

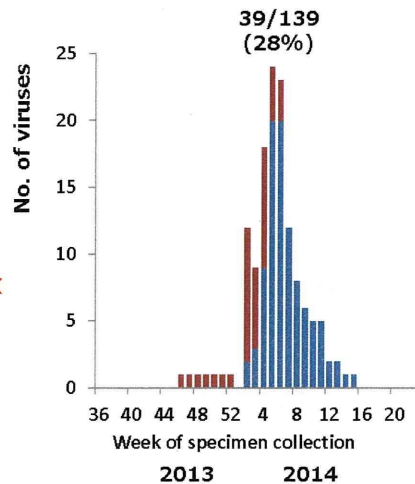
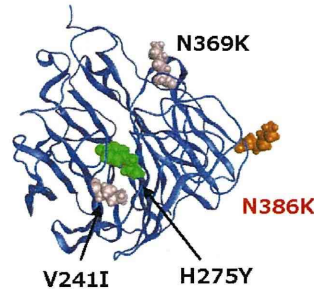
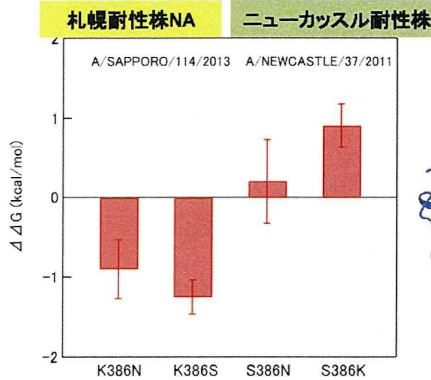
変異のリスク予測とサーベイランスによる検証

(1) 変異ウイルス伝播リスクの予測

札幌 IFV A (H1N1)pdm09薬剤耐性株

NAモデリング→*In silico* 変異導入解析→構造安定性評価

北海道地域での集計



•NA 386K変異に構造安定化の能力は無い
 •HAに抗原変異は無い
 →構造生物学的観点からは流行リスクは小

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 59:2607-2617, 2015

→ 新たな変異を追加で獲得しない限り、
 大規模な流行拡大はしないと予測

↓
 シーズン半ばで消滅した

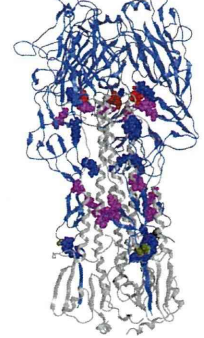
(2) 伝播リスクを高める二次変異の予測

中国 トリIFV A(H7N9)

ヒトへの感染性を増強する変異の予測

- (i) ヒト型受容体指向性の昂進
 - ◆HA受容体結合部位周辺：44種類の変異
- (ii) 蛋白質安定化の昂進（補償変異）
 - ◆HA三量体境界面：14種類の変異

HA trimer model



H7N9 HA (A/Anhui/1/2013)

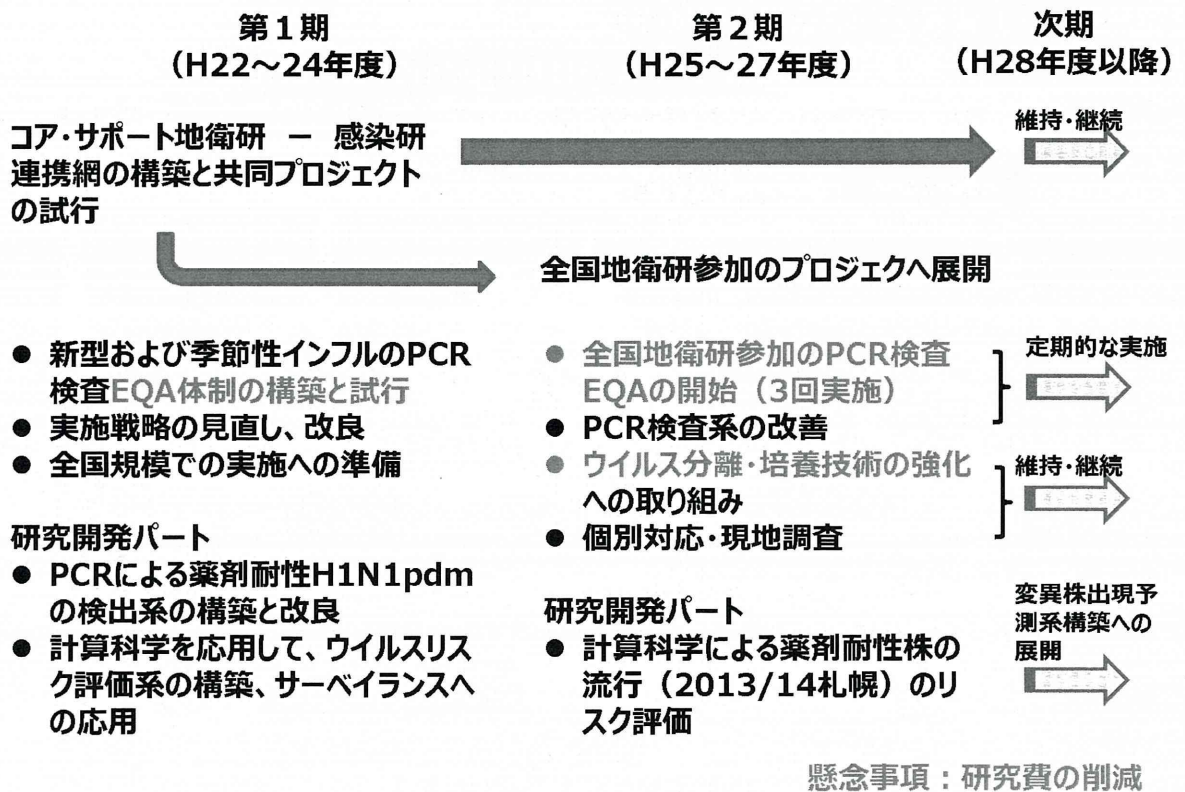
リスク変異の種類と位置を研究代表者に提供
 監視を継続

- ❖ 平成26年1月30日現在、予測した変異をもつA(H7N9)株は報告されていない
- ❖ また、A(H7N9)のヒト-ヒトの大規模拡散も報告されていない
- ❖ 『春節』中・後の監視が重要

- 流行拡大を招くHA二次変異を58種予測
- ❖ヒト型受容体指向性の増強変異44種
- ❖構造安定化に寄与する補償変異候補14種

3年間の実際のサーベイランス結果と一致

予測の結論：流行せず
 リスクを増す二次変異は極めて生じにくい
 (トリでは適応度下げる)



今後に残された課題

1. インフルエンザウイルス（季節性に加えて再興、新型を含む）検査関連情報の迅速かつ正確な伝達を担保するには、コア・サポート地衛研—感染研連携ネットワークでの研究班活動は必要。
2. 平成28年4月に施行される感染症法改正に伴い全国自治体が担当するインフルエンザウイルス病原体情報収集において一定の精度を保つには、地研間（横）及び感染研（縦：外部精度管理の実施等）との連携が不可欠。
3. 全国規模でのPCR検査EQAを定期的実施すべし。
4. 株サーベイランス技術のテコ入れは必須。改善には個別の研修等の対応が必要。また、定期的にアンケート調査を行なう。
5. インフルエンザウイルス遺伝子計算科学の手法をサーベイランスに取り入れる。変異株出現予測、ウイルス変異予測系を構築する。
6. 研究費予算の減少は、これらの対応を不可能にする。危機管理上でも懸念される。

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、齋藤幸一	岩手県環境保健研究センター（コア地衛研）
長島真美、新開敬行、原田幸子、林	志直、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）
戸田昌一、調 恒明*	山口県環境保健センター（コア地衛研～25 年度）
山下育孝、四宮博人**	愛媛県立衛生環境研究所（コア地衛研 26 年度～）
芦塚由紀、吉富秀亮、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、宇宿秀三、森田昌弘	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）
岡山文香、三好龍也、内野清子、田中智之	堺市衛生研究所（サポート地衛研）
喜屋武向子、久場由真仁、仁平稔	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（～26 年度）

** 地方衛生研究所全国協議会 感染症対策部会長（27 年度～）

研究要旨

インフルエンザウイルスサーベイランスにおいては、「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、検査体制の維持強化が図られている。平成 25-27 年度の間に本体制を活用して急きょ配布された H7 遺伝子検出試薬の感度の検証やウイルス検査の「質」確保に必要な書式等の検討を行うとともに、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。また血球凝集活性の低い分離株の型別対応、影山分担研究者によるウイルス遺伝子検出試験の外部精度管理、高下博士による抗ウイルス剤感受性監視のうち H275Y オセルタミビル耐性変異サーベイランスの維持強化に協力した。平成 25 年度はインフルエンザウイルス検査体制に関するアンケート調査解析結果を報告した。平成 26-27 年度は平成 28 年 4

月に施行される感染症法改正に伴って、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。

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。当該年度の分担研究において、上記インフルエンザウイルス検査体制の維持強化を目的とする調査研究を実施した。さらに平成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。そこで、インフルエンザウイルス検査を実施している地衛研が検査の「質」を確保するために定められた省令や要領に基づいて準備すべき書式案等の一部を本研究において作成した。

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（中国四国支部においてコア地衛研の交替があったため12機関が関与）が研究協力者として参画した。

(1)検査精度維持向上:中国におけるH7N9鳥インフルエンザ発生を受けて全地研に検査試薬が配布されたH25年度には、配布直後にH7遺伝子及びM遺伝子検査感度チェッ

クを行い、速やかに地全協会員にフィードバックした。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」を図る目的で内部精度管理等に必要な書類のリストを検討し、一部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インフルエンザの流行がみられたH25及びH27年度にはH275Yマーカーサーベイランス強化への協力依頼の周知を図るとともに、抗ウイルス剤感受性サーベイランス体制強化に寄与した。

（倫理面への配慮）本研究で用いる臨床検体及び患者情報は、「疫学研究における倫理指針」に基づき、材料提供者および家族の個人の尊厳及び人権の尊重、個人情報の保護に配慮して実施する。症例の分析においては、個々の症例が特定できないよう配慮して行う。

C. 研究結果

各年度研究報告書に記載したとおり、25年度はインフルエンザウイルス検査体制に関するアンケート調査解析結果を報告した。平成26-27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。

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、とりわけ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。

25-27年度は検査法修正等の都度現場として検証し、毎年度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) 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—2012/13 シーズン—北海道立衛生研究所報 63, 2013

2) 川上千春、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(2012年9月~2013年5月) 横浜市衛生研究所報 52 69-75, 2013

3) 吉富秀亮・石橋哲也・中村朋史・世良暢之 2012/13 シーズンに分離されたインフルエンザウイルスの抗原性及び系統解析 福岡県保健環境研究所報 40 90-93, 2013

4) 安井善宏、尾内彩乃、中村範子、小林慎一、山下照夫、皆川洋子 愛知県で2013/14 シーズンに初めて分離されたB型インフルエンザウイルス (Victoria 系統) の性状 病原微生物検出情報 34(12) 376-377, 2013

5) 岸田典子、徐紅、高下恵美、藤崎誠一郎、今井正樹、伊東玲子、佐藤彩、土井輝子、江島美穂、金南希、菅原裕美、小田切孝人、田代真人、全国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 国内インフルエンザ流行株の抗原性解析および薬剤体制株の検出状況(途中経過) 病原微生物検出情報 34 (5) 141-142, 2013

6) 岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、徐紅、土井輝子、伊東玲子、佐藤彩、菅原裕美、江島美穂、金南希、三浦舞、今井正樹、小

- 田切孝人、田代真人、小口晃央、大下龍蔵、藤田信之、全国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
2012/13 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 34(11)328-334, 2013
- 7) Kumagai T, Nakayama T, Okuno Y, Kase T, Nishimura N, Ozaki T, Miyata A, Suzuki E, Okafuji T, Okafuji T, Ochiai H, Nagata N, Tsutsumi H, Okamatsu M, Sakoda Y, Kida H, Ihara T. Humoral immune response to influenza A(H1N1)pdm2009 in patients with natural infection and in vaccine recipients in the 2009 pandemic. *Viral Immunology* 27(8):368-374, 2014.
- 8) Hiroi S, Morikawa S, Nakata N, Maeda A, Kanno T, Irie S, Ohfuji S, Hirota Y, Kase T Trivalent influenza vaccine-induced antibody response to circulating influenza A (H3N2) viruses in 2010/11 and 2011/12 seasons. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 11(2)386-390, 2015
- 9) Morikawa S, Hiroi S, Kase T
Detection of respiratory viruses in gargle specimens of healthy children. *Journal of Clinical Virology* 64 59-63, 2015
- 10) 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—2013/14 シーズン—
北海道立衛生研究所報 64 2014
- 11) 高橋雅輝、岩渕香織、梶田弘子、佐藤直人、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25年度）—インフルエンザ 2012/2013 シーズン及び 2013/2014 シーズン—
平成 25 年度版岩手県環境保健研究センター年報 第 13 号 71-79 2015
- 12) 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（2013年9月～2014年5月）
横浜市衛生研究所報 53:59-67, 2015
- 13) 吉富秀亮、吉山千春、濱崎光宏、石橋哲也、堀川和美. 福岡県における 2013/14 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 88-91 第 41 号 2015
- 14) 久場由真仁、喜屋武向子、高良武俊、新垣絵理、加藤峰史、岡野祥、久高潤、新垣あや子、大野惇. 2013/14 シーズンにおけるインフルエンザウイルスの流行—沖縄県 病原微生物検出情報 35 (11) 262-263, 2014
- 15) 安井善宏、中村範子、安達啓一、尾内彩乃、廣瀬絵美、伊藤雅、小林慎一、山下照夫、皆川洋子
愛知県におけるインフルエンザウイルス流行状況と分子疫学的解析—2009/10～2013/14 シーズン—
愛知県衛生研究所報 65 9-16, 2015
- 16) 中村一哉、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、岸田典子、徐 紅、佐藤彩、菅原裕美、土井輝子、伊東玲子、江島美穂、三浦舞、今井正樹、田代真人、渡邊真治、小田切孝人、全国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
2013/14 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 35 254-258, 2014
- 17) 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
- 18) 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
- 19) 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
- 20) 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
- 21) 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
- 22) 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
- 23) 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
- 24) 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
- 25) 調 恒明 インフルエンザ病原体サーベイランスの変化とその意味
Pharma Medica 33(11) 15-18 2015
2. 学会発表
- 1) Kawakami C, Ozawa H, Momoki T, Saikusa M, Usuku S, Morita M, Tobita Y, Funayama K, Mizuno T, Mitamura K, Yamazaki M, Ichikawa M
Usefulness of nose-blowing specimens for cluster influenza surveillance in Yokohama city, Japan
Options for the Control of Influenza VIII Cape Town South Africa 2013年9月
- 2) 川上千春、七種美和子、豊澤隆弘
集団かぜ調査における鼻かみ検体の有用性
第45回日本小児感染症学会総会・学術集会 札幌 2013年10月
- 3) 駒込理佳、三好正浩、長野秀樹、石田勢津子、岡野素彦
オセルタミビル耐性 H3N2 インフルエンザウイルスの迅速検出系の構築
第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013年11月
- 4) 藤崎誠一郎、岸田典子、徐紅、高下恵美、今井正樹、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、伊東玲子、三浦舞、江島美穂、小口晃央、花巻朝子、山崎秀司、藤田信之、田代真人、小田切孝人、全国地方衛生研究所
2012/13シーズンのインフルエンザ流行株と2013/14シーズンのワクチン株
第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013年11月
- 5) Kawakami C, Takeuchi M, Mitamura K, Takashita E, Odagiri T
Analysis of influenza virus responsible for persistent infection after drug administration in an immunosuppressed patient

Third isirv-Antiviral Group Conference
Tokyo 2014年6月

6) 高橋雅輝
呼吸器ウイルスを対象とした病原体サーベイランスについて—インフルエンザウイルスとその他の呼吸器ウイルス—
もりおかこども病院カンファランス 盛岡市 2014年5月27日

7) 高橋雅輝
小児呼吸器ウイルス感染症の疫学的特徴について
第30回岩手Farm to Tableフォーラム研究会 盛岡市 2014年5月28日
(<http://news7a1.atm.iwate-u.ac.jp/~fams/kenkyukai.html>)

8) 高橋雅輝、佐藤直人、岩渕香織、五日市恵里、齋藤幸一
岩手県における呼吸器ウイルス検出状況について—インフルエンザウイルス及びその他の呼吸器ウイルス—
平成26年度岩手県保健福祉環境行政セミナー 盛岡市 2015年2月13日

9) 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2013/14シーズンのインフルエンザ流行像
第28回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム 鳥取 2014年7月

10) 川上千春、七種美和子、豊澤隆弘、高下恵美
入院・重症例におけるAH1pdm09インフルエンザウイルスの解析
第46回日本小児感染症学会 東京 2014年10月

11) 川上千春、七種美和子、宇宿秀三、高下恵美、藤崎誠一郎、江島美穂、小田切孝人
3シーズンにわたって混合流行したB型インフルエンザウイルスの遺伝子解析
第62回日本ウイルス学会 横浜 2014年

11月

12) 森川佐依子、加瀬哲男：小児うがい液からの継続したウイルス検出の試み 第57回日本感染症学会中日本地方会学術集会 2014年10月 岡山

13) 吉富 秀亮、吉山 千春、濱崎 光宏、石橋 哲也 2013/14 シーズンにおけるインフルエンザウイルスの検出状況
第61回福岡県公衆衛生学会 福岡 2014年5月

14) 安井善宏、中村範子、小林慎一、山下照夫、皆川洋子 愛知県で2013/14シーズンに分離したAH3亜型インフルエンザウイルスの遺伝子多様性と分子疫学的解析
第62回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014年11月

15) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、横山勝、中村一哉、白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、佐藤裕徳、小田切孝人、全国地方衛生研究所
2013/14 シーズンにおけるNA阻害剤耐性A(H1N1)pdm09ウイルスの地域流行
第62回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014年11月

16) 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

17) 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

18) 高橋雅輝
呼吸器ウイルスサーベイランス—インフルエンザウイルスとかぜウイルス—

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

19) 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

20) 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

21) 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

22) 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

23) 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

24) 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

25) 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

26) 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

3. その他

(シンポジウム、講演等)

1) 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

AH3 型ウイルスの増殖性と NA アミノ酸変異
第 27 回インフルエンザ研究者交流の会シ
ンポジウム 札幌 2013 年 6 月

2) 皆川洋子、安井善宏、山下照夫、平成
24 年度小田切班コア・サポート地衛研

地衛研のインフルエンザ検査・サーベイラ
ンス体制の現状と展望. シンポジウム III
インフルエンザウイルス 衛生微生物技術
協議会第 34 回研究会 名古屋市

2013 年 7 月 12 日

3) 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、飛田ゆう子、
船山和志、水野哲宏

集団かぜ調査における鼻かみ検体導入の試
み. シンポジウム III インフルエンザウ
イルス 衛生微生物技術協議会第 34 回研

研究会 名古屋市 2013年7月12日

(検査マニュアル)

4) 中村一哉、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下
恵美、中内美名、高山郁代、影山 努、小
田切孝人、長野秀樹、高橋雅輝、林 志直、
川上千春、滝澤剛則、加瀬哲男、岡山文香、
山下育孝、千々和勝己、喜屋武向子、安井
善宏、皆川洋子

インフルエンザ診断マニュアル(第3
版)2014年9月

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

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) 第 1～3 回全国地衛研外部精度管理(EQA)実施結果について

分担研究者：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
研究協力者：高山 郁代 同上 主任研究官
中内 美名 同上 主任研究官
高橋 仁 同上 主任研究官

研究要旨

新型インフルエンザの発生時に、診断および感染拡大防止策を実施するため、全国の地方衛生研究所においては、新型インフルエンザに対する核酸検査の実施が求められている。平成 28 年度には改正感染症法の施行に伴う省令改正により、検査の精度管理の定期的実施および精度管理に関する外部調査の定期的受検など、精度管理への取り組みが大きく変わることとなる。本研究では平成 25、26、27 年度に各一回、全国の地方衛生研究所を対象にしたリアルタイム RT-PCR 法によるインフルエンザウイルスの核酸検出検査の精度向上を目的とした外部精度管理(EQA)評価を実施したので、その解析結果を報告する。

A. 研究目的

平成 24 年 5 月 11 日に「新型インフルエンザ等対策特別措置法」が公布され、新型インフルエンザの発生時は、感染拡大防止策の実施のため、全国の地方衛生研究所において新型インフルエンザに対する PCR 検査の実施が求められる事になり、全国で適切に新型インフルエンザの確定検査が実施できるよう、地方衛生研究所においては、その検査体制の整備が急務となった。また、平成 26 年 11 月には改正感染症法が成立し、平成 28 年 4 月から省令改正により検体検査の質の向上を図るため、感染症に関する情報の収集体制の強化等が実施される予定であり、法に基づいた国家戦略として、全国の地方衛生研究所(74 カ所)や検疫所(16 カ所)では、新型インフルエンザ発生時に診

断検査を的確に実施できる態勢を維持するなど、新型インフルエンザ発生時の感染拡大防止のための永続的対応が必要不可欠な状況となった。

H5N1 亜型 高病原性鳥インフルエンザウイルスは 2003 年以降、ヨーロッパ、中東、アフリカ、アジア地域で流行し、高い死亡率を伴ったヒトへの感染例も各地で報告されており、2016 年 1 月までに 16 カ国 846 人の感染者および 449 人の死者が確認されている。日本では、最近では 2014 年から 2015 年の間、このウイルスを由来とする H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスが野鳥および家禽で流行した。幸いにも世界ではこの亜型のウイルスによるヒト感染例は報告されていない。

さらに 2014 年 4 月には中国で H5N6 亜型

高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が初めて報告され、2016年2月現在、10例の感染者がいずれも中国で報告されている。

また、2013年3月には低病原性のH7N9亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染例が中国において世界で初めて報告され、2016年2月までにマレーシア、台湾、カナダでの輸入感染例を含め724人の感染者が確認されている。また、2013年11月にはH10N8亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が同じく中国で、2013年6月にはH6N1亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が台湾で初めて報告された。

このように、海外ではH5N1、H5N6、H7N7亜型などの高病原性鳥インフルエンザウイルス、H7N9、H10N8、H6N1、H9N2亜型などの鳥インフルエンザウイルス、H1N1、H1N2、H3N2亜型のブタインフルエンザウイルスなど、動物インフルエンザウイルスのヒトへの感染例が頻繁に報告されており、これらウイルスの遺伝子変異や遺伝子再構成により、容易にヒトからヒトへ感染するようになった新型インフルエンザウイルスの出現が危惧されている。我が国においても、新型インフルエンザ発生時における早期検査体制の構築のため、平時の間に地方衛生研究所にてインフルエンザ核酸診断検査を正確に行える環境を構築しておく事が重要である。

本研究では、その診断検査態勢づくりの一環として、平成25年度に74カ所、平成26年度に72カ所、平成27年度に73カ所の地方衛生研究所を対象にしたリアルタイムRT-PCR法を用いたインフルエンザウイルスの核酸検出検査の検査精度向上を目的とする外部精度管理(EQA)評価を実施した。

B. 研究方法

平成25年度は全国74カ所の地方衛生研究所に対して、実施要項(添付資料1)、検査方法等に関するアンケート、結果記入ファイルの配布を行い、配布済みのH5およびH7亜型検出用陽性コントロールを利用したH5およびH7亜型定量的検査を実施するように依頼し、検査結果を集計して高病原性鳥インフルエンザ(A/H5N1)および鳥インフルエンザ(A/H7N9)診断検査の実施体制整備の確認と各診断検査の検査精度向上のためのEQA評価を行った。

平成26年度は全国74カ所の地方衛生研究所に対して、2014年7月1日に「EQA2014実施要項」(添付資料2)および参加確認を兼ねたアンケートを配布し、EQAへの参加を表明した72カ所の地方衛生研究所に対して、2014年7月28日～30日にパネル検体(RNA抽出が不要な6検体で常温輸送でも劣化する事がない抽出核酸の乾燥品)を送付し、H5およびH7亜型の鳥インフルエンザが流行している地域へ渡航歴がある患者検体が含まれるという前提で、地方衛生研究所で行っている診断方法により、リアルタイムRT-PCR法によるA型インフルエンザウイルスの亜型診断検査を行うように依頼するEQAを実施した。また、「パネル検体受領書」、「パネル検体の保存 溶解方法」、「結果記入ファイル」、「結果報告時アンケート」も同時に配布した。各地方衛生研究所での検査結果は結果記入ファイルに記入して送付してもらい、それと引き替えに「パネル検体の内容(正解)」を送付した。同時に送付してもらった、結果報告時アンケートとともに結果集計と解析を行い、高病原性鳥インフルエンザ(A/H5N1)および鳥インフルエンザ(A/H7N9)診断検査の実施体制整備の確認と各診断検査の検査精度向上のためのEQA評価を行った。

平成27年度は全国74カ所の地方衛生研

究所に対して、2015年7月27日に「EQA2015実施要項」(添付資料3)および参加登録票を配布し、本EQAへの参加を表明した73カ所の地方衛生研究所に対して、2014年8月24日～28日にかけて、パネル検体(RNA抽出が不要な1検体とRNA抽出が必要な5検体で常温輸送でも劣化する事がない抽出核酸の乾燥品)を送付して、H5およびH7亜型の鳥インフルエンザが流行している地域へ渡航歴がある患者検体が含まれるという前提で、地方衛生研究所の方法に従って、リアルタイムRT-PCR法によるA型インフルエンザウイルスの亜型診断検査を行うように依頼した。また、「パネル検体受領書」、「パネル検体の保存 溶解方法」、「結果記入ファイル(検査試薬等に関するアンケート調査付き)」も同時に配布した。

各地方衛生研究所での検査結果は結果記入ファイルに記入して送付してもらい、それと引き替えに「パネル検体の内容(正解)」を送付した。同時に送付してもらった、結果報告時アンケートとともに結果集計と解析を行い、季節性のA型インフルエンザおよび高病原性鳥インフルエンザ(A/H5N1)、鳥インフルエンザ(A/H7N9)診断検査の検査精度向上のためのEQA評価を行った。

C. 研究結果

平成25年度は全国74カ所の地方衛生研究所で行った試験結果および感染研で行った試験結果を集計し、各地方衛生研究所の検査結果について詳細な解析を行い、「結果の解釈について(添付書類4)」、「アンケートおよび結果記入ファイルからの集計(添付書類5)」および各地方衛生研究所向けの「解析結果」をそれぞれ送付した。また、問題が推定された場合は、トラブルシューティングのための参考として、解析結果にコメントを記入し、個別にフィードバック

を行った。

平成26年度は全国72カ所の地方衛生研究所で行った検査結果およびアンケートを集計し、「第2回全国地衛研外部精度管理EQA2014実施結果について」(添付資料6)、「定量的リアルタイムRT-PCRと精度管理について」(添付資料7)、「パネル検体の結果」シートの見方、「EQAの結果および結果報告時アンケートの集計」(添付資料8)を本EQA評価に参加した全国72カ所の地方衛生研究所に送付した。また、各所へは解析結果およびトラブルシューティング等のアドバイスを個別に記入した「結果ファイル(地衛研名)」を各地方衛生研究所の検査結果については詳細な解析を行い、各地方衛生研究所向けに「解析結果」作成して送付した。また、結果解析において検出系等に問題がある事が推定された場合には、トラブルシューティングへの参考として、結果ファイルにコメントを記入して、個別にフィードバックを行った。

平成27年度は全国73カ所の地方衛生研究所で行った検査結果およびアンケートを集計し、「1.第3回全国地衛研外部精度管理(EQA2015)実施結果について」(添付資料9)、「2.精度管理と問題時のトラブルシューティングについて」(添付資料10)、「3.トラブルシューティング時のフローチャート」(添付資料11)、「5.EQA2015の結果およびアンケートの集計」(添付資料12)を本EQA評価に参加した全国73カ所の地方衛生研究所に送付した。また、各所へは解析結果およびトラブルシューティング等のアドバイスを個別に記入した「4.解析結果2015_(地衛研名)」(添付資料13)を送付した。

D. 考察

これまでに国立感染症研究所が示している「高病原性鳥インフルエンザ診断マニユ

アル」および「鳥インフルエンザ A(H7N9) ウイルス検出マニュアル」に記載の Type A(M 遺伝子)、H5 および H7 検出用のプライマー配列およびプローブ配列、試薬、反応条件は、感染研の環境で一定の検出感度・特異性を担保しているが、各地方衛生研究所が使用している検出装置や試薬類は同一ではなく、検出装置のメンテナンス状況や試薬類の保管状況あるいは検査手技や検査手順の違いなどにより環境が大きく異なるため、検査結果も異なる可能性がある。そのため、各施設で行う検査結果の正確性、安定性評価などについては精度管理を行って、確認する事が重要であった。

リアルタイム RT-PCR 法を用いた H5 および H7 検出検査は、検出装置、プライマー・プローブ、試薬、陽性コントロール、検査手技や検査手順に問題があると、正確な検査が行えなくなる可能性がある。

平成 25 年度の EQA では、全国に配布した H5 および H7 検出用陽性コントロールを共通の標準品として、Type A 検出、H5 および H7 検出の定量的リアルタイム RT-PCR の検査結果を評価する事で、これらの検出系において精度の高い検査が行えているか、行えていないとすればどこに問題があるか、その原因を特定(特定できない場合は推定)することを目的に検査結果の解析を行った。この EQA ではこれらの陽性コントロールに問題がない事を前提にして評価を行うため、保管中の陽性コントロールに何らかの問題があった場合(指定濃度に調製されずに保管されている場合、ピペッターの不備など何らかの原因で指定濃度になっていなかった場合、凍結融解の繰り返しによる劣化あるいは冷凍庫の不調など保管状況が適正でなく劣化した場合など)あるいは EQA 実施時に陽性コントロールの希釈や試薬調製の量が正確でなかった場合(希釈時に均一

に混ざっていなかった場合やピペッター分取量が不正確だった場合など)は、正確な評価を行う事が難しい。一方で、明らかに保管していた陽性コントロールあるいはプライマー・プローブに問題があった場合は、感染研で保管された陽性コントロールを新たに配布する、新しいプライマー・プローブを配布するなどしてトラブルシューティングを行ってもらい、問題の解決に繋がったケースも多く、本 EQA はリアルタイム RT-PCR 法を用いた H5 および H7 検出検査の精度管理に有用であったと考えられた。

平成 26 年度の EQA では、ほぼ全ての地方衛生研究所が全てのパネル検体に対して、正確に亜型の同定が行えていた(添付資料 8 ページ 1 表を参照)。この EQA では配布パネルの RNA 量がどの施設でも同じ濃度になるため、Ct 値を指標にすると、間接的に検査精度の比較を行う事が可能である。この Ct 値の比較により、恐らく配布済みの H5 および H7 検出用陽性コントロールの劣化や A 型・H1pdm09、H3、H5、H7 亜型検出用のプライマーもしくはプローブが劣化したことにより、一部の地方衛生研究所では検出精度が悪くなっている事も判明した。ただし、今回の EQA 評価では、最も RNA 濃度の薄いパネル検体で 20 コピー/ μL であり、5 μL をテンプレートに用いた場合、リアルタイム RT-PCR の検出限界と考えられている 5 コピー/反応よりも 10 倍濃い濃度となるが、この濃度であれば、ほぼ全ての施設で検出可能な濃度であった。なお、この濃度のパネル検体 E(H5N1)について、1つの施設が不正解となっているが、H5 が検出できなかったのではなく、解釈の違いにより、他の亜型も検出したとの報告だったため、不正解となったが、H5 と H7 亜型の検出に関していうと、この濃度であれば全ての地方衛生研究所が検出可能というこ

とになり、昨年度の EQA 評価に比べると、全体的に検査精度が向上したのは明らかである。

平成 27 年度の EQA では、ほぼ全ての地方衛生研究所がほぼ全てのパネル検体に対して、正確に亜型の同定が行えていた(添付資料 12 ページ 1 表を参照)。この EQA では配布パネルのうち RNA 抽出が不要な 1 検体は、RNA 量がどの施設でも同じ濃度になるため、Ct 値を指標にすると、間接的に検査精度の比較を行う事が可能となる。また、RNA 抽出が必要な 5 検体については、RNA 抽出が不要な 1 検体の Ct 値と比較することで、RNA 抽出の効率について比較することが可能となる。これら Ct 値の比較により、既に配布済みの H5 および H7 検出用陽性コントロールの劣化や A 型・H1pdm09、H3、H5、H7 亜型検出用のプライマーもしくはプローブの劣化、あるいは測定機器の整備が十分ではなく、検出精度が良くないところがあることも判明した。ただし、今回の EQA 評価では、最も RNA 濃度の薄いパネル検体 C(H3 亜型)で 8 コピー/ μL である。5 μL をテンプレートに用いた場合、リアルタイム RT-PCR の検出限界と考えられている 5 コピー/反応よりも 8 倍濃い濃度であるため、RNA 抽出方法や検出方法に問題がなければ十分に検出が可能な濃度であるはずである。しかし最も RNA 濃度が低い、この検体 C に関しては正答数が 69/73(95%)となった。RNA 抽出効率の違いにより検出感度が悪くなってしまった事も考えられるため、特に検体 C が検出できない所では、トラブルシューティングにより精度感度を向上させる事が必要である。RNA 抽出にやや問題がある所もあったが、H5 と H7 亜型に関しても、ほぼ全ての地方衛生研究所で検出が可能であり、平成 26 年度の EQA 評価に比べると、検査精度が向上した事は明らか

である。

E. 結論

平成 25 年度は、陽性コントロールに何らかの問題があり、①精度管理がうまく行えないケース、②ピペッターに問題がある場合あるいは手技が安定しないケース、③陽性コントロールの希釈あるいは反応試薬の分取を正確にできなかったケース、④凍結融解の繰り返しによりプライマー・プローブ等試薬に何らかの問題があったケース、⑤リアルタイム PCR 機器のメンテナンス不備により機器の測定が正確ではなかったケース、など原因は様々であり、精度の高い検査が行えない可能性がある地方衛生研究所もいくつかあったが、本 EQA によりトラブルシューティングを行い、問題点を改善することにより、検査精度の向上を図った地方衛生研究所もあり、本 EQA の効果が確認された

平成 26 年度は、アンケート結果により、検査手順を改善した方が良い施設がいくつかあったものの、前年度に比較すると正しい手順で検査を行っている施設が明らかに増加していた。これは、前年度行った EQA 評価で、問題が推定できた場合はトラブルシューティングを行うようにアドバイスをしており、問題点が改善された結果であると考えられる。

平成 27 年度は、H5 と H7 亜型の検出に関していえば、ほぼ全ての地方衛生研究所で検出できており、RNA 抽出にやや問題があった所もあるが、前年度の EQA 評価に比べると、検査精度が向上した事は明らかである。新型インフルエンザウイルスが出現した直後は、まだ検査系が構築されていない可能性が高く、除外診断(例えば Type A 陽性、H1pdm 陰性、H3 陰性の場合、新型インフルエンザが疑われる)が検査の中心になる可能性があり、H5、H7 亜型の同定も大事で

はあるが、日頃ウイルスサーベイランスで行っている季節性インフルエンザウイルスを含む亜型同定検査が正確に行えることが特に重要と考えられ、継続的なEQAを実施する事が精度管理においては有用である。

また、日頃の検査において検査精度が維持されていないければ、新型インフルエンザが発生した際にも、精度の高い検査が行えず陽性例の見逃しや偽陽性例など誤った結果を出す可能性が非常に高くなるため、新型インフルエンザ発生時の感染拡大防止を行うための初動対応を確実にし、各地方衛生研究所において精度の高い検査体制を常に維持するためにも、今後もEQA評価の実施は重要であると考えられる。

平成27年度は、地方衛生研究所自らがトラブルシューティングを行えるように、トラブルシューティングを実施するためのフローチャート(添付資料11)および精度管理と問題時のトラブルシューティング(添付書類10)を作成している。これらが地方衛生研究所において、今後、検査の精度管理に役立つことを願う。

3. その他
該当なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

国内会議

なし

国外会議

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

(添付資料 1)

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)

第 1 回全国地衛研外部精度管理(EQA)実施要項

EQA の実施について：

平成 25 年 6 月 7 日に「新型インフルエンザ等対策政府行動計画」が政府より示され、新型インフルエンザ等が発生した際は、地方衛生研究所を設置する地方公共団体で PCR 検査等を実施する事が定められました。有事の際にも正しい検査結果を得るためには、日頃から検査の精度を管理・維持する事が重要と考えられます。

平成 23、24 年度には、本 EQA に先駆けて 11 か所のコアおよびサポート地方衛生研究所を対象とし、「リアルタイム RT-PCR 法を用いたインフルエンザウイルスの核酸検出検査」について EQA を実施しました(厚生労働科学研究費補助金「地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究」主任研究者 小田切孝人)。この EQA で問題点が明らかになったケースでは、トラブルシューティングを行って問題点を改善する事により検査精度の向上を図る事ができました。

WHO でも各国・地域の National Influenza Center (NIC)に対して EQA を行っていますが(参考資料；<http://www.who.int/entity/wer/2013/wer8804.pdf>)、各 NIC により検出方法が異なっているため、型・亜型同定の同定精度および検出感度の把握を主眼とする EQA のみが実施されています(未知の検体 10 サンプルについて型・亜型の同定を行う)。しかしこの EQA では、型・亜型検出結果の正誤を確認するだけで、問題があった場合の詳しい原因究明までは行われないため、トラブルシューティングを行って検査精度の向上を図る事は難しいと考えられます。

一方、国立感染症研究所が示した H5 および H7 亜型検査診断マニュアルに記載のプライマー配列およびプローブ配列、試薬、反応条件は、国立感染症研究所にて一定の検出感度・特異性については担保しています。全国に配布した共通の陽性コントロールに対して定量的検査を伴う EQA を実施する事により、診断系に問題があった際は、検出装置、試薬(プライマー・プローブを含む)、手技等のどこに問題があるのか、原因追究が比較的容易に行えると考えています。

本 EQA では、定量的検査を伴った H5 および H7 亜型検査診断検査を実施していただき、高病原性鳥インフルエンザ(A/H5N1)および鳥インフルエンザ(A/H7N9)診断検査の実施体制整備の確認と各診断検査の検査精度の向上が目的となります。「3_結果記入ファイル(Excel ファイル)」内の「試薬調製手順記入欄」および「5_アンケート(Excel ファイル)」は、EQA で問題が生じた際に、原因究明を行うための参考に利用します。回答については、一部保留していただいても差し支えありませんが、EQA の結果に問題が生じた際は、あらためて未記入カ所へのご回答をお願いする場合や、新たに質問させていただく場合があります。回答欄は大半が選択式となっておりますので、できるだけ全ての項目にご回答にいただきますようお願いいたします。また、それぞれのファイルへの「入力例」を作成しました。各ファイルへの入力の前「入力例」をご一読くださいますようお願いいたします。

本 EQA は平成 25 年度 厚生労働科学研究費補助金「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」(主任研究者 小田切孝人)により行います。

(添付資料 1)

EQA の実施要項：

1. 実施スケジュール

- ・測定期間： 実施要項到着日～平成 25 年 10 月 31 日
- ・結果報告およびアンケートの締切：平成 25 年 10 月 31 日
- ・集計報告： 平成 25 年 12 月頃より順次

2. 配布書類：

- ・1_実施要項(本紙)(Word ファイル)
- ・2_鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検出マニュアル(第 2 版)(PDF ファイル)
- ・3_結果記入ファイル(Excel ファイル)：「入力例」は同ファイル内の別シートに記載
- ・4_アンケート入力例(PDF ファイル)
- ・5_アンケート(Excel ファイル)

3. パネル検体

EQA で使用するパネルは以下に示す通りです。

- ① TypeA/H7 (マーカー入) 陽性コントロール RNA : (以降 H7PC と記します)
平成 25 年 7 月に感染研より配布済み
- ② TypeA/H5 (マーカー入) 陽性コントロール RNA : (以降 H5PC と記します)
平成 24 年 9 月、感染研より高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)同定技術研究会にて配布済み
- ③ 各所で使用している陰性対象 (滅菌蒸留水等)

4. 測定方法

1) 各所で保管してある H7PC および H5PC を、配布済みの各ウイルス検出マニュアル内の「陽性コントロールの管理・使用について」に従って、それぞれ 10^{-1} ～ 10^{-4} 希釈までの 10 倍段階希釈液を作製して下さい。

2) 作製した 10 倍段階希釈液および陰性対象(各所でお使いのもの)について、H7PC に対しては TypeA と H7、H5PC に対しては Type A と H5 のリアルタイム RT-PCR 法にて、各サンプルの Ct (Cp) の測定を行って下さい。

*本実施要項と同時に、6 月 21 日に配布した「2_鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検出マニュアル(第 2 版)」を再配布いたします。H5 ウイルス検出法については、感染研ホームページに掲載されている「高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアル(第 3 版)」を参照下さい(http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/avian_influenza_2003.pdf)。

5. 結果入力

1) 「3_結果記入ファイル(Excel ファイル)」の「結果記入欄_入力例」シートおよび「試薬調製手順記入欄_入力例」をご一読下さい。

2) 測定した Ct (Cp) 値は小数第 1 位まで算出し、「3_結果記入ファイル(Excel ファイル)」の「結果記入欄」シートへ、Ct (Cp) 値および検査時のレイアウト (各希釈系列・陰性対象の位置とプライマー・プローブの型・亜型を入力)を、「結果記入欄_入力例」シートを参考

(添付資料 1)

にして入力して下さい。

3) 検査を行った際の試薬調製手順(反応試薬の調製、陽性コントロールの希釈等)の詳細を、「3_結果記入ファイル(Excel ファイル)」の「試薬調製手順記入欄」シートへ、「試薬調製手順記入欄_入力例」を参考にして入力して下さい。

4) 入力後の「3_結果記入ファイル(Excel ファイル)」のファイル名を「結果入力 2013_地衛研名」に変更して下さい

(備考) 機器を複数台所有している場合、全ての機器を対象にする必要は必ずしもありませんが、複数台で同時に検査を行う場合でかつ希釈した陽性コントロールが同じ場合は、「結果記入欄」シートの特記事項にその旨を明記したうえで、「結果記入欄」シートおよび「試薬調製手順記入欄」シートをコピーして、それぞれの結果および試薬調製手順を入力して下さい。また、2回以上の検査を行いつつ希釈した陽性コントロールの作製日時が異なる場合は、「3_結果記入ファイル(Excel ファイル)」をコピーして陽性コントロールの作製日時ごとに結果および試薬調製手順をそれぞれ別の「3_結果記入ファイル(Excel ファイル)」に記入して下さい。この場合、ファイル名を変更する際に、通し番号を付けて下さい。(例：「結果入力 2013_国立感染症研究所 1」「結果入力 2013_国立感染症研究所 2」)

6. アンケートへの回答

各地衛研で行っている検査方法や使用しているキット等、陽性コントロールの希釈に使用した試薬および器具について「5_アンケート(Excel ファイル)」がありますので添付の「4_アンケート入力例(PDF ファイル)」をご一読の後、入力例を参考にして「アンケート入力欄」シートへご回答下さい。

アンケート入力後の「5_アンケート(Excel ファイル)」のファイル名は「アンケート 2013_地衛研名」に変更して下さい。(例：「アンケート 2013_国立感染症研究所」)。

7. 上記 5、6 で作成したファイルを電子メールに添付して、下記へお送り下さい。

なお、電子メールの「件名」には「EQA2013 結果_地衛研名」をご記入下さい。

E-mail : eqa_influenza@nih.go.jp

ご質問等は下記へお問い合わせ下さい。

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 第2室

E-mail : eqa_influenza@nih.go.jp

電話 : 042-561-0771 (代表)

(042-848-7166 直通)

担当 : 影山/高山/中内