

2016年11月23日

平成27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
上村	桂一	中東遠総合医療センター
黒山	祥文	静岡赤十字病院
萱場	理恵	静岡済生会総合病院
三浦	幸恵	静岡県立静岡がんセンター
渡辺	弘美	沼津市立病院

はじめに

- 感染症の診断・治療には起因菌の決定と薬剤感受性試験結果が重要で、検査室は正確な検査結果が求められている。しかし、同定菌名や薬剤感受性試験結果だけの報告では、臨床には十分に解釈されないこともあるため、検出菌の意義や必要な感染対策など医師・看護師にもしっかりと理解できる様な報告も必要とされている。
- 本精度管理調査を通して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。今回の精度管理結果を各施設で検討し、検査方法および報告すべき事項の再確認をお願いしたい。

参加施設数

項目		平成27年度
顕微鏡検査	試料31	46施設
同定検査	試料32	39施設
	試料33	35施設
同定・感受性試験	試料34	35施設

【試料31】

顕微鏡検査

顕微鏡検査【試料31】

【配布試料と目的】

- 中心静脈カテーテル留置中の入院患者の血液から分離された *Staphylococcus epidermidis* を試料とする。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。染色所見および臨床へのコメントを回答してもらった。
- ブドウ球菌の判断とカテーテル感染の推定ができるかを調査目的とした。

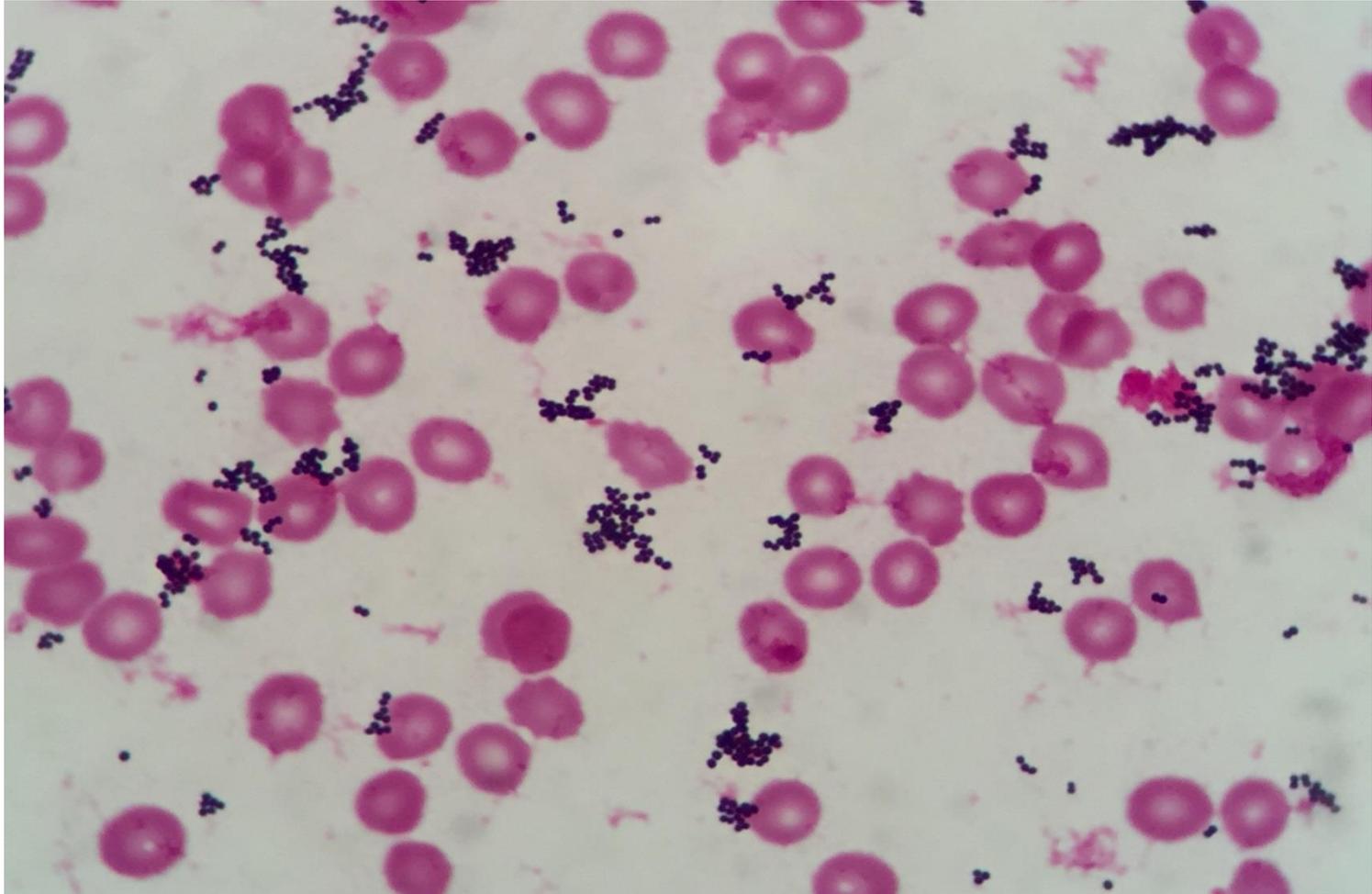
【患者背景】

47歳、女性。白血病の化学療法施行中であり、中心静脈カテーテルが挿入されていた。セフェピム投与中に発熱がみられ、この時に採取された血液培養が2セット陽性となり、グラム染色で同様の形態をした菌種が認められた。なお、血液培養ボトルの陽性時間は、カテーテル採取が18時間、末梢からの採取が21時間であった。患者は中心静脈カテーテル抜去後、解熱がみられた。

【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。

【グラム染色像】



グラム染色 回答結果

回答結果	評価	施設数
グラム陽性球菌 (ブドウ球菌を推定)	A	22 (47.8%)
グラム陽性球菌 (菌種の推定なし)	B	24 (52.2%)
グラム陽性球菌以外	C	0 (0%)
合計		46

臨床へのコメント(複数回答あり)

コメント内容	施設数
形態からブドウ球菌が疑われます。	22 (47.8%)
中心静脈カテーテル関連血流感染症(CRBSI)が疑われます。	13 (28.3%)
MRSAまたはMRCNSの可能性ががあります。	6 (13.0%)
検出菌による血流感染症が疑われます。	2 (4.3%)
コメント無し	19 (41.3%)

【菌種により推定される感染フォーカス】

菌種	推定される主な感染フォーカス
ブドウ球菌	カテーテル関連血流感染 皮膚・軟部組織感染
腸球菌	胆管炎
肺炎球菌	肺炎
ビリダンス群レンサ球菌	感染性心内膜炎

【CRBSIの診断基準】

(米国感染症ガイドライン)

- カテーテル血の培養が、末梢血の培養よりも2時間以上早く陽性化する。

(Leonard A, et al : Clin Infect Dis, 49 : 1-45, 2009)

【試料31】まとめ

- 全施設(46施設)がグラム陽性球菌と回答し、良好な結果であった。
- ブドウ球菌などの形態学的特徴を記載した施設が少ない結果であった。感染症を推定する上でグラム染色での推定菌種は重要な検査所見となるため、今後は形態学的特徴も報告できるよう検討いただきたい。

【試料32】

同定検査

<目 的>

**検便検査から、食品衛生法における
指定病原体の分離技術および同定精
度を調査目的とした。**

＜患者背景＞

58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>

Salmonella sp.、*Escherichia coli*、*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）にて配布した。

<評価方法>

評価	結果	備考
A	<i>Salmonella</i> sp.	
B	<i>Salmonella</i> sp.	腸内常在菌として混在させた菌種を誤同定した場合
C	<i>Salmonella</i> sp.が検出されなかった場合	

<回答結果>

回答結果	評価	施設数
<i>Salmonella</i> sp.	A	39 (100%)
合計		39

<回答のあった菌種数>

菌種数	施設数
1菌種	19 (48.7%)
2菌種	7 (17.9%)
3菌種	2 (5.1%)
4菌種	11 (28.2%)
合計	39

<回答のあった同定菌種>

回答結果	施設数
<i>Salmonella</i> sp.	39 (100%)
<i>Escherichia coli</i>	17 (43.6%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>Klebsiella</i> sp.も含む)	16 (41.0%)
<i>Enterococcus</i> sp. (<i>Enterococcus faecalis</i> も含む)	11 (28.2%)

臨床へのコメント（複数回答あり）

コメント内容	施設数
サルモネラが検出されたため、就業制限が必要になります。	10（25.6%）
食中毒の原因菌が検出されました。	6（15.4%）
食中毒が疑われる場合は、保健所への届け出が必要となります。	2（5.1%）
大腸菌はEHECではありませんが、その他の病原因子に関しては不明です。	2（5.1%）
腸管毒素原性大腸菌（ETEC）の保菌者です。	1（2.6%）
抗菌療法を行う場合は、連続2回培養での陰性確認をお勧めします。	1（2.6%）
コメント無し	15（38.5%）

食品衛生法

「大量調理施設衛生管理マニュアル」 [抜粋]

調理従事者等の衛生管理

調理従事者及び臨時職員を含め、定期的な健康診断及び月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(O157等)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。

解説:

ノロウイルス対策で、新たに追加された。従って、検便での検査項目は、「コレラ、赤痢、腸チフス、パラチフス、サルモネラ」+「腸管出血性大腸菌」+「ノロウイルス」が望ましい。

就業規制

条例で規定している「衛生管理運営の基準」では、以下の1)、2)、3)の症状があるときは、医師の診断を受けさせると共に、その恐れが無くなるまでの期間、その従事者が食品に直接接触することのないよう努めること。

- 1) 従事者が飲食物を介して感染する恐れのある疾患にかかったとき。
- 2) その疾患の病原体を保有していることが判明したとき。
- 3) その疾病にかかっていることが疑われる症状を有しているとき。

感染症法

「感染症法」の規定では、検便検査する「コレラ、赤痢、腸チフス、パラチフス、腸管出血性大腸菌」は三類感染症に該当する。その陽性者は、食品に直接触れる仕事等には就業しないよう「就業規制」される。

以上のとおり、検便検査で、これら病原体の陽性者は、条例規定の「衛生管理運営基準」及び感染症法の規定で、就業を規制されることとなる。

除菌確認

医者又は必要に応じて保健所が行う検便で、除菌されているかを検便で確認をする。

検便により、除菌が確認された時点で出勤は可能となる。

【試料32】まとめ

- 今回の調査では、腸内常在菌が存在する中で*Salmonella* sp. の検出が全施設できており、検査の目的によって施設ごとに報告対象とする菌種は異なるもの、誤同定した施設は認められず良好な結果であった。サルモネラ菌は食品衛生法により食品に係る従事を制限させられるが、コメントに就業規制を記載されている施設は10施設(25.6%)のみであった。
- また*Escherichia coli*は今回の調査でVero毒素産生の確認を行った施設は7/39施設(17.9%)であり、昨年度の37/38施設(97.4%)より大幅に減少していた。厚生労働省の「大量調理施設衛生管理マニュアル」では検便検査には腸管出血性大腸菌も含めることと記載されているため、調理従事者から大腸菌が検出された場合は、Vero毒素産生の確認をお願いしたい。

【試料33】

同定・薬剂感受性検査1

同定・薬剤感受性検査 【試料33】

5歳、男児。朝から発熱を認め、意識障害が出現したため救急外来を受診。採取した髄液培養から分離された *Streptococcus pneumoniae* をシードスワブに染み込ませ試料とした。

また、分離培養された菌に対しペニシリンG(PCG)、セフトキシム(CTX)、セフトリアキソン(CTRX)、メロペネム(MEPM)、バンコマイシン(VCM)、クリンダマイシン(CLDM)の薬剤感受性検査の実施を求めました。

評価方法は、*Streptococcus pneumoniae*と同定し、侵襲性肺炎球菌感染症として届出のコメントがあった場合を評価A。*S.pneumoniae*と同定したが届出のコメントが無かった場合を評価B。*S.pneumoniae*と同定できなかった場合を評価C。培養で菌が検出されなかった場合を評価Dとしました。

試料33同定検査 回答結果一覧表

回答結果	評価	施設数
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (侵襲性肺炎球菌感染症として届出のコメント有り)	A	23(65.7%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (届出のコメント無し)	B	11(31.4%)
α - <i>Streptococcus</i>	C	1(2.9%)
合計		35

*Streptococcus pneumoniae*と回答されたのは、34/35施設(97.1%)と良好でした。また、侵襲性肺炎球菌感染症としての届出のコメントの記載があったのは19/35施設(55.9%)、臨床へのコメントがない施設は16/35施設(44.1%)でした。

今回、髄液から検出された*S. pneumoniae*であるため、5類感染症法(全数把握)の「侵襲性肺炎球菌感染症」に該当し、診断後7日以内に保健所へ届出が必要となる。感染症法に基づく発生届けは義務であるため、臨床にはその旨を報告することが望ましい。

*Streptococcus pneumoniae*は、オプトヒンに感受性、胆汁溶解試験は陽性となる。

しかし、オプトヒン耐性株もまれに存在する。

オプトヒン感受性試験のみによる鑑別同定には限界があるため、胆汁溶解試験などと併用することが望ましい。

胆汁溶解試験 : *S.pneumoniae*は、自己融解性が強く、24時間以上培養すると菌体の崩壊が起こる。この性質は胆汁によって促進されるので、この性状に基づいた胆汁溶解試験が他の α 溶血性レンサ球菌との鑑別の一つとして用いられています。

試料33薬剤性検査 回答結果一覧表

抗菌薬	回答結果					評価
	S	I	R	未記入		
PCG			31		93.9%	A
	1				3.0%	C
				1	3.0%	対象外
CTX	26				96.3%	A
				1	3.7%	対象外
CTRX	29				100%	A
MEPM	27				90.0%	A
			1		3.3%	C
				2	6.7%	対象外
VCM	31				93.9%	A
				2	6.1%	対象外
CLDM	22				75.9%	A
				7	24.1%	対象外

薬剤感受性の判定は、
 PCG: **R**
 CTX: **S**
 CTRX: **S**
 MEPM: **S**
 VCM: **S**
 CLDM: **S**
 を評価Aとし、
 それ以外を評価Cとした。

今回 *S. pneumoniae* による髄膜炎のため、PCGに対する感受性試験結果が、MIC値で $\geq 0.12 \mu\text{g/mL}$ と判定したら、PRSPと報告しなければならない。判定基準を再度確認していただきたい。

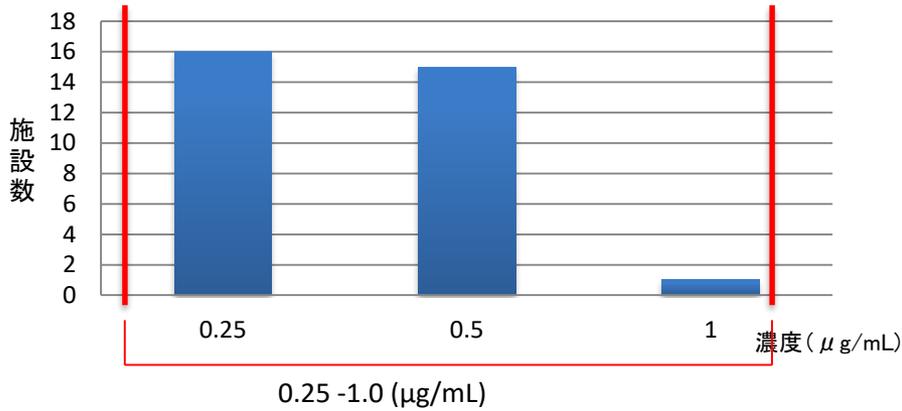
Streptococcus pneumoniae のためのMICの解釈基準CLSI(M100-S25)

	非髄膜炎			髄膜炎		
	S	I	R	S	I	R
PCG	≤ 2	4	≥ 8	≤ 0.06		≥ 0.12
CTX	≤ 1	2	≥ 4	≤ 0.5	1	≥ 2
CTRX						

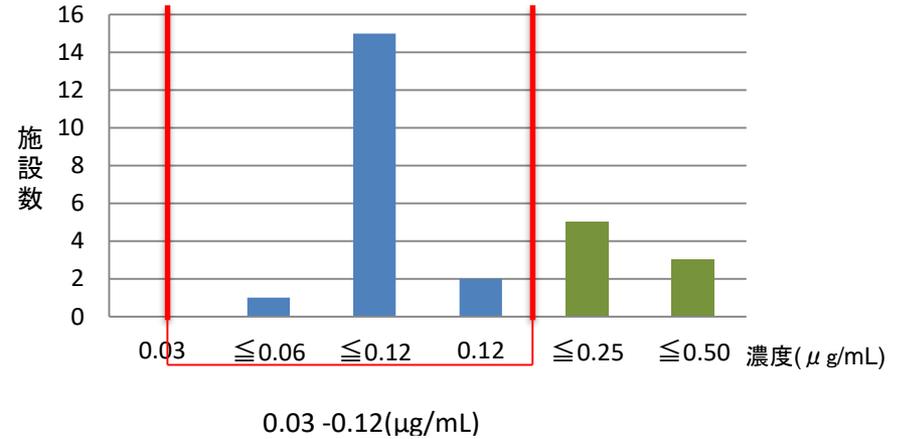
濃度($\mu\text{g/mL}$)

各施設のMIC値分布を示す。また、CLSIの標準法で測定されたレンジ幅をグラフ上で示した。

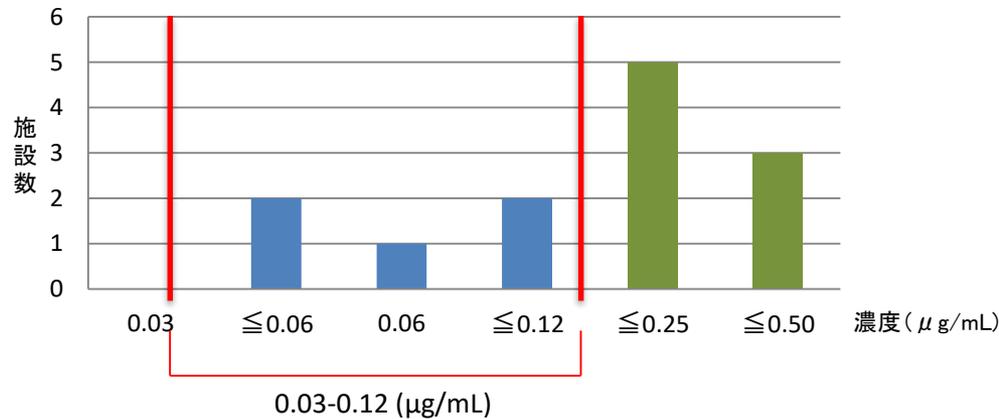
PCG



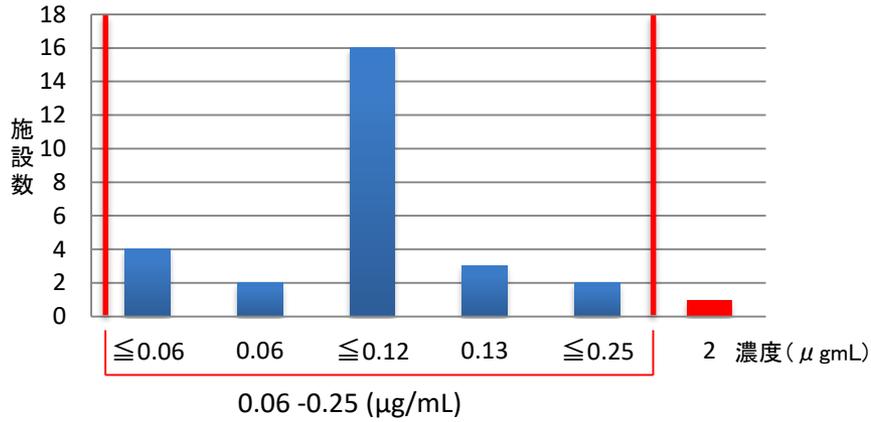
CTX



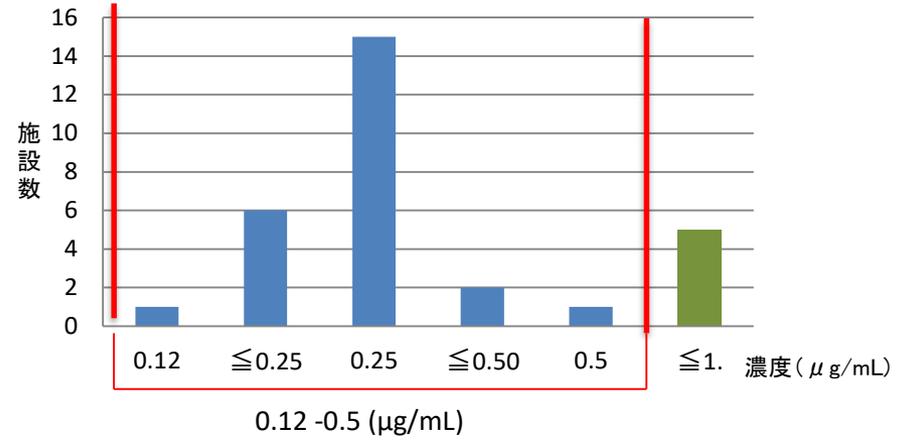
CTRX



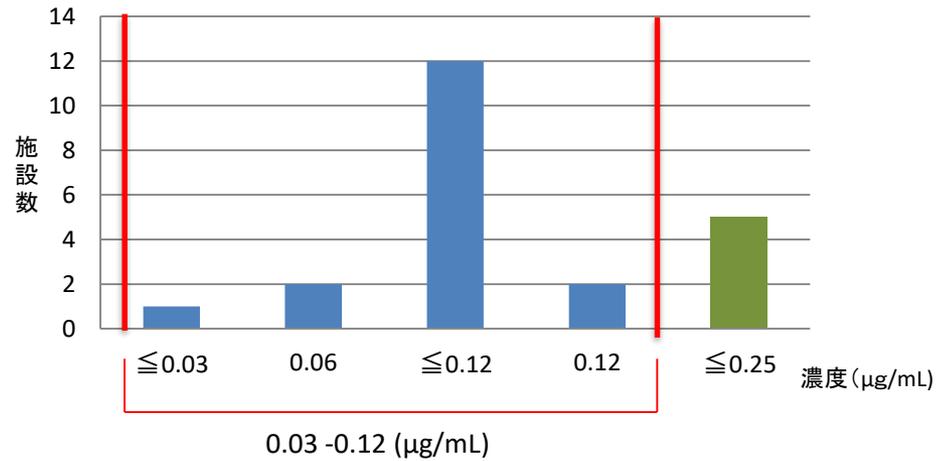
MEPM



VCM



CLDM



【試料33】まとめ

- 同定検査は、*Streptococcus pneumoniae*と回答された施設が97%と良好な結果であった。また、侵襲性肺炎球菌感染症としての届出のコメントの記載があった施設は55%であった。感染症法にて発生届の提出は義務付けられているため、担当医師にはその旨を報告することが望ましい。
- 確認試験は、オプトヒン感受性試験のみによる鑑別同定には限界があるため、胆汁溶解試験などと併用することが望まれる。
- 感受性結果は、概ね良好な結果であったが、判定結果が乖離した施設については是正を行っていただきたい。

【試料34】

同定・薬剂感受性試験2

【試料34】 実施要綱

＜患者背景＞

65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、18時間で培養陽性となった。

＜設問＞

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。

薬剤感受性試験はPIPC/TAZ、CTX、CMZ、CFPM、MEPMの5薬剤の回答を求めた。

【試料34】 配布試料

Klebsiella pneumoniae（AmpC型β-ラクタマーゼ産生株）を
試料として輸送用培地（シードスワブ）にて配布し、同定お
よび薬剤感受性試験の施設間差の確認、また、薬剤感受性パ
ターンもしくは確認試験からβ-ラクタマーゼ（AmpC型）産
生株であることを推定し、感染対策として注意すべき菌種で
あることを臨床へコメントできるかを調査目的とした。

検出菌を*K. pneumoniae*と同定した場合を評価Aとし、それ以
外の菌種であった場合を評価C、培養で菌が検出されなかつ
た場合を評価Dとした。

薬剤感受性の判定は、CTX：R、CFPM：S、MEPM：Sを評
価Aとし、それ以外を評価Cとした。

【試料34】 集計結果 1

同定菌名

回答結果	評価	施設数
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A	35 (100%)
合計		35

薬剤感受性試験

抗菌薬	回答結果				評価
	S	I	R	未記入	
CTX			27		96.7% A
				1	3.6% 対象外
CFPM	25				73.5% A
			8		23.5% C
				1	3.0% 対象外
MEPM	32				100% A

【試料34】 集計結果2

CTXのMIC値と判定結果(28施設)

MIC値 ($\mu\text{g/mL}$)	感受性 (S)	中間 (I)	耐性 (R)	判定なし
> 1.00				1 (3.6%)
> 2.00			14 (50.0%)	
> 4.00			2 (7.1%)	
8.00			6 (21.5%)	
≥ 8.00			2 (7.1%)	
> 8.00			1 (3.6%)	
16.00			2 (7.1%)	
計	0	0	27 (96.4%)	1 (3.6%)

【試料34】 集計結果3

CFPMのMIC値と判定結果(34施設)

MIC値 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	感受性 (S)	中間 (I)	耐性 (R)	判定なし
≤ 0.50	1 (2.9%)			
≤ 1.00	9 (26.5%)		2 (5.9%)	
≤ 2.00	12 (35.4%)		3 (8.8%)	
4.00				1 (2.9%)
≤ 8.00	3 (8.8%)		2 (5.9%)	
(ディスク法)			1 (2.9%)	
計	25 (73.6%)	0	8 (23.5%)	1 (2.9%)

【試料34】 集計結果4

MEPMのMIC値と判定結果(32施設)

MIC値 ($\mu\text{g/mL}$)	感受性 (S)	中間 (I)	耐性 (R)
≤ 0.06	1 (3.1%)		
≤ 0.12	1 (3.1%)		
≤ 0.25	6 (18.8%)		
≤ 0.50	3 (9.4%)		
≤ 1.00	20 (62.5%)		
1.00	1 (3.1%)		
計	32 (100%)	0	0

【試料34】 集計結果5

臨床へのコメント (複数回答あり)

コメント内容	施設数
検出菌はAmpC型βラクタマーゼ産生菌の可能性が あります。	9 (25.7%)
院内感染対策上重要な菌であるため、接触 予防策をお願いします。	9 (25.7%)
検出菌はESBL産生菌です。	1 (2.9%)
検出菌はESBLとAmpCの過剰産生が疑われ ます。	1 (2.9%)
ESBL産生菌ではないが、セファロスポリ ナーゼ産生であり、耐性菌として扱うこ とが望ましい。	1 (2.9%)
コメント無し	19 (54.3%)

β-ラクタマーゼの特徴

表1 主なβ-ラクタマーゼと耐性パターン

産生酵素	Ambler の分類	Buch の分類	ペニシ リン系	第1世代 セフェム	第2世代 セフェム	第3世代 セフェム	第4世代 セフェム	モノバク タム系	セファマイ シン系ほか	カルバ ペネム系	活性阻害			
			ABPC PIPC	CEZ	CTM	CTX CAZ	CPR CFPM	AZT CRMN	CMZ FMOX	IPM MEPM BIPM DRPM	CVA ²⁾	BA ³⁾	MPA ⁴⁾	EDTA
ペニシリナーゼ (染色体性)	A	(2)	R	S	S	S	S	S	S	S	+	-	-	-
セファロスポリナーゼ (染色体性)	C	1	R	R	R(S)	S	S	S	S	S	-	+	-	-
ESBL (プラスミド性)	A	2be	R	R	R	R(S)	R(I)	R	S	S	+	-	-	-
AmpC 過剰産生型 (プラスミド性)	C	1	R	R	R	R(I)	R(I) ¹⁾	R(I)	R	S(I)	-	+	-	-
MBL (プラスミド性)	B	3	R	R	R	R	R	R(I)	R	R(S)	-	-	+	+
KPC 型 (プラスミド性)	A	2f	R	R	R	R(I)	R(I)	R	R	R(I)	±	+	-	-
OXA 型 (プラスミド性)	D	2d	R	R	R	R	R	R	R	R(I)	±	-	-	-

1) CFPM は感性 2) clavuronic acid 3) boronic acid 4) 2-mercaptopropionic acid または sodium mercaptoacetic acid

【試料34】 まとめ

- 同定検査は全施設が*K.pneumoniae*と回答し、良好な結果であった。
- 薬剤感受性検査は結果未記入の施設は除きCTXおよびMEPMは全施設が評価Aで、CFPMでは23.5%が評価Cとなった。
- 検出菌種と感受性パターンから注意すべき耐性菌が疑われる場合は、感染対策上重要な菌であることを報告する必要性があり、検査室から臨床への重要な報告であることを再認識していただきたい。

まとめ

- 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。