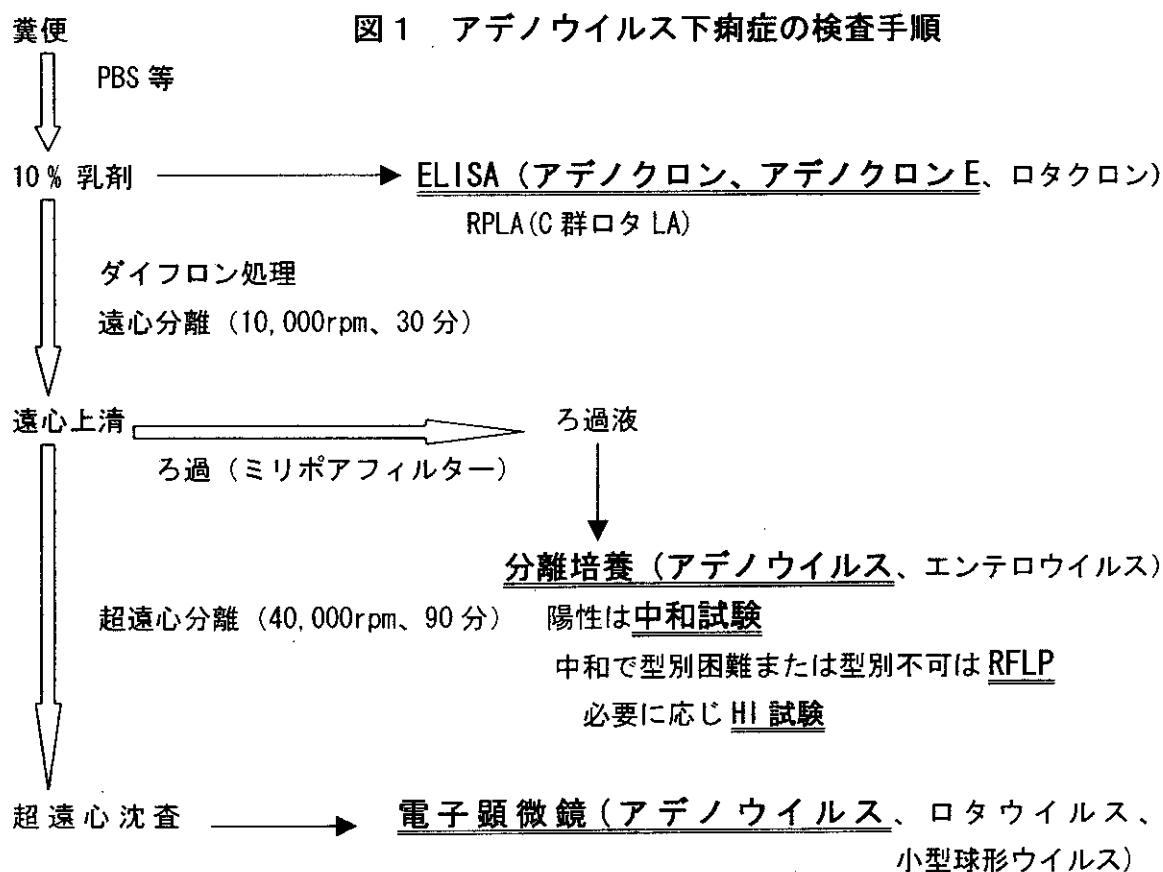


表3. 感染性胃腸炎からのアデノウイルス検出

症例	電顕観察	免疫学的抗原検査		分離培養	最終 同定血清型
		アデノクロン	アデノクロンE		
1	-	+	-	+	Ad3
2	+	+	+	-	Ad40/41
3	+	+	-	+	Ad2
4	-	-	-	+	Ad2
5	+	+	+	-	Ad40/41
6	+	+	+	-	Ad40/41
7	-	-	-	+	Ad2
8	+	-	-	+	Ad3
9	-	-	-	+	Ad3
10	+	+	+	-	Ad40/41
11	-	+	-	-	AdUT※1
12	-	+	-	+	Ad2
13	+	+	-	+	Ad2
14	-	-	-	+	Ad2
15	+	+	+	-	Ad40/41
16	+	+	-	+	Ad3
17	+	-	-	-	AdUT※1
18	-	+	+	-	Ad40/41
19	-	-	-	+	Ad1
20	-	-	-	+	Ad2
21	-	-	-	+	Ad3
22	-	-	-	+	Ad3

※1:血清型未同定アデノウイルス



6. エーリキア(アナプラズマ)の検査法(同定)に関する 基礎的研究

分担研究者 児嶋 昭徳 (名古屋市衛生研究所長)

研究協力者 川原 真 (名古屋市衛生研究所主任研究員)

研究要旨 昨年度 *Ehrlichia muris* および HF565 株の培養法、スライド抗原作成法を検討し、スクリーニングテストに有用であることを示した。今回、確認試験のために *E. muris* を用いたウエスタンブロット法を検討し、確認試験に有用であることが示された。また、昨年度、アナプラズマの遺伝子検査 (PCR 法) のためのプライマーや条件の検討を行った。今回、それらの結果に基づき、北海道で採取されたダニ、野鼠、東京都で捕獲された野鼠、広島県などで捕獲されたドブネズミ、島根県で捕獲されたシカについて、数種類のプライマーを用い PCR を行なったところ、ダニ、野鼠、シカから合計 35 サンプルが陽性になった。これらの株について PCR 産物の遺伝子配列を決定し詳しい遺伝子解析を行った。その結果、ヤマトマダニ (*Ixodes ovatus*) から HF565 株、IS58 株、IS136 株が、シュルツマダニ (*Ixodes persulcatus*) および北海道の野鼠からは *E. muris* が検出された。日本で *I. persulcatus* から *E. muris* 遺伝子が検出されたのはこれが初めてである。この *E. muris* 遺伝子は北海道の野鼠であるエゾヤチネズミの脾臓からも検出された。この 2 株について、約 1400bp の塩基配列を決定し比較したところ、この 2 株は 100%一致し、エゾヤチネズミがこの *E. muris* の宿主である可能性が考えられた。これらの株は標準株 (AS145 株) と比較すると 99.9%の相同率であった。標準株である *E. muris* (AS145 株) は *H. flava* からマウスで分離されているが、これらの株はマウスで分離出来なかった。このことから、*E. muris* にはベクターとマウス感受性の異なる 2 つのタイプが存在する事が示された。アナプラズマは、16S rRNA の遺伝子配列に基づき 4 つの遺伝子型に分類整理されてきたが、それらとは異なる、新たに 2 つ属を形成すると思われるアナプラズマを検出したことを昨年度報告した。それらについて groESL 遺伝子の検討を行い、IS58 株および TK4456 株の groESL 遺伝子配列を明らかにした。IS58 株、TK4456 株の 1327 bp の groESL 遺伝子配列を DNA 塩基配列で比較すると 96%の相同率で、アミノ酸に翻訳した groEL (409 amino acid sequence) で比較すると、99.8%の相同率であった。TK4456 株の groEL アミノ酸配列で、*E. chaffeensis*、*A. phagocytophila* のそれらと比較すると 89.9%、86.9%で、16S rRNA の遺伝子解析の結果とほぼ一致し、これらの株が新しい属の形成を強く支持する結果であった。IS136 株は現在解析中である。島根県のダニから検出された TK37 株は groESL 遺伝子配列から 16S rRNA の遺伝子解析の結果と同じく *E. chaffeensis* が分類されているエーリキア属に属する新しいアナプラズマであると考えられた。ヒト血液を用いた病原体の検出に関しては、各研究者と臨床医らとの協力で倫理指針に基づく手続き面での整備を進めた。

A. 研究目的

エーリキアは、最近 16S rRNA シークエンスの結果に基づき分類が見直され (Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51: 2145-2165, 2001)、リケッチア目のアナプラズマ科に属し、*E. chaffeensis*、*E. muris* 等が属するエーリキア属、*A. phagocytophila* 等が属するアナプラズマ属、*Neorickettsia sennetsu* 等が属するネオリケッチア属、*Wolbachia pipientis* 等が属する *Wolbachia* 属に再分類された。アナプラズマ (本報告書では新しい分類方法にしたがい、アナプラズマ科のエーリキア属、アナプラズマ属、ネオリケッチア属、ウオルバキア属を包括して呼ぶ) は細胞内寄生細菌で、人や動物にエーリキア症を引き起こす重要な新興感染症であり、1987 年にアメリカで初めてダニ媒介性のアナプラズマが報告 (N. Engl. J. Med. 316: 853-856, 1987) されて以来、北米、南米、ヨーロッパ、アジアから相次いで感染者、患者が発見された。日本では *N. sennetsu* がヒトに感染するアナプラズマとして世界で初めて分離された (Med. Biol. 32: 200-209, 1954, Tokyo Iji Shinshi. 71: 683-686, 1954)。さらに、愛知県の山中で捕獲されたカゲネズミから世界で初めてマウスに感染するダニ媒介性のアナプラズマが分離された (J. Clin. Microbiol. 31: 89-96, 1993)。そのアナプラズマがエーリキア属に分類されことから *E. muris* と命名され、アメリカで人に感染する *E. chaffeensis* に遺伝学的に類似する事も明らかになった (Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 250-254, 1995)。このアナプラズマが、愛知県だけでなく、東京都の山中で捕獲された野鼠にも多数存在する事が明らかとなった (J. Clin. Microbiol. 37: 1123-1129, 1999)。また、日本の東北地方や四国地方で採取されたダニから新しいアナプラズマが分離され、エーリキア属に属し、*E. muris* より *E. chaffeensis* に類似する事が報告された (J. Clin. Microbiol. 38: 1331-1338, 2000)。また、九州や沖縄地方に *E. canis* や *A. platys* の存在が示されている (J. Clin. Microbiol. 38: 4219-4221, 2000)。このように最近になって日本でも多種のアナプラズマが存在する事が明らかにされた。しかし、日本ではこれらアナプラズマの研究・検査機関は少なく、また、検査法も十分な検討がなされていない。世界中で感染者、発病者が見つかる事から、日本だけが例外とも考えられず、検査・研究体制を確立する事が必要である。

これらの観点から、研究を進め昨年度に次のような結果を明らかにした。1) *E. muris* の細胞培養を試み、その感染培養細胞を用いたスライド抗原を作成し、アナプラズマ株間の交差試験を行ったところ、エーリキア属エーリキアの株間で抗原の交差が確認でき、*E. muris* を代表株として使用することが可能であった。2) そのスライド抗原を用い、アナプラズマ感染症の診断・検査法の確立に資するため、患者および感染者の抗体調査を通じて蛍光抗体法の検討した。北海道在住でダニに刺されたことのある患者を中心に抗体調査を行ったところ、*A. phagocytophila* に対する抗体は検出されなかったが、*E. muris* 抗体が 197 人中 5 人 (2.5%) から検出された。3) アナプラズマの検出のための PCR 法、特にプライマーの検討を行い、用いたいずれのプライマーもアナプラズマの検出に有用であった。4) アナプラズマは主にマダニによって媒介される。今回作成したプライマーを用いて、日本各地で採取された 320 個体のマダニから 9 個体のアナプラズマ遺伝子を検出した。シークエンスの結果、従来株以外に新たなアナプラズマ遺伝子を検出し、それらが新型である可能性を示した。

これまでの結果に基づきの検査法など基礎的な研究を更に詳しく進めること、それに基づき日本での実態調査を進めることを目的とした。

B. 研究方法

1) *Ehrlichia muris* を抗原に用いたウエスタンブロッティング法

E. muris を DH82 細胞で培養し (昨年度報告書参考)、ホモジナイズおよび超音波処理後、2000 rpm、10 分遠心し、上清をさらに 10000 rpm、10 分遠心し沈渣を集めた。S-1000 カラムを用い *E. muris* を精製した。蛋白濃度を調整し SDS 処理後、12% ポリアクリルアミドミニゲルで泳動した。ニトロセルロース膜に転写し、抗 *E. muris* 抗体で反応後、アルカリフォスファターゼ標識抗マウス IgG と反応させ、発色させバンドを確認した。

2) ダニおよび哺乳動物からのアナプラズマの検出

2000年から2002年にかけて、北海道で採取された251個体の*I.lovatus*、80個体の*I.persulcatus*および17匹の野鼠からアナプラズマ科細菌の16S rRNA遺伝子検出をPCR法でおこなった。また、2001年から2002年にかけて埼玉県で捕獲された50個体のアカネズミ等の野鼠、東京都で捕獲された7個体のアカネズミ、愛媛県、東京都、広島県で捕獲された26個体のドブネズミ、クマネズミの脾臓を用いてPCRを行なうとともに、一部は血液を用いて蛍光抗体法でアナプラズマに対する抗体を調べた。さらに、2001年に島根県で捕獲された47個体のシカの血液を用いてPCR法および蛍光抗体法でエーリキアの検出を試みた。蛍光抗体法は間接蛍光抗体法で行い、抗原には*E.muris*および*A.phagocytophila*を用いた。二次抗体としてFITCラベル抗マウスIgG、同抗ラットIgG、同抗シカIgGを用いた。PCR法および蛍光抗体法の詳細は昨年度報告書に記載した。

3) 検出されたアナプラズマ遺伝子の解析

北海道で採取されたダニおよび北海道の野鼠から検出された*E.muirs*の遺伝子について解析を行った。16S rRNAの塩基配列を決定するため5組のプライマーペア（EC12AとIS58-52r、A17aとEM584r、Ehr387とEM924、EM749とIS58-1345r、IS58-1203fとEC9）を用い、そのPCR産物をシーケンシング（MediGenomix, Germanyおよび北海道システムサイエンス（株））、国立遺伝学研究所のウェブサイトのソフト、CLUSTALWおよびTreeViewを用いて遺伝子解析を行なった。なお、*E.muirs*については更に約1400bpの塩基配列を決定し、同様に解析を行なった。

4) 熱ショック蛋白（groESL）の遺伝子の解析

ダニから検出された新種と思われるアナプラズマ（昨年度報告書参考）のIS58、TK4456、IS136、TK37株について外皮蛋白である熱ショック蛋白（groESL）の遺伝子の配列を決定するため、HS1aとHS6a、HS43とHSVR、IS58-gro489fとIS58-gro908rのプライマーペアを用いPCRを行った。PCR産物の遺伝子配列を決定（北海道システムサイエンス（株））し、遺伝子解析を国立遺伝学研究

所のウェブサイトのソフト、CLUSTALWおよびTreeViewを用いて行なった。

5) ヒト血液からのアナプラズマ等検査の準備

ヒト検体からアナプラズマを検出するための手続き、即ち、北海道の病院を訪れる患者の検体についてアナプラズマの検査を行なえるよう、「疫学研究の倫理指針」に基づきインフォームドコンセントを含む検査の流れを倫理面から検討した。

C. 研究結果

1) *Ehrlichia muris* を抗原に用いたウエスタンブロッティング

抗*E.muris*抗体で反応させると約30 Daの位置にメジャーなポリペプチドのバンドが得られ、26、47、65、68、74 kDaの位置にバンドが確認できた。

2) ダニおよび哺乳動物からのアナプラズマの検出

北海道で採取された331個体のダニの中で、251個体の*I.lovatus*からHF565検出用プライマーで10個体、IS58検出用プライマーで5個体、IS136検出用プライマーで2個体、計17個体がPCR陽性となった。80個体の*I.persulcatus*からは*E.muirs*用プライマーで2個体が陽性となった。また、北海道で捕獲された17匹の野鼠のうち*E.muirs*用プライマーで、1匹のエゾヤチネズミが陽性となった。埼玉県で捕獲された50個体のアカネズミ等の野鼠、東京都で捕獲された7個体のアカネズミ、愛媛県、東京都、広島県で捕獲された26個体のドブネズミ、クマネズミからはPCRで検出できなかった。一方、島根県の47匹のシカのうち*E.muirs*用プライマーで、15匹のシカがPCR陽性となった。

3) PCR産物の遺伝子解析

19個体のダニから検出されたPCR産物、1個体の野鼠から検出されたPCR産物、15個体のシカから検出されたPCR産物らの塩基配列の決定を試み、得られた塩基配列をGeneBankで得たデータを用いて比較解析した。*I.lovatus*から検出された遺伝子は、

HF565 型遺伝子が 10 株、IS58 型が 5 株、IS136 型が 2 株と同定された。その相同率はいずれも 99%以上であった。*I.persulcatus* から検出された 2 株の遺伝子は、いずれも *E.muris* 型の遺伝子であり、標準株 *E.muris* (AS145) に対する相同率は 99%以上であった。北海道で捕獲された野鼠のエゾヤチネズミから検出した遺伝子も標準株 *E.muris* に対し相同率が 99%以上を示し、*E.muris* と同定された。ダニから検出された *E.muris* の 1 株および野鼠から検出された株について約 1400bp の塩基配列を決定し比較するとそれらは 100%一致した。島根県で捕獲された 47 頭のシカの血液サンプルから 15 サンプルが陽性になり、12 サンプルは *A.centrale* に対し 99%以上の相同率を示し、*A.centrale* である可能性が示された。しかし、残りの 3 サンプルについては解析が不十分で、現在解析中である。

4) 熱ショック蛋白 (groESL) の遺伝子の解析

IS58 株、TK4456 株、IS136 株および TS37 株のアナプラズマは新しいタイプのアナプラズマである可能性が示された (昨年度報告書参考)。これらの株について、groESL についてもその塩基配列の決定を試み、GeneBank で得たデータを用い比較解析した。その結果 IS136 株を除いて塩基配列が決定された。IS58 株、TK4456 株の 1327 bp の groESL 遺伝子配列が決定された。これら二株を DNA 塩基配列で比較すると 96%の相同率で、アミノ酸に翻訳した groEL (409 amino acid sequence) で比較すると、99.8%の相同率であった。TK4456 株の groEL アミノ酸配列で、*E.chaffeensis*, *E.ruminantium*, *A.phagocytophila*, *Wolbachia sp. N.sennetsu* のそれらと比較すると 89.9%、89.4%、86.9%、70.1%、56.1%であった。TS37 株は 1316 bp の groESL 遺伝子配列が決定された。この株は *E.ewingii* groESL、*E.chaffeensis* groESL に対し 90%、89%の相同率を示し、アミノ酸配列で比較するとそれぞれ 97%であった。

5) ヒト血液からのアナプラズマ等検査の準備

「疫学研究の倫理指針」の施行に伴い、医師を含む共同研究者間で、インフォームドコンセント、プライバシー保護、結果を公

開する等の観点から検査、研究の流れを検討した。

D. 考察

アナプラズマ感染症が新興感染症として世界的な広がりを見せる中、日本でも多数のアナプラズマが見つかったことから、人への感染も含めた実態調査が必要であり、今回、昨年引き続きアナプラズマの検査方法の検討と実態調査を行った。これまで *E.muris* の蛍光抗体用抗原を用いヒトおよび動物のアナプラズマ抗体のスクリーニング検査を行ってきた。その結果いくつかのサンプルに陽性が認められた。これらのサンプルが非特異的反応かあるいは真の陽性であるかを確認するため、ウエスタンブロット法の検討を行なった。今回、昨年 DH82 細胞で培養に成功した *E.muris* を用いた。その結果、マウスで作成した抗 *E.muris* 血清を用いてウエスタンブロットティングを行なったところ、主要なポリペプチッドのバンドを確認することが出来た。しかし、これまでスクリーニング試験を行なったヒト陽性血清は残量が少なく、確認試験に用いることが出来なかった。

最近、中国のダニに *E.chaffeensis* の存在 (J. Clin. Microbiol. 38: 2778-2780, 2000) が、また、*A.phagocytophila* (J. Clin. Microbiol. 38: 4208-4210, 2000) の存在が明らかになった。また、韓国で *E.chaffeensis* 患者と *A.phagocytophila* 患者の存在が報告された (J. Clin. Microbiol. 40: 3082-3085, 2002)。これらの報告は、日本でもアナプラズマの実態調査の重要性を示していると思われる。

アナプラズマ属の *A.phagocytophila* はライム病と密接なかわりがある。それは、ライム病の病原体であるボレリアを媒介するダニと *A.phagocytophila* を媒介するダニが共通である事による (J. Clin. Microbiol. 37: 3448-3451, 1999)。すなわちライム病流行地には *A.phagocytophila* も分布生息している。北海道はライム病の流行地であることから、北海道で採取されたダニから *A.phagocytophila* を含めたアナプラズマの検索を PCR で行なった。その結果、HF565 型遺伝子のアナプラズマ、*E.muris* 型遺伝子のアナプラズマ、IS58 型や IS136 型遺伝子のアナプラズマを PCR で検出した。北海道で検出された

HF565 型遺伝子をもつアナプラズマはマウスを殺す強毒株 HF565 と遺伝子型が 100%一致した。しかし、マウスで分離可能であったが、マウスへの病原性は弱く、四国で分離された HF565 型遺伝子と類似する弱毒株 Anan に類似したエーリキアであると考えられた。

I.persulcatus からは *E.muris* 型の遺伝子が検出された。ロシアでは多数検出されているが (J. Clin. Microbiol. 39: 2237-2242, 2001)、日本で *I.persulcatus* から *E.muris* 遺伝子を検出したのは初めてである。この遺伝子はエゾヤチネズミの脾臓由来の *E.muris* 型遺伝子と 100%一致し、標準株 (AS145 株) とは 99.9%の相同率であった。*E.muris* はキチマダニ (*H.flava*) からマウスで分離されているが、これらの株はマウスで分離出来なかった。このことから、*E.muris* にはベクターとマウス感受性の異なる 2 つのタイプが存在する事が示された。東京都、広島などで採取された野鼠やドブネズミなどからアナプラズマは検出できなかった。しかし、島根県で捕獲されたシカの血液サンプルから多数の PCR 陽性サンプルを得たが、それらの多くは *A.centrale* と考えられた。しかし、詳細はさらに詳しい解析を行う必要がある。日本では *A.centrale* は家畜に広く分布することが知られており、家畜伝染予防法で届出病原体に指定されている。更に、*A.centrale* と異なるアナプラズマも検出されたが、塩基配列の決定が不十分でもう少し検討が必要である。

北海道で採取された *Lovatus* から検出された IS58 株、ドブネズミから検出された TK4456 株の遺伝子解析から、この 2 つのアナプラズマがエーリキア属とアナプラズマ属の中間に位置する新しいアナプラズマである可能性が示されたことを報告した (昨年度報告書参考)。また、同様に北海道で採取された *Lovatus* から検出された IS136 株の遺伝子解析をしたところ、それはウオルバキア属とアナプラズマ属の中間に位置する全く新しいアナプラズマである可能性も報告した (昨年度報告書参考)。さらに、島根県で採取された *H.longicornis* から検出した TS37 株の DNA も従来の報告株とは異なる型のアナプラズマであった。今回、これらの株についてさらに詳しく解析するため、アナプラズマの熱ショック蛋白である groESL の解析を行った。その結果、IS58 株、TK4456 株はいずれもこれまでの結果を強く支持するもの

であった。即ち、これらは、近い将来新しい属を形成するアナプラズマとして認知されるものと思われる。一方、IS136 株はこれまで、groESL の遺伝子配列を決定する事が出来なかった。これはこのアナプラズマが従来のアナプラズマと大きく異なる塩基配列を持っているものと考えられる。島根県のダニから検出した TS37 株は、その 16S rRNA の遺伝子解析の結果とほぼ一致し、この株がエーリキア属に含まれ、*E.ewingii* や *E.chaffeensis* に極めて近いアナプラズマであることが示された。

ヒトの血液中の病原体検索については、計画中に「疫学研究の倫理指針」が施行された。それに基づきインフォームドコンセントを含む検査の流れを倫理面から再検討し検査を一年延期した。

E. 結論

- 1) *E.muris* を用いたウエスタンブロットイングは抗体確認試験に有用と思われた。
- 2) 北海道で採取されたダニの *Lovatus* から HF565 株、IS58 株、IS136 株に対するプライマーで PCR 陽性サンプルを得た。また、*I.persulcatus* からは *E.muris* 用プライマーで陽性サンプルを得た。さらに、北海道で捕獲された野鼠から *E.muris* 用プライマーで、一匹のエゾヤチネズミが陽性となった。埼玉県で捕獲されたアカネズミ等の野鼠、東京都で捕獲されたアカネズミ、愛媛県、東京都、広島県で捕獲されたドブネズミ、クマネズミからは PCR で検出できなかった。一方、島根県のシカから *E.muris* 用プライマーで、多数のシカが PCR 陽性となった。
- 3) 陽性となった PCR 産物の遺伝子解析を行ったところ、*I.persulcatus* から *E.muris* 型の遺伝子が検出された。ロシアでは多数検出されているが、*I.persulcatus* から *E.muris* 遺伝子を検出したのは日本で初めてである。この遺伝子はエゾヤチネズミの脾臓由来の *E.muris* 型遺伝子と 100%一致し、標準株 (AS145 株) とは 99.9%の相同率であった。シカ血液からは高頻度にあナプラズマを検出し、ほとんどが *A.centrale* であると思われるが、他にもそれとは異なるアナプラズ

マが存在すると考えられた。現在詳しい解析を試みている。

- 4) アナプラズマは、16S rRNA の遺伝子配列に基づき 4 つの遺伝子型に分類整理されてきたが、それらとは異なる、新たに 2 つ属を形成すると思われるアナプラズマを検出したが、それらについて groESL 遺伝子の検討を行い、一つの型 (IS58 株、TK4456 株) の groESL 遺伝子配列を明らかにした。それは新たな属の形成を強く支持する結果であった。もう一つの型 (IS136 株) は現在解析中である。島根県のダニから検出された TK37 株は groESL 遺伝子配列から *E. chaffeensis* が属するエーリキア属に属するものと思われた。
- 5) ヒト血液を用いた病原体の検出に関しては、各研究者と臨床医の間で倫理指針に基づく手続き面での整備を進めた。

昨年度および今年度の研究結果から、本邦にも様々なアナプラズマが存在することが明らかとなった。今後はこれらの結果を踏まえ、さらにヒトや家畜を含む詳細な疫学調査が必要であると思われる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Makoto Kawahara, Emiko Isogai, Yasuko Rikihisa, Mamoru Takahashi, Hitoko Misumi, Masayoshi Tsuji, Shinichiro Shibata, and Chiharu Suto. 'Candidatus Neoehrlichia rattus', A New Genotypic Cluster of Bacteria within the Family Anaplasmataceae found in Wild Rats and Ticks. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. (投稿中)

2. 学会発表

1. M. Kawahara, Y. Rikihisa, E. Isogai, M. Takahashi, H. Misumi and C. Suto. New 16S rRNA and groEL gene sequences which

don't belong to known clades in the family Anaplasmataceae detected in *Rattus norvegicus* rats and *I. ovatus* ticks in Japan. The 102nd The General Meeting of American Society for Microbiology. May 19-23, 2002 Salt Lake City, Utah. (May 22. D-141)

2. 川原 眞、磯貝恵美子、力久泰子、楊 孝康、磯貝 浩。北海道におけるマダニおよび野鼠のアナプラズマ科細菌の分布調査。第 75 回日本細菌学会総会 (2002.4 熊本) (発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

謝辞

本研究は、北海道医療大学の磯貝恵美子博士、川越総合高校の高橋守博士、オハイオ州立大学の力久泰子博士、ひがし十勝病院の楊孝康医師、島根県保健環境科学研究所の板垣朝夫博士、同じく田原研司博士、酪農学園大学の辻正義博士、東京都立衛生研究所の伊藤忠彦博士らの協力を得て行われた。各位に深謝します。

7. 感染性下痢症病原体検査の標準化についての研究

分担研究者 井上 博雄 (愛媛県立衛生環境研究所長)

共同研究者 大瀬戸 光明、近藤 玲子、田中 博、烏谷 竜哉
(愛媛県立衛生環境研究所)

研究要旨 多様な病原体に起因する感染性胃腸炎は、感染症法 4 類定点把握疾患として、患者および病原体サーベイランスの対象となっている。病原体サーベイランス検査は、各衛生研究所(衛研)で実施されており、当研究では検査の標準化に資するため、その現状を調査した。その結果、病原体サーベイランス検査は 83%の衛研で実施されていて、対象病原体のうちウイルスは 98%とほぼ全てで検査されているが、細菌は 72%と低く、原虫は 19%と極めて低かった。さらに、検査の標準化に資するため、検査方法についても調査し、検査方法の普及度を含めて調査結果を解析し、その現状を把握した。

A. 研究目的

感染性胃腸炎は多種多様な病原体に起因する疾患複合体であり、感染症法 4 類定点把握疾患として、患者および病原体サーベイランス対象疾患となっている。特に、小児ウイルス性胃腸炎やウイルス性食中毒については患者サーベイランス、ウイルス起因を疑う胃腸炎集団発生事例別情報、さらに病原体サーベイランス情報の知見の集積でその実態が明らかになりつつある。しかし、細菌、ウイルス、原虫あるいはその中の個々の病原体の発症における寄与率など、その全体像は不明であり、とりわけ成人での実態は不明で、時に発生する食中毒や臨床報告で、その一端を垣間見るのみである。

一方全国の衛研の多くは病原体サーベイランス検査の実施機関であり、検査定点からの検体の搬入、病原体検査への取り組みおよび検査病原体の偏重や検査方法の好み、感染症情報センターとの連携の仕方など、各衛研独自の流れで取り組まれていて、全国的なあるいは全体的な現状は不明である。感染症法施行 5 年目を迎え、検査の標準化に資するため、まず現状を把握する事を目的として、病原体検査の実態を調査した。

B. 研究方法

資料 1 に調査用紙を示す。全国 76 衛研に調査用紙を郵送配布し、その協力のもとで回答用紙が返送された。調査期間は平成 14 年 11 月 12 日から平成 15 年 1 月 10 日までとした。各衛研の設置母体である都道府県(47、A 群)、政令市(12、B 群)、その他都市(17、C 群)毎に集計し、解析した。

C. 研究結果

1. 感染性胃腸炎病原体検査実態調査(表 1)

表 1 に示すように回収率は A 群 46/47 (98%)、B 群 10/12(83%)、C 群 14/17(82%)、全体で 70/76 (92%)であった。

2. 感染性胃腸炎病原体サーベイランス検査実施状況

検査の実施状況は同様に表 1 に示すが、病原体サーベイランス検査については、A 群 42/46 (91%)、B 群 9/10 (90%)、C 群 7/14 (50%)、全体で 58/70 (83%)であり、C 群の実施が他と比し低率であった。

実施していないのはA群4、B群1、C群7で、そのうちB・C群各1はいかなる目的の感染性胃腸炎病原体検査も行っていない(質1-6)。特別調査研究、食中毒検査については質問8・9との関連で後述する。

A群2で臨床検査を行っているが、その内容は不明である。

その他(質1-5)のマークがA群2、C群2であったがそれぞれA群では自らの調査研究、病院からの検査、C群では保健所の依頼に基づく検査、二類感染症関係者便検査等と記入している。

3. 検査対象病原体(表2)

サーベイランス検査で対象とする病原体別実施率を表2に示す。

特にウイルスはC群1を除き全てで実施されていてA群100%、B群100%、C群86%、全体で98%であった。細菌はA群76%、B群56%、C群71%、全体で72%とウイルスに比し各群低かった。原虫は実施しているのが11(19%)でA群8(19%)、C群3(43%)と著しく低率であった。

4. 検査対象細菌種(表3-1)

検査対象細菌種では調査した細菌ほぼ全ての菌種をカバーしているのがA群81%、B群100%、C群80%と高率であった。そのうち、エルシニア・エロモナス・セレウス等、表3-1欄外に記す菌種まで検査しているのがA群14、B群3、C群3であった。

一部の菌種の検査はA群3、C群1で、ある衛研は細菌性髄膜炎に特化したサーベイランスを行っていた。

5. 腸管出血性大腸菌・下痢原性大腸菌検査実施状況と判定方法(表3-2)

表3-2に検査の実施状況と判定方法を示す。EHEC・EPEC・EIEC・ETECは各群とも高い判定率を示し、A群90%以上、B群100%、C群80%以上であった。一方、EAggECは各群とも低く、A群72%、B群60%、C群40%と今後の検査普及が望まれる。

判定方法では、EHEC・ETECはA・B両群では血清学的、遺伝子学的検査がよく用いられ、C群はETECでの遺伝子学的検査の

利用が若干低い。免疫学的検査はA群では72%以上とよく用いられ、B・C群ではETECで各60%と低かった。

EIEC・EPECは遺伝子学的検査に依存すると考えられるがEIECはA群91%、B群80%と高く、C群は40%と低い。EPECはA群53%、B群20%、C群20%といずれも低い。

血清学的検査のみでの判定がA群38%、B群80%、C群60%全体で19/42(45%)となっており、血清型別での推定が行われていた。

6. 検査対象ウイルスと検査方法

表4-1にはルーチンの方法のまとめを示している。

電顕観察はA群45%、B群67%、C群33%全体で27/57(47%)が実施している。ほぼ全てのウイルスを同定できる衛研は16/27(59%)であり、電顕による鑑別法は有力な方法である。各ウイルスでの判定率は、A群でみるとSRSV(NLV)は100%、ロタウイルス89%、アデノ40/41型74%、アストロウイルス68%と高率に判定されている。

ELISA等はA群69%、B群67%、C群83%全体で40/57(70%)とよく普及している。各ウイルス別の判定率はA群でみると、腸管アデノウイルス40/41型83%、ロタウイルス72%と両ウイルス検出に用いられており、B群・C群も同様である。

ラテックス凝集反応等では市販検査キットの利用率がA群57%、B群22%、C群50%全体で29/57(51%)と約半数で用いられている。ウイルスはロタウイルス・アデノウイルスに限定される。

遺伝子学的検査が最も広く普及していてA群98%、B群56%、C群67%全体で50/57(88%)と高率に用いられている。ウイルス別のA群ではSRSV(NLV)に100%用いられており、B群・C群でも高率に用いられている。

アデノウイルス・エンテロウイルスでは、分離・中和法が用いられA群76%、B群78%、C群17%全体で40/57(70%)であった。分離後の他の同定法としてはPCR・

RFLP・シーケンス・CF 法等が用いられている。また、その他の方法としてロタウイルス・アデノウイルスではイムノクロマト法（市販品）、さらにシーケンサー・RELP等が用いられていた。

追加の方法のまとめを表 4-2 に示す。電顕は 6 衛研で追加方法として用いられていたが、そのうち 3 衛研は電顕観察自体を追加方法とし、他の 3 衛研ではロタウイルス・SRSV (NLV) をルーチンの検査、アストロウイルス・アデノウイルスを追加検査対象としている。

ELISA 等は A 群 26%、B 群 22%、C 群 33% 追加方法として用いている。特に A 群ではアストロウイルス 73%、NLV 36%、腸管アデノウイルス 40/41 型 36% が判定に用いられていた。

遺伝子学的検査では A 群 40%、B 群 56%、全体で 22/51 (43%) で用いられ、ロタウイルス 59%、SLV 53%、アストロウイルス 41% が追加検査として実施していた。

追加方法として分離を行っている 6 衛研では、A 群でロタウイルス同定に PCR・シーケンスが各 1 づつ、腸管アデノウイルス 40/41 型で 2、エンテロウイルスで 1、全 3 衛研が中和試験を行っている。また C 群で 1 衛研がエンテロウイルスの中和試験を行っていた。また 9 衛研で、ラテックス凝集等も、ロタウイルス検査等に用いられていた。

ルーチン検査、追加検査を合せて、調査対象としたウイルス全てを同定できるよう検査法を組合せている衛研が殆どであったが、電顕観察が行われている衛研では他の方法と合せて全て同定できている所が多い。電顕観察が行われていない衛研では一部ウイルスを検査対象としていない所が多く、その中で特に SRSV (SLV)・アストロウイルスは、全体で約半数近くが対象となっていなかった。

7. 検査対象原虫（表 5）

表 2 で示すように原虫検査は A 群 8(19%)、B 群 0、C 群 3 (43%) と極めて低い。検査対象原虫については表 5 の集計を示すが A 群 1 は無記入であった。3 原虫とも対象と

しているのは A 群 6、C 群 1。クリプトスポリジウムとジアルジアを対象としている所は A 群 1。赤痢アメーバを対象としているのは C 群 1 であった。

サーベイランス検査以外の目的で原虫検査を行っていると思われる 7 衛研のうち 3 原虫全てを対象としているのは 3 衛研で、そのうち A 群 1 はサイクロスポーラ、B 群 1 はマラリヤをも対象としていた。

8. 分離病原体の保存（表 6）

分離病原体を凍結保存しているのは A 群 37 (88%)、B 群 8 (89%)、C 群 6 (86%) 全体で 51/58 (88%) と高率であった。

その他に記されたコメントは表 6 欄外に記す。

9. 特別プロジェクト調査研究の実施状況（表 7）

表 1 で特別調査研究の実施は A 群 8、C 群 1 の 9 衛研であった。そのうち質問 8 の回答があったのは 8 衛研であった。表 7 にその集計を示す。

研究期間は 3 年が 5 と多かったが、3 年以上に渡るものが 3 であった。テーマは下痢症ウイルスに関するものが 6、細菌・食中毒に関するものが 2、いずれも疫学的研究が多かった。また、食品に関する研究も 2 含まれている。検体は臨床検体が 8、食品が 2 であった。1 衛研から「サーベイランスの検体が集まらないので特別プロジェクトを行っている」とのコメントがあった。

10. 食中毒検査の実施機関（表 8）

表 1 で示すように A 群・B 群・C 群とも 100% 衛研で食中毒検査を行っている。その内容は表 8 に示すように B 群・C 群では全て衛研で行っており、A 群では全て行っているのが 35%、保健所との分担（衛研で一部の細菌検査か確認検査・ウイルス検査）で行っている所が殆どで 63% を占めている。

11. サーベイランス検査を実施していない理由（表 9）

表 1 で病原体サーベイランス検査を実施していないと回答しているのは A 群 4、B 群

1、C群7の計12衛研であったが、実施していない理由を聞いた質問10の回答があったのはA群0、B群2、C群2の計4衛研のみであった。この4衛研でのサーベイランス検査を実施していない理由を表9に記す。

12. サーベイランス検査についてのコメント (表10)

表10にコメントを示す。

検体採取の困難さが最も多く、特に細菌検査では「サーベイランスを行っていない」「検体が集まらない」等の意見が多かった。定点での検体採取のバイアス、検体採取・搬入では「予算の問題」「宅配の利用」等も指摘されている。また、システム上の問題として「ウイルス性と細菌性の分離」「成人も対象に」「病院での主旨の徹底」等が記されていて、自治体での計画段階での問題で例えば「検査指針に細菌も入っているか」等指摘されている。

D. 考察

感染性胃腸炎病原体サーベイランス検査実態調査を76衛研の協力のもとで行った。回収率は92%で、有効な調査だと思われる。サーベイランス検査はA群91%、B群90%と高率に行われ、C群は50%であった。今回の調査ではどの程度順調で、なおかつ多い検体が採取されているか質的量的な面は考慮されていない。

検査対象病原体でより明確に特徴付けられたのは、病原体サーベイランスの主体はウイルスであり、C群1衛研を除いて全衛研57(98%)でウイルス検査は行われている。細菌検査は42(72%)、原虫検査に至っては11(19%)と極めて低率であった。これは過去からの「衛研サイドの関心」や「人材の問題」、行政サイドの「サーベイランス検査の位置づけの問題」、「定点病院での関心、診断技術や医療保険との関わり」等、複合的要因によるものと考えられる。しかし理想的には、現状の疫学的状況を反映したサーベイランス検査がウイルス、細菌、原虫ともに出来る事であり、もう一度サーベイランスシステム全体について再考する必要がある。

細菌サーベイランス検査を行っている衛研の

うち約80%が調査菌種8種をほぼ全て検査し、そのうち約60%近くがエルシニア・セレウス等その他の菌種も対象にしていた。

下痢原性大腸菌とその判定方法では、全般的にEAggEC以外高率に判定されているようである。ただ、EPECでは遺伝子学的検査も充分普及されておらず、血清型別による推定に未だ依存しているようであった。EPEC・EAggEC検査法の普及が望まれる。

ルーチンのウイルス検査で、最も普及しているのが遺伝子学的検査となっており全体で88%、NLVほぼ100%で用いられている。次いでELISA等免疫学的検査においては全体で70%、A群で見るとアデノウイルス40/41型83%、ロタウイルス72%と広く汎用され、アストロウイルス・アデノウイルス・NLVでも20~40%近く用いられている。

アデノウイルス・エンテロウイルスについては依然、分離-中和法が広く用いられており全体で70%である。電顕観察は全体で47%が実施し、ロタウイルスからアデノウイルスまで、ほぼ全て同定出来るのはそのうち58%にも昇る。6種のウイルスのうち電顕で同定される率がアデノウイルス約60%からNLVの100%に渡っている。

ルーチン検査、追加検査を合せて、電顕観察と他の方法の組合せで、この6種のウイルスの同定を行っている所が多く、電顕観察を行っていない所では、遺伝子学的検査やELISA等と他の方法で6種ウイルスの同定をいくつかの衛研で試みているが、多くはSLV・アストロウイルスが検査対象となっていない。

原虫検査では3病原体とも検査対象としている所が殆んどであるが、原虫サーベイランス検査自体、今後実施できるよう検討を要する。

病原体保存は、病原体サーベイランス検査として重要な機能と考える。この調査では、殆どの衛研が何らかの方法で保存を行っていた。近い将来、検査法のキット化や遺伝子学的検査の進歩で、病原体の分離培養と保存や、検体保存が低下する恐れもあり、現時点で病原体バンクについて衛生微生物協議会等で検討する必要があるのではないかと思われる。

特別調査研究、食中毒検査については結果と重複を避けるが特別調査研究ではサーベイランス検体の収集の困難さを補うためのコメントもあった。

E. 結論

76 衛生研究所の協力を得て、感染性胃腸炎病原体検査の実態調査を行った。病原体サーベイランス検査を実施している衛研は、全体で83%であった。検査対象病原体では、ウイルスはその他都市立衛研 1 を除いた全て実施していた。一方細菌では、検体採取等の問題もあって実施率は低く72%、原虫は19%と著しく低率であった。今後、各病原体の検査方法上の問題も含め、現状の疫学状況を反映し、疫学的エビデンスが得られるような、病原体サーベイランス検査のあり方について検討されることが望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

感染性胃腸炎病原体検査実態調査へのご協力をお願い

日々、研鑽され、益々の御健勝と御活躍の事とお慶び申し上げます。

さて、感染症法施行以来、病原体サーベイランスも着実に進み、公衆衛生上、多くの有益なデータが集積されています。これも、ひとえに、皆様のご尽力の賜で、衛生研究所の機能の結集による成果であり、御同慶の至りです。多種多様な病原体に起因する感染性胃腸炎においても、特に小児ウイルス性胃腸炎やウイルス性食中毒については、進歩が著しく、その実態が明らかと成りつつあります。

一方、細菌、ウイルス、原虫等広範囲な病原体が関与するため、感染性胃腸炎の病原体検査に関してはその取り組みについて、日常苦慮され、各研究所ごと、事情が異なるものと拝察しますが、その実状は不明です。

当調査の目的は、感染性胃腸炎病原体サーベイランスにおける検査の実態を把握する事で、その結果、可及的実行可能な検査プロトコールが模索出来ればと考えています。

なお、この調査は平成14年度厚生労働省・新興再興感染症研究事業「感染症診断・検査手法の精度管理並びに標準化及びその普及に関する研究」班（班長：倉田 毅）の分担研究の一環として行うものであり、全体的解析結果のみ公表し、各研究所個々の内容については守秘とします。

ご多忙の折、ご協力頂きますよう、宜しく申し上げます。なお、12月16日（月）までにご返送頂きますようお願いいたします。皆様の一層のご発展を祈念いたします。

平成14年11月12日

分担研究者
同

愛媛県立衛生環境研究所長 井上 博雄
広島市衛生研究所長 荻野 武雄

お問い合わせ先：

愛媛県立衛生環境研究所：〒790-0003 松山市三番町8丁目234

Tel：089-931-8757

Fax：089-947-1262

ウイルス、原虫関係：微生物試験室長 大瀬戸 光明（内線 120）

(e-mail：oseto-mitsuaki@pref.ehime.jp)

細菌関係：

細菌科長 田中 博（内線 116）

(e-mail：tanaka-hiroshi5@pref.ehime.jp)

感染性胃腸炎病原体検査実態調査

感染性胃腸炎病原体検査について伺います。回答用紙の該当する項目に○を付けてください。複数回答可です。

質問1. 貴研究所では感染性胃腸炎病原体検査を実施していますか？

1. 感染症法に基づく、病原体サーベイランス検査を実施している。
2. 所内（或いは所属自治体内）の特別プロジェクトの調査研究として実施している。（他機関との共同研究を含む。）
3. 食中毒検査は実施している。
4. 臨床診断のための臨床検査として実施している。
5. その他（詳細：)
6. 実施していない。

質問2-7は病原体サーベイランス検査実施機関への質問です。

質問2. 検査対象病原体は何ですか？

1. 細菌
2. ウイルス
3. 原虫
4. その他（詳細：)

質問3. 細菌検査について

3-1. 検査対象細菌種は何ですか？

1. コレラ菌
2. 赤痢菌性
3. 腸チフス菌、パラチフス菌
4. 腸管出血性大腸菌（EHEC）
5. 下痢原性大腸菌（EHECを除く）
6. サルモネラ菌
7. 腸炎ピブリオ
8. カンピロバクター
9. その他（詳細：)

3-2. 腸管出血性大腸菌・下痢原性大腸菌の判定方法はどれですか。実施しているものについて、該当欄に○印を入れてください。

細菌の種類		EHEC	EPEC	EIEC	ETEC	EAggEC
実施可能な大腸菌はどれですか						
判定方法	①血清型別による推定（O抗原等）					
	②免疫学的抗原検査（毒素等）					
	③遺伝子検査（毒素、病原因子等）					
	④その他（細胞変性等具体的に）					

感染性胃腸炎病原体検査実態調査添付資料

図-1 感染性胃腸炎病原体検査フロー

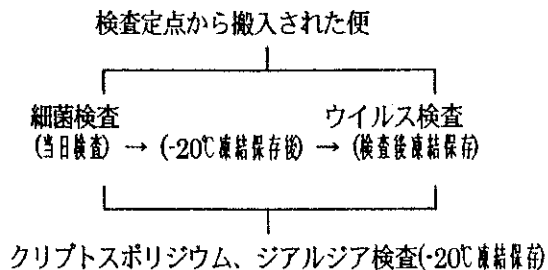


図-2 細菌検査のフロー

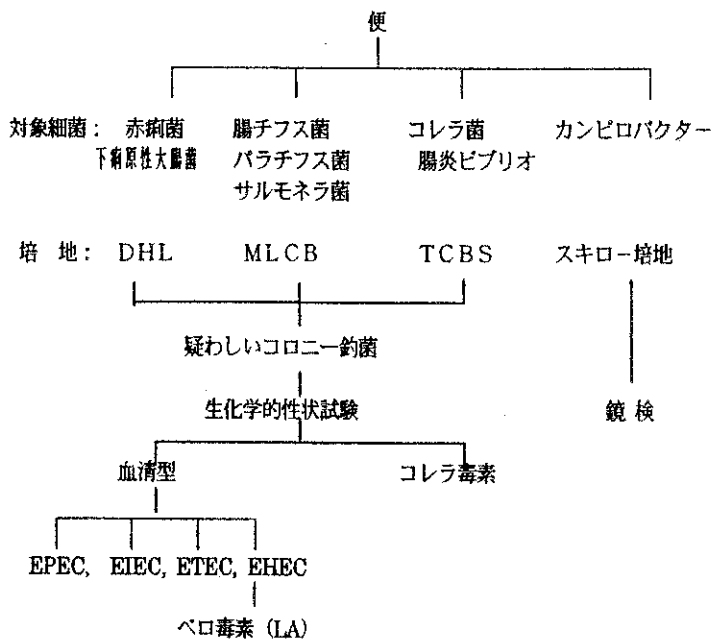


図3(a) ウイルス検査

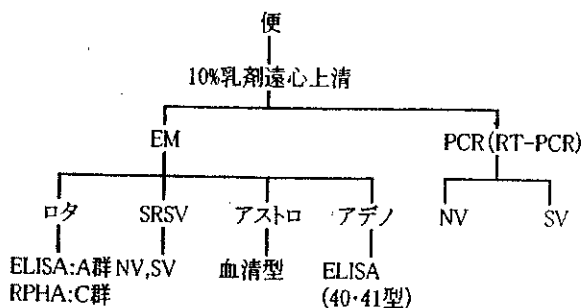


図-3(b) ウイルス検査

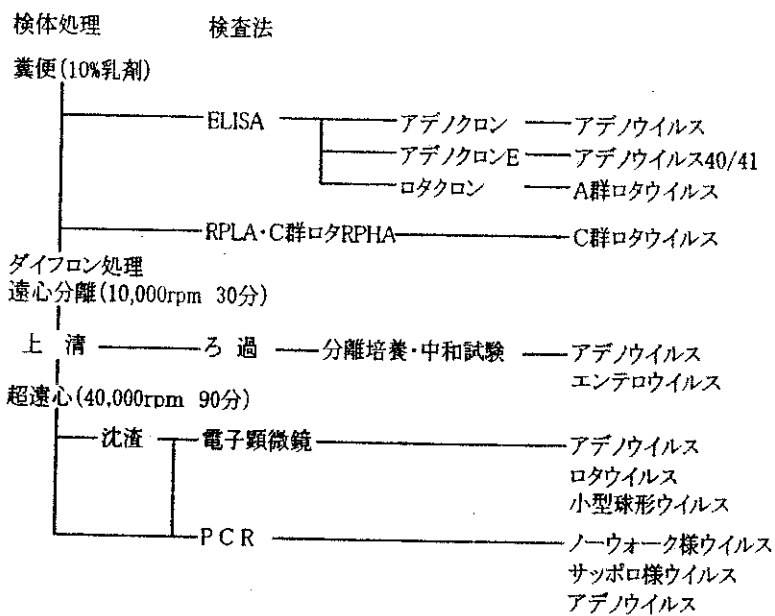
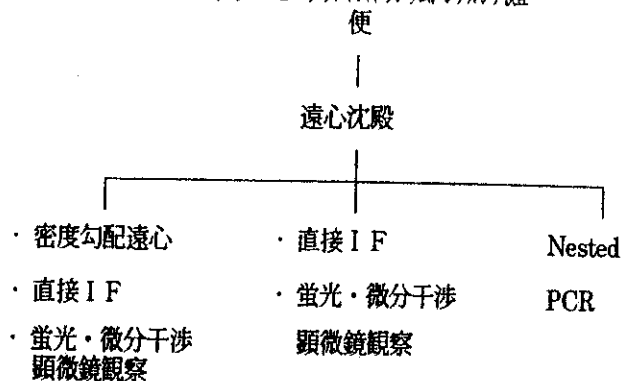


図-4 クリプトスポリジウム、ジアルジア検査



アンケート回答用紙(1)

回答機関名:()

該当項目に○を付けて下さい。(複数回答可)(12月16日までに返送用してください!!)

質問	回答(該当項目に○を)	具体的に記入						
1	1. 2. 3. 4. 5. 6.	5. の場合:						
2	1. 2. 3. 4.	4. の場合:						
3-1	1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9	9. の場合:						
3-2	細菌の種類		EHEC	EPEC	EIEC	ETEC	EAggEC	
	実施可能な大腸菌はどれですか							
	判定方法	①血清型別による推定(0抗原等)						
		②免疫学的抗原検査(毒素等)						
		③遺伝子検査(毒素、病原因子等)						
④その他(細胞変性等具体的に)								
4	検査対象ウイルス		検査方法(○:ルーチンとして行うもの, △:追加で行うもの, *印は具体的にお答え下さい。)					
	電子顕微鏡観察	免疫学的抗原検査			遺伝子検査	分離培養	その他の方法*	
		ELISA	ラテックス凝集	その他*				分離株の同定方法
	1. ロタウイルス							
	2. SRSV (NLV)							
	3. SRSV (SLV)							
	4. アストロウイルス							
	5. 腸管アデノウイルス(40/41型)							
6. 40/41型以外のアデノウイルス								
7. その他のウイルス(具体的に)								
	()							
	()							
	()							
5	1. 2. 3. 4.	4. の場合:						
6	1. 2. 3. 4.	4. の場合:						
8-1								
8-2								
8-3	1. 2. 3. 4.	4. の場合:						
9	1. 2. 3. 4.	4. の場合:						
10	1. 2. 3. 4.	3. の場合:実施機関. 4. の場合:						
11	コメント等:							

表1 感染性胃腸炎病原体検査実態調査

-回収率と実施状況-

回収率: 都道府県46/47(98%, A群)

政令市10/12(83%, B群)

その他都市14/17(82%, C群) 【全70/76(92%)】

	都道府県(A群) N=46	政令市(B群) N=10	その他都市(C群) N=14	計 N=70
1. 病原体サーベイランス	42 (91)	9 (90)	7 (50)	58 (83)
2. 特別調査研究	8 (17)	0	1 (7)	9 (13)
3. 食中毒検査	46 (100)	10 (100)	11 ¹⁾ (100)	67 ¹⁾ (100)
4. 臨床検査	2 (4)	0	0	2 (3)
5. その他	2 (4)	0	2 (14)	4 (6)
6. 実施せず	0	1 (10)	1 (7)	2 (3)

()内は%:以後同じ 1) 区立を除く

表2 検査対象病原体 (:ウイルスはほぼ全て, 細菌は70%が実施)

	都道府県(A群) N=46 n ¹⁾ =42	政令市(B群) N=10 n=9	その他都市(C群) N=14 n=7	計 n=58
1. 細菌	32 (76)	5 (56)	5 (71)	42 (72)
2. ウイルス	42 (100)	9 (100)	6 (86)	57 (98)
3. 原虫	8 (19)	0	3 (43)	11 (19)
4. その他	0	0	0	0

1) n:サーベイランス検査実施衛研数

表3-1 検査対象細菌種 (：ほぼ80%が全てを実施)

- 1.コレラ菌 2.赤痢菌 3.腸チフス、パラチフス菌 4.腸管出血性大腸菌(EHEC)
 5.下痢原性大腸菌(EHECを除く) 6.サルモネラ菌 7.腸炎ピブリオ
 8.カンピロバクター 9.その他

	都道府県(A群) N=46 n _i ¹⁾ =32	政令市(B群) N=10 n _i =5	その他都市(C群) N=14 n _i =5
ほぼ全て検査 ²⁾ (1~7以上)	26 (81)	5 (100)	4 (80)
一部の検査	3 (9)	0	1 (20)
その他のみ ³⁾	2 (6)	0	0
無記入	1 (3)	0	0

- 1) n_i:細菌検査実施衛研数
 2) 1~9まで実施している衛研はA群14, B群3, C群3で,その他の菌種は
 エルシニア, エロモナス, プレジオモナス, セレウス, ウェルシュ, 黄色ブドウ球菌, 溶連菌など
 3) 1衛研は細菌性髄膜炎, 他は検体なし

表3-2 腸管出血性大腸菌・下痢原性大腸菌検査実施状況と判定方法

	都道府県(A群) N=46 n _i =32					政令市(B群) N=10 n _i =5					その他都市(C群) N=14 n _i =5				
	EHEC	EPEC	EIEC	ETEC	EAggEC	EHEC	EPEC	EIEC	ETEC	EAggEC	EHEC	EPEC	EIEC	ETEC	EAggEC
判定実施	31(97)	29(91)	30(94)	30(94)	23(72)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)	3(60)	5(100)	4(80)	4(80)	4(80)	2(40)
血清学的検査	27(84)	28(88)	24(75)	25(78)	11(34)	5(100)	5(100)	4(80)	4(80)	3(60)	5(100)	4(80)	4(80)	4(80)	2(40)
血清学的検査のみ	0	12(38)	1(3)	0	0	0	4(80)	1(20)	0	0	0	3(60)	2(40)	0	1(20)
免疫学的検査	26(81)	1(3)	1(3)	23(72)	1(3)	4(80)	0	0	3(60)	0	5(100)	0	0	3(60)	0
遺伝子学的検査	30(94)	17(53)	29(91)	25(78)	23(72)	4(80)	1(20)	4(80)	4(80)	3(60)	4(80)	1(20)	2(40)	2(40)	1(20)

n_i:細菌検査実施衛研数

表4-1 ウイルス検査：検査対象ウイルスと検査法 — ルーチンの方法 —

A. 電顕観察		都道府県(A群) N=46 n ₂ =42	政令市(B群) N=10 n ₂ =9	その他都市(C群) N=14 n ₂ =6
実施数 (n ₃)		19(45)	6(67)	2(33)
ウイルス	1.口タ	17(89)	4(67)	2
	2.NLV	19(100)	5(83)	2
	3.SLV	15(79)	4(67)	2
	4.アストロ	13(68)	4(67)	2
	5.アデノ40/41	14(74)	3(50)	1
	6.アデノ	11(58)	3(50)	1
	7.その他	1(5)	1(17)	0
ほぼ全て同定(1-5以上)		11(58)	3(50)	2

n₂: ウイルス検査実施 n₃: 当該方法実施 7.: エンテロウイルス

B. ELISA等 EIA		(A群)	(B群)	(C群)
実施数 (n ₃)		29(69)	6(67)	5(83)
ウイルス	1.口タ	21(72)	6(100)	3(60)
	2.NLV	11(38)	1(17)	4(80)
	3.SLV	3(10)	0	0
	4.アストロ	6(21)	1(17)	1(20)
	5.アデノ40/41	24(83)	5(83)	4(80)
	6.アデノ	7(24)	2(33)	0
	1, 5	19(66)	5(83)	3(60)
ほぼ全て同定(1-5以上)		2(7)	0	0

C. ラテックス凝集等 RPHA		(A群) N=46 n ₂ =42	(B群) N=10 n ₂ =9	(C群) N=14 n ₂ =6
実施数 (n ₃)		24(57)	2(22)	3(50)
ウイルス	1.口タ	22(92)	2	2
	5.アデノ40/41	11(46)	1	0
	6.アデノ	8(33)	1	2

D. 遺伝子学的検査		(A群)	(B群)	(C群)
実施数 (n ₃)		41(98)	5(56)	4(67)
ウイルス	1.口タ	1(2)	0	1(25)
	2.NLV	41(100)	5(100)	3(75)
	3.SLV	14(34)	3(60)	0
	4.アストロ	7(17)	0	0
	5.アデノ40/41	1(2)	0	0
	6.アデノ	1(2)	0	0
	7.その他	2(5)	0	0

7.: HAVが1, 他は不明

E. 分離・中和		(A群)	(B群)	(C群)
実施数 (n ₃)		32(76)	7(78)	1(17)
ウイルス	1.口タ	0	1(14)	0
	5.アデノ40/41	5(16)	0	0
	6.アデノ	29(91)	6(86)	1
	7.その他	17(53)	6(86)	1

7.: 全てエンテロウイルス

6.7.: 分離後同定法 PCR,RFLP,シーケンス,CF等

F. その他の方法

イムノクロマト法(1,5,6)

シーケンサー, RFLP等