

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 微生物検査
菊池 重寿
山田 裕輔

【はじめに】

今年度より、日臨技臨床検査精度管理調査システム (JAMTQC) を利用したサーベイとなりました。微生物検査精度管理調査は、同定検査と薬剤感受性検査を各 2 題 (試料 31、32) およびフォトサーベイ 2 題 (設問 1、2) を出題しました。

本調査を各施設における精度の維持・向上に役立ていただければと思います。

【送付内容】

送付試料：輸送用培地 2 本 (試料 31 および 32)
(フォトサーベイを含む微生物検査の手引きは日臨技臨床検査精度管理調査サイトに掲載)

【実施内容】

1. 同定検査および薬剤感受性検査

【試料 31 (菌株-1)】

本菌は関節炎が疑われる患者の関節液培養から分離された。

激しい関節痛を主訴に外来を受診。関節液の外観は黄色、混濁していた。

貴施設の日常検査法によって菌を分離し、同定検査と以下の指定薬剤について薬剤感受性検査を実施してください。

試料 31 検査抗菌薬

オキサシリン (MPIPC), セファゾリン (CEZ), クリンダマイシン (CLDM),
エリスロマイシン (EM), バンコマイシン (VCM)

【試料 32 (菌株-2)】

本菌は糖尿病患者の喀痰培養から分離された。

咳嗽、発熱、呼吸困難を訴え受診。痰は粘稠性痰であった。

貴施設の日常検査法によって菌を分離し、**同定検査**と以下の指定薬剤について**薬剤感受性検査**を実施してください。

試料 32 検査抗菌薬

ピペラシリン (PIPC), アズトレオナム (AZT), セフトジジム (CAZ),
アミカシン (AMK), メロペネム (MEPM)

2. フォトサーベイ

【設問 1】

患者背景：52歳の女性。自宅にて飼い犬に右第2指の指尖部を咬まれた。自宅にて消毒の様子を見ていたが、次第に創部の疼痛、化膿と発熱が認められ、受傷から4日経過後に当院受診。創部を切開排膿し培養に提出された検体から本菌が分離された。

微生物検査：排膿液のグラム染色所見（フォト 1-A）でグラム陰性桿菌が認められた。35℃、24時間培養後のヒツジ血液寒天培地と BTB 乳糖加寒天培地（フォト 1-B）に発育が認められた。ヒツジ血液寒天培地では不透明で光沢があるコロニー（フォト 1-C）だった。

問題：患者背景、微生物検査、フォトから推定される微生物を**微生物菌名マスター一覧**から**コードを選択**し回答してください。

【設問 2】

患者背景：85歳の男性、施設入所者。前日から咳嗽、喘鳴の症状を認め、翌朝に呼吸苦と発熱が見られた為、当院呼吸器科を受診し入院となった。入院時採取された喀痰培養より本菌が分離された。

微生物検査：喀痰のグラム染色所見（フォト 2-A）でグラム陰性の双球菌が認められた。35℃、48時間培養後のヒツジ血液寒天培地（フォト 2-B）に発育が認められた。発育したコロニーを楊枝で触れると写真（フォト 2-C）のように壊れた。DNA 培地による培養（フォト 2-D）では赤紫色の変化があった。

問題：患者背景、微生物検査、フォトから推定される微生物を**微生物菌名マスター一覧**から**コードを選択**し回答してください。

【参加状況】

1. 参加施設数

微生物検査：25 施設

2. 項目別参加施設数

- ・ 同定検査：22 施設
- ・ 薬剤感受性検査：19 施設（微量液体希釈法：18 施設、ディスク法：1 施設）
- ・ フォトサーベイ：25 施設

3. 参加状況の推移

		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)	平成 28 年度 (第 24 回)
精度管理参加施設数		66	64	64	58	59
微生物検査参加施設数		29	29	28	28	25
参加率 (%)		43.9	45.3	43.8	48.3	42.4
施設分類	病院	24	24	22	22	20
	検査センター等	5	5	6	6	5
回答施設数		29	28	27	28	25
回収率 (%)		100.0	96.6	96.4	100.0	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】

1. 試料 31・32

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	A	S・I・R 判定 すべて一致
	B	
	C	S・I・R 判定 不一致あり
	D	無回答*

※検査を自施設で実施していない場合の無回答は除く。

2. フォトサーベイ

フォトサーベイ	A	正解
	B	
	C	不正解
	D	無回答

【結果および解説】

1. 同定検査・薬剤感受性検査

1) 試料 31 : *Staphylococcus aureus* (ATCC®29213™)

<同定検査>

評価	同定菌名	回答数	%	計
A	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MSSA)	10	45.5	19 (86.4%)
	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	9	40.9	
対象外	菌発育せず回答不能*	1	4.5	3 (13.6%)
	その他*	2	9.1	
計		22	100.0	

※対象外の 3 施設は、グラム陽性球菌の同定を行っていない施設

同定機器／方法別の同定成績（評価対象外の施設を除く）

	回答数	%
バイテック 2	9	47.4
マイクロスキャン Walk Away	8	42.1
MALDI バイオタイパー	1	5.3
用手法	1	5.3
計	19	100.0

<薬剤感受性検査>

微量液体希釈法

薬剤名	MIC 符号	MIC 値 ($\mu\text{g/mL}$)	解釈	回答数	計	評価
MIPIC	=	0.50	S	6	18	A
	\leq	0.25		12		

CEZ	≧	0.50	S	1	18	A
		2.00		1		
		4.00		10		
		8.00		6		
CLDM	≧	0.25	S	10	18	A
		0.50		8		
EM	=	0.50	S	3	18	A
	≧	0.25		13		
		0.50		2		
VCM	=	1.00	S	8	18	A
	≧	0.50		8		
		1.00		1		
		2.00		1		

ディスク拡散法

薬剤名	阻止円径(mm)	解釈	回答数	計	評価
MPIPC	23	S	1	1	対象外※
CEZ	29	S	1	1	A
CLDM	25	S	1	1	A
EM	25	S	1	1	A
VCM	19	S	1	1	対象外※

※ディスク法の判定基準がないため、対象外とした。

<解説>

試料 31 には、*Staphylococcus aureus* (ATCC®29213™) を使用した。

同定検査は 86.4%の正解率であった。グラム陽性球菌の同定を行っていない 3 施設は評価対象外とした。対象外の施設を除くと、100%の正解率であり良好な結果であった。

薬剤感受性検査では、微量液体希釈法とディスク拡散法ともに良好な結果であった。また、本菌は MIC 測定における CLSI の精度管理推奨株である。各薬剤の精度管理限界値は、MPIPC : 0.12-0.5、CEZ : 0.25-1、CLDM : 0.06-0.25、EM : 0.25-1、VCM : 0.5-2 である。

2) 試料 32 : *Klebsiella pneumoniae* (ATCC®700603™)

<同定検査>

評価	同定菌名	回答数	%	計
A	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	22	100.0	22 (100.0%)
計		22	100.0	

同定機器／方法別の同定成績

	回答数	%
バイテック 2	9	40.9
マイクロスキャン Walk Away	8	36.4
MALDI バイオタイパー	1	4.5
用手法	4	18.2
計	22	100.0

<薬剤感受性検査>

微量液体希釈法

薬剤名	MIC 符号	MIC 値 ($\mu\text{g/mL}$)	解釈	回答数	計	評価
PIPC	>	64.00	R	9	18	A
	\geq	128.00		9		
AZT	=	16.00	R	2	17	A
	>	8.00		8		
		16.00		1		
	\geq	64.00		6		
CAZ	=	16.00	R	9	18	A
	>	32.00		1		
		8.00		8		
AMK	\leq	1.00	S	1	18	A
		2.00		8		
		4.00		8		
		2.00	R	1		C
MEPM	\leq	0.25	S	10	18	A
		0.50		1		
		1.00		7		

ディスク拡散法

薬剤名	阻止円径(mm)	解釈	回答数	計	評価
PIPC	11	R	1	1	A
AZT	13	R	2	2	A
CAZ	14	R	1	1	A
AMK	22	S	1	1	A
MEPM	29	S	1	1	A

<追加試験およびコメント>

○追加試験（複数回答可能）

AmpC/ESBL 鑑別ディスク／ESBL 陽性	6 施設
クラブラン酸添加による β-ラクタム薬の感受性 （微量液体希釈法）／阻害効果あり	4 施設
クラブラン酸添加による β-ラクタム薬の感受性 （栄研 ESBLs ディスク）／相乗作用あり	3 施設
シカベータテスト／ESBL 陽性	1 施設

○薬剤耐性

ESBLs 産生菌である	12 施設
ESBLs 産生菌の可能性がある	5 施設

○感染対策

病院（院内）感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	13 施設
--------------------------------	-------

○その他

パニック値対応（臨床及び感染制御部に報告）	1 施設
-----------------------	------

<解説>

試料 32 には、*Klebsiella pneumoniae* (ATCC®700603TM) を使用した。

同定検査は 100%の正解率であり、良好な結果であった。

薬剤感受性検査では微量液体希釈法とディスク拡散法ともに概ね良好な結果であったが、1 施設で MIC 値と SIR 解釈に矛盾があり C 評価とした。

また、本菌は ESBLs 産生株 (SHV-18) である。ESBLs 産生菌は、医療関連感染の原因菌ともなり得る耐性菌であるため注意が必要である。今回、付加試験やコメントは評価対象外であるが、薬剤感受性結果より推測し追加検査を行う体制や、ESBLs 産生菌が検出された際の報告体制等を整備しておく必要があると思われる。

【参考資料】

- ・日本臨床微生物学会ホームページ : <http://www.jscm.org/tazaitaisei/54.html>
- ・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.

2. フォトサーベイ

1) 設問 1

<正解および正解率>

評価	推定菌名	回答数	正解率
A	<i>Pasteurella multocida</i>	24 施設	96%
C	<i>Capnocytophaga sp.</i>	1 施設	4%
合 計		25 施設	100%

<解 説>

形態：大きさが $0.7 \times 0.3 \sim 0.6 \mu\text{m}$ の非常に小さな卵円形のグラム陰性桿菌。

臨床材料の直接塗抹では均一な卵円形であるが、寒天培地上で培養したものは、より桿状で多形性を示す。非運動性で芽胞はない。しばしば極染色性である。

Haemophilus influenzae に類似した形状である為、注意が必要である。

※ *Capnocytophaga* 属菌

グラム陰性桿菌、長さ $1.0 \sim 3.0 \mu\text{m}$ の紡錘形やや細く長い繊維状。無鞭毛。

イヌやネコとの接触歴（咬傷や搔傷など）のある免疫能低下者に血流感染を引き起こす。

培養：通性嫌気性菌、5～10%炭酸ガスにより発育が促進される。ヒツジ血液寒天培地やチョコレート寒天培地にて、 $35 \sim 37^\circ\text{C}$ 、24 時間培養後、 $0.5 \sim 1\text{mm}$ の黄灰色、不透明、低い凸状で光沢あるコロニーを呈する。5 日間程度培養経過で直径 6mm、褐色の R (rough) 型コロニーへ変化する。BTB 乳糖寒天培地には微小に発育か発育しない。

咬傷等では、病原性の強い株は小さい S (smooth) 型の蛍光を帯びたコロニーを形成する。呼吸器由来の株はムコイド型のコロニーを形成する事が多く、病原性は少ない。

同定：

	TSI 培地	LIM 培地			クリステンゼン尿素培地	シモンズクエン酸培地	DNA培地
	A/A	リジン脱炭酸	インドール産生	運動性			
<i>P.multocida</i>	+	-	+	+	-	-	-

生化学的性状：

	オキシダーゼ活性	カタラーゼ活性	硝酸塩還元	硫化水素産生	溶血性	V P 反応	ウレアーゼ活性	ブドウ糖分解	乳糖分解	白糖分解	マルトース分解	ラムノース分解	サリシン分解
<i>P.multocida</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-

基本情報：ヒトの感染症は気管支炎、気管支拡張症などの呼吸器疾患のほか、イヌやネコの咬傷、ひっかき傷による創傷感染がある。さらには敗血症、髄膜炎、脳膿瘍なども引き起こす。

【参考資料】

堀井俊伸・大塚和久、『微生物検査ナビ 第2版』.栄研化学株式会社
2016. p 166/167、288

2) 設問 2

<正解および正解率>

評価	推定菌名	回答数	正解率
A (正解)	<i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i>	25 施設	100%
合計		25 施設	100%

<解説>

形態：直径が 1 μ m 前後で、不規則な集塊を形成するグラム陰性双球菌（腎臓形）。

Neisseria meningitidis と異なり、好中球に一部貪食されるが貪食されずに細胞外にも散在性に菌が認められる像を呈する。非病原性 *Neisseria* 属菌は、集塊状に見える事が多い。塗抹上、炎症所見では白血球による貪食像が著名である。

培養：偏性好気性菌でヒツジ血液寒天培地やチョコレート寒天培地によく発育する。35～37℃、48 時間培養で直径 1.5～2mm の灰白色からクリーム色のスムーズなコロニーを形成する。集落は非病原性 *Neisseria* 属菌に類似するがコロニーを白金耳で触れると壊れやすい。

生化学的性状：

	糖分解	オキシダーゼ活性	カタラーゼ活性	硝酸塩還元	D N a s e
<i>M. catarrhalis</i>	－	＋	＋	＋	＋

生理食塩水中のコロニーの溶解：*M. catarrhalis* は生理食塩水に均一に崩れる。

非病原性 *Neisseria* 属菌は粘性があり、集塊状に崩れる。

基本情報：本菌の多くの菌株（80～90%）は β ラクタマーゼ産生株。

バイオセーフティレベル 2。感染症法上の分類はない。

小児科領域での上気道感染症（中耳炎、副鼻腔炎、結膜炎、気管支炎）の起炎菌。*H. influenzae* や *S. pneumoniae* と同時に検出される場合が多い。高齢者ではびまん性細気管支炎や塵肺など基礎疾患を有する患者の肺炎の起炎菌となる。

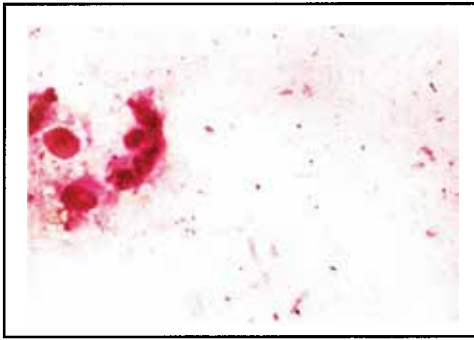
【参考資料】

堀井俊伸・大塚和久.『微生物検査ナビ 第2版』.栄研化学株式会社 2016. p 224-225

臨床検査増刊号.『微生物検査イエローページ』.医学書院 2014. p 1366-1368

フォト

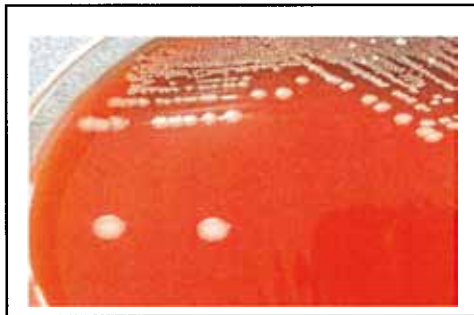
1-A



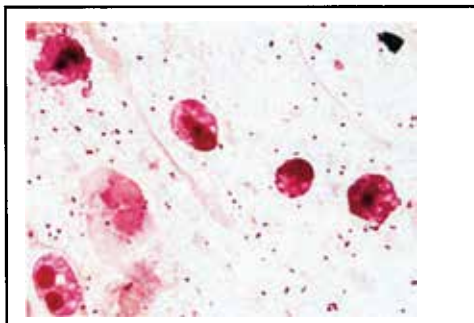
1-B



1-C



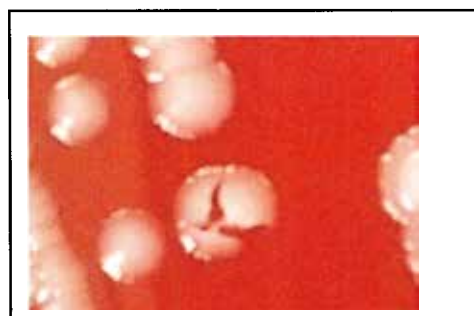
2-A



2-B



2-C



2-D (左:培養前 右:培養後)



【評価一覧】

受付 ID	試料 31 同定	試料 31 薬剤感受性	試料 32 同定	試料 32 薬剤感受性	フォト 1	フォト 2
1	A	A	A	A	A	A
5	A	A	A	C	A	A
12					A	A
13	A	A	A	A	A	A
14	A	A	A	A	A	A
15					A	A
16	A	A	A	A	A	A
17	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
23	A	A	A	A	A	A
27	A	A	A	A	A	A
28	A	A	A	A	A	A
31					C	A
35	A	A	A	A	A	A
36	対象外		A		A	A
39	A	A	A	A	A	A
40	A	A	A	A	A	A
41	A	A	A	A	A	A
45	対象外		A		A	A
52	A	A	A	A	A	A
56	A	A	A	A	A	A
58	対象外		A		A	A
59	A	A	A	A	A	A