

千臨技精度管理報告 (微生物部門)

試料3

千葉県がんセンター
里村秀行

出題菌種

Escherichia coli
Amp-C産生株

プラスミド性Amp-C遺伝子CIT陽性
(CMY2含む)

出題意図

ポイント！

感受性パターンから
Amp-C産生株を
推察できるか？

菌種によるAmp-C検出の臨床的意義

E. coli

Klebsiella spp.

P. mirabilis

C. koseri

Salmonella spp.

プラスミド性のAmp-C
(Amp-C過剰産生)の伝播
を監視する必要がある

Enterobacter spp.

C. freundii

S. marcescens

M. morgani

Providencia spp.

Hafnia alvei

Aeromonas spp.

P. aeruginosa

染色体性Amp-C と考えられ
検出意義は低い

同定結果

【試料3 同定検査】

貴施設回答		評価
試料3同定検査(菌名)	微生物試料3(2001) <i>Escherichia coli</i>	正解 評価A

【試料3 同定検査 委員評価】

		評価
試料3同定検査		-
委員評価:菌種コメントの評価	(3) 良(2点)	

菌コードでは表現しきれない菌の性質などをコメントにて記述された場合に、精度管理委員にて評価します
今後、重要な場合がありますので注意してください！

同定結果

同定	施設数	評価
<i>Escherichia coli</i>	36 (100%)	A
合計	36	

感受性結果

感受性薬剤	判定	施設数	評価
CMZ	R	35 (100%) 1施設不参加	A
CAZ	R	36 (100%)	A
IPM/CS	S	35 (97.2%)	A
	I	1 (2.8%) MIC=2 CLSI M100-S21 基準判定	
合計		36	

※ CMZ → CFPM 1施設 , FMOX 2施設

※ IPM/CS → MEPM , PAPM/BP 各1施設

出題意図

ポイント！

感受性パターンから
Amp-C産生株を
推察できるか？

感受性パターン

薬剤略号	ABPC	PIPC	CEZ	CCL	CTM	CTX	CAZ	CPDX	CFPN
	ペニシリン系薬	ペニシリン系薬	第1世代セファロスポリン系薬	第1世代セファロスポリン系薬	第2世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬
	モノバクタム系薬	ポリン系薬	セフトリアキソン系薬	セフトリアキソン系薬	セフトリアキソン系薬	セフトリアキソン系薬	カルバペネム系薬	カルバペネム系薬	EPM
MIC	>16	=4	=2	=8	>32	>32	≤1	<0.5	
カテゴリー	R	S	S	S	R	R	S	S	

耐性菌のチェックが必要！！

耐性菌検出フロー

E. coli, *Klebsiella spp.*, *P. mirabilis*

Step 1

CLSI ESBLスクリーニング基準を満たせばESBL確認試験実施
K. oxytoca でsulbactam/cefoperazoneが高度耐性
(128 $\mu\text{g/ml}$ 以上) の場合にはK1 β ラクタマーゼの可能性大

Step 2

上記基準にcefmetazoleもしくはfromoxefが耐性を示せば
Cefarosporinase確認試験

Step 3

上記基準を満たしsulbactam/cefoperazone (16 $\mu\text{g/ml}$ 以上) またはceftazidime (8 $\mu\text{g/ml}$ 以上) のMIC値が上昇している場合にはCarbapenemase産生確認

試料3 感受性パターン

Step 1 ESBL確認試験

薬剤略号	ABPC	PIPC	CEZ	CCL	CTM	CTX	CAZ	CPDX	CFPN	
	ペニシリン系薬	ペニシリン系薬	セファロスポリン系薬	セファロヘポリン系薬 経口	セファロスポリン系薬	第2世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬 経口	第3世代セファロスポリン系薬 経口
MIC	>16	>64	>16	>16	>16	>32	>16	>4	>1	
カテゴリー	R	R	R	R	R	R	R	R	R	

薬剤略号	AZT	CPR	CFPM	CZOP	CMZ	FMOX	IPM	MEPM
	モノバクタム系薬	第4世代セファロスポリン系薬	第4世代セファロスポリン系薬	第4世代セファロスポリン系薬	セファマイシン系薬	オキサセフェム系薬	カルバペネム系薬	カルバペネム系薬
MIC	>16	=4	=2	=8	>32	>32	≤1	<0.5
カテゴリー	R	S	S	S	R	R	S	S

βラクタマーゼと耐性パターン

表1 主なβ-ラクタマーゼと耐性パターン

産生酵素	Ambler の分類	Buch の分類	ペニシ リン系	第1世代 セフェム	第2世代 セフェム	第3世代 セフェム	第4世代 セフェム	モノバク タム系	セファマイ シン系ほか	カルバ ペネム系	活性阻害			
			ABPC PIPC	CEZ	CTM	CTX CAZ	CPR CFPM	AZT CRMN	CMZ FMOX	IPM MEPM BIPM DRPM	CVA ²⁾	BA ³⁾	MPA ⁴⁾	EDTA
ペニシリナーゼ (染色体性)	A	(2)	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	-
セファロスポリナーゼ (染色体性)	C	1	R	R	R(S)	S	S	S	S	S	-	+	-	-
ESBL (プラスミド性)	A	2be	R	R	R	R(S)	R(I)	R	S	S	+	-	-	-
AmpC 過剰産生型 (プラスミド性)	C	1	R	R	R	R(I)	R(I) ¹⁾	R(I)	R	S(I)	-	+	-	-
MBL (プラスミド性)	B	3	R	R	R	R	R	R(I)	R	R(S)	-	-	+	+
KPC 型 (プラスミド性)	A	2f	R	R	R	R(I)	R(I)	R	R	R(I)	±	+	-	-
OXA 型 (プラスミド性)	D	2d	R	R	R	R	R	R	R	R(I)	±	-	-	-

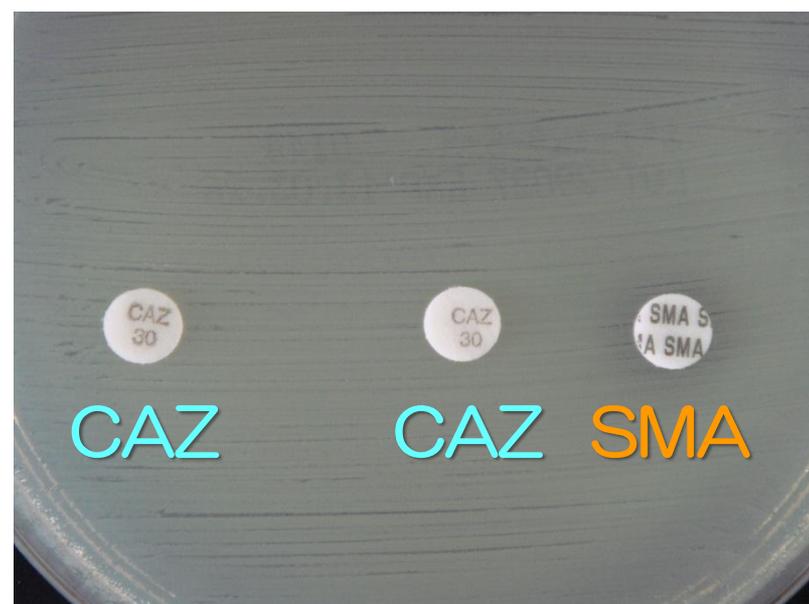
1) CFPM は感性 2) clavuronic acid 3) boronic acid 4) 2-mercaptopropionic acid または sodium mercaptoacetic acid

βラクタマーゼの確認

ESBLの確認



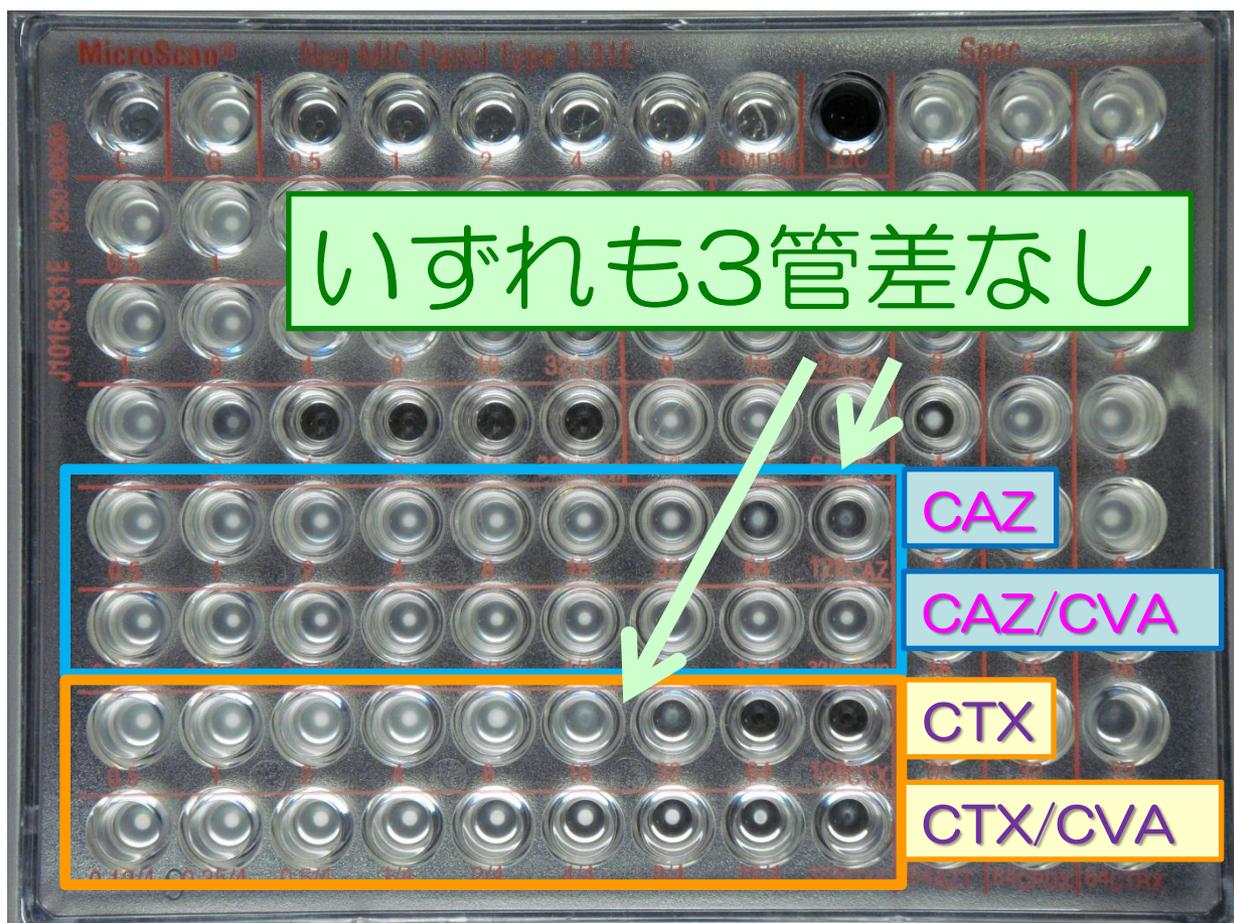
MBLの確認



クラバン酸 (CVA) メルカプト酢酸 (SMA)

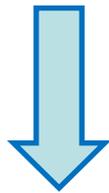
βラクタマゼーの確認

ESBLの確認

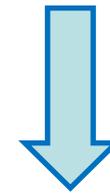


β ラクタマーゼの確認

ESBLの確認



MBLの確認



いずれも否定！

感受性パターン

薬剤略号	ABPC	PIPC	CEZ	CCL	CTM	CTX	CAZ	CPDX	CFPN	
	ペニシリン系薬	ペニシリン系薬	セファロスポリン系薬	セファロヘポリン系薬 経口	セファロスポリン系薬	第2世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬 経口	第3世代セファロスポリン系薬 経口
MIC	>16	>64	>16	>16	>16	>32	>16	>4	>1	
カテゴリー	R	R	R	R	R	R	R	R	R	

Step 1 ESBL確認試験

薬剤略号	AZT	CPR	CFPM	CZOP	CMZ	FMOX	IPM	MEPM
	セフトリアキソン系薬	セファロスポリン系薬	セファロスポリン系薬	セファロスポリン系薬	セフトマイシン系薬	フェム系薬	カルバヘネム系薬	カルバヘネム系薬
MIC	>16	=4	=2	=8	>32	>32	≤1	<0.5
カテゴリー	R	S	S	S	R	R	S	S

Step 2 Cefarosporinase (Amp-C) 確認試験

βラクタマーゼと耐性パターン

表1 主なβ-ラクタマーゼと耐性パターン

産生酵素	Ambler の分類	Buch の分類	ペニシ リン系	第1世代 セフェム	第2世代 セフェム	第3世代 セフェム	第4世代 セフェム	モノバク タム系	セファマイ シン系ほか	カルバ ペネム系	活性阻害			
			ABPC PIPC	CEZ	CTM	CTX CAZ	CPR CFPM	AZT CRMN	CMZ FMOX	IPM MEPM BIPM DRPM	CVA ²⁾	BA ³⁾	MPA ⁴⁾	EDTA
ペニシリナーゼ (染色体性)	A	(2)	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	-
セファロスポリナーゼ (染色体性)	C	1	R	R	R(S)	S	S	S	S	S	-	+	-	-
ESBL (プラスミド性)	A	2be	R	R	R	R(S)	R(I)	R	S	S	+	-	-	-
AmpC 過剰産生型 (プラスミド性)	C	1	R	R	R	R(I)	R(I) ¹⁾	R(I)	R	S(I)	-	+	-	-
MBL (プラスミド性)	B	3	R	R	R	R	R	R(I)	R	R(S)	-	-	+	+
KPC 型 (プラスミド性)	A	2f	R	R	R	R(I)	R(I)	R	R	R(I)	±	+	-	-
OXA 型 (プラスミド性)	D	2d	R	R	R	R	R	R	R	R(I)	±	-	-	-

1) CFPM は感性 2) clavuronic acid 3) boronic acid 4) 2-mercaptopropionic acid または sodium mercaptoacetic acid

感受性パターン

薬剤略号	ABPC	PIPC	CEZ	CCL	CTM	CTX	CAZ	CPDX	CFPN
	ペニシリン系薬	ペニシリン系薬	第1世代セファロスポリン系薬	第1世代セファロスポリン系薬 経口	第2世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬	第3世代セファロスポリン系薬 経口	第3世代セファロスポリン系薬 経口
MIC	>16	>64	>16	>16	>16	>32	>16	>4	>1
カテゴリー	R	R	R	R	R	R	R	R	R

薬剤略号	AZT	CPR	CFPM	CZOP	CMZ	FMOX	IPM	MEPM
	モノバクタム系薬	第4世代セファロスポリン系薬	第4世代セファロスポリン系薬	第4世代セファロスポリン系薬	セファマイシン系薬	オキサセフェム系薬	カルバペネム系薬	カルバペネム系薬
MIC	>16	=4,=16	=2	=8	>32	>32	≤1	<0.5
カテゴリー	R	S, I	S	S	R	R	S	S

βラクタマーゼ阻害薬

薬剤略号	ABPC/ CVA	CPZ/ SBT	PIPC/ TAZ
	クラバン酸 の合剤	スルバクタム の合剤	タゾバクタム の合剤
MIC	>16/8	=32/16	<16/4
カテゴリー	R	I	S

CVA: クラスA型βラクタマーゼを阻害しやすい

SBT: クラス**C型**β-ラクタマーゼを阻害しやすい

TAZ: クラスA、**C型**の双方を阻害しやすい

感受性結果

【試料3 感受性 薬剤1:CMZ】

			貴施設回答	評価
試料3感受性検査1(CMZ)(判定)	微生物試料3	(3)	R	-
試料3感受性検査1(CMZ)(MIC符号)	微生物試料3	(3)	>	-
試料3感受性検査1(CMZ)(MIC値)	微生物試料3		32.00	-
試料3感受性検査1(CMZ)(総合)	微生物試料3		カテゴリー R、MIC > 32.00	評価A

【試料3 感受性 薬剤2:CAZ】

			貴施設回答	評価
試料3感受性検査2(CAZ)(判定)	微生物試料3	(3)	R	-
試料3感受性検査2(CAZ)(MIC符号)	微生物試料3	(3)	>	-
試料3感受性検査2(CAZ)(MIC値)	微生物試料3		16.00	-
試料3感受性検査2(CAZ)(総合)	微生物試料3		カテゴリー R、MIC > 16.00	評価A

【試料3 感受性 薬剤3:IPM/CS】

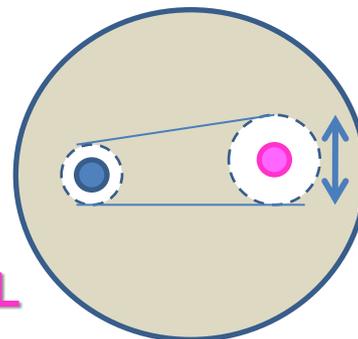
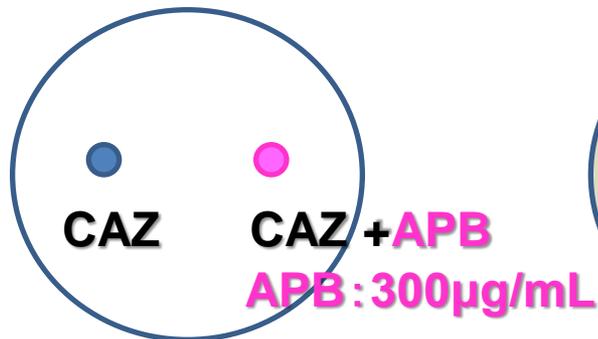
			貴施設回答	評価
試料3感受性検査3(IPM/CS)(判定)	微生物試料3	(0)	S	-
試料3感受性検査3(IPM/CS)(MIC符	微生物試料3	(2)	≦	-
試料3感受性検査3(IPM/CS)(MIC値)				-
試料3感受性検査3(IPM/CS)(総合)				評価A

⇒ まさにAmp-Cのパターン！

ボロン酸による

AmpC β ラクタマーゼ阻害試験

1. 3-Aminophenylboronic acid monohydrate 98%(発売元: 関東化学) 冷蔵
2. DMSO ジメチルスルホキシド 99.7%(発売元: シグマ アルドリッチ ジャパン) 冷蔵
3. 1のAPB10mgを2のDMSO 1mLに溶解、冷蔵
4. 使用時に3を30 μ L感受性ディスクに滴下

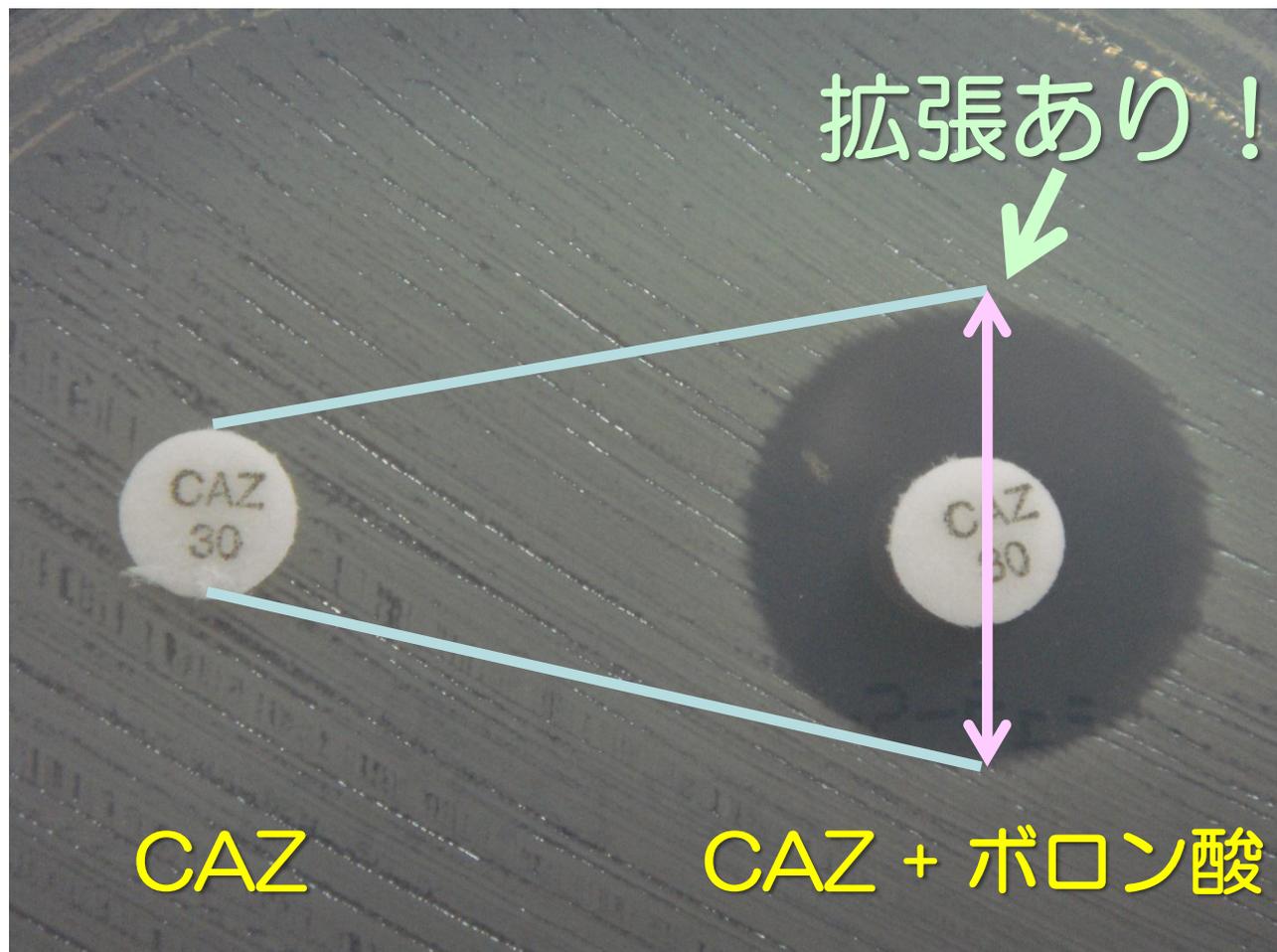


>5mmの拡大を
阻害ありと判定

Yagi T;
JCM, 2005, 2551-2558

Amp-Cの確認

ボロン酸での阻害

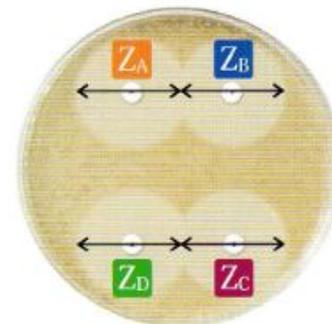


Amp-Cの確認

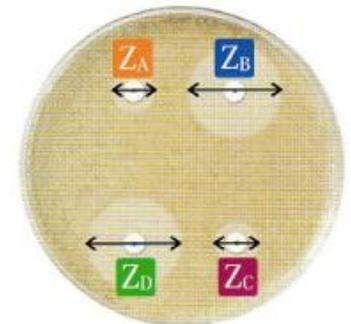
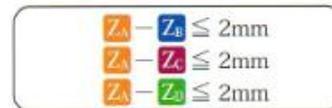
AmpC / ESBL 鑑別ディスク (関東化学)

カートリッジの種類と含有薬剤(/ディスク)

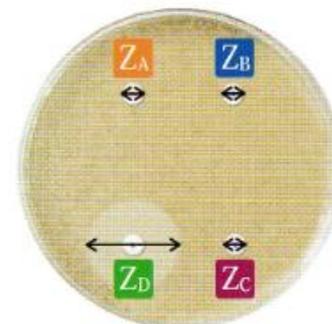
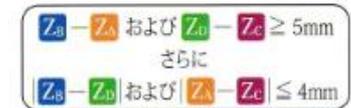
A	Cefpodoxime (CPDX) 10 μ g
B	CPDX 10 μ g + ESBL阻害剤
C	CPDX 10 μ g + AmpC阻害剤
D	CPDX 10 μ g + ESBL阻害剤 + AmpC阻害剤



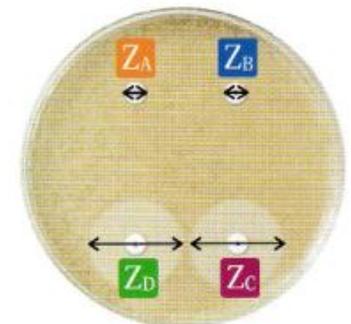
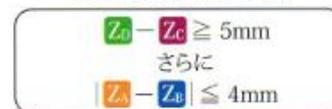
ESBL(-) / AmpC(-)



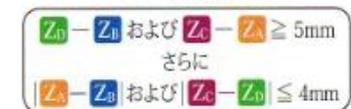
ESBL(+)



ESBL(+) / AmpC(+)



AmpC(+)



コメント報告

注意！

【感受性コメント】

薬剤感受性コメント評価

耐性菌に対する検査結果とコメント
臨床報告と医療関連対策に関するコメント

(3) 良(2点)
(3) 良(2点)

評価

-
-

報告されたコメントに対して
評価を行っています！

但し、今回は最終評価
には加えていません

コメント報告

記述すること！

【感受性コメント】

		評価
薬剤感受性コメント評価		
耐性菌に対する検査結果とコメント	(3) 良(2点)	-
臨床報告と医療関連対策に関するコメント	(3) 良(2点)	-

菌の耐性などの性質を記述する！

ESBL？Amp-C？MBL？KPC？MDRPP？VRE？

今回はAmp-Cに関する記述があるかどうか？

記述あり：良 記述なし：不良

コメント報告

記述すること！

【感受性コメント】

		評価
薬剤感受性コメント評価		
耐性菌に対する検査結果とコメント	(3) 良(2点)	-
臨床報告と医療関連対策に関するコメント	(3) 良(2点)	-

臨床へ報告する際のコメントを記述する！

感染防止策、使用抗菌薬・・・

今回はこれらに関する記述があるかどうか？

記述あり：良 記述なし：不良

コメント報告

記述すること！

【感受性コメント】

薬剤感受性コメント評価

耐性菌に対する検査結果とコメント

(3) 良(2点)

臨床報告と医療関連対策に関するコメント

(3) 良(2点)

評価

-

-

コメントも評価対象となります！！

今後、必要に応じて記述してください！

しっかり情報発信する検査室である必要がある！

ということです

染色体性βラクタマーゼ

表2.腸内細菌群の染色体性βラクタマーゼと発現性について

菌種	βラクタマーゼ	クラス分類	Bush分類	βラクタマーゼの発現 ^a			
				誘導性	少量	中等量	多量
<i>E. coli</i>	AmpC	C	1	-	●	-	○
<i>Shigellae</i>	AmpC	C	1	-	●	-	○
<i>Enterobacter</i> spp.	AmpC	C	1	●	○	-	▲
<i>C. freundii</i>	AmpC	C	1	●	○	-	▲
<i>M. morgani</i>	AmpC	C	1	●	-	-	▲
<i>Providencia</i> spp.	AmpC	C	1	●	○	-	○
<i>Serratia</i> spp.	AmpC	C	1	●	-	-	▲
<i>K. pneumoniae</i>	SHV-1	A	2b	-	-	-	○ ^b
<i>K. oxytoca</i>	K1	A	2be	-	-	-	▲
<i>C. diversus</i>		A ^c	2e	●	○	-	○
<i>P. vulgaris</i>	CXase ^d	A	2e	●	-	-	○
<i>P. penneri</i>	CXase	A	2e	●	-	-	○
<i>P. mirabilis</i>		? ^e	? ^e	-	●	-	-

- ^a ●, 産生の通常の形態、種の典型的なパターン;
▲, 10~50%の頻度で認められる; ○, 10%以下の頻度で認められる;
-, 不明あるいははずか
- ^b SHV-1型βラクタマーゼがプラスミド支配である時の頻度
- ^c クラスC型βラクタマーゼ産生株がはずかであるが認められている
- ^d CXase, Bush分類の2eに属するセフロキシマーゼ
- ^e 染色体性βラクタマーゼ産生は証明されていない

耐性同定コメントまとめ①

- ☆シーメンスのESBL確認用パネル（Neg MIC 3.31E）を用い、ESBLs産生能を確認しクラバン酸によるMIC値の低下は認められなかったためESBLではない。
- ☆メルカプト酢酸ナトリウムを用い、メタロβラクタマーゼ産生能を確認し阻止帯の拡張は認められなかったためメタロβラクタマーゼ産生株ではない。
- ☆マイクロスキャン Neg MIC 3.31Eを実施。結果（略）のためESBLは否定。メタロベータラクタマーゼ（-）。その他AmpCなどの耐性機構が考えられ他の施設への解析を依頼。
- ☆ペニシリン、セフェム系が耐性の為クラスA型βラクタマーゼ産生菌（ESBL）を疑ったが、CMZ>32とRである為それは否定された。

耐性同定コメントまとめ②

- ☆プラスミド性AmpC遺伝子のCIT（CMY2を含む）を保有する*Escherichia coli*と考える。
- ☆ボロン酸添加による阻止円の確認を行ない、ボロン酸添加ディスクの方に明確な阻止円が認められた。
- ☆ペニシリン系薬、第1.2.3世代セファロスポリン系薬、セファマイシン系薬が耐性、第4世代セファロスポリン系薬（CFPM：4 μ g/ml、CPR： \leq 8 μ g/ml）、カルバペネム系薬が感性であり、追加試験結果からAmpC β ラクタマーゼ産生株が疑われる。
- ☆ESBL確認試験（陰性）、メタロ β -ラクタマーゼ SMA' 栄研（陰性）、CFPM (S) CPR (S)。AmpC β -ラクタマーゼ産生菌と推定できます。
- ☆シカベータテスト、IPM/CS (S) により、メタロ β ラクタマーゼ産生菌ではない。CMZ (S)、シカベータテストからESBLは否定。CMZ、CAZ、IPM/CSの3剤感受性結果から、*E.coli* のAmpC耐性菌と考えた。
- ☆感受性の結果より、AmpC β -ラクタマーゼ産生菌の可能性ががあります。

抗菌薬コメントまとめ

☆ペニシリン系薬、第1・2・3世代セファロスポリン系薬、モノバクタム系薬、セファマイシン系薬、オキサセフェム系薬及びβ-ラクタマーゼ阻害薬合剤のクラブラン酸は無効です。

☆第1世代セファロスポリンを始め、セフェム系抗菌薬の広範囲に渡って耐性が認められるのでカルバペネム系が感性であってもカルバペネマーゼ産生の可能性が否定できないが、改良ホッジテスト等の確認試験ができる態勢が調っていないためカルバペネマーゼ産生の有無が確認・確定できない

☆ペニシリン系・セフェム系抗菌薬は無効とされます。

☆AmpC-β-ラクタマーゼ産生菌と推定されます。カルバペネム系抗菌薬による治療効果は期待できません。

☆第4世代セファロスポリン系薬およびカルバペネム系薬は有効とされます。

☆この分離菌はカルバペネムに感性ですが、カルバペネマーゼを産生している可能性が否定できません。カルバペネマーゼ産生の腸内細菌の感染症治療におけるカルバペネムの臨床効果は確認されていません。

医療関連感染対策コメントまとめ

- ☆ AmpC産生 (+) の可能性があります。この耐性遺伝子は他の菌種に伝播する可能性がある為、院内感染対策（標準予防策）の徹底をお願いします。
- ☆ この耐性菌は接触感染により伝播する可能性があるため、院内感染対策が必要です。
- ☆ AmpC β -ラクタマーゼ産生の*E.coli*です。接触感染対策の実施をお願いします。
- ☆ 耐性菌が検出されました。他の腸内細菌に耐性機構が伝播するため医療関連感染対策上重要な菌です。菌の拡散に注意してください。
- ☆ クラスC型 β ラクタマーゼ過剰産生株が疑われるため、病院感染に注意して下さい。
- ☆ 耐性の強い*E.coli*です。抗菌薬の選択、及び、院内感染に御留意ください。
- ☆ AmpC- β -ラクタマーゼ産生菌と推定されます。院内感染に注意して下さい。
- ☆ 本菌による院内感染、及びプラスミドによる異菌種への伝達による院内感染に注意する必要があります。
- ☆ 耐性の強い*E.coli*です。抗菌薬の選択、及び、院内感染に御留意ください。



謝辞

ご清聴ありがとうございました

