

表3. Penner 法による*C. jejuni* 散発事例由来株の型別推移(全国)

血清型	2009年	2010年	2011年	2012年	合計	(%)
A群	10	14	12	2	38	(2.5)
B群	27	78	49	44	198	(12.9)
C群	23	28	28	10	89	(5.8)
D群	58	54	42	19	173	(11.3)
G群	11	10	9	4	34	(2.2)
J群	13	9	8	5	35	(2.3)
O群	19	26	20	3	68	(4.4)
R群	18	9	4	3	34	(2.2)
Y群	26	22	12	6	66	(4.3)
その他*	28	33	42	29	132	(8.6)
小計	233	283	226	125	867	
(%)	(54.2)	(61.7)	(58.7)	(48.1)	(56.5)	
複数血清	3	1	9	5	18	(1.2)
型別不能	194	175	150	130	649	(42.3)
合計	430	459	385	260	1534	(100.0)

\*8種類

表4. 散発下痢症由来*C.jejuni*のPenner血清型UT株の検討

分離年	供試 菌株数	Penner:UT 菌株数	(%)	Penner : UT					
				LIO : UT 菌株数	(%)	LIO 11 菌株数	(%)	LIO 4 菌株数	(%)
2000年	180	52	( 28.9 )	23	( 12.8 )	11	( 6.1 )	2	( 1.1 )
2001年	174	44	( 25.3 )	24	( 13.8 )	10	( 5.7 )	2	( 1.1 )
2002年	205	43	( 21.0 )	16	( 7.8 )	15	( 7.3 )	2	( 1.0 )
2003年	212	55	( 25.9 )	22	( 10.4 )	9	( 4.2 )	6	( 2.8 )
2004年	203	38	( 18.7 )	24	( 11.8 )	3	( 1.5 )	3	( 1.5 )
2005年	205	59	( 28.8 )	33	( 16.1 )	9	( 4.4 )	5	( 2.4 )
2006年	168	46	( 27.4 )	29	( 17.3 )	5	( 3.0 )	6	( 3.6 )
2007年	184	71	( 38.6 )	28	( 15.2 )	14	( 7.6 )	3	( 1.6 )
2008年	206	67	( 32.5 )	28	( 13.6 )	14	( 6.8 )	4	( 1.9 )
2009年	155	75	( 48.4 )	40	( 25.8 )	9	( 5.8 )	10	( 6.5 )
2010年	143	70	( 49.0 )	26	( 18.2 )	5	( 3.5 )	27	( 18.9 )
2011年	109	44	( 40.4 )	15	( 13.8 )	2	( 1.8 )	13	( 11.9 )
2012年	82	42	( 51.2 )	16	( 19.5 )	6	( 7.3 )	15	( 18.3 )

表5. 散発下痢症患者由来 *C. jejuni* Penner B群 の反応性

菌株No.	HS: 2 gene*	デンカB群**	自家血清 (HS:2)	自家血清 (HP11336)
HS :2	+	+(X 4)	X 1,280	X 320
HP11336	+	—	X 320	X 320
HP11380	+	—	X 320	X 640
HP11381	+	—	X 320	X 320
HP11387	+	—	X 320	X 320
HP11394	+	—	X 320	X 320
HP11396	+	—	X 320	X 320
HP11405	+	—	X 320	X 320
HP11422	+	—	X 640	X 320
HP11446	+	—	X 640	X 640
HP11451	+	—	X 640	X 640
HP11475	+	+	X 640	X 320
HP11488	+	—	X 640	X 320

\* JCM 49, 1750, 2011. \*\* Lot No.17116. \*\*\* 感作血球調製は、亜硝酸抽出抗原を使用

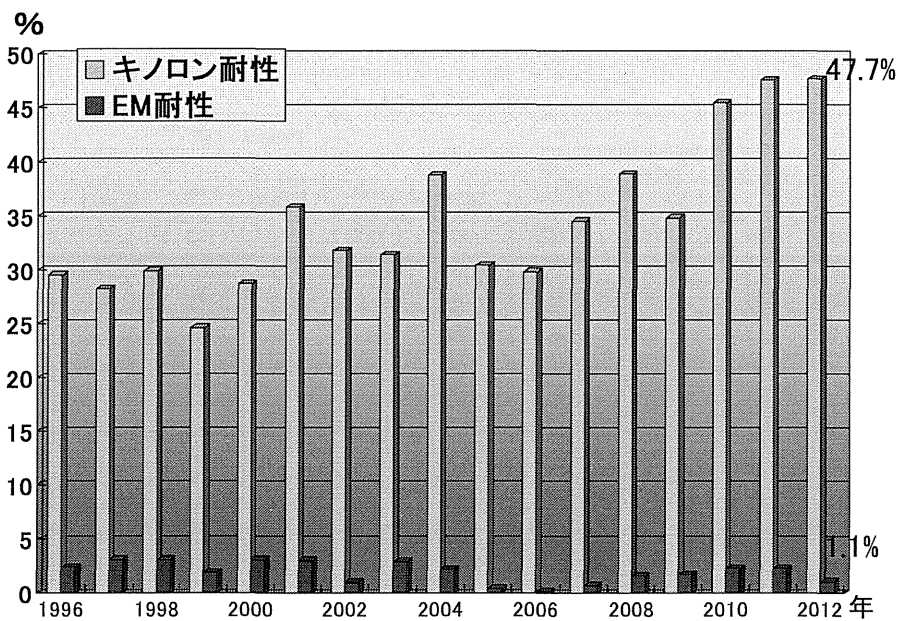


図1. キノン剤およびエリスロマイシン耐性株の出現状況  
キノン耐性: NFLX・OFLX・CPFx・NA耐性

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
「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」班  
分担研究報告書

分担研究課題 寄生虫症に関するサーベイランス強化に関する研究

研究分担者	野崎智義	国立感染症研究所寄生動物部	部長
研究協力者	山崎浩	国立感染症研究所寄生動物部	第2室長
同	大前比呂思	国立感染症研究所寄生動物部	第3室長

**研究要旨** 感染症法で第四類に分類されるマラリアとエキノコックス症について、国内における検査ネットワーク強化に関する研究を行った。マラリアについては、主要な国際空港検疫所との間で、相互研修を行い遺伝子診断用試料の配布を行った。また、医療施設からの確定診断依頼例では、顕微鏡的診断、迅速診断キットによる診断、及び遺伝子診断の結果が一致しなかった2例について検討した。マラリアの確定診断を単独で行える医療施設は限られており、各々の検査の特徴を理解したうえで、複数のマラリア検査法で確認することの重要性が再認識された。エキノコックス症では、発生動向、あるいは生活環の定着に関する情報収集のために、地方衛生研究所等から送られてくるヒト、およびイヌのエキノコックス症疑診例の検査をそれぞれ3件と1件実施した。その結果、ヒトでは輸入症例として単包虫症が2例（いずれも在日ネパール人）確認され、うち1例は*Echinococcus ortleppi* という種による感染例であることが国内で初めて確認された。イヌの疑診例ではエキノコックス虫卵は検出されなかった。また、市販のエキノコックス症検査キット2種類（フランス製と国産）について評価を行ったところ、フランス製キットによる検出率が高かった。

#### A. 研究目的

寄生虫症のうちマラリアとエキノコックス症（多包虫症と単包虫症）は、感染症法で第四類に分類され、届出が義務付けられている。現在マラリアは、全て輸入例だが、国内にマラリア原虫を媒介できるハマダラカが生息しているので、寄生虫症の中では唯一検疫感染症にも指定されている。そこで、本年度は主要な国内国際空港の検疫所と協力して、マラリアを中心とした相互研修を行い、検疫における昆虫媒介性感染症や寄生虫症関連の検査のありかたについて

検討した。また、致死性的疾患でもあるマラリアでは、受診した医療施設での鑑別診断が重要だが、現在単独で確定診断できる施設は限られている。そこで、当部に検査依頼があった検体で、各種検査法での診断結果に差異が出た2例について検討した。

国内のエキノコックス症はそのほとんどが北海道で流行する多包虫症であるが、本州など北海道以外の地域における流行拡大が懸念されているために、本州におけるエキノコックスの生活環の定着の有無を監視することが重要課題である。一方、単包虫

症は、輸入症例として単包虫症の流行国から来日する外国人、あるいは流行国へ渡航した邦人の症例が報告されている。そこで、本分担課題では、地研、または全国の医療研究機関から送られてくるヒトのエキノコックス症、あるいはイヌのエキノコックス症に関する依頼検査例をもとに、発生动向やエキノコックスの生活環の定着状況を監視し、疫学、公衆衛生の向上に役立てることを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. マラリア

マラリアの診断では、顕微鏡を用いた形態検査が基準とされるが、最近では、迅速診断キットによる検査や遺伝子検査も、目的に応じて利用される。ただし、複数の検査を利用する場合、各々の検査の特性と限界を十分に理解しておかないと、検査結果の差異に戸惑うことが多い。そこで、本年度は、医療施設から検査依頼があった有症のマラリア患者の検体で、検査結果が食い違った2例について検討を加えた。特に、イムノクロマト法による迅速診断キットについては、**Aldolase** と熱帯熱マラリア原虫の **Histidine Rich Protein (HRP)** を検出する **Binax NOW Malaria** と **HRP-2** と三日熱マラリア原虫の **Parasite lactate dehydrogenase(pLDH)** を検出する **ENTEBE Malaria** の抗体系が異なる2キットについて比較検討した。

また、輸入寄生虫症としては、日本ではもっぱらマラリアが問題とされることが多いが、ヨーロッパ諸国では、消化管寄生原虫症や各種寄生蠕虫症も問題とされることが多い。そこで、成田・羽田・中部・関西の主要4国際空港検疫所との相互研修を利用して、マラリア以外の寄生虫症に関する

検疫のニーズと可能性について、情報交換をして検討した。

### 2. エキノコックス症

当部には全国の地研や国内外の医療機関から寄生虫症の依頼検査のために血清、糞便や虫体などが送付されてくる。平成25年4月以降、平成26年1月末までに計61件の検査依頼があり、そのうち、エキノコックス症の行政検査を含めた検査依頼数はヒト5例、イヌ1例の計6例あった。

ヒトのエキノコックス症に関しては、抗エキノコックス **IgG** 抗体検出のために市販されているウエスタンブロットによる検査キット（フランス製）を用いて抗体検出を行った。最近、国内でもイムノクロマト法による検査キットが市販されるようになったために、一部の検体についてはこのキットを用いた検査も併せて実施した。

ヒト症例で外科的に摘出された病巣については、病巣の一部から **DNA** を抽出し、ミトコンドリア **DNA** の **cox1** 遺伝子の塩基配列解析からエキノコックスの種を同定した。また、エキノコックス感染が疑われたイヌでは、イヌ糞便中にエキノコックスの虫卵が検出されるために、糞便検査、ならびに **12S rRNA** 遺伝子を標的とした糞便内 **DNA** 検査を実施した。

## C. 研究結果

### 1. マラリア

マラリアの原虫密度が  $10/\mu\text{l}$  程度で、顕微鏡による形態検査で熱帯熱マラリア原虫の生殖母体が主に検出された例では、2種類の迅速診断キット、**Binax NOW Malaria** 及び **ENTEBE Malaria** とともに陰性を示した。また、マラリア遺伝子検査では **Nested PCR** で、熱帯熱マラリアと確定診断された。また、マラリアの原虫密度が 200

／ $\mu$ l程度で、熱帯熱マラリア、三日熱マラリア、及び卵形マラリアの混合感染が顕微鏡検査で疑われた例では、Binax NOW Malaria で熱帯熱マラリアと他のマラリアの混合感染が疑われた。さらに、遺伝子検査では、second PCR での種特異的 reverse primer 4 種 (falciparum-F2, malariae-M1, ovale-O2, vivax-V1) 全てに反応し、4 種マラリア原虫による混合感染と判明した。

## 2. エキノコックス症

ヒトの 5 疑診例の内訳は、北海道への渡航歴のある 3 例 (九州在住者 1 名、関東在住者 2 名 (多包虫症疑い)、それに沖縄と兵庫在住のネパール人 2 名 (単包虫症疑い)、イヌの疑診例 1 例 (多包条虫症疑い、山梨県) であった。

多包虫症疑いの 3 例はいずれも抗体検査では陰性であった。一方、兵庫在住のネパール人症例については、病巣の生検材料中にエキノコックスの原頭節が検出されたために、原頭節から DNA を抽出し、PCR を行った。その PCR 増幅産物の塩基配列から、原因種は単包虫の一種、*Echinococcus ortleppi* と同定された。沖縄在住の患者は抗体検査キットにより単包虫症と診断されたが、用いたフランス製キットで抗体が検出されたが、国産キットでは抗体は検出されなかった。山梨県のイヌについては、糞便検査では虫卵は検出されなかったために、糞便内 DNA 検査による精査を行ったが、エキノコックス DNA は検出されなかった。

## D. 考察

マラリアの検査にあたっては、顕微鏡による形態検査、PCR などの遺伝子検査、イムノクロマト法による迅速診断キットでの検査結果が一致しないことがある。特に

に、途上国のフィールドで熱性疾患の鑑別の中で熱帯熱マラリアを容易に診断する目的を主としてきた迅速診断キットを、輸入マラリアの診断に利用する場合、その限界をよく知る必要があると思われた。また、マラリア以外の寄生虫症も含めた検疫に関する相互研修では、ヨーロッパ諸国では大きな問題とされる消化器系の寄生蠕虫症が、日本では殆ど問題になっていないことがわかった。

わが国では、北海道では現在でも多包虫症が流行しているために、北海道への渡航歴があると多包虫症の疑いで検査依頼があるが、平成 25 年度の 3 例はいずれも多包虫症ではなかった。しかし、在日ネパール人 2 例はいずれも単包虫症と診断され、とくに兵庫在住の患者では、DNA 検査で *E. ortleppi* という単包虫による感染事例であったことが判明した。この種はわが国には分布しておらず、患者は単包虫症の流行国ネパールで感染したと推定された。

ところで、マラリア以外の寄生虫症も含めた検疫に関する相互研修では、ヨーロッパ諸国では大きな問題とされる消化器系の寄生蠕虫症は、日本の検疫では殆ど注意が払われていないことがわかった。しかし、これまでに単包虫症の原因種として報告されてきた、*Echinococcus granulosus* や *E. canadensis* とは異なる *E. ortleppi* による単包虫症が初めて国内で確認された。単包虫症の患者から、国内で感染が拡大することはないが、輸入寄生蠕虫症についても、今後は注意を払っていく必要性が認識された。

## E. 結論

エキノコックス症に関する監視体制は十分とは言えないので、今後も地研、保健所、

医療研究機関との監視体制強化が求められる。また、国内初の *E. oritlepp* による単包虫症が確認されたことから、検疫感染症に指定されているマラリアのみならず、他の寄生原虫症や寄生蠕虫症についても、輸入感染症の視点で注意を払っていくことが望まれる。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

誌上発表

Plasmodium 属 マラリアの検査

大前比呂思 ウイルス, 細菌, 真菌, 寄生虫便覧 324-327 検査技術協会 2014年2月 東京

発熱で受診した生殖母体を有する輸入熱帯熱マラリアの1例 太田昭生, 高木積, 大前比呂思, 中野由美子, 藤井充  
渡航医学における住血吸虫症 24;74-77  
2013

学会発表

発熱で受診した生殖母体を有する輸入熱帯熱マラリアの1例 太田昭生, 高木積, 大前比呂思, 中野由美子, 藤井充 第24回日本臨床寄生虫学会 2013年6月 奈良

旅行医学における住血吸虫症 大前比呂思, 桐木雅史, 林尚子, 千種雄一 第7回日本渡航医学会 2013年9月 東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
「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」班  
分担研究報告書

ジフテリア、ボツリヌス症、および、ボツリヌス症以外のクロストリジウム属  
菌による感染症に関するラボネットワーク構築

研究分担者 加藤はる 国立感染症研究所（細菌第二部）

研究協力者 岩城正昭、山本明彦、小宮貴子、妹尾充敏、鈴木里和（国立感染症研究所）、菊地理慧（福島県衛生研究所）、池田徹也（北海道立衛生研究所感染症センター）、菊池 俊（千葉県衛生研究所）、門間千枝、赤瀬 悟（東京都健康安全研究センター）、久高 潤（沖縄県衛生環境研究所）、小泉充正（横浜市衛生研究所）、清水亜希子（川崎市健康安全研究所）、鷺谷則子（相模原市衛生試験所）、天野肇（横須賀市健康安全科学センター）、古川一郎（神奈川県衛生研究所）、藤戸亜紀（高知県衛生研究所）、堀田真紀（宮上病院）

#### 研究要旨

ボツリヌス症は、稀少感染症である上、検査に動物実験が必要であるために、レファレンス・センターであっても地方衛生研究所における技術継承は難しい。一方、*Clostridium difficile*感染症は、医療関連感染として重要であり、院内アウトブレイク発生や劇症腸炎例では保健所・地方衛生研究所の支援が求められる事例が少なくない。4 地方衛生研究所を対象に、動物実験を中心に「ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会」を行った。また、*Clostridium difficile*感染症の細菌学的検査に関する講習会の希望が 5 地方衛生研究所からあったため、県内の医療機関でアウトブレイク疑事例連絡のあった 1 施設を加え、6 地方衛生研究所を対象に「*Clostridium difficile*感染症の細菌学的検査に関する研修会」を行った。

#### A. 研究目的

ジフテリアは日本では 1999 年を最後に発症が認められていないため、疑い症例が認められた場合に地方衛生研究所で対応が難しい場合がある。ボツリヌス症は、日本において稀少感染症であるものの、乳児ボツリヌス症だけでなく 2012 年には 5 年ぶりに食中毒事例が認められ、少なくともレファレンス・センターでは適切な対応が必要である。しかしボツリヌス毒素検出に動物を使用した試験が必要であるため、技術継承が容易ではない。一方、最近、レファレンス・センター活動の対象ではないが、破傷風や *Clostridium difficile* 感染症などの「ボツリヌス菌以外のクロストリジウム属菌による感染症」に関する問い合わせが少なくない。特に、医療関連感染で重要な C.

*difficile* 感染症に関しては、欧米での高病原性 NAP1/027 株の流行の報告を受け、平成 19 年(2007 年) 4 月 2 日に厚生労働省より「医療機関は保健所および地方衛生研究所に技術的支援を求めるよう」事務連絡が出ており、地方衛生研究所において検査体制を整える必要がある。

本研究では、ジフテリアおよびボツリヌス症を含めたクロストリジウム属菌感染症に関して、レファレンス・センター活動を含め、地方衛生研究所、保健所、医療機関、さらには、検査センターとのラボネットワークについて検討することを目的とする。

#### B. 研究方法

1. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

2013年12月11日から12月13日まで、国立感染症研究所村山庁舎において、講習会を行った。福島県衛生研究所、北海道立衛生研究所感染症センター、千葉県衛生研究所、および、東京都健康安全研究センター4施設より5名が参加した（10月16日から18日までの予定であったが、台風のため延期した）。

## 2. *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査に関する研修会

2014年2月4日および2月5日に「院内感染関連病原体の細菌研修」を行うにあたって、神奈川県地方衛生研究所から希望があったため、耐性菌関連の研修に加え、*C. difficile* 感染症に関する実技・座学の研修を組み込んだ。横浜市衛生研究所、川崎市健康安全研究所、相模原市衛生試験所、横須賀市健康安全科学センター、神奈川県衛生研究所の5施設に加え、県内の医療機関でアウトブレイク疑事例連絡のあった高知県衛生研究所の6施設が参加した。

## 3. 症例報告（論文作成）の支援

鹿児島県環境保健センターより依頼があり、行政検査を行った破傷風症例について医療機関（宮上病院）が論文報告をすることを支援した。本事例では、外部委託先である民間の検査センター（埼玉県）で、創部の組織からの破傷風菌分離培養に成功し、国立感染症研究所へは、その民間検査センターより直接菌株が送付され行政検査が行われた経緯があった。

## C. 研究結果

### 1. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

マウス試験によるボツリヌス毒素の検出と、コロニー観察およびグラム染色観察等、国立感染症研究所でしか体験できない試験を中心に研修を構成した。今回は、様々なボツリヌス症事例を経験している東京都健康安全研究センターより、事例紹介と説明があり座学も充実していた。参加研究所には、A型、B型、E型、F型のボツリヌス診断用抗毒素、および毒素遺伝子検出PCR用陽性コントロールを配布した。

### 2. *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査に関する研修会

実際の糞便検体を用いた *C. difficile* の分離培養、酵素抗体法による毒素検出を行った。また、細菌学的検査を中心に地方衛生研究所として、*C. difficile* 感染症に関して何が求められているか、意見交換を行った。参加研究所には、*C. difficile* 毒素遺伝子検出PCR用陽性コントロールを配布した。

### 3. 症例報告（論文作成）の支援

医療機関での検体採取、外部委託検査センターでの検査、さらに、地方衛生研究所を通しての国立感染症研究所での行政検査というネットワークの上で、創部から分離された破傷風菌の解析が可能であったという事例について、論文報告した。

## D. 考察

ボツリヌス症は、稀少感染症であるが、食中毒事例が起きた場合には、地方衛生研究所には迅速・適切な対応が求められる。特に2012年に5年ぶりの食中毒事例が認められ、検査体制の必要性・重要性が再認識された。動物実験によるボツリヌス毒素検出の技術継承は大きな課題であり、今年度の講習会では、動物実験に大きくフォーカスを絞った点が評価できると考えられた。

一方、*C. difficile* 感染症は、希少な疾患ではないが、医療関連感染症として重要であり、ひとたびアウトブレイクが発生すると対応に困難を極める。近年、医療機関から、劇症腸炎症例やアウトブレイク事例に関して保健所に相談が持ち込まれることが増加し、保健所や地方衛生研究所では、細菌学的検査施行とともに、医療機関検査室の指導を行わなければならなくなった。今年度は、神奈川県地方衛生研究所からの要望に応じて、*C. difficile* 細菌学的検査の研修をしながら、保健所・地方衛生研究所として何が必要とされているのか協議したことは非常に有意義であった。

昨今は、医療機関から民間の検査センターへの細菌学的検査の依頼が増加している。ラボラトリー・ネットワークのなかで、検査センターは重要な鎖の輪である。破傷風は、臨床症状から診断されることがほとんどであり、創部から破傷風菌の分離培養が



なされることは稀である。医療機関、検査センター、地方衛生研究所、さらに、国立感染症研究所のネットワークの歯車がかみあって検査が可能であった貴重な事例として、論文報告する価値のあるものであると考えられ、論文作成の指導・支援を行った。

ジフテリアに関しては、レファレンス・センターではない地方衛生研究所より、菌株などの配布希望があったが、地方衛生研究所からの特記すべき要望はなかった。

#### E. 結論

ボツリヌス症の検査技術の継承のためには継続して講習会を行うことが必要と考えられた。地方衛生研究所において、*C. difficile* 感染症に関する知識・技術を必要としていることが明らかとなった。

#### F. 健康危険情報

米国 CDC からは urgent threat 「緊急なる脅威」として報道されている *C. difficile* 感染症が、日本の臨床現場でも問題となっており、保健所・地方衛生研究所で知識・技術を必要としていることが再認識された。

#### G. 研究発表

論文発表

鈴木真紀、黒崎貴子、加藤はる、佐藤隆也、古畑健司、山本明彦、宮上寛之。外部委託検査で創部から *Clostridium tetani* が分離された破傷風の1例。医学検査 62(6) 698-702, 2013.

学会発表

国際学会

なし

国内学会

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

特記事項なし

実用新案登録

特記事項なし

その他

特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
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  
(H25-新興-指定-002) H25 年度分担研究報告書

「日脳および新規蚊媒介性ウイルス感染症の診断体制の拡充」

分担研究者 高崎智彦（ウイルス第一部・室長）  
協力研究者 中山絵里（ウイルス第一部・研究官）  
モイメンリン（ウイルス第一部・研究官）  
田島茂（ウイルス第一部・主任研究官）  
小滝徹（ウイルス第一部・非常勤職員）

**研究要旨** 海外からの昆虫媒介性ウイルス感染症のなかで、オーストラリアで流行しているロスリバー熱は、世界的な広がりがないためにそれほど注目されていない。しかし、日本人のオーストラリアへの渡航者は年間 30 万人以上にのぼるため、その診断系を立ち上げ、病原体診断系に関しては地方衛生研究所に提供した。その結果、5 月にオーストラリアから帰国したロスリバー熱患者を始めて確定診断した。日本脳炎に関して、現在国内で検出される日本脳炎ウイルスは遺伝子 1 型であるが、1980 年代以前は遺伝子 3 型であった。現在も遺伝子 3 型が国内で活動している可能性は存在する。そのために 1 型、3 型を区別するリアルタイム PCR 系と 1 および 3 型をともに検出できるリアルタイム PCR 系を構築改良した。

#### A. 研究目的

近年、デング熱やチクングニア熱など世界的に蚊が媒介するウイルス感染症の流行が拡大している。そのなかで、世界的な広がりを見せていないが、チクングニアウイルスと近縁のロスリバーウイルスによるロスリバー熱が、オーストラリアで近年流行している。日本からのオーストラリアへの旅行者は年間 30 万人以上であるためロスリバーウイルスの実験室診断系を構築し、地方衛生研究所に提供することを目的とした。

日本脳炎は日本脳炎ウイルス（JEV）の感染が原因の中枢神経の疾患である。

感染しても多くの場合不顕性感染に終わるが、発症した場合には致死率は 20~40%に達する重篤な感染症である。日本脳炎の発生地域は、東アジアから東南アジア、南アジアと広範囲に及ぶ。日本国内での日本脳炎患者数は 1990 年以降 10 例以下で推移しているが、日本国内でも JEV は現在も毎年分離され続けており、国内での感染リスクは消滅していない。

JEV には 5 つの遺伝子型があるが、国内で分離されるウイルスは 90 年代初頭に 3 型から 1 型へと変化した。同様の変化は日本だけでなく、韓国やベトナムでもほぼ同時期に起こっている。さらに近

年では中国、台湾、タイ、インドでも同様の現象（遺伝子型変化）が認められている。しかし、遺伝子 3 型日本脳炎ウイルスが日本から完全に消えてしまったという確証はない。そのため 1 型、3 型を区別するリアルタイム PCR 系と 1 および 3 型をともに検出できるリアルタイム PCR 系を構築していたが、共通検出用セットが偽陽性をきたす傾向があったためこれを改良し、診断マニュアルに掲載した。

## B. 研究方法

オーストラリアのロスリバーウイルス株を 4 株（T48A, QML#1, QML#2, Couper）入手し、表 1 のリアルタイム RT-PCR（TaqMan 法）および RT-PCR 従来法を評価した。その結果を踏まえて、ロスリバーウイルス病原体検出法の地方衛生研究所アルボウイルスセンターおよび希望施設に技術移転を開始した。また、オーストラリアから帰国の輸入ロスリバー熱患者血清を用いて、IgM 抗体捕捉 ELISA 法を構築し、チクングニアウイルスとの交差反応性について検討した。

日本脳炎ウイルスに関しては、Genbank に登録された遺伝子配列データに基づいて 1 型、3 型を区別するリアルタイム PCR 系と 1 および 3 型をともに検出できるリアルタイム PCR 系を E 領域に設定して構築していたが、さまざまな評価の結果 1 型-3 型共通検出系が、非特異反応を来しやすいたことが判明したため、あらたに NS5 領域に 1 型-3 型共通検出系を設定しなおした。ウイルスを含む細胞培養上清、ヒト血清、ブタ血清を用いて

非特異反応の有無を検討した。

## C. 研究結果

ロスリバー熱の病因ウイルスであるロスリバーウイルスの遺伝子検出系は、4 株（T48A, QML#1, QML#2, Couper）すべてについて検出できた（図 1）。また、初めてオーストラリアからの輸入ロスリバー熱患者血清により、抗ロスリバーウイルス IgM 捕捉 ELISA 系を構築し、チクングニア熱患者血清を用いて交差反応性を検証した結果、交差反応は示さなかった。また、そのロスリバー熱患者血清もチクングニアウイルス IgM 捕捉 ELISA に対して偽陽性反応を示さなかった。

日本脳炎ウイルス遺伝子検出法としてリアルタイム逆転写 PCR（rtRT-PCR）は遺伝子 1 型、3 型型別検出系は確立され、十分な感度と特異性を有していた。しかし、E 領域に設定された 1-3 型共通検出系は非特異反応を来すことが多かった。今回 NS5 領域に設定した 1-3 型共通検出系は、感染細胞上清、ブタ血清、ヒト血清および蚊乳剤による検討の結果、非特異反応を認めなかった。

## D. 考察

オーストラリアの昆虫媒介ウイルス感染症は、ウイルス学的にも媒介蚊の面でも他の地域と若干の相違がある。ロスリバーウイルスは世界的流行を起こしているチクングニアウイルスと同じトガウイルス科アルファウイルス属のウイルスで近縁ウイルスである。ロスリバーウイルスによるロスリバー熱の流行は、オーストラリアおよびその周辺で発生している

が、チクングニア熱ほどの世界的拡大傾向はみられていない。しかし、日本人のオーストラリアへの渡航者数は年間 36 万人程度であり、ロスリバー熱もチクングニア熱と同じく急性症状が治まっても関節炎が持続し、時に再燃することから輸入症例に備えて実験室診断系を構築したところ、本年 5 月に初輸入症例を確認することができた。その結果、実験室診断のうち病原体診断系はすでに地方衛生研究所アルボウイルスセンターに技術移転していたが、ロスリバー熱血清診断系も構築することができた。また、より安全な遺伝子検出用合成陽性コントロールの構築を開始した。

一方、我が国に常在する日本脳炎ウイルスの検査は、近年でも検査会社では赤血球凝集阻止 (HI) 抗体、補体結合反応 (CF) 抗体検査で実施されており必ずしも感度は高くない。そこで、より高感度で特異性の高い遺伝子型 1 - 3 共通の日脳ウイルス遺伝子検出リアルタイム RT-PCR 系を構築、確立した。

#### E. 結語

- 1) オーストラリアで流行しているロスリバー熱の実験室診断系を確立し、アルボウイルスレファレンスセンターに技術供与した。また、本邦初の輸入症例を確定診断した。
- 2) 遺伝子型 1 - 3 共通の日脳ウイルス遺伝子検出リアルタイム RT-PCR 系を構

築、確立した。

#### F. 健康危機情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

朽谷健太郎、篠原 浩、土戸康弘、清水恒広、モイメンリン、高崎智彦. 本邦初報告となるロスリバーウイルス感染症の輸入症例(IASR Vol. 34 p. 380-381: 2013 年 12 月号)

##### 学会発表

###### 国内学会

1. 朽谷健太郎、清水恒弘、篠原 浩、土戸康弘、高崎智彦、モイメンリン. オーストラリア渡航中に発症した本邦初のロスリバーウイルス感染症の 1 例. 第 56 回日本感染症学会中日本地方会学術集会. 2013 年 11 月 6-8 日 (大阪)

2. 高崎智彦、池田真紀子、谷ヶ崎和美、モイメンリン、中山絵里、小滝徹、山口幸恵、斎藤悠香、田島茂、倉根一郎、Youngmee Jee. ワクチンによる予防可能感染症 (VPD) としての WHO 日本脳炎ラボネットワーク. 2013 年 5 月 24-25 日 (静岡県熱海市)

3. 高崎智彦. 輸入感染症と感染対策 - ウイルス -. 第 163 回 ICD 講習会 (於: 第 61 回日本化学療法学会総会) 平成 25 年 6 月 4 日 (神奈川県 横浜市)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし.

表1 ロスリバーウイルス リアルタイム RT-PCR (TaqMan 法)  
プライマー、プローブ

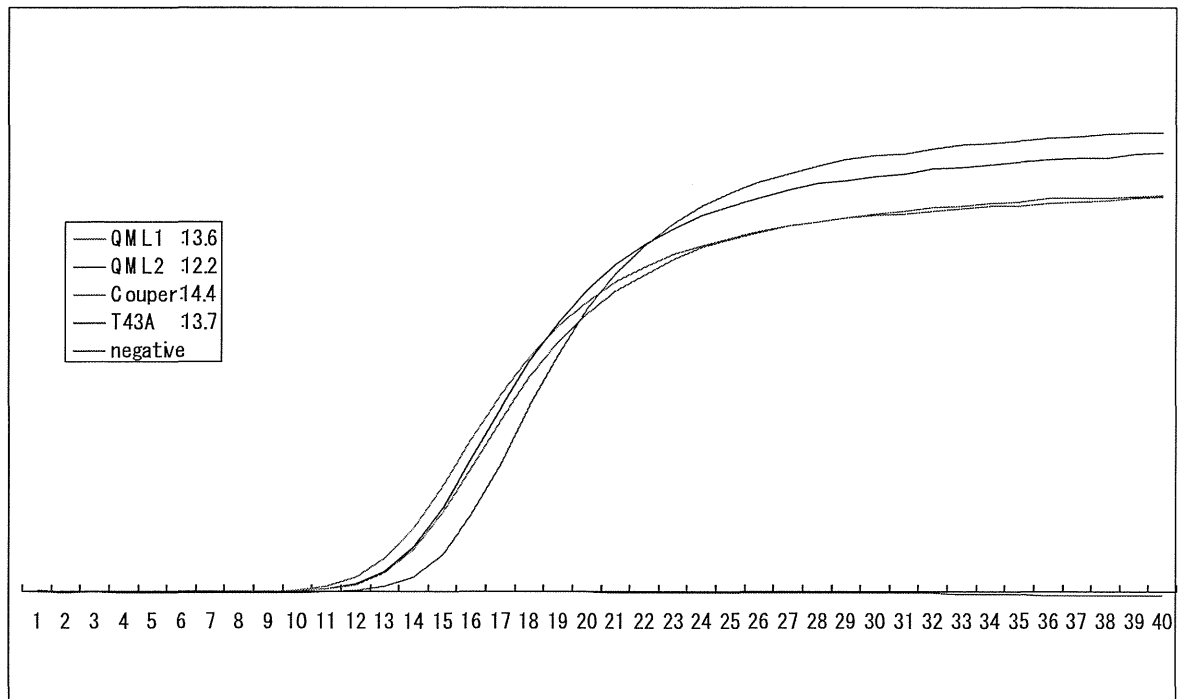
Primer & Probe	Sequence (5' to 3')	Region
RRV/NSP3/F	CCG TGG CGG GTA TTA TCA AT	NSP3
RRV/NSP3/R	AAC ACT CCC GTC GAC AAC AGA	
RRV/NSP3_probe	AAT AAG AGT AGT GTA GCC ATC C	

Ref. Reed S. Shabman et al. JV 82. 12374-12382, 2008

表2 日本脳炎ウイルス リアルタイム RT-PCR (TaqMan 法) プライマー、プローブ

Primer & Probe	Sequence (5' to 3')	Region
● 1&3 型遺伝子検出共通セット		
JENS5s269AF092550	GCC ACC GGA TAC TGG GTA GA	NS5
JENS5r330AF092550	TGT TAA CCC AGT CCT CCT GGA A	
JENS5p294AF092550	FAM-CTG CCT GCG TCT CA-MGB	
● 1 型遺伝子検出セット		
JE1&3en1052s-1082	ATG GGA ATT AYT CAG CGC AAG T	E
JE1en1119c-1082	GGG AGC GTT TGG AGT TAC AGT AA	
JEen1082pb	FAM-CTC AAG CAG CAA A-MGB	
● 3 型遺伝子検出セット		
JE1&3en1052s-1082	ATG GGA ATT AYT CAG CGC AAG T	E
JE3en1119c-1082	AGG AGC ATT GGG TGT TAC TGT AAA	
JE3en1082pb	FAM-CCC AGG CGG CAA A-MGB	

図1 ロスリバーウイルス遺伝子検出 (リアルタイム逆転写 PCR TaqMan 法)



BHK 細胞で増殖させたロスリバーウイルス QML#1 株、QML#2 株、Couper 株、T43 株ともに TaqMan 法で検出できた。

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
「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」班  
分担研究報告書

リケッチア・レファレンスセンターの活動について

研究分担者	安藤秀二	国立感染症研究所ウイルス第一部	室長
研究協力者	門馬直太	福島県衛生研究所	
	東海林彰	青森県環境保健センター	
	山本徳栄	埼玉県衛生研究所	
	新開敬行	東京都健康安全研究センター	
	赤地重宏	三重県保健環境研究所	
	名古屋真弓、滝澤剛則	富山県衛生研究所	
	寺杣文男	和歌山県環境衛生研究センター	
	北本寛明	兵庫県健康生活科学研究センター	
	木田浩司、岸本寿男	岡山県環境保健センター	
	島津幸枝	広島県立総合技術研究所保健環境センター	
	松本道明	高知県衛生研究所	
	御供田睦代	鹿児島県環境保健センター	
	矢野浩司	宮崎県衛生環境研究所	

研究要旨 リケッチア症は、国内発生を考慮した場合、バクターの種類、リケッチアの種類によって、発生時期や患者発生地域の集中など地域特性が強く表れる疾患であるため、本研究では、全国ブロックの横糸となるリケッチア・レファレンスセンターの地方衛生研究所を中心とした全国共通基盤を構築することを目指し、初年度、つつが虫病と日本紅斑熱のマニュアル改訂、全国共通となる検査法の評価の準備、全国情報の共有と担当者自身のスキルアップの機会を積極的に行った。マニュアルに関してはつつが虫病と日本紅斑熱を優先し、順次進めている。あわせて日本紅斑熱のリアルタイムPCR系標準化のための準備等を行った。リケッチア関連の情報共有として、特定の疾患が話題になった際、それに固執し、鑑別対象とされるべきリケッチア症が置き去りにされ、そのために治療等が遅れ、死亡または重症化する症例が増える危険性があることが指摘された。レファレンスセンターを中心とした地域の診断体制を確固としたものとすると同時に、情報発信のあり方を再考すべき時期である。

A. 研究目的

リケッチア症(つつが虫病と日本紅斑熱など)においては、現在も国内感染の患者が多数報告され、抗菌薬があるにもかかわらず、死亡例、重症化例もいまだ報告されている。その発生状況は、発生時期やつつが

虫病リケッチアの血清型が地域によって異なり、診断用抗原の選択など地域の状況に即した対応が必要となる。また、リケッチアの培養には BSL3 を要し、特定病原体に指定されるものが多く、検査担当者の異動に伴う変更を行い難い。

地王衛生研究所(以下、衛研)を中心とした地域、全国のラボネットワークの構築方法の検討により、臨床に即した迅速対応と情報発信が可能となり、患者のQOLに資することになる。

本研究では、リケッチア・レファレンスセンターの活動を通じ、リケッチア症の病原体サーベイランスに必要となる実験室診断系の質的標準化、疫学情報の発信、相互信頼と連携、機能強化を目的とし、臨床現場に対応する迅速な診断、情報発信、地域性への柔軟な対応が期待される。

## B. 研究方法

リケッチア症は、国内発生を考慮した場合、ベクターの種類、リケッチアの種類によって、発生時期や患者発生地域の集中など地域特性が強く表れる疾患であるため、本研究では全国共通となるレファレンスセンターの共通基盤を構築することを目指し、以下について検討した。

### 1. マニュアル改訂

リケッチア症として国内で遭遇しやすい疾患として、つつが虫病と日本紅斑熱の検査マニュアルの改訂を進めた。遺伝子検出に供するベクターの刺し口(痂皮)や皮膚生検材料などこれまで記載のない点を加えるとともに、リアルタイムPCR系などの適用を検討した。それぞれの疾患から同様の流れで漏らさず検討できるように検討し、年度内に公開を予定している。

### 2. 全国共通となる検査法の評価

リケッチア症(つつが虫病、日本紅斑熱)検査マニュアルの改訂にあたり、新規に盛り込まれた日本紅斑熱のリアルタイムPCRについて、全国導入への条件を検討、レファレンスセンター間の相互評価を実施、標準化するための陽性コントロールと作業

手順書の準備を進めた。

### 3. 全国情報の共有の機会とレファレンスセンター担当者のスキルアップ

全国ならびにブロック毎に地域情報に関する情報交換を行い、疫学情報、診断情報の収集・分析と共有を行った。また、衛研担当者が自身のスキルアップを行うための機会として学会・研究会等への積極的な参加と発表を推し進めた。

## C. 研究結果

### 1. マニュアル改訂

つつが虫病および日本紅斑熱のマニュアルの改訂がほぼ完了しつつある。遺伝子検出等の新たな情報を加える一方、国際的にもリケッチア症の実験室診断では、血清診断などでは従来通りの感染細胞抗原を用いたものがGold standardとなっているため、古典的といえる手法も残すことも心がけた。また、マニュアルはWebで一般に広く公開されるため、未発表(投稿中)の手法を今しばらく掲載できないという問題もあった。

### 2. 全国共通となる検査法の評価

改訂マニュアルに新規に盛り込んだ日本紅斑熱のリアルタイムPCRについて、全国導入への条件を検討、レファレンスセンター間の相互評価を実施、標準化のためのPCプラスミドの準備、その他手順書の準備を完了した。

### 3. 全国情報の共有の機会と担当者のスキルアップ

研究協力者である衛研担当者間の情報共有を可能とする機会をそれぞれ積極的に行うとともに、相互の連携を可能とする調整を行った。また、衛研のレファレンスセンター担当者は、「ダニと疾患のインターフェース」「リケッチア研究会」等に参加、発表を行うことにより、担当者自身のレベルア



ップを志すとともに、衛研関係者以外のリケッチア症関連の研究者や医師との連携が可能な場として活用、より深い情報の蓄積をその後も積極的に継続している。

#### D. 考察

リケッチア・レファレンスセンターの存在目的として、①標準株、分離株の維持（リスク分散）、②診断用抗原並びにPCR陽性コントロールの分担作製と供給、③実験室診断技術の相互評価（技術の維持）、④新規診断法等の相互評価（標準化）、⑤疫学情報、診断情報の収集・分析と共有、⑥緊急時のバックアップ体制、⑦検査マニュアルの作成、改訂、⑧検査技術の研修、⑨地域ごとの課題対応（調査、特定ツールの検討）、⑩その他（個々の担当者のスキルアップ）等が挙げられる。本研究班では、横糸となるレファレンスセンターの全国共通基盤を構築することを目指し、初年度、つつが虫病と日本紅斑熱のマニュアル改訂、全国共通となる検査法の評価の準備、全国情報の共有の機会と担当者のスキルアップを行った。

マニュアルについては、つつが虫病、日本紅斑熱それぞれの疾患から同様の流れで漏らさず検討できるように検討し、年度内に公開を予定し、新規に盛り込まれた日本紅斑熱のリアルタイム PCR について、全国導入への条件を検討、レファレンスセンター間の相互評価を実施、標準化するための陽性コントロールの準備と作業手順書の準備を行い、次年度早々に実施を計画している。さらに、日本紅斑熱と同時に検討すべきつつが虫病のリアルタイム PCR 系の評価について、2 年次の実施を目指し、準備を開始している。このことにより、多様なリケッチア症に柔軟に対応できる

Multiplex な診断系の現場導入を試みる。また、地域常在が想定されながら届出疾患になっていないため不明な発疹熱は、今年度国内発生が報告されており、その状況を確認する体制も必要であろう。

リケッチア症において、つつが虫病の血清診断の一部は民間検査所でも可能である。しかしながら、現在患者の多数を占める Kawasaki 型や Kuroki 型に関しては対応していない。共通抗原に対する抗体も上昇する症例がある一方、感染した型にしか抗体上昇を認められない症例もある。医療現場では保険適用の問題から、急性期の検体を特定の型にのみしか検討されないことも多く、多くの症例が見落とされている可能性が高い。つつが虫病は適切な治療を速やかに始めなければ、いまだ死に至る感染症である。そのためにも衛研を中心としたリケッチアレファレンスセンターを強化し、地域ごとに適切な実験室診断が行われ、地域に即した情報発信を行えるようにすることが、患者発生に対応する医療と地域公衆衛生に大きな貢献になると考えられる。

全国ならびにブロック毎に地域情報、疫学情報、診断情報の収集・分析と共有、情報交換を行った結果、年間、数 100 例のリケッチア症が確定報告されながらその認知度はいまだ低く、本年度のように新規のダニ媒介感染症が大きく取り上げられると、それに固執し、鑑別対象とされるべきリケッチア症が置き去りにされ、そのために治療等が遅れ死亡に至った、重症化したと考えられる症例の情報が散見された。このことから、レファレンスセンターを中心とした地域の診断体制を確固としたものとすると同時に、情報発信のあり方について再考すべき時期であることで意見が一致した。

## E. 結論

つつが虫病、日本紅斑熱は確定報告数だけでも数百にのぼるが、多くの症例が届けられていないことが強く推察される。より容易に実験室診断が行われるために、遺伝子検出系などの導入なども進められているが、それだけで確定できない症例も多い。血清診断も感染細胞抗原を用いた系がいまだ国際的にも Gold standard であり、リケッチアの偏性細胞内寄生細菌という特徴に加え、BSL3 での取り扱い、さらに一部は特定病原体に指定されていることから、検査体制を維持できる施設は限られている。地域特性が強い感染症であることも踏まえ、全国のラボネットワークの構築方法の検討、各ブロックのレファレンスセンターを中心とした地衛研の検査体制を維持するために、その専門性を考慮した人員配置と組織作りに取り組むことが、臨床に即した迅速対応と情報発信が可能となり、患者のみならず住民の QOL に資することになる。

## F. 健康危険情報

特定の疾患に固執した対応を行うと、有効な治療法がありながら、鑑別対象とされるべきリケッチア症が置き去りにされ、そのために治療等が遅れ、死亡、重症化に至る危険性がある。

## G. 研究発表

### 論文発表

1. 岸本寿男, 尾内一信, 沼崎啓, 安藤秀二, 山崎勉, 中浜力: ELISA 法による抗 *Chlamydophila pneumoniae* IgM 抗体測定キットの比較, 小児感染免, 25(2): 163-168, 2013

### 学会発表

#### 国際学会

なし

#### 国内学会

1. 安藤秀二: リケッチアと関連疾患, 平成 25 年度希少感染症診断技術研修会, 2014 年 2 月 20 日, 東京

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 特許取得

特記事項なし

### 実用新案登録

特記事項なし

### その他

特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
「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」班  
分担研究報告書

下痢症ウイルスのレファレンスにかかる研究

研究分担者	清水博之	国立感染症研究所	ウイルス第二部第二室
研究協力者	片山和彦	国立感染症研究所	ウイルス第二部第一室
	朴 英斌	国立感染症研究所	ウイルス第二部第一室
	戸高玲子	国立感染症研究所	ウイルス第二部第一室
	三木元博	国立感染症研究所	ウイルス第二部第一室

研究要旨 ヒトに感染するノーウォークウイルス（ノロウイルス、HuNoV）は、冬季ウイルス性胃腸炎の原因ウイルスとして、更に冬季に多発する集団食中毒の原因ウイルスとして知られている。本研究では、ウイルスの抗原性パネルウイルス様中空粒子の作製と抗血清の作製、ノロウイルス検出システムの開発と、それに用いる標準物質の開発を行う。

A. 研究目的

各ブロックレファレンスセンター（九州沖縄：佐賀県衛生薬業センター、長崎市保健環境試験所 中国四国：愛媛衛研、広島県衛生研究所 近畿：堺市衛生研究所、大阪市立環境科学研究所 北陸中部：愛知衛研、名古屋市衛生研究所 関東甲信静：千葉市環境保健研究所、埼玉県衛生研究所医科学課、北海道東北新潟：宮城県保健環境センター）との連携の下、地方衛生研究所で実施しているノロウイルス・ロタウイルス検査の状況を把握し、検査の質を向上させることが本分担研究の主な目的である。具体的には、ノロウイルス・ロタウイルス検査におけるウイルス分離、遺伝子検査手法のマニュアル作成、及びウイルスゲノムの情報共有化を目的とする。

本年度は、第一に、ノロウイルスの便検体パネルを充実させ、抗原・抗体パネルの整備を継続すると共に、GII.4 2012 変異株のVLPと抗血清の作製を行う。第二に、ノロウイルスサイエンティフィックコミッティーが提唱した新規 genotyping 法に対応

可能な long distance RT-PCR 法を開発し、供給する。ロタウイルスの全長ゲノムを対象とした分子疫学基盤構築のためのマイクロチップ電気泳動法導入の検討を行う。以上を目的とした。

B. 研究方法

1. ノロウイルスの GII.4 2012 変異株のVLPと抗血清の作製

ノロウイルス GII.4 2012 変異株は、2012/13 シーズンの史上 2 番目の大流行を引き起こした GII.4 のバリエーション株である。GII.4 2012 変異株は、ウイルス粒子表面の突起部分（P ドメイン）に 2-3 アミノ酸の変異を有し、その抗原性を従来の GII.4 2006b 変異株などから若干変化させ、流行を引き起こしたと考えられている。

本年度は、幾つかの GII.4 2012 変異株の塩基配列を人工合成して、バキュロウイルスベクターに組み込み、リコンビナントバキュロウイルスを作製して、ウイルス様中空粒子（VLP）の作出を行った。

2. ノロウイルスの新規 genotyping 法と、

それに対応した RT-PCR 法の開発

1) 便検体：埼玉県衛生研究所より、譲渡され、国立感染症研究所ウイルス第二部第一室で保管管理されている NoV 陽性便検体パネルを用いた。本パネルは、譲渡後も国立感染症研究所にて新規 genotype 便検を補充し、現在報告されているほぼすべての genotype を含むパネルとして維持し続けている。加えて、2012/13 シーズンに史上 2 番目の大流行を引き起こした GII.4 2012 変異株の便検体も用いた。

2) GII.4 2012 変異株の全塩基配列解析  
全長塩基配列は、次世代 sequencer (イルミナ MiSeq) によって解析を行った。

3) 第三世代 Uni3KY, UnilKY primer デザインと RT-PCR

HuNoV 全長塩基配列のアライメントを用いて、高度に保存された領域を検索し、ORF1 にコードされたプロテアーゼ切断モチーフ付近に、新規 Universal primer set (Uni3KY primers) を設計した。設計した新規 primer set と、Takara PrimeStar GXL を用いて約 4.5 kb の long distance RT-PCR を実施し、PCR amplicons が得られなかった場合、UnilKY primers を用いた nested PCR を実施した。1<sup>st</sup> step RT-PCR amplicon, 2<sup>nd</sup> step amplicon 共に、完全長の polymerase region (RdRp) から Capsid N/S region をカバーし、ORF2 (VP1) 全長をカバーする。

3. 全ゲノムセグメントを対象としたロタウイルス分子疫学法の基盤構築

ロタウイルスは、11本の二重鎖RNAをゲノムとして持つ。11本のゲノムセグメントは、インフルエンザウイルスのようにセグメントリアソートを起こし、高頻度にリアソータントウイルスが出現する。ロタウイルスの分子疫学は、リアソータントの動向を把握することが重要である。このうち、粒子

最外郭蛋白質をコードするVP7 遺伝子がG typingに、最外郭の突起物をコードするVP4 遺伝子がPタイピングに、それぞれ用いられている。ヒトに感染するロタウイルスのうち、最も典型的な株はWa型と呼ばれる G1P[8]の遺伝子型を示す株である。Waの全

遺伝子セグメントを G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1と表す。ヒトノロウイルスのもう一つの主要株は、Wa型よりもマイナーなDS-1型が存在する。DS-1の全遺伝子セグメントを G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2と表す。各種セグメントのリアソータントは、便検体に大量に含まれるロタウイルスのゲノムRNAを抽出し、RNA-PAGEを行い、PAGE パターンを比較検討することで検出可能である。ラボ間差、アッセイ間差をコントロールし、異なる地域、異なる実験室間でのデータ比較できれば、全ゲノム塩基配列を決定すること無く、RNA-PAGEパターン解析のみで、ロタウイルスの分子疫学が実施可能となる可能性がある。そこで、マイクロチップ型RNA-PAGEの導入の可能性について検討した。

## C. 研究結果・考察

### 1. ノロウイルスの GII.4 2012 変異株の VLP と抗血清の作製

4株の GII.4 2012 変異株の遺伝子配列を合成し、組換えバキュロウイルスを作製した後、VLP の作製を実施した。GII.4 2012 変異株の VLP 作製に成功し、抗体作製にも成功した。シードウイルスと抗体は、パネルとして保管した。

### 2. ノロウイルスの新規 genotyping 法と、それに対応した RT-PCR 法の開発

HuNoV genome 3' end に存在する poly A tail をターゲットとした Tx30SXN primer