

4 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 24 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 2-4-1 のとおりである。

(2) 京都市感染症発生动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、眼科定点 1 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 2-4-2 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。
分離したウイルスの同定には中和反応、ダイレクトシークエンス法、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、常法により、糞便から病原性大腸菌、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などの呼吸器感染症起因菌の分離を行った。

※ 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

コレラ汚染地域への渡航者が消化器系感染症を発症した場合などに、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された検体を、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 2-4-3 のとおりである (検体数 146, 検査項目数 230)。
- (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を検出しなかった。渡航者との関連が不明であった 1 事例で、患者の接触者 1 名から赤痢菌を検出した。
- (4) 腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症及びその疑いがあり検査した事例は 25 事例で、22 事例から腸管出血性大腸菌を検出した。
- (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 7 株で、他に、医療機関で検出した腸管出血性大腸菌 21 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。

0157:H7 (VT1+VT2)	11 事例 17 株	0157:HNM (VT1+VT2)	1 事例 1 株
0157:H7 (VT2)	7 事例 7 株	0157:HNM (VT1)	1 事例 1 株
0145:HNM (VT1)	1 事例 1 株	0165:HNM (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

患者からの糞便を検査材料とした。前処理として、BPA 加イーグル MEM 培地 2ml に懸濁し、3,000rpm, 10分遠心後、マイクロフィルターでろ過した。ろ液を検液として RNA を抽出し、RT-PCR 法により検査を行った。

(7) 結果

1 事例 1 検体を検査したが、A型肝炎ウイルスを検出しなかった。

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 , WY0 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

3 事例 3 検体を検査し、1 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

先天性風しん症候群 (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 2-4-4 のとおりである。28 名中 27 名は抗体を保有していたが、1 名は陰性であった。

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)

(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、必要に応じてサポウイルス、ロタウイルス及びアデノウイルスとした。

(4) 材料及び方法

患者からの糞便及び吐物を検査材料とした。前処理として、BPA 加イーグル MEM 培地 2ml に懸濁し、3,000rpm, 10分遠心後、マイクロフィルターでろ過した。ろ液を検液として RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR 法によりノロウイルスの遺伝子検出を行った。

また、必要に応じて、リアルタイム RT-PCR 法でサポウイルス遺伝子検出を、免疫クロマト法でロタウイルス・アデノウイルスの抗原検出を行った。

(7) 結果と考察

平成 24 年度には 42 件の集団発生があった（表 2-4-5）。患者便等 159 検体のうちノロウイルスを検出したのは 109 検体で、8 検体から遺伝子型 G I、102 検体から遺伝子型 G II（1 検体からは G I と G II の両方）を検出した。また 17 検体からサポウイルス遺伝子を、8 検体からロタウイルス抗原を検出した。

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、匿名での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即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での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により、HIV-1 型及び 2 型の抗体検査を実施した。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 2-4-6 のとおりである。総数は 1,898 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 4 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 20 検体であった。確認検査の結果 14 検体が陽性となり、6 検体は陰性であった。

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を対象に、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 2-4-7 のとおりである。HIV抗体検査の際に受け付けたものが 1,874 検体であった。24 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。

(4) 材料及び方法

患者からの咽頭ぬぐい液、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。

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

(7) 結果

13 事例 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を検出しなかった。

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群のみ）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。

(5) 結果

A群溶血性レンサ球菌T1型2株、TB3264型1株及びC群溶血性レンサ球菌を検出した。

(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。JATA(12)-VNTR型別（12組のプライマーを用いたPCR法及び電気泳動）を行い、解析した。

ウ 結果

月別検査取扱件数は、表2-4-8のとおりである。

24年度は、77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31（92株）、クラスター形成率40.9%、最大クラスターは11株となった。

表 2-4-1 年間取扱件数

項目	細分	総数		平成 24 年								平成 25 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
感染症発生動向調査	ウイルス検査	790	7,805	82	69	64	90	52	42	70	78	52	56	68	67
	細菌検査	342	1,214	64	28	21	28	12	13	22	49	34	25	22	24
	マイコプラズマ検査	14	14	14											
風しん抗体検査	血清試験	28	28			3	1	5	3		1	1	1	4	9
HIV抗体検査	血清試験	1,898	3,796	119	146	175	154	175	177	176	169	124	168	138	177
梅毒抗体検査	血清試験	1,874	2,034	112	141	169	147	175	169	168	168	155	160	135	175
3類感染症病原体検査	細菌検査	146	230	4	7	25	11	27	27	4	18	3	3	2	15
一般依頼ウイルス検査	ウイルス検査	19	19				2	3	6	2	2			1	3
一般依頼細菌検査	細菌検査	0	0												
行政依頼ウイルス検査	ウイルス検査	188	284	16	13	9	2	1		10	14	44	34	21	24
行政依頼細菌検査	細菌検査	7	7			2	2	1				1	1		
計		5,306	15,431	411	404	468	437	451	437	452	499	414	448	391	494

表 2-4-2 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 24 年												平成 25 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		739	72	64	59	88	45	35	66	69	50	54	67	70			
ウイルス検査被検患者数		713	69	61	57	83	44	35	64	68	49	53	65	65			
ウイルス検査	糞便	288	28	29	21	23	13	11	17	45	30	23	21	27			
	咽頭ぬぐい液	416	43	33	35	55	33	21	45	24	19	27	44	37			
	髄液	78	8	7	8	12	6	10	7	8	3	4	2	3			
	尿	6	3						1	1		1					
	皮膚病巣	1										1					
	その他	1											1				
	小計	790	82	69	64	90	52	42	70	78	52	56	68	67			
細菌検査被検患者数		335	58	28	21	28	12	13	22	48	34	25	22	24			
細菌検査	糞便	252	25	24	16	17	11	10	15	44	30	23	18	19			
	咽頭ぬぐい液	76	33	4	5	10	1		6	3	3	2	4	5			
	髄液	12	4			1		3	1	2	1						
	尿	2	2														
	皮膚病巣	0															
	その他	0															
小計	342	64	28	21	28	12	13	22	49	34	25	22	24				
マイコプラズマ検査	咽頭ぬぐい液	14	14														
計		1,146	160	97	85	118	64	55	92	127	86	81	90	91			

表 2-4-3 三類感染症病原体検査 取扱件数及び項目数

		計	平成 24 年												平成 25 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		146	4	7	25	11	27	27	4	18	3	3	2	15			
検査項目	赤痢菌	31	4				9					3		15			
	コレラ菌	28	4				9					3		12			
	腸チフス菌	29	4				9					3	1	12			
	パラチフスA菌	30	4				9				1	3	1	12			
	EHEC	112		7	25	11	18	27	4	18	2						
	計	230	16	7	25	11	54	27	4	18	3	12	2	51			

表 2-4-4 風しん抗体検査 月別取扱件数

		計	平成 24 年												平成 25 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		28			3	1	5	3			1	1	1	4	9		

表 2-4-5 感染性胃腸炎集団発生事例 検査取扱件数及び結果

月	施設	施設数	検体数		陽性数	検出
4	北区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	4	サボ
	左京区 (社会福祉施設)	1	患者便	3	3	ノロ(GⅡ)
			患者吐物	1	1	
	下京区 (社会福祉施設)	1	患者便	2	2	ノロ(GⅡ)
右京区 (保育園)	1	患者便	4	3	ノロ(GⅡ)	
5	南区 (保育園)	1	患者便	3	2	ロタ
			患者便	3	1	ノロ(GⅡ)
	右京区 (保育園)	1	患者便	1	0	—
			患者便	1	0	—
6	南区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	5	サボ
10	上京区 (小学校)	1	患者便	5	4	ノロ(GⅠ)
	下京区 (幼稚園)	1	患者便	2	2	ノロ(GⅡ)
11	北区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	5	ノロ(GⅡ)
			患者吐物	1	1	
	南区 (社会福祉施設)	1	患者便	4	4	ノロ(GⅡ)
12	北区 (社会福祉施設)	1	患者便	3	3	ノロ(GⅡ)
			患者吐物	2	1	
	左京区 (社会福祉施設)	3	患者便	12	10	ノロ(GⅡ)
			患者便	4	4	ノロ(GⅡ)
	南区 (社会福祉施設)	1	患者便	4	4	ノロ(GⅡ)
	右京区 (社会福祉施設)	1	患者便	2	2	ノロ(GⅡ)
伏見区 (保育園)	1	患者便	5	5	ノロ(GⅡ)	
		患者便	11	11	ノロ(GⅡ)	
1	北区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	4	サボ
	左京区 (社会福祉施設)	3	患者便	11	11	ノロ(GⅡ)
	下京区 (保育園)	1	患者便	4	4	ノロ(GⅠ)
					1	ノロ(GⅡ)
	南区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	5	ノロ(GⅡ)
	右京区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	5	ノロ(GⅡ)
	伏見区 (社会福祉施設)	1	患者便	3	2	ノロ(GⅡ)
4					3	ロタ
2	北区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	5	ノロ(GⅡ)
	山科区 (社会福祉施設)	1	患者便	3	3	ノロ(GⅡ)
	右京区 (社会福祉施設)	1	患者便	4	1	ノロ(GⅡ)
	伏見区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	2	ノロ(GⅡ)
3	左京区 (社会福祉施設)	1	患者便	4	4	サボ
	中京区 (社会福祉施設)	1	患者便	5	5	ノロ(GⅡ)
	右京区 (保育園)	1	患者便	5	3	ロタ
	伏見区 (社会福祉施設)	1	患者便	3	0	—
合計		42	159		135	

表 2-4-6 HIV 抗体検査 受付件数

	計	平成 24 年										平成 25 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	1,072	58	80	98	88	105	101	101	91	74	94	74	108	
女性	826	61	66	77	66	70	76	75	78	50	74	64	69	
不明	0													
計	1,898	119	146	175	154	175	177	176	169	124	168	138	177	

表 2-4-7 梅毒抗体検査件数

区分	検査項目	計	平成 24 年										平成 25 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	80	4	9	12	14	7	8	5	5	2	8	3	3	
	TPPA 法	80	4	9	12	14	7	8	5	5	2	8	3	3	
	小計	160	8	18	24	28	14	16	10	10	4	16	6	6	
HIV 同時		1,874	112	141	169	147	175	169	168	168	155	160	135	175	
計		2,034	120	159	193	175	189	185	178	178	159	176	141	181	

表 2-4-8 VNTR 検査 月別取扱件数

	計	平成 24 年										平成 25 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	77	11	1	13	8	6	7	2	5	4	0	6	14	