

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
平成 14 年度分担研究報告書

髄膜炎菌性髄膜炎検査法の発生動向調査及び検出方法の研究

髄膜炎菌検査法に関する外部精度管理調査

主任研究者 益川邦彦 神奈川県衛生研究所長

研究要旨

髄膜炎菌を調査対象とした外部精度管理調査の手法を検討し、さらに地方衛生研究所での髄膜炎菌検査法の定着を確認することを目的として、外部精度管理調査を実際実施した。髄膜炎菌は輸送・保存が比較的難しいため、試料の作製方法を検討した。本研究の保菌者調査に参加している 8 地方衛生研究所に対して外部精度管理調査用試料を送付し、試料中の細菌の分離と鑑別が行われた。参加した地方衛生研究所からは期待される結果が得られた。

研究協力者

大谷勝実 山形県衛生研究所
長沢正秋 福島県衛生研究所
芹川俊彦 石川県保健環境センター
中嶋 洋 岡山県環境保健センター
砂原千寿子 香川県環境保健研究センター
田中 博 愛媛県立衛生環境研究所
帆足喜久雄 大分県衛生環境センター
久高 潤 沖縄県衛生環境研究所
浅井良夫 神奈川県衛生研究所
渡辺祐子 神奈川県衛生研究所
黒木俊郎 神奈川県衛生研究所

A. 研究目的

髄膜炎菌を含む *Neisseria* 属菌といった栄養要求性が高い細菌は、特殊な培地や性状検査法を必要とする。そのため検査法の普及には、研修とともにその後の支援が欠かせない。支援のひとつとして外部精度管理があるが、髄膜炎菌のような輸送・保存が難しい細菌は検体の作製や配付には特別の配慮をしなければならない。そこで、外

部精度管理手法の検討と検査技術が普及したことを確認することを目的として、健康保菌者調査を行った地方衛生研究所を対象にして外部精度管理を実施した。

B. 研究方法

1) 使用した菌株

外部精度管理用試料は、咽頭スワブ擬似

検体とした。擬似検体を作製するために、健康保菌者調査において MTM 培地上の発育した *Neisseria* 属ではない 3 菌種の 3 株を採取し、保存しておき、混在菌として使用した。3 株のうち、2 株はグラム陰性桿菌であり、1 株はグラム陽性球菌であった。

外部精度管理に使用した髄膜炎菌と *Neisseria lactamica* はゼラチン・ディスク法で -80°C で保存し、必要に応じて Kellogg 培地で培養して用いた。

2) 試料の作製

擬似試料は 3 種類の検体を作製した。1 つは上記の 3 株のみを混合した。残りの 2 試料には上記の 3 株と髄膜炎菌あるいは *N. lactamica* を混合した。1 回目の外部精度管理では、菌株を PBS に浮遊し、その 0.05ml を滅菌綿棒に染み込ませた。菌混合液を付着された綿棒は -40°C に保存し、冷凍状態で各地方衛生研究所に配付した。

2 回目の調査では、ゼラチン・ディスク法によりディスクを作成して試料とした。1 試料は *Neisseria* 属ではない上記の 3 菌株のみとし、残りの 2 試料は髄膜炎菌あるいは *N. lactamica* を *Neisseria* 属ではない上記の 3 菌株と混合した。各地方衛生研究所へは、各試料のディスクの 2 枚ずつを冷蔵で配付した。検査の結果は、資料 1 に示した回答票に記載して FAX あるいはメールにて回答することを求めた。

C. 研究結果

調査の 1 回目および 2 回目とも、試料 No.1 は混在菌のみとし、試料 No.2 は混在菌と *N. lactamica*、試料 No.3 は混在菌と髄膜炎菌とした。

1 回目の外部精度管理調査では、各地方衛生研究所で擬似試料を MTM 培地に塗布して通常の方法で培養したが、擬似試料作

製のために混合した *Neisseria* 属菌以外の 3 株だけが培地上に発育し、髄膜炎菌と *N. lactamica* は発育しなかった。

2 回目の外部精度管理では、いずれの地方衛生研究所でも、髄膜炎菌あるいは *N. lactamica* が正しく検体から分離された。

D. 考察

髄膜炎菌は栄養要求性が高く、培養には発育に必要な成分が添加された培地を用いなければならない。さらに、輸送・保存が難しい菌種のひとつである。したがって、各種機関により行われている外部精度管理事業では、腸内細菌やブドウ球菌などの培養も輸送も簡単な菌種が使われることが多く、ナイセリア属菌が使用されることは限られている。

今回の調査において、1 回目の外部精度管理では、対象となった地方衛生研究所において培養したところ、混合した 3 株は発育したが、髄膜炎菌および *N. lactamica* は発育しなかった。この原因として、次のような理由が考えられる。1) 輸送中に試料の温度が上昇して解凍してしまった。2) 綿棒に付着させた菌量が不十分であった。3) 擬似綿棒からの菌の培養法が不適切であった。このうち、1) および 2) が第 1 回の外部精度管理において目的菌が発育しなかった原因として考えられる。

2 回目の外部精度管理では、上に挙げた原因を除くために、試料をゼラチン・ディスク法のディスクとした。これにより、十分な菌量が得られ、さらに輸送中の温度変化にも耐えられるようになった。

参加した地方衛生給研究所からは正しい回答が寄せられたことから、本研究において髄膜炎菌検査法のマニュアルを作成し、研修会を開催して髄膜炎菌の検査技術の普及を試みたが、これらの効果が十分に発揮

され、検査技術は定着しているものと考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

なし

資料1 外部精度管理に用いた回答票

回 答 票

地研名 _____

検体番号	病原性ナイセリア属菌 の有無	菌 種 名
No.1	有 無	
No.2	有 無	
No.3	有 無	

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

髄膜炎菌性髄膜炎検査法の発生動向調査及び検出方法の研究

研究の刊行に関する一覧表

1. 永武 毅：感染症の診断・治療ガイドライン，4類感染症 髄膜炎菌性髄膜炎，日本医師会雑誌 130-133,246-249,1999
2. 松本慶蔵、大石和徳、永武 毅：髄膜炎菌感染症．化学療法の領域 17 (4) 147-154, 2001
3. Hideyuki Takahashi, Hiroshi Tanaka, Hiroo Inouye, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Shiro Yamai, and Haruo Watanabe: Isolation and characterization of a *Neisseria meningitidis* strain from healthy carrier that is deficient in g-glutamyl aminopeptidase activity. J. Clin. Microbiol.: 40, 3035-3037, 2002.
4. Hideyuki Takahashi, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Shiro Yamai and Haruo Watanabe: Identification of tet(B), encoding high-level tetracycline resistance, in *Neisseria meningitidis*. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 4045-4046, 2002.