

## 4-2. 抗菌薬感受性、病原体核酸検査(試行)

### 【抗菌薬感受性】

#### 調査目的と意義

抗菌薬感受性部門での精度管理調査は、例年通り日常臨床検査室が感染症原因菌の正確な同定を前提に、抗菌薬感受性検査を実施した。今回も近年問題となっている抗菌薬耐性菌の耐性メカニズムの推定および確認と、その結果を適切に解釈して必要な情報を臨床にフィードバックすることができるかを問う内容とした。衛生検査所が臨床にフィードバックすべき内容は、単に薬剤感受性検査成績のみならず、臨床的に重要とされている耐性菌の耐性機構やその特徴を報告することが大切である。すなわち、衛生検査所は、感染症科や感染対策室などを設置していないクリニックを含む医療施設に対する感染制御あるいは感染管理部門の一翼を担う必要があるからである。したがって、衛生検査所は、検体提出元への正確な菌種の同定結果と薬剤感受性検査成績の報告のみならず、その結果に対する適切なコメントが求められる。

今回の調査ではオープン調査およびブラインド調査ともにペニシリン耐性肺炎球菌(*penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae*: PRSP)を含む検体を配付した。

1960年代後半にオーストラリアでペニシリンのMIC値が0.6 mg/Lの肺炎球菌株が報告された。1974年に米国内で化膿性髄膜炎の患者から、ペニシリンのMIC値が0.25 mg/Lの肺炎球菌が分離された。1977年には、現在のPRSPの判定基準と同じペニシリンに対するMIC値が4 mg/Lを示す肺炎球菌が南アフリカから分離された。その後、1980年代後半には世界各国から報告されるようになり、現在は臨床材料から分離される肺炎球菌の30～50%程度がペニシリンに感性を示さなくなっている。我が国での大規模サーベイランスとして知られている、厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業の2018年検査部門の公開情報を見ると、PRSPの分離頻度は漸減傾向にあるものの、約68%の医療施設からPRSPが分離されており、約40%の肺炎球菌がPRSPである(<https://janis.mhlw.go.jp/report/kensa.html>)。

肺炎球菌は、健常者であっても口腔や鼻腔などに、常在する弱毒性の細菌である。PRSPは、ペニシリンに耐性を示すが、細菌としての性質はペニシリン感性肺炎球菌と同じである。ペニシリン耐性という性質は、細胞壁の生合成に関与する酵素である、ペニシリン結合タンパク質(*penicillin-binding protein*: PBP)の構造遺伝子上のアミノ酸置換変異を伴う遺伝子変異や他菌種由来PBPと組み換えによって生じた新たなPBPによって獲得される。

PRSPの定着例に対しては、除菌目的の抗菌薬投与や隔離は不要である。PRSPによる中耳炎や副鼻腔炎の場合は、外科的治療に加えて抗菌薬治療が行われる。敗血症や髄膜炎、肺炎などの重症感染症に対しては、抗菌薬の投与が必要であり、カルバペネム系薬やペニシリンの大量投与療法やカルバペネム系薬とバンコマイシンなどのグリコペプチド系薬との併用療法などが行われる。

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)では、肺炎球菌に起因する髄膜炎と非髄膜炎、経口薬(ペニシリン V)と注射薬で異なるブレイクポイントが使われている。さらに、微量液体希釈法のみが採用されており、ディスク拡散法は推奨されていない。髄膜炎においては非経口薬のブレイ

クポイントのみが記載されており、感性  $\leq 0.06$  mg/L、耐性  $\geq 0.12$  mg/L であり、中間耐性は定められていない。肺炎球菌の非髄膜炎における非経口ペニシリンのブレイクポイントは、感性  $\leq 2$  mg/L、中間耐性 4 mg/L、耐性  $\geq 8$  mg/L、経口ペニシリンのブレイクポイントは感性  $\leq 0.06$  mg/L、中間耐性 0.12-1 mg/L、耐性  $\geq 2$  mg/L である。European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)は肺炎球菌に対して、髄膜炎と非髄膜炎のブレイクポイントを示している。髄膜炎の場合、感性  $\leq 0.06$  mg/L、耐性  $> 0.06$  mg/L であり、非髄膜炎の場合、感性  $\leq 0.06$  mg/L、耐性  $\geq 2$  mg/L である。CLSIと同様にEUCASTもディスク拡散法は推奨していない。感染症法の届出基準には、ペニシリンの MIC 値が  $\geq 0.125$  mg/L 又は、オキサシリンの感受性ディスク(KB)の阻止円径が  $\leq 19$  mmと記載されている。CLSI、EUCAST および厚生労働省ともに肺炎球菌のペニシリンに対するディスク法による感受性検査は推奨していないこと、および CLSI と EUCAST は病態によって異なるブレイクポイントを設定していることに注意が必要である。

肺炎球菌感染症の予防には通常の内院感染対策が有用である。すなわち、免疫抑制状態の易感染者が、保菌者あるいは排菌者と接触しないような対策が必要となる。易感染宿主である小児及び高齢者に対する肺炎球菌感染症は、ワクチンによる予防が有用である。ペニシリン耐性肺炎球菌感染症は、定点報告対象(5 類感染症)疾患であり、指定届出機関は月毎に保健所に届け出なければならない。

## オープン調査

### 1) 試料と出題背景

試料: MB5

調査: オープン調査

検体材料: 耳分泌物(耳漏)

症例: 5歳、男児。

主訴: 発熱、耳痛。

既往歴: インフルエンザ A 型

現病歴: 2週間前にインフルエンザ A 型と診断され、タミフルが処方されたが 38°C 台の発熱は続いた。5日前から左耳痛が出現し、近医で中耳炎と診断された。

菌種: *Streptococcus pneumoniae* ペニシリン耐性菌 (PRSP)

### 2) 抗菌薬感受性成績の評価方法

#### ① 菌種同定と感受性検査精度

今年度のオープン調査参加施設には 16 施設が参加し、2施設が Rapid ID 32 STREP(ビオメリュー)、2施設が BD BBL CRYSTAL GP(日本 BD)、2施設が MALDI Biotyper(ブルカー・ダルトニクス)、2施設がバイテック MS(ビオメリュー)、1施設が RapID STR(リーメル)とバイテック 2 が1施設、それ以外の方法で菌種同定を実施していたのは5施設であった。無回答の施設が2施設であった(表1)。

表1. オープン調査参加施設が採用した簡易同定キットまたは自動同定機器

施設No.	簡易同定キット・自動同定機器
22	Rapid ID 32 STREP
23	回答無し
27	その他
33	バイテックMS
36	MALDI Biotyper、その他
38	RapID STR
47	BD BBL CRYSTAL GP
50	使用していない
52	Rapid ID 32 STREP
58	バイテック2
74	回答無し
92	BD BBL CRYSTAL GP、MALDI Biotyper、その他
93	使用していない
94	バイテックMS
96	使用していない
99	使用していない

薬剤感受性検査を自施設で実施した16施設中、7施設がマイクロスキャン（ベックマンコールター）、2施設がディスク拡散法、3施設がDPS MIC192/ID（栄研化学）、1施設がバイテック2（ビオメリュー）、1施設がIA20 MICmkII（高電工業）を採用しており、残りの2施設は自動感受性測定機器を使用していなかった。なお、ディスク拡散法には2施設がセンシディスク“BBL”を採用していた（表2）。

表2. オープン調査参加施設が採用している薬剤感受性検査方法  
（施設からの報告を転記）

施設No.	検査方法	自動感受性測定機器またはディスク名
22	微量液体希釈法	MicroScan WalkAway96plus
23	微量液体希釈法	DPS MIC 192/ID
27	微量液体希釈法	使用せず
33	微量液体希釈法	DPS MIC 192/ID
36	微量液体希釈法	DPS MIC 192/ID
38	微量液体希釈法	Micro Scan WalkAway96si
47	ディスク拡散法	センシディスク“BBL”
50	微量液体希釈法	使用せず
52	微量液体希釈法	Micro Scan WalkAway96Si
58	微量液体希釈法	VITEK2 XL ブルー
74	ディスク拡散法	センシディスク“BBL”
92	微量液体希釈法	Microscan WalkAway 96si
93	微量液体希釈法	MICROScan WalkAway96
94	微量液体希釈法	マイクロスキャン（MICROFAST 7J）
96	微量液体希釈法	IA20MICmk II
99	微量液体希釈法	Microscan WalkAway96

薬剤感受性検査で得られた成績は何れも CLSI (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Ninth Informational Supplement, 2019, M100-S29) のドキュメントに基づく抗菌薬感受性カテゴリー感性「S」、中間「I」、耐性「R」を正しく判定し得たかを評価した。

各抗菌薬に対する各菌株の感受性カテゴリーは、レファレンス施設である東京都健康安全研究センターの抗菌薬感受性カテゴリーを基準値とした。各施設が求めたカテゴリーと基準値を比較して以下の如く評価した。極めて重大な過誤 (very major error) は、無効な抗菌薬の投与につながる「R」を「S」とした判定である。それに反し「S」を「R」と判定することは前者に比較すれば患者に与える危険性は低いが重大過誤 (major error) である。

## ② オープン調査 PRSP の同定および感受性検査結果

参加 16 施設すべてが菌種名を *S. pneumoniae* と正しく同定した。一方、施設 No. 50 は、菌種の同定は正しかったが、コメントに適切さを欠いていると思われた。一方、No. 27、No. 33、No. 36、No. 38、No. 47 および No. 74 の施設は感染症法のペニシリン耐性肺炎球菌の報告基準に照らして、定点報告対象 (5 類感染症) であることをコメントしており、医療施設に対して有益な情報を提供していた (表3)。なお、ディスク拡散法による薬剤感受性検査を実施していた No. 47 および No. 74 の両施設は対象薬としてオキサシリンを用い、適切に PRSP の判定を実施していた。

各施設が検査対象とした全抗菌薬の感受性成績結果は、上下1管の許容誤差範囲に収まっており、薬剤感受性検査成績には特段の問題はないと考えられた (表4)。なお、検査材料が耳漏であること、外来患者であり経口の抗菌薬が投与されることが考えられることから、非髄膜炎の経口ペニシリンのブレイクポイントを適応した衛生検査所は、No. 36、No. 58 および No. 94 の施設があった。一方で、非髄膜炎の非経口薬のブレイクポイントを適応したのがその他の衛生検査所であった。今回のような適応するブレイクポイントによって解釈が大きく異なるような場合は、医療施設との連携を密にすることが大切である。一方で、僅か1管差といえども施設 No. 23 は非経口薬のブレイクポイントを基に、ペニシリンに対して感性という判定を下している。このような場合は、医療機関との連携を取るとともに、再検を実施するなどの配慮があると良いと思われた。

検査依頼元施設に薬剤感受性検査成績をそのまま報告するにとどまらず、適切なコメントを付す衛生検査所が増加していたことは非常に好ましいことと思われた。今後も、この姿勢を維持できるように日々研鑽を積むことが望まれる。

表3. オープン調査参加施設の同定結果と薬剤感受性成績をもとに付されたコメント  
(施設からのコメントを転記)

施設 No.	同定菌名	コメント
22	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	院内の規定により <i>S.pneumoniae</i> のみの報告となっているため、下記のコメントを記載。【 <i>S.pneumoniae</i> のPCGカテゴリーは注射薬基準です。S(<=2) I(4) R(>=8)】
23	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	東京支所にてKBディスク'栄研'によるディスク拡散法による検査を実施したが、MPIによるスクリーニング検査で耐性(阻止円6mm)を示したため、菌株を本社に送り、DPS MIC 192/IDによるMICブレイクポイント法で再検査を実施した。その結果、PCGのMIC値は2μg/mLとなりCLSI M100-S22の基準によりPRSPが否定され、PCGおよびABPCのペニシリン系薬剤が有用であり、また、セファロスポリン系のCTX、キノロン系のLVFXも有用と考えられる。一方で、マクロライド系のCAMはやカルバペネム系のIPMやMPMは不適と考えられる。
27	penicillin intermediately resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	ペニシリンに対するMICが0.125μg/mL以上であることから、指定届出機関ではPRSPとして五類感染症定点届出対象となります。
33	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	薬剤感受性検査の結果判定はCLSIガイドライン:M100 29th ed.を使用しています。検出された菌は、ペニシリンのMIC値が0.125μg/ml以上です。感染症の起原因菌と判定された場合、感染症法におけるペニシリン耐性肺炎球菌となりますので、保健所への届出が必要です。(5類感染症)
36	penicillin resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)	選択薬剤:ドライプレート栄研(192プレート)EP04に含まれ、CLSI M100-S29に判定基準がある薬剤を選択して報告した。附加コメント:ドライプレート栄研(192プレート)EP04でPCGのMIC値が4μg/mLであったため、感染症法届出基準に従い、PRSPと判定した。基幹定点医療機関においては、5類感染症として届出が必要です(月単位)。但し、CLSI M100-S29の判定基準では、PCGのMIC値4μg/mLの場合非経口薬では、PISPと判定されることにご留意下さい。
38	penicillin resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)	PCGは非髄膜炎非経口の判定基準で判定した。ペニシリン耐性肺炎球菌感染症は5類感染症法定点指定の場合届出が必要。
47	penicillin intermediately resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	MIC値が4であったので、「CLSI M100-S29の髄膜炎以外の由来株」の基準に準じ、この菌はPISP(ペニシリン中等度耐性肺炎球菌)と判断した。なお、ペニシリンのMIC値が0.125以上又は、オキサシリンの感受性ディスクの阻止円の直径が19mm以下であったので、感染症法においては分離菌が起原因菌と判定された場合、5類感染症定点把握疾患として月単位で届け出る。
50	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	栄研化学製のオーダーパネルにて測定
52	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	CLSI M100-S26 最初に検査し報告する薬剤と、最初に検査し選択的に報告する薬剤を選択。
58	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)	PCG、CTRX、IPM、MEPMはDP34(栄研)にて検査しました。
74	penicillin resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)	penicillin resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)は基幹定点施設において、5類感染症(定点把握)として月報として保健所に届出の必要がある。臨床には、AMPCに関しては症状が軽度の場合は常用量、中程度以上の場合は倍量投与が望ましいと報告を行う。(小児急性中耳炎ガイドライン2018より)
92	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ペニシリン クロラムフェニコール セフォタキシム レボフロキサシン パンコマイシン クラブラン酸アモキシシリン エリスロマイシン セフェピム クリンダマイシン メロペネム セフトリアキソン アジスロマイシン アモキシシリン スルファメキサゾール・トリメプリム CLSI (M100-25) に判定基準があるものを選択した。同定キット(その他)はオプトヒンディスクを用いて、阻止円14mm以上であることを確認した。
93	penicillin intermediately resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	指定薬剤が無い場合の弊社の基本セット薬剤
94	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)	PCG: CLSI M100-S26 経口の基準を使用
96	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	ペニシリン中等度耐性肺炎球菌が検出されました。CLSIの判定基準はありませんが、トスフロキサシン(TFLX)とテビペネム(TBPM)を報告させていただきます。TFLX: 0.25μg/ml TBPM: ≤ 0.12
99	penicillin intermediately resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	コメント・薬剤耐性菌が検出されています。感染管理にご配慮下さい。報告薬剤選定理由・ペニシリン: 耐性菌判定薬剤・ペニシリン以外の薬剤: <i>Streptococcus</i> 属に対する基本セット薬剤

表4. オープン調査参加施設における主要抗菌薬に対する薬剤感受性検査成績

a) 測定値

施設No.	単位	薬剤感受性成績											
		VCM	PCG	CLDM	MPIPC	AMPC /CVA	CTRX	CTX	CFPM	MEPM	EM	CAM	LVFX
22	mg/L	0.5	4				2	2	2	1	>2		1
23	mg/L	≦0.5	2	>2				1		0.5		>0.5	2
27	mg/L	≦1	4	>0.5			≦1	≦1		>0.5		>0.5	≦2
33	mg/L	≦0.5	4				2		2	1	>0.5		≦1
36	mg/L	0.25	4	>0.5		>4/2	2		2	>0.5		>16	1
38	mg/L	0.5	>4			>4/2	2			2			1
47	mm	28	*4	0	0						0		26
50	mg/L	<=0.5	4	>=1			2	2	2	>=1	>=1		2
52	mg/L		4	>1				2	2	1	>2		0.5
58	mg/L		>4				>2			1	≧1	≧1	1
74	mm			0	0						0		23
92	mg/L	0.5	4	>1		>4/2	2	2	2	1	>2		1
93	mg/L	0.5	4	≧2		≧8/4	2	2	2	0.5	≧4		≦0.5
94	mg/L	0.5	4			>4/2	2			1			
96	mg/L		4	>2			2	2			>2	>16	
99	mg/L	0.5	4	≧2		≧8/4	2	2	2	1	≧4		1

b) 解釈

施設No.	薬剤感受性成績を基にした解釈											
	VCM	PCG	CLDM	MPIPC	AMPC /CVA	CTRX	CTX	CFPM	MEPM	EM	CAM	LVFX
22	S	I				I	I	I	R	R		S
23	S	S	R				S		I		R	S
27	S	I	R			S	S		R		R	S
33	S	I				I		I	R	R		S
36	S	R	R		R	I		I	R		R	S
38	S	R			R	I			R			S
47	S	*I	R	R						R		S
50	S	I	R			I	I	I	R	R		S
52		I	R				I	I	R	R		S
58		R				R			R	R	R	S
74			R	R						R		S
92	S	R	R		R	I	I	I	R	R		S
93	S	I	R		R	I	I	I	I	R		S
94	S	R			R	I			R			
96		I	R			I	I			R	R	
99	S	I	R		R	I	I	I	R	R		S

\*:微量液体希釈法

## ブラインド調査

### 1) 試料と出題背景

試料: MB5'

検体材料: 耳分泌物(耳漏)

症例: 3歳、男児。

主訴: 難聴、耳鳴、耳痛。

既往歴: 特になし

現病歴: スイミングスクール帰宅後から左耳に違和感を感じ、翌日から軽度難聴、耳鳴、耳痛を感じ、小児科を受診した。この時、鼓膜切開を行い透明な漿液性滲出液を認めため、培養に提出した。

菌種: *Streptococcus pneumoniae* ペニシリン耐性菌 (PRSP)

### 2) 調査結果

本調査参加施設のうち、グラム染色による塗抹鏡検の結果を記載していたのは、参加 13 施設中 2施設(施設 No. 36、および No. 38)に留まった(表5)。今回の検体は、グラム染色を実施すれば、グラム陽性双球菌が観察される。患者情報と照合すると簡単に肺炎球菌による感染症の可能性が推察される。グラム染色から有用な情報が得られることは良く知られている。今後は衛生検査所では、初めに塗抹鏡検を実施し、その結果を基に検査を進めることが望まれる。

ブラインド調査施設の同定結果を表5に示した。13 施設すべてが肺炎球菌と正確に同定した。中でも No. 36 および No. 38 の衛生検査所は感染症法により、届出が必要な施設があることに言及している、報告書として理想的なコメントが付されていた。

PRSP と判定したのは 5 施設に過ぎず、No. 23、No. 27 および No. 51 (951) の施設はペニシリン感性株であると報告した。ペニシリンの MIC 値が 2 mg/L の肺炎球菌にペニシリンの経口薬は無効である。したがって、経口のペニシリンが投与されることがないようなコメントが必要である。中間耐性の上下 1 管で感性和耐性が判断されてしまう。このような場合は、very major error とは言えないが、患者が不利益を被る可能性があるため、再検するなどの慎重さが求められる(表 6)。実際にまた、No.51 の施設は2つの医療機関から搬入された検体の薬剤感受性検査の医療機関ごとの報告が異なっていた。すなわち、一方の医療機関へは測定値未記載で I(表 6 の施設 No.51)、他の施設に対しては方には測定値 1mg./L で S と報告していた(表 6 の施設 No.51 (951))。S と記載された場合、医師は通常投与量の抗菌薬を投与するためする可能性があり、その結果、患者が不利益を被効果が期待できない可能性があることが考えられる。施設 No.51 (951) の報告は、患者の状態および外来治療が行われていることを加味すると結果の解釈は very major error と判断される。今今後、ボーダーライン上の感受性を示す場合は再検を考慮するとともに薬剤感受性検査成績を解釈し、結果の解釈をする報告する際は医療機関との連携を密にすることが必要である。オープン調査とブラインド調査のコメントを比較すると、同一施設であっても、オープン調査の方が詳細である(表

3および表5)。ブラインド調査であってもオープン調査と同様のコメントを付すことができるように配慮して頂きたい。



表5. ブラインド調査参加施設における鏡検・培養・同定結果およびコメント  
(施設からの報告を転記)

施設 No.	材料	塗抹	同定検査成績	菌量	コメント
3	耳漏		<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	3+	
7	耳漏		<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	3+	薬剤耐性菌が検出されています。感染管理にご配慮ください。
23	耳漏(右)		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3+	
27	耳漏		<i>S. pneumoniae</i> (PSSP) 肺炎球菌	3+	
28	耳漏		<i>S. pneumo</i> (PRSP)	2+	
36	耳漏	グラム染色 陽性球菌(3+)	ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP) * GPC	2+	ペニシリンMIC4μg/mL、感染症法届出基準によりPRSPと判定、基幹定点医療機関では5類感染症としての届出が必要(月単位)
38	耳漏	G+球菌(3+) G+桿菌(-) G-球菌(-) 酵母様真菌(-) 扁平上皮(-) 好中球(-)	<i>S. pneumoniae</i> (PRSP)	2+	PCGは非髄膜炎非経口の判定基準で判定しました。5類感染症定点指定の場合届け出が必要です。
41	耳漏		<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP) ペニシリン中等度感受性肺炎球菌	4+	
45	耳漏 左		<i>S. pneumo</i> (PRSP)	2+	
46	耳漏		<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	3+	ペニシリン中等度耐性肺炎球菌が検出されました。
51	耳漏		<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	4+	
51(951)	耳漏		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4+	感受性試験は再検査済です。
61	耳漏 右		<i>S. pneumo</i> (PRSP)	2+	

表6. ブラインド調査参加施設における薬剤感受性検査成績

施設 No.	解釈結果												
	PC	ABPC	AMPC /CVA	CAM	CTX	TRX	MEPM	AZM	EM	CLDM	LVFX	MINO	VCM
3	I	I	R		I	I	R	R	R	R	S	I	
7	I	R			I	I	I		R	R	S	S	S
23	S	S		R	S		I			R	S	S	S
27	S			R		S	I			R	S		S
28	R	R		R		R	R		R		S	R	
36	R		R	R		I	R	R		R	S		S
38	R	≧16				I	R		R	R	S	R	S
41	I	I	R		I	I	R	R	R	R	S	I	
45	R	R		R		R	R		R		S	R	
46	I	≧4	R	R	I	I	R	R	R	R	S		S
51	I	I	R		I	I	R	R	R	R	S	I	
51(951)	S	I	I		S	S	I	R	R	R	S	S	
61	R	R		R		R	R		R		S	R	

### まとめ

今回は、患者病態と投与される抗菌薬によってブレイクポイントが異なる菌株を対象としたことから、適切な解釈基準に基づいてコメントができた施設は少数に留まった。患者が入院加療を受けているのか外来で治療を受けているのかを患者情報だけから判断することは困難な場合がある。しかし、今回の症例は何れも外来治療が優先される年齢であることなどを基に経口抗菌薬のブレイクポイントを使って判定することが望まれた。今後、衛生検査所には医療施設との連携を密にすることを含め、患者に不利益を与えないような検査結果を提供することが求められる。もちろん、最新の検査技術や知識の吸収も大切であるが、鏡検検査などの基本技術も改めて見直す必要があると考えられた。

## 【病原体核酸検査（試行）】

### 調査目的と意義

病原体核酸検査は、ヒトに感染症を引き起こす外来性の病原体（ウイルス、細菌、真菌、原虫等）の核酸（DNAあるいはRNA）を検出・解析することで感染症の原因微生物を特定する目的で実施される。

昨今の病原体核酸検査機器の急速な普及に伴って、医療法及び臨床検査技師等に関する法律が改正された。平成29年6月14日に公布された臨床検査技師等に関する法律では、第二十条の三第二項に「都道府県知事は、前項の登録（以下「登録」という。）の申請があつた場合において、その申請に係る衛生検査所の構造設備、管理組織、検体検査の精度の確保の方法その他の事項が検体検査の業務を適正に行うために必要な厚生労働省令で定める基準に適合しないと認めるとき、又はその申請者が第二十条の七の規定により登録を取り消され、取消の日から二年を経過していないものであるときは、登録をしてはならない」と定めている。その結果、精度の確保に係る責任者を任命し、内部精度管理の実施、適切な研修の実施が義務化され、外部精度管理の受検が努力義務化された。

そのような背景から、東京都は、令和元年度に実施した衛生検査所精度管理事業で B 型肝炎ウイルス（HBV）を対象に病原体核酸検査の外部精度管理を試行した。

### 精度管理調査

#### 標準品

Thermo Scientific 社製 AcroMetrix™ HBV High Control

#### 検体

上記の AcroMetrix™ HBV をウイルス定量限界以下の正常 EDTA 血漿（シングルドナー）を用いて高濃度（約 1,000IU/mL）、低濃度（約 100IU/mL）、陰性コントロールを作製して配付した。なお、検体 1 mL を 2 mL のセラムチューブに分注・凍結して配付した。

#### 検査

定性的な検査を実施するように指示した。なお、定量的な検査を実施した施設は、その数値を参考値として報告することにした。

#### 報告

報告の内容は図 1 に示した。

#### レファレンス施設

レファレンス施設は、ロシュ・ダイアグノスティックス社（以下ロシュ社）、アボットジャパン社（以下アボット社）および東京都健康安全研究センター（以下センター）とし、複数日程、同一検体を検査して日間差を確認した。

## 検査対象機器

ロシュ社 : コバス AmpliPrep/コバス TaqMan  
コバス® 6800/8800 システム HBV

アボット社 : m2000 システム

センター : TaqMan 「オート」 システム B  
(コバス AmpliPrep/コバス TaqMan48)

## HBV

### 試料 : MB6-8

#### (外注の有無)

1. 自施設で測定した      2. 他施設に外注した (外注先:      )

#### (使用キット)

1. コバス6800 / 8800システムHBV      2. コバスTaqMan HBV  
3. アクエジーン m-HBV      4. その他 (      )

#### (使用機器) (複数回答可)

1. コバス6800システム      2. コバス8800システム      3. コバスAmpliPrep  
4. コバスTaqMan48      5. m2000sp      6. m2000rt  
9. その他 (      )

#### (単位) 通常用いている単位を記入してください。

1. Log IU / mL      2. Log copies / mL      3. copies / mL      9. その他 (      )

#### (結果)

MB6	1. 陽性	2. 陰性	3. 判定保留	9. その他 (      )	測定日	月	日
MB7	1. 陽性	2. 陰性	3. 判定保留	9. その他 (      )	測定日	月	日
MB8	1. 陽性	2. 陰性	3. 判定保留	9. その他 (      )	測定日	月	日

#### (参考、定量値)

定量を行った場合はご記入ください。

MB6 (      )  
MB7 (      )  
MB8 (      )

※コメントがあれば記入してください。

## 図1 病原体核酸検査 (試行) 調査票

## レファレンス施設での測定結果

レファレンス施設での測定成績を表1に示した。MB6は、m2000システム（アボット社）で全てICエラーとなり、測定できなかった。その理由としてPCR阻害が考えられるが、理由は明確にできなかった。何れの機器も、MB7およびMB8を複数回測定した際の測定誤差は5%以内であり、誤差は許容範囲であることが確認された。

表1. 各装置での測定結果（レファレンス施設）

コバス Ampliprep/TaqMan			コバス 6800システム			m2000 システム			TaqManオートシステムB		
測定日	検体	平均値±SD	測定日	検体	平均値±SD	測定日	検体	平均値±SD	測定日	検体	平均値±SD
7月25日	MB6	ND	7月25日	MB6	ND	7月29日	MB6	NA	7月25日	MB6	ND
	MB7	2.22±0.04		MB7	2.38		MB7	2.28±0.03		MB7	2.15±0.03
	MB8	3.26±0.09		MB8	3.29		MB8	3.17±0.05		MB8	3.15±0.03
7月29日	MB6	ND	7月29日	MB6	ND	7月30日	MB6	NA	7月26日	MB6	ND
	MB7	2.26		MB7	2.37±0.05		MB7	2.19±0.03		MB7	2.24±0.11
	MB8	3.24		MB8	3.28±0.02		MB8	3.02±0.04		MB8	3.32±0.04
7月30日	MB6	ND	7月30日	MB6	ND	7月31日	MB6	NA	7月29日	MB6	ND
	MB7	2.3		MB7	2.36±0.08		MB7	2.16±0.05		MB7	2.37±0.07
	MB8	3.19		MB8	3.26±0.04		MB8	3.00±0.07		MB8	3.33±0.10

ロシュ社の装置で測定した場合はLogIU/mLに換算した

ND: 検出限界以下

NA: ICエラーで測定不能

検査回数が1回のみは測定値をそのまま標記した

## 参加施設の成績

今回参加した7施設は表2に示す機器及びキットを使用し、7月25日から7月30日の期間に測定した。この期間は、レファレンス施設によって検体中に適切量のHBV由来核酸を含有することが確認された期間内であった。全7施設が、正しくHBV由来核酸を検出し、参考値として記載された核酸濃度も適切であった（表2）。

表 2. 病原体核酸検査（試行）に参加した施設の結果（参考値）  
（施設からの報告を転記）

施設 No.	使用キット	使用機器	定量値（参考）		
			MB6	MB7	MB8
33	コバス6800/8800システムHBV	コバス8800システム		2.25	3.2
36	アキュジーン m-HBV	m2000システム		2.4	3.2
38	コバスTaqMan HBV	コバスAmpliPrep/コバスTaqMan48	検出せず	2.3	3.3
51	コバス6800/8800システムHBV	コバス8800システム	ND	2.37	3.18
58	コバス6800/8800システムHBV	コバス6800システム		2.3	3.4
93	コバス6800/8800システムHBV	コバス6800システム	1.0M(-)	2.4(+)	3.3(+)
96	コバス6800/8800システムHBV	コバス6800システム		2.4	3.3

### まとめ

東京都衛生検査所精度管理事業で病原体核酸検査の外部精度管理を試験的に実施した。その結果は、十分に満足できる結果であり、来年度以降の外部精度管理を実施できる目処をある程度つけることができた。

一方で、今回の試験的に実施した外部精度管理を通して、いくつかの問題点が抽出された。検査前プロセスが検査機器ごとに異なり、それに適合する標準物質となる病原体の入手が必要である。今回は、市販の AcroMetrix™ HBV を使用したが、病原体によっては標準品が市販されていない場合がある。また、レファレンス施設として今回は、企業とセンターの協力を得ることができたが、継続して精度管理を実施するためには、継続して協力可能なレファレンス施設の選定が必須である。さらに、病原体の検出限界を少し超える希釈試料を配付したいと考えたが、試料中の病原体の均質性と安定性を保証することが困難なため、高濃度と低濃度としてそれぞれ約 1,000IU/mL および約 100IU/mL の HBV 由来核酸含有検体を作製して配付せざるを得なかった。今後は、均質化・安定化された病原体を含む試料を配付して、適切な外部精度管理を実施することが求められる。