

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(令和5年度)

微生物課 中島向南 平野愛佳理 甘利祐実子 柳井祐介 大串和弘 島あかり 西桂子

1 はじめに

「佐賀県感染症予防計画」に基づき、県内の臨床検査を行う機関の細菌検査の精度を調査し情報提供や必要な指導を行うことで、感染症病原体等の検査能力の維持向上を図ることを目的に外部精度管理調査を実施した。

2 実施方法

「感染症検査にかかる外部精度管理調査実施要領」に基づき実施した。

検査は、感染症法における届出対象疾患及び食中毒菌を対象として、各施設が通常行っている方法にて行い、検出した菌種名の報告を求めた。

3 参加施設数

13 施設

4 実施時期

検体発送日 令和6年1月17日(水)

検査結果回答期限 令和6年2月7日(水)

5 精度管理調査用試料の作製

試料は、生化学性状が確認されている衛生薬業センター保存株3菌種(うち *M.morganii* は購入した標準菌株)を用いた。(表1)

表1 精度管理調査用試料の検体記号及び菌種

	検体記号	菌種	病原因子等
試料1	GOCQ	<i>Escherichia coli</i> O157:HUT	VT1,VT2; -, <i>eae</i> ; +
		Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> OUT:HNM*	VT2; +
試料2	YMNV	<i>Morganella morganii</i>	なし

※検査試料として不適切であったため、判定に採用しなかった(「9 その他」参照)

(1) 試料1(GOCQ)

Escherichia coli O157:HUT と Enterohemorrhagic *Escherichia coli* OUT:HNM を BHI 寒天培地 (brain heart infusion agar) に塗抹し、36°Cで一昼夜培養した。発育した *Escherichia coli* O157:HUT のコロニーを1白金耳(1 μ l用)釣菌し、1.0ml 自家製保存用培地(BHI ブロス+10%グリセリン)に接種、さらに Enterohemorrhagic *Escherichia coli* OUT:HNM のコロニーを1白金耳(1 μ l用)追加接種して試料菌液とした。菌液を1.3ml 自家製輸送用培地(普通ブイヨン+0.8%Agar)に接種し、36°Cで18時間

[事例・資料]

培養して試料とした。

(2) 試料 2(YMNV)

Morganella morganii を羊血液寒天培地に塗抹し、36℃で一昼夜培養した。発育した *Morganella morganii* のコロニーを 1 白金耳(1μl 用)釣菌し、1.0ml 自家製保存用培地(BHI プロス+10%グリセリン)に接種して試料菌液とした。菌液を 1.3ml 自家製輸送用培地(普通ブイヨン+0.8%Agar)に接種し、36℃で 18 時間培養して試料とした。

6 試料の確認試験

試料の確認試験については、試料配布前に確認試験を行った。また、配布試料と同じ条件で保存した試料を用いて、精度管理調査に合わせて再度確認試験を行った。

(1) 試料 1(GOCQ)

分離用培地 4 種(羊血液寒天培地、ドリガルスキー改良培地、マッコンキー寒天培地、CT-SMAC 寒天培地)に画線塗抹し、36℃で 24 時間培養してコロニー形態を観察したところ、すべての培地に 2 種類の菌の発育を認めた。

ドリガルスキー改良培地のコロニー形態から黄色コロニー(1-1)、青色コロニー(1-2)を釣菌し、それぞれ生化学性状確認培地、血清型確認用培地に接種し、36℃で 24 時間培養した。血清型については、デシカ生研の免疫血清にて血清型別検査を行った。(表 2)

表 2 試料 1(GOCQ)の生化学性状、血清型

試料	釣菌した培地 コロニー性状	TSI			LIM			SIM	CLIG	
		斜面/ 高層	ガス	H ₂ S	リジン	インドール	運動性	運動性	斜面/ 高層	ニターゼ βグルクロ
1-1	ドリガルスキー 黄色	+ / +	+	-	+	+	+	+	- / +	+
1-2	ドリガルスキー 青色	+ / +	+	-	+	+	-	-	- / w+	+

試料	血清型
1-1	O157 HUT
1-2	OUT(O125 に凝集を認めるが、これは偽凝集) HNM

また、下痢原性大腸菌の病原遺伝子検査を PCR 法にて行い、API® 微生物同定検査キット アピ 20E による菌種の同定を行った。さらに VT2 産生遺伝子が陽性だった試料 1-2 のみ、毒素産生試験を細菌毒素検出キット VTEC-RPLA「生研」にて行い、エンテロヘモリジン(Ehly)産生性の有無を EHT 培地にて確認した。(表 3)

[事例・資料]

表3 試料1(GOCQ)の同定結果

試料	遺伝子検査結果	同定結果	毒素産生性	Ehly
1-1	<i>eae</i>	<i>Escherichia coli</i> 2		
1-2	<i>Vtx2</i>	<i>Escherichia coli</i> 1	—	—

試料 1-2 は VT 産生遺伝子(*Vtx2*)を有しているが、ペロ毒素産生能が陰性である菌株であった。

(2) 試料 2(YMNV)

分離用培地 3 種(羊血液寒天培地、ドリガルスキー改良培地、マッコンキー寒天培地)に画線塗抹し、36℃で 24 時間培養してコロニー形態を観察したところ、すべての培地に 1 種類の菌の発育を認めた。

ドリガルスキー改良培地とマッコンキー寒天培地のコロニー形態から赤痢菌を疑うコロニー(2-1)を釣菌し、それぞれ生化学性状確認培地、血清型確認用培地に接種し、36℃で 24 時間培養した。血清型については、デンカ生研の赤痢免疫血清にて血清型別検査を行った。(表4)

表4 試料 2(YMNV)の生化学性状、血清型

試料	釣菌した培地	TSI			LIM			VP 半流動	シモンズ	オルニチン	SIM IPA 反応	血清型
		斜面/ 高層	ガス	H ₂ S	リジン	インドール	運動性					
2-1	ドリガルスキー	-/+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	凝集なし

また、赤痢菌の侵入性遺伝子検査を PCR 法にて行った。さらに、API® 微生物同定検査キット アピ 20E による菌種の同定を行った。(表 5)

表5 試料 2(YMNV)の病原遺伝子検査結果、同定結果

試料	遺伝子検査結果	同定結果
2-1	—	<i>Morganella morganii</i>

7 結果

参加施設から報告された集計結果を以下に示す。(表 6、表 7)

表6 試料 1(GOCQ)の集計結果

菌名	報告施設数
<i>Escherichia coli</i> O157 のみ検出	5
<i>Escherichia coli</i> O157 および その他の <i>Escherichia coli</i> ※	5
その他	3
計	13

※O26,O125,O 不明等

[事例・資料]

表7 試料2(YMNV)の集計結果

菌名	報告施設数
<i>Morganella morganii</i>	12
所持資材による検出は不能	1
計	13

8 まとめ

今回、参加した13施設の内、検査結果報告書への検体記号の誤記が1施設あった。検体の取り違えや各種記録への記載誤りは、治療等に大きな影響を及ぼすものであるため、検体記号等についても各工程で十分に確認しながら検査を進める必要がある。

試料1(GOCQ)について、Enterohemorrhagic *Escherichia coli* OUT:HNM は検査試料として不適切であったため、試料1(GOCQ)の回答は *Escherichia coli* O157 を検出していれば正解としている。*Escherichia coli* O157 を検出した施設は10施設(77%)であり、おおむね良好な結果が得られた。また、検査経過記録書より、*E. coli* O157 がベロ毒素非産生性であることを確認した施設は10施設であった。

試料2(YMNV)で、*Morganella morganii*を検出した施設は12施設(92%)であり、良好な結果が得られた。

Morganella morganii はヒトや動物の糞便などから検出され、病原性は低いが、しばしば医療関連感染症として尿路感染症を引き起こす。過去に赤痢菌と誤同定された事例がある。赤痢菌は、感染症法における三類感染症の細菌性赤痢の原因菌であり、特に栄養と衛生状態の悪い発展途上国で多発している。近年、国内での感染者は年々減少傾向にあった。しかし、今後新型コロナウイルスへの規制緩和による海外渡航者の増加に伴い、細菌性赤痢感染者の増加が予測される。今年度、実際に佐賀県において4年ぶりに細菌性赤痢感染症の届出があり、今一度赤痢菌の検査方法等や特徴的な性状、赤痢菌の類似菌等を再確認する必要がある。

9 その他

試料1(GOCQ)で使用した Enterohemorrhagic *Escherichia coli* OUT:HNM が精度管理試料として不適切であった理由は、O血清群の判定が難しく、ベロ毒素産生能が陰性の菌株であったことである。

当センターで実施した血清型別試験は、デンカ株式会社の抗血清でO125に凝集を認めていたが、国立感染症研究所の結果は、O-genotyping PCRによる遺伝子型の結果と、SSI Diagnosticaの抗血清を用いた表現型の結果が一致せず、何らかの理由でO抗原が発現していない可能性がある」と結論付けられた菌株であった。また、ベロ毒素の検査は、主にPCR法によるベロ毒素遺伝子の検出を行っている。当該菌株は、VT2遺伝子(*Vtx2*)陽性を示した。しかし、各施設の検査結果を受けて、追加でベロ毒素産生能の有無について確認試験を行った。その結果、ベロ毒素産生能を確認できず、ベロ毒素産生はない菌株であった。