

## 胃腸炎ウイルスの研究 (2008年度)

濱野雅子, 藤井理津志, 葛谷光隆, 榎原幸二\*, 濃野 信\*\*, 金谷誠久\*\*\* (ウイルス科)

\*岡山赤十字病院小児科

\*\*のうの小児科

\*\*\*国立病院機構岡山医療センター小児科

【調査研究】

## 胃腸炎ウイルスの研究 (2008年度)

Studies on Viruses Causing Non-bacterial Gastroenteritis in Okayama (2008-2009)

濱野雅子, 藤井理津志, 葛谷光隆, 榎原幸二\*, 濃野 信\*\*, 金谷誠久\*\*\* (ウイルス科)  
Masako Hamano, Ritsushi Fujii, Mitsutaka Kuzuya, Kouji Narahara,  
Shin Nouno and Tomohisa Kanadani

\*岡山赤十字病院小児科

\*\*のうの小児科

\*\*\*国立病院機構岡山医療センター小児科

### 要 旨

胃腸炎及び食中毒の主要な原因ウイルスについて、検査法改良及び疫学研究を行い、以下の結果を得た。①2008年度採取の患者糞便(散発463件, 集団91件)の電子顕微鏡(EM)法による検索の結果, ロタウイルス様粒子66件, アデノウイルス様粒子3件, 小型球形ウイルス(SRSV)様粒子94件が観察された。2006年8月～2008年3月採取の患者糞便のうち, EMでSRSV様粒子が観察されPCR法でノロウイルス(NoV)・サポウイルス・アストロウイルス(AstV)陰性の13件についての低速遠心処理後EM観察で, 3件にウイルス粒子塊が観察された。②ヒトに身近なイヌのC群及びA群ロタウイルス(CRV及びARV)保有状況を調べた。2006年10月～2007年6月(2006/07シーズン)及び2007年11月～2008年10月(2007/08シーズン)採取の575頭の糞便を検索した結果, CRVは全例陰性, ARVは8件(1.4%)が陽性であった。シーズン別陽性率は, 2006/07シーズン2.7%, 2007/08シーズン0.3%であった。検出ARV株は, いずれも外殻糖蛋白血清型がG3型で外殻スパイク蛋白(VP4)遺伝子型がP[3]型, 非構造蛋白質遺伝子型がCであり, DA323株に代表されるものと, DA617株の2種類が存在した。また, DA323株はヒト由来株と近縁であり, DA617株は, 以前の調査で検出されたDA172株(VP4がヒト由来株に近縁)に類似していた。③2008年度の集団事例由来NoV25株の遺伝子解析の結果, 前年度同様GII/4が主流であったが, GII/1, GII/6, GII/12も検出された。今年度検出のGII/4株は, 前年度と同じGII/4 2006b類似であった。次に, 2004～2007年度の散発事例のAstV検索を行い, 検出事例の疫学解析と検出株の遺伝子解析を行った。1,705検体中27件(1.6%)がAstV陽性で, その92.6%が3～6月に検出され, 陽性患者の85.1%が3歳以下であった。年別検出率は, 2005年1.53%, 2006年1.30%, 2007年2.43%であった。遺伝子型は1型が大部分であったが, 2008年3月県内で初めて8型を検出した。

[キーワード: C群ロタウイルス, A群ロタウイルス, ノロウイルス, 分子疫学, 系統解析]

[Key words: Group C Rotavirus, group A rotavirus, Norovirus, Molecular epidemiology, phylogenetic analysis.]

### 1 はじめに

#### 1.1 電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出

A群ロタウイルス(ARV), C群ロタウイルス(CRV), 及びノロウイルス(NoV), サポウイルス(SaV), アストロウイルス(AstV)等の小型球形ウイルス(SRSV)は感染性胃腸炎の主原因ウイルスであり, 毎年多くの患者が発生している<sup>1)</sup>。したがって, これらのウイルスの流行状

況を解明することは予防対策上不可欠である。

AからF群に分類されるロタウイルス(RV)のうち, ARVについては酵素抗体(ELISA)法, 逆受身赤血球凝集反応(RPHA)法, ラテックス凝集反応(Lx-Ag)法等の市販試薬により広く検査が行われているが, 近年, 簡便な検査法のない血清型であるG9型<sup>2)</sup>や, 市販試薬による検出率が低下している血清型であるG3型<sup>3)</sup>が増加し

ており、検査法を検討する必要にせまられている。

また、CRVについては日本各地であいついで集団胃腸炎の報告がなされ、公衆衛生上の問題点となっていた<sup>4)~14)</sup>にもかかわらず、簡便な検査法がなかった。このため、我々はモノクローナル抗体(MAb)を用いた簡便な検査法(ELISA法、RPHA法及びLx-Ag法)を開発した<sup>15)、16)</sup>が、これらの検査法で検出不可能なCRVの出現を常に監視する必要がある。

さらに、NoV、SaV、AstV等のSRSVは感染性胃腸炎の主要原因ウイルスであり、これらのウイルスの流行状況を解明することは予防対策上不可欠であるが、これ以外にも電子顕微鏡(EM)法で検出されPCR法で同定不能なSRSVが存在しており、これについての検査法を検討する必要がある。

以上により、本年度は2008年4月~2009年3月に散発した感染性胃腸炎患者の糞便について、ロタウイルス(RV)、アデノウイルス(ADV)及びSRSV様粒子を検出するためEM法によるウイルス検索を行った。また、食中毒又は感染性胃腸炎を疑われた集団発生事例についても同様に検査を行った。これらにより、ウイルスの流行状況を把握するとともに、SRSV様粒子が観察された検体については、PCR法により同定不能な検体を検索するための検査材料とする。

さらに、PCR法で同定不能なSRSV様粒子の同定法を検討するため、夾雑物の可能性をできるだけ排除する目的で低速遠心法によるウイルス粒子塊の電子顕微鏡観察の検討を行った。

## 1.2 岡山県のイヌにおけるC群及びA群ロタウイルス保有調査

ヒト及び動物の重要な胃腸炎起因ウイルスとして知られているRVは、ウイルス内殻蛋白の抗原性やウイルス遺伝子の違いによりA~Gの7群に分類されている。これらのうち、ヒトに病原性を有することがわかっているのはA、B及びC群である<sup>17)</sup>。ARVは小児胃腸炎の主要な病原体であり、我が国における患者数は年間約80万人に及ぶと推定されている<sup>18)</sup>。B群ロタウイルスは、1982~87年に中国で発生した集団胃腸炎の病原体として確認された後、インドやバングラディッシュにおける胃腸炎例からも散発的に検出されたものの、それ以外の地域における検出報告はない<sup>17)</sup>。CRVは主に年長児~成人に胃腸炎を起こし、日本をはじめ世界各地に広く分布している

ことがわかっている<sup>1)</sup>。本ウイルスの検出頻度はさほど高くないものの、しばしば食中毒様の集団胃腸炎を引き起すため<sup>5)~14)</sup>公衆衛生上問題となっている。

CRVについては、ヒト以外ではブタ、ウシ、及びイヌから検出されたという報告があるものの<sup>19)、20)</sup>、明らかに動物由来ウイルスが人に感染したと思われる事例はこれまでに確認されていない。一方ARVでは、動物由来ウイルスと極めて近縁なウイルスがヒトから検出されたという例が数多く報告されており<sup>17)</sup>、詳しい解析の結果、種間伝播により動物ウイルスがヒトに直接に感染したことが証明されている<sup>21)~23)</sup>。したがって、動物が保有するロタウイルスは、ヒトへの感染源として無視できないものと思われる。

我々は、2005年11月~2006年6月(2005/06シーズン)に岡山県動物愛護センターに搬入された捕獲犬または飼育放棄犬183頭の糞便についてCRV及びARV保有調査を行い、CRVは検出されなかったものの、ARVについては7.7%が陽性であること、しかも便性状に特に異常がない場合でも多量のウイルスが含まれることなどを明らかにし、イヌが保有するARVがヒトに対する感染源となりうることを明らかにした<sup>1)</sup>。そこで引き続き、県内のイヌにおけるRV保有状況を精査するため、2006年10月~2007年6月及び2007年11月~2008年10月に同様の調査を実施した。

## 1.3 岡山県のノロウイルスとアストロウイルスの分子疫学

ウイルス性胃腸炎の主要な原因の1つであるSRSVは、培養細胞・実験動物により人工的に増殖させる技術が確立されていないウイルス群であるが、近年、このうち、Calicivirus科に属するNoV<sup>24)</sup>、SaV、Astrovirus科のAstVについてはその遺伝子情報に基づいた逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(以下RT-PCR)法での検出が可能となった。これに伴い、感染症対策と食品衛生対策の両面で最も行政ニーズの高いNoVについては、①ヒト由来のNoVは、大きく2つの遺伝子群 Genogroup I : GIと Genogroup II : GIIに分かれ、ウイルス表面蛋白をコードするcapsid領域の遺伝子配列により、GI、GIIともに10以上の遺伝子型 : genotypeに分かれる<sup>25)</sup>ことや②同一検体中に複数の遺伝子型のNoVが存在する場合があること<sup>26)~28)</sup>、③異なる2つの遺伝子型の遺伝子が部分的に組みかわったと考えられる「リコンビナント株」<sup>29)、30)</sup>

や、同一の遺伝子型内で遺伝子が部分的に大きく変異した「同一遺伝子型内変異株」<sup>31)</sup>が存在すること等が明らかになってきた。このようにNoVはきわめて多様であるため、その流行状況を予測して対策をとるためには、継続的な監視と事例解析が不可欠である。また、NoV以外のSRSVであるSaV、AstVについても、SaVは5つの遺伝子群GI(以下SaV-GI)～GV(SaV-GV)<sup>32)</sup>、AstVは8血清型(以下AstV-1～AstV-8)に分かれ<sup>33)</sup>、それぞれの血清型に対応する遺伝子型が存在する<sup>34)</sup>等NoV同様なウイルスの存在が明らかになっているが、その流行疫学については不明な点が多く、解明していく必要がある。

2008年度は、引き続きNoVによる胃腸炎の流行の背景を探るため、集団発生事例から検出されたNoVについて遺伝子解析を行うとともに、不明な点の多いAstVの流行状況解明のため、過去に遡って、散发事例検体からのAstVの検出状況を解析した。

## 2 材料及び方法

### 2.1 電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出

#### (1) EM法によるウイルス検索

2008年4月～2009年3月に岡山地区(岡山赤十字病院、国立病院機構岡山医療センター)及び玉野地区(この小児科)の感染性胃腸炎患者各々68名、369名及び26名、合計463名から糞便を採取した。また、2008年度内に発生した集団胃腸炎24事例の患者91名から採取した糞便を対象とした。

RV、ADV及びSRSVのEM法による検索は既報と同様にネガティブ染色法で行った<sup>35)</sup>。

#### (2) 低速遠心法によるウイルス粒子塊のEM観察

2006年8月～2008年3月に岡山赤十字病院とこの小児科で採取した散发患者糞便のうち、電子顕微鏡でSRSV様粒子が観察された検体(粒子数が30個/メッシュ程度以上のもの)のうち、既報<sup>1)</sup>のPCR法でNoV、SaV、AstVが検出されなかった糞便13件についてNarangらの方法<sup>36)</sup>を改変して、低速遠心法によるウイルス粒子塊の観察を以下のように行った。

胃腸炎患者糞便0.05gをDulbecco's PBS(+)<sup>0.2ml</sup>に懸濁した。5分間攪拌後、4℃で1時間放置し、2,850rpmで4℃、10分間遠心した。96穴マイクロプレートのウェルに蒸留水200μlを添加し、電子顕微鏡観察用グリッド(400メッシュ)をウェルの底に沈め、遠

心上清5μlを添加した。96穴マイクロプレートを2,100×gで4℃、30分間遠心し、グリッドを取り出して乾燥後、2%酢酸ウランでネガティブ染色し、透過型電子顕微鏡(JE-1200EX II、日本電子株式会社)で観察した。

### 2.2 岡山県のイヌにおけるC群及びA群ロタウイルス保有調査

#### (1) 糞便検体

2006年10月～2007年6月(2006/07シーズン)及び2007年11月～2008年10月(2007/08シーズン)の2シーズンに岡山県動物愛護センターに搬入された捕獲犬または飼育放棄犬、合計575頭(子犬158頭、成犬417頭)から採取された糞便を検査対象とした。なお便性状は、水様または泥状便17検体、軟便40検体、及び正常便518検体であった。糞便の20%乳剤を調整後、8,000rpm15分間の遠心分離を行った上清を分取し、以下の検査に用いた。

#### (2) CRV及びARV検査方法

CRVについては我々が開発した特異MAbを用いたELISA法<sup>15)</sup>により、ARVについては市販のELISAキット(ロタクロン：TFB社製)によりそれぞれスクリーニング検査を実施した。ELISA法の吸光度が0.15以上を示した検体について、市販のキット(QIAamp Viral RNA mini kit)を用いてRNAを抽出し、CRV及びARVの外殻糖蛋白(VP7)遺伝子を標的とした既報のプライマー<sup>1)</sup>を用いて逆転写PCR(RT-PCR)法を行い、特異バンドが観察された場合を最終的に陽性と判定した。なお、PCRの条件等は既報の方法<sup>20)</sup>に準じて行った。

#### (3) 塩基配列決定法

ARVのVP7、VP8\*(VP4遺伝子のN末端側1,087塩基部分)及び非構造蛋白(NSP4)遺伝子に特異的なプライマー<sup>1)</sup>を用いたPCRにより各遺伝子を増幅後、アガロース電気泳動を行って目的のバンド部分を切り出し、DNA gel extraction kit(Millipore社製)によりPCR産物の抽出・精製を行った。得られたDNAについて、PCRに用いたプライマーを使用し、オートシーケンサー(Long-Read Tower、株式会社ベリタス)により塩基配列を決定した。

#### (4) 塩基配列データの解析

塩基配列の解析は市販ソフトウェア(Genetyx MAC

ver.11, ソフトウェア開発株式会社)を用いて実施した。また、遺伝子系統解析はClustal W(フリーソフト)を用い、ロタウイルス標準株を参照株として近隣結合法により実施した。なお系統解析については、同様の解析を1,000回繰り返した場合に、同一結果が得られる回数(ブートストラップ値)でその信頼性を示した。

## 2.3 岡山県のノロウイルスとアストロウイルスの分子疫学

### (1) 糞便検体

NoV解析用として、2008年4月～2009年3月に県内で発生した集団胃腸炎24事例(高齢者福祉施設5事例, 食中毒9事例, 有症苦情10事例)の糞便146検体(患者糞便89件, 調理従事者糞便57件)を使用した。また, AstV解析用として、2004年4月～2008年3月に県内の3医療機関で採取された散発性胃腸炎患者糞便1,705検体(患者年齢0～81歳)を使用した。

### (2) 検査方法

糞便は、既報<sup>37)</sup>と同様に前処理, RNA抽出を行った。抽出されたRNAは、oligo-dT primer (Invitrogen社)とpd(N)6 random hexamer(Takara Bio社)により逆転写を行い、c-DNAを合成した。

NoVの検出は、前報同様、平成15年(2003年)11月5日付け食安監第1105001号厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知<sup>38)</sup>に準拠して行った。COG系はLightCyclerシステム3302(ロシュ・ダイアグノスティックス社)とQuantiTect Probe PCR(キアゲン社)を用いたリアルタイム法<sup>39)</sup>で、他のプライマー系は従来法で実施した。リアルタイム法では経時的に蛍光輝度の増強がみられたものを、従来法では目的とする分子量あるいはその近傍にPCR産物のバンドが認められたものをPCR陽性とした。陽性検体は、従来法のGSK

系で陽性となったもののうち、集団事例については各事例を代表する検体についてpolymerase/capsid junction領域約300塩基の配列を決定し、遺伝子型を判定した。

AstVは、対象検体のうち、電子顕微鏡検索でSRSV様粒子が観察された検体について、左近らのRT-PCR法<sup>33)</sup>で検出を実施した。陽性検体については、NoelらのRT-PCR法<sup>15)</sup>によりcapsid領域の一部約410塩基を増幅し、得られた産物約370塩基の配列を決定して遺伝子型を判定した。なお、遺伝子の塩基配列決定はARV, CRVと同様の方法で行った。

## 3 結果

### 3.1 電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出

#### (1) 患者発生状況

岡山県結核・感染症発生動向調査事業に基づく、2008年度における岡山県の感染性胃腸炎の週別発生状況は図1に示すとおりであった。感染性胃腸炎の定点当たり患者数は第49週(12月)に急増し、第52週(12月)に

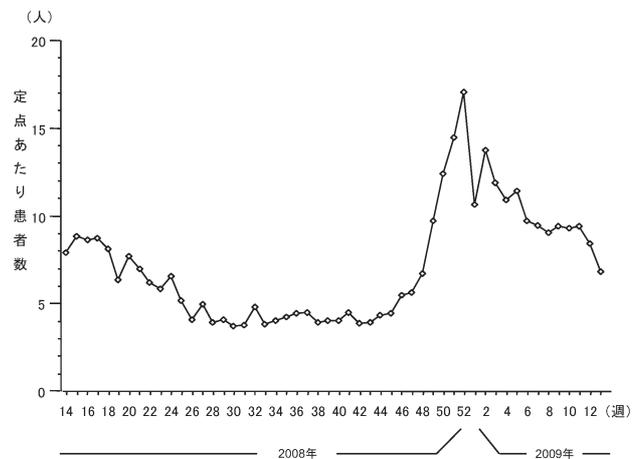


図1 岡山県における感染性胃腸炎の発生状況(2008-2009年)(岡山県結核・感染症発生動向調査事業 患者週報より)

表1 採取年月別・採取機関別ウイルス検出状況(電子顕微鏡法)

採取年月	岡山赤十字病院				国立病院岡山医療センター					のうの小児科				合計
	RV	SRSV	陰性	小計	RV	ADV	SRSV	陰性	小計	RV	SRSV	陰性	小計	
2008年4月	2	0	7	9	9	1	4	26	40	2	0	1	3	52
5月	0	0	6	6	9	0	1	37	47	0	1	2	3	56
6月	0	0	4	4	0	0	0	21	21	—	—	—	—	25
7月	0	0	8	8	0	0	0	23	23	—	—	—	—	31
8月	0	0	2	2	0	0	0	13	13	0	0	2	2	17
9月	0	0	8	8	0	1	0	6	7	0	0	1	1	16
10月	0	0	3	3	0	0	0	12	12	0	0	1	1	16
11月	0	3	11	14	0	0	1	7	8	—	—	—	—	22
12月	0	2	1	3	2	0	16	28	46	0	3	7	10	59
2009年1月	0	1	5	6	4	0	6	33	43	—	—	—	—	49
2月	0	0	2	2	17	1	5	22	45	1	1	1	3	50
3月	0	0	3	3	18	0	5	41	64	2	0	1	3	70
計	2	6	60	68	59	3	38	269	369	5	5	16	26	463

はピークの17.06名に達し、2008年度で最多となった。第53週(12月)以後は漸減傾向となっている。

(2) 散発患者からのウイルス検出状況

表1に示すとおり、合計463件の散発患者糞便よりRV66件(14.3%)、ADV 3件(0.6%)、SRSV 49件(10.6%)、合計118件(25.5%)のウイルス様粒子がEM法により観察された。

月別ウイルス検出状況は表1に示すとおり、RVは2008年4、5月、2009年2、3月に多く検出された。ADVは2008年4、9月、2009年2月に検出された。SRSVは2008年4、5月と2008年11月～2009年3月に検出された。

(3) 集団発生事例患者からのウイルス検出状況

合計91名の患者から採取した糞便についてEM法によるウイルス検索を実施したが、SRSV様粒子45件のみが観察された。

(4) 低速遠心法によるウイルス粒子塊のEM観察

NoV, SaV, AstV用PCR法で同定できなかった糞便13件について、低速遠心によるウイルス粒子塊の

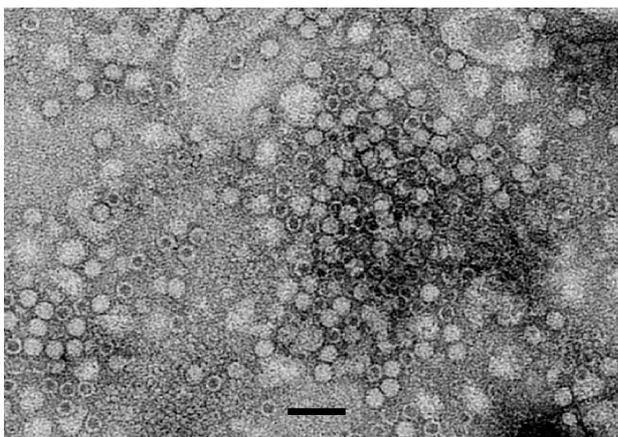


図2 低速遠心法によるSRSVのネガティブ染色像  
検体番号：NN468、スケール長：100nm

EM観察を行ったところ、3件でSRSV用粒子塊が観察された(図2)。

3.2 岡山県のイヌにおけるC群及びA群ロタウイルス保有調査

(1) ロタウイルス検出状況

検査の結果、2005/06シーズンの調査に引き続きCRVについては全例陰性であったが、ARVについては575検体中8検体(1.4%)が陽性と判定された(表2)。シーズン別の陽性率では、2006/07シーズンが2.7%(7/257)、2007/08シーズンが0.3%(1/318)であり、シーズンにより陽性率に違いが認められた。月別の検出状況では、陽性例8件中7件が3～6月に集中して検出されていた。ARV陽性例の内訳をみると、子犬の陽性率(1.3%)と

表2 ARV検査結果

検体採取月	子犬	成犬	合計
2006 10月	0/0*	0/11	0/11
	0/15	1/32 (3.1)	1/47 (2.1)
2007	1月 0/14	0/20	0/34
	2月 0/5	0/19	0/24
	3月 1/9 (11.1)	1/37 (2.7)	2/46 (4.3)
	4月 0/14	0/21	0/35
	5月 0/4	2/23 (8.7)	2/27 (7.4)
	6月 1/13 (7.7)	1/20 (5.0)	2/33 (6.1)
小計	2/74 (2.7)	5/183(2.7)	7/257(2.7)
2007 11月	0/5	0/10	0/15
	0/12	0/25	0/37
2008	1月 0/6	0/30	0/36
	2月 0/4	0/27	0/31
	3月 0/16	0/21	0/37
	4月 0/10	0/21	0/31
	5月 0/8	1/26 (3.8)	1/34 (2.9)
	6月 0/4	0/19	0/23
	7月 0/3	0/8	0/11
	8月 0/3	0/14	0/17
	9月 0/1	0/15	0/16
	10月 0/12	0/18	0/30
小計	0/84	1/234(0.4)	1/318(0.3)
合計	2/158(1.3)	6/417(1.4)	8/575(1.4)

\*陽性数/検査数(%)

表3 ARV陽性検体の由来および遺伝子解析結果

検体番号	採取年月(月/年)	大きさ	犬種	便性状	ELISA吸光度	遺伝子型別結果			遺伝子/アミノ酸相同性値(%)		
						VP7	VP4	NSP4	DA323株		
									VP7	VP8	NSP4
DA205	12/2006	成犬	シェパード	正常便	0.156	G3	ND	ND	-/-	-/-	-/-
DA323	3/2007	成犬	不明	軟便	1.022	G3	P[3]	C	100/100	100/100	100/100
DA325	3/2007	成犬	不明	正常便	2.397	G3	P[3]	C	100/100	100/100	100/100
DA380	5/2007	成犬	雑種	正常便	0.414	G3	P[3]	C	99.9/100	100/100	100/100
DA383	5/2007	成犬	雑種	正常便	2.524	G3	P[3]	C	99.9/100	100/100	100/100
DA415	6/2007	子犬	ダックス	正常便	0.383	G3	P[3]	C	99.9/100	100/100	100/100
DA416	6/2007	子犬	雑種	正常便	0.590	G3	P[3]	C	99.9/100	100/100	100/100
DA617	5/2008	成犬	不明	水様便	0.203	G3	P[3]	C	85.2/94.5	80.4/88.8	89.2/94.3

ND：同定できず

成犬の陽性率(1.4%)にはほとんど差がなく、また陽性犬の捕獲または飼育地域に特に偏りはみられなかった(データを示さず)。陽性例の便性状をみると、正常便が6検体、軟便及び水様便がそれぞれ1検体と、大半が便性状に特に異常は認められなかったが、DA325やDA383のように、正常便でもELISA吸光度が2.0を越えるような多量のウイルスが含まれることが明らかになった(表3)。

## (2) 検出ARVの遺伝子性状

確認検査において増幅されたVP7遺伝子、VP8\*遺伝子及びNSP4遺伝子について(検体番号DA205についてはVP7遺伝子のみ)、オートシーケンサーにより塩基配列を決定し、データベース上の既知の配列と比較を行ったところ、8検体すべてがVP7遺伝子型がG3型であることが明らかになった(表3)。また、DA205を除く7例については、いずれもVP4遺伝子型がP[3]型、NSP4遺伝子型がC(AU-1株様)であることがわかった(表3)。

## (3) 遺伝子及びアミノ酸配列相同性解析

得られた塩基配列及び配列から予測されたアミノ酸配列(VP7: 326アミノ酸, VP8\*: 275アミノ酸, NSP4: 175アミノ酸)について、その相同性を相互に比較した(表3)。その結果、今回検出されたARV株にはVP7, VP8\*, 及びNSP4ともDA323株と全く同一か極めて相同性の高い(相同性99.9%以上)ものと、そうでないもの(相同性80.4~94.5%)ものの2種類存在することがわかった。シーズン別では、2006/07シーズンに検出された株はいずれも遺伝的に極めて近縁であり、特定の株が県内で広く流行していたものと思われた。その一方で2007/08シーズンには、前シーズンとは遺伝的に異なる株のみが検出された。

## (4) VP7アミノ酸配列系統解析

2006/07シーズン代表株のDA323株及び2007/08シーズン代表株のDA617株に、2005/06シーズンに検出された代表2株(DA59及びDA172株)<sup>1)</sup>を加え、既知のG3型株の配列とともにVP7アミノ酸配列の系統解析を実施した(図3)。その結果、DA323株についてはイヌ由来のK9株及びRV198/95株、ヒト由来のHCR3株及びRo1845株と同一クラスターを形成し、互いに遺伝的に近縁であることがわかった(アミノ酸相同性値

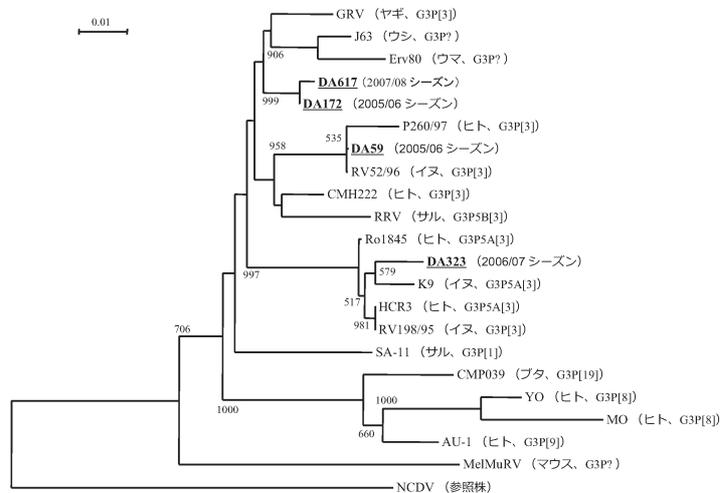


図3 VP7アミノ酸配列の系統解析結果

A群ロタウイルスNCDV株を参照株として近隣結合法により系統解析を実施した(1,000回のブートストラップを行い、500以上の数値を系統樹上に示す)。県内で検出された株はアンダーラインで示し、括弧内に検出シーズンを記した。既知の株については、その由来動物及びG型、P型を括弧内に示す。遺伝的距離(サイトあたりのアミノ酸期待置換数)をスケールバーで示す。

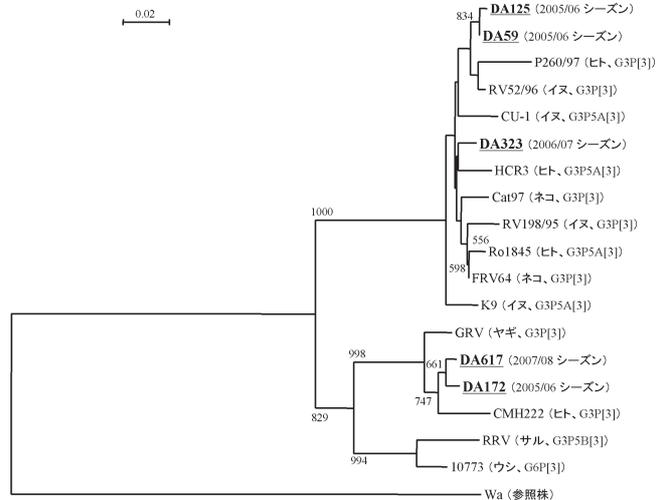


図4 VP8\*アミノ酸配列の系統解析結果

A群ロタウイルスWa株を参照株として近隣結合法により系統解析を実施した(1,000回のブートストラップを行い、500以上の数値を系統樹上に示す)。県内で検出された株はアンダーラインで示し、括弧内に検出シーズンを記した。既知の株については、その由来動物及びG型、P型を括弧内に示す。遺伝的距離(サイトあたりのアミノ酸期待置換数)をスケールバーで示す。

98.5%以上)。一方、DA617株については2005/06シーズンに検出されたDA172株と類似しており(アミノ酸相同性値94.8%)、大きくみると草食獣由来ウイルスと同系統に属するものと考えられた。調査3シーズンに検出されたARV株間の比較では、2005/06シーズンにはDA59株とDA172株に代表される2種類が、2006/07シーズンには前シーズンのウイルスとは異なるDA323株に代表されるタイプが、また2007/08シーズンには2シーズン前のDA172株に類似したタイプがそれぞれ検出され、シーズン間で検出されたウイルスのVP7に違いが認められた。

(5) VP8\*アミノ酸系統解析

VP7の場合と同様に、DA323株及びDA617株のVP8\*アミノ酸配列について、2005/06シーズン代表株<sup>1)</sup>及び既知のP[3]型株の配列とともに系統解析を実施した(図4)。その結果、DA323株はヒト由来HCR3株<sup>22)</sup>と極めて近縁(アミノ酸相同性値97.8%)であることがわかった。一方、DA617株についてはDA172株と極めて近縁(アミノ酸相同性値98.9%)であり、またヒト由来CMH222株及びヤギ由来GRV株とともに同一クラスターを形成した。調査を行った3シーズンに検出された株間の比較では、VP7の場合と同様に2005/06シーズンにはDA59株とDA172株に代表される2種類が、2006/07シーズンにはDA323株に代表されるタイプが、また2007/08シーズンには2シーズン前のDA172株に類似したタイプがそれぞれ検出された。

(6) NSP4アミノ酸系統解析

DA323株及びDA617株のNSP4アミノ酸配列について、2005/06シーズン代表株<sup>1)</sup>も加えNSP4遺伝子型Cに属する株と比較を行ったところ(図5)、DA323株はヒト由来HCR3株及びCMH120/04株と極めて近縁であり(アミノ酸相同性値99.4%)、これらの株とともに独立したクラスターを形成した。一方、DA617株については愛玩動物由来株とは異なるクラスターに属し、DA172株とともにヒト由来株を含む種々の動物に由来する株と同系統に属すると考えられた。3シーズンで検出された株間の比較では、VP7及びVP8\*における解析で認められたのと同様に、検出ウイルスのNSP4タイプがシーズンごとに異なっていた。

3.3 岡山県のノロウイルスとアストロウイルスの分子疫学

(1) 集団事例におけるNoVの検出状況

24事例中14事例の患者糞便52検体(58.4%)、7事例の調理従事者糞便20検体(35.1%)、計72検体からNoV(GI:1株, GII:72株)が検出された。1事例の調理従事者1名からGIとGIIに属するウイルスが同時検出された。同一事例内での各プライマー系による従来法PCRの増幅傾向がほぼ同じであった

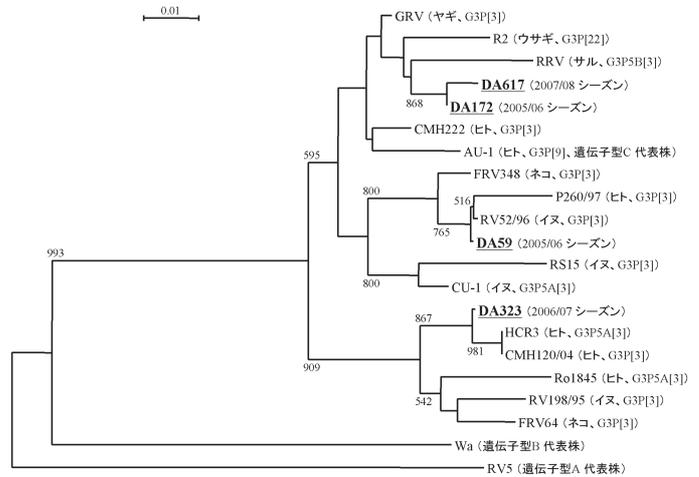


図5 NSP4アミノ酸配列の系統解析結果

A群ノロウイルスWa株及びRV5を参照株として近隣結合法により系統解析を実施した(1,000回のブートストラップを行い、500以上の数値を系統樹上に示す)。県内で検出された株はアンダーラインで示し、括弧内に検出シーズンを記した。既知の株については、その由来動物及びG型、P型を括弧内に示す。遺伝的距離(サイトあたりのアミノ酸期待置換数)をスケールバーで示す。

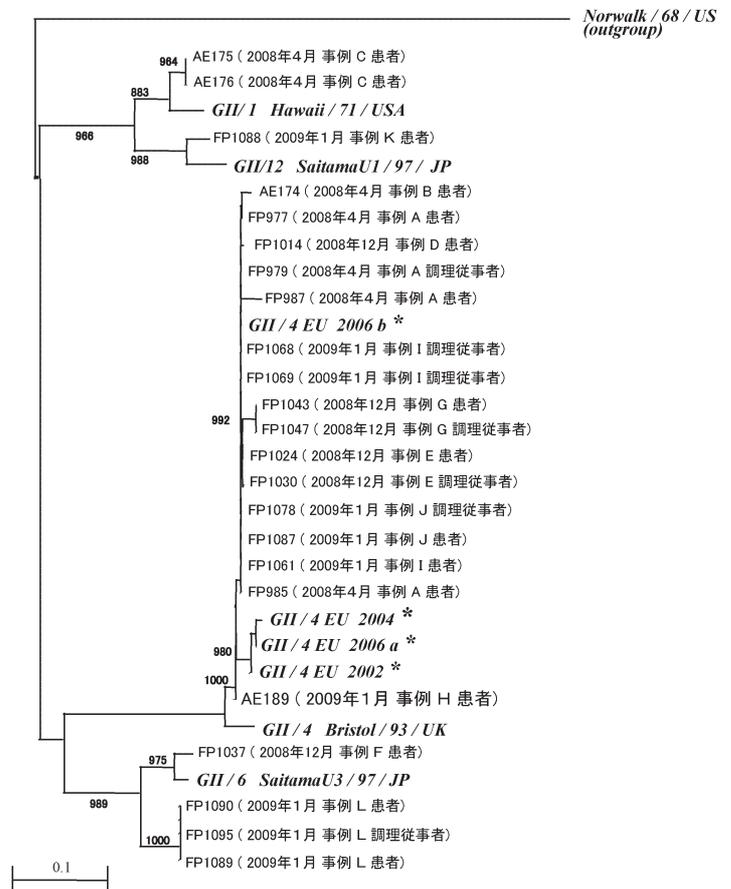


図6 検出NoVのpolymerase/capsid junction領域の系統樹

Lordsdale株5102-5366相当の265bp, NJ法, Bootstrap1000回, 斜字: レファレンス株, \*: Eurosurveillance databaseより引用

め、各事例の代表株25株(患者のみ陽性の場合1~2株, 患者調理従事者ともに陽性の場合各1~2株)について、polymerase/capsid junction領域の塩基配列を決定し、系統解析を行った。遺伝子解析の結果、

表4 月別 集団事例別 NoV 遺伝子型 (2008年4月～2009年3月)

採取月 事例数 ・遺伝子型	2008年						2009年						計
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
集団事例数	3	0	1	0	0	1	1	0	8	5	1	4	24
NoV GI/8	1* (1*)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1 (1)
NoV GII/1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
NoV GII/4	2 (1)	—	—	—	—	—	—	—	3 (2)	3 (2)	—	—	8 (5)
NoV GII/6	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1 (1)	—	—	2 (1)
NoV GII/12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1
NoV GII/NT	—	—	—	—	—	—	—	—	1** (1**)	—	—	2	3 (1)
検出せず	—	—	1	—	—	1	1	—	4	—	1	2	10

( )内は、調理従事者からNVが検出された事例数を再掲

\*患者および調理従事者から NV GII/4 が検出された事例の調理従事者1名から同時検出

\*\*患者から NoV GII/6 が検出された事例の調理従事者から検出

GI/8 : 1株, GII/1 : 2株, GII/4 : 17株, GII/6 : 4株, GII/12 : 1株であった。このうち, GIIに属する23株と GII/1, GII/4, GII/6 及び GII/12のレファレンス株の系統樹を図6に示す。GI/8は2008年4月発生事例で GII/4が検出された調理従事者1名からのみ検出された。GII/1は2008年4月に, GII/6は2008年12月と2009年1月に発生した2事例から検出された。GII/12は, 2009年1月に発生した外国産加工食品(韓国産キムチ)の関与が疑われる事例(事例K)から検出された。GII/4検出事例は2008年4月, 12月及び2009年1月に発生していた(表4)。最も多く検出された GII/4は, 1株(AE189)を除きすべて NoV GII/4 2006b<sup>41)</sup> 類似株であった(図6)。GII/6では, 2008年12月の事例F由来株(FP1037)とレファレンス株(Saitama U3 /97/JP)との相同性が95.7%であったのに対して, 2009年1月の事例L由来株(FP1089,1090,1095)では89.7%と低く, 同じ遺伝子型ながら系統の異なるウイルスであった(図6)。患者と調理従事者双方から NoV が検出された7事例中6事例では, 患者由来株と調理従事者由来株の遺伝子型は一致していた(GII/4 : 5事例, GII/6 : 1事例)。残る1事例では, 患者由来株は GII/6であったが, 調理従事者由来株は GIIであることは確認できたものの polymerase/capsid junction 領域の PCR産物が得られず, 遺伝子型を決定できなかった。

(2) 2004年度～2007年度散発事例からの AstV の検出状況  
対象とした散発事例検体1,705検体のうち260

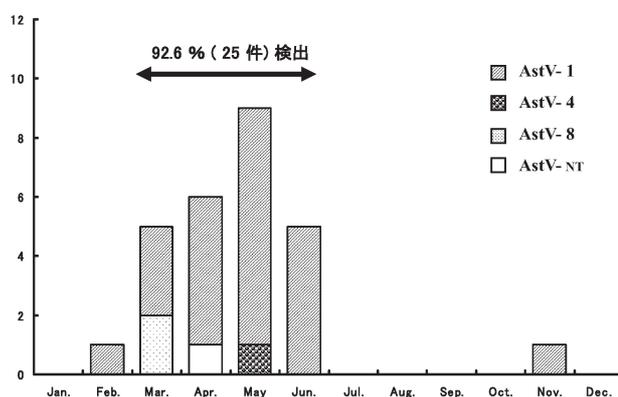


図7 AstVの月別累積検出状況 (2004.04～2008.03)

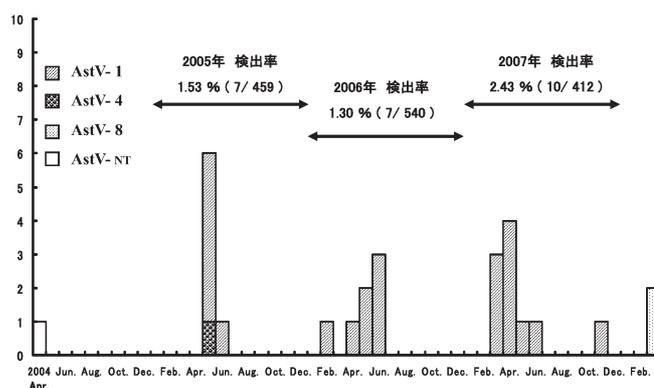


図8 AstVの年別検出率

表5 患者年齢別 AstV 検出状況 (2004年4月～2008年3月)

検出ウイルス	患者年齢(歳)									計
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
AstV-1	5	2	4	1	—	—	—	—	1	13
AstV-8	—	—	—	1	—	—	—	—	1	2
AstV-NT	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1
AstV-1 + NoV	1	2	1	—	—	—	—	—	—	4
AstV-4 + NoV	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1
AstV-1 + SaV	—	1	1	2	1	—	—	—	—	5
AstV-1 + NoV + SaV	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1
計	7	6	6	4	1	0	0	0	3	27

検体で、電子顕微鏡検索により SRSV 様粒子が観察された。AstV は、27 検体(全検体の 1.6%、電子顕微鏡検索で SRSV 粒子が観察された検体の 10.4%)から検出された。AstV の検出時期は 2 月～6 月及び 11 月であるが、25 株(92.6%)が 3 月～6 月に集中して検出された(図 7)。2005 年～2007 年の年別検出率は、それぞれ 1.53%、1.30%、2.43%であった(図 8)。AstV が検出された患者の年齢は 0 歳～8 歳で、うち 23 名(85.1%)が 3 歳以下であった。また、11 名(40.7%)で NoV や SaV との混合感染が見られた(表 5)。検出された 27 株について、塩基配列に基づいて遺伝子型を判定した結果、AstV-1: 23 株、AstV-4: 1 株、AstV-8: 2 株であった。1 株は、Noel らの RT-PCR 法で産物が得られず、型別不能であった。

## 4 考察

### 4.1 電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出

冬期を中心とするウイルス性胃腸炎患者の発生ピークは 12 月をピークとする SRSV と 2、3 月をピークとして発生する ARV により、二峰性の発生曲線を持つ傾向が指摘されている<sup>42)</sup>が、2008 年度冬期の感染性胃腸炎患者の発生パターンは、標準的な二峰性の発生パターンとは少し異なり、一峰目(第 52 週: 定点当たり患者数 17.06 名)で高いピークを示したが、二峰目では明瞭なピークを示さず(図 1)、2007 年度冬期が標準的な二峰性の発生パターンを示していた<sup>1)</sup>ことと対照的であった。

ウイルス検出状況では、SRSV は 6～10 月を除いて検出され、12 月に特に多く検出され、RV は 4、5 月及び翌年 2、3 月に多く検出され、特に 2、3 月に多く検出されており、患者発生状況とは少し異なる状況であった。

EM 観察で SRSV 様粒子が観察された検体については、今後、さらに、NoV、SaV、AstV の同定を行い、同定不能な SRSV の流行状況を把握するとともに、同定法を検討するための検査材料として収集していく必要がある。

PCR 法で同定不能な SRSV 陽性検体を低速遠心法で観察することにより、大きなウイルス粒子塊が観察される検体の存在が確認されたので、今後、これらの検体については培養細胞によるウイルス培養を試みる必要がある。ウイルスの培養が可能な場合は、エンテロウイルス等の可能性を検討する必要があると思われる。

培養不可能な SRSV 検体については、さらに多くの検

体を EM 観察することにより、形態的特徴に基づいた分類を行い、各分類の代表的な検体に対してモノクローナル抗体を用いた検出法や PCR 法による検出法を検討する必要があると考えられる。

### 4.2 岡山県のイヌにおける C 群及び A 群ロタウイルス保有調査

2005/06 シーズンに引き続き、2006/07 及び 2007/08 シーズンの 2 シーズンにわたって岡山県内で飼育されていたイヌの糞便について CRV 及び ARV の検索を行ったところ、CRV については陽性例は認められなかったが、ARV については 1.4% が陽性であることがわかった。Otto ら<sup>20)</sup>は、1999 年にドイツにおいて、イヌの下痢便 9 検体中 3 検体から世界で初めて CRV を検出したが、それ以降同様な報告はなく、イヌにおける本ウイルスの侵淫状況については不明な点が残されていた。我々は、3 シーズンにわたり下痢便 83 検体を含む計 758 検体のイヌ糞便について調査を行ったものの、CRV を検出することができなかった。したがって、イヌが CRV を保有する可能性は極めて低いものと思われ、わが国においてヒトへの感染源としてイヌは除外しうることが強く示唆された。

調査した 3 シーズンにおける ARV の陽性率をみると、2005/06 シーズンが 7.7%、2006/07 シーズンが 2.7%、及び 2007/08 シーズンが 0.3% と、年を経るにしたがい陽性率が低下していく傾向が認められた。望月らの報告によれば<sup>43)、44)</sup>、イヌにおける ARV 保有率は 0.2～2.1% であることから、2005/06 シーズンの検出率が高かったものと考えられる。この理由として、2005/06 シーズンにのみ流行した DA59 株に代表されるウイルスの感染力が強かったことや、当該シーズンに 2 種類の異なるウイルスが流行していたこと<sup>1)</sup>などが考えられた。

2005/06 シーズンの調査において、イヌ糞便における ARV の検出は 4 月頃をピークとして、1 月～6 月に集中していた<sup>1)</sup>。さらに、2006/07 及び 2007/08 シーズンの調査においても、ARV 検出時期は 3 月～5 月に集中しており、7 月～10 月には全く陽性例が認められなかった。これらのことから、イヌにおける ARV 流行はヒトの場合と同様に冬季～春季であると考えられる。このように両者の流行時期が一致していることは、イヌからヒトへと感染が広まる危険性を高くするものと思われる。

今回新たに検出された ARV 株はいずれも、2005/06 シーズンの調査と同様に G3P[3] で、NSP4 遺伝子型が C に

属していることが明らかになった。このタイプのウイルスは、主にイヌやネコなどの愛玩動物等から検出されることが多いものの、低頻度ながらヒト及びサルなどからも検出されており、幅広い宿主域を持つことが示されている<sup>17)</sup>。さらにVP7, VP8\*及びNSP4のアミノ酸配列系統解析の結果、いずれの蛋白についてもDA59株類似ウイルスはヒト由来PA260/97株<sup>23)</sup>と、DA323株類似ウイルスはヒト由来HCR3株<sup>22)</sup>と密接な関連性が認められた。またDA172株類似ウイルスでも、VP8\*及びNSP4についてはヒト由来株との関連性がみられた。以上のことから、県内のイヌの間で流行しているARVがヒトへの感染性を有する可能性が強く示唆された。

調査した3シーズンに検出されたARV株は、いずれも同一のG型に属すると思われるものの、詳細な遺伝子解析の結果、DA59株に代表されるタイプ、DA172株に代表されるタイプ、及びDA323株に代表されるタイプの大きく3種類が存在することがわかった。またシーズンごとにとみると、2005/06シーズンではDA59株類似とDA172株類似の2種類が、2006/07シーズンには前シーズンのウイルスとは異なるDA323株に代表されるタイプが、また2007/08シーズンには2シーズン前のDA172株に類似したタイプがそれぞれ検出され、シーズン間でウイルスのタイプに変化が認められた。この様な同一G型内における遺伝子レベルの変化は、他の型においても確認されており<sup>45), 46)</sup>、何らかの抗原的変異をともなっていることが指摘されている。したがって、県内には少なくとも3種類の抗原的に異なったウイルスが存在し、それらがシーズンごとに入れ替わりながらイヌの間で継続的に流行していることが推察された。

3シーズンにわたる調査によって、潜在的にヒトに感染性を有するARVが、県内のイヌの間で継続的に流行している実態が確認された。その一方で、ARV陽性例のうち明らかな下痢便は2検体のみであり、残り20検体については軟便又は正常便など便性状に特に異常が認められなかった。しかも、正常便にもかかわらずウイルスが多量に含まれることも前回<sup>1)</sup>と今回の調査で明らかになった。したがって、便性状にかかわらずイヌ糞便の取り扱いには十分な衛生上の配慮が必要と思われる。さらに、イヌARVがヒトに感染した事例はいずれも小児において発生していることから<sup>21)~23)</sup>、イヌ糞便が子供の手に触れることのないよう十分な注意を払う必要が

あると思われる。

### 4.3 岡山県のノロウイルスとアストロウイルスの分子疫学

2007年度に検出されたNoVは、遺伝子型が多岐にわたり、かつ、これまで検出頻度の低かったGIに属するNoVが比較的高頻度に検出されたことが特徴であった<sup>1)</sup>。これに対して2008年度の集団事例から検出されたNoVは、GII/4 2006b類似株が大部分を占め、GIIに属する他の遺伝子型が一部の事例で見られたのみであった。集団事例由来株の検出時期から見ると、2008年1月以降検出されていたGII/4以外の遺伝子型はGII/4に取って代わるには至らず、4月以降非流行期の夏季を挟んで2008/2009シーズンには再びGII/4が主流型となっていた。GII/4は、2006/2007シーズン以降、全国の地方衛生研究所からの病原体検出報告でも常に最も多く報告されており<sup>47)</sup>、このシーズン以降全国的に胃腸炎の多発を引き起こしたGII/4 2006bの流行は、2008/2009シーズンも継続していたものと推察された。GII/4以外に検出された遺伝子型のうち、GII/6については、過去に県内で散発事例からの検出例があるものの検出頻度は低く、県内での浸淫度は低いと考えられていた。しかし、今回、系統の異なるGII/6が検出されたことから、GII/4のように「同一遺伝子型内変異株」による流行を引き起こす恐れもあり、今後も監視していく必要がある。また、GII/12は、国内では2000年以降NESIDデータベースでの検出報告がなく、2008/2009シーズンに初めて報告された遺伝子型である<sup>47)</sup>。岡山県での検出も外国産加工食品の関与が疑われる事例からの検出であり、国外での流行株が持ち込まれた可能性が考えられた。

AstVは、4年間の検出率が全検体の1.6%であり、この検出率は、メキシコ<sup>34)</sup>、スペイン<sup>48)</sup>、マダガスカル<sup>49)</sup>等海外の報告(それぞれ2.6~4.6%, 4.9%, 2.1%)と同程度かやや低かった。検出時期は、昨年の報告<sup>1)</sup>と同様に陽性検体の90%以上が3月~6月に集中しており、ウイルス性胃腸炎の流行期と考えられている晩秋から早春よりさらに遅れて、5月に検出極期を持つ特徴的な流行パターンを示した。調査期間中、3月~6月の流行期をカバーしている2005~2007年の年別検出率をみると、前の2年に対して2007年はやや高く、年により流行規模の大小があることがうかがわれた。検出される遺伝子型はAstV-1が大部分を占め、全国的傾向<sup>47)</sup>、あるいは海外

の傾向<sup>34), 48), 49)</sup>とも一致していた。また、2008年3月には県内で初めてAstV-8の浸淫が確認された。AstV-8は1990年代後半以降報告されるようになった比較的新しい遺伝子型であり、病原体検査情報システムデータベース<sup>47)</sup>で見ると他県からの報告はない。しかしながら前述の3カ国でいずれも検出されており、岡山県のみならず他県にも既に侵入している可能性はあると思われる、今後とも監視していく必要があると考えられる。

## 謝 辞

イヌ便検体の採取にあたり多大なるご協力をいただきました、岡山県動物愛護センターの関係各位に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) 濱野雅子, 藤井理津志, 葛谷光隆, 西島倫子, 橋原幸二, 濃野 信, 金谷誠久: 胃腸炎ウイルスの研究(2007年度), 岡山県環境保健センター年報, 32, 115-127, 2008
- 2) Yoshinaga, M., Phan, T. G., Nguyen, T. A., Yan, H., Yagyu, F., Okitsu, S., Muller, W. E., Ushijima, H. : Changing distribution of group A rotavirus G-types and genetic analysis of G9 circulating in Japan, Arch. Virol., 151, 183-192, 2005
- 3) Phan, T. G., Trinh, Q. D., Khamrin, P., Kaneshi, K., Ueda, Y., Nakaya, S., Nishimura, S., Sugita, K., Nishimura, T., Yamamoto, A., Takanashi, S., Yagyu, F., Okitsu, S., Ushijima, H. : Emergence of new variant rotavirus G3 among infants and children with acute gastroenteritis in Japan during 2003-2004, Clin. Lab., 53, 41-48, 2007
- 4) 浦沢正三, 谷口孝喜: ロタウイルス—概論—, 臨床と微生物, 13(4), 53-60, 1986
- 5) Matsumoto, K., Hatano, M., Kobayashi, K., Hasegawa, A., Yamazaki, S., Nakata S., Chiba, S., Kimura, Y. : An outbreak of gastroenteritis associated with acute rotaviral infection in schoolchildren, J. Infect. Dis., 160, 611-615, 1989
- 6) Otsu, R. : A mass outbreak of gastroenteritis associated with group C rotaviral infection in schoolchildren, Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., 21, 75-80, 1998
- 7) Oishi, I., Yamazaki, K., Minekawa, Y. : An occurrence of diarrheal cases associated with group C rotavirus in adults, Microbiol. Immunol., 37, 505-509, 1993
- 8) 篠崎邦子, 海保郁男, 時枝正吉, 實川 浩: 千葉県で発生したC群ロタウイルスによる集団下痢症, 病原微生物検出情報, 14, 160, 1993
- 9) 篠崎邦子, 山中隆也, 小川知子, 時枝正吉, 高橋亮, 太田洋子, 酒井利郎, 常包正俊: C群ロタウイルスによる集団下痢症, 病原微生物検出情報, 17, 202, 1996
- 10) 長谷川澄代, 松浦久美子, 中山 喬, 石倉康宏, 北村 敬, 安井良夫, 金子望博: 小学校で発生したC群ロタウイルスによる急性胃腸炎の集団発生, 病原微生物検出情報, 18, 302-304, 1997
- 11) 沢田春美, 吉澄志磨, 玉手直人, 荒田吉彦, 勝山真吉, 古屋孝子, 堀田智仙, 平木雅久: 小学校でみられたC群ロタウイルスによる急性胃腸炎の集団発生, 病原微生物検出情報, 19, 252-253, 1998
- 12) 江頭康子, 吉森清史, 船津丸貞幸, 松浦元幹: C群ロタウイルスによる急性胃腸炎集団発生事例, 病原微生物検出情報, 22, 32-33, 2001
- 13) 葛谷光隆, 藤井理津志, 濱野雅子, 小倉 肇, 中山 俣, 結縁栄次, 片山健一, 光信泰昇, 井上康二郎: 岡山県内で初めて確認されたヒトC群ロタウイルスによる集団胃腸炎事例, 岡山県環境保健センター年報, 24, 55-59, 2000
- 14) 葛谷光隆, 藤井理津志, 濱野雅子, 小倉 肇: 教育研修施設において発生したヒトC群ロタウイルスによる集団胃腸炎事例, 病原微生物検出情報, 21, 169-170, 2000
- 15) Fujii, R., Kuzuya, M., Hamano, M., Yamada, M., Yamazaki, S. : Detection of human group C rotaviruses by an enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies, J.Clin. Microbiol., 31(5), 1307-1311, 1992
- 16) Kuzuya, M., Fujii, R., Hamano, M., Nagabayashi, T., Tsunemitsu, H., Yamada, M., Nii, S., Mori, T. : Rapid detection of human group C rotaviruses by reverse passive hemagglutination and latex agglu-

- mination tests using monoclonal antibodies, *J.Clin.Microbiol.*, 31(5), 1308-1311, 1993
- 17) 小林宣道, 浦沢正三: ロタウイルス, *ウイルス*, 50, 157-172, 2000
- 18) 中込とよ子, 中込 治: ロタウイルスワクチンの現状と展望, *病原微生物検出情報*, 22, 14-16, 2005
- 19) Saif, L. J., Nongroup A rotaviruses: Viral diarrhea of man and animals, p.73-95, CRC Press, Florida, USA, 1990
- 20) Otto, P., Schulze, P., Herbst, W.: Demonstration of group C rotaviruses in fecal samples of diarrheic dogs in Germany, *Arch. Virol.*, 144, 2467-2473, 1999
- 21) Nakagomi, O., Isegawa, Y., Hoshino, Y., Aboudy, Y., Shif, I., Silberstein, I., Nakagomi, T., Ueda, S., Sears, J., Flores, J.: A new serotype of the outer capsid protein VP4 shared by an unusual human rotavirus strain Ro1845 and canine rotaviruses, *J. Gen. Virol.*, 74, 2771-2774, 1993
- 22) Nakagomi, T., Nakagomi, O.: Human rotavirus HCR3 possesses a genomic RNA constellation indistinguishable from that of feline and canine rotaviruses, *Arch. Virol.*, 145, 2403-2409, 2000
- 23) De Grazia, S., Martella, V., Giammanco, G. M., Iturriza Gomara, M., Ramirez, S., Cascio, A., Colomba, C., Arista, S.: Canine-Origin G3P[3] Rotavirus Strain in Child with Acute Gastroenteritis, *Emerging Infect. Dis.* 13, 1091-1093, 2007
- 24) Jiang, X., Wang, M., Wang, K., and Estes, M. K.: Sequence and genomic organization of Norwalk virus, *Virology*, 195, 51-61, 1993
- 25) 片山和彦: 胃腸炎関連カリシウイルス(ノロウイルス, サボウイルス)総論, *病原微生物検出情報(IASR)*, 24, 312-314, 2003
- 26) Hamano, M., Kuzuya, M., Fujii, R., Ogura, H., Yamada, M.: Epidemiology of acute gastroenteritis outbreaks caused by Noroviruses in Okayama, Japan, *J. Med. Virol.*, 282-289, 2005
- 27) Sugieda, M., Nakajima, K., Nakajima, S.: Outbreak of Norwalk-like virus associated gastroenteritis traced to shellfish, Coexistence of two genotypes in one specimen, *Epidemiol. Infect.*, 116, 339-346, 1996
- 28) Kageyama T, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, Kojima S, Takai R, Oka T, Takeda N, Katayama K.: Coexistence of plural genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan, *J Clin Microbiol.* 42, 2988-2995, 2004.
- 29) Reuter, G., Krisztalovics, K., Vennema, H., Koopmans, M., Szucs, G.: Evidence of the etiological predominance of Norovirus in gastroenteritis outbreaks — Emerging new-variant and recombinant Noroviruses in Hungary, *J. Med. Virol.*, 76, 598-607, 2005
- 30) Bull, R. A., Tu, E. T. V., McIver, C. J., Rawlinson, W. D., White, P. A.: Emergence of a new Norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis, *J. Clin. Microbiol.*, 327-333, 2006
- 31) Kroneman, A., Vennema, H., Harris, J., Reuter, G., Bonsdorff, C-H. von, Hedlund, K-O., Vainio, K., Jackson, V., Pothier, P., Koch, J., Schreier, E., Bottiger, B., Koopmans, M.: Increase in norovirus activity reported in Europe Eurosurveillance Weekly, 11, 12, 2006
- 32) Hansman, G. S., Takeda, N., Oka, T., Oseto, M., Hedlund, K. O., Katayama, K.: Intergenogroup recombination in Sapoviruses, *Emerging Infect. Dis.*, 11, 1916-1920, 2005
- 33) Sakon, N., Yamazaki, K., Utagawa, E., Okubo, Y., Oishi, I.: Genomic characterization of human astrovirus type 6 Katano virus and the establishment of rapid and effective reverse transcription-polymerase chain reaction to detect all serotypes of human astrovirus, *J. Med. Virol.*, 61, 125-131, 2000
- 34) Méndez-Toss, M., Griffin, D. D., Galva, J., Contreras, J. F., Puerto, F. I., Mota, F., Guiscafré, H., Cedillo, R., Muñoz, O., Herrera, I., López, S., Arias, C. F.: Prevalence and Genetic Diversity of Human Astroviruses in Mexican Children with

- Symptomatic and Asymptomatic Infections, J. Clin. Microbiol., 42, 151-157, 2004
- 35) 藤井理津志, 葛谷光隆, 濱野雅子, 小倉 肇 : C群  
ロタウイルスの免疫学的検査法による検出, 岡山県  
環境保健センター年報, 24, 42-45, 2000
- 36) Narang, H. K., Codd, A. A. : Frequency of pre-  
clumped virus in routine fecal specimens from  
patients with acute nonbacterial gastroenteritis, J.  
Clin. Microbiol., 13(5), 982-988, 1981
- 37) 濱野雅子, 藤井理津志, 葛谷光隆 : 胃腸炎ウイルス  
の研究(平成14年度), 岡山県環境保健センター年  
報, 27, 45-61, 2003
- 38) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知 :  
ノロウイルスの検出法について, 食安監発第1105001  
号, 平成15年11月5日
- 39) Kageyama, T., Kojima, S., Shinohara, M., Uchida, K.,  
Fukushi, S., Hoshino, F. B., Takeda, N., Katayama, K. :  
Broadly Reactive and Highly Sensitive Assay for  
Norwalk-Like Viruses based on Real-Time  
Quantitative Reverse Transcription-PCR, J. Clin.  
Microbiol., 41, 1548-1557, 2003
- 40) Noel, J. S., Lee, T. W., Kurtz, J. B., Glass, R. I., Monroe,  
S. S. : Typing of Human Astroviruses from Clinical  
Isolates by Enzyme Immunoassay and Nucleotide  
Sequencing, J. Clin. Microbiol., 33, 797-801, 1995
- 41) Koopmans, M., Harris, J., Verhoef, L., Depoortere, E.,  
Takkinen, J., Coulombier, D. : European investiga-  
tion into recent norovirus outbreaks on cruise  
ships : update Eurosurveillance Weekly, 11, 7,  
E060706. 5, 2006
- 42) 上羽 修, 藤井理津志, 谷本浩一 : ウイルス下痢症  
に関する研究 第2報 1988/87年冬期の検出ウイ  
ルスについて, 岡山県環境保健センター年報, 11,  
132-135, 1987
- 43) 望月雅美 : 犬と猫の下痢症ウイルス, 日獣会誌, 49,  
293-300, 1996
- 44) Mochizuki, M., Hashimoto, M., Ishida, T. : Recent  
epidemiological status of canine viral enteric infec-  
tions and Giardia infection in Japan, J. Vet. Med.  
Sci., 63, 573-575, 2001
- 45) Kirkwood, C., Bogdanovic-Sakran, N., Palombo, E.,  
Masendycz P. Bugg, H., et al. : Genetic and  
Antigenic Characterization of Rotavirus Serotype  
G9 Strains Isolated in Australia between 1997 and  
2001, J. Clin. Microbiol., 41, 3649-3654, 2003
- 46) Diwakarla, C. S. and Palombo E. A. : Genetic and  
antigenic variation of capsid protein VP7 of  
serotype G1 human rotavirus isolates, J. Gen.  
Virol., 80, 341-344, 1999
- 47) 国立感染症研究所感染症情報センター : 病原体検出  
情報システム データベース, 感染症サーベイラン  
スシステム(一般には非公開)
- 48) Guix, S., Caballero S., Villena, C., Bartolomé, R.,  
Latorre, C., Rabelle, N., Simo, M., Bosch, A., Pintó,  
R. M. : Molecular Epidemiology of Astrovirus  
Infection in Barcelona, Spain, J. Clin. Microbiol.  
40, 133-139, 2002
- 49) Papaventsis, D. C., Dove, W., Cunliffe, N. A.,  
Nakagomi, O., Combe, P., Grosjean, P., Hart, C. A. :  
Human Astrovirus gastroenteritis in Children,  
Madagascar, 2004-2005, Emerging Infect. Dis., 14,  
844-846, 2008