

平成25年度 千臨技精度管理報告(微生物部門)

試料2

健常若年者の咽頭炎からの
分離菌同定検査

【設問】

26歳女性。基礎疾患なし。

39.6℃の発熱、咽頭痛を認め内科受診。

頸部リンパ節腫脹、扁桃腫大、扁桃白苔（＋）
白血球数 13,400/mm³、CRP 2.81mg/dLと高値を示したが、他の血液データは異常値を認めず。
パセトシン（AMPC）内服治療にて軽快した。

内科受診時、咽頭ぬぐい液の培養検査を実施し
本菌が分離された。

【菌】 *Arcanobacterium haemolyticum* （臨床分離株※）

※Api coryne、質量分析にて確認の上使用

【目的】

本菌は若年者の咽頭炎や糖尿病患者などの皮膚軟部組織感染症からの分離報告が多い。また、血液培養からの分離も稀であるが報告されている。

コリネ様のグラム陽性桿菌（多形性）、血液寒天培地にて β 溶血を呈するため、これらの条件からはジフテリア菌やリステリア菌と間違われて報告されることが予想される。しかし本菌はカタラーゼ試験陰性であるため、これらの菌は否定できる。

分離頻度はあまり高くない稀な菌であるが、ジフテリア菌と誤報告された事例も認められるため、各施設で本菌を認識してもらうことを目的とした。

【方法】

臨床分離株 *Arcanobacterium haemolyticum* を生理食塩水に懸濁させ、綿棒(カルチュレットEZ)を用い、4℃の環境下において各施設に配布。分離・同定を実施する際の情報として臨床症状や検査結果等の患者情報を付記し、各施設の判断において直接綿棒を適当な培地に接種し、培養同定検査実施。

【評価】

A評価: *Arcanobacterium haemolyticum* または
Arcanobacterium sp.

B評価: *Arcanobacterium pyogenes*

C評価: 上記以外の菌種

【結果】

回答施設： 36施設 A評価：31/36 ≒ 86.1%
 B評価： 1/36 ≒ 2.8%
 C評価： 4/36 ≒ 11.1%

(A評価)・*Arcanobacterium haemolyticum* : 28施設
 ・*Arcanobacterium* sp. : 3施設

(B評価)・*Arcanobacterium pyogenes* : 1施設

(C評価)・*Corynebacterium diphtheriae* : 2施設
 ・*Streptococcus anginosus* : 1施設
 ・*Streptococcus pyogenes* : 1施設

【使用培地】 回答施設: 31施設

○11施設: 血寒・チョコ・BTB(トリガルスキー) (35.5%)

○11施設: 血寒・チョコ (35.5%)

○ 各1施設: 血寒・チョコ・DHL

: 血寒・チョコ・トリガルスキー・普通寒天

: 血寒・チョコ・BTB・マッコンキー・カンジダ

: 血寒のみ

: 血寒・MRSAスクリーニング

: 血寒・チョコ・トリガルスキー・ガム半流動

: 血寒・チョコ・嫌気用ヒツジ血寒

: 血寒・チョコ・CDC嫌気用

: 血寒・チョコ・マッコンキー・アネロウサギコロンビア

【培養条件】

○温度(回答31施設)

35°C 26/31施設

37°C 4/31施設

35.5°C 1/31施設

○CO₂濃度(回答18施設)

5% 13/18施設

7% 3/18施設

6% 1/18施設

7.5% 1/18施設

○培養時間(回答32施設)

20～48時間 29/32施設

72時間 3/32施設

【同定方法】 回答施設: 36施設

- | | |
|------------------|-------------|
| ○用手法〔同定キット〕 | 24施設(66.7%) |
| ○自動機器 | 4施設(11.1%) |
| ○自動機器＋用手法〔同定キット〕 | 2施設(5.5%) |
| ○質量分析 | 1施設(2.8%) |
| ○従来法のみ | 5施設(13.9%) |
- ・カタラーゼ試験
 - ・CAMP inhibition テスト
 - ・グラム染色
 - ・オキシダーゼ試験
 - ・培地の β 溶血
 - ・糖分解、硝酸塩還元、ウレアーゼ等

【同定方法】

○用手法〔同定キット〕 26施設

Api coryne	: 12施設	→ <i>A. haemolyticum</i>	12施設
RapidID CB Plus	: 5施設	→ <i>A. haemolyticum</i>	5施設
BD クリスタル	: 9施設	→ <i>A. haemolyticum</i>	5施設
		<i>A. pyogenes</i>	1施設
		同定不能	1施設
		<i>C. diphtheriae</i>	2施設

(他 Api Strep20を *Listeria* sp.を否定するために実施 1施設)

Arcanobacterium属主要3菌種の生化学的特徴

Manual of Clinical Microbiology 10th Edition より

Acid production from:

	Catalase	Motility	β -hemolysis	Nitrate reduction	Urease	Esculin hydrolysis	Glucose	Maltose	Sucrose	Mannitol	Xylose	Other traits
<i>A. haemolyticum</i>	-	-	+	-	-	-	+	+	v	-	-	CAMP inhibition reaction
<i>A. pyogenes</i>	-	-	+	-	-	v	+	v	v	v	+	
<i>A. bernardiae</i>	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	Glycogen positive

※2011年 *A. pyogenes*, *A. bernardiae* は *Trueperella*属への移籍が提唱された

A. haemolyticum : (呼吸器由来はラフ型)、創部由来株はスムーズ型になりやすい
 ・CAMP inhibition反応は phospholipase D産生による反応

A. pyogenes : ・Arcanobacteriaの中で最も大きいコロニーを形成
 ・**Xyloseを分解.** **β -glucuronidase(+)**

A. bernardiae : ・コロニーは他のArcanobacteriaより小さめ
 ・分岐を認めない短桿菌

基質:
 β Dグ ルクロン酸
 β Dグ ルクロニド

【Api coryne】 《コード報告:9施設の性状》

:*A. haemolyticum*, *A. pyogenes*, *A. bernardiae* 判定可能

※β Dグルクロン酸

	NIT	PYZ	PYRA	PAL	β GUR	β GAL	α GLU	β NAG	ESC	URE	GEL	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
<i>A. haemolyticum</i>	4	90	59	90	18	85	87	83	0	0	1	100	83	1	1	99	100	50	0	1
<i>A. pyogenes</i>	1	1	98	71	99	96	98	47	1	0	99	100	100	96	1	99	94	56	19	1
<i>A. bernardiae</i>	0	100	71	0	0	0	100	0	0	0	0	50	100	0	0	100	0	0	100	0
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	1	2	4	1	2	4	1	2	4
2530360	—	+	—	+	—	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	—
3施設		2			5			3		0			3			6			0	
<i>A. haemolyticum</i>		2			1			3		0			3			6			0	2施設
(9施設全て)		4			5			3		0			3			6			0	1施設
		6			5			3		0			3			6			0	1施設
		0			5			3		0			3			6			0	1施設
		0			1			3		0			3			6			0	1施設

【 RapidID CB Plus 】

《コード報告:5施設の性状》

:*A. haemolyticum*, *A. pyogenes* 判定可能

5277510

2施設

A. haemolyticum

(5施設全て)

GLU	SUC	RIB	MAL	α GLU	β GLU	NAG	GLY1	ONPG	PHS	EST	PRO	TRY	PYR	LGLY	LEU	URE	NIT	CAT	PIG
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
	5			2			7			7			5			1		0	
	5			3			7			7			7			1		0	
	1			2			7			6			5			1		0	
	5			3			7			6			5			1		0	

1施設

1施設

1施設

【BD クリスタル】 CAT無 : *A. haemolyticum*, *A. pyogenes* 判定可能

A. pyogenes 報告:

0 6 7 0 2 0 0 1 3

0

A. haemolyticum 報告:

0 6 7 0 2 0 0 1 3

1

0 6 7 0 2 0 0 1 3

4

?

ARG(1)
ESC(2)
URE(4)

9施設

→ *A. haemolyticus*

5施設

A. pyogenes

1施設

同定不能

1施設

C. diphtheriae

2施設

FGN(β D グルコニド): (2)

コード不明

「生化学的同定キットにて *C. diphtheriae* と誤同定した *A. haemolyticum* による扁桃周囲膿瘍の1症例」 中村 彰宏 他 (天理よろづ相談所病院)

22歳 男性 咽頭痛 → 扁桃周囲膿瘍 → 切開排膿より分離
⇒ BDクリスタルにて *C. diphtheriae* と同定 (0660000100)

Arcanobacterium haemolyticum

- コリネバクテリウム様グラム陽性桿菌.

注) 多形性で臨床材料(胸水)の直接グラム染色像では放線菌様の形態を呈したものも確認されている¹⁾

- **カタラーゼ試験(－)** (≠ *Corynebacterium*属)
- ヒツジ血液寒天培地で β 溶血(＋)
- CAMP inhibition test (＋)
- 運動性(－), DNase(＋), Xylose分解(－)

1) 吉村尚江, 大楠清文, 他. : *A. haemolyticum*による肺膿瘍の1例.
第41回九州医学検査学会抄録, 99, 2006.

(「いま知りたい臨床微生物検査実践ガイド 大楠清文 著」P.85に写真掲載)

Arcanobacterium haemolyticum 感染症

- 咽頭炎や皮膚軟部組織感染症で分離される
 - 成人咽頭炎患者の0.8%で検出され²⁾、若年層においては0.5～2.5%を占めるとの報告がある³⁾
- 脳膿瘍、骨髓炎、敗血症、感染性心内膜炎報告もある
- β ラクタム系、マクロライド系、ニューキノロン系薬のいずれにも良好な感受性を示す⁴⁾という報告がある
一方、本邦でマクロライド系、ニューキノロン系薬に耐性の菌株も報告されている⁵⁾

CAM >16 μ g/mL
LVFX >4 μ g/mL

2) Miller, R.A. ,et al. Ann Intern Med 105:867-872, 1986.

3) Osterlund, A. ,et al. J Infect Dis 27:131-134, 1995.

4) Garcia-de-la-Fuente, C., et al. Diagn Microbiol Infect Dis, 72(1):1-7, 2012.

5) 村橋重樹, 他. 日臨微誌 18(1):20-24, 2008.

Arcanobacterium haemolyticum 感染症

1989–1999年にFinland, Sweden, Denmarkで収集された70株のMIC値

	Range	MIC50	MIC90
PCG	0.004–0.12	0.03	0.03
CTX	0.008–0.25	0.06	0.12
CLDM	0.06–>256	0.12	0.12
EM	0.008–>256	0.015	0.015
IPM/CS	0.008–0.03	0.015	0.015
CPFX	0.5–4	0.5	1
LVFX	0.25–8	0.5	0.5
RFP	0.002–0.004	0.002	0.002
TC	0.06–16	0.12	0.25
VCM	0.25–0.5	0.5	0.5

P.Carlson. European J.Clin Microbiol Infect. Dis., 19(11)891–893,2000
より一部改編

まとめ

- ・同定検査実施 36施設中31施設(86%)がA評価となった。
- ・使用培地は 血寒・チョコ・BTB が11/31施設(35.5%)、血寒・チョコ が11/31施設であった他は各施設毎に異なる組み合わせが用いられていた。
- ・同定方法は用手法〔同定キット〕のみを使用した施設が24/35施設(66.7%)で最も多く認めた。従来法のみで菌体を同定・推測した施設を5/36施設(13.9%)認めた。

まとめ

- *C. diphtheriae*と誤同定した施設を2/36施設(5.5%)認めた。本菌を念頭に置き、カタラーゼ試験の確認を実施いただきたい。
- 今回使用した株では、Api coryne、Rapid ID CB Plusの同定キットでは正しく報告されていた。一方、BD クリスタルキットでは、過去の報告でも*C. diphtheriae*と誤同定された事例があり、使用時は注意が必要と思われた。