

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

寄生虫症に関するサーベイランス強化に関する研究

研究分担者	野崎智義	国立感染症研究所寄生動物部	部長
研究協力者	杉山 広	国立感染症研究所寄生動物部	第2室長
	八木田健司	国立感染症研究所寄生動物部	主任研究官
	森嶋康之	国立感染症研究所寄生動物部	主任研究官
	中野由美子	国立感染症研究所寄生動物部	主任研究官
	案浦 健	国立感染症研究所寄生動物部	主任研究官

研究要旨 感染症法で第四類に分類されるマラリアとエキノコックスについて、国内における検査体制の整備と発生動向の監視に関する作業に取り組んだ。まずマラリアについては、検査診断法に関する技術研修に取り組み、検疫所への情報提供に努めた。エキノコックスについては、地方衛生研究所等と連携してヒトおよびイヌの疑診例に関する依頼検査を実施し、同時に患者情報を収集して、本病の流行予防に資する体制の整備に努めた。食品媒介寄生虫症であるクドアと肺吸虫に関しても、地方衛生研究所と連携して、情報収集と共同研究に取り組んだ。

A. 研究目的

寄生虫症に関して感染症法では、5つの病原体（類）を原因とする疾病が規定される。このうちマラリアは、エイズおよび結核と並ぶ世界三大感染症とされ、致死性の発熱性疾患として検疫感染症中でも重要な位置を占める（感染症法では4類感染症）。我が国では検疫所が水際での防圧にも取り組んでいることから、検疫所の職員に対して、検査診断法に関する技術研修と情報提供が必要と考えられた。今年度はこのための機会を得たので、作業に取り組んだ。

動物由来感染症としても重要なエキノコックス症（多包性と単包性）は、マラリアと同じく感染症法では4類に分類される。ヒトおよびイヌの感染例については、それぞれ診断した医師もしくは獣医師が届出の義務を負う。我が国に土着するエキノコックスは、多包性の原因種である多包条虫

Echinococcus multilocularis であるが、分布は北海道に限局すると考えられてきた。しかし、ヒトへの感染源となるイヌの感染例は、2005年の埼玉県の例に続き、2014年にも愛知県で発見され、本症の拡散が懸念されている。そのため北海道からそれ以外の都府県へのエキノコックス症拡散監視を強化する目的で、地方衛生研究所等と連携し、ヒトおよびイヌなどの動物の疑診例に関する依頼検査を実施するとともに、陽性例については詳細な情報の収集と検証を行い、本症の流行監視強化を図った。

食品媒介寄生虫症もまた、地方衛生研究所（以下、地研と略）との間でラボネットワークの強化に取り組むべき重要な課題である。今年度はクドアと肺吸虫に関して検討を継続した。

B. 研究方法

1. マラリア

厚生労働省検疫所業務管理室が実施する感染症検査技術研修会に参加した検疫所職員を対象に、検査診断法に関する技術研修と情報提供に努めた。

2. エキノコックス症

当部では全国各地の地研または国内外の医療機関からエキノコックス症をはじめとする寄生虫の依頼検査を受け付けている。昨年度の報告以降、平成 27 年 1 月末までに計 49 件の依頼があり、このうちエキノコックス症を疑う新規の依頼はヒトで 6 件、動物（イヌ）で 1 件の計 7 件であった。ヒト由来材料に関しては、昨年度報告した単包性エキノコックス症の術後フォローアップ分として、さらに 1 件の検査も引き受けた。検査にあたりヒトの場合は、主として血清を材料としてウエスタンブロット法による免疫学的検査を行ったほか、生検材料またはホルマリン固定パラフィン包埋組織を材料とする遺伝子検査も行った。動物の疑い例の場合は、糞便を材料として虫卵検査および遺伝子検査を実施した。

3. クドア類による有症事例

本食中毒はナナホシクドア *Kudoa septempunctata* を病原体とする一過性下痢症で、ヒラメが原因食品の場合は食中毒として届け出るように、2011 年 6 月 17 日に厚生労働省から自治体に通知が発出された。この通知を契機に、クドア類が食中毒という人の病気を引き起こす原因であるとの認識が広まった、同時に対策も進められ、国産の養殖ヒラメを原因とするクドア食中毒は、発生がほぼ制圧されたという状況にある（輸入ヒラメを原因とするクドア食中毒が今後の課題となっている）。一方で、ヒラメ以外の魚種やナナホシクドア以外のクドア類寄生虫による一過性下痢症の発生が、

有症苦情事例として注目を浴び始めた。そこで、クドア食中毒の研究に先進的に取り組んできた地研（大阪府公衆衛生研究所および東京都健康安全研究センター）と国研（感染研および国立医薬品食品衛生研究所）の担当者が集まり、有症苦情事例の発生状況や魚介類のクドア汚染状況に関する情報を交換し、発生動向の監視と検査体制の整備に関する議論を行った。この議論の内容をレファレンスセンター会議（仙台、2015 年 7 月 23 日）で公開し、他の地研の担当者にも情報共有と周知を図った。

4. 肺吸虫症

改正鳥獣保護法が 2015 年 5 月から施行され、厚生労働省もそれに先立ち野生鳥獣肉（いわゆるジビエ）の衛生管理に関する指針を策定したことから（2014 年 11 月）、ジビエの衛生管理を強化すべきとの意見が、関係者の間で強まってきた。特に我が国では、肺吸虫症がイノシシ肉・シカ肉の非加熱喫食という食習慣と関連して発生していることから、注意が必要である。イノシシやシカは「と畜場法」の対象外の動物であるため、肺吸虫を始めとした寄生虫の汚染実態は、ほとんど把握されていない。そこで、イノシシ肉とシカ肉を対象とした肺吸虫の検査について、共同研究・相互研修の形で、鹿児島県環境保健センターと共に取り組んだ。

C. 研究結果

1. マラリア

厚生労働省検疫所業務管理室が実施する感染症検査技術研修会では、全国 13 検疫所本所及び 3 空港検疫所支所（東京空港、中部空港、福岡空港）から、検疫所職員が合計 21 名参加した。マラリアの講義（本邦と近隣諸国の感染状況・診断・最新のワクチ

ン情報)を行った。また成田空港検疫所と横浜検疫所の職員に、現在実施しているマラリア検査方法に関するプレゼンテーションを実施してもらい、それぞれについて改善点のアドバイスと情報交換を行った。

2. エキノコックス症

ヒトの疑診例 7 例中 1 例が遺伝子検査・抗体検査とも陽性で、多包性エキノコックス症と診断された(近畿地方在住)。当該患者は頻繁に北海道を訪れていたほか、海外の多包性エキノコックス症流行地への渡航歴も有していたが、ミトコンドリア *cox1* 遺伝子の塩基配列を比較した結果、感染は北海道で起きたものと考えられた。単包性エキノコックス症フォローアップ分では、抗体応答のさらなる低下が認められたが完全消失はせず、化学療法剤(アルベンダゾール)投与と CT によるモニター継続が決定された。動物の疑診例 1 例は陰性で、遺伝子検査の結果、豆状条虫 *Taenia pisiformis* の感染と同定された。なお、検査方法の詳細ならびに結果は地研への連絡に努め、本症の流行拡散に関する情報整備の一環とした。

3. クドア類による有症苦情事例

ヒラメ以外の魚種から検出されるナナホシクドア以外のクドア類寄生虫で、有症苦情事例の原因となる組み合わせは、我々の検討の結果、以下のように整理された。

(1) メジマグロ(クロマグロ幼魚)

Kudoa hexapunctata ムツボシクドア

(2) タイ類(ヘダイ等)、スズキ等

Kudoa iwatai

(3) (養殖)カンパチ

Unicapsula seriolae

ナナホシクドア以外のクドア属寄生虫に起因する一過性下痢症は、現時点では有症苦情事例として取り扱う事を確認し、食中

毒としてどのような形で取り扱うかは、厚生労働省(監視安全課)と更に検討・協議することになった。有症苦情事例の情報に関しては、全国の地研に積極的に提供することになった。

4. 肺吸虫症

鹿児島県では前年度の報告以降に新たに捕獲された 30 頭のイノシシについて、体幹部筋肉からの肺吸虫幼虫の検出を試みた。その結果、9 頭の検体から肺吸虫の幼虫が検出された。これらの虫体は遺伝子解析により、ウェステルマン肺吸虫の 3 倍体型と同定された。人体寄生種であり、陽性のイノシシ肉を特に生で喫食した場合には、肺吸虫に感染して発咳・喀痰などを特徴とした呼吸器症状を発症する危険性がある。鹿児島衛研とは更にこの問題で共同研究と相互研修を進める。また野生鳥獣の処理施設や猟友会への啓発活動に取り組む予定である。

D. 考察

各検疫所におけるマラリアの検査方法に関しては、概ねコンセンサスが得られているが、迅速診断キットを所有していない検疫所が多数見受けられ、改善と情報共有の必要性が考えられる。今後、検査診断法に関する技術研修を定期的実施することで、状況の改善を試みる。

わが国で発生するエキノコックス症は、常在地である北海道を除き、いずれも域外で感染して持ち込まれた非原発性症例と考えられている。今年度我々が診断したヒトの多包性エキノコックス症例の 1 例は北海道と海外流行地の両方の旅行歴を有していた。この症例は分子疫学的検討により北海道での感染と推定されたが、陰性例も上記のような履歴を有する例が多く、これまで

のように旅行/居住歴に基づく感染場所の推定は困難になりつつある。さらに昨年度ヒトへの直接の感染源となるイヌの感染例が報告された愛知県では、隣接地域で採集した野犬糞便から陽性例が再び検出され、エキノコックスの生活環が定着している可能性が強く示唆された。この情報は動物由来感染症の研究班を通じ、健康危険情報として厚労省に通報した。エキノコックス症流行地の拡大が懸念されることから、従来 of 発想とは異なる監視体制の構築が急務である。

食品寄生虫に関する地研とのラボネットワークの強化も、感染症・食中毒の枠を超えて、継続的に取り組むべき課題である。そのために情報交換と相互研修がまず重要であると考えられた。

E. 結論

エキノコックス症に関する監視体制は改善の必要もあり、地研をはじめ、医療機関等への情報提供を行いつつ、積極的に発生情報を収集する必要がある。また、監視体制をより効率的に運用するためには、本症伝播に重要な役割を果たすと考えられるイヌなどの終宿主動物の簡易な検査方法の開発と普及に加え、既知流行地で利用されている歩哨動物（ブタなど）が利用可能であるかどうか評価を進める必要がある。さらに食品寄生虫に関する地研とのラボネットワークの強化も、感染症・食中毒の枠を超えて、継続的に取り組むべき課題である。情報交換と相互研修がまず重要である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. Sugiyama H, Shibata K, Arakawa K, Morishima Y, Yamasaki H, Gokuden M, Iwakiri T, Fukumori J. Paragonimiasis due to the consumption of wild boar meat in Japan: Contamination levels of lung fluke larvae in muscle samples of wild boars caught in the Kagoshima Prefecture. Jpn J Inf Dis. 68:536-537, 2015.

学会発表

国際学会
なし

国内学会

1. 案浦 健. マラリア概論（本邦と近隣諸国の感染状況・診断・最新のワクチン情報）. 平成27年度感染症検査技術研修会, 6月30日, 2015年, 武蔵村山.
2. 案浦 健. マラリア撲滅にむけて. 平成27年度第3回千葉県臨床検査技師会微生物検査研究班研修会. 10月31日, 2015年, 鴨川.
3. 杉山 広. 食中毒としての食品媒介寄生虫症: 現状と検査の課題. 第36回日本食品微生物学会学術総会, 11月12-13日, 2015年, 川崎.
4. 森嶋康之, 杉山 広, 山崎 浩, 八木欣平, 福本真一郎. 非流行地におけるエキノコックス症動物疫学調査の問題点. 第85回日本寄生虫学会大会, 3月18-20日, 2016年, 宮崎.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書
クロストリジウム属菌およびコリネバクテリウム属菌による感染症のラボネットワークに
ついて

研究分担者	加藤はる	国立感染症研究所	細菌第二部
研究協力者	岩城正昭	国立感染症研究所	細菌第二部
	小宮貴子	国立感染症研究所	細菌第二部
	妹尾充敏	国立感染症研究所	細菌第二部
	島村亮子	千葉県環境保健研究所	
	岡元冬樹	福岡県保健環境研究所	
	戸田純子	熊本県保健環境科学研究所	
	山田和弘	愛知県衛生研究所	

研究要旨

ボツリヌス症および*Clostridium difficile*感染症に関する講習会（座学および実習）を、地方衛生研究所を対象に行った。ボツリヌス診断用抗毒素C型の標準化作業を終了した。また、多剤耐性*Corynebacterium striatum*による院内アウトブレイク事例発生後の対応支援、および、*Clostridium difficile*による院内アウトブレイク事例への対応を通して、医療機関、保健所、地方衛生研究所、民間検査センター、国立感染症研究所におけるネットワークについて検討した。

A. 研究目的

ボツリヌス症は、稀少感染症であること、ボツリヌス毒素検出には動物実験が必要であることから、ボツリヌス症のレファレンスセンターであっても、技術継承が難しいという現状がある。本研究では、レファレンスセンターを含めた地方衛生研究所からの要望に応え、地方衛生研究所の研究者を対象にボツリヌス症の細菌学的検査法の講習会を開催した。

さらに、ボツリヌス診断用抗毒素 C 型、D 型、G 型の作製することを本研究の目的のひとつとした。

また、ボツリヌス菌以外の *Clostridium* 属菌では、*Clostridium difficile* が医療関連感染の原因として重要であり、アウトブレイク事例や重症例に関して、保健所や地方

衛生研究所の支援が必要である。本研究では、薬剤耐性菌レファレンスセンター発足準備のために平成 25 年度より開始された「院内感染に関連する薬剤耐性菌の検査に関する研修」で、地方衛生研究所を対象に *Clostridium difficile* 感染症(CDI)に関する講習会を行った。

一方、平成 26 年 9 月に発生した *Corynebacterium striatum* による感染症の院内アウトブレイク、同年 11 月に発生した CDI の院内アウトブレイクについて、引き続き自治体と協力して支援を行うなかで、地域のネットワークについて検討した。*Corynebacterium striatum* アウトブレイクに関しては、二度とアウトブレイクを繰り返さないように感染対策をしていくにはどうすればよいか、医療機関、保健所、地

方衛生研究所、国立感染症研究所、さらに、民間検査センターによるネットワークで対応を検討した。CDIアウトブレイク事例は、保健所、国立感染症研究所により、平成 27 年度も支援を続けた。

B. 研究方法

1. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

平成 27 年 12 月 11 日から 12 月 13 日まで、ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会を行った。マウス法によるボツリヌス毒素検出およびボツリヌス菌のコロニー観察を中心に講習を行った。

2. 診断用ボツリヌス抗毒素の標準化

化学及血清療法研究所（化血研）と大阪府立大学の協力を得て、C、D、G 型の抗毒素を製造した。本抗毒素について標準化作業を行った。

3. *Clostridium difficile* 感染症(CDI)の細菌学的検査に関する研修会

平成 27 年 9 月 29 日~10 月 1 日、10 月 20 日~22 日、及び、12 月 15 日~17 日に行われた「院内感染に関連する薬剤耐性菌の検査に関する研修」で、CDI とその細菌学的検査に関する座学と実習を行った。地方衛生研究所では、本感染症はなじみが薄い場合が多いため、まずどのような感染症であるかという概説、さらに検査法に関する座学、実習ではコロニー観察を主に行った。

4. アウトブレイク事例

① *Corynebacterium striatum* 感染症によるアウトブレイク事例

平成 26 年の *Corynebacterium striatum* によるアウトブレイク終息後の対応について、医療機関、保健所、地方衛生研究所、および、本医療機関が細菌学的検査を外部委託している民間検査センターで、協議検討した。当該医療機関では、アウトブレイク前には、上気道や皮膚などより採取した検体から *Corynebacterium* 属菌株が分離された場合は、薬剤感受性試験を行って

なかったが、アウトブレイク後は対応策のひとつとして、無菌材料以外の検体から分離された *Corynebacterium* 属菌株についても薬剤感受性試験を行い、antibiogram によるモニタリングを行うこととした。

② *Clostridium difficile* 感染症(CDI)によるアウトブレイク事例

保健所が介入し、感染対策支援を行った。平成 26 年 11 月末から翌年 7 月までの 8 ヶ月間に、計 79 患者の 99 エピソードにおいて（複数回再発した患者を含む再発例 16 患者）採取された計 99 検体の糞便検体が国立感染症研究所へ送付され、解析が行われた。*Clostridium difficile* 分離培養、毒素（toxin A、toxin B、binary toxin）遺伝子の検討、さらに、タイピング解析が行われた。

C. 研究結果

1. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

千葉市環境保健研究所、福岡県保健環境研究所、熊本県保健環境科学研究所、および、愛知県衛生研究所より、計 4 名の参加があった。

2. 診断用ボツリヌス抗毒素の標準化

C 型の抗毒素の標準化を行った。

3. *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査に関する研修会

平成 27 年 9 月 29 日~10 月 1 日には、岐阜県保健環境研究、群馬県衛生環境研究所福岡市保健環境研究所、大阪市立環境衛生研究、奈良県保健研究センター、姫路市環境衛生研究所、10 月 20 日~22 日には、富山県衛生研究所、長野県環境保全研究所、熊本県保健環境科学研究所、沖縄県衛生環境研究所、福島県衛生研究所、京都府保健環境研究所、及び、12 月 15 日~17 日には石川県保健環境センター、山梨県衛生環境研究所、北九州市環境科学研究所、北海道立衛生研究所、宮城県保健環境センター、秋田県健康環境センターが参加した。

4. アウトブレイク事例

① *Corynebacterium striatum* 感染症によるアウトブレイク事例

平成 26 年 12 月に 1 患者の気管支吸引痰より、平成 27 年 2 月、6 月、および 10 月に 3 患者の創部より、アウトブレイク時に検出された *Corynebacterium striatum* 菌株と同様の antibiogram を示す *Corynebacterium* 属菌が分離された(表)。分離された患者においては、検査センターより antibiogram の結果報告があった時点で、特に徹底した感染対策が講じられた。

同 5 菌株について、保健所、地方衛生研究所を通じて、国立感染症研究所において調べたところ、5 菌株とも生化学的性状、質量分析結果から、*Corynebacterium striatum* と同定された。パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)解析を行ったところ、平成 27 年 6 月分離株(患者 7)の PFGE パターンがアウトブレイク株(患者 1~4)の PFGE パターンと類似していた。また、平成 26 年 12 月(患者 5)から分離された菌株と平成 27 年 10 月(患者 8)から分離された菌株が同一 PFGE パターンを示した。しかし、必ずしも質量分析の結果と PFGE 解析結果は一致せず、アウトブレイク株と同一の PFGE タイプを示した患者 7 からの菌株は、質量分析結果からは、患者 8 からの菌株に、より類似していた。

② *Clostridium difficile* 感染症(CDI)によるアウトブレイク事例

79 患者から採取された 99 検体において *Clostridium difficile* 分離培養を行い、84 検体において *Clostridium difficile* が分離培養された。そのうち、77 菌株が toxin B 陽性であり、調べた 79 患者のうち 63 患者(79.7%)で少なくとも一度の下痢・腸炎エピソードにおいて toxigenic culture 陽性であった。Toxin B 陽性 *Clostridium difficile* 77 菌株において PCR ribotyping 解析を行ったところ、PCR-ribotype 018 が 61 株(79.2%)をしめた。Toxigenic culture 陽性であった 63 患者のなかで、一度でも

PCR-ribotype 018 が分離された患者は、54 患者(85.7%)であった。

病院内での検査体制は、無症候キャリアで検査を行う等、検体依頼のステップで問題が残ったものの、院内検査室における *Clostridium difficile* 培養検査は軌道に乗った。平成 27 年 11 月 27 日に当該医療機関から、勉強会への参加依頼があったため、院内勉強会に保健所担当者、および国立感染症研究所担当者が参加した。

本医療機関を管轄している地方衛生研究所は、本事例には関与しなかったものの、その後、平成 28 年 1 月に異なる医療機関で発生した CDI アウトブレイクから対応を開始することになったため、国立感染症研究所から情報提供を行った。

D. 考察

Clostridium 属菌による感染症では、ボツリヌス症のように稀少感染症であるが重篤な疾患もあれば、CDI のように頻繁に発症するものの、医療関係者や自治体における関心が低く、認識されたときには大きなアウトブレイクとなっている感染症もある。

ボツリヌス症に関しては地方衛生研究所がその重要性を認識しているため、検査の技術移転をすることにより、地方自治体における検査体制が整備されると考えられる。平成 24 年から「ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会」を行ってきたところであるが、平成 25 年に講習会に参加した千葉県衛生研究所が、平成 27 年 9 月に千葉県で発生した乳児ボツリヌス症の検査に成功したことは講習会の成果として評価できると考えられた。

CDI は、ひとたびアウトブレイクが発生すると、その対応には困難を極める。近年、*C. difficile* アウトブレイク事例発生について、医療機関から保健所に相談されることが増加し、地方衛生研究所には分離菌株の解析とともに、医療機関における適切な細菌学的検査を含めた支援や助言が求められるが、対応は自治体により多様である。今

回報告した CDI のアウトブレイク事例は、平成 26 年 12 月の発生率が 34/10,000 patient-days を超える大きなアウトブレイクで、管轄している保健所は、公衆衛生学的重要性を認識し、国立感染症研究所と連絡を緊密な連絡を取りながら対応した。医療機関から保健所への第一報から 1 年経過して、やっと医療機関に CDI への危機意識が生まれ、医療機関サイドが勉強会の必要性を認識したことは、保健所による 1 年間の指導の成果であった。菌株の解析結果からは、PCR- ribotype 018 株が本事例における流行株であることが明らかとなった。PCR-ribotype 018 株は、日本の複数の医療機関の院内アウトブレイクで報告されているタイプであるだけでなく、イタリア、韓国で注目されているタイプである。一医療機関だけでなく、自治体として調査が必要であると考えられた。

本事例の医療機関を管轄とする地方衛生研究所は、本事例では対応に関わらなかったものの、別の医療機関におけるアウトブレイク事例では対応することになり、国立感染症研究所との情報共有を開始した。

Corynebacterium 属菌による医療関連感染事例については、国立感染症研究所を含め、どの機関においても経験がなかったが、医療機関、保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所、さらには、民間検査センターと協議を重ね、文献を調べながら対応した。前例や経験がなくとも、ネットワーク内で情報共有し協力して対応していくことが必要であると考えられた。また、アウトブレイク後、上気道や皮膚から分離された多剤耐性 *Corynebacterium* 属菌株がすべて *Corynebacterium striatum* と同定された点は興味深く、今後のデータ蓄積が必要であると思われた。

E. 結論

過去に「ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会」に参加した施設において、実際の事例で検査が成功し、講習会の成果

と考えられた。

医療関連感染、特にアウトブレイク対応では、医療機関、保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所、さらに、(特に検査を外部委託している場合は) 民間検査センターがネットワークを結んで対処すること、さらに、地域での感染実態の調査へ繋げていくこと、が重要と思われた。

F. 健康危険情報

Corynebacterium 属菌は、血液などの無菌材料から分離されても検体採取時のコンタミネーションと考えられがちである。しかし、*Corynebacterium* 属菌のなかでも、特に *Corynebacterium striatum* は重篤な感染症を引き起こし、さらには医療関連感染の原因となりうることを、情報発信していく必要がある。

Clostridium difficile 感染症は、欧米では社会的に注目され、国として自治体として感染管理施策が進められているが、日本では、自治体はもちろん医療機関においても関心・理解が低い。行政として、本感染症の認識度を上げ、感染実態を調査し、感染管理を行っていく必要がある。

G. 研究発表

論文発表

1. 廣川秀徹、吉田英樹、中山浩二、澤田好伴、伯井紀隆、坂本徳裕、松生誠子、半羽宏之、松本健二、谷和夫、吉村高尚、中村寛海、西尾孝之、加藤はる、鈴木里和、柴山恵吾. 外科手術後患者における多剤耐性 *Corynebacterium striatum* による院内感染事例. IASR 36:90-91, 2015.

学会発表

1. Kohda T, Torii Y, Yamamoto A, Kenri T, Kato H, Shibayama K, Takahashi M, Kozaki S, and Iwaki M. Japanese domestic reference botulinum C, D, and G antitoxins. 52th Interagency Botulism Research Coordinating Committee, 2015 October 25th-28th.

Frederick, MD, U.S.

2. 黒田美奈、加藤はる、寺岡利恵、安井良則、堀越敦子、梶田浩禎. 心臓外科手術後患者における *Corynebacterium striatum* によるアウトブレイク事例. 第30回日本環境感染学会総会 平成28年2月19日-20日 京都
3. 加藤はる *Corynebacterium striatum* による院内アウトブレイク事例 (ワー

クショブ、事例に学ぶ細菌学) .第89回日本細菌学会総会 平成28年3月23日-25日 大阪

- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
- 特許取得
 - 該当なし
 - 実用新案登録
 - 該当なし

表

アウトブレイク時およびアウトブレイク後に分離された *Corynebacterium striatum* 菌株の antibiogram

患者	病棟	検査材料	Antibiogram (検査センターにおいて施行)															
			PCG	ABPC	CEZ	CTM	CTX	IPM	SBT/A BPC	CVA/ AMPC	GM	EM	CLDM	MINO	LVFX	VCM	ST	
平成26年9月 アウトブレイク	1	6	ドレーン先端	R	R	R	R	R	R	R		S	I	R	I	R		
	1	6	心のう液	R	R	R	R	R	R	R		S	I	R	I	R		
	1	6	血液1	R	R	R	R	R	R	R		S	I	R	I	R		
	1	6	血液2	R	R	R	R	R	R	R		S	I	R	I	R		
	2	6	血液	R	R	R	R	R	R	R		S	I	R	I	R		
	3	6	血液	R	R	R	R	R	R	R		S	I	R	I	R		
	3	6	創部浸出液	R	R	R	R	R	R	R		S	I	R	I	R		
	4	6	ペーシングワイヤ先端	R	R	R	R	R	R	R		S	I	R	S	R		
平成26年12月	5	5	気管支吸引痰	R	R	R	R	R	R	R		S	R	R	I	R		
	6	6	気管支吸引痰	R	R	R	R	R	R	R		S	R	R	I	R		
平成 27年2月	6	6	創部		R		R	R	R		R	S	R	R	S	R	S	S
平成 27年6月	7	3	創部		R		R	R	R		R	S	R	R	S	R	S	R
平成 27年10月	8	5	創部		R		R	R	R		R	S	R	R	S	R	S	R

PCG,ベンジルペニシリン; ABPC,アンピシリン; CEZ,セファゾリン; CTM,セフォチアム; CTX,セフォタキシム; IPM,イミペネム; SBT/ABPC,スルバクタム/アンピシリン; CVA/AMPC, アモキシシリン/クラブラン酸; GM,ゲンタマイシン; EM,エリスロマイシン; CLDM,クリンダマイシン; MINO,ミノサイクリン; LVFX,レボフロキサシン; VCM, バンコマイシン; ST, スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤.

R, resistant; S, susceptible; I, intermediate.

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究
（H25-新興-指定-002）H27 年度分担研究報告書

「日脳および新規蚊媒介性ウイルス感染症の診断体制の拡充」

分担研究者 高崎智彦（ウイルス第一部・室長）
協力研究者 中山絵里（ウイルス第一部・研究官）
田島茂（ウイルス第一部・主任研究官）

研究要旨 海外からの昆虫媒介性ウイルス感染症のなかで、2013 年から 2014 年にポリネシアなど太平洋の島嶼国で流行していたジカ熱（Zika fever）は、デング熱とよく似た病状を呈するが、死に至ることは稀であるため、それ程注目されていない感染症であった。しかし、近年デング熱に紛れていた症例が見出されるようになった結果、時に大きな流行が報告されるようになってきた。南米に侵入したジカウイルスは 2014 年ブラジルで大流行し、妊婦がジカウイルスに感染することによって小頭症児が出生する可能性が強く疑われる事態になり、2016 年 2 月 1 日世界保健機関が緊急事態宣言を発した。本研究班では、2016 年 1 月 20 日全国 9 ヶ所のアルボウイルスセンターに、陽性コントロール遺伝子とともに配備した。日本脳炎に関して、現在国内で検出される日本脳炎ウイルスは遺伝子 I 型であるが、1980 年代以前は遺伝子 III 型であった。現在も遺伝子 III 型が国内で活動している可能性は存在する。H27 年度には I 型、III 型に加えて V 型も共通に検出できるリアルタイム PCR（TaqMan）系の開発を行った。

A. 研究目的

近年、デング熱やチクングニア熱など世界的に蚊が媒介するウイルス感染症の流行が拡大している。デング熱とよく似た病状を呈するが、死に至ることは稀であるため、それ程注目されていない感染症としてジカ熱がある。しかし、デング熱流行地域では、デング熱に紛れている可能性もある。2013 年から太平洋島嶼国でこのジカ熱（Zika fever）の流行が始まった。2014 年にはチリのイースター島、2015 年にはブラジルおよびコロンビアを含む南

アメリカ大陸および中米諸国で流行が発生し、地理的な拡大を見せている。ブラジルでは 150 万人規模の流行となり、4000 人以上に及ぶ小頭症児が報告されている。そのため、Zika ウイルスの実験室診断法を確立し、地方衛生研究所に技術提供することを目的とした。

日本脳炎は日本脳炎ウイルス（JEV）の感染が原因の中枢神経の疾患である。感染しても多くの場合不顕性感染に終わるが、発症した場合には致死率は 20~40% に達する重篤な感染症である。日本脳炎

の発生地域は、東アジアから東南アジア、南アジアと広範囲に及ぶ。日本国内での日本脳炎患者数は1990年以降10例以下で推移しているが、日本国内でJEVは現在もブタから毎年分離され続けており、国内での感染リスクは消滅していない。

JEVには5つの遺伝子型があるが、国内で分離されるウイルスは90年代の初頭にⅢ型からⅠ型へと変化した。ところが2009年以降Ⅴ型ウイルスが中国や韓国で相次いで報告され、韓国では2014年までにⅤ型ウイルスの検出が増えている。このⅤ型にも対応した遺伝子検出系を開発し国内での診断体制を確立する。

B. 研究方法

ジカウイルス (Zika virus)

表1のリアルタイムRT-PCR(TaqMan法)を評価した。その結果を踏まえて、ジカウイルス病原体検出法の地方衛生研究所アルボウイルスセンターおよび希望施設に情報提供を開始したところ、ブラジルでのジカ熱流行が拡大し小頭症児との関連の可能性が高まったため、全国の地方衛生研究所アルボウイルスレファレンスセンター9施設に陽性コントロール(ジカウイルスRNA)とともに配布し、各ブロック内に普及を図った。

日本脳炎ウイルスに関しては、Genbankに登録された遺伝子配列データに基づいてⅠ型、Ⅲ型を区別するリアルタイムPCR系とⅠ型およびⅢ型をともに検出できるリアルタイムPCR系、Ⅰ型・Ⅲ型共通検出系の開発を行ってきたが、中国や韓国でⅤ型の検出が目立ってきたためⅠ-Ⅲ-Ⅴを共通で検出できるプライマ

ーを設計し評価し、希少感染症診断技術研修会で情報提供した。

C. 研究結果

ジカ熱患者をウイルス学的に確定するためのリアルタイムRT-PCR(TaqMan法)のプライマー&プローブは、2016年2月1日、WHO緊急事態宣言を受けて、多くの全国の地方研究所に普及が計られた。

日本脳炎ウイルス遺伝子検出法としてリアルタイム逆転写PCR(rtRT-PCR)は遺伝子Ⅰ型、Ⅲ型およびⅤ型に対する共通検出系が確立され、十分な感度と特異性を有していた。

D. 考察

ジカウイルス(Zika virus)は世界的に流行しているデングウイルスと同じフラビウイルス科フラビウイルス属のウイルスで近縁なウイルスである。ジカ熱(Zika fever)の流行は、2007年にミクロネシアで発生した後、2013年にフランス領ポリネシアで流行が始まり、ニューカレドニア、イースター島など太平洋島嶼国に波及した。さらに2014年にはブラジルに侵入し2015年には100万人を超える大流行となり他の中南米諸国に拡大した。ブラジルでは4000人に及ぶ小頭症児が報告され、妊婦のジカウイルス感染との関連が強く疑われるに至り、2016年2月1日にWHOが緊急事態宣言を出すに至った。この時点でジカウイルス遺伝子検出系の全国の地方衛生研究所アルボウイルスレファレンスセンター9施設に陽性コントロール(ジカウイルスRNA)の配備が完了しており、そこからさらに各地方衛生研究

所に再配分され、アルボウイルスレファレンスセンターの機能が発揮できた。本研究班の果たした役割は大きかったといえる。ジカ熱は東南アジアなどのデング熱流行地域では流行があっても見過ごされている可能性がある。ジカウイルスも日本に生息するヒトスジシマカが媒介可能である。したがって、デング熱同様感染者により日本国内に持ち込まれ、国内流行が発生する可能性があり、デング熱と鑑別できる体制をさらに整えておく必要がある。そのため、今後感染研が保有するジカウイルスをアルボウイルスセンターに配備する必要があると思われる。

一方、我が国に常在する日本脳炎ウイルスの検査は、近年でも検査会社では赤血球凝集阻止（HI）抗体、補体結合反応（CF）抗体検査で実施されており必ずしも感度は高くない。そこで、より高感度で特異性の高い遺伝子型Ⅰ・Ⅲ・Ⅴ型共通の日脳ウイルス遺伝子検出リアルタイム RT-PCR 系を構築、確立し急性脳炎患者の髄液を用いて評価した結果、非特異的な反応を認めず、日本脳炎ウイルス遺伝子検出検査として有用であると考えられる。

E. 結語

- 1) ポリネシアなど太平洋島嶼国で流行し、南米に侵入した実験室診断系を確立し、アルボウイルスレファレンスセンターにプライマー、プローブセットおよび陽性コントロールを提供した。
- 2) 日本脳炎ウイルス遺伝子型Ⅰ・Ⅲ・Ⅴ共通の日脳ウイルス遺伝子検出リアルタイム RT-PCR 系を開発し、地方衛生研究所に情報提供した。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

関連するものなし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし.

2. 実用新案登録

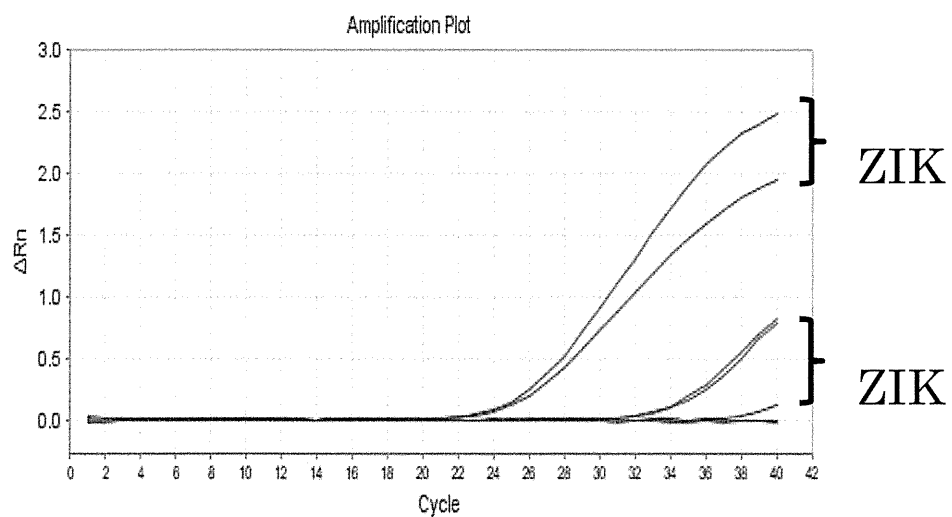
3. その他

なし

表1 Zika virus リアルタイム RT-PCR (TaqMan 法) プライマー、プローブ

	sequence (5' to 3')	genome position
ZIKV 835F	TTGGTCATGATACTGCTGATTGC	835-857
ZIKV 860-FAM	FAM-CGGCATAACAGCATCAGGTGCATAGGAG-TAMRA	860-886
ZIKV 911c	CCTTCCACAAAGTCCCTATTGC	911-890
ZIKV 1086	CCGCTGCCCAACACAAG	1086-1102
ZIKV 1107-FAM	FAM-AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACACTCAA-TAMRA	1107-1137
ZIKV 1162c	CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT	1162-1139

図 1



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

リケッチア・レファレンスセンターの2015年度活動について

研究分担者	安藤秀二	国立感染症研究所ウイルス第一部 室長
研究協力者	川森文彦	静岡県環境衛生科学研究所
	佐藤寛子	秋田県健康環境センター
	鈴木理恵	福島県衛生研究所
	坂 恭平	青森県環境保健センター
	山本徳栄	埼玉県衛生研究所
	長島真美	東京都健康安全研究センター
	赤地重宏	三重県保健環境研究所
	名古屋真由美, 滝澤剛則	富山県衛生研究所
	寺杣文男	和歌山県環境衛生研究センター
	近平雅嗣	兵庫県健康生活科学研究所健康科学研究センター
	濱野雅子, 岸本寿男	岡山県環境保健センター
	島津幸枝	広島県立総合技術研究所保健環境センター
	松本道明	高知県衛生研究所
	御供田睦代	鹿児島県環境保健センター
	野町太朗	宮崎県衛生環境研究所

研究要旨 国内のリケッチア症は、ベクターの種類、リケッチアの種類により、地域特性が強い疾患であるため、本研究では、全国ブロックの横糸となるリケッチア・レファレンスセンターの地方衛生研究所を中心とした全国共通基盤の構築を目指している。リケッチア症の国内での広がりを考慮すると、いずれの地域でも同レベルで確実な検出技術を有することが望ましく、この事から本年度は、レファレンスセンター会議等においてリケッチア症の疫学、診断法の情報のアップデートにより、全国の担当施設を中心に情報・技術の普及を継続するとともに、検査現場での利便性を考慮したPCR法等の導入を試みた。

A. 研究目的

リケッチア症(つつが虫病と日本紅斑熱など)においては、国内感染の患者が多数報告され、抗菌薬があるにもかかわらず死亡例、重症化例もいまだ報告される。その発生状況は、発生時期やつつが虫病リケッチアの血清型が地域によって異なり、診断用抗原の選択など地域の状況に即した対応が必要となる。また BSL3 を要する取扱い、特定病原体指定など、検査担当者の異動に伴う変更を行い難い。

地方衛生研究所(以下、衛研)を中心とした地域、全国のラボネットワークの構築方法の検討により、臨床に即した迅速対応と情報発信が可能となり、患者の QOL に資することになる。

本研究では、リケッチア・レファレンスセンターの活動を通じ、リケッチア症の病原体サーベイランスに必要な実験室診断系の質的標準化、疫学情報の発信、相互信頼と連携、機能強化を目的とし、臨床現場に対応する迅速な診断、情報発信、地域

性への柔軟な対応が期待される。発生するリケッチア症は、地域によって、つつが虫病、日本紅斑熱、その両方、また発生時期等に差があるものの、現在のリケッチア症の国内での広がりを考慮すると、いずれの地域でも同レベルで確実な検出技術を有することが望ましい事から、情報共有の継続、アップデートとともに、検査現場での利便性を考慮した PCR 法等の導入を試みた。

B. 研究方法

1. 全国情報の共有の機会とレファレンスセンター担当者のスキルアップ

全国ならびにブロック毎に地域情報に関する情報交換を行い、疫学情報、診断情報の収集・分析と共有を行った。また、衛研担当者が自身のスキルアップを行うための機会として学会・研究会等への積極的な参加と発表を推し進めた。

2. つつが虫病の PCR 利便性に関する検討

56k Da の *Orientia tsutsugamushi* type-specific antigen に対する one-tube nested PCR について複数のレファレンスセンターおける導入検討を行った。

(倫理面からの配慮について)

臨床検体の取り扱いについては、各施設の検査と並行し、それぞれの施設の取り扱いによって行った。

C. 研究結果

1. 全国情報の共有

レファレンスセンター会議等を利用し、日本紅斑熱患者の増加傾向の再確認、患者発生地の拡大、死亡例の増加に加え、輸入感染症に関する情報共有を行った。また、検体採取法から実験室診断における検査法手技の確認、診断用抗原作成のための標準

株の分与等、各施設の準備状況に合わせた体制構築を進めるとともに、各ブロック内の衛研等にも必要に応じ抗原分与・技術供与等を行い、全国の診断体制維持の継続的活動を試みた。

2. レファレンスセンター担当者のスキルアップとレファレンスセンター・ブロック毎の活動

診断用抗原等の使い分けと同様に、感染源対策ならびに発生指標になる各地域に特有のベクター分布、保有リケッチア種、血清型を調査検討するための技術共有、指導、普及を各ブロックで行った。西日本ではマダニ感染症として近年注目をあびた SFTS を、東日本、北日本では新興回帰熱なども考慮し、マダニ媒介感染症全体を俯瞰できるような活動が行われた。

3. つつが虫病の PCR 利便性に関する検討 56k Da の *Orientia tsutsugamushi* type-specific antigen に対する one-tube nested PCR (投稿準備中のためプライマー配列等は未公開) について検討を行ったところ、これまで衛研等の検査現場レベルで有効とのデータが上がりつつあり、継続検討を行っている。また、最終的な PCR 産物の制限酵素切断パターンから型別も可能である。

D. 考察

リケッチア・レファレンスセンターの存在目的として、各地域の中心となり、各地域を横に繋ぐために、①標準株、分離株の維持(リスク分散)、②診断用抗原並びにPCR陽性コントロールの分担作製と供給、③実験室診断技術の相互評価(技術の維持)、④新規診断法等の相互評価(標準化)、⑤疫学情報、診断情報の収集・分析と共有、⑥緊急時のバックアップ体制、⑦検査マニ

マニュアルの作成、改訂、⑧検査技術の研修、⑨地域ごとの課題対応（調査、特定ツールの検討）、⑩その他（個々の担当者のスキルアップ）等が挙げられ、さまざまな機能が期待されている。

近年の国内におけるリケッチア症の多様性に加え、日本紅斑熱患者発生地域の拡大と患者数増加、つつが虫病におけるShimokoshi型の発生地域の拡大など、以前より知られている疾患ながら、年々情報の更新が行われ、それに合わせた検査体制の維持が重要になっている。RealTime PCRなど、従来のコンベンショナルPCR系より迅速、検査の各ステップでのコンタミネーション発生が極力抑えるための手法が導入されているものの、最終的には最低でも400bp前後の遺伝子配列を確認しないことには、リケッチアの種、血清型、遺伝子型が確定できない状況には変わりがなく、高濃度の増幅遺伝子を扱わざるを得ない環境での検査をいかに進めるかが重要である。コンタミネーションの発生しない信頼性の高い物的、人的環境を整える必要があり、このためには、基本であるものの、教育現場ではあまりその重要性が指導されず、単なるプロトコル的なマニュアルには示されない、実験室での検体の取り扱い、なぜコンタミネーションが発生するか、発生させないポイントは何かを、現場担当者に身に着けさせる必要がある。

今年度、検討を始めた one-step nested PCRも、コンタミネーションの機会を抑えるための一方法であり、コスト的にもRealTime PCRよりも安価である。検査を実施するラボの環境レベルに応じて導入検討されるものと思われる。

つつが虫病も日本紅斑熱も、リケッチア症は、有効な抗菌薬により治療可能である

にも関わらず、いまだ死に至る感染症である。レファレンスセンター等でも情報共有したように、現に今年度はこれまでにない数の日本紅斑熱の死亡例が報告（私信として未届けもあり）された。治療可能な疾患の死亡例をなくすためにも、地域特性を考慮しながらも全国情報も随時更新共有でき、適切な情報発信ができるレファレンスセンターの存在意義は高く、その維持・活動は、地域の医療と公衆衛生に大きな貢献になると考えられる。

E. 結論

国内での多様性ととともに、地域特性の強いリケッチア症の対応においては、レファレンスセンターの維持とともに、マニュアル等の既存のものから発展させられる知識・技能の蓄積をもつ経験のある衛研職員の維持と確実な技術継承が必須である。このことは、さまざまな感染症を含め、コンタミネーション等の対策やラボの信頼性を高めることにもつながる。

F. 健康危険情報

日本紅斑熱患者発生地が徐々に広がっているため、常に情報のアップデートと発信、現場対応体制の見直しが必要である。

G. 研究発表

論文発表

1. 角坂照貴, 安藤秀二. 第3章 病気を起こすダニ②ツツガムシ. 島野智之・高久元編. ダニの話. p43-52, 2016年, 朝倉書店, 東京.
2. 安藤秀二. つつが虫病. 木村哲・喜田宏編. 人獣共通感染症 第3版. p192-196, 2016年, 医薬ジャーナル社, 大阪.

3. 安藤秀二. チフス群リケッチア症. 岡岡部信彦・岩本愛吉・大西真・西條政幸・谷口清州・野崎智義・宮崎義継編. 感染症予防必携改訂3版. p573-576, 2015年, 日本公衆衛生協会, 東京.

学会発表

国内学会

1. 川森文彦, 池ヶ谷朝香, 荒畑沙織, 佐原啓二, 安藤秀二, 大橋典男. リケッチア感染症(つつが虫病, 紅斑熱)の迅速検査法体系の構築, 獣医学術学会年次大会「日本獣医公衆衛生学会」, 2月26-28, 2016年, 秋田市
2. 安藤秀二. リケッチア症の最新の検査情報と知見, 第8回日本リケッチア症臨床研究会, 1月9-10日, 2016年, 大津
3. 安藤秀二. 紅斑熱群リケッチア・つつが虫病 情報 update, 第22回リケッチア研究会, 11月28~29日, 2015年, 東京
4. 山本徳栄, 近 真理奈, 大山通夫, 大山龍也, 藤田博己, 新倉(座本)綾, 安藤秀二. 埼玉県内の野生化アライグマから採取したマダニ類(第1報), 第22回リケッチア研究会, 11月28~29日, 2015年, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

エンテロウイルスのレファレンス

研究分担者 吉田弘 国立感染症研究所ウイルス第二部

研究協力者 エンテロウイルスレファレンスセンター
(福島県衛生研究所、神奈川県衛生研究所、愛知県衛生研究所、
神戸市環境保健研究所、大阪府立公衆衛生研究所、愛媛県立衛生
環境研究所、福岡県保健環境研究所)、
インフルエンザコアサポート地方衛生研究所他有志の皆様

研究要旨 H25年度(1年目)実施したエンテロウイルス検査に関するアンケート調査に基づき、H26年度は内部精度管理技術ワークショップを実施し、マニュアル類の整備、そして制度として普及するための課題点を検討した。H27年度(3年目)は、感染症法改正(H28年4月施行)にあわせ、H26年度作成したマニュアル類を、改正された省令と整合性を取るべく作業部会にて内容を再検討した。検討した技術文書は最終的に「検査施設における病原体検査の業務管理要領」のひな形として反映されることとなった。

A. 研究目的

感染症発生動向調査事業における5類病原体定点把握疾患としてエンテロウイルス感染症(手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎)は、主に春から秋に流行し、地方衛生研究所で実施するルーチン検査の上で多くの比重を占めている。

初年度は各ブロックレファレンスセンターとの協力の下、79地方衛生研究所に対し検査体制に関するアンケート調査を行った。

うち67衛研からの回答では、エンテロウイルス検査に関する基盤的技術の研修要望が多かった。このため2年目は、検査の信頼性確保のため、地衛研職員との共同作業によりポリオウイルス(ワクチン株)を材料としたエンテロウイルス検査に関する内部精度管理に関する研修、各種関連標準作業書案作成のためのワークショップ(参加型研修)を企画・実施している。

H27年度(3年目)は、感染症法改正(H26

年11月21日公布、感染症の情報収集強化に関する事項はH28年4月施行)にあわせ、H26年度作成した各種標準作業書案を、省令と整合性を取るよう内容を検討した。

病原体検査に関連する標準作業書に記載する項目、内容について、既にH26年度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」(主任研究者 調恒明 山口県環境保健センター所長)にて報告している。

報告書では、2類感染症等、入院勧告などの行政措置が伴う検査と、病原体の流行を全国的に把握する5類定点における病原体検査を、目的に応じ質を管理することを提言の一部内容としている。

報告書に基づく提言は第10回感染症部会(平成27年5月)にて了承され、省令改正、通知が整備されることとなった。

このため5類定点把握疾患の代表として

季節性インフルエンザ検査、2 類疾患の代表としてポリオウイルス検査に必要な標準作業書の記載項目、内容を比較検討することとした。

今般、インフルエンザレファレンスコア/サポートセンターの一部有志の協力を得て、先行研究で作成した 2 類ポリオウイルス検査に関連した各種標準作業書と 5 類感染症の例として季節性インフルエンザ検査標準作業書の記載項目について比較検討を行い、ポリオについてひな形を作成することとした。

B. 研究方法

1) 作業部会開催

2015 年 8 月 10-11 日

2) 参加人数

13 名（エンテロウイルスレファレンスセンター及びインフルエンザコアサポートセンターの有志）

オブザーバー 4 名

3) グループディスカッションによる討議

ポリオウイルス検査、季節性インフルエンザ検査に関わる標準作業書案は参加者に事前送付。

作業部会では 3 班に分け、標準作業書に含める項目ごとに討論を行い、記載する内容について検討を行った。

C. 結果、

2 類検査は検査標準作業書の他に、試薬類管理、細胞維持管理、機器保守管理、検体など取り扱い管理作業書および内部精度管理作業書を別途、整備する必要性が認められ、2 類以外は検査標準作業書に、原則試薬、内部精度管理作業書以外は原則最小限必要な事項を検査標準作業書の項目の中

に記載することで妥当であるとの結論に至った(表 1, 2)。ポリオウイルス検査に必要な標準作業書案は参照資料として添付している。季節性インフルエンザ検査については調分担研究報告書を参照のこと。

D. 考察

(1) レファレンスセンター有志の協力を得て季節性インフルエンザとポリオウイルス検査の各種技術管理文書の内容を検討した。グループディスカッションによる比較検討作業により、地方衛生研究所間の検査体制の違いを共有する機会となった。

初年度のアンケート調査においてエンテロウイルス検査体制が異なることを明らかにしたが、インフルエンザ検査でも同様の結果が得られている(H25 年度厚生労働科学研究 総括・分担研究報告書「地方自治体との連携による新型インフルエンザなどの早期検出及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」)

ポリオウイルス検査は分離を基本とし、かつ 5 類手足口病等エンテロウイルス感染症とも手技など共通する面が多いこと、他方季節性インフルエンザ検査においても分離及び遺伝子検査等エンテロウイルス検査とある程度、共通する手技がある。全国調査を目的とする場合、一定の質の確保が求められることから、施設内における技術管理は望ましい。

このため人、物、予算の投入を行う必要があるが、病原体検査体制は自治体の裁量によるところが大きいいため、本研究では、現行の資源を有効活用しつつ、実務的に最小限の信頼性確保を行うための、検査体制構築を考慮した。

E. 結論

1) H27年度(3年目)は、感染症法改正(H28年4月施行)にあわせ、H26年度作成した各種標準作業書類を、省令と整合性を取るべく内容を再検討した。

2) 初年度の研究で明らかにしたように、エンテロウイルス検査体制は地衛研間で大きく異なる。全国レベルの流行状況を把握するためには、技術の標準化が望まれるが、実務的には、現状の資源を有効活用しつつ、検査の信頼性確保に努めることが妥当である。

3) このため、実務者レベルで検査体制の違いを認識、共有しつつ、検査標準作業書の内容についてグループディスカッション形式で討議した。

4) 従来、検査体制について担当者レベルで協議する機会はあまりなく、WSは検査体制の違いを共有する機会になった。

5) 研究班で扱った疾患は一部であり、こうした複数の疾患の検査体制を、施設間で横断的に討議することは必要と考えられる。

6) 検討した技術文書は最終的に「検査施設における病原体検査の業務管理要領」のひな形として反映されることとなった。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. 吉田弘, 伊藤俊之, 梅木和宣, 中嶋健介. H26年5月に実施した病原体サーベイランス等に関する調査より-地方衛生研究所における検査実施体制について 病原体検出情報 . 36 : 114-116, 2015

2. 安藤克幸, 伊藤雅, 伊東愛梨, 内野

清子, 岡山文香, 内山友里恵, 小澤広規, 北川和寛, 葛口剛, 後藤明子, 下野尚悦, 神保達也, 高橋雅輝, 滝澤剛則, 筒井理華, 中野守, 濱崎光宏, 堀田千恵美, 松岡保博, 山崎謙治, 中田恵子, 吉田弘. 平成26年度感染症流行予測調査事業ポリオ環境水調査にて検出されたウイルスについて 病原体検出情報 オンライン 2015/10/8

3. 筒井理華, 武差愛美, 坂恭平, 藤田真司, 鈴木豊, 吉田弘 エンテロウイルス D68型が検出された麻痺症状を呈する小児症例を含む2症例—青森県. 病原体検出情報 . 37:12-13, 2016.

4. Nakamura T, Hamasaki M, Yoshitomi H, Ishibashi T, Yoshiyama C, Maeda E, Sera N, Yoshida H. Environmental Surveillance of Poliovirus in Sewage Water around the Introduction Period of Inactivated Polio Vaccine in Japan. Appl Environ Microbiol. 81 : 1859-1864, 2015.

学会発表

国際学会

該当なし

国内学会

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得

該当なし

実用新案登録

該当なし

その他

該当なし

表1 疾患による標準作業書の整備 (◎は詳細、○は通常に記載)

	1類、2類、新型インフル、新感染症 (15条第4項)	季節性インフル (14条の2第3項)	3.4.5類 (15条第4項)	
検査標準作業書	◎	○	○	分担研究班にて、ポリオウイルス検査実施時を想定し項目と記載内容を検討
試薬等管理標準作業書	○			
培養細胞管理標準作業書	○			
機械器具保守管理標準作業書	○			
検体取扱標準作業書	○			
信頼性確保標準作業書	○	○	○	

表2 標準作業書の項目

(◎は詳細、○は通常に記載)

SOP記載項目	定義・内容等	2類、新型インフル、新感染症 (15条第4項)	季節性インフル (14条の2第3項)	3.4.5類 (15条第4項)
検査項目	検査の名称	○		○
検体の種類	血液、尿、咽頭ぬぐい液等を記載。	○		○
検査方法	原理	PCR法、分離・同定法等検査法を記載	○	○
	出典	SOP見直しの際に必要。	○	○
作業環境	バイオセーフティレベルの記載。実施場所(部屋番号等)を含む	○		○
試薬等に関する事項	調整法・保管	取扱手順・保管方法を記載	◎	○
	標準品/株		◎	○
検体等取扱方法	前処理		◎	○
	保管	検査までの一時保管方法を記載	◎	○
機械器具に関する事項	機器・器具	使用する機器等の種類、設置場所の詳細	◎	○
	器材(消耗品)	ピペット、チップ等必要な消耗品を記載	◎	○
	機器点検・消耗品管理	別にSOP作成	◎	○
検査/操作上の注意点		◎		○
検査の手順	検査の名称	検査の方法を列挙	○	○
	手順	列挙された方法ごとに手順を作成。	◎	○
	結果の判定	技術的な観点からの判定について記載し、臨床症状等を含め、総合的に判定。	◎	○
記録の作成要領及び保管方法	検査結果の記録要領、保管場所	○		○
検査に必要な資格	検査を実施する際に必要な研修や資格等	◎		○
作成/改訂年月日		○		○

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

real-time PCR法の利用促進に関する検討

研究分担者 駒瀬勝啓 国立感染症研究所ウイルス第3部第1室室長

研究協力者 森 嘉生 国立感染症研究所ウイルス第3部第2室長
竹田 誠 国立感染症研究所ウイルス第3部 部長

研究要旨 麻疹はWHOが排除を目指す感染症であり、麻疹排除には検査診断に基づく質の高いサーベイランス体制が求められている。麻疹排除期にはより正確な診断のためには、血清学的検査とウイルス学的検査の併用が望ましく、簡便で感度よく検査できるreal-time PCR法は麻疹検査診断ネットワークの向上に必要と考えられている。昨年度、病原体検出マニュアルを改訂し、real-time PCR法を公開した。本年度はreal-time PCR法の利用を促す事について検討した。試薬の配布やアンケートの実施等により、real-time PCR法の公開後約半年で約75%の地衛研で導入が検討された。また2015年に検査された麻疹疑い例のうちおよそ70%がreal-time PCR法によって検査されていた。これらの事はreal-time PCR が周知され、麻疹検査法として整備されつつある事を示すと考えられた。

A. 研究目的

麻疹は天然痘、ポリオについてWHOが排除を目指している感染症である。WHOは麻疹排除を「優れたサーベイランス体制が存在する下で、その地域に常在する麻疹ウイルスによる麻疹の伝播が1年間以上ない状態」と定義し、またその状態が3年間、継続している事を排除認定基準としている。麻疹排除の達成には適切なサーベイランス体制の確立が必須である。日本においては、平成25年4月に改訂された「麻しんに関する特定感染症予防指針」において、麻疹疑い患者の全数検査診断を原則とする事、また民間検査センターで実施する血清IgM検査と、地方衛生研究所(以下地衛研)で実施する遺伝子型解析を含む遺伝子検査を併用

する事を求めている。地衛研における遺伝子検査は、従来はnested RT-PCR法を用いていたが、操作が煩雑で時間がかかる事、検体間等のクロスコンタミネーションの可能性が高い事等の理由から、同等の感度で、より簡便で、多数の検体も同時に処理できるreal-time PCR法への転換を諮っていた。またWHOもnested RT-PCR法によるコンタミネーションのリスクを指摘しreal-time PCR法に基づく麻疹サーベイランス体制の確立を求めている。real-time PCR法は平成25年度の本研究班活動の一環として検討、確立し、麻疹風疹レファレンスセンター(以下レファレンスセンター)とともに評価した。本年度は麻疹検査を実際に実施している地衛研へのreal-time PCR法の導

入の促進する方法について検討を行った。

B. 研究方法

病原体検出マニュアル（以下マニュアル）を改訂し、real-time PCR法を記載した。また早期の導入の促進を諮るため、real-time PCR法に用いるプライマー、プローブ、ならびに標準RNAを73地衛研に配布した。その後、レファレンスセンターを通じて導入状況のアンケートを実施し、周知、ならびに導入を促した。また、年明けに平成27年の麻疹検査実績アンケートを実施し、real-time PCRの使用状況を調査した。

C. 研究結果

1. real-time PCR用プローブ、プライマー、標準RNAの配布
real-time PCR用、プローブ、プライマー、ならびに標準RNAを合成し、100試験相当分に分注し、73地衛研に配布した。標準RNAはRNA安定化剤であるRNA stable (Biomatrix, Inc)を加え乾燥し、冷蔵で送付した。

2. 導入状況アンケート結果
試薬配布の約5ヶ月後にreal-time PCRの導入状況のアンケートを実施した。アンケートは、プライマー、プローブ等を配布した73地衛研を対象に、レファレンスセンターを通じて行われ、すべての施設から回収された。アンケートの結果、73地衛研中、55カ所でreal-time PCRをすでに実施しているか、実施を検討していた（マニュアルに記載された方法以外の方法を含む）（図1）。また、マニュアルに従って実施した54カ所のうち、49カ所で「標準RNAを用いた系の最適化」を実施していた。うち、39カ所において、最適化条件を満たす試験

系を確立していた（図2）。

3. 平成27年の麻疹検査状況の調査

平成27年に各地衛研で実施した麻疹検査診断の状況を、レファレンスセンターを通じてアンケートを実施し、調査した。平成27年は麻疹の流行がなく、感染症発生動向に報告された麻疹症例数は35例であった。アンケートで集計された、地衛研が検査した症例数は1045症例、そのうち42症例から麻疹ウイルス遺伝子が検出された。（ワクチン株が検出された16症例を含む）。1045症例のうち、708症例についてはreal-time PCR法が用いられていた。陽性症例が、real-time PCR法によって陽性となったのか、従来のnested RT-PCRによったのかは正確には把握できなかったが、少なくとも21症例はreal-time PCR法で陽性となったと考えられた。うち11症例からはワクチン株が検出され、野生株が9症例から検出されていた（1例は鑑別不能）。

D. 考察

麻疹は、WHOが排除を目指す感染症であり、その排除認定には、検査診断に基づいた質の高いサーベイランス体制が求められている。

麻疹の検査診断は麻疹特異的IgMを検出する血清学的検査と、遺伝子検査、ウイルス分離等のウイルス学的検査に大別される。それぞれの検査法には一長一短があり、可能ならば両方法を併用する事がより正確な診断に望ましい。特に罹患者が減少した時には、検査の陽性的中率が減少し、偽陽性の割合が増加する事が知られている。麻疹の症例数が減少した現在の日本では、抗体検査と遺伝子検査が確実に実施される体制が望まれている。

地衛研で実施されているウイルス遺伝子検出法は Nested RT-PCR 法を用いていたが、操作が煩雑で時間がかかる事、クロスコンタミネーションの可能性が高い事等から、これらの欠点を減じ、さらに一度に多検体の処理が可能な real-time PCR の導入が望まれていた。麻疹 real-time PCR 法についてはすでに確立、レファレンスセンターと共同で評価を終え、平成 26 年度に改訂されたマニュアルに記載されている。本年度は real-time PCR 法を地衛研に広く周知する事に主眼をおき検討した。

Real-time PCR 法に用いるプライマーやプローブは比較的高価であり、個別にオーダーしなければならない事から、これらの試薬を配布する事が検査法確立に着手することを容易にすると考えた。そこでおよそ 100 試験分のプライマー、プローブ、ならびに標準 RNA を 73 地衛研に配布した。標準 RNA は RNA stable を加え乾燥し、冷蔵で配布したが、特に品質に関するクレームはなく、RNA を送付する簡便で適切な方法と考えられた。

アンケートの結果、試薬配布後およそ 5 ヶ月の時点で、約 75% の地衛研で real time PCR の導入を検討し、マニュアルで求めた「標準 RNA を用いた系の最適化」を開始していた。この時点で 3 回以上の「最適化」試行を行い、最適化された系を確立した地衛研は 39 カ所あった。これらから、試薬の配布、アンケートの実施が多く地衛研で導入を検討するきっかけになったと考えられた。一方、陽性だった場合、nested RT-PCR 法で遺伝子型、遺伝子配列を決定する必要がある事から、従来通り、最初から nested RT-PCR を実施する方が便利であるとする意見や、標準 RNA のコンタミネーションによる偽陽性の可能性があることから

導入に消極的な意見もあった。また、まだ最適化が十分になされていない地衛研も存在する事から、外部精度管理等を通じて系を調整していく必要があると考えられた。

2015 年の検査実績調査から、ワクチンの副反応を思われる遺伝子型 A を検出したケースが多かった。ワクチンによる副反応の場合は野生株が感染した時と比較してウイルスの増殖が少なく、ウイルス遺伝子の検出が困難な可能性が考えられるが、高い頻度でワクチン株の検出が可能だった事は real-time PCR 法の高い実用性を示したように思えた。

E. 結論

麻疹遺伝子検査法として real-time PCR 法の周知や導入を促す方法を検討した。プライマーやプローブの配布やアンケートの実施は real-time PCR 法の導入を促す効果があったと考えられた。一方、「系の最適化」が不十分である地衛研もあった。精度管理を通じで、技術の向上や検査の普及を諮り、ネットワークの機能を強化、維持し、質の高いサーベイランス体制を維持していく事が、麻疹、風疹の排除の達成、維持に必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. Sakai K, Sekizuka T, Ami Y, Nakajima N, Kitazawa M, Sato Y, Nakajima K, Anraku M, Kubota T, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Kuroda M, Takeda M. (2015) A mutant H3N2 influenza virus uses an

- alternative activation mechanism in TMPRSS2 knockout mice by loss of an oligosaccharide in the hemagglutinin stalk region. *J Virol.* 89: 5154-8.
2. Seki, F., Someya, K., Komase, K. and Takeda, M. (2016) A chicken homologue of nectin-4 functions as a measles virus receptor, *Vaccine.* 34(1):7-12.
 3. 竹田誠、駒瀬勝啓、麻疹排除へ向けて、化学療法の領域 31:1326-32 (2015)
 4. 竹田誠、駒瀬勝啓、近年の歩みとこれからの課題、生体の科学 66:309-12 (2015)
 5. 駒瀬勝啓、染谷健二、竹田誠、麻疹検査診断の現状、病原微生物検出情報 36:59-60 (2015)
 6. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠、海外の麻疹の状況-2014年のWPR、EUR、AMRの状況、病原微生物検出情報 36:68-70 (2015)
 7. 駒瀬勝啓、日本の麻疹の状況と麻疹排除の進捗、モダンメディア 61(4):81-90 (2015)
 8. 駒瀬勝啓、欧米における麻疹の状況と日本の麻疹排除の維持、感染炎症免疫 45(3): 86-8 (2015)
- 学会発表
国際学会
1. なし
- 国内学会
1. 駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹排除の進捗状況- 流行ウイルスの解析による評価 - 第 56 回日本臨床ウイルス学会学術集会 平成 27 年 6 月 13 日~14 日 岡山
 2. Kouji Sakai, Yasushi Ami, Tsuyoshi Sekizuka, Minori Kitazawa, Katsuhiko Nakajima, Masaki Anraku, Noriko Nakajima, Katsuhiko Komase, Kazuaki Takehara, Hideki Hasegawa, Masato Tashiro, Makoto Kuroda, Makoto Takeda, Molecular determinants of proteolytic activation of respiratory Ortho- and Paramyxoviruses *in vivo*, 第 14 回あわじしま感染症・免疫フォーラム 平成 27 年 9 月 8 日~11 日 淡路島
 3. 竹田誠、酒井宏治、網康至、北沢実乃莉、中島勝紘、SANGSRIRATANAKUL Natthanant, 安楽正輝、中島典子、駒瀬勝啓、竹原一明、長谷川秀樹、田代真人、A natural host animal model revealed the essential role of the host protease TMPRSS2 for respiratory paramyxovirus pathogenicity, 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 平成 27 年 11 月 22 日~24 日 福岡
 4. Kouji Sakai, Tsuyoshi Sekizuka, Yasushi Ami, Minori Kitazawa, Katsuhiko Nakajima, Noriko Nakajima, Masaki Anraku, Katsuhiko Komase, Kazuaki Takehara, Hideki Hasegawa, Masato Tashiro, Makoto Kuroda, Makoto Takeda, The stalk oligosaccharide of influenza A virus hemagglutinin protein modulates protease specificity for virus activation and pathogenicity. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 平成 27 年 11 月 22 日~24 日 福岡
 5. 關文緒、染谷健二、田原舞乃、中津祐一郎、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠、ニワトリ nectin-4 の同定と初代鶏胚繊維芽細胞への麻疹ウイルス感染における役割、第 63 回日本ウイルス学会学術集会 平成 27 年 11 月 22 日~24 日 福岡

6. 駒瀬勝啓、大園強、緑川圭、三柴雅昭、渡辺創、永田明義、梅木和宣、竹田誠、麻疹 IgM EIA キットの改良が麻疹排除に与えたインパクト、第 18 回日本ワクチン学会学術集会 平成 27 年 11 月 14 日～15 日 犬山

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

特許取得
特記事項なし
実用新案登録
特記事項なし
その他
特記事項なし

図1. アンケート結果(1)
real-time PCRの導入の検討について

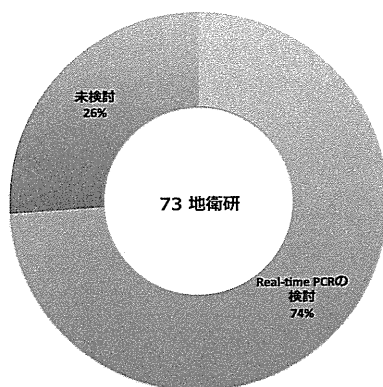
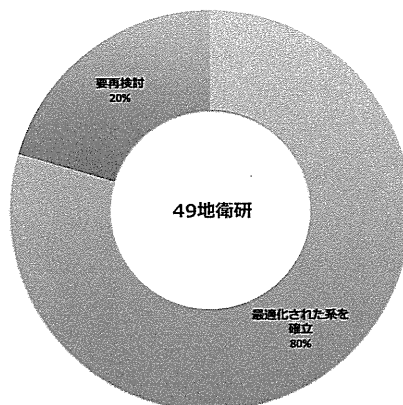


図2. アンケート結果(2)
系の最適化について



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

百日咳レファレンスセンター

研究分担者	蒲地一成	国立感染症研究所	細菌第二部
研究協力者	平松征洋	国立感染症研究所	細菌第二部
	大塚菜緒	国立感染症研究所	細菌第二部
	森内 巧	国立感染症研究所	細菌第二部

研究要旨 百日咳病原体サーベイランスの精度向上を目的に、地方衛生研究所を対象にレファレンスの整備・配布を行った。平成27年度は11施設に12件の検査キットを配布するとともに、昨年度に引き続き百日咳菌の国内病原体サーベイランスを実施した。その結果、定着因子パータクチンの欠損株は国内では減少傾向にあること、さらに2010~2015年の臨床分離株（n=78）はすべてエリスロマシン感性菌（MIC, <10 µg/mL）であることが判明した。

A. 研究目的

百日咳は小児の急性呼吸器感染症であり、主な起 因 菌 は 百 日 咳 菌 *Bordetella pertussis* である。近年ではワクチン効果が減弱した青年・成人の罹患者の増加が認められている。百日咳様疾患を引き起こす病原体として百日咳類縁菌（パラ百日咳菌, *Bordetella holmesii*）と *Mycoplasma pneumoniae*, その他に呼吸器系ウイルスが挙げられるが、臨床症状からこれらの病原体を鑑別することは困難である。百日咳の正確な診断には遺伝子検査が有用であり、アウトブレイクなどの病原体検索では必須の検査法となっている。現在、米国では菌培養検査や血清学的検査に代わり遺伝子検査が百日咳の標準検査法となっている。

百日咳菌は種々の定着因子を産生するが、多くの先進国で定着因子パータクチン（Prn）の欠損株が認められている。Prn 欠損株は精製百日せきワクチンを導入した国で出現が認められており、米国では臨床分離株の 85%を占めるまでになっている。

精製百日せきワクチンは感染予防抗原として Prn を含むことから、Prn 欠損とワクチン有効性との関係が世界的に論議されている。そのため、本菌の発生動向には継続した監視が必要となっている。また、中国ではマクロライド高度耐性の百日咳菌が出現し、2013~2014 年には臨床分離株の 9 割以上を占めた。わが国ではこれまでにマクロライド耐性菌の報告例は無いが、Prn 欠損株と同様にその発生動向には注意が必要である。

百日咳レファレンスセンターでは、百日咳検査の精度向上を目的に遺伝子検査キットを含むレファレンスの整備・配布を行っている。また、レファレンス活動として百日咳病原体サーベイランスを地方衛生研究所とともに実施している。本研究では、昨年度に引き続きレファレンスの整備・配布ならびに Prn 欠損株とマクロライド耐性菌の国内流行調査を行った。

B. 研究方法

1. レファレンス関係

B. holmesii-LAMP は既報に従ってキット化し、48 試験分を 1 キットとした。百日咳菌、パラ百日咳菌、*B. holmesii*、*M. pneumoniae* を標的とする 4Plex リアルタイム PCR (ver.3.2, 4Plex-RT キット) はプレミックス、混合プライマー&プローブ、ROX reference dye、4 菌種に対する陽性コントロール DNA をキット化した。国立感染症研究所から供与可能なレファレンスとして衛生微生物技術協議会などでアナウンスを行い、分与依頼を受けて配布した。

2. Prn 欠損株の流行調査

地方衛生研究所および国内医療機関に百日咳臨床分離株の分与を依頼し、2015 年の国内分離株 18 株を収集した(感染研での分離株を含む)。菌体から全タンパク質を抽出し、抗 Prn 抗体を用いたイムノブロット解析に供試した。Prn 欠損が確認された菌株はシーケンス解析に供試し、その欠損機構を解析した。

3. マクロライド耐性菌の調査

2015 年の国内臨床分離株 18 株について、エリスロマイシン (EM) に対する MIC を測定した。MIC が未測定であった 2000~2014 年の臨床分離株についても同時に実施した。MIC は E-test (BG 培地) または EM (0.1 µg/mL) を含む CSM 培地で測定し、E-test は常法に従って判定した。CSM 培地では菌増殖が認められなかったものを MIC <0.1 µg/mL と判定した。なお、中国で分離されたマクロライド高度耐性菌は、エリスロマイシンに対し 256 µg/mL 以上の MIC を示すことが報告されている (Yang *et al.*, PLOS ONE, 2015)。

C. 研究結果

1. レファレンスの配布

平成 27 年度は地方衛生研究所 11 施設に *B. holmesii*-LAMP キット 2 件、4Plex-RT キット 10 件を配布した (表 1, 平成 28 年 1 月現在)。conventional PCR に使用する陽性コントロール DNA の配布は 0 件であった。

2. Prn 欠損株の流行調査

図 1 に 2000~2015 年における Prn 欠損株の分離率を示した。Prn 欠損株は百日咳流行があった 2008~2009 年に一時的に分離率が低下し、2010~2011 年に再度分離率が上昇した。その後は分離率が減少し、2014~2015 年は 10% を下回った。2015 年に分離された Prn 欠損株は 3 株であり、2 株はこれまでと同様に *prn* シグナル配列 (87 bp) の欠損であった。残り 1 株は挿入配列 IS481 による遺伝子破壊 (*prn246::IS481*) であったが、これまでの挿入位置 (*prn1599::IS481*) とは異なる位置に遺伝子破壊が認められた。この挿入位置は欧米の Prn 欠損株に多く認められており、本菌も欧米株と等しい遺伝子型 MT27 を示した。

3. マクロライド耐性菌の調査

2015 年の国内臨床分離株 18 株はすべて EM 濃度 0.1 µg/mL 未満の MIC を示した (表 2)。2010~2014 年の臨床分離株 60 株もすべて EM 感受性を示し、マクロライド耐性菌は不検出であった。

D. 考察

百日咳レファレンスセンターでは遺伝子検査の拡充・整備を進め、平成 26 年度から新たな遺伝子検査キットである 4Plex-RT キット (ver.3.2) の配布を開始した。今年度は 10 件の 4Plex-RT キット、2 件の *B. holmesii*-LAMP キットを地方衛生研究所に配布した。遺伝子検査キットは昨年度と

同様な配布実績を示したことから、今後も継続して検査キットの配布を行う必要性がある。なお、レファレンス活動として4Plex-RTを用いた国内病原体サーベイランスを実施したところ、国内の百日咳菌感染者は乳児以外に10歳代が多いことが確認された。

Prn 欠損株の流行調査により、わが国では近年 Prn 欠損株の分離率が減少していることが確認された。これまで Prn 欠損株は遺伝子型 MT186 に多く認められていたが、2000 年以降 MT186 が減少し、一方、Prn を発現する MT27 が増加した。このことから、Prn 欠損株の分離率減少に流行株の変化が関与した可能性が示唆された。MT27 は欧米の流行株に多く認められることから、近年日本の流行株は欧米型への入れ替わりが生じている。ただし、この遺伝子型の変化を引き起こす選択圧は解明されておらず、今後の検討課題となる。欧米では Prn 欠損株が現在も高い頻度で分離されていることから、今後も本菌の発生動向には継続した監視が必要である。

中国では北京を含む北東部でマクロライド高度耐性百日咳菌が高頻度に分離され、医療現場では重大な問題となっている。欧米ではマクロライド耐性菌が散発的に認められているが、中国では2013~2014年の臨床分離株の9割以上がマクロライド高度耐性を示した。わが国ではこれまでマクロライド耐性菌の報告例はなく、今年度の調査でも耐性菌は検出されなかった。ただし、今後他国から流入する可能性は否定出来ないため、百日咳レファレンス活動として国内臨床分離株の収集と薬剤耐性のモニタリングを継続して進める必要がある。

E. 結論

地方衛生研究所を対象に百日咳遺伝子検査キット(12件)の配布を行った。また、百日咳菌の国内臨床分離株を解析し、わが国では Prn 欠損株が減少傾向にあること、近年の臨床分離株はすべてマクロライド感性菌であることを確認した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. Kamachi K, Yoshino S, Katsukawa C, Otsuka N, Hiramatsu Y, Shibayma K. Laboratory-based surveillance of pertussis using multitarget real-time PCR in Japan: evidence for *Bordetella pertussis* infection in preteens and teens. *New Microbes New Infect.* 8:70-74, 2015.
2. 大塚菜緒, 蒲地一成. 百日咳の国際動向と検査法・ワクチンの問題点. *感染・炎症・免疫.* 45:46-56, 2015.

学会発表

国際学会

1. Kamachi K. Molecular epidemiology of *Bordetella pertussis* in Asia. The 12th Japan-Taiwan Symposium on Emerging and re-emerging infectious diseases. Sept. 11, 2015, Tokyo, Japan.

国内学会

1. 平松征洋, 齋藤桃子, 大塚菜緒, 渡邊峰雄, 柴山恵吾, 蒲地一成. BipA is an autoagglutination inhibitor required for biofilm formation in *Bordetella*

holmesii. 第89回日本細菌学会総会. 3
月23-25日, 2016年, 大阪.

なし
実用新案登録

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

なし
その他
なし

特許取得

表1. 平成27年度のレファレンス関係の配布実績 (平成28年1月現在)

品目		件数	地研数
レファレンス	百日咳菌 DNA	0	0
	百日咳類縁菌 DNA (パラ百日咳菌, <i>Bordetella holmesii</i>)	0	0
検査キット	<i>Bordetella holmesii</i> -LAMP	2	2
	4Plex リアルタイム PCR キット (ver.3.2)	10	9

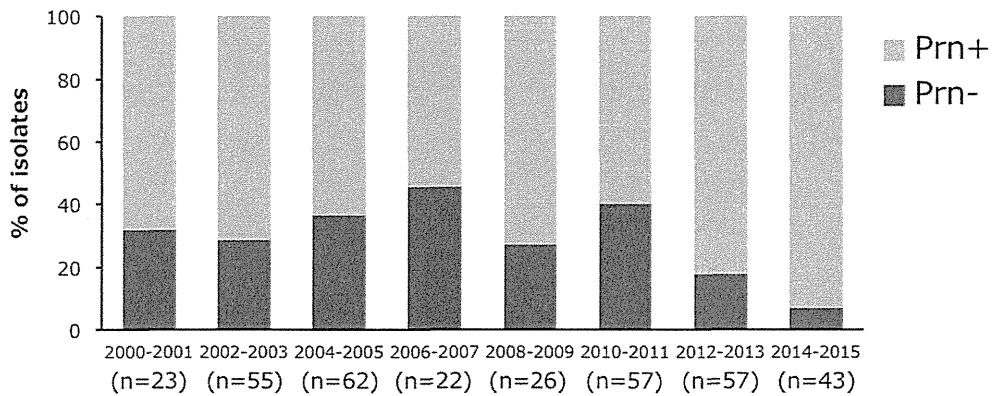


図1. 日本における百日咳菌 Prn 欠損株の分離状況 (2000~2015年)
2015年の臨床分離株 18株のうち3株が Prn 欠損株, 15株が Prn 発現株であった

表2. 百日咳菌のエリスロマイシン感受性試験 (2010~2015年国内臨床分離株)

臨床分離年	解析菌株数	マクロライド耐性菌*
2010~2012	20	0
2013	12	0
2014	28	0
2015	18	0

* <0.1 µg/mLまたは10 µg/mL EM

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

結核菌型別分析における精度保証

研究分担者 御手洗聡 公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌部

研究協力者 村瀬良朗 公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌部結核菌情報科

研究要旨 地域あるいは集団における結核菌の感染動態を調査するため、多くの地方衛生研究所では結核菌のVNTR型別解析法が導入されている。2014年度に実施されたVNTR解析の外部精度評価（External Quality Assessment: EQA）では、一部に精度不十分な状況が認められ、さらなる分析精度向上の必要が考えられた。そこで、2015年度は内部精度管理（Internal Quality Control: IQC）用検体を配布することでIQCの実施を支援するとともに、2回目のEQAを実施した。本邦で結核菌型別によく用いられているJATA（12）のローカセットによる3株の分析では、2014年度と比べて2015年度はより多くの施設から正答と完全一致の結果が報告された（分析結果が完全一致した施設の割合：66.7% [36/54] vs. 92.0% [46/50], $p=0.002$ ）また、2014年度のEQAで成績の悪かった5つのローサイにおいても高い正答率（99–100%）が示された。地域におけるVNTR情報の蓄積や他施設との情報共有を推進するためには精度保証（Quality Assurance: QA）が重要であり、分析精度の維持と向上を支援する継続的な活動も必要と考えられる。

A. 研究目的

近年、結核菌の疫学的感染動態を把握する上で、遺伝子型別技術が重要な役割を果たしつつあることはよく知られている。この遺伝子型別技術には様々なものがあるが、地方衛生研究所を中心に国内で実地疫学的によく利用されているのはVNTR（Variable Number of Tandem Repeat）である。VNTRは結果が数値（デジタル）であり、自治体間でデータを容易に共有・比較できることが大きな利点である。そのためには、解析精度の信頼性の確保（精度保証）が必要であり、実践的な観点からは外部精度評価の実施が有用である。2014年度、本邦で初めて実施された結核菌VNTR分析における外

部精度評価では、結核菌3株をJATA（12）-VNTR法で分析した場合に全ローサイが完全一致した施設が66.7%（36/54）であり、分析精度改善の必要性が示されている。

そこで、2015年度は各施設における内部精度管理の実施を支援するとともに、2014年度に引き続いて2回目となる外部精度評価を実施することとした。

B. 研究方法

用語の規定

精度保証（Quality Assurance: QA）は検査精度の永続的維持と改善を目的とした監視評価活動であるが、その因子として内部精度管理（Internal Quality Control: IQC）と外

部精度評価（External Quality Assessment: EQA）及びトレーニング（Training: TA）を有している。今回それぞれの呼称・日本語訳として上記を用いる。

参加施設の募集

衛生微生物技術協議会レファレンス会議の各ブロックの代表を通して VNTR に関する内部精度管理用検体の配布及び外部精度評価への参加希望を募った。

参加施設へ送付した検体：

① 外部精度評価用結核菌 DNA（※）

精製した結核菌の DNA 3 検体（3 株）を外部精度評価用検体として使用した。

② 内部精度管理用結核菌 DNA（※）

コピー数既知の結核菌 4 株（臨床分離株 3 株+H37Rv 1 株）の DNA を内部精度管理用 DNA として希望施設に配布した。これらを、コピー数を同定するための汎用コントロール検体とした。

（※）今回送付する菌株 DNA は結核予防会結核研究所抗酸菌部及び神戸市環境保健研究所で実施した VNTR 解析において、一致した VNTR プロファイルを示した菌株であり、その一致した評価を基準として解析した。また、PCR 反応が良好であることを両機関で確認した。

③ 内部精度管理用 VNTR ステップラダーマーカー

2014 年度の外部精度評価において特に成績の悪かった試験領域（1955, 3336, QUB26, 4156, 2163a）について、コピー数既知の DNA フラグメントを混和した VNTR ステップラダーマーカー（図 1）を結核研究所内で作製し、希望施設へ配布した。このマ

ーカーはアガロースゲル電気泳動用であり、電気泳動における解像度の確認およびコピー数を換算する際の参照試料として施設内改善活動（IQC）に用いることができる。

④ QIAxcel 用 VNTR マーカー

2014 年度の外部精度評価において QIAxcel（QIAGEN）を使用していた施設を中心に、今回（2015 年度）試験的に作成し VNTR マーカー（QIAGEN）を配布した。このマーカーは QIAxcel 専用であり、QIAxcel にてコピー数を同定する際の参照試料として用いることができる。

試験領域（使用ローカス）：

JATA 12、JATA 15、Supply 15 に含まれるローサイ、および HV（Hypervariable Regions/ 超過変領域: 3232, 3820, 4120）を評価対象とした。基本的に JATA 12 を最小実施単位とし、その他をオプションとした。

外部精度評価の実施：

各施設は VNTR 分析結果報告シートを用い、施設名、PCR 産物の分析法、VNTR 分析結果をチューター（結核研究所・村瀬良朗）へ電子メールにて送付し、結核研究所内で集計・分析を実施した。

C. 研究結果

1. 内部精度管理用検体の提供と外部精度評価の実施

全国の 79 施設を対象に、内部精度管理用検体の配布及び外部精度評価参加についての希望を調査した。内部精度管理用結核菌 DNA（4 株）については 53 施設、アガロースゲル電気泳動用 VNTR ステップラダーマーカーについては 45 施設から配布希望があり、全ての希望施設に配布した。また

QIAxcel 用 VNTR マーカーを 6 施設に配布した。外部精度評価は 53 施設が参加した。2016 年 2 月 5 日時点で 50 施設から分析結果が送付されており、この分析結果を対象として全体評価を実施した。

2. 各施設における VNTR 分析に利用しているローカセット

VNTR 分析システムには、JATA (12)、JATA (15)、HV 及びその他のローサイ (Supply[15]分析システムに含まれる)がある。今回の外部精度保証では最低限 JATA (12) での分析を依頼した。その他に JATA (15) (JATA[12]に追加 3 ローサイ)、HV は 3 ローサイ、他に Supply らの 6 ローサイなどが分析対象ローサイとして想定されるため対応した報告様式を準備した。2015 年度に各分析システムを利用していた施設数は、JATA (15)、HV、Supply らのローサイが、それぞれ 34、28、15 であり 2014 年度とほぼ同様の傾向であった (図 2)。

3. 外部精度評価用検体を JATA (12) 分析した場合の正答施設数

各施設で 3 株の外部精度評価用検体を JATA (12) で分析した場合、全株 12 ローサイ完全正答したのは 46 施設 (92%, 46/50)、1 ローカセット違いは 1 施設 (2%, 1/19)、2 箇所以上違いは 3 施設 (6%, 3/50) だった (表 1)。全ローサイ完全一致した施設の割合は 2014 年度と比べて 2015 年度では有意に高かった (66.7% vs. 92.0%, $p=0.002$)。

4. PCR 産物のサイズ測定方法

PCR 産物のサイズ測定のための方法として、アガロースゲル電気泳動、自動シーケンサーを用いたフラグメント解析、マイクロチップ電気泳動装置 (マルチナ、島津製

作所)、キャピラリー電気泳動装置 QIAxcel (QIAGEN)、キャピラリー電気泳動装置 (コスモアイ、日立製作所) などが各施設で採用されていた。2015 年度の調査では 2014 年度と同様に、アガロースゲル電気泳動による分析を行っている施設が最も多かった (66.0%, 33/50)。次いで自動シーケンサーを用いたフラグメント解析が 10 施設 (20%, 10/50)、マルチナと QIAxcel を使っている施設が各 3 施設 (6.0%, 3/50) であった。また 1 施設 (2.0%, 1/50) がコスモアイを利用して分析していた (表 2)。

5. 各分析法におけるローカセットの正答率

PCR 産物の分子量分析法の違いごとに、JATA (12)、JATA (15)、HV、Supply における正答率をまとめた (表 3)。正答率は、ローカセットの分析を実施した施設の成績を集計することで算出した。

2014 年度と比べると 2015 年度はいずれの分析法においても全体的に高い正答率であった。10 施設で用いられていた自動シーケンサーは全てのローカセットで正答率 100%であった。最も多くの施設で採用されていたアガロースゲル電気泳動法は、一部の施設 (2/15) で誤回答があったため HV の正答率が 97%であったが、その他のローサイでは良好な正答率 (99.7-100%) であった。マルチナ、QIAxcel はそれぞれ 3 つの施設で採用されており、一部施設ではアガロースゲル電気泳動が併用されていた。実施施設数が少ないものの、JATA (12) については高い正答率であると考えられた。QIAxcel の JATA (15)、HV については正答率が低い施設があった。

6. 各ローカセットの正答率の比較

分析ローカスごとの正答率を比較した(図3)。2014年度は5つのローサイ(1955, 3336, 4052, 4156, 2163a)で正答率が低かった(77-96%)が、2015年度の調査ではいずれのローカスでも99-100%であり、高い正答率を示した。尚、2014年度の成績が最も悪かった2163aローカスでは、2014年度は3株中1株が2163a欠損(PCR増幅されない)であり、2015年度は3株すべてコピー数測定可能な株を採用したという違いがあり、正答率に影響を与えた可能性がある。

D. 考察

2015年度は、2014年度の外部精度評価成績に基づいて内部精度管理用検体の提供と2回目の外部精度評価を希望施設に対して実施した。

PCR産物の分子量測定法については、2014年度と同様に2015年度の調査でも最もシンプルなアガロースゲル電気泳動が主要な分析法として66%(33/50)の施設で用いられていた。正確な測定が期待できる自動シーケンサーについては、採用する施設の割合が13.0%から20.0%へ増加傾向が見られた。これら二つの主要な分析法について分析精度を比較すると、自動シーケンサーの採用施設ではJATA(12/15)、HV、Supplyらのローサイの全てで100%の正答率が報告されており、分析精度が極めて高い結果となった。一方、アガロースゲル電気泳動の採用施設についても、2014年度と比べると正答率が改善しており、JATA(12)、JATA(15)、Supplyらのローサイでは高い正答率(99.7%、100%、100%)であった。しかしながら、HVローサイについては正答率が97.0%であり、自動シーケンサーよりも正答率が低かった。自動シーケンサーの導入を検討している施設が一定数あると思われる

ため、導入に際して技術支援の在り方について検討する必要があると考えられた。マルチナ及びQIAxcelはそれぞれ3施設で採用されており、一部施設ではアガロースゲル電気泳動が併用されていた。実施施設数が少ないものの、JATA(12)については高い正答率であった。

VNTR分析に利用されているローカスセットの調査では、JATA(15)、HV、Supplyらの6ローサイを分析している施設数が、それぞれ34、28、15であり、HVを分析対象とした施設の割合が2014年度より若干上昇していた(51.9 vs 56.0)。この上昇は、主にHVローサイの測定に適した自動シーケンサーを採用する施設の割合が増加したためと考えられた。今後、自動シーケンサーが普及することによって、HVローサイを分析対象とする施設が増加する可能性がある。

2014年度と比較して、2015年度はVNTR分析における正答率の改善が確認された。2014年度と2015年度の違いとしては、2015年度は内部精度管理用の検体を配布したことが挙げられる。2014年度の外部精度評価ではJATA(15)のうち10ローサイでは分析精度が高かった(98-100%)が、残りの5ローサイでは分析精度が劣って(77-96%)おり、コピー数を同定する過程に問題があることが示唆された。そのため、これら5ローサイのコピー数を同定するための基準となるラダーマーカークラウドやコピー数既知株のDNAを配布し、各施設における内部精度管理の実施を支援した。こうした内部精度管理用検体の提供が分析精度の向上に役立った可能性がある。また、VNTR外部精度評価が2回目となったため、分析担当者の習熟度が向上したことが影響した可能性も考えられる。外部精度評価用検体については、

2014年度は幾つかの施設から PCR 増幅不良の報告があったが、2015年度は無かったため、検体 DNA の品質による影響も考えられた。今後の精度保証については、評価株数を増やすことに加え、日常分析業務で遭遇するイレギュラーな検体（一部ローカスの欠損株や複数コピー数が検出される株など）を評価対象に加えることを検討する必要がある。

2014年度、2015年度の外部精度評価により、本邦において VNTR 分析系が適切に導入されつつあることが確認された。結核分子疫学調査では、VNTR 情報を継続的に蓄積し、必要に応じて自治体間で情報共有する必要がある。そのためには VNTR 分析の精度保証は必須であり、今後も分析精度の維持と向上を支援する活動が必要と考えられる。

E. 結論

国内結核菌型別に用いられている JATA (12) のローカセットによる 3 株の分析では、2014年度と比べて 2015年度は多くの施設から正答と完全一致する結果が報告された。また、2014年度の外部精度評価で精度不良を認めた 5 つのローサイにおいても高い正答率 (99-100%) が示された。VNTR 情報の蓄積と他施設との情報共有を推進するためには精度保証が重要であり、分析精度の維持と向上を支援する継続的な活動が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

結核菌株の取扱については、感染症法の基準に適合した実験室内で実施した。

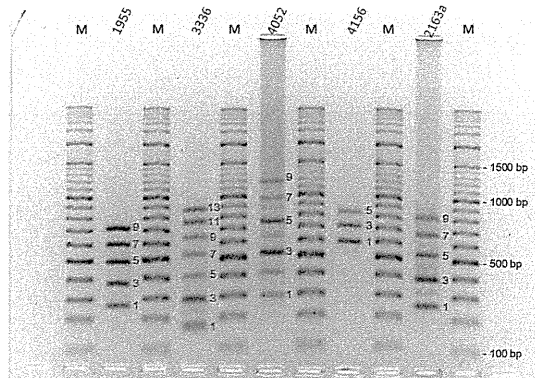
G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

図1. アガロースゲル電気泳動用VNTRステップラダーマーカー



5つのローサイについて奇数コピー数のDNA断片を混和したマーカーを作製し、希望施設に配布した。図は2%アガロースゲル電気泳動像であり、各施設においてゲル分離能や分子量からコピー数へ換算する過程を確認することができる。M:100bpラダーマーカー

図2. VNTR分析システムと報告施設数

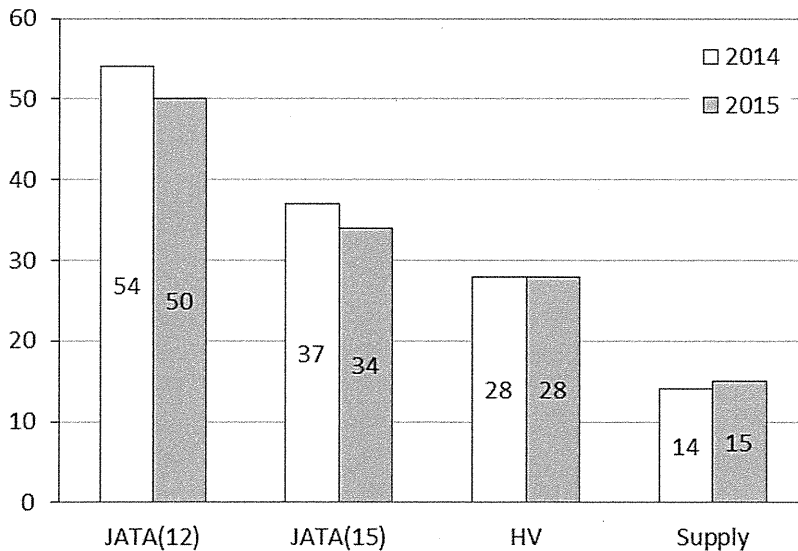


表1. 3株をJATA(12)で分析した場合の正答施設数

	2014 施設数 (54施設中の割合)		2015 施設数 (50施設中の割合)	
	全ローサイ完全一致	36施設	66.7%(36/54)	46施設
1ローカス違い	7施設	13.0%(7/54)	1施設	2%(1/50)
2カ所以上違い	11施設	20.3%(11/54)	3施設	6%(3/50)

表2. 分子量の分析方法と報告施設数

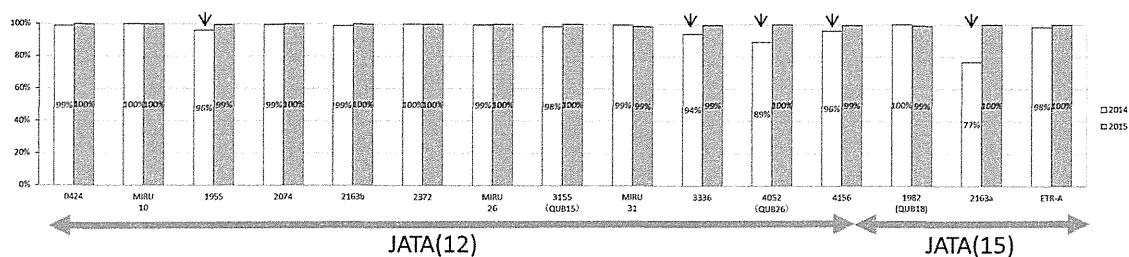
分析方法	2014年度		2015年度	
	実施施設数	割合 %	実施施設数	割合 %
アガロースゲル	37	68.5%	33	66.0%
自動シーケンサー	7	13.0%	10	20.0%
マルチナ	4	7.4%	3	6.0%
QIAxcel	4	7.4%	3	6.0%
コスモアイ	2	3.7%	1	2.0%
Total	54	100.0%	50	100.0%

表3. 各分析法におけるローカセットの正答率

分析法	JATA(12)		JATA(15)		HV		Supply	
	n	正答率(%)	n	正答率(%)	n	正答率(%)	n	正答率(%)
アガロースゲル	33	99.7	21	100	15	97	5	100
自動シーケンサー	10	100	9	100	10	100	9	100
マルチナ	3	100	1	100	1	100	1	100
QIAxcel	3	99.1	2	94.4	2	66.7		
コスモアイ	1	100	1	100				

n: 各分析法による報告施設数

図3. 各ローカスにおける正答率



主要な分析法であるJATA(12/15)各ローカスにおける正答率を2014年度と2015年度と比較した。2015年度は全てのローカスで高い正答率(99%-100%)であった。矢印は2014年度の正答率が悪かったためアガロースゲル電気泳動用VNTRマーカーの作成対象とした5つのローカスを示す。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

動物由来感染症レファレンスセンター 平成27年度活動報告

研究分担者 森川茂 獣医科学部長
研究協力者 木村昌伸 獣医科学部 主任研究官
今岡浩一 獣医科学部 第一室長
奥谷晶子 獣医科学部 主任研究官
井上智 獣医科学部 第二室長

研究要旨 衛生微生物協議会の動物由来感染症レファレンスセンターに所属している7箇所に加えて12箇所の計19箇所の地方衛生研究所の参加協力のもと、平成27年度は「重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の各種動物の血清疫学を行うためのELISA系の配布と外部品質保証（EQA）を実施した。その結果、参加19箇所のうち試験実施できた18箇所のうち14箇所では感染研とほぼ同等の成績が得られた。低感度或いはデータ不良により良好な成績が得られなかった1箇所に関しては研修を実施予定である。多くの地方衛生研究所で、各自治体の動物の血清疫学を実施可能であることが明らかとなった。

A. 研究目的

衛生微生物協議会の動物由来感染症レファレンスセンターに所属している7箇所の地方衛生研究所において、重要な動物由来感染症に関して検査法、検出法等の標準化を行うことを目的とする。一昨年度には、PCRの「炭疽菌芽胞換算の検出感度評価」を行い、全ての参加衛生研究所においてPCR検査が正常に実施可能であることを確認した。昨年度は、狂犬病の検査ネットワーク構築と検査系の検証および標準化を参加7箇所に加えて16箇所の地方衛生研究所を対象に、狂犬病のNAT（遺伝子検査試験）を実施した結果、いずれもPCR検査が正常に実施可能であることを確認した。本年度は、アンケート調査を行なった結果、SFTSウイルス抗体を各種動物から検出するELISA法のキット配布と外部品質保証（EQA）を行うこととなった。

B. 研究方法

1. アンケート調査

これまで、動物由来感染症レファレンスセンターでは、野兔病、ブルセラ症、狂犬病、炭疽の病原体診断法の標準化とEQAを各年1つの動物由来感染症を対象に実施してきた。そこで、参加7衛生研究所に、案1）これまで実施してきた重要な動物由来感染症の診断、検査法が一巡したので、4年前に実施した野兔病の検査法のEQA等を行う、案2）重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の各種動物の血清疫学を行うためのELISA系の供与と外部品質保証（EQA）を行う、のいずれを希望するかをアンケート調査した。また、アドホックで参加したい地衛研の有無に関して、各参加衛生研の所属ブロック内で希望調査を依頼した。

2. SFTSV 抗体検査 ELISA 用抗原、試薬、陽性対照血清、パネル検体（陽性、陰性を含む）、プロトコールの配布と EQA

ELISA 抗原には、SFTS ウイルス感染 Huh 7 細胞ライセートと陰性対照抗原として非感染細胞ライセートを約 1,000 検体検査分、二次血清、基質、ブロッキング剤は、感染研で評価し動物の SFTS ウイルス抗体の血清疫学調査に使用している ImmunoPure® Protein A/G Peroxidase Conjugated (Thermo Fisher Scientific)、ABTS Tablet 及び ABTS buffer (Roch)、Blocking-one (Nacalai Tesque) を 100 検体分程、SFTS ウイルス抗体陽性対照血清 1 検体とパネル血清（SFTS ウイルス抗体陽性、陰性を含む）11 検体と ELISA のプロトコールを配布した。参加衛研でプロトコールに準じて ELISA を実施し、陽性対照血清の OD 値、パネル血清（陽性、陰性を含む）11 検体の OD 値及び判定結果を感染研で集計することにより EQA を行なった。

C. 研究結果

1. アンケート調査

参加 7 衛生研究所に、案 1) これまで実施してきた重要な動物由来感染症の診断、検査法が一巡したので、4 年前に実施した野兔病の検査法の EQA 等を行う、案 2) 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の各種動物の血清疫学を行うための ELISA 系の供与と外部品質保証 (EQA) を行う、のいずれを希望するかをアンケート調査した結果、案 1) が 1 地衛研、案 2) が 6 地衛研であったため、案 2) を採用することとした。そこで、アドホックで参加したい地衛研を調査した結果、12 地衛研が参加希望であったため、合計 19 地衛研が参加して、SFTSV 抗体検出 ELISA 系の配布とパネル血清に

よる EQA を実施した。

2. SFTSV 抗体検査 ELISA 用抗原等の配布と EQA

配付した抗原や二次血清など冷凍保存が必須の物があるため、ドライアイス詰めで冷凍宅配便で送付した。参加した地衛研に受領時にドライアイスが残存しているか、ない場合には凍結状態が保たれているかを確認したところ、4 地衛研でドライアイスが残存していなかったが凍結状態であったとの連絡を受けた。14 地衛研では、ドライアイスが残存していた旨連絡を受けた。1 地衛研からは連絡がなかった。その他、試薬等の再送を行なったのが 2 地衛研あった。

ELISA の成績は、最終的に、感染研とほぼ同等の成績が得られたのが 14 地衛研、有意に感度が低い成績であったのが 3 地衛研、データ不良で判断不能が 1 地衛研、回答なしが 1 地衛研であった (表 1)。当初は低感度の成績であったが、試験法の問題点がないか等を試験担当者とメールで確認して再試験を行なった結果、良好な成績になった地衛研が 3 箇所あった。しかし、感度が低い成績であった 1 地衛研に関しては、メールによるやりとり等で再試験を行なったが改善しなかったため、感染研で年度内に研修を行う予定である。

D. 考察

凍結資料の送付に関しては、ドライアイスを同封しても遠方の地衛研では配送に日数を要してドライアイスが消失してしまうことがわかった。今回のように冷凍宅配便との併用が必須であることがわかった。

多くの地衛研ではリアルタイム PCR 等の NAT は幅広く実施しているが、血清診断に関しては、行っていないか経験したこ

とがない地衛研があることがわかった。ELISA リーダに関して 10 年以上保守を行っていない等の機器の保守問題がある地衛研があった。複数台所有しているため、使用可能な ELISA リーダがある場合もあった。また、基質の反応時間を延長することで、感染研と同等の感度に合わせることができた地衛研もあった。最終的に参加した 19 地衛研のうち、14 地衛研に関しては EQA により動物からの SFTSV 抗体検出が問題なく出来るところが確認された。SFTS は野生動物等での抗体保有率が急激に上昇したり、高率に陽性である場合に患者発生していることがこれまでの研究で明らかになっている。このため、各地衛研で有害動物として駆除されたり、狩猟期に捕獲された動物の血清を収集できれば、経年的に SFTSV 抗体陽性率の推移を調査して SFTS 患者発生のリスクを把握することが出来ると考えられる。今年度の動物由来感染症レファレンスセンター活動による成果が、このような調査に利用されることを希望する。また、感染症法の改正で地衛研が診断等を担当することを求められる感染症が増加すると思われる。感染症によっては NAT だけではなく、血清診断も必要な場合がある。今回の活動は、そのような今後対応すべき動物由来感染症で ELISA による血清診断が必要な場合にも対応可能な地衛研が多いことを示唆している。

E. 結論

血清診断として ELISA をほとんど実施していない地衛研があり、幾つかの問題点が明らかになったが、今回参加した 19 地衛研のうち 14 地衛研では、動物からの SFTSV 抗体検出が可能であることが EQA により確認できた。

F. 健康危険情報

感染症発生動向調査では、本年 1 月 27 日時点で 170 人の SFTS 患者が報告されていて年齢中央値は 74 歳である。5～8 月の患者発生が多く、西日本を中心に 20 府県で患者が発生している (<http://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/3143-sfts.html>)。

G. 研究発表

論文発表

1. Hideki Tani, Aiko Fukuma, Shuetsu Fukushima, Satoshi Taniguchi, Tomoki Yoshikawa, Naoko Iwata-Yoshikawa, Yuko Sato, Tadaki Suzuki, Noriyo Nagata, Hideki Hasegawa, Yasuhiro Kawai, Akihiko Uda, Shigeru Morikawa, Masayuki Shimojima, Haruo Watanabe, Masayuki Saijo. Efficacy of T-705 (Favipiravir) in the Treatment of Infections with Lethal Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus. *mSphere* 2016, 00061-15.
2. Yoshikawa T, Shimojima M, Fukushima S, Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Singh H, Suda Y, Shirabe K, Toda S, Shimazu Y, Nomachi T, Gokuden M, Morimitsu T, Ando K, Yoshikawa A, Kan M, Uramoto M, Osako H, Kida K, Takimoto H, Kitamoto H, Terasoma F, Honda A, Maeda K, Takahashi T, Yamagishi T, Oishi K, Morikawa S, Saijo M. Phylogenetic and Geographic Relationships of Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome Virus in China, South Korea, and Japan. *J Infect Dis.* 2015, 212(6):889-98.

学会発表

国際学会

1. Shigeru Morikawa, Akihiko Uda, Masanobu Kimura, Shuetsu Fukushi, Kawabata, Hiroki, Shuji Ando, Sawabe Kyoko, Aiko Fukuma, Yoshihiro Kaku, Unsil Paku, Hideki Tani, Tomoyuki Yoshikawa, Koichi Imaoka, Masayuki Shimojima, Hiromi Fujita, Ken Maeda, Masayuki Saijo. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in animals and ticks in Japan. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID). 26-27 Jan, 2015. Academia Sinica, Taipei, Taiwan.

国内学会

1. Hideki Tani, Shuetsu Fukushi, Aiko Fukuma, Satoshi Taniguchi, Tomoki Yoshikawa, Naoko Iwata-Yoshikawa, Noriyo Nagata, Akihiko Uda, Shigeru Morikawa, Takashi Komeno, Yousuke Furuta, Masayuki Shimojima, Masayuki Saijo. Efficacy of favipiravir (T-705) against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. 第63回日本ウイルス学会学術集会 2015.11.22-24 福岡
2. Shigeru Morikawa, Masanobu Kimura, Yoshihiro Kaku, Park Eun Sil, Koichi Imaoka, Masayuki Saijo, Ken Maeda. Prevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus antibodies in wild Japanese deer(日本ジカにおける SFTS ウイルス抗体保有状況) 第63回日本ウイルス学会学術集会 2015.11.22-24 福岡
3. Ken Maeda, Chinami Hamasaki,

Ryusei Kuwata, Kenzo Yonemitsu, Shohei Minami, Hiroshi Shimoda), Ai Takano, Kazuo Suzuki, Nobuyuki Shiranaga, Shigeru Morikawa. Epidemiology of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in animals (2014) (動物における SFTS ウイルス感染状況の調査 (2014)) 第63回日本ウイルス学会学術集会 2015.11.22-24 福岡

4. Yuki Koyama, Park Eun-Sil, Tian Deyu, Akihiko Uda, Michio Suzuki, Tadaki Suzuki, Shigeru Morikawa. Establishment of highly susceptible C57BL/6J mice lacking the type I IFN receptor to SFTS virus infection. 第63回日本ウイルス学会学術集会 2015.11.22-24 福岡
5. 古山裕樹、宇田晶彦、吉河智城、木村昌伸、藤田修、堀田明豊、田徳雨、今岡浩一、森川茂. 野生ニホンジカ血清中の重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス遺伝子の検出. 第158回日本獣医学会学術集会 2015.9.7-9
6. 下田宙、浜崎千菜美、杉山弘樹、南昌平、米満研三、鍬田龍星、高野愛、森川茂、前田健. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスの感染環の解明. 第158回日本獣医学会学術集会 2015.9.7-9

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし
特許取得
なし
実用新案登録
なし
その他
なし

表 1. SFTSV抗体検出ELISAのEQAのまとめ

EQA	地衛研 ID #	パネル血清										陽性 対照	備 考	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			11
標準	感染研	100		6,400				400		1,600				
Qualified	1	100		6,400				400		400			Reader#2(Reader#1は低感度)	
	2	6,400		6,400				100		400			試薬 (Blocking One) 再送	
	3	6,400		6,400				100		400				
	5	6,400		6,400				400		400			60min (45minで同様の結果)	
	6	6,400		6,400				100		400			Test#2(Test#1ではNo.9=400倍)	
	10	6,400		6,400				100		400			Blocking Oneは配布品以外を使用	
	11	6,400		6,400				100		>100			陽性対照は 100 dilのみ	
	12	1,600		6,400				100		400				
	13	6,400		6,400				100		400				
	14	6,400		6,400				100		400				
	15	6,400		6,400				400		400				
	18	6,400		6,400				100		400				
	19	6,400		6,400				100		400				
	4	100		6,400				100		100			再テスト (45min) 19Jan2016	
Not qualified	7	400								<100				
	8												回答無し	
	9												<100	全て陰性
	16	?	1,600			?	?	?	100	?	?	1,600	?	はデータ不良 (ELISA経験無し)
	17	100								<100				

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書
HIV関連感染症

研究分担者	俣野哲朗	国立感染症研究所	エイズ研究センター
研究協力者	吉村和久	国立感染症研究所	エイズ研究センター
	立川 愛	国立感染症研究所	エイズ研究センター
	草川 茂	国立感染症研究所	エイズ研究センター
	松岡佐織	国立感染症研究所	エイズ研究センター

研究要旨 地方衛生研究所等とのネットワーク体制構築・維持を進め、国内HIV感染動向・検査状況についての情報共有およびHIV検査技術・体制の維持・強化に向けた取組みを推進した。平成27年度は、特に国内の地域別の発生動向に関する情報交換を進めた。

A. 研究目的

本邦の HIV 感染者数と AIDS 患者数を合わせた年間新規報告件数は、2007 年以降約 1500 件で推移しており、2013 年は過去最高であった（エイズ動向委員会）。特に年間新規 AIDS 患者報告件数が過去最高で、新規報告件数の約 30% は AIDS 患者としての報告、つまりエイズ発症により HIV 感染が判明した例であった。したがって実際の HIV 感染者数は報告件数を大きく上回っていると推察され、早期診断が十分になされている状況ではないと考えられる。このような状況において HIV 検査推進は重要課題である。

HIV 検査推進にあたっては、検査技術の維持・向上および検査体制の強化が必要となる。特に HIV では、その多様性・変化に対応した検査技術の更新が重要である。そこで本研究では、本邦の HIV 検査状況を把握するとともに、検査技術・体制の強化に結びつけることを目的とし、地方衛生研究所等との持続的なネットワーク体制構築を推進・継続した。

B. 研究方法

2015 年 7 月の衛生微生物技術協議会第 36 回研究会（仙台）における HIV 関連感染症に関する会議で、地方衛生研究所等との協議・議論を進め、その後も適宜、情報交換を行った。特に国内の地域別発生動向に関する情報交換を進めた。

C. 研究結果

神奈川県衛生研究所と共同でネットワーク体制構築を推進し、福島県衛生研究所、埼玉県衛生研究所、東京都健康安全研究センター、神奈川県衛生研究所、新潟県保健環境科学研究所、長野市保健所環境衛生試験所、愛知県衛生研究所、名古屋市衛生研究所、姫路市環境衛生研究所、岡山県環境保健センター、広島市衛生研究所、島根県保健環境科学研究所、福岡県保健環境研究所、北九州市環境科学研究所、国立感染症研究所等、国内 15 施設間で情報交換を行った。主に、HIV 感染者・AIDS 患者の報告件数、地域・年齢・感染経路等の分布、疫学的解析結果、薬剤耐性変異株動向、保健所等における検査状況・体制、献血における HIV

陽性者数、検査技術等に関する情報を共有した。

HIV・AIDS 報告件数は、これまでと同じく、東京都を含む関東・甲信越、近畿に多い状況であったが、特筆すべきことに、2014年には、近年増加傾向がみられる九州の件数が、初めて東海を上回り、近畿に次ぐ報告数となった。特に沖縄県では、人口10万対でのHIV感染者件数が47都道府県中3位、AIDS患者件数が1位であった。これらの情報共有は、病原微生物検出情報(IASR)2015年9月号の特集HIV/AIDS 2014および特集関連情報作成においても有用であった。

D. 考察

HIVの多様性は大きく、ウイルスゲノム変化に持続的に対応した検査技術の更新は重要である。本ネットワーク体制に基づく情報共有ならびに技術研修等による検査体制の維持・強化は、検査技術の維持・向上に極めて重要な役割を担っていると考えられる。なお、地域別にみると、近年、九州におけるHIV/AIDS報告件数の増加が認められ、人口10万対での報告件数では、特に沖縄が極めて高い件数となっていることに留意が必要と考えられた。

E. 結論

地方衛生研究所等とのネットワーク体制構築・維持を推進し、国内HIV感染動向・検査状況・技術についての情報共有およびHIV検査技術強化に貢献した。このネットワーク体制は、病原微生物検出情報(IASR)2015年9月号の特集HIV/AIDS 2014および特集関連情報作成にも貢献した。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表 論文発表

1. Nishizawa M, Matsuda M, Hattori J, Shiino T, Matano T, Sugiura W. Longitudinal detection and persistence of minority drug-resistant populations and their effect on salvage therapy. PLoS ONE 10:e0135941, 2015.

学会発表

該当なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

該当なし。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

アデノウイルスレファレンス活動：新型アデノウイルス54型の流行と病原体サーベイランス

研究分担者 藤本嗣人 国立感染症研究所 感染症疫学センター第四室

研究協力者 花岡 希 国立感染症研究所 感染症疫学センター第四室
地方衛生研究所（全80機関）
アデノウイルス地区レファレンスセンター

（青森県環境保健センター、新潟県保健環境科学研究所、東京都健康安全研究センター、川崎市健康安全研究所、福井県衛生環境研究センター、大阪府立公衆衛生研究所、広島市衛生研究所、宮崎県衛生環境研究所）

研究要旨 2015年に流行性角結膜炎の大規模な国内流行がみられた。地方衛生研究所に対するアンケートを5類定点疾患(眼科定点)である流行性角結膜炎について実施した。検出数が最も多かったのは54型であった。54型の検出は九州・関東を中心に多く過去5年のうち最大規模で観察された。54型の全国規模流行は世界的に初の報告と考えられた。

A. 研究目的

2015年に過去5年間で最大の流行性角結膜炎の全国規模と思われる流行がみられ新型アデノウイルス 54 型がその主要な起病病原体と考えられた。その流行状況についてアデノウイルスレファレンス活動の一環として精査することを目的とした。

B. 研究方法

1. 病原体サーベイランスにおける眼科定点からの検体提出と型別状況(2015年)のアンケート調査

2015年の54型の流行状況を知ることが目的として、眼科検体の有無と検出状況(陰性を含む)について地区レファレンスセンター(青森県環境保健センター、新潟県保健環境科学研究所、東京都健康安全研究センター、川崎市健康安全研究所、福井県衛生環境研究センター、大阪府立公衆衛生研究所、広島市衛生研究所、宮崎県衛生環境研究所)を通じて全国の地方衛生研究所に

アンケート調査した。アンケートは、眼科からのサーベイランス検体依頼件数と、その同定結果について実施した。

2. 2011～2015年の流行性角結膜炎患者発生動向

流行性角結膜炎の患者発生動向に関して2011～2015年に関して調べた。2016年2月現在に入手可能であった感染症発生動向調査事業年報(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/survei/2270-idx/nenpou/>)および感染症発生動向調査週報(IDWR)の第53週速報データを調べた。この5年間について調べたのは、新型アデノウイルス53、54および56型に関して報告がなされるようになったのが2011年からのためである。

全国の眼科医療機関数を推定するために社団法人・日本眼科医会の眼科医の分布に関する資料(2010年10月1日)を基に日本の眼科施設数を算定した。眼科医が勤務す

る医療施設数は8,449(眼科診療所6730、総合・一般病院1507、大学附属病院156、眼科専門病院56)であり、2010年の数値であるがこの施設数を全国の眼科数とした。定点の数で眼科施設数8449を割った数値を定点患者報告数に掛けて全国患者数を推定した。

3. 54型の検出自治体の流行性角結膜炎の患者数

1の地方衛生研究所からのアンケートの結果と2の流行性角結膜炎患者発生動向の結果を比較した。これにより2015年の流行性角結膜炎の流行要因を推定した。

C. 研究結果

1. 病原体サーベイランスにおける眼科定点からの検体提出と型別状況(2015年)のアンケート調査

全国80ヶ所(2014年調査時より3ヶ所増加していた)の地方衛生研究所のうち、68施設(85%)から回答が得られた。68施設のうち28施設(41.2%)で病原体サーベイランスにおける眼科定点からの検体提出(n=614)があった。眼科定点からの検体提出があった28施設のうち12施設(42.9%)で54型の検出(n=83)がみられた。12施設は検出数が多い順に①熊本県保健環境科学研究所(n=28)、②福井県衛生環境研究センター(n=21)、③愛媛県立衛生環境研究所(n=7)、④群馬県衛生環境研究所(n=5)、⑤新潟県保健環境科学研究所(n=4)、⑥茨城県衛生研究所(n=4)、⑦北九州市環境科学研究所(n=4)、⑧札幌市衛生研究所(n=3)、⑨東京都健康安全研究センター(n=3)、⑩長崎県環境保健研究セン

ター(n=2)、⑪山形県衛生研究所(n=1)および⑫大阪府立公衆衛生研究所(n=1)であり、北海道から九州まで全国に分布していた。

614件の臨床診断は流行性角結膜炎がほとんどで、型別結果は54型(n=83)、3型(n=27)、37型(n=21)の順に多かった。型別中(n=50)や検査中(n=21)なども多く、1月の段階の集計では12月までの検体の結果が完全には出揃っていないので、さらなる検討が必要である。54型検出があった都道府県を図1に示した。

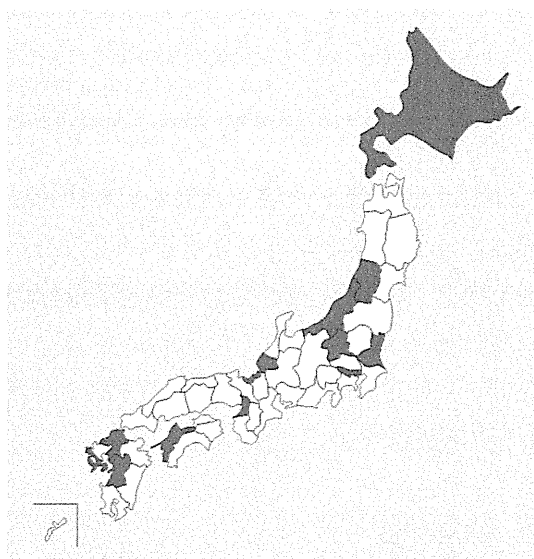


図1 54型が流行性角結膜炎患者から検出された自治体

2. 2011～2015年の流行性角結膜炎患者発生動向

2011～2015年のうちで流行性角結膜炎の定点当たり年間の患者数を表1に、都道府県別を表2に示した。

患者数が最も多かったのは2015年であった(表1)。全国47都道府県で見ると、3分の1にあたる16都府県において2015年の患者数が最も多かった。

表 1 過去 5 年間の日本の眼科定点からの流行性角結膜炎の定点当たり患者報告数と年別累積患者数

年	定点当たり患者数	報告患者数
2011	31.4	21231
2012	28.9	19712
2013	30.2	20606
2014	29.6	20233
2015	36.4	25030
平均	31.2	21362

以下、表 2 より北海道・東北地区では宮城県のみで 2015 年の患者が多く、めだった流行の増加は観察されなかった。

関東地区では、群馬県、埼玉県、千葉県、東京都において 2015 年の患者数が多く 5 年間で最多であった。

中日本地区では、2015 年に患者が多くなる傾向は見られなかった。

関西地区では、大阪府および兵庫県で 2015 年が最多であった。

中国地区では、鳥取県、島根県、山口県で 2015 年が最多であった。

九州地区では 8 つの県のうち沖縄県と鹿児島県を除く 6 県(福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県、大分県、宮崎県)で 2015 年の患者数が最多であった。特に熊本県(定点当たり年間 167 人)、宮崎県(154 人)などで多かった。

2015 年度の眼科定点数は 687 であり、流行性角結膜炎の患者総数は 30 万 7829 名と計算された。

3. 54 型の検出自治体の流行性角結膜炎の患者数

54 型の検出がみられた 12 施設がある自治体をみると、3 種類に分類された。

①2015 年の定点当たり流行性角結膜炎患者が過去 5 年間で最高でない 5 自治体

札幌市衛生研究所	北海道
山形県衛生研究所	山形県
新潟県保健環境科学研究所	新潟県
茨城県衛生研究所	茨城県
愛媛県立衛生環境研究所	愛媛県

②2015 年の定点当たり流行性角結膜炎患者が過去 5 年間で最高であった 6 自治体

群馬県衛生環境研究所	群馬県
東京都健康安全研究センター	東京都
大阪府立公衆衛生研究所	大阪府
熊本県保健環境科学研究所	熊本県
北九州市環境科学研究所	福岡県
長崎県環境保健研究センター	長崎県

③2015 年の定点当たり流行性角結膜炎報告数が過去 5 年間で最高でないが、54 型の流行が IASR で報告された 1 自治体

福井県衛生環境研究所	福井県
(山岸善也 他: 福井市でみられたアデノウイルス 54 型による流行性角結膜炎、IASR Vol. 36 p. 227-228: 2015 年)	

D. 考察

1. 病原体サーベイランスにおける眼科定点からの検体提出と型別状況(2015 年)のアンケート調査

68 の地方衛生研究所のうち 2015 年に 28 施設 (41.2%) でのみ病原体サーベイランスにおける眼科定点からの検体提出がみられた。一部の地域では全く眼科の病原体サーベイランスが動いていない状況と推察され今後の改善が必要と考えられる。

2015 年は 54 型が流行し流行性角結膜炎患者から最も高頻度に検出された。眼科定点からの検体提出があった 28 施設のうち

12 施設で 54 型が検出され、北海道から九州まで全国に分布していた。

日本以外で 54 型検出の報告はなく、本流行は世界初の 54 型流行を日本の感染症発生動向調査が捕捉した事例と考えられた。

2. 2011～2015 年の流行性角結膜炎患者発生動向

年別の流行性角結膜炎の眼科定点当たりの数および患者総数を表 1 に示した。5 年間で最も患者数が多かったのが 2015 年であり、眼科 1 定点あたり年間 36 名以上の患者があり、合計 2 万 5 千名を超える患者が報告された。定点数はその間 676～687 とほぼ一定であった。2015 年に過去最高の流行性角結膜炎患者数が報告された 16 都府県を図 2 に示した。本稿の最終ページ表 2 に一覧を示した。

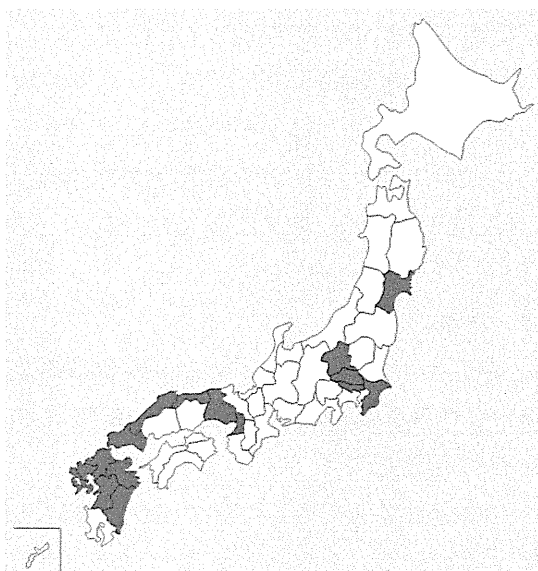


図 2 過去 5 年間で定点当たり流行性角結膜炎患者数が最も多かった 16 都府県

3. 54 型の検出自治体の流行性角結膜炎の患者数

54 型の検出がみられ流行性角結膜炎の大きな流行がみられた 6 自治体は、関東(群馬県、東京都)と九州(福岡県、熊本県、長崎県)を含んでいた。大阪府での検出もみられ、患者数も過去 5 年で最多であるので、近畿地区でも地域的に関東や九州と同様の状況があったことが推定された。鳥取県、島根県および山口県は 2015 年に患者数が大変多かった

一方、北海道および東北では 54 型の検出は見られたが過去と比べて大きな流行ではなかったと推定された。

今回の 54 型による流行性角結膜炎の流行は関東、九州を中心とし、近畿(大阪府)や四国(愛媛県)も含んでいた。中日本の福井県でも局地的な流行が報告された。中国地方(鳥取県、島根県、山口県)の 54 型流行は、中国地方で岡山県のみしかアデノウイルス検出データがなかったので不明である。

定点医療機関からの検体提出がなかったり、眼科定点がなかったりする例もみられた。2014 年に実施したアンケート調査(平成 26 年度、本研究班報告書)において全国地方衛生研究所の 86%はアデノウイルスの病原体サーベイランスを実施しているが、眼科定点からの検体提出がない施設が 53%あることを報告した。眼科定点からの検体提出がなければ、流行性角結膜炎の原因は不明のまま終わる。

54 型は日本でのみ流行しており、流行性角結膜炎の症状が 8 型と同様に重篤であることが推察されるので、さらなる研究が必要である。

D. 結論

2015 年に流行性角結膜炎の大規模な国内流行がみられた。地方衛生研究所に対する

アンケートを 5 類定点疾患である流行性角結膜炎について実施した。検出数が最も多かったのは 54 型で九州・関東を中心に全国的に検出がみられた。54 検出地域の関東、九州等において流行性角結膜炎が過去 5 年のうち最大規模で観察された。

G. 研究発表

論文発表

1. Le H, Hoang T, Ta T, Dao N, Tran D, Sato Y, Kumasaka T, Suzuki T, Hanaoka N, Fujimoto T, Katano H, Hasegawa H, Kawachi S, Nakajima N: Adenovirus type 7 pneumonia following measles was a contributory cause of death in hospitalized children with measles-associated immune suppression in a pediatric hospital in Hanoi, Vietnam, during the 2014 endemic, 2015, EID, 2016 in press.
2. Ushijima H, Thongprachum A, Tran DN, Fujimoto T, Hanaoka N, Okitsu S, Takanashi S, Mizuguchi M, Hayakawa S. Rapid diagnostic tests apply for pediatric infections at outpatient clinic setting. Clin Lab. 2015; 61(1-2):195-9.
3. Okitsu S, Khamrin P, Hanaoka N, Thongprachum A, Takanashi S, Fujimoto T, Mizuguchi M, Shimizu H, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H. Cosavirus (family Picornaviridae) in pigs in Thailand and Japan. Arch Virol. 2015 Oct 14.
4. Harada K, Fujimoto T, Asato Y, Uchio E. Virological and epidemiological

analysis of coxsackievirus A24 variant epidemic of acute hemorrhagic conjunctivitis in Okinawa, Japan, in 2011. Clin Ophthalmol. 2015 Jun 15; 9:1085-92.

5. 藤本嗣人. ヒトアデノウイルス. 食品衛生検査指針 微生物編. 2015; 712-19.

学会発表

国際学会

1. Fujimoto T. A surveillance of adenoviruses in patients with respiratory and ocular Infections, 2nd Conference on International Asian Pediatric Infectious Diseases, Tokyo, Japan, June 2015
2. Fukuda S, Fujiwara M, Ito S, Abe J, Hanaoka N, Fujimoto T, Katsumori H: Simultaneous development of Kawasaki disease associated with adenovirus infection in identical twins. Eleventh International Kawasaki Disease Symposium, Honolulu, February 2015

国内学会

1. 辰己智香、飯塚節子、和田美江子、三田哲朗、花岡 希、藤本嗣人：本邦で初めて分離されたヒトアデノウイルス 57 型(HAdV57)。平成 27 年度獣医学術中国地区学会、岡山市 2015 10 月(優秀研究発表)
2. 藤本嗣人。アデノウイルスレファレンスセンター報告。仙台市 7 月, 2015
3. 花岡希、萬田和志、草刈栄治、藤本嗣人。郵送検査残渣を用いた尿道炎起因

- | | |
|---|--------------------------------------|
| <p>微生物の探索. 日本性感染症学会第28回学術大会.東京 11月 2015 (座長推薦発表)</p> | <p>特許取得
なし
実用新案登録
なし</p> |
| <p>4. <u>花岡希</u>、伊藤晋、安田満、高梨真樹、出口隆、山岸拓也、<u>藤本嗣人</u>.アデノウイルス性尿道炎患者変遷と市中アデノウイルス流行状況との関連性. 日本性感染症学会 第28回学術大会. 東京 11月 2015 (座長推薦発表)</p> | <p>その他
なし</p> |
| <p>5. 伊藤晋、<u>花岡希</u>、安田満、高梨真樹、伊藤貴子、出口隆: ヒトアデノウイルス陽性男子尿道炎の臨床的特徴. 日本性感染症学会第28回学術大会. 東京 11月 2015</p> | |
| <p>6. <u>Fujimoto T</u>, Kobayashi M, <u>Hanaoka N</u>, Taniguchi K, Watanabe H. Four year micro-surveillance of adenoviruses inJapan including new genotypes and second detection of HAdV-48 [P65H48F60]. The 63rd Annual meeting of the Japanese Society of Virology, Nov Fukuoka,2015</p> | |
| <p>7. Hashizume M, Morikawa S, Hiroi S, Kase T, Oishi K, <u>Konagaya M</u>, <u>Fujimoto T</u>, <u>Hanaoka N</u>, Fujii Y, Chikahira M, Watanabe H, Koyamagi K. 日本において新規に発見されたヒトアデノウイルスのゲノム構造に基づく分類. 第63回日本ウイルス学会学術集会. 福岡 11月, 2015</p> | |
| <p>H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)</p> | |

表2 2011～2015年までの都道府県別、流行性角結膜炎 定点当たり患者数

	2015年総数 25030	2011年	2012年	2013年	2014年	2015年*	最大
			31.41	28.95	30.21	29.62	36.43
1 北海道	602	23.31	20.9	18.03	22.46	21.5	23.31
2 青森県	275	29.6	30.6	22.27	21.55	25	30.6
3 岩手県	265	19.31	26.57	21.15	19.71	18.93	26.57
4 宮城県	198	12.58	13.83	14.33	15.58	16.5	16.5
5 秋田県	118	13	17.29	14.43	12	16.86	17.29
6 山形県	70	16.13	7.25	9.88	10	10	16.13
7 福島県	414	57.6	33.42	31.92	38.83	34.5	57.6
8 茨城県	915	44.18	63.88	56.71	43.12	53.82	63.88
9 栃木県	336	34.91	38.58	28.67	34.08	28	38.58
10 群馬県	1185	55.27	51.77	54.08	88.92	91.15	91.15
11 埼玉県	1638	24.27	24	28.1	19.51	40.95	40.95
12 千葉県	1415	33.53	29.09	30.94	25.94	42.88	42.88
13 東京都	1256	22.76	30	24.08	24.03	33.05	33.05
14 神奈川県	2322	46.16	46.67	50.59	46.14	50.48	50.59
15 新潟県	331	40.89	34.8	33	23.8	33.1	40.89
16 富山県	75	8.86	7.14	6	39.14	10.71	39.14
17 石川県	97	12.43	5.57	12.29	15.43	13.86	15.43
18 福井県	34	13.67	18	14.33	10.33	11.33	18
19 山梨県	196	17.25	17.22	11.11	18.78	21.78	21.78
20 長野県	210	34.73	28.45	35.4	44.36	21	44.36
21 岐阜県	99	13.36	10.18	18.1	16.09	9.9	18.1
22 静岡県	383	33	18.9	28.5	30.9	18.24	33
23 愛知県	525	17.5	17.62	12.94	19.29	15.44	19.29
24 三重県	75	11.25	7.5	9.58	14.17	6.25	14.17
25 滋賀県	87	17.25	13.75	19	8.88	10.88	19
26 京都府	306	25	23.47	27.88	25.76	18	27.88
27 大阪府	1053	15.56	12.2	18.9	14.58	20.65	20.65
28 兵庫県	1473	27.5	18.74	31.54	36.66	42.09	42.09
29 奈良県	139	16.56	11.78	16.22	28.22	15.44	28.22
30 和歌山県	71	15.5	7.5	18.75	37.25	17.75	37.25
31 鳥取県	212	43.33	41.33	18	26.67	70.67	70.67
32 島根県	73	9	5.5	9.67	10.33	24.33	24.33
33 岡山県	297	25.83	20.08	20.58	24	24.75	25.83
34 広島県	889	54.33	38.39	43.42	43.72	49.39	54.33
35 山口県	304	23.56	19.67	12.44	21	33.78	33.78
36 徳島県	23	4.75	5.25	7.33	3.75	5.75	7.33
37 香川県	92	42	15.67	28.67	13.2	18.4	42
38 愛媛県	709	75	83.25	77	100.88	88.63	100.88
39 高知県	16	19.33	16.33	7.67	9.33	5.33	19.33
40 福岡県	2050	34	29.88	34.65	26.27	78.85	78.85
41 佐賀県	69	12.75	14.75	16	12	17.25	17.25
42 長崎県	599	35.25	27.88	40.88	22.63	74.88	74.88
43 熊本県	1509	69.78	92.56	78.78	81.11	167.67	167.67
44 大分県	303	27	18.6	17	34.8	60.6	60.6
45 宮崎県	921	121	92.17	149.17	115	153.5	153.5
46 鹿児島県	372	43.29	63.57	43.86	38	53.14	63.57
47 沖縄県	429	165.2	121	105.7	45.9	42.9	165.2

*2015年で太字は過去5年間で最大を示す。

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

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
角坂照貴、安藤秀二	病気を起こすダニ② ツツガムシ	島野智之、高久元	ダニの話し	朝倉書店	東京	2016	43-52
安藤秀二	チフス群リケッチア症	岡部信彦、岩本愛吉、大西真、西條政幸、谷口清州、野崎智義、宮崎義継	感染症予防必携 第3版	日本公衆衛生協会	東京	2015	573-576
藤本嗣人	ヒトアデノウイルス	鶴飼良平	食品衛生検査指針 微生物編	公益社団法人日本食品衛生協会	東京都	2015	712-19

雑誌

著者氏名	論文タイトル名	雑誌名	巻	ページ	出版年
今野貴之、高橋志保、榎尾拓子、熊谷裕子、圓子隆信、袴田知之、金和浩	カンピロバクターのPenner PCR 型別が有用であった食中毒疑い事例への対応—秋田県	病原微生物検出情報 (国立感染症研究所)	38	161-162	2015
Sugiyama H, Shibata K, Arakawa K, Morishima Y, Yamasaki H, Gokuden M, Iwakiri T, Fukumori J.	Paragonimiasis due to the consumption of wild boar meat in Japan: Contamination levels of lung fluke larvae in muscle samples of wild boars caught in the Kagoshima Prefecture.	Jpn J Inf Dis	68	536-537	2015
廣川秀徹、吉田英樹、中山浩二、澤田好伴、伯井紀隆、坂本徳裕、松生誠子、半羽宏之、松本健二、谷和夫、吉村高尚、中村寛海、西尾孝之、加藤はる、鈴木里和、柴山恵吾	外科手術後患者における多剤耐性 <i>Corynebacterium striatum</i> による院内感染事例.	IASR	36	90-91	2015
吉田弘、伊藤俊之、梅木和宣、中嶋健介	H26年5月に実施した病原体サーベイランス等に関する調査より—地方衛生研究所における検査実施体制について	病原体検出情報	36	114-116	2015

安藤克幸, 伊藤雅, 伊東愛梨, 内野清子, 岡山文香, 内山友里恵, 小澤広規, 北川和寛, 葛口剛, 後藤明子, 下野尚悦, 神保達也, 高橋雅輝, 滝澤剛則, 筒井理華, 中野守, 濱崎光宏, 堀田千恵美, 松岡保博, 山崎謙治, 中田恵子, 吉田弘	平成 26 年度感染症流行予測調査事業ポリオ環境水調査にて検出されたウイルスについて	病原体検出情報				2015/10/5(オンライン)
筒井理華, 武差愛美, 坂恭平, 藤田真司, 鈴木豊, 吉田弘	エンテロウイルス D68 型が検出された麻痺症状を呈する小児症例を含む 2 症例—青森県	病原体検出情報.	37	12-13		2016
Nakamura T, Hamasaki M, Yoshitomi H, Ishibashi T, Yoshiyama C, Maeda E, Sera N, Yoshida H.	Environmental Surveillance of Poliovirus in Sewage Water around the Introduction Period of Inactivated Polio Vaccine in Japan.	Appl Environ Microbiol.	81	1859-1864		2015
Sakai K, Sekizuka T, Amiya Y, Nakajima N, Kitazawa M, Sato Y, Nakajima K, Anraku M, Kubota T, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Kuroda M, Takeda M.	A mutant H3N2 influenza virus uses an alternative activation mechanism in TMPRSS2 knockout mice by loss of an oligosaccharide in the hemagglutinin stalk region.	J.Virol	89	5154-8		2015
Seki,F., Someya,K., Komase,K. and Takeda,M.	A chicken homologue of nectin-4 functions as a measles virus receptor,	Vaccine	34(1)	7-12		2016
竹田誠、駒瀬勝啓	麻疹排除へ向けて	化学療法の領域	31	1326-32		2015
竹田誠、駒瀬勝啓	麻疹、近年の歩みとこれからの課題	生体の科学	66	309-12		2015
駒瀬勝啓、染谷健二、竹田誠	麻疹検査診断の現状	病原微生物検出情報	36	59-60		2015
染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠	海外の麻疹の状況—2014 年の WPR、EUR、AMR の状況	病原微生物検出情報	36	68-70		2015
駒瀬勝啓	日本の麻疹の状況と麻疹排除の進捗	モダンメディア	61(4)	81-90		2015
駒瀬勝啓	欧米における麻疹の状況と日本の麻疹排除の維持	感染炎症免疫	45(3)	86-8		2015
Kamachi K, Yoshino S, Katsukawa C, Otsuka N, Hiramatsu Y, Shibayma K	Laboratory-based surveillance of pertussis using multitarget real-time PCR in Japan: evidence for <i>Bordetella pertussis</i> infection in preteens and teens	New Microbes New Infect	8	70-74		2015

大塚菜緒、蒲地一成	百日咳の国際動向と検査法・ワクチンの問題点	感染・炎症・免疫	45	46-56	2015
Nishizawa M, Matsuda M, Hattori J, Shiino T, Matano T, Sugiura W	Longitudinal detection and persistence of minority drug-resistant populations and their effect on salvage therapy	PLoS ONE	10	e0135941	2015
Le H, Hoang T, Ta T, Dao N, Tran D, Sato Y, Kumasaka T, Suzuki T, Hanaoka N, Fujimoto T , Katano H, Hasegawa H, Kawachi S, Nakajima N	Adenovirus type 7 pneumonia following measles was a contributory cause of death in hospitalized children with measles-associated immune suppression in a 4 pediatric hospital in Hanoi, Vietnam, during the 2014 endemic, 2015	Emerging Infectious Diseases	4	In press	2016
Okitsu S, Khamrin P, Hanaoka N , Thongprachum A, Takanashi S, Fujimoto T , Mizuguchi M, Shimizu H, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H.	Cosavirus (family Picornaviridae) in pigs in Thailand and Japan.	Arch Virol	Oct	14	2015
藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未、大日康史、菅原民枝、小林正明	咽頭結膜熱と保育園サ ーベイランス	保育界	7	38-41	2015

