

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、日常的に検出される頻度の高い細菌とその薬剤感受性検査を目的として実施した。ここ数年は院内感染対策上問題となる薬剤耐性菌を出題したが、概ね良好な検査が行われていることから本年度は日常的な検査で高頻度で検出される *Staphylococcus aureus* を出題菌とした。オープン調査・ブラインド調査ともにメチシリン感受性の *S. aureus* (Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*: MSSA) で、MSSA 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 MSSA について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 2022 年の年報 (外来検体: https://janis.mhlw.go.jp/report/open_report/2022/3/1/ken_Open_Report_202200_Outpatient.pdf、入院検体: https://janis.mhlw.go.jp/report/open_report/2022/3/1/ken_Open_Report_202200.pdf) では、*S. aureus* の分離率は外来検体では 8.23%、入院検体では 12.87% と主要な分離菌の一つとなっている。また、外来・入院いずれも半数以上は MSSA であり、MSSA の治療に用いられる β -ラクタム系抗菌薬の薬剤感受性はとても重要なものとなる。

1) 試料と出題背景

オープン調査

試料: MB5

検査材料: 血液

症例: 55 歳、男性

主訴: 全身倦怠感、発熱

既往歴: 特になし

現病歴: 10 日前からの全身倦怠感と 38 度台の発熱を認め外来を受診。診察では呼吸音、心音に異常は認められなかった。採血では炎症反応の上昇と腎機能の低下を

認めていた。受診時に採取した血液培養ボトル 2 セット 4 本すべてが翌日に陽性となった。経胸壁心エコーを実施したところ疣贅を認めた。

ブラインド調査

試料: MB5'

検査材料: 膿

症例: 62 歳、女性

主訴: 発熱 (38.7°C)、手術創の発赤

既往歴: 大動脈弁狭窄症

現病歴: 大動脈弁狭窄症に対して大動脈弁置換術を実施した。術後 2 週間で退院し近医でフォローとなった。しかし、退院後 (手術後 26 日) に発熱と手術創の発赤が認められた。創部から排膿し培養に提出した。

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何れも CLSI (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; M100-ED33) 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」を正しく判定できるか評価した。

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。これらを基準に下記の評価ランク分類を行った。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。

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 が認められる
評価 C Major Error が認められる（または感染症法で定める薬剤耐性菌基準に偽陽性を示す場合）
評価 D Very Major Error が認められる（または感染症法で定める薬剤耐性菌基準に偽陰性を示す場合）

今回供試した菌株は *blaZ*、*ermA* 遺伝子陽性、*mecA* 遺伝子陰性のメチシリン感受性の *Staphylococcus aureus* (MSSA) である。MSSA は感染症法で規定されている細菌ではなく、院内感染対策で問題となる薬剤耐性菌でもない。本年度の精度管理調査は主に MSSA の治療に用いられる薬剤を対象とした。ただし、マクロライド誘導耐性については評価対象外とした。

評価対象薬剤は次の通りである。

ペニシリン系抗菌薬、第1世代セファロスポリン系抗菌薬の薬剤感受性検査を評価した。評価はレファレンス施設の薬剤感受性結果を基準とした。(表1)

② 耐性因子検出

本菌株は *blaZ* 遺伝子を有しペニシリナーゼを産生する。薬剤感受性検査においてもペニシリンに耐性を示すため実施は必須ではないが、評価対象とはせずに参加施設の実施状況を把握した。また、本菌株は *ermA* 遺伝子を有し CLDM に対して誘導耐性を示す株であるが、評価対象とはせずに実施状況の把握を行った。

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、精度管理株として施設が *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 または *Staphylococcus aureus*

ATCC 25923 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 13 施設が参加した。同定方法はマイクロスキャンが 5 施設、バイテックが 2 施設、質量分析による同定は MALDI Biotyper が 5 施設 (マイクロスキャン、バイテックとの併用がそれぞれ 1 施設)、VitekMS が 1 施設、ライサスが 1 施設、ID テスト SP-18 が 1 施設であった。(表2)

薬剤感受性検査は 13 施設が参加し、1 施設がディスク拡散法、12 施設が微量液体希釈法であった (ライサスの蛍光測定法含む)。(表3)

参加した 13 施設すべての施設が正しく *Staphylococcus aureus* (code No.491)、または *Staphylococcus aureus* (MSSA) (code No.493) と同定していた。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、期待通りすべての施設が正答であった。

薬剤感受性検査はペニシリン G(PCG) を測定した施設が 13 施設中 12 施設、アンピシリン (ABPC) が 6 施設、セファゾリン (CEZ) が 9 施設であり、回答した全施設が PCG、ABPC に耐性、CEZ に感性となり、ペニシリンを除く β -ラクタム系薬剤についてもすべての施設が感性と報告し、すべて A 評価となった。評価対象外の薬剤ではマクロライド系抗菌薬であるエリスロマイシン (EM) を測定した 10 施設はすべて耐性と報告し、クリンダマイシン (CLDM) も回答 10 施設すべてが耐性と報告していた。本菌は CLDM は単剤で測定するとすべて感性となるが、EM が耐性であることから CLDM 耐性の可能性を考慮しディスク法の D-ゾーンテストまたは微量液体希釈法で Erythromycin (EM) 1 μ g + CLDM 0.5 μ g での発育を確認する必要がある。9 施設が誘導耐性試験を実施しすべての施設が CLDM が耐性と判断している。(表4、表5)

③ ブラインド調査 (MB5') 同定および薬剤感受性検査結果 (付表 46 - 3)

参加した延べ 12 施設 (施設 No.23 は 2 か所の医療機関から依頼されたため、実質 11 施設) すべての施設が正しく *Staphylococcus aureus* (code No.491)、または *Staphylococcus aureus* (MSSA) (code No.493) と同定していた。

薬剤感受性検査は PCG を測定した施設が 12 施設中 11 施設、ABPC が 12 施設、CEZ が 11 施設であり、回答した全施設が PCG、ABPC に耐性、CEZ に感性となり、ペニシリンを除く β -ラクタム系薬剤についてもすべての施設が感性と報告し、すべて A 評価となった。評価対象外の薬剤ではマクロライド系抗菌薬である EM

を測定した 10 施設はすべて耐性と報告したが、CLDM は回答 7 施設のうち耐性が 5 施設、感性と報告した施設が 2 施設あった。CLDM を感性と報告した 2 施設は EM を測定していないため、CLSI の EM 耐性 + CLDM が感性または中間の場合にマクロライド誘導耐性検査を実施するという基準を満たさないために CLDM を感性と報告したものと考えられる。

まとめ

今回の調査ではすべての施設がペニシリン系抗菌薬、第 1 世代セファロスポリン系抗菌薬について A 評価となった。菌種同定、精度管理も問題なく良好な結果となった。

表 1. レンファレンス測定結果

		抗菌薬																			
		PCG	CFX	EM	CLDM	LZD	IPM	CPFX	LVFX	GM	MINO	ST	VCM	MPIPC	CEZ	ABK	SMZ/TMP	RFP	TEIC	DAP	
ディスク拡散法 (mm)																					
	KBディスク(栄研)	16-17	30-31	6	24	25		26	28-29	23-24	25										
	センシディスク(BD)	15-16	29-30	6	23-25	23-26		24-26	24	23-26	23-24										
微量液体希釈法 (µg/mL)																					
	リファレンス施設A	> 8	≤ 4	> 4	≤ 0.5	2		≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 2	≤ 2	≤ 1/19	1	2				≤ 0.5	≤ 2	≤ 0.25	
	リファレンス施設B	> 1		> 4	≤ 0.5		≤ 1	≤ 0.5	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0.25	≤ 4	≤ 1	≤ 0.5/9.5	≤ 1			
	リファレンス施設C					1		≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1/19	1						≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	
判定		R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	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	ライサス
50	マイクロスキャン
58	MALDI Biotyper
64	MALDI Biotyper
74	IDテスト SP-18
151	MALDI Biotyper
152	マイクロスキャン
154	MALDI Biotyper
155	マイクロスキャン

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
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
58	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	ディスク拡散法	DPS MIC192/ID
151	微量液体希釈法	センシディスク(BBL)
152	微量液体希釈法	MicroScan WalkAway DxM1096
154	微量液体希釈法	マイクロスキャンWalkAway Plus
155	微量液体希釈法	IA20MIC mkII
		マイクロスキャンWalkAway Plus

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)
33	クリンダマイシン誘導耐性(微量液体希釈法)	+	ドライプレート栄研192プレート(栄研化学)
36	クリンダマイシン誘導耐性(ディスク法 D-zone Test)	陽性	エリスロマイシン(センシディスク)、クリンダマイシン(センシディスク)
38	クリンダマイシン誘導耐性(微量液体希釈法)	耐性	Pos Breakpoint Combo Ij
	耐性菌確認用市販ディスク拡散法検査	感受性	セフォキシチン感受性検査(センシディスク)
47	Penicillin disk zone edge test	陽性	KBディスク
	クリンダマイシン誘導耐性(微量液体希釈法)	陽性	微量液体希釈法
50	クリンダマイシン誘導耐性(微量液体希釈法)	陽性	Walk Away Pos combo IJ
	Penicillin disk zone edge test	陽性	KBディスク栄研 ベンジルペニシリン
58	ニトロセフィン法	陽性	セフイナナーゼディスク(BD)
64	クリンダマイシン誘導耐性(微量液体希釈法)	誘導耐性(+)	ドライプレート栄研
74	クリンダマイシン誘導耐性(ディスク法 D-zone Test)	誘導耐性	ディスク法
151	耐性菌確認用市販微量液体希釈法検査	MSSAと判定	MicroScan WalkAway Pos MIC IJ オキサシリン
	耐性菌確認用市販微量液体希釈法検査	MSSAと判定	MicroScan WalkAway Pos MIC IJ セフォキシチン
	クリンダマイシン誘導耐性(微量液体希釈法)	発育あり	MicroScan WalkAway Pos MIC IJ
152	ニトロセフィン法	ペニシリナーゼ陽性	セフイナナーゼディスク
154	クリンダマイシン誘導耐性(微量液体希釈法)	+	ドライプレート栄研
155	ニトロセフィン法	ペニシリナーゼ陽性	セフイナナーゼディスク