

微生物検査

長島 敏之

メディック

微生物検査

長島 敏之

[メディック]

はじめに

平成 27 年度の微生物サーベイは、資料問題 2 問、Photo Survey 10 問を出題しました。試料問題は患者情報からある程度推測できるようにし、薬剤感受性検査は各施設が正しくカテゴリーが変換できているか、確認する意味で出題しました。Photo Survey は患者情報、コロニー形態、生化学的性状からポイントを絞って推測し、同定の為の検査の方向性がある程度決定できるようなものを中心に問題作成を行いました。また菌種推定だけでなく、消毒薬や、感染症法といった、微生物に関連したものも出題させていただきました。

実施項目

| | 同定 | 感受性 | 選択問題 |
|-------------------------|----|-------------------|------|
| 試料問題 (資料 41) | ◎ | ◎(ただし ABK は評価対象外) | |
| 試料問題 (資料 42) | ◎ | | |
| Photo Survey 問題 1~10 | | | ◎ |

◎：評価対象問題

参加施設数

| | |
|--------------|-------|
| 試料問題 (同定) | 24 施設 |
| 薬剤感受性検査 | 24 施設 |
| Photo Survey | 25 施設 |

試料の取り扱い

1. カルチャースwabにて送付いたしました。
2. 試料到着後はできるだけ速やかに適切な培地に塗り広げてください。
3. 以下の患者データを参考に同定と設問に答えてください。

* 生菌ですので、感染には十分注意して下さい。

資料問題

試料 41

患者背景：64 歳男性。右下肢に皮膚発赤、疼痛、腫脹が出現したため近医を受診。受診時右下肢に膿痂疹を認め、右下肢病変部の切開排膿を施行、そこから得られた膿が検査室に提出された。

- ①培養を行い、分離・同定した菌種をコード表より選択してください。
- ②CEZ、ABK、MINO の薬剤感受性試験を実施し、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S22 の基準を用いて S、I、R で判定・回答してください。

同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 |
|----|--|-----|
| A | <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MRSA) | 23 |
| B | <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> | 1 |

薬剤感受性検査

| 評価 | 菌名 | 施設数 | |
|----|--------|-----------|-----------|
| | | 1次 評価後 | 2次 評価後 |
| A | CEZ R | 21 | 21 |
| C | S | 3 | 3 |
| A | MINO S | 24 | |

ブドウ球菌は、以下の方法で同定を進めます。

- ①マンニット食塩培地発育
- ②コアグラゼ試験 (ウサギプラズマ凝集)
- ③MRSA 選択培地発育・卵黄反応確認
- ④薬剤感受性試験 (微量液体希釈法) における MIPIC と CFX の MIC 値

Staphylococcus aureus の薬剤感受性検査

| | |
|------|--|
| 培地 | <ul style="list-style-type: none"> ディスク拡散法 MHA 微量液体希釈法 CAMHB (MPIPIC の検査には 2%NaCl を添加) |
| 培養条件 | <ul style="list-style-type: none"> ディスク拡散法 35±2℃、好気培養 16~18 時間 (ただし CFX は 24 時間) MPIPIC は 35℃ で 24 時間培養、判定は透過光にて行う。MRS 検出には 35℃ をこえないようにする・ 微量液体希釈法 35±2℃ 好気培養 16~20 時間 MPIPIC と VCM は 24 時間培養 MRS の検出には 35℃ をこえないようにする。 |
| 判定基準 | <ul style="list-style-type: none"> ディスク拡散法 (mm) MPIPIC : R: ≤10 I: 11~12 S: ≥13 CFX : R: ≤21 S: ≥22 CFX の阻止円径が ≤21mm を示す場合は MPIPIC 耐性と報告 微量液体希釈法 (µg/ml) MPIPIC : R ≥4 S ≤2 CFX : R ≥8 S ≤4 CFX の MIC が 8 ≥ µg/ml を示す場合には MPIPIC 耐性と報告 |

今回の資料41の薬剤感受性検査については、施設間で測定法が異なっていることもあるため、薬剤の判定のカテゴリーのみを評価対象とさせていただきます。またABKについてはCLSIのカテゴリーの基準がないため評価対象外とさせていただきます。

CLSI M100-S22 では Oxacillin 耐性 *S.aureus* および coagulase 陰性 *Staphylococci* (MRS) の場合、その他のβ-lactam 系抗菌薬 (抗MRSA活性のある新規のCephalosporin 薬は除く) が in vitro で活性を示すかもしれないが、臨床では効果がない。抗MRSA活性のある新規のCephalosporin 薬以外のβ-lactam 薬についての結果は「耐性」と報告する、とあります。今回資料41の同定の結果では、ほとんどの施設で菌名はMRSAと回答できていましたが、使用している機器のシステムでカテゴリーが変換されず、結果をそのまま報告してしまった施設もありましたので、結果をシステム任せにするのではなく、一度自分でも目を通して誤りがないか確認する必要があるかと思われます。

試料 42

患者背景：20代女性。友人と海水浴に行き、現地で食事をして約半日後、複数回の下痢と激しい腹痛を発症。近医を受診し、検査のために便が検査室に提出された

培養を行い、分離・同定した菌種をコード表より選択してください。

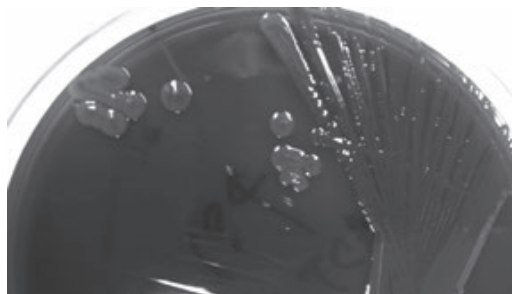
| 評価 | 判定 | 施設数 |
|----|--------------------------------|-----|
| A | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 24 |

同定検査評価

Vibrio parahaemolyticus 同定のポイントは以下のとおりです

- 血液寒天培地には発育しますが、BTB 乳糖加寒天培地、マッコンキー寒天培地には発育しません。
- TCBS 寒天培地で濃緑色のコロニーが発育します。

TCBS 寒天培地 35℃ 24 時間培養



- オキシダーゼ陽性
- 生化学的性状は

TSI 寒天培地

斜面部は乳糖・白糖非分解の為赤色、高層部はブドウ糖分解の為黄色。

LIM 培地

リジン脱炭酸反応陽性、運動性あり

SIM 培地

インドール反応陽性

・食塩加ペプトン水での発育は以下の表のとおりです。(*Vibrio mimicus*、 *Vibrio vulnificus* も合わせて表記しました)

食塩加ペプトン水での発育

| 菌名 | 食塩加ペプトン水での発育 | | | |
|----------------------------|--------------|----|----|-----|
| | 0% | 3% | 8% | 10% |
| <i>V. parahaemolyticus</i> | — | + | + | — |
| <i>V. mimicus</i> | + | + | — | — |
| <i>V. vulnificus</i> | — | + | — | — |

Photo Survey

症例 1~10 の患者背景、検査データを、Photo を添えて出題します。推定される菌名を菌名マスターから選んでください。

Photo Survey 設問 1

写真 1-1、1-2 は、ある消毒薬の写真です。この消毒薬の主成分について正しく述べている文章を下記選択肢より 1 つ選んでください。

- ① 高水準消毒薬に属する。
- ② 結核菌に有効である。
- ③ 体液で汚染された器具の消毒に適する。
- ④ 金属の消毒に適する。
- ⑤ HB ウイルスには効果がない。

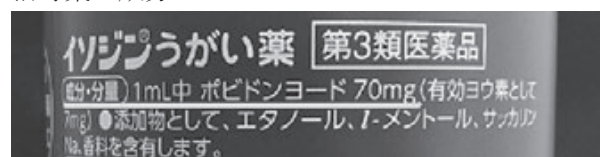
写真 1-1

消毒薬（全体像）



写真 1-2

消毒薬の成分



同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 | |
|----|------------------|-------|-------|
| | | 1次評価後 | 2次評価後 |
| A | ②結核菌に有効である。 | 23 | 24 |
| C | ⑤HB ウイルスには効果がない。 | 2 | 1 |

中水準消毒薬であるポピドンヨードは、遊離ヨウ素による強力な酸化作用により蛋白質を変性、破壊

し、微生物を殺滅します。栄養型細菌、ウイルス、真菌、結核菌に有効であり、時間をかければ *Bacillus* 属以外の有芽胞細菌にも有効といわれています。HBV については今まで効果がないとされてきましたが、低濃度における 10 分間 20°C の接触でチンパンジーへの感染性を不活性化したという報告があり、現在では有効であるとされています。主に皮膚や粘膜の消毒に使用されていますが、環境や器具の消毒には不適です。

Photo Survey 設問 2

患者背景:30 歳、女性。飼い犬に手をかまれ、血が止まらないことから近医を受診。患部は発赤、腫脹、排膿を認め、微生物検査室に培養目的で膿が提出された。膿の培養をしたところ写真 2-1、2-2 のごとくコロニーが発育した。発育したコロニーをグラム染色し、確認したところ、グラム陰性短桿菌が確認された。オキシダーゼ試験は写真 2-3 のごとくであり、カタラーゼ試験は陽性であった。また生化学的鑑別性状検査は、写真 2-4 のごとくであった。推定される微生物名をコードより選択してください。

写真 2-1

5%ヒツジ血液寒天培地 35°C、24 時間 好気培養

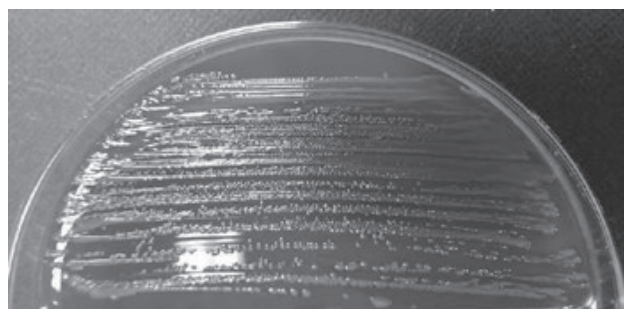


写真 2-2

BTB 乳糖加寒天培地 35°C、24 時間 好気培養

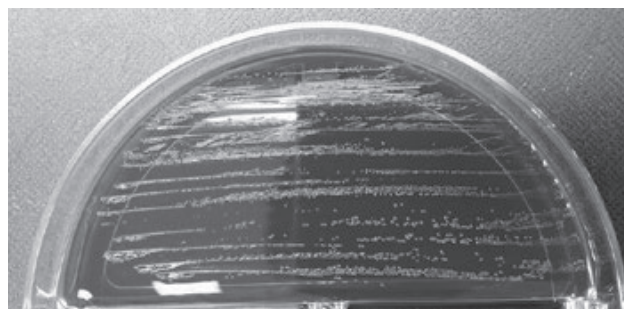


写真 2-3

チトクロムオキシダーゼ試験

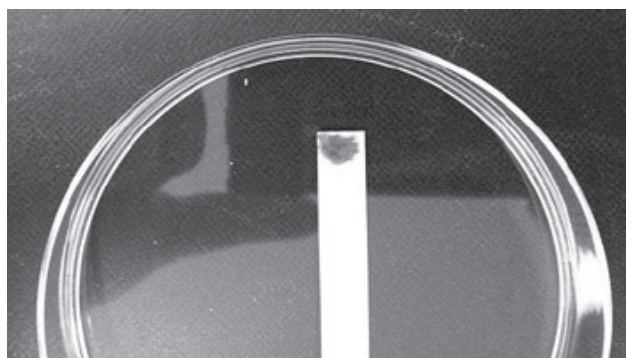
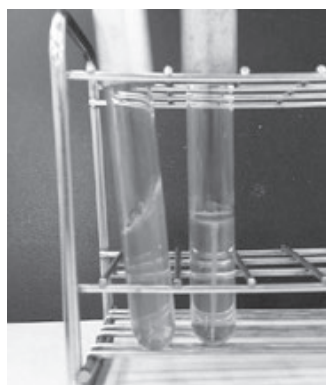


写真 2-4

生化学鑑別性状試験 35℃、24 時間培養



同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 |
|----|------------------------------|-----|
| A | <i>Pasteurella multocida</i> | 23 |
| | <i>Pasteurella</i> sp. | 2 |

Pasteurella multocida はネコ、イヌやその他の動物や野生動物の常在菌の1つであり、また動物に肺炎や敗血症を起こす病原体にもなります。ヒトへの感染はイヌ、ネコなどにかまれたり、引っかけたりして起こる創傷感染症、あるいはこれらのペットとの過度な接触による気管支炎や副鼻腔炎などの呼吸器感染症などがあります。

グラム染色では一見 *Haemophilus influenzae* を思わせるようなグラム陰性の短桿菌ないしは球桿菌として観察されます。加えて臨床情報としてイヌ、ネコ等の動物との接触があれば本菌が強く疑われます。

ヒツジ血液寒天培地やチョコレート寒天培地に、35~37℃、24 時間で 0.5~1.0mm の S 型の光沢のあるコロニーを形成します。BTB 寒天培地には発育しないか、発育しても微小のコロニーです。まれに呼吸器材料からも検出されることがあり、ムコイド状のコロニーを形成する株が存在します。

生化学的性状として、オキシダーゼ陽性、カタラーゼ陽性。ブドウ糖と白糖を発酵的に分解するため TSI 培地では斜面、高層共に黄色になります。またインドール反応が陽性の為、SIM 培地でコバック試薬を添加すると培地上面が赤色になります。

Photo Survey 設問 3

患者背景:70 歳、女性。頻尿、残尿感、排尿痛があり、近医を受診。尿路感染症が疑われ、細菌検査室に培養目的で尿検体が提出された。培養をしたところ写真 3-1 のごとくコロニーが発育した。生化学的鑑別性状検査は、写真 3-2 のごとくであった。推定される微生物名をコードより選択してください。

写真 3-1

5%ヒツジ血液寒天/BTB 乳糖加寒天 35℃、24 時間好気培養

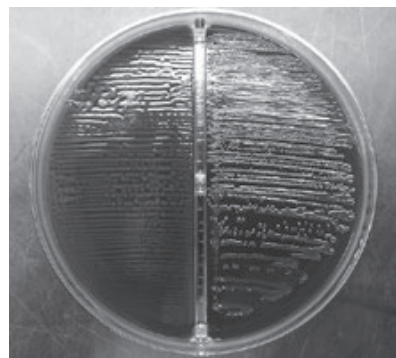
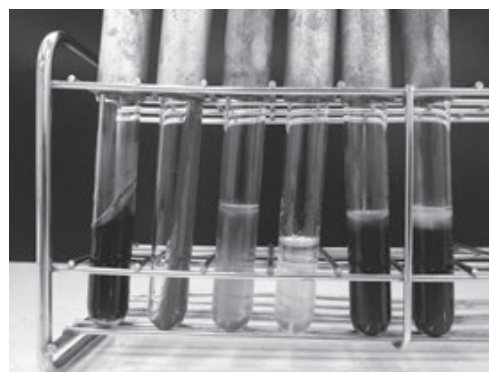


写真 3-2

生化学鑑別性状試験 35℃、24 時間培養



同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 | |
|----|--------------------------|-------|-------|
| | | 1次評価後 | 2次評価後 |
| A | <i>Proteus mirabilis</i> | 24 | 25 |
| D | <i>Proteus vulgaris</i> | 1 | |

Proteus mirabilis は自然界に広く分布し、土壌、汚水、ヒトや動物の糞便などから検出されます。病原性は低いですが、尿路感染症の起原菌となり、上行感染して腎盂腎炎をもたらすこともあります。特に高齢の患者や腎結石または尿路結石を有する患者の感染と関わっています。

本菌はヒツジ血液寒天培地上では限局したコロニーを形成せず培地全体にスウォーミングする傾向が見られます。また特有の腐敗臭を放ちます。

生化学的性状では IPA 反応陽性であることが *Proteus* 属菌の大きな特徴となります。本菌は硫化水素産生、リジン脱炭酸反応陰性、インドール反応陰性、クエン酸利用能陽性、運動性陽性です。*Proteus vulgaris* とはインドール反応、クエン酸利用能の点で鑑別できます。(*P. vulgaris* はインドール反応陽性、クエン酸利用能陰性です。)

P. mirabilis において ESBL 産生菌の検出が認められており、感染対策上注意が必要です。

Photo Survey 設問 4

患者背景：42 歳男性。海外旅行から帰国後、発熱と腹痛を発症。便培養をしたところ写真 4-1、4-2 のごとくコロニーが発育した。生化学的鑑別性状検査は、写真 4-3 のごとくであった。推定される微生物名をコードより選択してください。

写真 4-1

5%ヒツジ血液寒天/BTB 乳糖加寒天 35℃、24 時間好気培養

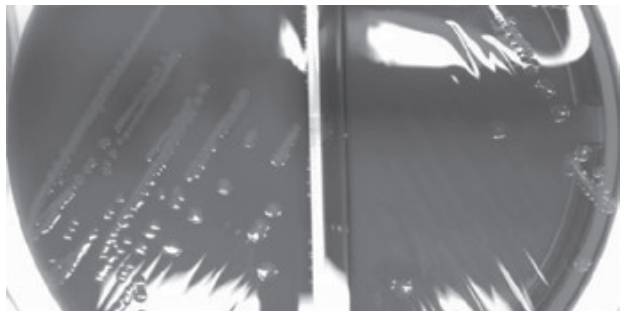


写真 4-2

SS 寒天培地 35℃、24 時間 好気培養

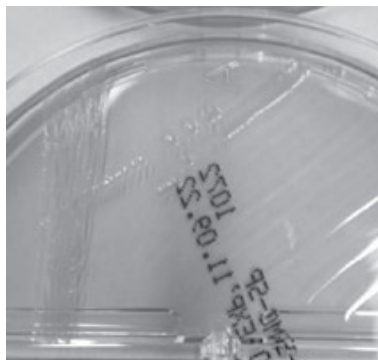
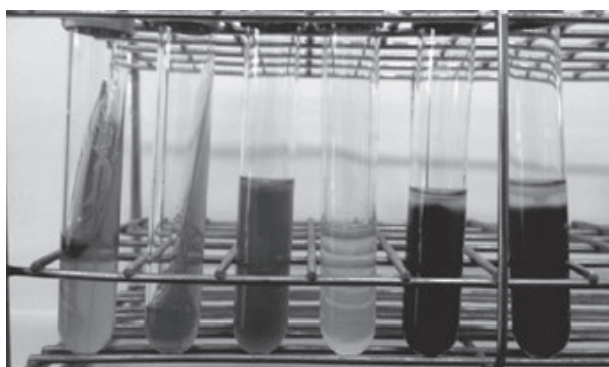


写真 4-3

生化学的鑑別性状試験 35℃、24 時間培養



同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 | |
|----|---------------------------|-------|-------|
| | | 1次評価後 | 2次評価後 |
| A | <i>Salmonella Typhi</i> | 24 | 25 |
| D | <i>Edwardsiella tarda</i> | 1 | |

Salmonella Typhi の推定には、海外出張から帰国後、発熱と腹痛を認めていることや、SS 寒天培地上、中心部が極わずかに黒色化(24 時間では黒色が見えず、コロニーの色が無色透明なこともあります)及び、TSI 寒天培地での凝固水部分の僅かな黒色化が重要なポイントとして挙げられます。主な *Salmonella* 属菌の生化学的性状を下の表に示します。

表 3 鑑別培地の性状一覧

| 細菌 | TSI | | LIM | | 知酸 | | 血清 | | | | |
|---------|-----|----|-----|------------------|-----|------|-------|----|------|----|---|
| | 斜面 | 高層 | ガス | H ₂ S | リジン | 運動性 | インドール | VI | O2 | O9 | |
| チフス菌 | - | + | - | w(-) | + | +(-) | - | - | +(-) | - | + |
| パラチフスA菌 | - | + | + | w(-) | - | + | - | - | - | + | - |
| 他のチフス菌 | - | + | + | + | + | + | - | + | - | * | * |

確認検査として Vi 血清、O 血清を用いてスライド凝集反応を行いません。Vi 血清にのみ凝集するかあるいは Vi 血清に凝集し、しかも O 因子血清 (O9) にも凝集するときは、被検菌は Vi 抗原を持つ菌であると判定します。Vi 抗原は易熱性抗原であるので、121℃、20～30 分加熱後、加熱死菌が Vi 血清に凝集しなくなることを確認します。加熱死菌は O9 には凝集します。稀に Vi 抗原を持たない株があることに注意してください。

腸チフス患者と診断した場合には、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律第 12 条第 1 項の規定による届出を直ちに行わなければなりません。

Photo Survey 設問 5

患者背景：30 代男性。頻回の激しい下痢を発症。便培養をしたところ写真 5 のごとくコロニーが発育した。推定される微生物名の組み合わせを、下記選択肢より 1 つ選択してください。

- a *Vibrio mimicus*
- b *Vibrio cholerae*
- c *Vibrio fluvialis*
- d *Vibrio parahaemolyticus*
- e *Aeromonas hydrophila*

- ①a,b ②a,e ③b,c ④c,d ⑤d,e

写真 5

TCBS 寒天培地 35℃、24 時間 好気培養



同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 |
|----|--|-----|
| A | ③b <i>Vibrio cholerae</i> c <i>Vibrio fluvialis</i> | 25 |

TCBS 寒天培地は、*Vibrio cholerae* および

Vibrio parahaemolyticus 等の病原性 *Vibrio* の選択分離培地です。本培地には塩化ナトリウムの他にチオ硫酸塩、胆汁酸塩、クエン酸塩等の塩類が含有されており、これらの塩類と培地の高い pH(8.6±0.2) によって *Vibrio* 以外のほとんどの菌の発育は抑制されます。*Proteus*、*Pseudomonas*、*Aeromonas* のなかには発育するものがありますが、発育が弱いので、仮に発育しても *Vibrio* と容易に鑑別できます。

本培地では *Vibrio* の白糖分解菌 (*V. cholerae*、*V. fluvialis* など) は黄色のコロニーを形成し、白糖非分解菌 (*V. parahaemolyticus*、*V. mimicus*、*V. vulnificus* など) は緑色のコロニーを形成します。ただし *V. vulnificus* の中には白糖を分解する菌株もあり、その場合は黄色のコロニーを形成しますので注意が必要です。

Photo Survey 設問 6

患者情報：79 歳 女性 入院患者 中心静脈カテーテルと坐骨神経に鎮痛剤を投与するためのカテーテルを挿入中、数日前より発熱、悪寒があったため血液培養ボトルが微生物検査室に提出された。

血液培養：4 日目に好気ボトルのみが陽性になった。培養液のグラム染色は写真 6-1 のごとくであったため、抗酸菌染色を実施したところ写真 6-2 のごとくであった。そのため血液寒天培地と小川培地に培養したところ 3 日後に写真 6-3、6-4 のごとくコロニーが発育した。推定される微生物名を下記選択肢より 1 つ選択してください。

- ① *Mycobacterium kansasii*
- ② *Mycobacterium marinum*
- ③ *Mycobacterium scrofulaceum*
- ④ *Mycobacterium intracellulare*
- ⑤ *Mycobacterium fortuitum*

写真 6-1

培養液のグラム染色 (1000倍)

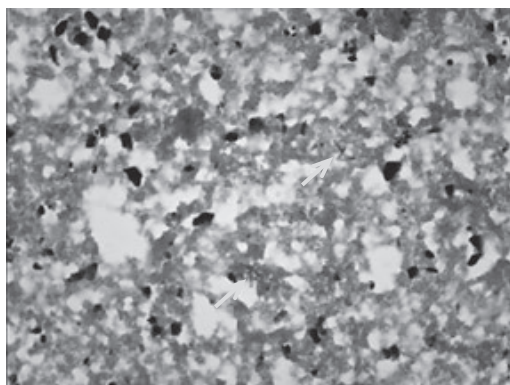


写真 6-2

培養液のチール - ネルゼン染色 (1000倍)

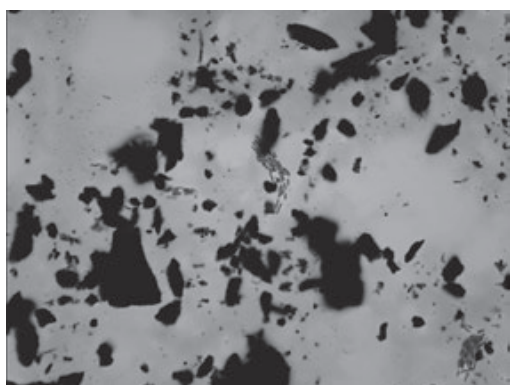


写真 6-3

5%ヒツジ血液寒天培地 35℃、3日間 好気培養

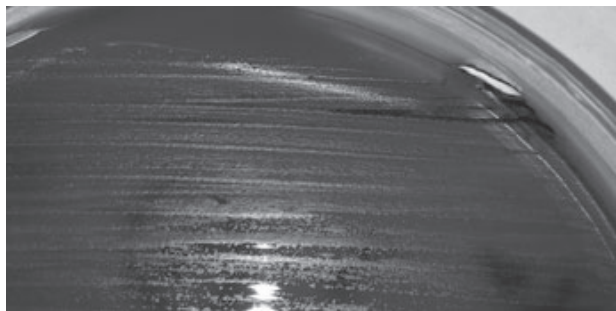


写真 6-4

小川培地 35℃、3日間 好気培養



同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 |
|----|----------------------------------|-----|
| A | ⑤ <i>Mycobacterium fortuitum</i> | 25 |

結核菌を除く *Mycobacterium* 属菌種は、土壌や水中など自然界に存在します。

Mycobacterium chelonae,

Mycobacterium fortuitum,

Mycobacterium abscessus などの迅速発育菌群は、血液寒天培地などの一般細菌用培地に発育するため、時に通常の（結核菌用でない）血液培養ボトルから検出されます。本菌群は易感染患者の皮膚・軟部組織から分離され、血液疾患や悪性腫瘍などの化学療法中の患者では、カテーテル侵入部の発赤や潰瘍の原因となります。このような患者では、血管内カテーテルを介した菌血症を引き起こし、血液培養で検出されます。

本菌群は偏性好気性菌のため、好気用ボトルで検出できますが、一般細菌に比べ発育が遅く、多くは3~4日目で検出されます。元来はグラム陽性菌ですが、培養ボトルのグラム染色では染色性が弱く、細い桿菌として認められます。分岐はなく *Corynebacterium* のような一端のふくらみもありません。時に染色性が極めて悪く、菌体の確認が困難な場合や顆粒状菌体として認められる場合もあり、このような菌体が認められた場合にはチール - ネルゼン染色を行い抗酸菌であることを確認する必要があります。

培養は血液寒天培地を用いて 35℃、好気培養を行います。コロニー形成には3日以上培養を要します。コロニー性状は、直径1~2mm、白~淡クリーム色S型ですが、表面がやや乾燥したようなR型コロニーを認めることもあります。もし本菌群が疑われる場合は一般細菌用培地に加え、小川培地などの抗酸菌培地も使用するとよいと思います。

Photo Survey 設問 7

患者情報：74歳、女性、主訴：意識レベル低下、食欲不振。8月10日、自宅で転倒し頭部打撲、意識レベル低下より救急搬送後入院された。頭部CT検査は異常無く、胸腹部CT検査より肺右上葉に結節影が見られ、肺癌が疑われた。頭部を動かすと頸部痛は持続した。肺の結節影に対し真菌も疑い、髄液検査が施行された。

血液検査：WBC 7600 / μ l(好中球87.7%)、CRP 0.5 mg/dl、血糖91mg/dl、Na 126mEq/l

髄液検査：外観は無色透明、蛋白88mg/dl、糖38mg/dl、CL 111mEq/l、細胞数5/μl(単核球4・多核球1)、グラム染色より写真7-1のごとく大小の円形の菌体を認めた。また墨汁染色で写真7-2のごとく観察された。培養検査ではクロモアガーカンジダ培地に35℃、4日間で写真7-3のごとく発育した。推定される微生物名をコードより選択してください。

写真 7-1

髄液のグラム染色 (1000 倍)

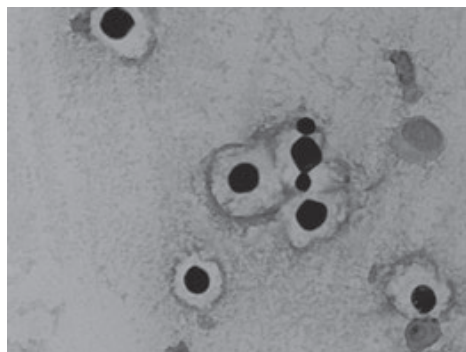


写真 7-2

髄液墨汁染色(200 倍)

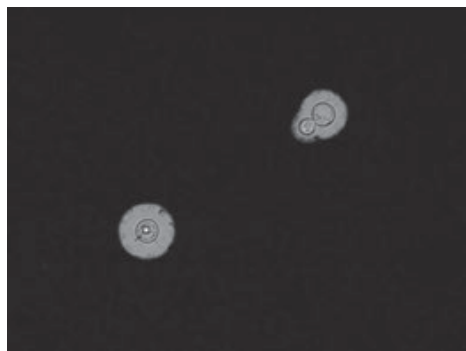
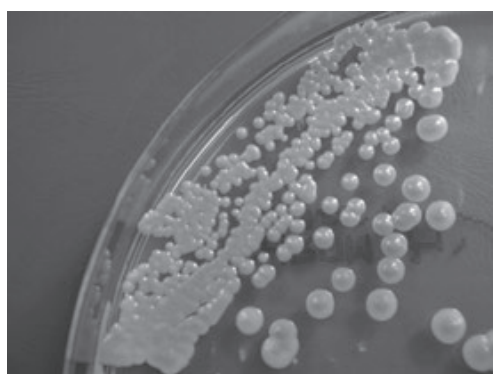


写真 7-3

クロモアガーカンジダ培地 35℃、4日間培養



同定検査評価

| 評 価 | 菌 名 | 施設数 |
|-----|--------------------------------|-----|
| A | <i>Cryptococcus neoformans</i> | 24 |
| | <i>Cryptococcus</i> sp. | 1 |

2011 年のフォトサーベイより問題文のみを変えて出題させていただきました。

Cryptococcus neoformans は土壌中に存在する真菌で、自然界に広く分布します。鳥類、特にハトの糞中に高率に存在します。肺に経気道感染し肉芽腫性病変を形成し、肺から血行性に髄膜炎を発症します。日和見感染症であることが多いと考えられています。基礎疾患のない感染症患者も見られます。肺クリプトコックス症と診断した時には、髄液検査により髄膜炎の合併の有無を確認します。

大きさは直径 2.5~10μm で、*Candida albicans* などの酵母様真菌と異なり、球形あるいは亜球形で周囲に莢膜を有します。特に莢膜はグラム染色(写真 7-1)で酵母の周りがぬけた感じに染まり、髄液墨汁染色(写真 7-2)でも酵母の周囲が明るく抜けたように見られます。そのような像が見られればクリプトコックスが推定できますから、鏡検が最も迅速な方法と言えます。

しかし、オーストラリアや南米などの特定種のユーカリの樹木に局限して分布していた *Cryptococcus gattii* がカナダ、アメリカで病原菌として検出されるようになり、集団発生例も報告されています。免疫低下のない人の感染症、および肺や脳のクリプトコッコーマ(腫瘍病変)の形成は *C. neoformans* よりも *C. gattii* に起因する場合の方がはるかに多いとされています。*C. neoformans* と *C. gattii* は形態学的には区別は不可能であるため、カンバニン・グリシン・ブロムチモールブルー(CGB)寒天培地を利用した鑑別法、または遺伝子学的検査が必要となります。

Photo Survey 設問 8

患者背景:40 代男性。数か月前に東南アジアに旅行に行っており。現地で水を飲んだとのこと。数日前より腹痛と下痢を訴え近医を受診。検査の為、便検体が提出された。提出された便はイチゴゼリー状の粘血便であった。推定される微生物名をコードより選択してください。

写真 8-1
便の外観



写真 8-2
便の生標本(400倍)

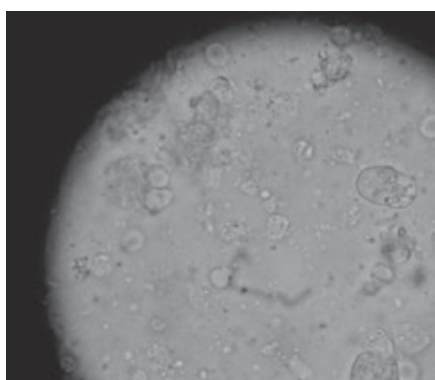
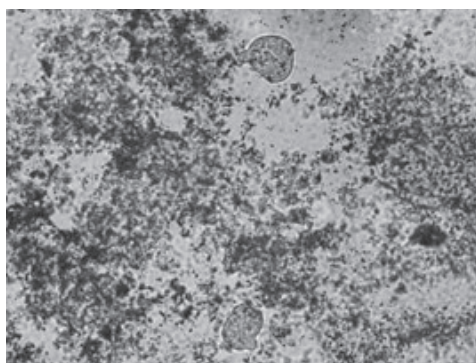


写真 8-3
便のヨード染色標本(400倍)



同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 |
|----|------------------------------|-----|
| A | <i>Entamoeba histolytica</i> | 24 |
| | <i>Entamoeba sp.</i> | 1 |

赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* は世界に広く分布し、赤痢や肝膿瘍など重篤な疾患を引き起こします。感染経路は主として成熟シストで汚染された飲料水や食品の摂取による経口感染ですが、男性

同性愛者による性行為による感染も増加してきています。

検査は粘血便や下痢便、潰瘍部擦過物より、栄養型を検出することが重要であり、採取後1時間以上も経過すると運動性がなくなり、死滅・自己融解して検出できなくなるため、1時間以内に検鏡する必要があります。さらに、できるだけ37℃に近い状態で検体を搬送しなければなりません。

栄養型は10~40µmのアメーバ状で活発に運動がみられ、しばしば赤血球の貪食がみられます。

シストのみ検出される場合や、粘血を含まない下痢便から栄養型が検出されたときは、形態学的に判別のできない非病原性の *Entamoeba dispar* や *Entamoeba moshkovskii* との鑑別が必要で、PCRによる遺伝子診断を行います。そのため今回は *Entamoeba sp.* も正解としました。

Photo Survey 設問 9

患者背景:85歳 女性 食欲不振、歩行困難があり、近医に入院、精査をしたが異常を認めず、ステロイド剤の内服にて食欲が改善したために長期投与にて経過観察していた。また、神経因性膀胱のため、尿道カテーテル挿入にて長期管理をされていた。2か月後、発熱が出現し、近医を再度受診。尿検査にて白血球の増多とグラム陰性桿菌の貪食像を認めた。尿培養検査の為、尿検体が微生物検査室に提出された。尿培養を実施したところ写真 9-1 のごとく菌が発育し、チトクロムオキシダーゼ試験は写真 9-2 のごとくであった。推定される微生物名をコードより選択してください。

写真 9-1

5%ヒツジ血液寒天/BTB 乳糖加寒天 35℃、24時間好気培養

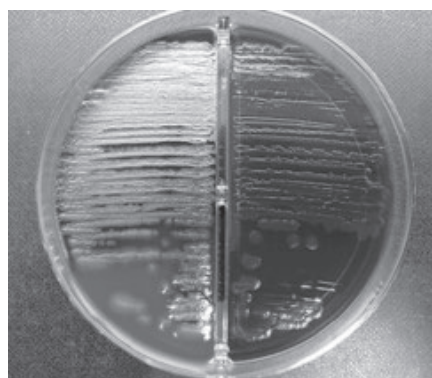
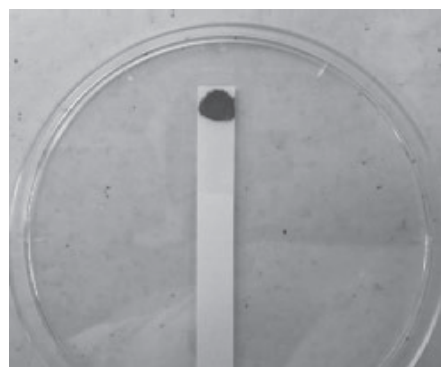


写真 9-2

チトクロムオキシダーゼ試験



同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 |
|----|-------------------------------|-----|
| A | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 24 |
| B | <i>Pseudomonas sp.</i> | 1 |

Pseudomonas aeruginosa は自然界の水系に広く存在するブドウ糖非発酵のグラム陰性桿菌です。医療機関において高頻度で検出される代表的な日和見病原体の1つであり、白血球減少患者、免疫抑制剤投与患者、熱傷患者、挿管・カテーテル留置患者、慢性呼吸器疾患患者などにおいて本菌感染症がみられることが多いです。

35～37℃、24時間培養で血液寒天培地、BTB乳糖加寒天培地に、扁平、辺縁不整で時間が経過すると金属光沢をともなったコロニーを形成し、特有の臭気があります。またヒツジ血液寒天培地上では弱いβ溶血を示します。ムコイド株は水滴を垂らしたような透明で露滴状コロニーを形成します。ムコイド株では初期の発育が遅いことに注意する必要があります。

本菌はオキシダーゼ活性が陽性であり、このことと、コロニーの金属光沢、特有の臭気により本菌を疑うことができます。

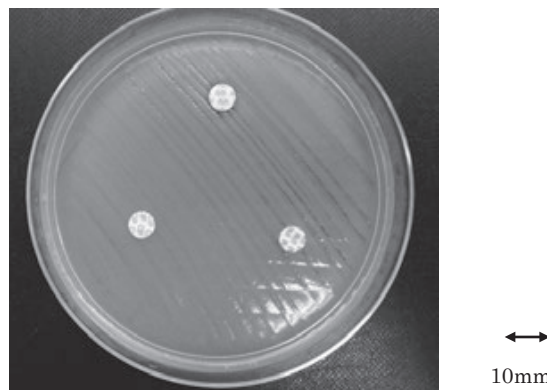
Photo Survey 設問 10

設問9で分離された菌のIPM、AMK、CPFXX、に対する薬剤感受性試験(ディスク拡散法)を実施した。本菌を原因菌とする場合、該当する感染症法の区分を選択肢より1つ選んでください。

- ① 3類感染症である。
- ② 4類感染症である。
- ③ 5類感染症(全数把握)である。
- ④ 5類感染症(定点把握)である。
- ⑤ 感染症法にあたらぬ。

写真 10

IPM、AMK、CPFXX のディスク拡散法による薬剤感受性試験



同定検査評価

| 評価 | 菌名 | 施設数 |
|----|-------------------|-----|
| A | ④ 5類感染症(定点把握)である。 | 25 |

Pseudomonas aeruginosa の薬剤感受性結果で以下の場合には多剤耐性緑膿菌(MDRP)となります。
・イミペネム(IPM)のMIC値が16μg/ml以上又は、感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が13mm以下

・アミカシン(AMK)のMIC値が32μg/ml以上又は、感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が14mm以下

・シプロフロキサシンのMIC値が4μg/ml以上、又は、感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が15mm以下

設問9で分離された*P. aeruginosa*の薬剤感受性結果は、IPMの阻止円直径が6mm、AMKの阻止円直径が6mm、CPFXXの阻止円直径が6mmであるため、本菌はMDRPとなります。もし本菌が尿路感染症の起原菌と診断された場合、5類感染症(定点把握)になりますので、指定届出機関の管理者は、法14条第2項の規定による届出を月単位で、翌月の初日に届け出なければなりません。

このような薬剤耐性菌の感染症法による届出はほかにもありますので、該当する感染症、届出に必要な検査所見などを把握しておく必要があります。下記に感染症法で挙げられている薬剤耐性菌感染症をお示しします。

- ① 5類感染症(全数把握)：すべての医療機関が7日以内に届け出
 - ・カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症
 - ・バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症
 - ・バンコマイシン耐性腸球菌感染症

- ・薬剤耐性アシネトバクター感染症
- ② 5類感染症（定点把握）：指定された医療機関が月単位で届け出
 - ・ペニシリン耐性肺炎球菌感染症
 - ・メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症
 - ・薬剤耐性緑膿菌感染症

考察

| 試料問題 | 正解率 | |
|-------------------|--------|--------|
| | 1次評価後 | 2次評価後 |
| 設問 41 同定・感受性試験 | 100 % | 100 % |
| 設問 41 感受性試験(CEZ) | 87.5 % | 87.5 % |
| 設問 41 感受性試験(MINO) | 100 % | 100 % |
| 設問 42 同定 | 100 % | 100 % |

| Photo 設問 | 正解率 | |
|----------|-------|-------|
| | 1次評価後 | 2次評価後 |
| 設問 1 | 92 % | 96 % |
| 設問 2 | 100 % | 100 % |
| 設問 3 | 96 % | 100 % |
| 設問 4 | 96 % | 100 % |
| 設問 5 | 100 % | 100 % |
| 設問 6 | 100 % | 100 % |
| 設問 7 | 100 % | 100 % |
| 設問 8 | 100 % | 100 % |
| 設問 9 | 100 % | 100 % |
| 設問 10 | 100 % | 100 % |

各設問の1次評価と2次評価の正解率を表に示します。1次評価で不正解だった理由として、問41の薬剤感受性検査では、認識不足、機器のシステムのカテゴリー未変換による間違いというものがありませんでした。システムを完全に信用するのではなく、得られた結果が本当に正しいのか再確認する必要があるのではないかと感じました。また今回の資料41の同定については *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* という回答でも許容正解にしてありますが、本来ならば MSSA か MRSA まで同定して薬剤感受性検査を実施していただき、薬剤耐性機構によるカテゴリーの変換があれば変換していただくべきであると考えます。フォト設問では認識不足、確認不足が挙げられました。

また今回は設問の入力ミスによる認識間違いもあり、これは出題者にとって大いに反省すべき点であると感じました。

まとめ

今回のサーベイでは2次評価でほとんどの設問の正解率が85%を越えました。しかし、今回判断ミスや入力ミスがあり、同定や入力の際には十分に注意するようお願い致します。また、得られた結果については間違いがないか等、再確認をお願いいたします。

また、今回設問の方で入力ミスがあり、これが誤回答に繋がったことは大いに反省すべき点であります。ご迷惑をおかけしたことを深くお詫び申し上げ、また、今後このようなことがないように再発防止に努めていきたいと思っております。

文献

- 1) 堀井俊伸ほか：微生物検査ナビ 栄研化学 2013
- 2) 小栗豊子ほか：微生物検査ハンドブック 第4版 三輪書店 2011
- 3) Richard V Goering *et al.* (著)：中込治 (訳)：カラー版 ミムス微生物学 西村書店 2012
- 4) Davise, H. Larone (著)：山口英世ほか (訳)：医真菌同定の手引き 第5版 栄研化学 2013
- 5) 上村清ほか：寄生虫学テキスト 第3版 光文堂 2008
- 6) 太田敏子ほか：メディカルサイエンス微生物検査学 近代出版 2008
- 7) 浅利誠志ほか：血液培養検査ガイド 日本臨床微生物学雑誌 Vol.23 2013
- 8) 柳沢英二：腸内細菌科 Medical Technology Vol.39 No.11：1144-1148 2011
- 9) 館田一博：緑膿菌 臨床微生物検査イエローページ

臨床 検査増刊号 Vol.58 No.11 : 1333-1336 2014

10) 吉田製薬株式会社 : 血中ウイルスの消毒法
Y' S Letter No.10

11) 厚生労働省 : 感染症法に基づく医師の届出のお願い
http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/kekkaku-kansenshou/kekkaku-kansenshou11/01.html

12) 厚生労働省 : 感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き
について
http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou19/dl/20140815_02.pdf

13) 日本臨床微生物学会監修 : 抗菌薬感受性のための標準法 第22版 2012