

**微生物検査部門**



# 微生物検査精度管理報告書

(一社) 福島県臨床検査技師会  
精度管理委員 微生物部門  
菊池 重寿  
山田 裕輔

## 【はじめに】

今年度の微生物部門精度管理調査は、昨年度と同様、配布試料（試料①、②）による塗抹検査、同定検査、薬剤感受性検査およびフォトサーベイ（1問）を実施しました。感染症法に基づき届け出の必要な菌を中心に出题しました。本調査が各施設における精度の維持・向上に役立つことを願っています。

## 【配布内容】

配布文書：精度管理調査（微生物検査部門）実施要綱およびフォトサーベイ  
結果記入用紙

配布試料：輸送用培地 2本

試料①： *Escherichia coli* (ATCC®25922™)

試料②： *Klebsiella pneumoniae* (ATCC®BAA-1705™)

## 【実施内容】

### 1. 塗抹検査・同定検査・薬剤感受性検査（試料①、試料②）

配布した試料2本には、それぞれ1菌種が接種してあります。

臨床より提出された疑似検体として貴施設で行っている方法により、塗抹検査（グラム染色）、同定検査、薬剤感受性検査（以下の表の指定薬剤）を実施してください。なお、検体に対して目的菌等の臨床からのコメントはないものとします。

試料①：外来患者の尿検体より分離された菌株

試料②：入院患者の呼吸器由来検体より分離された菌株

### <薬剤感受性検査 指定薬剤>

	薬剤感受性検査
試料①	ABPC、IPM、AMK、CPFX、ST
試料②	PIPC、CAZ、MEPM、GM、LVFX

<結果報告について>

- 1) 塗抹検査結果（菌量の記入は不要です）
  - 2) 同定菌名
  - 3) 同定方法：使用機器または使用キット名
  - 4) 薬剤感受性結果：MIC 値または阻止円径、SIR 判定
  - 5) 薬剤感受性方法：使用機器または使用キット名
  - 6) 薬剤感受性判定基準：SIR 判定に使用した基準
  - 7) 追加試験（追加して実施した試験があれば記入してください）
  - 8) 報告コメント（付加コメント等があれば記入してください）
2. フォトサーベイ

設問の患者情報および画像データより菌種の推定を行ってください。  
報告に対し付加するコメント等があれば記入してください。

【参加施設】

1. 参加施設数：28 施設
2. 項目別参加施設数
  - ・塗抹検査：23 施設
  - ・同定検査：23 施設
  - ・薬剤感受性検査：20 施設（微量液体希釈法：16 施設、ディスク法：4 施設）
  - ・フォトサーベイ：28 施設
3. 参加状況の推移

		平成 23 年度 (第 19 回)	平成 24 年度 (第 20 回)	平成 25 年度 (第 21 回)	平成 26 年度 (第 22 回)	平成 27 年度 (第 23 回)
精度管理参加施設数		62	66	64	64	58
微生物部門参加施設数		30	29	29	28	28
参加率 (%)		48.4	43.9	45.3	43.8	48.3
施設分類	病院	22	24	24	22	22
	検査センター等	5	5	5	6	6
回答施設数		27	29	28	27	28
回収率 (%)		90.0	100.0	96.6	96.4	100.0
実施内容	グラム染色	○	○	○	○	○
	同定検査	○	○	○	○	○
	薬剤感受性検査	○	○	○	○	○
	フォトサーベイ		○	○	○	○
	アンケート	○			○	

【評価方法】

試料①、②	塗抹検査	A	正解
		B	
		C	不正解
		D	無回答
	同定検査	A	菌種レベル正解
		B	属レベル正解
		C	不正解
		D	無回答
	薬剤感受性検査 ※試料①のみ	A	精度管理限界値外 1 薬剤以下
		B	精度管理限界値外 2 薬剤
		C	精度管理限界値外 3 薬剤以上
		D	無回答 (指定薬剤が常備されていない場合を除く)
フォトサーベイ	A	正解	
	B		
	C	不正解	
	D	無回答	

※試料②に関しては、精度管理限界値の設定がないため評価対象外としました。

【結果および解説】

1. 塗抹検査・同定検査・薬剤感受性検査

1) 試料①: *Escherichia coli* (ATCC®25922™)

<塗抹検査・同定検査>

	回答	正解/回答施設
染色結果	グラム陰性桿菌	23/23 施設
同定菌名	<i>Escherichia coli</i>	23/23 施設

<薬剤感受性検査>

薬剤	微量液体希釈法 (16 施設)				ディスク拡散法 (4 施設)		
	S	I	R	薬剤なし	S	I	R
ABPC	16	0	0	—	2	2	0
IPM	16	0	0	—	4	0	0
AMK	16	0	0	—	4	0	0
CPFX	13	0	0	3	4	0	0
ST	13	0	0	3	4	0	0

<追加試験および報告コメント> (記入施設のみ)

施設№	追加試験	報告コメント
2	TSI,SC,LIM,オキシダーゼテスト, CAZ と CVA/CAZ および CTX と CVA/CTX による確認試験	ESBL 産生菌ではありません。 起炎菌の可能性が極めて高いと考えられます。院内感染に注意してください。
18		起炎菌の可能性がります。

<解説>

試料①に使用した *Escherichia coli* (ATCC®25922™) は CLSI 推奨の精度管理用菌株である。下表に精度管理限界値を示す。ディスク法にて I 判定の施設があったが、いずれも管理限界値内に入っており問題はなく、すべての項目において良好な結果が得られた。

	精度管理限界値	
	微量液体希釈法 (µg/mL)	ディスク拡散法 (mm)
ABPC	2-8	16-22
IPM	0.06-0.25	26-32
AMK	0.5-4	19-26
CPFX	0.004-0.015	30-40
ST	≤0.5/9.5	23-29

2) 試料② : *Klebsiella pneumoniae* (ATCC®BAA-1705™)

<塗抹検査・同定検査>

	回答	正解/回答施設
染色結果	グラム陰性桿菌	23/23 施設
同定菌名	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23/23 施設

<薬剤感受性検査>

薬剤	微量液体希釈法 (16 施設)				ディスク拡散法 (4 施設)		
	S	I	R	薬剤なし	S	I	R
PIPC	0	0	16	—	0	0	4
CAZ	0	1	15	—	0	0	4
MEPM	0	1	15	—	0	0	4
GM	14	0	0	2	4	0	0
LVFX	0	0	16	—	0	0	4

<追加試験および報告コメント> (記入施設のみ)

施設№	追加試験	コメント
1	コンファメーションパネル	
2	TSI,SC,LIM,SIM,オキシダーゼテスト,CAZ と CVA/CAZ および CTX と CVA/CTX による確認試験	ESBL 産生菌ではありません。カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症が疑われます。院内感染防止対策上極めて重要な菌と考えられます。5 類感染症です。
4	AmpC/ESBL 鑑別ディスク	カルバペネマーゼ産生菌
6		CRE
9		耐性傾向のある菌が検出されました。ESBL 産生菌、メタロ β-ラクタマーゼ産生菌が疑われますので、外注にて確認試験を行います。
18	ESBL/AmpC 鑑別ディスク(-), シカベータテスト(-), 変則 Hodge テスト(+)	KPC の疑いがあります。院内感染防止対策上重要な菌です。
19	ESBL 確認試験,AmpC 確認試験	CRE (カルバペネム耐性腸内細菌科) を検出。院内感染にご注意ください。

施設No	追加試験	コメント
21	カルバペネマーゼ鑑別ディスク	KPC 型カルバペネマーゼ産生菌の可能性がります。院内感染対策にご注意ください。感染症の起因の場合は、カルバペネム耐性腸内細菌 (5 類感染症) として取扱い、保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要があります。
23	AmpC/ESBL 鑑別ディスク(関東化学),ホッジテスト	KPC 産生、カルバペネム耐性腸内細菌科感染症で 5 類感染症に属しており届出をする必要がある。(7 日以内に)
34	ESBL 確認試験,AmpC 確認試験	CRE が検出されました。起因菌であれば、届出をしてください。院内感染に御注意下さい。
36	ESBL 確認試験,AmpC 確認試験	五類感染症全数報告対象症が検出されました。院内感染にご注意下さい。
39	メルカプト酢酸ナトリウム (SMA)阻害試験：陰性,MEPM を用いたクロキサシリン阻害試験：陰性,MEPM を用いたボロン酸阻害試験：陽性,エルタペネムを用いた変法ホッジテスト：陽性	KPC 産生株疑い
42	シカベータテスト	カルバペネム耐性腸内細菌科(CRE)が検出されました。起炎菌と判断された場合は感染症法 5 類感染症で届出対象の菌です。
43	AmpC/ESBL 鑑別ディスク：いずれのディスクにも阻止円なし,クロモアガーKPC/ESBL 分画培地：両分画に発育	CRE
46	ESBL、メタロ β ラクタマーゼ 確認試験	KPC 産生株の疑いがあります。
47	ESBL、メタロ β ラクタマーゼ 確認試験	KPC 疑い
52	MBL 確認試験,KPC 確認試験	
54	改良 Hodge テスト：陽性	カルバペネマーゼ産生株の疑い
55		ESBL+カルバペネマーゼの可能性がります。
58		カルバペネム耐性の腸内細菌



<解説>

試料②に使用した *Klebsiella pneumoniae* (ATCC®BAA-1705™) は、KPC 産生株であり、変法ホジジテストに陽性コントロールとして使用される菌株である。平成 26 年 9 月より、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) による感染症が 5 類感染症 (全数届出対象) に追加されたため出題した。下表に届出のために必要な検査所見を記載した。薬剤感受性検査は精度管理限界値がないため評価対象外としたが、すべての施設で CRE の基準を満たす結果が得られた。また、ほとんどの施設で CRE に関する報告コメントが記入されていた。

カルバペネム耐性腸内細菌科感染症

検査方法	検査材料
<p>分離・同定による腸内細菌科細菌の検出、かつ、次のいずれかによるカルバペネム系薬剤及び広域 β-ラクタム剤に対する耐性の確認</p> <p>ア メロペネムの MIC 値が 2μg/ml 以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 22 mm 以下であること</p> <p>イ 次のいずれにも該当することの確認</p> <p>(ア) イミペネムの MIC 値が 2μg/ml 以上であること、又はイミペネムの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 22 mm 以下であること</p> <p>(イ) セフメタゾールの MIC 値が 64μg/ml 以上であること、又はセフメタゾールの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 12 mm 以下であること</p>	<p>血液、腹水、胸水、髄液、その他の通常無菌的であるべき検体</p>
<p>次のいずれにも該当することの確認</p> <p>ア 分離・同定による腸内細菌科細菌の検出</p> <p>イ 次のいずれかによるカルバペネム系薬剤及び広域 β-ラクタム剤に対する耐性の確認</p> <p>(ア) メロペネムの MIC 値が 2μg/ml 以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 22 mm 以下であること</p> <p>(イ) 次のいずれにも該当することの確認</p> <p>a イミペネムの MIC 値が 2μg/ml 以上であること、又はイミペネムの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 22 mm 以下であること</p> <p>b セフメタゾールの MIC 値が 64μg/ml 以上であること、又はセフメタゾールの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 12 mm 以下であること</p> <p>ウ 分離菌が感染症の起原因菌と判定されること</p>	<p>喀痰、膿、尿、その他の通常無菌的ではない検体</p>

## 2. フォトサーベイ

<設問>

### 患者情報

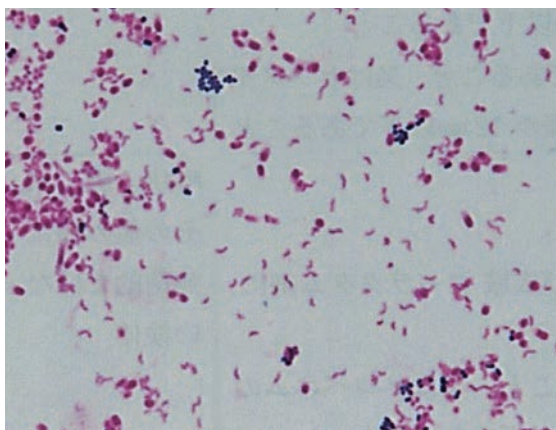
フィリピンへの旅行から帰国後、下痢と嘔吐を訴え受診した。下痢便が検査室へ提出された。

### 微生物検査

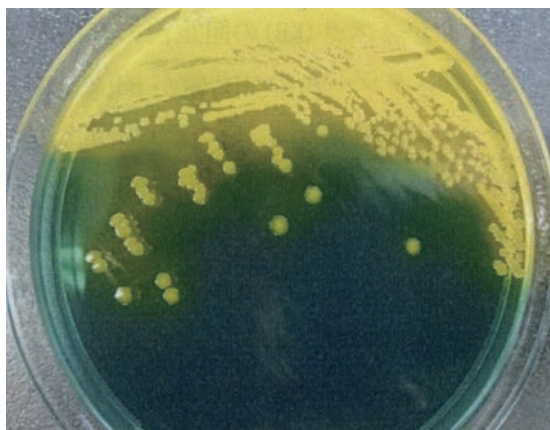
便のグラム染色ではコンマ状の菌が多数認められた（フォト 1）。また、生鮮標本を確認したところ活発に運動する菌が見られた。糞便培養では TCBS 培地上に黄色コロニーが発育した（フォト 2）。フォト 3 は試験管培地（TSI 培地・LIM 培地・オルニチン培地）による分離菌の生化学的性状、フォト 4 は NaCl 加ペプトン水（0、3、8、10%）による発育試験の結果である。分離菌はオキシダーゼ試験陽性で、スライド凝集法による血清型別検査では O1 抗血清（小川型）に凝集が認められた。

患者情報および画像データより菌種を推定してください。

フォト 1



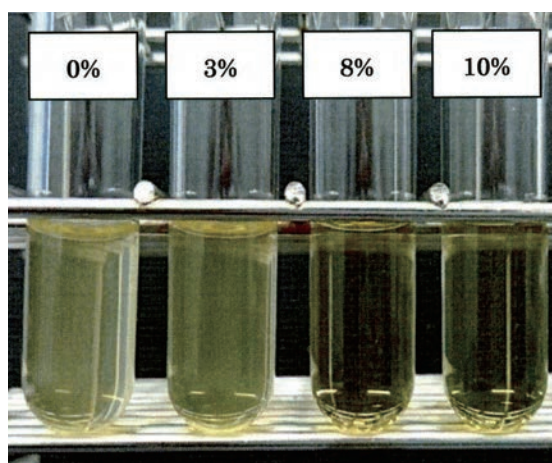
フォト 2



フォト 3



フォト 4



<回答一覧>

施設 №	推定菌名	コメント
1	<i>Vibrio cholerae</i> O1	パニック値対応(電話連絡、感染制御部に連絡)
2	<i>Vibrio cholerae</i> O1	3類感染症です。分離菌における毒素産生の確認またはPCR法による毒素遺伝子の検出を行ってください。
4	<i>Vibrio cholerae</i>	
6	<i>Vibrio cholerae</i>	3類感染症 保健所への届け出対象菌
8	<i>Vibrio cholerae</i> O1	3類感染症なので直ちに保健所に診断した医師は届出をする。“ヒト・糞便・経口感染”、感染対策：標準予防策および接触予防策、消毒法：一般細菌を対象とする方法
9	<i>Vibrio cholerae</i> O1 (コレラ菌)	コレラ菌が疑われる菌が検出されました。コレラ毒素産生の確認のため保健所に菌株を送付します。毒素産生が確認されましたら、3類感染症として直ちに保健所に届出をお願いします。
18	<i>Vibrio cholerae</i> O1	起炎菌と考えられます。3類感染症で届出が必要です。
9	<i>Vibrio cholerae</i> O1	3類感染症のため、直ちに保健所に届出願います。
21	<i>Vibrio cholerae</i> O1	3類感染症として取り扱う。保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要があります。
22	<i>Vibrio cholerae</i>	
23	<i>Vibrio cholerae</i>	3類感染症に属しており、ただちに届出をする必要がある。
27	<i>Vibrio cholerae</i> O1	
28	<i>Vibrio cholerae</i> O1	
34	<i>Vibrio cholerae</i> O1	感染症法に基づき、ただちに届出下さい。(3類感染症)院内感染に御注意下さい。
36	<i>Vibrio cholerae</i> O1	3類感染症(診断後直ちに届出)となります。
37	<i>Vibrio cholerae</i>	
39	<i>Vibrio cholerae</i>	感染症法にて3類感染症になります。診断後直ちに保健所への届出が必要です。
42	<i>Vibrio cholerae</i> O1	感染症法3類感染症で届出が必要な菌です。
43	<i>Vibrio cholerae</i> O1	
46	<i>Vibrio cholerae</i> O1	
47	<i>Vibrio cholerae</i> O1	
48	<i>Vibrio cholerae</i> O1	

施設 №	推定菌名	コメント
52	<i>Vibrio cholerae</i>	
53	<i>Vibrio cholerae</i> O1	3類感染症です。ただちに届出の必要があります。
54	<i>Vibrio cholerae</i> O1	コレラ毒素の確認を地方衛生研究所にお願いをする。
55	<i>Vibrio cholerae</i>	
57	<i>Vibrio cholerae</i>	経口感染のリスク有のため、手指衛生を徹底して下さい。
58	<i>Vibrio cholerae</i> O1	

<正解および正解率>

評価	推定菌名	回答数	正解率
正解 (A)	<i>Vibrio cholerae</i> (O1)	28 施設	100%
合 計		28 施設	100%

<解説>

形態

グラム染色形態は0.4～1.0×1.0～5.0µmのコンマ状に彎曲したグラム陰性桿菌。  
生標本は菌体の一端に単毛性鞭毛を有し、活発な運動性が認められる。

培養

- ・ TCBS 寒天培地  
黄色（白糖分解）  
円形の盛り上がった辺縁部透明、中心部黄色のやや混濁したコロニー
- ・ BTB 乳糖寒天培地  
青色
- ・ マッコンキー寒天培地  
無色

## 生化学的性状（食中毒関連菌）

菌種	オキシダーゼ活性	TSI 培地			LIM 培地			オルニチン脱炭酸	NaCl ペプトン水			
		斜面/高層	ガス	硫化水素産生	リジン脱炭酸	インドール産生	運動性		0%	3%	7%	10%
<i>V.cholerae</i>	+	A/A	±	—	+	+	+	+	+	+	—	—
<i>V.parahaemolyticus</i>		—/A	—	—	+	+	+	+	—	+	+	—
<i>V.mimicus</i>		—/A	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—
<i>V.fluvialis</i>		A/A	—	—	—	—	+	—	—	+	+	—
<i>V.furnissii</i>		A/A	+	—	—	—	+	—	—	+	+	—

### 血清型別検査

O 抗原は ABC の 3 抗原因子からなり、組み合わせにより小川型 (AB) 稲葉型 (AC)、彦島型 (ABC) の 3 血清型に分けられる。

### 疫 学

コレラ菌 *Vibrio cholerae* (O1) で汚染された水や食品を介して経口感染し、増殖したコレラ菌からコレラ毒素を産生、激しい水様性下痢（米のとぎ汁様）を発症する。

### 感染症法

コレラの確定診断には下記掲げる検査方法が用いられる。検査によってコレラと診断された場合は、3 類感染症として直ちに保健所に届け出る必要がある。

検査方法	検査材料
分離・同定による病原体の検出、 かつ、分離菌における(1)、(2)いずれかによるコレラ毒素の確認 (1) 毒素産生の確認 (2) PCR 法による毒素遺伝子の検出	便

### 【参考資料】

- ・厚生労働省ホームページ： <http://www.mhlw.go.jp/>
- ・Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 「抗菌薬感受性検査のための標準法—第 22 版」. 日本臨床微生物学会監修. 日本臨床検査標準協議会 (JCCLS), 2012.
- ・堀井俊伸・犬塚和久. 「微生物検査ナビ」. 栄研化学株式会社, 2013, p.88-95.

## 【評価一覧】

施設No	試料①			試料②		フォト サーベイ
	塗抹	同定	薬剤 感受性	塗抹	同定	
1	A	A	A	A	A	A
2	A	A	A	A	A	A
4	A	A	A	A	A	A
6	A	A	A	A	A	A
8	—	—	—	—	—	A
9	A	A	A	A	A	A
18	A	A	A	A	A	A
19	A	A	A	A	A	A
21	A	A	A	A	A	A
22	—	—	—	—	—	A
23	A	A	A	A	A	A
27	A	A	—	A	A	A
28	—	—	—	—	—	A
34	A	A	A	A	A	A
36	A	A	A	A	A	A
37	—	—	—	—	—	A
39	A	A	A	A	A	A
42	A	A	A	A	A	A
43	A	A	A	A	A	A
46	A	A	A	A	A	A
47	A	A	A	A	A	A
48	A	A	—	A	A	A
52	A	A	A	A	A	A
53	A	A	—	A	A	A
54	A	A	A	A	A	A
55	A	A	A	A	A	A
57	—	—	—	—	—	A
58	A	A	A	A	A	A