

[原 著]

各種MRSAスクリーニング培地の比較検討評価

木村圭吾¹⁾・豊川真弘¹⁾・西 功¹⁾・砂田淳子¹⁾
 上田安希子¹⁾・坂田友美¹⁾・井上依子¹⁾・浅利誠志²⁾

¹⁾大阪大学医学部附属病院臨床検査部

²⁾大阪大学医学部附属病院感染制御部

(平成24年4月19日受付, 平成24年9月18日受理)

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)スクリーニング培地であるBrilliance MRSA2 (Brilliance, Thermo Fisher), CHROMagar MRSA (CHROM, 関東化学) およびMDRS-K (極東製薬) の鼻腔内分泌物からのMRSA検出における有用性を比較検討した。3培地中いずれか一つでもMRSAが検出された検体をMRSA陽性検体, いずれの培地でも検出されなかった検体をMRSA陰性検体と定義したときのsensitivity/specificity/positive predictive value (PPV)/negative predictive value (NPV)は, 24 h判定でBrillianceがそれぞれ85.5%/99.7%/96.4%/98.8%, CHROMが87.1%/100%/100%/98.9%, MDRS-Kが85.5%/100%/100%/98.8%であり, 24 h判定ではこれら3培地に統計学的有意差を認めなかった。一方, 培養48 hで初めて検出されたMRSAがBrillianceで1検体, CHROMで2検体, MDRS-Kで4検体認められ, 48 h判定ではいずれの培地においても検出感度の向上が認められたが, Brillianceでは11検体, CHROMでは1検体のMethicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA)の発育が認められた。48 h判定のsensitivity/specificity/PPV/NPVは, Brilliance; 87.1%/98.5%/83.1%/98.9%, CHROM; 90.3%/99.9%/98.2%/99.2%, MDRS-K; 91.9%/100%/100%/99.3%であった。一方, borderline MRSA株およびsmall colony variant (SCV) MRSA株を用いた評価では, 3培地への発育が不良なSCV株を1株認めたが, 他の株は3培地間で発育能・判別能に差を認めなかった。これらMRSAスクリーニング培地を使用する際にはそれぞれの培地の特性を十分に把握し, sensitivity・specificityを高く維持できるよう, 適切に使用する必要があると思われた。

Key words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Brilliance MRSA2, CHROMagar MRSA, MDRS-K

序 文

2005年, 米国では病院感染により18,650名の入院患者がMethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)により死亡したと報告されており¹⁾, 今やMRSA感染症の脅威は世界中に拡大している。さらに近年は, Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA)による市中での感染も大き

く問題視されており, 2006年には小児肺炎による死亡例が国内で初めて確認されており²⁾, 日本も例外ではない。

MRSA保菌者は, 自身のMRSA感染症発症リスクを有するのみならず, 院内感染伝播の感染源となりうる。このため, 入院前および術前のMRSAスクリーニング検査によりMRSA保菌者を特定することは, 適切な院内感染対策の実施や術後MRSA感染症発症予防対策において極めて重要である³⁾。

MRSAスクリーニング検査には, MRSA検出率の最も高い鼻腔内分泌物が検査材料として用いられることが多い³⁻⁵⁾。検査法はMRSAスクリーニング培地を用いた培養法と, PCRを中心とした遺伝子検査法とに大きく二分される。迅速で高感度な種々の遺伝子検査

著者連絡先: (〒565-0871) 吹田市山田丘2-15
 大阪大学医学部附属病院臨床検査部
 木村圭吾
 TEL: 06-6879-6680
 FAX: 06-6879-6683
 E-mail: kimura-keigo@hp-lab.med.osaka-u.ac.jp

法が開発されMRSAスクリーニング検査に利用されているが、遺伝子検査は高コストであることから、全施設・全患者を対象にした実施が推奨されているわけではない⁵⁾。また、時として偽陽性・偽陰性となりうるため、培養法との併用が必要であるとの意見もあり^{6,7)}、その有用性は現在も議論の渦中である⁸⁾。

培養法を用いたスクリーニング検査において、MRSA検出を目的とした選択培地は極めて有用であり多用されている。近年では、特に発色基質を含む培地(chromogenic media)の開発が目覚ましく、MRSAに限らず酵母状真菌や血清型の異なる腸管出血性大腸菌など種々の細菌の検出を目的とした培地が開発されている⁹⁾。現在、国内では3種類のMRSA検出用chromogenic mediaが市販されているが、これらの有用性を比較した国内論文は見当たらない。今回、Brilliance MRSA2 (Brilliance, Thermo Fisher)とCHROMagar MRSA (CHROM, 関東化学)の2種のchromogenic mediaを選択し、マンニト卵黄ベースの選択培地であるMDRS-K (極東製薬)を加え、3種のスクリーニング培地に関して鼻腔内分泌物からのMRSA検出における有用性を比較検討した。

対象および方法

1. 対象検体と比較検討培地

2011年5月から7月までの3カ月間に、当検査室にMRSAスクリーニングを目的に提出された鼻腔内分泌物810検体(患者の重複なし)を対象とした。

MRSAスクリーニング培地としてBrilliance, CHROM, MDRS-Kの3種類を用い、非選択培地として5%ヒツジ血液寒天培地(TSA-2, 極東製薬)を用いた。MRSAは、Brilliance上では青色コロニー、CHROM上ではふじ色(薄い紫色)コロニー、MDRS-K上では黄色でかつ卵黄反応を呈するコロニーをそれぞれ形成する(Fig. 1)。

2. Miles & Misra法による評価培地の発育支持能試験

典型的なコロニー性状・薬剤感受性パターンを示すMRSA1株, MSSA (ATCC29213) 1株, borderline MRSA¹⁰⁾ (*mecA* 遺伝子を有するがoxacillinに対しては低度耐性を示すMRSA) 2株およびsmall colony variant¹¹⁾ (SCV, 抗菌薬使用により生じた変異株で小型コロニーを形成する*S. aureus*) MRSA 2株を用いて、評価培地の発育支持能試験を行った(ATCC29213株を除く各菌株は、当検査室で過去に分離された保存株を使用した)。菌液は、滅菌生理食塩水で濁度計(MicroScan Turbidity Meter, SIEMENS)を用いて同一濁度に調整し、その後 10^{-1} から 10^{-7} まで段階希釈した。各菌株の菌液希釈系列を用い、Miles & Misra法¹³⁾による培地評価試験を実施した。すなわち、各菌株の菌液希釈系列より $10 \mu\text{l}$ ずつを3種のスクリーニング培地およびTSA-2に滴下し、 35°C (TSA-2は $5\% \text{CO}_2$)で $24 \text{ h} \cdot 48 \text{ h}$ 培養後、発育した菌数を確認した。

3. 検体の接種と培養

採取後の鼻腔内分泌物は、 $300 \mu\text{l}$ の滅菌生理食塩水含有の15 ml滅菌試験管に挿入し、ポルテックスにて10秒間攪拌後に得られた懸濁液を検査材料とした。4種類の培地にピペットを用いてそれぞれ $50 \mu\text{l}$ ずつ滴下し、画線培養を行った。このとき、塗布材料ならびに各培地成分を他の培地へ持ち越さぬよう、白金耳は1枚の培地に画線するごとに火炎滅菌した。

Brilliance, CHROMおよびMDRS-Kは 35°C 好気条件下で培養し、TSA-2は 35°C $5\% \text{CO}_2$ 下で培養した。

4. MRSA確認試験

培養24 hもしくは48 h後に3種のスクリーニング培地上に発育したMRSA様コロニーについては、まず、発育の認められたすべての培地より少なくとも1コロニーを釣菌し血液寒天培地へサブカルチャーした後、コアグラウゼ試験(ブドウ球菌キット スタフォー



Fig. 1. MRSA colonies of each culture mediums.

レックス、三菱化学メディエンス)を実施することにより *S. aureus* であるか否かを確認した。さらに、*S. aureus* と確認された分離株は、Microscan Pos Combo Panel 3.1J (SIEMENS)を用いた薬剤感受性試験を実施することにより、MRSAか否かを同定した(ただし、複数のスクリーニング培地より *S. aureus* が分離された場合は、それらのうち1株を対象にMicroscanパネルを用いて薬剤感受性試験を実施した)。菌液調整はプロンプト法により行い、MRSAの判定はCLSIの基準(oxacillin \geq 4 and/or cefoxitin \geq 8)に従った。一方、3培地いずれにもMRSA様コロニーが発育せず、TSA-2にのみ *S. aureus* 様コロニーが発育した場合には、コアグラウゼおよびPenicillin Binding Protein (PBP) 2'の確認試験(MRSA-LA「生研」、デンカ生研)を実施しMRSAか否かを判定した。

5. 評価培地のMRSA検出成績の比較法

本研究では48h培養後の判定において評価対象3培地のいずれか一つでもMRSAが検出された検体をMRSA陽性検体、いずれの培地でもMRSAが検出されなかった検体をMRSA陰性検体と定義し、Brilliance, CHROM, MDRS-Kの各培地における sensitivity/specificity/positive predictive value (PPV)/negative predictive value (NPV)を求めた。なお、各種MRSAスクリーニング培地において、MRSA様コロニーが発育したがMicroscanパネルによる同定検査によりMSSAであることが判明した場合を該当培地の偽陽性、他のMRSAスクリーニング培地またはTSA-2にのみMRSAが発育した場合を該当培地の偽陰性と定義した¹²⁾。

6. 有意差検定

有意差検定は統計用ソフト(StatFlex version 5.0, アーテック)を使用し、 χ^2 独立性の検定およびYates'補正(10未満のデータが存在する場合)により実施した。また p 値が0.05以下を有意と判定した。

7. 倫理的配慮

本検討は、国立大学法人大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会の承認のもとに実施された。

結 果

1. 24h判定における3培地のMRSA検出能の比較成績(Table 1)

48h培養後の最終判定において3培地いずれか一つでもMRSAが検出された検体をMRSA陽性検体(62検体-マンニット非分解のMRSAが検出された1検体を含む)、いずれの培地でもMRSAが検出されなかった検体をMRSA陰性検体(748検体)としたときのBrilliance, CHROM, MDRS-Kの各培地におけるMRSA

検出成績を示した。なお、TSA-2でのみMRSAが検出された検体は今回の検討では認められなかった。すなわち、TSA-2にのみ発育した *S. aureus* 様コロニーは、コアグラウゼおよびPBP2'の確認試験により、すべてMethicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA)であることを確認した。

24h判定では、MRSAが検出された全62検体中Brilliance, CHROM, MDRS-KそれぞれのMRSA陽性検体数は53検体、54検体、53検体、一方、MRSA陰性全748検体中Brilliance, CHROM, MDRS-KそれぞれのMRSA陰性検体数は746検体、748検体、748検体であった。すなわち、MRSA様コロニーであったが、Microscanパネルによる同定検査によりMSSAであることが判明した偽陽性検体が、Brillianceにおいて2検体あった。これらを元に3培地における24h判定での sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV)を算出したが、24h判定ではそれぞれの値に統計学的有意差は認められなかった。

2. 48h判定における3培地のMRSA検出能の比較成績(Table 1)

48h判定では、Brilliance, CHROM, MDRS-KそれぞれのMRSA陽性検体数は54検体、56検体、57検体であり、24h判定よりもそれぞれ1検体、2検体、4検体増加した。48h判定におけるBrilliance, CHROM, MDRS-KそれぞれのMRSA陰性検体数は737検体、747検体、748検体であり、MDRS-Kは24h判定と同様であったが、BrillianceおよびCHROMではそれぞれ9検体および1検体減少した。すなわち、MRSA様コロニーであったが、Microscanパネルによる同定検査によりMSSAであることが判明した偽陽性検体が、Brillianceにおいて9検体、CHROMにおいて1検体あった。48h判定における sensitivity, specificity, PPV, NPVを算出したところ、48h判定ではBrillianceの specificityとPPVがCHROM, MDRS-Kのそれに比し有意に低い($p < 0.05$)結果となった。

3. 3培地間でMRSA検出に差が認められた検体における検出株の解析結果

3培地間でMRSA検出に乖離が認められた検体は12検体あり、検出菌量はすべて10コロニー未満(< 10)であった(Table 2)。3培地における典型的MRSAコロニー(Fig. 1)に比し、コロニーの大きさが小さく着色が薄いことより、MRSAの判定が困難であった場合($< 10^*$)が存在した。この培地間の乖離が、検出菌株の性質の差によるものか否かを評価するため、これら12検体から分離されたMRSA12株の各種MRSAスク

Table 1. Comparison of Brilliance MRSA2, CHROMagar MRSA, and MDRS-K test results with MRSA positive and negative results

Incubation period (h)	Culture medium		MRSA positive ^a	MRSA negative ^b	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)
24	Brilliance MRSA2 (Brilliance)	Positive ^c	53	2	85.5	99.7	96.4	98.8
		Negative ^d	9	746				
	CHROMagar MRSA (CHROM)	Positive	54	0	87.1	100	100	98.9
		Negative	8	748				
	MDRS-K	Positive	53	0	85.5	100	100	98.8
		Negative	9	748				
48	Brilliance MRSA2 (Brilliance)	Positive	54	11	87.1	98.5	83.1	98.9
		Negative	8	737				
	CHROMagar MRSA (CHROM)	Positive	56	1	90.3	99.9	98.2	99.2
		Negative	6	747				
	MDRS-K	Positive	57	0	91.9	100	100	99.3
		Negative	5	748				

^a MRSA positive, MRSA was isolated at 48 h of incubation on at least one medium.

^b MRSA negative, MRSA was not isolated at 48 h of incubation on all mediums.

^c Positive, MRSA was isolated.

^d Negative, MRSA was not isolated.

*¹ $p=0.009$, *² $p=0.002$, *³ $p=0.01$, *⁴ $p=0.003$

Table 2. Disagreement samples among the results of Brilliance MRSA2, CHROMagar MRSA and MDRS-K

No.	Brilliance MRSA2 (Brilliance)		CHROMagar MRSA (CHROM)		MDRS-K	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
1	<10	<10	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	<10
3	—	—	—	<10	—	—
4	—	—	—	—	<10*	<10
5	—	—	—	—	<10*	<10
6	—	—	—	—	<10*	<10*
7	—	—	<10	<10	<10	<10
8	<10	<10	<10	<10	—	—
9	<10	<10	—	—	<10	<10
10	—	—	—	<10*	—	<10*
11	—	—	<10*	<10	—	—
12	—	<10*	<10	<10	—	—

<10*: Colony size is small and color is light, therefore it's difficult to determine

<10: Typical MRSA colonies

—: MRSA is Negative

Table 3. Comparison of Brilliance MRSA2, CHROMagar MRSA, and MDRS-K test results with detection of bacteria other than MRSA

Colony morphology	Brilliance MRSA2 (Brilliance)		CHROMagar MRSA (CHROM)		MDRS-K	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
MRSA-like colonies ^a	2	41	0	26	0	2
Others ^b	125	354	97	355	360	422

^a MRSA-like colonies: growth bacteria other than MRSA which indicate MRSA-like colonies.

^b Others: growth bacteria other than MRSA which are not MRSA-like colonies.

リーニング培地における発育性（3培地各々に発育可能か否か）を確認した。再培養後の菌液（ $1.0 \sim 1.5 \times 10^4$ CFU）を3培地に接種したところ、12株中11株（Nos. 1～11）は3種類すべての培地に良好に発育し、典型的なMRSA様コロニーを呈した。残り1株（No. 12）は3種類すべての培地への発育が不良（微小コロニー）であり、48 h判定においてもMRSAとは判別困難な非典型的なコロニーであった。

4. 3培地におけるMRSA以外の菌の発育状況

3培地において、MRSA以外の菌が発育した検体数をTable 3に示した。MRSAコロニーと類似したコロニーを形成するMRSA以外の菌については、coagulase negative staphylococcus (CNS)やCorynebacterium sp.が多く、48 h判定においてBrillianceおよびCHROM上でより多く発育する傾向が認められた。一方、MRSA以外の菌のうちMRSAコロニーとは明らかに異なるコロニーを形成する菌については、24 h判定においてMDRS-K上で最も多く認められ、48 h判定ではいずれの培地もその発育数が増加した。

5. Miles & Misra法による評価培地の発育支持能試験結果

典型的な生化学性状・コロニー性状を示すMRSA株およびborderline MRSA株を用いたMiles & Misra法による検討では、3種の培地の発育能や判別能、コロニーの大きさに差は認められず、いずれの培地も同等の発育支持能であった。一方、SCV MRSA株を用いた検討では、発育能に差は認められなかったが、試験に用いた2株のうち1株はBrillianceおよびCHROMではコロニーの着色がやや淡く、MDRS-Kでは薄黄色の小コロニーでMRSAとは判別困難であった。さらに、MSSA株(ATCC29213)を用いた検討においては、 2×10^7 CFUに相当する菌量を接種した場合に、Brillianceにのみ1コロニーの発育が認められた。

考 察

今回われわれは、3種のMRSAスクリーニング培地を対象に臨床材料（鼻腔内分泌物）からのMRSA検出能について比較検討を行った。その結果、24 h判定において、各培地のSensitivity, Specificity, PPVおよびNPVに統計学的有意差は認められず、いずれの培地も同等のMRSA検出能であると判断された（Table 1）。48 h判定では、Brillianceは1検体、CHROMは2検体、MDRS-Kは4検体においてMRSAが新たに検出され、3種すべての培地でsensitivityが上昇した（Table 1）。48 h判定でのsensitivity上昇は他の報告においても確認されていることより^{12, 14～18}、3培地ともに48 hまでは培養を継続し、MRSAの有無を確認すべきと考えられた。培養24 hで1次判定を行い、培養48 hで再度判定を行うことにより、MRSA陽性報告の確実性が増す。ただし、培地メーカーの添付文書によると、BrillianceとCHROMは18～24 h判定が推奨されておりBrillianceは延長培養不要と記載されている。48 h判定によるsensitivity上昇の一方、Brilliance、CHROMではSpecificity, PPVが低下し、Brillianceに関しては他の2種の培地に比し有意に低い（ $p < 0.05$ ）結果となった（Table 1）。BrillianceおよびCHROMに関しては48 h培養によりMSSAが発育する可能性があることより、培養48 hで初めてMRSA様コロニーの発育が認められた場合は、コアグラゼやPBP2'等の確認試験の実施が特異性の高いMRSA同定のために必要である。さらに、Brillianceでは24 h判定においてもMSSAの発育が認められ（2検体）、推奨培養時間内であってもMSSA発育の可能性があることが示唆された。この点は、われわれが実施したMiles & Misra法による培地評価の結果とも一致した。Brillianceに関しては、24 h判定であってもMSSAの発育に注意する必要がある、非選択培地上では多数のS. aureus様コロニーが認められるがスクリーニング培地上では数コロニーしか検出されていない等、検出数に明らかな差が生じた場

合には、MRSA 誤同定を防ぐために確認試験が必要である。

今回の検討では、24 h 判定および48 h 判定ともに、3種の培地間の sensitivity に統計学的有意差は認められなかった。最も sensitivity の高かった MDRS-K (48 h 判定) であっても62検体中5検体(8.1%)においてMRSAを検出できなかった。これら5検体および他の2培地で検出できなかった7検体(合計12検体, Table 2) はすべて菌量が極めて少ない検体(10コロニー以下)であったことから、これら検出率の差は検体中に含まれるわずかな菌量が影響し、菌液接種時の再現性によるものと考えられた。Petersonら¹³⁾は、綿棒を直接培地に接種する手法で同時に複数枚に接種した場合、菌量が少ないサンプルであれば接種順序によっては偽陰性になる可能性があると報告しているが、今回は培地間での接種菌量に極力差が生じないよう工夫したため、接種順序が影響したとは考えにくい。さらに、分離された12株は1株を除き3種すべての培地へ良好な発育を認めたことから(1株が発育不良であった理由は不明)、培地への発育という点で株間の性質の違いはほぼ認められないと考えられる。したがって、今回のMRSA検出に差が生じた12検体に関しては、菌量が少ないことによる再現性の問題であると推測された。

今回、非典型的な性状を示すMRSAの発育性を比較する目的でborderline MRSA 2株およびSCV MRSA 2株を対象にMiles & Misra法を用いた検討を行った。その結果、SCVの1株に限り、培地の判別能やコロニーの大きさに差が認められた(発育能は同等であった)。株によっては、BrillianceおよびCHROMにおいてコロニーの着色に濃淡を生じ、MDRS-Kでは薄黄色の小コロニーとなることが明らかとなった。典型的なコロニー性状とは異なるが、コロニー色や卵黄反応などからMRSAが疑われる場合は、積極的に確認試験を実施することが重要である。一方、今回、鼻腔内分泌物より検出されたMRSAの中にマンニト非分解株が1株のみ含まれていた。このようなマンニト非分解株はマンニト卵黄ベースであるMDRS-Kでは黄色を呈さず白色コロニーしか形成しないが、chromogenic mediaであるBrillianceおよびCHROMでは、マンニト分解株と相違ない典型的なMRSA様コロニーを形成した。MDRS-Kにおいては卵黄反応の確認により*S. aureus*を疑うことは可能であったが、このような株はchromogenic mediaのほうが判別は容易であった。

一方、MRSA以外の菌の発育状況としては、24 h判

定ではMDRS-KがBrilliance, CHROMに比し明らかに発育する検体数が多かった。さらに、48 h判定ではいずれの培地も発育数が増加したことより、培養時間に比例して多くのMRSA以外の菌の発育を認めた点は3培地に共通していた(Table 3)。これらMRSA以外の菌は典型的なMRSAコロニーとは性状が異なる場合がほとんどであったが、まれに類似したコロニーを形成する場合も存在した。鑑別が紛らわしいコロニーとしては、大きさは小さいがBrilliance上で青色(ときに濃青色)コロニーを形成するCNSや、CHROM上でふじ色(ときに紫色)の小コロニーとなるCNSや*Corynebacterium sp.*、さらにMDRS-K上で黄色コロニーを呈するCNSなどであった。このような類似コロニーを形成するMRSA以外の菌は、48 h判定においてMDRS-Kに比しBrillianceやCHROM上でより多く発育する傾向が認められた(Table 3)。先に考察したように、BrillianceおよびCHROMにおいて、培養48 hで初めてMRSA様コロニーを確認した場合には、MRSA誤同定を防ぐ目的で確認試験の実施が必要である。

MRSAの感染拡大を防ぐにあたり“検出までの時間”は重要であり、turnaround time短縮のためPCRなどの遺伝子検査を利用した迅速検査法が開発されてきた。鼻腔内分泌物からPCRにより直接MRSAを検出する手法は、sensitivity・specificityともに高く、抗菌薬投与後でも検出可能と報告されている¹⁸⁾。しかし、PCR法は培養法に比し高コストであり、また、PCRを利用した迅速検査法がMRSAの感染率を有意に減少させるというエビデンスは存在しない⁸⁾ことから、MRSA保菌検査としては培養法を用いた積極的なスクリーニング検査の実施が勧められている⁸⁾。依然として培養検査への依存度は高く、その中でMRSA検出を目的としたスクリーニング培地の有用性は非常に高い。

今回われわれは、異なる3種のMRSAスクリーニング培地の比較検討を行い、24 h判定ではいずれの培地も同等のMRSA検出能であること、48 h判定では3種すべての培地でsensitivityの向上を認めたが、BrillianceおよびCHROMにおいてはspecificity・PPVの低下が認められることを明らかにした。スクリーニング培地を使用する際は、それぞれの特性を十分に把握し、sensitivity・specificityを高く維持し適切に使用することにより確実にMRSAを検出できる体制を整えることが検査室に求められる。

文 献

- 1) Monina Klevens, R., M. A. Morrison, J. Nadle, et al. 2007. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *J. Am. Med. Assoc.* 298(15): 1763-1771.
- 2) Ito, T., M. Iijima, T. Fukushima, et al. 2008. Pediatric pneumonia death caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Japan. *Emerg. Infect. Dis.* 14(8): 1312-1314.
- 3) 浅利誠志. 2000. MRSA検査法. p. 6-15, MRSA消毒・除菌と治療—チーム医療で退治できるMRSA—(改訂増補 第2版), 最新医学社, 大阪
- 4) van Hal, S. J., D. Stark, B. Lockwood, et al. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) detection: Comparison of two molecular methods (IDI-MRSA PCR assay and GenoType MRSA Direct PCR Assay) with three selective MRSA agars (MRSA ID, MRSASelect, and CHROMagar MRSA) for use with infection-control swabs. *J. Clin. Microbiol.* 45(8): 2486-2490.
- 5) Stürenburg, E. 2009. Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from clinical samples: methods, effectiveness and cost considerations. *Ger. Med. Sci.* 7: Doc06.
- 6) Durai, R., P. C. Ng, H. Hoque. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An update. *AORN J.* 91(5): 599-606.
- 7) Diekema, D. J., J. K. Dodgson, B. Sigurdardottir, et al. 2004. Rapid detection of antimicrobial-resistant organism carriage: An unmet clinical need. *J. Clin. Microbiol.* 42(7): 2879-2883.
- 8) Tacconelli, E., G. De Angelis, C. de Waure, et al. 2009. Rapid screening tests for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* 9: 546-554.
- 9) Perry, J. D., A. M. Freydière. 2007. The application of chromogenic media in clinical microbiology. *J. Appl. Microbiol.* 103: 2046-2055.
- 10) Yamada, K., K. Inuzuka, N. Tatsumi, et al. 2010. Evaluation of selection media for the detection of borderline MRSA. *J. Infect. Chemother.* 16: 19-24.
- 11) 谷本綾子. 2011. 見逃されやすい変異株—small colony variants MRSA. p. 849-852, *Medical Technology* (Vol. 39, No. 8), 医歯薬出版, 東京.
- 12) Peterson, J. F., A. A. Dionisio, K. M. Riebe, et al. 2010. Alternative use for spectra MRSA chromogenic agar in detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from positive blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 48(6): 2265-2267.
- 13) 坂崎利一. 1978. 培地の試験法. p. 201-210, *新細菌培地学講座 (上)*, 近代出版, 東京.
- 14) Verkade, E., S. Elberts, C. Verhulst, et al. 2009. Performance of Oxoid Brilliance™ MRSA medium for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An *in vitro* study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 28: 1443-1446.
- 15) Peterson, J. F., K. M. Riebe, G. S. Hall, et al. 2010. Spectra MRSA, a new chromogenic agar medium to screen for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 48(1): 215-219.
- 16) Malhotra-Kumar, S., J. C. Abrahantes, W. Sabiiti, et al. 2010. Evaluation of chromogenic media for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 48(4): 1040-1046.
- 17) Diederer, B., I. van Duijn, A. van Belkum, et al. 2005. Performance of CHROMagar MRSA medium for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 43(4): 1925-1927.
- 18) Bischof, L. J., L. Lapsley, K. Fontecchio, et al. 2009. Comparison of Chromogenic Media to BD Gene-Ohm Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) PCR for Detection of MRSA in Nasal Swabs. *J. Clin. Microbiol.* 47(7): 2281-2283.

Comparison of Three Mediums for Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

Keigo Kimura¹⁾, Masahiro Toyokawa¹⁾, Isao Nishi¹⁾, Junko Sunada¹⁾,
Akiko Ueda¹⁾, Tomomi Sakata¹⁾, Yoriko Inoue¹⁾, Seishi Asari²⁾

¹⁾ Laboratory for Clinical Investigation, Osaka University Hospital

²⁾ Department of Infection and Prevention, Osaka University Hospital

We evaluated Brilliance MRSA2 (Brilliance), CHROMagar MRSA (CHROM), and MRDS-K media for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). In this study, 610 nasal swab specimens were used. A true positive result was defined as the presence of MRSA on at least one medium and a true negative result was defined as no growth on any media. After 24 h of incubation, the sensitivity, specificity, positive predictive values (PPV), and negative predictive values (NPV) were 85.5%, 99.7%, 96.4%, and 98.8% for Brilliance; 87.1%, 100%, 100%, and 98.9% for CHROM; and 85.5%, 100%, 100%, and 98.8% for MDRS-K, respectively. Conversely, after 48 h, we detected MRSA from 1 specimen on Brilliance, 2 specimens on CHROM, and 4 specimens on MDRS-K. The sensitivity of all three media was high, and we confirmed the growth of methicillin-sensitive *S. aureus* from 11 specimens on Brilliance and 1 specimen on CHROM. (At 48 h, the sensitivity/specificity/PPV/NPV for Brilliance; 87.1%/98.5%/83.1%/98.9%, CHROM; 90.3%/99.9%/98.2%/99.2%, MDRS-K; 91.9%/100%/100%/99.3%). When we tested 2 borderline MRSA strains and 2 small colony variant (SCV) MRSA strains, 3 strains except for 1 SCV MRSA strain were detected by all 3 mediums as well. In conclusion, it is important that we analyze the characteristics of each MRSA detection mediums and use each appropriately to maintain high sensitivity and specificity.