

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(平成 30 年度)

細菌課 木村碧 柳井祐介 緒方美奈子 瀧下恵里子 吉原琢哉 吉武俊一 川内保典

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、感染性胃腸炎原因菌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

細菌検査を実施している 13 施設の参加があった。

4 実施時期

平成 31 年 1 月 10 日(木)に検体を配布し、平成 31 年 1 月 28 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

試料に用いた菌種は、生化学性状が確認されている衛生薬業センター保存株を使用した。(表 1)

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>Escherichia coli</i> O157 H7 (VT1,VT2 陽性 亜テルル酸耐性遺伝子 陰性) <i>Escherichia coli</i> O25 H4 (VT1,VT2 陰性)
試料 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>

(2) 試料の調整方法

試料 1 作成用として、*Escherichia coli* O157 H7 (VT1,VT2 陽性)と *Escherichia coli* O25 H4 (VT1,VT2 陰性)を BHI 寒天培地(brain heart infusion agar)に塗抹し、36℃で一昼夜培養した。その後、O157 は 6 コロニー、O25 は 3 コロニーを BHI 液体培地に懸濁させ、36℃一昼夜培養した。培養後、再度 BHI 寒天培地に塗抹し、36℃で一昼夜培養した。

試料 2 作成用として、*Streptococcus pyogenes* をヒツジ血液寒天培地に塗抹し、5%CO₂・36℃で一昼夜培養した。

BHI 寒天培地に発育したコロニーとヒツジ血液寒天培地に発育したコロニーをそれぞれ 1.8ml 自家製

[事例・資料]

輸送用培地(普通ブイヨン+0.8%Agar)に1 μ lの白金耳で接種し、精度管理調査用の試料1、試料2とした。

6 試料の確認試験

配付前に試料の確認試験を行った。また、配付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。

試料1は分離用培地6種(CT-SMAC寒天培地、クロモアガーO157寒天培地、SS寒天培地、DHL寒天培地、血液寒天培地、BTB培地)に塗抹し、36 $^{\circ}$ C一昼夜培養してコロニー形態を観察した。また試料2は分離用培地2種(血液寒天培地、BTB培地)に塗抹し、血液寒天培地は5%CO₂・36 $^{\circ}$ C、BTB培地は36 $^{\circ}$ Cで一昼夜培養してコロニー形態を観察した。

試料1は分離用培地であるCT-SMAC寒天培地およびSS寒天培地に発育を認めず、その他4種(クロモアガーO157、DHL寒天培地、血液寒天培地、BTB培地)は発育を認めた。

試料2は分離用培地であるBTB培地に発育を認めず、血液寒天培地は発育を認めた。

試料1はBTB培地で黄色コロニー(試料1-1)と青色コロニー(試料1-2)をそれぞれ確認培地に接種した。36 $^{\circ}$ Cで一昼夜培養後、生化学性状を確認、血清型別検査はデンカ生研の免疫血清にて行った。(表2、3)

試料2は血液寒天培地上で溶血を認めた。グラム染色を行ったところ、グラム陽性球菌であった。また、デンカ生研の連鎖球菌キットにて群の確認を行ったところ、A群に凝集が見られた。

表2 試料1-1、1-2の菌の生化学性状

試料	釣菌した培地	TSI				LIM			CLIG		
		斜面	高層	H ₂ S	ガス	リジン	インドール	運動性	斜面	高層	蛍光
試料1-1	BTB (黄色コロニー)	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
試料1-2	BTB (青色半透明コロニー)	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+

表3 試料1-1、1-2の菌の血清型

試料	釣菌した培地	血清型
試料1-1	BTB(黄色コロニー)	O157 H7
試料1-2	BTB(青色半透明コロニー)	O25 H4

試料1-1,1-2については、下痢原性大腸菌の病原遺伝子検(invE,VT1,VT2,LT,ST,eae,aggR,astA,afaD)と亜テルル酸耐性遺伝子検査(TerA)を行い、BBL CRYSTAL E/NFにて菌種の同定を行った。(表4)

試料2はBBL CRYSTAL GPにて菌種の同定を行った。(表5)

[事例・資料]

表4 試料1-1、1-2の菌種の病原遺伝子検査結果及び同定結果

試料	釣菌した培地	検出した遺伝子	同定
試料 1-1	BTB(黄色コロニー)	VT1,VT2,eae	<i>Escherichia coli</i> 0157
試料 1-2	BTB(青色半透明コロニー)	なし	<i>Escherichia coli</i>

表5 試料2の菌種の同定結果

試料	釣菌した培地	同定
試料 2	血液寒天培地	<i>Streptococcus pyogenes</i>

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6、7)

表6 試料1の集計結果

菌種名	施設数	菌種名	施設数
<i>Escherichia coli</i> 0157 VT1,VT2 陽性	7	<i>Escherichia coli</i> 025	5
<i>Escherichia coli</i> 0157 VT 陽性	1	<i>Escherichia coli</i> 混5凝集	1
<i>Escherichia coli</i> 0157	5	<i>Escherichia coli</i>	6
計	13	検出なし	1
		計	13

表7 試料2の集計結果

菌種名	施設数
<i>Streptococcus pyogenes</i>	12
保有培地の関係で菌検出不可	1
計	13

[事例・資料]

8 まとめ

県内の細菌検査を行っている機関 13 施設を対象に、感染症法届出疾患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 1 の菌種同定は全施設正答であった。O157 は志賀毒素産生性大腸菌(STEC)に関連性の高い O 血清群として知られており、その特性を活用した STEC 選択平板培地は O157 とその他大腸菌群等を簡潔に判別できるため頻用されている。しかし、O157 にも CT 感受性株の報告があり、STEC 選択平板培地に発育を認めない菌も存在する。選択性の低い培地の併用やコロニー形状の違いに注目しながら検査を行う必要があると考えられる。

試料 2 の菌種同定は 1 施設保有培地等の関係で菌検出不可能であったが、それ以外の施設では正答であった。A 群溶血性レンサ球菌を原因とした食中毒事例は、稀ではあるが報告されている。感染症として考えがちではあるが、短期間で多数から検出された場合は、食中毒の可能性も含め検査を進める必要がある。