

ニパウイルス感染症および
ヘンドラウイルス感染症
検査マニュアル

(第 1.2 版)

平成 28 年 2 月 15 日

へニパウイルス感染症

(ニパウイルス感染症およびヘンドラウイルス感染症)

検査マニュアル

目次

1. へニパウイルス感染症の概説
2. へニパウイルス感染症の検査に関する注意事項
3. 検査材料の採取・輸送
4. 病原学的検査
 - 1) ウイルス分離・同定
 - 2) 遺伝子検出法
5. 血清学的検査
 - 1) ELISA による抗体検出（スクリーニング試験）
 - 2) シュードタイプウイルスを用いた中和抗体検出
6. へニパウイルス感染症の診断基準
7. 引用文献
8. 緊急時連絡先

1. ヘニパウイルス感染症の概説

ヘニパウイルス感染症とは、ニパウイルス (Nipah virus; NiV) 感染症、ヘンドラウイルス (Hendra virus; HeV) 感染症の総称であり、1990 年代に出現した新興人獣共通感染症である。ともに神経症状・呼吸器症状を主徴とする。原因となる NiV、HeV はパラミクソウイルス科ヘニパウイルス属に分類され、両感染症は疫学的背景、症状、検査手法などに共通点が多い。2012 年 7 月までに、NiV 感染症の流行はマレーシア、シンガポール、インド、バングラデシュで報告されたが、HeV 感染症の発生はオーストラリアに限定されている。NiV、HeV の自然宿主はオオコウモリであるが、ヒトでは以下の感染経路が報告されている。

1) 飛沫感染 (NiV、HeV)

主に呼吸器症状を呈した患畜 (NiV ではブタ等、HeV ではウマ) もしくは患者 (これまでの報告では NiV のみ) と接触した農場関係者、医療・獣医療関係者、介護者等での感染が報告されている。

2) 経口感染 (NiV)

ウイルス感染オオコウモリの体液 (唾液・尿・子宮分泌液など) が付着・混入した樹液・果実の摂取による感染が報告されている。

2. ヘニパウイルス感染症の検査に関する注意事項

NiV と HeV は、感染症法において三種病原体に指定されており、ウイルスの所持は厚生労働大臣への届け出が必要である。また、「国立感染症研究所病原体等安全管理規定 第三版 (平成 22 年 6 月)」では BSL3 病原体に分類されているが、診断目的の少量培養に限られ、それ以外は BSL4 施設で行うことになっている。

国立感染症研究所・獣医科学部では、病原学的検査として、ヘニパウイルスの分離、間接蛍光抗体法による抗原の検出、RT-PCR によるゲノム検出が、血清学的検査として ELISA、中和試験 (シュードタイプウイルスを用いた検査法) による特異抗体の検出が可能である。

なお、上記の間接蛍光抗体法には抗 NiV-N 蛋白質抗体を用い、中和試験には NiV-F/G 蛋白質を外套したシュードタイプウイルスを用いている。NiV と HeV は血清学的に交差することが知られており¹⁾、NiV (抗原・抗体) 検出法によって HeV (抗原・抗体) の検出が可

能と考えられるが、HeV（抗原・抗体）に対する偽陰性を否定できないことを留意して使用する必要がある。現在、HeV 特異的な検査法を開発中である。

3. 検体の採取・輸送

1) 検体：病原学的検査（ウイルス抗原・ウイルスゲノムの検出）には、脳脊髄液、咽頭スワブ、尿および剖検例での各種臓器（とくに脳、肺、腎臓、脾臓）、血清が利用される¹⁾。血清学的検査（ウイルス特異的な抗体の検出）には、急性期と回復期（発症 2 週間以降）に採取されたペア血清が必要である。

2) 輸送：いずれの検体も、採取の翌日までに国立感染症研究所に届けることが可能であれば、冷蔵のまま輸送されることが望ましい。その場合、血液は血清分離する必要はない。国立感染症研究所への到着が、採取の翌日以降になる場合は、ドライアイス詰めにして輸送する。血液は血清分離を行い、56℃30 分で非働化する。検体の保存が必要な場合は、-80℃で保存する。臨床検体の輸送に関しては、国立感染症研究所のバイオリスク・ガイダンス (<http://www.nih.go.jp/niid/ja/biorisk-guidance.html>) のカテゴリ B 容器の項を参照されたい。

4. 病原学的検査

1) ウイルス分離・同定

Vero 細胞を用いてウイルス分離し、間接蛍光抗体法により同定する。

A. 試薬・機材

- ① Vero 細胞
- ② CO₂ 培養器 (37℃)
- ③ E-MEM
- ④ ウシ胎児血清 (FCS、56℃30 分非働化済みのもの)
- ⑤ リン酸緩衝液 (PBS(-))
- ⑥ 組織培養用フラスコ (例えば 25cm²、ベンチレーションキャップつき。検体の重量に応じて、適当な大きさのものを用意する。6 穴あるいは 96 穴プレートでもよい。)
- ⑦ 組織培養用ペニシリン・ストレプトマイシン
- ⑧ 遠心管
- ⑨ 遠心機

- ⑩ 固定液：0.4% Triton X 入りホルマリン（3.6%ホルムアルデヒド）
- ⑪ 1次抗体：抗 NiV-N 抗体（血清）*
- ⑫ 2次抗体：ヤギ抗ウサギ IgG-FITC 標識抗体（例えば CALTAG 社 L42001 Goat Anti-Rabbit IgG (H+L)）
- ⑬ DAPI 試薬
- ⑭ Evansblue

*国立感染症研究所獣医科学部では、NiV-N 蛋白質発現プラスミドを DNA 免疫して作製した抗 NiV-N 蛋白質ウサギ血清を用いている。

B. 検査方法

ウイルス分離

- ① Vero 細胞の単層を用意する。フラスコならば 1 検体あたり 2 本、プレートならば 1 検体あたり 2 ウェルを準備する。
- ② 2% FCS 入り E-MEM（最終濃度として、ペニシリン 5 units/ml、ストレプトマイシン 0.005 μ g を含む）で、10%組織乳剤を作製する。
- ③ 細胞を PBS(-)で洗浄する。
- ④ 37°Cで 1 時間吸着させる。
- ⑤ 接種液を取り除き、維持培地（2% FCS 入り E-MEM）を用いて、細胞を培養する。
- ⑥ 毎日、細胞変性効果（CPE）出現の有無を確認する。
- ⑦ CPE が認められた場合、片方のフラスコ（またはウェル）を固定し、抗 NiV-N 蛋白質抗体を用いた間接蛍光抗体法で同定する（後述）。もう片方のフラスコ（またはウェル）の細胞から RNA を抽出し、遺伝子検出に供する。1 週間後までに CPE が確認できなかった場合、一部の細胞を盲目継代（blind passage）する。

間接蛍光抗体法 (IFA)

- ① ウイルス接種細胞ウェルに、固定液を加え、30 分室温に置き、固定する。
- ② PBS で 3 回洗浄する。
- ③ ウサギ抗 NiV-N 血清を、PBS で $\times 100$ 希釈（1 検体あたり複数ウェルが使用できる場合は、同時に $\times 50$ 、 $\times 200$ 希釈も使用する）し、50 μ l ずつ分注する。室温で 1 時間反応させる。
- ④ PBS で 3 回洗浄する。
- ⑤ 抗ウサギ IgG-FITC 標識抗体を $\times 500$ 希釈し、50 μ l ずつ分注する。室温で 30 分反応させる。標識抗体液には、核染色用試薬 DAPI (0.02 μ g/ml)、カウンターステイン用試薬 Evansblue (0.002%) を混ぜておく。
- ⑥ PBS で 3 回洗浄する。
- ⑦ 蛍光顕微鏡で観察する。

2) 遺伝子検出法

Conventional RT-PCR あるいは Taqman プローブ検出による realtime RT-PCR を行う。

A. 試薬・機材

組織破碎用（検体が組織の時）

- ① セラミックビーズ (例えば、以下を混ぜて使用する。大ビーズ: MP 社 6540-412, 1/4" Ceramic Sphere, 小ビーズ: MP 社 6540-427 Garnet Matrix A Bulk)
- ② 2ml チューブ (スクリュウキャップ) (例えばアシスト社 72.693S)
- ③ 細胞破碎機 (ビード・ビーターなど)

RNA 抽出用

- ④ QIAamp viral RNA Mini Kit (Qiagen 社 4304437)
- ⑤ RNeasy Mini Kit (Qiagen 社 74104)
- ⑥ RNase/DNase free 純水
- ⑦ マイクロ遠心機

conventional RT-PCR 用

- ⑧ ランダムプライマー (Promega 社 Random Primers C1181)
*プライマー液 (購入時 500ng/μl) を 10 倍希釈 (50 ng/μl) し、保存しておく。
- ⑨ 逆転写酵素: RTase (Promega 社 AMV reverse transcriptase M9004)
- ⑩ Taq DNA ポリメラーゼ (TaKaRa 社 TaKaRa Ex Taq RR001A)
- ⑪ RNase 阻害剤 (Promega 社、Recombinant RNasin Ribonuclease Inhibitor N2511)
- ⑫ サーマルサイクラー

電気泳動およびシーケンシング用

- ⑬ 核酸電気泳動用 1.5%アガロースゲル
- ⑭ DNA 分子量マーカー (100bp ラダー)
- ⑮ アガロースゲル電気泳動槽
- ⑯ シーケンシングキット BigDye Terminator ver. 3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI, 4336917)
- ⑰ DNA シーケンサー

realtime RT-PCR 用

- ⑱ Taqman Universal PCR Master Mix (ABI 社 10928-042)
- ⑲ realtime PCR 装置 (例えば ABI 社 7500 Real Time PCR System)
- ⑳ realtime PCR 用マイクロチューブ

B. 検査方法

RNA 抽出～cDNA 合成

- ① 検体より RNA を抽出する。
検体が血清・尿など液体の場合は、QIAamp viral RNA Mini Kit (Qiagen)を使用する。方法はキットの取り扱い説明書を参照する。
検体が組織の場合は、RNeasy Mini Kit (Qiagen) を使用する。2ml チューブに組織 30mg、Buffer RLT 600 μ l、セラミックビーズを入れ、ビード・ビーターを使用し、最高スピードで 20 秒ホモゲナイズする。方法はキットの取り扱い説明書を参照し、RNase/DNase free 純水 50 μ l で溶出する。
- ② ランダムプライマーを用いて、cDNA を合成する。
 - i. ランダムプライマー (50 ng/ μ l ストック) 1 μ l に、10 μ l の抽出した RNA 溶液を加える。
 - ii. 95 °C で 1 分間加熱し、氷中で急速冷却後、室温とする。
 - iii. 同じチューブに以下の試薬を加える (反応液の総量は 21 μ l に)。
4 μ l 5 \times buffer、
4 μ l dNTP (2.5mM-each)
1 μ l RNasin (Ribonuclease inhibitor)
1 μ l AMV RTase
 - iv. サーマルサイクラーを用い、以下の条件で RT 反応を行う。
42 °C 45 分間
95 °C 5 分間
- ③ 上記 RT 反応液のうち、3 μ l を 27 μ l の DW で 10 倍希釈する。

conventional PCR

- ① PCR チューブに、以下の試薬を加える (反応液の総量は 50 μ l に)。
38 μ l DW
5 μ l 10 \times ExTaq Buffer、
4 μ l dNTP Mixture (2.5mM-each)、
1 μ l Forward primer (10pmol/ μ l) (表 1 参照)
1 μ l Reverse primer (10pmol/ μ l) (表 1 参照)
0.25 μ l TaKaRa Ex Taq (5U/ μ l)
1 μ l RT 反応液 (10 倍希釈済み)
- ② サーマルサイクラーを用い、以下の条件で PCR 反応を行う
95°C 3 min
↓
95°C 10 sec

58°C 10 sec

72°C 30 sec

×30 cycles

↓

72°C 10 min

↓

4°C

- ③ RT-PCR 産物をアガロースゲル (1.5%) 電気泳動する。エチジウムブロマイド染色により増幅された DNA 産物 (228bp) を確認する。
- ④ DNA 産物について、BigDye Terminator ver. 3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI, 4336917) を用いてシーケンシング反応を行い、シーケンサーで塩基配列を確認する (詳細はキットの取り扱い説明書を参照すること)。

realtime PCR

- ① Taqman Universal PCR Master Mix (ABI) を用いて realtime RT-PCR を行う。PCR チューブに、以下の試薬を加える (反応液の総量は 50 μ l に)。(詳細はキットの取り扱い説明書を参照すること。)

25 μ l Taqman Universal PCR Master Mix (2X)

5 μ l Forward primer (最終濃度 300nM) (表 2 参照)

5 μ l Reverse primer (最終濃度 300nM) (表 2 参照)

5 μ l TaqMan probe (2.5 μ M)

5 μ l RT 反応液 (10 倍希釈済み)

5 μ l DW

- ② realtime PCR 装置を用い、以下の条件で PCR 反応を行う。

50°C 2 min

↓

95°C 10 min

↓

95°C 15 sec

60°C 1 min

×40 cycles

- ③ Ct 値 39 以下の検体を、本試験における陽性と考える。

表 1. ヘニパウイルス遺伝子検出用 conventional RT-PCR に使用されるプライマー配列

検出 遺伝子	名称	配列	説明
NiV-N ²	NiV-N 1178F	CTGCTGCAGTTCAGGAAACATCAG	forward primer (24mer)
	NiV-N 1404R	ACCGGATGTGCTCACAGAACTG	reverse primer (22mer)
HeV-N	NiV-N 1178F	CTGCTGCAGTTCAGGAAACATCAG	forward primer (24mer)
	HeV-N 1404R	TCCGGATGTACTCACTGAACTG	reverse primer (22mer)

表 2. ヘニパウイルス遺伝子検出用 realtime RT-PCR に使用されるプライマーおよび Taqman プローブ配列³

検出 遺伝子	名称	配列	説明
NiV-N	Nipah-N 1198F	5'-TCA-GCA-GGA-AGG-CAA-GA G-AGT-AA-3'	forward primer (23mer)
	Nipah-N 1297R	5'-CCCCTTCATCGATATCTTGA TCA-3'	reverse primer (23mer)
	Nipah-1247 comp-FAM	5'-6FAM-CCT-CCA-ATG-AGC-AC A-CCT-CCT-GCA-G-TAMRA-3'	Taqman probe (25mer)
HeV-N	Hendra-N 1433F	5'-ATC-TCA-GAT-CCA-GAT-TAG -CTG-CAA-3'	forward primer (24mer)
	Hendra-N 1572R	5'-ATC-ATT-TTG-GGC-AGG-TTT -GG-3'	reverse primer (20mer)
	HENDRA-N 1510T-FAM	5'-6FAM-AAC-CGC-CCT-CAG-G CA-GAC-TCA-GGA-TAMRA-3'	Taqman probe (24mer)

5. 血清学的検査

1) ELISA による抗体検出 (スクリーニング試験)

不活化 NiV、不活化 HeV を固相化抗原として利用した IgG 検出 ELISA¹ を行う。

A. 試薬・機材

- ① ELISA plate reader
- ② 不活化ヘニパウイルス抗原 (NiV あるいは HeV) *
- ③ Vero 細胞抗原**
- ④ 37°C インキュベーター
- ⑤ プレートシェーカー
- ⑥ 96 穴イムノプレート (Thermo scientific 社 Nunc-immunoplate 439454)
- ⑦ 96 穴プレート用シール
- ⑧ リン酸緩衝液 (PBS(-))
- ⑨ PBST (0.05% Tween 20 入り PBS(-))
- ⑩ skim milk
- ⑪ Protein A/G (peroxidase conjugated) (Thermo Scientific 社 ImmunoPure Protein A/G Peroxidase Conjugated 32490) ***
- ⑫ TMB 基質液 (KPL 社 SureBlue TMB 1-Component Microwell Peroxidase Substrate 52-00-01)
- ⑬ 1M 硫酸液
- ⑭ 陽性対照血清 (抗 NiV-N ウサギ血清)
- ⑮ 陰性対照血清 (非感染ヒト血清)

*国立感染症研究所獣医科学部では、NiV (あるいは HeV) 感染 Vero 細胞を NP40 で可溶化し、ガンマ線照射したものをを用いている (Australian Animal Health Laboratory にて作製)。

**国立感染症研究所獣医科学部では、mock 感染 Vero 細胞を NP40 で可溶化し、ガンマ線照射したものをを用いている (Australian Animal Health Laboratory にて作製)。

***国立感染症研究所獣医科学部では、保存液 (Thermo Scientific 社 Guardian Peroxidase Conjugate Stabilizer/Diluent 37548) で×100 希釈したうえで、4°C に保存している。使用時に 1% skim milk 入り PBST で×500 希釈し、最終希釈倍率×50,000 とする。

B. 検査方法

- ① 不活化ウイルス抗原・Vero 細胞抗原を PBS(-) で×2,000 希釈する。
- ② 96 穴イムノプレートに、希釈した不活化ウイルス抗原 50 µl を、1 検体あたり 2 well

ずつに入れる。同様に、Vero 細胞抗原 50 μ l を、1 検体あたり 2 well ずつに入れる。
プレートのレイアウトは、図 1 を参照（1 検体あたり 4 well を使用する）。

- ③ プレートにシールをして、4 $^{\circ}$ Cで一晩静置する。
(時間がないときは、シェイカーで振盪しながら 37 $^{\circ}$ C、60 分)
- ④ PBS(-) 250 μ l で 4 回洗浄する。
- ⑤ 5% skim milk 入り PBS(-)を 100 μ l 加える。シェイカーで振盪しながら 37 $^{\circ}$ C、30 分。
- ⑥ PBS(-) 250 μ l で 4 回洗浄する。
- ⑦ 1% skim milk 入り PBS(-)で \times 100 希釈した非働化済み検体（血清）を、100 μ l/well ずつ加える。conjugate 対照・TMB 対照ウエルには、1% skim milk 入り PBS(-) を 100 μ l/well ずつ加える（図 1 参照）。
- ⑧ 37 $^{\circ}$ Cで、60 分静置する。
- ⑨ PBST 250 μ l で 4 回洗浄する。
- ⑩ Protein AG conjugate（1% skim milk-in PBST で、最終濃度 \times 50,000 に希釈）を 100 μ l / well 加える。TMB 対照ウエルには、1% skim milk 入り PBST を 100 μ l/well ずつ加える（図 1 参照）。
- ⑪ 37 $^{\circ}$ Cで、60 分静置する。
- ⑫ PBST 250 μ l で 4 回洗浄する。
- ⑬ TMB 基質液（SureBlue）を 100 μ l / well 加える。
- ⑭ 10 分間、室温にて静置する。
- ⑮ 1M 硫酸液を 100 μ l / well 加える。
- ⑯ ELISA plate reader で吸光度（OD₄₅₀）を測定する。TMB 対照ウエルをブランクとする。
- ⑰ 結果の解釈は以下の要領で行う。
 - i. 各検体について、S/N 比を算出する。
S/N 比=ウイルス抗原ウエルの OD 平均値/Vero 細胞抗原ウエルの OD 平均値
 - ii. 以下の基準に従って判定する。
 - NiV 抗原 well の OD 平均値が 0.2 以下・・・"non-reactors"
 - S / N ratio が 2.0 以上かつ
NiV 抗原 well の OD 平均値が 0.2 以上・・・"reactors"→中和試験へ*
 - S / N ratio が 2.0 以下かつ
NiV 抗原 well の OD 平均値が 0.2 以上・・・"non-reactors"

* ELISA はスクリーニングとして使用する。上記の基準によって"reactors"と判定された検体は、中和試験を行って確定診断とする。

図 1. ELISA 用プレートのレイアウト



* 対照ウェルに加える試薬類

	検体 (血清)	2次抗体 (conjugate)	発色基質 (TMB)
conjugate対照	—	+	+
TMB対照	—	—	+

2) シュードタイプウイルスを用いた中和抗体検出

分泌型アルカリホスファターゼ (SEAP) 発現 VSV シュードタイプウイルスを利用した中和試験 4 を行う。

A. 試薬・機材

- ① VSV-NiV-SEAP (分泌型アルカリホスファターゼ[SEAP]をマーカーとする、ニパウイルス F/G 蛋白質発現 VSV シュードタイプウイルス)
- ② E-MEM
- ③ Vero 細胞
- ④ 強陽性対照抗体 (NiV-G ウサギ血清)
- ⑤ 細胞培養用 96 穴プレート
- ⑥ 96 穴 U 底プレート
- ⑦ PBS(-)
- ⑧ 37°C CO₂ インキュベーター
- ⑨ 37°C インキュベーター
- ⑩ 96 穴イムノプレート (Thermo scientific 社 Nunc-immunoplate 439454)
- ⑪ SEAP 発色基質 (Sigma 社 SIGMAFAST pNPP tablets, SIGMA N2770-50SET)

⑫ ELISA プレートリーダー (405nm フィルター)

B. 検査方法

- ① 96 穴プレートに Vero 細胞を 5×10^4 個/well (10% FCS-MEM) ずつ播きこみ、一晚培養する。
- ② 2 種類の 96 穴プレート (血清希釈用、中和試験用) を用意する。
- ③ 血清希釈プレート上で、被検血清を 2% FCS-MEM で、1:80 から 2 倍ずつ階段希釈する (10 段階)。その際、各ウェルに 180 μ l が含まれるようにする。
- ④ シュードタイプ VSV-NiV-SEAP を 2% FCS-MEM で希釈する。接種細胞の上清中の SEAP 活性が、 $OD_{405}=1.0-2.0$ の範囲となるよう、事前に希釈倍率を算出しておく。
- ⑤ 中和試験用プレートに、④の VSV-NiV-SEAP 液を 160 μ l ずつ分注する (1 検体あたり 10 ウェル)。
- ⑥ 希釈プレートから、③で希釈した血清を 160 μ l ずつ、中和試験用プレートに移し、⑤の VSV-NiV-SEAP 液と混和する。陰性対照ウェルとして、VSV-NiV-SEAP 液 160 μ l を、2% FCS-MEM 160 μ l と混和する。陽性対照ウェルとして、VSV-NiV-SEAP 液 160 μ l を、強陽性抗体 (NiV-G ウサギ血清 [1:40 希釈]) と混和する。
- ⑦ 37°C で 1 時間反応させる。
- ⑧ 一晚培養した Vero 細胞に、⑥の反応液を 1 希釈あたり 100 μ l ずつ分注する。
- ⑨ 37°C で 1 時間反応させる。
- ⑩ 反応液を捨てて、無血清 EMEM (100 μ l) を用い、接種細胞を 3 回洗浄する。洗浄後、100 μ l の 2% FCS-MEM を分注する。
- ⑪ 20-24 時間後、プレートを 1,000rpm で 5 分間遠心する。
- ⑫ 発色基質として、SIGMAFAST pNPP tablets (SIGMA N2770-50SET) を調製する。調製方法は、試薬に添付されたマニュアルを参照のこと。
- ⑬ 基質液を、96 穴イムノプレートに 200 μ l/well ずつ分注する。
- ⑭ ⑪のプレートから、反応液を 40 μ l ずつ、⑬のプレートに移し、基質液と混合する。
- ⑮ 37°C で 2 時間反応させる。
- ⑯ 波長 405nm のフィルターを用いて、OD (吸光度) を測定する。
- ⑰ 結果の解釈は以下の要領で行う。
 - i. 全 well の OD 値より、陽性対照 well の平均 OD 値 (=バックグラウンド) を引く。
 - ii. i で得た OD 値 (triplicate の平均値) が、陰性対照 well の平均 OD 値の 25% を下回った検体を、本試験における陽性と考える。

6. ヘニパウイルス感染症の診断基準

以下のいずれかの方法によって、ヘニパウイルスが分離・同定された、もしくはゲノムが検出された場合に「ヘニパウイルス感染症」とする。

※「ニパウイルス感染症」と「ヘンドラウイルス感染症」の鑑別は、検出されたウイルス遺伝子の塩基配列を特定することによってのみ可能である。

1) ウイルス分離・同定

- ・被検検体を接種した Vero 細胞に多核巨細胞の形成が認められ、かつ、間接蛍光抗体法によりウイルスの N 蛋白質抗原が検出された場合。
- ・被検検体を接種した Vero 細胞に多核巨細胞の形成が認められ、かつ、細胞もしくは上清中からヘニパウイルスのゲノム検出と塩基配列の特定がなされた場合。

2) 遺伝子検出法

- ・被検検体から、ヘニパウイルスのゲノムを conventional または realtime RT-PCR によって検出した場合。

3) 血清学的検査

- ・被検血清（血漿）で、ヘニパウイルスに対する 1:80 以上の中和抗体が検出された場合。

7. 引用文献

1. Daniels P. *et al.*, Laboratory Diagnosis of Nipah and Hendra virus infections. *Microbes Infect.* (2001) 3, 289-295
2. Chua K. B. *et al.*, Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science* (2000) 288, 1432-1435
3. OIE, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. (2010) Chapter 2.9.6 (Hendra and Nipah virus diseases).
4. Kaku Y. *et al.*, Second generation of pseudotype-based serum neutralization assay for Nipah virus antibodies: Sensitive and high-throughput analysis utilizing secreted alkaline phosphatase *J. Virol. Methods.* (2012) 179, 226-232.

8. 連絡先

国立感染症研究所 獣医科学部
主任研究官 加来義浩
TEL: 03-5285-1111 (内線 2620)
FAX: 03-5285-1179
e-mail: ykaku@nih.go.jp

国立感染症研究所 獣医科学部 第二室
室長 井上智
TEL: 03-5285-1111 (内線 2620)
FAX: 03-5285-1179
e-mail: sinoue@nih.go.jp

国立感染症研究所 獣医科学部
部長 森川茂
TEL: 03-5285-1111 (内線 2601)
FAX: 03-5285-1179
e-mail: morikawa@nih.go.jp