

## 感染症にかかる外部精度管理調査概要 (平成22年度)

細菌課 西桂子 吉原琢哉 諸石早苗 眞子純孝

キーワード：感染症法 細菌検査 外部精度管理

### 1 はじめに

「感染症にかかる外部精度管理実施要領」に従い、糞便由来の感染症法指定菌及び感染性胃腸炎原因菌について外部精度管理を実施したので報告する。

### 2 実施方法

糞便由来の感染症法指定菌及び感染性胃腸炎原因菌の検査方法は特に指定せず、各検査機関が日常行っている検査方法とした。

結果は、病原性の有、無にかかわらず、検出したすべての菌種名を報告することとした。

### 3 実施時期

平成23年1月24日(月)着になるよう検体を各検査機関に発送し、結果報告は平成23年2月10日(木)とした。

### 4 参加検査機関

佐賀県内の検査機関12施設が参加した。

### 5 検体の調製

各検査機関に配布する検体は2検体とし、ヌンクチューブ(輸送用培地(普通ブイヨン+0.8%Agar)に接種し)を郵送容器UN3373に梱包し発送した。

使用菌株性状については、下記に示すとおりである。

#### <検体の調製>

① 検体1：佐賀県衛生薬業センター保存株 *Aeromonas hydrophila* を液体培地(TSB：トリプトソイブロス)で自家調製した。

② 検体2：佐賀県衛生薬業センター保存株 *Salmonella Chester* を液体培地(TSB)で自家調製したものと、佐賀県衛生薬業センター保存株 *Escherichia coli* O111 を液体培地(TSB)で自家調製したものを1:2の割合に混合し、混合液を作成した。

上記①、②をそれぞれ1.8mlヌンクチューブ中の輸送用培地に接種し、37℃で一晩培

養したものを検体とした。

#### <検体使用菌株性状>

##### *Aeromonas hydrophila*

エロモナス・ハイドロフィラ/ソブリアはグラム陰性菌の通性嫌気性桿菌。発育至適温度は30～35℃の中温性菌。菌体の一端に1ないし数本の鞭毛を有している細菌で、ブドウ糖、白糖、乳糖を分解する。生化学的性状の違いによって主に分かれている。オキシダーゼ陽性で大腸菌などとの重要な鑑別点となる。

エロモナス・ハイドロフィラ/ソブリアをはじめとするエロモナスは、淡水域の常在菌で、河川、湖沼、その周辺の土壌及び魚介類等に広く分布している。また、河川水のみならず沿岸海水からもよく分離される。

下痢症の原因菌とされ、症例のほとんどが小児や50歳以上の成人に多く発生するのが特徴。また、腸炎ビブリオなどの他の病原菌が同時に分離される事例が多い。一方、本菌は腸管外感染症の創傷感染の原因にもなる。

##### *Salmonella Chester*

「デンカ生研」サルモネラ免疫血清、O多価、O4に凝集を示す。

生化学性状で、リジン「陰性」を示し通常のサルモネラとは異なる性状を示す株である。

1999年に全国各地で「いかの珍味」による食中毒が発生し、その際に、加工工場の拭取りや従業員、製品から *Salmonella oranienburg* とともに検出された。

##### *Escherichia coli* O111

「デンカ生研」の病原性大腸菌免疫血清、混合1、O111に凝集を示す。

通常の大腸菌の生化学性状を示す株である。

病原因子 (VT、LT、ST、invE) 陰性。

VT産生を示すものは腸管出血性大腸菌として扱われる。

#### <事前確認試験>

- (1) 3菌株 (*Aeromonas hydrophila* 以下①、*Salmonella chester* 以下②、*Escherichia coli* O111 以下③) を-80℃フリーザーから出し、それぞれBHI寒天培地に塗布し、36℃、24時間培養。
- (2) それぞれの選択分離培地 (①: DHL、②: SS、DHL、クロモガ-サルモネラ、③: SS、DHL、クロモカルト、CT-ソルビットマッコキー) に1白金耳画線と塗。36℃、24時間培養をしてコンタミがないことをチェック。

(3) BHI寒天培地から確認培地(TSI、LIM、CLIG、TSB等)へ接種し、36℃、24時間培養。

(4) 確認培地の性状確認

- ① TSI : -/+、-、- (斜面/高層、硫化水素産生、ガス産生)  
 LIM : +、+、+ (リジン、インドール、運動性)  
 オキシダーゼ (+)  
 同定キット (BBL CRYSTAL E/NF )
- ② SS、DHLで典型的なコロニーの性状を示す。(周囲透明、中心部黒色)  
 クロモアガーサルモネラ：藤色コロニー  
 TSI : -/+、+、- (斜面/高層、硫化水素産生、ガス産生)  
 LIM : -、-、+ (リジン、インドール、運動性)  
 「デンカ生研」サルモネラO多価免疫血清、O4群に凝集。  
 H抗原の検査を行いI相：eh II相：i で *Salmonella chester* と同定した。
- ③ TSI : -/+、-、- (斜面/高層、硫化水素産生、ガス産生)  
 LIM : +、+、+ (リジン、インドール、運動性)  
 CLIG : -/+、+ (斜面/高層、蛍光)  
 「デンカ生研」病原大腸菌免疫血清、混合1に凝集、O111に凝集。

\*血清型の確認

培養後TSBを105℃、60分加熱処理→遠心→上清を除去→PBSで浮遊させる→抗原液とする。

## 6 結果

参加施設：12施設

| 検体1の回答                                     |   |
|--|---|
| <i>Aeromonas hydrophila</i>                | 8 |
| <i>Aeromonas hydro group</i>               | 2 |
| <i>Aeromonas sp</i>                        | 1 |
| 菌種決定不可能                                    | 1 |
| 検体2の回答                                     |   |
| <i>Salmonella</i> 04                       | 6 |
| <i>Salmonella sp</i> (04群、H:eh)            | 2 |
| <i>Salmonella sp</i> (又は <i>speicies</i> ) | 2 |

|                          |    |
|--------------------------|----|
| <i>Salmonella</i> sp 09群 | 1  |
| 検出せず                     | 1  |
| <i>E. coli</i> 0111      | 10 |
| <i>E. coli</i> 混合1       | 1  |
| <i>E. coli</i>           | 1  |

## 7 まとめ

検体1については、11の施設で *Aeromonas* を検出した。9施設は *Aeromonas hydrophila* まで特定できた。

1施設は通常使用している同定キットが *Aeromonas* を検出対象菌としていなかったため、菌種決定不可能と回答した。

検体2については、11の施設で *Salmonella* を検出し、9施設でO4まで特定できた。うち2施設はH抗原I相 (eh) まで特定できた。O9と回答した施設が1施設、また *Salmonella* を検出できなかった施設が1施設あった。

*Escherichia coli* については12設すべてが検出できた。10施設はO111まで特定でき、2施設は混合1の凝集まで確認できた。3施設はVero毒素まで確認でき、今回の調査では概ね良好な検査結果が得られた。

糞便由来の感染症法指定菌及び感染性胃腸炎原因菌の検査ということで、項目を指定せず、臨床症状の疫学情報と合わせて擬似的な臨床検体を各検査機関が日常行っている検査方法での実施であったが、検査施設の精度の維持・向上を図る契機となす精度管理の目的は達せられたものと思われる。

「当センターが実施する外部精度管理以外に精度管理を行っているか？」のアンケートでは、半数の検査機関が細菌検査の外部精度管理事業に参加していることがわかった。中には3つの外部精度管理事業に参加している検査施設もあった反面、残りの半数はどこにも参加していない状況が把握できた。

最後に、この精度管理に御協力いただいた県内検査機関および検査担当された各位に深く感謝申し上げます。