

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(令和6年度)

微生物課 甘利祐実子 中島向南 平野愛佳理 柳井祐介 大串和弘 島あかり 田中葉子

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 参加施設数

12 施設

4 実施時期

検体発送日 令和7年1月15日(水)

検査結果回答期限 令和7年2月5日(水)

5 精度管理調査用試料

(1) 試料

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2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 | YVPU | <i>Salmonella</i> Typhi | tyv (+)、prt (+)、fliC-d (+)、viaB (+) |
| 試料2 | MNCG | <i>Vibrio cholerae</i> non-01, non-0139 (ナグビブリオ) | CT (-) |

(2) 試料1 (YVPU)

Salmonella Typhi を BHI 寒天培地 (brain heart infusion agar) に塗抹し、36°Cで一昼夜培養した。発育した *Salmonella* Typhi 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°Cで18時間培養して試料とした。

(3) 試料2 (MNCG)

[事例・資料]

Vibrio cholerae non-01, non-0139 (ナグビブリオ)を 1%NaCl 加普通寒天培地に塗抹し、36°Cで 18 時間培養した。発育した *Vibrio cholerae* non-01, non-0139 (ナグビブリオ)のコロニーを 1 白金耳(1 μl 用)釣菌し、1.0ml 自家製保存用培地 (BHI プロス+10%グリセリン) に接種して試料菌液とした。菌液を 1.3mlNaCl 加自家製輸送用培地 (普通ブイヨン+0.8% Agar+1%NaCl) に接種し、36°Cで 18 時間培養して試料とした。

6 試料の確認試験

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再度確認試験を行った。

(1) 試料 1 (YVPU)

分離用培地 5 種 (羊血液寒天培地、ドリガルスキー改良寒天培地、DHL 寒天培地、SS 寒天培地、クロモアガーサルモネラ培地) に画線塗抹し、36°C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 1 種類の菌の発育を認めた。

DHL 寒天培地のコロニー形態からチフス菌を疑うコロニー (1-①) を、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°C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 2)

表 2 試料 1 (YVPU) の生化学性状、血清型

| 試料 | 釣菌した培地 | TSI | | | | LIM | | | クエン酸利用能試験 |
|-----|-----------------------|-----|----|------------------|----|-----|-------|-----|-----------|
| | | 斜面 | 高層 | H ₂ S | ガス | リジン | イントール | 運動性 | |
| 1-① | DHL 寒天培地 (半透明コロニー) | - | + | +w | - | + | - | + | - |

| 試料 | 血清型 | | | | | | |
|-----|------|-------|----|------|-------|----|----|
| | 生菌 | | | 加熱後 | | | |
| | 0 多価 | 01 多価 | Vi | 0 多価 | 01 多価 | 07 | 09 |
| 1-① | - | - | + | + | - | - | + |

また、チフス菌に特異的な遺伝子の検査を PCR 法にて行った。さらに API® 微生物同定検査キット アピ 20E による菌種の同定を行った。(表 3)

表 3 試料 1 (YVPU) の遺伝子検査結果、同定結果

| 試料 | 遺伝子検査結果 | 同定 |
|-----|-------------------------------------|-------------------------|
| 1-① | tyv (+)、prt (+)、fliC-d (+)、viaB (+) | <i>Salmonella</i> Typhi |

血清型別検査、同定試験、遺伝子検査結果により *Salmonella* Typhi。

(2) 試料 2 (MNCG)

[事例・資料]

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、TCBS 培地、クロモアガーサルモネラ）に画線塗抹し、36°Cで 18 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 1 種類の菌の発育を認めた。

TCBS 寒天培地のコロニー形態からコレラ菌を疑うコロニー（2-①）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°Cで 18 時間培養した。血清型については、デンカ生研のコレラ免疫血清にて血清型別検査を行い、加えて耐塩性試験を実施した。（表 4）

表4 試料2 (MNCG) の生化学性状、血清型

| 試料 | 釣菌した培地 | TSI* | | | | LIM* | | | VP* | チトクローム・オキシダーゼ試験 |
|-----|-----------------------|------|----|------------------|----|------|-------|-----|-----|-----------------|
| | | 斜面 | 高層 | H ₂ S | ガス | リゾン | イントール | 運動性 | | |
| 2-① | TCBS 寒天培地 (黄色コロニー) | - | + | - | - | + | + | + | + | + |

*それぞれの培地は、NaCl 濃度が 1 %になるように調整した。

| 試料 | 血清型 | | | | | | | |
|-----|-----|----|----|------|-----|----|----|------|
| | 生菌 | | | | 加熱後 | | | |
| | 混合 | 小川 | 稻葉 | 0139 | 混合 | 小川 | 稻葉 | 0139 |
| 2-① | - | - | - | - | - | - | - | - |

| 試料 | 耐塩性試験 | | | | |
|-----|-------|----|----|----|-----|
| | 0% | 3% | 6% | 8% | 10% |
| 2-① | + | + | - | - | - |

また、遺伝子検査を PCR 法にて行った。さらに、API® 微生物同定検査キット アピ 20E による菌種の同定を行った。（表 5）

表5 試料2 (MNCG) の遺伝子検査結果、同定結果

| 試料 | 遺伝子検査結果 | 同定結果 |
|-----|--------------------------------------|------------------------|
| 2-① | VCatpA (+) 、01 (-) 、0139 (-) 、CT (-) | <i>Vibrio Cholerae</i> |

血清型別検査、PCR 検査結果により、*Vibrio Cholerae* non-01, non-139 CT(-) (ナグビブリオ)。

[事例・資料]

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 (YVPU) の集計結果

| 菌名 | 報告施設数 |
|-------------------------|-------|
| <i>Salmonella</i> Typhi | 1 1 |
| <i>Salmonella</i> 09群* | 1 |
| 計 | 1 2 |

*自動分析器では *Salmonella* Typhi を検出

表7 試料2 (MNCG) の集計結果

| 菌名 | 報告施設数 |
|--|-------|
| <i>Vibrio cholerae</i> * | 6 |
| <i>Vibrio cholerae</i> 疑い | 2 |
| <i>Vibrio cholerae</i> non-01 | 1 |
| <i>Vibrio cholerae</i> non-01 non-0139 (NAG ビブリオ) | 1 |
| <i>Vibrio cholerae</i> / <i>Vibrio cholerae</i> non-01 | 1 |
| <i>Vibrio mimicus</i> | 1 |
| 計 | 1 2 |

*1施設では血清検査（コレラ免疫血清、ビブリオコレラ免疫血清0139）を実施

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、感染症法対象届出疾患及び食中毒原因菌検出を目的とした精度管理を実施した。

試料1 (YVPU) に用いた、*Salmonella* Typhi は国内での検出頻度が低く、佐賀県においても平成28年度が最後の届出のため、検査経験者が減少していることが懸念されたが、*Salmonella* Typhi と同定した施設は11施設(92%)であり良好な検査結果が得られた。*Salmonella* 09群と回答した施設が1施設(8%)あったが、検査経過記録書を確認したところ、自動分析器で *Salmonella* Typhi を検出していった。

試料2 (MNCG) で、*Vibrio Cholerae*を検出した施設は11施設(92%)であった。さらに血清型の検査を行い *Vibrio cholerae* non-01, non-0139 (ナグビブリオ) と回答した施設が1施設と、*Vibrio cholerae* non-01と回答した施設が1施設であった。

回答には記載がなかったが検査経過記録書を確認したところ、コレラ菌免疫血清、ビブリオコレラ免疫血清0139を実施した施設が1施設であった。

なお、CTを検査した施設は0であった。

また、1施設が *Vibrio mimicus*と回答した。

TCBS寒天培地上で *Vibrio cholerae*は白糖分解のため黄色のコロニー、*Vibrio mimicus*は白糖

[事例・資料]

非分解のため緑色のコロニーとなる。

当所で試料 2 を TCBS 寒天培地に塗抹、36°Cで 18 時間培養後、室温および冷蔵にて経過を観察したところ、コロニーの色が緑色に変化した。

これは、糖利用を指標とした培地においてしばしば認められる現象であり、培地の使用法に則した時間でコロニーを観察することの重要性が確認された。

今回、試料に用いた *Salmonella Typhi* (試料 1) 及び *Vibrio cholerae* non-01, non-0139 (ナグビブリオ) (試料 2) ともに検出頻度が少ない菌であるが、今後、新型コロナウィルスへの規制緩和による海外渡航者の増加、技能実習生の受け入れ等にともない感染者の増加が予測されるため、これらの菌を試料として選択した。

通常の検査で検出する機会が少ない菌の鑑別のため、使用期限が短い血清等の試薬を整備することは難しいと思われる。

しかし、検査結果の精度を上げるためにには、検出頻度が少ない菌のコロニー性状や生化学性状を確認しておく必要がある。

加えて、回答欄に三類感染症の届出について記載していた施設が 5 施設 (42%) あった、今回の外部精度管理調査は、それぞれの病原菌の検査方法だけでなく届出基準についても確認する機会になったと考える。