

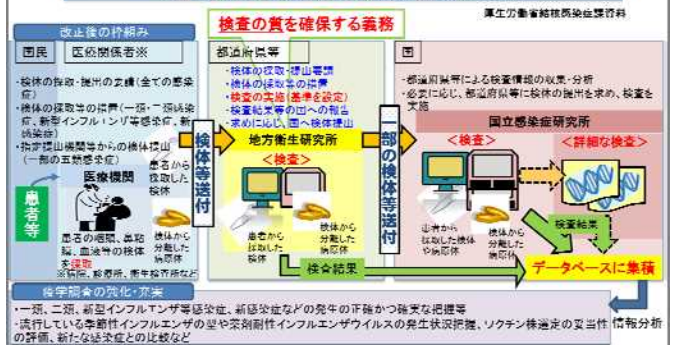
令和元年10月18日  
「病原微生物検査体制の維持・強化に必要な地方衛生研究所における人材育成及び地域における精度管理に関する協力体制構築に向けた研究(H30-健危-一般003)」班研修会

## 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

## 感染症に関する情報の収集体制の強化(概要)



平成28年度厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)  
地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的実施に必要な事業体制の構築に関する研究(H28-健危-一般-002)

1. 研究代表者: 菅川 洋子(愛知県衛生研究所)
2. 研究分担者: (地全協精度管理部会、感染研レファレンス委員会等)

### 背景

- ・平成28年4月改正感染症法施行に伴い知事等の事務となった病原体情報の収集を担当する**地方衛生研究所等**において「**病原体検査の質**」を確保する必要
- ・地衛研の検査水準確保、健康危機管理体制の維持、人材育成効果も期待(感染症発生動向調査、地衛研-感染研のネットワークの維持にも役立つ)

### 研究目的

- 地衛研全国協議会が主体となって、
- ・外部精度管理体制の導入にあたり、継続的実施に必要な条件を提言
- ・具体的な外部精度管理項目の洗い出し・検査体制構築状況の把握
- ・ウイルス・細菌に関する**外部精度管理の試行**

3

## 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	菅川(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	菅川(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) 井井・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)

厚生省: 地域保健室  
結核感染症課

4

## 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

## 地衛研から感染研へのBSL2実験室確認書の提出(H29.4)

BSL2(3)実験室確認書(ひな形)  
(分り様式)に添付)

2017年4月7日

BSL2(3)実験室確認書  
実験室名: 細菌研究室 BSL2(P2)実験室

上記実験室はBSL2(3)実験室としての設備および運営の要件を満たしています。

- なお、以下に該当する場合は、  
 (1) 特定病原体等の場合、所持許可(二種)済んでいる、又は届出(二種)済んでいる(或いは受領後届出予定)  
 (2) 監視伝染病病原体の場合、所持許可(重口管理、又は要管理)済んでいる、又は届出している  
 (3) 遺伝子組換え生物の場合、実験承認を得ている

ことを確認しています。※今回(1)~(3)には該当しません。

バイオセーフティ管理者: ○○○(またはそれに該当する方)

所長・役員: ○○県衛生研究所・○○部長

注: WHOコロナレシコンセンターを除く、検査研究依頼時に依頼先施設に作成を依頼する。



## 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。病原菌の知識を持った複数での検査結果のチェックが必要である。

## 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	7	5	7	4	7
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年以内

### ■ 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+マッコンギー	2
SS+BTB	1
SSB+DHL	1
SS+DHL+SSS	1
SS+DHL+SSSB	1
SS+DHL+白糖加SS	1
SS+DHL+BTB+SSK	1
普通寒天	1
計	27

・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(アセチン産生性)試験	21	6
酢酸ナトリウム利用試験	20	7

・赤痢菌と大腸菌の鑑別に酢酸ナトリウム利用試験を行う。

## ■ 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</i> 2a	
	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</i> 2a	
	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
ノルギニン	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)、酢酸ナトリウム加シモンズ(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)、ウレアーゼプロス(1)、Urea培地(1)
その他	CLIG培地(4)、クリステンゼン(3)等

・市販キットは運動性が確認できない。

### ■ 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)等  
・凝集なし(4)

・菌液濃度の異なった懸濁液で行う。  
・複数で確認を行う。  
・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
ipaH	0	24	23	1	24	0
invE	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。病原菌の知識を持った複数での検査結果のチェックが必要である。
- 血清凝集検査は菌液濃度の異なった懸濁液で行う、複数で確認を行う、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。