

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(H24年度)

細菌課 成瀬佳菜子 小松京子 南亮仁 甘利祐実子
眞子純孝 吉原琢哉 増本久人

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

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、検出したすべての菌種名を結果報告とした。

また、検体についての疫学情報を記載した。

検体1:下痢(血便)、発熱(検体:便)

検体2:下痢、発熱、腹痛(検体:便)

3 実施時期

平成25年2月4日(月)に検体を各検査機関に配付し、平成25年2月22日(金)を結果回答期限とした。

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

各検査機関に配付した共通検体は表1のとおりである。

また、検体調整法および使用菌株性状については、下記に示す。

表1 共通検体

検体名	配布量	検体容器	郵送容器
検体1	1本	ヌンクチューブ	検体輸送用 UN3373
検体2	1本	ヌンクチューブ	検体輸送用 UN3373

*ヌンクチューブに輸送用培地(普通ブイヨン+0.8%Agar)

<検体の調製>

検体1:佐賀県衛生薬業センター保存株 *Escherichia coli* (O103)を 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。

検体2:佐賀県衛生薬業センター保存株 *Salmonella Enteritidis*を 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。

[事例・資料]

＜検体使用菌株性状＞

***Escherichia coli* (O103)**

「デンカ生研」病原大腸菌免疫血清「生研」1号セット、混合9、O103に凝集を示す。

病原因子(invE、VT、LT、ST) 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。

O103は2011年の腸管出血性大腸菌検出例の3.8%を占める。他のO型別としてはO157、O26、O145、O111が報告されている。

2010年は3.1%を占め、O157、O26に次ぐ報告数となっている。

***Salmonella* Enteritidis**

Salmonella 属はO抗原とH抗原の種類によって約2000種類の血清型に分類される。

S. Enteritidis は通常の *Salmonella* 属菌の生化学的性状を示す株であり、「デンカ生研」サルモネラ免疫血清、O多価、O9群、H-G, mに凝集を示す。

なお *S. Enteritidis* は2009年から2012年のヒト由来サルモネラ血清型検出の1位を占めている。

通常8～48時間の潜伏期を経て発病するが、3～4日後の発病も珍しくない。

食品衛生法における取扱い:食中毒が疑われるときには、24時間以内に最寄りの保健所に届け出る。

感染症法における取扱い:感染性胃腸炎として五類感染症定点把握疾患に定められている。

＜事前確認試験＞

試料作成

【検体1:*Escherichia coli* (O103)】

- (1)衛生薬業センターに-80℃で保存してある *Escherichia coli*(O103)をBHI寒天培地に塗布し、36℃で24時間培養した。
- (2)BHI寒天培地に発育した菌を、3種類の選択分離培地(クロモカルト、DHL寒天培地、CT-SMAC寒天培地)へそれぞれ1白金耳画線塗抹し36℃で24時間培養した。
- (3)選択分離培地上のコロニーの性状を観察し、コンタミネーションが無い事を確認した。さらにBHI寒天培地に発育した菌を、生化学性状(CLIG培地、TSI培地、LIM培地)及び血清型確認用培地(TSB培地)とへ接種し、36℃で24時間培養した。
- (4)生化学性状と血清型を確認すると共に、菌種同定キットにて菌種の確認を行った。

なお、各種培地性状及び確認検査結果は下記に示す。

・性状及び確認検査結果

クロモカルト:藤色コロニー

DHL寒天培地:赤色コロニー

CT-SMAC寒天培地:ピンク色コロニー

CLIG培地		TSI培地			LIM培地		
斜/高	蛍光	斜/高	H ₂ S	ガス	リジン	IND	運動性
-/+	-	+/+	-	+	+	+	+

デンカ生研「病原大腸菌免疫血清」:O103、H2に凝集を示す。

同定キット(BBL CRYSTAL E/NF):*Escherichia* species

[事例・資料]

【検体2: *Salmonella* Enteritidis】

- (1) 衛生薬業センターに-80℃で保存してある *Salmonella* Enteritidis をBHI寒天培地に塗布し、36℃で24時間培養した。
- (2) BHI寒天培地に発育した菌を、3種類の選択分離培地(SS寒天培地、DHL寒天培地、クロモアガーサルモネラ)へそれぞれ1白金耳画線塗抹し、36℃で24時間培養した。
- (3) 選択分離培地上のコロニーの性状を観察し、コンタミネーションが無い事を確認した。さらにBHI寒天培地に発育した菌を、生化学性状(TSI培地、LIM培地)及び血清型確認用培地(TSB培地)とへ接種し、36℃で24時間培養した。
- (4) 生化学性状と血清型を確認すると共に、菌種同定キットにて菌種の確認を行った。
なお、各種培地性状及び確認検査結果は下記に示す。

・性状及び確認検査結果

SS寒天培地: 中心部黒色の無色半透明もしくはピンク色コロニー

DHL寒天培地: 黒色もしくはピンク色コロニー

クロモアガーサルモネラ: 藤色コロニー

TSI培地			LIM培地		
斜/高	H ₂ S	ガス	リジン	IND	運動性
-/+	+	+	+	-	+

デンカ生研「サルモネラ免疫血清」: O9, H:G, mに凝集を示す。

同定キット(BBL CRYSTAL E/NF): *Salmonella* species

6 結果

回答一覧を表1に、検体別検査結果集計を表2に示す。

調査対象: 12施設

(表1: 回答一覧)

	検体1	検体2
1	<i>Escherichia coli</i> (O103)	<i>Salmonella</i> group(O9)
2	<i>Escherichia coli</i> serotype O103	<i>Salmonella</i> 血清型(O9)
3	<i>Escherichia coli</i> (O103)	<i>Salmonella</i> Enteritidis(O9, H:G, m)
4	<i>Escherichia coli</i> (混9)	<i>Salmonella</i> group(O9)
5	<i>Escherichia coli</i> (O103)	<i>Salmonella</i> group(O9)
6	<i>Escherichia coli</i> (O103)	<i>Salmonella</i> (O9群)
7	<i>Escherichia coli</i> (混9)	<i>Salmonella</i> species

[事例・資料]

8	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella sp.</i> (O9群)
9	<i>Escherichia coli</i> (O103)	<i>Salmonella Enteritidis</i> (O9, H:G, m)
10	<i>Escherichia coli</i> (O103)	<i>Salmonella group</i> (O9群, H:G)
11	<i>Escherichia coli</i> (O103)	<i>Salmonella sp.</i> O9群 <i>Escherichia coli</i>
12	<i>Citrobacter spp</i>	<i>Salmonella spp.</i> O9群

(検体2: 検体別検査結果集計)

検体1		検体2(複数回答有り)	
<i>Escherichia coli</i> (O103)	8	<i>Salmonella Enteritidis</i> (O9, H:G, m)	2
<i>Escherichia coli</i> (混9)	2	<i>Salmonella group</i> (O9群, H:G)	1
<i>Escherichia coli</i>	1	<i>Salmonella group</i> (O9)	8*
<i>Citrobacter spp</i>	1	<i>Salmonella species</i>	1
		<i>Escherichia coli</i>	1

* *Salmonella* 属菌O9群まで同定したものを含む。

7 まとめ

検体1について11施設が *Escherichia coli* を検出した。うち8施設が血清型O103まで、2施設が血清型混合9まで同定した。今回は、各施設における毒素確認試験の有無の調査を目的とし、検体に *Escherichia coli* O103を用い、結果記入票と共に検査経過記録書の記入を依頼したが、病原性大腸菌に対する毒素検査を行っている確認できたのは12施設中2施設のみであった。今年度は、県内で腸管出血性大腸菌O103による感染事例が発生したこともあり、O157・O26・O111以外の腸管出血性大腸菌による感染症の早期探知の為に、病原性大腸菌に対する毒素検査が重要であると考えられる。

検体2について、12施設が *Salmonella* 属菌を検出した。うち2施設が *Salmonella Enteritidis* まで同定した。1施設が *Salmonella* 属菌以外にも *Escherichia coli* を検出した。検査経過記録書によると、同定キット(BBLCRYSTAL E/NF)で *Escherichia coli* と確認したが、デンカ生研の「病原大腸菌免疫血清 生研」では凝集はみられなかったとのことである。

今回の調査は、感染症法における届出対象疾患、感染性胃腸炎原因菌及び食中毒菌を対象に項目を指定せず検査を依頼した。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。

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を担当された各位に深く感謝申し上げます。