

微生物検査

八島 繁子 岐阜県立多治見病院

長島 敏之 株式会社メディック



微生物検査

八島 繁子 [岐阜県立多治見病院]
長島 敏之 [株式会社メディック]

はじめに

令和7年度の微生物サーベイは、試料問題2題、Photo Survey 5題を出題した。試料問題は菌種が正しく推定できるかを、薬剤感受性検査は各施設が正しく測定できているかを確認する意味で出題した。また、Photo Surveyは、患者情報、コロニー形態、生化学的性状の結果からポイントを絞って推測し、推定できるようなものを中心に問題作成を行った。また菌種推定だけでなく、高圧蒸気滅菌器の取り扱いについての設問も出題した。

実施項目 ◎：評価対象問題

	同定	感受性	選択問題
試料問題 (試料41)	◎	◎	
試料問題 (試料42)	◎		
Photo Survey 5問			◎

参加施設数

試料問題（同定） 23施設
薬剤感受性検査 23施設
IPM 22施設
AMK 23施設
CPFX 21施設
Photo Survey 23施設

試料問題

試 料 41

患者背景：70歳女性。入院期間が一ヶ月の患者。尿道カテーテル留置後10日目に38℃の発熱を認めたため、胸部単純X線検査を実施し、尿道カテーテルを入れ替えた。尿道カテーテル入れ替え後に採取したカテーテル尿の検査と血液培養が実施された。各検査結果を以下に示す。

胸部単純X線検査：異常なし
尿検査結果：混濁あり、pH6.5、
赤血球1個未満/HPF、

白血球50～99個/HPF

尿培養：細菌が10⁶/mL発育した

血液培養：尿培養と同じ細菌の発育を認めた

問：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。

問：IPM(イミペネム)、AMK(アミカシン)、CPFX(シプロフロキサシン)の薬剤感受性検査を実施し、Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI) M100-S35の基準を用いてS、I、R、で判定・回答してください。

※希釈法でのMIC値の不等号の向きについては、不等号を左側、MIC値を右側に配した場合で回答してください。(例：4μg/mL以下→≤4μg/mL)

※ディスク拡散法で阻止円が認められない場合は、すべて6mmとしてください。

※貴施設で未実施の薬剤は空欄のまま登録してください。

同定検査評価

評価	菌名	施設数
A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23

薬剤感受性検査評価

薬剤	評価	判定	施設数
IPM	A	S	22
AMK	A	S	23
CPFX	A	S	21

*Pseudomonas aeruginosa*の同定のポイントを以下に示す。

- 0.5～0.8mm×1.5～3.0mmのグラム陰性桿菌で、莢膜(-)、1本の鞭毛(極単毛)、芽胞(-)である。中等度ないし細く、長い。

- 普通寒天培地に発育し、好気条件下、35℃、18時間培養で辺縁不整、扁平な集落を形成する。5%

ヒツジ血液寒天培地上では β 溶血を示し、金属様光沢を示すことがある。4 °Cで発育せず、42 °Cで発育する。選択分離培地として、ナリジクス酸とセトトリマイトを含有するNAC(nalidic-acid、cetrimide)寒天培地があり、色素の確認培地として、キングA(ピオシアニン)やキングB(ピオベルジン)培地がある。偏性好気性(一部、硝酸塩存在下で嫌気的に発育可能)、ブドウ糖非発酵性で、オキシダーゼ反応(+)、カタラーゼ反応(+)、硝酸塩還元試験(+)、アセトアミド加水分解(+)である。

- 免疫能低下患者における日和見病原体である。火傷などの創傷感染症、カテーテル留置後の尿路感染症、呼吸器感染症、中耳炎などさまざまな感染症の起炎菌となる。

- 染色体上に β -ラクタマーゼ産生遺伝子を保有することから、生来複数の抗菌薬に対して耐性を示す。また、薬剤排出ポンプなど複数の耐性機序が同時に関与することで多系統の抗菌薬に耐性を示すことも少なくない。

- 2025年(令和7年)11月時点の感染症法において、綠膿菌に関する疾病名は五類感染症の薬剤耐性綠膿菌感染症である。

届出のために必要な検査所見の一部を以下に示す。

検査材料

通常無菌であるべき検体

検査方法

分離・同定による綠膿菌の検出、かつ、以下の3つの条件を全て満たした場合

ア イミペネムのMIC値が16 µg/mL以上又は、イミペネムの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が13 mm以下

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

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

(※) イミペネム以外のカルバペネム系薬剤により検査を実施した場合は、その検査により耐性の結果が得られた場合も判断基準のアを満たすものとする。イミペネムによる検査と、その他のカルバペネム系薬剤による検査を実施した場合には、いずれかの薬剤の検査により耐性の結果が得られた場合も判断基準のアを満たすものとし、その検査方法を届出のために必要な検査方法とする。

また、シプロフロキサシン以外のフルオロキノロン系薬剤により検査を実施した場合は、その検査により耐性が得られた場合も判断基準のウを満たすものとする。

すものとする。シプロフロキサシンによる検査と、その他のフルオロキノロン系薬剤による試験を実施した場合には、いずれかの薬剤の検査により耐性の結果が得られた場合も判断基準のウを満たすものとし、その検査方法を届出のために必要な検査方法とする。

- 抗菌薬の感受性は施設ごとに異なるため、アンチバイオグラムなどを参考に選択薬を決定する。

試 料 42

患者背景：65歳男性。体温37.4 °C、腹痛を訴え来院。来院時の画像所見などから急性胆囊炎が疑われた。

胆汁の培養検査と血液培養を実施したところ、両検体から同じ細菌の発育を認めた。

問：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。

同定検査評価

評価	菌名	施設数
A	<i>Klebsiella aerogenes</i>	23

*Klebsiella aerogenes*の同定のポイントを以下に示す。

- 通性嫌気性グラム陰性桿菌であり、周毛性鞭毛を有し、活発な運動性を示す。*Enterobacter aerogenes*は2017年に*Klebsiella aerogenes*として再分類されたが有効な抗菌薬については*Enterobacter*属に準じて考える必要がある。

- 分離培養は35 °C～37 °Cの好気環境下で実施し、普通寒天培地によく発育する。分離平板培地で発育した集落の同定は、通常はオキシダーゼ反応(-)、IPA反応(-)、H₂S産生(-)、VP(+)、運動性(+)、リジン脱炭酸反応(+)、DNA(-)である。

- ヒトの腸管をはじめ、河川や土壤中など自然界に広く分布する。日和見感染症を引き起こし、尿路感染、カテーテル血流感染(菌血症)、HCAP(医療ケア関連肺炎)、手術部感染などに関与する。

- 本属菌の多くの菌種は染色体性にクラスCに属するAmpC β -ラクタマーゼを産生するため、ペニシリソングリコペニシリン系および第1・2世代セファロスボリン系抗生物質に耐性を示す。このAmpC β -ラクタマーゼを過剰産生し、かつ抗菌薬が通過する外膜ポーリン孔の欠損が生じるとカルバペネム系抗生物質まで耐性化することがある。

Photo Survey

5つの設問の患者背景、検査データを、Photoを添えて出題します。選択問題は正解を選択肢より、その他の設問は、推定される菌種をコード表から選択してください。

Photo Survey 設問 1

写真1は、細菌培養に使用した器具や培地を滅菌する際に、滅菌包装やコンテナに貼り付けて使用する包装外部用インジケーターの写真です。

写真1-1：滅菌前

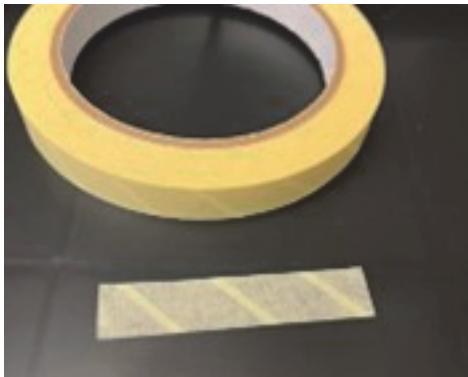


写真1-2：滅菌後



滅菌に使用した機器は胴の内径300mm、長さ500mmであり、一ヶ月に一回以上使用している。ボイラー及び圧力容器安全規則において間違っているものを下記選択肢より1つ選択してください。

- ① 定期自主検査について記載されているのは第九十四条である
- ② 機器の使用を開始した後、一年以内ごとに一回、定期に、本体、ふたの締付けボルト、管及び弁の損傷又は摩耗の有無について自主検査を行なわなければならない
- ③ 一年をこえる期間使用しなかった機器を再び開始する際に、同項各号に掲げる事項について自主検査を行なわなければならない
- ④ 自主検査を行なったときは、その結果を記録

し、これを五年間保存しなければならない

- ⑤ 自主検査を行なった場合において、異常を認めたときは補修その他の必要な措置を講じなければならない

設問1回答評価

評価	選択肢	施設数
A	④自主検査を行なったときは、その結果を記録し、これを五年間保存しなければならない	23

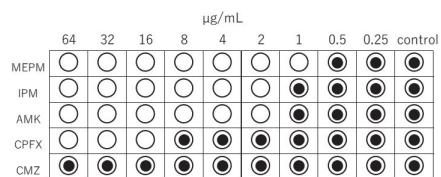
ボイラー及び圧力容器安全規則からの出題である。冒頭に「労働安全衛生法(昭和四十七年法律第五十七号)及び労働安全衛生法施行令(昭和四十七年政令第三百十八号)の規定に基づき、並びに同法を実施するため、ボイラー及び圧力容器安全規則を次のように定める。」とある。労働安全衛生法施行令の第一条にはボイラー、小型ボイラー、第一種圧力容器などの用語の定義について記載があるため、それに沿った対応が必要である。

「事業者は、前二項の自主検査を行なったときは、その結果を記録し、これを三年間保存しなければならない。」との記載があるため、間違っているのは五年保存と記載してある④である。

Photo Survey 設問 2

8歳男性、現病歴は肝硬変。腹水から分離された細菌の薬剤感受性試験を微量液体希釈法で実施した初回時のパネルの写真を写真2に示します。

写真2：微量液体希釈法による薬剤感受性結果



2025年7月時点における感染症法において正しいものを下記選択肢より1つ選択してください。

- ① 腸内細菌目細菌の場合、MIC値の結果のみで五類感染症に該当する
- ② 腸内細菌目細菌の場合、イムノクロマト法によるカルバペネマーゼ産生、又はカルバペネマーゼ遺伝子が確認されたときは五類感染症に該当する
- ③ 緑膿菌の場合、五類感染症に該当する
- ④ アシネットバクター属菌の場合、五類感染症に

該当する

- ⑤ 五類感染症に該当した場合、診断したら直ちに届け出が必要である

設問 2 回答評価

評価	選択肢	施設数
A	②腸内細菌目細菌の場合、イムノクロマト法によるカルバペネマーゼ産生、又はカルバペネマーゼ遺伝子が確認されたときは五類感染症に該当する	23

- 写真 2 の MIC 値と判定を示す

薬剤	MIC 値	判定
MEPM	1	S
IPM	2	I
AMK	2	S
CPFX	16	R
CMZ	>64	R

・選択肢①②については、2025 年（令和 7 年）4 月 7 日から五類感染症であるカルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症の届出のために必要な検査方法が変更になったため、届出のために必要な検査所見の一部を以下に示す。

検査材料

通常無菌であるべき検体

検査方法

分離・同定による腸内細菌目細菌の検出かつ、次のいずれかを満たすことを確認

ア メロペネムの MIC が $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク（KB）の阻止円直径が 22 mm 以下であること

イ 薬剤感受性試験の結果が上記、アを満たさない場合であっても、イムノクロマト法によるカルバペネマーゼ産生、又はカルバペネマーゼ遺伝子が確認されること

薬剤感受性に関しては IPM と CMZ 同時耐性の確認が削除され、MEPM のみの確認になった。また、カルバペネマーゼ産生または遺伝子の確認による検査も対象となった。

したがって、「①腸内細菌目細菌の場合、MIC 値の結果のみで五類感染症に該当する」は、本菌は該当しない。「②腸内細菌目細菌の場合、イムノクロマト法によるカルバペネマーゼ産生、又はカルバペネマーゼ遺伝子が確認されたときは五類感染症に該当する」が正解である。

- 選択肢③④に関しては、菌種は異なるが届出のた

めに必要な検査所見は同じであり、本菌は該当しない。

・選択肢⑤については、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症と薬剤耐性アシнетバクター感染症は診断から 7 日以内、薬剤耐性綠膿菌感染症は診断から翌月初日が届出時期であり、該当しない。

Photo Survey 設問 3

写真 3 に生化学的鑑別性状試験用試験管培地を示します。

写真 3-1：菌接種前の生化学的鑑別性状試験用試験管培地

写真左から TSI 培地、シモンズ・クエン酸培地、LIM 培地、VP 半流動培地、SIM 培地



写真 3-2：とある菌株を接種し、35°C、24 時間培養後の生化学的鑑別性状試験用試験管培地

写真左から TSI 培地、シモンズ・クエン酸培地、LIM 培地、VP 半流動培地、SIM 培地（インドール試薬添加あり）



次の生化学的鑑別性状試験の判定のうち、誤っている文章を選択肢より1つ選んでください。

- ① TSI 培地にて菌接種培養後の培地の斜面が赤色であったため、乳糖・白糖非分解と判定した
- ② シモンズ・クエン酸塩培地にて菌接種培養後の培地の色が緑色から変化を認めなかつたため、クエン酸利用能陰性と判定した
- ③ LIM 培地にて菌接種培養後の培地の色が紫色であったため、リジン脱炭酸反応陰性と判定した
- ④ VP 半流動培地にて菌接種培養後にVP試薬を添加したが変化を認めなかつたため、VP反応陰性と判定した
- ⑤ SIM 培地にて菌接種培養後にインドール試薬を添加したところ試液層が赤色に変化したため、インドール反応陽性と判定した

設問3回答評価

評価	選択肢	施設数
A	③LIM 培地にて菌接種培養後の培地の色が紫色であったため、リジン脱炭酸反応陰性と判定した	23

- ・LIM 培地は、リジン脱炭酸反応と試薬添加によるインドール反応と運動性を確認する培地である。
- ・脱炭酸反応とは、アミノ酸のカルボキシル基(-COOH)から CO₂ が外される代謝によってアミン(リジンの場合はカタベリン)を生ずる反応であり、酸性においてアミノ酸のカルボキシル基がイオン化することと脱炭酸酵素が活性化することにより顕著となる。
- ・LIM 培地は、はじめブドウ糖の分解で培地の pH が酸性となるため色は黄色になる。リジン脱炭酸反応が陽性の菌は、次にアミノ酸が脱炭酸されてアミンが形成されるため、培地は次第にアルカリ性となり色が紫色に変化する。つまり、リジン脱炭酸反応の判定は、菌接種前と同様な紫色が陽性であるため選択肢③が間違いである。

Photo Survey 設問4

患者背景：11歳女児。体温 37.5 °C、下痢、腹痛、嘔吐の症状にて来院。4日前に十分に加熱されていない鶏肉を食していた。便は粘液便であり血液の混入があった。下痢症の診断のために便の培養検査が提出され、複数種類の培地にて培養を実施し、ある

細菌の発育を認めた。

検体のグラム染色結果と培養結果と細菌の性状確認検査を写真4に示します。

写真4-1：便のグラム染色 (B&M法：1000倍)

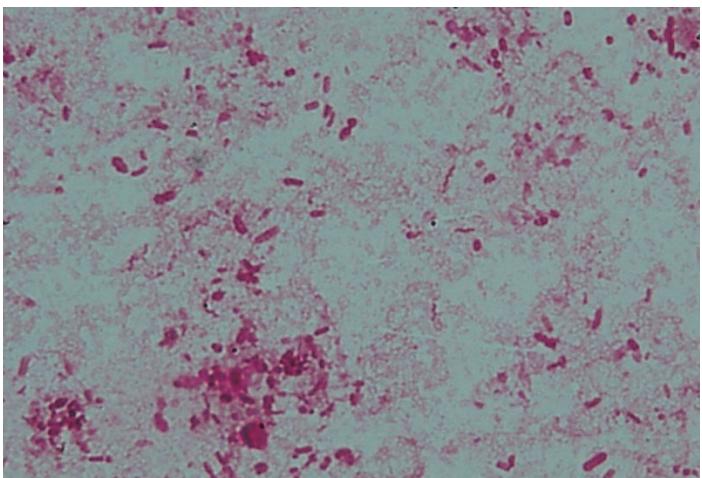


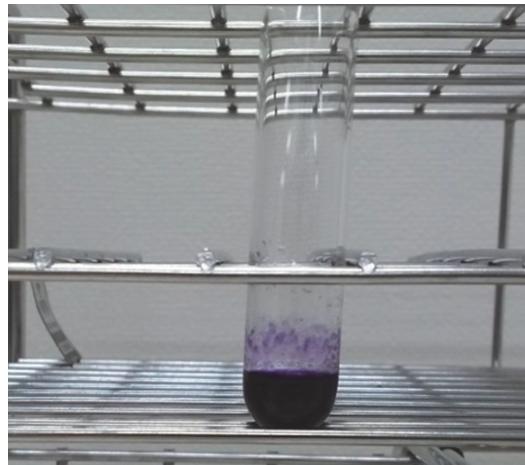
写真4-2：CCDA 寒天培地 42 °C、微好気条件 24 時間



写真4-3：5 %ヒツジ血液寒天培地 42 °C、微好気条件 24 時間



写真 4-4：馬尿酸塩加水分解試験



推定される微生物名をコードより選択してください。

設問 4 回答評価

評価	菌名	施設数
A	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	23

- 便培養のグラム染色所見にて、螺旋状のグラム陰性桿菌を認めた場合、*Campylobacter* 属を疑うが、*Campylobacter* 属には 30 菌種以上が存在するため、鑑別が必要である。

- スキロー培地やバツラー (Butzler) 培地、ブレイザー 培地、CCDA (charcoal cefazolin sodium deoxycholate agar) 培地などの選択培地を用い、42 °C、酸素濃度 5 %～10 % の微好気環境で培養を行う。*C. fetus* を目的とした場合は 37 °C で微好気培養を行うが、42 °C で発育する株もあるため 42 °C 発育のみで *C. fetus* を除外することはできない。馬尿酸塩加水分解試験は *C. jejuni* と *C. coli* の鑑別に用いられ、*C. jejuni* は陽性を示すが新鮮培養菌を用いないと偽陰性となるため注意が必要である。

- 以上の性状から、*C. jejuni* と推定される。
- セファロスポリン系抗菌薬に自然耐性である。*C. jejuni* と *C. coli* はマクロライド系抗菌薬が第一選択薬である。フルオロキノロン系抗菌薬の耐性化が進んでいる。
- 感染症法上の分類は五類感染症（小児科定点報告）の感染性胃腸炎であり、診断の翌週月曜日が届出時期である。

Photo Survey 設問 5

患者情報：85 歳男性 糖尿病治療中。咳が続き来院。来院時所見は、体温 37.8 °C、呼吸数増加、胸部単純 X 線検査で浸潤影を認めた。尿中肺炎球菌抗原（-）、マイコプラズマ抗原（-）であった。肺炎の診断加療目的で喀痰培養が実施された。喀痰の性状は Miller&Jones の分類の P3 であった。

検体の染色結果と培養結果と細菌の性状確認検査を写真 5 に示します。

写真 5-1：喀痰のグラム染色 (B&M 法 : 100 倍)

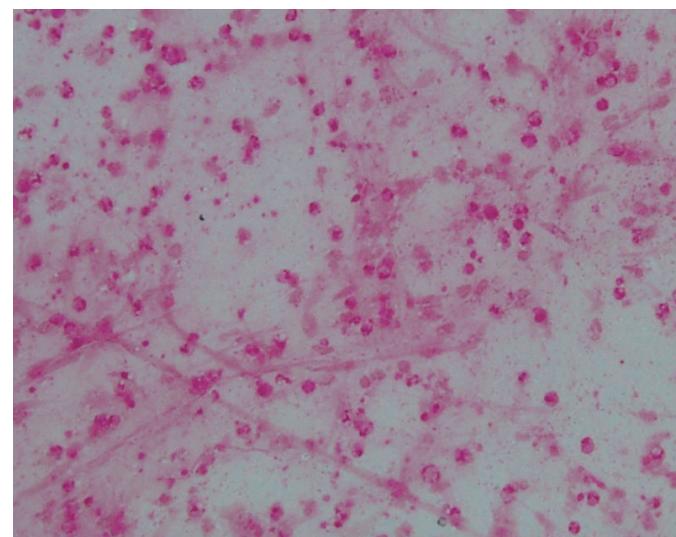


写真 5-2：喀痰のグラム染色 (B&M 法 : 1000 倍)

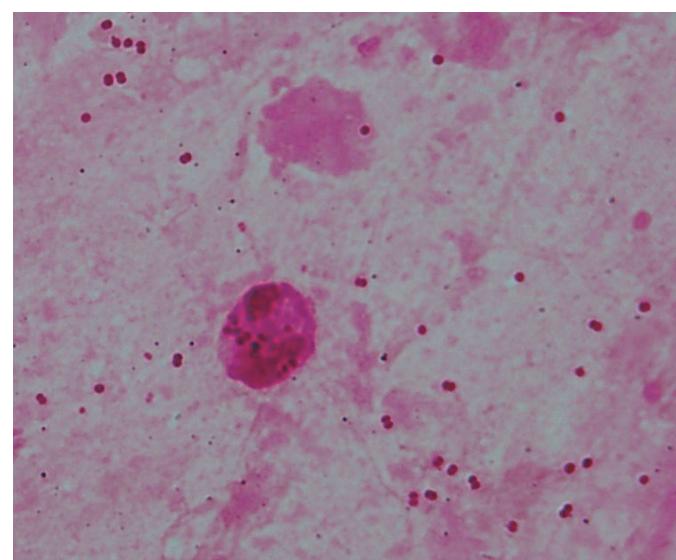


写真 5-3 : 5 %ヒツジ血液寒天培地 35 ℃、炭酸ガス培養 24 時間

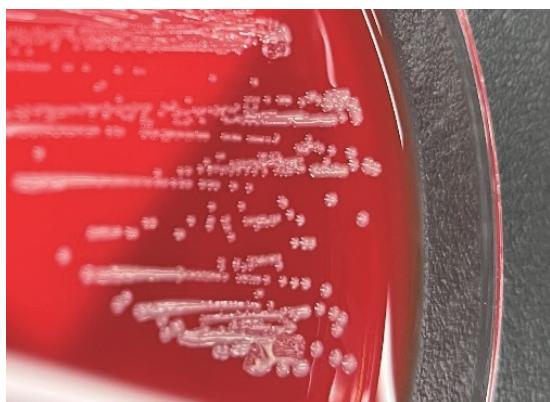


写真 5-4 : チョコレート寒天培地 35 ℃、炭酸ガス培養 48 時間



写真 5-5 : β ラクタマーゼ試験 (ニトロセフイン法)



推定される微生物名をコードより選択してください。

設問 5 回答評価

評価	菌 名	施設数
A	<i>Moraxella catarrhalis</i>	22
B	<i>Moraxella</i> sp.	1

- Geckler 分類のグループ 5 である質の良い喀痰のグラム染色所見よりグラム陰性球菌を多数認め、培養にて細菌の発育を認めた。細菌は *Moraxella catarrhalis* を疑い培養検査と同定検査を実施する。
- 偏性好気性菌、ヒツジ血液寒天培地やチョコレート寒天培地に良好に発育する。灰色から白色のスムースなコロニー（集落）である。
- 同定検査として、①グラム陰性双球菌、②オキシダーゼ試験陽性、③カタラーゼ試験陽性、④白金耳で押すとコロニーの形状を保ったまま培地上を動く‘hockey puck test’陽性。また、①～④に加えて、ブチレート（酪酸）試験陽性、インドキシリアルアセテート試験陽性であれば菌種が確定できる。
- β -ラクタマーゼ産生率は 90% 以上であり、第 3 世代セファロスポリン系薬、 β -ラクタマーゼ阻害薬配合ペニシリン、アジスロマイシンが治療に用いられる。

考察

各設問の正解率を表に示す。(評価対象外となった施設は除く。)

試料問題	正解率
設問 41 同定	100 %
設問 41 薬剤感受性 (IPM)	100 %
設問 41 薬剤感受性(AMK)	100 %
設問 41 薬剤感受性(CPFX)	100 %
設問 42 同定	100 %
Photo 設問	正解率
設問 1	100 %
設問 2	100 %
設問 3	100 %
設問 4	100 %
設問 5	100 %

試料問題における同定検査の実施方法は、自動機器が 13 施設、質量分析が 8 施設、用手法が 2 施設

であった。同定検査の正解率は 100 %であり、今回用いた試料の細菌では差は認められなかった。

設問 41 の薬剤感受性検査において、施設によつては未解答の薬剤があった。IPM は 1 施設、CPFX は 2 施設であった。それぞれ異なる施設であり、解答が 1 薬剤のみの施設は無かつた。本菌は感染症法に関わる細菌であり、薬剤感受性結果も重要である。届出に必要となる対象薬剤は出題した薬剤だけではなく同系列の薬剤でも対応可能なため、未回答があつた施設では他薬剤を測定しているかもしれないが聞き取りはできておらず不明である。

設問 42 では、2017 年に属名が変更になつてゐる菌種を出題した。コメントで以前の菌種を回答する施設はなく、新しい菌名が浸透していると感じた。

フォト設問は、微生物の推定同定のみならず機材の管理に関する知識に関する設問も出題した。微生物を扱う施設では高压蒸気滅菌器の使用の機会は多く、正解率は 100 %であり良好な結果であった。試験管培地の原理・性状についても良好な成績であつた。試験管培地は日常検査では使用する機会が減つてゐるが、認定試験などで出題されるため、今後も出題を続けていく必要があると思われる。

日労働省令第 33 号)

- 8) 労働安全衛生法施行令(◆昭和 47 年 08 月 19 日政令第 318 号)

まとめ

今回は、B 判定があつたものの全ての設問において正解率が 100 %であった。今後も各施設の精度管理のため、同定検査と薬剤感受性検査を中心に幅広い内容の設問を出題していきたい。

文献

- 1) 松本竹久ほか：検査と技術増刊号 Vol.49 No.3 医学書院 2021
- 2) 小栗豊子ほか：微生物検査ハンドブック 第 5 版 三輪書店 2017
- 3) Clinical and Laboratory Standards Institute : Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing、35th Edition (M100-ED35) CLSI 2025
- 4) 岡秀明：感染症プラチナマニュアル Ver.8 2023-2024 Grande メディカル・サイエンス・インターナショナル 2023
- 5) 堀井俊伸ほか：微生物検査ナビ 第 3 版 栄研化学 2024
- 6) 岐阜県ホームページ 届出基準
<https://www.pref.gifu.lg.jp/page/3796.html>
- 7) ポイラー及び圧力容器安全規則(◆昭和 47 年 09 月 30