

微生物検査部門

精度管理事業部員：原 祐樹

(名古屋第二赤十字病院 TEL:052-832-1121 内線:30815)

I. はじめに

平成28年度微生物検査部門の精度管理調査は、日常検査において菌種名まで同定し、薬剤感受性試験を実施できることが重要である菌を中心に、菌株問題を出題した。また、フォトサーベイでは、感染症法の届出疾患の理解を確認するための問題を出題した。

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

薬剤感受性試験は、菌株1ではアンピシリン(ABPC)、セフトリアキソン(CTRX)、レボフロキサシン(LVFX)、菌株2ではバンコマイシン(VCM)、テイコプラニン(TEIC)およびペニシリンG(PCG)の3剤を対象とした。また、薬剤感受性試験の判定基準は、CLSI ドキュメント M100-S22以降の基準を用い、薬剤感受性試験のカテゴリー判定も合わせて対象とした。

3. フォトサーベイ

2題の微生物の写真を提示し、対象項目とした。

III. 試料

菌株1(試料71)と菌株2(試料72)を用いて菌名同定および薬剤感受性試験の調査を行った。

IV. 参加施設数

今年度の参加施設は62施設で、過去3年間の参加施設数と比較しても、例年とほぼ同様の参加施設数であった。

V. 評価設定と評価基準

評価設定(表1)と評価基準(表2)を示す。評価を行うにあたり、「溶血性確認方法」および「感染症法」に関する付加コメントは入力必須とし、その他については任意入力とした。

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	未参加	
対象外	未入力	

表 2：評価基準

【菌名同定】

推定微生物名	A	B	C	D
菌株1	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Haemophilus</i> sp.	設定なし	設定なし
菌株2	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus gallinarum/casseliflavus</i> <i>Enterococcus</i> sp.	同定不能	設定なし

【薬剤感受性(微量液体希釈法)】

薬剤名	A	B	C	D
	=2.00 I			
	=4.00 R			
ABPC	=8.00 R	設定なし	設定なし	設定なし
	>2.00 R			
	>4.00 R			
菌株1				
	=0.06 S			
	=0.12 S			
	=0.25 S			
CTRX	≤0.12 S	≥0.50 S	設定なし	設定なし
	≤0.25 S			
	≤0.50 S			
	≤1.00 S			
	≤2.00 S			
	≤0.06 S			
	≤0.12 S			
LVFX	≤0.25 S	=1.00 S		
	≤0.50 S	≥1.00 S	設定なし	設定なし
	≤1.00 S			
	≤2.00 S			

菌株2	VCM	=2.00 S			
		=4.00 S			
		=2.00 R			
		=3.00 R			
		=4.00 I	設定なし	設定なし	設定なし
		=4.00 R			
		=4.00 (感受性判定未入力)			
		≦2.00 S			
	TEIC	≦2.00 R			
		=1.00 S			
		=4.00 S			
		≦0.50 S			
		≦1.00 S	≧0.50 S	設定なし	設定なし
		≦2.00 S			
		≦4.00 S			
		≦8.00 S			
PCG	=0.25 S				
	=0.50 S				
	=1.00 S	=8.00 S	>2.00R	設定なし	
	=2.00 S	≧0.25 S	>8.00 R		
	≦2.00 S				

【薬剤感受性(ディスク法)】

薬剤名	A	B	C	D
菌株1	12mm R			
	15mm R			
	16mm R			
	17mm R	0mm R	設定なし	設定なし
	18mm R			
	20mm I			
	26mm S			
	27mm S			
	29mm S	設定なし	設定なし	設定なし
	30mm S			
	33mm S			

菌株1	LVFX	24mm S			
		25mm S			
		28mm S			
		30mm S	19mm S	設定なし	設定なし
		31mm S			
		32mm S			
		34mm S			
菌株2	VCM	16mm R			
		17mm R	設定なし	設定なし	設定なし
	TEIC	17mm S			
		18mm S	設定なし	設定なし	設定なし
		20mm S			
	PCG	17mm S			
		18mm S	設定なし	設定なし	設定なし
		24mm S			

【薬剤感受性(E-test)】

	薬剤名	A	B	C	D
菌株1	ABPC	=4.00 R	=3.00 I	設定なし	設定なし
	CTRX	設定なし	=0.64 S	設定なし	設定なし
	LVFX	=0.06 S	設定なし	設定なし	設定なし
菌株2	VCM	回答施設なしのため、設定せず			
	TEIC	回答施設なしのため、設定せず			
	PCG	回答施設なしのため、設定せず			

【フォト設問】

推定微生物名	A	B	C	D
フォト設問1	<i>Neisseria meningitidis</i>	設定なし	設定なし	設定なし
フォト設問2	<i>Plasmodium falciparum</i>	<i>Plasmodium</i> sp.	<i>Plasmodium vivax</i>	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>Haemophilus influenzae</i>	61/61	100%	A
	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	58/61	95.1%	A
菌株2	<i>Enterococcus casseliflavus/gallinarum</i>	1/61	1.6%	B
	<i>Enterococcus</i> sp.	1/61	1.6%	B
	同定不能	1/61	1.6%	C

1) 菌株1の成績

正解とした*Haemophilus influenzae*と回答した施設は、61施設中61施設(100%)で、極めて良好な成績であった。

2) 菌株2の成績

正解とした*Enterococcus casseliflavus*と回答した施設は61施設中58施設(95.1%)、B評価とした*Enterococcus* sp.あるいは*Enterococcus casseliflavus/gallinarum*と回答した施設は61施設中2施設(3.3%)、同定不能と回答した1施設はC評価とした。

2. 薬剤感受性試験

1) 微量液体希釈法 (表4-1, 2)

(1) 菌株 1

表4-1: 薬剤感受性 (微量液体希釈法)

表 1. 薬剤感受性試験結果 (菌株1に対する薬剤感受性)					
薬剤名	MIC 測定値	回答数	回答率 (%)	評価	
菌株1	ABPC	=2.00 I	2/49	4.1%	A
		=4.00 R	38/49	77.6%	A
		=8.00 R	1/49	2.0%	A
		>2.00 R	3/49	6.1%	A
		>4.00 R	5/49	10.2%	A
	CTRX	=0.06 S	1/48	2.1%	A
		=0.12 S	13/48	27.1%	A
		=0.25 S	2/48	4.2%	A
		≤0.12 S	22/48	45.8%	A
		≤0.25 S	4/48	8.3%	A
		≤0.50 S	2/48	4.2%	A
		≤1.00 S	2/48	4.2%	A
		≤2.00 S	1/48	2.1%	A
		≥0.50 S	1/48	2.1%	B
	LVFX	≤0.06 S	2/49	4.1%	A
		≤0.12 S	20/49	40.8%	A
		≤0.25 S	6/49	12.2%	A
≤0.50 S		4/49	8.2%	A	
≤1.00 S		12/49	24.5%	A	
≤2.00 S		2/49	4.1%	A	
≥1.00 S		1/49	2.0%	B	
	=1.00 S	2/49	4.1%	B	

微量液体希釈法を用いて回答した施設はABPCが49施設、CTRXが48施設、LVFXが49施設であった。ABPCについては全施設がA評価であった。CTRXは、A評価が47施設(97.9%)、B評価が1施設(2.1%)であった。LVFXは、A評価が46施設(93.9%)、B評価が3施設(6.1%)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	VCM	=2.00 S	12/58	20.7%	A
		=4.00 S	24/58	41.4%	A
		=2.00 R	2/58	3.4%	A
		=3.00 R	1/58	1.7%	A
		=4.00 I	5/58	8.6%	A
		=4.00 R	9/58	15.5%	A
		=4.00 (感受性判定未入力)	1/58	1.7%	A
		≤2.00 S	3/58	5.2%	A
		≤2.00 R	1/58	1.7%	A
	TEIC	=1.00 S	2/58	3.4%	A
		=4.00 S	1/58	1.7%	A
		≤0.50 S	20/58	34.5%	A
		≤1.00 S	4/58	6.9%	A
		≤2.00 S	20/58	34.5%	A
		≤4.00 S	2/58	3.4%	A
		≤8.00 S	8/58	13.8%	A
		≥0.50 S	1/58	1.7%	B
	PCG	=0.25 S	2/56	3.6%	A
		=0.50 S	13/56	23.2%	A
		=1.00 S	2/56	3.6%	A
		=2.00 S	24/56	42.9%	A
		≤2.00 S	10/56	17.9%	A
		=8.00 S	2/56	3.6%	B
		≥0.25 S	1/56	1.8%	B
		>2.00 R	1/56	1.8%	C
		>8.00 R	1/56	1.8%	C

微量液体希釈法を用いて回答した施設はVCMが58施設、TEICが58施設、PCGが56施設であった。VCMについては全施設がA評価であった。TEICはA評価が57施設(98.3%)、B評価が1施設(1.7%)であった。PCGはA評価が51施設(91.0%)、B評価が3施設(5.4%)、C評価が2施設(3.6%)であった。C評価の理由は判定基準の誤入力であった。

2) ディスク法およびE-test法（表5-1, 2）

表5-1：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	ABPC	12mm R	1/10	10.0%	A
		15mm R	3/10	30.0%	A
		16mm R	1/10	10.0%	A
		17mm R	1/10	10.0%	A
		18mm R	2/10	20.0%	A
		20mm I	1/10	10.0%	A
		0mm R	1/10	10.0%	B
	CTRX	26mm S	1/9	11.1%	A
		27mm S	3/9	33.3%	A
		29mm S	1/9	11.1%	A
		30mm S	2/9	22.2%	A
		33mm S	2/9	22.2%	A
	LVFX	24mm S	1/11	9.1%	A
		25mm S	1/11	9.1%	A
		28mm S	1/11	9.1%	A
		30mm S	1/11	9.1%	A
		31mm S	1/11	9.1%	A
		32mm S	4/11	9.1%	A
		34mm S	1/11	36.4%	A
		19mm S	1/11	9.1%	B
菌株2	VCM	16mm R	2/3	66.7%	A
		17mm R	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	17mm S	1/3	33.3%	A
		18mm S	1/3	33.3%	A
		24mm S	1/3	33.3%	A

表5-2：薬剤感受性（E-test）

	薬剤名	MIC 測定値	回答数	回答率(%)	評価
菌株1	ABPC	=4.00 R	1/2	50.0%	A
		=3.00 I	1/2	50.0%	B
	CTRX	=0.64 S	1/1	100%	B
	LVFX	=0.06 S	1/1	100%	A

(1) 菌株 1

ディスク法を用いて回答した施設はABPCが10施設、CTRXが9施設、LVFXが11施設であった。ABPCは、A評価が9施設(90.0%)、B評価が1施設(10.0%)であった。CTRXは、9施設全てA評価であった。LVFXは、A評価が10施設(90.9%)、B評価が1施設(9.1%)であった。C評価となった施設はなかった。E-test法で回答した施設は、ABPCが2施設、CTRXが1施設、LVFXが1施設であった。ABPCは、A評価が1施設(50.0%)、B評価が1施設(50.0%)であった。CTRXは1施設のみであったが、B評価であった。LVFXも1施設のみであったが、こちらはA評価であった。

(2) 菌株 2

ディスク法を用いて回答した施設はVCM、TEICおよびPCGともに3施設であった。回答したすべての施設がA評価となり、良好な成績であった。E-test法を使用して回答した施設はなかった。

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>Neisseria meningitidis</i>	62/62	100%	A
	<i>Plasmodium falciparum</i>	60/62	96.8%	A
フォト設問2	<i>Plasmodium</i> sp.	1/62	1.6%	B
	<i>Plasmodium vivax</i>	1/62	1.6%	C

1) フォト設問 1

*Neisseria meningitidis*を正解とした。62施設すべてがA評価であった。

2) フォト設問 2

Plasmodium falciparum(熱帯熱マラリア原虫)を正解とした。60施設(96.8%)がA評価、1施設(1.6%)がB評価、1施設(1.6%)がC評価となった。C評価となった施設は、*Plasmodium vivax*(三日熱マラリア原虫)と回答していた。

4. 感染症法コメント（表7）

表7：感染症法コメント

	コメント	回答数	回答率(%)
菌株1	感染症法で規定された菌ではない	28/61	45.2%
	「特にコメントなし」と回答	22/61	35.5%
	保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要はない	3/61	4.8%
	その他	3/61	4.8%
	5類感染症として取り扱う	1/61	1.6%
	回答未入力	4/61	6.5%
菌株2	感染症法で規定された菌ではない	32/61	51.6%
	「特にコメントなし」と回答	18/61	29.0%
	その他	3/61	4.8%
	保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要はない	2/61	3.2%
	5類感染症の可能性があるが、院内で対応ができないので検査を外注する	1/61	1.6%
	5類感染症として取り扱う	1/61	1.6%
フォト設問1	回答未入力	4/61	6.5%
	5類感染症として取り扱う	55/62	88.7%
	「特にコメントなし」と回答	3/62	4.8%
	感染症法で規定された菌ではない	1/62	1.6%
	保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要がある	1/62	1.6%
	5類感染症の可能性があるが、院内で対応ができないので検査を外注する	1/62	1.6%
フォト設問2	回答未入力	1/62	1.6%
	4類感染症として取り扱う	59/62	95.2%
	4類感染症の可能性があるが、院内で対応ができないので検査を外注する	1/62	1.6%
	「特にコメントなし」と回答	1/62	1.6%

1) 菌株1

56施設(91.9%)が「届出不要」との回答であった。1施設が「5類感染症に該当」と回答、4施設は「回答未入力」であった。

2) 菌株2

55施設(90.2%)が「届出不要」との回答であった。2施設が「5類感染症に該当」あるいは「5類感染症に該当する可能性がある」と回答、4施設は「回答未入力」であった。

3) フォト設問1

57施設(91.9%)が「届出が必要である」旨の回答であった。1施設が「感染症法に規定された菌ではない」と回答、4施設が「回答未入力」あるいは「特にコメントなし」との回答であった。

4) フォト設問2

60施設(95.2%)が「届出が必要である」旨の回答であった。2施設が「回答未入力」あるいは「特にコメントなし」との回答であった。

VII. 解説および考察

1. 菌株1

1) 菌株の由来

1歳の男児。左耳後部の腫脹と発熱を主訴に受診、耳鏡とCTで中耳炎および乳様突起炎の所見が認められたため、入院となった。入院時の耳漏培養から本菌が分離された。

2) 菌名同定

菌名は、*Haemophilus influenzae* (インフルエンザ菌)である。本菌はヒトの粘膜(上気道や口腔内など)に定着

し、肺炎や髄膜炎の起因菌となる。侵襲性インフルエンザ菌感染症は5類感染症全数把握に指定されており、該当する場合は届出が必要となる重要な疾患である。またβラクタマーゼ陰性アンピシリン耐性(BLNAR)株の増加が問題となっている菌である。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。なお本菌は耳漏から分離されており、侵襲性インフルエンザ菌感染症の定義である、髄液または血液からの検出には該当しないため届出は必要ないと考えられた。

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査する目的で、多くの施設で測定されているABPC、CTRXおよびLVFXの3薬剤について実施した。今回使用した菌株はABPCに耐性を示す株であり、ABPCに耐性、CTRXに感性およびLVFXに感性とした回答を正解とした。本菌は微量液体希釈法でのMIC測定時に、判定がやや困難な場合があるが、今回の調査では、ほとんどの施設で良好な結果であった。

2. 菌株2

1) 菌株の由来

59歳の男性。胆管炎の既往がある。発熱と右上腹部痛を主訴に救急外来を受診。熱源精査のために血液培養が2セット採取され、検査室に提出された。翌日、血液培養が2セットとも陽性となり、本菌が検出された。

2) 菌名同定

菌名は、*Enterococcus casseliflavus*である。本菌は*Enterococcus faecium*(*E. faecium*)と非常に類似した生化学的性状を有するだけでなく、VCMに対して内因性耐性を示す。よって、VCM耐性*E. faecium*と鑑別するためにも本菌を菌種レベルで同定できることは、院内感染対策上も重要である。一部施設で菌種まで同定されなかったが、多くの施設は日常的に菌種レベルまで同定されており、良好な成績であった。

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査する目的で、多くの施設で測定されているVCM、TEICおよびPCGの3薬剤について実施した。今回使用した菌株は、いずれの薬剤についても感性を示す菌株であった。TEICおよびPCGについては感性とした回答を正解とした。VCMは、MIC値には感性域であるが、内因性耐性があるため感受性の判定を耐性に変換して回答した施設もあったことから、MIC値が想定範囲内に入っている場合を正解とした。内因性耐性については、CLSIは「耐性」と報告することを推奨しているが、各施設の判断に一任されている。また、自動分析装置によっては内因性耐性を「耐性」と変換するアルゴリズムを搭載したもの

もある。今回の調査によって内因性耐性への対応の現状が把握できたので、研究班の研究会などを通じて、内因性耐性に対する理解を深める機会を設けていきたい。

3. フォトサーベイ

1) フォト設問1

写真は*Neisseria meningitidis*(*N. meningitidis*)の集落およびグラム染色像である。本菌は好気条件下でも発育するが、5～10%の炭酸ガス培養で発育が良好になる。生化学的性状は*Neisseria gonorrhoeae*と似ているが、本菌はマルトース分解能が陽性であることが鑑別点である。

本症例は*N. meningitidis*による侵襲性感染症であり、血液培養から菌が検出されたため、5類感染症の侵襲性髄膜炎菌感染症に該当する。*N. meningitidis*に関連する届出疾患には、2013年3月まで髄膜炎菌性髄膜炎が定められていたが、同年4月より髄膜炎に敗血症も加えた侵襲性髄膜炎菌感染症へと変更された。また2015年5月には診断後7日以内の届出から直ちに届出と感染症法上の取り扱いが変更された。これは*N. meningitidis*による感染症は重症度が高く、感染拡大防止のため迅速に積極的疫学調査を実施する必要があることが背景にある。検査室は菌の検出をいち早く知ることができるため、主治医への連絡はもとより、院内ICTチームなどと連携し、感染拡大を防ぐ必要がある。

2) フォト設問2

写真はデング熱の迅速検査キット(結果：陰性)および熱帯熱マラリア原虫のギムザ染色像である。多くの赤血球内に複数の輪状体を認めることから、熱帯熱マラリア原虫と推定できる。近年の日本の輸入マラリア患者数は年間50～80例弱であり、熱帯熱マラリアが最も多い。熱帯熱マラリアは早期に診断し、適切な治療を開始しなければ重症化する危険性があるため、他のマラリアとの鑑別が重要である。また、マラリアは感染症法で4類感染症に該当し、直ちに届出を行う必要がある。

本症例の渡航先であるブラジルはマラリア発生地域の一つで、他の蚊媒介感染症であるデング熱やジカウイルス感染症などの発生地域でもある。これらのウイルス感染症は、通常の検査室では検査できない場合が多く、保健所へ検査を依頼することになる。そういった際の保健所への依頼方法や検査材料および提出方法について、保健所や行政機関と連絡を取り、速やかに対応できるよう体制を整えておくことが望ましい。

4. 感染症法上のコメントについて

例年、コメント欄への入力には任意とし、評価対象外としていた。今年度は感染症法上のコメント入力を必須とし、感染症法に対する各施設の理解度を調査した。設問作成当初は評価対象とする予定であったが、実施初年度であることを考慮し、評価対象からは除外した。今年

度の設問では、菌株1および2は届出の対象となる疾患ではない症例、フォト1および2が届出の対象となる疾患に該当し、多くの施設で正しく理解されていることが分かった。しかし、一部の施設においては感染症法の届出に関する細かい基準の理解不足が原因と思われる間違いが散見された。また、未入力施設が見受けられ、こちらの周知不足も原因であったと思われる。感染症法は、しっかりと理解しておくべき項目のため、次年度は不正解および未入力についてはD評価とすることを検討している。今後、精度管理報告会や研究会などを通じて、その旨を周知していくことも予定している。

VIII. まとめ

1. 菌名同定

菌株1について、「A評価」の施設は、61施設中61施設(100%)であった。菌株2について、回答した61施設中58施設(95.1%)が「A評価」であった。菌株1および菌株2ともに良好な成績であった。

2. 薬剤感受性

菌株1および菌株2ともに「A評価」の施設が多く、良好な成績であった。

3. フォトサーベイ

フォト設問1は参加した62施設すべて、フォト設問2は62施設中60施設(96.8%)が「A評価」となり、両設問とも良好な成績であった。

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測定方法間差、機種間差、試薬間差のない良好な調査結果となった。

回答方法は日臨技JAMTQC精度管理システムを使用し回答していただいた。昨年度、一部の参加施設より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が出ていたことから、入力画面の構成の見直しを行った。これによって、入力操作が容易となり参加施設にとって使いやすいシステムの構築ができたと考えられた。しかし、入力項目については更なる絞り込みも可能であることから、来年度以降もよりユーザーフレンドリーなシステムの構築を進め、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)
- 河内 誠 (江南厚生病院)
- 美濃島 慎 (名古屋第一赤十字病院)

X. 参考文献

- 1) 戸田新細菌学 改訂32版 編集 吉田眞一, 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) 国立感染症研究所 病原微生物検出情報
- 6) 国立感染症研究所 感染症発生動向調査週報
- 7) 狩野繁之: 発熱を主症状とする寄生虫感染症 マラリア, 臨床と微生物 2014; 41: 311-314.