

微生物

精度管理実務委員

馬庭 恭平	島根大学医学部附属病院
采原 隆志	浜田医療センター
兒玉 綾香	LSI メディエンス

平成 30 年度島臨技サーベイ報告書

微生物

【概要】

平成 30 年度の微生物検査サーベイは、「同定検査、薬剤感受性検査」と「フォトサーベイ」とし、同定検査、薬剤感受性検査を 3 題（設問 1～3）、フォトサーベイを 3 題（設問 1～3）出題した。

調査は、同定検査、薬剤感受性検査では培地の写真や生化学的性状から同定菌名を推察、感受性の判定を問う問題を 3 つ、フォトサーベイでは推定微生物名を問う問題を 3 問出題し評価した。参加施設の検査精度を中心に評価 A を「正解」、評価 D を「不正解」とした。

評価の詳細については、施設別報告書にも記載したとおり、あくまで回答欄に記載されたデータについて解析を行い、フリーコメント欄への記載は評価していない。評価対象項目の回答が未記載だった場合は未回答とし評価対象外とした。

【参加状況】

参加施設は「感受性判定」と「フォトサーベイ」ともに 15 施設であった。感受性判定は昨年度と同施設数の参加であった。フォトサーベイは昨年度より 2 施設少ない参加であった。

【設問と解説】

今年度出題した設問と回答を以下に示した

1. 同定検査および感受性検査

患者背景、微生物検査を参考に、同定菌名と薬剤感受性結果を解答してください。

また本菌が検出された場合の院内での対応方法として、臨床への報告や追加試験があれば、フリー欄に記入してください。

同定菌名と薬剤感受性結果を評価対象とします。

【設問 1】評価対象（同定菌名）

患者・現病歴：90 歳代女性。食欲不振・発熱を認めたため救急外来受診。

微生物学的検査：本菌は中間尿から分離された。グラム染色はグラム陰性桿菌。TSI 培地、LIM 培地、シモンズクエン酸塩培地の結果をフォト A に示す。インドールは（－）、オルニチン（＋）、オキシダーゼ（－）、IPA（＋）、ガス産生（＋）であった。

問題：推測される同定菌名のみをご記入ください。

問題：推測される同定菌名のみをご記入ください。

解答) 2201 *Proteus mirabilis*

正解率) 100% (15/15)

解説) *Proteus mirabilis* を試験管培地写真及び設問内から判読し同定して頂く問題であった。正解率は 100% であり極めて良好であった。*Proteus* 属はヒトの腸管内常在菌であり周毛性鞭毛をもち、ヒツジ血液寒天培地上で遊走(スウォーミング)を認める特徴をもつ。硫化水素産生、ウレアーゼ陽性だが、インドール陰性、オルニチン脱炭酸試験陽性が *P.vulgaris* との鑑別点である。また *P.mirabilis* はアンピシリンやセファロスポリンには感性だが、*P.vulgaris* はクラス Aβ ラクタマーゼを産生するためペニシリン系や第一世代セファロスポリン系薬は耐性となるため鑑別が必要である。

[設問 2]

患者・現病歴：70 歳代男性。腹痛を認めたために救急外来受診。腹痛強いため ERCP (内視鏡的逆行性胆管膵管造影) を施行された。

微生物学的検査：本菌は胆汁から分離された。グラム染色はグラム陽性球菌。発育培地をフォト B (ヒツジ血液寒天/ドリガルスキー改良培地) に示す。カタラーゼ陰性、PYR 産生 (+)、マンニット (+)、アルギニン (+)、アラビノース (+)、運動性 (+)、色素産生性試験 (+、黄色) であった。ランスフィールドの結果は D 群であった。

問題：推測される同定菌名のみをご記入ください。

解答) 1206 *Enterococcus casseliflavus*

正解率) 93.3 % (14/15)

解説) 培地の発育写真と設問から *Enterococcus casseliflavus* を推定する問題であった。正解率は 93.3% と良好な結果であった。*Enterococcus* 属は健常者の腸管に存在し、ときに尿路感染症、免疫能が低下した患者では様々な感染症の原因となる。*Enterococcus* 属はグラム陽性球菌でランスフィールドは D 群の抗原を持つ。生化学的性状は 6.5%NaCl 加 BHI ブイヨン発育 (+)、胆汁エスクリン培地発育 (+) がある。*E.casseliflavus* は運動性を有すること、黄色色素を産生することから他と鑑別が可能である。また染色体上に *vanC* を保有しておりバンコマイシンは低感受性を示すものが多く鑑別は重要である。

[設問 3]

患者背景・現病歴：60 代男性。夜間より 38℃の発熱があり、救急外来を受診した。CRP 10.8mg/dL、PCT（プロカルシトニン）28.1ng/mLであった。

微生物学的検査：本菌は血液培養から分離された。グラム染色はグラム陰性桿菌。発育培地をフォト C（ヒツジ血液寒天培地と SS 寒天培地）に示す。TSI 培地は高層部黄色、斜面部黄色、ガス（+）、リジン脱炭酸塩（-）、運動性（+）、シモンズクエン酸塩（+）であった。インドール（+）、VP 反応（+）、エスクリン加水分解（+）、オキシダーゼ（+）であった。

感受性試験結果

薬剤	MIC	判定基準
PIPC	8	S: ≤16 I:32-64 R: ≥128
PIPC/TAZ	≤16/4	S: ≤16/4 I:32/4-64/4 R: ≥128/4
CAZ	≤1	S: ≤8 I:16 R: ≥32
CFPM	≤1	S: ≤8 I:16 R: ≥32
CTRX	≤1	S: ≤8 I:16 R: ≥32
IPM/CS	8	S: ≤4 I:8 R: ≥16
MEPM	16	S: ≤4 I:8 R: ≥16
AZT	≤1	S: ≤8 I:16 R: ≥32
AMK	≤2	S: ≤16 I:32 R: ≥64
GM	≤1	S: ≤4 I:8 R: ≥16
MINO	≤1	S: ≤4 I:8 R: ≥16
LVFX	≤0.12	S: ≤2 I:4 R: ≥8
CPFEX	≤0.25	S: ≤1 I:2 R: ≥4

* 判定基準は CLSIM100-S28 を使用

問題：推測される同定菌名と以下に指定の 2 剤について薬剤感受性結果についてご記入ください。

検査抗菌薬：LVFX、MEPM

解答) 3051 *Aeromonas hydrophila*

薬剤感受性結果 (LVFX) : S

薬剤感受性結果 (MEPM) : R

正解率) 全て 100 % (15/15)

解説) 培地の発育写真と設問から *Aeromonas hydrophila* を推定する問題であった。*Aeromonas* 属は食中毒・下痢症の原因菌として知られている。一方で蜂巣炎、壊死性筋膜炎

炎や敗血症といった腸管外感染症も引き起こす。普通寒天培地に発育し SS 培地や DHL 培地に発育、ヒツジ血液寒天培地上では β 溶血を示す株が多い。TCBS 寒天培地には発育しない。オキシダーゼ陽性である点から腸内細菌科細菌と鑑別ができる。またリジン、オルニチン脱炭酸陰性という点で *Plesiomonas shigelloides* と鑑別ができる。*A. hydrophila* の一部では染色体にメタロ β ラクタマーゼ遺伝子 (*cphA* 遺伝子) を保有することから、カルバペネム系抗菌薬が耐性となることがあるため注意が必要である。

2. フォトサーベイ

患者背景、微生物検査、写真から推定される微生物を選び解答してください。

その他コメント等があればフリーコメント欄に記入してください。

推定微生物名を評価対象とします。

【設問 1】 評価対象（推定微生物名）

患者背景：80代女性。発熱、咳があり救急外来受診。胸部 X 線検査で左中肺野に陰影を認めた。

微生物検査：喀痰培養より本菌が検出された。フォト 1 は喀痰のグラム染色像（1000 倍）である。

本菌のカタラーゼ試験は陰性で、オプトヒン感性、胆汁溶解テスト陽性であった。

解答) 推定微生物 1131 *Streptococcus pneumoniae*

正解率) 100% (15/15)

解説) グラム陽性で、直径0.5~1.0 μ mの双球菌で楕円形の両端が細くなったランセット型の形態をとる。オプトヒン感性、胆汁溶解テスト陽性であることから *Streptococcus pneumoniae* と推定できる。またグラム染色像より菌体の周囲の莢膜が抜けているのが確認できる。本菌はグラム染色から容易に鑑別が可能のため臨床へ報告することが肺炎球菌は主に乳幼児の鼻や喉の奥に高頻度（20-50%）に常在（保菌）し、成人では3-5%に常在していると考えられている。予防法として近年でわが国では2種類のワクチンが推奨されている。肺炎球菌には90種類以上の血清型があるとされているが、それぞれのワクチンは、23種類もしくは13種類の血清型に対応する成分を含んでいる。*S. pneumoniae* はペニシリン耐性株が存在するために、ペニシリンに対する薬剤感受性検査は重要となる。解答成績は全ての施設が評価Aであった。

【設問 2】 評価対象（推定微生物名）

患者背景：60歳男性。飼い犬に右手手背を噛まれた。その2日後に39 $^{\circ}$ Cの発熱と全身倦怠感が出現し、受診された。

微生物検査：来院時に採取された血液培養2セットより菌が検出された。フォト 2-①はグラム染色像(1000倍)、フォト 2-②は炭酸ガス培養72時間後のヒツジ血液寒天培地である。分離菌は、オキシターゼ (+)、カタラーゼ (+) であった。

解答) 推定微生物 3430 *Capnocytophaga sp.*

正解率) 100% (15/15)

解説) 本菌はグラム染色では細長い糸状のグラム陰性桿菌であり、ヒツジ血液寒天培地上のコロニーが炭酸ガス培養72時間後で辺縁が不規則であることと背景に動物暴露歴を

有していることにより *Capnocytophaga sp.*が推定できる。またオキシターゼとカタラーゼ試験が共に陽性であることにより、本菌は *Capnocytophaga canimorsus* の可能性が高いことが考えられる。

Capnocytophaga canimorsus 感染症は、イヌ・ネコ咬傷・掻傷感染症の 1 つであり、原因菌の *C. canimorsus* はイヌ・ネコの口腔内に常在しており、国内のイヌ・ネコも高率に保菌している。本感染症の発症は極めてまれであるが、発症した場合は急激に敗血症に至ることが多く、致死率は約 30%にもなるため注意が必要である。ヒトの保有する 5 菌はオキシダーゼ、カタラーゼ試験ともに陰性であるが、イヌ・ネコの保有する 2 菌種はオキシダーゼ、カタラーゼともに陽性であるため生化学的性状で鑑別が可能になる。患者は発熱、悪寒、吐き気、筋肉痛、腹痛、意識混濁などの症状を示すことが多い。*C. canimorsus* はペニシリン系など多くの抗生物質に感性であるがゲンタマイシンなどアミノグリコシド系には耐性であることが多いと報告されている。βラクタマーゼを産生する菌株もあり、ペニシリン系の抗生物質を用いる際にはβラクタマーゼ阻害剤との合剤であるアモキシシリン/クラブラン酸（オーグメンチン）やアンピシリン/スルバクタム（ユナシン）を用いることが望ましいといった報告もある。また、テトラサイクリン系、カルバペネム系などにも感性でありクリンダマイシンやエリスロマイシンに対しては一部耐性株の報告もあるため注意が必要である。解答成績は全ての施設が A 評価であった。

【設問 3】評価対象（推定微生物名）

患者背景：70 歳代女性。リウマチの治療のためステロイド内服中。農作業中に転倒した際に裂傷した左母指掌側より排膿があり受診された。

微生物検査：来院時に採取された膿瘍より本菌が検出された。フォト 3-①はグラム染色像（1000 倍）、フォト 3-②はキニオン染色像（1000 倍）、フォト 3-③は炭酸ガス培養 5 日目のヒツジ血液寒天培地である。

解答) 推定微生物 6200 *Nocardia sp.*

許容正解 6201 *Nocardia asteroides*、6203 *Nocardia brasiliensis*

正解率) 100% (15/15)

解説) 本菌は、培養日数 5 日目で発育が認められ、グラム染色所見では細長いグラム陽性桿菌、Kinyoun 染色所見では弱陽性であったことから *Nocardia sp.*が推測される。*Nocardia* 属は土壤に広く分布している菌であり、発育に要する期間は 3 日～2 週間と短期間の培養日数では見逃す可能性があるため注意が必要である。一般的にノカルジア症の治療薬として ST 合剤や MINO が推奨されているが、*Nocardia* 属は菌種によって薬剤感受性検査結果が異なるといった報告があり正確な菌種同定と薬剤感受性検査の実施が必要である。また、日本におけるノカルジア感染症の原因菌とし

ては *Nocardia farcinica* が最も多く、次いで *Nocardia brasiliensis* が多い。だが感染部位別にみると呼吸器では、*Nocardia farcinica*、次いで *Nocardia cyriacigeorgica* が多く皮膚では *Nocardia brasiliensis* が多く、次いで *Nocardia farcinica* や *Nocardia asteroides* といった状況である。解答成績は全ての施設が A 評価であった。今回の解答では、*Nocardia sp.*の他に *Nocardia asteroides*、や *Nocardia brasiliensis* と解答した施設があったが、報告検出菌数上位であったため許容正解とした。

[まとめ]

今回の精度管理調査の結果はおおむね良好であった。評価 D があった施設はもう一度手順や確認・同定方法を再確認し日常検査に励んでいただきたい。

近年、多くの施設で自動分析装置や質量分析装置での同定や感受性測定が行われている。自動分析装置などは簡便に結果を得ることが可能だがそこから得れる情報をそのまま臨床へ返してしまう結果になりがちである。しかし、自動分析装置から得られた結果でも一度立ち止まり自分で考え、時には結果の妥当性をきちんと検証する必要があると考える。同定結果や感受性結果を正確に読み解き、あらゆる菌に対して正確な情報を臨床へ返していく力を養う必要がある。