微生物検査部門

精度管理事業部員 西山 秀樹 名古屋第一赤十字病院 TEL 052-481-5111

実務担当者 磯貝 直子 (半田市医師会健康管理センター)

藏前 仁 (医療法人豊田会刈谷豊田総合病院)

濱岸 真奈美 (藤田保健衛生大学病院)

宮木 祐輝 (小牧市民病院) 他 微生物検査研究班班員

(五十音順)

I. はじめに

平成21年度の微生物検査サーベイは、同定サーベイ2題、同定に伴う薬剤感受性サーベイ6題、および設問サーベイ2題を出題し、試料1、2の同定菌名、薬剤感受性試験、設問サーベイ1、2の推定菌名を評価対象項目とした。

今年度参加の 65 施設を評価対象とした。平成 16 ~20 年の参加施設は 71、75、69、72、69 施設であり、昨年度より減少していた。

Ⅱ. 材料菌株および方法

1. 対象菌株

試料1 Streptococcus pneumoniae

試料2 Escherichia coli

試料1、2は臨床分離菌株を血液寒天平板で18時間培養した後、輸送培地(シードスワブγ 栄研化学)に接種し、室温保存した。翌日に冷蔵発送し、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 Standards 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 E テスト (シスメックス)、ドライパネル (シーメンス)を使用した。

2. 調査目的

- ・呼吸器感染症で分離される菌の同定と薬剤感受性試験及び判定基準の変更状況
- ・尿路感染症で分離される菌の同定と耐性菌の検 出状況、薬剤感受性試験
- 気管支拡張症の起因微生物推定
- ・中耳炎の起因微生物推定

Ⅲ. 調査結果

1. 試料1 同定検査サーベイ

菌株の由来:生来健康な20代男性。主訴は発熱。

来院前日より悪寒を伴い発熱あり。来院当日より 軽度の咳嗽と赤褐色の喀痰の排出や頭痛もあり、発 熱が持続するため受診となった。来院時の採血にて、 CRP 24.1mg/dL、WBC 25400/μLであった。胸部レン トゲンにて右下肺野において軽度透過性の低下があ ったため喀痰培養を実施した。髄膜炎症状はなし。

1) 成績菌名

正解である Streptococcus pneumoniae と回答した 施設は 65 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。測定機器別では用手法が41施設(63.1%)で最も多かった。

表 1: 測定装置

測定装置	件数	%
用手法	41	63.1
マイクロスキャン	7	10.8
バイテック	6	9.2
PHOENIX (フェニックス)	5	7.7
RAISUS (ライサス)	3	4.6
ATB Expression, miniAPI	2	3.1
その他の微生物検査装置	1	1.5
総計	65	100.0

機種別集計	件数	%
用手法	41	63.1
マイクロスキャン Walk Away 40,40SI	5	7.7
マイクロスキャン Walk Away 96,96SI	1	1.5
マイクロスキャン オートスキャン 4	1	1.5
バイテック 2,コンパクト 60	3	4.6
バイテック 2,バイテック 2XL	2	3.1
バイテック 2,コンパクト30	1	1.5
PHOENIX (フェニックス)	5	7.7
RAISUS (ライサス)	3	4.6
ATB Expression, miniAPI	2	3.1
その他の微生物検査装置	1	1.5
総計	65	100.0

表 2: 測定試薬

衣 2:側正訊架		
測定試薬	件数	%
オプトヒンディスク・オプトヒン・タキソ P ディスク(オプトヒン)	23	35.4
ストレプト S MIC/ID-8	5	7.7
ラピッド ID32 ストレップアピ	5	7.7
バイテック 2 GP 同定カード	5	7.7
スライデックス ニューモキット	5	7.7
その他の従来法による同定(試験管培地等)	4	6.2
クリスタル GP 同定検査キット	2	3.1
Pos Combo 6.1J	2	3.1
RSCP2 ストレプトコッカス属用迅速コンビプレート	2	3.1
その他の BD 薬剤感受性検査用培地	1	1.5
GPI グラム陽性菌同定カード	1	1.5
AST-P518 バイテック 2 グラム陽性菌感受性カード	1	1.5
Pos BP Combo 3.2A	1	1.5
MICroFAST 3J	1	1.5
DP24(ヘモフィルス・レンサ球菌)	1	1.5
その他の栄研化学 ドライプレート	1	1.5
他のライサスストレプトコッカス属感受性プレート	1	1.5
ストレプトグラム	1	1.5
Rap ID STR	1	1.5
その他の同定キット	1	1.5
未記入	1	1.5
総計	65	100

測定試薬を表 2 に示す。肺炎球菌の同定にはオプトヒンディスクが一般的であるが、今回の調査では23 施設(35.4%)であった。

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。高頻度に 実施されたものはグラム染色 60 施設 (92.3%)、オプトヒン感受性試験 60 施設 (92.3%)、溶血性試験 43 施設 (63.1%)、カタラーゼ試験 32 施設 (49.2%)、胆汁溶解試験 11 施設 (16.9%)であった。グラム染色については行ったすべての施設がグラム陽性球菌と回答した。

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。CLSI/NCCLS 標準法によるMPIPC の感受性試験/Rと10 施設が回答した。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とコメントした施設は48 施設(73.8%)であった。

また、PRSP や PISP ではない (PSSP である) とコメントした施設は 24 施設 (36.9%) で、PISP や PRSP と回答した施設は 27 施設 (41.5%) であった。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、特に問題となる菌ではないと考えられるとコメントした施設は4施設であった。

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および実施率を表 6 に示す。

微量液体希釈法を実施している施設はPCGで47施設(72.3%)、CTXで43施設(66.2%)、LVFXで45施設(69.2%)であった。

2) 薬剤感受性成績

Benzylpenicillin:PCG

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 4 施設 (80%)、"S"と判定した施設が 1 施設 (20%) 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"S"と判定した施設が 31 施設 (58.5%)、"I"、"R"と判定した施設が 22 施設 (41.5%) であった。表 12 に微量液体希釈法試薬と MIC 値の分布を示す。

Cefotaxime:CTX

ディスク法判定と阻止円径を表 13 に示す。ディスク法では"S"と判定した施設が 5 施設(71.4%)、"R"と判定した施設が 2 施設(28.6%)であった。表 14 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 15 に示す。微量液体希釈法では"S"と判定した施設が 42 施設(95.5%)、"I"と判定した施設が 2施設(4.5%)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。

<u>Levofloxacin:LVFX</u>

ディスク法判定と阻止円径を表 19 に示す。ディスク法では"S"と判定した施設が 13 施設 (86.7%)、"I" と判定した施設が 2 施設 (13.3%) であった。表 20 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 21 に示す。微量液体希釈法では"S"と判定した施設が 45 施設 (100%)であった。表 24 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		陽性	陰性	実施	未実施	未回答
グラム染色		陽性球菌				
	件数	60	0	60	3	2
	(%)	(100)	(0)	(92.3)		
カタラーゼ試験	件数	0	32	32	30	3
	(%)	(0)	(100)	(49.2)		
溶血性試験	件数	41	2	43	17	5
	(%)	(95.3)	(4.7)	(63.1)		
オプトヒン感受性試験	件数	60	0	60	2	3
	(%)	(100)	(0)	(92.3)		
胆汁溶解試験	件数	11	0	11	50	4
	(%)	(100)	(0)			

表 4:付加試験

CLSI/NCCLS 標準法による MPIPC の感受性試験/R	10
ラテックス凝集反応による莢膜抗原検査/陽性	2
MRSA スクリーン寒天 (MPIPC 含有寒天) 培地における発育/陰性	1
総計(延べ回答数)	13

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	33
起炎性の可能性がある	15
PRSP や PISP ではない(PSSP である)	24
PISP である	12
PRSP の可能性がある	9
PRSP である	3
PISP の可能性がある	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	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	2
感染症法で規定された菌ではない	7
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	4
5 類感染症として取り扱う	3
5 類感染症の可能性があるが、院内で対応ができないので検査を外注する	1
総計(延べ回答数)	120

表 6:検査方法別感受性試験実施数及び実施率

検査方法	PC	CG	C'	ГХ	LVFX	
恢生 <i>万</i> 伝	件数	%	件数	%	件数	%
微量液体希釈法:	47	72.3	43	66.2	45	69.2
Eテスト	6	9.2	1	1.5		
ディスク拡散法(KB ディスク: 栄研)	5	7.7	8	12.3	10	15.4
ディスク拡散法(センシディスク:BD)	1	1.5	1	1.5	4	6.2
ディスク拡散法(SN ディスク、SN ディスク-K:日水)			1	1.5	2	3.1
参加せず	6	9.2	11	16.9	4	6.2
計	65	100	65	100	65	100

表 7: ディスク法判定と阻止円径(mm): PCG

判定	0	24	25	31	計
R	2		1	1	4
I					
S		1			1
計	2	1	1	1	5

表 8: ディスク法試薬と阻止円径(mm): PCG

			^-	0.4	
試薬 : 使用培地	0	24	25	31	計
センシ:BD					
ミュラーヒントン 5%羊血液寒天培地	1				1
KB:栄研					
栄研化学ミュラーヒントン S 羊血液	1		1		2
栄研化学ミュラーヒントン S		1		1	2
計	2	1	1	1	5

表 9: 微量液体希釈法判定と MIC 値 (μg/mL): PCG

判定	0.5	≦ 0.75	1	<1	≦1	2	≦2	4	>0.5	≧1	≧2	計
S	4		13		3	7	2			2		31
I	2	1	7	1	1			3	1	1		17
R						3					2	5
計	6	1	20	1	4	10	2	3	1	3	2	53

表 10: PCG (Susceptible: 感性上限値)

MIC 値	0.06	≦0.06	1	2	<2	4	髄膜炎 0.06 非髄膜炎 2.0	計
計	20	1	1	27	1	1	1	52

表 11: PCG (Resistant: 耐性下限値)

MIC 値	0.06	2	≧2.00	4	8	>8	髄膜炎 0.12 非髄膜炎 8.0	計
計	1	21	1	1	26	1	1	52

表 12: 微量液体希釈法試薬と MIC 値 (μ g/mL): PCG

微量液体希釈法試薬	0.5	≦0.75	1	<1	≦1	2	≦2	4	>0.5	≧1	≧2	計
ストレプト S MIC/ID-8			1				1	3				5
BD ミュラーヒントン 5%羊血液寒天培地			1									1
AST-P518 バイテック 2 グラム陽性菌感受性カード											1	1
その他のバイテック2グラム陽性菌感受性カード											1	1
MICroFAST 3J	2		5		1	6	1		1	2		18
栄研化学ミュラーヒントン S 羊血液	1	1			1							3
その他の栄研化学 フローズンプレート			1									1
DP24(ヘモフィルス・レンサ球菌)			2	1						1		4
その他の栄研化学 ドライプレート	2		5		2	3						12
RSCP2 ストレプトコッカス属用迅速コンビブレート	1		1									2
RSMP2 ストレフ・トコッカス属感受性プレート			1									1
その他のライサス ストレプトコッカス属感受性プレート						1						1
Eテスト			1									1
その他の感受性機器・プレート・パネル			1									1
その他の感受性培地			1									1
計	6	1	20	1	4	10	2	3	1	3	2	53

表 13: ディスク法判定と阻止円径(mm): CTX

判定	28. 1	30	31	32	33	34	35	計
S	1	1	1	1			1	5
I								
R					1	1		2
計	1	1	1	1	1	1	1	7

表 14: ディスク法試薬と阻止円径(mm): CTX

試薬 : 使用培地	23	25	28. 1	30	31	32	33	34	35	計
センシ:BD										
その他の栄研化学 ドライプレート									1	1
KB: 栄研										
栄研化学ミュラーヒントン S			1		1			1		3
栄研化学ミュラーヒントン S 羊血液				2			1			3
その他の栄研化学 薬剤感受性検査用培地	1									1
その他の感受性培地		1								1
SN、SN-K: 日水										
BD ミュラーヒントン 5%羊血液寒天培地						1				1
計	1	1	1	2	1	1	1	1	1	10

表 15: 微量液体希釈法判定と MIC 値(μg/mL): CTX

判定	≦0.06	0.5	≦0.5	1	<1	≦1	>0.25	≧0.5	計
S	1	19	4	11		3	1	3	42
I				1	1				2
R									
計	1	19	4	12	1	3	1	3	44

表 16:CTX (Susceptible: 感性上限値)

MIC 値	0.25	0.5	1	2	<1	≦1.00	髄膜炎 0.5 非髄膜炎 1.0	計
帯	2	8	28	2	1	1	1	43

表 17:CTX (Resistant:耐性下限值)

MIC 値	0. 25	2	>2	4	>4	16	髄膜炎 2.0 非髄膜炎 4.0	計
計	1	14	6	19	1	1	1	43

表 18: 微量液体希釈法試薬と MIC 値 (μg/mL): CTX

微量液体希釈法試薬	≦0.06	0.5	≦0.5	1	<1	≦1	>0.25	≧0.5	計
ストレプト S MIC/ID-8		1		3		1			5
AST-P518 バイテック 2 グラム陽性菌感受性カード				3					3
その他のバイテック2グラム陽性菌感受性カード				1					1
MICroFAST 3J	1	8		4		2	1	2	18
DP24(ヘモフィルス・レンサ球菌)		2			1			1	4
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 ドライプレート		6	2						8
RSCP2 ストレプトコッカス属用迅速コンビプレート			2						2
RSMP2 ストレプトコッカス属感受性プレート		1							1
その他の感受性培地		1							1
計	1	19	4	12	1	3	1	3	44

表 19: ディスク法判定と阻止円径(mm): LVFX

判定	14	16	19	20	20. 5	21	21.8	22	23	24	計
S			1	2	2	2	1	1	2	2	13
I	1	1									2
R											
計	1	1	1	2	2	2	1	1	2	2	15

表 20: ディスク法試薬と阻止円径(mm): LVFX

試薬 : 使用培地	14	16	18	19	20	20.5	21	21.8	22	23	24	計
センシ:BD												
BD ミュラーヒントン 5%羊血液寒天培地						1		1		1	1	4
KB: 栄研												
栄研化学ミュラーヒントン S						1			1			2
栄研化学ミュラーヒントン S 羊血液		1			1		2				1	5
その他の栄研化学 薬剤感受性検査用培地	1											1
その他の感受性培地			1	1								2
SN、SN-K:日水												
日水製薬 血液加ミュラーヒントン寒天培地-N					1							1
計	1	1	1	1	2	2	2	1	1	1	2	15

表 21: 微量液体希釈法判定と MIC 値 (μg/mL): LVFX

判定	0.5	≦0.5	1	≦1	2	≦2	>0.25	≧1	≧2	計
S	2	1	23	7	5	3	1	2	1	45
I										
R										
計	2	1	23	7	5	3	1	2	1	45

表 22:LVFX (Susceptible:感性上限值)

MIC 値	0.5	2	<2	≦2.00	4	髄膜炎 基準なし 非髄膜炎 2.0	計
計	1	39	1	1	1	1	44

表 23: LVFX (Resistant:耐性下限值)

MIC 値	0.5	4	8	>8	≧8.00	16	髄膜炎 基準なし 非髄膜炎 8.0	計
計	1	3	35	1	1	1	1	43

表 24: 微量液体希釈法試薬と MIC 値(μg/mL): LVFX

微量液体希釈法試薬	0.5	≦0.5	1	≦1	2	≦2	>0.25	≧1	≧2	計
ストレプト S MIC/ID-8		1	3	1						5
その他のバイテック2グラム陽性菌感受性カード			1							1
MICroFAST 3J	2		11	1		1	1	2		18
その他の栄研化学 フローズンプレート			1							1
DP24(ヘモフィルス・レンサ球菌)			2						1	3
その他の栄研化学 ドライプレート			4	2	5	1				12
RSCP2 ストレプトコッカス属用迅速コンビプレート				2						2
RSMP2 ストレプトコッカス属感受性プレート			1							1
その他のライサスストレプトコッカス属感受性プレート						1				1
その他の感受性機器・プレート・パネル				1						1
計	2	1	23	7	5	3	1	2	1	45

表 25: 測定装置

測定装置	件数	%
マイクロスキャン	30	46.2
用手法	14	21.5
PHOENIX (フェニックス)	8	12.3
バイテック	7	10.8
RAISUS (ライサス)	3	4.6
ATB Expression, miniAPI	2	3.1
その他の微生物検査装置	1	1.5
総計	65	100.0
機種別集計	件数	%
用手法	14	21.5
マイクロスキャン Walk Away 96,96SI	15	23.1
マイクロスキャン Walk Away 40,40SI	13	20.0
マイクロスキャン オートスキャン4	2	3.1
バイテック 2,バイテック 2XL	4	6.2
バイテック 2,コンパクト60	2	3.1
バイテック 2,コンパクト30	1	1.5
PHOENIX (フェニックス)	8	12.3
RAISUS (ライサス)	3	4.6
ATB Expression, miniAPI	2	3.1
その他の微生物検査装置	1	1.5
総計	65	100.0

表 26: 測定試薬

測定試薬	件数	計
Neg Combo 6.11J	15	23.1
Neg BP Combo 6.23J	5	7.7
Neg BP Combo 3J	5	7.7
Neg ID	2	3.1
Neg Combo 6.11B	2	3.1
Neg Combo 6.11C	1	1.5
グラムネガティブ N MIC/ID-30	7	10.8
グラムネガティブ N MIC/ID-33	1	1.5
クリスタル E/NF 同定検査キット	1	1.5
エンテロチューブ II	1	1.5
バイテック 2 GN 同定カード	5	7.7
ラピッド ID32E アピ	4	6.2
GNI+新グラム陰性桿菌同定カード	1	1.5
AST-N050 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード	1	1.5
AST-N025 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード	1	1.5
その他のライサス グラム陰性菌用迅速プレート	3	4.6
ID テスト EB-20	1	1.5
エンテオグラム	3	4.6
その他の従来法(試験管培地等を使用)	4	6.2
未記入	2	3.1
計	65	100.0

3. 試料2 同定検査サーベイ

2009年2月に帝王切開にて出産。出生体重は2900gであった。受診前日より母乳が飲めなくなり、ぐったりしてきた。嘔吐はなく便性状はいつもと変わりなし。尿量は減少している。来院時の体温は38.2℃であった。出生間もない原因不明の発熱として、各種培養採取された。(咽頭、尿、糞便、血液)今回、尿と血液から同一の微生物が検出された。

1) 成績菌名

正解である Escherichia coli と回答した施設は65 施設(100%)であり良好な結果であった。

2) 測定装置、測定試薬

測定装置と測定試薬を表 25、26 に示す。マイクロスキャン系の機器が 30 施設(46.2%)と最も多く使用され、次いで用手法が 14 施設(21.5%)と多かった。

3) 従来法による性状試験

代表的な性状試験の成績を表 27 に示す。

高頻度に実施された試験はグラム染色 60 施設 (92.3%)、オキシダーゼ試験 45 施設 (69.2%)、TSI またはクリグラー試験 27 施設(41.5%)、硫化水素産生 26 施設 (40.0%) などであった。グラム染色結果で1施設のみグラム陽性桿菌と回答されているが入力ミスと考えられる。

4) 付加試験・付加コメントについて

付加試験を表28に示す。

Extended spectrum β -lactamases (ESBLs) に対する 確認試験でクラブラン酸添加による β -ラクタム薬 の感受性試験を行っていた施設は 41 施設 (63.1%) であった (2 施設は重複して試験を実施)。

付加コメントを表 29 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"とコメントした施設は 46 施設(70.8%)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 60 施設(92.3%)であった。"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 34 施設(52.3%)であった。

表 27: 従来法による性状試験

検査項目		A/AG	A/A	実施	未実施	未回答
TSI またはクリグラー	件数	20	7	27	34	4
	(%)	(74.1)	(25.9)	(41.5)		

検査項目		陽性	陰性	実施	未実施	未回答
グラム染色		陽性桿菌	陰性桿菌			
	件数	1	59	60	3	2
	(%)	(1.7)	(98.3)	(92.3)		
オキシダーゼ	件数	0	45	45	16	4
	(%)	(0)	(100)	(69.2)		
VP反応	件数	0	14	14	47	4
	(%)	(0)	(100)	(21.5)		
IPA 反応または PPA 反応	件数	0	17	17	44	4
	(%)	(0)	(100)	(26.2)		
硫化水素産生	件数	0	26	26	35	4
	(%)	(0)	(100)	(40.0)		
インドール反応	件数	23	0	23	38	4
	(%)	(100)	(0)	(35.4)		
クエン酸培地に発育	件数	0	16	16	45	4
	(%)	(0)	(100)	(24.6)		
リジン脱炭酸反応	件数	17	1	18	43	4
	(%)	(94.4)	(5.6)	(27.7)		

表 28:付加試験

24 = - 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	
クラブラン酸添加による β-ラクタム薬の感受性(栄研 ESBLs ディスク)/相乗作用あり	26
クラブラン酸添加による β-ラクタム薬の感受性(微量液体希釈法)/阻害効果あり	8
クラブラン酸添加による β-ラクタム薬の感受性(ダブルディスク法)/相乗作用あり	8
クラブラン酸添加による β-ラクタム薬の感受性(E-test)/阻害効果あり	1
シカベータテスト/ESBL 陽性	15
β ラクタマーゼ試験(ニトロセフィン法)/陽性	7
β ラクタマーゼ試験(ニトロセフィン法)/陰性	1
β ラクタマーゼ試験(アシドメトリー法)/陽性	1
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/陰性	2
病原大腸菌O抗原検査/血清型決定	2
Twin-test/≦0点	1
総計(延べ回答数)	72

表 29: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	41
起炎性の可能性がある	5
ESBLs 産生菌である	39
ESBLs 産生菌の可能性がある	21
ESBLs 産生菌ではない	1
耐性遺伝子はプラスミド上に存在すると考えられる	7
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
クラス C 型 β-ラクタマーゼ産生菌である	1
メタロ β-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	34
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	3
阻止円の中に微小集落の発育が認められた	1
総計(延べ回答数)	167

表 30:検査方法別感受性試験実施数及び実施率

<u> </u>	C'	TX	CAZ		FMOX	
検査方法		%	件数	%	件数	%
微量液体希釈法	45	69. 2	50	76. 9	37	56. 9
ディスク拡散法 (KB ディスク: 栄研)	11	16.9	9	13.8	11	16. 9
ディスク拡散法 (センシディスク:BD)	2	3. 1	1	1.5	3	4.6
ディスク拡散法 (SN ディスク、SN ディスク-K:日水)	2	3. 1	3	4.6	3	4.6
参加せず	3	4.6			8	12. 3
未記入	2	3. 1	2	3. 1	3	4.6
計	65	100	65	100	65	100

表 31: ディスク法判定と阻止円径(mm): CTX

判定	0	9	10	11	13	15	計
S							
I							
R	5	3	3	2	1	1	15
計	5	3	3	2	1	1	15

表 32:ディスク法試薬と阻止円径 (mm):CTX

試薬 : 使用培地	0	9	10	11	13	15	計
センシ:BD							
BD ミュラーヒントンⅡ 寒天培地		1	1			1	3
KB:榮研							
栄研化学ミュラーヒントン S	4	2	2	2			10
その他の栄研化学製品					1		1
SN、SN-K: 日水							
日水製薬 ミュラーヒントン寒天培地-N	1						1
計	5	3	3	2	1	1	15

表 33: 微量液体希釈法判定と MIC 値(μg/mL): CTX

判定	>16	>32	≧32	>64	≧64	計
S						
I						
R	1	33	1	3	7	45
計	1	33	1	3	7	45

表 34: 微量液体希釈法試薬と MIC 値(μg/mL): CTX

微量液体希釈法試薬	16	32	64	計
グラムネガティブ N MIC/ID-30		4	3	7
AST-N025 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード			3	3
AST-N034 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード			1	1
AST-N050 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード			1	1
Neg Combo 6.11B		2		2
Neg Combo 6.11J		15		15
Neg BP Combo 3J		5		5
Neg BP Combo 6.23J		4	1	5
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 ドライプレート	1	1	1	3
その他のライサス グラム陰性菌用迅速プレート		1		1
その他のライサス グラム陰性菌感受性プレート		1		1
計	1	34	10	45

表 35:ディスク法判定と阻止円径(mm):CAZ

判定	17	19	20	21	22	22.5	23	24	25	計
S						1		1		2
I										
R	1	1	1	2	3		2		1	11
計	1	1	1	2	3	1	2	1	1	13

表 36: ディスク法試薬と阻止円径 (mm): CAZ

₹ 50 : / 1 / / /										
試薬 : 使用培地	17	19	20	21	22	22.5	23	24	25	計
センシ:BD										
BD ミュラーヒントンⅡ寒天培地									1	1
KB:栄研										
栄研化学ミュラーヒントン S	1	1	1	1	2	1	2			9
SN、SN-K: 日水										
日水製薬 ミュラーヒントン寒天培地-N				1				1		2
BD ミュラーヒントンⅡ 寒天培地					1					1
計	1	1	1	2	3	1	2	1	1	13

表 37: 微量液体希釈法判定と MIC 値(μg/mL): CAZ

判定	2	≦2	4	≦4	8	<8	≦8	16	≧4	≧8	>16	計
S	1			1	2		1			1		6
I												
R		1	8	7	12	4	7	1	1	2	1	44
計	1	1	8	8	14	4	8	1	1	3	1	50

表 38: 微量液体希釈法試薬と MIC 値(μg/mL): CAZ

微量液体希釈法試薬	2	4	8	16	計
グラムネガティブ N MIC/ID-30		7			7
グラムネガティブ N MIC/ID-33		1			1
AST-N025 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード		3			3
AST-N034 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード		1			1
AST-N050 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード		1			1
Neg Combo 6.11B			2		2
Neg Combo 6.11C			1		1
Neg Combo 6.11J			14	1	15
Neg BP Combo 3J			5		5
Neg BP Combo 6.23J			5		5
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 ドライプレート	2	1	1		4
その他のライサス グラム陰性菌用迅速プレート		2		1	3
その他のライサス グラム陰性菌感受性プレート		1			1
計	2	17	29	2	50

表 39: ディスク法判定と阻止円径 (mm): FMOX

判定	0	25	29	30	31	32	33	34	36	40	計
S		1	1	1	2	2	3	4	1	1	16
I											
R	1			1							2
計	1	1	1	2	2	2	3	4	1	1	18

表 40:ディスク法試薬と阻止円径 (mm):FMOX

試薬 : 使用培地	0	25	29	30	31	32	33	34	36	40	計
センシ:BD											
BD ミュラーヒントンⅡ寒天培地	1			1				1			3
KB:栄研											
栄研化学ミュラーヒントン S			1	1	2	1	2	2	1	1	11
SN、SN-K:日水											
日水製薬 ミュラーヒントン寒天培地-N		1					1				2
BD ミュラーヒントンⅡ寒天培地								1			1
計	1	1	1	2	2	2	3	4	1	1	17

表 41: 微量液体希釈法判定と MIC 値(μg/mL): FMOX

<u> </u>	火里以件 们	WITH LIVE		(μ g/ ιιιι.)	. I MOA		
判定	≦0.5	≦1	≦2	≦4	<8	≦8	計
S	1	2	2	2	9	18	34
I							
R				1			1
計	1	2	2	3	9	18	35

表 42: 微量液体希釈法試薬と MIC 値(μg/mL): FMOX

微量液体希釈法試薬	0.5	1	2	4	8	計
グラムネガティブ N MIC/ID-30				1		1
AST-N034 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード			1			1
AST-N050 バイテック 2 グラム陰性菌感受性カード			1			1
Neg Combo 6.11B		1			1	2
Neg Combo 6.11J					15	15
Neg BP Combo 3J					5	5
Neg BP Combo 6.23J					5	5
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 ドライプレート	2			1	1	4
その他のライサス グラム陰性菌用迅速プレート		1				1
その他のライサス グラム陰性菌感受性プレート				1		1
計	2	2	2	3	28	37

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 30 に示す。

微量液体希釈法を実施している施設はCTX で 45 施設(69.2%)、CAZ で 50 施設(76.9%)、FMOX で 37 施設(56.9%)であった。

2) 薬剤感受性成績

Cefotaxime:CTX

ディスク法判定と阻止円径を表 31 に示す。ディスク法では"R"と判定した施設が 15 施設(100%)であった。表 32 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 33 に示す。微量 液体希釈法では"R"と判定した施設が 45 施設 (100%) であった。表 34 に微量液体希釈法試薬と MIC 値の分 布を示す。

<u>Ceftazidime:CAZ</u>

ディスク法判定と阻止円径を表35に示す。

ディスク法では"R"と判定した施設が 11 施設 (84.6%)、"S"と判定した施設が 2 施設 (15.4%) であった。表 36 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 37 に示す。微量液体希釈法では"R"と判定した施設 44 施設 (88%)、"S"と判定した施設が 6 施設 (12%) であった。表 38 に微量液体希釈法試薬と MIC 値の分布を示す。

Flomoxef:FMOX

ディスク法判定と阻止円径を表 39 に示す。

ディスク法では "S" と判定した施設が 16 施設 (88.9%)、"R" と判定した施設が 2 施設 (11.1%) であ

った。表 40 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 41 に示す。微量液体希釈法では "S"と判定した施設が 34 施設 (97.1%)、"R"と判定した施設が 1 施設 (2.9%) であった。表 42 に微量液体希釈法試薬と MIC 値の分布を示す。

5. 設問によるサーベイ 設問1

患者背景:50代の女性。気管支拡張症で慢性的に湿性咳嗽のある呼吸器内科通院中の患者が、数日前から咳と喀痰量の増加を認めている。喀痰は黄緑色であり一部血痰も混じる。微熱も認める。呼吸苦なし。胸痛なし。喀痰のグラム染色を示す。

 $(フォト1-1 \times 100)$, $(フォト1-2 \times 1000)$: フェイバーG 染色液にて。

白血球の存在する視野に、淡赤色に染まった粘液物質に囲まれた腸内細菌より小型のグラム陰性桿菌が認められる。それらは個々の菌体が連結し、複数の菌が一塊となって観察される。

1) 結果

Pseudomonas aeruginosa と回答した施設が61 施設 (93.8%) であった。コメントにムコイド株まで報告した施設が9 施設あった。*Pseudomonas* spp. と回答した施設が3 施設(4.6%) であった。

Haemophilus influenzae と回答した施設が1施設あった。

6. 設問によるサーベイ 設問2

患者背景:60代の男性。左耳の難聴を自覚して耳 鼻科受診後に急性中耳炎と診断される。抗生剤投与 を受けるも症状が軽快しないため当院耳鼻科を受診 した。セロハンテープ法を示す。

 $(フォト2-1 \times 100)$, $(フォト2-2 \times 200)$: コットンブルーにて。

 $(フォト2-3 \times 100)$, $(フォト2-4 \times 200)$: 無染色にて。

1) 結果

Aspergi11us spp. と回答した施設が 65 施設(100%) であった。

IV. 総括

1. 試料1について

喀痰から高頻度に分離され、呼吸器感染症の起因 菌である Streptococcus pneumoniae は適切な方法で 同定する必要がある。また、薬剤感受性試験は判定 基準が変更になっている。

出題した Streptococcus pneumoniae は正解率 100% であったが、オプトヒンディスクによる同定が 35.4% と低く、多くの施設においては各種分析器・同定キットによる同定方法が採用されていた。

本菌の同定には、オプトヒンディスクと胆汁溶解 試験による同定方法を精度の高さ、手技の簡便さ、 コストの安さより推奨したい。

薬剤感受性検査 PCG: 微生物研究班班員による事前 測定を 5 施設にて実施し、Eテストを用いて MIC 値 1 を確認した。

2008 年 、 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S18 より、髄膜炎と髄膜炎以外に分割して判定基準が設定された。髄膜炎以外において、感受性のブレイクポイントは $2\,\mu$ g/mL以下、中間は $4\,\mu$ g/mL、耐性は $8\,\mu$ g/mL以上で、髄膜炎において感受性のブレイクポイントは $0.06\,\mu$ g/mL以下、耐性は $0.12\,\mu$ g/mL以上と変更された。新基準を採用している施設は 52 施設中 29 施設 (55.8%) であった。

今回の評価基準は新基準を採用し、"S"を正解「A」とした。"S"以外で自施設の判定基準またはCLSI 旧判定基準であることが確認でき、MIC 値との整合性がとれている場合、許容正解「B」とした。また、"S"以外で上記に該当しない場合、不正解:改善が必要「C」とした。

試料1のPCG、CTXについてディスク拡散法を実施し、MIC法での回答がない施設は、以下のCLSI勧告に従い評価対象外とした。

"オキサシリンディスクで阻止円直径が \leq 19mm の場合には、微量液体希釈法(CLSI Document M7-A7)にてペニシリンの MIC 値を測定し、確認します(MIC 法では髄膜炎と髄膜炎以外の肺炎球菌で解釈の基準が異なります)。"

薬剤感受性検査 CTX: 微量液体希釈法で"S"を正解「A」、"I"を不正解: 改善が必要「C」、"R"を不正解: 早急な改善が必須「D」とした。微量液体希釈法で44 施設中2 施設より"I"と回答があった。

薬剤感受性検査 LVFX: 微量液体希釈法、ディスク 法とも "S"を正解「A」、"I"を不正解: 改善が 必要「C」、"R"を不正解: 早急な改善が必須「D」 とした。微量液体希釈法は 45 施設すべて "S"と回 答し、ディスク法は 15 施設中 2 施設が "I"と回答 した。

2. 試料2について

尿路感染症の起因菌として Escherichia coli は尿から高頻度に分離される。近年、外来患者から ESBLs 産生の菌が検出されるため、入院時のスクリーニングでチェックし院内感染防止に役立てたい。

出題した Escherichia coli は CTX-M-2 型 β -lactamase 遺伝子を保有する ESBLs 産生菌である。 同定菌名の正解率は 100%であり、ESBLs 産生もしくは可能性があると回答した施設は 60 施設であった。

薬剤感受性検査 CTX: 微量液体希釈法、ディスク法とも "R"を正解「A」とし、60 施設すべて正解であった。

薬剤感受性検査 CAZ: 微量液体希釈法、ディスク法とも "R"を正解「A」とし、"S"と回答した施設でコメントに「臨床側には"R"と報告する」とした施設も正解「A」とした。正解は 64 施設中 58 施設 (90.6%) であった。

 $CAZ \cdot AZT \cdot CTX \cdot CTRX$ で 2μ g/mL 以上、CPDX で 8μ g/mL 以上のいずれかの MIC を示すものは、ESBLs を疑う。

スクリーニング試験で単剤に比較してクラブラン酸に添加で3管以上 MIC 値が低下した場合 ESBLs 産生株と判定する。または、ディスク法にて5 mm 以上の拡大があった場合 ESBLs 産生株と判定する。

この場合、すべてのペニシリン系薬、セファロス

ポリン系薬及びアズトレオナムを耐性と報告すべき である。

薬剤感受性検査 FMOX: ESBLs 産生株の確認に有用な抗菌薬として出題したが、腸内細菌科の判定基準が定められていないため評価対象外(参考項目)とした。

3. 設問によるサーベイについて

設問1は Pseudomonas aeruginosa を取り上げた。 グラム染色は、その迅速性により重要視され、診療 報酬の改正で検体管理加算の要件に24時間対応でき ることが盛込まれた検査項目である。可能な範囲で の推定菌種までの臨床報告が望まれており、今回グ ラム染色から推定可能なムコイド株を出題した。

菌体の周囲が淡赤色に染まるものとして、 Streptococcus pneumoniae、Klebsiella pneumoniae、 Haemophilus influenzae、Pseudomonas aeruginosa などがあるが、「腸内細菌より小さめのグラム陰性桿菌で一塊に観察される」と設問にあるため、選択可能であると考える。

属までの回答施設は許容正解とした。写真でムコイドを確認することは可能であり、患者背景から同様の形態を示す他の菌は除外出来ると考える。

設問2は Aspergillus spp.を取り上げた。 写真から菌種までを推定することは困難であるが、 属レベルでの回答は容易に推定可能である。

4. 最後に

今回の精度管理調査では、薬剤感受性の設定、回答書の入力項目の不備により、参加施設にご迷惑を お掛けしたことをここに陳謝いたします。

これからも、皆様から貴重なご意見やご指摘など をいただき、微生物部門の精度向上に努めてまいり ます。今後も引き続きご理解とご協力のほどお願い いたします。

《参考文献》

- 1. Clinical and Laboratory Standards Institute:Performance standards for antimicrobial Susceptibility Testing; 18^{th} Informational supplement, CLSI document M10 0-S18 および M7-A7
- 2. 平成 18~20 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

<MEMO>