

平成23年度微生物精度管理報告

使用菌株

試料1: *Escherichia coli* O1:K1:H7
(ATCC#11755)

試料2: *Acinetobacter baumannii*
(ATCC#BAA1605)

試料3: *Enterococcus faecalis*
(ATCC#51299)

試料4: *Haemophilus influenzae*
(ATCC#49144)

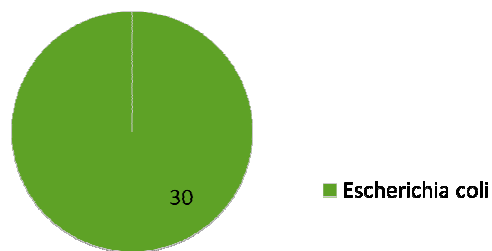
試料1: *Escherichia coli* O1:K1:H7
(ATCC#11755)

28歳女性。腹痛と1日4～5回の下痢が2日前より続いたため、便培養を行ったところ分離された菌。便の性状は血液の混じった水様便であった。食事内容には特に心当たりはなし。この菌の菌種を同定してください

【目的】

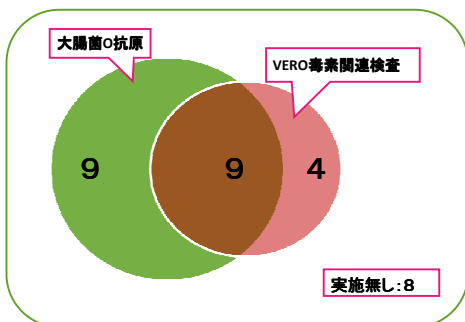
- ◆菌種同定の精度
- ◆大腸菌O抗原の手技の確認
- ◆病原性大腸菌の検査の進めかた

試料1: 同定検査集計結果



全施設において*Escherichia coli*と同定され良好な結果が得られた

追加検査



病原性大腸菌の種類と特徴

	主要症状	O血清型
腸管病原性大腸菌(狭義)(EPEC)	下痢、発熱、腹痛、悪心、嘔吐(非特異症状)	26,44,55,86,111,114,119,125,127,128,142,158 など
毒素性大腸菌 (ETEC)	下痢(水様性)、腹痛、発熱、嘔気	6,8,11,15,25,27,29,63,73,78,85,114,115,128,139,148,149,159,166,169 など
腸管出血性大腸菌 (EHEC=VTEC,STEC)	血便、腹痛、嘔気、嘔吐、発熱	157,26,121,111,145,18,103,128,145, など
腸管組織侵入性大腸菌 (EIEC)	下痢(粘血便)、発熱、嘔吐、嘔気、腹痛	112,121,124,136,143,144,152,164 など
腸管凝集付着性大腸菌 (EAggEC)	EPECの症状に類似	44,111,126,127 など

腸管出血性大腸菌 (EHEC) の検査

VT検出

1. PCR検査での確認
 - 確実な方法であるが手技が煩雑
2. 抗原抗体反応
 - 簡便であるがやや感度劣る

EHEC用選択培地

- O157、O111、O26など

エンテロヘモリジン産生確認用血液寒天培地

- 溶血(+)は、VT産生性と高い相関

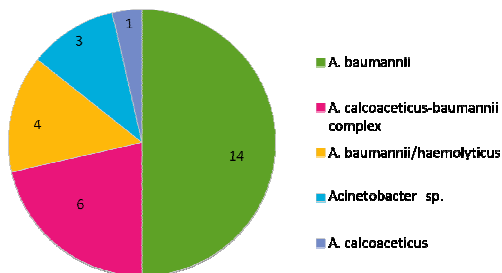
試料2: *Acinetobacter baumannii* (ATCC#BAA1605)

胃切除後、化学療法中の65歳男性。1か月前に肺炎で入院し、抗生剤治療される(CTRX → CLDM 追加 → PIPC/TAZ → DRPM)が軽快せず、血液培養とカテーテル先端培養を行った。両方から同じ菌が分離された。菌種を同定しCAZ、IPM、AMK、GM、CPFXについて感受性を測定してください。

【目的】

- ◆ 菌種同定および感受性検査の精度確認
- ◆ 耐性菌 β ラクターゼテストの実施状況
- ◆ MDRAの判定基準

試料2: 同定検査集計結果



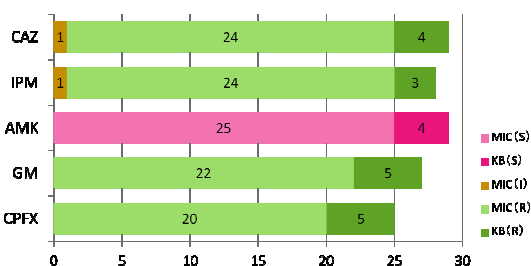
全施設でAcinetobacter属であると解答されたが、菌種名は分かれた

Acinetobacter属 同定の問題点

- *A. haemolyticus*は血液寒天で溶血性(+)
 - 同定キットの結果に血液寒天の溶血性を考慮して鑑別可能
- *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*は、ほぼ同様の生化学的性状
 - メーカーごとに解答の偏りあり(同定可能菌種に違い)
 - 42°Cの発育性だけでは鑑別が不十分
- *A. baumannii*の正確な同定はOXA-51保有をPCRで証明
 - 臨床材料から分離同定された菌種名は、*A. baumannii*であることが、*A. baumannii*であると正確に同定されて

一般の施設では困難
今後の課題

試料2: 感受性検査集計結果



各薬剤ともにMIC値、阻止円径ともにデータはほぼ一致しており良好な結果であった

追加検査

- 15施設が β ラクターゼに関する試験を実施

【検査内容と結果】

- P/Case P(+)C(+)
- シカ β テスト(I、MBL、CVA、C-すべて陽性)
- ESBL確認試験(-)
- SMAディスクで阻止円の拡大(-)
- Modified Hodge Test(-)

拡張型 β ラクターゼ産生菌であると推測できる

主なβ-ラクタマーゼと耐性パターン

[illegible]

(モダンメディア 56巻10号より)

MDRA(多剂耐性Acinetobacter属)

MDRAは2011年1月、5類感染症(定点把握)に指定

【判定基準】

	IPM	AMK	CPFX
MIC法	$\geq 16\mu\text{g}/\text{m}$	$\geq 32\mu\text{g} / \text{ml}$	$\geq 4\mu\text{g}/\text{ml}$
KB法	$\leq 13\text{mm}$	$\leq 14\text{mm}$	$\leq 15\text{mm}$

(ただし、上の薬剤と異なるカルバペネム系薬、またはフルオロキノロン系薬において同様に耐性を示す結果が得られた場合にもMDRAと判定)

今回の菌株はAMK感受性のため届け出対象ではない

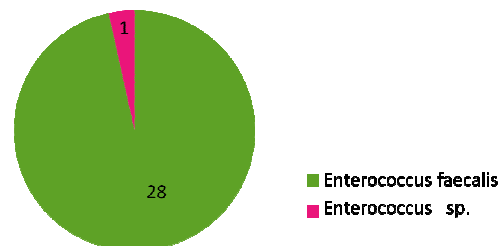
試料3: *Enterococcus faecalis*
(ATCC#51299)

胆のう炎治療中の50歳男性。発熱を認め、混濁した胆汁が採取されたため培養を行った。この胆汁から分離された菌を同定し、ABPC、IPM、VCM、TEIC、LZDの感受性を測定してください。

【目的】

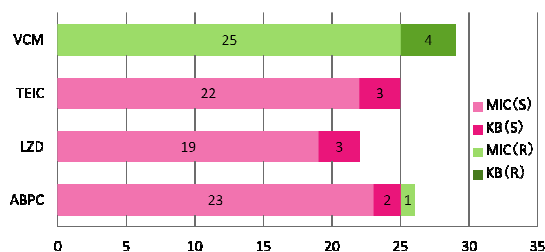
- ◆ 同定検査の精度確認
- ◆ 感受性結果の精度確認 (VCMの感受性結果)
- ◆ VREの推定・遺伝子型の推定
- ◆ 5類感染症としての扱い

試料3:同定検査集計結果



Enterococcus faecalis (同定キット・自動機器使用): 28施設
Enterococcus sp. (用手法で同定): 1施設

試料3 感受性検査集計結果

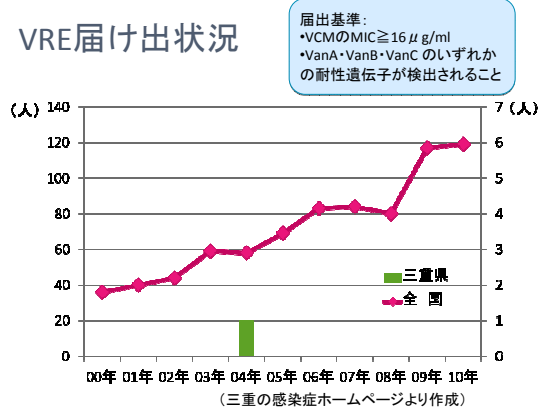


各薬剤ともにMIC値、阻止円径ともにデータはほぼ一致しており良好な結果であった

VCM耐性Enterococcus属の種類と特徴

表現型	耐性遺伝子	主な菌種	VCM耐性 (MIC値)	TEIC耐性 (MIC値)	伝達性	遺伝子所在
VanA型	vanA	<i>E.faecalis</i> <i>E.faecium</i>	高度 (64≦)	高度 (16≦)	あり	プラスミド
VanB型	vanB	<i>E.faecalis</i> <i>E.faecium</i> <i>E.gallinarum</i>	軽度～高度 (16～64)	感性 (≦1)	あり	プラスミド まれに 染色体
	vanC1	<i>E.gallinarum</i>				
VanC型	vanC2	<i>E.casseliflavus</i>	軽度 (4～32)	感性 (≦1)	なし	染色体
	vanC3	<i>E.flavescens</i>				
VanD型	vanD	<i>E.faecium</i>	高度 (64≦)	軽度 (4～64)	なし	染色体？
VanE型	vanE	<i>E.faecalis</i>	軽度 (8～32)	感性(0.5)	なし	染色体？
VanG型	vanG	<i>E.faecalis</i>	軽度(16)	感性(0.5)	なし	染色体？

VRE届け出状況



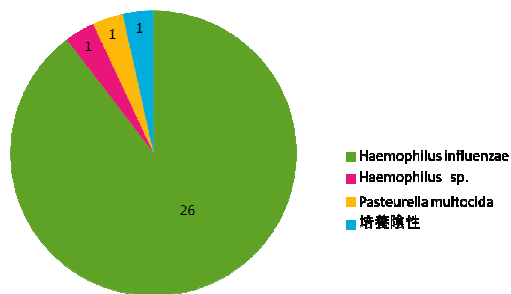
試料4: Haemophilus influenzae (ATCC#49144)

1歳女児。3日前より発熱・嘔吐あり。傾眠傾向出現。髄液検査では混濁した髄液が採取され、白血球増多、糖は低下していた。髄液から分離された菌について菌種を同定し、ABPC、CTX、CTRX、MEPMの感受性を測定してください。

【目的】

- ◆ 同定・薬剤感受性検査の精度確認
- ◆ β ラクタマーゼ陽性ABPC耐性(BLPAR)の判定

試料4: 同定検査集計結果

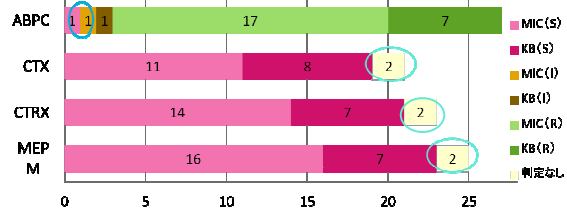


ほとんどの施設でHaemophilus influenzaeと解答。
 良好な結果が得られた

細菌性髄膜炎の原因菌

年齢	原因菌
新生児～生後3カ月乳児	B群レンサ球菌、大腸菌、黄色ブドウ球菌、リステリア菌
生後3カ月以降の乳児～幼児	インフルエンザ菌、肺炎球菌、黄色ブドウ球菌
年長児～青年期	肺炎球菌、インフルエンザ菌、髄膜炎菌
成人	肺炎球菌、髄膜炎菌
高齢者(50歳以上)	肺炎球菌、グラム陰性桿菌、リステリア菌

試料4 感受性検査集計結果



各薬剤ともにほぼ良好な結果であった

同じメーカー

- 2施設で他の施設と比べMICの値が高い
- 1施設でABPCのMICが低く、判定値がS

感受性データ(メーカー参考値)

	ドライプレート (35°C22時間好気培養)		KBディスク (35°C17時間5%CO ₂ 培養)	
	結果(μg/ml)	判定	結果(mm)	判定
ABPC	>4	R	13	R
CTX	≤0.5	S	35	S
CTRX	≤0.06	S	36	S
MEPM	≤0.06	S	30	S

薬剤感受性結果に影響を及ぼす因子

- 菌液調整法
- 菌液濃度
- 培養時間

キットに添付されている検査手順の確認

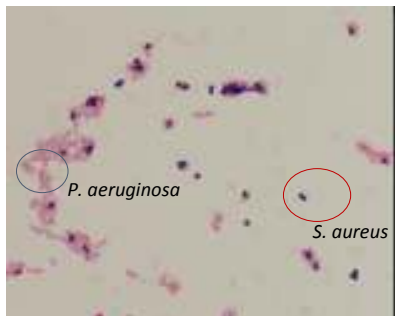
- 目視判定基準

試薬メーカーによる判定基準の表示(写真・図)

β ラクタマーゼ試験

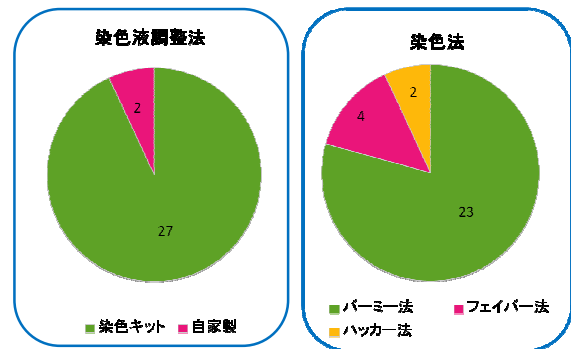
- β ラクタマーゼ試験
24施設で実施—すべての施設で陽性
- BLPAR(β ラクタマーゼ陽性アンピシリン耐性)
- β ラクタマーゼ産性の有無とABPCの判定値が治療薬選択に重要
- ABPC耐性の場合は β ラクタマーゼ検査が必須

試料5: グラム染色

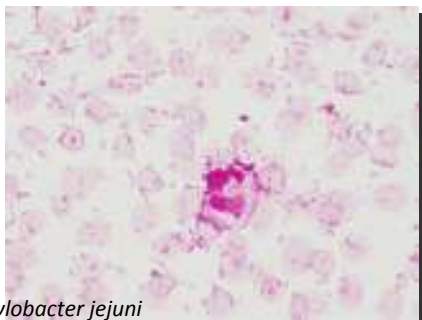


ほとんどの施設がグラム陰性桿菌と陽性球菌と判定良好な結果が得られた

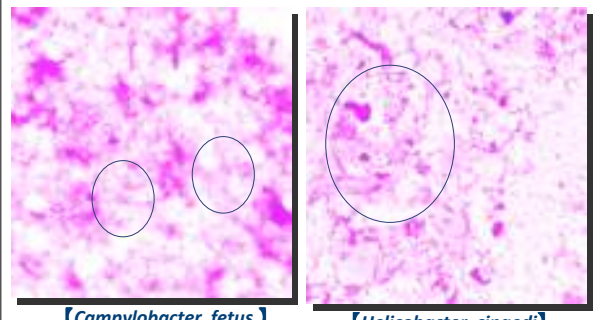
染色方法



フォトサーベイ 1



Campylobacter jejuni
(グラム陰性のらせん菌)



【*Campylobacter fetus*】

【*Helicobacter cinaedi*】

フォトサーベイ 2



【Trichosporon sp.】



アンケート調査

- 塗沫検査(グラム染色)について
 - グラム染色を実施している検体
 - グラム染色での菌量の判定値と判定基準
 - 喀痰検体のグラム染色で検体の品質評価
- 喀痰洗浄実施状況について

グラム染色を実施している検体について

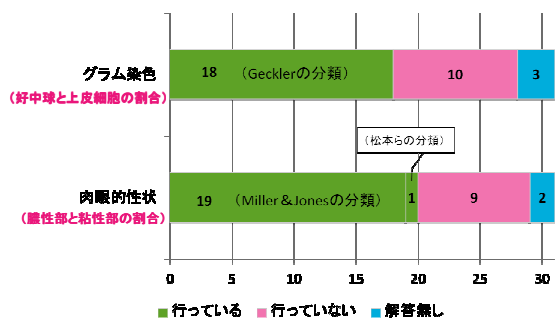
材料	すべて実施	依頼があれば実施	施設内では未実施	回答なし	その他(コメント)
喀痰	24	5	1	1	
咽頭粘液	13	14	2	2	
尿	19(1)	10	1	1	依頼の無い場合もある
固形便	5	14	6	5	小児の便はすべて実施
下痢便	10	11	6	4	小児の便はすべて実施
胆汁	23	6(1)	1	1	依頼がなくても技師が必要と思う時は実施
脳脊髄液	24(1)	4	2	1	菌がいた時はFAX報告

(カッコ内はコメント付き施設数)

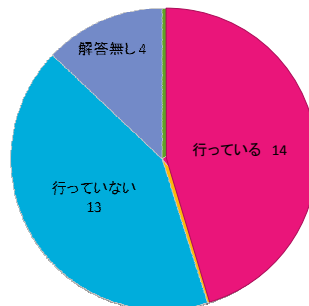
1-B) グラム染色での菌量の判定値と判定基準について

1+	2+	3+	4+	コメント
5~10/1視野	10~20/1視野	20~30/1視野	視野一面	
<1/1視野	1~9/1視野	10~25/1視野	>25/1視野	
1/1視野	2~10/1視野	10以上/1視野		
10~20/1視野	21~50/1視野	>51/1視野		1~9/少量
1視野あたり	1視野あたり2~10	1視野あたり10<		少量 1視野あたり<1
まれ <1/視野	少数 1~5/視野	中等度多量 6~30/視野	多数 >30/視野	
昔からの慣例的に 少数:1+・2+・3+ の表記で行っています。少数(1個程度) 1+(10個程度) 2+(100個程度) 3+(無数)				
1/1視野	2~10/1視野	>10/1視野		
~5 (喀痰11~20)	6~10 (喀痰21~5)	11~ (喀痰51~)		
<1個/視野	1個/視野	2~10個/視野	>10個/視野	
1視野あたり1個以下	1視野あたり1個	1視野あたり2~10個	1視野あたり11個以上	
1視野に1~3	1視野に約10以上	多数		
1コロニー以下/1視野	2~10コロニー/1視野	10コロニー以上/1視野		
1~5	6~30	31~やや多数(100)	多数(101以上)	
<1/1視野	1~5/1視野	5~10/1視野	>10/1視野	
<1個未満/1視野	1個/1視野	2~10個/1視野	>10個/1視野	
判定値はごく少数、少数、1+、2+など、当院独自の慣習的な評価となるため今後の見直し課題でした。今回アンケート調査で他施設の結果などを参考にさせて頂きたいと思います。				
1視野あたり	1視野あたり2~10	1視野あたり10<		判定値「少」、1視野あたり<1
1視野=1	1視野=2~10	1視野>10		この表現は実施していません
<1個/数視野	1個/視野	2~10個/視野	>10個/視野	
数視野に散在	1~10個	11~50個	51個以上	
1視野=1個	1視野=2~10個	1視野>10個		判定値:(-) : 菌量・陰性、判定値:F : 菌量・1視野<1個
油浸レンズによる鏡検で1視野あたり<	油浸レンズによる鏡検で1視野あたり2	油浸レンズによる鏡検で1視野あたり>10		
<1~5	6~30	>30		

喀痰検体の品質評価



喀痰の洗浄の実施について



ご清聴ありがとうございました