

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22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 患者数と検体の内訳は表2-5-2に示す。

(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_1 報文」で述べる。

(3) 三類感染症病原体検査

ア 目的

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、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。また腸管出血性大腸菌感染症の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。

イ 材料及び方法

糞便、食材、器具ふきとり液など、保健センター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に寒天培地に接種し、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法によるベロ毒素の検出と、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225, 検査項目数290)。
- (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10事例あったが、患者の同行者・接触者からは病原菌が検出されなかった。
- (9) 腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症は25事例あり、1事例はO157:H7 VT1+2による飲食施設内で2グループ5人の集団感染があった。
- (2) 当研究所で、患者の家族や接触者の便から検出した腸管出血性大腸菌は6株で、ほかに、医療機関で検出した腸管出血性大腸菌29株の血清型と毒素の検査を実施した。これら35菌株の血清型と毒素型の内訳は、次の表のとおりである。

○157 : H7 (VT1+VT2)	17事例28株	○157 : H- (VT1+VT2)	2事例 2株
○157 : H7 (VT2)	3事例 2株	○103 : H2 (VT1)	1事例 1株
○111 : H- (VT1+VT2)	1事例 1株	○111 : H- (VT1)	1事例 1株

(4) 四類感染症

ア A型肝炎ウイルス

(7) 目的

医師からの届出により、保健センターが調査し、原因究明および感染者の早期発見と感染の拡大防止のために、検査を行っている。

(4) 材料及び方法

患者からの糞便を用いた。検査材料の前処理は、糞便を5%BPA加イーグルMEM培地3mlに加えてマイクロフィルターでろ過したものを検液とした。A型肝炎ウイルスは、検液からRNAを抽出し、PCR法を行った。

(7) 結果

5月に2事例、6月に1事例の検体からA型肝炎ウイルスを検出した。5月の1件は生かきによる経口感染が疑われた事例、その他2事例は感染原因が不明の事例であった。

イ レジオネラ感染症

(7) 目的

医師からの届出により、保健センターが調査し、原因究明および感染者の早期発見と感染の拡大防止のために、検査を行っている。

(4) 材料及び方法

患者からの喀痰等を50°C20分で加熱処理してB-CYE α 、WYO α 培地に接種した。3~5日培養後発育したコロニーを分離、同定に用いた。分離菌について血清反応とPCR法による遺伝子の確認を行った。

(7) 結果

7事例7検体を検査した。2検体からレジオネラ・ニューモフィラ血清群1を検出した。

(5) 五類感染症

ア 風しんウイルス抗体検査

(7) 目的

先天性風疹症候群(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。

(4) 材料及び方法

保健センターに来所し、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。

(7) 結果

月別検査取扱件数は、表2-5-4のとおりである。2名は全て抗体を保有していた。

イ 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)

(7) 目的

12月から3月の冬季を中心に、介護・老人福祉関係施設などで、ノロウイルスの集団発生を疑う感染事例が発生し、当該施設で採取され保健センター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、黄色ブドウ球菌及びカンピロバクターとした。

(4) 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

(a) 平成22年度には43件の集団発生があった(表2-5-5)。患者便等262検体のうち162検体からノロウイルス遺伝子が検出され、7検体が遺伝子型GⅠで残りは全てGⅡによるものであった。また8検体からロタウイルスが検出された。

(b) 細菌検査では、カンピロバクターが1検体から検出されたが、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)、腸管出血性大腸菌及び黄色ブドウ球菌については検出されなかった。

ウ ヒト免疫不全ウイルス(HIV)抗体検査

(7) 目的

本市では、感染者の早期発見と感染の拡大防止のため、市内11保健センターで週1回の匿名無料検査を実施している。また、毎月2回の夜間即日検査と休日検査が行われている。

(イ) 材料及び方法

保健センターで実施されている匿名無料検査及び休日検査において採取された血液を対象とした。また、夜間即日検査で要確認となった検体の確認検査を当研究所で実施した。

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、HIV-1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HIV-1型及び2型の抗体の定量試験と、ウェスタンブロット法(バイオ・ラッド)によるHIV特異バンドの検出で判定した。

(ウ) 結果

(a) 受付件数は、表2-5-6のとおりである。総数は1,759検体で、夜間即日検査からの確認検査は3検体、休日即日検査からの確認検査は1検体あった。

(b) スクリーニング検査で要確認となったものは12検体であった。確認検査の結果6名が陽性となり、6名は陰性であった。

エ 梅毒血清反応検査

(7) 目的

保健センターで実施している性感染症対策の一環として、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)抗体検査を受ける際に、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

保健センターで採血し、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、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た。

(ウ) 結果

検査件数は、表2-5-7のとおりである。HIV抗体検査と同時に受け付けたものが1,724検体であり、また梅毒検査のみ実施が3検体あった。14検体がTPPA法で陽性となった。

オ 麻しんウイルス検査

(7) 目的

医師からの届出により、保健センターが調査し、原因究明および感染者の早期発見と感染の拡大防止のために、検査を行っている。

(イ) 材料及び方法

患者からの咽喉ぬぐい液、尿、血液を用いた。検査材料の前処理は、咽喉ぬぐい液は5%BPA加イーグルMEM培地3mlを加えて、尿及び血液は検体1mlに5%BPA加イーグルMEM培地2mlを加えて、マイクロフィルターでろ過したものを検液とした。

麻しんウイルスは、検体の培養細胞B95a細胞によるウイルス分離と検液からRNAを抽出し、PCR法を行う遺伝子学的検査とを行った。

(ウ) 結果

5月に3事例6検体、6月に1事例3検体、7月に2事例6検体、10~12月には各1事例で7検体の検査を行っ

たが、いずれの方法においても麻疹ウイルスは検出されなかった。

カ 劇症型溶血レンサ球菌感染症

(7) 目的

医師からの届出により、保健センターが調査し、原因究明および感染者の早期発見と感染の拡大防止のために、検査を行っている。

(イ) 材料及び方法

患者から分離された菌株を用いた。溶血レンサ球菌のT型別を行った。菌株を溶連菌レファレンスセンターの大府立公衆衛生研究所と国立感染症研究所に送付した。

(ウ) 結果

A群溶連菌 T-1型が検出された。

(6) その他

結核菌遺伝子 (VNTR) 検査

ア 目的

結核菌の遺伝子の解析を行うことで、感染経路の特定及び効果的な感染拡大防止対策を講じるとともに、結核対策に資することを目的とする。

イ 材料及び方法

保健センターから協力医療機関に菌株を分与依頼し、搬入された菌株（小川培地）を検体とした。

小川培地に生えたコロニーをかき取り滅菌蒸留水で菌液を作り 100℃10分で加熱処理する。この上清をPCRのテンプレートとした。12組のプライマーを用いてPCRで増幅し電気泳動を行った。JATA12を比較した。

ウ 結果

月別検査取扱件数は、表2-5-8のとおりである。

1グループ2株の一致が認められた。

表2-5-1 年間取扱件数

項目	細分	総数		平成22年												平成23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	1,189	14,379	137	115	134	143	98	54	50	67	106	110	81	94			
	細菌検査	1,083	5,737	131	108	127	133	93	53	47	61	64	102	72	92			
	マイコプラズマ検査	819	819	79	69	114	95	96	35	38	52	42	66	56	77			
風疹抗体検査	血清試験	2	2								1		1					
HIV抗体検査	血清試験	1,759	3,518	127	116	151	143	166	165	123	128	157	154	175	154			
梅毒抗体検査	血清試験	1,724	1,757	127	114	149	137	162	158	123	126	156	150	171	151			
3類感染症病原体検査	細菌検査	225	290	21	18	6	53	75	19	4	5	7		8	9			
一般依頼ウイルス検査	ウイルス分離	3	3					1					1		1			
一般依頼細菌検査	細菌検査	0	0															
行政依頼ウイルス検査	ウイルス分離	319	319	2	31	5	12	3	0	3	63	39	48	59	54			
行政依頼細菌検査	細菌検査	93	289	7	25		1	1		2	17	5	12	6	17			
計		7,216	27,113	631	596	686	717	695	484	390	520	576	644	628	649			

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22年							平成23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		1,189	137	115	134	143	98	54	50	67	106	110	81	94
ウイルス検査被検患者数		1,189	137	115	134	143	98	54	50	67	106	110	81	94
ウイルス検査	糞便	365	49	32	49	42	21	18	10	21	41	34	24	24
	咽頭ぬぐい液	892	86	83	98	113	85	41	40	52	72	83	64	75
	髄液	83	7	4	13	14	8	3	6	6	6	7	3	6
	尿	33	2		2	2	5	6	1	1	4	5	3	2
	咽頭うがい液	6	1	1	1		1		1			1		
	血清	1		1										
	吐物	2	1		1									
	皮膚病巣	1									1			
小計		1,383	146	121	164	171	120	68	58	80	124	130	94	107
細菌検査被検患者数		1,083	131	108	127	133	93	53	47	61	64	102	72	92
細菌検査	糞便	330	49	32	47	37	20	17	9	20	25	31	21	22
	咽頭ぬぐい液	822	85	79	94	106	83	40	39	46	42	77	56	75
	髄液	49	2		8	7	6	3	4	5	2	5	2	5
	尿	26	2		2	2	4	6	1	1	1	3	2	2
	咽頭うがい液	5	1	1	1		1		1					
	吐物	2	1		1									
小計		1,234	140	112	153	152	114	66	54	72	70	116	81	104
マイコプラズマ検査	咽頭ぬぐい液	819	79	69	114	95	96	35	38	52	42	66	56	77
取扱件数 計		3,436	505	414	584	570	444	235	204	276	306	428	312	392

表 2-5-3 三類感染症病原体検査 取扱件数及び項目数

		計	平成22年							平成23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		225	21	18	6	53	75	19	4	5	7		8	9
検査項目	赤痢菌	23	1			6	4	6		2			1	3
	コレラ菌	23	1			6	4	6		2			1	3
	腸チフス菌	23	1			6	4	6		2			1	3
	パラチフスA菌	23	1			6	4	6		2			1	3
	EHEC	202	20	18	6	47	71	13	4	3	7		7	6
計		290	24	18	6	71	87	37	4	11	7	0	7	18

表 2-5-4 風しん抗体検査 月別取扱件数

	計	平成22年							平成23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	2								1		1			

表2-5-5 感染性胃腸炎集団発生事例 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
4	山科区(病院)	1	患者便 2	2	ノロGII
5	西京区(病院)	1	患者便 23	3	ノロGII
				3	ロタ
				1	カンビ ⁺ ロバ ⁺ カター
7	右京区(社会福祉施設)	1	患者便 6	6	ノロGII
10	山科区(小学校)	1	患者便 1	1	ロタ
11	北区(保育園)	1	患者便 12	7	ノロGI
	伏見区(その他の施設)	1	患者便 47	18	ノロGII
12	左京区(社会福祉施設)	1	患者便 1	1	ノロGII
	左京区(病院)	1	患者便 3	2	ノロGII
	山科区(社会福祉施設)	1	患者便 4	3	ノロGII
	下京区(幼稚園)	1	患者便 1	1	ノロGII
	右京区(小学校)	1	患者便 2	2	ノロGII
	伏見区(病院)	2	患者便 9	7	ノロGII
	伏見区(保育園)	1	患者便 4	3	ノロGII
		1	患者便 5	0	-
1	北区(社会福祉施設)	2	患者便 10	10	ノロGII
	左京区(病院)	3	患者便 8	8	ノロGII
	西京区(病院)	1	患者便 3	3	ノロGII
	伏見区(社会福祉施設)	1	患者便 7	5	ノロGII
	伏見区(病院)	1	患者便 4	4	ノロGII
2	伏見区(保育園)	1	患者便 6	6	ノロGII
	北区(社会福祉施設)	1	患者便 4	4	ノロGII
	上京区(病院)	1	患者便 6	4	ノロGII
	中京区(病院)	1	患者便 4	3	ノロGII
	東山区(病院)	1	患者便 7	7	ノロGII
	山科区(病院)	1	患者便 4	2	ノロGII
	下京区(病院)	1	患者便 4	4	ノロGII
	南区(社会福祉施設)	2	患者便 8	8	ノロGII
	右京区(病院)	1	患者便 3	3	ノロGII
	西京区(社会福祉施設)	2	患者便 9	9	ノロGII
	伏見区(社会福祉施設)	1	患者便 2	2	ノロGII
	3	北区(その他の施設)	2	患者便 34	12
右京区(社会福祉施設)		2	患者便 5	5	ノロGII
南区(保育園)		1	患者便 4	4	ロタ
伏見区(社会福祉施設)		2	患者便 10	8	ノロGII
合計		43	262	171	

表2-5-6 HIV抗体検査 受付件数

	計	平成23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	994	82	58	83	82	102	94	66	66	85	95	96	85
女性	765	45	58	68	61	64	71	57	62	72	59	79	69
計	1,759	127	116	151	143	166	165	123	128	157	154	175	154

表2-5-7 梅毒抗体検査件数

区分	検査項目	計	平成23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
	RPR法	33		2	5	3	2	4	1	2	3	5	2	4
	TPPA法	33		2	5	3	2	4	1	2	3	5	2	4
	小計	33		2	5	3	2	4	1	2	3	5	2	4
HIV同時		1,724	127	114	149	137	162	158	123	126	156	150	171	151
計		1,757	127	116	154	140	164	162	124	128	159	155	173	155

表2-5-8 VNTR検査 月別取扱件数

	計	平成23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	34	2						2			12	5	13