

令和元年度

福臨技臨床検査精度管理調査報告書

7. 微生物検査

2019.10

一般社団法人 福島県臨床検査技師会

微生物検査精度管理報告書

(一社) 福島県臨床検査技師会

微生物検査 精度管理委員

山田 裕輔

松本 康歳

1. はじめに

今年度の微生物検査精度管理調査は、前年度同様に同定検査を 2 題（試料 31、32）と薬剤感受性検査を 1 題（試料 32）およびフォトサーベイ 2 題（設問 1、2）を出題しました。本調査を各施設における精度の維持・向上に役立っていただければと思います。

2. 送付内容

送付試料：輸送用培地 2 本（試料 31 および 32）

（フォトサーベイを含む微生物検査の手引きは日臨技臨床検査精度管理調査サイトに掲載）

3. 出題内容

3-1. 同定検査および薬剤感受性検査

【試料 31】

57 歳 男性

自転車にて転倒。左下腿に打撲と擦過傷を負った。2 日後に左下腿の疼痛と腫脹が憎悪し救急外来受診。広範囲な紫斑が見られ、壊死性筋膜炎を疑い創部滲出液と血液培養が施行され本菌が分離された。

疑似検体として貴施設の日常検査法によって菌を分離し、同定検査を実施してください。

【試料 32】

特に既往歴のない 50 歳男性。

仕事で東南アジアに出張中に交通事故に遭遇し受傷。現地の総合病院に入院し処置を受けた。その後日本での加療のために帰国。帰国後、整形外科を受診し創部の処置が施行された。その際創部培養も提出され、本菌が分離された。

疑似検体として貴施設の日常検査法によって菌を分離し、同定検査と以下の指定薬剤について薬剤感受性検査を実施して下さい。

試料 32：検査抗菌薬

セフメタゾール（CMZ） セフトジジム（CAZ） メロペネム（MEPM）

イミペネム（IPM） レボフロキサシン（LVFX）

3-2. フォトサーベイ

【設問 1】

患者背景

90 歳 男性

2 週間前から細菌性肺炎の診断で入院加療中、セフトリアキソンが投与され 10 日後に発熱と泥状の下痢便 (Bristol stool Scale 6 程度) を認めた。

下痢便に対し GDH・トキシン検査キットを実施、GDH のみ陽性であった。

同時に実施された糞便培養から本菌が分離された。

微生物検査

糞便を 35°C、48 時間、嫌気培養を行った CCMA 寒天培地 (フォト 1-A) に黄色不整なコロニーが発育。コロニーのグラム染色 (1000 倍 neoB&M 法) を実施し、フォト 1-B の染色像となった。

さらにコロニーの GDH・トキシン検査キット実施し、フォト 1-C の結果となった。

問 題

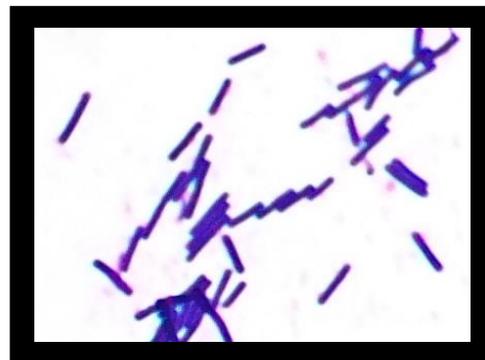
患者背景、各種検査、フォトから推定される微生物を

微生物菌名マスター一覧からコード選択し回答してください。

1-A CCMA 寒天培地上コロニー



1-B グラム染色 (1000 倍 neoB&M 法)



1-C



【設問 2】

患者背景

31 歳男性。

3 日前に鶏の刺身を食べ、昨夜から頻回の下痢、腹痛、発熱の症状が出現し、消化器内科を受診。来院時に採取された便から本菌が分離された。海外渡航歴はなかった。

微生物検査

便の性状は水様性で、血便は認めなかった。

来院時に採取された便について 42.0℃、48 時間微好気培養を行ったところ、スキロー培地上に直径 1mm、半透明の S 型集落を認めた(フォト 2-A)。この集落のグラム染色(1000 倍、西岡法)を行ったところ、フォト 2-B のような所見を認めた。主要な生化学的性状は、フォト 2-C のような結果となった。

問 題

患者背景、各種検査、フォトから推定される微生物を微生物菌名マスター一覧からコード選択し回答してください。

2-A スキロー培地上コロニー



2-B グラム染色(1000 倍、西岡法)



2-C 主な生化学的性状

生化学的性状	判定
オキシターゼテスト	(+)
馬尿酸塩加水分解	(+)
尿素分解	(-)
ナリジクス酸(30 µg)	感受性
セファロチン(30 µg)	耐性

4. 参加状況

4-1.微生物検査参加施設数：21 施設

- ・ フォトサーベイ：21 施設
- ・ 同定検査および薬剤感受性検査：16 施設

4-2.参加状況の推移

		平成 26 年度 (第 22 回)	平成 27 年度 (第 23 回)	平成 28 年度 (第 24 回)	平成 29 年度 (第 25 回)	平成 30 年度 (第 26 回)	令和元年度 (第 27 回)
精度管理参加施設数		64	58	59	60	60	59
微生物検査参加施設数		28	28	25	23	22	21
参加率 (%)		43.8	48.3	42.4	38.3	36.7	35.5
施設分類	病院	22	22	20	21	20	19
	検査センター等	6	6	5	2	2	2
回答施設数		27	28	25	23	22	21
回収率 (%)		96.4	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
実施内容	グラム染色	○	○				
	同定検査	○	○	○	○	○	○
	薬剤感受性検査	○	○	○	○	○	○
	フォトサーベイ	○	○	○	○	○	○
	アンケート	○				○	

5. 評価方法

5-1. 同定検査および薬剤感受性検査（試料 31・32）

同定検査	A	正解
	B	
	C	
	D	不正解
薬剤感受性検査	A	すべての薬剤が精度管理限界値内である
	B	1 薬剤または 2 薬剤が精度管理限界値から外れている
	C	3 薬剤または 4 薬剤が精度管理限界値から外れている
	D	すべての薬剤が精度管理限界値から外れている

5-2.フォトサーベイ

フォトサーベイ	A	正解
	D	不正解

6. 結果および解説

6-1. 同定検査・薬剤感受性検査

1) 試料31 : *Streptococcus pyogenes* 【臨床分離株】

<同定検査>

評価	同定菌名	回答数	%
A	<i>Streptococcus pyogenes</i>	16	100.0
計		16	100.0

同定機器／方法別	回答数	%
バイテック 2 シリーズ	9	56.2
マイクロスキャン Walk Away シリーズ	5	31.3
MALDI バイオタイパー	2	12.5
計	16	100.0

<解説>

試料31は、*Streptococcus pyogenes* の臨床分離株を疑似検体として出題した。全施設が *Streptococcus pyogenes* と解答し、正解率は100%であった。

Streptococcus pyogenes は通性嫌気性グラム陽性球菌であり、形態は 0.6~1.0 μ m の球形、芽胞や鞭毛は有さない。双球または短い連鎖状に認められる。培養には 5% ヒツジ血液加寒天培地が用いられる。通性嫌気性菌ではあるが 5~10% 濃度の CO₂ 存在下のほうが発育は良い。至適温度 35~37 $^{\circ}$ C、24~48 時間の培養後に直径 1 mm 程度の正円形のドーム型のコロニーを形成し、 β 溶血性を呈する。

Streptococcus pyogenes と主な菌種の生化学的性状

菌種	Lancefield 分類	溶血性	CAMP 試験	加水分解 馬尿酸塩	PYR 試験	VP 試験	感受性試験 バシトリン
<i>S.pyogenes</i>	A	β	-	-	+	-	+
<i>S.agalactiae</i>	B	β	+	+	-	-	-
<i>S.dysgalactiae</i> <i>subsp. equismilis</i>	C,G	β	-	-	-	-	-
<i>S.anginosus</i>	A,C,G,F,K,L	$\alpha\beta\gamma$	-	-	-	+	-
<i>S.pneumoniae</i>	不能	α	-	-	-	-	-

症状・病態

化膿性疾患を起こす菌種であり、小児期、特に学童期の急性咽頭、扁桃炎の15～30%、成人ではその5～10%が本菌による感染症であり、そのほか丹毒、猩紅熱、産褥熱、菌血症、敗血症を起こす。また感染後の続発症として急性糸球体腎炎やリウマチ熱を引き起こすことがある。

特に成人において、劇症型溶血性レンサ球菌感染症（Streptococcal toxic shock :STSS）、壊死性筋膜炎、蜂窩織炎、化膿性関節炎、敗血症などの侵襲性感染症を起こすことがある。なかでもSTSSや壊死性筋膜炎は予後不良で、その重篤さと進行の速さから人喰いバクテリア感染症と呼ばれている。

壊死性筋膜炎や敗血症に起因する劇症型溶血性レンサ球菌感染症は5類感染症で届出対象（全数把握）となる。以下に劇症型溶血性レンサ球菌感染症の届出要件を示す。

感染症法

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の届出に必要な要件

届出の為に必要な臨床症状

ア) ショック症状
イ) (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

病原体診断の方法

検査方法	検査材料
分離・同定による病原体検出	通常無菌的な部位（血液、髄液、胸水、腹水） 生検組織、手術創、壊死軟部組織

【参考資料】

堀井俊伸・大塚和久.『微生物検査ナビ 第2版』.栄研化学株式会社 2016. p 140-141

臨床検査増刊号.『微生物検査イエローページ』.医学書院 2014. p 1247-1349

臨床検査学講座.『臨床微生物学』医歯薬出版株式会社.2018. p 112-114

日本臨床微生物学会ホームページ <http://www.jscm.org>

厚生労働省ホームページ <http://www.mhlw.go.jp>

国立感染症研究所ホームページ <https://niid.go.jp>

< 試料 31 回答一覧 >

施設番号	菌名コード	菌名	評価	起因性付加コメント	感染症法上付加コメント	装置名称	使用試薬	フリーコメント
4	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられる	5類感染症として取り扱う	マイクロスキャン Walk Away シリーズ	プロレックス「イウキ」レンサ球菌	PYR試験・・・陽性
5	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられる	5類感染症として取り扱う	MALDI バイオタイパー		
11	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられる		バイテック2 シリーズ	バイテック 2 GP同定カード	ショック症状がある場合は、5類感染症として取り扱う。
12	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられる	5類感染症として取り扱う	バイテック2 シリーズ	バイテック 2 GP同定カード	
15	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A			バイテック2 シリーズ	バイテック 2 GP同定カード	
16	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられる	5類感染症として取り扱う	バイテック2 シリーズ	バイテック 2 GP同定カード	
18	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A			バイテック2 シリーズ	バイテック 2 GP同定カード	
27	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A			バイテック2 シリーズ	バイテック 2 GP同定カード	
30	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられる		バイテック2 シリーズ	バイテック 2 GP同定カード	
31	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられる		マイクロスキャン Walk Away シリーズ	マイクロスキャン Pos Combo 3.1J	劇症型溶血性レンサ球菌感染症が疑われ、かつ届出に必要な条件を満たし劇症型溶血性レンサ球菌感染症により死亡したと判断した場合には7日以内に届
32	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A			バイテック2 シリーズ	バイテック 2 GP同定カード	
41	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられる		マイクロスキャン Walk Away シリーズ	マイクロスキャン Pos Combo 3.1J	
43	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A		5類感染症として取り扱う	MALDI バイオタイパー	ストレプトLA	Lancefield血清型別：A群、PYR試験：陽性
45	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がある		マイクロスキャン Walk Away シリーズ	マイクロスキャン Pos BP Combo 3.2J	連鎖球菌抗原キットプロレックス「イウキ」レンサ球菌も使用 A群陽性
47	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	起炎菌の可能性がきわめて高いと考えられる		マイクロスキャン Walk Away シリーズ	マイクロスキャン Pos ID 3	
57	1111	<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	特にコメントなし		バイテック2 シリーズ	バイテック 2 GP同定カード	

2) 試料 32 : *Escherichia coli* (NDM 型メタロ β ラクタマーゼ産生) 【臨床分離株】

<同定検査>

評価	同定菌名	回答数	正解率
正解 (評価 A)	<i>Escherichia coli</i>	16 施設	100%
合 計		16 施設	

薬剤感受性検査 :

CMZ : (R : ≥ 64 正解 評価 A)、CAZ : (R : ≥ 16 正解 評価 A)

MEPM : (R : ≥ 4 正解 評価 A)、IPM : (R : ≥ 4 正解 評価 A)

LVFX (R : ≥ 8 正解 評価 A) としました。

抗菌薬	判定			合計	正解率
	S	I	R		
CMZ	0	0	16 施設	16 施設	100%
CAZ	0	0	16 施設	16 施設	100%
MEPM	0	0	16 施設	16 施設	100%
IPM	0	0	16 施設	16 施設	100%
LVFX	0	0	16 施設	16 施設	100%

	付加コメント	回答数
薬剤耐性	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌である	5 施設
	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の可能性がある	3 施設
	ESBLs 産生菌の可能性がある	1 施設
	KPC 産生菌の可能性がある	1 施設
	耐性遺伝子はプラスミド上に存在すると考えられる	1 施設
	特にコメントなし	3 施設
	その他	2 施設
合 計		16 施設
病院感染対策	病院 (院内) 感染防止対策上、極めて重要な菌で あると考えられる	15 施設
	コメントなし	1 施設
合 計		16 施設
感染症法	5 類感染症として取り扱う	15 施設
	コメントなし	1 施設
合 計		16 施設

解 説

今回は県内で臨床分離された NDM 型メタロ β ラクタマーゼ産生の *Escherichia coli* 株（福島県衛生研究所において行われた PCR 法を用いた β ラクタマーゼ遺伝子の検出検査では CTX、NDM 型が陽性）を出題しました。

NDM 型メタロ β ラクタマーゼ産生菌はこれまでインドなどアジア諸国への渡航歴がありかつ現地での医療機関受診歴のある患者から分離されることが多いとされてきましたが、国内感染が疑われる事例も報告されており、国内においても潜在的に拡散している可能性も否定できません。県内においても例外ではなく、本サーベイを通じてカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）に対する理解を深めて頂こうと出題しました。結果は、同定検査、薬剤感受性検査共に参加 16 施設正解（評価 A）と良好な成績が得られました。

形 態

0.4~0.7×1.0~4.0 μ m のグラム陰性桿菌。多くは周毛鞭毛をもち活発に運動するが、鞭毛を欠いて非運動性のものもある。

培 養

発育温度域は 10~45℃、至適温度は 37℃の通性嫌気性菌。

乳糖を速やかに分解するので BTB 乳糖加寒天培地に黄色のコロニーを形成し、培地は黄変する。SS 寒天培地、マッコンキー寒天培地、DHL 寒天培地では濁った赤色のコロニーをつくり、培地は混濁赤変する。

同 定

生化学的性状

項 目	インドール テスト	VP テスト	クエン酸 塩利用能	H ₂ S 産生 /TSI	リジン 脱炭酸	オルニチン 脱炭酸	アルギニン加水 分解
判 定	+	-	-	-	+	d	[-]
項 目	IPA テスト	DNase	運動性	オキシターゼ テスト	ガス 産生	乳糖 分解	白糖 分解
判 定	-	-	+	-	+	+	d

※〈表記の基準〉

－：0~10%が陽性、[-]：11~25%が陽性、d：26~75%が陽性、+：90~100%が陽性

材 料

下痢症の場合は糞便が検査対象。各種腸管外感染症を起こすので、尿、膿、血液、滲出液、髄液、組織片などあらゆる臨床材料が検査対象となる。

病原性

腸管感染症と腸管外感染症に大別される。

腸管感染症：下痢症・食中毒、赤痢様疾病、出血性大腸炎等を引き起こす大腸菌を下痢原性大腸菌と呼び、5種類に大別される。

- (1)腸管毒素原性大腸菌
- (2)腸管組織侵入性大腸菌
- (3)病原血清型大腸菌
- (4)腸管出血性大腸菌
- (5)腸管凝集付着性大腸菌

腸管外感染症：尿路感染症や局所性及び全身性の感染症等

- (1)尿路感染症
- (2)新生児髄膜炎
- (3)その他：

虫垂炎、腹膜炎、敗血症、胆のう炎、胆管炎、髄膜炎、心内膜炎等を引き起こし、また、手術、尿路カテーテル、血管カテーテル、その他の医療器具関連感染の起因为菌として検出される。

治療

腸管感染症で下痢を発症している場合には止瀉薬は原則使用しない（菌の体外排出を遅らせるため）。脱水症状が強い場合は補液を行う。抗菌薬はフルオロキノロン系薬かホスホマイシンの経口投与を行う。

βラクタマーゼ検査

①SMA

IMP型やNDM型等のβラクタマーゼは亜鉛を活性中心に持つことから、メタロβラクタマーゼと呼ばれる。

金属キレート剤であるメルカプト酢酸（SMA）を添加すると酵素の中心活性の亜鉛と結合し、カルバペネマーゼ活性が阻害されることを利用したメタロβラクタマーゼ産生の確認方法。

対象

薬剤感受性試験を行い、CAZ耐性の菌について行う。

方法

被験菌株を接種した培地（ミュラーヒントン寒天培地等）に3 cm以上離して2枚のCAZディスクを置く。一方のディスクの中心から1.5～2 cm離してSMAディスクを置き、35～37℃、16～18時間培養する。

判定

メタロβラクタマーゼ陽性:SMAディスクによりメタロβラクタマーゼが阻害されるため、SMAディスクに隣接したCAZディスクで阻止帯を形成する。

※複数のβラクタマーゼを産生している場合は判定が困難なことがある。

②mCIM (modified Carbapenemase Inactivation Method) 法 (CLSI M100-S27 : 2017)

カルバペネマーゼ産生が疑われる腸内細菌科細菌の不活化酵素産生の有無を検査する方法。

対象

腸内細菌科細菌でIPMまたはMEPMに中間(I)または耐性(R)の菌が検査対象になる。

方法

被検菌株をTrypticase soy brothに浮遊させ、この菌液浮遊液にメロペネム含有ディスクを浸漬させ、35°C±2°C、4時間±15分インキュベーションする。インキュベーション後予め*E.coli*ATCC25922を接種したミューラーヒントン寒天培地上に置き35°C±2°C、18～24時間培養。MEPMの阻止円形を計測する。

判定

カルバペネマーゼ陽性:MEPM阻止円直径が6～15mmの場合、または16～18mmの阻止円直径を形成し、かつ阻止円内にコロニーが存在する場合。

中間:阻止円直径が16～18mmの場合判定不能とする。

陰性:阻止円直径が≥19mmの場合、カルバペネマーゼ陰性と判断する。

被験菌がカルバペネマーゼを産生すれば、MEPMは加水分解されるので阻止円は見られないか、または、弱い発育阻害が見られるのみである。

③カルバペネマーゼ鑑別ディスク plus

カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌を耐性機構別に鑑別できる試薬。

方法

被検菌株をミューラーヒントン寒天培地等に接種し、各カルバペネマーゼ鑑別ディスクを阻止円が読み取れるよう十分な距離を離して設置する。35～37°C、18～24時間培養する。

ディスクの種類と含有薬剤

A	ファロペネム 10 μg
B	ファロペネム 10 μg + MBL 阻害剤
C	ファロペネム 10 μg + KPC 阻害剤
D	ファロペネム 10 μg + AmpC 阻害剤
E	テモシリシリン 30 μg + MBL 阻害剤

感染症法における取り扱い

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌：5類感染症（感染症の起因菌と判定された場合）

判断基準

検査方法	検査材料
分離・同定による腸内細菌科細菌の検出かつ 次のいずれかによるカルバペネム系薬剤及び広域β-ラクタム剤に対する耐性の確認 ア メロペネムの MIC 値が 2μg/ml 以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 22mm 以下であること イ 次のいずれにも該当することの確認 (ア) イミペネムの MIC が 2μg/ml 以上であること、又はイミペネムの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 22mm 以下であること (イ) セフメタゾールの MIC 値が 64μg/ml 以上であること又はセフメタゾールの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 12mm 以下であること	血液、腹水、胸水、 髄液その他の通常 無菌的であるべき検体
次のいずれにも該当することの確認 ア 分離・同定による腸内細菌科細菌の検出 イ 次のいずれかによるカルバペネム系薬剤及び広域β-ラクタム剤に対する耐性の確認 (ア) メロペネムの MIC 値が 2μg/ml 以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 22mm 以下であること (イ) 次のいずれにも該当することの確認 a イミペネムの MIC が 2μg/ml 以上であること、又はイミペネムの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 22mm 以下であること b セフメタゾールの MIC 値が 64μg/ml 以上であること又はセフメタゾールの感受性ディスク (KB) の阻止円の直径が 12mm 以下であること ウ 分離菌が感染症の起因菌と判定されること	喀痰、膿、尿 その他の通常無菌的 ではない検体

【参考資料】

臨床微生物学：医歯薬出版株式会社 P.131-134

臨床微生物検査ハンドブック第5版：三輪書店 P.313-314

『メタロβラクタマーゼ SMA 栄研』添付文書：栄研化学株式会社

『カルバペネマーゼ鑑別ディスク plus』添付文書：関東化学株式会社

厚生労働省ホームページ

<http://www.mhlw.go.jp>

国立感染症研究所ホームページ

<https://niid.go.jp>

< 試料 32 に関する問題 回答一覧 >

試料32																		
受付ID	菌名	評価	CMZ	判定	評価	CAZ	判定	評価	MEPM	判定	評価	IPM	判定	評価	LVFX	判定	評価	実施方法
			MIC			MIC			MIC			MIC						
43	<i>Escherichia coli</i>	A	> 32.00	R	A	> 8.00	R	A	> 2.00	R	A	> 2.00	R	A	> 4.00	R	A	微量液体希釈法
31	<i>Escherichia coli</i>	A	> 32.00	R	A	> 8.00	R	A	> 2.00	R	A	> 2.00	R	A	> 4.00	R	A	微量液体希釈法
30	<i>Escherichia coli</i>	A	≥ 64.00	R	A	≥ 64.00	R	A	8	R	A	8	R	A	≥ 8.00	R	A	微量液体希釈法
12	<i>Escherichia coli</i>	A	≥ 64.00	R	A	≥ 64.00	R	A	≥ 8.00	R	A	≥ 16.00	R	A	≥ 8.00	R	A	微量液体希釈法
57	<i>Escherichia coli</i>	A	≥ 64.00	R	A	≥ 64.00	R	A	4	R	A	8	R	A	≥ 8.00	R	A	微量液体希釈法
11	<i>Escherichia coli</i>	A	≥ 64.00	R	A	≥ 64.00	R	A	≥ 16.00	R	A	8	R	A	≥ 8.00	R	A	微量液体希釈法
45	<i>Escherichia coli</i>	A	> 32.00	R	A	> 8.00	R	A	> 4.00	R	A	> 4.00	R	A	> 4.00	R	A	微量液体希釈法
41	<i>Escherichia coli</i>	A	> 32.00	R	A	> 8.00	R	A	> 2.00	R	A	> 2.00	R	A	> 4.00	R	A	微量液体希釈法
4	<i>Escherichia coli</i>	A	> 32.00	R	A	> 8.00	R	A	> 2.00	R	A	> 2.00	R	A	> 4.00	R	A	微量液体希釈法
16	<i>Escherichia coli</i>	A	≥ 64.00	R	A	≥ 64.00	R	A	≥ 16.00	R	A	4	R	A	≥ 8.00	R	A	微量液体希釈法
27	<i>Escherichia coli</i>	A	≥ 64.00	R	A	≥ 64.00	R	A	8	R	A	8	R	A	≥ 8.00	R	A	微量液体希釈法
15	<i>Escherichia coli</i>	A	≥ 64.00	R	A	≥ 64.00	R	A	≥ 16.00	R	A	8	R	A	≥ 8.00	R	A	微量液体希釈法
32	<i>Escherichia coli</i>	A	≥ 64.00	R	A	≥ 64.00	R	A	8	R	A	8	R	A	≥ 8.00	R	A	微量液体希釈法
5	<i>Escherichia coli</i>	A	> 32.00	R	A	> 32.00	R	A	> 8.00	R	A	8	R	A	> 4.00	R	A	微量液体希釈法
18	<i>Escherichia coli</i>	A	≥ 64.00	R	A	≥ 8.00	R	A	微量液体希釈法									
47	<i>Escherichia coli</i>	A	> 32.00	R	A	> 8.00	R	A	> 2.00	R	A	> 2.00	R	A	> 4.00	R	A	微量液体希釈法

試料32				
追加コメント				
受付ID	薬剤耐性	病院感染対策	感染症法上	フリーコメント
43	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌である	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	GIM法:陽性、カルバペナーゼ鑑別ディスクPlus: MBL(+)
31	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌である	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	AmpC/ESBL鑑別ディスク(カルバペナーゼ産生の所見有り) カルバペナーゼ鑑別ディスク(メタロβ-ラクタマーゼ陽性) カルバペナーゼ産生腸内細菌科(CREの可能性)
30	特にコメントなし	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	カルバペナム耐性腸内細菌科細菌です
12	特にコメントなし	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	
57	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の可能性がある	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	
11	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の可能性がある	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	
45	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の可能性がある	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	カルバペナーゼ鑑別ディスク PlusでMBL(+). GIM法(+), mGIM法(+). メタロβラクタマーゼ SMA(-).
41	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌である	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	
4	その他	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	シカベータテスト:複合遺伝子保有菌株(GTX+IMP) GIM法:陽性...CPE 感受性結果より...ESBL産生菌疑い+CRE
16	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌である	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	カルバペナーゼ鑑別ディスクPlus / MBL(+)
27	ESBLs産生菌の可能性がある	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	
15				
32	KPC産生菌の可能性がある	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	
5	耐性遺伝子はプラスミド上に存在すると考えられる	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	薬剤感受性検査において、CMZ,IPM,MPMが耐性であったためCREであった。mGIM法においてカルバペナーゼが産出され、CPEであった。
18	その他	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	カルバペナーゼ産生を疑う
47	メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌である	病院(院内)感染防止対策上、極めて重要な菌であると考えられる	5類感染症として取り扱う	SMAディスク法にてMBL産生の確認を実施しましたが、初回陰性でした。再度メロペナムで誘導をかけたところ陽性となりました。

6-2. フォトサーベイ

【設問 1】

<正解および正解率>

評価	推定菌名	回答数	正解率
正解 (評価 A)	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	20 施設	95.3%
	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン非産生)	1 施設	4.7%
合 計		21 施設	100%

解 説

形 態

偏性嫌気性グラム陽性桿菌である。

0.5×6～8μmの周毛性鞭毛を有する。莢膜を持たない。芽胞は垂端在性で楕円形
グラム陽性ではあるが、2日間以上の培養では、陰性に染まることがある。

培 養

培地には CCFA (cycloserine cefoxitin fructose agar) ,CCMA(cycloserine cefoxitin
annitol agar)といった選択培地を用いて 35～37℃、24～48 時間嫌気培養を行う。

便を一度アルコール処理してから培養に用いるとより選択的に菌が得られる。

培養開始後 24 時間後には微小なコロニーを形成し、48 時間後には 3～5 mm程度の大きさで
円形、辺縁がやや不整で光沢のない特徴的なコロニーを形成する。

菌種鑑別の性状

発育したコロニーに紫外線 (ultraviolet ray :UV) ランプを当てると黄色～黄緑色の蛍光を
発する。コロニーは馬小屋臭の独特な臭いを発し、鑑別がしやすい。

基本情報

本菌はヒトの消化管に生息し、保有率は新生児で 30～70%、健常成人で 5～10%である。

抗菌薬などの投与によって腸内細菌叢が乱れ、菌交代現象として増殖し、産生される

毒素トキシン A (腸管毒)、トキシン B (細胞毒) により腸炎症状を起こす。

本菌関連下痢症 (CDI) の迅速な検査として、免疫クロマト法を用いて本菌の菌体抗原 (GDH)
及びトキシンを検出する迅速検査キットを用いられる。

CDI 診療ガイドラインでは抗原 (+)、トキシン (-) の場合に NAAT 検査 (遺伝子検査) に
よるトキシンの確認検査を推奨しているが、実施は難しい為に培養を追加実施しトキシン確認
検査 (Toxgeric Culture) を行うでトキシン産生性の確認を行う事が出来る。

検査に用いられる便は、Bristol Stool Scale で 5 以上 (半固形の柔らかい便～液状便)
の下痢便が望ましい。

感染症法上の分類

特になし

【参考資料】

堀井俊伸・大塚和久.『微生物検査ナビ 第2版』.栄研化学株式会社 2016. p 100-101

臨床検査増刊号.『微生物検査イエローページ』.医学書院 2014. p 1384-1385

臨床検査学講座.『臨床微生物学』医歯薬出版株式会社.2018. p 230-231

<フォトサーベイ設問1 回答一覧>

施設番号	No.1 名称	No.1 評価
4	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
5	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
6	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
11	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
12	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
15	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
16	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン非産生)	D
18	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
23	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
27	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
28	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
30	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
31	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
32	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
37	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
41	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
43	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
45	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
47	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
54	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A
57	<i>Clostridioides difficile</i> (トキシン産生)	A

【設問 2】

<正解および正解率>

評価	推定菌名	回答数	正解率
正解 (評価 A)	<i>Campylobacter jejuni subsp. jejuni</i>	21 施設	100%
合 計		21 施設	100%

解 説

設問 2 はカンピロバクターによる食中毒を出題しました。便を 42.0℃、48 時間微好気培養を行ったところ、スキロー培地上に直径 1mm の半透明のコロニーを形成。このコロニーをグラム染色するとグラム陰性らせん状菌が観察されました。また、オキシターゼテスト陽性、馬尿酸塩加水分解陽性、ナリジクス酸感性、セファロチン耐性等の結果より *Campylobacter jejuni subsp. jejuni* を正解（評価 A）としました。結果は、参加 21 施設全て正解（評価 A）と良好な成績が得られました。

形 態

0.5～5×0.2～0.8 μm の大きさのグラム陰性で、2～3 個の回転があるらせん状菌。通常、単極か両極にそれぞれ 1 本の鞭毛をもち、活発な運動性をしめす。酸素の存在下や長期培養株では球形を示す。

培 養

微好気条件（酸素：5%、炭酸ガス：10%、窒素：85%）、42℃、48 時間湿潤培養するとスキロー培地上に直径 1mm 前後の半透明の S 型コロニーを形成する。

病原性

ウシ、ヒツジ、ニワトリ、イヌ、ネコ、水鳥等多くの動物が保有し、経口感染によって人に胃腸炎を起こす。潜伏期は 1～7 日で、発熱、腹部痙攣、下痢等を主訴とする。腸炎の他に敗血症や関節炎、髄膜炎を起こすこともある。感染後に合併症として、神経疾患であるギラン・バレー症候群を発症することがある。

材 料

糞便、髄液、血液等

治 療

一般に自然治癒するため対症療法が中心となるが、重症例や免疫不全例ではニューキノロン系薬、マクロライド系薬が使用される。近年、ニューキノロン系薬に耐性の株が増加している。

Campylobacter 属の主な生化学的性状

菌種	カタラーゼ	水素要求性	ウレアーゼ	発育			硫化水素 TST	馬尿酸塩加水分解	酢酸インドキシル	アリルスルファターゼ	亜セレン酸還元	感受性	
				25℃	42℃	1%グリシン						ナリジクス酸 30 μg	セファロチン 30 μg
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	+	-	-	-	+	+	-	+	+	d	d	S※	R
<i>C. coli</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	S※	R
<i>C. lari</i>	+	-	d	-	+	+	-	-	-	-	d	R	R
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	d	R	S
<i>C. upsaliensis</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	S	S
<i>C. concisus</i>	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	d	R	・

d : 菌株により異なる S : 感性 R : 耐性

※ナリジクス酸耐性の *C. jejuni* や *C. coli* が存在する

感染症法上の分類

感染性胃腸炎 : 定点報告対象 (5 類感染症)

【参考資料】

臨床微生物学 : 医歯薬出版株式会社 P.184-186

厚生労働省ホームページ <http://www.mhlw.go.jp>

<フォトサーベイ設問2 回答一覧>

施設 番号	No.1 名称	No.1 評価
4	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
5	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
6	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
11	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
12	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
15	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
16	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
18	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
23	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
27	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
28	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
30	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
31	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
32	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
37	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
41	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
43	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
45	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
47	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
54	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A
57	<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	A

7. 評価一覧

受付 ID	試料 31 同定	試料 32 同定	試料 32 薬剤感受性	フォト 設問 1	フォト 設問 2
4	A	A	A	A	A
5	A	A	A	A	A
6				A	A
11	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	A
15	A	A	A	A	A
16	A	A	A	D	A
18	A	A	A	A	A
23				A	A
27	A	A	A	A	A
28				A	A
30	A	A	A	A	A
31	A	A	A	A	A
32	A	A	A	A	A
37				A	A
41	A	A	A	A	A
43	A	A	A	A	A
45	A	A	A	A	A
47	A	A	A	A	A
54				A	A
57	A	A	A	A	A