

# 衛生微生物技術協議会第35回研究会（東京） レファレンスセンター等報告

---

日時：平成26年6月26-27日

場所：東京都江戸川区船堀 タワーホール船堀

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](#)

# 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)        |

# レファレンス業務（感染研、2013年度実績）

## 抗血清等分与

| 種類    | 数量       |
|-------|----------|
| 単味抗血清 | 117本     |
| EP95  | 14セット    |
| 細胞等   | 21件      |
| ウイルス株 | 2か所(6種類) |

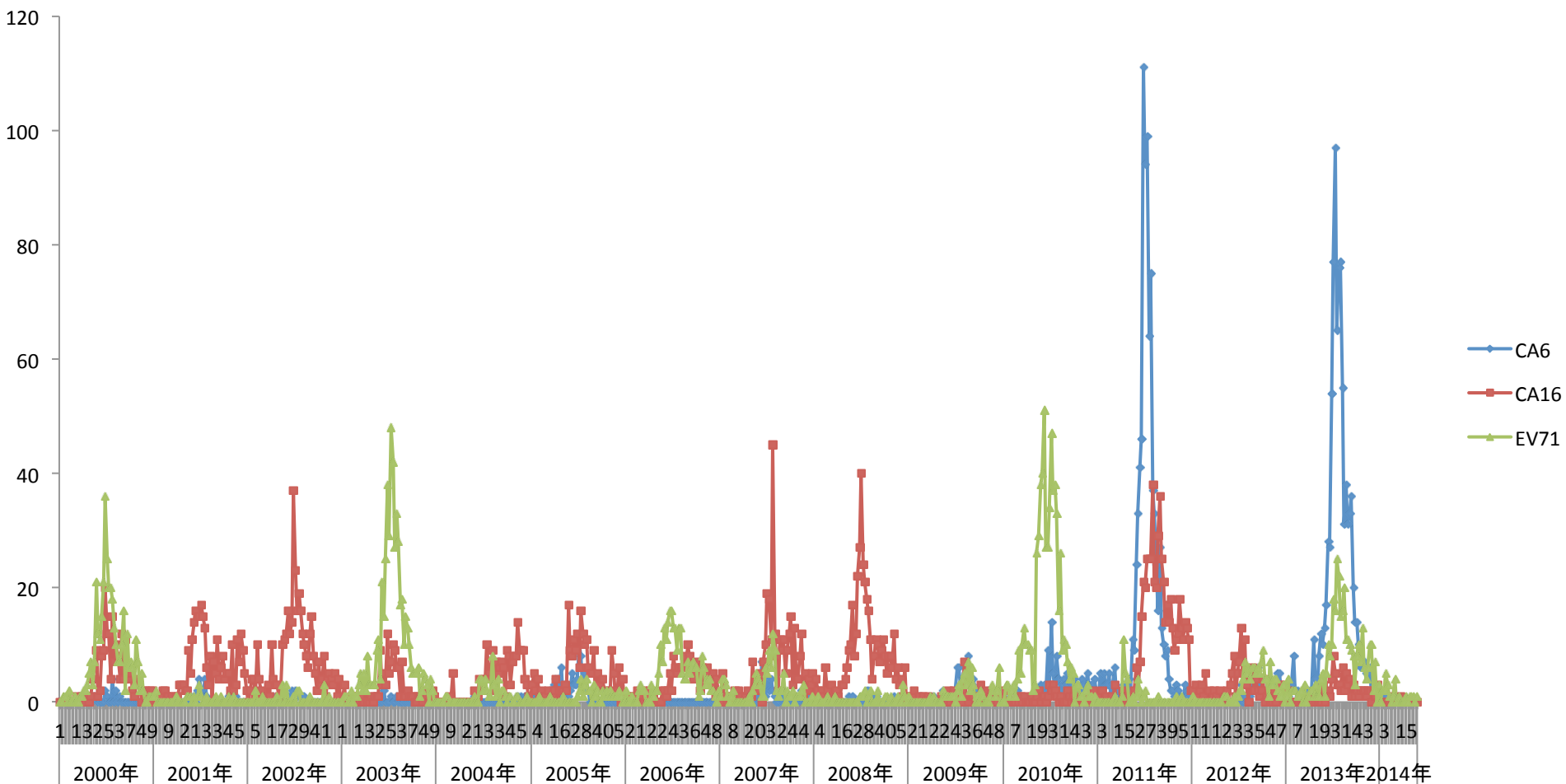
EP-95はブロック単位での分与、他の抗血清・細胞等は、  
感染研ウイルス第二部からの個別対応とさせていただいています。



# 内容

- 2013-14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)
- エンテロウイルス検査アンケート結果に基づく研修コース企画
- 世界のポリオアップデート
- 流行予測調査事業で環境水調査結果サマリー(事業8か所+調査研究5か所)

## 2000年から2014年21週までのEV71,CA16,CA6検出数



出典: 2014.6.6NESIDアクセス分を集計

トップページ

新着情報

国・地域別情報

お役立ち情報

リンク

医療関係者

トップページ &gt; 医療関係者 &gt; 最新ニュース &gt; 2014年 &gt; 野生型ポリオの国際的拡大に関する国際保健規則(IHR)緊急委員会会議でのWHO声明

## 2014年のニュース

## 野生型ポリオの国際的拡大に関する国際保健規則(IHR)緊急委員会会議でのWHO声明

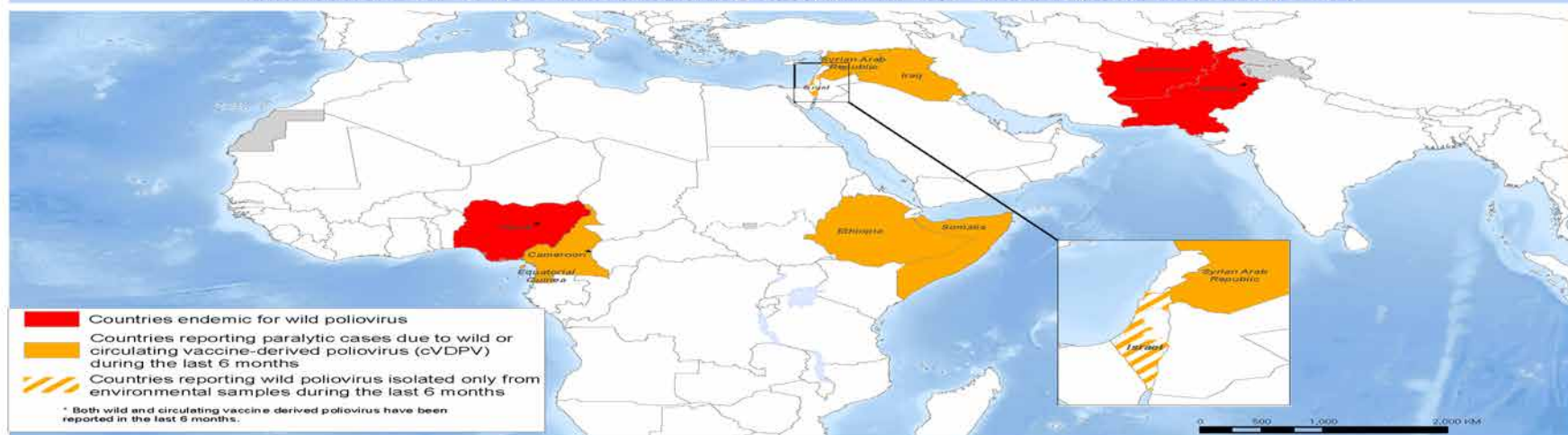
2014年5月5日 WHO ([原文\[英語\]へのリンク](#))

IHR(2005)に基づき事務局長により緊急委員会が招集され、2014年4月28日(月)13:30から17:30(ジュネーブヨーロッパ標準時間CET)と4月29日(水)13:30から19:00(CET)にかけてテレビ会議が開催されました。

緊急委員会のメンバーは両日開催された委員会の専門アドバイザーです。<sup>1</sup> 以下の発生国の政府機関は2014年4月28日(月)の会議の情報セッションに参加しました:アフガニスタン、カメルーン、赤道ギニア、エチオピア、イスラエル、ナイジェリア、パキスタン、ソマリア、シリアです。

流行国の出国者への  
接種等勧告

### Polio-infected countries for which WHO recommends polio immunization of persons traveling to or from the country, as of 05 May 2014



Data Source: World Health Organization  
Base Map: GEBCO  
Map Production: Global Polio Eradication Initiative,  
World Health Organization

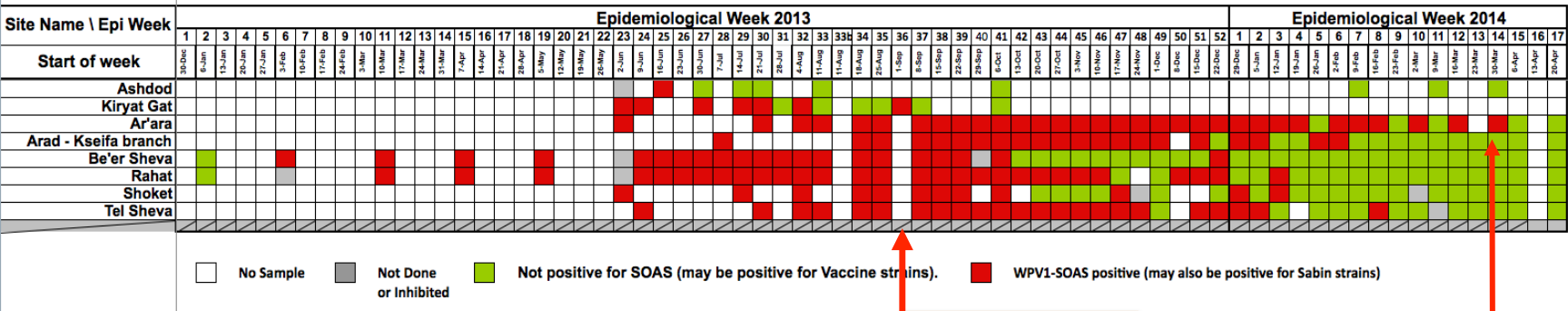


© WHO 2014. All rights reserved.

The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

# WPV1 in Sewage – Southern Israel

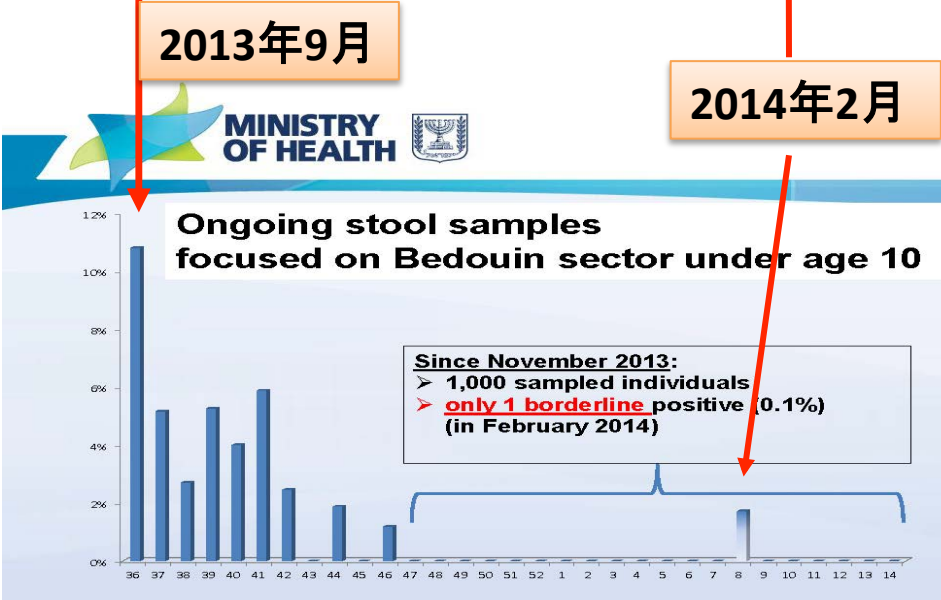
All sites, but one, negative since mid-Feb 2014  
All sites are negative in last two samples



2014年2月イスラエル南部の下水処理場で野生株検出

追加接種 (IPV→bOPV)、サーベイ強化 (AFP, 糞便、環境)

2014年bOPVを定期接種 (6M, 18M)



## 2014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



H26年度流行予測調査事業(14か所)



調査研究(5か所+1)



ポリオ検出時対応はH26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。

## エンテロウイルス検査に関する精度管理研究打ち合わせ(案)

目的:エンテロウイルス分離同定技術の研修コースの試行(ワークショップ)  
特に、内部精度管理のための①マイコプラズマ否定試験、②細胞感受性試験、の実習

時期:2014年11月から12月のうち2泊3日(これから調整)

募集人数:6名(各ブロック1名)

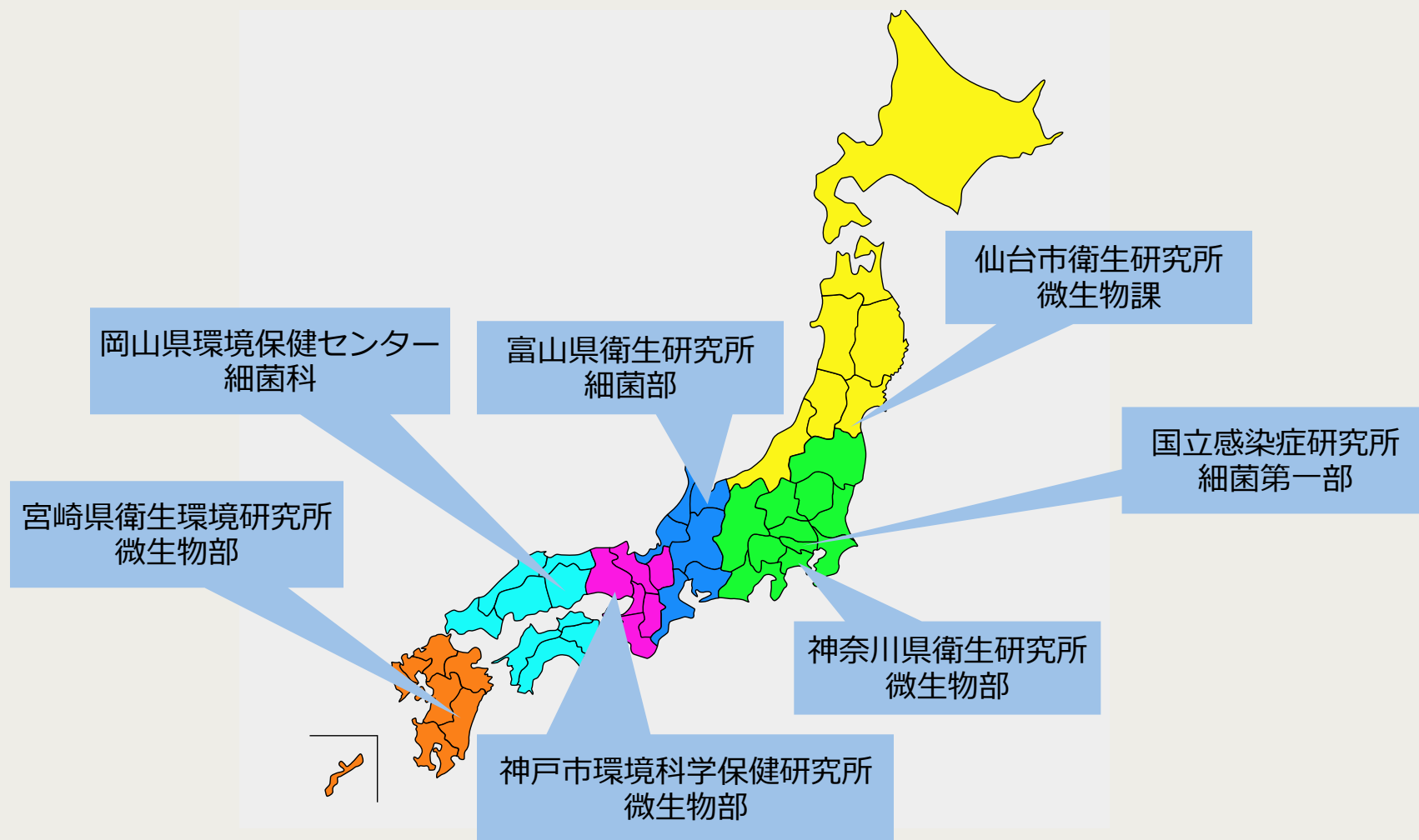
参加資格:2014年度ウイルス検査に配属された新人、かつSOP等を共同して開発していただけの方

アウトカム:参加者とレファレンスセンターで、SOP、マニュアルを共同開発し、今後の企画に資する

| 1日目                             |               | 2日目   | 3日目           |
|---------------------------------|---------------|-------|---------------|
| 9:00<br>10:00<br>11:00<br>12:00 | スケジュール(案)     | 中和試験  | マイコプラズマ否定試験続き |
|                                 |               |       | 中和試験続き        |
|                                 |               | 昼食    | 昼食            |
|                                 |               | 13:00 | 開会式(自己紹介等)    |
| 14:00                           | 培地作成          |       |               |
| 15:00                           | 細胞の継代、細胞のカウント | 閉校式   |               |
| 16:00                           | ウイルス感受性試験     |       |               |
| 17:00                           |               |       |               |
| 18:00                           |               |       |               |

## 2. レジオネラ

# レジオネラ・レファレンスセンター報告



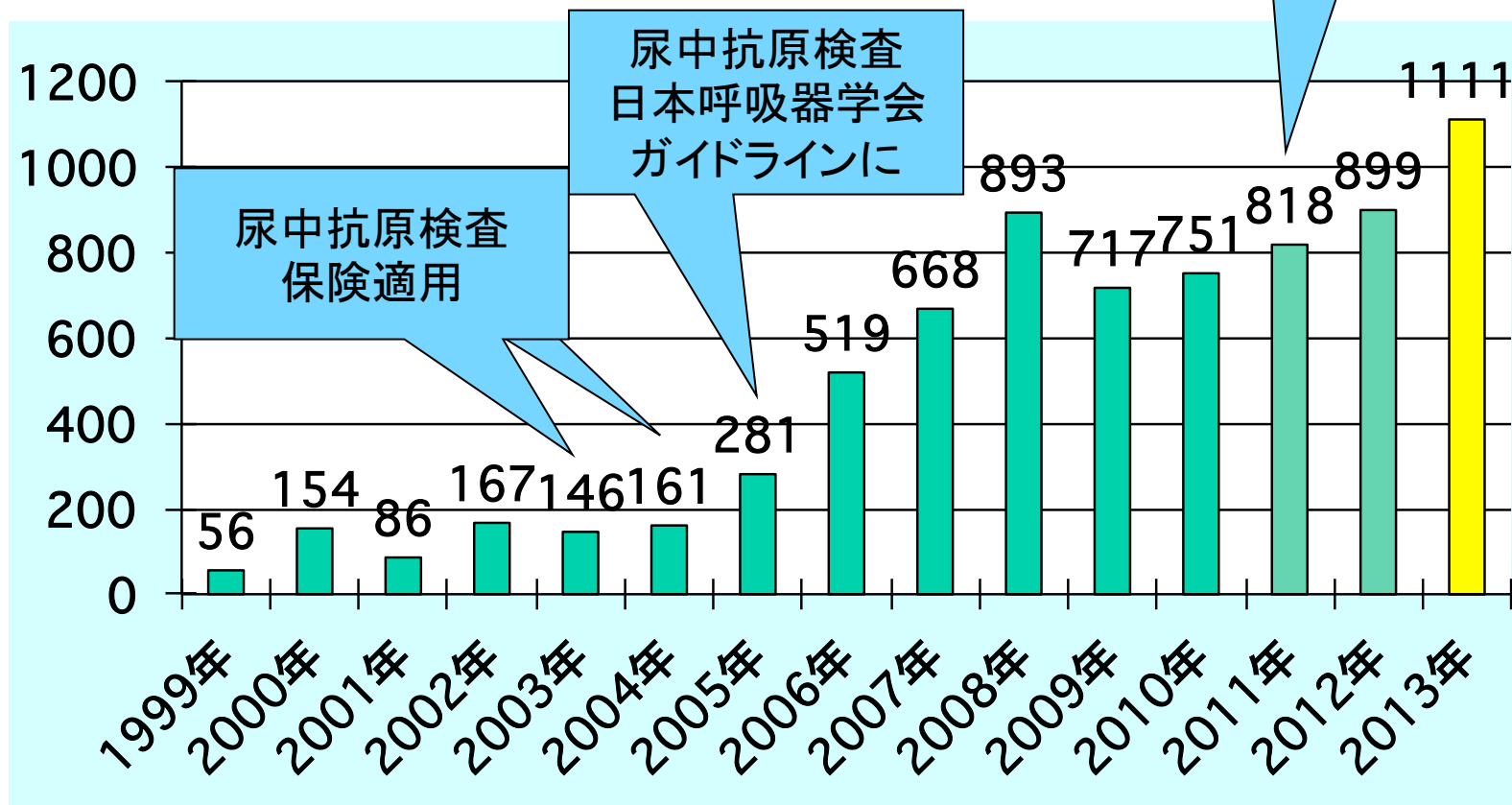
衛生微生物技術協議会第35回研会  
平成26年6月27日、東京



# 年度別報告状況 (感染症発生動向調査)

LAMP法  
喀痰検査  
保険適用

(報告数)



※1

※1: 1999年の報告数は4～12月までの数値である。

※2: 2013年の報告数は52週までの報告数としての暫定値である。

2014年6月24日現在報告

# レジオネラ・レファレンスセンターの 現在の活動

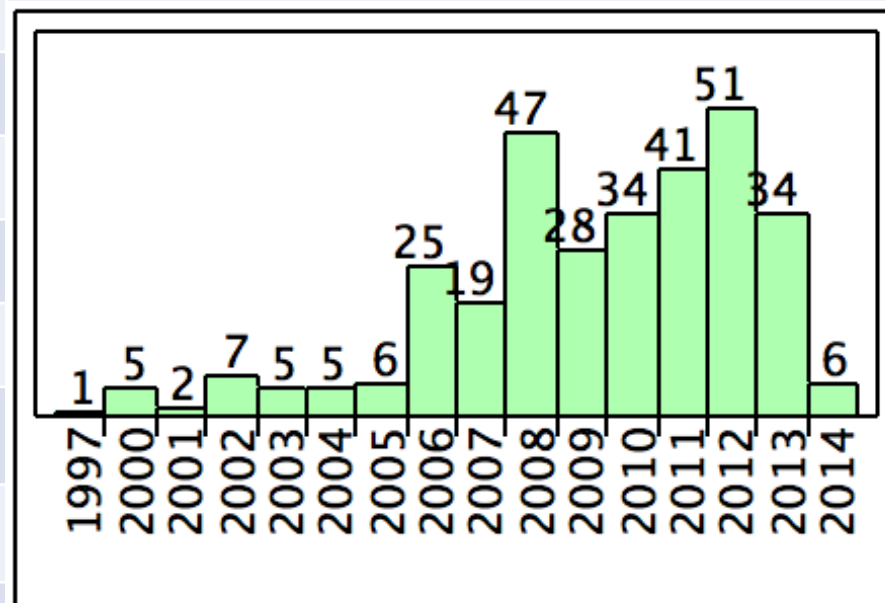
2007年8月からレジオネラ臨床分離株の収集を行なっている。

- 1) 病原体サーベイランス 臨床分離株の収集と型別 SBT、MAb型
- 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1群、2群配布済  
レジオネラ免疫血清フィーレイ1群、2群配布済  
レジオネラ免疫血清ハッケリ1群+2群配布済  
レジオネラ免疫血清アニサ配布済  
レジオネラ免疫血清ロンディニエンシス1群、2群配布済  
レジオネラ免疫血清ニューモフィラ混合（2～15群）、（2, 3, 6, 12, 14群）  
（4, 5, 9, 10, 15群）（7, 8, 11, 13群）配布済
- 3) 環境水からのレジオネラの分離：外部精度管理 バイオボールの利用2回目、WGの標準法
- 4) 培養法の標準化への取り組み（自主検査向け）
- 5) これまで市販DDHキット で検出される菌種に入っていなかったが、日本の環境から分離されている6菌種 *L. busanensis*, *L. gresilensis*, *L. londiniensis*, *L. nautarum*, *L. quinlivanii*, *L. geestiana* を追加したキットを試作、同定希望者に配布

# 収集臨床分離株の内訳（昨年報告から37株追加）

2014年3月末日現在

|                                    |                                  |
|------------------------------------|----------------------------------|
| <i>L. pneumophila</i> 308株 (97.5%) | <i>L. dumoffii</i> 1株 (0.3%)     |
| SG1 262株 (82.9%)                   | <i>L. feeleii</i> 1株 (0.3%)      |
| SG2 7株 (2.2%)                      | <i>L. londiniensis</i> 1株 (0.3%) |
| SG3 13株 (4.1%)                     | <i>L. longbeachae</i> 4株 (1.3%)  |
| SG4 2株 (0.6%)                      | <i>L. rubrilucens</i> 1株 (0.3%)  |
| SG5 7株 (2.2%)                      |                                  |
| SG6 7株 (2.2%)                      |                                  |
| SG9 3株 (0.9%)                      |                                  |
| SG10 2株 (0.6%)                     |                                  |
| SG12 2株 (0.6%)                     |                                  |
| SG14 1株 (0.3%)                     |                                  |
| SG15 1株 (0.3%)                     |                                  |
| Untypable* 1株 (0.3%)               |                                  |



\* デンカ生研レジオネラ免疫血清ニューモフィラ1-15群のいずれにも反応しなかった。

計

316株 (100%)

308株の*L. pneumophila* 臨床分離株について、SBT法による遺伝子解析をおこなったところ、151 種類の遺伝子型に分かれた。

| 株数 | 遺伝子型 (ST)                                                                                                                  |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 20 | <u>ST23</u>                                                                                                                |
| 17 | <u>ST138</u> *                                                                                                             |
| 15 | ST120                                                                                                                      |
| 10 | ST1, ST384*                                                                                                                |
| 9  | ST93                                                                                                                       |
| 7  | ST306*                                                                                                                     |
| 6  | <u>ST89</u>                                                                                                                |
| 5  | ST42, ST353*, ST609, ST679*                                                                                                |
| 4  | ST354, ST505*, ST507*, ST644*, ST1427*                                                                                     |
| 3  | <u>ST2</u> , ST39, ST131*, ST132*, ST211, <u>ST256</u> , ST352*,<br><u>ST530</u> *, ST537*, ST550*, ST687*, ST973*, ST1077 |
| 2  | ST59, ST68, ST114, ST129, <u>ST139</u> *, <u>ST142</u> *, ST224, ST392,<br>ST502*, ST566*, ST642*, ST850*, ST876*, ST1136* |
| 1  | 107種類 (うち海外からの報告がないのは73種類)                                                                                                 |

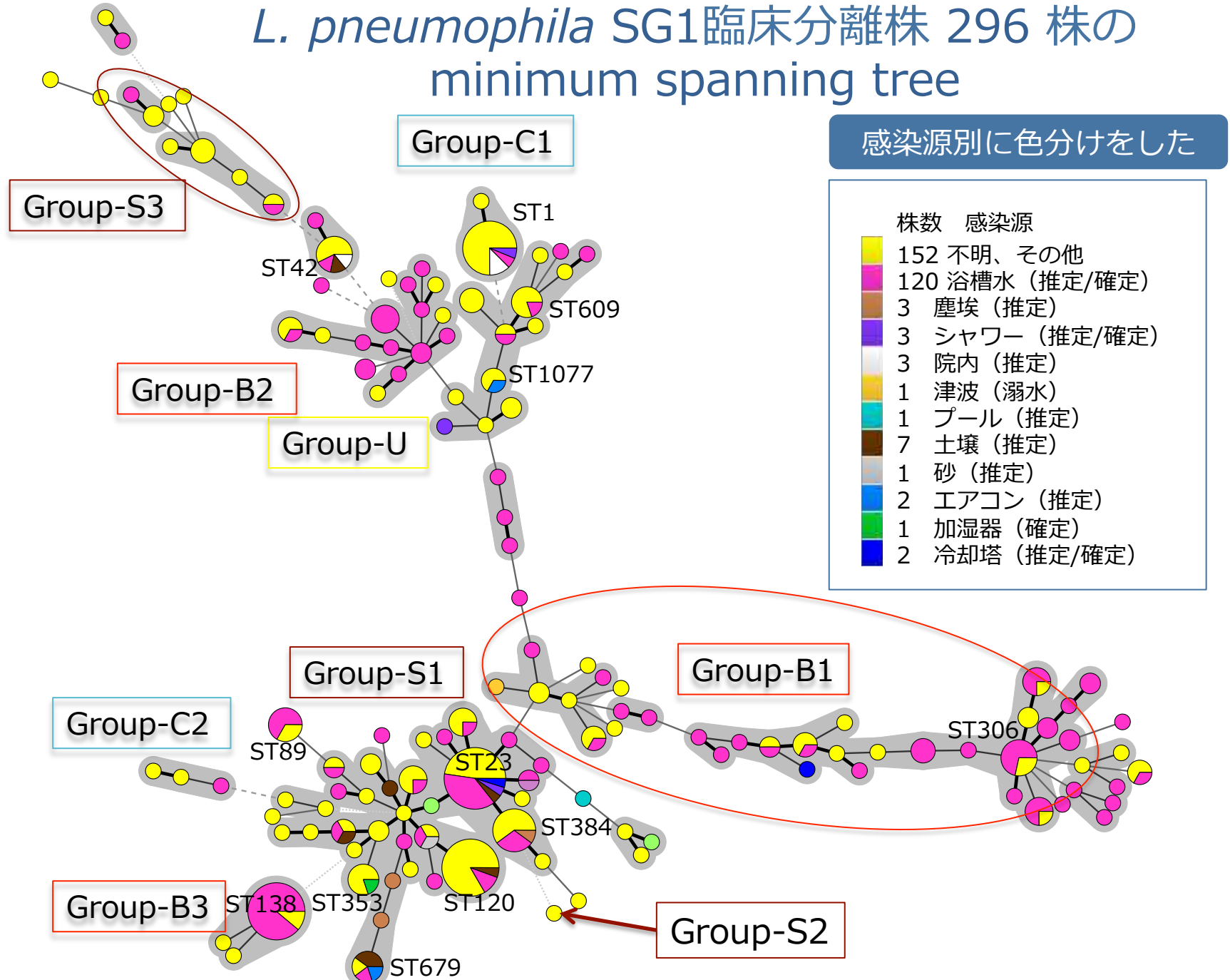
\* 2014年5月現在、日本からの登録のみの型 (24種類)  
集団感染事例の見られたSTには下線を付した

# 分離株の遺伝子型別がされている集団感染事例一覧

\* 患者間での一致

| 分離年  | 感染源             | 地域   | PFGE | 確定患者数 | 血清群 | ST   | Group (SG1) |
|------|-----------------|------|------|-------|-----|------|-------------|
| 1990 | 不明（老人ホーム）       | 長崎県  |      | 3     | 1   | 36   | U           |
| 2000 | 温泉              | 静岡県  |      | 2     | 1   | 138  | B3          |
| 2000 | 温泉              | 山形県  |      | 3     | 1   | 139  | B1          |
| 2000 | 公衆浴場            | 茨城県  | 確定   | 27    | 1   | 23   | S1          |
| 2000 | 温泉              | 静岡県  | 確定   | 23    | 1   | 2    | B1          |
| 2002 | 温泉              | 宮崎県  | 確定   | 46    | 1   | 23   | S1          |
| 2002 | 温泉              | 山形県  | 確定   | 2     | 1   | 139  | B1          |
| 2002 | 温泉              | 九州地方 | 確定   | 9     | 1   | 142  | B1          |
| 2003 | 循環式浴槽（客船）       | 客船   | 確定   | 3     | 5   | 1531 | -           |
| 2006 | 入浴施設（フィットネスクラブ） | 新潟県  | 確定   | 2     | 1   | 89   | (S1)        |
| 2006 | 温泉（ホテル）         | 中国地方 | 確定   | 2     | 1   | 530  | B1          |
| 2008 | 公衆浴場            | 兵庫県  | 確定   | 2     | 1   | 138  | B3          |
| 2009 | 温泉（推定、老人福祉施設）   | 近畿地方 |      | 2     | 1   | 23   | S1          |
| 2011 | 温泉（スポーツジム）      | 神奈川県 | 確定*  | 9     | 1   | 256  | (B1)        |
| 2012 | 公衆浴場            | 近畿地方 |      | 2     | 1   | 1275 | (B2)        |
| 2012 | 温泉              | 山形県  | 確定   | 3     | 1   | 138  | B3          |
| 2012 | 温泉              | 埼玉県  | 確定   | 9     | 1   | 1452 | B2          |

# *L. pneumophila* SG1臨床分離株 296 株の minimum spanning tree



\* 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296株を解析

# まとめ1

- ◆ レジオネラ症の主要起因菌である*L. pneumophila* 血清群1株は遺伝子型により、浴槽水グループ（B1, B2, B3）、冷却塔水グループ（C1, C2）、土壌グループ（S1, S2, S3）、および U グループに分けられた。
- ◆ 臨床分離株も上記の10の遺伝的グループに分けられた。
- ◆ 入浴施設が感染源と推定される患者分離株はBグループが過半数を占めたが、Sグループに属する菌株も一部見られた。これは土などに混じって*L. pneumophila*が浴槽水に混入している可能性を示唆する。

## まとめ2

- ◆ 感染源不明の臨床分離株の多くがSグループに属し、それらについては、土壌、あるいは土壌が混入した浴槽水以外の水系からの感染が示唆された。
- ◆ 近年畑仕事などが感染要因となりうることが認識されるようになったが、土が感染源と推定されている患者分離株の8割がSグループに属していた。
- ◆ Uグループも感染源不明の患者分離株が多いが、米国ではUグループの遺伝子型の菌による給湯水からの集団感染事例が起きている。
- ◆ 感染源不明の事例において臨床分離株の遺伝子型別を行うことは、感染源推定の手がかりとなると考えられた。



## レファレンスセンター等関連会議報告（レジオネラ、菌株収集の問題点）

- ◆ 医療機関から菌株がいただけないので、医療機関への協力依頼が必要。
- ◆ 主治医らより、「株のSTを知らされても、どのような意味をもつものか、全体像がわからない」→ 主治医向けの協力依頼書を作成し、その患者分離株が土壌なのか水系なのか推測できるような図をつけて菌株情報を返します。
- ◆ 尿中抗原キットで診断されることがほとんどであるため、入院時に喀痰を採取している事例が少ない。発生届が出され、すぐに病院に喀痰の手配をしても抗菌薬投与後の検体しか入手できないことが多い。
- ◆ 患者の喀痰の保存状態がよくなって菌株分離の検査せず。  
→ 感染源解明の重要性を周知

## レファレンスセンター等関連会議報告（レジオネラ、その他）

- ◆ 標準法として推奨される非濃縮および前処理（未・熱・酸）の実施は、労力と費用の点からすべての検体について行うのは困難。
- ◆ 未処理検査等の実施で、良い結果が得られた事例等を集約し、情報交換ができないか。
- ◆ 斜光法の研修を希望する。→国立保健医療科学院の短期研修新興再興感染症技術研修（平成26年11月）、2年毎の短期研修細菌研修で対応予定
- ◆ 水以外の試料の検査法を示してほしい。
- ◆ 一部尿中抗原検査が中止となったため、代替検査としてどういうものがあるか、医療機関より問い合わせが頻発。→ Biotest EIAで抗体枯渇により製造中止のため。イムノクロマトによる尿中抗原検査やLAMP法が代替検査となる。
- ◆ 財政的な理由で様々な活動に支障あり。菌株送付を含めた地研の活動を困難にしている。→着払いOKを周知
- ◆ ヨウ素を多く含有する泉質の浴槽水でDPD法による遊離残留塩素の測定ができず、衛生管理指導ができない。→殺菌力で確認する。

## 3. アルボウイルス

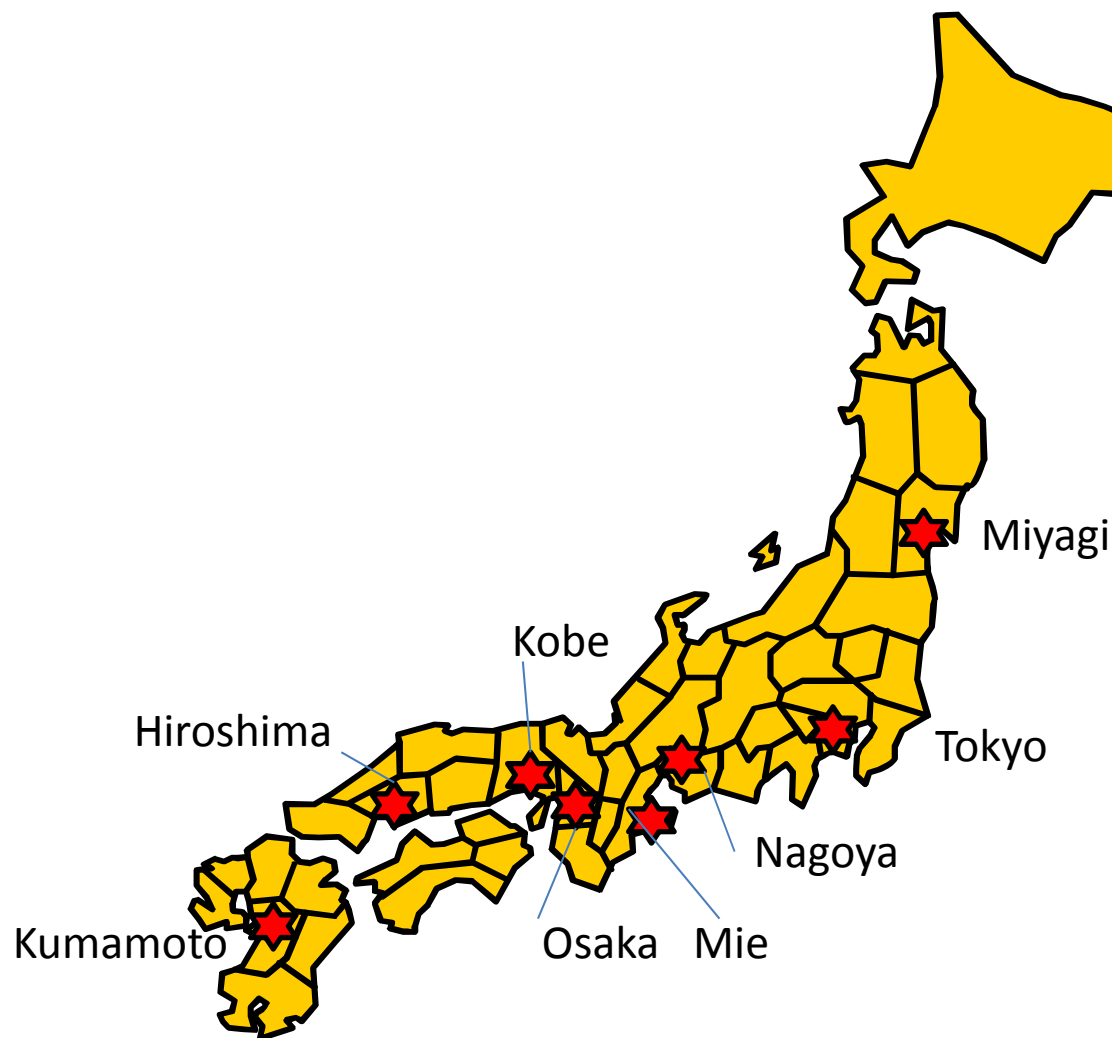
# アルボウイルスレファレンスセンター会議 2014

- デング熱、チクングニア熱輸入例情報
- Zika熱、ロスリバー熱輸入症例について
- デング熱ドイツ人輸出症例について
- 2013年、日本脳炎患者報告について
- 日本脳炎を含む検査法に関して

国立感染症研究所 ウイルス第一部 第2室  
高崎智彦、田島茂、モイメン・リン、中山絵里、池田真紀子、小滝徹  
& 西條政幸

第35回衛生微生物技術協議会  
2014年6月26－27日 タワー船堀

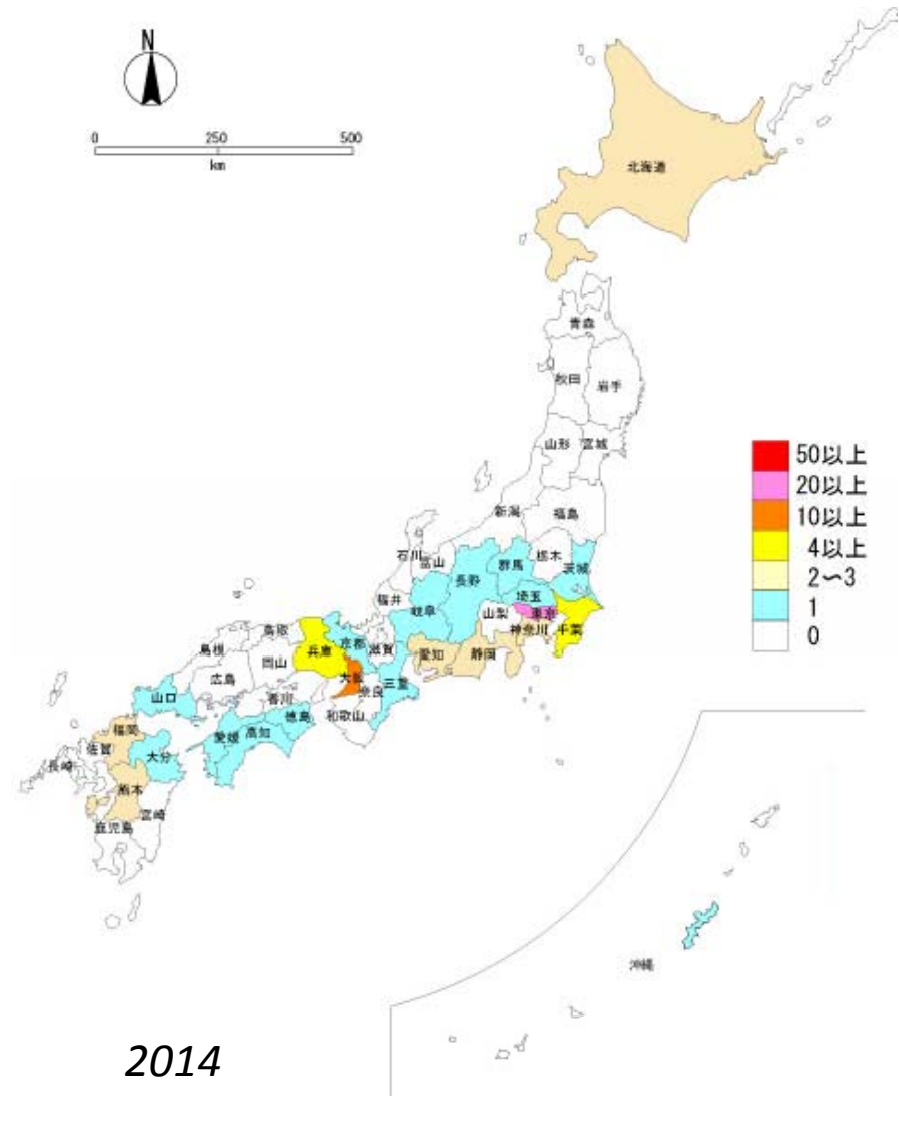
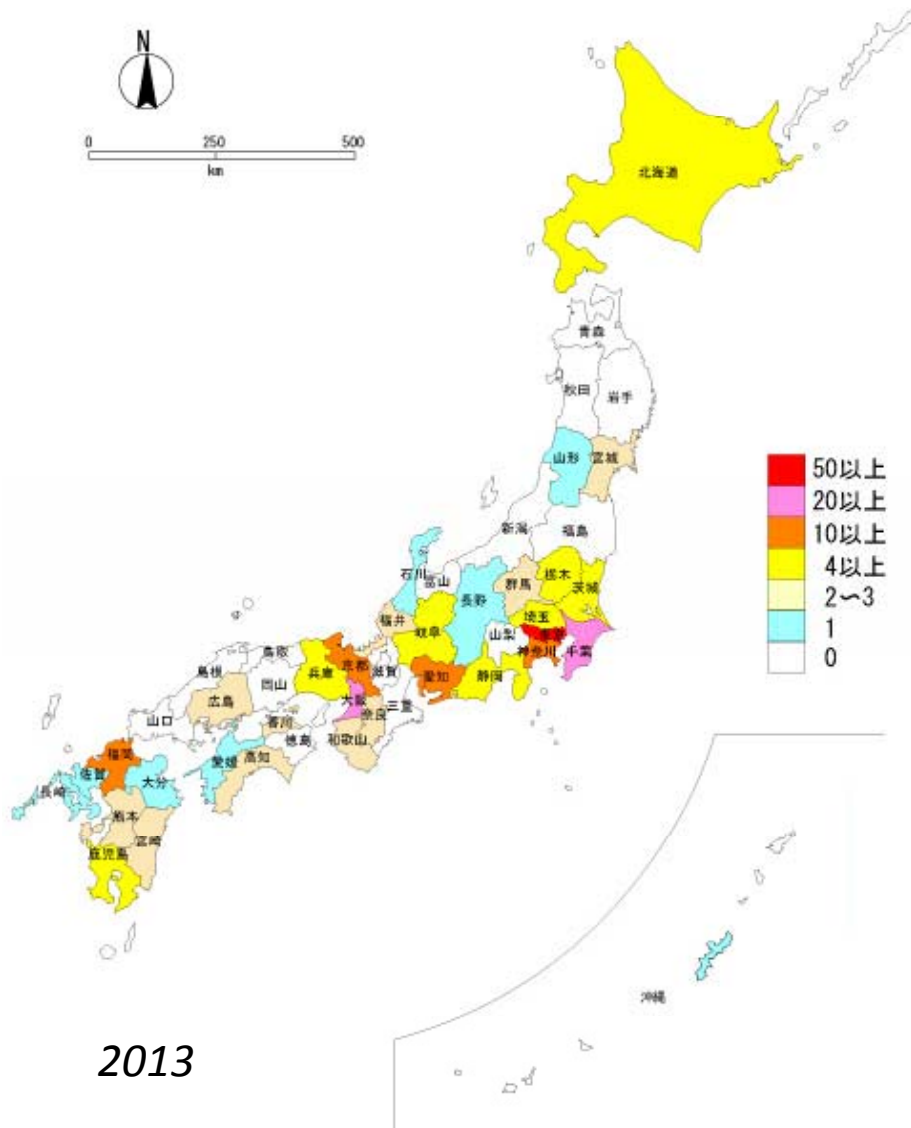
# Eight arbovirus centers in Japan



**The Fifth Informal Consultation on WHO Regional and Global  
Specialized JE Laboratories in the Western Pacific Region,  
Tokyo, Japan, 22-23 November, 2013**

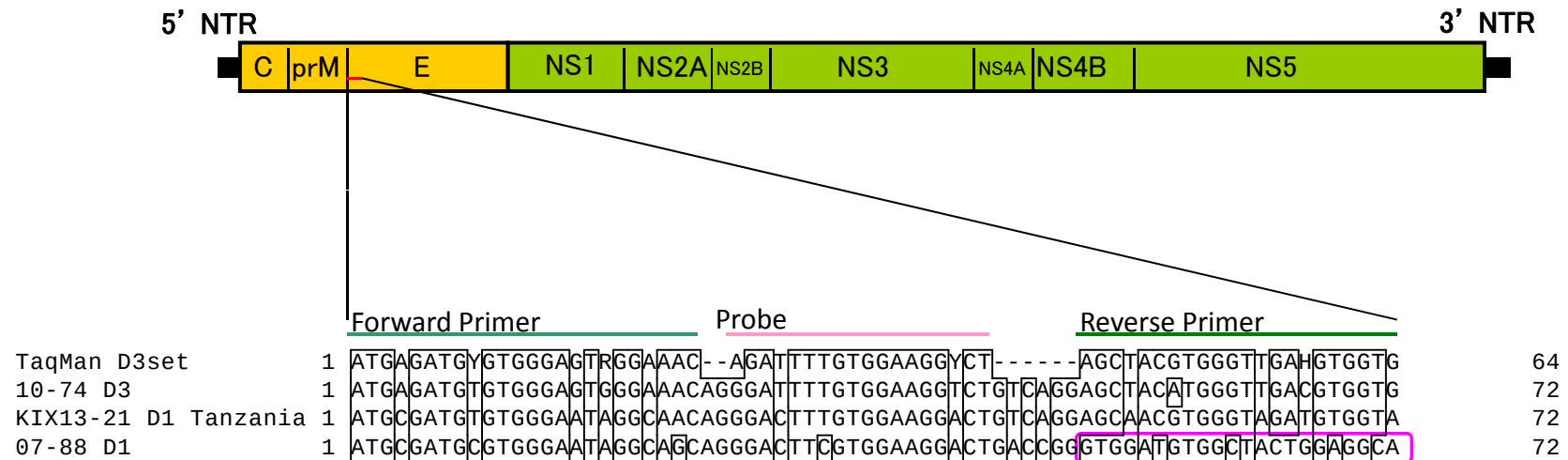
| <b>22 November 2013, Friday</b>                                                               |                                                                   |                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| <b>Time</b>                                                                                   | <b>Topic</b>                                                      | <b>Speaker</b>           |
| <b>Session V. JE surveillance, prevention/control and lab activities at subnational level</b> |                                                                   |                          |
|                                                                                               | Introduction of subnational level activities in China Provinces   |                          |
|                                                                                               | Introduction of subnational level activities in Japan prefectures | 名古屋市衛生研究所<br>大阪府立公衆衛生研究所 |
|                                                                                               | Introduction of subnational level activities in Korea             |                          |

# 2013&2014 デング熱輸入症例



# デングウイルス用TaqMan法の改訂3型を変更

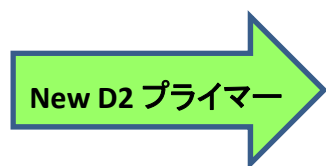
| Primer and Probe | Sequence(5'-3')                              | Size(bp)    | Gene |
|------------------|----------------------------------------------|-------------|------|
| DEN-3(4P)F       | GGA CTG GAC ACA CGC ACT CA                   | <b>73 E</b> | prM  |
| DEN-3(4P)C       | CAT GTC TCT ACC TTC TCG ACT TGT CT           |             |      |
| DEN3p-Bar        | FAM-ACC TGG ATG TCG GCT GAA GGA GCT TG-TAMRA |             |      |



従来の1型では一致しない配列



# 古典的RT-PCR用プライマー配列



| primer    | sequence                                | gene | size (bps) |
|-----------|-----------------------------------------|------|------------|
| D1s       | GGA <u>CT</u> GCGTATGGAGTTTTG           | E    | 490        |
| D1c       | ATGGGTTGTGGCCTAATCAT                    | NS1  |            |
| DV2s      | AG <u>R</u> TT <u>T</u> GTCTGCAAACACTCC | E    | 231        |
| DV2c      | GTGTTACTTT <u>R</u> ATTTCCTTG           |      |            |
| D2s       | GTTCCCTCTGCAAACACTCCA                   | E    | 230        |
| D2c       | GTGTTATTTTGATTTCCTTG                    | E    |            |
| D2 (TR) s | GCATAGAGGCTAAGCTGACC                    | E    | 263        |
| D2 (TR) c | AAGGGGACTCACTCCACAAT                    | E    |            |
| D3s       | GTGCTTACACAGCCCTATTT                    | E    | 320        |
| D3c       | TCCATTCTCCCAAGCGCCTG                    | NS1  |            |
| D4s       | CCATTATGGCTGTGTTGTTT                    | NS2a | 398        |
| D4c       | CTTCATCCTGCTTCACTTCT                    | NS2b |            |
| DuS       | TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG            | C    | 511        |
| DuC       | TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC           | PreM |            |

D1, 2, 3, 4; dengue type 1, 2, 3, 4 s; sense primer, c; complimentary primer, u; universal primer

# 日本脳炎ウイルス リアルタイムRT-PCR (TaqMan法)プライマー、プローブ

| Primer & Probe    | Sequence (5' to 3')             | Region |
|-------------------|---------------------------------|--------|
| ● 1&3型遺伝子検出共通セット  |                                 |        |
| JENS5s269AF092550 | GCC ACC GGA TAC TGG GTA GA      | NS5    |
| JENS5r330AF092550 | TGT TAA CCC AGT CCT CCT GGA A   |        |
| JENS5p294AF092550 | FAM-CTG CCT GCG TCT CA-MGB      |        |
| ● 1型遺伝子検出セット      |                                 |        |
| JE1&3en1052s-1082 | ATG GGA ATT AYT CAG CGC AAG T   | E      |
| JE1en1119c-1082   | GGG AGC GTT TGG AGT TAC AGT AA  |        |
| JEen1082pb        | FAM-CTC AAG CAG CAA A-MGB       |        |
| ● 3型遺伝子検出セット      |                                 |        |
| JE1&3en1052s-1082 | ATG GGA ATT AYT CAG CGC AAG T   | E      |
| JE3en1119c-1082   | AGG AGC ATT GGG TGT TAC TGT AAA |        |
| JE3en1082pb       | FAM-CCC AGG CGG CAA A-MGB       |        |

# ロスリバーウイルス realtime RT-PCR (TaqMan法) プライマー、プローブ

| Primer & Probe | Sequence (5' to 3')           | Region |
|----------------|-------------------------------|--------|
| RRV/NSP3/F     | CCG TGG CGG GTA TTA TCA AT    | NSP3   |
| RRV/NSP3/R     | AAC ACT CCC GTC GAC AAC AGA   |        |
| RRV/NSP3_probe | AAT AAG AGT AGT GTA GCC ATC C |        |

Ref. Reed S. Shabman et al. JV 82. 12374-12382, 2008

# Zika virus realtime RT-PCR (TaqMan)

| Primer        | Genome position† | Sequence (5' → 3')              | Sensitivity, no. copies | Specificity |
|---------------|------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------|
| ZIKV 835      | 835–857          | TTGGTCATGATACTGCTGATTGC         | 100                     | ZIKV        |
| ZIKV 911c     | 911–890          | CCTTCCACAAAGTCCCTATTGC          |                         |             |
| ZIKV 860-FAM  | 860–886          | CGGCATACAGCATCAGGTGCATAGGAG     |                         |             |
| ZIKV 1086     | 1086–1102        | CCGCTGCCCCAACACAAG              | 25                      | ZIKV        |
| ZIKV 1162c    | 1162–1139        | CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT        |                         |             |
| ZIKV 1107-FAM | 1107–1137        | AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACACTCAA |                         |             |

Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, Stanfield SM, Duffy MR. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(8):1232-9.

# 2013年日本脳炎患者情報

| 報告都道府県<br>(推定感染地) | 発病日   | 検体受理日<br>(感染研) | 年齢(代)  | 転帰   |
|-------------------|-------|----------------|--------|------|
| 熊本県               | 8月16日 | —              | 60-65歳 |      |
| 長崎県               | 9月7日  | —              | 80-85歳 | 死亡   |
| 三重県               | 9月10日 | NA             | 70-75歳 |      |
| 熊本県               | 9月3日  | —              | 85-90歳 |      |
| 岡山県               | 9月5日  | 10/8           | 75-80歳 |      |
| 京都府               | 9月22日 | 10/2           | 65-70歳 |      |
| 兵庫県               | 8月30日 | 10/8           | 65-70歳 |      |
| 徳島県               | 9月6日  | 10/17          | 75-80歳 | 後遺症* |
| 京都府               | 8月25日 | 11/20          | 70-75歳 | 死亡   |

2013-14

(As of Oct. 24)

HI抗体保有状況

HI antibody positive ratio

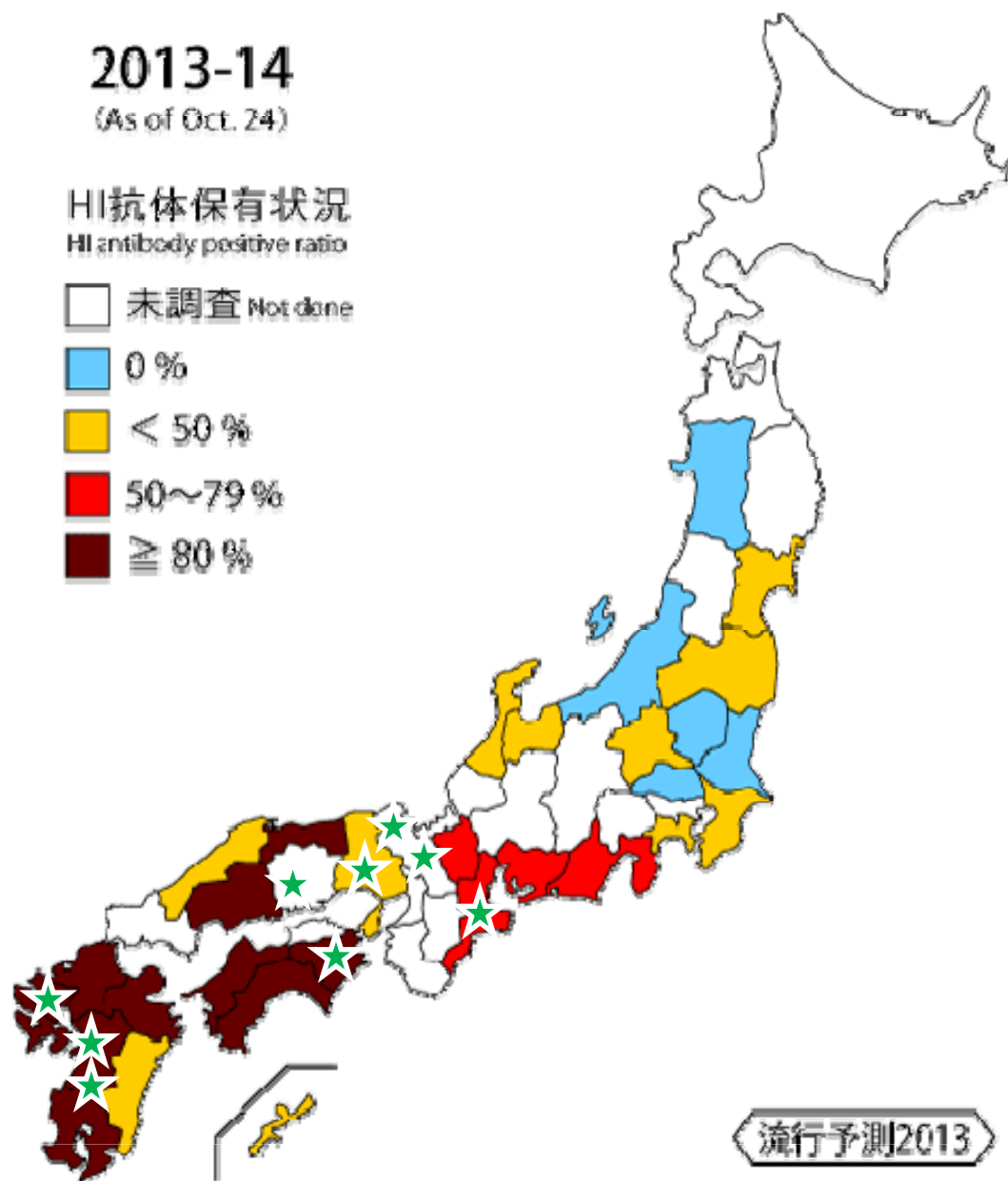
□ 未調査 Not done

□ 0 %

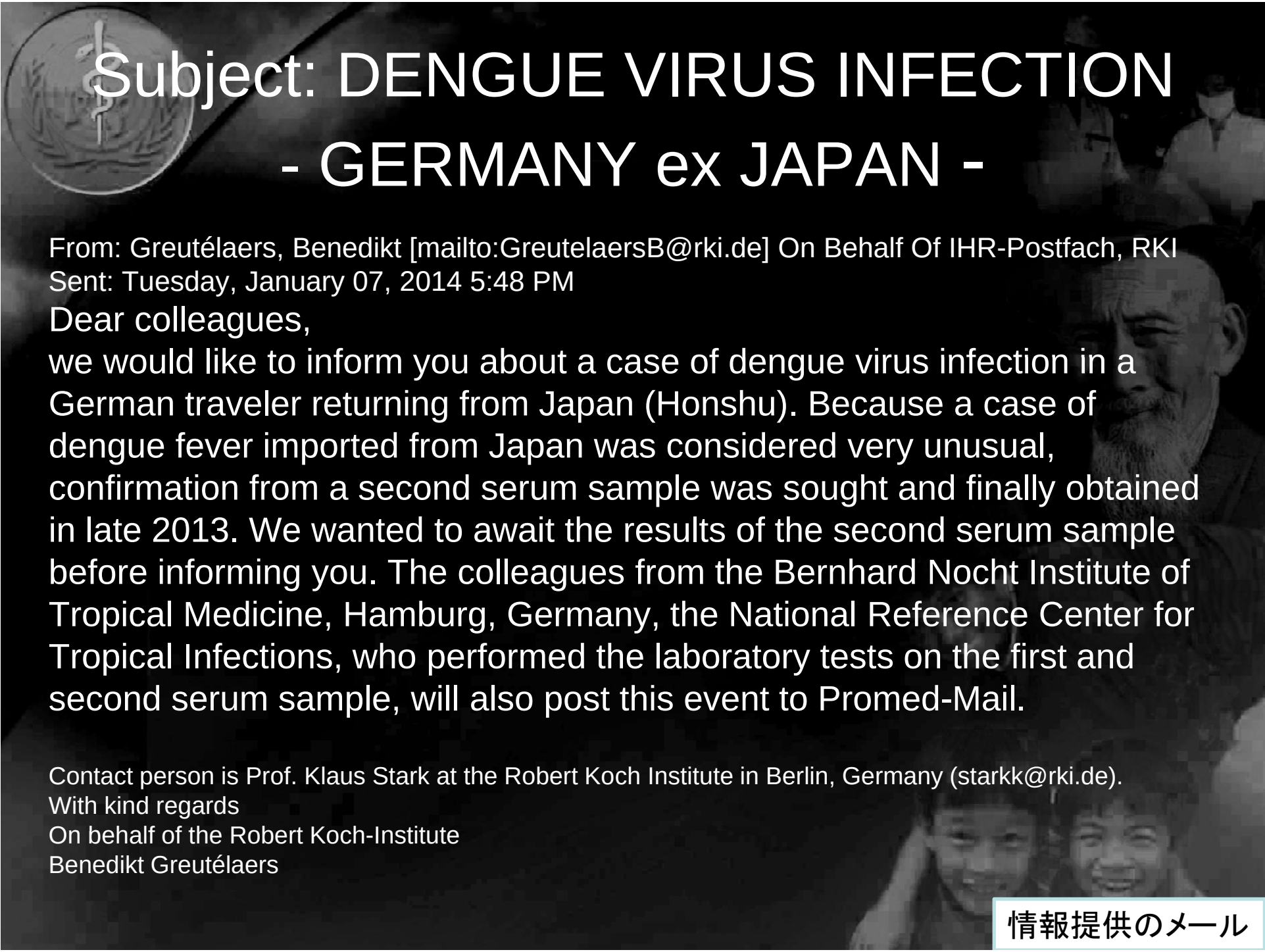
□ < 50 %

□ 50~79 %

□ ≥ 80 %



※地図の色分けは調査期間中における抗体陽性率 (HI抗体価1:10以上) の最高値を示す  
(速報発表時点の抗体陽性率とは異なる場合があります)



# Subject: DENGUE VIRUS INFECTION

## - GERMANY ex JAPAN -

From: Greutelaers, Benedikt [mailto:GreutelaersB@rki.de] On Behalf Of IHR-Postfach, RKI  
Sent: Tuesday, January 07, 2014 5:48 PM

Dear colleagues,

we would like to inform you about a case of dengue virus infection in a German traveler returning from Japan (Honshu). Because a case of dengue fever imported from Japan was considered very unusual, confirmation from a second serum sample was sought and finally obtained in late 2013. We wanted to await the results of the second serum sample before informing you. The colleagues from the Bernhard Nocht Institute of Tropical Medicine, Hamburg, Germany, the National Reference Center for Tropical Infections, who performed the laboratory tests on the first and second serum sample, will also post this event to Promed-Mail.

Contact person is Prof. Klaus Stark at the Robert Koch Institute in Berlin, Germany (starkk@rki.de).  
With kind regards  
On behalf of the Robert Koch-Institute  
Benedikt Greutelaers

情報提供のメール

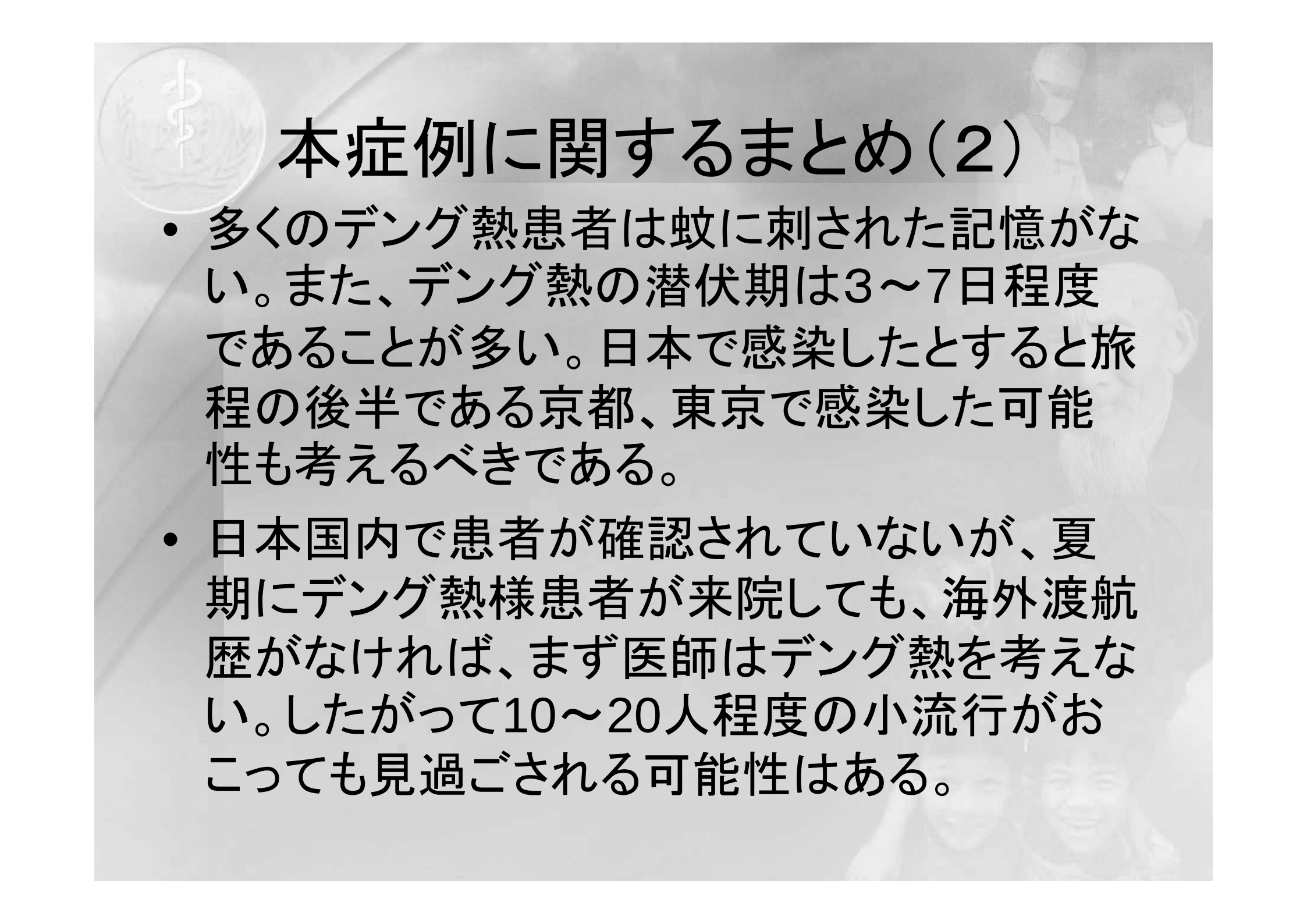


# 本症例に関するまとめ(1)

- ドイツ帰国後、3日目に発病している。
- 実験室診断の結果ら、デング熱であることはまず間違いがない。→中和試験で2型感染まで確定している。(血清を分与してもらい感染研でも検査中)
- 往復ともに直行便である。
- 機材(航空機)は成田 - フランクフルト間以外にはニューヨーク、サンフランシスコ便として用いることがある。たまにドバイに使用することがある。

空港デングの可能性もあるが、日本で感染した可能性は高い！





## 本症例に関するまとめ(2)

- 多くのデング熱患者は蚊に刺された記憶がない。また、デング熱の潜伏期は3～7日程度であることが多い。日本で感染したとすると旅程の後半である京都、東京で感染した可能性も考えるべきである。
- 日本国内で患者が確認されていないが、夏期にデング熱様患者が来院しても、海外渡航歴がなければ、まず医師はデング熱を考えない。したがって10～20人程度の小流行がおこっても見過ごされる可能性はある。



## ま と め

- 九州地方以外の地域では、急性脳炎を診察しても必ずしも日本脳炎の検査を提出しない。
- デング熱が日本国内に定着すると、デングウイルスの検査も必要になる。海外流行地からの旅行者（観光客）によるデングウイルス持ち込みの可能性もある。

## 4. ノロウイルス・ロタウイルス

# 下痢症ウイルスレファレンス 会議

2014年6月26日 (東京・船堀)

ウイルス第二部 片山和彦



# ノーウォークウイルス（ノロウイルス）の遺伝子型2014年版

Archives of Virology

October 2013, Volume 158, Issue 10, pp 2059-2068

## 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

- **ORF1-ORF2** リコンビネーション, キメラウイルスの増加
- **SK**シリーズプライマーセットとペアワイズディスタンスは依然として良い方法であるが、タイピングできない株が増加しつつある（報告数が劇的に増加しているため）
- **ORF2 (VPI)** 領域全長の塩基配列を最尤法（Maximum likelihood）または、ベイジアン法（Bayesian Markov chain Monte Carlo methods; **MCMC**）で分子系統解析を行うことを推奨

# ノーウォークウイルス（ノロウイルス）の株名登録方法

**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.

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 - (Open access)

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

www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool

Norton Norton Secured

National Institute for Public Health and the Environment  
Ministry of Health, Welfare and Sport

Norovirus Genotyping Tool Version 1.0

Submit Job Monitor job How to cite Introduction How to use (Sub)typing process Example sequences

**Norovirus Genotyping Tool Version 1.0**

This tool is designed to use phylogenetic methods in order to identify the norovirus genotype of a nucleotide sequence.  
**Note for batch analysis:** The genotyping tool accepts up to 20000 sequences at a time.

You may 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:**

```
>TCDC8
CTGGAACGGGCGAGTCTTCACAGGCAAGCTGGCAGACCGGCTTCCAAGGCCAACCTGATGTTGAAGAAGGGAAGAAC
ATGACCCCGAGTCTACACAGCTGCGCTCAAGCATGAGTTAGTTAAACTGACAAAATTTATGTAAGATCAAGAAGAGGCTT
CTCTGGGGCTCGGACCTGGCGCATGATCGGCTGTGCTCGAGCATTCGGAGGCTAATGGATGAATCAAGCACACTG
TGTCACTTCTCTATTAGAGTTGGCATGAATGAATGAGGATGGCCCATCATCTTCGAGAGGCTTCCAGGTACACATAT
CACTATGATGCTGATTACTCTCGATCGGATTCAACACAACAGAGAGCGGTGCTGGCAGCAGCTCTAGAAATCATGGTTAA
TTCTCCCCAGAACCACTTGGCTCAGGTAGTCCGGAGGACCTTCTCTCTCTAGCGTGGTGGACGTGGGCGACTTCAC
AATATCAATCAAGGAGGCTTCTCTCTGCGGTGCGCTGCACTTCCCAATGGAATCCATCGGCGACTGGCTTCTCACTCT
CTGCGGCTCTCTGAAGTCACAAACCTGTCCTCTGATACCATACAGGCTAACTCCCTCTTCTCTTTTATGGTGATGAA
ATTGTTAGTACAGACATAAATTCGACCCAGAAAATTGACAGCAAGCTCAGAGAATATGGGTTAAGACCAACCCGCC
TGACAAAACGAAGGACCCCTTCTCATCTCTGAAGACCTGAATGGCTAATTTCTCTGGGAGAACTGTCACTCGGAGCC
CAGCTGGTTGGTTTGGAAAACCTGGAGCAGAGTTCAATACTCAGGCAAAATGTAATGCACTAGGGGCTCCCAACCATGGAG
CCATCTGAACAATGATTCCACACTCCCAAGACCCATACAATTGATGTCCTACTGGGGAGGCGCCCTCCACGGGCC
AGCATCTACAGCAAAATCAGCAAAATGGTCATTGCAGAGCTAAAAGAGGGTGGCATGGATTTTACGTGCCGACAG
AGCCAATGTTGATGGATGAGATTCTCAGATCTGAGCAGCTGGGAGGGGATCGCAATCTGGCTCCAGTTTGTGAATG
```

Start! Clear

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

ファイルを選択 ファイル未選択

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

Job-id:  Go!

Developed by: [RIVM](#) (Harry Vennema, Annelies Kroneman, Marion Koopmans) and [MyBioData bvba](#)

Contact: [noronet@rivm.nl](mailto:noronet@rivm.nl)

ここに株名と塩基配列をコピーする

塩基配列は、RdRpからCapsid 領域を含むようにすれば、ORF1, ORF2のタイピング結果が得られる

塩基配列は、RdRp領域のみでもよい

塩基配列は、Capsid領域のみでもよい

スタートボタンを押す



# ノロウイルスの遺伝子型 新旧対応表 2014年版

|              | VP1全長塩基配列に基づく遺伝子型と標準株 |                  |                        | Capsid N/S regionの塩基配列に基づく遺伝子型と標準株 |                  |                      |
|--------------|-----------------------|------------------|------------------------|------------------------------------|------------------|----------------------|
|              | 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/11                              | AB058547         | SaitamaKU8GI/99/JP   |
|              |                       |                  |                        | GI/14                              | AB112100         | SaitamaT25GI/01/JP   |
|              | 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/9                               | AB039774         | SaitamaSzUG1/99/JP*  |
|              |                       |                  |                        | GI/6                               | AF093797         | Hesse(BS5)/98/GE*    |
|              |                       |                  |                        | GI/8                               | AB081723         | WUG1/00/JP*          |
| Genogroup II | GI.7                  | AJ277609         | Winchester/94/UK       | GI/7                               | AJ277609         | Winchester/94/UK     |
|              | GI.8                  | AF538679         | Boxer/01/US**          | GI/10                              | AF538679         | Boxer/01/US**        |
|              | GI.9                  | HQ637267         | Vancouver730/2004/CA   | GI/13                              | AB112132         | SaitamaT35aGI/01/JP  |
|              | GII.1                 | U07611           | Hawaii*                | GII/1                              | U07611           | Hawaii*              |
|              | GII.2                 | X81879           | Melksham               | GII/2                              | X81879           | Melksham             |
|              | GII.3                 | U02030           | Tronto                 | GII/3                              | AB067542         | SaitamaU201*         |
|              | GII.4                 | X76716           | Bristol                | GII/4                              | X86557           | Lordsdale/93/UK*     |
|              | GII.5                 | AJ277607         | Hillingdon/90/UK       | GII/5                              | AJ277607         | Hillingdon/90/UK     |
|              | GII.6                 | AJ277620         | Seacroft/90/UK         | GII/6                              | AB039776         | SaitamaU3*           |
|              | GII.7                 | AJ277608         | Leeds/90/UK            | GII/7                              | AJ277608         | Leeds/90/UK          |
|              | GII.8                 | AF195848         | Amsterdam              | GII/8                              | AB067543         | SaitamaU25*          |
|              | GII.9                 | AY038599         | VA97207/97             | GII/9                              | AY054299         | IdahoFalls           |
|              | GII.10                | AF427118         | Erfurt/546/00/DE       | GII/10                             | AY237415         | Mc37*                |
|              | GII.11                | AB074893         | SwNoV/Sw918/97/JP      |                                    |                  |                      |
|              | GII.12                | AJ277618         | Wortley/90/UK          |                                    |                  |                      |
|              | GII.13                | AY113106         | Fayettevil/98/US**     | GII/14                             | AB078334         | Kashiwa47            |
|              | GII.14                | AY130761         | M7/99/US**             | GII/13                             | AY130761         | M7/99/US             |
|              | GII.15                | AY130762         | J23/1999/US**          | GII/19                             | EF630529         | Hokkaido299          |
|              | GII.16                | AY502010         | Triffin/1999/US        | GII/15                             | AB058582         | SaitamaKU80aGII      |
|              |                       |                  |                        | GI/12                              | AB058525         | SaitamaKU19aGI/00/JP |
|              | GII.17                | AY502009         | CSE1/2002/US           | GII/11                             | AB112221         | SaitamaT29GII        |
|              | GII.18                | AY823304         | SwNoV/OHQW101/2003/US  |                                    |                  |                      |
|              | GII.19                | AY823306         | SwNoV/OHQW170/2003/US  |                                    |                  |                      |
|              | GII.20                | EU373815         | Luckenwalde591/2002/DE |                                    |                  |                      |
|              | GII.21                | AY675554         | IF1998/2003/IR         | GII/16                             | AB112260         | SaitamaT53GII        |
|              | GII.22                | AB083780         | YURI/JP                | GII/18                             | AB083780         | Akita-Yuri           |

\*Full-length genome sequence

\*\*Unpublished

\*\*\*GIV

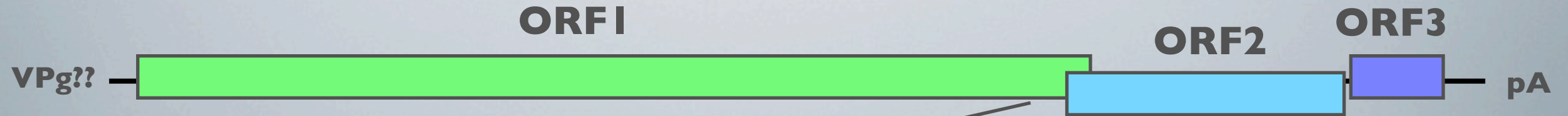
It represented by red characters that a strains showed different genotype between new typing system and previous typing system.



# GII.4 variant name (亜株名) と標準配列

| Proposed epidemic variant name | Accession number | Nucleotide sequence |
|--------------------------------|------------------|---------------------|
| US95_96                        | AJ004864         | ORF2                |
| Farmington_Hills_2002          | AY485642         | Complete            |
| Asia_2003                      | AB220921         | Complete            |
| Hunter_2004                    | AY883096         | ORF2                |
| Yerseke_2006a                  | EF126963         | ORF2                |
| Den Haag_2006b                 | EF126965         | ORF2                |
| NewOrleans_2009                | GU445325         | Complete            |
| Sydney_2012                    | JX459908         | Complete            |

# Standard NoV-Plasmids version I



COG, SK series primer set に対応した歴史あるスタンダード



# NoV・SaV陽性コントロール分与依頼先

(Noro, Sapo standard plasmid version.1)

北海道東北ブロック  
北海道立衛生研究所

(感染症部ウイルスグループ主査 吉澄 志磨 先生 [yoshizum@iph.pref.hokkaido.jp](mailto:yoshizum@iph.pref.hokkaido.jp))

宮城県保健環境センター

(微生物部主任研究員 植木 洋 先生 [ueki-yo529@pref.miyagi.jp](mailto:ueki-yo529@pref.miyagi.jp))

関東甲信静ブロック  
神奈川県衛生研究所

(微生物部主任研究員 鈴木 理恵子 先生 [suzuki.s3df@pref.kanagawa.jp](mailto:suzuki.s3df@pref.kanagawa.jp))

北陸東海ブロック  
富山県衛生研究所

(ウイルス部長 滝澤 剛則 先生 [takenori.takizawa@pref.toyama.lg.jp](mailto:takenori.takizawa@pref.toyama.lg.jp))

近畿ブロック  
大阪府立公衆衛生研究所

(感染症部ウイルス課主任研究員 左近 直美 先生 [nsakon@iph.pref.osaka.jp](mailto:nsakon@iph.pref.osaka.jp))

中国四国ブロック  
広島県立総合技術研究所保健環境センター

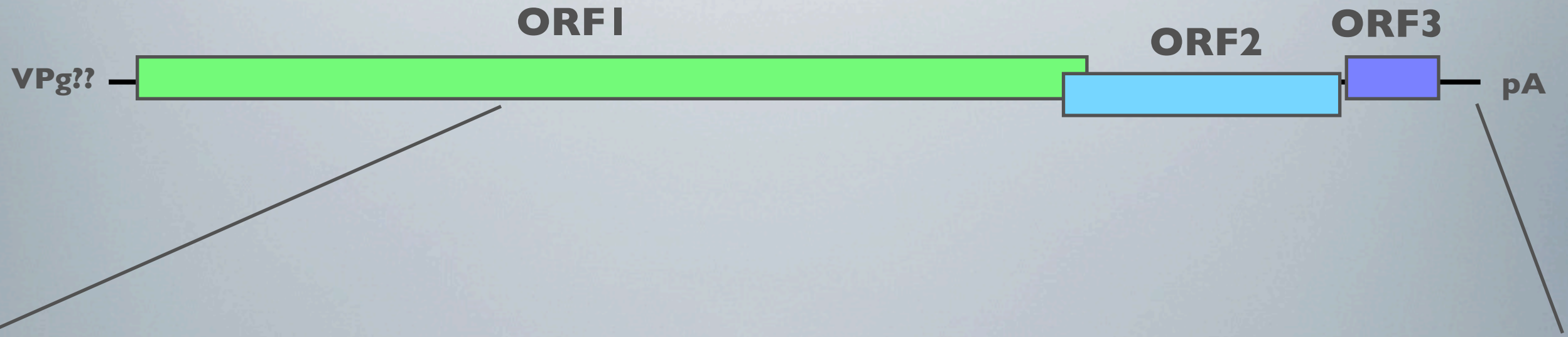
(保健研究部副主任研究員 重本 直樹 先生 [n-shigemoto81161@pref.hiroshima.lg.jp](mailto:n-shigemoto81161@pref.hiroshima.lg.jp))

九州沖縄ブロック  
福岡県保健環境研究所

(保健科学部長心得兼ウイルス課長 堀川 和美 先生 [horikawa@fihes.pref.fukuoka.jp](mailto:horikawa@fihes.pref.fukuoka.jp))

NoVコントロール作成・分与:国立感染症研究所感染症疫学センター第6室 (木村博一)  
SaVコントロール作成・分与:ウイルス第2部第1室 (岡智一郎) (片山和彦)

# Standard NoV-Plasmids version 3



Protease region - genome end

GI/I NV68 prototype 3000-genome end 4600nt

GII/4 2006b Saga I strain 3000-genome end 4500nt

既報のRT-PCR用プライマーが全て使用できる

UniKY seriesにも完全に対応



# 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（植木先生）**

**埼玉県衛生研究所（篠原先生）**

**千葉市環境保健研究所 健康科学科（田中先生）**

**愛知県衛生研究所（小林先生）**

**名古屋市衛生研究所（柴田先生）**

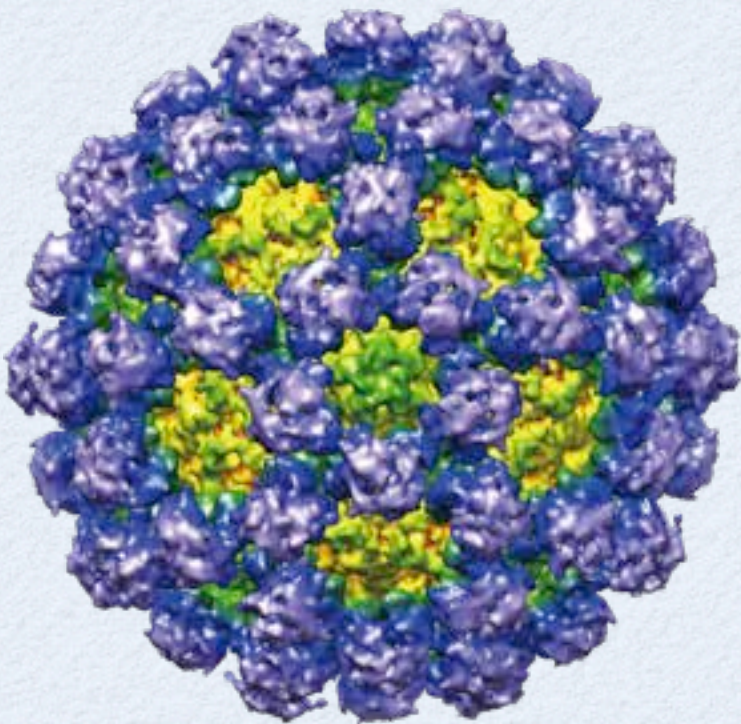
**大阪市立環境科学研究所（入谷先生）**

**堺市衛生研究所（三好先生）**

**広島県衛生研究所（重本先生）**

**長崎市保健環境試験所（飯田先生）**

**佐賀県衛生薬業センター（増本先生）**



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)



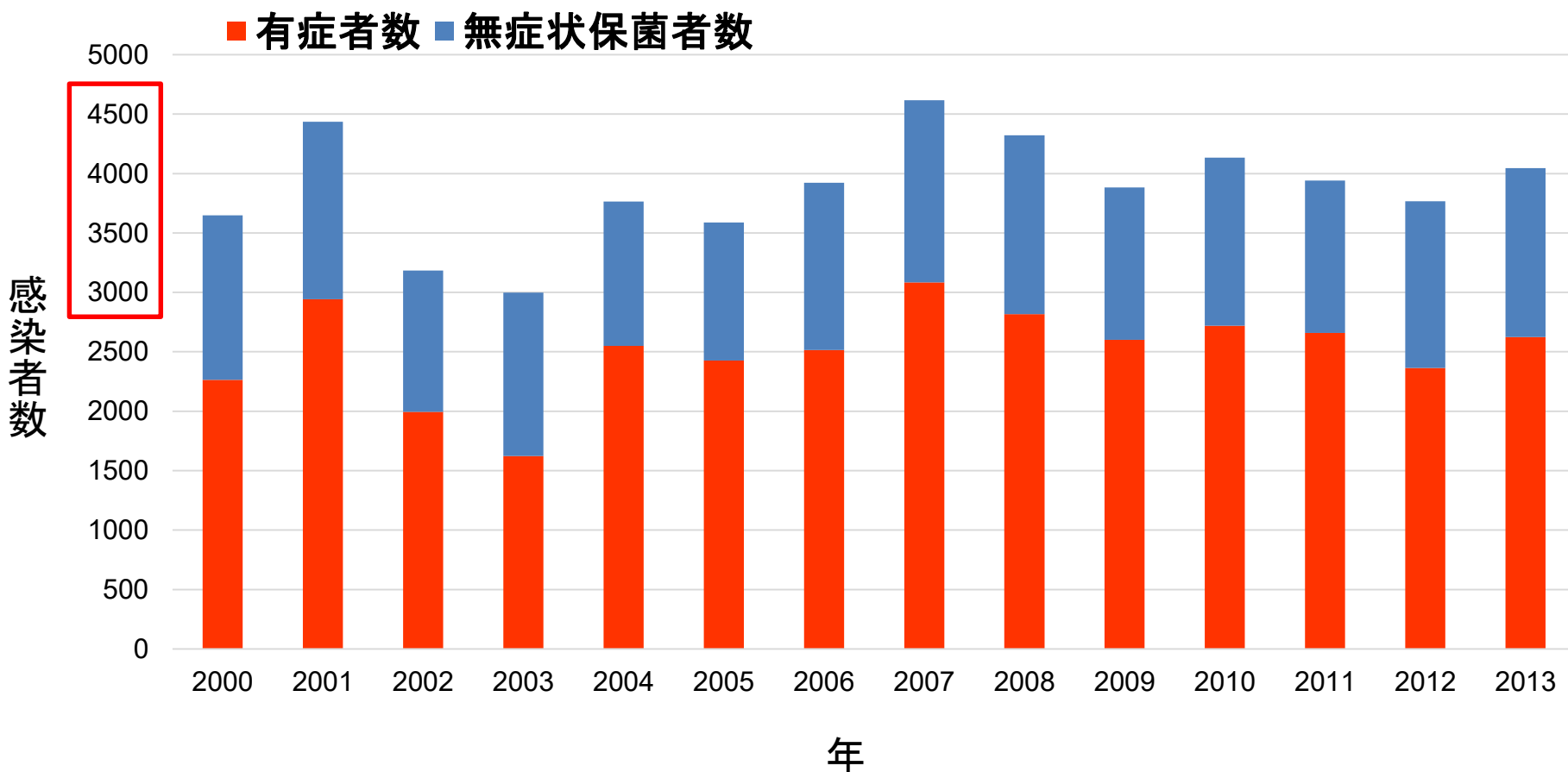
## 5. 大腸菌



# 「大腸菌」

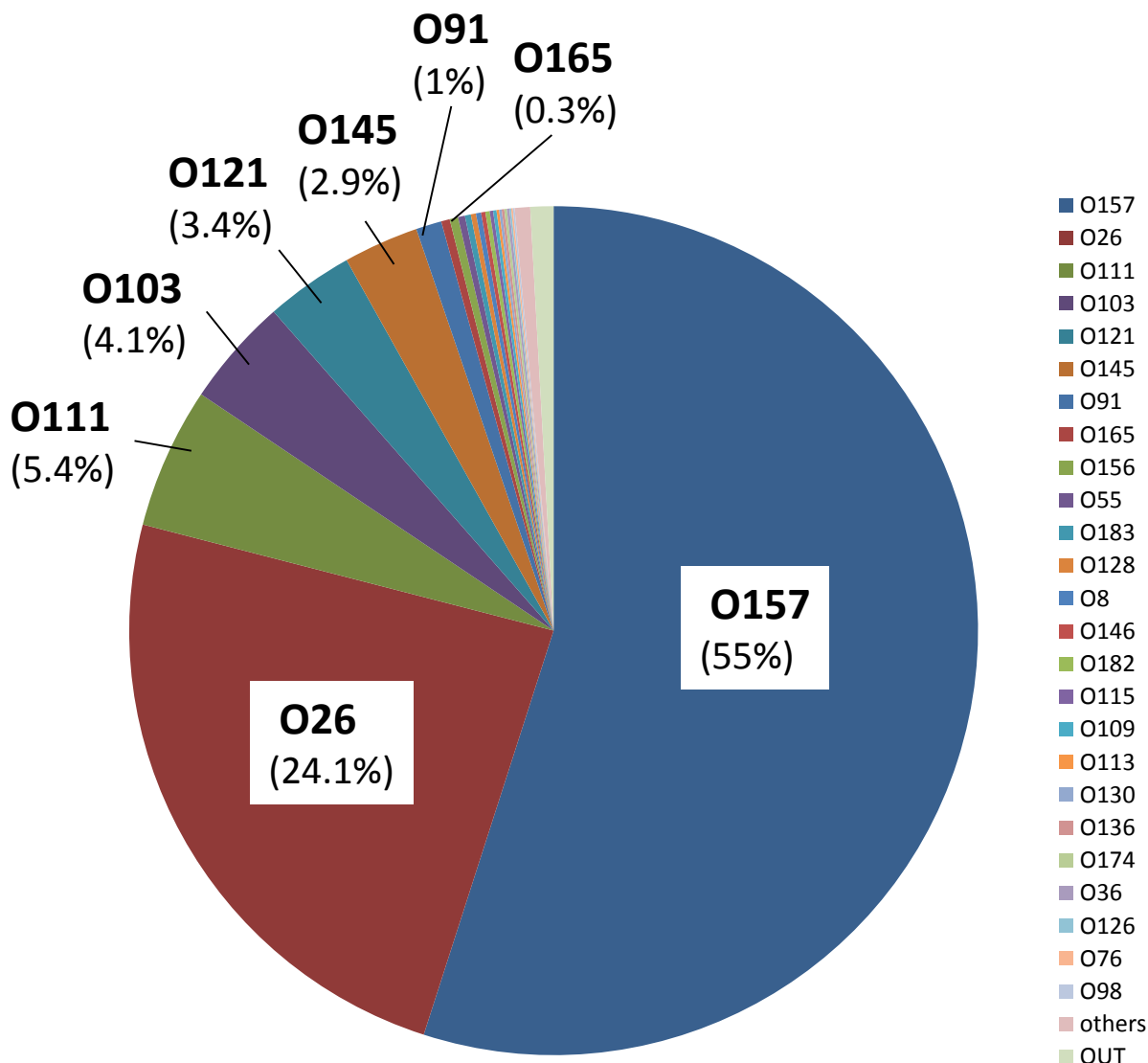
伊豫田 淳  
感染研・細菌Ⅰ部

# 腸管出血性大腸菌感染症の年別発生状況



(病原体検出情報の集計)

# 腸管出血性大腸菌のO血清群 (2013年; n=3,069)



(細菌第一部の集計)

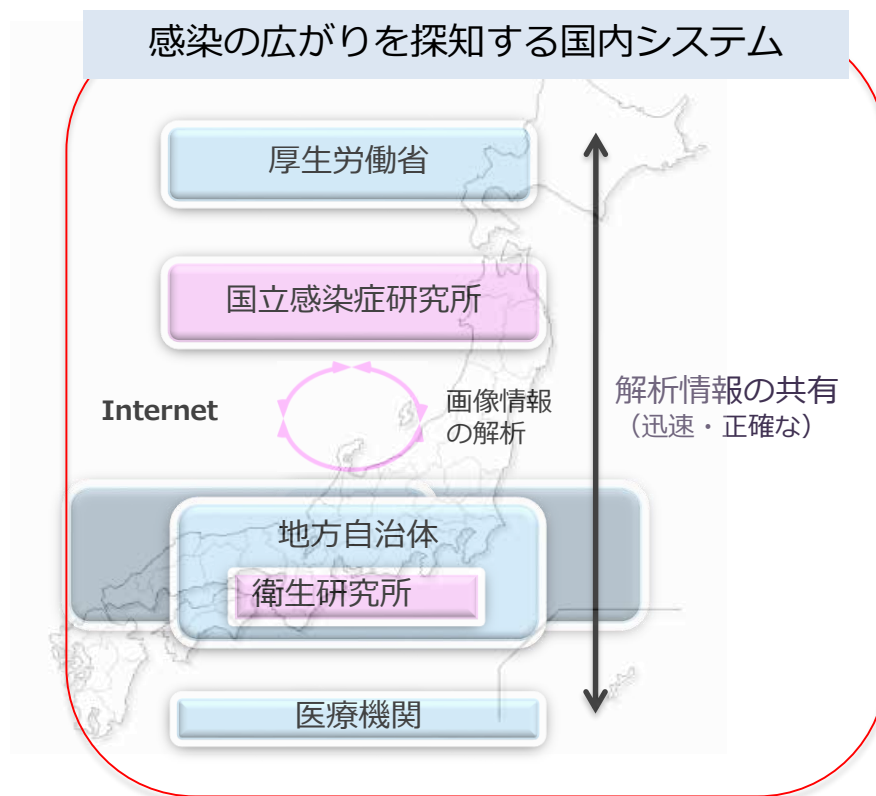
# 腸管出血性大腸菌の型別法



**MLVA:** multilocus variable-number tandem repeat analysis

**PFGE:** pulsed-field gel electrophoresis

# 腸管出血性大腸菌の分子型別解析結果還元法



- **O157, O26, O111**は MLVA を利用して迅速に解析結果を報告.
- 広域事例が疑われる場合、**O157, O26, O111**代表株の PFGE データを提示.
- **他のO群**は PFGE 解析結果を報告.

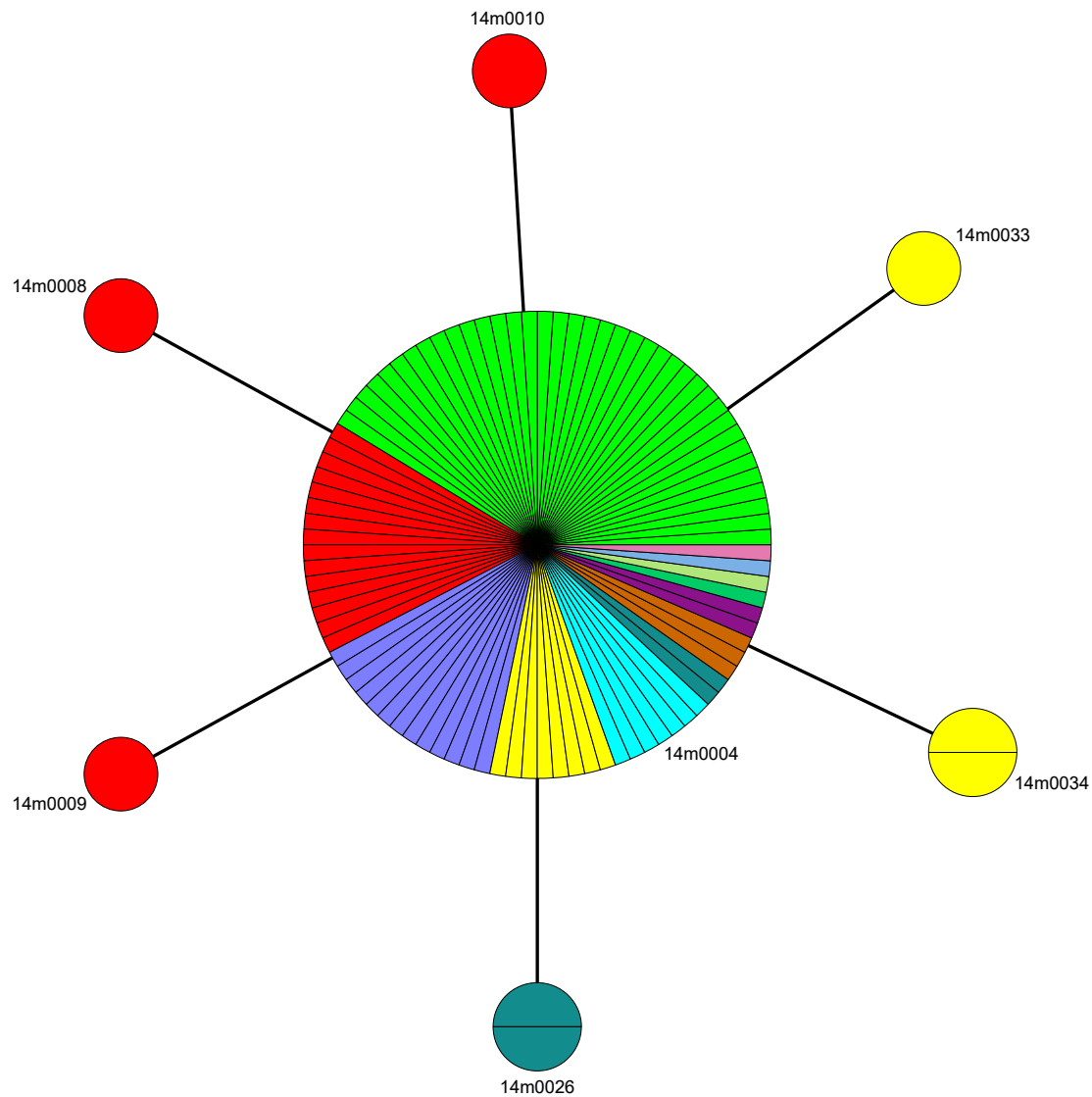


# 集団事例調査における解析結果の判定基準

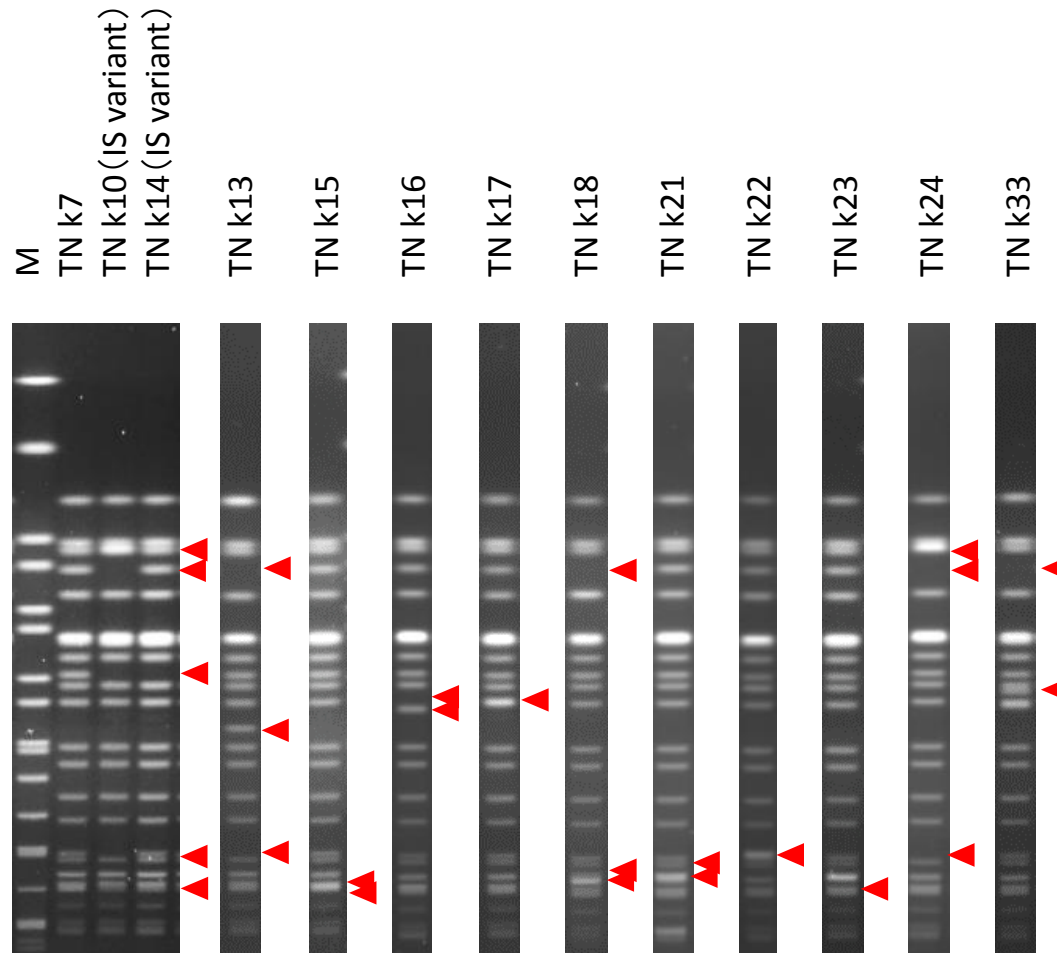
MLVA法では、相違する部位数が0の場合は一致、1部位違いの場合(SLV: single locus variant)は PFGEの2-3バンド違いと同様に集団発生の一部であると解釈します。

| 分類                            | PFGE   | MLVA    | 解 釈                  |
|-------------------------------|--------|---------|----------------------|
|                               | 断片の相違数 | 相違部位数   |                      |
| 一致                            | 0      | 0       | 分離菌株は集団発生の一部である      |
| 密接に関係<br>(closely related)    | 2 - 3  | 1 (SLV) | 分離菌株はほぼ確実に集団発生の一部である |
| 関係する可能性<br>(possibly related) | 4 - 6  | 2       | 分離菌株は集団発生の一部かもしれない   |
| 不一致                           | 7以上    | 3以上     | 分離菌株は集団発生の一部ではない     |

# 馬刺し関連O157 MLVA パターン



# 馬刺し関連O157 PFGE パターン



(TN k10およびk14の ▲ 差異バンド位置はまとめて表示)

# 馬刺し関連 O157 型別まとめ

| IS           | MLVA type | PFGE type | 分離株数 | PFGE コメント                   |
|--------------|-----------|-----------|------|-----------------------------|
| Major type   | 14m0004   | K7        | 78   |                             |
| Variant type |           | K10       | 1    | five bands differ. from k7  |
| Variant type |           | k14       | 1    | two bands differ. from k7   |
| Major type   |           | k13       | 1    | three bands differ. from k7 |
| -            |           | k15       | 1    | two bands differ. from k7   |
| -            |           | k16       | 1    | two bands differ. from k7   |
| Major type   |           | k17       | 2    | one band differ. from k7    |
| -            |           | k21       | 1    | two bands differ. from k7   |
| -            |           | k22       | 2    | one band differ. from k7    |
| -            |           | k23       | 1    | one band differ. from k7    |
| -            |           | k24       | 1    | three bands differ. from k7 |
| -            |           | k33       | 1    | two bands differ. from k7   |
| Major type   | 14m0008   | k7        | 1    |                             |
| Major type   | 14m0009   | k7        | 1    |                             |
| Major type   | 14m0010   | k18       | 1    | three bands differ. from k7 |
| -            | 14m0026   | k7        | 2    |                             |
| -            | 14m0033   | k7        | 1    |                             |
| -            | 14m0034   | k7        | 2    |                             |

## 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><br><i>estA2</i><br><i>astA</i> | 123<br>178<br>109 | ExEC        |
| 1297 | <i>estA1</i><br><i>astA</i>               | 179<br>109        | ExEC        |
| 1298 | <i>invE</i>                               | 379               | ExEC        |
| 1303 | <i>stx1/2</i><br><i>eae</i>               | 234<br>310        | ExEC        |
| 1733 | <i>stx2f</i><br><i>eae</i><br><i>astA</i> | 296<br>310<br>109 | ExEC        |
| 1782 | <i>afaD</i>                               | 207               | EpALL       |
| 1923 | <i>eae</i>                                | 310               | EpALL       |
| 1924 | neg control                               | ---               | ExEC, EpALL |
| 2279 | <i>aggR</i><br><i>astA</i>                | 254<br>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<br>D number | Strain  | Control<br>for<br>toxin<br>subtype | Toxin variant<br>designation | GenBank<br>accession<br>No. | Results obtained using<br>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***

Statens Serum Institut, Artillerivej 5, DK-2300 Copenhagen S, Denmark.  
Phone +45 3268 3334 Fax +45 3268 8238 e-mail fsc@ssi.dk

# 配布可能菌株 (3) : EHEC, EQA(2013-2014)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. | ee gene | ehxA gene | vtx1 gene | vtx2 gene | vtx Subtypes | Additional virulence genes | Pathogenic group |
|--------------------|---------|--------|-----------------|------------|------------------|--------------------------|----------------|---------|-----------|-----------|-----------|--------------|----------------------------|------------------|
| AA1                | O113    | H6     | Pos.            | Neg.       | Pos.             | Pos.                     | Pos.           | Neg.    | Pos.      | Pos.      | Pos.      | vtx2c        | aggR                       | STEC/ETEC        |
| BB2                | O177    | H25    | Neg.            | Neg.       | Pos.             | Pos.                     | Pos.           | Pos.    | Pos.      | Neg.      | Neg.      |              |                            | AEEC             |
| CC3                | O121    | H13    | Pos.            | Neg.       | Pos.             | Pos.                     | Pos.           | Pos.    | Pos.      | Neg.      | Pos.      | vtx2a        |                            | STEC/ETEC        |
| DD4                | O128    | H2/H   | Pos.            | Neg.       | Neg.             | Pos.                     | Pos.           | Neg.    | Neg.      | Pos.      | Neg.      | vtx2c        |                            | STEC/ETEC        |
| EE5                | O41     | H26    | Pos.            | Neg.       | Neg.             | Pos.                     | Pos.           | Neg.    | Neg.      | Pos.      | Neg.      | vtx2d        |                            | STEC/ETEC        |
| FF6                | O26     | H11    | Pos.            | Neg.       | Pos.             | Pos.                     | Pos.           | Pos.    | Pos.      | Neg.      | Pos.      | vtx2a        |                            | STEC/ETEC        |
| GG7                | O111    | H6/H   | Pos.            | Neg.       | Pos.             | Pos.                     | Pos.           | Pos.    | Pos.      | Pos.      | Neg.      | vtx2a        |                            | STEC/ETEC        |
| HH8                | O104    | H4     | Neg.            | Neg.       | Neg.             | Pos.                     | Pos.           | Neg.    | Neg.      | Neg.      | Neg.      |              | aggR, aaiC, aaiH           | EAggEC           |
| II9                | O157    | H7     | Pos.            | Neg.       | Pos.             | Neg.                     | Neg.           | Pos.    | Pos.      | Neg.      | Pos.      | vtx2a        | vtx2c                      | STEC/ETEC        |
| JJ10               | O146    | H21    | Pos.            | Neg.       | alfa             | Pos.                     | Pos.           | Neg.    | Neg.      | Neg.      | Pos.      | vtx2d        |                            | STEC/ETEC        |
| KK11               | O103    | H2     | Pos.            | Neg.       | Pos.             | Pos.                     | Pos.           | Pos.    | Pos.      | Pos.      | Neg.      | vtx2a        |                            | STEC/ETEC        |
| LL12               | O157    | H7     | Pos.            | Pos.       | Pos.             | Neg.                     | Neg.           | Pos.    | Pos.      | Neg.      | Pos.      | vtx2a        |                            | STEC/ETEC        |
| MM13               | O166    | H15    | Pos.            | Pos.       | Neg.             | Pos.                     | Pos.           | Neg.    | Neg.      | Neg.      | Pos.      | vtx2d        | elt                        | STEC/ETEC        |
| NN14               | O78     | H11    | Neg.            | Neg.       | Neg.             | Pos.                     | Pos.           | Neg.    | Neg.      | Neg.      | Neg.      |              | aggR, aaiC                 | ETEC             |
| OO15 <sup>n)</sup> | O154    | H20    | Neg.            | Neg.       | Neg.             | Pos.                     | Pos.           | Neg.    | Neg.      | Neg.      | Neg.      |              | aggR                       | ETEC             |

Pos.: Positive, Neg. Negative, alfa: pos. for alfahaemolysin, but entero/alfahaemolysin 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.

qq) Lactose negative

rr) The strain has been observed to lose the ESBL plasmid. Therefore, both results will be accepted.

### Gene abbreviations

ee: 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 Enterohaemorrhagic *E. coli*.

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

eltf: 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 Enterohaemorrhagic *E. coli*.

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

ipaH: WR390. Invasion plasmid antigen. These genes are found in several copies chromosomally as well as on plasmids.

# ○157チェック「LPS抗体」

- 血清中の大腸菌○-157LPS抗体の検出
  - ラテックス・スライド凝集法
- 販売元：シオノギ製薬（株）、製造販売元：（株）LSIメディエンス
- LPS抗体検出の唯一の体外診断用医薬品 175点
- 採用施設数、出荷数が極少のため、2015年3月末をもって販売終了を検討中（2014年7月最終回製造を検討中）
  - ○抗原凝集抗体価測定が、代替検査になり得るか？
  - 販売終了による影響は？

大腸菌に関するお問い合わせは、一括して

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

担当：石原 朋子 [ishihara](#)  
伊豫田 淳 [siyoda](#)  
泉谷 秀昌 [izumiya](#)

## 6. 寄生虫



レファレンスセンター会議・報告

# 寄生虫

1. レファレンスセンター会議・寄生虫
  - (1) 位置付けと課題
  - (2) 感染研と地研との活動等
2. 法律・通知(厚生労働省)
3. 話題の提供・情報交換

# レファレンスセンター活動・寄生虫（平成22～26年度）

・各ブロックの拠点となる地研は指定せず，課題となる寄生虫を選び，関連の地研・検疫所とメーリングリストを利用して情報交換．研修も実施．

## ・課題の寄生虫

(1) 4類 マラリア，エキノコックス **（感染症法）**

(2) 5類 クリプトスポリジウム，ジアルジア  
赤痢アメーバ

---

(3) 食品媒介寄生虫 **（食品衛生法）**

クドア，サルコシステイス，アニサキス等

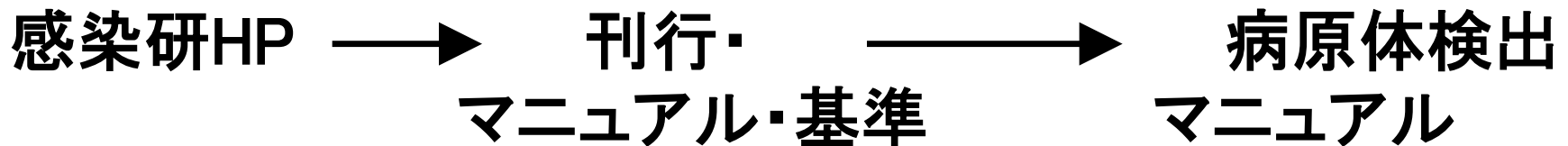
# 病原体検出マニュアル：関連の地研＋感染研 寄生虫関連（感染症法・5疾患）

## 4類感染症

- ・エキノкокクス症 及び消化管寄生蠕虫症検査の基本
- ・マラリア

## 5類感染症

- ・アメーバ赤痢
- ・クリプトスポリジウム症・ジアルジア症等の原虫性下痢症



☆ 新規項目にも対応の必要がある

# 寄生虫・レファレンスセンター活動への要望

| 寄生虫      | 分類 | 内容                          |
|----------|----|-----------------------------|
| エキノコックス  | 感4 | 検査・同定法研修(エキノコックス等の動物由来寄生虫症) |
| クドア, サルコ | 食  | 厚労省通知法に基づく寄生虫性食中毒の検査法の研修    |

# エキノコックスに関する話題

## 愛知県で発見された犬のエキノコックス症：発見・届出の経緯

- 野犬の糞便に条虫卵
- 感染研で遺伝子検査
- 多包条虫 *Echinococcus multilocularis* と同定
- 2005年の埼玉県以降、道外第2例目となる「犬のエキノコックス症」として報告（2014年第14週）



### 犬のふんからエキノコックス卵…愛知まで南下？

2014年04月08日 12時43分

ツイート 3

おすすめ 3

Google+ 0

愛知県は8日、同県阿久比町で捕獲された犬のふんから、寄生虫「エキノコックス」の卵が見つかったと発表した。



エキノコックスは、国内では主に北海道に生息しており、犬のエキノコックス症としては、今回が最南端という。同県は、感染した犬が北海道から持ち込まれた可能性があるとみて調べている。

同県健康対策課によると、犬は雑種のオスで、3月11日に同町矢高の山中で捕獲された。今月4日、ふんを調べた地元の動物病院の獣医師がエキノコックス症と診断し、県に届け出た。犬は殺処分され、他の犬への感染は確認されていない。

エキノコックスは人と動物に共通する感染症で、肝臓や肺に寄生し、重症の場合は肝不全などの障害を引き起こすことがある。北海道では毎年10～20人の患者が報告されているが、人から

人への感染はない。

2014年04月08日 12時43分 Copyright © The Yomiuri Shimbun

## 愛知県の対応

1. 発生に伴う調査
2. 糞便からのエキノコックス検査

## 感染研 感染症法におけるエキノコックス症 (人・犬)

# クドアに関する話題

1. クドア等の食中毒起因物質に関する最近の情報

東京都健安研

2. クドア検査法の現状と課題

大阪府公衛研

3. ヒラメクドアの問題点

感染研

(1) 患者便からの遺伝子検出法(参考)について(事務連絡)

ヒラメ・*Kudoa septempunctata* 食中毒

(2) ヒラメ以外・*K. septempunctata*以外

有症苦情(取り扱いは現在研究中)

オブザーバー: 厚労省監視安全課

地研に寄生虫に関する問い合わせや検査の依頼があれば、是非引き受けて下さい。感染研・寄生動物部にその情報を届けて下さい。対応に協力をいたします。



## 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

世話人

国立感染症研究所 細菌第二部

第五室 蒲地一成

第三室 加藤はる

# 百日咳レファレンスセンター

11施設



# 平成25年度の活動報告

## レファレンス関係の分与実績

| 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      |          |
| <i>Bordetella holmesii</i> -LAMPキット |        | 2          | 6        | 8        |
| 4PlexリアルタイムPCRキット(ver.1)*           |        | 1          | 3        | 4        |
| 陽性コントロールDNA                         | 百日咳菌   | 0          | 0        | 0        |
|                                     | 百日咳類縁菌 | 0          | 5        | 5        |
| 計                                   |        | 3(2施設)     | 14(11施設) | 17(13施設) |

\*共同評価用(厚生科研 松井班)

## 百日咳に関する情報還元

- Miyaji et al., Genetic analysis of *Bordetella pertussis* isolates from the 2008-2010 pertussis epidemic in Japan. PLOS ONE, 8(10): e77165, 2013.
- 蒲地一成. 百日咳検査の使い方. SRL宝函、34(3): 41-43, 2013.
- 大塚菜緒、蒲地一成. 新興・再興感染症up to date 百日咳、化学療法の領域、29 (S-1), 71-79, 2013.

# 平成26年度の活動計画

## 1) 百日咳病原体サーベイランス(継続)

- ワクチン抗原パートクチンを欠損する百日咳菌
- 百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii*

## 2) 新規遺伝子検査法の導入(厚生科研・松井班)

- 4PlexリアルタイムPCR ver.3.1(百日咳菌、パラ百日咳菌、*Bordetella holmesii*、*Mycoplasma pneumoniae*を同時に検出、ABI7500Fast用キット)

## 3) 成人百日咳の実態調査

- 成人百日咳の小児に対する疾病負荷を評価する
- 今年度は調査体制の構築を行う



ボツリヌスおよびジフテリア  
リファレンス・センター

|      |       |       |
|------|-------|-------|
| 北海道  | ボツリヌス |       |
| 秋田県  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 福島県  | ボツリヌス |       |
| 東京都  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 千葉県  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 神奈川県 | ボツリヌス |       |
| 大阪府  | ボツリヌス |       |
| 大阪市  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 滋賀県  | ボツリヌス |       |
| 神戸市  | ボツリヌス |       |
| 三重県  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 愛媛県  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 山口県  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 岡山県  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 福岡県  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 熊本県  | ボツリヌス | ジフテリア |
| 沖縄県  | ボツリヌス |       |



# ボツリヌス症の細菌学的 検査に関する講習会

稀少感染症であること、動物実験を  
必要とすることから、検査の技術継  
承が難しい。  
継続的に「動物実験」をメインに講習  
会を開催。

平成24年度

11月20日～11月22日

平成25年度

12月11日～12月13日

事例紹介(東京都健康安全研究センター)

|      |       |
|------|-------|
| 北海道  | ボツリヌス |
| 秋田県  | ボツリヌス |
| 福島県  | ボツリヌス |
| 東京都  | ボツリヌス |
| 千葉県  | ボツリヌス |
| 神奈川県 | ボツリヌス |
| 大阪府  | ボツリヌス |
| 大阪市  | ボツリヌス |
| 滋賀県  | ボツリヌス |
| 神戸市  | ボツリヌス |
| 三重県  | ボツリヌス |
| 愛媛県  | ボツリヌス |
| 山口県  | ボツリヌス |
| 岡山県  | ボツリヌス |
| 福岡県  | ボツリヌス |
| 熊本県  | ボツリヌス |
| 沖縄県  | ボツリヌス |

# ボツリヌス症の細菌学的 検査に関する講習会

平成26年度

11月19日~11月21日予定

愛媛県立衛生環境研究所

広島県立総合技術研究所

岡山県環境保健センター

香川県環境保健研究センター

平成27年度参加予定

熊本県保健環境科学研究所

福岡県保健環境研究所

|      |       |
|------|-------|
| 北海道  | ボツリヌス |
| 秋田県  | ボツリヌス |
| 福島県  | ボツリヌス |
| 東京都  | ボツリヌス |
| 千葉県  | ボツリヌス |
| 神奈川県 | ボツリヌス |
| 大阪府  | ボツリヌス |
| 大阪市  | ボツリヌス |
| 滋賀県  | ボツリヌス |
| 神戸市  | ボツリヌス |
| 三重県  | ボツリヌス |
| 愛媛県  | ボツリヌス |
| 山口県  | ボツリヌス |
| 岡山県  | ボツリヌス |
| 福岡県  | ボツリヌス |
| 熊本県  | ボツリヌス |
| 沖縄県  | ボツリヌス |

# ジフテリアに関するリファレンス・センター活動

## ジフテリア検査に関してリクエストに応じ配布

1. エレク法ジフテリア抗毒素
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

平成25年度は、リファレンス・センター以外の地方衛生研究所からのリクエストがあり、試薬や菌株を配布した。  
ご希望のご施設は、ご連絡ください。

## 8. 動物由来感染症

## 動物由来感染症レファレンスセンター 平成26年度活動報告

### ○動物由来感染症レファレンスセンター 世話人

井上 智 獣医科学部 第二室長

奥谷晶子 獣医科学部 主任研究官

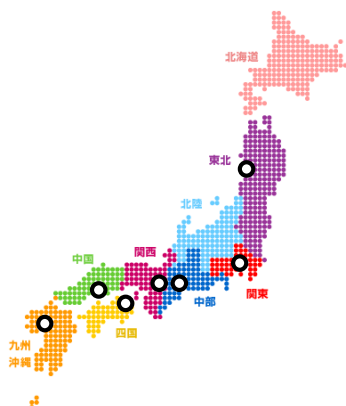
野口 章 獣医科学部 主任研究官

※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

研究分担者 森川 茂

獣医科学部長

## ネットワークに参加している衛生研究所



### ○ 動物由来感染症レファレンスセンター(7)

山形県、東京都、愛知県、京都府、  
広島県、徳島県、長崎県

### ○ 連携している自治体 (16)

北海道、岩手県、新潟県、富山県、  
千葉県、長野県、名古屋市、三重県、  
滋賀県、兵庫県、広島県、姫路市、  
愛媛県、福岡県、熊本県、沖縄県

### ● レファレンスセンターを活用した狂犬病ネットワークに 参加して検査法等を共有している自治体 (31)

北海道・青森県・岩手県・山形県・栃木県・埼玉県・千葉県・東京都・神奈川県・越谷市・新潟県・富山県・長野県・静岡県・愛知県・三重県・滋賀県・京都府・兵庫県・奈良県・名古屋市・岡山県・広島県・姫路市・徳島県・高知県・福岡県・長崎県・熊本県・宮崎県・沖縄県

## ● 動物由来感染症レファレンスセンターの活動

- (1) 基幹地衛研との活動(EQA)  
衛生研究所との活動(EQA等)  
炭疽: 遺伝子診断の検出感度比較  
狂犬病: 抗原・遺伝子検出のブラインドテスト
- (2) 診断用陽性対照を作成(希望する地衛研に配布)  
細菌: 野兔病、ブルモラ症、炭疽、類鼻疽。  
ウイルス: 狂犬病、SFTS。
- (3) 動物由来感染症レファレンスネットワークの構築

※モデル自治体(徳島県動物由来感染症対策検討会)  
※衛生研究所・保健所・看護相談センターの連携を支援

H25年度報告:

炭疽菌 遺伝子検査の検出限界

奥谷晶子(獣医科学部)



平成25年度  
**検出限界算定**  
材料

炭疽菌臨床分離株の芽胞からのDNA抽出(フェノール・クロロフォルム抽出)

DNA溶液 10倍階段希釈列の作成  
芽胞 10<sup>6</sup>個相当から10<sup>-1</sup>個相当の希釈  
(DNA濃度が低い溶液中のDNA分解を防ぐためSalmon sperm DNA(10ng/uL)を  
添加。非特異増幅は出ないことを確認済み)

PCRに用いるプライマーは当部より配布した。

方法  
配布したDNA検体およびプライマーを用いて、各地方衛生研究所所有の機器とPCR  
関連試薬を用いて増幅後、電気泳動して検出限界濃度を算定。



DNA Polymerase とサーマルサイクラー

|                | 山形県                | 愛知県                                                             | 徳島県             | 京都府                                           | 広島県                                                | 長崎県                                            |
|----------------|--------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| DNA Polymerase | Ex Taq HS (TaKaRa) | TaKaRa Ex Taq®<br>Hot Start Version                             | Ex Taq (TaKaRa) | TaKaRa EX Taq                                 | TaKaRa Ex Taq® Hot<br>Start Version<br>(TaKaRa)    | TaKaRa Ex Taq Hot<br>Start Version<br>(TaKaRa) |
| サーマルサイクラー      | My Cycler(BIO-RAD) | TaKaRa PCR Thermal PC-818-02(ASTEC)<br>Cycler Dice®<br>Gradient |                 | Gene Amp PCR<br>System 9600(PERKIN<br>ELMERE) | GeneAmp PCR<br>System 9700<br>(Applied Biosystems) | T100 Thermal Cycler<br>(BIO-RAD)               |

- Taqは全てTaKaRa製品であった。
- Taqとサーマルサイクラーが全く同じ組み合わせの機関はなかった。



| PCR反応                 |           |           |           |           |           |           |
|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                       | 山形県       | 愛知県       | 徳島県       | 京都府       | 広島県       | 長崎県       |
| <b><i>pag</i>遺伝子:</b> |           |           |           |           |           |           |
| (a) 熱変性               | 94 ℃ 2 分  | 95 ℃ 5分   | 95 ℃ 5分   | 95 ℃ 5分   | 95 ℃ 5分   | 95 ℃ 5分   |
| (b)熱変性                | 94 ℃ 30 秒 | 95 ℃ 30秒  | 95 ℃ 30秒  | 95 ℃ 30秒  | 95 ℃ 30秒  | 95 ℃ 30秒  |
| アニーリング                | 50 ℃ 30 秒 | 52 ℃ 30 秒 | 55 ℃ 30 秒 | 52 ℃ 30 秒 | 55 ℃ 30 秒 | 55 ℃ 30 秒 |
| 伸長                    | 72 ℃ 30 秒 | 72 ℃ 30 秒 | 72 ℃ 30秒  | 72 ℃ 30 秒 | 72 ℃ 30秒  | 72 ℃ 30秒  |
| サイクル数                 | 30        | 30        | 30        | 30        | 30        | 30        |
| (c)伸長                 | 72 ℃ 5 分  | 72℃ 5分    | 72℃ 5分    | 72℃ 5分    | 72 ℃ 5 分  | 72 ℃ 5 分  |
| <b><i>cap</i>遺伝子:</b> |           |           |           |           |           |           |
| (a) 熱変性               | 94 ℃ 2 分  | 95 ℃ 5分   | 95 ℃ 5分   | 95 ℃ 5分   | 95 ℃ 5 分  | 95 ℃ 5 分  |
| (b)熱変性                | 94 ℃ 30 秒 | 95 ℃ 30秒  | 95 ℃ 30秒  | 95 ℃ 30秒  | 95 ℃ 30秒  | 95 ℃ 30秒  |
| アニーリング                | 50 ℃ 30 秒 | 55 ℃ 30 秒 | 55 ℃ 30 秒 | 55 ℃ 30 秒 | 55 ℃ 30 秒 | 55 ℃ 30 秒 |
| 伸長                    | 72 ℃ 30秒  | 72 ℃ 30秒  | 72 ℃ 30秒  | 72 ℃ 30秒  | 72 ℃ 30秒  | 72 ℃ 30秒  |
| サイクル数                 | 30        | 30        | 30        | 30        | 30        | 30        |
| (c)伸長                 | 72℃ 5分    | 72℃ 5分    | 72℃ 5分    | 72℃ 5分    | 72℃ 5分    | 72℃ 5分    |

赤で示した箇所は他の機関と異なる条件で行った部分。



|                                                                                                                                                                                |  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| まとめ                                                                                                                                                                            |  |
| ◆ 検出限界濃度は、ばらつきが見られたものの芽胞個数換算で1個から100個であった。                                                                                                                                     |  |
| 発症患者あるいは患畜検体では通常10 <sup>6</sup> 個以上の菌血症となっているので臨床検体からの検出には問題は無いと思われる。<br>環境検体の場合はPCR阻害物質やDNA抽出法により遺伝子検出が難しいと思われるが、培養検査を併用することで菌の検出は可能と思われる。<br>(遺伝子検査と培養検査両方の結果を勘案することが重要である。) |  |
| ◆ <i>pag</i> 遺伝子(pX01由来)の方が <i>cap</i> 遺伝子(pX02)よりも検出限界濃度が低かった。                                                                                                                |  |
| これは抽出時のプラスミド・コピー数に差があったものと思われる。<br><i>pag</i> 遺伝子をコードするpX01の方がpX02よりも数倍から数百倍コピー数が多い株が報告されている。ただし、非常に低い濃度での増幅は濃度依存的でなく確率的な増幅も考えられる。                                             |  |



## 炭疽疑い環境検体等の対応に関して

これまで、各自治体で経験された対応の経緯・経験を取りまとめて共有する(京都府等から資料提供)

安全に芽胞菌を取扱う手技等について

※検体処理の Protokol 作成(DVD等)

※芽胞からのDNA抽出手技(他の芽胞菌を利用)

※簡易グローブボックス等の紹介

H26年度活動:

## 狂犬病 遺伝子検査等の検証

○目的:

各衛生研究所で使用されている試薬・機器等を使用して検査マニュアルの検証を行う。

○方法等:

病原体検査マニュアル(感染研HP)」に準じて行う(検体RNAと遺伝子検出用のプライマーを送付)。

## 1. 遺伝子検査のブラインドテスト(RT-PCR)

- ◇ RNAサンプル 3本  
(RNAstable tube 使用時まで室温保存可)
- ◇ Positive control RNA 1本  
(RNAstable tube 使用時まで室温保存可)
- ◇ プライマー(100pmol/ul in TE) 9本

## 2. 脳組織からのRNA抽出法の検証

- ◇ 脳乳剤からのRNA抽出効率の検証
  - ・TRIzol Reagent(Life Technologies)
  - ・RNeasy Kit(QIAGEN)
- ◇ 脳組織: イヌ・アライグマ・タヌキ等を検討
  - ・GAPDH増幅プライマー使用(イヌ 226bp)

## (3) 動物由来感染症レファレンスネットワークの構築

※衛生研究所と保健所・愛護相談センターの連携を支援

平成25年度に行われた厚生労働科学特別研究について

我が国における動物の狂犬病モニタリング調査手法に係る緊急研究を受けて行われる自治体の担当部局(生活衛生課等)との連携

### 『動物の狂犬病調査ガイドライン』

を利用した検査・調査への衛生研究所による技術・助言等の支援

※研究班に参加した自治体:

北海道、青森県、栃木県、千葉県、東京都、  
新潟県、富山県、滋賀県、兵庫県、岡山県、  
徳島県、愛媛県、福岡県、熊本県、宮崎県、  
鹿児島県、沖縄県、小樽市、岡崎市

## 9. 結核

# レファレンス委員会報告

## 結核菌



# 地衛研における結核菌遺伝子解析に関する アンケート調査(2013)

- 遺伝子解析の実施状況

- 実施 41施設
- 実施予定 8施設
- 実施せず 30施設
  - 他施設へ依頼 5施設

- 何らかの形でタイピングを実施(予定を含む)しているのは54施設(68.3%; 54/79)

## DNAの増幅



各ローカスのDNAを  
サーマルサイクラー  
で増幅

2-3時間必要

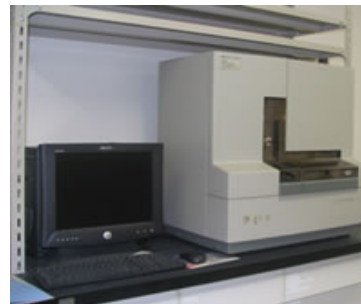
## PCR産物分子量測定



アガロースゲル電気泳動



マイクロチップ電気泳動



DNAシーケンサー  
フラグメント解析

## コピー数へ換算

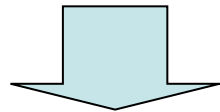
換算表を使ってマニュアルで

結果(分子量)がデジタルで  
表示されるので換算表を使っ  
てマニュアルで

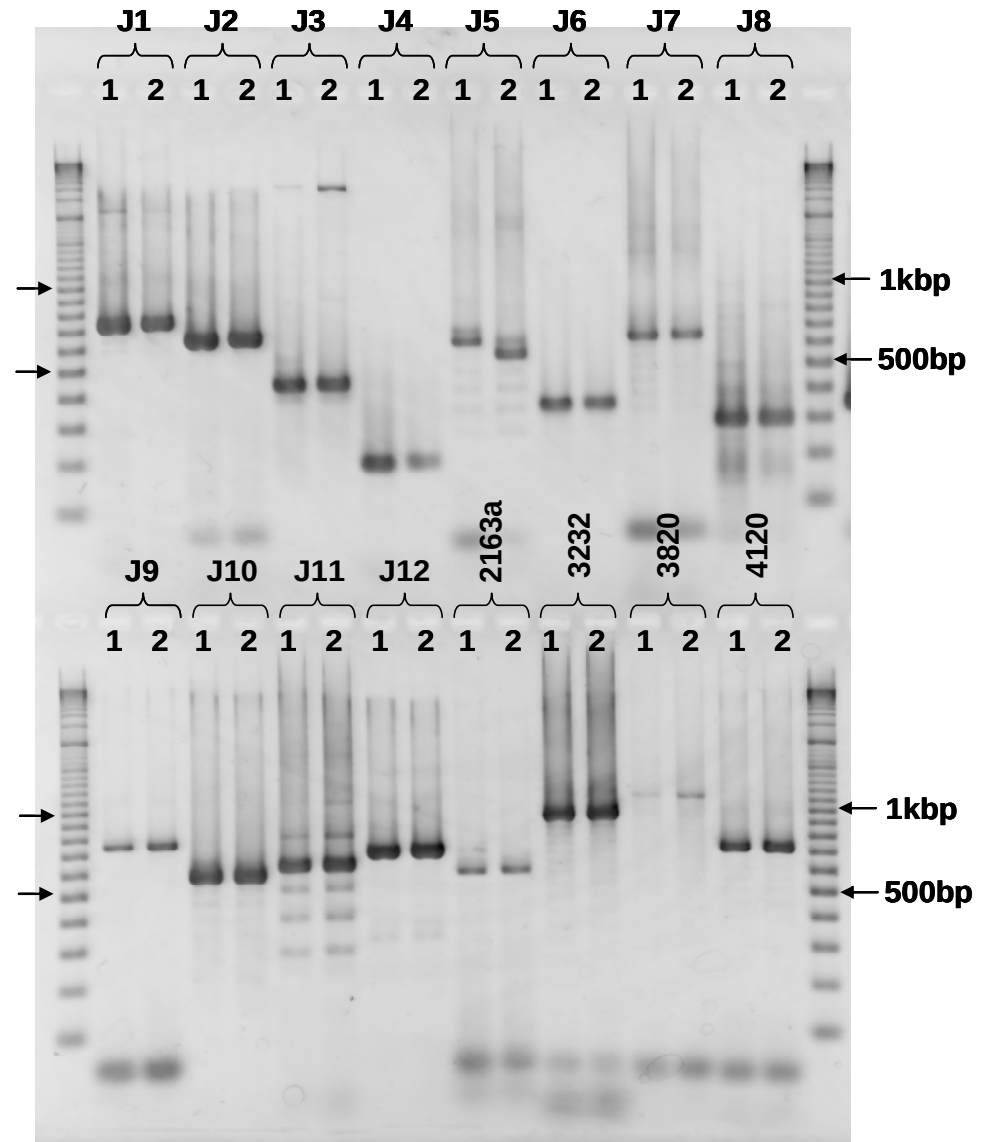
Genemapperで解析

# VNTRのためのPCRの条件と分析例

|                                    |              |
|------------------------------------|--------------|
| DNA (1 ng)                         | 1 $\mu$ l    |
| 10 $\mu$ M Primer mix              | 1 $\mu$ l    |
| 2.5 mM dNTP                        | 4 $\mu$ l    |
| 2xGC buffer I                      | 12.5 $\mu$ l |
| Ex Taq (Takara)                    | 0.13 $\mu$ l |
| Add H <sub>2</sub> O to 25 $\mu$ l |              |



|      |          |        |
|------|----------|--------|
| 94°C | 5 分      | } x 35 |
| 94°C | 30 秒     |        |
| 63°C | 30 秒     |        |
| 72°C | 3 分      |        |
| 72°C | 7 分      |        |
| 4°C  | $\infty$ |        |



# 結核に関するリファレンス活動

- 反復配列多型分析用スターターキットの配布  
54施設に配布

## スターターキットVer.2

JATA(12)、JATA(15)-VNTR分析及びハイパーバリアブルのローサイを分析するためのプライマーセット  
(18種、36本)

- 精度管理用標準DNA(4種類)の送付  
25年度中は1施設に送付

# 昨年準備した精度保証用の結核菌DNA

## パネルの用精製DNA(5~6株)

日本国内で分離される結核菌の遺伝系統の割合に合わせた

- ・ 北京型(4~5株)
  - ancient 2~3株
  - modern 2株
- ・ 非北京型(1株)

# 結核菌VNTR外部精度評価実施要項

- 目的
  - 結核菌の遺伝子タイピングとしてのVNTRの精度保証
- 参加要件
  - 任意
- 実施方法
  - 結核菌の精製DNAを使用
  - 被検検体数:3検体
  - 対象ローカス: JATA 12 (min) + 15 + Supply 24まで
  - 解析方法: 各施設のルーチン法
  - 実施期間: 検体受領から1ヶ月
- 評価解析
  - データの返送を受けた時点で正解を送付
  - 各ローカスの正答率等、全体解析結果を後日報告

結核菌VNTR分析の精度保証研究に参加希望  
施設の募集

7月中



ゲノムDNAの発送

8月中



結果回収

9月中



結果の評価(難しいローカスの特定と対策)

10-11月中



# 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・相川勝弘
- 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・御手洗聡(世話人)、前田伸司

# 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:

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: 林志直

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

愛媛県立衛生環境研究所: 山下育孝

福岡県保健環境研究所: 千々和勝己

○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

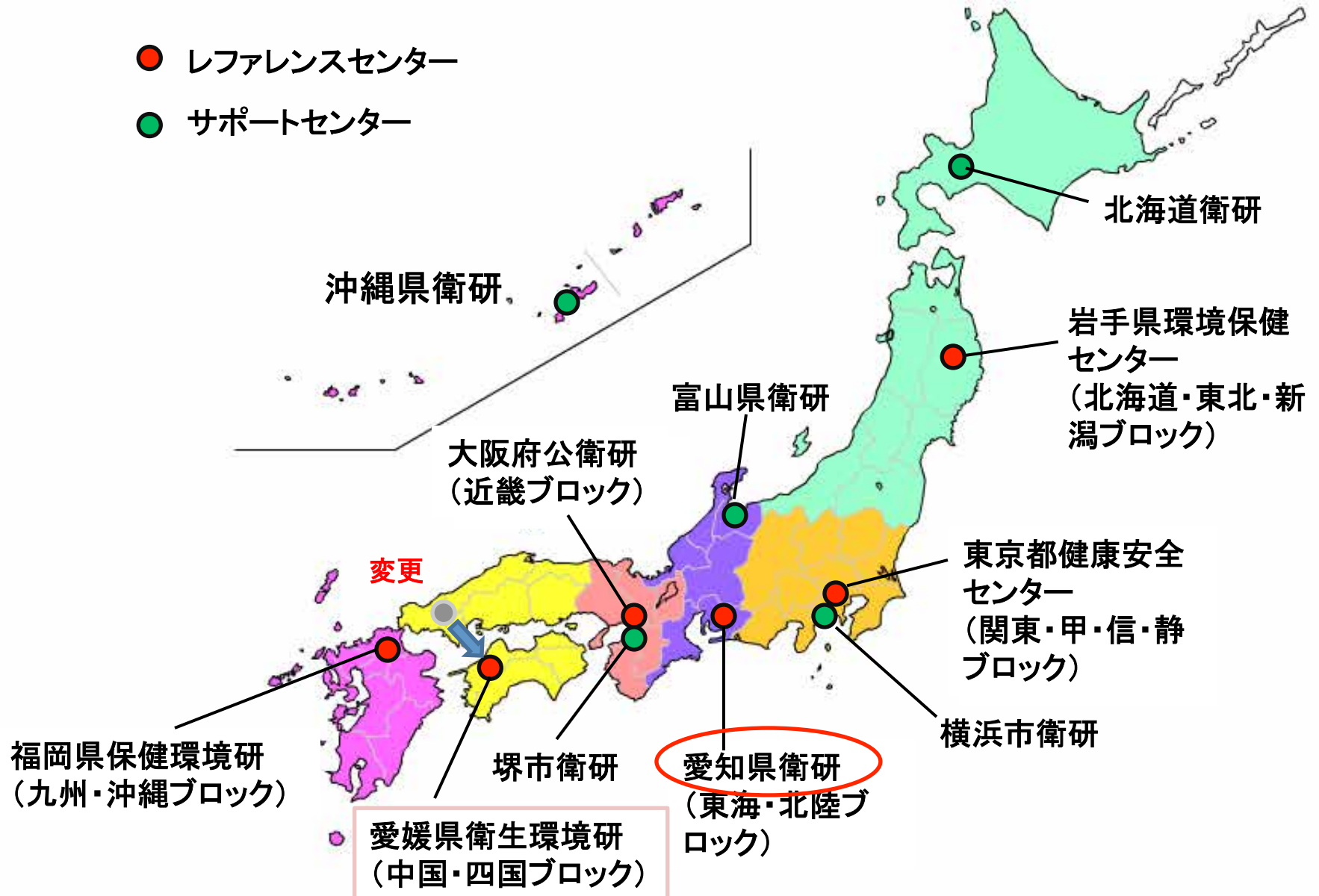
堺市衛生研究所: 岡山文香

沖縄県衛生環境研究所: 喜屋武尚子

# インフルエンザレファレンスセンター (H26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年度の活動報告(1)

□ 改変H7-RNA陽性コントロール(識別マーカー入り)の配布

□ 74カ所の地衛研に対してインフルエンザウイルスのリアルタイムRT-PCR検査の外部精度管理試験(EQA)の実施

□ 薬剤耐性株サーベイランスの実施

TaqMan PCRで検出(地衛研)、感受性試験(感染研)

□ 全国地衛研のインフルエンザウイルス分離検査体制の現状と問題点の把握

➤地衛研全国協議会会員73機関を対象にアンケート調査を実施

**陽性対照受領後4日以内に実施したコア・サポート及び一部協力地衛研の検出感度結果  
(2013年4月15日に受領後、4月25日に全地衛研に情報提供)**

|                      | Real- Time |                  |                  |                      | Conventional |                  |                  |
|----------------------|------------|------------------|------------------|----------------------|--------------|------------------|------------------|
| 回答日<br>機器数           | 感度         | H7               | M                | 回答日<br>機器数           | 感度           | H7               | M                |
| (1日後)<br>10台         | -3以上       | 8/10<br>(80%)    | 8/10<br>(80%)    | (1日後)<br>6台          | -3以上         | 5/6<br>(83%)     | 3/6<br>(50%)     |
|                      | -3未満       | 2/10             | 2/10             |                      | -3未満         | 1/6              | 3/6              |
| (4日後)<br>26台<br>24機関 | -3以上       | 24/26<br>(92.3%) | 23/26<br>(88.5%) | (4日後)<br>17台<br>17機関 | -3以上         | 16/17<br>(94.1%) | 13/17<br>(76.5%) |
|                      | -3未満       | 2/26             | 3/26             |                      | -3未満         | 1/17             | 4/17             |

注：10倍段階希釈にて実施し、10倍（-1と記載）希釈では全機関が検出可能  
配付された陽性対照は、1,000倍（-3と記載）希釈において検出可能の設定

# H25年度の活動報告(1)

□ 改変H7-RNA陽性コントロール(識別マーカー入り)の配布

□ 74カ所の地衛研に対してインフルエンザウイルスのリアルタイムRT-PCR検査の外部精度管理試験(EQA)の実施

□ 薬剤耐性株サーベイランスの実施

TaqMan PCRで検出(地衛研)、感受性試験(感染研)

□ 全国地衛研のインフルエンザウイルス分離検査体制の現状と問題点の把握

➤地衛研全国協議会会員73機関を対象にアンケート調査を実施



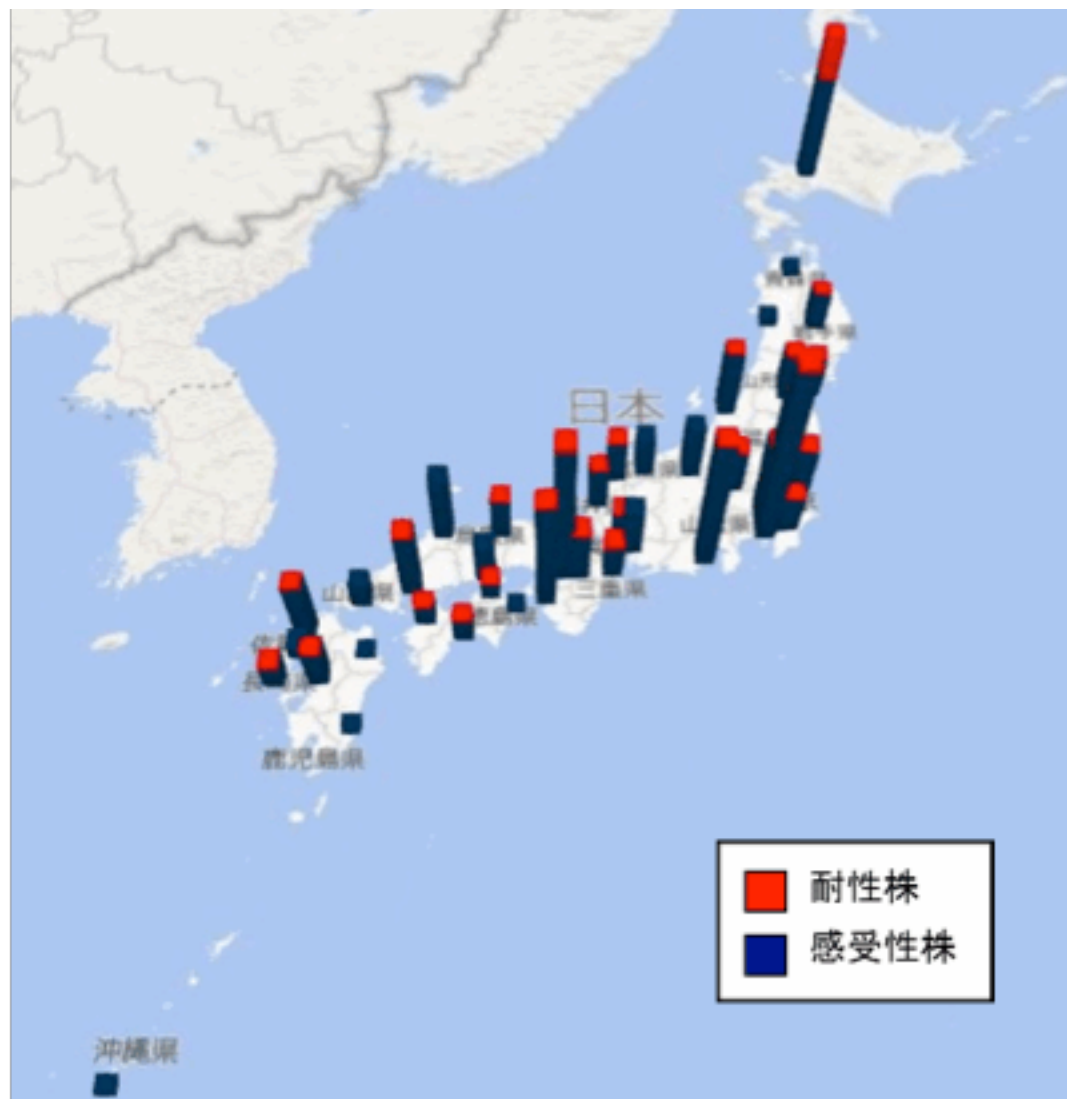
# これまでに実施したEQAについて

| 年月        | 参加地衛研        | パネル                                           |
|-----------|--------------|-----------------------------------------------|
| ～2011年9月  | 11 (コア・サポート) | 1. H5陽性コントロール<br>2. 未知7検体<br>3. RNA抽出チェック 2検体 |
| ～2012年12月 | 11 (コア・サポート) | 1. 未知4検体(RNA抽出不要)<br>2. 未知6検体(要RNA抽出)         |
| ～2013年12月 | 74           | 1. H5陽性コントロール<br>2. H7陽性コントロール                |

# H25年度の活動報告(1)

- 改変H7-RNA陽性コントロール(識別マーカー入り)の配布
- 74カ所の地衛研に対してインフルエンザウイルスのリアルタイムRT-PCR検査の外部精度管理試験(EQA)の実施
- **薬剤耐性株サーベイランスの実施**  
TaqMan PCRで検出(地衛研)、感受性試験(感染研)
- 全国地衛研のインフルエンザウイルス分離検査体制の現状と問題点の把握
  - 地衛研全国協議会会員73機関を対象にアンケート調査を実施

# 2013/14シーズン 抗インフルエンザ薬耐性株検出状況



AH1pdm09耐性株  
103/2,446 (4.2%)

# H25年度の活動報告(1)

- 改変H7-RNA陽性コントロール(識別マーカー入り)の配布
- 74カ所の地衛研に対してインフルエンザウイルスのリアルタイムRT-PCR検査の外部精度管理試験(EQA)の実施
- 薬剤耐性株サーベイランスの実施
  - TaqMan PCRで検出(地衛研)、感受性試験(感染研)
- 全国地衛研のインフルエンザウイルス分離検査体制の現状と問題点の把握
  - 地衛研全国協議会会員73機関を対象にアンケート調査を実施

# インフルエンザウイルス分離検査体制の現状と問題点を 把握するためのアンケート調査結果

## 主なアンケート調査項目

- 国内全体における過去3シーズンの分離数の変化
- 個々の研究機関における過去3シーズンの分離効率の変化
- ウイルス分離で使用している培養細胞の維持管理法

## 調査結果のまとめ

- 過去3シーズン連続してウイルス分離効率の低い機関がある
- 過去3シーズンのNESIDへの登録分離数はほぼ同じ
- 培養細胞は概ね適正に維持管理されている  
(一部の機関では適切な維持管理ができていなかった)
- 人事異動によって担当職員が定期的に入れ替わることから、  
ウイルス検査技術に関する知識や技術の継承が困難

# H26年度の実施

## ○既に実施した項目

- 4月に国内で発生したH5N8亜型高病原性鳥インフルエンザに対するH5亜型遺伝子検出系に関する情報提供(5月7日)

## ○実施予定の項目

- EQAP(2014)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)

# H26年度の実施

## ○既に実施した項目

- 4月に国内で発生したH5N8亜型高病原性鳥インフルエンザに対するH5亜型遺伝子検出系に関する情報提供(5月7日)

## ○実施予定の項目

- EQAP(2014)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)



# EQAP(2014)について

- 事前アンケートの送付
- 今年度は未知の検体として6検体を送付  
(昨年度は陽性コントロールのみを使用)
- 亜型同定およびCt値の報告
- 検査に関するアンケートの送付

# H26年度の実施

## ○既に実施完了した項目

- 4月に国内で発生したH5N8亜型高病原性鳥インフルエンザに対するH5亜型遺伝子検出系に関する情報提供(5月7日)

## ○実施予定の項目

- EQAP(2014)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)

◆2014/15シーズンの実施要綱は8月に発送予定

# 11. カンピロバクター

2014.6.27

# レファレンスセンター報告 「カンピロバクター」

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

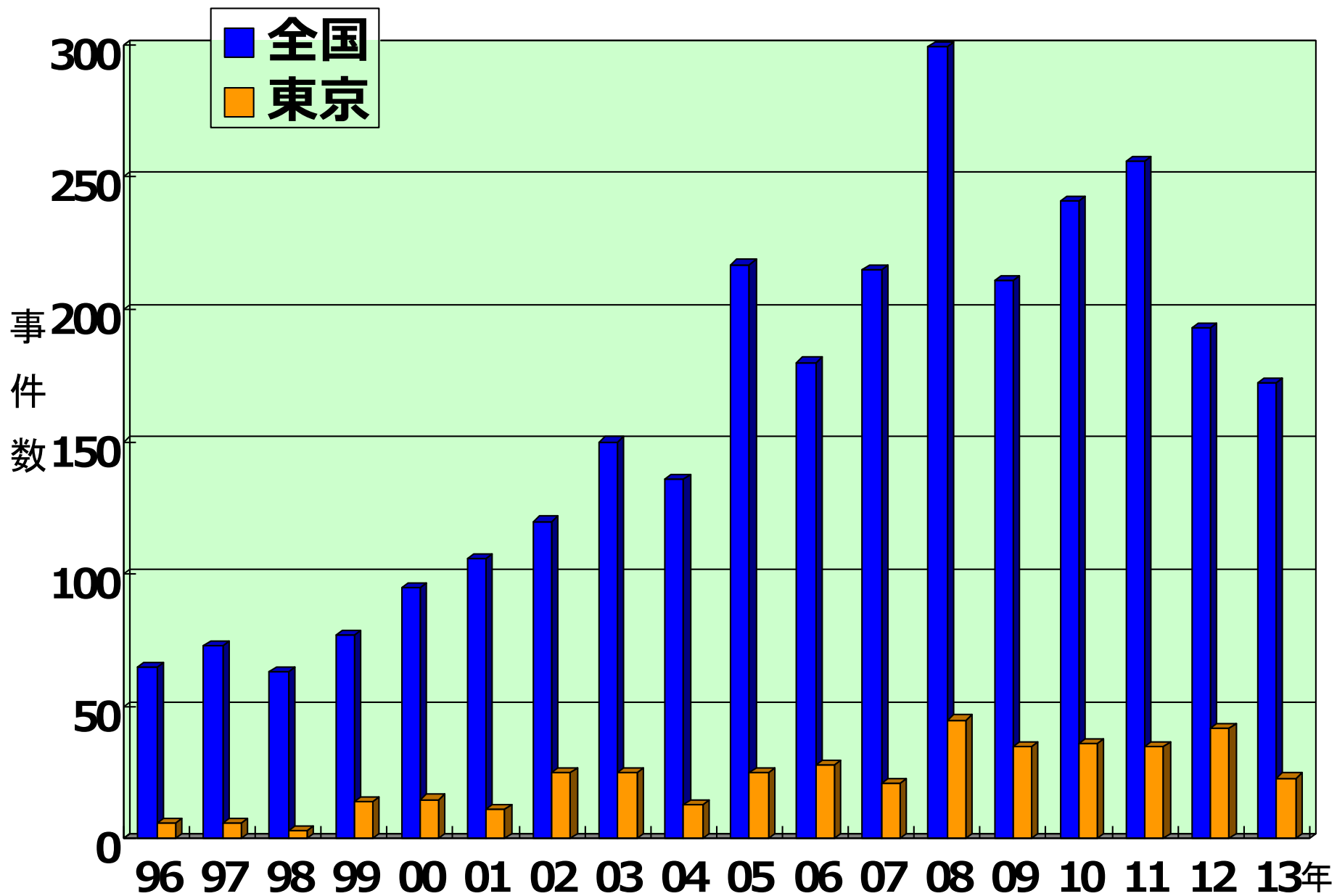
国立医薬品食品衛生研究所

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<br>自家調製      | Penner 法<br>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<br>H, K 様抗原?) | 耐熱性菌体抗原<br>(O S)        |
| 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 (検体 2000円)           |

## 各支部センターにおける型別菌株数(2013年)

| 支部センター        | 集団由来<br>菌株数 | 事件数)   | 散発<br>菌株数 | 食肉<br>菌株数 | 合計  |
|---------------|-------------|--------|-----------|-----------|-----|
| 秋田県健康環境センター   | 6           | ( 2 )  | 37        | 10        | 53  |
| 東京都健康安全研究センター | 115         | ( 23 ) | 97        | 0         | 212 |
| 愛知県衛生研究所      | 31          | ( 6 )  | 43        | 0         | 74  |
| 大阪府立公衆衛生研究所   | 43          | ( 19 ) | 36        | 0         | 79  |
| 広島市衛生研究所      | 15          | ( 4 )  | 114       | 9         | 138 |
| 山口県環境保健センター   | 4           | ( 1 )  | 24        | 0         | 28  |
| 熊本県保健環境科学研究所  | 70          | ( 22 ) | 1         | 0         | 71  |
| 合計            | 284         | ( 77 ) | 352       | 21        | 655 |



## C. jejuni 散発事例由来株のLior血清型別成績（全国・2013年）

| 血清型    | 秋田   | 東京   | 愛知   | 大阪   | 広島   | 山口   | 熊本    | 合計   | (%)  |
|--------|------|------|------|------|------|------|-------|------|------|
| LIO 4  | 13   | 16   | 11   | 15   | 44   | 5    | 1     | 105  | 31.2 |
| LIO 1  | 1    | 8    | 1    | –    | 15   | 6    | –     | 31   | 9.2  |
| TCK 1  | –    | 4    | 2    | –    | 7    | –    | –     | 13   | 3.9  |
| LIO 10 | 1    | 5    | 3    | 1    | –    | 1    | –     | 11   | 3.3  |
| LIO 11 | –    | 3    | 3    | –    | 4    | –    | –     | 10   | 3.0  |
| LIO 36 | –    | 6    | –    | –    | –    | 1    | –     | 7    | 2.1  |
| その他*   | 4    | 20   | 6    | 5    | 5    | 4    | –     | 44   | 13.1 |
| 小計     | 19   | 62   | 26   | 21   | 75   | 17   | 1     | 221  | 65.6 |
| (%)    | 55.9 | 72.9 | 60.5 | 58.3 | 65.8 | 70.8 | 100.0 | 71.0 |      |
| 複数血清   | 6    | –    | 7    | –    | 25   | –    | –     | 38   | 11.3 |
| 型別不能   | 9    | 23   | 10   | 15   | 14   | 7    | –     | 78   | 23.1 |
| 合 計    | 34   | 85   | 43   | 36   | 114  | 24   | 1     | 337  | 100  |

\* 20種類

## *C. jejuni* 散発事例由来株の血清型推移 (Lior 型)

|    | 2008年  | 2009年  | 2010年  | 2011年                 | 2012年         | 2013年  |
|----|--------|--------|--------|-----------------------|---------------|--------|
| 1位 | L10 4  | L10 4  | L10 4  | L10 4                 | L10 4         | L10 4  |
| 2位 | L10 28 | L10 7  | L10 28 | L10 7                 | L10 1         | L10 1  |
| 3位 | L10 11 | L10 1  | L10 1  | L10 1                 | TCK 1         | TCK 1  |
| 4位 | L10 1  | L10 28 | L10 7  | L10 11                | L10 11        | L10 10 |
| 5位 | TCK 12 | L10 11 | L10 11 | L10 28, L10 36, TCK 1 | L10 7, L10 10 | L10 11 |

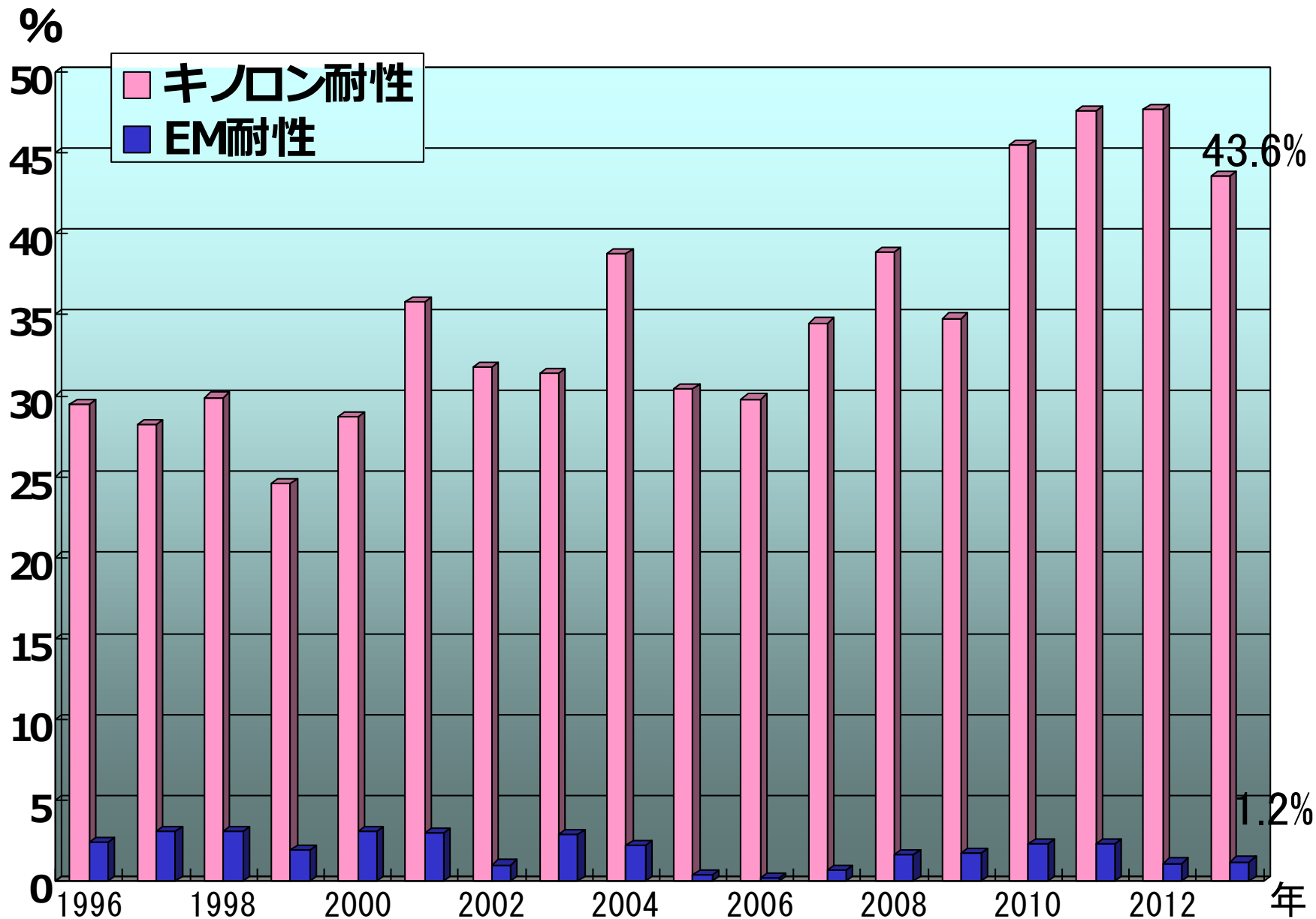
*C. jejuni* 散発事例由来株の Penner 血清型別成績  
( 全国・2013  
年)

| 血清型  | 秋田   | 東京   | 愛知   | 大阪   | 広島   | 山口   | 熊本    | 合計   | (%)  |
|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|------|
| B群   | 10   | 9    | 5    | 11   | 37   | 1    | 1     | 74   | 22.0 |
| D群   | 3    | 11   | 2    | 4    | 3    | –    | –     | 23   | 6.8  |
| L群   | –    | 7    | 6    | 1    | 8    | –    | –     | 22   | 6.5  |
| C群   | –    | 8    | –    | 1    | 2    | –    | –     | 11   | 3.3  |
| A群   | 2    | 3    | –    | 1    | 1    | 3    | –     | 10   | 3.0  |
| その他* | 8    | 7    | 4    | 5    | 8    | –    | –     | 32   | 9.5  |
| 小計   | 23   | 45   | 17   | 23   | 59   | 4    | 1     | 172  | 51.2 |
| (%)  | 67.6 | 53.6 | 39.5 | 63.9 | 51.8 | 16.7 | 100.0 | 51.2 |      |
| 複数血清 | 2    | 1    | –    | –    | –    | –    | –     | 3    | 0.9  |
| 型別不能 | 9    | 38   | 26   | 13   | 55   | 20   | –     | 161  | 47.9 |
| 合 計  | 34   | 84   | 43   | 36   | 114  | 24   | 1     | 336  | 100  |

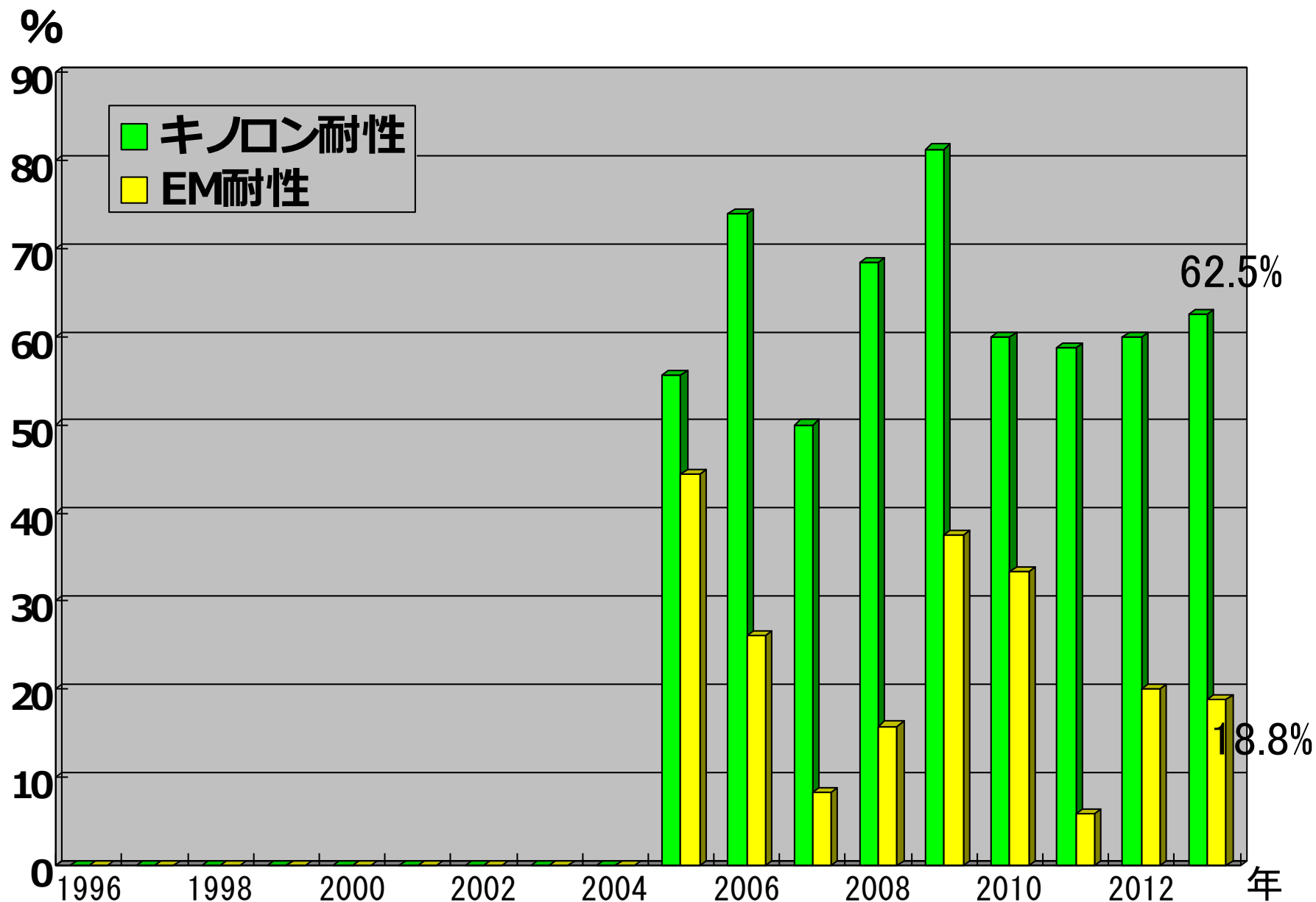
\* 11種類

## *C. jejuni* 散発事例由来株の血清型推移 (Penner 型)

|    | 2009年 | 2010年 | 2011年 | 2012年 | 2013年 |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1位 | D群    | B群    | B群    | B群    | B群    |
| 2位 | B群    | D群    | D群    | D群    | D群    |
| 3位 | Y群    | C群    | C群    | L群    | L群    |
| 4位 | C群    | O群    | O群    | C群    | C群    |
| 5位 | O群    | Y群    | L群    | Y群    | A群    |



*C. jejuni* キノン剤およびエリスロマイシン耐性株の出現状況  
キノン耐性: NFLX・OFLX・CPFX・NA耐性



*C. coli* 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* 337 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 ( 337株) では26種類の単独血清 (65.6%), 複数血清 (11.3%) に型別され, 型別率は76.9%であった。
- Penner 法 (336株) では16種類の単独血清 (51.2%), 複数血清 (0.9%) に型別され, 型別率は52.1%であった。
- 2013年のキノロン耐性菌の出現率は *C. jejuni* 43.6%, *C. coli* 62.5%であった。EM耐性率は, *C. jejuni* 1.2%, *C. coli* 18.8%であった。

## 12. アデノウイルス



第35回 衛生微生物技術協議会 研究会 タワーホール船堀  
2014-6-28 (Fri)

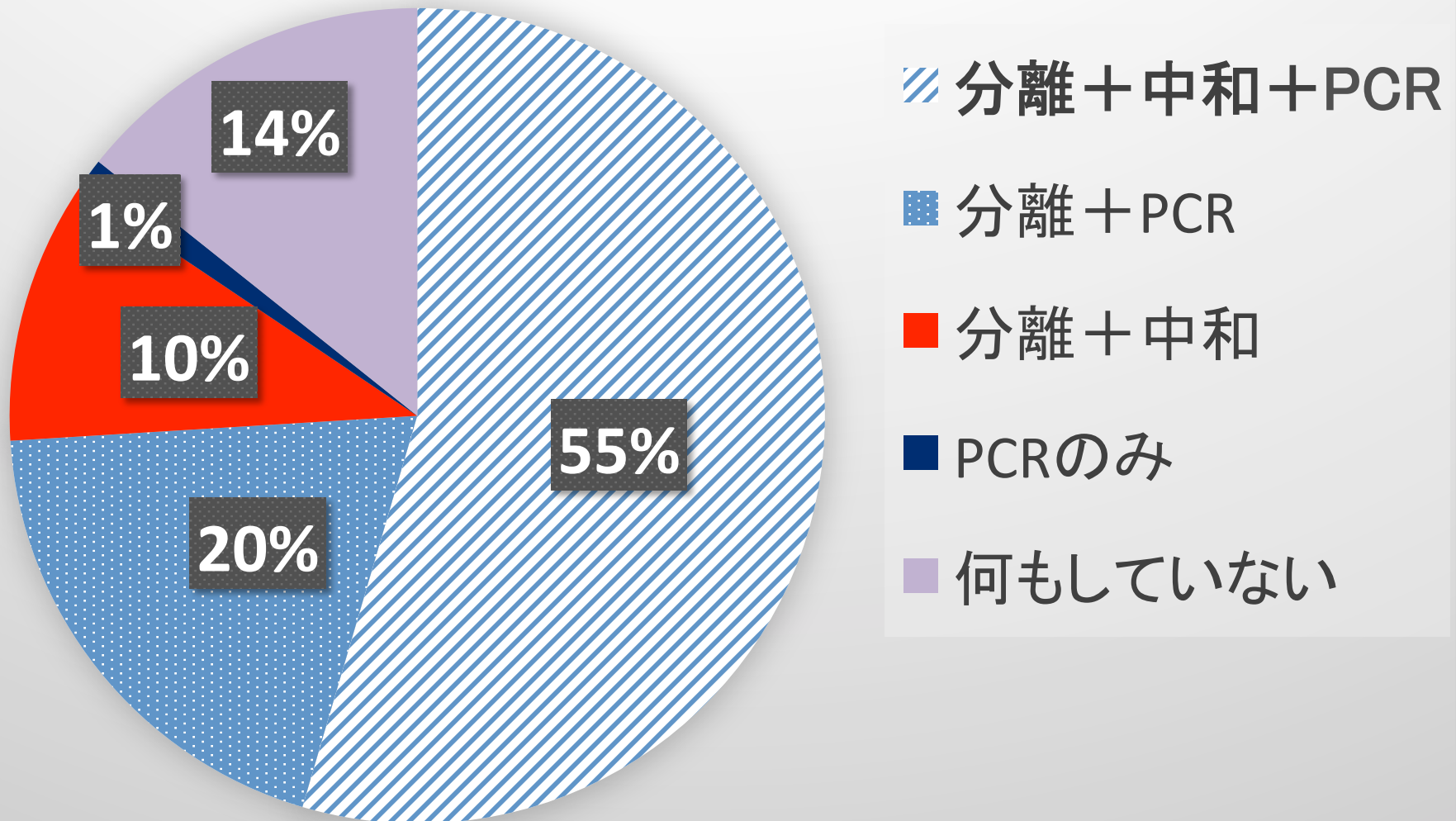
# アデノウイルスレファレンス活動 アンケート調査結果とその対応

国立感染症研究所感染症疫学センター  
青森・新潟、東京・川崎市、福井、広島市、大阪、宮崎

# 地区レファレンスセンター

- 北海道・東北・新潟： 青森・新潟
- 関東： 東京・川崎市
- 中日本： 福井
- 四国・中国： 広島市
- 近畿： 大阪
- 九州： 宮崎

## 検査まとめ (n=77: 回答率100%)

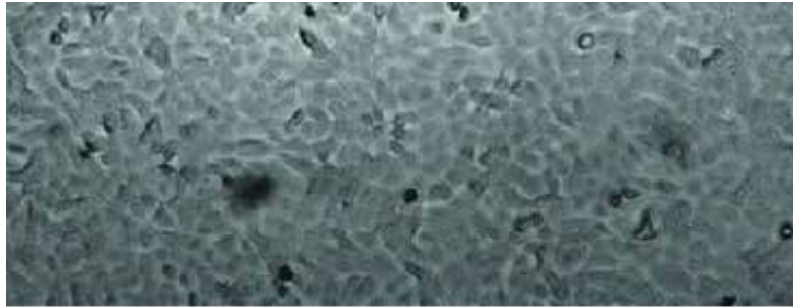


全国85%の地研でウイルスを分離している。  
PCR法は感染研マニュアルの使用がほとんど。

# 分離後の中和困難 ⇒ 新規型別決定法

- 開発したgenome typing 法は、アデノウイルスの培養細胞から6時間以内で
  - 1) アデノウイルスゲノムの抽出
  - 2) ゲノムの定量
  - 3) 制限酵素切断
  - 4) 電気泳動による解析が出来、中和反応が出来ない新型アデノウイルス(全塩基配列により定義される)の同定に活用が期待される。

# 方法 (従来2日→6時間以内)



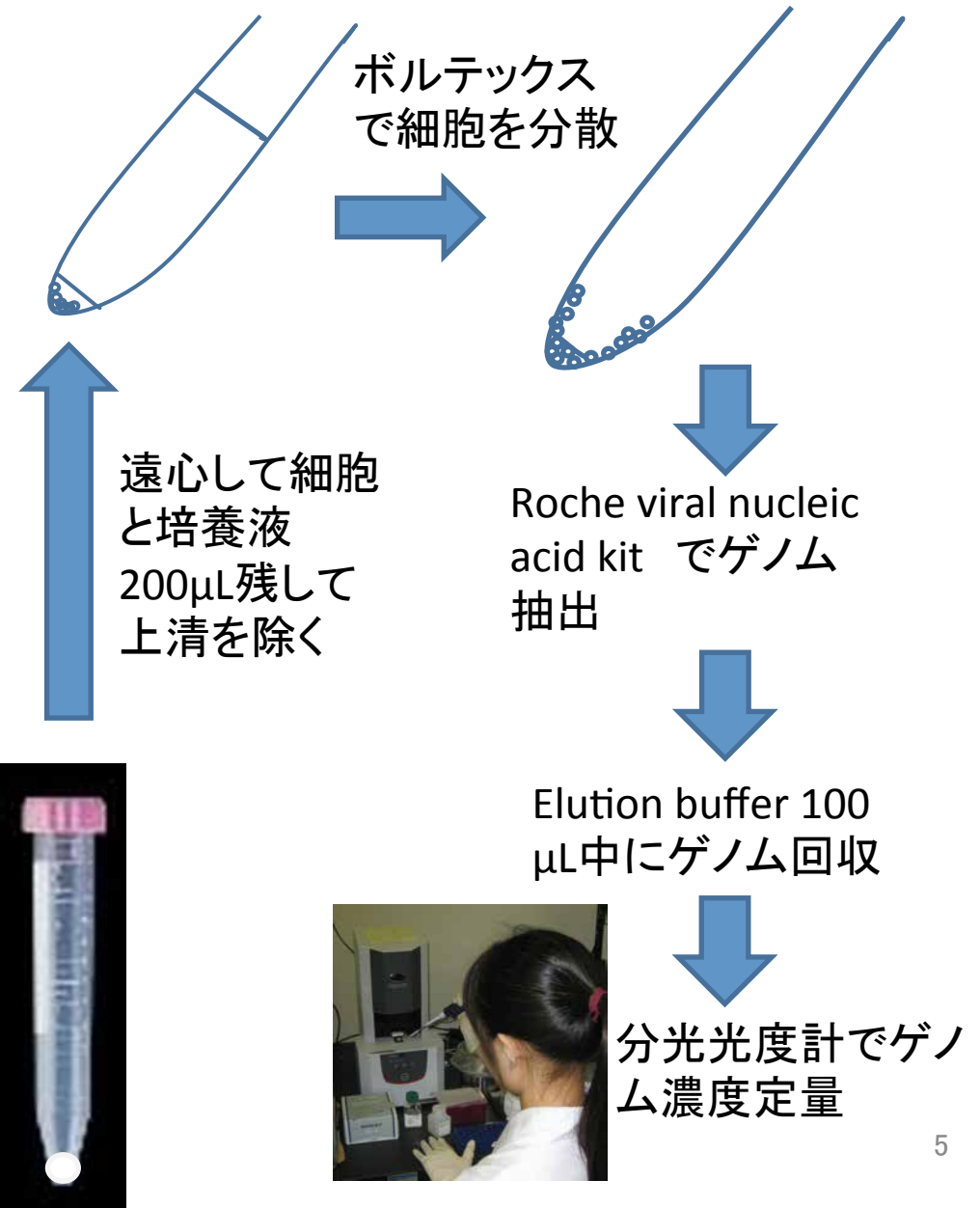
(a) A549 cells



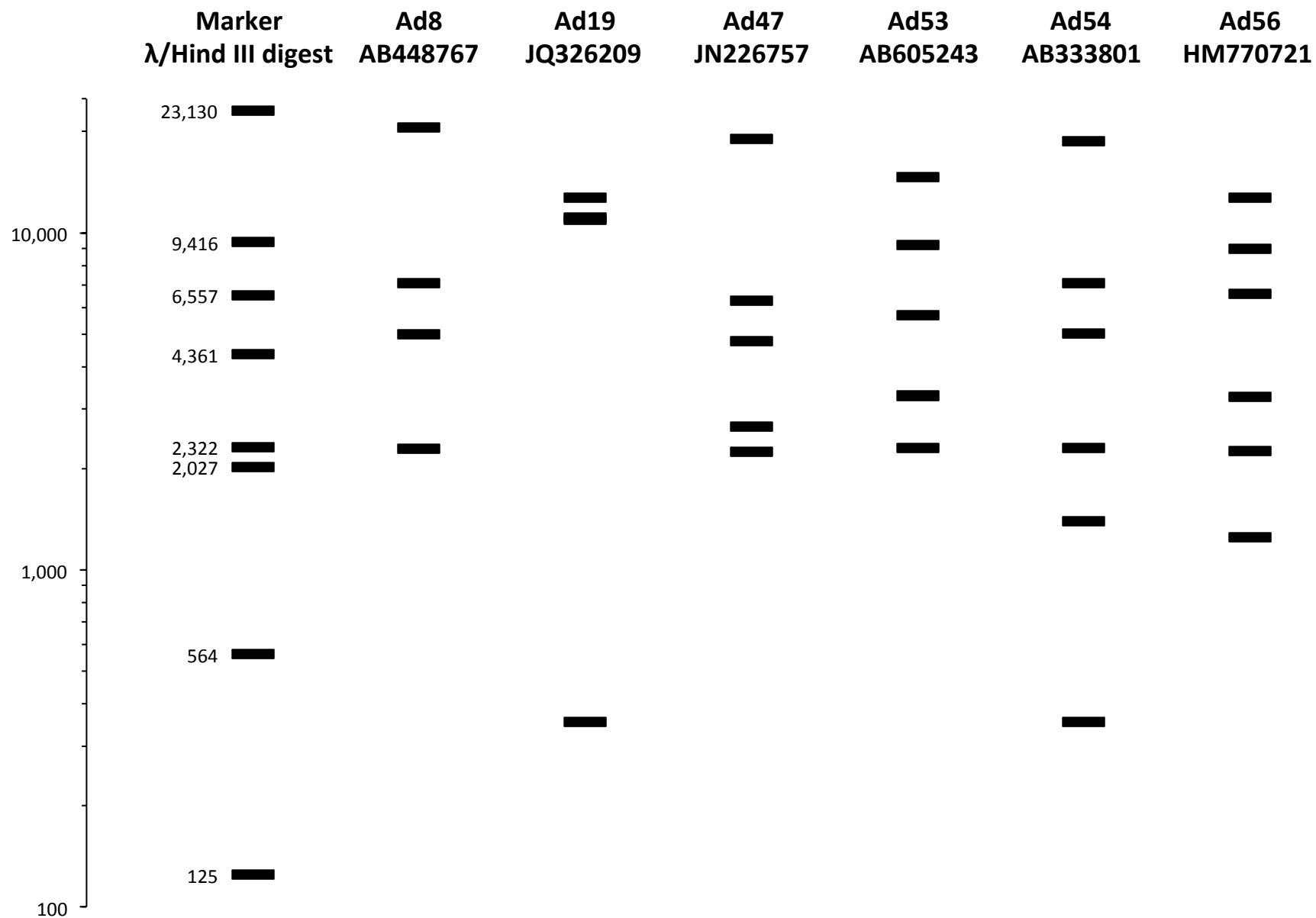
25cm<sup>2</sup> フラスコで24時間程度でCPEが観察され48時間程度で80%になるようにウイルスを接種



感染した細胞を遠心管に回収



# Schematic restriction cutting pattern(BamH I)



## 6・26会議より

- 眼科関連アデノウイルスは変異性が高く、眼以外への親和性も高く、組み換え型の**新型アデノウイルスが蔓延**している。
- 眼科定点からの検体が少ないことへの対策として、流行情報の提供による**重要性のアピール**が必要。
- 型別決定のためにもウイルス分離は重要であり、さらなる**A549細胞使用の普及**が望まれる。
- **制限酵素切断**を用いた遺伝子型決定方法は有用そうである。マニュアル化などを望む。
- 解析サンプルと簡便に比較できるような様々な型と制限酵素の種類による切断パターンを解析するソフトの開発等を望む。

お知らせ

- 採用情報
- 調達情報
- 情報公開
- 公開講座・研修
- その他

感染症情報

- 疾患名で探す
- 感染源や特徴で探す
- 予防接種情報
- 災害と感染症

研究・検査・病原体管理

- 研究情報
- 国家検定情報
- レファレンス
- 抗生物質標準品の交付
- 感染症検体パネルの交付
- こちら研究部
- 画像・映像アーカイブ
- 感染研年報
- 国際協力

サーベイランス

- 感染症発生動向調査週報 (IDWR)

アデノウイルス解説ページ-アデノウイルスの種類と病気

アデノウイルス INFORMATION  
ADENOVIRUS

● アデノウイルスの種類と病気

アデノウイルスには51種類の血清型および52型以降の遺伝型(genotype)があり、A～Gの7種に分類される。

多くのアデノウイルスは、体内の潜伏期間が5～7日で、便や飛沫、直接接触により感染経路する。感染した場合、扁桃腺やリンパ節の中で増殖する。種が多いため、免疫が付きにくく、何度も同様の病気になる場合がある。

● 呼吸器感染症

主として3型および7型による。

特に7型は重症の肺炎を起こす。乳幼児がかかることが多く、髄膜炎、脳炎、心筋炎などを併発することもある。さらさらと長引く発熱、咳、呼吸障害など重症になることがあり、時に致命的なことがある。

● 咽頭結膜熱（プール熱）

主として3型による。

1日の間に39～40度の高熱と、37～38度前後の微熱の間を、上がったたり下がったりが4～5日ほど続き、扁桃腺が腫れ、のどの痛みを伴う。その間、頭痛、腹痛や下痢を伴い、耳介前部および頸部のリンパ節が腫れることがある。

両目または片目が真っ赤に充血し、目やにが出る。夏にプールを介して流行することがあるため、プール熱とも呼ばれているが、プールに入らなくても飛沫や糞便を通して感染する。

うがい、手洗い、プールの塩素消毒などで、ある程度予防できる。症状がインフルエンザに似ているため、「夏のインフルエンザ」と呼ばれることもある。

咽頭結膜熱は学校保健安全法上の学校感染症の一つであり、主要症状がなくなった

【関連記事】

2011-06-01 - 咽頭結膜熱とは

2014-01-29 - アデノウイルス解説ページ

ウェブページ等を利用した  
情報還元



# 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

北海道・東北・新潟ブロック  
福島県衛生研究所

東海・北陸ブロック  
富山県衛生研究所

九州ブロック  
大分県衛生環境研究センター

関東・甲・信・静ブロック  
神奈川県衛生研究所

東京都健康安全研究センター

近畿ブロック  
大阪府立公衆衛生研究所

中国・四国ブロック  
山口県環境保健センター



# 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

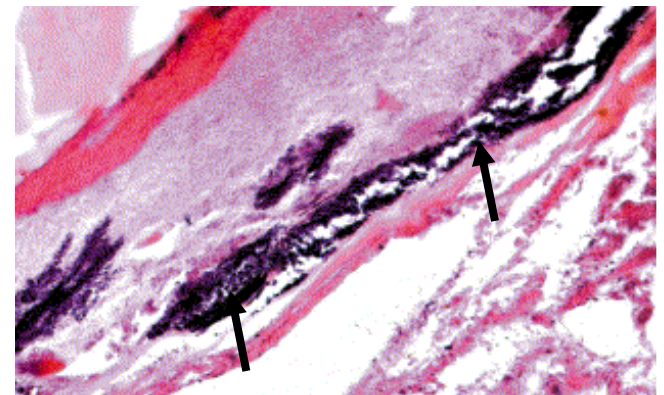
○A群溶血性レンサ球菌咽頭炎（小児科定点報告疾患）  
A群レンサ球菌による上気道感染症

○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

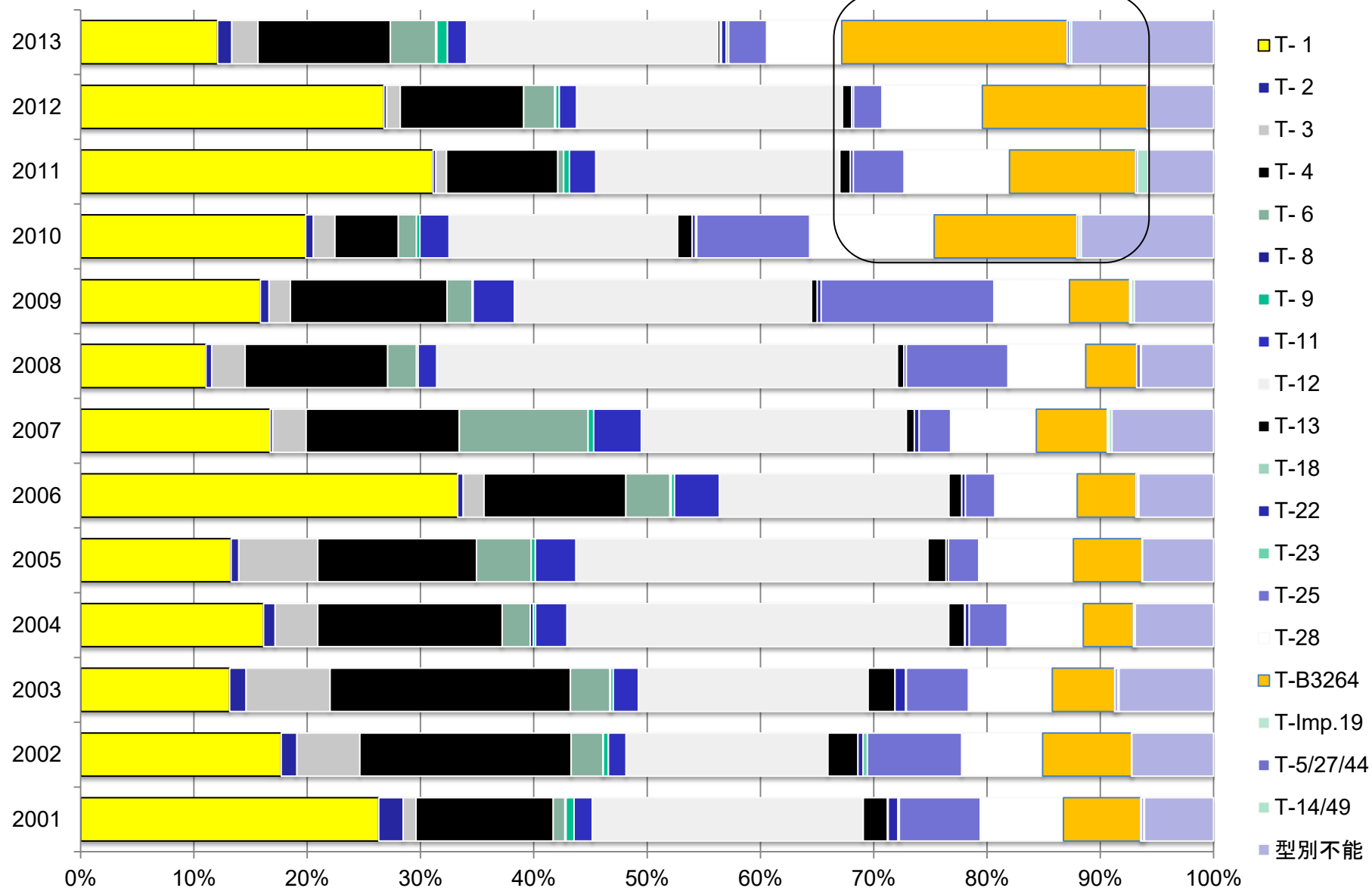
- 菌種の同定
- *emm*遺伝子型別など

### その他のレンサ球菌

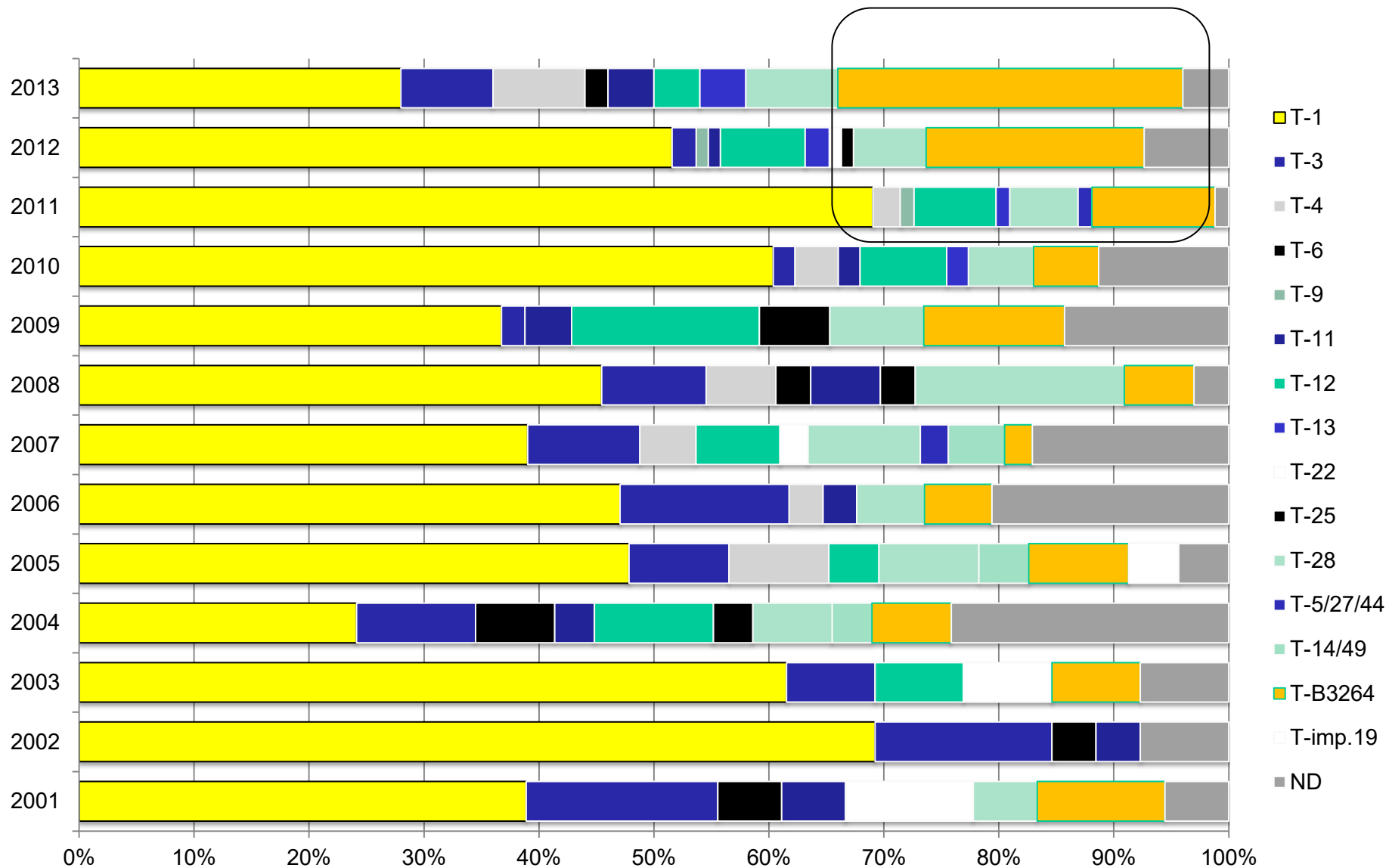
- 菌種の同定など

薬剤感受性試験

# 咽頭炎由来株のT型別（2001-2013）



## 劇症型溶レン菌感染症患者由来株のT型別（2001-2013）



# 溶血性レンサ球菌レファレンス

## 溶血性レンサ球菌

### A群

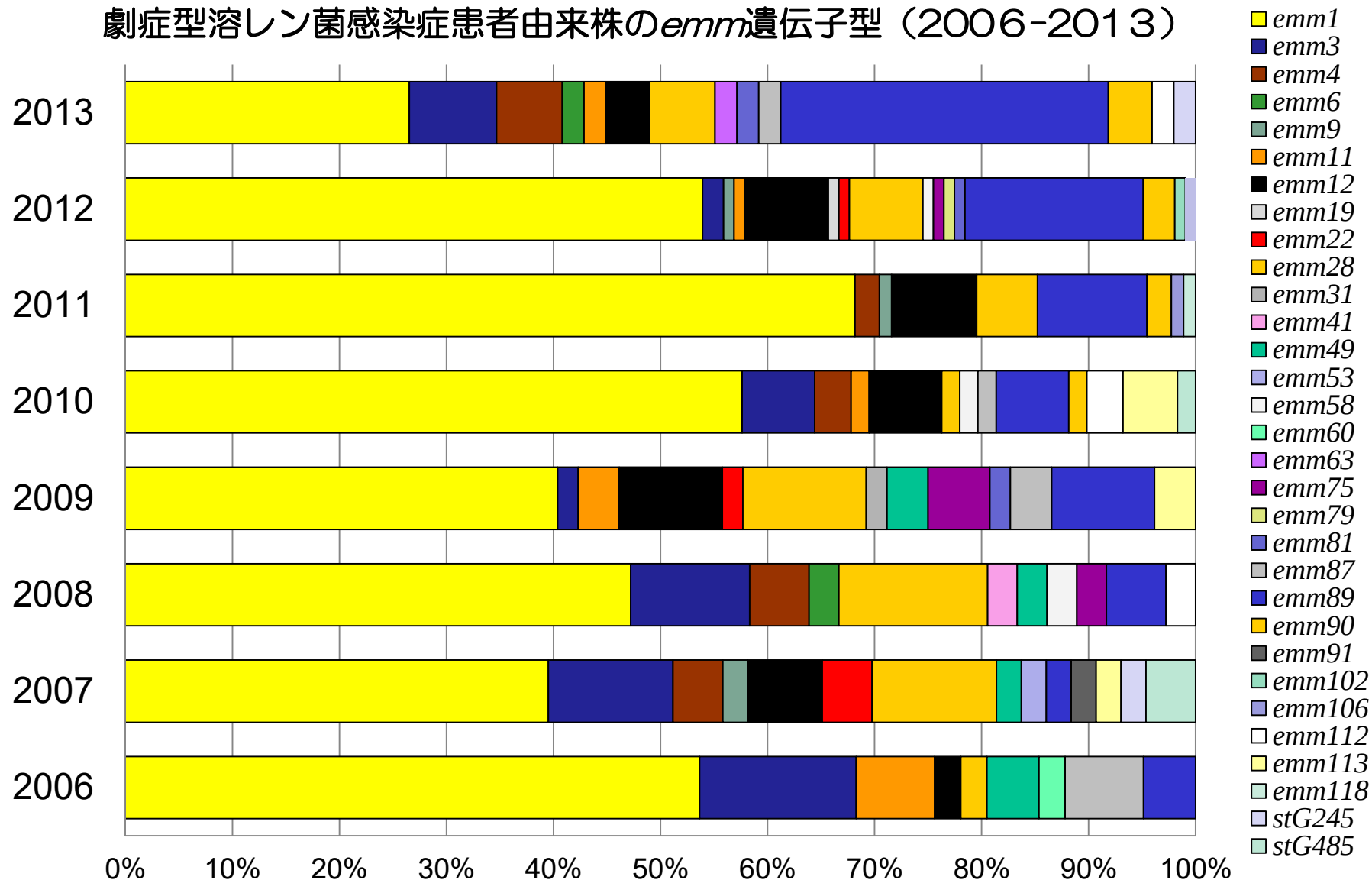
- T血清型別
- M血清型別
- *emm*遺伝子型別など

| T type | No of isolates | <i>emm</i> type (No of isolates)      |
|--------|----------------|---------------------------------------|
| TB3264 | 25             | <i>emm</i> 89 (8), <i>emm</i> 94 (17) |

(勝川ら、感染症学雑誌、2002抜粋)



# 劇症型溶レン菌感染症患者由来株の*emm*遺伝子型（2006-2013）



**TB3264型⇒*emm*89型**

## 14．麻疹・風疹

平成26年6月27日  
衛生微生物技術協議会第35回研究会  
於：タワーホール船堀



# 麻疹・風疹 レファレンスセンター報告

麻疹・風疹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

沖縄県衛生環境研究所

北海道立衛生研究所

福岡県保健環境研究所

石川県保健環境センター

山口県環境保健センター

山形県衛生研究所

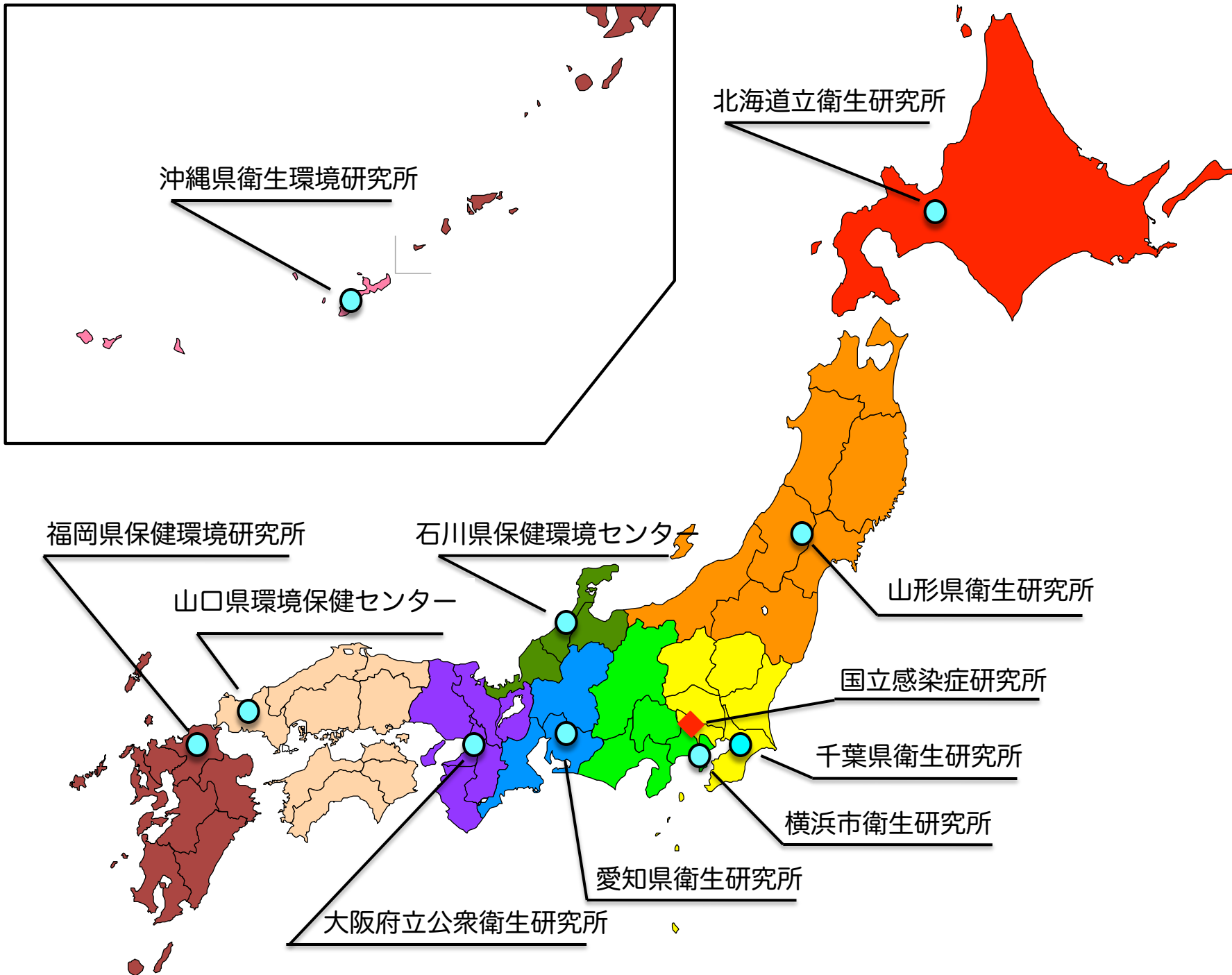
国立感染症研究所

千葉県衛生研究所

横浜市衛生研究所

愛知県衛生研究所

大阪府立公衆衛生研究所

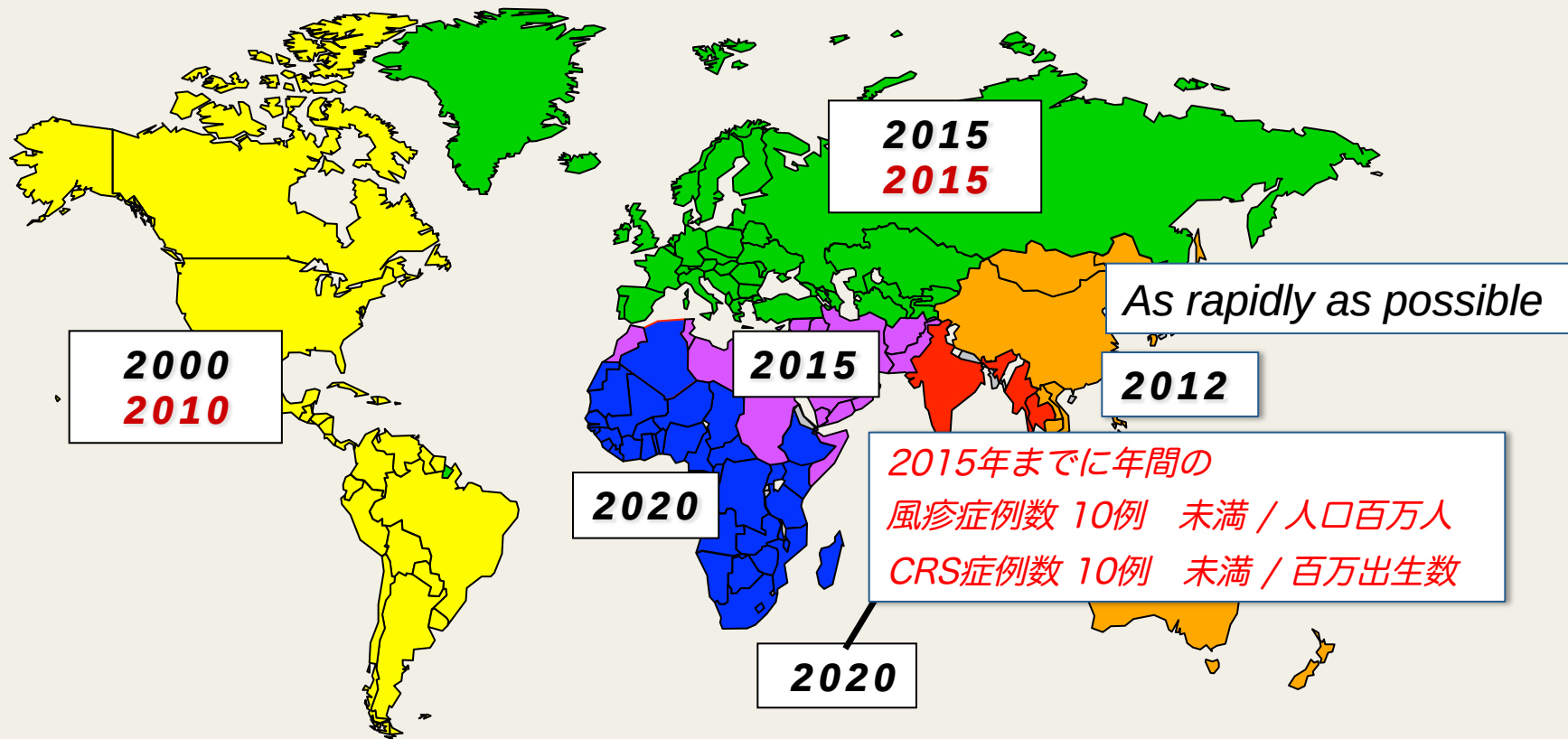


# H26年度麻しん・風しんレファレンスセンター

| 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     | 鳥取県衛生環境研究所  | 佐倉千尋      |
| 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, 2014

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



# 麻しんに関する特定感染症予防指針

(平成24年12月14日 一部改正、平成25年4月1日 適用)

平成27年までに麻しんの排除を達成し、  
世界保健機関による麻しん排除の認定を受け、  
その後も排除状態を維持する

- 麻しん排除の定義は、平成20年には「国外で感染した者が国内で発症する場合を除き、麻しん診断例が1年間に人口百万人当たり1例未満であり、かつ、ウイルスの伝播が継続しない状態にあること」とされていたが、遺伝子検査技術の普及により土着株と輸入株との鑑別が可能となった等を踏まえ、平成24年に世界保健機関西太平洋地域事務局より新たな定義として「適切なサーベイランス制度の下、土着株による感染が1年以上確認されないこと」が示され、また、麻しん排除達成の認定基準として「適切なサーベイランス制度の下、土着株による感染が3年間確認されず、また遺伝子型解析によりそのことが示唆されること」が示された。

## 麻しんの疫学情報の報告等について

1. 届出のあった臨床診断例について、医師に対して、血清IgM抗体検査等の血清抗体価の測定の実施と都道府県等が設置する地方衛生研究所でのウイルス遺伝子検査等の実施のための検体の提出を求めることを徹底いただきたいこと。臨床症状とこれらの検査結果を総合的に勘案した結果、麻しんと判断された場合は、麻しん（検査診断例）への届出の変更を求めるとともに更新のあった検査診断情報を感染症サーベイランスシステム（以下「NESID」という。）に追加入力すること。また、麻しんではないと判断された場合は、届出を取り下げを求めるとともに、届出が取り下げられた際にはNESIDに削除入力すること。

3. 医師から麻しん患者の検体（疑い例を含む。）が提出された場合は、都道府県等が設置する地方衛生研究所において、原則として全例についてウイルス遺伝子検査等を実施すること。また、検査の結果、麻しんウイルスが検出された場合は、可能な限り、地方衛生研究所において麻しんウイルスの遺伝子配列の解析を実施する、又は地方衛生研究所において解析を実施できない場合には、国立感染症研究所に検体を送付すること（解析が終了し次第、地方衛生研究所に解析結果を送付する）。さらに、解析により判明した遺伝子型等については、可能な限り、NESIDに追加入力すること



表1 地方衛生研究所で実施された麻疹、風疹の検査

| ブロック・県  | 麻疹    |     |                            |       | 風疹    |      |                                 |       |
|---------|-------|-----|----------------------------|-------|-------|------|---------------------------------|-------|
|         | 検査症例数 | 陽性数 | 遺伝子型(検出数)                  | 報告症例数 | 検査症例数 | 陽性数  | 遺伝子型(検出数)                       | 報告症例数 |
| 北海道     | 73    | 0   |                            | 2     | 73    | 36   | 2B (32) NT (4)                  | 109   |
| 東北・新潟   | 76    | 0   |                            | 1     | 71    | 31   | 2B (21) 1E (4) NT(6)            | 209   |
| 北関東     | 1122  | 12  | D8, D9, B3, A              | 117*  | 1108  | 411  | 2B, 1E, 1a                      | 4968* |
| 南関東・甲信静 | 226   | 7   | D8 (3) B3 (2) A (2)        | 41*   | 226   | 98   | 2B, 1E                          | 1866* |
| 北陸      | 16    | 0   |                            | 0     | 6     | 3    | 2B, NT                          | 64    |
| 愛知県     | 103   | 19  | H1(2), D9(2),B3(14), NT(1) | 25    | 103   | 22   | 2B (18) 1E (1) NT(3)            | 375   |
| 近畿#     | 411   | 19  | B3(3),D8(8), H1(3), A(3)   | 49    | 372   | 262  | 2B(219), 1E(24), 1j(17), NT(17) | 4351* |
| 中・四国    | 79    | 10  | B3 (6), D8(1), A (3)       | 9     | 148   | 52   | 2B(18), 1E (1), NT(33)          | 342   |
| 九州      | 87    | 7   | B3 (5), D9(1), A (1)       | 3*    | 29    | 7    | 2B, NT                          | 876   |
| 沖縄      | 39    | 0   |                            | 0     | 102   | 29   | 2B(28)                          | 52*   |
| 合計      | 2232  | 74  | B3,D8,D9,H1,A,NT           | 247   | 2738  | 1248 | 2B,1E,1j,1a, NT                 | 13212 |

\* 各ブロックにおける報告麻疹症例数、感染症発生動向調査より引用

# 京都市を除く

NT: not typed

# 風疹ウイルス遺伝子配列の登録のお願い

## NESID 病原体検出情報システム 登録画面

The screenshot shows the NESID registration interface. At the top, the browser address bar displays 'https://nesid.jp/mhlw.go.jp/'. The page title is 'NESID 病原体検出情報システム'. The main form includes several sections:

- 報告機関** (Reporting Institution): A dropdown menu with '地衛研 感染症研究所' (Local Health Research Institute, Infectious Disease Research Institute) selected.
- 報告種別** (Reporting Type): A dropdown menu with '1〜5種全数報告' (Report all 1-5 types) selected.
- 病原体種類** (Pathogen Type): A dropdown menu with 'ウイルス' (Virus) selected.
- 検出病原体** (Detected Pathogen): A text input field containing 'Rubella virus genotype 2B'.
- 登録年月日** (Registration Date): A date picker showing '2014' year, '06' month, and '18' day.
- 検体採取年月日** (Specimen Collection Date): A date picker showing '\_\_\_' year, '\_\_\_' month, and '\_\_\_' day.
- 検体提供者番号** (Specimen Provider Number): A text input field.
- 検体提供先** (Specimen Provider): A dropdown menu with '型別結果' (Type result) selected.
- 検出方法** (Detection Method): A dropdown menu with '遺伝学的事項' (Genetic matters) selected.
- 検出結果** (Detection Result): A dropdown menu with '遺伝子配列' (Gene sequence) selected, which is circled in red.

Below the form, there are several buttons: '登録' (Register), '連続登録' (Continuous registration), '一時保存' (Temporary save), and '戻る' (Back). The bottom section contains a table with columns for '検出結果' (Detection result) and '検出年月日' (Detection date).

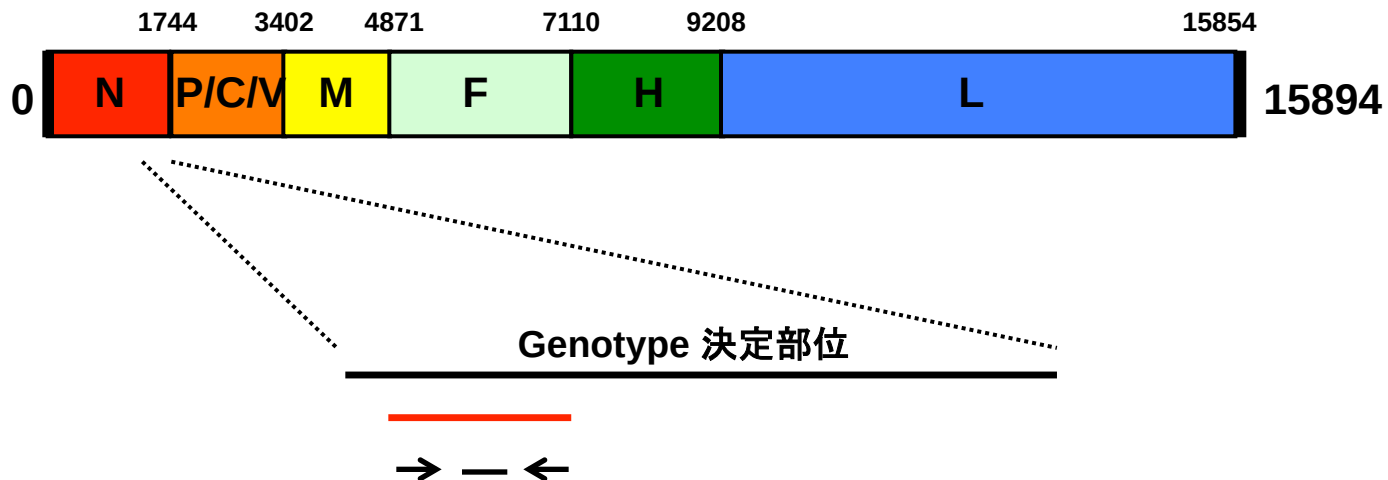
- 全国の流行株の把握
- WHOへの報告／WHO風疹ウイルス遺伝子データベース (RUBENS) への登録

# 麻疹検出用 real time - PCR

## WHO 標準法 (CDC法)

Development of quantitative gene-specific real-time RT-PCR assays for the detection of measles virus in clinical specimens

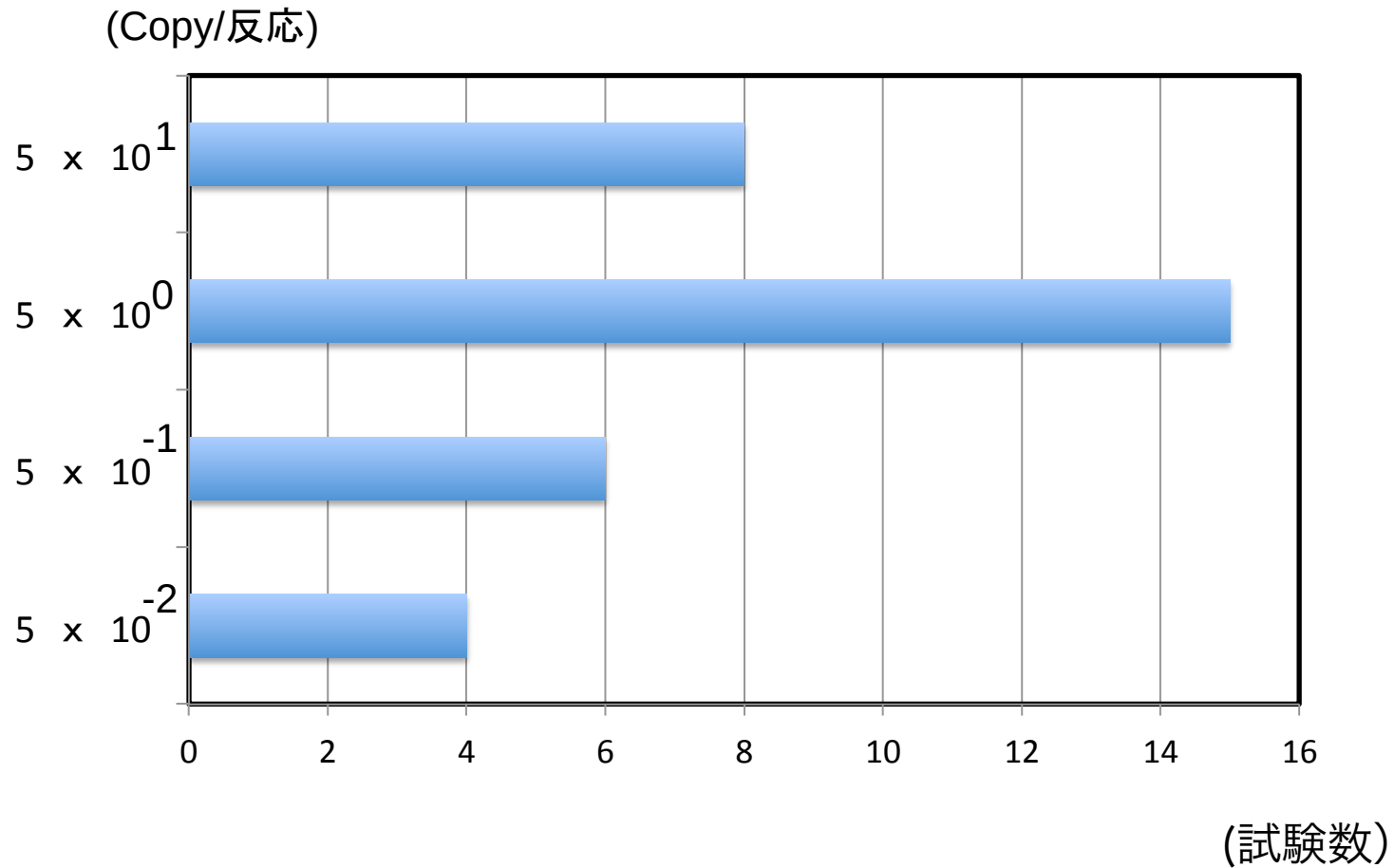
(Hummel et al., Journal of Virological Methods 132 (2006) 166–173)



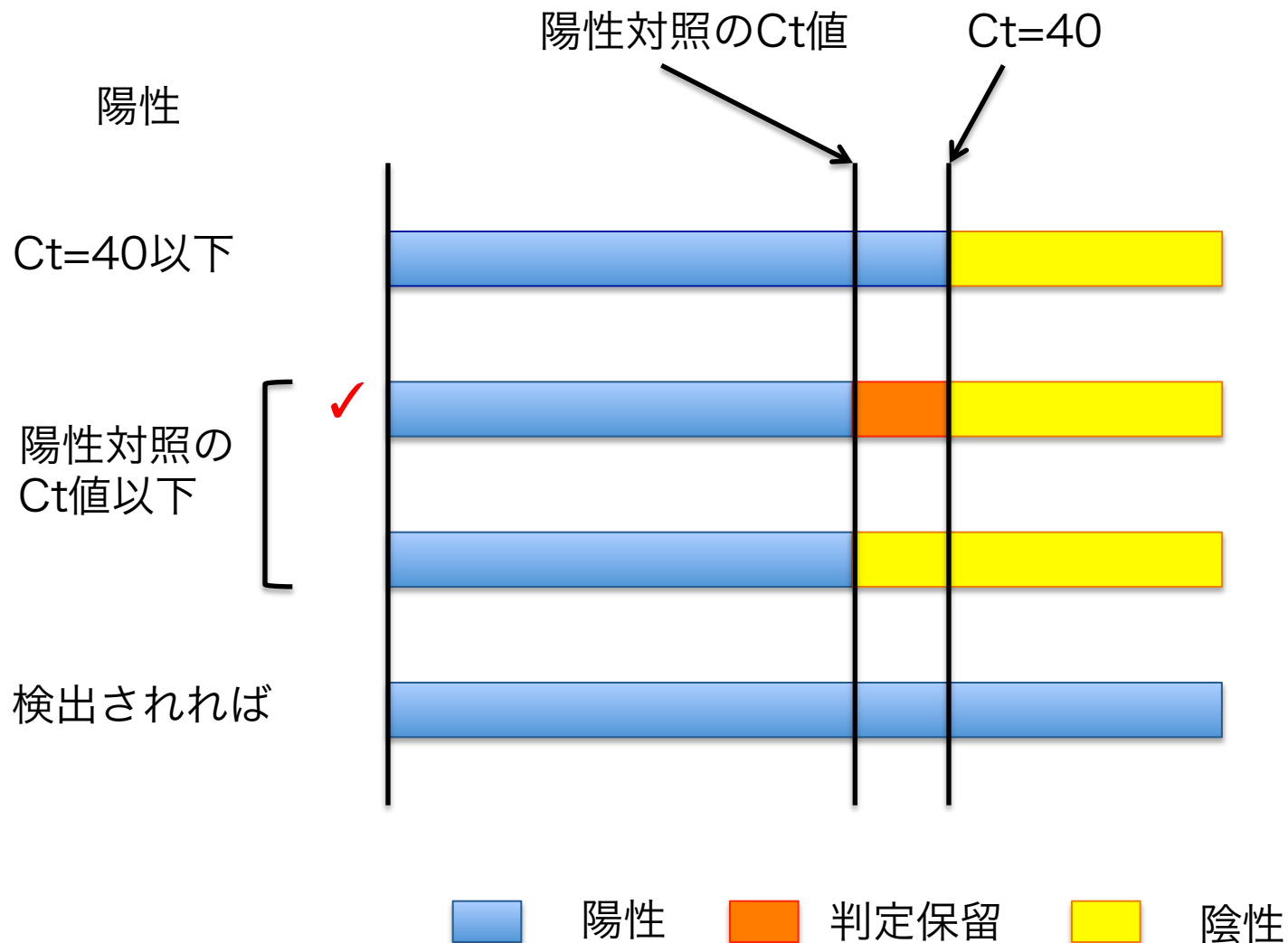
# Real time PCRの検量線の解析

| 項目                                  | 求められる範囲      | 規格に対する適合率    |
|-------------------------------------|--------------|--------------|
| スロープ                                | -3.1 ~ -3.8  | 100% (33/33) |
| 検量線の $R^2$ 値                        | 0.98 以上      | 97% (32/33)  |
| Standard RNA $5 \times 10^2$<br>の検出 | $Ct \leq 40$ | 100% (33/33) |

# 検出されたStandard RNA ( $\leq 40$ )



# 判定方法



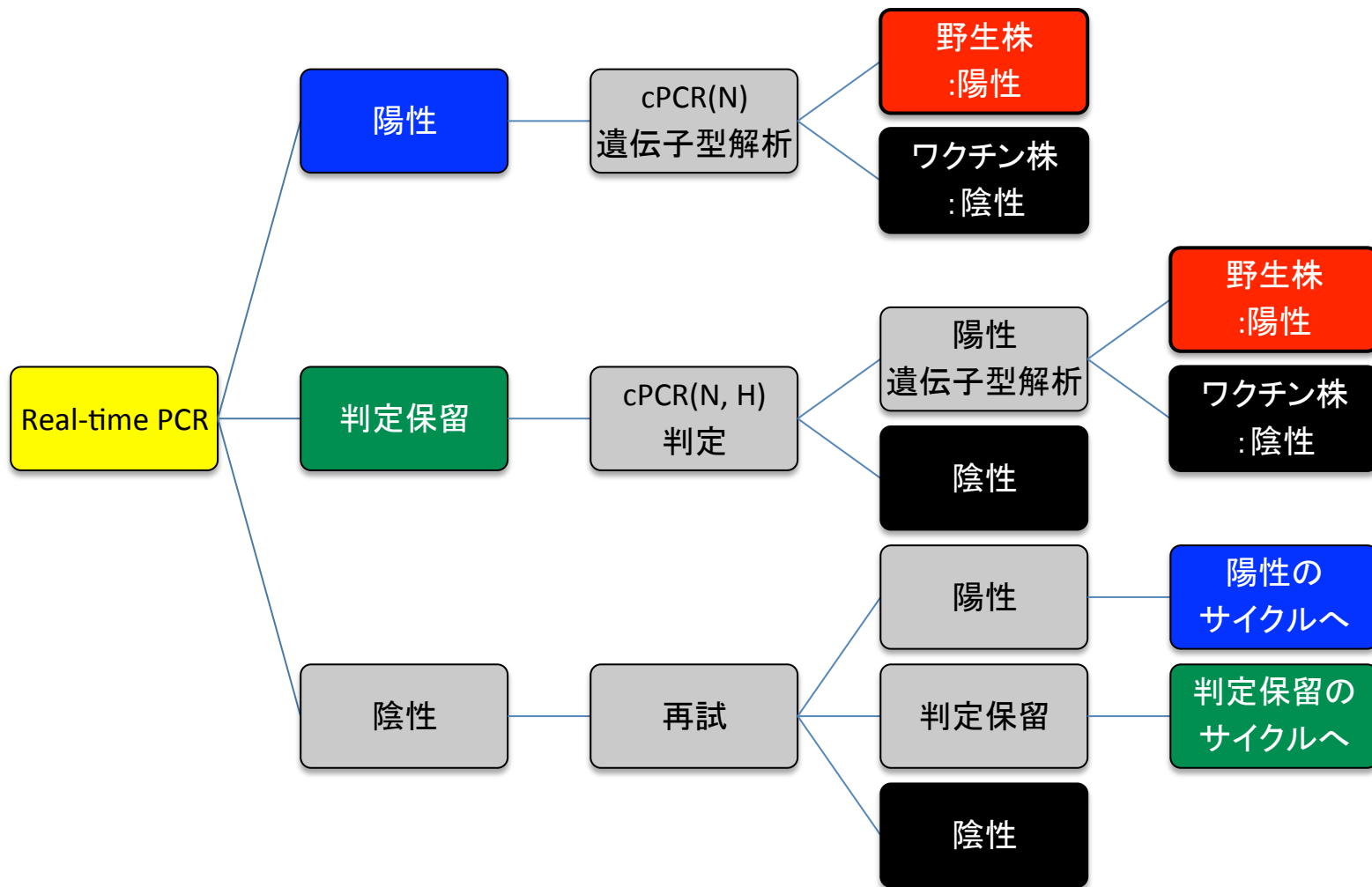
# 試験成立条件、試験法の変更

|               | 項目                                                                                                           | 求められる範囲          |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 試験成立<br>条件の変更 | スロープ                                                                                                         | -3.1 ~ -3.8      |
|               | 検量線の $R^2$ 値                                                                                                 | 0.98 以上          |
|               | Standard RNA $5 \times 10^1$ の検出                                                                             | $Ct \leq 40$     |
|               | 陰性対照                                                                                                         | 陰性 ( $Ct > 40$ ) |
| 試験法の変更        | 陽性対照の調整: $5 \times 10^0$ 及び $5 \times 10^1$ copy/反応 の2希釈を陽性対照として使用。 $Ct \leq 40$ となる、より薄いスタンダードRNA を陽性対照とする。 |                  |

# Real-time PCRとcPCRの結果の比較

|     | 判定保留  |       |
|-----|-------|-------|
|     | 陽性に含む | 陰性に含む |
| 感度  | 93.8% | 83.1% |
| 特異性 | 95.9% | 100%  |





陽性

陰性

# H26年度レファレンス活動

- Real-time PCR法の導入
  - ✓ 参照RNAの配布、検出マニュアルの更新
- 精度管理の実施
  - Real-time PCR, conventional RT-PCR
    - ✓ 方法の確立
    - ✓ 被検品、参照品の搬送方法（安定性の確保、コスト）
- 検査状況の把握
  - ✓ 検査数、陽性数の把握
  - ✓ 麻疹、風疹遺伝子情報の共有 → 麻疹、風疹排除基準  
(麻しんに関する特定感染症予防指針)  
(風しんに関する特定感染症予防指針)

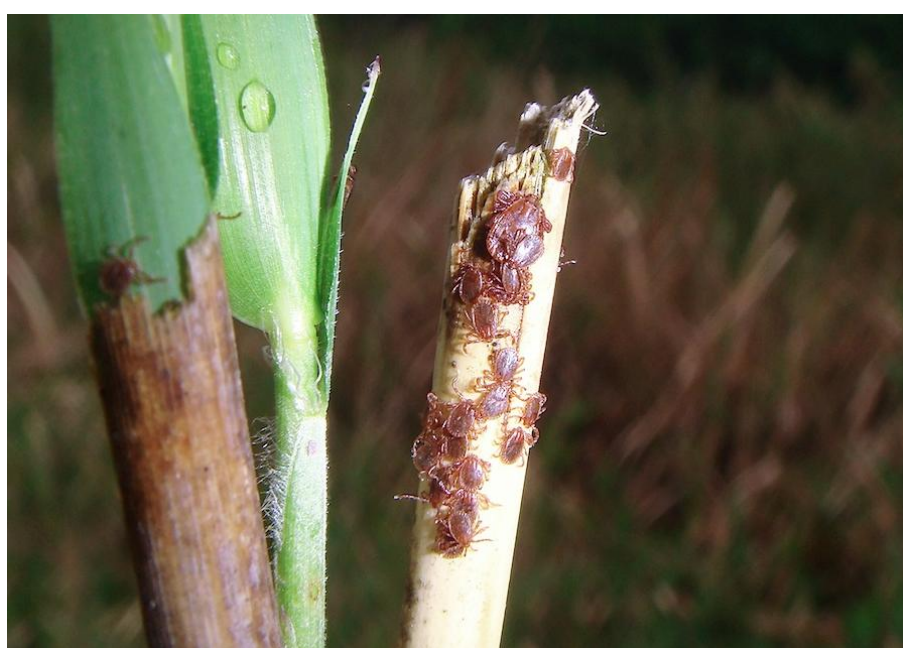


ご清聴ありがとうございました

# 15. リケツチア

# レファレンスセンター会議報告(リケッチア)

全国衛生微生物技術協議会, 2014年6月27日, 東京 船堀



- 北海道東北地区  
福島県衛生研究所  
青森県環境保健センター
- 東海北陸  
三重県保健環境研究所  
富山県衛生研究所
- 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
- 近畿ブロック  
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
- 中国・四国  
岡山県環境保健センター  
広島県総合科学研究所環境保健センター  
高知県衛生研究所
- 九州  
宮崎県衛生環境研究所  
鹿児島県環境保健センター

世話人 安藤秀二

国立感染症研究所ウイルス第一部第五室

shuando@nih.go.jp

# 会議内容

- **イントロ（情報共有：発生状況 等）**
- **情報提供（multiplex RealTime-PCR）**
- **情報提供（マダニ同定資料）**
- **情報提供（遺伝子検出用検体の採取法）**
- **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 (2013末現在)

| 99              | 0               | 01              | 02              | 03              | 04              | 05              | 06               | 07               | 08              | 09              | 10               | 11               | 12                | 13                |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| HepatisA<br>763 | つつが虫<br>病 791   | つつが虫<br>病 491   | HepatisA<br>502 | つつが虫<br>病 402   | つつが虫<br>病 313   | つつが虫<br>病 345   | レジオネ<br>518      | レジオネ<br>668      | レジオネ<br>884     | レジオネ<br>717     | レジオネ<br>751      | レジオネ<br>818      | レジオネ<br>889       | レジオネ<br>1111      |
| つつが虫<br>病 556   | HepatisA<br>381 | HepatisA<br>491 | つつが虫<br>病 338   | HepatisA<br>303 | レジオネ<br>161     | レジオネ<br>281     | つつが虫<br>病 417    | つつが虫<br>病 383    | つつが虫<br>病 447   | つつが虫<br>病 465   | つつが虫<br>病 407    | つつが虫<br>病 462    | つつが虫<br>病 436     | つつが虫<br>病 339     |
| マラリア<br>112     | マラリア<br>154     | マラリア<br>109     | レジオネ<br>167     | レジオネ<br>146     | HepatisA<br>139 | HepatisA<br>170 | HepatisA<br>320  | HepatisA<br>157  | HepatisA<br>169 | 日本紅<br>斑熱 132   | HepatisA<br>176  | 日本紅<br>斑熱 190    | デング熱<br>221       | デング熱<br>249       |
| レジオネ<br>56      | レジオネ<br>154     | レジオネ<br>86      | マラリア<br>83      | マラリア<br>78      | マラリア<br>75      | デング熱<br>74      | HepatitisE<br>71 | 日本紅<br>斑熱 98     | 日本紅<br>斑熱 135   | HepatisA<br>115 | デング熱<br>244      | HepatisA<br>176  | 日本紅<br>斑熱 171     | 日本紅<br>斑熱 175     |
| 日本紅<br>斑熱 39    | 日本紅斑<br>熱 38    | デング熱<br>50      | オウム病<br>54      | 日本紅<br>斑熱 52    | 日本紅<br>斑熱 66    | マラリア<br>67      | マラリア<br>62       | デング熱<br>89       | デング熱<br>104     | デング熱<br>93      | 日本紅<br>斑熱 132    | デング熱<br>113      | HepatisA<br>157   | HepatitisA<br>127 |
|                 |                 | Q熱<br>42        | デング熱<br>52      | オウム病<br>44      | デング熱<br>49      | 日本紅<br>斑熱 62    | デング熱<br>58       | HepatitisE<br>54 | マラリア<br>57      | マラリア<br>56      | マラリア<br>70       | マラリア<br>78       | HepatitisE<br>121 | HepatitisE<br>126 |
|                 |                 | 日本紅<br>斑熱 40    | Q熱<br>47        | デング熱<br>32      |                 |                 | 日本紅<br>斑熱 49     | マラリア<br>52       |                 |                 | HepatitisE<br>66 | HepatitisE<br>61 | マラリア<br>72        | マラリア<br>48        |
|                 |                 |                 | 日本紅<br>斑熱 36    |                 |                 |                 |                  |                  |                 |                 |                  |                  |                   |                   |
| Lyme<br>14      | Lyme<br>12      | Lyme<br>15      | Lyme<br>15      | Lyme<br>5       | Lyme<br>5       | Lyme<br>8       | Lyme<br>13       | Lyme<br>11       | Lyme<br>5       | Lyme<br>9       | Lyme<br>11       | Lyme<br>9        | Lyme<br>12        | Lyme<br>20        |
|                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                  |                  |                 |                 |                  |                  | RF<br>1           | RF<br>1           |
|                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                  |                  |                 |                 |                  |                  |                   | SFTS 48           |
| JE<br>5         | JE<br>7         | JE<br>5         | JE<br>8         | JE<br>1         | JE<br>5         | JE<br>7         | JE<br>7          | JE<br>10         | JE<br>3         | JE<br>3         | JE<br>4          | JE<br>9          | JE<br>1           | JE<br>9           |
|                 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |                  |                  |                 |                 |                  | CG<br>10         | CG<br>10          | 3 CG<br>13        |

## マダニ媒介

## ツツガムシ媒介

## ノミ媒介

SFGR

*R. japonica*(日本紅斑熱)

*O. tsutsugamushi*(つつが虫病)

*R. typhi*(発疹熱)

*R. helvetica*

*R. heilongjiangensis*(極東紅斑熱)

*R. tamurae*

*A. phagocytophilum*

*B. afzerii*(ライム病)

*B. garinii*(ライム病)

*B. miyamotoi*(新興回帰熱)

TBEv(ダニ媒介性脳炎)

SFTSv(重症熱性血小板減少症候群)

バベシア

IASR

日本紅斑熱を疑われ血清診断にて発疹熱と診断した1例

(IASR Vol. 34 p. 313-315: 2013年10月号)

発疹熱は、主にネズミノミが媒介する発疹熱リケッチア(*Rickettsia typhi*)によっておこる感染症で、発熱、頭痛、発疹、関節痛などの症状を認める<sup>1)</sup>。近年では日本国内での発生報告例は稀で、海外からの輸入例の報告が散見される程度である。西日本での夏を中心としたリケッチア感染症としては、日本紅斑熱が数例しており、淡路島においても年に数例の発症をみている。今回我々は、発熱、発疹、咽し口の腫大症状より、当初は日本紅斑熱を疑って加療を行ったが血清診断にて*R. typhi*の抗体価上昇を認め、発疹熱と診断した症例を経験したので報告する。

症 例

70代男性。宮城県在住。海外渡航歴なし。職業は、観光牧場での運転業務。特にネズミとの接触歴なし。2013年6月に、発熱とともに全身に痒痒感のない皮疹が出現。全身倦怠感、食欲不振も出現してきた。症状が改善しないため当院皮膚科を受診したが、肝造酵素上昇も認め、当科を紹介受診した。入院体察にびまん性に紅斑が散在し、左そけい部、右膝窩部に点刺度を認めた。初診時の血液検査では白血球数14,980/mm<sup>3</sup>、好中球(Si8% Seg 86%)、血小板11.3万/mm<sup>3</sup>、CRP 20 mg/dL、プロカルシトニン12.3 ng/mL、AST 89 IU/L、ALT 95 IU/L、LDH 425 IU/L、FDP 34 μg/mL、BUN 51.6 mg/dL、Cr 1.53 mg/dLと、白血球上昇、核の左方移動、CRP、プロカルシトニンの上昇と何らかの細菌感染を疑わせる所見。肝造酵素の上昇、腎臓病、播種性血管内凝固症候群(DIC)の所見を認めた。

季節的、地理的  
を開始したところ  
前日より黒色便  
にも再度下血、  
前日にHb 4.2 g/l  
8割日、第10割日  
行った。その後  
10割日まで投与

| 発生年  | 発生地域      | 発表                                                         |
|------|-----------|------------------------------------------------------------|
| 1977 | 長崎県<br>対馬 | 坪井義昌 他, 昭和52年国立予防衛生<br>研究所年報 110, 1978                     |
| 1986 | 福島県       | 藤田博己 他, 大原綜合病院年報50:<br>37-40, 2010                         |
| 1994 | 福井県       | 高木和貴 他, 感染症学雑誌75: 341-<br>344, 2001                        |
| 1997 | 鳥取県       | 常井幹生 他, 第61回山陰小児科学会<br>1998                                |
| 2003 | 徳島県       | Sakaguchi S, et al., Emerg Infect Dis 10:<br>964-965, 2004 |

\* 特定疾患に固執することのない対応が重要。

1950年代以降の国内発生



# multiplex RealTime-PCR(SFGR & Scrub typhus)

Primers and probes used in this study

| Assay format               | Gene<br>target | Amplicon<br>size (bp) | Primer<br>or probe | Sequence (5' to 3') |
|----------------------------|----------------|-----------------------|--------------------|---------------------|
| Multiplex<br>real-time PCR | 16S rRNA       | 120                   | OR-F               | 投稿準備中               |
|                            |                |                       | OR-R               |                     |
|                            |                |                       | Ot-FAM             |                     |
|                            |                |                       | Rj-VIC             |                     |

## Master Mix

Multiplex real-time PCR用試薬としてPremix Ex Taq™ (Perfect Real Time)(タカラバイオ)を使用し, primer各0.3μM, MGB probe各0.2μM, Premix Ex Taq用buffer 12.5μlおよびROX Reference Dye II (50×)を0.5μlを蒸留水と混合し, 1 tube当たり22.5μlとした. Template 2.5μl

## 反応条件

95℃で30秒加熱後, 95℃で5秒, 60℃で40秒を45回

開発: 静岡県、検証参加施設; 秋田県、福島県、広島県、宮崎県、感染研

# Reactivity of multiplex real-time PCR for *Rickettsial* agents

| Species                             | Strain       | Isolation source                 | Multiplex realtime PCR |
|-------------------------------------|--------------|----------------------------------|------------------------|
| <i>Orientia tsutsugamushi</i>       | Gilliam      | Human                            | +(Ot-FAM)              |
| <i>Orientia tsutsugamushi</i>       | Karp         | Human                            | +(Ot-FAM)              |
| <i>Orientia tsutsugamushi</i>       | Kato         | Human                            | +(Ot-FAM)              |
| <i>Orientia tsutsugamushi</i>       | Kawasaki     | Human                            | +(Ot-FAM)              |
| <i>Orientia tsutsugamushi</i>       | Kuroki       | Human                            | +(Ot-FAM)              |
| <i>Orientia tsutsugamushi</i>       | Shimokoshi   | Human                            | +(Ot-FAM)              |
| <i>Orientia tsutsugamushi</i>       | JP-2:Sato    | Human                            | +(Ot-FAM)              |
| <i>Orientia tsutsugamushi</i>       | JG-Kasei     | Human                            | +(Ot-FAM)              |
| <i>Rickettsia asiatica</i>          | IO-1         | <i>Ixodes ovatus</i>             | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia conorii</i>           | Malish 7     | Human                            | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia heilongjiangensis</i> | CH8-1        | <i>Haemaphysalis concinna</i>    | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia helvetica</i>         | IP-1         | <i>Ixodes persulcatus</i>        | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia honei</i>             | TT-118       | <i>Ixodes</i> sp.                | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia japonica</i>          | YH           | Human                            | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia japonica</i>          | FT           | Human                            | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia rickettsii</i>        | Sheila Smith | Human                            | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia sibirica</i>          | 246          | Human                            | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia tamurae</i>           | AT-1         | <i>Amblyomma testudinarium</i>   | +(Rj-VIC)              |
| <i>Rickettsia typhi</i>             | Wilmington   | Human                            | –                      |
| <i>Rickettsia</i> sp. LON           | LON-2        | <i>Haemaphysalis longicornis</i> | +(Rj-VIC)              |
| <i>Anaplasma phagocytophilum</i>    |              |                                  | –                      |
| <i>Ehrlichia chaffensis</i>         |              |                                  | –                      |
| <i>Ehrlichia muris</i>              |              |                                  | –                      |

## リケッチア症の遺伝子検査検体

紅斑熱群リケッチア(日本紅斑熱): 痂皮(Eschar) > 紅斑部生検 >> 急性期血液\*

つつが虫病: 痂皮(Eschar) > 紅斑部生検 ≥ 急性期血液\*

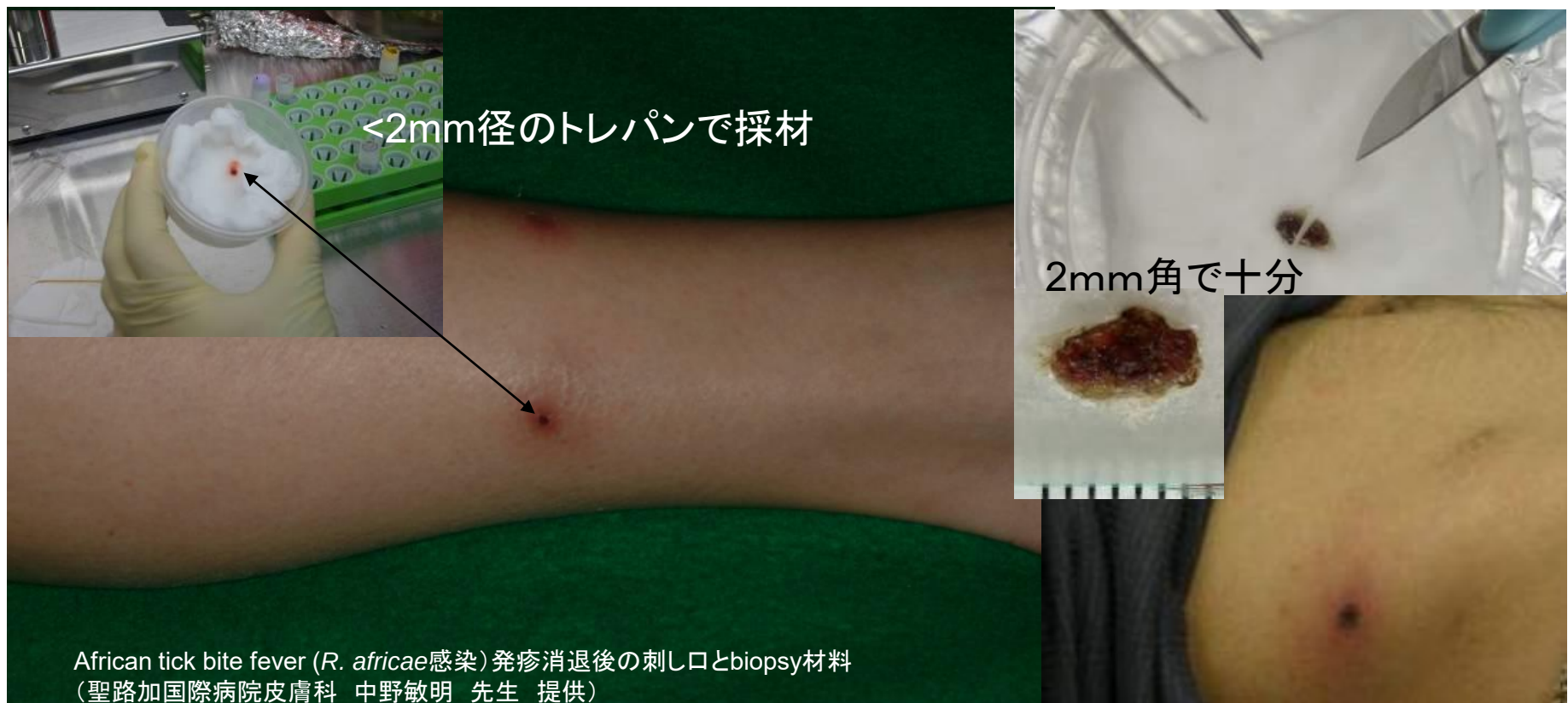
発疹チフス群リケッチア: 紅斑部生検 ≡ 急性期血液

\* 血液は抗菌薬投与前

検査への提出は,

○痂皮等は乾燥しない程度に生食等で湿らせたガーゼ等に包んで検査室に。

○セーラムチューブやスピッツ等では綿球を使うと便利。



# 活動状況（役割）

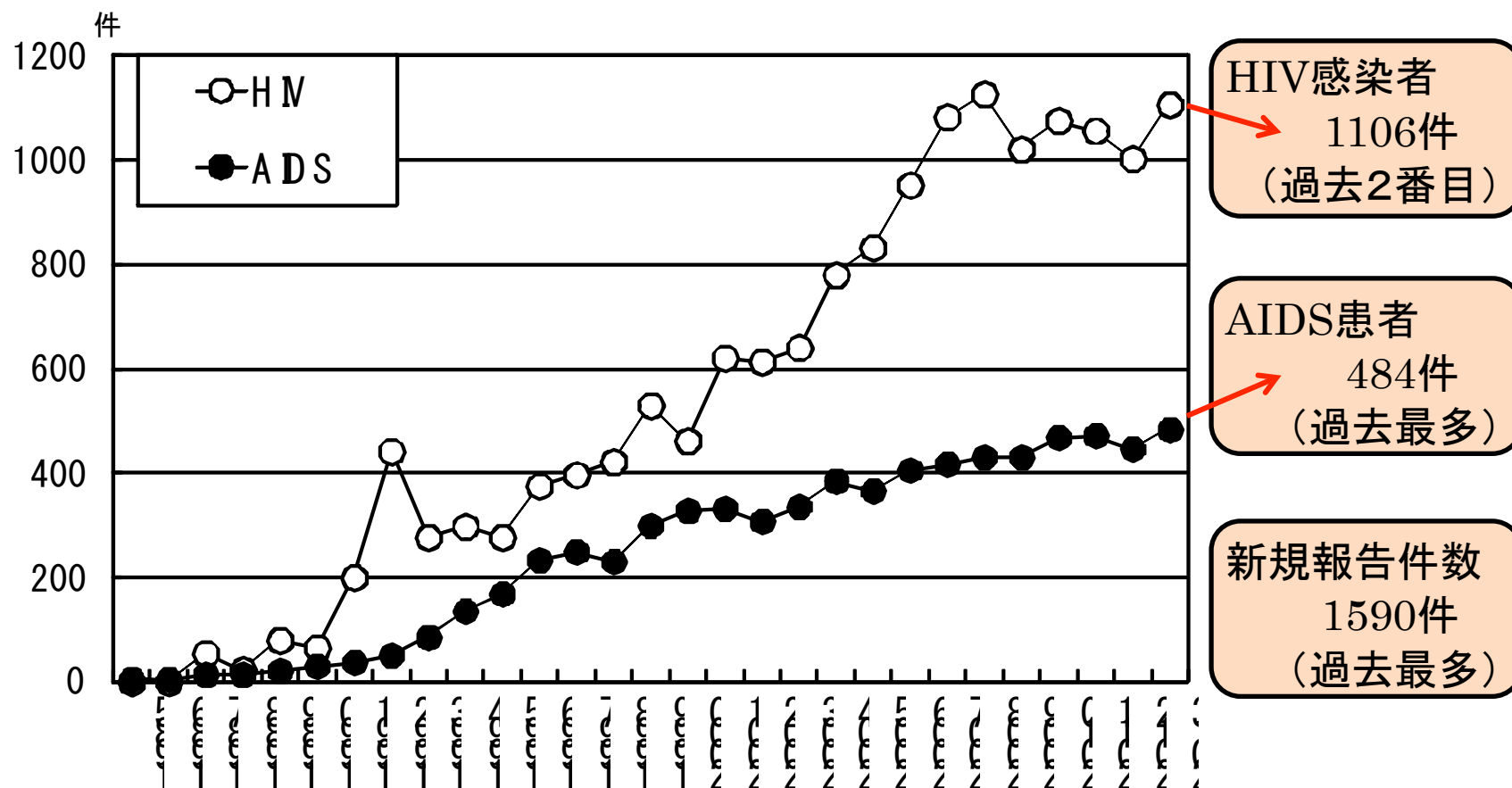
- － 標準株、分離株の維持（リスク分散）。
- － 診断用抗原並びにPCR陽性コントロールの分担作製と供給。
- － 実験室診断技術の相互評価（技術の維持）
- － 新規診断法等の相互評価。
- － 疫学情報、診断情報の収集・分析と共有。
- － 緊急時のバックアップ体制
- － 検査マニュアルの作成、改訂
- － 検査技術の研修
- － その他

## 16. HIV関連

衛生微生物技術協議会  
第35回研究会  
レファレンスセンター等報告会

13 HIV関連

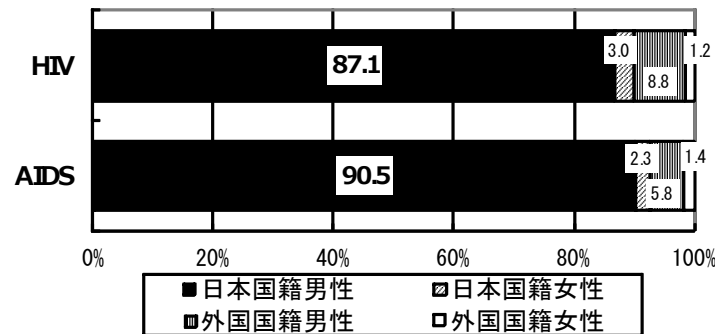
## 動向：HIV感染者およびAIDS患者の年次推移



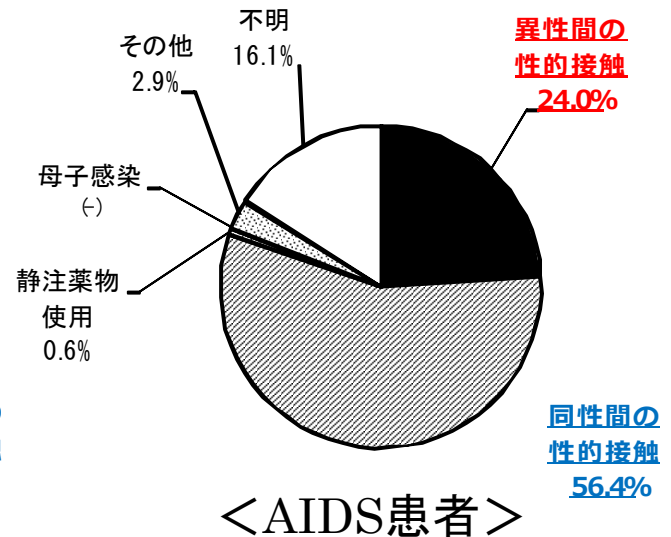
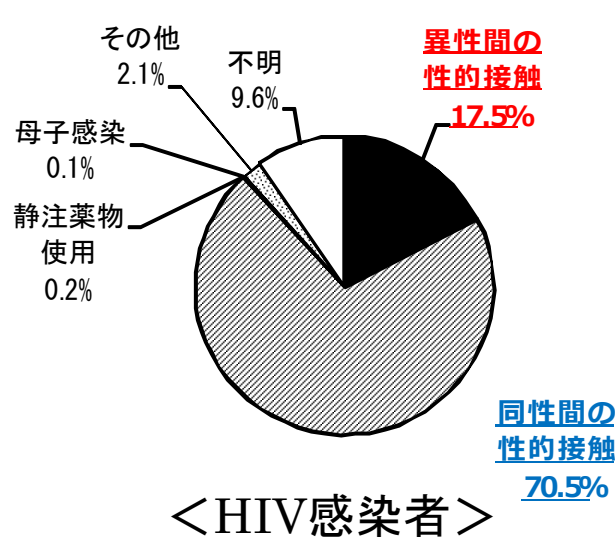
(2013年 エイズ発生動向—概要— (厚生労働省エイズ動向委員会発表)より引用)

# 動向：新規報告例の国籍・性別・感染経路内訳

## a) 国籍・性別



## b) 感染経路



(2013年 エイズ発生動向—概要— (厚生労働省エイズ動向委員会発表)より引用)



## 動向：年齢別HIV感染者およびAIDS患者報告数

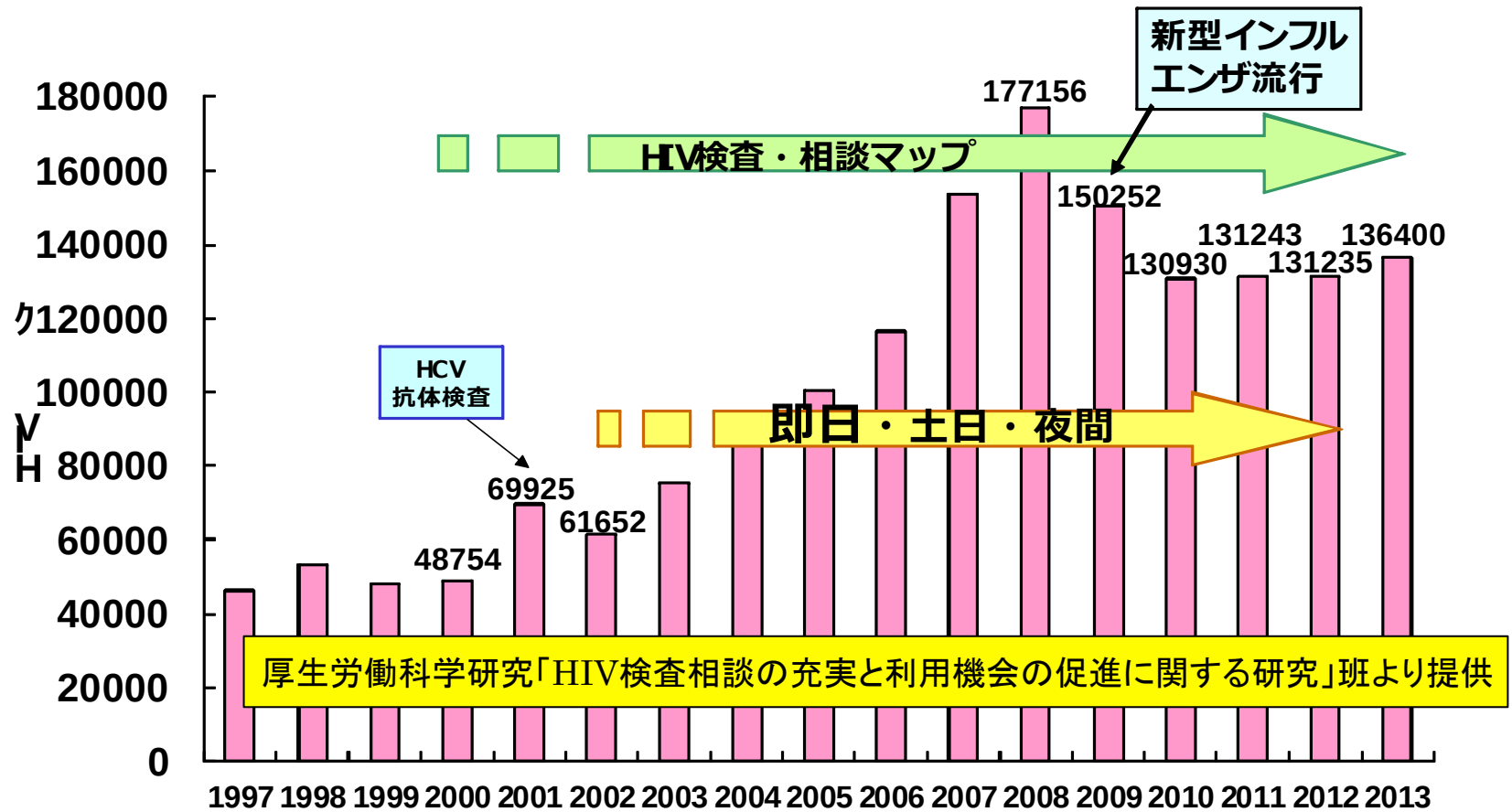
---

「年齢では、HIV感染者は20歳代、30歳代に集中しており、AIDS患者では20歳以上に幅広く分布し、特に30歳代、40歳台に多い。60歳以上のHIV感染者(70件)及びAIDS患者(79件)報告数がいずれも過去最多となった。」(2013年 エイズ発生動向 -概要- より)



中高年層がAIDSを発症する前に検査にアクセスしやすくなるような対策が必要では？

# 検査体制：保健所等無料HIV検査の検査数(1997 - 2003)



2013年、HIV感染者に対する保健所陽性数の占める割合：453 / 1106 (41%)

## 検査体制：保健所・特設検査機関（アンケート調査）・民間クリニック

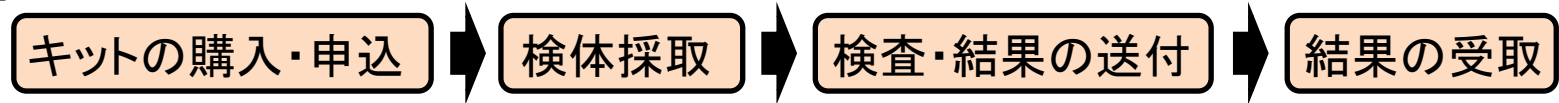
---

|                   | 保健所 (493 / 579, 85%) | 特設検査機関 (18 / 23, 78%) |
|-------------------|----------------------|-----------------------|
| 2013年に陽性結果があった施設数 | 113 / 493 (23%)      | 15 / 18 (83%)         |
| 陽性件数              | 240 / 93,408 (0.26%) | 142 / 23,318 (0.6%)   |
| 陽性結果を伝えられた件数      | 224 / 240 (93%)      | 132 / 142 (93%)       |
| 受診したことを把握できた件数    | 185 / 240 (77%)      | 112 / 142 (79%)       |

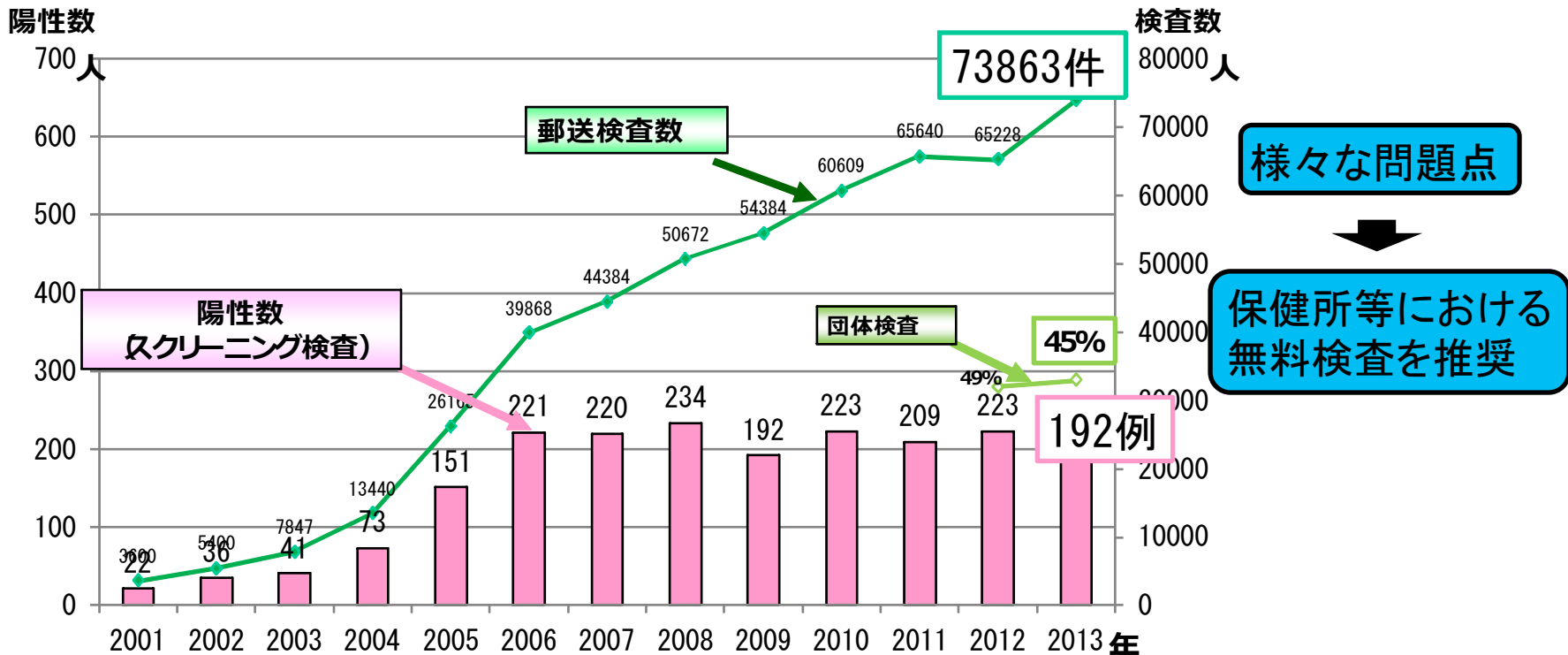
※他に民間クリニックへの即日検査導入支援：2014年2月現在、14都道府県に36箇所

# 検査体制：HIV郵送検査の動向

## a) 流れ



## b) 検査数と検査陽性数の推移



厚生労働科学研究「HIV検査相談の充実と利用機会の促進に関する研究」班より提供

# HIV薬剤耐性の動向

---

※ 近年、抗HIV薬開発の進歩と多剤併用療法の確立、良好な服薬アドヒアランスの維持により、耐性変異出現頻度は下がってきており、新たな深刻な薬剤耐性変異の問題は報告されていない。

※ 全国薬剤耐性調査ネットワーク(2003-)により収拾されている遺伝子配列の調査の結果から、国内における薬剤耐性変異の保有頻度は約10%であり、耐性変異を持つウイルスが、未治療・未診断者を介して限局した集団の中で拡大・定着している傾向が観察されている。

# 第25回HIV検査法(PCR法等)技術研修会

---

## プログラム(案)

### 日時

平成26年10月8日(水)～ 10月10日(金)

### 実習内容

「KK-TaqMan」・・・定量PCR  
「薬剤耐性検査」・・・シーケンシング  
「HIV-1の臨床現場の見学」

### 講義内容

「HIVの基礎知識」  
「HIVの遺伝子検査」  
「シーケンスの原理」  
「HIV検査法概要」  
「HIV-2の検査」  
「HIV-1感染症治療と薬剤耐性」  
「系統樹解析とサブタイピング」

診断技術の維持・向上と  
情報交換を目的とする。  
(IASR, 34:256-257, 2013)



感染急性期等、抗原陽性で  
抗体陰性または弱陽性のため  
ウエスタンブロット法による  
確認検査が困難な場合や、  
感染母体からの新生児の  
感染診断に有用。