

平成14年度 (第8回) 千臨技精度管理報告 微生物検査研究班

1. 結果報告: 中間報告第1報、中間報告第2報
最終報告
2. 試料1: 血液培養のグラム染色
3. 試料2: 模擬臨床材料(便)からの分離、同定
4. 試料3: 同定・薬剤感受性試験

結果報告 : 試料1の塗抹鏡検結果および試料2 の分離培養中間報告

塗抹鏡検におけるグラム染色結果の報告日数と、分離培養における中間報告までの日数を調査した。

【目的】

感染症における迅速な結果報告は患者の生死、治療の成否を左右する。至急結果を求められている検体に対して迅速な対応ができているかを確認する目的で実施した。

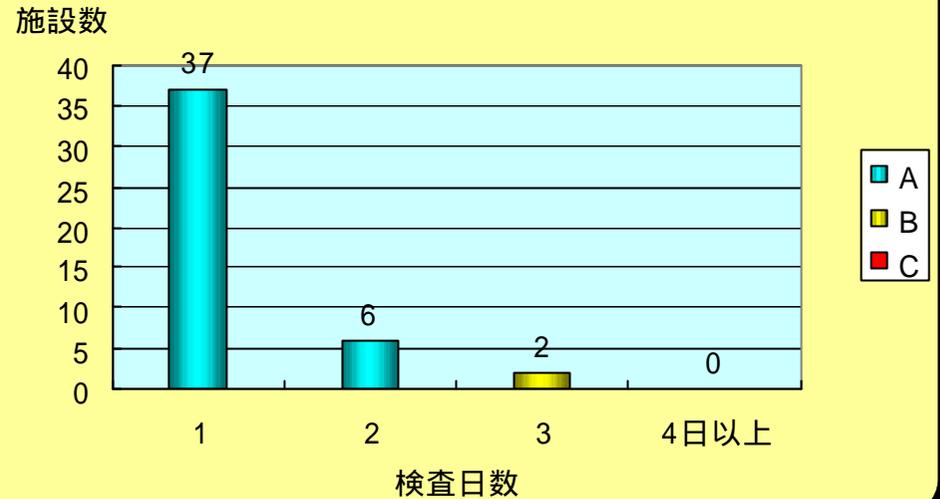
報告日数の評価法

報 告	A	B	C
中間報告第一報 (塗抹鏡検)	1~ 2日	3日	4日以上
中間報告第二報 (分離・同定)	4日以内	5日	6日以上
最終報告	8日以内		9日以上

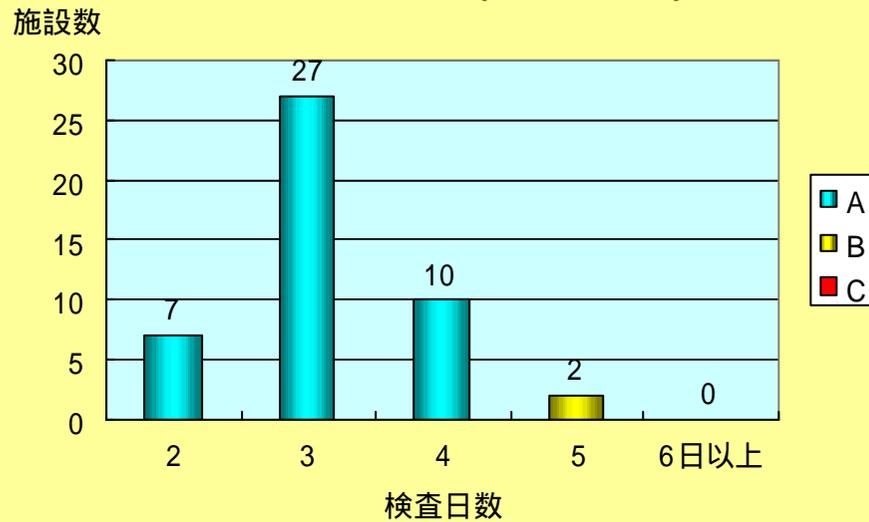
検査開始日

検査開始日	施設数
10月8日	5
10月9日	39
10月10日	2
計	46

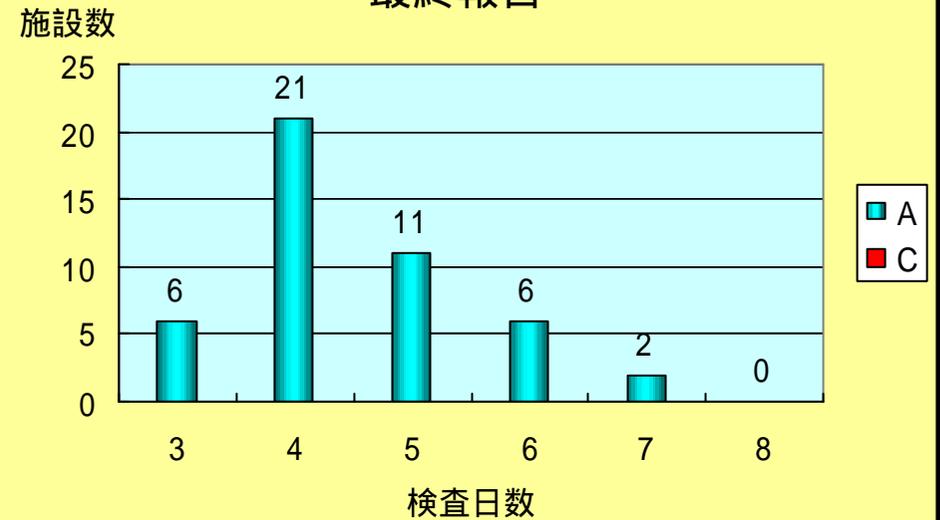
中間報告第一報 (塗抹鏡検)



中間報告第二報 (分離・同定)



最終報告



グラム染色 試料1 血液培養におけるグラム染色

Staphylococcus epidermidis (臨床分離株)をデバイス感染による血液培養陽性菌として実施した。

【目的】

グラム染色における染色手技と、標本から即時に臨床へ報告できうる最低限必要な情報を判断できているかを確認する目的で実施した。

返却された染色標本のグラム染色性の評価法

1. Staphylococcus epidermidis	2. グラム染色標本の バックグラウンド	評価
染色良好 (80%以上)	きれい	A
やや不良 (50~80%)	やや汚い	B
不良 (50%以下)	汚い	C

グラム染色性の評価結果

	評価 A	評価 B	評価 C
菌体の染色性	46	0	0
バックグラウンドの染色性	39	6	2

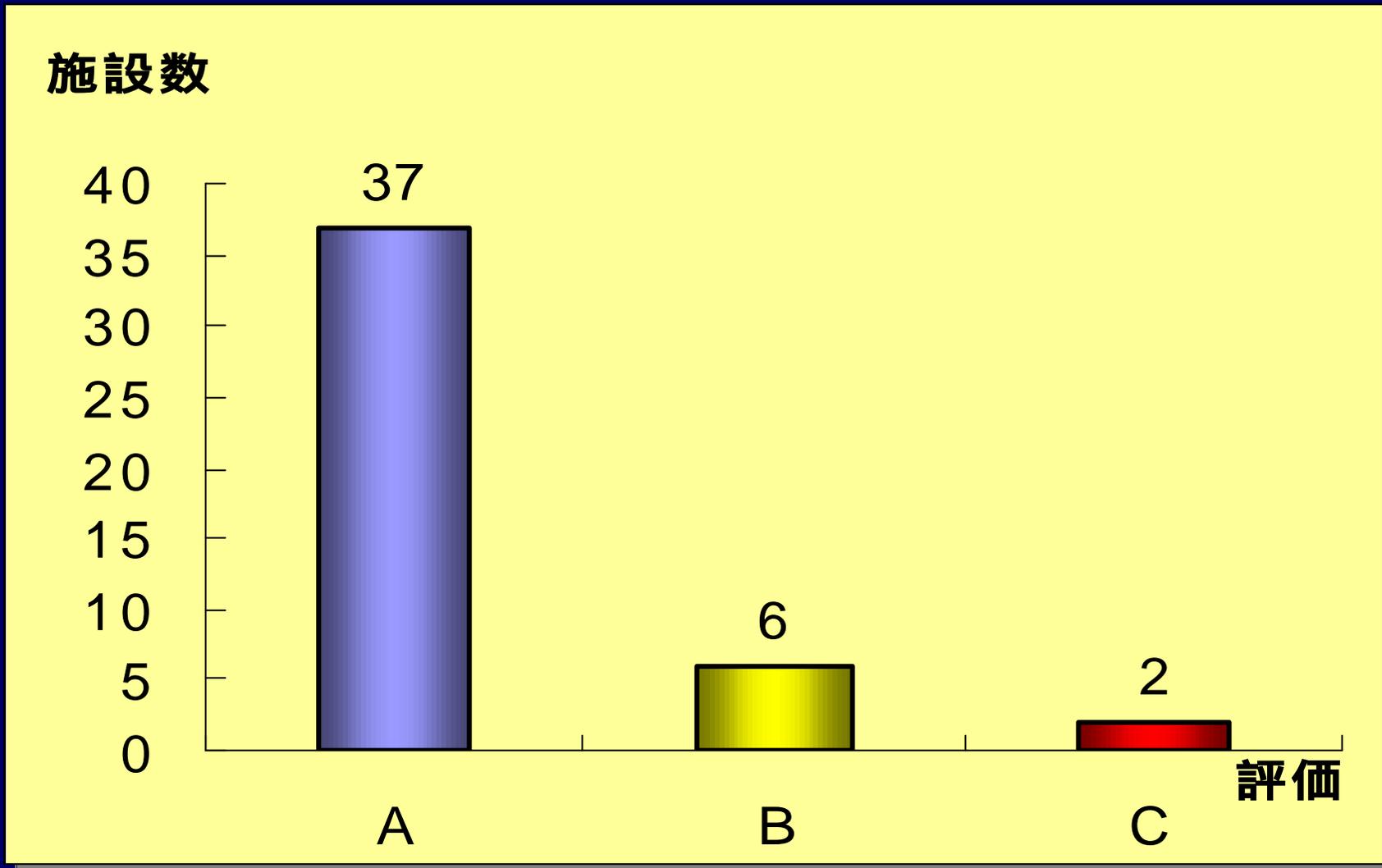
推定菌種の評価法

推定菌種	評価
ミクロコッカス属(Staphylococcus属など)	A
連鎖球菌(Enterococcus属、Streptococcus属など)	B
上記以外の菌種属、記入なし	C

推定菌の評価

評価	施設数 (%)
A	46 (100%)
B	0
C	0

グラム染色性の総合評価



結果&まとめ

- 推定菌の結果では A評価が46施設中、46施設 (100%) と非常に良い成績を示した。
- 報告菌の内訳は、*Staphylococcus sp* が37施設(80.4%)、*Staphylococcus aureus*が7施設(15.2%)、MRSA 2施設(4.4%)であった。B評価及びC評価は無かった。
- 菌体(*Staphylococcus epidermidis*)は、参加46施(100%)で、全ての施設で良好に染色されていた。B評価及びC評価の施設は無かった。
- 染色標本のバックグラウンドでは、6施設(13.0%)で青い顆粒やピクリン顆粒が多く標本が見にくく、中でもC評価の2施設では判定が困難になるほど汚かった。

各施設のグラム染色法と固定法

	メタノール	エタノール	火炎	その他	計
バーミー	13	4	7	2	26
ハッカー変法	1	2	4	0	10
グラムハッカー	2	1	0	0	3
フェイバーG	1	0	5	1	7
計	20	7	16	3	46

その他 :95%アルコール,記載なし

分離培養・同定 試料2 便培養における病原菌の検出

Plesiomonas shigelloides、*Escherichia coli*、*Citrobacter freundii* (いずれも臨床分離株)の3菌種を混合したものを模擬検体(便)として実施した。

【目的】

検体中に含まれる食中毒・下痢症の起炎菌を確実に分離し同定できるかを評価した。

目標菌 (Plesiomonas shigelloides)

- 東南アジアなどへの旅行者の下痢症患者からしばしば検出され、旅行者下痢症の主要な原因菌の一つである。
- オキシダーゼ、インドールはともに陽性。乳糖遅分解、白糖非分解。ブドウ糖を発酵して酸を産生するが、ガスは産生しない。

患者情報

27歳、女性。東南アジア旅行帰国直後より下痢、腹痛、軽度の発熱を訴え、外来を受診した。他特に基礎疾患はない。検体は初診時の便培養である。

便からの分離・同定の評価法

菌 種	評 価
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	A
	B
分離・同定が出来なかった場合	C

結果

Plesiomonas shigelloidesの分離・同定の成績
(参加施設:46施設)

菌名	施設数	合計	評価
Plesiomonas shigelloides	44	44(95.7%)	A
Aeromonas hydrophila	1	2(4.3%)	C
分離できず	1		

使用された同定方法 (重複解答を含む)

方 法	施設数
WalkAway	13
SCEPTOR	4
VITEK	4
クリスタル	10
アピ	4
ATB	2
バイオテスト	2
DチューブEB20	2
オキシファームチューブ	2
Rap DNFB Plus	1
エンテオグラムプレート	1
用手法	12 (10施設は併用)

結果 & まとめ

- A評価は46施設中、44施設（95.7%）と非常に良い成績を示した。
- 分離菌を誤同定した1施設と、起炎菌を分離できなかった1施設がC評価であった。

薬剤感受性：試料3髄液からの分離菌

Streptococcus pneumoniae(臨床分離株)を市中感染による細菌性髄膜炎患者由来の分離株として実施した。

【目的】

ペニシリン耐性肺炎球菌を検査室での的確に判定できているかを確認する目的で実施した。

【使用菌株の薬剤感受性成績】

PCG		VCM		EM	
MIC ¹⁾	判定 ²⁾	MIC	判定	MIC	判定
2 µg/ml	R	0.5 µg/ml	S	>8 µg/ml	R

1) 日本化学療法学会標準法による最小発育阻止濃度 (MIC)

2) NCCLSによる判定基準を使用

【評価法】

菌名の評価法

菌名	評価
S.pneumoniae 肺炎球菌	A
上記以外の菌名	C

PISP、PRSPなどペニシリン耐性肺炎球菌を表す表記、またはコメントについて評価は行わなかった。

【評価法】薬剤感受性の評価：微量液体希釈法

NCCLSの*S. pneumoniae*に対する判定基準

	MIC ($\mu\text{g/ml}$) 判定基準		
	S	I	R
PCG	0.06	0.12 ~ 1	2
VCM	1	-	-
EM	0.25	0.5	1

微量液体希釈法の判定基準

MIC ($\mu\text{g/ml}$)			評価
PCG	VCM	EM	
1 ~ 4	1	1	A
> 4、0.5	2、4	0.5	B
< 0.5		0.25	C

【評価法】薬剤感受性の評価：ディスク法

MPIPCの判定	VCMの判定	EMの判定	評価
R、判定なし	S	R	A
		I	B
上記以外の判定	上記以外の判定	S	C

【成績】 48施設中報告のあった44施設 (1施設は同定のみ) についての成績

評価	菌名の評価 (44施設)	PCG、MPIPCの評価 (42施設)	VCMの評価 (42施設)	EMの評価 (43施設)	総合評価 (42施設)
A	44 (100%)	38 (90.5%)	40 (95.2%)	42 (97.7%)	37 (88.1%)
B		4 (9.5%)	2 (4.8%)	0	4 (9.5%)
C	0	0	0	1 (2.3%)	1 (2.4%)

PCG、MPIPCの評価 : B評価-4施設中3施設は、MIC値が2管差であった。
残る1施設、MIC値はA評価であったが、判定がMIC値と一致していなかった。

VCMの評価 : NCCLSに示される判定基準のMIC値をもとに設定しており、B評価となった2施設の成績は、 $1\mu\text{g/ml}$ であるかどうかわからない $2\mu\text{g/ml}$ 、 $4\mu\text{g/ml}$ であった。

EMの評価 : 1施設のみC評価であり、MIC値が $0.25\mu\text{g/ml}$ (S) であった。

【NCCLSによるペニシリン耐性肺炎球菌の検出法】

測定法	使用抗菌薬	培地	培養条件	成績解釈
微量液体 希釈法	ベンジルペニシリン (PCG)	CAMHB ¹⁾ 2-5%馬溶血 血液	35 好気培養 20-24時間	MIC PSSP: 0.06 µg/ml PISP: 0.1 ~ 1.0 µg/ml PRSP: 2.0 µg/ml
ディスク法	1 µgオキサリリン (MPIPC)ディスク	MHA ²⁾ + 5%羊血液	35 5%CO ₂ 培養 20-24時間	阻止円直径が19mm以下の場合はペニシリン耐性株の可能性がある。 耐性株か否かはPCGのMICを測定。

1)CAMHB:Cation-adjusted Mueller-Hinton broth 2)MHA: Mueller-Hinton agar

注) その他の薬剤における感受性試験も上記、培地および培養条件で測定。

【各施設の薬剤感受性方法】

ペニシリン耐性肺炎球菌の検出抗菌薬である
PCG（液体希釈法）とMPIPC（ディスク）について

測定法	感受性キット	施設数（42施設）	
微量液体希釈法 （自動機器判定）	オートセプター	1	3 (7.1%)
	WalkAway	1	
	VITEK2	1	
微量液体希釈法 （目視判定）	セプター	9	31 (73.8%)
	栄研ドライプレート	7	
	ドライDADE	12	
	フローズンプレート	3	
微量液体希釈法 小計		34(81.0%)	
ディスク法	KBディスク	4	8 (19.0%)
	センシディスク	4	
ディスク法 小計		8(19.0%)	

ディスク法実施施設：平成12年度の精度管理報告では11施設（24.4%）

【各施設の同定方法】

同定法	施設数(44施設)
用手法	19 (43.2%)
同定キット	10 (22.7%)
同定キット・用手法	6 (13.6%)
自動機器	7 (16.0%)
自動機器・用手法	2 (4.5%)

【用手法の内訳】

オプトヒン感受性	自己融解 (コロニー形態)	胆汁溶解	グラム陽性双球菌 溶血	施設数 (19施設)
				12
				1
				1
				4
				1

：実施項目

まとめ

- ? ディスク法の実施施設は、平成12年度の精度管理報告では11施設（24.4%）で、今回は8施設（19.0%）と減少していた
- ? ディスク法でMHA-5%羊血液寒天培地を使用していない施設が存在した
- ? 微量液体希釈法でサプリメント（馬溶血血液等）の添加されていないプレートを使用している施設が存在した
- ? オプトヒン感受性のみの同定が最も多かった。しかしオプトヒン耐性株も存在するので、試薬を自製でき安価で簡単な胆汁溶解試験の併用を進める

肺炎球菌における髄膜炎とそれ以外での 薬剤判定基準の改正点

NCCLS M100-S12(02年度版)

S. pneumoniae における髄膜炎とそれ以外での判定基準

	CTX			CTRX			CFPM		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
髄膜炎	0.5	1	2	0.5	1	2	0.5	1	2
髄膜炎以外	1	2	4	1	2	4	1	2	4

- 肺炎球菌に対して、上記3薬剤のブレイクポイントが、髄膜炎と髄膜炎以外の2つの区分に新設された
- 髄液からの分離菌については、髄膜炎の判定基準による結果のみを報告する
- 髄液以外の材料からの分離菌については、髄膜炎及び髄膜炎以外の両判定基準による結果を報告する。

*S.pneumoniae*における薬剤感受性試験

全体についてのコメント

液体希釈法

生命を脅かす感染症 (例 :髄膜炎、菌血症)患者の血液及び脳脊髄液から分離された*S.pneumoniae* における、ペニシリン、セフトキシム、セフトリアキソン、メロペネム、及びバンコマイシンについての薬剤感受性試験は、日常的に報告すべきである。

ディスク法

生命を脅かす感染症 (例 :髄膜炎、菌血症)患者の血液及び脳脊髄液から分離された*S.pneumoniae* における、ペニシリン、セフトキシム、セフトリアキソン及びメロペネムについての感受性試験は、信頼できるMIC法 (NCCLS 文書M7に記載のように)によって行い、日常的に報告すべきである。また そのような分離株は、MICまたはディスク拡散法を用いてバンコマイシンに対しても検査をすべきである。

精度管理各項目の評価

評価	1.報告日 46施設	試料1 2.グラム染色 46施設	試料2 3.分離・同定 46施設	試料3 4.同定・感受性 41施設	総合評価 41施設
A	43 93.5%	37 80.4%	44 95.7%	36 87.8%	28 68.3%
B	2 4.3%	6 13.0%		4 9.8%	10 24.4%
C	0	2 4.3%	2 4.3%	1 2.4%	3 7.3%