

微生物部門

精度管理事業部員

榎山 弘

半田市医師会健康管理センター

TEL 0569-27-7965

実務担当者

内藤 淳 厚生連安城更生病院

微生物検査の精度管理調査

<はじめに>

平成 15 年度における微生物検査部門の精度管理事業として、2 種類の菌株における同定・薬剤感受性試験をアンケートをふまえて実施した。

<参加施設>

今回のサーベイは愛知県下 67 施設を対象とした。

<対象菌株>

対象菌株には、臨床分離株の 2 菌種 2 菌株を用い、仮想の臨床経過を設定して出題した。

試料 1 *Listeria monocytogenes*

試料 2 *Streptococcus agalactiae*

試料 1 および試料 2 は、単一の 1 コロニーを血液寒天培地で 18 時間培養した後、それぞれの菌をスティックで輸送培地（プロコート 栄研器材）に採取したものを試料とした。

なお、出題前に行った薬剤感受性成績の確認はディスク法では NCCLS 法、MIC 法では栄研化学のドライプレートを使用した。

<調査の目的>

- ・髄膜炎の起原菌はある程度微生物が限られている。その中でも同定検査において区別しなければならぬ菌が同定できるか。
- ・同定検査を実施したうえで、適正な薬剤感受性試験の成績を臨床に反映させているか。
- ・感染症新法の解釈について。
- ・愛知県下における髄液の微生物検査のアンケート調査。

<試料 1 の設問> 同定・薬剤感受性サーベイを実施

菌株の由来

免疫不全患者。65 歳女性。40℃の発熱と、意識混濁、項部硬直あり。本菌は腰椎穿刺により採取された髄液より分離された。

<試料 1 の結果>

試料 1 の同定検査菌名と測定装置を（表 1）に示す。

(表1) 成績菌名と測定装置

成績菌名	測定装置	件数
<i>Listeria monocytogenes</i>	用手法	22
	マイクロスキャン Walk Away 40 Walk Away 40SI	8
	マイクロスキャン Walk Away 96 Walk Away 96SI	6
	クリスタルリーダー	6
	ATB Expression, miniAPI	3
	マイクロスキャン オートスキャン4	2
	MIC2000	2
	バイテック 60, 120, 240, 480	2
	MR5000 MIC	1
	オートセプターシステム	1
<i>Listeria sp.</i>	用手法	4
	バイテック 32, JR	2
	ATB Expression, miniAPI	2
	オートセプターシステム	1
	バイテック 60, 120, 240, 480	1
<i>Enterococcus sp.</i>	用手法	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	用手法	1
Coagulase-negative staphylococcus	用手法	1
空白		1
総計		67

参加施設 67 施設のうち 66 施設 (98.5%) のにおいて菌の同定成績を得られたが、1 施設(1.5%) においてはグラム染色の報告に留まった。同定検査成績は属レベルまでと菌名までに大きく分かれていて、用手法が 29 施設 (43.3%)、自動機器が 37 施設 (55.2%) 使用されていた。今回の調査では自動機器を使用した施設が多く、中でもマイクロスキャンの使用が目立った。

試料 1 の使用試薬と同定菌名を (表 2) に示す。

(表 2) 使用試薬と同定菌名

試薬	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria sp.</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus sp.</i>	Coagulase-negative staphylococcus	総計
スタフィロブレイクポイント/ID S5-2 (876)	1					1
GP同定検査キット	11	1				12
ラビットID32ストレップアピ	1	2				3
アピ20		1				1
アピストレップ20	2	2				4
アピコリネ	6					6
その他のアピ	3	1				4
GPIグラム陽性菌同定カード	2	3				5
その他の日本ビオメリュー製品			1			1
Pos Combo 41J	10					10
Pos Combo 21B	1					1
Pos BPCombo31J	4					4
Pos BPCombo11J	1					1
Pos ID2	1					1
その他の栄研化学製品	1					1
IDテストFB-20	1					1
ストレプトグラム	1					1
Rap ID STR	1					1
従来法による同定 (自家製培地使用)	2					2
その他の同定キット				1		1
その他: フリーコメント欄へ入力	2					2
空白	2				1	3
総計	53	10	1	1	1	66

日本ビオメリューの製品が 23 施設で使用されていた。その中で、GPI グラム陽性菌同定カー

ドでは、菌名まで同定されたのが 2 施設、属レベルまでが 3 施設であった。また、アピ 20 では属レベルまでが 1 施設、アピストレップ 20 では菌名までが 2 施設、属レベルまでが 2 施設となった。アピコリネを使用した施設は 6 施設すべてが菌名まで回答し良好な成績であった。デイドベーリング社のパネルを使用した 17 施設はすべて菌名まで正しく同定されていた。誤同定の施設では 3 施設とも、その他の同定キットを使用していた。

試料 1 の性状検査項目を（表 3）に示す。

（表 3） 性状検査項目

グラム染色・形態	
陽性桿菌	62
陽性球菌	4
空白	1
総計	67

4℃における発育	
陽性	17
陰性	1
実施せず	43
判定不能	1
空白	5
総計	67

運動性	
陽性	29
空白	5
実施せず	32
判定不能	1
総計	67

溶血性	
β 溶血	53
実施せず	7
α 溶血	2
γ 溶血	3
空白	2
総計	67

本菌はグラム陽性で、両端鈍円の無芽胞短桿菌である。カタラーゼ陽性、オキシダーゼ陰性、VP 反応陽性で、30℃以下の培養で運動性を示し、5℃の低温でも発育増殖できる。通性嫌気性ではあるが、どちらかといえばやや微嫌気性で、半流動高層培地に穿刺培養すると培地表面から数 mm 下層に雨傘状の発育が認められる。血液寒天培地での弱い β 溶血を示す。

グラム染色は 66 施設 (98.5%) とほとんどの施設で実施されていたが、その内の 4 施設 (6.0%) で陽性球菌という回答であった。また、比較的回答の多かった性状検査は溶血性で 58 施設 (86.6%)、運動性では 29 施設 (43.3%)、4℃における発育では 18 施設 (26.9%) で実施されていた。

試料1の薬剤感受性の方法と使用試薬を（表4）に示す。

（表4） 感受性方法と試薬

感受性の方法	試薬	件数
微量液体希釈法	Pos Combo 41J	10
	その他のMIC-2000	9
	スタフィロブレイクポイント/ID S5-2 (876)	1
	その他の栄研化学・長瀬産業製品	2
	Pos BPCombo31J	4
	DP24	3
	AST-P525バイテック2グラム陽性菌感受性カード	1
	その他のセプター	3
	Pos BPCombo41J	1
	MICroFAST 3J	1
ディスク拡散法：昭和一濃度ディスク	その他の感受性培地	1
	感受性ディスク用培地N	1
	ミュラーヒントン寒天培地N	1
ディスク拡散法：NCCLS標準法※	ミュラーヒントンS	5
	ミュラーヒントンS羊血液	2
	空白	2
	ミュラーヒントン5%羊血液寒天培地	5
	感受性ディスク用培地N	1
	ミュラーヒントン寒天培地N	2
	ミュラーヒントンII寒天培地	2
	ミュラーヒントン寒天培地N血液寒天培地	1
	その他の感受性培地	3
ディスク拡散法：E-test	ミュラーヒントン5%羊血液寒天培地	1
空白		1
総計		63

微量液体希釈法を実施していたところは35施設（55.6%）で、半数以上が自動機器を使用していた。ディスク拡散法を実施したところは27施設（42.9%）あり、NCCLS標準法が23施設（85.2%）、昭和一濃度ディスクが3施設（11.1%）、E-testが1施設（3.7%）だった。

試料1の薬剤感受性成績でディスク拡散法を（表5）に示す。

本菌は出題前の検査でABPCのMIC[0.25μg/ml]を確認した。

（表5） ABPC感受性成績：ディスク拡散法
判定と感受性方法

ディスク拡散法ABPC		ABPC阻抑半径(mm)												空白	総計		
ABPC判定	感受性方法	14	19	20	22	23	25	26.15	27	28	30	32	33			37	
2+	ディスク拡散法昭和一濃度ディスク			1													1
3+	ディスク拡散法昭和一濃度ディスク											1	1				2
R	ディスク拡散法NCCLS標準法※	1															1
S	ディスク拡散法NCCLS標準法※		1		2	2	1	1	1	4	4	5		1			22
空白	空白																2
	ディスク拡散法NCCLS標準法※					1											1
総計		1	1	1	2	3	1	1	1	4	4	6	1	1	3		30

試薬と感受性方法

試薬	感受性方法	ABPC 阻山円径(mm)													空白	総計	
		14	19	20	22	23	25	26	15	27	28	30	32	33			37
その他の薬剤化学製品	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※										1	1					2
その他の感受性剤	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※				1								2				3
	ディスク拡散法 阻山円径度ディスク			1													1
ミラヒトンII 寒天対静也	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※	1				1											2
ミラヒトン5%羊血液寒天対静也	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※				1	1	1	1	1								5
ミラヒトンS	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※		1									2	1				5
ミラヒトンS羊血液	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※									2							2
ミラヒトン寒天対静也	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※											1		1			2
	ディスク拡散法 阻山円径度ディスク													1			1
ミラヒトン寒天対静也血液度対静也	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※										1						1
感受性ディスク用静也	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※									1							1
	ディスク拡散法 阻山円径度ディスク												1				1
空白	空白															2	2
	ディスク拡散法 NCCLS 集積法※					1						1					2
総計		1	1	1	2	3	1	1	1	4	4	6	1	1	1	3	30

ディスク拡散法では ABPC を R (耐性) と判定した施設が 1 施設 (3.3%) 認められた。また、空欄と未回答が 3 施設 (10.0%)、阻止円形のみが 1 施設 (3.3%) 得られた。S (感受性) と回答が得られた施設は 26 施設 (86.7%) で、阻止円形の範囲は 19~37 mm までという回答が得られた。

試料 1 の薬剤感受性成績で微量液体法を (表 6) に示す。

(表 6) ABPC 感受性成績：微量液体希釈法

判定と感受性方法

判定	感受性方法	MIC MC (μg/ml)												総計			
		≤0.12	<0.12	0.125	≤0.25	<0.25	0.25	≤0.5	0.5	≤1	>1	≥2	≥2				
S	ディスク拡散法 E-test 微量液体希釈法			1													1
		1	1		7	3	6	2	7	1	1	4	3	1			37
総計		1	1	1	7	3	6	2	7	1	1	4	3	1			38

試薬と感受性方法

試薬	感受性方法	MIC MC (μg/ml)												総計			
		≤0.12	<0.12	0.125	≤0.25	<0.25	0.25	≤0.5	0.5	≤1	>1	≥2	≥2				
AST155/576/274/114/114/114/114/114	微量液体希釈法				1												1
IP21	微量液体希釈法						3										3
MICd/AST3	微量液体希釈法											1					1
Rs IF Cnto3U	微量液体希釈法				1		3										4
Rs IF Cnto1U	微量液体希釈法						1										1
Rs Cnto4U	微量液体希釈法			1						4					2	2	10
スタフイノールイネン/D5F-2(876)	微量液体希釈法												1				1
オレオノールイネン/D5F-2(876)	微量液体希釈法													1	1		2
その他の MC-2000	微量液体希釈法								2	1	5	1					9
その他のヒクター	微量液体希釈法		1		1									1			3
その他の薬剤化学製品	微量液体希釈法									1	1						2
ミラヒトン5%羊血液寒天対静也	ディスク拡散法 E-test				1												1
総計		1	1	1	7	3	6	2	7	1	1	4	3	1			38

微量液体希釈法では ABPC の判定は 38 施設 (100%) すべてで S (感受性) という回答が得られた。特に多かった回答は $[0.5 \mu\text{g/ml}]$ が 7 施設 (18.4%) でそのうち 6 施設 (15.8%) が栄研化学の製品を使用していた。次に多かった回答が $[0.25 \mu\text{g/ml}]$ の 6 施設 (15.8%) でそのうち 4 施設 (10.5%) がデイドベーリング社の製品を使用していた。デイドベーリング社の製品は $[0.25 \mu\text{g/ml}]$ と $[2 \mu\text{g/ml}]$ 付近の回答に分かれた。

試料 1 の付加試験を (表 7) に、付加コメントを (表 8) に示す。

(表 7) 付加試験

【解析】付加試験	
	回答施設数
β ラクタマーゼ試験 (ニトロセフィン法) / 陰性	3

(表 8) 付加コメント

【解析】付加コメント	
	回答施設数
4類感染症として取り扱う	6
感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律に規定された菌ではない	6
保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要はない	1
VREではない	1

Listeria monocytogenes は食中毒病因微生物として指定されている。食中毒病因微生物ではあるがサルモネラ等のように急性胃腸炎の症状は少ない。病型として、ヒトでは髄膜炎や敗血症が多く、髄膜炎患者の髄液のグラム染色標本中にグラム陽性桿菌が認められればまず本菌を疑う。今回のような場合、定点病院では 4 類感染症として細菌性化膿性髄膜炎を届ける必要がある (現時点では感染症新法の変更により 5 類感染症となる)。

<試料 2 の設問> 同定・薬剤感受性サーベイを実施

菌株の由来

早産で分娩に長時間経過した生後数時間の女児。呼吸障害が認められた。本菌はこの女児の血液および髄液より分離された。

<試料 2 の結果>

試料 2 の同定検査菌名と測定装置を（表 9）に示す。

表 9 成績菌名と測定装置

成績菌名	測定装置	件数
<i>Streptococcus agalactiae</i>	用手法	27
	マイクロスキヤン Walk Away 40 Walk Away 40SI	7
	マイクロスキヤン Walk Away 96 Walk Away 96SI	6
	クリスタルリーダー	6
	バイテック 60,120,240,480	4
	ATB Expression,miniAPI	4
	MIC2000	3
	マイクロスキヤン オートスキヤン 4	2
	バイテック 32,JR	2
	MR5000 MIC	1
	RAISUS (ライサス)	1
オートセブクターシステム	1	
<i>Streptococcus sp.</i>	用手法	2
	オートセブクターシステム	1
総計		67

参加施設 67 施設すべてにおいて菌の正しい同定成績を得られた。属レベルまでの同定が 3 施設 (4.5%) で、菌名までの同定が 64 施設 (95.5%) という回答が得られた。属レベルまでの回答をした施設でも、迅速キットなどで B 群レンサ球菌使用をしたことがコメントに記されていた。なお、用手法を実施していたところが 29 施設 (43.3%)、自動機器を実施していたところが 38 施設 (56.7%) だった。そのうち、マイクロスキヤンが 15 施設 (22.4%) でもっとも多かった。

試料 2 の使用試薬と同定菌名を（表 10）に示す。

(表 10) 使用試薬と同定菌名

試薬	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	総計
ストレプトブレイクポイント/ID S5-2 (875)	2		2
GP同定検査キット	8		8
ラビッドID32ストレップアピ	5		5
アピストレップ20	4	2	6
GP1グラム陽性菌同定カード	6		6
Pos Combo 41J	9		9
Pos BPCombo31J	4		4
Pos BPCombo41J	1		1
Pos ID2	1		1
その他の栄研化学製品	4		4
RSCP1グラム陽性菌用迅速コンビプレート	1		1
ストレプトグラム	3		3
従来法による同定 (自家製培地使用)	6		6
その他の同定キット	4		4
その他:フリーコメント欄へ入力	4		4
空白	2	1	3
総計	64	3	67

デイドベーリング社のパネルを使用していたところが 15 施設 (22.4%) でもっとも多く、ついで日本ビオメリュー社の製品を使用していた施設が 12 施設 (17.9%) であった。どの試薬も正しく同定されていた。属レベルまでの同定をした施設では、2 施設 (3.0%) でアピストレップ 20 を使用していた。

試料 2 の性状検査項目を (表 11) に示す。

(表 11) 性状検査項目

グラム染色・形態	
陽性球菌	65
陰性球菌	1
空白	1
総計	67

カタラーゼ	
陰性	41
実施せず	25
空白	1
総計	67

溶血性	
β 溶血	58
α 溶血	1
α' 溶血	3
γ 溶血	2
判定不能	1
空白	1
実施せず	1
総計	67

CAMP試験	
陽性	9
陰性	2
判定不能	1
空白	3
実施せず	52
総計	67

本菌はグラム陽性球菌である。カタラーゼ陰性、オキシダーゼ陰性、馬尿酸水解試験陽性、通性嫌気性、CAMP 試験陽性、血液寒天培地で β 溶血を示す。

グラム染色は 66 施設 (98.5%) とほとんどの施設で実施されていたが、そのうちの 1 施設 (1.5%) が陰性球菌という回答であった。また、グラム染色以外で比較的实施したとの回答が多かった性状検査は、溶血性が 63 施設 (94.0%)、カタラーゼが 41 施設 (61.2%)、CAMP 試験が 11 施設 (16.4%) だった。

試料2の薬剤感受性の方法と使用試薬を（表12）に示す。

（表12）薬剤感受性の方法と使用試薬

感受性方法	試薬	件数
微量液体希釈法	ストレプトブレイクポイント/ID S5-2 (875)	2
	その他のセプター	3
	その他のグラム陽性菌感受性カード	1
	AST-P525バイテック2グラム陽性菌感受性カード	1
	Pos Combo 41J	7
	Pos BPCombo31J	3
	Pos BPCombo41J	1
	MICroFAST 3J	6
	DP24	3
	その他のMIC-2000	9
	その他の栄研化学・長瀬産業製品	2
	RSCP1グラム陽性菌用迅速コンピプレート	1
	空白	2
	ディスク拡散法：昭和一濃度ディスク	その他の感受性培地
感受性ディスク用培地N血液		1
ディスク拡散法：NCCLS標準法※	ミュラーヒントン5%羊血液寒天培地	7
	ミュラーヒントンS羊血液	4
	ミュラーヒントンS	1
	ミュラーヒントン寒天培地N血液寒天培地	1
	ミュラーヒントンII寒天培地	1
	ミュラーヒントン寒天培地N	1
	その他の栄研化学製品	2
	その他の日本ビオメリユーム製品	1
	その他の感受性培地	4
	従来法による同定（自家製培地使用）	1
総計		67

微量液体希釈法を実施していたところは41施設（61.2%）で、ディスク拡散法を実施していたところが26施設（38.8%）だった。ディスク拡散法ではNCCLS標準法が23施設（88.5%）、昭和一濃度ディスク法が3施設（11.5%）で実施されていた。試料1より微量液体法の使用が多かった。

試料2の薬剤感受性成績（ABPC）でディスク拡散法を（表13）に示す。

本菌は出題前の検査でABPCのMIC[$\leq 0.12 \mu\text{g/ml}$]を確認した。

（表13）薬剤感受性成績 ABPC 感受性成績：ディスク拡散法

判定と感受性の方法

ディスク拡散法: ABPC		ABPC 阻止円径(mm)											総計		
判定	感受性の方法	15	19	24	25	26	27	28	29	30	36	36.5		40	(空白)
空白														1	1
3+	ディスク拡散法: 昭和一濃度ディスク						2		1						3
I	ディスク拡散法: NCCLS標準法※					2									2
R	ディスク拡散法: NCCLS標準法※	1	1	1											3
S	ディスク拡散法: NCCLS標準法※			3	3		1	3	1	3	1	1	1		17
総計		1	1	4	3	2	3	3	2	3	1	1	1	1	26

試薬と感受性の方法

試薬	感受性の方法	ABPC 阻止円径(mm)											総計			
		15	15	24	25	26	27	28	29	30	36	36.5		40	(空白)	
ディスク拡散法: ABPC																
シラヘンツII 薬天増培	ディスク拡散法: NCCLS標準法※			1												1
シラヘンツIII 羊血琼脂増培	ディスク拡散法: NCCLS標準法※			2	1		1			1			1			7
その他の自家製薬	ディスク拡散法: NCCLS標準法※			1												1
シラヘンツS	ディスク拡散法: NCCLS標準法※			1												1
シラヘンツS 羊血琼脂	ディスク拡散法: NCCLS標準法※					1			1		1					4
その他の感受性増培	ディスク拡散法: NCCLS標準法※	1				1							1			4
その他の薬剤化学製品	ディスク拡散法: NCCLS標準法※									1						2
製薬用ディスク用増培(血琼)	ディスク拡散法: 3710-1標準ディスク						1									1
シラヘンツII 薬天増培I	ディスク拡散法: NCCLS標準法※															0
シラヘンツII 薬天増培II(庄瀬薬天増培)	ディスク拡散法: NCCLS標準法※															0
その他の感受性増培	ディスク拡散法: 3710-1標準ディスク					1			1	1						2
ほろろによる同定(自家製増培使用)	ディスク拡散法: NCCLS標準法※				1											1
総計		1	1	4	3	2	3	3	2	3	1		1	1	1	26

ディスク拡散法では ABPC を R (耐性) と判定した施設が 3 施設 (11.5%) 認められた。また、I (中間) と回答したところが 2 施設 (7.7%)、空欄が 1 施設 (3.8%) で、その他の 20 施設 (76.9%) は感受性 (S または 3+) と正しく判定された。

阻止円形の範囲は 15~40mm までの幅広い回答が得られた。

試料 2 の薬剤感受性成績 (ABPC) で微量液体法を (表 14) に示す。

(表 14) 薬剤感受性成績 ABPC 感受性成績: 微量液体法

判定と感受性方法

判定	感受性の方法	ABPC MIC (μ /ml)										総計	
		<0.12	\leq 0.12	0.12	<0.25	\leq 0.25	0.25	\geq 0.25	\leq 0.5	\geq 1	空白		
S	微量液体希釈法	2	12	3	2	11	6	1	1	1	1		40
空白	微量液体希釈法		1										1
総計		2	13	3	2	11	6	1	1	1	1	1	41

試薬と感受性方法

試薬	感受性の方法	ABPC MIC (μ /ml)										総計	
		<0.12	\leq 0.12	0.12	<0.25	\leq 0.25	0.25	\geq 0.25	\leq 0.5	\geq 1	空白		
ストレプトレークポイント/AD SG-2(875)	微量液体希釈法			2									2
その他のセプター	微量液体希釈法	1		1							1		3
その他のグラム陽性菌感受性カード	微量液体希釈法			1									1
AST-FC25/メテック/グラム陽性菌検査カード	微量液体希釈法						1						1
Fus Conbo 4I]	微量液体希釈法	1		6									7
Fus BFCombo3I]	微量液体希釈法					2	1						3
Fus BFCombo1I]	微量液体希釈法						1						1
MICofAST 3]	微量液体希釈法				2			3	1				6
DP24	微量液体希釈法						3						3
その他のMIC-2000	微量液体希釈法			1	1		4	3					9
その他の薬剤化学-長瀬製薬製品	微量液体希釈法						1				1		2
RSCP1グラム陽性菌用迅速検査レポート	微量液体希釈法											1	1
空白	微量液体希釈法			2									2
総計		2	13	3	2	11	6	1	1	1	1	1	41

微量液体希釈法では ABPC の判定は、空欄の 1 施設 (2.4%) を除いた 40 施設 (97.6%) すべてから S (感受性) という回答が得られた。特に多かったのは $\leq 0.12 \mu$ g/ml という回答が 13 施設、 $\leq 0.25 \mu$ g/ml という回答が 11 施設だった。

試料 2 の薬剤感受性成績 (LVFX) でディスク拡散法を (表 15) に示す。

本菌は出題前の検査で LVFX の MIC $\leq 1 \mu$ g/ml を確認した。

(表 15) 薬剤感受性成績 LVFX 感受性成績：ディスク拡散法

判定と感受性の方法

ディスク拡散法:LVFX		LVFX 阻止円径(mm)										総計	
判定	感受性の方法	8	11	16	16.5	17	18	19	20	21	22		23.35
2+	ディスク拡散法:昭和一濃度ディスク								1	2			3
I	ディスク拡散法:NCCLS標準法※			2									2
R	ディスク拡散法:NCCLS標準法※	1	1										2
S	ディスク拡散法:NCCLS標準法※				1	2	8	2	1	5	1	1	21
総計		1	1	2	1	2	8	2	2	7	1	1	28

試薬と感受性の方法

ディスク拡散法:LVFX		LVFX 阻止円径(mm)										総計	
試薬	感受性の方法	8	11	16	16.5	17	18	19	20	21	22		23.35
ムーラセプトンII寒天培地	ディスク拡散法:NCCLS標準法※						1						1
ムーラセプトン6%羊毛血液寒天培地	ディスク拡散法:NCCLS標準法※					1		1		3		1	8
その他の日本バイオメディア製	ディスク拡散法:NCCLS標準法※			1									1
ムーラセプトンS	ディスク拡散法:NCCLS標準法※						1						1
ムーラセプトンS羊毛液	ディスク拡散法:NCCLS標準法※				1	1			1				4
その他の感受性培地	ディスク拡散法:NCCLS標準法※					1	2			1	1		5
その他の栄養化学製品	ディスク拡散法:NCCLS標準法※						1	1					2
感受性ディスク用培地(血液)	ディスク拡散法:昭和一濃度ディスク									1			1
ムーラセプトン寒天培地N	ディスク拡散法:NCCLS標準法※									1			1
ムーラセプトン寒天培地N(血液寒天培地)	ディスク拡散法:NCCLS標準法※			1									1
その他の感受性培地	ディスク拡散法:昭和一濃度ディスク								1	1			2
従来法による判定(自家製培地使用)	ディスク拡散法:NCCLS標準法※												1
総計		1	1	2	1	2	8	2	2	7	1	1	28

ディスク拡散法ではLVFXをR(耐性)と判定した施設が2施設(7.1%)認められた。I(中間)と判定した施設が2施設(7.1%)、2+が3施設(10.7%)で、それ以外の21施設(75.0%)からはS(感受性)という回答が得られた。阻止円形の範囲は8~23.35mmまでの幅広い回答が得られた。

試料2の薬剤感受性成績(LVFX)で微量液体法を(表16)に示す。

(表 16) 薬剤感受性成績 LVFX 感受性成績：微量液体法

判定と感受性の方法

微量液体希釈法:LVFX		LVFX MC(μ /ml)								総計		
判定	感受性の方法	≤ 0.25	0.5	≤ 1	1	≥ 1	<2	≤ 2	2		≥ 2	空白
I	微量液体希釈法										1	1
S	微量液体希釈法	1	1	4	18	1	2	2	5	1		35
空白	微量液体希釈法			1							2	3
総計		1	1	5	18	1	2	2	5	1	3	39

試薬と感受性の方法

微量液体希釈法:LVFX		LVFX MC(μ /ml)										総計
試薬	感受性の方法	≤ 0.25	0.5	≤ 1	1	≥ 1	<2	≤ 2	2	≥ 2	空白	
オシホスークトイノIDS-2895	微量液体希釈法							1			1	2
その他のシクター	微量液体希釈法									1	2	3
その他のクラシフィック製培地カード	微量液体希釈法			1								1
AST-RE55テッククラシフィック製培地カード	微量液体希釈法								1			1
Rs Cmto4J	微量液体希釈法			2	5							7
Rs IF Cmto3J	微量液体希釈法						2	1				3
Rs IF Cmto1J	微量液体希釈法	1										1
MCuFST3	微量液体希釈法			1	4	1						6
IF21	微量液体希釈法				1				2			3
その他MC-300	微量液体希釈法			1	6				2			9
その他の栄養化学製培地	微量液体希釈法				2							2
RSC17クラシフィック製培地カード	微量液体希釈法			1								1
総計		1	1	5	18	1	2	2	5	1	3	39

微量液体希釈法ではLVFXの判定は1施設(2.6%)がI(中間)と判定し、3施設(7.7%)が空欄だったが、35施設(89.7%)ではS(感受性)という回答が得られた。特に多かったのは[1 μ g/ml]という回答が18施設(46.1%)で、つぎに[$\leq 1 \mu$ g/ml]と[2 μ g/ml]という回答が5施設(12.8%)だった。

試料2の付加試験を（表17）に、付加コメントを（表18）に示す。

（表17）付加試験

付加試験		回答施設数
ラテックス凝集反応による溶血レンサ球菌抗原検査／陽性		25
その他のラテックス凝集反応による検査／陽性		2
βラクタマーゼ試験（ニトロセフィン法）／陰性		1

（表18）付加コメント

付加コメント		回答施設数
4類感染症として取り扱う		6
感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律に規定された菌ではない		5
保健所長を經由して都道府県知事に届け出る必要はない		5
保健所長を經由して都道府県知事に届け出る必要がある		1
保健所長を經由して都道府県知事に届け出る必要があるかどうか不明である		1

付加試験ではラテックス凝集反応が多く施設で使用されていた。また付加コメントは、試料1と同様に細菌性髄膜炎のため基点の病院では4類感染症としての届出が必要になる。（現時点では感染症新法の変更により5類感染症となる）。

<アンケートより>

髄液検査使用培地	
チョコレート寒天培地	45
血液寒天培地(ヒツジ22、ウマ2、不明19)	43
GAM半流動培地	14
BTB寒天培地	13
HK半流動培地	10
ブルセラHK寒天培地	5
マッコンキー寒天培地	5
サブロー寒天培地	4
トリプトソイブイオン培地	4
カルチャーボトル	4
ブレインハートブイオン	4
C/S寒天培地	3
TGC培地	3
ヘモリンパフォーマンス	3
羊血液寒天/チョコレート	4
GAMブイオン	3
クロモアガーカンジダ	3
セアマーチン寒天培地	3
Chocolate II Agar	2
GC培地	2
チオグリコレート培地	2
デスオキシコレート培地	2
バシトラシン添加チョコレートII寒天培地	2
マンニット食塩培地	2
新C・S寒天培地	2
羊血液/BTB分画培地	2
食塩卵寒天培地	2
ポテトデキストロース培地	2
馬チョコレート寒天培地	2
ABHK寒天培地	1
BBLシエドラープロス	1
CCS寒天培地	1
DHL培地	1
Enriched Tioglicollate Medium	1
GM加GAM寒天培地	1
K1Hチオグリコレート培地	1
MGYM寒天培地	1
MPブイオン	1
NAC培地	1
TWINプレート9(ヒツジ/チョコ) 極東製菓	1
カンジダGE培地	1
カンジダ培地	1
サブローCP添加培地	1
ナジクス酸・ポリキシンB加血液寒天培地	1
嫌気性菌用非選択培地	1
総計	211

髄液検査の塗抹方法	
グラム染色	64
墨汁染色	3
空白	3
総計	70

塗抹検査の報告はどこまで行っているか	
細胞、菌の有無	5
グラム染色の染色性と形態	48
推定菌まで	11
総計	64

日曜、祝祭日の至急検体の対応	
実施せず	18
微生物検査担当者が実施	22
微生物検査担当者以外の当番が実施	15
その他	9
総計	64

微生物検査担当者以外が至急検査を行う場合	
マニュアルを見ながら検査する	11
事前に検査法の講習を実施	5
その他	2
総計	18

日常業務の疑問点を相談できる施設があるか	
ある	58
ない	5
総計	63

主な相談施設	
大学病院	8
近辺の病院	33
検査センター	4
製薬メーカー	1
試薬メーカー	6
その他の施設	6
総計	58

髄液検査の使用培地は血液寒天培地、チョコレート寒天培地を中心にさまざまな培地が使用されていた。比較的によくみられたのは、真菌、嫌気性菌を目的とした培地や増菌培地などの組み合わせだった。また、グラム染色は回答が得られた施設ではすべて実施されていたが、墨汁染色

の実施は3施設にとどまった。グラム染色の報告については48施設(75.0%)が染色性と形態の報告という回答で、推定菌まで報告している施設が11施設(17.2%)だった。次に日曜、祝祭日の至急検体の対応では、実施していない施設が18施設(28.1%)あった。実施している施設では微生物検査担当者が実施しているところが22施設(34.4%)でもっとも多く、他の検査担当者が実施しているところは15施設(23.4%)だった。なお、その際にはマニュアルを作成している施設が11施設(61.1%)と多かった。

また、ほとんどの施設が、日常業務の疑問点を相談できる施設があると回答していた。おもな相談施設は近隣の病院であると回答したところが33施設(56.9%)でもっとも多かった。

<まとめ>

今回の微生物検査部門の精度管理調査では、細菌性髄膜炎より分離されたと仮定した2種類の細菌を出題した。細菌性髄膜炎はウイルス性髄膜炎と比べると頻度は低いが、小児科領域では重篤な後遺症を残す疾患である。また、糖尿病や慢性肝疾患などの基礎疾患を高齢者や免疫不全患者にも発症させる。

細菌性髄膜炎は今回の試料1、2のように、年齢、基礎疾患によって起因菌が異なっており、抗生剤もそれに応じて変更する必要がある。試料1の *Listeria monocytogenes* は新生児に多いが、それ以降の乳幼児、学童ではごく少数である。今回のように成人が発症した免疫抑制症の場合は本菌の関与を想定する。試料2の *Streptococcus agalactiae* は生後3ヶ月未満の新生児と乳児で多い。この2菌種は血液寒天培地上で非常によく似たコロニーを形成するので、グラム染色で必ず確認する必要がある。試料1の *Listeria monocytogenes* はセファロスポリン耐性のため、ペニシリン系を使用しなければならない。また、試料2の *Streptococcus agalactiae* はペニシリン系感受性とされているが、菌株の一部は、ペニシリンに対し中間の結果になることがある。中間または耐性となった菌株は確認のために研究機関に照会すべきである。

抗菌薬の進歩した今日においても細菌性髄膜炎は重症で難治性の感染症であり、死亡したり後遺症を残したりする場合が少なくない。適切な初期治療を行うために、髄液の塗抹検査やラテックス凝集法などによる迅速診断を実施することが重要である。また、耐性菌が出現している場合が多いので、髄膜炎を起こしている菌はすべて適切な抗生物質の最小発育阻止濃度(MIC)を測定することが望ましい。

<<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2つの基準を全て満たすもの

1. 以下の臨床症状を呈するもの

- ・ 発熱、頭痛、嘔吐を主な特徴とする
- ・ 項部硬直、Kernig 徴候、Brudzinski 徴候などの髄膜刺激症状
(いずれも親生児や乳児などでは臨床症状が明らかでないことが多い)

2. 以下の検査所見を有すること

- ・ 髄液細胞数の増加（多核球優位であることが多い）
- ・ 髄液蛋白量の増加

※ 上記の基準が必ずしも満たされないが、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、病原体診断や血清学的診断によって当該疾患と診断されたもの

<備考>

- ・ 原因となる病原体が病原体診断や血清学的診断によって判明した場合には、病原体の名称についても併せて報告すること

<最後に>

今回の精度管理調査を実施したときには、細菌性髄膜炎は 4 類感染症の定点把握であったが、現在では 5 類感染症の定点把握になっている。

最後になりましたが、今回の精度管理事業に参加していただいた各施設の皆様にお礼申し上げます。

【参考文献】

- (1) 平成 14 年度愛知県臨床検査精度管理調査総括集
- (2) オーストラリア治療ガイドライン委員会：中枢神経系の感染症．抗生物質治療ガイドライン：73－78（2002）
- (3) 島田 馨，斎藤 厚：臓器別感染症の治療の実際とコツ 髄膜炎．感染症と抗生物質の使いかた（第 3 版）．文光堂
- (4) 保科 清：B 群レンサ球菌感染症と髄膜炎．臨床と微生物，23：65－67，1996．
- (5) 西坂 慎也，吉川 めぐみ，庄司 紘史：細菌性髄膜炎の診断プロトコール．Medical Technology，30：270－276，2002．
- (6) 中村 明：細菌性髄膜炎．検査と技術，30：620－624，2002．
- (7) インターネット ホームページ[感染症法に基づく医師から都道府県等への届出基準]
<http://www.pref.aichi.jp/eiseiken>