

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(平成 28 年度)

細菌課 緒方美奈子 柳井祐介 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

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 29 年 2 月 2 日(木)に検体を配布し、平成 29 年 2 月 17 日(金)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	菌種
試料 1	<i>Salmonella</i> Miyazaki
試料 2	<i>Escherichia coli</i> O157 (VT2 陽性) <i>Escherichia coli</i> O103 (VT1 陽性)

(2) 試料の調整方法

試料 1 作成用として、*Salmonella* Miyazaki を BHI 寒天培地 (brain heart infusion agar) に塗抹し、36℃で一昼夜培養した。BHI 寒天培地上のコロニーを白金線で BHI 液体培地 (brain heart infusion 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 作成用として、*Escherichia coli* O157 (VT2 陽性) と *Escherichia coli* O103 (VT1 陽性) をそれぞれ BHI 寒天培地に塗抹し、36℃で一昼夜培養した。BHI 寒天培地上の *E. coli* O157 のコロニーを白金線で BHI 液体培地に接種し、更に BHI 寒天培地上の *E. coli* O103 のコロニーを、先に *E. coli* O157 を接種し

[事例・資料]

た BHI 液体培地に追加接種し、36℃で一昼夜培養したものを試料 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 10 μℓ の白金耳で接種し、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。

6 試料の確認検査

試料配布前に試料の確認試験を行った。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 は分離用培地 5 種(DHL 培地、SS 培地、クロモアガーサルモネラ培地、BTB 培地、血液寒天培地)に塗抹、試料 2 は分離用培地 6 種(CT-SMAC 寒天培地、CT-RMAC 寒天培地、CT-SBMAC 寒天培地、クロモアガー O157 培地、BTB 培地、血液寒天培地)に塗抹し、36℃で一昼夜培養してコロニー形態を観察した。また、コンタミネーションがないことも確認した。

SS 寒天培地より中心黒色、透明コロニーを、CT-SMAC 寒天培地より灰白色コロニーとピンク色コロニーを釣菌し、それぞれ生化学性状確認培地に接種した。36℃で一昼夜培養後、生化学性状を確認、血清型別検査についてはデンカ生研の免疫血清にて行った。(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 (中心黒色、透明コロニー)	－	＋	＋	＋	＋	－	＋
試料 2-1	CT-SMAC (灰白色コロニー)	＋	＋	－	＋	＋	＋	＋
試料 2-2	CT-SMAC (ピンク色コロニー)	＋	＋	－	＋	＋	＋	＋

試料	釣菌した培地	CLIG			血清型
		斜面	高層	蛍光	
試料 1	SS (中心黒色、透明コロニー)	/	/	/	サルモネラ(O9:1,Z13:1,7)
試料 2-1	CT-SMAC (灰白色コロニー)	－	＋	－	病原大腸菌(O157 H7)
試料 2-2	CT-SMAC (ピンク色コロニー)	－	＋	＋	病原大腸菌(O103 H2)

更に、試料 2 については、PCR 法にて下痢原性大腸菌の病原遺伝子検査を行った。

また、それぞれの菌について、BBL CRYSTAL E/NF にて菌種の同定を行った。(表 3)

[事例・資料]

表 3 試料 1、2 の菌種の病原遺伝子検査結果及び同定結果

試料	釣菌した培地	病原遺伝子	同定
試料 1	SS(中心黒色、透明コロニー)		<i>Salmonella</i> species* ¹
試料 2-1	CT-SMAC(灰白色コロニー)	VT2、eae	<i>Escherichia coli</i>
試料 2-2	CT-SMAC(ピンク色コロニー)	VT1、eae	<i>Escherichia coli</i>

* 1 *Salmonella* species と同定され、血清型が(O9:l,z13:1,7)であったため、*Salmonella* Miyazaki。

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

菌種名	施設数
<i>Salmonella</i> Group	1
<i>Salmonella</i> Group (O9 群)	8
<i>Salmonella</i> Group (O9 群 H-L)	2
<i>Salmonella</i> Enteritidis	1
計	12

表 5 試料 2 の集計結果 1

菌種名	施設数
<i>Escherichia coli</i> O157	4
<i>Escherichia coli</i> O157(VT2 陽性)	7
(未検出)	1
計	12

[事例・資料]

表 6 試料 2 の集計結果 2

菌種名	施設数
<i>Escherichia coli</i> O103	3
<i>Escherichia coli</i> O103 (VT1 陽性)	4
<i>Escherichia coli</i> 混合 9	1
<i>Escherichia coli</i> 血清型不明	1
<i>Escherichia coli</i> 血清型不明 (VT1 陽性)	1
同定不能	1
(未検出)	1
計	12

8 まとめ

県内で細菌検査を実施している 12 施設を対象に、感染症法届出疾患原因菌、感染性胃腸炎原因菌及び食中毒菌検出に関し、検査能力の維持向上を図ることを目的に精度管理調査を実施した。

サルモネラ属菌 を検出した施設は 12 施設 (100%) で、全ての施設でサルモネラ属菌が同定された。

更に、O 抗原血清型 O9 群と判定した施設は 11 施設 (92%)、H 抗原血清型別試験まで行った施設は 2 施設 (17%) であった。

Escherichia coli O157 を検出した施設は 11 施設 (92%) で、更にベロ毒素 (VT2) を検出した施設は 7 施設 (58%) であった。*Escherichia coli* O103 を検出した施設は 7 施設 (58%) であり、更にベロ毒素 (VT1) を検出した施設は 4 施設 (33%) であった。また、血清型不明でベロ毒素 (VT1) を検出した施設は 1 施設 (8%) であった。

腸管出血性大腸菌は O 抗原血清型別で見ると O157 と O26 で約 80% を占める。残り約 20% については、腸管出血性大腸菌 O103、O111、O121、O145 等があり、食品中からの腸管出血性大腸菌の検査法では検査対象となっている。これらの O 抗原血清型の大腸菌が臨床検体から検出された場合は、腸管出血性大腸菌感染を疑いベロ毒素の検査を実施する必要があると考える。