

# 微生物検査部門

精度管理事業部員 濱岸 真奈美 藤田保健衛生大学病院 TEL 0562-93-2304

実務担当者 宮木 祐輝 (小牧市民病院)  
 西山 秀樹 (名古屋第一赤十字病院)  
 笹野 正明 (岡崎市民病院)  
 内藤 淳 (厚生連安城更生病院)  
 毛利 哲夫 (春日井市民病院) 他 微生物検査研究班班員

## はじめに

平成 20 年度の微生物検査サーベイは、同定サーベイ 2 題、同定に伴う抗菌薬感受性サーベイ 5 題、およびフォトサーベイ 2 題を出題した。評価については、試料 1、2 の同定菌名、薬剤感受性試験、フォトサーベイ 1、2 の推定菌名を評価対象項目に設定した。

評価は参加施設 69 施設を対象とした。(同定、感受性試験は解答された 67 施設を対象とした。)平成 15、16、17、18、19 年の参加施設は 67、71、75、69、72 施設であり、参加数は昨年度より減少していた。

## 材料菌株および方法

### 1. 対象菌株

試料 1 *Proteus mirabilis*

試料 2 *Enterococcus casseliflavus*

試料 1、2 は臨床分離菌株を BHI 寒天平板で 18 時間培養した後、輸送培地(プロコート栄研器材株)に接種したものを当日は冷蔵保存、翌日発送(冷蔵)翌々日 10 時に各施設へ配送した。

薬剤感受性試験の確認は CLSI(Clinical and Laboratory Standard Institute)標準法に従い、ディスク法は KB ディスク(栄研化学) MIC 法はドライプレート(栄研化学)を使用した。

### 2. 調査目的

- ・尿路感染症で分離される菌の同定と耐性菌の検出状況、感受性試験
- ・血液培養における起因菌同定と感受性試験
- ・まれな敗血症の起因微生物推定
- ・角膜炎の起因微生物推定

## 調査結果

### 1. 試料 1 同定検査サーベイ

菌株の由来：30 歳女性。発熱、全身倦怠感、腎部圧痛にて受診。一ヶ月前にも同様の症状にて受診、治療を受けていた。検尿により膿尿、細菌尿を認め尿培養実施。

### 1) 成績菌名

正解である *Proteus mirabilis* と回答した施設は 67 施設(100%)であり良好な結果であった。

### 2) 測定装置、測定試薬

測定装置を表 1 に示す。測定機器別ではマイクロスキャンが 28 施設(41.8%)で最も多く、次いで用手法が 16 施設(23.9%)であった。

表 1：測定装置

測定装置	件数	%
マイクロスキャン	28	41.8
用手法	16	23.9
バイテック	11	16.4
PHOENIX(フェニックス)	5	7.5
ATB Expression,miniAPI	4	6.0
RAISUS(ライサス)	3	4.5
総計	67	100.0

機種別集計	件数	%
用手法	16	23.9
マイクロスキャン Walk Away 40,40SI	12	17.9
マイクロスキャン Walk Away 96,96SI	13	19.4
マイクロスキャン オ - トスキャン 4	2	3.0
その他微生物検査装置(Walk Away 40plus)	1	1.5
バイテック 2,コンパクト 60	4	6.0
バイテック 2,バイテック 2XL	3	4.5
バイテック 32,JR	2	3.0
バイテック 2,コンパクト 30	2	3.0
PHOENIX(フェニックス)	5	7.5
ATB Expression,miniAPI	4	6.0
RAISUS(ライサス)	3	4.5
総計	67	100.0

表2：測定試薬

測定試薬	件数	%
Neg Combo 6.11J	16	23.9
Neg BPCombo 3J	4	6.0
Neg Combo 6.11C	2	3.0
Neg BPCombo 6.23J	2	3.0
Neg ID	2	3.0
Neg Combo 6.11B	1	1.5
未記入	1	1.5
カラリメトリックバイテック 2GN 同定カード	5	7.5
GNB バイテック 2 グラム陰性菌同定カード	4	6.0
GNI+新グラム陰性桿菌同定カード	2	3.0
グラムネガティブ N MIC / ID-30	5	7.5
ラピッド ID32E アピ	5	7.5
ID32GN アピ	1	1.5
その他ライサスグラム陰性菌用迅速プレート	3	4.5
従来法による同定（自家製培地使用）	3	4.5
エンテロチューブ	3	4.5
IDテスト EB-20	3	4.5
エンテオグラム	2	3.0
クリスタル E/NF 同定検査キット	1	1.5
ラピッド 20	1	1.5
アピ 20	1	1.5
総計	67	100.0

測定試薬を表2に示す。

確認培地を使用した従来法による同定も3施設行われていた。

### 3) 従来法による性状試験

代表的な性状試験の成績を表3に示す。高頻度を実施されたものはグラム染色63施設(94.0%)、オキシダーゼ試験43施設(64.2%)、硫化水素産生32施設(47.8%)、TSIまたはクリグラ-30施設(44.8%)、インドール産生30施設(44.8%)であった。グラム染色を行ったすべての施設でグラム陰性桿菌と回答した。従来法による同定と回答された3施設については硫化水素産生、インドール、運動性、IPA又はPPAの確認さらに2施設ではリジン脱炭酸反応、オルニチン脱炭酸反応試験を行っていた。

### 4) 付加試験・付加コメントについて

付加試験を表4に示す。14施設(20.9%)がラクタマーゼ試験を実施していた。Extended-spectrum-Lactamase(ESBLs)に対する確認試験を行っていた施設は50施設(74.6%)であった。付加コメントを表5に示す。起炎性の可能性が極めて高いと考えられる、もしくは起炎性の可能性があるコメントした施設は54施設(80.6%)であった。また、ESBLs産生菌である、ESBLs産生菌の可能性があるとコメントした施設は57施設(85.1%)であった。ESBLsに対する付加試験

を行っていないが、ESBLsであると回答した施設が7施設あった。調査後、感受性試験のパネル等での判定がなされていると報告をうけている施設があり、確認はしていないが他の施設でも同様の判定が考えられる。感染対策に対するコメントでは、病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられるとコメントした施設は40施設(59.7%)であった。

## 2. 試料1 薬剤感受性サーベイ

### 1) 検査方法別感受性試験実施数及び実施率

検査方法別感受性試験実施数及び実施率を表6に示す。

微量液体希釈法を実施している施設はCAZで47施設(70.1%)、CPRで31施設(58.5%)、LVFXで47施設(71.2%)であった。

### 2) 薬剤感受性成績

Ceftazidime:CAZ

ディスク法判定と阻止円径を表7に示す。ディスク法では“R”と判定した施設が9施設(50%)、“S”と判定した施設が9施設(50%)であった。表8にディスク法試薬と阻止円径の分布を示す。

微量液体希釈法判定とMIC値を表9に示す。微量液体希釈法では“R”と判定した施設が28施設(59.6%)、“S”と判定した施設が19施設(40.4%)であった。表10に微量液体希釈法試薬とMIC値の分布を示す。

Cefpirome:CPR

ディスク法判定と阻止円径を表11に示す。ディスク法では“R”と判定した施設が18施設(78.3%)、“I”と判定した施設が3施設(13%)、“S”と判定した施設が2施設(8.7%)であった。表12にディスク法試薬と阻止円径の分布を示す。

微量液体希釈法判定とMIC値を表13に示す。微量液体希釈法では“R”と判定した施設が25施設(83.3%)、“I”と判定した施設が2施設(6.7%)、“S”と判定した施設が2施設(6.7%)であった。表14に微量液体希釈法試薬とMIC値の分布を示す。

Levofloxacin:LVFX

ディスク法判定と阻止円径を表15に示す。ディスク法では“R”と判定した施設が5施設(25.0%)、“I”と判定した施設が1施設(5.0%)、“S”と判定した施設が14施設(70.0%)であった。表16にディスク法試薬と阻止円径の分布を示す。

微量液体希釈法判定とMIC値を表17に示す。微量液体希釈法では“I”と判定した施設が2施設(4.3%)、“S”と判定した施設が45施設(95.7%)であった。表18に微量液体希釈法試薬とMIC値の分布を示す。

表 3：従来法による性状試験

検査項目	1. A / A G	3. - / A	4. - / A G	5. - / -	実施合計	実施せず	空白	実施率 %
TSI またははクリグラール (%)	1 (3)	25 (83)	3 (10)	1 (3)	30	31	6	44.8

検査項目	陽性	陰性	判定保留	実施合計	実施せず	空白	実施率 %
グラム染色 件数		陰性桿菌 63 (100)		63	1	3	94.0
オキシダーゼ試験 件数 (%)	2 (5)	41 (95)		43	9	5	64.2
VP 試験 件数 (%)	11 (65)	5 (29)	1 (6)	17	43	7	25.4
IPA または PPA 件数 (%)	21 (100)	0 (0)		21	40	6	31.3
硫化水素産生 件数 (%)	32 (100)	0 (0)		32	29	6	47.8
インドール産生 件数 (%)	0 (0)	30 (100)		30	32	5	44.8
運動性 件数 (%)	26 (100)	0 (0)		26	35	6	38.8
クエン酸培地 (シモンズ) 件数 (%)	13 (76)	4 (24)		17	43	7	25.4
リジン脱炭酸反応 件数 (%)	0 (0)	19 (100)		19	41	7	28.4
オルニチン脱炭酸反応 件数 (%)	13 (100)	0 (0)		13	47	7	19.4
アルギニン脱炭酸反応 件数 (%)	1 (13)	7 (88)		8	52	7	11.9

表 4：付加試験

ラクタマーゼ試験（ニトロセフィン法） / 陽性	11
ラクタマーゼ試験（アシドメトリー法） / 陰性	2
ラクタマーゼ試験（ニトロセフィン法） / 陰性	1
クラブラン酸添加による -ラクタム薬の感受性（栄研 ESBLs ディスク） / 相乗作用あり	28
クラブラン酸添加による -ラクタム薬の感受性（ダブルディスク法） / 相乗作用あり	6
クラブラン酸添加による -ラクタム薬の感受性（E-test） / 阻害効果あり	2
その他：自施設で使用しているドライプレートで CPDX と CVA/CPDX を用いて、ESBLs のチェックを行っている。	1
コメント：クラブラン酸添加による -ラクタム薬の感受性（ESBLconfirmation パネル）阻害効果あり	1
シカベータテスト / ESBL 陽性	10
Twin-test / > 0 点	2
2-メルカプトプロピオン酸（2-MPA）またはメルカプト酢酸ナトリウムによる酵素阻害試験 / 陽性	1
シカベータテスト / メタロ- -ラクタマーゼ 陽性	1
総計（延べ回答数）	66

表：5 付加コメント

起炎性の可能性がきわめて高いと考えられる	47
起炎性の可能性がある	7
ESBLs 産生菌である	33
ESBLs 産生菌の可能性はある	24
耐性遺伝子はプラスミド上に存在すると考えられる	11
第一世代セファロスポリン系薬、第二世代セファロスポリン系薬は感受性と報告できません。	4
ESBLs 産生菌ではない	1
メタロ $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌ではない	1
病院（院内）感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	40
病院（院内）感染防止対策上、本菌の重要性は不明である	3
病院（院内）感染防止対策上、特に問題となる菌ではないと考えられる	2
感染症法で規定された菌ではない	13
保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要はない	5
保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要があるかどうか不明である	1
阻止円の中に微小集落の発育が認められた	2
阻止円の内側に薄い菌の発育が認められた	1
総計（延べ回答数）	195

表 6：検査方法別感受性試験実施数及び実施率

検査方法	CAZ		CPR		LVFX	
	件数	%	件数	%	件数	%
微量液体希釈法：	47	70.1	31	58.5	47	71.2
ディスク拡散法（センシディスク：BD）	2	3.0	4	7.5	3	4.5
ディスク拡散法（KB ディスク：栄研）	12	17.9	14	26.4	13	19.7
ディスク拡散法（SN ディスク、SN ディスク-K：日水）	3	4.5	3	5.7	3	4.5
未記入	3	4.5	1	1.9		
計	67	100.0	53	100.0	66	100.0

表 7：ディスク法判定と阻止円径(mm)：CAZ

判定	0	21	25	26	28	29	30	31	32	33	34	計
R	1	1	2					2	2	1		9
I												
S				2	2	1	2	1			1	9
計	1	1	2	2	2	1	2	3	2	1	1	18

表 8：ディスク法試薬と阻止円径(mm)：CAZ

試薬	使用培地	0	21	25	26	28	29	30	31	32	33	34	計
センシ：BD	ミュラーヒントン 寒天								1	1			2
KB：栄研	ミュラーヒントン 寒天								1				1
	未記入					1							1
	栄研化学ミュラーヒントン S	1		1	1	1		2	1	1	1		9
	その他の栄研化学薬剤感受性検査用			1									1
SN、SN-K：日水	日水製薬 ミュラーヒントン寒天-N				1		1					1	3
未記入	未記入		1										1
計		1	1	2	2	2	1	2	3	2	1	1	18

表9：微量液体希釈法判定とMIC値(μg/ml)：CAZ

判定	0.5	<1	1	2	4	<8	8	8	計
R	2	2	17	1	4	2			28
I									0
S	1	2	7	2	1	4	1	1	19
計	3	4	24	3	5	6	1	1	47

表10：微量液体希釈法試薬とMIC値(μg/ml)：CAZ

微量液体希釈法試薬	0.5	<1	1	2	4	<8	8	8	計
グラムネガティブ N MIC / ID-30					5				5
AST-N025 バイテック 2 陰性菌感受性カード			2						2
AST-N034 バイテック 2 陰性菌感受性カード			3						3
Neg Combo 6.11B			1						1
Neg Combo 6.11C				2					2
Neg Combo 6.11J		4	11				1		16
Neg BPCombo 3J						3		1	4
Neg BPCombo 6.23J						3			3
Neg MIC 6.32J			1						1
DPD1 (腸内細菌・緑膿菌・ブドウ糖非発酵菌)			1						1
その他の栄研化学 ドライブプレート	2		3						5
その他のライサス陰性菌用迅速プレート	1		1	1					3
その他のライサス陰性菌感受性プレート			1						1
計	3	4	24	3	5	6	1	1	47

表11：ディスク法判定と阻止円径(mm)：CPR

判定	0	6	11	13	14	16	17	18	19	20	計
R	4	1	1	1	3	1	1	2	3	1	18
I						2	1				3
S							1	1			2
計	4	1	1	1	3	3	3	2	4	1	23

表12：ディスク法試薬と阻止円径(mm)：CPR

試薬	使用培地	0	6	11	13	14	16	17	18	19	20	計
センシ：BD	ミュラーヒントン 寒天		1				1	1				3
	その他の日本 BD 製品			1								1
KB：栄研	ミュラーヒントン 寒天						1					1
	未記入				1			1				2
	栄研化学ミュラーヒントン S	1				3	1			4	1	10
	その他の栄研化学薬剤感受性検査用								2			2
SN、SN-K：日水	ミュラーヒントン 寒天							1				1
	日水製薬 ミュラーヒントン寒天-N	2										2
未記入	未記入	1										
計		4	1	1	1	3	3	3	2	4	1	23

表 13 : 微量液体希釈法判定と MIC 値 (  $\mu\text{g/ml}$  ) : CPR

判定	4	8	8	16	16	>16	32	32	計
R	1			1	1	21	1	1	25
I			2						2
S		1	1						2
計	1	1	1	3	1	21	1	1	30

表 14 : 微量液体希釈法試薬と MIC 値 (  $\mu\text{g/ml}$  ) : CPR

微量液体希釈法試薬	4	8	8	16	16	>16	32	32	計
グラムネガティブ N MIC / ID-31								1	1
Neg Combo 6.11J		1		2		14			17
Neg BPCombo 3J				1	1	2			4
Neg Combo 6.11B						3			3
Neg MIC 6.32J						1			1
その他の栄研化学 ドライブプレート			1			1	1		3
その他のライサス陰性菌用迅速プレート	1								1
計	1	1	1	3	1	21	1	1	30

表 15 : ディスク法判定と阻止円径 (mm) : LVFX

判定	0	10	12	16	18	19	20	21	23	24	計
R	1	1	3								5
I								1			1
S				1	4	2	3	2	1	1	14
計	1	1	3	1	4	2	3	3	1	1	20

表 16 : ディスク法試薬と阻止円径 (mm) : LVFX

試薬		0	10	12	16	18	19	20	21	23	24	計
センシ : BD	ミュラーヒントン 寒天			1	1			1				3
KB : 栄研	ミュラーヒントン 寒天培地							1				1
	未記入					1						1
	栄研化学ミュラーヒントン S	1		1		2	2	1	2	1		10
	その他の栄研化学薬剤感受性検査用			1								1
未記入	未記入										1	
SN、SN-K : 日水	日水製薬 ミュラーヒントン寒天-N		1			1			1			3
計		1	1	3	1	4	2	3	3	1	1	20

表 17 : 微量液体希釈法判定と MIC 値 (  $\mu\text{g/ml}$  ) : LVFX

判定	<1	1	1	<2	2	2	4	計
R								0
I							2	2
S	1	5	7	5	12	15		45
計	1	5	7	5	12	15	2	47

表 18 : 微量液体希釈法試薬と MIC 値 (µg/ml) : LVFX

微量液体希釈法試薬	<1	1	1	<2	2	2	4	計
グラムネガティブ N MIC / ID-30					2	3		5
AST-N025 バイテック 2 陰性菌感受性カード			2					2
AST-N034 バイテック 2 陰性菌感受性カード			3					3
Neg Combo 6.11B						1		1
Neg Combo 6.11C						2		2
Neg Combo 6.11J	1	4	1		4	6		16
Neg BPCombo 3J				2	2			4
Neg BPCombo 6.23J				3				3
Neg MIC 6.32J						1		1
DPD1 (腸内細菌・緑膿菌・ブドウ糖非発酵菌)							1	1
その他の栄研化学 ドライブプレート		1			3		1	5
その他のライサス陰性菌用迅速プレート			1		2			3
その他のライサス陰性菌感受性プレート						1		1
計	1	5	7	5	13	14	2	47

### 3. 試料 2 同定検査サーベイ

菌株の由来：43 歳男性、術後感染症治療のため抗菌薬長期投与中。尿カテーテル留置。血液培養より分離された。

#### 1) 成績菌名

参加 69 施設における回答状況を表 19 に示す。正解菌名である *Enterococcus casseliflavus* と回答した施設は 51 施設 (76.1%)、許容正解の *Enterococcus casseliflavus/gallinarum* は 6 施設 (9.0%)、*Enterococcus sp.* は 6 施設 (9.0%) であった。*Enterococcus gallinarum* と回答した施設は不正解としたが 2 施設 (3.0%) であった。*Enterococcus faecium* と回答した施設は 2 施設 (3.0%) であった。昨年のサーベイ内容と関連した同定であったため本年度は正解を厳しくしたが、良好な正解率であった。*Enterococcus sp.* と属名までの施設に関して昨年度は VRE を否定する目的で出題したため不正解としたが、本年度は試料の MIC 値より許容正解とした。

表 19 : 成績菌名

成績菌名	件数	%
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	51	76.1
<i>Enterococcus casseliflavus/gallinarum</i>	6	9.0
<i>Enterococcus sp.</i>	6	9.0
<i>Enterococcus gallinarum</i>	2	3.0
<i>Enterococcus faecium</i>	2	1.4
総計	67	100.0

#### 2) 測定装置別の成績菌名

測定装置の使用状況と、測定装置別の成績菌名を表 20、21 に示す。

マイクロスキャン系の機器が 26 施設 (38.8%) で最も多く使用されていた。ついで用手法が 20 施設 (29.9%) と多かったが、用手法は昨年より 5 施設減少していた。昨年度は、不正解が用手法に限局していたが、本年度は自動機による同定での不正解が 1 施設あった。

表 20 : 測定装置

測定装置	件数	%
マイクロスキャン	26	38.8
用手法	20	29.9
バイテック	10	14.9
PHOENIX (フェニックス)	5	7.5
RAISUS (ライサス)	3	4.5
ATB Expression, miniAPI	3	4.5
総計	67	100.0
機種別集計		%
用手法	20	29.9
マイクロスキャン Walk Away 40,40SI	12	17.9
マイクロスキャン Walk Away 96,96SI	11	16.4
マイクロスキャン オ - トスキャン 4	2	3.0
その他微生物検査装置 (Walk Away 40plus)	1	1.5
バイテック 2, コンパクト 60	4	6.0
バイテック 2, バイテック 2XL	3	4.5
バイテック 32, JR	2	3.0
バイテック 2, コンパクト 30	1	1.5
PHOENIX (フェニックス)	5	7.5
RAISUS (ライサス)	3	4.5
ATB Expression, miniAPI	3	4.5
総計	67	100.0

表 21：測定装置試薬別の成績菌名

測定装置	測定試薬	菌名					計
		<i>Enterococcus sp.</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. casseliflavus/gallinarum</i>	
用手法	クリスタル GP 同定検査キット		2		1	1	4
	ラピッド ID32 ストレプアピ				7		7
	アピストレップ 20				1		1
	その他の日水製薬製品	1					1
	ストレプトグラム				2		2
	Rap ID STR			1	1		2
	従来法による同定（自家製培地使用）	3			1		4
	記載無し	1			1		2
マイクロスキャン	Pos Combo 6.1B	1			3		4
	Pos Combo 6.1J				14		14
	Pos BPCombo 6.2J				3		3
	Pos BPCombo 41J				2		2
	Pos ID2				1		1
	Neg Combo 6.11J					1	1
	未記入				1		1
RAISUS（ライサス）	その他のライサス グラム陽性菌用迅速プレート			1	2		3
バイテック	GPI グラム陽性菌同定カード				2		2
	カラリメトリック バイテック 2 GP 同定カード				4	1	5
	GPC バイテック 2 グラム陽性菌同定カード				2	1	3
PHOENIX（フェニックス）	グラムポジティブ P MIC / ID-35				3	2	5
計		6	2	2	51	6	67

表 22：従来法による性状試験

検査項目	陽性	陰性	判定不能	実施合計	実施せず	空白	実施率(%)
グラム染色 件数	陽性球菌 65 (100)	(0)		65	1	1	97.0
カタラーゼ 件数 (%)	0 (0)	44 (100)		44	20	3	65.7
溶血性 件数 (%)	11 (39)	15 (54)	2	28	31	8	41.8
黄色色素産生 件数 (%)	40 (98)	1 (2)		41	21	5	61.2
運動性 件数 (%)	24 (92)	2 (8)		26	35	6	38.8
胆汁エスクリン培地における発育 件数 (%)	10 (100)	(0)		10	50	7	14.9
アルギニン加水分解 件数 (%)	5 (83)	(0)	1	6	54	7	9.0
6.5%NaCl 加ブイオンにおける発育 件数 (%)	4 (100)	(0)		4	57	6	6.0



## 3) 従来法による性状試験

代表的な性状試験の成績を表 22 に示す。

高頻度を実施された試験はグラム染色 65 施設 (97.0%)、カタラーゼ試験 44 施設 (65.7%)、黄色色素産生 41 施設 (61.2%)、運動性 26 施設 (38.8%)、溶血性 28 施設 (41.8%) などであった。昨年のサーベイの結果をうけてと考えられるが、黄色色素産生の実施率が増加していた(昨年実施率 44.4%)。今回不正解であった施設で、*Enterococcus gallinarum* と回答した施設のうち 1 施設は、黄色色素産生の確認を行っており、陽性と回答していたが同定キットの結果で報告をしていた。*Enterococcus faecium* と回答した施設は用手法で同一の同定キットを使用しており、色素産生、運動性の実施はされていなかった。今回出題者側でのコンタミネーションで *Enterococcus*

表 23：付加試験

ラクタマーゼ試験(ニトロセフィン法) / 陰性	2
ラクタマーゼ試験(アシドメトリー法) / 陰性	3
VCM 6 µg/ml 含有寒天培地を用いた発育試験/陰性	2
VCM 6 µg/ml 含有寒天培地を用いた発育試験/陽性	3
その他:フリーコメント欄に記入してください	1
総計	11

表 24：付加コメント

起炎性の可能性がきわめて高いと考えられる	31
起炎性の可能性がある	17
起炎菌か否かは不明である	3
起炎性の可能性は低く、コンタミネーションの可能性はある	1
第一世代セファロスポリン系薬、第二世代セファロスポリン系薬は感受性と報告できません。	2
VRE (VanC タイプ) の可能性がある	20
VRE ではない	15
VRE (VanC タイプ) である	3
VRE (VanA タイプ) の可能性がある	1
VRE (VanB タイプ) の可能性がある	1
耐性遺伝子は染色体上に存在すると考えられる	20
病院(院内)感染防止対策上、特に問題となる菌ではないと考えられる	19
病院(院内)感染防止対策上、本菌の重要性は不明である	4
病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	3
感染症法で規定された菌ではない	11
保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要はない	5
5 類感染症として取り扱う	4
保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要がある	2
4 類感染症として取り扱う	1
保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要があるかどうか不明である	1
分離培養の結果、複数の菌種の発育が認められた(コンタミネーション)	15
分離培地上に同一菌種で集落性状の異なる複数の株が認められた	3
二重阻止円が認められた	1
その他、試料の菌株に問題があり、回答困難であった	1
総計(延べ回答数)	184

*faecium* の混入が少量認められ、回答施設に混乱を招いたが、殆どの施設が正しく、混入された 2 菌種を分離同定しており、*Enterococcus faecium* のみの回答をされた 2 施設は感受性結果などから、誤同定と判定した。

## 4) 付加試験・付加コメントについて

付加試験を表 23 に示す。血液培養からの *Enterococcus spp.* では CLSI ではニトロセフィンに基づく -ラクタマーゼ試験を推奨しているが、-ラクタマーゼ試験を実施している施設は 5 施設のみであった。

付加コメントを表 24 に示す。最も多かった付加コメントは「起炎性の可能性がきわめて高いと考えられる」「起炎性の可能性がある」あわせて 48 施設であった。また「VRE (vanC タイプ) の可能性がある」、「耐性遺伝子は染色体上に存在すると考えられる」20 施設、「病院(院内)感染防止対策上、特に問題となる菌ではないと考えられる」19 施設であった。また、コンタミネーションについてのコメントが 19 施設あった。フリーコメントにて、2 菌種目の回答をした施設は 38 施設あった。

表 25：検査方法別感受性試験実施数及び実施率

検査方法	VCM		TEIC	
	件数	%	件数	%
1.微量液体希釈法：	47	71.2	47	72.3
2.E-test	3	4.5	1	1.5
4.ディスク拡散法（センチディスク：BD）	2	3.0	2	3.1
5.ディスク拡散法（KB ディスク：栄研）	11	16.7	12	18.5
6.ディスク拡散法（SN ディスク、SN ディスク-K：日水）	3	4.5	3	4.6
計	66	100.0	65	100.0

表 26：ディスク法判定と阻止円径（mm）：VCM

判定	10	15	16	17	18	19	20	21	23	計
R	1									1
I		2	3							5
S				1	3	1	5	1	1	12
計	1	2	3	1	3	1	5	1	1	18

表 27：ディスク法試薬と阻止円径（mm）：VCM

試薬	10	15	16	17	18	19	20	21	23	計
センチ：BD					1		1			2
KB：栄研					1					1
	1	1	2	1	1		2		1	9
								1		1
SN、SN-K：日水		1	1				1			3
										0
計	1	2	3	1	3	0	4	1	1	16

表 28：微量液体希釈法判定とMIC 値（ $\mu\text{g/ml}$ ）：VCM

判定	2	<4	4	4	4	>4	8	8	32	計
R				5	1	1			1	8
I				4			3	1		8
S	2	1	7	20	1	1				29
計	2	1	7	29	2	2	3	1	1	48

表 29：微量液体希釈法試薬とMIC 値（ $\mu\text{g/ml}$ ）：VCM

微量液体希釈法試薬	2	<4	4	4	4	>4	8	8	32	計
グラムポジティブ P MIC / ID-35				3	1				1	5
AST-P546 バイテック 2 陽性菌感受性カード				1			1			2
AST-P568 バイテック 2 陽性菌感受性カード							1	1		2
その他のバイテック 2 陽性菌感受性カード				1						1
PoS Combo 6.1B			1	3						4
PoS Combo 6.1J			2	11	1					14
PoS BPCombo 41J				2						2
PoS BPCombo 6.2J		1	1		1					3
PoS MIC 6.3J				2						2
Neg Combo 6.11J				1						
その他のマイクロスキャン				1						
その他の栄研化学 ドライブレート	1		1	4						6
その他のライサス陽性菌用迅速プレート	1			1			1			3
その他のライサス陽性菌感受性プレート				1						1
計	2	1	7	29	3	0	3	1	1	45
参考：E-test			1	2						3

表 30 : ディスク法試薬と阻止円径 (mm) : TEIC

判定	12	15	16	17	18	19	20	23	計
R									0
I	1								1
S		1	1	2	4	4	5	1	18
計	1	1	1	2	4	4	5	1	19

表 31 : ディスク法試薬と阻止円径 (mm) : TEIC

試薬	12	15	16	17	18	19	20	23	計
センシ : BD KB : 栄研						1	1		2
					1				1
	1		1	2	2	2	1	1	10
							1		1
SN、SN-K : 日水						1			1
		1					1		2
計	1	1	1	2	3	4	4	1	17

表 32 : 微量液体希釈法試薬と MIC 値 (µg/ml) : TEIC

判定	0.5	1	1	<2	2	<4	4	<8	8	>8	32	計
R											1	1
I												0
S	6	8	1	5	12	1	4	4	4	1		46
計	6	8	1	5	12	1	4	4	4	1	1	47

表 33 : 微量液体希釈法試薬と MIC 値 (µg/ml) : TEIC

微量液体希釈法試薬	0.5	1	1	<2	2	<4	4	<8	8	>8	32	計
グラムポジティブ P MIC / ID-35		4									1	5
AST-P546 バイテック 2 陽性菌感受性カード	2											2
AST-P568 バイテック 2 陽性菌感受性カード	2											2
その他のバイテック 2 陽性菌感受性カード	1											1
PoS Combo 6.1B						1	3					4
PoS Combo 6.1J				3	11							14
PoS BPCombo 41J								2	1			3
PoS BPCombo 6.2J										1		1
PoS MIC 6.3J				1	1							2
Neg Combo 6.11J				1								1
Neg MIC 6.32J								1				1
その他のマイクロスキャン								1				1
その他の栄研化学 ドライプレート	1	2	1				1		1			6
その他の IS-60/Lucy2-S3 用プレート												0
その他のライサス陽性菌用迅速プレート		1							2			3
その他のライサス陽性菌感受性プレート		1										1
計	6	8	1	5	12	1	4	4	4	1	1	47

#### 4. 試料2 薬剤感受性サーベイ

##### 1) 検査方法別感受性試験実施数及び実施率

検査方法別の感受性試験実施数及び実施率を表 25 に示す。

微量液体希釈法を実施している施設は VCM で 47 施設 (71.2%)、TEIC で 47 施設 (72.3%) と昨年度とほぼ同様であった。

##### 2) 薬剤感受性成績

Vancomycin: VCM

ディスク法判定と阻止円径を表 26 に示す。ディスク法では “R” と判定した施設が 1 施設 (5.6%)、 “I” と判定した施設が 5 施設 (27.8%)、 “S” と判定した施設が 12 施設 (66.7%) であった。表 27 にディスク法試験と阻止円径の分布を示す。

微量液体希釈法判定と MIC 値を表 28 に示す。微量液体希釈法では “R” と判定した施設が 8 施設 (16.7%)、 “I” と判定した施設が 8 施設 (16.7%)、 “S” と判定した施設が 29 施設 (60.4%) であった。表 29 に微量液体希釈法試験と MIC 値の分布を示す。

Teicoplanin: TEIC

ディスク法判定と阻止円径を表 30 に示す。ディスク法では “I” と判定した施設が 1 施設 (5.3%)、 “S” と判定した施設が 18 施設 (94.7%) であった。表 31 にディスク法試験と阻止円径の分布を示す。

微量液体希釈法判定と MIC 値を表 32 に示す。微量液体希釈法では “R” と判定した施設 1 施設 (2.1%) “S” と判定した施設が 46 施設 (97.9%) であった。表 33 に微量液体希釈法試験と MIC 値の分布を示す。

#### 5. フォトサーベイ フォト 1

患者背景：36 歳女性、腎疾患でステロイドの投与を受けている。下肢の発赤腫脹と発熱のため受診。一週間前に生レバーを摂取していた。入院時血液培養陽性ボトルの内容液のグラム染色を示す。(フォト 1-1) 分離菌の生化学的性状を示す。カタラーゼ陽性、オキシダーゼ陽性、運動性陽性、馬尿酸塩加水分解試験陰性、25 における発育陽性、42 における発育陰性、硫化水素産生 (TSI 寒天培地) 陰性、薬剤感受性試験セファロチンは感受性、ナリジクス酸は耐性であった。培養後のコロニーからのグラム染色を示す。(フォト 1-2)

##### 1) 結果

*Campylobacter fetus*. と回答した施設が 69 施設 (100%) であった。

#### 6. フォトサーベイ フォト 2

患者背景：40 歳代女性。ハードコンタクトレンズ使用。1 カ月前より左眼の角膜糜爛、眼痛が出現し外来受診。レボフロキサシン点眼、フルコナゾール点眼、ゾピラックス軟膏、ピマリシン軟膏で治療し

たが症状軽快しなかった。角膜搔爬にて採取された検体のグラム染色像 (×1000) (フォト 2-1) 無栄養寒天培地にて培養した培地の顕微鏡像 (×400) 3 日目栄養体 (フォト 2-2) (動画 2-4) 7 日目 シスト (フォト 2-3)

##### 1) 結果

*Acanthamoeba sp.* と回答した施設が 67 施設 (98.5%) で正解回答であった。

*Toxoplasma gondii* と回答した施設が 1 施設あった。

#### 総括

##### 1. 試料 1 について

腸内細菌科に属する *Proteus mirabilis* は、尿路感染症の起炎菌として尿検体より高頻度に分離される。*Proteus mirabilis* について適切な同定と耐性菌検出がなされているかを確認する目的で行った。

出題した *Proteus mirabilis* は CTX-M-2 型 -lactamase 遺伝子を保有する ESBLs 産生菌である。感受性試験の評価では、2005 年より Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S15 に記載された *Proteus mirabilis* の ESBLs 判定基準に従った。そのため ESBLs を疑う、もしくは ESBLs であると回答した施設では、MIC 値からの判定が感受性であっても耐性と報告することを推奨し、“R” と回答している施設に「A」判定、ESBLs をコメントし、“S” と回答している施設は、許容正解「B」とした。ESBLs についてのコメントのない施設では評価対象外とした。サーベイ実施抗菌薬から、ESBLs を推測できないというコメントを戴いたが、各施設での ESBLs のルーチンでの検出実施状況を知る目的で出題した。付加試験実施や ESBLs 検出用の感受性パネルの使用など、多くの施設で ESBLs の適切な検出が行われていると考えられるが、7 施設は ESBLs 検出の方法の判断が不可能であった。適切な付加試験が選択できない場合、フリーコメントにて回答いただきたい。

CPR に関しても CAZ と同様 “R” と報告することが推奨されるが、測定実施施設数が少ないことから評価はせず、参考調査項目とした。

LVFX：微量液体希釈法、ディスク法とも “S” を正解「A」、 “I” を許容正解「B」とした。ディスク法では CLSI の標準法を採用し、35±2 好気条件下 16～18 時間培養を基準としている。長時間の培養で阻止円内に発育を認めるコロニーが確認されているが、判定時間を厳守した場合、阻止円内での菌の発育をみとめず、また遊走する菌種であるため、遊走を測定し阻止円が小さく判定されている場合も考えられる。(遊走は測定しない)。そのため判定が “R” の施設は不正解「C」とした。また判定値がディスク阻止円、MIC 値と対応していない場合は不正解「C」とした。

## 2. 試料2について

昨年度の同定サーベイと類似の菌種である *Enterococcus casseliflavus* を出題した。昨年度の結果を受け、同定精度の向上を期待したため、昨年度よりも評価基準を上げ、昨年許容正解とした *Enterococcus gallinarum* は、今回の調査では不正解とした。しかし、試料のコンタミネーションがあったにも関わらず、正解率（確実に同定している施設）は59%から79%に上昇していた。これは、同定キットのみに頼らず、確認試験を積極的に行う施設が増えたこと（色素産生性の実施率の向上）に起因していると考えられる。

薬剤感受性検査 VCM: 事前測定で MIC 4 µg/ml を確認して調査を行った。判定は CLSI の基準を採用した。微量液体希釈法、ディスク法とも“S”を正解「A」、 “I”を許容正解「B」とし、“R”を「C」不正解とした。MIC を 4 µg/ml と回答し“I、R”と判定した施設は不正解「C」とした。(CLSI では 32 µg/ml が“R” 8-16 µg/ml が“I”)しかし、臨床効果を考慮し、判定を“R”と報告しているという施設も複数存在した。CLSI の判定基準を用いるよう設問中に明記しなかったため、混乱を招いたと考えられる。このような判定に対する解釈の相違を是正するために、設問・回答・評価方法を今後の課題としたい。

本菌は、VCM 耐性遺伝子を染色体上に持つとされる菌種である。この菌種の VCM に対する MIC 値は 2-16 µg/ml であり、本菌が本来保有する染色体性の耐性遺伝子は他の菌へ伝播しない。また、耐性誘導もないとされている。しかし、自然耐性菌が伝達性プラスミドの vanA、vanB 遺伝子を獲得する場合も考えられる。市中病院で van 遺伝子の検査に対応することは難しいので、VRE を見落とさないためには薬剤感受性検査を特に注意深く行うことが重要である。今回の調査に使用した菌株では、微量液体希釈法での MIC 値も 4 µg/ml 以下に収束しており、ばらつきもほぼ1管差に留まった。

TEIC: 微量液体希釈法、ディスク法とも“S”を正解「A」、 “I”を許容正解「B」とした。カテゴリーが“R”、不等号入力間違いと考えられる施設は不正解「C」とした。

試料1、2を通じて、薬剤感受性試験のディスク法は微量液体希釈法に比し、培養時間、条件、培地の鮮度、含水量、ディスクをおく時間や計測差等の技師間差などが顕著に結果に影響する。微量液体希釈法の採用が望まれるが、施設の規模等により導入が困難である場合、変動の要因を各施設で見直していただき、今後の精度管理向上に努めていただきたい。

## 3. フォトサーベイについて

フォト1は血液培養でまれに検出される菌をとりあげた。しかし、患者背景、菌の性状より容易に推定することが可能であり、正解率も100%であった。

フォト2は *Acanthamoeba sp.* をとりあげた。こちらも容易に推定可能であるが、臨床で実際に鏡検、培養を行っている施設は少ないと考えられるため、貴重な動画を提供いただいたので出題した。昨年度の日臨技精度管理調査でも出題されており、愛臨技の例会で紹介されていたことも要因と考えられるが、正解率は良好であった。

## 4. 最後に

今回の精度管理調査では試料、入力項目の不備により各施設調査に混乱をきたしたことをここに陳謝しますとともに、今後とも継続して精度管理調査に参加いただき、貴重なご意見やご指摘等、調査にご協力いただきますようお願い申し上げます。

### 《参考文献》

1. Clinical and Laboratory Standards Institute : Performance standards for antimicrobial Susceptibility Testing; 18<sup>th</sup> Informational supplement, CLSI document M100-S18
2. 平成 18～19 年度日臨技臨床検査精度管理調査報告書
3. 平成 10～19 年度愛知県臨床検査精度管理総括集

CDC ホームページ

[http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar\\_lab\\_vre.html](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_lab_vre.html)

< M E M O >