

微生物検査部門

精度管理事業部員：河内 誠

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

I. はじめに

2019年度微生物検査部門の精度管理調査は、日常検査において感染症法と関わりの深い重要な菌を菌株問題として出題した。また、フォトサーベイでは、検出は比較的稀ではあるものの、臨床上重要な微生物を中心に出題した。

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ではペニシリンG (PCG)、セフトリアキソン (CTR)、バンコマイシン (VCM)、菌株2でセフメタゾール (CMZ)、イミペネム (IPM) およびメロペネム (MEPM) 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、合わせて薬剤感受性試験のカテゴリー判定も対象とした。

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
評価対象外	未参加 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>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> G群β-streptococcus		その他	設定なし	設定なし
菌株2 <i>Escherichia coli</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	PCG	≤0.03 S ≤0.06 S	設定なし	設定なし	≤0.06 カテゴリなし			
	CTRX	≤0.06 S	設定なし	設定なし	≤0.06 カテゴリなし			
		≤0.12 S			≤0.12 カテゴリなし			
		≤0.25 S						
		≤0.50 S						
	VCM	≤0.12 S	設定なし	設定なし				
		≤0.25 S						
		=0.25 S			≤0.12 カテゴリなし			
		≤0.50 S			≤0.25 カテゴリなし			
		=0.50 S						
≤1.00 S								
菌株2	CMZ	>16.00 R	設定なし	設定なし	≥64.00 カテゴリなし			
		>32.00 R						
		≥64.00 R						
	IPM	≤1.00 S	設定なし	設定なし				
		=1.00 S						
		=2.00 I						
		=2.00 R						
		>2.00 R			≥16.00 カテゴリなし			
		=4.00 R						
		>4.00 R						
		=8.00 R						
		≥16.00 R						
		MEPM			=2.00 I	設定なし	設定なし	
					>2.00 R			
=4.00 R	≥16.00 カテゴリなし							
=16.00 R								
≥16.00 R								

【薬剤感受性(ディスク法)】

	薬剤名	A	B	C	D
菌株 1	PCG	32mm S	26mm S	設定なし	設定なし
		35mm S			
	CTR	30mm S	24mm S	設定なし	設定なし
		32mm S			
VCM	17mm S	設定なし	設定なし	15mm R	
	25mm S				
菌株 2	CMZ	0mm R	設定なし	設定なし	設定なし
		6mm R			
	IPM	20mm I	設定なし	設定なし	設定なし
		22mm I			
	MEPM	18mm R	設定なし	設定なし	設定なし
		20mm I			

【フォト設問】

	推定微生物名	A	B	C	D
フォト設問 1	<i>Granulicatella adiacens</i>		Nutritionally variant streptococci (NVS)	<i>Abiotrophia defective</i>	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
フォト設問 3	<i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Cryptococcus</i> sp.		設定なし	設定なし	設定なし

【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	5 類感染症(全数把握)として取り扱う必要があると考えられる	設定なし	設定なし	感染症法で規定された菌ではない	設定なし
菌株 2 (同定・感受性を 総合し評価)	5 類感染症(全数把握)として取り扱う必要があると考えられる 5 類感染症(全数把握)の可能性はあるが、院内で対応できないので検査を外注する	設定なし	設定なし	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	設定なし	設定なし	設定なし	その他
フォト設問 2	感染症法で規定された菌ではない その他	5 類感染症 (定点把握)として 取り扱う必要がある と考えられる。	設定なし	設定なし	設定なし
フォト設問 3	5 類感染症(全数把握)として取り扱う必要があると考えられる 5 類感染症(全数把握)の可能性はあるが、院内で対応できないので検査を外注する	設定なし	設定なし	感染症法で規定された菌ではない	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>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	43/61	70.5%	A
	G群 β -streptococcus	17/61	27.9%	A
	その他	1/61	1.6%	B
菌株 2	<i>Escherichia coli</i>	61/61	100%	A

1) 菌株1の成績

正解とした*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*と回答した施設は、43施設 (70.5%)、同じく正解としたG群 β -streptococcusと回答した施設は、17施設 (27.9%)、許容正解としたその他 (C/G群 β -streptococcus) 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

全ての施設が正解の*Escherichia coli*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	PCG	≤ 0.06 S	33/58	65.5%	A
		≤ 0.03 S	18/58	31.0%	A
		≤ 0.06 カテゴリなし	2/58	3.4%	D
	CTR	≤ 0.12 S	30/58	51.7%	A
		≤ 0.06 S	11/58	19.0%	A
		≤ 0.25 S	11/58	19.0%	A
		≤ 0.50 S	4/58	6.9%	A
		≤ 0.06 カテゴリなし	1/58	1.7%	D
		≤ 0.12 カテゴリなし	1/58	1.7%	D
		≤ 0.25 S	17/58	29.3%	A
	VCM	$= 0.25$ S	16/58	27.6%	A
		≤ 0.50 S	8/58	13.8%	A
		$= 0.50$ S	7/58	12.1%	A
		≤ 0.12 S	6/58	10.3%	A
≤ 1.00 S		2/58	3.4%	A	
≤ 0.06 カテゴリなし		1/58	1.7%	D	
≤ 0.12 カテゴリなし		1/58	1.7%	D	

微量液体希釈法を用いて回答した施設は58施設であった。PCG、CTR X およびVCMについて、A評価が56施設（96.6%）、D評価が2施設（3.4%）であった。なおD評価についてはいずれも判定結果の入力忘れと思われた。

（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	CMZ	>32.00 R	44/58	75.9%	A
		≥64.00 R	11/58	19.0%	A
		>16.00 R	1/58	1.7%	A
		≥64.00 カテゴリなし	2/58	3.4%	D
	IPM	=2.00 I	23/58	39.7%	A
		=4.00 R	14/58	24.1%	A
		>2.00 R	9/58	15.5%	A
		≥16.00 R	4/58	6.9%	A
		=2.00 R	2/58	3.4%	A
		≤1.00 S	1/58	1.7%	A
		=1.00 S	1/58	1.7%	A
		>4.00 R	1/58	1.7%	A
		=8.00 R	1/58	1.7%	A
		≥16.00 カテゴリなし	2/58	3.4%	D
	MEPM	>2.00 R	24/58	41.4%	A
		=4.00 R	18/58	31.0%	A
		=2.00 I	7/58	12.1%	A
		≥16.00 R	6/58	10.3%	A
		=16.00 R	1/58	1.7%	A
		≥16.00 カテゴリなし	2/58	3.4%	D

微量液体希釈法を用いて回答した施設は58施設であった。CMZ、IPMおよびMEPMについて、A評価が56施設（96.6%）、D評価が2施設（3.4%）であった。なおD評価についてはいずれも判定結果の入力忘れと思われた。

IPMのメーカー別MIC値（図1）およびMEPMのメーカー別MIC値（図2）を示す。

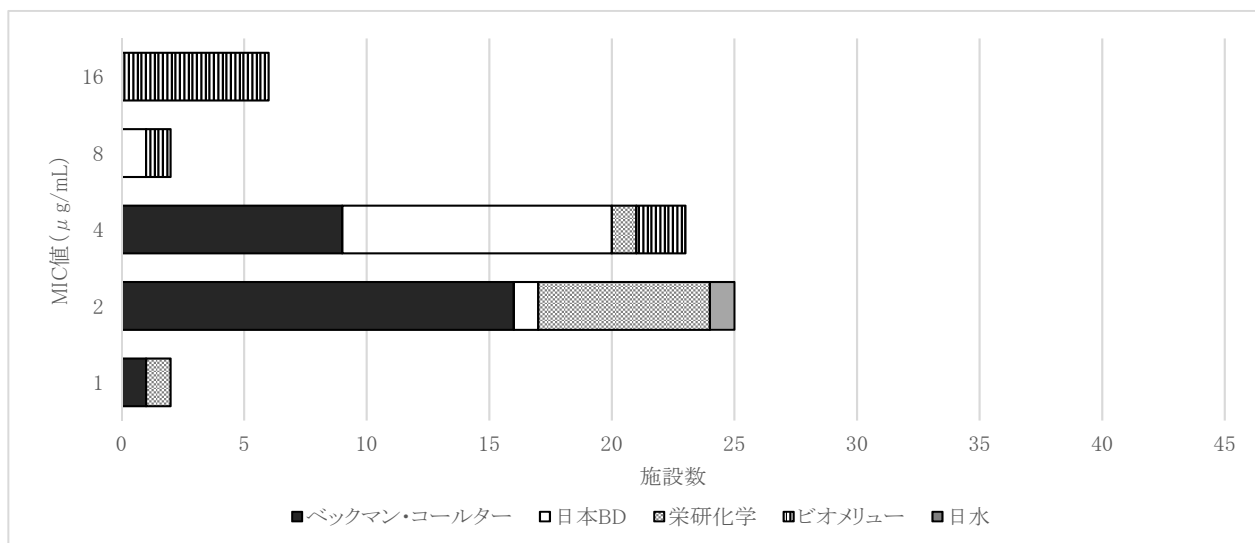


図1：IPMのメーカー別MIC値

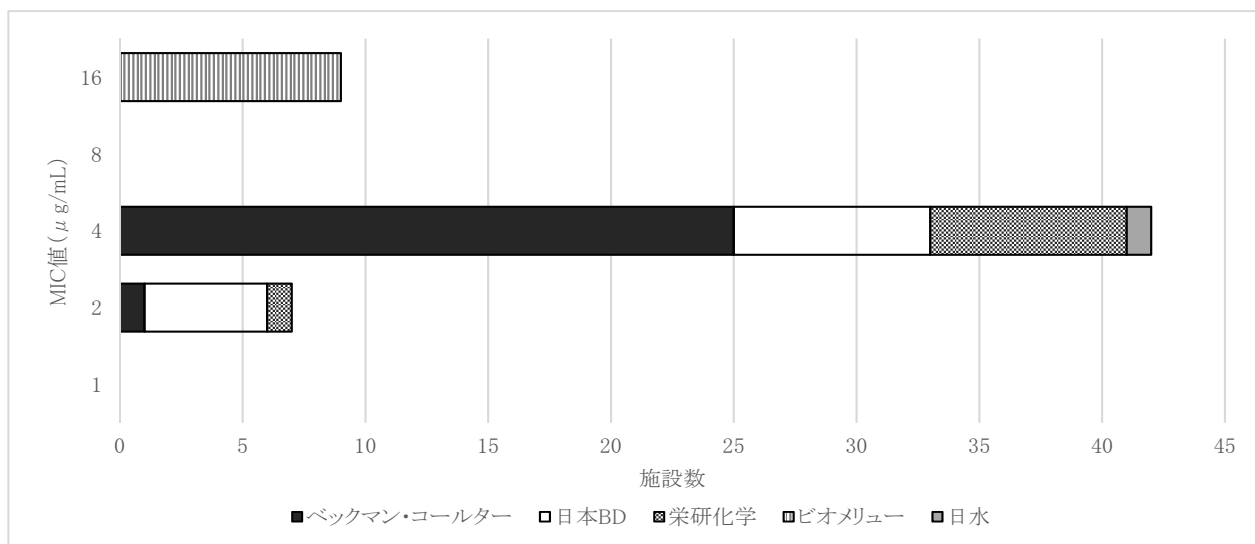


図2：MEPMのメーカー別MIC値

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	PCG	32mm S	1/3	33.3%	A
		35mm S	1/3	33.3%	A
		26mm S	1/3	33.3%	B
	CTRX	30mm S	1/3	33.3%	A
		32mm S	1/3	33.3%	A
		24mm S	1/3	33.3%	B
	VCM	17mm S	1/3	33.3%	A
		25mm S	1/3	33.3%	A
		15mm R	1/3	33.3%	D
菌株2	CMZ	0mm R	1/2	50.0%	A
		6mm R	1/2	50.0%	A
	IPM	22mm I	2/3	66.7%	A
		20mm I	1/3	33.3%	A
	MEPM	20mm I	2/3	66.7%	A
		18mm R	1/3	33.3%	A

(1) 菌株1

ディスク法を用いて回答した施設は3施設であった。
PCGおよびCTRXはA評価が2施設 (66.6%)、B評価が1施設 (33.3%)、VCMはA評価が2施設 (66.6%)、D評価が1施設 (33.3%) であった。

(2) 菌株2

ディスク法を用いて回答した施設はCMZが2施設、IPMおよびMEPMが3施設であり、すべて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>Granulicatella adiacens</i>	51/61	83.6%	A
	Nutritionally variant streptococci (NVS)	8/61	13.1%	B
	<i>Abiotrophia defectiva</i>	2/61	3.3%	C
フォト設問 2	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	61/61	100%	A
フォト設問 3	<i>Cryptococcus neoformans</i>	46/61	75.4%	A
	<i>Cryptococcus</i> sp.	15/61	24.6%	A

1) フォト設問 1

Granulicatella adiacens 及び Nutritionally variant streptococci (NVS) を正解とした。A評価とした *Granulicatella adiacens* と回答した施設は、51施設 (83.6%)、B評価とした Nutritionally variant streptococci (NVS) と回答した施設は8施設 (13.1%) であった。C評価とした *Abiotrophia defectiva* と回答した施設は2施設 (3.3%) であった。

2) フォト設問 2

Vibrio parahaemolyticus 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

Cryptococcus neoformans 及び *Cryptococcus* sp. を正解とした。*Cryptococcus neoformans* と回答した施設は46施設 (75.4%)、*Cryptococcus* sp. と回答した施設は15施設 (24.6%) で、61施設すべてがA評価であった。

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	5類感染症(全数把握)として取り扱う必要があると考えられる	44/61	72.1%	A
	感染症法で規定された菌ではない	17/61	27.9%	D
菌株2 (同定・感受性を総合し評価)	5類感染症(全数把握)として取り扱う必要があると考えられる	59/61	96.7%	A
	5類感染症(全数把握)の可能性はあるが、院内で対応できないので検査を外注する	1/61	1.7%	A
	感染症法で規定された菌ではない	1/61	1.7%	D
フォト設問1	感染症法で規定された菌ではない	60/61	98.4%	A
	「その他」と回答	1/61	1.7%	対象外
フォト設問2	感染症法で規定された菌ではない	48/61	78.7%	A
	「その他」と回答	2/61	3.3%	A
	5類感染症(定点把握)として取り扱う必要があると考えられる	11/61	18.0%	B
フォト設問3	5類感染症(全数把握)として取り扱う必要があると考えられる	48/61	78.7%	A
	5類感染症(全数把握)の可能性はあるが、院内で対応できないので検査を外注する	4/61	6.5%	A
	感染症法で規定された菌ではない	9/61	14.8%	D

1) 菌株1

44施設（72.1%）が「5類感染症（全数把握）として取り扱う必要があると考えられる。」と回答し、A評価であった。17施設（27.9%）が「感染症法で規定された病原体ではない。」と回答し、D評価となった。

2) 菌株2

60施設（98.3%）が「5類感染症（全数把握）として取り扱う必要があると考えられる。」あるいは「5類感染症（全数把握）の可能性はあるが、院内で対応できないので検査を外注する。」とし、5類感染症（全数把握）であることを指摘できたため、A評価とした。1施設（1.6%）が「感染症法で規定された病原体ではない。」とし、5類感染症（全数把握）であることを指摘できなかったため、D評価とした。

3) フォト設問1

60施設（98.4%）が「感染症法で規定された病原体ではない。」との回答であった。1施設（1.6%）が「その他」と回答し、フリーコメントを勘案した上で評価対象外とした。

4) フォト設問2

50施設（82.0%）が「感染症法に規定された菌ではない」、あるいは「その他」との回答でA評価とした。11施設（18.0%）が「5類感染症（定点把握）として取り

扱う必要があると考えられる」と回答した。本症例は成人であったが、5類感染症の一部に小児科定点医療機関が届出する感染性胃腸炎が含まれており、これに該当するという拡大解釈も可能なため、今回はB評価とした。

5) フォト設問3

52施設（85.2%）が「5類感染症（全数把握）として取り扱う必要があると考えられる」あるいは「5類感染症（全数把握）の可能性はあるが、院内で対応できないので検査を外注する」との回答であった。9施設（14.8%）が「感染症法で規定された菌ではない」と回答したためD評価とした。

VII. 解説および考察

1. 菌株1

1) 菌株の由来

65歳の男性。右大腿部の発赤、熱感で当院救急外来を受診。精査のため血液培養が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った。

なお本患者はショック症状、播種性血管内凝固症候群（DIC）、急性呼吸窮迫症候群（ARDS）ならびに中枢神経症状などの重篤な症状を示し、入院2日後に死亡した。

2) 菌名同定

菌名は、*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* である。本菌はLancefieldのG群に属し、血液寒天培地上で大きな β 溶血のコロニーを形成する。本菌は*Streptococcus pyogenes*のMタンパクに類似したタンパク質を産生し、病原性を持つとされる。*S. pyogenes*と同様に、咽頭炎、扁桃炎、皮膚軟部組織感染症、壊死性筋膜炎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、PCG、CTRX、VCMの3薬剤について実施した。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において、阻止円の著明な縮小がみられ、改善が必要と思われた。なお3薬剤においてMIC値に大きなバラつきがみられたものがなかったため、メーカー間差の検討は行っていない。

4) 感染症法コメント

本菌を含む β 溶血性レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、5類感染症（全数把握）に規定されている。本症例は届出に必要な臨床症状を複数満たし、無菌的部位から菌の検出がされていることから、劇症型溶血性レンサ球菌感染症に該当すると考えられた。今回、7割以上の施設が正しく理解していたが、一方で感染症法に該当しないと、D判定であった施設も多く見受けられた。

2. 菌株 2

1) 菌株の由来

76歳の女性。老人ホームに入所中であるが、繰り返す尿路感染により入退院を繰り返していた。

食欲不振、背部痛ならびに38℃の発熱を呈し、精査のため血液培養2セットおよび尿培養が採取され、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った。

2) 菌名同定

菌名は、*Escherichia coli*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、日常検査で非常に多く検出される菌種の1つである。しばしばESBLやカルバペネム耐性菌（CRE）が問題となり、院内感染対策上重要な菌となりうる。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、CMZ、IPMおよびMEPMの3薬剤について

実施した。今回使用した菌株は、IMP遺伝子を保有し、カルバペネム系抗菌薬、中でもMEPMに耐性傾向を示す。そのため、MEPMに耐性または中間耐性と回答した施設を正解とし、良好な結果であった。IPMおよびMEPMにおいて、MIC値にバラつきがみられたため、メーカー間差の検討を実施した。各メーカーによって測定原理が異なり、また測定パネルによって測定範囲が異なるため、一概に比較することはできないが、メーカーにより収束値が異なる傾向がみられた。IPMおよびMEPMは、CREの届出を行う上で必須の薬剤であり、MIC値の精確な測定が求められる。

4) 感染症法コメント

感染症法におけるCREの届出基準は、微量液体希釈法でMEPMのMICが2 μ g/mL以上、もしくはIPMのMICが2 μ g/mL以上かつCMZのMICが64 μ g/mL以上と規定されている。薬剤感受性試験の結果は、すべての施設で届出基準を満たしており、ほとんどの施設が「感染症法で規定された菌である」と回答していた。しかし極一部の施設では、届出基準を満たしているにも関わらず、届出不要と回答しており、CREの届出基準について、改めて県下の施設に広く周知する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は*Granulicatella adiacens*の発育した血液培養内容液のグラム染色像、フォト1-Bは血液培養内容液を羊血液寒天培地に塗布後、*Staphylococcus aureus*を画線し、35℃、48時間炭酸ガス培養を行なった培地所見である。フォト1-Cはフォト1-Bの微小集落である*Granulicatella adiacens*のグラム染色像である。本菌は発育にビタミンB6化合物やL-cysteinを要求することから一般の血液寒天培地には発育しないが、*S. aureus*を画線した周囲には非溶血または弱い α 溶血を示す直径0.2mm程度の微小コロニーとして観察される。本菌は培地の栄養源によって多形性を示し、菌体の伸長や膨化などがみられる。また、液体培地と寒天培地でも所見が異なるのが特徴である。本菌の生化学的性状はカタラーゼ試験陰性、L-pyrrolidonyl arylamidase (PYR) 陽性、leucin aminopeptidase (LAP) 陽性、アルギニン加水分解陰性、 α ガラクトシダーゼ産生陰性であり、NVSである*Abiotrophia defectiva*とは α ガラクトシダーゼにより鑑別する事ができる。

本菌における最も重要な感染症は、感染性心内膜炎（IE）であり、心機能異常や移植後など免疫低下患者に多く発生する。

2) フォト設問 2

フォト2-Aは*Vibrio parahaemolyticus*の集落、フォト2-Bは*Vibrio parahaemolyticus*のグラム染色像である。*Vibrio parahaemolyticus*は海水中に棲む細菌で、本

菌に汚染された生鮮魚介類やその加工品の喫食が急性腸炎（食中毒）の原因となる。

本菌はオキシダーゼ陽性であり、ブドウ糖を発酵的に分解するが、乳糖、白糖は非分解である。リジン脱炭酸陽性、インドール産生陽性、運動性陽性である。また本菌は好塩性細菌であり、食塩存在下で良好な発育がみられる。3%NaCl加ペプトン水で良好な発育を認め、次いで6%、8%で発育を認める。0%と10%での発育は認めない。

3) フォト設問3

フォト3-Aは*Cryptococcus neoformans*のグラム染色像、フォト2-Bは*Cryptococcus neoformans*の集落である。形態は球形または亜球形で周囲に莢膜を有するのが特徴である。

本菌は、土壤中に存在する真菌で、自然界に広く分布する。鳥類、とくにハトの糞中に高率で存在する。肺に経気道感染し、肉芽腫性病変を形成する。肺から血行性に播種して髄膜炎を発症する場合もある。日和見感染症であることが多い。*Cryptococcus*属は莢膜を有することと、ウレアーゼ活性が陽性である点が鑑別ポイントである。

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、入力を必須とし、以前より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。今年度はすべての施設で回答が入力されており、コメントの必須入力定着してきた状況がうかがえた。今回、感染症法の届出疾患について、複数の設問でD判定が散見された。今一度、感染症法の正しい理解と把握が必要である。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種類の菌株を用いて精度管理調査を行った。今回は感染症法に関わる菌に焦点を当て、調査を行った。感染症法は、検出菌の同定や薬剤感受性、臨床症状など複数の要素が関連する。最終的に届出を行うのは医師であるが、臨床検査技師も感染症法を深く理解し、医師に情報提供できる体制を構築すべきである。

フォトサーベイにおいては、検出は比較的稀ではあるものの臨床上重要な微生物を出題した。患者背景や臨床所見、グラム染色所見などから検出菌を推定し、適切な培養条件を整えることは微生物検査の基本であり、そのための知識を確認した。

回答方法は日臨技JAMTQCシステムを使用して回答を得た。今回、JAMTQCの入力画面および選択肢を一部見直し、より分かりやすい入力方法、適切な評価方法を模索したが、一部の施設から分かりにくいところのご指摘を頂いた。今後も改善を続け、よりよい精度管理調査が

行われるよう努めていきたい。

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) 厚生労働省 感染症法に基づく医師の届出のお願い
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/kekkaku-kansenshou/kekkaku-kansenshou11/01.html
- 7) いま知りたい臨床微生物検査実践ガイド 大楠清文
- 8) 医真菌同定の手引き 第5版 D.H.ラローン
- 9) 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