

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(平成27年度)

細菌課 諸石早苗 小松京子 塘由香 眞子純孝 野田日登美 川内保典 吉原琢哉

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等を行うことで、感染症病原体検査等の検査能力の維持向上を図ることを目的に感染症にかかる外部精度管理調査を実施したので報告する。

2 実施方法

「感染症検査にかかる外部精度管理実施要領」に基づき実施した。

検査は、感染症法における届出疾患、感染性胃腸炎原因菌及び食中毒菌を対象として、精度管理調査の参加施設が通常行っている方法にて行い、検出したすべての菌種名の報告を求めた。

3 参加施設

県内の細菌検査を実施している12施設の参加があった。

4 実施時期

平成28年2月1日(月)に検体を配布し、2週間の検査機関を設けて平成28年2月15日(月)を検査結果回答期限とした。

5 精度管理調査試料

(1) 試料:(表1)

試料に用いた下記菌種は衛生薬業センター保存株を使用した。

表1 精度管理調査試料の試料番号および菌種

試料番号	菌種
試料1	<i>Salmonella</i> Enteritidis
試料2	<i>Vibrio cholerae</i> non-O1,non-O139 (CT 陰性) <i>Vibrio alginolyticus</i>

(2) 試料の調整方法

試料1菌液、試料2菌液をそれぞれ1.8ml 自家製輸送用培地(普通ブイヨン+0.8%Agar)*¹に10μlの白金線で接種し、36℃で一昼夜培養して精度管理調査用の試料1、試料2とした。

・試料1菌液

Salmonella Enteritidis をBHI 寒天培地(brain heart infusion agar)に塗抹し、36℃で一昼夜培養し

[事例・資料]

た。BHI 寒天培地上のコロニーを1μℓの白金耳でTSB ブイヨン(Tryptic Soy Broth)に接種し、36℃で一昼夜培養したものを試料1菌液とした。

・試料2菌液

Vibrio cholerae non-O1,non-O139 と *Vibrio alginolyticus* を1%NaCl 加普通寒天培地(Nutrient Agar)にそれぞれ塗抹し、36℃で一昼夜培養した。1%NaCl 加普通寒天培地上のコロニーを1μℓの白金耳で1%NaCl 加BHI ブイヨン(Brain Heart Infusion Broth)に接種し、36℃で一昼夜培養した菌液を等量に混合したものを試料2菌液とした。

*1 試料2の培養は、NaCl濃度が1%なるように調整した培地を使用した。

6 試料の確認検査

試料の確認検査については、試料配布前および試料配布と同時に生化学性状検査、血清型別検査、PCRによるコレラ毒素(CT)の検査を行い、BBL CRYSTAL E/NFにて菌種の同定を行った。(表2、表3)

表2 試料1、2の菌の生化学性状

試料	釣菌した培地	TSI [※]				LIM [※]		
		斜面	高層	H ₂ S	ガス	リジン	インドール	運動性
試料1	SS(中心黒色、透明コロニー)	-	+	+	-	-	-	+
試料2-1	TCBS(黄色コロニー小)	-	+	-	-	+	+	+
試料2-2	TCBS(黄色コロニー大)	+	+	-	-	+	+	+

試料	VP [※]	チクローム・オキシダーゼ	耐塩性試験	血清型
試料1	/	-	/	サルモネラ(O9:g,m:-)
試料2-1	+	+	0(+),3(+),6(-), 8(-),10(-)	ビブリオ・コレラ O1(-),O139(-)
試料2-2	+	+	0(-),3(+),6(+), 8(+),10(+)	ビブリオ・コレラ O1(-),O139(-)

※試料2の検体から分離した菌の培養は、NaCl濃度が1%なるように調整した培地を使用した。

[事例・資料]

表3 試料1、2の菌種の同定結果

試料	釣菌した培地	コレラ毒素(CT)	同定
試料 1	SS(中心黒色、透明コロニー)		<i>Salmonella speies</i> * ²
試料 2-1	TCBS(黄色コロニー小)	陰性	<i>Vibrio cholerae</i> * ³
試料 2-2	TCBS(黄色コロニー大)		<i>Vibrio alginolyticus</i>

*2 *Salmonella speies*と同定され、血清型が(O9:g,m:-)であったため、*Salmonella* Enteritidis。

*3 *Vibrio cholerae*と同定され、血清型検査でO1(コレラ菌免疫血清)、O139(Bengal)は陰性であったため、*Vibrio cholerae* non-O1,non-O139。

7 結果

参加施設から報告された集計結果を下記に示す。(表4、表5、表6)

表4 試料1の集計結果

菌名	報告施設数
<i>Salmonella</i> Group	1
<i>Salmonella</i> O9	9
<i>Salmonella</i> Group(O9群 H-G)	1
<i>Salmonella</i> Enteritidis (O9,H抗原1相:g,m)	1
計	12

表5 試料2の集計結果1

菌名	報告施設数
<i>Vibrio cholerae</i>	5
<i>Vibrio cholerae</i> (コレラ免疫血清-)	2
<i>Vibrio cholerae</i> non-O1	2
<i>Vibrio cholerae</i> non-O1,non-O139 (NAGビブリオ)	2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1
計	12

[事例・資料]

表6 試料2の集計結果2

菌名	報告施設数
<i>Vibrio alginolyticus</i>	8
・ <i>Escherichia coli</i> ・ <i>Staphylococcus aureus</i>	1
(未検出)	3
計	12

8 まとめ

県内の細菌検査を行っている機関12施設を対象に、感染症法届出疾患、感染性胃腸炎原因菌及び食中毒菌検出を目的とした精度管理調査を実施した。

試料に用いた菌株は、*Salmonella* Enteritidis、*Vibrio cholerae* non-O1,non-O139(CT陰性)、*Vibrio alginolyticus* でいずれも生化学性状が確認されている衛生薬業センター保存株を使用した。

サルモネラ属菌を検出した施設は12施設(100%)で、O群血清型検査を行いO9群と判定した施設は11施設(92%)、さらにH型別検査を行った施設は2施設(17%)であった。その中でH型別を単味の血清で行い、*Salmonella* Enteritidis と判定した施設は1施設(8%)だった。

サルモネラ属菌による食中毒は平成12年以降減少しており、各施設においてもサルモネラ属菌を検出する機会は減少していると考ええる。しかし、今回の精度管理においては、リジン脱炭酸陰性の株を使用したにもかかわらず、全ての施設でサルモネラ属菌が同定され、良好な検査結果が得られた。

Vibrio cholerae を検出した施設は11施設(92%)、さらに non-O1(コレラ免疫血清-)と判定した施設は4施設(33%)、non-O1,non-O139 と判定した施設は2施設(17%)だった。同じく接種した *Vibrio alginolyticus* を検出した施設は8施設(67%)だった。

1施設から試料2において、*Vibrio parahaemolyticus*、*Escherichia coli*ならびに *Staphylococcus aureus* を検出したと誤った回答があった。同定キットを使用せず回答したためと思われるが、グラム染色での形態確認も重要だと考える。

通常の検査業務で目にすることが少なくなった病原菌について、血清等を整備することが難しい現状だが、機会をとらえて菌のコロニー性状や生化学性状等を確認しておく必要性が示唆された。