



第9回 カルバペネマーゼ産生菌その2

前回に引き続き、カルバペネマーゼ産生菌について特集します。今回はカルバペネマーゼ産生菌の検出方法について解説していきます。

カルバペネマーゼ産生菌の検出方法

色々な検出方法がありますが、大別すると、カルバペネマーゼ産生を直接確認する方法と、カルバペネマーゼ産生遺伝子を検出する方法の2つになります。

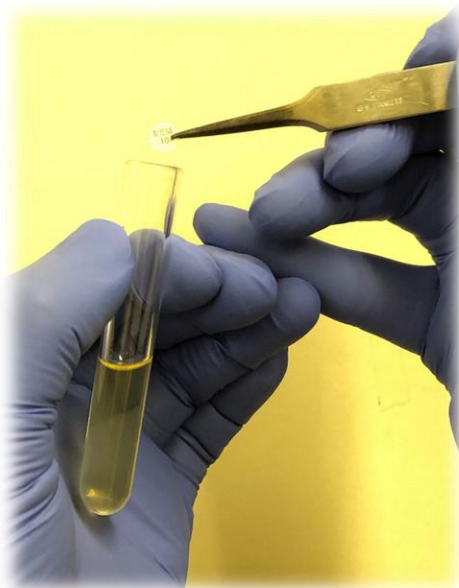
1. カルバペネマーゼ産生を直接確認する方法

薬剤感受性試験に用いられる抗菌薬含有ディスクを使用する方法や、その他の検査方法を紹介します。

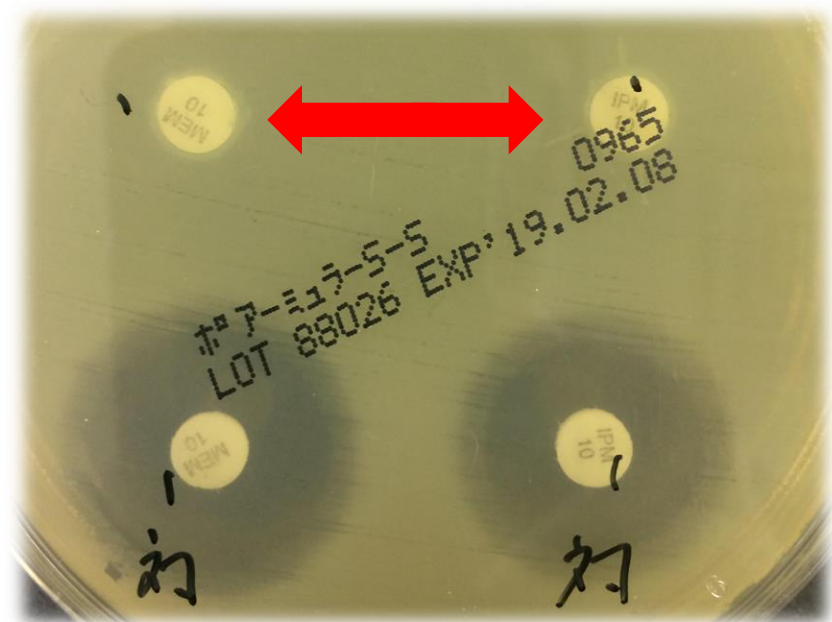
1) mCIM (modified Carbapenem Inactivation Method) 法

カルバペネム系抗菌薬であるメロペネムを含有するディスクを、被験菌液に一定時間浸漬させます。このディスクを、メロペネムに感受性である大腸菌を塗布した培地に乗せて培養し、阻止円の大きさを測定する方法です。被験菌がカルバペネマーゼを産生していると、ディスクのメロペネムが分解されて阻止円が形成されなくなります。

日数を要しますが、比較的簡便に検査できる上、多くのカルバペネマーゼを検出することができるため、広く用いられている検査法です。



被験菌液にメロペネムディスクを入れ加温。
メロペネムに感受性がある大腸菌を塗った培地に、
このディスクを載せて培養する。



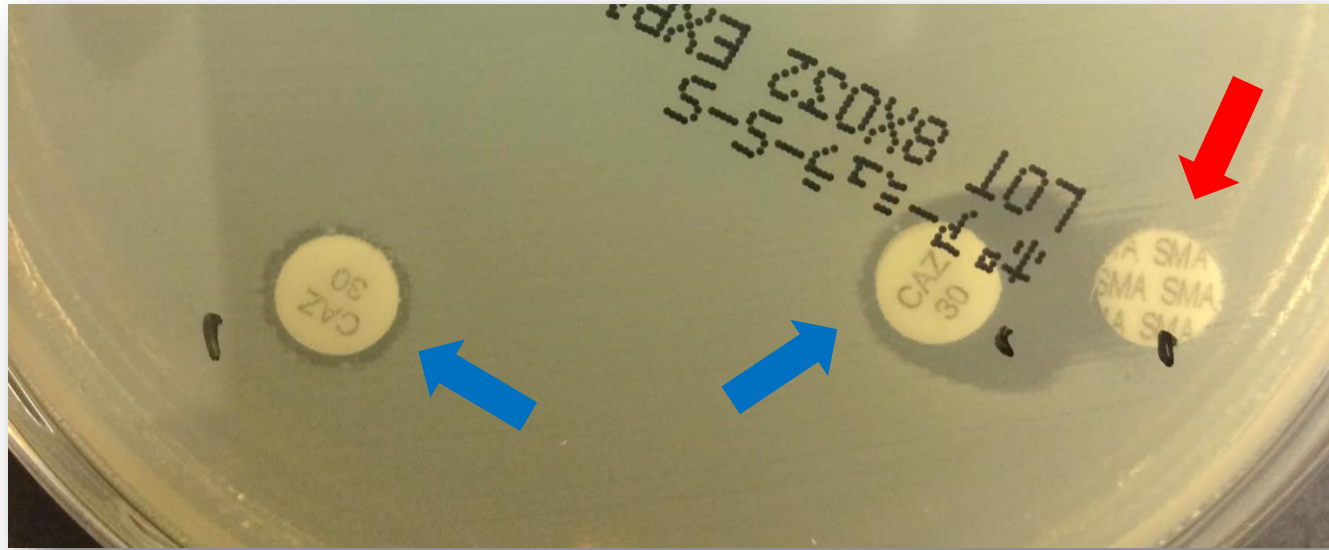
矢印はカルバペネマーゼ産生菌液に浸漬したディスク。
メロペネムが失活して抗菌活性がなくなっているため、
阻止円が形成されていない。

2) SMA法

カルバペネマーゼの一種である、メタロ-β-ラクタマーゼを検出する方法です。

IMP型やNDM型に代表されるメタロ-β-ラクタマーゼは、メルカプト酢酸ナトリウム (SMA) によって失活されることを応用した検査法です。

被験菌を塗布した培地上に、メロペネムやイミペネム、セフトジジム等の抗菌薬含有ディスクを載せ、さらにSMAディスクを抗菌薬ディスクの近くに載せて培養します。被験菌がメタロ-β-ラクタマーゼを産生していると、SMAディスクの作用で、抗菌薬ディスクの阻止円が拡大します。



IMP型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌を検査した写真。
青矢印がセフトジジムディスクで、赤矢印がSMAディスク。
左側セフトジジムディスク単独では阻止円が形成されていない。
右側ではSMAディスクの方に阻止円が拡大・形成されている。

3) Carba NP test

カルバペネマーゼにより抗菌薬が加水分解された際のpH変化をとらえ、指示薬であるフェノールレッドが黄変することでその産生を確認する試験です。市販のキットが販売されています。

4) イムノクロマト法

各種カルバペネマーゼに対する抗体を利用したイムノクロマト法も、研究用試薬として市販されています。

2. カルバペネマーゼ産生遺伝子を確認する方法

IMP型、NDM型、VIM型、KPC型、OXA型等の主要なカルバペネマーゼ産生遺伝子を検出する検査機器が市販されており、普及しつつあります。

上記の型以外は、検出したい産生遺伝子のプライマーを用意しPCRを行うことで検出可能ですが、通常の病院検査室では行われていないのが現状です。

次回は「カルバペネマーゼ産生菌をどのように拾い上げるか」について特集します。