

[事例・資料]

感染症にかかる外部精度管理調査概要(令和3年度)

微生物課 古川友里加 木村碧 柳井祐介 鶴田恵子 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11施設の参加があった。

4 実施時期

令和4年1月13日(木)に検体を配布し、令和4年2月9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3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
試料1	YPWY	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus cereus</i>	エンテロトキシンC型 嘔吐毒(+)
試料2	PFEH	<i>Escherichia albertii</i>	VT2(+) eae(+)

(1) 試料1(YPWY)

*S.aureus*と*B.cereus*をBHI寒天培地(brain heart infusion agar)に塗抹し、36℃で24時間培養した。発育したコロニーを1μl白金耳で1.8ml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1.8ml自家製輸送用培地(普通ブイヨン+0.8%Agar)に接種し、36℃で一晩培養して試料とした。

(2) 試料2(PFEH)

*E.albertii*をBHI寒天培地(brain heart infusion agar)に塗抹し、36℃で24時間培養した。発育したコロニーを1μl白金耳で1.8ml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1.8ml自家製輸送用培地(普通ブイヨン+0.8%Agar)に接種し、36℃で一晩培養して試

[事例・資料]

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 (YPWY)

分離用培地 5 種(NGKG 培地、ドリガルスキー改良培地、羊血液寒天培地、卵黄加マンニット食塩培地、エッグヨーク寒天培地)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、すべての培地に発育を認めた。NGKG 培地、ドリガルスキー改良培地、羊血液寒天培地には 2 種類の菌の発育が認められた。

卵黄加マンニット食塩培地のコロニー性状から黄色ブドウ球菌と疑うコロニー(①)、NGKG 培地よりセレウス菌を疑うコロニー(②)を釣菌し、普通寒天培地に塗抹した。普通寒天培地を 37℃一夜培養後、生化学性状確認培地に接種して生化学性状の確認、毒素産生試験を行った。(表 2)

表 2 試料 1 (YPWY) の生化学性状、毒素産生性

試料	釣菌した培地	DN エース培地	PS ラテックス	コアグラージェテスト(試験管法)	毒素産生試験
試料 1 (①)	卵黄加マンニット食塩培地	+	+	+	エンテロトキシン C(+)

試料	釣菌した培地	TSI				VP	カタラーゼテスト	毒素産生試験(下痢型)
		斜面	高層	H ₂ S	ガス			
試料 1 (②)	NGKG 培地	-	+	-	-	+	+	-

また、試料 1-①についてエンテロトキシン A、B、C、D の遺伝子検査を、1-②についてセレウス菌の特異遺伝子、嘔吐毒、下痢毒の遺伝子検査を PCR 法にて行った。(表 3)

表 3 試料 1 (YPWY) の病原遺伝子検査結果、同定結果

試料	病原遺伝子	同定
試料 1-①	エンテロトキシン C	<i>Staphylococcus aureus</i>
試料 1-②	<i>B.cereus</i> 、嘔吐毒	<i>Bacillus cereus</i>

(2) 試料 2 (PFEH)

分離用培地 7 種(羊血液寒天培地、NGKG 培地、ドリガルスキー改良培地、DHL 寒天培地、CTSM、STEC、SM)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、すべての培地に発育を認めた。

ドリガルスキー改良培地より大腸菌を疑うコロニーを釣菌し、普通寒天培地に塗抹した。普通寒天培地

[事例・資料]

を 37℃一夜培養後、生化学性状確認培地に接種して生化学性状の確認、血清型別検査、毒素産生試験を行った。(表 4)

表 4 試料 2 (PFEH) の生化学性状、血清型

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
ドリガルスキー改良培地	－	＋	－	＋	＋	＋	－
釣菌した培地	CLIG			血清型	毒素産生試験		
	斜面	高層	MUG				
ドリガルスキー改良培地	－	＋	＋	OUT:HNM	－		

また、下痢原性大腸菌の病原遺伝子 (invE、VT1、VT2、stx2f、LT、ST、eae、aggR、astA、afaD) と *Escherichia albertii* の標的遺伝子 (clpx、lysp、mdh) について PCR 法により遺伝子検査を行った。(表 5)

表 5 試料 2 (PFEH) の病原遺伝子検査結果、同定結果

試料	病原遺伝子及び標的遺伝子	同定
試料 2	eae、VT2、stx2f、clpx、lysp、mdh	<i>Escherichia albertii</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 (YPWY) の集計結果

菌名	報告施設数
<i>Staphylococcus aureus</i> 、 <i>Bacillus cereus</i> (疑い含む)	9
<i>Staphylococcus aureus</i> 、グラム陽性桿菌	1
<i>Staphylococcus</i>	1
計	11

[事例・資料]

表 7 試料 2 (PFEH) の集計結果

菌名	報告施設数
<i>Escherichia coli</i>	4
<i>Escherichia coli</i> O8	3
<i>Escherichia coli</i> O8 VT(-)	2
<i>Escherichia coli</i> (もしくは <i>E.albertii</i> の可能性あり)	1
<i>Escherichia coli</i> VT(-)	1
計	11

8 まとめ

県内の細菌検査を行っている機関 11 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 (YPWY) で、*Staphylococcus aureus*、*Bacillus cereus*を検出した施設は 9 施設 (82%) で、毒素産生試験を実施した施設はなかった。

Staphylococcus aureus、*Bacillus cereus*は、毒素型食中毒の代表的なものである。今回、ほとんどの施設でコロニーの性状により 2 菌種を分離し、*Staphylococcus aureus*、*Bacillus cereus*と同定され、良好な結果が得られた。

試料2 (PFEH) では、*Escherichia albertii*を検出した施設はなかった。

*Escherichia albertii*は大腸菌の近縁菌種として 2003 年に新たに命名された新興下痢起炎菌のひとつである。この菌種は特徴的な生化学的性状を示さない上に、インチミンの遺伝子 (*eae*) を保有するなど他の菌種、特に大腸菌と誤同定されやすい特徴を示す。また一部の菌は、Vero 毒素 2f の遺伝子 (*stx2f*) を保有し、ヒトから分離されている。仮に *eae* および *stx2f* の遺伝子の遺伝子保有だけに着目すると、当該菌株は腸管出血性大腸菌と誤認される可能性もある。

2003 年以降、国内において患者数 100 名以上の事例を含む 9 件 (2020 年 7 月現在) の集団感染の原因菌となっており、志賀毒素産生株による溶血性尿毒毒症候群の発症事例も報告されている。これらのことから、本菌に関する情報提供を依頼する通知が 2016 年 11 月厚生労働省より各都道府県の衛生主管部局へ出され注目が集まっている。そのため、食中毒疑いの集団発生が起こった際には、*E. albertii* を視野に入れることも重要である。