

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)

総括研究報告書

国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究

研究代表者:宮崎義継	(国立感染症研究所真菌部)
研究分担者:調 恒明	(山口県環境保健センター)
大西 真	(国立感染症研究所細菌第一部)
野崎 智義	(国立感染症研究所寄生動物部)
田島 茂	(国立感染症研究所ウイルス一部)
安藤 秀二	(国立感染症研究所ウイルス一部)
吉田 弘	(国立感染症研究所ウイルス二部)
駒瀬 勝啓	(国立感染症研究所ウイルス三部)
蒲地 一成	(国立感染症研究所細菌第二部)
御手洗 聡	(結核予防会結核研究所)
森川 茂	(国立感染症研究所獣医科学部)
松岡 佐織	(国立感染症研究所エイズ研究センター)
藤本 嗣人	(国立感染症研究所疫学センター)
鈴木里和	(国立感染症研究所 細菌第二部)

研究要旨 国立感染症研究所と全国の地方衛生研究所は病原体検査に関して、各種の病原体情報を共同で発信しているが、両者は行政上、所属の違う組織であり連携の明確な法的根拠は無く、共同作業の障壁になっている。危機的感染症発症の迅速な察知、正確な疫学情報の把握を目的として、検査方法の標準化、および疫学調査を通じて感染研と地衛研の連携体制を構築する研究を実施した。

A. 研究目的

薬剤耐性菌、新型インフルエンザ等の感染症アウトブレイク、ジカ熱・デング熱等の新興感染症など国民生活に脅威となる感染症のリスクは常に存在し、時に現実となっている。

これら危機的感染症の発生に対する初動スキームは、①まず病原体を特定する、②判明した病原体のサーベイランスにより感染拡大状況を把握することである。しかし、現行では国全体として統一的に初動スキームを可能とする法的に整備されたシステムが存在しない。

そこで、危機発生時に直ちに病原体診断を全国規模で実施可能とするラボネットワークを構築・維持することは危機管理上必須である。平成28年4月の感染症法改正に際し、地方衛生研究所における病原体検査が義務化され、より一層の検査機能の維持・強化が求められる。

本研究班では、相互に補完協力することを前提として、危機的感染症の発生に際して上記初動を可能とする、感染研と各地方自治体の検査室(地方衛生研究所等)がウイルス・細菌・真菌・寄生虫などあらゆる病原体を想定し危機的感染症に備える研究を実施

する。研究の性格上、公衆衛生学的に重要性が高まった感染症の病原体を優先して対象としていく。

具体的には、以下のような共同作業を通じてラボネットワーク機能を強化し、危機的感染症発生に際して、全国で病原体検査が実施可能な体制を構築・維持する。①公衆衛生上問題となりうる病原体に関する診断・検査法の研究、②診断・検査法共有のための相互研修やマニュアル作成、③病原体診断用機器や試薬等の整備、④診断・検査法の精度管理、など。

病原診断により感染症の診断はなされるため、正確な病原診断を実施できることが感染症サーベイランスの基本となる。本研究の成果は、全国の行政機関における病原診断能力の向上と維持につながり、わが国における精度の高い感染症発生动向調査結果として報告され、施策に直接反映される。

また、インフルエンザ等のパンデミックにおいて流行状況を把握する必要があるが生じた場合、緊急に検査法を構築し共有する必要があるが、本研究成果の活用により、全国での病原体検査実施が迅速、且つ、円滑に行われ、また流行状況の正確な把握が可能になり、パンデミック対策に資する。

## B. 研究方法

研究は研究代表者(宮崎)、研究分担者 13 名の計 14 名によって行われた。研究においては各人の担当分野を研究代表者が総括する形で遂行された。研究は、1)各病原体レファレンスセンター活動、2)病原体・細菌毒素などの診断法・疫学解析法の確立を中心に行った。具体的には、以下の方法で研究を遂行した。

### 1)各病原体レファレンスセンター活動

■レファレンスセンター活動の内容:レファレ

ンスセンター世話人と衛生微生物協議会レファレンス委員の間で、センター活動の必要性について議論した。

■地方衛生研究所検査室の機能・病原体マニュアル編集:地方衛生研究所に配布された検査試薬リストを作成した。地方衛生研究所における CRE 検査項目を検討した。

■大腸菌・レジオネラ・レンサ球菌:大腸菌血清型別・遺伝子型別、レジオネラ SBT 法による遺伝子型別・血清群別、溶血性レンサ球菌の T 型別および M 型別を行った。

■寄生虫:マラリアに関しては、厚生労働省検疫所業務管理室が実施する感染症検査技術研修会に参加した検疫所職員を対象に、検査診断法に関する技術研修と情報提供に努めた。ヒトのエキノコックス症に関して検査依頼数は 56 例あり、ウエスタンブロットによる免疫学的検査および遺伝子検査を行った。旋毛虫症の 2016 年 12 月の集団発生事例について、患者が喫食した熊肉の旋毛虫の汚染濃度を調べた。

■リケッチア:紅斑熱群リケッチアとつつが虫病リケッチアを標的としたマルチプレックス・リアルタイム PCR について地方衛生研究所の協力の下、臨床検体への適用性について検討した。レファレンスセンター会議等を通じ、各所の問題点並びに情報交換を行った。

■エンテロウイルス:エンテロウイルス抗血清、分離用細胞の配布を周知した。ポリオウイルス検査および環境水サーベイランスの技術研修を行った。エンテロウイルス同定検査に用いる外部/内部精度管理試料の送付・保管条件を検討した。

■麻疹・風疹:地衛研における 2016 年における麻疹遺伝子検査の実施状況を調査した。麻疹アウトブレイク時の検査体制維持のために、準備状況に関するアンケートを実施し、

プライマー、標準品等を配布した。民間検査センターにおける麻疹 IgM 抗体検査状況を調査した。主要民間検査センターに PT 用パネル血清を配布し、測定結果を評価した。

■結核:外部精度評価への参加施設を募集し、参加施設への検体送付および検査成績のまとめを行った。

■動物由来感染症:野兎病の血清学的検査および遺伝子検査を行うための検体を参加希望地衛研に送付し、EQA を実施した。

■HIV 関連感染症:公的検査機関における HIV 診断体制の現状、課題を把握するため地方衛生研究所、中核市保健所等に対し、アンケート調査を行った。エイズ発生動向調査報告数を基に都道府県別に比較解析を行い、広く結果を公表した。また技術提携など要望があった研究機関については内容に応じて個別に協議、連携を進めた。

■アデノウイルス:2017年3月現在、感染症発生動向調査のウイルス検出報告で EKC からアデノウイルスが検出された 803 件について、種および型を解析した。流行性角結膜炎 咽頭結膜熱 検査診断マニュアルの改訂を行った。論文と学会発表等により EKC に関する啓発活動を行った。全国の地方衛生研究所との連携により病原体の検出・同定を実施した。

■薬剤耐性菌:アンケート調査により薬剤耐性菌検査の実施状況および今後必要な研修内容を検討した。平成 28 年 9 月に実施した薬剤耐性菌研修の参加者にアンケート調査を実施し、要望の高い研修内容を明らかにした。これまでの薬剤耐性菌研修の参加者および研修資料の希望施設を整理し、薬剤耐性菌研修および検査の普及状況を明らかにした。

2)病原体の診断法・疫学解析法の確立および評価

■アルボウイルス:ジカウイルス病の遺伝子検査法および抗体検査法を確立した

■リケッチア:発疹チフス群リケッチア用の Probe について検討を行った。

■百日咳:*ptxP* 遺伝子および百日咳菌ゲノム DNA を調製し、Loopamp 百日咳菌検出キット D の感度を評価した。

■アデノウイルス:現在、アデノウイルスに関して新型の報告が続いている。19a 型とされていた型が 64 型とされたことに伴う地方衛生研究所での検査結果の解釈に関する混乱も見られ、その解決に向け、取り組んだ。

### C. 研究結果

■レファレンスセンター活動の内容:希少疾患あるいは国内の患者発生が近年みられないジフテリア・ボツリヌス レファレンスセンター活動を一時休止し、感染研で検査能力を維持する体制を構築することとした。病原体検出マニュアルのアップデートを継続した。

■地方衛生研究所検査室の機能・病原体マニュアル編集:地方衛生研究所に配布された検査試薬リストを作成した。このリストを利用し、試薬を順次更新させ、地方衛生研究所の検査の精度向上に貢献することが期待される。CRE の検査を地方衛生研究所で統一した方法で実施するために、検査項目について検討した。厚生労働省からの CRE 検査の実施に関する通知を作成するための資料となる。

■大腸菌・レジオネラ・レンサ球菌

1.1 EHEC のサーベイランス:2016 年に細菌第一部で受け付けたヒト由来の EHEC は全 2676 株であった。

1.2 コントロール株を配布し、問合せを受け付けた。

1.3 新規下痢原性腸内細菌 *Escherichia albertii* についてコントロール株および検出

用 PCR 系を設定し、必要に応じて株を分与することが可能になった。

1.4 下痢原性大腸菌 EQA の実施：菌株（2016 年用）10 株を用い精度管理を実施したところ、すべての菌株において血清型および病原性遺伝子型の解析結果が感染研と大阪府で完全に一致した。

1.5 EHEC 検査・診断マニュアルを改訂し、感染研ホームページ上にアップロードした。

2.1 レジオネラ・レファレンスセンターにおける臨床分離株の収集状況：今年度 53 株が追加された。2016 年 3 月末現在で、合計 436 株のレジオネラ属菌臨床分離株が収集できた。

2.2 レジオネラ菌外部精度サーベイを実施し、71 地衛研が参加した。

3.1 咽頭炎患者分離株の T 型別：2015 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌 1013 株で実施した。

3.2 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の T 型別：2015 年、A 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告が 110 症例あった。最も多く分離された型は T1 型で全体の 38.7%であった。

3.3 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の *emm* 型別、M 型別：STSS の確定診断例 110 例中、*emm1* 型が 41 例(37.3%)で最も多かった。

#### ■ 寄生虫

1. マラリア：厚生労働省検疫所業務管理室が実施する感染症検査技術研修会では、全国 13 検疫所本所及び支所から、検疫所職員が合計 16 名参加した。

2. エキノコックス症：ヒトの疑診例 6 例中 1 例が抗体検査陽性で、単包性エキノコックス症と診断され、輸入例と考えられた。

3. 旋毛虫症：今回の集団事例で患者が喫食した熊肉 1g あたりの幼虫数は平均 84 で

あった。

#### ■ アルボウイルス

1. ジカウイルス病の遺伝子検査法の確立：ジカウイルスゲノム検出 TaqMan 用プライマー及びプローブを作製し、リアルタイム RT-PCR 検査法を確立した。

2. ジカウイルス病の抗体検査法の確立：間接蛍光抗体法による抗ジカウイルス IgG 検出法を検討した。

#### ■ リケッチア

1. マルチプレックス・リアルタイム PCR の地方衛生研究所での検討：従来法のコンベンショナル PCR, 日本紅斑熱を標的としたリアルタイム PCR, 血清診断等の結果と比較し、ほぼ同等以上の結果が得られた。

2. 発疹チフス群リケッチア用の Probe の検討：紅斑熱群リケッチアとつつが虫病のマルチプレックスの標的領域においては発疹チフス群の候補プローブはいずれも標準株の発疹チフス群リケッチアを検出できなかった。

3. レファレンスセンター担当者のスキルアップと情報交換：レファレンスセンター会議、研究会、研修会を通じ、全国とそれぞれの地域の発生状況情報の共有、他のダニ媒介性感染症との類症鑑別の問題点等の情報交換を行った。臨床現場と直結する衛研のリケッチア検査対応の情報更新の準備を行った。

#### ■ エンテロウイルス：

1. エンテロウイルス検査用標準品の配布：抗血清は3カ所に延べ15種類の抗血清を配布、細胞は延べ8か所に配布した。

2. 技術研修を通じた信頼性確保について：ポリオウイルス検査技術研修では、同定結果は参加した 23 名全員正答であり、試験の信頼性は担保されていた。ただし、2名は試料調製時の力価測定結果の許容範囲外と

なった。環境水サーベイランスの技術研修では、採水の現場視察、濃縮、分離法の技術研修及び討議を行い、採水から結果判定までの全工程における問題点、注意点など、参加者間で討議を行った。

3.内部/外部精度管理試料の送付・保管条件検討:RNA 試料送付・保管用に FTA と FTAelute カードを用いた比較を行った結果、操作の面で、FTAelute カードの方が容易でありかつ操作時間が短く汎用性がある知見が得られた。

#### ■麻疹・風疹

1.地衛研における麻疹の遺伝子検査の状況:2016年に麻疹の検査診断を行った地衛研は72カ所、検査された症例数は1865症例であった。リアルタイムPCR法を検査に使用した地衛研は61カ所であった。1592症例の診断にはリアルタイムPCR法が使用されていた。

2.麻疹アウトブレイク時の検査体制維持の検討:2016年8月には関西国際空港で感染した者を発端に、感染者50名以上になる麻疹のアウトブレイクが発生した。緊急に各地衛研のストック状況を調査した。24カ所からリアルタイムPCR用のプライマー、標準品の配布の依頼があり、感染研に保存してあったプライマー、標準品等を地衛研に配布した。

3.民間検査センターによるIgM抗体検査の状況:大手民間検査センターから麻疹IgM抗体検査を実施数、陽性数に関する情報を収集した。麻疹IgM抗体検査の陽性率は約1.1%であった。

4.民間検査センターへの麻疹、風疹IgM抗体測定習熟度検査(PT)の試み:麻疹、風疹IgM陽性抗体各4種類、陰性血清2種類を含む10本の血清からなるパネル血清を作製し、民間検査センターに配布、各社の通常

の方法による測定を依頼し、検査結果を回収した。すべての民間検査センターの結果は感染研の定めた適合条件に合致した。

#### ■百日咳

1. *ptxP* 遺伝子を用いた感度評価:PCRにより増幅した3種類の*ptxP* 遺伝子(*ptxP1*, *ptxP3*, *ptxP8*)は、すべて $10^2$ から $10^5$ コピーで増幅が認められた。*ptxP3*に対する検出感度は*ptxP1*と*ptxP8*よりも約100倍高いことが示された。

2. ゲノムDNAを用いた感度評価:*ptxP3*株に対する高い検出感度が確認された。

#### ■結核

1. 内部精度管理用検体の提供と外部精度評価の実施:全国の79施設を対象に、内部精度管理用検体の配布及び外部精度評価参加についての希望を電子メールにて調査した。56施設より外部精度評価の参加希望があり、2017年3月1日までに55施設から分析結果が送付された。

2. VNTR分析に利用しているローカセット:各施設の分析対象ローカセットを調査し、JATA(15)、HV、Supplyらのローサイが、それぞれ41、33、19であり2014、2015年度と比べて増加傾向であった。

3. 外部精度管理の正答施設数:各施設で3株の外部精度評価用検体をJATA(12)で分析した場合、全株12ローサイ完全正答したのは48施設(87%)であった。各分析法におけるローカセットの正答率、各ローカセットの正答率を評価した。

4.PCR産物のサイズ測定方法:2015年同様にアガロースゲル電気泳動による分析を行っている施設が最も多かった(66%)。

■動物由来感染症:24地衛研において野兎病の血清学的検査のEQAを行い、疑似検体3種類の凝集力価を集計した。報告されたSOPを確認したところ、不鮮明さにより、

凝集の有無の判定の正確性が確認できない写真がいくつか確認された。遺伝子検査のEQAについては、16S rRNAを標的としたPCRの感度は1pg-1fg/μl以上で、*fopA*では10pg-10fg/μl以上であった。多くの機関がSOPに遺伝子増幅の有無を記載するのみであり、PCRの結果から想定される各疑似検体に含まれる菌種について記述していた機関は少なかった。

■HIV関連感染症:早期診断に有用な抗原抗体同時検出スクリーニング診断薬、または遺伝子検査を導入している機関は全体の2割以下であり、早期診断の体制が十分に整備されていないことが示唆された。HIV報告数の解析から、日本国内のHIV感染者は3大都市圏からの報告が多いものの、2014年以降の人口10万人当たりの発生数は九州・四国地方の自治体が上位に入ること、該当の県では新規報告数に占めるAIDS発症者の割合が高いことを報告した。各自治体で独自の調査研究について相談があった研究機関に対し倫理面を含め研究体制の整備に協力した。

#### ■アデノウイルス

1. EKCの起因病原体:D種(58%)、B種:3型(18%)、E種:4型(11%)の順に検出が多かった。D種はEKCを引き起こすことで知られる全ての型が検出され、54型が24%を占め、37、56、8、19および53型の順に検出が多かった。

2. 検査マニュアルの改訂・啓発活動:2017年3月にマニュアルの改訂を行い国立感染症研究所のホームページにアップした。眼科医へのアデノウイルスによるEKCの流行に関する啓発も日本語論文や学会発表により行った。

3. 種および型の同定法:アデノウイルスの種別・同定法に関して論文化を進めた。完

成した段階で報告・マニュアルへの反映を進める。NESIDへの登録を近年に日本および周辺国で検出されている48、49、55、57および64型(以前の19a型)について出来るように改変した。レファレンスセンターとの連絡を密にとり意見を伺った。

#### ■薬剤耐性菌:

1. 薬剤耐性菌レファレンス事業・検査実施状況アンケート結果:80施設より回答を得られた。約6割が薬剤耐性菌検査を実施していた。6-7割の施設が、レファレンスセンターの活動内容として感染研での継続的な研修の開催、検出法マニュアルの整備、陽性コントロールの配布を希望していた。

2. 薬剤耐性菌研修参加者アンケート調査結果:従来の薬剤耐性菌研修の内容に加えて、次世代シーケンサーを用いたプラスミド解析研修を実施した。それぞれ、27名・30名が参加した。今後必要な研修内容として、より専門的な研修を求める意見があった一方で、より基本的な研修を求める声もあった。研修内容に比べ研修日数が短いとの意見が複数あげられた。

3. 薬剤耐性菌研修参加状況および研修資料と陽性コントロールの配布実績:平成25年度以降、60施設が少なくとも1名以上の担当者を薬剤耐性菌研修に派遣していた。平成27、28年度とも、研修資料と陽性コントロールを64施設に発送した。

#### D. 考察

■地方衛生研究所検査室の機能・病原体マニュアル編集:1. 作成した試薬リストを元に、検査試薬を更新していく必要がある。

2. CREの検査体制の確立のために、検査項目の検討は重要であると思われる。

■大腸菌・レジオネラ・レンサ球菌:今後の以下の項目を検討することが必要である。

### 1.EHEC 検査マニュアルの改訂

### 2.レジオネラ外部精度管理サーベイ

### 3.A 群レンサ球菌サーベイランス

■ 寄生虫:各検疫所におけるマラリアの検査方法に関しては、今年より導入を試みた「迅速診断キットのデモと研修者参加型のクイズ形式トレーニング」は、大変好評なフィードバックを得ており、今後、検査診断法に関する技術研修を定期的実施することで状況の改善を試みる。エキノコックス症については、日本人渡航者の一般化に加え、訪日外国人も増加していることから、多包性だけでなく、単包性エキノコックス症へ対応できる体制を整備する必要がある。旋毛虫症に関しては、我が国では熊肉を介した集団感染事例が発生しており、熊肉の喫食による旋毛虫食中毒の発生予防に関する啓発活動を全国レベルで至急に取り組む必要がある。このような食品寄生虫に関する地研とのラボネットワークの強化は、感染症・食中毒の枠を超えて、継続的に取り組むべき課題として重要であり、まずは情報交換と相互研修が何よりも重要となる。

■ アルボウイルス:2015 年から 2016 年に中南米で大きな流行を引き起こしたジカウイルスを検出する方法を確立した。デング熱に比べ、ジカウイルス病では患者血中のウイルス量は低く、検出が困難な場合が多い。ジカウイルス病を疑う場合は、必ず尿検体を依頼すべきである。なるべく多くの箇所から検体を採取できれば検査の確実性が増すであろう。抗体検査を行う場合、他のフラビウイルスとの交差反応が起こることを経験した。他のウイルスとの鑑別は非常に重要である。さらに中和試験まで行っても判別が困難な場合もある。判定困難な場合もあることを認識し検査する必要がある。

■ リケッチア:紅斑熱群リケッチアとつづが虫

病リケッチアのマルチプレックス・リアルタイム PCR は、従来法と比較して十分な結果がえられ、試薬の準備等の簡便さからも使いやすい系であることが示された。発疹チフス群リケッチアについては、当該領域でのプローブ設計はできなかったが、既存法を組み合わせることで必要な際には対応可能である。国内感染患者の多様性が広がっており、さらに、輸入リケッチア症への対応の必要性から、評価した系は迅速なスクリーニング系として期待できる。

リケッチア・レファレンスセンターとして、本年度のように診断系の評価や情報交換から、機能が全国の横糸として機能しており、その維持の仕方についてもさらに検討していく必要がある。

### ■ エンテロウイルス

1.検査用標準品の配布:エンテロウイルス検査用中和抗血清は支部内で配布を継続している。また細胞及び単味抗血清は感染研に直接依頼することとなっている。これらの活動は検査マニュアルに記載しているが、衛生微生物協議会等を通じて周知を続けていく必要がある。

2.技術研修を通じた信頼性確保について:感染研等のポリオウイルス保有施設において実技研修を実施、同時に技能試験を兼ねることが妥当であると思われる。同一試料を用いることにより研修参加者間で、観察結果等のばらつきを相互確認できる利点があると考えられた。環境水サーベイランスの技術研修において、採水に関しては、調査を行っている機関の協力を得て視察することが効果的と考えられる。濃縮処理の研修は、調査を実施している地衛研で行うことが望ましい。

3.外部/内部精度管理試料の送付、保管条件検討:RNA 陽性コントロールの保管条件の検討は、内部精度管理にも応用可能であ

りさらにデータを蓄積することで、エンテロウイルス検査の質の管理に用いることが期待される。

■麻疹・風疹:検査実施状況を把握するアンケート調査を実施した。麻疹症例のおよそ80%が地衛研でウイルス遺伝子検出による診断がされていた。およそ85%がリアルタイムPCRで行われており、リアルタイムPCR法の普及が進んでいると思われた。アウトブレイクに備えて、感染研、あるいはレファレンスセンター等に緊急用の試薬等を用意しておく事は、検査診断体制の機能を維持する上で重要であると思われた。

■百日咳:百日咳菌 LAMP キットは *ptxP1* 株以外に *ptxP3* 株と *ptxP8* 株に対しても高い検出感度を持つことが判明した。世界の百日咳流行株の主要な *ptxP* アレルは *ptxP1* と *ptxP3* であり、臨床分離株の99%以上を占めている。百日咳菌 LAMP キットが *ptxP1* 株のみならず *ptxP3* 株も高感度に検出したことから、本法は現在の百日咳流行株の検出に有用と判断された。ただし、臨床分離株の *ptxP* アレル変化に関しては継続的な調査が必要である。

■結核:2014 から 2016 年度の3回の外部精度評価により、本邦において VNTR 分析系が適切に導入されつつあることが確認された。結核分子疫学調査では、VNTR 情報を継続的に蓄積し、必要に応じて自治体間で情報共有する必要がある。そのためには VNTR 分析の精度保証は必須であり、今後も分析精度の維持と向上を支援する活動が必要と考えられる。

■動物由来感染症:回収した SOP と検査結果において、使用した試薬などのメーカー名、品番、開封日などに記入不備が多かった。今後、EQA 実施時には SOP への記入例や結果報告方法についての説明書を配

布する必要があるだろう。野兔病の血清診断は参加全機関で適正に実施可能と考えられた。PCR における感度が施設間で1,000倍異なった事は、使用酵素やサーマルサイクラーの性能、検査者の手技の相異などに起因する可能性がある。本 EQA において、PCR の結果から検体の菌種判定を記述した機関は少なかった。今後、病原体検出マニュアルや SOP の改変時には、明快な説明や、PCR の結果からの菌種判定の記入欄を追加するなどして改善すべきである。

■HIV 関連感染症:日本国内の HIV 感染拡大防止にむけ早期診断に関する継続的な情報提供、技術・体制整備への支援が重要であることが示唆された。現状を踏まえ、来年度以降の病原体検出マニュアルの改訂版に反映させる。

■アデノウイルス:アデノウイルス 54 型は日本でしか検出されていない新型アデノウイルスである。昨年の報告で2015年における全国流行を報告した。通常の流行は1年で収束することが多いが、2015年~2016年の2年間にわたり54型が流行し EKC の起因病原体であった。

19型は、標準株はEKCを引き起こさない。制限酵素切断解析により19a型とされてきた型がEKCを引き起こす。近年に19a型が全塩基配列の系統樹解析により64型とされた。そのため、NESIDで64型も64(19a)として報告できるように改変した。

■薬剤耐性菌:地衛研における薬剤耐性菌の検査体制は段階的に整備されつつあり、地域による大きな偏りもなくすでに約6割の施設が薬剤耐性菌の検査を実施していた。検査対象となった薬剤耐性菌は、年間約1500例が届け出られている CRE が最も多く、次いで100例弱の VRE であった。

平成28年度の研修内容については、参加



者の満足度は概して高かったが、今後は参加者の経験に応じた多様なコースの設定が必要と思われる。薬剤耐性菌の解析において次世代シーケンシング技術を用いた全ゲノム解析は今後ますますその重要性が高まると考えられる。今後も応用コースの研修内容をより充実し、最新の遺伝子解析技術を活用することで、薬剤耐性菌ラボネットワークの構築が進められると思われる。

#### E. 結論

■ 地方衛生研究所検査室の機能・病原体マニュアル編集：二類感染症等の新興再興感染症の検査が全国で統一された方法で実施されることは感染症危機管理において不可欠であり、そのために試薬の更新は必要である。本研究で作成された検査試薬リストは、そのために必要なものである。

CRE 患者から分離された菌株の全数について地方衛生研究所で検査を実施し、菌株の遺伝的共通性について解析し、共通の菌による感染の集積が見られた場合は、その情報を地域において共有し対策を講じることは AMR 対策において重要であり、本研究の検討は地方衛生研究所の検査体制の構築に貢献する。

■ 大腸菌・レジオネラ・レンサ球菌：病原細菌の病原体サーベイランスのための機能的なラボネットワークの強化には、病原体検出マニュアルの記載事項の整備、改訂等をすすめることが重要である。また、安定的なネットワーク形成には、各施設において実施可能な手法の共有と、技術的継承が必要である。本研究を通じて各担当者間でのコミュニケーションが維持されること、問題点、ニーズを抽出することが求められ、ラボネットワークの充実度を検証する必要がある。感染研が参加している EQA システムは有用である

と考えられ、更なる検討が必要である。

■ 寄生虫：マラリアの検査診断法に関する技術研修は、厚生労働省検疫所業務管理室が実施する感染症検査技術研修会などを利用して、定期的の実施することで、検疫所の職員に対し、検査診断法に関する技術研修と情報提供を実施する必要がある。エキノコックス症に関しては、地研および医療機関等から発生情報を積極的に収集する必要がある。このために、終宿主動物・イヌと歩哨動物・ブタの簡易な検査方法を開発・利用する必要がある。食品寄生虫(寄生虫食中毒)に関する地研とのラボネットワークの強化も、感染症・食中毒の枠を超えて、継続的に取り組むべき課題である。これには情報交換と相互研修がまず重要となる。

■ アルボウイルス：ジカウイルスゲノムを検出するリアルタイム RT-PCR 法を確立した。本法を用いて現在検査を行っている。また本法についてはすでに各地の衛生研究所等の検査機関に情報提供されている。今回新たに抗ジカウイルス IgG 検出のための IFA 法を確立した。

■ リケッチア：紅斑熱群リケッチアとつつが虫病リケッチアのマルチプレックス・リアルタイム PCR は、従来法と比較しても十分な結果がえられ、試薬の準備等の簡便さからも、国内のリケッチア症実驗室診断の迅速なスクリーニング系として期待できる。

一方、国内での多様性ととともに、地域特性の強いリケッチア症の対応においては、スキル維持が困難となっている衛研と情報共有のためにもレファレンスセンターの維持が必要である。

■ エンテロウイルス：1) 感染症発生動向調査、及び感染症流行予測調査事業のもと、エンテロウイルスのレファレンス活動として、① 必要な標準品の配布の継続、② 目的に

応じ柔軟な技術研修を企画/実施、③内部/外部精度管理の方法、検査の質管理用試料の供給体制、実施体制を確立、することが、ポリオウイルスを含むエンテロウイルス検査の質確保に必要であると考えられた。

2)ポリオウイルス検査体制を維持するためには、ポリオウイルスを保有する感染研等の施設で技能試験を兼ねた実習を行うことが効果的であると考えられた。

■麻疹・風疹:麻疹の診断のおよそ95%で、血清学的診断法、または病原体診断法のいずれか、あるいは両方の検査診断で行われている。今後もこ検査診断体制、検査診断精度を評価し、維持、改善していく事が求められる。

■百日咳:百日咳感染症の体外診断薬 Loopamp 百日咳菌検出試薬キットDは世界の流行株である *ptxP1* 株と *ptxP3* 株を高感度に検出し、百日咳菌の遺伝子検査法として有用である。

■結核:2016年度は、55施設を対象に VNTR 分析に関する外部精度評価を実施した。各施設で3株の外部精度評価用検体を JATA (12)で分析した場合、全株12ローサイ完全正答したのは46施設(87%, 48/55)であった。2016年度の完全正答施設の割合は、2015年度(93%, 49/53)と比べて低下しているものの、2014年度(67%, 36/54)からの改善傾向は認められた。VNTR 情報の蓄積と他施設との情報共有を推進するためには精度保証が重要であり、分析精度の維持と向上を支援する継続的な活動が必要と考えられた。

■動物由来感染症:参加24地方衛生研究所間で遺伝子検出において感度に差はあったものの、診断や菌種の判定に問題が生じる結果の相異はなかった。それぞれの機関で SOP を改善する必要があるが、野兎病

の血清学的診断・遺伝子検査は、必要試薬を配布することにより、殆どの地方衛生研究所で適正に実施できると考えられた。

■HIV 関連感染症:HIV 診断技術の維持・向上に向けた地方衛生研究所等とのネットワーク体制を構築した。

■アデノウイルス: 新型アデノウイルスによる EKC が続いており、新興感染症の様相を呈している。そのためのレファレンス活動をラボネットワークにより実施した。

■薬剤耐性菌: 地研における薬剤耐性菌の検査体制は着実に整備されつつあり、対応可能な施設がほぼすべての都道府県に少なくとも1施設は存在する状況になったと思われる。今後、行政的な枠組みの整備と研修を継続的に実施することで、全国で高水準の薬剤耐性菌検査が実施可能な体制が確立できると思われる。

#### F. 健康危険情報

■リケッチア:レファレンスセンターを中心に、各地の地方衛生研究所等からリケッチア症に関する情報発信を試みるも、本年度も死亡例が発生し、迅速な治療につながる情報発信の難しさが示された。

■結核:結核菌株の取扱については、感染症法の基準に適合した実験室内で実施した。

■アデノウイルス:新型アデノウイルス(53型以降の型)が新興感染症として眼科領域で流行していることを眼科医師に周知した。

#### G. 研究発表

各分担研究報告書を参照。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

各分担研究報告書を参照。