

【令和6年度 院内感染対策講習会】

＜講習会②＞

地域の医療連携体制が求められる病院、診療所、助産所等向け

（6）院内感染関連微生物と その検査法

大阪公立大学大学院医学研究科 細菌学
金子幸弘

講義の概要と目的

- 院内感染で問題となる微生物
- 細菌学の基本～検査の理解のために
- 検査の意義と解釈
- 薬剤耐性（AMR）の重要性
- AMRの検査
- まとめ

講義の概要と目的

- 院内感染で問題となる微生物
- 細菌学の基本～検査の理解のために
- 検査の意義と解釈
- 薬剤耐性（AMR）の重要性
- AMRの検査
- まとめ

院内感染で問題となりうる微生物

ウイルス

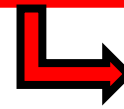
- ノロウイルス
- インフルエンザウイルス
- SARS-CoV-2
- 麻疹ウイルス
- 水痘・帯状疱疹ウイルス
- B型肝炎ウイルス
- C型肝炎ウイルス
- HIV

細菌

- 薬剤耐性菌 (AMR)
 - MRSA
 - VRE
 - ディフィシル菌
 - ESBL産生菌
 - CRE/CPE
 - MDRA・MDRP
- 結核菌
- レジオネラ
- 梅毒トレポネマ

真菌

- *Aspergillus*
- *Mucor*
- *Candida auris*
- *Pneumocystis jirovecii*



季節を問わず
常時リスクを伴う

講義の概要と目的

- 院内感染で問題となる微生物
- 細菌学の基本～検査の理解のために
- 検査の意義と解釈
- 薬剤耐性（AMR）の重要性
- AMRの検査
- まとめ

細菌学が分かると検査の理解に役立つ

菌の性質から適切な検査法が理解できる!!

例1 結核菌は空気感染する → 喀痰採取に注意

例2 淋菌は乾燥や低温・高温に弱い → 保存に注意

検査結果から原因菌を推定できる!!

例1 青くて2つ丸い菌 → 肺炎球菌

例2 緑膿菌は好気性 → 血液培養では好気のみ (+)

菌の性質から検査の流れが理解できる!!

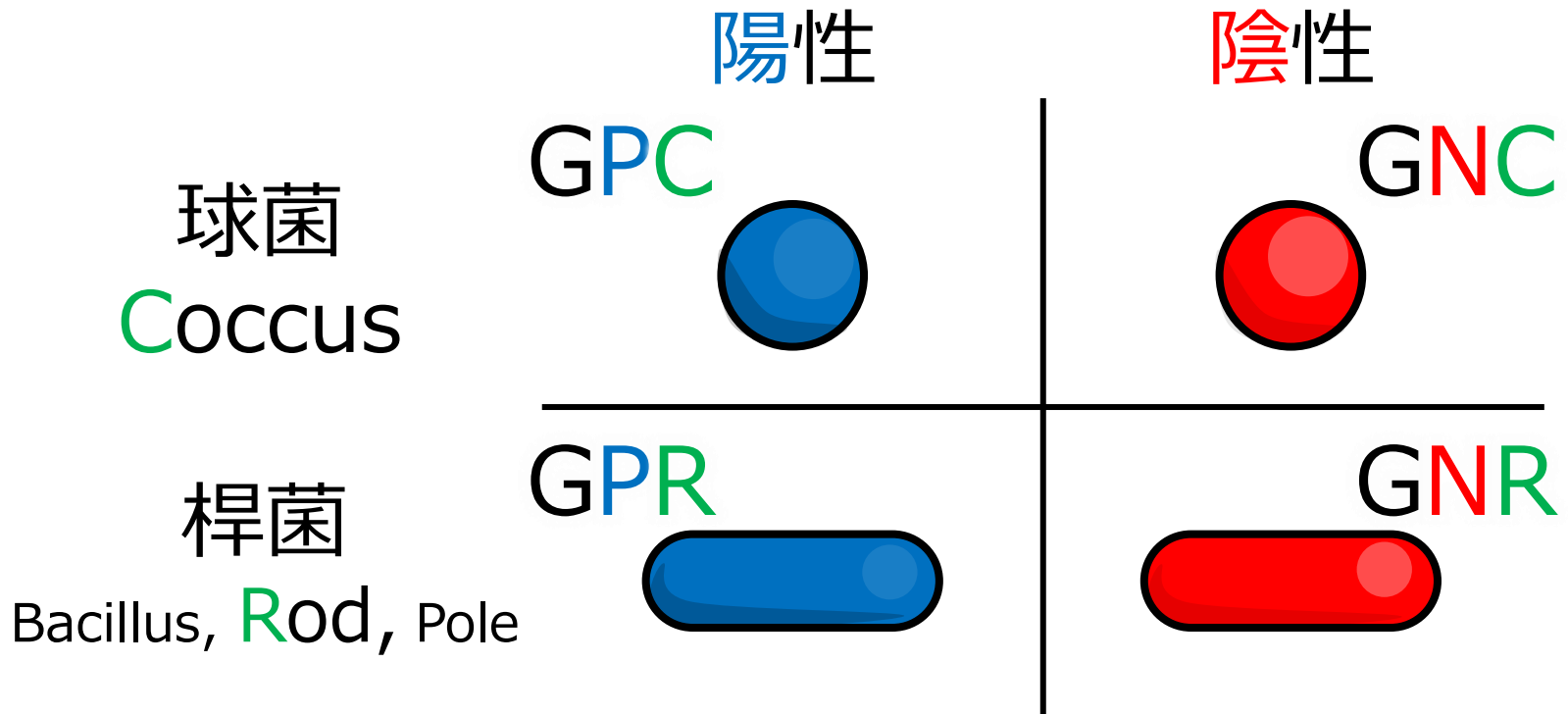
例1 結核菌は発育が遅い → 培養は4～8週間

→ 核酸検査

→ IGRAなどの特殊検査

例2 梅毒は培養できない → STSなどの特殊検査

グラム染色による分類



頻度の高い院内感染病原体

常在菌

環境菌

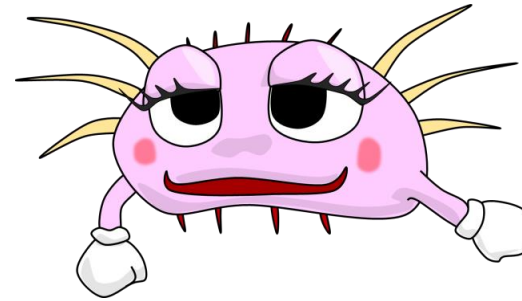
芽胞形成菌



腸内細菌科

常在菌

黄色ブドウ球菌

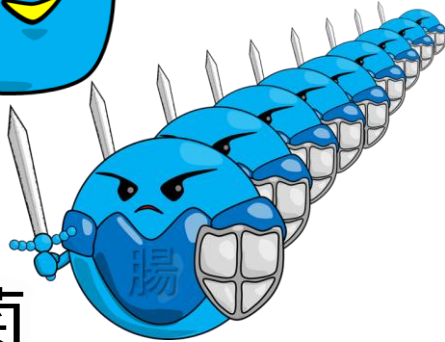


大腸菌



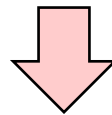
クレブシエラ

腸球菌



腸内細菌科細菌

環境でも生き残りやすい



院内感染しやすい

環境菌

緑膿菌

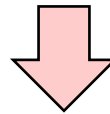


アシネトバクター



ブドウ糖非発酵菌

病原性は低い



病気を起こしにくいが
抗菌薬が効きにくい

芽胞形成菌

クロストリジオイデス・ディフィシル

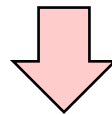
毒素産生菌が増えると
下痢を起こす



毒素A

毒素B

芽胞はアルコールが効きにくい



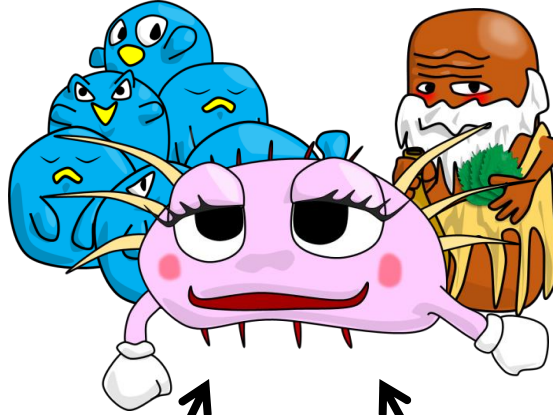
接触感染で広がりやすい

検査の上で重要な性質：好気・嫌気

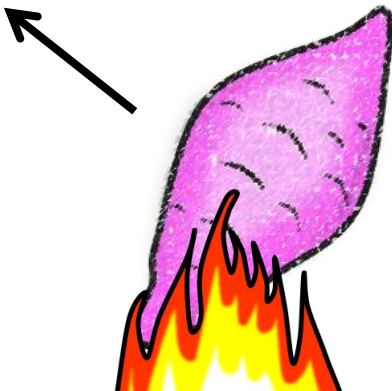
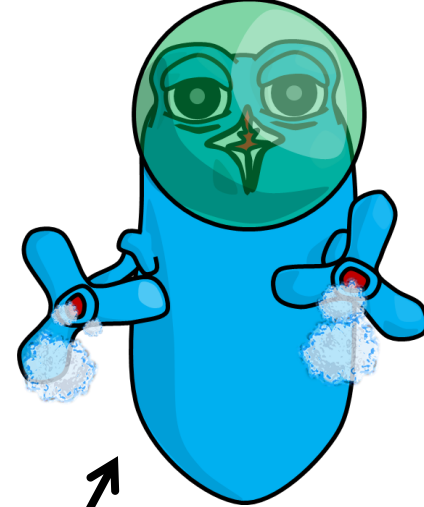
好気性菌
(ブドウ糖非発酵菌)



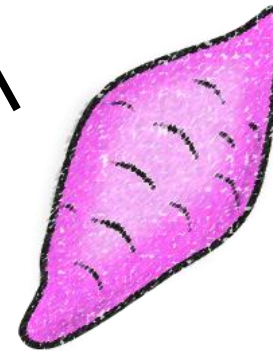
通性嫌気性菌
(ブドウ糖発酵菌)



嫌気性菌



酸素があると

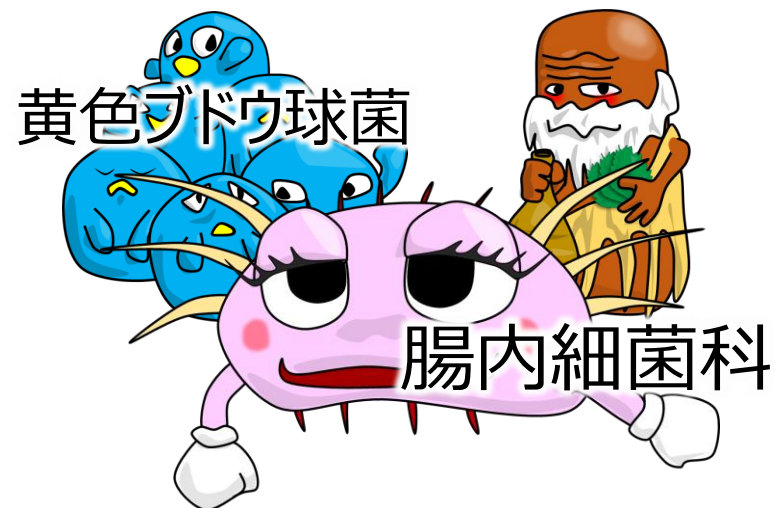
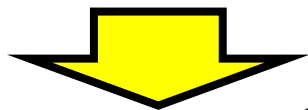
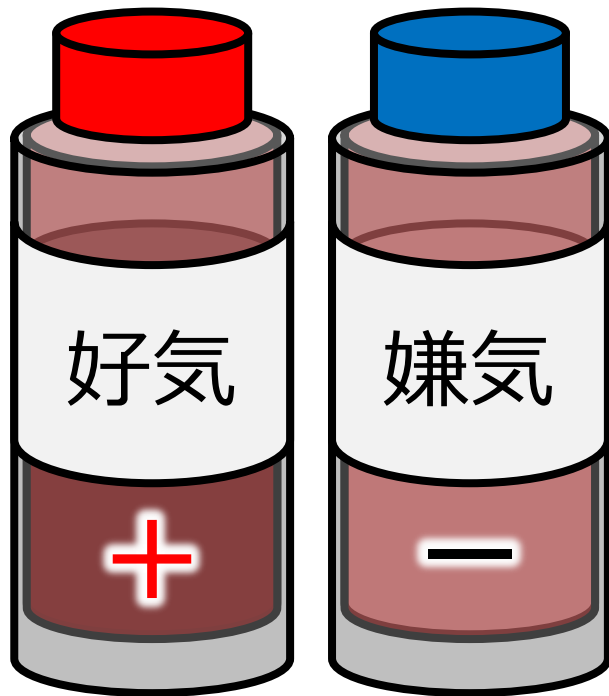


酸素がないと

緑膿菌は嫌気でも呼吸ができる

好気/ 嫌気	呼吸		ブドウ糖 発酵	具体的な菌種
	好 気 的	嫌 気 的		
好気性菌	+	-	-	レジオネラ
	+	+	-	緑膿菌、結核菌
通性菌	+	+	+	大腸菌
	-	-	+	レンサ球菌
嫌気性菌 **	-	+	+	バクテロイデス
	-	-	+	クロストリジウム

酸素を使う呼吸と酸素を使わない呼吸（硝酸還元、脱窒）の
2種類の呼吸が使える → 嫌気でも少し増えられる
しかしながら、好気性と理解するのが現実的



講義の概要と目的

- 院内感染で問題となる微生物
- 細菌学の基本～検査の理解のために
- 検査の意義と解釈
- 薬剤耐性（AMR）の重要性
- AMRの検査
- まとめ

何のために検査をするのか？

原因病原体 × 感染部位

+ aとして

□ 重症度

□ 基礎疾患

□ 合併症

の検査も必要。

どのようにして原因菌を同定するか？

□ 感染症を起こしやすい原因菌はだいたい決まっている

□ 原因菌は感染部位に潜伏している

分離されたら直ちに「原因菌」と考えてよい場合

- 無菌検体から細菌が培養された場合（ただし、適切に採取した場合に限る）

例 血液から緑膿菌が分離された。

- 健常者からは通常分離されえない細菌・真菌が分離された場合

例 カンピロバクター、
コレラ菌、チフス菌・パラチフス菌、
赤痢菌、腸管出血性大腸菌（EHEC）、
結核菌、クリプトコックス・ネオフォルマンس

解釈に困る検査結果

下痢を~~していない~~患者の便から、*Clostridioides difficile*が検出された。この場合、*C. difficile*はどう解釈し、対応すべきか。

- ❑ 全ての*Clostridioides difficile*が、毒素を産生するわけではない。
- ❑ 毒素産生があっても、下痢がない場合には、本来検査自体を行わない。

治療はもちろん不要、かつ、接触予防策も通常は不要。

検体の無菌（汚染）の度合い

無菌

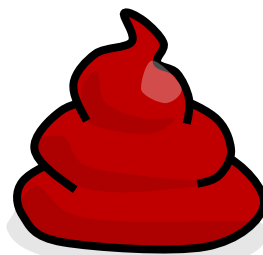
血液、髄液、胸水、腹水

気管支肺胞洗浄液
尿

喀痰

便

$10^9 \sim 10^{10}/\text{mL}$



状況により対応

無菌検体以外から検出された場合の解釈

臨床症状

検体の種類

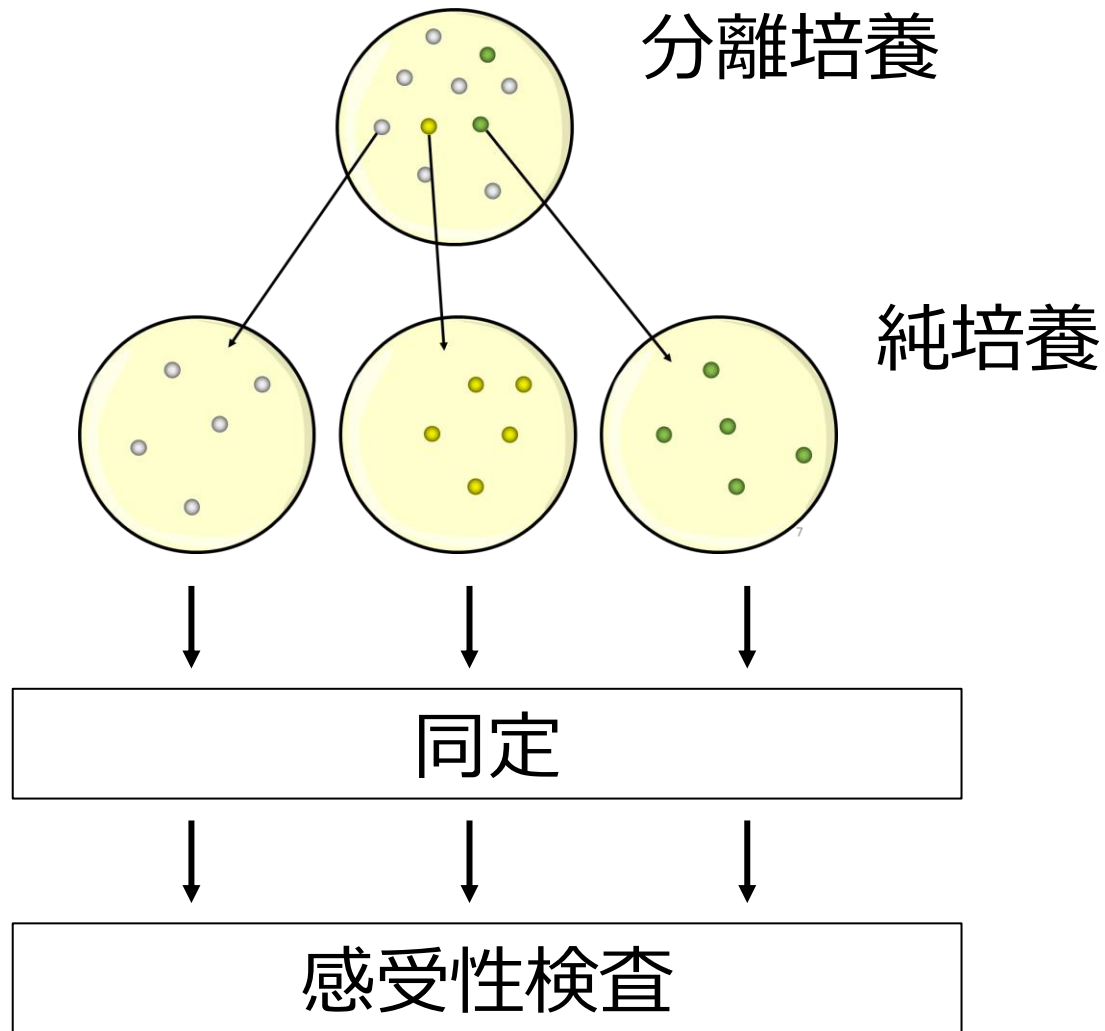
菌の種類

菌量

グラム染色での貪食

を総合的に判断する

原因菌らしい細菌・真菌が分離されたらどうするか？



培養できない場合はどうするか？

補助診断を利用する

- 抗原検査：血清抗原、尿中抗原、その他
- 抗体検査：各種ウイルス
- 遺伝子検査：核酸増幅法（PCR、LAMP）

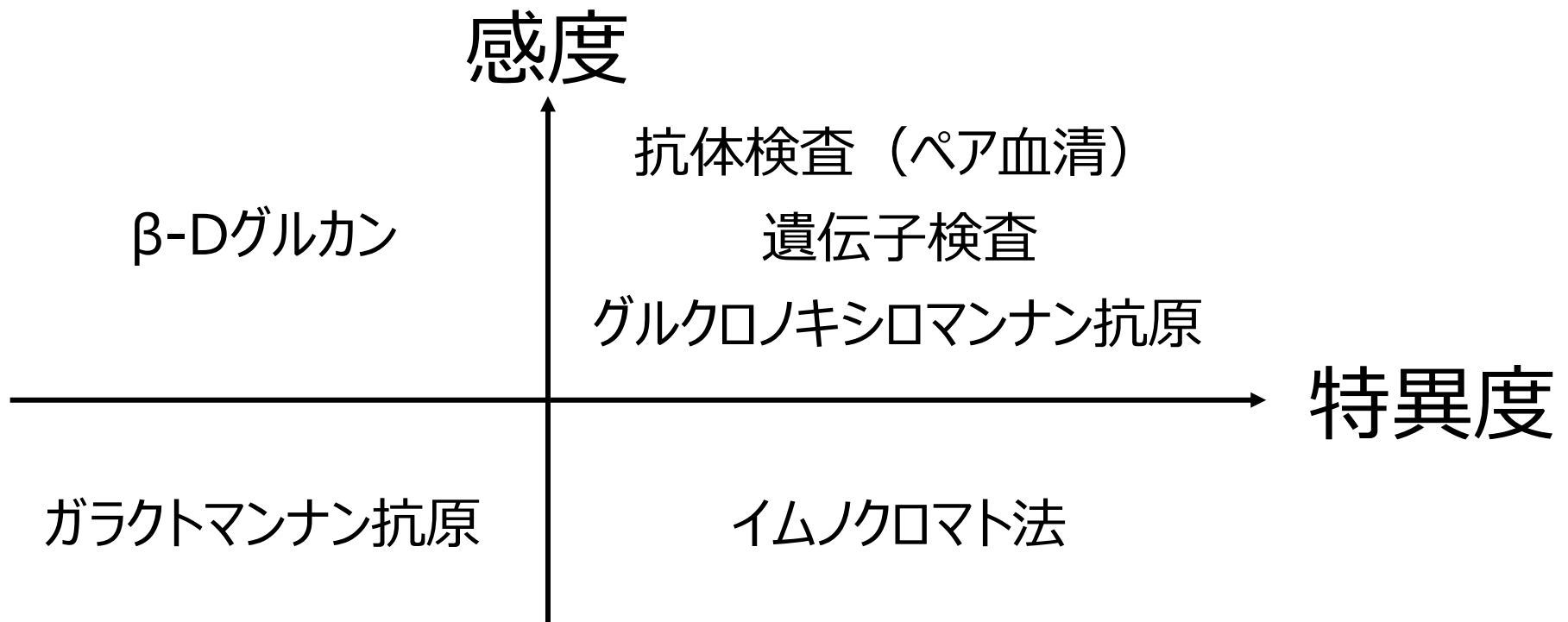
塩基配列解析

- 特殊な検査：ツベルクリン反応、IGRA → 結核
STS、TPHA → 梅毒

抗原・抗体検査

	概要・用途
イムノクロマト法	抗原や抗体を迅速に検出 インフルエンザ・COVID-19など
放射線ラベル免疫法 (RIA)	放射線ラベルした抗体を検出 IgEの検出など、極めて微量のものを検出
酵素免疫法 (EIA)	酵素でラベルした抗体を用いて検査 麻疹の抗体価などの定量
酵素結合免疫吸着法 (ELISA)	酵素でラベルした抗体を用いて検査 各種抗体、抗原の定量
ラテックス凝集法	グルクロノキシロマンナン抗原 ガラクトマンナン抗原
免疫沈降法	アスペルギルス沈降抗体
合成基質法	β -Dグルカン検査

補助診断は感度と特異度に注意



検査をする前に、陽性になった場合、陰性になった場合の解釈を考えておく。

検査をする前に、事前確率を高くしておく。

遺伝子検査

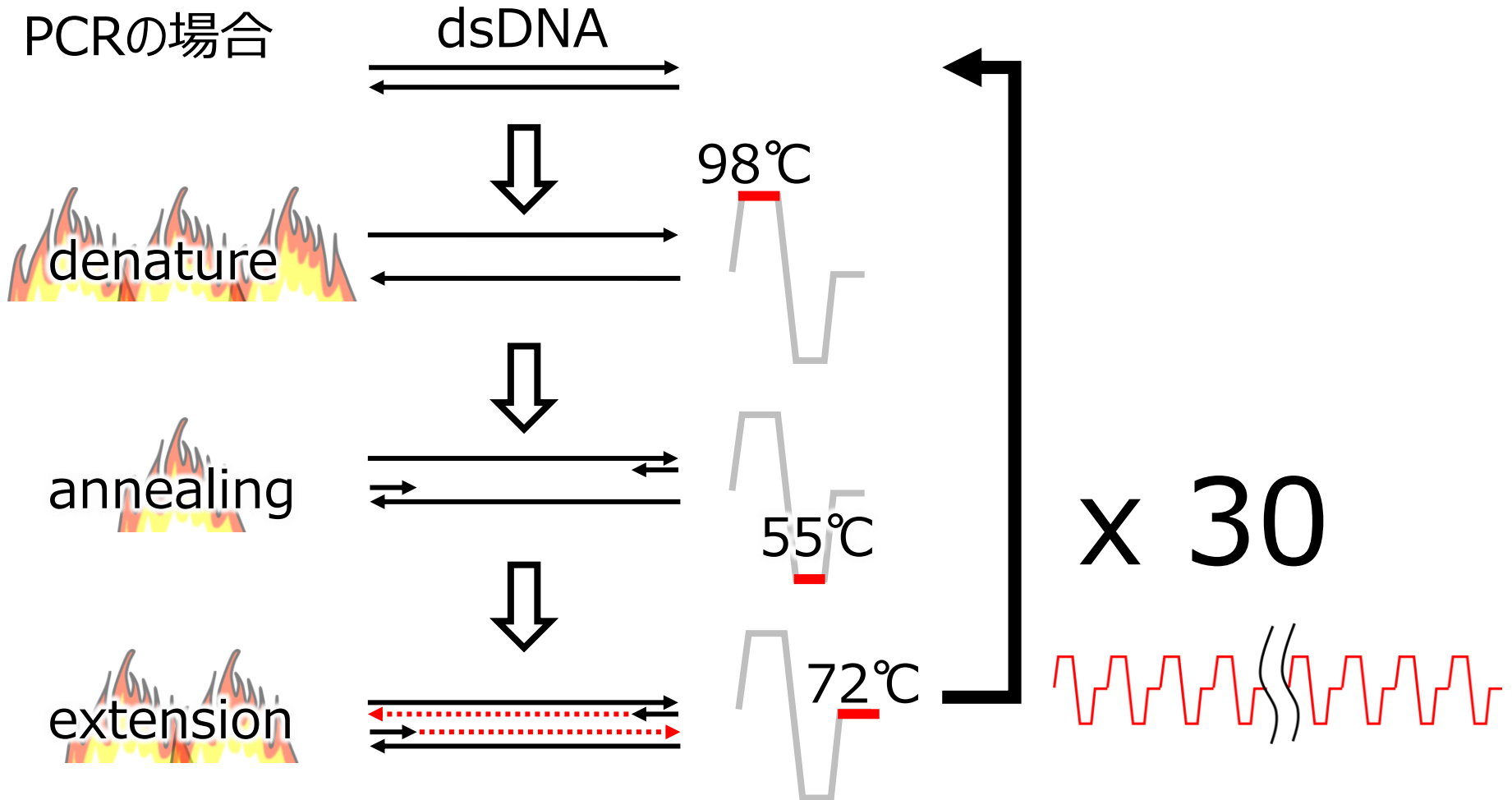
核酸増幅法 (NAT/NAAT, Nucleic Acid Amplification Test)

- PCR (Polymerase Chain Reaction)
 - conventional PCR
 - reverse-transcription PCR (RT-PCR)
 - real-time PCR (RT-PCR) ≡ quantitative PCR (qPCR)
 - multiplex PCR
- LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification)
- TMA (Transcription Mediated Amplification)
- NEAR (Nicking Enzyme Amplification Reaction)

塩基配列解析 (sequence analysis)

- Capillary sequence
- NGS (Next Generation Sequence)
 - short read sequence --- MiSeqなど
 - long read sequence --- MinION
 - metagenome NGS

核酸増幅法（NAAT）は一般に感度が高い

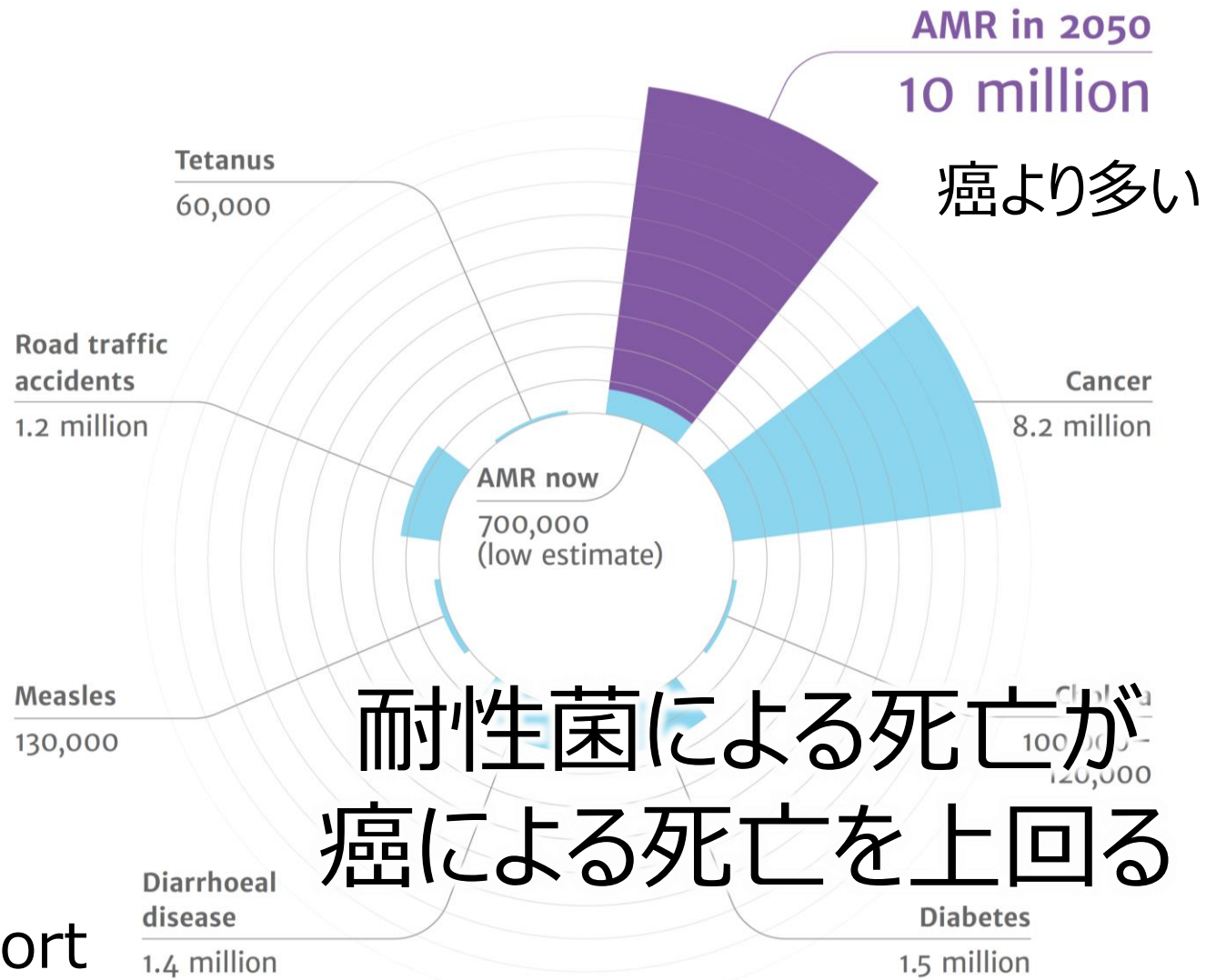


1サイクルで2倍になる $\Rightarrow 2^{30} \doteq 10^9$

講義の概要と目的

- 院内感染で問題となる微生物
- 細菌学の基本～検査の理解のために
- 検査の意義と解釈
- 薬剤耐性（AMR）の重要性
- AMRの検査
- まとめ

2050年 AMR予測



MAY 2016

 Review on
Antimicrobial
Resistance
Tackling drug-resistant infections globally

O'Neill Report

<https://amr-review.org/>

薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン

National Action Plan on Antimicrobial Resistance

2016-2020

平成 28 年4月5日

国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議

薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン

National Action Plan on Antimicrobial Resistance

2023-2027

令和5年4月7日

国際的に脅威となる感染症対策の強化のための

国際連携等関係閣僚会議

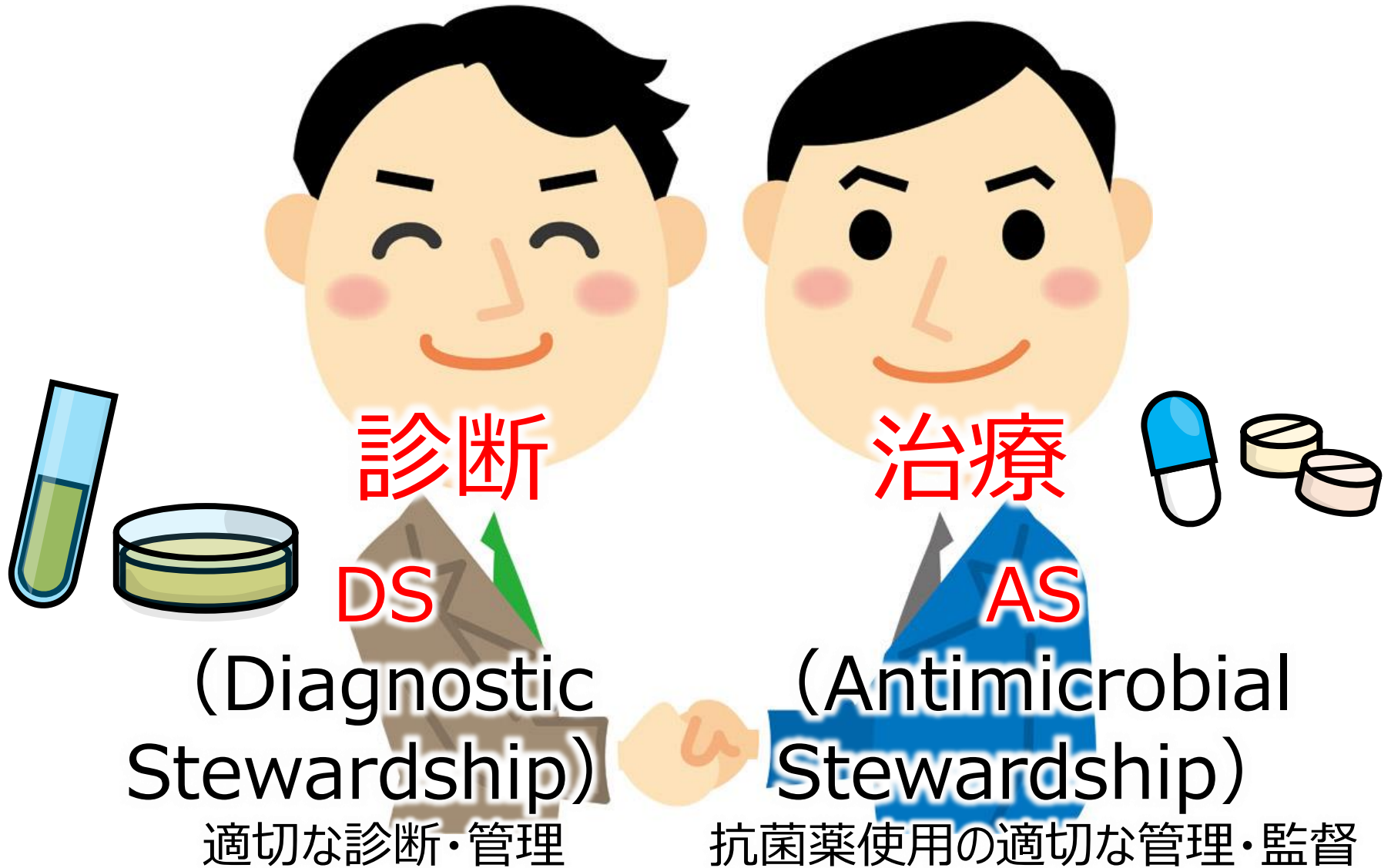
<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/0000120769.pdf>

https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/ap_honbun.pdf

講義の概要と目的

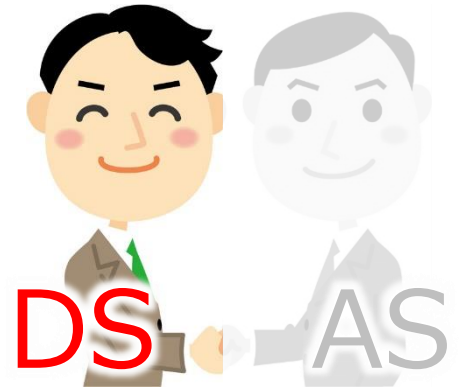
- 院内感染で問題となる微生物
- 細菌学の基本～検査の理解のために
- 検査の意義と解釈
- 薬剤耐性（AMR）の重要性
- AMRの検査**
- まとめ

抗菌薬適正使用に必要なDSとAS



適切な治療には適切な検査が必要

- 原因菌を突き止める
- 感染部位を突き止める



単に検査すればよいというものではない。

- 適正なタイミングで
- 適正な方法で
- 質の高い検査を行う

いつ、どんな
検査をするか？

→ 有用な検査の実施 + 無駄な検査の削減

どんな検査が必要か？

細菌学的検査に限定すると

- グラム染色
 - 培養・同定・感受性
- が重要

いずれにしても、
質の良い検体が不可欠

原則として、
抗菌薬治療開始前に検体を採取する

Miller & Jones分類 (肉眼的分類)

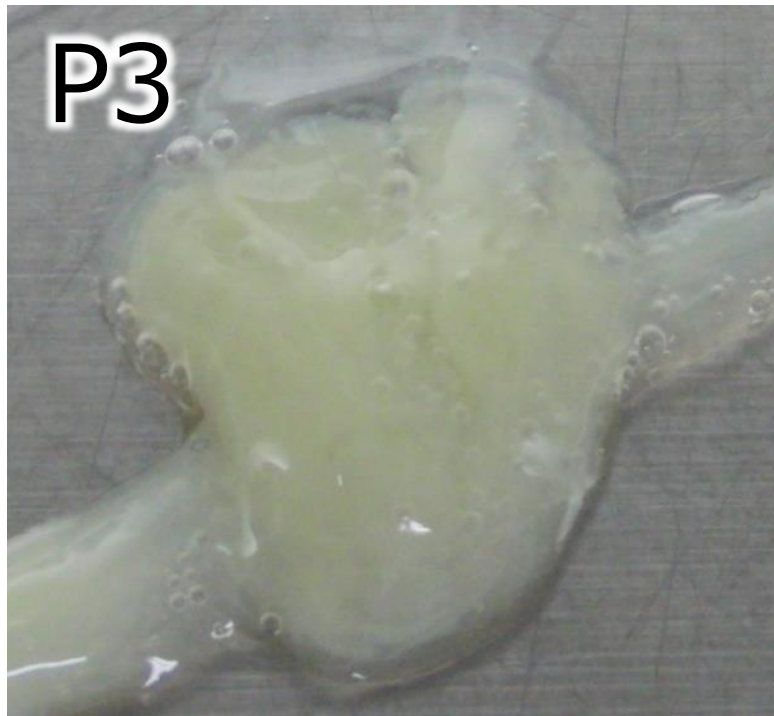
M1	唾液、完全な粘性痰
M2	粘性痰の中に膿性痰が少量含まれている
P1	膿性痰で膿性部分が1/3以下
P2	膿性痰で膿性部分が1/3～2/3
P3	膿性痰で膿性部分が2/3以上

Gecklerらの分類
(顕微鏡観察による分類)

100倍で観察

群	細胞数(1視野あたり)	
	上皮細胞	好中球
6	<25	<25
5	<10	>25
4	10～25	>25
3	>25	>25
2	>25	10～25
1	>25	<10

P3

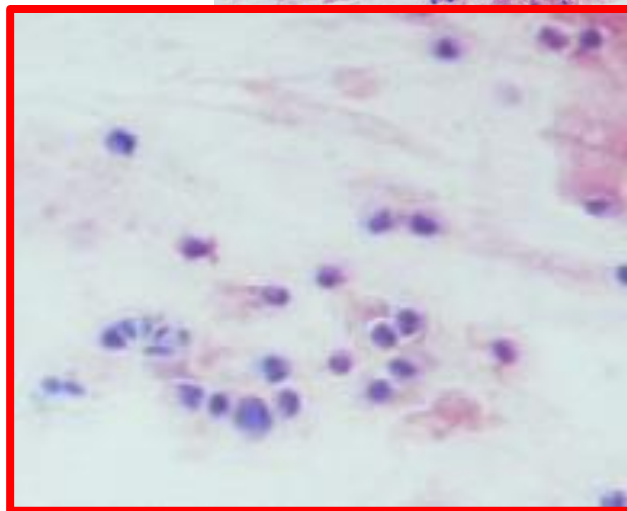
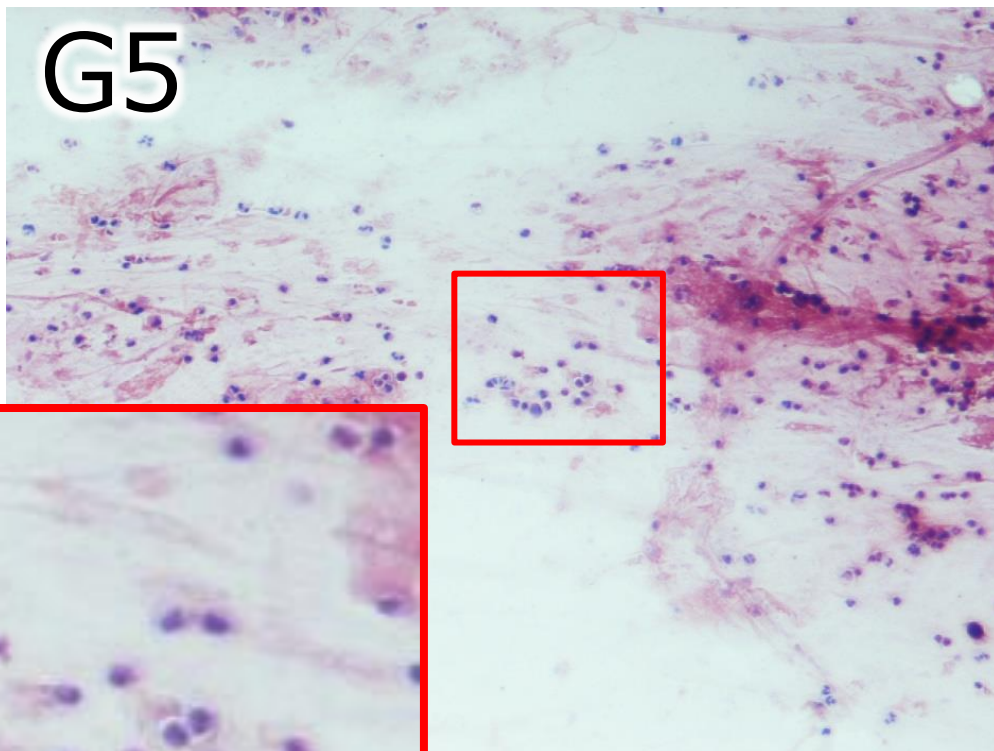


Miller & Jones分類
(肉眼的分類)

診断価値の高い、質の高い痰
汚いけど、美しい痰

Gecklerらの分類
(顕微鏡観察による分類)

G5



適切な検体が取れば原因菌が推測できる!

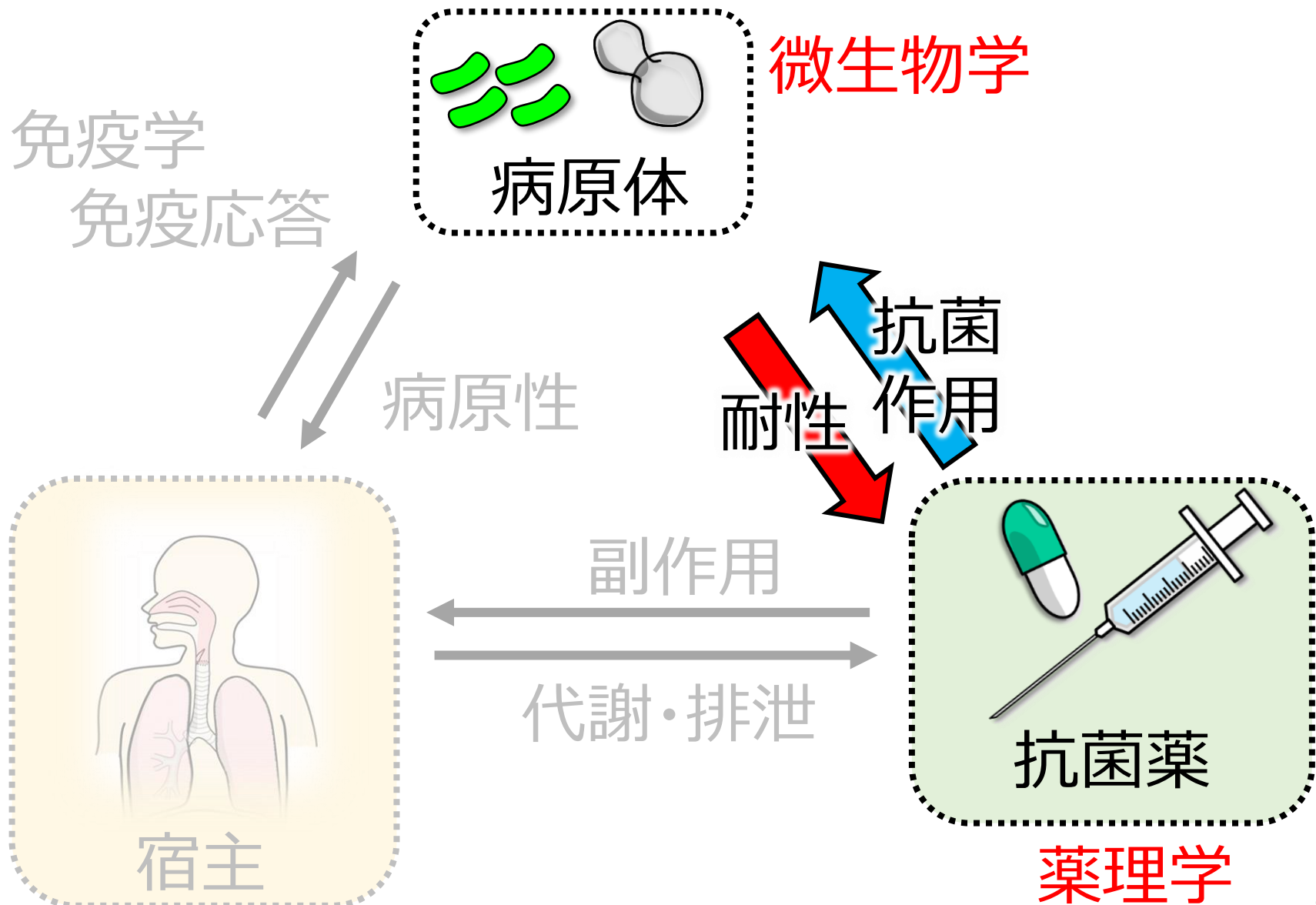
血液培養の陽性率を上げ、
汚染率を下げる。



汚染しない手技も重要



感染症を理解するための三角関係



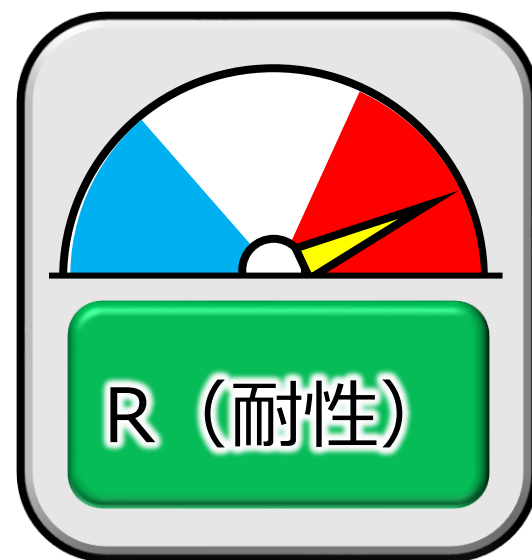
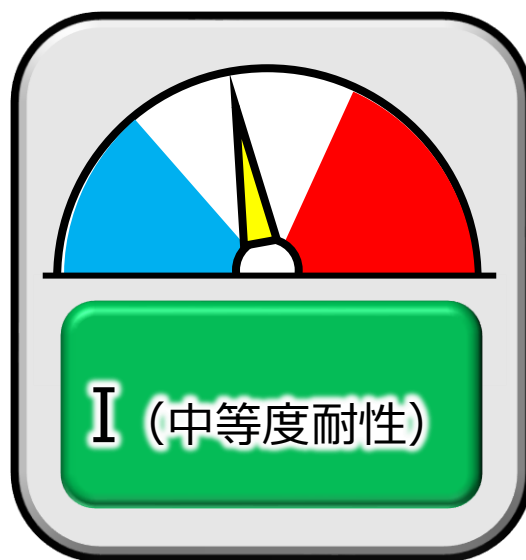
抗菌薬に対する感受性検査≡MICの測定

最小発育阻止濃度

(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)
= 菌の発育を押さえるのに必要な最小濃度

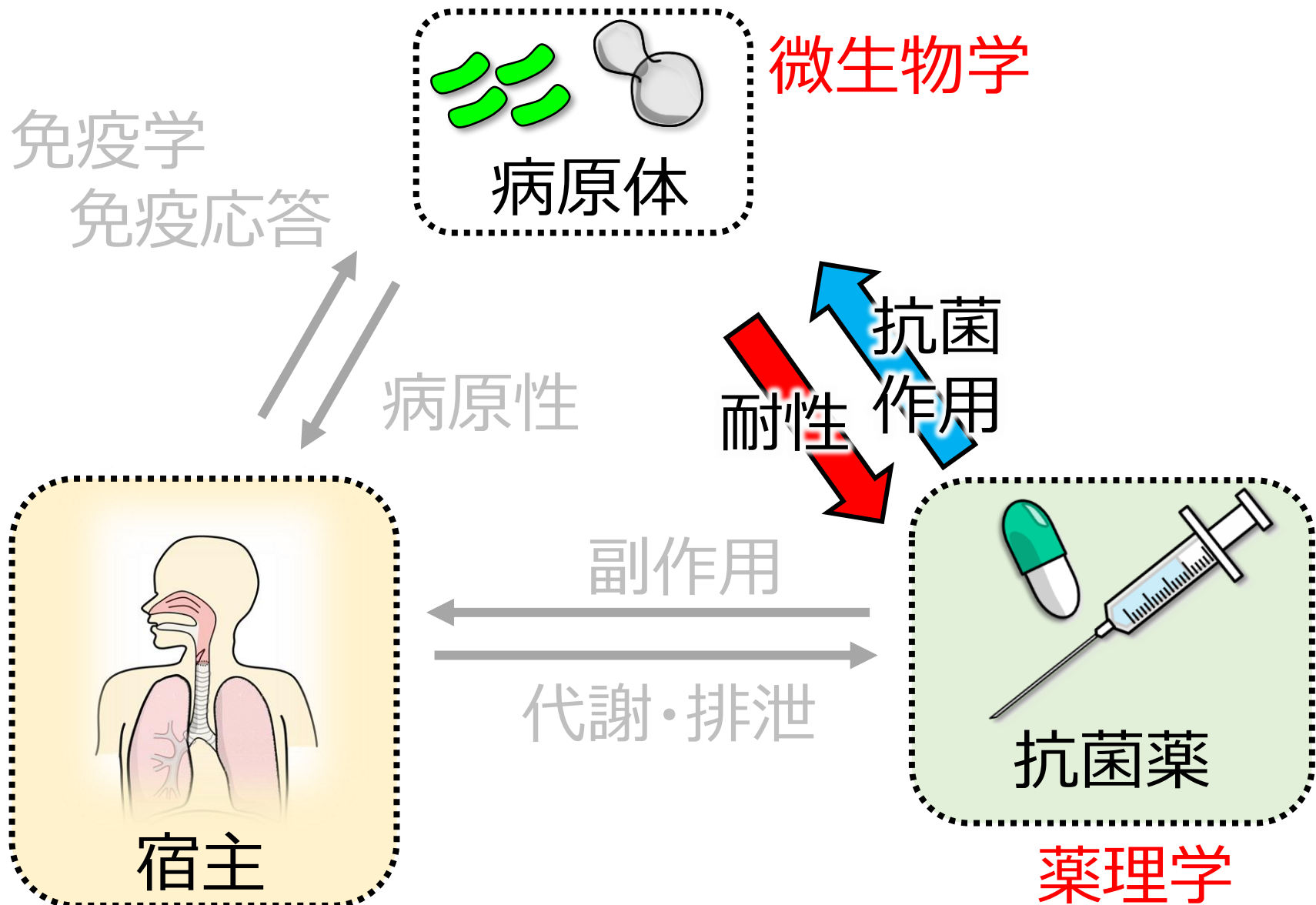


MIC低い≡効きやすい

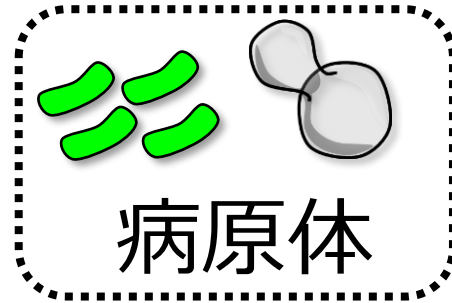


MIC高い≡効きにくい

MICは病原体と抗菌薬の関係性を示す



MICは抗菌力の目安である



MIC≡効きやすさの目安

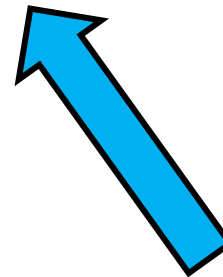
PDは抗菌薬の
菌に対する作用

pharmacodynamics

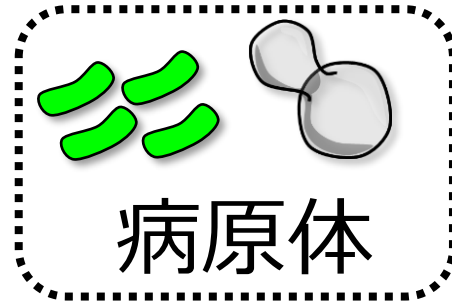
PD

薬力学

≡MIC



MICは耐性の目安でもある



MICは効きにくさの目安

pharmacodynamics
PD

薬力学

≡ MIC

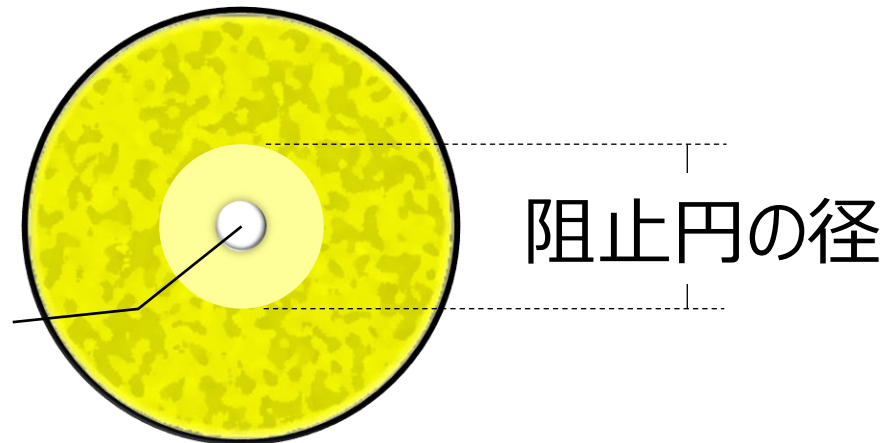


抗菌力の評価法・感受性検査

- ✓ 微量液体希釈法
 - ✓ 寒天平板法
 - ✓ E-test
 - ✓ ディスク拡散法
- MICを測定
- S,I,Rのみ判定

ディスク拡散法

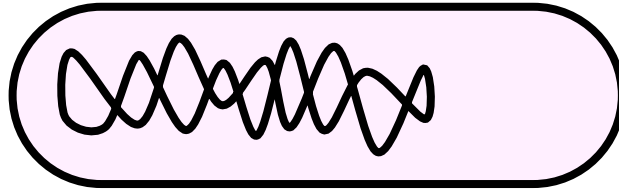
抗菌薬添加ディスク



耐性獲得機構

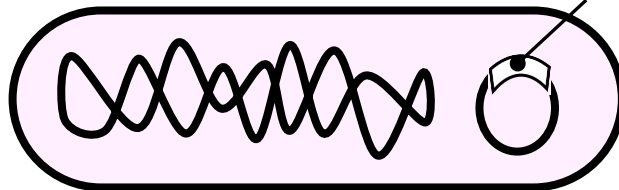
耐性遺伝子獲得

感受性



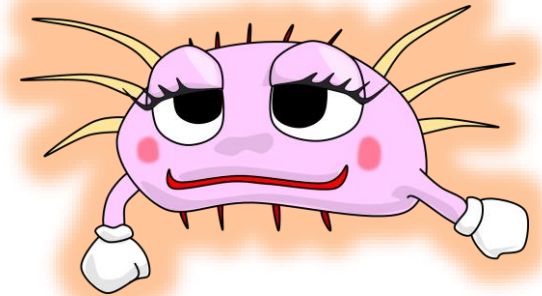
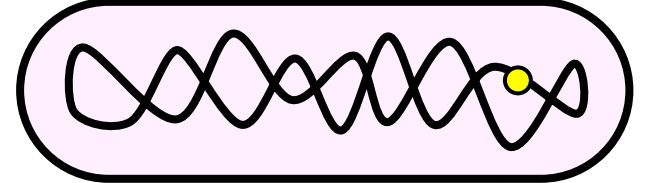
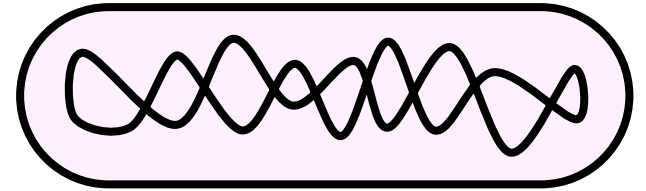
耐性遺伝子

耐性



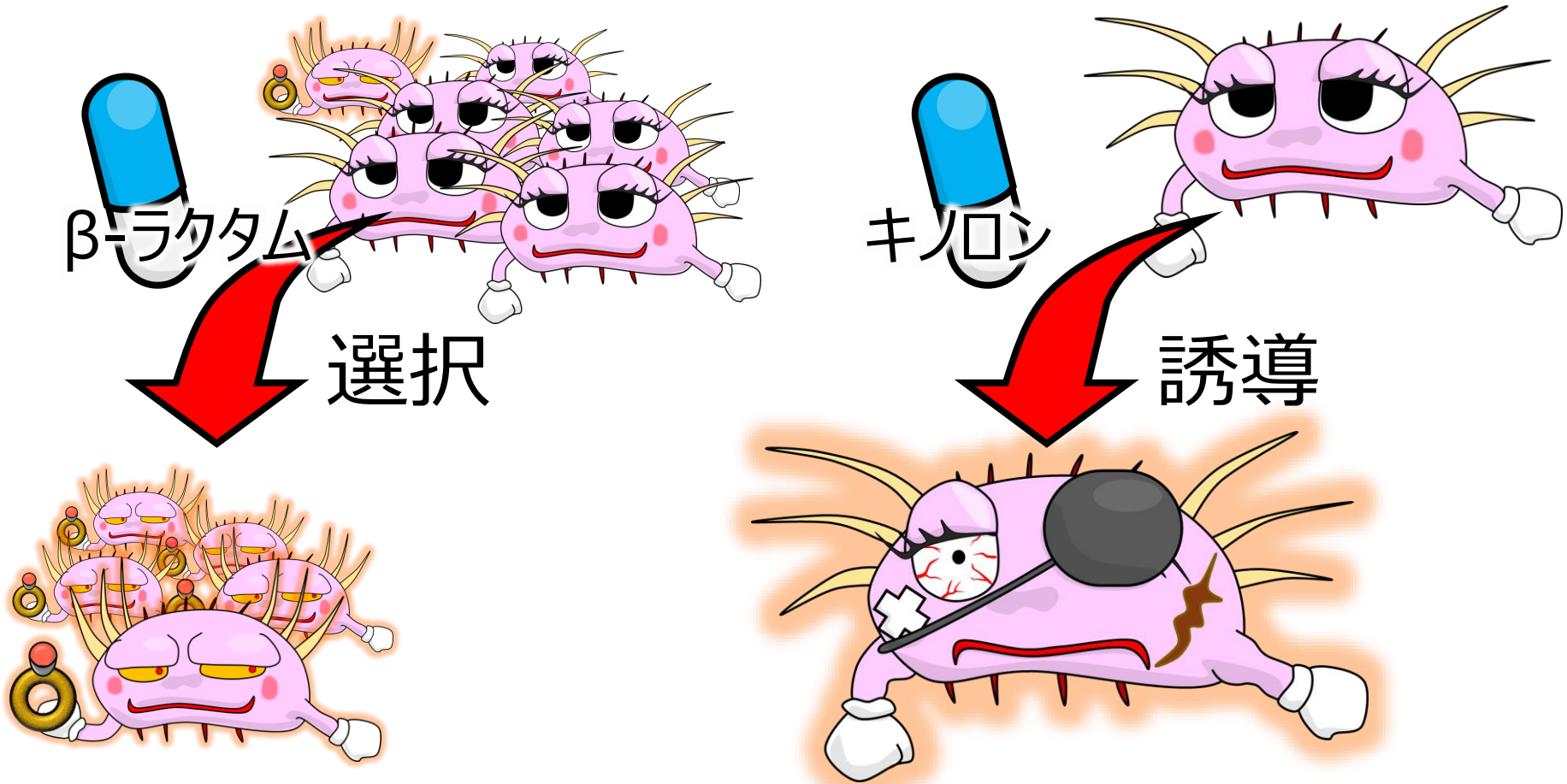
β -ラクタム耐性
アミノグリコシド耐性

突然変異



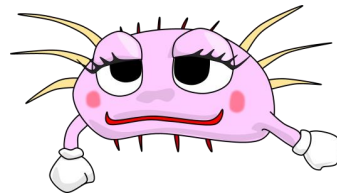
キノロン耐性など

AMRの拡大には誘導と選択が関連



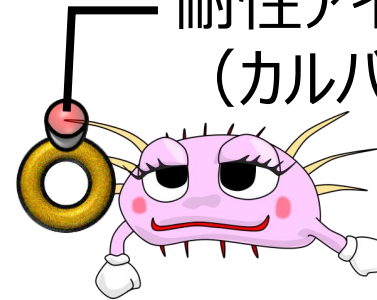
ステルス型CPE

カルバペネマーゼなし



non-CPE

耐性アイテム
(カルバペネマーゼ)



CPE

感受性



ただの感受性菌

アイテムを持つ
感受性菌



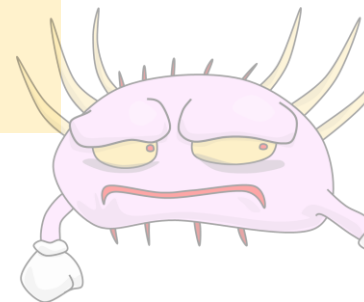
ステルス型

耐性
(CRE)



アイテムを持たない
耐性菌

アイテムによる
耐性菌



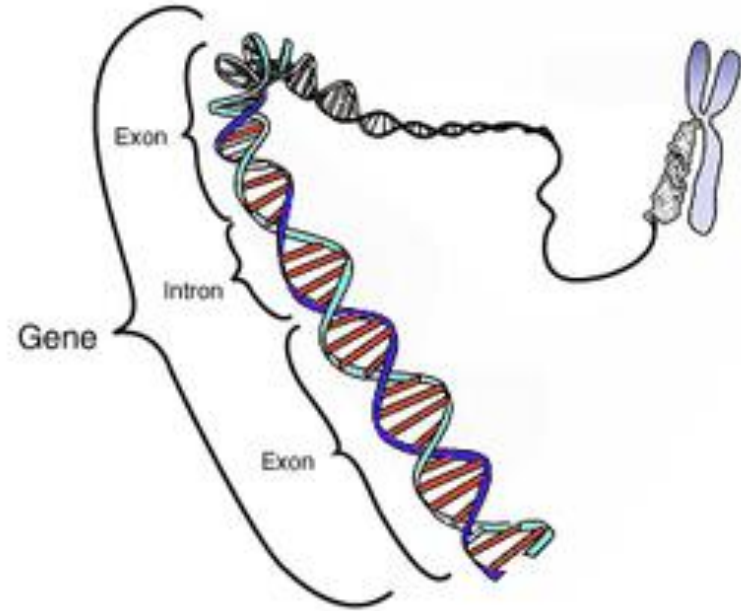
CRE=カルバペネム耐性腸内細菌科細菌

CPE=カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌

その他のAMRの検査法



質量分析（一部のみ）



遺伝子検査（一部のみ）
主に核酸増幅法（NAAT）

AMRにおける遺伝子検査の利用

	All (N = 282)	Infectious disease specialist (N = 143)	Non- specialist (N = 139)
	n (%)	n (%)	n (%)
Performing the genetic testing for infectious disease in hospital			
Yes	133 (47.2)	72 (50.3)	61 (43.9)
No	145 (51.4)	70 (49.0)	75 (54.0)
No response/unknown	4 (1.4)	1 (0.7)	3 (2.2)
Items of the genetic testing(multiple answers included)			
	(N = 133)	(N = 72)	(N = 61)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (MTB)	100 (75.2)	58 (80.6)	42 (68.9)
Non-tuberculous mycobacteria	72 (54.1)	45 (62.5)	27 (44.3)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	41 (30.8)	23 (31.9)	18 (29.5)
ESBL genes	34 (25.6)	17 (23.6)	17 (27.9)
MRSA	33 (24.8)	15 (20.8)	18 (29.5)
HCV and HBV	32 (24.1)	16 (22.2)	16 (26.2)
Carbapenemase genes	29 (21.8)	17 (23.6)	12 (19.7)
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	23 (17.3)	12 (16.7)	11 (18.0)
Norovirus	23 (17.3)	9 (12.5)	14 (23.0)
Influenzavirus	22 (16.5)	9 (12.5)	13 (21.3)
<i>Legionella pneumophila</i>	21 (15.8)	10 (13.9)	11 (18.0)
HIV	20 (15.0)	10 (13.9)	10 (16.4)
Drug resistance gene of MTB	20 (15.0)	9 (12.5)	11 (18.0)
<i>Bordetella pertussis</i>	19 (14.3)	10 (13.9)	9 (14.8)
Herpes simplex virus	18 (13.5)	9 (12.5)	9 (14.8)
<i>Clostridioides difficile</i>	16 (12.0)	9 (12.5)	7 (11.5)
Other	91 (68.4)	51 (70.8)	40 (65.6)
No response/unknown	5 (3.8)	1 (1.4)	4 (6.6)

ESBL

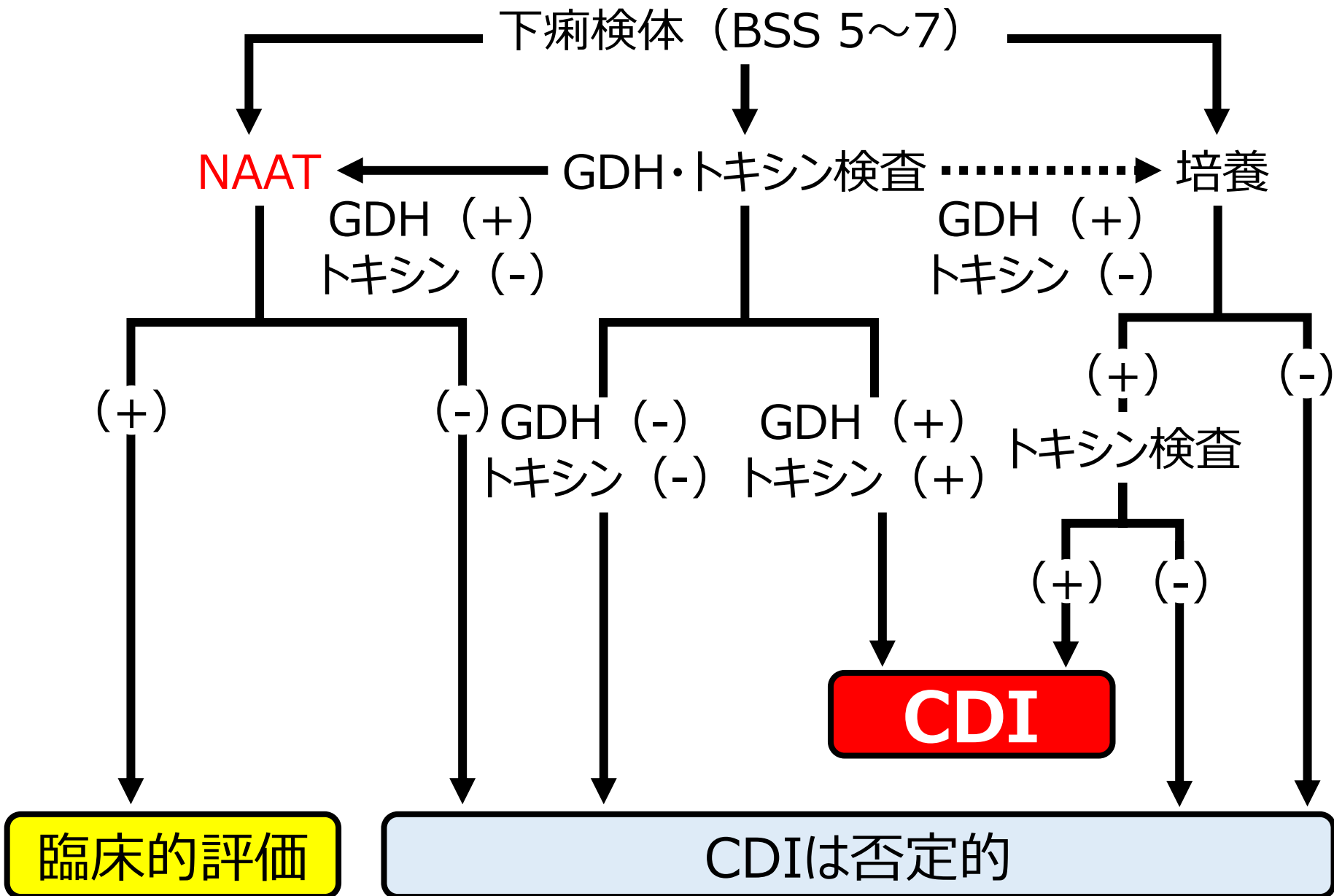
MRSA

Carbapenemase

C. difficile

では10～20%程度が遺伝子検査を使用

遺伝子検査の例：ディフィシル菌感染症の場合



まとめ

- ❑ 院内感染においてAMRは常にリスクとなる。
 - ❑ 細菌の性質を知ることによって検査の理解に役立つ。
 - ❑ 細菌や真菌は培養が基本である。
 - 培養によって、感受性・耐性もわかる。
 - 必要に応じて補助診断を利用する。
 - ❑ 検体の取り扱いが重要である。
 - 感染症に応じた適切な検体管理を行う。
 - ❑ 結果の解釈や対応に注意する。
 - 原因菌vs汚染菌を判別する。
 - 感度・特異度を考慮した判断が必要。
- } 偽陽性・
偽陰性に注意

ご清聴ありがとうございました