

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では、グラム染色所見と発育したコロニー形態が一致しない菌株、日常的に検出されやすい菌であるが一般的に検出される遺伝子型ではない菌株、血液培養より分離され遭遇する可能性があるが、使用している同定キットのデータベースによっては誤同定されてしまう菌株について微生物検査の試料とした。また薬剤感受性検査は、適切な検査方法で検査が行われているかの確認を含めて出題した。

塗抹検鏡(フォトサーベイ)では、培養条件が異なる菌であるが発育菌のグラム染色結果と一般的な数項目の生化学的性状で同定可能な菌の推定、発育したコロニー形態と特徴的なスライド培養の形態で推定可能な真菌を出題した。

【試料】

M1,M2,M3 は試料発送に十分量が送付できるよう、前日に純培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:51 施設(設問ごとに有効回答数は異なる)

塗抹検鏡(フォトサーベイ):57 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 *Aerococcus urinae* 【評価対象】

【評価基準・解析結果】

1. 同定菌名

参加 51 施設における同定菌名の回答状況を表 1 に示した。*Aerococcus urinae* の回答のみを評価 A とした。*Aerococcus sp.* の回答は評価 B とし、それ以外の回答を評価 C とした。回答の内訳は *A. urinae* が 48 施設(94%)、*Aerococcus sp.* が 1 施設(2%)、*Streptococcus sp.* が 1 施設(2%)、*α-streptococcus* 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/方法別の成績と用手法の内訳を表 2、3 に示した。用手法が 23 施設(45.1%)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 10 施設(19.6%)、バイテック 2(バイオメリュース社)が 8 施設(15.7%)、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(7.8%)、BD フェニックス(日本 BD 社)とライサス S4(日水製薬社)が各 1 施設(2.0%)であった。

【まとめ】

1. 同定結果

今回使用した菌株は *A. urinae*(臨床分離株)である。

A. urinae は、通性嫌気性菌でカタラーゼ陰性のグラム陽性球菌であり、高齢者の尿路感染症の原因菌となり、まれに敗血症や化膿性脊椎炎、腹膜炎、感染性心内膜炎を引き起こす。

本菌は、グラム染色ではクラスター状の形態を示すが、35°C、5%炭酸ガスによる 24 時間培養では、ヒツジ血液寒天培地上に α 溶血性レンサ球菌に類似したコロニーとして発育する。その細菌学的特徴から鏡検では *Staphylococcus* 属、培養・同定検査では *Streptococcus* 属と誤報告されやすいことが知られている。生化学的性状については、PYR 試験陰性、LAP 試験陽性、 β -GUR 試験陽性であることから他の *Aerococcus* 属との鑑別が可能である。ただし、一部の自動分析装置や同定キットでは別の菌種に誤同定されやすいとの報告もある。そのためコロニーの発育形態及びグラム染色像から *Aerococcus* 属の推定を行うことが重要であり、複数の検査方法を用いることで本菌を正確に同定することができる。

2. 同定方法、付加コメント

同定方法については、23 施設(45.1%)が用手法、20 施設 (39.2%)が各種自動分析機器、8 施設(15.7%)が質量分析装置であった。用手法では同定キットのアピストレップ 20(バイオメリュース社)が 11 施設(47.8%)と最も多く、次いでラピッド ID32 ストレップアピ(バイオメリュース社)が 6 施設(26.1%)であった。各種自動分析機器を使用していた施設は、グラム染色やカタラーゼ試験などの従来法を実施しており、同定キットを併用して本菌を正確に同定されていた施設も多数あった。*Streptococcus* sp.、 α -*streptococcus* と回答した 2 施設は用手法で同定していたが、*A. urinae* との鑑別をグラム染色像と生化学的性状について再度確認して頂きたい。

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>Aerococcus urinae</i>	48	94%	48(94)
B	<i>Aerococcus</i> sp.	1	2%	1(2)
C	<i>Streptococcus</i> sp.	1	2%	2(4)
	α - <i>streptococcus</i>	1	2%	
計		51	100	51(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	BD フェニックス 100	バイテック 2,	マイクロスキヤン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM	ライサス S4	用手法	呼
A	<i>Aerococcus urinae</i>	4	4		8	10	1	21	48
B	<i>Aerococcus</i> sp.			1					1
C	<i>Streptococcus</i> sp.							1	1
	<i>α-streptococcus</i>							1	1
計		4	4	1	8	10	1	23	51
正解(評価 A)率(%)		100	100	0	100	100	100	91	94

表 3 用手法の内訳と回答状況(試料 M1)

評価	同定菌名	アピ ストレップ 20	ラピッド ID32 ストレップアピ	BD BBL CRYSTAL GP 同定検査試薬	BD BBL CRYSTAL RGP 同定検査試薬	同定・鑑別用試薬/培地オプトヒン	呼
A	<i>Aerococcus urinae</i>	11	6	4			21
C	<i>Streptococcus</i> sp.				1		1
	<i>α-streptococcus</i>					1	1
計		11	6	4	1	1	23
正解(評価 A)率(%)		100	100	100	0	0	91

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 51 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* (MRSA) 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 B とした。回答の内訳は *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (MRSA) および *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* が 50 施設 (98%)、*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (MSSA) 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 30 施設 (59%) と最も多く、次いでバイテック 2 (バイオメリュ社) が 8 施設 (16%)、MALDI バイオタイパー (Bruker 社)、バイテック MS (バイオメリュ社)、BD フェニックス (日本 BD 社)、用手法が各 3 施設 (6%)、ライサス S4 (日水製薬社) 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* (NCTC13552 由来株) である。

S. aureus は病院および地域社会に広く分布し、ヒトの鼻腔、腋窩および陰部などに存在し臨床材料から日常的に検出される主要な病原微生物の 1 つである。また *Staphylococcus* 属のなかで、最も病原性が高く、様々な感染症を引き起こす临床上重要な菌種である。なかでもメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は院内で分離される薬剤耐性菌として分離頻度が高く、院内感染対策においても大変重要である。

同定においては、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、コアグララーゼ試験陽性、クランピング因子陽性、レシチナーゼ反応陽性、マンニット分解性、耐熱性 DNase 産生等の性状から *S. aureus* と同定できる。50 施設が A 評価であり、極めて良好な結果であった。

2. 同定方法、附加コメント

同定については、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、コアグララー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、附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示唆し、病院 (院内) 感染防止対策上、極めて重要な菌であるとコメントしており、その判断も適切であった。

表4 同定菌名の回答状況 (試料 M2)

評価	同定菌名	回答数		(%)
A	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MRSA)	47	50	98
	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	3		
B	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MSSA)	1	1	2
合計		51	51	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 2,2XL	質量分析法(MALDI バイオタイパー)	質量分析法(バイテック MS)	用手法	BD フェニックス M50	バイテック 2 コンパクト 30	バイテック 2 ブルー	BD フェニックス 100	ライサス S4	計
A	<i>S. aureus</i> (MRSA)	30	3	2	3	3	2	1	2		1	47
	<i>S. aureus</i>		1	1				1				3
B	<i>S. aureus</i> (MSSA)									1		1
計		30	4	3	3	3	2	2	2	1	1	51
正解(評価 A)率(%)		100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	98

表6 用手法の内訳と回答状況 (試料 M2)

評価	同定菌名	BD BBL CRYSTAL GP 同定検査試薬	同定・鑑別用試薬/培地 CHROMagar MRSA	同定・鑑別用試薬/培地 スタファイロ LA	計
A	<i>S. aureus</i> (MRSA)	1	1	1	3
計		1	1	1	3
正解(評価 A)率(%)		100	100	100	100

試料 M2 薬剤感受性検査 *Staphylococcus aureus*(MRSA) 【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 50 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。Cefoxitin(CFX)は 49 施設、Clindamycin (CLDM)、Vancomycin(VCM)、Levofloxacin(LVFX)は 50 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 50 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 33 施設(66%)で最も多く、次いでバイテック 2(バイオメリュウ社)が 7 施設(14%)、フェニックス(日本 BD 社)が 5 施設(10%)、用手法(CLSI ディスク法)が 2 施設(4%)、ライサス(日水製薬)が 1 施設(2%)、マイクロスキャン Auto SCAN-4(ベックマン・コールター社)が 1 施設(2%)、IA20 MICmk II(栄研化学)が 1 施設(2%)であった。

3. 感受性成績

参加 50 施設の感受性結果状況について、微量液体希釈法および 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 *S. aureus* (NCTC13552 由来株)であり、耐性遺伝子として *mec C* を保有する MRSA であった。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え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、CFX が R(耐性)、CLDM、VCM、LVFX 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。回答された各指定抗菌薬に対する正解率は CFX の微量液体希釈法で 98%、CLSI ディスク法は 100%であった。CLDM、VCM、LVFX は 100%であり良好な成績であった。

【まとめ】

今回使用した菌株は *S. aureus* (NCTC13552 由来株)である。

S. aureus は比較的軽症の皮膚軟部組織感染症から感染性心内膜炎、肺炎、敗血症などの生命を脅かす重篤な感染症まで多様な疾患を引き起こす代表的なヒトの病原菌である。特に、セフトロリンを除くβ-ラクタム系抗菌薬に耐性をもつメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は治療および院内感染対策においても重要であり正確な検査結果が要求される。多くの MRSA は耐性遺伝子である *mec A* を保有し、セフォキシチンとオキサシリンの両方が耐性となるが、*mec C* を保有する MRSA はセフォキシチン耐性、オキサシリン感受性となるのが特徴である。また 37°Cで培養した場合オキサシリン、セフォキシチン共に感受性となることが報告されており、培養温度には注意が必要である。今回、CFX が S との回答が 1 施設あった。一管差ではあったが very major error であり、当該施設は培養方法を含め原因をしっかりと確認していただきたい。また、VCM の薬剤感受性試験は微量液体希釈法を行う必要があるので留意されたい。

薬剤耐性附加コメントでは、46 施設が「MRSA である」または「MRSA の可能性がある」と回答している。血液培養などの迅速報告のため *mec A* 遺伝子の検出を行っている施設では、*mec C* 遺伝子保有株の場合 *mec A*

遺伝子陰性であるが、薬剤感受性検査では MRSA と同定されるため判定には注意が必要である。今回、*mec A* 遺伝子検出との回答が 1 施設あり、当該施設は再度確認していただきたい。

なお、MRSA は 5 類感染症定点把握疾患（基幹定点）であるため、当該医療機関においては翌月の初日に届出が必要である。

本菌の薬剤感受性試験は、ほとんどの施設で適切に実施されていた。今後も正確な薬剤感受性結果を報告できるよう注意して検査を進めていただきたい。

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(%)			
	CFX	CLDM	VCM	LVFX
微量液体希釈法	45(92)	48(96)	49(98)	48(96)
CLSI ディスク法	4(8)	2(4)	1(2)	2(4)
合計	49(100)	50(100)	50(100)	50(100)

表 8 方法別/感受性検査機器等の回答状況

検査方法	測定機器等	回答数		%
微量液体希釈法	マイクロスキャン Walk Away	33	34	68%
	マイクロスキャン Auto SCAN-4	1		
	バイテック 2, バイテック 2 XL	3	7	14%
	バイテック 2 ブルー	2		
	バイテック 2 コンパクト 30	2		
	フェニックス M50	4	5	10%
	フェニックス 100	1		
	IA20 MICmk II	1	1	2%
	RAISUS(ライサス)RSCSE	1	1	2%
CLSI ディスク法	KB ディスク	2	2	4%
合計		50		100

表 9 微量液体希釈法(試料 M2)

測定 薬剤	MIC 符号	MIC 値 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	判定	機器名称	回答数(%)	評価
CFX	=	16	R	用手法	1(2.2)	A
	>	8	R	フェニックス IA20 MIC mk II 用手法	5(11.1)	
	=	8	R	フェニックス	2(4.4)	
	>	4	R	Walk Away、Auto SCAN-4	32(71.1)	
	\geq	4	R	Walk Away	2(4.4)	
	=	4	S	フェニックス	1(2.2)	
	記載なし	記載なし	R	バイテック 2	2(4.4)	
合計					45(100)	
CLDM	\leq	0.25	S	IA20 MIC mk II バイテック 2 Walk Away、Auto SCAN-4 用手法	13(27.1)	A
	\leq	0.5	S	フェニックス Walk Away	35(72.9)	
合計					48(100)	
VCM	\leq	0.5	S	Walk Away バイテック 2	7(14.3)	A
	\leq	1	S	IA20 MIC mk II Walk Away ライサス	6(12.2)	
	=	1	S	フェニックス バイテック 2 Walk Away、Auto SCAN-4 用手法 (Etest)	34(69.3)	
	\leq	2	S	Walk Away	2(4.1)	
合計					49(100)	

測定薬剤	MIC	MIC 値	判定	機器名称	回答数 (%)	評価
	符号	($\mu\text{g}/\text{mL}$)				
LVFX	\leq	0.12	S	バイテック 2	1(2.1)	A
	\leq	0.25	S	バイテック 2	6(12.5)	
	\leq	0.5	S	Walk Away、Auto SCAN-4	31(64.6)	
	\leq	1	S	フェニックス IA20 MIC mk II Walk Away ライサス	10(20.8)	
合計					48(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
CFX	20	R	栄研	1(25)	A
	19			1(25)	
	17		BD	1(25)	
	0			1(25)	
合計				4(100)	
CLDM	30	S	栄研	1(50)	A
	25			1(50)	
合計				2(100)	
VCM	27	S	栄研	1(100)	A
合計				1(100)	
LVFX	28	S	栄研	1(50)	A
	21			1(50)	
合計				2(100)	

試料 M3 *Roseomonas mucosa* 【教育問題】

【評価基準・解析結果】

1) 同定菌名

参加 51 施設における同定菌名の回答状況を表 11 に示した。*Roseomonas mucosa*、*Roseomonas gilardii*、

Roseomonas sp.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、*Roseomonas* sp.が 22 施設 (43.1%)、*R. mucosa* が 10 施設 (19.6%)、*R. gilardii* が 4 施設 (7.8%)、*Acinetobacter lwoffii* が 4 施設 (7.8%)、*Pseudomonas* sp. が 2 施設 (3.9%)、*Achromobacter xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans* が 2 施設 (3.9%)、*Acinetobacter* sp. が 1 施設 (2.0%)、*Stenotrophomonas maltophilia* が 1 施設 (2.0%)、*Corynebacterium* sp. が 1 施設 (2.0%)、菌名の回答がなかった(回答不能、その他)のが 4 施設 (7.8%)であった。

2)同定機器/方法別の同定成績

同定機器/方法別の回答状況を表 12、用手法の内訳を表 13 に示した。Walk Away(ベックマン・コールター社)が 25 施設 (49.0%)と最も多く、バイテック(バイオメリュース社)が 8 施設 (15.7%)、MALDI バイオタイパー (Bruker 社)が 5 施設 (9.8%)、バイテック MS(バイオメリュース社)が 4 施設 (7.8%)、BD フェニックス(日本 BD 社)が 3 施設 (5.9%)、ライサス S4(日水製薬社)が 1 施設 (2.0%)、用手法が 5 施設 (9.8%)であった。

2.まとめ

1)同定結果

今回使用した菌株は臨床材料由来の *R. mucosa* である。*Roseomonas* 属は主に水域環境に生育しているブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌であり、悪性腫瘍、糖尿病、腎不全などの易感染宿主に感染症を引き起こすことが知られている。*Roseomonas* 属の中でも感染例として多いのが *Roseomonas gilardii* subsp. *gilardii*、*Roseomonas gilardii* subsp. *rosea*、*R. mucosa* である。臨床材料からは創傷や膿瘍、泌尿器材料などからの分離例が報告されているが、最も多いのはカテーテル関連血流感染症での血液培養からの分離例であり、迅速かつ正確に同定することは重要である。

本菌はグラム染色でレンサ状のグラム陰性短桿菌として観察される。35°Cで 2~3 日間の炭酸ガス培養で血液寒天培地またはチョコレート寒天培地上に淡いピンク色のムコイド状コロニーを形成し、オキシダーゼ試験は株によって異なるが、カタラーゼ試験、クエン酸利用試験、尿素分解試験、アラビノース分解試験は陽性であることが本菌の特徴的な性状である。

51 施設中、評価 A であったのは 31 施設 (70.5%)であった。本菌は菌種レベルでの同定は 16S rRNA 遺伝子配列解析が有用であり、同定感受性自動分析装置では困難とされているが、属レベルでの同定はコロニーの特徴や生化学的性状などを理解しておくことで可能である。

2)同定方法、追加コメント

同定方法は 37 施設 (72.5%)が Walk Away やバイテック 2 などの自動分析装置、9 施設 (17.6%)がバイテック MS や MALDI バイオタイパーといった質量分析装置、5 施設 (9.8%)が用手法で実施されていた。用手法では同定キットの BD BBL CRYSTAL 同定検査試薬(日本 BD 社)が 2 施設、試験管確認培地等を使用した従来法での同定が 1 施設、その他が 2 施設であった。評価 C であった施設の中には *Roseomonas* 属がデータベースに掲載されていない同定キットを使用している施設もあり、コロニー性状と同定結果が一致しない場合は他の検査法を追加するなど自施設の同定手順について再度確認していただきたい。また、グラム陽性桿菌である *Corynebacterium* sp.と回答した 1 施設についてはグラム染色の基本的な手技などについても見直していただきたい。

表 11 同定菌名の回答状況(試料 M3)

評価	同定菌名	回答数	(%)
A	<i>Roseomonas</i> sp.	22	43.1
	<i>Roseomonas mucosa</i>	10	19.6
	<i>Roseomonas gilardii</i>	4	7.8
C	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	4	7.8
	<i>Pseudomonas</i> sp.	2	3.9
	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> subsp. <i>xylosoxidans</i>	2	3.9
	<i>Acinetobacter</i> sp.	1	2.0
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	2.0
	<i>Corynebacterium</i> sp.	1	2.0
	その他	2	3.9
	回答不能	2	3.9
計		51	100

表 12 同定機器/方法別の回答状況(試料 M3)

評価	同定菌名	マイクロスキヤン Walk Away 96, 96 Si, 96 Plus,	バイテック 2, 2 XL, ブルー	バイテック 2 コンパクト 30	MALDI バイオタイパー	バイテック MS	BD フェニックス 100	BD フェニックス M50	ライサス S4	的手法	計
A	<i>Roseomonas</i> sp.	17	4							1	22
	<i>R. mucosa</i>				5	4				1	10
	<i>R. gilardii</i>		2	2							4
C	<i>A. lwoffii</i>	4									4
	<i>Pseudomonas</i> sp.	1							1		2
	<i>A. xylosoxidans</i>						1	1			2
	<i>Acinetobacter</i> sp.	1									1
	<i>S. maltophilia</i>									1	1
	<i>Corynebacterium</i> sp.									1	1
	その他	1						1			2
	回答不能	1								1	2
計		25	6	2	5	4	1	2	1	5	51
正解(評価 A)率(%)		68	100	100	100	100	0	0	0	40	71

表 13 用手法の内訳と回答状況(試料 M3)

評価	同定菌名	BD BBL CRYSTAL E/NF 同定検査試薬	従来法による同定(試験管確認培地等を使用)	その他	計
A	<i>Roseomonas</i> sp.			1	1
	<i>R. mucosa</i>			1	1
C	<i>S. maltophilia</i>	1			1
	<i>Corynebacterium</i> sp.		1		1
	回答不能	1			1
正解(評価 A)率(%)		0	0	100	40

⑪微生物塗抹鏡検

設問1: *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* 【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。*C. jejuni* subsp. *jejuni*を評価 A とし、*Campylobacter jejuni* / *coli*を評価 B とした。

本設問へ回答した 57 施設中、56 施設(98.2%)が *C. jejuni* subsp. *jejuni*と回答し、良好な成績であった。*C. jejuni* / *coli*と回答した施設は、許容正解としたが、馬尿酸加水分解試験の判定方法及び結果の解釈について再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>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	56	98.2	56(98.2)
B	<i>Campylobacter jejuni</i> / <i>coli</i>	1	1.8	1(1.8)
合計		57	100	57(100)

【まとめ】

設問1は、20 歳代男性が、鶏肉喫食の 3 日後に発症した感染性腸炎の症例であった。検体は水様性の下痢便であり、患者背景を踏まえ、グラム染色で2～3回転のらせん状のグラム陰性桿菌を確認できれば、原因微生物として *Campylobacter* 属菌が推定される。

培養検査では、42℃、48 時間の好気培養にて、スキロー寒天培地上に直径約 1mm、灰白色で半透明の集落を認めた。グラム染色で分離菌がグラム陰性のらせん菌であることを確認し、オキシダーゼ試験及び馬尿酸加水分解試験が陽性であれば、*C. jejuni*と同定することができる。*C. jejuni*には *C. jejuni* subsp. *jejuni*と *C. jejuni* subsp. *doylei*の 2 亜種が存在するが、*C. jejuni* subsp. *jejuni*は硝酸塩還元試験が陽性であり、区別することができる。

馬尿酸加水分解試験は、特に *C. coli*との識別に有用であり、青紫色を呈したものを陽性と判定するが、新鮮培養菌を用いない場合や、接種菌量が少ない場合には偽陰性となることが報告されているため注意が必要である。また、*C. jejuni*の一部の株は馬尿酸加水分解試験が陰性であり、その場合は *C. coli*と区別することが困難であるため、酢酸インドキシル陽性を確認し、*C. jejuni* / *C. coli*などと報告する。

Campylobacter 属菌は先進国、発展途上国いずれにおいても主要な胃腸感染症の起炎菌である。ニワトリなどの家禽類の腸管内に常在しており、加熱不十分な食肉や食品の二次汚染が主なヒトへの感染源となる。我が国においても *C. jejuni*と *C. coli*は食中毒起炎菌に指定されており、近年の細菌性食中毒の中では最も件数が多いことも重要である。

設問2: *Clostridium perfringens*【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。*Clostridium perfringens* 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 57 施設であり、全施設が正しく回答し、きわめて良好な成績であった。

表2 推定微生物名の回答

評価	推定微生物名	回答数	(%)
A	<i>Clostridium perfringens</i>	57	100
	合計	57	100

【まとめ】

設問 2 は 70 歳代男性のガス産生性肝膿瘍を伴う菌血症の症例であった。

グラム染色で大型のグラム陽性桿菌が観察され、35°C、24 時間の嫌気培養にて ABHK 寒天培地に溶血を伴う R 型コロニーの発育を認めた。また、逆 CAMP 試験陽性であることから、*C. perfringens* が推定される。本菌は偏性嫌気性の大型のグラム陽性桿菌で、他の *Clostridium* 属菌と異なり、鞭毛を持たないため非運動性である。亜端在性の芽胞を形成し、莢膜を形成する。

ヒツジ血液加ブルセラ寒天培地上では 24 時間培養で円形、灰白色で隆起したコロニーを形成し、二重溶血を示す。カナマイシン添加卵黄 CW 寒天培地上ではレシチナーゼを産生することから、コロニー周囲に混濁したハローを形成し、卵黄反応を呈する。

C. perfringens は大腸内常在菌であり、下水、河川、海、耕地などの土壤に広く分布する。

ヒトの感染症として、ガス壊疽、化膿性感染症、敗血症、食中毒等が知られている。毒素産生性から A,B,C,D,E の 5 つの毒素型に分類され、食中毒やガス壊疽を引き起こす型の多くが A 型菌であり高度の溶血と、筋肉、細胞膜、尿細管などに激しい障害を与える。

本菌感染による敗血症は急激に進行し重症化する 경우가多く、細菌毒素による溶血やガス産生菌感染症が疑われた場合は本菌を疑い、速やかにグラム染色を実施し、結果を報告する事が重要である。

設問 3: *Microsporium gypseum*【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。*M. gypseum* を評価 A、*Microsporium* sp. を評価 B とし、それ以外を評価 C とした。

本設問へ回答した 57 施設中、46 施設 (80.7%) が *M. gypseum* と回答した。*Microsporium* sp.、*M. canis* と回答した施設は、集落の形態や大分生子の顕微鏡的形態の特徴を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>Microsporium gypseum</i>	46	80.7	46(80.7)
B	<i>Microsporium</i> sp.	3	5.3	3(5.3)
C	<i>Microsporium canis</i>	8	14.0	8(14.0)
合計		57	100	57(100)

【まとめ】

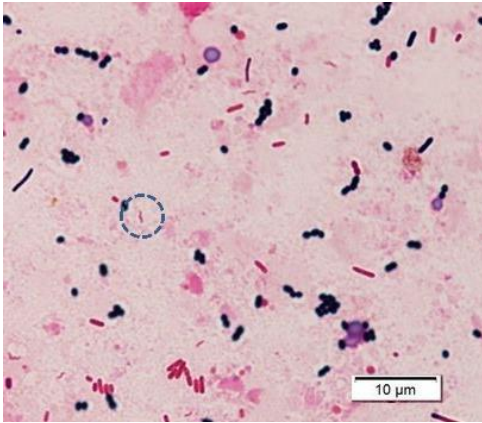
設問 3 は、1 歳女児の皮膚糸状菌症の症例であった。

採取された皮疹の浸出液を、サブロー寒天培地を用いて 25°C で 7 日間培養したところ、白色から黄色の平坦、粉状で、裏面は黄褐色の集落を形成した。スライド培養では、紡錘形で、細胞外壁が比較的薄い大分生子の形成がみられ、小分生子はこん棒形で、菌糸に沿って認められた。細胞外壁と隔壁が薄く、内部は 4~6 区画(小室)以下であり、先端は円いことから、*Microsporium gypseum* と推定される。

Microsporium 属菌は皮膚糸状菌症の原因菌のひとつで、生息場所によって、好土壌性、好獣性、好人性に分けられる。紡錘形で横隔壁をもつ大分生子が特徴である。*M. gypseum* は世界中に分布する好土壌性の代表的な菌種で、動物やヒトに感染するが病原性が強く、激しい炎症症状を起こしやすい。集落の生育はやや速く、表面は扁平で、培地上を広がり、粉末状~顆粒状である。初めは淡黄色であるが、その後黄褐色~シナモン褐色になる。裏面は、斑点状に黄色、オレンジ黄褐色、褐色がかかった紅色、または紫がかかった紅色になる。顕微鏡的形態は、有隔菌糸を形成し、大分生子は対称性で、表面が粗く、壁が比較的薄い。内部は 6 区画(小室)以下であり、先端は円いのが特徴である。これに対し *Microsporium canis* は好獣性で、ヒトでの感染例の大多数は、感染したイヌやネコからうつされたものである。培地上の集落は粗い綿毛状で、菌糸が放射状に広がり、大分生子の壁が厚く、内部が 6 個以上の区画(小室)で分かれており、両端が細く“くちばし”様にみえる点で、*M. gypseum* と鑑別が可能である。

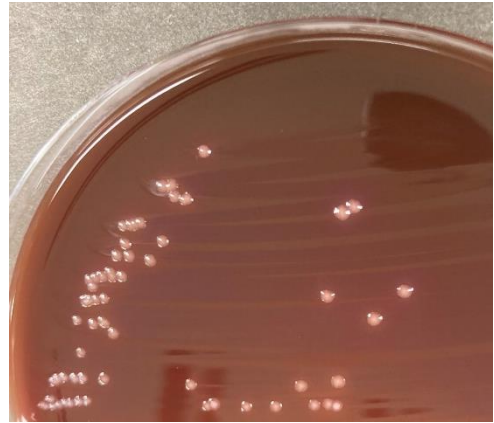
微生物検査 【 M4 】フォトサーベイ

【設問 1】



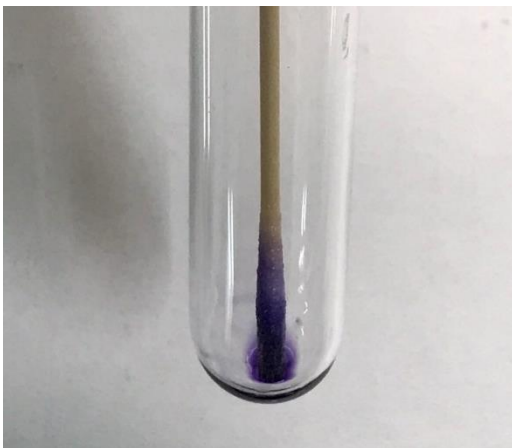
(フォト 1-A グラム染色 X1000)

【設問 1】



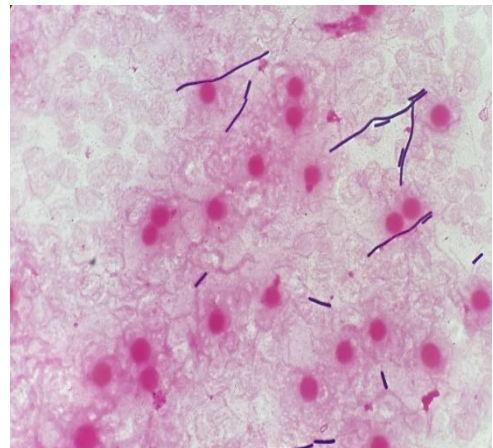
(フォト 1-B スキロー寒天培地)

【設問 1】



(フォト 1-C 馬尿酸加水分解試験)

【設問 2】



(フォト 2-A グラム染色 X1000)

【設問 2】



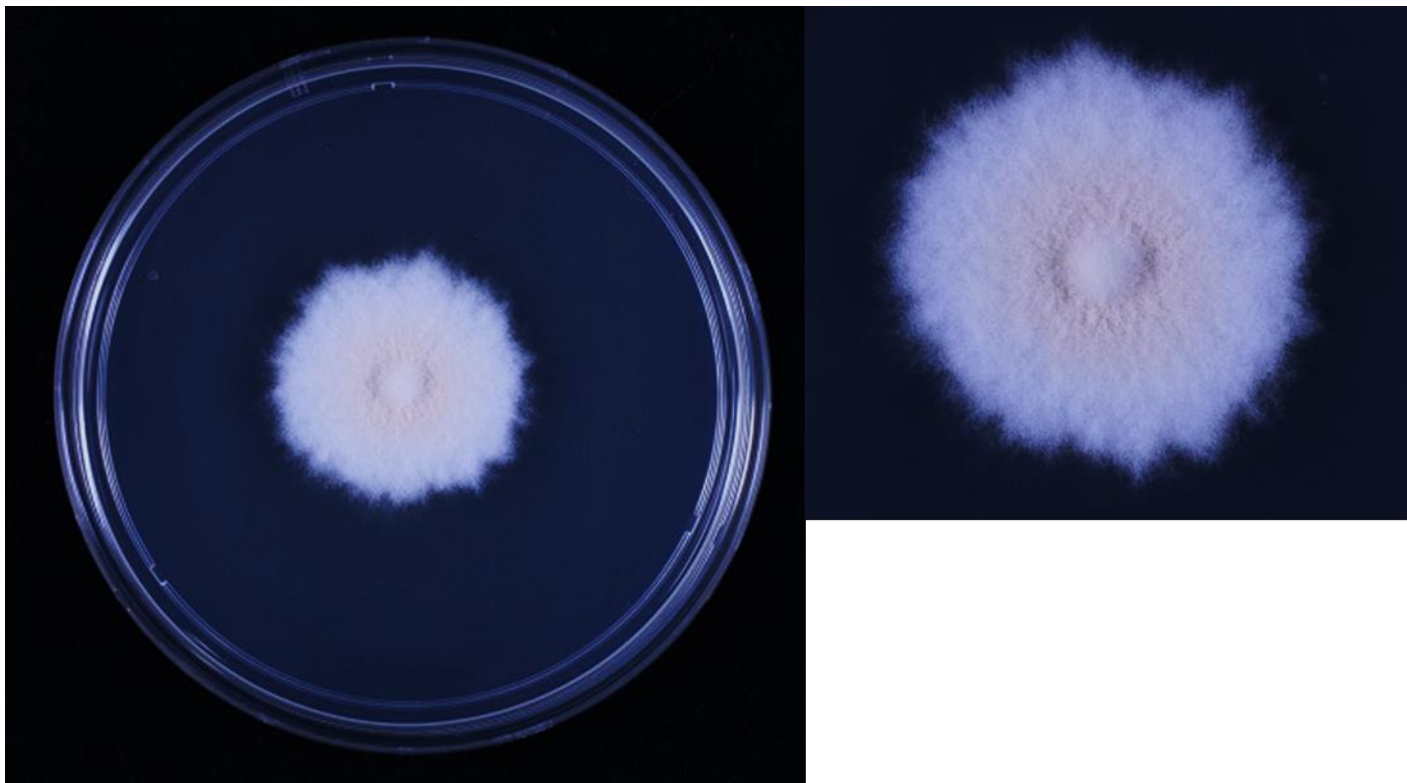
(フォト 2-B ABHK 寒天培地)

【設問 2】



(フォト 2-C 逆 CAMP 試験)

【設問 3】



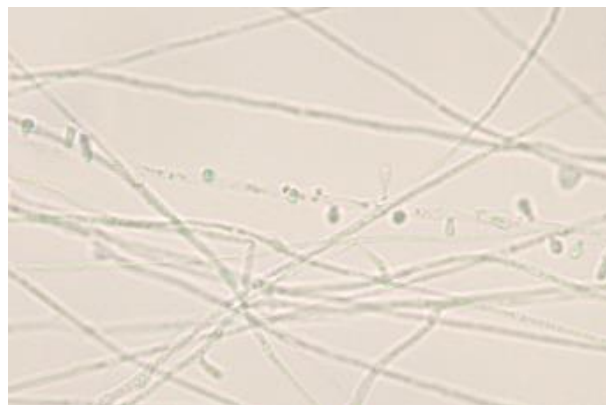
(フォト 3-A ジャイアントコロニー)

【設問 3】



(フォト 3-B 無染色、×400)

【設問 3】



(フォト 3-C 無染色、×400)