

平成30年11月25日

平成30年度静岡県臨床検査精度管理調査成績検討会

微生物検査部門

名倉 理教	浜松医科大学医学部附属病院
山岸 薫	聖隷沼津病院
加藤 美由紀	伊東市民病院
黒山 祥文	静岡赤十字病院
上村 桂一	中東遠総合医療センター
釋 悦子	聖隷浜松病院

はじめに

- 感染症の診断および治療に微生物検査は重要で、検査室は正確な検査結果と品質保証が求められている。また、同定菌名や薬剤感受性試験の結果を臨床が理解出来る様な報告も必要である。
- 本精度管理調査は、日常の検査方法や報告内容が妥当であるかを確認し、静岡県内の微生物検査が“どこで検査が実施されても同一の結果が報告される”ことを目標としている。今回の精度管理調査結果を各施設で検討し、検査方法および報告すべき事項等の再確認をお願いしたい。

参加施設数

項目		平成30年度
顕微鏡検査(グラム染色)	試料31	46施設
同定検査	試料32	40施設
	試料33	34施設
同定・感受性試験	試料34	36施設
顕微鏡検査(抗酸菌染色)	試料35	36施設

【試料31】

顕微鏡検査（グラム染色）

【試料31】調査目的

入院患者の血液から分離された*Clostridium perfringens*を試料とした。血液培養陽性培養液(ホルマリン固定)を配布し、各施設にて標本を作製、グラム染色を実施し、染色性の評価と形態の判断が出来るかを調査目的とした。

【試料31】調査概要

＜患者背景＞

74歳、男性。発熱のため救急外来を受診。感染症が疑われて血液培養検査を行ったところ、13時間で嫌気ボトルのみが培養陽性となった。

＜設問＞

試料は陽性となった血液培養ボトルの培養液である。貴施設の日常検査と同様にグラム染色を実施し、日常の報告方法で回答してください。

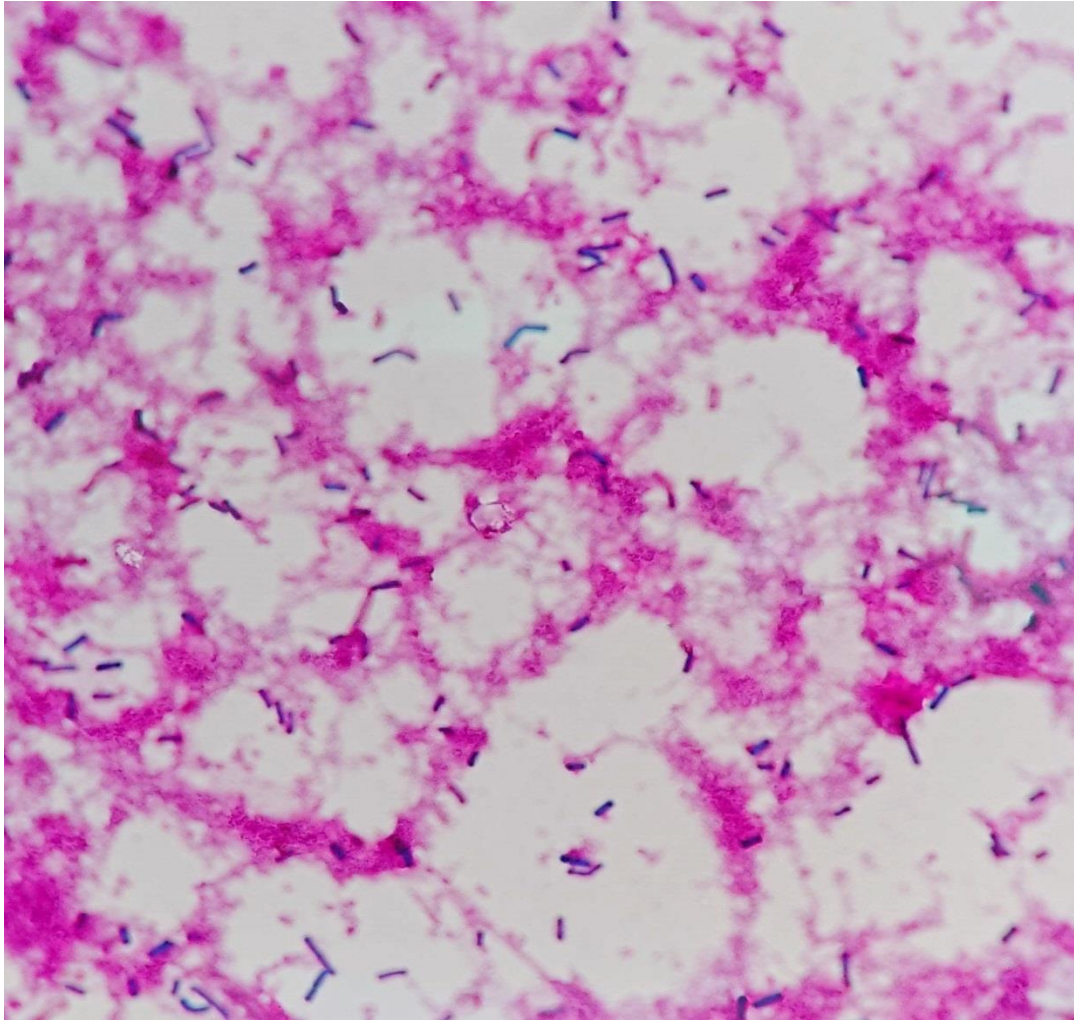
【試料31】結果

回答結果	評価	施設数
グラム陽性桿菌 (推定菌が <i>Clostridium</i> sp.の場合)	A	24 (52.2%)
グラム陽性桿菌	B	19 (41.3%)
グラム陰性桿菌	C	3 (6.5%)
合計		46

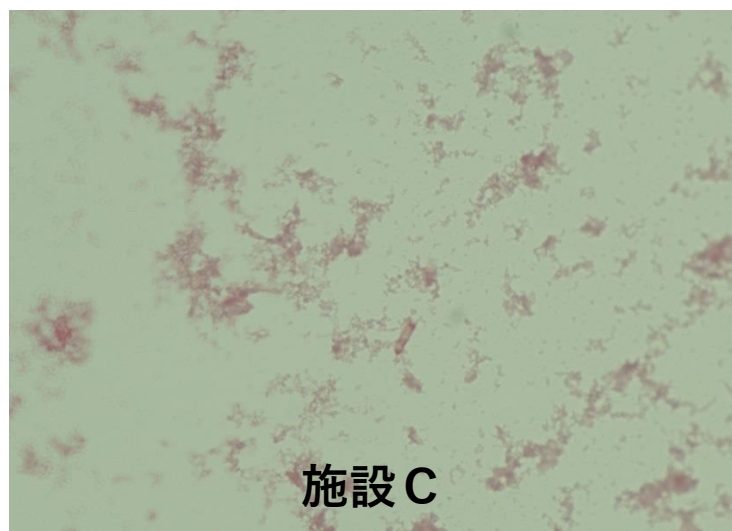
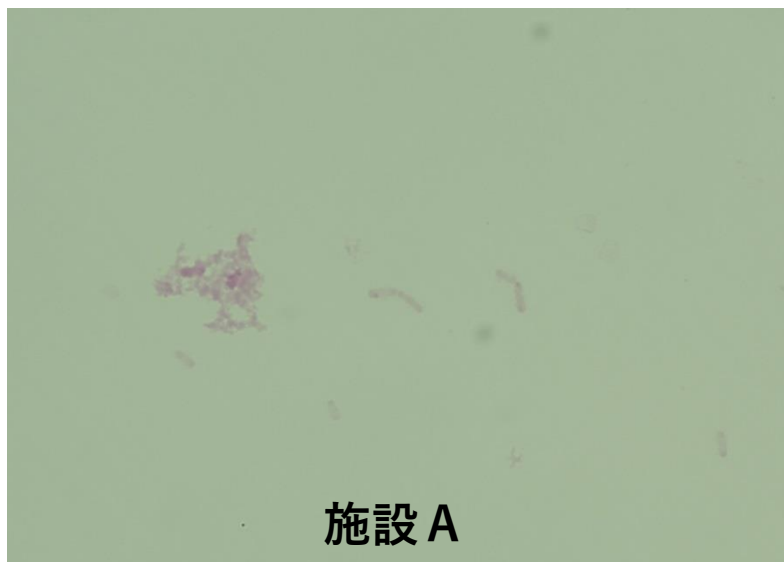
【試料31】臨床へのコメント（複数回答あり）

コメント内容	施設数
クロストリジウムを疑います	22 (52.2%)
嫌気性菌を疑います	11 (23.9%)
芽胞を認めます	6 (13.0%)
<i>Clostridium perfringens</i> (ウエルシュ菌)と推定	3 (6.5%)
汚染菌の可能性もあります	2 (4.3%)
コメント無し	11 (23.9%)

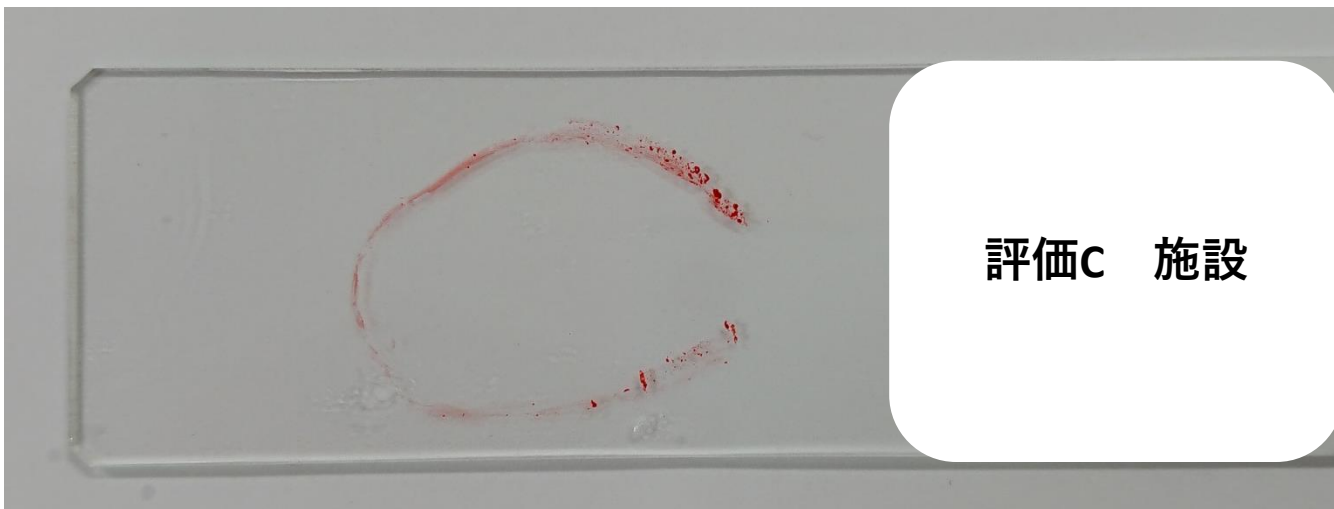
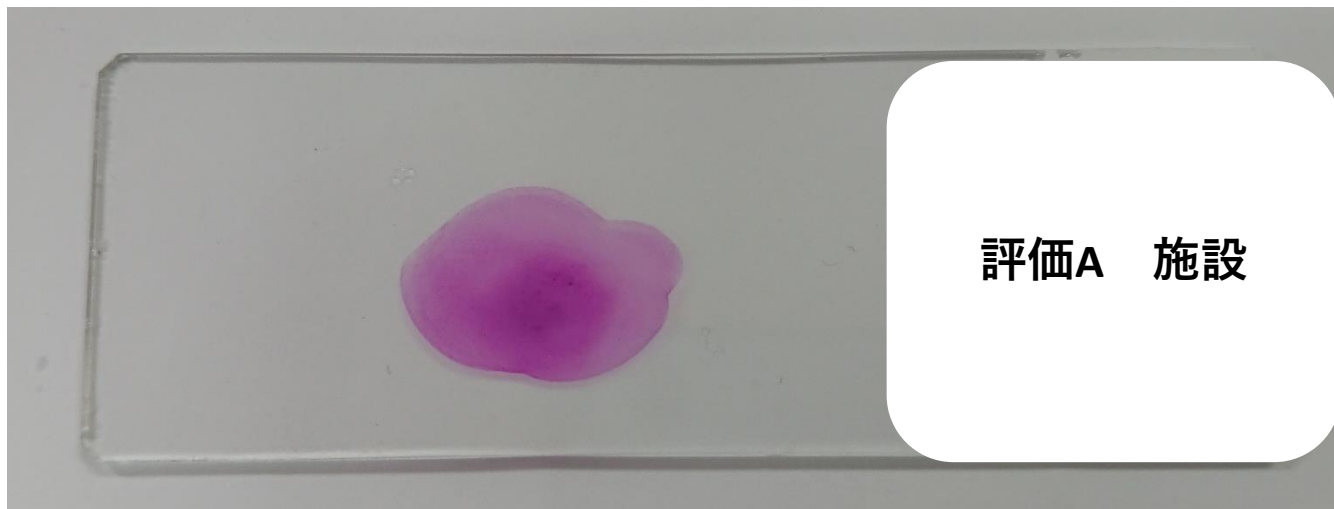
【試料31】染色像



【試料31】評価Cとなった染色像



【試料31】染色済み標本の比較



血液培養陽性ボトルの標本作製

染色標本の鏡検は赤血球が重複していない視野で行う。そのためには薄い標本作製する必要がある。ディスポーザブルシリンジで採取したボトル内容液を直接スライドグラスに滴下して作成する場合は、スライドグラスの端部分に1滴滴下し、その一部を白金耳で薄く塗布する。(滴下した菌液を全部塗り広げる必要はなく、厚みが不均一になってもよい)。

また、別法として、培養液を一旦滅菌チューブに移した後、そこから白金耳で採取しスライドグラスに塗布する方法もある。

日本臨床微生物学会 血液培養検査ガイドより抜粋

【試料31】まとめ

- ① グラム陽性桿菌と回答した施設は43/46施設（93.5%）と良好な結果であった。
- ② 臨床へのコメントに*Clostridium* sp.もしくは*Clostridium perfringens*の記載があった施設は25/46施設（54.3%）と約半数で前年度と同様な結果であった。血液培養陽性時、グラム染色の形態的特徴は早期治療において重要な検査所見であるため、各施設で報告内容の検討をしていただきたい。
- ③ 染色実施時は、検体量・染色時間など規定に沿って実施することが重要である。

【試料32】

同定検査

【試料32】調査目的

Salmonella sp.(O4群)、*Escherichia coli*(VT-)、*Klebsiella pneumoniae*、*Enterococcus faecalis*の4菌種を混合した試料を輸送用培地(シードスワブ)にて配布し、分離技術および同定精度を調査目的とした。

【試料32】調査概要

＜患者背景＞

44歳、男性。食品調理に従事しているため、定期的な検便検査を行った。

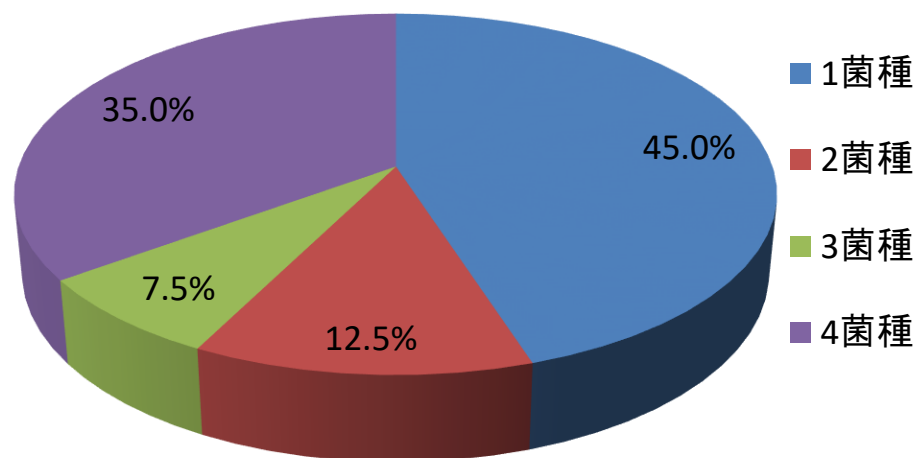
＜設問＞

試料は検出菌をスワブに染み込ませたものである。貴施設の日常検査と同様に同定検査を実施してください。

【試料32】結果

回答結果	施設数
<i>Salmonella</i> sp. (<i>Salmonella</i> Typhimuriumも含む)	40 100%
<i>Escherichia coli</i>	22 55.0%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>Klebsiella</i> sp.も含む)	17 42.5%
<i>Enterococcus</i> sp. (<i>Enterococcus faecalis</i> も含む)	14 35.0%

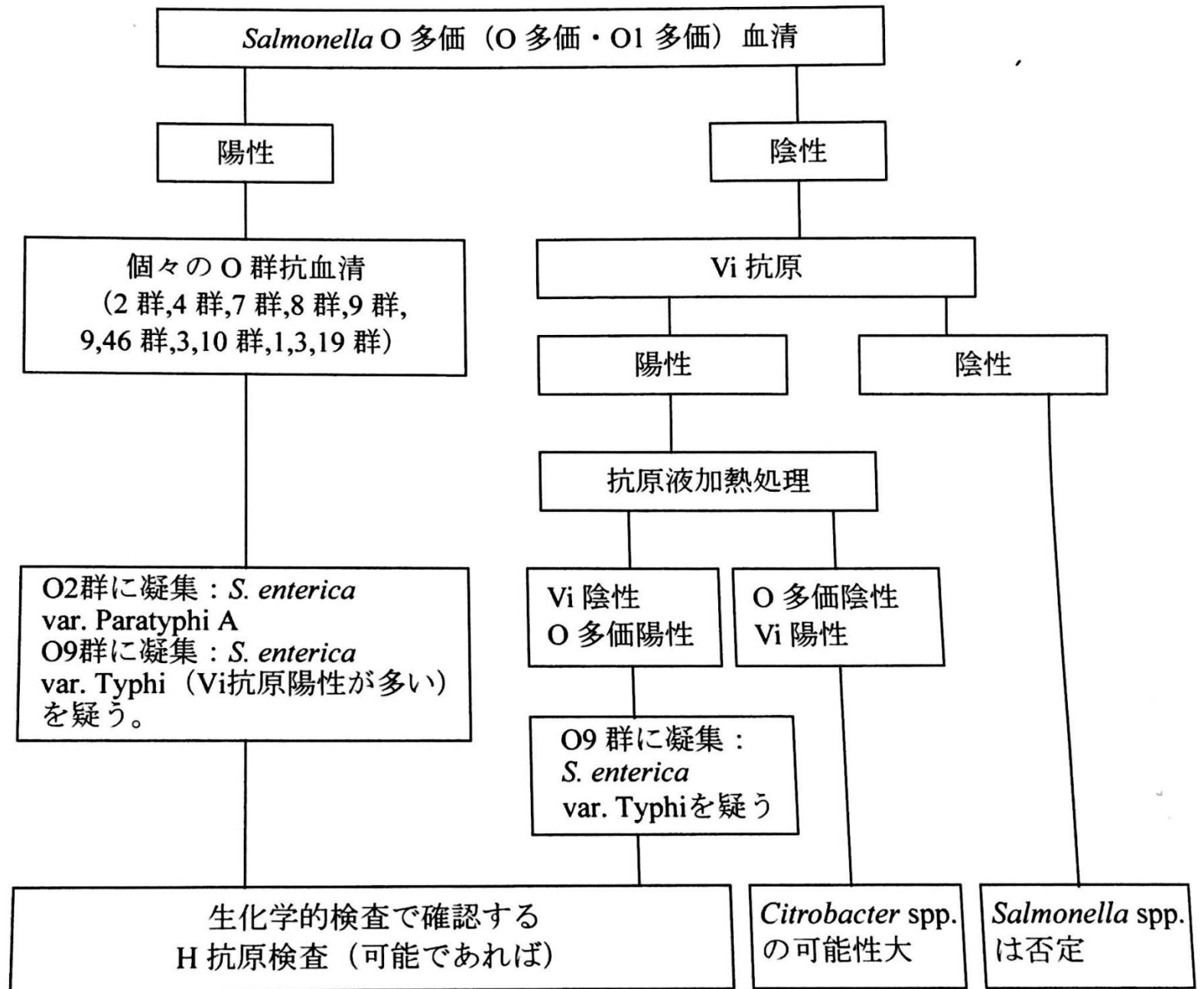
回答のあった菌種数	施設数
1菌種	18 45.0%
2菌種	5 12.5%
3菌種	3 7.5%
4菌種	14 35.0%
合計	40



Salmonella spp.の一次同定試験の生化学的性状

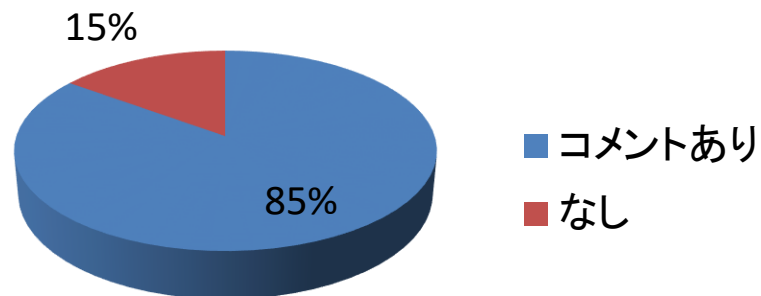
	TSI			LIM		
	斜面/高層	ガス産生	硫化水素	リジン脱炭酸試験	運動性	インドール
<i>Salmonella enterica</i> var. Typhi	-/A	-	- or + week	+	d	-
<i>Salmonella enterica</i> var. Paratyphi A	-/AG	+	-(時に+ week)	-	+	-
非チフス性 <i>Salmonella</i>	-/AG	+	+	+	+	-

A:acid, G:gas, +:positive, -:negative, d:97%陽性/3%陰性

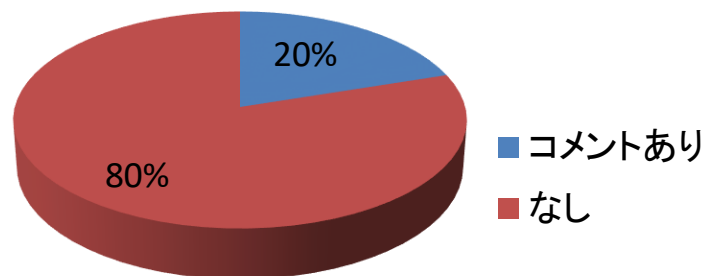


○群抗血清検査 H抗原検査について

○群抗血清検査	施設数
コメントあり	34(85%)



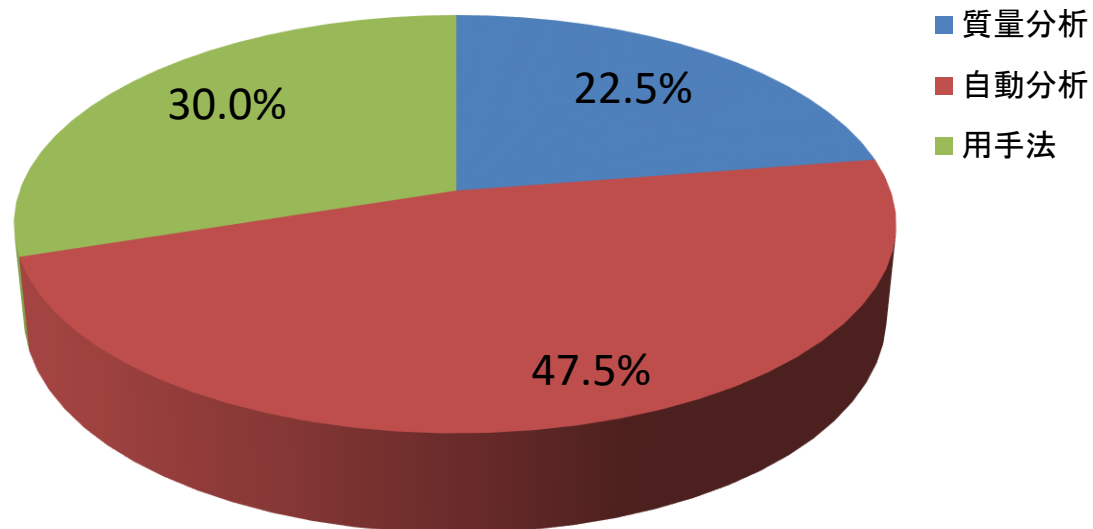
H抗原検査	施設数
コメントあり	8(20%)



【試料32】菌種の同定方法

同定菌種	質量分析	自動分析	用手法
<i>Salmonella</i> sp. (<i>Salmonella</i> Typhimuriumも含む)	9	19	12
<i>Escherichia coli</i>	6	10	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>Klebsiella</i> sp.も含む)	6	8	3
<i>Enterococcus</i> sp. (<i>Enterococcus faecalis</i> も含む)	5	8	1

Salmonella sp.の同定方法



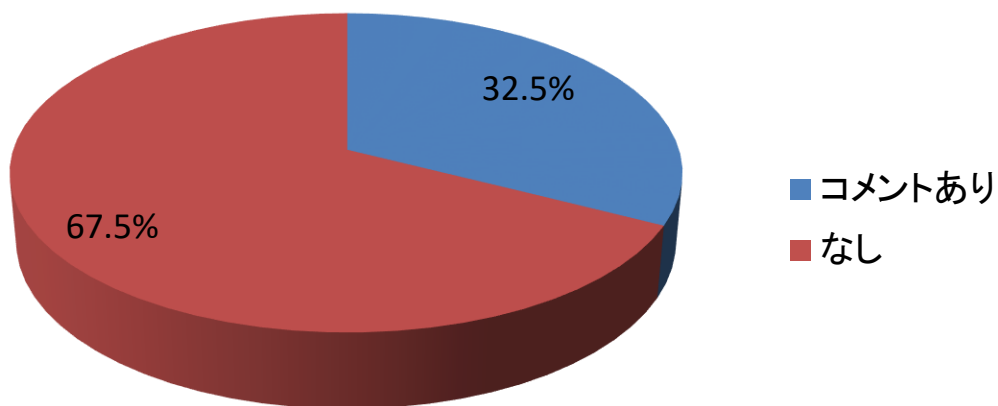
○食品関連の検便に関する主な根拠と内容

根拠	内容(検便関連文章の抜粋)
食品事業者が実施すべき管理運営基準に関する指針(ガイドライン)について	保健所から検便を受けるべき旨の指示があったときには、食品取扱者に受けさせること。
大量調理施設衛生管理マニュアル	月に1回以上の検便を受けること。検便検査には、腸管出血性大腸菌の検査を含めること。また、必要に応じ10月から3月にはノロウイルスの検査を含めること。
学校給食衛生管理の基準	検便は、赤痢菌、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌血清型O157その他必要な細菌等について、毎月2回以上実施すること。

食品衛生法では頻度や対象者、実施しない場合の罰則などは定められていないが、食中毒を未然に防ぐという観点から、検便の定期的な実施は重要な事柄となり、各分野の衛生管理指針(マニュアルやガイドライン)によって、検査項目や対象者、頻度などが明示されている。また条例により項目、頻度が定められている場合もある。

Escherichia coli ベロ毒素産生性の有無コメント

ベロ毒素産生性	施設数
コメントあり	13(32.5%)



●EHECの同定

VT遺伝子検出またはVT産生性によって決定する。

継代培養によってVT遺伝子を運ぶファージが欠落する株が存在することが頻繁に報告されており、検出は出来るだけ早い段階で行うのが望ましい。

EHECのスクリーニングにEHEC hemolysin (Ehly) 産生性をみるエンテロヘモリシン培地が使用されることがあるが、あくまでもEhly産生性は指標であり、VT産生性と一致しない。

1. VT遺伝子検出法

各種PCR法

LAMP法

リアルタイムPCR法

2. VT検出法（免疫学的にVTを検出する）

イムノクロマト（IC）法

Duopath Verotoxins（Merck）

キャピリアVT（タウンズ）

*NHイムノクロマトVT1/VT2（日本ハム）食品検査用

逆受身ラテックス凝集反応（RPLA）法

VTEC-RPLA（デンカ生研）

酵素抗体（EIA）法

オーソVT1/VT2（オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス）

【試料32】臨床へのコメント(複数回答あり)

コメント内容	施設数	
食中毒の原因菌である。	11	27.5%
食品衛生法で就業制限が必要である。(就業制限の可能性がありを含む)	19	47.5%
食中毒が疑われる場合は保健所への届け出が必要である。	2	5.0%
感染性胃腸炎は5類感染症である。	1	2.5%
医療機関への受診を勧める。	3	7.5%

【試料32】 まとめ

- 全ての施設(40施設)が*Salmonella* sp.と回答(100%)良好な結果であった。
- *Salmonella* sp. O群抗血清検査についてのコメントは34施設(85%)回答があった。用手法検査、自動同定分析装置、質量分析装置などにより、菌名の同定が可能であるが、血清型による確認も実施することが望ましい。
- *Escherichia coli* ベロ毒素産生性の有無コメントは13施設32.5%で回答があった。「大量調理施設衛生管理マニュアル(厚生労働省)」には調理者の検便で腸管出血性大腸菌の検査を含めることが明記されている為、ベロ毒素産生性の確認試験を実施することが望ましい。

【試料33】

同定・薬剂感受性試験1

【試料33】調査目的

血液培養からの検出という背景で、*Granulicatella adiacens*を輸送用培地(シードスワブ)にて配布し、各施設の同定方法、薬剤感受性試験、臨床へのコメントを調査目的とした。

【試料33】調査概要

＜患者背景＞

2歳、男児。発熱のため救急外来を受診。感染症が疑われて血液培養検査を行ったところ、16時間で好気ボトル・嫌気ボトルが培養陽性となった。

＜設問＞

試料は検出菌をスワブに染み込ませたものである。貴施設の日常検査と同様に同定検査・薬剤感受性検査を実施してください。同定に確認検査を実施した場合は、その検査と結果を回答してください。薬剤感受性検査の結果は、薬剤のMIC値（または阻止円直径）および判定結果（S・I・R）を回答してください。なお、回答フォームには代表的な薬剤を設けていますが、日常報告している薬剤のみ回答してください。

【試料33】

- ・回答施設数：34施設
- ・評価方法

同定菌種	評価
<i>Granulicatella adiacens</i> (<i>G.adiacens</i>)	A
Nutritionally variant streptococci (NVS)	B
それ以外の菌種	C
培養で菌が検出されなかった場合	D

薬剤感受性試験の判定は、CLSI-M45(ver.3)に準拠した感受性試験が実施された可能性は低いと思われ、またMIC値のバラツキが大きく評価が難しいため今回は評価対象外とした。

【試料33】

(同定検査)

回答結果	評価	施設数
<i>Granulicatella adiacens</i> (<i>G.adiacens</i>)	A	18 (52.9%)
Nutritionally variant streptococci (NVS)	B	12 (35.3%)
<i>Streptococcus sp.</i>	C	2 (5.9%)
菌発育せず	D	2 (5.9%)
合計		34

【試料33】同定方法

		施設数			合計	satellitism test
		<i>Granulicatella adiacens</i>	<i>Nutritionally variant streptococci</i> (NVS)	<i>Streptococcus</i> sp.		
質量分析	MALDIバイオタイパー	5			8	3
	バイテック MS	3				1
自動分析	バイテック 2, バイテック 2 XL	2			8	1
	バイテック2 コンパクト 30	1	1*			
	マイクロスキャン Walk Away 40, 40 SI, 40 Plus		2*			1
	マイクロスキャン Walk Away 96, 96 SI, 96 Plus		1			1
	ライサス(RAISUS), ライサススエニー(RAISUS ANY)		1			
用手法	アピ ストレップ20*	2	1*		15	3
	ラピッドID32ストレップアピ**	4	1			5
	従来法による同定(試験管確認培地等を使用)		1			
	BD BBL CRYSTAL GP 同定検査試薬			1**		
	未記入		4	1**		4

* : 3施設において*Granulicatella adiacens*または*Granulicatella* sp.を疑うコメントあり

** : 2施設において*Nutritionally variant streptococci* (NVS) を疑うコメントあり

【試料33】

Granulicatella adiacens

- 口腔内、泌尿器生殖器、腸管内の常在菌
- 発育には、L-cysteinやpyridoxal hydrochlorideなどの栄養素を必要とする
- これらの菌は、「栄養要求性が変異した連鎖球菌」を意味する nutritionally variant streptococci (NVS) と呼ばれている
- 通常の血液寒天培地にはほとんど発育しない
- 感染性心内膜炎、化膿性脊椎炎などの起炎菌として報告されている

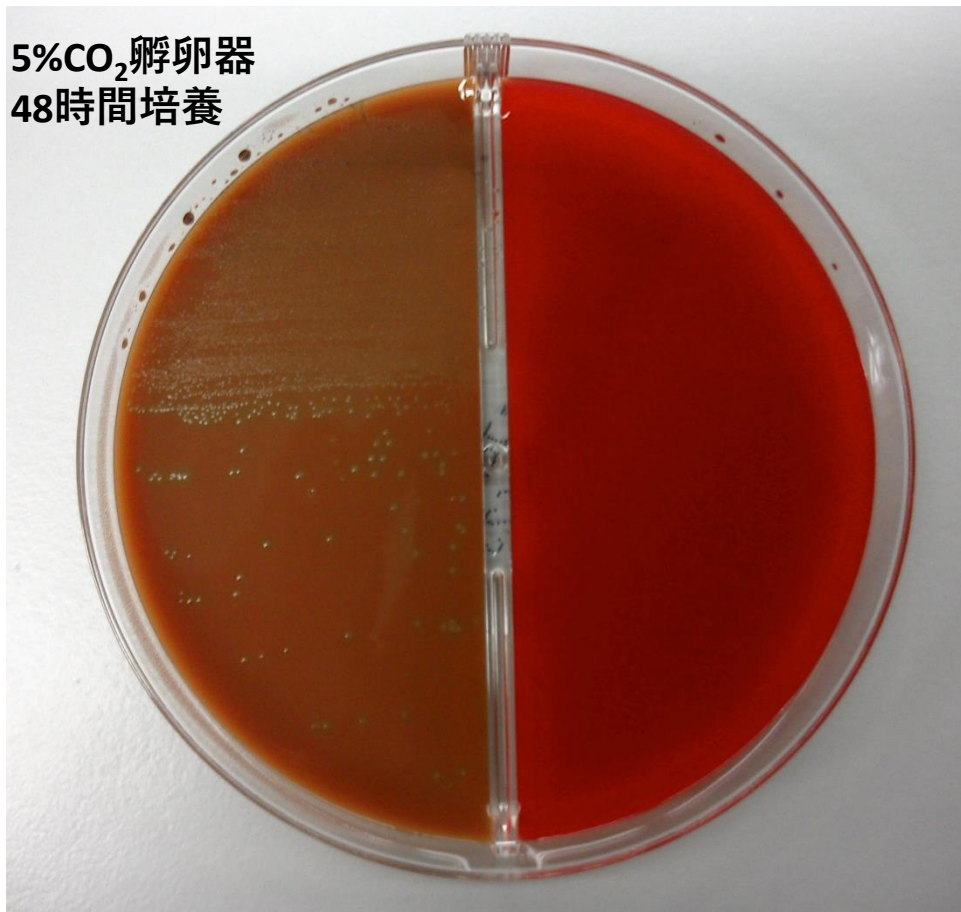
【試料33】

コメント内容	施設数	
感染性心内膜炎の起因菌となります	13	(38.2%)
心エコー検査をお願いします	4	(11.8%)
外部委託への検査依頼のお願い (同定不能のコメントを含む)	3	(8.8%)
薬剤感受性検査不能です	4	(11.8%)
コメント無し	15	(44.1%)

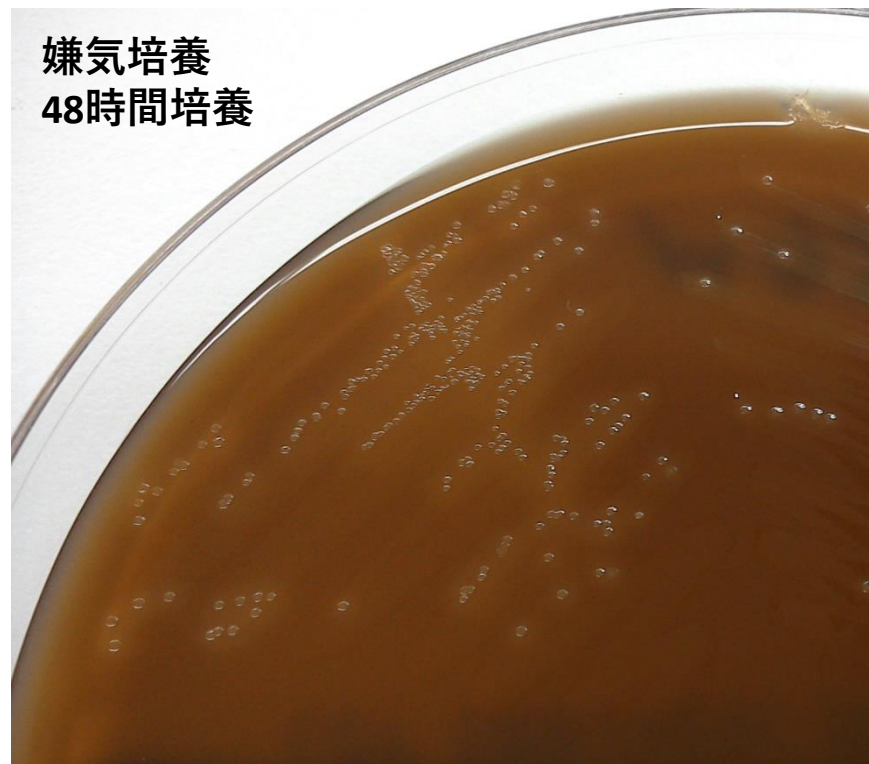
(複数回答あり)

【試料33】

5%CO₂ 孵卵器
48時間培養



嫌気培養
48時間培養

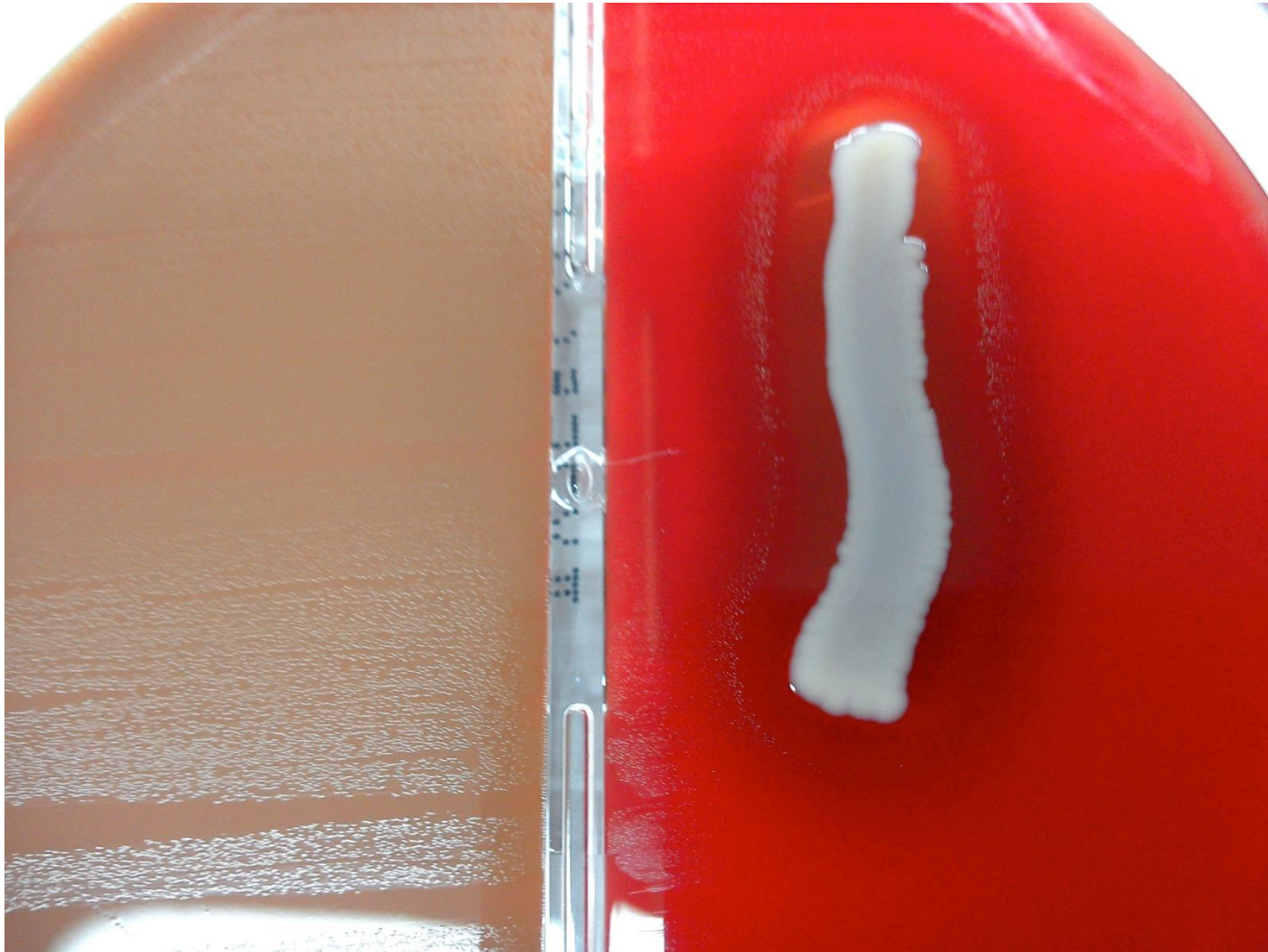


ブルセラHK寒天培地（極東製薬工業）

羊血液寒天培地／チョコレート寒天培地
（日水製薬）

【試料33】

Satellitism test



【試料33】

Satellitism test



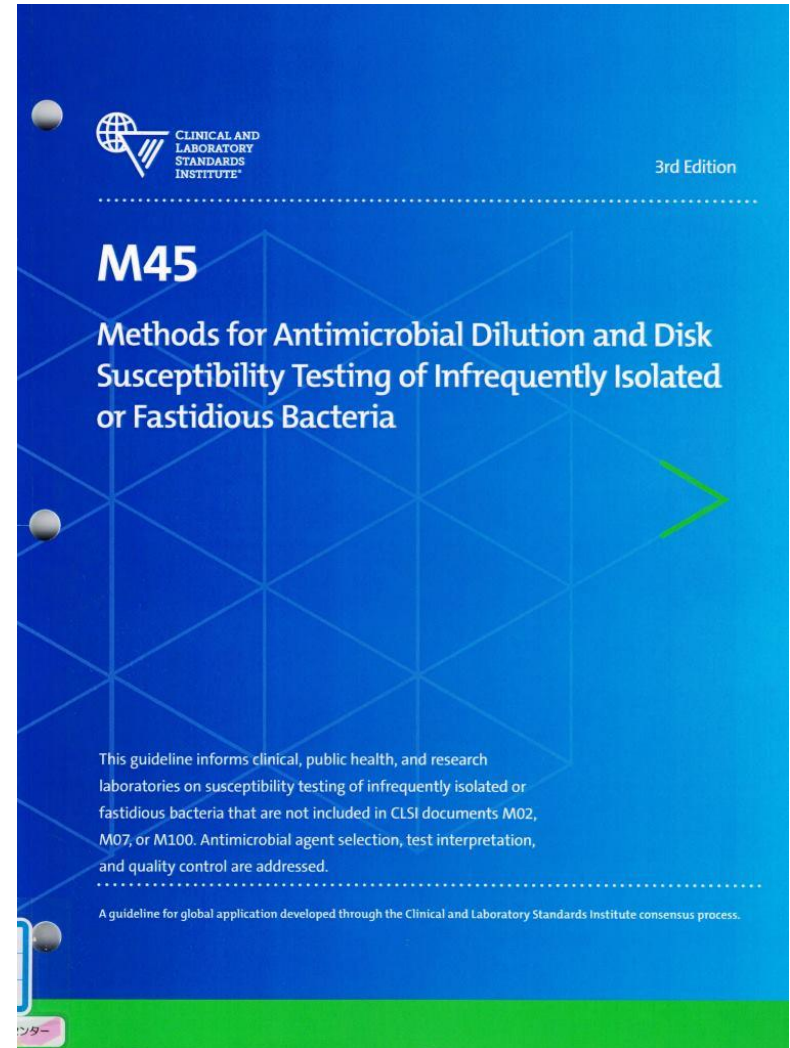
【試料33】

Phenotypic characteristic	<i>Granulicatella adiacens</i>	<i>Abiotrophia defectiva</i>
Catalase test	-	-
Production of:		
PYR	+	+
α -galactosidase	-	+
β -galactosidase	-	+
β -glucuronidase	+	-
Hydrolysis:		
Arginin	-	-
Acid production from:		
Trehalose	-	+
Sucrose	+	+

【試料33】

CLSI M45 3rdについて

CLSIのA2(ディスク法)、M7(微量液体希釈法)に含まれていない(M100に収載されていない)、検出頻度の低いあるいは発育の弱い細菌、バイオテロ菌に対しての感受性試験法が記載されている。



【試料33】

CLSI M45 3rdに記載されている菌種

1. *Abiotrophia* spp. And *Granulicatella* spp. (Formerly Known as Nutritionally Deficient or Nutritionally Variant Streptococci)
2. *Aerococcus* spp.
3. *Aeromonas* spp. (Include Members of *Aeromonas caviae* Complex, *Aeromonas hydrophila* Complex, and *Aeromonas veronii* Complex)
4. *Bacillus* spp. (Not *Bacillus anthracis*) and Related Genera
5. *Campylobacter jejuni/coli*
6. *Corynebacterium* spp. (Including *Corynebacterium diphtheriae*) and Related Coryneform Genera
7. *Erysipelithrix rhusiopathiae*
8. *Gemella* spp.
9. HACEK Group: *Aggregatibacter* spp., *Cardiobacterium* spp., *Eikenella corrodens*, and *Kingella* spp.
10. *Helicobacter pylori*
11. *Lactobacillus* spp.
12. *Lactococcus* spp.
13. *Leuconostoc* spp.
14. *Listeria monocytogenes*
15. *Micrococcus* spp.
16. *Moraxella catarrhalis*
17. *Pasturella* spp.
18. *Pediococcus* spp.
19. *Rotha mucilaginosa*
20. *Vibrio* spp. (Including *Vibrio cholerae*)
21. Potential Bacterial Agents of Bioterrorism : *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Francisella tularensis*, and *Brucella* spp.

【試料33】CLSI M45 3rd

Testing Conduction

Medium : CAMHB-LHB(2.5% to 5% v/v) and 0.001% (ie, 10 μ g/ mL) pyridoxal hydrochloride

Inculum : Direct colony suspension, equivalent to a 0.5McFarland standard

Incubation : 35 $^{\circ}$ C ; ambient air; 20 to 24 hours

General Comments

- (1) Grows characteristics on routin media: very fastidious; requires cysteine or pyridoxal for growth. Some strains may grow marginally on enriched chocolate agar or anaerobe agar formulations supplemented with added cysteine; 5% CO₂; 20 to 24 hours.
- (2) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any result categories other than “susceptible”.For strains yielding results suggestive of a “nonsusceptible “category, organism identification and antimicrobaial susceptibility test results should be confirmed.Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a referral laboratory for confirmation.

【試料33】

(薬剤感受性検査:参考値)

微量液体希釈法(18施設)	
ピリドキサルリン酸添加	あり:9施設 なし:9施設
培養温度	35°C:15施設 35.5°C:1施設 36.8°C:1施設 37°C:1施設
判定時間	20時間:2施設 24時間:8施設 36時間:1施設 48時間:7施設
培養条件	CO2フラン器:3施設 嫌気培養:5施設 好気培養:10施設
備考	CAMHB+LHB:11施設 LHB:5施設 ブルセラブロス:2施設

ディスク法(2施設)	
培養温度	35°C:2施設
判定時間	48時間:1施設 72時間:1施設
培養条件	CO2フラン器:1施設 好気培養:1施設
備考	チョコレート寒天培地:1施設 極東ウマ血液寒天培地:1施設

【試料33】

(薬剂感受性検査:参考値)

抗菌薬	回答結果(参考値)			
	S	I	R	未実施/未記入
PCG	9 (33.4%)	10 (37.0%)	1 (3.7%)	7 (25.9%)
ABPC	14 (51.9%)	7 (25.9%)		6 (22.2%)
CTRX	8 (30.8%)	2 (7.7%)	5 (19.2%)	11 (42.3%)
MPEM	20 (74.1%)			7 (25.9%)
VCM	19 (70.4%)			8 (29.6%)
LVFX	19 (70.4%)			8 (29.6%)

【試料33】まとめ①

- *G. adiacens*と菌種まで回答した施設は34施設中18施設(52.9%)であり、種レベルまでの回答は約半数と期待した結果よりも少なかった。
- 同定方法を検討すると、用手法で同定した施設が15施設(46.9%)と最も多く、質量分析および自動分析はともに8施設(25.0%)であった。
- 同定方法と同定結果の関係では、質量分析の8施設全てが*G. adiacens*と回答し良好な結果であった。自動分析では、5施設(62.5%)がNVSと回答し、*G. adiacens*と回答した施設は3施設(37.5%)で、NVSと回答した施設の2施設については、コメントにて*Granulicatella* sp.疑いの結果であった。
- 用手法では、6施設(40.0%)が*G. adiacens*と回答し、7施設(46.7%)がNVSの回答であった。*Streptococcus* sp.と回答した2施設(13.3%)は、「NVSを疑う」コメントがあり、それらを合わせるとNVSの回答が多い結果であった。
- satellitism testを実施した施設は19施設(55.9%)で、中でも用手法が80%の12施設と多く実施していた。

【試料33】まとめ②

- *G. adiacens*を含むNVSでは、感染性心内膜炎 (infective endocarditis: IE) が臨床的に問題となる。IEに関するコメントの記載があった施設は13施設 (38.2%) のみで、コメント無しの施設が15施設 (44.1%) も認められた。検査室から臨床への情報発信は重要であり、各施設でコメントを含めた報告内容を再度検討していただきたい。
- 薬剤感受性試験は、今回参考値として示した。*G. adiacens*の感受性試験は、CLSI-M45 (ver.3) に記載されており、昨年同様、薬剤感受性試験の方法がCLSIに準拠しているかを各施設において確認していただきたい。
- NVSに対する治療は、基本的にPenicillin G (PCG) とGentamicinあるいはStreptomycinの併用投与が第一選択である。しかし、 β -ラクタム系抗菌薬およびマクロライド系抗菌薬に対する耐性化がみられ、PCGに高度耐性かつ多剤耐性を示したNVSの報告もあることから、敗血症やIEなどの重症感染症におけるNVSの正確な菌種同定や薬剤感受性検査は重要である。

【試料34】

同定・薬剂感受性試験2

【試料34】調査目的

血液培養からの検出という背景で、*Klebsiella oxytoca* (K1 β ラクタマーゼ産生)を輸送用培地(シードスワブ)にて配布し、同定菌名、薬剤感受性試験、臨床へのコメントを調査目的とした。

【試料34】調査概要

＜患者背景＞

73歳、女性。発熱のため救急外来を受診。感染症が疑われて血液培養検査を行ったところ、12時間で好気ボトル・嫌気ボトルが培養陽性となった。

＜設問＞

試料は検出菌をスワブに染み込ませたものである。貴施設の日常検査と同様に同定検査・薬剤感受性検査を実施してください。同定に確認検査を実施した場合は、その検査と結果を回答してください。薬剤感受性検査の結果は、薬剤のMIC値（または阻止円直径）および判定結果（S・I・R）を回答してください。なお、回答フォームには代表的な薬剤を設けていますが、日常報告している薬剤のみ回答してください。

試料34 結果(同定)

回答結果	評価	施設数	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	A	35	(97.2%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	C	1	(2.8%)
合計		36	

*K. pneumoniae*と同定回答された施設の同定法は、用手法と回答されており、Api20を使っているとの回答だった。
今回の株についても一度確認をお願い申し上げます。

試料34 結果(薬剤感受性試験)

抗菌薬	回答結果					評価
	S	I	R	未実施		
PIPC			31		88.6%	A
				4	11.4%	対象外
PIPC/TAZ			32		91.4%	A
				3	11.4%	対象外
ABPC/SBT			29		82.9%	A
				6	17.1%	対象外
AMPC/CVA		6			17.1%	A
			4		11.4%	
				25	71.5%	対象外
CTRX			21		60.0%	A
	1				2.9%	C
				13	37.1%	対象外
CMZ	33				94.3%	A
				2	5.7%	対象外
IPM	29				82.9%	A
				6	17.1%	対象外
MEPM	34				97.1%	A
				1	2.9%	対象外

試料34 β ラクタマーゼコメント

コメント内容	施設数	
K1 β ラクタマーゼ産生株	12	(33.3%)
ESBL産生株	8	(22.2%)
MBL産生株	1	(0.3%)
コメントなし	15	(41.7%)

試料34について

- 試料34に使った株は

K1 β ラクタマーゼを多量に産生して

いる

Klebsiella oxytoca

でした。

腸内細菌における耐性菌

- 腸内細菌における多剤耐性の定義¹⁾は、 β ラクタム系であるカルバペネムまたはセフトジジム、フルオロキノロン系およびアミノグリコシド系の同時耐性とされている。3系統の耐性機序を以下に示す。

抗菌薬系統	耐性メカニズム	遺伝子所在
β ラクタム	β ラクタマーゼによる加水分解	プラスミド、染色体
フルオロキノロン	DNAジャイレース構造遺伝子変異による結合親和性低下	染色体
アミノグリコシド	アミノグリコシド修飾酵素による不活化	プラスミド

- 抗菌薬耐性機構は先天的に染色体上に存在する因子と、伝達性プラスミドによる因子の2つに大きく分けられる。伝達性プラスミドによる因子は、菌種間を超えて伝播しやすい性質をもつので、医療関連感染対策上重要だと考える。

1)厚生労働省：「我が国における新たな多剤耐性菌に関する実態調査」の調査検体について
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou19/cyousa-shosai.html>

βラクタマーゼのタイプ

- 腸内細菌群における臨床的に重要と思われるβラクタマーゼによる耐性機構

βラクタマーゼ	Ambler分類	所在	菌種	抗菌薬の耐性化											
				ABPC	AMPC /CVA	ABPC /SBT	PIPC	CEZ	CMZ FMOX	CTX	CAZ	CFPM	AZT	MEPM	IPM
ペニシリナーゼ (TEM-1, TEM-2, SHV-1)	A	プラスミド	全て	R	S	S	R	v	S	S	S	S	S	S	S
ESBL (TEM, SHV系)	A	プラスミド	全て	R	S	S	R	R	S	v	R	v	R	S	S
ESBL (CTX-M系)	A	プラスミド	全て	R	S	S	R	R	S	R	v	R	v	S	S
K1	A	染色体	<i>K.oxytoca</i> <i>Enterobacter</i> spp. <i>Serratia</i> spp.	R	S	R	S	R	S	v	S	S	R	S	S
誘導型AmpC	C	染色体	<i>Providencia</i> spp. <i>M.morganii</i> <i>C.freundii</i>	R	R	r	v	R	r	v	v	s	R	S	S
構成型AmpC	C	染色体	<i>E.coli</i>	R	R	v	S	R	v	v	v	S	R	S	S
プラスミドAmpC	C	プラスミド	全て	R	R	R	v	R	R	R	R	S	R	S	S
カルバペネマーゼ (IMP, VIM, KPC, NDM)	A, B	プラスミド	全て	R	R	R	v	R	R	R	R	R	v	v	v

S, 通常はSを示す。

R, 通常はRを示す。

r, ほとんどの場合がRであるが、産生量依存性にIやSとなる場合がある。

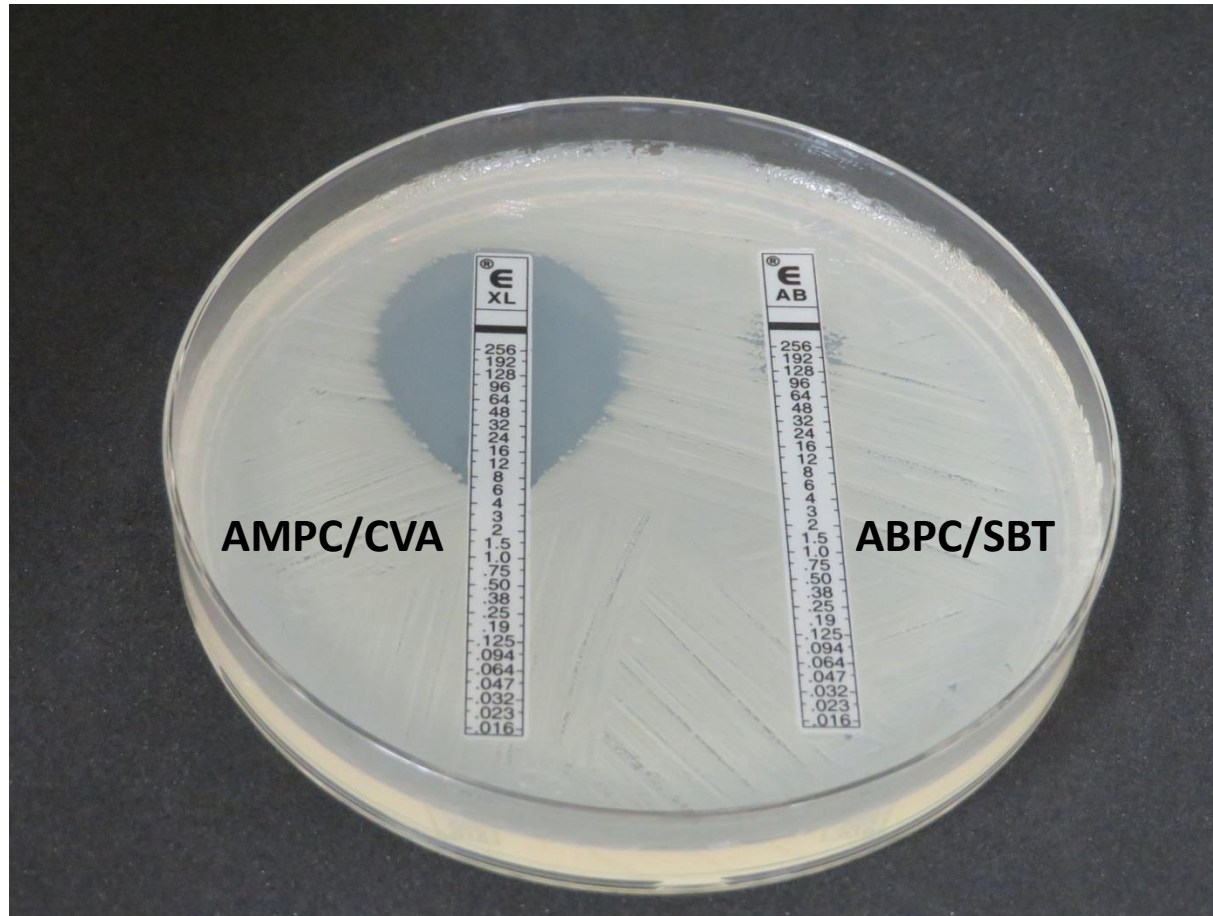
s, ほとんどの場合がSであるが、産生量依存性にIやRとなる場合がある。

v, 産生量依存性にS, I, Rと様々な表現系を示す。

K1 β ラクタマーゼの特徴

- *Klebsiella oxytoca* の染色体に遺伝子が存在する。
- ペニシリナーゼの性質を持つ (Amblerの分類: Class A)。
- CVAで阻害され、SBTで阻害されない特徴を持つ。
- Bラクタマーゼが異常に増加した変異株では、CTX、CTRX、AZTに耐性傾向を示す。

K1 β ラクタマーゼ産生株での CVA阻害の様子



【試料34】まとめ

- 時折みられる*Klebsiella oxytoca*のK1 β ラクタマーゼ産生株を試料とした。
- この精度管理を契機に腸内細菌の耐性機序について復習できればと考えた。
 - 染色体上とプラスミド性の β ラクタマーゼ因子、その感受性パターンについておさらいになれば幸いである。

【試料35】

顕微鏡検査（抗酸菌染色）

【試料35・36】調査目的

1+程度の陽性標本と陰性標本を試料とし、正確に報告出来るかを調査目的とした。

試料35

(±) または (1+)

参考となるガフキー号数：G1～G2

試料36

(—)

【試料35・36】調査概要

＜設問＞

試料は人工痰から作成を用いて作成した無染色塗抹標本である。貴施設の日常検査と同様に抗酸菌染色を実施し、日常の報告方法で回答してください。

試料35

回答結果	評価	施設数
(±)または(1+)	A	36(100%)
(-)または(2+)(3+)	C	0(0%)
合計		36

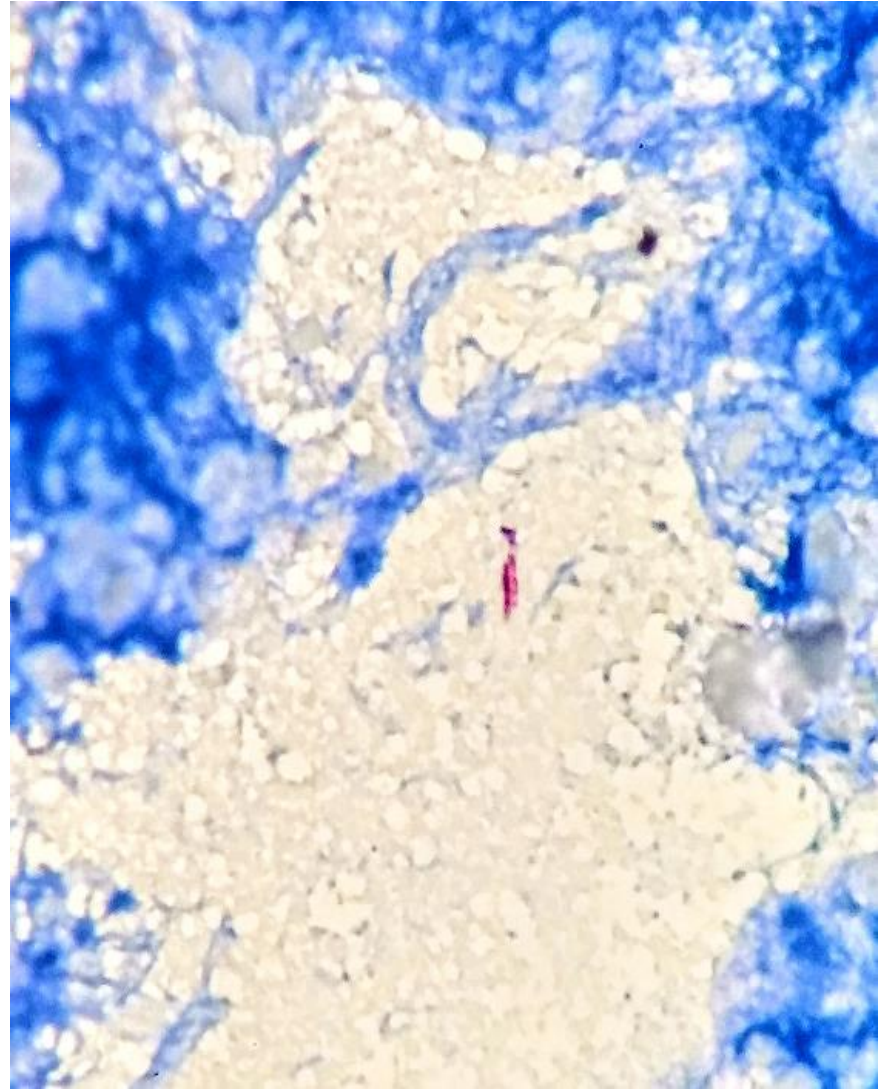
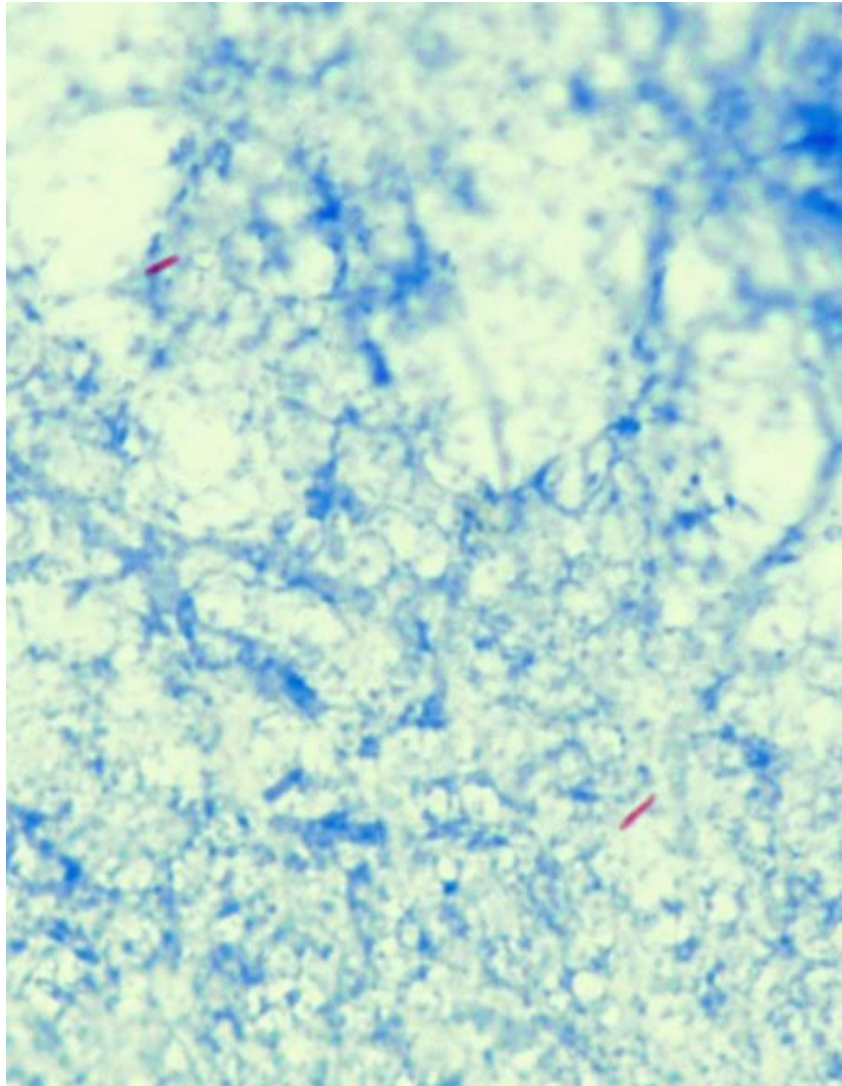
試料36

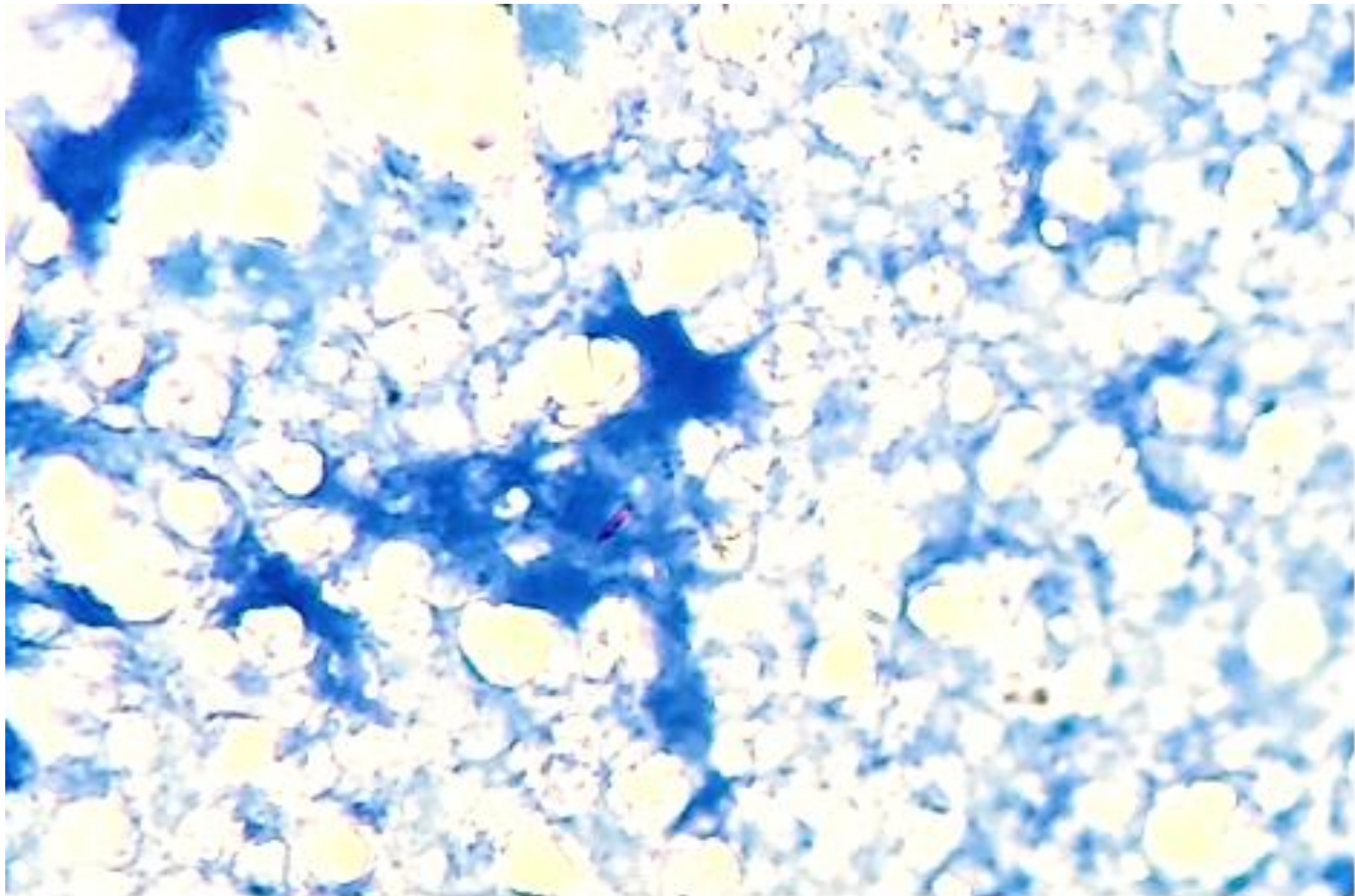
回答結果	評価	施設数
(一)	A	35 (97.2%)
(±) (1+) (2+) (3+)	C	1 (2.8%)
合計		36

【試料35・36】染色方法

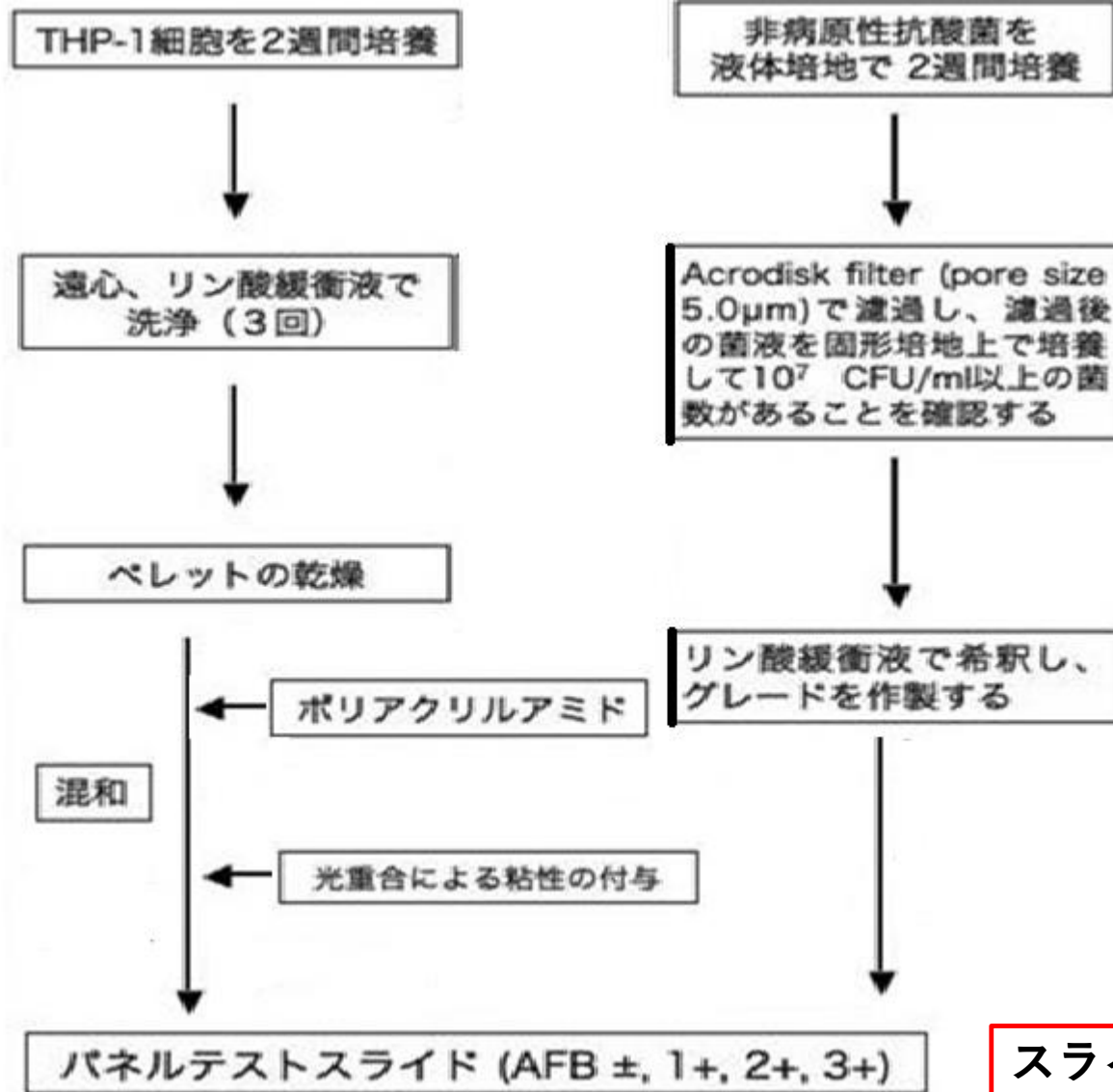
方法	施設数
チール・ネルゼン染色	28(77.8%)
蛍光染色	7(19.4%)
チール・ガベット染色	1(2.8%)

試料35

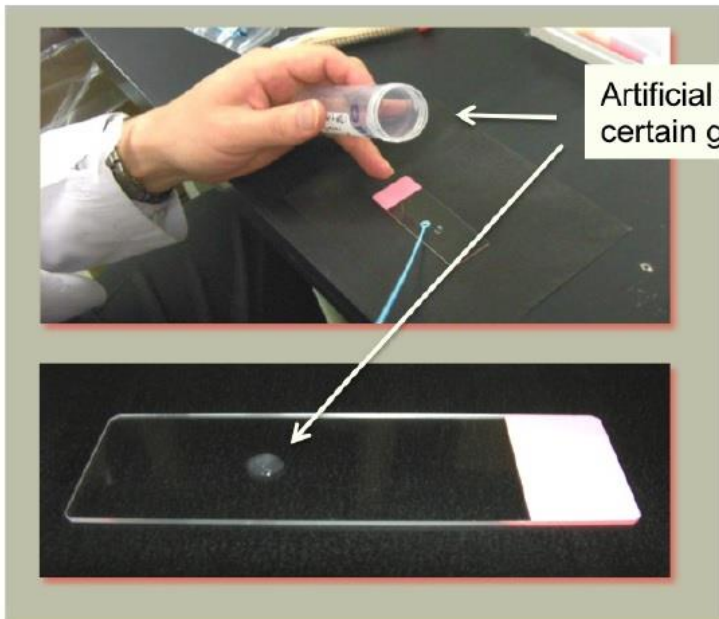




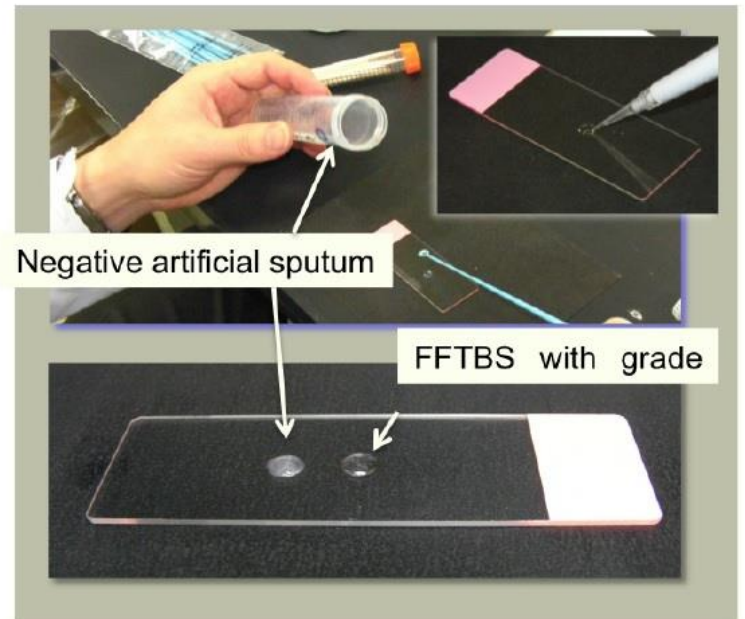
人工痰の作成方法



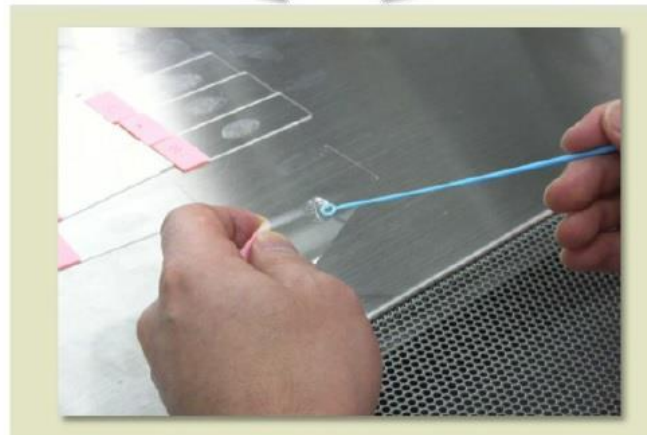
スライド上で混合する



Conventional method
(PBAS1)



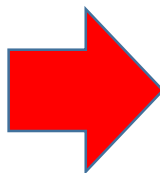
Improved method
(PBAS2)



2007年以前の 結果表記

ガフキー号数

ガフキー号数 (拡大500倍)	検出菌数	簡便な 記載法
0	全視野に 0	陰性 (-)
1	全視野に 1~4	少数 (+)
2	数視野に 1	
3	1視野平均 1	中等数 (++)
4	// 2~3	
5	// 4~6	
6	// 7~12	
7	// (やや多数) 13~25	多数 (+++)
8	// (多数) 26~50	
9	// (はなはだ多数) 51~100	
10	// (無数) 101以上	



2007年以降の 結果表記

鏡検における検出菌数記載法

記載法	蛍光法 (200倍)	チール・ネール ゼン法(1,000倍)	備考*
-	0/30視野	0/300視野	G0
±	1~2/30視野	1~2/300視野	G1
1+	2~20/10視野	1~9/100視野	G2
2+	≥20/10視野	≥10/100視野	G5
3+	≥100/1視野	≥10/1視野	G9

*相当するガフキー号数

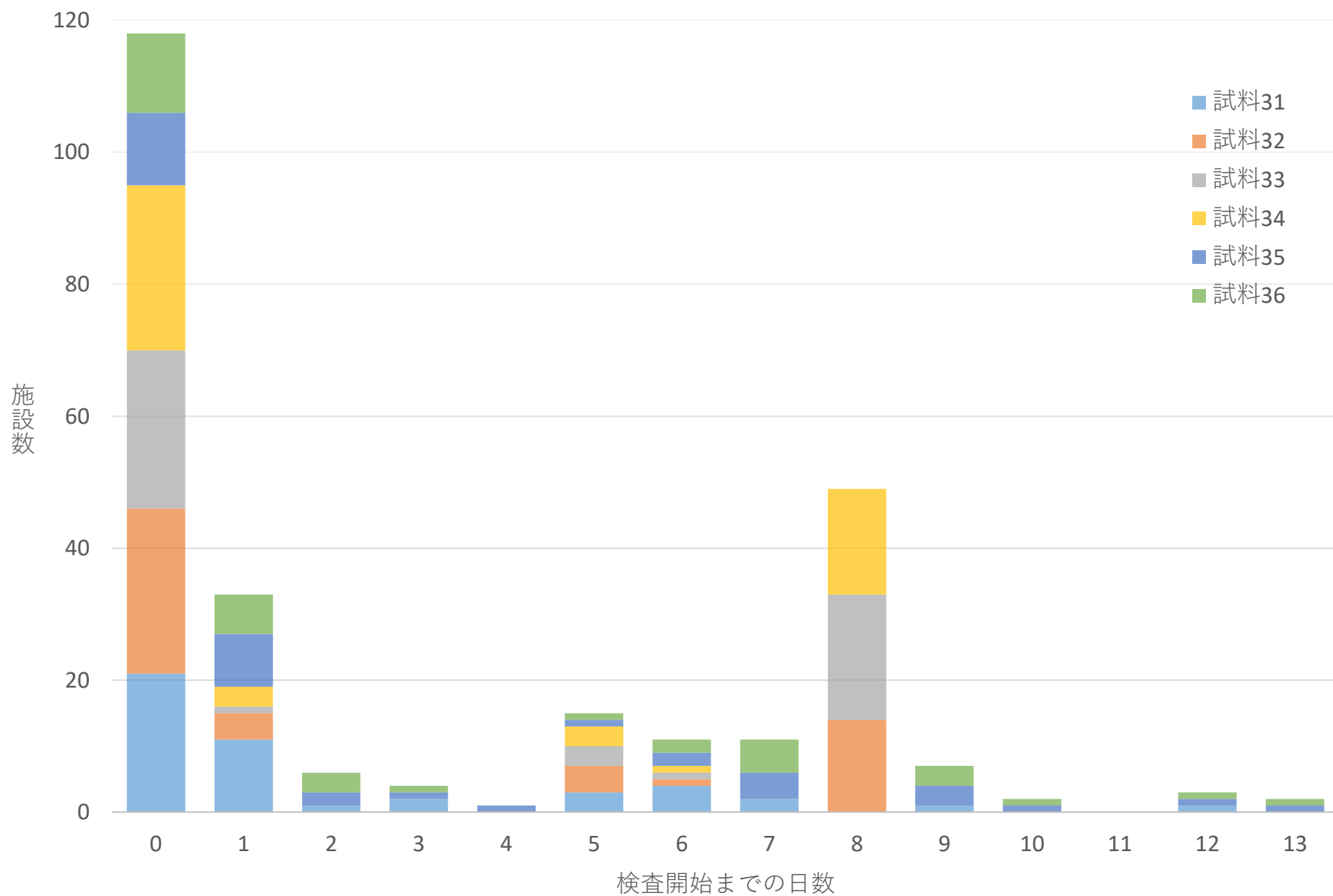
【試料35・36】まとめ

- G1－G2に相当する(±)または1＋の菌量の抗酸菌を、顕微鏡検査で染色方法に関わらず確実に判定できており、概ね良好な結果であった。
- 抗酸菌塗抹陽性の場合、ガフキー号数も報告している施設が約80%認められた。
- 抗酸菌検査ガイド2016では、蛍光法、チール・ネルゼン法それぞれについて(－)、(±)、1＋、2＋、3＋で報告するよう記載されており、参考としてそれぞれに相当するガフキーの号数を、G0、G1、G2、G5、G9で示されている。多くの施設でガフキー号数を報告している理由として、保健所に届け出る書類の「入退院結核患者届出票」の中に塗抹結果(G 号)の欄があるためと思われた。

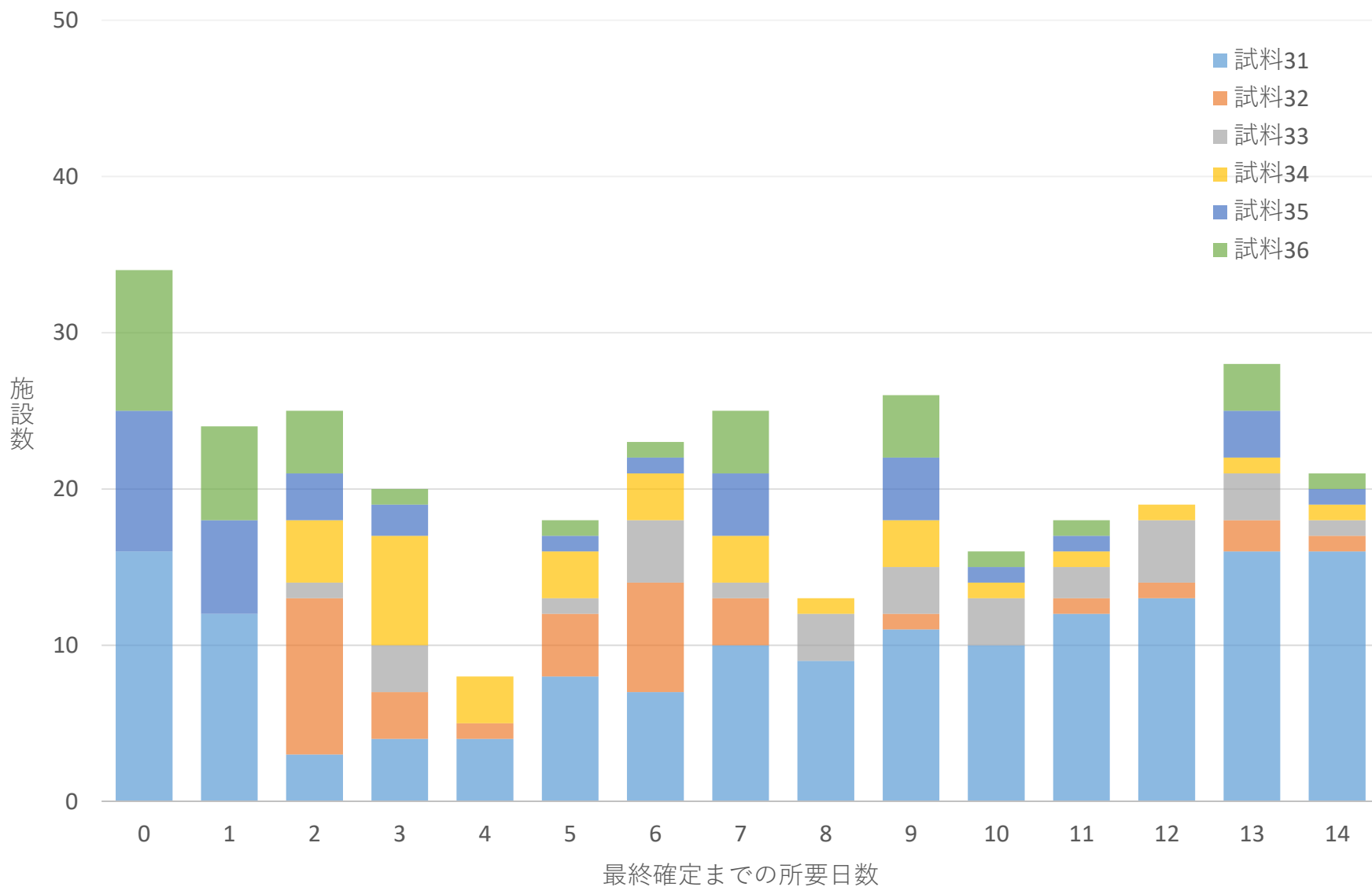
【TAT】

検査所要時間 Turn Around Time (TAT)

【TAT】検査開始までの日数



【TAT】最終確定までの所要日数



【TAT】まとめ

- 検査開始までの日数では、半数近くの施設が試料を受け取った当日に検査を開始していたが、それ以外の施設は翌日から週明けにかけて実施していた。
- 最終確定までの所要日数は、施設によってバラツキが認められた。
- 起因菌の検出感度は検査材料の保管状況に影響を受けやすく、また、感染症診断および感染対策において迅速な結果報告が重要であるため、精度管理調査も含めて日常検査の検査所要時間が短縮されるよう各施設でご検討いただきたい。

アンケート調査結果①

【問1】血液培養陽性時のグラム染色結果報告について

染色方法	施設数
従来から形態的特徴から菌種を推定し、可能な場合は推測される病態と合わせて報告している。	15 (30.0%)
昨年度の精度管理調査以降、形態的特徴から菌種を推定し、可能な場合は推測される病態と合わせて報告するようになった。	0
従来から形態的特徴から菌種を推定のみ報告している。	14 (28.0%)
昨年度の精度管理調査以降、形態的特徴から菌種を推定のみ報告するようになった。	2 (4.0%)
自信がないため菌種の推定を行っていない。	2 (4.0%)
臨床から要望がないため菌種の推定を行っていない。	4 (8.0%)

アンケート調査結果②

【問2】稀に検出される菌または栄養要求の厳しい菌種の薬剤感受性試験について

染色方法	施設数
従来から対象となる菌種は、CLSI-M45(ver.3)に準拠した薬剤感受性試験を実施している。	5 (10.0%)
昨年度の精度管理調査以降、CLSI-M45(ver.3)に準拠した薬剤感受性試験を実施するようになった。	4 (8.0%)
CLSI-M45(ver.3)を理解しているが、試薬を購入できないため実施できていない。	6 (12.0%)
CLSI-M45(ver.3)の必要性を感じているが、購入または閲覧が困難で実施できていない。	18 (36.0%)
自施設においてCLSI-M45(ver.3)は必要ない。	1 (2.0%)

アンケート調査結果③

【問3】腸内細菌科細菌における耐性菌の確認試験について

染色方法	施設数
従来から耐性菌が疑われた場合、耐性菌の確認試験を実施している。	28 (56.0%)
昨年度の精度管理調査以降、耐性菌の確認試験の方法を追加して実施するようになった。	1 (2.0%)
耐性菌の確認試験の重要性を理解しているが、試薬を購入できずに実施できていない。	5 (10.0%)
自施設で耐性菌の確認試験を実施できないため、保健所や検査センターに委託している。	2 (4.0%)
耐性菌を疑う基準が分からないため、耐性菌の確認試験を実施していない。	0
自施設において耐性菌の確認試験は必要ない。	0

アンケート調査結果④

【問4】感染症法における届出対象の菌種が検出された場合の対応について

染色方法	施設数
従来から届出対象の菌種が検出された場合、検査室から担当医に報告している。	33 (68.0%)
昨年度の精度管理調査以降、届出対象の菌種が検出された場合に検査室から報告するようになった。	0
届出対象の菌種が検出された場合、検査室からICTに報告するのみである。	4 (8.0%)
感染症法における届出は医師の判断であるため、検査室から報告を行っていない。	1 (2.0%)
届出対象の菌種が分からないため、検査室から報告を行っていない。	0

アンケート調査結果⑤

【問5】臨床検査精度管理調査報告書について

染色方法	施設数
微生物検査担当者全員が報告書を閲覧し、臨床検査精度管理調査報告会参加者が当日の情報を踏まえて担当者全員で討議を行った。	14 (28.0%)
微生物検査担当者全員が報告書を閲覧し、検査室内で討議を行った。	14 (28.0%)
微生物検査担当者の一部が報告書を閲覧し、検査室内で討議を行った。	4 (8.0%)
微生物検査担当者の一部が報告書を閲覧しているが、検査室内での討議は行っていない。	10 (20.0%)
検査室に報告書はあるが、微生物検査担当者は一人も閲覧していない。	1 (2.0%)

総括

- 本年度の精度管理調査は概ね良好な成績であったが、コメントの有無や内容など、結果の付加価値については施設間差が認められた。
- 今回の精度管理調査結果について各施設で検討していただき、改善点があれば改善し、常に正しい検査結果を報告できる体制を再構築していただけることを期待したい。
- 今回の精度管理調査で日常の検査とは異なる方法で結果を回答した施設が見受けられ、外部精度管理は、日常の検査精度を確認することが目的である事を再確認して頂きたい。