

微生物検査部門

精度管理事業担当者：西尾美津留（小牧市民病院 診療技術局 臨床検査科）

実務分担者：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）

木村 達也（一宮市立市民病院 医療技術局 臨床検査室）

安藤 真帆（医療法人豊田会 刈谷豊田総合病院 臨床検査・病理技術科）

I. はじめに

令和5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题した。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ではオキサシリン(MPIPC)、バンコマイシン(VCM)、ダプトマイシン(DAP)、菌株2ではタゾバクタム・ピペラシリン(TAZ/PIPC)、レボフロキサシン(LVFX)およびメロペネム(MEPM)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-Ed30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、*Clostridioides difficile*検査法について1題、Modified Carbapenem Inactivation Methods(mCIM)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>Staphylococcus lugdunensis</i>	設定なし	設定なし	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MRSA) <i>Staphylococcus intermedius</i>
菌株2	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	<i>Enterobacter</i> sp.	設定なし	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
菌株3	<i>Escherichia coli</i> , verotoxin-producing	腸管病原性 <i>Escherichia coli</i>	設定なし	<i>Morganella morganii</i> <i>Edwardsiella tarda</i>

【薬剤感受性(微量液体希釈法)】

薬剤名		A	B	C	D
菌株 1	MPIPC	>2.00 R >4.00 R ≥4.00 R	設定なし	設定なし	2.00 S =2.00 R
	VCM	≤0.50 S =1.00 S ≤1.00 S	=1.50 S	設定なし	設定なし
	DAP	≤0.12 S ≤0.25 S =0.25 S ≤0.50 S =0.50 S	設定なし	設定なし	設定なし
菌株 2	TAZ/PIPC	=64.00 I >64.00 R >128.00 R ≥128.00 R	=32.00 I =64.00 R	設定なし	設定なし
	LVFX	>4.00 R =4.00 R >2.00 R =2.00 R >1.00 R	設定なし	設定なし	=4.00 I =2.00 S ≤2.00 S
	MEPM	>2.00 R >4.00 R >8.00 R =8.00 R ≥8.00 R ≥16.00 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	MPIPC	設定なし	設定なし	設定なし	6mm R
	VCM	設定なし	設定なし	設定なし	設定なし
	DAP	設定なし	設定なし	設定なし	設定なし
菌株 2	TAZ/PIPC	16mm R	設定なし	設定なし	設定なし
	LVFX	14mm R	設定なし	設定なし	設定なし
	MEPM	14mm 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>Nocardia</i> sp.	設定なし	設定なし	設定なし
設問 2	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	設定なし	設定なし	設定なし
設問 3	<i>Acanthamoeba</i> sp.	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 4	設定なし	設定なし	選択肢 1, 2, 3, 5

【感染症法コメント】

	A	B	C	D
菌株 1	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 2	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	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 感染症法で規定された病原体ではない
菌株 3	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	感染症法で規定された病原体ではない
設問 1	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 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	2 類感染症として取り扱う必要があると考えられる
設問 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

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>Staphylococcus lugdunensis</i>	58/60	96.7%	A
	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MRSA)	1/60	1.7%	D
	<i>Staphylococcus intermedius</i>	1/60	1.7%	D
菌株 2	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	58/60	96.7%	A
	<i>Enterobacter</i> sp.	1/60	1.7%	B
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1/60	1.7%	D
菌株 3	<i>Escherichia coli</i> , verotoxin-producing	50/60	83.3%	A
	腸管病原性 <i>Escherichia coli</i>	8/60	13.3%	B
	<i>Morganella morganii</i>	1/60	1.7%	D
	<i>Edwardsiella tarda</i>	1/60	1.7%	D

1) 菌株1の成績

58施設(96.7%)が正解である *Staphylococcus lugdunensis* と回答し、極めて良好な成績であった。1施設(1.7%)が *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*(MRSA)と回答しておりD判定とした。また、1施設(1.7%)が *Staphylococcus intermedius* と回答しており、こちらもD判定とした。

2) 菌株2の成績

58施設(96.7%)正解である *Enterobacter cloacae* complex と回答し、良好な成績であった。1施設(1.7%)が *Enterobacter* sp. と回答しB評価となった。また、1施設(1.7%)が *Klebsiella pneumoniae* と回答しており、D評価となった。

3) 菌株3の成績

50施設(83.3%)が正解である *Escherichia coli*, verotoxin-producing と回答し、良好な成績であった。8施設(13.3%)が腸管病原性 *Escherichia coli* と回答しB評価となった。また、1施設(1.7%)が *Morganella morganii* と回答し、1施設(1.7%)が *Edwardsiella tarda* と回答し、いずれもD評価となった。

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	MPIPC	>2.00 R	31/60	51.7%	A	
		>4.00 R	12/60	20.0%	A	
		≥4.00 R	10/60	16.7%	A	
		=2.00 S	5/60	8.3%	D	
		=2.00 R	1/60	1.7%	D	
		=1.00 S	32/60	53.3%	A	
	VCM	≤0.50 S	25/60	41.7%	A	
		≤1.00 S	2/60	3.3%	A	
		=1.50 S	1/60	1.7%	B	
		DAP	≤0.25 S	28/55	50.9%	A
			≤0.50 S	15/55	27.3%	A
			=0.50 S	6/55	10.9%	A
			=0.25 S	5/55	9.1%	A
≤0.12 S	1/55	1.8%	A			
菌株 2	TAZ/PIPC	>64.00 R	43/60	71.7%	A	
		≥128.00 R	8/60	13.3%	A	
		>128.00 R	3/60	5.0%	A	
		=64.00 I	2/60	3.3%	A	
		=32.00 I	2/60	3.3%	B	
		=64.00 R	1/60	1.7%	B	
	LVFX	=2.00 R	27/60	45.0%	A	
		=4.00 R	16/60	26.7%	A	
		>1.00 R	4/60	6.7%	A	
		>4.00 R	1/60	1.7%	A	
		>2.00 R	1/60	1.7%	A	
		=4.00 I	6/60	10.0%	D	
		=2.00 S	3/60	5.0%	D	
	≤2.00 S	1/60	1.7%	D		
	MEPM	>2.00 R	22/60	36.7%	A	
>8.00 R		17/60	28.3%	A		
>4.00 R		11/60	18.3%	A		
≥16.00 R		6/60	10.0%	A		
=8.00 R		2/60	3.3%	A		
≥8.00 R	1/60	1.7%	A			

(1) 菌株1

微量液体希釈法を用いて回答した施設は、MPIPC59施設、VCM60施設、DAP55施設と薬剤によって異なった。MPIPCについては、A評価が53施設(88.3%)、D評価が6施設(10.0%)であった。D評価6施設については、すべて測定されたMIC値が低値であった。VCMについては、A評価が59施設(98.3%)、B評価が1施設(1.7%)であった。DAPについて、全ての施設がA評価であった。

(2) 菌株2

微量液体希釈法を用いて回答した施設は59施設であった。TAZ/PIPCについては、A評価が56施設(93.3%)、B評価が3施設(5.0%)であった。B評価については測定されたMIC値が低値であった2施設、判定カテゴリーは誤っているが、臨床的には影響が低いため総合的にB評価とした1施設となっている。LVFXについては、A評価が49施設(81.6%)、CLSIM100-Ed28以前の基準にて判定したため、カテゴリーを誤ったと推測される10施設

(16.7%)がD評価となっている。MEPMについては全ての施設がA評価であった。

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	MPIPC	6mm R	1/60	1.7%	D
	TAZ/PIPC	16mm R	1/60	1.7%	A
菌株2	LVFX	14mm R	1/60	1.7%	A
	MEPM	14mm R	1/60	1.7%	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。ディスク法での回答はMPIPCのみであったが、MPIPCについては、ディスク法の判定基準が存在しないため、D評価とした。

(2) 菌株2

ディスク法を用いて回答した施設は1施設であった。TAZ/PIPC、LVFX、MEPMについて、全てA評価であり、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>Nocardia</i> sp.	61/61	100%	A
設問2	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	61/61	100%	A
設問3	<i>Acanthamoeba</i> sp.	61/61	100%	A
設問4	選択肢5	61/61	100%	A
設問5	選択肢4	61/61	100%	A

1) 設問1

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

2) 設問2

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

3) 設問3

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

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

全ての施設が正解の選択肢④と回答し、極めて良好な成績であった。

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
菌株1	感染症法で規定された病原体ではない	59/60	98.3%	A
	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
菌株2	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	57/60	95.0%	A
	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	2/60	3.3%	D
菌株3	感染症法で規定された病原体ではない	1/60	1.7%	D
	3類感染症として取り扱う必要があると考えられる	56/60	93.3%	A
	感染症法で規定された病原体ではない その他	3/60 1/60	5.0% 1.7%	D 対象外
設問1	感染症法で規定された病原体ではない	61/61	100%	A
設問2	感染症法で規定された病原体ではない	53/61	86.9%	A
	2類感染症として取り扱う必要があると考えられる	3/61	4.9%	D
	その他	5/61	8.2%	対象外
設問3	感染症法で規定された病原体ではない	61/61	100%	A

1) 菌株1

59施設(98.3%)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。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

57施設(95.0%)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。2施設(3.3%)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、D評価となった。1施設(1.7%)が「感染症法で規定された病原体ではない」と回答し、いずれもD評価となった。

3) 菌株3

56施設(93.3%)が「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、A評価であった。3施設(5.0%)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。このうち、2施設は釣菌、菌名同定を誤った施設であった。1施設(1.7%)は「その他」と回答し、評価対象外とした。

4) 設問1

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。

5) 設問2

53施設(86.9%)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。また3施設(4.9%)が「2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、D評価となった。5施設(8.2%)が「その他」と回答し、評価対象外とした。

6) 設問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。

VII. 解説および考察

1. 菌株1

1) 菌株の由来

80歳代の女性。発熱、腰痛を主訴に来院し、入院となった。入院時の胸部聴診において心雑音を聴取したため、経胸壁心臓超音波検査を実施したところ疣腫が認められた。血液培養2セット採取後に抗菌薬投与が開始された。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. lugdunensis*である。本菌は、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌(CNS)の中でも比較的病原性の強い菌種であり、またクランピング因子が陽性となるなど*S. aureus*と性状が類似しているため、同定には注意が必要である。本菌が原因となる感染性心内膜炎では致死率が高く、迅速な菌種の同定が重要となる。今回の調査では、ほとんどの施設において問題なく回答され、日常検査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、MPIPC、VCM、DAPの3薬剤について実施した。

*S. lugdunensis*のメチシリン(オキサシリン)耐性を確認する薬剤はMPIPCまたはCFXとなっている。今回はMPIPCを対象薬剤とした。

MPIPCに関しては、他のCNSと異なり*S. aureus*と同じ判定基準であり、ブレイクポイントが異なる点と適応

のある薬剤及び検査法に注意する必要がある。

60施設中59施設が微量液体希釈法で実施し、うち53施設が良好な結果であったが、測定されたMIC値が低い施設が6施設あった。

ディスク法で回答した施設が1施設あったが、CLSIでは*S. lugdunensis*のMIPIC感受性を判定するためには、MICを測定する必要がある事が明記されている。ディスク法での測定は避けるべきであり、微量液体希釈法またはEテストを活用するなどして測定する必要がある。この点についてもより周知する必要があると思われる。

VCMに関しては、微量液体希釈法で回答した60施設中59施設で良好な結果であった。しかし、Eテストで実施した施設のMIC値の表記について、カテゴリ判定をする場合には2倍希釈系列の高濃度側のMIC値を用いなければならないが、ストリップに記載されたMIC値を回答していた。このように各検査法における判定方法などについても今後周知する必要があると思われる。

DAPに関しては、微量液体希釈法で回答した全ての施設で良好な結果だったが、DAPを日常的に測定しておらず回答できない施設もあった。このような点に関しては出題側として、今後の課題と考えている。しかし、DAPはStaphylococci感染症(菌血症、感染性心内膜炎、骨髄炎、皮膚軟部組織感染症など)において、進行する腎不全、アレルギー、副作用などの理由でVCMが使用できない場合、代替治療薬として使用されるケースもある。またDAP非感性となる事例も報告されているため、DAPの薬剤感受性検査の実施は必要不可欠と考える。この点について、今後啓発する必要があると思われる。

4) 感染症法コメント

*S. lugdunensis*が血液などの通常無菌部位から検出された場合であっても、感染症法で規定された病原体には該当しない。回答した60施設中59施設が「感染症法で規定された病原体ではない」と回答しており、正しく理解できていると思われる。1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」と回答しているが、菌名同定が誤っている施設であった。

2. 菌株2

1) 菌株の由来

80歳代の男性。発熱、下腹部痛を主訴に外来を受診した。受診時の造影CT検査で総胆管結石を認めた。血液培養2セット採取後に抗菌薬投与が開始されたが、状態が悪化したため緊急で内視鏡的逆行性胆道ドレナージ(ERBD)が実施された。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、*E. cloacae complex*である。本菌は腸管をはじめ、さまざまな部位から検出される。病原性は低く、

基礎疾患のある患者、易感染者、抗菌薬を長期投与されている患者において血流感染や肺炎、尿路感染、創部感染、血管内感染、人工物感染など幅広い医療関連の感染症を引き起こす。

エンテロバクター属の基準種は*E. cloacae*であるが、*Enterobacter asburiae*、*E. cloacae*、*Enterobacter hormaechei*、*Enterobacter kobei*、*Enterobacter ludwigii*は質量分析および生化学的性状での鑑別が困難であるため、*E. cloacae complex*として報告することが適切とされる。今回の調査では、ほとんどの施設が*E. cloacae complex*と回答し、日常検査において正しく同定が行われていることが伺えた。一方、*Enterobacter sp.*と属レベルでの報告にとどまった施設と、*K. pneumoniae*と誤同定した施設があった。

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、TAZ/PIPC、LVFXおよびMEPMの3薬剤について実施した。今回使用した菌株は、IMP型のメタロ-β-ラクタマーゼ産生株の*E. cloacae complex*であり、CPE(carbapenemase-producing Enterobacterales；カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌)かつCRE(carbapenem-resistant Enterobacterales；カルバペネム耐性腸内細菌目細菌)である。MEPMに耐性と回答した施設を正解とし、全ての施設で非常に良好な結果であった。

TAZ/PIPCに関しては、60施設中57施設で良好な結果であった。2施設はMIC値を32 μg/mLと回答し、期待されるMIC値から2管低かったためB評価とした。CLSI M100-Ed30ではTAZ/PIPCのブレイクポイントはS：≤4/16、I：4/32-4/64、R：≥4/128となっているが、MIC値64 μg/mL、判定カテゴリRと回答した施設が1施設あり、B評価とした。

LVFXに関しては、60施設中50施設で良好な結果であった。9施設は判定カテゴリの誤り、1施設はEd30のブレイクポイントであるS：≤0.5、I：1、R：≥2に対応できていない薬剤濃度での報告であったためD評価とした。

Ed30の基準を用いて判定する設問は継続して出題しているが、各施設で採用している判定をそのまま報告している施設が散見される。他の精度管理事業でも同様の基準(Ed30)あるいはさらに新しい基準が採用されており、自施設との乖離が発生することがある。自施設で採用している版数について把握し、新しい基準との乖離点を理解しておくことが必要である。

4) 感染症法コメント

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌による感染症として、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、かつ分離・同定による腸内細菌目細菌の検出、以下のいずれかを満たす場合は5類感

染症(全数把握)に該当する。

- ・MEPMのMIC値が2 µg/mL以上またはディスクの阻止円直径が22 mm以下
- ・次のいずれにも該当すること
 - (ア) IPMのMIC値が2 µg/mL以上またはディスクの阻止円直径が22 mm以下
 - (イ) CMZのMIC値が64 µg/mL以上またはディスクの阻止円直径が12 mm以下

本症例では、血液培養から本菌が分離・同定され、MEPMのMIC値も2 µg/mL以上であるため、届出基準に合致している。感染症法の取り扱いでは、カルバペネマーゼ産生の有無は不要であり、正確な薬剤感受性検査が実施できれば回答可能である。

60施設中57施設は「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」と回答したが、2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」、1施設が「感染症法で規定された病原体ではない」と回答していた。薬剤感受性の結果は全施設でMEPMのMIC値を2 µg/mL以上もしくは阻止円直径22 mm以下で回答しているにも関わらず、感染症法に規定されていないと判断したということは、感染症法上の届出基準を正しく理解できていない可能性が考えられた。感染症法の取り扱いについて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

40歳代の女性。発熱、下痢、腹痛等の症状が出現したため受診した。患者の喫食歴としては、4日前に焼肉、2日前に生卵、1日前には寿司を食べている。精査のため糞便培養が提出された。

2) 釣菌・菌名同定

試料73は、菌株3と腸管内の正常細菌叢(*M. Morganii*, *E. tarda*, *K. pneumoniae*)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。一昨年から実施している設問であったが、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、*E. coli*, verotoxin-producingである。本菌は、下痢原性大腸菌の一つで、腸管出血性大腸菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*; EHEC)である。EHEC O157の検出には選択培地〔セフィキシム-テルル酸含有ソルビトール・マッコンキー寒天培地(CT-SMAC)やクロモアガー STEC・CHROMagar O157など〕が用いられる。EHEC O157のほとんどはソルビトール分解性がなく、CT-SMACでは培地色のコロニー、合成基質培地では特徴的な色調を呈するコロニーを釣菌することでほかの*E. coli*と鑑別する。

今回使用した菌株はベロ毒素(VT)1型とVT2型を同時産生する腸管出血性大腸菌(EHEC)血清型O157である。日本で分離されることの多いO群については、そ

の特徴的性状を利用した分離培地が多数市販されており、O26はラムノース非分解、O111はソルボース非分解の性質を利用し糖分解陰性のコロニーを検出可能としている。 β -グルクロニダーゼや β -ガラクトシダーゼに特異的な発色基質を利用する合成基質培地も便利であるが、コロニーの密集した部分では添付文書通りの色調を示さない場合があるため注意が必要である。CT選択剤を加えた培地と合成基質培地は概ね同程度の選択性を示し、O157、O26、O111のほかO103やO121、O145の多くは発育することから、O157検出用培地の濃厚発育部位を掻き取ってVT遺伝子又はVT産生性を調べる。

腸管出血性大腸菌の届出基準は、分離・同定による*E. coli*の検出、かつ、ベロ毒素の確認を毒素産生の確認またはPCR法等による毒素遺伝子の検出をすることとなっている。

まずは選択分離培地を適切に使用し、腸管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。診断や届出にはベロ毒素の産生または毒素遺伝子の検出が不可欠であるため追加検査を実施し、総合的に*E. coli*, verotoxin-producingと同定することが必要となる。

60施設中50施設は良好な結果であったが、腸管病原性*E. coli*と回答した施設が8施設あった。広義では腸管病原性大腸菌に該当するが、3類感染症の届出基準としては不適切な菌名である。ただし、フリーコメントでベロ毒素の有無を自施設では実施していないという回答もあり、今回はB評価とした。しかし、前述したように診断や届出にはベロ毒素の検出は必須であるため、自施設で検査可能な体制を整えることは極めて重要だと考える。

2施設は、*E. coli*, verotoxin-producingが分離できず、腸管内の正常細菌叢として混合した*M. Morganii*と*E. tarda*を釣菌し、回答したためD評価とした。

3) 感染症法コメント

釣菌・菌名同定で*E. coli* verotoxin-producingと回答した50施設は感染症法コメントにおいても正しく回答できていた。また、腸管病原性*E. coli*と回答した8施設中6施設も、「3類感染症として取り扱う」と回答しておりA評価とした。3施設が「感染症法で規定された病原体ではない」と回答したが、そのうち2施設は菌名同定が誤っている施設である。「その他」と回答した施設は、フリーコメント欄に記載があったが手引書に記載のある通り、回答欄以外の内容は原則評価に反映されないため評価対象外とした。

今回、ベロ毒素の有無を回答する設問を設けなかったため、最終的な回答に至るまでのプロセスが明確でなく、フリーコメントに記載する施設が多くなってしまった。出題側として、手引書に記載のある通り、回答欄以外のフリーコメント欄などに記載された内容を勘案せずに、評価可能な設問設定とすることが、今後の課題と考える。

4. フォト設問および文章設問

1) 設問1

フォト1-Aは、採取された左大腿四頭筋膿瘍で観察された*Nocardia* sp.のグラム染色像、フォト1-Bは膿瘍のKinyoun染色像である。またフォト1-Cは35℃、5日間大気培養を行ったヒツジ血液寒天培地上の培地所見である。本菌の生化学的性状は、カタラーゼ試験陽性、ウレアーゼ試験陽性である。

本菌は偏性好気性の放線菌であり、土壌・水など自然界に広く存在する。グラム染色は陽性で分岐のあるフィラメント状の桿菌で、細胞壁にミコール酸を含むため弱抗酸性を示し、Kinyoun染色で赤色に染まる。発育に時間を要するため、3～10日間の長期培養が必要である。集落は白色、黄色など菌種により異なり、やや乾燥した粉状やしわ状を示すものがあり、土壁臭を発するものが多い。基礎疾患をもつ患者や免疫抑制剤を使用している患者で発症することが多く、創傷部からの菌侵入により皮膚及び皮下組織に病巣を形成する皮膚ノカルジア症と、経気道的に肺に侵入し肺炎を引き起こした後、血行性に全身臓器に播種する内臓ノカルジア症があり、脳膿瘍を引き起こすことも知られている。

Nocardia sp.の同定にはKinyoun染色、延長培養といった追加検査が必要になるため、グラム染色所見より本菌を推定できるかがポイントとなる。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は採取された喀痰で観察された*C. diphtheriae*のグラム染色像、フォト2-Bは喀痰から発育した*C. diphtheriae*を35℃、24時間炭酸ガス条件下で純培養したヒツジ血液寒天培地、チョコレート寒天培地上の集落、フォト2-Cは*C. diphtheriae*コロニーのグラム染色像である。本菌のグラム染色所見は、細長いグラム陽性桿菌で、一端がやや膨らみを帯びた棍棒状や亜鈴状、まっすぐなものや、やや湾曲したものが柵状、松葉状、V状に混在するなど、多形性を示す。好気性または微好気性菌であるが嫌気状態でも発育する。5%ヒツジ血液寒天培地では35℃18時間培養で直径1～2mmの乳白色クリーム状の集落を形成する。生化学的性状は、カタラーゼ試験陽性、ウレアーゼ試験陰性、硝酸塩還元試験陽性、ブドウ糖分解能陽性、マルトース分解能陽性、白糖分解能陰性を示す。

*C. diphtheriae*が咽頭などの粘膜に感染すると、感染部位の粘膜や周辺の軟部組織の障害を引き起こし、扁桃から咽頭粘膜表面の偽膜性炎症、下顎部から前頸部の著しい浮腫と、リンパ節腫脹(bullneck)などの症状が出現する。重症例では心筋の障害などにより死亡するケースもある。

ジフテリア毒素産生*C. diphtheriae*は、2類感染症であるが、日本ではDPTワクチンの普及によりジフテリア患者数は激減し、1999年以降、発生例は報告

されていない。本設問は、70歳代の女性の喀痰から*C. diphtheriae*が検出された症例であるが、典型的な臨床所見は呈しておらず、また遺伝子解析を行った結果、毒素遺伝子は検出されていない。よって届出の対象ではない。したがって、本設問は「感染症法で規定された病原体ではない」が正解となるが、今回、正答率が86.9%とやや低く、3施設が誤答である「2類感染症として取り扱う必要があると考えられる」と回答している。ジフテリア症例を経験したことのある臨床検査技師は稀少だと考えられるが、近年、質量分析装置の普及により、*Corynebacterium*属菌の同定が詳細に検査されるようになり*C. diphtheriae*の検出例が散見されている。

そのような背景も踏まえ、*C. diphtheriae*届出基準について、今一度確認が必要と考えられた。

3) 設問3

フォト3-Aは、*Acanthamoeba* sp.培養2日後に200倍の顕微鏡下で培地を観察した栄養体の所見、フォト3-Bは培養3日後に400倍の顕微鏡下で培地を観察したシストの所見である。*Acanthamoeba* sp.は、土壌、淡水、プール、埃など、自然界に広く分布している。シストは乾燥や消毒薬といった外部環境ストレスに高い抵抗性を示し、長期にわたり生存可能である。

栄養体は多形性であり、大きさは約15～45μmである。しばしば、アカンタポディア(acanthapodia)と呼ばれる多数の棘状突起を作り出す。栄養体は中央に位置する大きなカリオソームのある大きな核を持っているが、周辺染色質はない。シストの形態は、直径が11～20μmで表面が凸凹の多形成構造、二重壁構造を持つ。本設問では無染色での出題であったが、シストはグラム染色で陽性に染まる。またグラム染色以外にもギムザ染色、パバニコロウ染色などでも染色される。

病原体の検出は、やや特殊な方法で行われる。McFarland No.6程度に調整した大腸菌浮遊液を無栄養の1.5%寒天培地に接種し、培地全体に塗布する。角膜擦過物を滅菌生理食塩水に浮遊させ、上記の培地に検体浮遊液を接種後、35℃大気条件下で1週間ほど培養し、培地を顕微鏡下で観察する。虫体は2～3日間ほどで観察できることが多いが、培養初期には栄養体が観察され、経過するにつれシストに変化していく。

Acanthamoeba sp.は角膜炎を引き起こす。激しい疼痛、結膜に毛様充血、浮腫、角膜上皮障害などが見られ、コンタクトレンズ装着者に多く発生する。レンズ保存液が細菌に汚染され、それを餌に*Acanthamoeba* sp.が増殖することが一因と考えられている。適切な治療が施されなかった場合、失明に陥る可能性もあるため、病原体や適切な検査法について正しく理解し、検出可能な体制を構築しておくことが肝要と考える。

4) 設問4

*C. difficile*感染症(CDI)の検査法について、5つの選択

肢から正しいものを選択する設問であった。

- 1 抗*C. difficile*薬によるCDIの治療効果は、下痢の回数や症状の変化により判断される。よって本選択肢は誤りである。
- 2 保菌患者が一定の割合で認められるため、下痢症状がない患者で菌が検出されても診断的意義は乏しい。Bristol Stool Scale 5～7の便検体を用いて検査を実施することが推奨されている。よって本選択肢は誤りである。
- 3 一般的に12ヶ月未満の乳児は腸管内に*C. difficile*を保菌しているといわれている。その多くはトキシン非産生株で、腸管への定着は一時的であり年齢があがるにつれて保菌率は減少してくる。そのため、2歳未満でのCDI検査は推奨されない。よって本選択肢は誤りである。
- 4 イムノクロマト法による迅速診断キットでは、トキシン検査の感度が低いことが知られている。よって、GDH陽性・トキシン陰性であった場合は、NAAT(遺伝子検査)やToxigenic cultureで精査する必要がある。したがって本選択肢は誤りである。
- 5 トキシン検出の感度はNAATの方がイムノクロマト法よりも高い。よって本選択肢は正しい。

5) 設問5

Modified Carbapenem Inactivation Methods (mCIM) について、5つの選択肢から正しいものを選択する設問であった。

- 1 mCIMにおける対象菌種は、腸内細菌目細菌、および緑膿菌である。よって本選択肢は誤りである。
- 2 MEPMのMICが $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を示す腸内細菌目細菌には、カルバペネマーゼを産生する細菌による場合のほか、カルバペネマーゼは産生しないがAmpC型 β -ラクタマーゼおよび基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)の過剰産生に特定の外膜蛋白質の減少または欠失が加わった細菌の場合でもカルバペネムへの耐性度が上昇する。よって本選択肢は誤りである。
- 3 懸濁する菌の量は菌種によって異なり、腸内細菌目細菌ではトリプテケースソイブロス2 mLに $1\mu\text{L}$ の菌を懸濁、緑膿菌ではトリプテケースソイブロス2 mLに $10\mu\text{L}$ の菌を懸濁する。よって本選択肢は誤りである。
- 4 対象菌種をトリプテケースソイブロス2 mLに懸濁後、MEPMディスクを追加して全体が浸されていることを確認し、 $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ で4時間 \pm 15分インキュベートする。よって本選択肢は正しい。
- 5 mCIMの判定は、阻止円直径が $6\text{ mm} \sim 15\text{ mm}$ もしくは $16\text{ mm} \sim 18\text{ mm}$ で阻止円の中に微小コロニーを認めた場合を陽性とする。阻止円直径が 19 mm 以上の場合を陰性とする。また、阻止円直径が $16\text{ mm} \sim 18\text{ mm}$ もしくは 19 mm 以上で阻止円の中に微小コロニーを認めた場合は判定保留とする。よって本選択肢は誤りである。

4. 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入力されたと思われた。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、一部は評価対象外となっている。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、複数の設問でD判定が散見された。今一度、感染症法全般の理解と、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た。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。また昨年度同様、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-Ed30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M100-Ed30ならびにその改訂版は、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、*C. difficile*検査法ならびにModified Carbapenem Inactivation Methods(mCIM)と、微生物検査に携わる技師としての必要な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) M100-Ed30 Clinical and Laboratory Standards Institute
<https://clsi.org/standards/products/free-resources/access-our-free-resources/>

アクセス日 2023年10月15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) 微生物検査ナビ 第2版 編集 犬塚和久 栄研化学株式会社
- 4) 臨床微生物検査ハンドブック 第5版 編集 小栗豊子 三輪書店
- 5) CDC. DPDx - Laboratory identification of parasites of public health concern
<https://www.cdc.gov/dpdx/az.html>
アクセス日 2023年10月15日
- 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/kekaku-kansenshou/kekaku-kansenshou11/01.html
アクセス日 2023年10月15日
- 7) 腸管出血性大腸菌(EHEC)検査・診断マニュアル (2022年10月改訂) 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル
- 8) 検査と技術 2021年3月増刊号 微生物検査サポートブック 医学書院
- 9) Clostridioides difficile 感染症診療ガイドライン2022
公益社団法人日本化学療法学会・一般社団法人日本感染症学会 CDI 診療ガイドライン作成委員会編

X. 問い合わせ先

〒485-8520

愛知県小牧市常普請1-20

小牧市民病院 診療技術局臨床検査科微生物検査室
西尾美津留

TEL : 0568-76-4131

E-mail : komakihp240@gmail.com