

平成28年度 社団法人
岐阜県臨床検査技師会 精度管理報告会

各研究班精度管理調査結果報告

微生物検査

長島 敏之（メディック）

藤木 誠（県立下呂温泉病院）



参加施設数

試料問題(同定)	25施設
薬剤感受性検査	25施設
Photo Survey	24施設

設問内容

- ・試料問題: 2題

 - 設問41 臨床分離株同定・感受性

 - 設問42 臨床分離株同定

- ・ Photo Survey: 10題

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

Photo 設問	正解率	
	1次評価後	2次評価後
設問 1	100 %	100 %
設問 2	100 %	100 %
設問 3	95.8 %	100 %
設問 4	100 %	100 %
設問 5	95.8 %	100 %
設問 6	100%	100 %
設問 7	100 %	100 %
設問 8	100 %	100 %
設問 9	100 %	100 %
設問 10	100 %	100 %

試料問題	正解率	
	1次評価後	2次評価後
設問41 同定・感受性試験	100 %	100 %
設問41 感受性試験(ABPC)	100 %	100 %
設問41 感受性試験(VCM)	100 %	100 %
設問41 感受性試験(LVFX)	100 %	100 %
設問42 同定	100 %	100 %

フォトサーベイの内訳	
種類	問題数
一般細菌	5
真菌	1
寄生虫・原虫	1
薬剤耐性菌	2
その他	1

Photo Survey 設問 1

写真1は、ある抗菌薬の写真です。この抗菌薬について正しく述べている文章を下記選択肢より1つ選んでください。

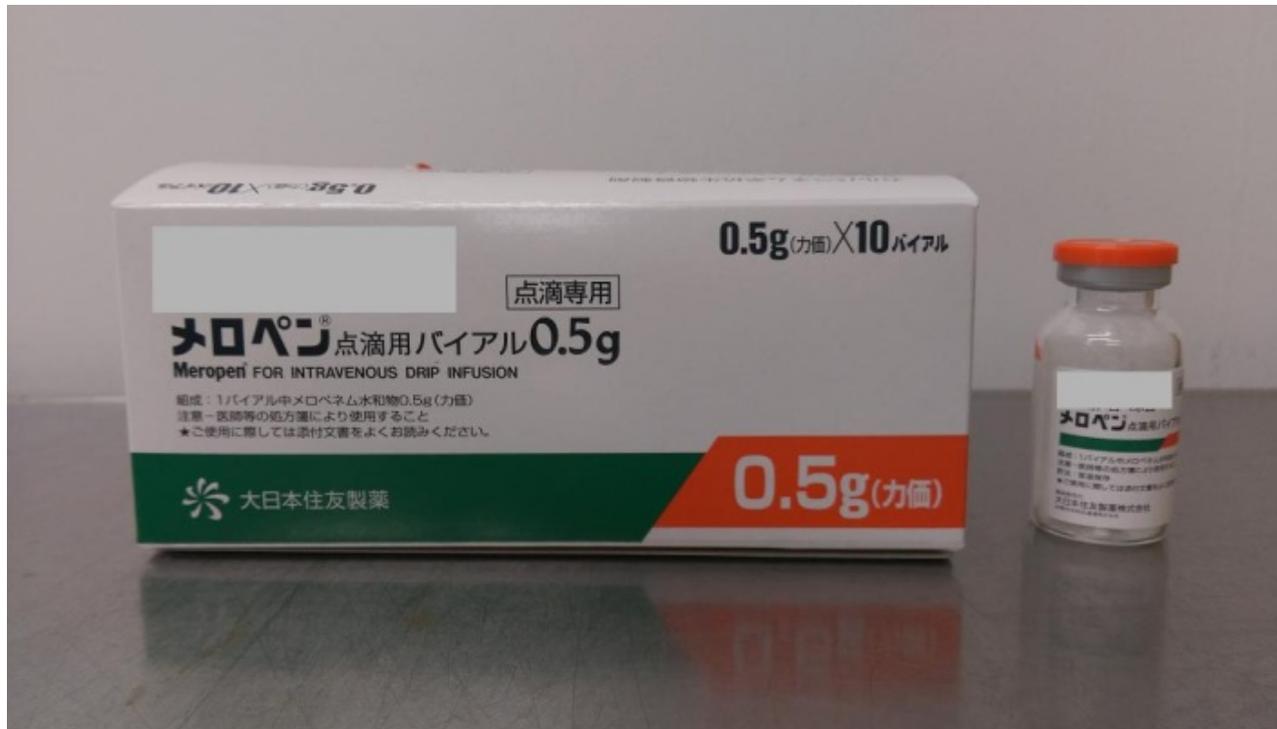


写真1: 抗菌薬(外箱とバイアル)

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

βラクタム系抗菌薬

ペニシリン結合タンパク(PBP)にくっつき、細菌の細胞壁の構築を阻害する

βラクタム系抗菌薬の種類

系統	主な抗菌薬
ペニシリン系	ペニシリンG(PCG) アンピシリン(ABPC) ピペラシリン(PIPC)
セフェム系	セファゾリン(CEZ) セフトジジム(CAZ) セフメタゾール(CMZ) フロモキシセフ(FMOX)
モノバクタム系	アズトレオナム(AZT)
カルバペネム系	イミペネム/シラスタチン(IPM/CS) メロペネム(MEPM)

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

主なカルバペネム系抗菌薬の種類

抗菌薬名	略号	商品名
イミペネム・シラスタチン	IPM/CS	チエナム [®]
パニペネム・ベタミプロン	PAPM/BP	カルベニン [®]
メロペネム	MEPM	メロペン [®]
ビアペネム	BIPM	オメガシン [®]
ドリペネム	DRPM	フィニバックス [®]

- ① セファロスポリン系抗菌薬である。
- ② タンパク合成阻害剤である。
- ③ デヒドロペプチダーゼ I に分解されるのを防ぐため、その阻害剤であるシラスタチンが配合されている。
- ④ MRSAに効果がある。
- ⑤ *Stenotrophomonas maltophilia*には効果がない。

24施設(100%)

A

Photo Survey 設問 2

患者背景:25歳、女性。帯下の増量と不快臭、外陰部のかゆみを訴え、近医を受診。膣分泌物が微生物検査室に提出された。膣分泌物の生標本では写真2-1、2-2のごとく、**鞭毛がある原虫**が認められた。また膣分泌物のグラム染色でも写真2-3のごとく、グラム陰性に染色された同様の原虫が認められた。推定される微生物名をコードより選択してください。



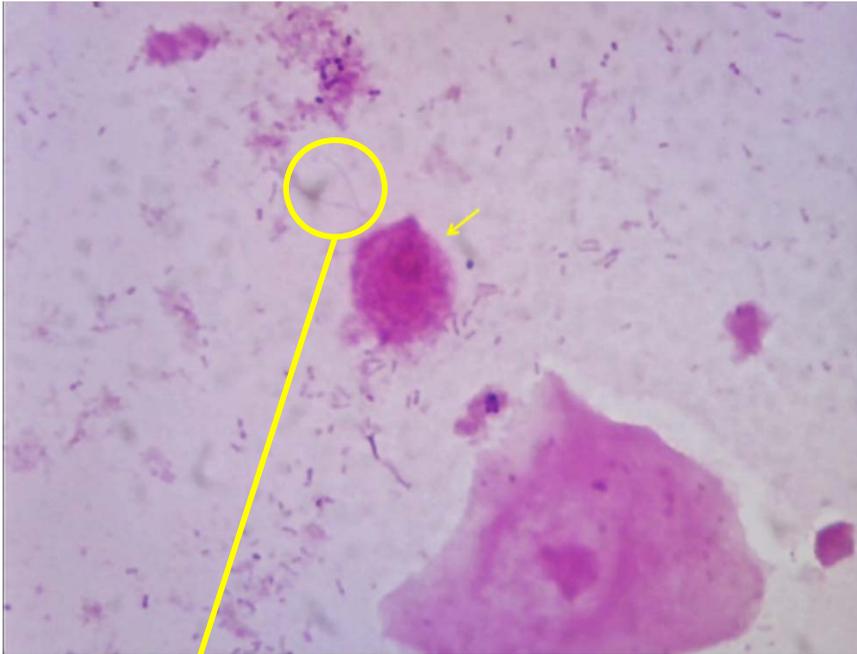
写真2-1:膣分泌物の生標本×200



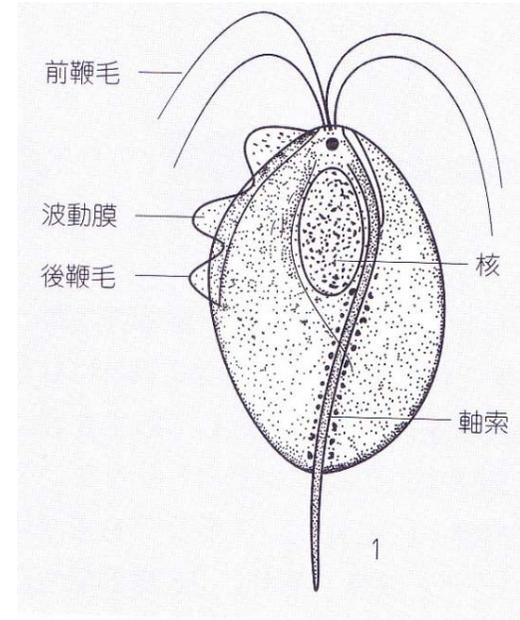
写真2-2:写真2-1の拡大写真

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真2-3: 膺分泌物のグラム染色(B&M法) × 1000



鞭毛と思われるものが認められる



膺トリコモナスの構造 寄生虫学テキスト(文光堂)より引用

Trichomonas vaginalis

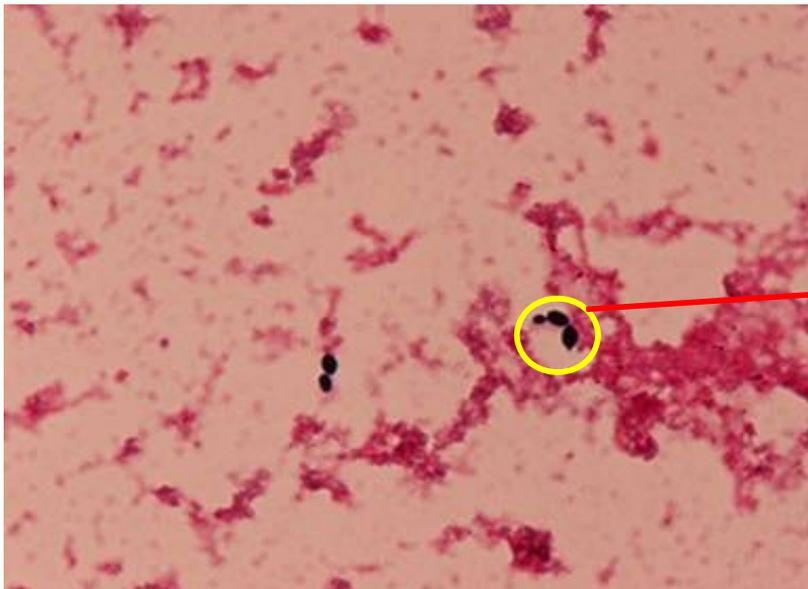
24施設(100%)

A

Photo Survey 設問 3

患者背景 : 65男性。1か月前から、抗癌治療により入院中。CZOPが投与されていたが、吐き気と悪寒、38.3℃発熱があり、検査値は、WBC 9160 / μ l、Hb 8.6 g/dl、Pt 45.8万 / μ l、CRP 4.92mg/dlであった。微生物検査室に提出された血液培養は、48時間後に陽性となった。グラム染色と後日の培養コロニーは写真3-1、3-2のごとくであった。推定される微生物名をコードより選択してください。

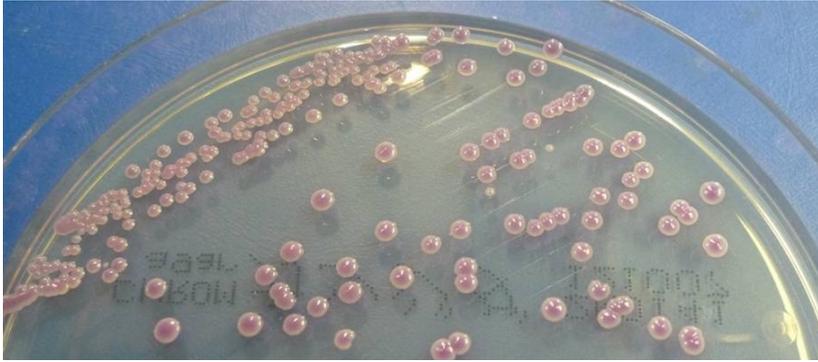
写真3-1: 培養液のグラム染色 × 1000



酵母様真菌を確認

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真3-2: クロモアガーカンジダ培地、48時間培養



CHROMagar™ Candida培地の利用目的
主要病原Candida属3菌種 (*Candida albicans*,
Candida tropicalis, *Candida krusei*) の分離区別

Candida albicans ……緑色

Candida tropicalis ……青色ハローを伴う濃青色

Candida krusei ……ピンク色のラフ型

主要3菌種以外にも分離頻度の高い、
Candida glabrata, *Candida palapsilosis*などの
色調鑑別にも利用可能

Candida glabrata ……紫、ピンク

Candida palapsilosis ……クリーム色、うすいピンク

Candida glabrata
Candida sp.

23施設(96.08%)

A

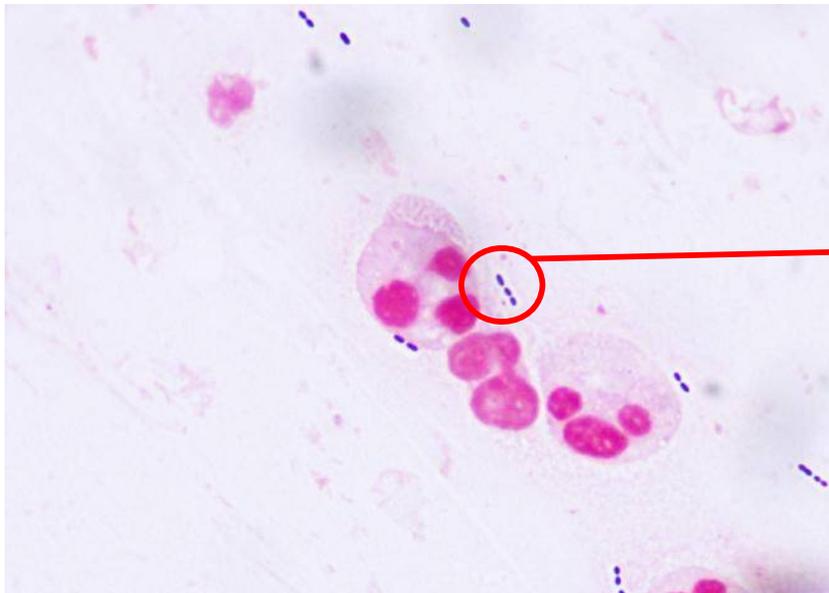
Cryptococcus neoformans

1施設(4.2%)

C

Photo Survey 設問 4

患者背景:60歳代女性。咳と38.7℃発熱があり、近医を受診された。検査値は、WBC 9920/ μl 、Hb 7.6g/d ℓ 、Pt 29.5万/ μl 、CRP 9.64mg/d ℓ 。右下肺野中心に肺炎像があり、喀痰が微生物検査室に提出された。喀痰のグラム染色像を観察すると、写真4-1のごとくグラム陽性球菌が認められた。また喀痰を培養すると写真4-2のごとくコロニーが発育した。推定される微生物名をコードより選択してください。

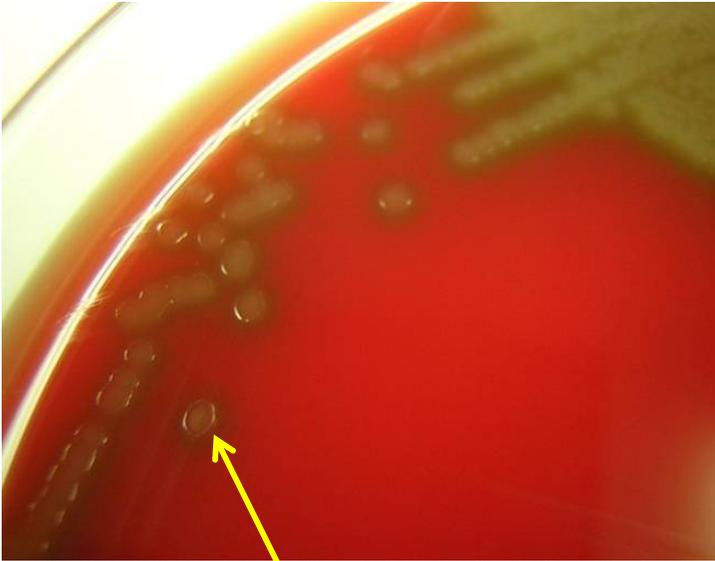


ランセット型の双球菌
菌体の周りが染色されず抜けて見える

写真4-1: 喀痰のグラム染色像(1000倍)

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真4-2:5%ヒツジ血液寒天培地
35°C、24時間 好気培養



血液寒天培地
 α 溶血
自己融解の為、集落中央が陥没状

写真4-3:オプトヒン試験



オプトヒン感受性

Streptococcus pneumoniae

24施設(100%)

A

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

Photo Survey 設問 5

患者背景:42歳男性。海外旅行から帰国後、発熱と腹痛を発症。便培養をしたところ写真5-1、5-2のごとくコロニーが発育した。生化学的鑑別性状検査は、写真5-3のごとくであった。推定される微生物名をコードより選択してください。

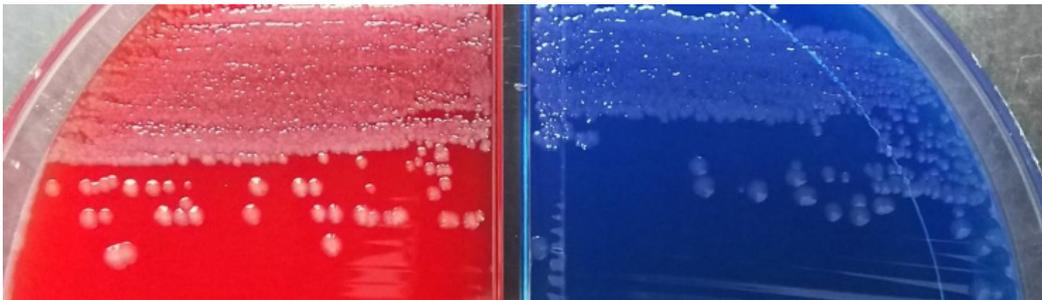


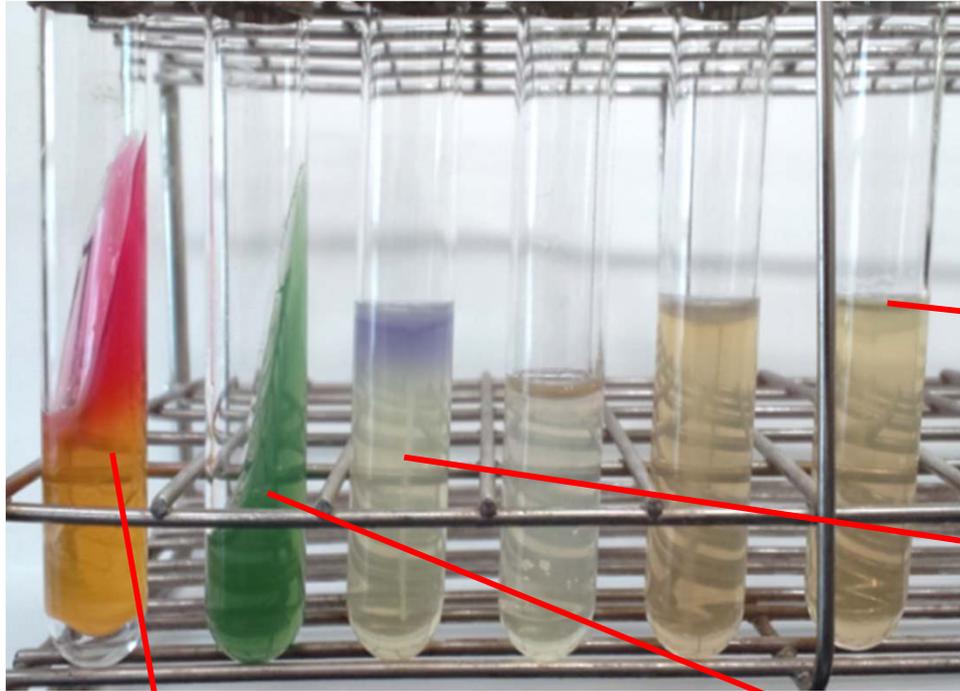
写真5-1:5%ヒツジ血液寒天/BTB乳糖加寒天
35°C、24時間 好気培養



写真5-2:SS寒天培地 35°C、24時間 好気培養

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真5-3: 生化学鑑別性状試験 35°C、24時間培養



乳糖、白糖非分解
大部分がH₂S産生しない
(約90%以上)

クエン酸利用能
陰性

インドール反応
陰性

リジン脱炭酸反応
陰性

Salmonella Paratyphi A

24施設(95.8%)

A

Shigella sonnei

1施設(4.2%)

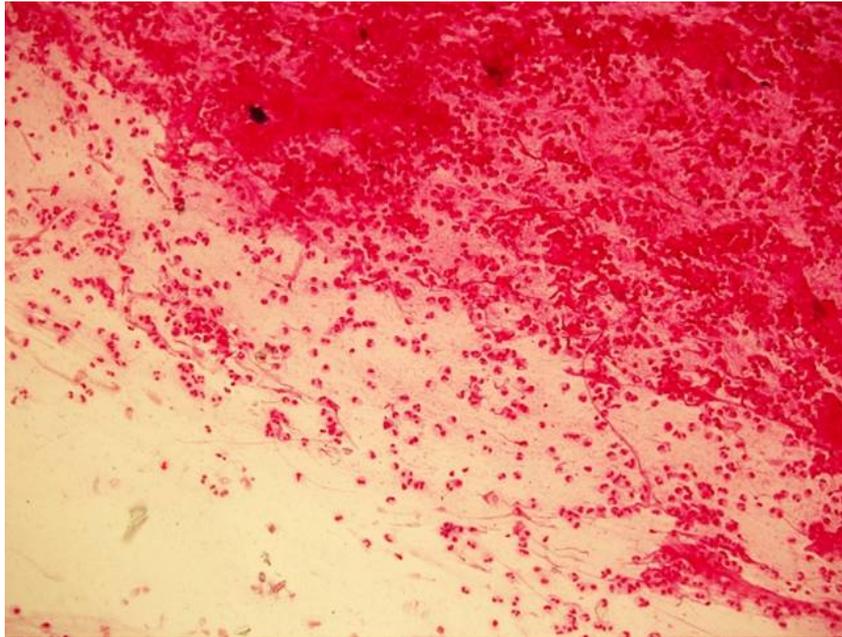
C

Photo Survey 設問 6

患者背景： 35歳男性。幼少期から気管支喘息を患っている。1週間前より発熱、咳、痰といった感冒症状があり近医を受診。体温 37.8°C、SpO₂ 94% (酸素3L投与中)、WBC 11,700 / μ l (Neut85.4%)、CRP 11.20 mg/dl、尿中肺炎球菌抗原(ー)、マイコプラズマ抗体(ー)、胸部レントゲンにて両葉に浸潤影を認めた。この患者の喀痰検体が微生物検査室に提出され、提出された喀痰のグラム染色を実施した。写真6より、この喀痰の品質評価をGecklerの分類を用いて行い、下記の選択肢より1つ選んでください。

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真6: 生食洗浄後の喀痰のグラム染色(B & M法: 100倍)



白血球は多数認められ、
扁平上皮細胞はほとんど認められない

Gecklerの分類による喀痰の品質評価

群	細胞数／1視野(100倍鏡検)	
	扁平上皮細胞	好中球
1	>25	<10
2	>25	10-25
3	>25	>25
4	10-25	>25
5	<10	>25
6	<25	<25

- ① Geckler1群
- ② Geckler2群
- ③ Geckler3群
- ④ Geckler4群
- ⑤ Geckler5群**

24施設(100%)

A

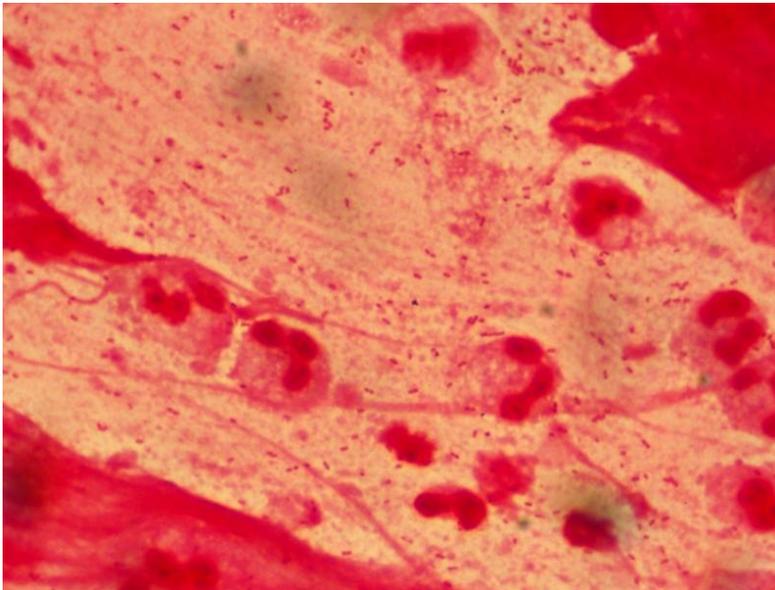
各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

Photo Survey 設問 7

設問6で提出された喀痰のグラム染色像をさらに詳しく観察すると、写真7-1のごとく**多数のグラム陰性桿菌**が認められた。また洗浄喀痰を培養すると写真7-2のごとくコロニーが発育した。推定される微生物名をコードより選択してください。

写真7-1: 生食洗浄後の喀痰のグラム染色(B & M法: 1000倍)

写真7-2: 左、5%羊血液寒天培地 右、チョコレート寒天培地
35℃、24時間培養



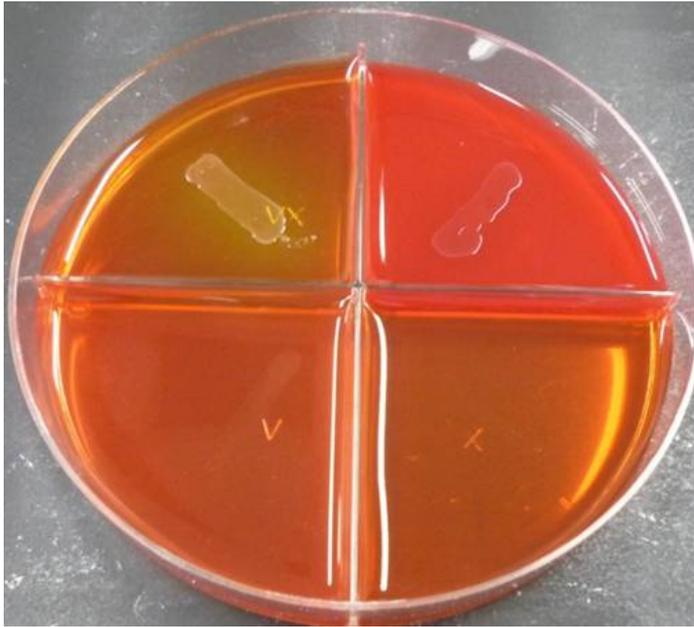
グラム染色で多数の
グラム陰性短桿菌



ヒツジ血液寒天培地には発育が認められず、
チョコレート寒天培地にのみ発育

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真7-3: XV鑑別培地 35°C、24時間培養



VX鑑別培地にてVXのみに発育・・・
X因子、V因子両方要求
ウマ血液寒天培地にて溶血なし

Haemophilus属主要4菌種の XV因子要求性と溶血性

	X因子 要求性	V因子 要求性	溶血性 (ウマまたは ウサギ)
<i>Haemophilus influenzae</i>	+	+	-
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-	+	-
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	+	+	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	-	+	+

Haemophilus influenzae

24施設(100%)

A

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

Photo Survey 設問 8

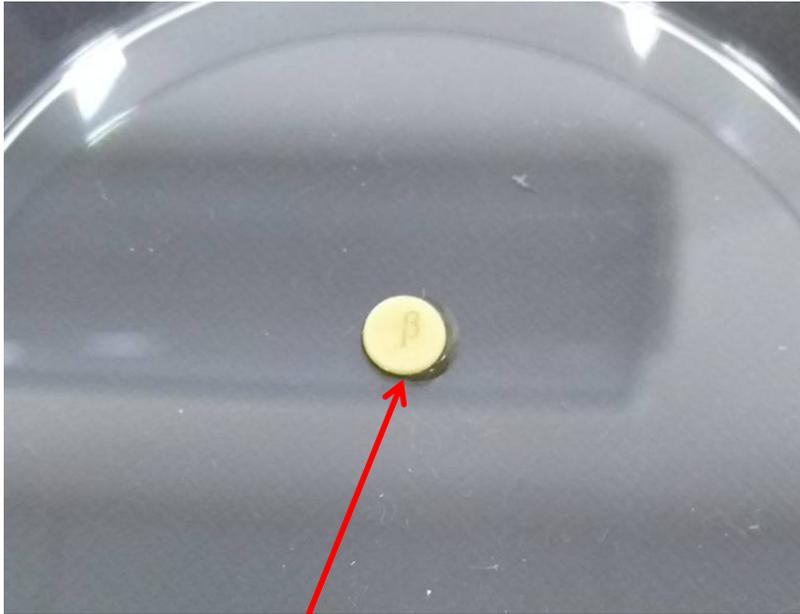
設問7で推定された菌の薬剤感受性試験の結果は以下の表のとおりであった。

抗菌薬	MIC値	抗菌薬	MIC値
ABPC	>16	CDTR	≤ 0.25
SBT/ABPC	16	MEPM	0.5
AMPC/CVA	16	CAM	8
PIPC	8	MINO	0.5
CTX	2	LVFX	≤ 0.5

また本菌の β ラクタマーゼ産生試験(ニトロセフィン法)は写真8のとおりであった。
このことより推定される耐性菌名(略号)を下記選択肢より1つ選択してください。

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真8:βラクタマーゼ産生試験(ニトロセフィン法)



ABPCのMIC値が $> 16\mu\text{g/ml}$ であり、 β -lactamase が陰性

アンピシリン耐性インフルエンザ菌の定義

耐性遺伝子を持たないABPC感性菌・・・BLNAS
 β -lactamase産生ABPC耐性菌・・・・・・・BLPAR
PBP3変異によるABPC耐性菌・・・・・・・BLNAR
 β -lactamase産生+PBP3変異株・・・・・・・BLPACR

CLSIでは・・・

β -lactamase 陰性で, ampicillin耐性($\geq 4\mu\text{g/ml}$)の
*H. influenzae*を“BLNAR”と定義

- ① BLPAR
- ② PRSP
- ③ PPNG
- ④ **BLNAR**
- ⑤ BLPACR

24施設(100%)

A

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

Photo Survey 設問 9

患者背景: 10歳、女児。焼き肉店でユッケを摂食。その1週間後に腹痛と下痢症状で近医を受診。全身倦怠感があり、血性下痢便、腎機能低下を認める。便培養をしたところ写真9-1、9-2のごとくコロニーが発育した。生化学的鑑別性状検査は、写真9-3のごとくであった。本菌について正しく述べられている文章を選択肢より1つ選んでください。

写真9-1: 5%ヒツジ血液寒天/BTB乳糖加寒天
35°C、24時間 好気培養

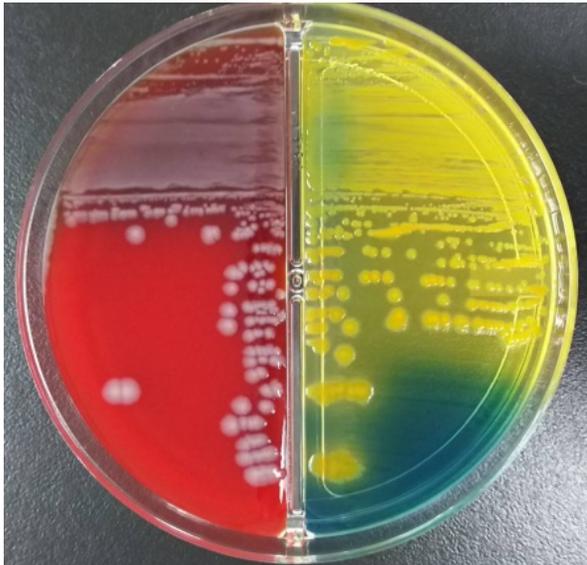


写真9-2: ソルビトールマッコンキー寒天培地
35°C、24時間培養



ソルビトールマッコンキー寒天培地で
培地色のコロニーを形成

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真9-3: 生化学鑑別性状試験 35°C、24時間培養



生化学的性状より
Escherichia coli を推定

感染症法に規定された細菌が関与する感染症 (1～4類感染症まで)

疾病分類	感染症
1類感染症	ペスト
2類感染症	結核、ジフテリア
3類感染症	腸管出血性大腸菌感染症、 コレラ、細菌性赤痢、腸チフス、 パラチフス
4類感染症	炭疽、レジオネラ症、ブルセラ症 ボツリヌス症、野兔病、 レジオネラ症、鼻疽、類鼻疽

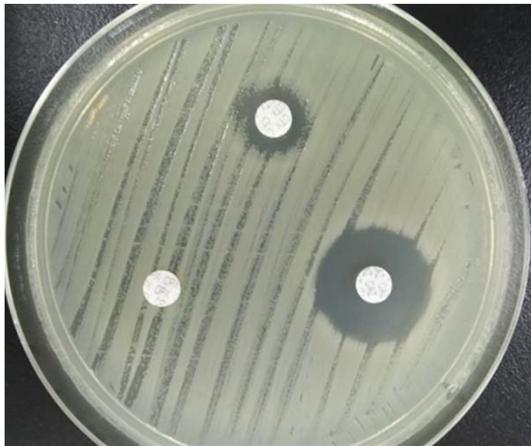
- ① 1類感染症として届け出が必要である。
- ② コレラ毒素が陽性の場合、3類感染症として届け出が必要である。
- ③ **Vero毒素が陽性の場合、3類感染症として届け出が必要である。** **24施設(100%)** **A**
- ④ 4類感染症として届け出が必要である。
- ⑤ 5類感染症(全数把握)として届け出が必要である。

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

Photo Survey 設問 10

設問9で分離された菌のCPDX(セフポドキシム)、CTX(セフォタキシム)、CAZ(セフトジジム)に対する薬剤感受性試験(ディスク拡散法)を実施したところ、写真10-1のような結果になり、さらに確認試験を行ったところ、写真10-2のような結果になった。以上の試験結果から確認されたβラクタマーゼに安定であると思われる抗菌薬の組み合わせを下記選択肢より1つ選んでください。

写真10-1: CPDX、CTX、CAZの
ディスク拡散法による薬剤感受性試験



↔
10mm

阻止円径
CAZ・・・18mm
CTX・・・10mm
CPDX...6mm(阻止円なし)

写真10-2: クラブラン酸含有ディスクを用いた確認試験



↔
10mm

CTXにおいてクラブラン酸含有ディスクの方が
阻止円径が5mm以上拡大している

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

Escherichia coli のESBLsスクリーニング基準及び確認試験

	ディスク拡散法	希釈法
培地	MHA	CAMHB
培養条件	35±2℃ 好気培養	35±2℃ 好気培養
培養時間	16～18時間	16～20時間
スクリーニング基準	E. coli , K. pneumoniae , K. oxytoca 10µg CPDX ≤17mm あるいは 30µg CAZ ≤22mm あるいは 30µg AZT ≤27mmあるいは 30µg CTX ≤27mm あるいは 30µg CTRX ≤25mm	E. coli , K. pneumoniae , K. oxytoca CPDX ≥8µg/mlあるいは CAZ ≥2µg/mlあるいは AZT ≥2µg/mlあるいは CTX ≥2µg/mlあるいは CTRX ≥2µg/ml
確認試験	30µg CAZ、30/10µg CAZ/CVA と 30µg CTX、30/10µg CTX/CVA 上記薬剤の阻止円直径を測定し、CAZまたは CTX単独の阻止円径よりCVA添加ディスクの阻止円直が5mm以上拡大した場合にESBLsと判定する。	0. 25～128µg/ml CAZ、 0. 25/4～128/4µg/ml CAZ/CVA と 0. 25～64µg/ml CTX 0. 25/4～64/4µg/ml CTX/CVA 上記薬剤のMICを測定し、CAZまたはCTX単独のMICより、CVAを添加した薬剤ウェルのMICが3管以上減少した場合にESBLsと判定する。
結果の解釈	ESBLsと判定された場合は、 ペニシリン系、セファロsporin系、モノバクタム系の薬剤はMICや阻止円径の大小に関わらず耐性(R)と解釈する。 (セファマイシン系、オキサセフェム系、カルバペネム系は効いていればSでよい)	

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

- a ABPC(アンピシリン)
- b CFPM(セフェピム)
- c MEPM (メロペネム)**
- d CMZ (セフメタゾール)**
- e AZT (アズトレオナム)

①a,b

②a,e

③b,c

④c,d

24施設(100%) A

⑤d,e

資料問題

試料 41

患者背景:70歳女性。糖尿病のため、インスリン療養を行っていたが、血糖コントロール不良のため入院。数日後に発熱、悪寒、側腹部痛があり、腎盂腎炎が疑われ、尿培養が提出された。

問:培養を行い、分離・同定した菌種をコード表より選択してください。

Enterococcus faecium

Enterococcus gallinarum

Enterococcus sp.

24施設(100%)

A

※1施設の評価対象外を除く

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

問: ABPC(アンピシリン)、VCM(バンコマイシン)、LVFX(レボフロキサシン)の薬剤感受性試験を実施し、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S22 の基準を用いてS、I、R、で判定・回答してください。

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

ABPC

判定 **R**

24施設(100%)

A

微量液体希釈法

測定装置	MIC値(μg/ml)	施設数
バイテック	≥32	5
ライサス	>8	6
マイクロスキャン	>8	3
フェニックス	>8	1

測定装置	MIC値(μg/ml)	施設数
IS60	>8	1
IA40	>8	1
用手法	≥2	1
	>8	1
	≥16	2

ディスク拡散法

阻止円径(mm)	施設数
0	1

判定基準

- ・微量液体希釈法(μg/ml)
S: ≤8 R: ≥16
- ・ディスク拡散法(mm)
S: ≥17 R: ≤16

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

VCM

微量液体希釈法

判定 **S** (MIC値すべて $\leq 4\mu\text{g/ml}$ 、
R 阻止円径17mm以上)

24施設(100%) **A**

測定装置	MIC値($\mu\text{g/ml}$)	施設数
バイテック	≤ 1	1
	≤ 0.5	4
ライサス	1	3
	≤ 1	3
	0.75	1
フェニックス	≤ 0.5	1

測定装置	MIC値($\mu\text{g/ml}$)	施設数
マイクロスキャン	≤ 2	2
	≤ 0.5	1
IS60	≤ 0.5	1
IA40	≤ 1	1
用手法	≤ 2	3
	1	1
	≤ 1	1
	≤ 0.25	1

ディスク拡散法

阻止円径(mm)	施設数
25	1

判定基準

- ・微量液体希釈法($\mu\text{g/ml}$)
S: ≤ 4 I:8~16 R: ≥ 32
- ・ディスク拡散法(mm)
S: ≥ 17 I:15~16 R: ≤ 14

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

LVFX

判定 **S**

24施設(100%)

A

微量液体希釈法

測定装置	MIC値(μg/ml)	施設数
バイテック	≥8	5
ライサス	>4	6
	>32	1
フェニックス	>4	1

測定装置	MIC値(μg/ml)	施設数
マイクロスキャン	>4	3
IS60	>8	1
IA40	>4	1
用手法	>4	2
	≥4	1
	≥8	1

ディスク拡散法

阻止円径(mm)	施設数
0	1

判定基準

・微量液体希釈法(μg/ml)

S: ≤2 I:4 R: ≥8

・ディスク拡散法(mm)

S: ≥17 I:14~16 R: ≤13

試料 42

患者背景:60歳男性。3日前より発熱、咳嗽、膿性痰があり近医を受診。培養目的で喀痰が微生物検査室に提出された。

培養を行い、分離・同定した菌種をコード表より選択してください。

Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae

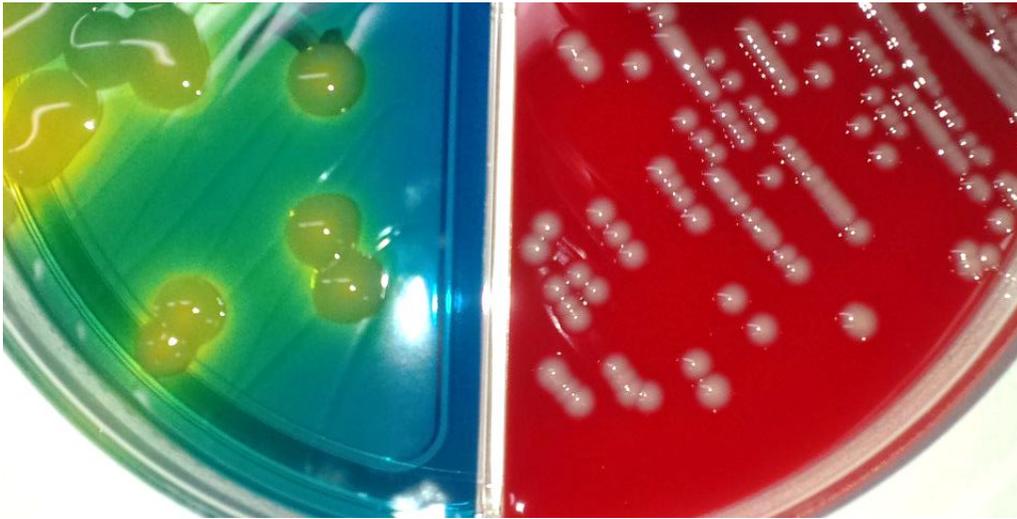
23施設(100%)

A

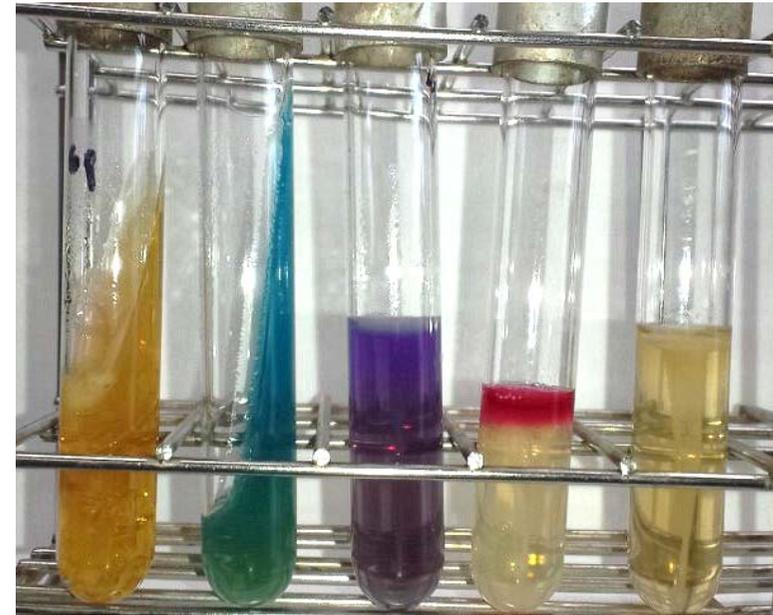
※2施設の評価対象外を除く

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

5%ヒツジ血液寒天/BTB乳糖加寒天35°C、24時間 好気培養



生化学鑑別性状試験 35°C、24時間培養



乳白色(著しく混濁)
隆起(半円状)
光沢あり
非溶血
ムコイド集落
粘稠性あり

TSI寒天培地	斜面部は乳糖・白糖分解の為黄色 高層部はブドウ糖分解の為黄色 さらにガスを大量に産生。
シモンズのクエン酸塩培地	クエン酸利用能陽性
LIM培地	リジン脱炭酸反応陽性 運動性なし
VP半流動培地	VP反応陽性
SIM培地	インドール反応陰性

まとめ

- 今回のサーベイでは正解率が1次評価でも95%を越え、2次評価で正解率が100%となった。
- 確認ミスが若干見受けられ、設問内容の確認、回答の入力後の再確認を徹底する必要があると思われる。
- 試料について、菌株に不備があると思われるため、菌株の用意、管理をしっかりと考えていく必要があると思われる。
- 来年度もより、多くのご施設のご参加をお願い致します。

最後に

フォトサーベイのチェック、指導をしてくださった

微生物研究班部門長、副部門長、部門員の方々

ありがとうございました

各研究班精度管理調査結果報告(微生物検査)

ある施設のコメント

資料41の同定菌種名はVITEK2では*Enterococcus gallinarum*と同定されましたが(一致率99%)、ラフィースが陰性であったので矛盾していると考えました。追加試験で運動性を確認したところ陰性だった為、*Enterococcus gallinarum*ではないと推定しました。

当院にはそれ以上精査する方法が無い為、*Enterococcus* sp.という回答にしました。VCMの感受性は*Enterococcus gallinarum*は否定的であるとの判断からSで回答致しました。