

微生物部門

精度管理事業委員

内藤 淳

愛知県厚生連更生病院
TEL 0566-75-2111

実務委員

椴山 弘
多和田 行男

半田市医師会健康管理センター
国立名古屋病院

微生物検査の精度管理調査

◆ はじめに

微生物検査部門における平成 13 年度 精度管理事業として、供試菌株 2 菌種を設定し、同定検査ならびに薬剤感受性検査、および検出菌の解釈についての調査を実施した。また、試料 1 については、日常の検査で使用している選択分離培地や、輸送培地、増菌培地についても回答をいただいた。

◆ 参加施設

愛知県下 68 施設を対象とした。

◆ 供試菌株

供試菌株は、臨床分離保存株の 2 菌種 2 菌株を用いて、仮想の臨床経過を設定し出題した。

試料 1 *Escherichia coli* O157 Vero 毒素非産生株

試料 2 *Staphylococcus epidermidis*

試料 1 および 2 は、独立した 1 コロニーを血液寒天培地で 18 時間培養後、スティックで培地上のコロニーを採取し、輸送用培地（プロコート 栄研器材）に入れたものを試料とした。

◆ 調査の目的および結果

【 試料 1 】

《試料 1 のねらい》

- ・ Vero 毒素の決定が行える検査体制であるか？
- ・ 毒素産生性を確認した上で、回答しているか？
- ・ 感染症新法 3 類感染症の解釈について。（出題した株は該当菌ではない。）
- ・ 糞便検査に使用する分離培地の使用状況。

《試料 1 設問》 同定サーベイを実施

菌株の由来 患者は 5 歳、男児。下痢のため入院。主治医は細菌性下痢症を疑い糞便培養検査を指示。本菌はこの培養検査より分離された。

《試料 1 同定検査》

表1 試料1成績菌名

菌名	件数	%
Escherichia coli	23	33.9
腸管病原性 Escherichia coli	39	57.3
Escherichia coli, verotoxin-Producing	3	4.4
Escherichia coli, enteropathogenic	2	2.9
空白	1	1.5
総計	68	100

試料1の同定菌株の成績を(表1)に示す。空白の1施設を除いて67施設すべてにおいて *Escherichia coli* とする成績が得られた。本菌種の同定はどの施設も一定の水準が保たれていると思われる。しかし、*Escherichia coli* の扱いについて様々な回答があった。本菌は毒素陰性のため届け出の必要がないが、必要と回答された施設が認められた。

表2 試料1機器

測定装置	件数	%
用手法	30	44.1
マイクロスキャン Walk Away40	10	14.7
マイクロスキャン Walk Away96	7	10.3
マイクロスキャンオートスキャン 4	1	1.5
ATB,ATB Expression,miniAPI	7	10.3
バイテック 32,SR,JR	4	5.9
オートセプターシステム	4	5.9
MIC 2000	1	1.5
MR 5000 MIC	1	1.5
バイテック 60,120,240,480	1	1.5
空白	2	2.9
総計	68	100

試料1の同定法を(表2)に示す。用手法で同定を行った施設が30施設、自動機器を用いて同定を行った施設は36施設であった。同定に使用されたキットは、用手法の中ではエンテロチューブが最も多く、自動機器では、マイクロスキャンで同定された施設が多く認められた。

表3

グラム染色	件数	%
陽性桿菌	4	5.9
陰性桿菌	58	85.3
実施せず	4	5.9
*	2	2.9
計(施設数)	68	100

表4 試料1TSI(斜面/高層)

TSI(斜面/高層)	件数	%
A/AG	31	45.6
A/A	10	14.7
-/A	1	1.5
-/AG	3	4.4
実施せず	16	23.5
*	7	10.3
計(施設数)	68	100

表5 試料1オキシダーゼ

オキシダーゼ	件数	%
陰性	53	77.9
実施せず	10	14.7
*	5	7.4
計(施設数)	68	100

従来法の実施状況と検査成績を示す(表3~表5)。本菌はグラム陰性桿菌、オキシダーゼ陰性である。グラム染色は62件(91.2%)と多くの施設で実施されていた。その他にオキシダーゼ53件(77.9%)、TSI(斜面/高層)45件(66.2%)が多く実施されていた。

*:空白または無効回答

表6～表7には血清学的検査、ペロ毒素検出検査（毒素検査）の実施状況を示す。血清学的検査は66施設（97.0%）のほとんどで実施されていた。これは試料1が糞便由来のためだと思われる。

表6 試料1血清型別検査

血清型別 O 抗原	件数	%
血清型決定	65	95.5
陰性	1	1.5
実施せず	1	1.5
*	1	1.5
計(施設数)	68	100

表7 試料1毒素検査

毒素	件数	%
陽性	2	2.9
陰性	28	41.2
実施せず	34	50
*	4	5.9
計(施設数)	68	100

*: 空白または無効回答

毒素検査まで行ったのは、30施設（44.1%）であった。実施施設の毒素検査は、RPLA法とイムノクロマト法が多く実施されていた。実施していない施設は外注という回答がほとんどであった。

主要な分離培地の組み合わせを表8に示す。

表8 試料1主要分離培地組み合わせ

分離培地の組み合わせ	施設数	%
DHL寒天培地 SS寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地	17	25
SS寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地	11	16.2
BTB乳糖加寒天培地 SS寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地	6	8.8
SS寒天培地 クロモアガーO157	4	5.9
BTB乳糖加寒天培地 SS寒天培地 クロモアガーO157	3	4.4
BTB乳糖加寒天培地 SS寒天培地	3	4.4
DHL寒天培地 BTB乳糖加寒天培地 SS寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地	3	4.4
DHL寒天培地 SS寒天培地	3	4.4
マッコンキー寒天培地 SS寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地	3	4.4
BTB乳糖加寒天培地 SS寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地 クロモアガーO157	2	2.9
DC培地 SS寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地	2	2.9
DHL寒天培地 SS寒天培地 クロモアガーO157	2	2.9
マッコンキー寒天培地 SS寒天培地	2	2.9
BTB乳糖加寒天培地 マッコンキー寒天培地 SS寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地	1	1.5
DC培地 SS寒天培地	1	1.5
DHL寒天培地 SS寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地 クロモアガーO157	1	1.5
DHL寒天培地 ソルビトール加マッコンキー寒天培地	1	1.5
DHL寒天培地 BTB乳糖加寒天培地 SS寒天培地 マッコンキー寒天培地	1	1.5
DHL寒天培地	1	1.5
空白	1	1.5
合計	68	100

臨床背景から、選択分離培地に SIB 寒天培地のようなソルビトールを含有する培地を大腸菌 O157 の検出のために組み合わせている施設が多く認められた。O157 がベロ毒素を産生する頻度が高いとされる血清型であることから、O157 検出用培地が普及しているものと思われた。表中ではソルビトール加マッコンキー寒天培地としてまとめて集計した。

一方、培地への発育性状（溶血性など）からベロ毒素の産生を推測可能な培地もメーカーより発売されている。このような培地は大腸菌の血清型に関係なく毒素の産生性を高い確率で推定できる。これを活用するのも一方法であると考える。

表9・10 試料1増菌培地項目

増菌培地の使用の有無	件数	%
増菌培養を実施している施設	43	63.2
増菌培養を実施していない施設	21	30.9
空欄	4	5.9
計(施設数)	68	100

増菌検査の使用状況と培地を(表9・10)に示す。

43施設(63.2%)で増菌培地が使用されていた。特にサルモネラとビブリオ属に対する培地が多かった。

増菌培地の種類	件数	%
アルカリペプトン水	25	30.1
セレナイト	22	26.5
SBGスルファ培地	13	15.7
リン酸緩衝液	6	7.2
ラパポート	6	7.2
その他	11	13.3
計(施設数)	83	100

増菌培地は検査材料中のごく少数の病原菌を検出するために用いられる。必要に応じて使用することが望ましい。

表11・12 試料1輸送項目

輸送培地の使用の有無	件数	%
使用している施設	51	75
使用していない施設	14	20.6
空欄	3	4.4
計(施設数)	68	100

輸送培地の使用状況と使用培地を(表11・12)

に示す。比較的多くの51施設(75.0%)で輸送培地が使用されていた。使用していない施設は採取してすぐに検査するためという理由が最も多かった。

輸送培地の種類	件数	%
シードスワブ	39	62.8
トランスワブ	5	8.1
キャリブレア培地	6	9.7
カルチュレット	4	6.5
プロコート	2	3.2
その他	6	9.7
計	62	100

【 試料 2 】

《試料 2 のねらい》

- ・ NCCLS documents は定期的に改定されている。我々が薬剤感受性検査を行い、得られた結果（阻止円直径や MIC）を解釈する上での“ものさし”である判定基準も同様であり、常に最新の判定基準を用いて検査に当たる必要がある。
- ・ CNS の新しい NCCLS 判定基準を知っているか？

《試料 2 設問》 同定サーベイおよび薬剤感受性サーベイを実施

菌株の由来 患者はカテーテル管理を受ける 59 歳、女性。38.8 度の発熱、悪心を訴えたため血液培養を実施。本菌はこの血液培養より分離された。同時に抜去されたカテーテルの培養からも同一の菌が分離されている。

《試料 2 同定検査》

同定菌名および使用システムを表 1 に示す。出題した菌株は *Staphylococcus epidermidis* であり、*Staphylococcus*, coagulase negative (CNS) の回答も正解とした。無回答の 1 施設を除く 67 施設での正解率は 97.0%であった。同定検査に使用したシステムとしてはデイドベ어링社製が 27% (18/67 すべて正解)。用手法は 51% (34/67) で内 2 施設が誤同定であった。

表 1 同定菌名と使用システム

Staphylococcus ,coagulase negative	オートセプターシステム	1
	バイテック 32,SR,JR	1
	空白	1
	用手法	11
Staphylococcus aureus	用手法	1
Staphylococcus epidermidis	ATB,ATB Expression,miniAPI	3
	MIC2000	1
	MR5000 MIC	1
	オートセプターシステム	2
	バイテック 32,SR,JR	1
	バイテック 60,120,240,480	3
	マイクロスキャン Walk Away 40	10
	マイクロスキャン Walk Away 96	7
	マイクロスキャン オートスキャン 4	1
	空白	1
用手法	21	
Staphylococcus sp.	用手法	1
	空白	1
総計(施設数)		68

性状検査項目を表 2 に示す。グラム染色、カタラーゼ、コアグララーゼ試験は多くの施設で実施されていた。本菌は血液培養から分離された菌株である。血液培養検査は微生物検査の中でも最も重要な培養検査の一つであり、発育陽性の場合、迅速かつ確かな菌種の推定とその後の検査の迅速性が求められる。

表 2 性状検査項目

1.グラム染色

陽性球菌	66
*	2
計(施設数)	68

2.カタラーゼ

陽性	49
陰性	3
実施せず	11
*	5
計(施設数)	68

5.コアグラゼ試験

陽性	1
陰性	50
実施せず	13
*	4
計(施設数)	68

* :空白または無効回答

発育してきた菌の菌種を推定するとき、グラム染色は最初に行うべき必須検査である。有効回答のあったすべての施設でグラム染色が実施されていた。塗抹検査では菌の形態・染色性を確認する。グラム陽性球菌であった場合、その形態からブドウ球菌が疑われるようであれば、ラテックス凝集反応を用いてコアグラゼ産生性を推定する試薬や、PBP2'の産生を確認する試薬等が市販されており、これらを利用することは、より細かな菌種の推定に役立つ。これら試薬は、血液培養ボトルで増菌された菌を集菌し、ある程度の菌量が得られた場合に実施することが可能である。

《試料 2 薬剤感受性検査》

薬剤感受性検査は、有効回答のあった 67 施設中 60 施設 (89.6%) で NCCLS に基づく感受性検査が行われており、7 施設が昭和一濃度ディスク法を行っていた。NCCLS 法を行う 60 施設のうち 36 施設 (60%) で微量液体希釈法による MIC 測定が行われている。NCCLS ディスク法は 24 施設で KB ディスクを使用する施設が多かった。

表 3 は耐性菌検出用として回答のあった抗菌薬である。NCCLS では耐性菌検出薬剤として、その感受性成績から耐性因子 (遺伝子) の存在を効率的に推定でき、かつ保存に安定な抗菌薬を耐性菌検出用として選択する。

表 3 耐性菌検出用として回答のあった抗菌薬

	ABK	CMZ	CZX	DMPPC	MPIPC	VCM	総計(施設数)
KB ディスク					14		14
SN ディスク					2		2
センシディスク					8		8
昭和一濃度ディスク			3	3		1	7
自動 MIC	1				27		28
用手 MIC		1			7		8
総計(施設数)	1	1	3	3	58	1	67

(空白 1 件)

NCCLS 法を行う施設は 60 施設。うち 58 施設が MPIPC を選択した。設問の「耐性菌検出用として適当な・・・」という文章から、出題の意図がうまく伝わらなかった施設が若干あった。言葉足らずであったことをお詫びいたします。

表4 CNSの判定基準

	ディスク法	希釈法
薬剤	Oxacillin	Oxacillin
ディスク含有量	1 μg/ml	
R	≤17	≥0.5
I	—	—
S	≥18	≤0.25

オキサシリンは24時間で判定を行う

NCCLSのMRS判定基準を表4に示す。

NCCLS documentsは定期的に改定されており、正しい判定基準を用いて検査に当たる必要がある。最新情報の収集に心がけたい。

〈NCCLS ディスク拡散法〉

表5および表6はNCCLSディスク法を行う施設の試薬およびMPIPCの阻止円径分布、表7はMPIPCの阻止円直径と判定を示す。

表5 NCCLSディスク法施設の試薬と阻止円径分布

	KB	SN	センシ	施設数
ミュラーヒントンⅡ 寒天培地日本BD	0mm	2	2	4
	6mm	3	2	5
	7mm		1	1
	8mm		1	1
ミュラーヒントンS栄研	0mm	2		2
	6mm	1		1
	9mm	1		1
	11mm	2		2
	13mm	1		1
ミュラーヒントン 寒天培地N日水	0mm		1	1
	6mm	1		1
	9mm	1		1
その他の感受性培地	7mm	1		1
空白	11mm	1		1
NCCLSディスク法 計	14	2	7	23

表6 阻止円径(mm)の分布

	0mm	6mm	7mm	8mm	9mm	11mm	13mm	施設数
KBディスク	4	4	1		1	3	1	14
SNディスク		1			1			2
センシディスク	3	2	1	1				7
総計	7	7	2	1	2	3	1	23

表7
阻止円径と判定

阻止円径	施設数
0mm	7
6mm	7
7mm	2
8mm	1
9mm	2
11mm	3
13mm	1
計	23

NCCLSディスクの大きさは6mmであることから、阻止円直径“6mm”の回答は、阻止帯の形成がなかったものと考えられる。よって、14施設で阻止帯の形成は確認されず、あとは7mmから13mmの間で阻止円径はばらついた。ディスク拡散法では、接種菌量や感受性試験に用いる寒天培地の含水量、検査を担当する技師の阻止円径の測定の際の“クセ”など、この他にも色々な成績の変動要因が考えられる。

表 4 にも示すように、CNS の感受性と耐性の境界は 18mm と 17mm (MPIPC) とされており、境界付近の阻止円径が観察された場合の判定に迷った経験を持つ技師も少なくないと思う。

出題した菌株は臨床分離株である。出題前の検査で PBP-2' の産生を確認しており、mecA 遺伝子の存在が示唆される。

すべての施設で“R”と判定されており、判定に問題はなかった。

〈NCCLS 希釈法〉

NCCLS 希釈法で薬剤感受性検査を行う 36 施設のうち、有効回答のあった 34 施設における使用試薬と MPIPC の MIC 分布を表 8 に示す。

デイド社製品 16 施設 (47.1%)、栄研化学・長瀬産業製品 13 施設 (38.2%) が多く使用されていた。MIC は何種類もの回答があった。使用するメーカーや試薬の種類によって、パネルに設定されている MPIPC の濃度範囲が異なることが原因であろう。また、施設独自の特注パネルを提供するメーカーもある。

表 8 MIC 回答施設の試薬と MIC 分布

MIC	>0.25	≤1	1	≤2	2	≥2	>2	4	≥4	≥8	>8	空白	総計
GPS-409 グラム陽性菌感受性カード				1									1
GPS-421 グラム陽性菌感受性カード										1			1
Pos BPCombo 31J	1						4					1	6
Pos Combo 41J						1	8				1		10
スタフィロブレークポイント/ID S5-2 (876)									3				3
その他の MIC-2000		1	2	1	5	1		1	1				12
その他の栄研化学・長瀬産業製品					1								1
ミュラー-ヒントン II 寒天培地(??)				1									(1)
総計	1	1	2	3	6	2	12	1	4	1	1	1	34

本菌は出題前の検査で MIC は $\geq 0.5 \mu\text{g/ml}$ 、 $< 4 \mu\text{g/ml}$ を確認した。表中の“網かけ”で示した濃度範囲を正解としたい。デイド社製品、栄研化学・長瀬産業製品ともに正解とする濃度範囲に MIC が集中した。デイド社製品を使用する施設の成績は特に収束している。デイド社製品はメーカー提供のパネルのみで、各施設が同一パネルで測定を行うことがその理由と考えられる。一方、栄研化学・長瀬産業製品はメーカー提供品に加えて施設独自のパネル（濃度範囲）も設定が可能である。施設により設定する濃度・範囲が異なることからある程度の幅をもった結果となった。(R) $\geq 0.5 \mu\text{g/ml}$ 、(S) $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$ を検査できるパネルを使用する必要がある。 $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ や $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ の回答もあったが、これでは (R) と (S) の境界が明確とならない。

表 9 に MPIPC の MIC と判定を示す。

表 9 MPIPC の MIC と判定

	>0.25	≤1	1	≤2	2	≥2	>2	4	≥4	≥8	>8	空白	計
R	1	1	1		6	1	12	1	4	1	1	1	30
S			1	3									4
空白						1							1
計	1	1	2	3	6	2	12	1	4	1	1	1	35

M100-S10 よりも前に発行された NCCLS documents では、CNS のブレイクポイント (MPIPC) は、 $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ は (R) 、 $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ は (S) となっていた。M100-S10 での変更を知らないまま MIC を判定していた施設は最新情報を入手し、ご使用のシステムの感受性判定マスタをすべての菌種について今一度ご確認ください。

《試料 2 報告コメント・フリーコメント》

NCCLS documents の、Staphylococcus spp.のための最小発育阻止濃度 (MIC) の解釈基準 ($\mu\text{g/ml}$) の項では、以下のように記載されている。

オキサシリン／メチシリン耐性の Staphylococcus aureus 及びコアグララーゼ陰性の staphylococci(MRS)の場合、セフェム系やアモキシシリン／クラバン酸、アンピシリン／スルバクタム、チカルシリン／クラバン酸、ピペラシリン／タゾバクタム及びイミペネムのような β -ラクタム系抗菌薬が in vitro で感性を示すかもしれないが、しかし臨床では効果が無いので感性と報告しないこと。

これは、記録にある MRS 感染症の多くが、 β -ラクタム系抗菌薬の治療に対して反応が乏しいか、またはそれらの抗菌薬についての臨床での効果について、確認された資料がまだ示されていないためである。

M100-S10 より

『報告コメント』として多くの施設が、本菌は MRS であること、また本菌に対する β -ラクタム系抗菌薬の取り扱いについての注意を結果に添付していることが分かった。

以下に回答のあったコメントの抜粋を示す。

- * MRSA で MPIPC に R でありながら β ラクタム薬剤が S の判定のときはそれらを I で報告している。
- * 耐性菌については、耐性菌であることを記入しています。
- * ペニシリン系は SIR のかわりに BLA とする
- * メチシリン耐性菌です (MRS)
- * S.aureus は感受性ディスク MPIPC が (R) の場合は、MRSA と記入。
- * メチシリン耐性の菌株である。
- * MRSE のため抗菌薬選択時注意して下さい
- * Staphylococcus sp(CNS) 耐性菌
- * MRS です
- * MRCNS は全ての β -ラクタム剤に耐性です。
- * MRS と同定名のとなりに記入する。
- * MR-CNS
- * 全ての β -ラクタム薬に耐性の可能性があります
- * St. epidermidis(MRS)と報告。 β ラクタム剤は耐性と報告

『フリーコメント』としては、いくつかの施設から本菌の臨床的な解釈についての回答があった。設問の患者背景は、「患者はカテーテル管理を受ける 59 歳、女性。38.8 度の発熱。本菌は血液培養より分離。同時に抜去されたカテーテルの培養からも同一の菌が分離された」である。この背景からだけでは、まだ不明な点が多く残る。例えば・・・

- ・カテーテルを挿入して何日目の発熱なのか？
- ・カテーテルを抜去後、発熱は収まったのか？
- ・カテーテル挿入時の詳細な説明がない（手技に関する説明、使用した消毒薬など）
- ・三方活栓の利用はあったのか？
- ・患者に投与されていた抗菌薬とその期間は？

回答を頂いた施設の方は、日常の検査業務で遭遇する似たような事例を頭に浮かべながら、文章には挙げられていない患者背景を想像しコメント記載されたと思います。

以下に回答のあったコメントの抜粋を示す。

- * 留置カテーテルによる感染？当院でも今回の菌(MRCNS)が、最近多く見受けられる。
- * 三方活栓などのルートや消毒薬の汚染はありませんか。同室・同階の患者から同様な菌が検出されていませんか。
- * 今回検出された菌は病原起因菌として考えられます。
- * line sepsis が疑われる
- * Compromized hostを扱う病棟であれば院内感染対策をするべきである。

◆ アンケート結果

ベット数		技師数(人)	
50 以下	3	1	13
51～100	1	2	17
101～200	7	3	15
201～300	11	4	8
301～400	10	5	5
401～500	9	6	1
501～1000	16	7	2
1000 以上	3	8	1
(空白)	8	10	1
施設数	68	10～15	1
		(空白)	4
		施設数	68

CD-ROM の利用について	
現状のままでよい	13
コスト的に安価であるのならば利用する価値はある	36
積極的に導入を検討すべき	13
(空白)	6
施設数	68

問題量		程度		内容	
良い	21	良い	15	良い	14
普通	38	普通	45	普通	44
良くない	3	良くない	3	良くない	5
(空白)	6	(空白)	5	(空白)	5
総計	68	総計	68	総計	68

◆ 総括

《試料 1》

試料 1 は前述のように、毒素検査の実施状況の把握と、菌の法的な取り扱い、分離培地の使用状況を調査する目的で出題した。

糞便検査では、抑制力の強い培地（SS 寒天培地）と抑制力の弱い培地（DHL や BTB）を組み合わせることが望ましいと考える。DHL や BTB 寒天などの分離培地を用いていない施設があった。（試料 1 表 8 “網かけ” 部分）早急に改善する必要があると思われる。

どの施設も同定はできていたが本菌の法的取り扱いが様々であった。出題した菌は、ペロ毒素を産生しない株で届け出の必要はない。ペロ毒素陰性と判定しながら 3 類感染症として扱う施設や、毒素検査を行わずして毒素の有無を回答した施設があった。感染症新法の届け出が必要なものを再確認する必要があると考えられる。

以下に、感染症発生動向調査実施要綱に基づく 3 類感染症の報告基準を示す。

三類感染症

(1) 腸管出血性大腸菌症

[定義]

ペロ毒素 (Verotoxin、VT) を産生する腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *E.coli*、EHEC あるいは Shigatoxin-producing *E.coli*、STEC) の感染によっておこる全身性疾病である。

[臨床的特徴]

臨床症状はその血清型により差異があるが、一般的な特徴は腹痛、水様性下痢および血便である。嘔吐や 38℃ 台の発熱を伴うこともある。さらにペロ毒素の作用により溶血性貧血、急性腎不全をきたし、溶血性尿毒症症候群 (Hemolytic Uremic Syndrome、HUS) をひきおこすことがある。小児や高齢者では痙攣、昏睡、脳症などによって致命症となることがある。

[報告のための基準]

診断した医師の判断により、症状や所見から当該疾患が疑われ、かつ、以下の方法によって病原体診断がなされたもの。

(材料) 患者便等

[病原体の検出]

腸管出血性大腸菌を分離・同定し、かつ、分離された菌のペロ毒素産生性試験陽性またはペロ毒素遺伝子の確認 (PCR 法など) もしくは便中のペロ毒素の検出。

[備考]

腸管出血性大腸菌症には疑似症の適用はない。

わが国で分離される本菌の代表的な血清型は O157:H7 であるが、本症の診断には血清型の如何は問わない (報告に際しては血清型をあわせて報告することが望ましい)。

感染症新法の 3 類感染症（腸管出血性大腸菌感染症）の中で問題とされることは、検出された大腸菌のベロ毒素の産生性であって血清型ではない。

検体提出の翌日、疑わしいコロニーが発育した場合や患者の臨床症状から腸管出血性大腸菌感染症が強く疑われる場合、そのコロニーがベロ毒素産生の頻度が高いとされる血清型に凝集を示すかを確認する事は、その後の検査の過程において大きな手がかりとなり毒素証明までの時間短縮につながると考える。この事から、抗血清を用いた血清型別検査は、毒素検査を行う前の確認検査として有用であると考えられる。

ベロ毒素産生性 *E.coli* O157 の潜伏期は 4～8 日。初期症状は下痢、腹痛などで感染者の 38～61% でおびただしい量の血便を呈する。下痢発症後 6.5±2.8 日を経過すると、一連の微小血管障害である重症合併症（溶血性尿毒症症候群[HUS]、血栓性血小板減少性紫斑病[TTP]、脳症など）を認めるようになる。毒素検査を外注に出した場合、その結果を待たずして次の治療に入るものと思われる。迅速に菌が産生するベロ毒素を証明することは、患者の救命につながる。

施設の規模・事情などはあると思うが、院内検査室でベロ毒素の証明ができるということのメリットは大きいと考える。

《試料 2》

ディスク拡散法の成績はばらつきが大きく、希釈法の成績は収束した。最新の判定基準で判定されており問題はないと思われる。

正しく管理された感受性検査を行うこと、得られた成績を最新の”ものさし”で解釈し結果を報告することに努めたい。判定基準のマスタ更新はメーカー任せにせず、技師自身が情報の収集に時間を割き、マスタのメンテナンスを行うことが大切である。NCCLS documents は、治療・抗菌薬の選択にかかわるコメントも多数記載されており、単なる判定表ではない。じっくりと読み、毎日の仕事に活用してください。

最後になりましたが、お忙しい中でのサーベイへの参加ありがとうございました。

【参考文献】

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Fifth Edition M7-A5 M100-S10, 2000.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests-Sixth Edition; Approved Standard M2-A7 M100-S10, 2000.
3. 山本達男：病原性大腸菌 O157 とは、臨床と微生物 Vol. 23 : 781-784 , 1996.