

微生物

I. 目的

上気道及び下気道に感染をもたらす呼吸器感染症の原因微生物はウイルスや細菌と多岐に渡っている。イムノクロマト法を用いた抗原検査に加え、COVID-19 の流行に伴い普及した PCR 法や LAMP 法などの遺伝子検査は迅速な感染症の診断に有用である。一方で、培養検査では前述の検査法に含まれない細菌の同定や、各種抗菌薬に対する有効性及び現行治療継続の可否などを確認するために必要不可欠であり、正確な検査の実施が求められている。また、呼吸器材料は常在菌が多く混在する検体でもあるため、患者背景を理解し、塗抹検査及び培地上の発育から、常在菌か起炎菌かを見極め正確な検査を実施することが重要といえる。本年度は、呼吸器感染症の原因菌の同定検査、薬剤感受性検査及びフォトサーベイ、塗抹サーベイを実施し、微生物検査の精度を評価する。

II. 参加施設数

申込施設数	回答施設数	回収率 (%)
34	34	100

III. 精度管理対象項目および試料

【項目】

微生物 1：同定検査（評価対象） ※任意回答

微生物 2：同定および薬剤感受性検査（評価対象） ※任意回答

フォトサーベイ 設問 1：原因菌推定（評価対象） ※任意回答

フォトサーベイ 設問 2：原因菌推定（評価対象） ※任意回答

塗抹サーベイ：菌種推定および染色性（評価対象）

【送付試料】

シードスワブに培養保存した検体 2 本…「微生物 1、微生物 2」

フォトサーベイ…「フォトサーベイ 設問 1、設問 2」

固定済みスライド標本 2 枚…「塗抹サーベイ」

【実施方法】

シードスワブは患者検体と同様に扱い、日常的に施行している方法で、培地（培地の選択は自由）に塗布し、分離培養後、同定および薬剤感受性検査を実施し、その結果を回答する。フォトサーベイは画像と患者情報および検査データから最も可能性が高い原因菌を推定する。スライド標本は、日常検査で使用している染色液でグラム染色を実施し菌種を回答する。染色後のスライド標本を送付し、染色性を評価する。

IV. 出題内容

【微生物 1 (同定)】 評価対象

患者背景	2か月前に急性骨髄性白血病が再発し、化学療法を行っている60歳代女性。呼吸困難、発熱を主訴に重症肺炎と診断され、セフェピム（CFPM）が開始された。CFPM投与前に提出された喀痰では有意菌は検出されなかった。改善傾向が認められないため、CFPM投与5日後に、気管支鏡検査が実施された。
微生物検査	本菌は気管支肺胞洗浄液（BALF）から検出された。
問題	貴施設の日常検査法によって菌を分離し、同定検査のみ実施してください。

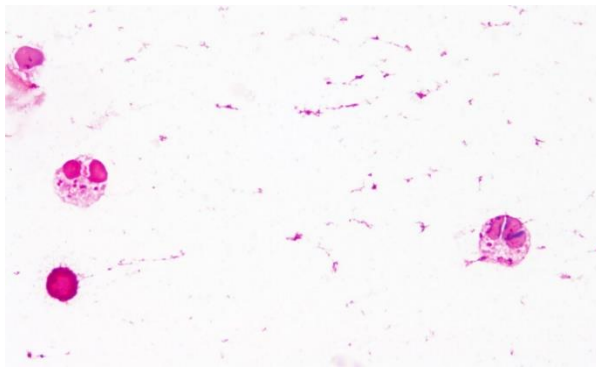
【微生物 2 (同定・薬剤感受性)】 評価対象

患者背景	80 歳代男性。基礎疾患はなく、自宅で日常生活を送っている。受診 3 日前から咳嗽と次第に胸痛が発生し、発熱と体調悪化を認めたため外来を受診した。
微生物検査	採取された喀痰および血液培養 2 セットの好気ボトル、嫌気ボトルから本菌を検出した。
問題	貴施設の日常検査法によって菌を分離し、同定検査と、以下に指定した 5 剤について薬剤感受性検査を実施してください。 検査抗菌薬：アンピシリン（ABPC）、アンピシリン/スルバクタム（ABPC/SBT）、セフトアキシム（CTX）、セフトリアキソン（CTRX）、クラリスロマイシン（CAM） ※薬剤感受性の判定は、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-34th Editionの基準を用いてください。

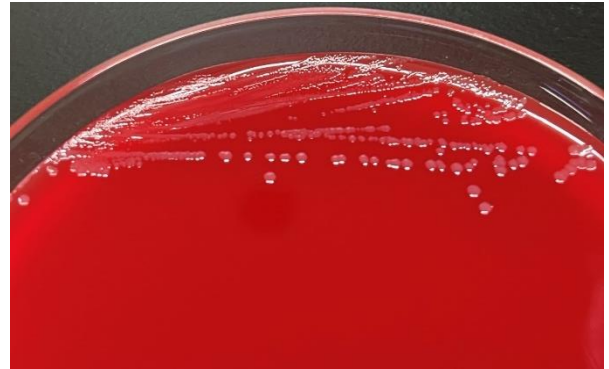
【フォトサーベイ設問 1】 評価対象

患者背景	20 歳代男性。既往歴・基礎疾患ともに特記事項なし。性風俗店を利用した 3 日後より咽頭痛・咽頭違和感を自覚したため外来を受診し、咽頭拭い液の培養検査が実施された。
微生物検査	咽頭拭い液のグラム染色像（フェイバー法、1000 倍率）をフォト 1-A、35℃ 48 時間 5%CO ₂ 培養したヒツジ血液寒天培地フォト 1-B、チョコレート寒天培地を 1-C に示す。発育したコロニーを用いて糖分解試験を実施したところ、グルコース分解陽性、マルトース分解陰性であった。
問題	患者背景及び微生物学的検査より最も可能性が高いと推定される原因微生物を回答してください。

フォト1-A



フォト1-B



フォト1-C



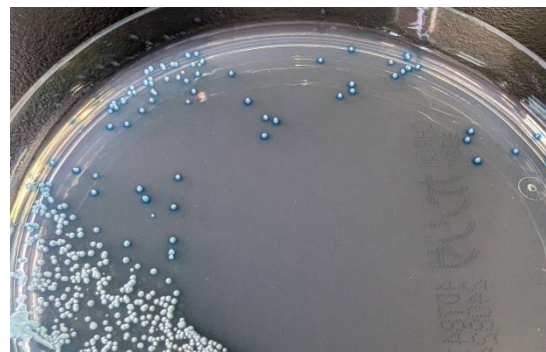
【フォトサーベイ設問 2】評価対象

患者背景	70 歳代女性。7 月中旬頃から 2 か月以上持続する咳嗽と喀痰、息切れを主訴に紹介受診となった。採血結果では KL-6 が高値であり、胸部 CT 検査にて軽度のすりガラス陰影、聴診にて捻髪音を認め、喀痰培養が提出された。生活環境は築 50 年以上の木造住宅に居住し、室内犬の飼育あり、鳥類との接触歴や羽毛布団の使用はなし。職業は無職、趣味で家庭菜園を行っている。
微生物検査	35℃ 48 時間好気培養した血液寒天培地をフォト 2-A、クロモアガーカンジダ培地をフォト 2-B、コロニーのグラム染色像（バーミー法、1000 倍率）を 2-C に示す。発育したコロニーのウレアーゼ試験は陽性であった。
問題	患者背景及び微生物学的検査より最も可能性が高いと推定される原因微生物を回答してください。

フォト 2-A



フォト 2-B



フォト 2-C



【染色サーベイ】評価対象

微生物検査	陽性シグナルを呈した血液培養好気ボトルの培養液のスライド標本を作製し、メタノール固定を行った標本である。
問題	グラム染色を行い、油浸（1000 倍）にて細菌の有無を判定し、菌種（菌種一覧参照）を入力してください。また染色性の評価を行うため、染色後のスライドを 1 枚送付してください。

V. 正答

【微生物 1（同定）の正答】

同定菌名	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
------	-------------------------------------

性状：ブドウ糖非発酵のグラム陰性桿菌。2 本以上の極多毛の鞭毛をもち、同じブドウ糖非発酵菌、オキシダーゼ陰性の *Acinetobacter* spp.との鑑別点にもなる。24 時間培養での集落は小さく、48 時間で 2mm ほどの黄味がかった集落を形成する。DNase 産生陽性、リジン脱炭酸反応陽性、ブドウ糖よりマルトースを速やかに分解する。

【微生物 2（同定）の正答】

同定菌名	<i>Haemophilus influenzae</i>
------	-------------------------------

性状：グラム陰性球桿菌で、菌体は多形性を示す。莢膜をもつ株もあり、喀痰など検査材料のグラム染色所見で、菌体の周囲が透明に抜けて観察されることがある。通性嫌気性で、CO₂ 存在下で増殖が促進される。発育には X 因子（ヘミン）と V 因子（NAD）が必要とし、ヒツジ血液寒天培地には基本的に発育しない。

【微生物 2（薬剤感受性検査）の正答】

抗菌薬名	
ABPC	MIC 値あるいは阻止円径が、M100-ED34 の ATCC49247 株の精度管理限界値内に入っている かつ BP と判定が合致していること。 ただし、ABPC/SBT のカテゴリー判定のみ評価対象に含まない。
ABPC/SBT	
CTX	
CTR	
CAM	

*M100-ED34 : CLSI M100-34th Edition

*BP:ブレイクポイント

【フォトサーベイ設問の正答】

設問 1 推定菌種名	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
設問 2 推定菌種名	<i>Trichosporon</i> sp.

【染色サーベイ設問の正答】

菌種	複数菌（グラム陽性球菌＋グラム陰性桿菌）
----	----------------------

VI. 評価基準

微生物 1、微生物 2、フォトサーベイの設問について当該施設で回答された項目について下記の評価基準より A、B（正解） / C、D（不正解） の 4 段階で評価した。

【微生物1（同定検査）】

菌種名「*Stenotrophomonas maltophilia*」と一致している場合を「A」、それ以外の解答を「D」と評価した。

【微生物2（同定検査）】

菌種名「*Haemophilus influenzae*」と一致している場合を「A」、「*Haemophilus sp.*」の場合を「C」、それ以外の解答を「D」と評価した。

【微生物2（薬剤感受性検査）】

抗菌薬治療において重要となる薬剤感受性を正しく判定できることを目的に評価した。

今回用いた株は ATCC49247 の *Haemophilus influenzae* だったため、MIC 値あるいは阻止円径が、M100-ED34 の精度管理限界値内に入っている かつ BP と判定が合致している場合を「A」評価とした。

CLSI カテゴリー判定が不正解または MIC 値および阻止円径が精度管理限界値外だった場合を「D」評価とした。

【フォトサーベイ設問】

・設問 1

「*Neisseria gonorrhoeae*」を「A」、それ以外の解答を「D」と評価した。

・設問 2

「*Trichosporon sp.*」を「A」、それ以外の解答を「D」と評価した。

【塗抹サーベイ】

・菌種

「複数菌（グラム陽性球菌＋グラム陰性桿菌）」を「A」、それ以外の解答を「D」と評価した。

・染色性

評価項目	YES	NO
グラム陽性菌が陽性に、グラム陰性菌が陰性に染まっている。	2 点	0 点
コントラストが明瞭である。	1 点	0 点

施設名をマスクし、当検査技師会の微生物部門員が2つの基準の合計点数を評価し、その中央値を施設の評価スコアとする。

評価スコア「3点」を「A」、「2点」を「B」、「1点」を「C」、「0点」を「D」とした。

VII.結果

1.微生物1：同定（27施設）

1)同定菌名

		施設数	%
正解	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	27	100
不正解	なし		

2)同定方法

	施設数	%	
自動化機器 22施設(81.5%)			100.0
マイクロスキャン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM 1096	8	29.6%	
BD フェニックス M50 全自動同定感受性システム	3	11.1%	
MALDI バイオタイパー	3	11.1%	
BD フェニックス 100 全自動同定感受性システム	1	3.7%	
MALDI バイオタイパー sirius one	1	3.7%	
MALDI バイオタイパー sirius	1	3.7%	
バイテック 2 コンパクト 60	1	3.7%	
バイテック MS	1	3.7%	
バイテック 2, 2 XL	1	3.7%	
マイクロスキャン auto SCAN-4	1	3.7%	
ライサス S4	1	3.7%	
用手法 5施設(18.5%)			
同定キット IDテスト NF-18	3	11.1%	
その他のバイオメリュー・ジャパン製品	1	3.7%	
その他の同定キット	1	3.7%	

2.微生物2：同定（27施設）

1)同定菌名

	施設数	%
--	-----	---

正解	<i>Haemophilus influenzae</i>	26	96.3
不正解	<i>Haemophilus</i> sp.	1	3.7

2) 同定方法

	施設数	%	
自動化機器 12 施設 (44.4%)			100
MALDI バイオタイパー	4	14.8%	
MALDI バイオタイパー sirius one	1	3.7%	
MALDI バイオタイパー sirius	1	3.7%	
バイテック 2 コンパクト	1	3.7%	
バイテック 2, 2 XL	1	3.7%	
バイテック MS	1	3.7%	
マイクロスキャン auto SCAN-4	1	3.7%	
マイクロスキャン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM 1096	1	3.7%	
ライサス S4	1	3.7%	
用手法 15 施設 (55.6%)			
同定キット ID テスト HN-20 ラピッド	6	22.2%	
その他の極東製薬製品	2	7.4%	
従来法による同定 (試験管確認培地等を使用)	2	7.4%	
同定・鑑別用試薬/培地 ヘモフィルス ID 4 分画培地	2	7.4%	
同定・鑑別用試薬/培地 XV マルチディスク	1	3.7%	
その他のバイオメリュー・ジャパン製品	1	3.7%	
XV マルチディスク栄研	1	3.7%	

3. 微生物 2 : 薬剤感受性検査 ABPC : (24 施設)

1) 測定値

施設数	MIC 符号	MIC 値 (μ g/mL)	判定	評価	施設数	%	
21	=	2	I	A	1	4.8	100
	=	4	R	A	19	90.5	
	\geq	4	R	A	1	4.8	
施設数	阻止円径 (mm)		判定	評価	施設数	%	
3	22		S	D	3	100	100

2)測定方法

	施設数	%	
自動化機器/微量液体希釈法 11 施設 (45.8%)			100
DPS-MIC192, DPS-MIC/ID192	1	4.2%	
IA01 MIC Pro	1	4.2%	
マイクロスキャン auto SCAN-4	1	4.2%	
マイクロスキャン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM 1096	4	16.7%	
ライサス S4	3	12.5%	
微生物感受性分析装置 DPS192iX	1	4.2%	
用手法/微量液体希釈法 10 施設 (41.7%)			
マイクロスキャン MICroFAST 6J	4	16.7%	
薬剤感受性用ドライプレート DP44 (肺炎球菌, レンサ球菌, Haemophilus influenzae)	3	12.5%	
薬剤感受性用ドライプレート その他のドライプレート	3	12.5%	
用手法/ディスク法 3 施設 (12.5%)			
感受性検査用培地 (生培地) ヘモフィルステスト	2	8.3%	
その他の BD 製品	1	4.2%	

4. 微生物 2 : 薬剤感受性検査 ABPC/GBT : (22 施設)

1)測定値

施設数	MIC 符号	MIC 値 (μ g/mL)	判定	評価	施設数	%	
20	=	2	I	A	1	5.0	100
	=	4	R	A	19	95.0	
施設数	阻止円径 (mm)		判定	評価	施設数	%	
2	22		S	A	2	100	100

2)測定方法

	施設数	%	
自動化機器/微量液体希釈法 11 施設 (50.0%)			100.0
DPS-MIC192, DPS-MIC/ID192	1	4.5%	
IA01 MIC Pro	1	4.5%	
マイクロスキャン auto SCAN-4	1	4.5%	
マイクロスキャン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM 1096	4	18.2%	
ライサス S4	3	13.6%	
微生物感受性分析装置 DPS192iX	1	4.5%	
用手法/微量液体希釈法 11 施設 (40.9%)			
マイクロスキャン MICroFAST 6J	4	18.2%	
薬剤感受性用ドライプレート DP44 (肺炎球菌, レンサ球菌, Haemophilus influenzae)	3	13.6%	
薬剤感受性用ドライプレート その他のドライプレート	2	9.1%	
用手法/ディスク法 2 施設 (9.1%)			
感受性検査用培地 (生培地) ヘモフィルステスト	1	4.5%	
その他の BD 製品	1	4.5%	

5. 微生物 2 : 薬剤感受性検査 CTX : (23 施設)

1)測定値

施設数	MIC 符号	MIC 値 (μ g/mL)	判定	評価	施設数	%	
20	=	0.12	S	A	1	5.0	100
	≤	0.25	S	A	3	15.0	
	=	0.25	S	A	13	65.0	
	≤	0.5	S	A	2	10.0	
	=	0.5	S	A	1	5.0	
施設数	阻止円径 (mm)		判定	評価	施設数	%	
3	31		S	A	1	33.3	100
	38		S	A	1	33.3	
	44		S	D	1	33.3	

2)測定方法

	施設数	%	
自動化機器/微量液体希釈法 10 施設 (43.5%)			100.0
DPS-MIC192, DPS-MIC/ID192	1	4.3%	
IA01 MIC Pro	1	4.3%	
マイクロスキャン auto SCAN-4	1	4.3%	
マイクロスキャン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM 1096	4	17.4%	
ライサス S4	3	13.0%	
用手法/微量液体希釈法 10 施設 (43.5%)			
マイクロスキャン MICroFAST 6J	4	17.4%	
薬剤感受性用ドライプレート DP44 (肺炎球菌, レンサ球菌, Haemophilus influenzae)	3	13.0%	
薬剤感受性用ドライプレート その他のドライプレート	3	13.0%	
用手法/ディスク法 3 施設 (13.0%)			
感受性検査用培地 (生培地) ヘモフィルステスト	2	8.7%	
その他の BD 製品	1	4.3%	

6. 微生物 2 : 薬剤感受性検査 CTRX : (22 施設)

1)測定値

施設数	MIC 符号	MIC 値 (μ g/mL)	判定	評価	施設数	%	
21	≦	0.06	S	A	1	4.8	100
	=	0.06	S	A	2	9.5	
	≦	0.12	S	A	9	42.9	
	=	0.12	S	A	1	4.8	
	≦	0.25	S	A	7	33.3	
	≦	0.5	S	A	1	4.8	
施設数	阻止円径 (mm)		判定	評価	施設数	%	
1	35		S	A	1	100	100

2)測定方法

	施設数	%	
自動化機器/微量液体希釈法 11 施設 (50.0%)			100.0
DPS-MIC192, DPS-MIC/ID192	1	4.5%	
IA01 MIC Pro	1	4.5%	
マイクロスキャン auto SCAN-4	1	4.5%	
マイクロスキャン Walk Away 96, 96Si, 96Plus, 40, 40Si, 40Plus, DxM 1040, DxM 1096	4	18.2%	
ライサス S4	3	13.6%	
微生物感受性分析装置 DPS192iX	1	4.5%	
用手法/微量液体希釈法 11 施設 (45.5%)			
マイクロスキャン MICroFAST 6J	4	18.2%	
薬剤感受性用ドライブプレート DP44 (肺炎球菌, レンサ球菌, Haemophilus influenzae)	3	13.6%	
薬剤感受性用ドライブプレート その他のドライブプレート	3	13.6%	
用手法/ディスク法 1 施設 (4.5%)			
感受性検査用培地 (生培地) ヘモフィルステスト	1	4.5%	

7. 微生物 2 : 薬剤感受性検査 CAM : (24 施設)

1)測定値

施設数	MIC 符号	MIC 値 (μ g/mL)	判定	評価	施設数	%	
21	=	2	S	D	1	4.8	100
	=	4	S	A	12	57.1	
	\leq	4	S	A	1	4.8	
	=	8	S	A	7	33.3	
施設数	阻止円径 (mm)		判定	評価	施設数	%	
3	16		S	A	1	33.3	100
	18		S	D	2	66.7	

2)測定方法

『3. 微生物 2 : 薬剤感受性検査 ABPC 2)測定方法』と同一結果

8. フォトサーベイ (32 施設)

			施設数	%
設問 1 推定 菌種	正解	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	32	100
設問 2 推定 菌種	正解	<i>Trichosporon</i> sp.	28	87.5
	不正解	<i>Trichophyton</i> sp.	1	3.1
		<i>Candida tropicalis</i>	1	3.1
		<i>Candida auris</i>	1	3.1
		<i>Candida albicans</i>	1	3.1

9. 塗抹サーベイ (34 施設)

			施設数	%
推定菌種	正解	複数菌 (グラム陽性球菌＋グラム陰性桿菌)	34	100

VIII. コメント、ご意見 (原文のまま掲載)

微生物 1 同定	菌種によって一部外注にて検査
	同定コメント：日常的に同定していない。同定キットでは「該当菌種なし」であったが、コロニー形状、グラム染色形態、生化学性状より考え得る菌名を同定名とした。
	mCIM 阻止円径 12mm、SMA-mCIM15mm、βラクタマーゼ(ニトロセフィン法)陽性
	BDクリスタルE／NF同定キット
	マトリックス HCCA ポーションド ブルカー・ジャパン株式会社
微生物 2 同定	XV マルチディスク栄研
	ニトロセフィン法による βラクタマーゼ試験陰性です。
	菌種によって一部外注にて検査
	SI ディスク栄研 BC にてバシトラシン耐性を確認。ポアメディア Vi ヘモフィルス寒天培地にて灰白色で非溶血のコロニーの発育を確認。
	同定コメント：日常的に同定していない
	インフルエンザ菌莢膜型別用免疫血清 b 型陽性、ウマ血液寒天培地溶血性陰性、βラクタマーゼ(ニトロセフィン法)陰性

		自施設で薬剤感受性検査は実施せず、外注しているため薬剤感受性の結果入力はできませんでした。
		マトリックス HCCA ポーションド ブルカージャパン株式会社
微生物 2 感受性	ABPC	なし
	ABPC/SBT	A/S:4/2
		使用プレートに含まれていないため、検査不可でした。
	CTX	なし
	CTRX	なし
	CAM	なし
フォト		なし
染色		塗抹、迅速のみ院内で実施。

IX.参加施設の評価状況

参加ご施設にお配りしたCD版の報告書をご覧ください。

X. 総評

参加施設数は昨年度より3施設増加し34施設、フォトサーベイ及び塗抹サーベイのみ参加が2施設であった。今年度は*Stenotrophomonas maltophilia*の同定、*Haemophilus influenzae*(BLNAR株)の同定および薬剤感受性検査、*Neisseria gonorrhoeae*、*Trichosporon* sp.のフォトサーベイ、グラム陽性球菌および陰性桿菌混在の塗抹サーベイを出題した。すべての設問においてA評価(正解)を得た施設がほとんどであったが、D評価(不正解)の項目があった施設においては、総評に記載の点を参考にして自施設の問題点を分析し、改善していただきたい。

【微生物1】

急性骨髄性白血病再発患者における *Stenotrophomonas maltophilia* による重症肺炎の菌種同定を出題した設問1では、回答した施設すべてが正しく同定できていた。

S. maltophilia はブドウ糖非発酵のグラム陰性桿菌で、病院の水回りなど湿潤環境に広く生息する。日和見感染症の原因菌となり、呼吸器、血液、尿、創部などから検出されるが、定着(保菌)であることも多く、患者背景や臨床経過を考慮して治療対象とするか慎重に判断が必要な菌種である。免疫不全の患者では、コントロール困難な組織壊死、急速に進行する出血性肺炎を引き起こすこともあるため、正確で迅速な菌種同定が必要不可欠である。グラム染色では細い小型のグラム陰性桿菌として観察され、コロニーは培養1日目では小さいが、培養2日目には黄色がかったコロニーを形成する。グラム染色やコロニーの特徴から菌種推定ができるようにご確認いただきたい。オキシダーゼ陰性、DNase 産生陽性、リジン脱炭酸反応陽性、ブドウ糖よりマルトースを速やかに分解する。

薬剤感受性検査、治療において選択すべき抗菌薬に関して、カルバペネム系を含むβラクタム系、アミノグリコシド系、フルオロキノロン系などの複数の抗菌薬に対する耐性因子の多くを染色体性保有し、内因性耐性であることに留意する必要がある。βラクタム系に対してはL1メタロβラクタマーゼ、L2セリンβラクタマーゼの2種類のβラクタマーゼが関与している。

CLSI M100 ED34¹⁾ でブレイクポイントが設定されているのは、Ticarcillin-clavulanate、Cefiderocol、Minocycline (MINO)、Levofloxacin (LVFX)、ST合剤、Chloramphenicolの6薬剤のみであり、Ceftazidime (CAZ) のブレイクポイントは削除されている。European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Version 15.0²⁾ ではST合剤のみブレイクポイントを設定している。

また、自動機器を使用した *S. maltophilia* の薬剤感受性測定結果にバラツキがあることが報告³⁾ されている。CLSIの推奨法である微量液体希釈法とVitek2、Microscan、Phoenix

の各自動機器で測定した ST 合剤、LVFX、MINO、CAZ のカテゴリー一致率を検討したところ、Microscan と Phoenix での ST 合剤、MINO を除く、その他の自動機器および薬剤において一致率は 90%未満との結果であった。*S. maltophilia* における薬剤感受性検査の精度を研究した報告は少なく安易な結論は出せないものの、自施設で測定した自動機器の判定報告と臨床的な経過が合わない場合には、検査精度、正確性の限界、バラツキについても考慮が必要となるかもしれない。

【微生物2】

微生物2で配布した菌株は*H. influenzae* ATCC49247由来の菌株である。細菌性の市中肺炎では*Streptococcus pneumoniae*、*Haemophilus influenzae*、*Moraxella catarrhalis* が主な原因微生物となっており⁴⁾、*Haemophilus*属の同定においては、インフルエンザ菌か否かの鑑別が臨床的に重要となってくることから、*Haemophilus influenzae*の回答のみA評価とした。感受性においては、CLSIに精度管理株として記載されていることから、CLSIの精度管理限界値内かつS/I/Rの判定がブレイクポイントと合致している回答をA評価とした。

本菌の発育形態としてはヒツジ血液寒天培地には発育せず、チョコレート寒天培地に発育良好である。また検体中に、*Staphylococcus aureus*が混在している場合、*S. aureus*のコロニー周囲にV因子が増加するため、写真1のように衛星現象として*H. influenzae*菌が微少な集落を形成することも特徴の1つである⁵⁾。*Haemophilus*属の生化学的性状による同定に、V因子(NAD)およびX因子(ヘミン)の要求性およびウマ血液寒天培地の溶血性によって鑑別することができ、これらの因子を含んだ分画培地やディスクが販売されているため、自施設に鑑別するための手段を備えていただきたい。

感受性検査においては、β-ラクタマーゼ産生の有無が重要であり、ABPCやAMPC/CVAの感受性との組み合わせによって、BLNAS(βlactamase-negative ABPC susceptibility)、BLNAI(βlactamase-negative ABPC intermediate resistant)、BLNAR(βlactamase-negative ABPC resistant)、BLPAR(βlactamase-positive ABPC resistant)、BLPACR(βlactamase-positive AMPC/CVA resistant)に分別される⁶⁾。今回の出題株でもあるBLNARの場合は、耐性機序が*H. influenzae* が保有するPBPの1つであるPBP3AおよびPBP3Bをコードしている遺伝子(ftsI)の特定の領域におけるアミノ酸変異が原因であると知られていて²⁻²⁾、この場合は、AMPC/CVA、ABPC/SBT、CCL、PIPC/TAZなどに耐性があると考えられるべきであるとされている⁷⁾。BLNARが検出されたときの報告対応に関しては、自施設で取り決める必要がある。βラクタマーゼの検査は写真2に示したようなニトロセフィン法というディスクを用いる検査法が簡便でどの施設でも取り入れやすいため、ぜひ準備をしていただきたい。また、感受性の検査方法別で見ると、微量液体希釈法はほとんどの施設がA評価であったが、ディスク法では5薬剤中3薬剤でメーカー・施設偏りなくD評価が見られ、いずれもCLSIの精度管理限界値から外れていたことによるものであった。ディスク法を導入している施設は、ディスクの開封後の管

理方法が適切か、また、菌液調整～判定方法までの工程を今一度確認していただきたい。
また、ATCC49247は精度管理に用いられる菌株である。実施していない施設は、検査方法に関わらず、定期的に精度管理を実施することを検討していただきたい。

また、今回の設問では血液培養からも *H. influenzae* が検出された設定であった。*H. influenzae* が髄液や血液などの無菌的部位から検出された場合は、侵襲性インフルエンザ菌感染症(5類感染症、全数把握)となり、届出基準に該当するため注意が必要である⁸⁾。

写真1 衛星現象(トリ・ソイ血液寒天(ヒツジ)No. 2(極東製薬), 48時間CO₂培養)



写真2 ニトロセフィン法陽性反応



表1 *Haemophilus*属の要求性

	要求性		ウマ血寒 の溶血性	糖の発酵			
	X因子	V因子		ブドウ糖	白糖	乳糖	マンノース
<i>H. influenzae</i>	+	+	—	+	—	—	—
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	+	+	—	—	—
<i>H. parainfluenzae</i>	—	+	—	+	+	—	+
<i>H. parahaemolyticus</i>	—	+	+	+	+	—	—

【フォト 設問1】

*Neisseria gonorrhoeae*はグラム陰性球菌で双球状を呈する。尿道分泌物、膣分泌物、子宮頸管分泌物がおもな検体となるが、性行為の多様化を背景に、咽頭や直腸の感染ではこれらの部位も検体として採取される⁹⁾。咽頭炎患者の粘膜のグラム染色では、常在している非病原性*Neisseria*属菌との鑑別が困難であるため、呼吸器検体からも本菌が検出される可能性を念頭に置き、その後の培養・同定検査につなげることが重要である。

至適発育温度は35℃～37℃、3～7%炭酸ガス条件下では発育が良好となる¹⁰⁾。低温に非常に弱く、検査材料を冷蔵保存した場合にはすぐに死滅するため、採取後すみやかに塗抹検査や培養検査を開始する必要がある。

また、一般にヒツジ血液寒天培地での発育は悪いとされているが、提示した写真ではヒツジ血液寒天培地での良好な発育を認めている。この点については、近年の市販培地は発育支持能が高いためか、2日培養後の発育はチョコレート寒天培地と同等であったことが一因となり、*N. meningitidis*との鑑別に苦慮した症例¹¹⁾も報告されており、注意したいところである。

主な*Neisseria*属菌および*Moraxella catarrhalis*との鑑別は、本菌が糖分解試験において、グルコース分解陽性、マルトース分解陰性であることから鑑別可能である¹⁰⁾。なお、近年質量分析装置の導入施設が増加しているが、非病原性*Neisseria*属菌を*N. meningitidis*と誤同定した症例¹²⁾も報告されており、このような場合においても同定キットを用いた生化学的性状の確認が有用となる。

治療については、泌尿生殖器感染に用いられるセフトリアキソン、スペクチノマイシンのうち、スペクチノマイシンは咽頭への移行性が悪いとされており、注意が必要である¹³⁾。淋菌性咽頭炎は軽症からほとんど無症状であるが、他者への感染源になりうるため、見逃すことのないよう検査体制を整えることが重要である。

【フォト 設問2】

提示した写真は *Trichosporon* sp.である。本菌は酵母様真菌の一種であり、血液寒天培地上では白色やクリーム色の粉状または皺状のコロニーを形成し、クロモアガーカンジダ培地上でも *C. albicans* に類似した青緑色のコロニーを形成する。コロニー形態やグラム染色形態からは *Candida* sp.との鑑別は困難である。しかし、*Candida* sp.はウレアーゼ試験陰性なのに対し、*Trichosporon* sp.はウレアーゼ試験陽性であることから鑑別することが可能である¹⁴⁾。

Trichosporon sp.は土壤中に常在する真菌であり、ヒトに対する病原性は弱いとされている。しかし、本菌は夏型過敏性肺炎とよばれるアレルギー性疾患の原因抗原のひとつとして知られており、日本における過敏性肺炎の70%以上を占めているとの報告もある¹⁵⁾。夏型過敏性肺炎は高温多湿な夏季に居住環境に関連して発症し、比較的専業主婦の女性に発症しやすいとされている¹⁵⁾。また、*Trichosporon* sp.はキャンディン系抗真菌薬が無効な抗菌薬であるため、キャンディン系抗真菌薬投与中や、好中球減少症などの免疫不全者や対して日和見感染としての播種性トリコスポロン症を引き起こし¹⁶⁾、重篤な多臓器症状を呈することもある重要な真菌のひとつである。

今回、ほとんどの施設が正しく解答されていたが、*Candida* sp.の菌種と誤答された施設も見受けられた。上記でも記載したように、*Trichosporon* sp.と *Candida* sp.はウレアーゼ試験の結果からも鑑別できるほか、問題文からも夏型過敏性肺炎であることの推測が可能であるため、改めて確認いただきたい。また、*Trichophyton* sp.と解答された施設に関しては、

選択枝の選択ミスあるいは菌種を混同されている可能性も考えられるため、*Trichophyton* sp.は水虫などの原因となる糸状菌であることも含めて改めて確認をいただきたい。

Trichosporon sp.は日常検査では遭遇する機会はありませんが菌種ではあるものの、近年の環境の変化に伴い今後患者が増加する可能性も否定できない。また、播種性病変を来すと重篤な経過をたどり、*Candida* sp.の治療で使用されることの多いカンディン系抗真菌薬に耐性であることから、正しい菌種同定と抗真菌薬の選択が行われる必要があると考え、出題させていただいた。

【塗抹サーベイ】

最後に、2021年度、2022年度に試験的に実施し、2023年度から評価対象に加えた塗抹サーベイについて触れたい。本サーベイはグラム染色の結果をグラム陰性桿菌などの「文字」だけで評価するのではなく、染色したスライド標本そのものも含めて評価することを目的に実施した。今年度の塗抹サーベイ参加施設は34施設であり、参加施設の検査状況を表2、使用試薬を表3に示す。

表2：検査状況

	2021年度	2022年度	2023年度	2024年度
自施設 11件以上/日	13	12	13	14
自施設 10件以下/日	13	14	11	11
FMS・外注	4	5	5	6
回答なし	3	2	2	3
総計	33	33	31	34

表3：使用試薬

	2021年度	2022年度	2023年度	2024年度
フェイバーGセットF(フクシン染色液とのセット) (日水製薬)	12	13	12	13
フェイバーGセットS(サフラニン染色液とのセット) (日水製薬)	3	1	1	1
グラム染色液neo-B&Mワコー (富士フイルム和光純薬)	10	10	10	10
バーミーM染色キット(武藤化学)	6	6	7	8
その他の製品または自家調整試薬	2	2	1	2
回答なし	0	1	0	0
総計	33	33	31	34

設問のスライドには、血液培養ボトルに照射赤血球液-LR「日赤」、ATCC29213

Staphylococcus aureus、ATCC25922 *Escherichia coli* を添加し、血液培養検査装置で増菌した血液培養陽性液を塗抹した。すべての施設が推測菌種を「複数菌（グラム陽性球菌＋グラム陰性桿菌）」と解答し正解（A評価）であった。

実際に染色されたスライドガラスは32施設がA評価、2施設がB評価であった。今回のサーベイでは、グラム陰性桿菌が陽性に染色されている等のスライドは無かったが、昨年度同様コントラストが不明瞭だった2施設がB評価となった。コントラストが明瞭であった例を写真3に示す。背景と比較するとグラム陰性桿菌が存在することが明確に分かり、赤血球とのコントラストも十分である。グラム染色は背景色が赤色であることから、グラム陰性桿菌は見落としやすいとされているが、平時よりこのように染色できていれば、グラム陰性桿菌を見落とす可能性は低いと考えられる。次にコントラストが不明瞭と判断した例を写真4に示す。グラム陰性桿菌は薄い赤色であり、写真3に比べコントラストが不明瞭である。グラム陰性桿菌の染まりが薄くコントラストが悪いと、例えば背景成分に赤色が多い喀痰などでは、グラム陰性桿菌を見落とす可能性が高いため危険である。グラム陰性桿菌の染まりは、後染色前によく水を切ること、後染色の時間を延長することで改善可能なため、グラム陰性桿菌の染まりが薄いとを感じる施設は高染色の見直しを検討していただければ幸いである。本精度管理が日々の正しい検査結果報告につながることを祈念し、報告書の締めくくりとさせていただきます。

写真3：コントラストが明瞭

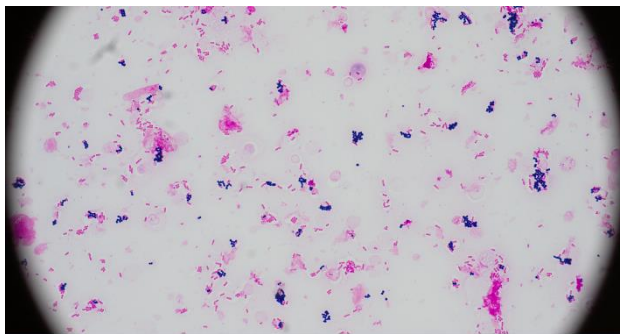
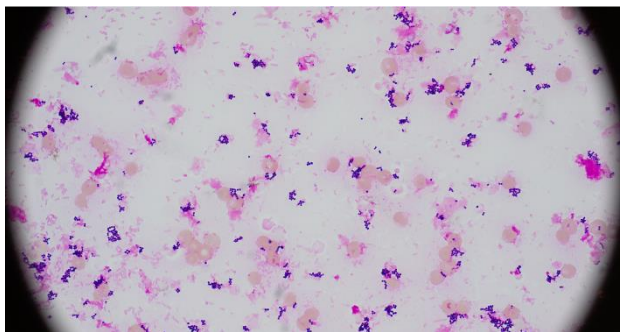


写真4：コントラストが不明瞭



(参考文献)

1) <https://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED34:2024&scope=user>; Table 2B-4.

2) <https://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED34:2024&scope=user>; Table 2B-4.

3) Evaluation of the Vitek 2, Phoenix, and MicroScan for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Stenotrophomonas maltophilia*; J Clin Microbiol. 2021 Aug 18;59(9):e0065421. doi: 10.1128/JCM.00654-21. Epub 2021 Aug 18

4) 三笠桂一他. “JAID/JSC 感染症治療ガイドライン ―呼吸器感染―”. 一般社団法人日本感染症学会, 公益社団法人日本化学療法学会JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会. 2014.

https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/guidelines/guideline_jaid_jsc.pdf

5) 検査と技術2018年3月増刊号 感染症クイックリファレンス, 医学書院, 2018, 294-297

6) 日本臨床微生物学会. 耐性菌検査法ガイド. 日本臨床微生物学雑誌. 2017, Vol. 27, p43-47

7) “CLSI M100-ED34:2024 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 34th Edition”. Table 2E. Zone Diameter and MIC Breakpoints for *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae*. <https://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED34:2024&sbssok=CLSI%20M100%20ED34:2024%20TABLE%202E&format=HTML&hl=Haemophilus>, (参照2025-1-4).

8) 国立感染症研究所. “侵襲性インフルエンザ菌感染症 検査マニュアル”. 2021年.

https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Invasive_Haemophilus_influenzae_disease20211228.pdf. (参照2025-1-4)

9) JAMT技術教本シリーズ 臨床微生物検査技術教本, 丸善出版, 2017, 140-142

10) 最新臨床検査学講座 臨床微生物学第 1 版, 医師薬出版, 2017, 120-122

11) 根岸 美葉, 他:「髄膜炎菌との鑑別に苦慮した播種性淋菌感染症の 1 例」, 医学検査, 2020, Vol. 69. No. 4, 677-682

12) 田中 沙織, 他:「質量分析法で *Neisseria polysaccharea* を *Neisseria meningitidis* と誤同定し, 臨床的対応に苦慮した 1 例: 質量分析法による菌種同定のピットフォール」, THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 2021, Vol. 74. No. 3, 202-209

13) レジデントのための感染症診療マニュアル第 4 版, 医学書院, 2020, 1075-1076

14) 臨床微生物検査ハンドブック第 5 版, 三輪書店, 2017, 204

15) 安藤正幸: 過敏性肺炎の病態と治療, 真医誌, 2000, Vol. 41 No. 3, 137-141

16) 亀田総合病院呼吸器内科: 播種性トリコスポロン症,

https://www.kameda.com/pr/pulmonary_medicine/post_2.html (2025 年 1 月 4 日現在)

IX.問い合わせ先

石巻赤十字病院臨床検査課 永沼 結花

TEL: 0225-21-7220(内線 3085)

みやぎ県南中核病院細菌検査室 菊地 瑞香

TEL: 0224-51-5500(内線 6124)