

動物由来感染症レファレンスセンター

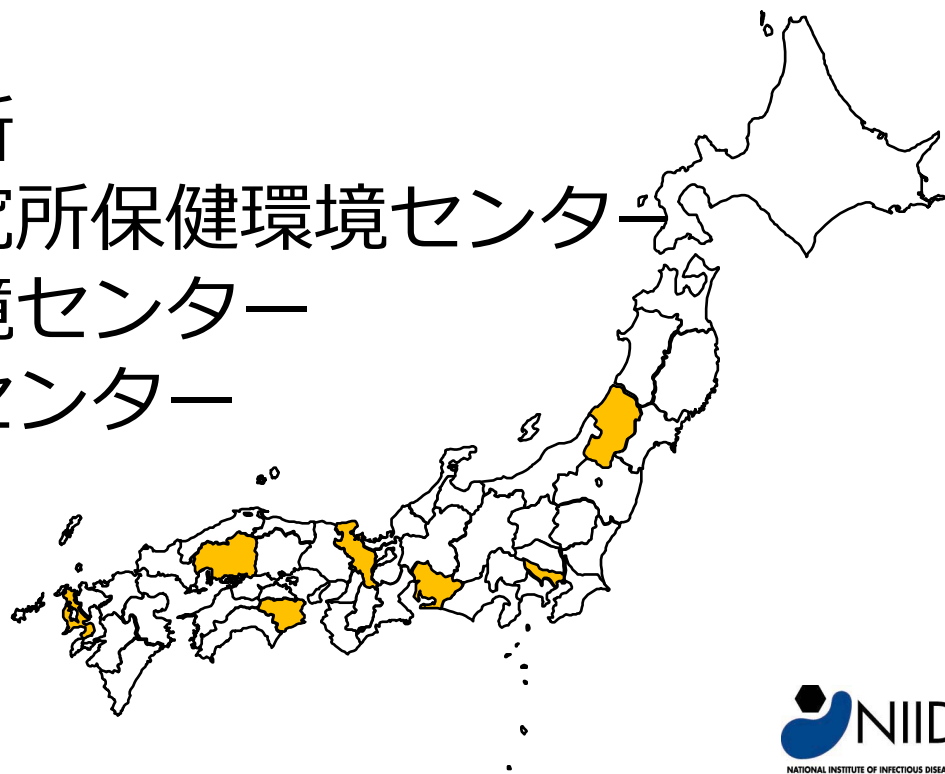
研究分担者 森川茂（獣医科学部長）

研究協力者 井上智、奥谷晶子、野口章、今岡浩一、
木村昌伸、堀田明豊（獣医科学部）

世話人： 井上智（国立感染症研究所獣医科学部）

動物由来感染症レファレンスセンター地衛研

- ◆山形県衛生研究所
- ◆東京都健康安全研究センター
- ◆愛知県衛生研究所
- ◆京都府保健環境研究所
- ◆広島県立総合技術研究所保健環境センター
- ◆徳島県立保健製薬環境センター
- ◆長崎県環境保健研究センター



H27年度実施事項

SFTSウイルス抗体検出用ELISAのEQA

- SFTSV-ELISA抗原の供与(1,100検体分)
- 陽性対照血清の供与
- 2次血清(ImmunoPure Protein A/G-HRP)の供与
- 基質(ABTS)の供与
- IgG-ELISAのプロトコールの供与
- Blind sample set(11検体)を用いたバリデーション (EQA)

アドホック参加自治体 (12自治体)

北海道、富山県、茨城県、静岡県、名古屋市、広島市、福岡県、
福岡市、熊本県、大分県、宮崎県、沖縄県

SFTSウイルス抗体検出用ELISAのEQAのまとめ

自治体数	成績
14	OK
3*	低感度
1	データ不良
1	未回答

*低感度の1地衛研は研修で問題解決

幾つかの自治体ではELISA経験が殆ど無いか、実施していない。

→ELISA readerが古い？

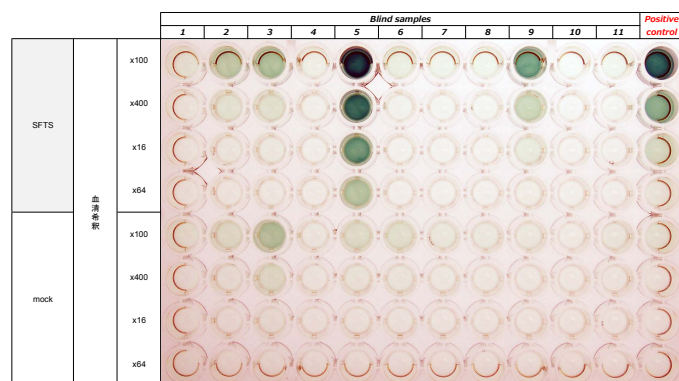
洗浄に問題？

ELISAキットの保管温度？

動物におけるSFTSウイルスの血清疫学調査に必要な検査が参加自治体で可能となった

配布用10倍希釈血清使用、proteinA/G v20000.

		Blind samples											Positive control	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
SFTS	x100	0.191	0.602	0.772	0.154	3.031	0.239	0.195	0.183	1.433	0.12	0.185	2.425	
	x400	0.123	0.223	0.293	0.114	2.413	0.135	0.117	0.12	0.573	0.1	0.115	1.184	
	x16	0.107	0.127	0.145	0.099	1.504	0.103	0.099	0.099	0.227	0.1	0.102	0.417	
	x64	0.117	0.113	0.119	0.108	0.771	0.109	0.111	0.109	0.142	0.105	0.104	0.179	
mock	x100	0.175	0.259	0.781	0.136	0.335	0.285	0.18	0.163	0.156	0.109	0.158	0.211	
	x400	0.121	0.14	0.277	0.108	0.163	0.149	0.121	0.114	0.11	0.095	0.113	0.129	
	x16	0.112	0.106	0.143	0.099	0.111	0.109	0.1	0.098	0.096	0.094	0.098	0.1	
	x64	0.126	0.101	0.113	0.097	0.099	0.098	0.092	0.093	0.09	0.105	0.09	0.116	
ΔSubtracted	x100	0.016	0.343	0.011	0.018	2.086	-0.048	0.015	0.02	1.277	0.012	0.027	2.213	
	x400	0.002	0.083	0.018	0.006	2.25	-0.014	-0.004	0.006	0.463	0.005	0.022	1.095	
	x16	-0.005	0.021	0.002	0	1.363	-0.006	-0.001	0.001	0.131	0.006	0.004	0.317	
	x64	-0.009	0.012	0.006	0.011	0.672	0.011	0.019	0.016	0.052	0	0.014	0.051	



H28年度の取組み

野兔病の検査系バリデーション

担当：堀田明豊（獣医科学部第三室）

- レファレンスセンターへの希望調査結果
 1. 野兔病の検査（5衛研）
 2. 狂犬病の抗原検査（1衛研）
 3. 衛研全体で希望する検査等の調査（1衛研）

野兔病（感染症法で4類感染症、家伝法で届出伝染病）

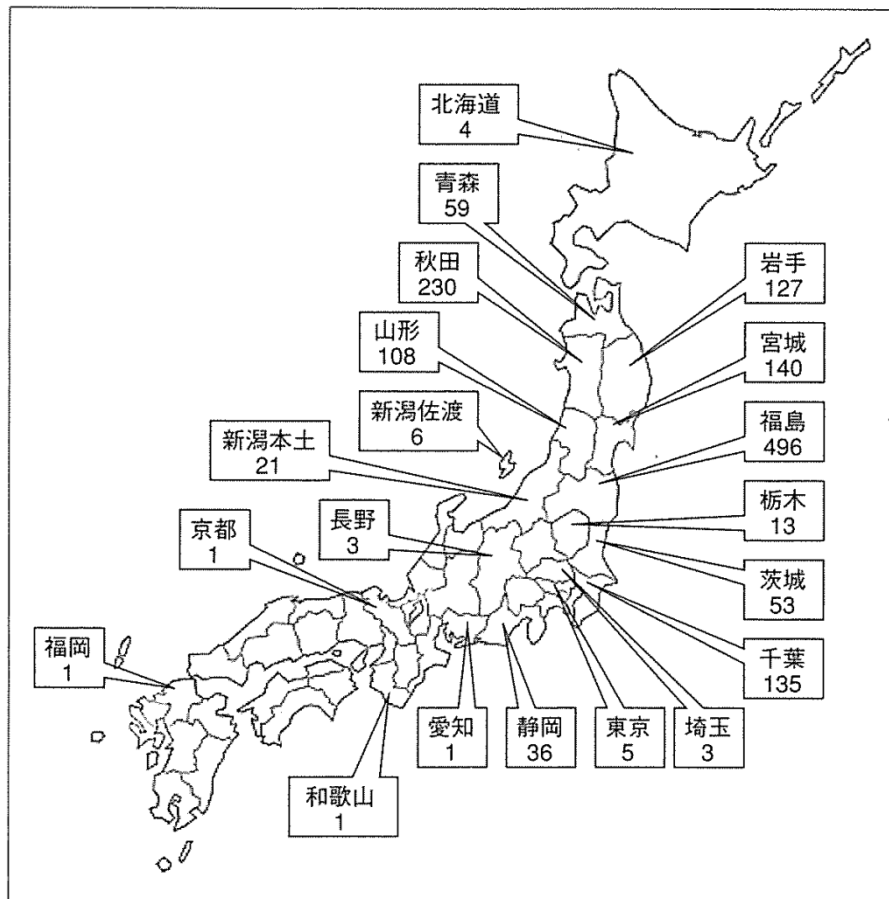


図1 日本の県別野兔病発生数 (1921~2008年, 数値は暫定的)

「医学のあゆみ」2010より

感染源	例数
ノウサギ	1,235
他の動物種	19
マダニ類	9
実験室内感染	34
不明	26
計	1,323

「大原総合病院年報」1986から改変

リンパ節腫脹	病型	No.
あり	リンパ節型	627
	潰瘍リンパ節型	213
	口咽頭型	50
	眼リンパ節型	38
	鼻腔リンパ節型	5
なし	チフス型	53
	胃型	1
	不明瞭	26

Ohara Y. et al. [Infection]1991より改変

2008年7月以降の野兔病症例

年	報告地域	感染源
08	和歌山	ダニ?
14	兵庫	ダニ?
15	徳島	ダニ?
15	福島	?

いずれも当初はリケッチア感染症が疑われた症例
これまでの野兔病とは疫学情報が異なる



検査法のバリデーション、更なる情報収集が必要

感染研が実施している野兔病の行政検査

- 血清学的検査 (微量凝集反応)
- 遺伝子検出 (conventional PCR)
- 分離菌同定 (培養、生化学性状、抗体反応など)

- 平成21および22年度に、5つの地方衛研（山形県、東京都、愛知県、京都府および長崎県）と感染研で実施
- 微量凝集反応にて、擬似3検体の凝集力価確認
- PCR（16SrRNA および *fopA*領域）の検出感度および擬似4検体DNAによる特異性の確認



微量凝集反応：実施機関間で凝集力価の差は2倍以内

PCR（検出感度）：実施機関間で100倍の差

PCR（特異性試験）：予定通りの反応

許容範囲内であり、良好な結果

今年度の活動予定

- 血清学的検査（微量凝集反応）
 - 抗原濃度調整
 - 陽性(強・弱)、陰性対照および擬似3検体血清の凝集力価測定
- 遺伝子検出（conventional PCR）
 - 16S rRNAおよび*fopA*領域の遺伝子断片の増幅
 - 検出感度の確認
 - 擬似検体DNAについて、各遺伝子領域断片の増幅の有無を確認
- 平成21および22年度実施の5つの地衛研（山形県、東京都、愛知県、京都府および長崎県）と、広島および徳島県＋アドホック参加の地衛研で実施を予定。

今後の予定

- 8月31日：アドホックの自治体の参加締切り。
- 10月上旬：必要試薬等の発送。
- 12月上旬：結果回収。
- 結果供覧、再試験（必要の場合）。

問い合わせ先

国立感染症研究所 獣医科学部

堀田明豊 メール：ahotta@nih.go.jp
tel: 03 5285 1111 (2623)