

令和 3 年 5 月 3 日現在

機関番号：13301

研究種目：奨励研究

研究期間：2020～2020

課題番号：20H01049

研究課題名 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の検出：血液培養における迅速かつ簡便な手法の確立

研究代表者

東 友子 (AZUMA, TOMOKO)

金沢大学・附属病院・臨床検査技師

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 360,000円

研究成果の概要：血液培養検査は、菌血症の診断のために重要な検査である。血液培養からの分離菌は重症感染症の原因菌とされ、抗菌薬や治療期間の決定に重要な情報となる。近年、質量分析法が普及し血液培養ボトルから迅速かつ簡便に細菌同定を行うことが可能となった。しかし、黄色ブドウ球菌に関して菌名までの報告は可能だが、感受性は不明である。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）は、多剤耐性を示すことが多く医療関連感染症の原因菌の第1位を占める。通常、MRSAは血液培養陽性後、培地に塗布し半日～1日培地生育後に変法卵黄加マンニト食塩培地EXとクロモアガーMRSAスクリーン培地判定、感受性結果は翌日以降でないと判定出来ない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では日常検体のMRSA耐性の確認培地に用いられているクロモアガーMRSAスクリーン培地に血液培養陽性ボトルの血液を直接塗布し、血液培養から検出された黄色ブドウ球菌のメチシリン耐性を簡便かつ早期に検出することを目的とする。

研究分野：微生物

キーワード：メチシリン耐性ブドウ球菌 血液培養 ディスク法 質量分析装置

## 1. 研究の目的

医療関連感染症の原因菌の第1位を占めるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)を特別な機器を使用せずに従来法より早期に耐性を報告し、安価、簡便で迅速にMRSAの検出を行う方法の確立のための研究である

本研究では日常検体のMRSA耐性の確認培地に用いられているクロモアガーMRSAスクリーン培地に血液培養陽性ボトルの血液を直接塗布し、血液培養から検出された黄色ブドウ球菌のメチシリン耐性を簡便かつ早期に検出することを目的とする。

## 2. 研究成果

【対象】当院で2019年3月から2020年12月までの期間に血液培養より検出されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(以下MRSA)6例、メチシリン感性黄色ブドウ球菌(以下MSSA)2例、コアグラゼ陰性ブドウ球菌(以下CNS)2例(*Staphylococcus epidermidis* 1例、*Staphylococcus lugdunensis* 1例)の臨床分離株を用いて検討を行った。菌種名同定にはマトリックス支援レーザー脱離イオン化法による飛行時間型質量分析法(MALDI TOF-MAS)、微量液体希釈法、MRSA確認培地(変法卵黄加マンニット食塩寒天培地、クロモアガーMRSAスクリーン培地)を用いた。

【方法】臨床分離株を血液培養ボトル評価プロトコル(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)に準じて菌液を調整し、ヒツジ脱繊維素血液を用いて希釈し $10^3$ cfu/ml、 $10^2$ cfu/ml、 $10^1$ cfu/mlの模擬検体を作成した。血液培養ボトルに作成した模擬検体を10ml注入、自動血液培養装置に装填し培養を行った。1検体各希釈系列ごとに2重測定した。自動血液培養装置は「BDバクテックTMFX」(BD社)、血液培養ボトルは「BDバクテック21F溶血タイプ嫌気用ボトル」「23F好気用レズンボトル」(BD社)を用いて行った。陽性化した血液培養ボトルは羊血液寒天培地、変法卵黄加マンニット食塩寒天培地、クロモアガーMRSAスクリーン培地に40 $\mu$ l接種し、羊血液寒天培地にはOxacillin(MIPIC)、Cefoxitin(CFX)含有ディスクを置き、37 $^{\circ}$ C $\text{CO}_2$ ふ卵器にて24時間培養を行った。24時間後、羊血液寒天状のMIPIC、CFXの薬剤感受性は阻止円を測定し、Clinical and Laboratory Standards Institute(米国CLSI)判定基準に則って判定を行い、変法卵黄加マンニット食塩寒天培地の卵黄反応の有無、クロモアガーMRSAスクリーン培地の生育、発色の有無を判定した。

【結果】血液培養ボトルは培養開始後8時間13分~17時間39分ですべて陽性化した(10/10)。

羊血液寒天のCFXの阻止円はMRSAの感性0%(6/6)耐性100.0%(6/6)、MSSAの感性100.0%(2/2)耐性0%(2/2)、CNSの感性0%(2/2)耐性100.0%(2/2)であった。MIPICの阻止円はMRSAの感性66.7%(4/6)耐性33.3%(2/6)、MSSAの感性50.0%(1/2)耐性50.0%(1/2)、CNSの感性100.0%(2/2)耐性0%(2/2)であった。

変法卵黄加マンニット食塩寒天培地の卵黄反応はMRSA100.0%(6/6)、MSSA100.0%(2/2)、CNS0%(2/2)で観察された。

クロモアガーMRSAスクリーン培地の生育はMRSA100.0%(6/6)、MSSA0.0%(2/2)、CNS100.0%(2/2)で観察され、そのうち発色を呈したのはMRSA100.0%(6/6)、CNS0%(2/2)であった。

## 【考察】

血液培養から検出された黄色ブドウ球菌はCFX含有ディスク法、変法卵黄加マンニット食塩寒天培地の卵黄反応の有無、クロモアガーMRSAスクリーン培地の生育、発色の有無でMRSAの検出が可能であると考えられた。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------