

[原 著]

MicroScan Rapid plus パネルを用いた迅速同定・感受性検査に関する検討

加藤貴代子・小松 方・岡田潤平・村上貴美佳・松岡宏治・前出卓也

ファルコバイオシステムズ総合研究所検査三課

(平成 22 年 9 月 6 日受付, 平成 23 年 6 月 17 日受理)

MicroScan Rapid plus シリーズ (迅速法) は, 同定および薬剤感受性結果を数時間以内に得ることが可能なキットである. 臨床分離株 173 株を用いて, MicroScan Pos および Neg シリーズ (現行法) との性能比較を行った. 現行法との同定一致率は, 腸内細菌群 ($n=56$) 98%, ブドウ糖非発酵菌群 ($n=65$) 86%, *S. aureus* ($n=22$) 100%, *S. aureus* 以外の *Staphylococcus* spp. ($n=13$) 54%, *Enterococcus* spp. ($n=17$) 53% であった. 薬剤感受性検査のカテゴリー一致率は, おおむね 80% 以上を示した. 迅速法の薬剤感受性結果出力までの所要時間は, 腸内細菌群は特に速く最速 4.5 時間で全薬剤の結果を出力した. 迅速法はいくつかの菌種を除き同定感受性検査を分離培養実施翌日中に結果を得ることが可能なキットであり, 感染症迅速診断および迅速な治療薬選択に貢献しうものと思われた.

Key words: MicroScan, antimicrobial susceptibility test, identification

序 文

MicroScan Rapid plus シリーズ (以下, 迅速法, シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社) は, MicroScan Pos および Neg シリーズ (現行法) と比較し, 短時間に同定検査および薬剤感受性検査結果を得ることが可能な方法である.

迅速法は, 同定原理に蛍光物質である 4-メチルウンベリフェロンまたは 7-アミド-4-メチルクマリンと糖やアミノ酸の基質複合体を菌体内酵素による分解を蛍光物質を介して検出する方法, ならびに炭水化物の発酵やアミノ酸の分解による pH 変化を蛍光量の増減で検出する方法を用いている. これらの方法を組み合わせることで, 各種生化学的反応を迅速に検出することが可能となり, グラム陰性菌では 2.5 時間後, グラム陽性菌では 2 時間後に菌名が確定される.

薬剤感受性検査は, コントロールウェル (細菌生育陰性コントロールウェル) とグロースウェル (細菌生

育陽性コントロールウェル), インジケーターウェル (薬剤感受性検査において培養時間を調整するためのウェル), および各薬剤含有ウェルの濁度の変化を適宜モニターすることにより, 最短で 4.5 時間から結果の判定を行うことが可能である.

国内では, 迅速法と同様に同定感受性検査を現行法と比較してより短時間に検査可能な方法として, VITEK2 (シスメックス・ビオメリュー株式会社), BD Phoenix (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社), および RAISUS (日水製薬株式会社) が上市されている. これらの方法は迅速法と同様に蛍光法や比濁法などを測定原理として用いられているが, 迅速法の同定結果の出力時間は, 他の製品と比較して 2~2.5 時間以内と最速である. 迅速法の薬剤感受性検査の測定原理は, 他社製品とは異なりインジケーターウェルやコントロールウェルと薬剤含有ウェルの濁度の相対的な変化を利用して MIC を算出する方法である. また, 迅速法は RAISUS と同様, 測定終了後にパネル内の感受性試験ウェルを目視可能であり, 同定結果と感受性試験結果の整合性の不一致が生じた場合に目視修正が行える方法でもある¹⁾.

迅速法の既報の評価成績として, ATCC 株を用いて現行法と比較を行った検討²⁾, および血液培養検査における迅速対応に関する報告³⁾があるが, 多数の臨床分離株を用いて評価を行った成績はない. 今回, わが

著者連絡先: (〒613-0036) 京都府久世郡久御山町田井西荒見 17-1
ファルコバイオシステムズ総合研究所検査三課微生物検査係
加藤貴代子
TEL: 0774-46-1073
FAX: 0774-46-0097
E-mail: k-katoh@mail.falco.co.jp

国において MicroScan が広く利用されている機器であることを鑑み、各種薬剤耐性菌を含む新鮮臨床分離株 173 株を用いて、迅速法の性能評価および検査室の 1 日の実稼働時間を 8 時間と仮定し、全株数に対して 8 時間以内にカテゴリ値が出力される割合 (%) を検証し、同定感受性試験結果が分離培養実施翌日に報告可能か検討を行った。

材料と方法

1. 供試菌株

測定株の選定は米国微生物学会が推奨する自動機器評価法⁴⁾を参考に、グラム陰性桿菌は新グラム陰性桿菌同定カード (以下 VITEK GNI+カード, シスメックス・ピオメリュウ株式会社), グラム陽性球菌は BD BBLCRYSTAL GP 同定用検査試薬 (以下 BD BBLCRYSTAL GP, 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) ならびに従来の試験管法などによる方法⁵⁾を用いて、同定した各種薬剤耐性菌含む計 173 株 (Table 1) を対象とした。

耐性因子の検出として、Extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) 産生菌は cefotaxime (CTX) あ

るいは ceftazidime (CAZ) に耐性を示した株を対象とし、ダブルディスクシナジーテスト⁶⁾により検出を行った。メタロ- β -ラクタマーゼ (MBL) 産生菌は CAZ および sulbactam-cefoperazone (S/C) に耐性を示した株を対象とし、メルカプト酢酸ナトリウムを利用したディスク拡散法 (SMA ディスク法)⁷⁾を用いて検出を行った。Vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. (VRE) は PCR で *vanA* および *vanB* 遺伝子の検出を行った⁸⁾。

2. 迅速法の手技

臨床材料から検出された株は 10% スキムミルクにより -80°C でいったん保存し、測定日前日に供試株をミュラー-ヒントン寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社: 必要に応じ 5% 羊血液加を使用) に接種、一夜培養後の集落を被検株とした。以降の操作は添付文書に完全に準拠して行った。すなわち、被検株を白金耳で釣菌、イノキュラム生理食塩水に懸濁し 0.5 McFarland になるよう濁度計を用いて調整、これを同定用菌液とした。この同定用菌液をグラム陰性菌の場合は希釈水 25 ml, グラム陽性菌の場合は Synergies Plus Pos Broth 25 ml に 100 μl 添加

Table 1. Challenge strain ($n=173$)

	Organism ^{a)}	$n=$
Gram-negative ($n=121$)	<i>Escherichia coli</i>	14 ^{b)}
	<i>Citrobacter freundii</i>	5
	<i>Citrobacter koseri</i>	5
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	4
	<i>Enterobacter cloacae</i>	5
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8 ^{c)}
	<i>Morganella morganii</i>	3
	<i>Providencia rettgeri</i>	4
	<i>Serratia marcescens</i>	8
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40 ^{d)}
	<i>Acinetobacter</i> spp.	9
	<i>Burkholderia cepacia</i>	4
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	12
Gram-positive ($n=52$)	Oxacillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i>	6
	Oxacillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	16
	Oxacillin-susceptible coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> spp.	4
	Oxacillin-resistant coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> spp.	9
	Vancomycin-susceptible <i>Enterococcus</i> spp.	9
	Vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i> spp.	8 ^{e)}

^{a)} 173 isolates were selected from clinical specimens. These isolates had been identified by conventional biochemical identification, VITEK GNI+ card and BD BBLCRYSTAL GP.

^{b)} Including 3 isolates ESBLs producer.

^{c)} Including 2 isolates ESBLs producer.

^{d)} Including 5 isolates metallo β -lactamase producer.

^{e)} Including 7 isolates with *vanA* genes and 1 isolate with *vanB* genes.

Table 2. Susceptibility category errors

Type of error	Category result by method	
	MicroScan combo series (Reference method)	MicroScan rapid series (Test method)
Very major	R	S
Major	S	R
Minor	I	R
	I	S
	S	I
	R	I

Abbreviations: R, resistant; S, susceptible; I, intermediate.

し、これを薬剤感受性用菌液とした。各々の菌液はリノックシステムで各ウェルに $115 \pm 10 \mu\text{l}$ となるよう接種し、MicroScan WalkAway 96 SI で測定を行った。

3. 迅速法と現行法との同定結果および薬剤感受性結果の比較

現行法のパネルとしてグラム陰性桿菌は Neg Breakpoint Combo Panel Type 6.23J, グラム陽性球菌は Pos Breakpoint Combo Panel Type 6.2J を使用した。迅速法のパネルとしてグラム陰性桿菌は rapid/S plus Neg Combo 3.11, グラム陽性球菌は rapid/S plus Pos Combo 3.1 を使用しそれぞれ成績の比較を行った。同定結果で不一致を示した株についてグラム陰性桿菌は VITEK GNI+カードの成績, グラム陽性球菌は, BD BBLCRYSTAL GP の成績を参考に不一致の解析を行った。

薬剤感受性結果の評価は, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S19⁹⁾ に従い判定されたカテゴリー一致率で比較した。解析は迅速法および現行法の両者に搭載されている薬剤について行い, 比較できない抗菌薬は解析から除外した。カテゴリーの一致は現行法の成績を基準とし, Table 2 に示すカテゴリーに分類して評価した⁴⁾。

4. 迅速法の薬剤感受性カテゴリー値出力までの所要時間に関する解析

WalkAway 96 SI にパネルを搭載後, カテゴリー値が出力される時間を菌種別, 薬剤別に集計した。評価方法は検査室の1日の実稼働時間を8時間と仮定し, 全株数に対して8時間以内にカテゴリー値が出力されるまでの割合(%)を検証し, 同定感受性試験結果が分離培養実施翌日に報告可能か検討を行った。

結 果

1. 迅速法と現行法の同定結果の比較 (Table 3)

腸内細菌群 ($n=56$) は *Serratia marcescens* で1株の同定不一致が見られたのみで全体では98%の同定一致率を示した。ブドウ糖非発酵菌は, *Pseudomonas aeruginosa* ($n=40$) で78%, *Acinetobacter* spp. ($n=9$), *Stenotrophomonas maltophilia* ($n=12$), および *Burkholderia cepacia* ($n=4$) はすべて100%の一致率であった。*P. aeruginosa* は9株が誤同定されたが, その内訳は *Pseudomonas mendocina* が3株と最も多く, 次いで *Pseudomonas fluorescens/putida* および *Achromobacter xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans*/*Achromobacter xylosoxidans* subsp. *denitrificans*/*Alcaligenes faecalis*/*Ralstonia paucula* (*Alsp*/*Ac. xyl/Rpau*) の混合菌名の出力がそれぞれ2株, *Oligella ureolytica*, および *Pseudomonas stutzeri* がそれぞれ1株であった。*Staphylococcus aureus* ($n=22$) の同定一致率は100%と良好であった。一方, Coagulase-negative *Staphylococcus* spp. (CoNS, $n=13$) や *Enterococcus* spp. ($n=17$) の属レベルでの同定一致率はそれぞれ100%, 76%であったが, 種レベルでの同定一致率は CoNS 54%, *Enterococcus* spp. 53%と低かった。*Enterococcus* spp. は4株が現行法と異なる結果が出力されたが, その内訳は *Pediococcus* sp. が2株および同定不能 (Very rare biotype) が2株であった。

現行法と不一致を示した株は, グラム陰性桿菌 ($n=121$) で10株(8%), グラム陽性球菌 ($n=52$) で14株(30%)であった。これらについて他の同定キットで得られた菌名と比較を行った (Table 4)。グラム陰性桿菌は現行法と VITEK GNI+カードとの成績はすべて一致したが, グラム陽性球菌は現行法と BD BBLCRYSTAL GP の成績と一致した株は14株中13株であった。この残り1株 (Strain No. FL153) は CoNS であったが, 現行法, 迅速法および BBLCRYSTAL GP の3法とも異なる菌名として出力された。

2. 迅速法と現行法の薬剤感受性結果の比較

腸内細菌群の薬剤感受性結果を Table 5 に示した。現行法と比較してほとんどの抗菌薬は80~100%の Categorical agreement (CA) を示した。80%以下の CA であったのは染色体性誘導型 AmpC 産生群の CTX (73%), Minocycline (MINO, 76%), *Escherichia coli* の Cefazolin (CEZ, 79%), MINO, 79%, *Klebsiella pneumoniae* の Cefmetazole (CMZ, 63%), および *Citrobacter koseri* の Piperacillin (PIPC, 60%) であった。不一致の内容は, 現行法と比較して迅速法のほう

Table 3. Comparison of identification with MicroScan combo series and rapid series

Gram strain	Result of identification with MicroScan combo series (n=)	MicroScan rapid series			
		Identification	n=	%	
Gram negative	<i>Escherichia coli</i> (14)	<i>Escherichia coli</i>	14	100	
	<i>Citrobacter freundii</i> (5)	<i>Citrobacter freundii</i>	5	100	
	<i>Citrobacter koseri</i> (5)	<i>Citrobacter koseri</i>	5	100	
	<i>Enterobacter aerogenes</i> (4)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	4	100	
	<i>Enterobacter cloacae</i> (5)	<i>Enterobacter cloacae</i>	5	100	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (8)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	100	
	<i>Morganella morganii</i> (3)	<i>Morganella morganii</i>	3	100	
	<i>Providencia rettgeri</i> (4)	<i>Providencia rettgeri</i>	4	100	
	<i>Serratia marcescens</i> (8)	<i>Serratia marcescens</i>	7	88	
		Unknown (very rare biotype)	1	13	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (40)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31	78	
		<i>Pseudomonas mendocina</i>	3	8	
		Alsp/Ac.xyl/Rpau ^{a)}	2	5	
		<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	2	5	
		<i>Oligella ureolytica</i>	1	3	
		<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	3	
		<i>Acinetobacter</i> spp. (9)	<i>Acinetobacter</i> spp.	9	100
		<i>Burkholderia cepacia</i> (4)	<i>Burkholderia cepacia</i>	4	100
		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (12)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	12	100
	Gram positive	<i>Staphylococcus aureus</i> (22)	<i>Staphylococcus aureus</i>	22	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (6)		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	83	
		<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	17	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (2)		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	50	
		<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	50	
<i>Staphylococcus intermedius</i> (2)		<i>Staphylococcus aureus</i>	1	50	
		<i>Staphylococcus warneri</i>	1	50	
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> (1)		<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	100	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (1)		<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	100	
<i>Staphylococcus captis</i> (1)		<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	100	
<i>Enterococcus faecium</i> (8)		<i>Enterococcus faecium</i>	1	13	
		Unknown (very rare biotype)	2	25	
		<i>Pediococcus</i> sp.	2	25	
		<i>Enterococcus faecalis</i>	1	13	
		<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	13	
		<i>Enterococcus durans/hirae</i>	1	13	
<i>Enterococcus faecalis</i> (4)		<i>Enterococcus faecalis</i>	4	100	
<i>Enterococcus gallinarum</i> (4)		<i>Enterococcus gallinarum</i>	3	75	
		<i>Enterococcus faecium</i>	1	15	
<i>Enterococcus raffinosus</i> (1)		<i>Enterococcus raffinosus</i>	1	100	

^{a)} Alsp/Ac.xyl/Rpau, *Achromobacter xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans*/Acromobacter *xylosoxidans* subsp. *denitrificans*/Alcaligenes *faecalis* and *Ralstonia paucula*

が感性側に判定される傾向があった。

ブドウ糖非発酵菌の結果を Table 6 に示した。 *P. aeruginosa* の現行法と迅速法の CA は 80~95% の一致率を示した。他のブドウ糖非発酵菌においても高い CA を示したが、 *B. cepacia* 4 株中 1 株は MINO および Levofloxacin (LVFX) においてのみ現行法で感

性、迅速法で中間と乖離を認めた。

Staphylococcus spp. および *Enterococcus* spp. の結果を Table 7 に示した。 *Staphylococcus aureus* の現行法と迅速法の CA は MINO の結果のみ 77% であったが、他の薬剤は 91~100% の CA を示した。 CoNS の現行法と迅速法の CA は LVFX の結果のみ

Table 4. Analysis of isolates indicated indifferent identification between MicroScan combo series and rapid series

Strain No.	Identification		Identification with other biochemical kits	
	MicroScan combo series	MicroScan rapid series	Test name	Identification
FL016	<i>Serratia marcescens</i>	Unknown(very rare biotype)	VITEK GNI+	<i>Serratia marcescens</i>
FL092	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Oligella ureolytica</i>	VITEK GNI+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FL094	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Alsp/Ac.xyl/Rpau ^{a)}	VITEK GNI+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FL095	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Alsp/Ac.xyl/Rpau ^{a)}	VITEK GNI+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FL136	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	VITEK GNI+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FL080	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	VITEK GNI+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FL088	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	VITEK GNI+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FL115	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	VITEK GNI+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FL132	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	VITEK GNI+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FL133	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	VITEK GNI+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
FL158	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus auricularis</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
FL071	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
FL125	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Staphylococcus intermedius</i>
FL153	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Staphylococcus felis</i>
FL156	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Staphylococcus auricularis</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
FL157	<i>Staphylococcus captis</i>	<i>Staphylococcus auricularis</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Staphylococcus captis</i>
FL062	<i>Enterococcus faecium</i>	Unknown (very rare biotype)	BBL CLYSTAL GP	<i>Enterococcus faecium</i>
FL119	<i>Enterococcus faecium</i>	Unknown (very rare biotype)	BBL CLYSTAL GP	<i>Enterococcus faecium</i>
FL063	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Enterococcus faecium</i>
FL146	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pediococcus</i> sp.	BBL CLYSTAL GP	<i>Enterococcus faecium</i>
FL147	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pediococcus</i> sp.	BBL CLYSTAL GP	<i>Enterococcus faecium</i>
FL065	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Enterococcus faecium</i>
FL118	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus durans/hirae</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Enterococcus faecium</i>
FL116	<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	BBL CLYSTAL GP	<i>Enterococcus casseliflavus/gallinarum</i>

^{a)} Alsp/Ac.xyl/Rpau, *Achromobacter xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans*/*Acromobacter xylosoxidans* subsp. *denitrificans*/ *Alcaligenes faecalis* and *Ralstonia paucaula*

77%であったが、他の薬剤は85~100%を示した。*Enterococcus* spp. は17株検討したが、うちVRE 8株中2株は迅速法で *Pediococcus* sp. と同定され、感受性検査結果が出力されなかったため解析対象から除外した。これら15株の現行法と迅速法のCAは80~100%であった。次に、解析から除外した2株のVREを除く残り6株のVREのうち、迅速法で Vancomycin (VCM) および Teicoplanin (TEIC) を感性と判定したものが1株、VCM感性及びTEIC中間と判定したものが1株あったが、全薬剤では80~100%のCAであった。

3. 迅速法の薬剤感受性カテゴリー値出力までの所要時間に関する解析

薬剤感受性カテゴリー値が8時間以内に出力される割合(%)を調査した。腸内細菌群について、各抗菌薬のカテゴリー出力が培養8時間以内に可能であったのは、*E. coli* (CEZ, CAZ除く)、*K. pneumoniae* (CAZ, Meropenem (MEPM)除く) および *C. koseri* (PIPC, CAZ除く) であった。一方、染色体性誘導型

AmpC産生群では測定薬剤のおよそ半数 [Ampicillin (ABPC), PIPC, CTX, Flomoxef (FMOX), MINO] で24~48%程度の結果出力にとどまった (Table 8)。ESBLs産生菌ではすべての薬剤が8時間以内にカテゴリーの出力がなされていた。一方、MBL産生菌ではカテゴリーの出力が8時間以内になされた薬剤は皆無であった (Table 9)。

ブドウ糖非発酵菌群のうち、*P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *B. cepacia* について8時間以内にカテゴリー出力が可能であった薬剤は最も高いものでも50%以内にとどまり、70%以上の結果出力可能な薬剤はなかった。一方、*Acinetobacter* spp. ではMEPMが44%を示した以外は78~100%で結果出力が可能であった (Table 10)。

グラム陽性球菌群について、CoNS以外の菌種は8時間以内に全株数の70%以上でほとんどの抗菌薬でカテゴリーの出力が可能であった。ただし、70%以下であった抗菌薬はOxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* のうち、Arbekacin (ABK) が44%、およ

Table 5. Comparison between MicroScan combo series and rapid series for Enterobacteriaceae

Organism	Antimicrobiol agent	The interpretive category for the MicroScan combo series			No. of category errors				CA (%)
		S	I	R	Minor	Major	Very major	No error	
Chromosomal inducible-AmpC producers (n=29) ^{a)}	Ampicillin	5	1	23		1		28	97
	Piperacillin	3	7	19		3		26	90
	Cefmetazole ^{c)}	4	2	9		1		14	93
	Cefotaxime ^{d)}	5	3	3		2	1	8	73
	Flomoxef ^{b,c)}	8	2	5		3		12	80
	Ceftazidime	10	3	16		1	1	27	93
	Imipenem	27	1	1		1	1	27	93
	Meropenem	28		1		1		28	97
	Gentamicin	21	1	7				29	100
	Amikacin	17	2	10		2		27	93
	Levofloxacin	26	1	2		1		28	97
	Minocycline	18	8	3		7		22	76
	Sulfamethoxazole/Trimethoprim	26		3			1	28	97
<i>Escherichia coli</i> (n=14)	Ampicillin			14				14	100
	Piperacillin	2		12			1	13	93
	Cefazolin	6	1	7	3			11	79
	Cefmetazole	14						14	100
	Cefotaxime	8	1	5	1			13	93
	Flomoxef ^{b)}	14					1	13	93
	Ceftazidime	11	1	2	1			13	93
	Imipenem	14						14	100
	Meropenem	14						14	100
	Gentamicin	11		3				14	100
	Amikacin	14						14	100
	Levofloxacin	4	1	9	2			12	86
	Minocycline	12	1	1	1	1	1	11	79
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	9		5				14	100	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=8)	Piperacillin		2	6	1			7	88
	Cefazolin	2		6		1		7	88
	Cefmetazole	4	1	3	3			5	63
	Flomoxef ^{b)}	5		3				8	100
	Ceftazidime	3		5				8	100
	Imipenem	8						8	100
	Meropenem	5		3				8	100
	Gentamicin	7		1				8	100
	Amikacin	7		1	1			7	88
	Levofloxacin	4		4				8	100
	Minocycline	4	1	3	1			7	88
	Sulfamethoxazole/Trimethoprim	7		1				8	100
	<i>Citrobacter koseri</i> (n=5)	Piperacillin	1	2	2	2			3
Cefazolin		3		2				5	100
Cefotaxime		3		2				5	100
Flomoxef ^{b)}		3		2				5	100
Ceftazidime		3		2				5	100
Imipenem		5						5	100
Meropenem		5						5	100
Gentamicin		3		2				5	100
Amikacin		5						5	100
Levofloxacin		3		2				5	100
Minocycline		3		2				5	100
Sulfamethoxazole/Trimethoprim		3		2				5	100

Abbreviation: CA, Categorical agreement.

^{a)} Including *Citrobacter freundii* (n=5), *Enterobacter aerogenes* (n=4), *Morganella morganii* (n=3), *Serratia marcescens* (n=8), *Enterobacter cloacae* (n=5), and *Providencia rettgeri* (n=4).

^{b)} Use a category of Moxalactum.

^{c)} The interpretive categories were output for strains of *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* and *Providencia rettgeri*.

^{d)} The interpretive categories were output for strains of *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii* and *Providencia rettgeri*.

Table 6. Performance comparison to the panel distinction of glucose non-fermentation bacteria

Organism	Antimicrobiol agent	The result of the current method			No. of category errors				CA (%)
		S	I	R	Minor	Major	Very major	No error	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=40)	Piperacillin	28		12	5	2		33	83
	Ceftazidime	17	5	18	6	2		32	80
	Imipenem	11		29	6			34	85
	Meropenem	14	7	19	2			38	95
	Gentamicin	7	3	30	6	1		33	83
	Amikacin	10		30	3	1		36	90
	Levofloxacin	7	1	32	4	1		35	88
<i>Acinetobacter</i> spp. (n=9)	Ceftazidime	8	1		1			8	89
	Imipenem	9						9	100
	Meropenem	9						9	100
	Minocycline	9						9	100
	Gentamicin	7		2				9	100
	Amikacin	9						9	100
	Levofloxacin	5	4		1			8	89
Sulfamethoxazole/ Trimethoprim	6		3				9	100	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (n=12)	Ceftazidime	2	2	8				12	100
	Minocycline	12						12	100
	Levofloxacin	10	1	1	1			11	92
	Sulfamethoxazole/ Trimethoprim	12						12	100
<i>Burkholderia cepacia</i> (n=4)	Ceftazidime	4						4	100
	Meropenem	4						4	100
	Minocycline	4			1			3	75
	Levofloxacin	4			1			3	75
	Sulfamethoxazole/ Trimethoprim	4						4	100

Abbreviation: CA, Categorical agreement.

び MINO が 0%, Oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* では Oxacillin (MPIPC) が 0%, および *Enterococcus* spp. では Benzylpenicillin (PCG) が 67% を示した (Table 11).

考 察

現行法である MicroScan Pos および Neg シリーズはわが国において、各種自動機器の中で最も使用施設数の多い測定機器である。今回、現行法とは測定原理の異なる MicroScan Rapid plus シリーズを用いて、現行法との成績の一致を評価するとともに、同定感受性試験結果が分離培養実施翌日に報告可能か検討を行った。

1. 迅速法と現行法の同定結果の比較

迅速法の同定一致率はおおむね良好であったが、一部の菌種において現行法と不一致を示すものが認められた。腸内細菌群のうち、*S. marcescens* 1 株 (Strain No. FL016) は WalkAway のデータベース (LabPro ver.3.50) 上には biotype が存在せず同定不能 (Very

rare biotype) であったが、VITEK GNI+カードでは *S. marcescens* として同定された。次に、ブドウ糖非発酵菌群のうち、*P. aeruginosa* の同定一致率は 78% (31/40) にとどまった。現行法と不一致を示した 9 株はすべて VITEK GNI+カードで *P. aeruginosa* と同定された。またコロニーの特徴的な性状により *P. aeruginosa* が正しい菌名であると推察された。これらは低い同定確率で *P. aeruginosa* の菌名出力がされており、このような場合は、*P. aeruginosa* の特徴的な集落性状を目視で再確認することで現行法と迅速法との同定結果の乖離を回避することが可能と思われた。

グラム陽性球菌群について、*S. aureus* の同定一致率は 100% であった。一方、CoNS については種レベルでの同定精度が低く、現行法と迅速法の結果の乖離を認める事例が多かったため、迅速法で検査を行う場合の菌種名は薬剤感受性カテゴリー判定に CLSI 基準を用いた場合、判定基準の異なる *Staphylococcus lugdunensis* 以外は CoNS 群として扱うことが望ましいと判断された。なお、*S. lugdunensis* の同定精度は株

Table 7. Performance comparison to the panel distinction of Gram-positive cocci

Organism	Antimicrobiol agent	The result of the current method			No. of category errors				CA (%)
		S	I	R	Minor	Major	Very major	No error	
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=22)	Benzylpenicillin	2		20				22	100
	Oxacillin	6		16				22	100
	Arbekacin ^{a)}	20		2	1			21	95
	Gentamicin	2		20	2			20	91
	Erythromycin			22				22	100
	Clindamycin	4		18			1	21	95
	Levofloxacin	5		17				22	100
	Minocycline	7	6	9	5			17	77
	Rifampicin	22						22	100
	Linezolid	22						22	100
	Teicoplanin	22						22	100
	Vancomycin	22						22	100
Sulfamethoxazole/ Trimethoprim	21		1				22	100	
Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> spp. (n=13)	Benzylpenicillin	3		10				13	100
	Oxacillin	3		10				13	100
	Arbekacin ^{a)}	13						13	100
	Gentamicin	5		8	2			11	85
	Erythromycin	6		7				13	100
	Clindamycin	11		2				13	100
	Levofloxacin	7		6	3			10	77
	Minocycline	12		1	1	1		11	85
	Rifampicin	13						13	100
	Linezolid	13						13	100
	Teicoplanin	13			1			12	92
	Vancomycin	13						13	100
Sulfamethoxazole/ Trimethoprim	12		1				13	100	
<i>Enterococcus</i> spp. (n=15)	Benzylpenicillin	8		7	3			12	80
	Ampicillin	8		7	1			14	93
	Levofloxacin	4		11				15	100
	Linezolid	15						15	100
	Teicoplanin	9		6	1		1	13	87
	Vancomycin	9		6			1	14	93

Abbreviation: CA, Categorical agreement.

^{a)} Use a category of the gentamicin.

数が少なく明らかにできなかったが、本菌種は CLSI の MIPIC のカテゴリー判定が他の CoNS と異なり、*S. aureus* と同様のカテゴリーを適応するため、迅速法において CoNS のいずれかの菌種として同定され、かつ MIPIC の MIC が 0.5~2 µg/ml を示す株はコロニー性状の確認、コアグラゼ産生試験、およびオルニチンデカルボキシラーゼ産生試験等の追加試験を行い *S. lugdunensis* を確定する必要があると考えられた。*Enterococcus* spp. も同様、属レベルでの一致率は高かったが、種レベルの同定は大きく乖離した。今回の検討で、現行法で *Enterococcus faecium* と同定された 2 株が迅速法で *Pediococcus* sp. と同定された (Table 4, Strain No. FL146, 147)。これは本来陽性を

示す¹⁰⁾ サッカロース分解 (SUC) およびマンニトール分解 (MAN) が陰性と判定されたためであると考えられた。さらに同定不能 (Very rare biotype) となった株が 2 株 (Strain No. FL062, 119) あった。これら 2 株は現行法および BD BBLCRYSTAL GP で *E. faecium* と同定されていた。*E. faecium* ではフルクトース分解 (FLU)、グルコース分解 (GLU)、マルトース分解能 (MAL)、サリシン分解能 (SAL) はいずれも陽性を示すが、これらの性状がすべて陰性を示したため、同定不能 (Very rare biotype) と出力されたと考えられた。また、*Enterococcus* spp. の生化学的性状を用いた同定に重要なキーとなるアラビノース分解試験が Rapid plus パネルに含まれていないことも同定

Table 8. The time required to reading according to Enterobacteriaceae

Organism	Antimicrobiol agent	No. of output of categorical interpretation each reading time						% isolate output within 8 hours	
		4.5 h	5.5 h	6.5 h	8 h	10 h	12 h		18 h
Chromosomal inducible-AmpC producers (<i>n</i> =29) ^{a)}	Ampicillin		5	5	4	1		14	48
	Piperacillin	4	1	2	5	1		16	41
	Cefmetazole ^{b)}		2	6	6			1	93
	Cefotaxime ^{c)}		1	1	1			8	27
	Flomoxef ^{b)}		2	3	1			9	40
	Ceftazidime	10	5	7	6		1		97
	Imipenem	7	8	6	8				100
	Meropenem	6	6	7	8			2	93
	Gentamicin	10	5	4	5			5	83
	Amikacin	10	6	4	4			5	83
	Levofloxacin	10	6	7	6				100
Minocycline	3		2	2		1	21	24	
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	10	6	6	5			2	93	
<i>Escherichia coli</i> (<i>n</i> =14)	Ampicillin	9	4					1	93
	Piperacillin	4	4		2	2		2	71
	Cefazolin	5	2					7	50
	Cefmetazole	11	3						100
	Cefotaxime	8	4		1			1	93
	Flomoxef	11	3						100
	Ceftazidime	1	3		1	1		8	36
	Imipenem	11	3						100
	Meropenem	9	4					1	93
	Gentamicin	9	5						100
	Amikacin	7	7						100
Levofloxacin	11	3						100	
Minocycline	10	3	1					100	
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	9	4					1	93	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>n</i> =8)	Piperacillin	5		1				2	75
	Cefazolin	6			1			1	88
	Cefmetazole	7		1					100
	Flomoxef	6					1	1	75
	Ceftazidime		1	1		1		5	25
	Imipenem	8							100
	Meropenem	5						3	63
	Gentamicin	6	2						100
	Amikacin	4	3	1					100
	Levofloxacin	8							100
	Minocycline	6	1					1	88
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	8							100	
<i>Citrobacter koseri</i> (<i>n</i> =5)	Piperacillin		1	1	1	1		1	60
	Cefazolin		2	2				1	80
	Cefotaxime		3	2					100
	Flomoxef		3	2					100
	Ceftazidime		2	1		1		1	60
	Imipenem		2	2	1				100
	Meropenem		1	2	1	1			80
	Gentamicin		3	2					100
	Amikacin		3	1		1			80
	Levofloxacin		3	2					100
	Minocycline		3	2					100
Sulfamethoxazole/Trimethoprim		3	2					100	

^{a)} Including *Citrobacter freundii* (*n*=5), *Enterobacter aerogenes* (*n*=4), *Morganella morganii* (*n*=3), *Serratia marcescens* (*n*=8), *Enterobacter cloacae* (*n*=5) and *Providencia rettgeri* (*n*=4).

^{b)} Output category is *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* and *Providencia rettgeri*.

^{c)} Output category is *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii* and *Providencia rettgeri*.

Table 9. The time required to reading according to extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and metallo- β -lactamases (MBL) producer

Organism	Antimicrobiol agent	No. of output of categorical interpretation each reading time							% isolate output within 8 hours
		4.5 h	5.5 h	6.5 h	8 h	10 h	12 h	18 h	
ESBLs-producing of <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=5)	Ampicillin ^{a)}	1	2						100
	Piperacillin	3	2						100
	Cefazolin	4	1						100
	Cefmetazole	4	1						100
	Cefotaxime ^{a)}	1	2						100
	Flomoxef	4	1						100
	Ceftazidime	3	2						100
	Imipenem	4	1						100
	Meropenem	3	2						100
	Gentamicin		5						100
	Amikacin	4	1						100
	Levofloxacin	4	1						100
	Minocycline	4	1						100
	Sulfamethoxazole/Trimethoprim	3	2						100
MBL-producing of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=5)	Piperacillin					3	1	1	0
	Ceftazidime							5	0
	Imipenem					3	1	1	0
	Meropenem					3	1	1	0
	Gentamicin							5	0
	Amikacin					1	1	3	0
Levofloxacin					3	1	1	0	

^{a)} The interpretive category of *Klebsiella pneumoniae* strains was not output.

Table 10. The time required to reading according to glucose non-fermentation bacteria species

Organism	Antimicrobiol agent	No. of output of categorical interpretation each reading time							% isolate output within 8 hours
		4.5 h	5.5 h	6.5 h	8 h	10 h	12 h	18 h	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=40)	Piperacillin				6	20	3	11	15
	Ceftazidime				8	12	4	16	20
	Imipenem				1	13	2	24	3
	Meropenem				2	9	1	28	5
	Gentamicin				11	22	2	5	28
	Amikacin				4	24	2	10	10
	Levofloxacin				11	22	2	5	28
<i>Acinetobacter</i> spp. (n=9)	Ceftazidime		1	7			1		89
	Imipenem		1	8					100
	Meropenem		1	3				5	44
	Minocycline		1	4	3			1	89
	Gentamicin		1	8					100
	Amikacin		1	4	2	1		1	78
	Levofloxacin		1	8					100
Sulfamethoxazole/Trimethoprim		1	8					100	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (n=12)	Ceftazidime				1	7	2	2	8
	Minocycline				1	4		7	3
	Levofloxacin				1	9	2		3
	Sulfamethoxazole/Trimethoprim				1	9	2		3
<i>Burkholderia cepacia</i> (n=4)	Ceftazidime				2	2			50
	Meropenem				2	2			50
	Minocycline					1		3	0
	Sulfamethoxazole/Trimethoprim				1	3			25

Table 11. The time required to reading according to species of Gram-positive cocci

Organism	Antimicrobiol agent	No. of output of categorical interpretation each reading time						% isolate output within 8 hours
		4.5 h	5.5 h	6.5 h	8 h	12 h	18 h	
Oxacillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (n=16)	Benzylpenicillin			15	1			100
	Oxacillin			14	1		1	94
	Arbekacin			6	1	1	8	44
	Gentamicin		11	4	1			100
	Erythromycin		12	3	1			100
	Clindamycin		10	5	1			100
	Levofloxacin		12	3	1			100
	Minocycline					1	15	0
	Rifampicin		12	3	1			100
	Linezolid				15	1		100
	Teicoplanin				15	1		100
	Vancomycin				15	1		100
Sulfamethoxazole/ Trimethoprim				15	1		100	
Oxacillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (n=6)	Benzylpenicillin			6				100
	Oxacillin						6	0
	Arbekacin			5	1			100
	Gentamicin		2	4				100
	Erythromycin		3	2	1			100
	Clindamycin			3	2	1		83
	Levofloxacin		5	1				100
	Minocycline			6				100
	Rifampicin			6				100
	Linezolid		5	1				100
	Teicoplanin			6				100
	Vancomycin			6				100
Sulfamethoxazole/ Trimethoprim			6				100	
Oxacillin-resistant Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> spp. (n=9)	Benzylpenicillin			2	4		3	67
	Oxacillin			1	6		2	78
	Arbekacin			2	6		1	89
	Gentamicin			1	5	1	2	67
	Erythromycin			1	7		1	89
	Clindamycin			1	2		6	33
	Levofloxacin			2	4		3	67
	Minocycline			2	6		1	89
	Rifampicin			2	3		4	56
	Linezolid			2	6		1	89
	Teicoplanin			2	4		3	67
	Vancomycin			2	6		1	89
Sulfamethoxazole/ Trimethoprim			1	3	1	4	44	
Oxacillin-susceptible Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> spp. (n=4)	Benzylpenicillin				3	1		75
	Oxacillin				1		3	25
	Arbekacin				3	1		75
	Gentamicin				3	1		75
	Erythromycin				3	1		75
	Clindamycin					3	1	0
	Levofloxacin				3	1		75
	Minocycline				3	1		75
	Rifampicin					3	1	0
	Linezolid				3	1		75
	Teicoplanin				3	1		75
	Vancomycin				3	1		75
Sulfamethoxazole/ Trimethoprim				3	1		75	
Vancomycin-susceptible <i>Enterococcus</i> spp. (n=9)	Benzylpenicillin			5	2		2	78
	Ampicillin			5	2		2	78
	Levofloxacin			5	2		2	78
	Linezolid			5	2		2	78
	Teicoplanin			5	2		2	78
	Vancomycin			4	2		3	67
Vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i> spp. (n=6)	Benzylpenicillin			5			1	71
	Ampicillin		3	2			1	71
	Levofloxacin		3	2			1	71
	Linezolid			5			1	71
	Teicoplanin		1	4			1	71
	Vancomycin					5	1	71

不能 (Very rare biotype) となる要因の一つと考えられた¹⁰⁾.

2. 迅速法と現行法の薬剤感受性結果の比較

薬剤感受性検査のカテゴリー一致率についてはおおむね良好であったが、染色体性誘導型 AmpC 産生株において CTX, MINO, *E. coli* において CEZ および MINO, *K. pneumoniae* において CMZ, *P. aeruginosa* において CAZ, *Staphylococcus* spp. において MINO, VRE において VCM ならびに TEIC の組み合わせなど、菌種と一部の抗菌薬の組み合わせで現行法と迅速法で低い CA を示した。VRE は *E. faecium* の *vanA* 保有株において、迅速法で VCM の MIC 4 $\mu\text{g/ml}$, TEIC の MIC 8 $\mu\text{g/ml}$ と出力し、通常の VCM や TEIC に感性 (MIC $\leq 1 \mu\text{g/ml}$) を示す株より MIC は上昇していた。実際に迅速法で運用する場合は、VCM や TEIC の MIC 値が通常の MIC より高い MIC 値を示した場合は、結果出力時に LabPro アラート機能 (菌種名と薬剤感受性パターンが異常と判断された場合には技師に警告をする仕組み) を設定しておくことにより、VRE を疑うことは可能と判断した。*E. coli* や *K. pneumoniae* において、セフェム系薬, MINO および LVFX については現行法より迅速法の方が MIC は低めに測定され、Very major error あるいは Minor error を少なからず認めた。また、現行法で CLDM 耐性を示した *S. aureus* 18 株中 1 株が迅速法で感性と判定され、Very major error を認めた。このほか、現行法で VCM および TEIC 耐性を示した *Enterococcus* spp. 1 株、染色体性誘導型 AmpC 産生株で CTX, CAZ, Imipenem (IPM), Sulfamethoxazole/Trimethoprim (ST) で耐性を示した計 4 株、および *E. coli* で PIPC, FMOX, MINO で耐性を示した計 3 株についても迅速法で感性と判断され Very major error を認めた。このような事例が発生した要因として、迅速法では耐性機構が発現してブロスが混濁する以前に機器による最終読み取りが行われている可能性が考えられた。その裏づけとして、迅速法のパネルを現行法と同様の培養時間まで延長した場合、迅速読み取りの段階で感性と判定されていた薬剤はすべて目視により耐性と判定された。すなわちこれら MIC の乖離は、濁度変化を相対的に比較して MIC を算出する迅速法のロジックに起因していると判断された。

3. 迅速法の同定および薬剤感受性試験結果出力までの所要時間

迅速法の同定結果を得るまでの所要時間は、グラム陰性桿菌では 2.5 時間後、グラム陽性球菌では 2 時間後となり、現行法と比較して飛躍的に短時間で結果報

告が可能となった。薬剤感受性検査結果は、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp., および MIPIC 耐性 *Staphylococcus* spp. では現行法と比較して培養開始 8 時間以内にほとんどの抗菌薬感受性結果が出力され、迅速法を用いることにより分離培養実施翌日には同定菌名および薬剤感受性検査結果の報告が可能であった。また ESBLs 産生菌もすべてのカテゴリーが 5.5 時間以内に出力され、分離培養実施翌日には同定菌名およびカテゴリーの報告に加え、ESBLs 産生菌の可能性が報告可能であることが判明した (Table 9)。一方、*Acinetobacter* spp. を除くブドウ糖非発酵菌 (*P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, および *B. cepacia*) や、染色体性誘導型 AmpC 産性腸内細菌 (*Enterobacter* spp., *Serratia* spp. など) について、菌株と薬剤の組み合わせの違いで感受性結果の出力時間が大きく異なり、8 時間以上の培養時間を必要とする菌株が少なからず存在した (Table 8, 10)。MIPIC 耐性 *S. aureus* は ABK および MINO を除き 8 時間以内にすべての抗菌薬で高率にカテゴリー判定がなされていた。CoNS について MIPIC 耐性 CoNS は 44~89% と薬剤ごとでカテゴリーの出力時間にはらつきを認めた。MIPIC 感性 *Staphylococcus* spp. では、すべての株に対して 18 時間後に MIPIC が判定されるロジックであるため、MIPIC のデータで変換される β -ラクタム薬の成績は、現行法と同様すべて 18 時間後でのカテゴリーの報告となった。また、MIPIC 感性 CoNS において 1 株 (Strain No. FL152) のみ 8 時間で MIPIC のカテゴリーが出力されていた。この株は現行法ならびに迅速法ともに *S. lugdunensis* と同定された株であり MIC 値が 2 $\mu\text{g/ml}$ を示した株であった。MIPIC 以外のカテゴリー出力について CoNS は株数が 4 株と少なく一定の傾向は見いだせなかった。MIPIC 耐性 CoNS の結果出力の割合は 33~89% と薬剤ごとで大きく異なった (Table 11)。また迅速法において本来 *Enterococcus* sp. であるが *Pediococcus* sp. と誤同定された 2 株 (Table 4, Strain FL146, 147) は、迅速法では *Pediococcus* sp. と同定された段階で対象外菌とシステム上判断されてしまい、薬剤感受性検査の測定が強制中断となり、翌日にも感受性測定結果を得ることができなかった。本件については、たとえ誤同定で測定対象外菌と判定されたとしても薬剤感受性検査の測定が継続できるシステムの改修が望まれる。

4. 迅速法の薬剤感受性カテゴリー値出力までの所要時間に関する解析

迅速法の薬剤感受性検査のカテゴリー値が得られる

までの所要時間は、培養開始 4.5 時間以降は抗菌薬ごとに順次報告が可能となる仕組みとなっている。今回の検討では、腸内細菌群が他の菌属の中で最も早くカテゴリ値の出力が行われた。特に 8 時間以内に 70% 以上のカテゴリ値が出力される薬剤数が多かったのが *E. coli* (14 薬剤中 12 薬剤), *K. pneumoniae* (12 薬剤中 10 薬剤) および *C. koseri* (12 薬剤中 10 薬剤) であった。一方、染色体性誘導型 AmpC 産生株である *S. marcescens* や *Enterobacter* spp. などの菌種は 13 薬剤中 7 薬剤が 8 時間以内に 70% 以上のカテゴリ値を出力したが、特に β -ラクタム剤の結果出力は *E. coli* などと比較して遅く、8 時間以内に出力したカテゴリ値は 50% 未満にとどまった。また、ESBLs 産生菌は 5.5 時間以内にすべての薬剤のカテゴリ値が出力されていることから、分離培養翌日に ESBLs 確認試験を行うことが可能である。一方、MBL 産生菌 *P. aeruginosa* では、8 時間以内に出力されるカテゴリ値はなく、MBL 確定には現行法と同等の時間を要することが判明した (Table 9)。*Acinetobacter* spp. 以外のブドウ糖非発酵菌は、8 時間以内に 70% 以上カテゴリ値の出力が認められるものはなかった。MIPIC 耐性 *S. aureus* は 94%、MIPIC 耐性 CoNS においても 78% のカテゴリ値出力がなされたことから、8 時間以内に結果出力がなされていない場合は MIPIC 感性株の可能性があると判断可能であることが示唆された。*Enterococcus* spp. は上述したとおり VRE の判定方法には問題があったが、Vancomycin-susceptible *Enterococcus* spp., VRE とともにその他薬剤のカテゴリ値の出力は PCG を除き 8 時間までに 70% 以上のカテゴリ値出力が行われた。

筆者らの成績から迅速法の性能をまとめると、迅速同定としてはすべての菌種や菌属が 2.5 時間以内に同定可能であり、集落性状と同定結果の整合性を注意深く行うことにより精度の高い同定検査を行うことが可能であった。感受性カテゴリ値の一致性は、*E. coli* における CEZ および MINO, *K. pneumoniae* における CMZ, *P. aeruginosa* における CAZ, *Staphylococcus* spp. における MINO, *Enterococcus* spp. における VCM ならびに TEIC において現行法と迅速法で低い CA を示したが、その他の菌種と薬剤の組み合わせにおいてはおおむね良好であった。分離培養実施翌日中に薬剤感受性検査結果の報告が可能かの検証を行った結果、ブドウ糖非発酵菌 (*Acinetobacter* spp. を除く) を除くすべての菌種について株ごとに若干の差は認め

るものの分離培養実施翌日以内に迅速報告が可能であることが明らかとなり、起炎菌の迅速同定ならびに迅速な治療薬選択に有益な情報を提供するツールとなれるものと判断した。

文 献

- 1) 三澤慶樹. 2006. 細菌自動同定・感受性機器の現状と問題点. pp.163-174. 臨床微生物学 (感染症学) に関する基礎知識—認定臨床微生物検査技師への道しるべ—, 臨床病理レビュー特集第 134 号, 臨床病理刊行会, 東京.
- 2) 中島由佳理, 永沢善三, 草場耕二, 他. 2010. 各種 ATCC 株を用いたマイクロスキャン Rapid plus シリーズの性能評価. 臨床と微生物 37: 73-80.
- 3) 湯浅 眸, 品川雅明, 古谷大輔, 他. 2010. 血液培養における「マイクロスキャン Rapid plus シリーズ」の有用性に関する検討. 日本臨床検査自動化学会誌 35: 365-369.
- 4) Munro, S., R. M. Mulder, M. Fraham, et al. 2003. Evaluation antimicrobial susceptibility test systems. p.5.17.1-5.17.11. In: Clinical Microbiology Procedures Handbook 2nd ed. (H. D. Isenberg, ed.), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 5) MacFaddin, J. F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria 3rd ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- 6) Jarlier, V., M. H. Nicolas, G. Fournier, et al. 1998. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: Hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev. Infect. Dis. 10: 867-878.
- 7) Shibata, N., Y. Doi, K. Yamane, et al. 2003. PCR typing of genetic determinants for metallo- β -lactamases and integrases carried by Gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. J. Clin. Microbiol. 41: 5407-5413.
- 8) Dutka-malen, S., S. Evers, P. Courvalin. 1995. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant Enterococci by PCR. J. Clin. Microbiol. 33: 24-27.
- 9) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement. Wayne, Pa.
- 10) Maneno A., A. R. Blanch, 1999. Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. Appl. Environ. Microbiol. 65: 4425-4443.

Evaluation of MicroScan Rapid plus Series for Rapid Identification and Rapid Susceptibility Testing

Kiyoko Katoh, Masaru Komatsu, Jyunpei Okada, Kimika Murakami,
Koji Matsuoka, Takuya Maede

Technical Section 3, Central Laboratory, FALCO Biosystems Ltd.

MicroScan Rapid plus series is a 2.5-h identification and rapid susceptibility test system. Its accuracy was evaluated by using 173 clinical isolates encompassing 13 genera and 24 species. The results of rapid series were compared with MicroScan Dried Overnight panel that was a conventional method. Both series panels were tested by MicroScan WalkAway 96 SI. The agreement rate of identifications were as follows: *Enterobacteriaceae* ($n=56$), 98%; glucose non-fermenting gram-negative rod ($n=65$), 86%; *Staphylococcus aureus* ($n=22$), 100%; *Staphylococcus* sp. other than *S. aureus* ($n=13$), 54%; *Enterococcus* sp. ($n=17$), 53%. The agreement rate of interpretive criteria for susceptibility test was indicated 80% or higher. The output time of interpretive criteria for susceptibility test was 4.5-h at the maximum time in which case of *Enterobacteriaceae*. It appears that the rapid series is a reliable system for rapid identification and susceptibility test.