

平成30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)

八嶋 繁子 (県立多治見病院)



参加施設数

試料問題(同定)	24施設
薬剤感受性検査	24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:5題

各部門 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	100 %	100 %
設問 4	100 %	100 %
設問 5	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(CTX)	100 %	100 %
設問41 感受性試験(MEPM)	100%	100 %
設問41 感受性試験(LVFX)	100 %	100 %
設問42 同定	100 %	100 %

Photo Survey 設問 1

写真1は、ある消毒薬の写真です。



写真1-1: 消毒薬(全体像)

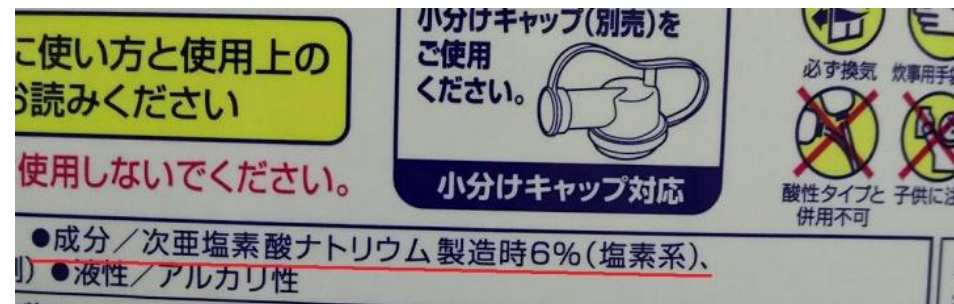


写真1-2: 消毒薬の成分

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

消毒薬の適応対象

水準	消毒薬	消毒適用部位								
		人体							医療器材	
		手指	術野皮膚	術野粘膜	皮膚創傷部位	粘膜創傷部位	結膜囊	口腔粘膜	金属	非金属
高	グルタール	×	×	×	×	×	×	×	○	○
中	次亜塩素酸ナトリウム	×	×	×	×	×	×	×	×	○
	ポビドンヨード	○	○	○	○	○	×	○	×	×
低	ベンザルコニウム塩化物	○	△	○	△	○	○	×	○	○
	クロルヘキシジングルコン酸塩	○	○	×	○	×	○	×	○	○

○:使用に適する △:一般的に使用しないが、場合により使用することもできる ×:適用外

Photo Survey 設問 2

写真2-1は慢性複雑性膀胱炎患者の自然排泄中間尿(褐色混濁)から分離されたコロニーです。

そのコロニーの生化学的鑑別性状検査は、写真2-2のようになりました。



写真2-1:5%ヒツジ血液寒天培地/BTB乳糖加寒天培地
35℃、24時間培養

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真2-2: 生化学的鑑別性状試験 35℃、24時間培養。



本来は**インドール陰性** *S. marcescens* の色素がインドール反応陽性であるかのように見せている。

この菌種の生化学的性状について正しくないと思われる反応を、下記選択肢より1つ選択してください。

- ① TSI培地:高層黄色
- ② クエン酸利用能:陽性
- ③ リジン脱炭酸反応:陽性
- ④ VP反応:陽性
- ⑤ **インドール反応:陽性** **24施設(100%)** **A**

Photo Survey 設問 3

患者背景:35歳女性。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3-1、3-2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3-3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。

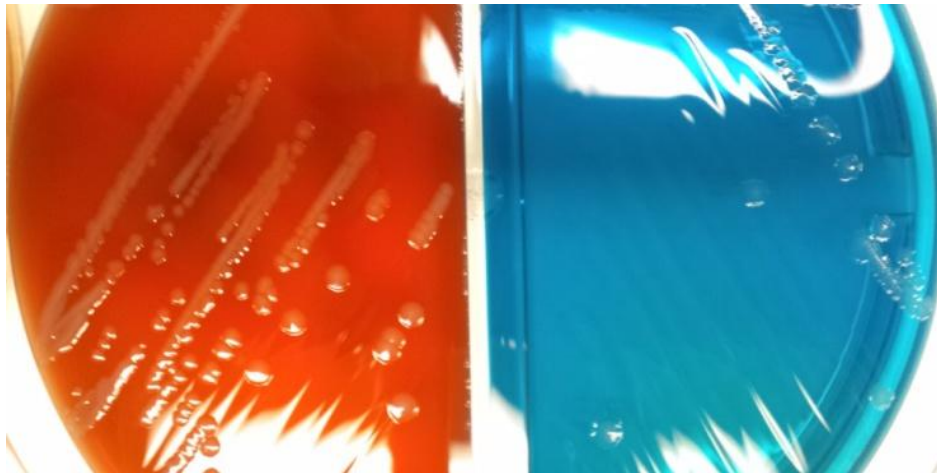


写真3-1:5%ヒツジ血液寒天培地/BTB乳糖加寒天培地
35°C、24時間培養

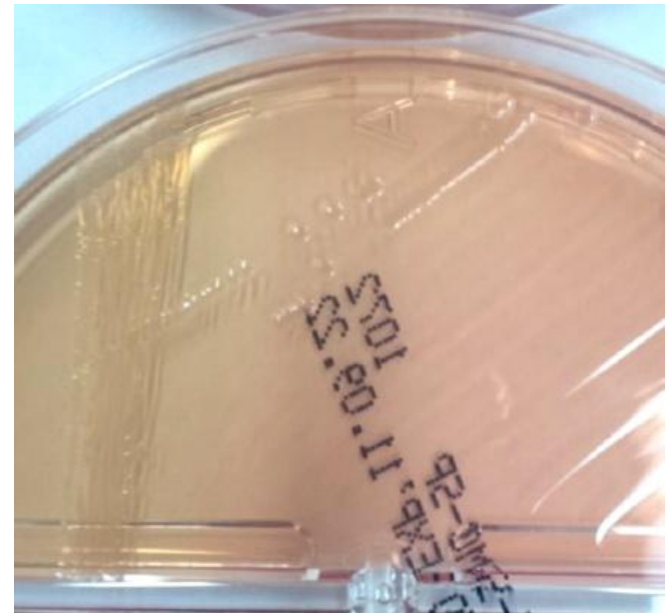


写真3-2:SS寒天培地 35°C、24時間培養

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真3-3: 生化学的鑑別性状試験 35°C、24時間培養



TSIの斜面と高層の境界部分に
少しだけ黒色変化がみられる

シモンズ
(-)

Salmonella enterica subspecies enterica serovar Typhi 24施設(100%) A

Photo Survey 設問 4

患者背景:65歳男性。腹痛にて救急搬送された。来院時に採取された胆汁から写真4-1のごとくグラム陰性桿菌が検出された。また本菌のスポットインドールテストは写真4-3のごとく陽性であった。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4-1:左:BHK培地(ブルセラHK培地)
右:BBE培地 35°C、72時間嫌気培養

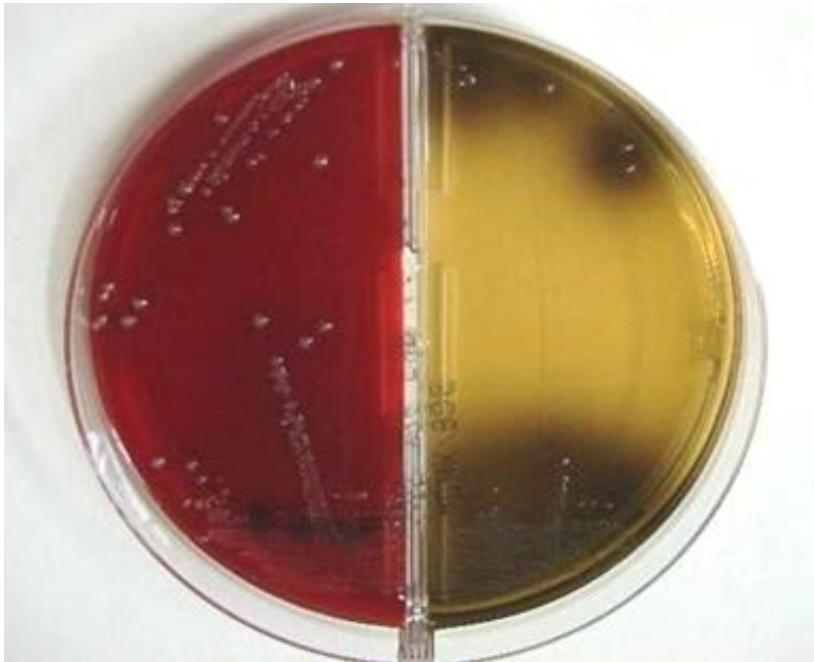
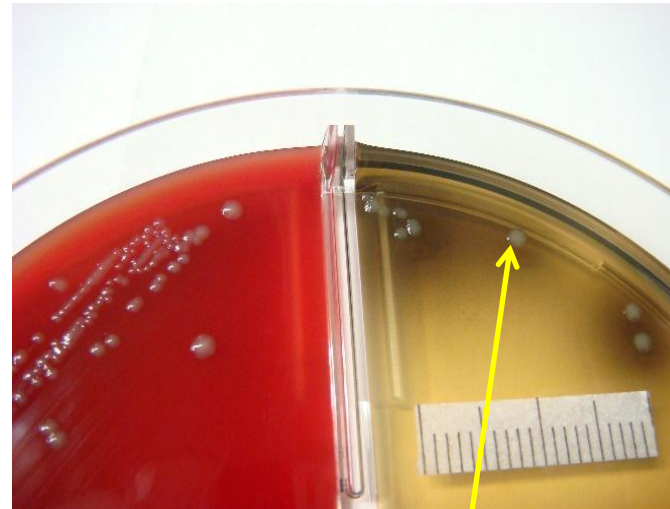


写真4-2:写真4-1の拡大写真



BBE培地に集落が発育
集落の周囲が褐色

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真4-3: スポットインドールテスト



スポットインドールテスト陽性

Bacteroides thetaiotaomicron

22施設(91.6%)

A

***Bacteroides fragilis* group**

***Bacteroides* sp.**

2施設(8.3%)

B

主な *Bacteroides* 属3菌種の性状

	20%胆汁酸発育	インドール	カタラーゼ	エスクリン加水分解	ブドウ糖	白糖	マルトース	ラムノース	サリシン	トレハロース
<i>B.fragilis</i>	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>B.thetaiotamicron</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>B.vulgatus</i>	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-

Photo Survey 設問 5

患者背景:40代女性。10日間のアフリカ旅行から帰国後、39℃の発熱を発症し近医を受診。末梢血塗抹標本より写真5-1のごとく赤血球中に輪状体が認められた。また、写真5-2の矢印のごとく1個の赤血球中に複数の輪状体が認められる部分も存在した。推定される微生物名をコードより選択してください。

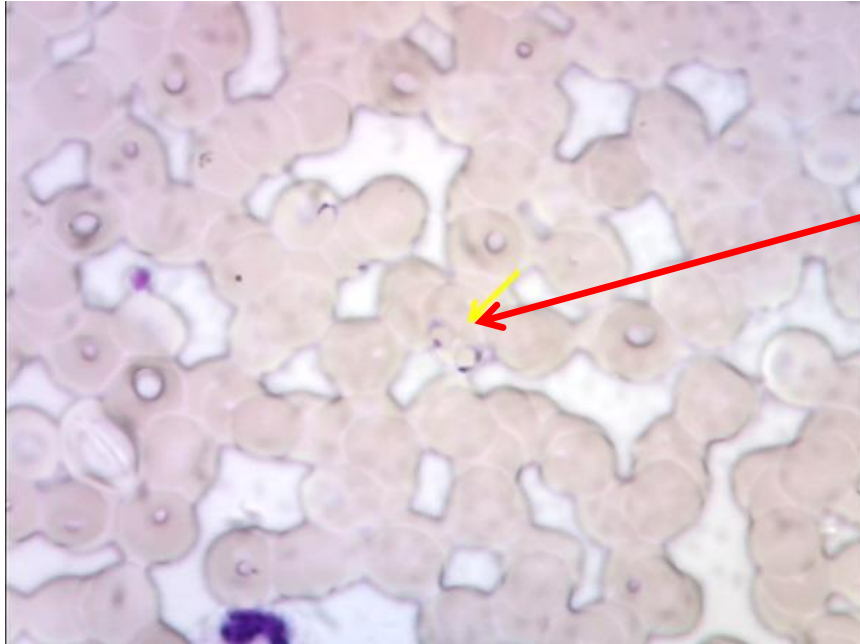
写真5-1:末梢血ギムザ染色像 ×1000



赤血球中に輪状体が認められる

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

写真5-2:末梢血ギムザ染色像 ×1000



1つの赤血球中に輪状体が2個認められる

Plasmodium falciparum
(熱帯熱マラリア原虫)

24施設(100%) A

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

ヒト寄生4種マラリア原虫の形態の比較

	末梢血中に出現する原虫の型	赤血球内の原虫数	被感染赤血球の形	輪状体の性状	アメーバ体の性状	分裂体の性状	生殖母体の性状
三日熱マラリア原虫	輪状体、アメーバ体、分裂体、生殖母体などがふつうにみられる	たいていは1個、時に2個の感染がみられる	円形で大きくなる	輪状体は大きく、核はほとんど1個、末期にはシュフナー斑点が現れる	赤血球は大きくなり、シュフナー斑点著明	メロゾイトは12～18個で2列輪状に並び、色素顆粒は中央に集まる	円形で雌の方は核が辺縁にあり強く染まる。雄は核が中央で輪郭が不明瞭、やや淡染する
熱帯熱マラリア原虫	輪状体と生殖母体のみがみられ、アメーバ体、分裂体はふつうみられない	2個以上の感染がしばしばみられる	円形で大きならない	輪状体は小さく、核は2個のことがよくある	末梢血中には出現し難い。モラー斑点あり	末梢血中には出現し難い。メロゾイトは8～18個、色素顆粒は多い	半月形を示すのが特徴。雌は細長く核が強く染まる。雄は鈍円で核、細胞質ともやや淡染
四日熱マラリア原虫	三日熱と同じ	2個以上の感染はまれである	円形で大きならない	輪状体は大きく、三日熱に似る	帯状体の現れるのが特徴。稀にチーマー斑点が現れる	メロゾイトは1列に並び、8～10個、色素顆粒は中央に集まる	三日熱に似る
卵形マラリア原虫	三日熱と同じ	四日熱と同じ	卵形でやや大きくなる	輪状体は大きく、核は2個のことがある	全体に卵形で、一端が鋸歯状、シュフナー斑点あり	メロゾイトは6～12個、色素顆粒は中央に集まる	三日熱に似る

資料問題

試料 41

患者背景:25歳、女性。3日前より排尿痛を訴え、当日悪化したため、近医を受診。
培養目的で尿が微生物検査室に提出された。

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。

Escherichia coli

24施設(100%)

A

各部門 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



シモンズ(-)

インドール(+)

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

問:CTX(セフトキシム)、MEPM(メロペネム)、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。

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

CTX

判定 **R**

23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	≥64	7
ライサス	>32	4
マイクロスキャン	>2	3
フェニックス	>4	2

測定装置	MIC値(μg/ml)	施設数
IA40	32	1
	>2	1
用手法	>32	2
	>4	1

ディスク拡散法

阻止円径(mm)	施設数
16	1

判定基準

・微量液体希釈法(μg/ml)

S: ≤1 I: 2 R: ≥4

・ディスク拡散法(mm)

S: ≥26 I: 23-25 R: ≤22

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

MEPM

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	≤0.25	7
ライサス	≤1	3
	≤0.5	1
マイクロスキャン	≤1	3
フェニックス	≤1	2
DPS192iX	≤0.25	1

測定装置	MIC値(μg/ml)	施設数
IA40	≤0.5	1
	≤0.25	1
用手法	≤0.5	1
	≤0.25	3

ディスク拡散法

阻止円径(mm)	施設数
35	1

判定基準

・微量液体希釈法(μg/ml)

S: ≤1 I: 2 R: ≥4

・ディスク拡散法(mm)

S: ≥23 I: 20-22 R: ≤21

各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

LVFX

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	≥8	7
ライサス	>4	4
マイクロスキャン	>4	3
フェニックス	>4	2
DPS192iX	>4	1

測定装置	MIC値(μg/ml)	施設数
IA40	>4	2
用手法	≥8	2
	>4	2

ディスク拡散法

阻止円径(mm)	施設数
13	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

各部門 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	<p><i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i></p> <p>10µg CPDX ≤17mmあるいは</p> <p>30µg CAZ ≤22mmあるいは</p> <p>30µg AZT ≤27mmあるいは</p> <p>30µg CTX ≤27mmあるいは</p> <p>30µg CTRX ≤25mm</p>	<p><i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i></p> <p>CPDX ≥8µg/mlあるいは</p> <p>CAZ ≥2µg/mlあるいは</p> <p>AZT ≥2µg/mlあるいは</p> <p>CTX ≥2µg/mlあるいは</p> <p>CTRX ≥2µg/ml</p>
確認試験	<p>30µg CAZ、30/10µg CAZ/CVA と</p> <p>30µg CTX、30/10µg CTX/CVA</p> <p>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。</p>	<p>0. 25～128µg/ml CAZ、</p> <p>0. 25/4～128/4µg/ml CAZ/CVA と</p> <p>0. 25～64µg/ml CTX</p> <p>0. 25/4～64/4µg/ml CTX/CVA</p> <p>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。</p>
結果の解釈	<p>ESBLsと判定された場合は、ペニシリン系、セファロスポリン系、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。</p> <p>(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)</p>	

試料 42

患者背景:60歳男性。東南アジア出張から帰国後、下痢を発症し、近医を受診。培養目的で便が微生物検査室に提出された。

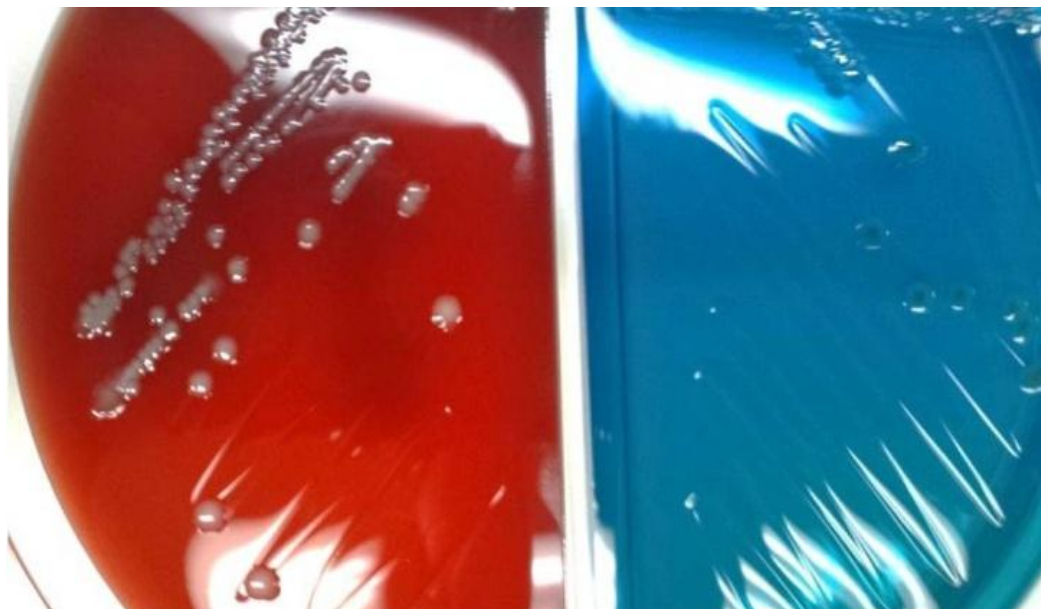
問:培養を行い、分離・同定した菌種をコード表より選択してください。

Plesiomonas shigelloides

24施設(100%) A

各部門 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



SS寒天培地 35°C、24時間 好気培養



SS寒天培地で
無色透明の
コロニー
Shigella?

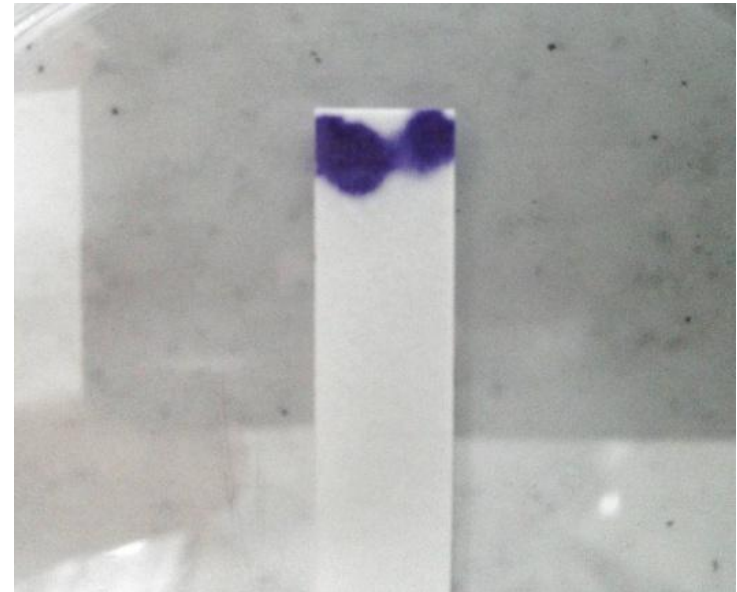
各部門 精度管理調査結果報告(微生物検査)

生化学的鑑別性状試験 35°C、24時間 好気培養



クエン酸利用能:陰性
インドール反応:陽性
大腸菌の性状に似る

チトクロムオキシダーゼ試験



チトクロムオキシダーゼ試験陽性
※腸内細菌科の中でこの菌のみ
の性状

まとめ

- 今回はすべての設問において正解率が100%でした。
- 資料41の薬剤感受性試験において3割ぐらいの施設がフリーコメントでESBL産生菌である、とのコメントをいただいた。評価には影響しないが、各施設が普段から薬剤耐性菌の検出に対する取り組みをしっかりとされていることがうかがえた。
- 来年度もより、多くのご施設のご参加をお願い致します。