

Mie Master course of Infectious Diseases (MiMID) ハンドアウト 2018

2【微生物:基礎】臨床的に重要な微生物

内容

- ①細菌検査の進め方
- ②検出頻度が高い細菌の特徴
 - ・GPC
 - ・GPR
 - ・GNR
 - ・GNC
 - ・YLF

内容

- ①細菌検査の進め方
- ②検出頻度が高い細菌の特徴
 - ・GPC
 - ・GPR
 - ・GNR
 - ・GNC
 - ・YLF

検体提出から結果報告まで

| 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 |
|-----------------------------------|---|--|---|
| | | | |
| グラム染色所見 ブドウ状GPC:4+ 白血球貪食像あり | 培養途中経過 <i>S.aureus</i> :3+ <i>Corynebacterium</i> :1+ 起炎菌は <i>S.aureus</i> らしい | 培養途中経過 <i>S.aureus</i> (MRSA?):3+ <i>Corynebacterium</i> :1+ | 最終報告 MRSA:3+ <i>Corynebacterium</i> :1+ |

検体提出

| 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 |
|-----|-----|-----|-----|
| | | | |

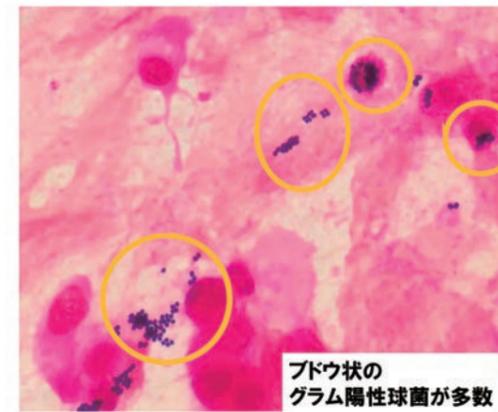
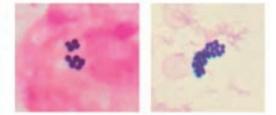
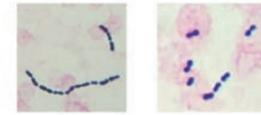
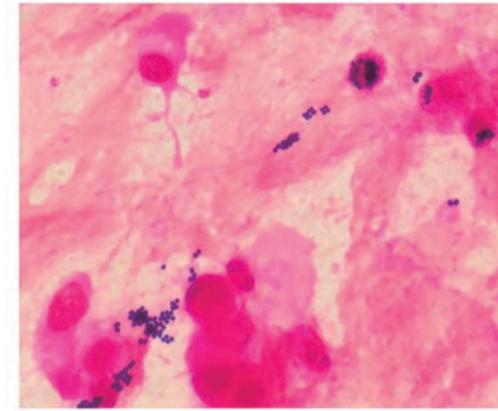
検体提出 1日目

| 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|
| | | | |
| グラム染色所見 ブドウ状GPC:4+ 白血球貪食像あり | | | |

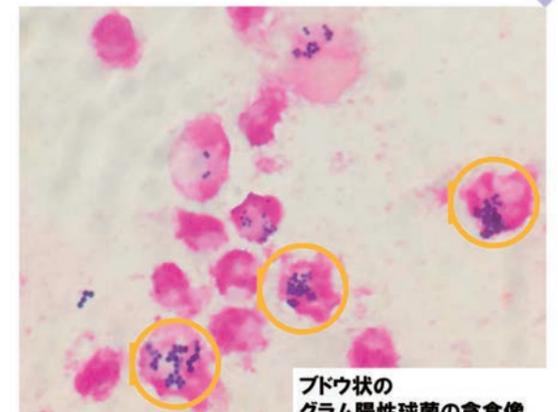


検体を血液寒天培地に塗布し一晩培養

1日目のグラム染色の結果とこの培地（コロニー）を見れば慣れている技師なら黄色ブドウ球菌と推定できる



ブドウ状のグラム陽性球菌が多数



ブドウ状のグラム陽性球菌の貪食像

2 11



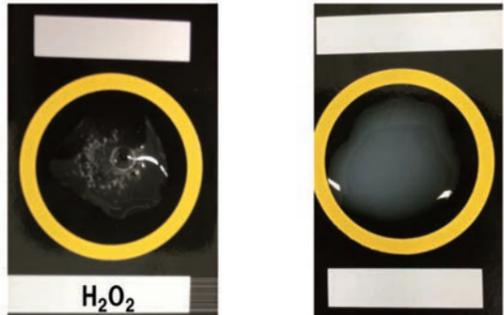
カタラーゼテスト:陽性

コロニーの目視のみで結果を返すわけではなく、次に細菌の持つ生化学的な性状を確認する

黄色ブドウ球菌と同定するための重要な生化学的性状はカタラーゼテストが陽性であること

過酸化水素(H₂O₂)がカタラーゼの触媒作用で水と酸素に分解され発泡する

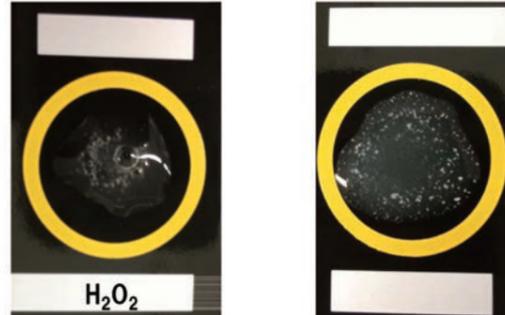
2 12



カタラーゼテスト:陽性

クランピング因子

2 13



カタラーゼテスト:陽性

クランピング因子:陽性

2 14

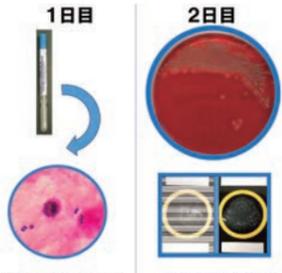


血液寒天培地(左)に加えて、MRSAの選択分離培地(右)にも塗布して、一晚培養を実施

MRSA選択分離培地(右)にピンク色のコロニーが確認できるため、黄色ブドウ球菌(MRSA)と推定

2 15

検体提出 2日目



1日目: グラム染色所見
フドウ状GPC:4+
白血球貪食体あり

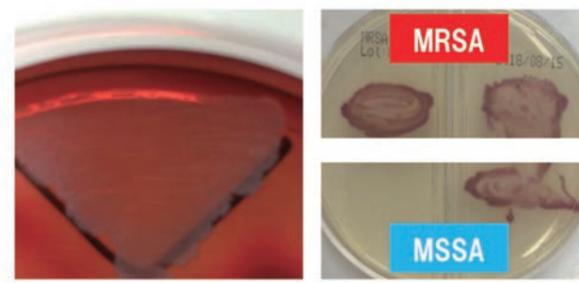
2日目: 培養途中経過
S.aureus: 3+ (MRSA?)
Corynebacterium: 1+
起炎菌は *S.aureus*らしい

3日目: 細菌検査の担当技師は、検体提出翌日には結果の予想が“ほぼ”ついています。

4日目: 受け持ちの患者さんの結果が気になる場合・・・

2日目に検査室に訊いてみてください!

2 16

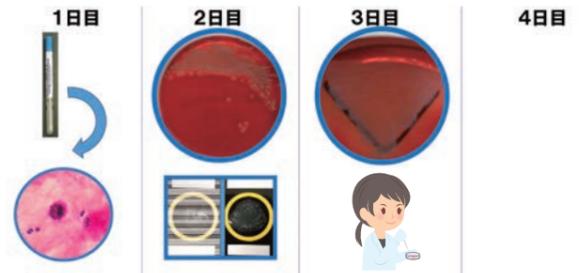


MRSA

MSSA

2 17

検体提出 3日目



1日目: グラム染色所見
フドウ状GPC:4+
白血球貪食体あり

2日目: 培養途中経過
S.aureus: 3+
Corynebacterium: 1+
起炎菌は *S.aureus*らしい

3日目: 培養途中経過
S.aureus (MRSA?): 3+
Corynebacterium: 1+

4日目:

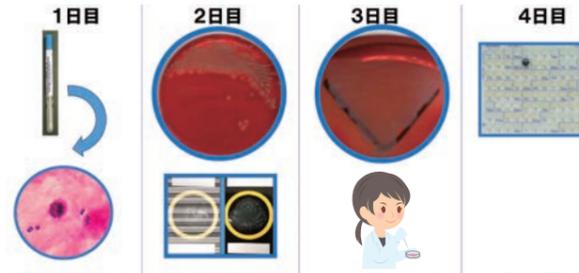
2 18

薬剤感受性検査



2 19

検体提出 4日目



1日目: グラム染色所見
フドウ状GPC:4+
白血球貪食体あり

2日目: 培養途中経過
S.aureus: 3+
Corynebacterium: 1+
起炎菌は *S.aureus*らしい

3日目: 培養途中経過
S.aureus (MRSA?): 3+
Corynebacterium: 1+

4日目: 最終報告
MRSA: 3+
Corynebacterium: 1+

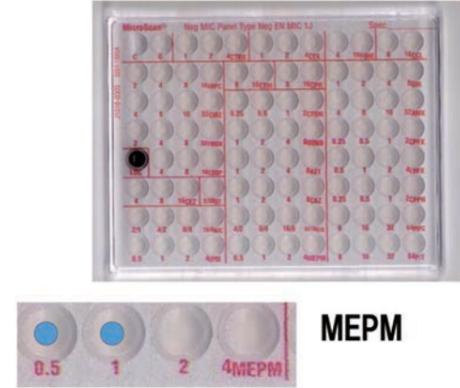
2 20

MICってなんでしょう?

Minimum Inhibitory Concentration : MIC

2 21

MICはいくつでしょう?



MEPM

0.5 1 2 4MEPM

2 22

内容

①細菌検査の進め方

②検出頻度が高い細菌の特徴

- GPC
- GPR
- GNR
- GNC
- YLF

細菌分類の基本

2 23

検出頻度が高い菌

2 24

| | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | <i>Streptococcus intermedius</i> | <i>Citrobacter</i> sp. | 腸内細菌科 |
| <i>Enterobacter</i> sp. | <i>Haemophilus influenzae</i> | <i>Providencia</i> sp. | <i>γ-Streptococci</i> |
| MSSA | <i>Staphylococcus aureus</i> | NF-GNR | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Acinetobacter</i> sp. | <i>Propionibacterium</i> sp. |
| <i>Neisseria</i> sp. | <i>α-Streptococci</i> | MRSA | <i>Streptococcus pyogenes</i> |
| <i>Proteus mirabilis</i> | <i>Enterococcus faecium</i> | <i>Moraxella catarrhalis</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> |
| <i>Streptococcus constellates</i> | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | <i>β-Streptococci</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| <i>Clostridium</i> sp. | <i>Bacteroides</i> sp. | <i>Prevotella</i> sp. | <i>Candida</i> sp. |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | <i>Serratia</i> sp. | <i>Streptococcus anginosus</i> | <i>Bacillus</i> sp. |
| | | | CNS |



Staphylococcus sp.

ブドウ状の 球菌

2 29

Staphylococcus sp.

Coagulase test

+

Staphylococcus aureus

=黄色ブドウ球菌

-

Coagulase Negative *Staphylococci*

=CNS

2 30

検出頻度が高い菌

2 25

| | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>α-Streptococci</i> | <i>Bacillus</i> sp. |
| MRSA | <i>Streptococcus intermedius</i> | <i>Corynebacterium</i> sp. |
| MSSA | <i>Streptococcus constellates</i> | <i>Fusobacterium</i> sp. |
| CNS | <i>Streptococcus anginosus</i> | <i>Streptococcus pneumoniae</i> |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | <i>β-Streptococci</i> | <i>Candida</i> sp. |
| <i>Enterococcus</i> sp. | <i>Streptococcus pyogenes</i> | <i>YLF</i> |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Streptococcus agalactiae</i> | |
| <i>Enterococcus faecium</i> | <i>γ-Streptococci</i> | |

| | | |
|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Moraxella catarrhalis</i> | 腸内細菌科 | NF-GNR |
| <i>Neisseria</i> sp. | <i>Proteus mirabilis</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Acinetobacter</i> sp. |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Citrobacter</i> sp. |
| | <i>Enterobacter</i> sp. | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> |
| | <i>Haemophilus influenzae</i> | <i>Bacteroides</i> sp. |

Gram Positive Cocci

GPC

グラム陽性球菌

2 26

Staphylococcus aureus

MPIP or CFX

S

MSSA

セファゾリン(CEZ)に感受性 (もちろん、抗MRSA薬にも感受性)

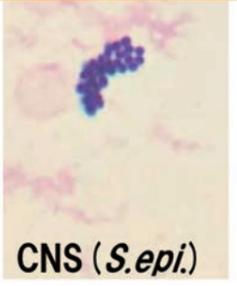
R

MRSA

すべてのβラクタム系抗菌薬に耐性 抗MRSA薬(VCM, TEIC, LZD, DAP)には感受性

2 31

グラム染色ではブドウ球菌の菌種・感受性はわからない



CNS (*S. epi.*)



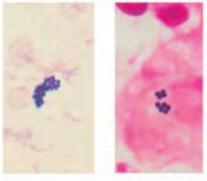
MRSA

2 32

グラム陽性球菌(GPC)

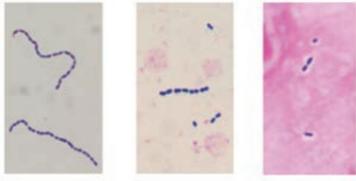
2 27

ブドウ状



CNS (*S. epi.*) MRSA

レンサ状



viridans strept. *E. faecalis* *S. pneumoniae*

検出頻度が高い菌 (*Staphylococcus* sp.)

2 28

| | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>α-Streptococci</i> | <i>Bacillus</i> sp. |
| MRSA | <i>Streptococcus intermedius</i> | <i>Corynebacterium</i> sp. |
| MSSA | <i>Streptococcus constellates</i> | <i>Propionibacterium</i> sp. |
| CNS | <i>Streptococcus anginosus</i> | <i>Clostridium</i> sp. |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | <i>Candida</i> sp. |
| <i>Enterococcus</i> sp. | <i>β-Streptococci</i> | <i>YLF</i> |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Streptococcus pyogenes</i> | |
| <i>Enterococcus faecium</i> | <i>Streptococcus agalactiae</i> | |
| | <i>γ-Streptococci</i> | |

| | | |
|------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| <i>Moraxella catarrhalis</i> | 腸内細菌科 | NF-GNR |
| <i>Neisseria</i> sp. | <i>Serratia</i> sp. | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| | <i>Providencia</i> sp. | <i>Acinetobacter</i> sp. |
| | <i>Citrobacter</i> sp. | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> |
| | <i>Enterobacter</i> sp. | <i>Haemophilus influenzae</i> |
| | <i>Bacteroides</i> sp. | <i>Prevotella</i> sp. |

検出頻度が高い菌 (*Streptococcus* sp., *Enterococcus* sp.)

2 33

| | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>α-Streptococci</i> | <i>Bacillus</i> sp. |
| MRSA | <i>Streptococcus intermedius</i> | <i>Corynebacterium</i> sp. |
| MSSA | <i>Streptococcus constellates</i> | <i>Propionibacterium</i> sp. |
| CNS | <i>Streptococcus anginosus</i> | <i>Clostridium</i> sp. |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | <i>Candida</i> sp. |
| <i>Enterococcus</i> sp. | <i>β-Streptococci</i> | <i>YLF</i> |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Streptococcus pyogenes</i> | |
| <i>Enterococcus faecium</i> | <i>Streptococcus agalactiae</i> | |
| | <i>γ-Streptococci</i> | |

| | | |
|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Moraxella catarrhalis</i> | 腸内細菌科 | NF-GNR |
| <i>Neisseria</i> sp. | <i>Proteus mirabilis</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Acinetobacter</i> sp. |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Citrobacter</i> sp. |
| | <i>Enterobacter</i> sp. | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> |
| | <i>Haemophilus influenzae</i> | <i>Bacteroides</i> sp. |
| | | <i>Prevotella</i> sp. |

Streptococcus sp.

レンサ球菌

Enterococcus sp.

腸球菌

2 34

グラム陽性桿菌(GPR)



Corynebacterium sp.
Propionibacterium acnes



Bacillus sp.
Clostridium sp.

Gram Negative Rod

GNR

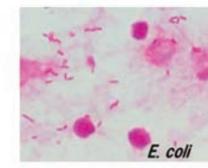
グラム陰性桿菌

抗菌薬の効き具合で分類

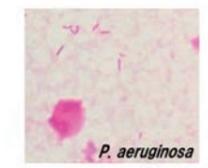
| | セファロスポリン | | | |
|-----------------|----------|------|------|------|
| | 第1世代 | 第2世代 | 第3世代 | 第4世代 |
| ① PEK | S | S | S | S |
| ② HEM | R | S | S | S |
| ③ SPICE (SPACE) | R | R | S* | S |

* *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌)、*Acinetobacter* sp.に有効な第3世代セファロスポリンはCAZのみ

腸内細菌科 と ブドウ糖非発酵菌の鑑別はグラム染色だけでは難しいことがある



E. coli



P. aeruginosa

腸内細菌科

ブドウ糖非発酵菌

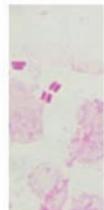
グラム陰性桿菌(GNR)

腸内細菌

太い 細い 短い ラセン状



E. coli



Klebsiella sp.



P. aeruginosa



Haemophilus sp.



Campylobacter sp.

検出頻度が高い菌 (腸内細菌科・NF-GNR)

| | | |
|--|--|--|
| GPC Staphylococcus aureus (MRSA, MSSA, CNS) Staphylococcus epidermidis Enterococcus sp., Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium | GPC α-Streptococci: Streptococcus intermedius, Streptococcus constellates, Streptococcus anginosus, Streptococcus pneumoniae β-Streptococci: Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae γ-Streptococci | GPR Bacillus sp., Corynebacterium sp., Propionibacterium sp., Clostridium sp. YLF Candida sp. |
| GNC Moraxella catarrhalis, Neisseria sp. | 腸内細菌科 Proteus mirabilis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae Serratia sp., Providencia sp., Citrobacter sp., Enterobacter sp., Haemophilus influenzae | NF-GNR Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter sp., Stenotrophomonas maltophilia, Bacteroides sp., Prevotella sp., Clostridium sp., Fusobacterium sp. など |

臨床材料から主に検出される菌種と気相

| 気相 | 菌種 |
|--|--|
| 偏性好気性菌 (発育に酸素が必須) | 真菌、ブドウ糖非発酵菌 (緑膿菌や <i>Acinetobacter</i> sp. など) |
| 通性嫌気性菌 (好気・嫌気のどちらの環境でも発育できるが、嫌気の方が発育が早い) | 腸内細菌、腸球菌、ブドウ球菌など (臨床検体から分離される大部分の菌がこのカテゴリー) |
| 偏性嫌気性菌 (菌体が酸素に触れると発育が止まったり死滅してしまう) | <i>Bacteroides</i> sp., <i>Prevotella</i> sp., <i>Clostridium</i> sp., <i>Fusobacterium</i> sp. など |

血液培養でGNRが発育しました

嫌気性ボトルが先に陽性になった場合

腸内細菌である可能性が高い
緑膿菌をカバーする必要はない

血液培養で嫌気性菌が検出されるケースは多くありません




普通の寒天培地に好気条件で発育したGNR

ブドウ糖発酵

+ -

腸内細菌科 **NF-GNR**
(ブドウ糖非発酵GNR)

抗菌薬の効き具合で分類

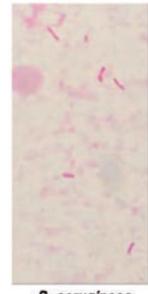
| | |
|-----------------|--|
| ① PEK | <i>Proteus mirabilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> sp. |
| ② HEM | <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Enterobacter</i> sp., (<i>Moraxella</i> sp.) |
| ③ SPICE (SPACE) | <i>Serratia</i> sp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Indole positive Proteae</i> *, <i>Citrobacter</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp. |

* *P. mirabilis*以外の*Proteus* sp.および*Providencia* sp., *Morganella* sp.
** AmpC型βラクタマーゼ過剰産生株

好気性ボトルだけが陽性になった場合

ブドウ糖非発酵菌の可能性はある

緑膿菌を念頭におき、投与薬剤を選択



P. aeruginosa

検出頻度が高い菌 (*H. influenzae*・嫌気性菌)

| | | |
|--|--|--|
| GPC Staphylococcus aureus (MRSA, MSSA, CNS) Staphylococcus epidermidis Enterococcus sp., Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium | 腸内細菌科 Proteus mirabilis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae Serratia sp., Providencia sp., Citrobacter sp., Enterobacter sp., Haemophilus influenzae | NF-GNR Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter sp., Stenotrophomonas maltophilia, Bacteroides sp., Prevotella sp., Clostridium sp., Fusobacterium sp. など |
| GNC Moraxella catarrhalis, Neisseria sp. | 腸内細菌科 Proteus mirabilis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae Serratia sp., Providencia sp., Citrobacter sp., Enterobacter sp., Haemophilus influenzae | NF-GNR Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter sp., Stenotrophomonas maltophilia, Bacteroides sp., Prevotella sp., Clostridium sp., Fusobacterium sp. など |

2 59

普通の寒天培地には発育しないGNR

① *Haemophilus influenzae* (インフルエンザ桿菌)
呼吸器・耳鼻科領域の感染症だけでなく、髄膜炎や眼内炎の起炎菌にもなる!

- ▶ チョコレート寒天培地だけに発育する
- ▶ 通常、検査室では材料に応じてチョコレート寒天培地を追加している
- ▶ 検体を採取した「部位」がわからなければ追加できない
- ▶ 膿・創部などの培養検査をする際には、必ず「部位」を記入



2 60

普通の寒天培地には発育しないGNR

一部グラム陽性菌も含まれます

① *Haemophilus influenzae* (インフルエンザ桿菌)
呼吸器・耳鼻科領域の感染症だけでなく、髄膜炎や眼内炎の起炎菌にもなる!

② 嫌気性菌

横隔膜より上: *Fusobacterium* sp., *Prevotella* sp., *Peptostreptococcus* sp.

横隔膜より下: *Bacteroides* sp., *Clostridium* sp., *Fusobacterium necrophorum*

薬剤感受性は菌株によって大きく異なるため、測って見ないとわからない...

2 61

Gram Negative Cocci

GNC

グラム陰性球菌

2 62

検出頻度が高い菌 (GNC)

| | | |
|--|--|--|
| Staphylococcus aureus MRSA MSSA CNS Staphylococcus epidermidis | α-Streptococci Streptococcus intermedius Streptococcus constellates Streptococcus anginosus Streptococcus pneumoniae β-Streptococci Streptococcus pyogenes Streptococcus agalactiae γ-Streptococci | Bacillus sp. Corynebacterium sp. Propionibacterium sp. Clostridium sp. Candida sp. |
|--|--|--|

GPC **GPR** **YLF**

| | | | |
|--|---|--|--|
| Moraxella catarrhalis Neisseria sp. | 腸内細菌科 Proteus mirabilis Escherichia coli Klebsiella pneumoniae | Serratia sp. Providencia sp. Citrobacter sp. Enterobacter sp. | NF-GNR Pseudomonas aeruginosa Acinetobacter sp. Stenotrophomonas maltophilia Bacteroides sp. Haemophilus influenzae |
|--|---|--|--|

GNC **GNR**

2 63

主なグラム陰性球菌

- ① *Moraxella catarrhalis* (モラクセラ菌)
- ② *Neisseria gonorrhoeae* (淋菌)
- ③ *Neisseria meningitidis* (髄膜炎菌)
感染力が非常に強く、飛沫感染予防策が必要。

2 64

主なグラム陰性球菌

- ① *Moraxella catarrhalis* (モラクセラ菌)
- ② *Neisseria gonorrhoeae* (淋菌)
- ③ *Neisseria meningitidis* (髄膜炎菌)
淋菌と髄膜炎菌が30℃以下で死滅するため、
髄液・STD患者由来の検体は冷蔵保管しないこと!

2 65

Yeast Like Fungi

YLF

酵母様真菌

2 66

検出頻度が高い菌 (YLF)

| | | |
|--|--|--|
| Staphylococcus aureus MRSA MSSA CNS Staphylococcus epidermidis | α-Streptococci Streptococcus intermedius Streptococcus constellates Streptococcus anginosus Streptococcus pneumoniae β-Streptococci Streptococcus pyogenes Streptococcus agalactiae γ-Streptococci | Bacillus sp. Corynebacterium sp. Propionibacterium sp. Clostridium sp. Candida sp. |
|--|--|--|

GPC **GPR** **YLF**

| | | | |
|--|---|--|--|
| Moraxella catarrhalis Neisseria sp. | 腸内細菌科 Proteus mirabilis Escherichia coli Klebsiella pneumoniae | Serratia sp. Providencia sp. Citrobacter sp. Enterobacter sp. | NF-GNR Pseudomonas aeruginosa Acinetobacter sp. Stenotrophomonas maltophilia Bacteroides sp. Haemophilus influenzae |
|--|---|--|--|

GNC **GNR**

2 67

主な酵母様真菌

Candida spp.

その他いろいろ
(*Cryptococcus* sp.など)



2 68

主な酵母様真菌

Candida albicans
Candida parapsilosis
Candida tropicalis
Candida glabrata
Candida krusei

Cryptococcus sp. *Cryptococcus neoformance*
Cryptococcus gatii

その他いろいろ