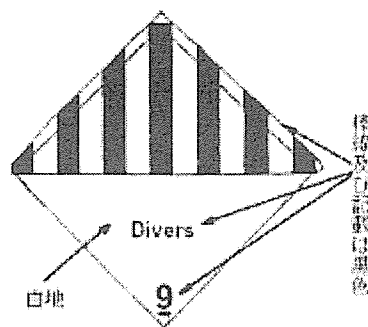


# DRAFT



(10) 此産物を冷却するためドライアイスを使用する場合には、「Divers」（「その他」の意味）の表示をした部分を使用すること。この表示は、一面の長さの最低10センチメートルの矩形とし、次の様式とする。



([www.post.japanpost.jp/service/yakkan/3-1.dpf](http://www.post.japanpost.jp/service/yakkan/3-1.dpf))

上記日本郵政公社の約款は、万国郵便連合の Letter Post Manual の Article RL129（perishable biological substances including diagnostic specimens）と RL130（infectious substances）を日本語に訳したものである。

感染性材用のうち、カテゴリーAは郵便で差し出すことはできないが、カテゴリーBは書留航空便で送ることができる場合もあり、その際に万国郵便連合は以下を推奨している。（しかし前述のように日本の郵便制度では冷蔵や冷凍扱いで送付する業務を現在行っていないので現実的には難しいと思われる。）

- ◆ 基本的な三重包装。
- ◆ 住所ラベルに「Lettre」或いは「Letter」の文字を示す。
- ◆ 国際郵便に必要な税関申告書（緑色のラベル）。

# DRAFT

- ◆ 表に「DIAGNOSTIC SPECIMENS」、「CLINICAL SPECIMENS」または「BIOLOGICAL SUBSTANCE, CATEGORY B」と示す。
- ◆ 黒字で「UN3373」と書かれた白いひし形のラベル

上記以外にも荷物の到着国や国際間の規制がある場合があるので、発送前に、その荷物が関係国の郵便システムに受理されるか否か発送する郵便局と相談しておかねばならない。

## 海路

標本や検体を検査依頼する時に要求される迅速性を考えると海路輸送が選択されることは考えにくいですが、法的には一応手当てされているので簡単に触れておく。

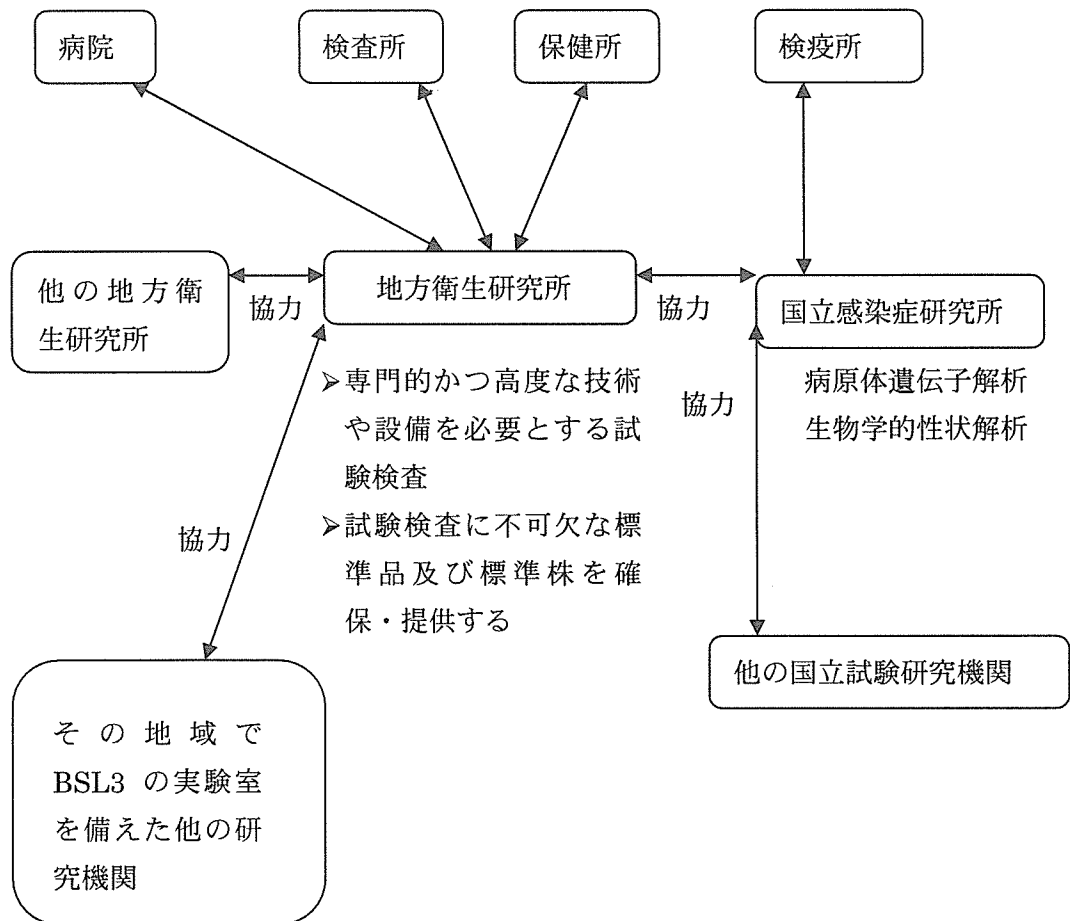
国際海事機関 International maritime organization (IMO)が中心となり取りまとめた、「海上における人命の安全のための国際条約 International Convention for the safety of life and sea(SOLAS)」に調印した全ての国は、同じく IMO が定めた、「国際海上危険物規程 International Maritime dangerous goods code」を遵守しなければならない。「国際海上危険物規程」は、「危険物輸送に関する国連勧告」の改正に併せて2年ごとに改正が行われている。日本もIMOの加盟国であり、日本の国内法では「危険物船舶運送及び貯蔵規則」のなかに「国際海上危険物規程」が取り入れられている。

# DRAFT

## 1.5 感染症危機管理に関連する研究室と支援を得られる各種ネットワーク

国内では図6のように、全国の地域衛生研究所が国立感染症研究所や大学等の研究機関とネットワークを形成し調査研究、試験検査、情報の収集・解析・提供を行っている。また国際的にはWHOの地域実験室ネットワーク Regional Laboratory Network (NRL) のしくみや、海外の研究機関で国際的な新興再興感染症危機管理に積極的な実験室がある。

図6 感染症危機管理に関連する国内研究室ネットワーク



WHOは地域に検査施設があるとしても、新興再興感染症の迅速な確定または診断決定のために、検体を国内外のWHOレファレンス実験

# DRAFT

室へ確実に送付できる体制を整えておくことを推奨している。

## WHO 協力センター／WHO レファレンス実験室

2003 年の SARS 流行時、日本が所属する WHO 西太平洋地域事務所（WHO Regional office for the Western Pacific Region）は、各国の正確な実験室診断を支援するために、ポリオ、麻疹、インフルエンザという 3 つの病気の地域実験室ネットワーク Regional Laboratory Network（NRL）をもとに、SARS の NRL を立ち上げた。

SARS の NRL においては、各国がそれぞれ国内に 1 つのレファレンス実験室を指定した。国内レファレンス実験室の役割は（a）標本の臨床診断検査においてその国の中心 focal point となり、（b）臨床現場や実験室専門家の訓練、患者からの標本の収集、処理、保存をし、また標本を特定疾患指定実験室に送付する場合の調整役、あるいは、（c）標本を地域レファレンス実験室に送付する場合の WHO との調整、さらにその後関係する医療機関がそのフィードバックをタイムリーに得ることができるように努めることである。

一方、地域レファレンス実験室の役割は、（a）国内レファレンス実験室に対する技術的援助、（b）国内レファレンス実験室の診断結果の照合確認、（c）国内レファレンス実験室の代わりに標本検査を実施、（d）伝播様式を特定するための疫学的サーベイを援助すること（任意）である。

また、WHO 西太平洋地域事務所の役割は、（a）SARS の NRL を確立すること、（b）SARS 診断のために指定された各国のレファレンス実験室の臨床標本管理、あるいは診断に関わる活動を技術的に援助すること、（c）各国のレファレンス実験室が SARS 診断を遂行するために必要な体制を備えているか否かの迅速な判定、（d）必要に応じて各国のレファレンス実験室と地域レファレンス実験室あるいは国際レファレンス実験室との連絡調整、（e）SARS 調査の実験室検査に関する地域あるいは世界的な活動の西太平洋地域の中心 focal point となることである。

なお、日本の国立感染症研究所はオーストラリアの Victorian

# DRAFT

Infectious Disease Reference Laboratory とともに、SARS の NRL において地域レファレンス実験室の役割を引き受けた。

日本において WHO 協力センターとなっている実験室を厚生統計協会がリストアップしているため、その中から感染症に関する実験室を抜粋した。

表 8 感染症危機管理に関する日本の WHO 指定研究協力センター

2005 年 5 月

指定分野	機関名
腸管感染ウイルスのレファレンスと研究	国立感染症研究所ウイルス第二部
ヒト・レトロウイルス性神経疾患	鹿児島大学医学部第三内科
ウイルス性肝炎のレファレンスと研究	長崎医療センター臨床検査部
インフルエンザや呼吸器ウイルスのレファレンスと研究	国立感染症研究所ウイルス第三部
熱帯病ウイルスのレファレンス及び研究	長崎大学医学部熱帯医学研究所
結核のレファレンス、研究、研修	結核予防会結核研究所
生物学的製剤の品質管理およびこれに関する研究	国立感染症研究所細菌第二部
特定動物実験	国立感染症研究所獣医科学部

出典 2005 年 8 月 31 日発行「国民衛生の動向」財団法人厚生統計協会

その他の海外の政府系研究機関としては、米国では CDC (Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Department of Health and Human Services) や、NIH (National Institute of Health, U.S. Department of Health and Human Services の一部門)がある。

また、オーストラリアでは前述の通り Victorian Infectious Disease

# DRAFT

Reference Laboratory が西太平洋地域の WHO 協力センターであり、その他英国の Health Protection Agency (HPA, 以前の Public Health Laboratory Service) や National Institute for Biological Standards and Control、フランスの Institut Pasteur がある。

## BSL 4 (P4) 実験室 (参考資料：国立感染症研究所資料)

世界には BSL 4 の実験室が 20 箇所以上あり、日本の国立感染症研究所にも 1981 年に BSL 4 の実験室が設置されたが、そこは地元自治体の要請により現在 P4 の病原体を扱うことができず、BSL 3 の実験室として使用されている。したがって国内には P4 の病原体を扱うことのできる実験室がない状況である。そのことによる問題は、仮にウイルス性出血熱や天然痘といった BSL 4 の病原体を原因とする病気が日本で発生した場合に緊急医療対応ができないこと等である。2002 年以前であれば、米国 CDC が日本からの病原体検査送付の受け入れや日本人研究者の利用を認めていたが、2003 年 2 月の米国連邦法 42 条「Possession, Use, and Transfer of select Agents and Toxins」施行により、BSL 4 病原体の検査受け入れも、日本人による重要病原体の調査・研究も不可能になった。

表 9 世界の BSL 4 実験室

アメリカ	NIH
	CDC
	USAMRIID (US Army Medical Research Institute of Infectious Diseases)
	テキサス州立大学
	サウスウエスト財団
	ジョージア州立大学
	ボストン大学
イギリス	DSTL (Defence Science and Technology Laboratory)
	HPA
フランス	Inserm (Institut National de la Santé et de la recherche médicale)
ドイツ	マールブルク大学
スウェーデン	国立感染症対策研究所
カナダ	国立微生物研究所
南アフリカ	国立ウイルス研究所

# DRAFT

ガボン	パスツール研究所
ロシア	ノボシビルスク ベクター研究所
インド	DRDE (Defence Research & Development Establishment) グアリオール)
オーストラリア	Victoria IDRL
台湾	国防大学予防医学研究所
日本	国立感染症研究所（P4として使用されていない）

## 2 感染症危機管理で必要な実験室診断手技

（出典及び参考文献：P.Brés「PUBLIC HEALTH ACTION IN EMERGENCIES CAUSED BY EPIDEMICS」1986年、WHO、100～103ページ。「医学ウイルス学」1998年、著者 David O. White, Frank J. Fenner、訳者北村敬、発行者株式会社近代出版）

実験室診断の精度は、検体の適切な収集、保存、輸送そして適切な時期に適切な方法で検査が行われるか否かによって決まる。

検査にあたって最も基本的なことは滅菌(sterilization)と消毒(disinfection)である。これは正確な結果を得るためには無菌でなければならないこと、およびバイオセーフティーのためである。

以下簡単に一般的な汚染除去方法を述べる。

### 一般的な汚染除去方法

- 煮沸　　ぐらぐら煮立った状態のお湯（100℃）に20分間浸す。
- オートクレーブ　　加圧下で120℃を20分間保つ。滅菌するものは、水蒸気が中まで十分循環するように緩く包んでおく。
- 乾燥滅菌　　160℃のオーブンに45分間は入れること。主にガラス器具。
- 塩素（次亜塩素酸ソーダ）　　塩素はB型肝炎ウイルスを含む全ての微生物に対する消毒剤として広く用いられている。強い酸化剤であり金属を腐食させるが、有

# DRAFT

機物によってある程度不活化されることがある。塩素溶液は徐々に効力を失うのでたびたび新しく溶液を作る必要がある。0.02～0.5%で用いる。

- ヨウ素　　ヨウ素は植物性の生物、孢子、ウイルスおよび菌類に対する効果が高い。手洗い用の殺菌には 44～50%のエタノール1リットルに対してヨウ素1.6グラムを加えた溶液が効果的で、その溶液に2分間浸すと細菌を80～90%除去することができる。しかし頻繁に用いると皮膚に炎症を起こす可能性がある。ヨードホールは水溶性のヨウ素の有機化合物複合体であり、皮膚に対する刺激は少ないが上記の溶液よりも殺菌効果は少ない。
- ホルムアルデヒド（ホルマリン）　　ホルマリンは1リットルの水にホルムアルデヒドを370グラムの割合で溶かしたものである。これを50グラム／1リットルに薄めたものが液体殺菌剤として効果的である。

## 病原因子の特定

病原微生物による感染を診断するためには病原因子を特定せねばならず、それには大きく分けて次の3つの方法がある。

1. 分離(isolation)培養(cultivation)。
2. 検体中の抗体を検出し測定する血清学的検査。
3. 検体中の病原微生物やその抗原を直接同定する。

検査の前にまず対象となる病原微生物を予想しているはずであるので、その予想に基づきどのような検体をいつ採取するか、そして何をどの検査方法で検出するかといった検査方法が決定される。従来は、1と2による検査が行われてきた。しかしどちらも迅速性にかけるので、3の直接同定法が発達した。また近年はDNAもしくはRNA配列を検出し病原微生物を同定する方法も行われている。しかし、分離や血清学的方法は依然として基本であり、特にウイルスでは分離は最も大切な手技である。



# DRAFT

**分離：** 病原性細菌のなかには炭素源や窒素源、無機塩類を含む標準的な培地に分離できるものもあるが、多くの有機体（例えば寄生虫）はそれぞれ特有の培地を必要とする。特に、病原因子がまだ未知の場合、腐性菌を除外するための選択増菌培地を次々と使わねばならない。真菌やマイコプラズマの場合も同様である。

リケッチア、クラミジア、そしてウイルスは、増殖するために生きている細胞を必要とするので、動物や培地細胞に殖菌される。この場合でも、病原因子の特定に関して手がかりがない場合、これらの基質が次々と必要になる。

**形態的特徴観察：** 古典的な手技としては、病理学的材料の標本の染色（細菌のグラム染色法や寄生虫のギムザ染色）がある。比較的最近の手技としては、病原因子や抗原を、蛍光染料を血清とともに使う免疫蛍光法（Immunofluorescence, IF）や基質に反応し色が現れる酵素を使う酵素免疫測定法（Enzyme immunoassay EIA）、或いは酵素免疫吸着測定法（Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）がある。IF や EIA（ELISA）は検査対象の病原因子に反応する単一特異的血清あるいは群特異的血清があれば、ほぼどの病原微生物にも使うことができる検査方法である。また、これらの方法は特にウイルス診断にとって革新的な検査方法であった。EIA（あるいは ELISA）は、感度が高く抗原検出にも抗体測定にも利用できる。対向免疫電気泳動法(counterimmunoelectrophoresis, CIE)のような寒天ゲルでの沈降反応を利用する技術は、病原因子から抗原性抽出物を準備することができ、かつ十分に強力な特異抗血清がある場合にある種の病気の診断に用いることができる。病原因子による身体器官の特異的病変を観察する組織病理学および細胞学的染色法では、時には病原因子そのものを観察することもできる。脳脊髄液の化学検査における場合同様、体液の生化学反応（血液と脳脊髄液）も病気によっては診断に用いることができる。

形態的特徴観察方法は数時間で結果が明らかになるという大きな利点がある。下表は形態的特徴観察方法の概略である。

# DRAFT

表 10 形態的特徴観察方法の使用の概略

病原微生物	実験室手技					
	直接鏡顕法		IF	EIA と ELISA	組織病理学的、細胞学的方法	生化学的方法
グラム染色	ギムザ染色					
寄生性		+	+	+	+	+
真菌性		+	+	+	+	+
細菌性	+	+	+	+	+	+
マイコプラズマ		+	+	+		+
リケッチア		+	+	+	+	+
クラミジア		+	+	+	+	+
ウイルス			+	+	+(注)	+

注 病気によっては電子顕微鏡観察も行われる

## 2.1 抗体診断系

分離培養し形態的特徴を観察した結果、病原因子の存在が明らかになると、血清学的検査でその結果を確認しなければならない。

これは、抗体の抗原に対する親和性が高く特異的に結合するという特性を利用した検査で、またこの検査の利点としては、急性期に一時的に出現する病原因子を分離できる可能性が小さい場合でも、抗体は感染の直後からずっと存在し続けるので病原因子を検出しやすいということである。

検査方法には以下を含む。

- 凝集反応 agglutination（主に細菌系病原因子の場合）
- 補体結合 complement fixation
- （赤）血球凝集阻止 haemagglutination inhibition, HI（主にウイルスの場合）
- 中和反応 neutralization
- 免疫電顕法 immune electron microscopy
- 免疫蛍光法 immunofluorescence, IF

# DRAFT

- 酵素免疫測定法 enzyme immunoassay (酵素免疫吸着測定法、ELISA)

ある種の病気では、抗体(免疫グロブリン G, Immunoglobulin G, IgG)がしばらく高い抗体力価を持続する可能性があるため、実験室検査では罹患期間中に確かに抗体が現れるか、又は大幅に増加したということを確認する必要がある。したがって、2種類の血清標本(ペア血清)の検査が推奨される。その場合、ひとつの血清標本は発症直後に採取したもの、そしてもうひとつは少なくとも7日後に採取したものでなければならない。

ある特定の病原因子が存在すると確認するためには、しかるべき抗体の出現(セロコンバージョン seroconversion)、又は少なくとも4倍以上の適定濃度の増加という検査結果が得られなければならない。それよりも増加濃度が少ない時は実験結果の不可避的な誤差であるかも知れない。しかし、ある種の病気では一体だけの血清標本(single serum)の高い抗体力価が最近の感染を示す。

ある抗原に生体が初めてさらされた時は、まず免疫グロブリン M (IgM) が産出されるが約10日で半減し、次回以降の免疫応答ではおもに免疫グロブリン G (IgG) が産出される。この特性と、一体の血清標本(single serum)でも重要な結果を示すことができることから、感染初期における免疫グロブリン M(IgM)を検出する検査も開発された。

表 11 感染を判断する血清学的証拠のまとめ

標本	結果
一体の血清標本 Single serum	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 原因とみなされる病原因子に特異な IgM が存在する</li> <li>- 特異な複合抗体 (IgM+IgG) の高い抗体力価が見られ high titre of specific undifferentiated (IgM+IgG) antibodies、その病気に対して継続する免疫レベルよりも高い場合。</li> </ul>

# DRAFT

ペア血清 Paired sera	ある抗原に対して抗体力価（IgMとIgG）が4倍以上に上昇
------------------	-------------------------------

## 2.2 遺伝子診断系

（参考文献：「標準微生物学、第三章細菌学総論、V 細菌の分類と同定」2005年、監修者山西弘一、発行者株式会社医学書院 126～132 ページ。）

各生物の遺伝子配列を直接比較することにより、種同士の違いを明らかにし、病原体の感染源を特定する方法が遺伝子による分類である。そこで使われるのが、細菌から高等生物の細胞まで共通に存在するリボソーム RNA（rRNA）のうち、16SrRNA である。

今日では16SrRNA の遺伝子配列データがかなり蓄積されており、（2004年現在）細菌約6,000種（990属）のうち、97%にあたる菌種の配列がすでに決定され、3つの国際的なデータベース（National Center for Biotechnology, European Molecular Biology Laboratory, DNA Data Bank Japan）に登録されている。系統の分からない未知の菌株の同定において、16SrRNA の遺伝子配列を決定しデータベースと比較し系統的な位置を調べ、配列の類似した菌種同士をさらに定量的 DNA/DNA ハイブリッド法で区別し、菌種の決定を行う。

分類学において菌種とは、「染色体 DNA の定量的 DNA/DNA ハイブリッド形成実験で70%以上の類似度があり、ハイブリッド hybrid の安定度（ $\Delta T_m$ ）が5度以内に収まる菌種の集団を種とする」と定義づけられている。

### DNA/DNA ハイブリダイゼーション

一本鎖にした DNA や RNA は相補的な塩基配列を持つ核酸と水素結合し二重らせん構造の二本鎖を形成する性質を持つ。このことを利用し、既知の種特異的塩基配列と被験体核酸の塩基配列の相同性を定量的に評価することができる。しかし、塩基配列を直接読み取るシーケンシングと比べてデータの精密性に劣る。

### PCR(Polymerase chain reaction)

目的とする病原体遺伝子の塩基配列のみを特異的に増幅させる手技である。PCR法を用いることにより、検体中にごく微量のDNAし

# DRAFT

かなくとも効率よく検出できるので感度の高い検査を行うことができる。増幅したい領域を含む鋳型DNAを熱変性により1本にし、耐熱性ポリメラーゼと過剰量の一对のプライマーを含む反応液中で反応させ、相補的なDNA鎖を繰り返し合成する。

## 組み換え DNA

決まった配列の2本鎖DNAを認識しそれを認識配列内あるいはその近くの特定の位置で切断する制限酵素で切断し、DNA鎖をつなぐDNAリガーゼを使って塩基配列変異を挿入、結合、または入れ替える。

実験室検査の解釈で起こる誤りの原因でまず考えられるものを表 12 に参考としてまとめた。

表 12 実験室検査結果の解釈における誤りの原因

擬陽性	擬陰性
形態的特徴観察	
腐生菌の存在 Saprophyte present	不適切なサンプルの取り方 Inappropriate sampling
非特異的染色 Non-specific staining	不適切な染色 Inappropriate dye
	電子顕微鏡が必要 Need for electron microscopy
	標本中の病原物質の不足 Scarcity of agent in specimen
分離	
病原体よりも感染症とは関係のない微生物の方が検出しやすいか、標本の保存条件に持ちこたえられた Trivial agent easier to detect than causative agent or withstands storage conditions of specimen better	不適切なサンプルの取り方：標本が不適切であったか、標本の採る時期が不適切であった Inappropriate sampling: specimen inadequate or sample taken at wrong time
同時に風土病に感染（例えばマラリアや充血吸虫症） Concurrent endemic	保存条件による病原体に対する損傷：熱、凍結融解サイクル Damage to agent by

# DRAFT

infection (e.g., malaria, schistosomiasis)	storage conditions: heat, freezing-thawing cycles
同時に存在する二つの病原体のうち一つしか分離しなかった Only one of two concurrent agents is isolated	不適切な実験室手技 Inappropriate laboratory techniques
毒物によって一義的に引き起こされたアウトブレイクに同時に病原体が存在していた Concurrent pathogen in an outbreak primarily caused by a toxic agent	「新しい」病原体を分離するには普通とは異なる条件が必要であった“new” agent requiring unusual conditions for isolation
標本や試薬の汚染 Contamination of specimens or reagents	免疫複合体の存在 Presence of immune complexes
血清学的方法	
風土病や関係のない病原体に対する抗体の存在 Presence of antibodies to endemic disease or trivial agent	標本が誤った時期に採取された Sample taken at wrong time
抗原的に関係のある病原体に相互反応する抗体 Antibodies cross-react with antigenically related agent	不適切な手技：特異性と感度の不足 Inappropriate techniques: lack of specificity and sensitivity
非特異反応 Non-specific reaction	免疫複合体の存在 Presence of immune complexes
過去の免疫付与 Previous immunization	
IgM 抗体に対して： 過剰な IgG リウマチ因子 For IgM antibodies: Excess of IgG Presence of rheumatoid factors	

## 2.3 ウイルス分離と同定

(参考文献：「標準微生物学、第六章ウイルス学総論、VI ウイルスの実験室診断」2005年、監修者山西弘一、発行者株式会社医学書院 414～423 ページ、「シンプル微生物学」1994年、編著者東匡伸、小熊恵二、発行者小立淳、発行者株式会社南江堂。)

# DRAFT

**分離：** 検体中のウイルスの粒子、抗原あるいは核酸を直接検出する迅速法が開発されている一方、検体中に少量しかなくても増殖によりウイルスが増える培養分離は、直接検出法よりも感度が高く信頼性の高い検査法である。ただし一部のウイルスは培養が不能である。

ウイルス分離を行う場合、発症後できるだけ速やかに検体を採取し（できるだけ早期の病巣）、また無菌的に採取する。採取した検体は乾燥を避け4℃で保存する。直ちに分離を行わない場合には、-80℃以下に急速凍結させておく。

ウイルスは他の微生物とは大きく異なり、蛋白や核酸の合成に必要な場所と材料を持たないので、人口培地上で増殖することができない。そのため、その存在を判明するためには生きた細胞内（宿主）に寄生させ一定量以上に増殖させた後、増量を計るのが普通である。ウイルスは増殖する時に宿主の細胞を破壊し死滅させる。これがウイルスの病原性である。

宿主としては、培養細胞や実験動物、孵化鶏卵に大別される。

培養細胞は動物や孵化鶏卵より取り扱いが簡便であり、より正確なウイルス定量が行える。実験動物は哺乳マウスやフェレット、サルなどが使われるが、ウイルスの種類によって宿主となる動物の種類とウイルスの接種ルートを選ばねばならない。孵化鶏卵は受精卵をある程度発育させたものが用いられ、接種部位は漿尿膜上、漿尿膜腔内、羊膜腔内、卵黄嚢内で、やはりウイルスの種類で接種ルートを選ばねばならない。また、孵化鶏卵には感受性を示すウイルスが限られているという難点がある。

ウイルスの増殖は、培養細胞に吸着、侵入した細胞内で増殖（一段増殖）、その後この細胞から子孫ウイルスが放出されて周囲の細胞に感染するという二段増殖の場合が多い。

ウイルス粒子の観察あるいはウイルス関連抗原検出により、ウイルス分離の判定が行われる。

# DRAFT

**同定：** 一般にウイルスの同定では、ウイルス感染し破壊された細胞の形態変化（細胞変性効果 cytopathologic effect (CPE)）の顕微鏡観察により、特定のウイルス科が推定され、抗原性の確認によって最終的な診断が行われる。新しく分離されたウイルスは、EIA（MA b 単クローン抗ウイルス抗体（monoclonal antiviral antibodies, Mabs）を使う場合もある）などの血清反応により科あるいは属が確定し、中和や血球凝集阻止反応といったより鑑別性の高い血清反応により、種や血清型が同定される。（「医学ウイルス学」1998年、著者 David O. White, Frank J. Fenner、訳者北村敬、発行者株式会社近代出版 188 ページ）

CPE は、段階希釈したウイルス浮遊液を培養細胞に接種し、どの程度の希釈度まで CPE が起こるかを見ることにより、検体中のウイルス感染価も知ることができる。

抗原性の確認では、蛍光抗体法や EIA（ELISA）でラベルした抗体に対する抗原を見る方法がある。EIA の中心的な手法である ELISA では、吸光度により抗体価を測定することができる。また、ELISA には西洋ワサビペルオキシダーゼでラベルした抗体を用いる免疫ペルオキシダーゼ法があり、この方法を用いると標本を半永久的に保存でき一般の光学顕微鏡で観察できる利点がある。

中和試験はウイルスの感染性が抗体によって失われることを見る試験であり、また血球凝集阻止試験は抗体がウイルスと結合することによりウイルスの赤血球凝集を阻止することを見るものである。したがって、検査に先立って30分間56℃で加熱することや他の処理を行い、感染性や血球凝集に対する各種の阻止因子を除去しなければならない。

補体結合反応は、抗原と検体を反応させた複合体に補体を結合させ、結合されなかった補体を溶血反応で検出する。比較的新しい感染の目安になる。

ウェスタンブロット法はウイルスを破壊し、ポリアクリルアミド電気泳動し各たんぱく質を分離、ナイロン膜などに転写し、検体血清と反応させ、洗浄後、結合抗ウイルス抗体を酵素ラベルした2次抗体（抗



# DRAFT

ヒト免疫グロブリン抗体)を加えて検出する。

その他、抗原の確認にはウイルスゲノムやウイルスmRNAの検出とその塩基配列の解析も用いられる。

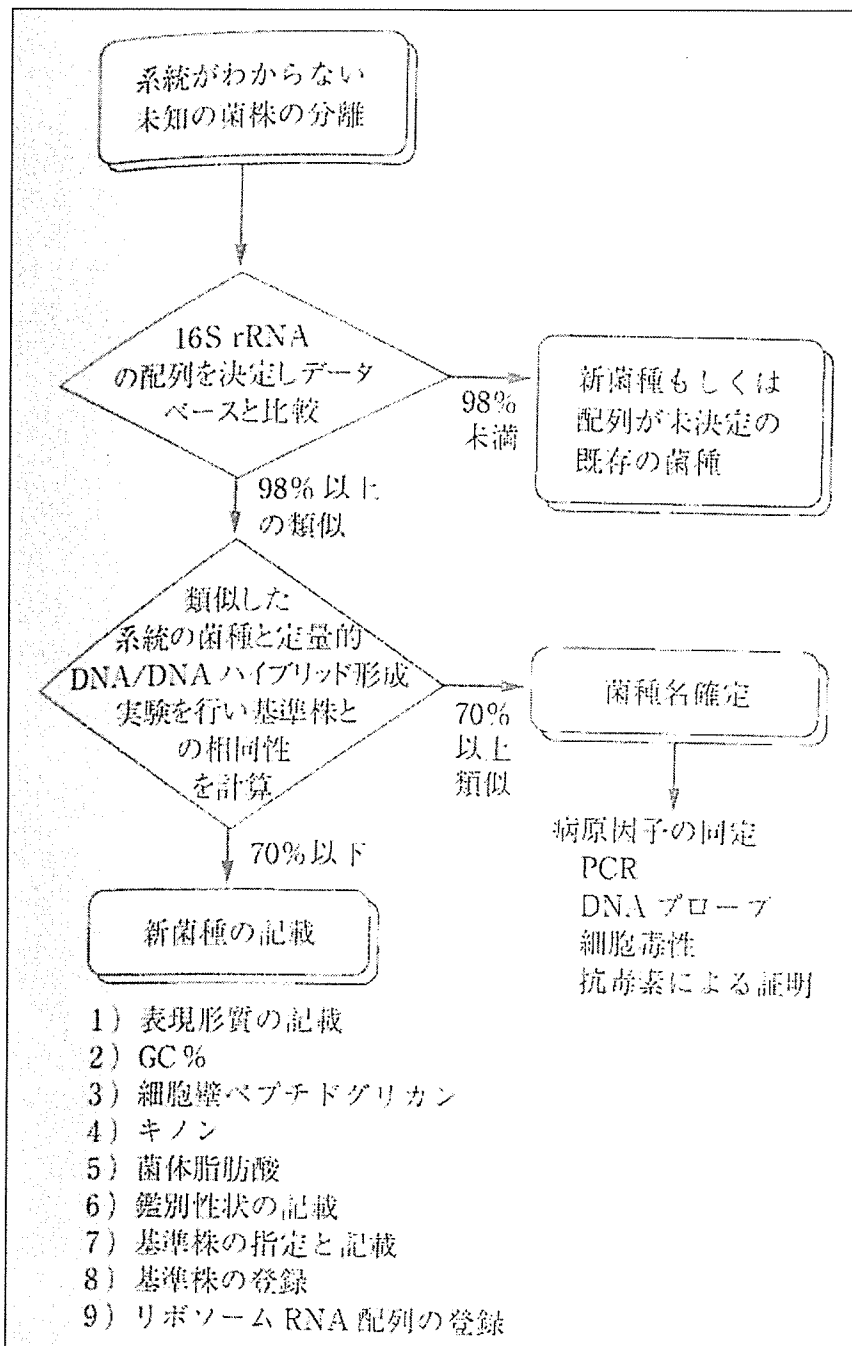
## 2.4 病原細菌の分離と同定

従来は病原細菌を患者検体から分離培養し、グラム染色で形態的特徴を調べ、生化学的検査、さらに抗体を用いた血清型特定と時間をかけて同定していたが、16SrRNAのデータが蓄積され、実験室でほぼ全ての病原細菌の検出が可能になったので、最近ではDNAを使って菌種を同定することにより時間を短縮することが可能になった。

しかしながら、細菌においても遺伝子診断系に過度に頼ると誤る可能性があるため、基本的な生物学的特徴を確認することは重要である。細菌は菌種により生育環境に違いがあり、分離培養することで菌種が大まかに見当つけられる。細菌の生育に成功すると集落、形態、運動性、染色性を観察し、糖分解・発酵、アミノ酸分解、カタラーゼ試験等の生化学的検査及び血清学的検査結果を含めて総合的に判断する。

# DRAFT

図7 「標準微生物学」 p 1 3 3 の「DNA を使った菌種の決定手順」



（出典：「標準微生物学、第三章細菌学総論、V 細菌の分類と同定、図3-50 DNA を使った菌種の決定手順」2005年、監修者山西弘一、発行者株式会社医学書院 133 ページ）

従来の分離培養する方法では、時間がかかるだけでなく分離する方法も検体と目的により多様であり、培地も培養の目的とする病原体による使い分け、培養環境の選択といった実験室手技が必要とされる。

# DRAFT

## 2.5 フィールド調査用の携帯検査機器

臨床試験用：

- ◆ 可動式実験室 トレーラーやバンと一体になった、あるいはトラックやトレーラーに冷蔵庫や冷凍庫、両面開閉式オートクレーブや P2 レベルの生物学的安全キャビネット、或は P3 レベルのグローブボックスや排気設備を備えた実験室が付いたもの。

実験室検体の採取用：

- ◆ 防護服 伝染力の強い病気の患者を自宅に訪問する時のオーバーオールとブーツを十分な数用意すること。防水繊維でなければならない。使い捨てであれば殺菌消毒することも要らず、焼却処分できる。綿の場合は必ず殺菌してから洗濯すること。防護服の使用を終えて脱ぐ時は、汚染の可能性のある表面を決して手で触ったり、汚染されていない物質が触れたりしないようにしなければならない。

緊急事態制御手段：

- ◆ ジェットインジェクター、注射器
- ◆ 殺虫剤噴霧器

部位毎の標本採取用器具は以下の通りである。

血液標本

- ◆ 皮膚の消毒用：70%アルコール（イソプロピルアルコール、エタノール）又は 10%ポピドンヨード、綿棒、ガーゼのパッド、バンドエイド
- ◆ 使い捨てラテックス又はビニール手袋
- ◆ 止血帯、バキュテイナー、モノベット、或いは同様の真空血液採取装置、又は使い捨て注射器と針
- ◆ バキュテイナー又は滅菌済みのねじ巻き式のチューブ（或いは指示された場合は極低温管）、適切な媒質と血液培養瓶（大人用 50

# DRAFT

ml、子供用 2.5 ml)

- ◆ ラベルと消えないマーカーペン

## 血液からの血清分離

- ◆ 滅菌済みパスツールピペットとバルブ、或いはソフトな使い捨てトランスファーピペット（パステット）。後者は扱いやすくフィールド実験室でごみ処理できる。
- ◆ 滅菌済みのねじ蓋式チューブ—ひとつの標本に付き 2 本。

## 毛細血管の血液

- ◆ 使い捨て滅菌済みランセット
- ◆ スライドガラス、カバースリップ、スライドボックス
- ◆ ろ紙
- ◆ 固定剤（例えばメタノールのような）

## 脳脊髄液標本

- ◆ 以下を載せた腰椎穿刺用トレイ
  - 滅菌済み用具：手袋、コットンウール、タオル又は掛け布
  - 局部麻酔用注射器と針
  - 皮膚消毒剤：10%ポビドンヨード、又は 70%アルコール
  - 腰椎穿刺用針 2 本、探り針
  - 滅菌済みねじ蓋式小型チューブ 6 個とチューブラック
  - 水圧計
  - 顕微鏡用スライドとスライドボックス

## 眼科標本

- ◆ 滅菌済みアルギン酸カルシウム及び／又は綿棒、滅菌済み生理食塩水及び滅菌済み輸送管。（ウイルス標本にアルギン酸カルシウムは使わないこと）
- ◆ 滅菌済み手袋
- ◆ スライドガラス、スライドガラス・マーカー、スライド・ホルダー・ボックス
- ◆ 流行性角結膜炎が疑われる場合は手袋と防護眼鏡を身に付けるこ