

を用いた。4検体の10%便または吐物乳剤及び5検体のPCR産物を検体とした。

10%便乳剤についてはRNA抽出を行い、ScriptSeq v2RNA-Seq Library Preparation kit(Epicentre)を用いてRNAライブラリを作製した後、次世代シーケンサー(MiSeq Reagent Kit(500 cycle))(Illumina)により塩基配列を解読した。解読結果はMePICによりメタゲノム解析を行った。PCR産物については、Nextera DNA Sample Preparation Kits(Epicentre)によりDNAライブラリを作成した後、MiSeq Reagent Kit Nano(300 cycle)により塩基配列を解読し、Genomic Workbench(CLC)を用いて解析した。塩基配列のうちカプシド領域(ORF2の5'末端側、GI:295bp、GII:282bp)の配列より、Norovirus Genotyping Tool(URL:<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool#>)を用いて遺伝子型別判定を行った。

(倫理面への配慮)

「網羅的遺伝子解析法を用いた食中毒事例の原因ウイルス解析」(受付番号3)として、平成25年度富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を得た。

## C. 研究結果

### 1. 患者からのNoV、SaV検出状況

ウイルス性感染性胃腸炎及び食中毒等の集団発生は14事例あり(表1)、事例数としては2012年の29事例と比較して少なく、2011年の11事例と同等であった。12事例からNoVが、2事例からSaVが検出された。14事例中、食中毒事例は

4事例であり、2012年の13事例と比較して少なかった。11月、12月の各1事例でカキフライを喫食していた。

小児散発例は、ウイルスが検出された17例中3例がNoV、6例がSaVであった。

(表2)

### 2. 患者、下水流入水、岩ガキから検出されたNoV及びSaVの遺伝子型

集団発生の患者からはNoV GII.4、GII.12、SaV GI.2などが検出された。

(表1)。散発例の患者からはSaV GI.1が11~12月に集中して検出され、その他にはNoV GI.4、GII.4、SaV GI.2などが検出された(表2)。下水流入水からは、NoV GI.4、GII.4、SaV GI.1などが検出された(表3)。岩ガキからは、NoV GI.4、GII.4、GII.13が検出され、SaVは検出されなかった。

### 3. 検出されたNoV及びSaVの比較

得られたNoV及びSaVの塩基配列を用いた系統樹を図1~4に示す。NoV GI.4が下水流入水から高頻度に検出され、多様性が認められた。その中には、岩ガキ由来のGI.4と近縁な配列も得られた。その一方で、患者からの検出は1例のみにとどまった。NoV GII.4は下水、患者の両者で高頻度に検出され、岩ガキからも検出された。検出されたGII.4の株はすべてSydney2012亜型(Sydney/NSW0514/2012/AU)に近縁であった。しかし、患者から1月に、下水から10月と11月に検出されたGII.4は、Sydney2012亜型に近いものの、他のSydneyタイプの株とは異なるクラスターを形成していた。SaV GI.1においては、下水由来と患者由来の株が近縁であった。

また、集団事例 2 事例より得られた SaV GI. 2 は互いに近縁であった。

#### 4. 便検体の次世代シーケンサーによる遺伝子解析

NoV が検出された便または吐物乳剤 4 検体について RNA 抽出を行い、次世代シーケンサーによる遺伝子解析を行った。全体のリード数は数十万であり、NoV の配列は 0~数千リードと、予想された数より少なかったが、検体番号 1, 2 からは複数の NoV の塩基配列が検出された。遠心上清から抽出した検体であったが、かなり細菌の配列が混入していた。吐物からはノロウイルスの配列が検出されなかった (表 5)。

PCR 産物 5 検体について遺伝子解析を行ったところ、各検体から百万リード前後得られた。得られた配列からそれぞれ Contig を作製し、それらの Blast 解析を行ったところ、半数以上は NoV の配列であった (表 6)。解読可能な ORF2 の配列を用いて遺伝子型別判定を行った結果、各検体において複数の NoV 遺伝子型が検出された。しかし、解読数が少なく検出された遺伝子型の胃腸炎発症への関与の程度は不明であった (表 6)。

#### D. 考察

下水流入水と患者の両者より、例年と同様に NoV GII. 4 が高頻度に検出されており、特に 1 月から 2 月にかけて多かった。系統樹解析によって GII. 4 の亜型について検討したところ、すべて Sydney2012 亜型であり、2012 年に検出された 2006b 亜型や 2009a 亜型は検出されなかった。2012 亜型は 2012/13 シーズン

に流行が始まった亜型であり、それ以降の流行の中心が Sydney 2012 亜型に置き換わったと考えられた。

下水流入水と患者から高頻度に GII. 4 が検出されていることから、下水流入水中のウイルスは患者発生の傾向を反映していると考えられる。その一方、NoV GI. 4 は下水流入水から高頻度に検出されたが、患者からの検出は散发例 1 例のみであった。よって、GI. 4 は不顕性感染が多く、下水流入水からの検出は不顕性感染の遺伝子型も反映していると思われた。

岩ガキからは、下水流入水から高頻度に検出された NoV GI. 4 及び GII. 4 の両方が検出されており、岩ガキ中のウイルスは下水流入水の汚染状況と関連する可能性がある。岩ガキによる食中毒事例がしばしば報告されていることから、引き続き岩ガキの生食にはリスクが伴うことを留意する必要があると考えられた。

SaV については、2012 年に引き続き GI. 2 による集団感染事例が 2 事例発生した。この遺伝子型による集団派生事例の報告が増加していることから、今後も同遺伝子型の推移に注意する必要があると考えられた。

今回の次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析によって、同一検体中に複数の遺伝子型の NoV 配列が得られたことから、同一検体中に少数含まれるウイルス配列の検出に次世代シーケンサーの使用は有効であると考えられた。しかし、ごくわずかな配列も検出される可能性があることから、検出されたウイルスの感染性胃腸炎発症への関与は慎重に判断する必要がある。また、RNA から遺伝子解析

を行う場合は、非常に多数のリード（各検体当たりおよそ数万～数十万リード）が解読されるため、その中からウイルスの配列を抽出し解析する必要がある。そのためには、高性能のコンピューターと解析ソフト、解析手技の整備が必要であると考えられる。

## E. 結論

2013年のノロウイルス流行型は例年と同様に GII.4 であり、その亜型は Sydney2012 が主流であった。NoV GI.4 は不顕性感染が多い傾向を示した。

NoV 陽性検体より抽出した RNA 及び PCR 産物より次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析を試みたところ、同一検体から複数の遺伝子型が検出された。検出された各遺伝子型の感染性胃腸炎発症への関与の可能性は今後検討する必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

名古屋真弓、稲崎倫子、板持雅恵、嶋一世、堀元栄詞、小渕正次、野田衛、佐

多徹太郎、滝澤剛則：富山県における患者・下水・岩ガキからのノロウイルス・サポウイルスの検出．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸市，平成25年11月11日

稲崎倫子、名古屋真弓、成相絵里、小和田和誠、葛口剛、酢谷奈津、松原祐子、田中保知、楠原一、赤地重宏、小林慎一、皆川洋子、小平彩里、柴田伸一郎：平成24年度の東海北陸地区におけるウイルス性胃腸炎の発生状況について．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸市，平成25年11月11日

## G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

## H. 謝辞

本研究の実施にあたりご協力いただいた富山県内各厚生センター、富山市保健所、生活衛生課、健康課の皆様には深謝いたします。また、MiSeq による解析をご指導いただきました国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター長の黒田誠先生に深謝いたします。

表 1. 集団発生事例からのノロウイルス及びサポウイルス検出状況

ウイルス		2013年												計
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
ノロ	GII.4	3	1		1							1	1	7
	GII.6			1										1
	GII.12	1				1								2
	GII.4+GII.12	1												1
	GI.6+GII.4+GII型不明		1											1
サポ	GI.2				1			1						2

(数値：事例数)

GII型不明は、塩基配列が得られたものの、型別ができなかったことを示す。

表 2. 小児散発例からのノロウイルス及びサポウイルス検出状況

ウイルス		2013年												計
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
ノロ	GI.4			1										1
	GII.4	1												1
	GII.13											1		1
サポ	GI.1										1	3	4	
	GI.2	1											1	
	GIV		1										1	

(数値：検体数)

表 3. 下水流入水におけるノロウイルス及びサポウイルス検出状況

ウイルス		2013年											計
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
ノロ	GI.4												8
	GI.8												1
	GI.11												1
	GII.4												9
	GII.13												1
サポ	GI.1											1	

ウイルスが検出された月を灰色で示した。

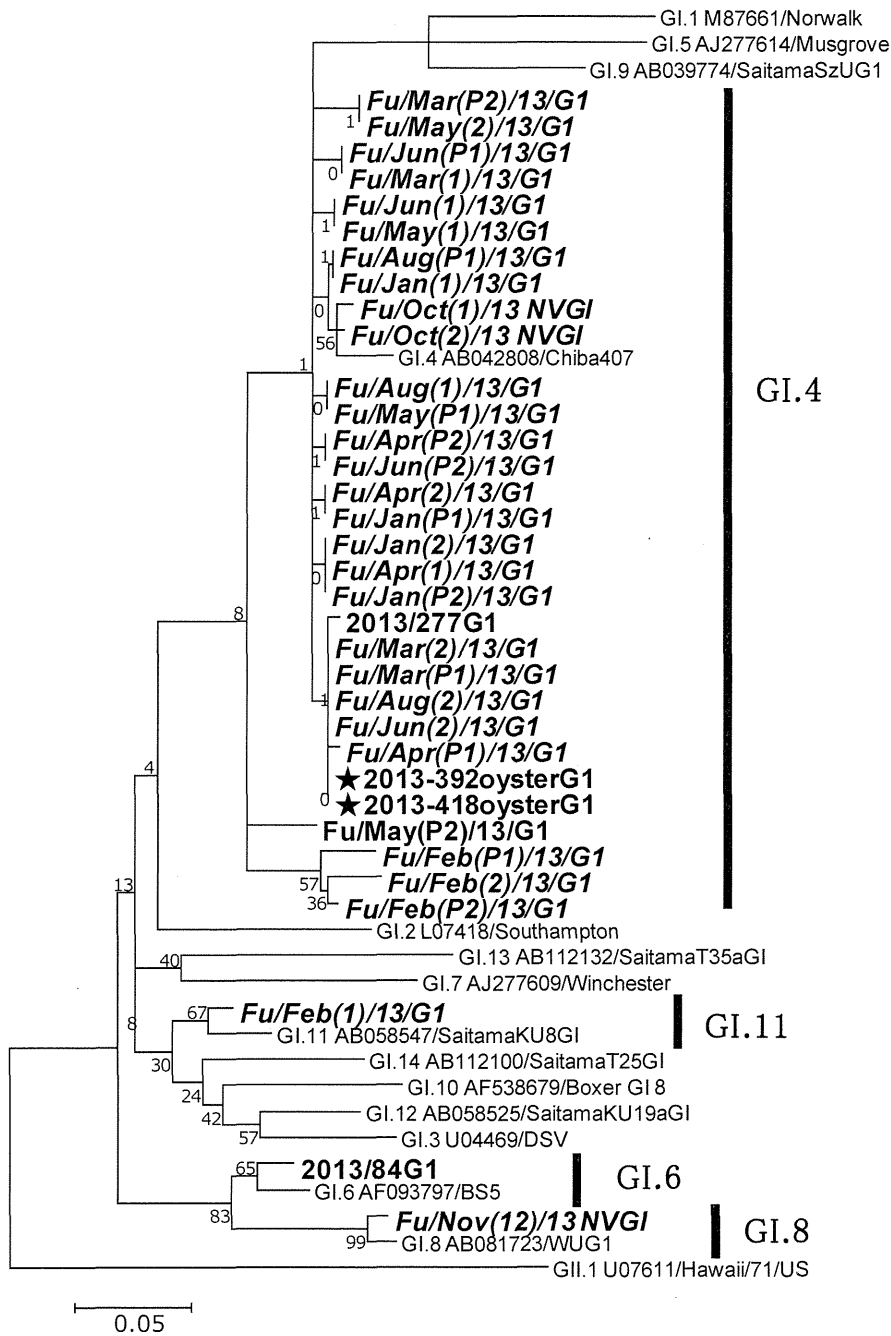
表 4. 岩ガキにおけるノロウイルス検出状況

		調査時期	検体数	陽性数	検出ウイルス
2013年	4月	下旬	4	1	NoV GI.4
	5月	上旬	3	0	
	5月	中旬	2	1	NoV GII.13
	5月	下旬	1	1	NoV GI.4、GII.4
	6月	上旬	3	0	
	6月	中旬	4	0	
		計		17	3

(1検体：岩ガキ3個をプール)

サポウイルスについても検査したが、いずれも陰性であった。

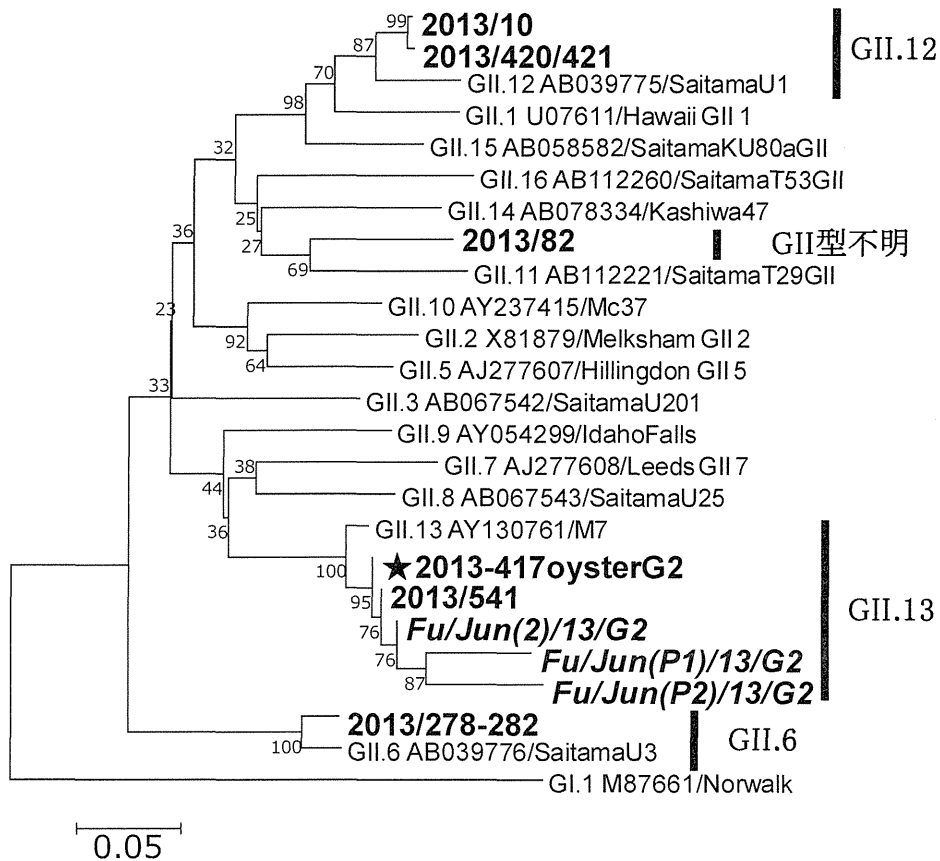
図 1. ノロウイルス GI の系統樹



太字のうち斜体は下水流入水から、★印の付いたものは岩ガキから、それ以外は患者から検出されたウイルスを示す。

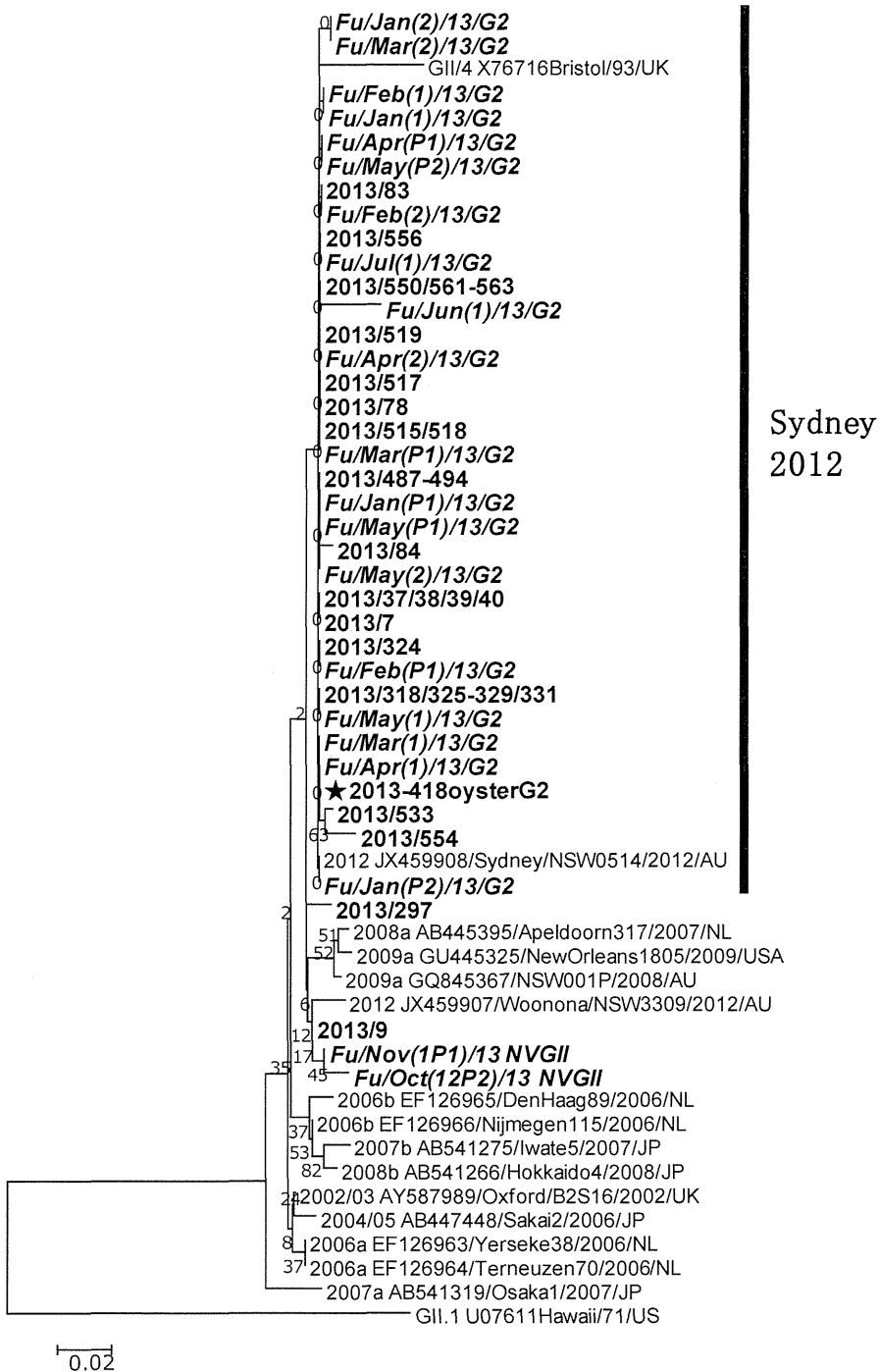
その他は参考株（型別 accession no./株名）を示す。

図2. ノロウイルス GII の系統樹 (GII.4 除く)



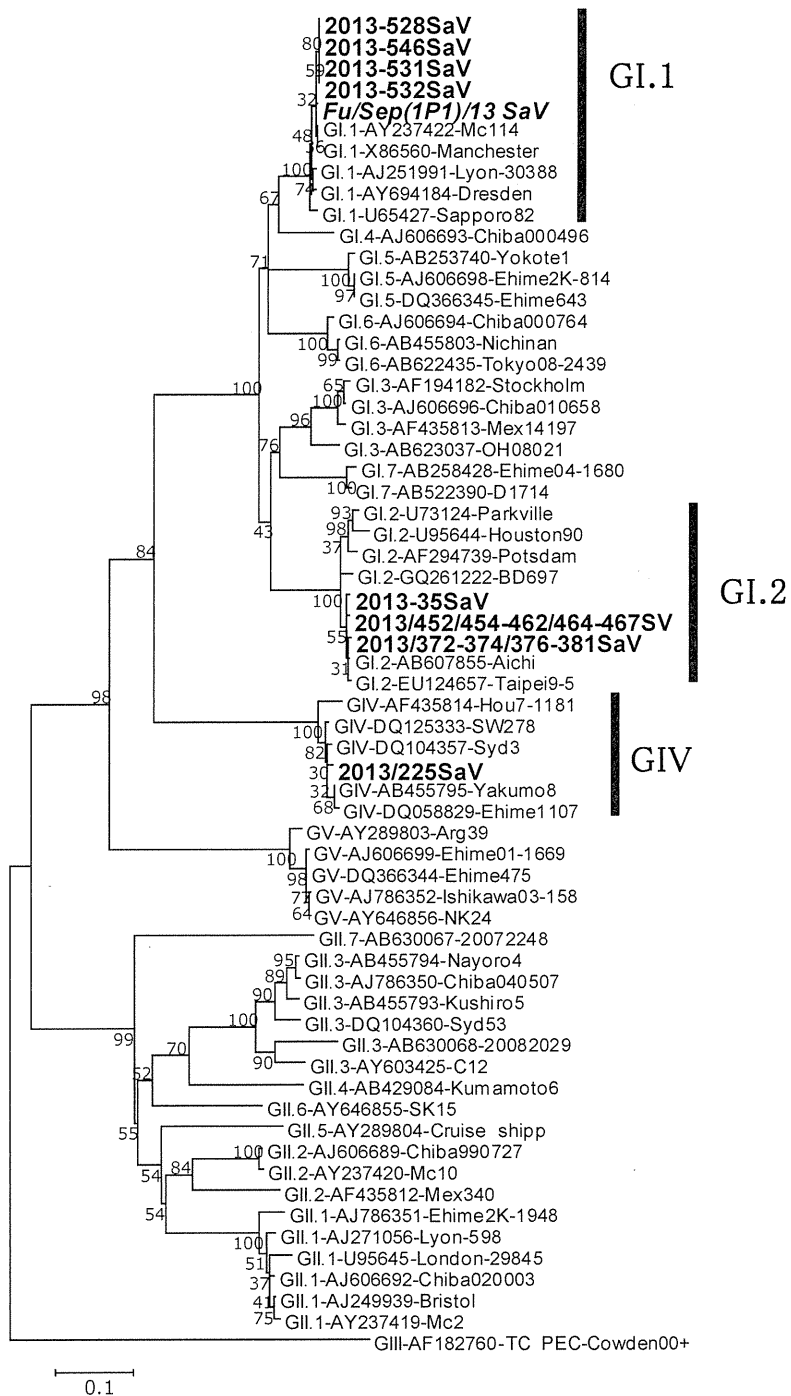
株名については図1と同じ。

図 3. ノロウイルス GII.4 の系統樹



株名については図 1, 2 と同じ。GII.4 参考株については、(亜型 accession no./株名) で示す。

図 4. サポウイルスの系統樹



株名については図 1、2、3 と同じ。参考株については (型別-accession no.-株名) で示す。



表 5. ノロウイルス陽性検体抽出 RNA を用いた網羅的遺伝子解析結果

検体No.	全体のリード数	細菌のリード数	NoVのリード数	NoV遺伝子型
1(便)	350,227	7,580	300	GI.3、GI.7、GI.8、GI.9
2(便)	724,478	233,215	22	GII.2、GII.16
3(便)	248,190	50,436	2,080	GII.4
4(吐物)	119,772	1,814	0	—

表 6. ノロウイルス陽性検体の PCR 産物を用いた遺伝子解析結果

検体No.	全体のリード数	Contig	うち NoV配列	うち ORF2領域含む配列数	NoV遺伝子型
3(便)*	1,483,382	17	10	5	GII.4 (Sydney2012)、GII.6、GII.12、GII.13
5(便)	964,600	17	11	3	GII.4 (Sydney2012)、GII.12、GII.13
6(便)	1,354,484	14	6	3	GII.4 (2006b)、GII.6、GII.12
7(便)	1,029,371	8	6	3	GII.6、GII.12、GII.13
8(便)	1,127,360	13	9	5	GII.2、GII.4 (Sydney2012)、GII.6、GII.13

\* 表 5 検体 No. 3 と同一検体

## 網羅的ゲノム解析によるノロウイルスの分析法の検討

研究分担者

上間 匡

国立医薬品食品衛生研究所

### 研究要旨

食中毒事例のうち、カキ等二枚貝が関連する食中毒事例等において、食品と患者検体から検出されるノロウイルスの遺伝子型が異なるために、疫学的に関連が推定されながらも原因特定に至らない事例が見受けられる。

これは現在行われるシーケンス解析が基本的には患者・食品検体に含まれるもっともメジャーな 1 株のみを決定し、複数含まれる可能性のあるマイナーな株を検出・解析出来ないという技術的限界によるものである。

次世代シーケンス解析により検体に含まれる複数の NoV について網羅的に解析を行うことで、カキ等や患者検体に含まれる遺伝子型の多様性を探り、現在の検査において異なる遺伝子型が検出される食中毒事例について対応できる知見を得る目的で、次世代シーケンサーを用いて、NoV 遺伝子を網羅的に解析する条件について検討を行った。

### A. 研究目的

近年の遺伝子解析手法の発達と普及によって、ノロウイルス(NoV)が関連する食中毒事例においては、原因食品特定の目的で患者検体と原因食品検体から NoV 遺伝子が検出されること、かつ検出された遺伝子配列が高い相同性を示すことが求められる状況にある。

一方で、食中毒事例のうち、生カキ喫食事例等において、カキから検出される遺伝子型と患者検体から検出される遺伝子型に相違が見られ、疫学的に原因と推定されながらも原因特定に至らない事例も多く見受けられる。

これは現在行われるシーケンス解析が基本的には患者・食品検体に含まれるもっともメジャーな 1 クローンのみを決定し、複数含まれる可能性のあるマイナーなクローンを検出・解析出来ないという技術的限界によるものである。

次世代シーケンス解析では、例えば検体由来の DNA 産物について、網羅的にシーケンス解析を行うことで、その中に含まれる遺伝子を数千〜数万クローンという規模で解析することが可能である。図.1 に示すように従来のシーケンス解析で得られるクローンのデータが数クローンであるのに対して、次世代シーケンサ

一の一つである ION PGM 314 チップを用いた場合には、1 回の解析で 1 リード 400base, 全データが 20Mbase となるので、理論上は最大 50000 リード（5 万クローン）のシーケンスデータが得られる。100%のデータが得られることはないが、仮に半分のデータ量となっても 2 万リード以上を解析可能であり、20 検体を同時に解析したとして、1 検体あたり 1000 リード以上を解析可能であり、従来と比較して検体中の微量なクローンについても検出可能となることが期待出来る。

本研究では、食品等から検出される NoV 遺伝子について ION PGM(Life Technologies)を用いて、網羅的解析を行い、食品に含まれる NoV の遺伝子型の多様性についての知見を得ることを目的とし、現在たびたび問題となる「疫学的に関連が推察されるが、遺伝子解析では原因不明」となるような事例にも対応しうる情報を蓄積することを目指している。

ここでは、Ion PGM を用いて検体からの NoV 遺伝子を網羅的に解析するための条件を検討した。

## B. 研究方法

### 1. 検体

NoV GII/4 遺伝子型と判断された患者糞便検体より抽出した RNA を用いた。

### 2. RNA を対象とした網羅的解析

Ion Total RNA-Seq Kit v2 を用いて RNA ライブラリーの作成、および Ion Template OT2 400 Kit にてテンプレート調整を行った後に、Ion PGM にて塩基配列解析を行った。シーケンサーチップは Ion 314 Chip Kit を用いた。図 2 に示すよう

に抽出 RNA を RNaseIII にて断片化した後に、試薬キットに従ってタグ付加、逆転写を行った。さらに逆転写で得た cDNA を精製し、PCR で増幅したのちに ION PGM にてシーケンス解析を行った。

### 3. PCR 産物を対象とした網羅的解析

RNA より逆転写反応によって得た cDNA から、プライマーセット GII-SKF/SKR を用いて NoV ORF1/ORF2 ジャンクション領域を nested PCR で増幅し、PCR 産物を精製した後に、Ion Template OT2 400 kit にてテンプレート調整を行い、Ion PGM にて塩基配列解析を行った。また、GII-SKF/SKR のプライマーには、Ion PGM での解析用に、特異的なタグ配列を付加したものをを用いた（図 2）。シーケンサーチップは Ion 314 Chip Kit を用いた。

得られた塩基配列データについては Genomic Workbench(CLC)を用いて NoV 参照配列の BLAST 検索、相同性解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究では特定の研究対象者は存在せず倫理面への配慮は不要である。

## C. 研究結果

### 1. RNA を対象とした網羅的解析

Total RNA および Total RNA から mRNA を精製し、Ion PGM にて網羅的に解析を行ったところ、RNA が糞便検体由来であることもあり、解析された遺伝子のほぼ全てが大腸菌由来のものであった。また、NoV 遺伝子は検出されなかった。図 3 A に示すように精製した RNA のリード長の分布は平均 66bp と短く、20bp 程

度のものも多く含まれていた。また、図 2 の操作手順にあるように RNA や cDNA 精製の実施が多く煩雑であった。

## 2. DNA を対象とした網羅的解析

図 2 に示す操作手順に従い、High Capacity RNA-to-cDNA Kit (Life Technologies)にて cDNA を作製し、COG2F/GII-SKRにて 1st PCR を行った。さらに Ion PGM 解析用にタグを付加した GII-SKF/SKR のプライマーセットにて 2nd PCR を行い、解析用の PCR 産物を得た。これを精製し Ion PGM にて解析を行ったところ、全リード数 46,147 のうち 250 塩基以上のリードが 2301 得られ、うち 287 リードが GII/4 と一致した (図 3)。しかし、PCR 産物の精製を行ったにもかかわらず、200 塩基以下のリードが非常に多い結果となった。

GII/4 と一致した 287 リードの一部について図 4 に示すようにアライメント解析を行ったところ、塩基の挿入、欠損部位に多くのバリエーションを確認することが出来た。また、これを系統樹解析したところ (図 5)、58 クローン中 48 クローンが同一クラスターを形成し、このクローンが今回解析した検体中の優位なクローンであることが示唆された。また同一検体中から複数のクラスターを検出可能であることが示された。

また、nested PCR までは、従来行われているノロウイルスの遺伝子検査の手順と同様であるため、シーケンサ用の検体調整は比較的容易であった。

## D. 考察

1. 今回は、ION PGM(Life Technologies 社)を用いた網羅的ゲノム解析によるノロウイルス分析法の検討を行った。GII/4 陽性と診断された患者検体由来の RNA から ORF1-ORF2 ジャンクション領域 (約 350 塩基)を nested RT-PCR で増幅した PCR 産物を用いて検体由来のノロウイルス遺伝子の網羅的解析条件を決定することができた。

これにより従来の遺伝子検査とほぼ同じ手技で網羅的解析用の PCR 産物を調整できる。NoV ORF1-ORF2 ジャンクション領域をターゲットとした SKF/SKR のプライマーセットによる RT-PCR は、これまでの遺伝子検査で一般的に実施されており、多くの遺伝子型について PCR 増幅できることが大きな利点であり、より多くの検体を網羅的解析へ供する際に効率よく検体調整できる。

解析した検体から検出された GII/4 遺伝子群の中でも複数のクラスターが形成された (図 5) ことから、同一検体中に複数の遺伝子型が含まれる場合にも網羅的解析が有効であると考えられた。また、PCR 産物を網羅的に解析する関係で、PCR で増幅されやすい遺伝子型をより多く検出するという点で正確ではないが、複数の遺伝子型の検出頻度の解析を行うことで二枚貝や、ヒトの臨床検体に含まれる NoV 遺伝子型の分布傾向も探ることができると考えられる。多くの遺伝子型を検出することが可能であることから、今後より多くのヒト由来検体と食品検体との比較データを蓄積することで、NoV 遺伝子型と感染性胃腸炎発症の関連等に

ついて新たな知見を得ることが期待できる。

RT-PCR 産物を ION PGM で解析する利点はノロウイルス以外の非特異ターゲットによるノイズが少ないこと、増幅するノロウイルス遺伝子長が 350bp と短いので、複数検体を同時に解析しても ION PGM 314chip で十分なデータ量を確保できることである。また、MiSeq(Illumina 社) 等の他の次世代シーケンサーではリード長が 100 から 150 塩基であるため、SKF/SKR プライマーセットを用いた RT-PCR 産物を直接解析に供することが難しい点、系統解析のための複数リードのアッセンブルという作業が必要な点で、1 リード長として 400 塩基を期待できる ION PGM は簡便な網羅的解析系として利用しやすいと考えられる。

今回は解析の結果得られるデータを可能な限りノロウイルスに絞る目的で、SKF/SKR プライマーを用いたため、ノロウイルス以外のウイルスや細菌が感染性胃腸炎に関与している場合は対応出来ない可能性が高いため、将来的には患者由来検体や食品検体から抽出した RNA,DNA を対象にした網羅的解析を行って病原体検索を行い、原因究明につなげる方法を確立していく必要がある。RNA を対象とする場合には、解析で得られるデータが数千万リード、あるいは数億リードと膨大になるが、ION PGM ではデータ量に応じて 316, 318 チップを使用することが出来るため、RNA を対象にした網羅的解析にも対応できると考えられる。しかし膨大なデータ量となるため、これを解析

するためのコンピューター、解析ソフト等の環境整備が必要になると考えられる。

また、解析対象の RNA 全体に対してターゲットとするノロ・サポ等食品由来ウイルスの遺伝子は非常に少ないコピー数しか含まれない可能性が非常に高く、微量の RNA を効率よく検出するための RNA 抽出とテンプレート作成方法を検討する必要がある。

また図 3 に示すように nested RT-PCR 産物は約 350bp の長さであるが、DNA 解析では平均リード長 133bp と期待したリード長よりもかなり短い産物によって解析効率が低くなっている。精製方法を改善し効率よく解析するための実施方法を確立する必要がある。より多くのデータを効率よく蓄積するには、今後は自動化を取り入れるなど、安定した実験成績が得られるような体制を整えることも必要である。

## E. 結論

次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析によって、同一検体中に複数の NoV 配列が得られたことから、同一検体中に少数含まれるウイルス配列の検出に次世代シーケンサーの使用は有効であると考えられた。ごくわずかな配列も検出される可能性があることから、食品検体での応用も期待出来る。検出されたウイルスの感染性胃腸炎発生への関与については慎重に判断する必要がある。また、RNA から網羅的解析を行う場合は、膨大な(検体当りおよそ数万~数十万)リ

ードを解析する必要があるため、その中からウイルスの配列を抽出し解析するための環境整備も必要である。

将来的には NoV だけでなくサポウイルスなどの食品由来ウイルス，さらに細菌等についても同時に解析する手法として期待出来る。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

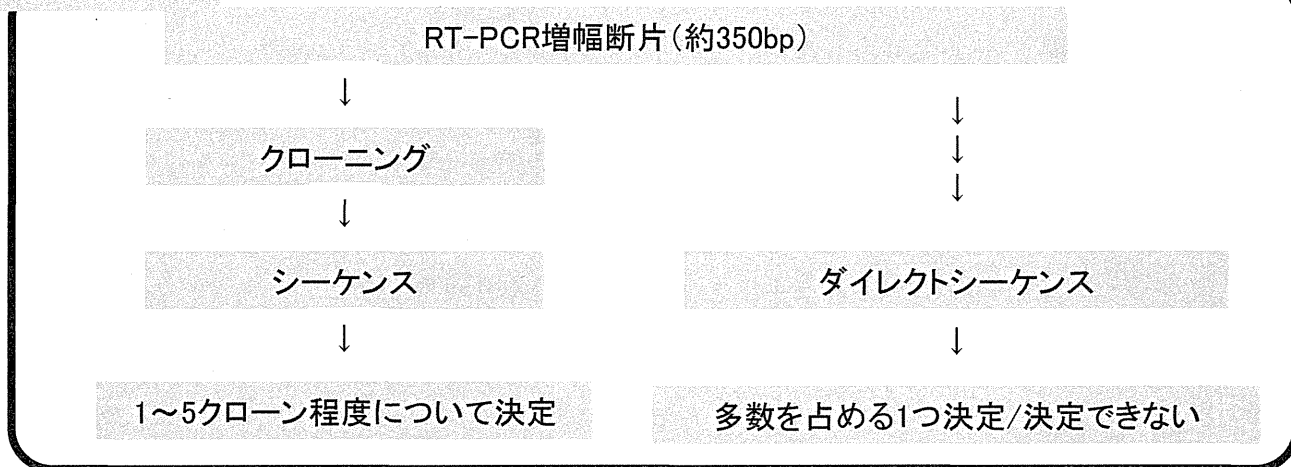
## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得：なし

### 2. 実用新案登録：なし

### 3. その他：なし

従来のシーケンサ



次世代シーケンサ(ION PGM)

チップ	リード長	時間	データ量(仕様)
314	1x400bp	2. 4h	20Mb
316	1x400bp	3. 1h	200Mb
318	1x400bp	4. 5h	<1G

RT-PCR増幅断片(約350bp)

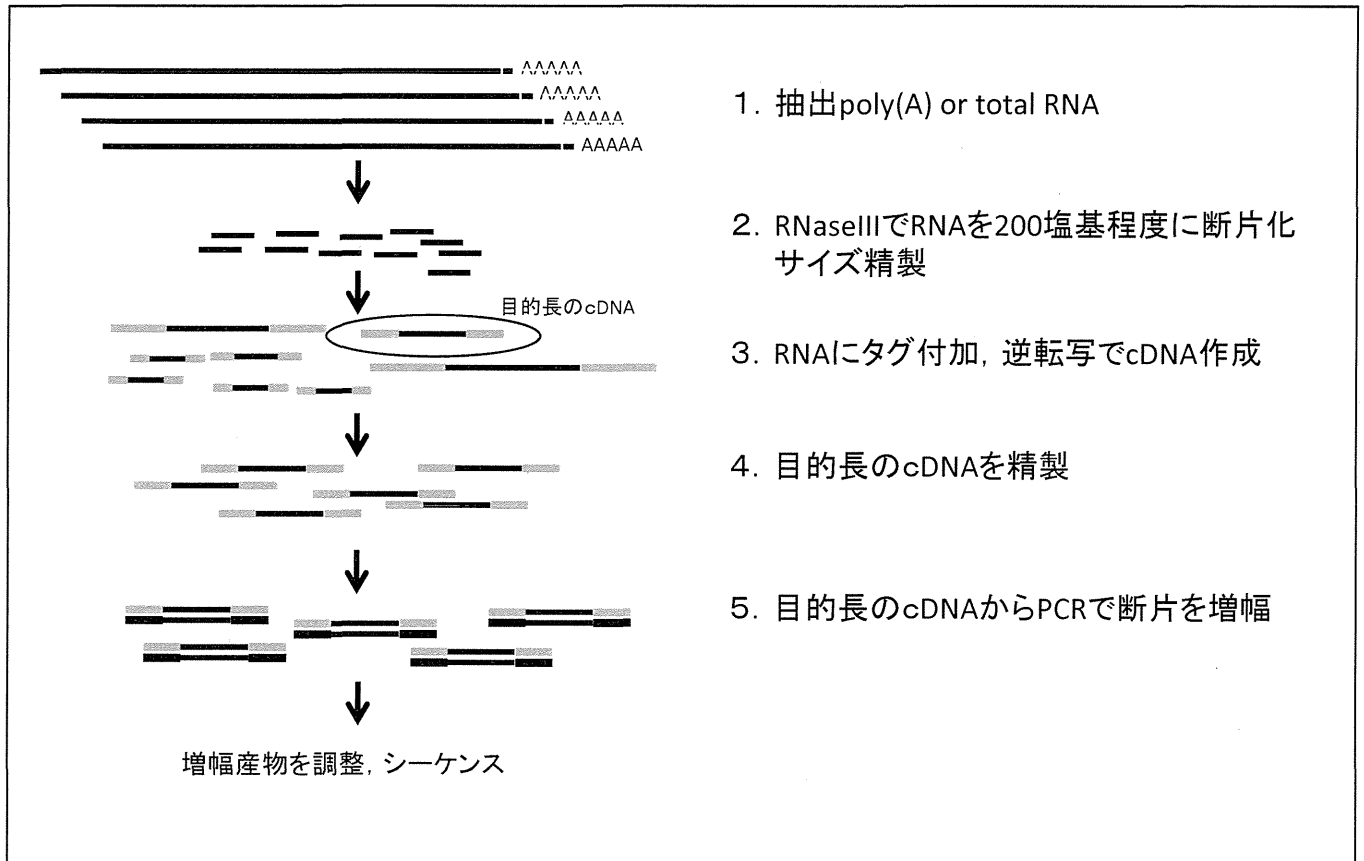


チップシーケンス

20Mb (20,000,000b) ÷ 400b = 50,000クローンの配列を決定  
 従来は拾えなかったマイナー株も拾え, 複数の遺伝子型を同時に検出可能  
 複数の検体を1回の解析で検討することが可能  
 チップを変更することで, 解析するデータ量を大きくできる

図.1 従来のダイレクトシーケンス法と次世代シーケンス法の比較

## RNAシーケンスの流れ



## DNAシーケンスの流れ

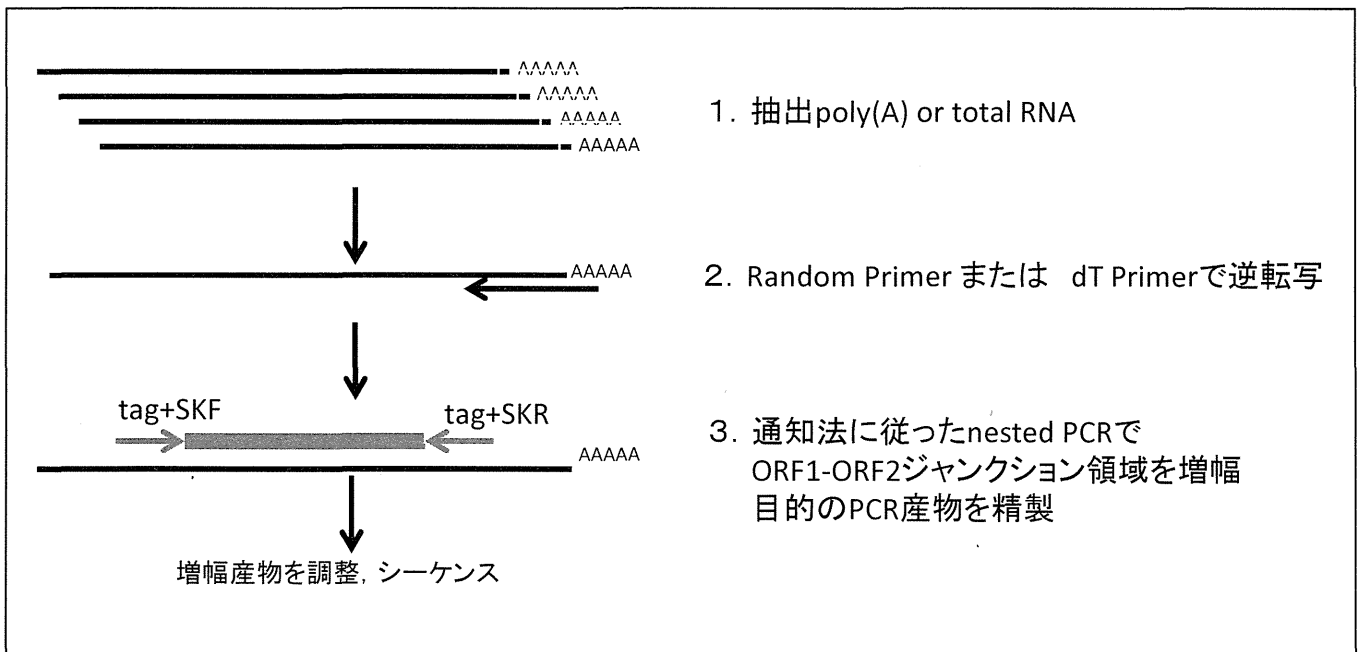
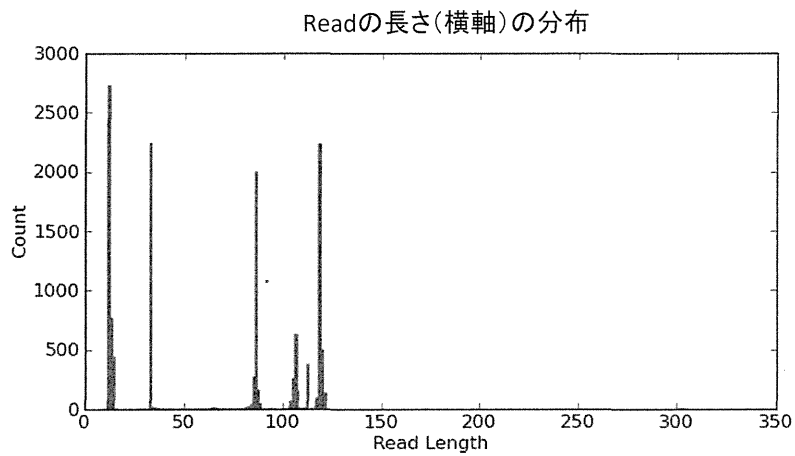


図2. 次世代シーケンスの作業手順概略

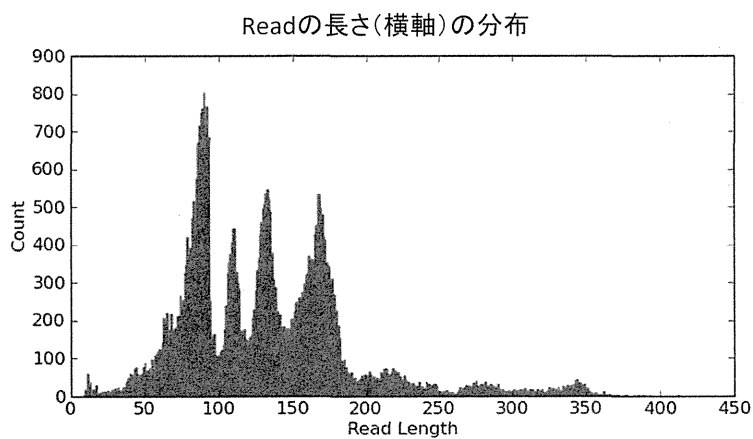


A



Reads	Mean Read Length	GII/4 Reads
14,438	66bp	Not Detected

B



Reads	Mean Read Length	GII/4 Reads
46,147	133bp	287

図3.

ION PGMで解析後の有効リード数とGII/4と判断したリード数  
 GII/4と判別したリードは250bp以上のものを選定した  
 A:RNA 解析 B:RT-PCR産物解析

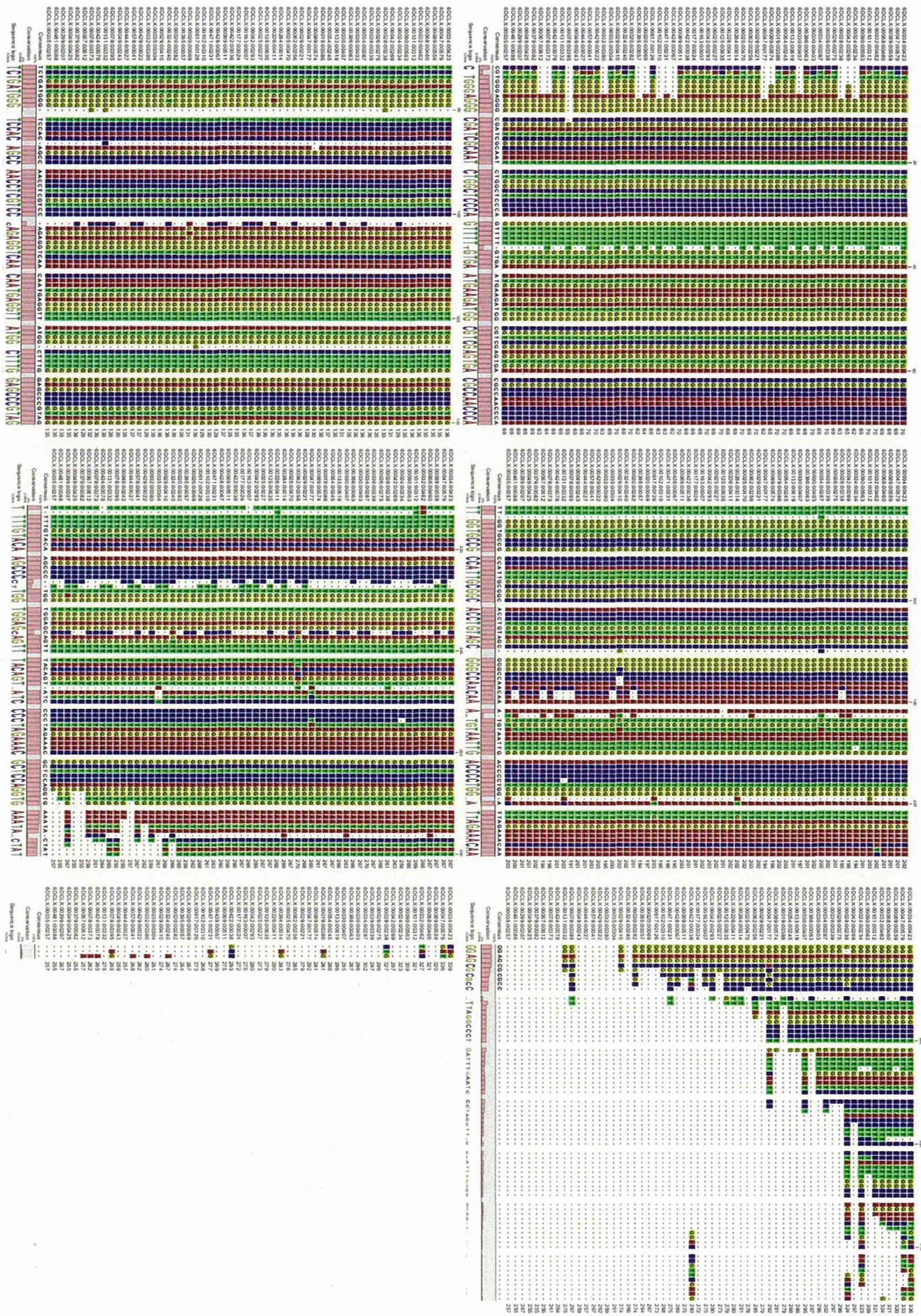


図4. GII/4と判別できたうちの58クローンのアライメント

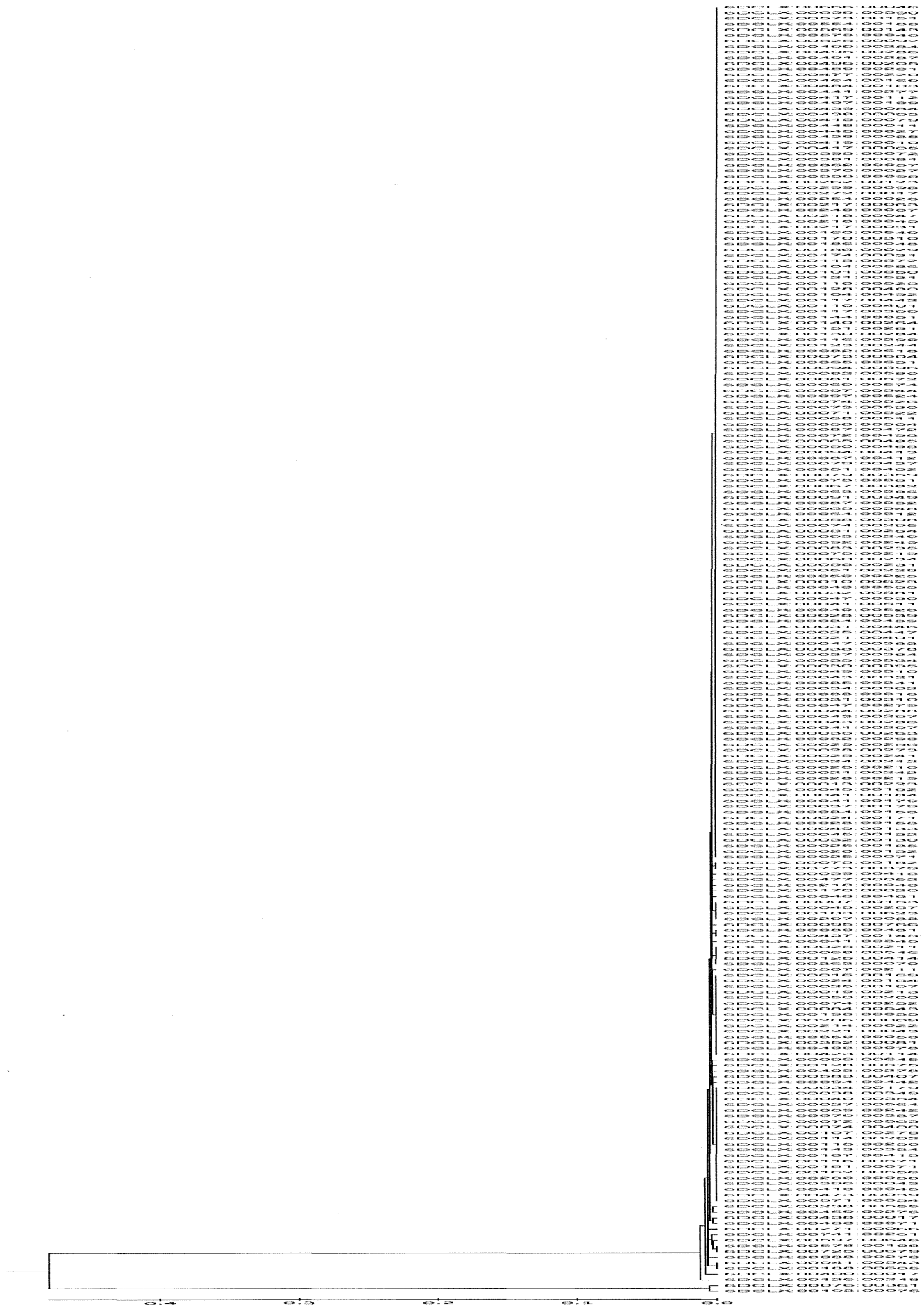


図5. GII/4と判別できたうちの58クローンのアライメント

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

「食品中の病原ウイルスの検出法に関する研究」

研究分担報告

## ウイルスの食品検査の精度管理

研究分担者	鈴木 達也	一般財団法人食品薬品安全センター
研究協力者	野田 衛	国立医薬品食品衛生研究所
	上間 匡	国立医薬品食品衛生研究所
	吉澄 志磨	北海道立衛生研究所
	筒井 理華	青森県環境保健センター
	斎藤 博之	秋田県健康環境センター
	田村 務	新潟県保健環境科学研究所
	名古屋 真弓	富山県衛生研究所
	森 功次	東京都健康安全研究センター
	入谷 展弘	大阪市立環境科学研究所
	三好 龍也	堺市衛生研究所
	山下 育孝	愛媛県立衛生環境研究所
	吉富 秀亮	福岡県保健環境研究所
	原田 誠也	熊本県保健環境科学研究所
	岩切 章	宮崎県衛生環境研究所

### 研究要旨

国内で食品のノロウイルス検査を実施している 12 機関を対象として、共通試料を配布することにより外部精度管理を行った。陽性試料 2 種、陰性試料 1 種および標準 cDNA 溶液を調査試料として配布し、定量検査を各検査機関にて実施した後、回収した結果について解析を行った。なお、検査方法は各検査機関で通常実施している方法と指定した共通の方法の 2 種とした。また、検量線作成に使用する cDNA 溶液についても各機関で通常使用している cDNA 溶液と共通で配布した cDNA 溶液の 2 種とした。その結果、陰性試料については全ての検査機関で正しい結果を報告した。これに対して陽性試料については採用する方法や検量線作成時の cDNA 溶液の種類間で平均に有意差は認められなかったものの、その変動については試料により程度の差はあるが、差異が認められる傾向にあった。また、この原因について確認したところ、特に検量線作成に使用する cDNA 溶液の定量値が大きく異なる事例が認められたことから、各検査機関間で認められる変動の原因の一部として、使用する cDNA 溶