

衛生微生物技術協議会第36回研究会（仙台） レファレンスセンター等報告

日時：平成27年7月23-24日

場所：宮城県仙台市青葉区 仙台国際センター

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)
大阪府立公衆衛生研究所	(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)

エンテロウイルスレファレンスセンター業務(H26年実績)

ウイルス分与	1衛研(3種類)
抗血清分与	8衛研(39種類)
細胞分与	8衛研(RD-A:6衛研、HEp2:5衛研、L20B:1衛研)

保健医療科学院ウイルスコース実習(ポリオ担当)

ポリオ行政検査:2件

その他

感染症流行予測調査事業ポリオ感染源調査(環境水調査)、感受性調査(抗体保有率調査)取りまとめ

環境水:H26年19か所(うち事業が14か所)→H27年18か所(うち16か所が事業)

感受性:H26年8地区→H27年度8地区

平成27年4月15日健感発0415第3号結核感染症課長通知
「ポリオウイルスに関するサーベイランス等について」

エンテロウイルス内部精度管理SOP作成ワークショップ(厚生科研費宮崎班)

法改正にかかわるポリオ検査SOP(準備中)

会議の内容

- 2014-15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)
- ポリオ環境水調査による結果サマリー
- 国内ポリオウイルスワクチン株の検出について
- ポリオウイルス封じ込めについて

検査施設におけるポリオウイルス病原体管理 (WHO GAP III対応)

WHO global action plan to minimize poliovirus facility-associated risk after type-specific eradication of wild polioviruses and sequential cessation of OPV use (GAP III, December 2014)

■ポリオウイルス病原体管理の厳格化 (GAP III 基準)

- ✓血清型特異的(2型)ポリオウイルス病原体管理
- ✓世界的tOPV接種停止のための条件のひとつ
- ✓野生株、VDPVだけでなく2型ワクチン株(OPV株)も対象
- ✓ウイルス株だけでなく感染性材料も対象 (検体のリスク評価による)
- ✓保有施設(野生株、ワクチン株)に応じたバイオリスクマネジメント基準の適用
- ✓ポリオウイルス保有施設を出来るだけ減らすための具体的な活動の一環

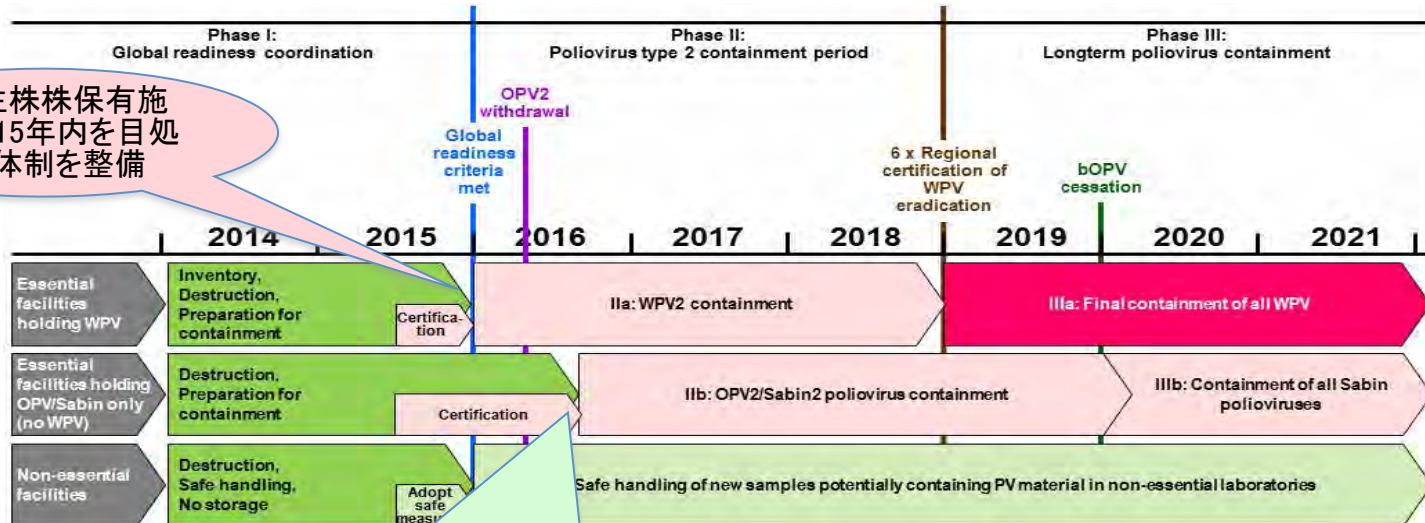


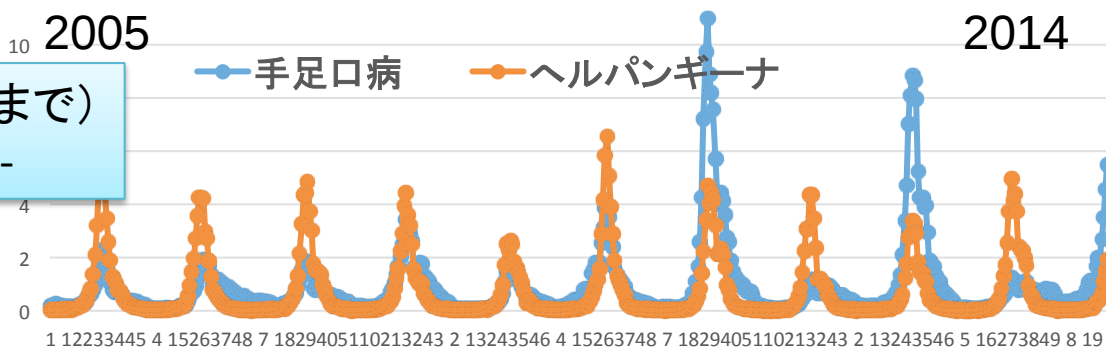
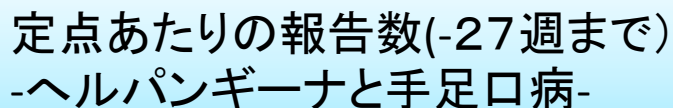
Figure 1: Containment requirements

2型野生株保有施設は2015年内を目処に管理体制を整備

2型ワクチン株(Sabin 2株)保有施設は2016年7月を目処に管理体制を整備

The National Regulatory Agencies for Containment in Japan
厚労省結核感染症課 ポリオ担当、清水(感染研)

NESIDデータを加工
2015.27週まで
7/6アクセス

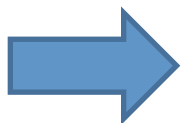


2015.07.16現在のNESID登録サマリー(エンテロのみ。2015年1月から) 年齢と血清型の分布

年齢	CA 2	CA 4	CA 6	CA 10	CA 16	EV 71	EV 68	CA 9	CB 1	CB 3	CB 4	CB 5	E 11	E 16	E 18	E 25	E 3	E 6	E 7	E 9	EV NT	報告 数
0	2	1	10	6	19		1	4		4		1	3	1	7	2	5		1		4	71
1		2	35	18	57			10	2		1	1	3		14	4	7				14	168
2	2		19	5	53			5			1		3		2	1					3	94
3		1	2	8	23			3		1	1				2		1				3	45
4			1	6	15			2		1					3	1	1			1	2	33
5			2		7			1					1		1			1			2	15
6			1	4	3	1				1			1			1					1	13
7					4								1		1							6
8				2	1								1								1	5
9				1	2															1	1	5
10					1										2							3
11					1								1					1				3
12													1									1
13				1																		1
19																					1	1
26															1							1
30														2								2
61															1							1
62																	1					1
不明			3																			3
total	4	4	73	51	186	1	1	25	2	7	3	2	15	3	34	9	15	2	1	2	32	472

2014年、ポリオウイルスワクチン株が異なる時期に、異なる2か所で分離されていた。

- 感染症流行予測調査事業(環境水調査)にて2014年10月1日採水分の環境水濃縮検体より3型ワクチン株が分離。翌月以降は検出なし。
- 感染症発生動向調査事業にて、感染性胃腸炎患者(11月4日検体採取)より、1型ワクチン株が分離。本例は10月海外渡航先でワクチン接種歴有り



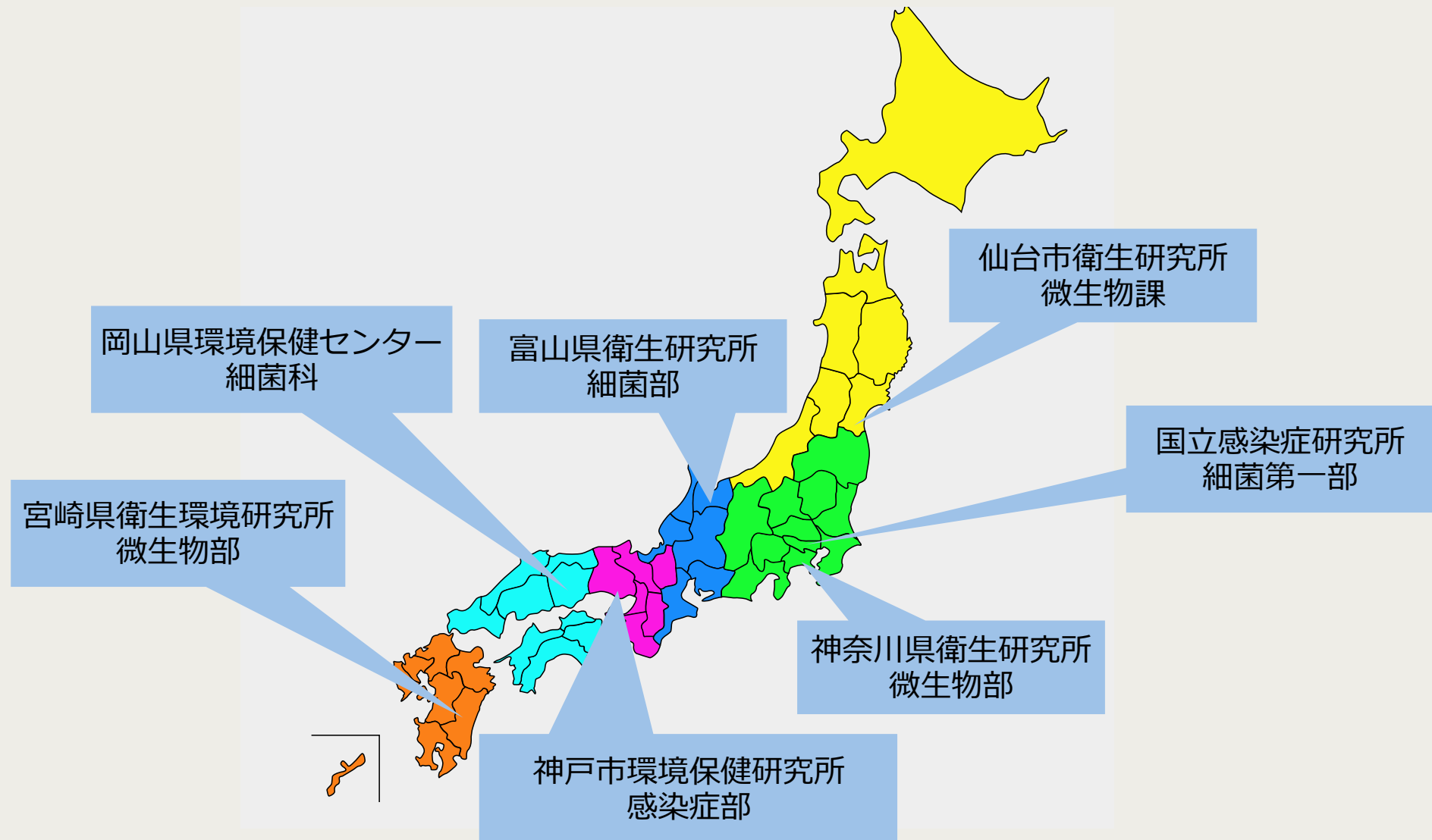
型内鑑別を感染研で実施しワクチン株であることを確定

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

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

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回研究会
平成27年7月24日 仙台

最近のレジオネラ症集団感染事例

年月	感染源	地域	PFGE	確定患者数	血清群	ST	Group
2012.11	温泉	山形県	確定	3	1	138	B3
2012.11-12	温泉	埼玉県	確定	9	1	1452	B2
2013.4	循環式浴槽（高齢者福祉施設）	宮崎県	確定	2	1	23	S1
2014.5	温泉	埼玉県	確定	3	1	New	B2
2014.8	温泉	静岡県		8	1	不分離	
2015.5	公衆浴場	岩手県	確定	13	1	679/23	S1/S1
2015.5-6	温泉 オープン直後	神奈川県	確定	7	1		

シャワー水から6,000 CFU/100mL

「循環式浴槽におけるレジオネラ症 防止対策マニュアル」の改正

健衛発0331第7号

平成27年3月31日

- 厚生労働科学研究で最新の知見等が得られていること等を踏まえている。（平成13年以来の改正）
- プール施設内の同様設備の管理も準ずる。
- 社会福祉施設の担当部署へも情報提供された（6月22日）。

「循環式浴槽におけるレジオネラ症 防止対策マニュアル」の改正

健衛発0331第7号

平成27年3月31日

- レジオネラ検査法や、消毒法の記述をより分かりやすく（シャワーの清掃についても言及）。
- （新）ATP測定による洗浄効果の判定。
- （新）レジオネラ迅速検査（遺伝子検査）法。

Bio Ballを用いたレジオネラ検査法の 外部精度管理の実施

- 一昨年39, 昨年41の全国地方衛生研究所が参加。
- 昨年は検査法を指定し、成績良好となった。
- 今年度は、細菌検査精度管理サーベイを行っている日水製薬が、**レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ**を行う（**参加費2.5～3万円**を予定）。
- 地方衛生研究所は、**厚生労働科学研究費**により、**レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ**に、参加できる（詳細は決まり次第、お知らせします）。

DDHレジオネラ‘極東’が製造中止 25菌種（2014年12月で）

- 市販されている免疫血清は5菌種。
- レファレンスセンターで市販されていない
5 菌種の免疫血清を製造委託し、配布。
- さらに2菌種を製造委託するか？

レジオネラレファレンスセンターでは、
レジオネラ臨床分離株を収集しています。

積極的な喀痰からの菌分離の
取り組みの紹介（富山衛研）

収集臨床分離株の内訳

2015年3月末日現在

<i>L. pneumophila</i> 375株 (97.9%)		<i>L. dumoffii</i> 1株 (0.3%)
SG1 323株 (84.3%)	SG9 4株 (1.0%)	<i>L. feeleii</i> 1株 (0.3%)
SG2 7株 (1.8%)	SG10 2株 (0.5%)	<i>L. londiniensis</i> 1株 (0.3%)
SG3 14株 (3.7%)	SG12 2株 (0.5%)	<i>L. longbeachae</i> 4株 (1.3%)
SG4 3株 (0.8%)	SG13 1株 (0.3%)	<i>L. rubrilucens</i> 1株 (0.3%)
SG5 7株 (1.8%)	SG14 1株 (0.3%)	
SG6 8株 (2.1%)	SG15 1株 (0.3%)	
SG8 1株 (0.3%)	UT* 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 383株 (100%)

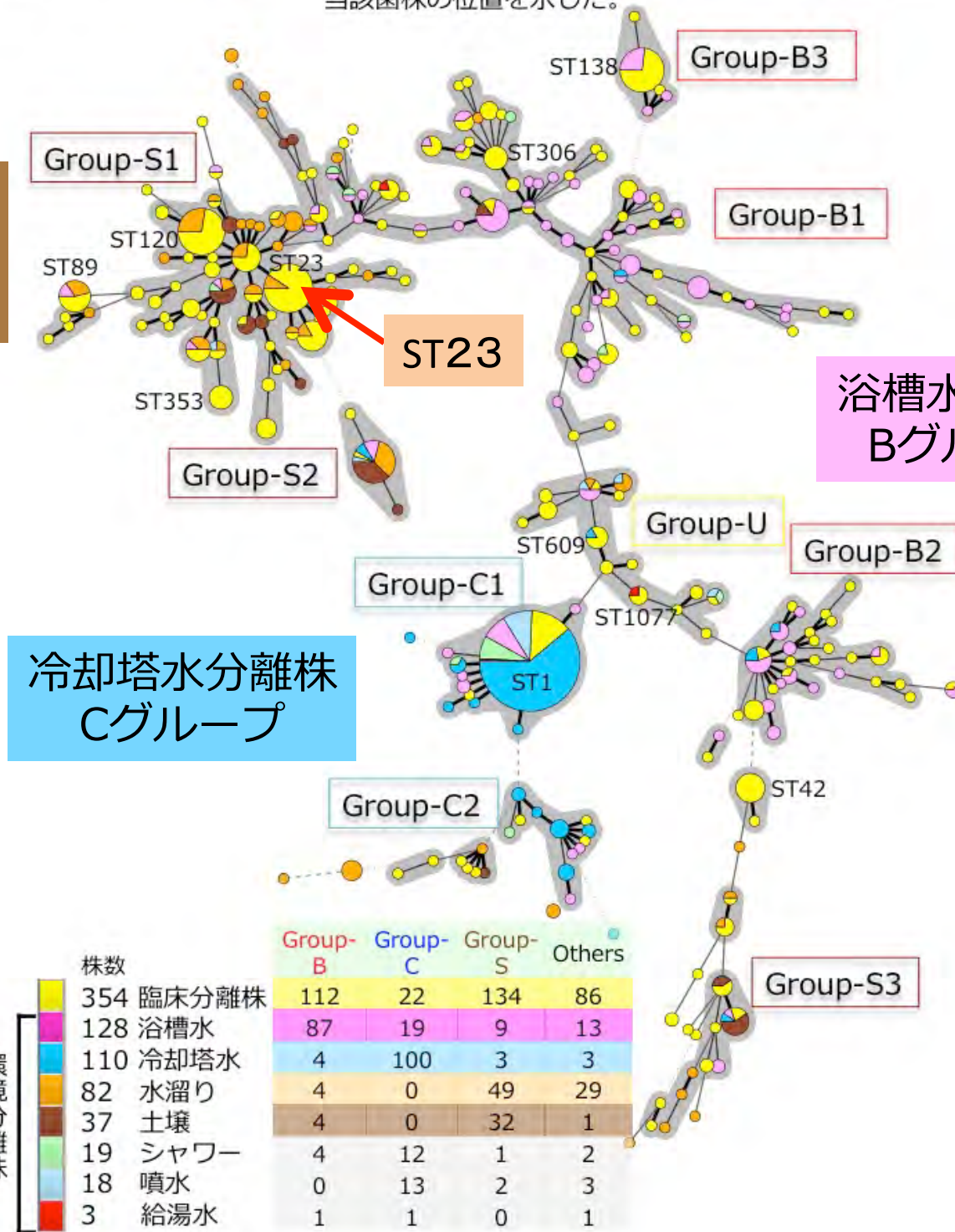
*L. pneumophila*臨床分離株の
遺伝子型別を行い、結果を還元
しています。

昨年のレファレンス会議以降、
遺伝子型の数字だけでなく、
報告書に図を付けています。

L. pneumophila 血清群1 (751株) の minimum spanning tree 図

当該菌株の位置を示した。

土壌・水溜り
分離株
Sグループ



レジオネラDNAの検出による確定診断 が少しずつ増加。

Loopampレジオネラ検出試薬キットC

- 喀痰中のレジオネラ属菌を迅速・簡便に検出。
- *L. pneumophila*血清群1以外も検出可能。
- 培養陰性の場合でもレジオネラDNAが検出可能。

環境分離株と比較できる

3. アルボウイルス

アルボウィルスレファレンス センター報告

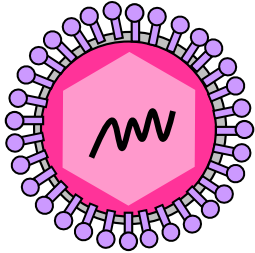


2015年7月24日(日)
国立感染症研究所
ウイルス第一部
高崎智彦

国内流行発生後のアルボウイルスセンター関連検査に関する動き

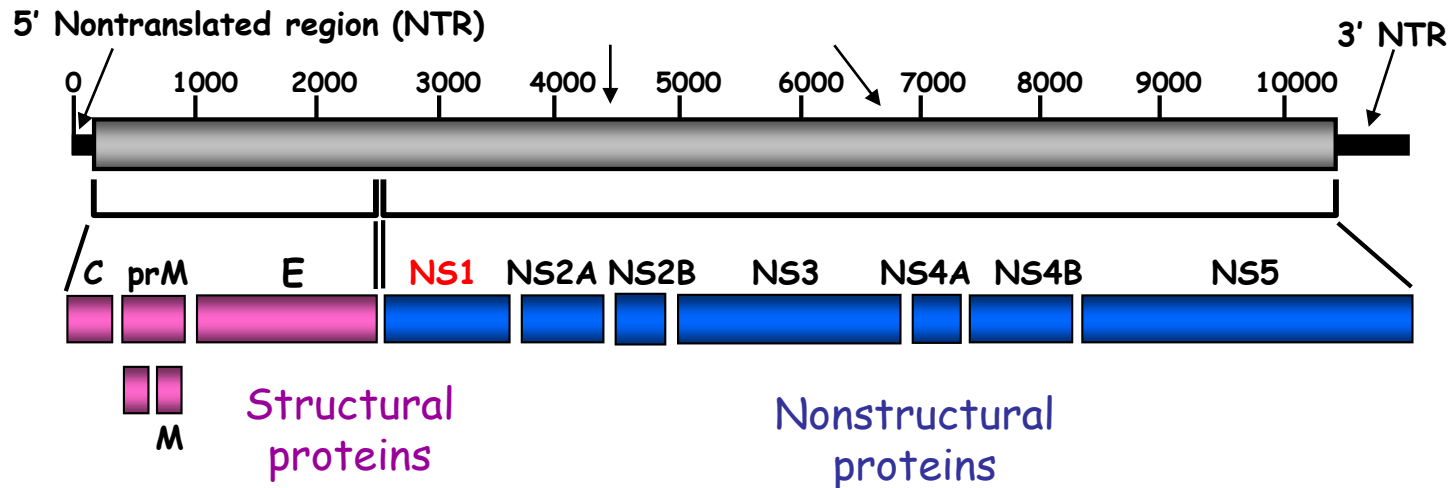
1. NS1抗原イムノクロマトキットを79地方衛生研究所に配布。2014年9月
2. デングウイルスリアルタイムPCR用プライマー&プローブをアルボウイルスセンターを通じて配布。2015年3月
3. チクングニアウイルスリアルタイムPCR用プライマー&プローブを79地方衛生研究所に配布。2015年3月
4. 陽性コントロールRNAを希望する施設送付した。

フラビウイルスの構造について



プラス鎖RNAウイルス(11kb長)

3つの構造蛋白、7つの非構造蛋白、非翻訳領域から構成される



NS1(non-structural protein 1)抗原は、46kDのタンパクであり、デングウイルス感染哺乳類細胞質内、細胞膜表面に発現するとともに感染細胞から分泌されるウイルス抗原である。

リアルタイムRT-PCR TaqMan法 プライマー・プローブの更新

- デングウイルス3型用をprM領域に設定し直し更新した。3月に配布したものはこの更新版である。
- 日本脳炎ウイルス遺伝子1型、3型共通TaqMan様はNS5領域に設定し直した。35サイクル以降に生じやすい非特異現象が解消された。

デングウイルスNS1イムノクロマトキット

NS1抗原陽性バンド



かなりくっきりしたバンドが出ることが多い！

非特異反応がおきやすい検体

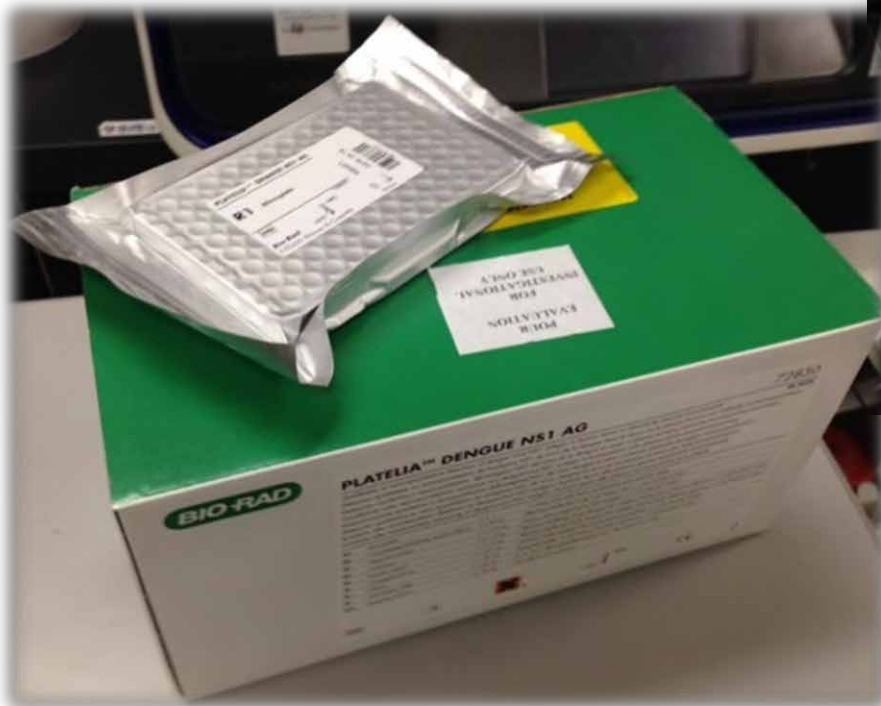
- リュウマチ因子陽性(3/25)
- 抗核抗体陽性(1/10)
- 妊婦(1/40)

- γ -グロブリン製剤投与患者には注意
- 敗血症患者にも注意

念のために、2週間以内の黄熱ワクチン接種歴も確認しておく。日本脳炎不活化ワクチンは問題ない。

ELISAにはReaderが必要です

デングウイルスNS1抗原検出ELISAキット

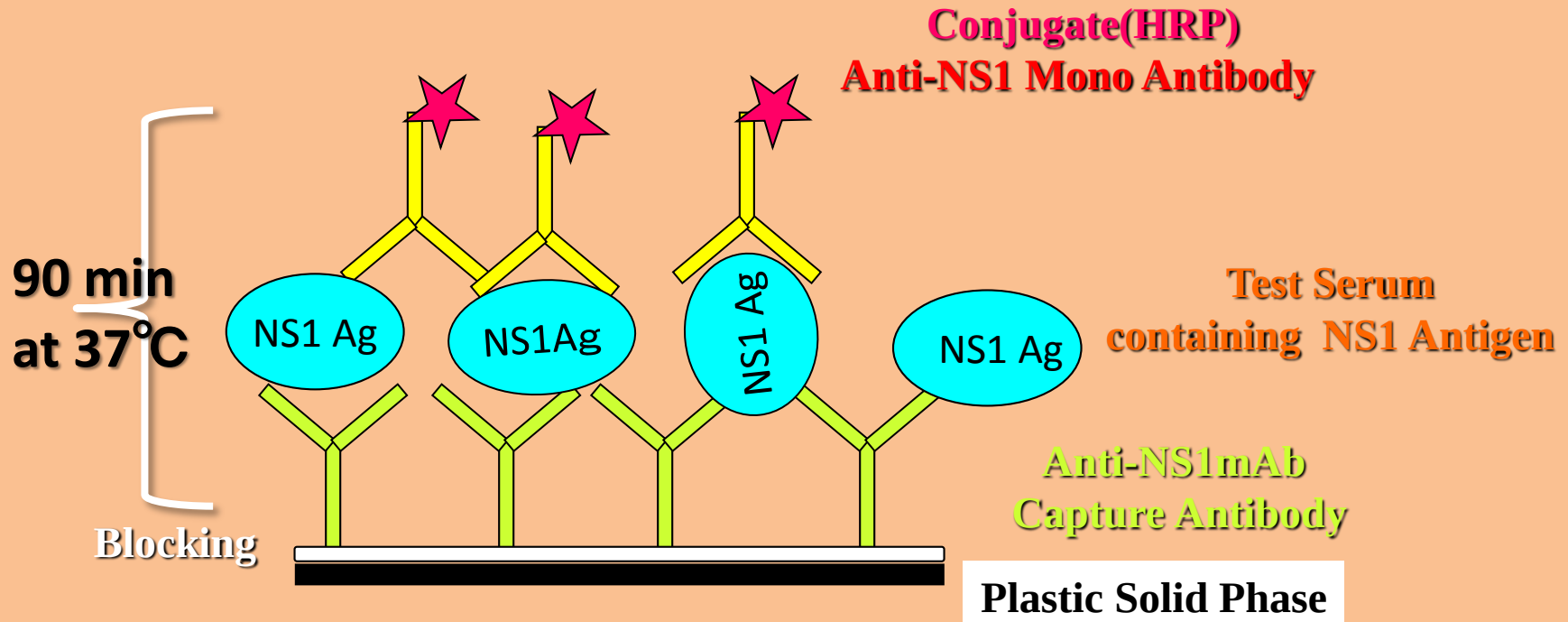


ELISA reader (吸光度を測定する)

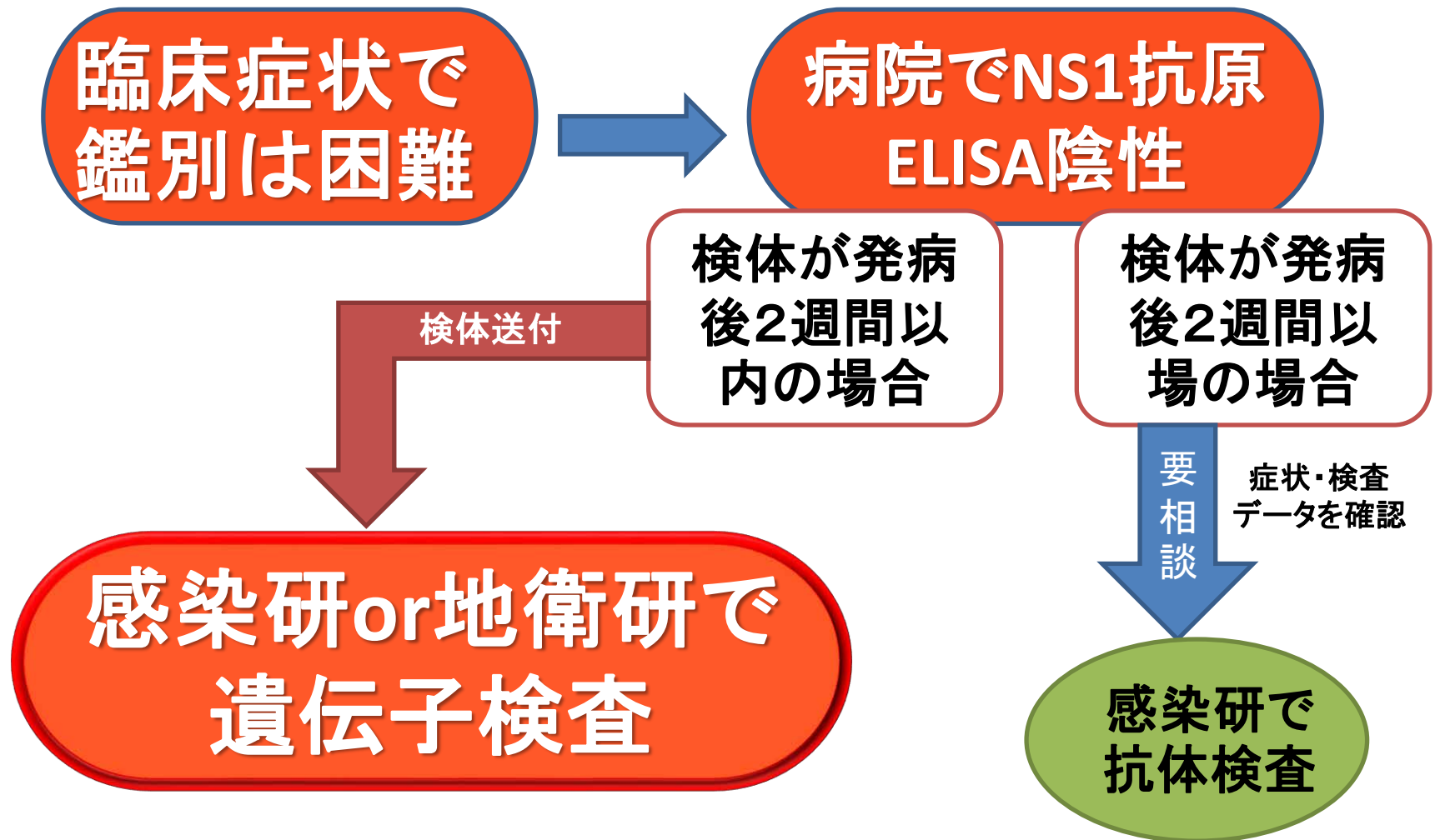
Dengue virus NS1 ELISA

NS1抗原検査ではウイルス型別は決定出来ない

Substrate (TMB)
30min at RT



デング熱、チクングニア熱 鑑別のためのフローチャート



(議題)

- 1、デングウイルス、チクングニアウイルス プライマー・プローブ配布状況の確認
- 2、デングウイルス NS1 抗原検査についての情報共有
- 3、ウイルス遺伝子解析について
- 4、日本脳炎ウイルス リアルタイム RT-PCR 用プライマー・プローブについて
- 5、2015 年第 27 週現在のデング熱、チクングニア熱情報

デングウイルス用 primers and probe (TaqMan RT-PCR)

Sub-type	Primer and TaqMan Probe Name	Sequence (5' -3')	Size Gene	Gene
type 1	D1MGBEn469s forward D1MGBEn493p* probe D1MGBEn536r reverse	GAACATGGRACAAYTGCAACYAT ACACCTCAAGCTCC CCGTAGTCDGTCAGCTGTATTCA	67	E
type 2	D2MGBEn493s forward D2MGBEn545p* probe D2MGBEn568r reverse	ACACCACAGAGTTCCATCACAGA CGATGGARTGCTCTC CATCTCATTGAAGTCNAGGCC	68	E
type 3	DEN-3(4P) forward DEN3p-Barbara DEN-3(4P) reverse	GGA CTG GAC ACA CGC ACT CA FAM-ACC TGG ATG TCG GCT GAA GGA GCT TG-TAMRA CAT GTC TCT ACC TTC TCG ACT TGT CT	73	prM
type 4	D4TEEn711s forward D4TEEn734p** probe D4TEEn786c reverse	GGTGACRTTYAARGTHCCTCAT FAM-CCAAGAGACAGGATGTGACAGTGCTRGGATC-TAMRA WGARTGCATRGCTCCYTCCTG	75	E

*type 1, type 2 は MGB プローブである。

**FAM,TAMRA 標識である。

日本脳炎ウイルス用 primers and probe (TaqMan RT-PCR)

①遺伝子1型・3型共通検出用

Primer and Probe	Sequence(5'-3')	Size(bp) Gene
JENS5s269AF092550	GCC ACC GGA TAC TGG GTA GA	61 NS5
JENS5r330AF092550	TGT TAA CCC AGT CCT CCT GGA A	
JENS5p294AF092550	FAM -CTG CCT GCG TCT CA-MGB	

②遺伝子1型検出用

Primer and Probe	Sequence(5'-3')	Size(bp) Gene
------------------	-----------------	---------------

JE1&3en1052s-1082	ATG GGA ATT AYT CAG CGC AAG T	67 E
JE1en1119c-1082	GGG AGC GTT TGG AGT TAC AGT AA	
JEen1082pb	FAM-CTC AAG CAG CAA A-MGB	

③遺伝子3型検出用

Primer and Probe	Sequence(5'-3')	Size(bp) Gene
JE1&3en1052s-1082	ATG GGA ATT AYT CAG CGC AAG T	67 E
JE1en1119c-1082	AGG AGC ATT GGG TGT TAC TGT AAA	
JEen1082pb	FAM-CCC AGG CGG CAA A-MGB	

※FAM、TAMRA

表 1 渡航先別検出デングウイルス（型別）H27 年第 27 週時点

推定感染国	1	2	3	4	不明	保留	総計
インドネシア	8	17	1		28		54
コンゴ民主共和国	1						1
シンガポール					1		1
スリランカ	1				1		2
タイ		5	1	1	3		10
フィリピン	3	2	4	3	5		17
ブラジル	2				2		4
ベトナム					1		1
マレーシア	10	2			11		23
ミャンマー					3		3
モルディブ	2						2
仏領ポリネシア	2					1	3
総計	29	26	6	4	55	1	121

表 2 デング熱報告数 H27 年第 27 週時点

都道府県名	症例数	都道府県名	症例数	都道府県名	症例数
北海道	4	石川県	0	岡山県	0
青森県	0	福井県	0	広島県	0
岩手県	0	山梨県	0	山口県	0
宮城県	1	長野県	4	徳島県	0
秋田県	0	岐阜県	5	香川県	0
山形県	0	静岡県	2	愛媛県	1
福島県	2	愛知県	5	高知県	1

茨城県	0	三重県	0	福岡県	3
栃木県	0	滋賀県	1	佐賀県	0
群馬県	3	京都府	5	長崎県	1
埼玉県	7	大阪府	10	熊本県	1
千葉県	5	兵庫県	4	大分県	1
東京都	35	奈良県	3	宮崎県	0
神奈川県	14	和歌山県	1	鹿児島県	1
新潟県	1	鳥取県	0	沖縄県	0
富山県	0	島根県	0	合計	121

表 3 チクングニア熱輸入症例（H27 年第 27 週時点）

推定感染国／週数	2	9	12	14	20	21	23	24	25	26	総計
インド							1				1
インドネシア					1						1
コロンビア		1									1
ソロモン諸島									1		1
ニュージーランド			1					1			2
ボリビア						1					1
ホンジュラス										1	1
ミクロネシア				1							1
仏領ポリネシア		1									1
総計	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10

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

2015年7月23日 (宮城・仙台)

ウイルス第二部 片山和彦
感染症疫学センター 木村博一

ノロウイルス遺伝子型判定はこちらで

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

NoV Genotyping Tool

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 genotypetool 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
CTGGAACGGGGAGTCTTCACAGGCAAGCTGGCAGACCAGGCTTCCAAGGCCAACCTGATGTTTGAAGAAGGGAAGAAC
ATGACCCCAAGTCTACACAGCTGCGCTCAAGGATGAGTTAGTTAACTGACAAAATTTATGGTAAGATCAAGAAGAGGCTT
CTCTGGGGCTCGGACCTGGCGACCATGATCCGGTGTGCTCGAGCATTCGGAGGCCTAATGGATGAACCTCAAGCACACTG
TGTCACACTTCTATTAGAGTTGGCATGAATGAATGAGGATGGCCCATCATCTTCGAGAGGCATTCCAGGTACACATAT
CACTATGATGCTGATTACTCTCGATGGGATTCAACACAACAGAGAGCCGTGCTGGCAGCAGCTCTAGAAATCATGGTTAA
TTCTCCCCAGAACCACTTGGCTCAGGTAGTCCGGAGGACCTTCTCTCTCCTAGCGTGGTGGACGTGGGCGACTTCAC
AATATCAATCAACGAGGGTCTTCCCTCTGGGGTGGCCCTGCACCTCCCAATGGAATCCATCGCCCACTGGCTTCTACTCT
CTGCGCGCTCTCTGAAGTCACAAACCTGTCCCTGATACCATAACAGGCTAACTCCCTTTCTTTTATGGTGATGATGAA
ATTGTTAGTACAGACATAAAATTGACCCAGAAAAATTGACAGCAAGCTCAGAGAATATGGGTTAAGACCAACCCGCC
TGACAAAACCTGAAGACCCCTTGTCTCTCTGAAGACCTGAATGGCCTAACTTTCTCTGGGAGAACTGTGACTCGCGACC
CAGCTGGTTGGTTTGGAAAACCTGGAGCAGAGTTCAATACTCAGGCAAAATGTAAGGAGTGGGCTCCCAACCATGGAGAC
CCATCTGAAACAATGATTCCCACTCCCAAGACCCATAAATTGATGTCCTACTGGGGAGGCGCCCTCCACGGCCC
AGCATTCTACAGCAAAATCAGCAAAATGGCTATTGCAGAGCTAAAGAGGGTGGCATGGATTTTACGTGCCAGACAAG
AGCCAATGTTGATGGATGAGATTCTCAGATCTGAGCAGTGGGAGGGCGATCGCAATCTGGCTCCCAAGTTTGTGAATG
```

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

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



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

Norovirus Genotyping Tool Version 1.0

[Submit Job](#)[Monitor job 1495913418](#)[How to cite](#)[Introduction](#)[How to use](#)[\(Sub\)typing process](#)[Example sequences](#)

Norovirus Genotyping Tool Results

You may bookmark this page to revisit results of this job (1495913418) later.

Name	Length	Report	Genus / Genogroup	ORF 1	ORF 2	Genome
TCDC8	3599	Report	NoV II	GII.P4 New_Orleans_2009	GII.4 New_Orleans_2009	

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

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

Contact: noronet@rivm.nl

ノロウイルスの遺伝子型2015年版

2015/16シーズンより、NESIDほか一斉に移行予定です

旧→新読み替え	
Genogroup I	
旧表記	新表記
GI/1	GI.1
GI/2	GI.2
GI/3	GI.3
GI/4	GI.4
GI/5	GI.5
GI/6	GI.6
GI/7	GI.7
GI/8	GI.6
GI/9	GI.5
GI/10	GI.8
GI/11	GI.3
GI/12	NA
GI/13	GI.9
GI/14	GI.3

新→旧読み替え	
Genogroup I	
新表記	旧表記
GI.1	GI/1
GI.2	GI/2
GI.3	GI/3
	GI/11
	GI/14
GI.4	GI/4
GI.5	GI/5
	GI/9
GI.6	GI/6
	GI/8
GI.7	GI/7
GI.8	GI/10
GI.9	GI/13

2015/16シーズンからのNESIDでの新しい表記	
Norovirus genogroup unknown	
Norovirus GI NT	
Norovirus GI.1	(←GI/1)
Norovirus GI.2	(←GI/2)
Norovirus GI.3	(←GI/3, GI/11, GI/14)
Norovirus GI.4	(←GI/4)
Norovirus GI.5	(←GI/5, GI/9)
Norovirus GI.6	(←GI/6, GI/8)
Norovirus GI.7	(←GI/7)
Norovirus GI.8	(←GI/10)
Norovirus GI.9	(←GI/13)

Genogroup II	
旧表記	新表記
GII/1	GII.1
GII/2	GII.2
GII/3	GII.3
GII/4	GII.4
GII/5	GII.5
GII/6	GII.6
GII/7	GII.7
GII/8	GII.8
GII/9	GII.9
GII/10	GII.10
GII/11	GII.17
GII/12	GII.12
GII/13	GII.14
GII/14	GII.13
GII/15	GII.16
GII/16	GII.21
(GII/17=GIV)	—
GII/18	GII.22
GII/19	GII.15
—	GII.11
—	GII.18
—	GII.19
—	GII.20

Genogroup II	
新表記	旧表記
GII.1	GII/1
GII.2	GII/2
GII.3	GII/3
GII.4	GII/4
GII.5	GII/5
GII.6	GII/6
GII.7	GII/7
GII.8	GII/8
GII.9	GII/9
GII.10	GII/10
GII.11	—
GII.12	—
GII.13	GII/14
GII.14	GII/13
GII.15	GII/19
GII.16	GII/15
GII.17	GII/11
GII.18	—
GII.19	—
GII.20	—
GII.21	GII/16
GII.22	GII/18

2015/16シーズンからの NESIDでの新しい表記	
Norovirus GII NT	
Norovirus GII.1	(←GII/1)
Norovirus GII.2	(←GII/2)
Norovirus GII.3	(←GII/3)
Norovirus GII.4	(←GII/4)
Norovirus GII.5	(←GII/5)
Norovirus GII.6	(←GII/6)
Norovirus GII.7	(←GII/7)
Norovirus GII.8	(←GII/8)
Norovirus GII.9	(←GII/9)
Norovirus GII.10	(←GII/10)
Norovirus GII.11	
Norovirus GII.12	
Norovirus GII.13	(←GII/14)
Norovirus GII.14	(←GII/13)
Norovirus GII.15	(←GII/19)
Norovirus GII.16	(←GII/15)
Norovirus GII.17	(←GII/11)
Norovirus GII.18	
Norovirus GII.19	
Norovirus GII.20	
Norovirus GII.21	(←GII/16)
Norovirus GII.22	(←GII/18)

Genogroup II	
旧表記	新表記
GII/1	GII.1
GII/2	GII.2
GII/3	GII.3
GII/4	GII.4
GII/5	GII.5
GII/6	GII.6
GII/7	GII.7
GII/8	GII.8
GII/9	GII.9
GII/10	GII.10
GII/11	GII.17
GII/12	GII.12
GII/13	GII.14
GII/14	GII.13
GII/15	GII.16
GII/16	GII.21
(GII/17=GIV)	—
GII/18	GII.22
GII/19	GII.15
—	GII.11
—	GII.18
—	GII.19
—	GII.20

Genogroup II	
新表記	旧表記
GII.1	GII/1
GII.2	GII/2
GII.3	GII/3
GII.4	GII/4
GII.5	GII/5
GII.6	GII/6
GII.7	GII/7
GII.8	GII/8
GII.9	GII/9
GII.10	GII/10
GII.11	—
GII.12	GII/12
GII.13	GII/14
GII.14	GII/13
GII.15	GII/19
GII.16	GII/15
GII.17	GII/11
GII.18	—
GII.19	—
GII.20	—
GII.21	GII/16
GII.22	GII/18

2015/16シーズンからの NESIDでの新しい表記	
Norovirus GII NT	
Norovirus GII.1	(← GII/1)
Norovirus GII.2	(← GII/2)
Norovirus GII.3	(← GII/3)
Norovirus GII.4	(← GII/4)
Norovirus GII.5	(← GII/5)
Norovirus GII.6	(← GII/6)
Norovirus GII.7	(← GII/7)
Norovirus GII.8	(← GII/8)
Norovirus GII.9	(← GII/9)
Norovirus GII.10	(← GII/10)
Norovirus GII.11	
Norovirus GII.12	(← GII/12)
Norovirus GII.13	(← GII/14)
Norovirus GII.14	(← GII/13)
Norovirus GII.15	(← GII/19)
Norovirus GII.16	(← GII/15)
Norovirus GII.17	(← GII/11)
Norovirus GII.18	
Norovirus GII.19	
Norovirus GII.20	
Norovirus GII.21	(← GII/16)
Norovirus GII.22	(← GII/18)

GII.P17-GII.17流行の兆し

RAPID COMMUNICATIONS

Genetic analyses of GII.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region

Y Matsushima^{1,2}, M Ishikawa¹, T Shimizu¹, A Komane¹, S Kasuo³, M Shinohara⁴, K Nagasawa⁵, H Kimura⁵, A Ryo², N Okabe¹, K Haga⁶, Y H Doan⁶, K Katayama⁶, H Shimizu (shimizu-h@city.kawasaki.jp)¹

1. Division of Virology, Kawasaki City Institute for Public Health, Kanagawa, Japan

2. Department of Microbiology, Yokohama City University School of Medicine, Kanagawa, Japan

3. Division of Infectious Diseases, Nagano Environmental Conservation Research Institute, Nagano, Japan

4. Division of Virology, Saitama Institute of Public Health, Saitama, Japan

5. Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan

6. Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan

Citation style for this article:

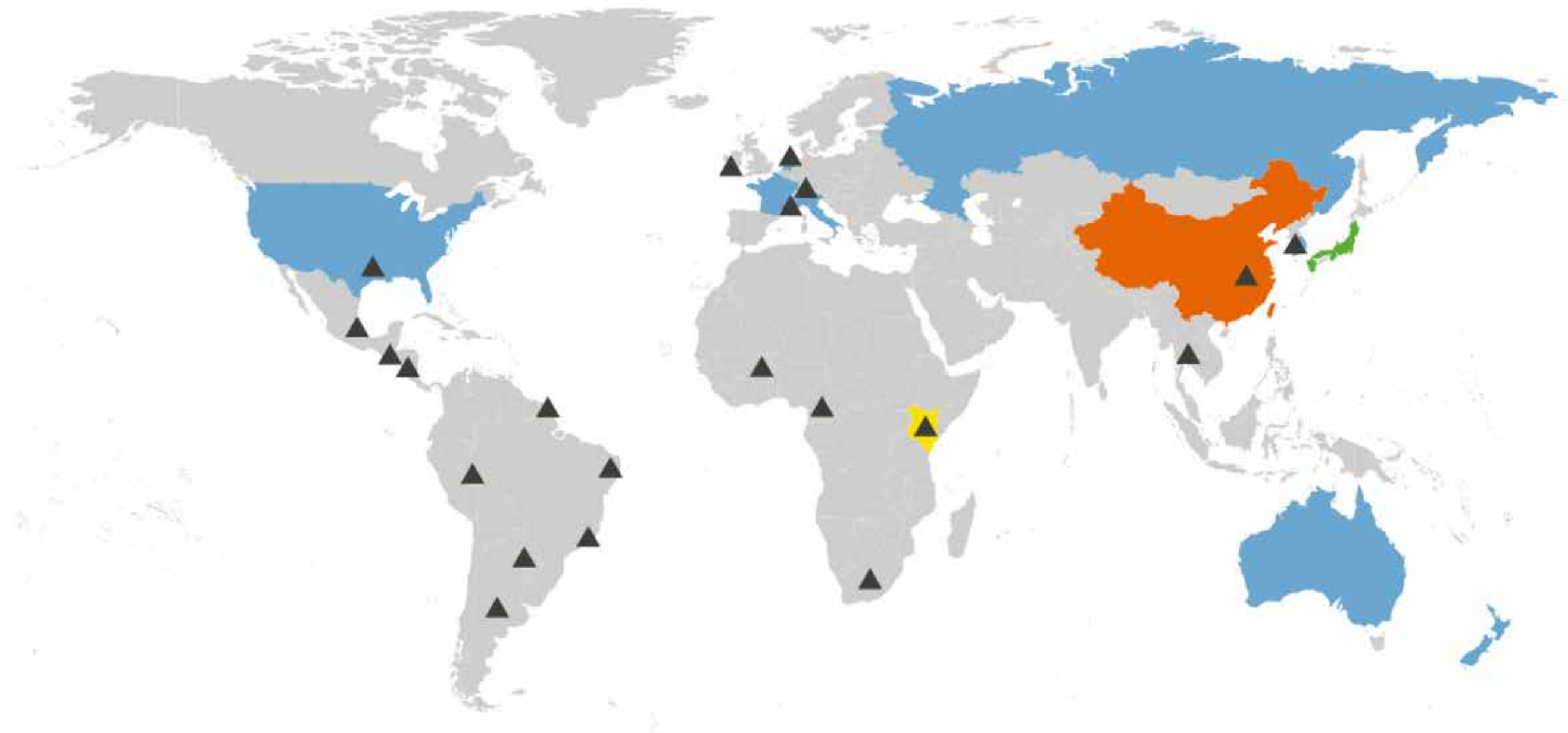
Matsushima Y, Ishikawa M, Shimizu T, Komane A, Kasuo S, Shinohara M, Nagasawa K, Kimura H, Ryo A, Okabe N, Haga K, Doan YH, Katayama K, Shimizu H. Genetic analyses of GII.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region. *Euro Surveill.* 2015;20(26):pii=21173. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=21173>

Article submitted on 03 June 2015 / published on 02 July 2015

GII.P17-GII.17 Kawasaki 2014

FIGURE 1

World map showing areas where GII.17 norovirus strains have been detected, 1978–2015



Yellow Detection of the novel GII.17 virus in environmental samples

Orange The novel GII.17 is the predominant genotype

Black triangle Sporadic detection of GII.17 viruses from before the emergence of the novel GII.17 virus

Blue Sporadic detection of the novel GII.17 virus

Green Major outbreaks of the novel GII.17 virus

Emergence of a novel GII.17 norovirus – End of the GII.4 era?

M de Graaf (m.degraaf@erasmusmc.nl)¹, J van Beek^{1,2}, H Vennema², A T Podkolzin³, J Hewitt⁴, F Bucardo⁵, K Templeton⁶, J Mans⁷, J Nordgren⁸, G Reuter⁹, M Lynch¹⁰, L D Rasmussen¹¹, N Iritani¹², M C Chan¹³, V Martella¹⁴, K Ambert-Balay¹⁵, J Vinjé¹⁶, P A White¹⁷, M P Koopmans^{1,2}

1. Erasmus MC, Department of Viroscience, Rotterdam, the Netherlands
2. Centre for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), the Netherlands
3. Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia
4. Institute of Environmental Science and Research, Porirua, New Zealand
5. Department of Microbiology, University of Leon, Nicaragua
6. Department of Medical Microbiology, Royal Infirmary of Edinburgh, Edinburgh, United Kingdom
7. Department of Medical Virology, Faculty of Health Sciences, University of Pretoria, Pretoria, South Africa
8. Division of Molecular Virology, Department of Clinical and Experimental Medicine, Linköping University, Sweden
9. Regional Laboratory of Virology, National Reference Laboratory of Gastroenteric Viruses, ÁNTSZ Regional Institute of State Public Health Service, Pécs, Hungary
10. Department of Microbiology, Mater Misericordiae University Hospital, Dublin, Ireland
11. Virology Surveillance and Research Section, Microbiological Diagnostics and Virology, Statens Serum Institut, Denmark
12. Department of Microbiology, Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences, Tennoji-ku, Osaka, Japan
13. Department of Microbiology, Chinese University of Hong Kong, China
14. Faculty of Veterinary Medicine, Università Aldo Moro di Bari, Valenzano, Italy
15. National Reference Center for Enteric Viruses, Laboratory of Virology, CHU of Dijon, Dijon, France
16. Division of Viral Diseases, National Center for Immunizations and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, United States
17. School of Biotechnology and Biomolecular Sciences, Faculty of Science, University of New South Wales, Sydney, Australia

本当にGII.4の時代が終わるのか、GII.PI7-GII.I7
Kawasaki2014時代が始まるのか？
夏場の流行と今期の立ち上がりの流行調査と報告を！

平成27年3月27日

ノロウイルス定量リアルタイムPCR標準物質の更新について

平成27年7月7日

サポウイルス定量リアルタイムPCR標準物質の更新について

NoVコントロール作製・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コントロール作製・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)

NoVおよびSaVリアルタイムPCR標準プラスミド分与依頼先

地研infoにて連絡済

北海道・東北・新潟地区

北海道立衛生研究所 主査・吉澄志摩先生

宮城県保健環境センター 上席主任研究員・植木洋先生

関東・甲・信・静岡地区

神奈川県衛生研究所 主任研究員・鈴木理恵子先生

東海・北陸地区

富山県衛生研究所 ウイルス部長・滝澤剛則先生

近畿地区

大阪府公衆衛生研究所 主任研究員・左近直美先生

四国・中国地区

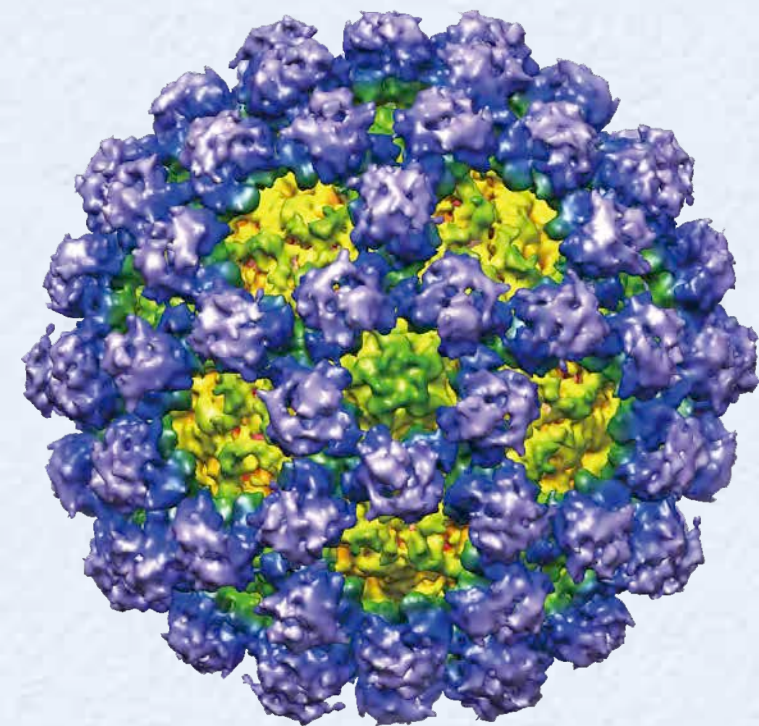
広島県立総合技術研究所保健環境センター

保健研究部副部長・重本直樹先生

九州地区

福岡県保健環境研究所 専門研究員・芦塚由紀先生

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

片山：katayama@nih.go.jp 木村：kimhiro@nih.go.jp

5. 大腸菌

レファレンスセンター等報告

「大腸菌」

1) 下痢原性大腸菌の検査法について

大阪府立公衆衛生研究所・感染症部・細菌課
勢戸 和子 先生

2) 大腸菌の O-genotyping 法: PCRによるO血清群同定法について

感染研・細菌 I 部
伊豫田 淳

下痢原性大腸菌の検査法

—大阪府公衛研の場合



勢戸 和子



大阪府立公衆衛生研究所

OSAKA PREFECTURAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

下痢原性大腸菌検査の問題点

■ 病原性関連遺伝子陽性を根拠に同定して良いのか

- 毒素/毒素遺伝子陽性: EHEC, ETEC
- *ipaH/invE* 陽性: EIEC or *Shigella*

血清型別, 生化学的性状試験が必要

- *eae* 陽性: EPEC or *Escherichia albertii*

■ PCRの標的遺伝子 どこまで調べれば良いのか

- *aggR* 陰性EAEC
- 未知の病原因子による事例を見落とす可能性

■ 血清型別

- 大腸菌の抗原間には交差反応がある

分離株の異同はgenotypingで判定可能

大腸菌 O-genotyping 法：PCRによるO血清群同定法

A complete view of the genetic diversity of the *Escherichia coli* O-antigen biosynthesis gene cluster.

Iguchi A, Iyoda S, Kikuchi T, et al.

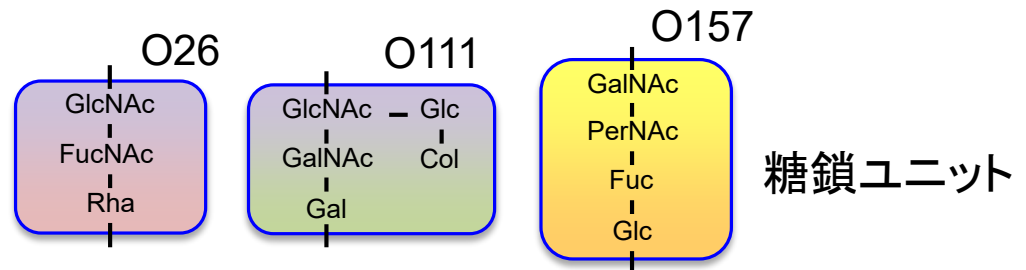
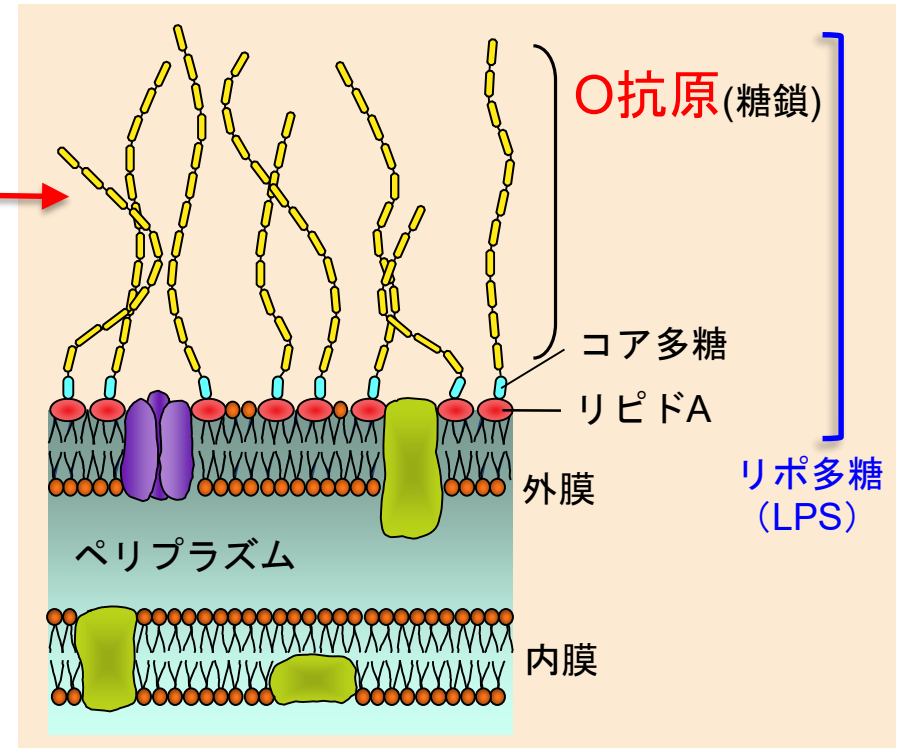
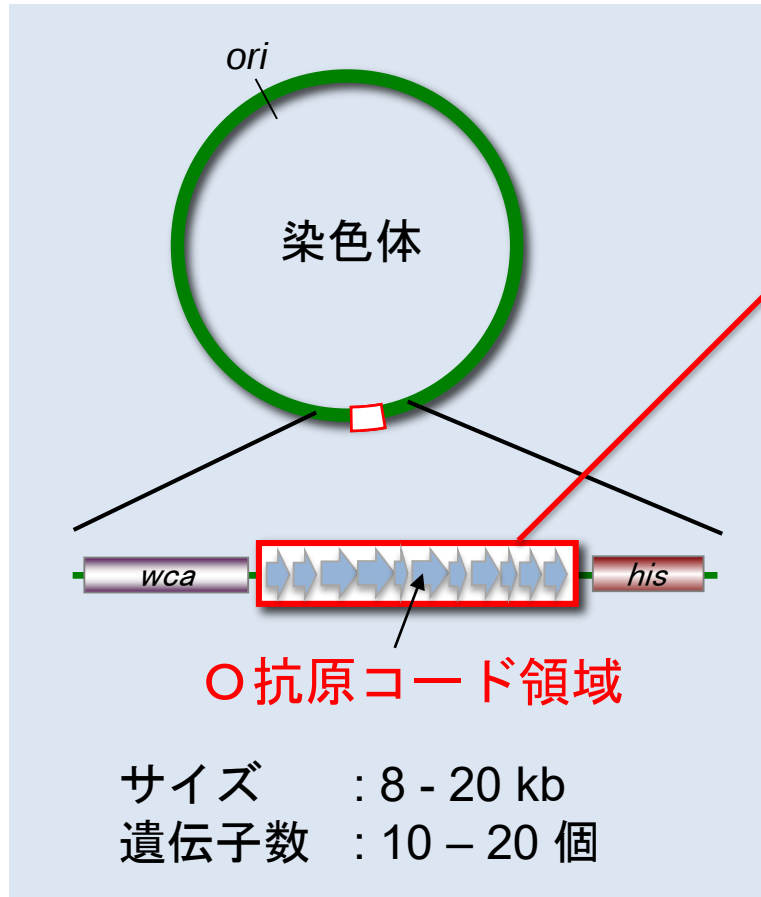
***DNA Res.* 2015, **22**: 101-107.**

***Escherichia coli* O-Genotyping PCR: a Comprehensive and Practical Platform for Molecular O Serogrouping.**

Iguchi A, Iyoda S, Seto K, et al.

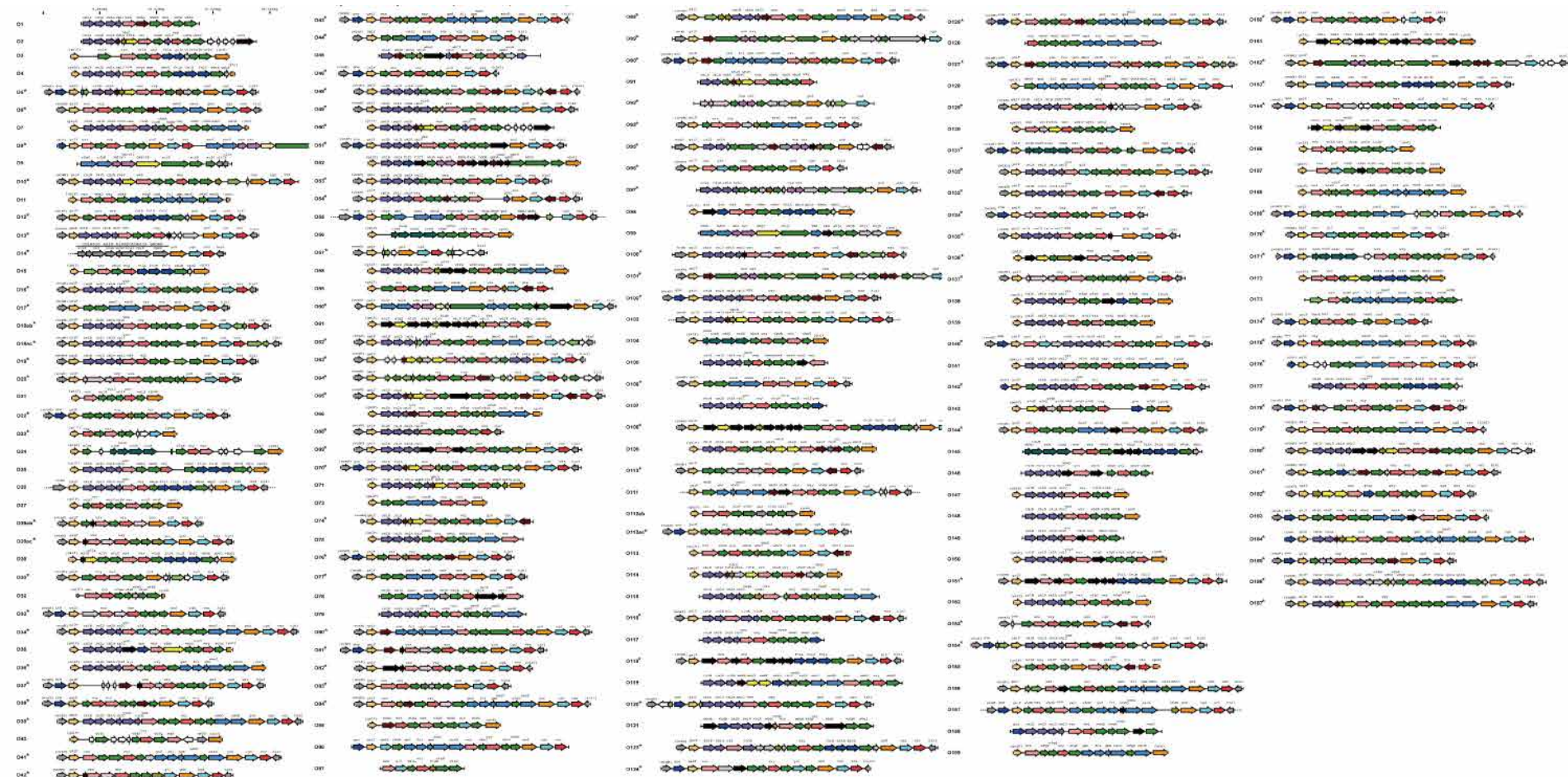
***J Clin Microbiol.* 2015, **53**: 2427-2432.**

大腸菌のO抗原



大腸菌O抗原コード領域遺伝子群

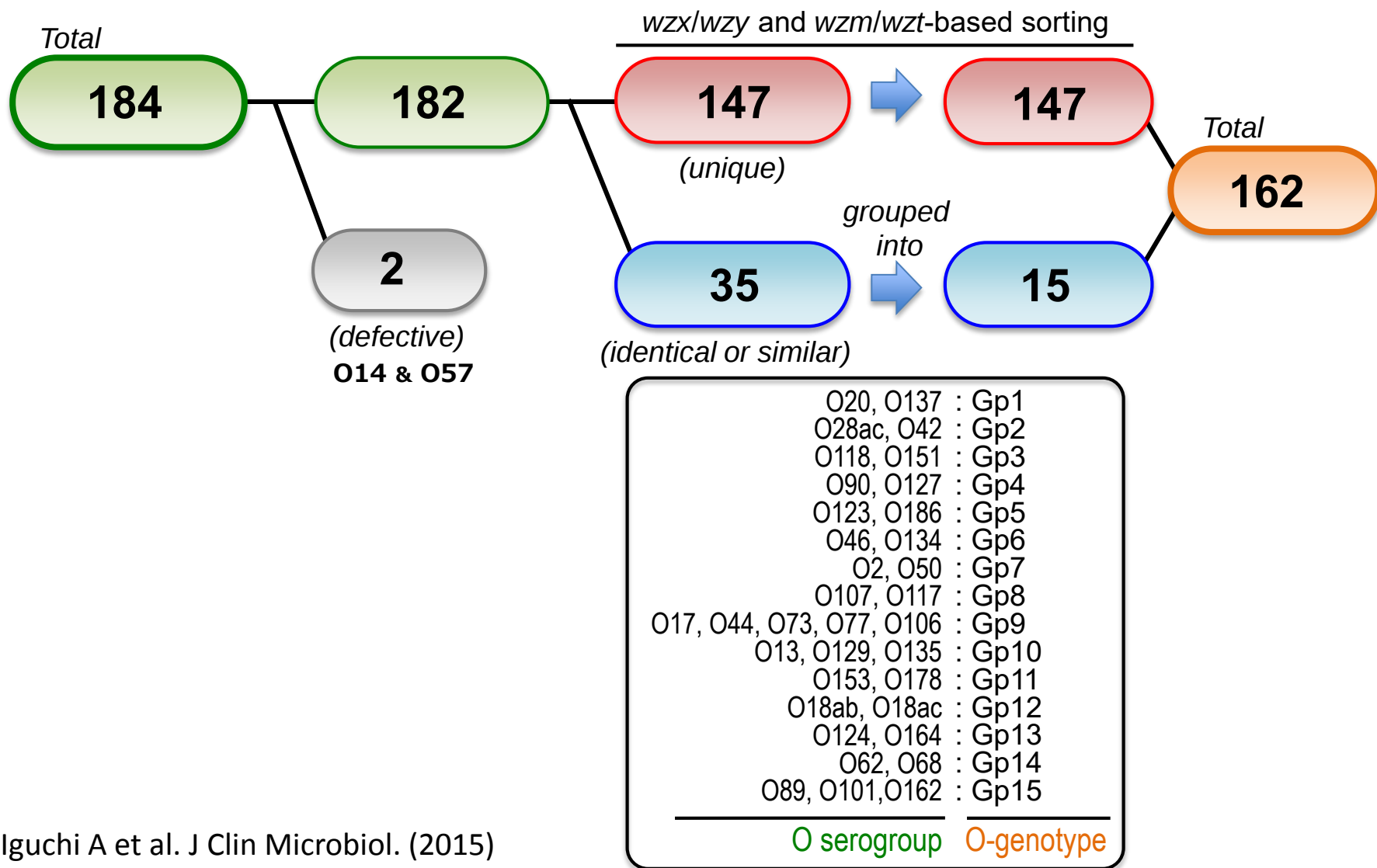
全184種類:
76, データベースから収集; 108, 独自に決定



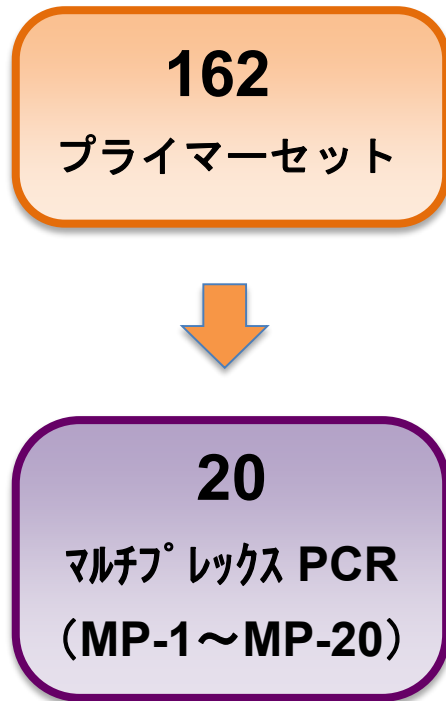
比較解析(グループ化・特異的遺伝子/配列の抽出)

血清群 (O serogroup)

遺伝子型 (O-genotype)



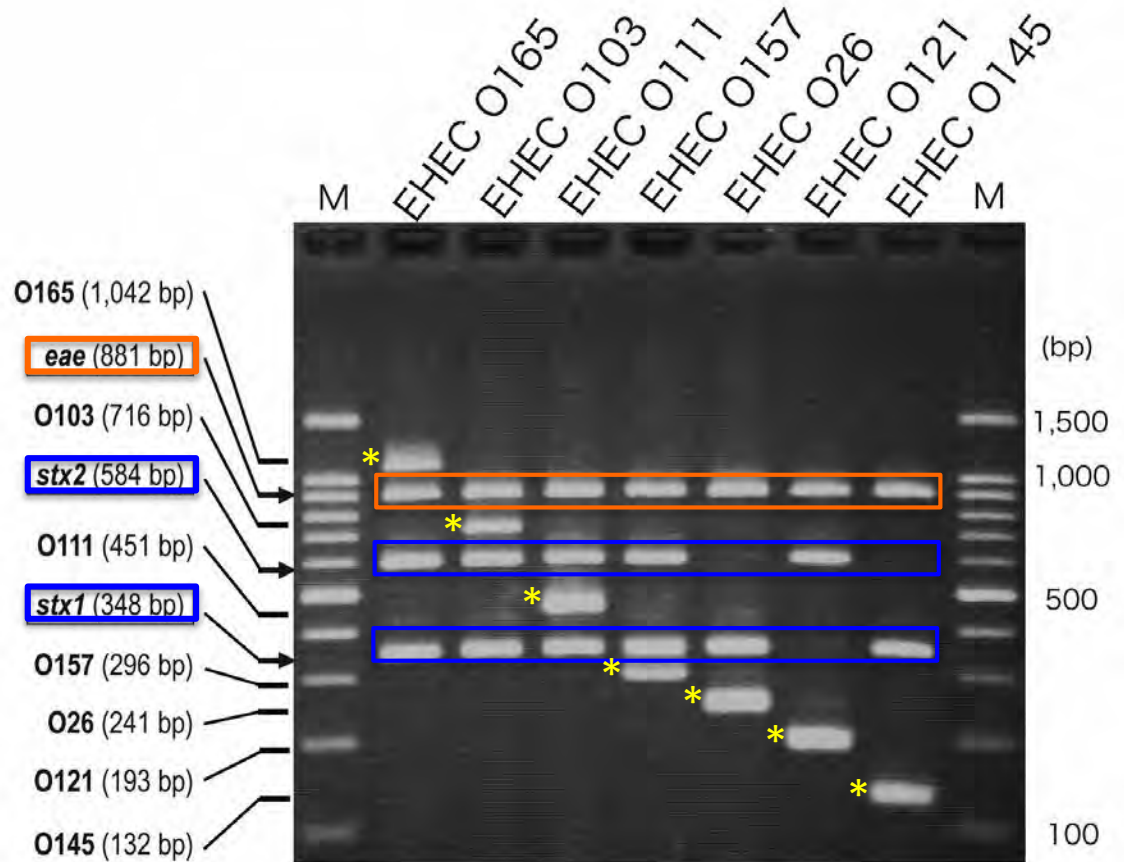
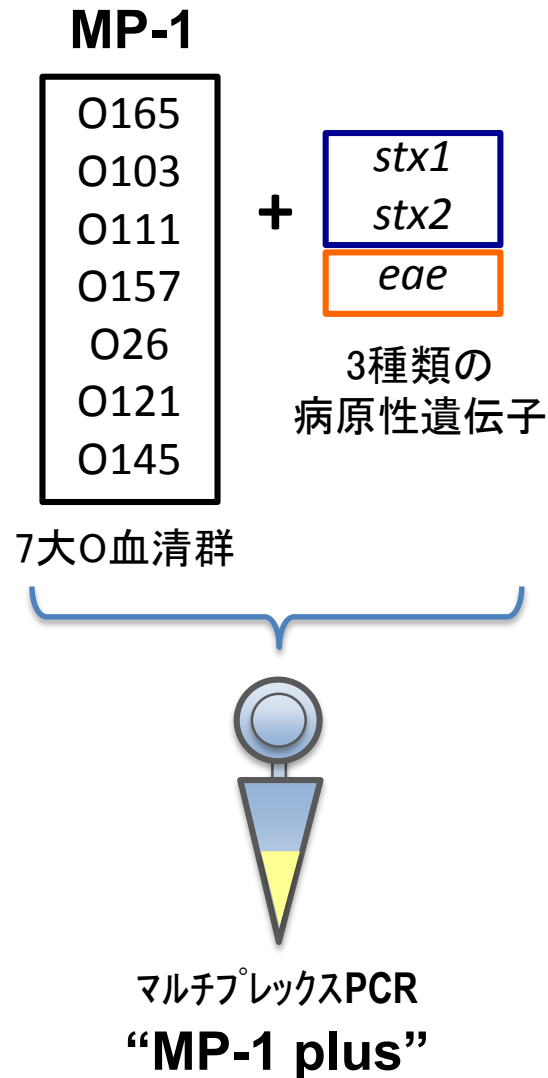
効率的検査系の確立



MP 1	MP 2	MP 3	MP 4	MP 5	MP 6	MP 7	MP 8	MP 9	MP 10
Og165	Og112ac	Og1	Og63	Og78	Og91	OgGp1	Og9	Og98	Og172
Og103	Og148	Og146	Og6	Og128	Og86	OgGp9	Og41	Og96	Og88
Og111	Og158	O119	Og126	Og15	Og152	OgGp11	Og33	Og59	Og37
Og157	Og114	Og142	Og143	Og166	Og8	OgGp12	Og108	Og69	OgGp8
Og26	Og144	Og167	Og27	Og161	Og115	OgGp4	Og174	Og82	Og23
Og121	Og159	Og74	Og168	Og29	Og25	OgGp3	Og60	Og177	Og163
Og145	Og169	Og125	Og136	Og55		OgGp13	Og54	Og71	Og170
						OgGp2	Og80	Og95	Og99
							Og92	Og93	Og116

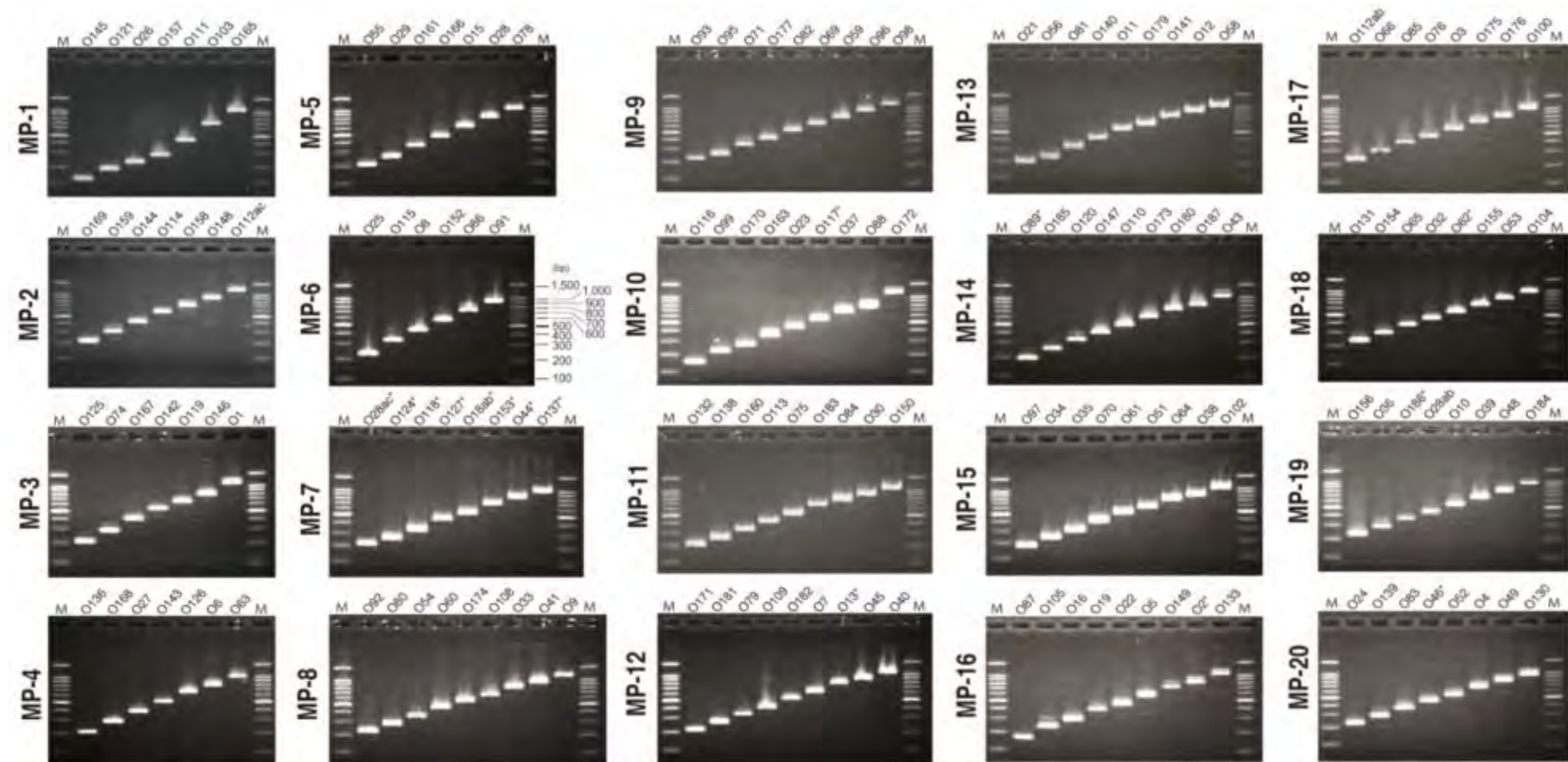
MP 11	MP 12	MP 13	MP 14	MP 15	MP 16	MP 17	MP 18	MP 19	MP 20
Og150	Og40	Og58	Og43	Og102	Og133	Og100	Og104	Og184	Og130
Og30	Og45	Og12	Og187	Og38	OgGp7	Og176	Og53	Og48	Og49
Og84	OgGp10	Og141	Og180	Og64	Og149	Og175	Og155	Og39	Og4
Og183	Og7	Og179	Og173	Og51	Og5	OgO3	OgGp14	Og10	Og52
Og75	Og182	Og11	Og110	Og61	Og22	Og76	Og32	Og28ab	OgGp6
Og113	Og109	Og140	Og147	Og70	Og19	Og85	Og65	OgGp5	Og83
Og160	Og79	Og81	Og120	Og35	Og16	Og66	Og154	Og36	Og139
Og138	Og181	Og56	Og185	Og34	Og105	Og112ab	Og131	Og156	Og24
Og132	Og171	Og21	OgGp15	Og97	Og87				

“MP-1 plus”



主要O血清群と病原性遺伝子を
1チューブ(1反応)で判定可能

効率的検査系の確立



特異性の評価

菌株の種類	供試菌株数	O血清群の種類 (O14とO57は除く)	O-genotype との一致率
O血清群参考株 SSI由来	182	182	100% (182/182)
野生株 国内分離株 およびSSIコレクション	575	174	90.8% (522/575)

Og タイピングの感染研での活用方針

- ・ **地衛研データ（デンカ抗血清による型別結果）との整合性確認：**

Og型と一致した場合： SSI血清を用いた確認は省略.

Og型が不一致または OUT/OgUT の場合： 抗血清で確認.

Ogタイピングを実施される場合のお願い：

- 1) Ogタイピングで型別された場合はその旨をお知らせ下さい
（例： Og157） .
- 2) 血清型別結果と一致しない例がありましたらお知らせ下さい.

6. 寄生虫

レファレンスセンター等関連会議

寄生虫

世話人: 杉山 広(感染研・寄生動物)

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

- ・各ブロックの拠点となる地研は指定していない。
- ・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）。

・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, サルコシスティス, アニサキス等

寄生虫症届出(感染症発生動向調査: **感染症法**)

	四類		五類		
	エキノ コックス症	マラリア	アメーバ 赤痢	クリプト スポリジウム症	ジアルジア症
2010	17	74	843	16	77
2011	20	78	814	8	65
2012	17	72	932	6	72
2013	20	47	1,047	25	82
2014	18	60	1,120	98	68

クリプトスポリジウム

- 状況

- 水道を介した大規模集団感染が未だに問題
 - 2010年に欧州最大規模27,000人の集団感染
- 畜産分野の有効対策なく、小規模集団感染が散発

- 国内で2014年度に急増した理由

- 小学生ら牧場体験学習での集団感染

参照資料

- IASR(病原微生物検出情報) 35 (8) [No.414], 2014
特集:クリプトスポリジウム症およびジアルジア症
- 病原体検査マニュアル

エキノコックス

愛知県で犬から発見されたエキノコックス(虫卵)
届出(2014年第14週)以降の調査



・犬: 動管知多支所抑留犬の便検体*

60検体: 陰性(2検体: 連節条虫卵)

・キツネ・タヌキ(混獲個体)4検体: 陰性 (キツネ3・タヌキ1)

* 2015年6月末現在。最新の検査結果は

<http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/5f/Echinococcus1.html>



・野外採取の便検体

イヌ 3検体・キツネ 18検体: 陰性

指摘される問題点(北海道との比較)

- イヌ材料の入手が困難(特にノイヌ)
- キツネの分布が低密度
- ブタを歩哨動物として利用困難(屠畜場の活用が困難)



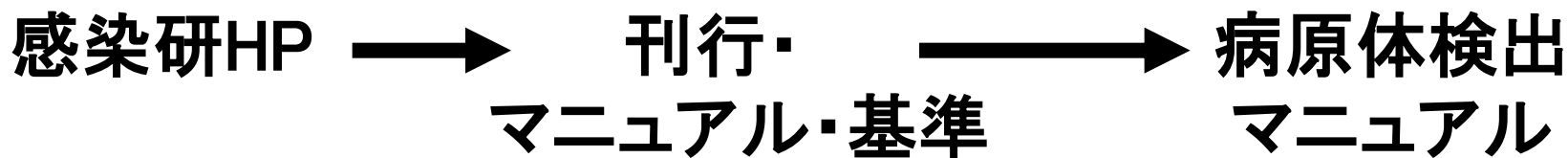
病原体検出マニュアル：関連の地研＋感染研 寄生虫関連（感染症法・5疾患）

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

食品衛生法・施行規則の一部改正 2012年12月28日

- クドア(クドア・セブテンpunkタータ):ヒラメ
- サルコシスティス(フェイヤー住肉胞子虫):馬肉
- アニサキス(アニサキス属等の線虫):海産魚
- その他の寄生虫(クリプトスポリジウム, 等)

食中毒の病因物質として食中毒事件票に新規に追加

生食用生鮮食品による病因不明有症事例への対応について
(通知) 2011年6月17日

*Kudoa septempunctata*の検査法について(暫定版)
(通知) 2011年7月11日

クドアを原因とする食中毒の発生防止について
(通知) 2012年6月7日

食中毒調査に係る病因物質不明事例の情報提供について
(協力依頼)(事務連絡) 2015年7月2日

食中毒届出（食中毒統計←食品衛生法）

年	クドア 事件数 (患者数)	サルコ システイス 事件数 (患者数)	アニサキス 事件数 (患者数)
2010	- (-)	- (-)	28 (29)
2011 ^{a)}	33 (473)	2 (11)	34 (35)
2012 ^{b)}	41 (417)	1 (3)	65 (71)
2013	21 (244)	1 (6)	88 (89)
2014	43 (429)	0 (0)	79 (79)

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

b) 食品衛生法施行規則の一部改正: 2012年12月28日

クドア食中毒に関する情報交換

(1-1) ヒラメ以外・*K. septempunctata*以外のクドア有症
苦情事例の取扱いについて

(1-2) 新種のクドア*Unicapsula seriola*による有症苦
情事例と検査法

(大西貴弘・国立衛研)

(2) 東京都内で発生したクドアによる食中毒事例

(鈴木 淳・東京都健安研)

(3) *Kudoa iwatai*の病原性解析

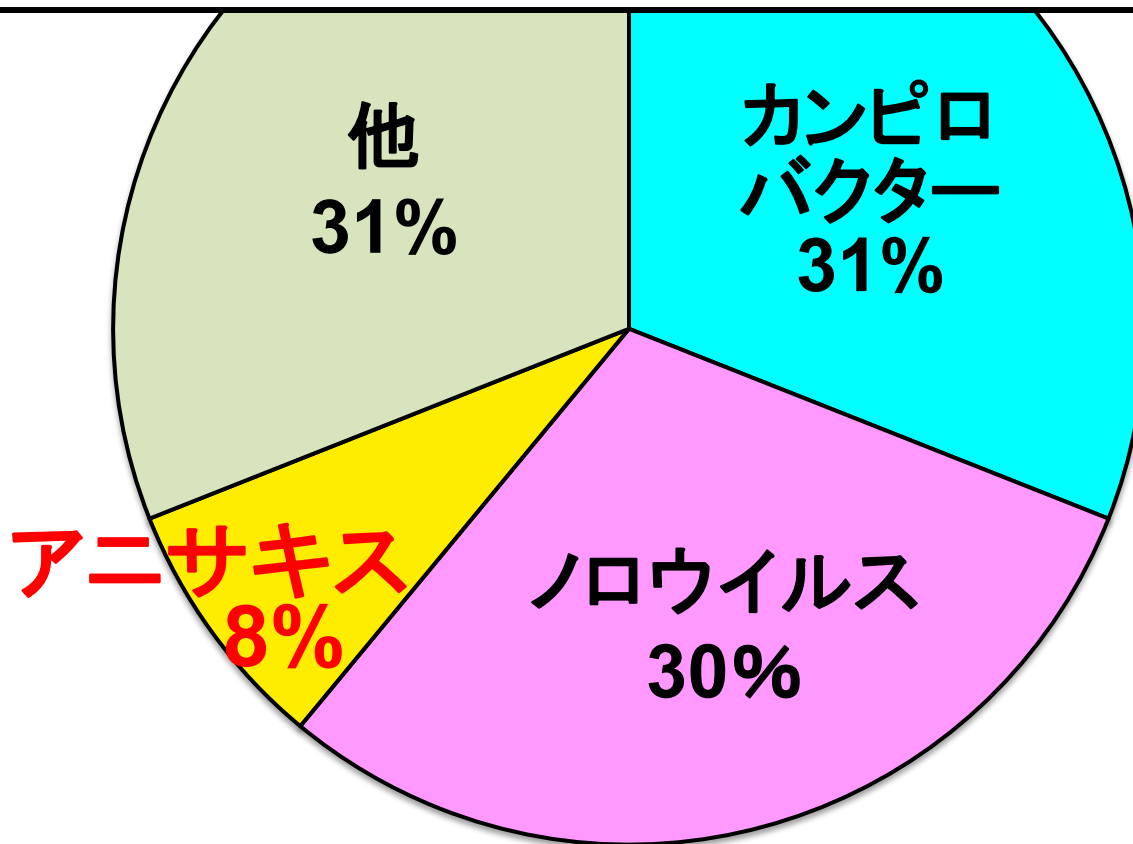
(河合高生・大阪府公衛研)

(4) 韓国の養殖ヒラメにおける*K. septempunctata*の
汚染調査－論文紹介－

(八木田健司・感染研)

アニサキス線虫による食中毒予防の注意喚起 について(事務連絡)

2014年5月27日



2014年・食中毒の事件数(976件)

カンピロバクター(306件), ノロウイルス(293件), アニサキス:79件(患者数:79人)

2013年もアニサキスは事件数で第3位

レファレンスセンター等関連会議・寄生虫

地研・検疫所のご要望等

寄生虫	分類	内容
マラリア	感4	迅速診断キットに関する研修・情報交換
エキノコックス	感4	エキノコックスをはじめとする動物由来寄生虫症の検査・同定法研修
クドア サルコシスティス	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
アニサキス	食	厚労省発出の文書に対応する検査法の研修
肺吸虫	食	感染源・イノシシからの虫体検出と同定に関する研修
トキソプラズマ	(食)	先天性・食肉由来の本症の情報交換・提供
クリプトスポリジウム 他寄生虫全般	感5 食	インターネットを介した画像利用の検査に関するサポート体制の構築(相互研修・情報交換)

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

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・寄生動物部にその内容をご照会下さい。対応にご協力します。

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



平成26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	
		レファレンスセンター	その他
<i>Bordetella holmesii</i> -LAMPキット		0	1
4PlexリアルタイムPCRキット		0	10
陽性コントロールDNA	百日咳菌	0	0
	百日咳類縁菌	0	1
計		0	12（8施設）

百日咳に関する情報還元

- 蒲地一成. 百日咳菌のサーベイランス, 分離菌の性状変化, *Bordetella holmesii* について. 臨床とウイルス, 43(1): 17-22, 2015.
- 蒲地一成. 微生物ABC 百日咳. up-to-date 子どもの感染症, 2(2): 18-21, 2014.
- Kamachi K, Yoshino S, Katsukawa C, Otsuka N, Hiramatsu Y, Shibayama K. Laboratory-based surveillance of pertussis using multi-target real-time PCR: evidence for *Bordetella pertussis* infection in preteens and teens. 論文投稿中 宮崎衛研, 大阪公衛研との共同研究

平成27年度の活動計画

1) 百日咳検査体制の強化・拡充（継続）

- 地方衛生研究所にレファレンスと検査キットの配布
- 病原体検査マニュアルの改訂（4Plex-RT）

2) 百日咳病原体サーベイランス（継続）

- 定着因子パータクチンを欠損する百日咳菌
- マクロライド耐性百日咳菌

臨床分離株の収集に
ご協力をお願いします



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。毎年「動物実験」を中心に講習会を開催。

第4回講習会

2015年11月4日～11月6日開催予定

参加予定施設(定員4名)

熊本県保健環境科学研究所

福岡県保健環境研究所

千葉市環境保健研究所

愛知県衛生研究所

診断用ボツリヌス抗毒素の標準化

- ボツリヌス毒素にはA型からG型まで7型があり、特異的な「診断用抗毒素」を用いて型別を行う。
- A、B、E、F型の診断用抗毒素はすでに完備し、リクエストに応じて地方衛生研究所に配布している。
- 化学及血清療法研究所(化血研)と大阪府立大学の協力を得て、C、D、G型の抗毒素を作製した。
- 2014年度までに、D型、G型については標準化試験がほぼ終了した。
- 2015年度に、C型抗毒素について試験を終了する予定。

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て、試薬および菌株を配布

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

>>> リファレンス・センター以外の地方衛生研究所にも、分与します。

ジフテリア以外のコリネバクテリウム属菌感染症に関して

1. 昨年度、ある医療機関で、*Corynebacterium striatum*による院内アウトブレイクを認め、保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所、さらに、民間検査センターで協力し対応した。
2. 保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所のネットワークにおいて、医療関連感染に関しても柔軟な対応を考える必要がある。

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地衛研

- ◆山形県衛生研究所
- ◆東京都健康安全研究センター
- ◆愛知県衛生研究所
- ◆京都府保健環境研究所
- ◆広島県立総合技術研究所保健環境センタ
- ◆徳島県立保健製薬環境センター
- ◆長崎県環境保健研究センター

これまでに、
野兔病、ブルセラ症、狂犬病、炭疽
の診断・病原体検出法のEQAを実施



獣医科学部

森川茂 部長

井上智、奥谷晶子、野口章、今岡浩一、木村昌伸、堀田明豊

H26年度 狂犬病：遺伝子診断系の検証

方法等

「病原体検査マニュアル(感染研HP掲載)」に準じる。

検体RNAと遺伝子検出用のプライマーを送付

各地衛研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ことが目的。

動物由来感染症レファレンスセンター地衛研

- ◆山形県衛生研究所
- ◆東京都健康安全研究センター
- ◆愛知県衛生研究所
- ◆京都府保健環境研究所
- ◆広島県立総合技術研究所保健環境センター
- ◆徳島県立保健製薬環境センター
- ◆長崎県環境保健研究センター

会議参加等 連携衛生研究所（16自治体）

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

成績

One step RT-PCR

	感染研	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K *1)	L	M	N	O	P
サンプル-1	-	-	-	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
サンプル-2	+	+	+	NT	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
サンプル-3	+	+	+	NT	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
陽性対照RNA	+	+	+	NT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	- *2)	+	+
陰性対照(tempなし)	-	-	-	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

陽性対照RNAは所定量で溶解したものを 10^{-5} 希釈で使用

*1) K: 初回に陰性。追試により陽性となる。

*2) N: 送付陽性対照 10^{-3} 希釈では陽性であったが、 10^{-4} 以上希釈で陰性となった。

Two step RT-PCR

		感染研	A	B	C	D	E	F *3)	G	H	I	J	K *4)	L	M	N	O	P
サンプル-1	RT(x1)	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT
	RT(x10)	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	NT	-	NT	-	-	-	-	-
サンプル-2	RT(x1)	+	+	+	+	NT	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	NT
	RT(x10)	+	+	+	-	NT	+	+	+	+	NT	+	NT	+	+	+	+	+
サンプル-3	RT(x1)	-	-	-	-	NT	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	NT
	RT(x10)	-	-	-	-	NT	-	-	+	+	NT	-	NT	+	-	-	+	-
陽性対照RNA	RT(x1)	+	+	+	+	NT	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	NT
	RT(x10)	+	+	+	-	NT	+	+	+	+	NT	+	NT	+	+	+	+	+
陰性対照	(tempなし)	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

RT(TaKaRa) RT(Wako)

*3) F: 2種類のRT試薬を使用して異なる成績を得た。

*4) K: 初回に陰性。追試により陽性となる。

結果

1. 各地衛研で通常使用している機器・試薬を使用して、病原体マニュアルに準じた遺伝子診断(RT-PCR)が可能であることを検証できた。
2. 配布している陽性対照遺伝子の有効性を検証することができた。

課題

3. 野外検体(脳材料等)からのウイルス抽出を含めた診断系の検討が必要と考えられた。
4. リアルタイムPCR法の確立が望まれた。

アセトン固定に関する論文 (Description about the acetone-fixation in papers)

✓ アセトン固定で狂犬病ウイルスを不活化可能（ある条件下）

- WHO. 1996. Laboratory techniques in rabies. 4th ed.
- JCM. 16, 253, 1982. Inactivation of rabies virus in reagents used for the fluorescent rabies antibody test.
- Bull Wild Hlth Org. 34, 293, 1966. An intracerebral assay procedure in mice for chemical inactivation of rabies virus.

✓ アセトン固定で狂犬病ウイルスは十分に不活化できない

- Rabies diagnosis manual. Southern and eastern African rabies group.
- J.gen.Virol. 1, 537, 1967. Some properties of fixed rabies virus.

安全で簡易な陽性対照標本の作製にHEP-Flury株を使用

		固定毒	
街上毒		CVS-11株	HEP-Flury株
感染症法	三種病原体	基準一部適用除外	規制除外病原体
BSL	3	2	2
抹消感染力	+++	+	—
脳内接種	Killed	Killed	Survived (例外: 乳飲みマウス)

狂犬病陽性対照標本を地方衛生研究所に配布

“ガンマ線照射”と“アセトン固定”を併用した不活化

^{60}Co ガンマ線を 0 Gy - 80 kGy 照射

Gamma-irradiation



^{60}Co Gamma-ray irradiation system
(^{60}Co ガンマ線照射装置)

Stamp smears



冷アセトン固定 (-20°C, 24 hrs)

Acetone-fixation



➤ 固定毒(HEP株)を利用して塗抹標本を作成

今年度の動物由来感染症 レファレンスセンターの活動

1. アンケート

- 案1：4年前に行った野兔病の検査法のバリデーション等を再度実施
- 案2：SFTSに関して、野生動物や愛玩動物などの血清疫学用の検査法の供与とバリデーション

2. SFTSウイルスの動物の抗体検査法（案2）に決定

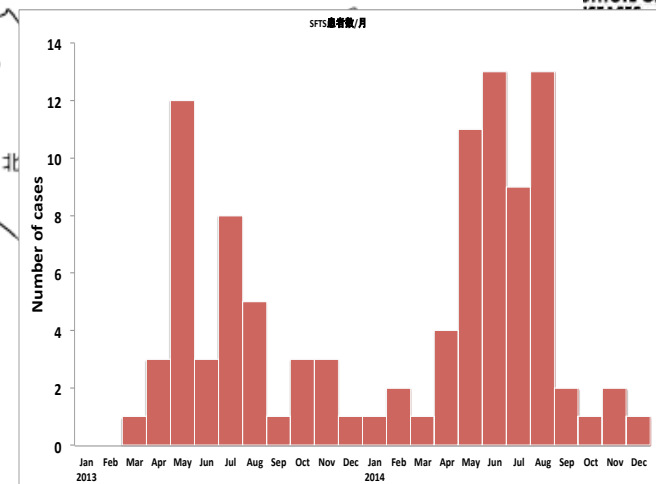
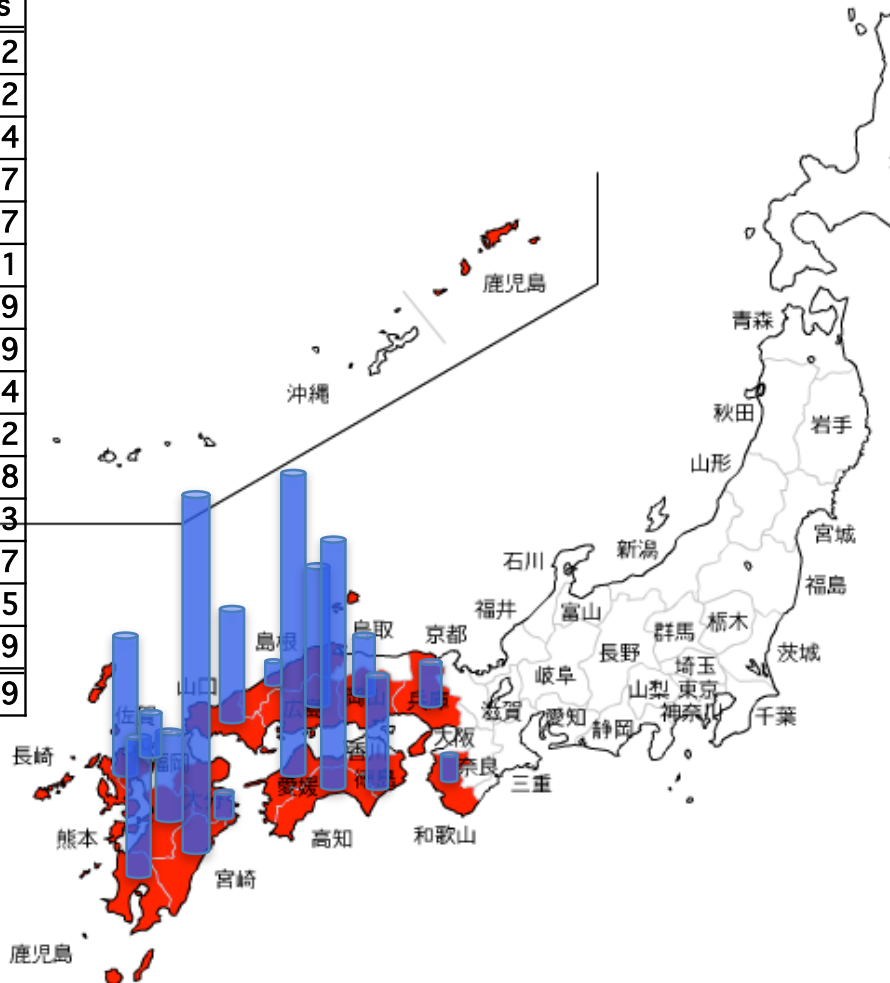
1. 参加自治体：山形県、東京都、愛知県、京都府、広島県、徳島県、長崎県；アドホックで参加（北海道、茨城県、静岡県、広島市、富山県、福岡県、福岡市、熊本県、大分県、宮崎県、沖縄県）の合計18衛研

3. 今後の予定

1. SFTSV抗体検査ELISA用抗原、試薬、陽性対照血清、パネル検体（陽性、陰性を含む）とプロトコルの配布
2. 成績を国立感染症研究所で集計しバリデーションする

Confirmed SFTS patients in Japan

prefecture	cases
Wakayama	2
Hyogo	2
Okayama	4
Hiroshima	7
Yamaguchi	7
Shimane	1
Tokushima	9
Ehime	19
Kochi	14
Oita	2
Miyazaki	18
Saga	3
Nagasaki	7
Kumamoto	5
Kagoshima	9
tital	109



2013 (42cases)

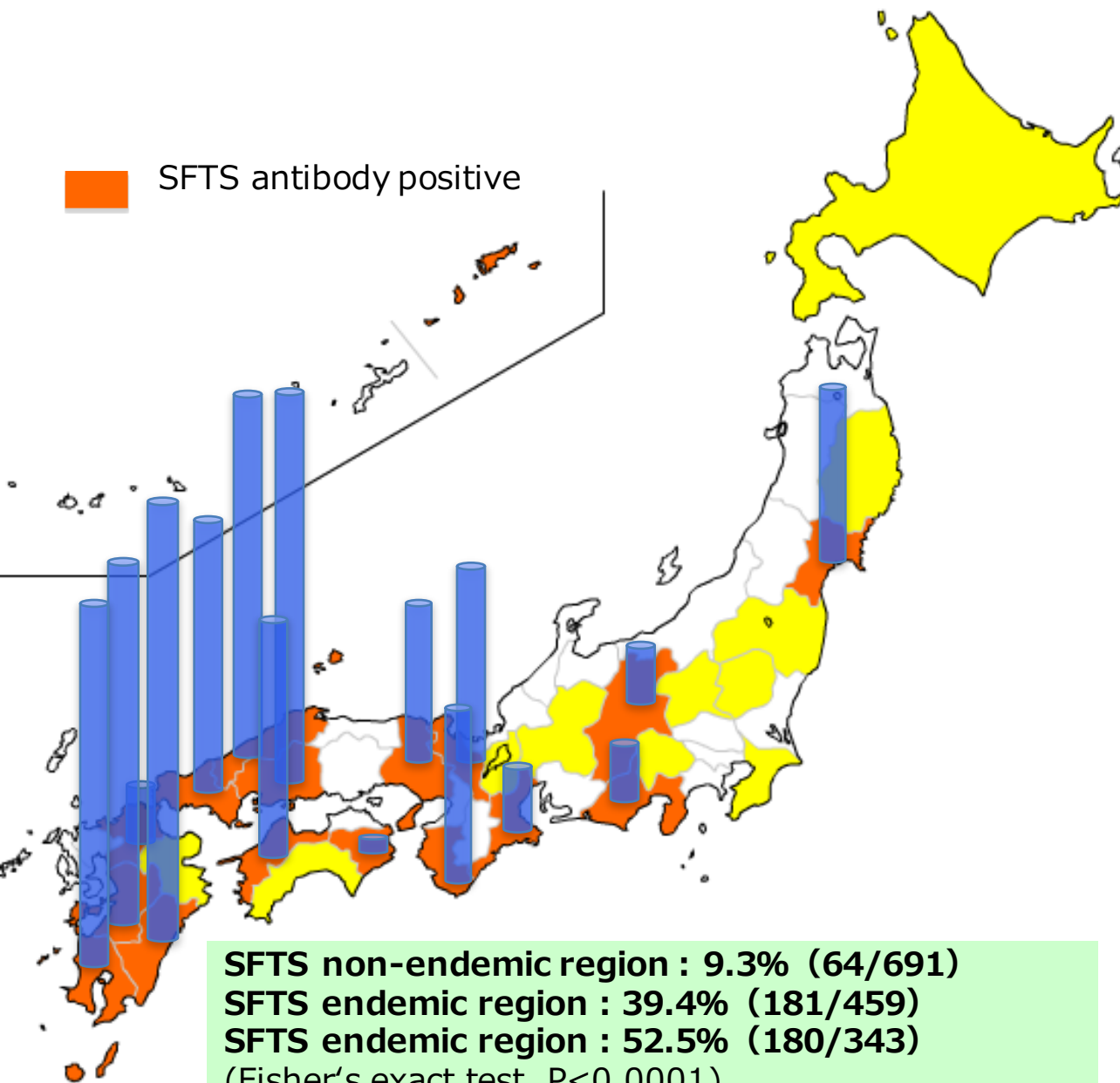
2014 (60cases)

		fatal	cases	CFR
gender	male	12	47	
	female	18	57	
age	median (71)	(80.5)	(73)	
	20th	0	1	0.0%
	30th	0	1	0.0%
	40th	0	2	0.0%
	50th	2	7	28.6%
	60th	5	31	16.1%
	70th	8	29	27.6%
	80th	14	32	43.8%
	90th	3	6	50.0%
		32	109	29.4%

SFTS cases may be underestimated since CFR of 30 % is significantly higher than that in China (10%).

SFTSV Ab prevalence in wild Japanese deer

 SFTS antibody positive



SFTS non-endemic region : 9.3% (64/691)
SFTS endemic region : 39.4% (181/459)
SFTS endemic region : 52.5% (180/343)
 (Fisher's exact test $P < 0.0001$)

(2007-2014年)

道府県	ELISA陽性	検体数	陽性率 (%)
Hokkaido	0	54	0
Iwate	0	71	0
Miyagi	14	47	30
Fukushima	0	4	0
Tochigi	1	51	2
Gunma	1	45	2
Chiba	0	5	0
Yamanashi	0	58	0
Nagano	6	78	8
Gifu	1	51	2
Shizuoka	9	51	18
Mie	9	41	22
Wakayama	12	36	33
Kyoto	10	38	26
Shiga	7	53	13
Hyogo	18	52	35
Hiroshima	4	5	80
Tottori	3	14	21
Shimane	40	55	73
Yamaguchi	85	160	53
Ehime	6	13	46
Tokushima	1	116	1
Kochi	0	1	0
Fukuoka	3	30	10
Oita	0	3	0
Miyazaki	9	10	90
Kumamoto	3	4	75
Kagoshima	3	4	75
合計	245	1150	21

今年度の動物由来感染症 レファレンスセンターの活動



1. アンケート

- 案1：4年前に行った野兔病の検査法のバリデーション等を再度実施
- 案2：SFTSに関して、野生動物や愛玩動物などの血清疫学用の検査法の供与とバリデーション

2. SFTSウイルスの動物の抗体検査法（案2）に決定

1. 参加自治体：山形県、東京都、愛知県、京都府、広島県、徳島県、長崎県；アドホックで参加（北海道、茨城県、静岡県、広島市、富山県、福岡県、福岡市、熊本県、大分県、宮崎県、沖縄県）の合計18衛研

3. 今後の予定

1. SFTSV抗体検査ELISA用抗原、試薬、陽性対照血清、パネル検体（陽性、陰性を含む）とプロトコルの配布
2. 成績を国立感染症研究所で集計しバリデーションする

9. 結核

レファレンスセンター報告 結核

結核菌レファレンスセンター



2014年度

- 現在、我が国では結核に関する特定感染症予防指針に従って分子疫学調査実施体制が強化されており、地方自治体では結核菌遺伝子型別情報が蓄積されつつある。
- しかしながら地域で実施されている遺伝子型別検査(VNTR分析)の精度保証に関する取り組みが不十分。



「結核菌VNTR 分析における精度保証」

外部精度評価：方法

- 参加希望のあった衛生研究所(54か所)を対象
- 結核菌3株のDNAを送付
- VNTR分析結果を結核研究所にて解析

VNTR分析結果報告(概要)

施設名

PCR産物の測定方法

分析結果シート

分析施設 担当者)

XX研究所 (XX)

分析方法

キャピラリー電気泳動 (ロスモアイ)

	JATA No.															HV			Supply					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15									
ID	0424	MIRU 10	1955	2074	2163b	2372	MIRU 26	3155 (QUB 15)	MIRU 31	3336	4052 (QUB 26)	4156	1982 (QUB 18)	2163a	ETR-A	3232	3820	4120	3690 (Mtub 39)	MIRU 40	MIRU 04	2401 (Mtub 30)	MIRU 16	ETR-C
入力	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション
H37Rvの コピー数	2	3	1	4	5	2	3	4	3	8	5	3	5	2	3	4	3	2						
Strain A(QC-DNA 1	1	4	9	3	9	1	2	4	4	7	7	2	8	11	4	1	11	4	2	2	5	2	3	4
Strain B(QC-DNA 2	2	5	2	1	2	3	1	2	3	13	8	4	7	N	3	6	8	4	3	2	1	4	1	4
Strain C(QC-DNA 3	4	3	4	3	8	3	7	4	5	7	8	3	8	8	4	14	14	9	3	3	2	4	3	5

JATA(12/15)

HV

Supply(15)

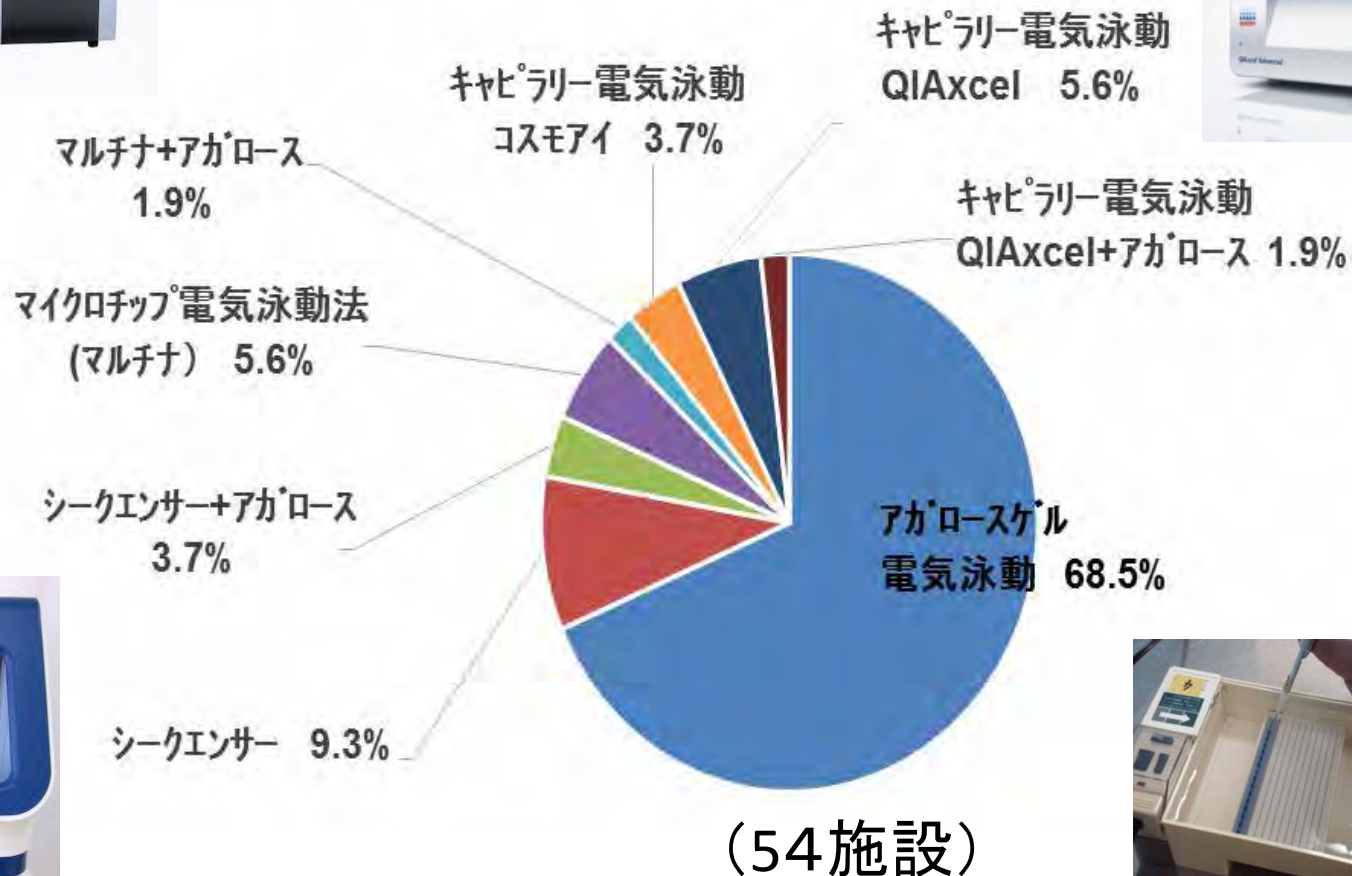
国内で推奨される共通の分析対象

超可変領域、
高識別能
(オプション)

国際比較
(オプション)

参加施設から電子メール等で報告シートを回収し、集計・分析を実施

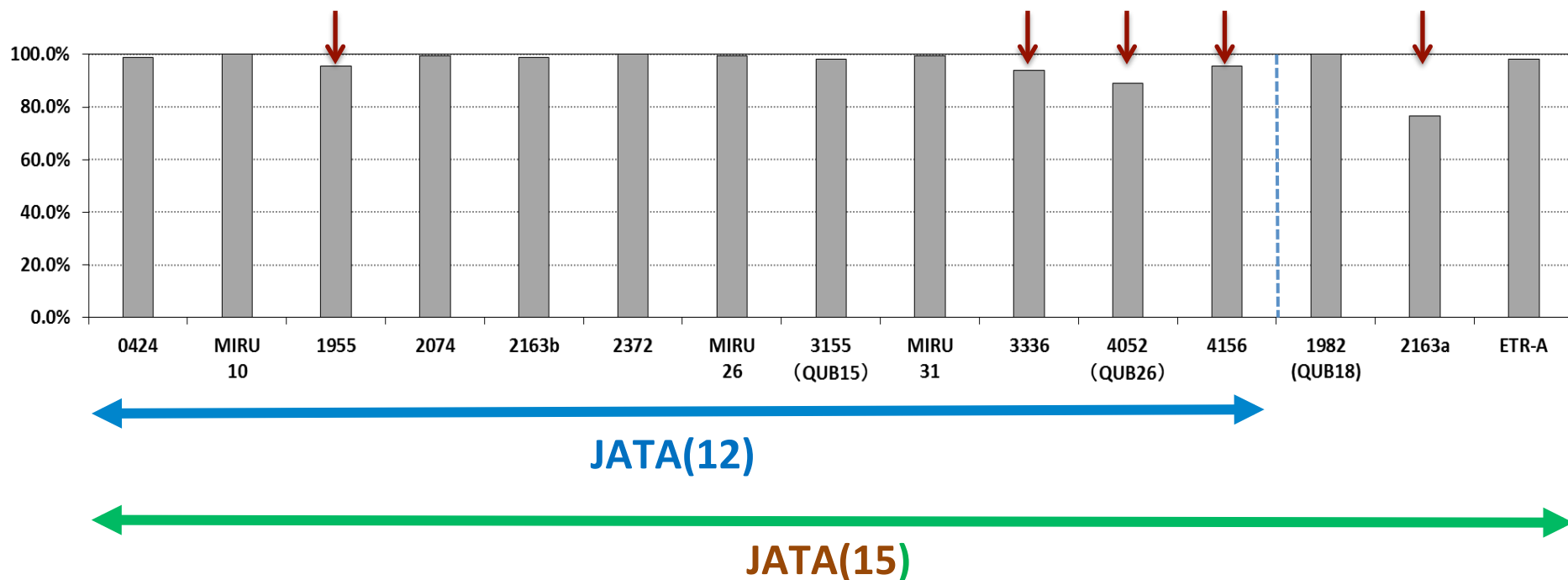
各施設で用いられているDNA分子量の測定法



結核菌3株をJATA(12)-VNTR法 正答との一致率

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

各ローカスにおける正答率



送付したDNAのクオリティの問題

幾つかのローカスで特に誤回答(主にコピー数のカウント間違い)が多い

分析系が正しく稼働していることを確認できる方法(内部精度管理)を導入する必要がある

Remedial Actions

- 正答率の低かった5つのローカス(1955, 3336, 4052, 4156, 2163a)について、コピー数マーカーを作製して配布
- コピー数既知のコントロールDNAを配布(内部精度管理)
- 外部精度評価の再実施(2015)

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・山本香織
- 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・一ノ瀬和也
- 結核研究所抗酸菌部・御手洗聡(世話人)，村瀬良朗

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

コア地衛研:

岩手県環境保健研究センター

東京都健康安全研究センター

大阪府立公衆衛生研究所

愛媛県立衛生環境研究所

福岡県保健環境研究所

○愛知県衛生研究所

サポート地衛研:

北海道衛生研究所

横浜市衛生研究所

富山県衛生研究所

堺市衛生研究所

沖縄県衛生環境研究所

H26年度のレファレンス活動報告

- ✓ 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
→ウイルス分離効率の低いと考えられた機関への電話による情報交換
- ✓ 72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)

これまでの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 2. 未知7検体 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) 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 2. H7陽性コントロール
～2014年12月	72	未知6検体(RNA抽出不要)

H27年度の実施

○ 既に実施中の項目

- ✓ 全国地衛研のインフルエンザウイルス分離検査について
地衛研全国協議会会員80機関を対象にアンケート調査を実施

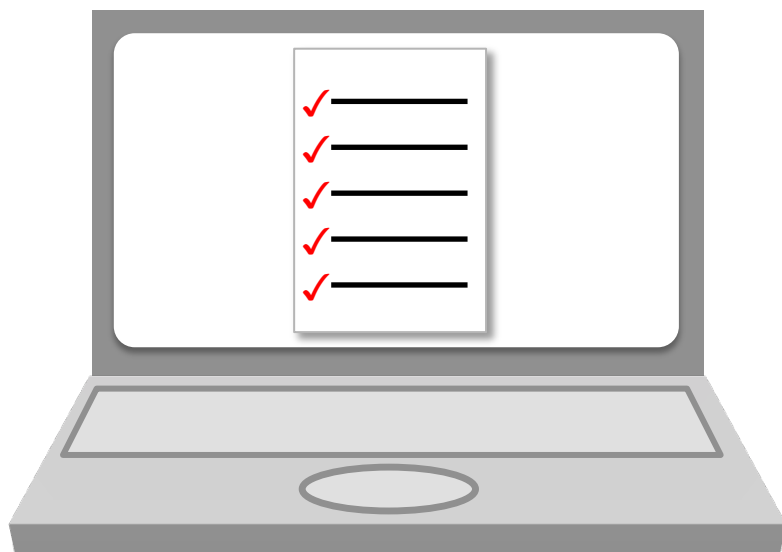
○ 実施予定の項目

- ✓ EQAP(2015)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)

◆2015/16シーズンの実施要綱は8月に発送予定

地方衛生研究所におけるウイルス分離と 型・亜型同定法のアンケート調査について



8月31日まで受け付けておりますので、
ご協力をよろしくお願い致します。

EQA2015について

- 「参加登録」の送付
- 今年度は未知の検体として、RNA抽出を必要とする5検体と抽出不要の1検体を送付
(昨年度はRNA抽出不要の6検体)
- 亜型同定およびCt値の報告(簡単なアンケートへの回答含む)

11. カンピロバクター

衛生微生物技術協議会(2015.7.24, 仙台)

レファレンスセンター
「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

各支部センターにおける型別菌株数(2014年)

支部センター	集団由来 菌株数	(事件数)	散発由来 菌株数	食肉 菌株数	合計
秋田県健康環境センター	2	(1)	47	13	62
東京都健康安全研究センター	121	(30)	125	0	246
愛知県衛生研究所	31	(7)	32	0	63
大阪府立公衆衛生研究所	73	(34)	23	0	96
広島市衛生研究所	31	(9)	117	64	212
山口県環境保健センター	0	(0)	44	0	44
熊本県保健環境科学研究所	84	(21)	4	0	88
合計	342	(102)	392	77	811

カンピロバクターの血清型別法

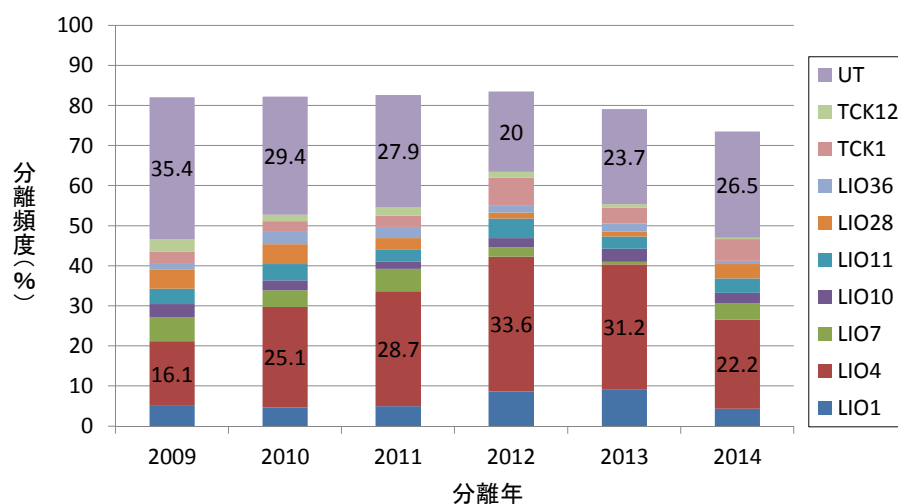
	Lior 法 自家調製	Penner 法 市販品(デンカ生研)
方法	スライド凝集反応	受身血球凝集反応
標的抗原	易熱性抗原 (H, K様抗原?)	耐熱性菌体抗原 (LOS)
血清群数	30(原法:118)	25(原法:57)
操作性	容易	煩雑
判定	やや困難	容易
価格	安価	高価(1検体 2000円)

散発下痢症由来*C. jejuni* のLior血清型別成績 (全国・2014年)

血清型	秋田	東京	愛知	大阪	広島	山口	熊本	合計	(%)
LIO 4	9	27	10	6	28	6	0	86	(22.2)
TCK 1	2	12	1	0	6	0	0	21	(5.4)
LIO 1	2	4	0	0	7	4	0	17	(4.4)
LIO 7	0	8	0	2	3	3	0	16	(4.1)
LIO 11	1	6	0	2	3	2	0	14	(3.6)
LIO 28	0	4	3	0	4	3	0	14	(3.6)
その他*	8	23	6	3	34	13	3	89	(22.9)
小計	22	83	20	13	85	31	3	257	(66.2)
(%)	(47.8)	(66.4)	(62.5)	(61.9)	(72.6)	(72.1)	(75.0)	(66.2)	
複数血清	6	5	7	0	10	0	0	28	(7.2)
型別不能	18	37	5	8	22	12	1	103	(26.5)
合計	46	125	32	21	117	43	4	388	

*20種類

Lior法による散発下痢症由来*C. jejuni*の 主要血清型分離頻度(全国・2009-2014年)

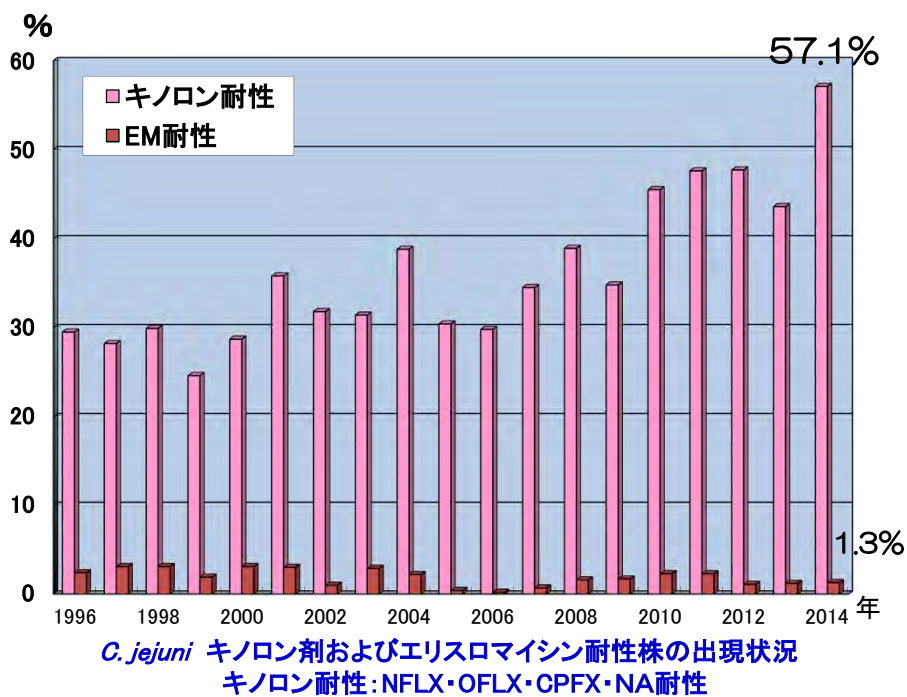
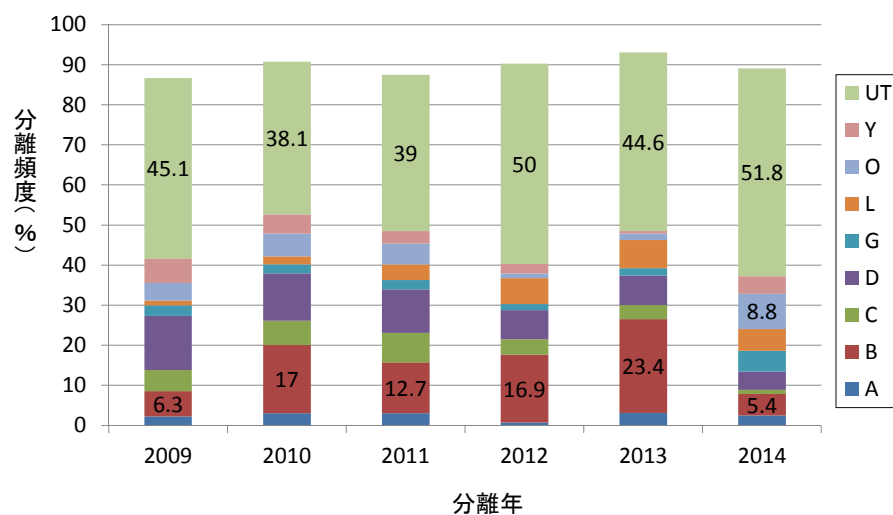


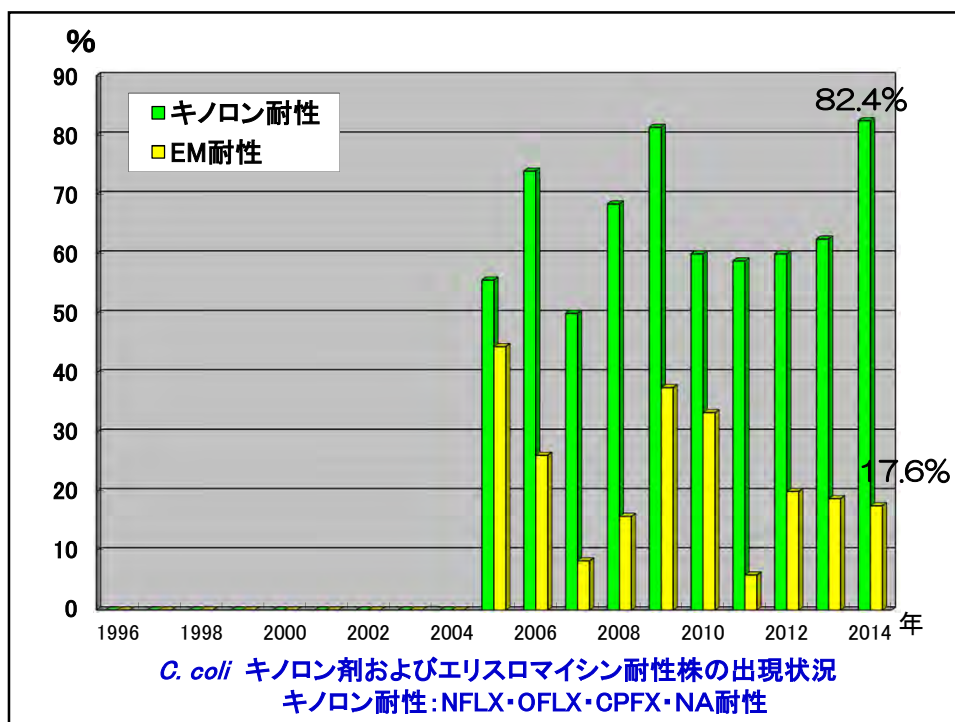
散発下痢症由来*C. jejuni*のPenner血清型別成績 (全国・2014年)

血清型	秋田	東京	愛知	大阪	広島	山口	熊本	合計	(%)
O群	0	7	1	0	17	9	0	34	(8.8)
B群	2	4	6	0	7	2	0	21	(5.4)
L群	1	14	0	1	5	0	0	21	(5.4)
G群	7	10	0	1	2	0	0	20	(5.2)
D群	6	6	0	2	2	2	0	18	(4.6)
Y群	1	4	5	0	3	4	0	17	(4.4)
その他*	11	16	4	4	9	5	0	49	(12.6)
小計	28	61	16	8	45	22	0	180	(46.4)
(%)	(60.9)	(48.8)	(50.0)	(38.1)	(38.5)	(51.2)	(0)	(46.4)	
複数血清	6	1	0	0	0	0	0	7	(1.8)
型別不能	12	63	16	13	72	21	4	201	(51.8)
合計	46	125	32	21	117	43	4	388	

*14種類

Penner法による散発下痢症由来*C. jejuni*の
主要血清型分離頻度(全国・2009-2014年)





今年度の計画

1. Lior 法による診断用血清(30種類)の作製と型別
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
4. 遺伝子型別法の検討
5. 検査マニュアルの見直し

12. アデノウイルス

アデノウイルスレファレンスセンター報告

世話人 藤本嗣人、花岡希

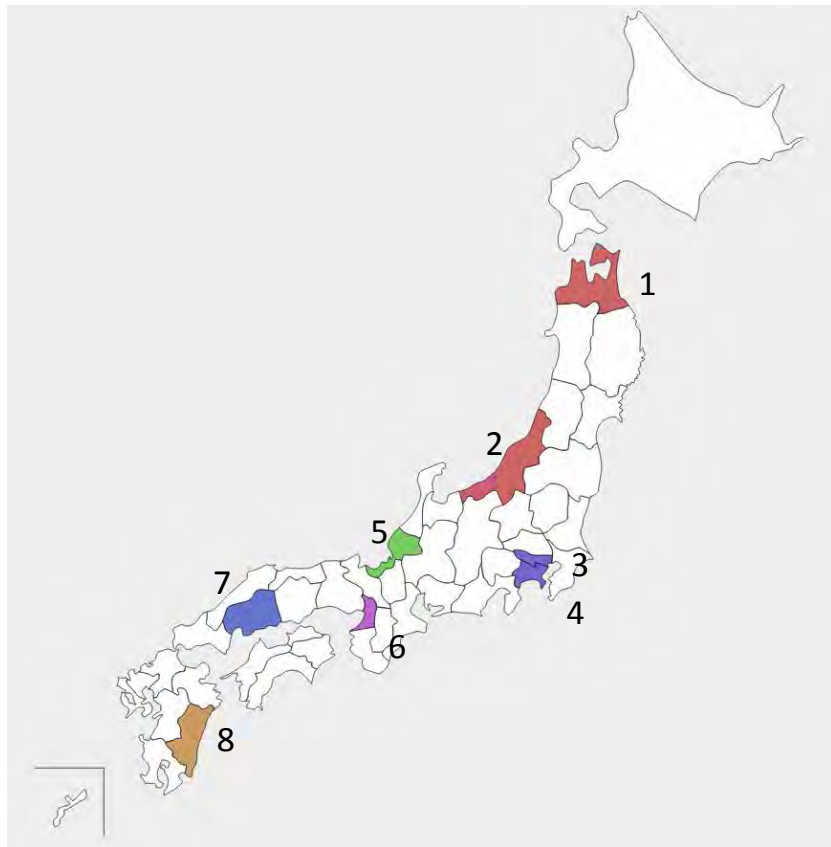
国立感染症研究所 感染症疫学センター

会議: 2015-7-23 10:10 – 11:10

報告: 2015-7-24 15:10 – 16:40



アデノウイルス地区レファレンスセンター



北海道・新潟・東北地区

1. 青森県環境保健センター
2. 新潟県保健環境科学研究所

関東・甲・信・静地区

3. 東京都健康安全研究センター
4. 川崎市健康安全研究所

東海・北陸地区

5. 福井県衛生環境研究センター

近畿地区

6. 大阪府立公衆衛生研究所

中国・四国地区

7. 広島市衛生研究所

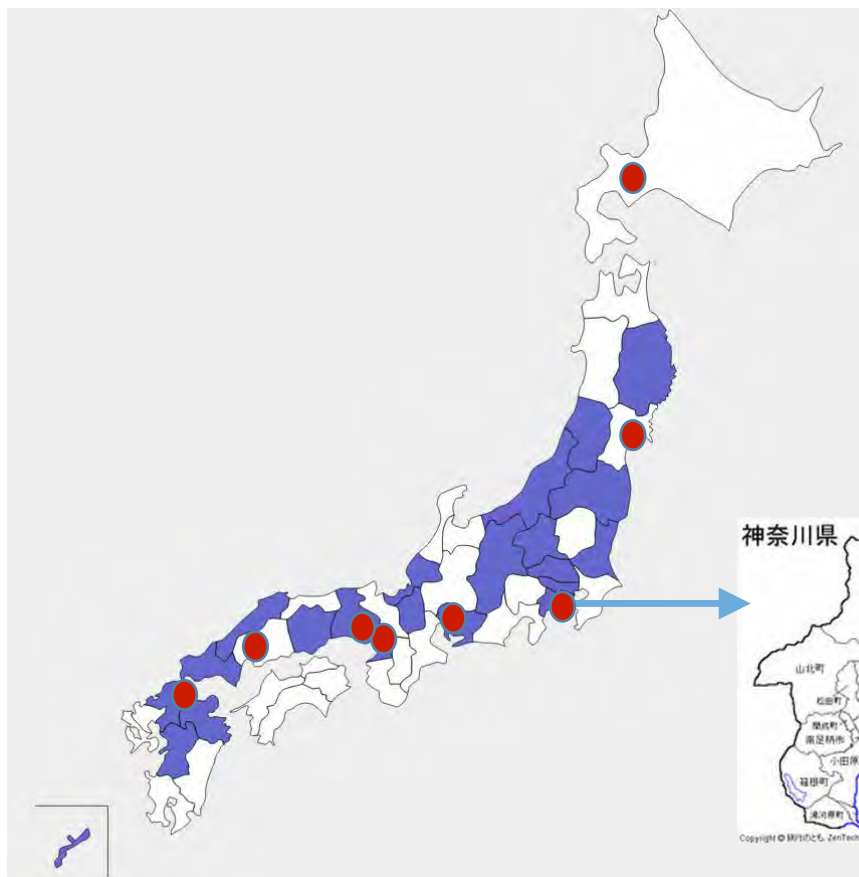
九州地区

8. 宮崎県衛生環境研究所

アデノウイルスレファレンスセンター・実施事項

- ・細胞の送付
- ・難同定株の同定
- ・検査法の標準化
- ・マニュアルの整備
- ・検査法に関する問い合わせへの対応
- ・新しい検査法の開発
- ・アデノウイルス感染症に関する啓発
(正確な情報発信) ホームページ・メディア

アンケートにより新型コロナウイルス53、54、56型の検出報告がありと 答えた地研



2014年3月アンケート



2014年度の特記事項

1. アデノウイルス57型の日本における検出:

- 島根県、大阪府、兵庫県、広島市など

IASR Vol. 35 p. 222-223: 2014年 9月号

島根県保健環境科学研究所 辰己智香先生ら

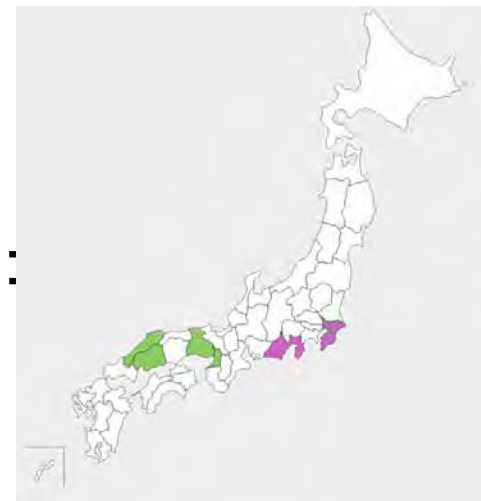
IASR Vol. 35 p. 278: 2014年11月号

大阪府立公衆衛生研究所 森川佐依子先生ら

2. アデノウイルス48型変異株の結膜炎患者からの検出:

- 千葉県、静岡県

IASR



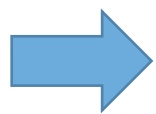
54型の院内感染事例

過去の事例:

アレルギー結膜炎と診断されたことによる地域への
流行拡大

近年の事例:

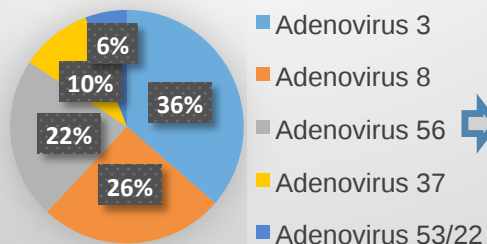
消毒薬が目に入った患者 → 感染性と考えず →
点眼薬使い回し → 流行性角結膜炎が感染拡大



- アデノウイルス感染を疑わないことは危険
- 論文にも54型の院内感染例の報告あり
- 54型は日本でのみ検出されている型

日本における流行性角結膜炎(EKC)

EKC 2011, N = 121



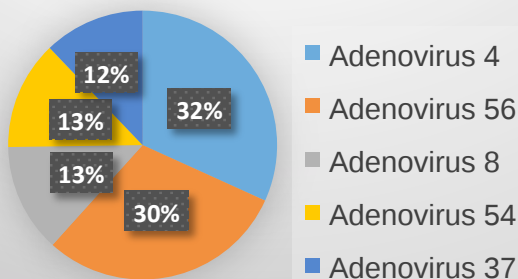
新型ジェノタイプ

2015年は54型が比較的多い

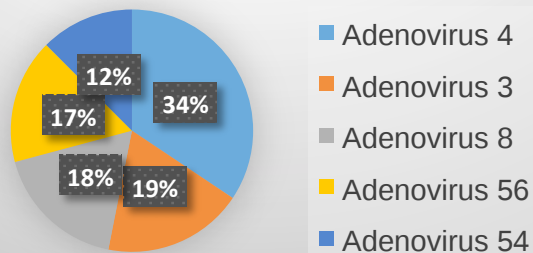
56型は毎年流行

53型は2011年

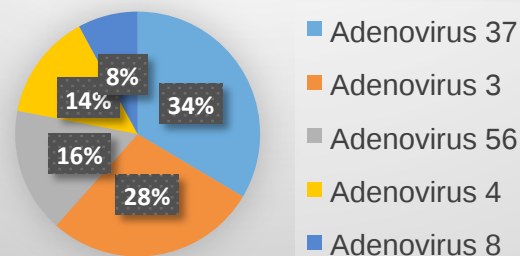
EKC 2012, N = 107



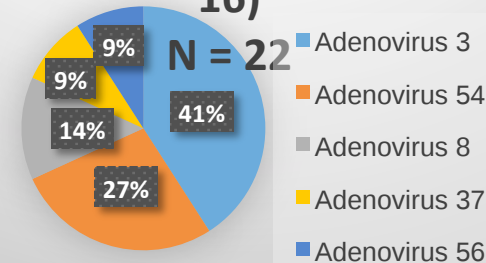
EKC 2013, N = 96



EKC 2014 N = 164



EKC 2015 (As of June 16)

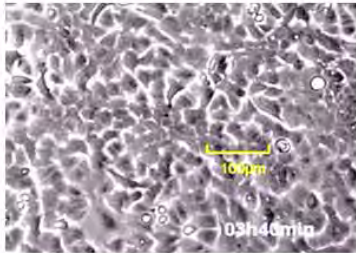


質問事項とその回答

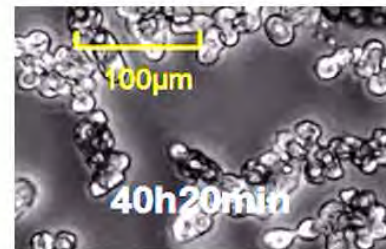
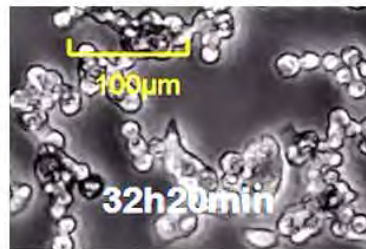
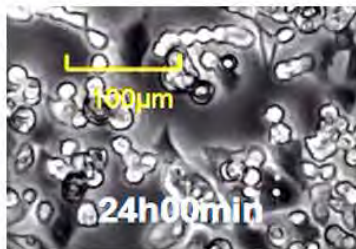
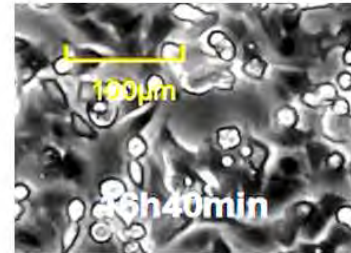
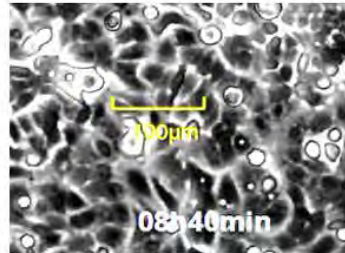
- 1) 全塩基配列をしなければ型別できないか
.....ヘキソングループ領域とファイバー領域のPCRにより型別するのが現実的。難しい場合は連絡してほしい。
- 2) マニュアルのペントンベースによるPCRに関して:
陰性になる場合がある & ヘキソンの型別と合わない場合がある
.....感染研で検討する。

アデノウイルスによる細胞の変化 (動画あり)

A549細胞における 56型の増殖



A549 cells



アデノウイルスレファレンスセンターとして**アデノウイルス検出マニュアル**は既に作成し、改定も行っている。



より基本的な情報の提供が必要

53,54,56 PCR → EKCを引き起こす8型、53型、54型、56型を鑑別的に検出できるPCR法を開発

* 人員削減・引き継ぎ困難な場合あり

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

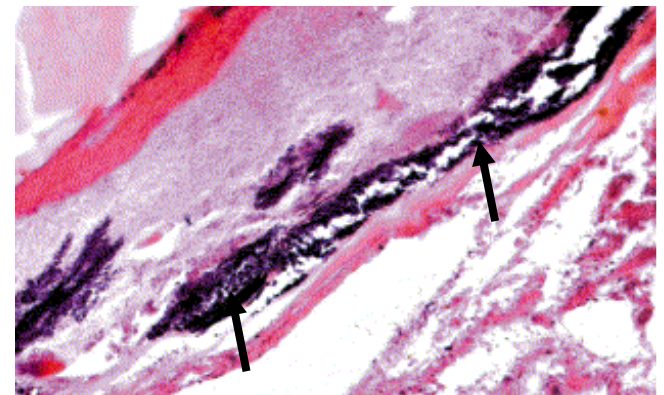
○A群溶血性レンサ球菌咽頭炎（小児科定点報告疾患）
A群レンサ球菌による上気道感染症

○劇症型溶血性レンサ球菌感染症（全数報告疾患）
 β 溶血を示すレンサ球菌を原因とし、突発的に発症して
急激に進行する敗血症性ショック病態

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

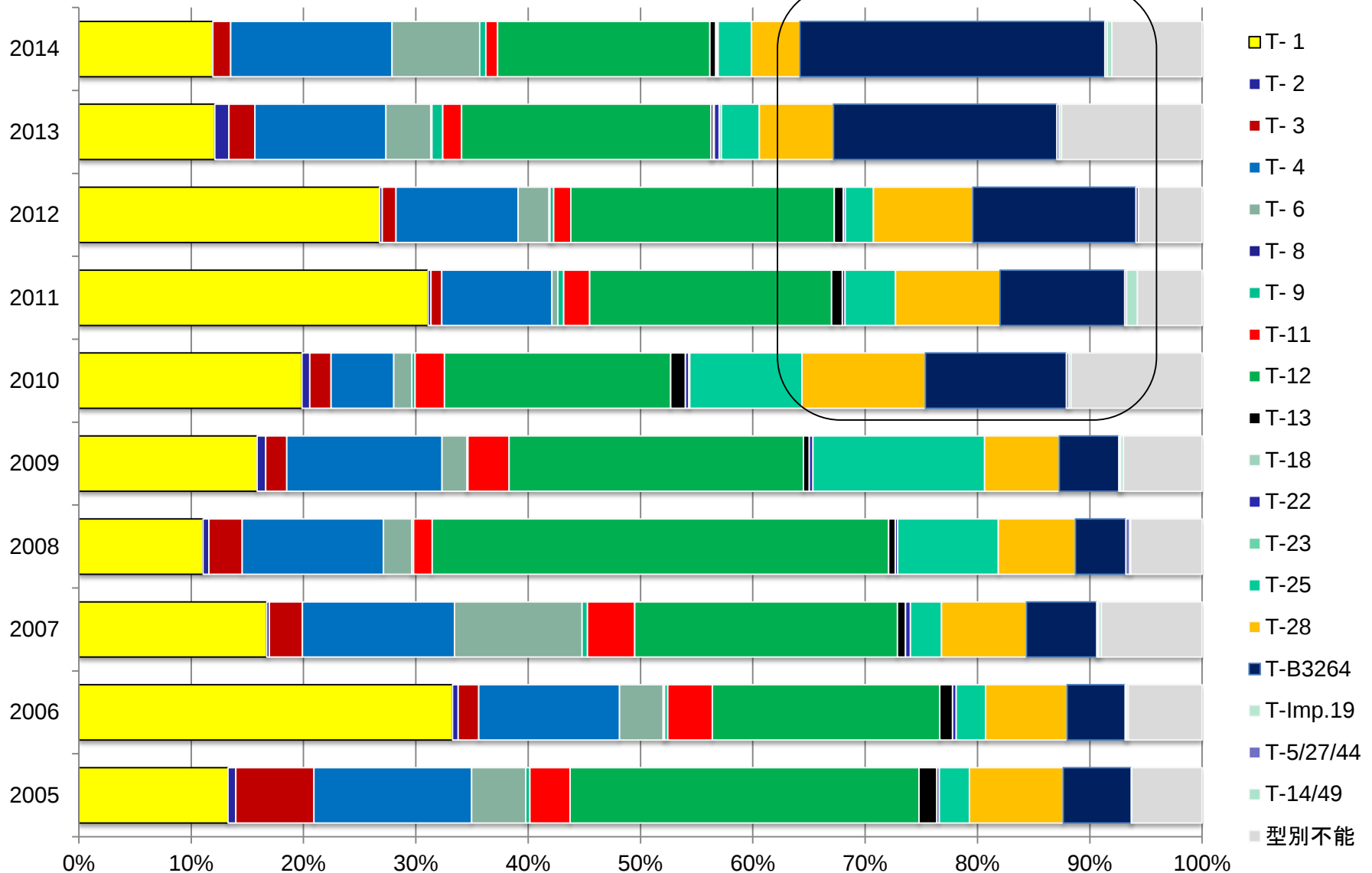
- 菌種の同定
- *emm*遺伝子型別など

その他のレンサ球菌

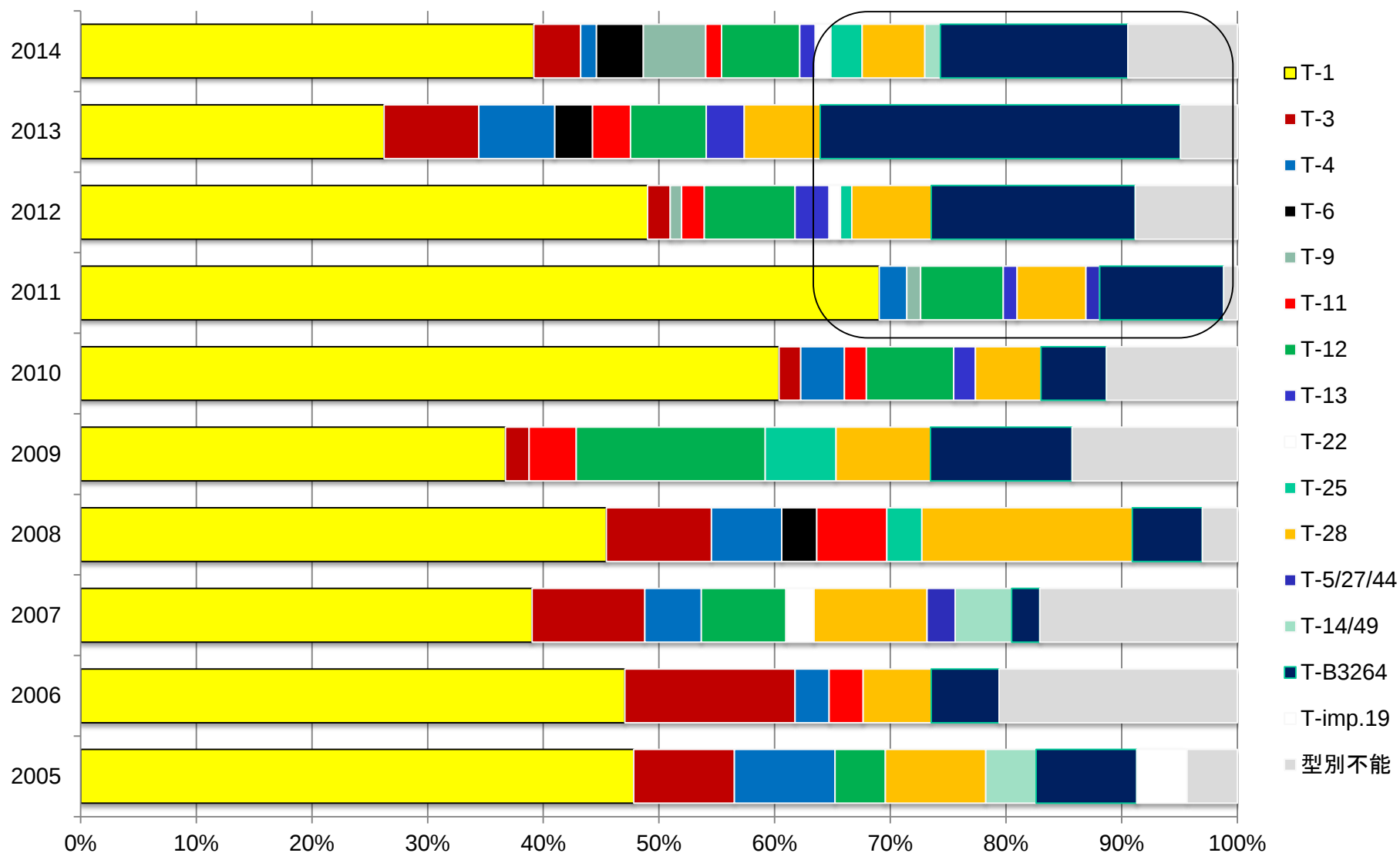
- 菌種の同定など

薬剤感受性試験

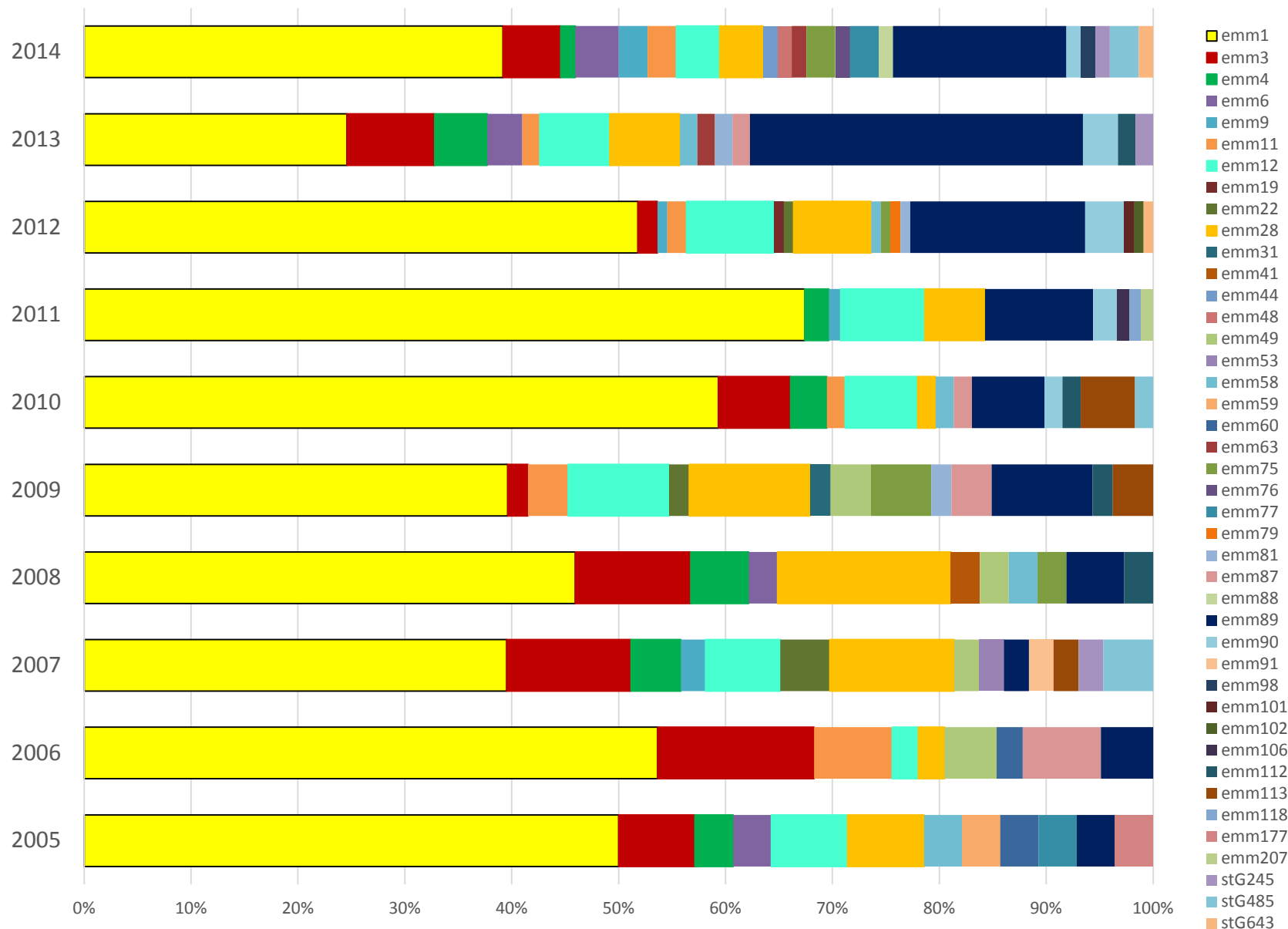
咽頭炎由来株のT型別（2005-2014）



劇症型溶レン菌感染症患者由来株のT型別（2005-2014）



劇症型溶レン菌感染症患者由来株の*emm*型別（2005-2014）



TB3264型⇒*emm*89型

14．麻疹・風疹

平成27年7月24日
衛生微生物技術協議会第36回研究会
於：仙台国際センター



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

鳥取県衛生環境研究所

山形県衛生研究所

国立感染症研究所

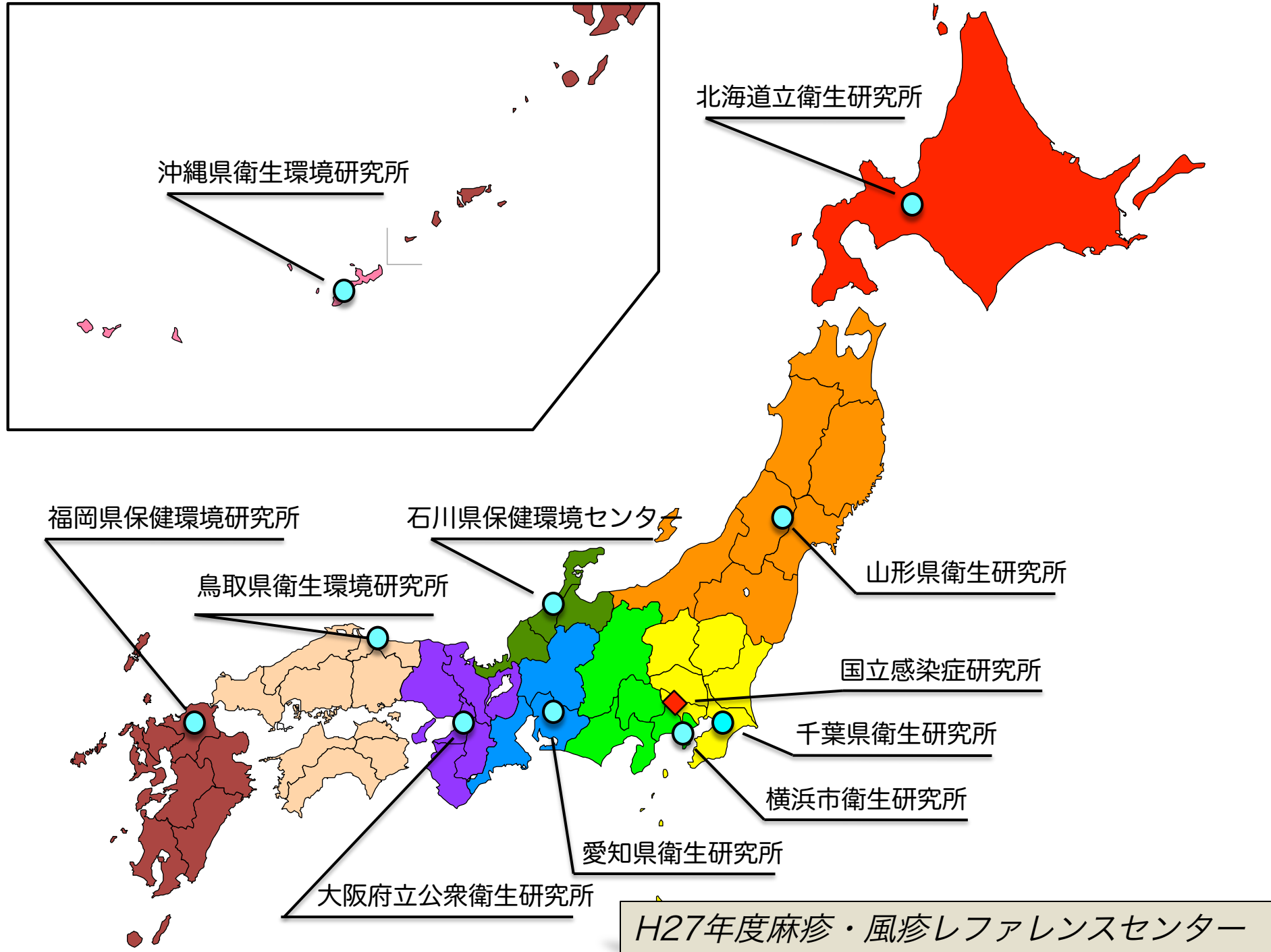
千葉県衛生研究所

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

H27年度麻疹・風疹レファレンスセンター



H27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
沖縄	沖縄県衛生環境研究所	加藤峰史

Brunei Darussalam, Cambodia, Japan verified as achieving measles elimination

Western Pacific Region achieves progress towards measles elimination, but challenges remain

News release

MACAO SAR (CHINA), 27 MARCH 2015 - Brunei Darussalam, Cambodia and Japan have been verified as having achieved measles elimination by the Measles Regional Verification Commission. The three countries join Australia, Macao SAR (China), Mongolia and the Republic of Korea as countries and areas in the Western Pacific Region that have successfully eliminated measles.



WHO/B. Bayutas

麻疹排除等の定義 (WHO)

- Measles elimination (麻疹排除)

適切なサーベイランス体制の下で、ある特定に地域において、常在する麻疹ウイルスの伝播が12ヶ月間以上ないこと

- Endemic measles transmission (麻疹の流行)

ある特定の地域で、そこに常在する麻疹ウイルス、あるいは12ヶ月間以上持続して存在している輸入麻疹ウイルスによる麻疹の継続的な伝播があること

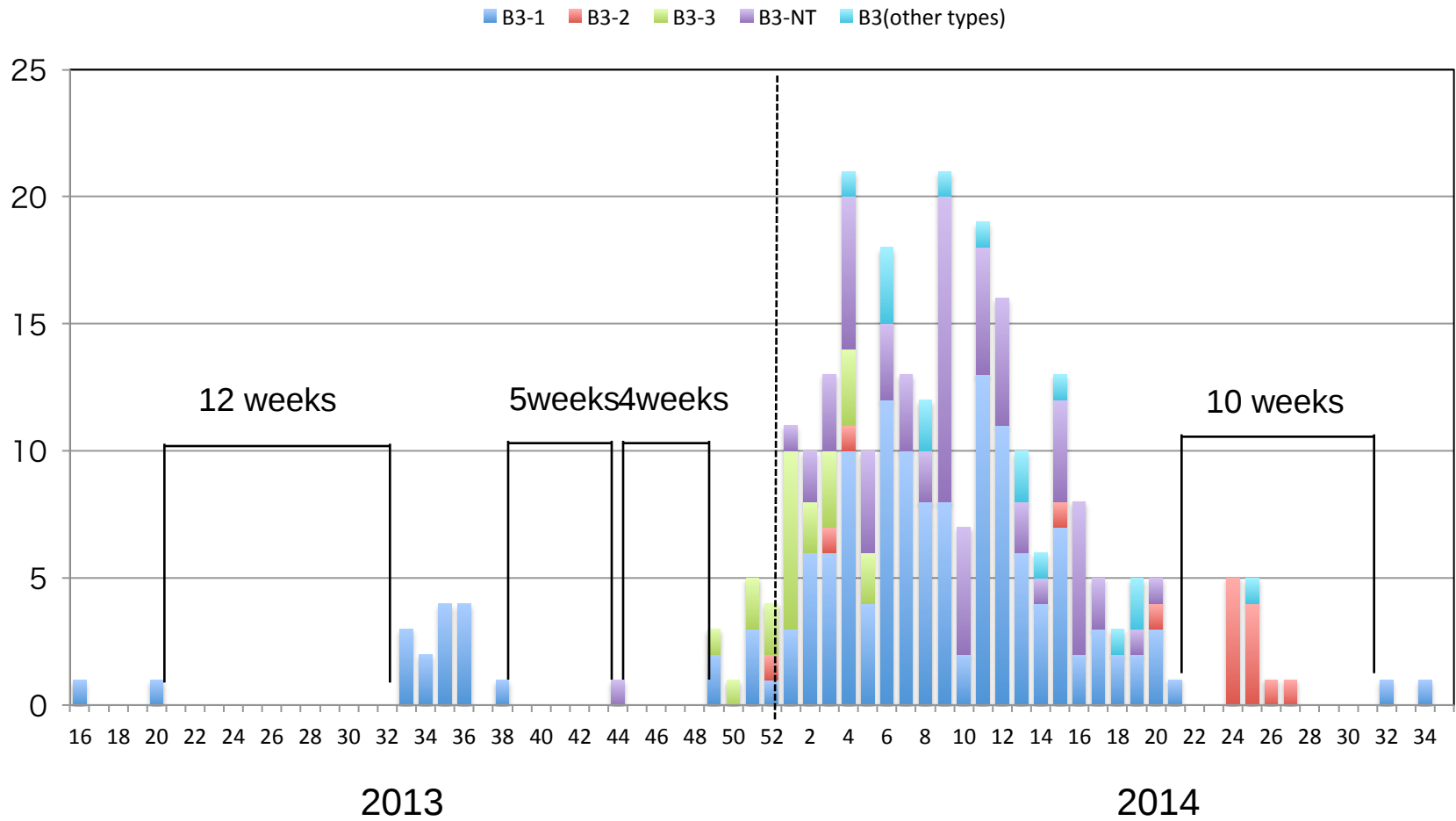
- Re-establishment of endemic transmission (麻疹の再興)

一度麻疹が排除された地域において、12ヶ月間以上ある麻疹ウイルスによる伝播の連鎖が中断せずに継続している事が疫学的、実験的に示された時

地方衛生研究所で実施された 麻しん、風しんのPCR検査

年	麻しん		風しん	
	検査症例数	陽性数	検査症例数	陽性数
2013	1821	55	2238	951
2014	2210	417	984	29

Measles cases by genotype B3 viruses by Week of onset



麻疹排除等の定義 (WHO)

- Measles elimination (麻疹排除)

適切なサーベイランス体制の下で、ある特定に地域において、常在する麻疹ウイルスの伝播が12ヶ月間以上ないこと

- Endemic measles transmission (麻疹の流行)

ある特定の地域で、そこに常在する麻疹ウイルス、あるいは12ヶ月間以上持続して存在している輸入麻疹ウイルスによる麻疹の継続的な伝播があること

- Re-establishment of endemic transmission (麻疹の再興)

一度麻疹が排除された地域において、12ヶ月間以上ある麻疹ウイルスによる伝播の連鎖が中断せずに継続している事が疫学的、実験的に示された時

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://www.mhlw.go.jp/stf/'. The page title is 'NESID ログイン'. The main form contains several fields: '報告機関' (Reporting Institution) with a dropdown menu, '報告種別' (Reporting Type) with a dropdown menu, '病原体種別' (Pathogen Type) with a dropdown menu, and '検出病原体' (Detected Pathogen) with a text input field. The '検出病原体' field contains 'Rubella virus genotype 2B'. Below these fields are buttons for '登録' (Register), '連続登録' (Continuous Registration), '一時保存' (Temporary Save), and '戻る' (Back). A red circle highlights the '検出病原体' field.

報告機関: 感染症研究所 (選択) | 検疫所 (選択)

報告種別: 1-5種全数報告 (選択) | 定点の種類: (選択)

病原体種別: ウイルス (選択) | 検体提供番号: (入力欄) | 検体採取年月日: 2024年06月18日

検出病原体: 検出病原体選択 | Rubella virus genotype 2B

検体提供者: 型別結果 | 分離材料 | 検体性状・遺伝子 | 検出方法 | 検体の事項 | 備考 | 管理 | インフルエンザウイルス

登録 | 連続登録 | 一時保存 | 戻る

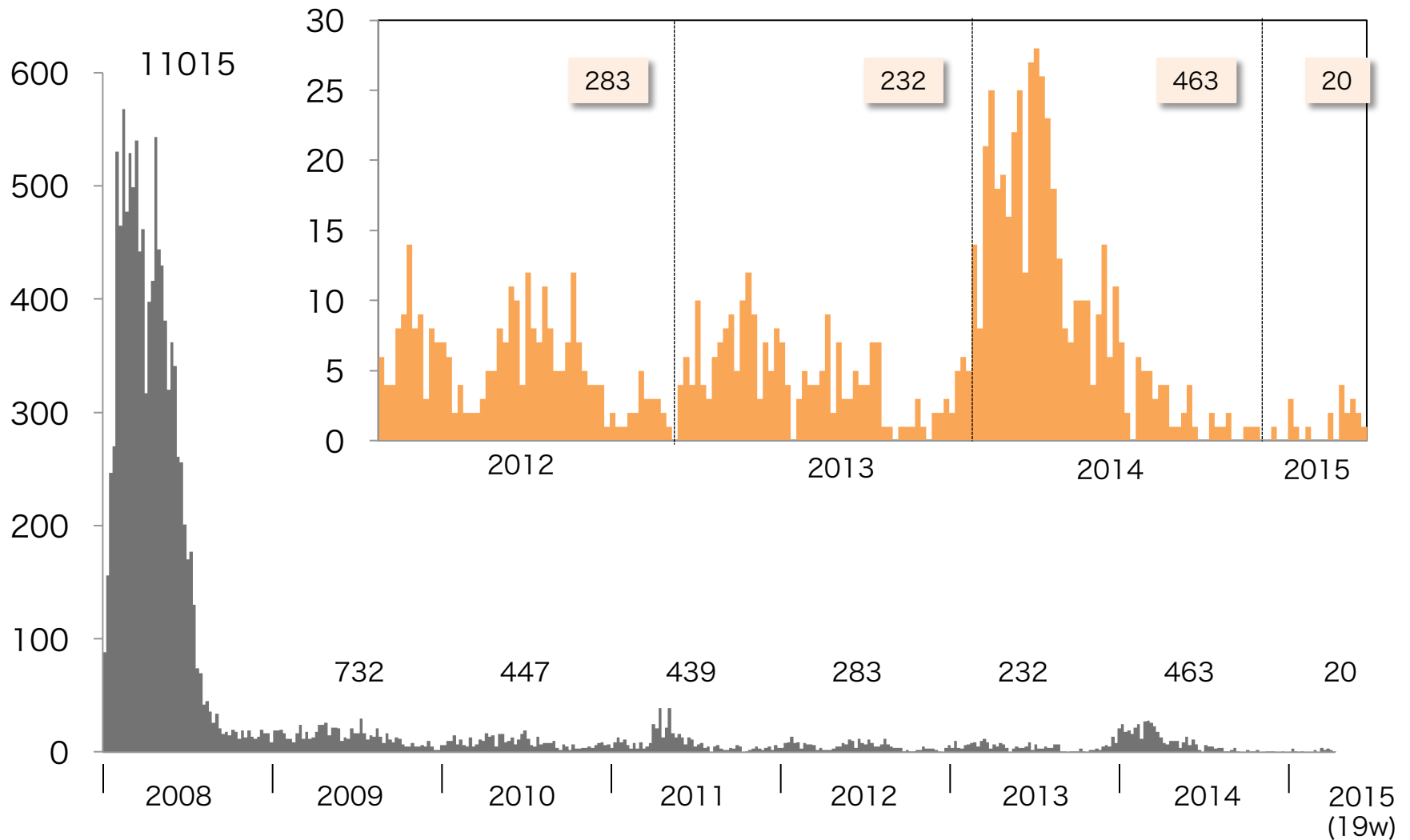
最近の検体年月日: (選択) 年 (選択) 月 (選択) 日

備考

検体配列

- 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

Number of reported measles cases (2008 ~ 2015.19 W)

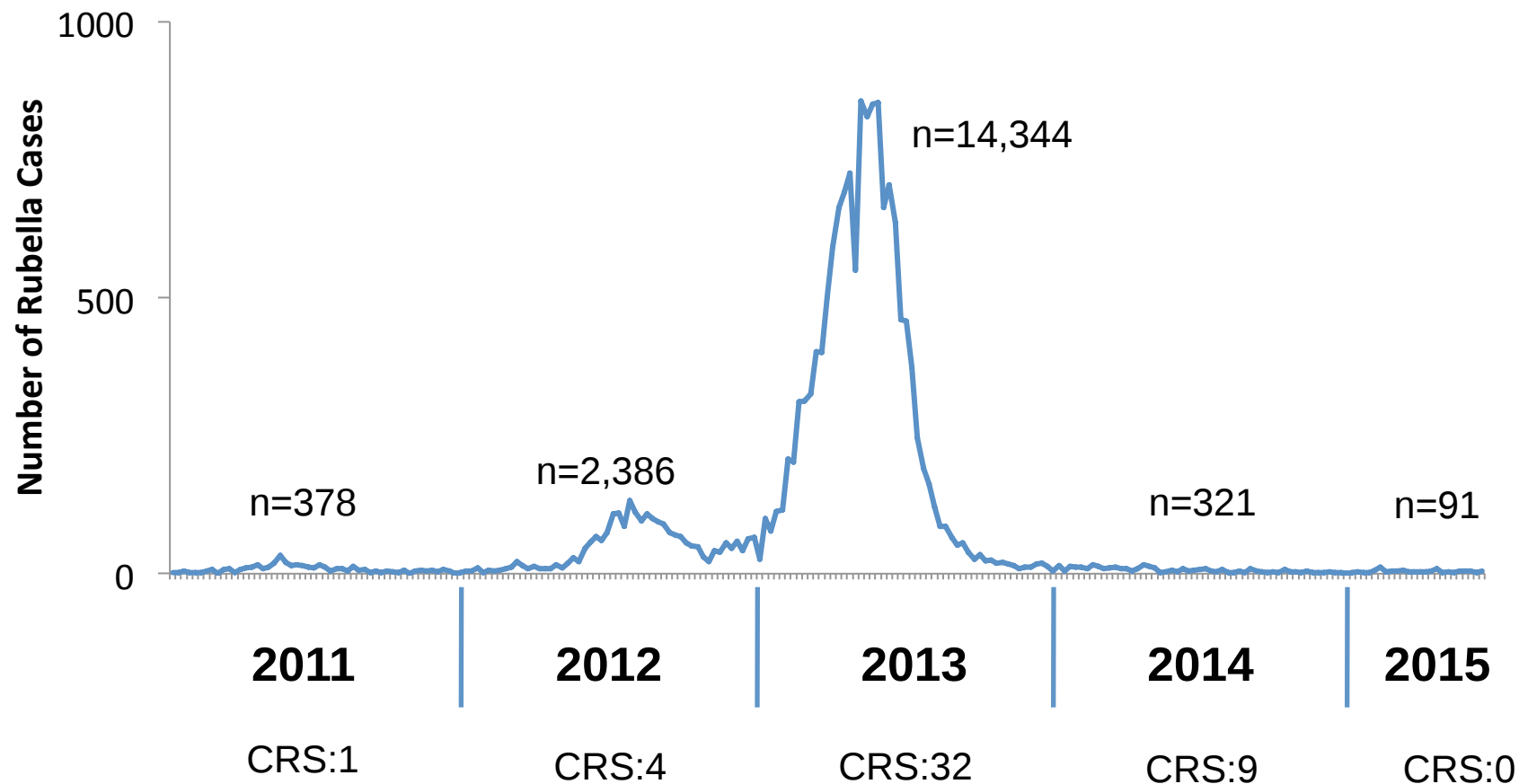


風しんに関する特定感染症予防指針

(平成26年3月28日 適用 平成26年4月1日 厚生労働省告示第122号)

目標：早期に先天性風しん症候群の発生をなくするとともに、平成32年度までに風しんの排除を達成することを目標とする。なお、本指針における風しんの排除の定義は、麻しんの排除定義に準じて、「適切なサーベイランス体制の下、土着株による感染が一年以上確認されないこと」とする。

風疹患者報告数の推移



- 病原体検出マニュアル 麻疹 (第3版)
- 病原体検出マニュアル 風疹 (第3版)

1-イ) real-time RT-PCR 法

A) 概要

TaqMan プローブを用いた real-time RT-PCR による麻疹ウイルス N 遺伝子の検出法について述べる(図 2)(5)。本方法を行う際は、陽性コントロールとして *In vitro* 転写により作製されたスタンダード RNA を用いる。陰性コントロールとして水および水を検体として RNA 抽出を行ったサンプル (RNA 抽出の陰性コントロール) を用いる。ここでは、クロスコンタミネーションの起こる可能性を最小限にするために、RT 反応と real-time PCR 反応を同ウェル上で行う 1-step real-time RT-PCR 法について記載するが、RNA 抽出後、先に RT 反応を行い合成した cDNA を用いて同様の試薬・手順で real-time PCR のみを行う事も可能である。また反応サイクルが風疹リアルタイム RT-PCR 法と同じなので、麻疹、風疹の検査を同時に実施する事も可能である(4)。ここでは、ライフテクノロジーズ社の TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix および Applied Biosystems 7500 Fast リアルタイム PCR システムを用いた方法を示す。

73地衛研にプライマー、プローブを配布

平成 27 年 3 月

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
(Hummei et al., Journal of Virological Methods 132 (2006) 166-173)

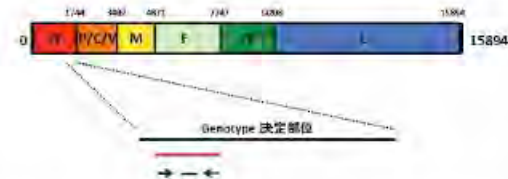


図 2

B) 主な試薬・機器

ウイルスRNA抽出キット (例: QIAamp Viral RNA Mini Kit ; キアゲン社)

病原体検出マニュアルの改訂

- 麻疹/風疹ウイルス遺伝子の命名法の改訂

MVs (RVs)/Miyagi.JPN/13.15 [D8]

~~検体採取週(疫学週)~~

1. 発疹発症週
2. 発症週
3. 検体採取週

EQA (Molecular PT) の試行

- 麻疹ウイルスゲノム検出法であるnested RT-PCR法の精度管理
- 山口県環境保健センター 調所長との共同研究
- 参加地方衛生研究所 22カ所
- 麻疹の検査診断状況の把握

検査感度の検証、一連の検査技術の確認

- 精度管理法の検討、feed backの方法等の検討
- 機器の精度管理の状況の調査（ピペットマン、シークエンス-等）

H27年度レファレンス活動

- Real-time PCR法の導入
 - ✓ 病原体検出マニュアルの改訂、参照RNAの配布
実施状況の調査（アンケート）
- 精度管理の実施
 - Real-time PCR, conventional RT-PCR
 - ✓ Real-time PCRの精度管理
 - ✓ 被検品による一連の工程の精度管理
- 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

リケツチア症レファレンスセンター会議 報告2015

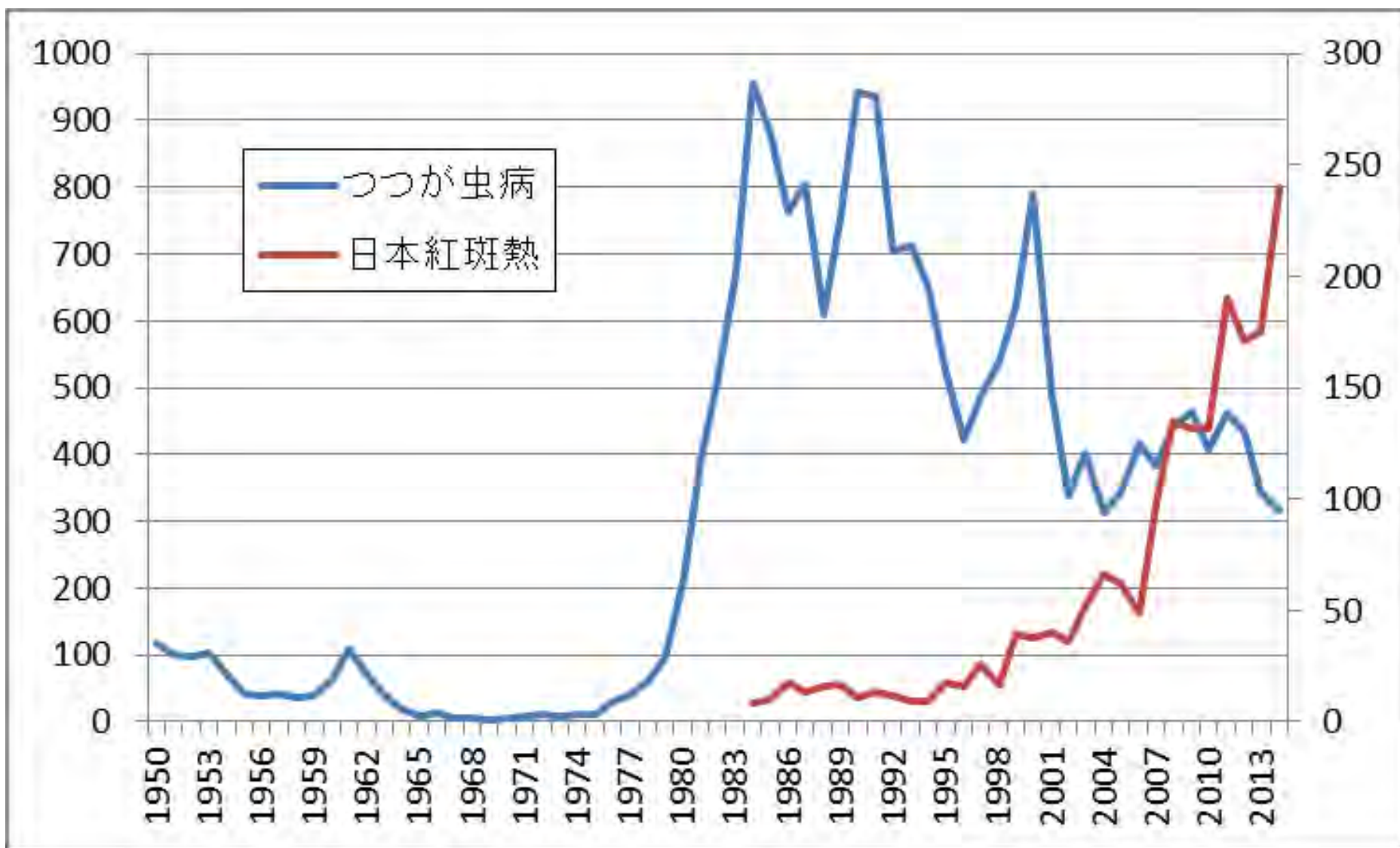
全国衛生微生物技術協議会, 2015年7月24日, 仙台

- 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

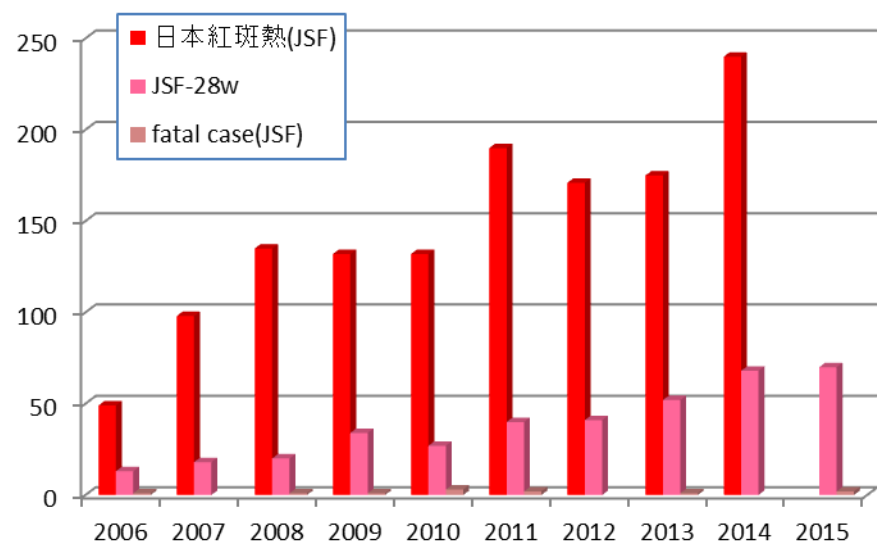
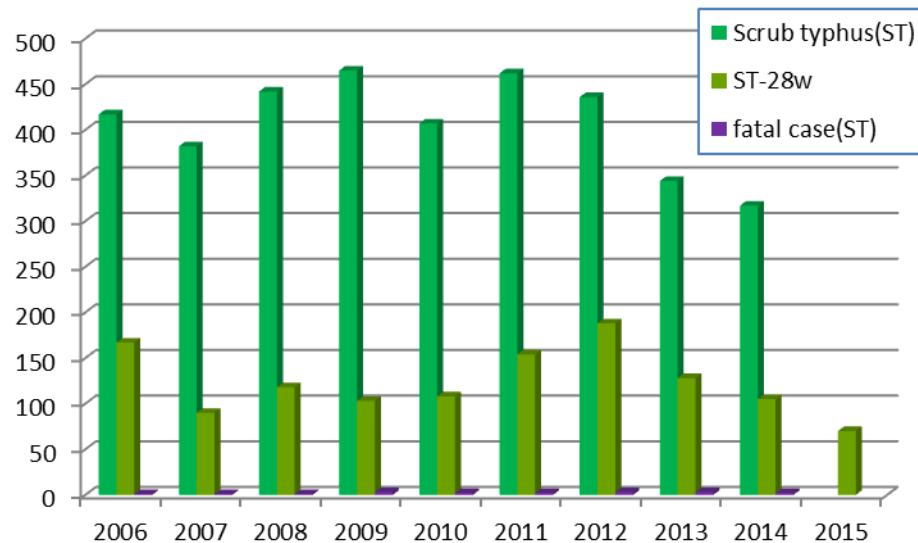
世話人 安藤秀二
国立感染症研究所
ウイルス第一部第五室
shuando@nih.go.jp

- **イントロ（情報共有：発生状況 等）**
- **情報提供（診断系）**
- **活動状況と今後の予定**
- **意見交換**

国内のリケッチア症の推移



国内のリケッチア症の推移(2006-2015)



年	Scrub typhus(ST)	ST-28w	fatal case(ST)	日本紅斑熱(JSF)	JSF-28w	fatal case(JSF)
2006	417	167	1	49	13	1
2007	382	90	1	98	18	1
2008	442	118	1	135	20	1
2009	465	103	3	132	34	1
2010	407	108	2	132	27	3
2011	462	154	2	190	40	2
2012	436	188	3	171	41	1
2013	344	128	3	175	52	1
2014	317	105	2	240	68	2
2015	70	70	2	70	70	2

その他29週1例、未報告1例

日本紅斑熱発生地域の拡大(2014年:新潟県、栃木県)

* 各疾患の年間報告数、28週報告数、死亡数

国内の節足動物媒介(蚊を除く)感染症として鑑別に留意すべき疾患

マダニ媒介

SFGR

R. japonica(日本紅斑熱)

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. miyamotoii(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

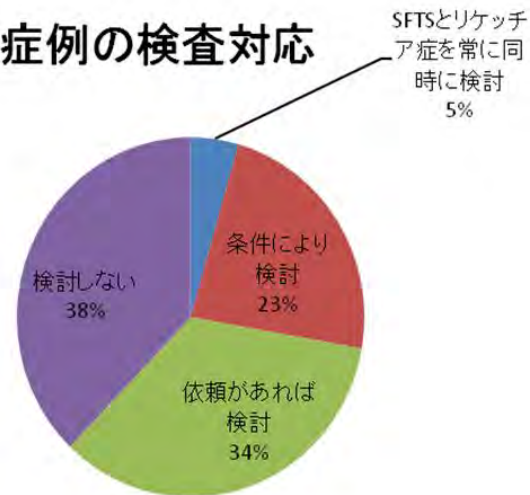
ツツガムシ媒介

O. tsutsugamushi(つつが虫病)

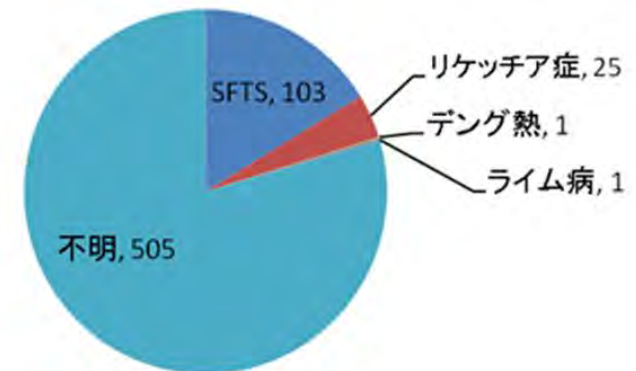
ノミ媒介

R. typhi(発疹熱)

SFTS疑い症例の検査対応



検査結果 N=635, 登録SFTS症例103参考



診断系情報

○リケッチア症の遺伝子検査検体

H26年度資料 再掲

紅斑熱群リケッチア(日本紅斑熱):

つつが虫病:

発疹チフス群リケッチア:

* 血液は抗菌薬投与前

痂皮(Eschar) > 紅斑部生検 > 急性期血液 *

痂皮(Eschar) > 紅斑部生検 ≥ 急性期血液 *

紅斑部生検 ≡ 急性期血液

○Real time PCR for *R. japonica* and *R. heilongjiangensis*

Hanaoka N, Ando S et al. Diagnostic Assay for *Rickettsia japonica*.

Emerg Infect Dis 15:1994-1997, 2009

○multiplex RT-PCR (SFGR & Scrub typhus)

H27度資料

☆One tube nested PCR for Tsutsugamushi Disease
(資料配布)

リケッチア・レファレンスセンター活動状況

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

(役割)

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

本年度の活動目標(検討課題)

- 日本紅斑熱のリアルタイムPCR系の標準化
- つつが虫病のリアルタイムPCR系の評価
- 標準株、分離株の維持(リスク分散)
- ブロック毎の診断協力体制の再構築？
- ブロック内、ブロック間の情報共有
- ダニ媒介感染症の総合的かつ体系的検査対応体制を目指す。
- 検査マニュアルのブラッシュアップ

*レファレンス・センター会議で最終調整

大きな課題

担当者の短期間における異動

- 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
 - 埼玉県衛生研究所
 - 東京都健康安全研究センター
- 近畿ブロック
 - 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

16. HIV関連

レファレンスセンター等報告

16. HIV関連

議 題

議題1：HIV発生動向、検査体制に関する情報交換

- ・ 検査体制(総括)； 神奈川衛研 近藤真規子先生
- ・ 検査体制（東京）； 東京健安セ 長島真美先生
- ・ 発生動向（総括）； 感染研 松岡

議題2：今後のネットワーク維持に関する意見交換

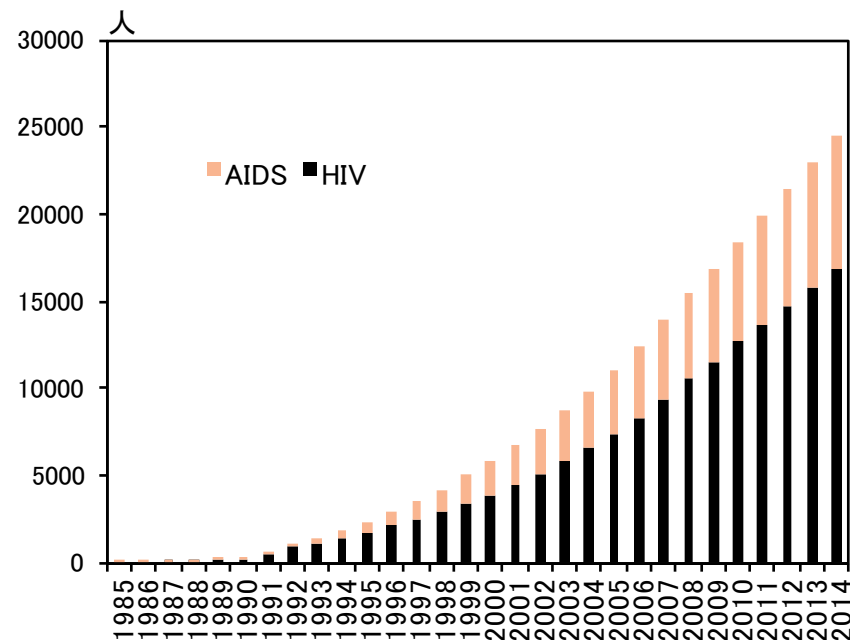
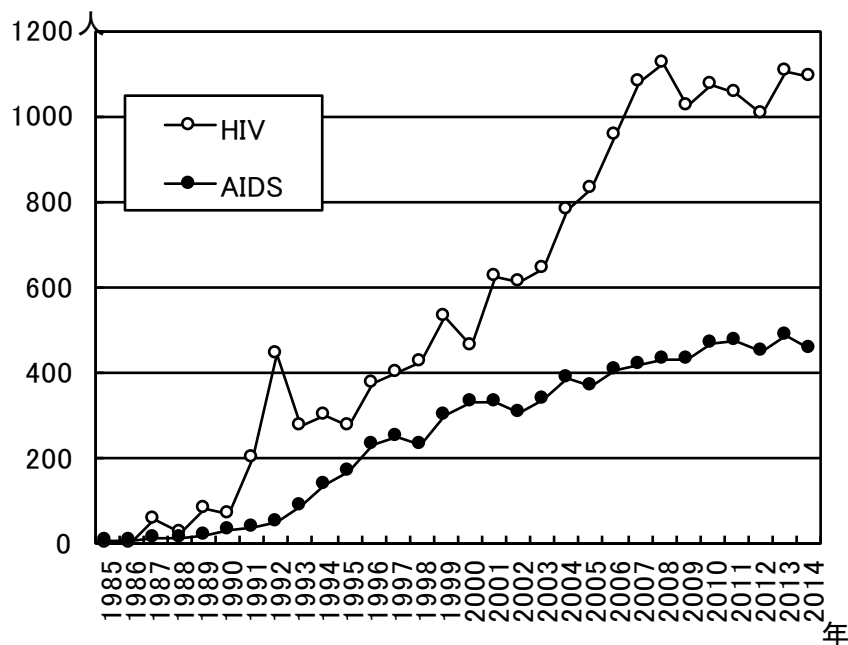
日本国内におけるエイズ発生動向 2014年末時点

2014年新規報告件数 1546件(過去3位)

HIV感染者 1,091件, AIDS患者 455件

累積報告数 24,561件

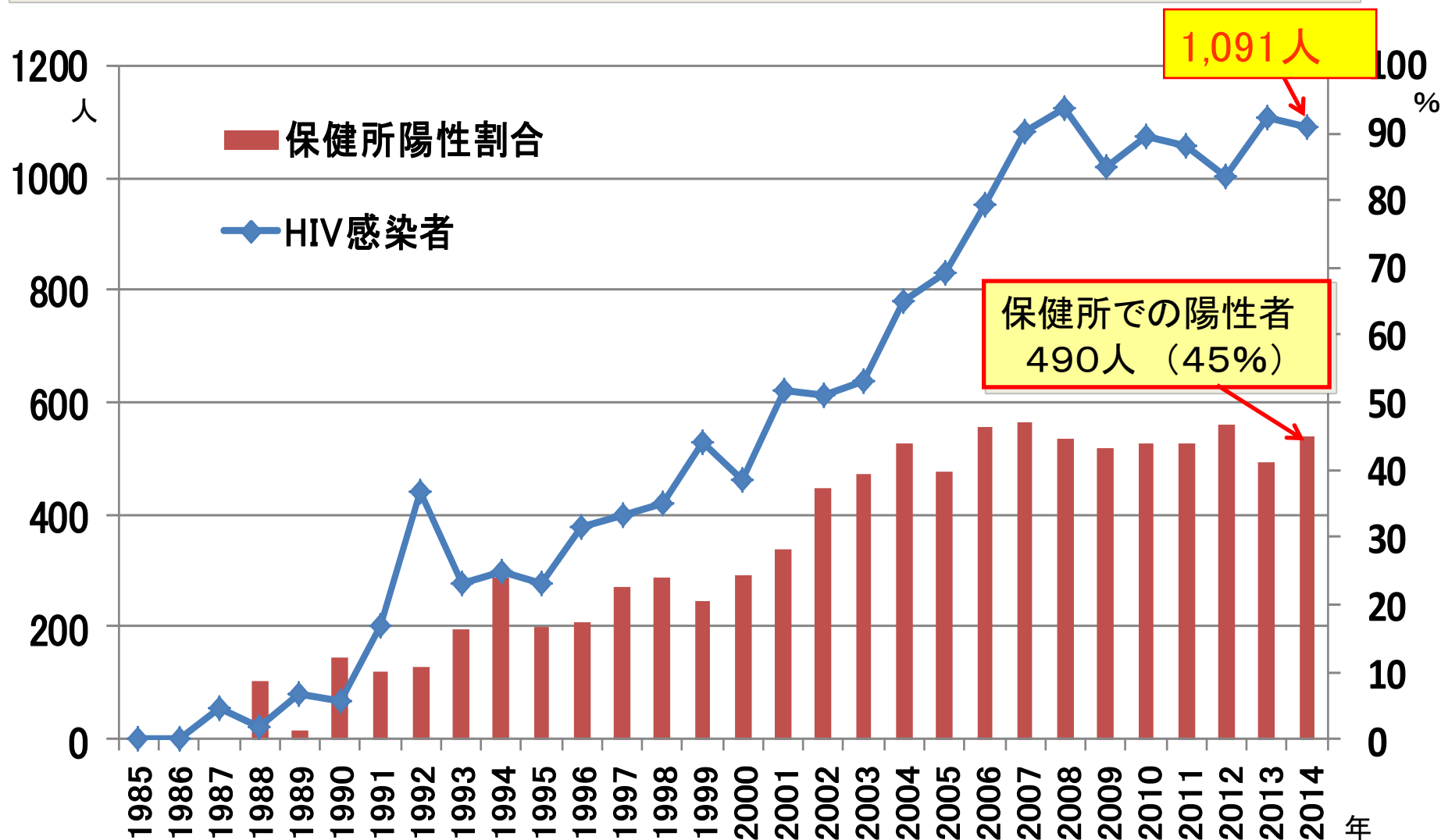
(凝固因子による感染を除く)



・新規報告数は1500件前後で推移。新規報告数のうちエイズ患者が3割を占める。

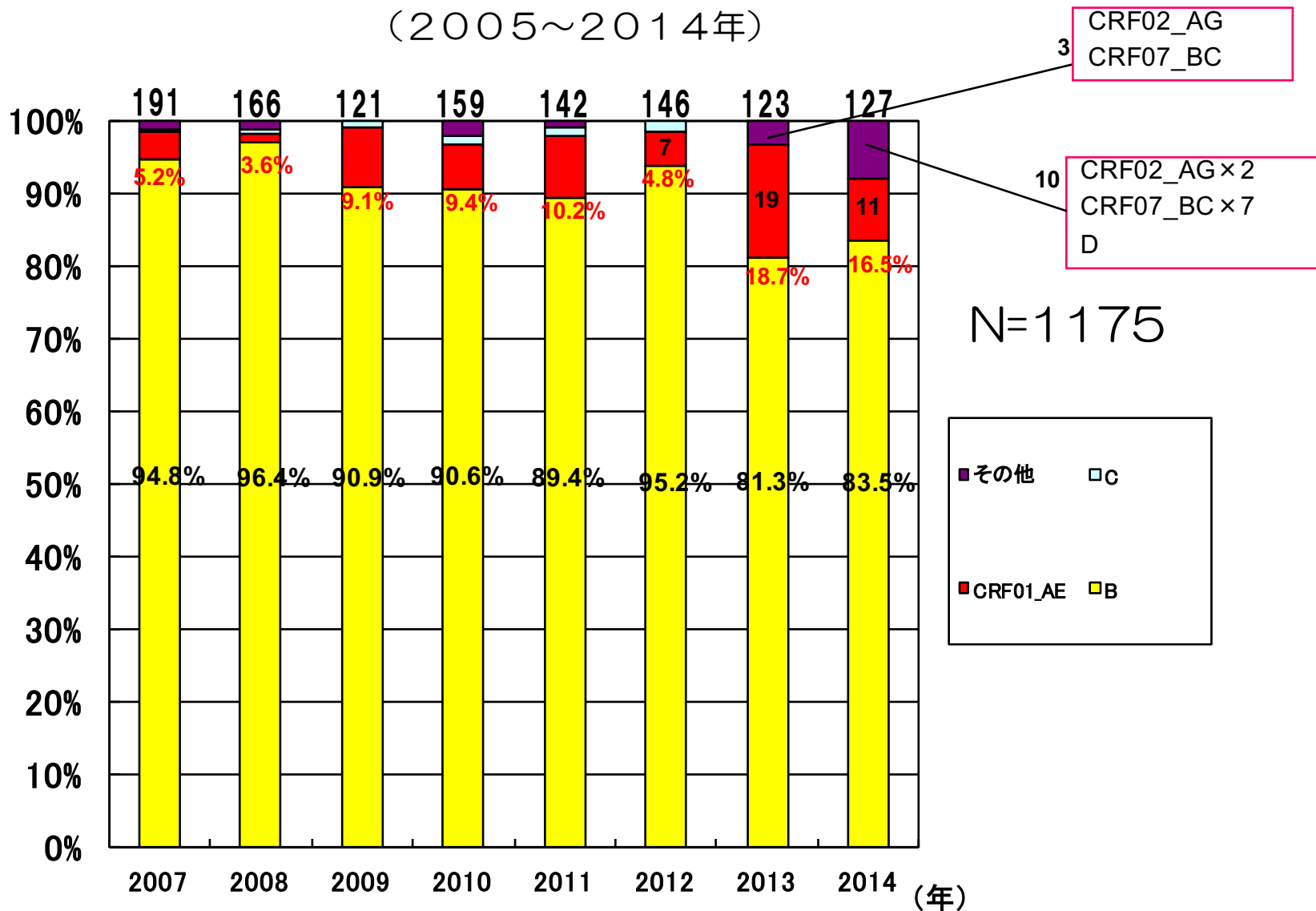
→ AIDS発症まで診断に至らない例が多く、実際のHIV感染者数は報告数より多いことを示唆

日本のHIV感染者のうち保健所陽性数の占める割合 2014年



HIV-1のサブタイプ：東京都、新規感染者

(2005~2014年)



議題2

新たなネットワーク体制の構築に向けた討議

- 保健所・地方衛生研究所等におけるHIV検査体制並びにHIV診断技術の維持に関して意見交換を行った。