

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(令和4年度)

微生物課 平野愛佳理 古川友里加 木村碧 柳井祐介 大串和弘 島あかり 西桂子

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5年1月18日(水)に検体を発送し、令和5年2月8日(水)を検査結果回答期限とした。

5 精度管理調査用試料の作製

試料には、生化学性状が確認されている衛生薬業センター保存株4菌種を用いた。(表1)

表1 精度管理調査用試料の検体記号及び菌種

	検体記号	菌種	病原因子等
試料1	GMWM	<i>Salmonella</i> Enteritidis <i>Citrobacter freundii</i> complex	
試料2	EBEG	<i>Shigella sonnei</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>ipaH</i> (+), <i>invE</i> (+) VT(-)

(1) 試料1(GMWM)

*S. Enteritidis*と *C. freundii* complex を BHI 寒天培地(brain heart infusion agar)に塗抹し、36℃で24時間培養した。発育した *S. Enteritidis* のコロニーを1白金耳(1μl用)釣菌し、1.0ml 自家製保存用培地(BHI ブロス+10%グリセリン)に接種、さらに *C. freundii* complex のコロニーを5白金耳(1μl用)追加接種して試料菌液とした。菌液を1.3ml 自家製輸送用培地(普通ブイヨン+0.8% Agar)に接種し、36℃で6時間培養して試料とした。

(2) 試料2(EBEG)

S. sonnei と *E. coli* を BHI 寒天培地(brain heart infusion agar)に塗抹し、36℃で24時間培養した。発

[事例・資料]

育した *E.coli* のコロニーを1白金耳(1 μ l用)釣菌し、1.0ml 自家製保存用培地(BHI ブロス+10%グリセリン)に接種、さらに *S.sonnei* のコロニーを4白金耳(1 μ l用)追加接種して試料菌液とした。菌液を1.3ml 自家製輸送用培地(普通ブイヨン+0.8%Agar)に接種し、36℃で18時間培養して試料とした。

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。

(1) 試料1(GMWM)

分離用培地4種(羊血液寒天培地、ドリガルスキー改良培地、DHL寒天培地、SS寒天培地)に画線塗抹し、36℃で24時間培養してコロニー形態を観察したところ、すべての培地に2種類の菌の発育が認められた。

SS寒天培地のコロニー形態からサルモネラ属菌を疑うコロニー(①)、シトロバクター属菌を疑うコロニー(②)を釣菌し、それぞれ生化学性状確認培地に接種し、36℃で24時間培養した。サルモネラ属菌の血清型については、血清型確認用培地で培養し、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(GMWM)の生化学性状、血清型

試料	釣菌した培地	TSI			LIM			Cit	ONPG	オルニチン	血清型
		斜面/高層	ガス	H ₂ S	リジン	インドール	運動性				
試料1-①	SS寒天培地	-/+	+	-	+	-	+	+	-	+	O9、H-g,m:-

試料	釣菌した培地	TSI			LIM			Cit	ONPG	オルニチン
		斜面/高層	ガス	H ₂ S	リジン	インドール	運動性			
試料1-②	SS寒天培地	-/+	+	+	-	-	+	+	+	-

また、試料1-①、②でBD BBLCRYSTAL E/NFによる菌種の同定を行った。(表3)

表3 試料1(GMWM)の同定結果

試料	同定結果
1-①	<i>Salmonella</i> species
1-②	<i>Citrobacter freundii</i>

(2) 試料2(EBEG)

分離用培地4種(羊血液寒天培地、ドリガルスキー改良培地、DHL寒天培地、SS寒天培地)に画線塗抹し、36℃で24時間培養してコロニー形態を観察したところ、すべての培地に2種類の菌の発育を

[事例・資料]

認めた。

SS 寒天培地のコロニー形態から赤痢菌を疑うコロニー(①)と大腸菌を疑うコロニー(②)を釣菌し、それぞれ生化学性状確認培地、血清型確認用培地に接種し、36℃で 24 時間培養した。血清型については、デンカ生研の免疫血清にて血清型別検査を行った。(表 4)

表 4 試料 2(EBEG)の生化学性状、血清型

試料	釣菌した 培地	TSI			LIM		SIM	Cit	血清型
		斜面/ 高層	ガス	H ₂ S	リジン	インドール	運動性		
試料 2-①	SS 寒天 培地	-/+	-	-	-	-	-	-	D 多価、 II 相

試料	釣菌した 培地	TSI			LIM		SIM	Cit	CLIG		血清型
		斜面/ 高層	ガス	H ₂ S	リジン	インドール	運動性		斜面/ 高層	β-グルクロ ニターゼ	
試料 2-②	SS 寒天 培地	+/+	+	-	+	+	+	-	-/+	+	O6、 H-UT

また、試料 2-①で赤痢菌の侵入性遺伝子検査を試料 2-②で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、試料 2-①、②で BD BBLCRYSTAL E/NF による菌種の同定を行った。(表 5)

表 5 試料 2(EBEG)の病原遺伝子検査結果、同定結果

試料	遺伝子検査結果	同定結果
2-①	<i>ipaH</i> , <i>invE</i>	<i>Shigella sonnei</i>
2-②	-	<i>Escherichia coli</i>

7 結果

参加施設から報告された集計結果を以下に示す。(表 6、表 7)

表 6 試料 1(GMWM)の集計結果

菌名	報告施設数
<i>Salmonella</i> O9 群 および <i>Citrobacter freundii</i> complex*	7
<i>Salmonella</i> sp. および <i>Citrobacter freundii</i> complex*	3
<i>Salmonella</i> sp.	1
その他	2
計	13

* *Citrobacter youngae*, *Citrobacter freundii* (旧名)を含む

[事例・資料]

表 7 試料 2 (EBEG) の集計結果

菌名	報告施設数
<i>Shigella sonnei</i> および <i>Escherichia coli</i> O6	5
<i>Shigella sonnei</i> および <i>Escherichia coli</i>	5
<i>Escherichia coli</i> および その他	2
<i>Escherichia coli</i> O6	1
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、感染症法届出対象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 (GMWM) で、*Salmonella* sp.、*Citrobacter freundii* complex を検出した施設は 10 施設 (77%) であった。令和元年度の精度管理試料として硫化水素産生性と硫化水素非産生性のサルモネラ属菌を混合したところ、2 種類ともに検出した施設は 62% (8/13 施設) と正答率がやや低い結果であった。今年度は、令和元年度と類似した試料として、硫化水素非産生性の *Salmonella* Enteritidis と硫化水素産生性の *Citrobacter freundii* complex を混合し、培地上で発育している 2 菌種を分離することを目的とした。2 菌種共に分離、同定した施設は 77% (10/13 施設) で正答率が上がっており、良好な結果が得られた。

試料 2 (EBEG) で、*Shigella sonnei*、*Escherichia coli* を検出した施設は 10 施設で、おおむね良好な結果が得られた。検査経過記録書より、*E. coli* がベロ毒素非産生性であることを確認した施設は 5 施設であった。

赤痢菌は、感染症法における三類感染症の細菌性赤痢の原因菌であり、特に栄養と衛生状態の悪い発展途上国で多発している。近年、国内での感染者は年々減少傾向にあり、新型コロナウイルスが流行した 2020 年以降は顕著な減少がみられた。推定感染地は国外が約 60% を占めることから、新型コロナウイルスへの規制緩和による海外渡航者の増加に伴い、細菌性赤痢感染者が増加することが予測される。赤痢菌の検査方法等や特徴的な性状を再確認する必要がある。

腸管出血性大腸菌 (EHEC) の O 血清群の多様化は年々進んでいる。令和 3 年度以降に佐賀県で届出があった EHEC の O 抗原血清型の多くは O157 であったが、O115、O143、O183 などの稀な血清型を示す EHEC も発生している。EHEC 感染症は、溶血性尿毒症症候群 (HUS) や脳症などの重篤な合併症を発症するため、EHEC 感染症を起こす可能性が低い血清型であっても、危険因子として視野に入れ、検査することが重要である。