

5 微生物及び免疫に関する試験検査〔微生物部門〕

(1) 年間取扱件数

平成18年度の微生物及び免疫に関する試験検査の取扱件数及び検査項目数は、表2-5-1のとおりである。

(2) 京都市感染症発生動向調査事業における病原体検査(定点医療機関分)

ア 目的

感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき、社会的に重要視されている感染症を対象に患者の病原体検査を行い、感染症発生状況と起因病原体との関連を検討することにより、各種感染症の流行状況を的確に把握し、適切な防疫対策に役立てることを目的とする。

イ 材料及び方法

(7) 検査材料

- a 検査定点医療機関は、小児科定点2箇所、インフルエンザ定点3箇所及び基幹定点1箇所である。
- b 検査定点からの年度内患者総数は693人で、ウイルス分離試験は693人、細菌検査は613人、マイコプラズマ検査は339人であった。
- c ウイルス分離試験は、糞便303検体、咽頭ぬぐい液367検体、髄液107検体、尿15検体、気管吸引物2検体、眼結膜ぬぐい液2検体の合計796検体について実施した。
- d 細菌検査は、糞便271検体、咽頭ぬぐい液338検体、髄液61検体、尿14検体、気管吸引物1検体、眼結膜ぬぐい液2検体の合計687検体について実施した。
- e マイコプラズマ検査は、咽頭ぬぐい液及び気管吸引物339検体について実施した(表2-5-2)。

(4) 検査方法

- a ウイルス検査は、検体を常法により前処理した後、培養細胞(FL, RD-18S, Vero)と哺乳マウスを用いて行った。インフルエンザウイルスの分離には、培養細胞(MDCK)を使用した。分離ウイルスの同定には中和反応、赤血球凝集抑制反応及び補体結合反応を用いた。ロタウイルス、アデノウイルスの抗原検出は、免疫クロマト法(IC)、腸管系アデノウイルス(40/41型)の抗原検出は酵素免疫法(EIA)、また、ノロウイルスは、リアルタイムPCR法により遺伝子の検出を行った。
- b 細菌検査は、糞便から常法により病原性大腸菌、ビブリオ、サルモネラ、黄色ブドウ球菌などの食中毒や感染性胃腸炎起因菌を、咽頭ぬぐい液から溶血性連鎖球菌、肺炎球菌、ヘモフィルス、黄色ブドウ球菌などの呼吸器感染症起因菌の分離を行った。また、肺炎マイコプラズマの検査は咽頭ぬぐい液を用いてPPL0二層培地で増菌後、PPL0寒天培地に接種する方法で分離した。成績の詳細については、第6部で述べる。

(3) 二類・三類感染症病原体検査

ア 目的

コレラは、海外旅行の機会の増加、輸送時間の短縮などに伴い、輸入感染症として再び身近な感染症になっている。平成3年にペルーから始まった世界流行(パンデミー)を契機に、コレラ汚染地域からの渡航者が消化器系感染症を発症した場合には、患者、患者との接触者、旅行の同行者について細菌性赤痢、腸チフス、パラチフス及びコレラの保菌検査を実施している。

腸管出血性大腸菌感染症は、平成8年に社会問題となった以後も散発的な発生が続いている。少量の菌数でも感染するため、二次感染を防ぐ目的で、患者の家族や接触者などの保菌検査を行っている。また、近年は、汚染された食品が広範囲に流通したことによる広域散発型の食中毒の発生がみられ、その探知のために、国立感染症研究所が菌株の遺伝子解析を行っている。医療機関から提供された患者の腸管出血性大腸菌については、血清型と毒素型を当研究所で確認した後に国立感染症研究所へ送付している。

なお、感染症法の改正により、平成19年4月からは、細菌性赤痢、腸チフス、パラチフス及びコレラも、腸管出血性大腸菌感染症と同じ三類感染症として扱われることになった。

イ 材料及び方法

糞便、食材、器具ふきとり液など、保健所が採取し当研究所に搬入した検体を、常法により直接又は増菌培養した後寒天培地に接種し、分離菌について生化学的性状と血清による同定を行い、腸管出血性大腸菌については、

免疫クロマト法及びRPLA法によるペロ毒素の検出と、PCR法による毒素遺伝子の確認を行った。また、医療機関などで検出された病原菌の菌株についても同様に同定を行った。

ウ 結果と考察

- (7) 取扱件数及び項目数は、表2-5-3のとおりである（検体数は712、検査項目数は847）。
- (4) コレラ汚染地域への渡航者に関連した消化器系感染症は、15事例発生があり、同行者1名から赤痢菌（*Shigella sonnei*）を検出した。また、患者由来の菌株3検体は、*Shigella boydii* 2型、*Shigella flexneri* 6、*Shigella flexneri* 2aと同定した。
- (9) 腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は、43事例であった。
- (5) 当所で検出した腸管出血性大腸菌は、8事例24株で、いずれも患者の家族や接触者の便から検出し、食品及びふきとり液からは、検出されなかった。ほかに、医療機関で検出した腸管出血性大腸菌38株の血清型と毒素の検査を実施した。これら62菌株の血清型と毒素型の内訳は、次の表のとおりである。

O157:H7 VT1&VT2	49株	O26:H11 VT1&VT2	2株	O121:H19 VT2	1株
O157:H7 VT1	2株	O26:H11 VT1	1株		
O157:H7 VT2	2株	O26:H- VT1	1株		
O157:H- VT1&VT2	4株				

(4) 風疹ウイルス抗体検査

ア 目的

風疹は、小児に多い感染症の一つであり、比較的軽症であるが、免疫のない女性が妊娠初期に罹患すると出生児に先天性風疹症候群（CRS）と総称される障害を引き起こすことがある。風疹の発生動向調査やワクチン接種などのCRS予防対策の一環として、妊娠予定者の免疫の有無を知る目的で抗体検査を行っている。

イ 材料及び方法

保健所に来所し、健康相談を受けた妊娠予定者のうち、検査を希望する人から採血し、当研究所に搬入された血液を検体とした。抗体価の測定は、固定化ヒヨコ赤血球を用いた赤血球凝集抑制試験（デンカ生研）で行った。

ウ 結果

月別検査取扱件数は、表2-5-4のとおりである。9検体（9名）のうち、8名は、抗体を保有していたが、1名（30歳代女性）は、陰性であった。

(5) 感染性胃腸炎集団発生事例病原体検査（行政依頼ウイルス検査・行政依頼細菌検査）

ア 目的

平成18年10月から平成19年3月頃まで、高齢者福祉施設を中心として、ノロウイルスの集団発生が全国で猛威をふるった。本市もその例外ではなく、大変多くの施設でノロウイルスを疑う集団感染事例が発生した。

表2-5-5に示すように、感染性胃腸炎集団発生105事例について、当該施設で採取され保健所から搬入された糞便等について検査を実施した。

なお、検査の対象病原体は、ノロウイルス、コレラ菌、赤痢菌、チフス菌、パラチフスA菌、腸管出血性大腸菌及び黄色ブドウ球菌とした。

イ 材料及び方法

便については、5%BPA加イーグルMEM培地、食品については、滅菌生理食塩水を加え10%乳剤とし、3,000rpm、10分遠心後、上清を1.5mlマイクロチューブに約1ml分取し、12,000rpm、20分遠心、上清を検液とした。

検液からRNAを抽出し、リアルタイムPCR法でノロウイルス遺伝子検出を行った。細菌検査については、常法により直接に、又は増菌培養した後に各種寒天培地に接種し、分離を行った。

ウ 結果と考察

- (7) 平成18年度内には、10月に6件、11月に63件、12月に26件、1月に5件、2月に1件、3月に4件、合計105件の集団感染事例があった（表2-5-5）。患者便等584検体のうち463検体からノロウイルス遺伝子が

検出され、全て遺伝子型GⅡによるものであった。これらの一部の検体について遺伝子解析を行ったところ遺伝子型別は全てGⅡ/4型であり、同時期全国で発生した集団感染事例と同様であった。

(4) ビブリオ（コレラ菌）、赤痢菌、サルモネラ（チフス菌・パラチフスA菌）及び腸管出血性大腸菌は、すべての検体で検出されなかった。

(6) B型肝炎ウイルス院内感染事例病原体検査（行政依頼ウイルス検査）

ア 目的

平成18年9月、市内の透析施設を有する病院より保健所に対し、一時期に集中してB型肝炎ウイルスHBs抗原陽転者が十数名発生し、数名の急性肝炎患者が発生した旨の報告があった。調査によりB型肝炎ウイルスキャリアーからの感染が強く疑われたため、当該施設等で採取され、保健所から搬入された血清についてB型肝炎ウイルスの遺伝子検査を実施した。

イ 材料及び方法

(7) B型肝炎ウイルスキャリアー5名並びに患者16名、合計21名の血清が搬入された。

(4) 血清から QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN)によりDNAを抽出し、X-C領域でPCR法による遺伝子増幅を行った。

ウ 結果

(7) 搬入された21検体のうち、18検体（患者13名、キャリアー5名）からB型肝炎ウイルス遺伝子が検出された。

(4) ウイルス遺伝子が検出された18検体について、その増幅遺伝子の塩基配列を読み取ると、それぞれ615～730塩基が解析できた。これらの同一配列部位（587塩基）を並べ、比較すると患者13名の遺伝子配列がキャリアー1名の遺伝子配列と100%一致したことから、本院内感染事例は、当該キャリアーが感染源と推定された。

(7) 感染経路は、確定できなかった。

(7) ヒト免疫不全ウイルス抗体検査

ア 目的

本市では、昭和61年度からヒト免疫不全ウイルス（HIV）の感染実態把握と感染者の早期発見、感染の拡大防止を目的として抗体検査を行っている。

平成5年度からは、検査の無料化と検査保健所の拡大が行われ、市内11保健所で週1回の匿名無料検査を実施している。また、平成18年度からは、1保健所で毎月2回の夜間検査が実施されている。

イ 材料及び方法

保健所で実施されている匿名無料検査において採取された血液を対象とした。スクリーニング検査は、血清を試料として、ゼラチン粒子凝集法（富士レビオ社）により、HIV1型及び2型の抗体を検査した。確認検査は、ゼラチン粒子凝集法（富士レビオ社）によるHIV1型及び2型の抗体の定量試験と、ウェスタンブロット法（富士レビオ社）によるHIV特異バンドの検出で判定した。

ウ 結果

(7) 受付件数は、表2-5-6のとおりである。総数は、1,510検体で、昨年度より156検体増加した。総数のうち、夜間検査での採血は、432名あった。被検者を性別で見ると、男性は915名（60.6%）、女性は594名（39.3%）であった。

(4) スクリーニング検査で要確認となったものは、11検体であった。確認検査の結果は、7名が陽性となり、1名は、抗体検査の判定保留（ウイルスの核酸増幅検査で陽性）となった。

(8) 梅毒血清反応検査

ア 目的

性感染症対策の一環として、梅毒及び淋菌感染症の相談・検査を保健所で実施している。梅毒については、保健所でガラス板法を実施した結果、陽性又は疑陽性となった血液検体について、当研究所で確認検査を行っている。確認検査は、血清を検体としてガラス板法、カーボン凝集法(RPR法)、TPPA法を実施している。

また、今年度から、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）抗体検査を受ける人で、梅毒の検査も希望する人は、当研究所にて同時に検査を実施している。

イ 材料及び方法

保健所で採血し、当研究所に搬入された血液を検体とした。スクリーニング検査は、TPPA法（富士レビオ社）で定性試験を行い、陽性となったものは、ガラス板法、カーボン凝集法(RPR法)及びTPPA法の定量試験を実施して確認している。

ウ 結果

検査件数は、表2-5-7のとおりである。保健所からの確認検査は、1件であり、検査結果は陰性であった。HIV抗体検査と同時に受け付けた検査は、1,315件であり、19検体が陽性となった。

表2-5-1 年間取扱件数

項目	細分	総数		平成18年										平成19年		
		検体数	項目数	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
感染症発生动向調査	ウイルス分離	796	7,811	68	60	61	82	60	56	66	97	67	60	63	56	
	細菌検査	687	2,748	64	45	57	74	51	50	57	77	58	54	51	49	
	マイコプラズマ検査	339	339	27	22	23	36	32	28	32	28	24	32	30	25	
風疹ウイルス検査	血清試験	9	9	1	—	1	2	—	—	2	1	1	—	1	—	
ヒト免疫不全ウイルス検査	血清試験	1,510	3,020	95	122	124	96	122	102	137	139	164	142	151	116	
梅毒検査	血清試験	1,316	1,318	81	119	108	87	119	97	131	124	159	94	112	85	
2類, 3類感染症病原体検査	細菌検査	712	907	20	5	21	30	139	232	5	1	16	10	227	6	
一般依頼ウイルス検査	ウイルス分離	3	3	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	
一般依頼細菌検査	細菌検査	2	2	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	
行政依頼ウイルス検査	ウイルス分離	605	605	—	—	—	—	—	—	53	347	155	22	7	21	
行政依頼細菌検査	細菌検査	588	3,243	—	—	1	14	4	3	21	323	165	24	7	26	
計		6,567	20,005	356	373	396	421	527	571	506	1,137	809	438	649	384	

表2-5-2 京都市感染症発生动向調査事業病原体検査取扱件数

	計	平成18年										平成19年		
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
受付患者総数	693	60	55	53	71	52	52	61	74	59	53	52	51	
ウイルス検査被検患者数	693	60	55	53	71	52	52	61	74	59	53	52	51	
ウイルス検査	糞便	303	34	26	24	24	11	16	29	50	33	19	19	18
	咽頭ぬぐい液	367	27	29	25	38	35	29	32	34	24	33	33	28
	髄液	107	5	4	10	18	12	10	4	10	9	7	9	9
	尿	15	1	1	2	2	2	1	1	1	1	—	2	1
	気管吸引物	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
	眼結膜ぬぐい液	2	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—
細菌検査被検患者数	613	58	42	51	65	44	47	54	64	51	49	43	45	
細菌検査	糞便	271	33	19	22	23	10	16	24	44	30	18	17	15
	咽頭ぬぐい液	338	26	22	23	36	32	28	32	28	24	32	30	25
	髄液	61	4	3	11	12	7	5	1	2	3	4	2	7
	尿	14	—	1	1	3	2	1	—	1	1	—	2	2
	気管吸引物	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	眼結膜ぬぐい液	2	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—
マイコプラズマ検査	咽頭ぬぐい液	338	26	22	23	36	32	28	32	28	24	32	30	25
	気管吸引物	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
取扱件数 計	1,822	159	127	141	192	143	134	155	202	149	146	144	130	

表 2-5-3 二類・三類感染症病原体検査 取扱件数及び項目数

		計	平成18年						平成19年					
			4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
検体数		712	20	5	21	30	139	232	5	1	16	10	227	6
検査項目	赤痢菌	48	13	3	—	4	5	5	1	—	6	7	—	4
	コレラ菌	45	13	2	—	4	4	5	—	—	6	7	—	4
	腸チフス菌	45	13	2	—	4	4	5	—	—	6	7	—	4
	パラチフスA菌	45	13	2	—	4	4	5	—	—	6	7	—	4
	EHEC	664	7	2	21	26	134	227	4	1	10	3	227	2
計		847	59	11	21	42	151	247	5	1	34	31	227	18

表 2-5-4 風疹検査 月別取扱件数

	計	平成18年						平成19年					
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
検体数	9	1	—	1	2	—	—	2	1	1	—	1	—

表 2-5-6 HIV抗体検査 受付件数

	計	平成18年						平成19年					
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
男性	915	55	72	72	62	86	64	85	84	89	75	97	74
女性	594	40	50	52	34	36	38	52	55	75	67	53	42
不明	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
計	1,510	95	122	124	96	122	102	137	139	164	142	151	116

表 2-5-7 梅毒血清反応 検査件数

区分	検査項目	計	平成18年						平成19年					
			4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
依頼	ガラス板法	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
	RPR法	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
	TPPA法	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
	小計	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3
HIV同時		1,315	81	119	108	87	119	97	131	124	159	94	112	84
計		1,318	81	119	108	87	119	97	131	124	159	94	112	87

表 2-5-5 感染性胃腸炎集団発生事例 病原体検査取扱件数及び結果

月	原因施設	施設数	検体数		陽性数	遺伝子型別
10月	伏見区 (社会福祉施設)	2	患者便	7	6	ノロウイルスG II
		2	吐物	8	8	ノロウイルスG II
		1	食品等	32	0	
		1	業者便	6	0	
11月	北区 (医療施設)	1	患者便	4	4	ノロウイルスG II
	北区 (社会福祉施設)	6	患者便	28	21	ノロウイルスG II
			吐物	1	1	ノロウイルスG II
	上京区 (医療施設)	2	患者便	10	10	ノロウイルスG II
	上京区 (社会福祉施設)	4	患者便	14	12	ノロウイルスG II
	左京区 (医療施設)	9	患者便	68	58	ノロウイルスG II
	左京区 (社会福祉施設)	9	患者便	48	40	ノロウイルスG II
			吐物	1	1	ノロウイルスG II
	中京区 (社会福祉施設)	3	患者便	16	9	ノロウイルスG II
	東山区 (その他の施設)	1	患者便	5	3	ノロウイルスG II
	山科区 (医療施設)	2	患者便	10	9	ノロウイルスG II
	山科区 (社会福祉施設)	3	患者便	15	13	ノロウイルスG II
	下京区 (医療施設)	1	患者便	5	2	ノロウイルスG II
	下京区 (社会福祉施設)	2	患者便	21	19	ノロウイルスG II
	下京区 (その他の施設)	1	患者便	2	2	ノロウイルスG II
			吐物	1	1	ノロウイルスG II
	南区 (医療施設)	1	患者便	3	3	ノロウイルスG II
	南区 (社会福祉施設)	4	患者便	18	16	ノロウイルスG II
	右京区 (医療施設)	4	患者便	27	23	ノロウイルスG II
	西京区 (社会福祉施設)	1	患者便	9	9	ノロウイルスG II
伏見区 (医療施設)	4	患者便	20	16	ノロウイルスG II	
伏見区 (社会福祉施設)	4	患者便	17	14	ノロウイルスG II	
伏見区 (その他の施設)	1	患者便	4	4	ノロウイルスG II	
12月	北区 (医療施設)	3	患者便	16	14	ノロウイルスG II
	北区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	5	ノロウイルスG II
	左京区 (医療施設)	1	患者便	4	3	ノロウイルスG II
	左京区 (社会福祉施設)	2	患者便	16	12	ノロウイルスG II
	山科区 (社会福祉施設)	2	患者便	10	8	ノロウイルスG II
	下京区 (社会福祉施設)	1	患者便	8	8	ノロウイルスG II
	下京区 (その他の施設)	1	患者便	3	3	ノロウイルスG II
	南区 (社会福祉施設)	2	患者便	7	7	ノロウイルスG II
	右京区 (社会福祉施設)	3	患者便	16	13	ノロウイルスG II
	西京区 (社会福祉施設)	2	患者便	11	10	ノロウイルスG II
			吐物	2	2	ノロウイルスG II
	伏見区 (医療施設)	1	患者便	5	5	ノロウイルスG II
	伏見区 (社会福祉施設)	7	患者便	29	22	ノロウイルスG II
吐物			3	3	ノロウイルスG II	
1月	北区 (医療施設)	1	患者便	5	5	ノロウイルスG II
	北区 (社会福祉施設)	2	患者便	11	7	ノロウイルスG II
	山科区 (その他の施設)	1	患者便	5	5	ノロウイルスG II
	下京区 (社会福祉施設)	1	患者便	1	0	
2月	左京区 (社会福祉施設)	1	患者便	6	6	ノロウイルスG II
3月	伏見区 (社会福祉施設)	2	患者便	10	10	ノロウイルスG II
			嘔吐物	1	1	ノロウイルスG II
	左京区 (社会福祉施設)	2	患者便	10	10	ノロウイルスG II
合計		105	584		463	