

# 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、日常的に検出される腸内細菌目細菌、時に重篤な感染症を引き起こす溶血性レンサ球菌、栄養要求性が高く一般的な羊血液寒天培地に発育しないグラム陽性レンサ球菌を同定の試料とした。また薬剤感受性検査では、結果から適切な追加試験を実施し、正確な判定が行えるかを確認する目的で出題した。

### 【試料】

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。それぞれの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:50 施設(設問ごとに有効回答数は異なる)

### 【解析方法】

正解を評価 A, 許容正解を評価 B, 誤りを評価 C もしくは不正解と設定し、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 *Serratia marcescens* 【評価対象】

### 【評価基準・解析結果】

#### 1. 同定菌名

参加 49 施設における同定菌名の回答状況を表 1 に示した。*Serratia marcescens* 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 (98%) が *S. marcescens*、1 施設 (2%) が *Pseudomonas aeruginosa* 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。自動分析装置での同定はマイクロスキャン Walk Away (ベックマン・コールター社) が 24 施設 (49%) と最も多く、次いで、バイテック 2 (バイオメリュース社) が 7 施設 (14%)、BD フェニックス M50 (日本 BD 社) が 3 施設 (6%)、ライサス S4 (島津ダイアグノスティクス社) が 2 施設 (4%)。質量分析装置での同定はバイテック MS (バイオメリュース社) が 5 施設 (10%)、MALDI バイオタイパー (Bruker 社) が 6 施設 (12%)。用手法は 2 施設 (4%) であった。

### 【まとめ】

#### 1. 同定結果

今回使用した菌株は *S. marcescens* (臨床分離株) である。

*S. marcescens* は環境中に広く分布するグラム陰性桿菌で、腸内細菌目に属する弱毒菌である。病院内では湿潤環境からしばしば分離されるが、通常は感染の原因とはならない。日和見感染症に関連する主要な菌種であり、尿路感染症、呼吸器感染症、術後創部感染症、血管カテーテル感染症、髄膜炎などを引き起こす。院内では、ヒトを介した伝播だけでなく、汚染された環境からのアウトブレイクの事例も報告されているため、正確な菌種同定は重要である。

本菌はグラム染色で小さなグラム陰性桿菌として観察される。生化学的性状については、一般的に乳糖非分解、白糖分解であり、オキシダーゼ試験陰性、VP 反応陽性、IPA 反応陰性、硫化水素産生性陰性、リジン脱炭酸反応陽性、DNase テスト陽性である。

49 施設中、評価 A であったのは 48 施設 (98%) であり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、36 施設 (73%) が各種自動分析装置、11 施設 (22%) が質量分析装置、2 施設 (4%) が用手法であった。自動同定機器を用いた施設においても、多くの施設でグラム染色やオキシダーゼ試験などの従来法を実施し、機器による同定のみではなく、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。*P. aeruginosa* と回答した 1 施設は用手法で同定していたが、オキシダーゼ試験など生化学的性状の検査手順を再度確認していただきたい。

また、付加コメントでは、半数以上の施設が起炎性の可能性を指摘していた。本菌が、特定の病室や病棟において、複数の患者の臨床材料からの分離率が急増した場合は、速やかに院内感染対策を実施する必要がある。

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>Serratia marcescens</i>	48	98	48(98)
C	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	2	1(2)
合計		49	100	49(100)

表 2 同定機器/方法別の回答状況（試料 M1）

評価	同定菌名	マイクロスキヤン Walk Away	バイテック 2	BD フェニックス M50	ライサス S4	MALDI バイオタイパー/sirius/sirius one	バイテック MS / PRIME	用手法	合計
A	<i>Serratia marcescens</i>	24	7	3	2	6	5	1	48
C	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	1	1
合計		24	7	3	2	6	5	2	49
正解(評価 A)率(%)		100	100	100	100	100	100	50	98

表 3 用手法の内訳と回答状況（試料 M1）

評価	同定菌名	その他のバイオメリュー・ジャー・ジャパン製品	従来法による同定 (試験管確認培地等を使用)	合計
A	<i>Serratia marcescens</i>	1	0	1
C	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	1	1
合計		1	1	2
正解(評価 A)率(%)		100	0	50

## 試料 M2 同定 *Streptococcus agalactiae* 【評価対象】

### 【評価基準・解析結果】

#### 1. 同定菌名

参加 49 施設における同定菌名の回答状況を表 4 に示した。*Streptococcus agalactiae* 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。49 施設(100%)全てが *S. agalactiae* の回答であった。

#### 2. 同定機器/方法別の同定成績

同定機器/方法別の同定成績と用手法の内訳を表 5、6 に示した。自動分析装置での同定はマイクロスカン Walk Away(ベックマン・コールター社)が 12 施設(24.5%)と最も多く、次いでバイテック 2(バイオメリュース社)が 7 施設(14.3%)、BD フェニックス M50(日本 BD 社)が 3 施設(6.1%)、ライサス S4(島津ダイアグノスティクス社)が 1 施設(2.0%)。質量分析装置での同定は MALDI バイオタイパー(Bruker 社)が 6 施設(12.2%)、バイテック MS(バイオメリュース社)が 5 施設(10.2%)。用手法が 15 施設(30.6%)であった。

### 【まとめ】

#### 1. 同定結果

今回使用した菌株は *S. agalactiae*(臨床分離株)である。

*S. agalactiae* は連鎖状の形態を示す通性嫌気性グラム陽性球菌であり、Lancefield 分類により B 群に分類される溶血性レンサ球菌である。ヒトの腸管や女性の生殖器に常在する。新生児における敗血症や髄膜炎の主な原因菌であるが、高齢者や、糖尿病などの基礎疾患を有する成人においても侵襲性感染症を引き起こすことが知られている。

微生物学的検査では、ヒツジ血液寒天培地上で  $\beta$  溶血を示す集落を形成し(稀に非溶血性を示す株も認められる)、カタラーゼ試験陰性、Lancefield 分類 B 群抗原保有、馬尿酸塩加水分解試験陽性、CAMP 試験陽性などの性状より *S. agalactiae* と同定できる。

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、附加コメント

同定方法は、23 施設(46.9%)が各種自動分析装置、11 施設(22.5%)が質量分析装置、15 施設(30.6%)が用手法であり、いずれの方法でも正確に同定されていた。また、自動同定機器を用いた施設においても、多くの施設でグラム染色およびカタラーゼ試験が実施されており、同定機器による結果の確認も適切に実施されていた。

今回、多くの施設が起炎菌の可能性あることを指摘していた。*S. agalactiae* が通常無菌的な材料より分離された場合、臨床症状によっては、劇症型溶血性レンサ球菌感染症(5 類感染症、全数把握)として届け出が必要になることにも留意する必要がある。

表 4 同定菌名の回答状況(試料 M2)

	同定菌名	回答数	(%)	計(%)
A	<i>Streptococcus agalactiae</i>	49	100	49(100)
合計		49	100	49(100)

表 5 同定機器/方法別の回答状況(試料 M2)

評価	同定菌名	マイクロスキャン Walk Away	バイテック 2	BD フェニックス M50	ライサス S4	バイテック MS/PRI ME	MALDI バイオタイパー /sirius/sirius one	用手法	合計
A	<i>Streptococcus agalactiae</i>	12	7	3	1	5	6	15	49
合計		12	7	3	1	5	6	15	49
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	同定・鑑別用試薬 プロレックス「イワキ」レンサ球菌	その他のピオメリュー・ジャパン製品	同定・鑑別用試薬/培地 セロアイデン ストレプトキット	同定・鑑別用試薬/培地 ストレプト LA	その他の同定キット	合計
A	<i>Streptococcus agalactiae</i>	5	5	3	1	1	15
合計		5	5	3	1	1	15
正解(評価 A)率(%)		100	100	100	100	100	100

## 試料 M2 薬剤感受性検査 *Streptococcus agalactiae* 【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 48 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、Erythromycin (EM) は 48 施設、Benzylpenicillin (PCG)、Vancomycin (VCM) は 47 施設、Clindamycin (CLDM) は 46 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 48 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 22 施設 (46%) 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%)、用手法 (微量液体希釈法 5 施設、ディスク拡散法 3 施設) が 8 施設 (17%)、フェニックス M50 (日本 BD 社) が 5 施設 (10%)、ライサス S4 (島津ダイアグノスティクス社) が 4 施設 (8%)、IA20 MIC Pro (栄研化学) が 1 施設 (2%) であった。

#### 3. 感受性成績

参加 48 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、臨床材料から分離された CLDM 誘導耐性株の *S. agalactiae* であった。この菌株について正確に感受性試験およびカテゴリー判定を行え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、VCM が S (感性)、EM、CLDM が R (耐性) 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、VCM が 100%、EM が 98%、CLDM が 88% であった。また、CLSI ディスク法での正解率は PCG、EM、VCM が 100%、CLDM が 66.6% であった。

### 【まとめ】

今回使用した菌株は、CLDM 誘導耐性株の *S. agalactiae* (臨床分離株) である。

薬剤感受性試験の結果、CLDM の MIC 値が感性域であるにもかかわらず、CLDM による治療が失敗する事例がある。これは、CLDM 誘導耐性株によるもので、CLDM 治療中に耐性遺伝子 (*erm* 遺伝子) が突然変異してリボゾームをメチル化し、CLDM に耐性化するためである。

CLDM 誘導耐性株は、*erm* 遺伝子を保有しているにもかかわらず、CLDM 単独で薬剤感受性試験を実施すると S (感性) と判定される特徴がある。そのため、CLSI では  $\beta$  溶血性 *Streptococcus* spp.、*Streptococcus pneumoniae*、*Staphylococcus* spp. に関して EM が R (耐性) で CLDM が I (中間) または S (感性) を示した場合、D-zone test を用いたディスク拡散法または微量液体希釈法による CLDM 誘導耐性の有無を確認すべきとしている。確認試験が陽性の場合、CLDM の結果は R (耐性) で報告する必要がある。また、D-zone test の EM と CLDM のディスク間の距離、微量液体希釈法の EM の抗菌薬濃度に関して、被検菌によって条件が異なる点に注意する必要がある。

使用する機器・試薬によっては感受性検査と同時に CLDM 誘導耐性を検出することが可能であるが、今回、

33 施設が感受性結果に応じて CLDM 誘導耐性試験を追加で実施していた。そのうち D-zone test を実施した施設が 26 施設と最も多く、微量液体希釈法が 3 施設、検査法不明が 4 施設であった。微量液体希釈法を用いた施設に関して、抗菌薬の濃度が *Staphylococcus* spp.の条件で実施している施設が散見された。 $\beta$  溶血性 *Streptococcus* spp.で推奨される方法と異なり、正確な測定結果が得られない可能性があるため、当該施設は検査方法を見直す必要がある。

今回、CLDM を S(感性)と回答した施設は 6 施設であった。そのうち EM が R(耐性)で CLDM が S(感性)と判定し CLDM 誘導耐性の確認試験を実施していない施設が 4 施設、EM が S(感性)と判定されたため CLDM 誘導耐性の確認試験が実施されなかった施設が 1 施設、微量液体希釈法で確認試験を実施したが陰性と判定されたのが 1 施設であった。CLDM 誘導耐性を検出するには確認試験を実施する必要があるため、試験が実施できる検査体制を構築していただく必要がある。EM を S(感性)と判定した施設は、感受性検査の実施方法や手技など原因をしっかりと確認していただきたい。微量液体希釈法で確認試験を実施した施設は、抗菌薬の濃度が *Staphylococcus* spp.の条件で実施していたが、確認試験は被検菌によって適切な方法で実施していただきたい。

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	EM	CLDM	VCM
微量液体希釈法	45(96)	45(94)	43(93)	44(94)
ディスク拡散法	1(2)	3(6)	3(7)	3(6)
E-test	1(2)			
合計	47(100)	48(100)	46(100)	47(100)

表 8 方法別/感受性検査機器等の回答状況(試料 M2)

測定機器等	回答数		%
マイクロスキャン Walk Away	22	22	46
バイテック 2 ブルー	6	8	17
バイテック 2 コンパクト	2		
用手法 微量液体希釈法	5	8	17
用手法 ディスク拡散法	3		
フェニックス M50	5	5	10
ライサス S4	4	4	8
IA20 MIC Pro	1	1	2
合計	48		100



表 9 微量液体希釈法(試料 M2)

測定薬剤	MIC 符号	MIC 値 ( $\mu\text{g/mL}$ )	判定	機器名称	回答数 (%)	評価
PCG	$\leq$	0.03	S	Walk Away 用手法(微量液体希釈法)	14(30.4)	A
	=	0.03	S	用手法(E-test)	1(2.2)	
	$\leq$	0.06	S	フェニックス バイテック 2 ライサス IA20 MIC Pro 用手法(微量液体希釈法)	17(37.0)	
	=	0.06	S	Walk Away 用手法(微量液体希釈法)	7(15.2)	
	$\leq$	0.12	S	Walk Away バイテック 2	7(15.2)	
合計					46(100)	
EM	>	0.5	R	フェニックス	4(9)	A
	>	1	R	ライサス IA20 MIC Pro	4(9)	
	$\geq$	2	R	用手法(微量液体希釈法)	1(2)	
	>	2	R	Walk Away 用手法(微量液体希釈法)	23(51)	
	>	4	R	Walk Away ライサス	4(9)	
	$\geq$	8	R	バイテック 2	8(18)	
	=	0.25	S	フェニックス	1(2)	
						C
合計					45(100)	
CLDM	$\leq$	0.03	R	フェニックス	3(7)	A
	$\leq$	0.06	R	用手法(微量液体希釈法)	1(2)	
	$\leq$	0.12	R	Walk Away 用手法(微量液体希釈法)	19(44)	
	$\leq$	0.25	R	バイテック 2 ライサス IA20 MIC Pro	12(28)	

				用手法(微量液体希釈法)		
	≦	0.5	R	Walk Away	3(7)	
	≦	0.03	S	フェニックス	1(2)	C
	≦	0.12	S	Walk Away	2(5)	
	≦	0.25	S	バイテック 2 用手法(微量液体希釈法)	2(5)	
合計					43(100)	
VCM	≦	0.5	S	Walk Away バイテック 2 IA20 MIC Pro	5(11.4)	A
	=	0.5	S	Walk Away バイテック 2 フェニックス ライサス 用手法(微量液体希釈法)	38(86.3)	
	≦	1	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	25	S	栄研	1(100)	A
合計				1(100)	
EM	6	R	栄研	1(33.3)	A
	8	R	栄研	1(33.3)	
	9	R	栄研	1(33.3)	
合計				3(100)	
CLDM	20	R	栄研	2(66.6)	A
			BD		
	21	S	栄研	1(33.3)	C
合計				3(100)	
VCM	17	S	栄研	2(66.6)	A
	18	S	BD	1(33.3)	
合計				3(100)	

## 試料 M3 同定 *Granulicatella adiacens* 【教育問題】【評価対象外】

### 【解析結果】

#### 1. 同定菌名

サーベイ参加 47 施設における同定菌名の回答状況を表 11 に示した。*Granulicatella adiacens*、Nutritionally variant streptococci(NVS)の回答を正解とし、それ以外の回答を不正解とした。回答の内訳は、*G. adiacens* が 36 施設(76.5%)、Nutritionally variant streptococci(NVS)が 5 施設(10.6%)、 $\alpha$ -streptococcus が 2 施設(4.3%)、*Gemella* sp.が 2 施設(4.3%)、その他が 2 施設(4.3%)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 21 施設(44.7%)と最も多く、MALDI バイオタイパー(Bruker 社)が 8 施設(17.0%)、マイクロスキャン Walk Away(ベックマン・コールター社)が 3 施設(6.4%)、バイテック MS(ビオメリュー社)が 5 施設(10.6%)、バイテック 2(ビオメリュー社)が 7 施設(14.9%)、BD フェニックス M50 全自動同定感受性システムが 1 施設(2.1%)、ライサス S4 が 1 施設(2.1%)、その他の微生物検査装置が 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 *G. adiacens*(臨床分離株)である。*G. adiacens* は Nutritionally variant streptococci(NVS)に分類されており、ヒトの口腔内や腸管内の常在菌として知られている一方で、感染性心内膜炎や敗血症の起因菌として多数報告がある。

NVS はグラム染色でグラム陽性連鎖球菌やグラム不定球桿菌の形態を示すことがある。グラム染色でそのような形態が観察されており、一般的な微生物検査室で使用されている血液寒天培地に発育せず、チョコレート寒天培地やブルセラ HK 寒天培地に発育した場合は NVS を念頭に置く必要がある。一般的な血液寒天培地に発育しない性状を利用した確認方法に衛星現象があり、菌株を培地に塗り広げた後に *Staphylococcus aureus* を画線塗抹し、炭酸ガス培養を行い、*S. aureus* の周囲にのみコロニーが形成されることを確認する。NVS と類縁菌の鑑別性状としてカタラーゼ陰性、PYR 陽性、LAP 陽性、6.5%NaCl 環境下で発育しないことが鑑別ポイントとなる。本菌と他の NVS を鑑別するには  $\beta$ -グルクロニダーゼ陽性を確認する必要がある。47 施設中 41 施設(87.2%)が正解であった。本菌の菌種同定には 16S rRNA 遺伝子配列解析、MALDI バイオタイパーが有用であるが、患者背景、グラム染色像、生化学的性状などを理解しておくことで NVS までの同定は可能である。

#### 2. 同定方法、付加コメント

同定方法は 21 施設(44.7%)が用手法、13 施設(27.7%)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、12 施設(25.5%)がマイクロスキャン Walk Away、バイテック 2、BD フェニックス M50 全自動同定感受性システム、ライサス S4 などの各種自動分析装置、1 施設(2.1%)がその他の微生物検査装置で実施されていた。用手法ではビオメリュー・ジャパン社製が 15 施設(71.4%)、極東製薬製が 1 施設(4.8%)、その他の同定キットが 1 施設(4.8%)、従来法による同定が 2 施設(9.5%)、同定・鑑別用試薬/培地オプトヒ

ンが1施設(4.8%)であった。

患者背景、グラム染色像、培地の種類によるコロニーの発育有無、衛星現象により NVS を推定することは可能であるため、そのような特徴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(%)
正解	<i>Granulicatella adiacens</i>	36	76.5	36(76.5)
	Nutritionally variant streptococci(NVS)	5	10.6	5(10.6)
不正解	$\alpha$ -streptococcus	2	4.3	2(4.3)
	<i>Gemella</i> sp.	2	4.3	2(4.3)
	その他	2	4.3	2(4.3)
合計		47	100	45(100)

表 12 同定機器/方法別の回答状況（試料 M3）

評価	同定菌名	MALDI バイオタイパー/sirius/sirius one	バイテック MS	バイテック MS PRIME	マイクロスキャン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM 1096	バイテック 2 コンパクト	バイテック 2 ブルー	バイテック 2 XL ブルー	バイテック 2, 2 XL	BD フェニックス M50 全自動同定感受性システム	ライサス S4	その他の微生物検査装置	用手法	合計
正解	<i>G. adiacens</i>	8	3	2	0	2	2	1	1	0	0	1	16	36
	Nutritionally variant streptococci(NVS)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	5
不正解	$\alpha$ -streptococcus	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2
	<i>Gemella</i> sp.	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2
	その他	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
合計		8	3	2	3	3	2	1	1	1	1	1	21	47
正解率(%)		100	100	100	33.3	66.7	100	100	100	0	0	100	95.2	87.2

表 13 用手法の内訳と回答状況(試料 M3)

評価	同定菌名	その他のピオメリユー・ジャー・ジャパン製品	極東製薬 同定キット Rap ID STR	その他の同定キット	従来法による同定 (試験管確認培地等を使用)	同定・鑑別用試薬/培地オプトヒン	未記載	合計
正解	<i>G. adiacens</i>	15	1	0	0	0	0	16
	Nutritionally variant streptococci (NVS)	0	0	1	2	0	1	4
不正解	<i><math>\alpha</math>-streptococcus</i>	0	0	0	0	1	0	1
	<i>Gemella</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0
合計		15	1	1	2	1	1	21
正解率(%)		100	100	100	100	0	100	95.2

## ⑪微生物塗抹鏡検(フォトサーベイ)

### 【はじめに】

フォトサーベイは、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した。

感染性腸炎を起こし、硫化水素を産生する通性嫌気性グラム陰性桿菌、らせん形態が特徴的なグラム陰性菌、掻痒を伴う皮膚真菌症の原因真菌を設問とした。

### 【資料】

設問 1、2、3 について菌種同定のポイントとなる、設問での患者背景に加え、染色所見、培地の発育状況および確認試験による生化学性状などを資料として提示した。それぞれの菌種については各設問の解析文面を参照頂きたい。

### 【参加施設数】

フォトサーベイ:56 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 もしくは不正解と設定し、設問ごとに解析を実施した。

### 【評価基準、解析結果、まとめ】

各設問の解析文面を参照

## 設問1: *Salmonella* sp., *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium 【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。*Salmonella* sp.、*Salmonella* Enteritidis、*Salmonella* Typhimurium 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 56 施設中、40 施設(71.4%)が *Salmonella* sp.、16 施設(28.6%)が *Salmonella* Enteritidis と回答し、良好な成績であった。

表1 推定微生物名の回答

評価	同定菌名	回答数	(%)	計(%)
A	<i>Salmonella</i> sp.	40	71.4	40(71.4)
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	16	28.6	16(28.6)
合計		56	100	56(100)

### 【まとめ】

設問1は、40 歳代男性の感染性腸炎の症例であった。

検体材料は糞便で、SS 寒天培地にコロニー中心部が黒色の硫化水素産生を伴う透明なコロニーが発育した。試験管培地の判定結果から TSI 培地は(－)／(＋)、硫化水素(＋)、IPA(－)、インドール(－)、VP(－)、運動性(＋)、リジン脱炭酸(＋)、シモンズクエン酸塩(＋)の生化学的性状が確認でき、*Salmonella* sp. と推定できる。

また、*Salmonella* 属は O(菌体)抗原、H(鞭毛)抗原および Vi(莢膜様)抗原によって各種の血清型に型別され、本邦に多い血清型は *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium である。

本菌は主に鶏などの動物の腸管内に存在し、腸内細菌目細菌に属する通性嫌気性グラム陰性桿菌である。鶏卵や十分に消毒されていない豚や鶏の調理、ペット(ミドリガメや鳥類、爬虫類など)が感染源となる。感染性腸炎の典型的臨床像である発熱や腹痛、嘔吐、下痢が生じる。まれな感染事例では、菌血症から骨髓炎や膿瘍、感染性動脈瘤などの合併症を呈することがあるため、注意が必要である。

本菌の特徴の一つとして硫化水素産生が挙げられ、同様の特徴を持つ腸内細菌目細菌には *Proteus* sp. や *Citrobacter freundii*, *Edwardsiella tarda* 等があるが、IPA、インドール、リジン脱炭酸、シモンズクエン酸塩の生化学的性状の違いで鑑別が可能である。

## 設問 2: *Campylobacter fetus* 【評価対象】

### 【評価基準・解析結果】

推定微生物名の回答成績を表 2 に示した。*Campylobacter fetus* 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 56 施設中、55 施設 (98.2%) が *C. fetus* と回答し、良好な成績であった。

*Helicobacter pylori* と回答した施設は、それぞれの菌種が起こす病態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>Campylobacter fetus</i>	55	98.2	55(98.2)
C	<i>Helicobacter pylori</i>	1	1.8	1(1.8)
合計		56	100	56(100)

### 【まとめ】

設問 2 は、牛レバーの喫食歴がある 70 歳代男性の敗血症の症例であった。検体は血液培養で、グラム染色ではグラム陰性のらせん状桿菌が観察された。スキロー培地にて実施した微好気培養のサブカルチャー (25℃・37℃・42℃) では、25℃と 37℃に発育し、42℃には発育を認めなかった。生化学的性状は、カタラーゼ(+)、馬尿酸塩加水分解試験 (-)、酢酸インドキシル加水分解試験(-)、ナリジクス酸 (耐性)、セファロシン (感性)であり、*C. fetus* が推測される。

*C. fetus* は、妊婦や基礎疾患のある高齢者等の易感染性宿主に感染性大動脈瘤、敗血症、髄膜炎、蜂窩織炎、関節炎等の多彩な感染症を引き起こすことで知られている。本菌はウシ、ブタ、ニワトリ等が保菌しており、これらの動物の糞便に汚染された飲食物を摂取することにより感染する。今回の設問では、本菌に典型的な生化学的性状が見られたが、近年では 42℃で発育する株や本設問のように炭酸ガス下でも発育する株が多くみられる。そのため、同定には菌株の性状だけでなく患者背景を含めた総合的な判断が求められる。正確な同定は遺伝子学的な検査を行うのが望ましい。また、血液培養でらせん菌が見られた際に本菌と鑑別が必要になる *Helicobacter cinaedi* は、培養ボトルの陽性までの時間 (*C. fetus*: 2～3 日、*H. cinaedi*: 4～5 日)、コロニーの見た目 (*H. cinaedi* はフィルム状コロニー) 等で推定することが可能である。

1 件回答のあった *H. pylori* は、らせん菌ではあるが一般的に慢性胃炎の原因菌であり、敗血症を起こすことは稀である。



### 設問 3: *Trichophyton rubrum*【評価対象】

#### 【評価基準・解析結果】

推定微生物名の回答成績を表 3 に示した。*Trichophyton rubrum*、*Trichophyton sp.*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 56 施設中、54 施設 (98.2%) が *Trichophyton rubrum*、2 施設 (1.8%) が *Trichophyton sp.*と全施設が正答しており、極めて良好な成績であった。

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>Trichophyton rubrum</i>	54	96.4	54 (96.4)
	<i>Trichophyton sp.</i>	2	3.6	2 (3.6)
合計		56	100	56 (100)

#### 【まとめ】

設問 3 は、70 歳代男性の皮膚糸状菌症の症例であった。

提出された擦過検体を、サブローデキストロース寒天培地を用いて 25℃、10 日間培養したところ、白色で綿毛状のコロニーを形成した。また、コロニーの裏面は深紅色を示した。スライドカルチャーでは、菌糸に沿って棍棒型の小分生子が1個ずつ形成されていることから、*Trichophyton rubrum* と推定される。

*T. rubrum* は白癬の原因菌として最も分離頻度が高く、毛髪や陰股部、指間、爪など多くの場所に感染し得る。感染部位によって臨床像は様々であるが、本菌による股部白癬は男性に多く、環状紅斑を形成し、強いそう痒を伴うことが特徴である。

白癬の原因菌は他に、*Microsporum canis*、*Microsporum gypseum*、*Trichophyton mentagrophytes*、*Trichophyton tonsurans*、*Epidermophyton floccosum* などがある。*Microsporum* 属は小分生子の形成が比較的少なく、大分生子を豊富に形成し、*Epidermophyton* 属は小分生子の形成がほとんどなく、大分生子を豊富に形成する。これらの特徴は、小分生子を豊富に形成し、大分生子の形成が乏しい *Trichophyton* 属と異なっている。

また、上に示した *Trichophyton* 属の 3 菌種は小分生子の形状により鑑別ができる。*T. rubrum* の小分生子は棍棒形～洋梨形で、菌糸に沿って単独性に形成される。一方、*T. mentagrophytes* は球形～亜球形で、菌糸に沿って単独性または分生子柄上に集簇性に形成され、*T. tonsurans* は卵円形～洋梨型で、主として菌糸に沿って形成されるが、マッチ棒状の分生子柄上に肥大した形状で形成されることもある(バルーンフォーム)。

*T. rubrum* は深紅色の色素を産生するため、鑑別の一助となる。サブローデキストロース培地で培養した場合、株によっては早期に色素産生が見られる場合もあるが、色素産生に 4 週間を要する、もしくは色素産生が見られないとの報告もある。ポテトデキストロース培地、コーンミール・デキストロース培地で培養すると、色素産生の確認が行いやすくなる。

## 【総評】

同定検査に関して、評価対象である試料 M1 および M2 の正解率はそれぞれ 98%、100%であり、極めて良好な結果であった。教育問題(評価対象外)である試料 M3 の *G. adiacens* は、質量分析装置や一部の機種を除き、自動分析装置での同定が困難な菌種であるが、薬剤感受性試験にピリドキサル塩酸塩が必要となることから、*Streptococcus* spp.とは区別して報告したい菌種である。Nutritionally variant streptococci (NVS) の回答を含めると、約 87%が正解しており、概ね良好な結果であった。

薬剤感受性検査に関しては、CLDM の正解率が他の薬剤に比べてやや低い結果となったが、これは誘導耐性を適切に検出できたかどうか依るところが大きい。*S. agalactiae*を含む溶血性レンサ球菌感染症にはペニシリン系抗菌薬が第一選択薬として用いられることが多いが、 $\beta$ ラクタム系抗菌薬に対するアレルギーのある患者等では CLDM が選択肢となることから、very major error とならないよう注意を要する薬剤である。

フォトサーベイでは用手法あるいは形態学的な検査が重要となる菌種を取り上げたが、多くの施設が各設問の意図を理解し、極めて良好な結果であった。

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評価 B、評価 C、および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:兵庫県立がんセンター 寺前 正純

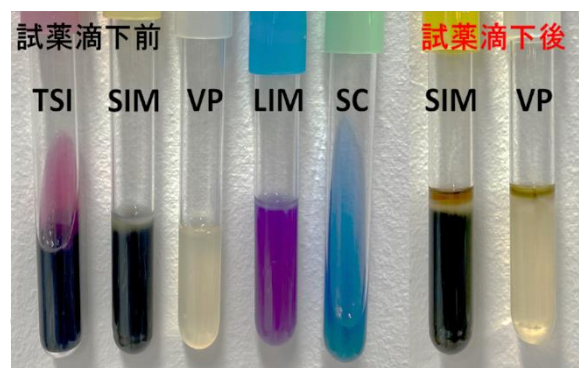
## 微生物検査 【 M4 】フォトサーベイ

### 【設問 1】



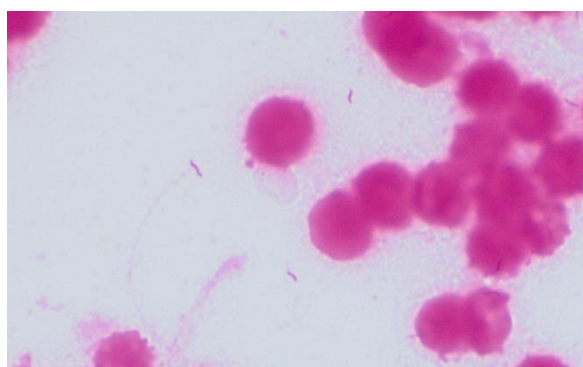
(フォト1-A SS 寒天培地)

### 【設問 1】



(フォト1-B 試験管培地)

### 【設問 2】



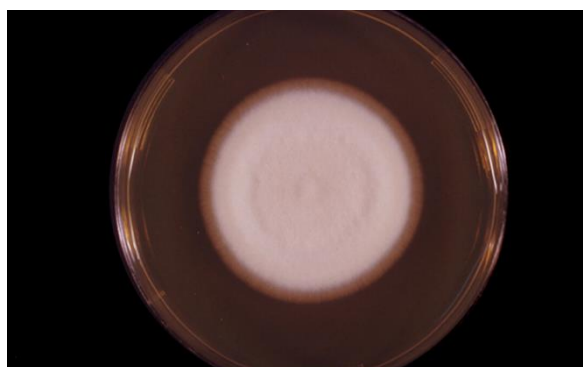
(フォト2-A グラム染色 ×1,000)

### 【設問 2】



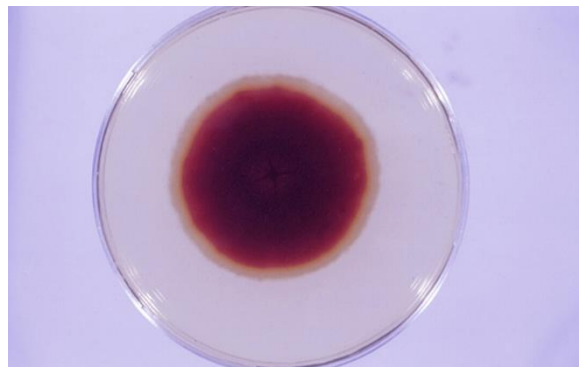
(フォト2-B ヒツジ血液寒天培地)

### 【設問 3】



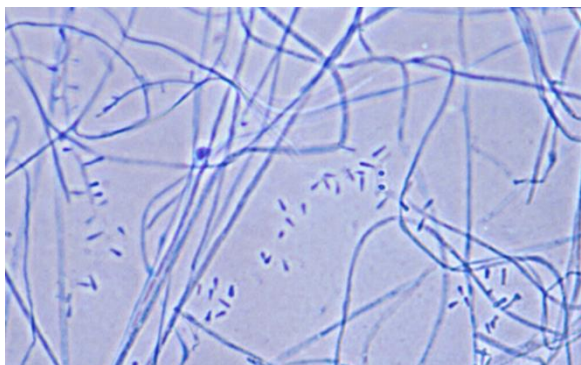
(フォト3-A SDA 25℃ 10日培養 表面)

### 【設問 3】



(フォト3-B SDA 25℃ 10日培養 裏面)

【設問 3】



(フォト3-C スライドカルチャー ×400)