

MALDI-TOF MS WGの活動報告

菅川一幸

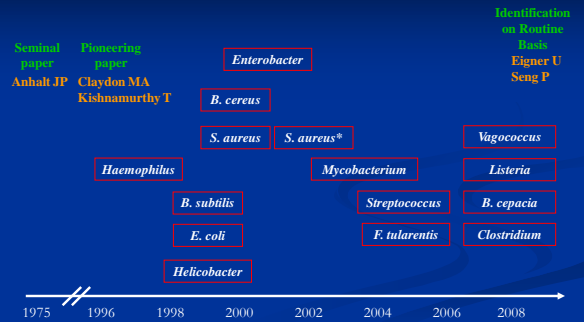
内容

- 質量分析計を用いた細菌同定の流れ
- MALDI-TOF MSワーキンググループ
外部精度管理の検討

内容

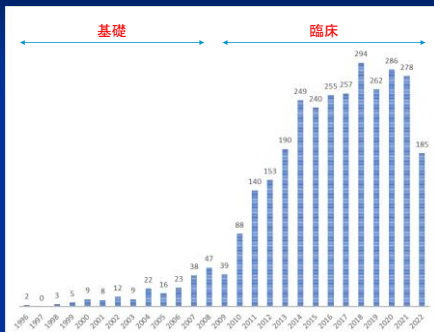
- 質量分析計を用いた細菌同定の流れ
- MALDI-TOF MSワーキンググループ
外部精度管理の検討

質量分析計を用いた細菌同定



Pubmed 論文数

(MALDI-TOF MS, bacteria, identification)



日本の現状



約350台が稼働

細菌同定システムの約63%を占める

内容

- 質量分析計を用いた細菌同定の流れ
- MALDI-TOF MSワーキンググループ
外部精度管理の検討

背景

- 2017年6月に検体検査の品質・精度確保に関する医療法等改正法案が可決・公布され、それに伴い改正された厚生労働省令(医療法施行規則、臨検法施行規則)が2018年7月に公布、同年12月1日に施行された。この改正により、臨床検査を実施している施設には精度管理の法的基準が導入されることとなった。
- 近年、臨床微生物検査室を含む臨床検査室認定の国際規格「ISO 15189」(ISO; International Organization for Standardization, 国際標準化機構)の認定を取得する施設が増加している。臨床微生物検査は、測定対象が微生物であるため、菌株、市販生培地、測定方法で変動が生じやすいという特徴がある。内部精度管理として、菌株は*Escherichia coli*を使用している施設が多いが、MALDI-TOF MSの質量の校正として使用するため不适当である。

- 市販生培地は、細菌同定には支障がないが、同定率(Score Value)に影響がある。日本医療検査科学会遺伝子・プロテオミクス技術委員会MALDI-TOF MSワーキンググループにおいて、日常業務に適したMALDI-TOF MSによる細菌同定における内部精度管理の実施要領を作成した。
- 外部精度管理には、一般社団法人日本臨床衛生検査技師会(日臨技)や都道府県の臨床検査技師会が実施する外部精度管理調査と試薬機器メーカーが主催するユーザーサーベイがある。しかしながら、質量分析装置による細菌同定の外部精度管理は行われていない。

MALDI-TOF MSワーキンググループ

- 2012年: MALDI-TOF MSワーキンググループ
- 2016年: MALDI-TOF MSの細菌同定における精度管理
- 2017年: 3施設で検討(内部精度管理)
- 2018年: 3施設で検討(内部精度管理: 5日間)
 - 医療検査と自動化 45: 255-259, 2020.
- 2019年: 7施設で検討(内部精度管理: 8週間)
 - Biocontrol Science 26: 99-104, 2021.
- 2021年: 37施設で検討(外部精度管理)
 - 医療検査と自動化 47: 2022.
- 2022年: 200施設で検討予定(外部精度管理)

目的

質量分析装置による細菌同定の外部精度管理について、菌株、市販生培地、測定方法に注目し、同定率(Score Value)で評価する外部精度管理実施要領の作成を目的とした。

MALDI-TOF MSワーキンググループ

- 2016年: MALDI-TOF MSの細菌同定における精度管理
- 2017年: 3施設で検討(内部精度管理)
- 2018年: 3施設で検討(内部精度管理: 5日間)
 - 医療検査と自動化 45: 255-259, 2020.
- 2019年: 7施設で検討(内部精度管理: 8週間)
 - Biocontrol Science 26: 99-104, 2021.
- 2021年: 37施設で検討(外部精度管理)

概要

【目的】

MALDI-TOF MSによる細菌同定を実施している施設において、本WGで構築した精度管理方法を用い、外部精度管理を実施する。

【参加施設】

- MALDI Biotyper(フルカー・ジャパン)使用施設:31施設
- バイテックMS(ピオメリュー・ジャパン)使用施設:6施設

【対象菌株】

- *Klebsiella aerogenes* (ATCC13048)
- *Enterococcus faecalis* (ATCC19433)

【血液凍天培地】

- ニススイプレート羊血液寒天培地(日水製薬株式会社)

【測定】

- ファインチューニング後と2週間後の2回の測定する。

VITEK MS score rates for *K. aerogenes*

Institution No.	1 day				14 day			
	1	2	3	Average	1	2	3	Average
1	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
2	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
3	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
4	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
5	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
6	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
Average	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
SD	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

VITEK MS score rates for *E. faecalis*

Institution No.	1 day				14 day			
	1	2	3	Average	1	2	3	Average
1	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
2	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
3	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
4	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
5	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
6	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
Average	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9
SD	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

MALDI Biotyper score rates for *K. aerogenes*

Institution No.	1 day				14 day			
	1	2	3	Average	1	2	3	Average
7	2.40	2.50	2.30	2.33	2.50	2.60	2.30	2.57
8	2.40	2.40	2.40	2.40	2.10	2.00	2.40	2.23
9	2.40	2.40	2.40	2.40	2.30	2.20	2.30	2.43
10	2.40	2.50	2.40	2.50	2.40	2.50	2.40	2.50
11	2.50	2.50	2.40	2.50	2.50	2.50	2.40	2.50
12	2.40	2.50	2.50	2.57	2.40	2.50	2.50	2.50
13	2.50	2.40	2.40	2.50	2.40	2.60	2.50	2.57
14	2.40	2.30	2.30	2.30	2.47	2.57	2.47	2.58
15	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
16	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
17	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
18	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
19	2.40	2.50	2.50	2.57	2.50	2.60	2.50	2.57
20	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
21	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
22	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
23	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
24	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
25	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
26	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
27	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
28	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
29	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
30	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
31	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
32	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
33	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
34	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
35	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
36	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
37	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
Average	2.42	2.41	2.41	2.41	2.47	2.47	2.47	2.46
SD	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04

MALDI Biotyper score rates for *E. faecalis*

Institution No.	1 day				14 day			
	1	2	3	Average	1	2	3	Average
7	2.30	2.30	2.30	2.30	2.50	2.50	2.40	2.50
8	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
9	2.20	2.40	2.30	2.37	2.10	1.90	1.90	2.00
10	2.20	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
11	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
12	2.30	2.30	2.30	2.30	2.40	2.40	2.30	2.40
13	2.40	2.40	2.30	2.40	2.30	2.30	2.30	2.30
14	2.30	2.30	2.40	2.40	2.40	2.30	2.40	2.40
15	2.30	2.40	2.30	2.30	2.40	2.40	2.30	2.30
16	2.40	2.30	2.30	2.30	2.40	2.40	2.30	2.40
17	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
18	2.30	2.40	2.40	2.40	2.30	2.40	2.40	2.40
19	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
20	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
21	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
22	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
23	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
24	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
25	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
26	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
27	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
28	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40	2.40
29	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
31	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
32	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
33	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
34	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
35	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
36	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
37	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
Average	2.36	2.36	2.36	2.36	2.37	2.37	2.37	2.37
SD	0.11	0.12	0.09	0.09	0.10	0.12	0.11	0.11

まとめ

- MALDI Biotyperの施設において、同定一致率(Score Value)が平均値±2SDの範囲外は*K. aerogenes*において1施設、*E. faecalis*において2施設であった。
- *K. aerogenes*の1施設と*E. faecalis*の1施設は、3スポットのCVが9.0%以上と高く、ターゲットプレートのスポットにコロニーが薄く均一に塗布されていないことが示唆される。
- *E. faecalis*のもう1施設は、3スポットのCVが2.0%とばらつきは低いが、同定一致率(Score Value)の平均値が2.147と低いため、マトリックス試薬やコロニーが均一に塗布されていないことが示唆される。
- どちらも要因は測定者の技量により影響する。微生物検査は自動分析装置による検査だけではなく、塗抹検査や検体分離操作、コロニーの観察と釣鉤、同定検査や薬剤感受性検査のための菌液調整など、検体受付から報告までの一連の工程において検査技師の技量が多く入る検査である。検査技師の技量によって検査結果に影響が出る可能性があるため、外部精度管理の対象には機器だけではなく、検査室のスタッフの技量も含むのは重要である。

WGメンバー

- 群馬大学病院: 村上正巳
- 佐賀大学病院: 草場耕二
- 宮崎大学病院: 佐伯裕二
- 九州大学病院: 清祐麻紀子
- 信州大学病院: 堀内一樹
- 千葉大学病院: 村田正太
- 三重大学病院: 安田和成
- 琉球大学病院: 上地幸平
- ブルカージャパン株式会社: 藤永 あずみ
- ビオメリュー・ジャパン株式会社: 奥村 元

第2回MALDI-TOF MSによる細菌同定の外部精度管理

1. 目的
MALDI-TOF MSによる細菌同定を実施している施設において、本WGで構築した精度管理方法を用い、外部精度管理を実施する。
2. 参加施設
 - MALDI Biotyper(ブルカー・ジャパン)使用施設: 140施設
 - バイテックMS(ビオメリュー・ジャパン)使用施設: 60施設
3. 測定時期
2023年1月上旬から2月末日
4. 結果報告
2023年3月末日を予定している