

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(令和元年度)

細菌課 瀧下恵里子 木村碧 柳井祐介 緒方美奈子 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

令和 2 年 1 月 15 日(水)および 16 日(木)に検体を配布し、令和 2 年 2 月 5 日(水)を検査結果回答期限とした。

5 精度管理調査試料の作製

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 3 菌種および BioBall Single Shot30 *Escherichia coli* (バイオメリュウ社)を用いた。

- | | |
|---|--|
| 1. B 群赤痢菌(<i>Shigella flexneri</i> 2a) | 【病因因子; <i>ipaH</i> : +, <i>invE</i> : +】 |
| 2. 大腸菌(<i>Escherichia coli</i> O1) | 【病因因子;-】 |
| 3. <i>Salmonella</i> O7 群(<i>Salmonella</i> Infantis) | 【H ₂ S(+)] |
| 4. <i>Salmonella</i> O9 群(<i>Salmonella</i> Enteritidis) | 【H ₂ S(-)] |

上記 4 菌種をそれぞれBHI寒天培地(brain heart infusion agar)に塗抹し、37℃で 24 時間培養した。

試料 1 作成用として、BHI寒天培地上の大腸菌のコロニーを白金線で釣菌して 1.8ml 自家製保存用培地(BHI ブロス+10%グリセリン)に接種したものに、BHI寒天培地上の赤痢菌のコロニーを 6 白金耳(1μl 用)釣菌したものを追加接種して試料 1 菌液とした。

試料 2 作成用として、BHI寒天培地上の *S. Infantis* および *S. Enteritidis* のコロニーを 1 白金耳(1μl 用)ずつ釣菌し、1.8ml 自家製保存用培地に接種して試料 2 菌液とした。

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)に 1 白金耳(1μl 用)接種し、試料 1 は 37℃で 6 時間培養、試料 2 は 37℃で一晩培養して精度管理調査用試料とした。(表 1)

[事例・資料]

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	B 群赤痢菌 (<i>Shigella flexneri</i> 2a) 【病因因子; <i>ipaH</i> :+、 <i>invE</i> :+】
	大腸菌 (<i>Escherichia coli</i> O1) 【病因因子;-】
試料 2	<i>Salmonella</i> O7 群 (<i>Salmonella</i> Infantis) 【H ₂ S(+)]
	<i>Salmonella</i> O9 群 (<i>Salmonella</i> Enteritidis) 【H ₂ S(-)]

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。

試料 1、試料 2 を分離用培地 4 種(DHL 寒天培地、SS 寒天培地、ドリカルスキー改良寒天培地、羊血液寒天培地)に画線塗抹し、37℃で 24 時間培養してコロニー形態を観察した。試料 1 の SS 寒天培地より赤痢菌を疑うコロニー(①)、大腸菌を疑うコロニー(②)を、試料 2 の SS 寒天培地よりサルモネラ属菌を疑う 2 種類のコロニー(③、④)を釣菌し、それぞれ生化学性状確認培地、血清型確認用の培地に接種し、37℃で 24 時間培養した。血清型確認用の培地に接種した菌については、デン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、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 寒天培地	①	-	+	-	-	-	-
		②	+	+	-	+	+	+
試料 2	SS 寒天培地	③	-	+	+	+	-	+
		④	-	+	-	+	+	+

試料	釣菌した培地	CLIG			SC	血清型
		斜面	高層	MUG		
試料 1	SS 寒天培地	/			-	<i>S. flexneri</i> 2a (O:B 多価、II 型、(3)4 群)
					-	+
試料 2	SS 寒天培地	/			+	<i>S. Infantis</i> (7:r:1,5)
					+	

また、試料 1-①について赤痢菌の侵入性遺伝子検査を、1-②について下痢原性大腸菌の病原遺伝子検査をPCR法にて行った。さらに、全ての菌種について、BBL CRYSTAL E/NF による菌種の同定を行った。(表 3)

[事例・資料]

表 3 試料 1、2 の菌種の O 抗原及び同定結果

試料		病原遺伝子	同定
試料 1	①	<i>ipaH</i> , <i>invE</i>	<i>Shigella</i> species
	②	—	<i>Escherichia coli</i>
試料 2	③		<i>Salmonella</i> species
	④		<i>Salmonella</i> species

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、5)

表 4 試料 1 の集計結果

菌名	報告施設数
<i>Shigella flexneri</i> および <i>Escherichia coli</i> O1(VT 陰性)	4
<i>Shigella flexneri</i> および <i>Escherichia coli</i> (混合 1 または O1)	7
<i>Shigella</i> species および <i>Escherichia coli</i>	1*1
<i>Shigella</i> species	1*2
計	13

*1 赤痢菌免疫血清持たず。

*2 *Escherichia coli* は検査の結果、VT 陰性であったため、あえて報告せず。

表 5 試料 2 の集計結果

菌名	報告施設数
<i>Salmonella</i> O7 群 および <i>Salmonella</i> O9 群(<i>Salmonella</i> Enteritidis)	8
<i>Salmonella</i> species (O7 群または O9 群)	5
計	13

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 の検出すべき菌種(赤痢菌)同定は全施設正答であった。

赤痢菌は検出頻度が低く、近年検査経験者が減少していること、また、他の病原菌と比べて誤同定事例

[事例・資料]

が多いことが知られているが、今回すべての施設で赤痢菌が同定され、良好な検査結果が得られた。

近年、訪日外国人の増加で輸入感染症の流行リスクが高まっていることから、各施設において検査機会の少ない赤痢菌のような病原菌の検査方法等を再確認し、検査体制を整えておく必要がある。

試料2の検出すべき菌種(サルモネラ属菌)同定は全施設正答であった。サルモネラ属菌による食中毒はここ数年、広域なものや大規模なものも報告されており、今後も注視すべき重要な細菌性食中毒のひとつである。

また、硫化水素産生性と非産生性の2種類のサルモネラ属菌を検出した施設は8施設(62%)であった。硫化水素産生性はサルモネラ属菌の代表的な生化学性状であるが、硫化水素非産生性のサルモネラ属菌が原因の食中毒も報告されていることから、非定型的性状を示すサルモネラ属菌の存在を視野に入れて検査を進めていくことも必要である。