

(地Ⅲ134)

平成26年9月10日

都道府県医師会

感染症危機管理担当理事 殿

日本医師会感染症危機管理対策室長

小 森 貴

抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスの継続について

標記の件につきまして、今般、厚生労働省健康局結核感染症課より各都道府県等衛生主管部（局）感染症対策担当課宛に事務連絡がなされました。

本サーベイランスは、インフルエンザウイルスの抗インフルエンザ薬耐性株の検出および流行状況を継続的に監視するものであり、本件は地方衛生研究所に対して引き続きサーベイランス実施を依頼するものであります。

つきましては、貴職におかれましても、本件についてご承知おきくださいますようお願いいたします。

事 務 連 絡

平成 26 年 9 月 1 日

各 { 都 道 府 県  
保健所設置市  
特 別 区 } 衛生主管部（局）  
感染症対策担当課 御中

### 厚生労働省健康局結核感染症課

#### 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスの継続について（協力依頼）

インフルエンザに係るウイルスサーベイランスにつきましては、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律の施行に伴う感染症発生動向調査事業の実施について」（平成 11 年 3 月 19 日健医発第 458 号厚生省保健医療局長通知。以下「局長通知」という。）及び「インフルエンザに係るサーベイランスについて」（平成 23 年 3 月 31 日健感発 0331 第 1 号厚生労働省健康局結核感染症課長通知）に基づき、実施いただいているところです。

今般、国立感染症研究所から、昨シーズンに引き続き、抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施することについて、別添のとおり各地方衛生研究所宛てに周知したところです。

各都道府県等におかれましては、これらの内容を御了知の上、ウイルスサーベイランス体制の整備に御協力いただきますよう、よろしくお願いいたします。

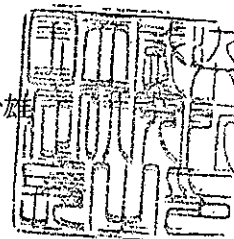
なお、保健所におかれましては、検体を採取される際には、局長通知の別添「感染症発生動向調査事業実施要綱」の別記様式により服薬等の履歴を確認いただきますようお願い申し上げます。

また、平成 23 年 9 月から基幹定点医療機関においてインフルエンザ入院サーベイランスを実施しているところです。地方衛生研究所において、基幹定点医療機関の入院患者から抗インフルエンザ薬耐性ウイルス株を検出した場合においても、可能な範囲で、インフルエンザ病原体定点医療機関から提出された検体から抗インフルエンザ薬耐性ウイルス株が検出された場合と同様、国立感染症研究所への情報提供、ウイルス株の提出等の御協力をお願いします。

各地方衛生研究所 所長 殿

平成26年 8月25日

国立感染症研究所 所長 渡邊治雄



「2014/2015 シーズン 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス実施のお願い」

日頃より抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスにご協力いただきましてありがとうございます。

2013/14 シーズンには、国内でオセルタミビル・ペラミビル耐性株の地域流行があり、全国規模の薬剤耐性株サーベイランスの必要性があらためて確認されました。各地方衛生研究所の皆様方のご協力により、耐性株の流行状況を迅速に把握し、関係機関に情報提供できたことを、重ねて感謝申し上げます。

2014/15 シーズンも引き続き、抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施いたします。つきましては、別紙「実施要綱」、別添「解析株一覧」および感染症疫学センターから配布される「インフルエンザウイルス検出報告の入力について」に従って、抗インフルエンザ薬耐性株の検出および報告をしていただきますようお願い申し上げます。

なお、耐性株が検出された際には、インフルエンザウイルス研究センターにおいて引き続き薬剤感受性試験を実施いたしますので、分与依頼書に基づいて耐性株の分与をお願い申し上げます。

## 別紙

### 2014/2015 シーズン 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス実施要綱

#### [目的]

インフルエンザウイルスの抗インフルエンザ薬耐性株の検出および流行状況を継続的に監視し、国や自治体、医療機関および WHO へ迅速に情報を還元して、インフルエンザ対策の一助とする。

#### [背景]

日本は世界最大の抗インフルエンザ薬使用国であり、薬剤耐性株の検出状況を迅速に把握することは公衆衛生上非常に重要である。2013/2014 シーズンには国内で薬剤耐性株の地域流行があり、全国規模の薬剤耐性株サーベイランスの必要性があらためて確認された。

そこで 2014/2015 シーズンも引き続き、A(H1N1)pdm09 分離株については各地方衛生研究所で H275Y 耐性マーカーの検出を実施し、A(H3N2)および B 型分離株については国立感染症研究所で薬剤感受性試験を実施して、薬剤耐性株を継続的に監視する。

#### [実施要領]

- 検体採取年月日が 2014 年 9 月 1 日以降のウイルス株を対象とする。
- 薬剤感受性試験結果は毎週、NESID の病原体検出情報システム「感染研でのインフルエンザ HI 試験結果 還元データダウンロード」にアップロードされる。
- 集計結果は随時、感染症疫学センターIASR ウェブサイト「抗インフルエンザ薬耐性株検出情報」(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/influ-resist.html>)において検体採取週別、報告機関別に公表される。

#### A(H1N1)pdm09 ウイルス

##### 1. 2014/2015 シーズン薬剤耐性株サーベイランスに用いる検体

- 解析株は、ウイルスサーベイランスに基づくインフルエンザ病原体定点医療機関からの検体を中心に無作為抽出する。インフルエンザ入院サーベイランスに基づく検体あるいは薬剤耐性疑い例など医療機関からの検査依頼検体を解析株に含む場合は、別添「解析株一覧」にその旨記載する。
- TaqMan RT-PCR 法では検出感度を保証するために、HA 価が 8 程度以上のウイルス培養上清が推奨される。RNA 抽出は不要であり、ウイルス培養上清を遠心して細胞由来成分を除去し、滅菌蒸留水で 10 倍希釈したものを 2 $\mu$ l 使用する。凍結保存されているウイルス培養上清に関しては、融解後に遠心して同様に使用する。
- 継代を行っても HA 価が 8 程度以上に上がらない株の場合は、亜型同定のための RT-PCR に使用した精製 RNA 2 $\mu$ lを使用する。
- 鼻腔拭い液などの臨床検体を使用する場合には、RNA を抽出し、その抽出液を 2 $\mu$ l 使用するが、検体中に含まれるウイルス量が非常に少ない場合があり、検出感度は保証されない。したがって、検出限界以下となり結果が判定できない可能性が高くなる。
- 解析する株数は、毎週概ね 3 株を目標値として、まとめて解析を実施してもよい。

2. A(H1N1)pdm09 ウイルス NA 遺伝子上の H275Y 耐性マーカーの同定
  - H275Y 耐性マーカーの同定は、感染研から配布済みの「A/H1N1pdm09 H275Y 耐性株検出法実験プロトコール ver.2」に従って、TaqMan RT-PCR 法により実施する。
  - TaqMan RT-PCR に用いる RT-PCR 反応試薬は、感染研から配布されたものを引き続き使用する。感染研において同ロットの試薬の有効性を検証済みである。
  - NA 遺伝子部分シーケンス法を採用する場合は、従来のマニュアルに従って実施する。ただし、シーケンス結果の波形を確認し、明らかに 823 番目の塩基部分に C (275H) と T (275Y) の波形の重複が見られた場合は、275H/Y mixture と判定する。
  - シーケンスに用いる反応試薬およびプライマーは、各地衛研で準備する。
  
3. TaqMan RT-PCR 法に使用する試薬  
解析に用いる PCR 機種に応じた RT-PCR 試薬を使用する。
  - QuantiTect Virus + ROX Vial Kit を使用する機種
    - Roche Light Cycler 480
    - Agilent MX3000P、Agilent MX3005P
    - ABI 7500、ABI 7500Fast
    - BioRad CFX96
  - QuantiTect Virus Kit を使用する機種
    - ABI 7900HT
    - ABI StepOne、ABI StepOnePlus
    - ABI 7300
    - ABI 7000
  
4. TaqMan RT-PCR 法での結果判定
  - 各 PCR 機器用 Software 中の「Allelic Discrimination 解析」を利用する(各機器の操作マニュアル参照)。
  - 反応終了時の蛍光強度をグラフにプロットし、プロットの位置から、Y275 (耐性株)、H275 (感受性株)、Mix (Y275 と H275 の混合株)、Undetermined と判定する(実験プロトコール参照)。
  
5. 結果報告とウイルス株の送付
  - H275Y 耐性マーカーが同定された場合および 275H/Y mixture あるいは Undetermined と判定された場合は、下記担当者へ速やかに連絡し、感染研からの分与依頼に基づいて送料着払いでウイルス株を送付する。感染研では送付されたウイルス株について速やかに薬剤感受性試験を行い、結果を直ちに当該地衛研に報告する。ただし、臨床検体を使用した場合は検出限界以下となり結果が判定できない可能性が高いため、Undetermined と判定されても報告の必要はない。
  - H275Y 耐性マーカーの有無等の解析結果情報については、感染症疫学センターから配布される「インフルエンザウイルス検出報告の入力について」を参照し、個々のウイルス株

に関して NESID への追加入力を行う。

- 解析結果は、感受性株を含めたすべての解析株について別添「解析株一覧」に記入し、メールで下記担当者へ送付する。

#### A(H3N2)および B 型ウイルス

1. A(H3N2)および B 型ウイルスでは、複数の耐性マーカーが報告されているが、A(H1N1)pdm09 ウイルスにおける H275Y 変異のような代表的な耐性マーカーが存在しないため、薬剤感受性試験によってのみ耐性の判定が可能である。 薬剤感受性試験には分離株を用いるため、ウイルス分離が必須となる。
2. 通常の分与依頼に基づいて感染研に送付された A(H3N2)および B 型分離株すべてについて薬剤感受性試験が実施される。
3. NA 遺伝子シーケンスにより、既知の耐性マーカーを検出した場合は、下記担当者へ速やかに連絡し、感染研からの分与依頼に基づいて送料着払いでウイルス株を送付する。感染研では送付されたウイルス株について速やかに薬剤感受性試験を行い、結果を直ちに当該地衛研に報告する。

#### ウイルス株の送付および薬剤耐性株サーベイランスに関するお問い合わせ先

国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター第一室

薬剤耐性株サーベイランス担当 高下恵美

E-mail: [emitaka@nih.go.jp](mailto:emitaka@nih.go.jp)

TEL: 042-848-7163/7164 FAX: 042-561-6149

<参考資料>

1. 検査コスト(100 反応分、プライマーは除く)

- TaqMan RT-PCR 法
  - QuantiTect Virus +ROX Vial Kit あるいは QuantiTect Virus Kit
  - TaqMan MGB プローブ

使用の場合で、約 28,000 円

- NA 遺伝子部分シーケンス法
  - QIAamp Viral RNA Mini Kit
  - TaKaRa One Step RNA PCR Kit (AMV)
  - QIAquick PCR Purification Kit
  - BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit
  - BigDye XTerminator 精製キット

使用の場合で、約 190,000 円

2. TaqMan RT-PCR 法で PCR 機器に関する問題が生じた場合の連絡先

- <ABI>テクニカルサポート  
E-Mail: jptechsupport@appliedbiosystems.com  
TEL: 0120-477-392 FAX: 0120-477-120, 03-5566-6538
- <Roche>コールセンター  
E-Mail: tokyo.biochemicals@roche.com  
TEL: 03-5443-5287 FAX: 03-5443-7098
- <Agilent>お客様窓口  
E-Mail: email\_japan@agilent.com  
TEL: 0120-477-111 FAX: 0120-565-154

3. TaqMan RT-PCR 法で技術的問題が生じた場合の問い合わせに際して必要となるファイル

- Roche Light Cycler 480  
「.ixo」ファイル1つ
- Agilent MX3000P、Agilent MX3005P  
「.MxPro」ファイル1つ
- ABI 7500、ABI 7500Fast、ABI 7300、ABI 7000 Software v1.X  
「.sds」ファイル 3 つ (Pre-Read、Amplification、Post-Read)
- ABI 7500、ABI 7500Fast Software v2.X  
「.eds」ファイル1つ
- ABI 7900HT  
「.sds」ファイル 3 つ (Pre-Read、Amplification、Post-Read)
- ABI StepOne、ABI StepOnePlus  
「.eds」ファイル1つ

自動集計(TaqMan RT-PCR)		自動集計(シーケンス)	
2014/15シーズン 総解析数	総「Y275」株数 総「Mix」株数	総「Undetermined」株数	2014/15シーズン 総解析数
0	0	0	0
	総「Y275 + Mix」株数	総「Undetermined」株数	総「Y275」株数
	0	0	0
	総「Mix」株数	0	総「Mix」株数
	0	0	0
	総「Y275 + Mix」株数	0	総「Y275 + Mix」株数
	0	0	0

新しいデータは前回報告済みのデータの下に追加してください。

シーズン 通し番号	ウイルス株名 または NESID 検体提供者番号	ウイルス株情報	TaqMan RT-PCR結果	NA遺伝子 シーケンス結果	薬剤服用状況	解析株選出基準	結果一覧送付
例1	A/TOKYO/10/2014	検体採取年月日 2014/09/10	H275 Y275 Mix Undetermined (未解析は空欄)	H275 Y275 Mix (未解析は空欄)	種類、投与開始日、治療 または予防 情報なし	無作為抽出 入院サーベイランス その他(耐性疑い検査依頼等)	2014/11/30
例2	A/TOKYO/25/2014	2014/10/08	Mix H275	Mix	情報なし	無作為抽出	2014/11/30
例3	A/TOKYO/30/2014	2014/10/09	Undetermined		ラビアクタ、2014.11.29、治 療	その他(耐性疑い)	2014/12/25
例4	A/TOKYO/41/2014	2014/11/30	Y275	Y275	リンザ、2014.11.30、治療	入院サーベイランス	2014/12/25
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							



別記様式

保健所コード  
□□-□□-□□

保健所登録全数報告ID  
□□□□-□□□□-□□□□□□

衛研受付番号(検体提供者番号)  
□□□□□□□□

一類感染症、二類感染症、三類感染症、四類感染症、五類感染症、新型インフルエンザ等感染症及び指定感染症検査票（病原体）

患者	性別 (男・女)	定ポイント医療機関の場合は該当するものを○で囲んでください
者	年齢 (歳 ヲ月)	・インフルエンザ定点 ・小児科定点 ・眼科定点 ・性感染症定点 ・基幹定点
【主治医等記載欄】		
医療機関等名及び主治医等医師名(記載者)		
検体送付日	年 月 日	分離株(無、有、検査中)
診 断 名		
発 病 日		
検 採 取 日		
査 材 料	材料の種類 [該当するもの一つを○で囲んで下さい]	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ふん便(腸内容物、直腸ぬぐい液)</li> <li>・吐物 ・喀痰 ・気管吸引液</li> <li>・咽頭ぬぐい液(うがい液、鼻汁)</li> <li>・結膜ぬぐい液(結膜擦過物、眼脂)</li> <li>・細胞診、生検、剖検材料(臓器)</li> <li>・血液(全血、血清、血漿、抗凝固剤)</li> <li>・その他( )</li> </ul>
	臨 床 症 状・徴 候 等 [該当するものを全てを○で囲んで下さい] (基礎疾患を除く)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・髄液 ・尿</li> <li>・穿刺液(腹水、胸水、関節液、その他[ ])</li> <li>・皮膚病巣(水疱内容、痂皮、創傷)</li> <li>・陰部尿道頸管擦過物/分泌物</li> </ul>
事 項	<ul style="list-style-type: none"> <li>・無症状</li> <li>・頭痛 ・発熱(最高 ℃)</li> <li>・熱性けいれん ・関節痛(関節炎、筋肉痛)</li> <li>・口内炎 ・上気道炎(咽頭炎/痛、扁桃炎)</li> <li>・下気道炎(肺炎、気管支炎)</li> <li>・水疱 ・発疹(丘疹、紅斑、バラ疹)</li> <li>・出血傾向※全身性のもの</li> <li>・リンパ節腫脹(部位 )、唾液腺腫脹、浮腫(部位 )</li> <li>・ショック症状(低血圧、循環不全)</li> <li>・その他の症状(上記以外の症状や臨床徴候)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・胃腸炎(下痢、血便、嘔気、嘔吐、腹痛)</li> <li>・角膜炎、結膜炎、角結膜炎</li> <li>・髄膜炎、意識障害、麻痺(部位 )、中枢神経系症状(脳炎、脳症、脊髄炎、その他[ ])</li> <li>・循環器障害(心筋炎、心膜炎、心不全)</li> <li>・黄疸 ・肝機能障害</li> <li>・腎機能障害(HUS、血尿、乏尿、蛋白尿、多尿、腎不全)</li> <li>・尿路生殖器症状(膀胱炎、尿道炎、外陰炎、頸管炎)</li> </ul>
基礎疾患		
転 帰	経過観察中、軽快、治癒、後遺症有り、死亡(原因 )	
主治医等から地方衛生研究所への連絡事項		
<p>*インフルエンザ迅速キット使用(無、有:メーカー名 [ ]):[陰性、陽性、保留]</p> <p>*抗インフルエンザ薬投与(無、有:薬剤名 [ ])</p> <p>投与開始日 年 月 日[予防投与、治療投与]</p>		

【保健所等記載欄】(主治医記載可)

発生の状況	<ul style="list-style-type: none"> <li>・散発 ・地域流行 ・家族内発生(無、有)</li> <li>・集団発生(無、有) ・発生市区町村( )</li> </ul> <p>有の場合(保育所、幼稚園、小学校、中学校、高校、大学、宿舍・寮、病院、老人ホーム[介護施設を含む]、福祉・養護施設、旅館・ホテル、飲食店、事業所、海外ツアー、国内ツアー、その他[ ])</p>	
最近の海外渡航歴	国名	
	期間	年 月 日 ~ 年 月 日
ワクチン接種歴	(無、有、不明) 最終接種年月日 年 月 日	
	ワクチン名 (Lot No. )	

【地方衛生研究所記載欄】

記載者名	
抗体検出方法	(蛍光、IP、ELISA、CF、HI、PA、中和、イムノブロット、ゲル内沈降、凝集反応、その他[ ])
結果	( )
検出年月日	年 月 日
検出方法 [陽性となった方法を○で囲んで下さい]	<ul style="list-style-type: none"> <li>・分離培養(培養細胞:細胞名 [ ])</li> <li>人工培地、発育鶏卵、動物、その他[ ])</li> <li>・抗原検出(蛍光、EIA、RPHA、LA、PA、IC[イムノクロマト]、その他[ ])</li> <li>・遺伝子検出 1.非増幅(ハイブリ、PAGE、その他[ ])</li> <li>2.増幅(PCR、PCR+ハイブリ、PCR+シーケンス、LAMP、その他[ ])</li> <li>・電顕 ・鏡検</li> </ul>
検出病原体(群、型、亜型)	

【その他特記事項】

--

注1) 主治医記載欄については、検体送付日において記載できる範囲で記載をお願いします。

注2) ワクチン接種歴については、当該疾患に係るものにつき記載して下さい。

注3) 医療機関(民間検査所を含む)で病原体を分離した場合は、地方衛生研究所への分離株の送付をお願いします。