

「患者と調理従事者等から検出されたウイルスの遺伝子型が同一であることを確認することが求められ、シークエンス解析が行政的にも必要となってきた。一方、食品流通の国際化、大規模化、広域化に伴いノロウイルスの原材料汚染による広域散発食中毒事例の発生も危惧され、その探知に有効な実験室内解析手法は塩基配列の比較であると考えられる。現在、**CaliciWeb**に求められている最も重要な機能は、全国で検出されたノロウイルスの塩基配列データを迅速に収集し、比較・解析するシステムである。しかし、本研究では、データ登録の際に生じるセキュリティの問題、解析ツールを組み込むことによるWebページ構築の複雑化を避け、データベースに特化したページ構成を行ってきた。この簡略化により、データベースの公開にこぎ着けたが、今後は、既存のWeb上解析ツール、例えばDDBJ上にある**Clustal W**などの活用、国立感染症研究所情報センターが行っている病原微生物検出情報と情報共有ができるよう、総合情報サイトとして再構築を進める必要がある。

D. 結論

1. オートパイロットプログラムによる、DDBJからのカリシウイルスデータの収集を行って構築したサブデータベースへのリンクを貼ったカリシウェブフロントページデザインを行った。
2. 衛生研究所のデータベースに関する要望に添ったカリシウェブの骨格デザインを完成させた。

E. 研究業績

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ishida S, Yoshizumi S, Miyoshi M, Ikeda T, Okui T, Katayama K, Takeda N, Oka T. Characterization of sapovirus strains in outbreaks in Hokkaido, Japan. *Jpn J Infect Dis* 61: 504-6, 2008

2. Motomura K, Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H. Identification of monomorphic and divergent haplotypes in the 2006-2007 norovirus GII/4 epidemic population by genomewide tracing of evolutionary history. *J Virol* 82: 11247-62, 2008.
3. Wu FT, Oka T, Takeda N, Katayama K, Hansman GS, Muo CH, Liang SY, Hung CH, Dah-Shyong Jiang D, Hsin Chang J, Yang JY, Wu HS, Yang CF. Acute gastroenteritis caused by GI/2 sapovirus, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 14: 1169-71, 2007
4. Oka T, Yamamoto M, Yokoyama M, Ogawa S, Hansman GS, Katayama K, Miyashita K, Takagi H, Tohya Y, Sato H, Takeda N. Highly conserved configuration of catalytic amino acid residues among calicivirus-encoded proteases. *J Virol* 81: 6798-806, 2007.
5. Hansman GS, Sano D, Ueki Y, Imai T, Oka T, Katayama K, Takeda N, Omura T. Sapovirus in water, Japan. *Emerg Infect Dis* 13: 133-5, 2007
6. Guix, S., Asanaka, M., Katayama K, Crawford, S. E., Neill, F. H., Atmar, R. L., Estes, M. K. Norwalk Virus RNA is infectious in mammalian cells. *Journal of Virology* 81:12238-12248, 2007
7. Sharp, T. and the host researcher Katayama, K. Research Report of JSPS Summer program 2007: 123-124, 2007.
8. Hansman, G. ., Oka, T., Katayama, K.

- Takeda, N. Human sapoviruses: genetic diversity, recombination, and classification. *Reviews in medical virology* 17:133-141, 2007.
9. 吉田敬也、粕尾しず子、畔上由佳、宮澤衣鶴、小林正人、白石 崇、岡 智一郎、片山和彦、武田直和 長野県内で発生したサポウイルスによる集団感染性胃腸炎の2事例 IASR Vol. 29 p. 129-132: 2008.
 10. 大塚有加、近藤玲子、市川高子、山下育孝、大瀬戸光明、関谷安正、上田哲郎、芝 信明、岡 智一郎、片山和彦、武田直和 結婚式場におけるサポウイルスを原因とする食中毒事例-愛媛県IASR Vol. 29 p. 198-200: 2008.
 11. 片山和彦 「ノロウイルス感染症を予防するには“冬に流行する感染性胃腸炎”」婦人の友 第102巻 第16号 通巻1267号 p158-161. 2008
 12. 片山和彦 「ノロウイルス感染症」チャイルドヘルス 特集：詳しく知りたい冬のウイルス感染症 vol. 11, no. 11 p25-29, 2008.
 13. 片山和彦 ノロウイルス感染症の検査とその意義 アボット感染症アワー <http://radio848.rs.jp.net/abbott/> 2007.
 14. 片山和彦 ノロウイルスの遺伝子型 IASR, <http://idsc.nih.go.jp/pathogen/refer/noro-kaisetu1.html> 2007
 15. 片山和彦 ノロウイルス複製系における最近の知見 IASR Vol. 28 p 293-294 : 2007
 16. 片山和彦、岡部信彦 感染症の話、ノロウイルス感染症 IDWR, http://idsc.nih.go.jp/idwr/kansen/k04/k04_11/k04_11.html 2004, 2007 改訂
 17. 片山和彦 養護教諭のなんでも質問箱 ノロウイルスについて 「心と体の健康」, Vol.11 No.117 Nov. p86-88, 2007.
 18. 本村和嗣, 岡智一郎, 中村浩美, 守宏美, Hansman Grant, 横山勝, 片山和彦, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳 「2006 秋冬期シーズンに流行したノロウイルス GII/4 株のゲノム解析」病原体微生物情報 (IASR) 10 月号 p3-p4 2007.
 19. 片山和彦 ウイルス感染症-最新の動向 ノロウイルス感染症 臨床検査 vol.53 p70-76:2009
 20. 片山和彦 特集=感染症をめぐるトピックス ノロウイルス感染症の対策と治療 MEDICAMENT NEWS 1969号 : 2009
- ## 2. 学会発表
1. 岡 智一郎、山本 真民、宮下 佳奈、グラント・ハンスマン、片山 和彦、脇田 隆字、武田 直和「ネコカリシウイルスプロテアーゼのトランス切断活性の検討」第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会 平成19年12月 横浜
 2. 岡 智一郎、片山 和彦、宮下 佳奈、山本 真民、ハンスマン グラント、脇田隆字、武田 直和「サポウイルスプロテアーゼのトランス切断活性」日本薬学会第128年会、2008年3月、横浜
 3. 片山和彦「ノロウイルスの感染症の基礎」第82回日本感染症学会総会シンポジウム ノロウイルス感染症の最前線 平成20年4月17-18日 島根県松江市
 4. Oka T, Iwakiri A, Yamamoto S, Katayama K, Wakita T, and Takeda N. Sequential

- analysis of fecal sapovirus shedding. 第14回国際ウイルス学会、2008年8月10-15日、トルコ (イスタンブール)
5. Oka T, Yamamoto M, Miyashita K, Katayama K, Wakita T, and Takeda N. Role of amino acid residues located upstream from cleavage site on sapovirus ORF1 polyprotein processing. 第14回国際ウイルス学会、2008年8月10-15日、トルコ (イスタンブール)
 6. Kazuhiko Katayama, Grant S. Hansman, Tomoichiro Oka, Yoshiyuki Suzuki, Takaji Wakita and Naokazu Takeda. The newly identified human Norovirus strain HK299 may be recombinant between genogroup. 第14回国際ウイルス学会、2008年8月10-15日、トルコ (イスタンブール)
 7. Tomoichiro Oka, Masaru Yokoyama, Kazuhiko Katayama, Mami Yamamoto, Kana Miyashita, Satoko Ogawa, Kazushi Motomura, Hiroshi Tsunemitsu, Takaji Wakita, Hironori Sato, and Naokazu Takeda. Substrate specificities of calicivirus-encoded 3C-like proteases. The Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases 2008年10月6日 ベトナム (ハノイ)
 8. 片山和彦, 岡智一郎, 脇田隆字, 武田直和「ノロウイルスプロテアーゼを利用したノロウイルスリバースジェネティクスシステムの制御」第81回日本生化学会大会・第31回日本分子生物学会年会合同大会 2008年12月9日 (火) ~12日 (金) 神戸ポートアイランド
 9. 片山和彦, 村上耕介, 鈴木さやか, 岡島徹也, 瀧野大太, 岡智一郎, 松田幹「ノロウイルス・ウイルス様粒子 (VLPs) のヒト腸上皮様Caco-2細胞への結合様式とウシ初乳のVLPs結合抑制効果」第81回日本生化学会大会・第31回日本分子生物学会年会合同大会 2008年12月9日 (火) ~12日 (金) 神戸ポートアイランド
 10. 岡智一郎, 横山勝, 片山和彦, 恒光裕, 山本真民, 宮下佳奈, 本村和嗣, 脇田隆字, 佐藤裕徳, 武田直和「カリシウイルスプロテアーゼの活性発現に重要なアミノ酸残基の解析」第81回日本生化学会大会・第31回日本分子生物学会年会合同大会2008年12月9日 (火) ~12日 (金) 神戸ポートアイランド
 11. 横山勝, 岡智一郎, 片山和彦, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳「カリシウイルスプロテアーゼ分子モデルによる基質認識の解析」第81回日本生化学会大会・第31回日本分子生物学会年会合同大会2008年12月9日 (火) ~12日 (金) 神戸ポートアイランド
 12. 片山和彦, 岡智一郎, 脇田隆字, 武田直和「リバースジェネティクスを利用したノロウイルスの病原性発現機構の解析」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
 13. 片山和彦「ノロウイルスのリバースジェネティクスシステムとその展望」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
 14. 高木弘隆, 遠矢幸伸, 片山和彦, 岡智一郎, 武田直和, 杉山和良「国内で分離されたマウスノロウイルスの安定性および消毒剤に対する感受性の検討」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
 15. 岡智一郎, 横山勝, 片山和彦, 恒光裕, 山本真民, 宮下佳奈, 本村和嗣, 守宏美, 中村浩美, 脇田隆字, 佐藤裕徳, 武田直和「カリシウイルスプロテアーゼの基質認識に影響する切断部位上流アミノ酸残基の解析」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
 16. 横山勝, 岡智一郎, 片山和彦, 山本真民, 宮下佳奈, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳「サポウイルスプロテアーゼの基質認識に関わるアミノ酸残基の解析」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
 17. 北島正章, 岡智一郎, 片山和彦, 原本英司,

片山浩之、武田直和、大垣眞一郎「河川中のノロウイルスを指標にした地域流行株の把握」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山

理従事者を対象としたノロウイルスの網羅的検出調査」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山

18. 吉田徹也、粕尾しず子、畔上由佳、内山友里恵、薩摩林一代、白石崇、岡智一郎、片山和彦、武田直和「長野県内で発生したサポウイルスによる集団感染性胃腸炎の2事例」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
19. 本村和嗣、横山勝、岡智一郎、中村浩美、守宏美、Hansman Grant、片山和彦、田中智之、真崎宏則、星野和彦、藤本恭、秋山美穂、木村博一、神田忠仁、武田直和、佐藤裕徳「ノロウイルスの免疫淘汰と周期的流行の分子機序」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
20. 原田誠也、岡田峰幸、岡智一郎、八尋俊輔、西村浩一、松尾繁、中島龍一、篠崎邦子、片山和彦、武田直和「サポウイルスによる散发性下痢症の地域流行-熊本-」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
21. 植木洋、庄司美加、山本美和子、阿部勝彦、伊藤文明、池田義文、西尾治、岡智一郎、片山和彦、武田直和、野田衛「カキを用いたサポウイルスの環境調査」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
22. 飯塚節子、岡智一郎、片山和彦、武田直和、野田衛「サポウイルスとノロウイルスが検出された食中毒事例」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
23. 岩切章、山本正悟、岡智一郎、片山和彦、武田直和「リアルタイムRT-PCR法を用いた急性胃腸炎患者糞便中のサポウイルス排泄期間の解析」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
24. 小澤一弘、岡智一郎、片山和彦、本村和嗣、中村浩美、守宏美、佐藤裕徳、武田直和「調

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

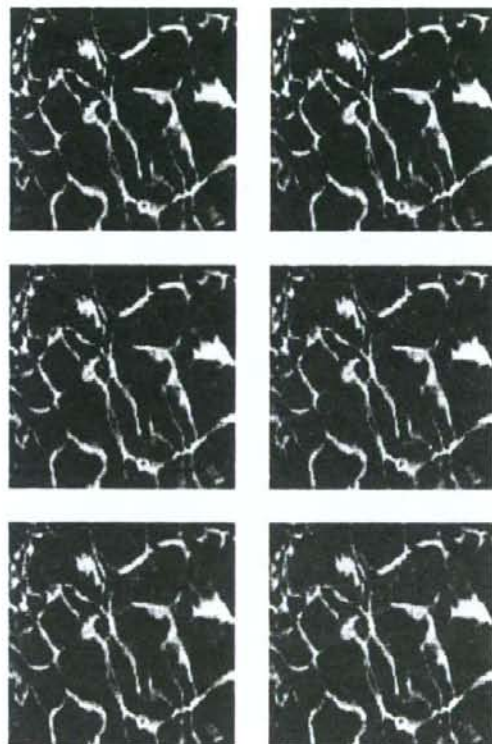
2. 実用新案登録

なし

3. その他

CaliciWeb

[Contents](#) / [News](#) / [Database](#) / [Analyze](#) / [Tools](#) / [Forum](#) / [Links](#)



このページは、カリシウイルスの遺伝子解析のために、厚生労働省科学研究費の補助を受け、国立感染症研究所 (NIID) ウイルス第2部と札幌医科大学衛生学教室によって構築されました。

Copyright © -- NIID & Sapporo Medical Univ. -- All rights reserved.

カリシウェブを利用した Norovirus 遺伝子型分類法の標準化

研究分担者 片山和彦、染谷雄一（国立感染症研究所ウイルス第二部）

要旨 ノロウイルス (NoV) の遺伝子型を判定するためには、分子系統解析が必須である。しかし、遺伝子型の判定基準の策定は、未だ模索の段階にある。本研究では、NoV の遺伝子型判定基準の策定を行うために、カリシウイルス科におけるノロウイルスの分子遺伝学的特徴の解析を目的として、カリシウェブより完全長ゲノム塩基配列の報告されているカリシウイルス株を集め、ゲノム全長を対象とした分子遺伝学的解析を実施した。

研究協力者 鈴木 義幸 (国立遺伝学研究所)、
三瀬 敬治 (札幌医科大学・医学部・衛生学)

A. 研究目的

ノロウイルス (NoV) は、約 7500 塩基のプラス一本鎖 RNA をゲノムに持つウイルスである。NoV のゲノムには 3 つの蛋白質コード領域 (open reading frame; ORF) が存在しており、ORF1; 非構造蛋白質、ORF2; 構造蛋白質 1 (VP1)、ORF3; 構造蛋白質 2 (VP2) をコードしている。NoV のゲノム塩基配列は多様性に富んでおり、ゲノム塩基配列の相同性に基づきいくつかのグループ、遺伝子型に分類されている。これまでに、非構造蛋白質の RNA 依存性 RNA 合成酵素 (RNA dependent RNA polymerase, RdRp もしくは polymerase) をコードする領域を用いた遺伝子型分類や、VP1 領域を用いた遺伝子型分類が報告されている。特に我々の構築した VP1 領域を用いた遺伝子型分類は、NoV 粒子の抗原性をよく反映するため、遺伝子型分類の主流となってきた。

最近、流行の主流を担っている NoV は、VP1 領域のタイピングによって GII/4 に分類されるウイルスである。オランダの研究グループは、この GII/4 を細分化するため RdRp 領域を用いたタイピングを行い、流行株を区別している。彼らは、RdRp の遺伝子

配列の違いが NoV の複製効率に関与し流行株出現の一因となる可能性を示唆し、RdRp によるタイピングを推進しようとしている)。NoV は RdRp 領域と VP1 領域の間でゲノムの組換え (リコンビネーション) を起こすことが知られている。この領域は ORF1,2 junction と呼ばれており、リコンビネーションのホットスポットとして認知されている。NoV のゲノムリコンビネーションは、NoV の宿主への適合やウイルス病原性の変化等を理解する上で重要な現象だが、NoV の遺伝子型分類を混沌とした状態に陥れている。リコンビナント株は ORF1,2 junction 上流の RdRp 領域を用いた遺伝子型分類と、下流の VP1 領域を用いた遺伝子型分類で異なる結果を与えるためである。

NoV は、現在までに VP1 領域の遺伝子型分類を用いて、すでに 36 種類以上のタイプが報告されているが、さらに新たな遺伝子型の発見報告が続いている。しかし、新たな遺伝子型を定義する共通の決まりがなく、研究者は、独自の方法で、新たな遺伝子型を判定し、独自に命名した遺伝子型番号を付けるため、NoV の遺伝子型分類そのものが混沌とした状況に陥っている。そこで、本研究では、NoV の遺伝子型判定基準の策定を行う事を目的として、カリシウイルス科におけるノロウイルスの分子遺伝学的

特徴の解析を目的として、カリシウェブより完全長ゲノム塩基配列の報告されているカリシウイルス株を集め、ゲノム全長を対象とした分子遺伝学的解析を実施した。

B. 材料と方法

国際ウイルス命名委員会 (International Committee on Taxonomy of Viruses; ICTV、<http://www.ICTVonline.org/index.asp>) のウイルスデータベース; ICTVdBの、カリシウイルスの項目 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/12000000.htm>) に、カリシウイルス科に属するウイルス属として定義されている 4 つのウイルス属 (genus)、*Vesivirus*, *Lagovirus*, *Sapovirus*, *Norovirus* のゲノム全長塩基配列を対象として解析を行った。CaliciWebデータベースより、キーワード "Calicivirus"、検索条件塩基配列長 5000nt 以上で検索を実行し、ピックアップされた塩基配列データから得た 121 株を用いた。ゲノム全長配列データに付随したcds情報から、ゲノムを非構造蛋白質コード領域と、構造蛋白質コード領域に分け、それぞれをアミノ酸配列に変換した後、clustal W でアライメントした。分子系統解析は、p distance + NJ (1000 bootstrap resamplings) によって行った。

C. 結果及び考察

得られた非構造蛋白質領域 (nonstructural proteins) の分子系統樹を左側に、構造蛋白質領域 (structural proteins (VP1 + VP2)) の分子系統樹を右側に示した (図)。非構造蛋白質領域と構造蛋白質領域の系統樹を bootstrap probability > 95% の部分のみを対象として比較したところ、nebovirus では、AY082891, sapovirus では、AY237420, AY237420, AY603425, AY646855 の祖先配列、norovirus では、AB081723、更に、(AB045603, AB044366, AB039775, U07611, AY772730, AF504671, AY237415, DQ456824, DQ366347, AY134748, AB083780, AB039781, AB039782, AB365435) の 14 配列の間においてゲノムの組換えが示唆された。

また、非構造蛋白質領域で作成された系統樹と構造蛋白質領域を更に VP1 と VP2 に分け、そのうちの VP1 だけで作成された系統樹と比較することによっても得られた。更に、図には示さないが、VP1 の N-terminal 領域の核酸配列 (従来より、Capsid N/S 領域と名付けられ、核酸塩基配列を用いた NoV の遺伝子型分類に用いられてきた領域) を用いた解析でも、同様の結果が得られた。従って、構造蛋白質領域 (VP1 + VP2) の系統樹、VP1 だけの系統樹、VP2 だけの系統樹、の 3 者の間で矛盾はなく、更に Capsid N/S 領域の塩基配列を用いた系統樹とも矛盾がなく、非構造蛋白質コード領域と構造蛋白質コード領域のジャンクション領域でゲノムの組換えが起きていることが証明された。このゲノムの組換えは、今まで報告されていた Norovirus や Sapovirus だけの特徴ではなく、カリシウイルス全体に観察される現象であることが示唆された。

D. 結論

1. Capsid N/S 領域の塩基配列を用いた遺伝子型分類は、VP1 全長アミノ酸配列を用いた分類と矛盾を生じなかった。
2. 非構造蛋白質コード領域と構造蛋白質コード領域のジャンクション領域に認められるゲノムの組換えは、Norovirus、Sapovirus のみならず、カリシウイルス全体に認められる現象である可能性が高い。
3. カリシウイルスの遺伝子型分類は、非構造蛋白質コード領域と構造蛋白質領域で異なる結果を導くことがある。
4. 非構造蛋白質のアミノ酸配列とウイルスの病原性に関係がある場合、また、非構造蛋白質領域が宿主域の決定に関係する場合は、これらに関与する蛋白質コード領域を対象とした遺伝子型分類法を構築し、標準化する必要がある。

E. 研究業績

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ishida S, Yoshizumi S, Miyoshi M, Ikeda T, Okui T, Katayama K, Takeda N, Oka T. Characterization of sapovirus strains in outbreaks in Hokkaido, Japan. *Jpn J Infect Dis* 61: 504-. 2008
2. Motomura K, Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H. Identification of monomorphic and divergent haplotypes in the 2006-2007 norovirus GII/4 epidemic population by genomewide tracing of evolutionary history. *J Virol* 82: 11247-62. 2008.
3. Wu FT, Oka T, Takeda N, Katayama K, Hansman GS, Muo CH, Liang SY, Hung CH, Dah-Shyong Jiang D, Hsin Chang J, Yang JY, Wu HS, Yang CF. Acute gastroenteritis caused by GI/2 sapovirus, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 14: 1169-71. 2007
4. Oka T, Yamamoto M, Yokoyama M, Ogawa S, Hansman GS, Katayama K, Miyashita K, Takagi H, Tohya Y, Sato H, Takeda N. Highly conserved configuration of catalytic amino acid residues among calicivirus-encoded proteases. *J Virol* 81: 6798-806. 2007.
5. Hansman GS, Sano D, Ueki Y, Imai T, Oka T, Katayama K, Takeda N, Omura T. Sapovirus in water, Japan. *Emerg Infect Dis* 13: 133-5. 2007
6. Guix, S., Asanaka, M., Katayama K, Crawford, S. E., Neill, F. H., Atmar, R. L., Estes, M. K. Norwalk Virus RNA is infectious in mammalian cells. *Journal of Virology* 81:12238-12248. 2007
7. Sharp, T. and the host researcher Katayama K. Research Report of JSPS Summer program 2007: 123-124. 2007.
8. Hansman, G. ., Oka, T., Katayama K, Takeda, N. Human sapoviruses: genetic diversity, recombination, and classification. *Reviews in medical virology* 17:133-141, 2007.
9. 吉田徹也、粕尾しず子、畔上由佳、宮澤衣鶴、小林正人、白石 崇、岡 智一郎、片山和彦、武田直和 長野県内で発生したサポウイルスによる集団感染性胃腸炎の2事例 IASR Vol. 29 p. 129-132: 2008.
10. 大塚有加、近藤玲子、市川高子、山下育孝、大瀬戸光明、関谷安正、上田哲郎、芝 信明、岡 智一郎、片山和彦、武田直和 結婚式場におけるサポウイルスを原因とする食中毒事例 -愛媛県 IASR Vol. 29 p. 198-200: 2008.
11. 片山和彦 「ノロウイルス感染症を予防するには “冬に流行する感染性胃腸炎”」 婦人の友 第102巻 第16号 通巻1267号 p158-161. 2008
12. 片山和彦 「ノロウイルス感染症」 チャイルドヘルス 特集：詳しく知りたい冬のウイルス感染症 vol.11, no.11 p25-29, 2008.
13. 片山和彦 ノロウイルス感染症の検査とその意義 アポット感染症アワー <http://radio848.rs.jp.net/abbott/> 2007.
14. 片山和彦 ノロウイルスの遺伝子型 IASR, <http://idsc.nih.go.jp/pathogen/refer/noro-kaisetu1.html> 2007

15. 片山和彦 ノロウイルス複製系における最近の知見 IASR Vol. 28 p 293-294 : 2007
16. 片山和彦、岡部信彦 感染症の話、ノロウイルス感染症 IDWR, http://idsc.nih.go.jp/idwr/kansen/k04/k04_11/k04_11.html 2004, 2007 改訂
17. 片山和彦 養護教諭のなんでも質問箱 ノロウイルスについて 「心と体の健康」, Vol.11 No.117 Nov. p86-88, 2007.
18. 本村和嗣, 岡智一郎, 中村浩美、守宏美、Hansman Grant, 横山勝, 片山和彦、神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳 「2006 秋冬期シーズンに流行したノロウイルス GII/4 株のゲノム解析」病原体微生物情報 (IASR) 10 月号 p3-p4 2007.
19. 片山和彦 ウイルス感染症-最新の動向 ノロウイルス感染症 臨床検査 vol.53 p70-76:2009
20. 片山和彦 特集=感染症をめぐるトピックス ノロウイルス感染症の対策と治療 MEDICAMENT NEWS 1969号 : 2009
2. 学会発表
1. 岡 智一郎、山本 真民、宮下 佳奈、グラント・ハンスマン、片山 和彦、脇田 隆字、武田 直和 「ネコカリシウイルスプロテアーゼのトランス切断活性の検討」第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会 平成19年12月 横浜
2. 岡 智一郎、片山 和彦、宮下 佳奈、山本真民、ハンスマン グラント、脇田隆字、武田 直和 「サボウイルスプロテアーゼのトランス切断活性」日本薬学会第128年会、2008年3月、横浜
3. 片山和彦 「ノロウイルスの感染症の基礎」第82回日本感染症学会総会シンポジウム ノロウイルス感染症の最前線 平成20年4月17-18日 島根県松江市
4. Oka T, Iwakiri A, Yamamoto S, Katayama K, Wakita T, and Takeda N. Sequential analysis of fecal sapovirus shedding. 第14回国際ウイルス学会、2008年8月10-15日、トルコ (イスタンブール)
5. Oka T, Yamamoto M, Miyashita K, Katayama K, Wakita T, and Takeda N. Role of amino acid residues located upstream from cleavage site on sapovirus ORF1 polyprotein processing. 第14回国際ウイルス学会、2008年8月10-15日、トルコ (イスタンブール)
6. Kazuhiko Katayama, Grant S. Hansman, Tomoichiro Oka, Yoshiyuki Suzuki, Takaji Wakita and Naokazu Takeda. The newly identified human Norovirus strain HK299 may be recombinant between genogroup. 第14回国際ウイルス学会、2008年8月10-15日、トルコ (イスタンブール)
7. Tomoichiro Oka, Masaru Yokoyama, Kazuhiko Katayama, Mami Yamamoto, Kana Miyashita, Satoko Ogawa, Kazushi Motomura, Hiroshi Tsunemitsu, Takaji Wakita, Hironori Sato, and Naokazu Takeda. Substrate specificities of calicivirus-encoded 3C-like proteases. The Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases 2008年10月6日 ベトナム (ハノイ)
8. 片山和彦、岡智一郎、脇田隆字、武田直和 「ノロウイルスプロテアーゼを利用したノロウイルスリバースジェネティクスシステムの制御」第81回日本生化学会大会・第31回日本分子生物学会年会合同大会 2008年12月9日 (火) ~12日 (金) 神戸ポートアイランド
9. 片山和彦、村上耕介、鈴木さやか、岡島徹也、

- 瀬野大太、岡 智一郎、松田 幹「ノロウイルス・ウイルス様粒子 (VLPs) のヒト腸上皮様 Caco-2 細胞への結合様式とウシ初乳の VLPs 結合抑制効果」第 81 回日本生化学会大会・第 31 回日本分子生物学会年会合同大会 2008 年 12 月 9 日 (火) ~12 日 (金) 神戸ポートアイランド
10. 岡 智一郎、横山 勝、片山 和彦、恒光 裕、山本 真民、宮下 佳奈、本村和嗣、脇田 隆字、佐藤 裕徳、武田 直和「カリシウイルスプロテアーゼの活性発現に重要なアミノ酸残基の解析」第81回日本生化学会大会・第31回日本分子生物学会年会合同大会2008年12月9日(火)~12日(金)神戸ポートアイランド
11. 横山 勝、岡 智一郎、片山 和彦、神田 忠仁、武田 直和、佐藤 裕徳「カリシウイルスプロテアーゼ分子モデルによる基質認識の解析」第81回日本生化学会大会・第31回日本分子生物学会年会合同大会2008年12月9日(火)~12日(金)神戸ポートアイランド
12. 片山和彦、岡智一郎、脇田隆字、武田直和「リパースジェネティクスを利用したノロウイルスの病原性発現機構の解析」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
13. 片山和彦「ノロウイルスのリパースジェネティクスシステムとその展望」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
14. 高木弘隆、遠矢幸伸、片山和彦、岡智一郎、武田直和、杉山和良「国内で分離されたマウスノロウイルスの安定性および消毒剤に対する感受性の検討」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
15. 岡 智一郎、横山 勝、片山 和彦、恒光 裕、山本 真民、宮下 佳奈、本村 和嗣、守宏美、中村浩美、脇田隆字、佐藤裕徳、武田直和「カリシウイルスプロテアーゼの基質認識に影響する切断部位上流アミノ酸残基の解析」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
16. 横山勝、岡智一郎、片山和彦、山本真民、宮下佳奈、神田忠仁、武田直和、佐藤裕徳「サポウイルスプロテアーゼの基質認識に関わるアミノ酸残基の解析」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
17. 北島正章、岡智一郎、片山和彦、原本英司、片山浩之、武田直和、大垣真一郎「河川中のノロウイルスを指標にした地域流行株の把握」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
18. 吉田徹也、粕尾しず子、畔上由佳、内山友里恵、薩摩林一代、白石崇、岡智一郎、片山和彦、武田直和「長野県内で発生したサポウイルスによる集団感染性胃腸炎の2事例」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
19. 本村和嗣、横山勝、岡智一郎、中村浩美、守宏美、Hansman Grant、片山和彦、田中智之、真崎宏則、星野和彦、蒔本恭、秋山美穂、木村博一、神田忠仁、武田直和、佐藤裕徳「ノロウイルスの免疫淘汰と周期的流行の分子機序」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
20. 原田誠也、岡田峰幸、岡智一郎、八尋俊輔、西村浩一、松尾繁、中島龍一、篠崎邦子、片山和彦、武田直和「サポウイルスによる散発性下痢症の地域流行-熊本-」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
21. 植木洋、庄司美加、山本美和子、阿部勝彦、伊藤文明、池田義文、西尾治、岡智一郎、片山和彦、武田直和、野田衛「カキを用いたサポウイルスの環境調査」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
22. 飯塚節子、岡智一郎、片山和彦、武田直和、野田衛「サポウイルスとノロウイルスが検出された食中毒事例」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山

23. 岩切章、山本正悟、岡智一郎、片山和彦、武田直和「リアルタイムRT-PCR法を用いた急性胃腸炎患者糞便中のサポウイルス排泄期間の解析」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山
24. 小澤一弘、岡智一郎、片山和彦、本村和嗣、中村浩美、守宏美、佐藤裕徳、武田直和「調理従事者を対象としたノロウイルスの網羅的検出調査」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月、岡山

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

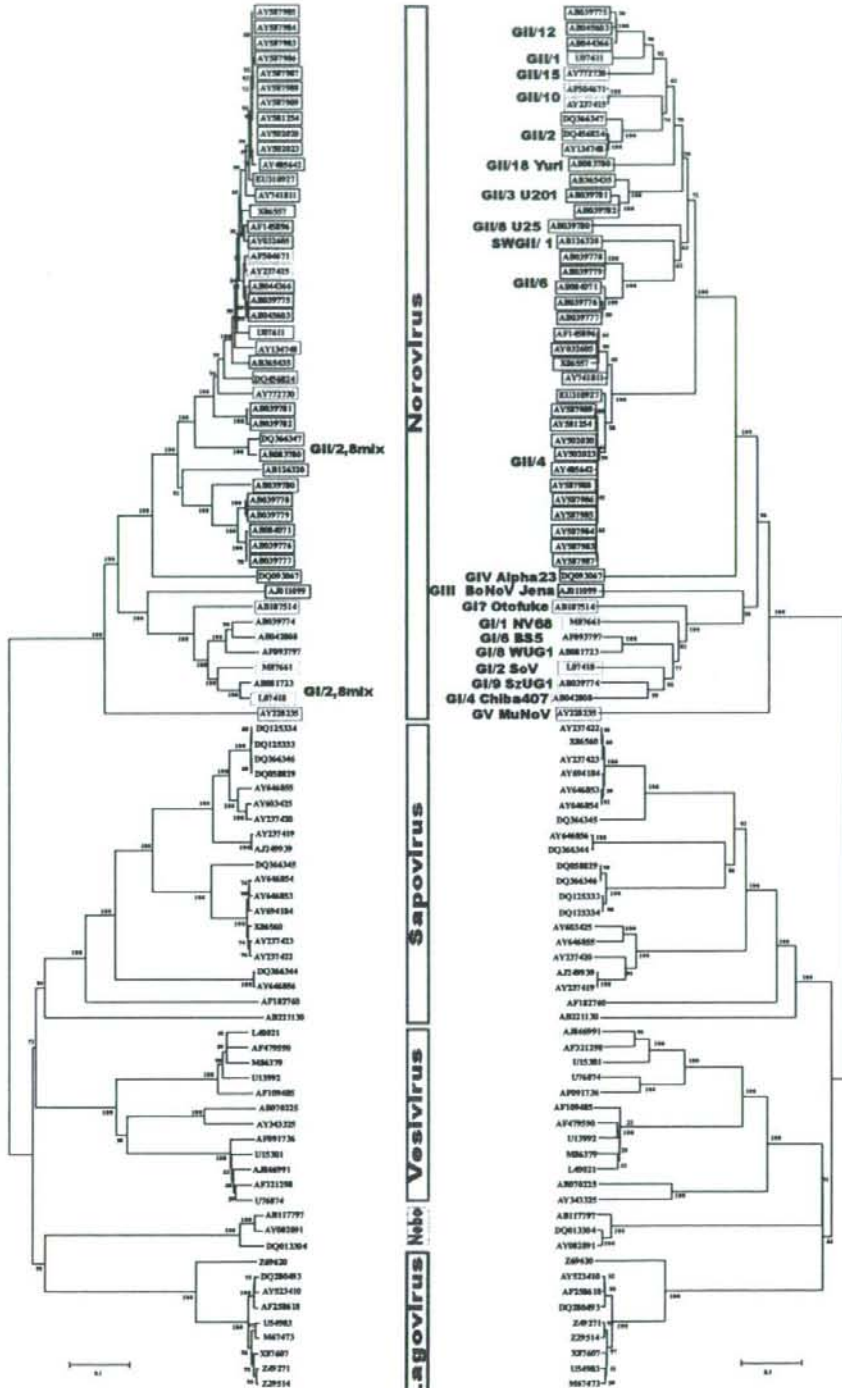
2. 実用新案登録

なし

3. その他

Non-structural

Structural



平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業
「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」
平成 20 年度分担報告書

迅速診断検査法による原因不明の感染性胃腸炎検体における
クリプトスポリジウムならびにジアルジアの検出

研究分担者： 八木田 健司 国立感染症研究所 寄生動物部

研究協力者： 浅野 由紀子 愛媛県衛生研究所 衛生研究課
佐々木 美江 宮城県保健環境センター 微生物部
村上 光一 福岡県保健環境研究所 保健科学部
板垣 匡 岩手大学農学部 応用獣医
泉山 信司 国立感染症研究所 寄生動物部

概要

前年度に引き続き、感染症発生動向調査において原因不明とされた感染性胃腸炎検体に関して、迅速診断キットを用いたクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出を試みた。また同一検体に対する検査キットの種類による性能比較も行った。検査キットの性能に関しては、同一検体でも結果にはキット間に差が認められ、検査に求められる感度、特異性、またコストの点から適切な選択が必要と考えられた。発生動向調査への利用目的から言えば、個別検査対応型のイムノクロマト法を利用したキットの有用性が指摘された。本年度は新たに 2 県においてイムノクロマト法キットによる原因不明感染性胃腸炎検体の検査を行い、前年度と同様に、原因不明検体中にクリプトスポリジウム抗原が検出され、国内の低年齢層におけるクリプトスポリジウムならびにジアルジアの感染が統計以上に発生していることが示唆された。実用的な検査システムとしては、下痢症で原因不明というスクリーニングを受けた検体に対して迅速検査を適用するというにより、経済的に効率の良い検査システムの確立が可能であると考えられた。

1. 研究目的

クリプトスポリジウム症およびジアルジア症は、国内においては発生率の低い感染症ではあるが、その感染リスクは存在し、集団感染へと拡大させる可能性を潜ませる公衆衛生上問題となる疾患である。現状としては、国内の低年齢層における実態が不明なことが我が国の統計結果の解釈を難しくしており、適切な検査法に基づきこれらの疾患の発生動向を正確に把握する必要がある。前年度の研究において、迅速検査法の一つとして免疫クロマト法を用い、原因不明感染性胃腸炎検体中に数%の割合で抗原陽性例を検出した。原因不明症例として少なからず原虫感染が見逃され、その実態が統計上に反映されていないことが示唆された。今年度は、継続して原因不明感染性胃腸炎検体における原虫の検出を試み、また異なる検査キットの性能比較も行った。

2. 材料および方法

材料：前年度、A 県にて迅速診断キット (ImmunoCard STAT!、イムノクロマト法) より抗原陽性と判定された散発発生症例 3 例および *C. meleagridis* による集団感染事例で検査された 3 例を用いた。また、B 県で 2006 年から 2008 年の間に感染性胃腸炎と診断され、病原体検査でウイルス及び細菌のいずれも検出されなかった凍結保存 41 検体 (10% 乳剤-糞便を蒸留水で 10 倍希釈したもの 34 検体、スワブ-患部ふき取り 7 検体) および新鮮便 3 検体、C 県で 2007 年と 2008 年の間に病原体検査でウイルス及び細菌のいずれも検出されなかった凍結保存 52 検体 (生便あるいは PBS での 2 倍希釈便) を検査に供した。

検査方法：市販のクリプトスポリジウム・ジアルジア抗原検出用免疫クロマト法キットとして、

Meridian 社製の Immuno Card STAT! Cryptosporidium/Giardia Test Kit (Immuno Card STAT!) ならびに CORIS 社製でディップスティック型の Crpto/Giardia Duo-Strip (Duo-Strip)、さらに同じく抗原検出用でマイクロプレート ELISA キットとして Remel 社製の ProSpect Giardia/Cryptosporidium Microplate Assay (Prospect) も用いた。使用は各試験キット添付の操作手順に従い、また結果の判定もキット添付の判定基準に従った。顕微鏡による免疫蛍光抗体染色検出 (DFA) には、クリプトスポリジウム・ジアルジアのオーシストおよびシストが同時検出可能な Meridian 社製の Merifluor を用いた。

また原虫類の国内感染状況を示す情報として、国立感染症研究所、感染症情報センターが公表する感染症発生動向調査事業年報 (<http://idsc.nih.gov/idwr/CDROM/Main.html>) を用いた。

3. 結果

1) 検査キットの性能比較

前年度、イムノクロマト法の市販検査キットである ImmunoCard STAT! を用いて原虫抗原陽性例を検出した A 県にて、同陽性検体に関して市販他種検査キットである Duo-Strip および ELISA キットを用いて検査キット間の検出性能の比較を行った。発生動向調査散発事例の検体 (S-1~3) に関する結果を表-1 に示した。ImmunoCard STAT! でクリプト陽性となった 2 検体のうち、顕微鏡検査でオーシストが確認された検体 (S-1) は Duo-Strip では陰性であったが ELISA では陽性で、OD 値は 0.391 を示し明瞭な陽性反応を示した。別のオーシストは確認できなかった検体 (S-2) は Duo-Strip で陽性であったが、反応が明瞭とは言えず判定が

難しかった。また ELISA では陰性であった。一方、ImmunoCard STAT! でジアルジア陽性となった 1 検体 (S-3) は、顕微鏡検査でシストが確認され、また PCR でも特異 DNA 増幅が見られたが、Duo-Strip では陰性、しかし ELISA では強陽性で極めて高い OD 値 3.342 が認められた。3 つの検体において各種の検査法間の結果の相関をみると、S-1 検体に関しては顕微鏡、ImmunoCard STAT! ならびに ELISA で陽性、PCR と Duo-Strip で陰性、S-2 検体に関しては、ImmunoCard STAT! と Duo-Strip で陽性、顕微鏡、PCR ならびに ELISA で陰性、S-3 検体に関しては顕微鏡、PCR、ImmunoCard STAT! ならびに ELISA で陽性、Duo-Strip のみ陰性であった。上記 3 検体の検査結果からは、抗原が存在する条件でありながら、Duo-Strip の感度は低い傾向にあること (S-1 および S-3)、また S-2 の結果からは、ImmunoCard STAT! と Duo-Strip の特異性に関する疑問が指摘された。

次に、*Cryptosporidium meleagridis* 集団感染事例の検体 (I-1~3) に関する結果を表-2 に示した。蛍光抗体染色法による顕微鏡検査によりこれら 3 検体はオーシストが検出されているが、比較的多量のオーシストを含む検体 I-1 は PCR、ImmunoCard STAT! ならびに Duo-Strip、さらに ELISA でも陽性で、ELISA の OD 値は 0.506 と高かった。これに対し残り 2 検体、I-2 および I-3 はオーシスト数は極めて少なく PCR は陰性であったもので、ImmunoCard STAT! に加え Duo-Strip ならびに ELISA でも明らかに陰性であった。上記 3 つの検体において各種の検査法間の結果の相関をみると、顕微鏡検査以外の検査結果は各検体で一致しており、結果は検体中のオーシスト量に依存したものであると考えられ、キット

間に性能差は見られなかった。

2) ImmunoCard STAT! を使った原因不明検体の検査

B 県での発生動向調査検体を調べた結果を表-3 に示した。感染性胃腸炎の原因不明例として 44 検体を調べ、その中でクリプトスポリジウム抗原陽性が 2 例検出された。検出率としては 4.5% (2/44) であった。ジアルジアは検出されなかった。年次別でみると、2006 年は 20 検体で検出例なし、2007 年は 18 検体でクリプトスポリジウム 1 例陽性、陽性検体は 2 歳女児由来、粘血便を呈しており、10% 乳剤として保管されていた。2008 年は 6 検体でクリプトスポリジウム 1 例陽性、陽性検体は 8 歳男児由来、水様便を呈しており、発生動向調査に基づき搬入後速やかに検査された例であった。2008 年度の陽性検体に関しては MGL 処理試料の蛍光抗体染色と糞便からの PCR による特異的 DNA 増幅を試みたが、いずれの試験でも原虫の検出は認められなかった。検体の種類による抗原検出の結果をみると、10% 乳剤では総数 34 検体中陽性例が 1 検体で検出率は 2.9% (1/34)、糞便では総数 3 検体中陽性例が 1 検体で検出率は 33.3% (1/3) またスワブは総数 7 検体中陽性例は 0 検体であり、検出率としては糞便が最も高かった。原虫検出の季節変動をみると、水との接触が増える夏場 (6 月 - 9 月) に感染性胃腸炎として発症した症例数は 2006 年で 10 検体、2007 年は 5 検体、2008 年は 0 検体であったが、これらの期間にはクリプトスポリジウム陽性検体は見られず、同陽性検体 2 例は 10 月および 12 月の発症であった。なお、B 県では感染性胃腸炎の病原体検査の流れとして、検体は糞便として搬入後、はじめに細菌検査が行われ (培地接種)、次に 10%

乳剤を調整しウイルス検査を行い、保管試料としては10%乳剤が主体であった。C県でもImmunoCard STAT!を用いた検査が行われたが、調べた52検体の中にクリプトスポリジウムおよびジアルジアは検出されなかった。なお、2007年は11検体、2008年は41検体で、夏場に感染性胃腸炎として発症した症例数は17例であった。

3) 15歳以下の低年齢層における国内統計と原因不明検体からの検出結果との比較

感染症発生動向調査事業年報より、15歳以下の低年齢層におけるクリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症の報告数を2000年～2006年のデータをもとに集計した(表-x)。クリプトスポリジウム症は、2004年に関しては長野県のプールを介した学童の集団感染事例があったことから多い症例数となっているが、いわゆる散发事例としてみると年間0～4例、2004年を除いた場合の6年間の総数は4例で年平均は0.7例/年と算出された。一方、同様にジアルジア症の年変動をみると、ジアルジア症は散发事例のみで考えられるので、年間0～5例、7年間の総数は16例で年平均は2.3例/年と算出された。これに対し、本研究で調べた統計上には表れていない原因不明検体からの検出数は、A県の場合クリプトスポリジウムは2年間に2例で年平均が1.0例/年、ジアルジアは1例で年平均0.5例/年と算出された。B県の場合クリプトスポリジウムは3年間に2例で年平均が0.7例/年、ジアルジアは0例で年平均0例/年と算出された。C県の場合クリプトスポリジウム、ジアルジアともに2年間に0例で年平均が0例/年と算出された。年平均の検出率は地域による差みられるが、国内全体として考えた場合、その高さから実態としては統計を上

回る感染が発生していることが示唆された。

4. 考察

現在、国内において購入可能なクリプトスポリジウムおよびジアルジアの迅速検査キットとして、3種類のキットの性能を比較した。各キットは用いているモノクロナル抗体の特異性の他、デバイス、検出方法等、様々な点で異なり、各々長所、短所を備えるものである。その中で検査の実用に応える性能という点からみると、全体的にイムノクロマト法のImmunoCard STAT!ならびにELISAのProSpectは感度、特異性でイムノクロマト法のDuo-Stripよりも優ると考えられた。各キットに関して言えば、ImmunoCard STAT!は個別検査、POCTに対応し15分で結果が得られ、クリプトスポリジウムならびにジアルジアの同時検査が可能なが長所だが、国内購入価格として¥3,300/検体、(¥1,650/原虫)のコストがかかること、特異性の面で偽陽性を示す可能性がある(xxx)という短所がある。同じイムノクロマト法のDuo-StripはImmunoCard STAT!と同様な長所に加え、¥1,620/検体(¥810/原虫)のコストは利点であるが、反応結果が目視で難しい場合があり、感度・特異性不足であることが短所である。ELISAのProSpectに関しては、感度、特異性は優れ、多検体の同時検査に適していること、コストは¥1,480/検体(ただし両原虫を同時に検査する場合はその2倍のコストがかかる)であるが、その方法論から結果を得るまでに数時間を要し、プレートリーダー等周辺機器も要する点が短所で、個別検査目的にはイムノクロマトの方が優れる。これまで多くの種類の迅速検査キットの性能比較が報告されているが、同一検体が標準試料として使われている訳ではないので、結果は一致せず、また本研究でも

見られたように顕微鏡検査の結果とも一致しない場合がある(Garciaら1997, 2003, Johnstonら2003, Weitzelら2006)。実際的にどのような検査キットを選択するかは難しい問題であるが、下痢症疾患においてウイルス、細菌の検査と並んで原虫検査を行う上では、簡便性とコストが重要な条件となる。簡便性に関しては個別対応性と迅速性ということが重視されるが、イムノクロマト法はこの点で優れていると考えられる。問題はコストで、現状ではかなり高く、一般的な検査業務に導入可能な条件にあるとは言いがたい。感度・特異性を備えつつ、より安価な検査キットが求められる。原虫検査をルーティンに行うというスキームを作るには、イムノクロマト法あるいは別の方法に基づく上記の条件を満たす検査キットの研究開発は重要である。

また検査試料の質の問題も、迅速検査法を導入するにあたっては重要な問題である。キットによってはホルマリン固定試料も検査可能という場合もあるが、抗原性の点からすれば新鮮便の利用が望ましいであろう。本研究では、例数が少なく一般的な条件と言うまでには至らないが、発生動向調査において搬入後直ちに検査した場合のクリプト検出率が極めて高かったという結果を得ており、試料採取後速やかに検査することの重要性を示すところである。現状では一般的に新鮮便を用いる原虫検査を考慮した検査システムにはなっておらず、ウイルスのみ、あるいはウイルスおよび細菌検査に適した試料の前処理、あるいは保管がなされていることから、原虫検査をシステムに組み込むには、新鮮便の利用、また原虫検査が可能な新鮮便の凍結保存を一般化するような点につき、今後検討する必要があると思われる。

本研究では、感染症法に基づく感染性胃腸炎の発生動向調査において、原虫検査を病

原体検査の一つとしてルーティンに行った場合、現在の統計を上回る低年齢層感染者が存在することが示唆された。クリプトスポリジウム症およびジアルジア症は旅行者下痢症あるいはAIDSの合併症といった、どちらかと言えば国内では成人の感染症というのが従来の認識であったと思われるが、実際には国外の状況に似た、全体的な感染者の絶対数は少ないかもしれないが、その中で低年齢層にも感染が発生しており、その原因となるリスクが存在することに注意を払うことが必要である。

国内における感染、とりわけ集団感染の防止という観点からは、キットを利用した迅速検査法が一般的な検査法のひとつとして普及することで、実態把握がより高度化し、行政面での対応も迅速化が図られる。しかし、現実的に実効性を考えた場合、本研究で行ったような原因不明となった時点で、速やかにその検体を検査し、可能であれば確認として免疫蛍光抗体法による顕微鏡検査を行う、というシステムをまず確立することが発生動向調査の質的向上を図ることからも急務であると考えられる。

5. 結論

イムノクロマト法のような個別検査が可能な方法あるいはキットは、国の発生動向調査あるいは一般医療機関における検査にも有用であると考えられる。その病原体検査に導入された場合は、迅速な検査結果を情報提供することにより、従来よりも正確な統計情報をもたらすことが期待される。迅速検査法を感染性胃腸炎検体について試行した本研究では、国内の低年齢層におけるクリプトスポリジウムならびにジアルジアの感染が統計以上に発生していることが示唆されるという、従来の認識にない成績

を得た。実用にあたり最も大きな問題となる検査コストに関しては、下痢症で原因不明というスクリーニングを受けた検体に対して迅速検査を適用するということにより、経済的には効率的な活用が可能であり、現実的な検査システムの確立が可能であると考えられた。

6. 参考文献

Garcia L.S. and Shimizu R.Y. (1997) Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. *J Clin Microbiol.*, 35:1526-1529.

Garcia L.S., Shimizu R.Y., Novak S., Carro M. and Chan F. (2003) Commercial assay for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens by rapid solid-phase qualitative immunochromatography. *J Clin Microbiol.*, 41:209-212.

Johnston S.P., Ballard M.M., Beach M.J. Causer L. and Wilkins P.P. (2003) Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *J Clin Microbiol.*, 41:623-626.

Weitzel T., Dittrich S., Mohl I., Adusu E. and Jelinek T. (2006) Evaluation of seven commercial antigen detection tests for *Giardia* and *Cryptosporidium* in stool samples. *Clin Microbiol Infect.*, 12:656-659.

7. 健康危機情報

なし

8. 研究発表

なし

9. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表-1、A 県における感染性胃腸炎発生动向調査で原因不明となった検体の各種迅速検査キットによる検査結果

発生动向調査散発事例											
No.	年齢	性別	症状	顕微鏡 DFA	PCR *	ImmunoCardSTAT!		Duo-Strip		ProSpect (目視)	ProSpect (OD**)
						Crypto	Giardia	Crypto.	Giardia		
S-1	11	女児	下痢・腹痛・ 発熱(36.8℃)	Crypto	-	+	-	-	-	+	0.391
S-2	9	男児	胃腸炎症状、 下痢	-	-	+	-	+	-	-	0.004
S-3	3	男児	下痢・発熱 (38℃)	Giardia	+	-	+	-	-	+	3.342

* *Cryptosporidium* : 18S rRNA gene (Xiao)
 * *Giardia* : TPI gene (Suliman)
 ** Negative control O.D. =0.004

表-2、A 県における *C. meleagridis* 集団感染事例における迅速検査キットによる検査結果

発生动向調査散発事例											
No.	年齢	性別	症状	顕微鏡 DFA	PCR *	ImmunoCardSTAT!		Duo-Strip		ProSpect (目視)	ProSpect (OD**)
						Crypto	Giardia	Crypto.	Giardia		
I-1	17	男	腹痛、吐き気 下痢(4回)、 頭痛、臥床	+++	+	+	-	+	-	+	0.391
I-2	16	男	悪寒	+	-	-	-	-	-	-	0.004
I-3	16	男	腹痛(38℃)	+	-	-	-	-	-	-	3.342

* *Cryptosporidium* : 18S rRNA gene (Xiao)
 * *Giardia* : TPI gene (Suliman)
 ** Negative control O.D. =0.004

表-3、B県における感染性胃腸炎発生动向調査で原因不明となった検体の ImmunoCard STAT!
による検査結果(2006-2008)

年	性別	年齢	発病月	検査材料	ImmunoCard STAT!		備考
					Crypt	Giardia	
2006	女	0	5	10%乳剤	-	-	
	女	0	6	10%乳剤	-	-	
	男	0	9	10%乳剤	-	-	
	女	0	10	スワブ	-	-	
	男	0	10	10%乳剤	-	-	
	男	1	6	10%乳剤	-	-	
	女	1	6	10%乳剤	-	-	
	女	1	6	10%乳剤	-	-	
	男	1	7	スワブ	-	-	
	女	1	10	10%乳剤	-	-	
	男	1	11	10%乳剤	-	-	
	女	2	3	10%乳剤	-	-	
	女	2	11	10%乳剤	-	-	
	女	3	5	10%乳剤	-	-	
	男	3	6	10%乳剤	-	-	
	女	5	6	10%乳剤	-	-	
	男	6	6	10%乳剤	-	-	
	女	8	5	10%乳剤	-	-	
女	11	6	10%乳剤	-	-		
男	11	6	10%乳剤	-	-		
2007	男	0	8	10%乳剤	-	-	
	男	0	9	10%乳剤	-	-	
	男	0	10	10%乳剤	-	-	
	男	1	8	10%乳剤	-	-	
	女	1	10	10%乳剤	-	-	
	男	2	5	10%乳剤	-	-	
	女	2	8	10%乳剤	-	-	
	男	2	10	10%乳剤	-	-	
	女	2	10	10%乳剤	+	-	粘血便
	男	3	6	10%乳剤	-	-	
	男	3	11	10%乳剤	-	-	
	男	4	2	10%乳剤	-	-	
	女	5	11	スワブ	-	-	
	男	7	5	スワブ	-	-	
	女	8	10	10%乳剤	-	-	
	女	8	10	10%乳剤	-	-	
	男	8	11	10%乳剤	-	-	
	男	10	10	10%乳剤	-	-	
2008	女	0	12	便	-	-	
	男	1	12	スワブ	-	-	
	男	3	1	スワブ	-	-	
	男	8	12	便	+	-	発熱 38℃、水様便
	男	9	1	スワブ	-	-	
男	9	12	便	-	-		