

Matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry の細菌同定における2025年度外部精度管理調査報告

External quality control survey report on the identification of Microorganism by
Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

曾川一幸¹⁾, 清祐麻紀子²⁾, 村田正太³⁾, 於保 恵⁴⁾, 上地幸平⁵⁾,
安田和成⁶⁾, 藤永あずみ⁷⁾, 西田浩徳⁸⁾, 中山智祥⁹⁾

要 旨 Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) は、2011年に医療機器として認定され、細菌同定のツールとして運用されている。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、同定一致率 (Score Value) で評価する外部精度管理実施要領を作成した。2025年度に実施した第4回MALDI-TOF MSによる細菌・真菌同定の外部精度管理調査について報告する。

Key words external quality control, identification of microorganism, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

Received Apr. 6, 2026; Accepted Jul. 1, 2026

Kazuyuki SOGAWA¹⁾, Makiko KIYOSUKE²⁾,
Syota MURATA³⁾, Megumi OHO⁴⁾, Kohei UECHI⁵⁾,
Kazunari YASUDA⁶⁾, Azumi FUJINAGA⁷⁾,
Hironori NISHIDA⁸⁾, Tomohiro NAKAYAMA⁹⁾

¹⁾ 麻布大学生命・環境科学部生化学研究室
神奈川県相模原市中央区淵野辺1-17-71
Department of Biochemistry, School of Life and
Environmental Science, Azabu University
1-17-71 Fuchinobe, chuo-ku, Sagami-hara, Kanagawa,
Japan

²⁾ 九州大学病院検査部
福岡県福岡市東区馬出3-1-1
Department of Clinical Laboratory, Kyushu University
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, Japan

³⁾ 千葉大学医学部附属病院検査部
千葉県千葉市中央区亥鼻1-8-1
Department of Clinical Laboratory, Chiba University
Hospital
1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba, Japan

⁴⁾ 佐賀大学医学部附属病院検査部
佐賀県佐賀市鍋島5-1-1
Department of Laboratory, Saga university Hospital
5-1-1 Nabeshima, Saga-city, Saga, Japan

⁵⁾ 厚生労働省 健康・生活衛生局
東京都千代田区霞が関1-2-2
Public Health Bureau, Ministry of Health, Labour and
Welfare
1-2-2 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan

⁶⁾ 三重大学医学部附属病院検査部
三重県津市江戸橋2-174
Clinical Laboratory, Mie University Hospital
2-174 Edobashi, Tsu, Mie 514-8507 Japan

⁷⁾ ブルカー・ジャパン株式会社
神奈川県横浜市神奈川区守屋町3-9
Bruker Japan K.K.
3-9, Moriya, Kanagawa-ku, Yokohama-city, Kanagawa,
Japan

⁸⁾ ビオメリュー・ジャパン株式会社
東京都港区赤坂2-17-7 赤坂溜池タワー2F
bioMérieux Japan Ltd.
Akasaka Tameike Tower 2F, 2-17-7 Akasaka,
Minato-ku, Tokyo, Japan

⁹⁾ 日本大学医学部病態病理学系臨床検査医学分野
東京都板橋区大谷口上町30-1
Division of Laboratory Medicine, Department of
Pathology and Microbiology, Nihon University School
of Medicine
30-1, Ooyaguchi-kamimachi, Itabashi-ku, Tokyo, Japan

Corresponding Author : 曾川一幸
TEL : 042-754-7111 (内線 2372)
E-mail : sogawa@azabu-u.ac.jp

1. はじめに

質量分析装置による細菌同定はサンプル調整が容易で、測定操作も簡便であり、一菌種約5分で同定結果が得られる^{1,2)}。この特徴を活かして、煩雑な試料前処理を行わず、属や種を容易に識別することのできる手法として注目されている³⁻⁸⁾。国内では2011年に医療機器として認定され、細菌同定のツールとして運用されている。

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⁹⁾。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、微生物検査室を含む臨床検査室認定の国際規格「ISO 15189」の認定を取得する施設が増加している¹⁰⁾。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¹⁰⁾ が、Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) の質量の校正として使用するため不適當である。市販生培地の種類による影響は、最終的な細菌同定結果には支障がないが¹¹⁾、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^{12,13)}。

外部精度管理調査には、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調査は小規模でしか行われていない。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、MALDI-TOF MSによる細菌同定における外部精度管理調査の実施要領を作成し実施している¹⁴⁻¹⁷⁾。

今回我々は2025年度に実施した第4回MALDI-TOF MSによる細菌同定の外部精度管理調査について報告する。

2. 材料および方法

1) 対象菌株と培養法

使用する株は関東化学株式会社から購入した *Enterococcus faecium* (ATCC 8459)、*Haemophilus influenzae* (ATCC19418) と *Candida auris* (CDC B11903) を対象とした。

菌株配送元施設（1世代目の送付：麻布大学）にて標準菌株のペレットを溶解し、*E. faecium* は血液寒天培地、*H. influenzae* はチョコレート寒天培地、*C. auris* は真菌用寒天培地に接種して一晚培養した。マイクロバンクに血液寒天培地上のコロニーを濃厚接種し、接種日、菌種、ATCC 番号をラベリングし、宅急便で182施設に配布した。マイクロバンクは到着後 - 80℃ で保管した。

菌株配送先施設（2世代目の作成）にてマイクロバンクから自施設で使用している血液寒天培地、チョコレート寒天培地および真菌用寒天培地に接種し、35℃ で酵母様真菌は48時間、細菌は24時間で好気培養した。

2) 測定機器

ブルカー・ジャパン株式会社のMALDI Biotyper, MALDI Biotyper smart, MALDI Biotyper sirius およびMALDI Biotyper Sirius one、バイオメリユー・ジャパン株式会社のVITEK MSおよびVITEK MS PRIMEを使用した。得られたマススペクトルをブルカー・ジャパン株式会社はMALDI Biotyper ver3.1, MBT Compass ver4.1 及びMBT Compass HT Ver.5.1、バイオメリユー・ジャパン株式会社はIVD Knowledge Base ver3.2およびver3.3の専用解析ソフトで同定を行った。

3) 使用試薬

MALDI Biotyperの測定には、HCCA portioned 試薬（ブルカー・ジャパン株式会社）、VITEK MSの測定にはバイテックMSマトリックス-CHCA（バイオメリユー・ジャパン株式会社）及びバイテックMS FA 試薬（バイオメリユー・ジャパン株式会社）を使用した。

4) 測定方法

培地上のコロニーを適量かきとり、Direct sample spotting, On-target extraction 及び Full extraction の方法で前処理を行った。ターゲットプレートのスポットに薄く均一になるように塗布後、専用のマトリックス試薬を1μL添加し、十分に乾燥した後測定

を行った。1菌種、血液寒天培地1種類につき、ターゲットプレートに3スポット接種して同時に測定した。

5) 測定・データ回収期間

2025年11月25日から2025年12月5日。

6) 同定一致率・同定確率の算出について

同定一致率は各MALDI-TOF MSの測定で菌種名が得られた割合とし、ブルカージャパン株式会社は信頼性の指標であるScore Valueを用い、菌種レベルの同定は2.000~3.000である。Score Valueにおいて、属レベルの同定は1.700~1.999、同定不可は0.000~1.699と数値で表示される^{7,8)}。また、バイオメリュー・ジャパン株式会社は信頼性の指標である同定確率を用い、同定菌種名が1菌種であり、同定確率99.9%とされるものが菌種レベルの同定とした。

7) 判定基準

MALDI Biotyperは信頼性の指標であるScore Value、VITEK MSは信頼性の指標である同定確率を用い、平均値と標準偏差 (SD) を算出した。

判定基準として、Aは菌種の同定がされており平均値±2SD、Bは菌種の同定がされており平均値-2SD以下、Dは1スポット以上で菌種の同定がされていない。

3. 成績

1) MALDI BiotyperとVITEK MSにおける菌株の同定一致率・同定確率

E. faecium, *H. influenzae*及び*C. auris*において、158施設でMALDI Biotyper、24施設でVITEK MSで測定・同定した。

MALDI Biotyperの158施設において*E. faecium*

及び*H. influenzae*の同定したところ、*E. faecium*において、151施設で平均値±2SDの範囲内であり、5施設で平均値-2SDの範囲外であった (Table 1)。2施設で結果報告の記載間違いがあった。*H. influenzae*において、147施設で平均値±2SDの範囲内であり、3施設で平均値-2SDの範囲外であった (Table 1)。1施設で結果報告の記載間違いがあり、7施設で培養出来なかった。VITEK MS/PRIMEの24施設において*E. faecium*及び*H. influenzae*の同定したところ、22施設において信頼性の指標である同定確率 (3スポットを平均した値) は、平均値は99.9%、最大値99.9%、最小値99.9%であり、SDは0.00%となり、全て施設で平均値±2SDであった (Table 1)。1施設で結果報告の記載間違いがあり、もう1施設で*H. influenzae*の培養が出来なかった。*C. auris*において、MALDI Biotyperでは145施設で平均値±2SDの範囲内であった。11施設において、3スポットのうち1スポット以上でScore Valueは、2.00未満であり同定不可であり、2施設で結果報告の記載間違いがあった。VITEK MS/PRIMEでは23施設で平均値±2SDの範囲内であった。1施設で結果報告の記載間違いがあった (Table 1)。

2) MALDI BiotyperとVITEK MSの機種による菌株の同定一致率・同定確率

*E. faecium*においてMALDI Biotyperの測定機器は、MALDI Biotyperで72施設、MALDI Biotyper smartで11施設、MALDI Biotyper siriusで41施設、MALDI Biotyper Sirius oneで32施設使用している。平均Score Valueは、2.45~2.47であった (Table 2)。

*C. auris*においてMALDI Biotyperの測定機器は、MALDI Biotyperで64施設、MALDI Biotyper smartで11施設、MALDI Biotyper siriusで41施設、MALDI Biotyper Sirius oneで29施設使用している。

Table 1 Identification performance of MALDI Biotyper and VITEK MS

Bacterial strain	Score values		
	Average ± 2SD	Below average - 2SD	Not identification
<i>Haemophilus influenzae</i> (ATCC19418)			
MALDI Biotyper	147	3	8
VITEK MS	22	0	2
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC8459)			
MALDI Biotyper	151	5	2
VITEK MS	23	0	1
<i>Candida auris</i> (CDC B11903)			
MALDI Biotyper	145	0	13
VITEK MS	23	0	1

Table 2 MALDI Biotyper score values for different devices and bacterial species

MALDI-TOF MS	Number of sites	Score values			
		Average	± Standard deviator	Minimum value	Maximum value
<i>Haemophilus influenzae</i> (ATCC19418)					
MALDI Biotyper					
MALDI Biotyper	68	2.43	0.08	2.03	2.55
MALDI Biotyper smart	10	2.34	0.10	2.23	2.49
MALDI Biotyper sirius	40	2.39	0.08	2.16	2.50
MALDI Biotyper sirius one	32	2.40	0.06	2.26	2.50
VITEK MS					
VITEK MS	11	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
VITEK MS PRIME	11	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC8459)					
MALDI Biotyper					
MALDI Biotyper	72	2.46	0.06	2.21	2.56
MALDI Biotyper smart	11	2.45	0.06	2.35	2.53
MALDI Biotyper sirius	41	2.47	0.06	2.21	2.57
MALDI Biotyper sirius one	32	2.46	0.05	2.30	2.57
VITEK MS					
VITEK MS	12	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
VITEK MS PRIME	11	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
<i>Candida auris</i> (CDC B11903)					
MALDI Biotyper					
MALDI Biotyper	64	2.32	0.10	2.05	2.51
MALDI Biotyper smart	11	2.23	0.11	2.05	2.38
MALDI Biotyper sirius	41	2.30	0.12	2.07	2.53
MALDI Biotyper sirius one	29	2.30	0.12	2.06	2.56
VITEK MS					
VITEK MS	12	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
VITEK MS PRIME	11	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%

平均Score Valueは、2.23～2.32であった (Table 2)。 *H. influenzae* においてMALDI Biotyperの測定機器は、MALDI Biotyperで68施設、MALDI Biotyper smartで10施設、MALDI Biotyper siriusで40施設、MALDI Biotyper Sirius oneで32施設使用している。平均Score Valueは、2.34～2.43であった (Table 2)。 *C. auris* 及び *E. faecium* においてVITEK MSの測定機器は、VITEK MSで12施設、VITEK MS PRIMEで11施設使用し、*H. influenzae* においてVITEK MSの測定機器は、VITEK MSで11施設、VITEK MS PRIMEで11施設使用している。*E. faecium*、*H. influenzae* 及び *C. auris* のScore Valueは、すべて99.9 ± 0.00であった (Table 2)。

3) MALDI BiotyperとVITEK MSのデータベースによる菌株の同定一致率・同定確率

MALDI Biotyperのデータベースにおいて、*E. faecium*の平均Score Valueは、Version 6～13で2.39～2.51であった (Table 3)。*H. influenzae*の平均Score Valueは、Version 6～13で2.45～2.52であった (Table 3)。*C. auris*の平均Score Valueは、Version 8～13で2.27～2.35であった (Table 3)。VITEK MSのデータベースは、*E. faecium*、*H. influenzae* 及び *C. auris* のScore Valueは、すべて99.9 ± 0.00であった (Table 3)。

4) MALDI BiotyperとVITEK MSの前処理法による菌株の同定一致率・同定確率

血液寒天培地で発育した *E. faecium* の前処理方法は、MALDI Biotyperにおいて、Direct sample

Table 3 MALDI Biotyper and VITEK MS score values according to database types and bacterial species

Database	Number of sites	Score values			
		Average	Standard deviation	Minimum value	Maximum value
<i>Haemophilus influenzae</i> (ATCC19418)					
MALDI Biotyper					
Version 6 (6903)	1	2.51	-	-	-
Version 7 (7311)	1	2.48	-	-	-
Version 8 (7854)	6	2.43	0.07	2.35	2.52
Version 9 (8468)	5	2.42	0.10	2.24	2.53
Version 10 (9607)	12	2.39	0.08	2.25	2.49
Version 11 (10833)	22	2.43	0.08	2.24	2.52
Version 12 (11897)	10	2.42	0.06	2.32	2.50
Version 13 (12438)	93	2.40	0.08	2.03	2.53
VITEK MS					
IVD Knowledge Base 3.2	8	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
IVD Knowledge Base 3.3	14	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC8459)					
MALDI Biotyper					
Version 6 (6903)	1	2.45	-	-	-
Version 7 (7311)	1	2.52	-	-	-
Version 8 (7854)	6	2.49	0.03	2.44	2.51
Version 9 (8468)	5	2.50	0.04	2.43	2.53
Version 10 (9607)	12	2.48	0.04	2.40	2.57
Version 11 (10833)	22	2.46	0.07	2.21	2.54
Version 12 (11897)	11	2.48	0.03	2.43	2.53
Version 13 (12438)	98	2.46	0.06	2.21	2.57
VITEK MS					
IVD Knowledge Base 3.2	8	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
IVD Knowledge Base 3.3	15	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
<i>Candida auris</i> (CDC B11903)					
MALDI Biotyper					
Version 8 (7854)	6	2.34	0.07	2.25	2.45
Version 9 (8468)	5	2.34	0.04	2.29	2.40
Version 10 (9607)	12	2.27	0.08	2.14	2.44
Version 11 (10833)	21	2.35	0.10	2.06	2.53
Version 12 (11897)	9	2.33	0.12	2.14	2.50
Version 13 (12438)	92	2.29	0.12	2.05	2.51
VITEK MS					
IVD Knowledge Base 3.2	8	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
IVD Knowledge Base 3.3	15	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%

spotting 法で113施設, On-target extraction 法で40施設, Full extraction 法で3施設であり, 平均Score Valueは2.43~2.48, 2.43であった (Table 4)。VITEK MSにおいて, すべてに施設がDirect sample spotting 法であり, Score Valueは, 99.9 ± 0.00 であった (Table 4)。チョコレート寒天培地で発育した *H. influenzae* の前処理方法は, MALDI Biotyperにおいて, Direct sample spotting 法で109施設, On-target extraction 法で38施設, Full extraction 法で3施設

であり, 平均Score Valueは, 2.38~2.42, であった (Table 4)。VITEK MSにおいて, すべてに施設がDirect sample spotting 法であり, Score Valueは, 99.9 ± 0.00 であった (Table 4)。真菌用寒天培地で発育した *C. auris* の前処理方法は, MALDI Biotyperにおいて, Direct sample spotting 法で36施設, On-target extraction 法で98施設, Full extraction 法で11施設であり, 平均Score Valueは, 2.27~2.33であった (Table 4)。VITEK MSにおいて, On-target

Table 4 MALDI Biotyper and VITEK MS score values according to sample pretreatment methods and bacterial species

Database	Number of sites	Score values			
		Average	Standard deviation	Minimum value	Maximum value
<i>Haemophilus influenzae</i> (ATCC19418)					
MALDI Biotyper	150	2.41	0.08	2.03	2.55
Direct sample spotting	109	2.42	0.08	2.03	2.55
On-target extraction	38	2.38	0.09	2.23	2.53
Full extraction	3	2.39	0.05	2.33	2.44
VITEK MS	22	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
Direct sample spotting	22	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
On-target extraction	0	-	-	-	-
Full extraction	0	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC8459)					
MALDI Biotyper	156	2.46	0.06	2.21	2.57
Direct sample spotting	113	2.46	0.06	2.21	2.57
On-target extraction	40	2.48	0.06	2.29	2.57
Full extraction	3	2.43	0.01	2.42	2.45
VITEK MS	23	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
Direct sample spotting	23	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
On-target extraction	0	-	-	-	-
Full extraction	0	-	-	-	-
<i>Candida auris</i> (CDC B11903)					
MALDI Biotyper	145	2.30	0.11	2.05	2.53
Direct sample spotting	36	2.27	0.12	2.05	2.51
On-target extraction	98	2.31	0.11	2.08	2.53
Full extraction	11	2.33	0.12	2.07	2.47
VITEK MS	23	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
Direct sample spotting	-	-	-	-	-
On-target extraction	21	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
Full extraction	2	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%

extraction法で21施設, Full extraction法で2施設であり, Score Valueは, ともに 99.9 ± 0.00 であった (Table 4)。

5) MALDI BiotyperとVITEK MSのファインチューニングの期間による菌株の同定一致率・同定確率

*E. faecium*におけるMALDI Biotyperのファインチューニングの期間は, 半年以内で96施設, 半年から1年以内で41施設, 1年から2年以内で16施設, 2年以上で3施設であった (Table 5)。平均Score Valueは, 2.46~2.48であった (Table 5)。*H. influenzae*におけるMALDI Biotyperのファインチューニングの期間は, 半年以内で93施設, 半年から1年以内で38施設, 1年から2年以内で16施設, 2年以上で3施設であった (Table 5)。平均Score Valueは, 2.38~2.48

であった (Table 5)。*C. auris*におけるMALDI Biotyperのファインチューニングの期間は, 半年以内で87施設, 半年から1年以内で39施設, 1年から2年以内で16施設, 2年以上で3施設であった (Table 5)。平均Score Valueは, 2.29~2.35であった (Table 5)。VITEK MSのファインチューニングの期間は, *E. faecium*及び*C. auris*において半年以内で19施設, 半年から1年以内で4施設であり, *H. influenzae*において半年以内で18施設, 半年から1年以内で4施設であった (Table 5)。Score Valueは, すべて 99.9 ± 0.00 であった (Table 5)。

4. 考察・結語

患者診療において, 検体検査の結果は, 診断の確定と治療方針の決定を左右する。このため, その検査システムの精度保証・精度管理は極めて重要であ

Table 5 MALDI Biotyper and VITEK MS score values according to fine-tuning periods and bacterial species

Fine tuning period	Number of sites	Score values			
		Average	Standard deviation	Minimum value	Maximum value
<i>Haemophilus influenzae</i> (ATCC19418)					
MALDI Biotyper	150	2.41	0.08	2.03	2.55
Within 0.5 years	93	2.41	0.09	2.03	2.55
0.5-1.0 years	38	2.42	0.07	2.23	2.52
1.0-2.0 years	16	2.38	0.09	2.16	2.50
Over 2.0 years	3	2.48	0.05	2.35	2.47
VITEK MS	22	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
Within 0.5 years	18	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
0.5-1.0 years	4	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC8459)					
MALDI Biotyper	156	2.47	0.05	2.21	2.57
Within 0.5 years	96	2.47	0.06	2.21	2.57
0.5-1.0 years	41	2.46	0.04	2.35	2.54
1.0-2.0 years	16	2.48	0.04	2.41	2.54
Over 2.0 years	3	2.46	0.02	2.44	2.49
VITEK MS	23	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
Within 0.5 years	19	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
0.5-1.0 years	4	99.9%	99.9%	99.9%	99.9%
<i>Candida auris</i> (CDC B11903)					
MALDI Biotyper	145	2.29	0.13	2.05	2.53
Within 0.5 years	87	2.29	0.11	2.05	2.51
0.5-1.0 years	39	2.32	0.12	2.08	2.53
1.0-2.0 years	16	2.35	0.08	2.23	2.48
Over 2.0 years	3	2.32	0.03	2.29	2.35
VITEK MS	23	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
Within 0.5 years	19	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%
0.5-1.0 years	4	99.9%	0.00%	99.9%	99.9%

る。国内における微生物検査ならびにその内部精度管理は主に米国の臨床検査標準協会の基準をもとに実施されている。微生物検査の内部精度管理の実施状況について2017年に一般社団法人日本病院会が実施した調査では、一般・生化学検査や血液学検査については9割以上の施設が内部精度管理を実施しているのに対し、微生物検査では54.8%とその半数ほどの施設でしか内部精度管理を実施していなかった¹⁸⁾。また、外部精度管理については、一般・生化学検査や血液学検査は98.0%以上の施設が実施しているが、微生物検査では90.4%と低い実施状況である¹⁸⁾。質量分析装置による細菌同定の外部精度管理は評価法が標準化されていない。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、質量分析装置による細菌同定の外部精度管理調査について、

同定一致率 (Score Value) で評価する実施要領を作成した^{14,15)}。

標準菌株は、構造上ペプチドグリカン層が薄くリボソーム由来タンパクがイオン化されやすいグラム陰性桿菌の *H. influenzae*¹⁹⁾ 及び細胞壁に厚みがあり構造が頑丈のためリボソーム由来タンパクがイオン化されにくいグラム陽性球菌の *E. faecium*¹⁹⁾ を用いた。また、*C. auris* は、国内では確認されていなかった clade1 による侵襲性感染症により死亡した症例が2023年に論文報告された²⁰⁾。これを受け、国内発生状況を把握するため、厚生労働省は自治体へ事務連絡²¹⁾ を発出し、*C. auris* による感染が疑われる、あるいは診断した症例について報告を依頼した酵母様真菌である。

測定結果報告における入力ミスは3施設であった。MALDI Biotyper の施設において、同定一致率

(Score Value) が平均値 $\pm 2SD$ の範囲外は *E. faecium* で5施設, *H. influenzae* で3施設であった。どちらの菌株においても3スポットのCVが10.0%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。この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菌, 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手技が多く入る検査である²²⁾。検査技師の技能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能も含むことが重要である。*C. auris* において, Score Valueが2.00未満の施設が13施設あった。2施設においてデータベースがVersion 6及びVersion 7であった。*C. auris* の登録株数はVersion 6とVersion 7で3株, Version 8以降で9株である。登録株数が少ないことによる影響が考えられる。7施設において3スポットのCVが10.0%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。2施設は, On-target extraction法やFull extraction法の前処理で使用する70%ギ酸溶液調整後の長期使用が問題であった。2施設は, ファインチューニングが1年以上行われていない。ファインチューニングの期間はブルカー・ジャパン株式会社のMALDI Biotyperで1年, ビオメリュー・ジャパン株式会社のVITEK MSで約3000検体/月の測定で月1回, VITEK MS PRIMEで約11000検体/月の測定で月1回と推奨期間が定められている。

2025年度日臨技臨床検査精度管理調査報告書の微生物検査において, 同定検査サーベイが実施され, MALDI BiotyperとVITEK MSの同定正解率は100%であり, 機器間差はないことが示されている。本調査においても *E. faecium* と *H. influenzae* の同定検査において, MALDI BiotyperとVITEK MSの同定正解率はほぼ100%であり, 同様の結果が得られたが, *C. auris* において, VITEK MSの同定正解率はほぼ100%であったが, MALDI Biotyperの同定正解率は89%であり今後の課題である。

MALDI Biotyperの測定機器は, MALDI Biotyper, MALDI Biotyper smart, MALDI Biotyper sirius, MALDI Biotyper Sirius oneの4機種を使用しているが, 同定一致率 (Score Value) は平均スコアで2.3-2.4程度であり, 違いは認められなかった。また, データベースにおいてMALDI BiotyperはVersion

6~13の8種類, VITEK MSは2種類を使用しているが, 同定一致率 (Score Value) 及び同定確率に有意な違いは認められなかった。

VITEK MSの22施設において, *E. faecium*, *H. influenzae* 及び *C. auris* の同定確率は全ての施設で99.9%であった。同定確率に全くバラつきがなかったため, VITEK MSの精度管理に有効な菌株の選定が必要である。

第1回 MALDI-TOF MS による細菌同定の外部精度管理調査は, 測定を行う直前に質量分析装置のファインチューニングを行い, 質量分析装置の状態を一定にし, 血液寒天培地の種類により影響を考慮し, 1種類に限定して行った。第4回外部精度管理調査は, 第3回外部精度管理調査実施要領と同じであり, ファインチューニングを行わずに, 培地も自施設の培地を使用し, より日常検査に近い条件で行った。日常検査に近い条件においても菌種同定はMALDI BiotyperでScore ValueおよびVITEK MSの同定確率はほぼすべて平均値 $\pm 2SD$ の範囲内で種レベルの同定ができた。今回作成した実施要領に従い外部精度管理の評価法を同定一致率 (Score Value) で行うことは有用であった。今後, VITEK MSの精度管理に有効な菌株の選定を行い, MALDI-TOF MSによる細菌同定の外部精度管理実施要領を用いて, 関連学会と連携して行っていく予定である。

本論文の発表に関連して, 藤永あずみはブルカー・ジャパン株式会社, 西田浩徳はバイオメリュー・ジャパン株式会社の社員であり, 本研究の設計及びデータ解析に関与した。本研究はブルカー・ジャパン株式会社及びバイオメリュー・ジャパン株式会社からの資金提供を受けていない。データの解釈及び論文内容の最終決定は著者が独立して行った。その他の著者に開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Freiwald A, Sauer S. Phylogenetic classification and identification of bacteria by mass spectrometry. *Nature Prot* 2009;4:732-742.
- 2) Seng P, Drancourt M, Gouriet F, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis* 2009;49:543-551.
- 3) van Veen SQ, Claas ECJ, Kuijper Ed J. High-

- Throughput Identification of Bacteria and Yeast by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Conventional Medical Microbiology Laboratories. *J Clin Microbiol* 2010;48:900-907.
- 4) Bizzini A, Durussel C, Bille J, et al. Performance of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Bacterial Strains Routinely Isolated in a Clinical Microbiology Laboratory. *J Clin Microbiol* 2010;48:1549-1554.
 - 5) De Bel A, Wybo I, Piérard D, et al. Correct Implementation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Routine Clinical Microbiology. *J Clin Microbiol* 2010;48:1991-1992.
 - 6) Sauer S, Kliem M. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:74-82.
 - 7) Sogawa K, Watanabe M, Sato K, et al. Use of the MALDI BioTyper™ system with MALDI-TOF mass spectrometry for the rapid identification of microorganisms. *Anal Bioanal Chem* 2011;400:1905-1911.
 - 8) Sogawa K, Watanabe M, Sato K, et al. Rapid identification of microorganisms by mass spectrometry: improved performance by incorporation of in-house spectral data into a commercial database. *Anal Bioanal Chem* 2012;403:1811-1822.
 - 9) 西山宏幸. 微生物学的検査. *Medical Technology* 2018;46:1280-1288.
 - 10) Akimowicz M, Bucka-Kolendo J. MALDI-TOF MS - application in food microbiology. *Acta Biochim Pol* 2020;67:327-332.
 - 11) Valentine N, Wunschel S, Wunschel D, et al. Effect of culture conditions on microorganism identification by matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:58-64.
 - 12) 曾川一幸, 清祐麻紀子, 服部佳奈子ほか. 質量分析装置Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry の細菌同定における内部精度管理実施要領の検討. *医療検査と自動化* 2020;45:255-259.
 - 13) Sogawa K, Kiyosuke M, Hattori K, et al. Examination of conditions for regular internal quality control in identification of microorganisms using MALDI-TOF MS. *Biocontrol Sci* 2021;26:99-104.
 - 14) 曾川一幸, 上地幸平, 清祐麻紀子ほか. 質量分析装置Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry の細菌同定における外部精度管理実施要領の検討. *医療検査と自動化* 2022;47:569-575.
 - 15) Sogawa K, Uechi K, Kiyosuke M, et al. Examination of conditions for external quality control in identification of microorganisms using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Biocontrol Sci* 2022;27:179-184.
 - 16) Sogawa K, Fujinaga A, Okumura H, et al. External quality control survey on identification of microorganisms using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Microorg Control* 2024;29:49-53.
 - 17) 曾川一幸, 藤永あずみ, 西田浩徳, ほか. MALDI-TOF MS の細菌同定における 2024 年度外部精度管理調査報告. *医療検査と自動化* 2025;50(Suppl.2):47-56.
 - 18) 日本病院会医療制度委員会. 検体検査・精度管理の状況に関する緊急調査－集計結果 平成29年6月. 2017. (https://www.hospital.or.jp/pdf/06_20170628=01.pdf)
 - 19) 山下剛永. MALDI-TOF MS による菌同定向上法(Matrix sandwich method). *JSBMS Letters* 2017;42:45-48.
 - 20) Ohashi Y, Matono T, Suzuki S, et al. The first case of clade I *Candida auris* candidemia in a patient with COVID-19 in Japan. *J Infect Chemother* 2023;29:713-717.
 - 21) 厚生労働省健康局結核感染症課, 「多剤耐性で重篤な感染症を引き起こす恐れのあるカンジダ・アウリス (*Candida auris*) について (情報提供及び依頼)」, 令和5年5月1日付事務連絡. (<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/001093562.pdf>)
 - 22) 濱本隆明. 微生物検査の精度管理. *臨床検査* 2020;64:995-1001.