

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(平成 29 年度)

細菌課 塘由香 柳井祐介 緒方美奈子 吉原琢哉 野田日登美 川内保典 原口健三

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

平成 30 年 1 月 18 日(木)に検体を配布し、平成 30 年 2 月 2 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

試料番号	菌種
試料 1	<i>Escherichia coli</i> O165 : H - (VT2)
試料 2	<i>Shigella sonnei</i>

(2) 試料の調整方法

試料 1 作成用として、*Escherichia coli* O165:H-(VT2)を BHI 寒天培地 (brain heart infusion agar) に塗抹し、36℃で一昼夜培養した。

試料 2 作成用として、*Shigella sonnei*を BHI 寒天培地に塗抹し、36℃で一昼夜培養した。

BHI 寒天培地に発育したコロニーをそれぞれ 1.8ml 自家製輸送用培地 (普通ブイヨン+0.8%Agar) に 1 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。

[事例・資料]

6 試料の確認試験

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 (CT-SMAC 寒天培地、クロモアガーSTEC、DHL 寒天培地、血液寒天培地、BTB 培地) に塗抹、試料 2 は分離用培地 4 種 (DHL 寒天培地、SS 寒天培地、血液寒天培地、BTB 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。

試料 1 は分離用培地である CT-SMAC 寒天培地およびクロモアガーSTEC に発育を認めず、その他 3 種 (DHL 寒天培地、血液寒天培地、BTB 培地) は発育を認めた。

試料 2 は分離用培地 4 種 (DHL 寒天培地、SS 寒天培地、血液寒天培地、BTB 培地) すべてに発育を認めた。

試料 1 は BTB 培地で黄色コロニーを、試料 2 は BTB 培地で青色半透明コロニーを釣菌し、それぞれ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、血清型別検査はデンカ生研の免疫血清にて行った。(表 2、3)

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	BTB 培地 (黄色コロニー)	+	+	-	-	-	+	-
試料 2	BTB 培地 (青色半透明コロニー)	-	+	-	-	-	-	-

表 3 試料 1、2 の菌の血清型

試料	釣菌した培地	血清型
試料 1	BTB 培地 (黄色コロニー)	病原大腸菌(O165)
試料 2	BTB 培地 (青色半透明コロニー)	赤痢菌(ソッネ赤痢菌)※

※試料 2 は *Shigella sonnei* I 相と同定した保存菌株を使用した。S-R 変異がみられ II 相に凝集を認めるコロニーもあった。

試料 1 については、下痢原性大腸菌の病原遺伝子検査を行った。試料 2 については、ipaH および invE 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 4)

[事例・資料]

表 4 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	BTB 培地 (黄色コロニー)	VT2、eae	<i>Escherichia coli</i>
試料 2	BTB 培地 (青色半透明コロニー)	ipaH、invE*	<i>Shigella sonnei</i>

*invE 遺伝子は、コロニーによって脱落しているものがあつた。

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 5、6)

表 5 試料 1 の集計結果

菌種名	施設数
<i>Escherichia coli</i> 0165 (VT2)	6
<i>Escherichia coli</i> 混合 9 (VT2)	1
<i>Escherichia coli</i> 0165	2
<i>Escherichia coli</i> 混合 9	2
<i>Escherichia coli</i>	2
計	13

表 6 試料 2 の集計結果 1

菌種名	施設数
<i>Shigella sonnei</i> 相	3
<i>Shigella sonnei</i> 相	
<i>Shigella sonnei</i> 相	1
<i>Shigella sonnei</i>	9
計	13

[事例・資料]

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、感染性胃腸炎原因菌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 の菌種同定は全施設正答であった。現在、志賀毒素産生性大腸菌(STEC)の分離には、亜テルル酸塩を添加した選択平板培地が頻用されている。しかし、O165 のように CT-SMAC 寒天培地やクロモアガー-STECC に発育を認めない O 血清群が存在するため、STECC の分離には選択性の異なる培地の併用が必要である。

試料 1 のベロ毒素(VT2)を検出した施設は、7 施設(54%)であった。稀な O 血清群でも HUS 事例や集団発生事例の報告があることから、STECC 感染を疑う場合は、ベロ毒素の検出を試みる必要がある。

試料 2 の菌種同定は全施設正答であった。ここ数年、県内の細菌性赤痢の発生は稀ではあるが、平成 29 年に届出があったことから検査方法等の手順を再確認した。