

微 生 物

⑩微生物檢査

⑪微生物塗抹鏡檢

⑩微生物検査

【はじめに】

今年度の微生物検査は、人畜共通感染症の原因菌であるグラム陰性桿菌、日常的に検出されるグラム陽性球菌、検出が比較的稀で同定には注意が必要であるが、従来法で菌種の推定が可能なグラム陽性桿菌を同定の試料とした。また薬剤感受性検査では、結果から適切な検査を実施し、正確な判定がおこなえるかを確認する目的で出題した。

フォトサーベイでは、患者背景に加え微生物検査の各種染色所見、選択分離培地および確認培地など各種培地の発育状況、また設問中の生化学性状などから菌種を推定する、これまで同様の典型的な形式での出題となった。

嫌気性菌であるが比較的同定が容易な無芽胞グラム陰性桿菌、IPA 産生菌に分類されるグラム陰性桿菌、臨床検体中ではグラム染色による確認が困難なグラム陰性桿菌を設問とした。

【試料】

M1,M2,M3 は試料発送日に十分量が送付できるよう、前日に純培養を行い新鮮な菌株を送付試料として用意した。菌種については各試料の解析文面を参照頂きたい。

【参加施設数】

微生物検査:48 施設(設問ごとに有効回答数は異なる)

フォトサーベイ:52 施設

【解析方法】

正解を評価 A, 許容正解を評価 B, 誤りを評価 C と設定し、設問ごとに解析を実施した。

【評価基準、解析結果、まとめ】

各試料の解析文面を参照

試料 M1 同定 *Pasteurella multocida* 【評価対象】

【評価基準・解析結果】

1. 同定菌名

参加 48 施設における同定菌名の回答状況を表 1 に示した。*Pasteurella multocida* の回答のみを評価 A とし、それ以外の回答を評価 C とした。48 施設 (100%) 全てが *P. multocida* の回答であった。

2. 同定機器/方法別の同定成績

同定機器/方法別の成績と用手法の内訳を表 2、3 に示した。用手法が 16 施設 (33.3%) と最も多く、次いでマイクロスキャン Walk Away (ベックマン・コールター社) が 15 施設 (31.3%)、バイテック 2 (バイオメリュース社) が 8 施設 (16.7%)、バイテック MS (バイオメリュース社) と MALDI バイオタイパー (Bruker 社) が各 4 施設 (8.3%)、クリスタルリーダー (日本 BD 社) が 1 施設 (2.1%) であった。

【まとめ】

1. 同定結果

今回使用した菌株は *P. multocida* (臨床分離株) である。

P. multocida は、通性嫌気性菌でグラム陰性の小さい球桿菌または短桿菌の多形性を示す。イヌやネコの口腔内に定着しており、これら動物の咬傷や擦過傷を介して、あるいは感染性の飛沫が経気道的にヒトに感染することで、軟部組織感染症や呼吸器感染症を引き起こす。肝硬変など、重度の基礎疾患をもつ患者は髄膜炎や腹膜炎、心内膜炎、敗血症性ショック等の全身症状のリスクが高い。

微生物学的検査では、35°C、5%炭酸ガスによる 24 時間培養で、ヒツジ血液寒天培地やチョコレート寒天培地に 1~2mm の不透明な灰色の集落を形成する。マッコンキー寒天培地に発育しないことは大きな特徴であり、猫咬傷という患者背景とあわせて考えれば、本菌を推定する手がかりになる。同定のための生化学的性状としてはブドウ糖発酵、カタラーゼ試験陽性、オキシダーゼ試験陽性、硝酸塩還元試験陽性、オルニチン脱炭酸試験陽性、マンニトール分解陽性などがあり、自動分析機器や同定キットで同定可能である。

全施設が評価 A であり、極めて良好な結果であった。

2. 同定方法、付加コメント

同定方法は、24 施設 (50.0%) が各種自動分析機器、16 施設 (33.3%) が用手法、8 施設 (16.7%) が質量分析装置であったが、いずれの方法であっても正確に同定されていた。

付加コメントにおいても、半数以上の施設が起炎性の可能性を指摘しており、問題はないと考えられる。

表 1 同定菌名の回答状況 (試料 M1)

評価	同定菌名	回答数	(%)	計(%)
A	<i>Pasteurella multocida</i>	48	100	48(100)
	計	48	100	48(100)

表 2 同定機器/方法別の回答状況(試料 M1)

評価	同定菌名	MALDI バイオタイパー	バイテック MS	バイテック 2, 2 XL, 2 コンパクト, 2 コンパクト 60, 2 ブルー	マイクロスキヤン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM	クリスタルリーダー	用手法	計
A	<i>Pasteurella multocida</i>	4	4	8	15	1	16	48
	計	4	4	8	15	1	16	48
	正解(評価 A)率(%)	100	100	100	100	100	100	48

表 3 用手法の内訳と回答状況(試料 M1)

評価	同定菌名	ID テスト HN-20 ラビッド	ID32E アピ	従来法による同定(試験管培地等を使用)	計
A	<i>Pasteurella multocida</i>	14	1	1	16
	計	14	1	1	16
	正解(評価 A)率(%)	100	100	100	100

試料 M2 同定 *Staphylococcus aureus* 【評価対象】

【評価基準・解析結果】

1. 同定菌名

参加 48 施設における同定菌名の回答状況を表 4 に示した。*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (MSSA) および *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* の回答を評価 A とし、それ以外の回答を評価 C とした。回答の内訳は *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (MSSA) および *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* が 48 施設 (100%) であった。

2. 同定機器/方法別の同定成績

同定機器/方法別の成績と用手法の内訳を表 5、6 に示した。マイクロスキャン WalkAway (ベックマン・コールター社) が 27 施設 (56%) と最も多く、次いでバイテック 2 (バイオメリュース社) が 9 施設 (19%)、MALDI バイオタイパー (Bruker 社)、バイテック MS (バイオメリュース社)、ライサス S4 (日水製薬社) が各 3 施設 (6%)、用手法、が 2 施設 (4%)、BD フェニックス (日本 BD 社) が 1 施設 (2%) であった。菌種名としては全ての機器、方法で *Staphylococcus aureus* と同定されていた。

【まとめ】

1. 同定結果

今回使用した菌株は *S. aureus* (臨床分離株) である。

S. aureus はヒトの鼻腔、腋窩、陰部などの湿った部位に常在菌叢として存在し、臨床材料から日常的に検出されるが、*Staphylococcus* 属のなかで最も病原性が強く、様々な感染症を引き起こす临床上重要な菌種である。

微生物学的検査では、ヒツジ血液寒天培地上で β 溶血を示す淡黄色～黄色の集落を形成し、カタラーゼ試験陽性、コアグラールゼ試験陽性、クランピング因子陽性、レシチナーゼ反応陽性、マンニト分解性、耐熱性 DNase 産生等の性状から *S. aureus* と同定できる。48 施設すべてが評価 A であり、極めて良好な結果であった。

2. 同定方法、追加コメント

同定方法は、質量分析装置および各種分析装置などの自動機器が用いられており、用手法による同定はわずかであった。自動機器を用いた施設においても、多くの施設でグラム染色、カタラーゼ試験、コアグラールゼ試験および溶血の確認などを実施し、機器での同定のみではなく、結果の裏付けが適切に行われており、同定手順に問題は認められなかった。

また、追加コメントにおいても、半数以上の施設が起炎菌の可能性を示唆していた。

表4 同定菌名の回答状況 (試料 M2)

評価	同定菌名	回答数		(%)	計(%)
A	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MSSA)	40	48	100	48(100)
	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	8			
合計		48	48	100	48(100)

表5 同定機器/方法別の回答状況(試料 M2)

評価	同定菌名	マイクロスキヤン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM 1096	バイテック 2, 2 XL, 2 コンパクト, 2 コンパクト 60, 2 ブルー	質量分析法(MALDI バイオタイパー)	質量分析法(バイテック MS)	ライサス S4	用手法	BD フェニックス M50	計
A	<i>S. aureus</i> (MSSA)	23	6	3	3	3	2	0	40
	<i>S. aureus</i>	4	3	0	0	0	0	1	8
計		27	8	3	3	3	2	1	48
正解(評価 A)率(%)		100	100	100	100	100	100	100	100

表6 用手法の内訳と回答状況(試料 M2)

評価	同定菌名	ID32 スタアアピ	同定・鑑別用試薬/ 培地 スタファイロ LA	計
A	<i>S. aureus</i> (MSSA)	1	1	2
計		1	1	2
正解(評価 A)率(%)		100	100	100

試料 M2 薬剤感受性検査 *Staphylococcus aureus*(MSSA) 【評価対象】

【評価基準・解析結果】

1. 回答状況

薬剤感受性検査サーベイ参加 47 施設について、抗菌薬回答状況を指定抗菌薬別、方法別に表 7 に示した。一部、薬剤が不採用などの理由で未回答となった施設もあり、Penicillin (PCG)、Cefoxitin (CFX)、Linezolid (LZD) は 45 施設、Vancomycin (VCM) は 47 施設の回答となった。

2. 検査方法

感受性検査機器、方法別に参加 47 施設の回答状況を表 8 に示した。内訳はマイクロスキャン Walk Away (ベックマン・コールター社) が 30 施設 (64%) で最も多く、次いでバイテック 2 (バイオメリュー社) が 8 施設 (17%)、フェニックス (日本 BD 社) およびライサス (日水製薬) が各 3 施設 (6%)、用手法が 2 施設 (4%)、IA20 MIC Pro (栄研化学) が 1 施設 (2%) であった。

3. 感受性成績

参加 47 施設の感受性結果状況について、微量液体希釈法、E-test および CLSI ディスク法の結果を表 9、表 10 に示した。

今回使用した菌株は β -ラクタマーゼを産生するメチシリン感性黄色ブドウ球菌 (MSSA) であり、*blaZ* 遺伝子を保有する臨床分離株である。この菌株について正確に感受性結果およびカテゴリー判定を行っているかを確認するために実施した。薬剤感受性のカテゴリー判定は、PCG が R (耐性)、CFX、VCM、LZD が S (感性) であり、これらの回答を評価 A とし、それ以外の回答を評価 C とした。

微量液体希釈法で回答された各指定抗菌薬に対する正解率は PCG が 70.7%、CFX が 97.4%、VCM と LZD が 100% であった。また、CLSI ディスク法での正解率は PCG が 75%、CFX、VCM、LZD が 100% であった。微量液体希釈法で CFX を R (耐性) と報告した施設について、MIC 値は感性の値を示していたためデータ入力に誤りがあった可能性がある。当該施設は、再度確認していただきたい。

【まとめ】

今回使用した菌株は *blaZ* 遺伝子保有の *Staphylococcus aureus* (MSSA) (臨床分離株) である。

CLSI では、*S. aureus* の PCG の MIC 値が $\leq 0.12 \mu\text{g}/\text{mL}$ または阻止円の直径が $\geq 29\text{mm}$ であった場合、感性と報告する前に β -ラクタマーゼ産生の有無を確認し、陽性の場合には PCG の MIC 値または阻止円の直径が感性域であっても耐性と報告するべきとされている。MSSA の PCG 耐性はペニシリナーゼ産生によるもので、 β -ラクタマーゼ産生確認法としてニトロセフィン法、ゾーンエッジ試験、 β -ラクタマーゼ遺伝子 (*blaZ* 遺伝子) を検出する方法がある。これらの方法のどれか 1 つ以上が陽性となった場合は PCG 耐性と報告する。ゴールドスタンダードは *blaZ* 遺伝子を検出する方法であるが、設備などの理由から日常業務として現実的ではなく、一般的な検査室ではニトロセフィン法、ゾーンエッジ試験が行われている。注意する点として、検査の感度が挙げられる。*S. aureus* においてニトロセフィン法では検出できない場合があり、ニトロセフィン法で陰性の時は、より感度の高いゾーンエッジ試験で確認する必要がある。ゾーンエッジ試験は阻止円の縁を観察して判定するが、陽性 (cliff) は阻止円の縁まで厚ぼったく発育し辺縁に小さな凹凸が認められ、陰性 (beach) は阻止円の辺縁の菌発育と非発

育の境界が不明瞭である。ゾーンエッジ試験は目視判定であり、測定者によってばらつくことがあるため慎重に判定を行う必要がある。

今回、PCGをS(感性)と回答した施設は13施設であった。そのうちニトロセフィン法のみを実施し陰性と判定した施設およびβラクタマーゼ産生の確認試験を実施していない施設が各4施設、ゾーンエッジ試験を実施したが陰性と判定した施設が3施設、ニトロセフィン法またはゾーンエッジ試験で陽性と判定しているが感性と回答している施設が2施設であった。当該施設は、MSSAと同定されPCGの感受性結果を臨床に報告する際、前述したことを注意していただきたい。VCMの薬剤感受性試験をCLSIディスク法で実施している施設があったが、本薬剤は微量液体希釈法で行う必要があるので測定方法の変更を検討していただきたい。

表7 指定抗菌薬別・方法別の回答状況(試料 M2)

検査方法	抗菌薬別回答数(%)			
	PCG	CFX	VCM	LZD
微量液体希釈法	41(91)	39(87)	45(96)	44(98)
E-test			1(2)	
CLSI ディスク法	4(9)	6(13)	1(2)	1(2)
合計	45(100)	45(100)	47(100)	45(100)

表8 方法別/感受性検査機器等の回答状況

測定機器等	回答数	(%)
マイクロスキャン Walk Away	30	64
バイテック 2, 2 XL, 2 コンパクト, 2 ブルー	8	17
フェニックス M50	3	6
ライサス S4	3	6
用手法 KB ディスク	1	2
用手法 E-test	1	2
IA20 MIC Pro	1	2
合計	47	100

表 9 微量液体希釈法(試料 M2)

測定薬剤	MIC 符号	MIC 値 (μg/mL)	判定	機器名称	回答数 (%)	評価
PCG	≦	0.06	R	Walk Away	1(2.4)	A
	=	0.06	R	バイテック 2	1(2.4)	
	≦	0.12	R	フェニックス Walk Away	17(41.5)	
	=	0.12	R	Walk Away IA20 MIC Pro バイテック 2	8(19.5)	
	=	0.25	R	Walk Away	2(4.9)	C
	=	0.06	S	バイテック 2	3(7.3)	
	≦	0.12	S	Walk Away	5(12.2)	
	=	0.12	S	バイテック 2 Walk Away	4(9.8)	
合計					41(100)	
CFX	≦	2	S	フェニックス	3(7.7)	A
	≦	4	S	Walk Away IA20 MIC Pro ライサス 用手法	34(87.1)	
	記載なし	記載なし	S	バイテック 2	1(2.6)	
	≦	4	R	Walk Away	1(2.6)	C
合計					39(100)	
VCM	≦	0.5	S	バイテック 2	1(2.2)	A
	≦	1	S	IA20 MIC Pro Walk Away ライサス	5(10.9)	
	=	1	S	フェニックス バイテック 2 Walk Away ライサス	35(76.0)	
	=	1.5	S	用手法 (Etest)	1(2.2)	
	≦	2	S	Walk Away	1(2.2)	
	=	2	S	Walk Away	3(6.5)	

合計					46(100)	
LZD	≦	1	S	Walk Away	5(11.4)	A
	=	1	S	フェニックス Walk Away ライサス	4(9.1)	
	≦	2	S	バイテック 2 Walk Away	7(15.9)	
	=	2	S	フェニックス IA20 MIC Pro バイテック 2 Walk Away ライサス	27(61.3)	
	=	4	S	Walk Away	1(2.3)	
合計					44(100)	

表 10 ディスク拡散法(試料 M2)

測定薬剤	阻止円径 (mm)	判定	ディスク拡散法: CLSI 標準法	回答数 (%)	評価
PCG	30	R	栄研	1(25)	A
	29	R	BD	1(25)	
	28	R	栄研	1(25)	
	35	S	栄研	1(25)	C
合計				4(100)	
CFX	34	S	BD	1(16.7)	A
	31	S	栄研	1(16.7)	
	28	S	BD	1(16.7)	
	25	S	BD	2(33.3)	
		S	栄研		
24	S	BD	1(16.7)		
合計				6(100)	
VCM	21	S	栄研	1(100)	A
合計				1(100)	
LZD	24	S	栄研	1(100)	A
合計				1(100)	

試料 M3 同定 *Arcanobacterium haemolyticum* 【教育問題】

【評価基準・解析結果】

1. 同定菌名

参加 48 施設における同定菌名の回答状況を表 11 に示した。*Arcanobacterium haemolyticum* の回答を評価 A とし、それ以外の回答は評価 C とした。回答の内訳は *A. haemolyticum* が 44 施設(92%)、*Corynebacterium* sp.が 2 施設(4%)、*Gardnerella vaginalis* が 1 施設(2%)、菌名の未回答(回答不能)が 1 施設(2%)であった。

2. 同定機器/方法別の同定成績

同定機器/方法別の成績を表 12、用手法の内訳を表 13 に示した。用手法が 30 施設(60.4%)と最も多く、バイテック(バイオメリュウ社)が 8 施設(16.7%)、MALDI バイオタイパー(Bruker 社)が 4 施設(8.3%)、バイテック MS (バイオメリュウ社)が 5 施設(10.4%)、クリスタルリーダー(日本 BD 社)が 1 施設(2%)、その他(外注検査)が 1 施設(2%)であった。

【まとめ】

1. 同定結果

今回使用した菌株は、*A. haemolyticum*(臨床分離株)である。*A. haemolyticum* は多形性を示すグラム陽性桿菌で、糖尿病患者の糖尿病性足壊疽や、若年者の咽頭炎からの分離例が多く、稀に血液培養からも分離される。

本菌はグラム染色で多形性または *Corynebacterium* 様の陽性桿菌として観察される。血液寒天培地、チョコレート寒天培地に発育し、炭酸ガス培養で良好な発育を示す。24 時間培養では微小集落、かつほとんど溶血を示さないが、48 時間培養後に血液寒天培地上で直径 1mm 前後の集落を形成し、弱いβ溶血を示す。本菌の性状の特徴として、カタラーゼ試験陰性、β溶血を示す、CAMP 抑制(inhibition)反応陽性が挙げられる。用手法で 2 施設が *Corynebacterium* sp.との回答であったが、形態的に類縁の *Corynebacterium* 属はカタラーゼ試験陽性のため鑑別できる。また、同様に弱いβ溶血を示す *Listeria* 属ともカタラーゼ試験陽性のため、鑑別が可能である。

2) 同定方法、付加コメント

同定方法は、29 施設(60.4%)が用手法、残りの 19 施設(39.5%)が同定機器の使用であった。

9 施設(18.6%)がバイテック MS、MALDI バイオタイパーといった質量分析装置、8 施設がバイテック 2 などの自動分析装置で実施されていた。用手法では同定キットのアピコリネ(バイオメリュウ社)が 14 施設(46.7%)と最も多く、グラム染色やカタラーゼ試験などの従来法での同定が 9 施設(30%)、BD BBL CRYSTAL 同定試薬(日本 BD 社)が 5 施設(17.2%)、RapID CB Plus(アムコ)が 1 施設(2%)であった。

評価 C であった施設はグラム染色での形態観察のみで同定している施設が多くみられた。本菌はグラム染色での形態観察、溶血性、カタラーゼ試験、CAMP 抑制(inhibition)反応試験で同定可能な菌である。同定キットや同定機器を用いずに同定し正解している施設は 7 施設あり、いずれも上記性状のみで同定していた。今回 C 判定であった施設は本菌の生化学的性状を再度確認していただきたい。

表 11 同定菌名の回答状況 (試料 M3)

評価	同定菌名	回答数	(%)	計(%)
A	<i>A. haemolyticum</i>	44	92	44(92)
C	<i>Corynebacterium</i> sp.	2	4	2(4)
	<i>G. vaginalis</i>	1	2	1(2)
	回答なし	1	2	1(2)
計		48	100	48(100)

表 12 同定機器/方法別の回答状況 (試料 M3)

評価	同定菌名	同定機器/方法						
		MALDI/バイオタイパー	バイテック MS	バイテック 2	用手法	クリスタルリーダー	その他(外注検査)	+
A	<i>A. haemolyticum</i>	4	5	8	26	1	1	44
C	<i>Corynebacterium</i> sp.				2			2
	<i>G. vaginalis</i>				1			1
	回答なし				1			1
計		4	5	8	30	1	1	48
正解(評価 A)率(%)		100	100	100	86	100	100	92

表 13 用手法の内訳と回答状況(試料 M3)

評価	同定菌名	アピコリネ	従来法	BD BBL CRYSTAL GP 同定検査試薬	BD BBL CRYSTAL RGP 同定検査試薬	RapID CB Plus	計
A	<i>A. haemolyticum</i>	14	6	3	1	1	25
C	<i>Corynebacterium</i> sp.		2				2
	<i>G. vaginalis</i>				1		1
	回答なし		1				1
計		14	10	3	2	1	29
正解(評価 A)率(%)		100	70	100	50	100	86.2

⑪ フォトサーベイ

設問1: *Bilophila wadsworthia* 【評価対象】

【評価基準・解析結果】

推定微生物の回答成績を表1に示した。*Bilophila wadsworthia*を評価Aとし、それ以外を評価Cとした。

本設問へ回答した52施設中、48施設(92.3%)が*B. wadsworthia*と回答し、良好な成績であった。*Desulfovibrio* sp.と回答した施設は*B. wadsworthia*のBBE寒天培地上でのコロニーの特徴について再度確認していただきたい。

表1 推定微生物名の回答

評価	同定菌名	回答数	(%)	計(%)
A	<i>Bilophila wadsworthia</i>	48	92.3	48(92.3)
C	<i>Desulfovibrio</i> sp.	4	7.7	4(7.7)
合計		52	100	52(100)

【まとめ】

設問1は、8歳男児の膿瘍形成を伴った虫垂炎の症例であった。検体は腹腔鏡下で虫垂切除が施行された際に採取した膿瘍で嫌気培養を開始した5日目にBBE寒天培地上に中心部が黒色の目玉様の特徴的なコロニーを形成するグラム陰性桿菌を認め、オキシダーゼ試験陰性、カタラーゼ試験は強陽性、デスルフォビリジジテスト陽性であることから、*Bilophila wadsworthia*と推定される。

本菌は偏性嫌気性グラム陰性桿菌で壊疽性・穿孔性虫垂炎、腹膜炎、骨髄炎など多彩な感染症例から分離され、主な生化学的性状はオキシダーゼ試験陰性、カタラーゼ試験強陽性、デスルフォビリジジテスト陽性などがあげられる。また、発育が遅く、嫌気培養でコロニー形成まで5~7日ほどの培養期間が必要で、BBE寒天培地で黒色の目玉様のコロニーを示すのが特徴である。

設問2: *Proteus mirabilis* 【評価対象】

【評価基準・解析結果】

推定微生物の回答成績を表2に示した。*Proteus mirabilis*を評価Aとし、それ以外を評価Cとした。

本設問へ回答した総施設は52施設であり、51施設(98.1%)が*P. mirabilis*と回答し、良好な成績であった。*Salmonella* Enteritidisと回答した施設は、コロニー性状、生化学性状を再度確認していただきたい。

表2 推定微生物名の回答

評価	推定微生物名	回答数	(%)	計(%)
A	<i>Proteus mirabilis</i>	51	98.1	51(98.1)
C	<i>Salmonella</i> Enteritidis	1	1.9	1(1.9)
合計		52	100	52(100)

【まとめ】

設問 2 は 60 歳男性の高アンモニア血症を伴う結石性腎盂腎炎、菌血症の症例であった。グラム染色でグラム陰性桿菌が観察され、35°C、24 時間の炭酸ガス培養にてヒツジ血液寒天培地で一面に遊走 (swarming) したコロニーの発育を認めた。また、硫化水素産生、IPA 反応陽性、インドールテスト陰性であることから、*P. mirabilis* が推定される。

P. mirabilis は土壌や汚水、ヒトや動物の糞便など、自然界に広く分布する。ヒトの感染症としては、腎盂腎炎 (特に結石性のことが多い)、褥瘡感染などが知られている。

通性嫌気性のグラム陰性桿菌、腸内細菌目細菌であり、硫化水素産生、IPA 反応陽性、寒天培地上で遊走したコロニーがみられるのが最大の特徴である。腸内細菌目細菌のうち硫化水素産生は *Proteus* 属、*Salmonella* 属、*Citrobacter* 属など、IPA 反応陽性は *Proteus* 属、*Morganella* 属、*Providencia* 属などがある。

ウレアーゼ産生菌は尿素をアンモニアに分解し尿中の pH を上昇させ、尿路結石を生成する。また閉塞性尿路障害を伴った場合、膀胱や腎臓周囲の静脈叢からアンモニアが吸収され、高アンモニア血症を引き起こすこともあるので注意が必要である。ウレアーゼを産生する菌は本菌を含む IPA 産生菌の他、*Klebsiella* 属、*P. aeruginosa*、*Corynebacterium* 属の一部などがあり、それらの細菌による尿路感染に伴う高アンモニア血症も報告されている。

設問 3: *Legionella pneumophila* subsp. *pneumophila* 【評価対象】

【評価基準・解析結果】

推定微生物の回答成績を表 3 に示した。*Legionella pneumophila* subsp. *pneumophila* を評価 A とし、それ以外を評価 B とした。

本設問へ回答した 52 施設中、46 施設 (88.5%) が *L. pneumophila* subsp. *pneumophila* と回答した。*Legionella* sp. と回答した施設は、生化学的性状および結果の解釈について確認していただきたい。

表 3 推定微生物名の回答

評価	推定微生物名	回答数	(%)	計 (%)
A	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>pneumophila</i>	46	88.5	46 (88.5)
B	<i>Legionella</i> sp.	6	11.5	6 (11.5)
合計		52	100	52 (100)

【まとめ】

設問 3 は、70 歳代男性の *Legionella pneumophila* subsp. *pneumophila* によるレジオネラ肺炎の症例であった。患者背景より肺炎を疑うも、グラム染色では推定原因菌が認められず、Giménez 染色にて細胞内に赤色の桿菌が観察されたことより、*Legionella* 属が推定される。

Legionella 属は自然環境、空調、温泉の水および土壌などに生息するグラム陰性桿菌であり、高齢者や新生児、大酒家、喫煙者、透析患者など免疫機能が低下している人においては感染リスクが高いとされている。潜伏期間は 2~10 日で、全身倦怠感、頭痛、食欲不振、筋肉痛などの症状に始まり、高熱、寒気、呼吸困難が見られるようになる。*Legionella* 属は 50 種類以上の菌種があり、さらに 70 以上の血清型があるが、レジオネラ肺炎

の原因菌としては *L. pneumophila* subsp. *pneumophila* が最も多く全体の 80～90%を占めている。

検体からのグラム染色では染色されにくく、本菌による感染症を疑う場合には Giménez 染色などの特殊染色が必要であること、また通常の培地には発育せず、BCYE- α 寒天培地や、選択培地(GVPC、WYO、MWY、BMPA)を用いて 3～7 日間培養が必要であることが特徴として挙げられる。

本症例の分離培養検査にて、ヒツジ血液寒天培地およびチョコレート寒天培地では発育が認められなかったが、35°C、湿潤環境下で培養した GVPC 寒天培地にて、培養 4 日目に青みがかった白色コロニーの発育を認めた。発育したそのコロニーをレジオネラ鑑別用の分画培地に釣菌したところ、L-システイン含有培地にのみ菌の発育を認めたことによりシステイン要求性があることがわかる。コロニーの生化学的性状はカタラーゼ試験陽性、ウレアーゼ試験陰性、運動性陽性、馬尿酸加水分解試験陽性であった。よって、ヒトに病原性を示す *Legionella* 属の中で馬尿酸加水分解試験陽性となる菌種は本菌に限局できるため、*L. pneumophila* subsp. *pneumophila* が推定される。

なお、*Legionella* 属菌によるレジオネラ症と診断された場合には、感染症法で四類感染症に分類されており、全数把握疾患となるため、ただちに保健所への届け出が必要になる。

【総評】

同定検査に関して、試料 M1、M2 は全ての施設が正解、試料 M3 についても 90%を超える正解率であり、極めて良好な結果であった。フォトサーベイに関して各設問、概ね良好な結果であった。

薬剤感受性検査に関しては、兵庫県下の施設で、*S. aureus* の PCG の結果を、正しく報告できているかを確認する目的で出題した。上記の解析結果から約 7 割の施設が正しく報告できていることが明らかになった。一方、約 3 割の施設が S(感性)との報告であり、very major error となる報告であった。ペニシリンを治療薬の一つとして有効に活用できるかどうかを正確に判断し、臨床現場に適切な抗菌薬選択の情報を提供することは重要であると考えられる。PCG を S(感性)と報告した施設においては『試料 M2 薬剤感受性検査【まとめ】』を参考に、実施可能な検査法を用いて、 β -ラクタマーゼ産生の有無を確認していただきたい。

同定検査、感受性検査およびフォトサーベイのいずれかで不正解となった施設においては、正確な菌種同定および薬剤感受性結果を評価し判定できる検査体制の構築を目指していただきたい。

文責：姫路赤十字病院 大石 博一

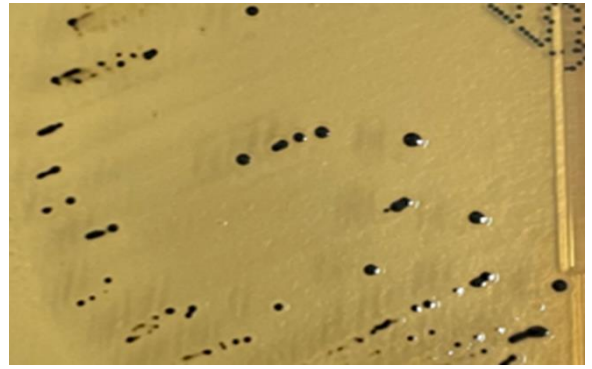
微生物検査 【 M4 】フォトサーベイ

【設問 1】



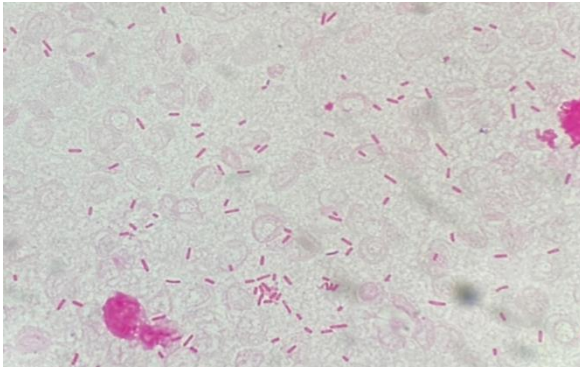
(フォト1-A アネロクロンビア RS 寒天培地)

【設問 1】



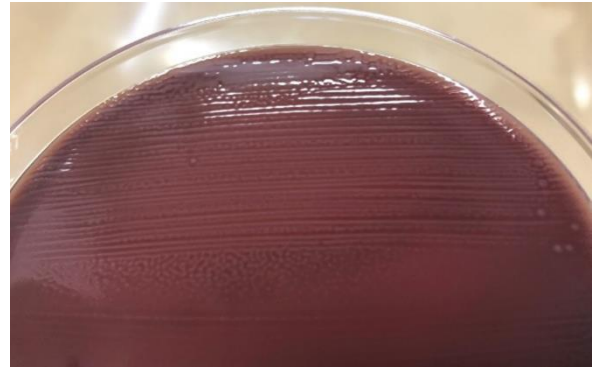
(フォト1-B BBE 寒天培地)

【設問 2】



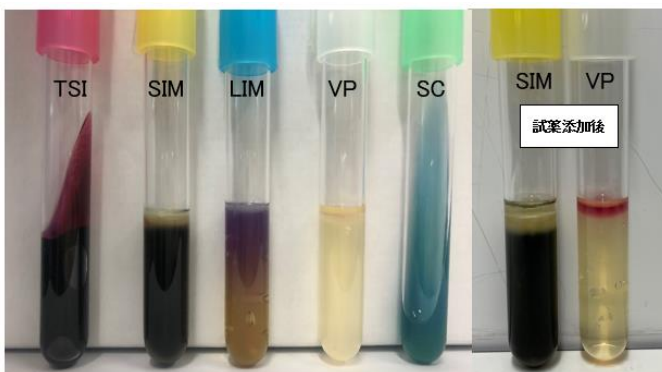
(フォト 2-A グラム染色 X1000)

【設問 2】



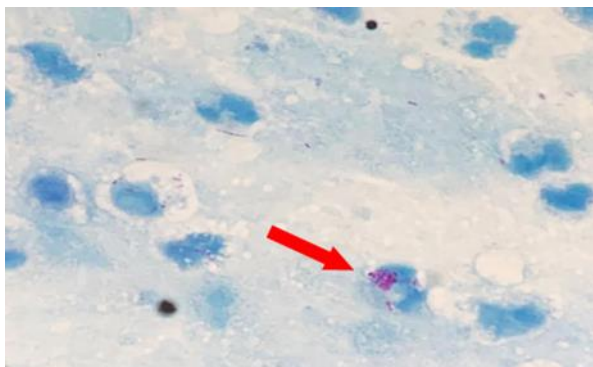
(フォト 2-B ヒツジ血液寒天培地)

【設問 2】



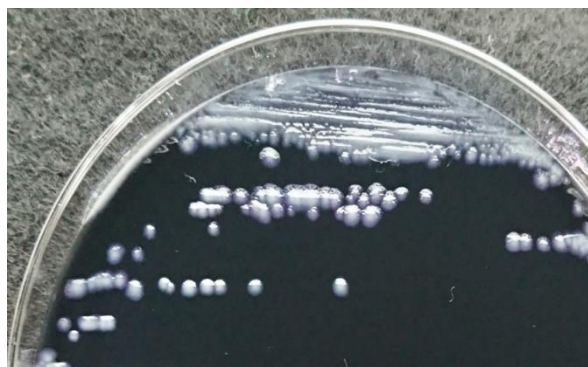
(フォト 2-C 試験管培地)

【設問 3】



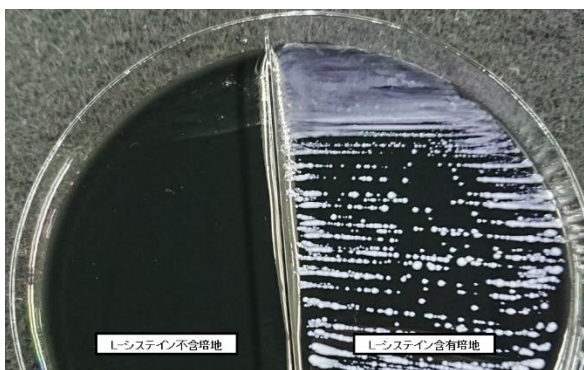
(フォト3-A Giménez 染色 X1000)

【設問 3】



(フォト3-B GVPc 寒天培地)

【設問 3】



(フォト 3-C 本菌鑑別培地)