

201517001A

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業

地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出および
リスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と
技術開発に関する研究

平成27年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小田切孝人
平成28年(2016)3月

目 次

I. 総括研究報告書

地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出およびリスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と技術開発に関する研究

研究代表者： 小田切孝人 _____ P1

II. 分担研究報告書

1. インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間及び国立感染症研究所との連携強化に関する研究

皆川洋子 _____ P9

研究協力者：高橋雅輝、長島真美、秋場哲哉、貞升健志、森川佐依子、廣井 聡、加瀬哲男、山下育孝、四宮博人、芦塚由紀、千々和勝己、駒込理佳、三好正浩、長野秀樹、川上千春、小淵正次、滝澤剛則、三好龍也、喜屋武向子、久場由真仁、安井善宏

2. 地方衛生研究所で実施するインフルエンザウイルス検査の質確保に関する研究

皆川洋子 _____ P21

研究協力者：安井善宏、小林慎一、山下照夫

3. インフルエンザウイルス核酸検出検査(リアルタイム RT-PCR 法)全国地衛研外部精度管理(EQA)実施結果について

影山努 _____ P51

研究協力者：高山郁代、中内美名

4. 地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出およびリスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化に関する研究

今井正樹 _____ P81

研究協力者：渡邊真治

5. 遺伝子情報計算科学を基にハイリスク変異株の予測・評価法の開発

佐藤裕徳 _____ P95

研究協力者：横山勝、伊藤公人

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 _____ P97

I. 総括研究報告書

地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出および リスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と 技術開発に関する研究

研究代表者 小田切孝人 国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター・
センター長

研究要旨

改正感染症法が平成 28 年から施行されることから、法的に病原体サーベイランスおよび核酸（PCR）検査精度管理の強化が義務付けられる。これにより、全国地方衛生研究所（地衛研）におけるインフルエンザ検査期間と収集検体数が規定され、通年でのインフルエンザサーベイランス体制を維持すること、および PCR 検査の精度管理の外部評価試験の定期的な実施が必要となる。本研究班では、法の施行に先立ち、PCR 検査の外部精度管理試験（External Quality Assessment, EQA）をコア・サポート地衛研－国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター（感染研）との連携体制を基盤に実施してきた。全国規模での EQA の実施は 3 回目を迎え、試験パネルの内容も充実させ、本年度はその最終年度にあたる。これにより PCR 検査精度は全国的に格段に向上し、当初の目標どおり全国レベルで検査の「質」の確保が達成されつつある。また、これと並行して全国共通で採用可能な手順書、教育訓練記録書などのひな形を作成し、文書整備を進めた。これら検査精度管理の組織的な実施成功例は、改正感染症法の施行における模範となっている。一方、PCR 検査体制整備を追いかける形で進められたウイルス分離体制の強化への取り組みは、第 2 回目のアンケート調査でより現実的な対応の段階に入っている。ウイルス分離効率の悪い地衛研を特定して、要望に応じて現地研修を実施し改善策を講じた。一方、ウイルス遺伝子情報の計算科学によるウイルスリスク評価およびウイルス変化予測への取り組みは、大規模計算の実施基盤を強化することにより、リスク予測の精度が格段に向上することが見込める。これは、WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークが H28 年度から本格的に開始するウイルス変化予測を利用したワクチン株の選定法の改良プロジェクトの先導的な役割を成し、本研究からの成果は国際貢献にとっても期待されている。

A. 研究組織

研究代表者：

小田切孝人 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター センター長

研究分担者：

皆川洋子 愛知県衛生研究所 所長

影山 努 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター 室長

今井正樹 東京大学医科学研究所 准教授

佐藤裕徳 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター 室長

B. 研究目的

本研究班では、新型インフルエンザ発生に備えて地衛研—感染研の連携をスムーズにすること、また、季節性インフルエンザ株サーベイランスおよび PCR 検査の強化と改善を効果的に実施する体制の整備をすることを目標にして進められてきた。本研究班における 2 期 6 年間に於けるこれらの試みは、H28 年 4 月に施行される改正感染症法により、法的にもバックアップされインフルエンザ対策のさらなる強化につながる。本研究ではコア・サポート地衛研—感染研共同研究体制を基軸に進めてきた PCR 検査 EQA およびウイルス分離体制の整備と改善を継続的に行い、並行して必要な文書整備を進め、全国地衛研が一律に対応できるように支援する。

一方、新型インフルエンザの発生時には、原因ウイルスの入手には数ヶ月という長い時間がかかり、入手を待っていると初動対応の遅れにより、流行拡大や健康被害の増大につながる。近年では、新型インフルエンザウイルス発生当事国は、速やかに遺伝子情報を開示することが紳士協定として履行されていることから、ウイルスが入手できなくても遺伝子情報をもとにリスク評価

を行うことは可能である。そのため、計算科学を用いたウイルスのリスク評価や変化予測をより短時間で高い精度で行うことが求められ始めている。これは、新型インフルエンザのみならず、季節性インフルエンザワクチンの検索や選定においても、強力な支援ツールとなることから、H28 年度から WHO は国際連携プロジェクトを本格的に立ち上げ、ワクチン株選定法の改良に取り組む予定である。本研究班のこれまでの取り組みは、これを先取りした対応であり、本研究からの成果は WHO から期待されている。

本研究は厚生労働省の健康行政の実施に直結しているが、創薬や研究開発を追求した新研究支援機構が発足したことから、予算の削減により当初の本研究班の規模を維持できなくなり、3 つの分担研究を削減せざるを得なかった。中軸となる研究目的はかろうじて維持しているが、改正感染症法の履行を着実に支援するためには、このような行政施策に直結する研究への予算措置が今後の課題である。

C. 研究方法

1. 平成 28 年 4 月以降、感染症法に基づき季節性インフルエンザまたは鳥インフルエンザ検査を実施するにあたり、文書整備を進めた。
2. 全国の地方衛生研究所を対象に第 3 回 PCR 検査 EQA を実施。全国 74 カ所の地方衛生研究所に対して、2015 年 7 月に「EQA2015 実施要項」(添付資料 1)および参加登録票の配布。試験パネルを配布した。
3. 全国 80 カ所の地衛研を対象にウイルス分離・培養の実施状況に関する第 2 回アンケート調査を実施。
4. HA タンパク質をモデル分子とした MD simulation の実施。インフルエンザ研

究センター—人獣共通感染症リサーチセンター（北海道大学）—病原体ゲノム解析研究センターの3者が連携した疫学・計算科学の統合環境の整備を進めた。

D. 研究結果

1. 検査、教育訓練等の手順書などの文書整備を進めるため、書式のひな形を作成し、全国地衛研に参考資料として提示した。

2. 全国 73 カ所の地方衛生研究所を対象にして第3回 EQA を実施した。このために配布した文書は、「第3回全国地衛研外部精度管理(EQA2015)実施結果について」、「精度管理と問題時のトラブルシューティングについて」、「トラブルシューティング時のフローチャート」、「EQA2015 の結果およびアンケートの集計」である。

3. ウイルス分離培養技術の精度向上を目指して、全国 80 カ所の地衛研を対象に第2回アンケート調査を実施し、77 カ所（46 都道府県、31 政令指定都市、中核市・特別区）から回答が得られた。

分離効率に関しては、75%以上の高い効率で分離している研究機関が 68 機関の半数（34 機関）を占めた。一方、前回の調査から改善の見られていない地衛研が特定された。これらの機関から研修の要望があった 2 機関において、それぞれの機関で実地研修を行った。その結果、2 機関に共通していたことは、前任者からの引継ぎがうまく行っていなかったこと、また担当者に経験者がいなかったことが挙げられた。

4. MD simulation の実施における環境整備 MD simulation の実施のために対象分子とその変異情報を国立感染症研究所インフルエンザ研究センター第一室から随時入手できる体制を整備した。MD の高速計算を可能とする高性能サーバの確保のために、北海道大学・人獣共通感染症リサーチセンタ

ーのバイオインフォマティクス部門と共同研究体制を構築し、当該施設が所有するスーパーコンピュータを使用して MD simulation を実施し、成果を共有することが可能となった。

E. 考察

改正感染症法の平成 28 年度施行を目指して、PCR 検査 EQA を全国規模で 3 回実施した。これにより、全国的なインフルエンザ PCR 検査の「質」の向上が確保された。インフルエンザウイルス検査の EQA は地衛研組織に定着すると思われるが、担当者の世代交代においても息長くこの体制を維持するためには、今回の法改正が強力な後ろ盾となる。今後、EQA 企画機関と実施機関双方の負担軽減策も模索する必要があり、試験パネル配布や評価成績の集計など外部機関への委託を検討すべきかも知れない。

また、EQA の実施記録や次世代の後継者に技術を継承するためには、記録文書の整備と保管、引継ぎ体制の整備も継続的に進める必要があり、本研究班から提示した書式のひな形を有効活用して、全国一律に整備を進めてもらいたい。

株サーベイランスの根幹は原因ウイルスの分離回収を効率よく実施できる環境整備と担当者の質の向上、教育訓練が不可欠である。PCR 検査精度の整備には遅れたが、これも 2 回にわたるアンケート調査で実態把握と教育訓練の必要な機関を特定し、現地対応で解決へ向けた方策を講じた。大半の地衛研は 50%以上の分離効率を維持しており、諸外国に比べて高いレベルと精度を維持していると思われる。今後は、定期的に感染研と情報交換をしてウイルスの性状変化に適正に対処できる技術の維持に努めたい。

疫学情報とリンクさせた遺伝子配列情報

から MD simulation を実施し、ウイルス変
化予測およびリスク評価を実施してきたが、
より取扱量と分析結果を得るまでの時間短
縮のためにスーパーコンピュータを駆使し
た環境整備に着手した。WHO はワクチン
株選定にこのシュミレーション法を本格的
に導入することを決め、H28 年度から動き
出す。本研究からの成果は、それを先取り
しており、WHO および国内のワクチン株
選定法の改良に貢献していきたい。

F. 結論

・コア・サポート地衛研－感染研共同研究
体制第 2 期の最終年度を迎えて、今後の存
続が期待されている。その可否は厚生労働
行政に直結する研究への予算配分次第であ
る。

・全国地衛研を対象とした EQA が 3 度実施
され、PCR 検査技術の大幅な改善と均てん
化が達成された。

・EQA の定着に伴ってそれらに必要な文書
整備がすすめられた。

・ウイルス分離・培養環境整備と問題解決
のための第 2 回アンケート調査を実施した。
要望に応じて、実地研修を実施し、改善へ
の策を講じた。

・MD simulation の実施の高速化への環境
整備として、北大との共同研究体制を構築
し、WHO ワクチン株選定会議への貢献を
視野に準備を進めた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tadaki Suzuki, Akira Kawaguchi, Aki
ra Ainaia, Shin-ichi Tamura, Ryo Ito,
Pretty Multihartina, Vivi Setiawaty, Kr
isna Nur Andriana Pangesti, Takato Oda
giri, Masato Tashiro, and Hideki Haseg
awa Relationship of the quaternary st

tructure of human secretory IgA to neut
ralization of influenza virus. PNAS (2
015 May) www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/
pnas.1503885112

2) Takashita E, Kiso M, Fujisaki S,
Yokoyama M, Nakamura K, Shirakura M, Sato
H, Odagiri T, Kawaoka Y, Tashiro M, and
the Influenza Virus Surveillance Group
of Japan. Characterization of a large
outbreak of influenza A(H1N1)pdm09 virus
cross-resistant to oseltamivir and
peramivir in the 2103-14 influenza
season in Japan. Antimicrob Agents
Chemother. 2015 May;59(5):2607-17. doi:
10.1128/AAC.04836-14. Epub 2015 Feb 17.

3) Sakai K, Sekizuka T, Ami Y, Nakajima
N, Kitazawa M, Sato Y, Nakajima K, Anraku
M, Kubota T, Komase K, Takehara K,
Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Kuroda
M, Takeda M. A Mutant H3N2 Influenza
Virus Uses an Alternative Activation
Mechanism in TMPRSS2 Knockout Mice by
Loss of an Oligosaccharide in the
Hemagglutinin Stalk Region. J Virol.
2015 May 1;89(9):5154-8. doi:
10.1128/JVI.00124-15. Epub 2015 Feb 11.

4) Bedford T, Riley S, Barr IG, Broor
S, Chadha M, Cox NJ, Daniels RS, Gunas
ekaran CP, Hurt AC, Kelso A, Klimov A,
Lewis NS, Li X, McCauley JW, Odagiri
T, Potdar V, Rambaut A, Shu Y, Skepner
E, Smith DJ, Suchard MA, Tashiro M, W
ang D, Xu X, Lemey P, Russell CA Glob
al circulation patterns of seasonal in
fluenza viruses vary with antigenic dr
ift Nature. 2015 Jul 9;523(7559):217-
20. doi: 10.1038/nature14460

5) Aina A, Hasegawa H, Obuchi M, Odag
iri T, Ujike M, Shirakura M, Nobusawa

E, Tashiro M, Asanuma H Host Adaptation and the Alteration of Viral Properties of the First Influenza A/H1N1pdm09 Virus Isolated in Japan PLoS One. 2015 Jun 16;10(6):e0130208. doi: 10.1371/journal.pone.0130208.

6) Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Ohmiya S, Sato K, Ito H, Chiba F, Nishimura H, Shindo S, Watanabe S, Odagiri T; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Characterization of an A(H1N1)pdm09 virus imported from India, March 2015. Jpn J Infect Dis. 2016 Jan 21;69(1):83-6. doi: 10.7883/yoken.JJI D.2015.460

7) Fudo S, Yamamoto N, Nukaga M, Odagiri T, Tashiro M, Neyra S, Hoshino T Structural and computational study on inhibitory compounds for endonuclease activity of influenza virus polymerase. Bioorg Med Chem. 2015 Sep 1;23(17):5466-75. doi: 10.1016/j.bmc.2015.07.0

8) Takayama I, Hieu NT, Shirakura M, Nakauchi M, Fujisaki S, Takahashi H, Nagata S, Long NT, Odagiri T, Tashiro M, Kageyama T. Novel Reassortant Avian Influenza A(H5N1) Virus in Human, Southern Vietnam, 2014. Emerg Infect Dis. 2016 Mar;22(3). doi: 10.3201/eid2203.151360

2. 学会発表

1) Shinji Watanabe, Kazuya Nakamura, Seiichi Fujisaki, Masayuki Shirakura, Emi Takashita, Noriko Kishida, Tomoko Kuwahara, Aya Sato, Ogawa Rie, Hiromi Sugawara, Miki Akimoto, Hideka Miura, Takato Odagiri, The Influenza Surveil-

lance Group of Japan Characterizations of circulating influenza viruses in the 2014/2015 season and vaccine viruses selected for the 2015/16 season 第63回日本ウイルス学会 2015年11月 福岡

2) E Takashita, S Fujisaki, N Gabriele, Y Furuta, Y Kawaoka, M Tashiro, T Odagiri. Antiviral susceptibility of influenza viruses isolated from patients pre- and post-administration of favipiravir. 第63回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015

3) C Kawakami, E Takashita, S Fujisaki, M Saikusa, S Usuku, T Odagiri, K Mitamura. Genetic analysis of influenza B viruses isolated during the five seasons in Yokohama. 第63回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015

4) 高下恵美、小川理恵、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、岸田典子、桑原朋子、菅原裕美、佐藤彩、三浦秀佳、秋元未来、渡邊真治、小田切孝人 2014/15 シーズンにおける日本国内の抗インフルエンザ薬耐性ウイルス検出状況 第47回日本小児感染症学会、福島、2015

5) C Kawakami, K Shimizu, S Usuku, K Mitamura, E Takashita, S Fujisaki, T Odagiri. Gene Analysis of Influenza B Viruses in Yokohama during the Past 5 Seasons. The 4th isirv Antiviral Group Conference, Texas, USA, 2015

6) E Takashita, M Kiso, S Fujisaki, M Yokoyama, K Nakamura, M Shirakura, H Sato, T Odagiri, Y Kawaoka and M Tashiro. Characterization of a Large Cluster of Influenza A(H1N1)pdm09 Virus Cross-Resistant to Oseltamivir and Peramivi-

r during the 2013/2014 Influenza Season in Japan. The 4th isirv Antiviral Group Conference, Texas, USA, 2015

7) 高下恵美, 小川理恵, 藤崎誠一郎, 中村一哉, 白倉雅之, 岸田典子, 桑原朋子, 菅原裕美, 佐藤彩, 三浦秀佳, 秋元未来, 渡邊真治, 小田切孝人. 2014/15 シーズンにおける日本国内の抗インフルエンザ薬耐性ウイルス検出状況. 第 47 回日本小児感染症学会. 2015 年 10 月. 福島.

8) Yasushi Suzuki, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Eri Nobusawa Development of a high-growth PR8 master virus for influenza vaccine production in cell culture systems. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015

9) Akira Ainai, Shinji Saito, Tadaki Suzuki, Norihiro Harada, Shin-ichi Tamura, Yoshikazu Yuki, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Haruko Takeyama, Hideo Tsukada, Hiroshi Kiyono, Hideki Hasegawa Impact of a nasal mucoadhesive excipient on enhancement of immune responses induced by intranasal vaccination against influenza. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015

10) 相内章、鈴木忠樹、池田千将、寺内芳彦、齊藤慎二、田村慎一、小田切孝人、田代真人、長谷川秀樹 経鼻インフルエンザワクチン接種直前の鼻腔洗浄が誘導される抗体応答に与える影響 第 19 回日本ワクチン学会、犬山、2015

11) 島崎典子、原田勇一、落合雅樹、板村繁之、小田切孝人 4 価インフルエンザ HA ワクチン B 型 2 系統 HA 抗原量を適正に測定するための一元放射免疫拡散試験法の評価及び実施手順の確立 第 19 回日本ワクチン学会、犬山、2015

ン学会、犬山、2015

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

無し

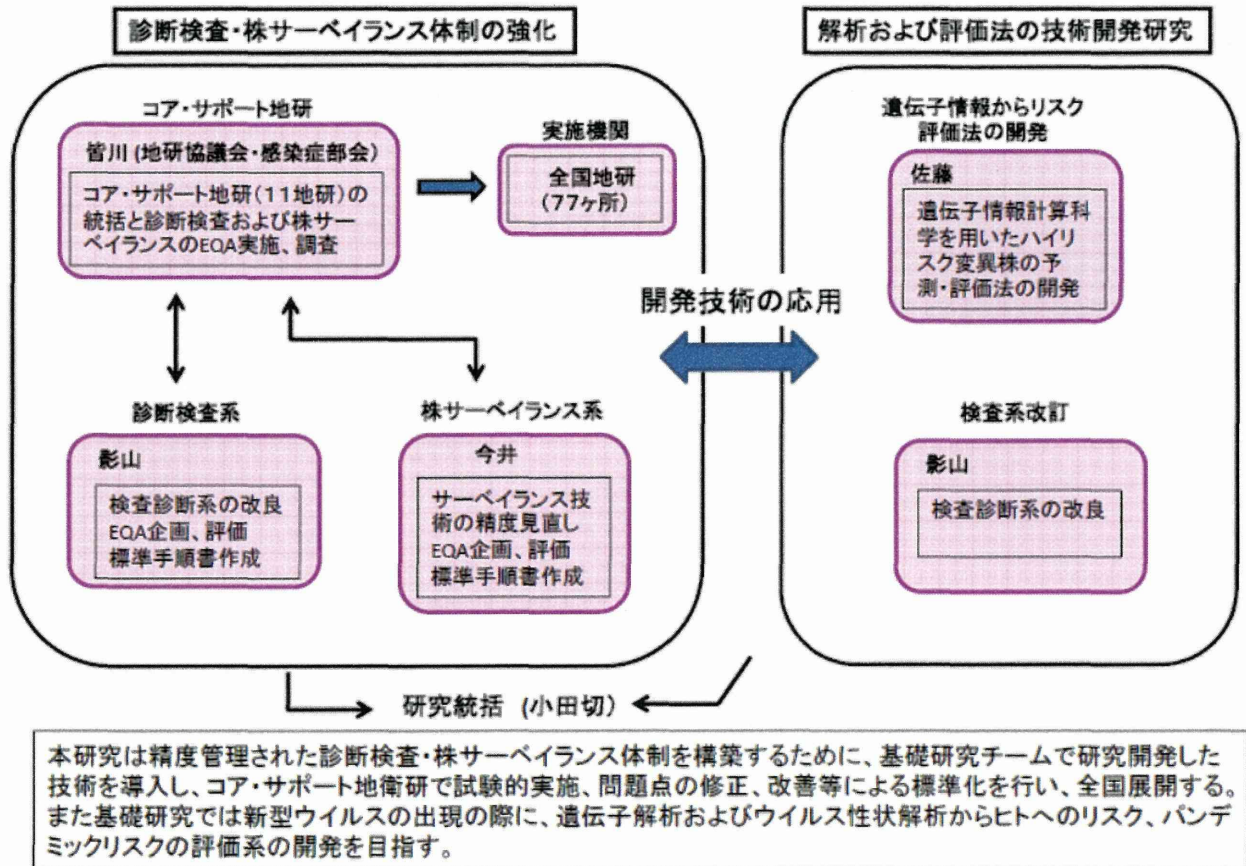
2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

研究項目の概要と役割分担および相互関連



II. 分担研究報告書

インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間 及び国立感染症研究所との連携強化に関する研究

研究分担者 皆川洋子 愛知県衛生研究所・所長

研究協力者

高橋雅輝	岩手県環境保健研究センター（コア地衛研）
長島真美、秋場哲哉、貞升健志	東京都健康安全研究センター（コア地衛研）
森川佐依子、廣井 聡、加瀬哲男	大阪府立公衆衛生研究所（コア地衛研）
山下育孝、四宮博人*	愛媛県立衛生環境研究所（コア地衛研）
芦塚由紀、千々和勝己	福岡県保健環境研究所（コア地衛研）
駒込理佳、三好正浩、長野秀樹	北海道立衛生研究所（サポート地衛研）
川上千春	横浜市衛生研究所（サポート地衛研）
小淵正次、滝澤剛則	富山県衛生研究所（サポート地衛研）
三好龍也	堺市衛生研究所（サポート地衛研）
喜屋武向子、久場由真仁	沖縄県衛生環境研究所（サポート地衛研）
安井善宏	愛知県衛生研究所（コア地衛研）

* 地方衛生研究所全国協議会 感染症対策部会長

研究要旨

平成 28 年 4 月の感染症法改正に伴い、五類定点把握疾患の季節性インフルエンザ及び二類感染症の鳥インフルエンザの病原体検査は、質の確保が求められることとなった。検査の「質」確保のために新たに必要となる検査関連書式等について検討し、ひな形等を作成した。血球凝集性の低下等流行ウイルス株の変化に対するウイルスサーベイランス上の対応や、影山分担研究者による遺伝子検出外部精度管理の設問等実施要領や、高下博士による抗インフルエンザ薬感受性監視株数の確保について、感染研に現場の立場で協力した。各研究協力者はインフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供及び関連調査研究に努め、研究会・学会発表や雑誌等への論文投稿を積極的に行った。

A. 研究目的

2010 年に地方衛生研究所全国協議会（地全協）感染症対策部会と国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターの理解のもと、コア・サポート地衛研体制として感染研・地研ネットワークが可視化され、

ウイルスサーベイランス並びにパンデミック対応に加え、ヒトにおける鳥インフルエンザ疑い事例の遺伝子検査に対応している。平成 28 年 4 月 1 日に施行される改正感染症法においては、他の病原体に先行する形で季節性インフルエンザウイルスの病原体情

報収集が定められ、病原体検査のなかでもインフルエンザウイルス検査の「質」の確保が急務となったため、インフルエンザウイルス検査を実施している地衛研が準備すべき書式案等を作成した。

B. 研究方法

地方衛生研究所全国協議会(地全協)感染症対策部会と連携し、地全協 6 支部に各 1 機関のレファレンスセンター(コア地衛研) 小計 6 機関、及び助言者(サポート地衛研) 5 機関 合計 11 機関が研究協力者として参画した。

(1)検査精度維持向上：感染症法改正(H28 年 4 月施行)に伴って季節性インフルエンザをはじめとする病原体検査の「質の確保」を図る目的で、各地衛研において作成が必要な書式ひな形案等を作成した。

(2) 影山分担研究者(感染研)によるウイルス遺伝子検出試験における外部精度管理、渡邊室長(同)によるインフルエンザウイルス株サーベイランスに関するアンケート調査が現場の実情を反映した実効性の高いものとなるよう、設問のチェック等や結果解析に際して協力した。

(3)H1pdm09 インフルエンザ H275Y マーカーサーベイランス等抗ウイルス剤感受性サーベイランス体制の維持に寄与した。

(倫理面への配慮) 該当しない。本研究においては、個々の患者検体及び患者情報の使用はない。

C. 研究結果

平成 27 年度は平成 28 年 4 月に施行される感染症法改正に伴い新たに必要となる検査関連書式等について検討し、ひな形等を作成して報告書に添付するとともに、全国の地衛研に情報提供した。(別添 1 遺伝子

検査のための汚染防止要領(ひな形案)、別添 2 検査部門及び信頼性確保部門の組織図(ひな形例示)、別添 3 教育訓練研修計画及び記録票(ひな形例示)、別添 4 簡易版機器保守管理及び作業日誌(ひな形例示)を参照)

D. 考察

本研究に期待される主な効果は

(1)わが国においてヒトが感染するインフルエンザウイルスの重大な(例：抗原性、薬剤耐性)変異の迅速・正確な把握の前提となる、感染研・地衛研間のインフルエンザ連携検査研究体制、ウイルス株サーベイランス体制の維持強化。

(2)上記連携体制のなかで地衛研が実施する、季節性及び鳥インフルエンザウイルス検査全般における検査精度の維持向上。

(3)わが国で流行しているインフルエンザウイルスにおける薬剤感受性変異まん延状況の把握、抗原変異の迅速な探知。
の 3 点に集約される。

27 年度は希望する全地衛研を対象とする EQA 実施に協力するとともに、28 年度に施行される法令改正対応に必要な文書書式等を検討し、一部ひな形等を準備した。今回の法改正において特に検体提出制度が適用されるインフルエンザウイルスサーベイランスの国内均てん化の一環として、地衛研が実施する検査の質の確保には、当該分担研究のようなネットワークの確保と維持が不可欠である。

E. 結論

感染症法改正に伴い、平成 28 年度より季節性インフルエンザの病原体サーベイランスは、他の病原体に先駆ける形で検査体制が強化され、全国の指定提出機関より流行期には週 1 検体、非流行期にも月 1 検体が

提出され、分離株等の病原体情報は、広く国民に還元されることとなる。一定の正確性が担保された有益な情報が速やかに還元されるためには、ウイルス検査における質の確保がこれまで以上に重要となる。

全国の地衛研が分離したウイルス株を用いて行われるインフルエンザウイルスサーベイランス及び関連する抗インフルエンザ剤感受性監視のレベル維持向上には、感染研-地研ネットワークを活用した不断の情報交換が不可欠であり、外部精度管理の効率的実施にもつながる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 中村一哉、岸田典子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、桑原朋子、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、菅原裕美、渡邊真治、小田切孝人、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ

2014/15 シーズンのインフルエンザ分離株の解析

病原微生物検出情報 36(11) 202-207 2015

2) 高橋雅輝、岩渕香織 佐藤直人、五日市恵里、齋藤幸一 感染症発生動向調査事業における病原体検出状況(平成26年度)ーインフルエンザ 2013/2014 シーズン及び2014/2015 シーズンー

岩手県環境保健研究センター年報 第14号 平成26年度(2014) 95-103 2016

3) 芦塚由紀、吉富秀亮、中村麻子、濱崎光宏、堀川和美、世良暢之

福岡県における2014/15 シーズンのインフルエンザウイルス検出状況福岡県保健環境研究所年報第42号 69-73 2016

4) 安井善宏、尾内彩乃、小林慎一、山下照夫、皆川洋子、土屋啓三、深瀬文昭、有賀みはる、片岡泉、糟谷慶一、片岡博喜

2015/16 シーズン初めに保育園集団かぜか

ら分離された AH1pdm09 亜型インフルエンザウイルスー愛知県

病原微生物検出情報 36(11)224-225 2015

5) 安井善宏

インフルエンザウイルスの動向と疫学

The Medical & Test Journal 1331 6 2015

6) 駒込理佳、三好正浩、長野秀樹、岡野素彦

北海道におけるインフルエンザウイルスの流行状況ー2014/15 シーズンー 北海道立衛生研究所報 65 印刷中 2015

7) 川上千春、小澤広規、百木智子、七種美和子、宇宿秀三、森田昌弘、水野哲宏

横浜市におけるインフルエンザの流行(2014年9月~2015年5月)

横浜市衛生研究所報 54 55-62 2016

8) 久場由真仁・喜屋武向子・新垣絵理・高良武俊・加藤峰史・岡野祥

沖縄県における2014/15 シーズンのインフルエンザ流行の特徴

沖縄県衛生環境研究所 所報 49 号 77-80 2016

2. 学会発表

1) Kawakami C, Momoki T, Saikusa M, Ozawa H, Shimizu K, Usuku S, Mitamura K, Takashita E, Fujisaki S, Odagiri T

Genetic Analysis of Influenza B Viruses isolated during the Five Seasons in Yokohama, Japan

The 4th isirv-AVG Conference Austin Texas USA 2015年6月

2) 高橋雅輝、佐藤直人、小野泰司

岩手県内で流行した A 香港型インフルエンザウイルスの HA 遺伝子解析

日本獣医公衆衛生学会平成27年度東北地区学会 盛岡市 2015年10月

3) 高橋雅輝

呼吸器ウイルスサーベイランスーインフ

ルエンザウイルスとかぜウイルスー
平成27年度第2回感染症検査ネットワーク
研修会 盛岡市 2016年1月

4) 高橋雅輝、佐藤直人、岩渕香織、五日市
恵里、小野泰司

岩手県における呼吸器ウイルスサーベイラ
ンスーインフルエンザウイルスとその他の
呼吸器ウイルスー

平成27年度 岩手県保健福祉環境行政セ
ミナー 盛岡市 2016年2月

5) 尾内彩乃、安井善宏、中村範子、廣瀬絵
美、安達啓一、伊藤雅、小林慎一、山下照
夫、皆川洋子

2014/15 シーズンに流行したインフルエン
ザ A 香港型 (AH3) のウイルス性状解析 愛
知県公衆衛生研究会 東浦町 2016年1月

6) 川上 千春、清水耕平、小澤広規、百木
智子、七種美和子、宇宿秀三、笹尾忠由
高下恵美、藤崎誠一郎、小田切孝人

過去5シーズンに分離されたB型インフル
エンザウイルスの遺伝子解析

第30回関東甲信静支部ウイルス研究部会
埼玉 2015年7月

7) 川上千春、七種美和子、豊澤隆弘、高下
恵美

横浜市における過去5シーズンのB型イン
フルエンザウイルスの遺伝子解析

第47回日本小児感染症学会 福島 2015
年10月

8) Kawakami C, Momoki T, Saikusa M, Ozawa
H, Shimizu K, Usuku S, Mitamura K,
Takashita E, Fujisaki S, Odagiri T

Genetic Analysis of Influenza B Viruses
isolated during the Five Seasons in
Yokohama

第63回日本ウイルス学会 福岡 2015年
11月

9) 川上 千春

インフルエンザの動向について

第5回関東甲信静支部公衆衛生情報研究部
会 横浜 2015年12月

10) Watanabe S, Nakamura K, Fujisaki S,
Shirakura M, Takashita E, Kishida N,
Kuwahara T, Sato A, Ogawa R, Sugawara H,
Akimoto M, Miura H, Odagiri T, The
Influenza Surveillance Group of Japan
Characterizations of circulating
influenza viruses in the 2014/2015
season and vaccine viruses selected for
the 2015/16 season.

第63回日本ウイルス学会 福岡 2015年
11月

11) 皆川洋子

V-09 インフルエンザレファレンスセンタ
ー (コア地衛研) (東海北陸ブロック)

平成27年度地方衛生研究所全国協議会東
海・北陸支部微生物部会 名古屋 2016年
3月

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

別添1 遺伝子検査のための汚染防止要領

別添1 遺伝子検査のための汚染防止要領 (ひな形案)

2016年3月1日 ○○衛生研究所

1 目的

遺伝子検査における交差汚染防止。

「検査施設における病原体等検査の業務管理要領（平成27年11月17日付健感発1117第2号）」（以下「検査要領」という。）5（2）参照

2 適用範囲

検査要領を適用する遺伝子検査。

3 事項別方策等

3-1 遺伝子検査室の構造

- ・核酸抽出作業を行う室と遺伝子増幅産物の検出作業を行う室が明確に区分されていること。
- ・上記2室の空調は各々独立しているか、遺伝子増幅産物の検出作業を行う室から核酸抽出作業や試薬の調製を行う場所へ空気が流れない構造となっていること。
- ・試薬の調製を行う場所が他と区分されていること。
- ・実験台等は、UV照射並びに次亜塩素酸を使用する定期的洗浄に耐える構造であること。
- ・作業毎に扉等に触れなくても手洗い設備にアクセス可能な配置が望ましい。

3-2 作業動線の注意点

- ・作業動線は、検体受入→核酸抽出・試薬調製→遺伝子増幅→増幅産物検出 の流れに沿ったものとし、逆流させない配置とする。
- ・核酸抽出作業、試薬の調製作業、及び遺伝子増幅産物の検出作業を行う際には、各作業毎に必ず手袋を替える。
- ・試薬調製作業を行う場所には、増幅産物や鋳型（検体から抽出した核酸及び陽性コントロール）を持ち込まない。
- ・一連の検査において上記作業の流れを遡ってはならない。複数の検査が重なって同時進行する事態となった場合、増幅産物検出を行った者が他の作業に従事することは極力避ける。止むを得ない場合は、十分な手洗い（可能であれば靴の履き替え、専用実験着の使用）等キャリーオーバー対策を実施する。

3-3 機器の扱い

ア 安全キャビネットあるいはクリーンベンチの使用

- ・試薬調製に際しては、安全キャビネットあるいはクリーンベンチを使用することが望ましい。
- ・汚染防止のため、流量が保たれているか定期的に点検する。
- ・核酸取扱い後の安全キャビネットあるいはクリーンベンチ内で、やむを得ず試薬調製を行う場合は、十分な時間紫外線を照射する。

別添1 遺伝子検査のための汚染防止要領

イ 遠心分離器

・キャリーオーバー防止のため、検体若しくは増幅産物の処理に用いる機器及び部品については、定期的に内部を掃除する。薄めた次亜塩素酸（金属表面等次亜塩素酸の使用が適当でない場合は水）を含んだペーパータオルで清拭後乾拭きする。

ウ 専用の微量分注器

・ピペット等微量分注器は、核酸抽出作業、試薬の調製作業、及び遺伝子増幅産物の検出作業毎にそれぞれ専用とする。

・陽性対照を扱う分注器は他の試薬調製用とは別にすることが望ましい。

・遺伝子増幅産物の検出に用いる分注器は必ず専用とする。

3-4 試薬消耗品の管理

ア 試薬の調整時の分注

・希釈したプライマー及び陽性コントロールは小さなチューブに分注して保存し、現在使用中のチューブに印を付し、使用開始年月日をチューブ本体等に記録するとともに、原則として使用開始したものから使い切る。

・プライマー、試薬等の分注にあたっては、各操作毎に液量に応じた微量分注器を選択する。

・溶液の入ったチューブ類のふたを開くときには、内ぶた等に触れないように、また飛沫が発生しないように注意する。開く直前に軽く遠心するとよい。

・遺伝子増幅反応液マスターミックスは1反応毎に必ず使い切りとする。

・反応チューブへの陽性コントロールの添加は、可能であれば試薬調製とは別の場所で行うことが望ましい。

イ 使い捨て消耗品の事項

・ピペッティング操作に伴って発生するエアロゾルによるコンタミネーションを防ぐため、フィルター付き当エアロゾル防止チップを用いることが望ましい。

・0.2 ml チューブは、DNase 及び RNase フリー製品またはオートクレーブ滅菌したものをを用いる。

ウ 使い捨て手袋の使用

・キャリーオーバー並びに手の汚れや汗などによるコンタミネーション等を防止する目的で、作業中は使い捨て手袋を着用する。

・上記観点から、手袋はパウダーフリーかつ各検査員の手に適合する大きさの製品を用いることが望ましい。

・手袋は、汚染が疑われる時や作業室や作業場所を移るたびに交換することが望ましい。

エ その他

試薬及びピペットチップ等器具の使用前滅菌にオートクレーブを用いる場合は、廃棄物

別添 1 遺伝子検査のための汚染防止要領

等の滅菌に用いている機器は使わない。

3-5 陰性コントロール、陽性コントロールの事項

- ・反応毎に必ず陰性コントロールと陽性コントロールを置き、コンタミネーション等が疑われる場合は考えられる原因に対処のうえ再検査を実施する。
- ・試薬の調製を行う場所への陽性コントロールの持ち込みは、制限する。

3-6 非特異反応への対処法

- ・臨床検体の PCR 若しくは RT-PCR 法を行う場合、しばしば鋳型の濃度や不純物等に起因する非特異反応が問題となる。陽性コントロールと似通ったサイズの増幅産物が得られたが判断に迷う場合は、判定前にシーケンス法による塩基配列の決定等を行うことも考慮する。

3-7 検体の取り違い防止

- ・検体受付時に、できれば複数の担当者立ち会いの上でナンバリングを実施する。
- ・反応チューブやウェルは、上記ナンバリングの順番を入れ替えることなく並べる等して入れ替わりを予防する。
- ・検査結果報告に際しては、最低限ダブルチェックを行う。

3-8 研修

検査部門管理者は、信頼性確保部門管理者及び検査区分責任者と協議の上、検査員に対して遺伝子検査業務従事前及び定期的に、本要領に記載されたコンタミネーション防止策を含む事項について研修を受けさせる。

3-9 その他注意事項

- ・実験台等の掃除：キャリーオーバー防止の観点から、次亜塩素酸を使用して実験台等の定期的洗浄を行う。検査室は定期的に掃除する。
- ・遺伝子検査室に用いない人の出入りは制限する。
- ・遺伝子増幅産物の検出作業を行う室に保管した資材は、増幅産物非取扱い区域に移動しないよう制限する。
- ・核酸抽出作業前の検体取扱いに際しては、バイオセーフティにも十分留意すること。
- ・オートクレーブでは増幅産物等 DNA を完全に分解することはできないので、廃棄物等はオートクレーブ済であっても試薬の調製を行う場所には持ち込まない。

4 実施時期

本要領は、平成 28 年 4 月 1 日から施行する。

文献等

○農林水産消費安全技術センター：遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル第 3 版 VI コン

別添1 遺伝子検査のための汚染防止要領

タミネーション防止編（平成 24 年 9 月 24 日）

○経済産業省：遺伝子検査ビジネス実施事業者の遵守事項（平成 25 年）

http://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/zyunshu.pdf

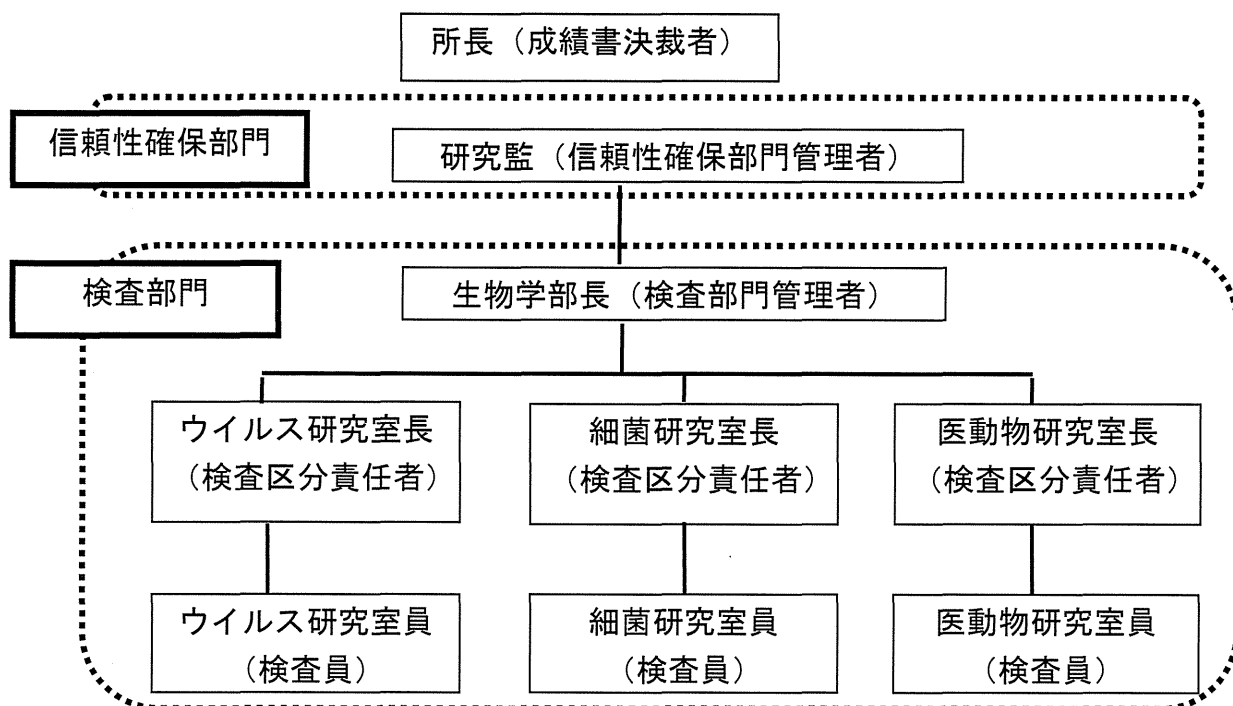
○一般財団法人医療関連サービス振興会：医療関連サービスマーク制度 調査内容衛生検査所業務（2015 年 11 月 25 日）

○国立感染症研究所ウイルス第三部：RT-PCR 法による SARS コロナウイルス遺伝子の検出

<http://idsc.nih.go.jp/disease/sars/update99-PCR.html> (2003 年 10 月 24 日更新)

別添 2

検査部門及び信頼性確保部門の組織図及び担当者（平成 28 年 4 月 1 日現在）



各部門の管理者の権限及び責任

部門		権限及び責任	職名	氏名
信頼性確保部門	信頼性確保部門 管理者	検査要領3(5)①文書に基づく精度管理 検査要領3(5)②逸脱が生じた場合の評価及び必要な措置 検査要領3(5)③標準作業書の写しの保存その他信頼性確保に必要な業務 検査要領15内部監査の実施及び記録の作成 検査要領15(3)是正処置内容の確認及び記録 検査要領16不適合業務対応及び是正処置等の記録 検査要領17精度管理結果のとりまとめ及び記録 検査要領18外部精度管理調査への定期的参加計画作成及び精度管理結果、必要な是正処置等の確認及び記録 検査要領19研修等の機会の確保	研究監	〇〇 〇〇
	(代理者)			
検査部門	検査部門管理者	検査要領3(2)①検査区分責任者及び検査員の職務分掌 文書の作成・保存 検査要領3(2)②～⑥に掲げられた業務 検査要領15(2)是正処置内容の報告 検査要領18外部精度管理調査の結果に基づく是正処置の実施及び信頼性確保部門管理者への報告 検査要領19研修等の実施計画の策定	生物学 部長	〇〇 〇〇
	(代理者)		〇室長	
	検査区分責任者 (ウイルス研究室)	検査要領3(3)①～⑥に掲げられた業務	ウイルス 研究室長	〇〇 〇〇
	検査区分責任者 (細菌研究室)	検査要領3(3)①～⑥に掲げられた業務	細菌 研究室長	〇〇 〇〇
	検査区分責任者 (医動物研究室)	検査要領3(3)①～⑥に掲げられた業務	医動物 研究室長	〇〇 〇〇