

## [ 研 究 ]

## 嫌気用培地の管理変更に伴う嫌気性菌の 検出状況と薬剤感受性

豊科赤十字病院 検査部<sup>1)</sup>信州大学医学部 保健学科<sup>2)</sup>保坂 力<sup>1)</sup> 赤羽 貴行<sup>1)</sup> 村山 範行<sup>1)</sup>小穴こず枝<sup>2)</sup> 川上 由行<sup>2)</sup>

**Key words** : 嫌気性菌、検出状況、薬剤感受性

### 【はじめに】

嫌気性菌検査の目的は偏性嫌気性菌の存在の有無を明確にすることであり、その検出率を左右する因子には検体の選択、採取方法、採取量、輸送方法など培地への塗布以前の過程もあるが、使用する分離培地の品質管理も検出率を大きく左右する。いずれも、検体や培地が如何に酸素との接触を避け、嫌気状態が維持できるかが重要である<sup>1,2)</sup>。平成15年8月に開催された第10回日本臨床微生物学会教育セミナー「嫌気性菌検査入門」に参加し、セミナー受講後、当院における嫌気用培地の管理方法と使用培地の一部変更した。今回、その変更に伴う嫌気性菌の検出状況と薬剤感受性を調査した。

### 【材料及び方法】

#### 1. 検討期間

嫌気用培地の管理方法と使用培地の一部変更は2003年10月から実施し、変更前7ヶ月(2003年3月-同年9月)と変更後7ヶ月(2003年10月-2004年4月)の嫌気性菌の検出状況と薬剤感受性を調査した。

#### 2. 嫌気用培地管理方法変更内容

**変更前** : 市販製品から開封後、余った培地はセロテープで袋を閉じ、そのまま冷蔵庫に保管。

**変更後** : 市販製品から開封後、余った培地は嫌気ジャー(三菱化学ヤトロン製)入れ、冷蔵庫に保管し常時嫌気状態とした。

#### 3. 使用培地の変更

**変更前** : アネロコロンピアウサギ血液寒天培地(日本BD)

**変更後** : アネロコロンピアウサギ血液寒天培地(日本BD)

・P V加ブルセラHK寒天培地(極東製薬)

・BBE寒天培地(極東製薬)

なお、嫌気用培地は1検体につき、それぞれ一枚ずつ使用した。嫌気用培地の管理方法及び使用培地の追加以外の検体採取容器・検体輸送方法や、嫌気培養期間(3日間)・同定キット(RapID ANA II ; アムコ)・薬剤感受性検査(ドライプレート栄研DP-23 ; 栄研化学)などの検査工程については変更前後とも統一した方法で実施した。

#### 4. 薬剤感受性検査

ドライプレート栄研DP-23を用い、以下に示す12薬剤について、添付文書及び諸家の報告<sup>2,3)</sup>を参考し、最小発育阻止濃度(MIC)及びカテゴリー(S・I・R)を判定した。

benzylepenicillin(PCG), ampicillin(ABPC), clavulanic/amoxicillin(CVA/AMPC), piperacillin(PIPC), cefmetazole

(CMZ), flomoxef (FMOX), ceftizoxime (CZX), imipenem (IPM), clindamycin (CLDM), minocycline (MINO), sparfloxacin (SPFX), chloramphenicol (CP)。

【結果】

変更前（1ヶ月平均）の検出状況では、嫌気培養71検体に対して検出数3.7株であったが、変更後（1ヶ月平均）では同培養53検体に対して同8.0株（変更後の1ヶ月平均）となり、培養検体数が減少したにもかかわらず、検出数は2倍以上増加した（表1）。検出された菌種類別では、全てで変更前より増加したが、1検体からの平均検出株ではほとんど変化はなかった（表1）。検出された菌種・菌株では、18菌種26株（変更前）から22菌種56株（変更後）と、菌種数で4菌種増加、検出数で30株増加した（表2）。

表1 検出株数の比較

	変更前	変更後
嫌気培養検体数 (1ヶ月平均)	71検体	53検体
嫌気性菌検出数 (1ヶ月平均)	3.7株	8.0株
嫌気性菌の菌種数別内訳		
1菌種	7検体	15検体
2菌種	5検体	11検体
3菌種	3検体	5検体
4菌種	0検体	1検体
1検体あたりの平均検出株数	1.73株	1.75株

表2 検出された菌種の内訳

変更前：18菌種26株		変更後：22菌種56株	
9株(34.6%)	<i>Prevotella</i> spp.	10株(17.9%)	
8株(30.8%)	<i>Bacteroides</i> spp.	17株(30.4%)	
2株(7.7%)	<i>Porphyromonas</i> spp.	3株(5.4%)	
2株(7.7%)	<i>Fusobacterium</i> spp.	7株(12.5%)	
2株(7.7%)	旧 <i>Peptostreptococcus</i> spp.*	13株(23.2%)	
1株(3.8%)	<i>Clostridium</i> spp.	2株(3.6%)	
1株(3.8%)	<i>Mobiluncus</i> sp.	0株(0.0%)	
1株(3.8%)	同定不能	4株(7.1%)	

\*: *Peptostreptococcus*, *Peptoniphilus*, *Anaerococcus*, *Fingoldia*, *Micromonas* の各属を含む

*Fusobacterium* 属と *Peptostreptococcus* 属は株数・頻度とも増加しており、中でも、*B. fragilis*, *F. nucleatam*, *F. magna* の3菌種は検出数が特に増加していた（表3）。

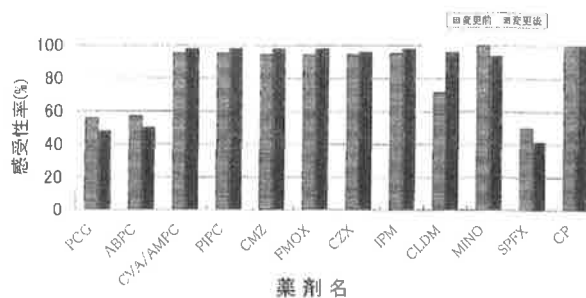
表3 検出株数が大きく増加した菌種

	変更前	変更後
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 → 9	
<i>Fusobacterium nucleatam</i>	1 → 4	
<i>Fingoldia magna</i>	1 → 10	
同定不能	1 → 4	

単位：株

薬剤感受性検査では12薬剤中、PCG, ABPC, CLDM, SPFXの4薬剤で感受性傾向に変化が見られた（図1）。

図1 薬剤感受性成績



## 【考 察】

偏性嫌気性菌検査の工程では、全ての過程において検体や培地が酸素に暴露されないようにすることが重要であり、今回その一部分である嫌気用培地の管理方法の変更と使用培地を増加し、検出状況を検討した。その結果、嫌気性菌の検出率が大きく増加したが、*Bacteroides*属と*Fusobacterium*属の検出株数が増加した要因としては、変更後に採用したP V加ブルセラHK寒天培地とBBE寒天培地の影響が考えられるが、旧*Peptostreptococcus*属の増加に関してはそれらの培地の採用は関係なく、非選択培地であるアネロコロンビアウサギ血液寒天培地の管理方法変更起因したと推定できる。欧米では、現在の日本よりも選択培地を複数使用する嫌気培養検査を実施しており、明らかな嫌気性菌分離増加を示しており、江成は選択培地の採用を推奨している<sup>4)</sup>。

薬剤感受性検査では、12薬剤中、PCG, ABPC, CLDM, SPFXの4薬剤で感受性傾向に変化が見られたが、PCG, ABPCの耐性化では、変更後に増加した*B. fragilis*の影響と思われる。近年、*B. fragilis*の薬剤感受性では、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生性や多剤耐性化<sup>5)</sup>が問題として懸念されている。CLDMの感性化とSPFXの耐性化については、はっきりとした原因は分からなく、更に菌株を集積し、薬剤感受性の推移をみていく必要性が考えられる。

ルーチン検査において使用培地の種類を増やすことは、その分コストを増加させ収益率の低い細菌検査では大きな負担となる。しかし、菌種同定検査で今まで使用してきたキットをやめ、簡易テスト等の組み合わせによって菌種同定をする<sup>6)</sup>などの工夫をすることにより、ある程度はコスト面の問題はクリア出来る。また、嫌気性菌では、好気性菌等に比べ、初代培養に関わる問題が大きく、培地

の種類や環境が大きな要因の1つである<sup>4)</sup>。

このようにして経済的条件が許される限り、非選択培地と選択培地の両者を採用し、かつ培地の嫌気状態を維持した状態で検査を実施することが重要である。これにより培地の特性が十分に発揮でき、その結果嫌気性菌の検出率が増加しより有用な細菌検査に繋がると思われる。

起因菌をまず分離出来なければ、それから先の同定・薬剤感受性検査には進めない。今まで重要視されてきた菌種同定に対し、起因菌分離によりターゲットを向けた嫌気性菌検査へと今後は移行していく必要性を認識した。

感染症を発症した患者では、細菌検査の依頼と同時に抗菌薬が投与される場合がほとんどである。各医療施設の検出菌とその薬剤感受性情報が把握出来ていれば、検出菌が分かった段階で第1選択薬剤の効果が推定でき、より適切な抗菌薬使用が期待できる。今後も適宜、検出菌とその薬剤感受性情報を臨床にフィードバックし、より感染症治療に貢献していきたいと考える。

## 【文 献】

- 1) 上野一恵監修：臨床嫌気性菌検査法'97. 日臨微誌7(Suppl.1):1997.
- 2) 仲宗根 勇：薬剤感受性試験の視点から, JARMAM 12:47-51.2001.
- 3) 泉川公一、平湯洋一：薬剤感受性、臨床と微生物 25,547-553,1998.
- 4) 江成 博：嫌気性初代培養についての供給側からの提言, JARMAM 12:39-46.2001.
- 5) 加藤直樹：多剤耐性バクテロイデス・フラジリス, 臨床検査 45:863-868.2001.
- 6) 「嫌気性菌検査入門実習テキスト」第10回臨床微生物学会教育セミナー, 2003.
- 7) 渡邊邦友、加藤直樹：嫌気性菌の分離同定のポイント, Medical Technology 23:315-320.1995.