

微生物検査部門

精度管理事業担当者：杉浦 康行（J A 愛知厚生連 安城更生病院 診療協同部臨床検査室）

実務分担者：木村 達也（一宮市立市民病院 医療技術局 臨床検査室）

木元 真帆（医療法人豊田会 刈谷豊田総合病院 診療技術部 臨床検査・病理技術科）

寺本 侑弘（日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院 微生物遺伝子検査部門）

I. はじめに

令和6年度微生物検査部門の精度管理調査は、菌名同定・薬剤感受性検査の設問に加えて、起炎菌の釣菌についての設問を出題した。フォト設問では、検出は比較的稀ではあるものの、臨床上重要な微生物を中心に出了した。また、文章設問を今年度も継続して出題した。

II. 対象項目

1. 菌名同定

菌株1、2および3を評価対象とした。

2. 薬剤感受性検査

薬剤感受性検査は、菌株1ではペニシリンG (PCG)、エリスロマイシン(EM)、クリンダマイシン(CLDM)、菌株2でイミペネム(IPM)、アミカシン(AMK)およびシプロフロキサシン(CPFX)の各3剤を評価対象とした。また、薬剤感受性検査の判定基準は、日臨技の精度管理調査の基準に合わせ、Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI)ドキュメントM100-Ed34を用い、薬剤感受性検査のカテゴリー判定も評価対象とした。

3. フォト設問および文章設問

フォト設問では、3題の写真を提示し、評価対象とした。文章設問では、5つの選択肢から正解肢を選ぶ設問を2題提示し、評価対象とした。内訳として、梅毒の検査法について1題、鼻咽頭ぬぐい液の検体採取について1題とした。

III. 試料

菌株1（試料71）、菌株2（試料72）および菌株3（試料73）を用いて、釣菌、菌名同定および薬剤感受性検査の調査を行った。

IV. 参加施設数

今年度の参加施設は61施設であった。うち1施設はフォト設問・文章設問のみの参加であった。

V. 評価設定と評価基準

評価設定(表1)と評価基準(表2)を示す。評価を行うにあたり、「感染症法」に関する付加コメントは入力必須とし、その他については任意入力とした。

表 1：評価設定

評価	回答	内容
A	正解	「基準」を満たし、優れている
B	許容正解	「基準」を満たしている
C	不正解	「基準」を満たしておらず、改善が必要
D	不正解	「基準」から逸脱し、早急な改善が必要
評価対象外	その他 未回答	

表 2：評価基準

【菌名同定】

	A	B	C	D
菌株 1	<i>Streptococcus pyogenes</i>	設定なし	設定なし	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>
菌株 2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	設定なし	設定なし	設定なし
菌株 3	<i>Haemophilus influenzae</i>	設定なし	設定なし	設定なし

【薬剤感受性(微量液体希釈法)】

	薬剤名	A	B	C	D
菌株 1	PCG	≤0.03 S ≤0.06 S	設定なし	設定なし	設定なし
	EM	≤0.06 S ≤0.12 S =0.12 S ≤0.25 S	設定なし	設定なし	設定なし
	CLDM	≤0.06 S =0.06 S ≤0.12 S ≤0.25 S	設定なし	設定なし	設定なし
菌株 2	IPM	>8.00 R ≥16.00 R >16.00 R >32.00 R	設定なし	設定なし	設定なし
	AMK	>32.00 R ≥64.00 R >64.00 R	設定なし	設定なし	設定なし
	CPFX	>2.00 R ≥4.00 R >4.00 R	設定なし	設定なし	設定なし

【薬剤感受性(ディスク法)】

	薬剤名	A	B	C	D
菌株 1	PCG	26 mm S	設定なし	設定なし	設定なし
	EM	21 mm S	設定なし	設定なし	設定なし
	CLDM	19 mm S	設定なし	設定なし	設定なし
菌株 2	IPM	6 mm R	設定なし	設定なし	設定なし
	AMK	6 mm R	設定なし	設定なし	設定なし
	CPFX	6 mm R	設定なし	設定なし	設定なし

【フォト設問・文章設問】

	A	B	C	D
設問 1	<i>Salmonella</i> Paratyphi A	設定なし	設定なし	設定なし
設問 2	<i>Malassezia</i> sp.	その他 (<i>Malassezia</i> 属真菌)	設定なし	設定なし
設問 3	<i>Neisseria meningitidis</i>	設定なし	設定なし	設定なし
設問 4	選択肢⑤	設定なし	設定なし	選択肢①,②,③,④
設問 5	選択肢③	設定なし	設定なし	選択肢①,②,④,⑤

【感染症法コメント】

	A	B	C	D
菌株 1	5 類感染症(全数把握)として取り扱う必要があると考えられる。	設定なし	設定なし	感染症法で規定された病原体ではない。 5 類感染症(定点把握)として取り扱う必要があると考えられる。
菌株 2	感染症法で規定された病原体ではない。	設定なし	設定なし	5 類感染症(定点把握)として取り扱う必要があると考えられる。
菌株 3	感染症法で規定された病原体ではない。	設定なし	設定なし	設定なし
設問 1	3 類感染症として取り扱う必要があると考えられる。	設定なし	設定なし	設定なし
設問 2	感染症法で規定された病原体ではない。	設定なし	設定なし	設定なし
設問 3	感染症法で規定された病原体ではない。 その他	設定なし	設定なし	設定なし

Ⅵ. 調査結果

1. 菌名同定(表3)

表3：菌名同定

	推定微生物名	回答数	回答率(%)	評価
菌株1	<i>Streptococcus pyogenes</i>	59/60	98.3 %	A
	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	1/60	1.7 %	D
菌株2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60/60	100 %	A
菌株3	<i>Haemophilus influenzae</i>	60/60	100 %	A

1) 菌株1の成績

59施設(98.3%)が正解である*Streptococcus pyogenes*と回答し、極めて良好な成績であった。1施設(1.7%)が*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*と回答しておりD判定とした。

2) 菌株2の成績

60施設(100%)が正解である*Pseudomonas aeruginosa*と回答し、極めて良好な成績であった。

3) 菌株3の成績

60施設(100%)が正解である*Haemophilus influenzae*と回答し、極めて良好な成績であった。

2. 薬剤感受性検査

1) 微量液体希釈法(表4)

表4：薬剤感受性（微量液体希釈法） ※回答数の分母ならびに回答率はディスク法との合算

	薬剤名	MIC 値	回答数	回答率(%)	評価
菌株 1	PCG	≤0.03 S	22/60	36.7 %	A
		≤0.06 S	37/60	61.7 %	A
	EM	≤0.06 S	15/59	25.4 %	A
		≤0.12 S	29/59	49.2 %	A
		=0.12 S	1/59	1.7 %	A
		≤0.25 S	13/59	22.0 %	A
	CLDM	≤0.06 S	8/60	13.3 %	A
		=0.06 S	7/60	11.7 %	A
		≤0.12 S	24/60	40.0 %	A
		≤0.25 S	20/60	33.3 %	A
菌株 2	IPM	>8.00 R	43/60	71.7 %	A
		≥16.00 R	8/60	13.3 %	A
		>16.00 R	5/60	8.3 %	A
		>32.00 R	1/60	1.7 %	A
	AMK	>32.00 R	50/60	83.3 %	A
		≥64.00 R	8/60	13.3 %	A
		>64.00 R	1/60	1.7%	A
	CPFX	>2.00 R	43/59	72.9 %	A
		≥4.00 R	8/59	13.6 %	A
		>4.00 R	6/59	10.2 %	A

(1) 菌株1

微量液体希釈法を用いて回答した施設は、PCGとCLDMは59施設、EMは58施設であった。PCG、EM、CLDMともに、全ての施設でA評価であり、極めて良好な成績であった。

(2) 菌株2

微量液体希釈法を用いて回答した施設は、IPMは57施設、AMKは59施設、CPFXは57施設であった。IPM、AMK、CPFXともに、全ての施設がA評価であり、極めて良好な成績であった。

2) ディスク法(表5)

表5：薬剤感受性（ディスク法） ※回答数の分母ならびに回答率は微量液体希釈法との合算

	薬剤名	阻止円径	回答数	回答率(%)	評価
菌株1	PCG	26 mm S	1/60	1.7 %	A
	EM	21 mm S	1/59	1.7 %	A
	CLDM	19 mm S	1/60	1.7%	A
菌株2	IPM	6 mm R	3/60	5.0 %	A
	AMK	6 mm R	1/60	1.7 %	A
	CPFX	6 mm R	2/59	3.4 %	A

(1) 菌株1

ディスク法を用いて回答した施設は、1施設であった。
PCG、EM、CLDMともに、A評価であった。

(2) 菌株2

ディスク法を用いて回答した施設は、IPMが3施設、
AMKが1施設、CPFXが2施設であった。IPM、AMK、
CPFXともに、全ての施設でA評価であり、極めて良好
な成績であった。

3. フォト設問および文章設問(表6)

表6：フォト設問および文章設問

	推定微生物名	回答数	回答率(%)	評価
設問1	<i>Salmonella</i> Paratyphi A	61/61	100 %	A
設問2	<i>Malassezia</i> sp.	60/61	98.4 %	A
	その他	1/61	1.6 %	B
設問3	<i>Neisseria meningitidis</i>	61/61	100 %	A
設問4	選択肢⑤	61/61	100 %	A
設問5	選択肢③	60/61	98.4 %	A
	選択肢④	1/61	1.6 %	D

1) 設問1

全ての施設が正解の*Salmonella* Paratyphi Aと回答し、
極めて良好な成績であった。

極めて良好な成績であった。

2) 設問2

60施設(98.4%)が正解である*Malassezia* sp.と回答し、
極めて良好な成績であった。また、1施設(1.6%)が「そ
の他」と回答したが、コメント内容を勘案しB評価とし
た。

4) 設問4

全ての施設が正解の選択肢⑤と回答し、極めて良好な
成績であった。

5) 設問5

60施設(98.4%)が正解である選択肢③と回答し、極め
て良好な成績であった。また、1施設(1.6%)が選択肢④
と回答しD評価とした。

3) 設問3

全ての施設が正解の*Neisseria meningitidis*と回答し、

4. 感染症法コメント(表7)

表7: 感染症法コメント

	コメント	回答数	回答率(%)	評価
	5 類感染症(全数把握)として取り扱う必要があると考えられる。	54/60	90.0 %	A
菌株 1	感染症法で規定された病原体ではない。	5/60	8.3 %	D
	5 類感染症(定点把握)として取り扱う必要があると考えられる。	1/60	1.7 %	D
	感染症法で規定された病原体ではない。	38/60	63.3 %	A
菌株 2	5 類感染症(定点把握)として取り扱う必要があると考えられる。	20/60	33.3 %	D
	その他	2/60	3.3 %	対象外
菌株 3	感染症法で規定された病原体ではない。	60/60	100 %	A
設問 1	3 類感染症として取り扱う必要があると考えられる。	61/61	100 %	A
設問 2	感染症法で規定された病原体ではない。	61/61	100 %	A
	感染症法で規定された病原体ではない。	60/61	98.4 %	A
設問 3	その他	1/61	1.6 %	B

1) 菌株1

54施設(90.0%)が「5類感染症(全数把握)として取り扱う必要があると考えられる。」と回答し、A評価であった。5施設(8.3%)が「感染症法で規定された病原体ではない。」と回答し、D評価となった。1施設(1.7%)が「5類感染症(定点把握)として取り扱う必要があると考えられる。」と回答し、D評価となった。

2) 菌株2

38施設(63.3%)が「感染症法で規定された病原体ではない。」と回答し、A評価であった。20施設(33.3%)が「5類感染症(定点把握)として取り扱う必要があると考えられる。」と回答しており、D評価となった。2施設(3.3%)が「その他」と回答し、評価対象外とした。

3) 菌株3

全ての施設が正解の「感染症法で規定された病原体ではない。」と回答し、極めて良好な成績であった。

4) 設問1

全ての施設が正解の「3類感染症として取り扱う必要があると考えられる。」と回答し、極めて良好な成績であった。

5) 設問2

全ての施設が正解の「感染症法で規定された病原体ではない。」と回答し、極めて良好な成績であった。

6) 設問3

60施設(98.4%)が正解の「感染症法で規定された病原体ではない。」と回答し、A評価であった。1施設(1.6%)が「その他」と回答し、フリーコメント欄で「届け出に

該当しない」との記載があり、B評価とした。

VII. 解説および考察

1. 菌株1

1) 菌株の由来

60歳代の男性。糖尿病、アルコール依存症の既往がある患者が右下肢蜂窩織炎のため救急外来を受診した。1週間前から疼痛が持続しており、2日前に39℃台の発熱を認めた。診察中に意識レベルが低下し、ショック症状を呈したため、ICUに入室となった。精査のため血液培養2セットと患部浸出液のぬぐいスワブが提出された。翌日、血液培養が2セットとも陽性となった。

2) 菌名同定

菌名は、*S. pyogenes*である。本菌は、ヒツジ血液寒天培地上でβ溶血を示すレンサ球菌の一種である。他のβ溶血性レンサ球菌に属する菌種との鑑別ポイントは、Lancefield分類がA群、PYR試験が陽性、バシトラシン感受性試験が感性などの性状である。一方で、*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE) は、90%がG群、9%がC群に凝集するが、稀にA群に凝集する株も存在するため注意が必要である。SDSEは、PYR試験が陰性、バシトラシン感受性試験が耐性となり、本菌の性状とは異なるため鑑別可能である。本菌は、急性咽頭炎や創傷感染の原因となり、時に進行が早く、予後不良の壊死性筋膜炎を起こすこともあるため、迅速な同定が重要である。今回の調査では、多くの施設において菌種レベルまで正しく同定が行われていることが伺えた。

3) 薬剤感受性検査

薬剤感受性検査が正しく実施されているかを調査する

目的で、PCG、EM、CLDMの3薬剤について実施した。今回の菌株は、3薬剤とも感性の株を用いた。

PCGの薬剤感受性に関しては、59施設が微量液体希釈法で実施し、1施設がディスク法で実施していた。すべての施設において、感性と判定されており、良好な結果であった。Ed34によると、PCGのブレイクポイントは、微量液体希釈法では $S: \leq 0.12 \mu\text{g/mL}$ 、ディスク法では $S: \geq 24 \text{ mm}$ のみの設定であり、IとRの設定はない。すべての施設において、感性と判定されており、良好な結果であった。

EMの薬剤感受性に関しては、58施設が微量液体希釈法で実施し、1施設がディスク法で実施していた。また1施設は、EMの搭載されていない検査試薬で検査を行っていたため、対象外とした。Ed34によると、EMのブレイクポイントは、微量液体希釈法では $S: \leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ 、 $I: 0.5 \mu\text{g/mL}$ 、 $R: \geq 1 \mu\text{g/mL}$ 、ディスク法では $S: \geq 21 \text{ mm}$ 、 $I: 16-20 \text{ mm}$ 、 $R: \leq 15 \text{ mm}$ の設定であり、対象外となった施設を除き、感性と判定されており、良好な結果であった。

CLDMの薬剤感受性に関しては、59施設が微量液体希釈法で実施し、1施設がディスク法で実施していた。Ed34によると、CLDMのブレイクポイントは、微量液体希釈法では $S: \leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ 、 $I: 0.5 \mu\text{g/mL}$ 、 $R: \geq 1 \mu\text{g/mL}$ 、ディスク法では $S: \geq 19 \text{ mm}$ 、 $I: 16-18 \text{ mm}$ 、 $R: \leq 15 \text{ mm}$ の設定であり、すべての施設において、感性と判定されており、良好な結果であった。

4) 感染症法コメント

*S. pyogenes*などの β 溶血を示すレンサ球菌が通常無菌的な部位(血液、髄液、胸水、腹水)からの検出、または生検組織、手術創、壊死軟部組織から検出された場合は、5類感染症(全数把握)の「劇症型溶血性レンサ球菌感染症」に該当する可能性があるため、注意が必要である。上述の部位からの検出に加え、下記の臨床症状を全て満たした場合に、5類感染症(全数把握)の「劇症型溶血性レンサ球菌感染症」に該当する。

届出に必要な臨床症状(IとIIの両方を満たすこと)

I. ショック症状

II. 以下の症状のうち2つ以上

肝不全、腎不全、急性呼吸窮迫症候群、DIC、軟部組織炎(壊死性筋膜炎を含む)、全身性紅斑性発疹、痙攣・意識消失などの中枢神経症状

本症例は、血液培養からの検出であり、I. ショック症状、II-①蜂窩織炎(軟部組織炎)やII-②意識レベルの低下(中枢神経症状)が認められており、届出条件に該当する。

60施設中54施設が「5類感染症(全数把握)」として取り扱う必要があると考えられる。」と回答しており、多くの施設で正しい理解がされていると考えられる。一方で、5施設は「感染症法で規定された病原体ではない。」と回答し、さらに1施設は「5類感染症(定点把握)」とし

て取り扱う必要があると考えられる。」と回答しており、これらは誤った解釈と考えられた。

2024年7月に国立感染症研究所から報告された「国内における劇症型溶血性レンサ球菌感染症の増加について(2024年6月時点)」では、2024年の*S. pyogenes*による劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、2023年11月以降増加傾向を認め、2024年1月にピークとなっており、過去6年間(2018年～2023年)で最も届出数が多かったと報告されている。昨今、注目されている感染症の1つであり、感染症法の取り扱いについては、十分に把握しておく必要があると考えられる。

2. 菌株2

1) 菌株の由来

80歳代の男性。脳梗塞の治療後、回復期リハビリテーション病棟に入院している。入院時から膀胱留置カテーテルが挿入されており、混濁尿が認められたため尿培養が提出された。なお、医師により本菌は保菌と判断された。

2) 菌名同定

菌名は、*P. aeruginosa*である。本菌は喀痰、尿、開放膿や穿刺液などの各種臨床材料から検出され、免疫が低下した患者において肺炎や尿路感染症、菌血症、敗血症などを引き起こす。またバイオフィルムを形成する性質を持ち、宿主免疫からの回避、抗菌薬の浸透低下などが原因で、感染が慢性化する。本菌は、ブドウ糖非発酵菌の一種であり、オキシダーゼ試験が陽性、アシルアミダーゼ活性陽性、ピオシアニン(緑色)などの色素産生が特徴である。今回の調査では、すべての施設において本菌を菌種レベルまで正しく同定が行われていることが伺えた。

3) 薬剤感受性検査

薬剤感受性検査が正しく実施されているかを調査する目的で、IPM、AMK、CPFXの3薬剤について実施した。

今回の菌株は、IMP-1型メタロ- β -ラクタマーゼ産生の*P. aeruginosa*であり、MDRP (multi-drug-resistant *P. aeruginosa*)である。感染症法における薬剤耐性緑膿菌感染症の届出基準を満たす、かつEd34における判定基準においてIPM、AMK、CPFXに耐性と回答した施設を正解とし、多くの施設で良好な結果であった。

IPMの薬剤感受性に関しては、57施設が微量液体希釈法で実施し、3施設がディスク法で実施していた。Ed34によると、IPMのブレイクポイントは、微量液体希釈法では $S: \leq 2 \mu\text{g/mL}$ 、 $I: 4 \mu\text{g/mL}$ 、 $R: \geq 8 \mu\text{g/mL}$ 、ディスク法では $S: \geq 19 \text{ mm}$ 、 $I: 16-18 \text{ mm}$ 、 $R: \leq 15 \text{ mm}$ の設定であり、すべての施設において、耐性と判定されており、良好な結果であった。

AMKの薬剤感受性に関しては、59施設が微量液体希釈法で実施し、1施設がディスク法で実施していた。Ed34によると、AMKのブレイクポイントは、尿路感染

症のみに適応することができ、微量液体希釈法ではS: $\leq 16 \mu\text{g/mL}$ 、I: $32 \mu\text{g/mL}$ 、R: $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ 、ディスク法ではS: $\geq 17 \text{ mm}$ 、I: $15\text{--}16 \text{ mm}$ 、R: $\leq 14 \text{ mm}$ の設定であり、すべての施設において、耐性と判定されており、良好な結果であった。

CPFXの薬剤感受性に関しては、57施設が微量液体希釈法で実施し、2施設がディスク法で実施していた。Ed34によると、CPFXのブレイクポイントは、微量液体希釈法ではS: $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$ 、I: $1 \mu\text{g/mL}$ 、R: $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ 、ディスク法ではS: $\geq 25 \text{ mm}$ 、I: $19\text{--}24 \text{ mm}$ 、R: $\leq 18 \text{ mm}$ の設定であり、すべての施設において、耐性と判定されており、良好な結果であった。

4) 感染症法コメント

MDRPを検出した場合には、5類感染症(定点把握)の「薬剤耐性緑膿菌感染症」に該当する可能性があるため、注意が必要である。

本菌が血液、腹水、胸水、髄液、その他の通常無菌的であるべき検体から検出され、分離・同定による緑膿菌の検出、かつ下記の検査所見を全て満たした場合に、5類感染症(定点把握)の「薬剤耐性緑膿菌感染症」に該当する。感染症法における検査所見は、Ed34におけるMDRPの基準とは一致しないため注意が必要である。

検査所見

- I. IPMのMIC値が $16 \mu\text{g/mL}$ 以上又は、IPMの感受性ディスクの阻止円の直径が 13 mm 以下
- II. AMKのMIC値が $32 \mu\text{g/mL}$ 以上又は、AMKの感受性ディスクの阻止円の直径が 14 mm 以下
- III. CPFXのMIC値が $4 \mu\text{g/mL}$ 以上又は、CPFXの感受性ディスクの阻止円の直径が 15 mm 以下

本菌が喀痰、膿、尿、その他の通常無菌的ではない検体から検出され、起因菌でないと判断された場合には、必要な検査所見を全て満たしていても届出を行う感染症には該当しない。本症例では、尿から本菌が分離・同定されており、医師により保菌と判断されていると記載があるため、5類感染症(定点把握)の「薬剤耐性緑膿菌感染症」に該当しない。

60施設中38施設が「感染症法で規定された病原体ではない。」、2施設がフリーコメント欄で正しい回答をしたが、20施設が「5類感染症(定点把握)として取り扱う必要があると考えられる。」と誤った回答をしていた。多くの施設において、5類感染症(定点把握)の「薬剤耐性緑膿菌感染症」について、誤った解釈をしている、もしくは、患者背景の記載内容を十分に確認していない可能性がある。感染症法の取り扱いについては、手引書に「得られた結果と患者情報を統合して回答してください。」と記載があるため、今後も継続して啓発する必要があると思われる。

3. 菌株3(試料73)

1) 菌株の由来

70歳代の女性。38℃台の発熱と咳嗽及び喀痰が出現したため受診した。精査のため喀痰培養が提出された。

2) 釣菌・菌名同定

試料73は、菌株3と口腔内の正常細菌叢(*a-Streptococcus*、*Neisseria* sp.)を混合したものであり、その中から起炎菌の可能性が最も高い菌株3を釣菌する設問であった。釣菌の段階からの検査プロセスを問う設問であったが、設問の趣旨については今年度も正しく理解されていると思われる。菌名は、*H. influenzae*である。本菌は、市中肺炎の原因菌の一つである。*H. influenzae*はヒツジ血液寒天培地に発育せず、チョコレート寒天培地上では、35～37℃、24時間培養で直径0.5～1.5 mmの灰白色の集落を形成する。グラム陽性球菌の発育を抑制するバシトラシン(BC)ディスク(500 $\mu\text{g/disk}$)を平板上に置いて培養すると、発育阻止帯の中に*Haemophilus*属が発育するため、選択的に分離することができる。*Haemophilus*属には、*H. influenzae*以外の口腔内の正常細菌叢である菌種も含まれるため、初代分離のチョコレート寒天培地から、*H. influenzae*を効率よく鑑別するためにはある程度の技量を要する。

その他の*Haemophilus*属菌との鑑別性状として、X因子要求性陽性、V因子要求性陽性、ポルフィリンテスト陰性、ウサギまたはウマ血液寒天培地での溶血性陰性が挙げられる。

同定に関しては、質量分析による同定、X因子・V因子要求性の確認及び溶血性の確認による簡易同定、生化学的性状から同定するキットなどの手法がある。

選択分離培地または薬剤含有培地、BCディスクなどを適切に使用し、口腔内の正常細菌叢の中から、本菌を見逃さずに釣菌する必要がある。

全ての施設が正解であり、極めて良好な結果であった。

3) 感染症法コメント

今回は喀痰培養からの検出であるため、感染症法で規定された病原体ではないが、髄液、血液、その他の無菌部位の検査材料から本菌が検出された場合は、5類感染症の「侵襲性インフルエンザ菌感染症」に該当するため注意が必要である。

4. フォト設問および文章設問

1) 設問1

フォト1-Aは、陽性となった血液培養をサブカルチャーした際の、SS寒天培地上での集落である。またフォト1-Bは発育した集落を接種し、35℃、20時間好気培養をした確認培地、フォト1-Cは本菌に対する免疫血清を用いた血清型別試験の結果であり、菌名は*S. Paratyphi A*である。

本菌はヒトにのみ病原性を示し、菌血症を引き起こす。10～15日間の潜伏期間を経て、第1病週は段階的な38℃以上の発熱が持続する。感染初期は、血液、骨

髄血から、第2病週頃より便、尿、胆汁から検出される。臨床症状などは腸チフスと同様な所見であるが、比較的軽症であることが多い。本症例の渡航先であるインドネシアは食中毒、アメーバ赤痢、細菌性赤痢、コレラ、腸チフス、パラチフス、A型肝炎などが発生している地域であるため、渡航歴がある場合はこれらの疾患を鑑別として挙げる必要がある。本菌に汚染された食品や水を摂取して経口感染する。

SS寒天培地上で乳糖非分解、硫化水素非産生であるため無色透明の集落を形成する。

試験管培地による同定検査では、ブドウ糖を発酵的に分解し、酸とガスを産生するが、乳糖と白糖は分解しない。大部分の株は硫化水素産生が陰性である。運動性があり、インドール産生陰性、VP反応陰性、クエン酸塩利用能陰性、リジン脱炭酸陰性である。

血清型別試験では、サルモネラ免疫血清でO多価血清およびO2血清での凝集の確認を行う。SS寒天培地所見より本菌を推定し、試験管培地による同定検査と血清型別試験により菌種同定が可能となる。本症例では、全ての施設が正解であった。

2) 設問2

フォト2-Aは採取された擦過検体で観察された *Malassezia* sp. のグラム染色像(1,000倍)、フォト2-Bはサブロー・デキストロース寒天培地に擦過検体を接種後、オリーブ油を重層し、35℃、5日間好気培養条件下で培養し観察された集落の写真である。本菌はカタラーゼ試験陽性、オリーブ油未添加のサブロー・デキストロース寒天培地への発育能は陰性であった。

本菌は環境中には存在せず、ヒトや動物の皮膚に常在する酵母様真菌である。本菌の大きな特徴として、脂質を要求することが挙げられ、脂質好性酵母とも呼ばれている。そのため皮脂の多い部位に定着しやすく、癬風や脂漏性皮膚炎等の各種皮膚疾患の原因となる。また、IVHカテーテルに関連した菌血症の報告も相次いでおり、臨床上重要な病原微生物として認識されている。

本菌の培養には、真菌用培地にオリーブ油を添加する必要がある。しかし、この方法では発育が困難な菌種もいるため注意する必要がある。また現在は本菌用に改良された培地も市販されている。

グラム染色像は円形や卵円形の酵母形態を示すが、形態および生化学的性状が類似しているため、表現型のみに菌種同定は難しく、菌種同定に至らないことが多い。

グラム染色で酵母様の菌を認めるが真菌用培地に発育がみられない場合、本菌を考慮することが重要である。

3) 設問3

フォト3-Aは、採取された喀痰で観察された *N. meningitidis* のグラム染色像(1,000倍)、フォト3-Bは鼻咽頭ぬぐい液を35℃、24時間炭酸ガス条件下で培養し、ヒツジ血液寒天培地／チョコレート寒天培地上に発育し

た *N. meningitidis* の集落、フォト3-Cは *N. meningitidis* のヒツジ血液寒天培地上における集落の拡大写真である。普通血液寒天培地にもよく発育する点が淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) との鑑別ポイントである。

本菌のグラム染色像は、グラム陰性の双球状を呈する。5～10%の炭酸ガス環境下での発育が良好である。生化学的性状は、カタラーゼ試験陽性、オキシダーゼ試験陽性、グルコース分解能陽性、マルトース分解能陽性、ラクトース分解能陰性、フルクトース分解能陰性、硝酸塩還元試験陰性、亜硝酸塩還元試験陰性、DNase陰性を示す。グルコースとマルトースの両方を分解して酸を産生する点が淋菌 (*N. gonorrhoeae*) との鑑別性状となる。質量分析では、口腔内に存在する非病原性の *Neisseria* (ネisseria) 属菌である、*N. cinerea*, *N. polysaccharea*, *N. elongata* などに誤同定されるケースがあるため注意が必要である。

ヒトが唯一の宿主であり、鼻咽頭に存在する。咳やくしゃみなどによる飛沫や直接的な接触においてヒトからヒトへ伝播する。多くは無症状のまま菌が消失するが、一部が保菌者となりさらにその一部が敗血症や髄膜炎、関節炎などを引き起こす。点状出血や播種性血管内凝固(DIC)を伴い、ショック状態に陥って死に至る Waterhouse-Friderichsen 症候群の劇症型の経過をたどるケースもある。

2011年5月に宮崎県の高校の学生寮でアウトブレイクがあり、死亡例1名を含む4名が入院するに至ったという事例があった。本菌によるアウトブレイクは集団生活においてたびたび発生し、輸入例をはじめ特に多くの人が集まる環境(寮やイベントなど)で発生するリスクが高いとされる。発症者と濃厚に接触した人への保菌調査や予防内服が必要になる例がある。また、実験室内感染を起こす菌であり、飛沫感染のため検査室内での取り扱いは十分に注意する。検査室や研究室で髄膜炎菌を扱う可能性がある臨床検査技師は髄膜炎菌ワクチンを接種することが推奨される。侵襲性髄膜炎菌感染症は全数把握の5類感染症に分類されており、届出方法は診断後「7日以内」ではなく「直ちに」となっていることも重要である。

4) 設問4

梅毒の検査法について、5つの選択肢から誤っているものを選択する設問であった。

- 1 梅毒は、ウサギの睾丸内接種によって継代が可能な株もあるが、人工培地を用いた病原体の培養には成功していない。よって本選択肢は正しい。
- 2 グラム陰性であるが、アニリン系色素(フクシン、メチレン青、クリスタル紫など)に染まりにくいために、グラム染色では観察が難しい。ギムザ染色や鍍銀染色が用いられる。よって本選択肢は正しい。
- 3 カルジオリピン(ウシの心臓由来のリン脂質)を抗原とし、それに反応する抗体を検出する。非特異的

な脂質であるため、梅毒以外(全身性エリテマトーデス(SLE)などの膠原病や妊娠、抗リン脂質抗体症候群、ウイルス感染症など)でも陽性となる。カルジオリピンに対する抗体が陽性、トレポネーマに対する抗体が陰性だった場合、感染早期または生物学的偽陽性の可能性がある。よって本選択肢は正しい。

- 4 カルジオリピンに対する抗体は、感染後2-3週間で陽性となる。トレポネーマに対する抗体は、前者に比べて1-2週遅れて陽性となる。どちらも陽性の場合、現在の感染が疑われる。抗体の検出が両方みられた場合、感染症法の届出基準を満たす。よって本選択肢は正しい。
- 5 カルジオリピンに対する抗体は、治療後陰性になることが多く、定量的に測定すると治療効果と関連するため、治療効果の判定に用いられている。一方、トレポネーマに対する抗体は、治療後も陽性である。よって本選択肢は誤りである。

5) 設問5

鼻咽頭ぬぐい液の検体採取について、5つの選択肢から誤っているものを選択する設問であった。

- 1 スワブでの鼻咽頭ぬぐい液採取時はくしゃみを誘発しやすいため、手袋、ガウン、マスク等の个人防护具を着用し感染防止対策を行った後に実施する。よって本選択肢は正しい。
- 2 検査用のスワブは、スワブの端を母指および示指で軽く把持する。被検者の鼻腔壁に当たったときにスワブがずれる位の強さで問題ない。よって本選択肢は正しい。
- 3 スワブを挿入する際、鼻腔下壁に沿って奥にゆっくり進めて、鼻腔中央または上咽頭壁に当たった位置で採取する。挿入の際に頭頂部に向けて挿入すると鼻腔上方に向かってしまい正しい採取位置に到達できない。よって本選択肢は誤りである。
- 4 スワブが鼻咽頭の最深部に到達後、数秒間分泌物を浸透させたのち軽く回転させ、細胞・粘液を擦過する。よって本選択肢は正しい。
- 5 小児など動いてしまう被検者の場合は、けがを避けるため、まわりの協力を得て頭頸部、躯幹、四肢をしっかりと固定する。よって本選択肢は正しい。

5. 感染症法上のコメントについて

感染症法コメントについては、入力を必須とし、以前より微生物部門の研究会や精度管理報告会において周知活動を進めてきた。昨年度同様、今年度もすべての施設で適切に回答が入力されており、コメントの必須入力が定着したと思われる。しかし、手引書において、「コンピューター処理の関係上、回答欄以外のフリーコメント欄などに記載された内容は一切評価に反映されません」と明記しているが、「その他」を選択し、フリーコメントによる回答をする施設が散見された。可能な限り、適

切な選択肢にて回答するよう啓発を進めていきたい。

今回、感染症法の届出疾患について、菌株2(試料72)で、60施設中20施設が「5類感染症(定点把握)」として取り扱う必要があると考えられる。」と誤った回答をしていた。【患者背景】に「本菌は保菌と判断された」と明確に記載されているため、薬剤耐性菌のMIC値の条件だけでなく、検出される材料や臨床的判断を含めた届出基準の理解と、全数把握と定点把握疾患の違いについても正しく把握できるよう啓発が必要であると思われる。また、感染症法は届出基準が変更になることもあるため、常に最新の情報を得ておくことも大切である。最終的に届出を行うのは医師であるが、臨床検査技師も感染症法を深く理解し、医師に情報提供できる体制を構築すべきである。

VIII. まとめ

今年度は昨年度に続き、計3菌株について試料を用いた精度管理調査を行った。薬剤感受性検査の判定基準を、日臨技精度管理調査の基準に合わせ、CLSIドキュメント M100-Ed34を用いた。いずれの施設においても、自施設の薬剤感受性の測定法や判定基準が、CLSIの定義する微量液体希釈法およびディスク拡散法に準拠しているのか、しっかりと認識を持つことが重要である。なお最新版のドキュメントはCLSIのホームページで無料公開されている。

フォト設問は、検出は比較的稀ではあるものの、臨床上重要な微生物を中心に調査を行うとともに、感染症法の理解にも焦点を当てた。患者背景や臨床所見、グラム染色所見、培地所見などから検出菌を推定することは微生物検査の基本であり、そのための知識を確認した。

文章設問においては、梅毒の検査法ならびに鼻咽頭ぬぐい液の検体採取を出題し、臨床で求められる感染症検査の知識と検査前プロセスに関する知識を問う設問とし、良好な理解を確認できた。

釣菌問題を実施したことにより、微生物検査における一連のプロセスである釣菌・菌名同定・薬剤感受性の全てについて精度管理調査を行った意義は大きいと考えている。今後もよりよい精度管理調査が行われるよう模索していきたい。

IX. 参考文献

- 1) CLSI M100-ED34:2024 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 34th Edition
<https://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED34:2024&scope=user>
アクセス日 2024年10月27日
- 2) 臨床検査学講座 臨床微生物学 編集 松本哲哉 医歯薬出版株式会社
- 3) 臨床微生物検査技術教本 監修一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会
- 4) 国立感染研究所 国内における劇症型溶血性レンサ

球菌感染症の増加について(2024年6月時点)

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/tsls-m/2655-cepr/12718-stss-2024-06.html>

- 5) 微生物検査ナビ 第3版 編集 犬塚和久 栄研化学株式会社
- 6) 厚生労働省 感染症法に基づく医師の届出のお願い
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/kekkaku-kansenshou/kekkaku-kansenshou11/01.html
アクセス日 2024年10月27日
- 7) 医療関係者のためのワクチンガイドライン 第4版
一般社団法人 日本環境感染学会ワクチン委員会
- 8) 国立感染症研究所 病原微生物検出情報(IASR)
2018年1月発行
- 9) 病気がみえる vol.6 免疫・膠原病・感染症 第1版
- 10) 金子 孝昌, 他: Malassezia属真菌の簡易同定法に関する研究. Med Mycol J, 2011; 52: 297-303.
- 11) 金子 孝昌, 他: 真菌の検査法 形態学的同定検査を中心に. 臨床と微生物, 2011; 38: 531-536.
- 12) 検体採取者のためのハンドブック 監修一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会

X. 問い合わせ先

〒446-8602

愛知県安城市安城町東広畔28番地

JA愛知厚生連安城更生病院 診療協同部臨床検査室

杉浦 康行

TEL: 0566-75-2111

E-mail: y-sugiura@kosei.anjo.aichi.jp