

微生物部門

精度管理事業委員

白石 了三

半田市医師会健康管理センター

TEL 0569-27-7965

実務委員

河合浩樹 厚生連足助病院

多和田行男 国立名古屋病院

微生物検査の精度管理調査

〔はじめに〕

微生物における平成 10 年度精度管理事業としては、愛知県下施設における酵母様真菌の同定を実施した。本サーベイは、真菌の検査法及び検査室の現状把握を目的とし、その結果を踏まえて解析した。

〔参加施設〕

今回のサーベイは愛知県下 58 施設を対象として行い、全施設から解答が得られた。

〔対象菌株〕

試料はコロンビアブロスを用いて *Candida albicans* 1×10^7 /ml *Candida glabrata* 1×10^7 /ml になるように調整し各々混合して試料とした。これをキャリブレアー培地にて採取し検体とした。尚試料は、臨床分離株を用いた。

〔結果〕

試料の分離培地を表 1 に示す。血液寒天、チョコレート寒天は、ほとんどの施設で使用されている。真菌用培地を使用している施設は 51 施設 (87.9%) であった。真菌を目的とするとき非選択分離培地としてサブロー・グルコース寒天または改変培地が多く使用されている。しかし、共存する細菌や糸状菌のなかには菌数や発育速度の点で病原菌である酵母より優勢なものが少なくない。こうした状況のもとで病原酵母を確実に分離するためには抗生物質または抗菌剤を含む選択培地を使用することが望まれる。現在わが国で市販されている代表的な培地の添加抗菌剤としては抗細菌性抗生物質 chloramphenicol (CP) と抗真菌性抗生物質 cycloheximide (CYC) との組み合わせが用いられるか、さもなければニトロフラン系抗細菌性化合物 guanofuracin (GF) が単独で使用されている。注意点としては *Pseudomonas* などの一部の細菌には、阻止作用を示さないし、一部の酵母様真菌 (*Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon cutaneum*, *Saccharomyces cerevisiae*) などの菌種は、発育抑制されることもある。以上の点を避けるために非選択培地の併用が望まれる。またコロニーに色が着色する培地を使用している施設が 33 施設 (56.9%) あり、検体中に複数の病原酵母が存在する場合、コロニーを見落とす危険が少なく有用であると思われる。培養温度においては、ヒトや哺乳動物に寄生する酵母は、宿主体温に近い比較的高い温度で良好に発育するのに対し非病原性酵母は、一般より低い至適発育温度をもつ。

同定キットに関しては表 2 に示す。25 施設 (43.1%) で各種同定キットを用いており、20 施設 (34.5%) が自動機器による同定を実施している。従来法ではグラム染色をほとんどの施設が実施している。しかしその他の方法においては、ほとんどの施設であまり実施されていない。従来法の中ではジャムチューブによる発芽管形成試験が 7 施設と二番目に多く用いられていた。この

試験は *C.albicans* に特異的な性質で他の *Candida* 属菌種との鑑別のために実施されており発芽管形成能が証明されれば *C.albicans* と同定する有力な根拠となる。発芽管テストの実施法としては、比較的若い培養（24～72 時間培養）から採取した酵母形細胞を $10^4 \sim 10^7/\text{ml}$ の濃度になるようにヒト血清、又は、これに代わる動物血清に懸濁し、35～37℃で数時間インキュベートする。採取した試料を 1 滴スライドグラスに載せ、カバーグラスを覆って光学顕微鏡下で観察する。1%以上の細胞に発芽管が認められた場合にテスト陽性と判定する。尚ヒト血清は、新鮮なものか、凍結したものを用いないと発芽管形成率は低下する。墨汁染色については今回対象菌ではないが *Cr.neoformans* についてはこの菌の同定にとって欠かせないものとなっている。厚膜分生子形成についてはコーン・ミール寒天などの培地上で大部分の *C.albicans* は良好に形成する。特殊寒天培地がいくつか市販されているが使用施設は 2 施設であった。菌膜形成能はサブローイオンなどの液体培地を含む試験管に培養した場合、大部分の細菌菌種の発育菌体は管底に沈むか、または培地表面にフィルム状かリング状の形に集まる。これに対して *C.tropicalis*, *C.krusei* とくに *Trichosporon* 属菌種などでは培地表面に厚い菌膜を作って発育する。この検査は 3 施設で実施されていた。表 2 より酵母真菌の同定法はほとんどが同定キットを使用しており従来法は限られた少数の施設で実施されているのみであった。

同定結果は表 3 に示したとおりである。同定レベルは菌種まで同定が 3 9 施設で半数以上をしめ、属レベルが 1 6 施設であった。少数の施設では酵母真菌までの同定であった。表に示したように各種の結果が報告された。全体では 31 施設（53.5%）が *Candida albicans*, *Candida glabrata* と報告された。この 2 菌種は主として（外陰）膣カンジダ症の 2 大原因菌でしかもそれぞれの菌種に起因する疾患の病型、症状、経過、治療に対する反応などに明らかな相違がみられるために産婦人科領域では、これら 2 つの *Candida* 属菌種の鑑別が臨床上大きな意義をもつと考えられている。次に多かった解答は *Candida albicans* のみで 14 施設（24.2%）であった。これは分離培養にサブロー・グルコース寒天のみを用いているために 2 種類混合していることを確認できなかったためでないかと考えられる。又は抗真菌性抗生物質を含む培地を使用した場合 *Candida glabrata* がこの抗生物質に感受性をもっているためと思われる。現在では初代分離培養で混在する病原酵母菌種のおおまかな鑑別を行い得るタイプの培地が考案され市販されている。主として膣カンジダ症の 2 大原因菌 *Candida albicans*, *Candida glabrata* を鑑別する目的のものである。これは、亜テルル酸カリウムの還元を利用したものと銅イオンの取り込み能力の違いを利用したものがある。病原酵母の混在を見落とさないようにするためにはこのような選択培地を併用するのが望ましいと思われる。

〔まとめ〕

カンジダ症の主な原因菌は *C.albicans* であり他に *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.guilliermondii*, *C.krusei*, *C.kefyr*, *C.glabrata* があげられる。これら 7 種の *Candida* がわが国で臨床材料から分離される頻度はいずれの場合も *C.albicans* が主位をしめる。*Candida* 属の多くの菌種はその生活環として酵母型と菌糸型をとることが知られている。正常フローラとして存在している時は主に酵

表 1 使用培地及び使用枚数

施設NO	培地								培地枚数								
	血液	B T B	チ ヨ コ レ ー ト	真 菌 色 素 +	真 菌 色 素 -	D H L	嫌 気	そ の 他	2 枚	3 枚	4 枚	5 枚	6 枚	7 枚	8 枚	1 0 枚	1 1 枚
1	1	1	1							1							
3	1	1			1			1		1							
4	1				1			1			1						
5	1			1			1	1			1						
8	1			1	1	1					1						
9	1	1		1	1						1						
11	1	1	1	1							1						
12	1	1	1	1							1						
14	1		1		1	1		1				1					
15	1			1	1		1	1					1				
17	1	1			1		1	1							1		
18	1		1	1			1				1						
21	1	1	1	1							1						
22	1	1	1	1			1	1						1			
25	1	1	1	1	1			1					1				
26	1		1		1		1	1				1					
27	1			1		1	1	1				1					
28	1				1			1		1							
29	1		1	1		1					1						
30	1	1	1		1						1						
31	1		1		1	1	1					1					
34	1	1	1							1							
37	1	1	1	1			1					1					
40	1		1			1		1			1						
41	1	1	1	1	1							1					
43	1		1	1			1			1							
46	1	1	1	1							1						
48	1	1	1	1			1	1						1			
49	1	1	1		1			1				1					
51	1	1	1	1			1	1									1
52	1				1					1							
53	1		1	1				1				1					
54	1		1	1				1				1					
55	1		1	1		1					1						
56	1		1	1		1					1						
57	1		1	1				1				1					
58	1		1	1		1	1					1					
59	1		1	1						1							
60	1	1	1		1						1						
61	1	1	1		1						1						
62	1		1				1	1				1					
63	1		1		1		1	1							1		
64	1		1							1							
66	1	1	1		1			1					1				
69	1	1	1	1							1						
70	1			1				1		1							
75	1			1				1			1						
79	1	1	1	1							1						
80	1	1	1	1							1						
81	1	1			1			1				1					
82	1			1				1				1					
83	1		1			1				1							
84	1	1	1		1			1					1				
88	1		1		1			1			1						
89	1		1		1		1	1						1			
93	1	1						1		1							
98	1	1	1	1							1						
100	1	1	1	1			1	1				1					
計	58	28	42	33	23	10	17	30	2	9	26	11	4	3	1	1	1

表 2 同定に用いた自動機器、キット及び同定レベル

施設NO	同定機器、同定キット						従来法							同定レベル			
	Walkaway	Vitek	API ATB	API 20C AUX	カンジダチェック	マイコチューブ	培地上のコロニーの色素のみの同定	グラム染色	コーンミール寒天培地による厚膜胞子の有無	サブローブイヨンによる菌膜形成及びガス産生	墨汁染色	ジャームチューブによる発芽管形成試験	スライドカルチャー	菌種まで同定	属レベルまで同定	発育せず	その他
1	1																
3				1					1					1			
4					1				1								1
5						1			1								
8			1						1								
9				1					1								
11			1						1			1					
12	1								1								
14					1				1								
15							1		1								
17			1						1								
18	1								1		1						
21					1				1								
22							1		1								1
25	1					1										1	
26			1						1								
27	1			1					1								
28									1								
29							1		1								1
30			1						1			1					
31			1						1			1					
34									1								1
37	1								1			1					
40									1								1
41						1				1		1					
43			1						1								
46				1					1			1					
48							1		1								1
49						1			1								1
51				1	1				1								
52									1								1
53				1					1								
54			1						1								
55				1					1			1					
56		1							1								
57			1						1								
58				1					1								1
59					1				1								
60				1					1								
61					1				1								
62			1						1								
63					1				1								
64									1								1
66				1					1								
69						1			1								1
70				1					1								
75			1						1								
79	1								1								
80							1		1								
81				1					1								
82							1		1								1
83									1			1					
84						1			1								1
88									1								1
89									1								1
93									1								1
98						1			1								
100		1		1					1					1			
計	7	2	11	13	8	6	7	53	2	3	1	7	1	39	16	0	3

母型をとり、菌糸型は主に感染組織内で観察される。これら真菌の分離は困難なことが少なくないがその同定および病原的意義を決定するほうがもっと厄介である。とりわけ常在性真菌症は細菌感染症にくらべると一般に診断治療ともはるかに難しく、この厄介な二次感染から免れないとしたら基礎疾患に対する治療法がいかに進歩しても十分な予後の改善は計れない。内用抗真菌剤についてはわが国では FLCZ（フルコナゾール）が多く使用されている。この FLCZ の繁用によって深在性真菌症起因菌特に *Candida* 属菌種の本在（および他のアゾール剤）に対する感受性の低下が疑われる。そのために患者分離株の抗真菌剤感受性モニタリングの必要性は大きくなると思われる。今回のサーベイでは 31 施設が正確に解答されておりほぼ満足できる結果瀬あったと思われる。酵母様真菌の培地、同定キットは各メーカーより多種多様な製品が出されているが、それぞれの注意事項をきちんと守り目的に合ったものを使用する必要があると思われる。

表 3 同定結果一覧

回答	回答施設数	(%)
C. albicans	31	53.5
C. glabrata		
C. albicans	14	24.2
C. albicans 2種	1	1.7
C. albicans	1	1.7
C. albicans 以外の酵母		
C. glabrata	1	1.7
Candida sp	4	7.0
Candida spp2種	1	1.7
酵母様真菌 1	1	1.7
酵母様真菌 2		
酵母様真菌	1	1.7
C. albicans Trichosporon pullulans	1	1.7
Candida krusei	1	1.7
C. tropicalis	1	1.7
総計	58	100

〔謝辞〕

今回のサーベイに際しご協力をいただいた皆様、又参加していただいた各施設の皆様に厚く御礼申し上げます。

〔参考文献〕

- 1) 上田泰, 清水喜八郎: 深在性真菌症の最新治療計画: メディカルジャーナル社 1993
- 2) 山口英世, 内田勝久: 真菌症診断のための検査ガイド: 栄研化学株式会社 1994
- 3) 螺良英郎: CANDIDIASIS 内臓カンジダ症の基礎と臨床: 株式会社協和企画通信 1998

細胞部門

精度管理事業委員

今井 律子

東海市民病院

TEL 0562-33-5500

実務委員

佐藤 茂 名古屋市立大学病院

細胞検査の精度管理調査

はじめに：平成 10 年度愛臨技精度管理事業として細胞検査研究班では「カラーコピー」を用いてフォトサーベイを行った。出題分野と数は婦人科、呼吸器、泌尿器等日常業務でよく扱う分野から 4 題、穿刺細胞診（乳腺、耳下腺）2 題、捺印細胞診 2 題の合計 8 題である。以下にその内容と解答、解説を示す。

細胞検査フォトサーベイ

設問は 8 問、各設問に 2 枚のフォトがあります。

各設問について選択肢の中から最も適切と思われるものを 1 つ選んで回答用紙の番号に○印を付けて下さい。

設問 1： 36 才、女性。検体：子宮頸部擦過

- ①扁平上皮化生 ② 非角化型扁平上皮癌 ③ 子宮頸内膜腺癌
④上皮内癌 ⑤ 高度異形成

設問 2： 56 才、女性。検体：子宮頸部擦過

- ①子宮頸部結核 ②濾胞性頸管炎 ③上皮内癌
④小細胞癌 ⑤子宮体内膜腺癌

設問 3： 83 才、男性。検体：経気管支針穿刺

- ①扁平上皮癌 ②腺様嚢胞癌 ③粘表皮癌
④腺癌(胃癌転移) ⑤カルチノイド

設問 4： 50 才、男性。検体：自然尿

- ①移行上皮癌(G 1) ② 移行上皮癌(G 2) ③移行上皮癌(G 3)
④良性移行上皮 ⑤腺癌

設問 5： 54 才、女性。検体：顎下部腫瘤穿刺

- ①単一型腺腫 ②多形腺腫 ③ワルチン腫瘍
④腺癌 ⑤粘表皮癌

設問 6： 44 才、女性。検体：左乳房腫瘍穿刺

- ①脂肪腫 ②脂肪壊死 ③シリコン
④結核 ⑤悪性葉状腫瘍

設問 7： 40 才、男性。検体：脳腫瘍圧挫

- ①髄膜腫 ②神経鞘腫 ③神経膠腫
④神経芽腫 ⑤頭蓋咽頭腫

設問 8： 55 才、男性。検体：胃生検スタンプ

- ①異型腺上皮(腺腫) ②平滑筋腫 ③扁平上皮癌
④平滑筋肉腫(低悪性度) ⑤異所性腠組織

細胞検査フォトサーベイの解答、解説

設問 1 ⑤高度異形成

傍基底型の類円形細胞が弧在性に認められる。高度異形成か上皮内癌の鑑別が必要とされる。細胞質には厚味があり、細胞質の角化がうかがえる。N/C 比は 50%～ 80% と高いが、上皮内癌程ではない。核縁のしわ、切れ込み、核クロマチンの濃染の程度から高度異形成が最も適当と考える。

設問 2 ②濾胞性頸管炎

大中小のリンパ球が多数認められる。中央には貪食細胞も認め、慢性炎症の所見を呈している。設問の選択肢では④小細胞癌との鑑別が必要である。核クロマチンが顆粒状であること、濃染しないことから鑑別できる。尚、結核を示唆する多核巨細胞、類上皮細胞、壊死物質等は認められない。

設問 3 ⑤カルチノイド

1、細胞が弧在性に認められる。2、N/C 比はそれ程高くない。3、ほぼ均一大の細胞である。以上よりカルチノイドが最も考えやすい。

設問 4 ②移行上皮癌 (G2)

赤血球を参考にするると設問の細胞は移行上皮癌 G1 の核 (平均 $7.9\mu \times 6.4\mu$) に比してかなり大きいことがわかる。核の大小不同、核クロマチンの濃染。核小体の肥大等が認められる。これらの核

異型の程度は移行上皮癌G 1よりはるかに強いが、G 3とするには多形性に乏しい。

設問 5 ①単一型腺腫

核の大きさは均一大でよくそろっている細胞集団である。核の重積性はあるが密度は高くない。核縁は平滑で核クロマチンは濃染していない。癌とするには構造異型、細胞異型共に弱い。多形腺腫における非上皮性成分、ワルチン腫瘍におけるリンパ球の背景はなく、これらは否定される。

設問 6 ③シリコン

大小の空胞、炎症細胞、多核組織球を認める。大小の空胞は脂肪細胞とするには大小不同がありすぎる。これらの空胞には細胞膜や核が認められない。従ってこれらの空胞は脂肪細胞ではない。脂肪織炎および脂肪壊死に比して炎症細胞の数が少ない。結核を示唆するラングハンス型巨細胞、類上皮細胞、リンパ球等は認められない。以上よりシリコン肉芽腫が最も適切である。

設問 7 ①髄膜腫

同心円状の渦巻き配列を含んだ細胞集団である。この渦巻きの部分に石灰化もみられ、典型的な髄膜腫の所見である。

設問 8 ④平滑筋肉腫（低悪性度）

大小不同、紡錘形から円形まで多様な形の核を有する細胞が散在性に認められる。細胞質は淡く、細胞の結合性はみられない。従って非上皮性の細胞である。細長い核の末端は丸みを帯びて（根棒状の核）平滑筋由来であることを示している。核クロマチンは繊細で濃染し、核小体は複数個認められる。円形核を有する類上皮様の細胞も混在することから通常の平滑筋肉腫とするより低悪性度の平滑筋肉腫が最も考えられる。

まとめ

1、サーベイ回収結果について(表 1 参照)

- ・ 59 施設に配布して 57 施設から回答があった。
- ・ 設問 1、2、3、4 は日常業務でよく経験される分野の症例であり正解率は良好であった。
- ・ 設問 5、6 の成績がやや悪かった。設問 5 は唾液腺に発生する腫瘍の組織型がよく理解されていなかったこと、腺癌の判定基準に差があることなどが考えられる。設問 6 では豊胸のためにシリコンを注入した結果として起こる異物肉芽性の組織像の理解が不足しているものと思われた。(尚、選択肢「シリコン」は診断名ではないので「シリコン肉芽腫」とすべきであった。お詫びして、訂正します。)
- ・ 設問 7、8 は比較的特徴的な細胞所見を示す症例であり正解率は良好であった。

2、参加施設の細胞検査士（CT）と正解数（グラフ 1 参照）

- ・ CT 数が多いほど正解数が多い傾向を示した。

3、今回の「カラーコピー」によるフォトサーベイは比較的簡便にでき、写真の質も良好であり、今後も十分利用できる精度管理方法と考えられた。回答施設数も多く、正解率も満足でき、会員の関心の高さが伺えた。

フォトサーベイ参考資料：水口國雄監修 実践細胞診カラー図鑑 H B J 出版局 1994

表 1、サーベイ回収結果 (回答施設数 57)

選択肢	①	②	③	④	⑤	正解 (正解率%)
設問 1	3	1		5	48	⑤ (84.2)
設問 2		56	1			② (98.2)
設問 3			1	2	54	⑤ (94.7)
設問 4	6	51				② (89.5)
設問 5	38	7	1	9	2	① (66.7)
設問 6	1	13	(1)* 39	3		③ (68.4)
設問 7	55		1		1	① (96.5)
設問 8		2		55		④ (96.5)

表の数字は回答施設数

*：設問 6 について選択肢②、③の複数回答

グラフ1 参加施設の細胞検査士(CT)と正解数

