

微生物検査部門

精度管理事業部員：河内 誠

(JA愛知厚生連 江南厚生病院 TEL:0587-51-3333 (内線:2329))

I. はじめに

平成30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を同定し、薬剤感受性試験の実施が重要な菌を菌株問題として出題した。また、フォトサーベイは発育に特殊な培養条件が必要となる微生物を中心に

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ではオキサシリン(MIPIC)、セファゾリン(CEZ)、バンコマイシン(VCM)、菌株2ではアンピシリン(ABPC)、バンコマイシン(VCM)およびテイコプラニン(TEIC)の各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

3題の微生物の写真を提示した。

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61施設であった。

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、「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>Staphylococcus lugdunensis</i>	Coagulase-negative staphylococcus	設定なし	設定なし
菌株 2	<i>Enterococcus faecalis</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	≤0.25 S			
	=0.50 S			
	=1.00 S	設定なし	設定なし	=0.50 R
	=2.00 S			
	≤0.50 S			
	≤2.00 S			
	≤4.00 S	設定なし	設定なし	設定なし
	≤8.00 S			
	=4.00 S			
	≤0.50 S			
	≤1.00 S			
	≤2.00 S	設定なし	設定なし	設定なし
	=0.50 S			
	=1.00 S			
	≤0.25 S			
	≤2.00 S			
	=0.25 S	設定なし	設定なし	設定なし
	=0.50 S			
	=1.00 S			
	=2.00 S			
菌株 2	=8.00 I			
	=16.00 I			
	>16.00 R	設定なし	設定なし	設定なし
	>32.00 R			
	≥32.00 R			
	≤0.50 S			
	≤1.00 S			
	≤2.00 S	設定なし	設定なし	設定なし
	≤4.00 S			
	≤8.00 S			

【薬剤感受性(ディスク法)】

薬剤名		A	B	C	D
菌株 1	MPIPC	25mm S	設定なし	設定なし	設定なし
		26mm S			
	CEZ	32mm S	設定なし	設定なし	設定なし
		42mm S			
		48mm S			
	VCM	設定なし	設定なし	設定なし	20mm S
					22mm S
					24mm S
	ABPC	29mm S	設定なし	設定なし	設定なし
		30mm S			
		31mm S			
菌株 2	VCM	12mm R	設定なし	16mm I	17mm S
		13mm R			
	TEIC	18mm S	設定なし	設定なし	設定なし
		20mm S			
		22mm S			

【フォト設問】

推定微生物名	A	B	C	D
フォト設問 1	<i>Corynebacterium kroppenstedtii</i>	<i>Corynebacterium</i> sp.	設定なし	<i>Peptostreptococcus</i> sp.
フォト設問 2	<i>Malassezia</i> sp.	設定なし	設定なし	設定なし
フォト設問 3	<i>Mycobacterium fortuitum</i>	設定なし	<i>Mycobacterium</i>	<i>Veillonella</i> sp.
	迅速発育抗酸菌		<i>abscessus</i>	<i>Corynebacterium</i> sp.

【感染症法コメント】

追加コメント -感染症法	A	B	C	D	対象外
菌株 1	・感染症法で規定された菌ではない ・特にコメントなし ・その他	設定なし	設定なし	設定なし	設定なし
菌株 2	・5 類感染症として取り扱う ・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 ・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 ・特にコメントなし ・その他	設定なし	設定なし	無回答	・感染症法で規定された菌ではない
フォト設問 1	・感染症法で規定された菌ではない ・特にコメントなし	設定なし	設定なし	設定なし	設定なし
フォト設問 2	・感染症法で規定された菌ではない ・特にコメントなし				
フォト設問 3	・感染症法で規定された菌ではない ・特にコメントなし	設定なし	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>Staphylococcus lugdunensis</i>	60/61	98.4%	A
	Coagulase-negative staphylococcus	1/61	1.6%	B
菌株 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	61/61	100%	A

1) 菌株 1 の成績

正解とした*Staphylococcus lugdunensis*と回答した施設は、60施設(98.4%)、許容正解としたCoagulase-negative staphylococcusが1施設(1.6%)と、極めて良好な成績であった。

2) 菌株 2 の成績

全ての施設が正解とした*Enterococcus faecalis*と回答し、極めて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4-1,2)

(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	MPIPC	≤0.25 S	33/57	57.9%	A
		=0.50 S	18/57	31.6%	A
		=2.00 S	4/57	7.0%	A
		=1.00 S	1/57	1.8%	A
		=0.50 R	1/57	1.8%	D
	CEZ	≤8.00 S	24/57	42.1%	A
		≤2.00 S	14/57	24.6%	A
		≤4.00 S	12/57	21.1%	A
		≤0.50 S	6/57	10.5%	A
		=4.00 S	1/57	1.8%	A
	VCM	≤0.50 S	39/57	68.4%	A
		=1.00 S	8/57	14.0%	A
		≤2.00 S	6/57	10.5%	A
		=0.50 S	2/57	3.5%	A
		≤1.00 S	2/57	3.5%	A

微量液体希釈法を用いて回答した施設は57施設であった。MPIPCについてはA評価が56施設(98.2%)、D評価が1施設(1.8%)であった。CEZおよびVCMは、全ての施設がA評価であった。

(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	ABPC	=2.00 S	23/57	40.4%	A
		=0.50 S	17/57	29.8%	A
		≤2.00 S	11/57	19.3%	A
		=1.00 S	3/57	5.3%	A
		≤0.25 S	2/57	3.5%	A
		=0.25 S	1/57	1.8%	A
	VCM	=16.00 I	29/57	50.9%	A
		>16.00 R	12/57	21.1%	A
		≥32.00 R	10/57	17.5%	A
		=8.00 I	5/57	8.8%	A
		>32.00 R	1/57	1.8%	A
	TEIC	≤0.50 S	28/57	49.1%	A
		≤2.00 S	20/57	35.1%	A
		≤8.00 S	7/57	12.3%	A
		≤1.00 S	1/57	1.8%	A
		≤4.00 S	1/57	1.8%	A

微量液体希釈法を用いて回答した施設は57施設であった。ABPC、VCMおよびTEICについて、全施設がA評価であった。

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	MIPIC	26mm S	3/4	75.0%	A
		25mm S	1/4	25.0%	A
	CEZ	32mm S	1/3	33.3%	A
		42mm S	1/3	33.3%	A
		48mm S	1/3	33.3%	A
	VCM	22mm S	2/4	50.0%	D
		20mm S	1/4	25.0%	D
		24mm S	1/4	25.0%	D
菌株 2	ABPC	30mm S	2/4	50.0%	A
		29mm S	1/4	25.0%	A
		31mm S	1/4	25.0%	A
	VCM	12mm R	1/4	25.0%	A
		13mm R	1/4	25.0%	A
		16mm I	1/4	25.0%	C
		17mm S	1/4	25.0%	D
	TEIC	20mm S	2/4	50.0%	A
		18mm S	1/4	25.0%	A
		22mm S	1/4	25.0%	A

(1) 菌株 1

ディスク法を用いて回答した施設は、MIPICおよびVCMが4施設、CEZが3施設であった。MIPICおよびCEZは、全施設がA評価であった。VCMについては、ディスク法の基準が存在しないため、全施設をD評価とした。

(2) 菌株 2

ディスク法を用いて回答した施設は4施設であった。ABPCおよびTEICは、全施設がA評価であった。VCMは、A評価が2施設(50.0%)、C評価が1施設(25.0%)、D評価が1施設(25.0%)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>Corynebacterium kroppenstedtii</i>	60/61	98.4%	A
	<i>Peptostreptococcus</i> sp.	1/61	1.6%	D
フォト設問2	<i>Malassezia</i> sp.	61/61	100%	A
	<i>Mycobacterium fortuitum</i>	51/61	83.6%	A
	迅速発育抗酸菌	7/61	11.5%	A
フォト設問3	<i>Mycobacterium abscessus</i>	1/61	1.6%	C
	<i>Veillonella</i> sp.	1/61	1.6%	D
	<i>Corynebacterium</i> sp.	1/61	1.6%	D

1) フォト設問1

正解とした*Corynebacterium kroppenstedtii*と回答した施設は、60施設(98.4%)で、極めて良好な成績であった。

2) フォト設問2

Malassezia sp.を正解とした。61施設すべてがA評価であった。

3) フォト設問3

*Mycobacterium fortuitum*及び迅速発育抗酸菌を正解とした。*Mycobacterium fortuitum*と回答した施設は51施設(83.6%)、迅速発育抗酸菌と回答した施設は7施設(11.5%)で、合計58施設(95.1%)がA評価であった。C評価とした*Mycobacterium abscessus*と回答した施設は1施設(1.6%)、D評価とした*Veillonella* sp.、*Corynebacterium* sp.と回答した施設は各1施設(1.6%)であった。

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(%)	評価
菌株 1	感染症法で規定された菌ではない	32/61	52.5%	A
	「特にコメントなし」と回答	28/61	45.9%	A
	「その他」と回答	1/61	1.6%	A
菌株 2	5 類感染症として取り扱う	51/61	83.6%	A
	「特にコメントなし」と回答	3/61	4.9%	A
	「その他」と回答	2/61	3.3%	A
	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%	A
	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	1/61	1.6%	A
	空欄(未入力)	1/61	1.6%	D
	感染症法で規定された菌ではない	2/61	3.3%	対象外
フォト設問 1	特にコメントなし	33/61	54.1%	A
	感染症法で規定された菌ではない	28/61	45.9%	A
フォト設問 2	特にコメントなし	33/61	54.1%	A
	感染症法で規定された菌ではない	28/61	45.9%	A
フォト設問 3	特にコメントなし	32/61	52.5%	A
	感染症法で規定された菌ではない	29/61	47.5%	A

1) 菌株 1

32施設(52.5%)が「感染症法で規定された菌ではない」、28施設(45.9%)が「特にコメントなし」、1施設(1.6%)が「その他」と回答し、すべてA評価とした。

2) 菌株 2

53施設(86.9%)が「5 類感染症として取り扱う」あるいは「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」「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」との回答であった。3施設(4.9%)が「特にコメントなし」、2施設(3.3%)が「その他」と回答したが、VCMの薬剤感受性結果が感染症法の届出基準を満たしていなかったため、A評価とした。無回答であった1施設はD評価、「感染症法で規定された菌ではない」と回答した2施設は評価対象外とした。

3) フォト設問 1

61施設すべてが「感染症法に規定された菌ではない」、あるいは「特にコメントなし」との回答であり、A評価であった。

4) フォト設問 2

61施設すべてが「感染症法に規定された菌ではない」、

あるいは「特にコメントなし」との回答であり、A評価であった。

5) フォト設問 3

61施設すべてが「感染症法に規定された菌ではない」あるいは「特にコメントなし」との回答であり、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

70歳の男性。胃癌治療目的で入院中。胃切除術後、中心静脈カテーテルを挿入し、栄養輸液を行っていた。39℃の発熱・頻脈を呈し、熱源精査のために採取された血液培養2セットから本菌が検出された。

2) 菌名同定

菌名は、*Staphylococcus lugdunensis*である。本菌はコアグラーゼ陰性ブドウ球菌(CNS)でありながら、黄色ブドウ球菌と同様に感染性心内膜炎、デバイス関連感染、皮膚軟部組織感染症などを起こすことが知られている。今回の調査では、ほとんどの施設において問題なく回答され、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調査する目的で、MPIPC、CEZ、VCMの3薬剤について実施した。*Staphylococcus lugdunensis*はCNSでありながら、黄色ブドウ球菌と同様の基準を用いて解釈しなければならない。VCMについては、本菌に対するディスク法の基準が存在しないため、微量液体希釈法またはE-test法を用いなければならない。今回の調査では、ほとんどの施設で良好な結果であったが、一部ディスク法で回答した施設があり、改善が必要と思われた。

4) 感染症法コメント

本菌は感染症法に規定された菌ではないことを、全ての施設が正しく理解していた。

2. 菌株 2

1) 菌株の由来

24歳の女性。急性骨髄性白血病で加療中に発熱。熱源精査のために採取された血液培養2セットおよび尿から本菌が検出された。

2) 菌名同定

菌名は、*Enterococcus faecalis*である。本菌は腸管内に常在し、時に尿路感染症、胆道感染症、血流感染症の起炎菌となり、日常検査で検出される菌種の1つである。しばしばバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)が問題となり、院内感染対策上重要な菌である。すべての施設で日常的に菌種レベルまで同定されており、成績も非常に良好であった。

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、ABPC、VCMおよびTEICの3薬剤について実施した。今回使用した菌株は、*van B*遺伝子を保有し、VCMに耐性傾向を示す。そのため、耐性または中間耐性と回答した施設を正解とした。ABPCおよびTEICについては、感性和回答した施設を正解とした。

4) 感染症法コメント

感染症法におけるVREの届出基準は、微量液体希釈法でVCMのMICが16 μ g/mL以上と規定されている。届出基準を満たしていた施設のほとんどは、「感染症法で規定された菌である」と回答していた。一方、施設によっては測定値がVREの届出基準を満たさなかったために、届出不要と回答した施設が5施設あった。届出基準を満たしていないため、この回答は正解とした。VREの届出基準に関しては県下の施設で正しく理解されていると推察された。なお、VREの届出基準にディスク法は規定されていない。そのためディスク法でVCMが中間耐性を示した場合、微量液体希釈法またはE-test法を用いてMICを確認しなければならない。ディ

スク法を用いている施設については、上記を十分に理解しておく必要があると思われた。

3. フォトサーベイ

1) フォト設問 1

フォト1-AおよびBは*Corynebacterium kroppenstedtii*の集落およびグラム染色像である。本菌はカタラーゼ陽性、オキシダーゼ陰性のグラム陽性桿菌で、脂質好性である。そのため、ヒツジ血液寒天培地やブルセラHK寒天培地で遅発育性であり、好気あるいは炭酸ガス環境下で2～3日を要する。ただし脂質を添加した培地では発育が促進される。

本菌の感染は、肉芽腫性乳腺炎の発症と病態に関与していることが、国内外で多く報告されている。肉芽腫性乳腺炎は、良性の炎症性疾患であり、20～40代の女性、とくに妊娠後2～3年以内に発症する事が多い。本菌は、グラム染色で炎症性反応を認めるが、菌数は少ない例が大半である。また発育にも時間を要することから、患者背景を考慮しなければ見逃す可能性がある。本菌による乳腺炎の治療には、脂質移行性の高い薬剤を選択する必要がある。適切な抗菌薬使用を促すためにも、乳房の膿汁検体では本菌の発育に留意しながら培養する事が重要である。

2) フォト設問 2

フォト2-AおよびBは*Malassezia* sp.の集落およびグラム染色像である。本菌は脂質要求性の酵母様常在菌である。癬風、マラセチア毛包炎、脂漏性皮膚炎、アトピー性皮膚炎などの皮膚疾患や増悪因子と考えられている。

本菌は、発育に脂質を必要とし、通常の真菌培養条件下では分離が困難である。そのため分離培養にあたっては、真菌用分離培地にオリーブオイルを滴下するか、または特殊な選択培地を使用しなくてはならない。30～32℃、3～5日間の培養で発育する。

3) フォト設問 3

フォト3-Aは*Mycobacterium fortuitum*のグラム染色像であり、分岐のない細長いグラム不染色桿菌として染色される。フォト3-BはZiehl-Neelsen染色像であり、赤い細長い桿菌として観察される。本菌は細胞質にミコール酸を主成分とした脂質を含むため赤く染色される。フォト3-Cは30℃、5日間大気培養を行った羊血液寒天培地上の集落である。本菌は1週間以内に集落を形成する迅速発育抗酸菌であり、硝酸塩還元試験に陽性を示す。

本菌は、土壌、水、その他の自然界に広く分布しており、肺感染症や、皮膚非結核性抗酸菌症などの報告がされている。皮膚感染症においては結節や漏孔形成をすることに加え、治療に難渋することから留意すべき菌である。臨床から「治癒が遅延する膿瘍がある」との情報を

得た場合、本菌を含めた抗酸菌の関与を疑い、培養時間の延長を考慮する必要がある。

4. 感染症法上のコメントについて

感染症法コメントについては、一昨年度より入力必須とし、微生物部門の研究会や精度管理報告会において周知活動を進めてきた。今年度はほぼすべての施設で回答が入力されており、周知活動及び手引書への明示が功を奏した結果となった。感染症法の届出疾患についても、正しく理解されていると思われた。ただし、ディスク法でカバー出来ない届出要件もあるため、代替手段としてディスク法以外の方法を用意しておく必要がある。また、感染症法は届出基準が変更になることもあるため、常に最新の情報を得ておくことも大切である。

VIII. まとめ

今年度も例年通り、2種類の菌株を用いた精度管理調査を行った。近年、グラム陰性桿菌に注目が集まる一方、グラム陽性球菌の印象は薄れているが、その重要性が変わったわけではない。そのため今回はグラム陽性球菌に焦点を当て、調査を行った。グラム陽性球菌の同定・薬剤感受性測定について、良好な成績であることが確認できた。

フォトサーベイにおいては、特殊な培養条件が必要な菌を出題した。培養コロニーを得ることは、同定・薬剤感受性測定における基本である。臨床所見およびグラム染色像から菌を推定し、適切な培養条件を整えるための知識を確認できた。

回答方法は日臨技JAMTQCシステムを使用し回答していただいた。一昨年度、JAMTQCの入力画面を見直し、これまで散見されたMIC値の符号間違いなどのミスも今回の精度管理調査では確認されなかった。研究会や精度管理調査報告会を通じた啓蒙活動が改善につながったのではないかと考えている。改善を続け、入力ミスを回避するシステムを構築し、よりよい精度管理調査が行われるよう、今後も努めていきたい。

IX. 実務担当者

- 原 祐樹（名古屋第二赤十字病院）
- 西尾美津留（小牧市民病院）
- 永田 悠起（JA愛知厚生連豊田厚生病院）

X. 参考文献

- 1) M100-S22 Clinical and Laboratory Standards Institute
- 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5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 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/>

- 6) いま知りたい臨床微生物検査実践ガイド 大楠清文
- 7) 医真菌同定の手引き 第5版 D.H.ラローン
- 8) まれな菌？いざという時困らないために2016 日本臨床微生物学会