

感染症検査にかかる外部精度管理調査 (平成23年度)

細菌課 甘利 祐実子 小松 京子 成瀬 佳菜子
西桂子 諸石早苗 吉原琢哉 眞子純孝

キーワード：感染症法 細菌検査 外部精度管理

1 はじめに

「感染症検査にかかる外部精度管理実施要領」に従い、糞便由来の感染症法指定菌及び感染性胃腸炎原因菌について外部精度管理を実施したので報告する。

2 実施方法

感染症法指定菌及び感染性胃腸炎原因菌の検査方法は特に指定せず、各検査機関が日常行っている検査方法とし、検出したすべての菌種名を結果報告とした。

また、検体についての疫学情報を記載した。

検体1：あん餅を喫食後、数時間で嘔吐 (検体：吐物)

検体2：下痢、発熱、腹痛 (検体：便)

3 実施時期

平成24年1月30日 (月) に検体が到着するよう各検査機関に送付し、結果報告は平成24年2月17日 (金) までとした。

4 参加検査機関

佐賀県内の検査機関、11施設 (アンケート調査 11施設) が参加した。

5 検体の調製

各検査機関に郵送した共通検体は表1のとおりである。

また、検体調整法および使用菌株性状については、下記に示す。

表1 共通検体

検体名	配布量	検体容器	郵送容器
検体1	1本	ヌンクチューブ	検体輸送用 UN3373
検体2	1本	ヌンクチューブ	検体輸送用 UN3373

*ヌンクチューブに輸送用培地 (普通ブイヨン+0.8%Agar)

＜検体の調製＞

- (1) 検体1：液体培地（TSB：トリプトソイブロス）で自家調製した佐賀県衛生薬業センター保存株 *Bacillus cereus* と液体培地（TSB：トリプトソイブロス）で自家調製した佐賀県衛生薬業センター保存株 *Staphylococcus aureus* を1：3の割合に混合し、その混合液を1.8ml ミニチューブ中の輸送用培地に接種し、37℃で一晩培養したものを検体とした。
- (2) 検体2：液体培地（TSB：トリプトソイブロス）で自家調製した佐賀県衛生薬業センター保存株 *Salmonella typhimurium* と、液体培地（TSB：トリプトソイブロス）で自家調製した佐賀県衛生薬業センター保存株 *Escherichia hermannii* を1：3の割合に混合し、その混合液を1.8ml ミニチューブ中の輸送用培地に接種し、37℃で一晩培養したものを検体とした。

＜検体使用菌株性状＞

Bacillus cereus

通性嫌気性のグラム陽性有芽胞菌で、普通寒天培地上で灰白色の周縁が不規則で扁平な直径3mm以上の大集落を形成する。卵黄を加えた培地上では、集落の周囲が卵黄反応（レシチナーゼ反応）により白濁する。自然界に広く分布する土壌細菌で、ふつうは非病原性とみられているが、食中毒の原因となることがある。下痢と腹痛を主とする下痢型食中毒（潜伏期間約12時間）と、吐気・嘔吐を主とする嘔吐型食中毒（潜伏期間1～5時間）がある。

Staphylococcus aureus

卵黄加マンニット食塩培地で2～3mmの黄色（ときに白色）正円集落で、その周囲に卵黄反応による真珠様の混濁したハロー（目玉焼き状）がみられる。マンニットを分解してフェノールレッドが黄色になるため、集落ないし培地が黄色化する。黄色ブドウ球菌は、人を取り巻く環境や各種の哺乳動物、鳥類等に広く分布している。特に、健康者の鼻、咽頭、腸管等に分布し、健康者の本菌保有率は20～30%であるとされている。黄色ブドウ球菌は食品中で増殖すると、エンテロトキシンと称される毒素を産生し、ブドウ球菌食中毒の原因となる。

Salmonella typhimurium

通常の *Salmonella* 属菌の生化学的性状を示す株である。

「デンカ生研」サルモネラ免疫血清、O多価、O4群、H-1, 2、H-i に凝集を示す。

Salmonella 属菌はO抗原とH抗原の種類によって約2000種類の血清型に分類される。

O抗原は耐熱性の菌体抗原で、*Salmonella* 属菌の多くは、2つあるいはそれ以上のO抗原をもっており、この抗原のうち、1つの主抗原とその他の副抗原の分布によって群が決定される。H抗原は易熱性の鞭毛抗原で、各菌群内の菌種決定に用いられる。

Salmonella 属菌は2種類のH抗原をもつ菌（複相性）と1つの抗原だけをもっている菌（単相性）があり、それぞれ、別途の遺伝子によって鞭毛形成が調節されている。また、

Salmonella 属菌のH抗原は2つの異なった性質をもった構造(相)の間を可逆的に変異する相変異という現象があり、*Salmonella typhimurium* の場合、H抗原は i ↔ 1,2 の相変異を起こす。

1892年 Loeffler より、ネズミチフス菌として分離された。

ウシ、ウマ、ブタ、トリ、そしてヒトと広い宿主から分離され、ヒトの食中毒の原因菌になるサルモネラとしても一般的である。イヌ、ネコなどの伴侶動物や野生動物も感染する。

Escherichia hermannii

Escherichia 属に含まれるグラム陰性桿菌。

膿汁、創傷、喀痰、血液、便など各臨床材料から分離される、自然界での分布は不明。

<事前確認試験>

試料作成

(1) -80℃にて冷凍保存を行った4菌株 (*Bacillus cereus* 以下①、*Staphylococcus aureus* 以下②、*Salmonella typhimurium* 以下③、*Escherichia hermannii* 以下④) をそれぞれBHI寒天培地に塗布。

36℃、24時間培養。

(2) それぞれの選択分離培地 (①: NGKG、②エッグヨーク食塩寒天培地、③SSS、DHL、クロモアガーサルモネラ、④CT-SMC) に1白金耳画線塗抹。

36℃、24時間培養をしてコンタミがないことを確認。

(3) BHI寒天培地から確認培地(TSI、LIM、TSB等)へ接種し、それを36℃、24時間培養。

(4) 確認培地の性状確認

①NGKG: 白色、大型、周辺不規則の集落

集落の周囲がピンク色に変化(卵黄反応)

グラム染色: グラム陽性桿菌

同定キット(BBL CRYSTAL GP) *Bacillus cereus*

②エッグヨーク食塩寒天培地: 2~3mmの黄色正円集落

集落の周囲に真珠用の混濁したハロー(目玉焼き状)を認める

コアグラゼテスト(栄研:ウサギプラズマ): +

グラム染色: グラム陽性球菌

同定キット(BBL CRYSTAL GP) *Staphylococcus aureus*

③SSS、DHLで典型的なコロニーの性状を示す。(周囲透明、中心部黒色)

クロモアガーサルモネラ: 藤色コロニー

TSI : -/+、+、- (斜面/高層、硫化水素産生、ガス産生)

LIM : +、-、+ (リジン、インドール、運動性)

同定キット(BBL CRYSTAL E/NF) *Salmonella sp*

「デンカ生研」サルモネラ免疫O群血清：O多価、O4群に凝集
 H抗原の検査を行い、1相：1、2、2相：iで *Salmonella typhimurium*
 と同定した。

- ④ CT-SMC 小型、半透明、中心部ピンクの集落
 T S I : -/+、-、-
 L I M : -、+、+
 同定キット (BBL CRYSTAL E/NF) *Escherichia hermannii*

血清型の確認

純培養した菌を生理食塩液に浮遊させ、105℃、60分で加熱処理→
 遠心 (3000rpm、15分) →上清を除去→PBSで浮遊させる→抗原液とする。

6 結果

感染症法指定菌 (検体1及び検体2) の検査について

調査対象：11施設

検体1の回答	
<i>Bacillus cereus</i>	7
<i>Bacillus sp</i> (又は <i>spp</i>)	2
グラム陽性桿菌	1
検出せず	1
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	7
検体2の回答	
<i>Salmonella typhimurium</i>	1
<i>Salmonella</i> 04	6
<i>Salmonella sp</i> (04群、H:i)	1
<i>Salmonella sp</i> (04群、H:1)	1
<i>Salmonella sp</i> (又は <i>species</i>)	2
<i>Escherichia hermannii</i>	9
<i>Escherichia hermannii</i> (0114)	1
菌種同定不可能	1

7 まとめ

検体1について9施設が *Bacillus* 属菌を検出した。そのうち7施設が *Bacillus cereus* まで特定した。1施設がグラム陽性桿菌を検出したが、使用している自動分析機器が *Bacillus* 属菌を検出対象菌としていなかったため、菌種同定には至らなかった。また1施設が *Bacillus* 属菌を検出できなかった。

すべての施設が *Staphylococcus aureus* を検出した。

検体2については、すべての施設で *Salmonella* 属菌を検出し、8施設がO4まで特定できた。そのうち2施設がH抗原 1、i まで特定した。さらに1施設が *Salmonella typhimurium* を特定した。

*Escherichia hermannii*については10施設が検出した。

また、1施設が使用している同定キットが *Escherichia hermannii* を検出対象菌としていなかったため、菌種同定には至らなかった。

今回の調査では概ね良好な検査結果が得られた。

今回の調査は、感染症法指定菌及び感染性胃腸炎原因菌の検査ということで、項目を指定せず、臨床症状の疫学情報と合わせて擬似的な臨床検体を各検査機関が日常行っている検査方法での実施であったが、検査施設の精度の維持・向上を図る契機となす精度管理の目的は達せられたものと思われる。

最後に、この精度管理に御協力いただいた県内検査機関および検査を担当された各位に深く感謝申し上げます。