

- 座長：三谷 有生 （日本海員掖済会名古屋掖済会病院）
野村 杏奈 （JA 愛知厚生連安城更生病院）
65. CPE スクリーニングにおける追加評価項目の検討
梅田 沙希 名古屋市立大学病院診療技術部臨床検査技術科
66. グラム染色におけるエタノール固定・メタノール固定に関する検討
小鹿 真吾 JA 愛知厚生連 江南厚生病院 診療協同部 臨床検査室
67. 愛知県の農業集落排水から検出された ESBL 産生菌の系統解析
和知野 純一 藤田医科大学
68. 帝王切開術後感染症の患者から *Metamycoplasma hominis* を検出した 1 例
河田 沙久羅 公立陶生病院
69. 遺伝子検査を活用し迅速に同定し得た *Neisseria meningitidis* 菌血症
近藤 杏美 医療法人 豊田会 刈谷豊田総合病院
70. FilmArray 同定不能下で菌種推定し得た小児の *Haemophilus influenzae* 菌血症
八田 ゆりか 医療法人 豊田会 刈谷豊田総合病院
71. 小児の眼瞼培養から *Mycobacterium abscessus* を検出した一例
湯浅 麻里 藤田医科大学ばんだね病院

CPE スクリーニングにおける追加評価項目の検討

◎梅田 沙希¹⁾、近藤 周平¹⁾、大池 知行¹⁾、井上 貴子²⁾
 名古屋市立大学病院診療技術部臨床検査技術科¹⁾、名古屋市立大学病院中央臨床検査部²⁾

【はじめに】カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌(CPE)はカルバペネム系抗菌薬を分解する耐性菌であり、臨床的意義は極めて大きい。CPE スクリーニング基準として MEPM MIC>0.125μg/mL が用いられるが、精査で CPE 陰性となる例も多い。本研究では、陽性的中率向上を目的として、スクリーニング基準に追加すべき項目について検討した。

【対象と方法】(1)2023年8月～2025年12月に当院で分離された腸内細菌目細菌 4,380 株を対象とし、MEPM MIC >0.125μg/mL を示す株数と CPE の割合を算出した。(2)2015年1月～2025年12月に当院で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌目細菌(CRE)109株を対象とし、Non-CPE-CRE と CPE の薬剤感受性を比較した。薬剤感受性試験は、DxM マイクロスキャン WalkAway(ベックマン・コールター社)の Neg MIC 3J・EN2J・1J パネルを用いた。CPE の検出は、mCIM 法、SMA 法、Xpert Carba-R(同社)を用いた。

【結果】(1)4,380 株中 MEPM MIC>0.125μg/mL は 89 株、CRE20 株、CPE6 株であった。CPE のうち MEPM MIC 0.125～1μg/mL を示す株(ステルス型 CPE)は認めなかった。

MEPM MIC>0.125μg/mL を示す菌種では、*E. cloacae complex* 10.4%、*K. aerogenes* 6.9%が多かったが、89 株中の CPE 割合は、*K. pneumoniae* 15.8%、*E. cloacae complex* 9.1%が高かった。(2)CRE109 株中 CPE は 37 株、遺伝子型は MBL34 株、OXA-48 2 株、MBL・OXA-48 複合 1 株であった。感性率(%) (Non-CPE-CRE/CPE)は、CAZ(40.3/0)、LMOX(47.6/0)、LVFX(80.6/37.8)で差を認めた。一方、TAZ/PIPC(47.2/45.5)、AMK(94.4/94.6)では差を認めなかった。

【考察】MEPM MIC>0.125μg/mL を示す株には AmpC 保有菌種が多く、精査では多くの例で CPE が否定された。これは AmpC 過剰産生と外膜透過性の低下といった耐性機序により、MEPM の MIC が上昇したためと考えられた。薬剤感受性では CPE の方が CAZ や LMOX でより耐性傾向を示した。以上より、CPE 検出において AmpC 保有の有無や MEPM に加えて CAZ や LMOX の耐性の有無を組み合わせることで、陽性的中率向上に寄与する可能性が示唆された。今後はステルス型 CPE を含めたさらなる検討が必要である。

連絡先：052-851-5511(内線：2121)

グラム染色におけるエタノール固定・メタノール固定に関する検討

◎小鹿 真吾¹⁾、及川 加奈¹⁾、沖林 薫¹⁾、浅見 明里¹⁾、宮澤 翔吾¹⁾、水谷 里佳¹⁾、伊藤 康生¹⁾、舟橋 恵二¹⁾
 JA 愛知厚生連 江南厚生病院 診療協同部 臨床検査室¹⁾

【目的】グラム染色における固定方法は火炎固定またはメタノールによるアルコール固定が用いられる。火炎固定は古くから用いられてきた方法であるが、加熱の程度がばらつくことや検体が飛散し検査者に検体が暴露する危険性がある。メタノール固定は細胞障害が少ないため細胞内構造が鮮明で観察を行いやすい利点がある。しかし、火炎固定よりも時間が長いこと、人体への毒性が強く「毒物・劇物取締法」により管理が容易ではないという欠点がある。今回、同じアルコール類の中でも、毒性が弱く管理が比較的容易なエタノールを用いて固定・染色を行い、メタノール固定との染色性の比較を行った。

【対象と方法】当院の臨床検体 59 例(血液 30 例、喀痰 20 例、尿 9 例)を用いた。対象の検体をスライドガラスに塗抹した後、自然乾燥を行いエタノール固定及びメタノール固定を行い、グラム染色(パーミー法)を行った。エタノールはユーアイ化成株式会社の UI アルコール 100(エタノール 88.5%含有)、メタノールはメチルアルコール 99%を使用し、固定時間は 1 分で行った。

評価方法は 6 名の微生物検査技師が鏡検し、菌形態の鑑別、菌体の染色態度、白血球など背景細胞の染色態度について評価を行った。

【結果と考察】血液検体、喀痰検体、尿検体の全例において、エタノール固定とメタノール固定共に全技師の菌形態鑑別が一致する結果となった。

菌形態鑑別の際、「A：悩まない、B：少し悩む、C：かなり悩む、D：分からない」の項目でアンケートを同時に実施したが全技師で「A：悩まない」の回答が得られた。菌体の染色態度および、白血球など背景細胞の染色態度も全技師が良好と評価した。

固定方法による染色性の違いはほぼ認められない結果となった。またエタノール固定は管理及び毒性も低いため、エタノール固定の代用は可能であると考えられる。

連絡先—0587(51)3333 内線：2329

愛知県の農業集落排水から検出された ESBL 産生菌の系統解析

©和知野 純一¹⁾、法月 千尋¹⁾、中根 邦彦²⁾
藤田医科大学¹⁾、岡崎市保健所²⁾

【はじめに】

基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌は、医療機関のみならず健康人や生活環境からも検出されており、地域社会全体へ広く浸透していることが示唆されている。これら耐性菌の環境中での分布や動態を把握することは、公衆衛生上きわめて重要である。農業集落排水は、家庭排水などの生活由来汚水と自然環境が交差する場であり、地域住民の生活実態を反映した耐性菌の集積地点と考えられる。本研究では、農業集落排水から分離される ESBL 産生菌について、その細菌学的特徴および分子疫学的背景を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

愛知県内の中核市に所在する 10 箇所の農業集落排水処理施設から処理水を採取し、セフトキシム含有マッコッキー培地を用いて選択培養を行った。得られた発育コロニーについて ESBL 確認試験を実施するとともに、PCR 法により ESBL 関連遺伝子の検出を行った。さらに、次世代シーケンサー NextSeq を用いて全ゲノム解析を行い、遺伝子型

および系統解析を実施した。

【結果と考察】

調査対象とした 10 施設すべての水検体から ESBL 産生菌が検出され、重複株を除く 31 株の腸内細菌目細菌が分離された。ESBL 遺伝子型は CTX-M-gp1 が 22 株、CTX-M-gp9 が 9 株であった。加えて、5 施設からは計 7 株の ST131 型大腸菌が分離され、CTX-M-14、-15、-27、-55、-164 と多様な CTX-M 型を保有していた。これらの結果は、国内のヒト由来臨床分離株で優勢とされる CTX-M-gp9 の分布と整合しており、同様の遺伝子型が環境中にも広く存在している可能性を示唆する。特に高病原性クローンである ST131 の検出は、臨床と環境の間で耐性菌が循環している可能性を示す重要な所見であり、農業集落排水は地域における薬剤耐性菌拡散を監視する有用な指標となり得る。

【共同研究者】石野李織、石原星藍、伊藤菜々花、岩井瞭太、小川みこと、前田未来、南川絢政、米田亜似 (藤田医科大学医療科学部感染制御学分野)

【連絡先】0562-93-2558

帝王切開術後感染症の患者から *Metamycoplasma hominis* を検出した 1 例

©河田 沙久羅¹⁾、藤本 恵里奈¹⁾、廣瀬 明宏¹⁾、日置 達也¹⁾、位田 陽史¹⁾、石原 誉志美¹⁾
公立陶生病院¹⁾

【はじめに】 *Metamycoplasma hominis* は泌尿生殖器の常在菌であり、術後感染や骨盤内膿瘍などの症例が報告されている。今回我々は臨床経過や検査所見から *M. hominis* を疑うことで、同定に至った症例を経験したため報告する。

【症例】 20 代女性。妊娠 39 週 2 日で、血圧高値および胎動減少を主訴に当院救急外来を受診し、妊娠高血圧症候群の疑いで管理入院となった。入院 8 日目に破水し、児頭下降不全のため緊急帝王切開術が施行された。術後、発熱および子宮熱感を認めたため、絨毛羊膜炎を疑い、セフメタゾールの投与を開始した。術後 3 日目においても臨床症状の改善が乏しく、タゾバクタム・ピペラシリンに変更したが、術後 7 日目に骨盤内に膿瘍形成を認めた。ドレナージ術が施行され、起因菌検索のため膿・腔分泌物・滲出液培養検体が提出された。

【微生物学的検査】 各検体を血液寒天培地、チョコレート寒天培地、アネロコロンビア RS 培地を用いて培養した。各検体のグラム染色では多数の白血球を認め、菌体は認めなかった。また、培養 2 日目時点では腔分泌物から常在菌の

発育を認めたが明らかな起炎菌は認めなかった。しかし、臨床経過やグラム染色所見から *M. hominis* を疑い、培養時間を延長した。その結果、培養 5 日目で各検体の全ての培地で半透明の微小なコロニーの発育を認めた。質量分析装置 MALDI Biotyper® (Bruker Japan) にて同定したところ、*M. hominis* と結果が得られた。

【経過】 *M. hominis* の検出後、抗菌薬をクリンダマイシンに変更した。その後再膿瘍は認めず、臨床症状も軽快し術後 17 日で退院となった。

【考察】 *M. hominis* は細胞壁を欠くためグラム染色では菌体を確認できず、発育に 3~5 日の時間を要するため、見逃される可能性がある。産婦人科領域における術後感染症が疑われ、明らかな起炎菌が検出されない場合には、本菌を疑い培養期間を延長することが重要である。

【連絡先】 公立陶生病院：0561-82-5101(内線：4490)

遺伝子検査を活用し迅速に同定し得た *Neisseria meningitidis* 菌血症

◎近藤 杏美¹⁾、高野 稜也¹⁾、木元 真帆¹⁾、天野 ともみ¹⁾、松井 奈津子¹⁾、林 直樹¹⁾、伊藤 英史¹⁾、大嶋 剛史¹⁾
医療法人 豊田会 刈谷豊田総合病院¹⁾

【はじめに】*Neisseria meningitidis* は、低頻度でヒトの鼻腔や咽頭に定着し、飛沫感染により他者へ伝播する。ときに重篤化し、敗血症や髄膜炎等の致死率の高い侵襲性髄膜炎菌感染症を引き起こすことがある。また、質量分析において非病原性の *Neisseria* 属菌が本菌と誤同定されることがあるため、迅速かつ正確な菌名同定が重要となる。今回、遺伝子検査を活用し血液培養から *N. meningitidis* を迅速に同定し得た一例を経験したため報告する。

【症例】79歳、男性。来院2日前より嘔声が出現し、症状持続のため当院を受診した。鼻汁、痰、咳嗽を認め、胸部CTで右下葉にすりガラス陰影がみられた。来院時に採取した血液培養から *N. meningitidis* が検出された。臨床へ報告後、追加で実施した髄液検査で、髄膜炎は否定された。入院当初より投与していた CTRX を増量し、第18病日に軽快退院となった。

【微生物学的検査】血液培養自動分析装置 BACTEC FX (日本 BD) にて、好気ボトル2セットが12時間で陽転化し、グラム染色ではグラム陰性双球菌を認めた。CA 羊血液寒

天培地/VCM チョコレート寒天培地 EXII (島津ダイアグノスティクス) にて 35°C、5% CO₂ 環境下で培養した結果、半透明で光沢のある集落が観察された。質量分析装置 MALDI Biotyper (Bruker) にて解析し、*N. meningitidis* (Score Value 2.45) と同定された。誤同定の可能性を鑑み、全自動遺伝子解析装置 FilmArray 血液培養パネル 2 (バイオメリュール・ジャパン) を実施し *N. meningitidis* と同定された。また、来院時に採取された喀痰からも本菌が検出された。

【考察・結語】当院では MALDI Biotyper にて *N. meningitidis* と推定された場合、通常は追加で生化学的性状による同定検査を実施するが、判定までに時間を要し、迅速性に欠ける。本症例では、血液培養液から遺伝子検査を実施し、迅速に菌名を報告した。これにより、早期に適切な抗菌薬投与や追加検査が実施され、臨床へ寄与できたと考えられる。本症例のように、迅速かつ正確な菌名同定が求められる場面において、遺伝子検査も1つの手段として念頭に置き検査を実施することが望まれる。

連絡先：0566-25-2951 内線(4310)

FilmArray 同定不能下で菌種推定し得た小児の *Haemophilus influenzae* 菌血症

◎八田 ゆりか¹⁾、木元 真帆¹⁾、岩田 綾子¹⁾、天野 ともみ¹⁾、松井 奈津子¹⁾、林 直樹¹⁾、伊藤 英史¹⁾、大嶋 剛史¹⁾
医療法人 豊田会 刈谷豊田総合病院¹⁾

【はじめに】*Haemophilus influenzae* は市中細菌性肺炎の起炎菌となるグラム陰性球桿菌であり、小児の鼻咽頭保菌率が高い。また、免疫力低下などにより侵襲性インフルエンザ菌感染症を来すと、死亡や後遺症の恐れがある。今回、小児血液培養液より早期に本菌名を推定し得た一例を経験したので報告する。【症例】1歳0か月男児。発熱で近医受診、CAM 処方後も軽快せず、発熱6日目に当院紹介受診となった。血液検査で炎症マーカーの上昇、胸部レントゲンで左肺野透過性低下がみられ、細菌性肺炎が疑われた。血液培養小児ボトル1本を含む各種培養検査検体が採取された後 ABPC 静注による治療が開始された。翌日 BACTEC FX (日本 BD) にて血液培養が25時間で陽転化した。rapid BAC pro II (ニッポーメディカル) を用いた質量分析装置 (BRUKER) による陽性ボトルからの直接同定 (以下直接法) を試みたが、菌同定には至らなかった。また、全自動遺伝子解析装置 FilmArray 血液培養パネル II (バイオメリュール・ジャパン、以下 FA) でも菌の検出はなかった。しかし、Gram 染色像が *H. influenzae* 様であり、入院日に採取さ

れた後鼻腔および喀痰から本菌が検出されていたことより、*H. influenzae* が疑われる旨を主治医に報告した。血液培養液は、TSA II 5% ヒツジ血液寒天/ BTB 乳糖寒天分画培地 (日本 BD) を大気条件下、CA 羊血液寒天/VCM チョコレート EXII 培地 (島津ダイアグノスティクス、以下チョコレート寒天培地) を炭酸ガス条件下にて、いずれも 35°C で培養した。翌日、チョコレート寒天培地に発育を認め、質量分析装置にて *H. influenzae* (Score value: 2.39) と同定され、主治医に再度報告した。ABPC の感受性は良好であり治療継続となった。【考察・結語】本症例では、直接法および FA で菌同定に至らなかったが、Gram 染色像および他材料の培養結果より本菌を推定し得た。FA は迅速かつ高感度な検査である一方、菌量が検出感度以下である場合や標的遺伝子の変異・欠失を認めると偽陰性となる可能性が考えられる。高精度な機器であっても結果が乖離する例があることを念頭に置き、塗抹・培養所見を含めた検査結果を総合的に解釈できるスキルが重要である。【連絡先】TEL : 0566-25-2951

小児の眼瞼培養から *Mycobacterium abscessus* を検出した一例

◎湯浅 麻里¹⁾、中村 有見¹⁾、小原 知美¹⁾、杉浦 縁¹⁾
藤田医科大学ばんだね病院¹⁾

【はじめに】*Mycobacterium abscessus* (以下 *M. abscessus*) は迅速発育菌群の非結核性抗酸菌である。土壌や水道水などに常在しており、皮膚軟部組織感染症や肺抗酸菌症、骨髄炎、菌血症を引き起こすことが知られている。今回我々は眼瞼皮下腫瘍より *M. abscessus* を検出したので報告する。

【症例】10代女性。20XX年8月左下眼瞼に発赤を伴う皮下腫瘍を認めた。前医にて抗生剤内服(内容不明)をしていたが改善せず、徐々に腫瘍が増大してきたため同年10月に当院受診し、切開排膿洗浄した。

【微生物学的検査】眼瞼切開排膿時に採取された閉鎖膿のグラム染色では、白血球のみで菌は認めなかった。羊血液寒天培地/チョコレート寒天分画培地(以下分画培地)にて35℃炭酸ガス環境下で48時間、HK半流動生培地にて35℃で培養した。分画培地には菌の発育は認めなかったが、HK半流動生培地では培養5日目に菌の発育を認めた。同日室温保管していた分画培地からもコロニーの発育を認めた。HK半流動生培地に発育した菌および分画培地に発育した

コロニーをグラム染色したところ染色性不良のグラム陽性桿菌を検出した。染色性および形態から抗酸菌を疑ったため、チールネルゼン染色を実施し陽性となった。本菌は質量分析装置(VITEK MS)にて *M. abscessus* と同定された。薬剤感受性結果(プロスミック RGM、MIC値 $\mu\text{g/mL}$)は AMK>16、CAM=1、SM=128、KM=32、RFP>32、EB=64、TH>16、LVFX=32、RBT>16であった。CAM+MINOでの抗菌薬治療と温熱療法の併用により改善を認め、無治療経過観察中である。

【考察】*M. abscessus* は迅速発育菌であるが、48時間培養では見逃す可能性がある。当院では無菌材料はHK半流動生培地にて1週間培養している。本症例ではHK半流動生培地での長期培養による菌の発育および室温保管していた分画培地に発育したコロニーのグラム染色結果より抗酸菌を疑いチールネルゼン染色を実施したことが診断に有用であった。*M. abscessus* による感染症は治療に難渋する症例も多いが、抗菌薬治療と温熱療法の併用により改善を認めた。連絡先 052-323-5668