# II. 分担研究報告書

平成25-27年度

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

「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

# 地方衛生研究所と感染研が共同で実施すべきレファレンス活動

# 真菌検査標準作業手順書（SOP）の作成

# BSL3真菌取扱マニュアルの作成


| | | |
|---|---|---|
| 研究代表者 | 宮﨑　義継 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| 研究協力者 | 小澤　邦壽 | 群馬県衛生研究所 |
| | 調　　恒明 | 山口県環境保健研究センター |
| | 四宮　博人 | 愛媛県立衛生環境研究所 |
| | 平田　輝昭 | 福岡県保健環境研究所 |
| | 皆川　洋子 | 愛知県衛生研究所 |
| | 倉根　一郎 | 国立感染症研究所 |
| | 渡邉　治雄 | 国立感染症研究所 |
| | 梅山　　隆 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| | 金子　幸弘 | 大阪市立大学大学院　医学研究科 |
| | 大野　秀明 | 埼玉医科大学　総合医療センター |
| | 星野　泰隆 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| | 田辺　公一 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| | 山越　　智 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| | 名木　　稔 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| | 壇辻百合香 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| | 中山　靖子 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| | 浦井　　誠 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| | 金城　雄樹 | 国立感染症研究所　真菌部 |
| | 上野　圭吾 | 国立感染症研究所　真菌部 |



研究要旨　（平成25年度）国立感染症研究所と全国の地方衛生研究所は病原体検査に関して連携し、各種の病原体情報を共同で発信している。しかし、互いに独立した組織であり連携の明確な根拠は無いため、国内の危機的感染症の察知、正確な感染症状況の把握に向けて、感染研と地衛研の連携が必要と相互に認識する事項について協議し、レファレンスセンターの設置等につき明文化した。レファレンスセンターの設置、対象疾患の選定法、設置期間、活動内容、その他の事項について記載した。（平成26年度）病原体検査において、品質・精度を維持・向上させるため標準作業手順書（SOP）の作成とSOPに基づいた検査の施行が求められる。真菌検査のためのSOPを作成しSOPに準じて検査を試行した。他の病原体に関する検査のSOPを作成する際に本報告書のSOPが参考になると考える。（平成27年度）バイオセーフティーレベル3（BSL3）に分類される3種病原体コクシジオイデス病原体検査において、安全性を確保し、品質・精度を維持・向上させるため実践的な取扱操作マニュアルの作成とそのマニュアルに基づいた検査の施行が求められる。BSL3に分類される真菌の検査のための取扱マニュアルを作成し、準じて検査を試行した。他の飛散しやすく検査室汚染に繋がりやすい病原体に関する検査を行う際に参考になると考える。

A．研究目的

■レファレンスセンターの位置付け：危機管理等の目的で厚生労働省・日本政府が正確な感染症情報を入手するためには、信頼に足る病原体検査体制の構築と維持が必要である。国立感染症研究所（感染研）と全国の地方衛生研究所（地衛研）は病原体検査に関して連携し、各種の病原体情報を共同で発信している。しかしながら、感染研は国の機関であり、地衛研は自治体等に所属する機関であるため、互いに独立した組織であり連携の明確な根拠は無い。このような状況の中、国内の危機的感染症の察知、正確な感染症状況の把握に向けて、感染研と地衛研の連携が必要と相互に認識する事項について協議した。

■真菌検査 SOP の作成：感染症法に基づく病原体の行政検査は、ほとんどの自治体において地方衛生研究所が行っている。対象となる病原体の種類は、ウイルス・細菌・真菌・原虫・寄生虫と多種に及び、それぞれの病原体に対応して、高度な検査技術によって同定される必要がある。近年、様々な事情により、地衛研の検査基盤の継承が困難になってきており、検査品質・精度の維持・向上のためにも標準作業手順書（Standard Operating Procedure, SOP）の作成が必須となってきている。しかしながら、多くの地衛研においては感染症検査の SOP が作成されていないのが現状である。

■BSL3 真菌取扱マニュアルの作成：検査品質・精度の維持・向上のためにも病原体検査マニュアルの作成およびアップデートが必須となってきている。BSL3 に分類されているコクシジオイデス属真菌は、分生子となって空気中に飛散しやすく、検査室汚染事故を引き起こしかねないため、特段の注意が必要となる。現状では、真菌を取り扱う地衛研は限られているが、BSL3 病原体を取り扱う施設も少なくない。将来的には、BSL3 真菌を取り扱う可能性も否定できない。本研究では、飛散しやすい病原真菌の取扱マニュアルを作成することを目的とする。

B．研究方法

■レファレンスセンターの位置づけについて、国立感染症研究所長をはじめとする感染研のレファレンス担当職員と、地方衛生研究所全国協議会会長、および、感染症対策部会の委員が協議を行った。

■国立感染症研究所真菌部において、真菌検査についての標準作業手順書（SOP）を作成した。作成した SOP に基づき検査を行い、SOP の内容について検証を行い、必要に応じて改訂を行った。また、BSL3 真菌の取扱マニュアルを作成した。作成したマニュアルに基づきコクシジオイデス属真菌の検査を行い、マニュアルの内容について検証を行い、必要に応じて改訂を行った。

C．研究結果

■感染研と地衛研の間で常時連携して特定の疾病に対応する機能的な枠組みとしてレファレンスセンターをおくこととし、その概要につき以下のように明文化した。

1．設置

感染症法で指定される疾病を主な対象として、地衛研と感染研の双方が必要と認める疾病（群）の病原体等の診断のために必要なより効率的な活動（レファレンス活動）を目的としたレファレンスセンターを設置する。感染研に中央レファレンスセンターを、地衛研全国協議会会長が指定する地衛研に支部レファレンスセンターを置く。そ

の活動のとりまとめは衛生微生物協議会レファレンス委員会が中心になり行い、年次総会で活動状況を報告する。

２．対象疾患の決定

各々の疾病に対応するレファレンスセンターの設置は、地衛研全国協議会感染症対策部会と感染研レファレンス委員会で協議し、地衛研全国協議会会長と感染研所長両者の合意により決定する。決定事項は衛生微生物協議会総会で報告する。

３．設置期間

継続、統合、休止等に付いて、3年毎に地衛研全国協議会感染症対策部会と感染研レファレンス委員会で協議を行う。

４．レファレンスセンターで実施することが適切と考えられる項目

1）病原体検査の標準的マニュアルの作成
2）検査実施に必要な標準品の整備；例：対照株、診断血清や抗原、プライマー等
3）検査方法の開発（研究を含む）
4）検査能力と検査体制の維持（研修等）
5）病原体株の収集と保管および分与
6）検査の精度管理

５．危機対応

パンデミックやテロなどに際し危機対応が必要とされる場合には、病原体検査の実施に係る連携全般について、厚生労働省、感染研所長と地衛研全国協議会会長の間で必要事項について直ちに協議する。

６．研究利用

レファレンスセンター活動から派生する①保存株や検体の研究利用、②附随情報の研究利用や公共への発信、については主体となる研究者が、全国協議会感染症対策部会あるいは感染研レファレンス委員会と協議し、適切に対応を行う。窓口は、全国協議会感染症対策部会長と感染研レファレンス委員長とする。その結果については、各組織に報告する。

■真菌検査 SOP の作成：遺伝子検査を中心とした真菌検査を実施する上での統一ルールを記載した SOP を作成した。国立感染症研究所真菌部内での意見を集約した。

■BSL3 真菌取扱マニュアルの作成：コクシジオイデス属真菌等の BSL3 に分類される真菌の検査を実施する上での実践的なマニュアルを作成した。国立感染症研究所真菌部内での意見を集約した。

D．考察

■レファレンスセンターの概要について明文化したことにより、わが国の病原体検査が円滑に実施できることが期待される。実際に運用し修正が必要な事項等が明らかになれば、協議の上変更が可能と考える。

■真菌症検査のための SOP および検証を行った。本研究で作成した SOP は検査の関係者全員が閲覧可能で、各自の理解が前提とされており、定期的に見直して改訂する必要がある。病原体検査における品質・精度の向上のためにも SOP の作成は基本である。さらに、詳細な検査項目については、現行では付表として作成している。本報告書で示すような SOP が他の病原体で作成され検査の精度管理基盤となることを期待する。

■真菌症検査の中でも通常の施設では困難な BSL3 に分類される真菌を取り扱うためのマニュアルの作成および検証を行った。空気中に飛散しやすく、病原性の高い BSL3 真菌の本研究で作成した取扱マニュアルは検査の関係者全員が閲覧可能で、各自の理解が前提とされており、定期的に見直して改訂する必要がある。BSL3 の病原体検査における安全性の確保および品質・精度の

向上のためにも病原体取扱マニュアルの作成は基本である。この検査マニュアルが他の飛散しやすく検査室汚染に繋がりやすい病原体でも作成され、病原体検査の安全性確保のための基盤となることを期待する。

E．結論

レファレンスセンターの概要について明文化した。真菌検査のための標準作業手順書（SOP）およびBSL3真菌検査のための病原体取扱マニュアルを作成した。

F．健康危険情報

特記事項なし

G．研究発表

論文発表


1. Takagi T, Tanamachi C, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Kishi K, Fujii T, Takemura H, Watanabe H, Miyazaki Y. Determination of epidemiology of clinically isolated Cryptococcus neoformans strains in Japan by multilocus sequence typing. Jpn J Infect Dis. 2013, 66(1):51-5.
2. Okubo Y, Wakayama M, Ohno H, Yamamoto S, Tochigi N, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Umeyama T, Shinozaki M, Nemoto T, Nakayama H, Sasai D, Ishiwatari T, Shimodaira K, Yamamoto Y, Kamei K, Miyazaki Y, Shibuya K. Histopathological study of murine pulmonary cryptococcosis induced by *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans*. Jpn J Infect Dis. 66:216-221, 2013.
3. 町田安孝，福島康次，三好祐顕，小原一記，池田康紀，亀井克彦，宮﨑義継，福田 健. 経気管支鏡肺生検および気管支肺胞洗浄にて診断された慢性肺コクシジオイデス症の 1 例. 日本呼吸器学会雑誌. 2:274-278, 2013.
4. 大野秀明，金子幸弘，田辺公一，梅山 隆，宮﨑義継. *Cryptococcus gattii* 感染症 -新興・再興感染症 up to date-. 化学療法の領域. 29 S-1:1144-1151, 2013.
5. 宮﨑義継，砂川富正，大石和徳. ミニ特集：病原体サーベイランス体制とその利用、国立感染症研究所の立場から. 小児科. 55(4):403-6, 2014 年.
6. 梅山隆、宮﨑義継. 播種性クリプトコックス症の感染症法に基づく届け出について. モダンメディア. 61(7):10-15., 2015 年.
7. 堀内一宏、掛屋 弘、金子幸弘、宮﨑義継. 健常人に生じ、治療に難渋した肺クリプトコックス症を合併した脳クリプトコックス症. 感染症学雑誌. 第 89 巻第 3 号付録. 15-20.， 2015 年.
8. Asano M, Mizutani M, Nagahara Y, Inagaki K, Kariya T, Masamoto D, Urai M, Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y, Mizuno M, Ito Y. Successful Treatment of *Cryptococcus laurentii* Peritonitis in a Patient on Peritoneal Dialysis. Internal Medicine. 54(8):941-4, 2015.
9. Ueno K, Kinjo Y, Okubo Y, Aki K, Urai M, Kaneko Y, Shimizu K, Wang D, Okawara A, Nara T, Ohkouchi K, Mizuguchi Y, Kawamoto S, Kamei K, Ohno H, Niki Y, Shibuya K, Miyazaki Y. Dendritic cell-based immunization ameliorates pulmonary infection with highly virulent *Cryptococcus gattii.* Infection and Immunity. 83(4):1577–1586, 2015.
10. Ikeda-Dantsuji Y, Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Ueno K, Nagi M, Yamagoe S, Kinjo Y, Miyazaki Y.. Interferon-γ promotes phagocytosis of *Cryptococcus neoformans* but not *Cryptococcus gattii* by murine macrophages.. J Infect Chemother. 21(12):831-6., 2015.


学会発表

国際学会


1. Kamei K, Watanabe A, Yaguchi T, Muraosa Y, Toyotome T, Ohno H, Miyazaki Y. Epidemiology of imported mycoses in Japan-its past and the present status. 28th International Congress of Chemotherapy and Infection. June 5-8, 2013.


国内学会


1. 大野秀明，大久保陽一郎，金子幸弘，田辺公一，梅山 隆，山越 智，亀井克彦，渋谷和俊，宮﨑義継. Cryptococcus gattii 感染書の病態解析（シンポジウム 4）. 第 57 回日本医真菌学会総会・学術集会. 9 月 27-28 日，2013 年，東京.
2. 大久保陽一郎，大野秀明，篠崎 稔，宮﨑義継，根本哲生，若山 恵，栃木

直文, 石渡誉郎, 中山晴雄, 下平佳代子, 安藝恭子, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 渋谷和俊. ガッティ型クリプトコックス症に関する感染防御機構ならびに病原因子の解析. 第 57 回日本医真菌学会総会・学術集会. 9 月 27-28 日, 2013 年, 東京.

3. 金城雄樹, 上野圭吾, 浦井 誠, 金子幸弘, 大久保陽一郎, 清水公徳, 大野秀明, 亀井克彦, 川本 進, 澁谷和俊, 宮﨑義継. シンポジウム 3 病原性真菌の感染成立機構 クリプトコックスの莢膜多糖による免疫回避機構の解析及びその制御法の開発. 第 58 回日本医真菌学会総会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.
4. 壇辻百合香, 大野秀明, 梅山 隆, 上野圭吾, 大久保陽一郎, 田辺公一, 名木稔, 山越 智, 金城雄樹, 杉田 隆, 澁谷和利, 宮﨑義継. マクロファージの貪食を指標とした *Cryptococcus gattii* 感染病態の評価. 第58回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.
5. 上野圭吾, 金城雄樹, 大久保陽一郎, 清水公徳, 金子幸弘, 浦井 誠, 川本進, 亀井克彦, 大野秀明, 澁谷和俊, 宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* の感染防衛に寄与する樹状細胞ワクチンの作用. 第 58 回日本医真菌学会総会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.
6. 浦井 誠, 金子幸弘, 上野圭吾, 田辺公一, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 大野秀明, 杉田 隆, 宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* の莢膜多糖成分が免疫細胞に及ぼす影響. 第 58 回日本医真菌学会総会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.
7. 上野圭吾, 金城雄樹, 大久保陽一郎, 浦井 誠, 金子幸弘, 大野秀明, 亀井克彦, 澁谷和俊, 宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* の感染防衛に寄与する樹状細胞ワクチン. 第 63 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 10 月 29-31 日, 2014 年, 東京.
8. 上野 圭吾, 大久保陽一郎, 清水公徳, 金子幸弘, 浦井 誠, 水口裕紀, 奈良拓也, 川本 進, 大野秀明, 澁谷和俊, 宮﨑義継, 金城雄樹. 高病原性クリプトコックス症に対する樹状細胞ワクチンの効果. 第 25 回日本生体防御学会学術総会. 7 月 9-11 日, 2014 年, 仙台.
9. 浦井 誠, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山隆, 山越 智, 金城雄樹, 大野秀明, 杉田 隆, 宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* 由来莢膜多糖の免疫細胞に及ぼす影響. 第 88 回日本感染症学会学術講演会第 62 回日本化学療法学会総会合同学会. 6 月 18-20 日, 2014 年, 博多.
10. 上野 圭吾・金城 雄樹・金子 幸弘・大野 秀明・亀井 克彦・二木 芳人・宮﨑 義継. *Cryptococcus gattii* を制御する樹状細胞療法はサイトカイン産生 CD4 細胞を誘導する. 第 63 回日本化学療法学会総会. 6月 4-6 日, 2015 年, 東京.
11. 上野 圭吾・浦井 誠・水口 裕紀・大河内 香代・宮﨑 義継・金城 雄樹. 病原性真菌 *Cryptococcus gattii* に対する樹状細胞ワクチンとその感染制御作用
-ワクチンで誘導される Th1/Th17 応答と多核巨細胞の形成について-. 第 26 回日本生体防御学会総会. 7 月 10-12 日, 2015 年, 東京.
12. 上野 圭吾・金城 雄樹・浦井 誠・大久保 陽一郎・清水 公徳・金子 幸弘・亀井 克彦・大野 秀明・二木 芳人・澁谷 和俊・宮﨑 義継. 樹状細胞ワクチンを用いた高病原性 *Cryptococcus gattii* に対する感染制御機構の解析. 第59回 日本医真菌学会総会. 10 月 9 日-10 日, 2015 年, 札幌.

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

特許取得
なし

実用新案登録
なし

その他
なし

平成25-27年度
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

# 大腸菌・レジオネラ・レンサ球菌


研究分担者　大西　真　　国立感染症研究所　細菌第一部

研究協力者　伊豫田　淳　　国立感染症研究所　細菌第一部
野田　万希子　岐阜県保健環境研究所　保健科学部
亀山　芳彦　　岐阜県保健環境研究所　保健科学部
北川　恵美子　石川県保健環境センター健康・食品安全科学部
加藤　真美　　石川県保健環境センター健康・食品安全科学部
川上　慶子　　石川県保健環境センター健康・食品安全科学部
前川　純子　　国立感染症研究所　細菌第一部
池辺　忠義　　国立感染症研究所　細菌第一部
地方衛生研究所等



研究要旨　大腸菌、レジオネラ属菌、溶血性レンサ球菌の機能的なラボネットワークの構築・改善点を抽出することを目的とした。精度の高いサーベイランスを全国的に実施するためにも、技術的基盤の継承が重要である。平成26年度においては、現在実施されている３菌種の病原体サーベイランスの状況を検証した。コントロールDNAの配布とそれを使った試験のトラブルシューティング等と通して試験法の改善等につなげていくことが重要であった。多施設における検査の品質保証を的確に行なうことは必ずしも容易ではない。市販されていない型別用血清を感染研で用意、配布することで、今後の課題も明らかにされつつある。今後も、問題点の把握とそれを解決するための実施可能な検査法・ツールの開発が不可欠である。


## A．研究の背景と目的

大腸菌

ヒトに下痢を発症させる下痢原性大腸菌は保有する病原性遺伝子ごとにいくつかのカテゴリーに分類される。このうち、日本国内で死亡者を含む重症例の原因となっているのが腸管出血性大腸菌（enterohemorrhagic *E. coli*: EHEC）である。2013-2015年の３年間で11,000例を超える感染者数が報告されており、このうち、3,100例の重症例（血便または溶血性尿毒症症候群[hemolytic uremic syndrome: HUS]発症例）が報告されている（NESIDの集計による）。原因菌として半数以上を占めるのがO157で、O26, O111, O103, O145, O121, O165で重症例由来株のほとんどを占める（細菌第一部の集計による）。EHEC以外の下痢原性大腸菌カテゴリーについてはEHECと比較して重症例は少ないが、EHECとのハイブリッドタイプとして検出されるいくつかのカテゴリー（腸管病原性大腸菌[enteropathogenic *E. coli*: EPEC]、腸管凝集接着性大腸菌[enteroaggregative *E. coli*: EAggEC]）を含む、各病原性遺伝子の検出が重要である。さらに、新規下痢原性腸内細菌として同定されている*Escherichia albertii*ついてもPCRによる検出を行っている。

レジオネラ

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第15条第1項の規定の実施のための法律施行規則第8条第2項に基づき、レジオネラ感染症の発生状況、動向及び原因の調査のため、国立感染症研究所および地方衛生研究所で構築されるレジオネラ・レファレンスセンターにおいて、平成19年8月よりレジオネラ臨床分離株の収集を行なっている。レジオネラ症の主要起因菌である *Legionella pneumophila* の遺伝子型を調べたところ、冷却塔由来株、浴槽水由来株、土壌由来株でそれぞれ異なる結果が得られ（参考文献 1）、遺伝子型を調べることにより、感染源が推定できる可能性が示唆され、菌株型別の有用性が明らかになってきている。

A 群溶血レンサ球菌（Group A *Streptococcus*、*Streptococcus pyogenes*、以下 A 群溶レン菌）は、グラム陽性球菌であり、様々な疾患を引き起こす。A 群溶レン菌が関与する感染症は多種多様で、本菌を原因とする代表的な疾患は咽頭炎、扁桃炎、猩紅熱、丹毒、蜂窩織炎、続発症として急性糸球体腎炎やリウマチ熱等であり、手足の筋膜・筋肉等の軟部組織に壊死性の炎症を伴う重篤な症状を呈す劇症型溶血性レンサ球菌感染症も本菌による疾患として注目されている。A 群溶レン菌は、健康な人の咽頭、皮膚などにも存在する。

「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（感染症法）」において、A 群溶レン菌が引き起こす疾患として、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎と劇症型溶血性レンサ球菌感染症が含まれる。これらの疾患は５類感染症に属し、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎は小児科定点把握疾患、劇症型溶血性レンサ球菌感染症は全数把握疾患として病原体サーベイランスの対象疾患に位置付けられている。

A 群レンサ球菌は、溶血性レンサ球菌レファレンスシステムセンター（図１）を構築しており、各都道府県の衛生研究所と国立感染症研究所協力の下、本感染症のサーベイランスや新たな検査法の開発に取り組んでいる。

３つの病原細菌に対して以下の目的で研究を実施した。

A: EHEC を中心とした下痢原性大腸菌の血清型解析結果に基づいた病原性遺伝子検出法、血清診断法、および菌分離法について検査マニュアル化すると共に、それらの検査に必要なコントロール株等の配布・精度管理を行う。

**レジオネラ**

B１　遺伝子型別法により感染源を推定するための基盤情報の整備

B２　分離されたレジオネラ属菌の同定のために、市販されてない免疫血清を作製し配布することでより同定技術を改善すること。

**A 群溶血レンサ球菌**

C:　A 群レンサ球菌感染症の流行株について、現状を把握するため、溶血レンサ球菌感染症のうち咽頭炎患者分離株と劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株を溶血性レンサ球菌レファレンスセンターを通じて収集し、菌株の解析を行うことを目的とする。

B．研究方法

**1. 大腸菌血清型別・遺伝子型別**

デンマーク血清学研究所（Staten Serum Institut: SSI）あるいはデンカ生研から購

入した血清を用いて実施した。PCR 法は定法に従って実施した。

**2. レジオネラ SBT 法と血清群別**

*L. pneumophila* については、EWGLI (European Working Group of *Legionella* Infections)の提唱する SBT (sequence-based typing)法に従い、*flaA*、*pilE*、*asd*、*mip*、*mompS*、*proA*、*neuA* 遺伝子の一部領域の塩基配列を決定し、遺伝子型別を行った (http://www.hpa-bioinformatics.org.uk/legionella/legionella_sbt/php/sbt_homepage.php)

レジオネラ特異的な免疫血清の作製は、デンカ生研で行い、その特異性は、感染研のレファレンスセンターで確認した。

**3. 溶血性レンサ球菌の T 型別および M 型別**

病原体検出マニュアルに準じて行なった.

C．研究結果

**1.1 EHEC のサーベイランス**

2013-2015 年に細菌第一部で受け付けたヒト由来の EHEC は全 9,038 株であり、主な血清群として、O157（56.7%）、O26（23.6%）、O111（4.7%）、O103（3.3%）、O121 (3.0%)、O145 (3.0%)、O91 (0.9%)、O165（0.4%）、その他（4.4%）があげられる。

**1.2 コントロール株の配布およびそれらを用いた解析**

下痢原性大腸菌の各カテゴリー（EHEC, EPEC, EAggEC, ETEC [enterotoxigenic *E. coli*: 腸管毒素原性大腸菌], EIEC [enteoinvasive *E. coli*: 腸管細胞侵入性大腸菌]）のコントロール株、EHEC のマーカーである志賀毒素遺伝子のサブタイプ検出用コントロール株の配布を次の各衛生研究所等：千葉市環境保健研究所、福岡県保健環境研究所、神奈川県衛生研究所、福岡市保健環境研究所、兵庫県立健康生活科学研究所、長崎県環境保健研究センター、岡崎市保健所、長野県環境保全研究所、東京都健康安全研究センター、大阪府立公衆衛生研究所、石川県保健環境センター、大分県衛生環境研究センター、岡山県環境保健センター、愛知県衛生研究所、山口県環境保健センター、福島県衛生研究所、足立区衛生試験所、藤沢市保健所、浜松市保健環境研究所、香川県環境保健研究センター、石川県保健環境センター、岐阜県保健環境研究所、茨城県衛生研究所、豊橋市保健所、和歌山県環境衛生研究センター、沖縄県衛生環境研究所、愛知県衛生研究所、岡山県環境保健センターへ行った。配布を行ったいくつかの地研からは、解析に関するトラブルシューティング、および解析結果に関する問い合わせを受け付けた。特に、地方衛生研究所全国協議会に含まれず、毎年開催されている衛生微生物協議会総会・研究会や希少感染症診断技術研修会に参加していない中核市等の検査機関からも要望を受け付けた。

**1.3 *Escherichia albertii* コントロール株の設定と配布**

新規下痢原性腸内細菌として同定されている *E. albertii* について、大分県衛生環境研究センターの協力でコントロール株および検出用 PCR 系を設定し、必要に応じてコントロール株を分与することが可能となった。

**1.4 下痢原性大腸菌 EQA（External Quality Assurance）の実施**

デンマーク血清学研究所（Statens Serum Institut: SSI）がヨーロッパ各国間で実施している下痢原性大腸菌の EQA 用菌株（2013-2015 年用）各年 10 株ずつを用

いた。感染研以外でEHECタイピング用自家抗血清の準備がある大阪府立公衆衛生研究所へ上記の菌株を送付し、EQAを行ったところ、すべての菌株において生化学的性状（ソルビトール発酵性，βグルクロニダーゼ活性，ヘモリシン活性）血清型（O:H型）および病原性遺伝子型の解析結果が3年連続で感染研と大阪府ですべて一致し、これらの結果はSSIから得られた解答と完全に一致した。

**2.1　レジオネラ・レファレンスセンターにおける臨床分離株の収集状況**

レジオネラ・ファレンスセンターにおいて、収集した臨床分離株の遺伝子型別の結果を、毎年、衛生微生物技術協議会研究会のレファレンスセンター関連会議で報告した。研究期間の3年間で、レジオネラ属菌臨床分離株が158株収集された（混合感染が2事例あったため事例数は156事例）。内訳は*L. pneumophila*血清群（SG）1が141株、SG3が4株、SG2とSG9が各2株、SG4、SG5、SG6、SG8、SG10、SG12、SG13、SG14および*Legionella dumoffii*が各1株である。感染源が、浴槽水と推定・確定されている例は58例（37%）だった。推定感染源からの環境分離株とPFGEが一致した例は10例あった。8例は浴槽水分離株で、1例は冷却塔水、1例は散水ホースによる事例である。多様な感染源が認知されるにつれ、上記の確定例以外に、農作業、庭仕事、シャワー水等が感染源として推定されている。

*L. pneumophila*については遺伝子型別を行っており、結果を随時返却している。遺伝子型と菌が生息する環境に関連性が見られており、遺伝子型別は感染源を推測する手がかりになると考えられる。

**2.2 レジオネラ免疫血清の委託作製**

最初の2年間は混合血清3種を試作し、配布した。*L. pneumophila* SG2-SG15の菌抗原グループ3種に対応したグループ血清（1Gは2，3，6，12，14の各SGの菌を凝集；2Gは4，5，9，10，15の各SGの菌を凝集；3Gは7，8，11，13の各SGの菌を凝集）である。3年目は、*Legionella sainthelsi* 1群および2群と*Legionella jordanis*の免疫抗血清を試作した。

**3.1 咽頭炎患者分離株のT型別**

2012-2014年に全国の衛生研究所に収集されたA群レンサ球菌の菌株総数は、3138株であり、すべての株に対してT型別が行われた。分離頻度の高かったT型は、T12（681/3138，21.7%）、TB3264（626/3138，19.9%）、T1（560/3138，17.8%）、T4（382/3138，12.2）であった。T12型は1992年以降、毎年、高い分離頻度を示している。TB3264型の分離比率は、2010年に急激に上昇し、2014年さらに増加した（2009年，5.3%、2010年，12.6%、2011年，11.1%、2012年，14.5%、2013年，19.9%、2014年，27.1%）。2011年最も分離比率の高かったT1型は、2014年さらに減少した（2011年，31.1%、2012年，26.8%、2013年，12.1%、2014年，11.9%）。2010年に分離頻度が減少したT4型は、それ以降増加傾向にある（2010年，5.6%、2011年，9.8%、2012年，10.9%、2013年，11.7%、2014年，14.4%）（図2）。

**3.2 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株のT型別**

2012-2014年、A群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症（STSS）の報告が237症例あった。

最も分離された型は、T1型であった(95/237, 40.1%)。咽頭炎由来株の分離比率(17.8%)に比べ、高い分離比率を示している。

次いで、TB3264 型が多かった(49/237, 20.7%)。この 2 つの型で全体の 60%以上を占めている（図３）。

**3.3 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の *emm* 型別**

STSS の確定診断例 237 例中、*emm1* 型が 101 例(42.6%)と最も多く、次いで *emm89* 型が 49 例(20.7%)、*emm12* 型が 16 例(6.8%)と多かった(図４)。

**3.4 *emm89* 型株を特異的に検出する PCR 法の開発**

*emm89* 型株を特異的に検出する PCR 法の開発を試みた。その結果、検査した *emm89* 型において PCR 産物が見られたが、他の *emm* 型では増幅産物が見られなかった(図５)。

D. 考察

今後の以下の項目を検討することが必要である。

1) EHEC 検査マニュアルの改訂

EHEC の重症例として分離頻度の高い 7 血清群（O157, O26, O111, O103, O145, O121, O165）と *stx1*, *stx2*, *eae* の 10 種類を検出可能なワンショット PCR のプロトコールを EHEC 検査マニュアルに追加した。現在、その他の変更項目と共に共著者に確認中であり、確認後感染研ホームページにアップロードする予定である。

2) 大腸菌 EQA の実施

SSI からは今後も毎年 EQA 株（主として EHEC 10 株）が分与される予定である。これまでに既に 10 年以上の蓄積があり、これまでに SSI から送付を受けた菌株は地衛研等に配布可能である。今後全国レベルでの EQA を行う際に活用したい。

3) レジオネラサーベイランス

レジオネラ症の主要起因菌である *L. pneumophila* 血清群 1 株は遺伝子型により、浴槽水グループ（B1, B2, B3)、冷却塔水グループ (C1, C2)、土壌グループ (S1, S2, S3)、および U グループの大きく 9 つのグループに分けられることを見出している。この遺伝子型グループは環境分離株の由来に基づくものである。臨床分離株もその多くがいずれかのグループに属している。B グループに属する臨床分離株の 75%が、実際に浴槽水が感染源と推定・確定されている。一方、農作業・庭仕事による疑い事例の多くの遺伝子型が、実際に土壌（S1）グループであった。したがって、臨床分離株の遺伝子型を調べることにより、感染源の種類の推定が可能になると考えられた。その一方で、入浴施設が感染源と推定される患者分離株で、S グループに属する菌株も見られた。これは土などに混じって *L. pneumophila* が浴槽水に混入している可能性を示唆する。

臨床検体から菌を分離することの重要性が認知されるにつれ、菌株分離例が少しずつ増えてきた。その結果、データが蓄積し、有意義な情報が地方自治体や、医療機関に還元できるようになった。

4) A 群レンサ球菌のワクチンとして、30 価の M タンパクワクチンが開発中である。M タンパクは、*emm* 遺伝子によりコードされているため、*emm* 遺伝子型別をすることで型を決定することができる。STSS 患者分離株は *emm* 遺伝子型別を決定しているが、咽頭炎由来株は決定していない。理由として、コストがかかることや設備が整っていないことが挙げられる。2010 年以降、TB3264 型が咽頭炎由来株で増加傾向あり、それに引き続き 2011 年から TB3264 型株による STSS 増加している。この増加は近年の STSS の増加と関連性がある（参考文献)。TB3264 型は様々な emm 型と関連性がある。TB3264 型

であった STSS 分離株の emm 型はすべて emm89 型であり、TB3264 型株の中でも特定のものだけが引き起こしていることが推測される。TB3264 型の咽頭炎分離株は様々な emm 型株により引き起こされることから、咽頭炎由来株の TB3264/emm89 型の流行を追うことは重要である。

参考文献


1) Amemura-Maekawa J, et al. Appl Environ Microbiol. 78(12):4263-4270, 2012.

3) Nishiyama A, et al. Kansenshogaku Zasshi. 85(4):373-379, 2011. in Japanese.

4) Ikebe T, Tominaga K, Shima T, Okuno R, Kubota H, Ogata K, Chiba K, Katsukawa C, Ohya H, Tada Y, Okabe N, Watanabe H, Ogawa M, Ohnishi M, Working Group for Beta-hemolytic Streptococci in Japan. Increased prevalence of group A streptococcus isolates in streptococcal toxic shock syndrome cases in Japan from 2010-2012. Epidemiol Infect, in press


E．結論

病原細菌の病原体サーベイランスのための機能的なラボネットワークの強化のためには、病原体検出マニュアルの記載事項の整備、改訂等をすすめることが重要である。また、安定的なネットワーク形成には、各施設において実施可能であり、技術的継承が用意であることも必要である。本研究を通じて各担当者間でのコミュニュケーションが維持されること、問題点、ニーズを抽出することがもとめられれ、ラボネットワークの充実度を検証する必要がある。感染研が参加している EQA システムが応用可能か更なる検討が必要である。

F．健康危険情報

特記事項無し

G．研究発表

論文発表

1) 坂本裕美子、廣地敬、大西麻実、伊藤はるみ、高橋広夫（札幌市衛生研究所）、宮北佳恵、細海伸仁、片岡郁夫（札幌市保健所）、久保亜希子、池田徹也、小川恵子、長瀬敏之、森本洋、清水俊一（北海道立衛生研究所）、伊豫田　淳、寺嶋淳（国立感染症研究所）：白菜浅漬による腸管出血性大腸菌0157食中毒事例について-札幌市 IASR Vol. 34 p. 126: 2013年5月号

2) 笠原ひとみ、関口真紀、中沢春幸、藤田暁、畔上由佳、高山　久、千秋智重、関　年雅、池田元彦、前川純子、倉　文明：*L. pmeumophila* 血清群9の症例について、病原微生物検出情報 36(1):14-5, 2015.

3) 松田正法、重村久美子、徳島智子、吉田英弘、佐藤正雄、廣瀬みよ子、門司慶子、石津尚美、竹中　章、前川純子：病院内冷却塔からのレジオネラ感染疑い事例—福岡市、病原微生物検出情報 2015. 36(1)：13-14.

4) Tomizawa Y, Hoshino Y, Sasaki F, Kurita N, Kawajiri S, Noda K, Hattori N, Amemura-Maekawa J, Kura F, Okuma Y. Diagnostic utility of splenial lesions in a case of legionnaires' disease due to *Legionella pneumophila* serogroup 2. Intern Med. 2015. 54:3079-3082.

5) Kaneko M, Maruta M, Shikata H, Hanayama M, Ikebe T. Acute abdomen due

to group A streptococcus bacteremia caused by an isolate with a mutation in the csrS gene. J Infect Chemother. 21 (11): 816-819 (2015)

6) Ikebe T, Tominaga K, Shima T, Okuno R, Kubota H, Ogata K, Chiba K, Katsukawa C, Ohya H, Tada Y, Okabe N, Watanabe H, Ogawa M, Ohnishi M, Working Group for Beta-hemolytic Streptococci in Japan. Increased prevalence of group A streptococcus isolates in streptococcal toxic shock syndrome cases in Japan from 2010-2012. Epidemiol Infect 143 (4): 864-872 (2015).

7) Ikebe T, Chiba K, Shima T, Masuda C, Okuno R, Ohya H, Ogata K, Katsukawa C, Kawahara R, Tominaga K, Yabata J, Tada Y, Okabe N, Watanabe H, Chang B, Ogawa M, Ohnishi M, the Working group for beta-hemolytic streptococci in Japan. Evaluation of streptococcal toxic shock-like syndrome caused by group B streptococcus in adults in Japan between 2009 and 2013. J Infect Chemother 21 (3): 207-211 (2015).

8) Kohayagawa Y, Ishitobi N, Yamamori Y, Wakuri M, Sano C, Tominaga K, Ikebe T. Streptococcal toxic shock syndrome from necrotizing soft-tissue infection of the breast caused by a mucoid type strain. J Infect Chemother 21 (2): 144-147 (2015).

9) Okamoto F, Murakami K, Maeda E, Oishi A, Etoh Y, Kaida M, Makigusa M, Nakashima K, Jinnouchi Y, Takemoto H, Kakegawa H, Yamasaki C, Manabe S, Sasaki M, Ogata K, Ikebe T, Sera N. A Foodborne outbreak of group A streptococcal infection in Fukuoka prefecture, Japan. Jpn J Infect Dis. 67 (4): 321-322 (2014).

10) Morimoto M, Tamura S, Hayakawa T, Yamanishi H, Nakamoto C, Nakamoto H, Ikebe T, Nakanol Y, Fujimoto T. Phlegmonous gastritis associated with group A streptococcal toxic shock syndrome. Intern Med 53 (22): 2639-2642 (2014).

11) Sanderson-Smith M, Oliveira D, Guglielmini J, McMillan D, Vu T, Holien J, Henningham A, Steer A, Bessen D, Dale J, Curtis N, Beall B, Walker M, Parker M, Carapetis J, Melderen L, Sriprakash K, Smeesters P, the M Protein Study Group. A systematic and functional classification of Streptococcus pyogenes that serves as a new tool for molecular typing and vaccine development. J Infect Dis 210 (8): 1325-1338 (2014)

12) McMillan DJ, Drèze P, Vu T, Bessen DE, Guglielmini J, Steer AC, Carapetis JR, Melderen LV, Sriprakash KS, Smeesters PR, The M Protein Study Group. Updated model of group A Streptococcus M proteins based on a comprehensive worldwide study. Clin Microbiol Infect 19 (5): E222-E229 (2013). doi: 10.1111/1469-0691.12134.

国際学会
特記事項無し
国内学会
特記事項無し

H．知的財産権の出願・登録状況
　（予定を含む。）
特許取得
　特記事項内なし
実用新案登録
　特記事項内なし
その他
　特記事項内なし

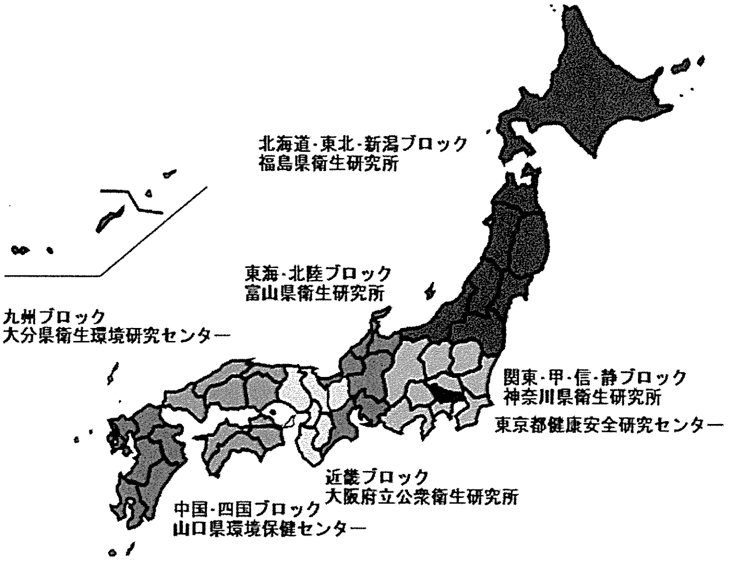


図１　溶血性レンサ球菌レファレンスシステムセンター

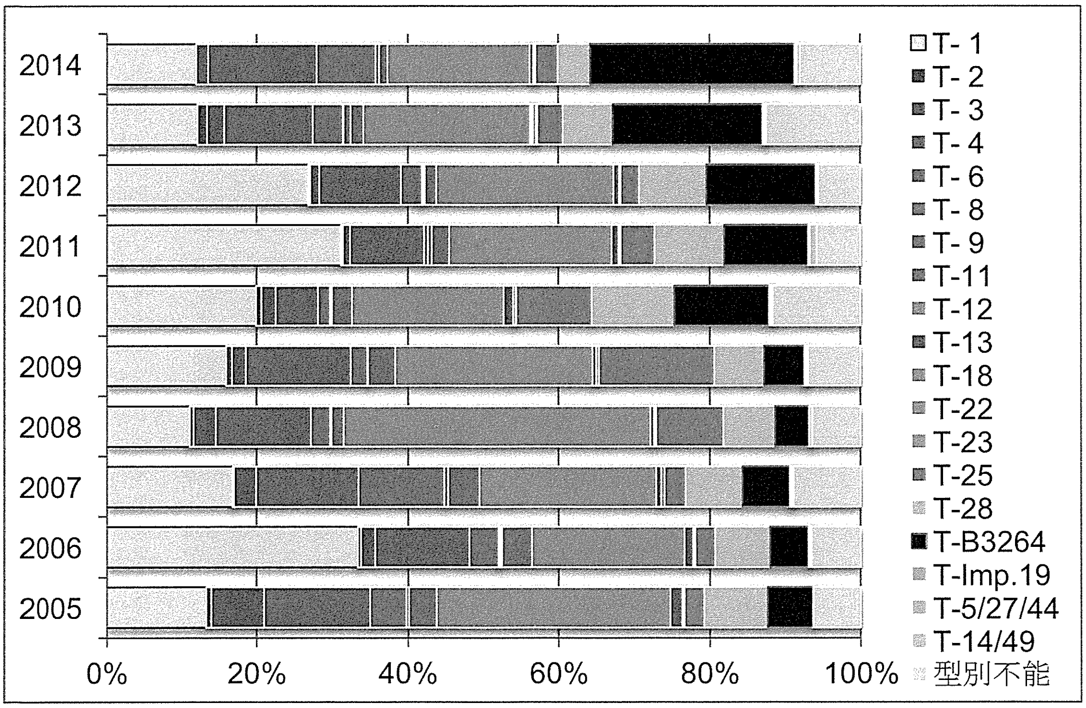


図２　咽頭炎由来株のＴ型別（2005-2014）

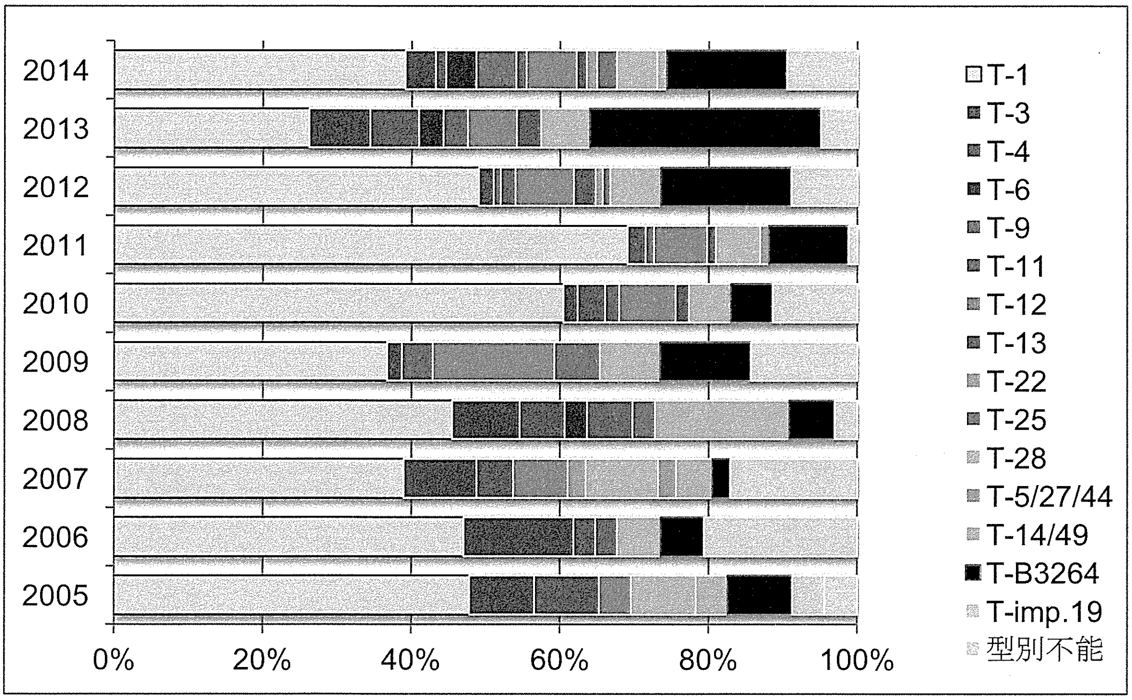


図３　劇症型溶レン菌感染症患者由来株の T 型別（2005-2014）

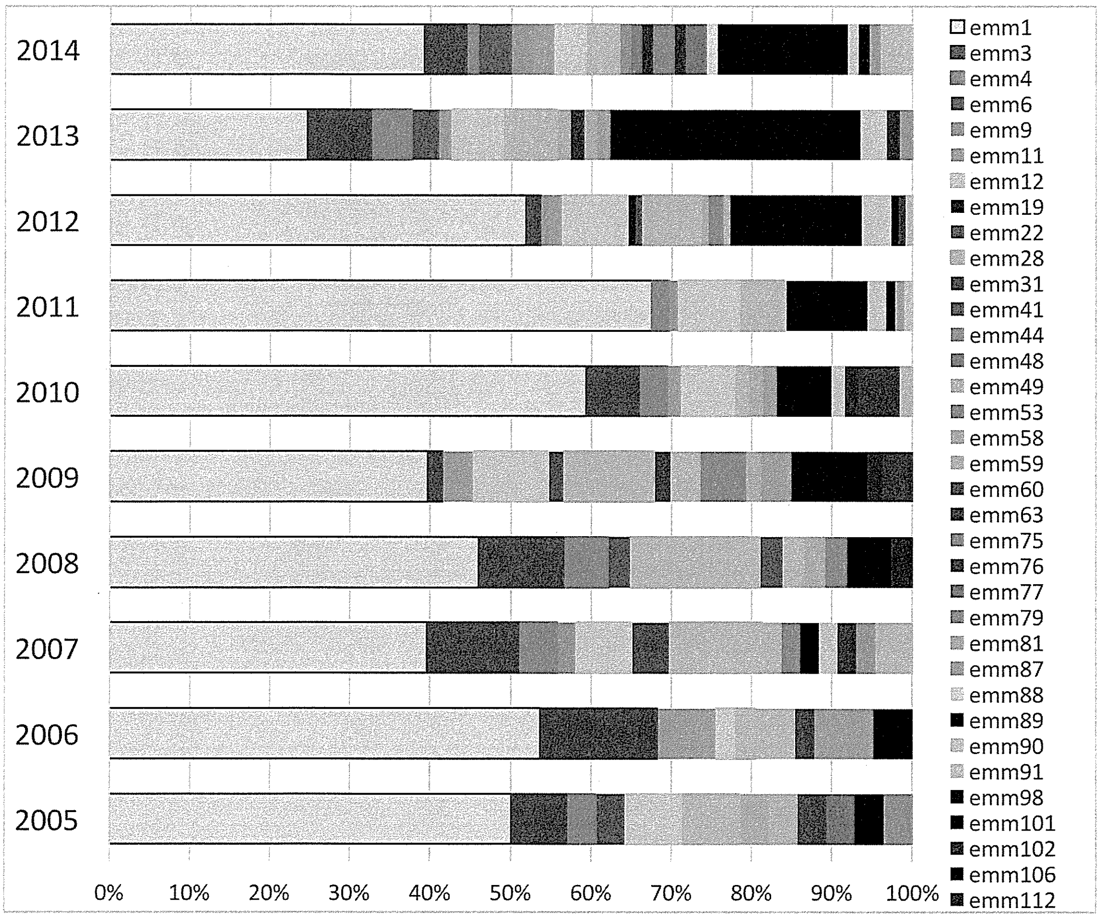


図４　劇症型溶レン菌感染症患者由来株の *emm* 型別（2005-2014）

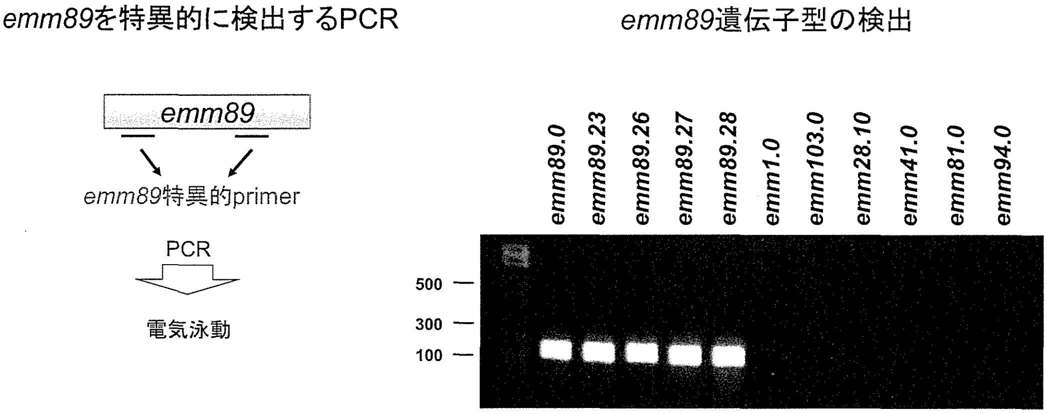


図５　*emm89* 型株特異的 PCR 法の開発

平成25-27年度
厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「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
総合研究報告書

# 「地方衛生研究所検査室の機能・病原体マニュアル編集」


| | | |
|---|---|---|
| 研究分担者 | 調　恒明 | 山口県環境保健センター |
| 研究協力者 | 高橋雅輝 | 岩手県環境保健研究センター |
| | 滝澤剛則 | 富山県衛生研究所 |
| | 長島真美、秋葉哲哉 | 東京都健康安全研究センター |
| | 皆川洋子、安井善宏 | 愛知県衛生研究所 |
| | 加瀬哲男 | 大阪府立公衆衛生研究所 |
| | 山下育孝 | 愛媛県立衛生環境研究所 |
| | 濱﨑光宏 | 福岡県保健環境研究所 |
| | 川上千春 | 横浜市衛生研究所 |
| | 吉田弘 | 国立感染症研究所 |



研究要旨　平成25年度：地方衛生研究所が準備すべき感染症の検査機能と検査の現状について考察を行い、今後の病原体サーベイランス及びレファレンスセンターのあり方を検討した。平成26年度：平成26年9月19日付けで、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症及び薬剤耐性アシネトバクター感染症が全数把握疾患となり、感染症発生動向調査事業において病原体検査対象疾患となったことから地方衛生研究所における検査依頼が増加することが考えられた。特にCREについては、薬剤耐性の表現型だけでは確定が困難であり、PCR法によるIMP遺伝子の検出が必要である。このため地方衛生研究所に薬剤耐性菌検査技術の普及の必要性を認め、各支部に1施設のレファレンスセンターを設置し、レファレンスセンターの地方衛生研究所の検査担当者は国立感染症研究所において研修をうけた。平成27年度：感染症法一部改正（H28年4月施行）にあわせ、季節性インフルエンザの検査に関するマニュアル、および検査体制について、改正された省令と整合性を確保し、全国で統一したものとするため、地方衛生研究所の作業部会にて内容を検討した。検討したマニュアル等は厚生労働省に提出し、「検査施設における病原体検査の業務管理要領」のひな形として反映された。


## A．研究目的

1．地方衛生研究所は、地域における公衆衛生の技術的・科学的中核としての役割を担うため地方自治体（都道府県、政令市、特別区）に79機関が置かれている。その主な役割は、住民に健康被害をもたらす感染症や食中毒の原因となるウイルス、細菌などの病原体、あるいは化学物質を同定することにより、自治体の対策に必要な科学的根拠となるデータを提供し、感染症の拡大防止、食中毒の早期探知・解決を図ることにある。地方衛生研究所における検査は、感染症法、食品衛生法に基づいて行われる行政依頼検査（行政が主体となって行う検査）

であり、新型インフルエンザ疑い患者のウイルス遺伝子検査では患者の入院の根拠となり、麻疹の検査では感染拡大防止のため学校閉鎖が検討され、食中毒事例の病原体検査では飲食店の営業停止の根拠となるなど地方自治体にとって重要なものである。患者検体から病原体を分離同定する病原体検査の現場は地方衛生研究所にあるため、地方衛生研究所の役割は、自治体だけでなく、我が国全体の感染症対策において極めて重要である。一方、地域保健法などにおいて自治体における設置義務が規定されていないため自治体における予算削減などによりその実力が低下しつつある事が懸念されている。本研究では、今後病原体サーベイランスをどのように維持発展させるべきかを提言することを目的として考察を行った。

2. 2014 年 2 月に大阪市内の医療機関において 100 例を超えるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症もしくは保菌者の大規模なアウトブレイクが報告された。1 この事例では、カルバペネムを含む複数の抗菌薬に耐性を示すメタロ-β-ラクタマーゼ（Metallo-β-lactamase: MBL）産生腸内細菌科細菌（MBL-Ent）の *Klebsiella pneumoniae* が分離された。メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子は伝達性の高いプラスミド上にあり、腸内細菌科細菌の間で種を超えて拡がっていく。このプラスミドによる耐性機構は 2009 年に広島大学で初めて発見され 2、今回の事例報告により西日本に拡がっている可能性が懸念されている。分離された耐性菌は、イミペネムに耐性を示さないため通常の検査では検出されにくく、プラスミド上の耐性遺伝子が菌種を超えて水平伝達する。また、通常の院内感染とは異なり、必ずしも同一菌種から検出されるとは限らないことからカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の中でも特にアウトブレイク探知が困難である。カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症については、平成 26 年 9 月 19 日から全ての医療機関で届出が必要となった。ところが実際には届け出基準に合致した細菌であっても、問題となっているプラスミドによる耐性であるかは判断できない場合が多く、薬剤耐性の原因遺伝子である IMP 遺伝子を PCR 法により検出する必要がある。PCR 検査は一般の医療機関では行われておらず、地方衛生研究所における検査依頼が増加することが予想された。薬剤耐性菌の検査はこれまで地方衛生研究所において経験が少な分野でありレファレンスセンターの新たな設置が必要であると判断された。

3. 平成28年4月1日施行予定の感染症法の一部改正にともない、１）地方衛生研究所が準備すべき季節性インフルエンザの検査（ウイルス分離、realtime PCR）に関する標準作業書のひな形を作成するとともに、２）季節性インフルエンザの検体について地方衛生研究所が実施すべき検査数、検査方法等について検討する。

B．研究方法

1. これまでに行ったレファレンスセンターに関する調査結果、地域保健総合推進事業において調査されている自治体における検査項目などを利用して考察を行った。

2. 薬剤耐性菌レファレンスセンターの設置については、国立感染症研究所の渡邉治雄所長、宮崎義継レファレンス委員長、薬剤耐性菌の調査研究を担当している柴山恵吾細菌第二部長の了解を得た。また、地方衛生研究所全国協議会のレファレンス委員の了解を得ている。正式には平成 27 年度の全国衛生微生物技術協議会レファレンス委員

会において承認される必要がある。レファレンスセンターの設置により、地方衛生研究所における薬剤耐性菌検査の対応が強化される事が期待される。レファレンスセンターは、PCR 用の陽性コントロールの配布、支部における技術的支援の役割を担うこと等が想定される。

3．季節性インフルエンザ SOP とポリオ/エンテロウイルス検査 SOP に含む項目の検討（吉田分担研究者との共同開催）

感染症法改正（H26 年 11 月 21 日公布、感染症の情報収集強化に関する事項は H28 年 4 月施行）にあわせ、平成 26 年度厚生労働科学特別研究「科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する緊急研究」（研究代表者　調恒明　山口県環境保健センター）において作成した各種 SOP 案を、省令と整合性を取るよう内容を検討した。特別研究報告書では、2 類感染症等、入院勧告などの行政措置が伴う検査と、季節性インフルエンザ等、病原体の流行を全国的に把握する 5 類定点における病原体検査目的の違いを考慮して、検査の質を管理することを提言の一部内容としている。報告書に基づく提言は第 10 回感染症部会（平成 27 年 5 月）にて了承され、省令改正、通知が整備されることとなった。

このため 5 類定点把握疾患の代表として、地方衛生研究所で作成すべき標準作業書のひな形として利用するため、季節性インフルエンザ検査、2 類疾患の代表としてポリオウイルス検査に必要な SOP の記載項目、内容を比較するため、作業部会にて検討することとした。

ア．季節性インフルエンザ、ポリオ検査に関わる SOP 検討作業部会の開催（国立感染症研究所ウイルス第 2 部吉田弘研究員との共催）

1）作業部会開催

2015 年 8 月 10－11 日

2）参加者

13 名（エンテロウイルスレファレンスセンター及びインフルエンザコアサポートセンターの有志）

オブザーバー5 名（感染研 4 名、厚生労働省 1 名）

3）グループディスカッションによる討議

ポリオウイルス検査、季節性インフルエンザ検査に関わる SOP 案は参加者に事前送付した。作業部会では 3 班に分かれ、下記の項目ごとに討論を行い、標準作業書に記載する内容について検討を行った。項目は 1. 検査項目、２．検体の種類、３．検査方法、４．作業環境、５．試薬等に関する事項、６．検体等の取扱方法、７．機械器具に関する事項、８．検査操作上の注意点、９．検査の手順、１０．検査に関する記録の作成要領及び保管方法、１１．検査を実施するために必要な資格に関する事項、１２．作成及び改定年月日、である。グループディスカッション後、各班が検討結果を発表し、参加者間で討議し、ポリオウイルス検査、季節性インフルエンザ検査に含める項目及び内容（記載の程度）について合意形成を図った。作業部会終了後、電子メールを用いて参加者間でさらに検討を重ね、ポリオウイルス検査 SOP, 季節性インフルエンザ検査 SOP とも、エンテロウイルスレファレンスセンター、インフルエンザコアサポートセンターの意見を反映させることとした。

C, D. 研究結果と考察

1. レファレンスセンターのあり方

各類型の感染症に対する中国四国の地方衛生研究所の対応状況をみると、二類、三類の感染症であっても感染症の頻度や重要性