令和 8 年 11 月改訂版_Ver4.0

病原体検出マニュアル

「多剤耐性緑膿菌：MDRP」

令和 8 年 11 月改訂版_Ver4.0

目次

1. 感染症法上の定義. 3

1.1 届出基準

2. 多剤耐性緑膿菌の概要. 5

3. 緑膿菌の同定と類縁菌種の鑑別. 5

4. 多剤耐性緑膿菌の耐性機序とその検査法 6

4.1 カルバペネム耐性

4.1.1. カルバペネマーゼ産生性の確認

4.1.1.1. SMA ディスクを用いたメタロ-β-ラクタマーゼ産生性の確認

4.1.1.2. カルバペネマーゼ産生性を確認する他の方法

① Carba NP test

② modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM)

4.1.1.3. PCR 法によるカルバペネマーゼ遺伝子の検出

① シングル PCR

② マルチプレックス PCR

4.1.1.4. シークエンスによるカルバペネマーゼ遺伝子の型別

4.2. アミノグリコシド（アミノ配糖体）耐性

4.3. フルオロキノロン耐性

資料 16

参考文献 17

主な改訂履歴 19

多剤耐性緑膿菌（MDRP）

令和 8 年 11 月改訂版_Ver4.0

1. 感染症法上の定義

多剤耐性緑膿菌（Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : MDRP）感染症は、広域 β-ラクタム剤、アミノ配糖体、フルオロキノロンの 3 系統の薬剤に対して耐性を示す緑膿菌による感染症である。臨床的特徴として、「感染防御機能の低下した患者や抗菌薬長期使用中の患者に日和見感染し、敗血症や骨髄、気道、尿路、皮膚、軟部組織、耳、眼などに多彩な感染症を起こす。」とされている。1999（平成 11）年より、「薬剤耐性緑膿菌感染症」として基幹定点把握疾患と定められていたが、2026（令和 8）年 4 月 6 日より 5 類全数把握疾患に変更され、また、名称も「多剤耐性緑膿菌感染症」に変更された。さらに、サーベイランスの継続性重視の観点から、届出のために必要な検査所見は 1999 年以来変更されていなかったが、臨床現場において広く使用され、毎年改訂される CLSI（Clinical and Laboratory Standards Institute : 米国臨床検査標準協会）の基準[1)]と乖離があり、届出に際し混乱を招いていた。このため、全数把握への移行を機に以下の通り検査所見の基準の見直しが行われた[2)]。

1.1. 届出基準

ア　患者（確定例）

医師は、上記の臨床的特徴を有する者を診察した結果、症状や所見から多剤耐性緑膿菌感染症が疑われ、かつ、下表の左欄に掲げる検査方法により、多剤耐性緑膿菌感染症患者と診断した場合には、法第１２条第１項の規定による届出を７日以内に行わなければならない。

この場合において、検査材料は、同欄に掲げる検査方法の区分ごとに、それぞれ同表の右欄に定めるもののいずれかを用いること。

イ　感染症死亡者の死体

医師は、上記の臨床的特徴を有する死体を検案した結果、症状や所見から、多剤耐性緑膿菌感染症が疑われ、かつ、下表の左欄に掲げる検査方法により、多剤耐性緑膿菌感染症により死亡したと判断した場合には、法第１２条第１項の規定による届出を７日以内に行わなければならない。

この場合において、検査材料は、同欄に掲げる検査方法の区分ごとに、それぞれ同表の右欄に定めるもののいずれかを用いること。

多剤耐性緑膿菌（MDRP）

令和 8 年 11 月改訂版_Ver4.0

届出のために必要な検査所見

検査方法	検査材料
分離・同定による緑膿菌の検出、かつ、以下の 3 つの条件を全て満たした場合 ア イミペネムの MIC が 8 μg/mL 以上又は、感受性ディスク(KB) の阻止円の直径が 15 mm 以下、もしくは、メロペネムの MIC が 8 μg/mL 以上又は、感受性ディスク（KB) の阻止円の直径が 15 mm 以下 イ アミカシンの MIC が 32 μg/mL 以上又は、感受性ディスク(KB) の阻止円の直径が 16 mm 以下 ウ シプロフロキサシンの MIC が 2 μg/mL 以上又は、感受性ディスク(KB) の阻止円の直径が 18 mm 以下、もしくは、レボフロキサシンの MIC が 4 μg/mL 以上又は、感受性ディスク(KB) の阻止円の直径が 14 mm 以下	血液、腹水、胸水、髄液、その他の通常無菌的であるべき検体
分離・同定による緑膿菌の検出、かつ、以下の 3 つの条件を全て満たし、かつ、分離菌が感染症の起因菌と判定された場合 ア イミペネムの MIC が 8 μg/mL 以上又は、感受性ディスク(KB) の阻止円の直径が 15 mm 以下、もしくは、メロペネムの MIC が 8 μg/mL 以上又は、感受性ディスク（KB) の阻止円の直径が 15 mm 以下 イ アミカシンの MIC が 32 μg/mL 以上又は、感受性ディスク(KB) の阻止円の直径が 16 mm 以下 ウ シプロフロキサシンの MIC が 2 μg/mL 以上又は、感受性ディスク(KB) の阻止円の直径が 18 mm 以下、もしくは、レボフロキサシンの MIC が 4 μg/mL 以上又は、感受性ディスク(KB) の阻止円の直径が 14 mm 以下	喀痰、膿、尿、その他の通常無菌的ではない検体

2. 多剤耐性緑膿菌の概要

緑膿菌による感染症は、血流感染症や肺炎（特に、人工呼吸器関連肺炎）、尿路感染症、皮膚・軟部組織感染症など多岐にわたり、さらに外耳炎や角膜炎など、耳や眼の感染症を引き起こすこともある。多剤耐性緑膿菌感染症は治療選択肢が限られるため、重症化や治療期間の長期化を招きやすく、適正な抗菌薬使用および院内感染対策が極めて重要である。

3. 緑膿菌の同定と類縁菌種の鑑別

緑膿菌は、ブドウ糖非発酵性の好気性グラム陰性桿菌であり、臨床検体から高頻度に分離される菌種の一つである。緑膿菌の基本的な生化学性状としては、オキシダーゼ試験や 42℃での発育試験、シモンズのクエン酸塩培地における発育試験、アシルアミダーゼ試験、硝酸塩還元試験、運動性などにいずれも陽性を示すことが挙げられる。しかしながら、緑膿菌を含むブドウ糖非発酵菌群は典型的な生化学性状を示さないこともあるため、菌種同定には注意を要する。特に、*Pseudomonas putida* group、*Pseudomonas fluorescens* などは、コロニー形態や生化学性状が類似し、緑膿菌と誤認されうる代表的な類縁菌種である。加えて、*Achromobacter* spp. や *Burkholderia cepacia* complex などの多剤耐性を示しやすいブドウ糖非発酵菌群も、多剤耐性緑膿菌と鑑別を要する場合がある。

さらに、*Pseudomonas* 属菌の一部は、種特異的な染色体性メタロ-β-ラクタマーゼ（MBL）遺伝子を有する菌種が存在し、例えば、*Pseudomonas otitidis* では POM-1、*Pseudomonas alcaligenes* では PAM-1 MBL を産生する。*Pseudomonas* 属以外でも、染色体性 MBL 産生菌種として、*Stenotrophomonas maltophilia*（L1 MBL）が挙げられる。

これらの菌群では、表現型に基づく同定法では誤同定の原因となりうるため、緑膿菌と同定された菌株であっても、非典型的な薬剤感受性パターンを示す場合や、Sodium mercaptoacetate（SMA）ディスクを用いた MBL 産生スクリーニング検査が陽性であるにもかかわらず、PCR にて主要な MBL 遺伝子が陰性となる場合には、類縁菌種または他のブドウ糖非発酵菌群を疑う必要があり、必要に応じて、MALDI-TOF MS や遺伝子学的同定法による再評価を行うことが重要である。

4. 多剤耐性緑膿菌の耐性機序とその検査法

4.1. カルバペネム耐性

カルバペネム系抗菌薬を含むβ-ラクタム系抗菌薬は、細菌のペニシリン結合タンパク（Penicillin-Binding Proteins：PBPs）に結合し、細胞壁ペプチドグリカンの架橋形成を阻害することにより、殺菌的に作用する。その耐性機序としては主に、MBL 等のカルバペネマーゼ産生、外膜蛋白（OprD など）の変異または欠損による薬剤透過性の低下、薬剤排出ポンプ（MexAB-OprM など）の機能亢進、などが知られており、これらが単独あるいは複合的に関与する[3]。また、緑膿菌は染色体性に AmpC β-ラクタマーゼを産生し、過剰産生単独ではカルバペネム耐性化に至らないが、他の機序と複合することで耐性に寄与しうる。

カルバペネム系抗菌薬に耐性を示す緑膿菌のうち、特に注意すべきは、カルバペネマーゼ遺伝子をプラスミドなどの可動性遺伝因子を介して獲得し、さらに菌種間で水平伝播を引き起こす可能性のあるカルバペネマーゼ産生株である。これらは院内感染や地域内での拡散リスクが高く、感染対策上も重要な問題となる。

また、グラム陰性菌の外膜蛋白（Outer membrane protein：Omp）の構成成分の一つであるポーリンは細胞内外への物質の輸送に関与することから、ポーリンの変異・欠損により抗菌薬の細胞内外への透過性が低下する。特に、β-ラクタム系やフルオロキノロン系抗菌薬はポーリンを介してペリプラズム、細胞内に移行し、抗菌活性を発揮することが知られている[3]。緑膿菌においては、Omp の一つであり、塩基性アミノ酸の選択的透過経路である OprD が減少することによりイミペネム（IPM）等のカルバペネム系抗菌薬の MIC が上昇するが、その他のβ-ラクタム系抗菌薬には影響しない。

細胞内から能動的に抗菌薬等を排出する機能をもつ膜蛋白質は排出トランスポーターと呼ばれる。緑膿菌においては、MexAB-OprM で構成される RND 型排出トランスポーターが特に重要であり、過剰発現することで多剤耐性化に寄与することが知られている[3]。

以下に、特に注意すべきカルバペネマーゼ産生緑膿菌を検出するための主な検査法について示す。

4.1.1. カルバペネマーゼ産生性の確認

Ambler 分類においてクラス B に分類される MBL はモノバクタム系を除くすべてのβ-ラクタム系抗菌薬を分解する。MBL は活性中心に亜鉛を有するため、キレート作用を有する EDTA や亜鉛に結合するメルカプト化合物の SMA 等で阻害される特徴をもつ。

代表的な MBL としては、IMP 型、VIM 型や NDM 型が知られており、我が国で分離される緑膿菌のカルバペネマーゼとしては、IMP 型の報告が最も多い[4]。

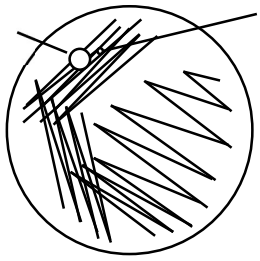
一方、Ambler 分類クラス A に属する GES 型β-ラクタマーゼ（セリン-β-ラクタマーゼ）のうち、カルバペネム分解活性を有する GES-5 産生 MDRP も、2018 年以降、国内で増加傾向であることが報告されており、MBL とは異なるカルバペネマーゼによるカルバペネム耐性にも注意が必要である[5-7]。また、KPC 型カルバペネマーゼ産生株は、中国や中南米を中心に報告があるが[8]、令和 8 年 5 月現在、正式な国内での検出報告は確認されていない。KPC 型カルバペネマーゼ産生の表現型確認法としては、メロペネムディスクにボロン酸及びクロキサシリンをそれぞれ添加し、阻止円拡張の有無を確認する方法が報告されている[9]。

4.1.1.1. SMA ディスクを用いたメタロ-β-ラクタマーゼ産生性の確認

ここでは、IMP 型、VIM 型や NDM 型などのメタロ-β-ラクタマーゼ阻害剤であるメルカプト酢酸ナトリウム（SMA）を用いた試験方法（ディスク法）を示す。

1. 被検菌をミューラーヒントン寒天培地等に塗布する。
2. 下図のように濃厚に塗布した部分にメロペネム（MPM）のディスクを置く（薬剤耐性遺伝子に関連するプラスミドの脱落を防ぐ為）。

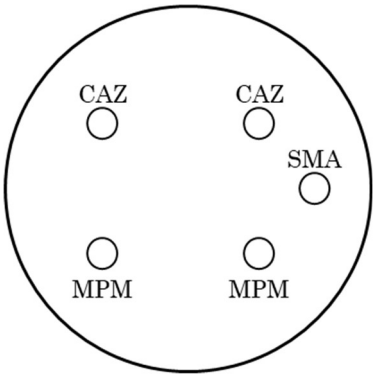
MPM ディスク



3. 35℃（±2℃）、18～24 時間培養する。
4. 培養後、メロペネム（MPM）ディスク周囲の菌を滅菌綿棒でかき採り、滅菌水あるいは滅菌生理食塩水に McFarland 0.5 になるように懸濁する。
5. 4.で調整した菌液に滅菌綿棒を浸した後、ミューラーヒントン寒天培地全面に塗布する。
6. SMA ディスク、セフタジジム（CAZ）ディスク、メロペネム（MPM）ディスクを図 A のように配置する。
7. シャーレのふたを下にして、35℃（±2℃）のインキュベーターで、16～18 時間培養後、判定する。

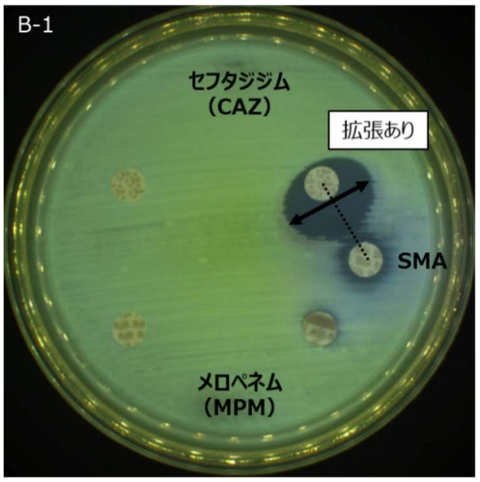
8. SMA ディスクの作用により、発育阻止帯の拡張（図 B-1、SMA ディスクと抗菌薬ディスクの中心をつないだ点線に対して垂直方向の拡張）が認められた場合、メタロ-β-ラクタマーゼ産生株と判定する。

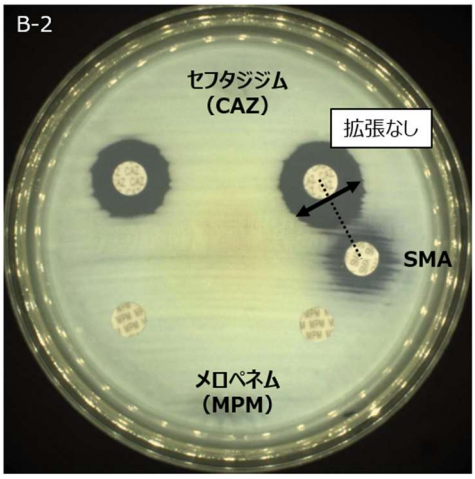
図 A. ディスク配置図

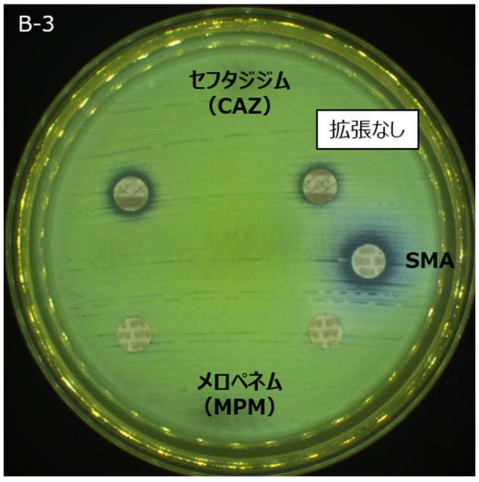


CAZ: セフタジジム
MPM: メロペネム
SMA: メルカプト酢酸ナトリウム

図 B. 判定例







B-1. IMP-1 メタロ-β-ラクタマーゼ産生株
（SMA **陽性**例）
B-2. GES-5 β-ラクタマーゼ産生株（SMA 陰性例）
B-3.メタロ-β-ラクタマーゼ非産生株（SMA 陰性例）

4.1.1.2. カルバペネマーゼ産生性を確認する他の方法

Carba NP テスト、modified Carbapenem Inactivation Method（mCIM）について、以下に示す。

① Carba NP テスト [1), 10), 11)]

Carba NP テストは、以下の原理を利用した網羅的なカルバペネマーゼ産生菌のスクリーニング方法である。被検菌を溶菌させた菌液とイミペネム・フェノールレッド溶液（赤色）を混合すると、被検菌がカルバペネマーゼ産生菌であればイミペネムが分解される。分解産物として生じたイミペネム酸はイミペネム・フェノール赤溶液の pH を低下させ、その色が黄変する。国内で多い IMP 型などの MBL 産生菌では感度良く検出可能だが、GES 型など、MBL 以外のカルバペネマーゼ産生菌は陽性となりにくいので注意が必要である。参考文献 10 で報告された方法（参考文献 1 の CLSI 法とは一部異なる）を下記に示す。

準備するもの

□ 菌プレート（被検菌、陽性コントロール、陰性コントロール）

□ Lysis buffer (B-PERII, Bacterial Protein Extraction Reagent; Thermo)

□ フェノール赤溶液*

□ 0.1M $ZnSO_4$ 溶液**

□ イミペネム

＊ フェノール赤溶液の調製方法

1. フェノール赤 50 mg に 1N NaOH を一滴加え、1 mL の dH_2O で溶解し、9 mL dH_2O を加える（0.5% フェノール赤溶液）。
2. 1.で調製した 0.5%フェノール赤溶液 2 mL を、16.6 mL の dH_2O と混ぜて、1N NaOH で pH7.8 に調整する。

＊＊ 0.1M $ZnSO_4$ 溶液の調製方法

$ZnSO_4・7H_2O$ (Molecular weight: 287.53) を用いる場合）$ZnSO_4・7H_2O$ 288 mg を 10 mL の dH_2O で溶解させる（最終濃度 0.1M）。

手順

1．イミペネム・フェノール赤溶液を必要量調製する。フェノール赤溶液 1 mL あたり、0.1M $ZnSO_4$ 溶液 1 µL を混和し、イミペネム 3 mg を溶解させる（用時調製、1 株につき 100 µL 使用）。

2．Lysis buffer 100 µL を、1.5 mL チューブに分注する。（検体数＋陽性コントロール、陰性コントロール）

３．コロニーを 10 μL の白金耳で 2 白金耳分採取し、Lysis buffer に懸濁しボルテックスミキサーで十分に混和する。
４．30 分間、室温で静置し、溶菌させる。
５．別の 1.5 mL チューブにイミペネム・フェノール赤溶液を 100 μL ずつ分注する（1.5 mL チューブは透明度の高いものを使用すると判定しやすい）。
６．5.で分注したイミペネム・フェノール赤溶液に、4.で溶菌させた菌液 30 μL を加えてピペッティング等でよく混和する。
７．35℃（±2℃）でインキュベーションし、色の変化を目視で確認する（図）。120 分間以内に黄変したものを陽性と判定する（早ければ懸濁直後に黄変する。長時間インキュベーションすると一度黄変したものでも全て赤色になるため注意する）。

図．Carba NP テスト結果例



検体 1	検体 2	陽性	陰性
（陰性）	（陽性）	コントロール	コントロール

② modified Carbapenem Inactivation Method（mCIM）

CLSI M100 に記載された mCIM を示す[1)]。Carba NP テストと同様、カルバペネマーゼ産生菌を網羅的にスクリーニングする方法である。メロペネム（MPM）ディスクを被検菌懸濁液と反応させたのち、メロペネム（MPM）に感性を示す *Escherichia coli* ATCC25922 を塗布した培地に置き形成される阻止円直径を測定する。カルバペネマーゼ産生菌の場合、メロペネム（MPM）が分解されるため、形成される阻止円直径が小さくなることを利用した方法である。Carba NP テストより簡便・安価にカルバペネマーゼ産生菌を検出可能であるが、Carba NP テスト同様に一部のカルバペネマーゼ（GES 型など）産生株は陽性となりにくいことが報告されているので注意が必要である[12)]。尚、緑膿菌の産生する GES 型カルバペネマーゼを感度良く検出する方法として、CIMTris が報告されている[12)]。

多剤耐性緑膿菌（MDRP）

令和 8 年 11 月改訂版_Ver4.0

準備するもの

□ TSB（Trypticase Soy Broth）　　1 株あたり 2 mL

□ メロペネムディスク（10 μg/disk）　　1 株あたり 1 枚

□ **10 μL 白金耳**　　1 株あたり各 1 本ずつ

□ Nutrient broth（Mueller-Hinton, TSB など）あるいは滅菌生理食塩水 3.0 mL～5.0 mL

□ ミューラーヒントン寒天培地

□ 使用菌株（寒天平板培地に一晩培養したもの）

被検菌

Escherichia coli ATCC25922（メロペネム感性指標菌）

Klebsiella pneumoniae ATCC BAA-1705（陽性コントロール：bla_{KPC-2} 保有株）

Klebsiella pneumoniae ATCC BAA-1706（陰性コントロール）

手順

1．被検菌のコロニーを **10 μL 白金耳一杯分**をかきとり、TSB 2 mL に懸濁する（参考：1 μL ループ一杯分のコロニーを TSB 2 mL に懸濁する腸内細菌目細菌より接種菌量が多いことに注意する）。同様に、陽性コントロール株及び陰性コントロール株も、それぞれ TSB 2 mL に懸濁する。

2．10-15 秒間、ボルテックスミキサー等で十分攪拌する。

3．2. にメロペネム（MPM）ディスクを 1 枚入れる。ディスク全体が菌懸濁液に浸っていることを確認する。

4．35℃（±2℃）のインキュベーターで、4 時間（±15 分間）培養する。

5．（4.の培養時間が終了する直前に）*E. coli* ATCC25922 のコロニーを Nutrient broth もしくは滅菌生理食塩水に懸濁し、McFarland 0.5 に調製する。

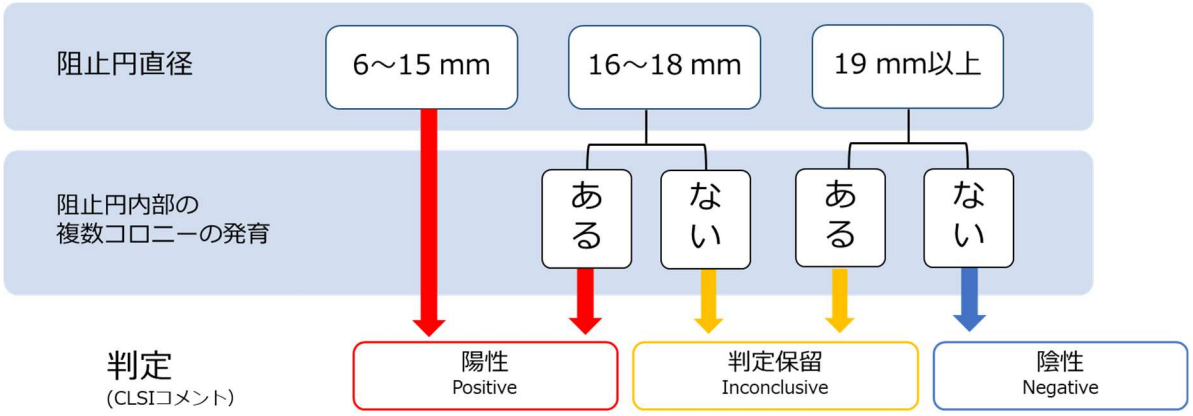
6．5.で調製した菌液を滅菌綿棒に浸し、ミューラーヒントン寒天培地の全面に塗布する（塗布はディスク拡散法と同様に実施し、菌液調製後、15 分間以内に培地に塗布することが望ましい）。塗布後、培地表面を 3-10 分間乾かす。

7．4.の培養時間が終了したら、10 μL 白金耳を用いてメロペネムディスクを取り出す。その際、ディスクをチューブ内壁に押し付けて、余分な菌液をできるだけ除く。

8．7.で取り出したメロペネム（MPM）ディスクを 6.で準備した培地上に置く（CLSI では、シャーレ 1 枚当たりのメロペネム（MPM）ディスクの最大数として 100 mm シャーレは 4 ディスク、150 mm シャーレは 8 ディスクまでと記載されている。90 mm シャーレの場合も、最大 4 ディスクまでが望ましい）。

9．シャーレのふたを下にして、35℃（±2℃）のインキュベーターで、18～24 時間培養後、阻止円直径（整数 mm）を計測する。次ページの結果判定スキームを参考に、判定する。

結果判定



＊ 阻止円内部のコロニーが被検菌由来の場合は、「阻止円内部のコロニーなし」とみなす。

＊＊ 判定保留の場合や、他の試験法の結果と矛盾がみられる場合などは、再検査を実施するとともに、下記についても確認するとよい。

✓ 被検菌や *E. coli* ATCC25922 にコンタミネーションがないか
✓ メロペネム（MPM）ディスクの力価低下はないか（陽性コントロール・陰性コントロールの結果を確認）

4.1.1.3. PCR 法によるカルバペネマーゼ遺伝子の検出

以下に、① シングル PCR 用のプライマー配列と反応条件、② マルチプレックス PCR 用のプライマー配列と反応条件の例を示す。

① シングル PCR

Primer	配列（5'→3'）	増幅サイズ
IMP gen [13]	F: GAATAG(A/G)(A/G)TGGCTTAA(C/T)TCTC	188 bp
	R: CCAAAC(C/T)ACTA(G/C)GTTATC	
NDM 型 [10, 14]	F: TTGCCCAATATTATGCACCC	420 bp
	R: ATTGGCATAAGTCGCAATCC	
VIM-1 型 [15]	F: AGTGGTGAGTATCCGACAG	261 bp
	R: ATGAAAGTGCGTGGAGAC	
VIM-2 型 [15]	F: ATGTTCAAACTTTTGAGTAAG	801 bp
	R: CTACTCAACGACTGAGCG	
GES 型*[16]	F: CTTCATTCACGCACTATTAC	827 bp
	R: TAACTTGACCGACAGAGG	
KPC 型 [17]	F: ATGTCACTGTATCGCCGTCT	893 bp
	R: TTTTCAGAGCCTTACTGCCC	
IMP については「IMP gen」プライマーを基本とし、以下の系統別（1 型/2 型）プライマーは必要に応じて使い分けいただきたい。		
IMP-1 型 [15] (IMP-1 型の検出)	F: ACCGCAGCAGAGTCTTTGCC	587 bp
	R: ACAACCAGTTTTGCCTTACC	
IMP-2 型 [15] (IMP-2 型の検出)	F: GTTTTATGTGTATGCTTCC	678 bp
	R: AGCCTGTTCCCATGTAC	

＊ GES 型は一部の亜型のみ（GES-5, -24 等）がカルバペネマーゼ活性を有し、カルバペネマーゼ活性を持たないとされている ESBL（基質特異性拡張型β - ラクタマーゼ）との鑑別にはシークエンスが必要 [18, 19]

PCR 反応

94℃ 2 min
↓
94℃ 1 min
↓
55℃ 1 min
↓
72℃ 1.5 min
↓
72℃ 5 min

30 cycles

② マルチプレックス PCR [20)]

Primer	配列（5'→3'）	増幅サイズ
*bla*IMP	F1: TCTCRATCTATCCCCACGTATGC	269 bp
	F2: TCTCAATCTATTCCAACATATGCATCTG	
	R1: GCGGACTTTGGCCAAGCTTCTA	
	R2: GCMGAATGTGGCCACGCTTCAA	
*bla*NDM	F: CGGTTTGGCGATCTGGTTTT	207 bp
	R: GACCGGCAGGTTGATCTCC	
*bla*VIM	F: GTTTGGTCGCATATCGCAAC	155 bp
	R: CCAATTTGCTTYTCAATCTCCG	
*bla*GES	F: CTGTGGCTAAAGTCCTCTATGGCG	94 bp
	R: GTCGCGTCTCCCGTTTGGTT	
*bla*KPC	F: CGGAACCATTCGCTAAACTCG	322 bp
	R: AACAAATTGGCGGCGGCGT	

PCR 反応

95℃ 5 min
↓
95℃ 30 sec
↓
60℃ 1.5 min ┐ 25 cycles
↓
72℃ 1 min ┘
↓
68℃ 10 min

4.1.1.4. シークエンスによるカルバペネマーゼ遺伝子の型別

カルバペネマーゼ遺伝子の型別を行う場合は、PCR 増幅産物等の塩基配列をサンガーシークエンス等で決定し、参照配列と比較しアミノ酸配列が一致することを確認する。2026（令和 8）年 1 月現在、カルバペネマーゼ遺伝子等の薬剤耐性遺伝子の参照配列情報は、National Center for Biotechnology Information（NCBI）の Reference Gene Catalog サイト（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/refgene/）で確認できる。なお、IMP 型は、PCR 用とは別にシークエンス型別用のプライマーセットも報告されている [21)]。遺伝子型別のためには、厳密にはカルバペネマーゼ遺伝子の周辺配列に設計したプライマー

で増幅し、遺伝子全長の配列決定が必要である。しかし、カルバペネマーゼ遺伝子の周辺配列は、同じ遺伝子型であっても株によって多様性があるため、共通プライマーの設計が困難なことも多い。カルバペネマーゼ遺伝子の 5'末端、3'末端に重なるように設計されたプライマーを使用する場合は、シークエンスで決定した配列のうちプライマー配列を除いた部分を参照配列と比較することで遺伝子型を推定可能であるが、厳密には遺伝子全長の配列決定はできないことを留意いただきたい。

4.2. アミノグリコシド（アミノ配糖体）耐性

本抗菌薬の主な耐性機序として、アミノグリコシド修飾酵素[アセチル転移酵素(aminoglycoside N-acetyltransferase：AAC)、アデニリル転移酵素（aminoglycoside adenylyltransferase : AAD、aminoglycoside nucleotidyltransferase : ANT), リン酸転移酵素（aminoglycoside O-phosphotransferase：APH)]と 16S rRNA をメチル化することでアミカシンやアルベカシンなど、アミノグリコシド系抗菌薬の高度耐性を招く 16S rRNA メチラーゼ（ArmA、RmtA~RmtH、NpmA）が挙げられる [22,23]。抗菌薬の種類や転移部位の違いにより 30 種類以上報告されていることから、これらの耐性遺伝子すべてを PCR で検出することは難しい。

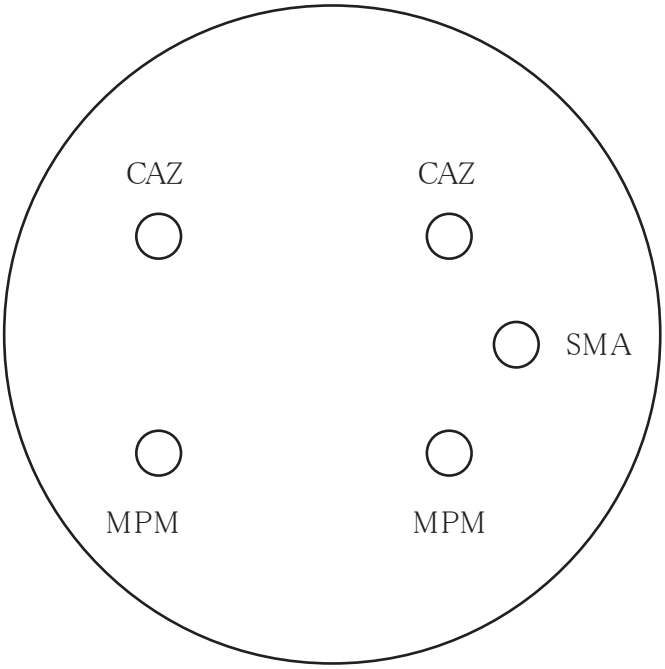
4.3. フルオロキノロン耐性

本抗菌薬の主な耐性機序として、DNA gyrase をコードする *gyrA*、*gyrB*、および topoisomerase IV をコードする *parC*、*parE* のキノロン耐性決定領域〔quinolone-resistance determining region：QRDR〕における変異が挙げられ、置換されるアミノ酸残基数の増加に伴って MIC が上昇し、耐性化する傾向にある。したがって、本抗菌薬に対する耐性機序の同定には、QRDR 領域を PCR により増幅し、その増幅産物の塩基配列を決定することで、耐性関連変異を検出する方法が有用である。また、QRDR 領域のアミノ酸残基の置換（染色体遺伝子変異）に加えて、RND (resistance-nodulation-cell division) 型に属する薬剤排出ポンプの過剰発現が報告されている [3]。さらに、アミノグリコシド修飾酵素のうち、AAC(6')-Ib-cr はシプロフロキサシン耐性にも関与することが報告されており、プラスミド媒介性キノロン耐性 [plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR)]としても知られている [24]。PMQR には他にも Qnr などが知られている [25]。

【資料】

SMA ディスクを用いたメタロ-β-ラクタマーゼ産生性の確認（ディスク法）テンプレート

このページを印刷し、シャーレの下に置いてディスクを配置するとよい（P.7, 4.1.1.1. SMA ディスクを用いたメタロ-β-ラクタマーゼ産生性の確認の項を参照）



【参考文献】

1. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2025.
2. 厚生労働省. (2026 年 2 月 5 日). 感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律第 12 条第 1 項及び第 14 条第 2 項に基づく届出の基準等について(一部改正)（通知番号 感感発 0205 第 2 号）. 厚生労働省通知.
3. Lister PD. *et al*. 2009. Clin Microbiol Rev. 22(4):582-610
4. Yano H. *et al*. 2024. Antimicrob Agents Chemother. 68(5):e0166923
5. Hishinuma T. *et al*. 2018. PLoS One. 13(11):e0207134
6. 病原微生物検出情報 IASR 35: 227-228, 2014
7. Kanayama A. *et al*. 2016. J Hosp Infect. 93(1):35-41
8. Reyes J. *et al*. 2023. Lancet Microb. 4(3):e159-e170.
9. Pasteran F. *et al*. 2011. Clin Microb Infect. 17(9):1438-1441.
10. Segawa T. *et al*. 2017. J Microbiol Methods. 133:35-9
11. Nordmann P. *et al*. 2012. Emerg Infect Dis. 18(9):1503-7
12. Uechi K. et al. 2017. J Clin Microbiol. 55(12):3405-10.
13. Mendes RE. *et al*. 2007. J Clin Microbiol. 45(2):544-7
14. 厚生労働科学研究費補助金「新型薬剤耐性菌等に関する研究（課題番号：H21-新興・一般-008）」平成 22 年度研究報告書 p22-27
15. Shibata N. *et al*. 2003. J Clin Microbiol. 41(12):5407-13
16. Wachino J. *et al*. 2004. Antimicrob Agents Chemother. 48(6):1960-7
17. Bradford PA. et al. 2004. Clin Infect Dis. 39(1):55-60
18. Wachino J. *et al*. 2004. Antimicrob Agents Chemother. 48(8):2905-10
19. Bontron S. *et al*. 2015. Antimicrob Agents Chemother. 59(3):1664-70
20. Watahiki M. *et al*. 2020. Jpn J Infect Dis. 73(2):166-172
21. Kawahara R. *et al*. 2021. Jpn J Infect Dis. 74(6):592-599
22. Doi Y. *et al*. 2016. Infect Dis Clin North Am. 30:523-537
23. Wachino J. *et al*. 2012. Drug Resist Updat. 15(3):133-148
24. Robicsek A. *et al*. 2006. Nat Med. 12(1):83-8
25. Strahilevitz J. et al. 2009. Clin Microbiol Rev. 22(4):664-89.

令和 8 年 11 月改訂版_Ver4.0

【検査依頼先】
国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 第一室
メールアドレス：taiseikin@nih.go.jp

【執筆者】
国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 第一室

令和 8 年 11 月改訂版_Ver4.0

主な改訂履歴

改訂版	改訂項目	改訂内容
令和 8 年 4 月 Ver3.0	多剤耐性緑膿菌（MDRP）全体	病原体検出マニュアル 「薬剤耐性菌」から分割し、全面見直し
令和 8 年 11 月 Ver4.0	1. 感染症法上の定義	臨床的特徴　を追記
	4.1.1. カルバペネマーゼ産生性の確認	KPC 型に関する記述、KPC 型検出用プライマー、関連する参考文献を追記
	4.3 フルオロキノロン耐性	参考文献の変更及び追加