

コクシジオイデス症 病原体サーベイランスの意義

病原体名 *Coccidioides immitis*, *C. posadasii*

1. 意義

- 1) 渡航者アウトブレイクを察知でき、渡航注意情報の発出が可能となる。
- 2) 感染研等の限定された施設でのみ培養すべき危険な病原体であり、サーベイランスにより病原体の確定が可能となる。
- 3) 症例によっては重篤な疾患であり診断が重要であるので、診断の機会が増える。

2. 検体 気管支（肺胞）洗浄液、各種の生検材料

3. 病原体サーベイランスで実施する検査法

- 1) 病理組織診断
- 2) 培養 (BSL3)
- 3) 遺伝子検査

4. 病原体の保存 疑い例の臨床検体は室温で輸送。病原体の保存は -80°C 。

【文献・ホームページ】

- 1) 真菌症 2012年現在. IASR vol34 p.1~2. 2013
- 2) BSL3対応が必要な渡航者真菌症. IASR vol34 p.3~4. 2013
- 3) Umeyama et al. Novel approach to designing primers for identification and distinction of the human pathogenic fungi *Coccidioides immitis* and *Coccidioides posadasii* by PCR amplification. J Clin Microbiol 44(5):1859-62. 2006

アメーバ赤痢 病原体サーベイランスの意義

背景 赤痢アメーバ原虫による感染症。推定患者数は約 1000 名（腸アメーバ症、腸管外アメーバ症の合計）。重症度については、90%の有症者のうち、85%程度が比較的軽度な腸アメーバ症で、15%程度が比較的重度な腸管外アメーバ症である。

1. 意義

- 1) 病原体の流行状況の把握
- 2) 抗原性、病原性の変化の把握
- 3) 薬剤耐性の把握
- 4) 無症状者数の把握：赤痢アメーバ症は感染者の 90%が無症状者とされ、シストキャリアが感染拡大の原因となるため、ハイリスクグループのサーベイランスが重要である。
- 5) 病原体の遺伝的多様性の把握
- 6) リスクグループの把握：国内の赤痢アメーバ症は男性患者が 90%程度を占める。しかし近年女性患者の増加が顕著であり（2013 年度増加率は男性 17.9%，女性 26.7%）、他の STD と関連して、CSW 等への感染浸淫が示唆される。
- 7) サーベイランスの学術的意義：国内では、赤痢アメーバ症は性感染症として男性同性愛者コミュニティや性風俗業界に濃厚に浸淫しているだけでなく、一部の知的障害者施設等においては、集団感染が認められる。欧米の MSM 等では非病原種 *E. dispar* による感染が主であり、*E. histolytica* の感染はほとんど見られない。感染者の 5-10%のみが発症する理由も不明であり、原虫側・宿主側の両方の因子が発症・無症状に影響する可能性があり、発症やキャリアー化に影響を与える因子・マーカーの同定とそれに基づいたサーベイランスは意義が高い。また、近年増加している無症状者の検出は主に内視鏡検査によるものであり、無症状者数に関する情報は充実した医療設備を持つ国でのみ得られる貴重な情報である。

2. サーベイランスのための検査法

顕微鏡検査（目視による栄養体、嚢子の検出）、遺伝子抽出と種特異的 PCR、必要に応じて tRNA 近傍短反復配列の多型に基づく遺伝子型別

3. 病原体の保存

便検体、肝膿瘍膿汁液、病変組織と言った検体は-30 度での凍結保存を行い病原体遺伝子サンプルの保存行う。ゲノム解析等には医療機関と地研等の緊密な連携が不可欠である。

【文献・ホームページ】

- 1) IDWR 感染症の話 アメーバ赤痢

播種性クリプトコックス症 病原体サーベイランスの意義

病原体名 *Cryptococcus neoformans*, *C. gattii* ほか クリプトコックス属真菌

1. 意義

- 1) 地域アウトブレイクを察知でき、感染源を特定しアウトブレイク対策につながる。
- 2) 高病原性 *C. gattii* の輸入例が確認されれば、渡航注意情報を発出できる。
- 3) 感染例が多い国内地域では情報発信により、受診の遅れと診断の遅れを減少される。
- 4) 情報の蓄積により、より効果的な治療方法が開発可能となる。

2. 検体

分離菌、血液、脳脊髄液、気管支（肺胞）洗浄液、各種の生検材料

3. 病原体サーベイランスで実施する検査法

- 1) 培養 CGB 培地での *C. gattii* スクリーニング
- 2) 遺伝子検査 ITS 領域、D1/D2 領域のシーケンスによる菌種確定

4. 病原体の保存

疑い例の臨床検体は室温で輸送。病原体の保存は -80°C 。

【文献・ホームページ】

- 1) 高病原性クリプトコックス症 (*Cryptococcus gattii* によるクリプトコックス症) について。

http://www.nih.go.jp/niid/ja/index/476-departments/index.php?option=com_content&view=article&id=486:bioact-cgattii-detail&catid=476:bioact&Itemid=726

- 2) Umeyama et al. Determination of epidemiology of clinically isolated *Cryptococcus neoformans* strains in Japan by multilocus sequence typing. *Jpn J Infect Dis.* 2013;66(3):216-21.

劇症型溶血性レンサ球菌感染症 病原体サーベイランスの意義

背景 劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、レンサ球菌による感染症である。通常は、レンサ球菌に感染しても無症候のことが多く、ほとんどは咽頭炎や皮膚の感染症にとどまる。しかし、稀に通常は細菌が無菌性部位にレンサ球菌が侵入し、急激に症状が進行する重篤な疾患となることがある。5類全数把握疾患

1. 意義

1) 病原体の流行状況把握

A 群溶連菌が主であるが、他の菌種の劇症型感染症も存在し、その増減を把握することは必要である。*emm* 型別の集計結果からは分離株の主たる者が変遷する傾向がある。このことが何を意味し、対策立案に貢献しえるのか検討が必要。

2) 抗原性、病原性の変化の把握

菌種の多様性、*emm* 型別の項と関連し、重症度との関連については研究課題となる。

3) 薬剤耐性の把握

ペニシリン G およびクリンダマイシンの大量投与が第1選択療法となっており、これに抗する菌株の出現の把握しておくことは重要である。

4) 患者数年間 250 例程度である。

2014 年(～50W) 263 例のうち、67 例が死亡例である。166 例が DIC。日常生活を営む状態から 2 4 時間以内 に多臓器不全が完結するほど、急激な進行をみる。

2. 検体

通常無菌的な部位（血液、髄液、胸水、腹水）、生検組織、手術創、壊死軟部組織。あるいは臨床分離株。

3. サーベイランスのための検査法

分離・同定。薬剤感受性試験。血清型別(M あるいは T)、あるいは *emm* 型決定。

4. 病原体の保存

-80° での冷凍保存等

【文献・ホームページ】

1) 厚生労働省 感染症法に基づく医師の届出のお願い

<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01.html>

2) IWDR 感染症の話 「劇症型溶血性レンサ球菌感染症」

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/341-stss.html>

侵襲性髄膜炎菌感染症 病原体サーベイランスの意義

背景 2013年4月に、髄膜炎菌による髄膜炎に敗血症も加えた、「侵襲性髄膜炎菌感染症」として全数把握の5類感染症の届出に変更となった。2013年4月～2014年3月の38例中9例の死亡例がある。発症から急速に進行し、死に至る症例が存在する。

1. 意義

1) 病原体の流行状況把握

年間40例程度である。流行状況把握としては、発生動向調査で十分である。

2) 抗原性、病原性の変化の把握

侵襲性感症例では、その接触者には抗生物質の予防投与かワクチン接種が推奨される。A, C, Y, W135の4血清群に関してはワクチンが存在するが、B群に対するワクチンが存在しない。国内ではY群による感染が主であると推定されているが、B群による症例でないことを確認する必要性が高い。

3) 薬剤耐性の把握

一般には薬剤感受性が高く、耐性株は稀である。しかしながら、予防投与に用いられるフルオロキノロン耐性株が出現しており、感受性の把握は必須である。

国内の特殊性（症例数が比較的少ないこと）は世界的に注目されているが、単純なサーベイランスとは異なる手法で検証・解析を実施することが重要である。

2. 検体

血液あるいは髄液 あるいは臨床分離株

3. サーベイランスのための検査法

分離・同定。薬剤感受性試験。血清型別。血清型別（莢膜型）決定のためのPCR法が存在する。

4. 病原体の保存

-80°での冷凍保存等

【文献・ホームページ】

- 1) IASR Vol. 34 p. 361-362: 2013年12月号) 侵襲性髄膜炎菌感染症 2005年～2013年10月

侵襲性肺炎球菌感染症 病原体サーベイランスの意義

背景

2013年4月から調査が開始された5類全数把握疾患である。年間1700例近くの報告がある。利用可能なワクチンが血清（莢膜）型特異的であるため、ワクチンで予防出来る莢膜型の肺炎球菌感染症は限定的である。さらに、莢膜型の変換する能力も有り今後の動向を注意深く観察する必要がある。2014～50週までの報告例1671例のうち、104例が死亡例である。

小児に加えて高齢者へのワクチン利用が広く進められることで、肺炎球菌の多様性形成機構（おそらく自然形質転換）が重要な働きを持つ。このため、主要分離株の変遷をトレースすることで、コミュニティの中での肺炎球菌のミニ進化の理解が深まる。

1. 意義

1) 病原体の流行状況把握

流行状況把握としては、発生動向調査で十分である。

2) 抗原性、病原性の変化の把握

小児結合型多糖体ワクチン（7血清型多糖体混合，7価）の導入により、それまで小児の侵襲性肺炎球菌性感染症約8割をしめていた7種類の血清型は1割以下に減少した。それに伴い罹患率も減少した。しかしながら、主要7価の減少程は罹患率が減少せず、他の血清型による小児侵襲性感染症が増加した。この中で19Aが流行型となった。19A多糖体を含む13価ワクチンの導入（2013年秋）により、19A型による感染症例は減少することが期待されるが、一方で他の血清型の増加が危惧される。

3) 薬剤耐性の把握

ワクチン導入にともない、流行株が大きく変わってきている。ワクチン効果がのぞめない血清型株に関しては抗生剤治療で対応していくしかなく、適切な抗生剤選択の基盤資料を整えていくことは重要である。

2. 検体

血液あるいは髄液 あるいは臨床分離株

3. サーベイランスのための検査法

分離・同定。薬剤感受性試験。血清型別(PCRによる簡易法もある)。

4. 病原体の保存

-80°での冷凍保存等

【文献・ホームページ】

- 1) IASR Vol. 35 p. 229-230: 2014年10月号 侵襲性インフルエンザ菌・肺炎球菌感染症
2014年8月現在
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/diseases/a/h-influenzae/1150-idsc/iasr-topic/5045-tpc416-j.html>

侵襲性インフルエンザ菌感染症 病原体サーベイランスの意義

背景 推定患者数は年間 50 例程度、重症度については、小児髄膜炎例では死亡または後遺症を残すことが多い。

1. 意義

- 1) ワクチン政策の決定に必要である。ヒブワクチンの導入により侵襲性インフルエンザ菌感染症は減少したが、外国ではワクチン導入後にワクチンタイプ(b 型)以外の血清型が増加したことが報告されている。国内でも監視が必要である。また、仮に b 型の分離数が増加した場合はキャッチアップキャンペーンなどを検討する基本情報となる。
- 2) 学術的意義としては、仮に b 型以外の感染症例が増加した場合は、ワクチン開発を進める根拠となる。

2. 検体

Haemophilus influenzae の血清型 a, b, c, d, e, f, non-typeable 分離株。
全数を収集することが望ましい。

3. サーベイランスのための検査法

菌分離による菌種同定と血清型の決定

4. 病原体の保存

各地研または感染研で保存

【文献・ホームページ】

- 1) 侵襲性インフルエンザ菌感染症病原微生物検出情報(IASR Vol. 34 p. 185-186: 2013 年 7 月号)
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/diseases/a/h-influenzae/1150-idsc/iasr-topic/3719-tpc401-j.html>

薬剤耐性菌感染症 病原体サーベイランスの意義

(五類全数報告対象の薬剤耐性菌感染症について一括して記載)

A. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症

背景 推定患者数は約 1,000 症例、侵襲性感染症の場合は死亡例が少なくない。最後の切り札であるカルバペネム系薬剤に対する耐性なので、臨床上大きな問題である。

1. 意義

- 1) 耐性遺伝子のタイプにより、適切な検出法が異なるため、国内でどのようなタイプの耐性遺伝子が多いのかを継続的に把握することによって、医療機関に的確な情報提供できる。
- 2) 海外で蔓延している KPC 型など、拡散しやすく対策上特に注意を要する耐性遺伝子について、国内への侵入状況を把握し、医療機関に注意喚起することで国内での拡散防止に資する。
- 3) 感染症患者が発生した場合は院内感染が起こっている場合がある。自治体が菌株解析等により対策支援を行うことで院内そしてさらにその地域での拡散を防止できる。なお、感染研は自治体を後方支援する。
- 4) 学術的意義としては、分子疫学として重要な情報であり、海外との比較などに有用な情報となる。

2. 検体

カルバペネムに耐性の*大腸菌*、*Klebsiella* 属菌、*Enterobacter* 属菌などの分離株。
年間、100 株程度

3. 検査内容

- 1) 菌種同定、耐性の確認と PCR による薬剤耐性遺伝子の同定
- 2) 院内感染事例では PFGE や Plasmid 解析(地研または感染研)

4. 病原体の保存

各地研または感染研で保存

【文献・ホームページ】

- 1) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 病原微生物検出情報(IASR Vol. 35 p. 281-282; 2014 年 12 月号)
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/dr-b-m/dr-b-iasrtpc/5238-tpc418-j.html>

B. バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症

国内ではまだ報告がない

1. 意義

- 1) MRSA の治療薬に耐性であるため、臨床的に重要である。世界的にも稀であり、国内

では未だ報告がない。万一分離されれば社会的にも影響が大きいため、報告があれば行政的にも確認しておく必要がある。

- 2) 学術的意義としては、患者背景などの解析からこの耐性菌の発生要因などが検討できる。

2. 検体

バンコマイシンに耐性を示す *Staphylococcus aureus* 分離株

3. サーベイランスのための検査法

- 1) PCR による薬剤耐性遺伝子の同定
- 2) 院内感染事例では PFGE や Plasmid 解析(地研または感染研)

4. 病原体の保存法

各地研または感染研で保存

C. バンコマイシン耐性腸球菌感染症

背景 年間 100 症例近い報告があり、院内感染での死亡例がある。

1. 意義

- 1) 耐性遺伝子のタイプにより、試験で注意する点が異なるため、国内でどのタイプの耐性遺伝子が多いのかを継続的に把握することによって、医療機関に検出にあたっての的確な情報を提供できる。
- 2) 感染症患者が発生した場合は院内感染が起こっている場合があり、自治体が菌株解析等により対策支援を行うことで院内そしてさらにその地域での拡散を防止できる。なお、感染研は自治体を後方支援する。
- 3) 学術的意義としては、分子疫学として重要な情報であり海外との比較などに有用な情報となる。

2. 検体

バンコマイシンに耐性の腸球菌、*Enterococcus faecium*、*Enterococcus faecalis* などの分離株。

年間、100 株程度

3. サーベイランスのための検査法

- 1) 菌種同定、耐性の確認と PCR による薬剤耐性遺伝子の同定
- 2) 院内感染事例では PFGE や Plasmid 解析(地研または感染研)

4. 病原体の保存

各地研または感染研で保存

【文献・ホームページ】

1) バンコマイシン耐性腸球菌感染症

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/469-vre.html>

D. 薬剤耐性アシネトバクター感染症

背景 年間 50 症例近い報告があり、院内感染で死亡例がある。

1. 意義

- 1) 遺伝子のタイプにより、特に拡散しやすいものがあるため、国内でどの遺伝子型がどの程度分離されているのかを継続的に把握し、医療機関に情報提供、注意喚起していくことで、国内での本菌の拡散防止に資する。
- 2) 感染症患者が発生した場合は院内感染が起こっている場合がある。自治体が菌株解析等により対策支援を行うことで院内そしてさらにその地域での拡散を防止できる。なお、感染研は自治体を後方支援する。
- 3) 学術的意義としては、分子疫学として重要な情報であり海外との比較などに有用な情報となる。

2. 検体

薬剤耐性の *Acinetobacter baumannii* など、全数(50 株程度)

3. サーベイランスのための検査法

- 1) 菌種同定、耐性の確認と PCR による薬剤耐性遺伝子の同定
- 2) 院内感染事例では PFGE や Plasmid 解析(地研または感染研)

4. 病原体の保存

各地研または感染研で保存

【文献・ホームページ】

1) 多剤耐性アシネトバクター 病原微生物検出情報(IASR Vol. 31 p. 192-193: 2010 年 7 月号)

<http://idsc.nih.go.jp/iasr/31/365/tpc365-j.html>

A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎 病原体サーベイランスの意義

1. 意義

- 1) A 群溶血性レンサ球菌感染症自体は温帯地域では普遍的な疾患であり、上気道炎や化膿性皮膚感染症などの原因菌としてよくみられるグラム陽性菌で、菌の侵入部位や組織によって多彩な臨床症状を引き起こす。
- 2) まれに重症化し、喉や舌、全身に発赤が広がる「猩紅熱」に移行することがある。合併症として、肺炎、髄膜炎、敗血症などの化膿性疾患、あるいはリウマチ熱、急性糸球体腎炎などの非化膿性疾患を生ずることもある。
- 3) 本疾患は通常、飛沫感染や間接的な接触感染により伝播するため、ヒトとヒトとの接触の機会が増加するときに起こりやすく、家庭、学校等の集団での感染も多い。健康保菌者（感染性は非常に低い）は 15～30%とされる。
- 4) 近年、小児科定点からの患者報告数が増加傾向。迅速診断キット普及等の可能性もあるとされる（詳細不明）。
- 5) 2010～2014 年第 44 週の小児科定点からの A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎 (GAS) 患者報告数の総数は 1,240,781 件であったが（年間約 25 万件）、ほぼ同時期の 2010～2014 年 10 月の A 群溶血性レンサ球菌の病原体サーベイランス報告数は 836 件であった（1484: 1）。病原体サーベイランスへの報告は非常に少ない。
- 6) 2006 年 4 月～2011 年の GAS 検出割合上位の T 型（検査法参照）は、2006～2008 年は T1, T12, T4 であり、2011 年には T1 と T12 で半数以上を占めて分離された。A 群溶血性レンサ球菌は、腎炎や致死率の高い劇症型レンサ球菌感染症 (STSS) の原因菌でもあり、2006～2011 年の STSS は T1 が増加傾向、単独で半数以上を占めた。
- 7) 抗菌剤による治療が基本となる。衛生微生物技術協議会溶血性レンサ球菌レファレンスセンター（以下 SRC と略す）で検査した 2007～2010 年分離の GAS 分離株（1,272 株）は、ペニシリン系抗菌薬であるアンピシリンに対して感受性を示したが、エリスロマイシン等のマクロライド系抗菌薬には 50% 近くの株が耐性を示した。
- 8) 1)～9) を総合すると、以上により感染症発生動向調査における病原体サーベイランスでは、劇症型溶連菌感染症と同様に GAS 患者から菌を分離し、迅速検査キットでは把握しえない型別や薬剤感受性の動向を把握し、その情報を臨床医や公衆衛生担当者に還元することが、患者の病態解明、早期治療を行うために重要である。必要な必要検体数を明記することは困難であり、2006～2011 年の SRC 報告数と同程度と考慮すると、年間 1000 例程度の維持が目標になる可能性がある。

2. 検体 検査は咽頭ぬぐい液を採取し、迅速診断キットあるいは細胞培養検査などで同定を行う。

3. サーベイランスのための検査法

A 群溶血性レンサ球菌の菌体由来成分を用いた血清型別には代表的な方法として 3 種類の蛋白質抗原が用いられることが多い。うち、pH8.2 の条件下で培養菌体をトリプシン (trypsin) 処理によって消化されない T 蛋白質抗原を用いる T 型別は、他の方法と比較して安定性があり、疫学調査での有用性が高いとされる。emn 遺伝子型別と共に疫学マーカーとして用いられる。

4. 病原体の保存 凍結保存法、ゼラチンディスク法などがある。

【文献・ホームページ】

- 1) A 群溶血レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) 検査マニュアル (劇症型溶血性レンサ球菌感染症起因株を含む) <http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/streptococcusA.pdf>
- 2) 溶血性レンサ球菌感染症 2006年4月～2011年. 病原微生物検出情報 (IASR). 33(8), 2012
- 3) A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎とは. 国立感染症研究所ホームページ
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/340-group-a-streptococcus-intro.html>
渡辺治雄, 清水可方. 劇症型 A 群レンサ球菌感染症. 近代出版. 1997 年

感染性胃腸炎（サルモネラ胃腸炎）病原体サーベイランスの意義

背景 サルモネラ属菌（多様である）による感染性胃腸炎。患者数の正確な数は不明であるが、国衛研の窪田先生の推定では 25～100 万人。この数には医療機関受診しない程度の数も含めての推定である。また、医療機関受診者数の数からは、腸管出血性大腸菌感染症の約 10 倍程度と推定される。

1. 意義

- 1) 病原体の流行状況把握：サルモネラは多様な血清型の集団であり、それぞれの血清型に高い宿主特異性ある傾向がある。そのため、血清型毎にリスク要因がことなり、統合的なサーベイランスをすることで、施策立案につながる可能性がある。
- 2) 抗原性、病原性の変化の把握：血液培養分離株のデータは JANIS データから抽出可能であるが、その背景を理解するためにも、胃腸炎サーベイランスを実施することが望ましい。
- 3) 薬剤耐性の把握：近年薬剤耐性が顕著に進んでいる。動物由来株のデータの蓄積はあるが、臨床由来株のデータが欠けている。そのため、十分に活用されていない現実がある。現在 WHO の薬剤耐性菌サーベイランスの GLOBAL ACTION PLAN が策定されており、そのなかで下痢症関連のサルモネラ属菌の薬剤感受性に関するナショナルデータの提出が求められることになる予定である。
- 4) 学術的意義としては、サルモネラ属菌の宿主／食品／感染ルートと血清型および遺伝子型の関連を俯瞰的に眺め、市中における病原微生物の伝播の様子をポピュレーションジェネティクス的な解析で迫れる可能性がある。

2. 検体

サルモネラ腸炎疑いの患者検体（糞便、血液、尿、胆汁、リンパ液等）、またはそれらからの分離株

3. サーベイランスのための検査法

- 1) 患者検体からの分離同定、血清型別（必須）
- 2) PFGE 型別、薬剤感受性試験
- 3) 人口 10 万当たり、散発臨床事例由来株 1 株のデータを集めれば主要血清型についての必要なデータが収集可能

4. 病原体の保存

保存の必要有り

【文献・ホームページ】

- 1) IDWR 感染症の話 サルモネラ感染症

感染性胃腸炎(カンピロバクター感染症) 病原体サーベイランスの意義

1. 意義

1) 患者数(統計値):カンピロバクター感染の主体は、食品媒介感染症(食中毒)であり、一部に水系感染がある。食中毒については、食品衛生法に基づき原因調査や原因施設の処分等が行われ、各自治体の食品衛生担当部署等から、厚生労働省に報告される。散发例については、ほとんど把握されていないのが現状である。

2) 患者数(推定値):日本全体の推定食中毒患者数は、約1万人。厚生労働科学研究(窪田)によって報告されたカンピロバクターの推定食品由来患者数は、約350万人(2011年の推計)。いずれの数値も、食中毒の患者報告数と大きく懸け離れている。

3) 二次感染と健康保菌者:赤痢菌や腸管出血性大腸菌の様な二次感染の報告例はほとんど無い。また、チフス菌やサルモネラ属菌の様に、感染後に健康保菌者となることは無い。

4) 重症度:カンピロバクター感染(食中毒)の予後は一部の免疫不全患者を除き良好な経過をとる。本菌食中毒の死亡者は、2013年まで報告されていない。但し、乳幼児では重症化する場や母親から乳児への垂直感染例は報告されている。*C. jejuni*感染後、稀に自己免疫性末梢神経疾患であるギラン・バレー症候群(GBS)を起すことがある。また、*C. fetus*では、全身感染(髄膜炎、敗血症など)の原因となる場合がある。これら重症例の患者数は、把握されていない。

5) 薬剤耐性菌:フルオロキノロン系薬剤に対する耐性化が進んでおり、監視が必要。

2. 検体

人の下痢症から分離される菌種は、*Campylobacter jejuni*が95~99%、次いで*C. coli*、稀に*C. fetus subsp. fetus*である。易感染患者等では、稀に血液から*Campylobacter*属菌や*Helicobacter*属菌等が分離される。血液検査は、主に医療機関で実施されているが、菌種により同定が困難な場合がある。

3. サーベイランスのための検査法

菌種の同定、血清型、薬剤感受性試験、MLSTなどの遺伝子型別。ただし、血清型については、サルモネラや大腸菌等に比べ経費と時間を要し、型別率も50~70%程度に留まる。

4. 病原体の保存

保存の必要性有り。但し、非常に死滅しやすいので、衛生研究所等への菌株の輸送には注意が必要。また、保存は冷凍保管(-80℃)であるため、保管数は限定される。

【文献・ホームページ】

1) 横山敬子, 高橋正樹: *Campylobacter jejuni/coli*, 食品由来感染症と食品微生物, p.347-364, 仲西寿男・丸山務(監), 中央法規, 東京, 2009.

2) カンピロバクターレファレンスセンター報告:

http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H26_Campyrobacter.pdf

3) 病原微生物検出情報 Vol.27 No.7 (2006年)

<http://idsc.nih.go.jp/iasr/27/317/tpc317-j.html>

<http://idsc.nih.go.jp/iasr/27/317/dj3175.html>

百日咳 病原体サーベイランスの意義

背景 百日咳菌による呼吸器感染症。年間 3,000-4,000 例(定点報告数)。成人例が増加しているとされているが正確には不明。

1. 意義

- 1) ワクチン政策の決定に必要である。近年成人の百日咳症例が増加していると言われるが、病原体を分離して確認していないのではっきりはわからない。流行があるので、継続的に流行型の変化を見ていく必要がある。
- 2) 中国などでは近年マクロライド耐性が増加している。国内での状況を把握することは、治療法を決定する重要な基本情報となる。
- 3) 学術的意義としては、分子疫学解析により、流行型の変化を解析することでより効果のあるワクチン開発につなげることができる。

課題 患者サーベイランスの届出基準見直しも重要な課題となっている。

—臨床診断例については咳発症より 2 週間を経ずに受診する者が多いことから、乳児には期間を定めず、乳児以外については 1 週間とする等の検討。

—検査確定例については従来の菌分離陽性に加え、咳発症後 2-3 週間以内の PCR/LAMP 陽性、咳発症後 2~8 週間の抗 PT 価 100 以上、などの適応に基づく、検査機関を考慮した病原体サーベイランスの検討。

2. 検体

臨床検体、または百日咳菌、及び *Bordetella holmesii* など類縁菌の分離株。

年間、50 株程度(以上)。培養の陽性率が 1-2 割程度なので、検査は 250-500 検体が必要。

3. サーベイランスのための検査法

- 1) 菌分離またはリアルタイム PCR による検出、菌種同定
- 2) 菌分離ができた場合は薬剤感受性試験
- 3) アウトブレイク事例では PFGE(地研または感染研)
- 4) 菌株の型別(地研または感染研)

4. 病原体の保存法

各地研または感染研で保存

【文献・ホームページ】

- 1) 百日咳 2008 年-2011 年 病原微生物検出情報(IASR Vol. 33 p. 321-322: 2012 年 12 月号)

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/pertussis-m/pertussis-iasrtpc/3001-tpc394-j.html>

細菌性髄膜炎(髄膜炎菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌を原因として同定された場合を除く。)病原体サーベイランスの意義

背景 髄膜炎菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌が原因として同定された場合を除く種々の細菌感染による髄膜炎の感染症である

(<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01-05-36.html>)。基幹定点医療機関(全国約 500 カ所の病床数 300 以上の医療機関)が週単位で届出。

1.意義

- 1) 細菌性髄膜炎の主な起因菌を把握し、病原体レベルで監視すること、また起因菌によっては季節性の有無等の把握にも活用出来ることから、今後も重要な役割を持つ。
- 2) 症候群としてモニタリングを行っているので、流行パターンに変化が起きた時、ある特定の菌が原因であるか等、適時な調査のきっかけにもなる。
- 3) ワクチン等が無い現在の「細菌性髄膜炎」をさらに細かく病原体毎に検討するには時間が必要である。
- 4) 3)に関連して、必要検体数として、届出報告数に対して病原体検出情報への報告数が少ない(例/2014 年の感染症発生動向調査:届出報告数 394 件、病原体個票:病原体検出情報への報告数 5 件)。
- 5) 届出報告数年間 300-500 症例程想定した場合、50~70 検体程検査を行えば、一定の精度を保てる(得た値の 95%信頼区間が $\pm 10\%$ エラー程)。そもそも髄膜炎菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌を除いた定点対象である細菌性髄膜炎であり、自治体レベルで必要検体数を算出する必要性はあまりない。残る起因菌でワクチンや特殊な対策法も無く、集団発生事例であれば、別の枠組みで対応するべきである。

2.検体 髄液

3.サーベイランスのための検査法

髄液を滅菌済容器に採取する。髄液の性状検査を行う場合は室温に保つ。性状検査終了後あるいは培養検査用に小分けされた髄液試料は、冷蔵する。培養検査までに輸送が必要な場合は、冷蔵で輸送する。

細菌性髄膜炎が疑われる場合、髄液培養とともに、菌血症を伴うことが多いため血液培養を行う。個々の起因菌に関する詳細な検査内容に関しては、細菌性髄膜炎(髄膜炎菌性髄膜炎をのぞく)検査マニュアル(平成 23 年 9 月、

<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/hib-meningitis.pdf>)を参照。

4.病原体の保存

継続して遺伝子型等をモニタリングすることで、流行の原因などをより詳細に研究する糸口になる可能性も有り、分離株の保管は重要だと思われる。しかし、どの様な基準で保管する検体を決めるかなど、判断する基準の検討が必要である。

【文献・ホームページ】

- 1) 細菌性髄膜炎とは
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/404-bac-meningitis.html>
- 2) 細菌性髄膜炎(髄膜炎菌性髄膜炎をのぞく)検査マニュアル(平成 23 年 9 月)
<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/hib-meningitis.pdf>
- 3) 侵襲性インフルエンザ菌・肺炎球菌感染症 2014 年 8 月現在(IASR Vol. 35 229-230: 2014 年 10 月号)
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/id/1150-disease-based/a/haemophilus-influenzae/idsc/iasr-topic/5045-tpc416-j.html>

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
「科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する緊急研究」班
分担研究報告書

インフルエンザ病原体定点と検体の選定方法

研究分担者 橋本修二 藤田保健衛生大学医学部衛生学講座 教授

研究協力者 永井正規 埼玉医科大学医学部公衆衛生学講座 教授

研究要旨 インフルエンザ病原体定点と検体の選定方法を示した。定点の基準数としては、都道府県でインフルエンザ患者定点の小児科定点から10%以上および内科定点から10%以上とし、かつ、それぞれ3定点と2定点を下回らないことと定めた。定点の基準数は都道府県で5～47定点、全国で529定点と試算された。各定点からの検体の基準数としては、流行期の週ごとに2検体と定めた。以上、実際に定点と検体の選定方法を定めるにあたって、視点の1つを提供したと考えられる。

A. 研究目的

感染症発生動向調査では、インフルエンザの発生情報が指定された医療機関（定点という）から毎週収集され、解析を経て、広く一般に還元されている。インフルエンザ定点には患者定点と病原体定点があり、患者定点から患者情報（時間、場所、人の特性など）が、病原体定点から病原体情報（ウイルスの亜型など）が収集される。

「感染症発生動向調査実施要綱」には、インフルエンザ患者定点の選定方法が明確に記載されている。一方、インフルエンザ病原体定点の選定方法については、都道府県が原則として、小児科患者定点と内科患者定点のそれぞれからおおむね10%を選定すると規定されている程度であり、必ずしも明確でない。また、各病原体定点からの検体の選定方法については特別な記載が見当たらない。

本研究の目的としては、インフルエンザ病原体定点と検体の選定方法を提示することとした。

B. 研究方法

インフルエンザ病原体定点と検体の選定の目的を定めた上で、その目的を達成するための選定方法を定めた。

各都道府県のインフルエンザ病原体定点の基準数について、2010年国勢調査人口と保健所管轄市町村区分（2014年4月1日現在）および「感染症発生動向調査実施要綱」のインフルエンザ患者定点選定方法を用いて試算した。

各インフルエンザ病原体定点での検体の基準数について、インフルエンザウイルス検出割合を用いて試算した。インフルエンザウイルス検出割合は、2010～2013年度の愛知県衛生研究所のインフルエンザの検体数と検出数から、88%と定めた（表1）。

（倫理面への配慮）

本研究では、個人情報扱わないため、個人情報保護に関する問題は生じない。

C. 研究結果

表2に、インフルエンザ病原体定点と検体の選定方法の概要を示す。インフルエン

ザ病原体定点と検体の選定の目的としては、流行期の週ごとに、全国のインフルエンザウイルス検出検体の亜型割合について、推定精度を確保することとした。ここで、推定対象とする真の亜型割合としては、当該週の全国のすべての医療機関で診断されたインフルエンザ患者における全員の亜型割合を指す。推定精度の条件としては、亜型割合が10%以上で、その標準誤差率を10%以下と定めた。

インフルエンザ病原体定点の選定方法としては、都道府県が、インフルエンザ患者定点から、人口及び医療機関の分布等を勘案して、できるだけ当該都道府県全体の感染症の発生状況を把握できるように選定するとした。定点の基準数としては、インフルエンザ患者定点の小児科定点から10%以上および内科定点から10%以上とし、かつ、それぞれ3定点と2定点を下回らないことと定めた。表3に、都道府県別、インフルエンザ患者定点と病原体定点の基準数の試算値を示した。インフルエンザ病原体定点の基準数の試算値は、都道府県で5~47定点、全国で529定点であった。

インフルエンザ病原体定点からの検体の選定方法としては、流行期の週ごとに、最初のインフルエンザと診断された患者から順に、検体の基準数になるまで検体の提供を依頼することとした。検体の基準数としては、流行期の週ごとに2検体と定めた。インフルエンザ病原体定点からの検体の基準数としては、流行期の週ごとに、都道府県で10~94検体、全国で1,058検体であった。

図1に、全国の流行期の週におけるインフルエンザの亜型割合別、その標準誤差率の試算結果を示す。前述のインフルエンザ病原体定点の基準数529と各定点からの検

体の基準数2検体に、インフルエンザウイルス検出割合(88%)を乗じると、931検体と計算される。この検体数によると、亜型割合の標準誤差率は亜型割合10%以上で10%以下と試算され、前述の推定精度の条件を満たした。一方、各定点からの検体の基準数を1検体とすると、陽性検体数は466と計算された。この検体数によると、亜型割合の標準誤差率は亜型割合10%以上で14%以下と試算され、前述の推定精度の条件を満たさなかった。

D. 考察

インフルエンザ病原体定点と検体の選定の目的において、流行期の週ごとに、全国のインフルエンザウイルス検出検体の亜型割合を指標としたが、同定点から収集される情報の中で、これが主要かつ重要なものとするためである。一方、その目的としては、様々なものを想定可能である。たとえば、流行期の早期の亜型割合を重視すること、地域別の亜型割合を対象に含めること、薬剤耐性の割合を考慮することなどである。本研究では、最も中心的な指標(全国の亜型割合)の最も単純な状況(流行期の週ごと)を想定したが、今後、実際上の重要性を考慮して、インフルエンザ病原体定点と検体の選定の目的を再検討することが重要であろう。

推定精度の条件としては、亜型割合が10%以上で、その標準誤差率を10%以下と定めた。この標準誤差率10%の条件は、たとえば、亜型割合が10%のときに95%信頼区間が8~12%に、20%のときに95%信頼区間が16~24%になることに相当する。現行の感染症発生動向調査において、インフルエンザ患者定点では全国の罹患数推計値の標準誤差率5%を、眼科定点ではその

10%を推定精度の条件としている。したがって、推定精度の条件として、標準誤差率10%は必ずしも高いといえないが、一定の妥当性があると考えられる。

インフルエンザ病原体定点の選定方法として、人口及び医療機関の分布等を勘案して、できるだけ当該都道府県全体の感染症の発生状況を把握できることを挙げた。これは、定点の地域代表性を確保するためであり、現行の「感染症発生動向調査実施要綱」の患者定点の選定方法（無作為抽出の条件を除く）に準じたものである。インフルエンザ病原体定点の基準数としては、現行の「感染症発生動向調査実施要綱」の「おおむね10%」を「10%以上」とし、また、下限（小児科3定点と内科2定点）を明確にしたものである。これらの選定の割合は高いものでなく、実施可能性の上でとくに大きな問題がないと考えられる。

各インフルエンザ病原体定点からの検体の選定方法として、流行期の週ごとに、最初のインフルエンザと診断された患者から順に、検体の基準数になるまで検体の提供を依頼すると定めた。この方法はきわめて単純である。インフルエンザ病原体定点での患者全体の検体における提供された検体の代表性がある程度確保できれば、これ以外の方法でも問題はない。恣意的な検体の選定を除くため、事前に選定方法を定めておくことが重要であろう。

各インフルエンザ病原体定点における検体の基準数としては、流行期の週ごとに2検体とした。これは、前述の目的から合計検体数の最小値を算定し、定点の基準数から定点あたりの検体数を求めたものである。この基準数の実施可能性については、様々な要因が関係すると考えられる。とくに、検体の提供側、検体の移送面、検体の提供

を受ける側の負担などである。本研究では、これらの事項について検討していない。

インフルエンザ病原体定点と検体の選定方法については、實際上、様々な視点を考慮して定められるものと思われる。本研究結果はその視点の1つを提供したと考えられる。

E. 結論

インフルエンザ病原体定点と検体の選定方法を示した。定点の基準数としては、インフルエンザ患者定点の小児科定点から10%以上および内科定点から10%以上とし、かつ、それぞれ3定点と2定点を下回らないことと定めた。定点の基準数は都道府県で5~47定点、全国で529定点と試算された。各定点からの検体の基準数としては、流行期の週ごとに2検体と定めた。

本研究に対して、本研究班の研究代表者の調恒明先生（山口県環境保健センター）、研究分担者の皆川洋子先生（愛知県衛生研究所）をはじめ、多くの関係者から貴重なコメントを頂戴しました。インフルエンザの検体数と検出数の資料について、愛知県衛生研究所から提供を受けました。関係各位に深甚の謝意を表します。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

国際学会

なし

	特許取得
国内学会	なし
なし	実用新案登録
	なし
H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)	その他 なし

表1. インフルエンザの検体数と検出数：愛知県衛生研究所、2010～2013年度

	年度				年度計		
	2010 検体数	2011 検体数	2012 検体数	2013 検体数	検体数	検出割合 (%)	亜型割合 (%)
検体全体	320	221	180	187	908	(100.0)	
検出なし	42	29	19	22	112	(12.3)	
検出あり	278	192	161	165	796	(87.7)	[100.0]
AH1pdm09	138	3	5	50	196		[24.6]
AH1	0	0	0	0	0		[0.0]
AH3	80	149	103	64	396		[49.7]
B	60	40	53	51	204		[25.6]

表2. インフルエンザ病原体定点と検体の選定方法の概要

インフルエンザ病原体定点と検体の選定の目的：

流行期の週ごとに、全国のインフルエンザウイルス検出検体の亜型割合について、推定精度を確保する。推定精度としては亜型割合が10%以上で、その標準誤差率を10%以下とする。

インフルエンザ病原体定点の選定方法：

都道府県が、インフルエンザ患者定点から、人口及び医療機関の分布等を勘案して、できるだけ当該都道府県全体の感染症の発生状況を把握できるように選定する。定点の基準数としては、インフルエンザ患者定点の小児科定点から10%以上および内科定点から10%以上とし、かつ、それぞれ3定点と2定点を下回らないこととする。

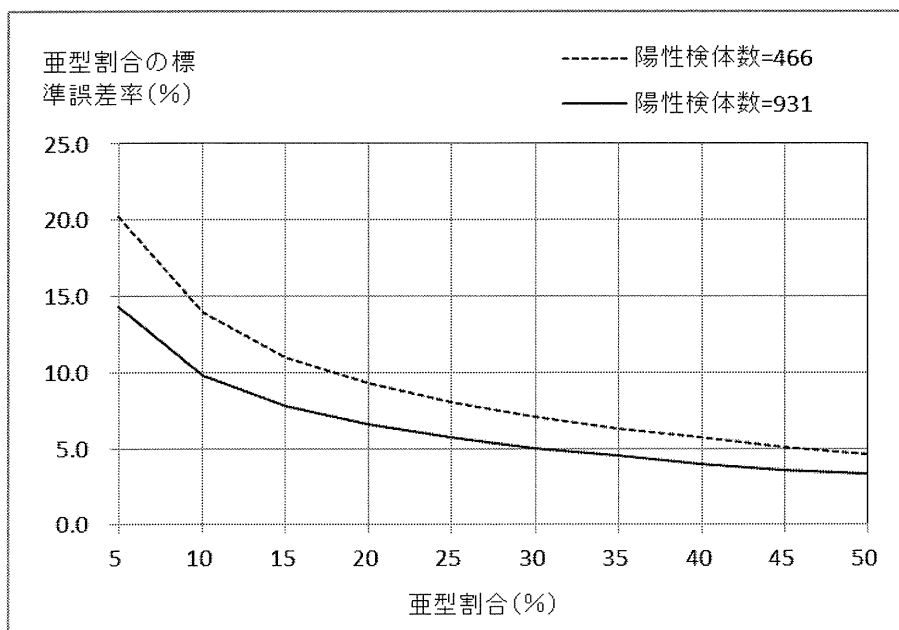
インフルエンザ病原体定点からの検体の選定方法：

各インフルエンザ病原体定点が、流行期の週ごとに、最初のインフルエンザと診断された患者から順に、検体の基準数になるまで検体の提供を依頼する。検体の基準数としては、流行期の週ごとに2検体とする。

表3. 都道府県別、インフルエンザの患者定点と病原体定点の基準数の試算値

都道府県	インフルエンザ患者定点			インフルエンザ病原体定点		
	小児科	内科	計	小児科	内科	計
北海道	137	81	218	14	9	23
青森	35	22	57	4	3	7
岩手	37	23	60	4	3	7
宮城	59	36	95	6	4	10
秋田	30	19	49	3	2	5
山形	28	17	45	3	2	5
福島	48	30	78	5	3	8
茨城	72	44	116	8	5	13
栃木	47	27	74	5	3	8
群馬	51	32	83	6	4	10
埼玉	159	90	249	16	9	25
千葉	141	82	223	15	9	24
東京	296	169	465	30	17	47
神奈川	195	108	303	20	11	31
新潟	59	34	93	6	4	10
富山	27	17	44	3	2	5
石川	29	19	48	3	2	5
福井	22	13	35	3	2	5
山梨	21	13	34	3	2	5
長野	54	33	87	6	4	10
岐阜	49	30	79	5	3	8
静岡	83	47	130	9	5	14
愛知	178	112	290	18	12	30
三重	47	28	75	5	3	8
滋賀	35	23	58	4	3	7
京都	60	36	96	6	4	10
大阪	196	112	308	20	12	32
兵庫	130	76	206	13	8	21
奈良	34	20	54	4	2	6
和歌山	27	17	44	3	2	5
鳥取	15	10	25	3	2	5
島根	20	13	33	3	2	5
岡山	46	26	72	5	3	8
広島	64	38	102	7	4	11
山口	37	23	60	4	3	7
徳島	22	13	35	3	2	5
香川	25	15	40	3	2	5
愛媛	35	23	58	4	3	7
高知	22	14	36	3	2	5
福岡	121	72	193	13	8	21
佐賀	22	15	37	3	2	5
長崎	37	24	61	4	3	7
熊本	47	30	77	5	3	8
大分	30	19	49	3	2	5
宮崎	32	21	53	4	3	7
鹿児島	47	29	76	5	3	8
沖縄	34	19	53	4	2	6
全国	3,042	1,814	4,856	326	203	529

図1. インフルエンザの亜型割合別、その標準誤差率の試算結果



平成26年度厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
「科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する緊急研究」班
分担研究報告書

インフルエンザ病原体サーベイランス検査数に関する研究

研究代表者	調 恒明	山口県環境保健センター
研究分担者	皆川洋子	愛知県衛生研究所
研究協力者	安井善宏	愛知県衛生研究所
	吉田 弘	国立感染症研究所ウイルス第二部

研究要旨 平成28年度以降インフルエンザ病原体サーベイランスが精度を保持しながら円滑に運用されるために解決すべき課題等を明らかにする目的で、橋本研究分担者により理論的に算定された都道府県別病原体定点数及び検体数を、平成24年度に全国地方衛生研究所を対象に実施したアンケート調査等2013年以前の検査実績等と比較検討した。都道府県別検査実績と今回算定された定点数に基づく検体数には、一部の自治体において相当の差異が認められた。とくにPCRによる臨床検体の型別検査実績は算定検査数を下回る自治体の方が多く、収集する病原体情報の内容についても検討の必要性が示唆された。さらに実際の運用にあたっては県の面積、空港・港湾の数など人口以外の因子も考慮する必要がある。

A. 研究目的

感染症発生動向調査において、平成28年度より病原体情報を患者発生情報とならんで一定の精度を保持して収集するにあたり、新たに都道府県ごとにインフルエンザ病原体定点数が算定される。感染症発生動向調査に基づくインフルエンザウイルス検査を担当する地方衛生研究所の立場で平成28年度以降一定の精度を確保運用をめざして、算定された定点数（及び想定される検体数）を現在の検査実績等と比較検討し、課題や問題点等を明らかにする。

B. 研究方法

1. 地方衛生研究所（以下、地衛研）におけるインフルエンザウイルス検査実績の分析

平成24年度厚生労働科学研究（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究」（研究代表者 小田切孝人）分担研究（研究分担者 皆川洋子）の一環として、地方衛生研究所全国協議会（以下、地全協）会員の協力を得て実施した「インフルエンザ検査体制に関するアンケート調査」結果報告（平成25年8月29日）を中心に、現状を解析した。

2. インフルエンザ病原体定点数及び検体数に関する検討

本研究においては各2回の全体会議ならびにウイルス小班会議に加え、橋本研究分担者との会議を開催して議論を重ね、その結果を報告書に反映させた。議論の材料として都道府県別二次医療圏・空港・港湾の

数には、各々所管省庁ホームページ等に公開されているデータを用いた。

(倫理面への配慮)

本研究では、個人情報扱わないため、個人情報保護に係る問題は生じない。

C. 研究結果

1. 意見交換を実施した研究班会議等は以下の通りである。

平成 26 年 10 月 27 日 研究班全体会議

平成 26 年 11 月 13 日 ウイルス小班会議

平成 26 年 12 月 1 日 調・橋本・皆川及び愛知県衛生研究所関係職員による打合せ会議 (於：愛知県衛生研究所)

平成 26 年 12 月 17 日 ウイルス小班会議

平成 27 年 1 月 8 日 研究班全体会議

2. 都道府県別インフルエンザ病原体定点算定数と二次医療圏等の数の比較検討

表 1 に示すとおり、9 県においてインフルエンザ病原体定点算定数が平成 22 年現在の二次医療圏数を下回った (二次医療圏数のセルを着色)。一方、三大都市圏にある 7 都府県においては定点算定数が二次医療圏数の 2 倍を超えた (定点算定数のセルを着色)。

3. 定点数から想定される都道府県別検査数と地衛研における検査実績の比較検討 (表 2-1、表 2-2、表 3)

表 2-1 に地全協に加盟する 78 機関のインフルエンザウイルス検査体制を、表 2-2 には自治体を都道府県・指定都市・その他 (中核市、特別区等) に分けて検査体制整備状況を示した。表は平成 24 年度に実施した調査に基づくものであるが、その後新たに加盟が承認された機関は指定都市である岡山市 1 機関のみである。都道府県及び指定都市が設置した地衛研は、全てインフルエンザウイルス遺伝子検査のみならず

分離検査にも対応していたが、その他の自治体が設置する地衛研の中でインフルエンザ分離まで実施している機関は全体の 3 割に過ぎなかった。地全協に加盟しているがインフルエンザウイルス分離検査を実施しない機関を設置する市のサーベイランス検査は、分離検査実施機関が担当するべきである。

表 3 には、都道府県別 2011/2012 シーズンインフルエンザウイルス検査数実績 (指定都市等に地衛研設置自治体のある道府県については県内各機関実績を合算して算出) と、今般のインフルエンザ病原体定点数に 20 を乗じて得た年間検査数 (1 定点あたり流行期 16 週は週 1 検体、非流行期には年間 4 検体採取と仮定) の比較結果を示す。ウイルス分離検査数の実績は、6 割の都道府県で総定数を上回ったが、PCR 検査実績は、新たな検査数を下回る都府県が 6 割にのぼった。

4. 期待される精度に必要な病原体情報数確保への影響が考えられる諸因子 (表 4)

今般の都道府県別インフルエンザ病原体定点数算定は、全国で各週に検出されるウイルスの型亜型割合を一定の精度で推定するのに必要な陽性検体数と平均ウイルス陽性率を勘案して県別最低数を設定のうえ、人口を反映して行われた。したがって全国から報告される各週の陽性検体数の総和を一定数以上確保することが、亜型割合情報の精度担保に重要である。

表 4 に、全国レベルの週当たり検体数に影響が考えられる因子を、病原体定点における検体採取から検査結果の NESID への入力に至るステップ毎に列挙した。

D. 考察

1. 都道府県別インフルエンザ病原体定点

算定数から想定される検査数への対応について

全国の週別インフルエンザ型亜型割合情報を得るにあたり、理想的には、人口に基づいて設置された定点から偏りなく採取された病原体情報の速やかな還元が望ましいが、病原体情報の確保には、表4に挙げた点を含む様々な因子が影響を及ぼす。

県別人口に基づく病原体定点算定数を、まず二次医療圏数と比較したところ(表1)、二次医療圏あたり1未満となる(小児科若しくは内科定点を指定できない二次医療圏が発生する)県がある一方、三大都市圏では二次医療圏あたり2-3定点設置することとなる。さらに定点間の偏りなく検体採取を行うと、想定検査数は定点数に比例することとなるが、都道府県別に合算した地衛研検査実績とは乖離がみられる(表3)。人口100万未満の県の中に人口あたり検査数がかかなり多い自治体が散見され、オセルタミビル低感受性変異ウイルスの早期探知など全国にとって有用な実績を残している。

一方人口約740万の愛知県を例にとると、定点数は30であるが、名古屋市と愛知県の2機関で流行期10~16週にわたって毎週30検体を確保するには以下の点について体制等の強化を図る必要がある。

①検体搬送回数の制限：現在県と市から協力を依頼している病原体定点34機関のうち地衛研まで片道90分を超える医療機関が7機関以上あり、これらの機関からの検体提出実績は年1~数回程度である。検体搬送を担当する保健所の業務量を急増させずに検体提出頻度を上げるためには、医療機関から回収した検体の保健所から地衛研への輸送にゆうパック等民間業者を活用する、等の工夫が必要である。

②毎週30検体のうち24検体を愛知県衛

生研究所が担当すると仮定した場合、24検体とは平均的な流行期検体件数の約1.7倍、2009年新型インフルエンザ全数報告期(週あたり約100件)の1/4に相当する。現行の予算・人員・設備では流行期連続対応は困難であり、検査要員の増員及び検査機器の増設が必要である。

国レベルで週別型亜型割合情報の精度担保するには、前項で記したとおり総検査数の確保が必須となることから、現在の検査実績が、想定される検査数を上回る自治体による検査数における貢献が期待される。また定点医療機関間で提出検体数に偏りがみられる自治体において即座に是正措置を講じる(現在提出数の多い医療機関に上限を設けることが一般的)と、当該自治体ひいては全国の総検体数を維持できないおそれがある。

2. その他病原体情報精度確保への影響が考えられる因子について

表4に挙げたとおり、まずNESID入力環境は改善を要する。流行期には病原体情報入力アクセスの集中が想定されるので円滑なアクセスが可能な通信環境に加えて、1件入力あたり業務量を現状より相当減らす必要がある。また地衛研において入力データの決裁を可能にするには、データ入力承認のステップを組み込むことが必須である。

さらに流行株は、シーズン毎に異なる特徴を示し、流行規模が小さいシーズンには検体数確保が困難になる可能性もある。また可能性はあまり高くないと思われるものの迅速診断キット陽性率の低い流行株が出現した場合には、総検体数に占めるインフルエンザウイルス陽性割合が低下するおそれがある。

3. インフルエンザ病原体サーベイランスの目的を全うするために

インフルエンザサーベイランスにおいては、インフルエンザ様疾患(influenza-like illness: ILI)患者検体を採取しており、インフルエンザウイルス以外の病原体が検出された場合も、同定型別等詳細な調査を実施する必要がある。また拠点空港・重要港湾を有する県や、養鶏業がさかんな県は、定点設定にあたって新たなインフルエンザ様感染症持ち込みへの備えも考慮することが望ましい。

インフルエンザウイルス病原体情報収集は、型亜型割合の推定のみならず、次シーズンワクチン株の選定や薬剤耐性状況の把握にも必須である。PCR による臨床検体の型別検査実績は、算定検査数を下回る自治体の方が多いが、病原体情報のうち型亜型割合情報以外の項目（例：抗原変異・薬剤感受性）は、ウイルス分離なしには確認困難であり、サーベイランスにおけるウイルス分離の軽視は望ましくない。

E. 結論

わが国においてインフルエンザ流行は、幅広い年齢層で毎年みられ、病原体定点を人口に基づいて設置することは理に適っている。インフルエンザウイルス病原体情報は、型亜型割合の推定に加えて、次シーズンワクチン株の選定や薬剤耐性状況の把握にも必須であり、国全体の年間総陽性検体数維持を最優先に、情報の確保が可能な体制づくりに努める必要がある。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

論文発表 なし

学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。) なし

表1. 都道府県別インフルエンザ病原体定点算定数と二次医療圏、拠点空港、港湾の数

インフルエンザ病 原体定点算定数	都道府県	二次医療 圏の数	拠点空 港の数	国際拠点あるいは 戦略港湾の数	重要港湾の数
23	北海道	21	6	2	10
7	青森県	6	0	0	3
7	岩手県	9	0	0	4
10	宮城県	7	1	1	1
5	秋田県	8	1	0	3
5	山形県	4	1	0	1
8	福島県	7	0	0	2
13	茨城県	9	0	0	4
8	栃木県	5	0	0	0
10	群馬県	10	0	0	0
25	埼玉県	10	0	0	0
24	千葉県	9	1	1	1
47	東京都	13	1	1	0
31	神奈川県	11	0	2	1
10	新潟県	7	1	1	3
5	富山県	4	0	1	0
5	石川県	4	0	0	2
5	福井県	4	0	0	1
5	山梨県	4	0	0	0
10	長野県	10	0	0	0
8	岐阜県	5	0	0	0
14	静岡県	8	0	1	2
30	愛知県	11	1	1	2
8	三重県	4	0	1	2
7	滋賀県	7	0	0	0
10	京都府	6	0	0	1
32	大阪府	8	2	2	1
21	兵庫県	10	0	2	2
6	奈良県	5	0	0	0
5	和歌山県	7	0	1	1
5	鳥取県	3	0	0	2
5	島根県	7	0	0	3
8	岡山県	5	0	1	2
11	広島県	7	1	1	3
7	山口県	8	1	2	4
5	徳島県	6	0	0	2
5	香川県	5	1	0	2
7	愛媛県	6	1	0	4
5	高知県	4	1	0	3
21	福岡県	13	2	2	2
5	佐賀県	5	0	0	2
7	長崎県	9	1	0	5
8	熊本県	11	1	0	3
5	大分県	6	1	0	5
7	宮崎県	7	1	0	3
8	鹿児島県	9	1	0	5
6	沖縄県	5	1	0	5
529	(全国計)	349	28	23	102

表 2-1 地方衛生研究所によるインフルエンザウイルス検査体制（平成24年12月調査）

インフルエンザウイルス検査を実施している機関数/回答機関数(%)	74/78 (94.9)
インフルエンザウイルス分離検査を実施している機関数/回答機関数(%)	69/78 (88.5)

46都道府県内にある78地衛研(回答率46/47=97.9%,78/79=98.7%)の回答より算出

表 2-2 都道府県・指定都市・その他（中核市、特別区等）の自治体別地方衛生研究所によるインフルエンザウイルス検査体制（平成24年12月調査）

	全体 (%)	都道府県	指定都市	その他
全回答機関数	78 (100)	46 (100)	19 (100)	13 (100)
検査実施機関数	74 (95)	46 (100)	19 (100)	9 (69)
分離培養体制あり	69 (88)	46 (100)	19 (100)	4 (31)
分離培養体制なし	9 (12)	0 (0)	0 (0)	9 (69)

78地衛研(78/79=98.7%)の回答に基づき算出

表 3 地方衛生研究所による都道府県別2011/2012シーズンインフルエンザウイルス検査数実績とインフルエンザ病原体定点算定数から想定される検査数の比較

同シーズン分離検査数実績が定点算定数x20を下回った都道府県数(%)	18 (38.2)
同シーズンPCR型別数実績が定点算定数x20を下回った都道府県数(%)	30 (63.8)

インフルエンザウイルス検査実施74地衛研(無回答1地研は検査数0と仮定)の回答より算出

表 4 期待される精度に必要な病原体情報数確保への影響が考えられる因子

<ul style="list-style-type: none"> ・ 定点医療機関における検体採取可能な受診者数の地理的及び時間的偏り ・ 医療機関から保健所及び検査実施機関へのアクセスの良否 ・ 検査実施機関における検査可能検体数の上限（人員・機器設備・予算の確保、等） ・ NESIDへの入力（1件あたり業務量が過大でないこと、円滑なアクセスの確保、等） ・ シーズン毎に異なる流行株の特徴 （流行規模、同時流行がみられた型・亜型の数、迅速診断キット陽性率等）

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
「科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する緊急研究」班
分担研究報告書

インフルエンザウイルスサーベイランス検査の標準化に関する研究

研究分担者 皆川洋子 愛知県衛生研究所

研究協力者 安井善宏、小林慎一、山下照夫 愛知県衛生研究所

研究要旨 平成28年4月より感染症発生動向調査における病原体情報報告が義務づけられる。現在も全都道府県で実施されているインフルエンザウイルスサーベイランス検査を担当している各地方衛生研究所において、検査感度及び正確性について一定水準の維持を図るため、各機関に求められる体制を検討し、書式ひな形等の骨子案を例示した。

A. 研究目的

平成28年4月に施行される「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の一部を改正する法律（平成26年11月21日法律第115号）」において従来の患者情報に加えて病原体情報（検査結果）の報告が義務づけられる。季節性インフルエンザは毎年全国で流行が探知される重要な感染症であることから、病原体情報収集体制強化の一環として新たに季節性インフルエンザの検体の指定提出機関制度が創設され、施行期日までに都道府県別病原体定点数や検体数が示される予定である。

季節性インフルエンザウイルスのサーベイランスは地方衛生研究所全国協議会（地全協）に加盟する地方衛生研究所（地衛研）の多くが検査を実施しており、国立感染症研究所（感染研）インフルエンザウイルス研究センターと連携したレファレンスセンター（コア・サポート地衛研）体制等を通じて各機関の検査精度維持向上に必要な情報交換やウイルス核酸検出検査の external quality assurance（EQA）（厚生労働科学研究 新型インフルエンザ等新興・再興感

染症研究事業 地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出およびリスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と技術開発に関する研究（研究代表者：小田切孝人）を行っている。しかしウイルス分離の感度や型亜型決定検査の正確性を一定水準に保つために必要な検査機関（=地衛研）内のチェック体制等の整備は、現在は各機関に任されている。本研究ではインフルエンザウイルス分離型別を実施する地衛研が備えるべき体制を検討し、書式ひな形の骨子を例示する。

B. 研究方法

1. インフルエンザウイルスサーベイランス検査水準の維持に必要な体制の検討

国際保健機関（WHO）、感染研等のホームページや民間衛生検査所に由来する病原体検査一般及び internal quality assurance（IQA）、EQAに関する文書を調査した。本研究における各2回の全体会議ならびにウイルス小班会議に加え、インフルエンザウイルス検査若しくは病原体検査一般に造詣の深い研究協力者らと議論を重ね、その結果

を報告書に反映させた。

2. 標準作業書 (Standard Operation Procedure: SOP) 等ひな形の検討

インフルエンザウイルスサーベイランスを実施する全国地衛研において、28年4月までに行わねばならない文書作成業務負担の軽減に資することを目的に、愛知県衛生研究所におけるインフルエンザウイルス分離及び型亜型決定検査手順を精査し、下記 C. 2. に記した方針に基づいて一部加除修正のうえ SOP 書式のひな形骨子案 (別添 1) としてまとめた。

C. 研究結果

1. インフルエンザウイルスサーベイランス検査水準の維持に必要な体制の検討

該当する研究会議並びに打合せは以下の通りである。

平成 26 年 10 月 27 日 研究会全体会議
平成 26 年 11 月 13 日 ウイルス小班会議
平成 26 年 12 月 17 日 ウイルス小班会議
平成 27 年 1 月 18 日 研究会全体会議
平成 27 年 1 月 27 日, 2 月 18 日 調班長らとの打合せ

2. 標準作業書(SOP)等ひな形の検討

インフルエンザウイルス分離及び分離株の型・亜型決定を各地衛研で実施するにあたり必要と考えられる文書・書式等のひな形案を検討し、別添として例示した。

なお検査実施体制、遠心機・オートクレーブ・PCR 増幅装置等ウイルス検査室に常備される機器の保守管理、感染症発生動向調査病原体検査全般に関係する事項並びに遺伝子検査(PCR 等遺伝子増幅検査及び当該増幅機器を用いる薬剤耐性遺伝子マーカー検査、遺伝子塩基配列決定)、EQA 等外部精度管理に関する事項は、当特別研究会及び佐多班のメンバーが別途検討中であるため、

項目の列挙 (表 1 及び別添関係ページ) に留め、具体的記述は省略した。

D. 考察

インフルエンザウイルス分離と得られた分離株の型・亜型決定は、地衛研が担当する病原体情報の重要な部分を占める。各検査機関において検査手順や機器・試薬管理体制を文書化することは、全国地衛研で実施される検査の標準化に資するとともに、検査結果の感度及び正確度の確認に必要なプロセスである。一方で、書式の準備にあたっては、検査の現場で文書事務に追われるようでは本末転倒であることを念頭に、事務量が必要最小限となるよう工夫しなければならない。

E. 結論

感染症発生動向調査病原体検索において重要な一角を占める季節性インフルエンザウイルス分離と型亜型決定検査は、全国の地衛研が担当している。一定の感度と正確度を担保された検査を全国で実施するために必要と思われる SOP 関係書式等のひな形骨子案を例示した。今後さらに平成 27 年度に発出される関係通知や他のウイルス検査との整合性等を検証し、新たに発生する事務量が必要最小限となるよう使いやすい書式にブラッシュアップする必要がある。

表1 季節性インフルエンザウイルス分離検査実施にあたり体制等の確認が必要な事項

1. 病原体検査の実施体制
2. 職員の教育・研修
3. 検査室等の管理
4. 機械器具保守管理
5. 試薬等の管理
- 5-1 試薬等の管理について-培養細胞
6. 有毒な又は有害な物質及び危険物の管理
7. 検体（含む病原体）取扱いについて
8. 病原体検査の管理
9. 病原体検査の質管理（質保証）の実施
10. 第三者機関による病原体検査の質評価について
11. データ等の作成・保存要領
12. 国からの検体提出要請
13. 国への検体検査依頼
14. 地方衛生研究所等の検査機関から国立感染症研究所への検体送付要領
15. 病原体情報の収集と発信

※本稿では、上記項目のうち3.,5.,8.,9.に関連する事項のみを記述した。

表2 季節性インフルエンザウイルス分離検査SOP骨子案（別添）の構成

- ・表紙
- ・改訂履歴
- ・インフルエンザウイルス検査の流れ概要
- ・本文
 - 1) 臨床材料の処理及びRNA抽出SOP
 - 2) MDCK細胞を用いた分離培養SOP
 - 3) 遺伝子検査における標準的実験室使用方法
 - 4) 遺伝子検査（リアルタイムRT-PCR法）SOP ※本稿では省略
 - 5) 型・亜型同定検査及び抗原性解析SOP
 - 6) 遺伝子検査、型・亜型同定検査－（コンベンショナルRT-PCR法）SOP
 - 7) 薬剤耐性マーカー検査SOP ※本稿では省略
 - 8) 遺伝子解析SOP ※本稿では省略
- ・付録
 - 1 関係試薬・機器リスト
 - 2 「インフルエンザH1pdm2009」ウイルス学的検体採取について
 - 3 作業手順書（ウイルス分離同定検査作業手順書・記録書）

別添 SOP ひな形骨子案

インフルエンザウイルス検査標準作業手順書 (SOP)

Ver.1.X

〇〇〇衛生研究所

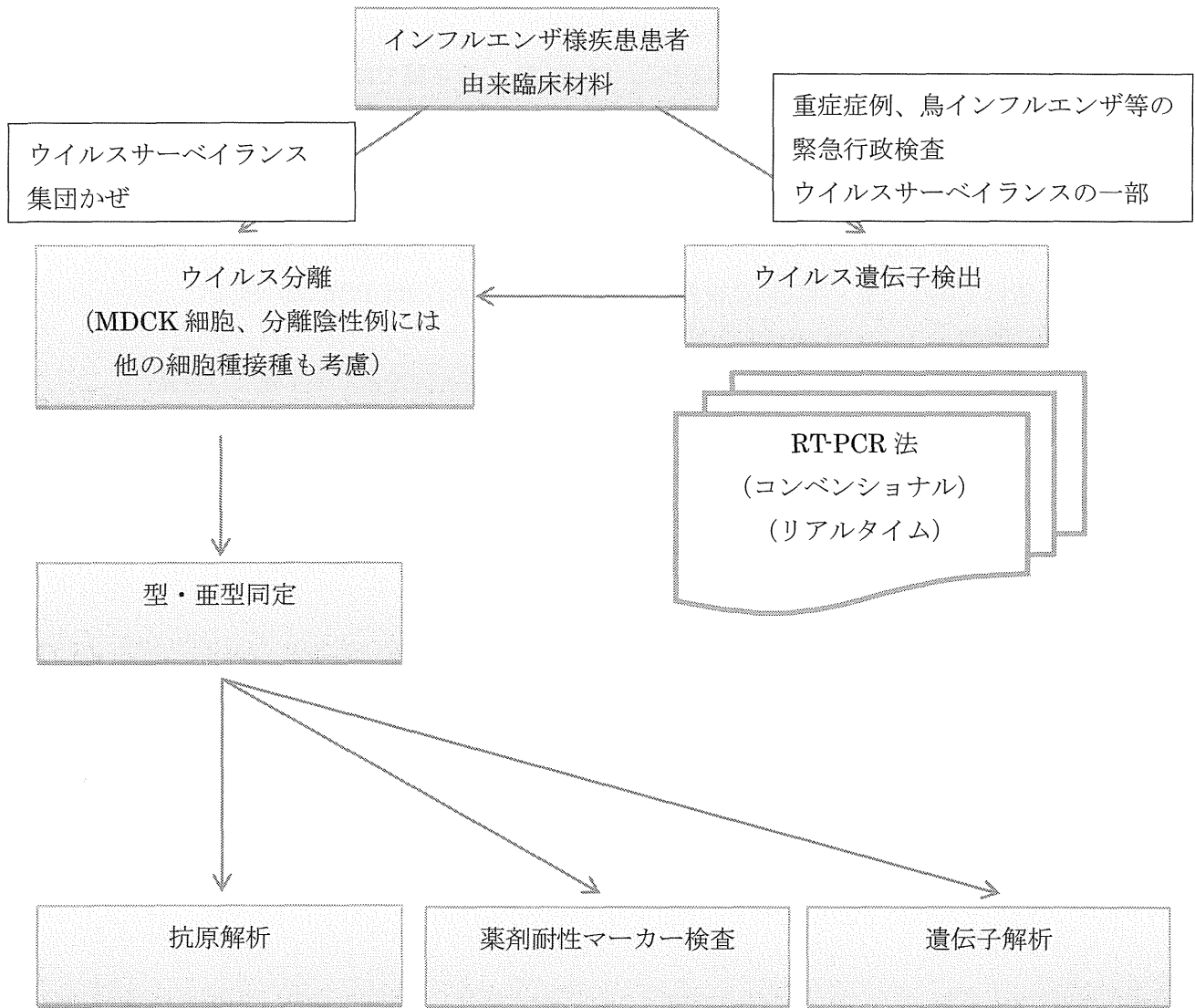
20XX年〇月〇日

標準作業書改訂履歴

標準作業書（SOP）の改訂には室長及び部長の承認を必要とする。

改訂年月日	改訂作業者	改訂内容	室長承認印	部長承認印
2014.9.9.	〇〇 〇〇	病原体検出マニュアル改訂（第3版発行）に伴う記載事項の変更		

〇〇〇衛生研究所におけるインフルエンザウイルス検査の概要



※本文書記載の手順に従って検査を実施中に、インフルエンザ以外のウイルスや、使用中の試薬に反応を示さない変異株の分離・検出等が疑われる場合は、当作業手順から離脱のうえ、積極的疫学調査・感染症発生動向調査、若しくは調査研究等として必要な追加検査等を実施する。

目次

- 1) 臨床材料の処理及び RNA 抽出 SOP
 - 2) MDCK 細胞を用いた分離培養 SOP
 - 3) 遺伝子検査における標準的実験室使用方法
 - 4) 遺伝子検査 (リアルタイム RT-PCR 法) SOP ※本稿では省略
作業手順書 Flu-1 (重症インフルエンザ遺伝子検査作業手順書・記録書)
Flu-2 (トリインフルエンザ遺伝子検査作業手順書・記録書)
 - 5) 型・亜型同定検査及び抗原性解析 SOP
作業手順書 Flu-3 (ウイルス分離同定検査作業手順書・記録書)
 - 6) 遺伝子検査、型・亜型同定検査ー (コンベンショナル RT-PCR 法) SOP
作業手順書
Flu-1 (重症インフルエンザ遺伝子検査作業手順書・記録書) ※本稿では省略
Flu-2 (トリインフルエンザ遺伝子検査作業手順書・記録書) ※本稿では省略
Flu-3 (ウイルス分離同定検査作業手順書・記録書)
 - 7) 薬剤耐性マーカー検査 SOP ※本稿では省略
作業手順書 Flu-4 (薬剤耐性検査作業手順書・記録書 (リアルタイム法))
 - 8) 遺伝子解析 SOP ※本稿では省略
 - 9) 関係試薬・機器リスト
- ※各作業手順書ファイルは所内 LAN 試験検査作業手順書・記録書フォルダーに保存。

1. 臨床材料の処理及び RNA 抽出 SOP

臨床材料には、綿棒等で咽頭及び鼻腔などを拭いメディアウムに浸したものの、うがい液及び鼻腔洗浄液など PBS(－)の洗浄液、あるいは気管吸引液や喀痰など下気道から採取されたものなどがある。(付録 2 を参照)

1.1. ウイルス分離用検体の輸送と保存

分離用検体は、4℃に保存し凍結を避けて輸送する。保存期間が 1 週間を超えるようであれば凍結保存し、輸送時は凍結融解を避け、凍結の状態に輸送する。当所においても搬入後、検体処理を行うまで同様の基準で保存する。

1.2. 検体処理

臨床検体の処理は第一 P2 実験室にて行う。臨床検体のふたを開ける場合、又は臨床検体をチューブに移す場合には安全キャビネットを使用する。

1.2.1. 上気道由来検体

綿棒が液体に浸っている場合は滅菌済ガラス棒で良くしごいた後に綿棒を抜き取る。その後チューブ内容物を全て 15mL チューブに移し、3,000 rpm 15 min 遠心を行い、上清を接種試料や RNA 抽出用検体とする。綿棒がない場合は、そのまま 15mL チューブに移し、3,000 rpm 15 min 遠心を行う。

1.2.2. 下気道由来検体

気管吸引液等、比較的粘性の低い液体の場合は 2.2.1.の上気道由来検体に準じて行う。粘性の高い喀痰成分の場合は国立感染症研究所：インフルエンザウイルス遺伝子検査およびウイルス分離のための喀痰検体の前処理法（第 1 版）に従って行う。

1.3. 処理済み検体の保存

ウイルス分離用接種又は RNA 抽出に用いた残りの遠心上清は-80℃に保存する。メディアウムが使用されていない場合は 2x 保存用 PBS と等量混ぜ合わせてから保存する。

2x 保存用 PBS(－)

0.4%BSA

2x ペニシリン+ストレプトマイシン*

2x ファンギゾン溶液*

2x ゲンタマイシン溶液*

*培養培地の組成 (2.1.1) を参照

1.4. 遺伝子検出用 RNA 抽出

キットに記載のマニュアルに従って行う。詳細は各遺伝子検査作業手順書 (Flu-1~4) に記載。

抽出用試薬：Roche High Pure Viral RNA Kit (Cat No. 11 858 882 001)

Binding buffer に臨床検体を加えボルテックスによる攪拌を行うまでは第一 P2 実験室内にて行う。その後の RNA 抽出は観察室実験台にて行う。

1.5. 精度管理

RNA 抽出キットは使用毎にロットナンバーと使用期限を作業手順書に記入し、使用期限を確認する。

2. MDCK 細胞を用いた分離培養 SOP

国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル第3版に従い MDCK 細胞を用いてウイルスを分離培養する。

2.1. MDCK 細胞の培養

2.1.1. 培養器具及び試薬

単層培養用ルービン（細胞培養用 150 cm² プラスチックフラスコに相当）

MDCK 培養用培地 500mL

	使用量	最終濃度
D-MEM（ニッスイ Code05919）	4.75g	
ウシ胎児血清（FBS）	50mL	10%
L-グルタミン溶液（200mM）	10mL	4mM
ペニシリン溶液*		100 単位/mL
ストレプトマイシン溶液*		100 μg/mL
ファンギゾン溶液（250 μg/mL） （GIBCO 15290-018）	2.5mL	1.25 μg/mL
ゲンタマイシン溶液（50mg/mL） （GIBCO 15750-060）	0.5mL	50 μg/mL
7.5%重炭酸ナトリウム溶液	10mL	0.15%

(*P+S ストック溶液：ペニシリン G カリウム 100 万単位、硫酸ストレプトマイシン 1g/50mL)

1%トリプシン

0.02% EDTA-PBS(-)

2.1.2. 継代培養

- 1) 単層培養したルービンから培地を除去する。
- 2) 0.02% EDTA-PBS(-)を 10mL 静かに加え細胞の表面を洗浄し、液を除去する。x2 回
- 3) 0.02% EDTA-PBS(-) 5mL 及び 1%トリプシン 0.5mL を加え、37°Cに保温する。
- 4) 細胞が剥がれてくることが確認できたらびんを軽くたたいて完全に剥がし、培地 5mL を加えて細胞を懸濁する。
- 5) 1,000 rpm 5min 遠心後、上清を除去し、10mL の培地で再懸濁する。
- 6) 30mL の培地を入れた新しいルービンに 5)で得られた細胞懸濁液 1mL を加え、37°Cで培養する。

2.1.3. 細胞ストックの作成

- 1) 継代培養と同様に 1～4 の操作を行う。5) で得られた細胞ペレットに、培地 10mL の代わりに 10%FBS-DMSO 10mL を加えて懸濁する。細胞濃度は 1x10⁶ cell/mL 以上になっている。

- 2) 予め細胞名と凍結年月日を記入した 2mL セラムチューブに細胞懸濁液を 1mL ずつ分注し、厚手のタオル等に包み、以下の温度条件で徐々に凍結させる。
-20°C 2 時間、-80°C 1 晩、その後液体窒素タンクに移す。

2.1.4. 細胞の再起培養

- 1) 液体窒素タンクからセラムチューブを 1 本以上取り出し、直ちに 37°C ウォーターバス内で振とうし、速やかに融解させる。
- 2) 融解した細胞懸濁液全量を 10mL 培養液の入った 15mL チューブに移す。
- 3) 1,000 rpm 5min 遠心後、上清を除去し、新たに培地 10mL を加え、細胞名と実施日を記入した 75 cm² フラスコで培養する。

2.2. ウイルス分離培養

2.2.1. 培養器具及び試薬

細胞培養用 24 well プレート、6 well プレート
ウイルス分離培地 500mL

	使用量	終濃度
D-MEM (ニッスイ Code05919)	4.75g	
10%BSA 溶液 (fr.V) (Sigma A9418)	10mL	0.2%
L-グルタミン溶液 (200mM)	10mL	4mM
ペニシリン溶液*		100 単位/mL
ストレプトマイシン溶液*		100 μg/mL
ファンギゾン溶液 (250 μg/mL) (GIBCO 15290-018)	2.5mL	1.25 μg/mL
ゲンタマイシン溶液 (50mg/mL) (GIBCO 15750-060)	0.5mL	50 μg/mL
ビタミン溶液 x100 (MP Biomedical 1601449)	15mL	3x
10%ショ糖溶液	5mL	0.1%
7.5%重炭酸ナトリウム溶液	10mL	0.15%

アセチルトリプシン (10mg/mL) (Sigma-Aldrich: Cat No.T-6763)

PBS(-)

2.2.2. MDCK 細胞浮遊培養法

1) 2.5 μg/mL の濃度にアセチルトリプシンを添加した分離培地を用いて約 1x10⁶/mL に調整した MDCK 細胞浮遊液を、24 well プレートの各 well に 0.5mL ずつ分注する。

1 検体当たり 4 well を準備する。

※confluent となったルービン 1 本から 18 検体分 (36mL) の細胞浮遊液が得られる。

2) well 当たり 0.1mL の検体を接種し、34°C で培養する。

3) 細胞変性効果 (CPE) の有無を毎日観察し、CPE が出現したら培地を回収する。接種 7 日後までに CPE が認められない場合は回収し、その 0.1mL を新たな well に継代(blind passage)接種する。(標準検査は CPE を認めない場合 2 継代目で終了)

2.2.3. MDCK 細胞シート法

継代培養や力価測定用ウイルス液を得るために、6 well プレートを使用する方法

- 1) 単層培養したプレートから培養液を除去し、PBS(-) 2mL で洗浄する。2mL の分離培地でリンスした後、接種試料 0.2mL を接種する。
- 2) 30~60 分 34°C でウイルスを吸着させる。
- 3) 2.5 μ g/mL アセチルトリプシン添加一分離培地 2mL を加えて 34°C で培養する。
- 4) 細胞変性効果 (CPE) の有無を毎日観察し、CPE が 80%以上出現したら培地を全量回収する。

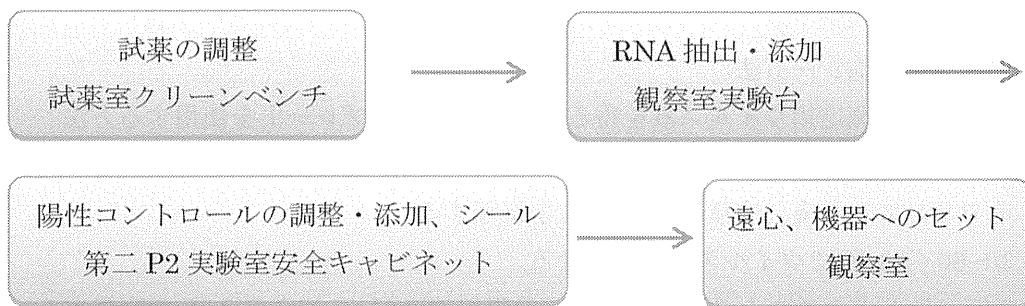
CPE が観察された場合の継代は、10 倍及び 100 倍に希釈して行う。ただし HA 価が十分に上昇しない場合は希釈せずに行う。

2.3. 精度管理

1 シーズンに 1 度は、受領後 5 継代以内に液体窒素に貯蔵した細胞を起こして、新しいものに切替える。臨床検体からのウイルス分離率が低下した場合には、最近分離したウイルス株を用いて分離効率を検討し、効率が低い時には細胞を新しく起こす。

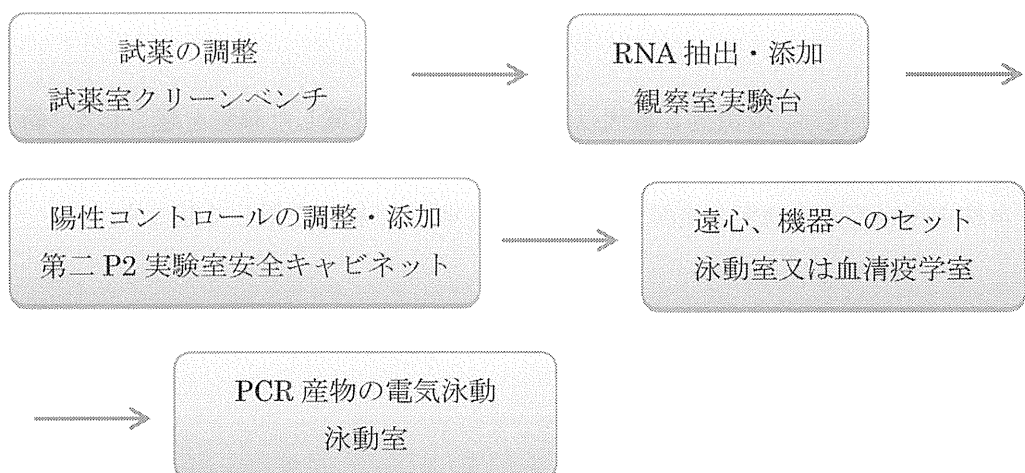
3. 遺伝子検査における標準的実験室使用方法

3.1. リアルタイム RT-PCR 法の場合



可能であれば試薬の調整、RNA 抽出、陽性コントロールの調整は別々の人が行う。一人で検査を行う場合、試薬の調整の前に RNA 抽出を行ってもよいが、必ず手袋を替える。

3.2. コンベンショナル RT-PCR 法の場合



可能であれば試薬の調整、RNA 抽出、陽性コントロールの調整は別々の人が行う。一人で検査を行う場合、試薬の調整の前に RNA 抽出を行ってもよいが、必ず手袋を替える。

何れの場合も、RNA 抽出以外の段階で上記動線を遡ることのないよう留意して作業する。

4. 遺伝子検査（リアルタイム RT-PCR 法）SOP

国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル第3版、高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアル第3版及び鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検出マニュアル第2版に従って、重症インフルエンザ患者由来検体の検査及びトリインフルエンザによる感染が疑われる患者由来検体の検査を行う。 ←※本稿では以下記載を省略

5. 型・亜型同定検査及び抗原性解析 SOP

国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル第3版に従って、ウイルス分離を行った分離株の型・亜型をインフルエンザウイルス同定キット（毎年、国立感染症研究所より配布）を用い、赤血球凝集（HA）試験及び赤血球凝集抑制（HI）試験にて同定する。HA 及び HI 試験にて同定困難な場合はコンベンショナル RT-PCR 法にて同定を行う。

5.1. 検査手順書 Flu-3（ウイルス分離同定検査作業手順書・記録書）を使用する。

5.2. 検査に使用するサンプル

初代ウイルス分離株を用いる。1mL 以上の分離上清が得られない場合あるいは HA 価が低値の場合は継代培養をする。

5.3. 検査機器及び試薬

プレート振とう機、96 穴丸底プレート、96 穴 V 字プレート
12 連及び 8 連ピペット、分注ピペット
0.5%ニワトリ赤血球浮遊液、
0.5%ガチョウ赤血球浮遊液、
0.75%モルモット赤血球浮遊液

5.3.1. 赤血球浮遊液の調製（用時調製）

1) ニワトリ及びガチョウ血液は、採血直後に 15mL 又は 50mL チューブ内（採血日を記載）でほぼ同じ体積のアルセバー氏液と混合し、保存血とする。モルモット保存血液は購入したものを使用する。

2) 保存血液を 1.5mL サンプルチューブに取り、PBS(-)にて 2 度洗浄（5,000rpm 2min）

3) 15mL 又は 50mL チューブを用いて、PBS(-)にて赤血球を至適濃度(v/v)に調整する。

アルセバー氏液

クエン酸	0.55 g
クエン酸三ナトリウム二水和物	9.11 g
塩化ナトリウム	4.2 g
ブドウ糖	20.5 g

1 L の D.W.に溶解し、オートクレーブ滅菌する。

5.4. 試験方法

国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル第3版に従う。HA 試験は全ての分離株に対し 3 種類の赤血球を使用する。ニワトリ及びガチョウ赤血球は丸底、モルモット赤血球は V 字プレートを使用する。4HA/25 μ l 希釈液が作成できない低 HA 価分離株の場合は継代培養を行うか、コンベンショナル RT-PCR にて型別・亜型決定を行う。HI 試験に使用する血球種は、HA 価に基づいて分離株ごとに 3 種から 1 種を選択する。

5.5. 型・亜型（系統）決定及び抗原性解析

4種類の抗血清の中で、有意な凝集抑制がみられた抗血清の型・亜型（B型の場合は系統）を分離株の型・亜型（系統）と判定する。また同時に試験を行った標準抗原のHI価と比較しその抗原性を解析する。検査記録書に結果を記入し、検査終了。

6. 遺伝子検査、型・亜型同定検査－（コンベンショナル RT-PCR 法）SOP

4.遺伝子検査（リアルタイム RT-PCR 法）により判定保留となった場合、及び5.型・亜型同定検査にて同定困難となった場合は、国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル第3版、高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアル第3版及び鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検出マニュアル第2版に従って、コンベンショナル RT-PCR 法を行い総合的に判断する。

6.1. 検査手順書 Flu-1～3のうち適切な書式を使用する。

6.2. 検査に使用するサンプル

遺伝子検査（リアルタイム RT-PCR 法）に用いた RNA 若しくはウイルス分離株の抽出 RNA を用いる。

6.3. 検査機器及び試薬

サーマルサイクラー：ABI; Veriti, ASTEC; PC816, Bio-Rad; MyCycler, TAKARA; Dice
コンベンショナル RT-PCR 用反応試薬：One Step RT-PCR kit (QIAGEN Cat No. 210210)

コンベンショナル RT-PCR 用プライマー及びプローブ：インフルエンザ診断マニュアル第3版、高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアル第3版及び鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検出マニュアル第2版記載のものを使用する。

プライマーを新しく希釈するときは 100 μ L 程度とし、凍結融解を極力避ける。マイナス 30℃に保存する。

RT-PCR 用陽性コントロール：国立感染症研究所より配布された識別マーカ入り H5、識別マーカ入り H7、H1N1pdm RNA 陽性コントロール及び当所で作成した H3、H1, Type B RNA 陽性コントロールを使用する。（リアルタイム法と同じもの）

6.4. 反応条件

各サーマルサイクラー：Type A, H1pdm, H5, H7 検査；プログラム AswH1
H1, H3, Type B 検査；プログラム AH1H3

6.5. 結果解析

各検査系の PCR 増幅液を 1.2～1.5%アガロースゲル電気泳動して、PCR 産物の有無とバンドサイズの確認により判定する。Type A:244bp、H1pdm09:349bp、H5:424bp、H7:284bp、H3:1143bp、H1（ソ連型）:729bp、Type B:1116 もしくは 1119bp。

ゲルの写真を撮り記録書に添付する。検査記録書に結果を記入して検査終了。

6.6. 精度管理

前回の検査実施から一年以上経過した場合には、検出感度を管理するために各陽性コントロールを検体に用い、増幅産物のアガロースゲル電気泳動後のバンドサイズを確認する。

また、試薬のロットを変更した場合には陽性コントロールの増幅をみて検出感度が保たれていることを確認してから使用するか、やむを得ない場合は検査時に並行試験を行って必ず確認する。

7. 薬剤耐性マーカー検査 SOP

国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル第3版、Allele-specific RT-PCR 法及び H1N1pdm オセルタミビル耐性株検出法 2010 年 11 月 Ver.1 に従い AH1pdm09 ウイルス分離株より N1 遺伝子の H275Y 変異を検出する。←※本稿では以下記載を省略

8. 遺伝子解析 SOP

国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル第3版に従って、分離培養株から抽出した RNA から RT-PCR にて解析領域を増幅し、シーケンサーにて塩基配列を解析する。←※本稿では以下記載を省略

付録1 関係試薬・機器リスト

※) ウイルス検査全般で共用する機器

試薬保存用冷蔵庫

試薬保存用冷凍庫

検体保存用超低温槽

分離ウイルス株保存用超低温槽

陽性コントロール保存用超低温槽

安全キャビネット (SANYO, MHE-130AJ)

試薬調整用クリーンベンチ (SANYO, MCV-710ATS)

培地作成用蒸留水作成装置

製氷機

天秤

PH メーター

電動ピペッター

マイクロピペット 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl (ギルソン、MS-P10, MS-P20, MS-P100, MS-P200, MS-P1000)

12 連ピペット (HIGH TECH LAB, HT5122)

8 連ピペット (HIGH TECH LAB, HT5126)

オートクレーブ (TOMY, BS-245)

高速冷却遠心機 (KUBOTA, 7800)

マイクロチューブミキサー (AS ONE, TM-282)

ボルテックスミキサー (Fine, MF-71)

微量高速遠心機 (Eppendorf, 5417C)

微量高速遠心機 (日立、himac CT15E)

細胞培養用 CO₂ インキュベーター (ESPEC, BNA-121D)

顕微鏡 (OLYMPUS, CK2)

リアルタイム機器 (Roche, Light Cycler 480 II)

プレート遠心機 (KUBOTA, KN-70)

卓上遠心機 (スピンドアウン用)

プレート振とう機 (TOMY, MP-040)

サーマルサイクラー (ABI, Veriti)

PCR チューブ用卓上遠心機 (スピンドアウン用)

電気泳動槽 (ADVANCE, Mupid 2 Plus)

UV 照射写真撮影装置

シークエンサー (ABI, 3130 Genetic Analyzer)

1) 臨床材料の処理及び RNA 抽出 SOP

1-1) 医療機関等に配布する検体採取容器の準備

・試薬:

輸送用培地 (Virus Transport Medium: VTM)

イーグル MEM (ニッスイ、05900) 同等品

ペニシリン G カリウム (和光純薬、MPB194536) 同等品

ストレプトマイシン硫酸塩 (和光純薬、MPB194541) 同等品
ファンギゾン溶液 (250 μg/ml) (GIBCO, 15290-018) 同等品
ゲンタマイシン溶液 (50mg/ml) (GIBCO, 15750-060) 同等品
アルブミン(Bovine fraction V) (Sigma, A9418) 同等品
L-グルタミン (Sigma, G3126-100G) 同等品
重炭酸ナトリウム (和光純薬、191-01305) 同等品

・機器及び器材：

電動ピペッター ○共用

15 ml 遠心管 (VIOLAMO, 725172-117) 同等品

綿棒 (日本綿棒、メンチップ 1P1503) 同等品

ガラス又はディスポーザブルピペット (BD, 356521, 357551, 357525) 同等品

1-2) 検体の前処理及び保存

・機器及び器材：

高速冷却遠心機 (KUBOTA, 7800) ○共用

オートクレーブ (TOMY, BS-245) ○共用

クライオチューブ (Nunc, 375418) 同等品

オートクレーブバッグ (AS ONE) 同等品

1-3) RNA 抽出

・試薬：

High Pure Viral RNA Kit (Roche, 11 858 882 001) 同等品

Ethanol 試薬特級 500 ml (和光純薬、057-00456) 同等品

・機器及び器材：

マイクロチューブミキサー (AS ONE, TM-282) ○共用

微量高速遠心機 (Eppendorf, 5417C) ○共用

マイクロピペット 10 μl, 20 μl, 100 μl, 200 μl, 1000 μl (ギルソン、MS-P10, MS-P20, MS-P100, MS-P200, MS-P1000) ○共用

15 ml 遠心管 (BD, 352196) 同等品

1.5 ml サンプルチューブ (ワトソン、131-515-C) 同等品

滅菌済みフィルターチップ (ワトソン、1272-207CS, 126-20S, 126-100S, 1272-801CS, 124-1000S) 同等品

2) MDCK 細胞を用いた分離培養 SOP

2-1) 検体接種用 MDCK 細胞の準備

・試薬：

MDCK 細胞培養培地

D-MEM (ニッスイ、05919) 同等品

ウシ胎児血清 (FBS)

ペニシリン G カリウム (和光純薬、MPB194536) 同等品

ストレプトマイシン硫酸塩 (和光純薬、MPB194541) 同等品

ファンギゾン溶液 (250 μ g/ml) (GIBCO, 15290-018) 同等品
ゲンタマイシン溶液 (50mg/ml) (GIBCO, 15750-060) 同等品
L-グルタミン (Sigma, G3126-100G) 同等品
重炭酸ナトリウム (和光純薬、191-01305) 同等品

トリプシン-EDTA

Trypsin (GIBCO, 27250-018) 同等品
EDTA (関東化学、14097-00) 同等品
NaCl (片山化学、28-2270) 同等品
KCl (和光純薬、163-0345) 同等品
Na₂HPO₄ (関東化学、37243-00) 同等品
KH₂PO₄ (関東化学、32379-00) 同等品

・機器及び器材：

細胞培養用 CO₂ インキュベーター (ESPEC, BNA-121D) ○共用
顕微鏡 (OLYMPUS, CK2) ○共用
オートクレーブ (TOMY, BS-245) ○共用
電動ピペッター ○共用
15 ml 遠心管 (BD, 352196) 同等品
50 ml 遠心管 (BD, 352070) 同等品
ガラス又はディスプレイザブルピペット (BD, 356521, 357551, 357525) 同等品
ガラスフラスコ又はプラスチックフラスコ (Orange Scientific, 5510300) 同等品
オートクレーブバッグ (AS ONE) 同等品

2-2) ウイルス分離培養

・試薬：

ウイルス分離培地

D-MEM (ニッスイ、05919) 同等品
アルブミン(Bovine fraction V) (Sigma, A9418) 同等品
ビタミン溶液 x100 (MP Biomedical, 1601449) 同等品
ショ糖 (関東化学、37000-00) 同等品
ペニシリン G カリウム (和光純薬、MPB194536) 同等品
ストレプトマイシン硫酸塩 (和光純薬、MPB194541) 同等品
ファンギゾン溶液 (250 μ g/ml) (GIBCO, 15290-018) 同等品
ゲンタマイシン溶液 (50mg/ml) (GIBCO, 15750-060) 同等品
L-グルタミン (Sigma, G3126-100G) 同等品
重炭酸ナトリウム (和光純薬、191-01305) 同等品

トリプシン-EDTA

Trypsin (GIBCO, 27250-018) 同等品
EDTA (関東化学、14097-00) 同等品
NaCl (片山化学、28-2270) 同等品
KCl (和光純薬、163-0345) 同等品
Na₂HPO₄ (関東化学、37243-00) 同等品
KH₂PO₄ (関東化学、32379-00) 同等品

アセチルトリプシン (10 mg/ml) (Sigma-Aldrich: Cat No.T-6763) 同等品

・機器及び器材：

細胞培養用 CO₂ インキュベーター (ESPEC, BNA-121D) ○共用

顕微鏡 (OLYMPUS, CK2) ○共用

オートクレーブ (TOMY, BS-245) ○共用

電動ピペッター○共用

マイクロピペット 100 µl, 1000 µl (ギルソン、MS-P100, MS-P1000) ○共用

15 ml 遠心管 (BD, 352196) 同等品

50 ml 遠心管 (BD, 352070) 同等品

ガラス又はディスプレイザブルピペット (BD, 356521, 357551, 357525) 同等品

24well plate (BD, 353047) 同等品

2.0 ml スクリューキャップチューブ (ワトソン、1392-150-Y) 同等品

オートクレーブバッグ (AS ONE) 同等品

滅菌済みフィルターチップ (ワトソン、126-100S, 124-1000S) 同等品

4) 遺伝子検査 (リアルタイム RT-PCR 法) SOP

・試薬：

QuantiTect Probe RT-PCR kit (QIAGEN, 204443) 同等品

RNase Inhibitor 2000U (20Unit/µl) (ABI, N808-0119) 同等品

Primers & Probes

・機器及び器材：

リアルタイム機器 (Roche, Light Cycler 480 II) ○共用

プレート遠心機 (KUBOTA, KN-70) ○共用

卓上遠心機 (スピンドウン用) ○共用

ボルテックスミキサー (Fine, MF-71) ○共用

マイクロピペット 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl (ギルソン、MS-P10, MS-P20, MS-P100, MS-P200, MS-P1000) ○共用

Light Cycler Multiwell Plate 96 (Roche, 04 729 692 001)

1.5 ml サンプルチューブ (ワトソン、131-515-C) 同等品

2.0 ml スクリューキャップチューブ (ワトソン、1392-150-Y) 同等品

滅菌済みフィルターチップ (ワトソン、1272-207CS, 126-20S, 126-100S, 1272-801CS, 124-1000S) 同等品

5) 型・亜型同定検査及び抗原性解析 SOP

5-1) HA、HI 試験

・試薬：

PBS

NaCl (片山化学、28-2270) 同等品

KCl (和光純薬、163-0345) 同等品

Na₂HPO₄ (関東化学、37243-00) 同等品

KH₂PO₄ (関東化学、32379-00) 同等品

アルセバー氏液

クエン酸 (片山化学 05-4930) 同等品

クエン酸三ナトリウム二水和物 (Sigma-Aldrich 25275) 同等品

NaCl (片山化学、28-2270) 同等品

ブドウ糖 (関東化学) 同等品

ニワトリ保存血 (自家製)

ガチョウ保存血 (自家製)

モルモット保存血 (日本バイオテスト研究所、016-0302) 同等品

HI 用抗血清 (国立感染症研究所配布)

HI 用対照抗原 (国立感染症研究所配布)

・機器及び器材：

微量高速遠心機 (日立、himac CT15E) ○共用

微量高速遠心機 (Eppendorf, 5417C) ○共用

プレート振とう機 (TOMY, MP-040) ○共用

オートクレーブ (TOMY, BS-245) ○共用

マイクロピペット 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl (ギルソン、MS-P10, MS-P20, MS-P100, MS-P200, MS-P1000) ○共用

12 連ピペット (HIGH TECH LAB, HT5122) ○共用

8 連ピペット (HIGH TECH LAB, HT5126) ○共用

96 well plate (U 又は V) (Nunc, 268152, 249570) 同等品

滅菌済みフィルターチップ (ワトソン、1272-207CS, 126-20S, 126-100S, 1272-801CS, 124-1000S) 同等品

血球用チップ (Molecular BioProducts, 2069G)

50 ml 遠心管 (BD, 352070) 同等品

1.5 ml サンプルチューブ (ワトソン、131-515-C) 同等品

オートクレーブバッグ (AS ONE) 同等品

6) 遺伝子検査、型・亜型同定検査ー (コンベンショナル RT-PCR 法) SOP

・試薬：

One Step RT-PCR kit (QIAGEN, 210210) 同等品

RNase Inhibitor 2000U (20Unit/µl) (ABI, N808-0119) 同等品

Primers

電気泳動用 Agarose (Amresco, 0710-500G) 同等品

分子量マーカー(φ X174 Hinc II digest) (TaKaRa, 3406A)

TAE (Tris-acetate-EDTA) buffer

Tris (Invitrogen, 15504-020) 同等品

酢酸 (和光純薬、0170-00256) 同等品

エチジウムブロマイド (Ethidium Bromide) (和光純薬、315-90051) 同等品

・機器及び器材：

サーマルサイクラー (ABI, Veriti) ○共用

卓上遠心機 (スピンドアウン用) ○共用

ボルテックスミキサー (Fine, MF-71) ○共用
PCR チューブ用卓上遠心機 (スピンドウン用) ○共用
電気泳動層 (ADVANCE, Mupid 2 Plus) ○共用
UV 照射写真撮影装置 ○共用
1.5 ml サンプルチューブ (ワトソン、131-515-C) 同等品
0.2 ml PCR チューブ (Thermo, AB-0337) 同等品
マイクロピペット 10 μ l, 20 μ l, 100 μ l, 200 μ l, 1000 μ l (ギルソン、MS-P10, MS-P20, MS-P100, MS-P200, MS-P1000)
滅菌済みフィルターチップ (ワトソン、1272-207CS, 126-20S, 126-100S, 1272-801CS, 124-1000S) 同等品
UV 照射写真撮影装置用インク及び印画紙 (Canon, 0702B001[AG])

7) 薬剤耐性マーカー検査 SOP

・試薬：

QuantiTect Virus + ROX Vial kit (QIAGEN, 211033)
Primers & Probes

・機器及び器材：

リアルタイム機器 (Roche, Light Cycler 480 II) ○共用
プレート遠心機 (KUBOTA, KN-70) ○共用
卓上遠心機 (スピンドウン用) ○共用
ボルテックスミキサー (Fine, MF-71) ○共用
マイクロピペット 10 μ l, 20 μ l, 100 μ l, 200 μ l, 1000 μ l (ギルソン、MS-P10, MS-P20, MS-P100, MS-P200, MS-P1000) ○共用
Light Cycler Multiwell Plate 96 (Roche, 04 729 692 001)
1.5 ml サンプルチューブ (ワトソン、131-515-C) 同等品
2.0 ml スクリューキャップチューブ (ワトソン、1392-150-Y) 同等品
滅菌済みフィルターチップ (ワトソン、1272-207CS, 126-20S, 126-100S, 1272-801CS, 124-1000S) 同等品

8) 遺伝子解析 SOP

・試薬：

Wizard SV Gel & PCR Clean-up System (Promega, A9282) 同等品
BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI, 4337454)
Ethanol 試薬特級 500 ml (和光純薬、057-00456) 同等品
泳動用 buffer (ABI, 402824)
POP-7 ポリマー (ABI, 4363785)

・機器及び器材：

サーマルサイクラー (ABI, Veriti) ○共用
シーケンサー (ABI, 3130 Genetic Analyzer) ○共用
微量高速遠心機 (Eppendorf, 5417C) ○共用
卓上遠心機 (スピンドウン用) ○共用

ボルテックスミキサー (Fine, MF-71) ○共用
PCR チューブ用卓上遠心機 (スピンドウン用) ○共用
マイクロピペット 10 μ l, 20 μ l, 100 μ l, 200 μ l, 1000 μ l (ギルソン、MS-P10, MS-P20, MS-P100, MS-P200, MS-P1000) ○共用
1.5 ml サンプルチューブ (ワトソン、131-515-C) 同等品
0.2 ml PCR チューブ (Thermo, AB-0337) 同等品
シークエンス反応精製キット (日本ジェネティクス、FG-9411)
シークエンス用キャピラリーカラム (ABI, 4333464)
MicroAmp Optical 96-well Plate (ABI, N801-0560)
滅菌済みフィルターチップ (ワトソン、1272-207CS, 126-20S, 126-100S, 1272-801CS, 124-1000S) 同等品

付録2 「インフルエンザ H1pdm2009」 ウイルス学的検体採取について

2009年5月2日更新 (2013年4月1日最終更新)

2009年5月2日国立感染症研究所感染症情報センターのウェブページに、医療機関、保健所、地方衛生研究所向けに「新型インフルエンザ(swine-origin influenza A/H1N1)」ヒト感染例に対する検査診断(医療機関から地方衛生研究所への流れ) Ver.1 が掲載されました。

上記をふまえ愛知県の医療機関における検体採取の流れをお示しします。

1) 必要な物品

- ① ウイルス検査用滅菌綿棒(室温保存)
- ② 1~2mL に小分けしたウイルス輸送培地(Virus transfer medium : VTM**) (冷凍保存: -20°Cで1年保存可能)
- ③ 個人予防具 (PPE)

2) 検体採取の概要*

① PPE を装着した上で

- 1) ①の滅菌綿棒を用いて鼻腔ぬぐい液又は咽頭ぬぐい液を2本 (ウイルスサーベイランスの場合は1本) 採取

↓

- 1) ②のウイルス輸送培地に十分攪拌したのち、棒部分を折り曲げ、綿球部分が輸送培地に浸っている状態ですぐに冷蔵保存 (PCR予定の場合、室温保存や凍結はしない!)

鼻腔吸引液を用いる場合は、鼻腔を吸引した後に、

- 1) ②のウイルス輸送培地を吸引し、チューブ内の検体を吸引し、すぐに冷蔵保存 (PCR予定の場合、室温保存や凍結はしない!)

② 各検体に、ラベルを貼付(検査依頼票と照合可となるようにする)。

③ 採取後すぐに冷蔵保管しておいた検体は、冷蔵で保健所経由で地方衛生研究所に搬送する。

可能であれば、急性期(発症後1週間以内)と回復期(発症後3~4週)の血清を、小分けして冷凍(-20°C以下)保管(短期間なら4°Cも可能)しておく。

※ウイルス輸送培地(VTM)**

市販の細胞培養培地(MEM培地、199培地など)またはPBSにBSA(ウシ血清アルブミンの略:最終濃度0.5%)、ペニシリン(最終濃度100-500U/mL)、ストレプトマイシン(同100-500 μg/mL)、ゲンタマイシン(同100 μg/mL)およびアンフォテリシンB(同2 μg/mL)を添加した液体。医療機関に既にあったウイルス分離用の培地を代用することは可能ですが、細菌培養用の培地、生理食塩水、迅速診断キットに添付されている検体採取用の液は、絶対に用いないよう注意してください。

検体採取についてご不明の点は、最寄りの保健所におたずねください。

*定点医療機関をお願いするウイルスサーベイランス用検体は、1回あたり1本採取、また凍結保存の場合もありますので、ご不明の点は保健所に確認をお願いします。

※ 愛知県衛生研究所ウェブページ http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/67f/new_inf.html に掲載

検査記録書	文書番号	改訂番号	記録書発行日	頁
			2015/3/19	1/10
作業名	検査開始日	検査終了日	検査責任者	確認者
ウイルス分離型別同定検査				

区分・作業室	作業条件・方法および実施結果				
--------	----------------	--	--	--	--

1. 接種・ 型別記録	1. 接種記録・型別結果の総括					
	検体番号	接種日	接種・継代歴	分離の有無・判定日	備考	型別結果
	(例) t001/15	2015/3/19	①MDCK→3/26②MDCK	有・15/3/30	3/31 harvest	AH3
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			
			→			

作業名		文書番号		改訂番号		記録書発行日		頁		
ウイルス分離同定検査 (MDCK接種)						2015/3/19		2/10		
細胞播種日		検体接種日		培養終了日		文書作成者		検査責任者		確認者
.		.		.						
1		0.8 1.6 1.6		1.6		2.75 2.75 2.35		2		

区分・作業室	作業条件・方法および実施結果							
2 ・ 分 離 用 接 種 (1 /)	2. 24wellプレート 接種観察記録 プレート番号()							
	Well	1	2	3	4	5	6	
	A	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号
		CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日
	B	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号
		CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日
	C	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号
		CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日
	D	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号
		CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日
	2. 24wellプレート 接種観察記録 プレート番号()							
	Well	1	2	3	4	5	6	
	A	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号
		CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日
	B	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号
		CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日
	C	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号
		CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日
	D	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号	検体番号
		CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日	CPE出現日 上清回収日

作業名		文書番号	改訂番号	記録書発行日	頁
ウイルス分離同定検査 (HA, HI法)				2015/3/19	3/10
検査開始日	検査終了日	文書作成者・作業者		検査責任者	確認者
..	..				

区分・作業室	作業条件・方法および実施結果				
2 ・ H A 試験 及 び H I 試験 (第 一 P 2 実 験 室)	<p>2-1. 赤血球浮遊液調整</p> <p>0.5%ニワトリ 採血日 _____</p> <p>0.5%ガチョウ 採血日 _____</p> <p>0.75%モルモット 採血日 _____</p> <p><input type="checkbox"/> 1.5mLエッペンドルフチューブに保存血を500μL以内入れ、PBS(-)にて2倍希釈。</p> <p><input type="checkbox"/> 5,000rpm 2 min 遠心。</p> <p><input type="checkbox"/> 上清を捨て、5,000 rpm 2 min 遠心。</p> <p><input type="checkbox"/> 上清及び白血球（遠心後血餅上部に集まる）部分を捨てる。</p> <p><input type="checkbox"/> 15mL又は50mLチューブを用いて、PBS(-)にて上記濃度(v/v)となるよう赤血球を希釈。</p> <p>2-2. HA試験（ウイルス培養液を扱う操作はクリーンベンチ内で行う）</p> <p><input type="checkbox"/> PBS(-)25μLを96 wellプレート2~12列の全てのwellへ入れる。</p> <p><input type="checkbox"/> 1列のA~H wellへウイルス培養上清50μLを入れる。</p> <p><input type="checkbox"/> 8連ピペットを用いて2倍希釈系列を作成する。</p> <p><input type="checkbox"/> PBS(-)25μLを全てのwellへ入れる。</p> <p><input type="checkbox"/> 赤血球浮遊液50μLを全てのwellに入れる。 4$^{\circ}$Cにてニワトリ、ガチョウは45分、モルモットは90分反応させる。</p> <p><input type="checkbox"/> 各wellの赤血球凝集判定結果に基づき、HA価を決定する。</p> <p><input type="checkbox"/> HI試験の選択</p> <p>・ニワトリ、ガチョウ、モルモット赤血球共HA価256程度の高値を示す場合：B型のHI試験をニワトリ赤血球を用いて実施。</p> <p>・ガチョウが比較的高く(HA価128程度)、ニワトリ、モルモットが比較的低い(HA価64程度)場合：H1pdmのHI試験をガチョウ赤血球を用いて実施。</p> <p>・モルモット赤血球のみでHA価が得られる場合：H3のHI試験をモルモット赤血球を用いて実施。</p> <p>・ニワトリ、ガチョウ、モルモット赤血球の何れにおいてもHA価8<の場合：HI試験による型・亜型決定は不可能。他の手法を実施する。</p> <p>2-3. HI試験</p> <p><input type="checkbox"/> PBS(-)25μLを96 wellプレート2~12列のA~H wellへ入れる。</p> <p><input type="checkbox"/> 1列のA~H wellへ各抗血清50μLを入れる。</p> <p><input type="checkbox"/> 8連ピペットを用いて2倍希釈系列を作成する。</p> <p><input type="checkbox"/> 4HA/25μLに希釈したウイルス培養上清25μLを対応する行の1~12列のwellへ入れ、室温15分反応</p> <p><input type="checkbox"/> 赤血球50μLを全てのwellに入れる。 4$^{\circ}$Cにてニワトリ、ガチョウは45分、モルモットは90分反応させる。</p>				

作業名	文書番号	改訂番号	記録書発行日	頁
ウイルス分離同定検査 (HA, HI法)			2015/3/19	4-1/10

1 0.8 1.6 1.6 1.6 2.75 2.75 2.35 2

区分・
作業室

作業条件・方法および実施結果

3

・型別
同定サ
ンプル
シート

(

1
/
1

)

3. HAサンプルシート(#HA-1)

赤血球:ニワトリ(U穴) ~~ガチョウ(U穴)~~ モルモット(V穴)

検体	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	判定
希釈→	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	
A t001	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
B t002	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
C t100	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
D t101	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
E 対照抗原	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
F	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
G	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
H	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	

HIサンプルシート(#HI-1)

Well	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
列	t001	t001	t001	t002	t002	t002	t100	t100	t100	t101	t101	t101
希釈→	10	20	40	10	20	40	10	20	40	10	20	40
A H1pdm	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
B H3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
C B山形	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
D Bvic	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
E	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
F	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
G	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
H	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

ウイルス遺伝子同定検査-1		文書番号	改訂番号	記録書発行日	頁
				2015/3/19	5/10
検体調製実施日	検体調製作業	RNA抽出実施日	RNA抽出作業	確認者	
..		..			
区分・作業室	作業条件・方法および実施結果				
4 ・ 入 力	1. 記録書作成・入力				
	検体番号	継代歴	備考	使用量 (200 μ Lの場合■)	抽出RNA 保存場所
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	
				<input type="checkbox"/> μ L	

作業名	文書番号	改訂番号	記録書発行日	頁
ウイルス遺伝子同定検査-2			2015/3/19	6/10

区分・作業室	作業条件・方法および実施結果
5 ・ 検体調製 (第 一 P 2 実 験 室)	<p>5-1. サンプルのラベリング</p> <p>5-2. Binding bufferと試料の混合</p> <p>Binding buffer : <u>Lot No. _____</u></p> <p><input type="checkbox"/> ① 検体を室温で溶解し、遠心する。</p> <p><input type="checkbox"/> ② Binding buffer 400 μ Lに サンプル200 μ L(臨床検体が200 μ L 以下の場合は、DWで200 μ Lに調整)を加える。</p> <p><input type="checkbox"/> ③ 15秒間 ボルテックスした後、10分間 静置し、軽くスピンドウンする</p>
6 ・ RNA抽出 (観 察 室)	<p>6. RNA抽出(Roche High Pure Viral RNA Kit)</p> <p>Roche High Pure Viral RNA Kit: <u>Lot No. _____</u></p> <p><input type="checkbox"/> ① カラムにのせ、10,000rpm 1分間遠心</p> <p><input type="checkbox"/> ② Inhibitor Removal Buffer 500 μ Lをカラムにのせ、10,000rpm 1分間遠心</p> <p><input type="checkbox"/> ③ Wash Buffer 450 μ Lをカラムにのせ、10,000rpm 1分間遠心</p> <p><input type="checkbox"/> ④ Wash Buffer 450 μ Lをカラムにのせ、10,000rpm 1分間遠心</p> <p><input type="checkbox"/> ⑤ 14,000rpm 10秒間遠心</p> <p><input type="checkbox"/> ⑥ カラムをRNA抽出用チューブに移し、50 μ LのElution buffer をのせる</p> <p><input type="checkbox"/> ⑦ 1分間 静置し、10,000rpm 1分間遠心</p>

作業名		文書番号	改訂番号	記録書発行日	頁
Type A, swH1, H1, H3 遺伝子検査 (Conventional RT-PCR法)				2015/3/19	7/10
検体・試薬調製実施	検体作業・試薬作業	結果確認実施日	結果確認作業	結果判定責任者	
.		.		.	

1	1	0.8	1.6	1.6	1.6	2.75	2.75	2.35	2
区分・作業室	作業条件・方法および実施結果								
7 . コ ン ベン シ ヨ ナ ル R T P C R (試 薬 室 . ク リ ー ン ベン チ 、 観 察 室 、 第 二 P 2 実 験 室)	7. Conventional RT-PCR (Type A, swH1, H1, H3) *操作はすべて氷上で行い、④までは試薬室・クリーンベンチ内で行う								
	Primer Sets (Type A, SwinH1, H1, H3):			Lot No. _____					
	陽性コントロール :			Lot No. _____					
	QIAGEN OneStep RT-PCR Kit:			Lot No. _____					
	① Primer(-)反応液の作製			x 1					
	<input type="checkbox"/> RNase-free water			9.5	μ L	μ L			
	<input type="checkbox"/> 5 x RT-PCR Buffer			5	μ L	μ L			
	<input type="checkbox"/> dNTP Mix (10 mM)			1	μ L	μ L			
	<input type="checkbox"/> RT Mix (5U/uL)			1	μ L	μ L			
	<input type="checkbox"/> RNase Inhibitor			0.5	μ L	μ L			
	② Type A, SwineH1, H1, H3反応液作製用チューブに分注し各Primer Mixと混合する								
	(A) Type A 検出用反応液								
	<input type="checkbox"/> Primer(-)反応液			17	μ L				
	<input type="checkbox"/> Type A Primer mix			3	μ L				
	(B) swH1検出用反応液								
	<input type="checkbox"/> Primer(-)反応液			17	μ L				
	<input type="checkbox"/> SwineH1 Primer mix			3	μ L				
(C) H1検出用反応液									
<input type="checkbox"/> Primer(-)反応液			17	μ L					
<input type="checkbox"/> H1 Primer mix			3	μ L					
(D) H3検出用反応液									
<input type="checkbox"/> Primer (-)反応液			17	μ L					
<input type="checkbox"/> H3Primer mix			3	μ L					
(各分注数計)									
③ 各反応液 20 μ Lを反応チューブに分注する									
検体数									
陰性コントロール数			1						
陽性コントロール数			1						
④ 5 μ Lの陰性コントロール(滅菌蒸留水)を各反応液に混合する									
⑤ 5 μ Lの抽出RNAを各反応液に混合する (観察室実験台で行う)									
⑥ 5 μ Lの陽性コントロールを各反応液に混合する (第二P2実験室、安全キャビネット内で行う)									

作業名	文書番号	改訂番号	記録書発行日	頁
Type A, swH1, H1, H3遺伝子検査 (Conventional RT-PCR法)			2015/3/20	8/10

区分・作業室	1	1	0.8	1.6	1.6	1.6	1.6	2.75	2.75	2.35	2			
	作業条件・方法および実施結果													
7 . R T P C R	(サーマルサイクラー :)					(サーマルサイクラー :)								
	Type A, swH1					H1, H3								
	50°C 30分間					50°C 30分間								
	↓					↓								
	95°C 15分間					95°C 15分間								
	↓					↓								
	94°C 30秒間					x45		94°C 30秒間					x40	
	50°C 30秒間					cycles		50°C 30秒間					cycles	
	72°C 40秒間					(AswH1)		72°C 80秒間					(AH1H3)	
	↓					↓								
	72°C 10分間					72°C 10分間								
	4°C ∞					4°C ∞								
	<p>(A) A (244bp):</p> <p style="padding-left: 20px;">TypeA/M30F2/08 ATGAGYCTTYTAACCGAGGTCGAAACG</p> <p style="padding-left: 20px;">TypeA/M264R3/08 TGGACAAANCGTCTACGCTGCAG</p> <p>(B) swH1 (349bp):</p> <p style="padding-left: 20px;">NIID-swH1-F15' TGCATTTGGGTAAATGTAACATTG</p> <p style="padding-left: 20px;">NIID-swH1-R15' AATGTAGGATTTTRCTGAKCTTTGG</p> <p>(C) H1 (729bp):</p> <p style="padding-left: 20px;">H1HA1-BEGIN AGCAAAAGCAGGGGAAAATAA</p> <p style="padding-left: 20px;">H1R10 GCTATTTCTGGGGTGAATCT</p> <p>(D) H3 (1143bp):</p> <p style="padding-left: 20px;">H3HA1-BEGIN AGCAAAAGCAGGGGATAATTC</p> <p style="padding-left: 20px;">H3HA1-END TGCCTGAAACCGTACCAACC</p> <p>* 1反応液中のPrimer setsの組成</p> <p style="padding-left: 40px;">Fowardプライマー(10 μ M) 1.5 μ L</p> <p style="padding-left: 40px;">Reverseプライマー(10 μ M) 1.5 μ L</p> <p>** 反応液中のPrimer最終濃度:各0.6 μ M</p>													

作業名	文書番号	改訂番号	記録書発行日	頁
Type A, swH1, H1, H3遺伝子検査 (Conventional RT-PCR法)			2015/3/19	9/10

1 1 0.8 1.6 1.6 1.6 2.75 2.75 2.35 2

区分・作業室	作業条件・方法および実施結果					
	8. 結果判定・記録					
8 ・ 結果判定・記録	番号	ConventionalRT-PCR結果				判定・特記事項
		Type A	sw H1	H1	H3	
	NC					
	PC					

作業名	文書番号	改訂番号	記録書発行日	頁
Type A, swH1, H1, H3遺伝子検査 (Conventional RT-PCR法)			2015/3/19	10/10

区分・作業室	作業条件・方法および実施結果
	写真

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
「科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する緊急研究」班
分担研究報告書

ウイルス病原体サーベイランスの現状に関する研究

研究分担者 皆川洋子 愛知県衛生研究所

研究協力者 山下照夫、安達啓一、伊藤雅、安井善宏、小林慎一
愛知県衛生研究所

研究要旨 インフルエンザ以外のウイルス病原体サーベイランス検査体制の参考とするため、2009年から2014年における愛知県衛生研究所の感染症発生動向調査におけるウイルス病原体検索実績を解析した。新型インフルエンザが発生した2009年は、インフルエンザウイルス検査対象者数の顕著な増加が総患者数増に反映されたが、インフルエンザを除く年間患者総数の変動は小さかった。地方衛生研究所が検査を担当する現行のウイルス病原体サーベイランスは毎年多様なウイルス検出を報告しており、予防接種効果のモニター及び国内におけるピコルナ、アデノ、カリシ、レオウイルス侵淫状況に関する貴重な情報源である一方、麻疹を除く呼吸器系ウイルス情報は多くない。検査担当機関にとって、種々のウイルスの同定型別及び発展的調査研究は関連分野の進歩に敏感な職場環境につながり、結果として新型インフルエンザ等新興感染症や麻疹集団発生など健康危機発生時に病原体検査並びに分子疫学解析体制の最適化を可能にする原動力と考えられた。

A. 研究目的

感染症法改正に基づき平成28年4月に施行される病原体情報収集体制の強化への対応を考えるうえで、現在感染症発生動向調査実施要綱に基づき全国の地方衛生研究所（地衛研）で実施されている病原体検索のうち季節性インフルエンザ以外のウイルス病原体サーベイランス検査体制の参考とするため、新型インフルエンザが発生した2009年以降の愛知県衛生研究所における年別調査実績を解析する。

B. 研究方法

1. 感染症発生動向調査病原体検索データの出处

平成21～26年度に各年度1回開催された愛知県感染症発生動向調査企画委員会及び同委員会解析評価部会（年2回開催）に提出された暦年単位の検査成績資料（2009年～2014年分）を解析対象とした。同資料は公開していないが、年度（4月～翌年3月）単位で再集計した結果は各年度の愛知県衛生研究所年報ならびに感染症発生動向調査事業報告書（愛知県健康福祉部保健医療局健康対策課編）に収載されている（2014年4月～12月の成績は、平成27年度発行分年報及び報告書に収載予定）。

今回解析の対象とした検体は、名古屋市を除き中核市3市を含む県内15保健所管内（人口の合計：約510万）の31病原体定

点医療機関で採取され、主として所管保健所により愛知県衛生研究所に持ち込まれたもので、食中毒・集団かぜ・デングウイルス等輸入感染症対応等は含まない。

愛知県感染症発生動向調査実施要綱（平成 27 年 1 月 21 日施行）ならびに愛知県感染症発生動向調査事業（病原体情報）実施要領に記載されている対象疾患は、感染性胃腸炎、手足口病、ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、流行性角結膜炎、流行性出血性結膜炎、無菌性髄膜炎、インフルエンザのみであるが、保健所等が持ち込んだ検体は原則として全て受け入れており、急性脳炎・脳症、下気道炎、上気道炎、不明熱性疾患、不明発疹症等の診断がついた検体がみられる。さらに麻疹・風疹疑い検体が増加している。

2. ウイルス病原体検索の体制

今回解析対象とした検査成績は、全て生物学部ウイルス研究室から医療機関等に文書で報告済である。担当要員は室長以下 7 名（総務省統計局による平成 25 年現在の愛知県の人口（743 万）は、都道府県別では東京都、神奈川県、大阪府に次いで 4 位、指定都市分を除く 550 万は、東京都、大阪府に次いで 3 番目に多く、人口あたり研究職員数は全国平均を大きく下回る）。検体処理及びウイルス検出は、原則として研究室所定の手順で実施される。従来の方法で同定型別困難な株を分離した、等想定外の事例に対しては、担当職員の判断で従来法を改変したり新たな手法を試行する、等積極的対応を許容しており、過去には新しい血清型や遺伝子型のピコルナウイルス（HPeV-3）報告実績がある。

3. ウイルス病原体検索成績の解析

年別診断名別の患者数（複数の検体が同時に搬入された場合は 1 と算定）、陰性患者

数（全ての検体が陰性）、検出ウイルス名及び数（1 名の患者から複数のウイルスが検出されることがあるため、陽性患者数の和より大）データを用い、年別診断名別陽性患者割合等を算出・可視化した。

（倫理面への配慮）

本研究では、個人に係る情報は除去済であるため、個人が特定されることはない。

研究計画の内容等は企業又は団体と直接の関係はなく、開示すべき利益相反はない。

C. 研究結果

1. 感染症発生動向調査病原体検索数における年別変動の検討

2009～2014 年における年別臨床診断名別患者数を図 1 に、インフルエンザを除いたデータを図 2 に示す。年別総患者数の算術平均±標準偏差は 1,153±131.8、新型インフルエンザ発生等の影響を考慮し、インフルエンザ以外に限定すると 866±42.6 とさらに狭い範囲に収まっていた。

インフルエンザ以外の臨床診断名別年間患者数の平均±標準偏差のうち、標準偏差が平均の 20%を超えた項目は手足口病（74±44）、麻疹・風疹（35±22）、ヘルパンギーナ（55±15）、流行性角結膜炎（36±11）、無菌性髄膜炎（40±9）等であった。不明発疹症は漸減傾向にあるが、2010 年以降は一部が「麻疹・風疹疑い」として搬入されている。

2. ウイルス病原体検索成績の解析

図 3 に年別臨床診断名別検査陽性率（1 つ以上のウイルスが陽性であった患者数/全患者数）の推移を示す。6 年間の陽性率 55.6%、診断名別ではインフルエンザ（86.7%）、咽頭結膜熱（82.1%）、手足口病（70.5%）、ヘルパンギーナ（65.6%）が高い一方、急性脳炎・脳症（16.6%）、その他（20.5%）、流行性角結膜炎（25.7%）、下気道炎（26%）等

が低かった。年別陽性率の変動をみると、上昇がみられたのは、下気道炎及び麻疹・風疹であった。一方不明発疹症の陽性率は期間中に顕著に低下したが、発疹症である「麻疹・風疹疑い」と併せると低下は顕著ではなかった。

3. 分離・検出されたウイルスの多様性

表1には、年別に1件以上検出されたウイルスを列挙した。2012年まではポリオウイルス(PV)ワクチン株が主に感染性胃腸炎患者の糞便から年間10件前後分離されていたが、不活化ワクチン(IPV)移行後は検出されていない。ピコルナウイルス(PV, CV-A, CV-B, EV-71, E, HPeV, HAV)及びアデノウイルス(Ad)は、毎年異なる組合せで複数の血清型が検出され、分離株を得ている。

表2-1に感染性胃腸炎患者から検出された主なウイルスの推移を示した。ロタウイルスはワクチン導入後顕著な減少がみられ、ポリオウイルスとともに予防接種の効果検証に有用なデータとなっている。

表2-2には無菌性髄膜炎患者から検出された主なウイルスの推移を示した。患者検体は脳脊髄液、咽頭拭い液、糞便の3点セット提出を呼びかけており、脳脊髄液以外の検体のみ陽性であった患者のウイルスも計上している。ムンプス2例以外は全てピコルナウイルスであるが、年ごとに異なる型が検出され、手足口病やヘルパンギーナ由来ウイルスとの重なりも毎年注視している。

D. 考察

病原体サーベイランスの一環としてのウイルス検出は、愛知県では1976年より実施されている。病原体検査手法は、直接鏡検(ウイルスの場合は電子顕微鏡を要するの

で限定的)・抗原若しくは遺伝子検出・分離の3種類に大別されるが、ウイルスサーベイランスに用いられる検査法は一貫してウイルス分離が中心であるが、乳のみマウスや発育鶏卵への接種は漸次中止され、種々の培養細胞に接種している。CV-Aは従来培養細胞接種では分離困難で乳のみマウスを必要としたが、感受性の高いRD-A細胞の導入によりCV-A分離株が得られている。分離株を得ることは、インフルエンザウイルス、ポリオをはじめとするピコルナウイルス、ムンプスウイルスにおいてはとくに、薬剤感受性やワクチン株・野外株の鑑別等を行うために必要である。

同定型別手法をみると、2009年新型インフルエンザ発生前は分離株の中和、赤血球凝集抑制、免疫蛍光抗体法など免疫血清学的手法が主体でサーベイランスにおける遺伝子検出は分離が困難なカリシ(ノロ、サポ)、アストロ、レオウイルス(ロタを含む)や一部のアデノウイルスに限定していた。新型インフルエンザ海外発生時には、連日インフルエンザウイルスの遺伝子検出がウイルス研究室に課せられたが、他のウイルスにおいて遺伝子検出・解析技術の蓄積があったため円滑に対応することができた。さらに五類小児科定点報告対象から2008年より五類全数報告対象に変更された麻疹・風しんについて、わが国における排除達成及び維持の科学的根拠として病原体診断及び遺伝子型情報収集が必要となったが、遺伝子検出・シーケンス並びに分子疫学解析の導入時に技術レベルの問題はなかった。さらにウイルス分離により得られたMeV, RUBV株は、国立感染症研究所とも共有の上活用されている。

図3右端に「合計」として示した年別検査陽性率(平均55.6%)の標準偏差は4.13と

小さく、インフルエンザを除く患者総数(図2)の変動も小さいことから、毎年総量ベースでは一定の病原体情報発信が期待できるものであった。診断名別にみると、毎年の流行を反映して一部の項目では陽性率及び陽性数に相当の変動が認められた。下気道炎の陽性率上昇の要因には、2010年以降RSV, HPIV, HMPV 検査体制の強化を図ったことがあげられる。一方不明発疹症の陽性率は期間中に顕著に低下したが、2010年以降は全身性ウイルス発疹症の一部が麻疹・風疹の要鑑別事例として提出されるようになったためと思われる。

感染性胃腸炎や手足口病等のサーベイランスより発展的に派生した成果として、ポリオウイルスワクチン株の検出や、不明発疹症及び麻疹・風疹疑い検体からの多様なエンテロウイルス・アデノウイルス検出があげられる。ポリオ生ワクチンはわが国では不活化ワクチンに取って代わられたが、中国はじめ人的交流の盛んな国の一部では未だ使用されているほか、野生株ポリオは未だ根絶されていない。後者の麻疹・風疹疑い検体から発疹症の原因ウイルスを検出することは、除外診断を補強し排除の前提となるサーベイランスの強化に直結する。さらに分離株の解析等、関連する調査研究は、新たなウイルス発見の可能性をはじめ職員のモチベーション維持に有用なばかりでなく、新興・再興感染症を含むウイルス検査対応能力の維持向上に不可欠と考える。

E. 結論

2009～2014年の間、インフルエンザを除く病原体サーベイランス対象となった患者は、各年の流行を反映して診断名別には変動がみられるが、年間総数及び陽性率の変

動は小さく、毎年一定の病原体情報確保が期待できるものであった。現行のウイルス病原体サーベイランスと派生する調査研究は、感染症の発生動向把握に重要な病原体情報を得る手段であるとともに予防接種モニタリング及び一部のウイルス侵淫状況に関する貴重な情報源となっている。さらに地衛研にとって当該調査で検出される種々のウイルスの同定型別及び発展的調査研究の実施は関連分野の進歩に敏感な職場環境につながり、結果として新型インフルエンザ等新興感染症や麻疹集団発生など健康危機対応時における病原体検査並びに分子疫学解析体制の速やかな立上げを可能にする原動力と考えられた。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

論文発表 なし

学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)なし

図1 2009年から2014年における臨床診断名別病原体検索患者数（愛知県衛生研究所）

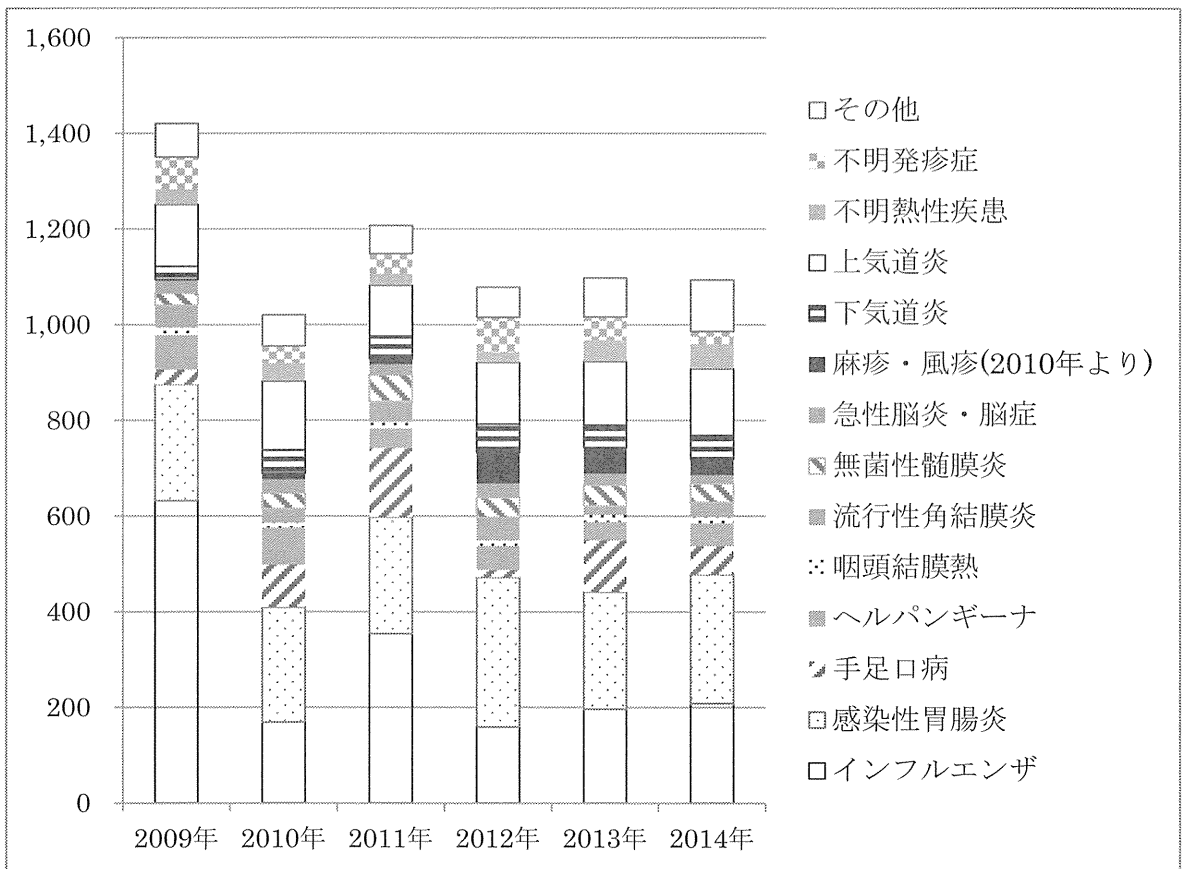


図2 2009年から2014年における臨床診断名別病原体検索患者数（インフルエンザ以外）

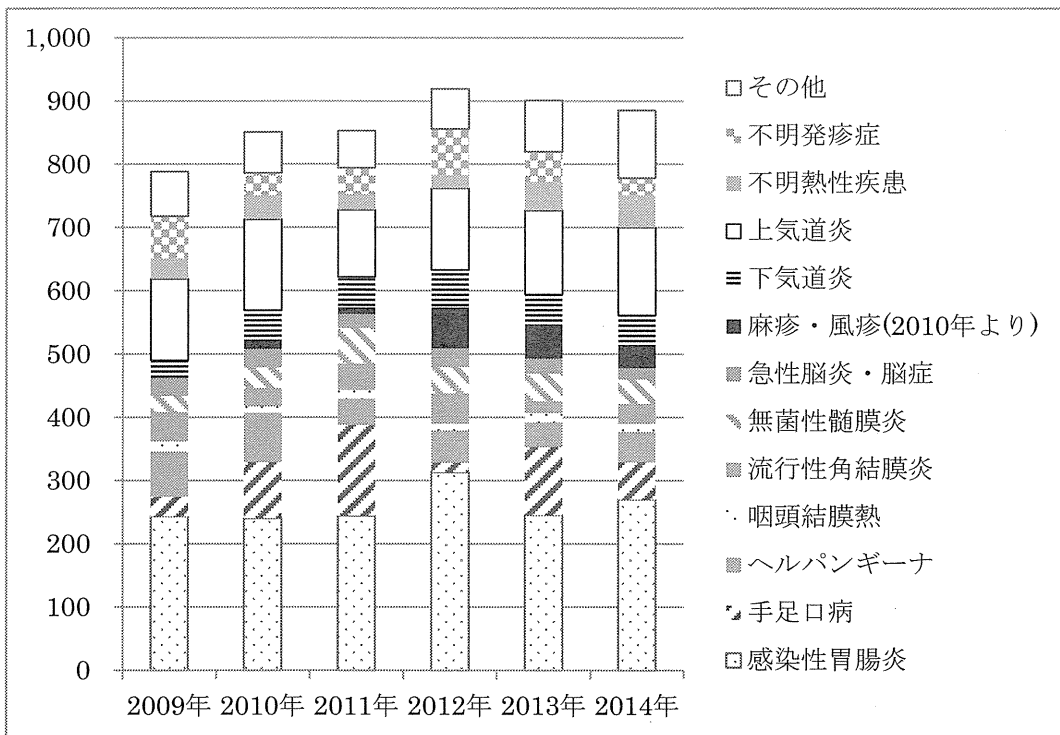


図3 2009年から2014年における臨床診断名別検査陽性率の推移

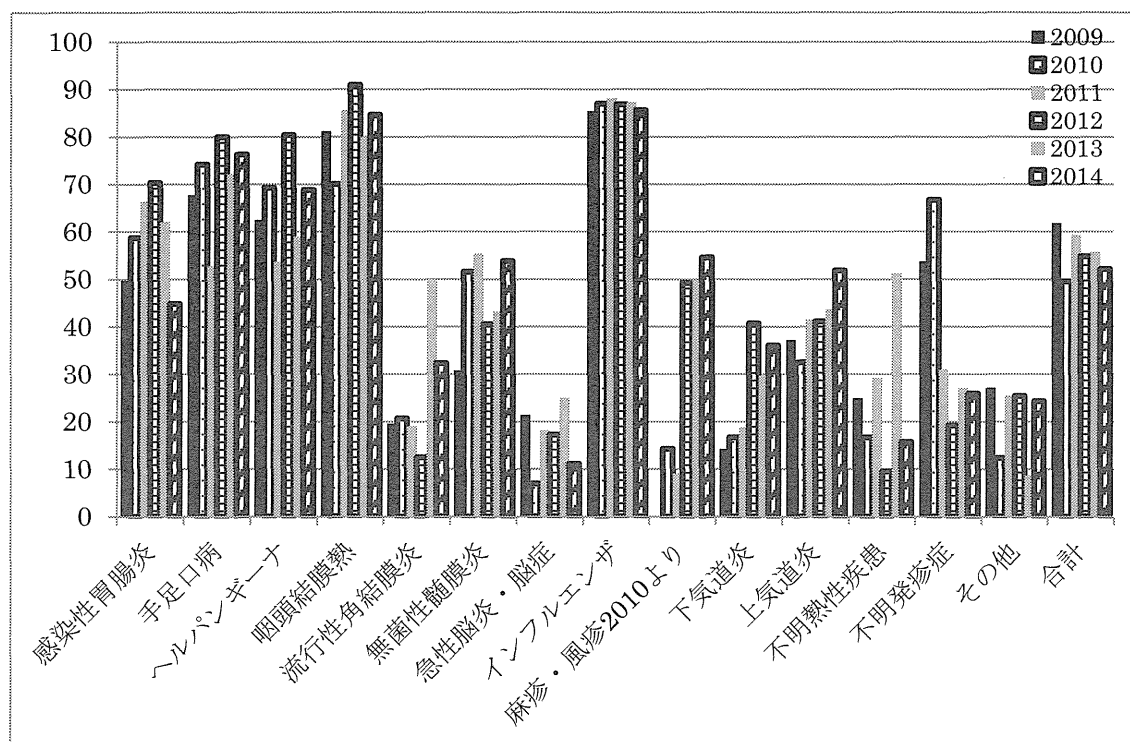


表1 年間に1件以上分離若しくは検出されたウイルス

年	ウイルス
2009	PV-1, PV-2, PV-3, CV-A2, CV-A6, CV-A10, CV-A16, EV-71, CV-A9, CV-B3, CV-B4, CV-B5, E-3, E-9, E-11, E-18, E-30, HPeV-1, HPeV-4, Flu AH1pdm09, Flu AH1, Flu AH3, Flu B, RV A-G1, RV A-G3, NV-GI, NV-GII, SV, AstV, Ad-1, Ad-2, Ad-3, Ad-5, Ad-8, Ad-11, Ad-31, Ad-41, Ad-54
2010	PV-1, PV-2, PV-3, CV-A2, CV-A4, CV-A5, CV-A6, CV-A10, CV-A16, EV-71, CV-A9, CV-B1, CV-B2, CV-B3, CV-B4, CV-B5, E-3, E-6, E-25, E-30, HPeV-1, HPeV-3, Flu AH1pdm09, Flu AH3, Flu B, HMPV, RSV, MeV, RV A-G1, RV A-G2, NV-GI, NV-GII, SV, AstV, Ad-1, Ad-2, Ad-3, Ad-4, Ad-5, Ad-6, Ad-7, Ad-37, Ad-41, Ad-D, HSV-1, B19V
2011	PV-1, PV-2, PV-3, CV-A2, CV-A4, CV-A6, CV-A10, CV-A16, EV-71, CV-B1, CV-B2, CV-B3, CV-B4, CV-B5, E-6, E-7, E-11, HPeV-3, FluAH1pdm09, FluAH3, FluB, MuV, MeV, RSV, HMPV, Reo-2, RV-A G1, RV-A G2, RV-A G3, NV-GI, NV-GII, SV, AstV, Ad-1, Ad-2, Ad-3, Ad-5, Ad-41, Ad-53, Ad-54, HSV-1
2012	PV-1, PV-2, PV-3, CV-A2, CV-A4, CV-A6, CV-A8, CV-A10, CV-A16, EV-71, CV-A9, CV-B3, CV-B4, CV-B5, E-3, E-6, E-7, E-17, HRV, HPeV-1, HAV, FluAH1pdm09, FluAH3, FluB, MeV, RSV, HPIV-2, HPIV-3, HMPV, RUBV, Rota A UT, Rota A G1, Rota A G2, Rota A G3, Rota A G9, NV-GI, NV-GII, SV, AstV, Ad-1, Ad-2, Ad-3, Ad-4, Ad-5, Ad-6, Ad-31, Ad-41, Ad-56, B19V
2013	CV-A4, CV-A5, CV-A6, CV-A8, CV-A16, EV-71, CV-A9, CV-B2, CV-B3, CV-B4, CV-B5, E-3, E-6, E-9, E-11, E-12, E-17, E-18, E-25, E-30, HPeV-1, Flu AH1pdm09, Flu AH3, Flu B, MeV, RSV, HPIV-2, HPIV-3, HMPV, RUBV, Reo-2, RV-A UT, RV-A G1, RV-A G3, NV-GI, NV-GII, SV, AstV, Ad-1, Ad-2, Ad-3, Ad-4, Ad-5, Ad-41, B19V, HSV-1
2014	CV-A2, CV-A4, CV-A5, CV-A6, CV-A10, CV-A16, EV-71, CV-A9, CV-B2, CV-B4, CV-B5, E-6, E-11, E-25, E-30, HRV, HPeV-1, HPeV-3, Flu AH1pdm09, Flu AH3, Flu B, MuV, MeV, RSV, HMPV, HPIV-2, RUBV, Reo-2, RV-A G1, RV-A G2, RV-A G9, NV-GI, NV-GII, SV, AstV, Ad-1, Ad-2, Ad-3, Ad-4, Ad-5, Ad-8, Ad-41, Ad-54, HSV-1

(アルファベット順ウイルスの略称) Ad : アデノウイルス, AstV : アストロウイルス, B19V : ヒトパルボウイルスB19, CV : コクサッキーウイルス, E : エコーウイルス, EV-71 : エンテロウイルス71型, Flu AH1 : Aソ連型インフルエンザウイルス, Flu AH1pdm09 : インフルエンザウイルスA(H1)2009年型, Flu AH3 : A香港型インフルエンザウイルス, Flu B : B型インフルエンザウイルス, HAV : A型肝炎ウイルス, HMPV : ヒトメタニューモウイルス, HPeV : ヒトパレコウイルス, HPIV-2 : ヒトパラインフルエンザウイルス2型, HRV : ヒトライノウイルス, HSV-1 : 単純ヘルペスウイルス1型, MeV : 麻疹ウイルス, MuV : ムンプスウイルス, NV : ノロウイルス, PV : ポリオウイルス(全てワクチン株), Reo-2 : レオウイルス2型, RSV : RSウイルス, RUBV : 風疹ウイルス, RV-A : ロタウイルスA, SV : サポウイルス

表2-1 感染性胃腸炎患者から検出された主なウイルスの推移

年	2009	2010	2011	2012	2013	2014
患者数	243	338	227	313	277	270
PV-1, 2, 3(合計)	10	6	11	9		
RV A	19	14	62	73	75	7
NV-GI	1	6	2	2	1	2
NV-GII	70	141	71	136	82	85
SV	1	2	9	10	9	4
AstV	1	13	9	6	3	1
Ad-41	11	20	4	10	13	13
HPeV-1	3	1		3		1

表2-2 無菌性髄膜炎患者から検出された主なウイルスの推移

年	2009	2010	2011	2012	2013	2014
患者数	26	38	59	42	47	39
CV-A4				1		
CV-A16		2				
EV-71		5			9	
CV-A9	2			1		
CV-B1			10			
CV-B2			2			1
CV-B3	2				2	
CV-B4	4	6		3	1	
CV-B5		1	15	3	1	1
E-3				1		
E-6		2	1	4	2	
E-7				3		
E-11			2			15
E-17				1	1	
E-18					2	
E-25		1				
E-30		1			1	2
HPeV-1		1		1		
MuV			1			1

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
「科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する緊急研究」
分担研究報告書

病原体発生動向調査に関する疫学的検討

研究分担者 三崎貴子 川崎市健康安全研究所

研究協力者 丸山 絢 川崎市健康安全研究所

研究要旨

平成 26 年（2014 年）11 月 14 日に「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の一部を改正する法律」（以下、改正法）が成立し、新たな感染症の二類感染症への追加として、政令により暫定的に二類感染症として扱われている鳥インフルエンザ（H7N9）及び中東呼吸器症候群（MERS）が二類感染症に位置付けられたとともに、感染症に関する情報の収集体制の強化として、知事（緊急時は厚労大臣）は、全ての感染症の患者等に対し検体の採取等に応じること、また、医療機関等に対し保有する検体を提出すること等を要請できる旨の規定を整備することとなった。これに伴い、感染症発生動向調査事業実施要綱（以下、要綱）改正の必要が生じたため、研究班が開催する疫学小班会議及びウイルス・細菌小班会議に出席し、情報を収集するとともに地方衛生研究所としての意見の集約を行った。さらに、同改正法の内容を反映させた上で、全国的な感染症の発生・流行状況を正確に反映し、かつ信頼性の高い情報の収集が可能となり得る要綱の改正案に関する提言をまとめた。

情報収集及び意見交換を行った研究班会議は、全体会議 2 回、疫学小班会議 2 回及びウイルス小班会議 1 回であった。感染症発生動向調査事業に関して改訂が必要な事項としては、以下の 5 項目が挙げられた。

1. 趣旨及び目的の明確化
2. 現状に合わせた具体的な実施方法の見直し
3. 感染症情報センターの位置づけ
4. 感染症発生動向調査企画委員会の目的の明確化と現状に合わせた名称の変更
5. 精度管理を担うレファレンスセンター（もしくは精度管理センター）の新規設置

感染症発生動向調査事業の目的が、感染症に対する有効かつ確な診断・治療・予防に係る対策を図り、多様な感染症の発生及びまん延の防止であることを明記し、サーベイランスにおける本庁及び保健所の役割を明確化した。また、地方感染症情報センターは、原則として地方衛生研究所の中に設置することとし、サーベイランス事業の実施に関する具体的方法の記載と病原体検査指針に基づく検査の実施が必要である旨記載した。さらに、従来「感染症発生動向調査企画委員会」と記載されていた委員会については名称を「感染症発生動向調査委員会」に変更するとともに、その役割を明確にした。病原体検査に関する自治体ごとの格差を是正することは、検査の質を担保する上での喫緊の課題であり、精度管理を担う機関の設置が必要であると考え、新たに記載に加えた。

A. 研究目的

我が国の感染症発生動向調査事業は昭和

56 年（1981 年）7 月から 18 疾病を対象に
開始され、昭和 62 年（1987 年）1 月から

はコンピュータを用いたオンラインシステムにおいて 27 疾病を対象に拡大した。平成 10 年（1998 年）9 月に「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」が成立（平成 11 年（1999 年）4 月から施行）し、感染症発生動向調査は同法第三章（第 12 条～第 16 条）による施策として位置づけられた。さらに、平成 26 年（2014 年）11 月 14 日に「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の一部を改正する法律」（以下、改正法）が成立し、1. 新たな感染症の二類感染症への追加として、政令により暫定的に二類感染症として扱われている鳥インフルエンザ（H7N9）及び中東呼吸器症候群（MERS）について、二類感染症に位置付けた（1. は公布の日から起算して二月を経過した日（その他の規定は H28.4.1 等））。また、2. 感染症に関する情報の収集体制の強化として、知事（緊急時は厚労大臣）は、全ての感染症の患者等に対し検体の採取等に応じること、また、医療機関等に対し保有する検体を提出すること等を要請できる旨の規定を整備し、病原体検索を円滑に実施し、予防と対策に迅速に結びつけることができることとなった。これに伴い、感染症法施行規則（省令）や感染症の予防の総合的な推進を図るための基本的な指針の策定、感染症発生動向調査事業実施要綱（以下、要綱）の改正及び病原体検出指針の策定が必要となった。

B. 研究方法

本分担研究においては、要綱の改正に向けて、研究班が開催する疫学小班会議及びウイルス・細菌小班会議に出席し、情報を収集するとともに地方衛生研究所としての意見の集約を行う。さらに、改正法の内容を反映させた上で、全国的な感染症の発生・流行状況を正確に反映し、かつ信頼性の高い情報の収集が可能となり得る要綱の

改正案に関する提言をまとめる。

なお、感染症発生動向調査と感染症サーベイランスは、同義的に使用することとする。

（倫理面への配慮）

本研究では、個人に係る情報の収集及び個人が不利益を被る恐れのある介入は行わないため、個人が特定されることはない。

研究計画の内容等は企業又は団体と直接の関係はなく、開示すべき利益相反はない。

C. 研究結果

情報収集及び意見交換を実施した研究班会議は以下の通りである。

- 平成 26 年 10 月 27 日 研究班全体会議
- 平成 26 年 11 月 6 日 疫学小班会議
- 平成 26 年 11 月 13 日 ウイルス・細菌小班会議
- 平成 26 年 12 月 16 日 疫学小班会議
- 平成 27 年 1 月 8 日 研究班全体会議

感染症発生動向調査事業実施要綱に関して改訂が必要な事項として、以下の 5 項目が挙げられた。

1. 趣旨及び目的の明確化
2. 現状に合わせた具体的な実施方法の見直し
3. 感染症情報センターの位置づけ
4. 感染症発生動向調査企画委員会の目的の明確化と現状に合わせた名称の変更
5. 精度管理を担うレファレンスセンター（もしくは精度管理センター）の新規設置

上記 5 項目に関して、情報収集及び意見交換の結果を反映させた上で、要綱の改正案に関する提言をまとめた。

自治体におけるインフルエンザ検査検体

数の規定及び五類感染症の病原体サーベイランスの意義のとりまとめ（五類感染症のサーベイランス対象の見直し）に関しては、ウイルス・細菌小班で検討中であるため、本分担研究の報告においては割愛した。

D. 考察

改訂を要すると考えられる理由及びその経緯について、考察を加えて以下に記載する。

1. 趣旨及び目的の明確化

要綱の「第1 趣旨及び目的」において、感染症発生動向調査事業が、感染症の発生情報を正確に把握・分析し、その結果を国民や医療関係者への確に提供・公開するだけでなく、感染症に対する有効かつ確な診断・治療・予防に係る対策を図り、多様な感染症の発生及びまん延を防止することをも目的としていることから、その旨明記する必要があると考える。特に、診断及び治療に結びつくサーベイランスを実施することは非常に重要であるため、目的に加える必要があると考える。

2. 現状に合わせた具体的な実施方法の見直し

①. サーベイランスにおける本庁及び保健所の役割の明確化

収集、分析する情報については、病原体情報の中に検査情報を含むことを明記する必要がある。これらの情報は「都道府県、保健所を設置する市及び特別区（以下「都道府県等」という。）から報告されるもの」であるため、その旨記載すべきである。

改正法においては、感染症に関する情報の収集体制を強化するため、全ての感染症の患者等に対し検体の採取等に応じること、また、医療機関等に対し保有する検体を提出すること等を要請できる旨が規定されて

いる。したがって、感染症発生動向調査事業の実施にあたっては、診断した医師は積極的に保健所に協力し、検査票を添付の上で、当該患者の病原体検査のための検体又は病原体情報を提供するように記載を改める必要がある。

各保健所は、病原体検査の必要性を判断し、提供を受けた検体については、病原体情報とともに検査票を添付して地方衛生研究所等へ検査を依頼するものであるため、その旨記載に加える必要がある。なお、検査の実施に際しては、必要に応じて地方衛生研究所と協議できることが望ましいと考える。

現行の要綱においては、保健所が感染症発生動向調査システムに入力した感染症情報について、登録情報の確認や中央感染症情報センターへの報告は都道府県等の本庁が行うこととされているが、実際には地方感染症情報センターの業務であり、実情に即した内容に改めるべきである。

都道府県等の本庁は、事業の実施にあたって、地方感染症情報センターが収集・分析した患者情報及び病原体情報を対策に利用し、関係機関との連携・調整を行うものであり、新たに記載に追加すべきと考える。

②. 指定届出機関及び指定提出機関を明記

定点把握対象の五類感染症については、改正法における患者定点と病原体定点を各々別に選定する必要があることから、「指定届出機関」及び「指定提出機関」の記載を新たに設ける必要がある。「指定届出機関」は、患者情報及び疑似症情報を収集するため、患者定点及び疑似症定点をあらかじめ選定することとし、「指定提出機関」については、患者の検体又は当該感染症の病原体を収集するため、病原体定点をあらかじめ選定することとして新たに記載に加える必要があると考えた。また、定点

の選定にあたっては、関係医師会及び保健所を設置する市、すなわち中核市等の協力を得て、医療機関又は衛生検査所の中から選定する旨を記載する必要がある。

③. 病原体検査指針の記載

病原体検査の質と精度を保証するために、新たに病原体検査指針の策定が必要であり、指針に基づいて検体の採取、検査の実施、精度管理が円滑に行われるよう要綱の中に記載を加えるべきである。

3. 感染症情報センターの位置づけ

感染症の疫学情報と病原体情報は、いずれも個別に存在するものではなく、合わせて解析・検討する必要があることから、地方感染症情報センターは、原則として地方衛生研究所の中に設置することとし、自治体ごとの現状を鑑みて、都道府県等の本庁が地方感染症情報センターの役割を代替する機能を担うことができるものとすべきである。

検査の実施にあたっては、病原体検査指針に基づくこととし、検査情報については、地方衛生研究所が中央感染症情報センターに報告することを明記する必要がある。また、地方衛生研究所において実施が困難な検査については、検査の質を維持するため、他自治体又は国立感染症研究所に協力を依頼する旨記載が必要である。

4. 感染症発生動向調査企画委員会の目的の明確化と現状に合わせた名称の変更

現行の要綱においては、中央及び地方感染症発生動向調査企画委員会を置くと記載されているが、中央においては感染症発生動向調査委員会が、地方においては感染症発生動向調査委員会もしくは同様の機能を有する委員会が既に設置されているため、中央もしくは地方感染症発生動向調査委員

会と名称を統一し、改めて記載することが妥当と考える。また、各都道府県域内における定点の選定は、地方感染症発生動向調査委員会において検討する必要があるため、その旨を明記する必要がある。また、本事業の実施主体は各自治体であるため、地方感染症情報センターを事務局とする記載については削除すべきである。

5. 精度管理を担うレファレンスセンター（もしくは精度管理センター）の新規設置

研究班で検討すべき課題の一つに、病原体検査の正確性の確保があり、そのための体制の確立には、精度管理が必須と考える。各自治体間で病原体検査の精度に著しい差異が生じると、検出結果の信頼性が低下するため、何らかの方法で一定以上の精度を保つことが必要となる。このため、検査体制の整備及び検査の標準化を目的として、国立感染症研究所内に中央レファレンスセンターを、地方衛生研究所内に地方レファレンスセンターを設置することとし、実施体制の整備の項目として新たに加えるべきである。「レファレンスセンター（もしくは精度管理センター）」の名称及び詳細に関しては、さらに検討を要するため、別途新規に作成予定である「病原体検査指針」を参照することが妥当と考えた。

E. 結論

新興・再興感染症への対策は、危機管理の面では行政における喫緊の課題の一つである。この対策を滞りなく実施するためには、精度と質の保証された病原体サーベイランスに、正確かつ詳細な疫学情報を加えて解析を行うサーベイランス体制が、通常業務として確立し維持されることが最も重要である。また、感染症のサーベイランスと病原体検査は、現在の対策のみならず、

将来の感染症流行の予測や新たな病原体の
解明、病気の新たな診断・治療にも貢献す
ることが期待され、それに取り組む国とし
ての姿勢と体制づくりが必要である

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年