

平成 2 7 年度

感染症流行予測調査実施要領

厚生労働省健康局

結核感染症課

平成 27 年度感染症流行予測調査実施要領

目 次

疾病別実施地区数及び対象数	1
第 1 感染症流行予測調査の概要	2
第 2 ポリオ	
1 感受性調査	5
2 感染源調査（環境水からのポリオウイルス分離・同定）	5
資料 1 環境水からのポリオウイルス分離（採水・濃縮・分離方法）	7
第 3 インフルエンザ	
1 感受性調査	8
2 新型インフルエンザウイルスの出現監視を目的とした感染源調査	9
資料 2 インフルエンザウイルス分離のための検体の採取	12
資料 3 インフルエンザウイルス分離のためのフローチャート	13
第 4 日本脳炎	
1 感受性調査	14
2 感染源調査	14
3 確認患者調査	15
第 5 風しん	
感受性調査	17
第 6 麻しん	
感受性調査	18
第 7 ヒトパピローマウイルス感染症	
感受性調査	19
第 8 水痘	
感受性調査	20
第 9 B 型肝炎	
感受性調査	21
第 10 インフルエンザ菌感染症	
感染源調査	22
第 11 肺炎球菌感染症	
感染源調査	23
第 12 血清取扱要領	24

[様式及び参考資料]

様式 1	ポリオ感染源調査票	2 7
様式 2	ポリオ感染源調査結果票	2 8
様式 3	インフルエンザ感染源調査票	2 9
様式 4	インフルエンザ感染源調査結果票	3 0
様式 5	日本脳炎感染源調査票	3 1
様式 6	日本脳炎感染源調査結果票	3 2
様式 7	日本脳炎確認患者調査情報	3 3
様式 8	インフルエンザ菌感染源調査票	3 4
様式 9	肺炎球菌感染源調査票	3 5
様式 1 0	肺炎球菌感染源調査結果票	3 6
様式 1 1	血清送付票	3 7
様式 1 2	血清検体一覧表	3 8
参考資料 1	『感染症流行予測調査事業』への協力のお願い(案)	3 9
参考資料 2	『国内血清銀行』への血清の保管のお願い(案)	4 2
参考資料 3	予防接種歴・罹患歴調査票(案)	4 4
参考資料 4	日本の定期/任意予防接種スケジュール	4 6
参考資料 5	感染症流行予測調査事業説明用リーフレット 「御存知ですか? 感染症流行予測調査事業」.....	4 8
	「麻しん(はしか)および風しんに対する免疫の保有状況」.....	4 9
参考資料 6	ポリオ感染源調査説明用リーフレット 「環境水によるポリオウイルスの調査が始まります」.....	5 0
	「ポリオウイルスが検出された場合の対応について」.....	5 2
別添資料 1	ヒトパピローマウイルス感受性調査検査術式	5 4
別添資料 2	インフルエンザ菌感染源調査検査術式	6 0
別添資料 3	肺炎球菌感染源調査検査術式	6 7

疾病別実施地区数及び対象数

	ポリオ (人)		ポリオ (水)		インフルエンザ (人)		インフルエンザ (豚)		日本脳炎 (人)		日本脳炎 (豚)		麻疹 (人)		HPV感染症 (人)		水痘 (人)		B型肝炎 (人)		インフルエンザ前感染症 (人)		肺炎球菌感染症 (人)		合計			
	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数	地区数	対象数
01 北海道	1	198	1	36	1	198	1	100	1	198	1	70	1	198											5	700		
02 青森県			1	36							1	70														2	106	
03 岩手県			1	36																						1	36	
04 宮城県									1	198	1	70	1	324	1	198										4	790	
05 秋田県							1	100																1	50	3	220	
06 山形県	1	198												1	198											3	594	
07 福島県			1	36										1	198											4	502	
08 茨城県			1	36							1	80	1	324	1	198										4	800	
09 栃木県											1	80	1	324	1	198										4	800	
10 群馬県	1	198									1	80	1	324	1	198										6	1,098	
11 埼玉県														1	324											1	324	
12 千葉県	1	198									1	80	1	324	1	198	1	160	1	198	1	198			9	1,590		
13 東京都	1	198							1	198			1	324	1	198	1	160	1	198	1	198	1	20	1	10	1,742	
14 神奈川県											1	80	1	324	1	198										4	800	
15 新潟県											1	80	1	324	1	198										6	870	
16 富山県	1	198									1	80	1	324												5	710	
17 石川県											1	80	1	324												3	602	
18 福井県																										1	198	
19 山梨県											1	80														2	278	
20 長野県														1	324											4	756	
21 岐阜県			1	36							1	80														3	216	
22 静岡県											1	80														3	476	
23 愛知県	1	198									1	80	1	324	1	198									7	1,232		
24 三重県											1	80	1	324	1	198										6	1,098	
25 滋賀県											1	80														2	180	
26 京都府														1	324	1	198	1	198	1	198					4	918	
27 大阪府	1	198									1	80														7	860	
28 兵庫県											1	80														2	180	
29 奈良県			1	36																						1	36	
30 和歌山県			1	36																						1	36	
31 鳥取県											1	80														1	80	
32 島根県											1	80														1	80	
33 岡山県																										1	36	
34 広島県											1	80														2	180	
35 山口県														1	324	1	198									2	522	
36 徳島県											1	80														2	180	
37 香川県											1	80														1	80	
38 愛媛県	1	198									1	80														5	774	
39 高知県											1	80	1	324	1	198										5	900	
40 福岡県			1	36							1	80	1	324	1	198										4	638	
41 佐賀県			1	36							1	80														4	512	
42 長崎県											1	80														1	80	
43 熊本県											1	80														3	476	
44 大分県											1	80														1	80	
45 宮崎県			1	36							1	80														4	512	
46 鹿児島県											1	80														1	80	
47 沖縄県											1	100														3	496	
合計	8	1,584	16	576	24	4,752	10	1,000	9	1,782	35	2,770	17	5,508	23	4,554	3	480	4	792	2	396	3	60	4	200	158	24,454

第1 感染症流行予測調査の概要

1 目的

集団免疫の現況把握、病原体の検索等の調査を行い、各種疫学資料と併せて検討し、予防接種事業の効果的な運用を図り、さらに、長期的視野に立ち総合的に疾病の流行を予測することを目的とする。

2 実施の主体、実施機関、中央と地方の連絡

厚生労働省健康局結核感染症課が、国立感染症研究所（以下「感染研」という。）、都道府県、都道府県衛生研究所等の協力を得て実施する。事業の計画、指導、結果の分析及び予測については、中央には中央調査委員会議を設け、各都道府県には地方調査委員会議を設けて実施に協力し、また、各都道府県独自の状況について分析するものとする。

3 感受性調査・感染源調査の概要

感染症の流行を予測するためには、その疾病の疫学的特性により疾病別におおむね次の諸事項を調査し、その結果を地域、年齢、季節、予防接種歴、罹患歴等について観察分析し、総合的に判断することが必要であると考えられる。

(1) 感受性調査（ポリオ、インフルエンザ、日本脳炎、風しん、麻しん、ヒトパピローマウイルス感染症、水痘、B型肝炎）

一時点における社会集団の免疫力（抗体調査等による）保有の程度について、年齢、地域等の別により分布を知る。

(2) 感染源調査（ポリオ、インフルエンザ、日本脳炎、インフルエンザ菌感染症、肺炎球菌感染症）

ア 定点調査：病原体の潜伏状況及び潜在流行を知る。

イ 患者調査：患者について、診断の確認を行うために病原学的及び免疫血清学的検査を行って、病原体の種類と感染源の存在を知る。

(3) その他の疫学的資料（全疾病）

当該疾病についての過去における患者、死者発生統計資料により、地域、年齢、季節等の要因につき疫学的現象を知る。併せて、流行事例についての疫学的分析を行い資料とする。

4 実施の手順

本事業の実施は原則として次の順に従って行うこととする。

(1) 客体の選定

(2) 被験者の承諾を得る

(3) 検体の採取

(4) 検査の実施

- (5) 検査成績等の報告（システムへの登録及び調査票・結果票の送付）
- (6) 血清の送付（国内血清銀行への保管）
- (7) 調査結果の解析・予測

5 調査疾病及び対象数

疾病別実施地区数及び対象数（1頁）について調査を実施する。なお、一つの血清で複数の疾病を測定しても差し支えないものとする。

6 被験者に対する協力の依頼と結果説明

本調査のため被験者から検体を採取する場合、参考資料1、参考資料5等を参考にし、本調査の趣旨及びプライバシーの保護について適切な予防措置が行われることを十分に説明した上、文書による同意が得られた者についてのみ行う。したがって、この点を考慮して十分な客体が得られるよう対象地区等を選定する必要がある。

また、被験者には可能な限り調査の結果を報告することにより、本調査に協力したことによる利益が得られるように配慮する。

7 検査の方法

「感染症流行予測調査事業検査術式（厚生労働省健康局結核感染症課・国立感染症研究所感染症流行予測調査事業委員会／平成14年6月）」並びに本実施要領、平成25年6月作成の検査術式（インフルエンザ菌、肺炎球菌）、平成26年5月作成の検査術式（ヒトパピローマウイルス感染症）に記載された方法に沿って行う。

8 検査成績等の報告

感受性調査については、「感染症サーベイランスシステム：NESID」を用いて報告する。報告については、システム説明会（平成24年3月実施）の資料及び操作マニュアル（システム上からも取得可能）に従って、所定の事項を登録する。また、感染源調査については、疾病ごとに定める様式により報告する。

なお、感染研には匿名化された情報のみが報告されるものとするが、各都道府県においては、被験者の個人情報管理に十分な配慮を行うこととする。

9 検査血清の取扱い

感染症流行予測調査事業によって収集した検査後の残余血清は、国内血清銀行に提供するため感染研感染症疫学センター第三室に送付するものとするが、参考資料2等により、国内血清銀行への保管に同意が得られた血清のみとする。

10 調査結果の解析及び報告

感染研感染症疫学センター第三室は調査結果を解析し、厚生労働省健康局結核感染症課へ報告するものとする。

1 1 関係連絡先

◎厚生労働省健康局結核感染症課

〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

TEL 03-5253-1111 (代) (内線 2040)

◎国立感染症研究所 (戸山庁舎)

- ・感染症疫学センター第三室 (調査全般)

- ・ウイルス第一部第二室 (日本脳炎)

 - 第四室 (水痘)

- ・細菌第一部第三室 (肺炎球菌感染症)

- ・総務部総務課庶務係

〒162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1

TEL 03-5285-1111 (代) (内線 2536、2539、2533 : 感染症疫学センター第三室)

FAX 03-5285-1129 (感染症疫学センター)

E-mail yosoku@nih.go.jp (感染症疫学センター第三室)

FAX 03-5285-1150 (総務部総務課庶務係)

◎国立感染症研究所 (村山庁舎)

- ・インフルエンザウイルス研究センター第一室 (インフルエンザ : 感受性調査)

 - 第二室 (インフルエンザ : 感染源調査)

- ・ウイルス第二部第二室 (ポリオ)

 - 第五室 (B 型肝炎)

- ・ウイルス第三部第一室 (麻しん)

 - 第二室 (風しん)

- ・細菌第二部第二室 (インフルエンザ菌感染症)

- ・病原体ゲノム解析研究センター第一室 (ヒトパピローマウイルス感染症)

- ・総務部業務管理課検定係

〒208-0011 東京都武蔵村山市学園 4-7-1

TEL 042-561-0771 (代)

FAX 042-565-3315 (代)

第2 ポリオ

1 感受性調査

(1) 調査時期

原則として7月から9月。

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県につき1地区を選定し、0～1歳、2～3歳、4～9歳、10～14歳、15～19歳、20～24歳、25～29歳、30～39歳、40歳以上の9年齢区分を設け、各年齢区分より原則22名ずつ、計198名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採血し、血清中のポリオウイルス型別中和抗体価を測定するとともに、システム上に掲げる事項について調査する。平成24年9月1日から不活化ポリオワクチン（IPV）、同年11月1日にはDPTとIPVを混合した4種混合ワクチン（DPT-IPV）が定期接種に導入されたことから、予防接種歴の確認は従来の接種回数・最終接種時期に加えて、ワクチンの種類〔OPV、IPV、DPT-IPV（製造所別）〕別に、接種回数・最終接種時期についても併せて調査する。

抗体価の測定は、感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）の「第一章 ポリオ」による。

(4) 検査成績等の報告

検査成績等の報告については、検査成績判明後、12月末日までに「感染症サーベイランスシステム：NESID」により所定の事項を登録する。

2 感染源調査（環境水からのポリオウイルス分離・同定）

(1) 調査時期

調査時期は目安として7月から12月の6か月間とするが、可能な限り通年の実施をお願いしたい。

(2) 調査客体及び地区の選定

定点となる下水処理場（人口は10万人から30万人程度、下水普及率7～8割を目安）を選定し、毎月1回流入下水（0.5L強）を採取する。

(3) 調査事項

資料1（本実施要領7頁）を参考に流入下水を濃縮し、ポリオウイルスの分離を行う。分離し得た場合はウイルスの同定を行うとともに、調査票（様式1）に掲げる事項について調査する。なお、ウイルスの分離・同定に関する詳細は、感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）の「第一章 ポリオ」に準じる。ウイルス濃縮法は、ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル（平成24年9月）の「(3) 5 環境水からのポ

リオウイルス分離」に準じる。(http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/polio.pdf)

ア ウイルス濃縮

流入下水を遠心し、微粒子を除去したのち得られた上清を、資料1（本実施要領7頁）を参照し50倍から100倍に濃縮する。

イ ウイルス分離・同定

流入下水濃縮物から、ポリオウイルスに感受性のあるRD-A細胞、L20B細胞など、少なくとも2種類の細胞に各6検体ずつ接種する。

初代接種で細胞毒性が現れたら速やかに新しい細胞に接種する。7日間観察し盲継代を少なくとも2代行う。細胞変性効果が出現したところで凍結融解により培養液を回収し、L20B細胞に再接種する。L20B細胞に細胞変性効果が出現したところで培養液を回収し、同定を行う。

※陽性となった場合を鑑み、速やかな検査をお願いしたい。

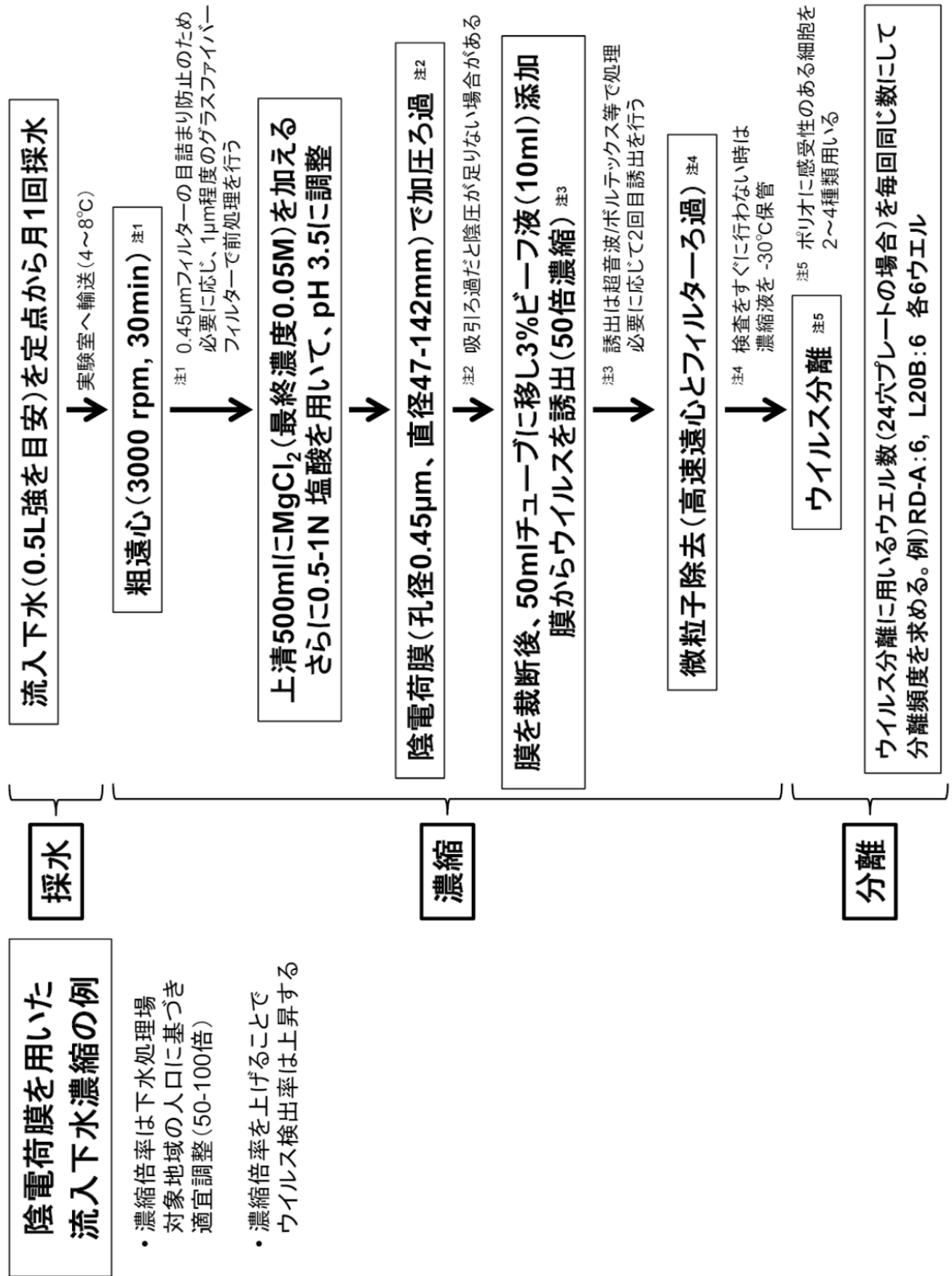
(4) 検体（分離株）の取扱い

ポリオウイルスが分離同定された場合は、速やかに厚生労働省健康局結核感染症課及び感染研感染症疫学センター第三室に連絡する。また、平成12年5月8日付け健医感発第43号「ウイルス行政検査について」（平成21年12月18日付け健感発1218第2号により一部改正）に従って、ウイルス行政検査依頼書（宛先は国立感染症研究所長）を感染研総務部業務管理課検定係宛てに、また、検体（分離株）に関しては感染研ウイルス第二部第二室宛てに送付する。なお、送付に際し事前に感染研ウイルス第二部第二室に連絡し、送付の日程等について相談する（送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領4頁を参照）。

(5) 検査成績等の報告

調査票（様式1）に所定の事項を記入し、結果票（様式2）により集計する。検査成績判明後、速やかに調査票（様式1）及び結果票（様式2）を感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する（原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない。送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領4頁を参照）。

なお、調査票（様式1）及び結果票（様式2）の電子ファイル（エクセル形式）は、感染研感染症疫学センター第三室から各都道府県の感染症流行予測調査担当者宛てに電子メールにて配布する。



第3 インフルエンザ

1 感受性調査

(1) 調査時期

原則として7月から9月（予防接種実施前）が望ましいが、前シーズン（2014／15シーズン）のインフルエンザの流行が終息していることが確実な場合は、7月以前でも可とする。ただし、5月以降であることとする。また、当該シーズン（2015／16シーズン）のインフルエンザの流行が始まっていないことが確実で、かつ当該シーズンのインフルエンザワクチンの接種を受けていないことが確実な場合は、9月以降でも可とする。ただし、10月31日（土）以前であることとする。

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県につき1地区を選定し、0～4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～29歳、30～39歳、40～49歳、50～59歳、60歳以上の9年齢区分を設け、各年齢区分から原則22名ずつ、計198名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採血し、血清中の亜型別インフルエンザ赤血球凝集抑制（HI）抗体価を測定するとともに、システム上に掲げる事項について調査する。本年度の測定抗原は2015/16シーズンのワクチン株である下記の4株とし、市販のHA抗原を使用する。

なお、イのH3については、0.75%モルモット血球を使用する。また、赤血球凝集（HA）試験及びHI試験時には、血球との反応時間を1時間とする。H1及びBについては0.5%ニワトリ血球を使用し、血球との反応時間は45分とする。H1、H3、Bいずれにおいても血球との反応はNA活性を抑制するため4℃で行う。

抗体価の測定に際し、いずれの測定抗原についても市販のHI抗血清を標準血清として用い、必ず検証し、検体の結果とともに標準血清の結果についても報告する。なお、抗体価の測定に関する詳細は、感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）の「第二章 インフルエンザ」に準じる。

ア A/California(カリフォルニア)/7/2009 (H1N1)pdm09

イ A/Switzerland(スイス)/9715293/2013 (H3N2)

ウ B/Phuket(プーケット)/3073/2013 (山形系統)

エ B/Texas(テキサス)/2/2013 (ビクトリア系統)

(4) 検査成績等の報告

検査成績等の報告については、インフルエンザウイルスの抗体保有状況を本格的な流行開始前に明らかにするために、それまでに得られた測定結果を検体番号、年齢及び性別とともに、速報用として10月31日（土）までに「感染症サーベイランスシステム：NESID」により所定の事項を登録するか、エクセルファイル形式にて感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する（電子メールにファイル添付ある

いは CD-R 等の電子媒体の送付とする。送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領 4 頁を参照)。また、全ての検査成績判明後、12 月末日までに「感染症サーベイランスシステム：NESID」により所定の事項を登録する。

2 新型インフルエンザウイルスの出現監視を目的とした感染源調査

(1) 調査時期、回数、調査客体（ブタ）及び地区の選定

ア 調査時期及び回数

目安として通年（6 月～翌年 3 月の 10 か月間、各月 10 頭ずつ計 100 頭）、夏のみ（6 月～10 月の 5 か月間、各月 20 頭ずつ計 100 頭）、冬のみ（11 月～翌年 3 月の 5 か月間、各月 20 頭ずつ計 100 頭）とするが、特に指定はしない。ただし、ヒト由来検体とブタ由来検体を完全に分けて実施できる場合は、可能な限り通年あるいは冬の実施をお願いしたい。

イ 客体の選定

ブタの種別、性別及び月齢は問わないが、客体は県産であることとし、当該ブタの遡り追跡調査が可能な方法で選定する。

(2) 調査事項

資料 2 に示したように、客体から鼻腔ぬぐい液あるいは気管ぬぐい液を採取し、インフルエンザウイルスの分離を行い、分離し得た場合はウイルスの同定を行うとともに、調査票（様式 3）に掲げる事項について調査する。なお、ウイルスの分離・同定に関する詳細は、資料 3 のフローチャートを参考に感染症流行予測調査事業検査術式（平成 14 年 6 月）の「第二章 インフルエンザ」に準じる。なお、検体採取から検査まで 72 時間以上必要な場合は、検体を -70°C 以下に適切に保存する。

ア ウイルス分離

鼻腔ぬぐい液あるいは気管ぬぐい液を遠心（ $\times 1,500\text{g}$ 、10 分間）し、上清を MDCK 細胞に接種する。細胞変性効果が出現したところで培地を採取する。7 日目になったら、細胞変性効果出現の有無にかかわらず培地を採取し、細胞変性効果が認められなかった場合には盲継代を 1 回行う。盲継代後、細胞変性効果が認められなかった検体は廃棄しても差し支えない。

イ HA 活性の測定

細胞変性効果が認められた培地の HA 活性は七面鳥赤血球を用いて測定し、HA 活性が陽性の場合には HI 試験によるウイルス亜型の同定（下記ウ）を行い、HA 活性が陰性の場合には迅速診断キットによるインフルエンザウイルスの確認（下記エ）を行う。

ウ HI 試験によるウイルス亜型の同定

- (i) マイクロタイター法を用いる。
- (ii) 0.5%七面鳥赤血球を用いる。

(iii) HI 試験に使用する抗血清は下記の 4 種類である。

抗 A/California(カリフォルニア)/7/2009 (H1N1)pdm09 血清

抗 A/swine/Saitama(埼玉)/27/2003 (H1N2)血清

抗 A/duck/Ukraine(ウクライナ)/1/63 (H3N8)血清

抗 A/New York(ニューヨーク)/39/2012 (H3N2)血清

※抗血清のうち、「H1N2 抗血清」及び「H3N8 抗血清」については、本調査に新規に参加する機関に感染研インフルエンザウイルス研究センター第二室から配布する（7 月下旬～8 月上旬予定）。「H1N1pdm09 及び H3N2 抗血清」については、市販の HI 抗血清を標準血清として使用する。

エ 迅速診断キットによるインフルエンザウイルスの確認

細胞変性効果は認められたが、HA 活性が陰性であった検体については、市販のインフルエンザウイルス迅速診断キットを用いて A 型若しくは B 型インフルエンザウイルスであることを確認する。

※採取した検体については、結果が陽性となった場合を鑑み、農水部局等とも連携し、できるだけ速やかな検査をお願いしたい。

(3) 検体（分離株）の取扱い

ア インフルエンザウイルスが分離された場合（HA 活性が陽性的場合及び HA 活性が陰性で迅速診断キットが陽性的場合）は、速やかに感染研感染症疫学センター第三室に報告するとともに、平成 12 年 5 月 8 日付け健医感発第 43 号「ウイルス行政検査について」（※平成 21 年 12 月 18 日付健感発 1218 第 2 号により一部改正）に従って、ウイルス行政検査依頼書（宛先は国立感染症研究所長）を感染研総務部業務管理課検定係宛てに、また、分離株に関しては感染研インフルエンザウイルス研究センター第二室宛てに着払いで送付する。特に、H1、H3 亜型以外の亜型等、特別な対応が必要となる可能性がある場合には、検査の途中でも速やかに状況を一報されたい。なお、送付に際し事前に感染研インフルエンザウイルス研究センター第二室に連絡し、送付の日程等について相談する（送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領 4 頁を参照）。

イ なお、細胞変性効果は認められたが、HA 活性が陰性で迅速診断キットも陰性であった場合は、分離株を送付する必要はないが、感染研インフルエンザウイルス研究センター第二室に連絡し、その後の対応について相談する（連絡先電話番号等は本実施要領 4 頁を参照）。

(4) 検査成績等の報告

調査票（様式 3）に所定の事項を記入し、結果票（様式 4）により集計する。検

査成績等の報告については、インフルエンザウイルスが分離された場合、細胞変性効果は認められたが、HA 活性が陰性で迅速診断キットも陰性であった場合等、いずれの場合においても検査成績判明後、速やかに調査票（様式3）及び結果票（様式4）を感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する（原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R 等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない。送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領4頁を参照）。

なお、調査票（様式3）及び結果票（様式4）の電子ファイル（エクセル形式）は、感染研感染症疫学センター第三室から各都道府県の感染症流行予測調査担当者宛てに電子メールにて配布する。

資料2 インフルエンザウイルス分離のための検体の採取

1. ブタからのウイルス分離には、と畜場において採取されたブタの鼻腔ぬぐい液あるいは気管ぬぐい液を用いる。
2. 用意するもの及び手技の実際は下記のとおりである。

(参考文献：WHO/CDS/CSR/NCS/2002.5-WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance.

<http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/en/whocdscsrnscs20025rev.pdf>)

(1) 輸送用培地

スクリーキャップ付きのチューブ（中短試）に1～2 ml の下記輸送培地を入れる。

使用前の輸送培地は、-20℃保存する。（1～2 日以内に使用する場合は、4℃保存も可）

試薬	最終濃度
Medium 199	—
ペニシリン	200 単位/ml
ストレプトマイシン	200 µg/ml
ゲンタマイシン	100 µg/ml
アンフォテリシン B	5 µg/ml
BSA	0.5%

(2) 検体の採取法（検体の採取は、2）又は3）いずれか実施しやすい方を用いる）

1) 綿棒

鼻腔ぬぐい液を採取する場合、奥まで届くように長い柄で、かつよくしなる素材のものを用意するとよい。

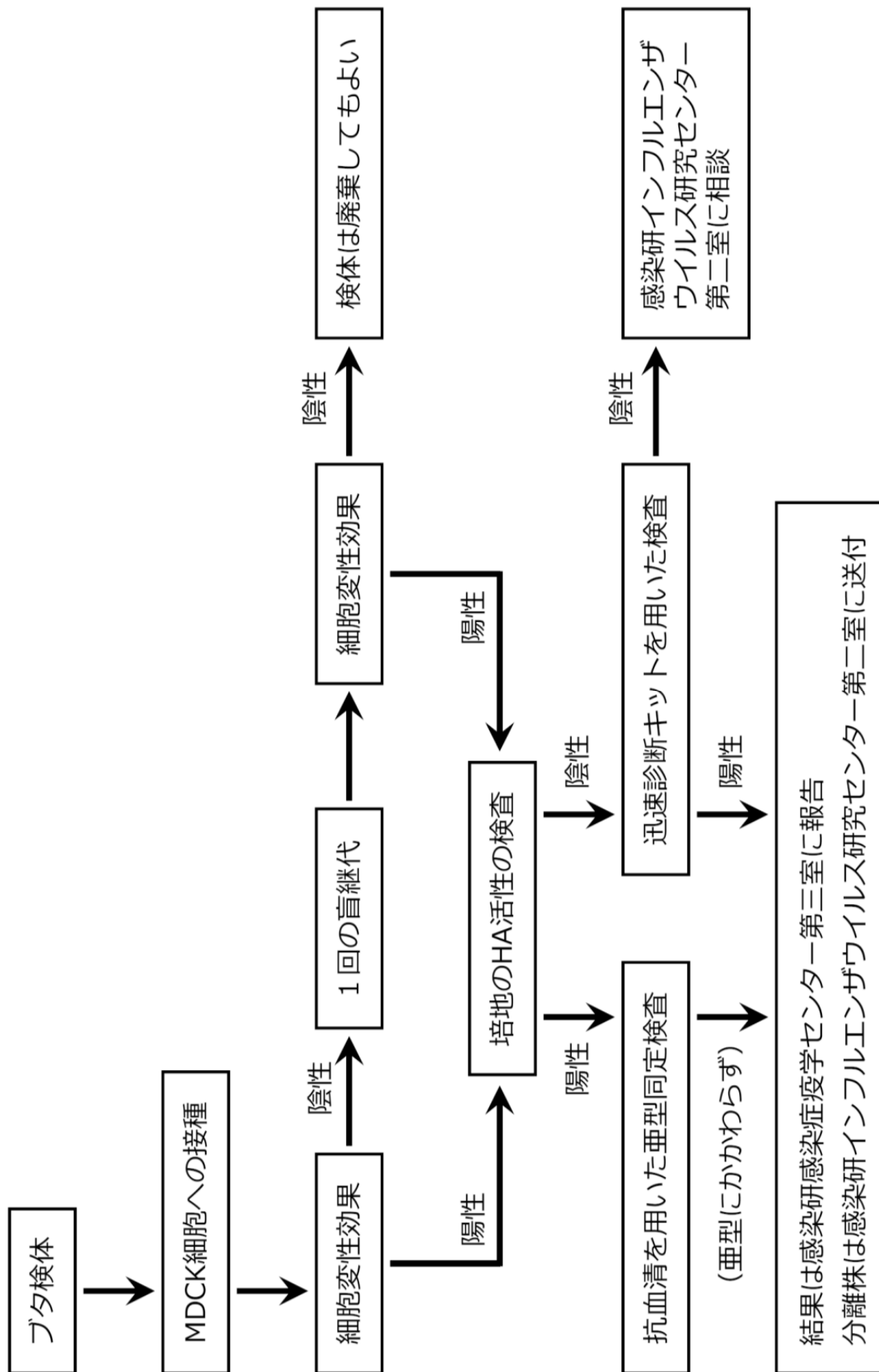
- 2) 鼻腔ぬぐい液を採取する場合、綿棒を 15～20 センチほど鼻孔から差し込み、数秒おいてから綿棒を引き抜く。綿の部分をチューブ（中短試）の液体に付け、激しくリンスして、管壁で綿の部分をしばって綿棒は捨てる、あるいは棒を折り綿棒の先を中短試の液に差し込んだままにする。

- 3) 切断した頭部あるいは胴体から気管ぬぐい液を採取する場合、切断面の血液が付着しないよう注意して綿棒で気管をぬぐい、検体を採取する。綿の部分をチューブ（中短試）の液体に付け、激しくリンスして、管壁で綿の部分をしばって綿棒は捨てる、あるいは棒を折り綿棒の先を中短試の液に差し込んだままにする。

(3) と畜場から地研への検体の輸送法

全ての検体について、72 時間以内に検体を輸送することが可能な場合には、検体採取後直ちに冷蔵庫に保存し、4℃（保冷剤）で輸送する。72 時間以内に輸送することが不可能な場合は、検体採取後直ちに施設内で-70℃以下の冷凍庫に保存し、冷凍（ドライアイス）にて輸送する。なお、ドライアイスは密閉した容器に入れない。

資料3 インフルエンザウイルス分離のためのフローチャート



第4 日本脳炎

1 感受性調査

(1) 調査時期

原則として7月から9月。

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県につき1地区を選定し、0～4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～29歳、30～39歳、40～49歳、50～59歳、60歳以上の9年齢区分を設け、各年齢区分から原則22名ずつ、計198名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採血し、血清中の日本脳炎ウイルス中和抗体価を測定するとともに、システム上に掲げる事項について調査する。抗体価の測定に際しては、感染研ウイルス第一部第二室から配布する標準血清を用い、必ず検証する。なお、抗体価の測定に関する詳細は、感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）の「第三章 日本脳炎」あるいは「PAP法を応用したフォーカス計数法による日本脳炎中和抗体価測定法研修会（平成18年11月実施）の資料」に準じる。

(4) 検査成績等の報告

検査成績等の報告については、検査成績判明後、12月末日までに「感染症サーベイランスシステム：NESID」により所定の事項を登録する。

2 感染源調査

(1) 調査時期、回数、調査客体（ブタ）及び地区の選定

ア 沖縄県は、5月上・中・下旬、6月上・中・下旬、7月上・中・下旬、8月上旬の10回、なるべく県産のブタが集まると畜場1箇所を選定し、各旬10頭ずつ、計100頭を客体とする。

イ 北海道及び東北地方の各県は、7月下旬、8月上・中・下旬、9月の上・中・下旬の7回、なるべく県産のブタが集まると畜場1箇所を選定し、各旬10頭ずつ、計70頭を客体とする。

ウ 沖縄県以外の近畿地方以西の各府県は、7月上・中・下旬、8月上・中・下旬、9月上・中旬の8回、なるべく県産のブタが集まると畜場1箇所を選定し、各旬10頭ずつ、計80頭を客体とする。

エ 上記以外の各都県は、7月中・下旬、8月上・中・下旬、9月上・中・下旬の8回、なるべく県産のブタが集まると畜場1箇所を選定し、各旬10頭ずつ、計80頭を客体とする。

オ 客体の選定に当たり、ブタの種別、性別は問わないが、生後 5～8 か月のものを対象とする。

(2) 調査事項

客体（ブタ）から採血し、血清中の日本脳炎赤血球凝集抑制抗体価（HI 抗体価）を測定するとともに、調査票（様式 5）に掲げる事項について調査する。また、北海道、東北地方の各県においては、1:10 以上の HI 抗体価を示す検体について、それ以外の全ての都府県においては、1:40 以上の HI 抗体価を示す検体について、2-ME（2-Mercaptoethanol）感受性抗体の測定を行う。なお、2-ME 処理を行った血清の HI 抗体価が未処理の血清（対照）の HI 抗体価と比較して 8 倍（3 管）以上低かった場合を 2-ME 感受性抗体陽性、4 倍（2 管）低かった場合を疑陽性、不変又は 2 倍（1 管）低かった場合を陰性と判定する。また、対照の HI 抗体価が 1:40（北海道、東北地方の各県は 1:10 あるいは 1:20 も含む）で、2-ME 処理を行った血清が 1:10 未満であった場合も 2-ME 感受性抗体陽性と判定する。なお、抗体価の測定及び 2-ME 感受性抗体の測定に関する詳細は、感染症流行予測調査事業検査術式（平成 14 年 6 月）の「第三章 日本脳炎」に準じる。

(3) 検査成績等の報告

調査票（様式 5）に所定の事項を記入し、結果票（様式 6）により集計する。検査成績等の報告については、当該夏期シーズンにおける日本脳炎ウイルスの蔓延状況を明らかにするために、検査成績判明後、その結果を直ちに当該都道府県衛生部に報告するとともに、速報用として調査票（様式 5）及び結果票（様式 6）を速やかに感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する（原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R 等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない。送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領 4 頁を参照）。

なお、調査票（様式 5）及び結果票（様式 6）の電子ファイル（エクセル形式）は、感染研感染症疫学センター第三室から各都道府県の感染症流行予測調査担当者宛てに電子メールにて配布する。

また、「感染症サーベイランスシステム：NESID」を用いた報告も可能であり、報告方法等で不明なことがある場合は、感染研感染症疫学センター第三室に連絡する。

3 確認患者調査

日本脳炎患者の確定診断については、平成 11 年 3 月 30 日付け健医感発第 46 号「感染症法に基づく医師から都道府県知事等への届出のための基準について」により示されているところであるが、確認された患者については、可能な限り予防接種歴、予後等を調査し、日本脳炎確認患者調査情報（様式 7）に記入の上、感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する（原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R 等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない。送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領 4 頁を参照）。

なお、日本脳炎確認患者調査情報（様式7）の電子ファイル（エクセル形式）は、感染研感染症疫学センター第三室から各都道府県の感染症流行予測調査担当者宛てに電子メールにて配布する。

第5 風しん

1 感受性調査

(1) 調査時期

原則として7月から9月。

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県につき1地区を選定し、0～3歳、4～9歳、10～14歳、15～19歳、20～24歳、25～29歳、30～34歳、35～39歳、40歳以上の9年齢区分を設け、各年齢区分から男女原則18名ずつ、計324名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採血し、血清中の風疹赤血球凝集抑制抗体価（HI抗体価）を測定するとともに、システム上に掲げる事項について調査する。本年度から初回の試験実施前に、感染研ウイルス第三部第二室から配布される複数の精度管理用血清を用いて、定められた範囲の抗体価で測定できることの確認を行う。また、試験検体の抗体価の測定に際しては、感染研ウイルス第三部第二室から配布される標準血清（陽性対照、陰性対照 各1）を同時に測定し、定められた範囲の抗体価であることの確認を試験ごとに行う。

なお、抗体価の測定に関する詳細は、感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）の「第四章 風疹」に準じる。

(4) 検査成績等の報告

検査成績等の報告については、検査成績判明後、12月末日までに「感染症サーベイランスシステム：NESID」により所定の事項を登録する。

第6 麻疹

1 感受性調査

(1) 調査時期

原則として7月から9月。

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県につき1地区を選定し、0～1歳、2～3歳、4～9歳、10～14歳、15～19歳、20～24歳、25～29歳、30～39歳、40歳以上の9年齢区分を設け、各年齢区分から原則22名ずつ、計198名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採血し、市販のキットを用いて血清中の麻疹ゼラチン粒子凝集抗体価（PA抗体価）を測定するとともに、システム上に掲げる事項について調査する。抗体価の測定に際しては、キットに添付されている対照用陽性血清を用い、必ず検証する。なお、抗体価の測定に関する詳細は、感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）の「第五章 麻疹」あるいは「キットの添付文書」に準じる。

(4) 検査成績等の報告

検査成績等の報告については、検査成績判明後、12月末日までに「感染症サーベイランスシステム：NESID」により所定の事項を登録する。

第7 ヒトパピローマウイルス感染症

1 感受性調査

(1) 調査時期

原則として7月から9月。

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県につき1地区を選定し、20～24歳、25～29歳、30～34歳、35～39歳、40～44歳、45～49歳、50～59歳、60歳以上の8年齢区分を設け、各年齢区分から男女原則10名ずつ、計160名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採血し、血清中のヒトパピローマウイルス16型（HPV16）に対する抗体価を測定するとともに、システム上に掲げる事項について調査する。抗体価の測定は、感染研で作成したHPV16様粒子を用いたELISA法により行う。なお、抗体価の測定に関する詳細は、別添資料1の「ヒトパピローマウイルス感受性調査検査術式」に準じる。

(4) 検査成績等の報告

検査成績等の報告については、検査成績判明後、12月末日までに「感染症サーベイランスシステム：NESID」により所定の事項を登録する。

第8 水痘

1 感受性調査

(1) 調査時期

原則として7月から9月。

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県につき1地区を選定し、0～1歳、2～3歳、4～9歳、10～14歳、15～19歳、20～24歳、25～29歳、30～39歳、40歳以上の9年齢区分を設け、各年齢区分から原則22名ずつ、計198名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採血し、市販のキットを用いて血清中の水痘IgG抗体価（EIA抗体価）を測定するとともに、システム上に掲げる事項について調査する。抗体価の測定に際しては、市販のコントロール血清（キットと別売）を用い、必ず検証する。なお、抗体価の測定に関する詳細は、キットの添付文書に準じる。

(4) 検査成績等の報告

検査成績等の報告については、検査成績判明後、12月末日までに「感染症サーベイランスシステム：NESID」により所定の事項を登録する。

第9 B型肝炎

1 感受性調査

(1) 調査時期

原則として7月から9月。

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県につき1地区を選定し、0～4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～29歳、30～39歳、40～49歳、50～59歳、60歳以上の9年齢区分を設け、各年齢区分から原則22名ずつ、計198名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採血し、市販のキットを用いて血清中のB型肝炎ウイルスコア抗体（HBc抗体）、表面抗体（HBs抗体）及び表面抗原（HBs抗原）を検出・測定するとともに、システム上に掲げる事項について調査する。抗体価の測定に際しては、キットに添付されている対照用陽性血清を用い、必ず検証する。なお、抗体価等の測定に関する詳細は、キットの添付文書に準じる。

(4) 検体（血清）の取扱い

HBs抗原あるいはHBc抗体が検出された場合は、感染研感染症疫学センター第三室に連絡する。また、平成12年5月8日付け健医感発第43号「ウイルス行政検査について」（平成21年12月18日付け健感発1218第2号により一部改正）に従って、ウイルス行政検査依頼書（宛先は国立感染症研究所長）を感染研総務部業務管理課検定係宛てに、また、検体（血清）に関しては感染研ウイルス第二部第五室宛てに送付する。なお、送付に際し事前に感染研ウイルス第二部第五室に連絡し、送付の日程等について相談する（送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領4頁を参照）。

(5) 検査成績等の報告

検査成績等の報告については、検査成績判明後、12月末日までに「感染症サーベイランスシステム：NESID」により所定の事項を登録する。

第10 インフルエンザ菌感染症

1 感染源調査

(1) 調査時期

当該年度内

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県で、侵襲性インフルエンザ菌感染症と診断された患者計20名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採取された血液あるいは髄液から、インフルエンザ菌の分離を行い、分離し得た場合は莢膜型の同定を行うとともに、調査票（様式8）に掲げる事項について調査する。なお、インフルエンザ菌の分離・同定に関する詳細は、別添資料2の「インフルエンザ菌感染源調査検査術式」に準じる。

(4) 検体（分離株）の取扱い

インフルエンザ菌が分離され、莢膜型が同定された場合は、感染研感染症疫学センター第三室に連絡するとともに、分離菌株に関しては、感染研細菌第二部第二室宛てに送付する。なお、送付に際し事前に感染研細菌第二部第二室に連絡し、送付の日程等について相談する（送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領4頁を参照）。

(5) 検査成績等の報告

調査票（様式8）に所定の事項を記入する。検査成績等の報告については、検査成績判明後、速やかに調査票（様式8）を感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する（原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない。また、調査票（様式8）は氏名記載欄は設けておらず、イニシャルについても記載の必要はない。送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領4頁を参照）。

なお、調査票（様式8）の電子ファイル（エクセル形式）は、感染研感染症疫学センター第三室から各都道府県の感染症流行予測調査担当者宛てに電子メールにて配布する。

第 1 1 肺炎球菌感染症

1 感染源調査

(1) 調査時期

当該年度内

(2) 調査客体（被験者）及び地区の選定

当該都道府県で、侵襲性肺炎球菌感染症と診断された患者計 50 名を選定する。

(3) 調査事項

客体（被験者）から採取された血液あるいは髄液から、肺炎球菌の分離を行い、分離し得た場合は血清型の同定を行うとともに、調査票（様式 9）に掲げる事項について調査する。なお、肺炎球菌の分離・同定に関する詳細は、別添資料 3 の「肺炎球菌感染源調査検査術式」に準じる。

(4) 検体（分離株）の取扱い

肺炎球菌が分離され、血清型が同定された場合は、感染研感染症疫学センター第三室に連絡するとともに、分離菌株に関しては、感染研細菌第一部第三室宛てに送付する。なお、送付に際し事前に感染研細菌第一部第三室に連絡し、送付の日程等について相談する（送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領 4 頁を参照）。

(5) 検査成績等の報告

調査票（様式 9）に所定の事項を記入し、結果票（様式 10）により集計する。検査成績等の報告については、検査成績判明後、速やかに調査票（様式 9）及び結果票（様式 10）を感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する（原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R 等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない。また、調査票（様式 9）に氏名記載欄は設けておらず、イニシャルについても記載の必要はない。送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領 4 頁を参照）。

なお、調査票（様式 9）及び結果票（様式 10）の電子ファイル（エクセル形式）は、感染研感染症疫学センター第三室から各都道府県の感染症流行予測調査担当者宛てに電子メールにて配布する。

第12 血清取扱要領

1 血清の採取

被験者から血液を無菌的に採取し、血清を分離する。なお、本調査のため被験者から血液を採取する場合は、参考資料1、参考資料5等を参考にし、本調査の趣旨及びプライバシーの保護について適切な予防措置が行われることを十分に説明した上、文書による同意が得られた者についてのみ行う。また、国内血清銀行に提供する血清は、参考資料2等を参考にし、国内血清銀行の趣旨及びプライバシーの保護について適切な予防措置が行われることを十分に説明した上、文書による同意が得られた血清のみとする。国内血清銀行に提供された血清については、個人が特定できないよう管理・保管され、将来、新たに見つかった病原体あるいは測定方法が開発された疾患等に対する抗体測定、公衆衛生上重要な疾患の免疫保有状況の調査等に利用されるものとする。

2 血清中の抗体価測定

それぞれの疾病ごとに指定された検査項目について実施するが、検査術式については、できるだけマイクロタイター法（微量測定法）によることが望ましい。

3 検査結果の登録

感染症流行予測調査により収集した血清についての情報は、検査結果を含む所定の事項を「感染症サーベイランスシステム：NESID」により登録する。なお、当該血清について、調査疾病以外の疾病について検査を実施した場合は、その結果についても可能な限り登録をお願いしたい。

4 血清の保存及び送付方法

(1) 感染症流行予測調査によって収集した血清は、国内血清銀行に提供するため、検査終了後、速やかに感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する。なお、送付については、参考資料2等により、国内血清銀行への保管に同意が得られた血清のみとする。

(2) 血清量

乳幼児、小児の血清については量を問わず極力送付する。これ以外の者の血清については、1.0ml以上が望ましい。

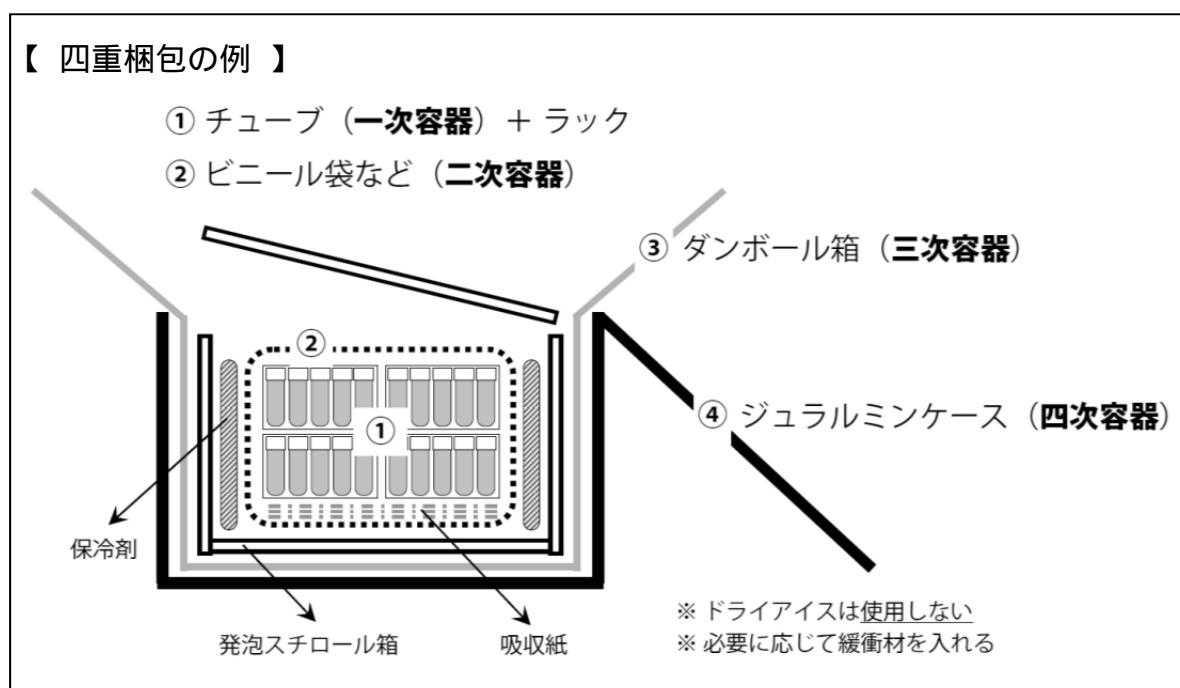
(3) 検体番号記入方法

送付する血清の検体番号の記入については、アルコールや凍結融解により消えない油性インクを用いてチューブに直接明記する。チューブの周りをビニールテープ等で覆う必要はない。

(4) ゆうパックで送付の場合は、以下の四重梱包とする。

ア 検査後の残余血清は、感染研感染症疫学センター第三室から配布するポリプロ

- ピレン製スクリーキャップチューブ（一次容器）に入れ、凍結する。
- イ 輸送中の衝撃による破損を防ぐため、チューブラックに入れる等、各チューブが接触しないようにする。
- ウ 内容物を十分に吸収できる紙・布等とともに耐漏性の二次容器に入れ、密閉する。
- エ 保冷のため、保冷剤とともに発泡スチロール箱に入れる（※ドライアイスは用いない）。
- オ ダンボール箱等の外装容器（三次容器）に入れる。血清送付票（様式11）は二次容器と三次容器の間に入れる。
- カ さらにジュラルミン製の箱（四次容器：オーバーパック）に入れる。



(5) 送付先及び着払いについて

血清は、感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する。送付の日程等については事前に感染研感染症疫学センター第三室に相談する（送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領4頁を参照）。

送付は、ゆうパックによる感染研着払いが可能である。送付の際、発送伝票控えの写しを感染研戸山庁舎総務部総務課庶務係宛てに FAX する（FAX 番号は本実施要領4頁を参照）。

(6) 血清送付票及び血清検体一覧表

血清の送付に際し、都道府県名、採血時期等の概略を記入した血清送付票（様式11）は、血清の送付時に同封する。また、血清検体一覧表（様式12）は、検体番号、採血年月、年齢、性別等を記入し、感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する（電子メールにファイル添付あるいは CD-R 等の電子媒体の送付とする。送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領4頁を参照）。

なお、血清送付票（様式 1 1）及び血清検体一覧表（様式 1 2）の電子ファイル（エクセル形式）は、感染研感染症疫学センター第三室から各都道府県の感染症流行予測調査担当者宛てに電子メールにて配布する。

（7）感染症流行予測調査以外で採取した血清の送付依頼

健康診断の際に採取した血清、患者血清等、感染症流行予測調査以外で採取した血清についても、可能であれば国内血清銀行に提供願いたい。その場合においても、被験者から血液を採取する場合は、参考資料 2 等を参考にし、国内血清銀行の趣旨及びプライバシーの保護について適切な予防措置が行われることを十分に説明した上、文書による同意が得られた者についてのみ行う。また、国内血清銀行への保管に同意が得られた血清については、個人が特定できないよう管理・保管され、将来、新たに見つかった病原体あるいは測定方法が開発された疾患等に対する抗体測定、公衆衛生上重要な疾患の免疫保有状況の調査等に利用するものとする。

この場合においても、血清の送付に際しては、都道府県名、採血時期等の概略を記入した血清送付票（様式 1 1）は、血清の送付時に同封する。また、血清検体一覧表（様式 1 2）は、検体番号、採血年月、年齢、性別等を記入し、感染研感染症疫学センター第三室宛てに送付する（電子メールにファイル添付あるいは CD-R 等電子媒体の送付とする。送付先の住所、連絡先電話番号等は本実施要領 4 頁を参照）。

(様式1)

ポリオ感染源調査票 (分離検体一覧)

都道府県名

関連市町村名

下水処理場名

管轄保健所名

番号	採水日	検査日	ウイルス分離結果 (+ or -)	分離ウイルス	備考
例) 2014001	2014/7/15	2014/7/15	+	エコー7型	

当該地域の情報

関連市町村名	人口(千人)							総人口 (千人)	下水普及率
	0歳	1歳	2歳	3歳	4歳	5歳	6歳		
例) 村	13.8	14.0	14.2	15.0	15.1	14.9	15.3	201.5	95.6%
計	0	0	0	0	0	0	0	0	

特記事項

--

注1) 行が足りない場合は行を追加(挿入)して1つのシートに入力するようにしてください(シートを分けない)
注2) 本票は原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない

(様式2)

ポリオ感染源調査結果票（採取月別・ウイルス別 集計結果）

都道府県名
下水処理場名

関連市町村名
管轄保健所名

採取月	検体数	分離陽性				分離陰性	
		ポリオウイルス			非ポリオウイルス		
		1型	2型	3型			ポリオ混合
例)7月	6	0	0	0	0	2	4
計	0	0	0	0	0	0	0

特記事項

注) 本票は原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない

(様式3)

インフルエンザ感染源調査票(分離検体一覧)

都道府県名 _____
 七 畜場名 _____

検査豚番号	検査豚月齢	出生地	飼育地	飼育地への導入時月齢	採取日	検査日	ウイルス分離結果(+ or -)	HA活性(+ or -)	分離ウイルス亜型	迅速診断キット(+ or -)	備考
例) 14001	6			3	2014/9/30	2014/9/30	+	+	H1N3亜型以外	+	感染研に分離株送付

特記事項 _____

注1) 行が足りない場合は行を追加(挿入)して1つのシートに入力するようにしてください(シートを分けない)
 注2) 本票は原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない

(様式4)

インフルエンザ感染源調査結果票（採取月別・HA活性別・亜型別 集計結果）

都道府県名

と畜場名

採取月	検体数	細胞変性効果陽性					細胞変性効果陰性
		HA活性あり		HA活性なし			
		H1型	H3型	H1型, H3型以外	迅速診断キット陽性	迅速診断キット陰性	
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
1							
2							
3							
計	0	0	0	0	0	0	0

特記事項

注) 本票は原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない

日本脳炎感染源調査票(ブタ検体一覧)

都道府県名
と 畜場名

検査豚番号	検査豚月齢	出生地	飼育地	飼育地への導入時月齢	採血日	検査日	HI抗体価 JaGAR 01	2-ME 感受性 (+ or -)	備考
(例)14001	6			3	2014/7/15	2014/7/17	160	+	

特記事項

は必須項目ではありませんので、可能であれば記入をお願いいたします
 注1) 行が足りない場合は行を追加(挿入)して1つのシートに入力するようにしてください(シートを分けない)
 注2) 本票は原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない

(様式6)

日本脳炎感染源調査結果票 (採血日別・抗体価別 集計結果)

都道府県名

衛生研究所名

(1) HI抗体保有率

と畜場名	採血日	検査頭数	HI抗体価								HI抗体保有率
			< 10	10	20	40	80	160	320	640	
例)	2014/7/15	10	5	3	1	0	0	0	1	0	50 %
											##### %
											##### %
											##### %
											##### %
											##### %
											##### %
											##### %
											##### %

(2) 2-ME感受性抗体保有率

と畜場名	採血日	ブタ番号	HI抗体価		2-ME ¹ 感受性抗体	2-ME感受性抗体保有率 ²
			対照	2-ME処理		
例)	2014/7/15	1	320	10	+	/ (%)
						2-ME感受性抗体陽性頭数 / 2-ME感受性抗体検査頭数 = / (##### %)

特記事項

1 2-ME感受性抗体は、HI抗体価1:40以上(北海道、東北地方の各県は1:10以上)であった検体について検査する
 2-ME処理を行った血清のHI抗体価が未処理の血清(対照)と比較して、8倍(3管)以上低かった場合を陽性(+),
 4倍(2管)低かった場合を疑陽性(±), 不変または2倍(1管)低かった場合を陰性(-)と判定する
 なお、対照のHI抗体価が1:40(北海道、東北地方の各県は1:10あるいは1:20も含む)で、2-ME処理を行った血清が
 1:10未満であった場合は陽性と判定する

2 A:2-ME感受性抗体陽性検体数 / B:2-ME検査検体数

注) 本票は原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない

(様式7)

日本脳炎確認患者調査情報

番号	都道府県名	年齢	月齢	性別	発病年月日	検体採取日	診断結果	診断根拠	予後	予防接種歴

特記事項

--

診断根拠については、血清学的検査(赤血球凝集抑制試験、中和試験など)、ウイルス学的検査(分離、核酸検出など)、病理学的検査の別について採血日順に記載してください

(様式8)

インフルエンザ菌感染源調査票（分離検体一覧）

都道府県名 _____

番号	年齢	性別	診断名	最近のHibワクチン接種歴（接種日）				検体採取日	検体の種類	検査日	分離結果 (+ or -)	莢膜型	備考
				1回目	2回目	3回目	4回目						
例)14001	0	1	髄膜炎	2014/6/1	無	無	無	2014/7/1	髄液	2014/7/1	+	b型	

特記事項

- 1 男性 1 / 女性 2
- 注1) 行が足りない場合は行を追加(挿入)して1つのシートに入力するようにしてください(シートを分けない)
- 注2) 本票は原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない

肺炎球菌感染源調査票 (分離検体一覧)

都道府県名

番号	年齢	1歳未満 月 年齢	性別	診断名	最近の肺炎球菌ワクチンの種類	最近の肺炎球菌ワクチン接種歴(接種日)				検体の種類	検査日	分離結果 (+ or -)	血清型	備考	
						1回目	2回目	3回目	4回目						
例)14001	0	3	2	敗血症	PCV13	2014/6/1	無	無	無	無	2014/7/1	+	11A		

特記事項

- 1 男性 1 / 女性 2
- 注1) 行が足りない場合は行を追加(挿入)して1つのシートに入力するようにしてください(シートを分け不要)
- 注2) 本票は原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない

肺炎球菌感染源調査結果票（年齢/月齢別・血清型別 集計結果）

都道府県名 _____

年齢 月齢	7価結合型ワクチン含有血清型																							ワクチン非含有血清型					計
	13価結合型ワクチン含有血清型																												
	23価多糖体ワクチン含有血清型 (6Aを除く)																												
	4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	3	5	6A	7F	19A	2	8	9N	10A	11A	12F	15B	17F	20	22F	33F					
0～5か月																										0			
6～11か月																										0			
1～4歳																										0			
5～9歳																										0			
10～19歳																										0			
20～29歳																										0			
30～39歳																										0			
40～49歳																										0			
50～59歳																										0			
60～69歳																										0			
70～79歳																										0			
80～89歳																										0			
90歳以上																										0			
計	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			

特記事項 _____

注) 本票は原則として電子メールにファイル添付とするが、CD-R等の電子媒体あるいは印刷物の送付でも差し支えない

(様式11)

血清送付票

都道府県名

機関名

採血年月

年 月 ~ 年 月

血清検体数

検 体

年 齡

歳 ~ 歳

注) 本票は血清送付の際に同封してください

(様式12)

血 清 検 体 一 覧 表

都道府県名 _____

血清検体番号		採血年月		年 齢	1歳未満 月 齢	性 別 ^{※2}	血清量 (ml)	備 考
管理番号 ^{※1}	番 号	年	月					
例1	0001	2014	7	20		1	1.0	
例2	0002	2014	9	0	8	2	0.6	

※1 記入しないでください

※2 男性1/女性2

注1) 行が足りない場合は行を追加(挿入)して1つのシートに入力するようにしてください(シートを分けない)

注2) 本票は必ず電子ファイル(電子メールにファイル添付あるいはCD-R等の電子媒体)で送付してください

(参考資料1)

『感染症流行予測調査事業』への協力のお願ひ(案)

1. はじめに

感染症流行予測調査事業では、ワクチンで予防ができる病気に対して免疫を持っているかどうかを地域別や年齢別など、いろいろな面から比較・検討しています。これらの結果は、その他のいろいろな情報と併せて検討することにより、長期的視野で病気の流行を予測でき、また、日本の予防接種政策に反映されています。具体的には、風しんや麻しん(はしか)に対して免疫を持っていない人の数(感受性人口)を推計したり、インフルエンザワクチンの株を選ぶ際の参考資料としたり、予防接種スケジュールを決定するための参考資料となっています。これらはいずれも世界で類を見ない優れた科学的調査法となっています。

2. 調査方法について

【病気に対する免疫の有無を調査】

全国の様々な年齢の健康な方から血液(血清)を頂き、免疫の有無を調べます(抗体価の測定)。今回頂いたあなたの血清では、[ポリオ、インフルエンザ、日本脳炎、風しん、麻しん、ヒトパピローマウイルス感染症、水痘、B型肝炎](○印の付いた病気)について調査を行います。

【予防接種歴、罹患歴を調査】

これまでの予防接種歴やその病気にかかったことがあるかの情報も併せてお伺いすることで、長期的な予防接種の効果を見ることができます。

【インフルエンザ菌及び肺炎球菌の型別を調査】

インフルエンザ菌や肺炎球菌は髄膜炎や肺炎などを起こす原因菌として知られています。この調査では、髄膜炎や肺炎などにかかった患者の血液や髄液などから分離されたインフルエンザ菌及び肺炎球菌について調査(型別)を行います。

3. 調査結果について

調査結果をお知りになりたい場合は、担当者(下記の問い合わせ先を参照)にその旨をお伝えください。また、場合によっては、結果が出るまでに数か月以上かかる場合がありますので御了承ください。

なお、集計・解析された結果は『感染症流行予測調査報告書』として厚生労働省から発行され、今後の予防接種計画の作成や感染症の流行を予測するための資料として利用されています。また、国立感染症研究所のホームページ(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/yosoku-index.html>)にも公開し、広く御覧いただけるようになっています。なお、本調査に御協力いただいた場合でも、個人が特定される情報が発表されることは決してありません。

以上のことを御理解いただき、本事業への協力を御承諾いただけましたら、別紙に御署名をお願いいたします。

問い合わせ先

◎本事業に関するお問い合わせ：

厚生労働省健康局結核感染症課

〒100-8916 東京都千代田区霞が関1-2-2

TEL 03-5253-1111（代）（内線2040）

国立感染症研究所感染症疫学センター第三室

〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1

TEL 03-5285-1111（代）（内線2536、2539、2533）

◎調査結果、地域の状況に関するお問い合わせ：

〇〇県〇〇課（住所、電話番号）

〇〇県衛生研究所〇〇部（住所、電話番号）

(別紙)

『感染症流行予測調査事業』への協力についての同意書

国立感染症研究所長 殿

〇〇県衛生研究所長 殿

私は血液などを『感染症流行予測調査事業』のために提供することについて、口頭及び文書を用いて説明を受け、以下の項目についてその内容を十分に理解しました。

- 1 この同意書で表明した『感染症流行予測調査事業』への協力についての判断は自由意思に基づくものであり、その判断は撤回可能であること。
- 2 提供した血液などの所有権は放棄すること。
- 3 『感染症流行予測調査事業』に提供する血液などが、供与者の年齢、性別、採取県名及び採取年月のデータとともに抗体測定又はウイルスや細菌の分離・同定に利用されること。
- 4 『感染症流行予測調査事業』において個人情報収集されず、提供する血液などは匿名で取り扱われること。
- 5 『感染症流行予測調査事業』への協力の意思を途中で撤回しても、何ら不利益を受けることはないこと。

その上で、感染症流行予測調査事業に協力することに、

- a. 同意します。
- b. 同意しません。(a、bいずれかを選択していただき、○で囲んでください)

平成 年 月 日

自筆署名

保護者署名 (未成年者の場合)

説明者署名又は記名押印

(参考資料2)

『国内血清銀行』への血清の保管のお願い(案)

1. はじめに

国内血清銀行(国内血清バンク)は、日本に住んでいる健康な方から頂いた血清とその情報の一部(採血日、年齢、性別及びお住まいの都道府県)を保管・管理し、様々な研究や調査に使われることにより、我が国における感染症対策、予防接種政策などに役立てることを目的として運営されています。

2. 血清の保管・管理について

血清は長期間保存できるよう、適切な条件(超低温管理)で凍結保存されています。なお、血清は、個人が特定できるような情報(お名前、御住所など)は全て除いた上で保管・管理されているため、血清から個人を特定することはできません。

3. 保管血清の利用について

将来、新たに見つかった病原体あるいは測定方法が開発された疾患等に対する抗体測定、公衆衛生上重要な疾患の免疫保有状況の調査等に利用させていただきます。なお、保管血清の利用により得られた結果については、個人(血清の提供者)を特定することができないことから、個々に結果をお返しすることができませんことを御了承ください。

以上のことを御理解いただき、国内血清銀行への血清の保管に御承諾いただけましたら、別紙に御署名をお願いいたします。

(別紙)

『国内血清銀行』への血清提供に関する同意書

国立感染症研究所長 殿

〇〇県衛生研究所長 殿

私は血清を『国内血清銀行』へ提供することについて、口頭及び文書を用いて説明を受け、以下の項目についてその内容を十分に理解しました。

- 1 この同意書で表明した『国内血清銀行』への血清提供についての判断は自由意思に基づくものであり、その判断は撤回可能であること。
- 2 提供した血清の所有権は放棄すること。
- 3 『国内血清銀行』に提供する血清が、供与者の年齢、性別、採取県名及び採取年月が付随した状態でフリーザー内に保管され、感染症対策、予防接種政策などに役立てるための研究に利用されること。
- 4 『国内血清銀行』において個人情報収集されず、提供する血清は匿名で取り扱われること。
- 5 『国内血清銀行』への協力の意思を途中で撤回しても、何ら不利益を受けることはないこと。

その上で、『国内血清銀行』に血清を提供することに、

- a. 同意します。
- b. 同意しません。(a、bいずれかを選択していただき、○で囲んでください)

平成 年 月 日

自筆署名

保護者署名 (未成年者の場合)

説明者署名又は記名押印

予防接種歴・罹患歴調査票(案)

居住地	都道 府県	市区 町村	記載日 (採血日)	2015 年 月 日
年齢	歳	か月	性別	男・女
			母子健康手帳等による 接種歴・罹患歴の確認	あり・なし

予防接種歴① (これまでに受けたワクチンの種類や回数など) <small>「受けていない」、「受けた」、「分からない」のいずれかに を付けてください。受けた場合は回数に を付け、最後に受けた年月を記入してください。</small>				
4種混合：DPT-IPV <small>(百日せき・ジフテリア・破傷風・不活化ポリオ混合ワクチン)</small>	阪大微生物病 研究会	受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
	化学及血清療法 研究所	受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
	北里第一三共 ワクチン株式会社	受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
	製造所不明	受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
3種混合：DPT <small>(百日せき・ジフテリア・破傷風混合ワクチン)</small>		受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
2種混合：DT <small>(ジフテリア・破傷風混合トキソイド)</small>		受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
破傷風		受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
ジフテリア		受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
DP 現在、日本では使われていません <small>(百日せき・ジフテリア混合ワクチン)</small>		受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
百日せき 現在、日本では使われていません		受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
ポリオ	生ワクチン	受けていない	受けた (1回・2回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
	不活化ワクチン	受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
MR <small>(麻しん・風しん混合ワクチン)</small>		受けていない	受けた (1回・2回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
麻しん：はしか		受けていない	受けた (1回・2回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
風しん		受けていない	受けた (1回・2回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
MMR 現在、日本では使われていません <small>(麻しん・おたふくかぜ・風しん混合ワクチン)</small>		受けていない	受けた (1回・2回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
日本脳炎		受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
Hib 冬季に接種するインフルエンザとは異なります <small>(インフルエンザ菌b型ワクチン)</small>		受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
肺炎球菌	7価結合型	受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
	13価結合型	受けていない	受けた (1回・2回・3回・4回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
	23価多糖体	受けていない	受けた (1回・2回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
HPV <small>(ヒトパピローマウイルスワクチン)</small>	2価	受けていない	受けた (1回・2回・3回・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
	4価	受けていない	受けた (1回・2回・3回・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
水痘：水ぼうそう		受けていない	受けた (1回・2回以上・回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない

⇒ 裏面の記入もお願いいたします。

予防接種歴② (これまでに受けたワクチンの種類や回数など)

「受けていない」、「受けた」、「分からない」のいずれかに を付けてください。受けた場合は回数に を付け、最後に受けた年月を記入してください。

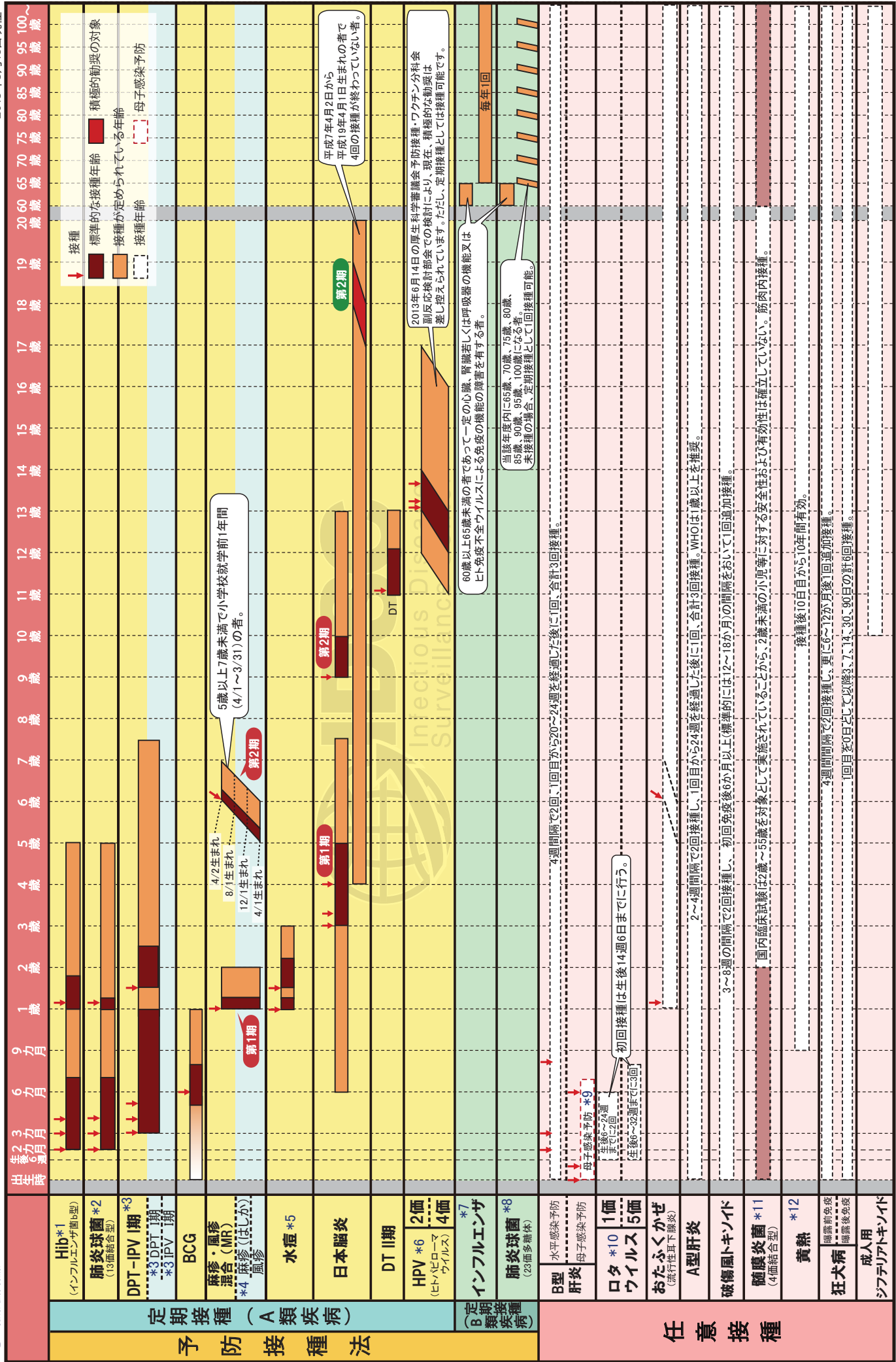
おたふくかぜ	受けていない	受けた (1回 ・ 2回以上 ・ 回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
ロタウイルス	1価	受けた (1回 ・ 2回 ・ 回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
	5価	受けた (1回 ・ 2回 ・ 3回 ・ 回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
B型肝炎	受けていない	受けた (1回 ・ 2回 ・ 3回以上 ・ 回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
髄膜炎菌	受けていない	受けた (1回 ・ 2回 ・ 回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない
インフルエンザは 平成26年10月から平成27年採血日 (2014年10月 ~ 2015年採血日) までの期間の予防接種歴を記入してください。			
インフルエンザ	受けていない	受けた (1回 ・ 2回 ・ 回数不明) 最後に受けたのは (年 月)	分からない

罹患歴 (これまでにかかった病気の種類など)

「かかっていない」、「かかった」、「分からない」のいずれかに を付けてください。かかった場合は年月を記入してください。

百日せき	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
ジフテリア	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
破傷風	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
ポリオ	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
麻しん：はしか	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
風しん	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
日本脳炎	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
インフルエンザ菌感染症	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
肺炎球菌感染症	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
ヒトパピローマウイルス感染症	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
水痘：水ぼうそう	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
おたふくかぜ	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
ロタウイルス感染症	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
B型肝炎	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
髄膜炎菌感染症	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)	分からない
インフルエンザは 平成26年9月から平成27年採血日 (2014年9月 ~ 2015年採血日) までの期間の罹患歴を記入してください。			
インフルエンザ	A型	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)
	B型	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)
	型不明	かかっていない	かかった かかったのは (年 月)

御協力ありがとうございました。



予防接種法に基づく定期の予防接種は、本図に示したように、政令で接種対象年齢が定められています。この年齢以外で接種する場合は、任意接種として受け取ることができます。ただしワクチン毎に定められた接種年齢がありますのでご注意ください。

- *1 2008年12月19日から国内での接種開始。生後2カ月以上5歳未満の間にある者に行うが、標準として生後2カ月以上7カ月未満で接種を開始すること。接種方法は、通常、生後12カ月に至るまでの間に27日以上の間隔で3回皮下接種（医師が必要と認めた場合には20日間隔で接種可能）。接種開始が生後7カ月以上12カ月未満の場合は、通常、生後12カ月に至るまでの間に27日以上の間隔で2回皮下接種（医師が必要と認めた場合には20日間隔で接種可能）。初回接種から7カ月以上あけて、1回皮下接種（追加）。接種開始が1歳以上5歳未満の場合、通常、1回皮下接種。
- *2 2013年11月1日から7価結合型にかわって定期接種に導入。7価を1回受けている人は残り3回を13価で、7価を2回受けている人は残り2回を13価で、7価を3回受けている人は残り1回を13価で受ける。7価を1回も受けていない人は生後2カ月以上7カ月未満で開始し、27日以上の間隔で3回接種。追加免疫は通常、生後12～15カ月に1回接種の合計4回接種。接種もれ者には、次のようなスケジュールで接種。生後7カ月以上12カ月未満の場合：27日以上の間隔で2回接種したのうち、60日間以上あけてかつ1歳以降に1回追加接種。1歳：60日間以上の間隔で2回接種。2歳以上6歳未満：1回接種。なお60月以上は、任意接種。
- *3 D：ジフテリア、P：百日咳、T：破傷風、IPV：不活化ポリオを表す。IPVは2012年9月1日から、DPT-IPV混合ワクチンは2012年11月1日から定期接種に導入。回数は4回接種だが、OPV(生ポリオワクチン)を1回接種している場合は、IPVをあと3回接種。OPVは2012年9月1日以降定期接種としては使用できなくなった。IPVで接種を開始した場合、DPT-IPVで接種を開始した場合は、それぞれ原則として同じワクチンで接種を完了。
- *4 原則としてMRワクチンを接種。なお、同じ期内で麻疹ワクチンまたは風疹ワクチンのいずれか一方を受けた者、あるいは特に単抗原ワクチンの接種を希望する者は単抗原ワクチンを接種。
- *5 2014年10月1日から定期接種導入。
- *6 互換性に関するデータがないため、同一のワクチンを3回続けて筋肉内に接種。接種間隔はワクチンによって異なる。
- *7 6カ月～13歳未満：毎年2回(2～4週間隔)。13歳以上毎年1または2回(1～4週間隔)。定期接種は毎年1回。
- *8 2014年10月1日から定期接種導入。脾臓摘出患者における肺炎球菌感染症予防には健康保険適用有。接種年齢は2歳以上。
- *9 健康保険適用：【HBワクチン】通常、0.25mLを1回、生後12時間以内を目安に皮下接種(被接種者の状況に応じて生後12時間以降とすることも可能。その場合であっても生後できるだけ早期に行う)。更に、0.25mLずつを初回接種の1カ月後及び6カ月後の2回、皮下接種。ただし、能動的HBs抗体が獲得されていない場合には追加接種。【HBIG(原則としてHBワクチンとの併用)】初回注射は0.5～1.0mLを筋肉内注射。時期は生後5日以内(なお、生後12時間以内が望ましい)。また、追加注射には0.16～0.24mL/kgを投与。2013年10月18日から接種時期変更(厚労省課長通知)。
- *10 ロタウイルスワクチンは初回接種を1価で始めた場合は『1価の2回接種』。5価で始めた場合は『5価の3回接種』。1回目の接種は生後14週+6日までに行うことが推奨されている。
- *11 2015年5月18日から国内での接種開始。発作性夜間へモグロビン尿症に用いるエクリズマブ(製品名：ソリリス点滴静注)投与対象者は健康保険適用有。
- *12 一般医療機関での接種は行われておらず、検疫所での接種。

御存知ですか？ 感染症流行予測調査事業

【目的について】

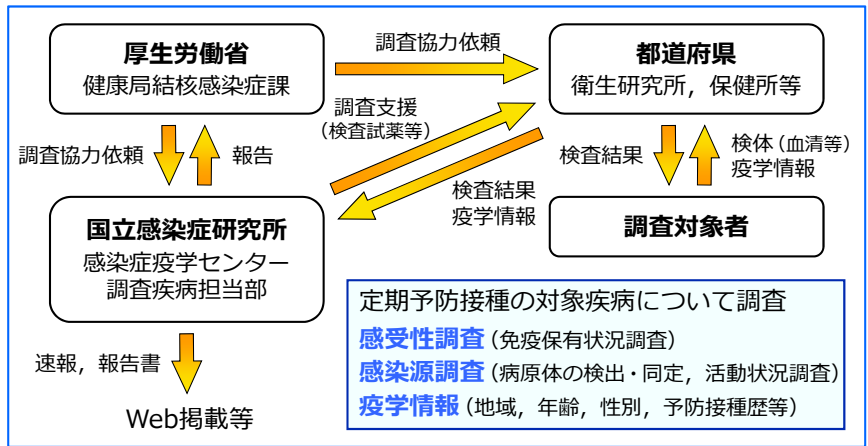
感染症流行予測調査事業では、定期予防接種の対象疾病（ポリオ、インフルエンザ、日本脳炎、風しん、麻しん、ヒトパピローマウイルス感染症、水痘、百日咳、ジフテリア、破傷風、インフルエンザ菌感染症、肺炎球菌感染症）について、我が国の国民がこれらの病気に対する免疫をどれくらい保有しているか（集団免疫の現状把握：感受性調査）、どのような型の病原体が流行しているか（病原体の検索：感染源調査）などの調査を行い、これらの結果と他のいろいろな情報（地域、年齢、性別、予防接種歴など）を併せて検討して、予防接種が効果的に行われていることを確認し、さらに長期的な視野で病気の流行を予測することを目的としています。具体的には、風しんや麻しんに対する免疫を持っていない人の数の推計、インフルエンザワクチンの株を選ぶ際の参考資料、予防接種スケジュールを決定するための参考資料など、日本の予防接種政策の基礎資料として有効に活用されています。

【実施機関について】

厚生労働省が主体となり、国立感染症研究所、都道府県ならびに都道府県衛生研究所、保健所、医療機関等が協力して実施しています。調査には、それぞれの地域に住んでいる健康な方にこの調査の目的を説明して、同意が得られた場合に協力していただいています。なお、平成25年度（2013年度）からは予防接種法に基づく事業となっています。

【調査の概要について】

- 1) 感受性調査：集団免疫の現状把握
同意が得られた方から血液を採取し、対象となる病気に対する免疫の有無について調査します。
- 2) 感染源調査：病原体の検索
対象となる病気の患者に加え、ブタあるいは環境から採取した材料を用いて、病原体の有無や種類について調査します。
- 3) その他の情報
地域、年齢、性別、予防接種歴等の情報について、上記の調査結果と併せて検討します。



【調査結果について】

調査にご協力いただいた方は、各都道府県の担当者から結果を受け取ることができます。調査によっては、結果が出るまでに数か月かかる場合もありますので御了承ください。全国の調査結果は、国立感染症研究所で地域、年齢、性別、予防接種歴など様々な角度から解析を行い、感染症流行予測調査報告書としてまとめています。報告書は、国立感染症研究所の感染症流行予測調査のページで公開しています。また、インフルエンザの抗体保有状況や日本脳炎ウイルスの活動状況については速報としても公開しています。なお、公開している結果には、個人を特定できる情報は一切ありません。

感染症流行予測調査のページ

(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/yosoku-index.html>)

感染症流行予測調査

National Epidemiological Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases (NESVPD)

English Page
- click here -

更新情報

- 2015年4月30日 2014年度「接種歴別の抗体保有状況(日本脳炎、風疹、麻疹)」のグラフを掲載
- 2015年4月22日 2014年度「抗体保有状況の年度比較」のグラフを掲載
- 2015年4月16日 2014年度「抗体保有状況(水痘、HPV感染症)」のグラフを掲載
- 2015年3月25日 2014年度「抗体保有状況・予防接種状況」のグラフを掲載
- 2014年11~12月 2014年度「インフルエンザ感受性調査(ヒトの抗体保有状況調査)」速報第1~3報」を掲載
- 2014年7~10月 2014年度「日本脳炎感染源調査(ブタの抗体保有状況調査)」速報第1~14報」を掲載

感染症流行予測調査について

集団免疫の現状把握および病原体検索などの調査を行い、各種の疫学資料と合わせて検討し、予防接種事業の効果的な運用を図り、さらに長期的視野に立ち総合的に疾病の流行を予測することを目的としています。厚生労働省、国立感染症研究所、都道府県・都道府県衛生研究所等が協力して実施している調査事業です。

速報

夏期におけるブタの日本脳炎抗体保有状況、流行シーズン前のインフルエンザ抗体保有状況の速報を掲載しています。

報告書

年度報告書(PDFファイル)を掲載しています。

予防接種情報

予防接種スケジュールなど予防接種に関する情報を掲載しています。(「予防接種情報ページ」へのリンクです)

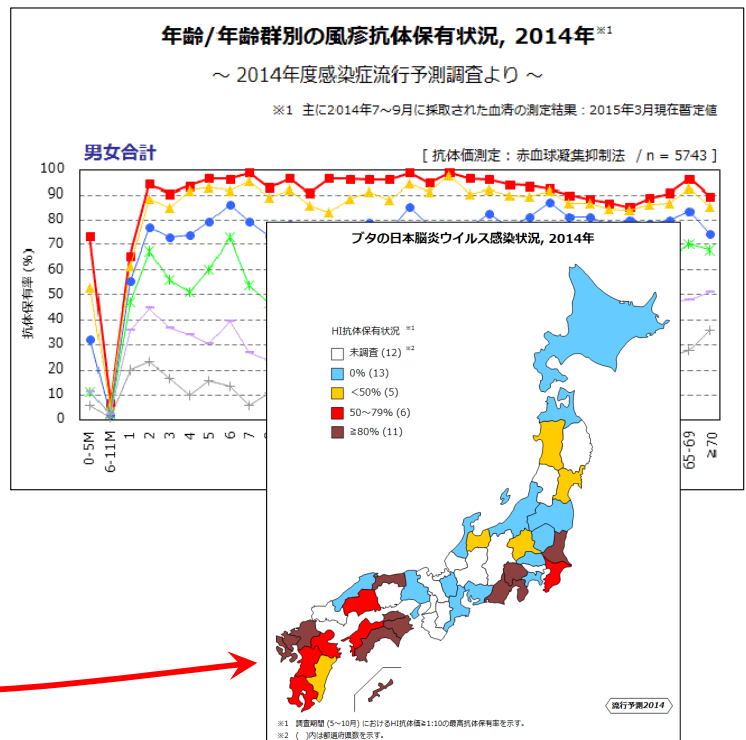
グラフ

各疾病の抗体保有状況、年度比較、予防接種状況などのグラフを掲載しています。

実施要領

実施要領(PDFファイル)を掲載しています。

*項目をクリックすると各ページへ移動します。



麻疹(はしか)及び風しんに対する免疫の保有状況

～2014年度感染症流行予測調査から～

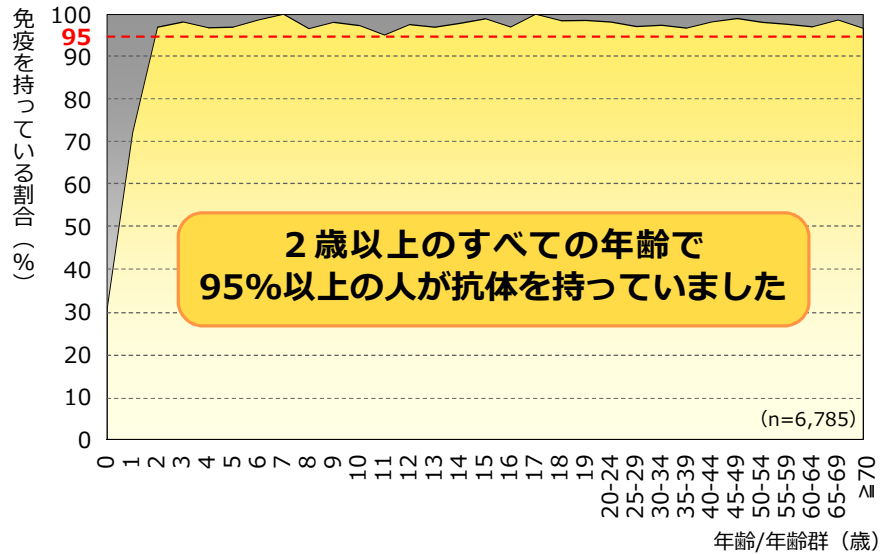
麻疹

右の図は2014年度に行った調査の結果で、各年齢の人がどれくらいの割合で麻疹に対する免疫(抗体)を持っているかを表したグラフです。麻疹に対する抗体はゼラチン粒子凝集法という方法で測定されていて、グラフの上側の部分は、この方法で測定したときに抗体を持っていない人、下側の部分は抗体を持っている人の割合です。

0歳ではまだワクチンを接種している人が少ないため、抗体を持っている人の割合は低くなっていますが、1回目のワクチンを接種する1歳になるとその割合は高くなり、2歳以上ではすべての年齢で95%以上の人が抗体を持っていることが分かりました。

図1 麻疹に対する免疫の保有状況 (2015年3月現在暫定値)

※ゼラチン粒子凝集法により抗体価1:16以上

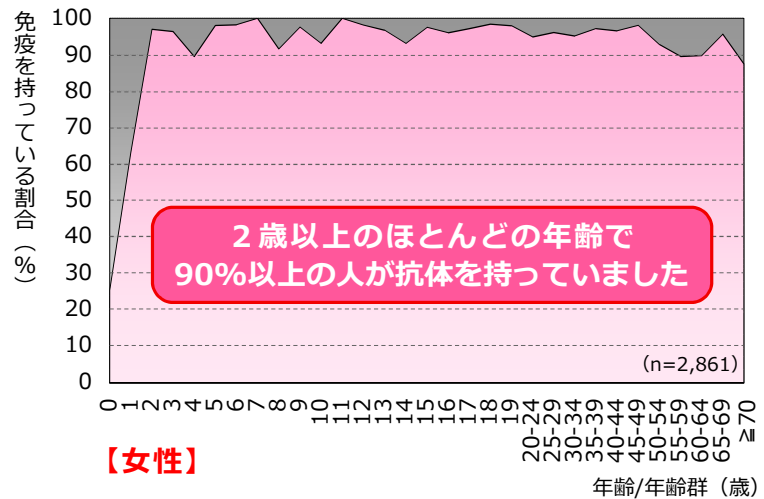
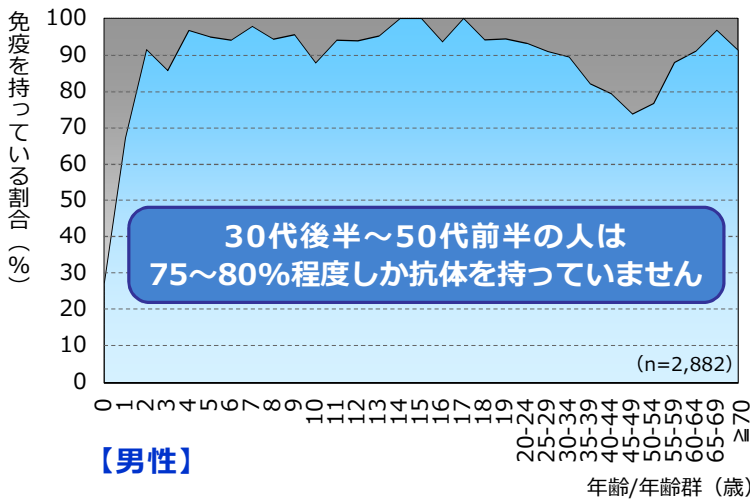


日本は2015年度までに国内から麻疹を排除し、世界保健機関(WHO)の認定を受けて、その状態を維持することを目標にしてきましたが、この調査の結果や麻疹患者の発生状況などから、2015年3月にWHOの西太平洋事務局により日本は麻疹の排除状態にあることが認定されました。これからもこの状態を維持するためには、2回のワクチン接種(1期:1歳/2期:小学校入学前の1年間)を受けて免疫を持っている人の割合を高くしておくことが重要です。

風しん

図2 風しんに対する免疫の保有状況 (2015年3月現在暫定値)

※赤血球凝集抑制法により抗体価1:8以上



上の図は2014年度の調査結果から、風しんに対する免疫(抗体)を持っている割合を年齢別に表したグラフで、左が男性、右が女性のグラフです。風しんに対する抗体は赤血球凝集抑制法で測定され、グラフの上側の部分は抗体を持っていない人、下側の部分は抗体を持っている人の割合です。

女性の方は、麻疹と同じように0歳では抗体を持っている人の割合は低かったものの1歳で高くなり、2歳以上ではほとんどの年齢で90%以上の人が抗体を持っていました。

しかし、男性では30代後半から50代前半で抗体を持っている人の割合は75～80%程度でした。2012～2013年に見られた全国的な流行で、風しんにかかった人の多くはこの世代の男性でしたが、この調査による結果から、いまだに抗体を持っていない人が多く残っていることが分かりました。

日本では2020年度までに国内から風しんを排除することを目標にしていますが、目標を達成するためには免疫を持っていない人への対策がとて重要になります。

環境水によるポリオウイルスの調査が始まります

1. 環境水サーベイランスとは

下水や河川等、環境水からウイルス等を検出し、監視するものです。ここでは下水処理場にて流入してくる下水(流入下水)を定期的に採取し、ウイルス検査を行う調査とします。

2. 環境水サーベイランスで分かること

通常の病原体サーベイランス(感染症発生動向調査事業)は患者を対象とした監視活動です。

環境水サーベイランスでは、糞便中に含まれるウイルス等が下水道から処理場に集積することを利用して、地域全体で流行しているウイルス等を監視します。このため不顕性感染者(感染しても発症しない感染者)から糞便中に排出している病原体も捕捉可能です。また、比較的長期間検出(1-3カ月間)できる、とされています。

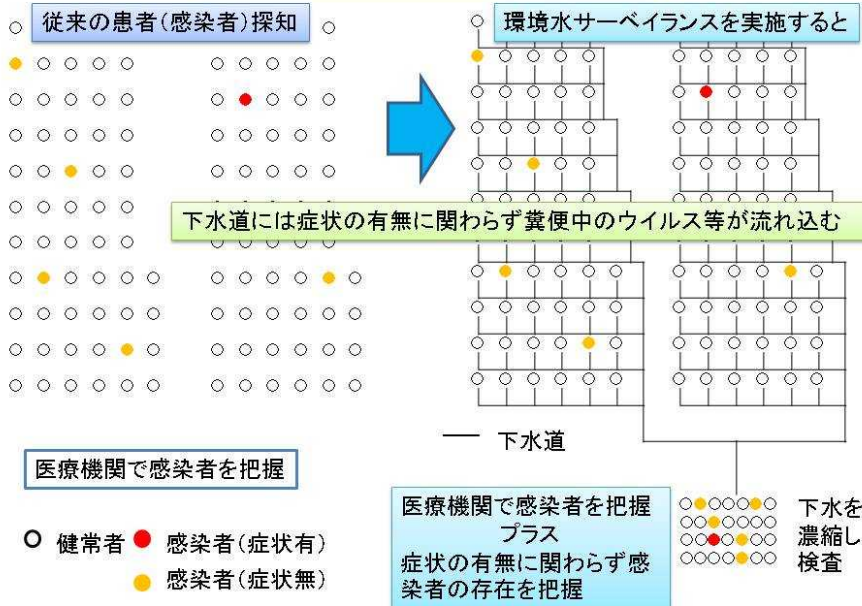
ポリオについて

ポリオは、ポリオウイルスが、口から入り、腸の中で増えることで感染します。そしてポリオウイルスは便の中に排泄されます。多くの場合、病気としての明らかな症状は現れずに、知らない間に免疫ができます(不顕性感染)。しかし、腸管に入ったポリオウイルスが脊髄の一部に入り込み、主に手や足に麻痺が現れ、その麻痺が一生涯残ってしまうことがあります。ポリオワクチンにより予防可能な疾患です。

環境サーベイランス

一般的には大気、水等環境中の化学物質、放射能、微生物などの監視を意味します。

下水網を活用した糞便中のウイルス等の捕捉



3. 環境水サーベイランスの長所と短所

下水を適切な手法で濃縮し、検査を行います。このため比較的大きな人口(数万から数十万人)で流行しているウイルス等(糞便中に排泄されるもの)の状況が把握できます。

ただし下水処理場が設置されている地域内のみ情報であり、検出困難なウイルス等があります。

なお、下水から検出されても感染源を特定することは困難です。従来の病原体サーベイランスを補完する役割であることに留意ください。

4. ポリオウイルスを対象とした環境水サーベイランスの意義

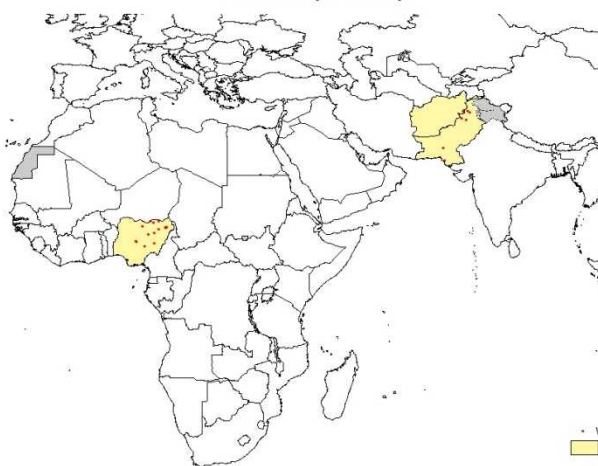
ポリオウイルス感染後、ウイルスは糞便中に排出されます。しかし、その多くは不顕性感染であるため、ウイルス保有者の検知は困難です。世界では、いまだ野生型(左下図)、そしてワクチン由来ポリオウイルス感染による患者が報告されています。

世界保健機関(WHO)ポリオ根絶計画の中で患者サーベイランスの補完的な役割として、ポリオ流行地/リスク地域で環境水サーベイランスが導入されています(パキスタン、ナイジェリア、インドなど)。

また国際的なポリオ伝播を調べるために、不活化ポリオワクチン(IPV)使用国でも実施されています(フランス、オランダ、フィンランド、スイスなど)。

5. なぜ環境水サーベイランスを始めるのか わが国では2012年9月に不活化ポリオワクチンが導入されました。今後、輸入を通じて侵入してくることが予想されるポリオウイルス(ワクチン株、VDPV/野生株)を効率よく捕捉し、その後の対策を検討するためです。

Wild Poliovirus - 2013
01 January - 07 May



Excludes viruses detected from environmental surveillance and vaccine derived polioviruses.

感染症流行予測調査事業によるポリオウイルス環境水サーベイランスの概要

地方衛生研究所で行う環境水サーベイランスの検査の流れ

定点となる下水処理場（人口約10-30万人、下水道普及率約7-8割をめやす）を定め、毎月1回流入下水（環境水：0.5L強）を採取します。この環境水を濃縮後、ポリオウイルス分離/同定を行います（参考資料）。

調査期間は通知発出後、6カ月程度を想定しています。

環境水からポリオウイルスが分離/検出された場合、自治体から厚生労働省に連絡すると共に、速やかに検体を国立感染症研究所に送付し、ポリオウイルスの遺伝子解析を実施します。

ポリオウイルスが検出された時の対応について

環境水サーベイランスで検出されるポリオウイルスとは？

環境水サーベイランスで検出されるポリオウイルスは以下の2つに大別されます。
（ア）ワクチン株のポリオウイルス
（イ）野生株またはワクチン由来ポリオウイルス株（VDPV：ワクチン株から変異したもの）

ポリオウイルス遺伝子解析の結果に基づいた以下の対応をします。

（ア）ワクチン株のポリオウイルスが同定された場合
関係機関（検出された自治体、厚労省）で同定結果を共有し対応を終了します。

（イ）野生株またはワクチン由来ポリオウイルス（VDPV）が同定された場合
環境水サーベイランスの強化を実施します。

環境水サーベイランスの強化

（1）強化の方法

以下の（ア）あるいは（イ）、ないしは（ア）（イ）の両方を実施します。

（ア）採水回数を増やす（1回/月→1回/週）

（イ）採水場所を増やす（1箇所→近隣の数カ所）

（2）強化の期間

4週間を目途とします。

強化した環境水サーベイランスの結果を踏まえた対応について

（1）環境水サーベイランスの結果、下記の（ア）～（ウ）のいずれも判明しなかった場合

（ア）数週の間隔をおいて複数回ウイルスを検出

（イ）複数地点でウイルスを検出

（ウ）異なる遺伝子配列のウイルス株を検出

→ 平時のサーベイランスに戻します。

（2）環境水サーベイランスを強化した結果、上記の（ア）～（ウ）のいずれかが判明した場合

都道府県は、患者が地域に存在し、他の患者が発生することを想定し、医療機関等に対し、急性弛緩性麻痺患者のポリオウイルス感染を疑うように周知するとともに、検出された場合には直ちに二類感染症として届出を行うよう周知に努めるなど、地域において、患者サーベイランスを強化します。

VDPV/野生株検出時、環境水サーベイランス強化による対応

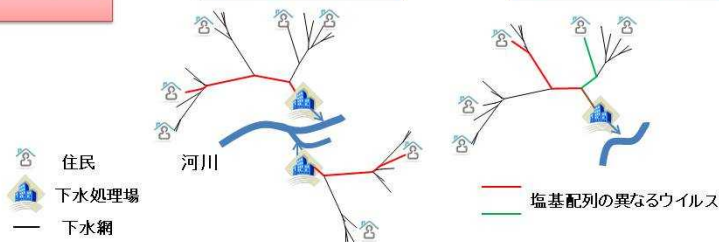
採水頻度を増やす(例:月1回→週1回)

別の下水処理場でも採水/検査

（ア）数週にわたり複数回検出される場合

（イ）複数の下水処理場でもウイルス検出

（ウ）異なる遺伝子配列のウイルス株を検出



2か所以上の下水処理場にてウイルスが検出された場合

複数の遺伝子配列を持つウイルスが検出された場合

（ア）-（ウ）いずれも判明しなければ通常のサーベイランスに戻す

いずれかが判明した場合は、ポリオ患者が発生したことを想定した対応

環境サーベイランスでポリオウイルスが検出された場合の対応について

1. 環境サーベイランスで検出されるポリオウイルスとは

環境サーベイランスで検出されるポリオウイルスは以下の2つに大別される。

- (ア) ワクチン株のポリオウイルス
- (イ) 野生株またはワクチン由来ポリオウイルス株 (VDPV：ワクチン株から変異したもの)

2. 環境水から検出されたポリオウイルスの解析と解析結果に応じた対応

(1) 検出されたウイルスの解析

環境水からポリオウイルスが分離/検出された場合、自治体から厚労省及び国立感染症研究所感染症疫学センター第三室に連絡すると共に、速やかに検体を国立感染症研究所ウイルス第二部第二室に送付し、ポリオウイルスの遺伝子解析を実施する。

(2) 解析結果に応じた対応

解析結果に応じて以下の対応を行う。

- (ア) ワクチン株のポリオウイルスが同定された場合
関係機関（検出された自治体、厚労省、国立感染症研究所）で同定結果を共有し対応を終了
- (イ) 野生株またはワクチン由来ポリオウイルス (VDPV) が同定された場合
環境水サーベイランスの強化（下記3.）を実施

3. ウイルス解析結果を踏まえた環境水サーベイランスの強化

野生株又はワクチン由来ポリオウイルス (VDPV) が同定された場合は、以下の環境水サーベイランスの強化を行う。

(1) 強化の方法

以下の（ア）あるいは（イ）、ないしは（ア）（イ）の両方を実施

- (ア) 採水回数を増やす（1回/月 → 1回/週）
- (イ) 採水場所を増やす（1箇所 → 近隣の数カ所）

(2) 強化の期間

4週間を目途

4. 強化した環境水サーベイランスの結果を踏まえた対応

(1) 環境水サーベイランスの結果、下記の（ア）～（ウ）のいずれも判明しなかった場合

- (ア) 複数地点でウイルスを検出
 - (イ) 数週の間隔をおいて複数回ウイルスを検出
 - (ウ) 異なる遺伝子配列のウイルス株を検出
- 平時のサーベイランスに戻す。

(2) 環境サーベイランスを強化した結果、上記の（ア）～（ウ）のいずれかが判明した場合

都道府県は、患者が地域に存在し、他の患者が発生することを想定し、医療機関等に対し、急性弛緩性麻痺患者のポリオウイルス感染を疑うように周知するとともに、検出された場合には直ちに二類感染症として届出を行うよう周知に努めるなど、地域において、患者サーベイランスを強化する。

<参考：Q&A>

Q:検出時の自治体から厚生労働省及び国立感染症研究所への連絡はフォーマットがあるか。

A:指定していない。(任意様式)

Q:地方衛生研究所にてワクチン株以外と同定された場合の送付はどうするのか。

A:ポリオウイルスが分離同定された場合、確定診断のため速やかに国立感染症研究所ウイルス第二部第二室へ送付されたい。

Q:検出情報を他自治体と共有する際はNESIDを利用するのか。

A:IASR への投稿等での共有を想定している。

Q:野生株等の検出時に、環境水サーベイランスを強化する根拠は？

A:二類感染症の患者発生の疑いがある状態のため、感染症法15条による積極的疫学調査。

Q:野生株等の検出時に、採水場所を増やすことは下水道課との協議が必要だが、必須なのか。

A:採水場所を増やす、採水回数を増やす、ないしはそのいずれも実施するか、状況に応じて対応可能。
採水回数を増やすだけでも良い。

Q:環境サーベイランス強化によって野生株等が疑われる場合の患者サーベイランスの強化とはどういう意味か。

A:医療機関と情報共有を行い、周知するもの。その際、無菌性髄膜炎や急性弛緩性麻痺などの患者の便検査を徹底する。

別添資料 1

ヒトパピローマウイルス感受性調査検査術式

1 目的

ヒト血清中に含まれる抗 HPV16 抗体の抗体価を測定する。HPV16 国際標準血清 (IS) に対して、抗体価の単位付けを行う。

2 材料、機材・機器

<試薬>

- 10 x PBS, pH 7.2 GIBCO 70013-032 500mL
- Tween 20 Bio-Rad #170-6531 100mL
- Horse serum Sigma H1270 100mL
- Polyclonal rabbit anti-human IgG/HRP Dako P0214
- o-Phenylendiamine 関東化学 32116-30 25g
- 過酸化水素水 Sigma 13-1910-5 500mL
- HPV16 VLP 感染研調製品
- HPV16 国際標準血清 (IS) WHO 制定品

<機材・機器>

- 96-well プレート (Immulon 2HB) Thermo Scientific 3455
- プレートウォッシャー
- プレートのリーダー

3 実施手順

3.1 概要・原理

HEK293FT 細胞で作成した HPV16 VLP を抗原とした ELISA 法により、ヒト血清中に含まれる HPV16 に対する IgG 抗体価を測定する。血清を三段階希釈することで、平行線定量法により抗体価を算出する。

3.2 手順

試液調製 (プレート 2 枚分)

<PBS>

10×PBS, 50mL と MilliQ 450mL を混和する。

< PBST >

10×PBS, 200mL と MilliQ 1,800mL を混和する。
Tween 20, 2mL を加え、スターラーにて十分攪拌する。

< ブロッキング液 >

PBS, 180mL に Horse serum, 20mL を加え、スターラーにて十分攪拌する。

< クエン酸緩衝液 (pH 4.8) >

クエン酸三ナトリウム二水和物 14.7g を MilliQ 450mL に溶解させる。
5N NaOH で pH を 4.8 に合わせる。
MilliQ で全量を 500mL とする。

< 発色液 > (使用直前に調製)

クエン酸緩衝液 (pH 4.8) 12 mL に o-Phenyldiamine 24mg を溶解させる。
過酸化水素水 2.6 μL を加える。

- 1日目 -

プレートの VLP コーティング

HPV16 VLP (2 mg/mL) を PBS にて 5,000 倍に希釈する (final 0.4 μg/mL) (VLP 2.4 μL + PBS 12mL、プレート 2 枚分)
96-well プレートの各ウェルに、50 μL の VLP を加える (20 ng/well)。
プレートをシールして、冷蔵庫 (4) に一晩静置する (14-20 時間)。

- 2日目 -

ブロッキング

プレートを冷蔵庫から取り出し、各ウェルを 300 μL の PBST で 4 回洗浄する。
プレートの各ウェルに、300 μL のブロッキング液を加える。
室温で 2 時間 (もしくは 4 で一晩) 静置する。

血清の希釈・添加

希釈用プレートを用いて、検査血清を三段階希釈する (x10, x31.6, x100)。
1, 4, 7, 10 列に 180 μL、2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12 列に 216 μL のブロッキング液を加える。

1, 4, 7, 10 列に 20 μ L の検査血清を加える。

1, 4, 7, 10 列から 8 連ピペッターで 100 μ L を抜き取り、2, 5, 8, 11 列に加えてピペティングにより混合する。

2, 5, 8, 11 列から 8 連ピペッターで 100 μ L を抜き取り、3, 6, 9, 12 列に加えてピペティングにより混合する。

希釈用プレート

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	検体 1		検体 2			検体 3			検体 4			
B	検体 5		検体 6			検体 7			検体 8			
C	検体 9		検体 10			検体 11			検体 12			
D	検体 13		検体 14			検体 15			検体 16			
E	検体 17		検体 18			検体 19			検体 20			
F	検体 21		検体 22			検体 23			検体 24			
G	検体 25		検体 26			検体 27			検体 28			
H	検体 29		検体 30			IS			H16.V5			

希釈度

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100
B	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100
C	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100
D	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100
E	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100
F	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100
G	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100
H	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	X10	X31.6	X100	*	X3.16	X10

なお、HPV ワクチン接種者の血清は、x316 の希釈度からスタートする。

(血清 1 μ L + ブロッキング液 315 μ L)

(*) H16.V5 mouse monoclonal 抗体は x60,000 の希釈度からスタートする。(H16.V5, 1 μ L + ブロッキング液 99 μ L 1 μ L + ブロッキング液 599 μ L)

ブロッキング後のプレートの各ウェルを、300 μ L の PBST で 4 回洗浄する。

50 μ L の希釈血清を、希釈用プレートからブロッキング後のプレートの各ウェルに加える。

室温で 1 時間、静置する。

二次抗体の添加

HRP 標識二次抗体をブロッキング液にて 2,000 倍に希釈する。
(anti-human IgG/HRP 6 μ L +ブロッキング液 12mL、プレート 2 枚分)

(*) H16.V5 抗体では HRP 標識抗マウス二次抗体を x16,000 希釈
(anti-mouse IgG/HRP 1 μ L + ブロッキング液 159 μ L
2 μ L + ブロッキング液 198 μ L)

プレートの各ウェルを、300 μ L の PBST で 4 回洗浄する。
プレートの各ウェルに、50 μ L の希釈した二次抗体を加える。
室温で 1 時間、静置する。

発色反応

プレートの各ウェルを、300 μ L の PBST で 4 回洗浄する。
プレートの各ウェルに、50 μ L の発色液を加える。
室温で 10 分または 20 分静置する (十分な黄色発色が得られるまで)。
プレートリーダーで 450 nm の吸光度を測定する。

3.3 アッセイの成立条件

IS または H16.V5 の最も濃い検体の吸光度が、0.3 - 0.5 の範囲に収まる。

3.4 データ解析

データ解析用エクセルシートに、吸光度値をコピー & ペーストする。IS の抗体価を 10 U/mL、希釈度を 3.16 として、血清検体中の相対抗体価を算出する。

(参考文献)

HUMAN PAPILLOMAVIRUS LABORATORY MANUAL, 1st edition. (WNO/IVB/10.12)

WHO, Geneva (Switzerland), (2009)

http://www.who.int/immunization/documents/WHO_IVB_1012/en/.

(問い合わせ先)

〒208 0011

東京都 武蔵村山市 学園4-7-1

国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター

室長 柗元 巖

TEL:042-848-7042

E mail: ikuki@nih.go.jp

<データ解析用エクセルシート>



インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) 感染源調査検査術式

Haemophilus influenzae の培養と血清型別(抗血清による菌凝集法等)

1. 菌の培養

チョコレート寒天培地(チョコレート II 寒天培地 Beckton Dickinson 社 251169 等) を用いる。試料あるいは菌(植継の場合) を 1 白金耳とり、寒天培地に接種し、5% 炭酸ガス(CO₂) 存在下 35~37 で、18~24 時間培養する。直径 1~2mm の露滴状で灰白色、かつ辺縁がスムーズ、光沢があり、湿潤な集落を形成する。
(ヒツジ血液寒天培地には発育しない。鑑別法として溶血を見る為にウサギやウマ血液を使用する場合、生育する培地もある。)

2. 菌の鑑別と同定(必要時)

チョコレート寒天培地に植えると同時に、血液寒天培地に接種。
チョコレート寒天培地のみ発育することを確認する。

X 因子:ヘミン、V 因子:ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(nicotinamide adenine dinucleotide: NAD)、XV 因子試験紙(BBL) を用いて X・V 因子要求性を確認する。

X 因子、V 因子、溶血性(溶血性は無い)のみであれば、ヘモフィルス鑑別培地(極東製薬工業)も使用可能(因子の持ち込みを回避するため、分割区分毎に白金耳を交換する)。

さらに同定が必要な場合は、必要に応じてグラム陰性桿菌であることを確認後、生化学的性状をもとに鑑別する。生化学的性状をベースとした同定キット(API NH、ID テスト・HN-20 ラピッド等) または Bruker Biotyper を用いる。

以下のいずれかの遺伝子型別を実施してそれを同定法とすることもある。

Multi-locus sequence typing (MLST)

p6 遺伝子

Abdeldaim GMK, Strålin K, Kirsebom LA, Olcén P, Blomberg J,

Herrmann B. Detection of Haemophilus influenzae in respiratory secretions from pneumonia patients by quantitative real-time polymerase chain reaction. Diagn Microbiol Infect Dis **2009**; 64:366–373.

(特に、Non-typable *H. influenzae* が検出された際に、必要に応じて実施。)

3. 菌の保存

3.1 ゼラチンディスク保存法

3.1.1 試薬

A液:5%グルコース、3%スキムミルク、0.6g 活性炭末を蒸留水 100mL に溶解し、110 で 10 分滅菌する。4 保存。

B液:5%L-アスコルビン酸ナトリウム水溶液を濾過滅菌する。分注して-20 以下で保存。

C液:20%ゼラチン水溶液を 121 15 分滅菌する。4 保存。使用前に 50 に加温して溶解する。

3.1.2 保存手順

一株あたり、0.5mL A液 + 0.5mL C液 + 0.1mL B液の混合液を調整する。

新鮮な菌株 1 エーゼ程度をサスペンドする。

滅菌シャーレにパラフィン紙や滅菌したキッチンペーパーをおき、その上に菌液を一滴ずつ滴下する。

シリカゲル等と共にデシケーターにいれ、真空ポンプで 20mmHg 以下に減圧する。

24 時間程度で乾燥してディスク状になるので、ピンセットで滅菌チューブ等に回収する。冷蔵または冷凍保存する。

3.2 グリセロール溶液保存法

外ネジキャップ付クライオチューブ(滅菌済)、2ml チューブ(Corning社、430659G)等に、20%グリセロール溶液を 1.8ml 程度入れ、滅菌しておく。チョコレート寒天培地に生育した菌は、培養 1 日後に白

金耳でかき取り、滅菌済みグリセロール溶液に懸濁する。菌のかたまりをほぐす為、200 µl の滅菌チップで数回ピペッティングを行う。
-80 で保存する。

4 . 莢膜型別

4 . 1 抗血清による莢膜型別法

市販抗血清として「インフルエンザ菌莢膜型別用免疫血清 生研 (デンカ生研)」がある。血清ロットあるいは菌株によって反応の強弱があるものの使用可能。菌懸濁液として、チューブに生理食塩水約 100 µl を分注し、チョコレート寒天培地上のコロニー数個を懸濁する。懸濁液は、白く濁り、後ろが透けて見えない程度の菌量を混ぜる。

スライドガラス (大型スライドガラス 松浪硝子 S9213 等) にガラスペン等で a~f 型血清の 6 領域を作成する。各抗血清等をスライドガラスの各領域にのせる (数 ~ 5 µl)。菌懸濁液約 5 µl を全領域にのせ、抗血清と混ぜ合わせた際の菌凝集を観察する。a~f 型の抗血清のどれでも菌凝集が見られない株は、Non-typable *Haemophilus influenzae* (NTHi) の可能性が高い。(陰性対照として生理食塩水を用いることができる)。

4 . 2 PCR による莢膜血清型遺伝子の検査法

以下の文献に PCR による型別法が報告されている。

・ Falla, T. J., Crook, D. W. M., Brophy, L. N., Maskell, D., Kroll, J. S. and Moxon, E. R. PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*. *J. Clin. Microbiol.* 32: 2382-2386, 1994

・ 莢膜の産生性 (*p6* 遺伝子とあわせて MultiPCR 化)
Davis GS, Sandstedt SA, Patel M, Marrs CF, Gilsdorf JR. Use of *bexB* To Detect the Capsule Locus in *Haemophilus influenzae*. *J. Clin. Microbiol.* **2011**; 49:2594–2601.

・ 血清型 (SYBR&singleplex にて実施)

Maaroufi Y, De Bruyne J-M, Heymans C, Crockaert F. Real-Time PCR for Determining Capsular Serotypes of *Haemophilus influenzae*. *J. Clin. Microbiol.*

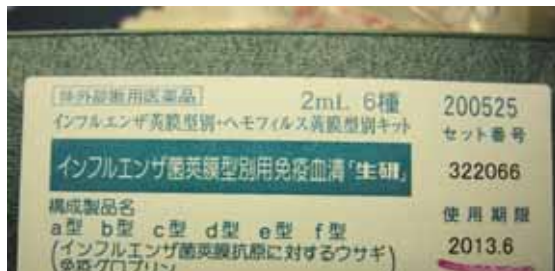
2007; 45:2305–2308.

5 . 検査用標準菌株

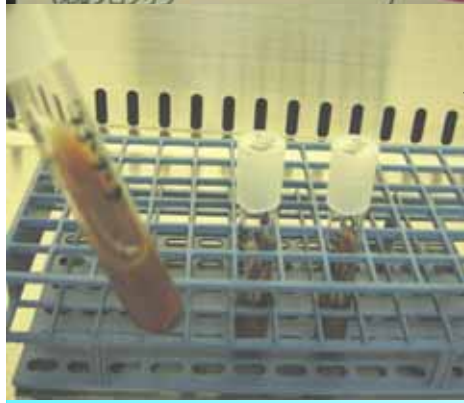
東京大学医科学研究所内、病原微生物資源室から教育用菌株として a~f 型ならびに非莢膜型の菌株が入手可能である。

6 . 参考資料：抗血清による莢膜型別法の作業手順

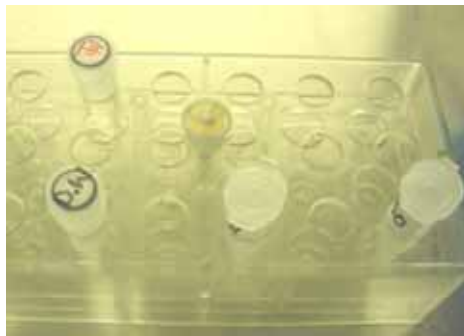
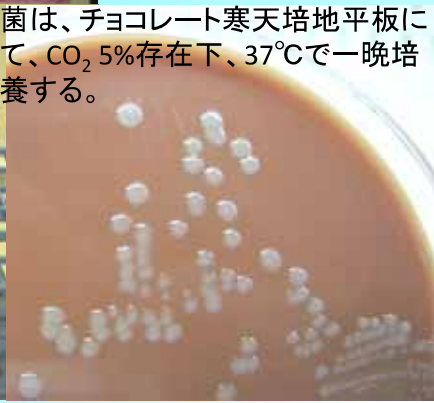




市販ウサギ免疫血清
(*Haemophilus influenzae* 莢膜型a, b, c, d, e, f型)を使用する。

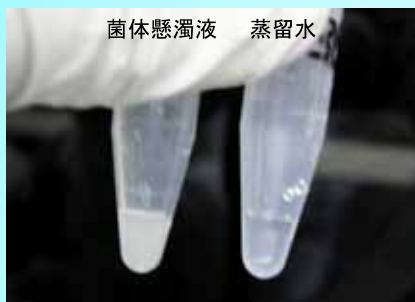
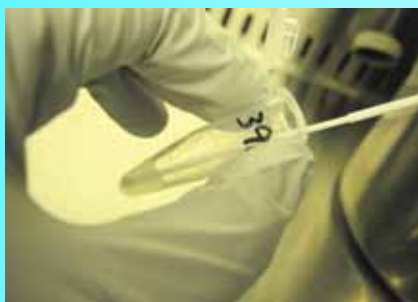


菌は、チョコレート寒天培地平板にて、CO₂ 5%存在下、37°Cで一晩培養する。



用意するもの
滅菌生理食塩水 0.5ml
滅菌蒸留水 0.1ml x 菌株数
チューブ 菌株数分

チューブに蒸留水0.1 mlを分注し、白金耳で平板からかき取った菌体を懸濁させる。





スライドガラスに生理食塩水、a, b, c, d, e, fの7個の区画を作成する。ガラスペン、あるいは、ホワイト修正液で書き、他の液と混ざらないようにする。



生理食塩水 5 μ lをスライドガラスにのせる。



各抗血清(a, b, c, d, e, f型)を、順次、滅菌ピペットで5 μ lとり、スライドガラスにのせる。

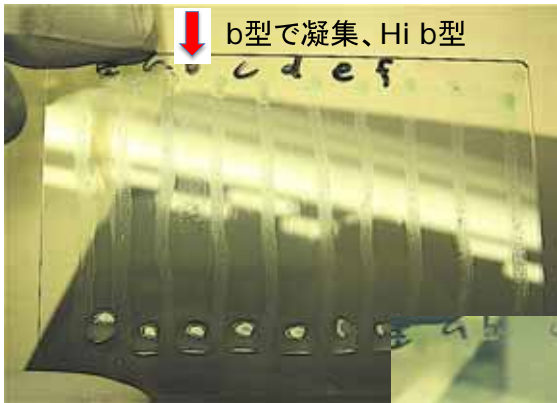




血清準備完了。

菌懸濁液を5μlずつ、血清に隣接してのせる。チップを毎回交換してもよい。#

混ぜながら、凝集の有無を観察。



b型で凝集、Hi b型

f型で凝集 Hi f型



肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 感染源調査検査術式

Multiplex PCR 法による肺炎球菌の血清型別法

1: 概説

肺炎球菌はグラム陽性双球菌である。ヒトの上咽頭の常在菌である一方、中耳炎、肺炎、菌血症/敗血症、髄膜炎を引き起す。肺炎球菌が感染を引き起すために最も重要な因子と言われているのは菌表層の莢膜ポリサッカライド (Capsular Polysaccharide; CPS) である。また、莢膜の抗原性を利用して血清型別が行なわれ、現在までに少なくとも 93 の血清型の存在が知られている。血清型決定には抗莢膜血清 (Statens Serum Institute 製) を用いた莢膜膨化法による型別がゴールドスタンダードである。一部の血清型において、莢膜の合成に関連する遺伝子には血清型に依存した配列特異性がみられるため、Multiplex PCR による当該血清型を決定することも可能になった。

2: 検査材料

5%ヒツジ血液寒天培地 (Columbia 羊血液寒天培地 BD Cat. 251165 または TSA II 羊血液寒天培地 BD Cat. 251239) にて 35-37°C、5% CO₂ 下で一晩培養した肺炎球菌を用いる。

3: 菌の分離同定法

3. 1. 菌の培養

肺炎球菌は 5%ヒツジ血液寒天培地で一晩培養、直径 1~2mm の α -溶血のコロニーを形成する。チョコレート寒天培地 (チョコレート II 寒天培地 Beckton Dickinson 社 251169 等) にも生育する。カタラーゼ陰性グラム陽性球菌である。同定はオプトヒン感受性試験、胆汁酸溶解試験または *lytA* 遺伝子を利用した検査によって行われる。

3. 2. 胆汁酸溶解試験

10%デオキシコール酸ナトリウム (ナカライテスク株式会社 Cat. 10712-54 または同等品) を菌液に数滴加える。肺炎球菌であれば、通常、数秒-数十秒で菌の溶解がみられる。

3. 3. オプトヒン感受性試験

5%ヒツジ血液寒天培地に純粋培養し、オプトヒンディスク（栄研化学）を置く、大気、35-37°Cで一晩培養。肺炎球菌はオプトヒンディスクの周辺に 14mm 以上の阻止円をつくる。

胆汁酸溶解試験とオプトヒン感受性試験の結果が一致しないときは、前者の結果を優先する。

3. 4. *lytA* 遺伝子検査

文献 1) に従い、*lytA* 遺伝子を増幅し、*Bsa*AI で切断後の泳動パターンにより、肺炎球菌の同定を行う。

4: Multiplex PCR 法による血清型別

4. 1. 肺炎球菌のゲノム DNA の精製

HighPure PCR Product Purification Kit (Roche Cat. 11732676001 or 11732668001) を用いて、血液寒天培地にて 37°C、5% CO₂ 下で一晩培養する肺炎球菌のゲノム DNA を精製する。

- 1) Elution buffer を 80 μL、10%デオキシコール酸ナトリウム(和光純薬、cat# 190-08313) 溶液を 20 μL、1.5 mL エッペンドルフチューブに入れる。ここに、McFarland 0.5-2 となるよう菌体をサスペンドする。
- 2) 室温にて 10-30 分インキュベートする。
- 3) サンプルの数だけ 2 mL の蓋なしチューブ(未滅菌)を準備し、これに High Pure PCR Product Purification Kit 中のシリカカップをセットする。これとは別に 2 mL の蓋なしチューブをサンプルあたり 2 本用意する。
- 4) ディスペンサーをもちい、500 μL の Binding Buffer と菌液を混合し、シリカカップにアプライし、シリカカップの蓋をする。
- 5) サンプルを安全キャビネットから出し、微量遠心器をもちい、15000 rpm にて 30 秒遠心する。
- 6) サンプルを安全キャビネット内に戻し、シリカカップを新しい 2 mL チューブに移す。液の入った 2 mL チューブは感染性を持つものとして滅菌にまわす。
- 7) シリカカップの蓋を開け、500 μL の Washing Buffer を入れる。シリカカップの蓋をする。

- 8) サンプルを安全キャビネットから出し、微量遠心器をもちい、15000 rpm にて 30 秒遠心する。
- 9) サンプルを安全キャビネット内に戻し、シリカカップを新しい 2 mL チューブに移す。液の入った 2 mL チューブは感染性を持つものとして滅菌にまわす。
- 10) シリカカップの蓋を開け、200 μ L の Washing Buffer を入れる。シリカカップの蓋をする。
- 11) サンプルを安全キャビネットから出し、微量遠心器をもちい、15000 rpm にて 30 秒遠心する。
- 12) サンプルを安全キャビネット内に戻し、シリカカップを新しい 1.5 mL エペンドルフチューブに移す。液の入った 2 mL チューブは感染性を持つものとして滅菌にまわす。
- 13) シリカカップの蓋を開け、50 μ L の Elution buffer を入れる。シリカカップの蓋をする。
- 14) サンプルを安全キャビネットから出し、70°C のヒートブロックに載せ、10 分間インキュベートする。
- 15) サンプルを微量遠心器に移してすぐに、15000 rpm にて 30 秒遠心する。サンプル数が多い場合は、一回の遠心は最大で 4 サンプルまでとする。シリカカップを取り除き、1.5 mL のチューブに菌の番号をラベルする。抽出した DNA 溶液 0.5-1 μ L を PCR のテンプレートとして用いる。DNA 溶液は 4°C または冷凍にて保存する。

4. 2. PCR 反応

QIAGEN Multiplex PCR Kit (キアゲン、cat# 206143) を用いて、8 セットの Multiplex PCR を行う。血清型特異プライマー配列は表 1 を参考にする。各 PCR 反応セットの組成は表 2 を参考にする。

Multiplex PCR 条件

95	15 分	
95	30 秒	} 35 回
54	90 秒	
72	60 秒	
72	10 分	

必要に応じて、DNA の量およびアニーリング温度を調整する。

4. 3. 電気泳動

10 μ L の PCR 産物に 2 μ L loading buffer を添加し、1 x TBE で作成した 2% Nusieve 3:1 Agarose gel (タカラバイオ、cat# F5180A)で、50V、1.5 時間泳動を行う。マーカーとしては 50-bp DNA ladder (ニュー・イングランド・バイオラボ、cat# N3236S または同等品)を用いる。

4. 4. 染色

泳動後、0.5 \cdot g/mL EtBr 液に 30 分染色し、水で 10 min、1 回を洗い、ゲル撮影装置で撮影する。

4. 5. 判定

陽性になった PCR 産物のサイズに応じて、血清型を判定する。反応 1 の血清型 6 が陽性の場合、引き続き反応 6CD を行い、6A/6B または 6C/6D に区別する。

5: 参考文献

- 1) Llull D, López R, García E. Characteristic signatures of the *lytA* gene provide a basis for rapid and reliable diagnosis of *Streptococcus pneumoniae* infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006. 44:1250-1256.
- 2) Pai R, Gertz RE, Beall B. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006. 44:124-131.
- 3) Carvalho Mda G, Pimenta FC, Jackson D et al. Revisiting pneumococcal carriage by use of broth enrichment and PCR techniques for enhanced detection of carriage and serotypes. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010. 48:1611-1618.
- 4) Carvalho Mda G, Pimenta FC, Gertz RE Jr, et al. PCR-based quantitation and clonal diversity of the current prevalent invasive serogroup 6 pneumococcal serotype, 6C, in the United States in 1999 and 2006 to 2007. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009. 47:554-559.
- 5) Dias CA, Teixeira LM, Carvalho Mda G, et al. Sequential multiplex PCR for determining capsular serotypes of pneumococci recovered from Brazilian children. *Journal of Medical Microbiology*. 2007. 56:1185-1188.
- 6) Pimenta FC, Gertz RE Jr, Roundtree A, et al. Rarely occurring 19A-like cps locus from a serotype 19F pneumococcal isolate indicates continued need of serology-based quality control for PCR-based serotype determinations. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009. 47:2353-2354.

表 1. 肺炎球菌血清型別用プライマー配列

プライマー名	配列	PCR 産物サイズ (bp)	参考文献
1-f 1-r	CTC TAT AGA ATG GAG TAT ATA AAC TAT GGT TA CCA AAG AAA ATA CTA ACA TTA TCA CAA TAT TGG C	280	2
2-f 2-r	TAT CCC AGT TCA ATA TTT CTC CAC TAC ACC ACA CAA AAT ATA GGC AGA GAG AGA CTA CT	290	3
3-f 3-r	ATG GTG TGA TTT CTC CTA GAT TGG AAA GTA G CTT CTC CAA TTG CTT ACC AAG TGC AAT AAC G	371	2
4-f 4-r	CTG TTA CTT GTT CTG GAC TCT CGA TAA TTG G GCC CAC TCC TGT TAA AAT CCT ACC CGC ATT G	430	2
5-f 5-r	ATA CCT ACA CAA CTT CTG ATT ATG CCT TTG TG GCT CGA TAA ACA TAA TCA ATA TTT GAA AAA GTA TG	362	2
6A/6B/6C/6D-f 6A/6B/6C/6D-r	AAT TTG TAT TTT ATT CAT GCC TAT ATC TGG TTA GCG GAG ATA ATT TAA AAT GAT GAC TA	250	2
6C/6D-f 6C/6D-r	CAT TTT AGT GAA GTT GGC GGT GGA GTT AGC TTC GAA GCC CAT ACT CTT CAA TTA	727	4
7C/(7B/40)-f 7C/(7B/40)-r	CTA TCT CAG TCA TCT ATT GTT AAA GTT TAC GAC GGG A GAA CAT AGA TGT TGA GAC ATC TTT TGT AAT TTC	260	2
7F/7A-f 7F/7A-r	TCC AAA CTA TTA CAG TGG GAA TTA CGG ATA GGA ATT GAG ATT GCC AAA GCG AC	599	3
8-f 8-r	GAA GAA ACG AAA CTG TCA GAG CAT TTA CAT CTA TAG ATA CTA GTA GAG CTG TTC TAG TCT	201	3
9N/9L-f 9N/9L-r	GAA CTG AAT AAG TCA GAT TTA ATC AGC ACC AAG ATC TGA CGG GCT AAT CAA T	516	5
9V/9A-f 9V/9A-r	GGG TTC AAA G TC AGA CAG TG A ATC TTA A CGA TGA ATG A AA TCA ACA TT G TCA GTA GC	816	3
10A-f 10A-r	GGT GTA GAT TTA CCA TTA GTG TCG GCA GAC GAA TTT CTT CTT TAA GAT TCG GAT ATT TCT C	628	2
10F/(10C/33C)-f 10F/(10C/33C)-r	GGA GTT TAT CGG TAG TGC TCA TTT TAG CA CTA ACA AAT TCG CAA CAC GAG GCA ACA	248	3
11A/11D-f 11A/11D-r	GGA CAT GTT CAG GTG ATT TCC CAA TAT AGT G GAT TAT GAG TGT AAT TTA TTC CAA CTT CTC CC	463	2
12F/(12A/44/46)-f 12F/(12A/44/46)-r	GCA ACA AAC GGC GTG AAA GTA GTT G CAA GAT GAA TAT CAC TAC CAA TAA CAA AAC	376	2
13-f 13-r	TAC TAA GGT AAT CTC TGG AAA TCG AAA GG CTC ATG CAT TTT ATT AAC CG C TTT TTG TTC	655	3
14-f 14-r	GAA ATG TTA CTT GGC GCA GGT GTC AGA ATT GCC AAT ACT TCT TAG TCT CTC AGA TGA AT	189	5
15A/15F-f 15A/15F-r	ATT AGT ACA GCT GCT GGA ATA TCT CTT C GAT CTA GTG AAC GTA CTA TTC CAA AC	434	2
15B/15C-f 15B/15C-r	TTG GAA TTT TTT AAT TAG TGG CTT ACC TA CAT CCG CTT ATT AAT TGA AGT AAT CTG AAC C	496	2

プライマー名	配列	PCR 産物サイズ (bp)	参考文献
16F-f 16F-r	GAA TTT TTC AGG CGT GGG TGT TAA AAG CAG CAT ATA GCA CCG CTA AGC AAA TA	717	3
17F-f 17F-r	TTC GTG ATG ATA ATT CCA ATG ATC AAA CAA GAG GAT GTA ACA AAT TTG TAG CGA CTA AGG TCT GC	693	2
18/(18A/18B/18C/18F)-f 18/(18A/18B/18C/18F)-r	CTT AAT AGC TCT CAT TAT TCT TTT TTT AAG CC TTA TCT GTA AAC CAT ATC AGC ATC TGA AAC	573	2
19A-f 19A-r	GAG AGA TTC ATA ATC TTG CAC TTA GCC A CAT AAT AGC TAC AAA TGA CTC ATC GCC	566	6
19F-f 19F-r	GTT AAG ATT GCT GAT CGA TTA ATT GAT ATC C GTA ATA TGT CTT TAG GGC GTT TAT GGC GAT AG	304	2
20-f 20-r	GAG CAA GAG TTT TTC ACC TGA CAG CGA GAA G CTA AAT TCC TGT AAT TTA GCT AAA ACT CTT ATC	514	2
21-f 21-r	CTA TGG TTA TTT CAA CTC AAT CGT CAC C GGC AAA CTC AGA CAT AGT ATA GCA TAG	192	3
22F/22A-f 22F/22A-r	GAG TAT AGC CAG ATT ATG GCA GTT TTA TTG TC CTC CAG CAC TTG CGC TGG AAA CAA CAG ACA AC	643	2
23A-f 23A-r	TAT TCT AGC AAG TGA CGA AGA TGC G CCA ACA TGC TTA AAA ACG CTG CTT TAC	722	3
23B-f 23B-r	CCA CAA TTA G CG CTA TAT TCA TTC AAT CG GTC CAC GCT GAA TAA AAT GAA GCT CCG	199	3
23F-f 23F-r	GTA ACA GTT GCT GTA GAG GGA ATT GGC TTT TC CAC AAC ACC TAA CAC TCG ATG GCT ATA TGA TTC	384	2
24/(24A/24B/24F)-f 24/(24A/24B/24F)-r	GCT CCC TGC TAT TGT AAT CTT TAA AGA G GTG TCT TTT ATT GAC TTT ATC ATA GGT CGG	99	3
31-f 31-r	GGA AGT TTT CAA GGA TAT GAT AGT GGT GGT GC CCG AAT AAT ATA TTC AAT ATA TTC CTA CTC	701	2
33F/(33A/37)-f 33F/(33A/37)-r	GAA GGC AAT CAA TGT GAT TGT GTC GCG CTT CAA AAT GAA GAT TAT AGT ACC CTT CTA C	338	2
34-f 34-r	GCT TTT GTA AGA GGA GAT TAT TTT CAC CCA AC CAA TCC GAC TAA GTC TTC AGT AAA AAA CTT TAC	408	2
35A/(35C/42)-f 35A/(35C/42)-r	ATT ACG ACT CCT TAT GTG ACG CGC ATA CCA ATC CCA AGA TAT ATG CAA CTA GGT T	280	3
35B-f 35B-r	GAT AAG TCT GTT GTG GAG ACT TAA AAA GAA TG CTT TCC AGA TAA TTA CAG GTA TTC CTG AAG CAA G	677	2
35F/47F-f 35F/47F-r	GAA CAT AGT CGC TAT TGT ATT TTA TTT AAA GCA A GAC TAG GAG CAT TAT TCC TAG AGC GAG TAA ACC	517	2
38/25F/25A-f 38/25F/25A-r	CGT TCT TTT ATC TCA CTG TAT AGT ATC TTT ATG ATG TTT GAA TTA AAG CTA ACG TAA CAA TCC	574	2
39-f 39-r	TCA TTG TAT TAA CCC TAT GCT TTA TTG GTG GAG TAT CTC CAT TGT ATT GAA ATC TAC CAA	98	3
<i>cpsA</i> -f <i>cpsA</i> -r	GCA GTA CAG CAG TTT GTT GGA CTG ACC GAA TAT TTT CAT TAT CAG TCC CAG TC	160	2

cps PCR は陽性コントロールである

表 2. 各 PCR 反応セットの組成

反応 1	成分	添加量	PCR 産物 サイズ (bp)
	2X PCR Buffer (QIAGEN Multiplex PCR Kit cat#206143)	12.5 μ L	
	ゲノム DNA	1 μ L	
	<i>cpsA</i> -f (25 μ M)	0.1 μ L	160
	<i>cpsA</i> -r (25 μ M)	0.1 μ L	
	6(6A/6B/6C/6D)-f (25 μ M)	0.3 μ L	250
	6(6A/6B/6C/6D)-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	3-f (25 μ M)	0.3 μ L	371
	3-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	19A-f (25 μ M)	0.3 μ L	566
	19A-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	22F/22A-f (25 μ M)	0.5 μ L	643
	22F/22A-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	16-f (25 μ M)	0.4 μ L	717
	16-r (25 μ M)	0.4 μ L	
	PCR 用水	7.7 μ L	
	総量	25 μ L	

反応 2	成分	添加量	PCR 産物 サイズ (bp)
	2X PCR Buffer (QIAGEN Multiplex PCR Kit cat#206143)	12.5 μ L	
	ゲノム DNA	1 μ L	
	<i>cpsA</i> -f (25 μ M)	0.1 μ L	160
	<i>cpsA</i> -r (25 μ M)	0.1 μ L	
	8-f (25 μ M)	0.2 μ L	201
	8-r (25 μ M)	0.2 μ L	
	33F/(33A/37)-f (25 μ M)	0.3 μ L	338
	33F/(33A/37)-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	15A/15F-f (25 μ M)	0.3 μ L	434
	15A/15F-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	7F/7A-f (25 μ M)	0.4 μ L	599
	7F/7A-r (25 μ M)	0.4 μ L	
	23A-f (25 μ M)	0.5 μ L	722
	23A-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	PCR 用水	7.9 μ L	
	総量	25 μ L	

反応 6CD	成分	添加量	PCR 産物 サイズ (bp)
	2X PCR Buffer (QIAGEN Multiplex PCR Kit cat#206143)	12.5 μ L	
	ゲノム DNA	1 μ L	
	<i>cpsA</i> -f (25 μ M)	0.1 μ L	160
	<i>cpsA</i> -r (25 μ M)	0.1 μ L	
	6(6A/6B/6C/6D)-f (25 μ M)	0.3 μ L	250
	6(6A/6B/6C/6D)-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	6C/6D-f (25 μ M)	0.5 μ L	727
	6C/6D-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	PCR 用水	9.7 μ L	
	総量	25 μ L	

反応 3	成分	添加量	PCR 産物 サイズ (bp)
	2X PCR Buffer (QIAGEN Multiplex PCR Kit cat#206143)	12.5 μ L	
	ゲノム DNA	1 μ L	
	<i>cpsA</i> -f (25 μ M)	0.1 μ L	160
	<i>cpsA</i> -r (25 μ M)	0.1 μ L	
	19F-f (25 μ M)	0.5 μ L	304
	19F-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	12F/(12A/44/46)-f (25 μ M)	0.5 μ L	376
	12F/(12A/44/46)-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	11A/11D-f (25 μ M)	0.3 μ L	463
	11A/11D-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	38/25F/25A-f (25 μ M)	0.3 μ L	574
	38/25F/25A-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	35B-f (25 μ M)	0.5 μ L	677
	35B-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	PCR 用水	7.1 μ L	
	総量	25 μ L	

反応 4	成分	添加量	PCR 産物 サイズ (bp)
	2X PCR Buffer (QIAGEN Multiplex PCR Kit cat#206143)	12.5 μ L	
	ゲノム DNA	1 μ L	
	24/(24A/24B/24F)-f (25 μ M)	0.2 μ L	99
	24/(24A/24B/24F)-r (25 μ M)	0.2 μ L	
	<i>cpsA</i> -f (25 μ M)	0.1 μ L	160
	<i>cpsA</i> -r (25 μ M)	0.1 μ L	
	7C/(7B/40)-f (25 μ M)	0.3 μ L	260
	7C/(7B/40)-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	4-f (25 μ M)	0.3 μ L	430
	4-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	18/(18A/18B/18C/18F)-f (25 μ M)	0.3 μ L	573
	18/(18A/18B/18C/18F)-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	9V/9A-f (25 μ M)	0.5 μ L	816
	9V/9A-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	PCR 用水	8.1 μ L	
	総量	25 μ L	

反応 5	成分	添加量	PCR 産物 サイズ (bp)
	2X PCR Buffer (QIAGEN Multiplex PCR Kit cat#206143)	12.5 μ L	
	ゲノム DNA	1 μ L	
	<i>cpsA</i> -f (25 μ M)	0.1 μ L	160
	<i>cpsA</i> -r (25 μ M)	0.1 μ L	
	14-f (25 μ M)	0.3 μ L	189
	14-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	1-f (25 μ M)	0.3 μ L	280
	1-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	23F-f (25 μ M)	0.5 μ L	384
	23F-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	15B/15C-f (25 μ M)	0.3 μ L	496
	15B/15C-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	10A-f (25 μ M)	0.5 μ L	628
	10A-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	PCR 用水	7.5 μ L	
	総量	25 μ L	

反応 6	成分	添加量	PCR 産物 サイズ (bp)
	2X PCR Buffer (QIAGEN Multiplex PCR Kit cat#206143)	12.5 μ L	
	ゲノム DNA	1 μ L	
	39-f (25 μ M)	0.2 μ L	98
	39-r (25 μ M)	0.2 μ L	
	<i>cpsA</i> -f (25 μ M)	0.1 μ L	160
	<i>cpsA</i> -r (25 μ M)	0.1 μ L	
	10F/(10C/33C)-f (25 μ M)	0.3 μ L	248
	10F/(10C/33C)-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	5-f (25 μ M)	0.3 μ L	362
	5-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	35F/47F-f (25 μ M)	0.3 μ L	517
	35F/47F-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	17F-f (25 μ M)	0.5 μ L	693
	17F-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	PCR 用水	8.1 μ L	
	総量	25 μ L	

反応 7	成分	添加量	PCR 産物 サイズ (bp)
	2X PCR Buffer (QIAGEN Multiplex PCR Kit cat#206143)	12.5 μ L	
	ゲノム DNA	1 μ L	
	<i>cpsA</i> -f (25 μ M)	0.1 μ L	160
	<i>cpsA</i> -r (25 μ M)	0.1 μ L	
	23B-f (25 μ M)	0.2 μ L	199
	23B-r (25 μ M)	0.2 μ L	
	35A/(35C/42)-f (25 μ M)	0.3 μ L	280
	35A/(35C/42)-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	34-f (25 μ M)	0.3 μ L	408
	34-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	9N/9L-f (25 μ M)	0.5 μ L	516
	9N/9L-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	31-f (25 μ M)	0.5 μ L	701
	31-r (25 μ M)	0.5 μ L	
	PCR 用水	7.7 μ L	
	総量	25 μ L	

反応 8	成分	添加量	PCR 産物 サイズ (bp)
	2X PCR Buffer (QIAGEN Multiplex PCR Kit cat#206143)	12.5 μ L	
	ゲノム DNA	1 μ L	
	<i>cpsA</i> -f (25 μ M)	0.1 μ L	160
	<i>cpsA</i> -r (25 μ M)	0.1 μ L	
	21-f (25 μ M)	0.2 μ L	192
	21-r (25 μ M)	0.2 μ L	
	2-f (25 μ M)	0.3 μ L	290
	2-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	20-f (25 μ M)	0.3 μ L	514
	20-r (25 μ M)	0.3 μ L	
	13-f (25 μ M)	0.4 μ L	655
	13r (25 μ M)	0.4 μ L	
	PCR 用水	8.9 μ L	
	総量	25 μ L	