

が溶解しないよう、その表面及びチューブを1回洗浄し、PBS(-)を除去後、遠心管をキムタオル上に伏せた。沈さを100  $\mu$ lの蒸留水に溶解し、1.5mlのマイクロチューブにサンプル全量に移した後、更に遠心管に50  $\mu$ lの蒸留水を入れて共洗いし、その溶液も1.5mlのマイクロチューブに入れた。総量約300~400  $\mu$ lとなり、これを抽出用サンプルとした。

抽出は、High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche)を使用した。Lysis Buffer、プロテナーゼK、Poly Aはサンプル量にあわせて増量してサンプル全量を溶解し、72°C10分加熱後、Lysis Bufferを入れて混合した後、カラムに2回に分けて遠心し通過させた。その後の処理はマニュアル通りである。

抽出したサンプル10  $\mu$ lに、M-MLV RT (Promega)用5 $\times$ Bufferを2  $\mu$ l、DNase (Promega) 1  $\mu$ l、蒸留水7  $\mu$ lを入れて37°C30分処理後、1  $\mu$ lの10mMEDTAを入れ、65°C10分加熱によりDNase処理を行った。これに、M-MLV RT (Promega)のマニュアルに従って、Random Hexamer (GEヘルスケア)により逆転写を行った。ノロウイルス遺伝子の増幅は、GIは1stPCRにCOG1F/G1SKR、2ndPCRにG1SKF/G1SKRのプライマーを、GIIは、COG2F/G2SKR、2ndPCRにG2SKF/G2SKRを使用して、Nested PCRを実施した。

増幅産物を用いて、ダイレクトシーケンス法により、遺伝子の塩基配列を決定し、Mega3.1によってNj法により系統樹を作成し、ノロウイルスの遺伝子型を決定した。

陽性となった検体について、同じ逆転

写したサンプルを用いて、Kageyamaら<sup>1)</sup>の方法により、定量PCRを実施した。

### C. 研究結果

6海域のカキのうち、Quang Ninh産を除く5つの海域のカキからノロウイルスが検出された(表1)。Cat Hai, Cat Ba, Do Son, Nam Dinhは、ベトナムの北部の海岸で、Nha Trangは、ベトナムの南部に位置する。

GIのノロウイルスが陽性になったのは、Cat Ba, Do Son, Nam Dinh, Nha Trangの4カ所のもので、GI.3のノロウイルスがDo Son産のカキから、GI.4のノロウイルスがNha TrangとCat Ba産のカキから検出された。GI.4の遺伝子は増幅部位の遺伝子解析の結果、塩基配列が一致した。Nam Dinh産のカキで陽性となったが、ダイレクトシーケンスでは塩基配列を解析できなかった。

GIIのノロウイルスが陽性となったものは、Cat Hai, Nam Dinh, Nha Trang産のもので、Cat Hai産からはGII.4のノロウイルスが、Nam Dinh, Nha Trang産のものからは、GII.14のノロウイルスが検出された。

Nam Dinh産のサンプルの1つは、GIIノロウイルスが陽性となったが、遺伝子解析により得られたエレクトロフェログラムは混合波形のため、ダイレクトシーケンスでは塩基配列を解析できなかった。

Nha TrangとNam Dinh産のカキから検出されたGII.14ノロウイルスの遺伝子塩基配列は一致した。

Nha TrangとNam Dinh産のカキからは、GIとGII両方の遺伝子型のノロウイルスが検出された。

GI ノロウイルスの系統樹解析 (図 2) では、Nha Trang と Cat Ba 産のカキから検出された GI.4 遺伝子は一致した。また、新潟県で発生したカキ由来の食中毒事例や、調理従事者由来の食中毒事例から検出された GI.4 ノロウイルスに近縁であった。

GII ノロウイルスの系統樹解析 (図 3) では、Nha Trang と Nam Dinh 産のカキから検出された GII.14 遺伝子が近縁であった。また、Cat Hai 産のカキから検出された GII.4 ノロウイルスは、2006b 変異型に属し 2006 年以降世界で流行した型に近縁であった。

リアルタイム PCR による定量を行った結果、GI 系では、Nested PCR で増幅できたサンプル 5 件のうち、3 件が定量可能で、中腸腺 1g あたり、 $6.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^3$  コピー数であった。GII 系では、Nested PCR で増幅できたサンプル 4 件のうち、3 件が定量可能で、中腸腺 1g あたり、 $6.7 \times 10^2 \sim 2.0 \times 10^3$  コピーであった。

#### D. 考察

ベトナム産のカキから、多様な型のノロウイルスが検出された。Cat Hai、Cat Ba、Do Son の海域は、紅河デルタ河口域で、比較的近いにもかかわらず、別の型のノロウイルスが検出された。PCR の増幅効率によって増幅されるノロウイルスの遺伝子が選択されることもあるが、多様な型のノロウイルスがベトナムで流行していることが推測された。

GI.4 ノロウイルスがベトナム産のカキから検出され、新潟県で発生した食中毒事例から検出された GI.4 株に近縁であった。GI.4 ノロウイルスによる感染症が、日本以外にもベトナムでも流行していることが推測され、食品や人の交流等によるつながり

が推測される。

ベトナム産のカキからのノロウイルスの検出報告はこれまでされたことがない。日本には、ベトナム産のカキは輸入されていないが、ベトナム産のエビや他の貝類が輸入されており、これらのノロウイルスの汚染が懸念される。このことから、ベトナム産の貝類については、良く洗浄し加熱して調理する必要がある。また、エビからもノロウイルスが検出された事例が本研究班で報告されている。海外からのエビの輸入量は、ベトナムが最も多くインドネシア等東アジア諸国からの輸入が多い<sup>2)</sup>ことから、エビのノロウイルス汚染が危惧される。輸入エビの調理の際には、良く洗浄後、加熱調理することが望まれる。

#### E. 結論

ベトナムの 6 カ所の海域で、2008 年 5 月、6 月に採取されたカキ 13 検体中 6 検体からノロウイルスが検出され (46%)、うち GI ノロウイルスは 4 カ所の海域のカキ 5 検体から、GII ノロウイルスは 3 カ所の海域のカキ 4 検体から検出された。検出されたノロウイルスの遺伝子型は、GI.3、GI.4、GII.4、GII.14 の 4 種類であった。

#### F. 参考文献

- 1) Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, 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).

2) 農林水産省 農林水産物輸出入概況

(2007年) 2008年4月4日

<http://www.maff.go.jp/www/info/bunrui/bun07.html>

G 健康危険情報

なし

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

I. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 研究発表

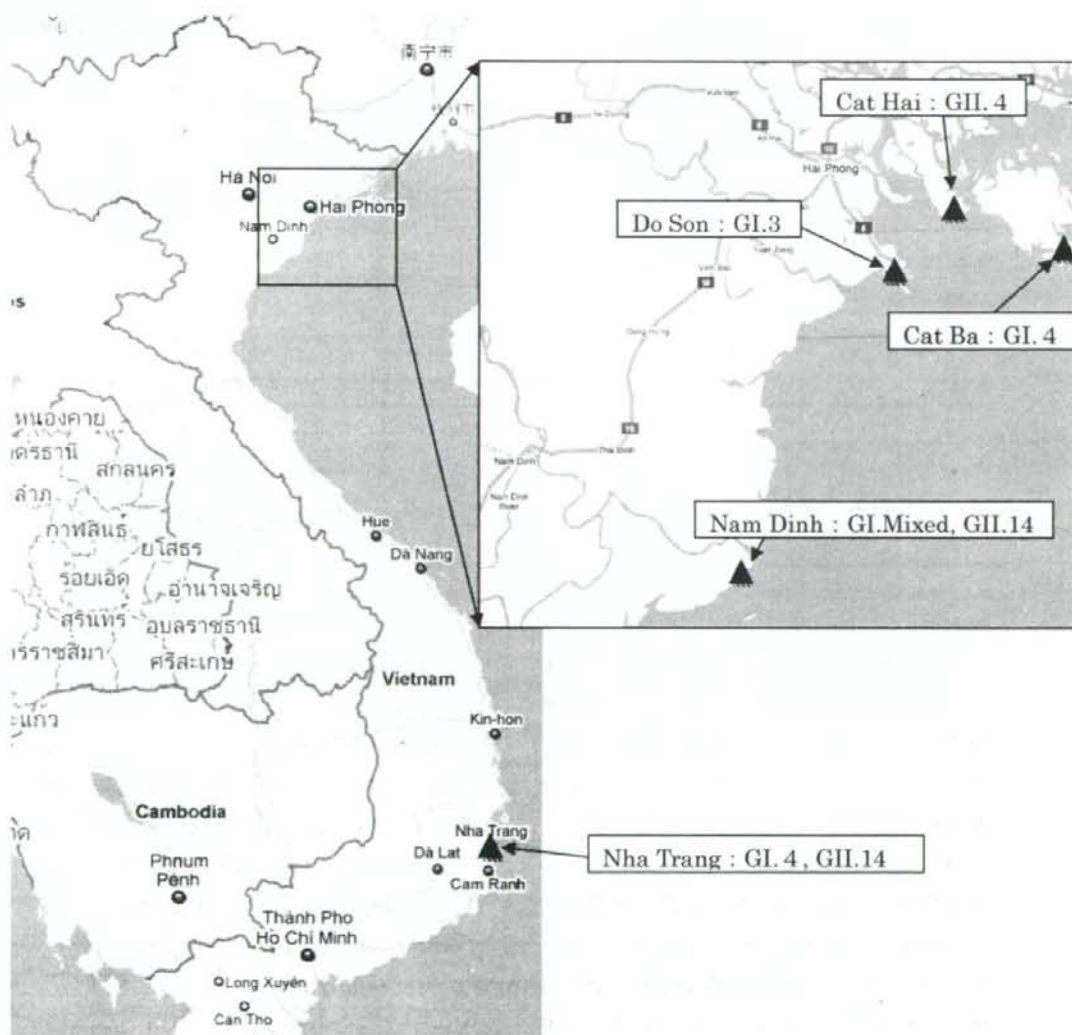


図1 ベトナムにおけるカキの産地と検出されたノロウイルスの型

表1 ベトナム産のカキからのノロウイルスの検出状況

Place	Collected Month	GI			GII			Total weight of sample
		Nested PCR	Genotype	RealtimePCR copy/g of tissue	Nested PCR	Genotype	RealtimePCR copy/g of tissue	
1 Nha Trang	May	+	GI.4	$6.2 \times 10^2$	+	GII.14	$6.7 \times 10^2$	1.4
	June	-		NT	-		NT	1.1
	May	-		NT	-		NT	2
2 Quang Ninh		-		NT	-		NT	1.2
	June	-		NT	-		NT	1.6
		-		NT	-		NT	2.2
3 Cat Hai	May	-		NT	+	GII.4	-	2.1
4 Cat Ba	May	+	GI.4	$9.9 \times 10^2$	-		NT	1.2
5 Do Son	June	+	GI.3	-	-		NT	1
		-		NT	-		NT	1.3
6 Nam Dinh	June	+	Mixed	$7.0 \times 10^2$	+	GII.14	$2.4 \times 10^3$	1.9
		+	Mixed	-	+	Mixed	$1.0 \times 10^3$	1.6
		-		NT	-		NT	1.3



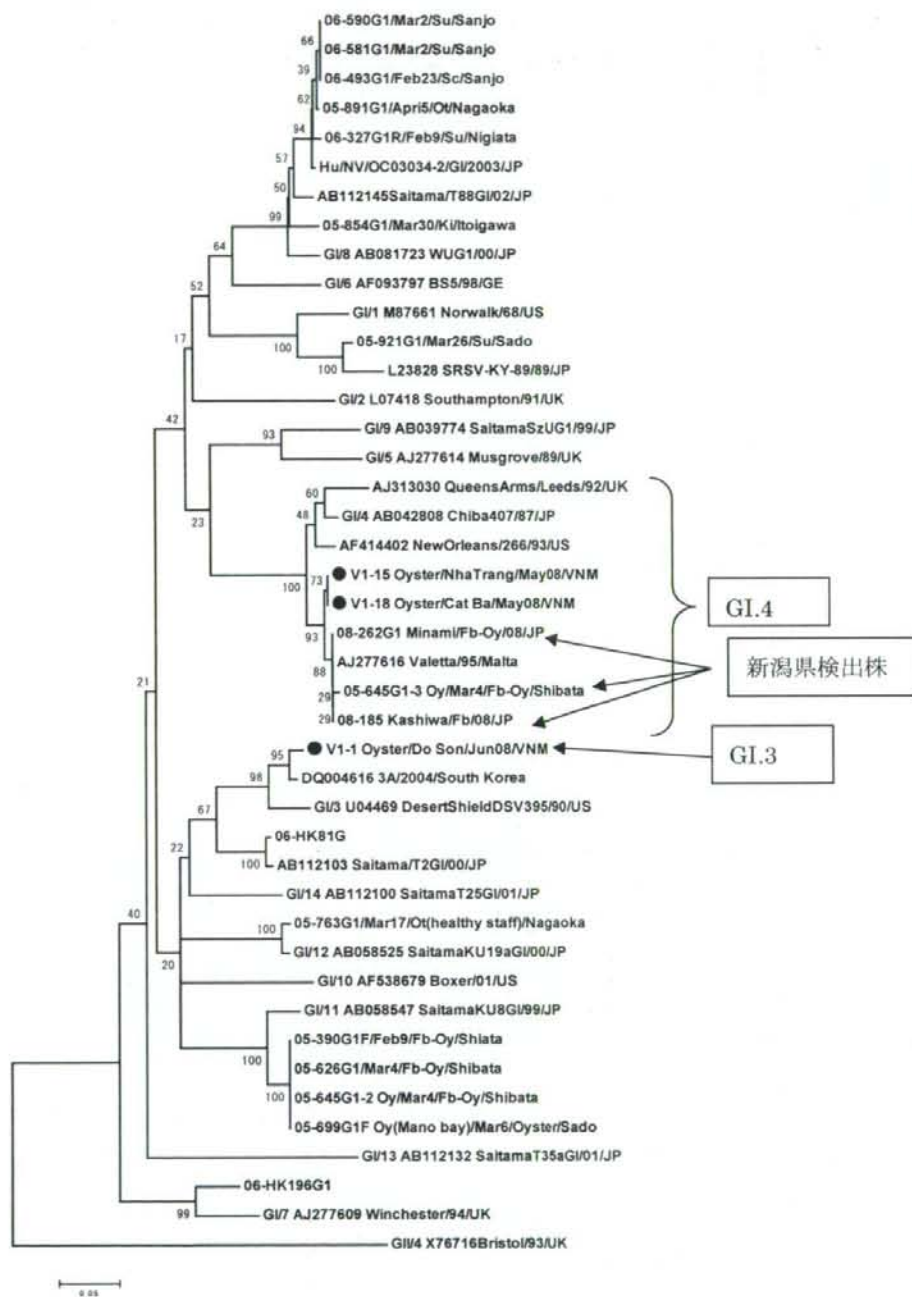


図2 ノロウイルス GI の系統樹 (ORF2 5' 末端の塩基配列による)

●はベトナム産のカキから検出されたノロウイルス

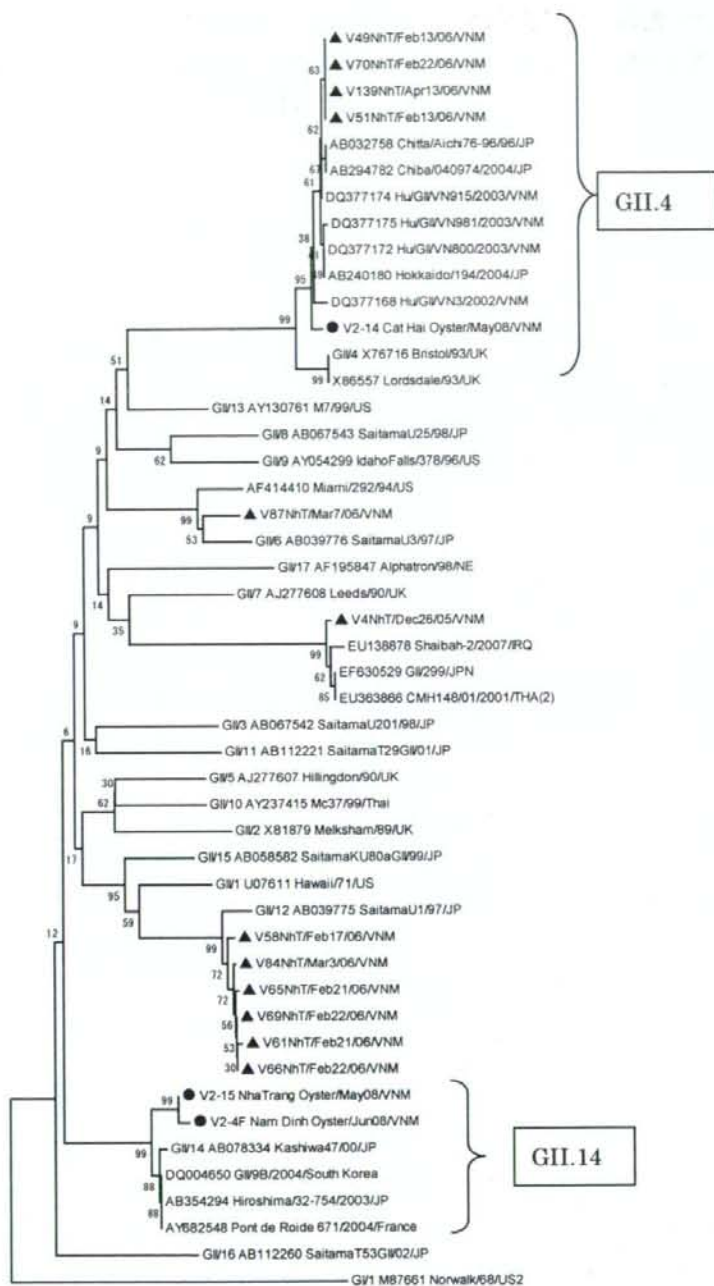


図3 ノロウイルス GII の系統樹 (ORF2 5' 末端の塩基配列による)

●はベトナム産のカキから検出されたノロウイルス

▲はベトナム Nha Trang 市の小児検出ノロウイルス (2005-2006)

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）  
輸入生鮮魚介類及び動物精肉のウイルス汚染のサーベイランスに関する研究  
（H18-食品一般-014）  
分担研究報告書

ベトナムの小児急性下痢症患者における  
胃腸炎ウイルスの疫学的研究（平成 18-20 年）

研究分担者：鈴木 宏（新潟大学医歯学総合研究科国際感染医学講座公衆衛生学分野）  
研究協力者：西川 眞、田村 務（新潟県保健環境科学研究所ウイルス科）  
Duc Anh Dang（国立衛生疫学研究所）

### 研究要旨

A. ベトナムの中部で海外沿いにあるニャチャン市において、2005 年 12 月から 2006 年 6 月までの約半年で小児急性下痢症患者糞便を用い、胃腸炎ウイルスの疫学的研究を行った。

全患者 183 人の患者の中、ウイルスは 85 人（46%）から検出され、ロタウイルス、ノロウイルス、アデノウイルスはそれぞれ 73 例、13 例、3 例であった。

1. ロタウイルス：A 群ロタウイルスの G 型別では G3 型が日本やアジアと同様に 44% と主流を占め、次いで G1 と G2 がそれぞれ 33. 3%、7. 1%であった。
2. ノロウイルス：ノロウイルス遺伝子型は GII のみが検出され、GII-4 が優位であり、GII-12、GII-6 が続いた。GII-4 の塩基配列 324nt 部位を検討し、ニャチャンの流行は同一株での流行が強く示唆された。GII-4 株は GII-4e に属した。また、GII-4 株は、2005 年から 2007 年にかけて新潟で検出した株とは異なるクラスターではあるが、2005-2006 年に検出した株に近く、近隣諸国での流行を調査することの必要性が示された。以上、ノロウイルス感染症がベトナム海岸部でも見られ、ベトナム産海産物の注意深い今後の検索の必要性が示唆された。

### B. ベトナム産のカキの汚染状況

6 カ所の海域で、2008 年 5 月、6 月に採取されたカキからノロウイルスの検出を行った。13 検体中 6 検体からノロウイルスが検出され（46%）、GI は 4 カ所の海域のカキ 5 検体から、GII は 3 カ所の海域のカキ 4 検体から検出され、このうち GI と GII の両方が検出されたのは、2 カ所の海域の 3 検体からであった。検出されたノロウイルスの遺伝子型は、GI. 3、GI. 4、GII. 4、GII. 14 の 4 種類で、2 海域のカキから GI. 4、GII. 14 が検出された。ベトナム産のカキから、多様な型のノロウイルスが検出されたことから、これらの型のノロウイルス感染症の存在が推測されるとともに、ベトナム産カキは加熱用としての輸入が望まれた。

## A. 小児急性下痢症患者における胃腸炎ウイルスの疫学的研究

熱帯、亜熱帯における小児急性胃腸炎患者の病因ウイルスの挙動調査は不十分である。更には、これらの国においてロタウイルスへのワクチン投与が検討され、その効果判定にも大きな影響が懸念される。ベトナム中部ニャチャン市の小児急性胃腸炎患者から検出されたノロウイルス及びロタウイルスについて、分子疫学的手法を用いて解析を行い、国内検出株と比較した。

### 1. 材料

ベトナムのハノイ市内の病院に受診した、183人の乳幼児の便を検体とした。採取期間は、2005年12月23日から2006年6月6日までの期間で、患者は1ヶ月から47ヶ月であった。

### 2. 方法

胃腸炎起因ウイルスであるノロウイルス、ロタウイルスについて、収集した患者便から、ウイルス遺伝子検出を行った。

便は、PBS(-) pH7.2で、約10%濃度に溶解し、9000rpm 20分遠心した上清をDNA/RNA抽出用サンプルとした。DNA/RNAの抽出には、Extragen II (TOSOH)を使用した。

ノロウイルスについては、G I用プライマーにG1SKF/G1SKRを、G II用プライマーにCOG2F/G2SKRを用いて検索した。更に、VP1のp2領域の遺伝子解析のため、篠原らのL1F/L7Rプライマーを使用して当該部位の増幅を行った。

ロタウイルスは、Gouveaら Gentschらの

方法に準じてRT-PCR法により検索し、G型別とP型別を実施した。

ノロウイルスの遺伝子解析はORF2のN末端により型別を行い、G II-4型のノロウイルスについては、VP1のp2領域を含む遺伝子を使用して解析した。ロタウイルスは、G3型と型別された一部の株について、VP7遺伝子について解析した。いずれも、PCR増幅産物のダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定し、Mega3.1を用いて解析を行った。

### 3. 結果

#### 1) A群ロタウイルス

183人中86人(47.0%)からA群ロタウイルスが検出された。

ロタウイルスのG型別では、G3型が最も多く44%を占め、次いでG1型33.3%、G2型7.1%であった。P型別では、P[8]型が最も多く、67.9%を占め、次いでP[4]型が13.1%であった(表1)。

#### 2) ノロウイルス

183人中12人からノロウイルスが検出され、全てジェノグループG IIに含まれる型であった。G II型別は、G II-12が6株、G II-4が4株でこの2つが多かった(図1、表2)。

G II-Newが1株検出され、Zheng D.らの型別のG II-15、片山らの分類のG II-19に一致した希少な型のノロウイルスであった。このクラスターでは1999年NLV/J23/1999/US株が最初に登録されたもので、以後もデータベースへの登録が少ないノロウイルスで、日本で常用されている、COG2F/G2SKR増幅部位中に、GGC配列の



挿入があるのが特徴である (図 2)。2001 年のタイで採取されたサンプル (EU363866 Hu/CMH148/01/2001/THA) から、2005 年から 2006 年にかけて、北海道 (EF630529 Hu/GII/299/JPN)、広島 (AB360387 Hu/Hiroshima/66-1110/2006/JP) で検出された株と近縁であった。ベトナム検出株とこれらの参照株とは、ORF2 の N 末端の 267 塩基中、1 から 6 塩基の違いがあったが、アミノ酸配列では一致した。

GII-12 に型別された株が 6 株あり、カプシド領域だけをみると、オーストラリアで 2006 年に検出された株 EF187578 Hu/NSW330F/2006/AUS と塩基配列が一致した (図 3)。これらの GII12 に型別された株は、SaitamaU1 と類似の recombinant で、ポリメラーゼ領域は GII-4 型で、カプシド領域は GII-12 型であった。

ベトナムで検出された GII-4 に型別されたノロウイルス 4 株は、ORF2 の N 末端のアミノ酸配列で比較すると、2005-06 シーズンに日本で検出された株に近縁で、ORF2 の N 末端の 270 塩基中、2 から 3 塩基の違いがあったが、アミノ酸配列では一致した。

#### (図 4)

一方、可変領域の VP1 遺伝子の p2 領域を含む遺伝子について Siebenga らの系統樹を参考に、新潟県検出株を入れてアミノ酸配列による系統樹を作成した (図 5)。ベトナムで検出された GII-4 型の株は、2004 年に千葉県で検出された株 (AJ844477) と 200 アミノ酸中 2 アミノ酸の相違があり、別の小クラスターを形成した。新潟県で 2003 年 12 月に集団胃腸炎事例及び小児患者事例、並びに 2005 年 1 月に集団胃腸炎事例で検出された株は、千葉県検出株と同じクラスター

に属し、このクラスターにはオランダ検出株は含まれなかった。

## 4. 考察

### 1) A 群ロタウイルス

ベトナムで検出された過去の A 群ロタウイルスの G 型別状況では G1 型が優勢であったが、今回の検索では G3 型が優勢となった。近年、中国で G3 型の増加が報告されており、VP7 遺伝子も今回検出株と中国、タイ、ハバロフスク、日本、新潟の検出株で相同性が高いことから、アジア地域で近縁の G3 型が増加していることが推測された。

近年、GII-4 型ノロウイルスが、世界的に流行することがわかってきている。ノロウイルスやロタウイルスなどの胃腸炎ウイルスの国際的な運搬は、人の移動の他、大量の食品の輸出入によって行われている可能性がある。

今回のような国際的な分子疫学的解析は、今後の日本や世界における流行を予測するうえで重要であると考えられる。

### 2) ノロウイルス

稀少な型である Zheng D. らの分類の GII-15、片山らの分類の GII-19 のノロウイルスは、同時期に近縁な株が北海道、広島でも検出されていたことがわかった。また、GII-12 株が 6 株検出され、ニヤチャン市で小流行があったと考えられた。

2006 年に、ベトナムで検出された GII-4 は、保存性の高い ORF2 の N 末端でみた場合、2005-06 に日本で検出された株と相同性が高かった。一方、可変性の高い VP1 領域で比較した場合、2003 年から 2005 年に日本で流行があった株に近縁であったが、国

内検出株と一致することはなかった。また、このクラスターに中国の株が見つかることから、これらのクラスターの株によるアジアでの流行があったと考えられた。

VP1 領域の検索については、事例数が少ないことから、さらに検索が必要である。

## 5. 結論

希少な型のノロウイルスがベトナムの小児から検出され、類似の株が日本でも検出されていた。また、ベトナムで検出された GII-12 型は、オーストラリアで検出された株と一致した。一方、A 群ロタウイルスは、ベトナムでも、日本を含むアジア地域と同様に、G3 型の流行があることがわかった。

## B. ベトナム各地から採取されたカキからのノロウイルス検出の試み

ベトナム産のカキの汚染状況を把握するため、6カ所の海域で、2008年5月、6月に採取されたカキからノロウイルスの検出を行った。

### 1. 方法

1 カキ：ベトナムの Quang Ninh、Cat Hai、Cat Ba、Do Son、Nam Dinh、Nha Trang の6カ所の海域（図6）で5月、6月に採取されたカキを材料とした。これらのカキは養殖されたものが主体で、ベトナムでむき身のカキを凍結保存し、ベトナムの国立衛生疫学研究所の協力を得て、日本で検査を行った。

カキから中腸腺を切除して、1個から5個を1プールとして、10倍量の pH7.2 PBS(-)に入れ、フィルター付きストマツ

カー袋に入れてホモジナイズした。これを9,000rpm20分遠心後の上清に、PEG6000を8%、NaClを1.5Mの濃度で溶解し、1晩冷蔵保管した。更に、10,000rpm20分遠心した沈さを、約2mlのPBS(-)で、沈さが溶解しないよう、その表面及びチューブを1回洗浄し、PBS(-)を除去後、遠心管をキムタオル上に伏せた。沈さを100 $\mu$ lの蒸留水に溶解し、1.5mlのマイクロチューブにサンプル全量に移した後、更に遠心管に50 $\mu$ lの蒸留水を入れて共洗いし、その溶液も1.5mlのマイクロチューブに入れた。総量約300~400 $\mu$ lとなり、これを抽出用サンプルとした。

抽出は、High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche)を使用した。Lysis Buffer、プロテナーゼK、Poly Aはサンプル量にあわせて増量してサンプル全量を溶解し、72 $^{\circ}$ C10分加熱後、Lysis Bufferを入れて混合した後、カラムに2回に分けて遠心し通過させた。その後の処理はマニュアル通りである。

抽出したサンプル10 $\mu$ lに、M-MLV RT (Promega)用5 $\times$ Bufferを2 $\mu$ l、DNase (Promega)1 $\mu$ l、蒸留水7 $\mu$ lを入れて37 $^{\circ}$ C30分処理後、1 $\mu$ lの10mMEDTAを入れ、65 $^{\circ}$ C10分加熱によりDNase処理を行った。これに、M-MLV RT (Promega)のマニュアルに従って、Random Hexamer (GEヘルスケア)により逆転写を行った。ノロウイルス遺伝子の増幅は、GIは1stPCRにCOG1F/G1SKR、2ndPCRにG1SKF/G1SKRのプライマーを、GIIは、COG2F/G2SKR、2ndPCRにG2SKF/G2SKRを使用して、Nested PCRを実施した。

増幅産物を用いて、ダイレクトシーク

エンス法により、遺伝子の塩基配列を決定し、Mega3.1によってNj法により系統樹を作成し、ノロウイルスの遺伝子型を決定した。

陽性検体について、同じ逆転写したサンプルを用いて、Kageyamaら<sup>1)</sup>の方法により、定量PCRを実施した。

## 2. 結果

6海域のカキのうち、Quang Ninh産を除く5つの海域のカキからノロウイルスが検出された(表3)。Cat Hai, Cat Ba, Do Son, Nam Dinhは、ベトナムの北部の海岸で、Nha Trangは、ベトナムの南部に位置する。

GIのノロウイルスが陽性になったのは、Cat Ba, Do Son, Nam Dinh, Nha Trangの4カ所のもので、GI.3のノロウイルスがDo Son産のカキから、GI.4のノロウイルスがNha TrangとCat Ba産のカキから検出された。GI.4の遺伝子は増幅部位の遺伝子解析の結果、塩基配列が一致した。Nam Dinh産のカキで陽性となったが、ダイレクトシークエンスでは塩基配列を解析できなかった。

GIIのノロウイルスが陽性となったものは、Cat Hai, Nam Dinh, Nha Trang産のもので、Cat Hai産からはGII.4のノロウイルスが、Nam Dinh, Nha Trang産のものからは、GII.14のノロウイルスが検出された。

Nam Dinh産のサンプルの1つは、GIIノロウイルスが陽性となったが、遺伝子解析により得られたエレクトロフェログラムは混合波形のため、ダイレクトシークエンスでは塩基配列を解析できなかった。

Nha TrangとNam Dinh産のカキから検出

されたGII.14ノロウイルスの遺伝子塩基配列は一致した。

Nha TrangとNam Dinh産のカキからは、GIとGII両方の遺伝子型のノロウイルスが検出された。

GIノロウイルスの系統樹解析(図7)では、Nha TrangとCat Ba産のカキから検出されたGI.4遺伝子は一致した。また、新潟県で発生したカキ由来の食中毒事例や、調理従事者由来の食中毒事例から検出されたGI.4ノロウイルスに近縁であった。

GIIノロウイルスの系統樹解析(図8)では、Nha TrangとNam Dinh産のカキから検出されたGII.14遺伝子が近縁であった。また、Cat Hai産のカキから検出されたGII.4ノロウイルスは、2006b変異型に属し2006年以降世界で流行した型に近縁であった。

リアルタイムPCRによる定量を行った結果、GI系では、Nested PCRで増幅できたサンプル5件のうち、3件が定量可能で、中腸腺1gあたり、 $6.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^3$ コピー数であった。GII系では、Nested PCRで増幅できたサンプル4件のうち、3件が定量可能で、中腸腺1gあたり、 $6.7 \times 10^2 \sim 2.0 \times 10^3$ コピーであった。

## 3. 考察

ベトナム産のカキから、多様な型のノロウイルスが検出された。Cat Hai, Cat Ba, Do Sonの海域は、紅河デルタ河口域で、比較的近いにもかかわらず、別の型のノロウイルスが検出された。PCRの増幅効率によって増幅されるノロウイルスの遺伝子が選択されることもあるが、多様な型のノロウイルスがベトナムで流行していることが推



測された。

GI.4 ノロウイルスがベトナム産のカキから検出され、新潟県で発生した食中毒事例から検出された GI.4 株に近縁であった。GI.4 ノロウイルスによる感染症が、日本以外にもベトナムでも流行していることが推測され、食品や人の交流等によるつながりが推測される。

ベトナム産のカキからのノロウイルスの検出報告はこれまでされたことがない。日本には、ベトナム産のカキは輸入されていないが、ベトナム産のエビや他の貝類が輸入されており、これらのノロウイルスの汚染が懸念される。このことから、ベトナム産の貝類については、良く洗浄し加熱して調理する必要がある。また、エビのからもノロウイルスが検出された事例が本研究班で報告されている。海外からのエビの輸入量は、ベトナムが最も多くインドネシア等東アジア諸国からの輸入が多い<sup>23</sup>ことから、エビのノロウイルス汚染が危惧される。輸入エビの調理の際には、良く洗浄後、加熱調理することが望まれる。

#### 4. 結論

ベトナムの6カ所の海域で、2008年5月、6月に採取されたカキ13検体中6検体からノロウイルスが検出され(46%)、うちGIノロウイルスは4カ所の海域のカキ5検体から、GIIノロウイルスは3カ所の海域のカキ4検体から検出された。検出されたノロウイルスの遺伝子型は、GI.3、GI.4、GII.4、GII.14の4種類であった。

#### H. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### J. 知的財産権の出願・登録状況

なし



表1 検出されたノロウイルスの型別

Type	Positive
Noro G II-4	4
Noro G II-6	1
Noro G II-12	6
Noro G II-New <sup>*</sup>	1
Total	12/183

※G II-New :

Zheng ら G II-15

片山ら G II-19

表2 検出されたロタウイルスのG及びP血清型

	P[4]	P[6]	P[8]	P[4]/P[6]	P[6]/P[8]	P[4]/P[6]/P[8]	UT	Total	(%)
G 1	2	1	18		6		1	28	32.6
G 2	6							6	27.3
G 3	1		33			2	1	37	43.0
G 4	1							1	1.2
G 1/2				1				1	1.2
G 1/3			7		3	1	2	13	15.1
Total	10	1	58	1	9	3	4	86	
%	11.6	1.2	67.4	1.2	10.5	3.5	4.7		

表3 ベトナム産のカキからのノロウイルスの検出状況

Place	Collected Month	GI				GII				Total weight of sample
		Nested PCR	Genotype	RealtimePCR copy/g of tissue	Nested PCR	Genotype	RealtimePCR copy/g of tissue	Sample No.	Pieces /1 tube	
1 Nha Trang	May	+	GI.4	$6.2 \times 10^2$	+	GII.14	$6.7 \times 10^2$	15	5	1.4
	June	-		NT	-		NT	8	3	1.1
	May	-		NT	-		NT	16	3	2
2 Quang Ninh		-		NT	-		NT	17	2	1.2
	June	-		NT	-		NT	9	2	1.6
		-		NT	-		NT	11	3	2.2
3 Cat Hai	May	-		NT	+	GII.4	-	14	2	2.1
4 Cat Ba	May	+	GI.4	$9.9 \times 10^2$	-		NT	18	5	1.2
5 Do Son	June	+	GI.3	-	-		NT	1	1	1
		-		NT	-		NT	2	2	1.3
6 Nam Dinh	June	+	Mixed	$7.0 \times 10^2$	+	GII.14	$2.4 \times 10^3$	4	2	1.9
		+	Mixed	-	+	Mixed	$1.0 \times 10^3$	5	1	1.6
		-		NT	-		NT	7	1	1.3

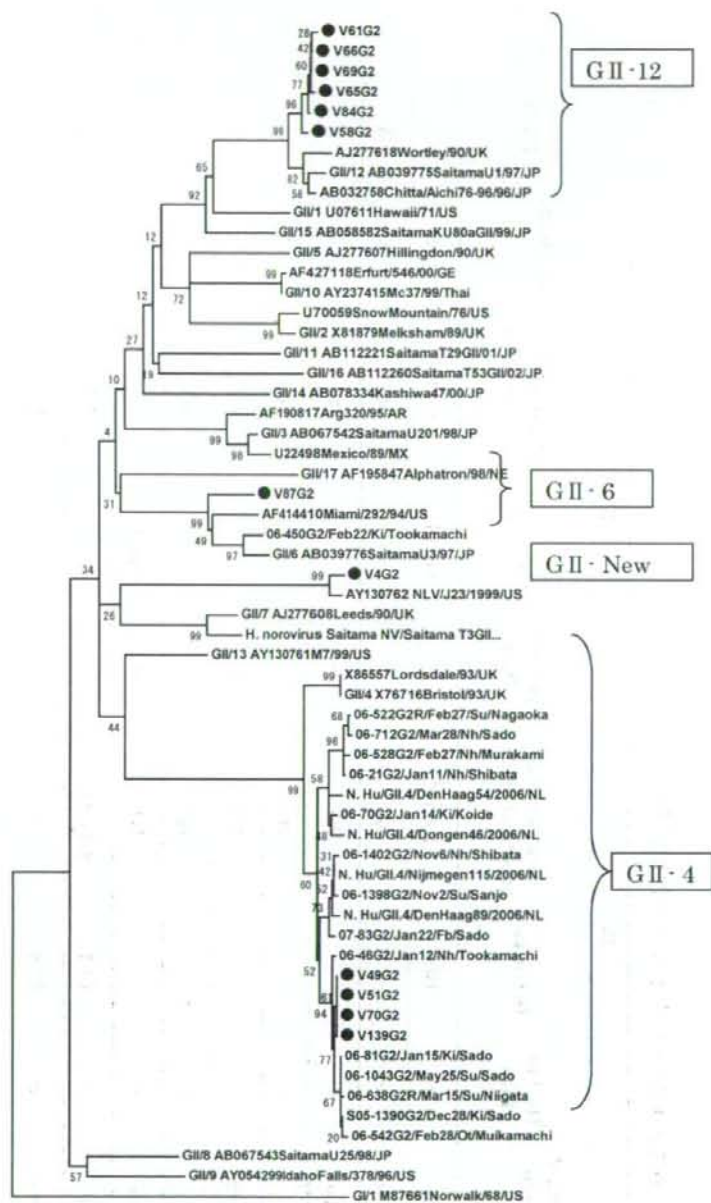


図1 GIIノロウイルスの系統樹による型別  
NJ法による。ORF2 N末端 271bp。  
●がベトナム検出株



図2 GII-New ノロウイルスに型別された V4 株及び近縁株の ORF2 N 末端の塩基配列

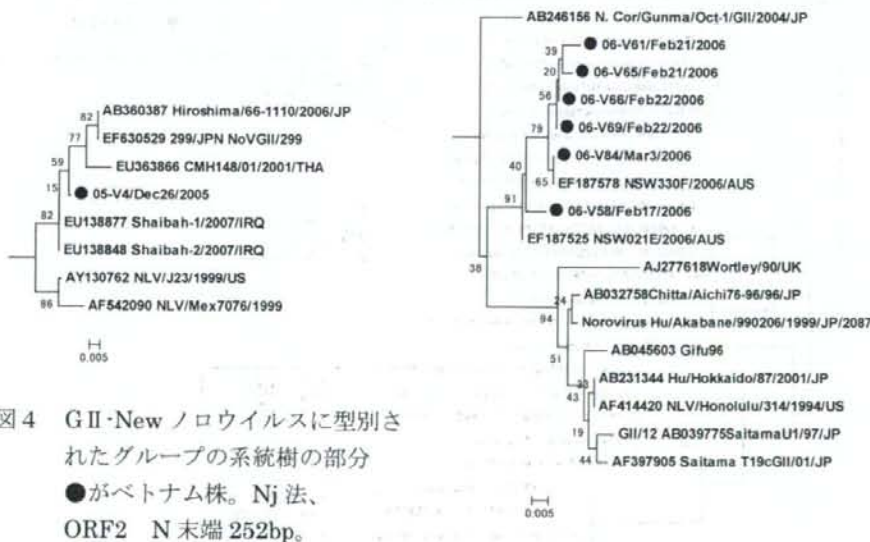


図4 GII-New ノロウイルスに型別されたグループの系統樹の部分

図3 GII-12 ノロウイルスの部位の系統樹

●がベトナム株。V84 は 2006 年のオーストラリアの NSW330 株と一致。  
Nj 法、ORF2 N 末端 252bp。



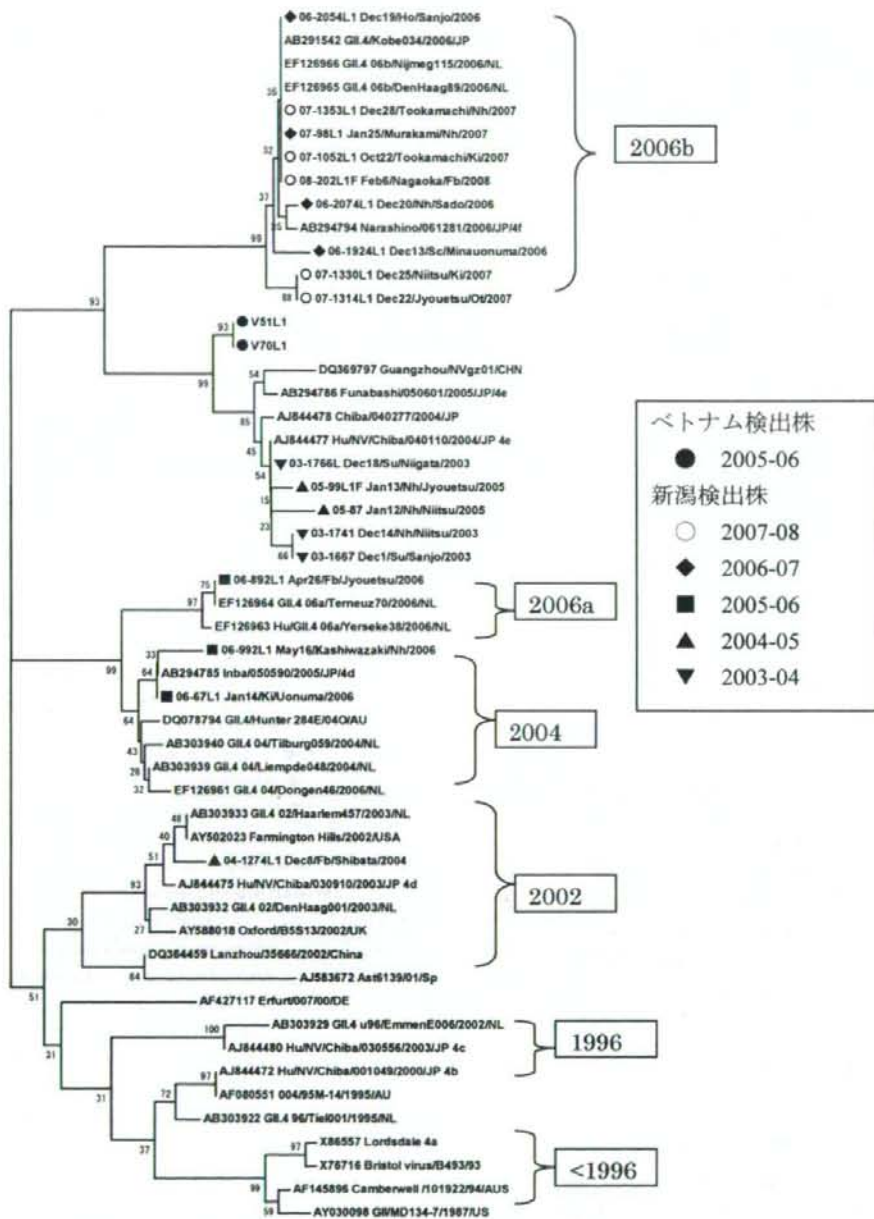


図5 ノロウイルス GII-4 の p2 領域を含む VP1 のアミノ酸配列による系統樹  
 Nj 法、200aa。

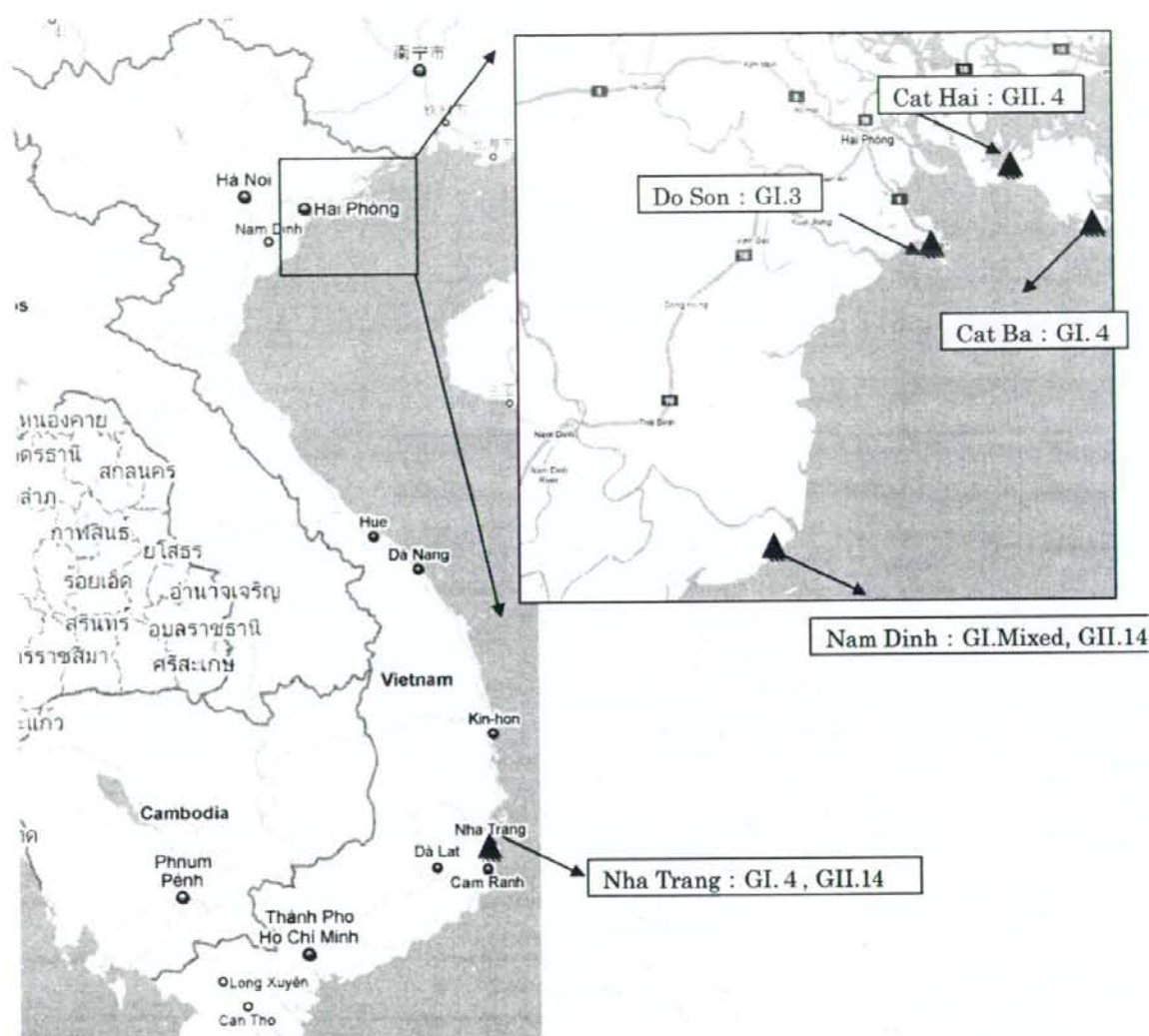


図6 ベトナムにおけるカキの産地と検出されたノロウイルスの型

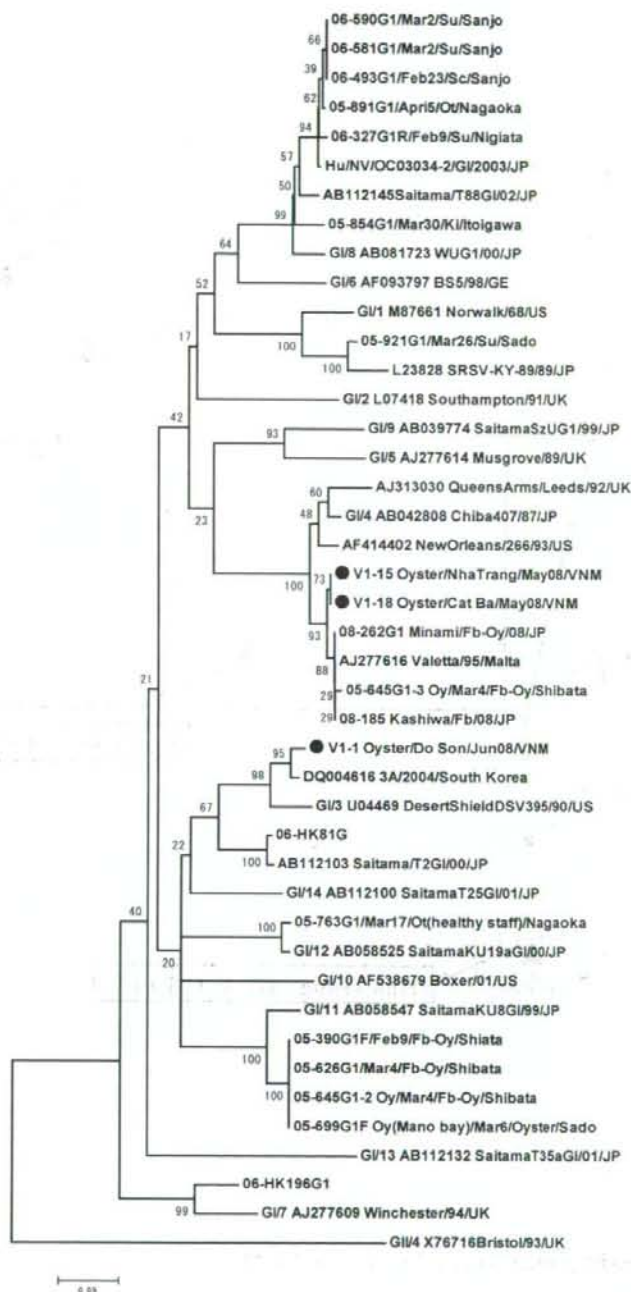


図7 ノロウイルス GI の系統樹 (ORF2 5' 末端の塩基配列による)

●はベトナム産のカキから検出されたノロウイルス

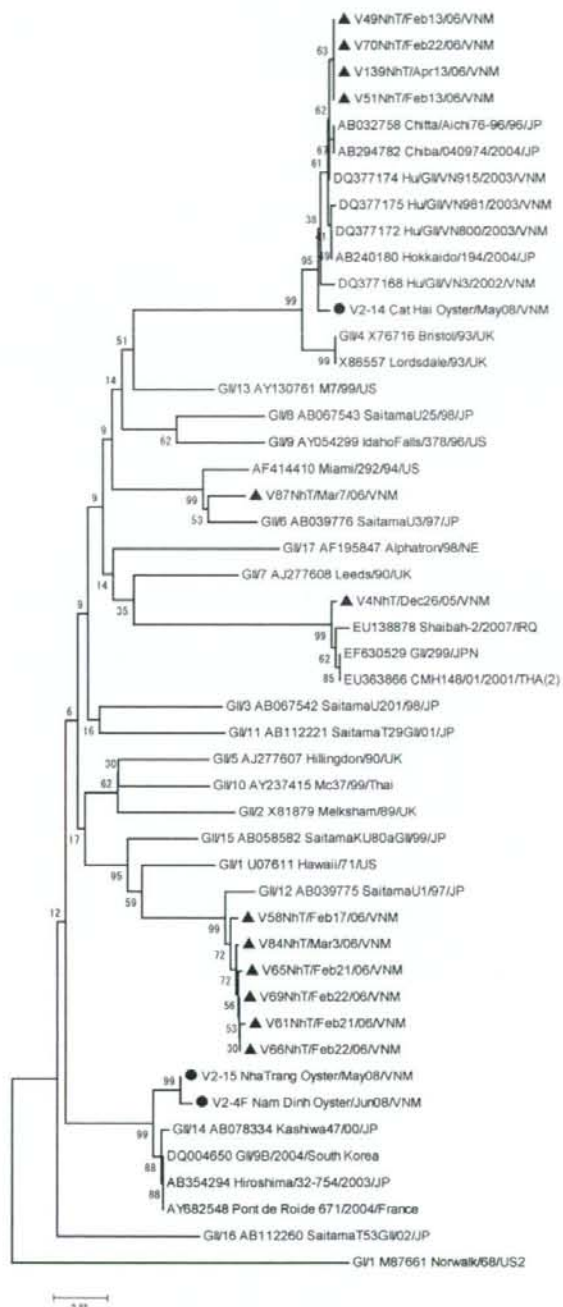


図8 ノロウイルス GII の系統樹 (ORF2 5' 末端の塩基配列による)

●はベトナム産のカキから検出されたノロウイルス

▲はベトナム Nha Trang 市の小児検出ノロウイルス (2005-2006)