

## 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23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)と乳のみマウスを用いて分離を行った。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、ダイレクトシーケンス法、リアルタイムPCR法を用いた。

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RT-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レンサ球菌、肺炎球菌、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177、検査項目数240)。
- (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5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。
- (7) 腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症及びその疑いがあったとして検査した事例は36事例あり、25事例から腸管出血性大腸菌が検出された。
- (4) 当研究所で、患者、患者家族及び接触者の便から検出した腸管出血性大腸菌は12株で、ほかに、医療機関で検出した腸管出血性大腸菌24株の血清型と毒素の検査を実施した。これら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)	20事例30株	O145 : H- (VT2)	1事例 2株
O157 : H7 (VT2)	2事例 2株	O86a : H- (VT1)	1事例 1株
O111 : H- (VT1+VT2)	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

12月に1事例1検体からA型肝炎ウイルスを検出した。

## 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℃20分で加熱処理してB-CYE $\alpha$ 、WYO $\alpha$ 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

2事例2検体を検査したが、レジオネラ属菌は検出しなかった。

## (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。4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に加え、必要に応じてビブリオ属菌(コレラ菌含む)、赤痢菌、サルモネラ属菌(チフス菌、パラチフスA菌含む)、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RT-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、常法により各種寒天培地に直接接種し、分離を行った。

(7) 結果と考察

a 平成 23 年度には 34 件の集団発生があった(表 2-5-5)。患者便等 132 検体のうち 105 検体からノロウイルス遺伝子が検出され、4 検体が遺伝子型 G I で残りは全て G II によるものであった。また 6 検体からロタウイルスが検出された。

b 細菌検査では、ビブリオ属菌(コレラ菌含む)、赤痢菌、サルモネラ属菌(チフス菌、パラチフス A 菌含む)、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。

(4) 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、夜間即日検査及び休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による HIV 特異バンドの検出で判定した。

(7) 結果

a 受付件数は、表 2-5-6 のとおりである。総数は 1,850 検体で、夜間即日検査からの確認検査は 2 検体、休日即日検査からの確認検査は 2 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 8 検体であった。確認検査の結果 5 名が陽性となり、3 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。

(4) 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、ゼラチン粒子凝集法(TPPA法)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)及びゼラチン粒子凝集法(TPPA法)の定量試験を実施して確認した。

(7) 結果

検査件数は、表 2-5-7 のとおりである。HIV 抗体検査の際に受け付けたものが 1,778 検体であった。12 検体が TPPA 法で陽性となった。

オ 麻疹ウイルス検査

(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。

(4) 材料及び方法

患者からの咽喉ぬぐい液、尿、血液を用いた。検査は、国立感染症研究所の麻疹診断マニュアル(第 2 版)に準じた。

麻疹ウイルスは、検体の培養細胞 B 9 5 a 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。

(7) 結果

5 月に 2 事例 6 検体、6 月に 2 事例 5 検体、11 月に 1 事例 2 検体、1 月に 2 事例 6 検体、2 月に 1 事例 2 検体、

3月に2事例5検体計26検体の検査を行ったが、いずれの方法においても麻しんウイルスは検出されなかった。

カ 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

(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。

(4) 材料及び方法

患者から分離された菌株を用いた。溶血性レンサ球菌の Lancefield 群別及びT型別（A群）を行った。菌株を溶血性レンサ球菌レファレンスセンターである大阪府立公衆衛生研究所に送付した。

(7) 結果

A群溶連菌T1型3株及びT28型2株が検出された。

(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、搬入された菌株を検体とした。

小川培地に生えたコロニーをかき取るなどして菌液を作り、100℃10分の加熱処理後、遠沈した上清を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。

23年度は、109検体の検査を実施した。21年の検査開始以降の株も含めて解析したところ、クラスター数15（48株）、クラスター形成率32.4%、最大クラスターは11株となった。

表2-5-1 年間取扱件数

項目	細分	総数		平成23年												平成24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	1,315	13,015	88	113	102	148	106	90	76	114	128	139	91	120			
	細菌検査	1,175	4,111	77	106	91	135	99	83	66	103	90	131	84	110			
	マイコプラズマ検査	276	276	11	27	21	17	29	30	10	36	27	24	21	23			
風疹抗体検査	血清試験	4	4					1	1	1		1						
HIV抗体検査	血清試験	1,850	3,700	129	117	195	139	163	148	143	208	129	130	167	182			
梅毒抗体検査	血清試験	1,778	1,882	125	114	187	137	157	143	131	203	124	122	159	176			
3類感染症病原体検査	細菌検査	177	240	1	15	17	9	101	11	2	15	0	0	1	5			
一般依頼ウイルス検査	ウイルス分離	26	26	3	1	3	1		6	7	1	1	1		2			
一般依頼細菌検査	細菌検査	1	1			1												
行政依頼ウイルス検査	ウイルス検出	159	159	14	13	18					2	13	53	15	31			
行政依頼細菌検査	細菌検査	11	31	1		1	2						2	4	1			
計		6,772	23,445	449	506	636	588	656	512	436	682	513	602	542	650			

表 2-5-2 京都市感染症発生動向調査事業病原体検査取扱件数

		計	平成23年												平成24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		1,150	80	102	90	130	95	75	57	98	108	130	84	101			
ウイルス検査被検患者数		1,150	80	102	90	130	95	75	57	98	108	130	84	101			
ウイルス検査	糞便	290	19	19	24	24	14	16	18	18	30	50	18	40			
	咽頭ぬぐい液	903	61	87	68	113	78	66	47	85	86	79	66	67			
	髄液	77	5	4	8	7	11	5	6	6	5	6	5	9			
	尿	39	3	3	1	3	1	3	5	5	6	4	1	4			
	水疱内容物	2					1				1						
	眼結膜ぬぐい液	1					1										
	気管吸引物	1			1												
	その他	2				1								1			
小計		1,315	88	113	102	148	106	90	76	114	128	139	91	120			
細菌検査被検患者数		1,065	75	97	86	120	90	72	52	92	77	124	82	98			
細菌検査	糞便	267	18	17	22	23	15	15	16	16	22	47	18	38			
	咽頭ぬぐい液	835	56	84	65	103	75	64	45	81	61	76	62	63			
	髄液	43	2	2	4	7	6	2	3	1	1	5	3	7			
	尿	27	1	3		2	1	2	2	5	6	3		2			
	水疱内容物	1					1										
	眼結膜ぬぐい液	1					1										
	その他	1												1			
小計		1,175	77	106	91	135	99	83	66	103	90	131	84	110			
マイコプラズマ検査	咽頭ぬぐい液	276	11	27	21	17	29	30	10	36	27	24	21	23			
取扱件数 計		2,766	253	352	305	435	333	286	218	356	335	425	280	363			

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23年												平成24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		177	1	15	17	9	101	11	2	15	0	0	1	5			
検査項目	赤痢菌	26	1	2			12	4	2					5			
	コレラ菌	21	1				11	3	2					4			
	腸チフス菌	21	1				11	3	2					4			
	パラチフスA菌	21	1				11	3	2					4			
	EHEC	151		13	17	9	89	7		15			1				
計		240	4	15	17	9	134	20	8	15	0	0	1	17			

表 2-5-4 風しん抗体検査 月別取扱件数

	計	平成23年												平成24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	4				1	1	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	北区(学校)	1	患者便 5	4	口夕
	北区(保育園)	2	患者便 4	4	ノ口(GII)
	左京区(社会福祉施設)	1	患者便 2	2	ノ口(GII)
	南区(社会福祉施設)	1	患者便 2	2	ノ口(GII)
5	北区(保育園)	1	患者便 5	3	ノ口(GII)
	上京区(社会福祉施設)	1	患者便 2	0	-
6	北区(保育園)	1	患者便 3	3	ノ口(GII)
	東山区(学校)	1	患者便 3	3	ノ口(GII)
	山科区(社会福祉施設)	1	患者便 7	4	ノ口(GII)
12	山科区(保育園)	1	患者便 9	6	ノ口(GII)
	伏見区(幼稚園)	1	患者便 4	4	ノ口(GI)
1	左京区(社会福祉施設)	4	患者便 23	21	ノ口(GII)
	山科区(社会福祉施設)	1	患者便 3	3	ノ口(GII)
	右京区(社会福祉施設)	2	患者便 7	5	ノ口(GII)
	西京区(社会福祉施設)	1	患者便 4	4	ノ口(GII)
	伏見区(社会福祉施設)	2	患者便 10	10	ノ口(GII)
2	左京区(社会福祉施設)	1	患者便 2	0	-
	山科区(社会福祉施設)	1	患者便 3	3	ノ口(GII)
	下京区(社会福祉施設)	1	患者便 4	4	ノ口(GII)
3	南区(社会福祉施設)	1	患者便 4	2	ノ口(GII)
	上京区(社会福祉施設)	1	患者便 3	3	ノ口(GII)
	左京区(社会福祉施設)	1	患者便 5	5	ノ口(GII)
	中京区(小学校)	1	患者便 1	1	ノ口(GII)
	右京区(社会福祉施設)	1	患者便 4	4	ノ口(GII)
	伏見区(社会福祉施設)	2	患者便 6	5	ノ口(GII)
	伏見区(保育園)	1	患者便 4	3	ノ口(GII)
合計		34	132	111	

表 2-5-6 HIV抗体検査 受付件数

	計	平23年			平成24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	1,085	78	67	117	78	95	94	85	110	74	86	95	106
女性	764	51	50	78	61	67	54	58	98	55	44	72	76
不明	1					1							
計	1,850	129	117	195	139	163	148	143	208	129	130	167	182

表 2-5-7 梅毒抗体検査件数

区分	検査項目	計	平成23年			平成24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	52			4	3	6	6	4	20	1	1	3	4
	TPPA法	52			4	3	6	6	4	20	1	1	3	4
	小計	104	0	0	8	6	12	12	8	40	2	2	6	8
HIV同時		1,778	125	114	187	137	157	143	131	203	124	122	159	176
計		1,882	125	114	195	143	169	155	139	243	126	124	165	184

表 2-5-8 VNTR 検査 月別取扱件数

	計	平成23年			平成24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	109	5	5	14	12	13	3	6	20	14	1	12	4