

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

日時：平成25年7月11-12日

場所：名古屋市中小企業振興会館（吹上ホール）

1. エンテロウイルス
2. レジオネラ
3. アルボウイルス
4. ノロウイルス・ロタウイルス
5. 大腸菌
6. 寄生虫
7. ジフテリア・ボツリヌス・百日咳
8. 動物由来感染症
9. 結核
10. インフルエンザ
11. カンピロバクター
12. アデノウイルス
13. レンサ球菌
14. 麻疹・風疹
15. リケッチア
16. HIV関連

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 1. エンテロウイルス

# エンテロウイルス レファレンスセンター報告

福島県衛生研究所	(北海道・東北・新潟)
神奈川県衛生研究所	(関東・甲信・静)
愛知県衛生研究所	(東海・北陸)
神戸市環境保健研究所	(近畿)
愛媛県立衛生環境研究所	(中国・四国)
福岡県保健環境研究所	(九州・沖縄)

# レファレンス業務 (感染研、2012年度) 抗血清等分与

種類	数量
単味抗血清	8か所 (30種類)
細胞等	12か所 (30本)

EP-95はブロック単位での分与、他の抗血清・細胞等は、  
感染研ウイルス第二部からの個別対応とさせていただいています。

# 内容

- 2012-13シーズンのエンテロ検出状況(手足口病他、各ブロックより)
- マニュアル関係: CODEHOP PCR法(パテント問題)、プロトタイプリスト修正
- 世界のポリオアップデート
- 最後のポリオウイルスワクチン株の検出→2012.9
- 今後の輸入リスク。発生動向の注意点
- 流行予測調査事業で環境水調査開始(事業8か所+調査研究5か所)  
→検出時対応は事務連絡通知

# NESID登録データ(エンテロ関連で検索)2013年1/1から7/2時点集計(暫定)

代表的なもの	手足口病	CA6	EV71	CA16	その他(エンテロ)	ライノ	報告数
		72	35	2	19	17	145
無菌性 髄膜炎		E6	CB5	EV71	その他(エンテロ)	ライノ	
		11	4	2	14	5	36
ヘルパン ギーナ	CA5	CA6	CA8		その他(エンテロ)	ライノ	
	3	4	4		4	1	16
発疹症	CA6	E18	CB4	CB5	その他(エンテロ)	ライノ	
	9	6	2	2	23	19	61
下気道炎					その他(エンテロ)	ライノ	
					16	191	207
上気道炎	E6	CB2	CB5		その他(エンテロ)	ライノ	
	7	7	6		8	94	128

ウイルスゲノム検出と疾患との関連は慎重に解釈を

例)無菌性髄膜炎の場合---エンテロなら髄液からも検出できる場合がある(髄液、ぬぐい液、糞便の3点セット)

手足口病の場合----EV71など水胞から検出できる場合あり。

# リファレンスセンター報告サマリー

2013年は西日本を中心にてCA6感染による手足口病患者が増加傾向(沖縄・九州、中国四国、近畿ブロック)。ただしCA6は2012年も少数ながら検出されている(西日本以外に東日本)。

遺伝子解析の結果は2011年に流行したCA6と高い相同意を有している。

臨床的な所見として強い発疹、1ヶ月後爪甲脱落症を伴うケースにつき報告(福岡)

EV71の報告数は少ないが各地で少数ながら報告あり(昨年以来ゲノタイプB5)。

無菌性髄膜炎はE6,CB5以外にE30検出報告あり(大分、鹿児島、北九州、滋賀、愛知)

佐賀県で新生児CB2感染による重症例(新生児)。周産期の健康管理の周知

## EV71他手足口病患者よりウイルス検出

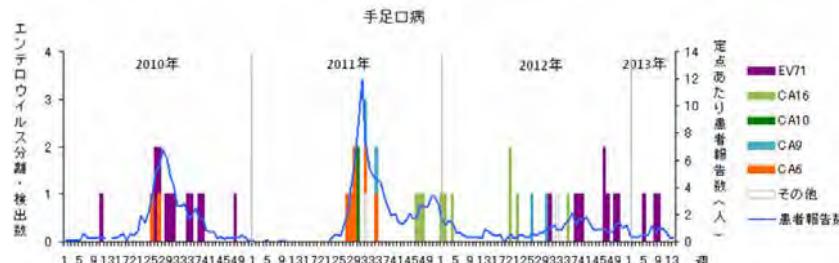
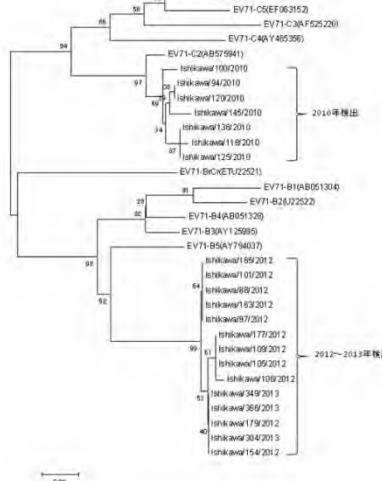


図1. 手足口病およびヘルパンギーナ患者検体からの  
検体採取週別エンテロウイルス検出状況(2010年第1週～2013年第13週)



IASR

2012.9月以降  
EV71(B5)が検出

石川県保健環境センター 児玉先生他  
IASR速報2013.6.7

## 手足口病患者から検出されたCA6 →2011年の株と類似

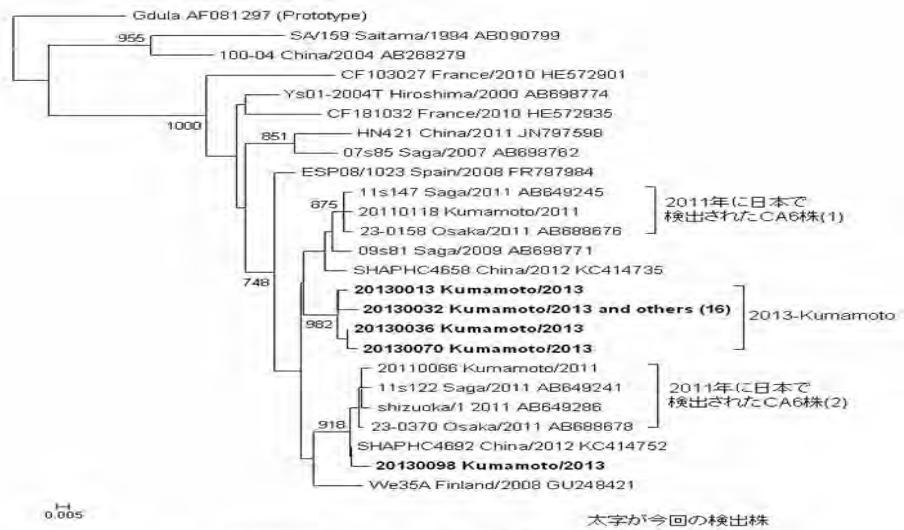


図3. CA6のVP1領域(274bp)を用いた系統樹

IASR

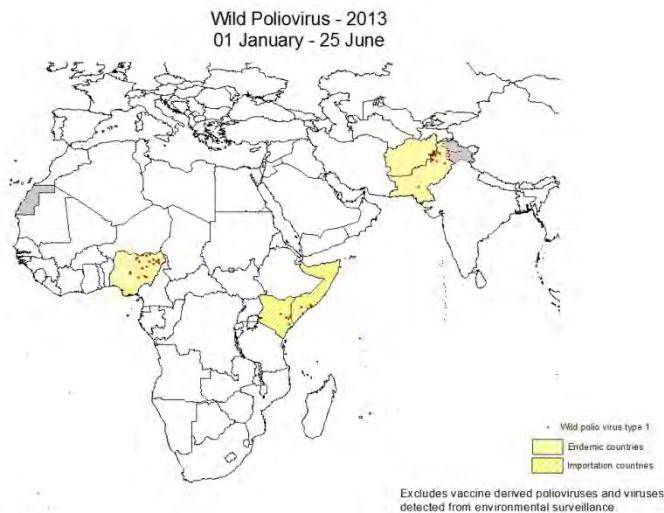
表. 手足口病、ヘルパンギーナ、発疹症からのエンテロウイルス検出状況  
(2013年4月～6月)

臨床診断名 (検査検体数)	手足口病 (22)	ヘルパンギーナ (26)	発疹症 (19)	計 (67)
CA6	17	2	3	22
CA8		7	1	8
Echo18			3	3
計	17	9	7	33

IASR  
Infection Agents Surveillance Report

熊本県保健環境科学研究所 清田先生他  
IASR速報2013.7.8

## 2013年6.25現在ポリオの概要



Data in HQ as of 25 June 2013

ナイジェリア、パキスタン、アフガニスタンが主なポリオ野生株流行地

2011年12月2日と6日  
エジプト(カイロの2か所の地域)  
でWPV1(パキスタン由来)  
OPVキャンペーン

報告例	Year-to-date	Year-to-date	Total in
	2013	2012	2012
<b>Globally</b>	77	84	223
- 流行国	46	80	217
- 非流行国	31	4	6

野生株報告数は減少しているが非流行国への伝播も

非流行国への伝播例(2013年:ソマリア、ケニア)

環境水からの検出(患者なし)



イスラエル(ラハト)  
2013年4月9日  
WPV1(エジプト由来)  
IPVによるフォローアップ

## 我が国の最後のポリオウイルス検出

不活化ポリオワクチン導入後(2012年9月1日以降)のワクチン株検出は4例(何れも9月。  
不顕性例。発生動向調査による)  
3例は8月にOPV歴あり。1例のOPV歴は3月。

## 今後想定される感染源は

### 輸入例

(食品?)

(任意のOPV接種者)

### 1993年の輸入例(感染源不明)

Vol.14 (1993/11/165)

<国内情報>  
ポリオウイルス3型野生株の分離－滋賀県

滋賀県立衛生環境センターでは、エンテロウイルス感染症が疑われる小児を対象に、ウイルス検出検査を毎月実施している。この調査で、ポリオウイルス3型野生株が分離された。  
ウイルスは昭和68年11月から12月とOPV接種で分離された。プール血清を用いてポリオウイルス3型と同定後、PCR-RFLP、塩基配列解析およびモノクローナル抗体の各方法で型内鑑別をした結果、  
本分離ウイルスはポリオウイルス3型の野生株であることが判明した。  
ポリオウイルスが分離された被接種者の背景を表1に示した。臨床診断名はインフルエンザ様疾患であったが、臨床症状と分離されたポリオウイルスとの関係は不明である。

ポリオ感染のほとんどは不顕性(90-95%)。

感冒様不全型(4-8%)、無菌性髄膜炎、一過性麻痺の場合も。

ポリオと区別しがたい麻痺症状:エコーウィルス、コクサッキーウィルス、エンテロウイルス71感染によって引き起こすことが知られている

## 病原体サーベイランスの重要性

### 二類届け出+発生動向調査事業

+ 環境水サーベイランス(←糞便調査-抗体調査:感染症流行予測調査事業)

# 2013年度環境水サーベイランスのご協力を頂く地方衛生研究所

- H25年度流行予測  
調査事業参加

- 調査研究



この他多くの地衛研の先生  
方々にもご尽力いただいて  
おります。

ポリオ検出時対応はH25年度流行予測調査事業実施要領にて案内しています  
→広域情報共有はIASRを想定しています。

## まとめ

### エンテロ一般

2013年になって比較的検出数の多いエンテロウイルスはCA6、EV71、E6、CB5など。

西日本を中心にCA6による手足口病報告数が増加傾向。EV71は手足口病、無菌性髄膜炎より中国四国-東北で報告あり。今後の動向に注意が必要。

無菌性髄膜炎症例からはE6,CB5,**E30**等の検出報告あり。

無菌性髄膜炎の場合、エンテロウイルス検査は3点セット(髄液、咽頭ぬぐい液、糞便)を検査材料として用いることで、効率よくウイルス分離/検出可能。

### ポリオへの注意喚起

2012年9月より不活化ポリオワクチン導入。これからは輸入対策が重要→環境水サーベイランスの開始。

ポリオ感染では無菌性髄膜炎他の神経症状を呈する例が以前より知られており、発生動向調査によるエンテロウイルスサーベイランスの重要性が高まっている。

ポリオ患者(疑い例含む)、ウイルス検出例(ワクチン株でも)について迅速なリスク評価が必要です。

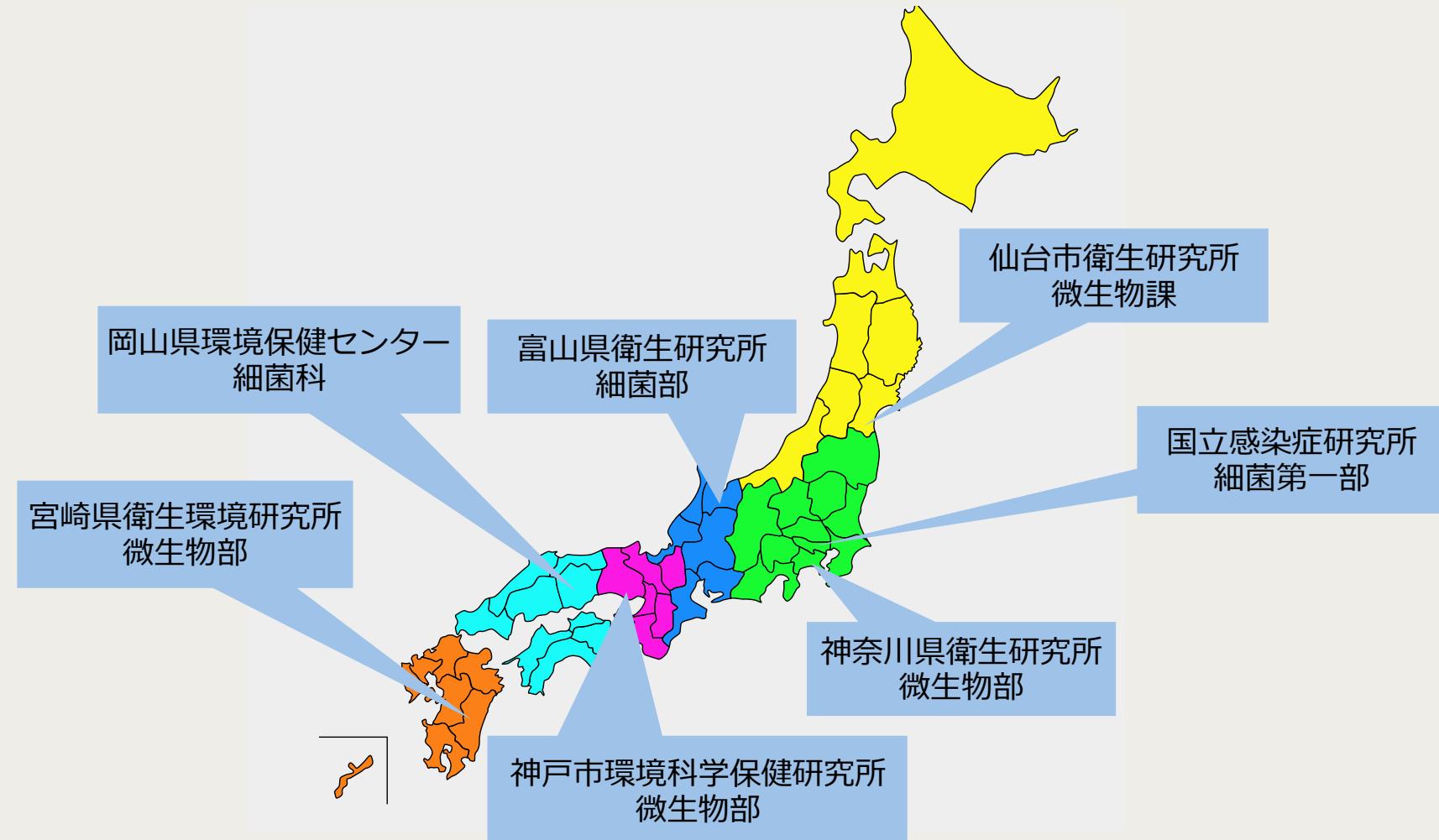
感染研(疫学センター、ウイルス二部)、厚労省結核感染症課への照会をお願いします。

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 2. レジオネラ

# レジオネラ・レファレンスセンター報告



衛生微生物技術協議会第34回研究会  
平成25年7月11日、名古屋

# レジオネラ・レファレンスセンターの 現在の活動

- 1) 病原体サーベイランス 臨床分離株の収集と遺伝子型別 SBT
- 2) 市販されていないレジオネラ免疫血清の作製と配布、  
    **希少感染症予算→厚労科研費補助金（指定研究）の活用**  
    レジオネラ免疫血清ロングビーチ2群、2253(1群に統合?)  
    レジオネラ免疫血清フィーレイ1群、2群の配布  
    レジオネラ免疫血清ハッケリ1群+2群の配布  
    レジオネラ免疫血清アニサ配布  
    レジオネラ免疫血清ロンディニエンシス1群、2群配布

## 今年から

- 3) 培養法の標準化への取り組み(民間検査機関向け、研修会試行)
- 4) 環境水からのレジオネラの分離:外部精度管理 特注バイオボールの利用  
    30地衛研参加可能(無料) 食品薬品安全センターを参考にして

# レジオネラレンスセンターにおける レジオネラ臨床分離株の収集状況 およびレジオネラの遺伝子型別の結果

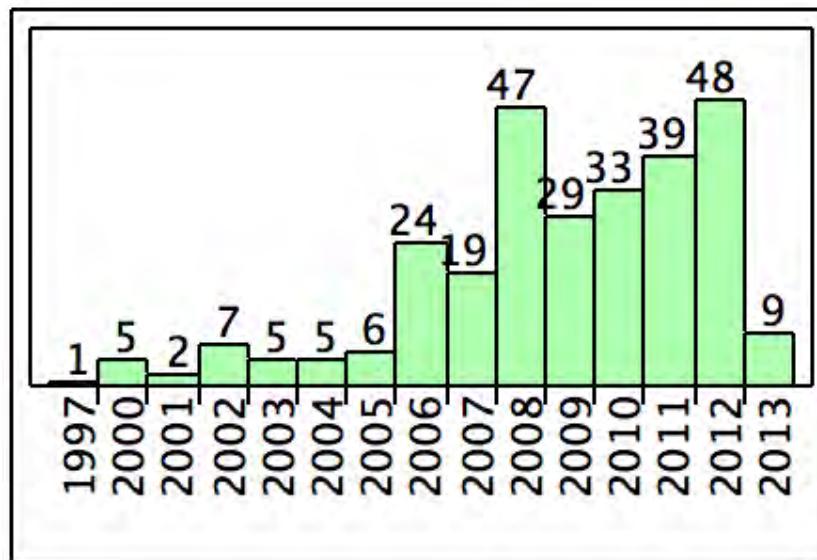
2007年8月から  
レジオネラ臨床分離株を収集

第34回衛生微生物技術協議会  
レンスセンター関連会議  
レジオネラ  
平成25年7月11日  
名古屋市中小企業振興会館

## 収集臨床分離株の内訳

2013年6月末日現在

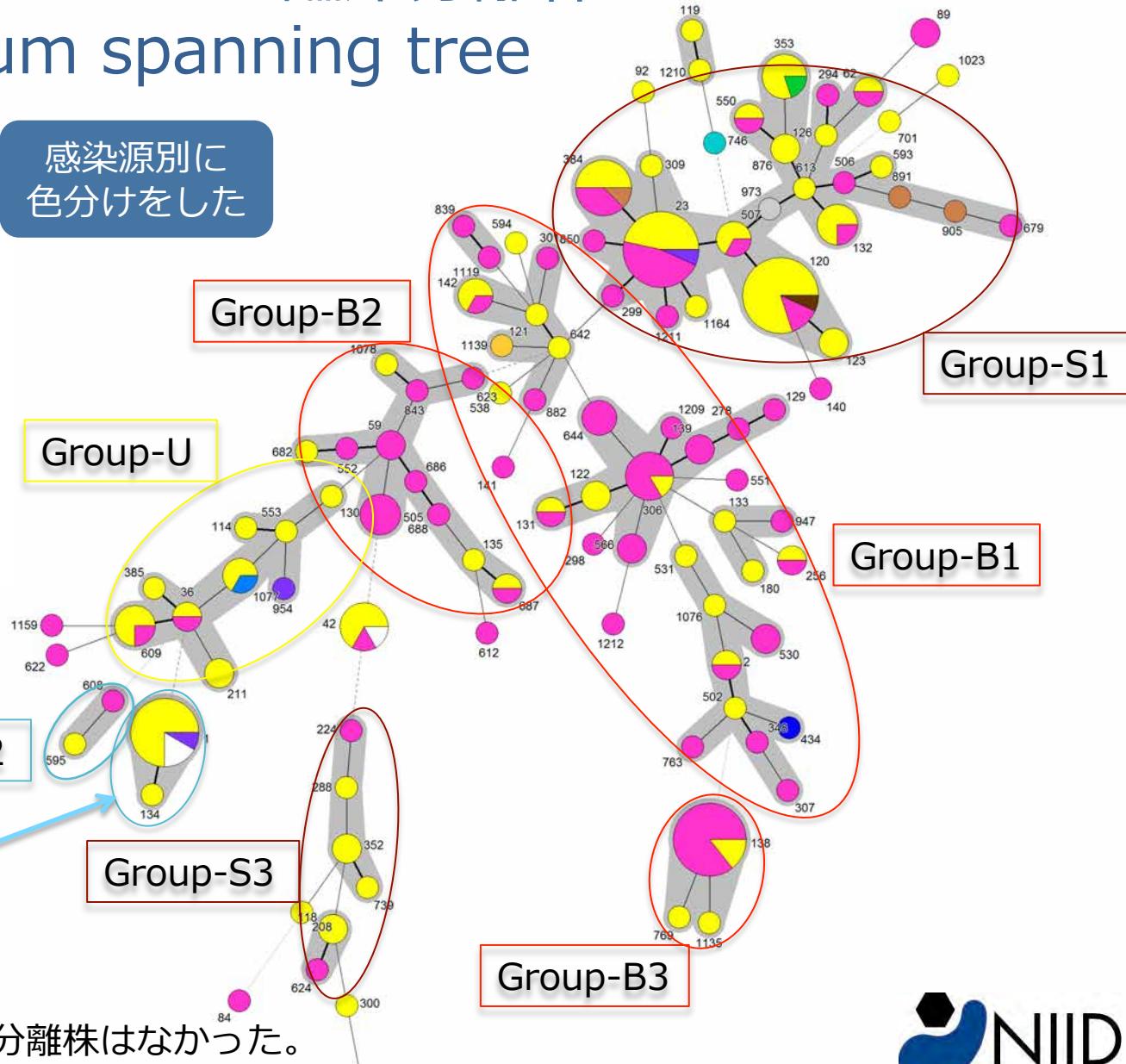
<i>L. pneumophila</i> 273株 (97.5%)	<i>L. feeleii</i> 1株 (0.4%)
SG1 232株 (85.3%)	<i>L. londiniensis</i> 1株 (0.4%)
SG2 6株 (2.2%)	<i>L. longbeachae</i> 4株 (1.4%)
SG3 11株 (4.0%)	<i>L. rubrilucens</i> 1株 (0.4%)
SG4 2株 (0.7%)	
SG5 7株 (2.6%)	
SG6 7株 (2.6%)	
SG9 3株 (1.1%)	
SG10 2株 (0.7%)	
SG12 1株 (0.4%)	
SG15 1株 (0.4%)	
Untypable 1株 (0.4%)	
	計 280株 (100%)



# *L. pneumophila* SG1臨床分離株の minimum spanning tree

株数	感染源
109	不明
92	浴槽水（推定/確定）
3	塵埃（推定）
3	シャワー（推定/確定）
3	院内（推定）
1	津波（溺水）
1	プール（推定）
1	土壤（推定）
1	砂（推定）
1	エアコン（推定）
1	加湿器（確定）
1	冷却塔（推定）

感染源別に  
色分けをした



\* 昨年度までの収集分にレファレンスセンター発足以前に収集した34株を追加した217株を解析

# レファレンスセンター関連会議での話題

1. シャワー水、噴水、給湯水などからの *L. pneumophila* 血清群1分離株の遺伝子型の調査が不十分、収集の必要性
2. 喀痰からの菌の分離率が低い（入手までの検体の保存状態がよくない？）。
3. 一方、ある県では患者の25%から菌株分離、高い罹患率（全国平均の4倍）
4. 鉄道工事等では、粉塵発生を抑制するため散水されている。この水が消毒されていないと患者が発生する恐れがある。
5. レジオネラ検査に関する問題点や要望、免疫血清の交差反応や感度
6. 社会福祉施設のレジオネラ対策は遅れている、高齢者福祉施設は保健所の管轄外、集団感染事例
7. 散発感染事例が刑事事件に発展する可能性

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

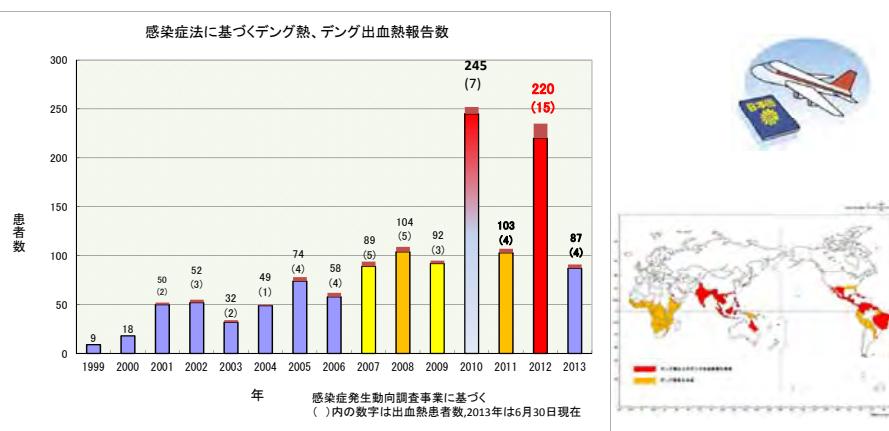
## 3. アルボウイルス

衛生微生物協議会  
第34回研究会  
アルボウイルスセンター報告

- ・ デングウイルス
- ・ ウエストナイルウイルス
- ・ チクングニアウイルス
- ・ ロスリバーウイルス
- ・ ZIKAウイルス
- ・ SFTSV

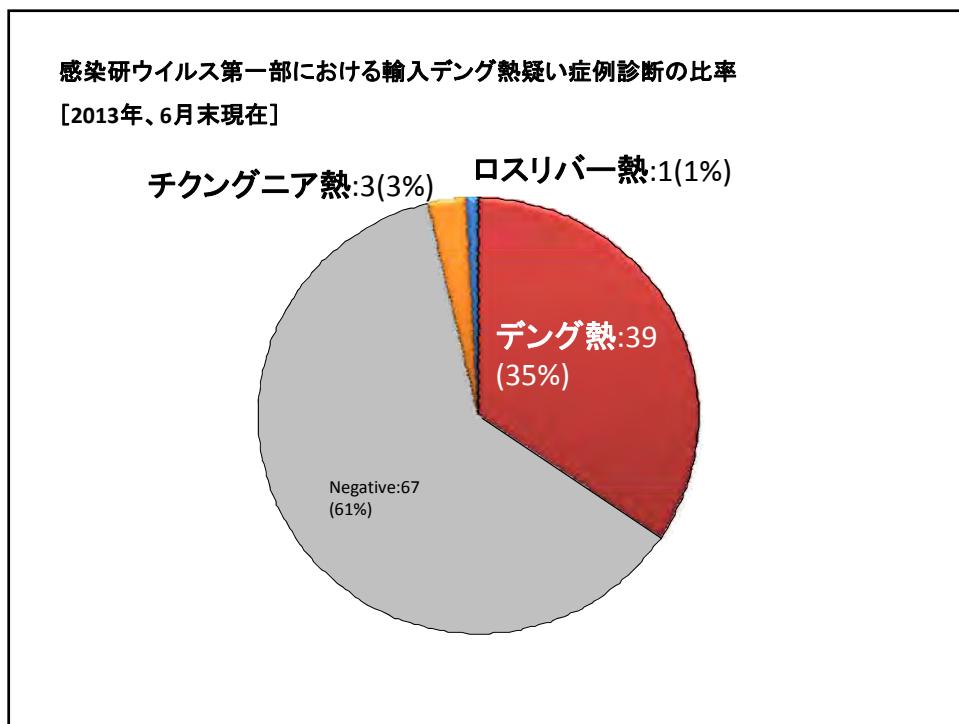
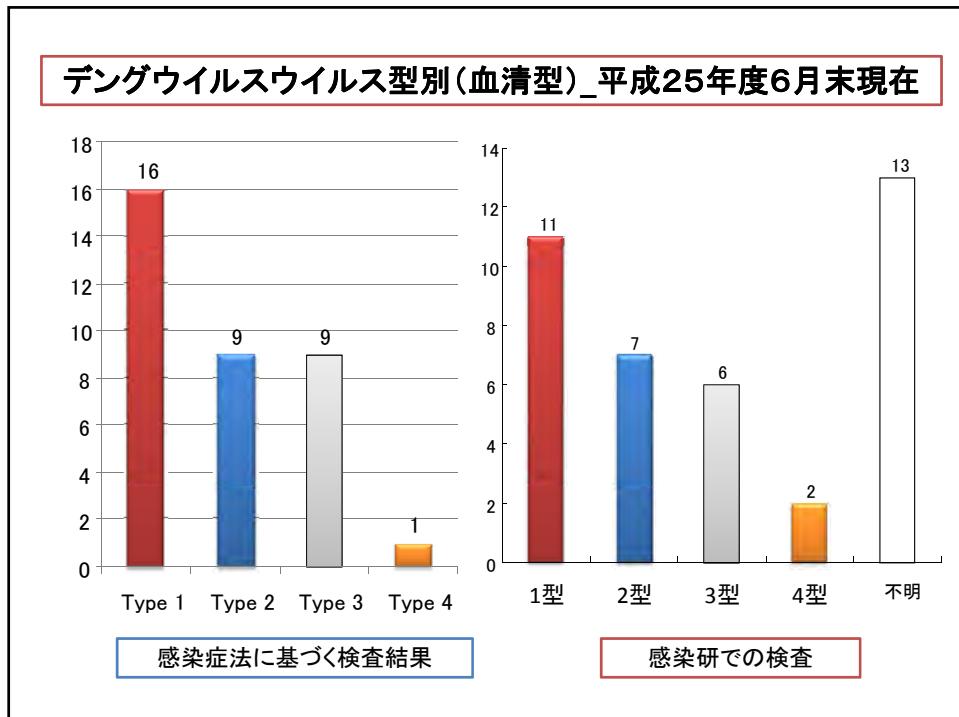
平成25年7月11-12日  
名古屋市中小企業振興会館

## デング熱輸入症例と流行地域



デング熱輸入症例数は増加傾向にある。

日本人旅行者による単発輸入症例だけでなく、海外からの移住者による複数発症例の報告がある。



## 2012年 チクングニア熱輸入症例

2012年			
輸入症例 報告数	感染推定地	発病月	報告地
1	パプアニューギニア	6	神奈川
2	カンボジア、タイ	7	千葉( <a href="#">詳細へ</a> )
3	カンボジア	7	福岡( <a href="#">詳細へ</a> )
4	フィリピン	7	千葉( <a href="#">詳細へ</a> )
5	フィリピン	9	東京( <a href="#">詳細へ</a> )
6	カンボジア	9	東京( <a href="#">詳細へ</a> )
7	インドネシア	10	東京
8	インドネシア	10	神奈川
9	インドネシア	11	岐阜
10	スリランカ	11	東京

## 2013年 チクングニア熱輸入症例

症例番号	感染推定地	発病月	報告地
1	フィリピン	1月	大阪府
2	NA	NA	千葉県
3	インドネシア	3月	東京都
4	インドネシア(バリ島)	3月	神奈川県
5	NA	NA	愛知県
6	NA	NA	兵庫県
7	インドネシア(来日)*	6月	千葉県
8	インドネシア	7月	東京都

1. インドネシア人 11歳、女児
2. 6月26日入国、6月28日発症 40°C台の発熱、頭痛、発疹
3. 滞在地:千葉県浦安市(\*\*\*\*\*)
4. 7月1日、東京ベイ浦安市川医療センター初診。  
予定では7/3に帰国と主治医は聞いている。
5. 7月1日の血清からチクングニアウイルス遺伝子を検出した。

## ロスリバー熱初輸入症例経過

- 患者は31歳女性、生来健康で特に既往歴(一)

2013年1月13日からワーキングホリデーを利用して、オーストラリアのマルバーンに滞在。2月28日から3月6日までタスマニア旅行以外はメルボルンに滞在。

- 3/14の起床時に左足甲の痛み、腫脹、右膝の疼痛を自覚し、歩くのも困難なほどでした。翌日には痛みが悪化し関節可動域制限(+)。その後、痛みは徐々に改善も完治せず、3月末には左手母指のつけねにも痛みが出現。
- 4/8に痛みが悪化し、最初の時と同程度になる。初発時のような腫脹はみられなかった。

➤詳細は下記参照

ROSS RIVER VIRUS - JAPAN ex AUSTRALIA: (VICTORIA)

\*\*\*\*\*

A ProMED-mail post <<http://www.promedmail.org>> ProMED-mail is a program of the International Society for Infectious Diseases <<http://www.isid.org>> Date: Fri 14 Jun 2013 From: Kentaro Tochitani <[tochiken@me.com](mailto:tochiken@me.com)> [edited]

## ロスリバーウイルス TaqMan RT-PCR法

プライマー&プローブ	Sequence (5' to 3' )
RRV_NSP3_F	CCgTggCgggTATTATCAAT
RRV_NSP3_R	AACACTCCGTCgACAAACAgA
RRV_NSP3_Probe	AATAAGAgTgTAgCCATCC

ProbeはFAM、MGB標識

Reed S. Shabman et al.  
J. Virol. 82(24) 12374 – 12382 (2008)

# ロスリバー熱

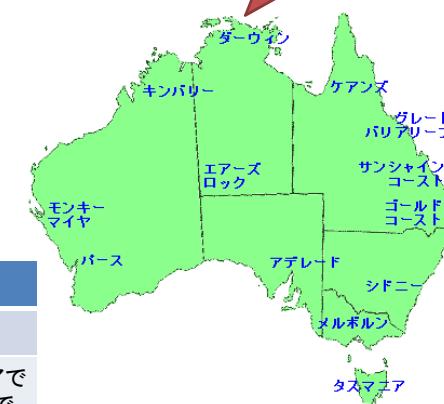
Ross River fever; Ross River virus

バーマ森林熱 Barmah Forest fever  
Barmah Forest virus

潜伏期間は3日から3週間  
類似の病態をおこし、両ウイルスとも  
アルファウイルス属のウイルスである。

**媒介蚊**

<i>A. vigilax</i>	
<i>A. camptorhynchus</i>	
<i>Culex annulirostris</i>	オーストラリアでのJEV媒介蚊でもある。



ウイルスの活動はオーストラリア全土に及ぶ。

### 米国ウエストナイル熱 2013\_July 16<sup>th</sup>

State	Neuroinvasive Disease Cases	Non-Neuroinvasive Disease Cases	Total Cases	Deaths	Presumptive Viremic Blood Donors
<b>Totals</b>	<b>10</b>	<b>13</b>	<b>23</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
Arizona	1	0	1	0	0
California	1	0	1	1	0
Colorado	0	1	1	0	0
Iowa	0	2	2	0	0
Mississippi	1	5	6	1	0
Nebraska	0	0	0	0	1
Nevada	4	1	5	1	0
South Dakota	1	3	4	0	1
Tennessee	1	0	1	0	0
Texas	1	1	2	0	1

Year	Neuroinvasive diseases		Non-Ni disease		Total	
	Cases	Cases (%)				
1999	59	7 (12)	3	0 (0)	62	7 (11)
2000	19	2 (11)	2	0 (0)	21	2 (10)
2001	64	10 (16)	2	0 (0)	66	10 (15)
2002	2,946	276 (9)	1,210	8 (1)	4,156	284 (7)
2003	2,866	232 (8)	6,996	32 (<1)	9,862	264 (3)
2004	1,148	94 (8)	1,391	6 (<1)	2,539	100 (4)
2005	1,309	104 (8)	1,691	15 (1)	3,000	119 (4)
2006	1,495	162 (11)	2,774	15 (1)	4,269	177 (4)
2007	1,227	117 (10)	2,403	7 (<1)	3,630	124 (3)
2008	689	41 (6)	667	3 (<1)	1,356	44 (3)
2009	386	32 (8)	334	0 (0)	720	32 (4)
2010	629	54 (9)	392	3 (1)	1,021	57 (6)
2011	486	42 (9)	226	1 (<1)	712	43 (6)
2012	2,873	270 (9)	2,801	16 (1)	5,674	286 (5)
Total	16,196	1,443 (9)	20,892	106 (1)	37,088	1,549 (4)

## ZIKA Virus

- 比較的軽症のデング熱様急性熱性疾患を引き起こすフーラビウイルスである。
- 2007年にミクロネシアで症流行を引き起こした。

### *Zika virus in a returning Canadian traveller\_Thailand*

Zika virus (ZIKV) has been detected in the blood of a 45 year old Canadian woman who recently returned from a vacation in southern Thailand. ZIKV is a flavivirus which was first reported from Thailand in 1954. The patient traveled with other family members to Bangkok from 21-28 Jan [2013], and spent a week there without noticing many mosquito bites. The party went to Phuket Island from 28 Jan-2 Feb [2013], traveling and spending time at various beaches where the patient noted many more mosquito bites as she was told that it was mosquito season. On her return to Bangkok, on 2 Feb [2013], she changed her hotel to one by the river, where she sustained numerous bites on her exposed skin. Most noticeably her leg became inflamed and itchy, to which she applied cortisone cream and other emollients. She flew back to Canada 3 days later on 5 Feb [2013] and on the flight described feeling restless, irritable, with a headache, chills, and sore back, in addition to the itching and inflammation of the mosquito bitten areas.

**Strain** : MR766 (isolated in 1947 from sentinel rhesus monkey)

Ref: Dick GWA, Kitchen SF, Haddow AJ: Zika Virus (I). Isolations and serological specificity. The Transaction of the Tropical Medicine & Hygiene 46(5) 509-520 (1952)

**Primer** : FVx 8790f – 9137r  
ZIKA 801f – 2586r

AY632535 MR766 kuno  
AF372422 Univ of London  
DQ859059 MR766 Univ  
EU545988 Yap  
zika 801-2583

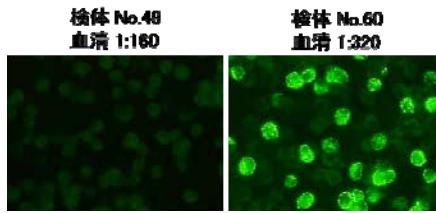
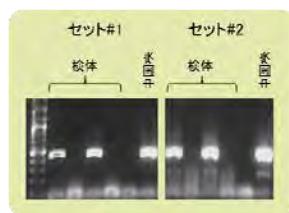
## 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)

- 遺伝子検出法

- RT-PCR(衛研への配布キット)の感度
    - 特にプライマーセット#2はかなり高い
  - リアルタイムPCRは?
    - 塩基配列の情報を蓄積し検討中

### • 抗体検出法

- 現行の間接蛍光抗体法  
(感染研でのみ実施)
    - 感染細胞使用、高コスト
  - ELISA法を検討中
    - 将来は衛研へ配布



## ま と め

- ・ デング熱実験室診断に非構造蛋白抗原NS1は有用である。発病後2週間程度まで検出可能である。
- ・ 2013年のデング熱輸入症例報告数は、6月末現在過去最高数である。
- ・ 米国のウェストナイル熱患者が報告され始めている。
- ・ ロスリバーウイルス(RRV)遺伝子を配布した(RRV用TaqMan法を確立した)。



# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 4. ノロウイルス・ロタウイルス

# 下痢症ウイルスレンズ 活動報告

2013年7月11日 (名古屋)

# Proposal for a Unified Norovirus Genotyping and Strain Nomenclature

Annelies Kroneman, Harry Vennema, Jan Vinjé, , Peter A. White, Grant Hansman, Kim Green, Vito Martella, Kazuhiko Katayama, Marion Koopmans

- An **ORF1-ORF2 recombination, chimeric virus was increased.**
- **Need to know ORF1 character that related to pathogenicity of NoV.**
- **New system was developed to understand NoV evolution mechanism.**

**A cryptogram previously proposed for caliciviruses would further facilitate communication by inclusion of the genogroup and genotype assignment as follows:**

**Host /** Hu (human) Bo (bovine), Mu (murine), Po (porcine), Ca (canine). A list of the host name abbreviations is published on the norovirus typing tool website.

NoroNet: <http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>

**Country code (ISO) /** FR, DE, US, JP, etc

year of sampling / .

genogroup and genotype /

(ORF1 and ORF2)

GII.P4\_GII.4, or if only the

ORF2 sequence is known:

GII.4 variant name city, if necessary followed by a serial number.

For example:

norovirus GII/Hu/FR/2004/GII.P12-GII.3/Paris23

norovirus GII/Hu/GB/2010/GII.P4\_GII.4\_New-Orleans2009/London48,

or if only the capsid sequence is known:

norovirus GII/Hu/FR/2004/GII.12/Paris25.

# Norovirus Typing Tool - (Closed/ Open access)

You may can either:

- A. paste one or more sequences in FASTA format in the input field.
- B. upload a FASTA file.
- C. revisit results of a previous run

## A) Paste nucleotide sequence(s) in FASTA format:

```
>AB287451
GGCGTCGATGACGCCNCCCATCTGATGGGTCCACAGCCAACCTCGTCCCAGAGGTCAACAAATGAGGTTATGGCTTGGA
GCCCGTTGTTGGTGCCTCGCGATTGCGGCACCTGTAGCAGGGCCAACAAAATGTAATTGACCCCTGGATTAGAAATAATTTG
TACAAGCCA
```

## B) Or, upload a FASTA with nucleotide sequences:

## C) Or, revisit results from a previous run:

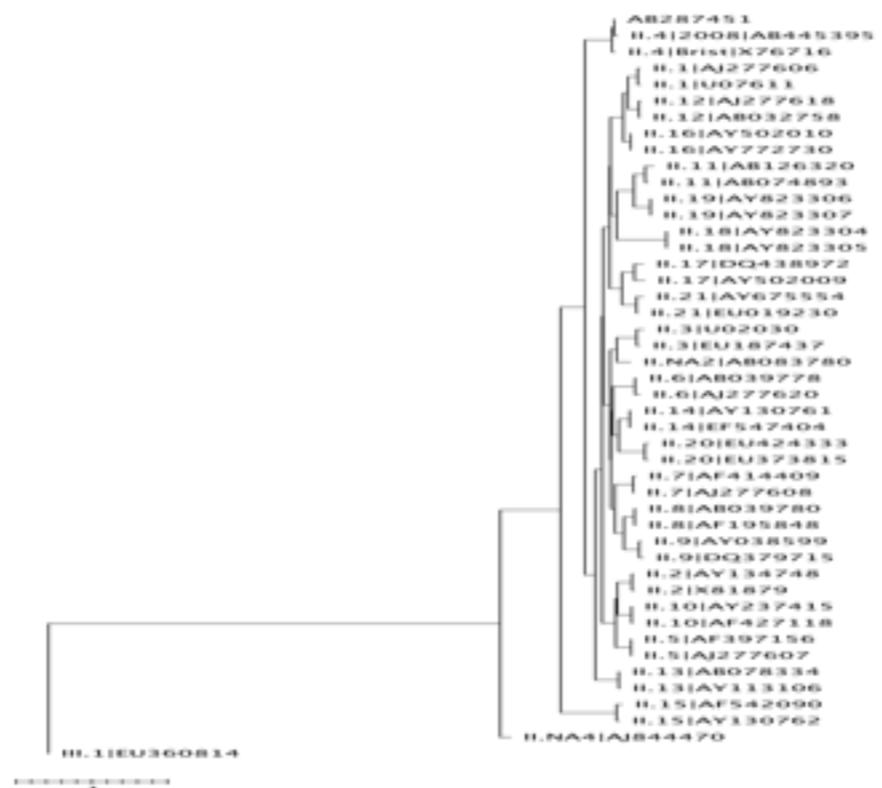
Job-id:

# Norovirus Typing Tool

You may bookmark this page to revisit results of this job (1582787771) later.

Name	Length	Report	ORF 1	ORF 2	Genome	
AB287451	169	<a href="#">Report</a>	NA	NoV II.4	2004	
AB112331	938	<a href="#">Report</a>	NoV II.d	NoV II.5		
AB287450	167	<a href="#">Report</a>	NA	NoV II.6		

Download results: [XML File](#), [Table \(CSV format\)](#), [Table \(Excel format\)](#)



# Fields Virology 6th edition に収載予定のGI ORF2 標準配列

Reference Virus	Genogroup	Genotype	Accession Number
Hu/NoV/GI.1/Norwalk/1968/US	I	1	M87661
Hu/NoV/GI.2/Southampton/1991/UK	I	2	L07418
Hu/NoV/GI.3/Desert Shield 395/1990/SA	I	3	U04469
Hu/NoV/GI.4/Chiba 407/1987/JP	I	4	AB022679
Hu/NoV/GI.5/Musgrove/1989/UK	I	5	AJ277614
Hu/NoV/GI.6/BS5(Hesse3)/1997/DE	I	6	AF093797
Hu/NoV/GI.7/Winchester/1994/UK	I	7	AJ277609
Hu/NoV/GI.8/Boxer/2001/US	I	8	AF538679
Hu/NoV/GI.9/Vancouver730/2004/CA	I	9	HQ637267

NoV GI のORF2領域を用いたジェノタイプは9種類

# NoV GII standard strains

Reference Virus	Genogroup	Genotype	Accession
Hu/NoV/GII.1/Hawaii/1971/US	II	1	U07611
Hu/NoV/GII.2/Melksham/1994/UK	II	2	X81879
Hu/NoV/GII.3/Toronto 24/1991/CA	II	3	U02030
Hu/NoV/GII.4/Bristol/1993/UK	II	4	X76716
Hu/NoV/GII.5/Hillingdon/1990/UK	II	5	AJ277607
Hu/NoV/GII.6/Seacroft/1990/UK	II	6	AJ277620
Hu/NoV/GII.7/Leeds/1990/UK	II	7	AJ277608
Hu/NoV/GII.8/Amsterdam/1998/NL	II	8	AF195848
Hu/NoV/GII.9/VA97207/1996/US	II	9	AY038599
Hu/NoV/GII.10/Erfurt546/2000/DE	II	10	AF427118
Po/NoV/GII.11/Sw918/1997/JP	II	11	AB074893
Hu/NoV/GII.12/Wortley/1990/UK	II	12	AJ277618
Hu/NoV/GII.13/Fayetteville/1998/US	II	13	AY113106
Hu/NoV/GII.14/M7/1999/US	II	14	AY130761
Hu/NoV/GII.15/J23/1999/US	II	15	AY130762
Hu/NoV/GII.16/Tiffin/1999/US	II	16	AY502010
Hu/NoV/GII.17/CS-E1/2002/US	II	17	AY502009
Po/NoV/GII.18/OH-QW101/2003/US	II	18	AY823304
Po/NoV/GII.19/OH-QW170/2003/US	II	19	AY823306
Hu/NoV/GII.20/Luckenwalde591/2002/DE	II	20	EU373815
Hu/NoV/GII.21/IF1998/2003/IR	II	21	AY675554
Hu/NoV/GII.22/YURI/JP	II	22	AB083780

NoV GII のORF2領域を用いたジェノタイプは22種類

# Genotype番号比較表

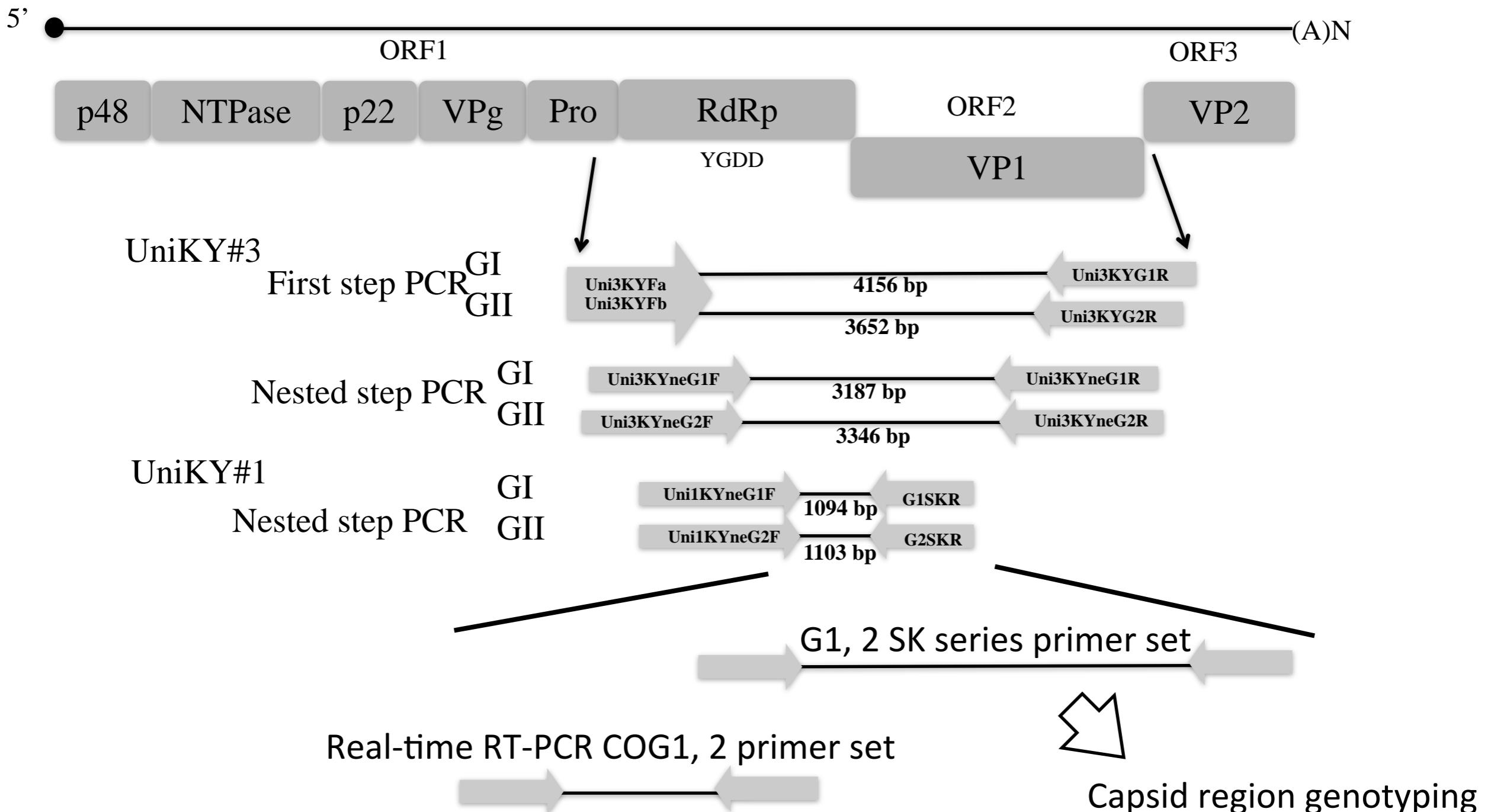
Capsid N/S regionに基づくgenotype				VP1全長アミノ酸配列に基づくgenotype			
	Genotype number	Accession number	Strain name		Genotype number	Accession number	Strain name
Genogroup I	GI/1	M87661	Norwalk/68/US*	GI.1	M87661	Norwalk/68/US*	
	GI/2	L07418	Southampton/91/UK*	GI.2	L07418	Southampton/91/UK*	
	GI/3	U04469	DesertShield/90/US	GI.3	U04469	DesertShield/90/US	
	GI/4	AB042808	Chiba407/87/JP*	GI.4	AB042808	Chiba407/87/JP*	
	GI/5	AJ277614	Musgrove/89/UK	GI.5	AJ277614	Musgrove/89/UK	
	GI/6	AF093797	Hesse(BS5)/98/GE*	GI.6	AF093797	Hesse(BS5)/98/GE*	
	GI/7	AJ277609	Winchester/94/UK	GI.7	AJ277609	Winchester/94/UK	
	GI/8	AB081723	WUG1/00/JP*	GI.8	AF538679	Boxer/01/US**	
	GI/9	AB039774	SaitamaSzUG1/99/JP*	GI.9	HQ637267	Vancouver730/2004/CA	
	GI/10	AF538679	Boxer/01/US**				
	GI/11	AB058547	SaitamaKU8GI/99/JP				
	GI/12	AB058525	SaitamaKU19aGI/00/JP				
	GI/13	AB112132	SaitamaT35aGI/01/JP				
	GI/14	AB112100	SaitamaT25GI/01/JP				
Genogroup II	GII/1	U07611	Hawaii*	GII.1	U07611	Hawaii*	
	GII/2	X81879	Melksham	GII.2	X81879	Melksham	
	GII/3	AB067542	SaitamaU201*	GII.3	U02030	Tronto	
	GII/4	X86557	Lordsdale/93/UK*	GII.4	X76716	Bristol	
	GII/5	AJ277607	Hillingdon/90/UK	GII.5	AJ277607	Hillingdon/90/UK	
	GII/6	AB039776	SaitamaU3*	GII.6	AJ277620	Seacroft/90/UK	
	GII/7	AJ277608	Leeds/90/UK	GII.7	AJ277608	Leeds/90/UK	
	GII/8	AB067543	SaitamaU25*	GII.8	AF195848	Amsterdam	
	GII/9	AY054299	IdahoFalls	GII.9	AY038599	VA97207/97	
	GII/10	AY237415	Mc37*	GII.10	AF427118	Erfurt/546/00/DE	
	GII/11	AB112221	SaitamaT29GII	GII.11	AB074893	SwNoV/Sw918/97/JP	
	GII/12	AB039775	SaitamaU1*	GII.12	AJ277618	Wortley/90/UK	
	GII/13	AY130761	M7/99/US	GII.13	AY113106	Fayettevil/98/US**	
	GII/14	AB078334	Kashiwa47	GII.14	AY130761	M7/99/US**	
	GII/15	AB058582	SaitamaKU80aGII	GII.15	AY130762	J23/1999/US**	
	GII/16	AB112260	SaitamaT53GII	GII.16	AY502010	Triffin/1999/US	
	GII/17	AF195847	Alphatron	GII.17	AY502009	CSE1/2002/US	
	GII/18	AB083780	Akita-Yuri	GII.18	AY823304	SwNoV/OHQW101/2003/US	
	GII/19	EF630529	Hokkaido299	GII.19	AY823306	SwNoV/OHQW170/2003/US	
				GII.20	EU373815	Luckenwalde591/2002/DE	
				GII.21	AY675554	IF1998/2003/IR	
				GII.22	AB083780	YURI/JP	

\*Full-length genome sequence

\*\*Unpublished

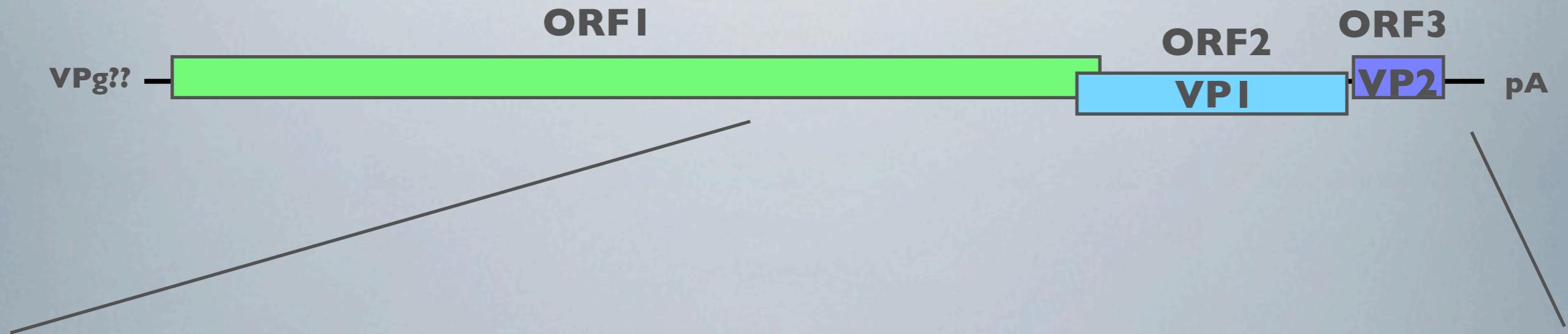
# Map of UniKY RT-PCR region and a related conventional RT-PCR region

Norwalk virus genome (M87661)



UniKY RT-PCR system will be able to provide RdRp region genotyping and also confirm capsid region genotyping. It also will identify chimeric viruses.

# New Standard NoV-Plasmids v2

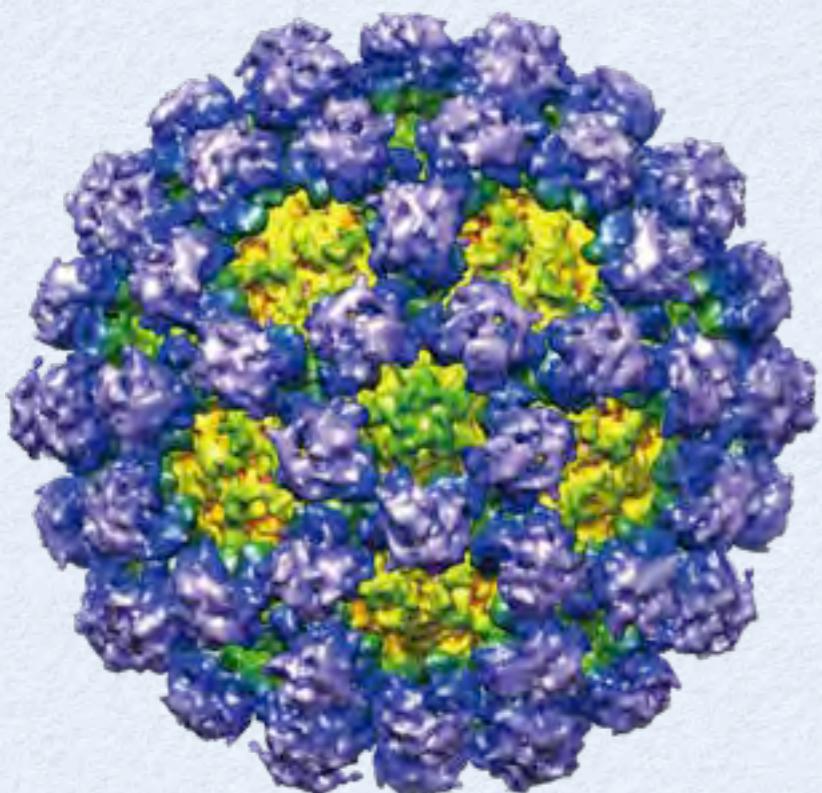


Protease region - VP2 region

GI/I NV68 prototype	3000-7500	3.5 Kb
GII/4 2006b Sagal strain	3000-7400	3.4 Kb

Proteaseの上流に存在する高度保存領域から、VP2下流までを含む。Long RT-PCRに対応。

# ノロウイルスレファレンスセンター



宮城県保健環境センター  
埼玉県衛生研究所  
千葉市環境保健研究所 医科学課  
愛知県衛生研究所  
名古屋市衛生研究所  
大阪市立環境科学研究所  
堺市衛生研究所  
広島県衛生研究所  
長崎市保健環境試験所  
佐賀県衛生薬業センター

担当委員の変更がある場合、お知らせください  
[katayama@nih.go.jp](mailto:katayama@nih.go.jp)

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 5. 大腸菌

## レファレンスセンター関連会議 ⑤「大腸菌」

司話人:伊豫田 淳  
(国立感染症研究所・細菌第一部)

siyoda@niid.go.jp

ehec@niid.go.jp



# 大腸菌の血清型別について

大腸菌の血清型 O:H で決定  
(Oのみの場合 → O血清群)

O1—O187 (欠番: O31, O47, O67, O72, O94, O122)

因子血清群O18ab, O18ac, O28ab, O28ac, O112ab, O112ac  
が存在するため, 全184種類

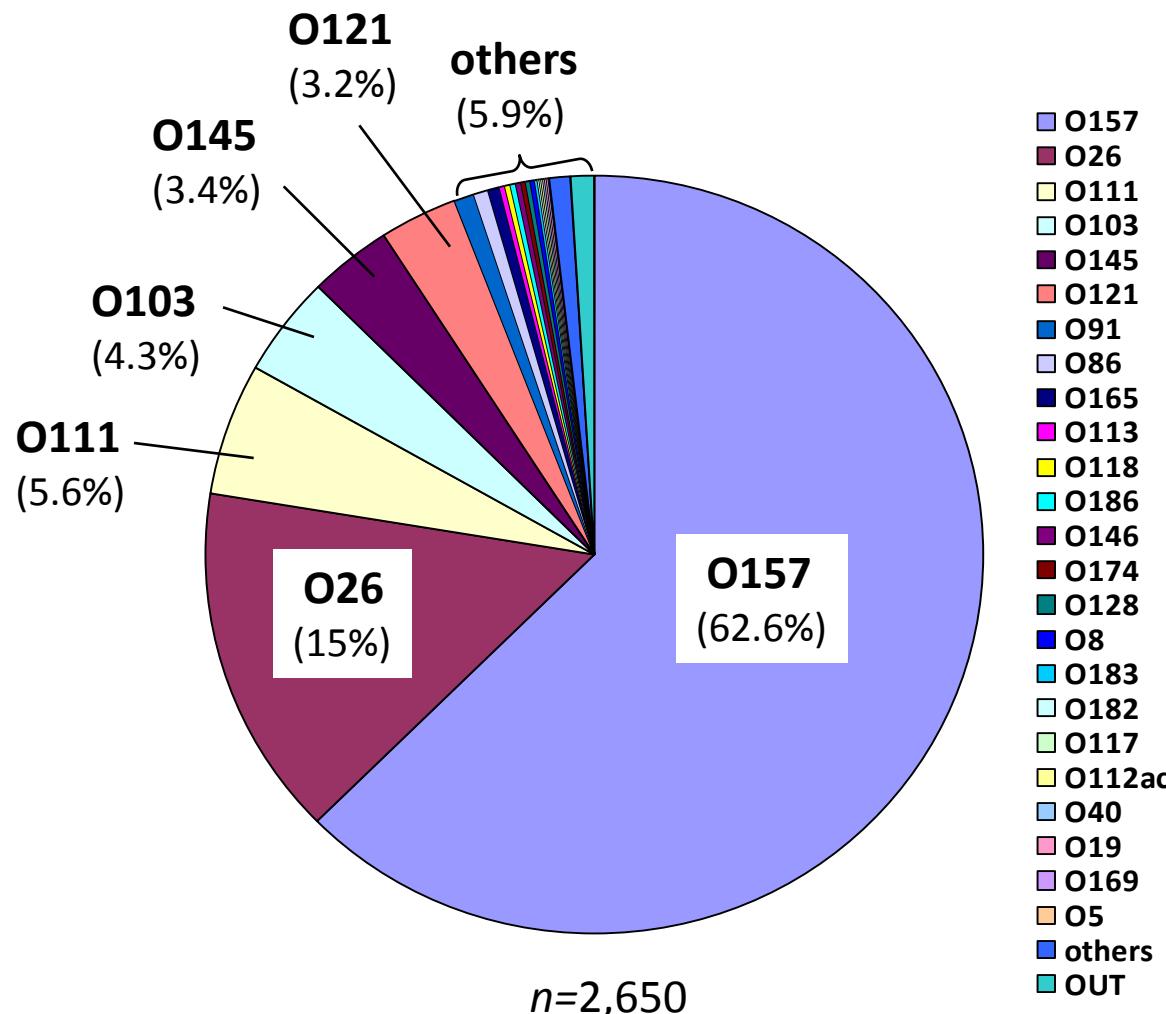
H1—H56 (欠番: H13, H22, H50)

- ・ デンマーク血清学研究所 (Statens Serum Institut: SSI)  
からの輸入品(フルセット, 国内代理店:ベリタス)
- ・ 感染研自家血清 (O182-O187を除く)
- ・ デンカ生研 (O; 50種類, H; 22種類のみ)

## デンカ生研とSSIのO血清群の表記の違いについて

デンカ	SSI	
O18	O18ab	O18ac
O28ac	O28ab	O28ac
O86a	O86	
O112ac	O112ab	O112ac
O125	O125abc	
O127a	O127	
O128	O128abc	

## Serogroup of EHEC isolates from human (2012)



(data obtained from dep of bac I)

# Prevalence of O serogroup and LEE among BD- and/or HUS-derived EHEC strains (2007-2012, $n = 17,050$ )

7 major O serogroups (O157, O26, O121, O111, O145, O103, O165) plus O177, O5, and O118:

LEE-positive EHEC

O91 and O183:

LEE-negative EHEC

HUS: hemolytic uremic syndrome

BD: bloody diarrhea

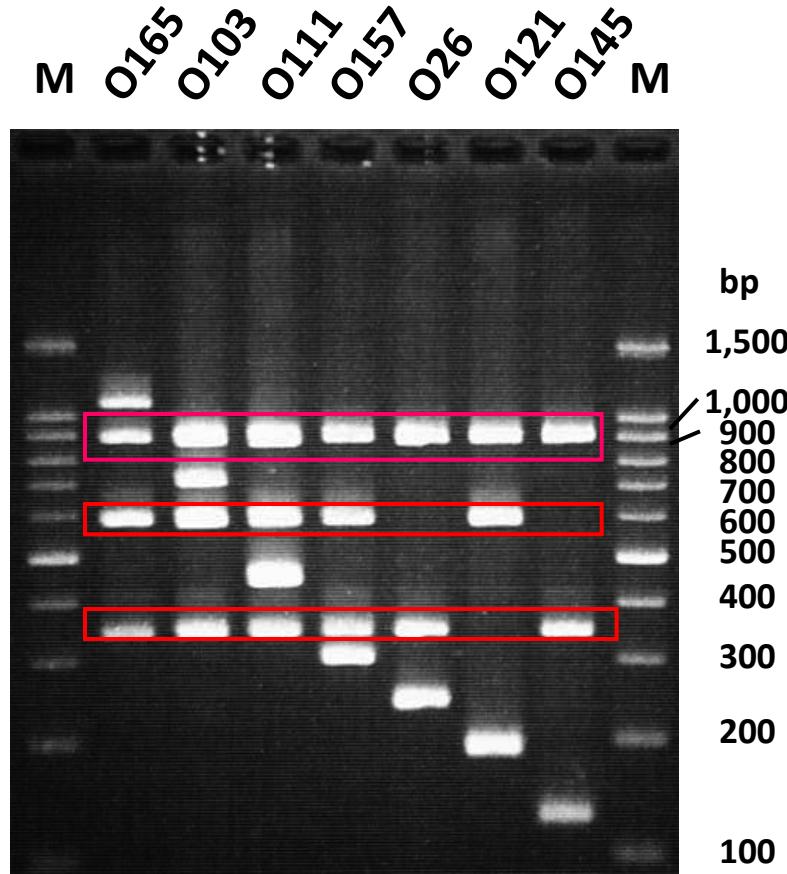
O group	total number	HUS and/or BD (HUS)	%
O157	11,638	4,702 (226)	40.4
O26	2,624	434 (2)	16.5
O121	333	111 (7)	33.3
O111	662	103 (10)	15.6
O145	356	85 (4)	23.9
O103	403	54 (0)	13.4
O165	69	37 (3)	53.6
O177	9	5 (1)	55.6
O5	26	4 (0)	15.4
O91	181	3 (0)	1.66
O118	11	3 (0)	27.3
O183	34	2 (1)	5.89

7 major O groups

# One-shot multiplex PCR ver.2 to detect O157, O26, O111, O121, O103, O145, O165, *stx1*, *stx2* and *eae*

10 primer sets  
in a single tube

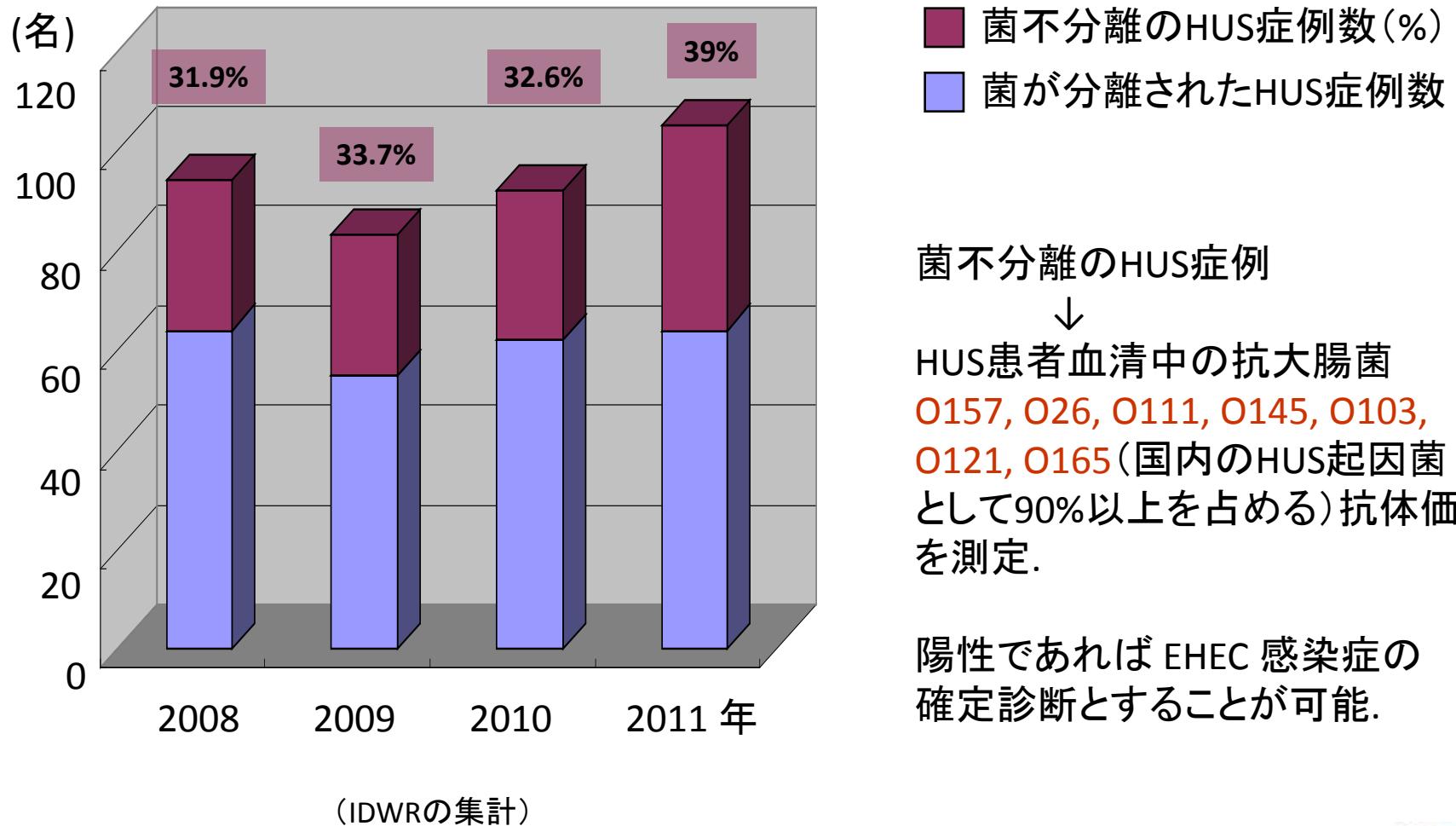
O165 (1,042 bp)  
*eae* (881 bp)  
O103 (716 bp)  
*stx2* (584 bp)  
O111 (451 bp)  
*stx1* (348 bp)  
O157 (296 bp)  
O26 (241 bp)  
O121 (193 bp)  
O145 (132 bp)



(Courtesy of Dr. Iguchi, Miyazaki Univ.)

# EHECの血清診断について

## HUS症例発生数とEHECの分離率



# HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析結果 (2006年-2013年6月)

陽性 / 検体総数 (依頼件数) = 39 / 55

**陽性率71%**

陽性内訳: O157 (26件), O111 (6件), O165 (4件), O145 (1件), O121 (2件),  
O103 (1件), O26 (1件),

- 同一HUS患者血清で2種類の抗原 (O103 と O165)への陽性例(いずれも320倍), 3種類の抗原 (O157, O121, O26)への陽性例(いずれも1,280倍)あり.
- 陽性例はすべて320倍以上の凝集価  
( O121 陽性の 1 例 [160倍] を除く: 次スライド)

# HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析例(1)

HUS患者： 60歳、男性、EHEC不分離

発症日 5月4日 水溶性下痢  
5月7日 粘血便→血便→HUS

血清1 (5月7日) 非凝集

血清2 (5月11日) 非凝集

血清3 (5月12日) O121 ( $\times 80$ )

血清4 (5月13日) O121 ( $\times 160$ )

- ・発症日・臨床症状・血清採取日等の情報が重要.
- ・採取日の異なる複数の血清が必要（特に発症直後と回復期）.

## HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析例(2)

### 2011年 富山・福井 O111関連事例: 富山・福井以外からの依頼分 (すべてEHEC不分離のケース)

- ・ HUS患者1 (仙台市): 18才男性, 富山県に帰省中に「えびす」を利用. 仙台で発症  
    発症日 4月22日  
    血清 (4月29日) O111陽性 (× 640)
- ・ HUS患者2 (大阪市): 14才女性, 富山県からの旅行先 (大阪)で発症.  
    発症日 4月26日  
    血清1 (4月29日) O111陽性 (× 320)  
    血清2 (4月30日) O111陽性 (× 640)
- ・ HUS患者3 (横浜市): 19才女性, 神奈川県内で「えびす」を利用.  
    発症日 4月23日  
    血清1 (4月25日) 非凝集  
    血清2 (4月27日) O111陽性 (× 320)  
    血清3 (4月28日) O111陽性 (× 1,280)  
    血清4 (4月29日) O111陽性 (× 2,560以上)  
    血清5, 6, 7 (4月30日, 5月1日, 2日) O111陽性 (× 2,560以上)

## HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析例(3)

HUS患者: 4歳 男児, 2012年8月

EHEC不分離

(病院の検査室で大腸菌 O74(*stx* 陰性)のみ分離)

発症日: 7月14日 腸炎発症, 7月17日 HUS発症

血清1: (7月18日) O157陽性(×160)

血清2: (7月21日) O157陽性(×640)

血清3: (7月29日) O157陽性(×320)

血清4: (8月 4日) 非凝集

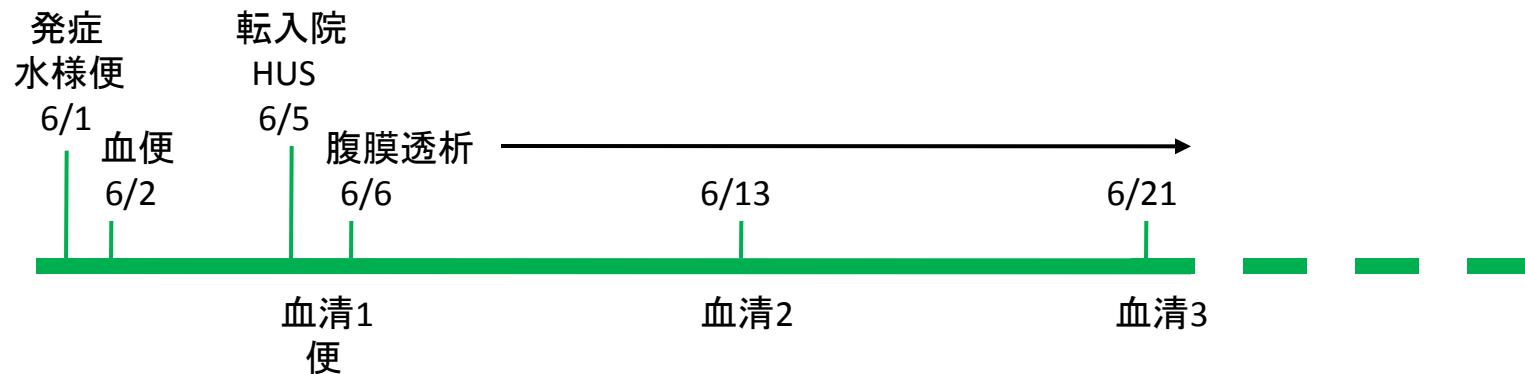
血清5: (8月11日) 非凝集

同時に、同じ患者の血便吸収紙オムツからの菌分離依頼あり:

- ・上記の血清診断の結果から、O157感染が疑われたため、免疫磁気ビーズ(O157)を用いた菌の濃縮、菌分離を実施.
- ・O157:H7 *stx1 stx2* を分離.

## HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析例(4)

### 3歳男児, HUS(菌不分離)症例, 2013年6月



血中抗体価解析: O157, X 640-1,280 O157, X 640-1,280 O157, X 640-1,280  
O121, X 640-1,280 O121, X 640-1,280 O121, X 640-1,280  
O26, X 320 O26, X 640-1,280

### 3種類の抗大腸菌抗体(O157, O121, O26)陽性例

便(6/5採取, 4°C保存): 6/24, 直接塗沫(Sor-MacConkey, DHL等), TSB増菌培養.  
6/25, ビーズ法(O157 [Dynal & Denka], O26 [自家調製],  
O121 [自家調製])による濃縮.

分離株:

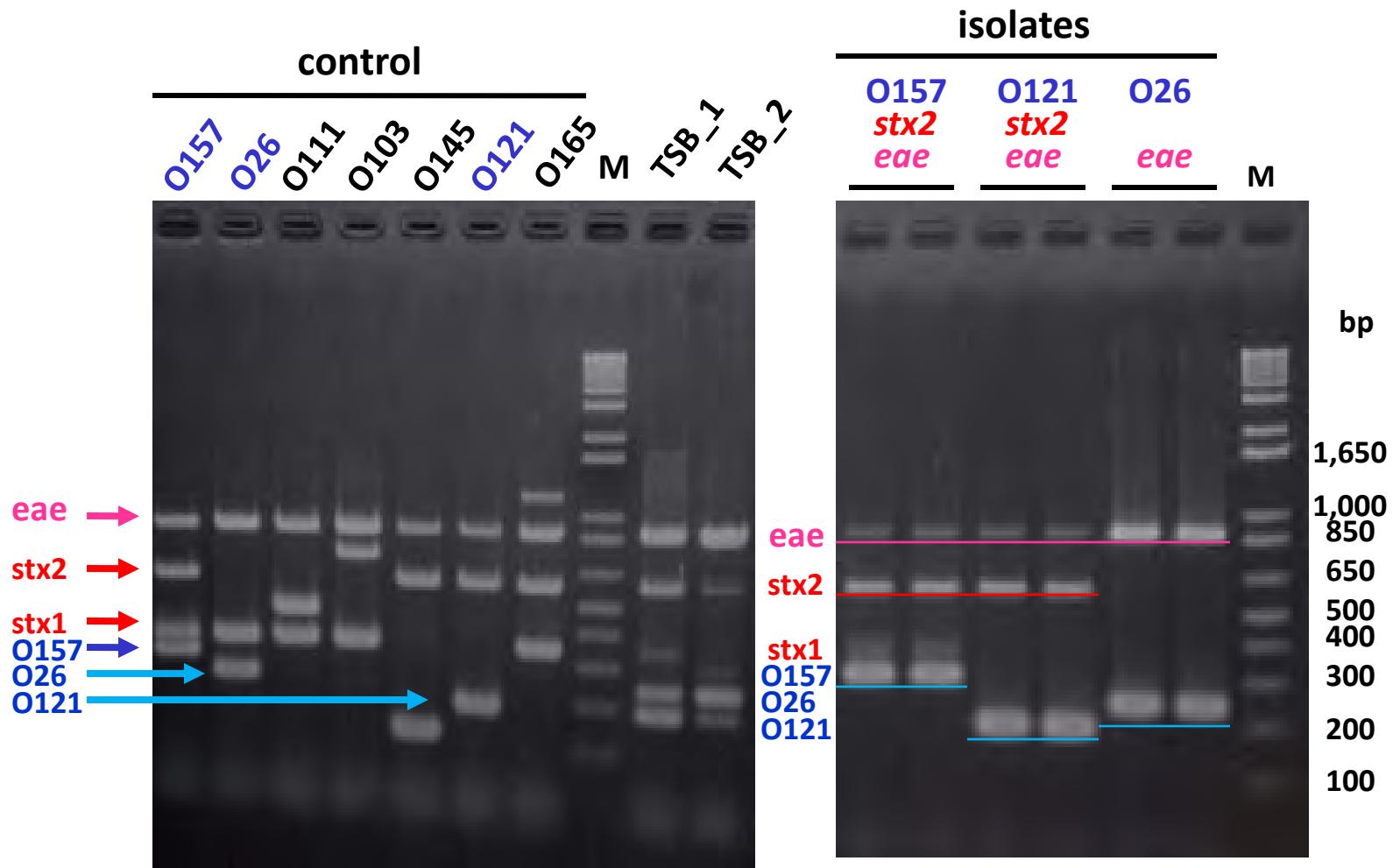
O157:H7 *stx2-pos, eae-pos*

O121:H+ *stx2-pos, eae-pos*

O26:H11 *eae-pos*

血中抗体価の成績と一致.

# Application of one-shot multiplex PCR ver.2 to detect O157, O26, O121, *stx2* and *eae*



## 血清診断のまとめ

- ・ 発症日・臨床症状・血清採取日等の情報が重要.
- ・ 採取日の異なる複数の血清が必要（特に発症直後と回復期）.
- ・ 複数抗原（感染研では O157, O26, O111, O103, O145, O121, O165 を使用）を使用する.
- ・ 集団発生事例では複数の患者血清による解析結果から総合的に判断する.
- ・ 分離菌株がある場合はその株に対する抗体価上昇確認を行う  
(まれなO血清群 分離株がHUS起因株であること, 混合感染時のHUS起因株が確認できる).
- ・ 菌分離が困難な場合は迅速診断の一助となりうる.

# EHEC以外の下痢原性大腸菌について

# 主な下痢原性大腸菌のカテゴリーと病原性因子 およびマーカーとなる遺伝子

## 腸管侵入性大腸菌

EIEC: enteroinvasive *E. coli* = *Shigella* spp.

invasion genes / plasmid

*invE, ipaH*

## 腸管毒素原性大腸菌

ETEC: enterotoxigenic *E. coli*

LT: heat-labile toxin = cholera toxin

and/or

ST: heat-stable toxin

/plasmid

*LT, ST1a, ST1b*

## 腸管凝集接着性大腸菌

EAggEC: enteroaggregative *E. coli*

aggregative fimbriae / plasmid

*aggR*

## 腸管病原性大腸菌

EPEC: enteropathogenic *E. coli*

LEE (locus of enterocyte effacement)

*eae*

## 腸管出血性(志賀毒素產生性)大腸菌

EHEC: enterohemorrhagic *E. coli*

(STEC / VTEC: Shiga-/Vero-toxin producing *E. coli*)

Shiga (Vero) toxin / phage

*stx1, stx2 (VT1, VT2)*

# 下痢原性大腸菌の分類

## 病原微生物検出情報(IASR)2012年1月号

a. 従前の病原体検出情報システム		b. 改訂後 (2012年1月~)			
分類	定義	分類	発症機序	主な病原因子 またはマーカー	定義
腸管出血性/ Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC)	Vero毒素 (VT) 産生性あるいはVT遺伝子が確認されたもの (保菌者からの検出を含む)	腸管出血性/ Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC)	毒素	VT1, VT2	変更なし
毒素原性 (ETEC)	易熱性エンテロトキシン (LT) 、耐熱性エンテロトキシン (ST) 、あるいはその両者の産生性あるいは毒素遺伝子が確認されたもの	腸管毒素原性 (ETEC)	毒素	LT, ST	変更なし
組織侵入性 (EIEC)	組織侵入性プラスミドを保有していること、あるいは組織侵入性遺伝子が確認されたもの	腸管侵入性 (EIEC)	侵入性	invE, ipaH	変更なし
病原大腸菌 血清型 (EPEC)	組織侵入性の血清型を除くいわゆる病原血清型のもの ・O群 : 1 ; 18 ; 20 ; 26 ; 44 ; 55 ; 86 ; 111 ; 114 ; 119 ; 125 ; 126 ; 127 ; 128 ; 142 ; 146 ; 151 ; 158 ; 159 ・LT、ST、VTの産生性が確認されたものを除く	腸管病原性 (EPEC)	細胞局在付着性	eae, bfpA, EAF	培養細胞への局在付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの ・VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
他の下痢原性	上記 4 つに該当しないが胃腸炎の原因菌と考えられるもの 組織侵入性、LT、ST、VT毒素の産生性あるいは毒素遺伝子を確認していないもの EPECのO群に属さない、もしくはO群不明だが生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合	腸管凝集付着性 (EAggEC)	細胞凝集付着性	aggR, CVD432	培養細胞への凝集付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの ・VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
		他の下痢原性	不明	afa, astA, CDT, cnf	上記 5 つに該当しないが胃腸炎の原因菌と考えられるもの 生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合

EHEC: Enterohemorrhagic *E. coli*, VTEC: Verotoxin-producing *E. coli*, ETEC: Enterotoxigenic *E. coli*, EIEC: Enteroinvasive *E. coli*,  
EPEC: Enteropathogenic *E. coli*, EAggEC: Enteropathogenic *E. coli*

## その他の病原性因子(1)

- **Afa / Dra**: afimbrial adhesin / Dr family of adhesins

- AfaD / DraD: invasin

- 分散接着性大腸菌 (DAEC: diffusively [diffusely] adherent *E. coli*)  
としてカテゴリー分けされる場合がある。

- **EAST 1(AstA)**: enteroaggregative heat stable toxin 1

- EAggECで最初に同定されたが、他のカテゴリーの下痢原性大腸菌 (EHECを含む)  
にも広く分布する。

- 集団発生由来株が保有する病原性因子として確認されている  
(EAST1EC: EAST1-producing *E. coli* としてカテゴリー分けされる場合がある)。

## その他の病原性因子(2)

### Bacterial cyclomodulin: modulator of eukaryotic cell cycle

- 細胞壊死性膨化毒素 (CDT: cytolethal distending toxin)

--- 細胞剥脱性大腸菌 (cell-detaching *E. coli*) としてカテゴリー分けされる場合がある。

CdtABC

CdtB: DNase I family, CdtA/CdtC (receptor binding, transport of CdtB)

*Campylobacter* spp., *Shigella dysenteriae*, *Salmonella Typhi*, 等の細菌にも存在。

- 細胞毒性壊死因子 (CNF: cytotoxic necrotizing factor)

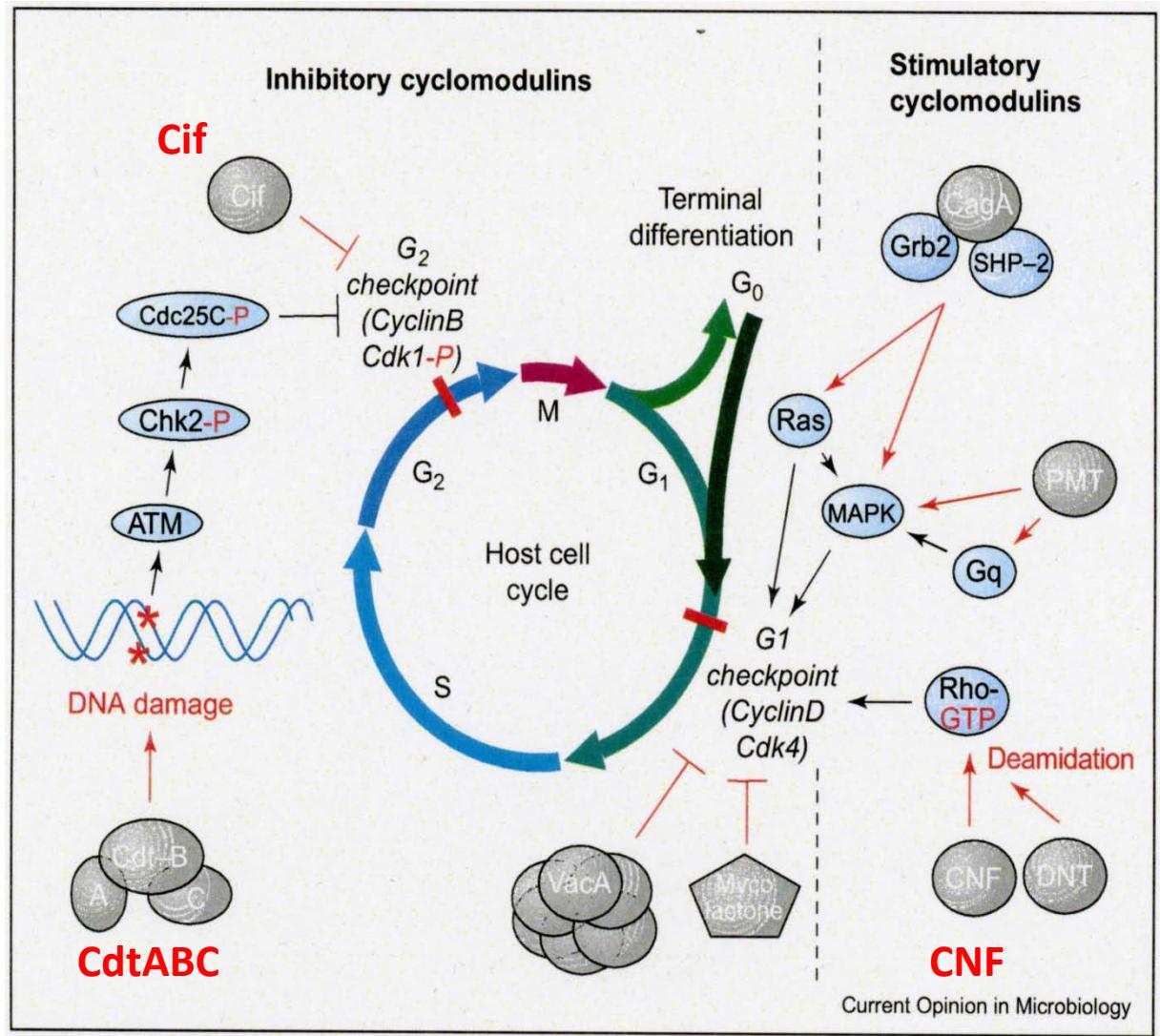
--- 尿路病原性大腸菌 UPEC: *uropathogenic E. coli* に頻繁に見られる。

- Cif: cycle inhibition factor

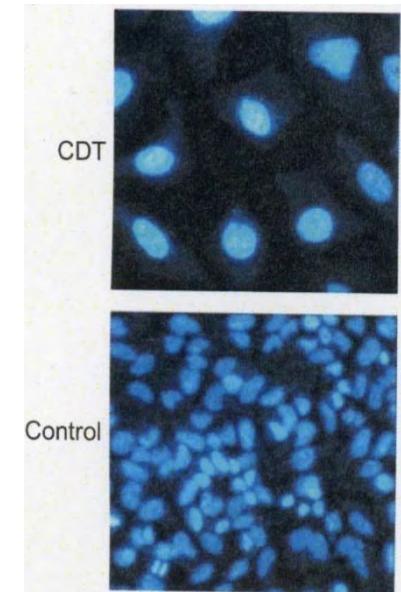
--- EPEC / EHECが保有する。

--- LEEにコードされる3型蛋白質分泌装置 (T3SS: type 3 protein secretion system) を介して宿主細胞へ局在する。

# Bacterial cyclomodulin



CDTによる細胞の膨化



(TRENDS in Microbiology, 2005)

(Current Opinion in Microbiology, 2005)

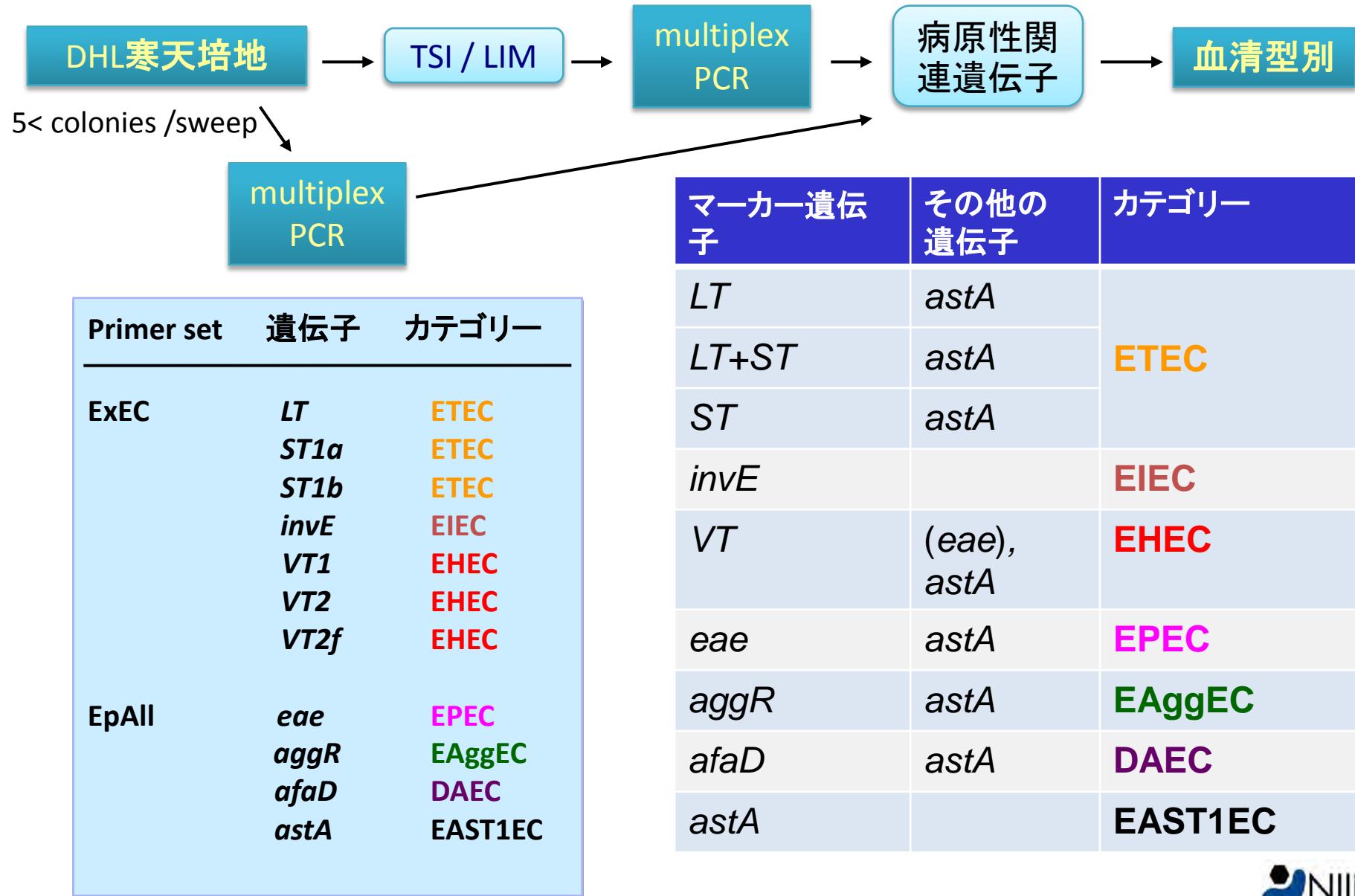
# 下痢原性大腸菌の分類

## 病原微生物検出情報(IASR)2012年1月号

a. 従前の病原体検出情報システム		b. 改訂後 (2012年1月~)			
分類	定義	分類	発症機序	主な病原因子 またはマーカー	定義
腸管出血性/ Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC)	Vero毒素 (VT) 産生性あるいはVT遺伝子が確認されたもの (保菌者からの検出を含む)	腸管出血性/ Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC)	毒素	VT1, VT2	変更なし
毒素原性 (ETEC)	易熱性エンテロトキシン (LT) 、耐熱性エンテロトキシン (ST) 、あるいはその両者の産生性あるいは毒素遺伝子が確認されたもの	腸管毒素原性 (ETEC)	毒素	LT, ST	変更なし
組織侵入性 (EIEC)	組織侵入性プラスミドを保有していること、あるいは組織侵入性遺伝子が確認されたもの	腸管侵入性 (EIEC)	侵入性	invE, ipaH	変更なし
病原大腸菌 血清型 (EPEC)	組織侵入性の血清型を除くいわゆる病原血清型のもの ・O群 : 1 ; 18 ; 20 ; 26 ; 44 ; 55 ; 86 ; 111 ; 114 ; 119 ; 125 ; 126 ; 127 ; 128 ; 142 ; 146 ; 151 ; 158 ; 159 ・LT、ST、VTの産生性が確認されたものを除く	腸管病原性 (EPEC)	細胞局在付着性	eae, bfpA, EAF	培養細胞への局在付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの ・VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
他の下痢原性	上記 4 つに該当しないが胃腸炎の原因菌と考えられるもの 組織侵入性、LT、ST、VT毒素の産生性あるいは毒素遺伝子を確認していないもの EPECのO群に属さない、もしくはO群不明だが生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合	腸管凝集付着性 (EAggEC)	細胞凝集付着性	aggR, CVD432	培養細胞への凝集付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの ・VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
		他の下痢原性	不明	afa, astA, CDT, cnf	上記 5 つに該当しないが胃腸炎の原因菌と考えられるもの 生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合

EHEC: Enterohemorrhagic *E. coli*, VTEC: Verotoxin-producing *E. coli*, ETEC: Enterotoxigenic *E. coli*, EIEC: Enteroinvasive *E. coli*,  
EPEC: Enteropathogenic *E. coli*, EAggEC: Enteropathogenic *E. coli*

# 下痢原性大腸菌の検査



# 下痢原性大腸菌PCRコントロール用菌株

菌株番号	保有遺伝子	PCRサイズ (bp)	プライマーセット
1290	<i>elt</i> <i>estA2</i> <i>astA</i>	123 178 109	ExEC
1297	<i>estA1</i> <i>astA</i>	179 109	ExEC
1298	<i>invE</i>	379	ExEC
1303	<i>stx1/2</i> <i>eae</i>	234 310	ExEC
1733	<i>stx2f</i> <i>eae</i> <i>astA</i>	296 310 109	ExEC
1782	<i>afaD</i>	207	EpALL
1923	<i>eae</i>	310	EpALL
1924	neg control	---	ExEC, EpALL
2279	<i>aggR</i> <i>astA</i>	254 109	EpALL

NESID(感染症サーベイランスシステム) メインメニュー - Microsoft Internet Explorer

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) お気に入り(A) ツール(T) ヘルプ(H)

アドレス(D) [https://nesid3g.wish.mhlw.go.jp/GKWeb/GKMainServlet?action\\_id=1](https://nesid3g.wish.mhlw.go.jp/GKWeb/GKMainServlet?action_id=1) 移動 変換 選択

 NESID  
National Epidemiological Surveillance  
of Infectious Diseases

感染症サーベイランスシステム

2012/06/14 10:53:11 GKUD0011  
ログインユーザ:伊藤田 淳

[マニュアル/FAQ・パスワード変更](#) [ログアウト](#)

お知らせ

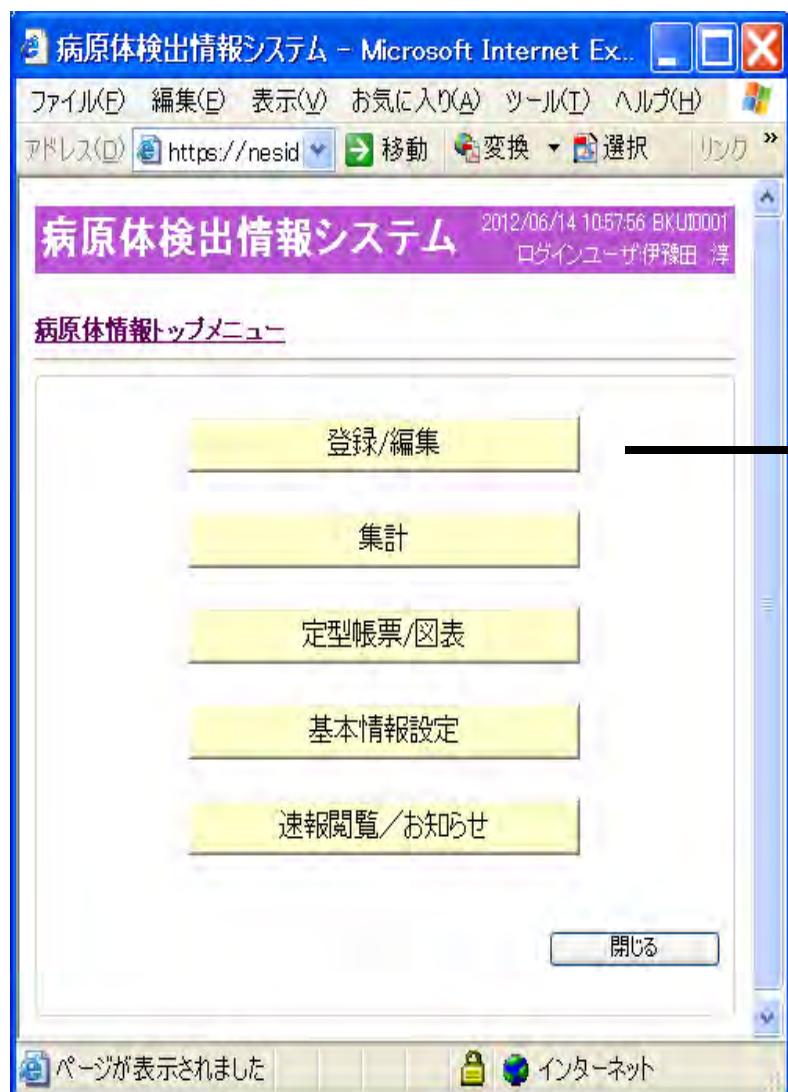
▼表示/非表示切替え

現在、お知らせはありません。

メインメニュー

[病原体検出情報システム](#)

[ファイル共有システム](#)



病原体検出情報システム – Microsoft Internet Explorer

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) お気に入り(A) ツール(T) ヘルプ(H)

アドレス(D) <https://nesid3g.wish.mhlw.go.jp> 移動 変換 選択 リンク

病原体検出情報システム 2012/06/14 10:58:56 BKU0002  
ログインユーザ: 伊豫田 淳

病原体検出情報システム

登録/編集メニュー

病原体個票

新規登録 検索/編集

集団発生病原体票

新規登録 検索/編集

ヒト以外からの病原体検出票

新規登録 検索/編集

病原菌検出状況報告 (3A: 地研・保健所)

新規登録 検索/編集

病原菌検出状況報告 (3B: 医療機関)

新規登録 検索/編集

一時保存データの呼び出し

一時保存データの入力再開 戻る

病原体検出情報システム

ページが表示されました インターネット

National Institute of Infectious Diseases (NIID)

病原体検出情報システム - Microsoft Internet Explorer

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) お気に入り(A) ツール(T) ヘルプ(H)

アドレス(D) https://hesid3g.wish.mhlw.go.jp/BKWeb/svc?action=BkM1000201 移動 変換 選択 リンク

病原体検出情報システム

2012/06/14 11:08:17 BKU1103  
ログインユーザ伊豫田 淳

病原体個票 新規登録／編集

報告機関 地衛研 検査所

報告種別 定点の種類

病原体種別 細菌

検出病原体 検出病原体選択 EHEC/VTEC

検体提供者番号

登録年月日 2012年 06月 14日

検体採取年月日

検体提供者 型別結果 分離材料 臨床症状・徵候等 検出方法 痢学的項目 備考 管理No. インフルエンザウイルス

登録 連続登録 一時保存 削除 戻る

性別 年齢 (不明は999) 月齢 99 (不明は99)

検体採取機関名

診断名 診断名選択

症状 症状有り 無症状 発病年月日 年 月 日 転帰 不明

型別結果 型別結果選択

特記すべき生化学的性状等

陽性となった分離材料

糞便(←腸内容物、直腸ぬぐい液) 生検、剖検材料 【臓器名】

喀痰・気管吸引液 血液(全血、血清、血漿) 穿刺液(←腹水、胸水、関節液)

IME フォーム インターネット

「病原体種別」  
細菌

「検出病原体選択」

ETEC  
EIEC  
EHEC/VTEC  
EPEC  
EAggEC  
他の下痢原性E.coli

「型別結果選択」  
自由記載

# 病原体個票

Page 1  
登録ステータス 非公開

報告機関名 感染症研究所  
報告種別 5類定点報告

登録年月日 2012年 2月 17日  
病原体種別 細菌

検体提供者番号 20120002  
検出病原体 EAggEC

検体採取年月日 2012年 5月 5日 (第18週)

型別結果					
血清型 (O)	0127	(	)	特記すべき生化学的性状等	
血清型 (H)	H21	(	)	aggR(+), CVD432(+), astA(+), eae(-)	)

検体提供者  
性別 男  
年齢 5歳  
月齢 2ヶ月  
検体採取機関名 医療機関  
診断名 2005 感染性胃腸炎  
発病年月日 2012年 5月 4日  
症状の有無 有  
転帰 軽快

陽性となった分離材料  
■ 粪便 (←内容物、直腸ぬぐい液)  
□ 咳痰・気管吸引液  
□ 咽喉ぬぐい液 (←うがい液、鼻汁、直腸ぬぐい液)  
□ 結膜ぬぐい液 (←結膜擦過物、眼膜)  
□ 血液  
□ その他の

□ 生検、剖検材料 [機器名]  
□ 血液 (全血、血清、血漿)  
□ 関節液  
□ 腹水 (全腹水、胸水、関節液)  
□ 腹膜 (←腹膜擦過物、分泌物)  
□ 皮膚病巣 (←皮膚内容、痂皮、創傷)  
□ 尿

臨床症状・徵候等 (基礎疾患を除く)  
□ 不詳  
□ 頭痛 ■ 発熱 (最高体温 38.0 °C)  
□ 熟性けいれん  
□ 口内炎 (←歯肉炎)  
□ 上気道炎 (←咽頭炎、喉頭痛、扁桃炎)  
□ 下気道炎 (□ 銀色 □ 気管支炎)  
□ 水泡  
□ 出血傾向 (←紫斑病、出血熱) ※全身性のもの  
□ リンパ節腫脹  
□ 咳液腺腫脹 (←下脣炎、頸下腺炎)  
□ その他の症状 ( )

□ 細菌症 (←健常者)  
■ 発赤 ( )  
□ 関節痛、筋肉痛 (←関節炎、筋炎)  
□ 角膜炎 □ 結膜炎 □ 角結膜炎  
□ 関節炎 (←項部硬直)  
□ 麻痺 (全身性、中枢神経系のもの)  
□ 脳炎 □ 脳症 □ 脊髄炎  
□ 循環器障害 (←心筋炎、心膜炎、心不全)  
□ 黄疸 □ 肝機能障害 □ HUS  
□ 腎機能障害 (血尿、乏尿、蛋白尿、多尿、腎不全)  
□ 末路生殖器症候群 (←膀胱炎、尿道炎、外陰炎、頸管炎)

陽性となった検出方法  
■ 分離培養 □ 培養細胞 □ 人工培地 □ 発育鶏卵 ( )  
細胞名 ( ) 代) 細胞名 ( ) 代)  
□ 抗原検出 □ 蛍光 □ EIA □ RPHA □ LA □ PA □ IC □ その他\*  
■ 遺伝子検出 非増幅 [ □ ハイブリ □ PAGE □ その他\*]  
増幅 [ □ PCR □ PCR+ハイブリ □ PCR+シーケンス □ LAMP □ その他\*]  
□ 電顕 □ 鏡検 □ その他\* ( )  
□ 抗体検出 □ 蛍光 □ IP □ ELISA □ OF □ HI □ PA □ 中和  
□ イムノプロット □ デル内沈降 □ 凝集反応 □ その他 ( )

疫学的事項  
発生の状況 ■ 散発 □ 地域流行 □ 家族内発生 □ 集団発生 集団発生の場所 ( )  
最近の海外渡航歴 無 ( ) ( ) ( )  
渡航先 ( ) ( ) ( )  
渡航期間 年 月 日 ~ 年 月 日  
当該疾患のワクチン接種歴 不明 ワクチン名 ( )  
最近の接種年月日 年 月 日

備考

発生動向報告ID ( )

更新年月日 2012年 06月 11日

整理番号 1000022072

# 病原体個表の記入例

## 検出病原体: EAggEC の場合

### 特記すべき生化学的性状等

aggR(+), eae(-)

## 検出病原体: 他の下痢原性 *E. coli* の場合

### 特記すべき生化学的性状等

LT(-), ST(-), eae(-), aggR(-), invE(-), astA(-)

または

### 特記すべき生化学的性状等

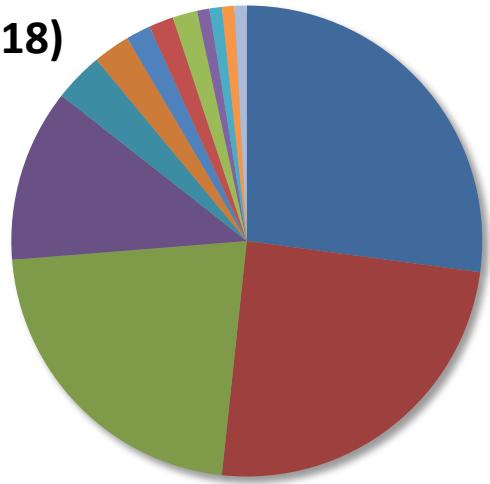
病原性因子検査せず

# 地研・保健所からの下痢原性大腸菌の報告数 (May 2012 - Apr 2013)

<i>E. coli</i>	Number
EHEC	1,118
ETEC	69
EIEC	1
EPEC	46
EAggEC	39
others	111

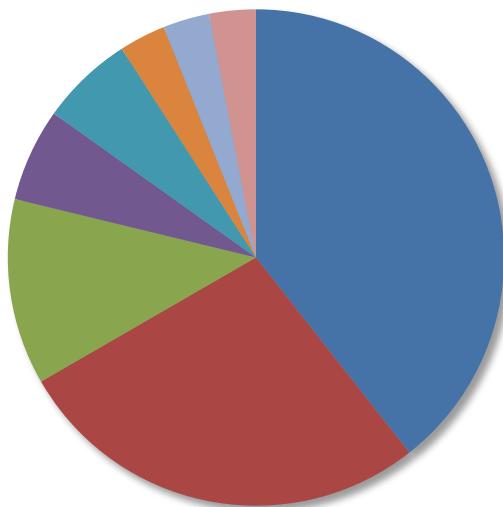
# 下痢原性大腸菌の報告数とO血清群(2009 -June 2013)

ETEC  
(n=118)



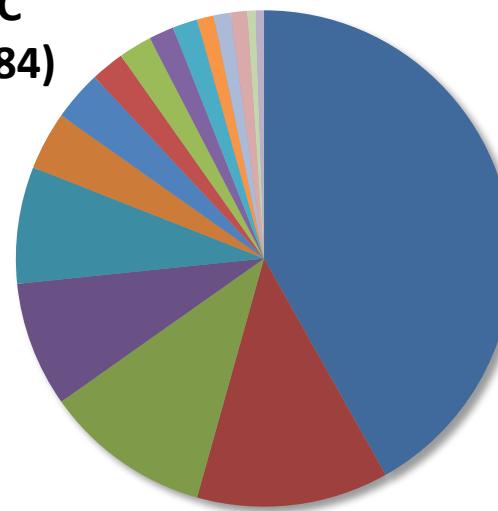
- O159 ST
- O166
- O169 ST
- O128
- O18
- O111
- O126
- O86a
- O119
- O44
- O55
- O25
- O128 LT
- OUT LT

EAggEC  
(n=33, since 2012)

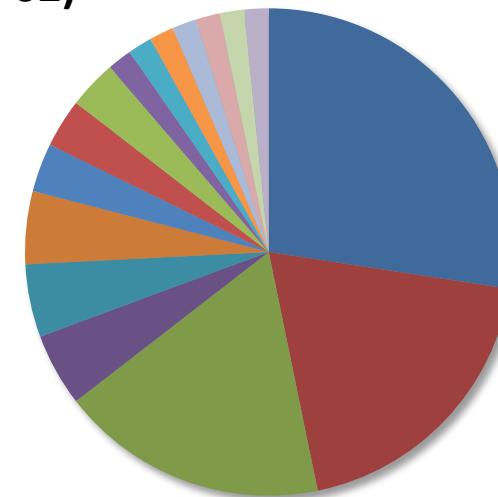


- OUT
- O126
- O127a
- O86a
- OUT:HOUT:
- O111
- O126:HNT
- O127a:HNT

EPEC  
(n=184)



Others  
(n=62)



- Others
- O166
- O169 ST
- O128
- O18
- O111
- O126
- O86a
- O119
- O44
- O55
- O25
- O127a
- O142
- O146
- O164

- OUT
- O126
- O169
- O111
- O127a
- OUT:HNT
- O78
- O167
- OUT:Others
- O15
- O86:Others
- O86a
- O103
- O119
- O128:HNT
- Not typed

## 研究協力者

大阪府公衆衛生研究所  
勢戸 和子

富山県衛生研究所  
磯部 順子

横浜市衛生研究所  
松本 裕子

仙台市衛生研究所  
勝見 正道

その他の全国の地方衛生研究所・保健所

宮崎大学  
井口 純

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院  
田中 洋輔

千葉県こども病院  
中野 栄治

感染研・感染症情報センター  
齊藤 剛仁

感染研・細菌第Ⅰ部  
石原 朋子  
伊藤 健一郎(客員研究員)  
泉谷 秀昌  
寺嶋 淳  
大西 真

# 配布可能菌株 (1) : 下痢原性大腸菌PCRコントロール用菌株

菌株番号	保有遺伝子	PCRサイズ (bp)	プライマーセット
1290	<i>elt</i> <i>estA2</i> <i>astA</i>	123 178 109	ExEC
1297	<i>estA1</i> <i>astA</i>	179 109	ExEC
1298	<i>invE</i>	379	ExEC
1303	<i>stx1/2</i> <i>eae</i>	234 310	ExEC
1733	<i>stx2f</i> <i>eae</i> <i>astA</i>	296 310 109	ExEC
1782	<i>afaD</i>	207	EpALL
1923	<i>eae</i>	310	EpALL
1924	neg control	---	ExEC, EpALL
2279	<i>aggR</i> <i>astA</i>	254 109	EpALL

## 配布可能菌株(2) : *stx* PCRコントロール用菌株



### Appendix 2

#### List of reference strains harbouring the *vtx* gene subtypes

SSI collection D number	Strain	Control for toxin subtype	Toxin variant designation	GenBank accession No.	Results obtained using the present method
D2653	EDL933	VT1a	VT1a-O157-EDL933	M19473	<i>vtx1a</i> + <i>vtx2a</i>
D3602	DG131/3	VT1c	VT1c-O174-DG131-3	Z36901	<i>vtx1c</i> + <i>vtx2b</i>
D3522	MHI813	VT1d	Stx1d-O8-MHI813	AY170851	<i>vtx1d</i>
D2435	94C	VT2a	VT2a-O48-94C	Z37725	<i>vtx1a</i> + <i>vtx2a</i>
D3428	EH250	VT2b	VT2b-O118-EH250	AF043627	<i>vtx2b</i>
D2587	031	VT2c	VT2c-O174-031	L11079	<i>vtx2b</i> + <i>vtx2c</i>
D3435	C165-02	VT2d	VT2d-O73-C165-02	DQ059012	<i>vtx2d</i>
D3648	S1191	VT2e	VT2e-O139-S1191	M21534	<i>vtx2e</i>
D3546	T4/97	VT2f	VT2f-O128-T4-97	AJ010730	<i>vtx2f</i>
D3509	7v	VT2g	2g-O2-7v	AY286000	<i>vtx2g</i>

\* May result in both fragments at 179 bp and 280 bp

*stx1: stx1a, stx1c, stx1d,*

*stx2: stx2a, stx2b, stx2c, stx2d, stx2e, stx2f, stx2g*

# 配布可能菌株(3) : EHEC, EQA用菌株

## EQA PART: SEROTYPING, PHENOTYPING, GENOTYPING AND *STX/VTX* SUBTYPING

### RESULTS TABLE

O group	H type	Vero Cell assay	ESBL prod.	Haemolysin prod.	Beta-glucuronidase prod.	Sorbitol ferm.	eae gene	ehxA gene	vtx1 gene	vtx2 gene	vtx Subtype	Additional virulence genes	Pathogenic group
AA1													STEC/VTEC
BB2													AEEC
CC3													STEC/VTEC
DD4													STEC/VTEC
EE5													STEC/VTEC
FF6													STEC/VTEC
GG7													STEC/VTEC
HH8													EAggEC
II9													STEC/VTEC
JJ10													STEC/VTEC
KK11													STEC/VTEC
LL12													STEC/VTEC
MM13													STEC/VTEC
NN14													ETEC
OO15 <sup>a)</sup>													EIEC

菌株の詳細はEQAに参加して頂き、結果を返送して頂いた後でお知らせいたします。  
皆様のご参加をお待ちしております。

Pos.: Positive, Neg. Negative, alfa: pos. for alfa haemolysin, but entero/alpha haemolysin results is accepted for all strains.

Intermediate result noted in the Vero cell assay is accepted as a positive result. H- result noted in the H type is also accepted for all strains.

<sup>a)</sup> Lactose negative

<sup>b)</sup> The strain has been observed to lose the ESBL plasmid. Therefore, both results will be accepted.

#### Gene abbreviations

eae: CVD434. *E. coli* attaching and effacing gene probe.

ehxA: CVD419. Plasmid encoded O157-enterohaemolysin.

vtx1: NTP705. Verotoxin1; Almost identical with the Shiga toxin.

vtx2: DEP28. Verotoxin2; Variants exist. Approx. 60% homology to vtx1.

aggR: Gene encoding the master regulator in Enteropathogenic *E. coli*.

aaiC: Chromosomal gene marker for Enteropathogenic *E. coli*.

elt: G119. Heat labile enterotoxin (LT). Almost identical to cholera toxin.

aatA: PCR fragment. The gene encodes the dispersin (aap) transporter protein, which is a good plasmid marker for Enteropathogenic *E. coli*.

estAp: DAS101. Heat stable enterotoxin (porcine variant) ST<sub>p</sub> (ST1a).

ipaH: WR380. Invasion plasmid antigen. These genes are found in several copies chromosomally as well as on plasmids.

## ご意見をお聞かせ下さい

- ・ 菌株セット(1－3)の配布希望の有無  
(ただし、菌株セット3はEQA用ですので、解析結果は同時にお送りできません)
- ・ EHEC検査マニュアルの改訂
- ・ EHEC以外の下痢原性大腸菌を含めた、検出マニュアル  
(下痢原性大腸菌検出マニュアル)の作成.
- ・ その他、研修希望等の有無

今後の大腸菌に関するお問い合わせ  
(PFGE, 病原性遺伝子型, 血清型, MLVA等)は,  
一括して:

**[ehec@niid.go.jp](mailto:ehec@niid.go.jp)** へお願いします.

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 6. 寄生虫

## 平成24年度レファレンスセンター活動報告

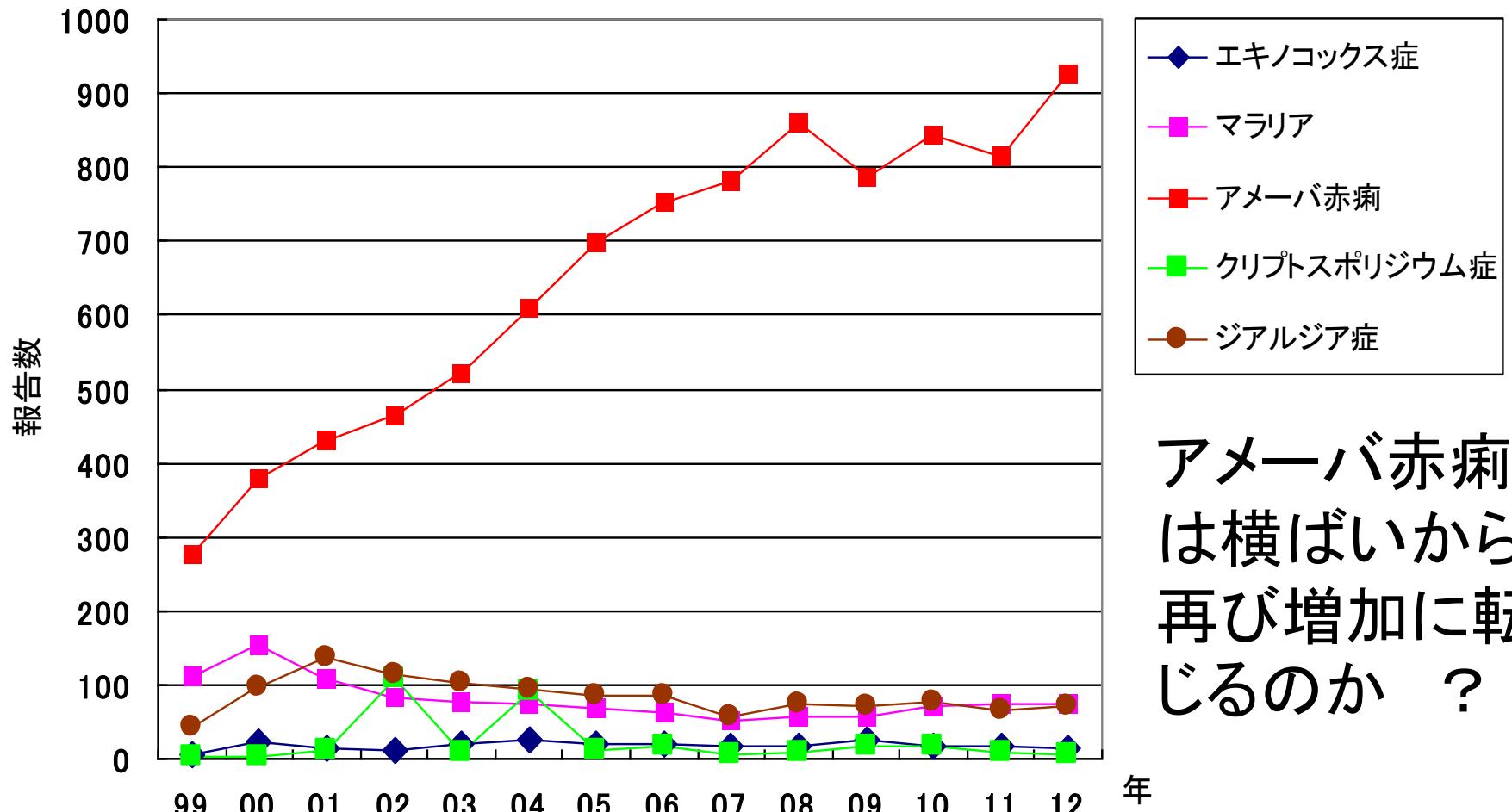
# 寄生虫

### 内容・構成

- 1 寄生虫症届け出状況 感染症法・食品安全衛生法
- 2 寄生虫関連食中毒をめぐる変化  
届け出基準の変更、クドアめぐる問題
- 3 感染研寄生動物部への検査依頼状況
- 4 その他・まとめ

# 感染症法対象の寄生虫症年次報告数の推移

検査・診断の適正な標準化、遺伝子診断の為のプライマー供与等



# 食品安全衛生法による寄生虫関連食中毒届け出数の年次変化（食中毒統計から関連部分）

年	食中毒 届出総数 事件数 (患者数)	病因物質 [その他] 事件数 (患者数)	アニサキス 事件数 (患者数)	肺吸虫 事件数 (患者数)	旋尾線虫 事件数 (患者数)	クドア 事件数 (患者数)	住肉胞子虫 事件数 (患者数)
1999	2,697 (35,214)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	- (-)	- (-)
2000	2,247 (43,307)	5 (53)	4 (4)	0 (0)	0 (0)	- (-)	- (-)
2001	1,928 (25,862)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	- (-)	- (-)
2002	1,850 (27,629)	2 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	- (-)	- (-)
2003	1,585 (29,355)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	- (-)	- (-)
2004	1,666 (28,175)	5 (8)	4 (4)	1 (4)	0 (0)	- (-)	- (-)
2005	1,545 (27,019)	8 (8)	7 (7)	0 (0)	0 (0)	- (-)	- (-)
2006	1,491 (39,026)	7 (23)	5 (5)	0 (0)	0 (0)	- (-)	- (-)
2007	1,289 (33,477)	8 (20)	6 (6)	1 (2)	0 (0)	- (-)	- (-)
2008	1,369 (24,303)	17 (47)	14 (14)	0 (0)	0 (0)	- (-)	- (-)
2009	1,048 (20,249)	17 (19)	16 (18)	0 (0)	1 (1)	- (-)	- (-)
2010	1,254 (25,972)	28 (29)	28 (29)	0 (0)	0 (0)	- (-)	- (-)
2011*	1,068 (21,700)	69 (519)	34 (35)	0 (0)	0 (0)	33 (473)	2 (11)
2012	1,100 (26,699)	107 (519)	65 (71)	0 (0)	0 (0)	41 (417)	1 (3)

\* : クドア (*Kudoa septempunctata*) と住肉胞子虫 (*Sarcocystis fayeri*) に関する厚労省からの通知  
「生食用生鮮食品による病原物質不明有症事例への対応について」が発出されたのは 2011 年 6 月 17 日

食中毒届出基準、食中毒事件票の整備に伴う、アニサキス、クドア、サルコシスチスの急増！

# 寄生虫関連の食中毒事件票 の改正- 病因物質の種別

(食品衛生法施行規則:2012年12月28日一部改正)

## 改正前

その他に一括され、寄生虫種別の全国的把握は困難

1 サルモネラ属菌	8 セレウス菌	15 パラチフスA菌	22 その他
2 ぶどう球菌	9 エルシニア・エンテロコリチカ	16 その他の細菌	23 不明
3 ボツリヌス菌	10 カンピロバクター・ ジェジュニ/コリ	17 ノロウイルス	
4 腸炎ビブリオ	11 ナグビブリオ	18 その他のウイルス	
5 腸管出血性大腸菌	12 コレラ菌	19 化学物質	
6 その他の病原大腸菌	13 赤痢菌	20 植物性自然毒	
7 ウエルシュ菌	14 チフス菌	21 動物性自然毒	

## 改正後

寄生虫種別の全国的把握が可能

1 サルモネラ属菌	8 セレウス菌	15 パラチフスA菌	22 その他の寄生虫
2 ぶどう球菌	9 エルシニア・エンテロコリチカ	16 その他の細菌	23 化学物質
3 ボツリヌス菌	10 カンピロバクター・ ジェジュニ/コリ	17 ノロウイルス	24 植物性自然毒
4 腸炎ビブリオ	11 ナグビブリオ	18 その他のウイルス	25 動物性自然毒
5 腸管出血性大腸菌	12 コレラ菌	19 クドア	26 その他
6 その他の病原大腸菌	13 赤痢菌	20 サルコシスティス	27 不明
7 ウエルシュ菌	14 チフス菌	21 アニサキス	

# 寄生虫関連の食中毒事件票 の改正- 運用の実際と今後

(食品衛生法施行規則:2012年12月28日一部改正)

---

19. クドア(クドア・セプテン punctata :ナナホシクドア)
20. サルコシスティス(サルコシスティス・フェアリー)
21. アニサキス  
(アニサキス属・シュードテラノーバ属の線虫)
22. その他の寄生虫  
(クリプトスパリジウム, サイクロスパラ, 肺吸虫, 旋尾線虫, 条虫 等)
26. その他
27. 不明

- ・IV類, V類感染症については、病原体検出マニュアルの改訂版で対応。クドアやサルコシスティスの検査診断は暫定通知で検査診断。
- ・クドア・セプテン punctata 以外のクドア属による中毒が疑われる場合、食中毒(26, 27.)或いは 有症事例として届け、情報収集を進める。

# クドア関連食中毒をめぐる問題点 ークドア属の種と寄生魚種

- 1 クドア食中毒検査で、鋭敏な検査（PCRなど）を行う場合、検体のクロスコンタミネーションの可能性を考慮する必要。
- 2 寄生魚種はヒラメに限らない可能性。
- 3 クドア・セプテンパンクタータ以外のクドア属粘液胞子虫が原因となる可能性。

	患者数	喫食残品ヒラメ (クドア検査)	他の喫食残品	検査結果	
				顕微鏡法	QPCR(暫定法)
case 1	21/35	無	マグロ	未実施	陽性
case 2	7/27	有(陽性)	カンパチ	陰性	陽性

ヒラメ以外の生鮮魚介類から検出されたクドア属粘液胞子虫で下痢原性が疑われるもの

## *Kudoa neothunni*

寄生宿主

キハダマグロ、メバチ  
マグロ、クロマグロ

## *Kudoa iwatai*

寄生部位

体側筋肉

スズキ、マダイ、クロ  
ダイ、マゴチ

極囊数

6

4

左の2事例では、喫食残品としてヒラメ以外にマグロおよびカンパチが入手された。通知法の顕微鏡法では、ナホシクドア胞子が検出されなかったが、リアルタイムPCR法により陽性となり、その原因を検討するため、大阪府立公衆衛生研究所で検査を実施。

( 資料提供 大阪府立公衆衛生研究所感染症部 )

# 国立感染症研究所・寄生動物部における最近の寄生原虫症依頼検査実績

年度	消化管寄生性原虫類	病原性自由生活アーベ類
H24	17 ( クリプトスパリジウム, ジアルジア, 赤痢アーベ など )	5
H23	34	35
H22	46	23
H21	71	30
H20	25	22
H19	8	6
H18	11	4

検査内容: 培養、顕微鏡、DNA検査

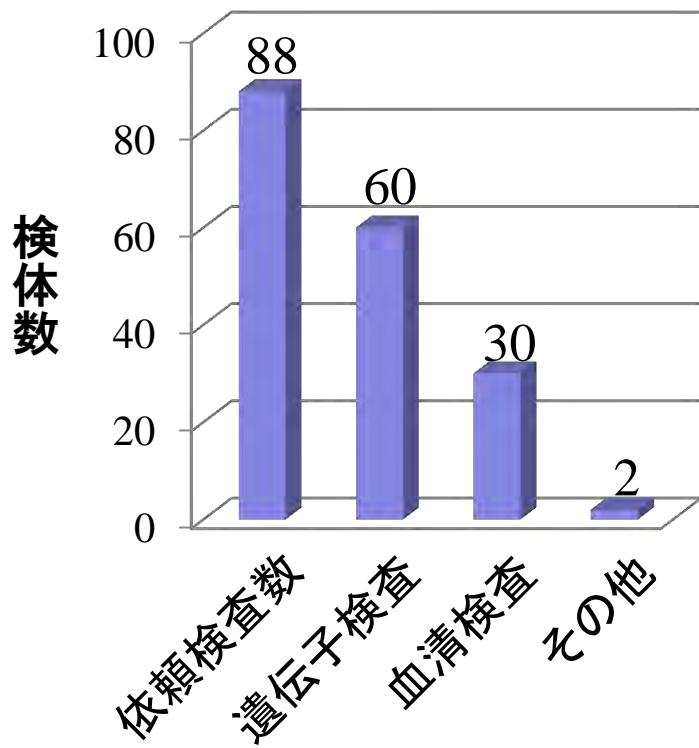
# 国立感染症研究所・寄生動物部における最近の寄生蠕虫症依頼検査実績

年度	平成20年度	平成21年度	平成22年度	平成23年度	平成24年度
遺伝子検査	24	22	20	39	60
血清検査	40	40	64	22	30
その他	1	2	8	3	2
検査総数	65	64	92	53	88
確定数(%)	49 ( 75.4 )	42 ( 65.6 )	70 ( 76.1 )	41 ( 77.4 )	75 ( 85.2 )

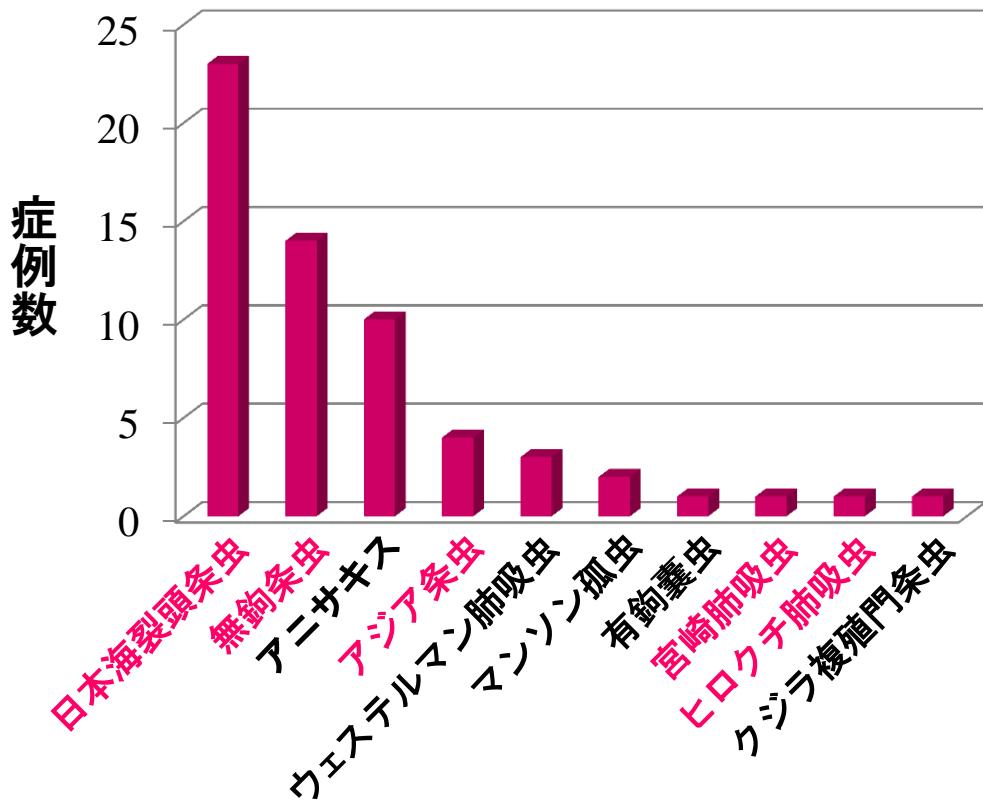
虫体の遺伝子検査依頼数の増加が確定数(%)の上昇に影響

# 平成24年度 国立感染症研究所・寄生動物部における寄生蠕虫症に関する依頼検査の実績

依頼検査数と検査別件数

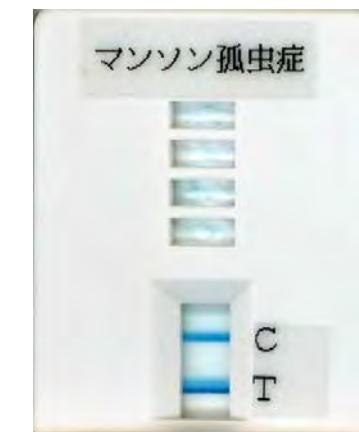
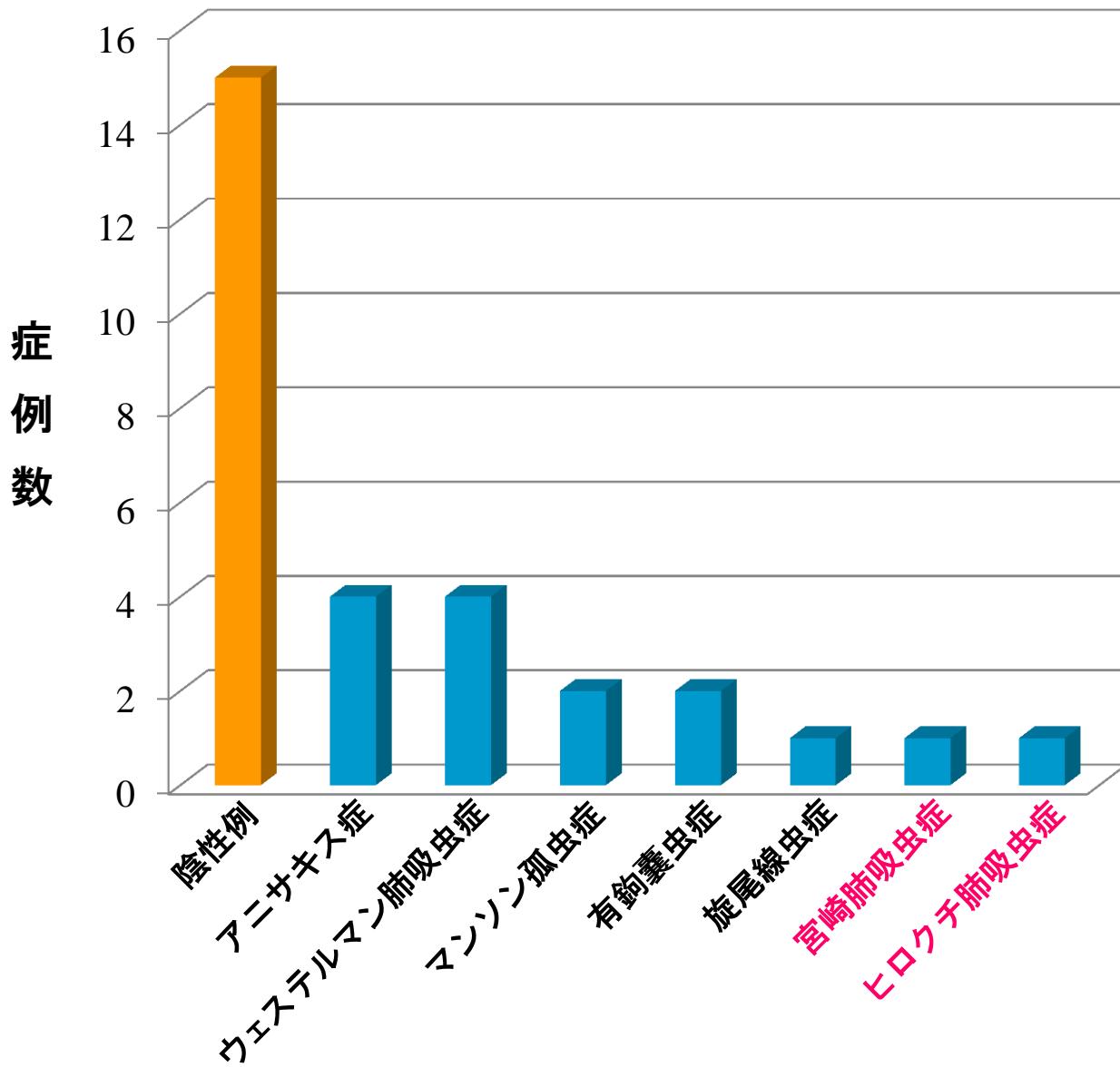


遺伝子検査によって確定された寄生虫



条虫感染例の依頼が多いが、H23年度に関東地方で頻発したアジア条虫症の事例は減少した。遺伝子検査での確定例では、アニサキスが増している。

# 血清検査によって確定された寄生蠕虫症



血清検査では、感染研で開発したイムノクロマトキット(肺吸虫症、マンソン孤虫症、トキソカラ症)を用いて迅速に検査することが可能になった。

# レファレンスセンター会議での討議・情報提供

## 寄生虫による食中毒に関する問題

### 1 食集毒検査法

クドア検査で偽陽性例が出る可能性

クドア・セプテンパンクタータ以外のクドア属粘液胞子虫・  
ヒラメ以外の魚種の持つリスク評価の必要性

（大阪府公衆衛生研究所 他からの指摘）

### 2 その他 蠕虫症も含め、検査法標準化や疫学情報の収集が重要 その為に研修が必要であれば、分野によっては感染研を 中心に個別に対応して実施可。（まず [h-ohmae@nih.go.jp](mailto:h-ohmae@nih.go.jp)まで）

## その他 医療機関向け情報発信の共有

- ・公知申請により適応が拡大されたパロモマイシン製剤使用による赤痢アメーバ集団感染事例に対する治療的介入の可能性
- ・保険適応のある抗蠕虫薬の不十分な駆虫率と国際的な標準治療との乖離（パモ酸ピランテル 他）

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 7. ジフテリア・ボツリヌス・百日咳

# ジフテリア・百日咳・ボツリヌス

## - レファレンスセンター報告 -

ジフテリアレファレンスセンター  
(10施設)



百日咳レファレンスセンター  
(11施設)



ボツリヌスレファレンスセンター  
(18施設)



# 百日咳：平成24年度の活動報告

## レファレンス関係の配布実績

レファレンス	地方衛生研究所		計
	レファレンスセンター	その他	
LAMPキット <i>Bordetella holmesii</i>	6	2	8
陽性コント 百日咳菌	2	4	6
ロールDNA 百日咳類縁菌	2	7	9
計	10 (5施設)	11 (3施設)	23 (8施設)

## 百日咳に関する情報還元

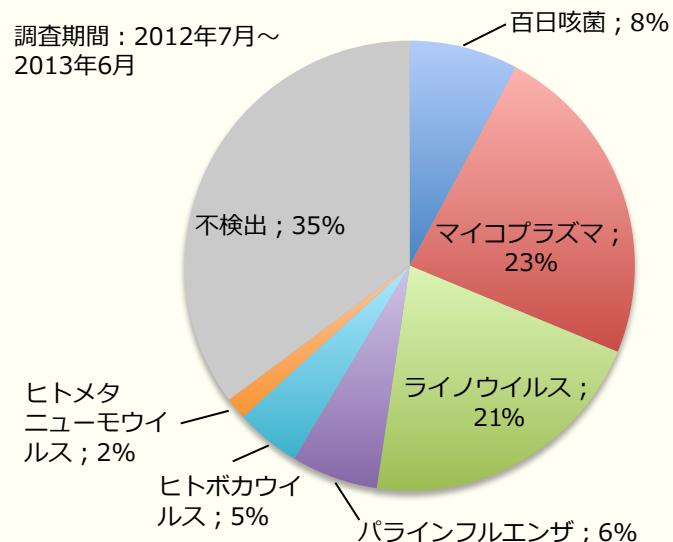
- IASR特集号 百日咳 2008-2011年. IASR, 33:321-33, 2012. 長崎県環保研セ、兵庫県健生科研、宮崎県衛環研、感染研・細二、他.
- Katsukawa et al., Bronchitis caused by *Bordetella holmesii* in a child with asthma misdiagnosed as mycoplasmal infection. J Infect Chemother, 19:534-7, 2013. 大阪府公衛研、感染研・細二、他.
- Otsuka et al., Simple and specific detection of *Bordetella holmesii* by using a loop-mediated isothermal amplification assay. Microbiol Immunol, 56: 486-9, 2012. 感染研・細二、宮崎県衛環研.

# 百日咳：平成25年度の活動計画

## 1) 百日咳病原体サーベイランス（継続）

- 定着因子Prnを欠損する百日咳菌
- *Bordetella holmesii*
- 百日咳様疾患における起因病原体

百日咳様疾患における病原体  
検出状況 (n=128)

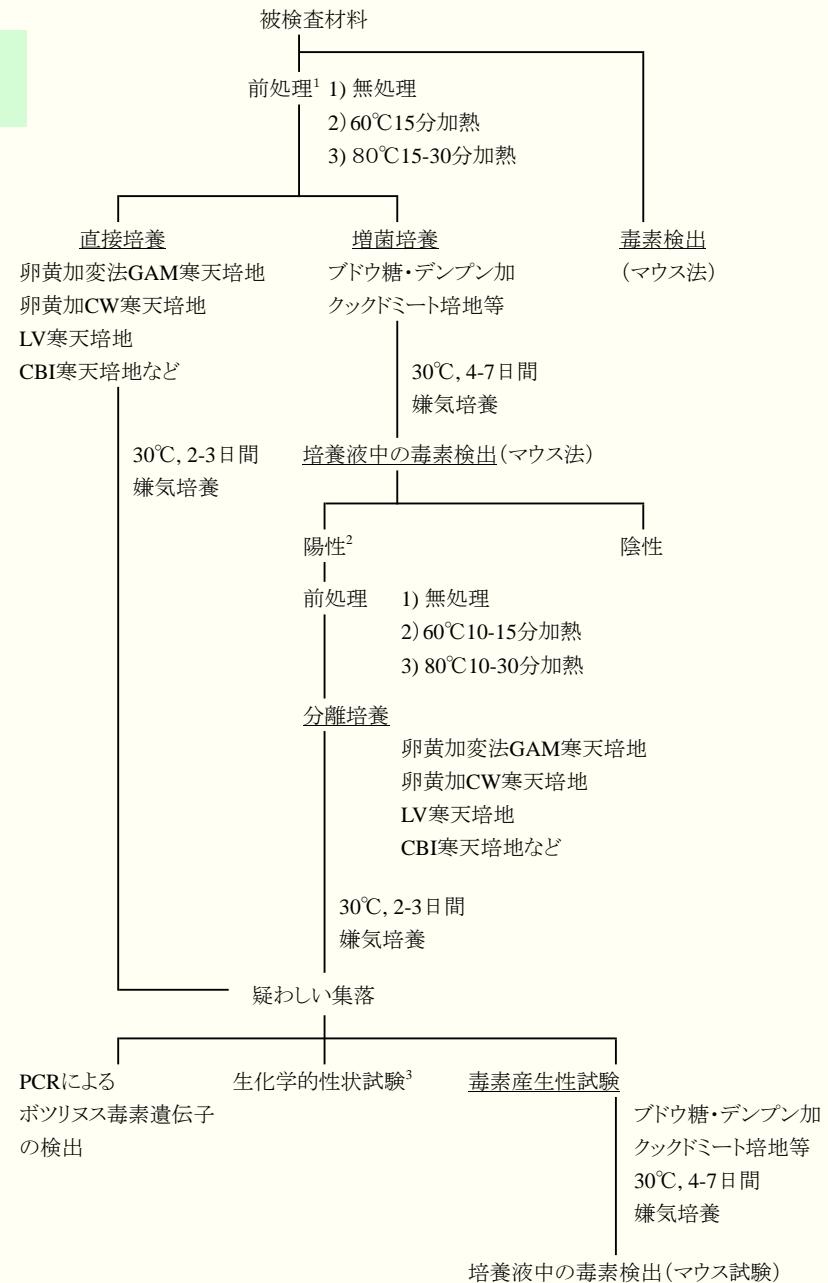


## 2) 4plexリアルタイムPCR法の精度評価

感染研で開発中の4plexリアルタイムPCR法（百日咳菌、パラ百日咳菌、*Bordetella holmesii*、*Mycoplasma pneumoniae*）の診断精度を評価する

## ボツリヌス症の細菌学的検査

1. マウス試験による毒素検出が最重要であり、経験・技術が必要。
  2. ボツリヌス菌分離培養検査にも、経験・技術が必要であるが、マウス試験ほどではない。
  3. PCRによる毒素遺伝子検出は、特別な技術を要しないが、補助的な試験である



## 国立感染症研究所における ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

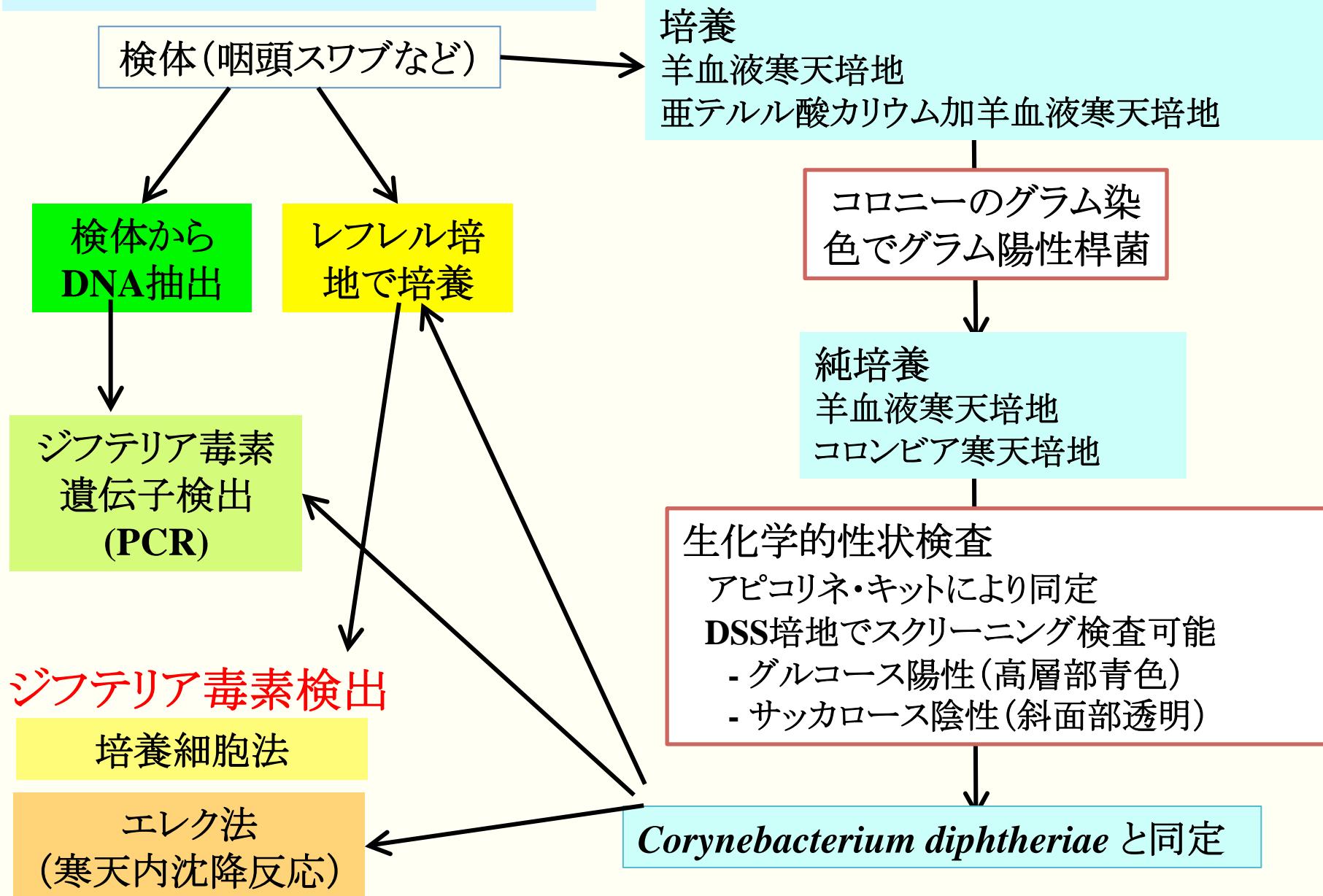
1. 平成24年度は、11月20日-22日に行つた

- a. マウス試験による毒素検出
- b. ボツリヌス菌のコロニー観察
- c. PCRによるボツリヌス毒素遺伝子検出等を行つた。

2. 平成25年度は、10月16日-18日に予定

マウス試験による毒素検出を中心に企画

## ジフテリアの細菌学的検査



ジフテリアのリファレンス・センター活動において  
国立感染症研究所から配布可能な試薬

1. エレク法用ジフテリア抗毒素（約 1,000 単位 / vial）
2. 培養細胞法用 標準ジフテリア抗毒素
3. *Corynebacterium diphtheriae* PW 8（ジフテリア毒素原性検査陽性コントロール株）
4. ジフテリア毒素遺伝子検出PCR用陽性コントロール

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 8. 動物由来感染症

# 衛生微生物協議会・第34回研究会プログラム(平成25年7月11日、木・12日、金)

- ◇レファレンスセンター等関連会議 (7月11日、木、10:00-11:10)
- ◇レファレンスセンター等報告 (7月12日、金、15:10-16:40)

## 平成24年度 炭疽菌の遺伝子検査 結果報告

動物由来感染症レファレンスセンター  
国立感染症研究所 獣医学部

### 基幹となる地衛研の一覧

- ◇ 山形県衛生研究所
- ◇ 東京都健康安全研究センター
- ◇ 愛知県衛生研究所
- ◇ 京都府保健環境研究所
- ◇ 長崎県環境保健研究センター

※ 現行の対応疾病：野兎病、ブルセラ症、炭疽

# 動物由来感染症レファレンスセンター関連会議(次第)

1. 関連会議参加 地衛研

2. H24年度の取り組みについて意見集約

1) 陽性対照DNAを利用した炭疽菌PCRの検証

- ・ブラインドテストについて
- ・配布した陽性対照DNAについて

2) 炭疽を疑う検体の対応に関する現状調査

3. H25年度の取り組みについて

# (1) 陽性対照DNAを利用した炭疽菌PCRの検証

## ◇ 使用菌株 (炭疽菌を含む5菌種、6株)

- 炭疽菌 *(B. anthracis)* 臨床分離株および市販ワクチン34F2株)
- セレウス菌 *(B. cereus)*
- チューリンゲンシス菌 *(B. thuringiensis)*
- 枯草菌 *(B. subtilis)*
- マイコイデス菌 *(B. mycoides)*

※ *Bacillus subtilis*以外は*Bacillus cereus* groupに属する。

## ◇ 検査法：病原体検出マニュアル

## ◇ PCR陽性の判断

標的遺伝子	鑄型の増幅遺伝子	増幅サイズ
- <i>pag</i> 遺伝子	<i>B. anthracis</i> 由来DNA	⇒ <u>596bp</u>
	陽性対照DNA	⇒ <u>322bp</u>
- <i>cap</i> 遺伝子	<i>B. anthracis</i> 由来DNA	⇒ <u>846bp</u>
	陽性対照DNA	⇒ <u>720bp</u>

いずれの地衛研においても、炭疽菌DNAに特異的なPCR増幅を確認できた

# 地衛研で使用している異なる機器・試薬・反応条件 でも炭疽菌DNAに特異的なPCR増幅を確認できた

	PCRマシン	試薬	反応条件	結果	参考文献
・使用サーマルサイクラー	BIO-RAD	Applied Biosystems Verti	PCR Thermal Cycler Dice® Gradien	Thermal cycler 480 TAKARA	C-1000/S-1000 BIO-RAD
・オリゴ合成（メーカー名）	Invitrogen	グライナージャパン	Invitrogen	SIGMA	Invitrogen
・DNA Polymerase	TaKaRa ExTaq	TaKaRa ExTaq	TaKaRa ExTaq Hot Start Version	TaKaRa ExTaq	TaKaRa ExTaq Hot Start Version
・PCR反応液の組成					
滅菌蒸留水	37.8μl	16.9	18.0	34.0	17.875
Buffer	5.0μl	2.5	2.5	5.0	2.5
MgCl <sub>2</sub>	-	-	-	3.0	-
dNTPs (2.5mM each)	4.0μl	2.0	2.0	4.0	2.0
sense primer (10μM)	1.0μl	0.5	0.5	1.0	0.5
anti-sense primer (10μM)	1.0μl	0.5	0.5	1.0	0.5
DNA Polymerase (5unit / μl)	0.2μl	0.1	0.5	1.0	0.125
template DNA	1.0μl	2.5	1.0	1.0	1.5
Total	50μl	25	25	50	25
・泳動したPCR産物の液量	1μl	5	2	1	2
・PCR反応の条件					
a) 热変性	94 C、 2m	95C、 5m	95 C、 5m	95 C、 5m	95 C、 5m
b) 热変性	94 C、 30 s	95C、 30s	95 C、 30s	95 C、 30s	95 C、 30s
アニーリング	50 C、 30 s	55 or 52C、 30s		55 C、 30s	55 C、 30s
pag			52 C、 30s		
cap			55 C、 30s		
伸長	72 C、 30 s	72 C、 30 s	72C、 30s	72C、 30s	72C、 30s
(繰り返し回数)	(30 cycles)	(35cycles)	(30 cycles)	(30 cycles)	(30 cycles)
c) 伸長	72 C、 5 m	72、 5 m	72C、 5m	72C、 5m	72C、 5m

# 検討課題について

## (1) 陽性対照DNAについて（感染研から配布）

- ◇ 陽性対照DNA ⇒ 増幅サイズを小さくしてある
- ◇ サイズマーカー ⇒ 検体の増幅サイズ判定用マーカー

↓

### 使用継続

注：新規担当者に陽性対照・サイズマーカーの使用方法を正確に引き継ぐ。

- ※ 陽性対照DNA：コンタミネーションによる擬陽性を特定可能。
- ※ サイズマーカー：1)PCR産物の電気泳動の際にサイズマーカーとして使用する。  
2)非特異増幅の判別に利用できる。  
3)PCRの際に検体にコンタミしても増幅されない。  
4)大腸菌由来でPCR陽性時の増幅サイズと同じサイズに  
となるようにデザインされている。

## (2) 炭疽菌の遺伝子検査の確定について

- ◇ PCR反応
- ↓
- ◇ 電気泳動で陽性を疑う検体が出た場合
- ↓
- ◇ 塩基配列の解読を行って陽性を判断する

※PCR産物の塩基配列解読について

普段、国内で発生のない炭疽菌のPCR判定では塩基配列を解読して、確実に炭疽菌由来であることを確認する。

将来、頻発に事例が発生した場合には、電気泳動のみの同定や、陽性対照DNAとの競合的PCRなどを検討する必要がある。

## (2) 炭疽菌の遺伝子検査の流れについて

### ◇ 炭疽を疑う検体の対応に関する現状調査

添付の調査票に必要事項を記載して  
メールで返信。

平成17年度以降は炭疽疑い検体の検査依頼は少ないが、  
検査に携わった経験者がいなくなっているため、今回を契機  
にマニュアル等を参考に整備したい。

白い粉等の未確認検体の場合には、安全を確保するため、  
特に、化学系毒物の恐れを排除しつつ検査を進めている。

炭疽菌が疑われる検体は、BSL3実験室で検査を行っている。

## ※ バイオテロ疑い(白い粉等)の検査受け入れにおける課題について

- ◇ 化学・核・爆弾の可能性を警察で否定してからの検体搬入が望ましい。  
⇒ 地衛研と警察との事前打ち合わせと連携の継続が大切である。
- ◇ 炭疽疑い事例は希少であり、疑い時には感染研と相談できる体制をとりたい。  
⇒ レファレンスセンターの構成を全国の各ブロックからとしたい。

## ※病原体検出マニュアルについて

- ◇ 感染研での確定検査を可能にするために、疑い検体の搬送方法を病原体検出マニュアルに記載する。  
⇒ 確定前の検体は、二種病原体でなく、臨床検体として対応が可能である。
  - ・PCRの結果を見て、必要であれば感染研に臨床検体扱いで送付する。
- ◇ バイオテロ疑い検体の採材方法と注意点をマニュアルに記載する。  
⇒ 他の病原体検出にも支障のない方法がよい。

# 平成25年度の取り組みについて

## (1) 動物由来感染症の病原体診断

- ◇ 炭疽菌のPCR検出における感度を検証 (環境検体を想定)
  - ・感染研からDNA検体を送付
- ◇ 狂犬病ウイルスの抗原・遺伝子検査 (ブラインドテスト)
  - ・狂犬病レファレンスネットワークの構築

※ 参加を希望する地衛研は御連絡ください。

連絡先： 感染研・獣医学部(井上 [sinoue@nih.go.jp](mailto:sinoue@nih.go.jp))  
基幹地衛研(山形・東京・愛知・京都・長崎)

## (2) 関連会議で話し合われた事項

- ◇ 「鼻疽菌/類鼻疽菌」の診断系について  
⇒ 感染研・細菌第二部で検査系を維持
- ◇ 炭疽菌の病原体検出マニュアルについて
  - ※ コンタミの防止策をマニュアルに盛り込む。
  - ※ 検体に応じた検査整備を検討する。  
(患者由来検体と環境由来検体では求められる検出感度が異なる)
  - ※ レファレンスセンターの取り組みを反映させる。
- ◇ センターで得られた成果の地衛研との共有について
  - ※ 希望があれば、感染研・基幹地衛研から入手できる。
  - ※ 基幹地衛研以外も、取り組みに参加できる。

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 9. 結核

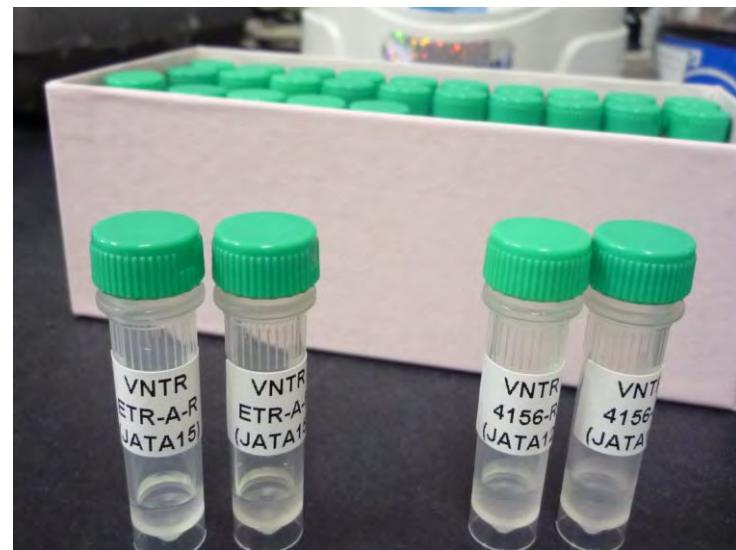
# 平成24年度のレファレンスセンター (結核)報告

- ・ 反復配列多型(VNTR)分析法
- ・ 結核菌扱いに関するアンケート結果

# 反復配列多型(VNTR)分析法

VNTR法を利用した結核菌型別法を全国的に普及させるために各ローカスのプライマーの配布を平成22年度行った。

24年度は、引き続き精度管理用コントロールDNAの配布



24年度は各施設からの要望に従い、以下のものを送付した

- |                          |      |
|--------------------------|------|
| 1. コピー数確認用標準DNA<br>(4種類) | 5 施設 |
| 2. VNTR反応確認用 H37Rv DNA   | 1 施設 |

# 結核菌扱い及び型別に関するアンケート

アンケートを送付し、79施設から回答を得た

41 施設： 結核菌を扱っており、型別等の分析を行っている

30 施設： 結核菌を扱っていない

8 施設： 現在準備中で、今後扱う予定

# 結核菌レファレンス委員

- 北海道東北新潟:宮城県保健環境センター・畠山 敬
- 関東甲信静:神奈川県衛生研究所・高橋智恵子
- 東海北陸:富山県衛生研究所・磯部順子
- 近畿:大阪市立環境科学研究所・長谷 篤
- 中国四国:岡山県環境保健センター・大畠律子
- 九州:大分県衛生環境研究センター・緒方喜久代
- 結核研究所抗酸菌部・御手洗 聰(世話人)、前田伸司

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 10. インフルエンザ

# レファレンスセンター報告

## インフルエンザ

世話人

感染研インフルエンザウイルス研究センター 小田切孝人

### コア地衛研:

山形県衛生研究所： 池田辰也

岩手県環境保健研究センター： 高橋雅輝

東京都健康安全研究センター： 新開敬行

大阪府立公衆衛生研究所： 加瀬哲男

山口県環境保健センター： 戸田昌一

福岡県保健環境研究所： 吉富秀亮、

○愛知県衛生研究所： 皆川洋子、安井善宏

### サポート地衛研:

北海道衛生研究所： 長野秀樹

横浜市衛生研究所： 川上千春

富山県衛生研究所： 滝澤剛則

堺市衛生研究所： 田中智之

沖縄県衛生環境研究所： 平良勝也

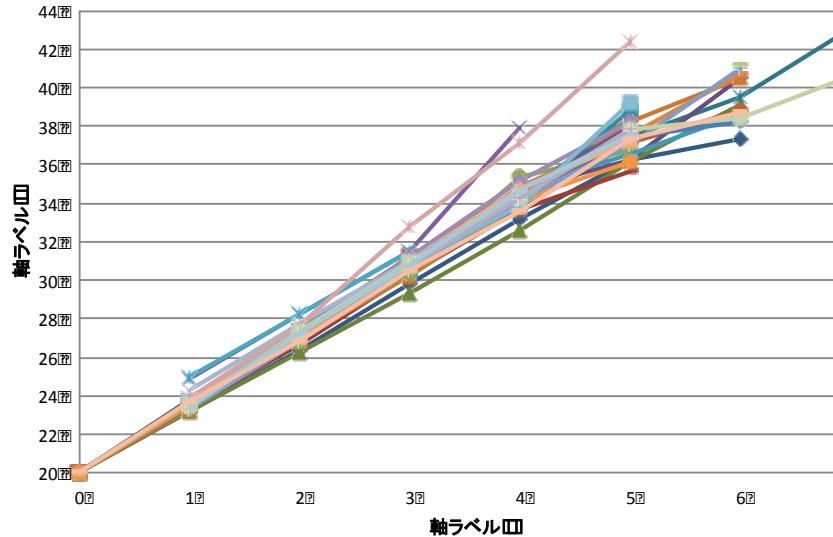
喜屋武尚子

# H24年度の活動報告

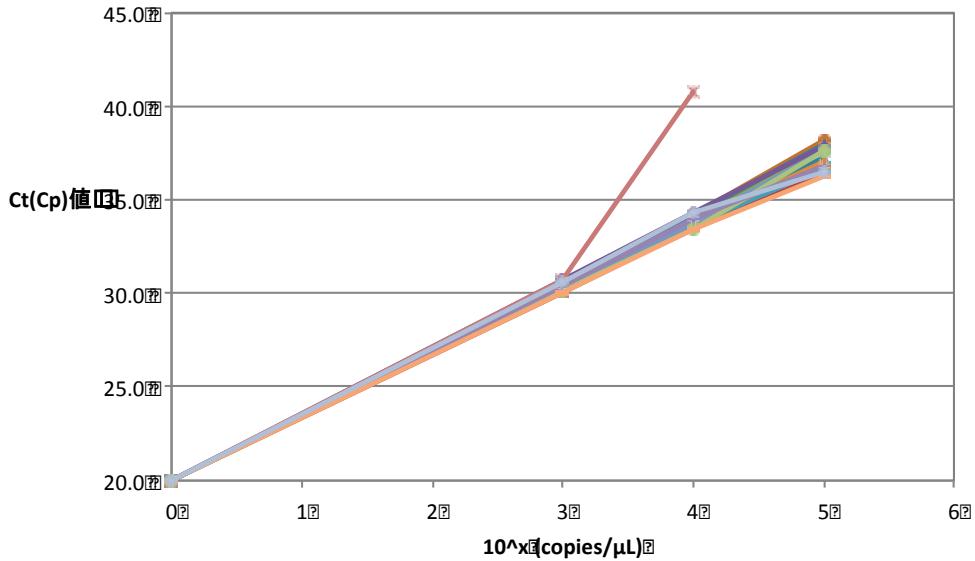
- 6レファレンスセンターおよび5サポート地衛研によるインフルエンザウイルスPCR検査の第2回目外部精度管理試験(EQA)を実施した。
- 全国地衛研へH5N1同定技術研究会の実施  
(H24年9月5-14日 感染研村山庁舎6号棟6F)
- 改変H5-RNA陽性コントロール(識別マーカー入り)およびプローブの再配布
- 全国地衛研のインフルエンザ検査・株サーベイランス体制の現状把握
  - 地衛研全国協議会会員79機関を対象にアンケート調査を実施

# EQA試験的実施と問題点の抽出、改善指導によるPCR精度の向上が見られた

第1回EQAによる地衛研のPCR精度(H23年度)  
グラフタイトル



感染研による改善指導後の第2回EQAの  
PCR精度(H24年度)



H5遺伝子検出のPCR感度は、各地衛研ごとに大きく異なっていた。全体的に低感度であった。



- 感度改善のためのPCR検査系の見直し
- 改善策を感染研からアドバイス

改善対応をすることにより、EQAに参加した地衛研のPCR検査感度が飛躍的に改善された。

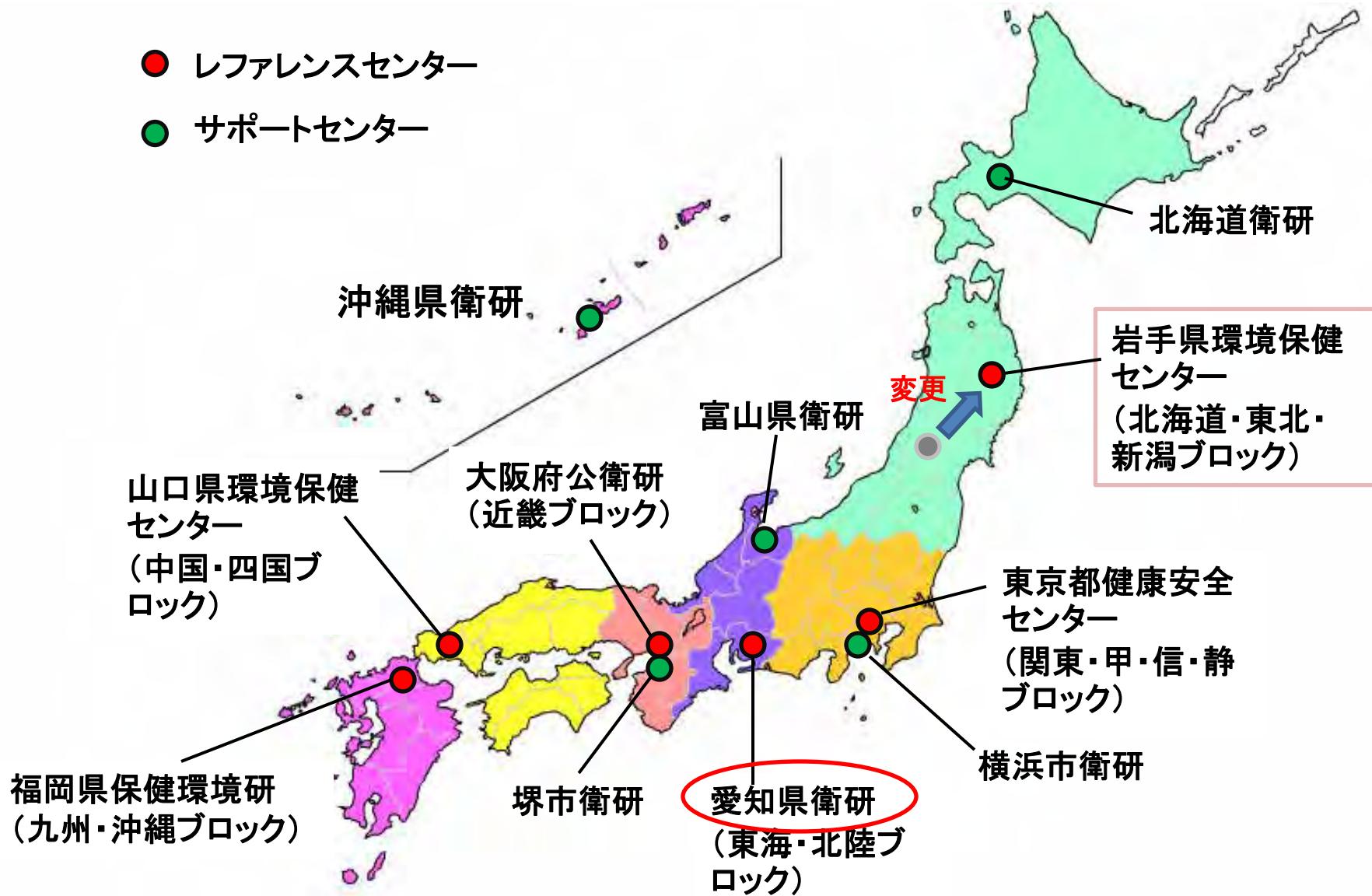
- EQAを実施することで、地衛研のPCR検査技術・精度の確実な向上が見られた
- 全国地衛研へEQAを展開させることで、全国的な診断検査体制の強化が可能

# H24年度の活動報告

- 6レファレンスセンターおよび5サポート地衛研によるインフルエンザウイルスPCR検査の第2回目外部精度管理試験(EQA)を実施した。
- 全国地衛研へH5N1同定技術研究会の実施  
(H24年9月5-14日 感染研村山庁舎6号棟6F)
- 改変H5-RNA陽性コントロール(識別マーカー入り)およびプローブの再配布
- 全国地衛研のインフルエンザ検査・株サーベイランス体制の現状把握
  - 地衛研全国協議会会員79機関を対象にアンケート調査を実施

# インフルエンザレファレンスセンター (H25年度メンバー)

- レファレンスセンター
- サポートセンター



## H25年度の実施

レファレンスセンター・サポート地衛研会議で協議し確認した事項（会議開催：H25. 7月12日10:30-12:00）

### ○既に実施完了した項目

- 全国地衛研によるA(H7N9)-PCR検査用プライマー、プローブ、陽性コントロールRNAの緊急配布（4月12日）。
- 識別マーカー入りの(H7N9)陽性コントロールの再配布（7月3日）

### ○実施予定の項目

- 全国地衛研によるA(H7N9)-PCR検査EQAの実施。
- 薬剤耐性株サーベイランスの継続  
TaqMan PCRで検出（地衛研）、感受性試験（感染研）

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 11. カンピロバクター

2013.7.11

# 希少感染症診断技術向上事業 カンピロバクター・レファレンス委員会

秋田県健康環境センター

広島市衛生研究所

山口県環境保健センター

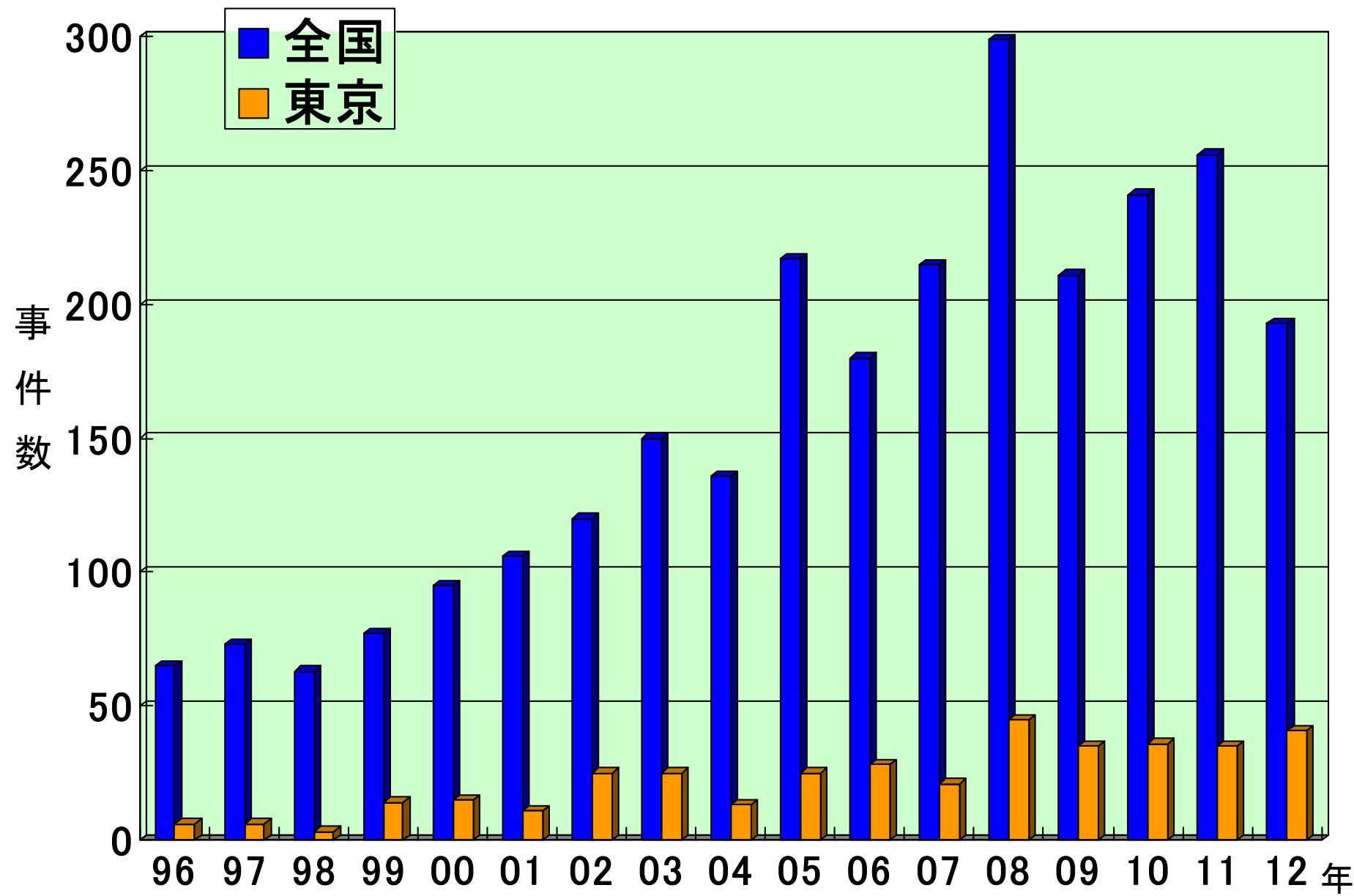
国立医薬品食品衛生研究所

大阪府立公衆衛生研究所

熊本県保健環境科学研究所

東京都健康安全研究センター

愛知県衛生研究所



カンピロバクター食中毒の発生状況(患者数2名以上の事例)

希少感染症診断技術向事業

カンピロバクター・レファレンス委員会

目的および方法：

1. Lior 法による診断用血清(30種類)の作成と型別
2. 市販血清を使ったPenner 法の検討
3. 薬剤耐性菌の出現状況把握

## カンピロバクターの血清型別法

	Lior 法 自家調製	Penner 法 市販品(デンカ生研)
方法	スライド凝集反応	受身血球凝集反応
標的抗原	易熱性抗原 (H, K様抗原?)	耐熱性菌体抗原 (LOS)
血清群数	30(原法:118)	25(原法:57)
操作性	容易	煩雑
判定	やや困難	容易
価格	安価	高価(1検体 2000円)

## 各支部センターにおける型別菌株数(2012年)

支部センター	集団由来 菌株数	(事件数)	散発	食肉	合計
			菌株数	菌株数	
秋田県健康環境センター	0	( 0 )	31	10	41
東京都健康安全研究センター	190	( 40 )	83	0	273
愛知県衛生研究所	95	( 18 )	27	0	122
大阪府立公衆衛生研究所	23	( 10 )	14	0	37
広島市衛生研究所	12	( 3 )	88	0	100
山口県環境保健センター	7	( 3 )	23	11	41
熊本県保健環境科学研究所	17	( 3 )	0	0	17
合計	344	( 77 )	266	21	631

## *C. jejuni* 散発事例由来株のLior血清型別成績（全国・2012年）

血清型	秋田	東京	愛知	大阪	広島	山口	熊本	合計	(%)
LIO 4	12	26	6	7	31	7	-	89	33.6
LIO 1	2	1	-	-	14	6	-	23	8.7
TCK 1	-	6	1	1	10	-	-	18	6.8
LIO 11	2	6	1	-	3	1	-	13	4.9
LIO 7	-	3	1	-	1	1	-	6	2.3
LIO 10	-	1	-	-	1	4	-	6	2.3
LIO 6	1	-	1	-	2	1	-	5	1.9
LIO36	-	5	-	-	-	-	-	5	1.9
その他*	2	12	3	0	3	3	-	23	8.7
小計	19	60	13	8	65	23	0	188	71.0
(%)	63.3	72.3	48.1	57.1	73.9	100.0	0.0	71.0	
複数血清	4	1	10	-	10	-	-	25	9.4
型別不能	7	22	4	6	13	-	-	52	19.6
合計	30	83	27	14	88	23	0	265	100

\* 13種類

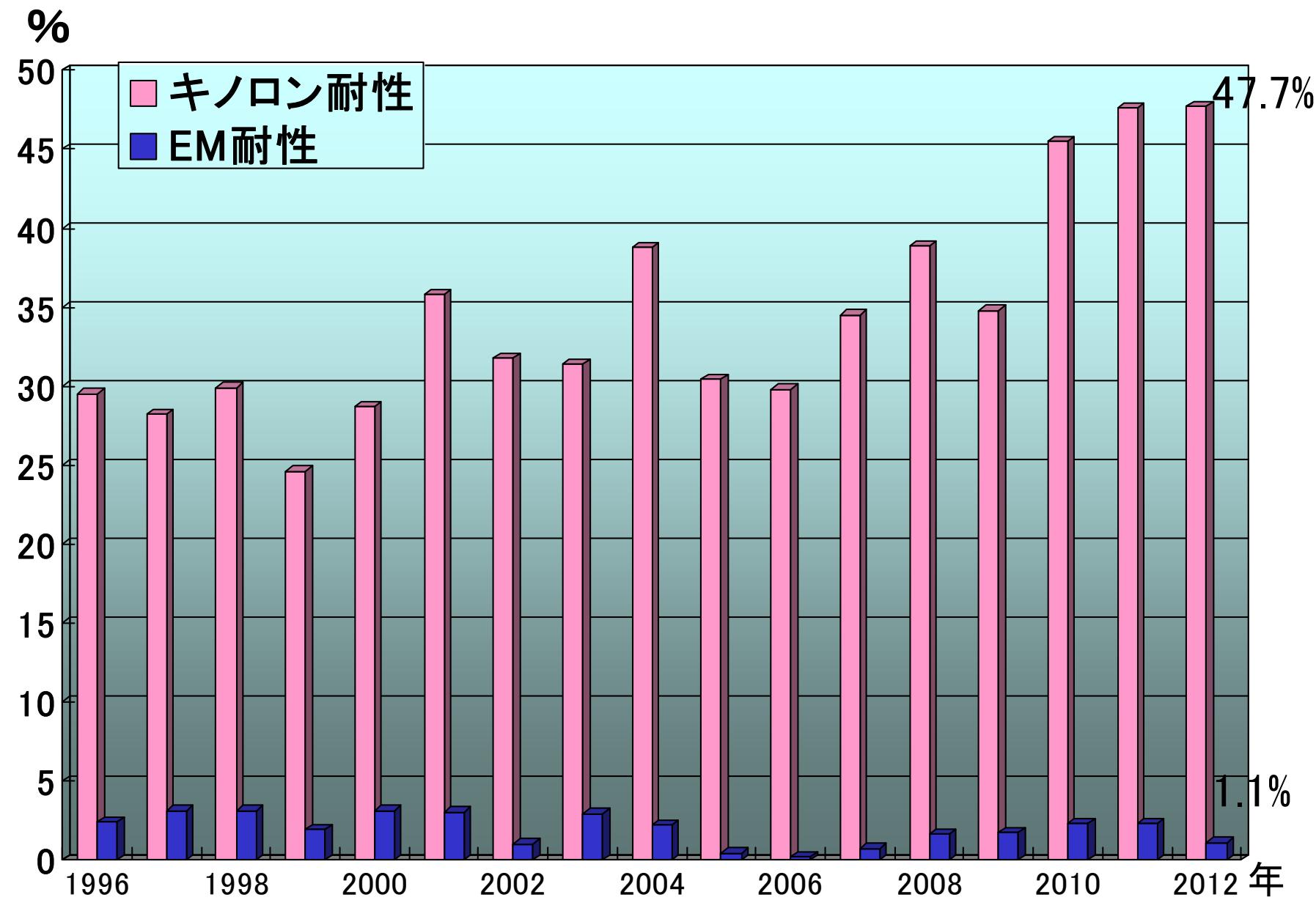
## *C. jejuni* 散発事例由来株の血清型推移

	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年
1位	LIO 4	LIO 4	LIO4	LIO4	LIO 4
2位	LIO 28	LIO 7	LIO28	LIO7	LIO 1
3位	LIO 11	LIO 1	LIO1	LIO1	TCK 1
4位	LIO 1	LIO 28	LIO7	LIO11	LIO 11
5位	TCK 12	LIO 11	LIO11	LIO28,LIO36,TCK1	LIO 7, LIO10

## Penner 法による *C. jejuni* 散発事例由来株の型別推移( 全国)

血清型	2009年	2010年	2011年	2012年	合計	(%)
A群	10	14	12	2	38	(2.5)
B群	27	78	49	44	198	(12.9)
C群	23	28	28	10	89	(5.8)
D群	58	54	42	19	173	(11.3)
G群	11	10	9	4	34	(2.2)
J群	13	9	8	5	35	(2.3)
O群	19	26	20	3	68	(4.4)
R群	18	9	4	3	34	(2.2)
Y群	26	22	12	6	66	(4.3)
その他*	28	33	42	29	132	(8.6)
小計	233	283	226	125	867	
(%)	(54.2)	(61.7)	(58.7)	(48.1)	(56.5)	
複数血清	3	1	9	5	18	(1.2)
型別不能	194	175	150	130	649	(42.3)
合計	430	459	385	260	1534	(100.0)

\*8種類



キノロン剤およびエリスロマイシン耐性株の出現状況  
キノロン耐性: NFLX・OFLX・CPFX・NA耐性

## まとめ

- *C. jejuni* 265株を対象にLior法で検討した結果、検出される血清型は、LIO 4, LIO 1, TCK 1の順に多く、大きな年次別変化は認められなかった。
- Lior 法(265株)では21種類の単独血清(71.0%)、複数血清(9.4%)に型別され、型別率は80.4%であった。
- Penner 法(260株)では17種類の単独血清(48.1%)、複数血清(1.9%)に型別され、型別率は50.0%であった。
- Penner 法の型別率が低い原因を検討する必要がある。
- 2012年の*C. jejuni* キノロン耐性菌の出現率は47.3%で、昨年(47.6%)とほぼ同等であった。

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 12. アデノウイルス

# 衛生微生物 アデノウイルス レファレンス会議・報告

司話人 藤本嗣人

2013年7月11日 名古屋市  
衛生微生物検査技術協議会

# レファレンスセンター組織(8ヶ所)

地区	自治体	レファレンス委員	研究所名
北海道・東北・新潟地区	青森県	三上 稔之	青森県環境保健センター
	新潟県	渡部 香	新潟県保健環境科学研究所
関東・甲・信・静地区	東京都	長谷川 道弥	健康安全研究センター微生物部
	川崎市	清水英明・松島勇紀	川崎市健康安全研究所
東海・北陸地区	福井県	山本 希	福井県衛生環境研究センター
近畿地区	大阪府	廣井 聰	大阪府立公衆衛生研究所
中国・四国地区	広島市	田中寛子	広島市衛生研究所
九州地区	宮崎県	三浦 美穂	宮崎県衛生環境研究所

国立感染症研究所： 藤本嗣人、花岡希

# アデノウイルス・レファレンスセンター

## 会議で決まったこと

- ・マニュアルの**簡易版**の作成・配布
- ・**眼科定点**からの検体を増やす工夫が必要。
- ・ウイルス**分離・中和**の実施→ 同定できない分離株は**レファレンス活動**で対処。
- ・東南アジア・東アジアで重症呼吸器感染症を引き起こしている**アデノウイルス7型**の日本への侵入への対策
- ・活動強化・改善のためのアンケートを実施。

# レファレンス活動の成果: 福井県における EKGからのアデノウイルス検出

Table. Detection of species D adenoviruses from EKG patients in Fukui prefecture

	Ad8	Ad19	Ad37	Ad53	Ad54	Ad56	新型	Total
1995			1					1
1996	1		2	1				4
1997	3	1						4
1998		1			1			2
1999								0
2000								0
2001	4				1			5
2002								0
2003		1	2		1			4
2004			9	3	2			14
2005		1	2		45			48
2006			3		15			18
2007			9	1				10
2008								0
2009			3		1			4
2010			9			1		10
Total	8	4	40	5	66	1		124

8型、19型、37型

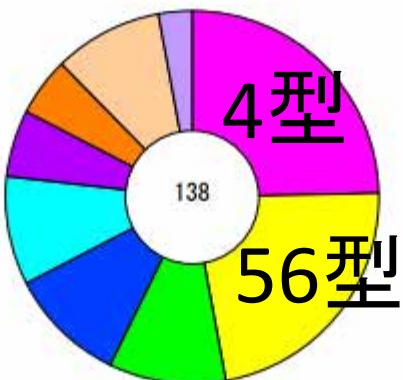
[P37H22F8]

53型、54型、56型

# 流行性角結膜炎からの検出ウイルス



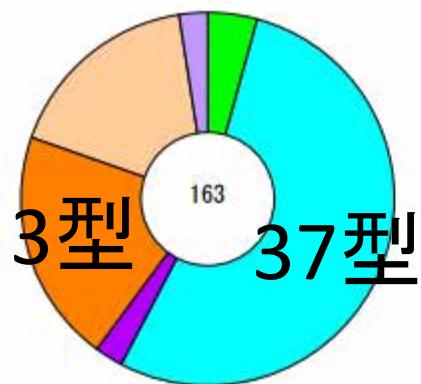
2013年



2012年



2011年



2010年



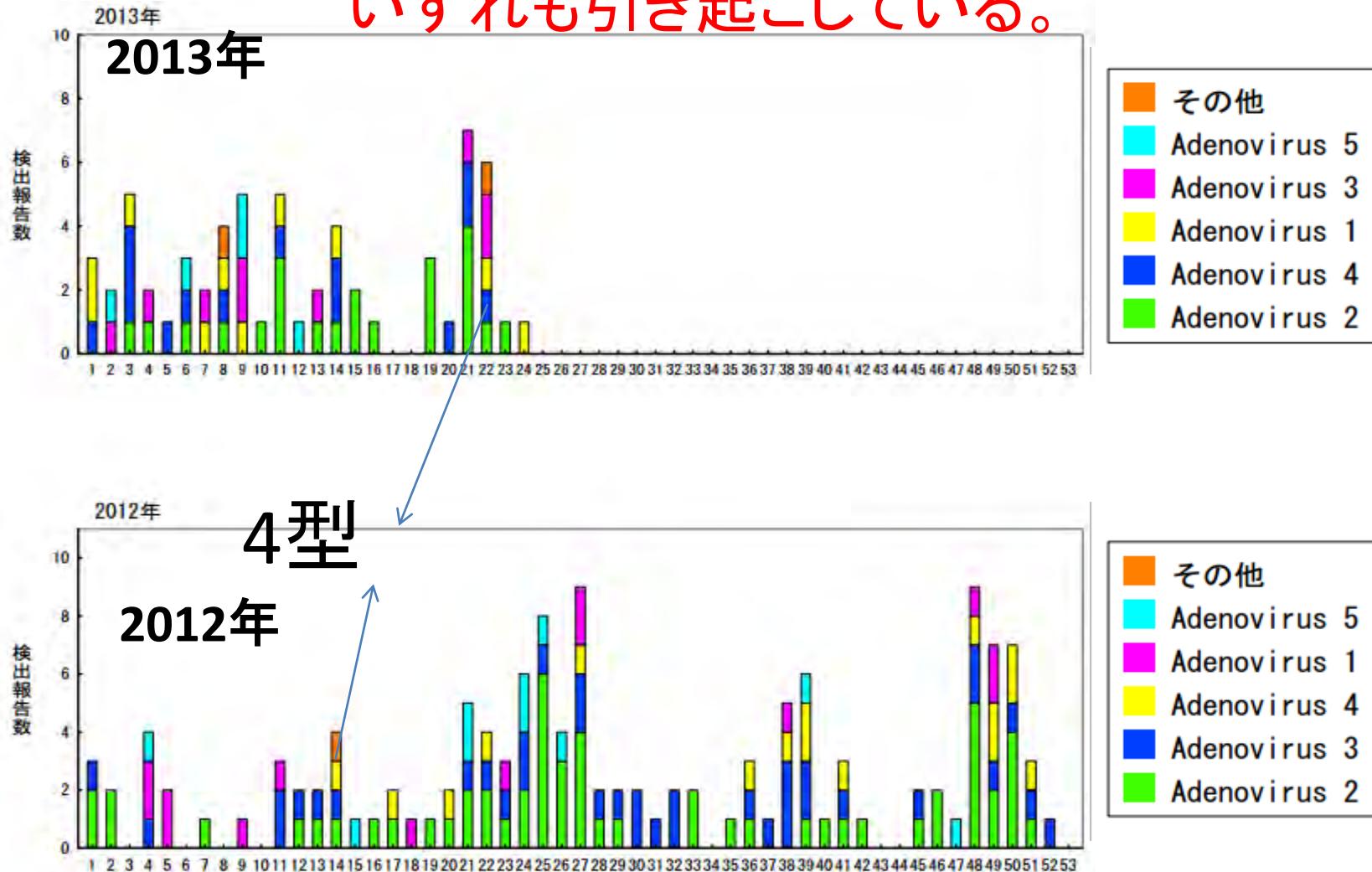
2009年

- Adenovirus 4
- Adenovirus 56
- Adenovirus 8
- Adenovirus 54
- Adenovirus 37
- Adenovirus 53/22
- Adenovirus 3
- Other adeno
- Coxsackievirus A24
- その他

病原微生物検出情報：2013年7月5日現在

# 咽頭結膜熱からの検出ウイルス

4型は、眼感染症も呼吸器感染症の  
いずれも引き起こしている。



# より良いサーベイランスのために

- ・全国の地方衛生研究所へのアンケート調査をして
  - ・検査実態(要望)の把握
  - ・レファレンス活動の構築のための資料を得る
  - ・感染研(地区レファレンスセンター)での難同定株の同定
  - ・定点医療機関の活性化に向けた対策

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 13. レンサ球菌

# 衛生微生物技術協議会溶血レンサ球菌 レファレンスシステムセンター



# 溶血性レンサ球菌レファレンス

## 溶血性レンサ球菌

### A群

- ・T血清型別
- ・M血清型別
- ・*emm*遺伝子型別など

### B群

- ・血清型別など

### C,G群

- ・菌種の同定
- ・*emm*遺伝子型別など

### その他のレンサ球菌

- ・菌種の同定など

### 薬剤感受性試験

# (感染症法)

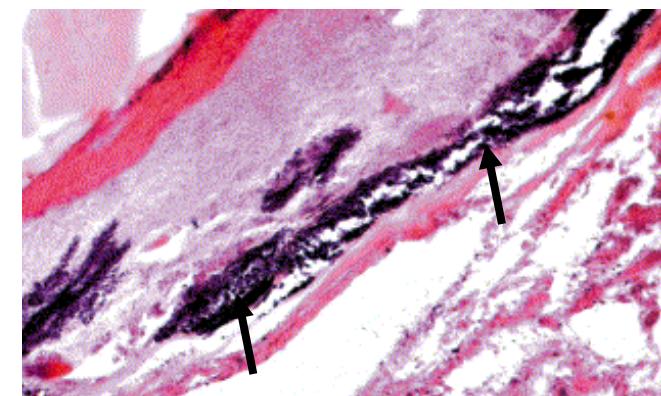
## 5類感染症

- A群溶血性レンサ球菌咽頭炎（小児科定点報告疾患）  
A群レンサ球菌による上気道感染症
- 劇症型溶血性レンサ球菌感染症（全数報告疾患）  
 $\beta$ 溶血を示すレンサ球菌を原因とし、突発的に発症して急激に進行する敗血症性ショック病態

咽頭炎



劇症型感染症



筋膜内の菌 (Hidalgo-Grass et al. Lancet 2004)

# 溶血性レンサ球菌レファレンス

## 溶血性レンサ球菌

### A群

- ・ T血清型別 ←簡便
- ・ M血清型別
- ・ *emm*遺伝子型別など

### B群

- ・ 血清型別など

### C,G群

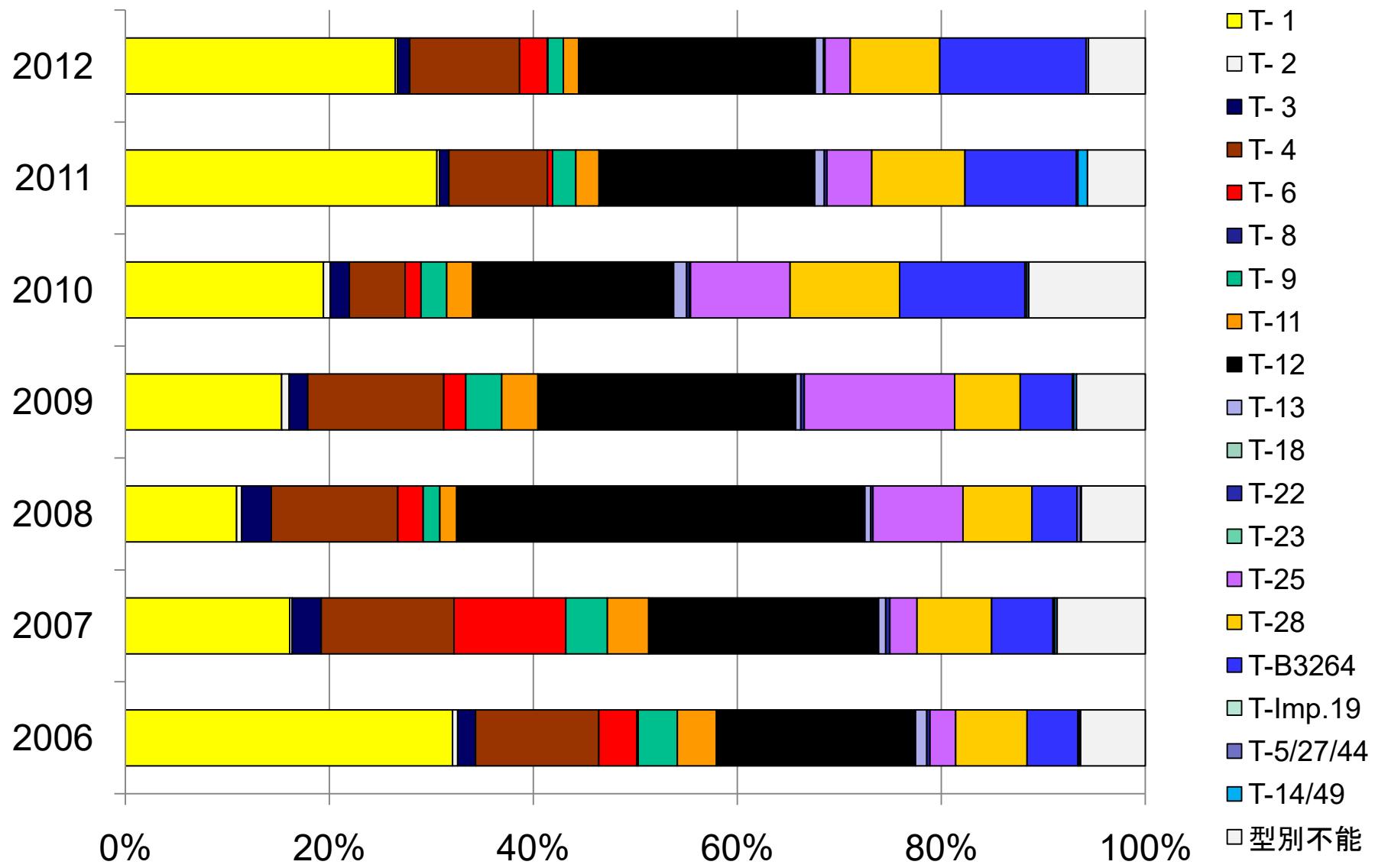
- ・ 菌種の同定
- ・ *emm*遺伝子型別など

### その他のレンサ球菌

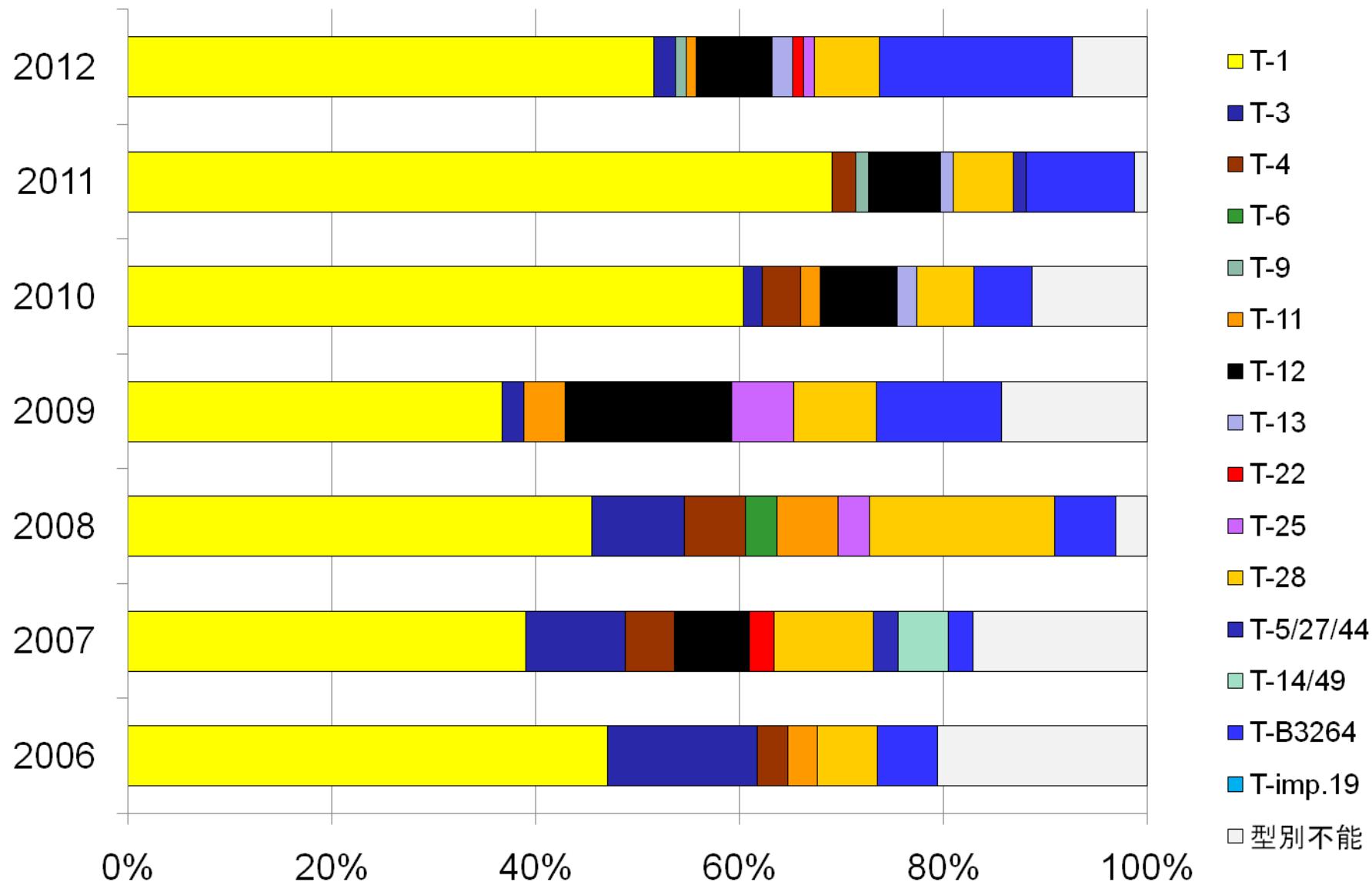
- ・ 菌種の同定など

薬剤感受性試験

# 咽頭炎由来株のT型別 (2006-2012)



# 劇症型溶レン菌感染症患者由来株のT型別（2006-2012）



# 溶血性レンサ球菌レファレンス

## 溶血性レンサ球菌

### A群

- ・T血清型別
- ・M血清型別
- ・*emm*遺伝子型別など

### B群

- ・血清型別など

### C,G群

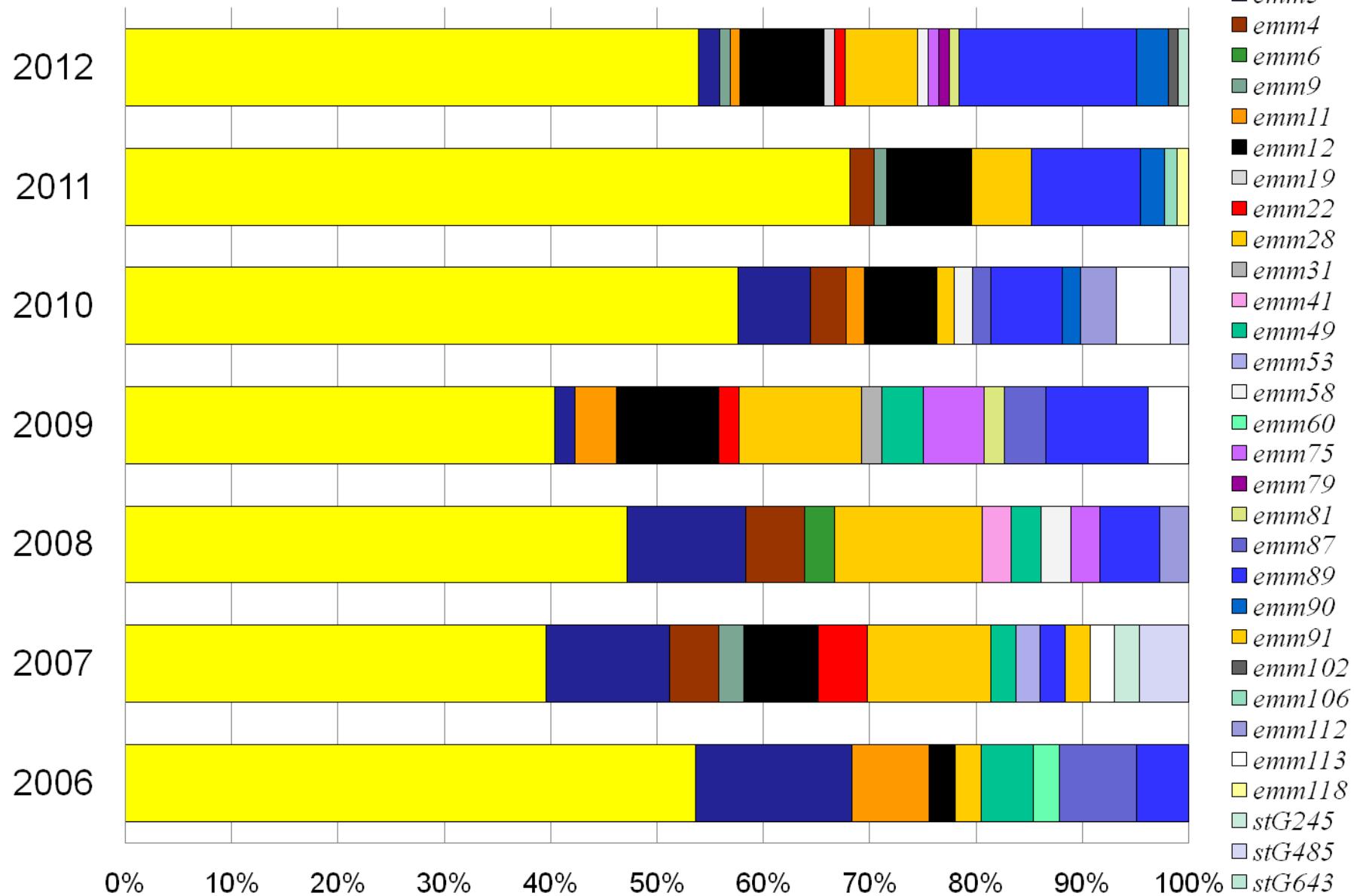
- ・菌種の同定
- ・*emm*遺伝子型別など

### その他のレンサ球菌

- ・菌種の同定など

## 薬剤感受性試験

## 劇症型溶レン菌感染症患者由来株のemm遺伝子型 (2006-2012)



# (感染症法)

## 5類感染症

- A群溶血性レンサ球菌咽頭炎（小児科定点報告疾患）

A群レンサ球菌による上気道感染症である。

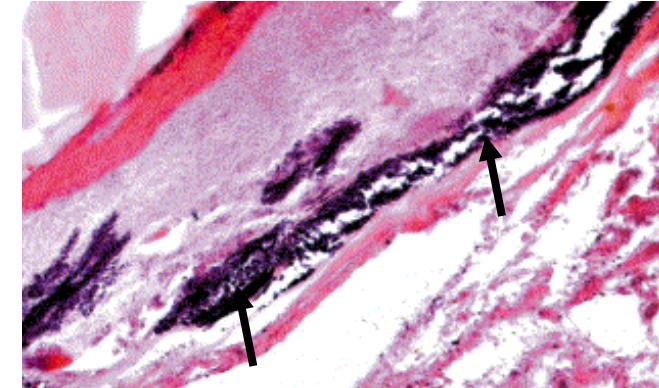
- 創症型溶血性レンサ球菌感染症（全数報告疾患）

**β溶血**を示すレンサ球菌を原因とし、突発的に発症して急激に進行する敗血症性ショック病態である。

咽頭炎

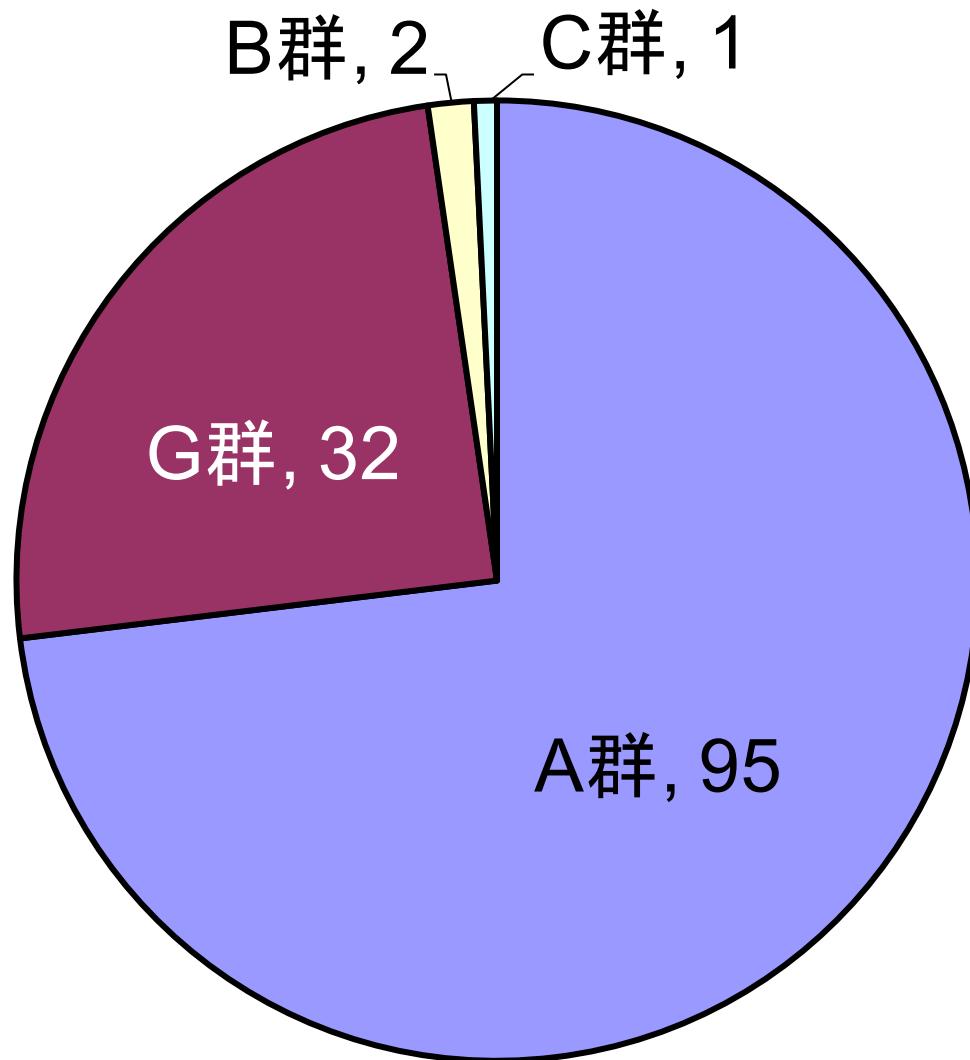


創症型感染症



筋膜内の菌 (Hidalgo-Grass et al. Lancet 2004)

2012年におけるSTSS患者分離株のLancefield群別（数字は症例数）



（国立感染症研究所細菌第一部に送付されたものについてのみの情報）

# 溶血性レンサ球菌レファレンス

## 溶血性レンサ球菌

### A群

- ・T血清型別
- ・M血清型別
- ・*emm*遺伝子型別など

### B群

- ・血清型別など

### C,G群

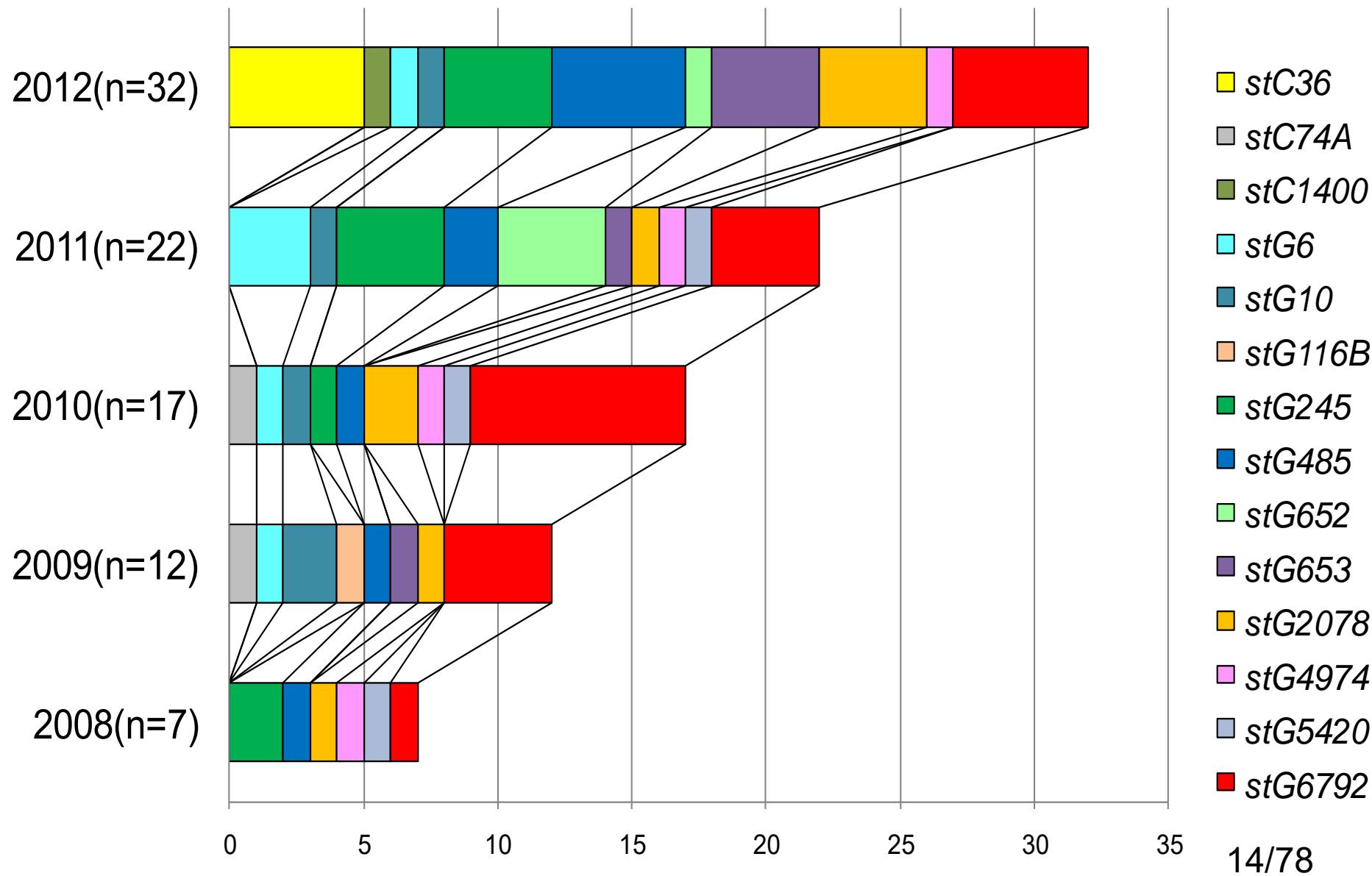
- ・菌種の同定
- ・*emm*遺伝子型別など

### その他のレンサ球菌

- ・菌種の同定など

### 薬剤感受性試験

# 劇症型G群レンサ球菌感染症患者由来株の $emm$ 遺伝子型 (2008-2012)



# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 14. 麻疹・風疹

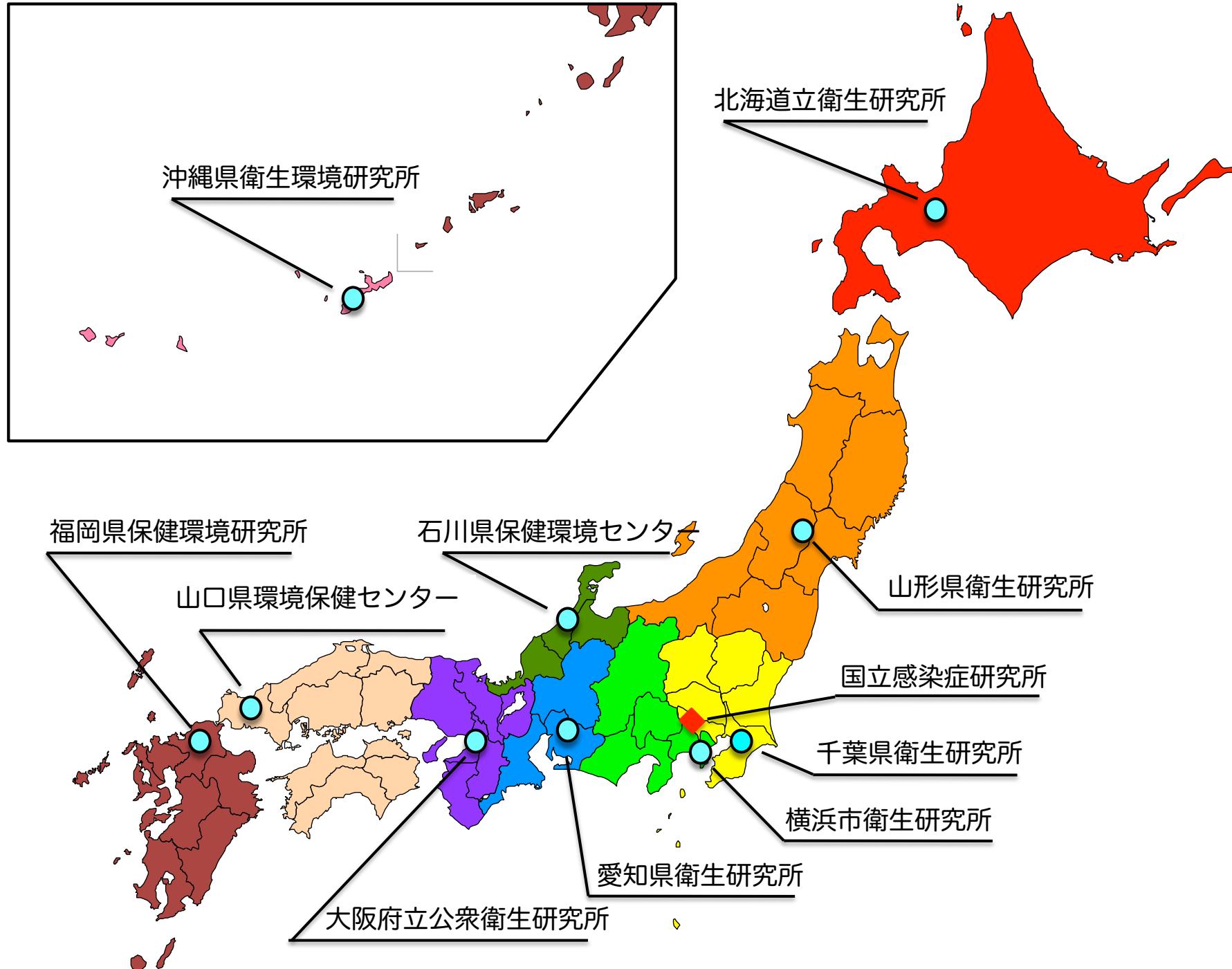
平成25年7月12日  
衛生微生物技術協議会第34回研究会  
於：名古屋市中小企業振興会館



# 麻しん・風しん レファレンスセンター報告

麻しん・風しんレファレンスセンター  
世話人 国立感染症研究所ウイルス第3部  
駒瀬 勝啓



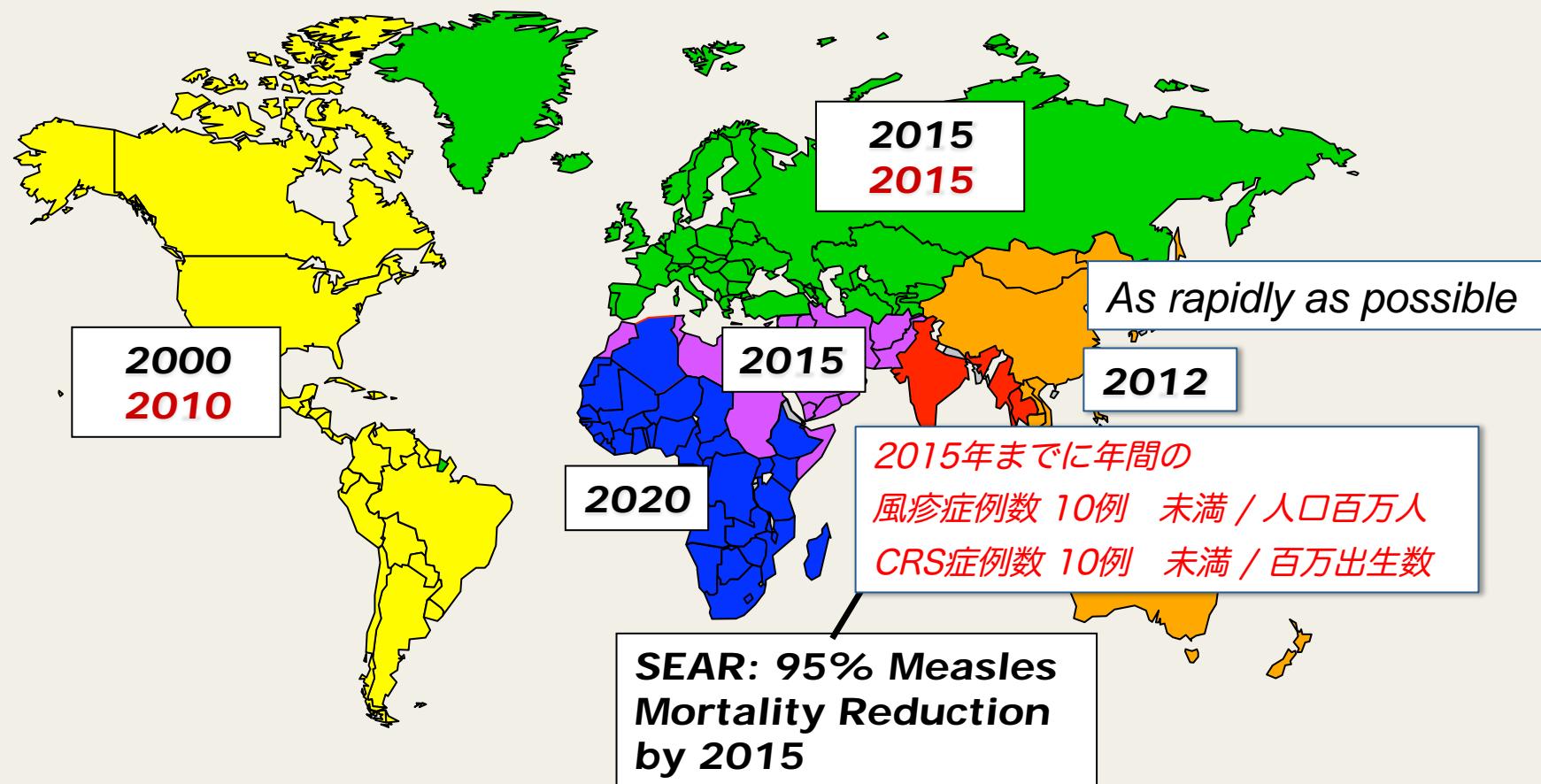


# H25年度麻しん・風しんレンタルセンター

ブロック	所属	担当者
世話人	国立感染症研究所	駒瀬勝啓
北海道	北海道立衛生研究所	長野秀樹
東北・新潟	山形県衛生研究所	青木洋子
北関東・東京	千葉県衛生研究所	小川知子
神奈川・甲信・静岡	横浜市衛生研究所	七種美和子
東海	愛知県衛生研究所	皆川洋子
北陸	石川県保健環境センター	児玉洋江
近畿	大阪府立公衆衛生研究所	加瀬哲男
中国・四国	山口県環境保健センター	村田祥子
九州	福岡県保健環境研究所	濱崎光宏、石橋哲也
沖縄	沖縄県衛生環境研究所	加藤峰史

# Measles and *Rubella* Elimination Goals by WHO Region, August 2011

Americas, Europe, E. Mediterranean, W. Pacific, Africa have measles elimination goals  
Americas and Europe have rubella elimination goals



# 麻しん排除の定義 (WHO)

- 適切なサーベイランスの下、ある特定の地域で**常在性**のウイルスによる麻しん症例が12ヶ月間以上ないこと

## 適切なサーベイランス

- 国レベルで、2例/10万人口/年以上の取り下げ麻疹症例の報告があること。加えて、80%以上の国家に次ぐ行政単位(都道府県?)において同レベルの報告があること。
- 80%以上の麻疹疑い症例から、急性期の麻疹ウイルス感染を検出するため適切な臨床検体が集められ、(WHOの認める)熟練した実験室で検査が行われること。
- 麻疹ウイルスの検出に適切な臨床検体が、実験室検査によって麻疹と確認された流行の80%以上から回収され、またその検体がWHOから認定された実験室で検査される事。
- 全ての麻疹疑い症例のうち少なくとも80%以上で、症例の届出後、48時間以内に適切な調査が開始されなければならない。

参考資料: WHO WER (2010) 85, 489-496

# 麻しん排除の定義 (WHO)

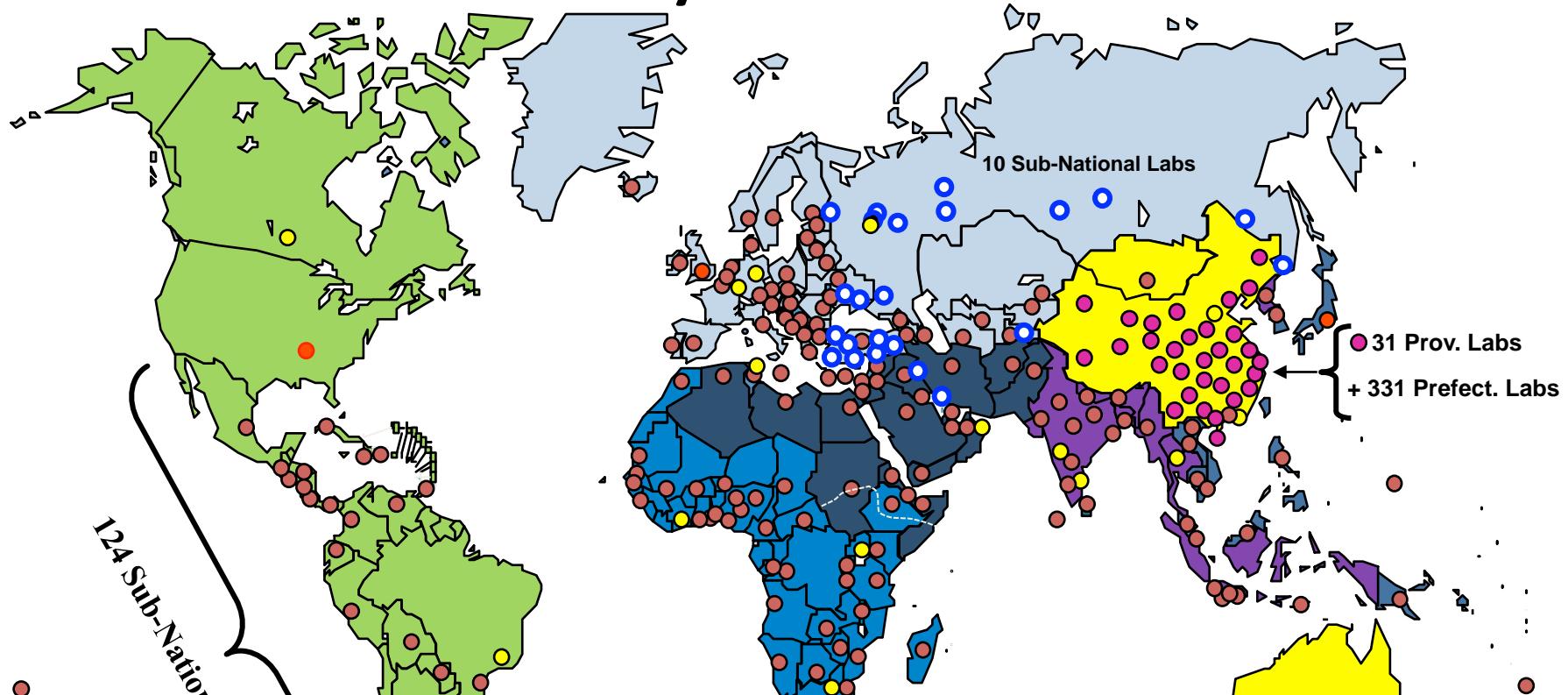
- 適切なサーベイランスの下、ある特定の地域で**常在性**のウイルスによる麻しん症例が12ヶ月間以上ないこと

## 適切なサーベイランス

- 国レベルで、2例/10万人口/年以上の取り下げ麻疹症例の報告があること。  
加えて、80%以上の国家に次ぐ行政単位(都道府県?)において同レベルの報告があること。
- 80%以上の麻疹疑い症例から、**急性期の麻疹ウイルス感染を検出するため**に適切な臨床検体が集められ、(WHOの認める)熟練した実験室で検査が行われること。
- 麻疹ウイルスの検出に適切な臨床検体が、**実験室検査によって麻疹と確認された流行の80%以上から回収され、またその検体がWHOから認定された実験室で検査される事。**
- 全ての麻疹疑い症例のうち少なくとも80%以上で、症例の届出後、48時間以内に適切な調査が開始されなければならない。

参考資料: WHO WER (2010) 85, 489–496

# WHO Global Measles and Rubella Laboratory Network: 2012

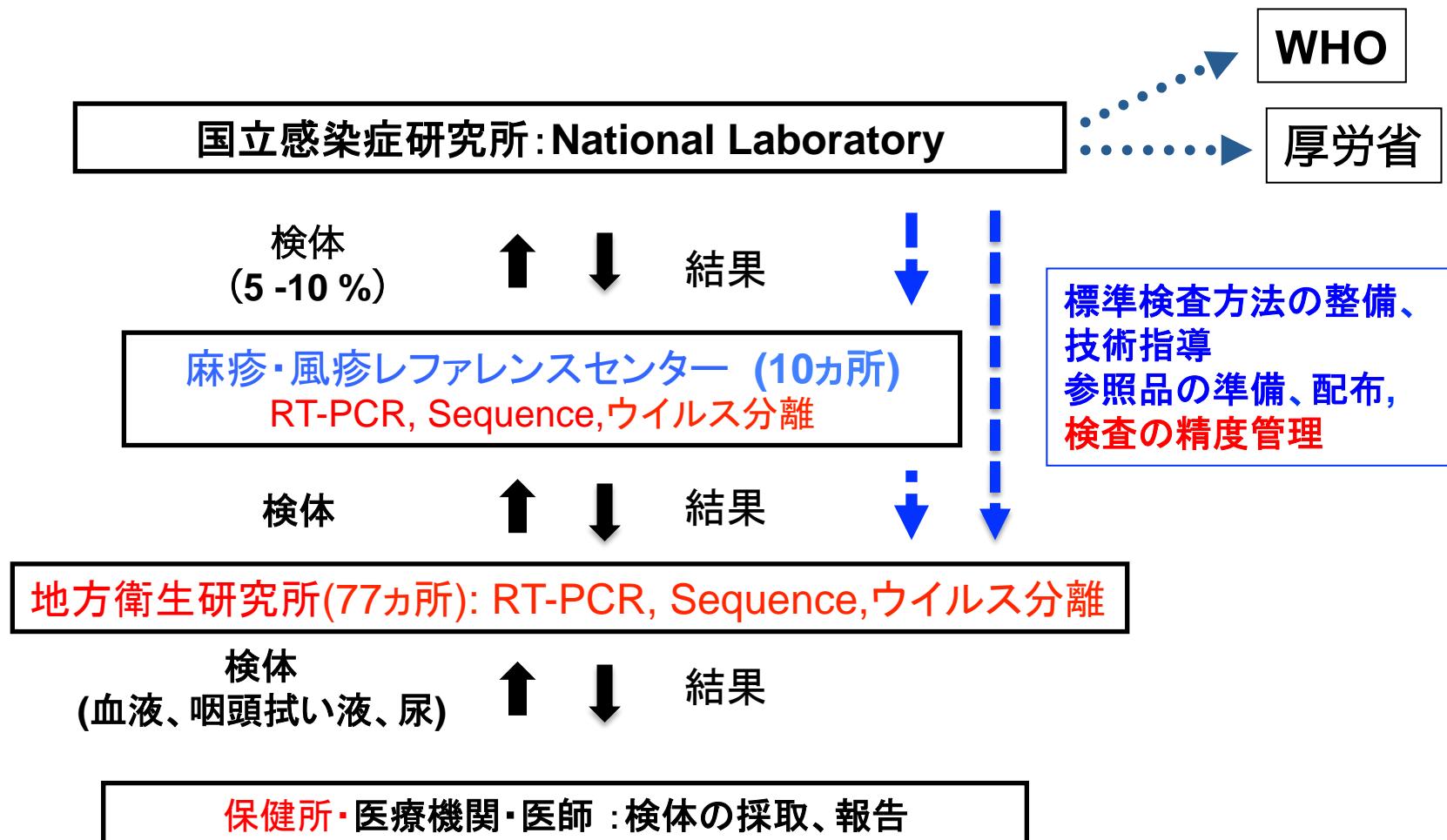


191/194 countries served by proficient labs

158 countries = **172**  
(As of Jun 2013)

- National Laboratories
- Regional Reference Labs
- Global Specialised Labs
- Provincial Labs China
- Sub-National Labs

# 地衛研-感染研による 麻疹検査診断ネットワーク



# H24年度麻しん・風しんレファレンス活動報告

感染研 → レファレンスセンター

- PCR用試薬の配布
- 参照RNAの配布 (麻しん、風しん)

レファレンスセンター → 地方衛生研究所

- PCR用試薬の配布
- 参照RNAの配布 (麻しん、風しん)
- 技術研修
- 情報収集
- 検査診断バックアップ

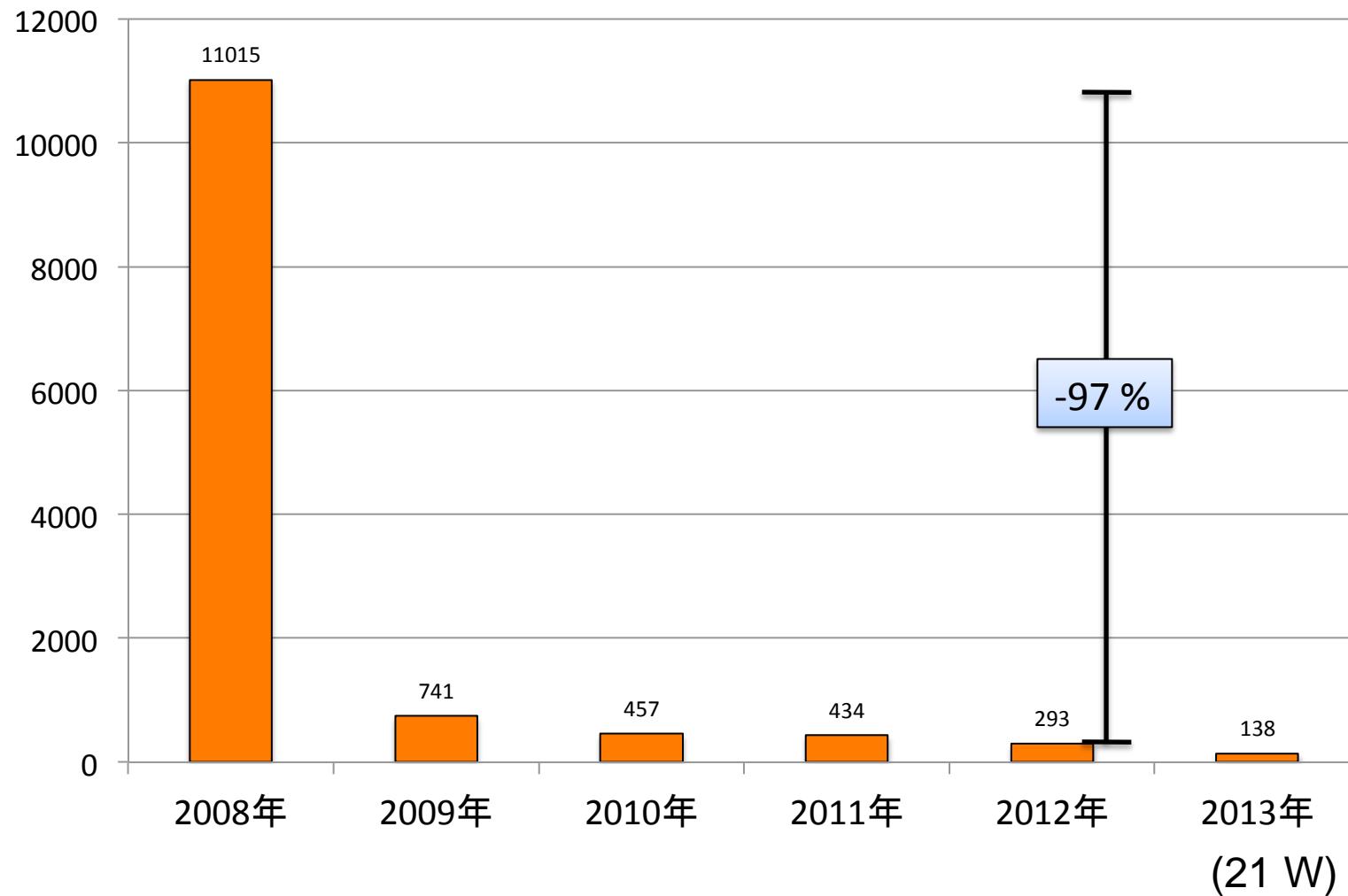
感染研 → 地方衛生研究所

- Vero/hSLAM 細胞の配布 (3カ所)
- 検査診断バックアップ
- 病原体検出マニュアルの改訂(風疹) (RT-PCR法の改訂)

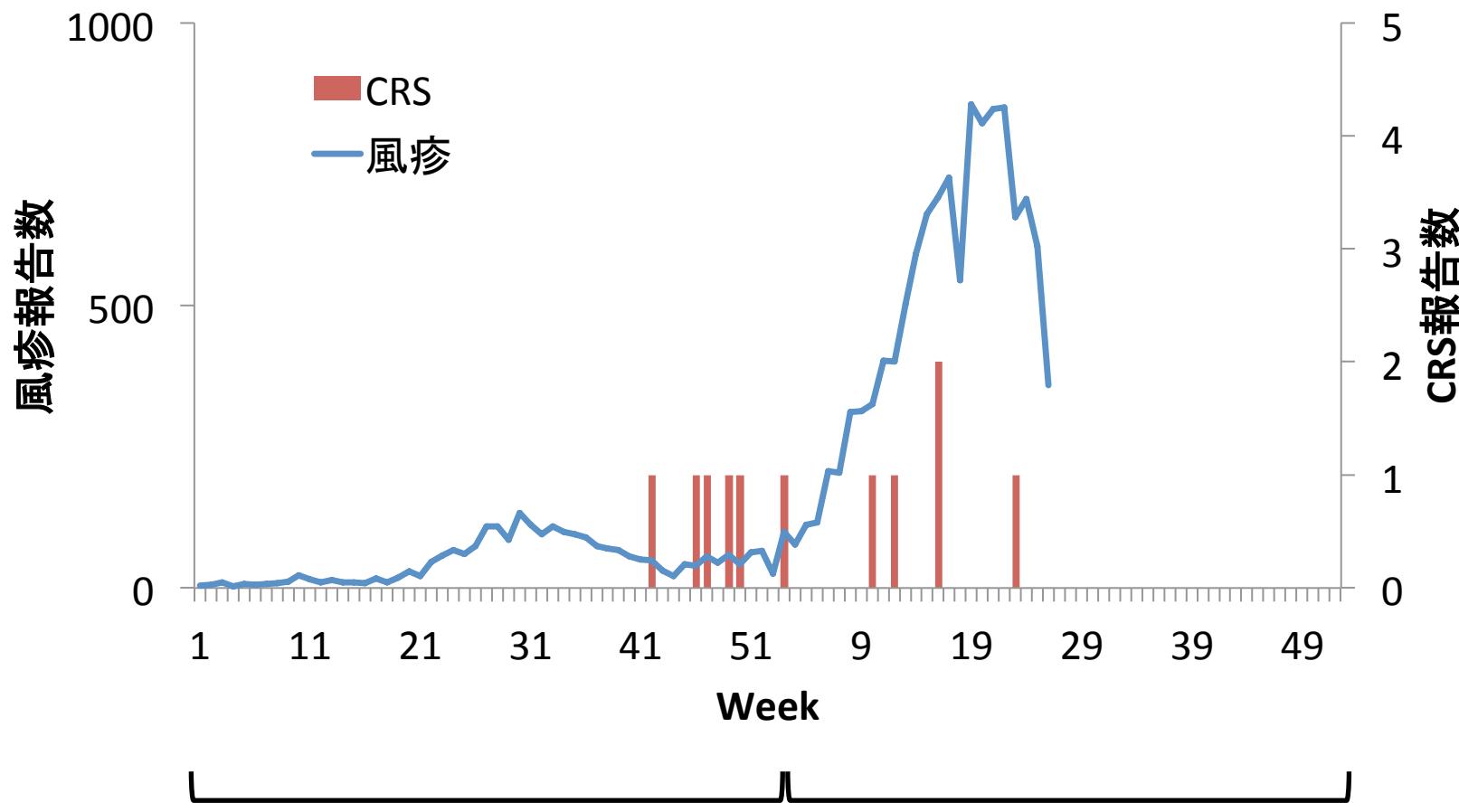
# 課 題

- 検体  
PCR検査が実施される環境の強化 → ウィルス遺伝子型情報  
(麻しんに関する特定感染症予防指針)
- 診断法  
Real -time RT-PCR法 の導入  
レファレンスセンターによる評価 → 地衛研、病原体マニュアル
- 情報の集約  
地衛研から感染研への検査数、陽性数等の情報、ならびに  
ウィルス遺伝子情報の収集
- 検査の精度管理  
PCR法、real-time-RT-PCR法 の molecular EQAの実施案の  
作成  
精度管理用kit の開発、評価

## 麻疹報告数の推移 (2008 ~ 2013.21W)



# 週別風疹およびCRS報告数 (2012.1-2013.26)





ご清聴ありがとうございました

# 衛生微生物技術協議会第34回研究会（名古屋） レファレンスセンター等報告

---

## 15. リケッチャ

# リケッチャ症レファレンスセンター会議2013

全国衛生微生物技術協議会, 2013年7月11日, 名古屋

- 北海道・東北
  - 福島県衛生研究所
  - 青森県環境保健センター
- 近畿
  - 和歌山県環境衛生研究センター
  - 兵庫県立生活科学研究所健康科学研究センター
- 東海北陸
  - 三重県保健環境研究所
  - 富山県衛生研究所
- 中国・四国
  - 岡山県環境保健センター
  - 広島県立総合技術研究所保健環境センター
  - 高知県衛生研究所
- 関東甲信静
  - 東京都健康安全研究センター
  - 埼玉県衛生研究所
- 九州
  - 宮崎県衛生環境研究所
  - 鹿児島県環境保健センター

司会人 安藤秀二  
国立感染症研究所ウイルス第一部第五室

# リケッチャ・レファレンスセンター

- 必要性と目的

国内のリケッチャ症(つつが虫病と日本紅斑熱等)は地域の状況に即した症例への対応が必要となる。衛研が連携し、情報分析、技術支援を行うレファレンス組織が重要。

リケッチャ症の病原体サーベイランスに必要となる疫学情報、リケッチャ標準株、分離株の共有等、相互信頼と連携、機能強化を図る。

- 役割

- 標準株、分離株の維持(リスク分散)。
- 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。
- 実験室診断技術の相互評価(技術の維持)
- 新規診断法等の相互評価。
- 疫学情報、診断情報の収集・分析と共有。
- 緊急時のバックアップ体制
- 検査マニュアルの作成、改訂
- 検査技術の研修
- その他

# 協議内容

- ・ イントロ（患者発生状況の概要）
- ・ 情報提供（つつが虫病～秋田県）
  - 情報発信の重要性, リスクコミュニケーション
- ・ 情報提供（つつが虫病～福島県）
  - : Shimokoshi型の広がり
- ・ 活動状況と今後の予定
- ・ 意見交換

# 四類感染症における報告数上位疾患 (2012末現在)

99	0	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A型肝炎 763	つつが虫 病 791	つつが虫 病 491	A型肝炎 502	つつが虫 病 402	つつが虫 病 313	つつが虫 病 345	レジオネラ 518	レジオネラ 668	レジオネラ 884	レジオネラ 717	レジオネラ 751	レジオネラ 818	レジオネラ 892
つつが虫病 556	A型肝炎 381	A型肝炎 491	つつが虫 病 338	A型肝炎 303	レジオネラ 161	レジオネラ 281	つつが虫 病 417	つつが虫 病 383	つつが虫 病 447	つつが虫 病 465	つつが虫 病 407	つつが虫 病 462	つつが虫 病 428
マリア 112	マリア 154	マリア 109	レジオネラ 167	レジオネラ 146	A型肝炎 139	A型肝炎 170	A型肝炎 320	A型肝炎 157	A型肝炎 169	日本紅斑 熱 132	A型肝炎 176	日本紅斑 熱 190	デング熱 220
レジオネラ 56	レジオネラ 154	レジオネラ 86	マリア 83	マリア 78	マリア 75	マリア 74	日本紅斑 熱 98	日本紅斑 熱 135	A型肝炎 115	デング熱 244	A型肝炎 176	日本紅斑 熱 170	
日本紅斑熱 39	日本紅斑 熱 38	デング熱 50	オウム病 54	日本紅斑 熱 52	日本紅斑 熱 66	マリア 67	マリア 62	デング熱 89	デング熱 104	デング熱 98	日本紅斑 熱 132	デング熱 113	A型肝炎 158
		0熱 42	デング熱 52	オウム病 44	デング熱 49	日本紅斑 熱 62	デング熱 58	E型肝炎 54	マリア 57	マリア 56	マリア 70	マリア 78	E型肝炎 116
		日本紅斑 熱 40	0熱 47	デング熱 32			日本紅斑 熱 49	マリア 52			E型肝炎 66	E型肝炎 61	マリア 73
			日本紅斑 熱 36										

\* 2012年は暫定数

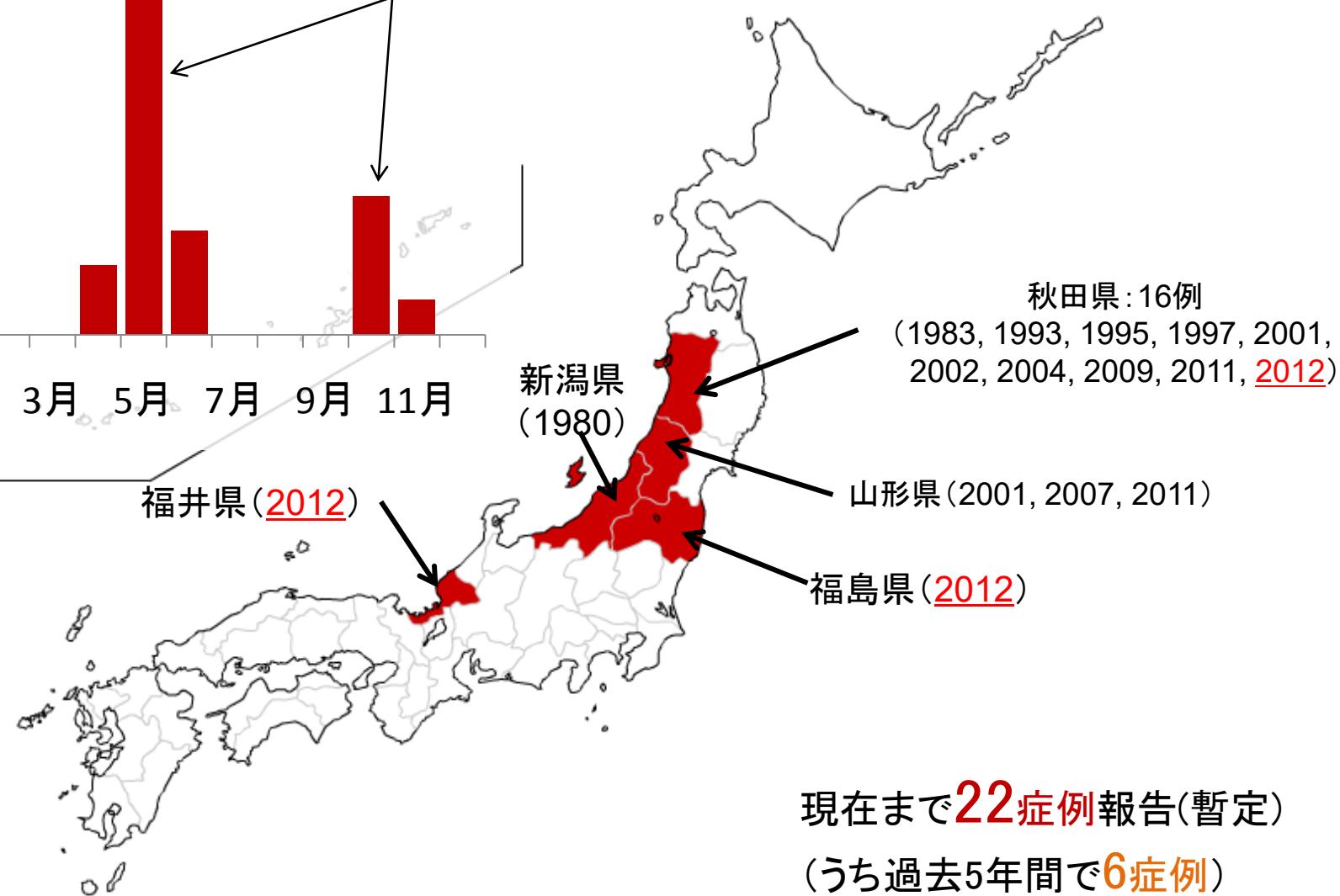
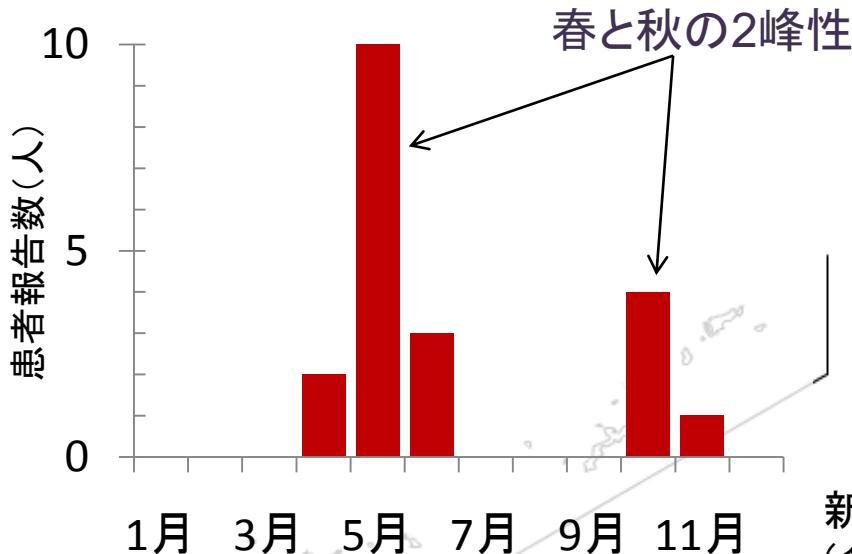
# 感染症対策(ここではダニ媒介性感染症)における リスクコミュニケーション活動の効果

- 1) 危機意識の維持
- 2) 地域住民の保護最優先
- 3) 開かれた行政機構
- 4) 各機関との連携
- 5) 行政・専門家・地域住民…リスク認知のギャップを認識
- 6) 明瞭かつ安定的な情報公開と啓発
- 7) マニュアルの見直しと場面に応じた対応

十分なリスクコミュニケーションによる効率的・効果的な対策

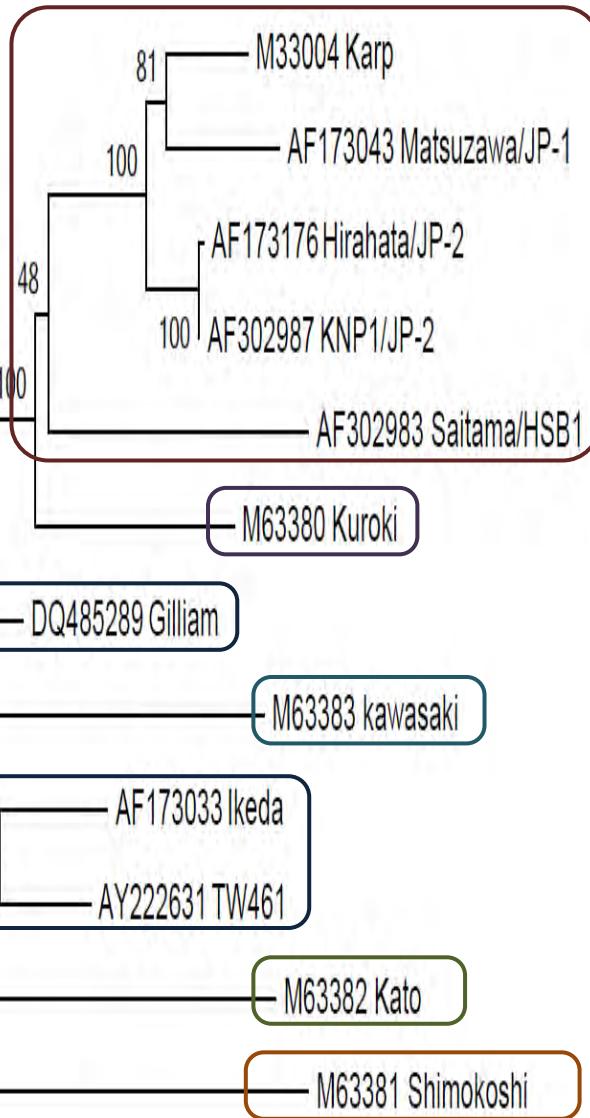
\* 死亡例の報道から、患者の受診につながったケースがあったことを背景に考察

# *Orientia tsutsugamushi* Shimokoshi型の広がり ～患者発生報告(暫定)～



# *Orientia tsutsugamushi* の型別

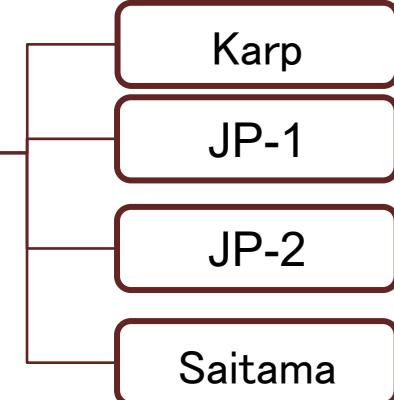
56kDa外膜  
タンパク質  
遺伝子系統樹  
( $\approx 800$ bp)



Serotype

Genogroup

**Karp**



**Kuroki**



**Kawasaki**

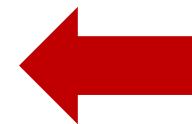


**Gilliam**



**Kato**

**Shimokoshi**



# Shimokoshi型の広がりへの課題 まとめ

1. これまで報告がほとんど無かったShimokoshi型が秋田、山形、新潟、福島、福井で確認(過去5年間で6症例)  
→ 地域的な広がり
2. Shimokoshi型と他の血清型との交差反応が弱い  
→ コマーシャルラボの検査結果だけでは判断できない  
地域に応じた抗原選択
3. 必ずしも軽症例だけではない  
→ 迅速診断のための検査体制整備が必要
4. 病原体検出マニュアルの1stプライマーセット(Pr34↔Pr55)ではShimokoshi型は検出できない  
→ Shimokoshi型検出用プライマーが必要

# 活動状況(役割)

- 標準株、分離株の維持(リスク分散)。
- 診断用抗原並びにコントロールの分担作製と供給。
- 実験室診断技術の相互評価(技術の維持)
- 新規診断法等の相互評価。
- 疫学情報、診断情報の収集・分析と共有。
- 緊急時のバックアップ体制
- 検査マニュアルの作成、改訂
- 検査技術の研修
- その他