

[原 著]

β-ラクタマーゼ産生腸内細菌科細菌の薬剤感受性検査における DPS192ix の有用性

大沼健一郎¹⁾²⁾・中村竜也¹⁾³⁾・楠木まり¹⁾³⁾・石田奈美¹⁾・小林沙織¹⁾・藤原麻有¹⁾
西田全子¹⁾・大 路 剛¹⁾⁴⁾・時松一成³⁾・林 伸英⁵⁾・中町祐司¹⁾・三枝 淳¹⁾²⁾

¹⁾ 神戸大学医学部附属病院検査部

²⁾ 神戸大学大学院医学研究科臨床検査医学

³⁾ 神戸大学医学部附属病院感染制御部

⁴⁾ 神戸大学大学院医学研究科感染治療学

⁵⁾ 神戸常盤大学臨床検査学科

(平成 29 年 6 月 12 日受付, 平成 29 年 12 月 6 日受理)

感染症治療において適切かつ迅速な抗菌薬投与は治療や患者の予後の改善さらには薬剤耐性菌の発生抑制において重要である。今回我々は、β-ラクタマーゼ産生性の腸内細菌科細菌を用いて、微生物感受性分析装置 DPS192IX および感受性測定パネル EP01 (ともに栄研化学) の有用性を評価した。対象は各種 β-ラクタマーゼ産生菌 89 株とした。ドライプレートパネルを対照法とした MIC 一致性の評価では、1 管差一致率 96.6%~100%、カテゴリー一致率 91.1%~98.9% と良好であった。また、1 時間ごとに MIC 値をモニタリングすることにより、耐性の検出がカルバペネム系薬で 4 時間、他のセフェム系薬では 3 時間時点で可能であった。さらに、FRPM の 5 時間時点での MIC が 4 μg/mL 以上かどうかの確認は、感度 95.5%、特異度 87.7% でカルバペネマーゼ産生菌の検出が可能であった。以上より、DPS192IX を用いた薬剤感受性検査は日常検査に導入可能で、薬剤耐性菌報告の迅速化による適切な抗菌薬の選択および高精度なカルバペネマーゼ産生菌スクリーニング検査の一つとして、感染症診療に有用であることが示唆された。

Key words: 薬剤感受性検査, カルバペネム耐性腸内細菌科細菌, faropenem, 薬剤感受性測定機器 DPS192IX, 迅速検査

序 文

抗菌薬適正使用および院内感染対策において薬剤耐性細菌の早期発見は重要である。特に腸内細菌科細菌においては、基質拡張型 β-ラクタマーゼ (extended spectrum of beta-lactamase ; ESBL) をはじめとする β-ラクタマーゼ産生菌の増加が問題となっている。さらに本邦においてもカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem resistant Enterobacteriae ; CRE) に

よるアウトブレイクも報告されるなど公衆衛生上大きな問題となっている。このような背景から、2014 年には CRE による感染症が 5 類感染症として指定された¹⁾。また、CRE による感染症の死亡率を調査したメタアナリシスでは、カルバペネマーゼ産生菌 (carbapenem producing Enterobacteriae ; CPE) による感染症では死亡率が 26%~44% と高く、カルバペネム感菌による感染症と比較すると死亡率は 2 倍高いことが報告されており、CPE や CRE の早期検出はより重要である^{2)~4)}。しかし、現在ほとんどの検査室が抗菌薬の MIC 値の測定に自動機器を使用しているものの、多くが 16 時間以上の検査時間を要している。MIC 値から薬剤耐性菌を疑う場合には、さらに一日確定検査が追加して行われる。薬剤耐性菌を迅速かつ正確に検出することは抗菌薬の選択、さらには患者のアウト

著者連絡先 : (〒650-0017) 兵庫県神戸市中央区楠町 7-5-2
神戸大学医学部附属病院検査部
大沼健一郎
TEL: 078-382-6327
FAX: 078-382-6348
E-mail: onumak@med.kobe-u.ac.jp

カムを左右すると考えられるため、さらなる報告時間の短縮が望まれている。

近年本邦にて開発、上市された微生物感受性分析装置 DPS192ix (以下 DPS192ix, 栄研化学) は、専用の薬剤感受性測定用パネルであるドライプレート‘栄研’ (192 ウェル) (栄研化学) を用いて 1 時間毎にウェルの画像を撮像し MIC 値を判定することが可能な (カインेटリック機能) 薬剤感受性測定機器である。また、腸内細菌科細菌用のパネルである EP01 は 192 ウェル、33 種類の薬剤を搭載可能で、多種の抗菌薬をより広域な濃度で一度に測定することが可能である。EP01 と対照法の MIC 値の相関を検討した報告において、成績は同等であると報告されているが、第 3 世代セフェム系薬やカルバペネム系薬の MIC が高い株においての一致性についての検討は十分ではない⁵⁾。そこで、本検討では CRE や ESBL 産生株などの薬剤耐性菌を用いて EP01 と DPS192ix との薬剤感受性の一致性を検討し、1 時間毎に MIC 値を表示するカインेटリック機能を用いた薬剤耐性の早期報告および CPE のスクリーニング検査の可能性について検討することにより、DPS192ix の臨床検査における有用性を評価した。

材料と方法

(1) 使用菌株

神戸大学医学部附属病院および近畿地区の医療施設にて検出され、遺伝子検査にて各種耐性遺伝子が確認できた β-ラクタマーゼ産生性の腸内細菌科細菌 89 株 (ESBL 産生菌 23 株, AmpC 型 β-ラクタマーゼ (AmpC) 産生菌 22 株, カルバペネマーゼ産生菌 (CPE) 44 株) および *Escherichia coli* (β-ラクタマーゼ非産生) の臨床分離株 10 株を用いた。各耐性菌群の菌種内訳と耐性遺伝子型は Table 1 に示す通りである。CPE 群に対する対照群として、ESBL 産生菌および AmpC 産生菌をカルバペネマーゼ非産生菌 (非 CPE 群) とした。測定菌株は、カジトン培地 (栄研化学) またはスキムミルク (ベクトンディッキンソン社) (-80°C) で保存した菌株をミュラーヒントン寒天培地 (日本 BD 社) を用いて 35°C 18 時間以上で 2 回以上継代培養した株を用いた。

(2) DPS192ix による MIC 測定

上記菌株をマックファーランド濁度 1.0 に調整し、その 25 μL をミュラーヒントンプロス (栄研化学) に混合し接種菌液とした。薬剤感受性測定用パネルは EP01 を用いた。接種菌液をよく混和後、専用分注機を用いてプレートの各ウェルに 50 μL ずつ菌液を分注

し、DPS192ix に搭載した。18 時間後に機械によって読み取られた MIC 値を評価に用いた。測定薬剤は、ceftazidime : CAZ, cefepime CFPM, aztreonam : AZT, imipenem : IPM, meropenem : MEPM, gentamicin : GM, amikacin : AMK, minocyclin : MINO, levofloxacin : LVFX, cefpodoxime : CPDX, ceftriaxone : CTRX, cefmetazole : CMZ, doripenem : DRPM, faropenem : FRPM の 14 薬剤とした。また、自動撮影された画像を目視確認し、気泡やウェルの汚れなどあきらかに偽陽性を疑うものは発育陰性とした。測定薬剤は CAZ, CFPM, AZT, IPM, MEPM, GM, AMK, MINO, LVFX の 9 薬剤とした。

(3) CLSI 微量液体希釈法による MIC 測定

対照法として、ドライプレート DP31 (以下 DP31, 栄研化学) を用いた。(2) と同じ菌液を使用して接種菌液を調整し、100 μL ずつウェルへ分注した。35°C で 18 時間培養後、目視により MIC を判定した。目視による MIC の判定は、コントロールウェルの発育が陽性かつ薬剤含有ウェルの発育が陽性の場合に発育陽性とした。

(4) MIC 一致率とカテゴリー判定一致率の評価

DP31 を対照法として EP01 との MIC 値の一致率を求めた。MIC が完全に一致した場合を完全一致率とし、MIC が大小 ±1 管差の範囲内であれば、±1 管差一致率として算出した。それぞれの MIC 測定方法において、各抗菌薬に対する感性 (S)、中等度耐性 (I) および耐性 (R) と判定された株数を比較し、カテゴリーが一致した場合を category agreement (CA)、カテゴリーが一致しなかった場合、minor error (MIE, 1 管差の一致)、major error (ME, EP01 が耐性かつ対照法が感性) および very major error (VME, EP01 が感性かつ対照法が耐性) の 3 つに分類し、CA, MIE, ME, VME のそれぞれの割合を求めた。評価薬剤は CAZ, CFPM, AZT, IPM, MEPM, GM, AMK, MINO, LVFX の 9 薬剤とした。カテゴリーは CLSI M100-S27 のブレイクポイントに基づき判定した⁶⁾。

(5) 耐性判定に要する培養時間の検討

CPDX, CTRX, CMZ, IPM, MEPM, DRPM の 6 薬剤において、18 時間後に耐性と判定された株を耐性株として、ESBL 産生菌、AmpC 産生菌、CPE 群の各々について抽出し検討に用いた。測定開始後にカインेटリック機能により 1 時間毎に自動記録された MIC 値を後ろ向きに評価し、耐性判定に要した培養時間とその株数の割合の変化を 1 時間ごとに累積分布

Table 1. strains and genotypes used in this study (n: number)

Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE)	n = 44	non Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (non-CPE)	n = 45
genotype	n	genotype	n
<i>IMP1</i> * ¹		<i>CTX-M1</i> * ²	
<i>S. marcescens</i>	7	<i>E. coli</i>	4
<i>K. pneumoniae</i>	4	<i>K. pneumoniae</i>	1
<i>E. cloacae</i>	3	<i>CTX-M2</i> * ²	
<i>K. oxytoca</i>	1	<i>E. coli</i>	1
<i>C. freundii</i>	1	<i>K. pneumoniae</i>	1
<i>P. rettgeri</i>	1	<i>P. stuartii</i>	1
<i>M. morgani</i>	1	<i>P. rettgeri</i>	1
<i>IMP6</i> * ¹		<i>P. mirabilis</i>	1
<i>K. pneumoniae</i>	9	<i>CTX-M9</i> * ²	
<i>E. coli</i>	6	<i>E. coli</i>	5
<i>E. cloacae</i>	1	<i>K. pneumoniae</i>	3
<i>K. oxytoca</i>	1	<i>TEM</i> * ²	
<i>S. marcescens</i>	1	<i>E. coli</i>	1
<i>GES</i> * ¹		<i>K. pneumoniae</i>	1
<i>E. coli</i>	3	<i>SHV</i> * ²	
<i>KPC</i> * ¹		<i>E. coli</i>	1
<i>K. pneumoniae</i>	2	<i>AmpC</i> * ³	
<i>NDM-1</i> * ¹		<i>E. coli</i>	15
<i>K. pneumoniae</i>	1	<i>K. pneumoniae</i>	3
<i>SMB-1</i> * ¹		ESBL + outer membrane* ⁴	
<i>S. marcescens</i>	1	<i>E. coli</i>	1
<i>VIM-2</i> * ¹		<i>K. pneumoniae</i>	1
<i>E. cloacae</i>	1	AmpC + outer membrane* ⁴	
		<i>E. aerogenens</i>	1
		<i>K. pneumoniae</i>	1
		AmpC + ESBL	
		<i>E. cloacae</i>	1
		AmpC + ESBL + outer membrane* ⁴	
		<i>E. coli</i>	1

*¹ *IMP1*, *IMP6*, *GES*, *KPC*, *NDM-1*, *SMB-1* and *VIM-2* are carbapenemase producing genes.

*² *CTX-M1*, *CTX-M2*, *CTX-M9*, *TEM* and *SHV* are ESBL producing genes.

*³ AmpC are plasmid-derived cephalosporinase producing strains.

*⁴ Outer membrane indicates variation of outer membrane protein-harboring strains such as porin loss.

で示し、累積耐性率 (cumulative resistance rate : CRR) として解析した。各薬剤で累積耐性率が 50% (CRR₅₀) および 90% (CRR₉₀) に達するまでの時間 (time required for CRR reach to 50% (TCR₅₀) or 90% (TCR₉₀)) を比較検討した。

(6) カルバペネマーゼ産生菌スクリーニング検査としての FRPM の有用性の評価

カイネティック機能で記録された CPDX, CTRX および FRPM の 1 時間毎に記録された MIC 値を後ろ向きに評価し、CPE 群と非 CPE 群の各群において 5

時間時点で耐性判定ができた株の割合を算出し、2 群間で比較した。FRPM については、測定開始後 5 時間時点における MIC 値が 4 μg/mL 以上を示した株数とその割合を CPE 群および非 CPE 群間で比較し、カルバペネマーゼ産生菌スクリーニングとしての感度および特異度を算出し、その有用性を検証した。

(7) FRPM の耐性率の比較などの統計解析には MedCalc (ver. 16.2, ベルギー) を用い、 χ^2 検定を行った。p < 0.05 を有意水準とした。

Table 2. Evaluation of agreement rates of MICs (a) and categories (b) compared to DP31

(a) MIC agreement rates

antibiotics	No. (%) of isolates with the stated differences in MICs							agreement rate (%)	
	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	within ±1 dilution	complete
ceftazidime	0	2	11	69	5	1	0	96.6	78.4
cefepime	0	0	5	74	8	1	0	98.9	84.1
aztreonam	1	0	5	73	8	1	0	97.7	83.0
imipenem	0	2	19	61	6	0	0	97.7	69.3
meropenem	0	1	7	77	3	0	0	98.9	87.5
gentamicin	0	0	4	44	38	2	0	97.7	50.0
amikacin	1	0	11	56	20	0	0	98.9	63.6
minocycline	0	0	3	66	19	0	0	100.0	75.0
levofloxacin	0	2	5	76	4	0	1	96.6	86.4

(b) Category agreement rates

antibiotics	rate (%)			
	CA	MIE	ME	VME
AMK	98.9	1.1	0.0	0.0
MEPM	97.8	2.3	0.0	0.0
GM	97.8	2.3	0.0	0.0
CFPM	94.4	5.6	1.1	0.0
AZT	93.3	6.7	0.0	0.0
CAZ	92.1	6.7	1.1	0.0
MINO	92.1	7.9	0.0	0.0
IPM	91.0	7.9	0.0	1.1

結 果

(1) 対照法との一致性の検討

各薬剤の対照法に対する MIC 値の相違管差とその株数を Table 2a に示した。±1 管差一致率は 96.6%~100% と良好であった。完全一致率は 50%~87.5% であり、アミノグリコシド系薬などで EP01 が低値となる傾向を示した。カテゴリー判定一致率は 91.0%~98.9% であり、特に AMK (98.9%), MEPM (97.8%), および GM (97.8%) で良好であった。さらに、VME, ME および MIE の比率は、VME : 0~1.1%, ME : 0~1.1%, MIE : 1.1~7.9% であった (Table 2b)。

(2) 測定開始後耐性判定までに要する時間とその割合の検討

各種 β-ラクタマーゼ産生菌における累積耐性率 (CRR) を Table 3 に示した。ESBL 産生菌において、CPDX および CTRX の TCR₅₀ と TCR₉₀ を求めたところ、CPDX と CTRX 共に TCR₅₀ は 4 時間、TCR₉₀ は 7 時間であった。CPDX では 3 時間から 8 時間 (平均 4.9 時間)、CTRX では 3 時間から 12 時間 (平均 5.1 時間) で耐性の検出が可能であった。同様に AmpC 産生菌

では、CTRX TCR₅₀ は 4 時間、CTRX TCR₉₀ は 11 時間、CMZ TCR₅₀ は 6 時間、CMZ TCR₉₀ は 11 時間であり、CTRX では 3 時間から 18 時間 (平均 6.2 時間) で、CMZ では 2 時間から 13 時間 (平均 6.2 時間) で耐性の検出が可能であった。AmpC 産生菌において CPDX の TCR₅₀ と TCR₉₀ は共に 4 時間であり、CMZ および CTRX と比較して早期に耐性の確認が可能であった。CPE 群においては CPDX TCR₅₀ は 4 時間、CTRX TCR₉₀ は 5 時間と極めて早期に耐性が確認できた。一方、カルバペネム系薬の IPM では TCR₅₀ は 6 時間、TCR₉₀ は 11 時間と 3 時間から 11 時間 (平均 5.8 時間) で耐性の確認が可能であったが、MEPM と DRPM では、MEPM TCR₅₀ は 11 時間、MEPM TCR₉₀ は 14 時間、そして、DRPM TCR₅₀ は 10 時間、DRPM TCR₉₀ は 15 時間と MEPM や DRPM の耐性の確認には長いもので 15 時間以上、平均約 9 時間もの時間を要した。

(3) カルバペネマーゼ産生菌スクリーニング検査としての有用性の評価

FRPM 耐性株は CPE 群で 42 株 (95.5%)、非 CPE 群で 6 株 (13.3%) と CPE 群で非 CPE 群と比較して

Table 3. Evaluation of utility for rapid detection of antibiotic-resistance using monitoring function of DPS192ix

	antibiotics	number (n)		TCR ₅₀ (hr)	TCR ₉₀ (hr)	average time required to detect resistance (min, max)
		total	resistant strain (%)			
ESBL	cefepodoxime	23	20 (87.0%)	4	7	4.9 hr (3hr, 8hr)
	ceftriaxone	23	21 (91.3%)	4	7	5.1 hr (3hr, 12hr)
AmpC	cefepodoxime	22	22 (100%)	4	4	3.7 hr (3hr, 5hr)
	ceftriaxone	22	19 (86.4%)	4	11	6.2 hr (3hr, 18hr)
	ceftazidime	22	17 (77.3%)	6	11	6.2 hr (2hr, 13hr)
CPE	cefepodoxime	44	41 (93.2%)	4	5	4.2 hr (3hr, 12hr)
	ceftriaxone	44	41 (93.2%)	4	5	4.3 hr (3hr, 14hr)
	ceftazidime	44	39 (88.6%)	4	11	4.5 hr (3hr, 14hr)
	imipenem	44	18 (40.9%)	6	11	5.8 hr (3hr, 11hr)
	meropenem	44	37 (84.1%)	11	14	9.4 hr (4hr, 17hr)
	doripenem	44	34 (77.3%)	10	15	9.3 hr (4hr, 15hr)

*TCR₅₀, TCR₉₀; time required for CRR reach to 50% (TCR₅₀) or 90% (TCR₉₀)

Table 4. Evaluation of detection accuracy for confirmation of resistance at 5hr as CPE screening test

antibiotics	No. of resistant strain (%)		sensitivity (%)	specificity (%)
	non-CPE (n = 45)	CPE (n = 44)		
faropenem	6 (13.3)	42 (95.5*)	95.5	86.7
ceftriaxone	28 (62.2)	39 (88.6*)	88.6	37.8
cefepodoxime	40 (88.9)	39 (88.6)	not calculated	not calculated

* $p < 0.05$ compared to non-CPE

有意に高率 ($p < 0.05$) であった (Table 4)。また, CTRX 耐性株は, CPE 群および非 CPE 群でそれぞれ 88.6%, 62.2% と有意に CPE 群で高率であった。一方, CPDX 耐性株は CPE 群および非 CPE 群でそれぞれ 88.6%, 88.9% と差が認められなかった。以上の結果をふまえて, 5 時間時点での耐性確認による CPE の検出精度は, FRPM では感度 95.5%・特異度 86.7% であったが, CTRX (カットオフ値 $4 \mu\text{g}/\text{mL}$) では感度 88.6%・特異度 37.8% であった。

考 察

近年, Antimicrobial stewardship (AS) が提唱されて実践される中で, 迅速かつ正確に MIC を測定することがますます重要となっている。今までの薬剤感受性試験はブレイクポイントパネルを使用する機器が主流であり, 測定可能な薬剤の濃度域と種類が限定されていた。一方, DPS192ix は 1 薬剤につき 6 段階の濃度測定による MIC の測定とカイネティック機能による迅速な耐性報告が可能となっており, AS に貢献できる機器と考えられる。特に今回検討に用いた β -

ラクタマーゼ産生菌は, 酵素の種類により特徴が多様であり, より高い測定精度が求められる。

EP01 を用いた各種 β -ラクタマーゼ産生腸内細菌科細菌の測定結果は, 対照法と比較して MIC 一致率も良好であった。アミノグリコシド系薬 AMK および GM で EP01 が対照法と比較して +1 菅差を示した株が多く完全一致率が低値であったが, カテゴリー一致率はそれぞれ 98.9%, 97.7% であり, VME とする株はなく, カテゴリー判定には影響しない程度であった。他の薬剤においても VME とした株は IPM で 1 株 (1.1%), ME が CAZ および CFPM で 1 株 (1.1%) ずつであり, EP01 の感受性判定は信頼性の高いものであることが示唆された。

次に DPS192ix のカイネティック機能に注目し, 薬剤耐性の早期報告の有用性について評価した。薬剤耐性菌による感染症の治療失敗を未然に防ぐためには, 初期投与抗菌薬が感染症起因菌に抗菌活性を有するかどうかを早期に報告することが重要である。本邦で CPE よりも分離頻度が高い ESBL 産生菌や AmpC 産生菌でも薬剤耐性の早期検出が可能であれば有意義で

あることから、第3世代セフェム系薬である CPDX や CTRX も検討に用いた。ESBL 産生菌、AmpC 産生菌および CPE 群において、CPDX では 50% の株が 4 時間、90% の株が 4~7 時間で耐性確認が可能であった。CTRX については、CPE の TCR₉₀ は 5 時間、ESBL 産生菌の TCR₉₀ は 7 時間、AmpC 産生菌の TCR₉₀ は 11 時間と AmpC 産生菌が耐性と判定できるまでに時間を要する株が多く、いずれの耐性菌でも早期に耐性確認が可能で CPDX に比べ、CTRX は AmpC 産生による早期耐性確認の対象薬剤として不適である可能性が示唆された。薬剤感受性測定開始 7 時間程度でカイネティック機能により自動記録された結果を確認し耐性の確認が可能であることは、薬剤感受性測定開始後ルーチン時間内に耐性薬剤の報告を行うことが可能であることを意味し、抗菌薬適正使用へ貢献できると考えられる。

一方、CPE におけるカルバペネム系薬の評価は、TCR₅₀ や TCR₉₀ が他の β-ラクタム系薬に比較して長く、特に IPM、MEPM、DRPM で 90% の株が耐性と判定できるまでに 11~15 時間もの時間を要した。今回解析した IMP 型メタロ β-ラクタマーゼ (MBL) 産生株 36 株のうち遺伝子型が IMP-6 型であるものが半数の 18 株を占めていたため、IPM 耐性株が 18 株と少なく、加えて GES 型 (3 株) などカルバペネム系薬に対する MIC 値が低値を示す株の存在が一因と考えられた。カルバペネム系薬が高度耐性となる傾向の強い KPC 型、OXA 型および NDM-1 型などのカルバペネマーゼ産生遺伝子を保有する CPE では、TCR₅₀ や TCR₉₀ も小さくなるのが考えられる。矢野らも本邦で検出される IMP 型 MBL 産生大腸菌の 90.7% がカルバペネム系薬に対する MIC 値が低値を示す IMP-6 型であると報告しており、カルバペネム系薬以外で CPE を検出する指標となる薬剤が必要とされている⁷⁾。我々はこれまでに、ペネム系薬である FRPM ディスクを用い高感度に CPE の検出を可能にしたスクリーニング検査を確立し報告している⁸⁾。Fupin や Dayらが報告している OXA 型や KPC 型カルバペネマーゼ産生菌を対象とした研究においても、FRPM を用いたスクリーニング検査の感度は良好であった⁹⁾¹⁰⁾。しかし、これらの方法では 16 時間以上の培養は必須であり、迅速化という点においてはやや課題がある。そこで、CPE 検出のスクリーニング検査として FRPM の経時的な MIC 値の変化を DPS192ix のカイネティック機能により解析し、その有用性について検討した。今回使用した菌株における FRPM の耐性率は CPE 群で 100%、非 CPE 群 31.1% と CPE 群で高率で

これまでの報告と一致していた^{8)~10)}。さらに、測定開始後 5 時間時点での FRPM の MIC 値 4 μg/mL 以上の株の割合を CPE 群と非 CPE 群で比較したところ、CPE 群で 95.5%、非 CPE 群で 13.3% と CPE 群で有意に高く、測定開始後 5 時間での MIC 値 4 μg/mL 以上をカットオフとした場合、感度 95.5%、特異度 86.7% と、CPE 検出のスクリーニング検査として有用であることが示唆された。さらに、非 CPE 群で陽性であった 6 株のうち 2 株はカルバペネマーゼ非産生であるが CRE の判定基準を満たす菌株であり¹¹⁾、CRE のスクリーニング検査とすると感度は 95.7%、特異度 90.7% とさらに上昇した。また、5 時間時点で 4 μg/mL 未満であった CPE 群の 2 株 (*E. coli* と *Klebsiella pneumoniae*) はどちらも IMP6 型で、9 時間もしくは 16 時間時点で FRPM が 4 μg/mL 以上となった。これらの菌は CTRX や CMZ が早期に耐性となっており、FRPM 以外の他の薬剤と合わせて総合的に判定する必要がある株も存在することが示唆された。CLSI M100-S25 においても、当初カルバペネマーゼの確認検査として modified Hodge Test (MHT) が推奨されてきたが、MHT は 18 時間程度の培養が必要であり、近年ではより迅速に数時間でカルバペネマーゼの産生を証明できる Carba NP test や mCIM テストが推奨されるようになった¹²⁾。FRPM などの抗菌薬を指標とし、5 時間時点で CPE あるいは CRE である可能性が高い株に対しては、薬剤感受性試験の最終結果判明より以前に Carba NP 法や CIM test あるいは遺伝子検査などの確認試験を追加することで、効率よくかつ迅速に CPE を報告することが可能であると考えられる。

本研究における結果から、DPS192ix は、薬剤耐性菌検査の turnaround time の大幅な短縮化と、抗菌薬適正使用および院内感染対策に貢献しうる検査システムの構築が可能であり、臨床検査機器として有用であることが示唆された。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) 荒川宜親. 2015. 薬剤耐性菌の法令に基づく取扱いと届け出等における留意事項. 臨床と微生物 42: 505-512.
- 2) 荒川宜親. 2015. 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. 日本化学療法学雑誌 63 (2): 187-197.
- 3) Nordmann, P., L. Poirel. 2014. The difficult-to-control

- spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin. Microbiol. Infect.* 20: 821-830.
- 4) Falagas, M.E., G.S. Tansarli, D.E. Karageorgopoulos, et al. 2014. Deaths Attributable to Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections. *Emerg Infect Dis.* 20: 1170-1175.
 - 5) 野竹重幸, 蒔田瑠美, 中原 剛, 他. 2012. 腸内細菌最小発育阻止濃度測定用ドライプレート '栄研' 192 パネルと自動接種機および自動判読機の評価. *日本臨床検査自動化学会誌* 37: 149-154.
 - 6) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Seventh Informational Supplement. M100-S27.
 - 7) Yano, H, M Ogawa, S Endo, et al. 2012. High Frequency of IMP-6 among Clinical Isolates of Metallo-
Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother* 56: 4554-4555.
 - 8) 中村竜也, 小林沙織, 大沼健一郎, 他. 2017. カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) のディスク拡散法を用いたスクリーニング検査に関する検討. *感染症誌* 91: 7-13.
 - 9) Day, KM, R Pike, TG Winstanley, et al. 2013. Use of Faropenem as an Indicator of Carbapenemase Activity in the Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.* 51: 1881-1886.
 - 10) Fupin, H, A Chulsoo, A Jessica, et al. 2014. Faropenem Disks for Screening of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.* 52: 3501-3502.
 - 11) 厚生労働省ホームページ URL : <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou1/01-05-140912-1.html> 2016年12月8日現在.
 - 12) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Fifth Informational Supplement. M100-S25.

Evaluation of accuracy and availability of DPS192ix for the antimicrobial susceptibility testing of gram-negative β -lactamase-producing Enterobacteriaceae

Kenichiro Ohnuma^{1) 2)}, Tatsuya Nakamura^{1) 3)}, Mari Kusuki^{1) 3)}, Nami Ishida¹⁾, Saori Kobayashi¹⁾,
Mayu Fujiwara¹⁾, Masako Nishida¹⁾, Goh Ohji^{1) 4)}, Issei Tokimatsu³⁾, Nobuhide Hayashi⁵⁾,
Yuji Nakamachi¹⁾, Jun Saegusa^{1) 2)}

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Kobe University Hospital, Japan

²⁾Division of Laboratory Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, Japan

³⁾Department of Infection Prevention and Control, Kobe University Hospital, Japan

⁴⁾Division of Infectious Diseases Therapeutics, Department of Microbiology and Infectious Diseases, Kobe University Graduate School of Medicine, Japan

⁵⁾Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Kobe Tokiwa University

The rapid detection of antimicrobial resistant strain, especially carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE), is important for the effective treatment of infectious diseases. In the present study, we evaluated availability of the automatic analyzer DPS192ix. The susceptibilities of 89 strains including 44 strains of CPE to 9 antibiotics were measured with DPS192ix using EP01 panel, and compared with DP panel as reference methods. The rates of agreement within ± 1 dilution ranged from 96.6% to 100%, and of category agreement ranged from 91.1% to 98.8%. It was noteworthy that less than 1.1% of strains showed very major error and major error. In addition, we could detect resistant strain to some antibiotics after only 3 hours of culture beginning by confirming reports from DPS192ix once every hour. Furthermore, MIC value over than 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of faropenem at 5 hours after culture beginning as a screening test of CPE had a sensitivity of 95.5% and a specificity of 87.7%. In conclusion, DPS192ix is useful to reduce turnaround time for reporting drug-resistant strain and to choose the appropriate drugs for the treatment of infectious diseases caused by beta-lactamase producing bacteria.