

講習会 ①

(5) 院内感染関連微生物とその検査法
および国内外の疫学

講習会 ②

(6) 院内感染関連微生物とその検査法



順天堂大学医療科学部 臨床検査学科

三澤 成毅

本講義の内容

- 院内感染対策上重要な微生物
- 感染症の検査診断法と注意点
 - 免疫学的抗原検査（POCT）
 - 遺伝子検査（核酸増幅検査）
 - 薬剤耐性菌の検査
- 薬剤耐性菌の疫学

院内感染対策上重要な微生物

感染症	微生物
呼吸器感染症	SARS-CoV-2 インフルエンザウイルス A型, B型 パラインフルエンザウイルス RSウイルス 肺炎マイコプラズマ 結核菌群
眼感染症	アデノウイルス
腸管感染症	ノロウイルス ロタウイルス アデノウイルス
薬剤耐性菌感染症	MRSA <i>Clostridioides difficile</i> VRE ESBL産生腸内細菌目細菌 カルバペネマーゼ産生菌 (NDM, IMPなど) CRE/CPE, MDRP, MDRA

感染症の検査診断法

院内または外注検査で可能な検査を対象（特殊，専門または研究機関による検査は除く）。

特徴	塗抹検査	培養検査	免疫学的抗原検査	遺伝子検査	抗体検査
主な検査の種類 または原理	Gram染色 抗酸菌染色 など	検体・目的菌 別検査 抗酸菌検査	イムノクロマト法 ラテックス凝集法 EIA	核酸増幅法 マイクロアレイ法	イムノクロマト法 EIA, CLIA, CLEIA, ELISA, FIA
迅速性 (検体提出から 結果報告まで)	速い 1時間以内	遅い 1日以上	速い（院内検査） 1時間以内 外注検査2～5日	速い（院内検査） 1時間～1日 外注検査 2～5日	速い（院内検査） 1時間～1日 外注検査2～5日
感度	低い	高い	比較的高い	高い	抗体出現の最適時期であれば比較的高い
特異度	低い	高い	比較的高い 交差反応に注意	高い	比較的高い 交差反応に注意
検査コスト	安価	比較的安価	高価	高価	比較的安価
検査に要求 される熟練度	高い	高い	普通	普通	普通

検査法別にみた微生物の最低検出感度

検査法	最低検出感度 (検体1 mL/1スワブあたり)
Gram染色 直接塗抹 遠心沈渣を塗抹	$\geq 10^5$ CFU $\geq 10^4$ CFU
抗酸性染色 Ziehl-Neelsen染色 蛍光染色	$\geq 10^4$ CFU $\geq 10^3$ CFU
免疫学的抗原検査	$\geq 10^4 \sim 5$ CFU/PFU
核酸増幅検査	$\geq 10 \sim 10^2$ CFU
培養検査 直接分離培養 増菌培養	$\geq 10^2$ CFU $\geq 1 \sim 10$ CFU

感染症POCTが可能な微生物・トキシン

ウイルス	細菌
アデノウイルス インフルエンザウイルスA・B RSウイルス ヒトメタニューモウイルス SARS-CoV-2	レジオネラ菌 肺炎球菌 肺炎マイコプラズマ 百日咳菌 A群溶血性レンサ球菌
単純ヘルペスウイルス 水痘・帯状疱疹ウイルス	クロストリジオイデス・ディフィシル (トキシン) 腸管出血性大腸菌O157 ベロ毒素 ヘリコバクター・ピロリ
ノロウイルス ロタウイルス	
B型肝炎ウイルス (HBV) C型肝炎ウイルス (HCV) ヒト免疫不全ウイルス (HIV)	細菌性髄膜炎起因菌：インフルエンザ菌, 肺炎球菌, B群溶血性レンサ球菌, 髄膜炎菌

インフルエンザウイルス A, B型検査キット



抗原検査における**偽陰性**の要因と注意点

■反応特異性

血清型や抗原性により、反応しない場合がある

Legionella pneumophila 血清型（1～15）、他の菌種

インフルエンザウイルス、ノロウイルス

Neisseria meningitidis（地理的に流行の血清型が異なる）

Streptococcus pneumoniae（ワクチン導入以降、血清型が変化）

→ 症状、疫学（流行状況）を参考に解釈

■採取時期

病巣中の病原体量が少ない発症初期（インフルエンザ）

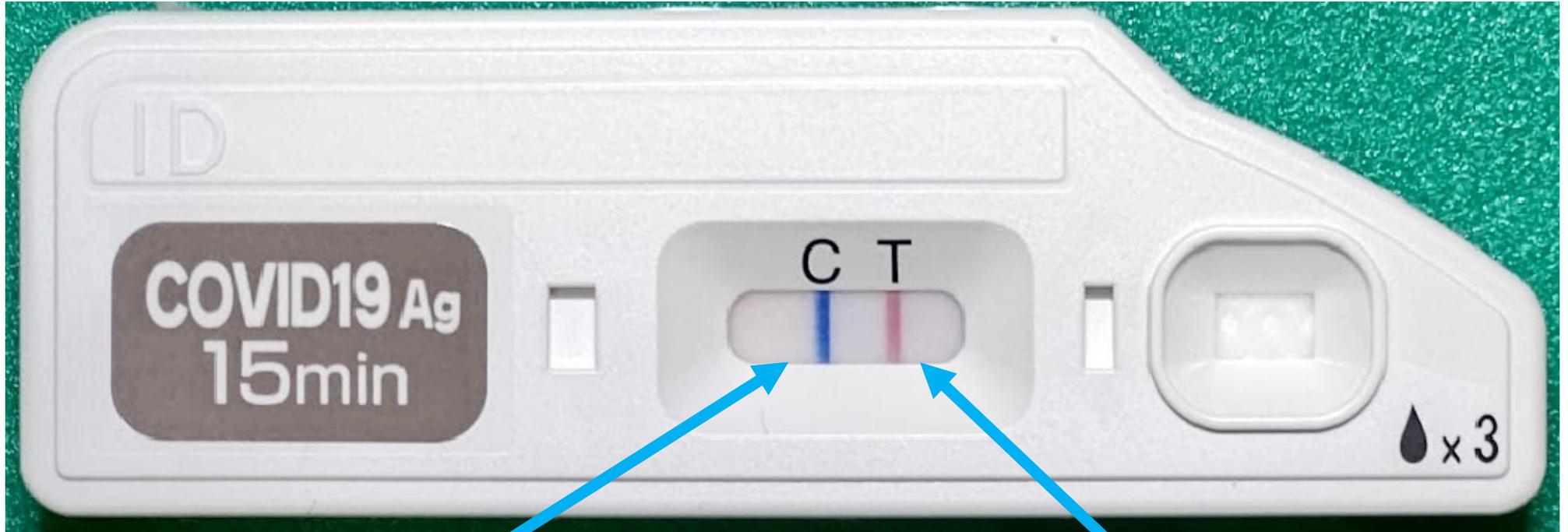
急性期を過ぎた場合、治療開始後

■採取部位

インフルエンザは鼻咽頭検体が推奨、咽頭は検出率が低い

→ 臨床検査部門からの情報提供が重要

抗原定性検査キットによるSARS-CoV-2 陽性例



検査が正しく行われた
ことを示すライン

SARS-CoV-2が存在する
ことを示すライン

Cochraneレビューによる抗原定性検査の評価

Dinnes J et al. Cochrane COVID-19 Diagnostic Test Accuracy Group. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection.

Cochrane Database of Systematic Reviews 2021, Issue 3. Art. No.: CD013705.

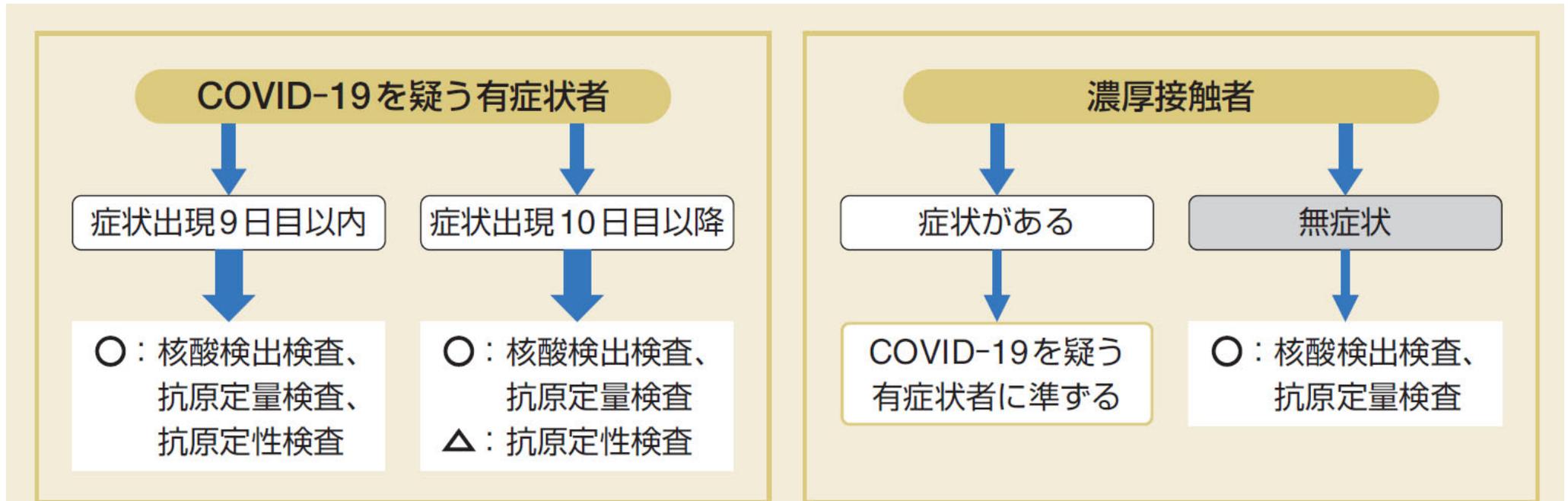
DOI: 10.1002/14651858.CD013705.pub2.

症状の有無／ 発症からの週数	報告／サンプル／例数	感度／特異度（95%CI）
感染確定例 有症状者	37報告 15,530サンプル 4,410例	感度 72.0% (63.7 - 79.0) 特異度 99.5% (98.5 - 99.8)
無症状者		感度 58.1% (40.2 - 74.1) 特異度 98.9% (93.6 - 99.8)
発症1週間以内	26報告 5,769サンプル 2,320例	感度 78.3% (71.1 - 84.1)
発症2週目	22報告 935サンプル 692例	感度 51.0% (40.8 - 61.0)

RT-PCR Ct値	報告／例数	感度（95%CI）
≤25	22報告 2,613例	感度 94.5% (91.0 - 96.7)
>25	36報告 2,632例	感度 40.7% (31.8 - 50.3)

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）病原体検査の指針

第6版 2022年12月22日



症状／接触の有無	ウイルス量	検体と検査の組み合わせ		
有症状 発症～ 9日目以内	多い	鼻咽頭（鼻腔） 唾液	→ 核酸増幅 → 核酸増幅	抗原定量 抗原定量 抗原定性
発症～ 10日目以降	少ない	鼻咽頭（鼻腔）	→ 核酸増幅	抗原定量 抗原定性（核酸増幅／抗原定量による確認）
濃厚接触者 有症状	多い？	鼻咽頭（鼻腔） 唾液	→ 核酸増幅 → 核酸増幅	抗原定量 抗原定量 抗原定性
無症状	少ない	鼻咽頭（ 鼻腔 ） 唾液	→ 核酸増幅 → 核酸増幅	抗原定量 抗原定性（感染拡大地域の医療機関、高齢者施設等で幅広く検査する場合、必要に応じて核酸増幅／抗原定量で確認） 抗原定量

Rt-PCRによるSARS-CoV-2 RNA量と培養陽性率との関係

La Scola *et al*: Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020; 39: 1059-1061.

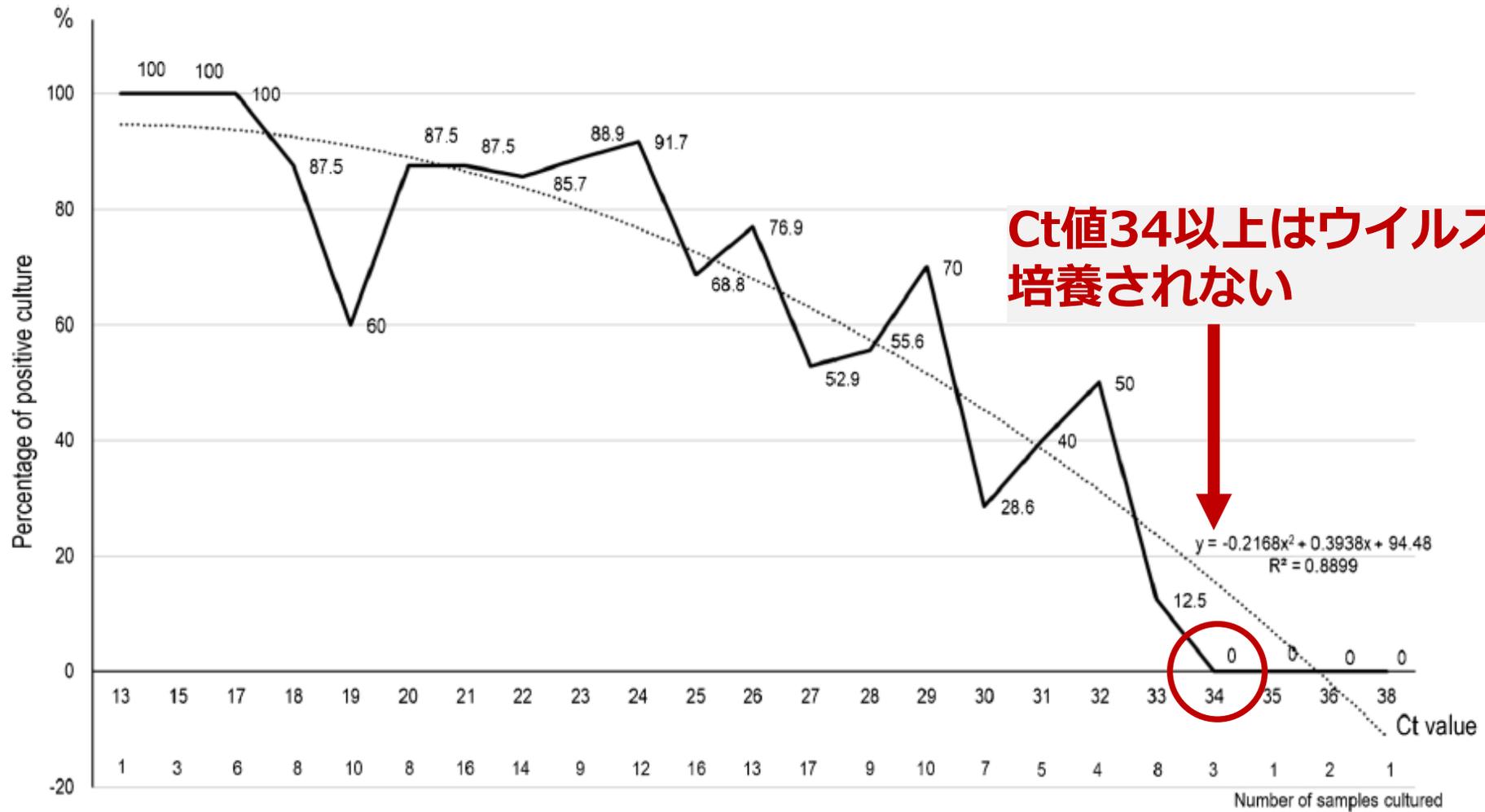


Fig. 1 Percentage of positive viral culture of SARS-CoV-2 PCR-positive nasopharyngeal samples from Covid-19 patients, according to Ct value (plain line). The dashed curve indicates the polynomial regression curve

コバスTaqMan MTBによる検体からの結核菌群検出

Yang Y-C, et al. J Clin Microbiol 2011; 49: 797-801.

■ 結核菌群検出の感度 91.5%, 特異度 98.7%

TABLE 1. Comparison of the results from the Cobas TaqMan MTB test with those from culture

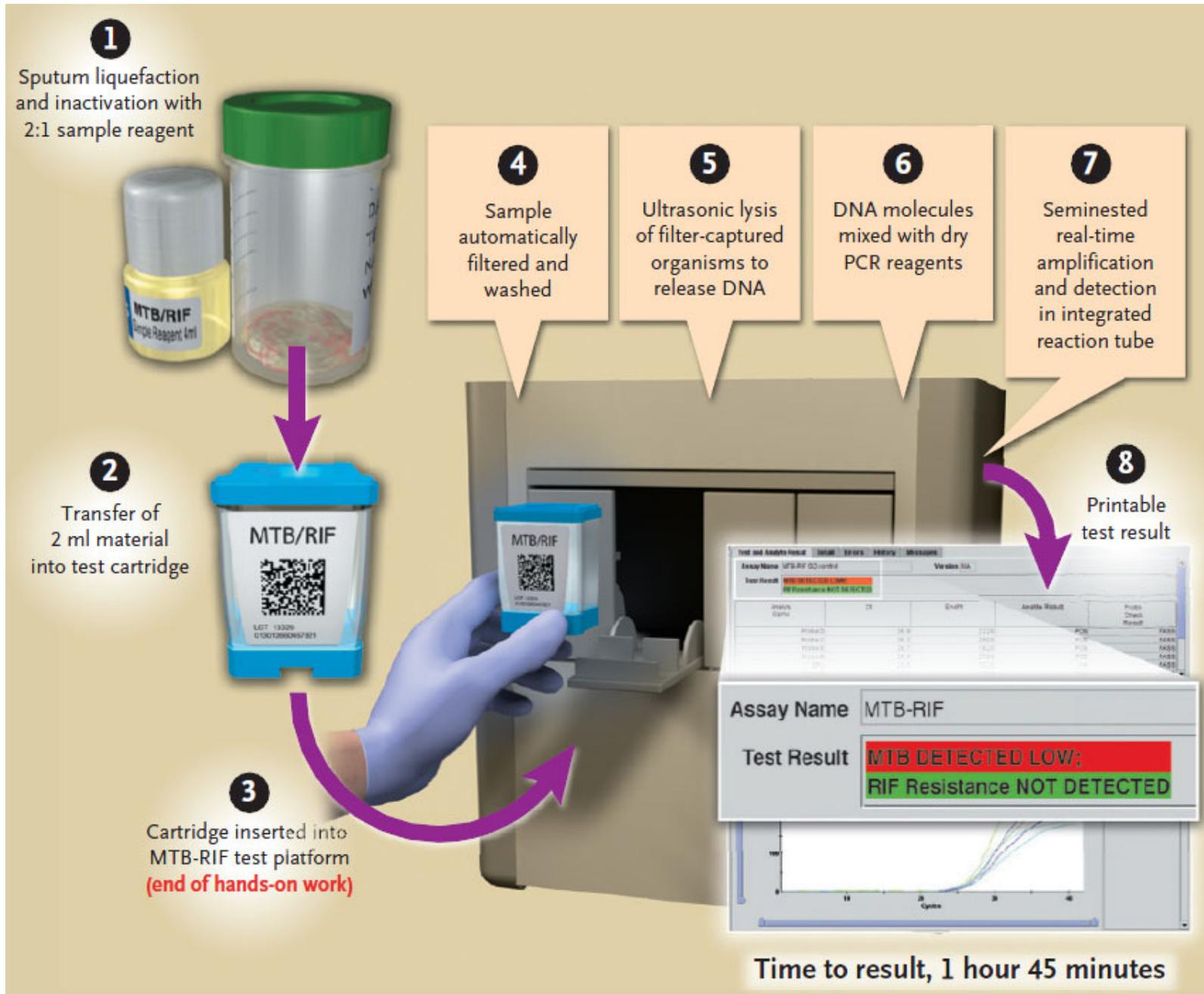
Specimen group (no. of specimens)	Result for Cobas TaqMan MTB test ^a	No. of specimens with culture result		% (95% CI) for Cobas TaqMan MTB test ^b			
		Positive	Negative	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Smear positive (118)	Positive	94	0	96.9 (93.5–1.0)	100 (1.0–1.0)	100 (1.0–1.0)	87.5 (74.3–1.0)
	Negative	3	21				
Smear negative (975)	Positive	35	12	79.5 (67.6–91.5)	98.7 (98.0–99.4)	74.5 (62.0–86.9)	99.0 (98.4–99.7)
	Negative	9	919				
All (1,093)	Positive	129	12	91.5 (86.9–96.1)	98.7 (98.0–99.4)	91.5 (86.9–96.1)	98.7 (98.0–99.4)
	Negative	12	940				

^a The results were adjusted after discrepancy analysis.

^b CI, confidence interval; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

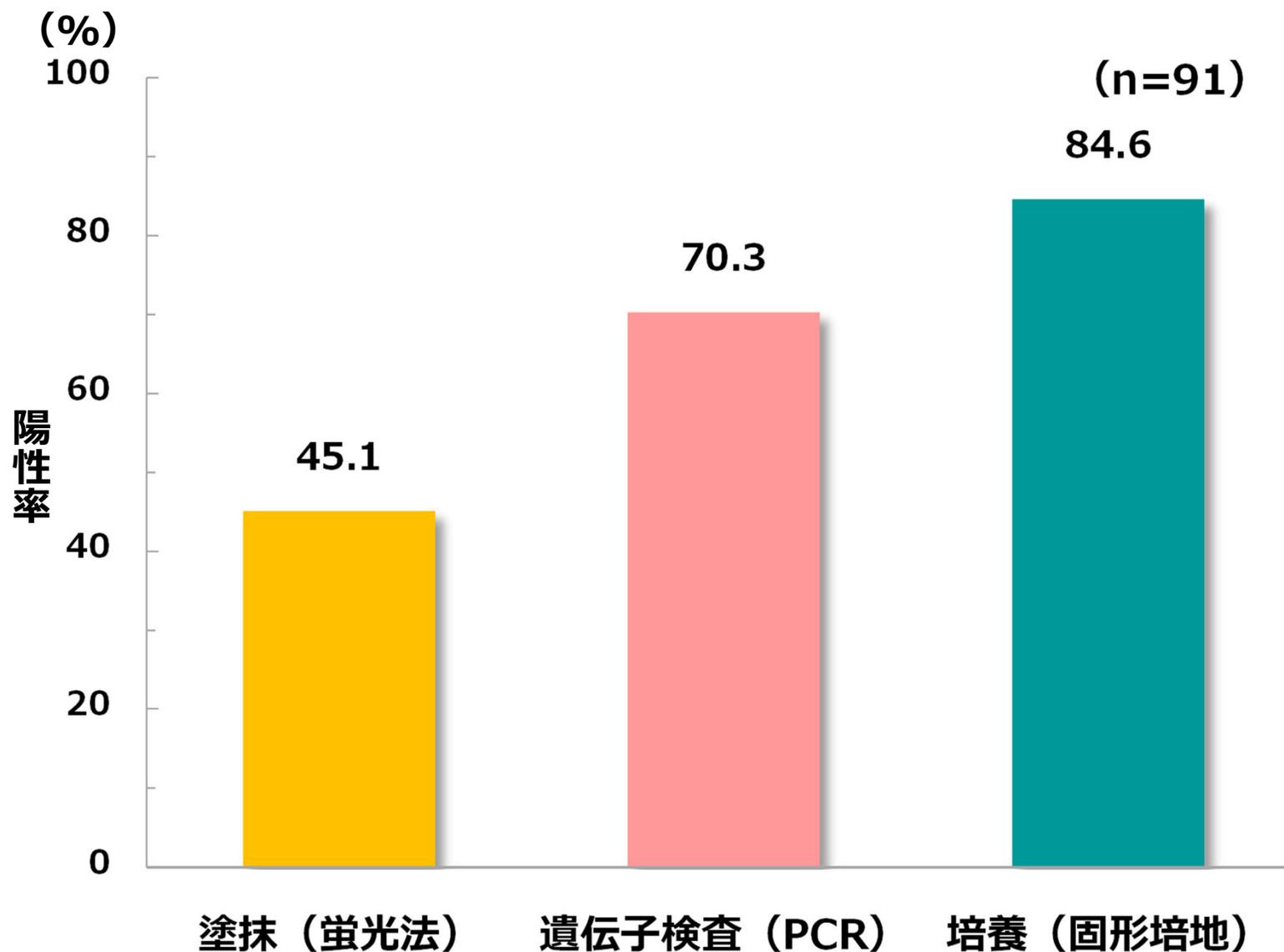
Xpert MTB/RIFによる結核菌群の検査

Boehme CC, et al. N Engl J Med 2010; 363: 1005-1015.



*M. tuberculosis*および*M. avium/intracellulare* 検出例における検査法別陽性率の比較

順天堂医院



自動抗酸菌培養装置

BD バクテックMGIT 960

日本ベクトン・ディッキンソン



BD バクテックMGIT 320

日本ベクトン・ディッキンソン



✓ MGIT : **M**ycobacterium
Growth **I**ndicator **T**ube

抗酸菌培養陽性と陰性のMGITチューブ



陽性

陰性

紫外線ランプ

誘発痰の繰り返し検査による累積陽性率と意義

Al Zahrani, K. *et al.*: *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 5: 855-860, 2001

Table 1 Cumulative yield of testing of repeated induced sputum samples

Test	Specimen no.	No. of patients*	Induced sputum	
			% of times the test was first positive	Cumulative yield (%)
Smear	1st test	499	64	64
	2nd test	349	17	81
	3rd test	217	10	91
	4th test	64	7	98
Culture	1st test	497	70	70
	2nd test	349	21	91
	3rd test	217	8	99
	4th test	66	1	100
PCR [†]	1st test	487	89	89
	2nd test	189	6	95
	3rd test	72	4	99
	4th test	10	1	100

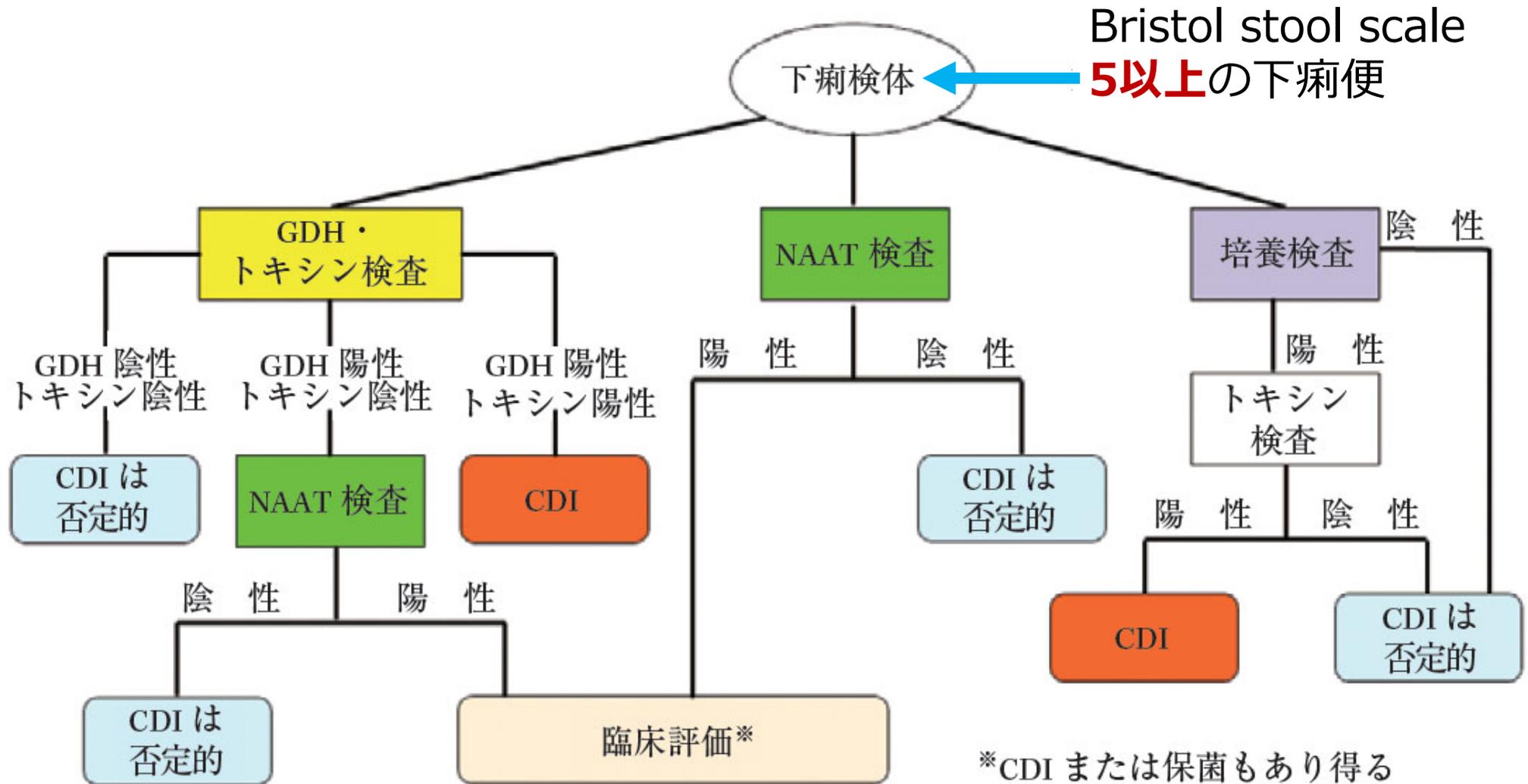
* Number of patients for whom one, two, three or four or more induced sputum specimens were obtained. For one patient no specimens at all, for three patients no culture available, and for 13 patients insufficient sample remaining (after smear and culture) for PCR.

[†] MTD2 not performed on separate samples, but only on pooled sample.

PCR = polymerase chain reaction.

Clostridioides difficile検査のフローチャート

Clostridioides difficile感染症診療ガイドライン2022（2023年）

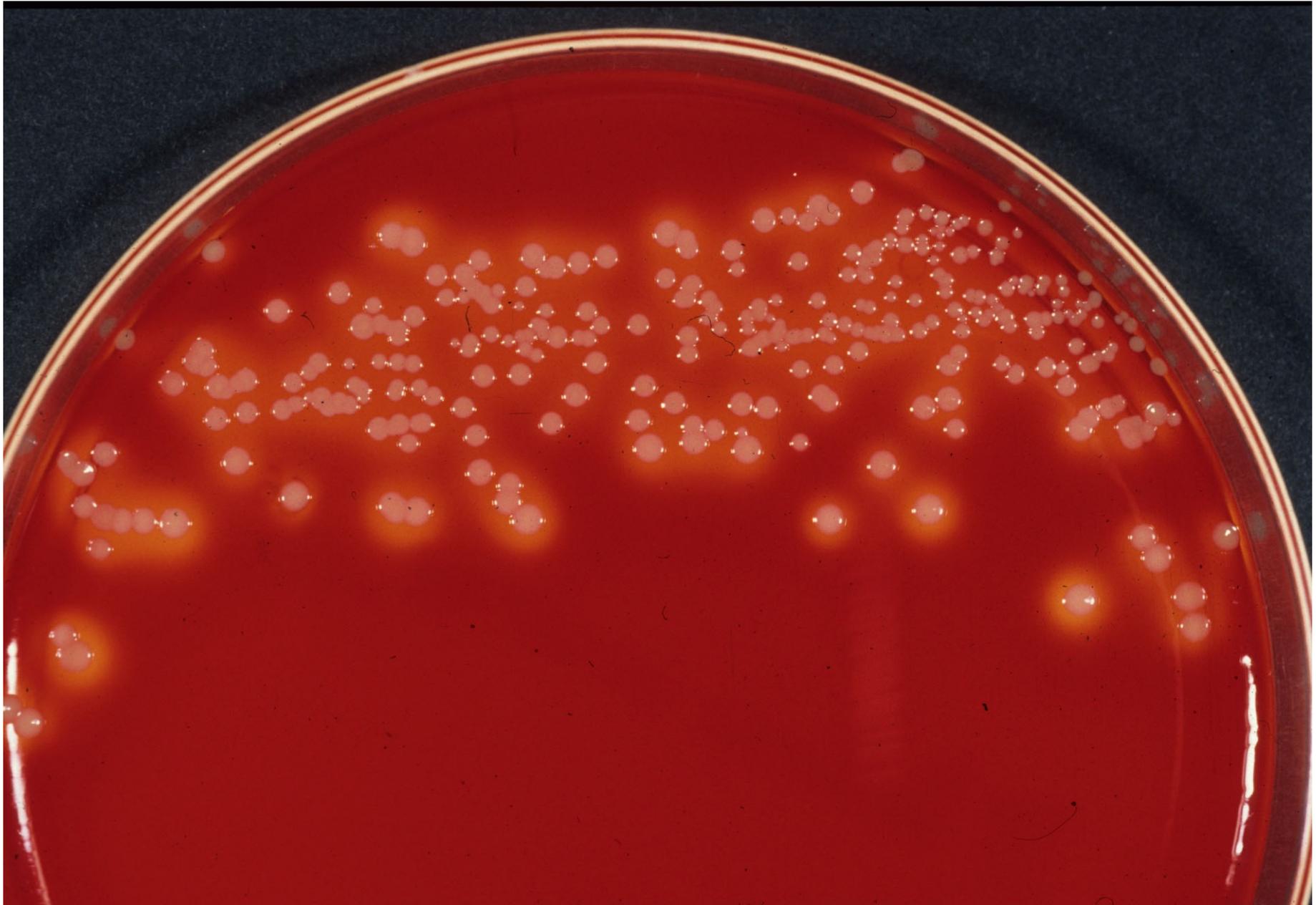


- ✓ 菌の存在（GDH抗原／培養陽性）＋トキシン陽性が感染（CDI）診断の根拠
- ✓ 核酸増幅検査によるトキシン陽性は臨床評価と総合して評価

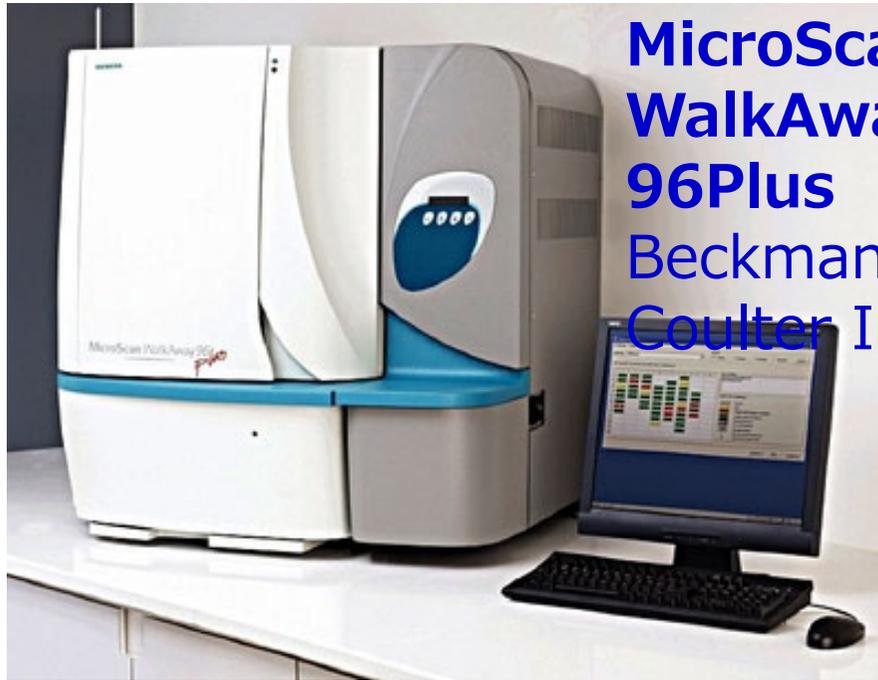
院内感染対策上重要な薬剤耐性菌

耐性菌（略語）	耐性機序，遺伝子	耐性判定薬
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	PBPの変異（PBP 2'獲得） <i>mecA</i>	オキサシリン セフォキシチン
バンコマイシン耐性エンテロコッカス vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i> (VRE)	ペンタペプチドの変異 D-Ala-D-Lactate, D-Ala-D-Serine <i>vanA, vanB</i>	バンコマイシン
多剤耐性緑膿菌 multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (MDRP)	β -ラクタマーゼ（カルバペネマーゼ） 産生，アミノグリコシド修飾，DNA ジャイレース変異	イミペネム，アミカシン， シプロフロキサシン
多剤耐性アシネトバクター multidrug-resistant <i>Acinetobacter</i> (MDRA)	β -ラクタマーゼ（カルバペネマーゼ） 産生，アミノグリコシド修飾，DNA ジャイレース変異	イミペネム，アミカシン， シプロフロキサシン
基質拡張型β-ラクタマーゼ産生菌 extended-spectrum β -lactamase (ESBL) -producing organism	クラスA β -ラクタマーゼのアミノ酸変 異による基質拡張	β -ラクタム系薬全体
カルバペネマーゼ産生菌 carbapenemase-producing organism	カルバペネマーゼの産生 クラスB メタロ- β -ラクタマーゼ クラスA KPC型 β -ラクタマーゼ クラスD OXA型 β -ラクタマーゼ	カルバペネム系薬
カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 carbapenemase-producing organism (CPE)		
カルバペネマーゼ耐性腸内細菌目細菌 carbapenem-resistant <i>Enterobacterales</i> (CRE)	カルバペネマーゼの産生， 抗菌薬透過性低下	カルバペネム系薬 セファマイシン

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)
(ヒツジ血液寒天培地)



自動細菌同定・薬剤感受性検査装置



**MicroScan
WalkAway
96Plus**
Beckman
Coulter Inc.



VITEK 2
bioMérieux
Ind.



BD Phoenix M50
Becton, Dickinson
and Company



RUISUS S4
Nissui
Pharmaceutical
Co.

Staphylococcus属菌のメチシリン耐性の検査

CLSI 2023

- 外来性ペニシリン結合タンパク **PBP2'** (国外はPBP2a) を保有しているかを調べる表現型による検査は, **セフォキシチン**または**オキサシリン**感受性検査が推奨

菌種	セフォキシチン MIC	セフォキシチン ディスク	オキサシリン MIC*	オキサシリン ディスク
S. aureus <i>S. lugdunensis</i>	≥8 µg/mL	≤21 mm	≥4 µg/mL	設定なし
<i>S. epidermidis</i>	設定なし	≤24 mm	≥1 µg/mL	≤17 mm
<i>S. pseudintermedius</i> <i>S. schleiferi</i>	設定なし	設定なし	≥1 µg/mL	≤17 mm
その他の <i>Staphylococcus</i> spp.	設定なし	≤24 mm	≥1 µg/mL	設定なし

*微量液体希釈法オキサシリン感受性測定は2%NaCl添加CAMHBで検査。

培養温度：35℃を超えないよう注意（メチシリン耐性が見逃される可能性がある）。

培養時間：ディスク拡散法は24時間，微量液体希釈法ではオキサシリンは24時間。

メチシリン耐性（オキサシリンまたはセフォキシチン耐性）と判定された場合，全てのβ-ラクタム系薬の感受性結果をR（耐性）へ変換する。

成人における *Staphylococcus aureus* の保菌部位

一般成人

鼻 27%

咽頭 10~20%

頸部 10%

胸部皮膚 15%

腋窩 8%

腹部皮膚 15%

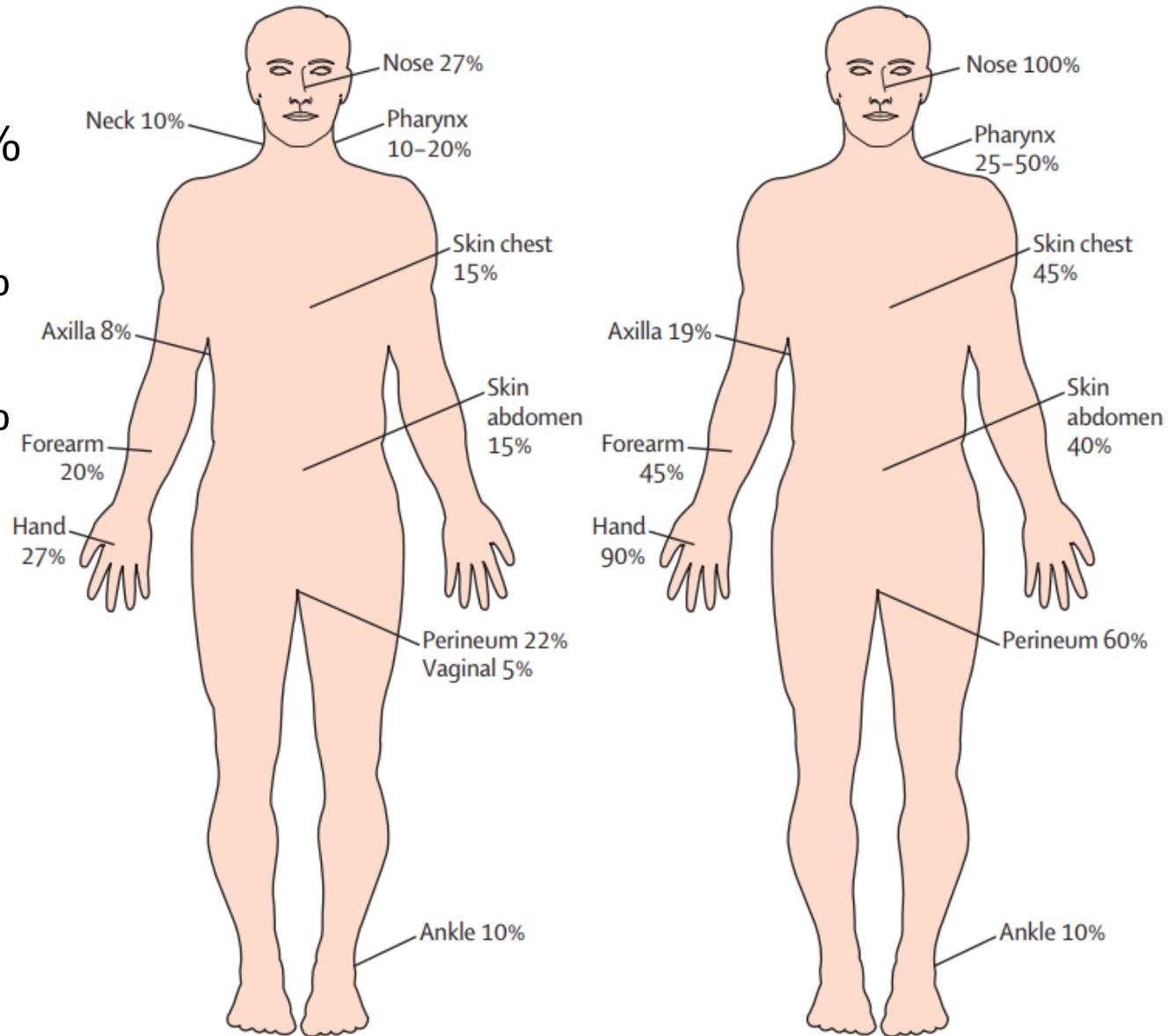
前腕 20%

手 27%

会陰部 22%

膣 5%

足首 10%



保菌者

鼻 100%

咽頭 25~50%

胸部皮膚 45%

腋窩 19%

腹部皮膚 40%

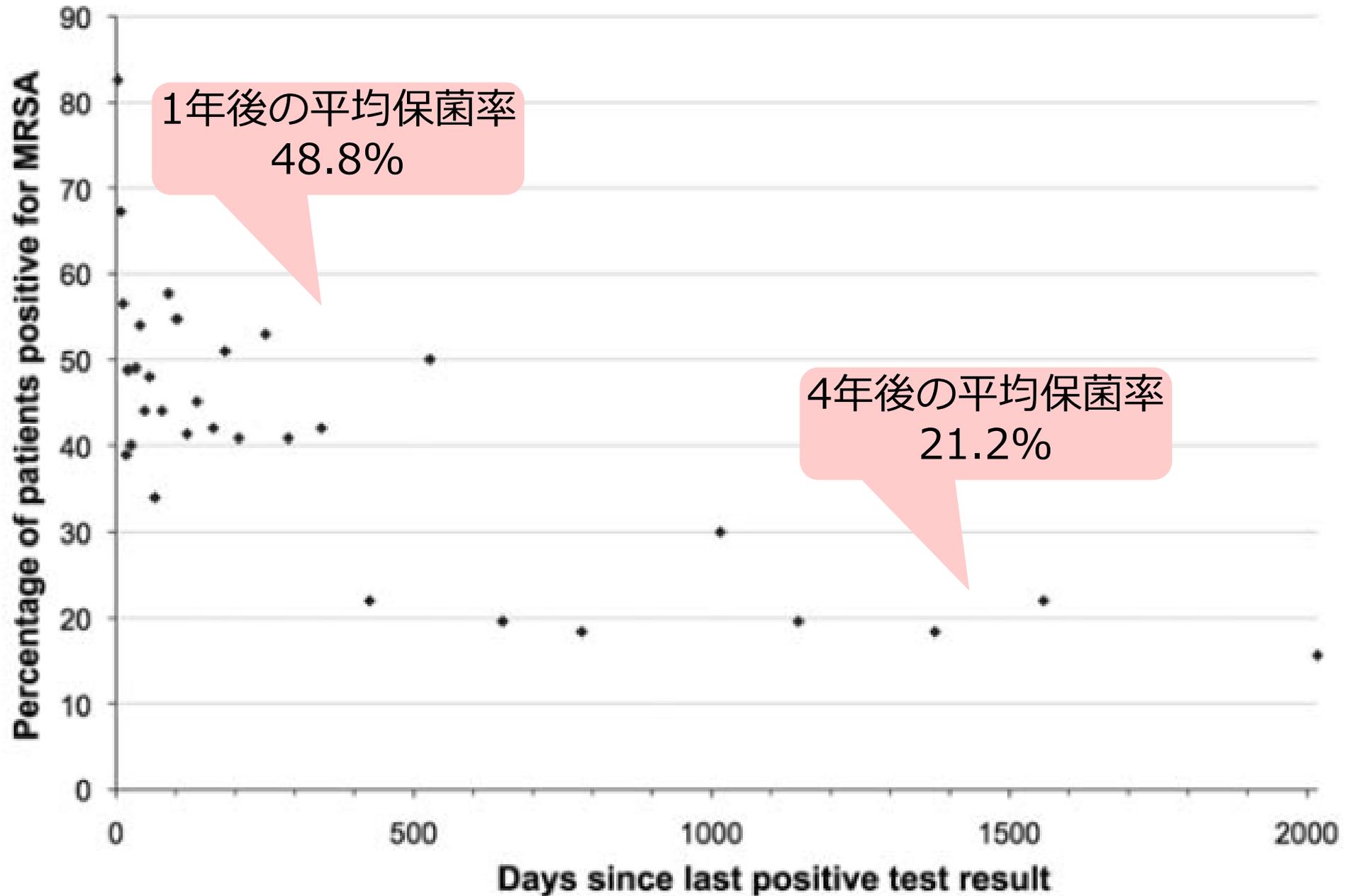
前腕 45%

手 90%

会陰部 60%

足首 10%

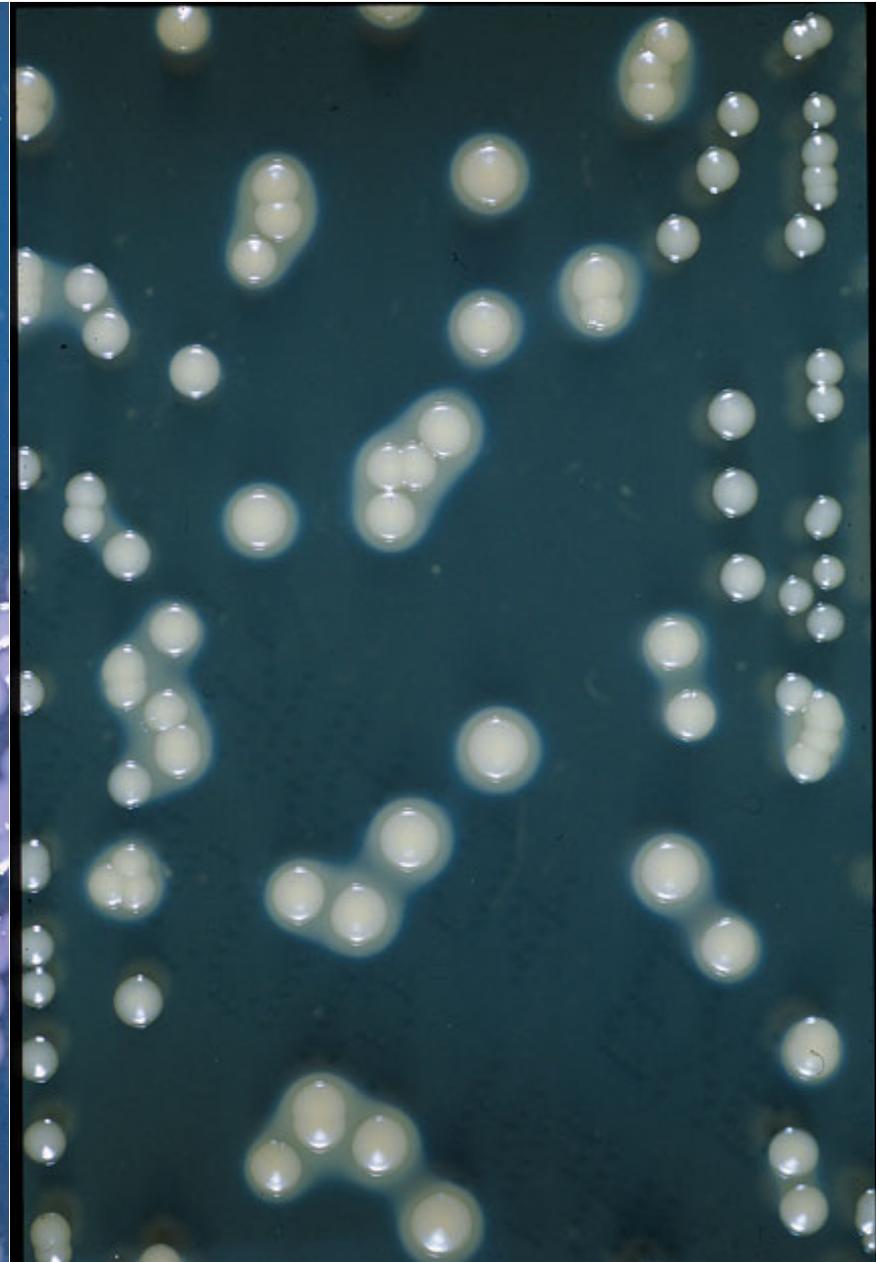
MRSA保菌患者の保菌期間



MRSA選択培地



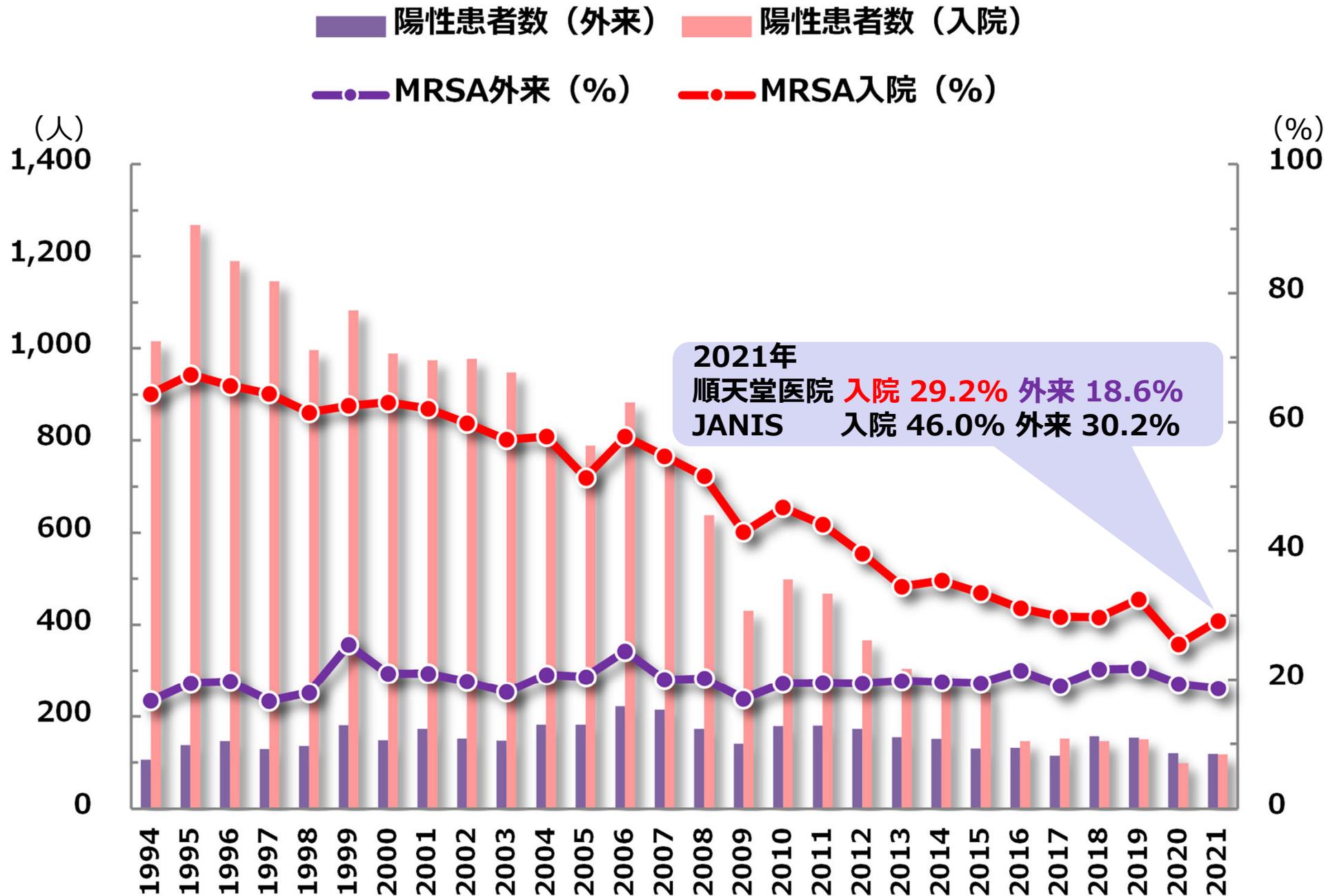
CHROMagar MRSA



OPAブドウ球菌寒天培地

全検体※からのMRSAとMSSA検出数の推移

順天堂医院



※サーベイランス検査は除く

Staphylococcus属菌とEnterococcus属菌のグリコペプチド系薬耐性の検査 CLSI 2023

- Staphylococcus属菌では、ペプチドグリカン前駆体の合成亢進によるヘテロ耐性を調べる
- Enterococcus属では、バンコマイシン耐性遺伝子**van遺伝子**の保有を調べる

菌種	グリコペプチド	ディスク拡散法 (mm)			微量液体希釈法 (μg/mL)		
		S	I	R	S	I	R
<i>S. aureus</i>	バンコマイシン	設定なし	設定なし	設定なし	≤2	4-8	≥16
	テイコプラニン	設定なし	設定なし	設定なし	≤8	16	≥32
他の <i>Staphylococcus</i> spp.	バンコマイシン	設定なし	設定なし	設定なし	≤4	8-16	≥32
	テイコプラニン	設定なし	設定なし	設定なし	≤8	16	≥32
<i>Enterococcus</i> spp.	バンコマイシン	≥17	15-16	≤14	≤4	8-16	≥32
	テイコプラニン	≥14	11-13	≤10	≤8	16	≥32

培養時間：バンコマイシンは24時間フルに培養.

バンコマイシン耐性*Enterococcus* (VRE) 特徴

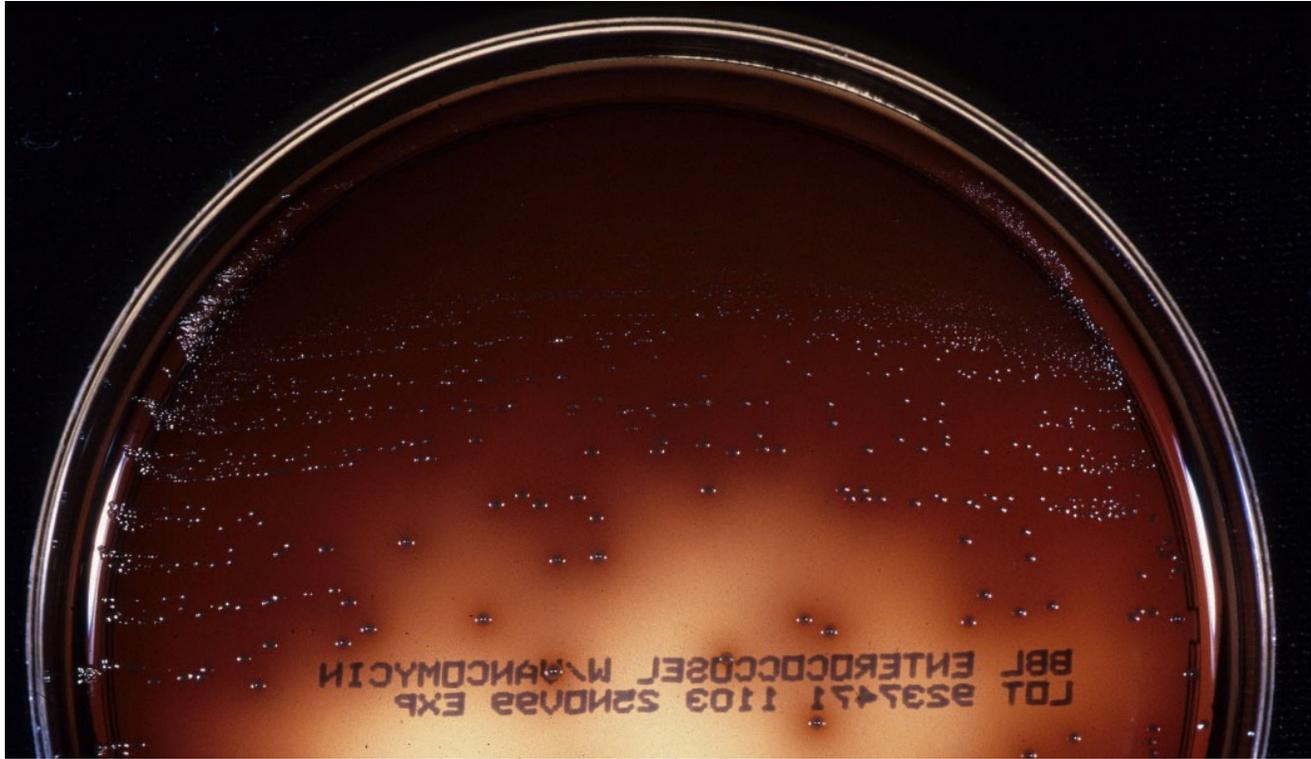
- 感染対策上は*vanA*, *vanB*遺伝子保有のVREの拡散が重要

<i>van</i> 遺伝子	由来	バンコマイシン MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	テイコプラニン MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	主な保有菌種
<i>VanA</i>	プラスミド	≥ 64	≥ 16	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>
<i>vanB</i>	プラスミド 染色体	4~1,024	0.5~1	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>
<i>vanC</i>	染色体	4~32	0.5~1	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>
<i>vanD</i>	染色体?	64	4	<i>E. faecalis</i>
<i>vane</i>	染色体?	16	0.5	<i>E. faecalis</i>
<i>vanG</i>	染色体	16	感性	<i>E. faecalis</i>

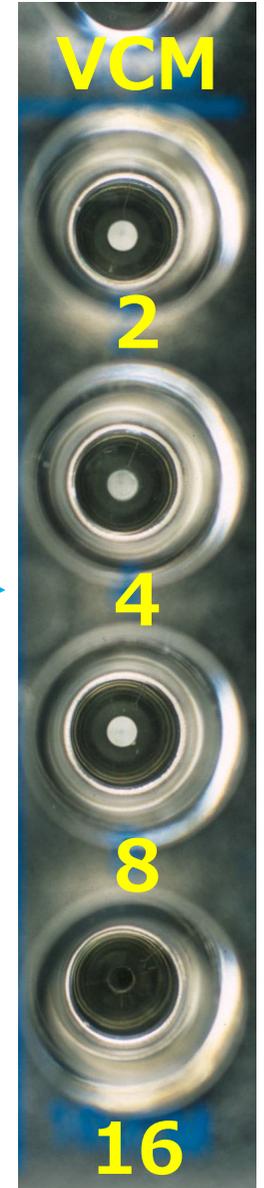
バンコマイシン耐性 *Enterococcus* (VRE) の検査 VanB型VRE (*Enterococcus faecium*)

24時間培養
4 $\mu\text{g}/\text{mL}$

48時間培養
16 $\mu\text{g}/\text{mL}$



バンコマイシン加エンテロコッカセル
寒天培地上のコロニー



β-ラクタマーゼのAmbler分類

セリン-β-ラクタマーゼ

Class A: ペニシリナーゼ
基質拡張型β-ラクタマーゼ (ESBL)
CTX-M, TEM, SHV
KPC型カルバペネマーゼ

Class D: オキサシリナーゼ
OXA型カルバペネマーゼ

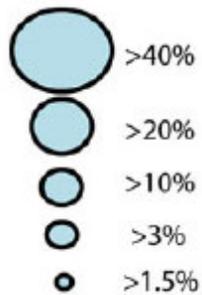
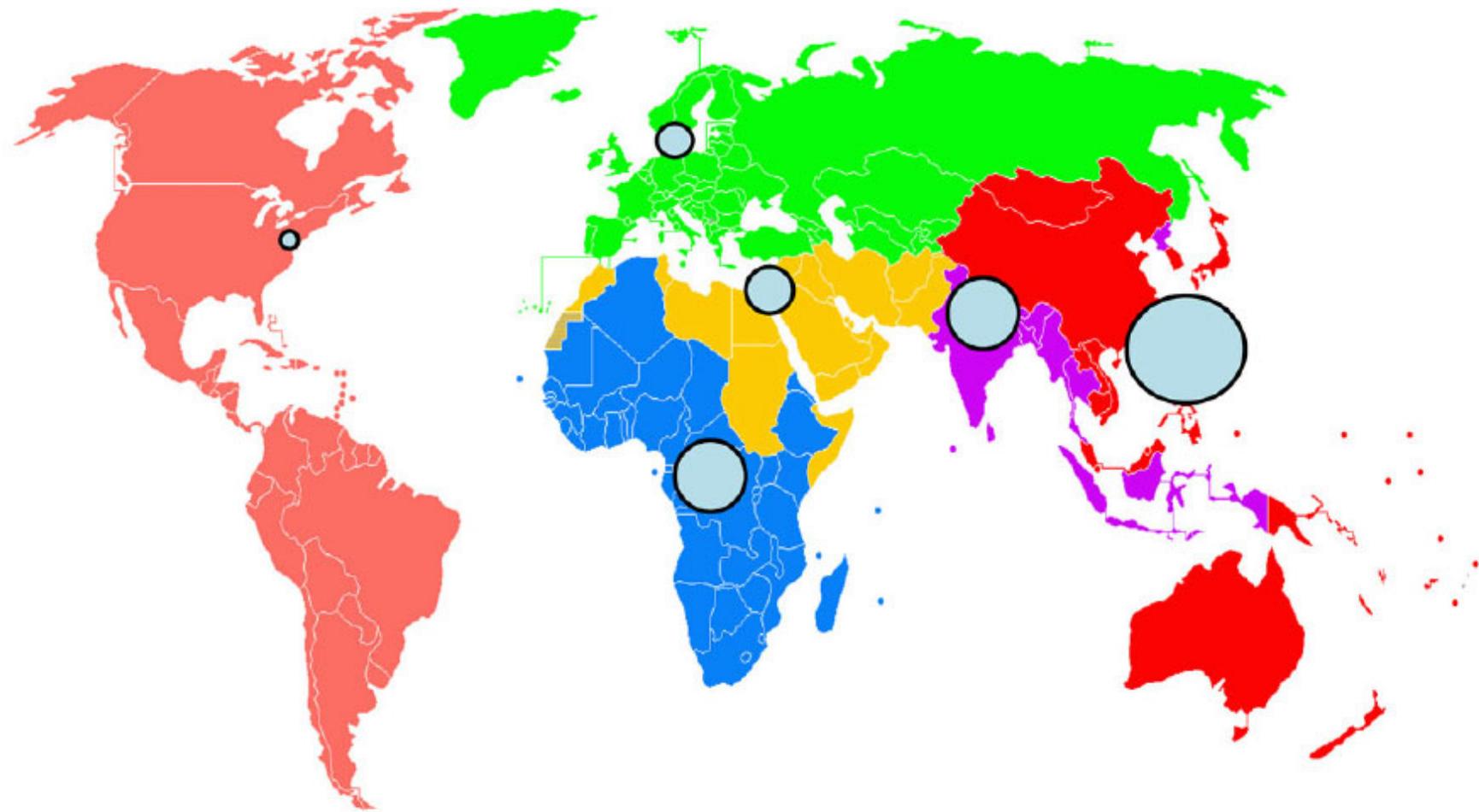
Class C: セファロスポリナーゼ
AmpC β-ラクタマーゼ

メタロ-β-ラクタマーゼ
(MBL)

Class B: カルバペネマーゼ
IMP, VIM, NDM

WHOの地理的区分とESBL産生菌の腸管内保菌状況

Karanika S, et al. Clin Infect Dis 2016; 63: 310-318.



Africa Region



European Region



Western Pacific Region



Regions of the Americas



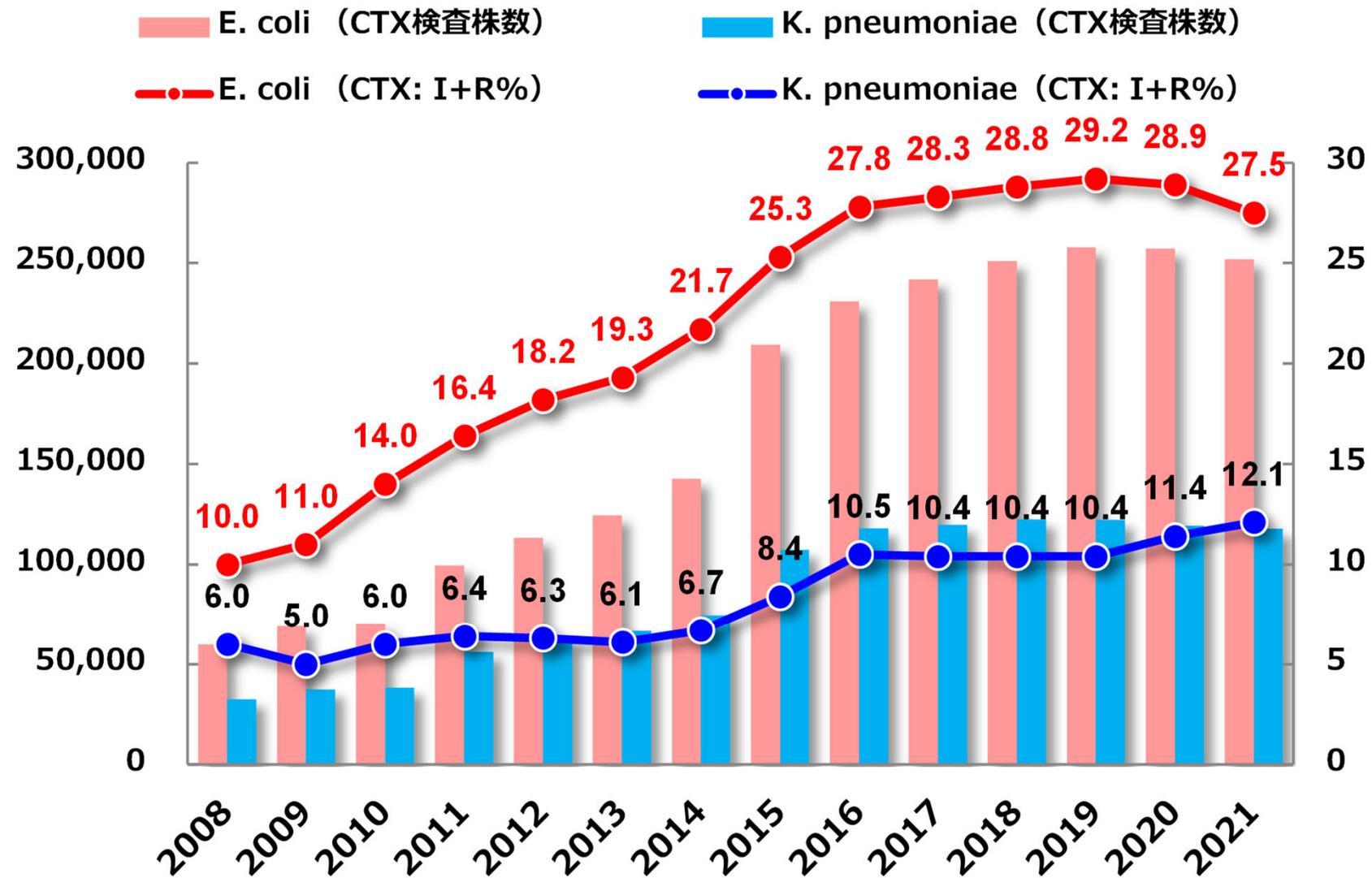
Eastern Mediterranean Region



South East Asia Region

日本におけるESBL産生菌の年次推移（入院）

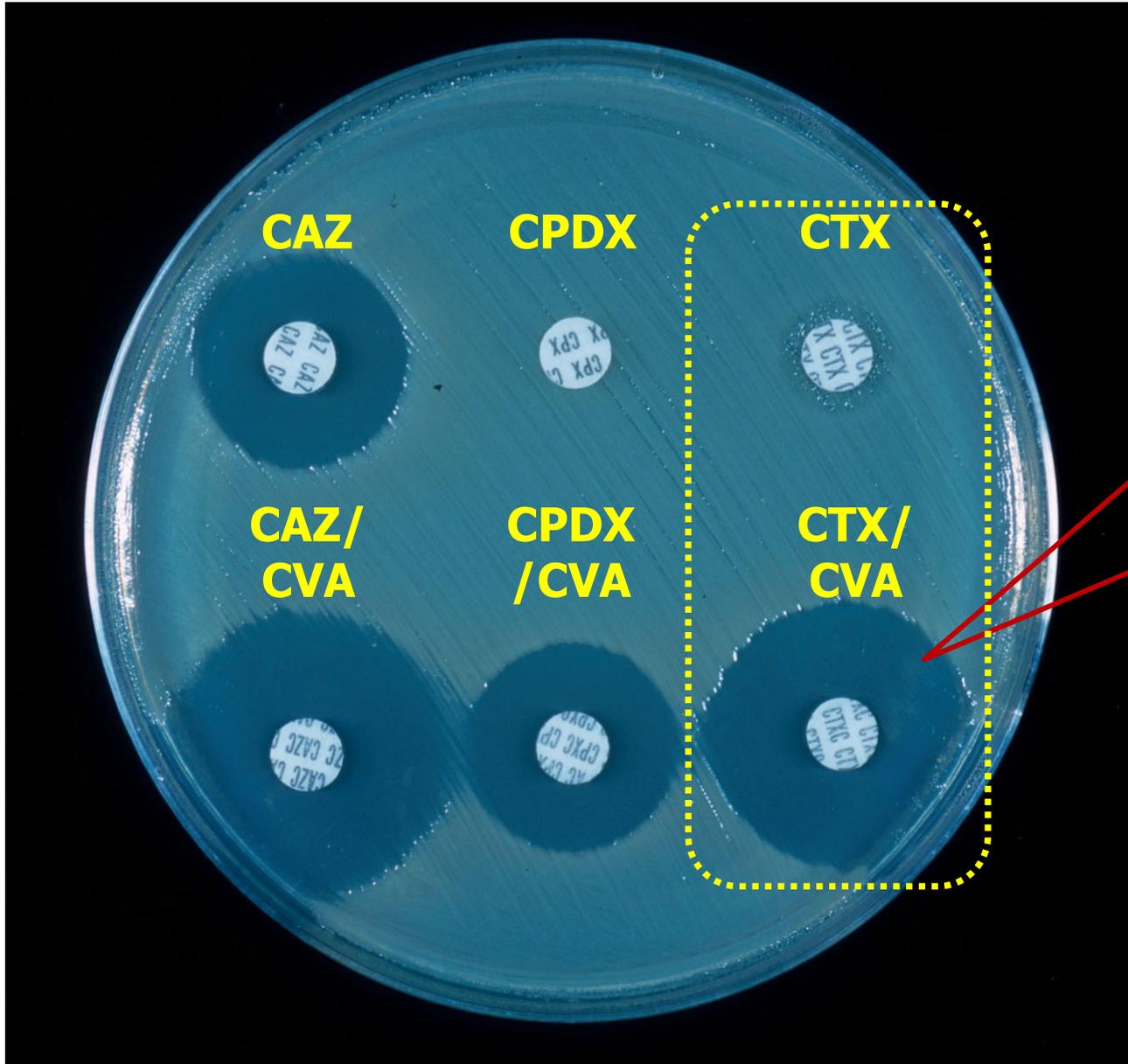
厚生労働省 院内感染対策サーベイランス（JANIS）データからの推計



参加施設数 436 499 495 594 660 745 897 1,435 1,653 1,795 1,947 2,075 2,167 2,220

米国CLSIによるCTXの中間および耐性ブレイクポイント (μg/mL)
 2014年まで : I 16~32, R ≥64 2015年以降 : I 2, R ≥4

CLSI標準法によるESBLsの確認試験 CTX-M-45型 *Escherichia coli*



ESBLはクラブラン酸で阻害（阻止円が復活）される特徴で検出

ESBL産生菌の選択培地 chromID ESBL (バイオメリュー)



WHO Publishes List of Bacteria for which New Antibiotics are Urgently Needed

27 Feb. 2017 News Release Geneva, WHO

Priority 1: CRITICAL

- *Acinetobacter baumannii*, carbapenem-resistant
- *Pseudomonas aeruginosa*, carbapenem-resistant
- *Enterobacteriaceae*, carbapenem-resistant, ESBL-producing

Priority 2: HIGH

- *Enterococcus faecium*, vancomycin-resistant
- *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant, vancomycin-intermediate and resistant
- *Helicobacter pylori*, clarithromycin-resistant
- *Campylobacter* spp., fluoroquinolone-resistant
- *Salmonellae*, fluoroquinolone-resistant
- *Neisseria gonorrhoeae*, cephalosporin-resistant, fluoroquinolone-resistant

Priority 3: MEDIUM

- *Streptococcus pneumoniae*, penicillin-non-susceptible
- *Haemophilus influenzae*, ampicillin-resistant
- *Shigella* spp., fluoroquinolone-resistant

カルバペネマーゼ産生緑膿菌のタイプと地域別の流行状況

Botelho J et al. Drug Resistance Update 2019; 44: 26-47.

Carbapenemase ● DIM-1 ● FIM-1 ● GES ● IMP ● KPC ● NDM-1 ● SPM-1 ● VIM ● VIM-2

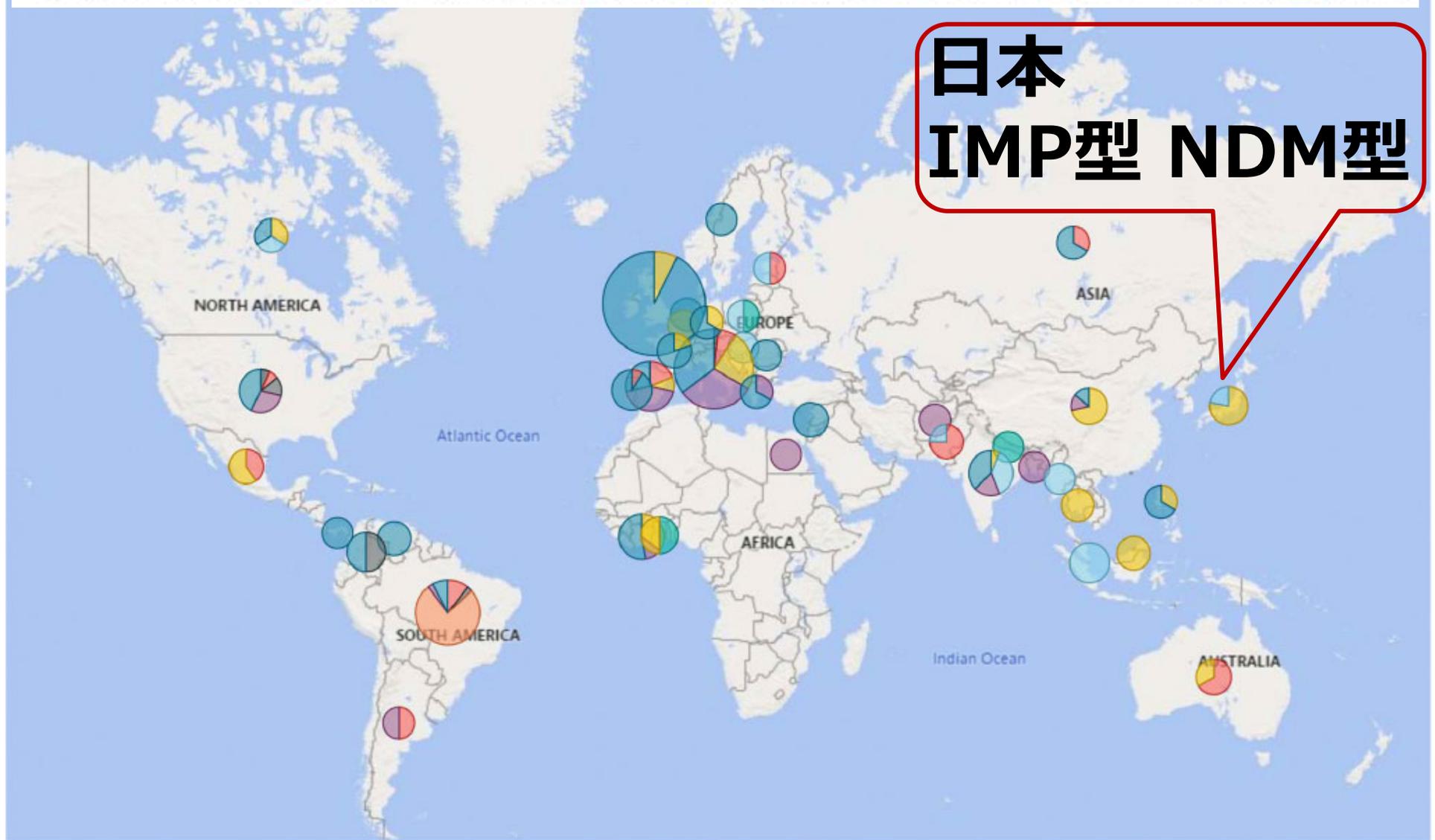


Fig. 2. Carbapenemases identified in all *P. aeruginosa* genomes available on NCBI (accessed on the 11/4/2019). 4532 genomes were downloaded and blasted against an in-house database of 688 carbapenemases (adapted from (Botelho et al., 2018c)). 397 carbapenemases were identified and country information was retrieved from the genbank files. When more than one variant was identified (such as in GES, IMP and KPC), the family name was included on the figure legend. VIM-2 was separated from the remaining VIM variants, to highlight its prevalence. The size of the circles reflects the total number of sequenced genomes with the given carbapenemase.

感染症法によるカルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE) の定義

1. 検査方法（アまたはイのいずれかに該当）

ア MEPMのMIC値が $2\mu\text{g/ml}$ 以上

イ IPMのMIC値が $2\mu\text{g/ml}$ 以上, かつ
CMZのMIC値が $64\mu\text{g/ml}$ 以上

2. 届出基準

血液, 腹水, 胸水, 髄液その他の通常無菌的であるべき検体からの分離例

喀痰, 膿, 尿, その他の通常無菌的ではない検体から分離され, 医師が起炎菌と判断したもの

CREとカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (CPE) はイコールではない。
→ カルバペネマーゼ以外の耐性メカニズムによる耐性も存在するため

CLSIによるカルバパネマーゼ産生のスクリーニング検査法 Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM) 改良カルバペネム不活化法

- カルバペネマーゼ検出の感度99%以上, 特異度99%以上
検出可能なカルバペネマーゼ: KPC, NDM, VIM, IMP, IMI, SPM, SME, OXA
- イミペネム (IPM) またはメロペネム (MEPM) のMICが2~4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上 (中間または耐性) の場合に検査

- 全ての種類のカルバペネマーゼが陽性にならない
OXA型の一部



Read presence or absence of inhibition zone

+

Carbapenemase activity

陽性: 阻止円直径 ≤ 15 mmまたは16~18 mmで阻止円内にコロニーが見られる

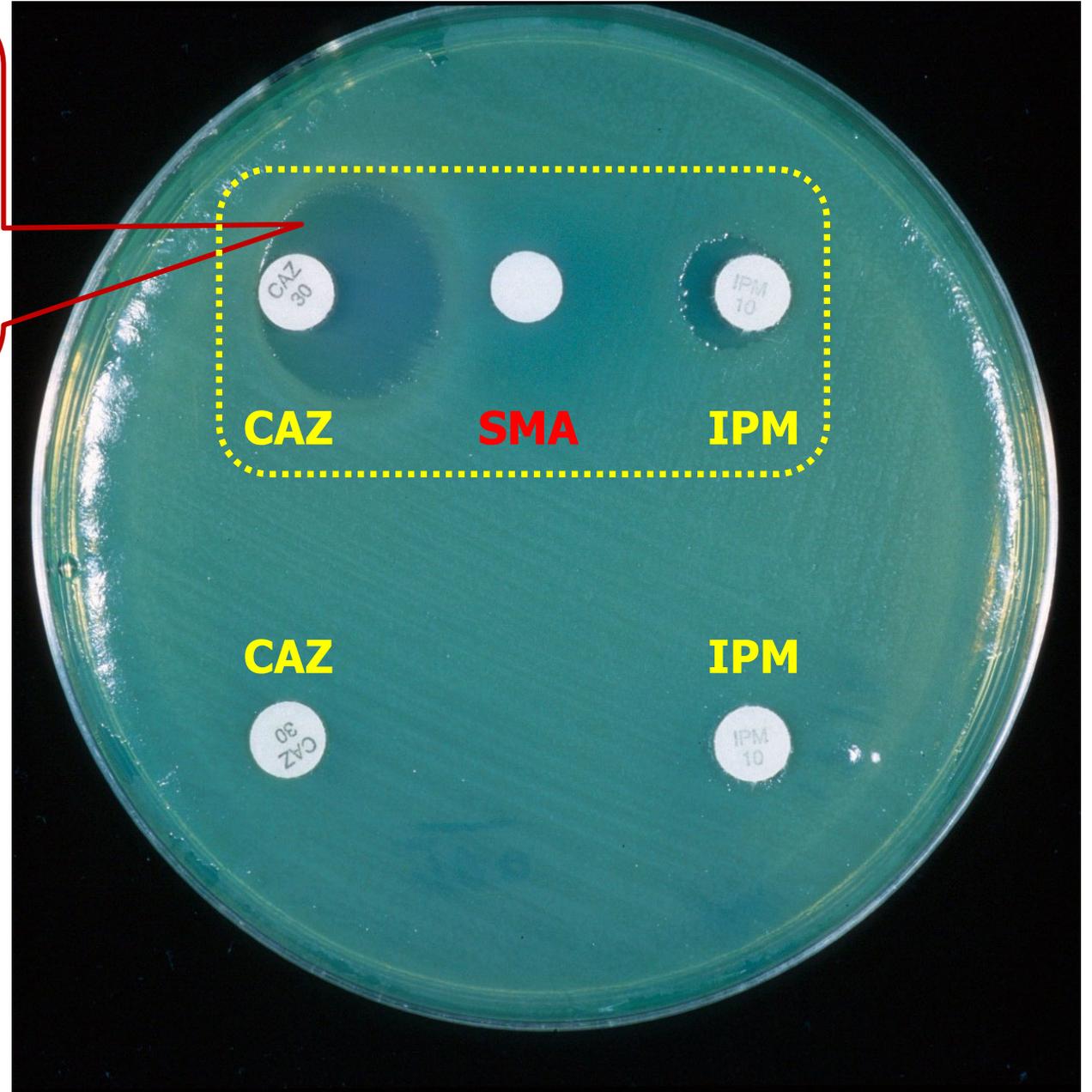
-

No carbapenemase activity

陰性: 阻止円直径 ≥ 19 mm

IMP-1 group MBL産生 *Pseudomonas aeruginosa* メルカプト酢酸ナトリウム (SMA) による阻害試験

IMP型はメルカプト酢酸ナトリウムで阻害（阻止円が復活）される特徴で検出

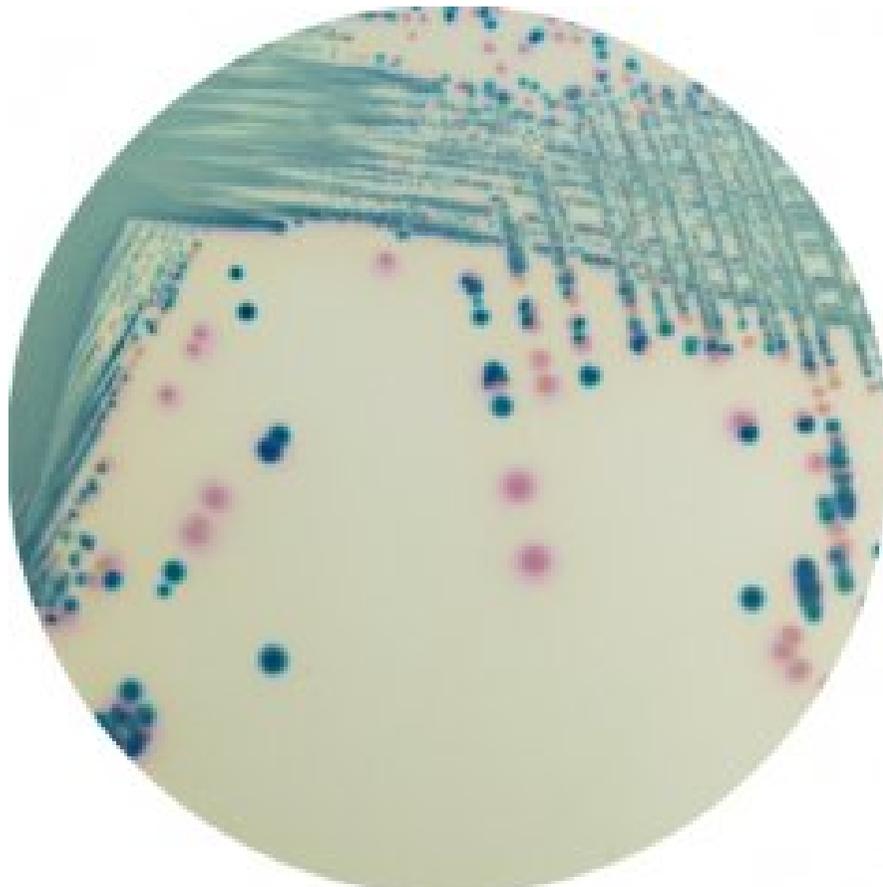


Performance for Detecting CPE from Surveillance Culture by Selective Agar Media

Segarra C *et al* : New Microbe New Infect 26: 42-48, 2018



CHROMagar™ mSuperCARBA™



For Detection of gram-negative bacteria with a reduced susceptibility to most of the carbapenem agents.

Typical Appearance of microorganisms

CPE *E.coli* → dark pink to reddish

CPE Coliforms → metallic blue

CPE *Pseudomonas* → translucent, +/- natural pigmentation cream to green

CPE *Acinetobacter* → Cream

Other Gram negative CPE → colourless, natural pigmentation

Non-CPE *E.coli*/ Coliforms → inhibited

Other Gram negative non-CPE → inhibited

NG-Test CARBA 5

A Simple Immunochromatography Assay Kit for Detecting of Major Carbapenemases from Clinical Isolates



NG-Test CARBA 5
CE

Performance Characteristics

Detection limit

The detection limits were determined using purified recombinant enzymes:

- KPC 600pg/mL
- OXA 300pg/mL
- VIM 300pg/mL
- IMP 200pg/mL
- NDM 150pg/mL

Clinical Evaluation

NG-Test CARBA 5 was evaluated at the NRC (AMR French Referent Center, Kremlin-Bicêtre Hospital, Paris, France) during a prospective study.

116 strains were blind-tested and the results were compared to the PCR sequencing test. One IMI-producing isolate was excluded from the result analysis because this type is not in the device intended use.

NG-test CARBA 5		PCR		
		Positive	Negative	Total
	Positive	70	0	70
	Negative	0	45	45
	Total	70	45	115

Sensitivity : 100% CI 95% = 93,5% - 100%
Specificity : 100% CI 95% = 90,4% - 100%

A retrospective evaluation performed at the NRC on 180 isolates characterised by PCR permitted to identify variants detected by NG-Test CARBA 5:

Type NDM : NDM-1 -4 -5 -6 -7 -9

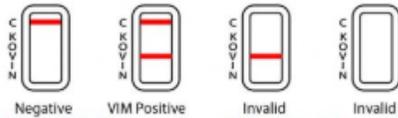
Type KPC : KPC-2 -3

Type IMP : IMP-1 -8 -11

Type VIM : VIM-1 -2 -4 -19

OXA-48-like : OXA-48 -162 -181 -204 -232 -244 -517 -519 -535
Non-carbapenemases (cross-reactivity) : OXA-163 and OXA-405 (OXA-48-like extended spectrum oxacillinases with very weak carbapenemase activity).

Interpretation



NOTE: Multiple lines or one line on K, O, V, I, N position must be considered as a positive result



These tests were developed in collaboration with the CEA*.
*The French Alternative Energies and Atomic Energy Commission (CEA) is a key player in research, development and innovation.

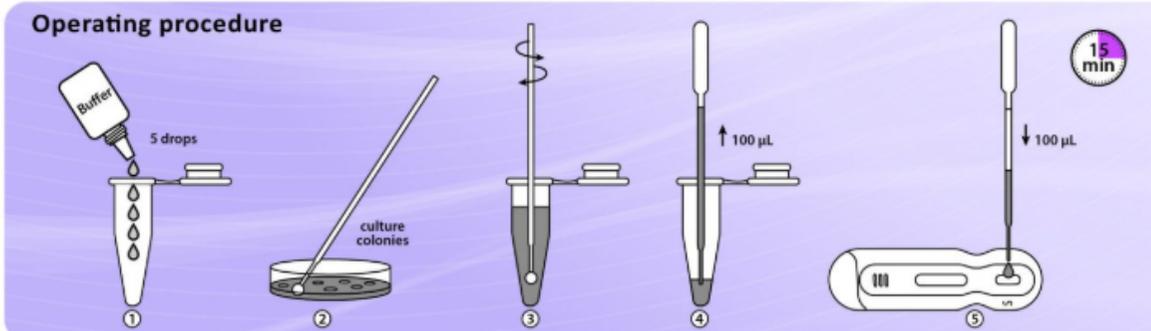
IMP, NDM, VIM, KPC, OXA型カルバペネマーゼの同定が15分で可能

IDENTIFICATION PROCESS FROM BACTERIAL CULTURE



*Validated on: TSA, Mueller Hinton, ChromID® CARBA SMART, Drigalski (DRIG) CHROMagar™ mSuperCARBA™...etc

Operating procedure



For professional in vitro diagnostic use only

In use Worldwide in Microbiology labs and National Reference Centers



www.bio-medicallabs.com

感染症法による

多剤耐性緑膿菌 (Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : **MDRP**) と

多剤耐性アシネトバクター (multidrug-resistant *Acinetobacter* : **MDRA**)

の判定基準

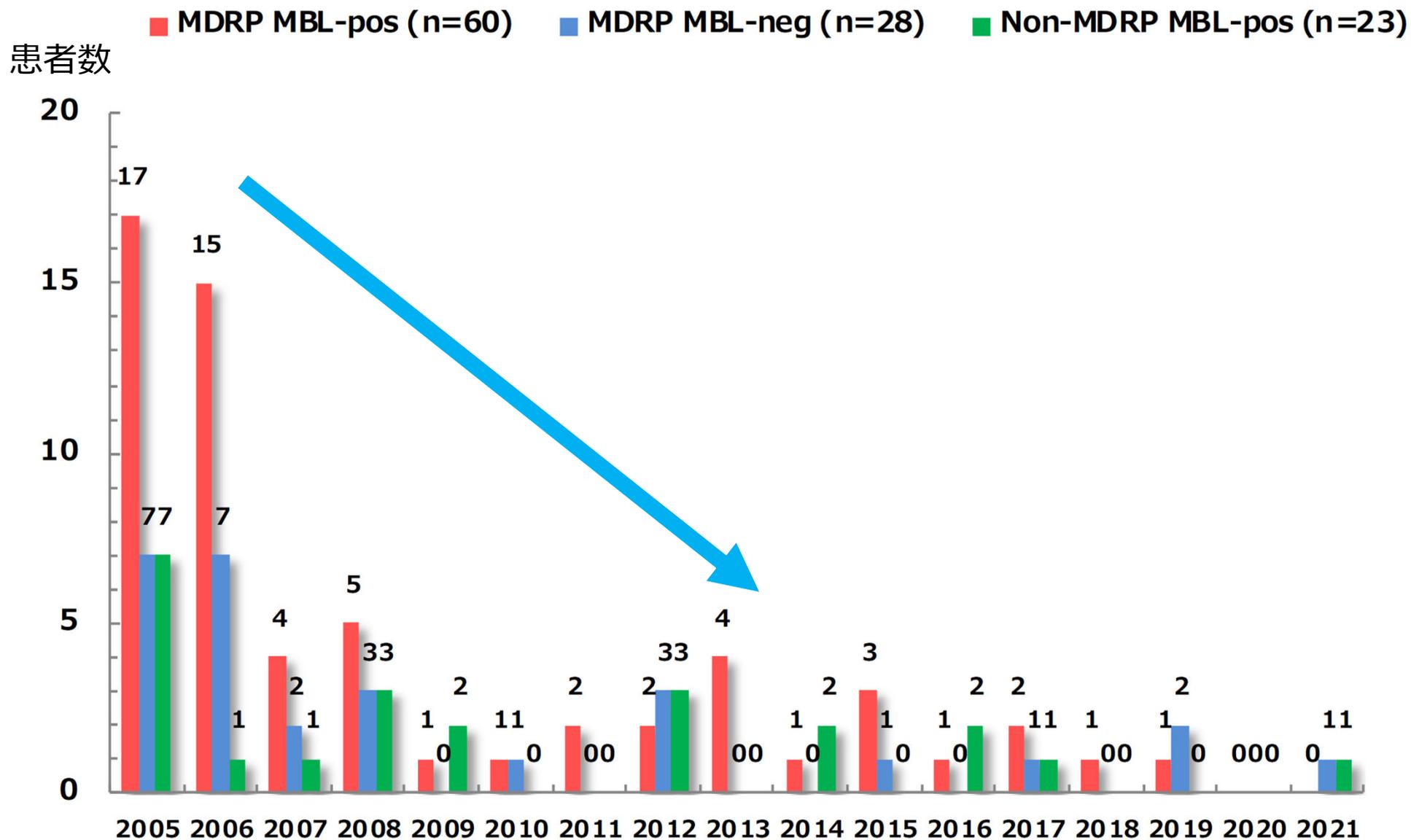
下記3系統の薬剤全てに耐性 (AMKは中間) を示した場合

薬剤	希釈法	ディスク法
IPM	$\geq 16 \mu\text{g/ml}$	$\leq 13 \text{ mm}$
AMK	$\geq 32 \mu\text{g/ml}$	$\leq 14 \text{ mm}$
CPFX	$\geq 4 \mu\text{g/ml}$	$\leq 15 \text{ mm}$

*CLSI標準法によるAMKの耐性ブレイクポイントは $\geq 64 \mu\text{g/mL}$.

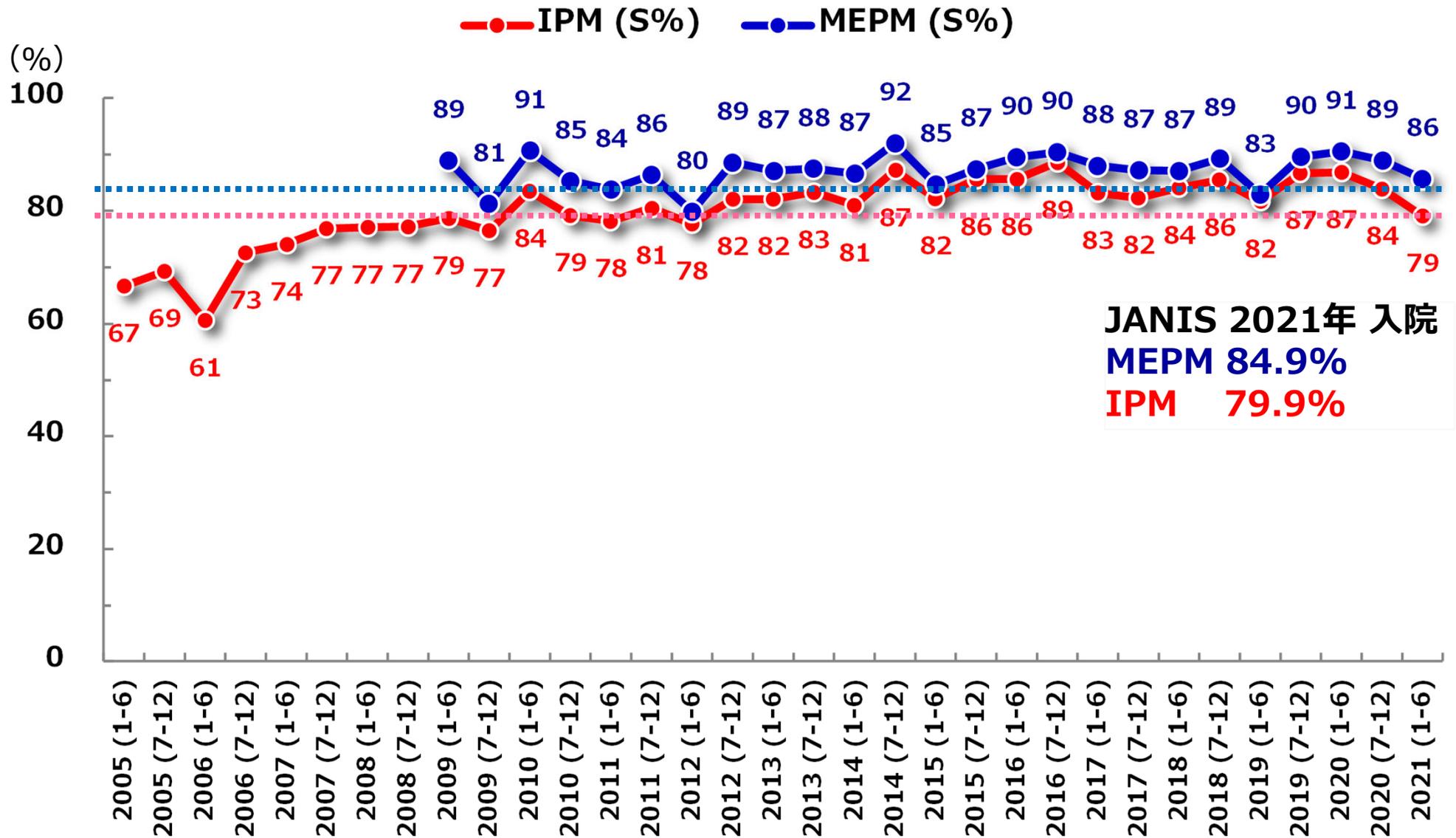
多剤耐性緑膿菌 (MDRP) 検出患者数の推移

順天堂医院



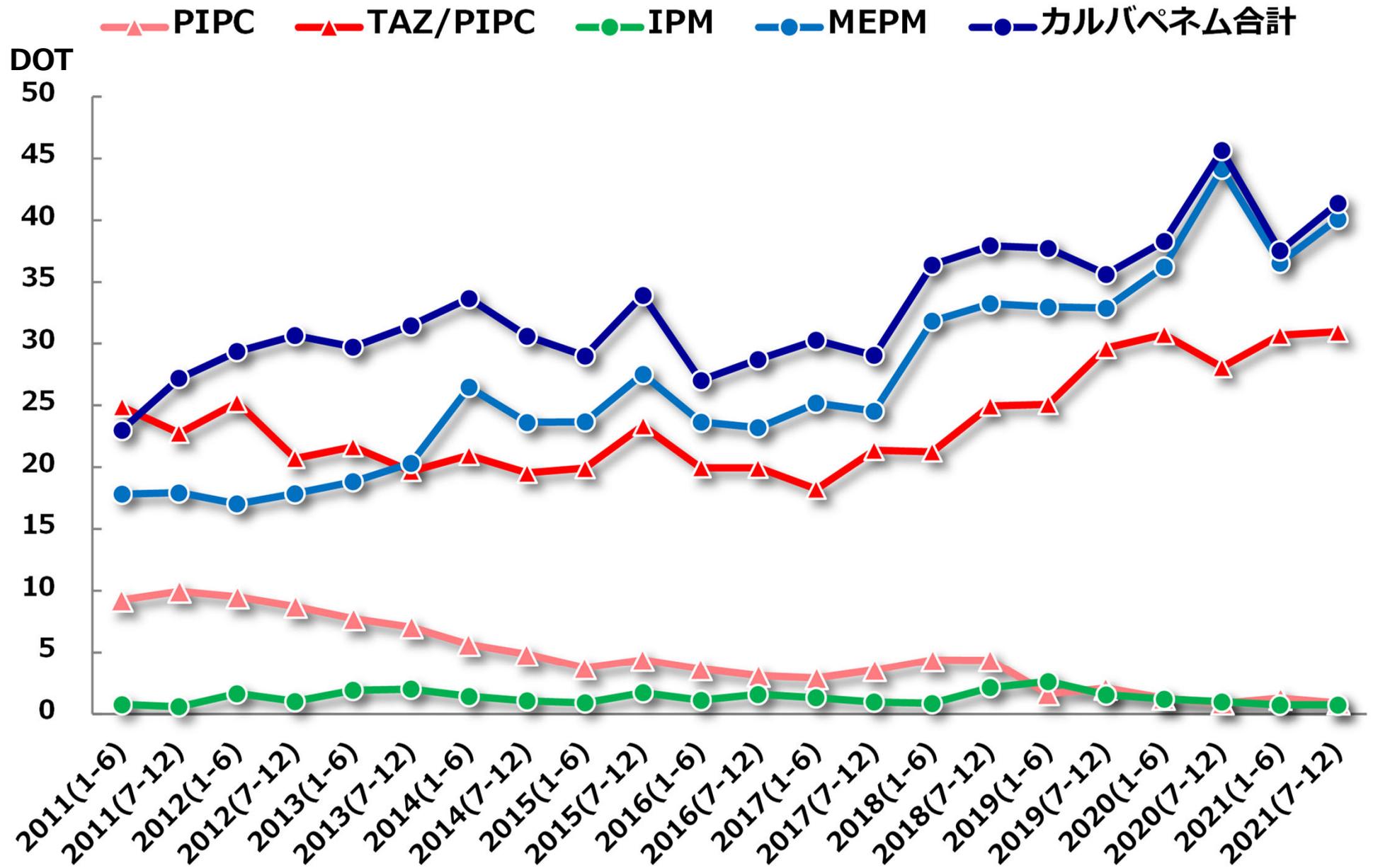
P. aeruginosa に対するIPMとMEPM感性率の推移

順天堂医院



カルバペネムと広域ペニシリン使用日数の推移 (DOT)

順天堂医院



マイクロアレイ法（Verigeneシステム）による 血液培養検査のワークフロー



1 テストカートリッジ・消耗品をセットし、検体を分注

マニュアル操作

2 プロセッサー内で自動処理

自動処理2～2.5時間

3 テストカートリッジからアレイを取り外し、リーダーにセット

マニュアル操作

4 解析とレポート出力

自動処理、解析時間5分以内

プロセッサー

核酸抽出

(一部項目のみ)
・逆転写反応
・PCR反応

ハイブリダイゼーション

リーダー

シグナル検出

レポート

Verigeneシステムにより血液培養陽性ボトルから 検出可能な菌種・薬剤耐性遺伝子

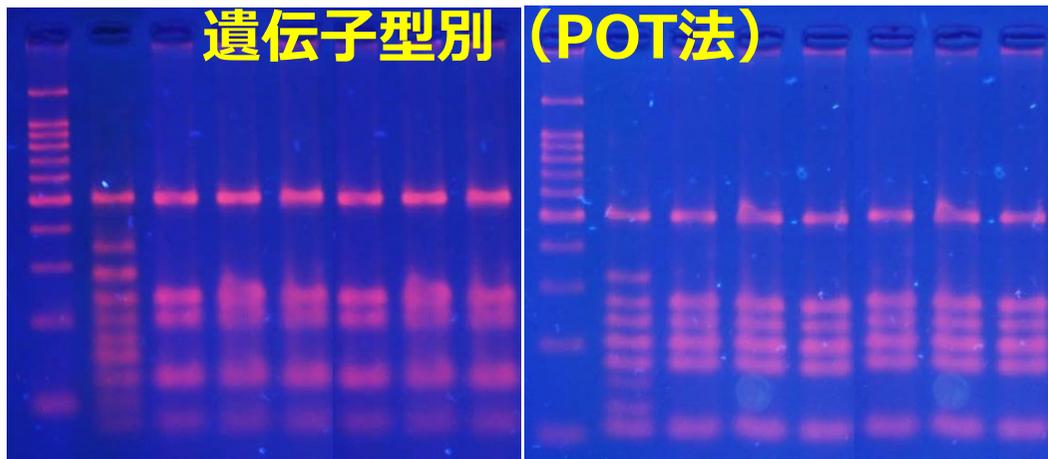
Gram-Positive BC Test	BC-GN Test
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli/Shigella</i> spp.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Enterobacter</i> spp.
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Citrobacter</i> spp.
<i>Streptococcus anginosus</i> group	<i>Proteus</i> spp.
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Acinetobacter</i> spp.
<i>Staphylococcus</i> spp.	CTX-M
<i>Streptococcus</i> spp.	IMP
<i>Micrococcus</i> spp.	VIM
<i>Listeria</i> spp.	NDM
<i>mecA</i>	KPC
<i>vanA</i> , <i>vanB</i>	OXA

細菌の遺伝子型別法

型別法	型別能	検査の容易さ	キット試薬
RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 法	中	やや煩雑	なし
Rep-PCR法 (Repetitive-PCR) (RAPD法)	中	やや煩雑	なし
PCR-based Open-reading frame Typing (POT) 法	中～高	容易	一部の菌種
パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE: Pulsed-Field Gel Electrophoresis) 法	高	煩雑	一部の菌種
MLST (Multi-Locus Sequence Typing) 法	高	やや煩雑	なし

MBL産生*Pseudomonas aeruginosa* 陽性患者の 病棟内共有スペースの環境調査

採取場所	採取か所	<i>P. aeruginosa</i> 検出か所	MBL産生菌 検出か所
イス	5	4	2
排水口	3	2	1
浴室用ストレッチャー	2	2	0
浴槽	3	1	0
浴室内その他	3	3	0
洗面台	3	3	0
合計	19	12	3



- ✓ 浴室3か所からの分離株と患者由来3株はPOT型が同一
- ✓ 浴室を介した水平伝播と解釈

本講義のまとめ

■ 免疫学的抗原検査（POCT）

有症状期の検出感度は核酸増幅検査と同程度
適切なタイミング，適切な部位から採取 →偽陰性を回避

■ 遺伝子検査（核酸増幅検査）

検出感度は培養検査より低い（結核菌群など）
診断目的に使用，治療の評価には使用できない
陽性の結果は臨床評価を加えて解釈

■ 薬剤耐性菌の検査

薬剤感受性検査で検出，サーベイランスで監視
腸管保菌の薬剤耐性菌は，積極的監視培養が必要

■ 薬剤耐性菌の疫学

減少傾向：MRSA, MDRP, MDRA
低頻度だが着実に増加：VRE, カルバペネマーゼ産生菌
ESBL：横ばい