

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)

実務担当者：蔵前 仁 (刈谷豊田総合病院)

池崎 幸司 (名城病院)

原 祐樹 (名古屋第二赤十字病院)

I. はじめに

平成26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、これらを評価対象項目とした。

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23年より順に65、64、63と横ばい状態であった。

II. 評価設定と評価基準

評価設定(表1)と評価基準(表2-1, 表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

推定微生物名	A	B	C	D
菌株1	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MSSA) <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	設定なし	設定なし	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MRSA)
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	≤0.5	S(感性)			
	≤1	S(感性)			
	CEZ	≤2	S(感性)	≤8(感受性の判定未入力)	設定なし
		≤4	S(感性)		
		≤8	S(感性)		
		≤2	S(感性)		
	CFX	≤4	S(感性)	≤4(感受性の判定未入力)	設定なし
		S(感受性の判定のみ)			
		=0.12	S(感性)		
		=0.25	S(感性)		
	CLDM	≤0.2	S(感性)	≤0.5(感受性の判定未入力)	設定なし
		≤0.25	S(感性)		
	≤0.5	S(感性)			
菌株2	=16	R(耐性)			
	=32	R(耐性)			
	>8	R(耐性)			
	CAZ	>16	R(耐性)	>8(感受性の判定未入力)	設定なし
		>32	R(耐性)		
		≥16	R(耐性)		
		≥32	R(耐性)		
		≥64	R(耐性)		
		≤0.25	S(感性)		
	IPM	≤0.5	S(感性)	≤4 S(感性)	設定なし
		≤1	S(感性)	≤1(感受性の判定未入力)	設定なし
		=0.25	S(感性)		
	=0.5	S(感性)			
CPFX	=1	S(感性)	≤1(感受性の判定未入力)	設定なし	
	≤0.25	S(感性)			
	≤0.5	S(感性)			
	≤1	S(感性)			

表2-2：評価基準

薬剤名		A	B	C	D	
菌株1	CEZ	27mm	S(感性)			
		28mm	S(感性)	設定なし	26mm R(耐性)	
		31mm	S(感性)			
		32mm	S(感性)			
	CFX	24mm	S(感性)	設定なし	設定なし	12mm R(耐性)
		27mm	S(感性)			
		28mm	S(感性)			
		29mm	S(感性)			
		30mm	S(感性)			
	CLDM	24mm	S(感性)	設定なし	設定なし	設定なし
		25mm	S(感性)			
		27mm	S(感性)			
	菌株2	CAZ	11mm	R(耐性)	設定なし	設定なし
13mm			R(耐性)			
IPM		25mm	S(感性)	設定なし	設定なし	0mm R(耐性)
		28mm	S(感性)			
		29mm	S(感性)			
		31mm	S(感性)			
CPFX		22mm	S(感性)	設定なし	19mm	I(中間)
	20mm				S(感性)	
【フォト設問】						
推定微生物名		A	B	C	D	
フォト設問1	<i>Cryptosporidium</i> sp. <i>Cryptosporidium parvum</i>		設定なし	設定なし	設定なし	
フォト設問2	<i>Sarcoptes scabiei</i> (ヒゼンダニ)		設定なし	設定なし	設定なし	

Ⅲ. 調査結果

1. 菌名同定 (表3)

表3

	推定微生物名	回答数	回答率(%)
	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MSSA)	50/62	80.6
菌株1	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	11/62	17.7
	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MRSA)	1/62	1.6
菌株2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	62/62	100

1) 菌株1の成績

正解とした*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (MSSA)および*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*と回答した施設は、62施設中61施設(98.4%)であり、良好な成績であった。

2) 菌株2の成績

正解とした*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. 菌種同定測定装置 (表4)

表4

	測定装置	回答数	回答率(%)
菌株1	シーメンス マイクロスキャン Walk Away	27/62	43.5
	バイオメューバイテック	14/62	22.6
	BD PHOENIX	9/62	14.5
	日水 ライサス	2/62	3.2
	用手法	10/62	16.2
菌株2	シーメンス マイクロスキャン Walk Away	27/62	43.5
	バイオメューバイテック	14/62	22.6
	BD PHOENIX	9/62	14.5
	日水 ライサス	2/62	3.2
	バイオメュー ATB	1/62	1.6
	その他の微生物検査装置	1/62	1.6
	用手法	8/62	12.9

1) 菌株1の測定装置

測定装置について62施設から回答があった。マイクロスキャン Walk Away(シーメンス)が27施設(43.5%)と最も多く、次いでバイテック(シスメックス・バイオメュー)が14施設(22.6%)、用手法が10施設(16.2%)の順であった。

2) 菌株2の測定装置

測定装置について62施設から回答があった。マイクロスキャン Walk Away(シーメンス)が27施設(43.5%)

と最も多く、次いでバイテック(シスメックス・バイオメュー)が14施設(22.6%)、フェニックス(日本BD)が9施設(14.5%)の順であった。

3. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、菌株1についてはセファゾリン(CEZ)、セフォキシチン(CFX)およびクリンダマイシン(CLDM)の3薬剤、菌株2については、セフトジジム(CAZ)、イミペネム(IPM)、およびシプロフロキサシン(CPFX)の3薬剤を測定薬剤とした。

1) 微量液体希釈法 (表5)

表5

薬剤名		MIC 測定値	回答数	回答率(%)
菌株1	CEZ	≦0.5 S(感性)	6/57	10.5
		≦1 S(感性)	2/57	3.5
		≦2 S(感性)	9/57	15.8
		≦4 S(感性)	12/57	21.1
		≦8 S(感性)	27/57	47.4
		≦8(感受性の判定未入力)	1/57	1.8
	CFX	≦2 S(感性)	1/50	2.0
		≦4 S(感性)	45/50	90.0
		S (感受性の判定のみ)	3/50	6.0
		≦4(感受性の判定未入力)	1/50	2.0
	CLDM	=0.12 S(感性)	1/57	1.8
		=0.25 S(感性)	2/57	3.5
		≦0.2 S(感性)	1/57	1.8
		≦0.25 S(感性)	16/57	28.1
		≦0.5 S(感性)	36/57	63.2
≦0.5 (感受性の判定未入力)		1/57	1.8	
CAZ	=16 R(耐性)	14/56	25.0	
	=32 R(耐性)	1/56	1.8	
	>8 R(耐性)	11/56	19.6	
	>16 R(耐性)	23/56	41.1	
	>32 R(耐性)	1/56	1.8	
	≧16 R(耐性)	1/56	1.8	
	≧32 R(耐性)	3/56	5.4	
	≧64 R(耐性)	1/56	1.8	
	>8(感受性の判定未入力)	1/56	1.8	
	菌株2	IPM	≦0.25 S(感性)	13/56
≦0.5 S(感性)			1/56	1.8
≦1 S(感性)			39/56	69.6
≦4 S(感性)			2/56	3.6
≦1(感受性の判定未入力)			1/56	1.8
CPFY		=0.25 S(感性)	1/52	1.9
		=0.5 S(感性)	20/52	38.5
		=1 S(感性)	1/52	1.9
		≦0.25 S(感性)	10/52	19.2
		≦0.5 S(感性)	9/52	17.3
		≦1 S(感性)	10/52	19.2
		≦1(感受性の判定未入力)	1/52	1.9

(1) 菌株1

微量液体希釈法にて回答した施設はCEZが57施設、CFXが50施設、CLDMが57施設であった。CEZについては、 ≤ 8 （感受性の判定未入力）と回答した1施設（1.8%）を許容正解とし、その他の56施設を正解とした。CFXについては、 ≤ 4 （感受性の判定未入力）と回答した1施設（2.0%）を許容正解とし、その他の49施設を正解とした。CLDMについては、 ≤ 0.5 （感受性の判定未入力）と回答した1施設（1.8%）を許容正解とし、その他の57施設を正解とした。

許容正解を含めると全施設が正解しており、良好な成績であった。

(2) 菌株2

微量液体希釈法にて回答した施設はCAZが56施設、IPMが56施設、CPFXが52施設であった。CAZについては、 > 8 （感受性の判定未入力）と回答した1施設（1.8%）を許容正解とし、その他の55施設を正解とした。IPMについては、 ≤ 4 S（感性）および ≤ 1 （感受性の判定未入力）と回答した3施設（5.4%）を許容正解とし、その他の55施設を正解とした。 ≤ 4 S（感性）の回答はCLSI ドキュメント M100-S22以降の基準が ≤ 1 を感性とするため許容正解とした。CPFXについては、 ≤ 1 （感受性の判定未入力）と回答した1施設（1.9%）を許容正解とし、その他の51施設を正解とした。

許容正解を含めると全施設が正解しており、良好な成績であった。

2) ディスク法 (表6)

表6

	薬剤名	ディスク測定値	回答数	回答率(%)
菌株1	CEZ	27mm S(感性)	1/5	20.0
		28mm S(感性)	1/5	20.0
		31mm S(感性)	1/5	20.0
		32mm S(感性)	1/5	20.0
		26mm R(耐性)	1/5	20.0
	CFX	24mm S(感性)	1/8	12.5
		27mm S(感性)	1/8	12.5
		28mm S(感性)	1/8	12.5
		29mm S(感性)	2/8	25.0
		30mm S(感性)	1/8	12.5
		33mm S(感性)	1/8	12.5
		12mm R(耐性)	1/8	12.5
	CLDM	24mm S(感性)	1/4	25.0
		25mm S(感性)	1/4	25.0
		27mm S(感性)	2/4	50.0
菌株2	CAZ	11mm R(耐性)	1/5	20.0
		13mm R(耐性)	4/5	80.0
	IPM	25mm S(感性)	1/5	20.0
		28mm S(感性)	1/5	20.0
		29mm S(感性)	1/5	20.0
		31mm S(感性)	1/5	20.0
		0mm R(耐性)	1/5	20.0
	CPFX	22mm S(感性)	2/4	50.0
		19mm I(中間)	1/4	25.0
20mm S(感性)		1/4	25.0	

(1) 菌株1

ディスク法にて回答した施設はCEZが5施設、CFXが8施設、CLDMが4施設であった。CEZについては、阻止円径が27～32mm S（感性）と回答した4施設（80.0%）を正解とし、26mm R（耐性）と回答した1施設（20.0%）を不正解とした。CFXについては、阻止円径が24～33mm S（感性）と回答した7施設（87.5%）を正解とし、12mm R（耐性）と回答した1施設（12.5%）を不正解とした。CLDMについては、阻止円径が24～27mm S（感性）と回答した4施設（100%）を正解とした。

(2) 菌株2

ディスク法にて回答した施設はCAZが5施設、IPMが5施設、CPFXが4施設であった。CAZについては、阻止円径が11～13mm R（耐性）と回答した5施設（100%）を正解とした。IPMについては、阻止円径が25～31mm S（感性）と回答した4施設（80.0%）を正解とし、0mm R（耐性）と回答した1施設（20.0%）を不正解とした。CPFXについては、阻止円径が22mm S（感性）と回答した2施設（50.0%）を正解とし、19mm I（中間）および20mm S（感性）と回答した2施設（50.0%）を不正解とした。

4. 薬剤感受性測定装置(微量液体希釈法)とMIC値の分布

表7-1：薬剤感受性測定装置とMIC値（μg/mL）の分布（回答施設数）

CEZ（セファゾリン）

測定装置	≤0.5	≤1	≤2	≤4	≤8	回答数	回答率(%)
栄研ドライブプレート	6	2		2	3	13/57	22.8
シーメンスマイクロスキャン				1	23	24/57	42.1
日水ライサス					2	2/57	3.5
バイオメューバイテック				9		9/57	15.8
BD PHOENIX			9			9/57	15.8

表7-2：薬剤感受性測定装置とMIC値（μg/mL）の分布（回答施設数）

CFX（セフォキシチン）

測定装置	≤2	≤4	S	回答数	回答率(%)
栄研ドライブプレート	1	12		13/50	26.0
シーメンスマイクロスキャン		23		23/50	46.0
日水ライサス		2		2/50	4.0
バイオメューバイテック			3	3/50	6.0
BD PHOENIX		9		9/50	18.0

表7-3：薬剤感受性測定装置とMIC値（ $\mu\text{g/mL}$ ）の分布（回答施設数）

CLDM（クリンダマイシン）

測定装置	0.12	≤ 0.2	0.25	≤ 0.25	≤ 0.5	回答数	回答率(%)
栄研ドライブレート	1	1	6	1	4	13/57	22.8
シーメンスマイクロスキャン					24	24/57	42.1
日水ライサス				2		2/57	3.5
バイオメリュールバイテック				9		9/57	15.8
BD PHOENIX					9	9/57	15.8

表7-4：薬剤感受性測定装置とMIC値（ $\mu\text{g/mL}$ ）の分布（回答施設数）

CAZ（セフトアジジム）

測定装置	>8	16	>16	≥ 16	32	>32	≥ 32	≥ 64	回答数	回答率(%)
栄研ドライブレート	1	5	2						8/56	14.3
シーメンスマイクロスキャン	11		16	1					28/56	50.0
日水ライサス		1	1						2/56	3.6
バイオメリュールバイテック		8						1	9/56	16.1
BD PHOENIX			4		1	1	3		9/56	16.1

表7-5：薬剤感受性測定装置とMIC値（ $\mu\text{g/mL}$ ）の分布（回答施設数）

IPM（イミペネム）

測定装置	≤ 0.25	≤ 0.5	≤ 1	≤ 4	回答数	回答率(%)
栄研ドライブレート	4	1	4	1	10/56	17.9
シーメンスマイクロスキャン			25	1	26/56	46.4
日水ライサス			2		2/56	3.6
バイオメリュールバイテック	9				9/56	16.1
BD PHOENIX			9		9/56	16.1

表7-6：薬剤感受性測定装置とMIC値（ $\mu\text{g/mL}$ ）の分布（回答施設数）

CPFX（シプロフロキサシン）

測定装置	0.25	≤ 0.25	0.5	≤ 0.5	1	≤ 1	回答数	回答率(%)
栄研ドライブレート	1	1	5			2	9/52	17.3
シーメンスマイクロスキャン		1	15	2	1	6	25/52	48.1
日水ライサス						2	2/52	3.8
バイオメリュールバイテック		8	1				9/52	17.3
BD PHOENIX				6		1	7/52	13.5

薬剤感受性測定装置は、シーメンスマイクロスキャンが最も多く、次いで栄研ドライブレート、バイオメリュールバイテック、BD PHOENIXなどであった。

MIC値の分布は、メーカーごとに薬剤濃度の設定が異なり、様々なMIC値を示したが、結果は概ね菌株における薬剤感受性の規定値内に納まっていた。

5. フォトサーベイ (表8)

表8：フォトサーベイ

	推定微生物名	回答数	回答率(%)
フォト設問1	<i>Cryptosporidium</i> sp.	40/63	63.5
	<i>Cryptosporidium parvum</i>	23/63	36.5
フォト設問2	<i>Sarcoptes scabiei</i> (ヒゼンダニ)	63/63	100.0

1) フォト設問1

Cryptosporidium sp.および*Cryptosporidium parvum*を正解とした。63施設すべてが正解であり、良好な成績であった。

2) フォト設問2

Sarcoptes scabiei (ヒゼンダニ) を正解とした。63施設すべてが正解であり、良好な成績であった。

IV. 解説

1. 菌株1

1) 菌株の由来

6か月男児。3～4日前より微熱と哺乳力低下を認め、38度台の発熱と口囲、頸部および腋窩に発赤が生じ、その後、表皮が薄く剥離し、水疱形成が見られたため受診した。皮膚を擦ると容易に剥離するNikolsky現象が認められ、治療のため入院となった。本菌は皮膚の剥離部位から分離された。なお、咽頭および鼻腔からも同一の菌が分離された。

2) 菌名同定

菌名は、*Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) である。本症例は、小児におけるブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群 (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome : SSSS) の症例であった。SSSSは黄色ブドウ球菌が産生する外毒素 (exfoliative toxin : ET) により、水疱形成が誘導される疾患である。主に乳幼児が罹患しやすく、新生児では重症化しやすい。また免疫不全を伴う成人においても認められる。表皮が容易に剥離し、ぬれたティッシュペーパー状 (Nikolsky現象) になるのが特徴である。また咽頭や鼻腔などの黄色ブドウ球菌の産生するETが血流を介して全身皮膚に至り、SSSSを呈する場合もある。本設問は、患者の症状から本菌が推測できるかを問う設問であった。

今年度は追加コメントの入力が任意となっていたため考慮することができず、*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (MSSA)と*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*を正解とした。

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CEZ、CFXおよびCLDMの3薬剤について調査した。今回使用した菌株

は*Staphylococcus aureus* (MSSA)であり、この3剤に対して感性を示す株を用いた。

CFXはMRSAの判定を行うためにオキサシリンと併用する薬剤であり、その使用状況を調査する目的でこの薬剤を選択した。調査の結果、58施設から回答が得られた。しかしバイオメリュー バイテックを使用している施設はCFXの判定が特殊なため未回答とした施設があった。これらを考慮しCFXの使用状況を見ると、ほとんどの施設においてMRSAの判定にCFXを使用していることがわかった。

CLDMについては誘導耐性を問う設問であったが、今年度は追加コメントの入力が任意となっていたため考慮することができなかった。

2. 菌株2

1) 菌株の由来

76歳男性。発熱と意識障害のため救急外来を受診。来院時の白血球数10,800/ μ l、CRP 22.5mg/dlであった。尿沈渣より細菌が多数認められ、尿路感染症を疑い尿培養と血液培養の検体が提出された。本菌は提出された血液培養から分離された。なお尿培養からも同一の菌が分離された

2) 菌名同定

菌名は、*Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) である。本症例は尿からも*K. pneumoniae*が分離されていることから尿路感染症由来の菌血症の症例である。本菌はグラム陰性桿菌の腸内細菌科に属する菌であり、日常的によく遭遇する菌である。同定に関してはいずれの施設においても問題なく回答されていた。

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CAZ、IPMおよびCPFXの3薬剤について調査した。今回使用した菌株は *K. pneumoniae* (ESBL産生株) であり、CAZについては耐性、IPMおよびCPFXには感性を示す株を用いた。本菌はCAZが耐性であることからESBL産生株を推定しなければならない。今年度は追加コメントの入力が任意となっていたため薬剤耐性追加コメントの結果を掲載しなかった。しかし、多くの施設がESBL産生株のコメントを選択していること、さらに薬剤感受性の結果からESBL産生株を推定していることが認識できた。薬剤

感受性の結果については、大きな問題もなく概ね良好であった。

3. フォトサーベイ

1) フォト設問1

写真は、HIV陽性患者の水様性下痢便から検出された*Cryptosporidium*属のオーシストである。本原虫による下痢症の原因は、ほとんどが*Cryptosporidium parvum*感染によるもので、オーシストに汚染された生水、生野菜、手指などを介して経口感染する。オーシストは各種消毒薬にて死滅せず水道水の塩素消毒も無効である。エイズや各種免疫不全患者では症状が慢性化し、原虫寄生部位も胆嚢、胆管、膵管、呼吸器まで広がり、致命的になることがある。クリプトスポリジウム症は5類感染症（全数把握）である。

オーシストの検出には、比重を利用したシヨ糖遠心浮遊法が用いられ、オーシストを集め、Kinyoun抗酸染色を行う。今回の設問はエイズ患者の症例であり、患者背景と原虫の性状から、本原虫を推測できるかを問う問題であった。今回は、すべての施設が*Cryptosporidium* sp.または*Cryptosporidium parvum*と回答し、本原虫に対する認識の高さが伺えた。

2) フォト設問2

写真は角化型疥癬を伴う*Sarcoptes scabiei*（ヒゼンダニ）の感染症例である。疥癬はヒト皮膚角質層にヒゼンダニが寄生することによって起こる感染症である。ヒゼンダニは感染力が強く、しばしば高齢者施設での流行が問題となる。角化型疥癬は、以前はノルウェー疥癬と呼ばれていた病型で、重篤な基礎疾患や免疫抑制剤による免疫抑制状態にある患者に生じ易い。ヒゼンダニの検出は、疥癬トンネルがあればその先端を、なければ新しい丘疹からメスの刃や針などで検体を採取し、顕微鏡にて虫体や虫卵の検索を行う。今回の設問は患者背景と虫体の性状から、ヒゼンダニを推測できるかを問う問題であった。

V. 総括

1. 菌名同定

菌株1について、「A評価」の施設は、62施設中61施設（98.4%）であった。菌株2について、回答した62施設すべてが「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およびフォト設問2ともに回答した63施設すべてが「A評価」であり、良好な成績であった。

VI. 最後に

今年度は、2種類の菌株を用いた精度管理調査を行った。精度が管理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大きな偏りは見られず、良好な成績であった。

今年度も日臨技JAMTQC精度管理システムを使用し回答していただいた。前年度に使用したこともあり、使用方法に関する問い合わせもなく、結果入力はスムーズに行われていた。しかしながらこちらの不手際により追加コメントが任意になっており、その内容が反映されなかったことは反省する次第である。

昨年度はJAMTQC精度管理システムでの施設別報告書を出すことができなかったが、今年度は実施できた。このことは精度管理事業を行う上で大きな成果であると考えている。

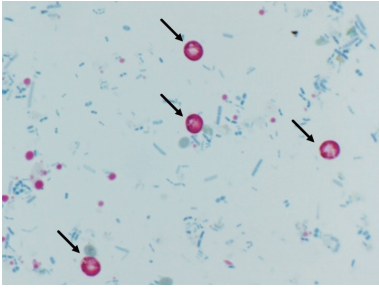
今後も設問の内容、回答形式など改善を行い、参加施設にとってより良い精度管理調査となるよう努力していきたいと考えている。

<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) 天谷雅行: ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群: SSSS, 小児科診療 2004; 55: 391-395.
- 5) 寄生虫学テキスト 第1版 編集 上村 清ほか 分光堂
- 6) 大滝倫子: 疥癬, 治療 2010; 92: 2013-2015.
- 7) 高原正和, 古江増隆: 疥癬とケジラミ症, 臨床と研究2012; 89: 926-930.

微生物検査部門 フォトグラフ

フォト1 (Kinyoun 抗酸染色標本 ×1000)



フォト2 (直接塗抹法 ×100)

