

① -5、② -6 共通テキスト

院内感染関連微生物とその検査法および国内外の疫学

順天堂大学医療科学部臨床検査学科

三澤 成毅

はじめに

院内感染の原因微生物を最初に検知するのは微生物学的検査である。

ここでは、院内感染関連微生物を中心に、微生物学的検査法の特徴を述べ、次いで院内感染関連微生物の国内外の疫学を述べる。

1. 院内感染対策上重要な微生物

院内感染対策上重要な微生物を表1に示した。呼吸器、眼、腸管感染症別の原因微生物にはウイルスが多い。

表1 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 Clostridioides difficile 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

表2 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

薬剤耐性菌感染症は、以前はMRSAなどのグラム陽性菌の薬剤耐性菌が出現したが、近年はグラム陰性桿菌の薬剤耐性が多様化が問題となっている。

2. 微生物学的検査の特徴

微生物学的検査の特徴を以下に述べる。各検査の特徴を理解することは、院内感染対策への有効な利用と対策の効果を評価するうえで役立つ。

1) 感染症の検査診断法の特徴

医療機関内の微生物検査室で行っている感染症診断のための検査法と特徴を表2に示した。検査の迅速性の点からは塗抹検査、免疫学的抗原検査、遺伝子検査が優れる。一方、原因微生物の検出感度は培養検査と遺伝子検査が最も高い。塗抹検査と免疫学的抗原検査による検出感度は同等であるが、培養検査や遺伝子検査より低い。

抗体検査は、ベッドサイドで行えるPOCT(臨床現場即時検査)は実施が容易であるが、検査装置による検査と対象微生物は医療機関によって異なり、外部委託している検査もあるので確認する。

2) 微生物の検出感度

前述した感染症原因微生物の最低検出感度を表3に示した。Gram染色による塗抹検査で原因微生物(細菌または真菌)を検出するには検体1 mL中 10^5

表3 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	≥10 ⁵ CFU
遠心沈渣を塗抹	≥10 ⁴ CFU
抗酸性染色	
Ziehl-Neelsen染色	≥10 ⁴ CFU
蛍光染色	≥10 ³ CFU
免疫学的抗原検査	≥10 ^{4~5} CFU/PFU
核酸増幅検査	≥10~10 ² CFU
培養検査	
直接分離培養	≥10 ² CFU
増菌培養	≥1~10 CFU

個以上が必要であり、この検出感度は免疫学的抗原検査とほぼ同等である。最も高感度なのは、核酸増幅検査などの遺伝子検査と培養検査は10²個/mLまたはそれ以下であり特異度も高い。

3) 感染症POCTが可能な微生物およびトキシン

国内で実施可能なPOCTの対象微生物およびトキシンを表4に示した。検査が可能な微生物別にはウイルスが多い。細菌はクロストリジオイデス・ディフィシル (*Clostridioides difficile*) や腸管出血性大腸菌が産生する毒素(トキシン)の検査が可能である。

4) 免疫学的抗原検査の注意事項

免疫学的抗原検査はイムノクロマト法を原理とするPOCTが行われている。検査の偽陰性は診断を誤った方向へ導く。偽陰性の結果となりやすい要因は、①反応特異性によって、検査対象となっている微生物でも検出できない場合がある。レジオネラ (*Legionella*) は従

来、*Legionella pneumophila*血清型1のみ検査可能であったが、近年は全血清型(1~15)を検出できる検査キットがある。自施設の微生物検査室で使用している検査キットがカバーしている範囲を確認しておく。しかし、レジオネラ肺炎は*L. pneumophila*以外の菌種が起因菌となることもあり、検査の限界を知っておく。②採取時期は、感染症の原因微生物は一般に発症初期が感染病巣中の菌量が最も多い。しかし、インフルエンザの場合は発症ごく初期のウイルス量が検出感度以下のタイミングで検査した場合、偽陰性となりやすいことが広く知られている。したがって、臨床的にインフルエンザが疑われる場合にはPOCTが陰性でも否定せず時間をかけた再検査や、みなし対応が必要である。③採取部位は、検査キットごとに採取を推奨している部位からの検体採取を遵守する。インフルエンザウイルスの場合、鼻咽頭ぬぐい液が推奨されウイルス培養との一致率も90%以上である、咽頭ぬぐい液を使用した場合の一致率はかなり低下することが知られている。

3. 微生物学的検査の利用に注意が必要な微生物

1) 結核の検査診断における遺伝子検査利用の注意事項

結核の診断に核酸増幅法による遺伝子検査が日常的に行われている。しかし、核酸増幅検査は高感度かつ高特異度が特徴であるが、感度は現時点では培養検査より劣る。したがって、結核の検査診断は遺伝子検査と培養検査を必ず併用し、しかも繰り返し検査によって診断の正確度を高める。検査は従来からの3回検査が推奨されるが、喀痰は可能な限り膿性痰で検査した方が検出率が高い。

院内感染対策の観点からは、入院患者や免疫不全状態の患者に対し、一定期間ごとに画像検査などを行って潜在的な結核発症を検知することを検討する。

2) クロストリジオイデス・ディフィシルの検査診断における注意事項

クロストリジオイデス・ディフィシルは抗菌薬関連下痢症の主な原因微生物であり、本菌による感染症はCDI (*Clostridioides difficile infection*) と呼ばれる。

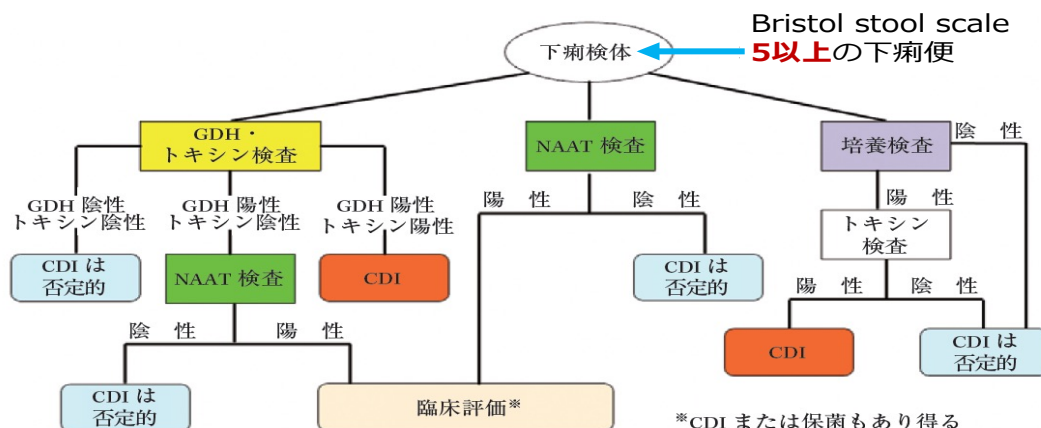
国内におけるCDIの検査診断は日本化学療法学会

表4 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
ノロウイルス ロタウイルス	ペロ毒素 ヘリコバクター・ピロリ
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

図1 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

と日本感染症学会が共同で作成したClostridioides difficile感染症診療ガイドライン2022に、図1に示す検査のフローチャートがある。CDIの診断的検査として、免疫学的検査、核酸増幅検査、培養検査を対象とし、検査の選択と結果の評価が示されている。免疫学的検査は本菌由来の抗原物質であるGDH (Glutamate dehydrogenase)を検出することで菌の存在を調べ、トキシンはトキシンBを検出するが検出感度は低い。核酸増幅検査 (Nucleic acid amplification test: NAAT) はトキシンB遺伝子を検出標的としている。検体は下痢便が原則であり、肉眼で下痢便かどうかを客観的に判定するガイドとしてBristol stool scaleを使用する。CDIの診断は免疫学的検査によるトキシンとGDH陽性、または培養で検出した菌株のトキシン陽性である。核酸増幅検査によってトキシンB遺伝子が検出されても、トキシン産生状態でない保菌の場合もあり、臨床評価と合わせた評価が必要である。

院内感染対策上、クロストリジオイデス・ディフィシルの広がりを調べるには、下痢症状を呈する患者数、免疫学的検査の検査数、検査陽性率が一定以上に上昇した場合に培養を中心とした調査を行う。

4. 薬剤耐性菌の検査と国内外の疫学

1) 薬剤耐性菌の検査

院内感染対策上重要な薬剤耐性菌を含む薬剤耐性菌を表5に示した。これらは全て日常検査による検出

が可能である。すなわち、培養によって発育した分離培地上のコロニーを観察し、薬剤耐性菌の菌種として疑わしいコロニーを同定キットや同定検査装置で菌種を決定し、同時に薬剤感受性検査を行って薬剤耐性の有無を調べる。

しかし、感染症診断を目的とした検査を通じた検出に限られるので、定着または保菌状態にある場合は積極的監視培養 (アクティブサーベイランスカルチャー)を行わない限り検出することができない。

薬剤耐性菌の中で、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、鼻前庭が最も高頻度な保菌部位であり、入院時、外科手術前、新生児病棟では積極的監視

表5 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>	オキサリリン セフォキシチン
バンコマイシン耐性エンテロкок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 (カルバペナーゼ) 産生, アミノグリコシド修飾, DNA ジャイレーズ変異	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 (カルバペナーゼ) 産生, アミノグリコシド修飾, DNA ジャイレーズ変異	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
カルバペナーゼ産生菌 carbapenemase-producing organism	カルバペナーゼの産生 クラスB メタロ-β-ラクタマーゼ クラスA KPCC型β-ラクタマーゼ クラスD OXA型β-ラクタマーゼ	カルバペナム系薬
カルバペナーゼ産生腸内細菌目細菌 carbapenemase-producing organism (CPE)	カルバペナーゼの産生, 抗菌薬透過性低下	カルバペナム系薬 セフトマイシン

培養が行われている。しかし、以下の腸管保菌の薬剤耐性菌は特別な理由がない限り、検査対象となっていない。すなわち、バンコマイシン耐性エンテロコッカス(VRE)、基質拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生腸内細菌目細菌、カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌(CPE)や*Clostridioides difficile*などである。その他、多剤耐性緑膿菌(MDRP)は呼吸器、尿路、腸管が、多剤耐性アシネトバクター(MDRA)は呼吸器が定着部位としてあげられる。これらも特別な理由以外検査対象とならないが、検査する場合には選択培地の使用が極めて有用である。

2) 薬剤耐性菌の国内外の疫学

薬剤耐性菌の国内の疫学は厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)のデータからみることができ

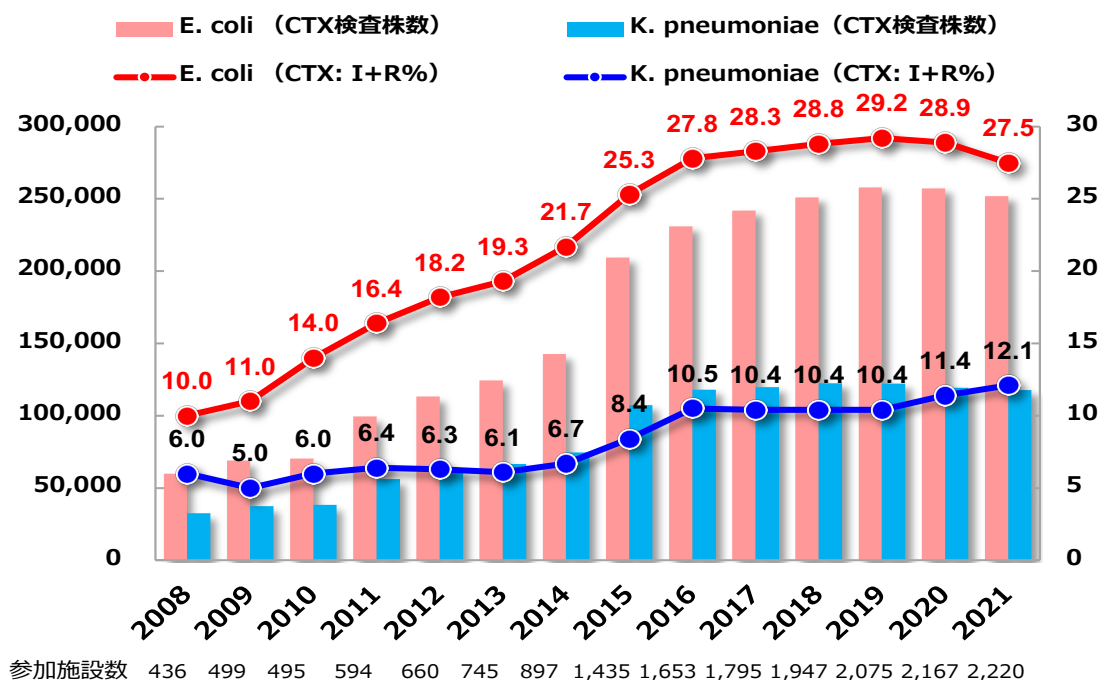
る。MRSAは、最新(2021年)データでは、入院患者由来の黄色ブドウ球菌の46.0%、外来患者由来の30.2%であり、入院由来株に占める割合は年次的に減少傾向である。一方、外来はほぼ横ばいであり、退院後も長期間MRSAを保菌していることや、市中感染型MRSAへの

スイッチが原因と推測される。

VREは依然として極めて低率であるが、検出数が着実に増加している点に注意すべきである。前述のとおりエンテロコッカスは腸管保菌であり弱毒菌であることから、気付いた時点で院内にかなり広範囲に伝播していることが報告されている。

ESBL産生腸内細菌目細菌は、世界的に日本を含むアジアは流行地域であり、最近では特定のクローンが拡散している。国内の流行状況を大腸菌(*Escherichia coli*)と肺炎桿菌(*Klebsiella pneumoniae*)についてJANISのデータから推測することができる。すなわち、現在流行しているESBLのタイプはセフトキシム(CTX)に高度耐性を示す性質を有するのでCTX耐性菌は概ねESBL産生菌とみなすことができる。2菌種に対するCTX耐性率の推移を図2に示した。大腸菌全体に占めるCTX耐性大腸菌の割合は年次的に上昇し、2019年は29%台で最高となり2021年は低下している。2021年は大腸菌の検出株数が減少していることからCOVID-19のパンデミックによる影響も考えられ、今後の動向をみなければ低下の現象を正しく評価することは

図2 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



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

できないと考えられる。一方、肺炎桿菌におけるESBL産生菌の占める割合は検出数減少にも関わらず増加している点は注目する必要がある。ESBL産生菌は市中で生み出された薬剤耐性菌であることから、感染症の診断目的の検査から検出数をモニタリングする。検出数に占めるESBL産生菌の割合を外来と入院で比較し、入院由来における割合が外来に比べて優位に上昇している場合は、院内伝播を疑う指標とする。

カルバペネム系薬を加水分解する酵素は β -ラクタマーゼの一種であるカルバペネマーゼである。カルバペネマーゼは β -ラクタマーゼの分類である4つのクラス(A～D)にそれぞれ存在する。現在、世界的にクラスBに属するNDM型が最も拡散、流行しており、国内ではNDM型とIMP型が主流である。NDM型とIMP型は腸内細菌目細菌、緑膿菌、アシネトバクターなどから検出されている。国内での検出率は低く維持できているが、通常の薬剤感受性検査ではカルバペネム系薬に耐性を示さず検出できない株が存在することが危惧されている。カルバペネマーゼ産生菌の検出は、日常の薬剤感受性検査の他にスクリーニング培地による方法がある。疑わしい菌株は表現型による検査に加え、イムノクロマト法によるカルバペネマーゼ検査キットや遺伝子検査も可能である。遺伝子検査はSARS-CoV-2の検査に導入した検査装置で検査可能なものがある。

MDRPとMDRAは国内では減少しており、感染対策の充実の効果と考えている。耐性機序はカルバペネマーゼによるものが最も多いが、検出は低いレベルを維持できている。検査は感染症法による3系統の抗菌薬(カルバペネム系薬、アミノグリコシド系薬、ニューキノロン系薬)に耐性(アミカシンは中間または耐性)を示す基準が用いられる。

3) 薬剤耐性菌サーベイランスの重要性

近年の薬剤耐性は多様化した β -ラクタマーゼによるものであり、国外で生み出され、ヒトや物流の急速な移動に伴って世界全体へ拡散している。COVID-19のパンデミックはヒトの移動を制限し副次的に薬剤耐性菌の拡散を抑えたかのように思われた。しかし、COVID-19の治療に広域スペクトラムな抗菌薬の使用が増加し、再び薬剤耐性菌が増加した報告も認められる。

これからは、薬剤耐性菌の持ち込みと院内での伝播防止に監視体制の強化が求められる。現時点では、海外で医療を受けた履歴を有する患者を対象とした保菌検査が行われているものと思われるが、国外からの持ち込みに対する水際対策の必要性は今後増すと考えられる。そのためには薬剤耐性菌サーベイランスは極めて重要であり、感染制御部門は微生物検査室と密接に連携した活動が必要である。例えば、緑膿菌は抗緑膿菌薬のうちメロペネムやタゾバクタム/ピペラシリンの院内での使用量と感性率をモニタリング、感性率はJANISによる全国レベルと比較する。使用量が増え、感性率の低下傾向が観察される場合は、適正使用かどうかを調査する。アシネトバクターは検出自体が少ないことから、薬剤耐性の有無に関わらず入院患者からの検出数をモニタリングし、ベースラインを越える検出が観察された時点で検出された病棟の状況を調査する。

おわりに

微生物学的検査法の特徴と院内感染関連微生物の国内外の疫学の現状を述べた。微生物学的検査の内容は医療機関ごとに異なっている。感染制御部門はICTやASTに参加している微生物検査室の技師に必ず確認し、協力した活動をすることが院内感染対策のさらなる充実に繋がるものと強調したい。