

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)
前川純子 (国立感染症研究所細菌第一部)
池辺 忠義 (国立感染症研究所細菌第一部)
永宗 喜三郎 (国立感染症研究所寄生動物部)
林 昌宏 (国立感染症研究所ウイルス第一部)
安藤 秀二 (国立感染症研究所ウイルス第一部)
吉田 弘 (国立感染症研究所ウイルス第二部)
森 嘉生 (国立感染症研究所ウイルス第三部)
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抗酸菌部)
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 (国立感染症研究所感染症疫学センター)
鈴木 里和 (国立感染症研究所薬剤耐性研究センター)
朝倉 宏 (国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部)

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する法的根拠が無いいため、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・デング熱等の再興感染症など国民生活に脅威となる感染症は継続的に発生しており、令和元年ラグビーワールドカップ、令和2年開催予定の東京オリンピック・パラリンピック競技大会に際して、訪日外国人が増加し、感染症発生リスクの上昇が懸念される。また、平成28年度から自治体は病原体検査を実施する法的な義務を負っている。

これら行政が関与する感染症対策の初動スキームは、先ず病原体を特定、判明した病原体のサーベイランスによる感染拡大状況の把握である。しかし、現行では国と自

治体が統一的に上記スキームを可能とする公的システムが存在しないため、何らかの手段により必要な病原体検査を全国規模で実施可能とするラボネットワークを構築・維持することは国の感染症危機管理上、必須である。

本研究は、感染研と全国の地衛研が相互に補完協力して、国内の感染症に対処することを目的として、ウイルス・細菌・真菌・寄生虫などあらゆる病原体を想定し、行政の関与が必要な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や病原体を優先対象としていく。

具体的には、以下の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。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、診断・検査法共有を目的とした相互研修・情報収集やマニュアル作成、病原体診断用機器や試薬等の整備、診断・検査法の精度管理基盤の構築。

感染症の診断は病原診断により行われるため、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体検査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動向調査結果として反映される。感染症の発生動向は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、全国で統一された病原体検査が迅速かつ円滑に行われる。さらに、検査法の統一化により国と自治体との病原体情報共有が容易かつ正確となることで疫学の精度を高め、効果的な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14名の計15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、各病原体レファレンスセンター活動、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。

病原体マニュアルのアップデート: 感染研の病原体検出マニュアルのホームページに掲載されている各病原体検出マニュアルについて、2疾患のアップデートおよび3疾患の追加を行った。

地方衛生研究所検査室の機能・病原体マニュアル編集: 信頼性確保部門に対するアンケート調査を行い、改正感染症法施行後の業務状況と研修への要望を把握した。アンケート調査結果に基づき検査担当者及

び信頼性確保部門担当者とワークショップ形式で信頼性確保のために確認すべき項目の内容を検討した。以上に基づき、信頼性確保部門担当者向け研修ガイドラインを作成した。平成28、29年の病原体検査数について調査し比較を行った。

大腸菌: 血清型別・遺伝子型別を行った。

レジオネラ: SBT法による遺伝子型別を行った。

レンサ球菌: T型別を行った。

寄生虫: マラリアに関しては、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を疑う症例が11件あり、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。平成30年6月の食中毒事例に関連したシカ肉の検体からサルコシステイス遺伝子検査を行った。シカ肉内サルコシステイスの定量PCR解析法を構築した。

アルボウイルス: 日本脳炎ウイルス遺伝子型V型のゲノム検出法を確立した。これまでに確立した実験室診断法について、情報共有を行った。

リケッチア: 紅斑熱群リケッチア症とつつが虫病のDuplex Real time PCRをスクリーニング系とし、既報の遺伝子検出法、血清診断法等を組み合わせた体系的なリケッチア症の実験室診断法の構築を行った。レファレンスセンター担当者との情報交換の中で、診断系の問題、課題の抽出を試みた。

エンテロウイルス: DNA シークエンサーに係る技術管理研修を企画した。10施設の協力を得て、標準品を用いた解析データを収集し稼働状況を分析した。技術管理研修メソッドの実証的検討として、グループワークによる机上演習用課題を作成した。技術管理研修実施後、アンケートにより研修内容の評価を行った。

麻疹・風疹: 収集された麻疹・風疹ウイルスの遺伝子配列の他の自治体への提供方法について検討を行った。麻疹・風疹ウイルス遺伝子検査に用いる参照RNAを改良した。地衛研の麻疹および風疹ウイルス遺伝子検査実施状況を調査した。

百日咳:臨床分離株を用いて、昨年度に開発した MLVA 法を評価した。

結核:内部精度管理用検体の配布及び外部精度評価への参加希望を募り、参加施設への検体送付および検査成績の集計・分析を行った。

動物由来感染症:炭疽菌の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。粉検体を想定した閉鎖系(グローブボックス)を用いた検査マニュアルを配布し、意見を聴取した。

HIV 関連感染症:病原体検出マニュアルを改訂し、HIV 診断技術維持・向上のための技術支援を行った。

アデノウイルス:世界における下痢症関連アデノウイルスについて、文献調査した。

薬剤耐性菌:CRE 病原体サーベイランスシステムについて、地衛研への入力確認を行った。サーベイランスデータの精度およびデータの可溶性を担保するために、登録内容について自治体に内容の確認と修正を依頼した。サーベイランスデータを集計し公開した。

カンピロバクター:分離株について薬剤感受性試験および Penner 法による血清型別を行った。PCR 型別法の成績を評価した。

真菌:播種性クリプトコックス症の病原体検出マニュアルをあらたに作成し、ホームページに掲載した。

C. 研究結果

病原体マニュアルのアップデート:病原体担当から提出され、アップデートを行った病原体検出マニュアルは、後天性免疫不全症候群、インフルエンザ(鳥インフルエンザ及び新型インフルエンザ等感染症を除く)であった。追加した病原体検出マニュアルは、A 型肝炎、E 型肝炎、播種性クリプトコックス症であった。

地方衛生研究所検査室の機能・病原体マニュアル編集:

1.九州中国四国ブロックの計 23 機関に対して、信頼性確保部門に関するアンケート調査を行った。信頼性確保部門管理者は、14 機関が地衛研、9 機関が本庁に設置されて

いた。内部監査は 17 機関がすでに実施していた。

2.信頼性確保部門が確認すべきチェックリストを検討し、検査結果の信頼性に影響を与える検査プロセス中の要因分析をまとめ、病原体等検査における検査プロセスの改善に向けた自主管理体制を検討した。以上より、信頼性確保部門担当者向け研修ガイドラインを作成した。

3.インフルエンザの検体数を法改正前後で比較したところ、14 都道府県で検体数が改正前の 2 倍以上に増加していたが、インフルエンザ以外の五類感染症の検体数が減少していた自治体は見られなかった。

大腸菌:平成 30 年に細菌第一部で受け付けたヒト由来の EHEC は全 3,338 株であった。コントロール株を配布し、問合せを受け付けた。O-/H-genotyping PCR 法を大腸菌サーベイランスに導入した。

レジオネラ:今年度 88 株が追加され平成 29 年 3 月末現在で、合計 614 株のレジオネラ属菌臨床分離株が収集できた。外部精度サーベイを実施した。地衛研におけるレジオネラ検査の実態を調査した。

レンサ球菌:平成 29 年に全国の衛生研究所に収集された咽頭炎患者分離株数は、843 株であり、劇症型溶血性レンサ球菌感染症(STSS)の報告が 148 症例あった。すべての株に対して T 型別を行った。

寄生虫

1.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は、全国 13 検疫所本所および 3 空港検疫所支所から、合計 17 名が参加した。マラリアの講義を行い、迅速診断キットに関する実習を実施した。マラリア種別の依頼検体は 7 例であり、そのうち 3 例の陽性検体は全て三日熱マラリア陽性例であった。また 2 件の診断に関する相談を受け入れ、4 箇所の地衛研に診断のための陽性参照を配布した。

2.エキノコックス症のヒト疑診例は、訪日外国人の血清 1 例が陽性であった。

3.サルコシスティスの 18S rDNA 配列解析より、タイプ A および B に関して定量 PCR 系を確立した。滋賀県内の 2 回の有症事例では、

タイプ A が全体量のほとんどを占めることが示された。市販野生シカ肉では、有症事例レベルに近い汚染が認められた。和歌山県の事例では、肉試料よりタイプ A および B の遺伝子増幅が見られた一方、肝臓試料では DNA の増幅は認められなかった。

アルボウイルス：遺伝子型 V 型日本脳炎ウイルスのゲノム検出法を確立した。TaqMan プライマー・プローブセット 3NCR を作製し、GI、GIII、GV いずれのウイルスゲノムも検出可能であった。ウエストナイルウイルスゲノムにも反応することがわかった。この交差反応性による誤審を回避する方法として、広範なウエストナイルウイルスゲノム検出用セット WNV com を用いた。各ウイルス遺伝子の陽性対照を調製し、希望に応じて各施設に分与した。

リケッチア：遺伝子検出系におけるスクリーニング系ならびに確定方法、既存の血清診断法のフローを示し、各所の地衛研において実施された。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。また、臨床現場と直結する地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. 技術管理研修には九州支部内の 12 施設すべてが参加した。あらかじめ安定性を確認した同一ロット標準品を送付し各施設の測定結果を比較することで、多施設間の機器の稼働状況を客観的に把握することが可能であることを示した。

2. 塩基配列解析の質評価法について研修等による継続的なフォローアップの必要性が認められた。予防すべき主な要因として、消耗品の質、方法の選択が重点的に管理すべき事項として明らかになった。少人数のブレインストーミングは参加者間で多様な意見交換できるため、検査担当者間の人的ネットワーク維持に一定の効果が期待される回答を得た。

麻疹・風疹

1. 感染研に収集された麻疹ウイルス遺伝子配列情報について、1) 自治体内の使用に

限って使用する、2) 一般公開する場合には遺伝子配列情報を提供した地衛研の承諾を条件に、求めに応じてウイルス株の「遺伝子配列」「検体採取日」「検出自治体名」「系統樹」を提供することとした。

2. 麻疹・風疹の新規参照 RNA を作製でき、配布可能な状況を整えることができた。

3. 全国 76 の地衛研において、平成 30 年に麻疹の検査が行われた 6,251 症例のうち、麻疹検査が陽性であった症例数は 328 症例 (5.2%) であった。269 症例で遺伝子型解析が試みられ、228 症例で遺伝子型の決定ができた。同様に風疹の検査が行われた 6,110 症例のうち、風疹検査が陽性であった症例数は 1,859 症例 (30.4%) であった。1,616 症例で遺伝子型解析が試みられ、1,339 症例で遺伝子型の決定ができた。

百日咳：解析株 53 株において、標的 VNTR の多様度指数を計算した。MLVA 法で 25 種類の遺伝子型 (MT1~MT25) に分類され、多様度指数は 0.91 (95% 信頼区間 0.86~0.97) と計算された。家族内感染事例から分離された 2 株の日本株は同じ遺伝子型 (MT18) を示した。

結核

1. 全国の 82 施設を対象に、IQC 用検体の配布及び EQA 参加についての希望を調査した。59 施設より参加希望があり、期限までに 58 施設から分析結果が送付された。

2. 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 47、43、30 であり、年々増加する傾向であった。

3. 各施設で 3 株の EQA 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 55 施設 (93%) 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. 平成 29 年度と同様に、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 (53%)。

動物由来感染症：37 地衛研で炭疽菌の *pag* 遺伝子、*cap* 遺伝子の遺伝子検出の EQA を行った。検出限界の濃度は施設間で

差がみられた。

HIV 関連感染症: 遺伝子検査法未導入の施設に関しては、施設の希望に応じて、コントロール検体、参照品の配布など個別に対応した。遺伝子検査導入済みの施設を含め、国際標準参照品を用いて HIV-RNA コピー数に関して精度管理調査を行った。平成 30 年度内に 14 施設の参加、および結果報告を受けている。

アデノウイルス: 下痢症アデノウイルスは、世界 18 ケ国から論文報告されていた。入院患者を対象とした論文は 8 ケ国からの 8 報であり、入院患者からの Ad 検出率は 2.5% ~ 16.3% の範囲で検出され中央値は 7.6% であった。9 論文において最も多かった型は Ad 41 型 (19 報)、Ad40 (6 報)、Ad40/41 (4 報) であった。地域差・型の循環がみられるが、F 種の 40 および 41 型が下痢症の主要なウイルスである。A 種の 31 型の検出もみられた。ノロウイルス、ロタウイルスについて 3 番目に検出が多かった。

薬剤耐性菌

1. CRE 病原体サーベイランス報告状況: 平成 29 年の感染症発生動向調査報告数は平成 30 年 5 月 1 日現在で 1660 例であったのに対し、病原体検出情報システムには 865 名由来の 865 株が登録されており感染症発生動向調査患者報告数の 52% に該当した。

2. サーベイランスデータの精度管理: 平成 29 年はサーベイランス開始年でもあり、入力形式の誤りに対する修正依頼が最も多かったが、平成 30 年を通じて著減した。必須検査の未実施 (9 自治体 71 件) については、予算などの関係で検査項目を限定しているなど、特定の自治体に偏る傾向があった。

3. 病原体サーベイランス結果の活用: 平成 29 年の 865 株の検査結果について集計解析を行った。菌種は *Klebsiella aerogenes* が最も多かった (32%)。海外型カルバペネマーゼ遺伝子は 13 株より検出されうち 3 自治体 8 株は分離元患者に海外渡航歴のない国内例と考えられた。また、患者・病原体 CRE サーベイランスの活用として毎週感染研の感染症疫学センターと薬剤耐性菌研究センターとの間で平成 30 年度中に計 22 回のテレ

カンファレンスを実施した。

カンピロバクター

1. 平成 30 年度に検出された *C. jejuni* 計 122 株を対象に薬剤感受性試験を実施した結果、シプロフロキサシン耐性は 69 株 (56.6%)、テトラサイクリン耐性は 37 株 (30.3%) と高い頻度で認められた。エリスロマイシン耐性は 5 株 (4.1%) であった。なお、*C. coli* 株については 10 株のみが確保され、エリスロマイシン耐性が 4 株、テトラサイクリン耐性・シプロフロキサシン耐性がそれぞれ 5 株認められた。3 剤に対し感受性を示す株は 3 株認められた。

2. 平成 30 年度に収集され、Penner 血清型が同定された *C. jejuni* 計 142 株の群別の構成としては、D 群が 30 株 (21.1%) と最も多く、O 群が 22 株 (15.5%) と続いた。

3. Penner 血清型別が可能であった計 142 株を対象に同遺伝子型別法を実施し、結果の整合性を評価したところ、136 株が同一の型別結果を示し、一致率は 95.8% であった。

真菌: 臨床情報、検査方法、感染症法届出基準から構成される播種性クリプトコックス症の病原体検出マニュアルを作成した。PDF ファイルを感染研の病原体検出マニュアルホームページ上に公開した。

D. 考察

病原体マニュアルのアップデート: 継続的に病原体検出マニュアルを更新する必要があるが、今年度もアップデートを行った。定期的な更新により、マニュアルの信頼性が増し、全国の地衛研等での病原体検査精度向上への貢献が期待できる。

地方衛生研究所検査室の機能・病原体検出マニュアル編集:

1. 感染症法に基づく病原体等検査に係る信頼性確保部門を対象としたアンケート調査及びワークショップによる検討の結果、信頼性確保部門の設置場所、研修、ネットワーク構築等について考慮する必要がある。

2. 内部監査時には病原体等検査の特徴を把握することが実務上重要であるが、現実的に信頼性確保部門担当者を対象とした研修を実施することが適当である。病原体等検査における検査プロセスの改善は、不適合業

務・逸脱に対する適切な是正措置による PDCA サイクルの推進が理想的である。研修内容は、検査プロセスに存在する各種要因が検査結果の信頼性に与える影響を理解できるものにするのが重要である。

3. インフルエンザの検体数は、法改正により基準値に近づいた都道府県がほとんどであった。改正前の 2 倍以上に増加した自治体も見られたが、その他の五類感染症の検査数が大きく減少したところはなく、影響は少ないように思われる。

大腸菌:更新した「EHEC 検査マニュアル」の内容についてトラブルシューティング等を受け付けると共に、コントロール株(DNA)の配布等をさらに継続的に実施する必要がある。抗血清を用いた型別法と O-/H-genotyping PCR 法との整合性解析から重症例由来の新規 O 群および血清型(O:H 型)について明らかにする必要がある。

レジオネラ:平成 30 年には 2,000 症例を越え、死亡例も少なくないが、多くの場合感染源は不明である。分離菌の遺伝子型別の結果を地衛研から保健所、医療機関に還元することで、感染源の解明につながることを期待される。今回の調査では、半数以上の地衛研で、迅速検査が導入されていたが、その運用の仕方はさまざまで、より効果的な実施方法を考えていかなければならない。

レンサ球菌:T1 型の株は、平成 27 年から平成 28 年にかけて、咽頭炎患者分離株と劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株ともに増加していたが、平成 29 年に減少しており、パラレルに推移している傾向にある。また、TB3264 型も平成 24 年頃から急増し、平成 28 年から 29 年にかけて増加しており、パラレルに推移している。今後どの型が増加傾向にあるか傾向を注視する必要がある。

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、大変好評であった。エキノコックス症を疑う検査依頼は 11 件あったが、そのうち 5 例が単包性エキノコックス症疑い例であった。従来は多包性エキノコックス症への対応で足りていたが、今後は検査

体制を再構築する必要がある。シカのサルコシスティスの毒性評価がなされていない現状ではあるが、和歌山における事例でもタイプ A と B のサルコシスティスが検出され、シカ肉においては健康被害の原因物質となる可能性が高いことを補強する結果となった。顕微鏡を用いても確認困難な汚染は、ジビエのサルコシスティスにおける衛生管理上の難題となるであろう。

アルボウイルス:遺伝子型 GV の日本脳炎ウイルスについては、日本国内では未だ確認されていないが、今後国内に侵入する可能性に備え、GV ウイルス検出法の確立を目指した。新たなプライマー・プローブセット 3NCR は、GI、GIII に加え GV ゲノムも検出可能であった。さらに、ウエストナイルウイルスのゲノムとも交差反応することが判明したため、ウエストナイルウイルスゲノム用のセット WNV com も共用し、同定した。これまでに確立したアルボウイルスに対する遺伝子検査法の見直しを行い、情報提供した。また分与を希望した各地衛研に実験室検査用陽性対照を配布し、アルボウイルスに対する検査体制の整備を進めることができた。

リケッチア:実験室診断系の体系を再構築し、紅斑熱群リケッチア症とつつが虫病の Duplex Real time PCR をスクリーニング系とし、既報の遺伝子検出法、血清診断法等が各所で実施された。急性期検体を検査材料としたリケッチア症の遺伝子検出系では、あくまでもスクリーニング系という意味で、簡便性のメリットが勝ると考える。近年、国内のリケッチア症は、その多様性が多岐にわたることが明らかになってきている。また輸入感染症として国内にないリケッチア症も増えている。それらをとりにぼしなく診断し、適切な治療につながるような情報を現場に提供するうえでもメリットがあると考えている。

エンテロウイルス:エンテロウイルス検査に限らず共通の基盤技術として、DNA シークエンサーを用いた病原体検査が普及しているが、客観的な指標に基づき塩基配列の質評価を行う必要がある。既存のインフラを活用し、検査の質を確保すべく、QMS の導入、施設間の情報共有を促進し、検査技術の均

てん化を図ることが適当と考えられる。質評価手法の検討、塩基配列解析時に起こりうるヒューマンエラー等予防に対して技術管理研修メソッドの検討、実施、評価を行い一定の効果を認めた。共通の基盤技術に関しては、地域支部単位で様々な機会を活用しつつ、ヒューマンエラー等予防に向けた技術管理研修等の取り組みを行うことが望まれる。

麻疹・風疹:麻疹ウイルスの遺伝子情報を自治体間で共有する方法を構築でき、より迅速に麻疹の疫学調査が可能になったと考えられる。今後は風疹にも拡大していきたい。麻疹風疹ウイルス遺伝子検査において今回作成した新規参照 RNA は利便性(麻疹)、クロスコンタミネーションの否定(風疹)、輸送性(風疹)の向上が図られた。今後地衛研からの求めに応じて配布を行っていききたい。地衛研における検査の実態を把握するため、76 施設を対象に調査を行った。平成 29 年の調査と比較して麻疹、風疹共に検査数が大幅に増加していることが明らかとなった。検査症例数の増大に対し、人的ならびに経済的に十分に対応できているか検討が必要かもしれない。

百日咳:新たに開発した MLVA 法を評価し、本法がパラ百日咳菌に対し高い解析能力を持つことを確認した。これまでパラ百日咳菌は遺伝的な多様性が低いことが報告されていたが、本研究により百日咳菌など他の病原細菌と同様に高い多様性を持つことが判明した。また、家族内感染事例から分離された 2 株の国内臨床分離株が同じ遺伝子型を示したことから、本法はアクトブレイクなどの分子疫学的調査に適用可能であると考えられた。今後、アウトブレイク調査のみならず、本法は世界の流行株解析や系統進化の解析において有用な解析手段となることが期待できる。

結核:各施設における IQC の実施を支援するとともに、平成 26~29 年度に引き続いて 5 回目となる EQA を実施した。最も主要な分子量測定法は従来と同様にアガロースゲル電気泳動法 (n=31) であり、自動シーケンサーは 18 施設で使われていた。

自動シーケンサー導入希望施設に対して技術支援を行っていく必要がある。結核分子疫学調査では、VNTR 情報を継続的に蓄積し、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:各参加機関の間でみられた conventional PCR 検査系での検出限界の差は、使用したサーマルサイクラーの違い、低濃度 DNA での増幅に影響する要因、増幅産物の確認方法によるものと考えられる。今回、施設間で検出限界濃度の差が認められたものの、炭疽発症患者あるいは動物由来の検体中には非常に多くの炭疽菌(通常 10^6 CFU/ml 以上)が存在していることから考察すると、これらの検体からの検査においては、今回検証された検出限界の検査系で検出は可能であると考ええる。過去に生物テロで使われた芽胞粉末の場合も一定数以上の芽胞個数が含まれることが見込まれるため、PCR 検査系としてはどの機関も十分な検出限界を有していると考ええる。

HIV 関連感染症:本研究の実施により、地衛研における HIV 遺伝子診断実施の増加に結び付いたと考えられる。遺伝子検査は感染急性期受検者に対する正確な診断につながることから、日本国内の早期診断率の改善、および新規感染者数の抑制に結びつくことが期待される。

アデノウイルス:下痢症患者においてアデノウイルスの検出が多く、入院患者の 2.5%~16.3%から Ad が検出されていた。Ad 下痢症による死亡例も報告されている。今回の調査で日本を含むアジアにおいて 41 型の検出が多いことが明らかになった。下痢症の原因ウイルスとしてノロウイルスおよびロタウイルスが重視される傾向があるが、アデノウイルスは 3 分の 1 で 14 日以上続く下痢症が報告されるなど軽視出来ない。検査法として PCR が中心になりつつあるが、ELISA による検査法も未だ使用されている。

薬剤耐性菌:平成29年のCRE病原体サーベイランスの報告割合は通知発出前や直後

ではやや低めであったが、その後は6割から7割と上昇した。報告状況を評価するにあたり問題となったのは、集計のタイミングである。今後病原体サーベイランスにおいても報告期限を設けることなどを検討することが必要と考えられた。病原体サーベイランスのデータ精度として、開始当初はデータの質よりも、報告フォーマットの誤りといった形式的な問題が主であったが、修正依頼の継続やレファレンスセンターからの情報提供を通じてこれらについては大きく改善した。病原体サーベイランスの対策への直接的な活用として、毎週のデータ確認と患者報告データとの統合によるリスク評価を開始した。今後システムの改善や入力項目の周知が必要と思われる。

カンピロバクター：*C. jejuni* の薬剤感受性については、これまでの動向とほぼ同様にフルオロキノロン系薬剤であるシプロフロキサシンの耐性率が高いほか、近年ではテトラサイクリン耐性率が増加傾向にあることが確認された。ディスク拡散法の判定基準として阻止円直径が明示される EU-CAST 法を試行的に採用し、その評価と課題等についてレファレンスセンターに意見を求めた。EU-CAST 法の利点は判定基準が明確であることが複数のセンターから挙げられたが、-NAD の添加が労力・費用面から欠点として挙げられた。Penner 血清型別の代替法としての遺伝子検査法の有用性が示され、将来的には同法の選択肢の一つとして普及できる可能性が示唆された。

真菌：感染症法に規定されて間もない播種性クリプトコックス症の病原体検出マニュアルを作成・公開した。地衛研等への真菌症検査法の普及に貢献できると考えられる。

E. 結論

病原体検出マニュアルのアップデート・追加を行った。「播種性クリプトコックス症」の病原体検出マニュアルおよび「A型肝炎」、「E型肝炎」を作成し、感染研ホームページ上に反映させた。ともに、引き続き改訂を続けて行く必要がある。

地方衛生研究所検査室の機能・病原体

マニュアル編集：改正感染症法の施行後、病原体等検査の精度管理体制は途上にあることから、担当者間で情報交換を行うための仕組みが必要である。特に、信頼性確保部門は、本庁又は地衛研に設置されているため、横断的なネットワークの構築が期待される。感染症法に基づく病原体等検査の目的、特徴を十分理解できるように信頼性確保部門の研修を企画すること及び PDCA サイクルにより効果を検証することが重要である。感染症法の改正に伴い新たに規定された遵守・確認事項に関しては、病原体等検査の特徴を十分踏まえた上で管理することが重要である。病原体等検査のプロセスで発生する不適合業務又は標準作業書からの逸脱に対する是正措置は、検査部門が行うことを踏まえ、検査プロセスの改善に向けた検査部門の自主的な取り組みが求められる。感染症法改正により、各都道府県のインフルエンザの検査数は基準数に近づき、全国の検査数の標準化が図られた。

大腸菌・レジオネラ：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、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。本研究の具体的実施項目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、問題点、ニーズが明らかになることが期待できる。

レンサ球菌：咽頭炎由来株の T 型は、T12 型が多かった。一方、劇症型溶連菌感染症患者由来株の T 型は T1 型が最も多かった。咽頭炎由来株の T1 型と劇症型溶連菌感染症患者由来株の T1、TB3264 型は、近年パラレルに推移している傾向にあった。

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、定期的を実施することで、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、地衛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。シカ肉に寄生するサルコシスティスにはヒトの健康被害に関与する種類が存在し、その寄生レベルは食中毒を引き起こす可能性のあるレベルに達する可能性がある。ジビエ利用におけるサルコシスティスに関する衛生管理の徹底が必要である。

アルボウイルス: これまでにアルボウイルスに対する遺伝子検査法の見直しを行い、情報提供を行った。また分与を希望した各地衛研に遺伝子検査用陽性対照を配布した。今後もアルボウイルス感染症レファレンスセンターを中心にアルボウイルス感染症の検査などについて情報共有を実施し、国内のアルボウイルスに対する検査体制の整備に努める。また、本研究において開発改良を進めてきた検査法の共有を各地衛研や保健所あるいは検疫所とさらに進めるため、病原体検出マニュアルの改訂および作成を進める予定である。

リケッチア: 近年、国内でも SFTS をはじめ複数のダニ媒介感染症が報告され、輸入症例でもデング熱をはじめとする様々な節足動物媒介感染症が報告される。リケッチア症はこれらの疾患との鑑別も重要であり、特定の疾患にとらわれず適切な診断が遅滞なく行われるようより網羅的な診断体制が現場で構築できるよう情報発信においても一層の検討が求められている。

エンテロウイルス: 感染症検査における検査プロセスの改善を目的とした技術管理手法の導入には、研修メソッド等の開発が課題である。塩基配列解析の質確保を目的とした評価指標の検討を行い、技術管理研修法の実証的検討を行った。DNA シークエンサーの validation に用いる評価指標は、多施設間における装置の稼働状況を把握するために有用であった。評価指標の知識をブラッシュアップするためグループワークによる技術管理研修は有用であった。

麻疹・風疹: 感染研に収集された麻疹風疹ウイルス遺伝子配列を条件付きで他の自治体に開示する方法を構築し、麻疹ウイルス遺伝子配列の開示について運用を始めた。麻疹ならびに風疹ウイルスの遺伝子検査法の新規参照RNAの検証を行い、配布準備を

整えた。アンケート調査で、地衛研76か所における平成30年の麻疹および風疹の検査実態について把握を行なった。

百日咳: パラ百日咳菌の MLVA 法を評価し、本法が病原体サーベイランスやアウトブレイク解析において有用な遺伝子型別法となることを確認した。

結核: 59施設を対象に VNTR 分析に関する EQA を実施した。3株の EQA 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 54施設 (92%、54/59) であった。2カ所以上の誤回答があったのはこれまでで最も少ない1施設であり、ローカス毎の正答率は 98.9–100%であった。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: 今回参加した各地衛研の conventional PCR 検査系で示された検出限界は、現在想定される炭疽菌検体の検出に有効な範囲であることが示された。

HIV 関連感染症: 平成 30 年度は、H28、29年度の調査結果を踏まえ、現状の HIV 検査診断体制に即し病原体検査マニュアルに改訂し、重点的に改訂した点について講義、技術支援を行った。

アデノウイルス: F種アデノウイルスによる下痢症が世界的に報告されている。F種は 40 および 41 型を含み、世界的にみると 40 型が主に検出される国もあるが、日本は 41 型がドミナントである。Ad による下痢症は 41 型で 14 日以上続くことが報告されるなど軽症とはいえ、そのサーベイランスが重要と考えられた。

薬剤耐性菌: 平成 29 年 3 月の通知発出と報告形式が整備を受け、実質的な CRE の病原体サーベイランスが実質的に開始された。患者報告数に対する病原体サーベイランス報告率も徐々に上昇した。今後は報告期限や試験結果の確認方法などを整備するとともに、サーベイランスデータの活用を推進するため、より有効な情報の還元方法の検討が必要と思われた。

カンピロバクター

C. *jejuni* はシプロフロキサシン、テトラサイクリンに対する耐性頻度が高く、これらの動向を引き続きモニタリングする必要がある。分離菌株の型別・分類法として、以前より国内で汎用される Penner 血清型別法を補完する手法として Penner-PCR 法の有用性を示すことができた。一方で分離株の型別・分類法については国際動向を踏まえた形で徐々に検討を進め、使用目的に応じた体制整備を進めることが情報共有の観点から重要と思われる。

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、リケッチア症に関する情報発信を試みるも、死亡例が発生している。迅速な治療につながる情報発信の難しさが示されている。

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。

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。