

一類感染症の検査診断の手引き作成

研究分担者 森川 茂 国立感染症研究所 獣医科学部 部長

研究要旨 感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）により一類感染症に指定されている感染症は、ペスト以外は天然痘（痘そう）と5種類のウイルス性出血熱である。これまでにウイルス性出血熱の検査診断に関するマニュアルを作成し、ヒトの臨床検体輸送における注意事項に関してマニュアルを作成した。今年度は、これまでに作成したマニュアルを「一類感染症 VHF 診療手引き」として刊行するため、担当箇所の最終稿をまとめた。また、医療関係者向け公開セミナー「第3回 一類感染症ワークショップ」において「バイオセーフティーと感染研での検査診断」に関して関係者に周知した。

A. 研究目的

ウイルス性出血熱（Viral hemorrhagic fever、VHF）のうち、エボラ出血熱、マールブルグ病、クリミア・コンゴ出血熱、ラッサ熱、南米出血熱は、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）により一類感染症に指定されている。このため、感染症法第12条第1項の規定により、エボラ出血熱、マールブルグ病、クリミア・コンゴ出血熱、ラッサ熱、南米出血熱の患者と診断した医師は、直ちに厚生労働省令で定める事項を最寄りの保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要がある。また、急性期症状消失後に患者が病原体を保有していないことが退院には必要な情報であるが、その基準は平成11年に厚生省保健医療局結核感染症課長通知として示されている。また、国立感染症研究所でこれらの疑い患者の行政検査を実施する手順等やどの様な検査が行われるかも決まっている。疑い患者の検体の輸送に関しても基準がある。これらを総括的にまとめたマニュアルをこれまでに作成した。

その後、一類感染症疑い患者の検体ではないが、ヒトの検体輸送で発生した運搬容器の破損事案の経験から、特に検体輸送における注意事項に関してマニュアルを作成した。

また、中国で最近発生した新興ウイルス感染症

である重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は、臨床的にウイルス性出血熱と鑑別が必要になる場合があり得るため、その検査体制等に関してまとめた。本年度は最終年であり、マニュアルの刊行に向けて担当箇所の最終稿をまとめる。また、予定されている、医療関係者向け公開セミナー「第3回 一類感染症ワークショップ」においてバイオセーフティーと感染研での検査診断に関して講演し、参加者にこれらに関して周知することを目的とした。

B. 研究方法

1) マニュアル作成

これまでに、国立感染症研究所で実施する一類感染症等の疑い患者の行政検査を実施する際の手続きを含めた手順等、実施される検査項目、患者の臨床検体の輸送、検体輸送時の注意事項などをマニュアル原案として作成した。今年度はマニュアルの細部にわたって、研究班の研究代表者、他の研究分担者らと打ち合わせを行い、マニュアルを完成する。

2) 重症熱性血小板減少症候群の検査体制等

本マニュアルは、一類感染症に指定される感染症のうち、特にウイルス性出血熱であるエボラ出血熱、マールブルグ病、クリミア・コンゴ出血熱、ラッサ熱、南米出血熱、天然痘を対象とするが、

最近、国内でも患者発生が相次いでいる重症熱性血小板減少症候群は、時にウイルス性出血熱との鑑別対象となり得る。そこで、その検査体制に関してまとめた。

3) 臨床現場で働く医療従事者に対する一類感染症対策への貢献

平成 23 年度、24 年度に引き続き本研究班の主催する医療関係者を対象とした研修会（ワークショップ）で、「バイオセーフティーと感染研での検査診断」に関する講演を行った。

（倫理面からの配慮について）

特記事項なし。

C. 研究結果

1) ウイルス性出血熱の検査診断のマニュアル

一類感染症に指定されるウイルス性出血熱であるエボラ出血熱、マールブルグ病、クリミア・コンゴ出血熱、ラッサ熱、南米出血熱が疑われた場合には、国立感染症研究所でのみ実験室診断が可能である。感染症法第 12 条第 1 項の規定により、医師は、一類感染症に指定されるエボラ出血熱、マールブルグ病、クリミア・コンゴ出血熱、ラッサ熱、南米出血熱(以下、エボラ出血熱等)の患者と診断した場合には、直ちにその者の氏名、年齢、性別、その他を厚生労働省令で定める事項を最寄りの保健所長を経由して都道府県知事に届け出る必要がある一方、類似の症状を呈する黄熱、デング熱、リフトバレー熱、腎症候性出血熱、SFTS 等は四類感染症の患者と診断した場合にも同様に届け出る必要がある。エボラ出血熱等が疑われた場合、臨床所見だけでは確定診断することが困難であるが、流行地の渡航歴など必要なチェック事項をまとめた。これらを満たした患者検体は、国立感染症研究所に行政検査依頼をして実験室診断を実施する。その際の事務手続きや必要な検体、実施される検査法に関してもマニュアルに反映した。確定患者が急性期を耐過して回復しても、一定期間病原体を保有している場合がある。そこで、患者が病原体を保有していないと考える基準が、厚生省保健医療局結核感染症課長通知(平成 11 年 3 月 30 日健医感発第 43 号)で示されている。

一方、一類感染症に指定されるウイルス性出血熱が疑われた場合の国立感染症研究所での行政検査のために臨床検体を輸送する際、その輸送は病

原体輸送に準じて行う必要がある。通常、臨床検体の輸送は国連規格に適合するカテゴリ B 容器 (UN3373) が用いられるが、エボラ出血熱、クリミア・コンゴ出血熱、ラッサ熱、南米出血熱、痘そうが疑われる臨床検体の輸送は、WHO の「感染性物質の輸送規則に関するガイドライン」に準じ、これらの原因ウイルスの輸送と同じ基準で、包装基準 P620 に準拠したカテゴリ A 容器 (UN2814/UN2900) 行う。検体等の輸送に関しては厚生労働省健康局結核感染症課長通知(平成 24 年 3 月 15 日、健発 0315 第 1 号)により、感染症発生動向調査事業における検体送付の包装が、カテゴリ A 容器、B 容器とも 3 次容器をさらにジュラルミン製の 4 次容器に梱包するよう通知された。輸送に際しての特に注意する点に関してもマニュアルに反映した。これらのマニュアル案を研究代表者、他の研究分担者の担当するマニュアルの各事項との整合性、フォーマット等を統一する打ち合わせを行い、マニュアル最終案が作成された。

2) 重症熱性血小板減少症候群の検査体制等

重症熱性血小板減少症候群 (Severe fever with thrombocytopenia syndrome: SFTS) は、2009 年に中国で流行し、2011 年にダニ媒介性の新興ブニヤウイルス感染症として病原ウイルスが同定された新興ウイルス感染症である。その後中国では年間 1,000 名以上の患者が発生している。日本でも平成 24 年秋に死亡した患者が SFTS の国内初症例として確定診断された。その後疑い患者の実験室診断により、平成 25 年の 3 月以降の患者は 40 名が確定診断されている。SFTS ウイルスは国内にも存在し、複数種のマダニがウイルスを保有し、野生動物やイヌなどがウイルスのマダニとの感染サイクルを形成することがわかった。ウイルスの分布からこれまで患者が報告されている西日本以外にも患者発生のリスクがある。本感染症は、平成 25 年 3 月に感染症法の 4 類感染症に指定され、SFTS ウイルスは 3 種病原体に指定された。SFTS ウイルスの核酸検査は、国内の地方衛生研究所(全国都道府県/政令市衛生研究所)に配布され実施可能な状況である。SFTS ウイルスの核酸検査は、一次検査を地方衛生研究所で実施し、一次検査で陽性であった場合、国立感染症研究所ウイルス第一部で確定検査を実施している。患者血清中のウイルス特異抗体を検出する血清診断は、現在国立

感染症研究所ウイルス第一部でのみ実施している。これに関しては、今年度の本研究班主催ワークショップでも参加者の医療関係者に周知した。

3) 本研究班主催ワークショップ

医療関係者向け公開セミナー「第3回 一類感染症ワークショップ」(平成25年7月27日,新宿区)において「バイオセーフティと感染研での検査診断」に関して講演し、参加者にこれらの情報を周知した。特にバイオセーフティレベルと病原体の関係、国立感染症研究所で可能な検査、検体輸送に関して参加者に周知した。また、臨床的にウイルス性出血熱との鑑別が必要な SFTS の実験室診断法についても周知した(図参照)。

D. 考察

ウイルス性出血熱は過去にラッサ熱の輸入症例が1例あるのみである。また、初期症状は初期症状から本疾患を疑うことはかなり難しい。このため、確定診断には、実験室診断が必須である。ウイルス性出血熱の原因ウイルスは、感染症法の1種病原体に指定されBSL4施設でのみ取り扱いができる。現在、稼働しているBSL4施設は国内にないため、国立感染症研究所では実施可能な検査法に関しても医療関係者に周知した。疑い患者の臨床検体を国立感染症研究所へ輸送し実験室診断による検査を実施する際の注意事項に関しても周知した。国内でも患者が発生しているSFTSは、一類感染症のウイルス性出血熱と臨床的に類似する点があることから、その検査体制の現状についても周知した。また、病原対のバイオセーフティに関しても周知した。これらにより、ウイルス性出血熱を疑った場合の適切な患者検体の処理や国立感染症研究所での検査が可能となると考えられる。

E. 結論

医療従事者向け一類感染症対応マニュアルにおける「ウイルス性出血熱の検査診断」「検体輸送の注意点」などに関してマニュアルを作成した。また、これらを医療関係者により広く理解して頂くために、本研究班の主催する研修会で、実験室診断に関する講演を行った。

F. 健康危険情報

ギアナ、リベリアで発生しているエボラ出血熱

の輸入症例疑い例がカナダで報告されたが、実験室診断による検査の結果、エボラ出血熱は否定された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Uda A, Sekizuka T, Tanabayashi K, Fujita O, Kuroda M, Hotta A, Sugiura N, Sharma N, Morikawa S, Yamada A. Role of Pathogenicity Determinant Protein C (PdpC) in Determining the Virulence of the *Francisella tularensis* Subspecies *tularensis* SCHU. PLoS One. 2014 Feb 18;9(2):e89075.
- 2) Toru Takahashi, Ken Maeda, Tadaki Suzuki, Aki Ishido, et al., Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo. The First Identification and Retrospective Study of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Japan. J Inf Dis., 2014 Mar;209(6):816-27.
- 3) Hotta A, Fujita O, Uda A, Sharma N, Tanabayashi K, Yamamoto Y, Yamada A. and Morikawa S. In vitro Antibiotic Susceptibility of *Francisella tularensis* isolates from Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 2013;66(6):534-6.
- 4) Fujita O, Hotta A, Uda A, Yamamoto Y, Fujita H, Shinya F, Asano S, Morikawa S, Tanabayashi K, Yamada A. Identification of the source of *Francisella tularensis* infection by a multi-locus variable-number tandem repeat analysis. Jpn. J. Infect. Dis. 2013;66(6):543-5.
- 5) Neekun Sharma, Akitoyo Hotta, Yoshie Yamamoto, Akihiko Uda, Osamu Fujita, Toshio Mizoguchi, Junji Shindo, Chun-Ho Park, Noboru Kudo, Hitoshi Hatai, Toshifumi Oyamada, Akio Yamada, Shigeru Morikawa, and Kiyoshi Tanabayashi. Serosurveillance for *Francisella tularensis* among wild animals in Japan using a newly developed competitive ELISA. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, in press
- 6) Arai S, Nguyen ST, Boldgiv B, Fukui D, Araki K, Dang CN, Ohdachi SD, Nguyen NX, Pham TD, Boldbaatar B, Satoh H, Yoshikawa Y, Morikawa S, Tanaka-Taya K, Yanagihara R, Oishi K. Novel Bat-borne Hantavirus, Vietnam. Emerg Infect Dis. 2013 Jul;19(7):1159-61.
- 7) Sakai K, Yoshikawa T, Seki F, Fukushi S, Tahara

M, Nagata N, Ami Y, Mizutani T, Kurane I, Hasegawa H, Saijo M, Komase K, Morikawa S, and Takeda M. Canine Distemper Virus Associated with a Lethal Outbreak in Monkeys Readily Adapted to Use Human Receptors. J Virol. 2013, 2013 Jun;87(12):7170-5.

8) Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzuki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. Lethal Canine Distemper Virus Outbreak in Cynomolgus Monkeys in Japan in 2008. J Virol. 2013, 87(2): 1105-1114

9) Neekun Sharma, Akitoyo Hotta, Yoshie Yamamoto, Osamu Fujita, Akihiko Uda, Shigeru Morikawa, Akio Yamadaa, Kiyoshi Tanabayashia . Detection of *Francisella tularensis*-specific antibodies in patients with tularemia using a novel competitive enzyme-linked immune- sorbent assay. Clinical and Vaccine Immunology, 2013 20(1): 9-16

(和文)

10) 下島昌幸、福士秀悦、谷 英樹、吉河智城、森川 茂、西條政幸：日本における重症熱性血小板減少症候群、ウイルス 63: 7-12, 2013.

11) 森川 茂：重症熱性血小板減少症候群、獣疫学雑誌 17(2)142-143, 2014.

12) 森川 茂：重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の概要、Journal of Veterinary Medicine (獣医畜産新報) 67(3):167-170, 2014

2. 学会発表

1) 前田健、高橋徹、奥田優、水谷哲也、山岸拓也、森川茂、下島昌幸、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスの分離・同定 第 156 回日本獣医学会学術集会 2013.9.20~22 岐阜大学

2) 森川茂、木村昌伸、福士秀悦、加来義浩、朴ウンシル、鈴木道雄、井上智、今岡浩一、柳井徳磨、下島昌幸、西條政幸、前田健 動物の SFTS ウイルス抗体調査 第 156 回日本獣医学会学術集会 2013.9.20~22 岐阜大学

3) Nguyen Dung、下田宙、濱崎千菜美、寺田農、野口慧多、鋤田流星、高野愛、森川茂、前田健 飼育犬から重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスと交差する抗体の検出 第

156 回日本獣医学会学術集会 2013.9.20~22 岐阜大学

4) 谷口怜、福士秀悦、Joseph Masangkay、渡辺俊平、大松勉、下田宙、前田健、下島昌幸、西條政幸、明石博臣、吉川泰弘、久和茂、森川茂 フィリピンのコウモリからの SFTS ウイルスと交差する抗体の検出 第 156 回日本獣医学会学術集会 2013.9.20~22 岐阜大学

5) 宇田晶彦、福士秀悦、加来義浩、吉河智城、下島昌幸、新倉綾、安藤秀二、川端寛樹、高野愛、前田健、藤田博己、澤邊京子、西條政幸、森川茂 マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出 第 156 回日本獣医学会学術集会 2013.9.20~22 岐阜大学

6) 吉河智城、福士秀悦、谷英樹、宇田晶彦、谷口怜、福間藍子、前田健、高橋徹、森川茂、下島昌幸、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の確定診断に使用されているコンベンショナル PCR の評価、及びリアルタイム定量 PCR との比較 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10~12 神戸国際会議場

7) 福間藍子、福士秀悦、谷英樹、吉河智城、谷口怜、下島昌幸、森川茂、前田健、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の血清学的診断法の開発 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10~12 神戸国際会議場

8) 西條政幸、高橋徹、前田健、水谷哲也、大松勉、吉河智城、谷英樹、福士秀悦、下島昌幸、福間藍子、緒方もも子、鈴木忠樹、中島典子、片野晴隆、永田典代、長谷川秀樹、山岸拓也、倉根一郎、森川茂 後方視的に重症熱性血小板減少症候群と診断された 11 名のウイルス学的・臨床的・疫学的研究 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10~12 神戸国際会議場

9) 森川茂、木村昌伸、福士秀悦、福間藍子、加来義浩、朴ウンシル、谷英樹、吉河智城、井上智、今岡浩一、下島昌幸、西條政幸、前田健 SFTS ウイルス抗体陽性動物の調査 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10~12 神戸国際会議場

10) 谷口怜、福士秀悦、Joseph Masangkay、渡辺俊平、大松勉、下田宙、前田健、福間藍子、

吉河智城、谷英樹、下島昌幸、西條政幸、明石博臣、吉川泰弘、久和茂、森川茂 フィリピンのコウモリからの重症熱性血小板減少症候群ウイルスに反応する抗体の検出 第61回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10～12 神戸国際会議場

- 11) 宇田晶彦、福士秀悦、加来義浩、吉河智城、下島昌幸、新倉綾、井上智、安藤秀二、前田健、西條政幸、森川茂 マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出 第61回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10～12 神戸国際会議場
- 12) 谷英樹、下島昌幸、福間藍子、谷口怜、吉河智城、福士秀悦、森川茂、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群ウイルス GP を外套したシュードタイプ VSV の作製 第61回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10～12 神戸国際会議場
- 13) 高橋徹、亀井敏昭、前田健、水谷哲也、下島昌幸、福士秀悦、谷英樹、吉河智城、森川茂、長谷川秀樹、中島典子、鈴木忠樹、永田典代、片野晴隆、山岸拓也、大石和徳、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の日本における初症例 第61回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10～12 神戸国際会議場
- 14) 前田健、濱崎千菜美、久保翔太郎、遠藤泰之、寺田農、鋤田流星、高野愛、下田宙、森川茂 国内飼育犬から重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスに対する抗体の検出 第61回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10～12 神戸国際会議場

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

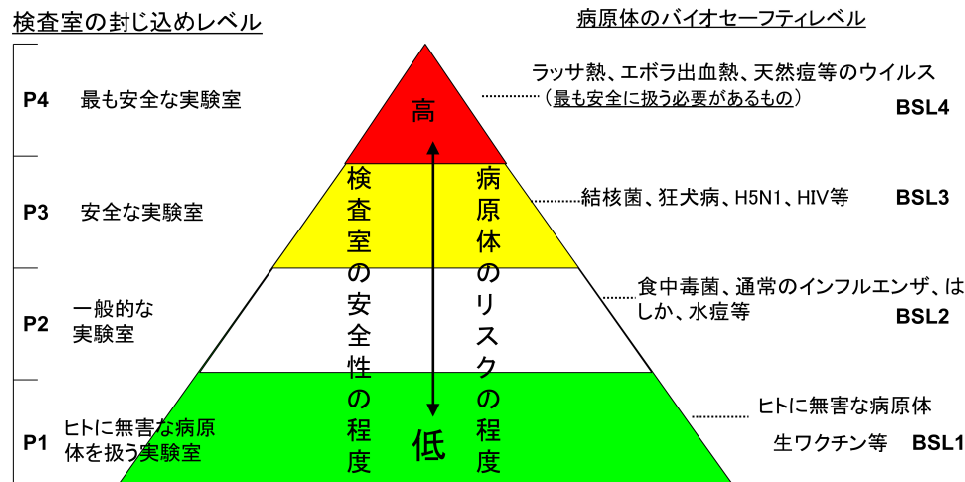
BSL4施設で扱うべき感染症の病原体



感染症法		
感染症の類型分類 (一類感染症)	病原体の規制分類 (一種病原体等)	バイオセーフティレベル(BSL) (施設の物理的封じ込め:P)
エボラ出血熱	エボラウイルス属 アイボリコーストエボラウイルス、ザイールウイルス スーダンエボラウイルス、レ斯顿エボラウイルス ブンディブギョエボラウイルス	4
クリミアコンゴ出血熱	ナイロウイルス属 クリミアコンゴヘモラジックフィバーウイルス	4
痘そう(天然痘)	オルソボックスウイルス属 パリオウイルス	4 <small>(WHO総会での合意により、米国CDCとロシア Vectorでのみウイルスの保管・使用が可能)</small>
南米出血熱	アレナウイルス属 ガナリトウイルス、サビアウイルス、フニンウイルス マチュポウイルス、チャバレウイルス	4
マールブルグ病	マールブルグウイルス属 レイクビクトリアマールブルグウイルス	4
ラッサ熱	アレナウイルス属 ラッサウイルス	4
?	アレナウイルス属 ルジョウイルス	4

(注)一類感染症には他にベストがあるが、ベスト菌は二種病原体で、P3施設で取り扱う

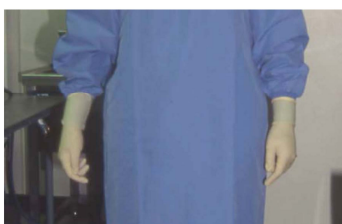
病原体を安全に扱う実験室と各レベルの病原体



BSL4実験室でのPPE



- Cabinet labo-BSL4実験室に立ち入る際は、所定の防護服、マスク、帽子、手袋及び履物を着用する。必要な場合は、実験室に備え付けの顔面保護具等を着用

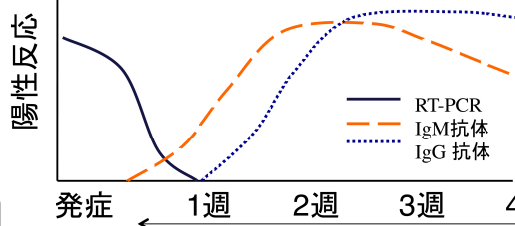


ディスポ手袋は二重にする



GBLでの作業

ウイルス性出血熱の実験室診断



BSL4実験室なしではウイルス分離ができない

- ウイルスの検出**
- ウイルス分離
 - RT-PCR
 - 抗原検出ELISA

- 抗体の検出(血清診断)**
- IgG抗体の上昇の確認(急性期と回復期)
 - IgM抗体の検出
 - ウイルス中和抗体の検出

BSL4実験室なしでは診断用抗原が調整できない。中和抗体が測定できない。

国立感染症研究所での実験室診断体制



感染症	感染症法	BSL (特定)	Virus detection				Serodiagnosis			
			Virus isolation	RT- PCR	EM	Ag- detect ELISA	NT	IgG ELISA	IgM ELISA	Indirect IF
痘そう	1類	4(1種)	△	◎	◎NS	ND	NS	NS	NS	NS
エボラ出血熱	1類	4(1種)	△	◎		◎	◎	◎	◎	◎
マールブルグ病	1類	4(1種)	△	◎		◎	○	◎	◎	◎
クリミア・コンゴ出血熱	1類	4(1種)	△	◎		◎	○	◎	◎	◎
ラッサ熱	1類	4(1種)	△	◎		◎	◎	◎	◎	◎
南米出血熱	1類	4(1種)	△	○		○	◎	◎		◎
SARS	2類	3(2種)	○	◎		○	◎	◎	○	◎
SFTS	4類	3(3種)	◎	◎			◎	◎	○	◎
リフトバレー熱	4類	3(3種)	△	◎		○	◎	○		◎
ニパウイルス感染症	4類	3(診断)/4 (3種)	△	○			◎	○		
サル痘	4類	2, ABSL3 (3種)	○	◎	◎NS	ND	NS	NS	NS	NS
新興ウイルス感染症	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?

◎: evaluatec using patients' specimens and/or virus specimens;

△: possible when BSL4 facility is operated

NS: not specific (orthopox specific)



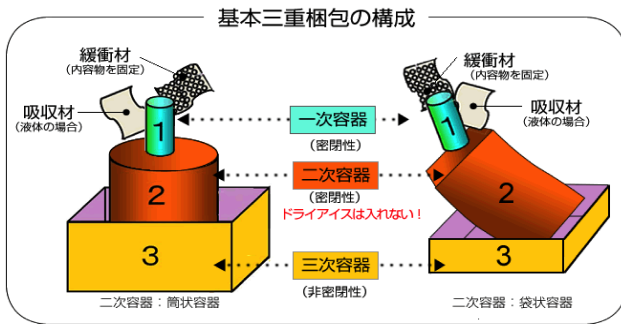
ウイルス性出血熱が疑われる場合の 国立感染症研究所の窓口

- 感染症情報センター
- ウイルス第一部
- info@nih.go.jp

(原因不明の感染症が疑われる場合も
国立感染症研究所へ御連絡ください)

国連(UN)規格のカテゴリーA容器 サンプル

検体と輸送法



- ✓ 全血の場合 (PCRが陰性になるためヘパリンは不可、EDTAはOK)
- ✓ その他の検体は、疑う感染症による
- ✓ 検査の手続き
 - 行政検査手続き
 - 感染研検定係
 - 検体の輸送法
 - UN規格カテゴリーA

2次容器: 筒型のハード容器の場合

2次容器 (密閉性が高い)



この中にドライアイスを入れない



オーバーパック(4次容器)(ジュラルミンケース)



輸送の場合
保冷を必要とする
ドライアイス



緩衝材

2次容器中にドライアイス等が入っていないことを確認!

3次容器とオーバーパック(4次容器)(ジュラルミンケース)はドライアイス等の気化(昇華)するガスが放散される構造であること。



バイオセーフティ管理室
Division of Biosafety Control and Research