

平成29年度青臨技感染制御部門精度管理調査報告書

感染制御部門精度管理委員 公立七戸病院 小又誉史
感染制御部門長 弘前市医師会健診センター 月足正辰

I はじめに

平成29年度の感染制御部門のサーベイは現在、世界的な問題となっているカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 CRE（カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 CPE）に関連するものと考え、各施設がなるべく同条件で実施できるようカルバペネマーゼ鑑別ディスク Plus（関東化学）での耐性機構の鑑別を実施した。

II 参加施設数

	東青	中弘南黒	西北	上十三	三八	下北	合計
施設数	6	10	3	5	4	1	29

III サーベイの概要・菌株

試料	鑑別ディスク	採取容器	菌株の由来
No.1	○	シート・スワブ γ3号'栄研'（栄研）	<i>Escherichia coli</i> (ATCC® BAA-2340™)
No.2	○	シート・スワブ γ3号'栄研'（栄研）	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC® BAA-1705™)

IV 集計結果と解答

カルバペネマーゼ鑑別ディスク Plus について（メーカー資料より）

●使用目的

腸内細菌科の細菌にはカルバペネム系抗菌薬を分解する酵素、いわゆるカルバペネマーゼを産生する株がある。このカルバペネマーゼ産生腸内細菌を鑑別するための試薬である。基質にはファロペネムを使用して検出感度を高めている。また、テモシリンのディスクを加え、OXA-48の鑑別にも利用できるようにしている。

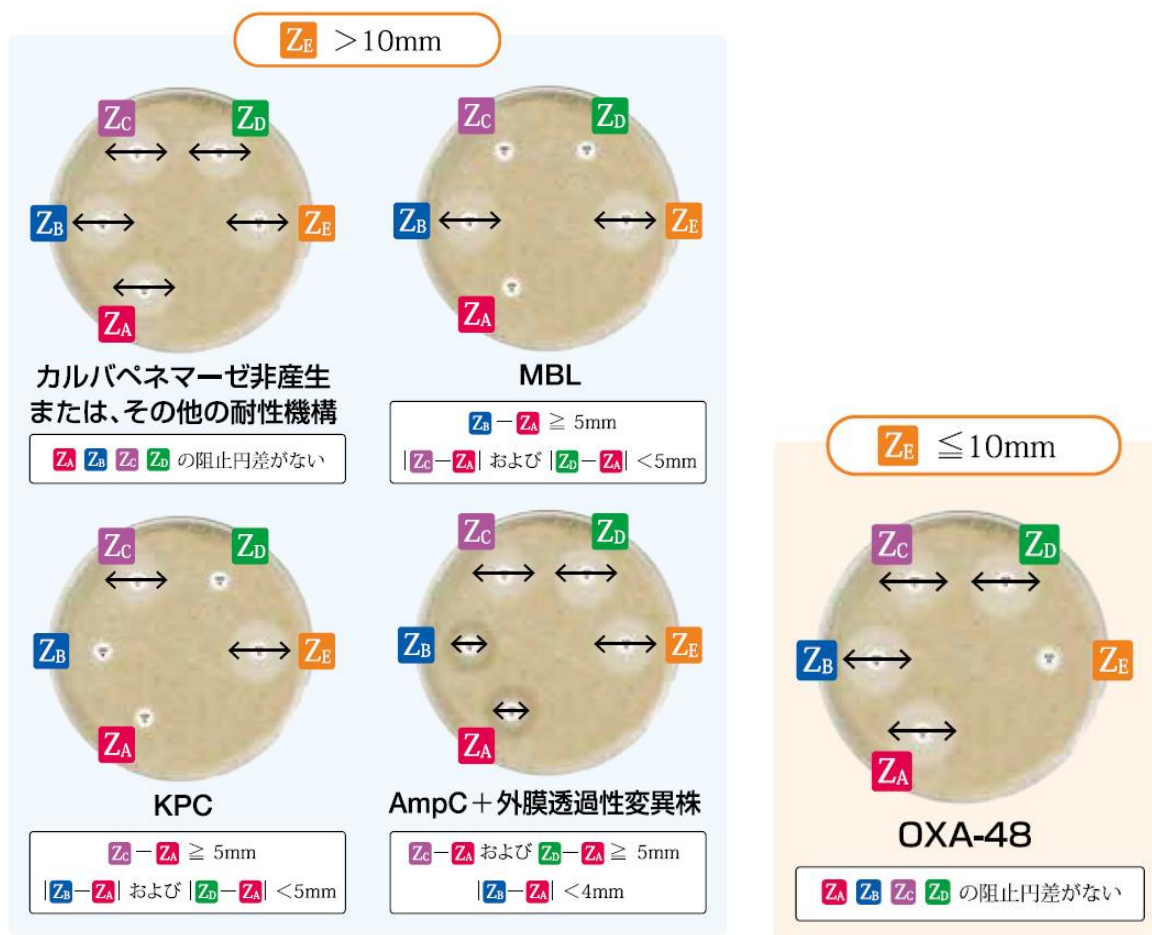
●操作方法

- ①分離培養したコロニーを使用し、McFarland 0.5 濁度に調整した菌液を作る。
- ②ミュラーヒントン寒天培地等の感受性試験用平板に菌液を塗り広げる。
- ③塗抹した平板上に各ディスクをのせる。各ディスクは阻止円が読み取れるように十分に離して設置。
- ④35～37℃で 18～24 時間培養する。
- ⑤各ディスクの阻止円直径を mm 単位で測り、記録する。
- ⑥判定方法に従って阻止円の差を計算し、鑑別する。

※カートリッジの種類と含有薬剤(/ディスク)

- A ファロペネム 10 μg
- B ファロペネム 10 μg + MBL 阻害剤
- C ファロペネム 10 μg + KPC 阻害剤
- D ファロペネム 10 μg + AmpC 阻害剤
- E テモシリン 30 μg + MBL 阻害剤

●判定方法は下図や添付文書等を参照



【試料 No.1】

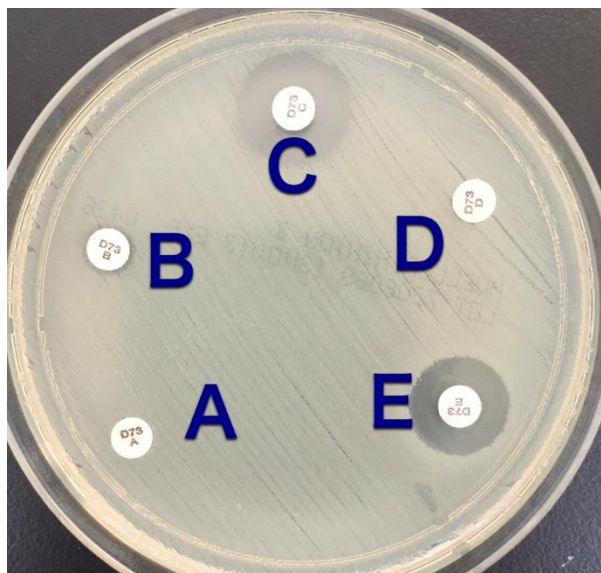
Escherichia coli (ATCC® BAA-2340™)

正解 1. KPC

耐性機構	回答数	%
1. KPC	29	100
2. MBL	0	0
3. OXA-48	0	0
4. AmpC+外膜透過性変異	0	0
5. カルバペネム非産生または、その他の耐性機構	0	0

全施設で KPC と回答が得られ、良好な結果であった。

実施結果例



$C-A \geq 5 \text{ mm}$

さらに

$|B-A|$ および $|D-A| < 5 \text{ mm}$

以上から KPC 産生菌と判定される。

※詳細は添付文書を参照

【試料 No.2】

Klebsiella pneumoniae (ATCC® BAA-1705™)

正解 1. KPC

耐性機構	回答数	%
1. KPC	27	93.1
2. MBL	0	0
3. OXA-48	0	0
4. AmpC+外膜透過性変異	1	3.5
5. カルバペネマーゼ非産生または、その他の耐性機構	1	3.5

27施設でKPCとの回答が得られ、概ね良好な結果が得られた。AmpC+外膜透過性変異とカルバペネマーゼ非産生または、その他の耐性機構との回答がそれぞれ1施設ずつあったが、継代を重ねるとコンタミが無くても阻止円中にコロニーが発育する場合もあり、判定を難しくした可能性も考えられる。なお、本菌は改良ホッジテストで用いられる陽性コントロール株である。

実施結果例



試料1と同様に

$C-A \geq 5 \text{ mm}$

さらに

$|B-A|$ および $|D-A| < 5 \text{ mm}$

以上から KPC 産生菌と判定される。

※詳細は添付文書を参照

V まとめ

カルバペネム系薬に対する耐性を示す腸内細菌科細菌の増加が問題になっている。また、カルバペネムに感性を示すステルス型とよばれる株も問題を難しくしている。

このような問題へ向けて日本臨床微生物学会を含む四学会連携提案として『カルバペネムに耐性化傾向を示す腸内細菌科細菌の問題（2017）－カルバペネマーゼ産生菌を対象とした感染対策の重要性－』をまとめ、今日の検査法では検出されないカルバペネムに耐性化傾向を示す菌の重要性を指摘している。なかでも、「自動機器では感性与判断されるメロペネムの MIC 0.25–1 μ g/mL の株の中にカルバペネム分解酵素（カルバペネマーゼ）を産生する菌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大きな問題となっている」と懸念されている。

そしてこの提言ではカルバペネム耐性に関してはメロペネムを基準に判定すること、また耐性メカニズムとしてはカルバペネマーゼを産生する菌、すなわち CPE をターゲットとする耐性菌サーベイランスおよび感染対策を推奨することとしている。将来的には、メロペネムの感受性試験の濃度域の広域化が必要となってくる。現時点の対応として「カルバペネム系薬の MIC 結果に加えて、他の β ラクタム剤の MIC 成績を参考に、通常とは異なる感受性パターンを示す株に対しては積極的にカルバペネマーゼ産生試験などを実施することが重要となる」と述べている。

今回実施したカルバペネマーゼ鑑別ディスク Plus の他に、CIM 法、CarbaNP 法、SMA ディスクなども挙げられているが、それらを実施できる検査室の環境を整えるのもまたコストの問題も発生し、なかなか難しいのが現状である。なお、国内で分離される CPE の多くは β ラクタマーゼのクラス B 型（メタロ β ラクタマーゼ MBL）に分類される IMP 型である。もし MBL 産生以外の CPE（KPC や OXA）が検出された場合には、専門施設に依頼し、遺伝子関連検査の実施が推奨されている。CPE が検出された場合、現場スタッフへの対応として接触感染防止策の徹底基本とし「MRSA 感染患者に準じた対応」や「糞便の取り扱いには特に注意する」などといった具体的な指示を出すことも効果的である。

平成 29 年度精度管理調査は昨年度の青臨技感染制御部門研修会でも取り扱ったことのあるカルバペネマーゼ鑑別ディスク Plus を用いた。各施設なるべく同条件で実施可能なものと考え行っていたが、結果は概ね良好な結果が得られた。しかし、菌株の準備に時間を要してしまい、結果的に 2 試料とも KPC 産生株になってしまったのが反省すべき点である。カルバペネマーゼ鑑別ディスク Plus は簡便であるが、腸内細菌科細菌のみに用いることや、ESBL 産生性のある外膜透過変異株は判定できないことなどに注意する必要がある。また、複数の酵素を産生する菌ではあいまいな結果となるため遺伝子検査や他の方法で確認する必要がある。

CRE や CPE はじめとした耐性菌を取り巻く状況は日々進行している。検査法、治療法、感染対策などの最新の情報を収集し、臨床の現場へ役立つデータや新しい知見等を提供できる体制が望まれる。