

平成25年度 三臨技微生物精度管理報告

同定試験(3株)

感受性試験(2株)

グラム染色

フォトサーベイ(2題)

試料1

Nocardia asteroides (CL#11014)

【症例】

80歳代男性。転倒し、鼻根部を裂創縫合後、化膿してきたため再度開創、洗浄しGM(ゲンタマイシン)にて治療したが、一か月後も改善しないため創部培養した

同定検査結果

Nocardia属(疑い報告含む)	21施設
Corynebacterium属	4施設
Actinomyces属	1施設
同定不能	2施設

(正解率 75%)

Nocardia 属とは

- 土壌中に生息する好気性放線菌
- 日和見感染原因菌
- 免疫抑制剤の長期投与や血液疾患などで免疫力の低下した患者から検出されることが多い

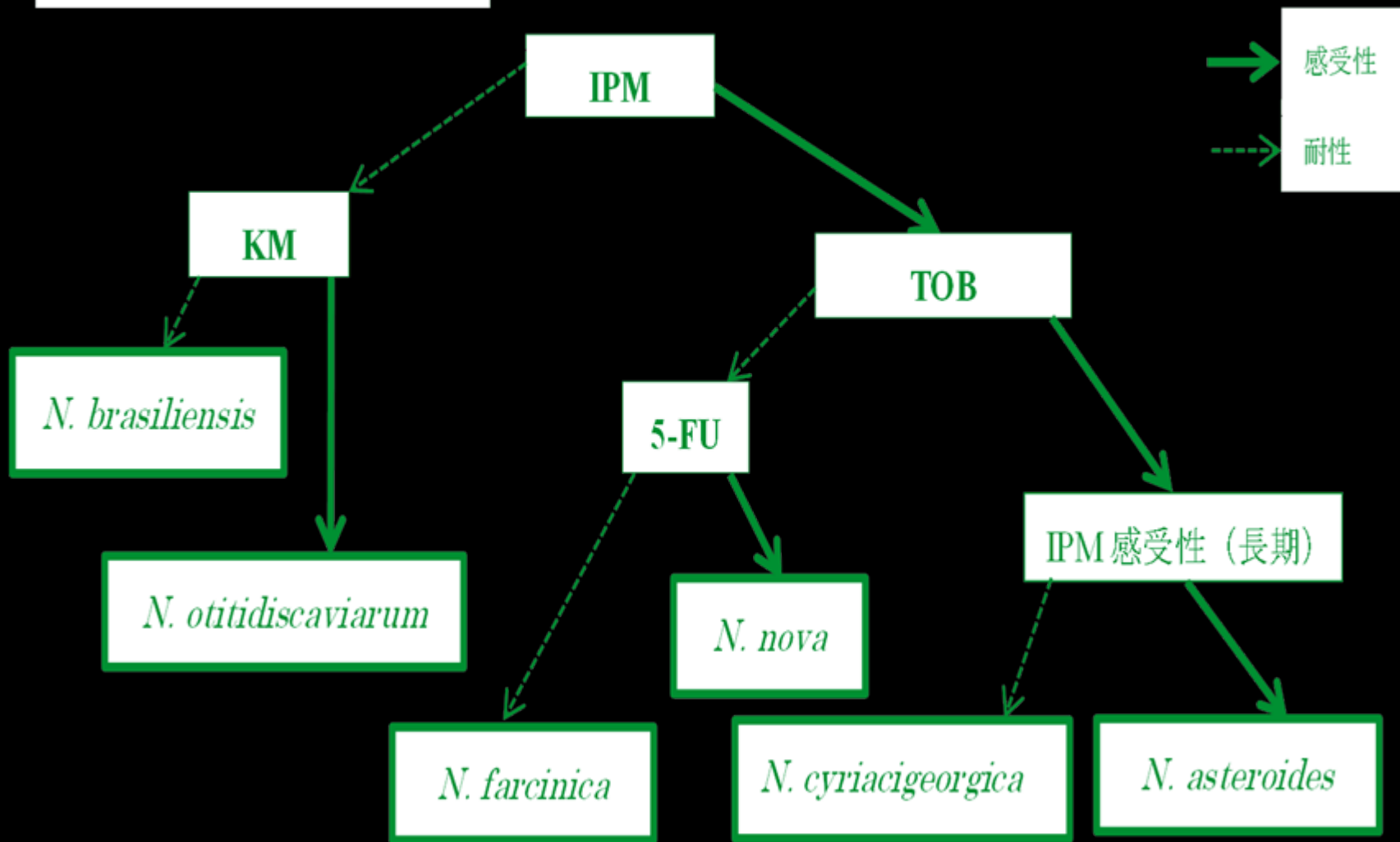
細菌学的性状

- 好気培養で普通寒天、血液寒天、サブロー寒天（クロラムフェニコール非添加）、小川培地などに発育
- 発育が比較的遅く2日～2週間で皺のある不整型で白色から黄色の培地に食い込むようなコロニーを形成
- 菌種によっては特徴的な“土臭”を発する
- 分岐したフィラメント状で多形性なグラム陽性桿菌
- 弱抗酸性を示し、キニヨン染色など脱色力の弱い方法で陽性に染まる

生化学的性状による同定法

	有機物の分解能					その他の生化学的性状					45℃での発育
	アデニン	カゼイン	ヒポキサンチン	チロシン	キサンチン	ガラクトース	グルコース	イノシトール	ラムノース	クエン酸利用能	
<i>N. asteroides</i>	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+/-	—
<i>N. nova</i>	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
<i>N. cyriacigeorgica</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
<i>N. farcinica</i>	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+
<i>N. otitidiscaviarum</i>	—	—	+	—	+	—	+	+	—	—	—
<i>N. brasiliensis</i>	—	+	+	+	—	+	+	+	—	+	—

薬剤感受性による同定方法



試料2

Streptococcus pneumoniae

(ATCC # 49619)

【症例】

70歳代女性。発熱により痰採取。脳出血の既往歴があり、誤嚥性肺炎による入退院を何度も繰り返している

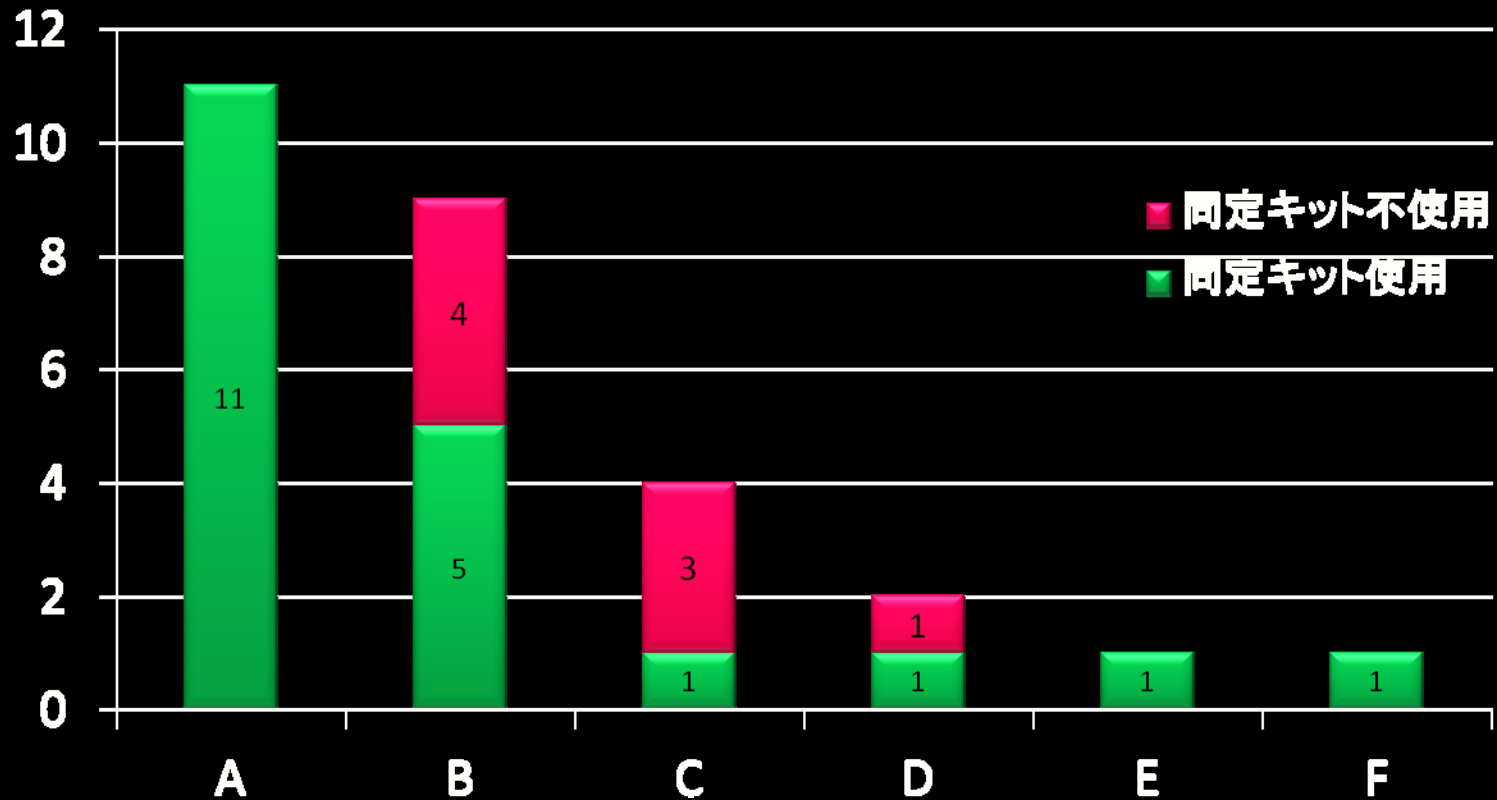
【同定検査結果】

Streptococcus pneumoniae

28施設

(正解率 100%)

同定方法



A: 附加試験なし

B: オプトヒンテスト

C: オプトヒンテスト、胆汁酸溶解試験

D: オプトヒンテスト、ラテックス凝集反応

E: 胆汁酸溶解試験

F: ラテックス凝集反応

Streptococcus pneumoniae とは

- グラム陽性双球菌
- 健常者の口腔や鼻腔などに定着している弱毒性の常在細菌だが、咽頭などの炎症部位で菌が増殖し、感染症状を呈する
- 感染防御機能の減弱した患者に肺炎・心内膜炎・髄膜炎・敗血症など種々の感染症を引き起こす
- 抗生物質特にペニシリンに対して耐性を獲得しやすい

EM感受性結果 (基準値: 0.03-0.12 $\mu\text{g/mL}$)

		S	I	R
MIC値 ($\mu\text{g/mL}$)	≤ 0.06	1		
	≤ 0.12	14		
	$= 0.13$	1		
	≤ 0.25	7		
	≤ 0.50	1		
	> 0.12	1		

LVFX感受性結果 (基準値: 0.5-2 μ g/mL)

		S	I	R
MIC値 (μ g/mL)	≤ 0.50	5		
	=0.50	11		
	≤ 1.00	3		
	=1.00	6		
	≤ 2.00	1		
阻止円径 (mm)	21	1		

VCM感受性結果 (基準値: 0.12-0.5 μ g/mL)

		S	I	R
MIC値 (μ g/mL)	=0.12	1		
	=0.25	10		
	=0.5	3		
	≤ 1.00	11		
阻止円径(mm)	20	1		
	26	1		

PCG感受性結果 (基準値: 0.25-1 $\mu\text{g/mL}$)

		S	I	R
MIC値 ($\mu\text{g/mL}$)	=0.12	1		
	=0.25	10	5	
	=0.5	5	5	

ペニシリン耐性肺炎球菌の基準

	非経口ペニシリン (髄膜炎)	非経口ペニシリン (髄膜炎以外)	経口ペニシリン
PSSP	≤ 0.06	≤ 2	≤ 0.06
PISP		4	0.125-1
PRSP	≥ 0.12	≥ 8	≥ 2

PISP	9施設 (PCG判定S 1施設)
PSSP	7施設
コメントなし	12施設

試料3

Escherichia coli (臨床分離株)

ESBL・メタロβラクタマーゼ 産生
菌

【症例】50歳代男性。発熱により尿採取。
既往歴に肝硬変、糖尿病、慢性膀胱炎な
どがあり長期間抗菌薬治療していた

【同定検査結果】

Eschelichia coli

28施設

正解率 100%

感受性検査結果 (CMZ: 24施設)

実施状況	測定値	S	I	R
微量液体希釈法 (23)	= 32.00		2	
	> 32.00			14
	≧ 64.00			6
	≦ 64.00			1
ディスク拡散法(1)	0			1

(MIC測定値単位: μ g/mL, 阻止円径単位: mm)

感受性検査結果 (CAZ: 28施設)

実施状況	測定値	S	I	R
微量液体希釈法 (26)	=16.00		1	10
	=32.00			2
	≥64.00			2
	>16.00			7
	>8.00			3
	≤64.00			1
ディスク拡散法 (2)	10			1
	16			1

(MIC測定値単位: μ g/mL, 阻止円径単位: mm)

感受性検査結果 (FMOX: 21施設)

実施状況	測定値	S	I	R
微量液体希釈法 (20)	≤ 8.00	5		
	$= 8.00$	3		1
	≤ 16.00	1		
	$= 16.00$		2	
	$= 32.00$		6	2
ディスク拡散法 (1)	12			1

(MIC測定値単位: μ g/mL, 阻止円径単位: mm)

感受性検査結果 (IPM: 24施設)

実施状況	測定値	S	I	R
微量液体希釈法 (22)	≤ 0.25	5		2
	≤ 0.50	1		2
	≤ 1.00	10		2
	≥ 1.00	1		
	≤ 4.00	1		1
ディスク拡散法(2)	21	1		
	22	1		

(MIC測定値単位: μ g/mL, 阻止円径単位: mm)

ESBL・AmpCスクリーニング基準

- ESBLの確認試験

- ◆CAZ、CTX、CTRX、AZTのいずれかで
MIC \geq 2

- ◆CPDXのMIC \geq 8

- ◆ディスク法では上記薬剤でまたはR

- AmpCの確認試験を追加

- ◆ESBLの基準に加え、CMZ、FMOX、LMOXも耐性
傾向となる場合

メタロβラクタマーゼ産生確認基準

- ESBL、AmpCのスクリーニング基準
(CAZ・CTX・AZT・CMZ・FMOXなどの抗菌薬に耐性)に加え
- カルバペネム系抗菌薬に耐性傾向がある
CLSI M100-S19 までの判定基準を用いた場合
ディスク拡散法での阻止円径
MEPM 10 μ g 16~21mm
微量液体希釈法 MEPM, IPMのMICが2~4 μ g/mL

- 変法Hodge Test (カルバペネマーゼ産生確認)
- SMAでの阻害試験

薬剤耐性についての追加コメント

• ESBLs産生菌(可能性含む)	10
• ESBLs産生菌(可能性含む) • メタロβラクタマーゼ産生菌(可能性含む)	9 (10)
• ESBLs産生菌(可能性含む) • クラスC型βラクタマーゼ産生菌の可能性	3
• メタロβラクタマーゼ産生菌(可能性含む)	1
• クラスC型βラクタマーゼ産生菌の可能性	1
• その他 (確認試験の結果陰性と判定、その他のβラクタマーゼ)	1 (2)
• 記載なし	3(1)

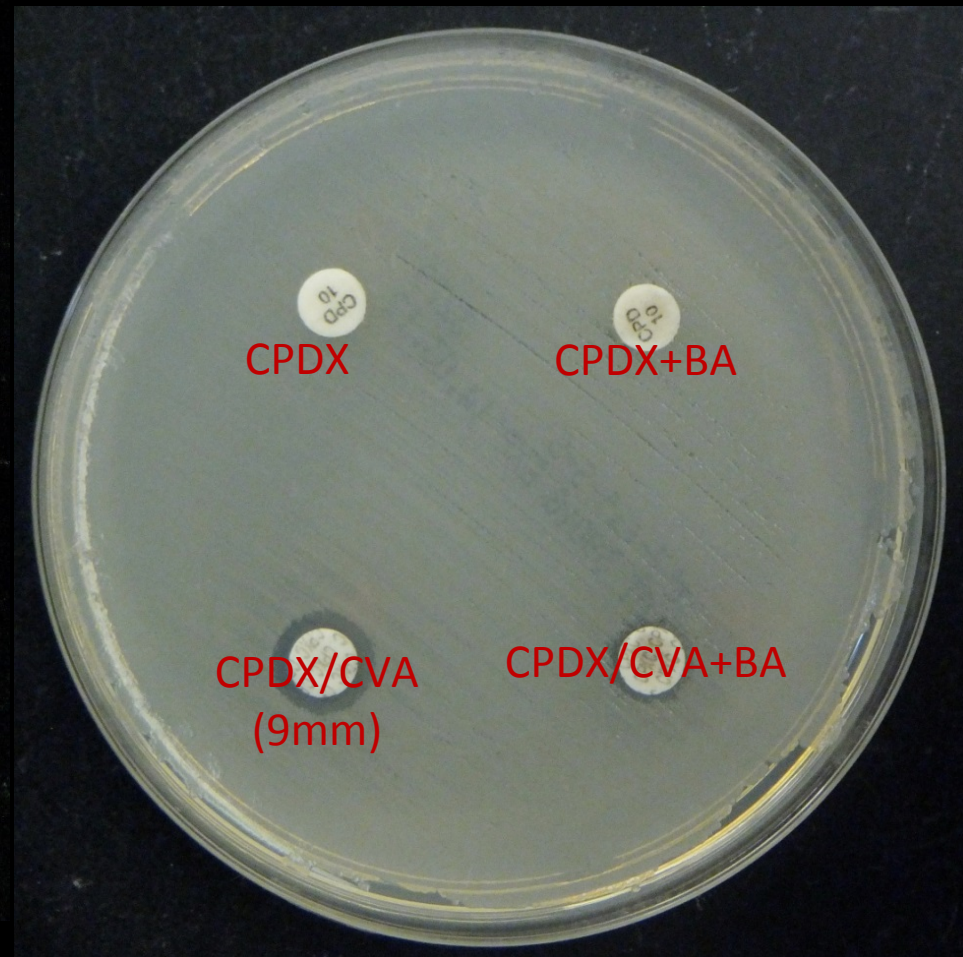
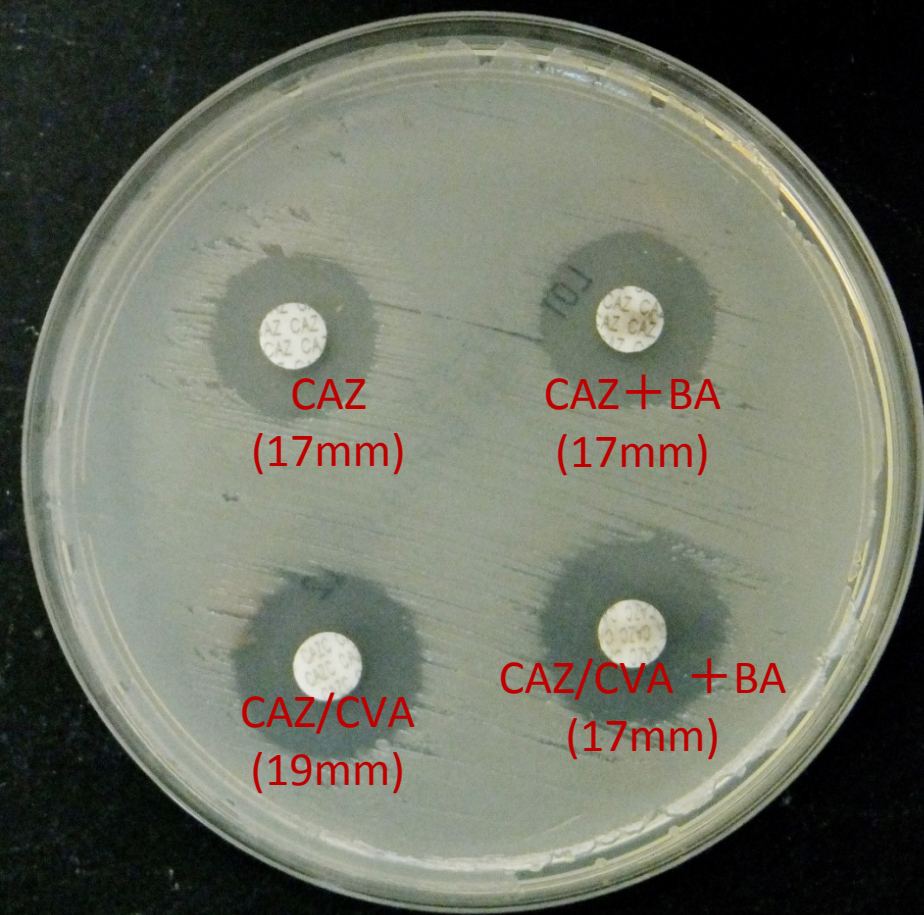
薬剤耐性附加試験の実施状況

ESBL判定	CLSIディスク拡散法 (クラブラン酸阻害)	16
	TWIN テスト	1
	ESBLコンファーマンションパネル	1
	Wディスク法	1
	ESBL DDST	2
AmpC判定	ディスク拡散法(ボロン酸阻害)	10
β ラクタマーゼ産生	P/Cアーゼテスト	2
ESBL/AmpC鑑別	ESBL/AmpC鑑別テスト	3
カルバペネマーゼ (メタロ β ラクタマーゼ、KPCなど)判定	Modifeid Hodge Test	11
	SMA(メルカプト酢酸ナトリウム)阻害試験	12
	クイックチェイサーIMP	1
	MEPM耐性	1
ESBL・AmpC・メタロ β ラクタマーゼの鑑別	シカベータテスト(I, CVA, C, MBL)	3
	機器のアラートのみ	4

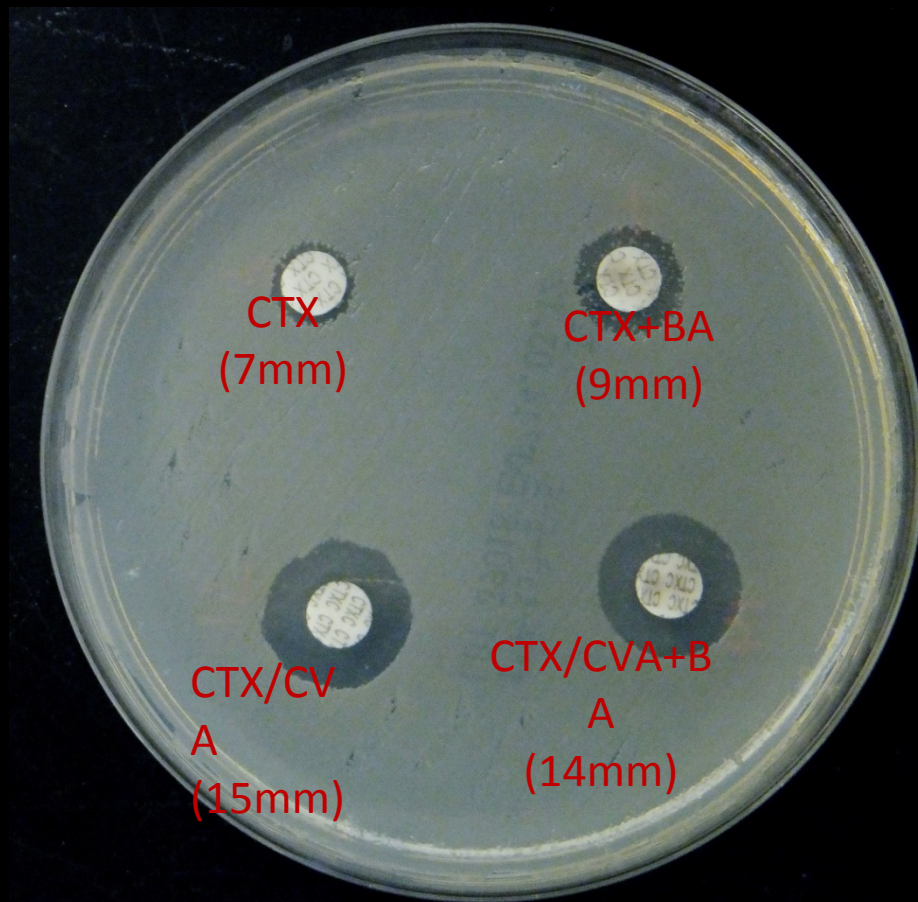
三臨技微生物研究班勉強会

腸内細菌の β ラクタマーゼ検出法 (暫定版)より

- ESBL産生、AmpC産生の鑑別試験
- カルバペネマーゼ産生の確認試験
- メタロ β ラクタマーゼ産生の確認試験



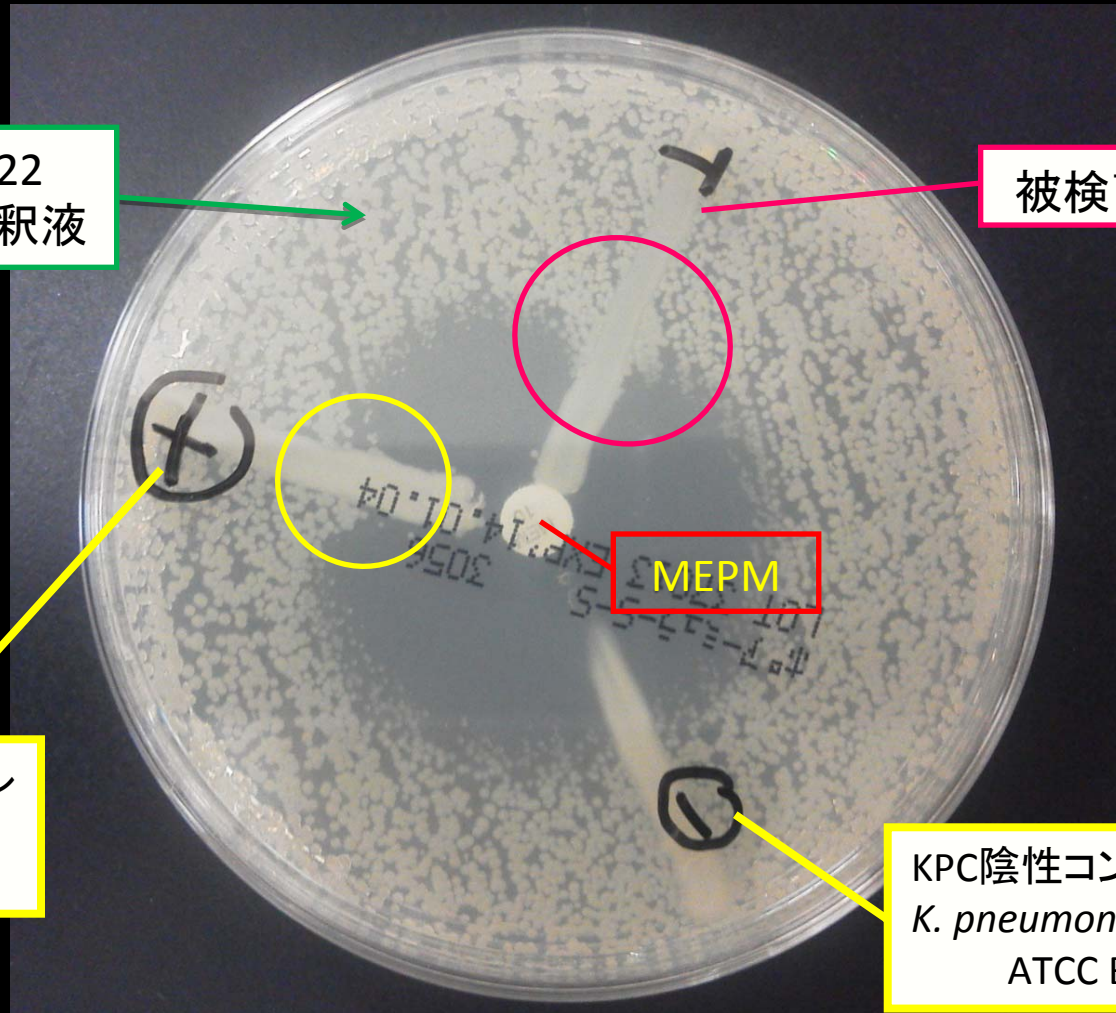
CVA、BAでの阻害認めず



CVAで阻害あり BAで阻害なし

ESBLと判定できる

Modified Hodge Test



E. Coli ATCC25922
McF.0.5の10倍希釈液

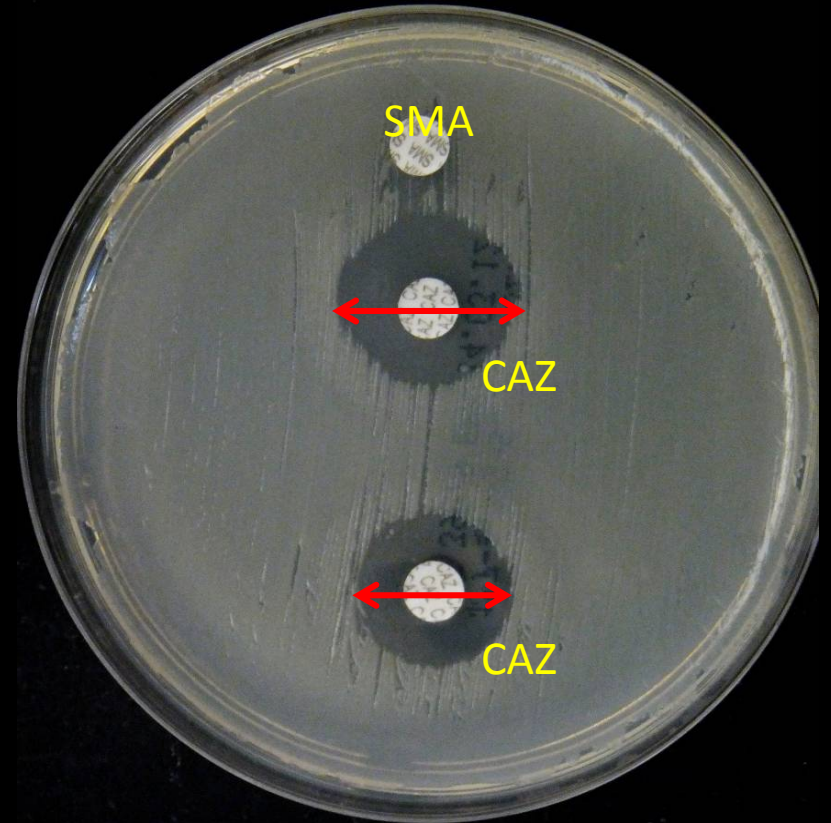
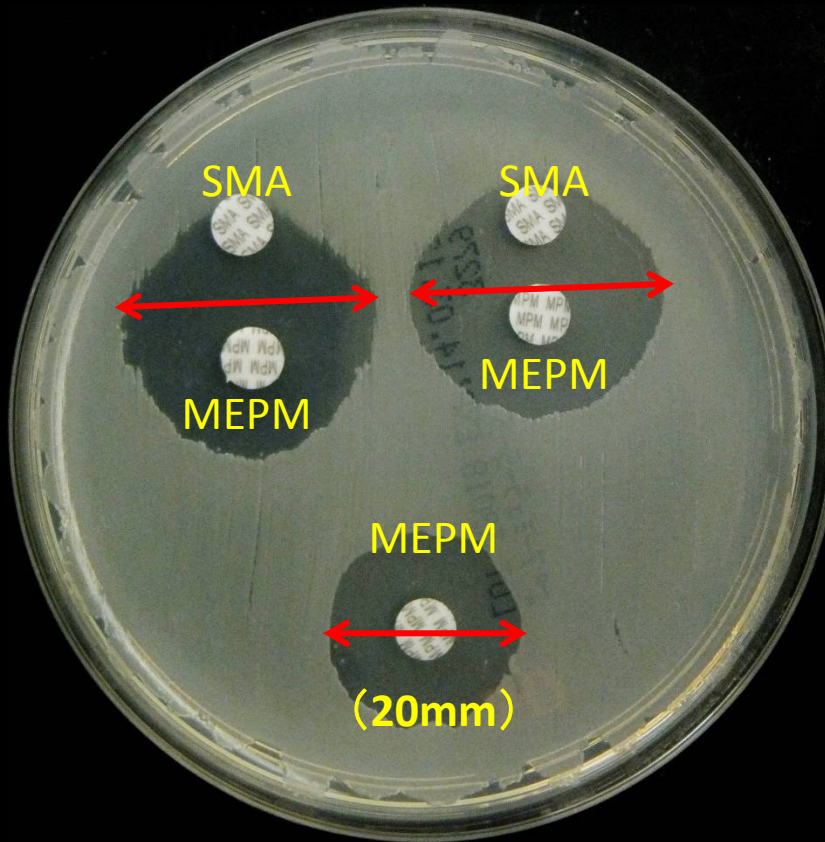
被検菌

MEPM

KPC陽性コントロール
K. pneumoniae
ATCC BAA-

KPC陰性コントロール
K. pneumoniae
ATCC BAA-1706

SMA阻害試験



SMAによる阻害あり

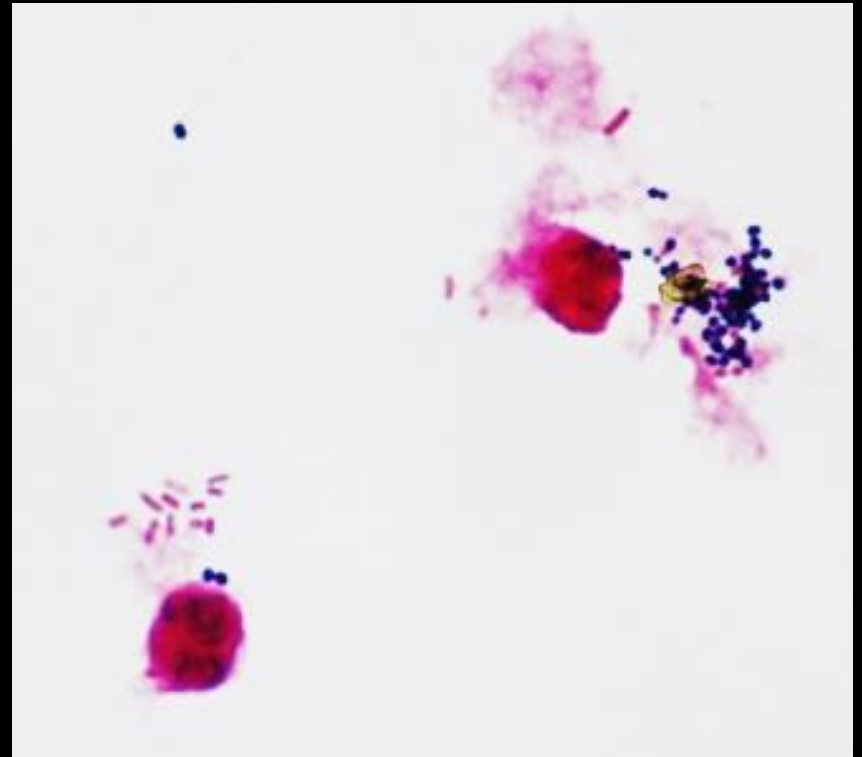
試料4 グラム染色(臨床検体由来)

尿路感染症の尿検体

グラム陰性桿菌

グラム陽性球菌

白血球貪食像



解答—染色性・形態

GNR・GPC・GPR 1施設

GNR・GPC・GNC 1施設

GNR・GPC 25施設

GPC 1施設

GNC 1施設

GNR(グラム陰性桿菌)、GPC(グラム陽性球菌)、GPR(グラム陽性桿菌)、GNC(グラム陰性球菌)

(正解率:86.2%)

◆ 白血球貪食像記載

7施設

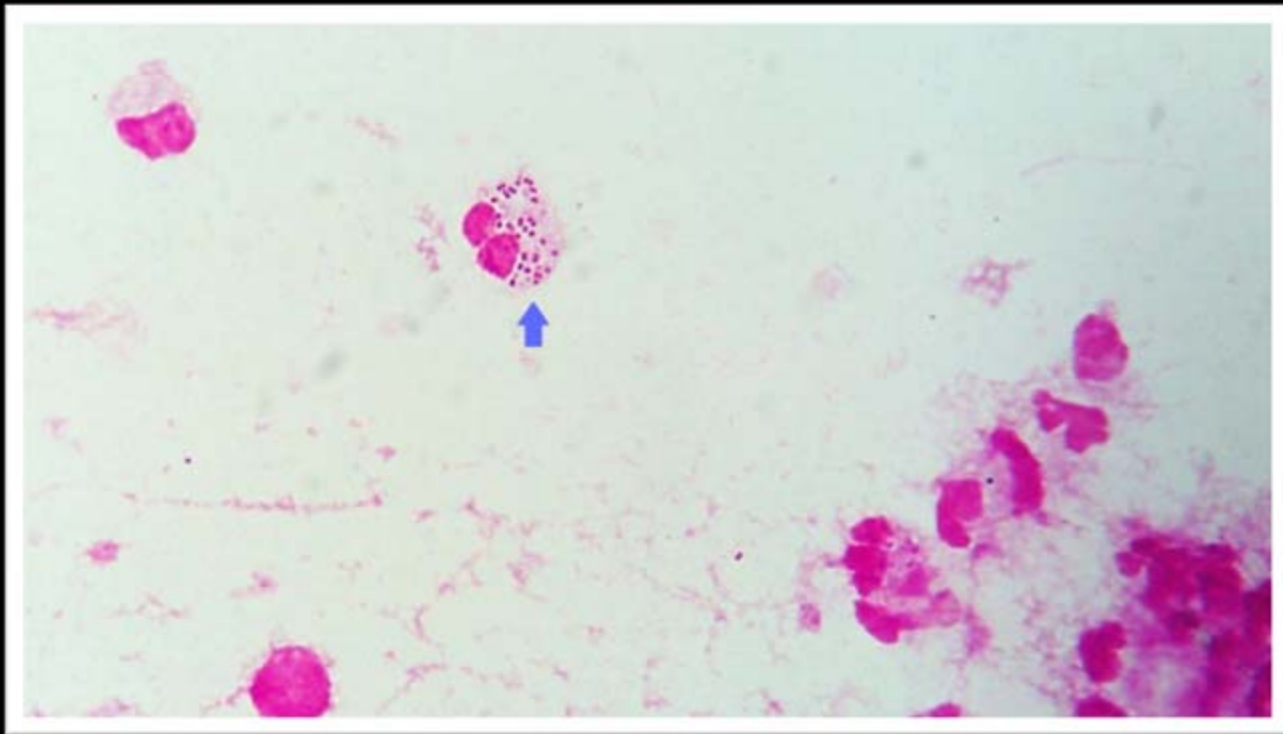
解答一菌量

1視野あたり6～30個	16施設
1視野あたり31個以上	10施設
1視野あたり1～5個	1施設
その他解答 (GNR・GPC別で個数記載)	2施設

フォトサーベイ①

Neisseria gonorrhoeae

【症例】30歳代男性、尿のグラム染色像。数日前より排尿時痛と膿性の尿道分泌物を認めている。

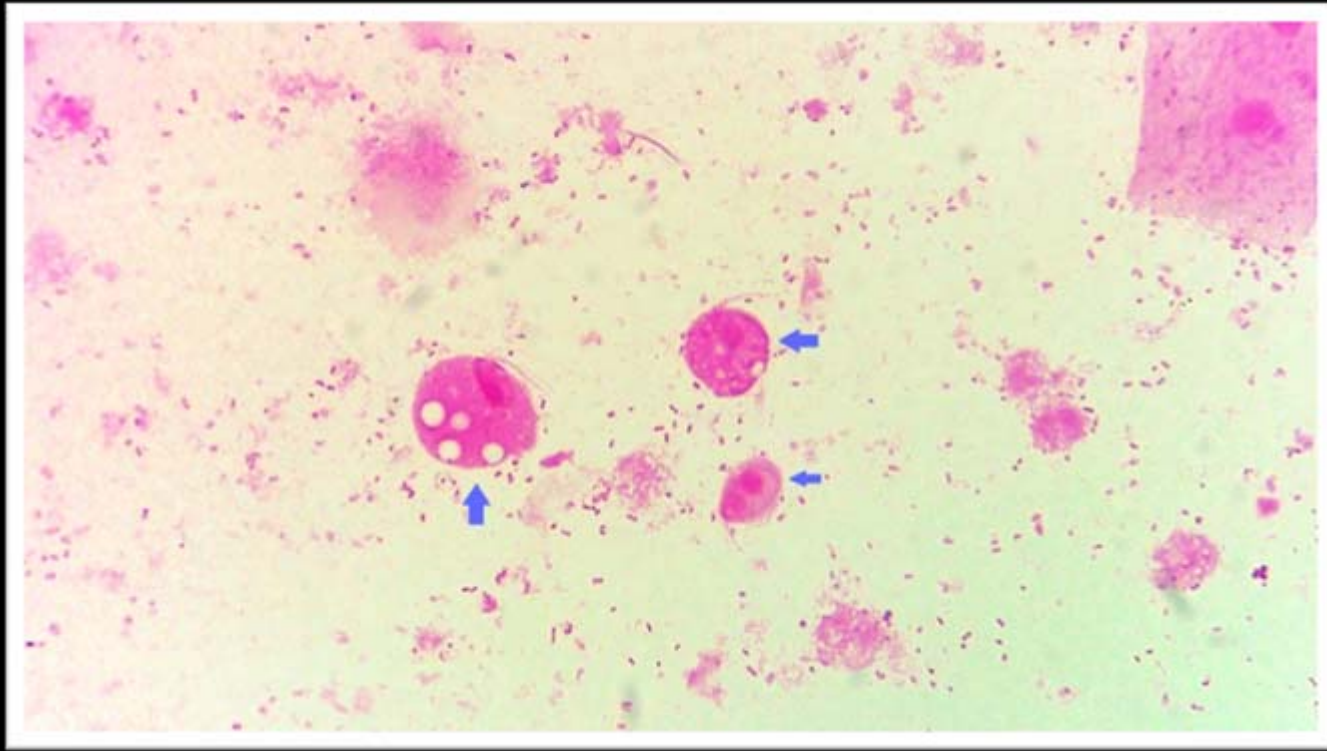


(正解率: 100%)

フォトサーベイ②

Trichomonas vaginalis

【症例】50歳代女性、膣分泌物のグラム染色像。泡状の悪臭の強い膣分泌物の増加と外陰部搔痒感を自覚



(正解率:96%)