）にて実施している。

・ CRE：カルバペネム耐性腸内細菌目細菌

スクリーニング培地は使用しておらず、薬剤感受性検査にて MEPM または IPM+CMZ に耐性を示す菌株に対し、mCIM テストと GeneXpert Carba-R にてリアルタイム PCR を実施している。

【薬剤耐性菌の検出状況】

・ MRSA

2013 年から 2022 年までの 10 年間の分離率は、入院患者で 54.7% から 43.8% と約 10% 低下しているが、外

来患者では 43.0% から 53.7% と上昇している。

JANIS の全集計対象医療機関の分離率（2021 年）と比較すると、外来患者からの分離率が高い傾向にある。

・ ESBL 産生グラム陰性桿菌

2013 年から 2022 年までの分離率は、*Escherichia coli* が 17.3% から 24.1% と上昇しており、*Klebsiella pneumoniae* は 4.2% から 3.1% とやや低下していた。最も分離率が高い菌種は、*Proteus mirabilis* であり 40% を超える年もあった。*Klebsiella oxytoca* は 2013 年には検出がなく、2014 年は 13.0%、2022 年は 13.2% であった。JANIS の全集計対象医療機関の第三世代セファロsporin（CTX）耐性率（2021 年）と比較すると、*E.coli* は MRSA と同様に外来患者からの分離率が高い傾向にあった。

・ CRE

2018 年から 2022 年までの 5 年間の集計では、23 株の CRE を検出し、菌種は *K.pneumoniae* 7 株、*Enterobacter cloacae* 5 株、*Klebsiella aerogenes* 5 株、*E.coli* 4 株、*Citrobacter koseri* 1 株、*Morganella morganii* 1 株であった。GeneXpert Carba-R の結果は、IMP 型が 14 株（*K.pneumoniae* 6 株、*E.cloacae* 3 株、*E.coli* 4 株、*M.morganii* 1 株）、NDM 型が 3 株（*K.pneumoniae* 1 株、*K.aerogenes* 1 株、*C.koseri* 1 株）、陰性が 6 株であった。

【今後の課題】

当院で実施している薬剤耐性菌検査は十分とは言えず、近年増加している VRE に対するスクリーニング検査は実施していない。また CRE の確認検査は MEPM または IPM+CMZ に耐性を示す菌株のみに実施しているため、いわゆる“ステルス型”の耐性菌を見逃している可能性がある。

今回は、他施設の検査状況等を参考に自施設で新たに導入できる検査方法や、改善すべき点などを検討したい。

連絡先：088-822-1201

中規模病院での耐性菌検査の現状

◎筆保 智子¹⁾一般財団法人 津山慈風会 津山中央病院¹⁾

薬剤耐性菌の脅威は年々増している状況にあり、中でも特にグラム陰性桿菌の耐性化は深刻である。日々の検査において、耐性菌を検出し報告することは、適正な治療のためだけでなく院内感染対策上も重要である。また現在では、適正な抗菌薬選択のためにはその耐性機構を正しく知ることが必要であると考えられている。

当院は岡山県北に位置する病床数 525 床の総合病院である。岡山県北では唯一の救命救急センターを保有しており、周辺の医療機関からの紹介により重症患者が集まる環境である。医療曝露歴のある患者が集まりやすい環境から耐性菌保菌者も多く、他施設や施設などからの入院患者受け入れ時や、救命救急センターへの入室時に耐性菌保菌調査を実施している。スクリーニング検査としては鼻腔内の MRSA 保菌と、腸管内の VRE 保菌を調査しているが、ESBL やカルバペネマーゼなどを産生するグラム陰性桿菌の保菌状況の調査や、外国人や渡航歴のある患者のスクリーニングは現時点では行っていない。

院内では、新生児が周囲の環境や他の児の保有している菌を保菌しやすいことから、NICU 入室中の新生児に対して ESBL 産生菌および MRSA のアクティブスクリーニングを実施している。また過去に ESBL 産生菌のアウトブレイクが起こった際の経験から、母親の保菌している耐性菌が分娩時に児に伝播する可能性を考え、当院で出産予定の妊婦に対して GBS の保菌調査と同時に ESBL 産生菌の保菌調査を実施している。

2020 年からの新型コロナウイルス流行において、多くの施設で遺伝子検査が導入されたが、当院でも複数の遺伝子検査機器を導入した。今後、これらの機器をどのように生かしていくかが現在の課題である。特に重症感染症においては薬剤耐性の検出は適正な治療のために重要であり、迅速性が求められるため遺伝子検査の迅速性が生かされる。血液培養ボトルの内容液を直接検査することで菌種および薬剤耐性遺伝子を短時間で検出することができる試薬が保険適応となっているが、当院では血液培養に対する遺伝子検査は未導入であり、感受性ディスクを用いて薬剤耐性の推定を行っている。グラム陰性桿菌においては ESBL や AmpC といった β -ラクタマーゼを産生している場合は

必要に応じて当日中に抗菌薬の変更を提案しているが、Staphylococcus 属菌が発育した際の mecA 遺伝子検出について現在検討中である。

連絡先 0868-21-8111

中小規模病院における薬剤耐性菌の動向・検査状況

◎桑原 隆一¹⁾
JR 広島病院¹⁾

【はじめに】

2016年にJR西日本旅客鉄道株式会社 広島鉄道病院から医療法人 JR 広島病院へと移転し、病床数は275床で感染対策向上加算1を取得しており、細菌検査は1.5名で担当している。今回は当院における薬剤耐性菌の動向および検査状況を報告する。

【methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : MRSA】

MRSAはMicroScan（ベックマン・コールター）のMICパネルに搭載されているM-PIPCとCFXにより判定を行っている。2020年にコロナ禍でGeneXpert（ベックマン・コールター）を導入した。血液培養陽性検体は直接MALDI Biotyper（Bruker）で解析した後、*S. aureus*と同定された検体をXpert MRSA/SA BC「セフェイド」試薬で*mecA*と*SCCmec*遺伝子を検出し、MRSAか否かを迅速に報告している。その他はMRSA選択培地などを使用せず、迅速報告が必要な菌株はEUCASTのRASTを参考にしてCFXによるディスク法で報告している。院内感染対策として必要時にCica Geneus® Staph POT KIT（関東化学）を使用し、薬剤感受性結果と合わせてICTやICCで報告している。

【vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. : VRE】

VREは2020年から広島市内の複数施設でVanA型*E. faecium*が検出され、多くの株がST80でCC17による地域への拡散が示唆された。薬剤感受性はVCMとTEICに $>16 \mu\text{g/mL}$ を示す株であり、当院でも一時的にVRE選択培地を使用していたが、現在は血液寒天培地にVCMとAZTのディスクを使用し、病棟から提出される便のスクリーニングを行っている。

【extended-spectrum β -lactamase : ESBL】

ESBLは*Escherichia coli*や*Klebsiella* spp.、*Proteus mirabilis*などに対しMicroScanのMICパネルに搭載されているCPDXとCPDX/CVAのMICを比較し判定を行っており、ESBLと判定した場合、CAZやAZTのMICが低い場合でもカテゴリーを耐性「R」に変換し報告している。迅速法としては尿培養でグラム陰性桿菌が認められた検体をBTB寒天培地に画線塗抹する際、CPDXとCFPMを置き、翌日阻止円によりESBLの可能性がある場合その旨を報告している。特にUrosepsisで入院され、初期治療で第3世代セフェム系薬を使用している患者の抗菌薬変更にも有効である。

*Klebsiella oxytoca*のOXY β -ラクタマーゼ産生菌はPIPC/TAZおよびCPZ/SBT耐性でESBLと鑑別している。*Enterobacter cloacae*で第3、第4世代セフェム系薬が耐性の場合、AmpC過剰産生かESBLか薬剤感受性では判定が困難なため、アミノフェニルボロン酸やクラブラン酸による阻害試験を行い、原因となる β -ラクタマーゼを確認し報告している。

【carbapenemase-producing *Enterobacterales* : CPE】

CPEは2009年から広島県でIMP-6とCTX-M-2を同時に産生する*K. pneumoniae*が検出され、耐性遺伝子が同一プラスミド上に存在するため、その後*E. coli*や*P. mirabilis*など複数の菌種から検出された。確認試験では、メタロ- β -ラクタマーゼ（MBL）はメルカプト酢酸ナトリウム（SMA）ディスクとCAZ、CMZ、FMOX、MEPMで阻害が認められ、ESBLはクラブラン酸と第4世代セフェム系薬で阻害が認められるという特徴を示す。当院ではIPM感性MEPM耐性を示す薬剤感受性パターンなどから本耐性菌を疑い、これらのディスクによる阻害試験で検出している。また、自動機器ではMEPM感性和判定されるMIC 0.25~1 $\mu\text{g/mL}$ の株の中にステルス型CPEが隠れていることがあり、これをどのように検出していくかが問題となっている。EUCASTや4学会が提唱している疫学的カットオフ値MEPM $>0.125 \mu\text{g/mL}$ やLMOX、FRPMなどによりスクリーニングできる薬剤感受性パネルの使用が望まれる。カルバペネマーゼ検出試験はmCIMや、研究用試薬であるがXpert® Carba-RではKPC、NDM、VIM、OXA-48、IMP-1を容易に検出できるため有用である。

【multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : MDRP】

MDRPは当院での検出は稀であるが、MBL非産生株が多く、今年に入り約15年ぶりにMBL産生株が検出された。SMAディスクとCAZ、CFPM、IPM、MEPMの阻害を確認し耐性機構を推定している。

【まとめ】

薬剤耐性菌は年々変動しており、国内や地域によりどのような耐性菌が検出されているのかを把握し、自施設で実施可能な方法で検出しなければならない。また、患者背景や感染部位、使用抗菌薬などの情報を元に、抗菌薬の変更が必要な場合や院内感染対策では迅速な報告が必要である。