

微生物検査部門

精度管理事業部員：中根 一匡

(厚生連 江南厚生病院 TEL:0587-51-3333 内線:2923)

I. はじめに

平成27年度微生物検査部門の精度管理調査は、菌株を用いた同定サーベイ2題、同定に伴う薬剤感受性サーベイ2題、およびフォトサーベイ2題を出題し、これらを調査対象とした。

II. 対象項目

1. 菌名同定

菌株1および2を対象項目とした。

2. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験については、菌株1がバンコマイシン(VCM)、テイコプラニン(TEIC)およびペニシリンG(PCG)の3剤、菌株2がイミペネム(IPM)、セフメタゾール(CMZ)、ミノサイクリン(MINO)を対象項目とした。また判定基準は、CLSI ドキュメント M100-S22以降の基準を用い、合わせて対象項目とした。

3. フォトサーベイ

推定微生物の写真を2題提示し、対象項目とした。

III. 試料

菌株1(試料71)と菌株2(試料72)を用いて調査を行った。

IV. 参加施設数

今年度の参加施設は63施設で、過去3年間の参加施設数は平成25年より順に64、63および63施設であり、ほぼ同数であった。

V. 評価設定と評価基準

評価設定(表1)と評価基準(表2-1, 2-2)を示す。評価に際して、附加コメントは任意回答としたため、除外して判定した。

表1: 評価設定

評価	回答	内容
A	正解	「基準」を満たし、優れている
B	許容正解	「基準」を満たしている
C	不正解	「基準」を満たしておらず改善が必要
D	不正解	「基準」から逸脱し早急な改善が必要
評価対象外	未参加 未回答	

表2-1：評価基準

【菌名同定】

推定微生物名	A	B	C	D
菌株1	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus</i> sp.	設定なし	設定なし
菌株2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	設定なし	設定なし	設定なし

【薬剤感受性(微量液体希釈法)】

薬剤名		A	B	C	D
菌株1	VCM	=16 I =8 I >16 R ≥32 R	≥16 R	=16 (感受性の判定未入力) =16 R	設定なし
	TEIC	≤0.5 S ≤1 S ≤2 S ≤4 S ≤8 S	設定なし	≤0.5 (感受性の判定未入力)	設定なし
	PCG	=2 S =4 S =8 S ≤8 S	設定なし	=2 (感受性の判定未入力) =2 R =4 R	設定なし
菌株2	IPM	=2 I =16 R =8 R >2 R >4 R >8 R ≥16 R ≥8 R	≥2 R	>4 (感受性の判定未入力) =2 R	設定なし
	CMZ	=32 I >32 R =16 S ≤16 S	>16 R	=16 (感受性の判定未入力) =8 I =16 R =32 R	設定なし
	MINO	=8 I >8 R ≥16 R	≥8 I >4 R =4 S	=8 (感受性の判定未入力)	設定なし

表2-2：評価基準

薬剤名		A	B	C	D
菌株1	VCM	14mm R	設定なし	設定なし	設定なし
		16mm I			
	TEIC	17mm S	設定なし	設定なし	設定なし
		18mm S			
		20mm S			
	PCG	16mm S	設定なし	設定なし	設定なし
		19mm S			
		20mm S			
菌株2	IPM	16mm R	設定なし	22mm S	設定なし
		17mm R			
	CMZ	14mm I	設定なし	設定なし	設定なし
		15mm I			
	MINO	13mm I	設定なし	設定なし	設定なし
		15mm I			

【フォト設問】

推定微生物名	A	B	C	D
フォト設問1	<i>Kudoa septempunctata</i>	設定なし	設定なし	設定なし
フォト設問2	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	設定なし	設定なし	設定なし

Ⅵ. 調査結果

1. 菌名同定（表3）

表3：菌名同定

	推定微生物名	回答数	回答率(%)	評価
菌株1	<i>Enterococcus faecalis</i>	61/62	98.4	A
	<i>Enterococcus</i> sp.	1/62	1.6	B
菌株2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	62/62	100	A

1) 菌株1の成績

A評価とした*Enterococcus faecalis*と回答した施設は、62施設中61施設(98.4%)、B評価とした*Enterococcus* sp.と回答した施設は、62施設中1施設(1.6%)であり、良好な成績であった。

2) 菌株2の成績

A評価とした*Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*と回答した施設は62施設すべてであり、良好な成績であった。

2. 薬剤感受性試験

1) 微量液体希釈法（表4-1, 4-2）

（1）菌株1

表4-1：薬剤感受性（微量液体希釈法）

	薬剤名	MIC 測定値	回答数	回答率(%)	評価
菌株1	VCM	=16 I	15/59	25.4	A
		=8 I	8/59	13.6	A
		>16 R	21/59	35.6	A
		≥32 R	11/59	18.6	A
		≥16 R	1/59	1.7	B
		=16 R	2/59	3.4	C
		=16（感受性の判定未入力）	1/59	1.7	C
	TEIC	≤0.5 S	24/59	40.7	A
		≤1 S	4/59	6.8	A
		≤2 S	21/59	35.6	A
		≤4 S	1/59	1.7	A
		≤8 S	8/59	13.6	A
		≤0.5（感受性の判定未入力）	1/59	1.7	C
	PCG	=2 S	43/57	57.4	A
		=4 S	8/57	14.0	A
		=8 S	2/57	3.5	A
		≤8 S	1/57	1.6	A
		=2 R	1/57	1.6	C
		=4 R	1/57	1.6	C
		=2（感受性の判定未入力）	1/57	1.6	C

微量液体希釈法にて回答した施設はVCMが59施設、TEICが59施設、PCGが57施設であった。VCMについてはA評価が55施設(93.2%)、B評価が1施設(1.7%)、C評価が3施設(5.1%)であった。TEICについてはA評価が58施設(98.3%)、C評価が1施設(1.7%)であった。PCGについてはA評価が54施設(94.7%)、C評価が3施設(5.3%)であった。C評価の理由は判定基準の誤入力または未入力であった。

(2) 菌株2

表4-2：薬剤感受性（微量液体希釈法）

薬剤名		MIC 測定値	回答数	回答率(%)	評価
菌株2	IPM	=2 I	2/59	3.4	A
		=16 R	1/59	1.7	A
		=8 R	7/59	11.9	A
		>2 R	23/59	39.0	A
		>4 R	7/59	11.9	A
		>8 R	7/59	11.9	A
		≧16 R	6/59	10.2	A
		≧8 R	3/59	5.1	A
		≧2 R	1/59	1.7	B
		=2 R	1/59	1.7	C
		>4 (感受性の判定未入力)	1/59	1.7	C
		CMZ	=32 I	21/56	37.5
	>32 R		6/56	10.7	A
	=16 S		18/56	32.1	A
	≦16 S		1/56	1.8	A
	>16 R		3/56	5.4	B
	=8 I		1/56	1.8	C
	=16 R		1/56	1.8	C
	=32 R		4/56	7.1	C
	=16 (感受性の判定未入力)		1/56	1.8	C
	MINO	=8 I	38/58	65.5	A
		>8 R	2/58	3.4	A
		≧16 R	8/58	13.8	A
		≧8 I	1/58	1.7	B
		>4 R	2/58	3.4	B
		=4 S	6/58	10.3	B
		=8 (感受性の判定未入力)	1/58	1.7	C

微量液体希釈法にて回答した施設はIPMが59施設、CMZが56施設、MINOが58施設であった。IPMについてはA評価が56施設(94.9%)、B評価が1施設(1.7%)、C評価が2施設(3.4%)であった。CMZについてはA評価が46施設(82.1%)、B評価が3施設(5.4%)、C評価

が7施設(12.5%)であった。MINOについてはA評価が48施設(82.8%)、B評価が9施設(15.5%)、C評価が1施設(1.7%)であった。C評価の理由は菌株1と同様、判定基準の誤入力または未入力であった。

2. ディスク法（表5）

表5：薬剤感受性（ディスク法）

	薬剤名	ディスク測定値	回答数	回答率(%)	評価
菌株1	VCM	14mm R	2/3	66.7	A
		16mm I	1/3	33.3	A
	TEIC	17mm S	1/3	33.3	A
		18mm S	1/3	33.3	A
		20mm S	1/3	33.3	A
	PCG	16mm S	1/3	33.3	A
		19mm S	1/3	33.3	A
		20mm S	1/3	33.3	A
菌株2	IPM	16mm R	1/3	33.3	A
		17mm R	1/3	33.3	A
		22mm S	1/3	33.3	C
	CMZ	14mm I	2/4	50.0	A
		15mm I	2/4	50.0	A
	MINO	13mm I	3/4	75.0	A
		15mm I	1/4	25.0	A

（1）菌株1

ディスク法にて回答した施設はVCMが3施設、TEICが3施設、PCGが3施設であった。VCM、TEICおよびPCGについては、回答したすべての施設がA評価であった。

（2）菌株2

ディスク法にて回答した施設はIPMが3施設、CMZが4施設、MINOが4施設であった。IPMについてはA評価が2施設(66.7%)、C評価が1施設(33.3%)であった。CMZおよびMINOについては、回答したすべての施設がA評価であった。

3. フォトサーベイ（表6）

表6：フォトサーベイ

	推定微生物名	回答数	回答率(%)	評価
フォト設問1	<i>Kudoa septempunctata</i>	63/63	100	A
フォト設問2	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	63/63	100	A

1) フォト設問1

*Kudoa septempunctata*を正解とした。63施設すべてがA評価であった。

2) フォト設問2

*Vibrio parahaemolyticus*を正解とした。63施設すべてがA評価であった。

VII. 解説および考察

1. 菌株 1

1) 菌株の由来

76歳の女性。基礎疾患として糖尿病がある。発熱のため救急外来を受診、尿一般検査にて細菌尿を認め、炎症反応も高値であったため、入院となった。入院時の血液培養と尿培養から本菌株が分離された。

2) 菌名同定

菌名は、*Enterococcus faecalis*である。本菌は健常者における腸管内の常在菌である。時に胆道感染症、尿路感染症、血流感染症などの起因菌となる。またバンコマイシン耐性が問題となっている菌である。今回の調査においてほとんどの施設が本菌と回答しており、通常菌種レベルまで同定できることが望ましいと考えられた。

3) 薬剤感受性

薬剤感受性試験が正しく実施されているかを調べる目的で、多くの施設で測定されているVCM、TEICおよびPCGの3薬剤について調査した。今回使用した菌株はVCMに耐性を示す株であり、VCMに耐性または中間、TEICに感性およびPCGに感性とした回答を正解とした。バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)は主にVanA、VanB、VanCおよびVanDの耐性遺伝子が関与しており、菌種と薬剤感受性の結果からVanB耐性遺伝子を保有する菌株と推測される。またVREは五類感染症全数把握に指定されており、VCMに対するMIC値が $16\mu\text{g/mL}$ 以上の場合は、届出が必要となる。薬剤感受性の回答結果からもVREに対する認識の高さが伺えた。

2. 菌株 2

1) 菌株の由来

63歳の男性。海外旅行中に転倒し、額を切創した。現地の病院にて手当を受け、2日後帰国した。帰国後、創部が化膿したため皮膚科を受診し、創部の膿から本菌株が分離された。

2) 菌名同定

菌名は、*Klebsiella pneumoniae*(*K. pneumoniae*)である。本菌は腸内細菌科に属するグラム陰性桿菌であり、日常的によく遭遇する呼吸器感染症、尿路感染症、血流感染症などの起因菌となる。今回の調査では、いずれの施設においても問題なく回答され、日常検査において菌種レベルまで同定が行われていることが伺えた。

3) 薬剤感受性

薬剤感受性試験が正しく実施されているかを把握する目的で、多くの施設で測定されているIPM、CMZおよびMINOの3薬剤について調査した。今回使用した菌株はKPC型カルバペネムゼン産生菌でありIPMにおいては、耐性または中間を示す回答を正解とした。またカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)による感染症は五類感染症全数把握疾患であり、IPMのMIC値が $2\mu\text{g/mL}$ 以上かつCMZのMIC値が $64\mu\text{g/mL}$ 以上の場合は、届出対象となる。

3. フォトサーベイ

1) フォト設問 1

写真は、ヒラメの筋肉内から検出された*Kudoa septempunctata*(*K. septempunctata*)の胞子である。従来魚類を宿主とする*Kudoa*属はヒトに無害とされてきた。しかし2011年に厚生労働省がヒラメ生食による食中毒の原因物質として*K. septempunctata*を特定し、*K. septempunctata*が確認された場合は食中毒として届け出ることを通知している。検査法は、食品残品からの胞子の検出、定量PCR法による*K. septempunctata*の遺伝子検出である。ヒラメを生食して数時間後に下痢、嘔吐を発症した患者については、*K. septempunctata*の感染を考慮すべきである。

2) フォト設問 2

写真は*Vibrio parahaemolyticus*の性状を示すものである。本菌は1950年に大阪で発生したシラス干しによる食中毒の原因菌として初めて分離された。本菌は海水温度が 20°C 以上になると増殖が活発になるため、夏期に多く食中毒が発生する。本菌による食中毒は感染型であり、腸管感染の成立には 10^6 個以上の生菌の摂取が必要とされている。本菌は写真に示したようにTCBS寒天培地に緑色の集落を形成し、3%および8%NaCl加ペプトン水に発育することから他のビブリオ属と鑑別できる。2001年に食品衛生法が一部改正され、近年本菌による食中毒は著しく減少し、臨床で分離されることが少なくなっている。また、2015年に愛知県臨床検査標準化協議会で発行したリーフレットに本菌が掲載されており、その浸透の確認も出題意図に含ませた。結果として参加施設のすべてが正しく回答し、県下における標準化の一助を担えた事が確認された。

VIII. まとめ

今年度は、2種類の菌株を用いた精度管理調査を行った。精度の担保された菌株を用いたため、菌名同定および薬剤感受性の結果において良好な調査結果となった。

回答方法は昨年度より日臨技JAMTQC精度管理システムを使用し回答していただいた。一部の参加施設からは、回答に評価対象外の項目が多く、誤入力を誘発しているとの意見も得られたため、更なる改善の余地が示唆された。今後はシンプルな回答による誤入力防止に努め、より精度の高い精度管理調査を実施し、参加施設および県下の感染症診療の向上に貢献できる活動を展開していきたい。

IX. 実務担当者

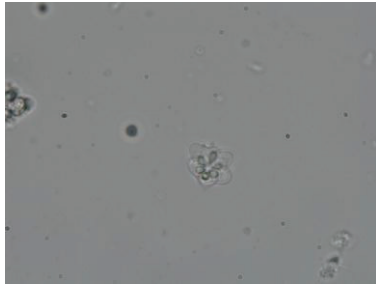
- 蔵前 仁(刈谷豊田総合病院)
- 原 祐樹(名古屋第二赤十字病院)
- 中根 邦彦(岡崎市保健所)

X. 参考文献

- 1) 戸田新細菌学 改訂32版 編集 吉田真一, 柳 雄介 南山堂
- 2) 臨床検査学講座 微生物 第3版
- 3) 臨床微生物検査ハンドブック 第4版 編集 小栗 豊子 三輪書店
- 4) 微生物検査ナビ 編集 犬塚和久 栄研化学株式会社
- 5) 八木田健司, 朝日博子: クドア・セプトテンブクタータ, 検査と技術 2015; 43: 756-758.
- 6) 石川勝之: 食中毒の新しい病原体 クドア・セプトテンブクタータ, Medical Technology 2014; 42: 769-770.
- 7) 腸管病原菌に関する検査 *Vibrio parahaemolyticus* 愛知県臨床検査標準化協議会リーフレット 愛知県臨床検査標準化協議会
- 8) 溝口美祐紀, 佐藤智明: 腸炎ビブリオ, 臨床検査 2014; 58: 1319-1322.

微生物検査部門 フォトグラフ

フォト 1(直接塗抹法×100)



フォト 2A(TCBS 寒天培地)



フォト 2B (NaCl 加ペプトン水)

