

カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌スクリーニング培地の性能評価

河野恵司朗¹⁾ 田頭 歩美¹⁾ 松永 秀幸¹⁾ 近見 瑛里¹⁾
小山友香理¹⁾ 落合 篤¹⁾ 室井 亮磨¹⁾ 東田 正二¹⁾

¹⁾株式会社シー・アール・シー総合研究所 (〒 813-0062 福岡市東区松島 3-29-18)

要 旨

カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (CPE) スクリーニング検査を目的として「クロモアガー mSuper CARBA」(関東化学)と「chromID™CARBA」(ジオメリュー)の性能評価を行った。Miles & Misra 法に準拠した発育支持能試験、および糞便存在下での発育支持能試験では、CPE 20 株 (IMP-1 型 17 株 (内ステルス型 9 株), KPC 型 1 株, OXA-48 型 2 株) を使用した。1 濃度 (10^3 CFU/mL) での発育支持能試験では、CPE 27 株 (IMP-1 型 24 株 (内ステルス型 11 株), KPC 型 1 株, OXA-48 型 2 株), カルバペネマーゼ非産生-カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (non-CP-CRE) 137 株の計 164 株を使用した。mSuper CARBA は全ての試験において 10^3 CFU/mL 濃度で 95%以上の高い感度を示したが、chromID™CARBA は 30%前後となり、mSuper CARBA の有用性が示唆された。一方で mSuper CARBA は 1 濃度での発育支持能試験で、特異度が 66.4% (91/137) となり、MEPM 耐性の non-CP-CRE が偽陽性を示す傾向がある知見を得た。mSuper CARBA は、特性を把握して使用する必要があるが、ステルス型を含めた CPE を高感度に検出できるためスクリーニング検査として有用であり、適正な抗菌薬使用や院内感染対策に寄与できると考えられる。

キーワード CPE, スクリーニング培地, 評価, ステルス型, non-CP-CRE

I 序 文

近年、カルバペネム系薬に耐性を獲得したカルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (carbapenem-resistant *Enterobacteriales*; CRE) が世界的に問題となっており、本邦では 2014 年に 5 類感染症に指定された¹⁾。中でもカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌 (carbapenemase-producing *Enterobacteriales*; CPE) は、カルバペネマーゼ産生遺伝子が伝達性プラスミド上にコードされており、菌種を超えて伝播する特性を持つことや、 β -ラクタム系薬のみならずアミノ配糖体系やフロオロキノロン系も同時に耐性を獲得していることが多く、有効性が期待できる抗菌薬がほとんどないことが多いため、最も重要な耐性菌と位置

付けられている^{2),3)}。CPE の中にはカルバペネマーゼの産生量が少ないため、カルバペネム系薬の最小発育阻止濃度 (minimal inhibitory concentration; MIC) が低値を示し感性となるステルス型と呼ばれる株が存在する^{2),3)}。EUCAST では meropenem (MEPM) の MIC が $0.25\sim 1\ \mu\text{g/mL}$ で感性と判定される菌は、カルバペネマーゼ産生因子を保有する可能性があるとして、MEPM の疫学的カットオフ値を $0.125\ \mu\text{g/mL}$ と設定しているが、現在の自動機器による検査法ではこれらを検出することは困難である³⁾。一方で、カルバペネマーゼ非産生であるにも関わらず、基質拡張型 β -ラクタマーゼ (extended-spectrum beta-lactamase; ESBL) 産生や AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生に外膜蛋白変異が加わることで、カルバペネム系

(2020 年 12 月 4 日受付・2021 年 4 月 13 日受理)

© 2021 Japanese Association of Medical Technologists

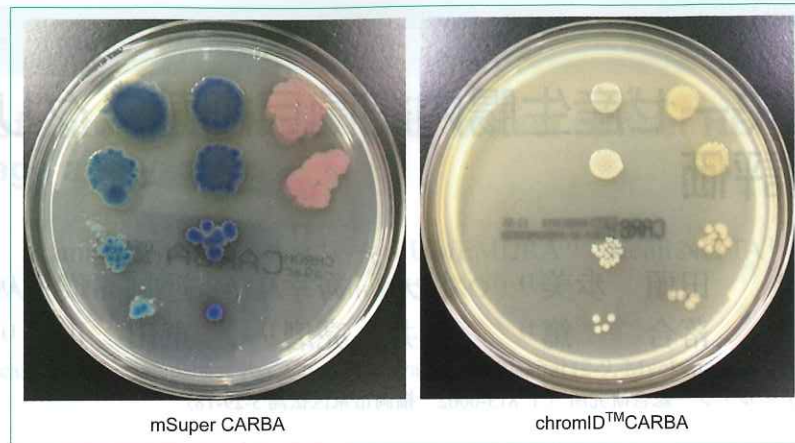


Figure 1 mSuper CARBA and chromID™CARBA
 left: *Enterobacter cloacae* ^{※1)} (IMP-1 ^{※3)} stealth type) middle: *Klebsiella pneumoniae* ^{※2)} (KPC ^{※3)}) right: *Escherichia coli* ^{※2)} (OXA-48 ^{※3)})
 ※1) No growth is seen on the chromID™CARBA
 ※2) No coloration is seen on the chromID™CARBA
 ※3) Group

薬が耐性となる株が存在しており、感染対策上 CPE との鑑別は重要となる^{2),4)}。

薬剤耐性菌を効率良く検出する方法としてスクリーニング培地が使用されることが多い。「クロモアガー mSuper CARBA」(関東化学)と「chromID™CARBA」(バイオメリュー)は、酵素基質を用いた CPE スクリーニング培地である。mSuper CARBA では、CPE のコロニーが *Escherichia coli* は藤色、その他腸内細菌はメタリック青に呈色される (Figure 1)。chromID™CARBA では、*Escherichia coli* 等の β-グルクロニダーゼを産生する菌株はピンク色からワイン色、*Klebsiella*, *Enterobacter* 等の β-グルコシダーゼを産生する菌株は青色がかった緑色から青色がかった灰色に呈色される。

検出が困難とされるステルス型を含む CPE を効率良く検出することは、適正な抗菌薬使用や院内感染対策上重要である。今回、CPE スクリーニング検査を目的として mSuper CARBA と chromID™CARBA の性能評価を行ったので報告する。

II 材料および方法

1. 提供菌株

提供菌株は、2013 年から 2020 年の 8 年間に当施設で検出した CPE 27 株、カルバペネマーゼ非産生 CRE (non-carbapenemase-producing-CRE; non-CP-CRE) 137 株の計 164 株を使用した。CPE は、シカジーニクス カルバペネマーゼ遺伝子型検出キット 2

(関東化学)により遺伝子型の確認を行った。同キットはカルバペネマーゼ遺伝子型 7 種類 (Ambler Class A : GES 型, KPC 型, Ambler Class B : IMP-1 型, IMP-6 型, VIM 型, NDM 型, Ambler Class D : OXA-48 型) の鑑別が可能である⁵⁾。CPE の内訳は IMP-1 型 24 株 (内ステルス型 11 株), KPC 型 1 株, OXA-48 型 2 株である。non-CP-CRE はディスク拡散法または改良カルバペネム不活化法 (modified carbapenem inactivation method; mCIM) により確認を行った。判定は CLSI M100-ED30 に準拠して行った⁶⁾。

本研究は、本社グループ研究開発会議にて倫理審査を行い承認されている (承認番号 20200219-2)。

2. 提試培地

検討対象培地は、mSuper CARBA と chromID™CARBA を用いた。

3. 発育支持能試験

保存株 CPE 20 株を用いた発育支持能試験は、ミスラ法 (Miles & Misra) に準拠して行った⁷⁾。各菌株を滅菌生理食塩水で McFarland 0.5 に調整後、この調整液を用いて 10 倍希釈系列を作製し接種用菌液とした。菌液希釈 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} の各接種用菌液を 10 μL 各検討培地に滴下し、37°C, 24 時間培養後、各培地のコロニー数を計測し比較した⁸⁾。

Table 1 Contents of non-CP-CRE *Enterobacterias* in 10 fecal samples

Strains	10 fecal samples									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Aeromonas caviae</i>	10 ³									
<i>Bacillus subtilis</i>			10 ³							
<i>Citrobacter freundii</i>		10 ³		10 ³		10 ⁴				
<i>Enterobacter cloacae</i>				10 ⁴		10 ⁵		10 ³		
<i>Enterococcus faecalis</i>						10 ⁵				
<i>Enterococcus faecium</i>		10 ⁵			10 ³					
<i>Escherichia coli</i>	10 ³		10 ⁵	10 ³	10 ⁵		10 ⁶	10 ³	10 ⁶	10 ⁶
<i>Klebsiella pneumoniae</i>						10 ⁵	10 ³		10 ⁵	
<i>Lactococcus lactis</i>								10 ⁵		
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	10 ³							10 ⁵		
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	10 ⁵									
<i>Streptococcus lutetiensis</i>	10 ⁴									

10³: 10³ CFU/mL 10⁵: 10⁵ CFU/mL10⁴: 10⁴ CFU/mL 10⁶: 10⁶ CFU/mL

4. 糞便存在下での発育支持能試験

夾雑菌による影響を確認するため、糞便検体を用いた模擬検体を作製し、糞便存在下での発育支持能試験を行った⁹⁾。培養検査でCPEおよびCREを含まないことを確認した糞便10検体 (Table 1) を滅菌生理食塩水で液状にし、濾過したものをさらに10倍希釈後、希釈用便液として用いた。発育支持能試験で作製した菌液希釈10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵の各希釈菌液を希釈用便液で10倍希釈し接種用菌液とした。菌液希釈10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶の各接種用菌液を10 μL各検討培地に滴下し、37°C、24時間培養後、各培地のコロニー数を計測し比較した⁸⁾。

5. 1濃度での発育支持能試験

CPEとnon-CP-CREの選択性を確認するために保存株であるCPE27株、non-CP-CRE137株の計164株を用いて1濃度(10³CFU/mL)での発育支持能試験を行った。各菌株を滅菌生理食塩水でMcFarland0.5に調整後、この調整液を用いて10倍希釈系列を作製した。10⁻⁵の希釈菌液を10 μL各検討培地に滴下し、37°C、24時間培養後、各培地のコロニー数を計測し比較した。

III 結果

1. 発育支持能試験

mSuper CARBAでは、CPE20株中17株が10²CFU/mL濃度で発育を認めた。発育が認められなかった3株中2株はIMP-1型(2株中1株はステルス型)

で、10³CFU/mL濃度では発育を認めた。残りの1株はOXA-48型で10⁴CFU/mL濃度では発育を認めた (Table 2)。感度は10³CFU/mL濃度で95%、10⁴CFU/mL濃度で100%となった (Table 3)。

chromIDTMCARBAでは、CPE20株中5株が10²CFU/mL濃度で発育を認めた。残りの15株中2株は10⁴CFU/mL濃度までに発育を認めたが、13株は10⁵CFU/mL濃度で発育を認めなかった。13株中12株がIMP-1型(12株中9株がステルス型)、1株がOXA-48型であった。感度は10³CFU/mL濃度で30%、最も高濃度の10⁵CFU/mL濃度で35%となった。

2. 糞便存在下での発育支持能試験

mSuper CARBAでは、CPE20株中15株が10²CFU/mL濃度で発育を認めた。残りの5株は10³CFU/mL濃度で発育を認めた。5株中4株がIMP-1型(4株中1株がステルス型)、1株がOXA-48型であった (Table 2)。感度は10³CFU/mL濃度で100%となった (Table 3)。

chromIDTMCARBAでは、CPE20株中4株は10²CFU/mL濃度で発育を認めた。残りの16株中6株は10⁵CFU/mL濃度までに発育を認めたが、10株は10⁵CFU/mL濃度で発育を認めなかった。10株中9株がIMP-1型(9株中7株がステルス型)、1株がOXA-48型であった。感度は10³CFU/mL濃度で25%、最も高濃度の10⁵CFU/mL濃度で50%となった。どちらの培地も、夾雑菌存在下において発育支持能試験と

Table 2 Growth ability test result with 20 CPE strains using mSuper CARBA and chromID™CARBA

No	Strains	Resistant mechanism	MIC (µg/mL)		mSuper CARBA								chromID™CARBA											
					Growth ability test				Growth ability test in feces				Growth ability test				Growth ability test in feces							
					IPM	MEPM	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²		
1	<i>Citrobacter freundii</i>	IMP-1 ^{※1}	≤1	2	10>	10>	10>	3	10>	10>	10>	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	<i>Citrobacter koseri</i>	IMP-1 ^{※1}	4	8	10>	10>	10>	6	10>	10>	10>	5	10>	10>	10>	7	10>	10>	10>	2	—	—	—	—
3	<i>Citrobacter koseri</i>	IMP-1 ^{※1}	4	8	10>	10>	10>	5	10>	10>	10>	4	10>	10>	10>	7	10>	10>	10>	4	—	—	—	—
4	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1 ^{※1}	2	4	10>	10>	10>	5	10>	10>	10>	4	10>	10>	10>	3	10>	10>	10>	3	—	—	—	—
5	<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP-1 ^{※1}	4	4	10>	10>	10>	6	10>	10>	18	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—
6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1 ^{※1}	16	>8	10>	10>	10>	2	10>	10>	10>	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	<i>Serratia marcescens</i>	IMP-1 ^{※1}	8	4	10>	10>	3	—	10>	10>	5	—	10>	5	1	—	10>	3	—	—	—	—	—	—
8	<i>Serratia marcescens</i>	IMP-1 ^{※1}	2	2	10>	10>	7	3	10>	10>	7	—	10>	6	—	—	10>	7	4	—	—	—	—	—
9	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1 ^{※1※2}	≤1	≤1	10>	10>	10>	7	10>	10>	4	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—
10	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1 ^{※1※2}	≤1	≤1	10>	10>	10>	2	10>	10>	10>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP-1 ^{※1※2}	≤1	≤1	10>	10>	10>	3	10>	10>	10>	2	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
12	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1 ^{※1※2}	≤1	≤1	10>	10>	10>	5	10>	10>	10>	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1 ^{※1※2}	≤1	≤1	10>	10>	10>	2	10>	10>	10>	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1 ^{※1※2}	≤1	≤1	10>	10>	10>	5	10>	10>	10>	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1 ^{※1※2}	≤1	≤1	10>	10>	10>	3	10>	10>	10>	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1 ^{※1※2}	≤1	≤1	10>	10>	24	—	10>	10>	10>	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1 ^{※1※2}	≤1	≤1	10>	10>	10>	3	10>	10>	10>	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC ^{※1}	32	>8	10>	10>	10>	1	10>	10>	10>	2	10>	10>	10>	4	10>	10>	10>	1	—	—	—	—
19	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48 ^{※1}	≤1	2	10>	7	—	—	10>	10>	2	—	10>	10>	10>	4	10>	8	—	—	—	—	—	—
20	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48 ^{※1}	2	≤1	10>	10>	10>	4	10>	10>	10>	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

10⁵: 10⁵ CFU/mL ^{※1}Group

10⁴: 10⁴ CFU/mL ^{※2}Stealth type

10³: 10³ CFU/mL IPM: imipenem

10²: 10² CFU/mL MEPM: meropenem

—: Not growing

Table 3 Sensitivity of growth ability test of mSuper CARBA and chromID™CARBA with 20 CPE strains

	mSuper CARBA				chromID™CARBA			
	10 ⁵ CFU/mL	10 ⁴ CFU/mL	10 ³ CFU/mL	10 ² CFU/mL	10 ⁵ CFU/mL	10 ⁴ CFU/mL	10 ³ CFU/mL	10 ² CFU/mL
Growth ability test	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	85% (17/20)	35% (7/20)	35% (7/20)	30% (6/20)	25% (5/20)
Growth ability test in feces	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	75% (15/20)	50% (10/20)	35% (7/20)	25% (5/20)	20% (4/20)
Growth ability test in one concentration			96.3% (26/27)				33.3% (9/27)	

同等の結果となり、夾雑菌の発育も認めなかった。

3. 1 濃度での発育支持能試験

mSuper CARBA では、CPE 27 株中 26 株が発育を認めた。発育が認められなかった 1 株は OXA-48 型で、10⁴ CFU/mL 濃度では発育を認めた。non-CP-CRE 137 株中 91 株は発育を認めなかった (Table 4)。感度は 96.3%、特異度は 66.4% となった。偽陽性 (46/137) の調査のため、non-CP-CRE 137 株を、imipenem (IPM) 耐性株、MEPM 耐性株で大別して特異度を見ると、IPM 単独耐性株 89%、IPM + MEPM 耐性株 5.9%、MEPM 単独耐性株 5.0% となり、MEPM

耐性株が偽陽性を示す傾向となった (Table 5)。また酵素基質により偽陽性株においても *Escherichia coli* は藤色、その他腸内細菌はメタリック青に呈色された。

chromID™CARBA では、CPE 27 株中 9 株は発育を認めた。non-CP-CRE 137 株中 116 株は発育を認めなかった。感度は 33.3%、特異度は 85.4% となった。IPM、MEPM 耐性株別の特異度は、IPM 単独耐性株 92%、IPM + MEPM 耐性株 41.2%、MEPM 単独耐性株 90% となった。

Table 4 Growth ability test result of mSuper CARBA and chromID™CARBA with one concentration (10³ CFU/mL) of non-CP-CRE

Resistant mechanism	Strains	n	MIC (μg/mL)		mSuper CARBA			chromID™CARBA			
			IPM	MEPM	—	≤ 10	10 >	—	≤ 10	10 >	
non-CP-CRE (n = 137)	IPM resistant (n = 100)	<i>Cedecea neteri</i>	1	4	≤ 1	1	0	0	1	0	0
		<i>Citrobacter freundii</i>	6	2	≤ 1	6	0	0	6	0	0
		<i>Citrobacter koseri</i>	1	2	≤ 1	0	0	1	1	0	0
		<i>Enterobacter cloacae</i>	23	2-4	≤ 1	22	0	1	23	0	0
		<i>Escherichia coli</i>	2	2	≤ 1	0	0	2	0	0	2
		<i>Klebsiella aerogenes</i>	37	2-4	≤ 1	36	0	1	37	0	0
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	2-4	≤ 1	4	0	3	6	0	1
		<i>Morganella morganii</i>	15	2-8	≤ 1	15	0	0	15	0	0
		<i>Serratia marcescens</i>	8	2-4	≤ 1	5	0	3	3	0	5
	IPM + MEPM resistant (n = 17)	<i>Citrobacter koseri</i>	2	2-8	4-8	0	0	2	2	0	0
		<i>Enterobacter cloacae</i>	2	4-8	2-4	0	0	2	2	0	0
		<i>Escherichia coli</i>	2	2	4-8	0	0	2	1	0	1
		<i>Klebsiella aerogenes</i>	2	4	2-4	1	0	1	1	0	1
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	16	2-8	0	0	2	1	0	1
		<i>Serratia marcescens</i>	7	2-4	2-8	0	0	7	0	0	7
	MEPM resistant (n = 20)	<i>Citrobacter koseri</i>	9	≤ 1	2-4	0	0	9	9	0	0
		<i>Enterobacter cloacae</i>	1	≤ 1	2	0	0	1	1	0	0
		<i>Escherichia coli</i>	3	≤ 1	2-4	0	0	3	3	0	0
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	≤ 1	2-4	1	1	5	5	2	0
	CPE (n = 27)	IMP-1 ^{※1} (n = 13)	<i>Citrobacter freundii</i>	1	≤ 1	2	0	0	1	1	0
<i>Citrobacter koseri</i>			2	4	8	0	0	2	0	0	2
<i>Enterobacter cloacae</i>			2	2	4	0	0	2	0	0	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>			3	2-4	2-4	0	0	3	3	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			3	≤ 1-16	2->8	0	0	3	2	1	0
<i>Serratia marcescens</i>			2	2-8	2-4	0	2	0	1	1	0
IMP-1 ^{※1} ※2 (n = 11)		<i>Enterobacter cloacae</i>	1	≤ 1	≤ 1	0	1	0	1	0	0
		<i>Escherichia coli</i>	1	≤ 1	≤ 1	0	0	1	0	0	1
		<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	≤ 1	≤ 1	0	0	1	1	0	0
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	≤ 1	≤ 1	0	0	8	8	0	0
KPC ^{※1} (n = 1)		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	32	> 8	0	0	1	0	0	1
OXA-48 ^{※1} (n = 2)		<i>Escherichia coli</i>	1	≤ 1	2	1	0	0	0	1	0
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2	≤ 1	0	0	1	1	0	0

※1) Group

※2) Stealth type

—: Not growing

Table 5 Specificity of growth ability test in one concentration (10³ CFU/mL) of non-CP-CRE

Resistant antimicrobial agent in non-cp-CRE	Specificity	
	mSuper CARBA	chromID™CARBA
IPM	89% (89/100)	92% (92/100)
IPM + MEPM	5.9% (1/17)	41.2% (7/17)
MEPM	5% (1/20)	90% (18/20)
total	66.4% (91/137)	85.4% (117/137)

IV 考察

酵素基質を用いた2種類のCPEスクリーニング培

地について、菌株を使用し、感度、特異度の両面から検討を行った。

感度については、mSuper CARBAでは、10³ CFU/mL濃度で95~100%となり、既報と同様に高い感度を示した^{8),10)}。検出が困難で問題となっているステルス型CPEにおいても、10³ CFU/mL濃度で全ての株の発育を認めており、10² CFU/mL濃度でも85%と高い感度を示した。一方で、chromID™CARBAでは、10³ CFU/mL濃度で25~33.3%となり、既報より低い感度を示した^{8),10)}。特にステルス型CPEの感度が低く、対象をステルス型CPEに限定すると、感

度は0~9.1%となった。既報との比較においては、本検討の方が対象株にステルス型CPEを多く用いており、そのため感度が低下したと考えられた。以上の結果からchromID™CARBAでは、ステルス型CPEの検出率が低い傾向にあるため、注意して使用する必要がある。

特異度については、mSuper CARBAでは、66.4%となり低い特異度を示した。non-CP-CRE 137株を、IPM耐性株、MEPM耐性株で大別して特異度を見ると、IPM単独耐性株89%に対し、IPM+MEPM耐性株5.9%、MEPM単独耐性株5.0%となり、MEPM耐性株で明らかな特異度の低下を認めており、MEPM耐性のnon-CP-CREが偽陽性を示す傾向がある知見を得た。既報との比較においては、陰性対象に用いた母集団の違いにより特異度に差が出ており、non-CP-CRE以外を用いた検討報告では高い特異度を示し⁸⁾、本検討同様にnon-CP-CREのみを用いた検討報告では低い特異度を示している¹¹⁾。以上の結果から、mSuper CARBAでは、MEPM耐性のnon-CP-CREが偽陽性を示す傾向があるため、注意して使用する必要がある。一方で、chromID™CARBAでは、85.4%となり、高い特異度を示したが、IPM耐性株、MEPM耐性株別の特異度では、IPM単独耐性株92%、MEPM単独耐性株90%に対し、IPM+MEPM耐性株は41.2%となり特異度の低下を認めたため、注意が必要である。

糞便存在下での影響については、mSuper CARBAおよびchromID™CARBAでは、発育支持能試験と同等の結果となり、高い抑制性能を示した。CPEは腸管内に定着する傾向が強いため、スクリーニング検査は糞便を用いることが有用である。特に新生児や乳児では定着性が強く、2年後のCPE保菌率が20%という報告がある¹²⁾。糞便検体から、夾雑菌や糞便由来成分の影響を最小限に抑えて、スクリーニング検査を実施できるため、検出漏れのリスクを軽減することが可能である。

CPEスクリーニング培地に発育した株のCPEの鑑別については、各種方法を用いて総合的に判断する必要がある。CPE検出方法には、薬剤感受性を用いてカルバペネマーゼ産生能を推定する表現型検査(Phenotype)や、PCR法等を用いて耐性因子を特定する遺伝子検査(Genotype)があり、それぞれの特徴を把握し、目的に応じて適切に使用することが求

められる¹³⁾。

酵素基質によるコロニーの呈色については、色調により菌種を推定できるケースもあったが、*Escherichia coli*以外では特異性が低いため、参考程度に考える必要がある。

本検討では、CPEスクリーニング検査を目的として性能評価を行ったが、検討の結果mSuper CARBAの方が、高感度のCPE検出能力を有するため有用であると考えられた。一方で、chromID™CARBAは、特異度は高いが、ステルス型CPEの検出率が低いため、現場は注意して使用する必要がある。mSuper CARBAは、MEPM耐性のnon-CP-CREが偽陽性を示す傾向があることに注意するなど、特性を把握して使用する必要があるが、検出が困難とされるステルス型を含めたCPEを高い感度で検出できるため、スクリーニング検査として有用であり、適正な抗菌薬使用や院内感染対策に寄与できると考えられる。

V 結語

CPEは世界的に問題となっており、近年、本邦においてもCPEを原因としたアウトブレイクが散発しているため、今後、感染の拡大が懸念される。mSuper CARBAは有用性が高いため、様々な場面で積極的に使用されることにより、アウトブレイクや感染拡大の抑制に貢献できると考えられる。

本論文の要旨は第32回日本臨床微生物学会総会・学術集会で発表した。

文献

- 1) 厚生労働省:カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症. <https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01-05-140912-1.html> (2020年11月16日アクセス)
- 2) 荒川 宜親:「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)等新型多剤耐性菌のグローバル化と臨床的留意点」, 日本化学療法学会雑誌, 2015; 63: 187-197.
- 3) 日本臨床微生物学会:四学会連携提案 カルバペネム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—. www.jscm.org/m-info/189.pdf (2020年11月16日アクセス)
- 4) 中野 竜一:「カルバペネム耐性腸内細菌科(CRE)における薬剤耐性機序の実態解明と耐性獲得機構の解明」, THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 2016; 69: 81-89.
- 5) 関東化学株式会社:シカジーニクス®カルバペネマーゼ遺伝子検出キット2. https://products.kanto.co.jp/web/index.cgi?c=t_product_table&pk=710 (2020年11月16日アクセス)
- 6) Clinical and Laboratory Standards Institute: Table 2A. Zone

- Diameter and MIC Breakpoints for Enterobacteriales. <http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED30:2020&sbssok=CLSI%20M100%20ED30:2020%20TABLE%20A&format=HTML#CLSI%20M100%20ED30:2020%20TABLE%20A> (2020年11月16日アクセス)
- 7) 坂崎 利一, 他:「新細菌培地学講座(上)」, 200-210, 近代出版, 東京, 1978.
- 8) 藤原 麻有, 中村 竜也:「クロモアガー mSuper CARBA を用いたカルバペナーゼ産生腸内細菌科細菌スクリーニングに関する検討」, 医学検査, 2018; 68: 110-116.
- 9) 石松 昌己, 他:「新しく開発された「バイタルメディア ESBL/MBL スクリーニング寒天培地」の基礎的検討」, 医学検査, 2014; 63: 94-98.
- 10) 木部 泰志, 他:「メタロ-β-ラクタマーゼ産生腸内細菌科細菌におけるクロモアガー mSuper CARBA 生培地の性能評価」, 日本臨床検査自動化学会誌, 2018; 43: 279-283.
- 11) Amar M *et al.*: “Comparative evaluation of a new commercial media, the CHROMAgar™ mSuper CARBA™, for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae,” *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2017; 88: 20-22.
- 12) Feldman N *et al.*: “Gastrointestinal colonization by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* following hospital discharge: Duration of carriage and risk factors for persistent carriage,” *Clin Microbiol Infect*, 2013; 19: E190-E196.
- 13) 薬剤耐性菌の検査法: ~日常検査でここまでできる~. http://www.c-linkage.co.jp/jscm2020/program/data/ws_kansai.pdf (2020年11月16日アクセス)

本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業等はありません。

Technical Article

Performance evaluation of screening medium for carbapenemase-producing *Enterobacteriales*

Keishiro KAWANO¹⁾ Ayumi TAGASHIRA¹⁾ Hideyuki MATSUNAGA¹⁾ Eri CHIKAMI¹⁾
Yukari KOYAMA¹⁾ Atsushi OCHIAI¹⁾ Ryoma MUROI¹⁾ Shoji HIGASHIDA¹⁾

1) CRC Co., Ltd. (3-29-18, Matushima, Higashi-ku, Fukuoka 813-0062, Japan)

Summary

The performances of “CHROMagar mSuper CARBA” (Kanto Chemical Co., Inc.) and “chromID™CARBA” (bioMérieux Japan Ltd.) in screening for carbapenemase-producing *Enterobacteriales* (CPE) were evaluated. We used 20 CPE strains (17 IMP-1 group strains including nine stealth-type strains, one KPC group strain, and two OXA-48 group strains) for the growth ability test based on the Miles and Misra method and the test in the presence of feces. We used 27 CPE strains (24 IMP-1 group strains, one KPC group strain, and two OXA-48 group strains) and 137 non-carbapenemase-producing carbapenem-resistant *Enterobacteriales* (non-CP-CRE) strains for the test performed at the same concentration of 10³ CFU/mL. mSuper CARBA showed a high sensitivity of 95% or more at 10³ CFU/mL in all tests, but that of chromID™CARBA was around 30%, suggesting the usefulness of mSuper CARBA. On the other hand, mSuper CARBA had a specificity of 66.4% (91/137) in the growth ability test at the same concentration, and we found that the MEPM-resistant non-CP-CRE strains tended to be detected as false positives. Although it is necessary to understand the characteristics of mSuper CARBA, the high sensitivity for detecting CPE strains including those of the stealth type is useful for screening tests, and it will contribute to the proper use of antibiotics and the prevention of nosocomial infections.

Key words: CPE, screening medium, evaluation, stealth type, non-CP-CRE

(Received: December 4, 2020; Accepted: April 13, 2021)

医学検査

Japanese Journal of Medical Technology

原著

- 原発性肺癌手術例におけるCD10の発現性と患者予後に関する検討
- 自動血球分析装置XN3000による造血前駆細胞数の推定
- 新型コロナウイルス用検出試薬「ミュータスワコーCOVID-19」の評価

技術論文

- 導出18誘導心電図波形を用いた心室中隔欠損症の肺高血圧予測
- Gomori's one-step trichrome染色法における代替媒染剤の有用性に関する実証研究
- 全自動遺伝子検出法3機種とコバスTaqMan48および培養法との*Mycobacterium avium* complexにおける検出性能の同時比較検討
- 着色ホルマリン固定液および封緘容器による医療事故防止の提案—ホルマリン固定液由来の医療事故分析から—
- 赤痢アメーバ抗体測定試薬「*Entamoeba histolytica* IgG-ELISA」の基礎的検討
- 超音波検査用ゼリーとゼリーウォーマの細菌学的環境調査
- 尿沈渣分析装置AUTION EYE AI-4510の性能評価
- PCR法による*Entamoeba* complexの高感度検出—高解像度融解曲線 (PCR-HRM) 解析と各種PCR法の比較検討—
- 全自動連続薄切装置の実用とその評価—病理検査における自動化—
- プレセプシン測定試薬「HISCLプレセプシン試薬」の基礎的検討
- 画像解析装置を用いた乳癌HER2-FISH検査の自動カウントの有用性
- カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌スクリーニング培地の性能評価
- 新たに開発された「ARCHITECT CA72-4」試薬の妥当性評価—Cancer Antigen 72-4測定試薬の化学発光免疫測定法と電気化学免疫測定法の比較—

資料

- 臨床検査技師を対象としたノンテクニカルスキルワークショップの実践
- 当院における血小板輸血不応例の後方視的検討
- 早期新生児期における免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM) の参考基準範囲
- 急性大動脈解離症例におけるクリオプレシビテートの有用性について—術中術後における血液製剤使用量に及ぼす効果—
- COVID-19流行期におけるエアロゾルの発生リスクが高い生理機能検査の運用について—当院の感染対策 (2週間ルール, PPE) について—
- 中規模急性期病院における微生物検査の外部委託から院内実施までの取り組み
- 肺癌に特化したゲノムセンター設置の有用性
- HBs抗原検査における偽陽性の検討
- 当院における新生児重症黄疸に対する交換輸血30例の検討

症例報告

- 人工関節片 (チタン) で関節炎を起こした1症例
- 巨大冠動脈瘤を合併した冠動静脈瘻
- フルオロキノロン耐性、莢膜多糖体非合成髄膜炎菌による脾臓摘出後重症感染症の一例

有用性検討

- 潜在する気流制限を有する患者を見出す手術前呼吸機能検査の有用性の検討

基礎検討

- 麻黄湯による緑膿菌病原因子の抑制効果についての基礎的検討

