

. 資 料

ウイルス小班・細菌小班合同 WG 会議

平成 29 年度ウイルス小班・細菌小班合同 WG 会議 プログラム

日 時：平成 29 年 5 月 24 日（水）13 時 00 分から 18 時 00 分まで

場 所：国立感染症研究所共用第 2 会議室

1. 挨拶 国立保健医療科学院（厚生労働省） 武村 真治先生
2. 出席者紹介
3. 皆川 洋子（愛知県衛研）
28 年度総括研究報告及び本年度の研究班活動計画について
4. 木村 博一（感染研）
平成 29 年度ウイルス検査精度管理に関する研究の概要
5. 吉田 弘（感染研）
ウイルス関連調査研究計画について
6. 出席者全員
ウイルス小班活動について
7. 滝澤剛則（富山衛研）村上光一（感染研）松本昌門（愛知衛研）
赤痢菌に関する外部「精度管理」調査試行について
8. 出席者全員
細菌小班活動について
9. 皆川 洋子（愛知衛研）
今後の予定について（検査の質確保・他機関との連携等を含めた全体討論）

保健所・大学連携 WG 会議

平成 29 年度保健所・大学連携 WG 会議 プログラム

日 時：平成 29 年 9 月 7 日（木）13 時 30 分から 17 時 00 分まで

場 所：愛知県衛生研究所 1 階 共同研究室

1 . 研究班長挨拶

2 . 出席者紹介

3 . 皆川 洋子（愛知県衛研）

28 年度研究概要の報告（ウイルス・項目）及び本年度の研究班活動計画について

4 . 松本 昌門（愛知県衛研）

細菌小班活動について（細菌検査精度管理概要）

5 .（15:00-15:30）皆川 洋子

事前アンケート集計結果について

6 .（15:50-16:50）出席者全員

今後の予定について（検査の質確保・他機関との連携等を含めた全体討論）

細菌小班コア WG 会議

平成 29 年度細菌小班コア WG 会議 プログラム

日 時：平成 29 年 10 月 24 日（火）10 時から 16 時まで

場 所：国立感染症研究所共用第 1 会議室

- 1．ワーキンググループによる検討について（松本 昌門・愛知県衛研）
- 2．全体討論（出席者全員）
- 3．意見交換（出席者全員）
- 4．事務連絡（松本 昌門）

全体班会議

平成 29 年度全体班会議 プログラム

日 時：平成 30(2018)年 1 月 10 日（水）13 時 00 分から 18 時 00 分まで

場 所：国立感染症研究所共用第 2 会議室

- 1 . 挨拶 国立保健医療科学院（厚生労働省）
- 2 . 出席者紹介
- 3 . 皆川 洋子（愛知県衛研）
29 年度研究概要について
- 4 - 1 . 滝澤剛則（富山県衛研）・松本昌門（愛知県衛研）・細菌小班 WG
赤痢菌に関する外部「精度管理」について
- 4 - 2 . 出席者全員
細菌小班活動について
- 5 . 皆川 洋子（愛知県衛研）・出席者全員
項目小班（保健所大学連携 WG 会議について、追加アンケート経過報告）
- 6 - 1 . 水越文徳（栃木県保健環境センター）・木村 博一（感染研）他
精度保証の手法を取り入れたウイルス遺伝子定量法の研修について
- 6 - 2 . 吉田 弘（感染研）・皆川・ウイルス小班 WG
ウイルス小班的調査研究について
- 6 - 3 . 出席者全員
ウイルス小班活動について
- 7 . 皆川 洋子（愛知県衛研）
2 年間の総括及び今後の方向性について（全体討論含む）
- 8 .（17:40-17:55）
講 評

平成 29 年度希少感染症診断技術研修会 第 2 日

赤痢菌の検査と精度管理

愛知県衛生研究所 松本 昌門

【目的】

平成 28 年 4 月の改正感染症法施行に伴い、病原体情報の収集を担当する地方衛生研究所（地研）は病原体検査の質を確保する必要性から外部精度管理を定期的にする義務が付与された。そこで国立感染症研究所（感染研）と地研が連携して、全国の地研に対して病原体検査外部精度管理を実施するシステムを構築するために平成 28 年度から 29 年度までの 2 年間、厚生労働科学研究活動を行った。その一環として赤痢菌を用いた外部精度管理調査の試行を 27 地研に対して実施したので報告する。

【方法】

参加地研の選定は全国 6 地域の地研数等を考慮して各地域から合計 27 の地研を選んだ。外部精度管理調査試行は、予め、平成 29 年 5 月 8 日に検査結果報告書、赤痢菌の生化学的性状等を記入する赤痢菌検査経過記録書等を参加地研にメールで送付した。5 月 19 日、感染研で準備した外部精度管理調査検体 3 件（赤痢菌陽性 2 株、赤痢菌陰性 1 株）をジュラルミン製 4 次容器に入れ、ゆうパックで 5 月 22 日に各地研到着で送付した。各地研で検査を行い、6 月 22 日までに愛知衛研に送付された記入済み検査結果報告書及び赤痢菌検査経過記録書の解析・評価を実施した。11 月 17 日に外部精度管理細菌検査正解の送付を行った。

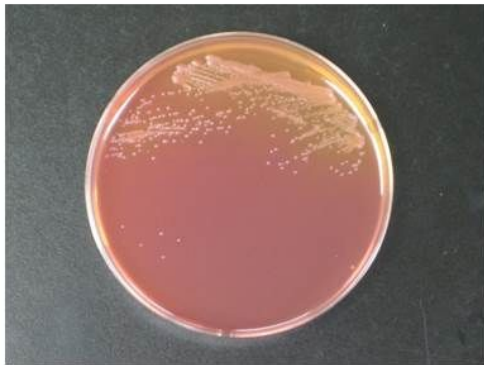
【結果と考察】

検査結果報告書の解析・評価では、判定結果は全ての施設から正しく報告された。しかし、「根拠とした検査結果」で記載例が適切でなかったため、試料 1（赤痢菌陰性）の表記に相違が見られた。また、血清型、菌型の誤記が見られたことから、複数人でのチェック体制が必要である。赤痢菌検査経過記録書では、一部の施設で検体受付当日に検査を開始していなかった。検査開始は受付当日が望ましい。結果記入の誤記、記入漏れも散見されたことから、複数人でのチェック体制が必要である。血清凝集検査では結果に相違が見られたことから、血清反応を菌液濃度の異なった複数の懸濁液で行う、複数人で確認を行う等対応が必要である。また、コロニーを 1 個のみ釣菌していた施設があったが、複数個釣菌することが望ましい。

大学等研究教育機関との連携、病原体の精度管理における保健所との連携を図りながら、赤痢菌以外の細菌への応用を視野に入れた外部精度管理実施体制を提言していきたい。

平成30年2月28日
希少感染症診断技術研修会

赤痢菌の検査と精度管理



愛知県衛生研究所
生物学部
松本昌門

研究班分担表(平成29年度)

| 担当小グループ | とりまとめ | 担当(研究分担者と協力者) |
|---|------------|---|
| 項目小班 ・法改正への対応状況 ・地域の検査精度維持向上における地研の役割 | 皆川 (愛知) | 脇田・宮崎・大石(感染研) 滝澤(富山) 佐野(名古屋) 岸本(岡山県) 調(山口) 四宮(愛媛) 猿木(群馬) 大井(東京) 香月(福岡県) 岸本(埼玉県) 脇田・宮崎・大石(感染研) 奥田・猪飼(愛知県一宮保健所) |
| ウイルス小班 「精度管理」試行・評価 実施要領・手順(案)作成 | 皆川 (愛知) | 吉田・木村・宮崎(感染研) 岸本(岡山県) 滝澤(富山) 高橋(岩手) 北川(福島) 近藤(神奈川) 中田(大阪) 伊藤(愛知) 山下(修文大) |
| 細菌小班 「精度管理」試行・評価 実施要領・手順(案)作成 | 滝澤(富山) | 大石・村上・大西・泉谷(感染研) 平井・貞升・河村・小西(東京) 磯部(富山) 勢戸(大阪) 世良・濱崎(福岡県) 松本(愛知) 四宮(愛媛) |

厚労省:地域保健室
結核感染症課

細菌性赤痢

【定義】

赤痢菌 (*Shigella dysenteriae*、*S.flexneri*、*S.boydii*、*S.sonnei*) の経口感染で起こる急性感染性大腸炎である。

【臨床的特徴】

潜伏期は1～5日。主要病変は大腸、特にS状結腸の粘膜の出血性 化膿性炎症、潰瘍を形成することもある。発熱、下痢、腹痛を伴うテネスマス(tenesmus;しぶり腹)、膿・粘血便の排泄などの赤痢特有の症状を呈する。近年、軽症下痢あるいは無症状に経過する例が多い。症状は一般に成人よりも小児の方が重い。

【届出基準】

ア 患者(確定例)

医師は、(2)の臨床的特徴を有する者を診察した結果、**症状や所見から細菌性赤痢が疑われ、かつ、次の表の左欄に掲げる検査方法により、細菌性赤痢患者と診断した場合には、法第12条第1項の規定による届出を直ちに行わなければならない。**

この場合において、検査材料は、同欄に掲げる検査方法の区分ごとに、それぞれ同表の右欄に定めるもののいずれかを用いること。

| 検査方法 | 検査材料 |
|--------------------|------|
| 分離・同定による 病原体の検出 | 便 |

全国の3類感染症発生状況

感染症疫学センター

| 年 | コレラ | 細菌性赤痢 | EHEC感染症 | 腸チフス | パラチフス |
|------|-----|-------|---------|------|-------|
| 2008 | 45 | 320 | 4,329 | 57 | 27 |
| 2009 | 16 | 181 | 3,879 | 29 | 27 |
| 2010 | 11 | 235 | 4,135 | 32 | 21 |
| 2011 | 12 | 300 | 3,939 | 21 | 23 |
| 2012 | 3 | 214 | 3,770 | 36 | 24 |
| 2013 | 4 | 143 | 4,046 | 65 | 50 |
| 2014 | 5 | 158 | 4,153 | 53 | 16 |
| 2015 | 7 | 156 | 3,561 | 36 | 31 |
| 2016 | 10 | 121 | 3,641 | 52 | 19 |
| 2017 | 7 | 141 | 3,890 | 37 | 14 |

2017年は2018年1月15日更新データ

赤痢菌検査の重要性

■ 三類感染症であり、届出基準に便からの分離・同定による病原体の検出が明記されている。また、食品関連業務に従事する人の場合、就業制限がかかり、社会的影響が大きい。



地衛研は医療機関や保健所等から同定を依頼をされ、最終同定が求められる。

■ 地衛研では赤痢菌検査数が減少し、検査経験がない職員が増えている。

■ 赤痢菌は他の病原菌に比べ、誤同定が多い。



病原微生物検出情報
国立感染症研究所
感染症疫学情報センター

IASR Vol.24 No.9 (No.283) September 2003

The Topic **HIV/AIDS 2002年**

特集関連情報

- [エイズ予防教育のエビダンスー長崎プロジェクト](#)
- [保健所における性感染症検査の導入による効果ー岡山市](#)
- [HIV感染症診断の検査手順の見直し](#)

ミニ特集

- [赤痢菌の検査法の問題点と解決策：IASR編集委員会序文](#)
- [赤痢菌の同定に関する問題事例ー沖縄県](#)
- [医療機関で大腸菌が赤痢菌\(*S. boydii*\)と誤同定された事例ー滋賀県](#)
- [下痢症患者から分離された*M. morganii*が赤痢菌と誤同定された事例ー千葉県](#)
- [赤痢菌同定の問題点ー東京都](#)
- [赤痢菌同定における留意点](#)
- [赤痢菌同定検査の問題点と現場からの提案](#)

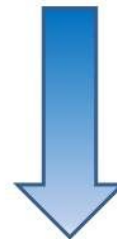
赤痢菌検査のポイント

| 試験 | ポイント |
|------------|--|
| 1 血清型別試験 | 赤痢菌の血清に凝集する大腸菌があることを知っているか。 多価と因子血清を検査できる免疫抗血清を備えているか。 |
| 2 生化学的性状試験 | 赤痢菌と大腸菌と鑑別する生化学的性状(培地)を知っているか。 |
| 3 運動性の確認 | 運動性がないことが赤痢菌の絶対的な性状であることを認識して、運動性の確認に適した培地を使用しているか。 |
| 4 遺伝子検査 | <i>invE</i> はプラスミド上に存在し、脱落する可能性を知っているか。 <i>ipaH</i> を検出しているか。 |
| 5 類似菌との鑑別 | 類似菌として <i>E. coli</i> 、 <i>Morganella morganii</i> 、 <i>Plesiomonas shigelloides</i> を認識しているか。 |

参加地方衛生研究所の決定 (H29.3)

| 地方 (地衛研数) | 人口 (万人) | 参加機関数 |
|---------------|------------|-------|
| 北海道・東北・新潟(12) | 1,686 | 3 |
| 関東・甲信・静岡(24) | 4,944 | 5 |
| 東海・北陸(8) | 1,260 | 3 |
| 近畿(14) | 2,276 | 4 |
| 中国・四国(11) | 1,170 | 3 |
| 九州・沖縄(12) | 1,323 | 3 |
| 計(81) | 12,659 | 21 |

全81地衛研中
参加希望64地衛研



細菌小班6地衛研を加え、
計27地衛研を決定

別紙4様式1

検査結果報告書の様式

地衛研精度管理研究班による平成29年度外部精度管理細菌検査報告書

平成 年 月 日

機関名
代表者氏名

該当する結果を○で囲み、必要な情報を記載下さい

| | | 結果 | | 根拠とした検査結果 |
|--------------|-----|----|----|----------------------------|
| | | | | (血清型、生化学的性状、遺伝子等) |
| 例示 | | 陽性 | 陰性 | O抗原(+)、生化学的性状(+)、赤痢菌遺伝子(+) |
| 赤痢菌の 同定結果 | 試料1 | 陽性 | 陰性 | |
| | 試料2 | 陽性 | 陰性 | |
| | 試料3 | 陽性 | 陰性 | |

結果について、以下のとおりに記載下さい
検査結果
性状、遺伝子等
生化学的性状(+)、赤痢菌遺伝子(+)

| | 試料1 | 陽性 | 陰性 |
|----------|-----|----|----|
| 赤痢菌の同定結果 | 試料1 | 陽性 | 陰性 |
| | 試料2 | 陽性 | 陰性 |
| | 試料3 | 陽性 | 陰性 |

なお、報告の詳細は別添の「H29赤痢菌検査経過書」に記載願います。

検査結果報告書の集計

| 試料 | 判定結果 | 根拠とした検査結果 | 施設数 |
|---|------|--|-----|
| 1. <i>Escherichia coli</i> ボイド9型(+) | 陽性 | | 0 |
| | 陰性 | O抗原(-)、生化学的性状(-)、赤痢菌遺伝子(-) O抗原(-)、生化学的性状(-)、赤痢菌遺伝子(-) 生化学的性状(-)、赤痢菌遺伝子(-)等 | 27 |
| 2. <i>Shigella sonnei</i> | 陽性 | O抗原(+)、生化学的性状(+)、赤痢菌遺伝子(+) | 27 |
| | 陰性 | | 0 |
| 3. <i>Shigella flexneri</i> 2a | 陽性 | O抗原(+)、生化学的性状(+)、赤痢菌遺伝子(+) | 27 |
| | 陰性 | | 0 |

検査結果報告書のまとめ

■ 判定結果

全ての施設から正しく報告された。

■ 根拠とした検査結果

試料1で記載例が適切でなかったため、施設によって表記に相違が見られた。

■ 血清型、菌型に明らかな誤記が見られた。

検査(結果報告まで)に病原菌検査の知識を持った複数人でのチェック体制が必要である。

赤痢菌検査経過記録書の集計

- 担当者情報
 - 1名 5施設
 - 2名 10施設
 - 3名 11施設
 - 4名 1施設(合計 63名)

■ 担当の内訳と検査経験

| 担当 | 記載数 | 細菌検査の経験 | | | 赤痢菌検査の経験 | | |
|---------|-----|---------|------|------|----------|------|------|
| | | なし | 5年以内 | 6年以上 | なし | 5年以内 | 6年以上 |
| 検査担当者 | 53 | 1 | 31 | 21 | 11 | 28 | 14 |
| 検査区分責任者 | 8 | 1 | 2 | 5 | 2 | 4 | 2 |
| その他 | 2 | | 2 | | 2 | | |
| 合計 | 63 | 2 | 35 | 26 | 15 | 32 | 16 |

・検査担当者の約7割は赤痢菌検査の経験が5年未満

■ 到着検体の状況

全ての施設で良好

■ 保管場所

すぐに検査を開始した施設は13か所、冷蔵
庫保管は11か所、室温保管は3か所

■ 検査開始日時

検体到着日23か所、翌日は2か所、翌々日
は1か所、開始日を誤記した施設が1か所

■ 分離培養検査

| 使用培地 | 施設数 |
|--|-----|
| SS+DHL | 16 |
| SS+DHL+BTB | 2 |
| SS+DHL+マッコンキー | 2 |
| SS+BTB, SSB+DHL, SS+DHL+SSS, SS+DHL+SSSB, SS+DHL+白糖加SS, SS+DHL+BTB+SSK, 普通寒天 | 各1 |

・赤痢菌分離培養にはSS寒天培地の使用が望ましい。

■ 生化学的性状検査(1)

| 検査項目 | 実施 | 未実施 |
|----------------|----|-----|
| ブドウ糖発酵試験 | 27 | 0 |
| 乳糖及び白糖発酵試験 | 27 | 0 |
| ブドウ糖からのガス産生試験 | 27 | 0 |
| リジン脱炭酸試験 | 27 | 0 |
| インドール産生性試験 | 27 | 0 |
| 運動性試験 | 27 | 0 |
| クエン酸利用試験 | 23 | 4 |
| VP(アセトイン産生性)試験 | 21 | 6 |
| 酢酸ナトリウム利用試験 | 20 | 7 |

・赤痢菌同定に最低限必要な項目は全ての施設で行われていた。

■ 生化学的性状検査(2)

| 検査項目 | 実施 | 未実施 |
|------------------|----|-----|
| オルニチンデカルボキシラーゼ試験 | 18 | 9 |
| アルギニンジヒドラーゼ試験 | 16 | 11 |
| ウレアーゼ試験 | 15 | 12 |
| 白糖発酵試験 | 12 | 15 |
| マロン酸利用試験 | 12 | 15 |
| 乳糖発酵試験 | 7 | 20 |
| 粘液酸 | 6 | 21 |
| その他 | 14 | 13 |

■ 生化学的性状検査(3)

| 検査項目 | 1. <i>Escherichia coli</i> | | 2. <i>Shigella sonnei</i> | | 3. <i>Shigella flexneri 2a</i> | |
|-----------------|-------------------------------|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|
| | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 陰性 |
| ブドウ糖 | 26 | 0 | 27 | 0 | 27 | 0 |
| 乳糖及び白糖 | 0 | 27 | 0 | 27 | 0 | 27 |
| 乳糖 | 1 | 5 | 1 | 6 | 0 | 7 |
| 白糖 | 1 | 10 | 0 | 12 | 0 | 12 |
| ブドウ糖からの ガス産生 | 1 | 25 | 1 | 26 | 1 | 26 |
| リジン | 0 | 26 | 0 | 27 | 0 | 27 |
| インドール | 26 | 1 | 0 | 27 | 0 | 27 |
| 運動性 | 0 | 27 | 0 | 27 | 0 | 27 |

赤字は誤記

■ 生化学的性状検査(4)

| 検査項目 | 1. <i>Escherichia coli</i> | | 2. <i>Shigella sonnei</i> | | 3. <i>Shigella flexneri 2a</i> | |
|---------|-------------------------------|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|
| | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 陰性 |
| VP | 0 | 20 | 0 | 21 | 0 | 21 |
| クエン酸 | 0 | 22 | 0 | 23 | 0 | 23 |
| アルギニン | 0 | 15 | 0 | 16 | 0 | 16 |
| オルニチン | 0 | 17 | 18 | 0 | 0 | 18 |
| マロン酸 | 0 | 11 | 0 | 12 | 0 | 12 |
| 酢酸ナトリウム | 18 | 1 | 0 | 20 | 0 | 20 |
| 粘液酸 | 5 | 1 | 0 | 6 | 0 | 6 |
| ウレアーゼ | 0 | 14 | 0 | 15 | 0 | 15 |

赤字は誤記

■ 使用した培地(1)

| 検査項目 | TSI | 単糖代謝 確認培地 | その他 |
|-------------|-----|--------------|-----|
| ブドウ糖 | 26 | 1 | |
| 乳糖及び白糖 | 27 | | |
| 乳糖 | | 6 | 1 |
| 白糖 | | 4 | 8 |
| ブドウ糖からのガス産生 | 20 | 7 | |

| 検査項目 | LIM | SIM | その他(培地名) |
|--------|-----|-----|----------------|
| リジン脱炭酸 | 24 | | 3 メラー培地、リジン脱炭酸 |
| インドール | 27 | | |
| 運動性 | 17 | 7 | 3 半流動培地 |

・運動性の確認はSIM培地がよい。

■ 使用した培地(2)

| 検査項目 | 培地等 |
|----------------|-----------------------------------|
| VP試験 | VP培地(17)、市販キット(4) |
| クエン酸 | シモンズ(18)、シモンズ+クリステンゼン(4)、市販キット(1) |
| アルギニンジヒドラーゼ | 市販キット(10)、メラー培地(6) |
| オルニチンデカルボキシラーゼ | 市販キット(11)、メラー培地(7) |
| マロン酸 | 市販キット(8)、マロン酸(4) |
| 酢酸ナトリウム | 酢酸ナトリウム(18)、酢ナト加シモンズ(2) |
| 粘液酸 | 自家調製(3)、K-P粘液酸培地(1) |
| ウレアーゼ | 市販キット(12)、ウレアーゼブロス(1)、Urea培地(1) |
| その他 | CLIG培地(4)、クリステンゼン(3)等 |

・赤痢菌と大腸菌の鑑別に酢酸ナトリウム培地を用いる。
 ・市販キットは検査項目に運動性がない。

■ 血清凝集試験

全ての施設が実施

| 検査項目 | 1. <i>Escherichia coli</i> (ボイド9型) | | 2. <i>Shigella sonnei</i> | | 3. <i>Shigella flexneri</i> 2a | |
|------|---------------------------------------|----|---------------------------|----|--------------------------------|----|
| | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 陰性 |
| 血清凝集 | 15 | 11 | 27 | 0 | 27 | 0 |

- ・非特異凝集(7):C、C1多価(+w)、C~C3多価(+w)
- ・凝集なし(4)

- ・菌液濃度の異なった複数の懸濁液で行う。
- ・複数人で確認を行う。
- ・赤痢菌は生菌を用いる。

■ 赤痢菌遺伝子検査

全ての施設が実施

PCRを用いた施設は25ヶ所(Veriti等:13, TaKaRa:9, BIO-RAD:2, ASTEC:1)、リアルタイムPCR、LAMPは各1か所

| 検査項目 | 1. <i>Escherichia coli</i> (ボイド9型) | | 2. <i>Shigella sonnei</i> | | 3. <i>Shigella flexneri</i> 2a | |
|-------------|---------------------------------------|----|---------------------------|----|--------------------------------|----|
| | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 陰性 |
| <i>ipaH</i> | 0 | 24 | 23 | 1 | 24 | 0 |
| <i>invE</i> | 0 | 25 | 25 | 0 | 25 | 0 |

赤字は誤記

- ・*ipaH* & *invE* (22), *ipaH*(2), *invE*(3)

- ・PCRプライマーセット1種類の際は*ipaH*を用いる。

赤痢菌検査経過記録書のまとめ

- 検査開始は当日が望ましい。
- 誤記、記入漏れが散見された。検査(結果報告まで)に病原菌検査の知識を持った複数人でのチェック体制が必要である。
- 血清凝集検査は菌液濃度の異なった複数の懸濁液で行う、複数人で確認を行う、赤痢菌は生菌を用いる等対応が必要である。
- コロニーは複数個釣菌することが望ましい。