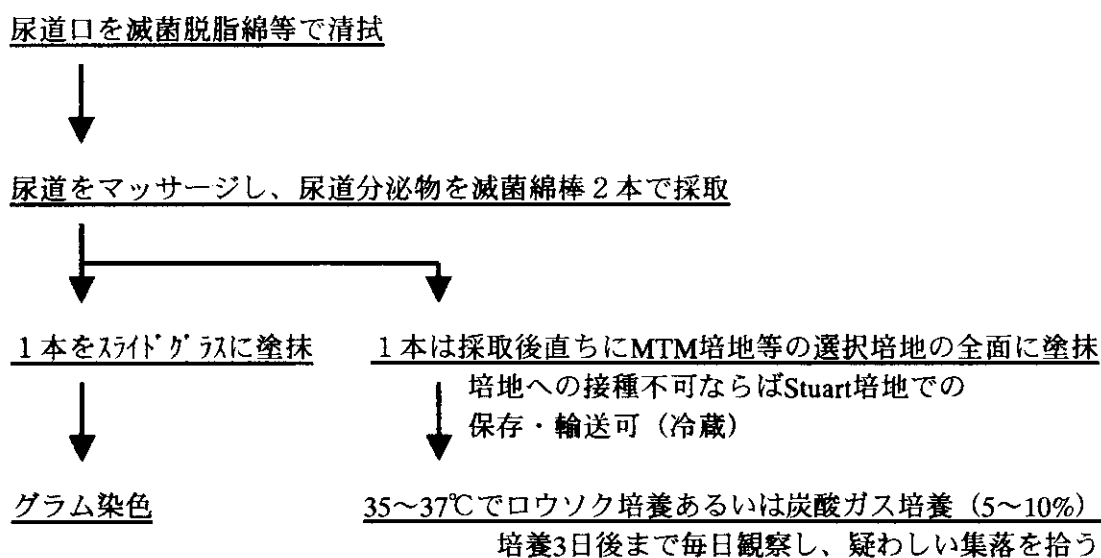
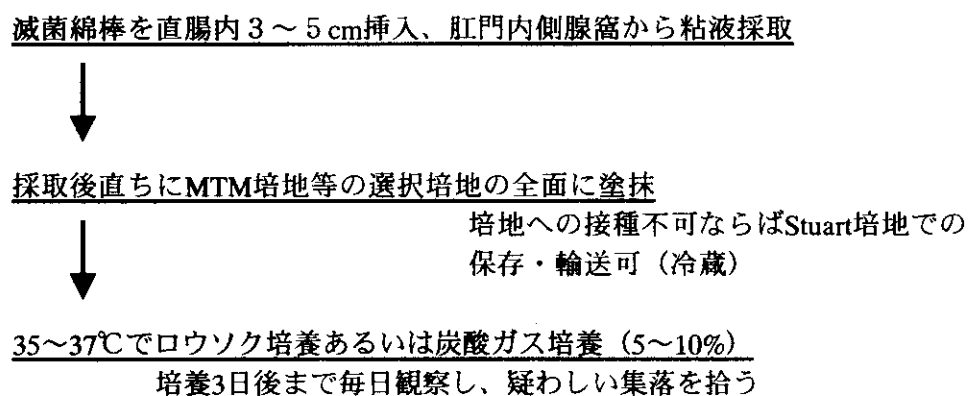


## 6. 尿道分泌物



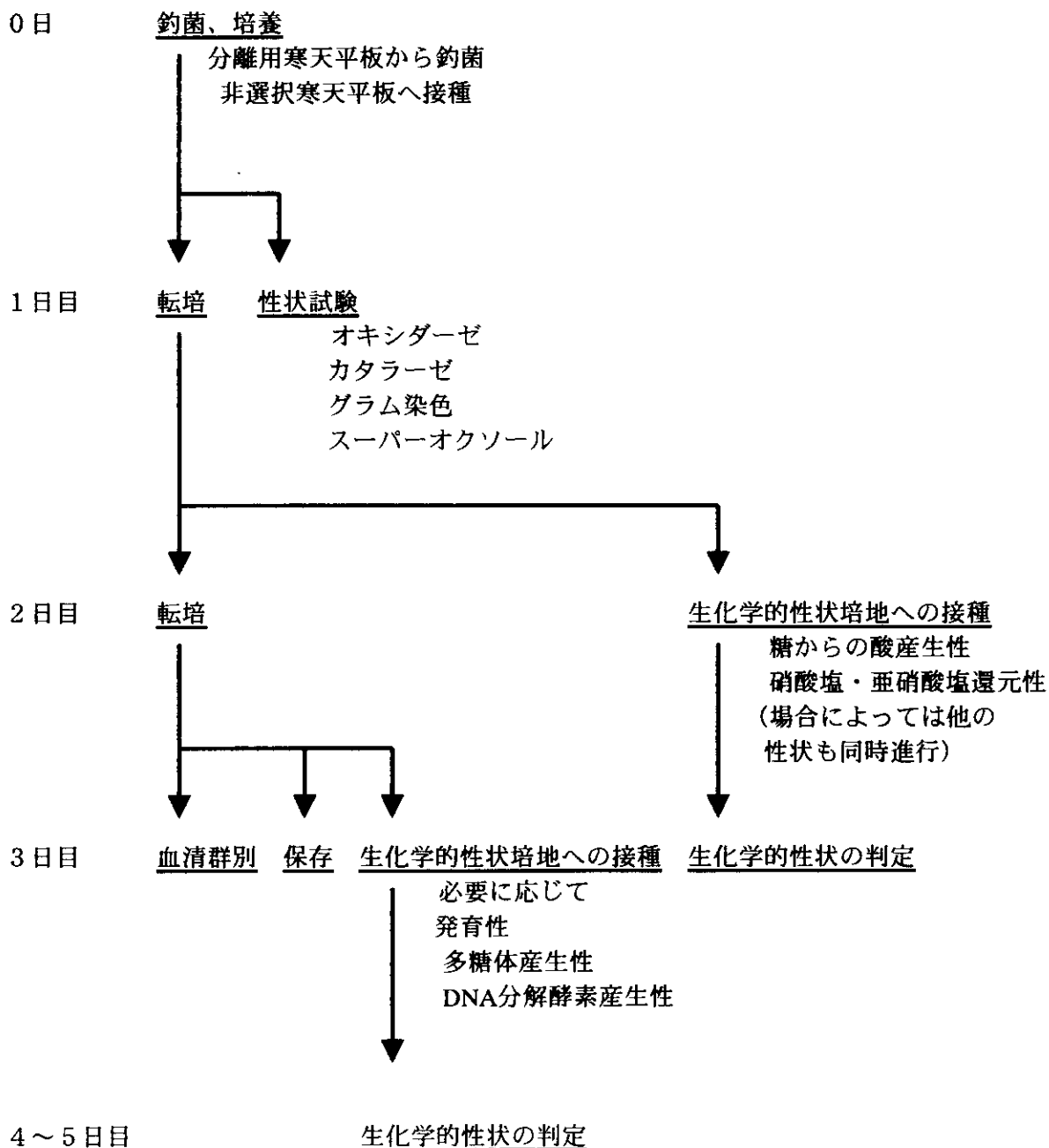
## 7. 直腸粘液



### Ⅲ. 菌の分離、同定・鑑別

#### 1. 分離菌の同定・鑑別作業日程の目安

検体を分離用寒天平板に接種してから*Neisseria*属菌の鑑別が完了するまで、通常4～7日を要する。以下に分離用寒天平板からの釣菌に続いて性状試験終了までの作業の流れと日程の目安を示す。



## 2. 釣菌

18～48時間培養後、寒天平板上の集落を観察

髄膜炎菌：直径1～2mm、灰白色、半透明、  
光沢のあるやや隆起した正円形集落

淋菌：直径0.5～1mm、灰白色から白色、  
T1、T2：小さく、不透明、光沢ある隆起した集落  
T3、T4：大きく、やや透明感、光沢のないやや扁平の集落

↓  
小さめの白金耳で多めに釣菌

白金耳の先に菌が見える菌量を拾う

↓  
非選択培地（血液寒天培地、Kellogg培地等）に転培

釣菌すべき集落が判別できない場合は、1% Tetramethyl- $\rho$ -phenyldiamine·HCl  
水溶液（オキシダーゼ試験試薬）を集落上に滴下し、オキシダーゼ陽性集落を30  
秒以内に拾う。

## 3. グラム染色

清浄なスライドグラス上に少量の精製水を滴下

↓  
新鮮集落から白金耳で菌を取り、精製水に浮遊

↓  
自然乾燥後、火炎固定

↓  
Huckerの変法でグラム染色

↓  
顕微鏡でグラム陰性双球菌であることを確認

#### 4. オキシダーゼ試験

新鮮集落に1% Tetramethyl- $\rho$ -phenyldiamine·HCl水溶液を滴下



数秒後、青紫色に発色

あるいは

1% Tetramethyl- $\rho$ -phenyldiamine·HCl水溶液をろ紙に滴下



新鮮集落から白金耳で菌を取り、ろ紙に塗抹



数秒後、青紫色に発色

#### 5. カタラーゼ試験、スーパーオクソール試験

Kellogg培地で炭酸ガス存在下35~37℃、16~18時間培養



集落上に あるいは シャーレに1白金耳の菌

3%過酸化水素水（カタラーゼ試験）滴下

30%過酸化水素水（スーパーオクソール試験）滴下



判定

発泡すれば陽性

## 6. 糖からの酸産生性

非選択平板培地（Kellogg培地等）1～2枚全面に菌を塗抹



炭酸ガス存在下35～37℃で、16～18時間培養



白金耳でかき取り、CTA培地表面から0.5～1cm程度に接種



1チューブ当たり2白金耳程度接種し、接種部を白濁  
最後に管底まで穿刺

大気中35～37℃で、18～24時間培養



判定

培地上部が黄変：陽性 vs 培地上部が赤変：陰性

培地全体が黄変または赤変：雑菌が混入

## 7. 硝酸塩・亜硝酸塩還元性

非選択培地（Kellogg培地等）で炭酸ガス存在下35～37℃、16～18時間培養



還元性試験用培地に1白金耳菌接種



大気中35～37℃で、24～48時間静置



試薬1と試薬2を等量混ぜ、2滴を培地に滴下



数秒後判定

硝酸塩培地：赤変＝陽性 vs 変化なし



亜鉛末の微量を添加

赤変＝陰性 vs 変化なし＝陽性

亜硝酸塩培地：赤変＝陰性 vs 変化なし＝陽性

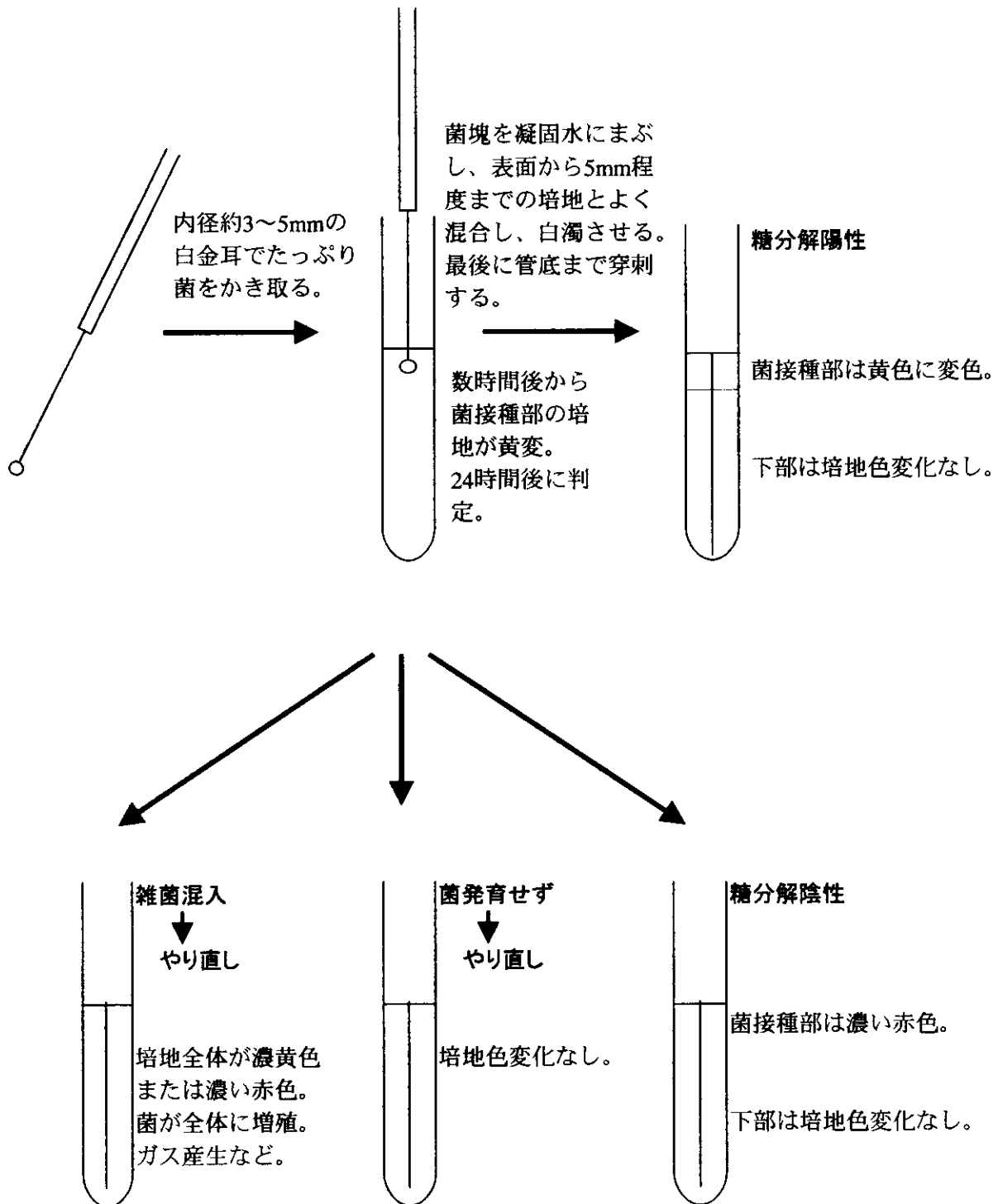


図5 *Neisseria*属菌のCTA培地への接種法と判定

## 8. 多糖体産生性試験

非選択培地（Kellogg培地等）で炭酸ガス存在下35～37℃、16～18時間培養



$10^{7\sim8}$ CFU/ml程度の浮遊液作製あるいは白金耳で濃厚に画線接種



1%シュークロース加寒天培地に接種



大気中、35～37℃、48時間培養



集落にLugol液滴下



判定

暗赤紫色から濃青色：陽性

## 9. 各種培地での発育性

非選択培地（Kellogg培地等）で炭酸ガス存在下35～37℃、16～18時間培養



$10^{6\sim7}$ CFU/ml程度の浮遊液作製



各種寒天培地に接種



MTM培地あるいはNYC培地

（MTM培地やNYC培地から分離した場合は不要）

Kellogg培地

食塩無添加培地

MTM培地あるいはNYC培地炭酸ガス存在下35～37℃で、48時間培養

Kellogg培地（22℃における発育）および食塩無添加培地大気中35～37℃、48時間培養

## 10. DNA分解酵素産生性試験

非選択培地（Kellogg培地等）で炭酸ガス存在下35～37℃、16～18時間培養



DNA分解酵素産生性試験用培地に濃厚に画線接種



炭酸ガス存在下35～37℃、24時間培養



1N 塩酸を培地全体に滴下



判定

集落周辺に透明帯：陽性

## 11. 群別用血清凝集反応

5%ウマまたはウサギ脱繊維血加TSA培地で炭酸ガス存在下35～37℃、16～18時間培養



菌を白金耳で取り、1 ml生食に浮遊



菌浮遊液を10分間煮沸



清浄なスライドグラスに抗血清を滴下



抗血清と菌浮遊液を混合、攪拌



凝集を観察



## Haemophilus 属菌の検査法

### I. Haemophilus 属菌の特徴

*Haemophilus* 属菌はグラム陰性の小桿菌 (0.2~0.5×0.3~2.0μm) であるが、培養条件により球状から紐状ないし繊維状になり多形性を示す。鞭毛はなく、芽胞も形成しない。通性嫌気性菌で CO<sub>2</sub> を要求する菌種もある。35~36℃が発育至適温度である。属名の *Haemophilus* は血液を好むという意味で、血液中にある X 因子 (ヘミン: hemin)、V 因子 (nicotinamid adenine dinucleotide: NAD) のどちらか一方、あるいは両方の因子を要求する。

*Haemophilus* 属菌は X 因子と V 因子の要求性により他の属と分けられている。また、両因子の要求性のプロファイルが菌種同定の基本となっている。したがって、X、V 因子の要求性は鑑別には不可欠であり、通常の検査において両因子とも発育に要求しない菌は *Haemophilus* 属菌ではないとすることができる。しかし、*Eikenella corrodens* は X 因子を要求する株が、*Pasteurella avium*、*P. volantium* および *Actinobacillus pleuropneumoniae* は V 因子を要求する株があるという例外もある。

*Haemophilus* 属菌は、知られる限り環境中に存在しない寄生菌で、ヒトや動物の正常フローラとして存在する。種々の要因により感染症の起因菌となる。*H. influenzae* は髄膜炎、敗血症、化膿性関節炎、肺炎、中耳炎などを起こし、さらに成人の急性、慢性呼吸器感染症の起因菌としても重要である。*H. ducreyi* は軟性下疳、*H. parainfluenzae* は口腔、鼻咽腔の常在菌で急性咽頭炎や心内膜炎、菌血症の原因となる。*H. aphrophilus* も上気道の常在菌であり、心内膜炎や脳膿瘍、肺炎、髄膜炎等を起こす。*H. haemolyticus*、*H. parahaemolyticus*、*H. paraphrophilus*、*H. segnis* なども上気道に生息し、日和見感染菌とみなされている。

### *H. influenzae*

大きさは 0.3~0.5×0.5~3.0μm、多形性であり、長い繊維状あるいは大桿菌状を呈することがある。また連鎖してレンサ球菌と似た形態をとることもある。グラム陰性で、極染色性を示すことがある。

生後 2 ヶ月~3 歳までは抗体が少ないため本菌に感染するが、抗体が高くなるにつれ罹患率が減少し大人では稀になる。感染経路は気道でありヒトの鼻咽腔に常在しているため、鼻風邪から副鼻腔炎、中耳炎、上気道炎、肺炎を起こし、多くの場合菌血症を伴って急性細菌性髄膜炎となる。乳幼児の髄膜炎や喉頭蓋炎の主要な原因菌であり、心膜炎、肺炎、関節炎、骨髄炎、顔面部蜂巣炎も引き起こす。

*H. influenzae* は、莢膜保有株と無莢膜株があるが、莢膜多糖類の抗原性の違いにより a~f までの 6 種の血清型に分類される。血清型と病原性には関連があり、重症全身感染 (血液、髄液等) からの分離株は b 型 (Hib) が多い。一方で、呼吸器感染や副鼻腔炎、中耳炎等では型別不能 (nontypeable) の無莢膜株が 90~95% を占める。

生化学的性状により I~VIII の 8 型の生物型に分けられる。髄液分離株は 90% 以上が I 型、血液分離株は I、II 型が多く分布し、慢性感染株では II、III 型が多いとされている。

小児の髄膜炎では、髄膜炎菌の流行時を除き本菌の b 型、I 型菌による場合が最も多い。また、生物型 III は流行性結膜炎の原因菌としても知られている。

ペニシリン分解酵素 (β-ラクタマーゼ) 産生菌も多く、薬剤感受性試験が必要である。

## II. 試薬と器材

### 1. 培地および試薬(*H. ducreyi* を除く)

#### 1) 増菌培地

血液の培養や髄液の予備的培養にトリプトソイブロスやブレインハートインフュージョンブロスを用いる。発育促進剤（ろ過滅菌した酵母エキス、IsoVitaleX(BBL)、supplement B(Difco)、Vitox(Oxoid)等）を加えると菌の発育が促進される。Sodium polyanetholesulfonate(PS)は菌の発育に抑制的に働くので、これが添加されている培地は使用を避ける方がよい。

#### 2) 分離継代用培地

##### (1) チョコレート寒天培地

基礎培地はトリプトソイ寒天培地、ハートインフュージョン培地等とし、5~10%にウマあるいはヒツジ脱繊維素血液を添加する。高圧滅菌後、約50℃まで冷まし、血液を加える。90~95℃になるまで加熱し、よく攪拌しながらチョコレート色にする。分注直前に発育促進剤（ろ過滅菌した酵母エキス、IsoVitaleX(BBL)、supplement B(Difco)、Vitox(Oxoid)等）を加えて、平板とする。酵母エキスは15%イーストエキストラクトをろ過滅菌して作製する。市販品（Difco等）がある。

市販のチョコレート寒天培地を使用することもできる。

##### (2) Fildes 寒天培地

トリプトソイ寒天培地、ハートインフュージョン寒天培地等の基礎培地にFildesの消化血液を5%に添加する。Fildesの消化血液は市販されている（Difco）。

#### Fildes enrichment

ヒツジ脱繊維血	25 ml
滅菌生理食塩水	75 ml
濃塩酸	3 ml
ペプシン	0.5 ml

無菌的に混和し、55℃の水浴中に4時間放置する。これに5N 水酸化ナトリウム水溶液を6ml加えてよく混和し、pHが7.0であることを確かめる。これに防腐剤としてクロロホルム0.25mlを加え、よく混和する。4℃に保存すれば数年間は保存できる。使用時に55℃に30分おいてクロロホルムを除いてから培地に添加する。

##### (3) レンビタールの培地

チョコレート寒天培地またはチョコレートブイオンを無菌的にろ過し、透明な培地を作製する。

#### (4) 血液寒天培地

トリプトソイ寒天培地、ハートインフュージョン寒天培地等の基礎培地にウサギまたはウマ脱繊維素血液を5~10%に添加して作製する。溶血性試験に用いる。

ヒツジ血液で作製した血液寒天培地では、血液中のヌクレオチド分解酵素により NAD が分解され、さらに正常抗体による殺菌作用により *Haemophilus* 属菌は発育が阻害される。

#### 3) 選択分離培地

チョコレート寒天培地あるいは Fildes 寒天培地にバシトラシンを 300mg/L に添加する。

#### 4) 生化学的性状試験用培地

##### (1) X因子およびV因子要求性試験用培地

トリプトソイ寒天培地を用いる。菌を接種後、X因子およびV因子をしみ込ませたディスクを置き、周囲での発育の有無を観察する。

##### (2) ポルフィリン試験

$\delta$ -アミノレブリン酸からポルフィリン類を経てヘミン (X因子) に変える菌は、X因子を要求しない。したがって本試験陽性菌はX因子非要求性、陰性菌はX因子要求性と判定する。

通常の検査で用いられる培地には微量のX因子が含まれていることが指摘されており、ポルフィリン試験はより信頼性の高いX因子要求性試験とされている。

下記の試験液を作製して検査する。試験用のディスク (Remel) も市販されている。

#### 基質液

$\delta$ -aminolevulinic acid (Sigma)	33.5 mg
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	19.7 mg
0.1mol リン酸緩衝液 (pH6.9)	100 ml

#### 対照用基質液

基質液から  $\delta$ -アミノレブリン酸を除いた液

#### (3) 溶血試験用血液寒天培地

上記のウサギまたはウマ脱繊維素血液加寒天培地を使用する。 $\beta$ 溶血の有無を観察する。

#### (4) 炭水化物分解能試験用培地

フェノールレッドプロス (Difco) にろ過滅菌した炭水化物 (ブドウ糖、ショ糖、乳糖、マンノースなど) を1%になるように加える。さらにヘミンおよび NAD を各々10 $\mu$ g/ml に添加する。または Fildes enrichment を2%に加える。

小試験管に1~2ml 分注し、密栓して冷蔵保存する。

- (5) インドール産生試験用培地  
トリプトファン溶液を0.5mlに分注する。

トリプトファン溶液

トリプトファン	100 mg
0.05mol リン酸緩衝液 (pH6.8)	100 ml

- (6) ウレアーゼ産生試験  
尿素溶解用液を高圧滅菌し、ろ過滅菌した尿素液を加えて0.5mlずつ分注する。

尿素培地

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.1 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.1 g
NaCl	0.5 g
0.2% フェノールレッド液	0.5 ml
精製水	100 ml

pH7.0として高圧滅菌する。ろ過滅菌した20%尿素液10.4mlを加える

- (7) オルニチン脱炭酸試験  
メーカーの脱炭酸試験用基礎培地 (Difco) にオルニチンを1%に添加し、0.5mlずつ分注する。

5) オキシダーゼ試験用試薬

1% Tetramethyl-*p*-phenylenediamine·HCl水溶液を作製し、少量ずつ分注して冷凍保存する。赤変した、あるいは一度解凍した溶液は廃棄する。

市販の試薬を使用することもできる。

6) カタラーゼ試験用試薬

カタラーゼ試験には3%過酸化水素水を用いる。

7) ペニシリン分解酵素産生性試験用試薬

インフルエンザ菌にはペニシリン分解酵素 (β-ラクタマーゼ) 産生能を有する株がある。この検出には、ニトロセフィン粉末キット (Oxoid) や検出用試験紙 (Oxoid, Glaxo) が市販されている。

### Ⅲ. 分離同定

#### 1. 推定

##### 1) 検体の塗抹染色標本と鏡検

*Neisseria* 属菌に準じる。標本中にグラム陰性小桿菌が観察されるが、培養条件により多形性を示す。

##### 2) ラテックス凝集反応、共同凝集反応

ラテックス凝集反応を利用したスライデックスメニンギートキット(bio Merieux)と共同凝集反応を用いたファディレクト ヘモフィルス テスト(Pharmacia)が市販されている。血清型 b 型のみ凝集する。

##### 3) *H. influenzae* の髄液からの PCR 法による検出

髄膜炎菌、インフルエンザ菌および *Streptococcus* 属菌を同時に検出するシステムが報告されている<sup>1)</sup>。

#### 2. 菌の分離

##### 1) 分離の対象となる検体

患者の血液、髄液、咽頭粘液、喀痰、膿瘍内容物、眼脂、関節腔液、中耳分泌物等が検査の対象となる。

##### 2) 髄液からの分離

髄液を 3,000rpm で 20 分遠心し、滅菌パスツールピペットで 1 滴程度の沈渣をチョコレート寒天培地と血液寒天培地に接種する。ただし髄液量が 1ml 以下であれば遠心せずにそのまま接種する。

検体を接種した平板を 5~10%CO<sub>2</sub> 環境下 (あるいはロウソク培養)、35~37℃で 18~24 時間培養し、集落を観察されれば継代して同定を行う。集落を観察されなければ 3 日目まで培養し、毎日観察する。

可能であれば、予備的に寒天平板による分離と併用して、髄液の一部をトリプトソイブロスあるいはブレインハートインフュージョンブロス (+発育促進剤) 等の液体培地に接種して 35~37℃で培養し、7 日目まで菌の発育を毎日確認するとともに、18~24 時間後、48 時間後および 7 日後にチョコレート寒天培地等に接種して菌の存在を確認する。

髄液は採取直後に培地に接種することが望ましいが、そうでなければ極力 1 時間以内に接種する。その場合、髄液の入ったチューブの栓をゆるめて 5%CO<sub>2</sub> 存在下、35~37℃で保管する。

5%CO<sub>2</sub> の環境が得られなければ密栓して 4~5℃あるいは室温 (22℃前後) で保管するのが望ましい。髄液の pH が急激に上昇して髄膜炎菌等の病原菌の生存性に影響を与えるとの報告<sup>2)</sup> があるため、決して大気中に (あるいは密栓したまま) 30℃以上で放置してはならない。

また1時間を過ぎる場合は4～5℃あるいは室温で保管するが、できるだけ早く培地に接種する。輸送などにより採取後1時間以内に寒天培地に接種することができないことが髄液採取当初から分かっている場合は、T-I medium に接種することが勧められている<sup>3)</sup>。

髄液以外の、通常は無菌である検体（関節腔液等）は髄液と同様に扱う。

### 3) 血液からの分離

髄膜炎菌性髄膜炎を含む細菌性髄膜炎では、血液は採取直後に血液培養用液体培地に接種する。接種する血液量は、培地容量に対して1:5から1:10となるように、5～10mlを50mlの培地に接種する。幼小児では1:10～20程度になるように、1～2mlの血液を20mlの培地に接種する。

培地は通気性を保ち、3～10%CO<sub>2</sub>環境下、35～37℃で培養し、7日後まで毎日観察する。菌の増殖が観察されたら培地の一部を無菌的に血液寒天培地とチョコレート寒天培地に接種する。菌の増殖が観察されなくても18～24時間後、48時間後および7日後に血液寒天培地とチョコレート寒天培地に接種して菌の増殖の有無を確認する。

*Haemophilus* 属菌は液体培地中で発育しても濁りや菌塊が観察しにくく、見落としやすい。検体を接種した液体培地に何の変化が見られなくても定期的に転培して菌の有無を確認しなければならない。

市販の血液培養用キット（Isolator 等）を利用することもできる。

### 4) 髄液、血液以外の検体からの分離

喀痰や咽頭粘液等のように混在菌の多い検体は、選択培地に接種し、5～10%CO<sub>2</sub>環境下（あるいはロウソク培養）、35～37℃で培養すると、24～48時間で集落は観察されるが、観察されない場合3日目まで培養する。

## 3. 鑑別・同定

### 1) *H. influenzae* の集落

#### (1) チョコレート寒天培地

集落は非常に小さい（0.5～1.5mm）露滴状でのちR型菌に似てくる。

血液、髄液から分離されるb型の集落はムコイドを呈し、直径1～2mmの灰白色、湿潤でバター状の柔らかい集落を形成する。

時間が経過すると中心が自己融解して陥没し、S型菌はしばしば莢膜が消失してR型集落に変わり病原性を失う。

#### (2) Fildes 添加寒天培地

青みがかった透明な集落となり、莢膜保有株の特異光沢がみられる。

## 2) 確定試験

### (1) X、V 因子要求試験

X、V 因子要求試験では、まず純培養菌をトリプティックケースソイブロスに浮遊させ McFarland No. 1 程度の菌液をつくる。

トリプトソイ寒天培地に菌液 0.1ml をコンラージ棒でひろげ、菌液が吸収されたのを確認して X、V、XV のディスクをできるだけ離して置く。これを 5~10%CO<sub>2</sub> 環境下、35~36℃で 18~24 時間培養する。

各ディスク周囲の菌の発育状態から発育要求因子を判定する。

### 判定

X 因子・XV 因子ディスク周辺菌発育	X 因子要求性
V 因子・XV 因子ディスク周辺菌発育	V 因子要求性
XV 因子ディスクのみ周辺菌発育	XV 因子要求性

菌液作製時、もとの増菌培地から菌体とともに発育因子を持ち込まないように注意する。

### (2) ポルフィリン試験

基質液および対照用基質液各 0.5ml を分注し、新鮮培養被検菌を濃厚に懸濁させる。35~37℃で 4 時間培養後、UV ランプ (340nm) を当てて観察する。赤色蛍光を発すれば陽性 (X 因子非要求)、無色であれば陰性 (X 因子要求) と判定する。

菌懸濁液を 35~37℃でさらに 24 時間後まで培養し、Kovac 試薬 0.5ml を添加し、混合する。静置後、下層 (水層) が赤色ならば陽性 (X 因子非要求)、無色ならば陰性 (X 因子要求) と判定する。

産生されたポルフィリン類のため下層 (水層) が赤くなっている場合は陽性とし、試薬の添加は不要である。

インドール産生菌は上層部赤色になるので、必ず対照を置き比較判定する。

ポルフィリン試験用ディスクの場合は、ディスクを滅菌シャーレに入れ、40μl の滅菌水を滴下し、新鮮培養菌を塗抹して 35~37℃に 4 時間静置後、UV ランプ (340nm) を当てて観察する。赤色蛍光を発すれば陽性 (X 因子非要求)、無色であれば陰性 (X 因子要求) と判定する。ディスクを 4 時間静置する際に、シャーレに湿らせたろ紙等を入れて乾燥を防ぐ。

### (3) 溶血性試験

5%ウサギまたはウマ血液加寒天培地に画線に塗抹し、5~10%CO<sub>2</sub> 環境下、35~37℃で 18~24 時間培養する。β溶血が観察されれば、溶血陽性とする。

### (4) 炭水化物分解試験

ろ過滅菌した炭水化物 (グルコース、シュクロース、ラクトースなど) を 1%に加えたフェノールレッドブロス 1~2ml に新鮮培養被検菌を接種し、35~37℃で 5 日間観察する。ブロスが黄色に変化したら炭水化物分解陽性とする。

### 3) 生物学的性状検査

#### (1) インドール産生試験

トリプトファン溶液 0.5ml に新鮮培養被検菌を濃厚懸濁し、35～37℃で4時間培養後、Kovac 液を添加する。赤色に変化したら陽性とする。

#### (2) ウレアーゼ産生試験

尿素培地 0.5ml に新鮮培養被検菌を濃厚懸濁し、35～37℃で4時間培養する。赤色に変化したら陽性とする。

#### (3) オルニチン脱炭酸試験

オルニチンを1%に添加したメーラーの脱炭酸試験用基礎培地に新鮮培養被検菌を濃厚に懸濁し、35～37℃で4時間培養する。紫色に変化したら陽性とする。不明瞭な場合はさらに一夜培養する。

### 4) 生物型

インドール、ウレアーゼ、オルニチン脱炭酸試験の3項目で分類され、型別不能は少ない。*H. influenzae* がⅠ～Ⅷの8型、*H. parainfluenzae* がⅠ～Ⅷの7型（Ⅴ型を除く）に分類されている。

### 5) 血清型別

莢膜は、培養時間が長いと消失することがあるので、できるだけ新鮮培養菌を用いる。

スライド凝集試薬として、Wellcome(英国)：a, b, c, d, e, f型血清、Difco(米国)：a, b, c, d, e, f型血清および多価血清、デンカ生研(日本)：a, b, c, d, e, f型血清が市販されている。

ラテックス凝集試薬にはスライデックスメニンギートキット (bio Merieux)、共同凝集試薬にはファデバクト ヘモフィルステスト (Pharmacia) があり、いずれもb型のみ検出することができる。

### 6) ペニシリン分解酵素産生性試験

ペニシリン分解酵素産生性試験は、淋菌に準じる。ニトロセフィン溶液を直接16～18時間培養した集落に滴下するか、ろ紙にニトロセフィン溶液を滴下し、これに菌を塗抹して、赤紫色に発色した菌を陽性とする。

市販の試験紙には発色性基質をしみ込ませて乾燥させてあり、滅菌精製水を滴下し、新鮮菌を塗抹して紫色に発色すれば陽性とする。



表1 *Haemophilus* 属菌の生化学的性状

	<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenzae</i>	<i>H. haemolyticus</i>	<i>H. parahaemolyticus</i>	<i>H. paraphrophilus</i>	<i>H. aphrophilus</i>	<i>H. segnis</i>
X因子要求性	+	-	+	-	-	+ <sup>a</sup>	-
V因子要求性	+	+	+	+	+	-	+
ポルフィリンテスト	-	+	-	+	+	w	+
溶血性	-	-	+	+	-	-	-
インドール産生性	v	v	v	-	-	-	-
ウレアーゼ	v	v	+	+	-	-	-
オルニチン脱炭酸	v	v	-	v	-	-	-
炭水化物分解能							
グルコース	+	+	+	+	+	+	w
シュクロース	-	+	-	+	+	+	w
ラクトース	-	-	-	-	+	+	-
マンノース	-	+	-	-	+	+	-
オキシダーゼ	+	+	+	+	+	-	-
カタラーゼ	+	v	+	v	-	-	w/-
CO <sub>2</sub> による発育促進	-	-	-	-	+	+	-

v : 株により異なる。

表2 *Haemophilus influenzae* の生物型

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
インドール	+	+	-	-	+	-	+	-
ウレアーゼ	+	+	+	+	-	-	-	-
オルニチン脱炭酸	+	-	-	+	+	+	-	-

表3 *Haemophilus parainfluenzae* の生物型

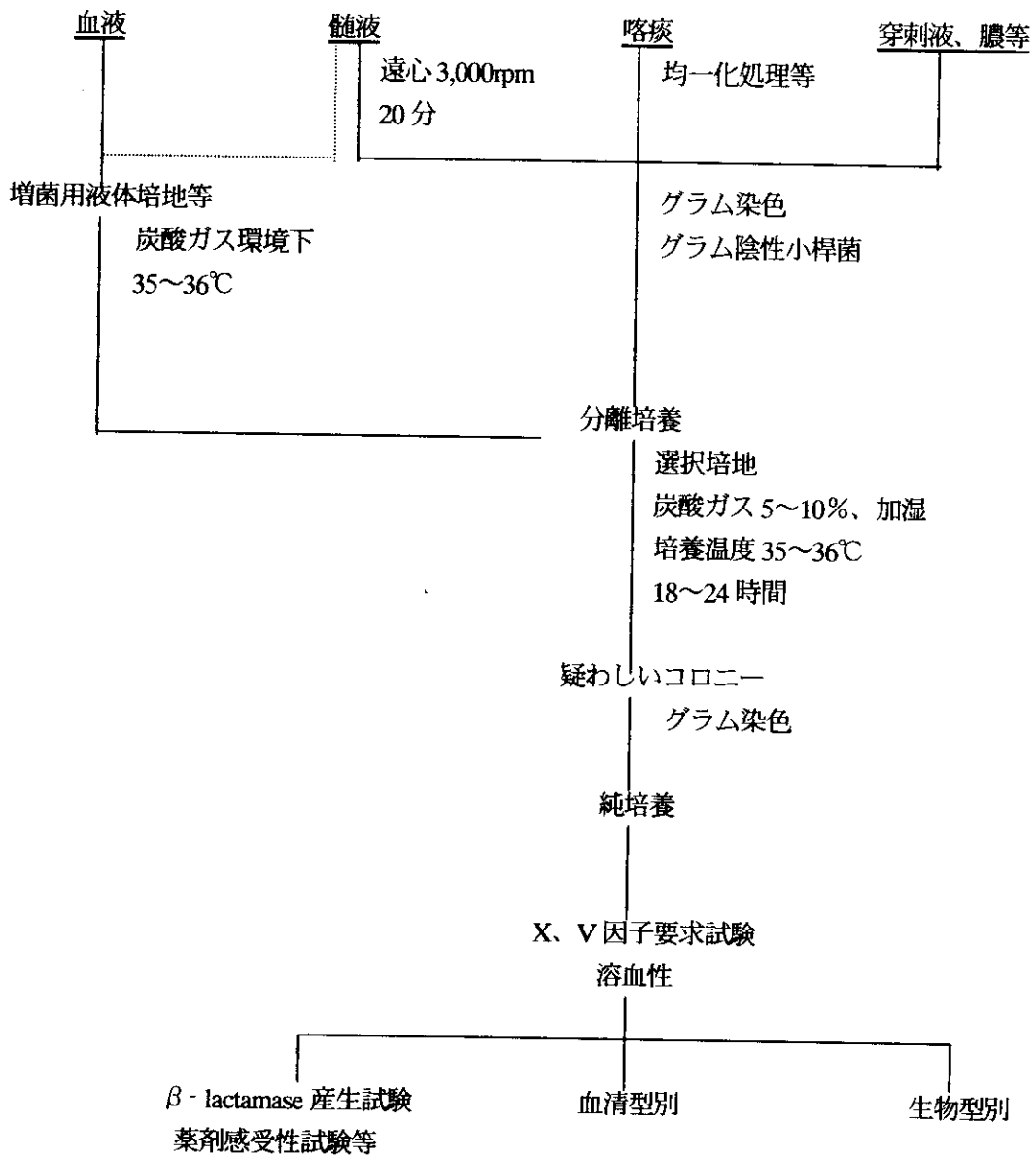
	I	II	III	IV	VI	VII	VIII
インドール	-	-	-	+	+	+	+
ウレアーゼ	-	+	+	+	-	+	-
オルニチン脱炭酸	+	+	-	+	+	-	-

生物型Vは種が確定していないので表から除いた。

#### 文献

- 1) P. Radstrom et al: Detection of bacterial DNA in cerebrospinal fluid by an assay for simultaneous detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and Streptococci using a seminested PCR strategy. J. Clin. Microbiol. 1994; 32:2738-2744.
- 2) J.G.Cunniff, S.Whitby-Stevens and M.H.Wilcox: Effect of pH changes in cerebrospinal fluid specimens on bacterial survival and antigen test results. J.Clin.Pathol. 1996;49:249-253.
- 3) G.W.Ajello et al: Trans-Isolate medium: a new medium for primary culturing and transport of *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*. J. Clin. Microbiol. 1984; 20:55-58.

図1 *Haemophilus* 属菌の検査法 (*H. ducreyi* を除く)



厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
髄膜炎菌性髄膜炎の発生动向調査及び検出方法の研究  
分担研究報告書

平成12年度の成績、検査法検討及び健康保菌者調査

分担研究者 井上 博雄 愛媛県立衛生環境研究所長

研究要旨

当研究班の活動目標のひとつである検査法の普及定着のため、平成12年秋各ブロックで行なわれた「髄膜炎菌等の研修会」（山井研究班長から報告）での研修に基づき、調査集団対象への趣旨の周知とインフォームドコンセントを徹底し調査した。主として青年層で扁桃スワップでの健康保菌者の検出状況は髄膜炎菌（0.3%）、インフルエンザ菌（12%）、溶連菌（10.0%）であった。特に髄膜炎菌は発端者（女子大生）の親密な友人も菌陽性であり、保菌者から親密度に応じ感染が伝播されていることが示唆された。

研究協力者

福島県衛生公害研究所	力田 正二
神奈川県衛生研究所	黒木 俊郎
石川県保健環境研究所	庄田 丈夫
香川県衛生研究所	山西 重機
愛媛県立衛生環境研究所	田中 博
大分県衛生環境研究センター	帆足 喜久雄

分県衛生環境研究センターで検査体制をセットアップし、健康保菌者調査に着手した。調査協力者は各地研で選定し、神奈川から提示された「調査材料採取のお願いについて」（資料1）をモデルとして説明し、インフォームドコンセントとして、協力者から「調査協力承諾書」（資料2）を署名のうえ回収した。

A. 研究目的

国内においては髄膜炎菌性髄膜炎の患者発生は戦後の約4,400人をピークとし昨年は13人と激減している。一方諸外国では多数の患者が毎年のように発生し、海外に由来する流行株の持ち込みなどによる不測の流行発生の可能性があるが、わが国における現状把握は不十分であり、特に細菌学的監視体制の強化が求められる。

本研究では検査法の検討、普及を図るとともに特に健康保菌者の実態把握を行い、流行予防に資することを目的とする。

B. 研究方法

今年度は福島県衛生公害研究所、神奈川県衛生研究所、石川県保健環境センター、香川県衛生研究所、愛媛県立衛生環境研究所、大

分県衛生環境研究センターで検査体制をセットアップし、健康保菌者調査に着手した。調査協力者は各地研で選定し、神奈川から提示された「調査材料採取のお願いについて」（資料1）をモデルとして説明し、インフォームドコンセントとして、協力者から「調査協力承諾書」（資料2）を署名のうえ回収した。

髄膜炎菌分離同定は、今年度各ブロックで行なわれた研修会での方法に準じ行なわれた。なお詳細は当研究班の今年度の成果としてまとめられた「病原性 *Neisseria* 属菌検査マニュアル」に記載されている。略記すると両側扁桃部をそれぞれ1本ずつの綿棒でぬぐい取り採取後直ちにMTM培地、次いでインフルエンザ菌検査を目的として、バシトラシン加チョコレート寒天培地に塗抹、次いで溶連菌検査の目的でSEBブイヨンに2本の綿棒を入れ、増菌後血液寒天培地に塗抹した。37℃でローソク培養を行なった。

C. 研究結果

1. インフォームドコンセントについて

各地研とも方法に記した神奈川モデルに準じて充分説明し、同意書に署名の得られた協力者について検査を行なった。