

図1 パンソルビン・トラップ法の操作手順(Ver.4)

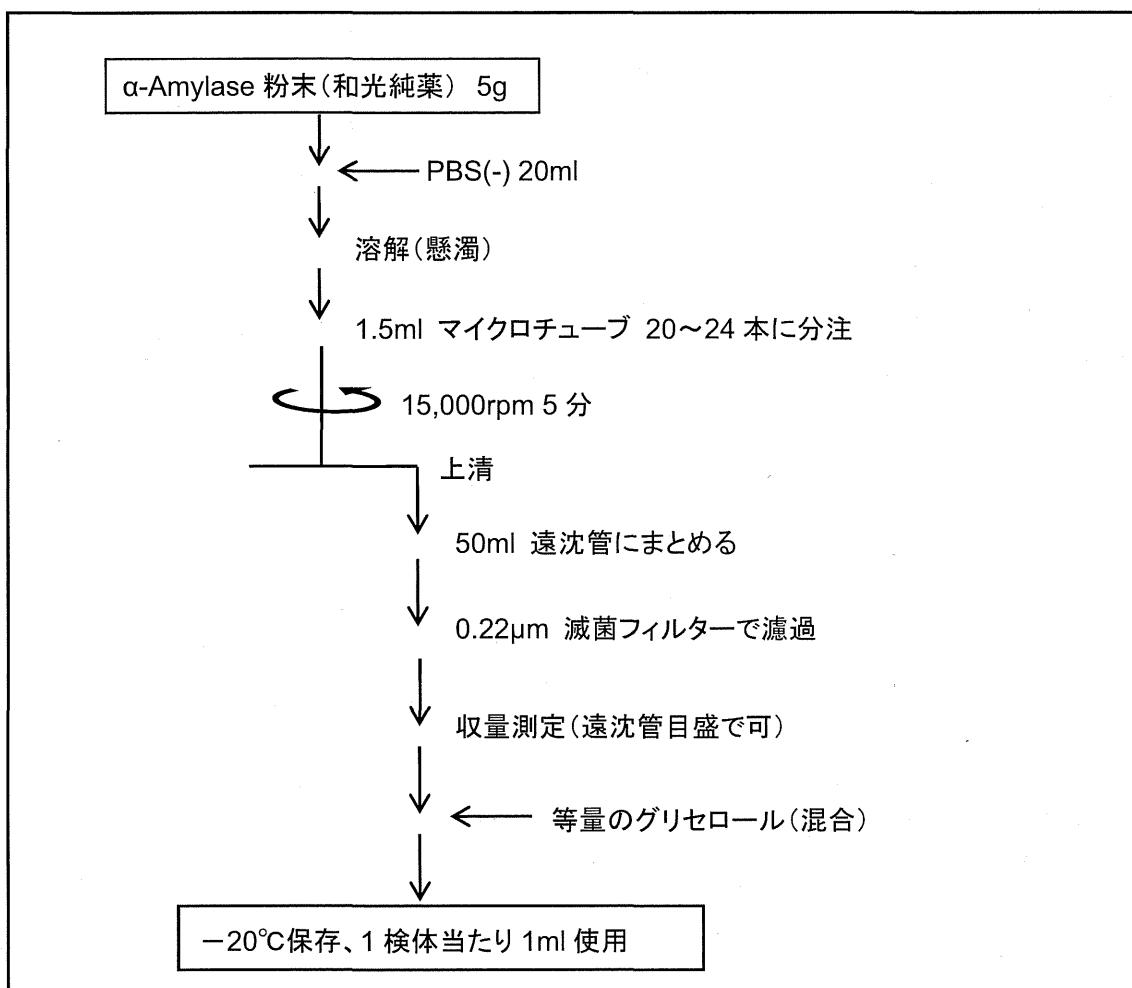


図 2 α -Amylase の液化調製手順

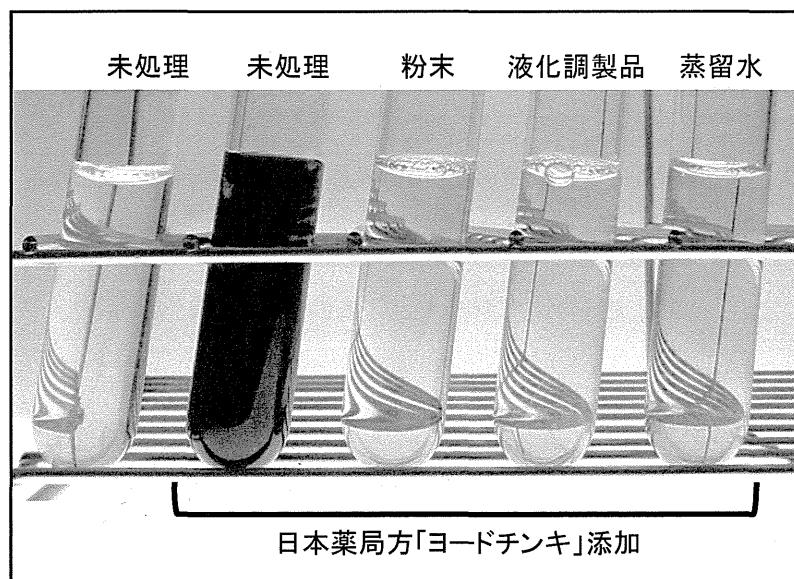


図 3 液化調製した α -Amylase によるデンプンの分解

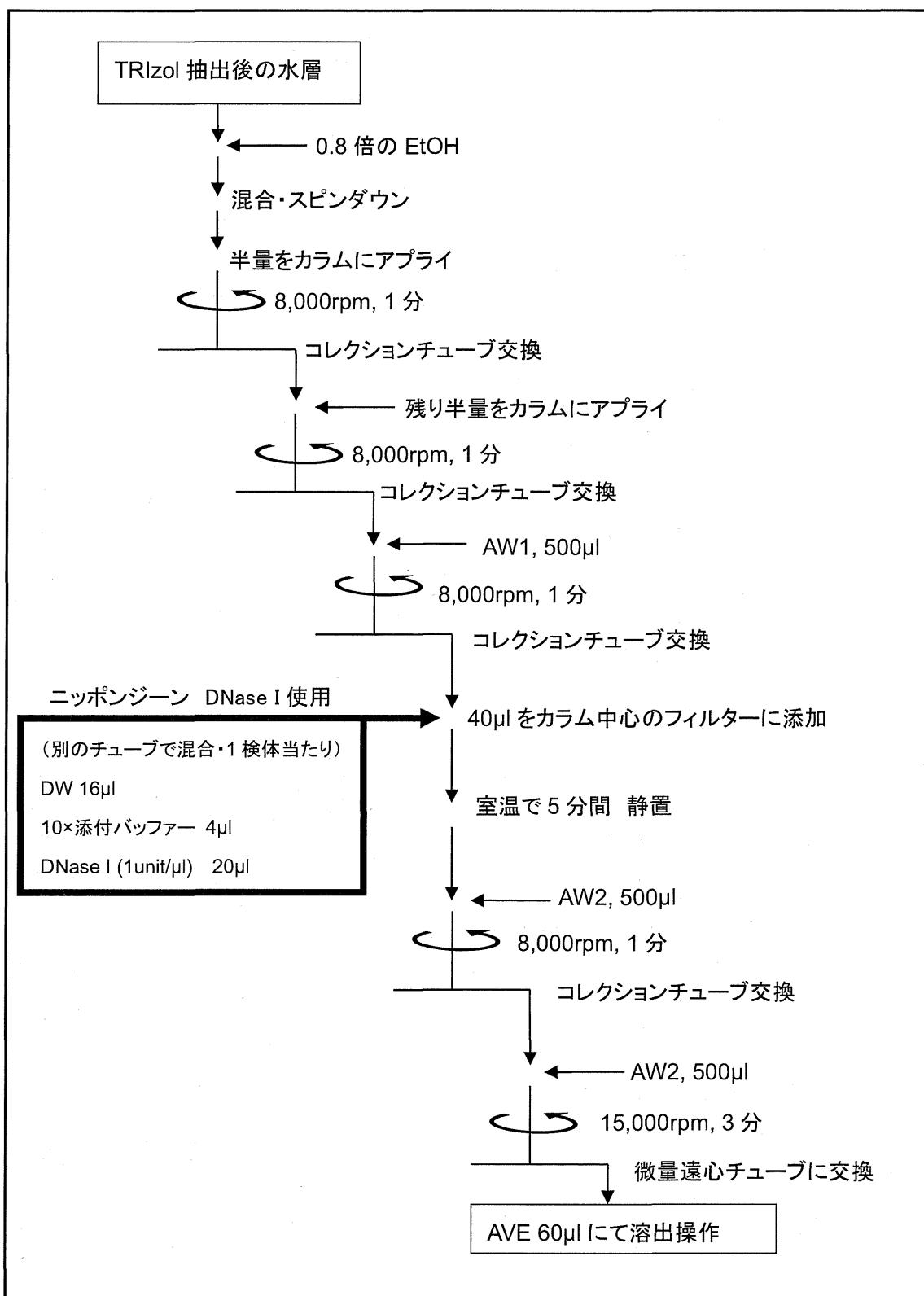


図 4 QIAamp Viral RNA Mini Kit へのオンカラム DNase I 処理の組込み

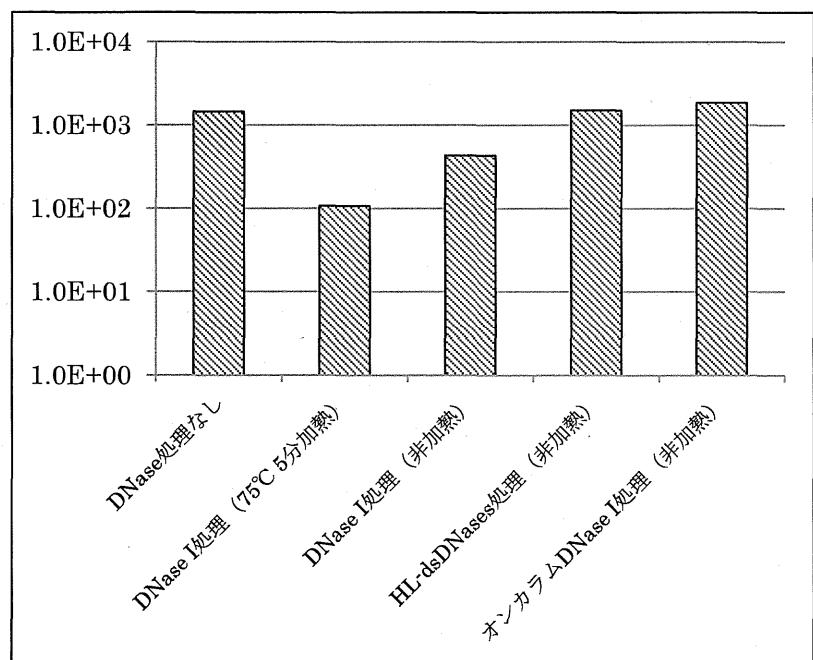


図 5 蒸留水中の NoV RNA 量に及ぼす DNase 処理の影響

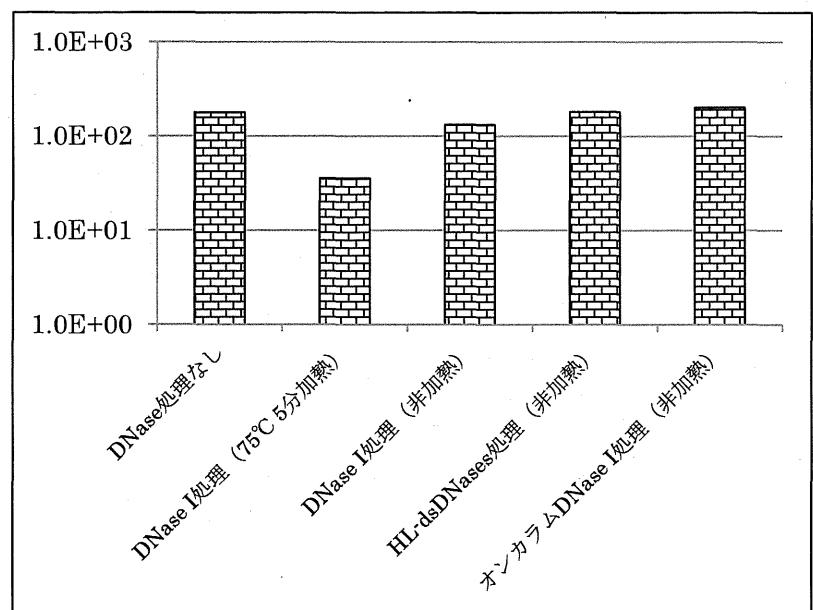


図 6 パントラ抽出物中の NoV RNA 量に及ぼす DNase 処理の影響

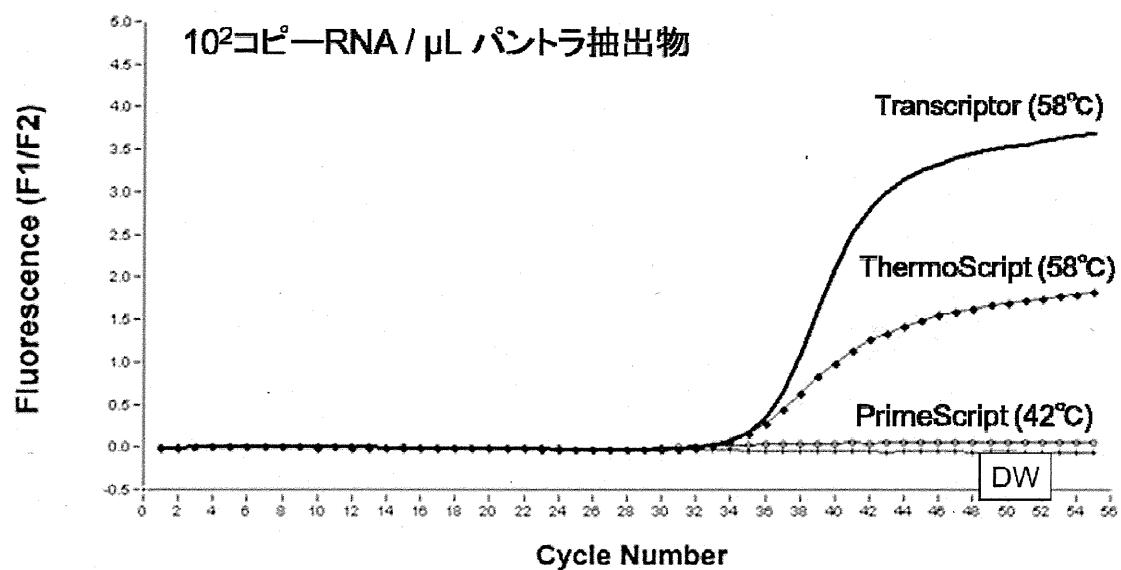


図 7 NoV の RT-PCR における逆転写酵素の比較(抜粋)

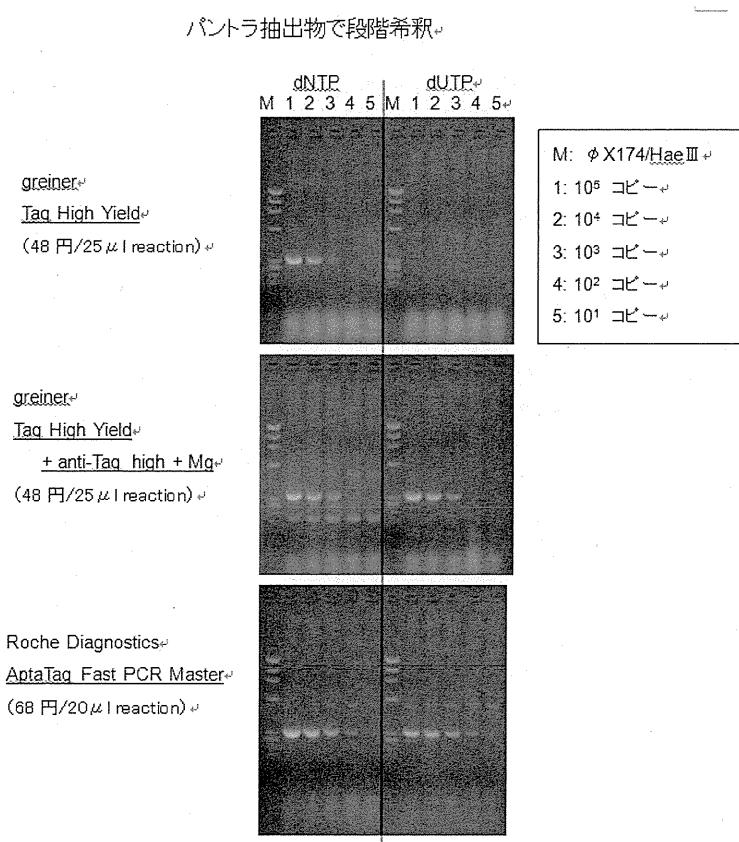


図 8 NoV の RT-PCR における PCR 酵素の比較(抜粋)

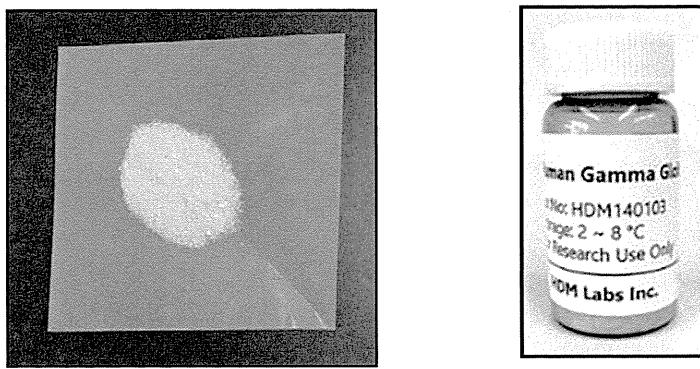


図9 試薬用に包装されたガンマグロブリン(左: 工業用粉末、右: 試薬バイアル)

表1 反応系におけるガンマグロブリン添加量の検討

| 添加抗体 | 回収量(機器表示値) | 回収率(%) |
|-----------------|---------------------|--------|
| Gammagard 150μL | 4.750×10^3 | 46.8 |
| 5%HDM 75μL | 4.819×10^3 | 47.4 |
| 5%HDM 150μL | 5.282×10^3 | 52.0 |
| 5%HDM 300μL | 3.537×10^3 | 34.8 |
| 抗体無し | 1.909×10^2 | 1.9 |

NoV GII.4 投入量: 1.016×10^4 コピー(機器表示値)

Gammagard: 医療用ガンマグロブリン製剤(Baxter 社)

HDM: 工業用ガンマグロブリン(HDM Labs 社, Advy Japan を通じて供給)

表 2 NoV の回収率における工業用ガンマグロブリンと医療用ガンマグロブリンの比較

| 添加抗体 | NoV の遺伝子型と回収率(%) | | | | |
|-----------------|------------------|------|-------|-------|-------|
| | GI.4 | GI.6 | GII.2 | GII.4 | GII.6 |
| Gammagard 150μL | 37.6 | 6.1 | 38.2 | 46.8 | 13.3 |
| 5% HDM 150μL | 35.7 | 12.1 | 38.6 | 52.0 | 15.5 |

表 3 SaV の回収率における工業用ガンマグロブリンと医療用ガンマグロブリンの比較

| 添加抗体 | SaV の遺伝子型と回収率(%) | | | |
|-----------------|------------------|-------|-------|------|
| | GI.1 | GII.3 | GIV.1 | GV.1 |
| Gammagard 150μL | 37.6 | 6.1 | 38.2 | 46.8 |
| 5% HDM 150μL | 35.7 | 12.1 | 38.6 | 52.0 |

表 4 HAV と AdV41 の回収率における工業用ガンマグロブリンと
医療用ガンマグロブリンの比較

| 添加抗体 | HAV と AdV41 の回収率(%) | |
|-----------------|---------------------|-------|
| | HAV | AdV41 |
| Gammagard 150μL | 37.6 | 6.1 |
| 5% HDM 150μL | 35.7 | 12.1 |

表 5 NoV-GII.4 の添加回収試験における工業用ガンマグロブリンと
医療用ガンマグロブリンの比較

| 添加抗体 | 食品の種類と回収率(%) | |
|-----------------|--------------|------|
| | ポテトサラダ | 焼きそば |
| Gammagard 150μL | 34.7 | 32.4 |
| 5% HDM 150μL | 40.6 | 33.5 |

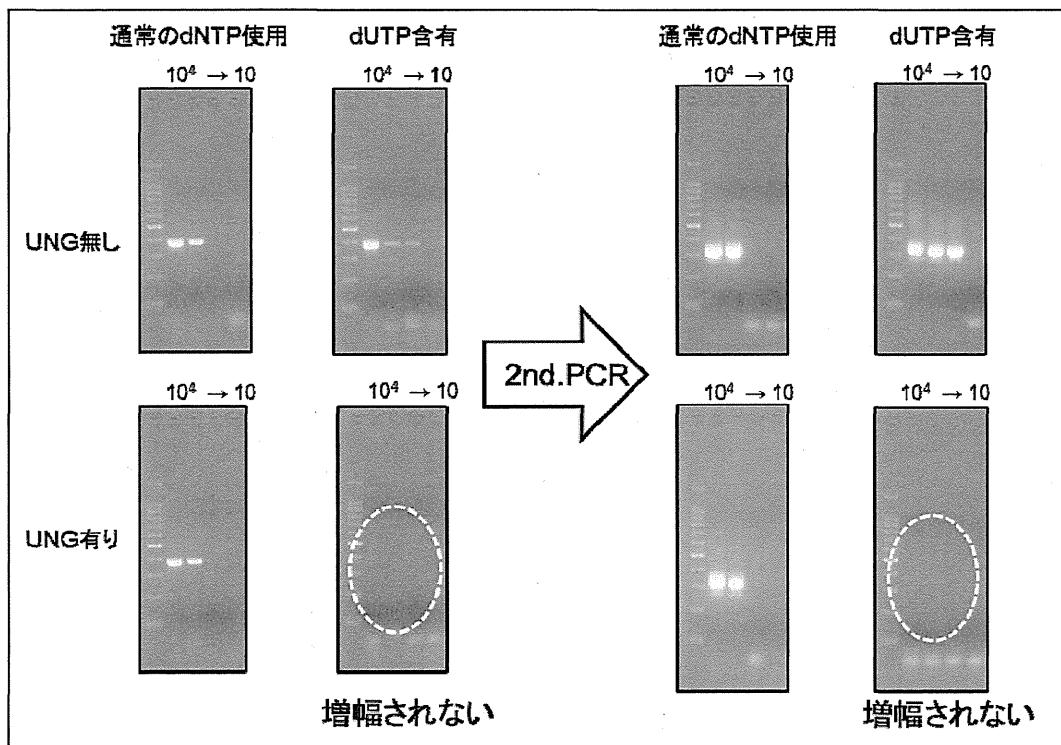


図 10 ブロッコリー遺伝子を用いた UNG 处理の評価試験結果

段階希釈したブロッコリー遺伝子断片に対して 1st.PCR(左)→2nd.PCR(右)を行った。

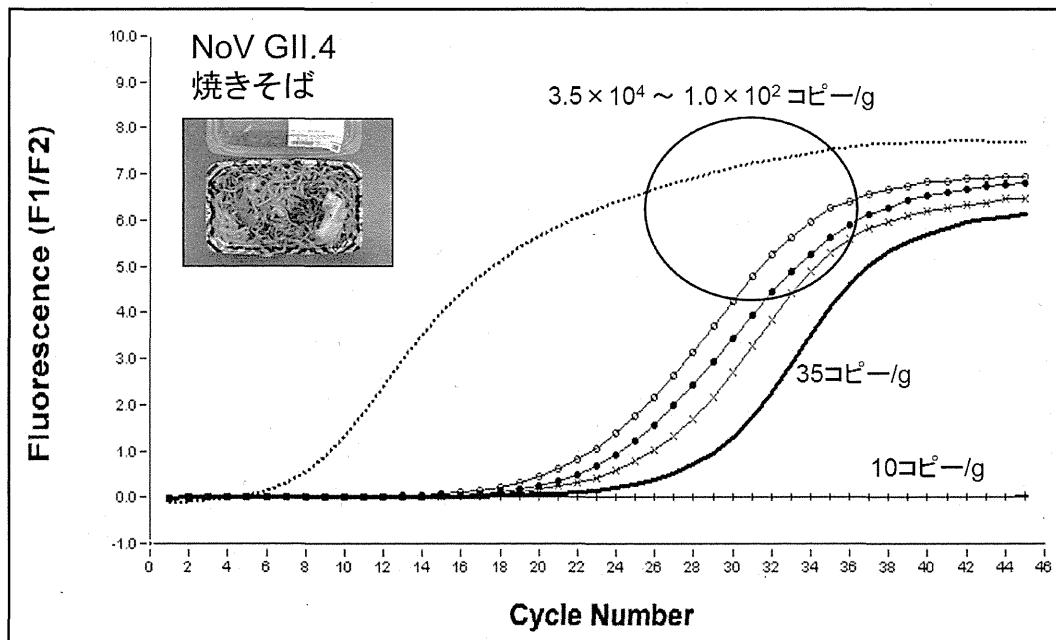


図 11 パントラ法と Nested real-time PCR による焼きそばからの NoV GII.4 の検出(平成 23 年度報告書・図 7 より再掲)

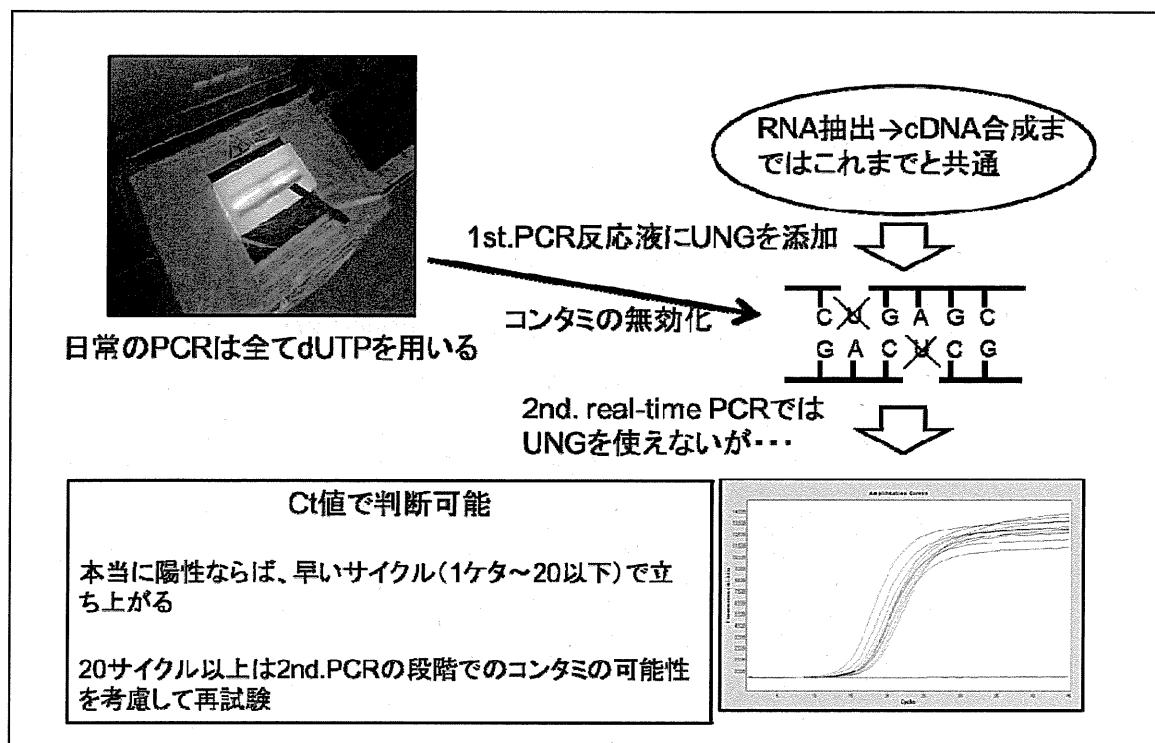


図 12 dUTP / UNG を用いた偽陽性対策

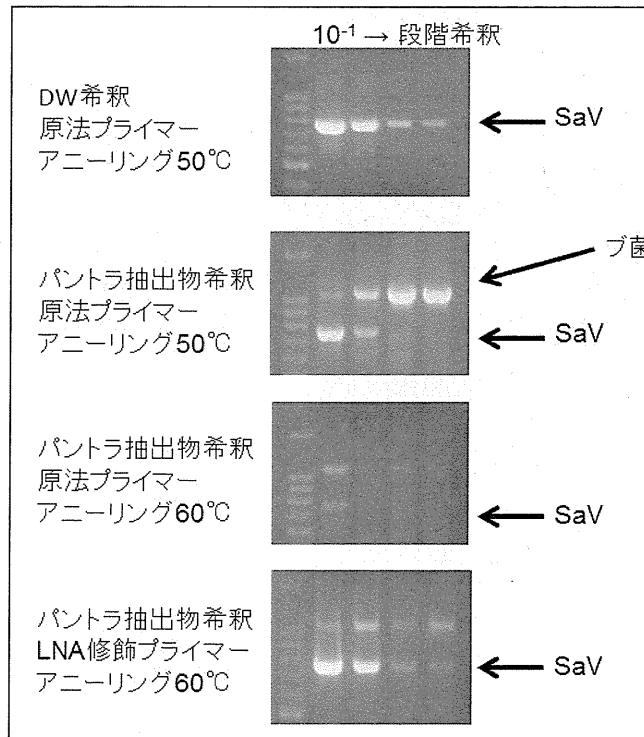


図 13 SaV の 1st. PCR における LNA 修飾プライマーの効果

5 × 10⁵ コピー/μL の cDNA を段階希釈したもの 5 μL 投入 (25 μL 反応系)。

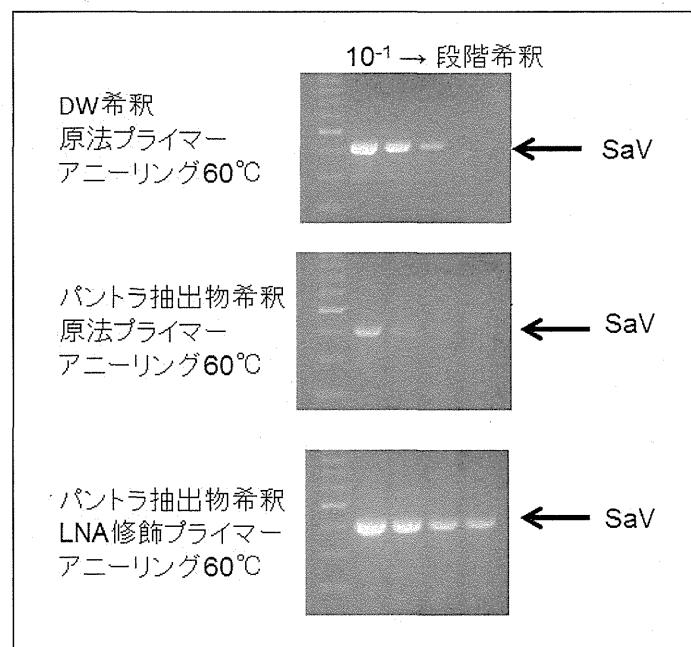


図 14 SaV の 2nd. PCR における LNA 修飾プライマーの効果

5×10^3 コピー/ μL の cDNA を段階希釈したものを $5 \mu\text{L}$ 投入 (25 μL 反応系)。

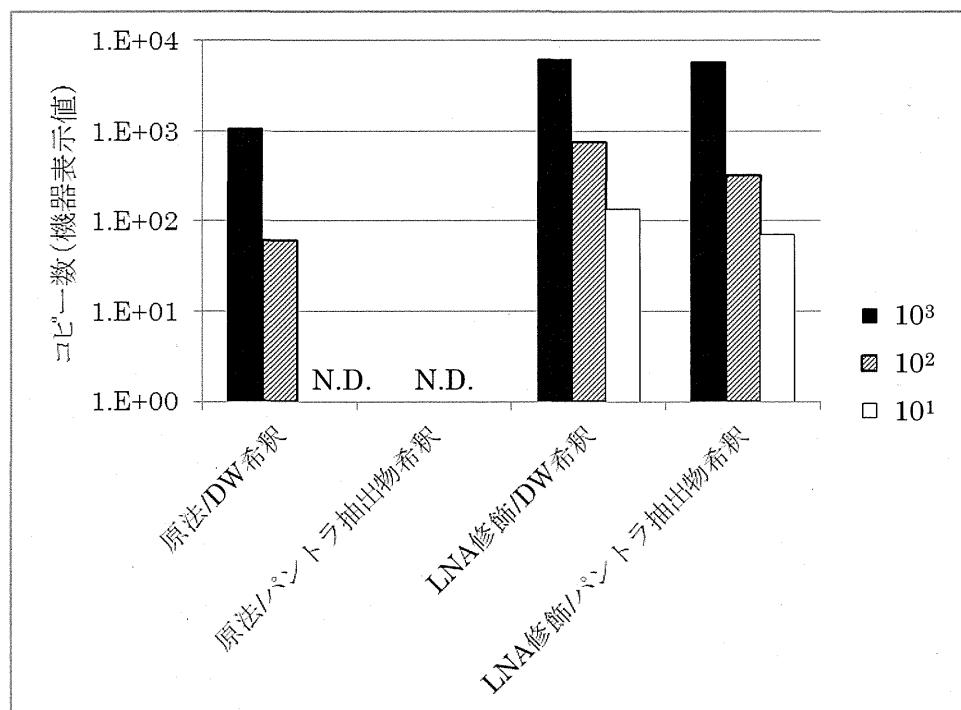


図 15 SaV の real-time PCR における LNA 修飾プライマーの効果

$10^1 \sim 10^3$ コピーの cDNA を投入 (20 μL 反応系)。

N.D.: 不検出

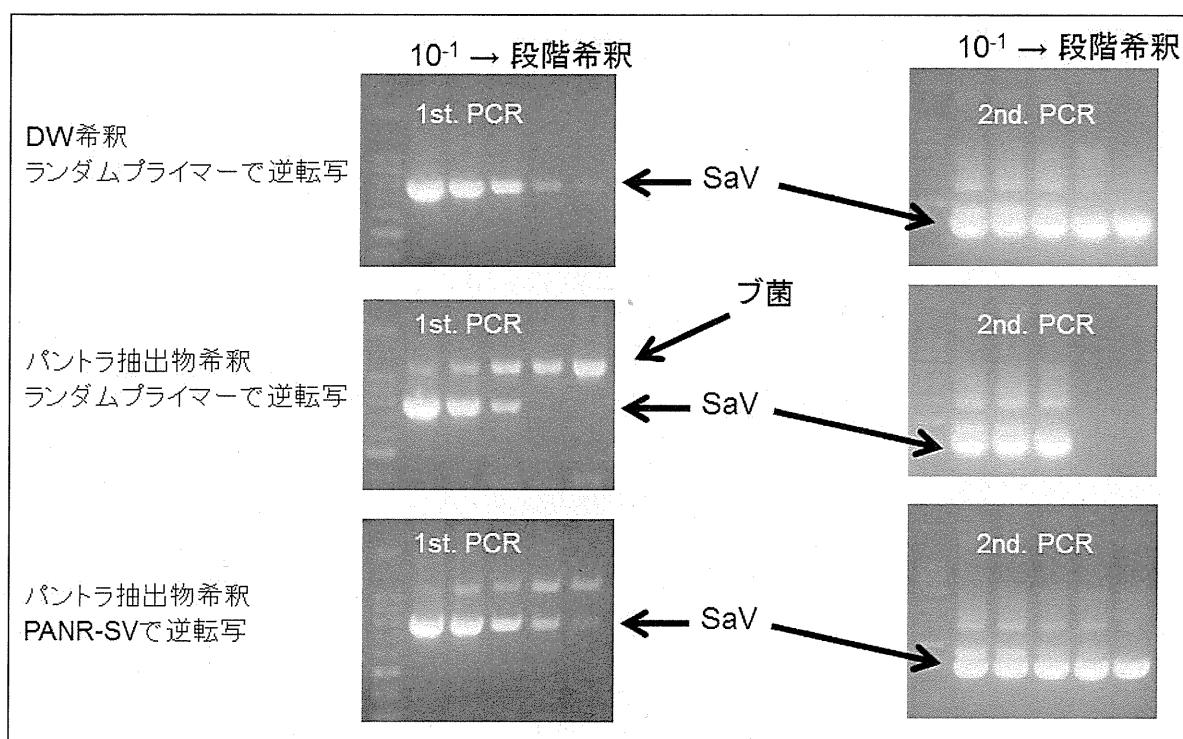


図 16 SaV の RT-PCR における逆転写反応専用プライマー(PANR-SV)の効果
 2×10^6 コピー/ μ L の RNA を段階希釈したものをおよび、RT-PCR で増幅した。

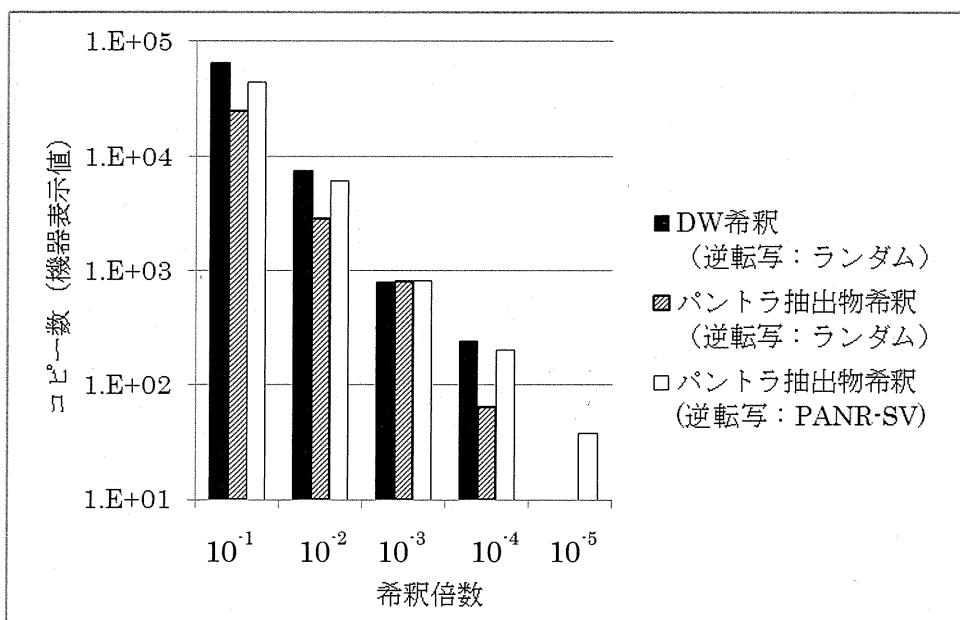


図 17 SaV の Real-time PCR における逆転写反応専用プライマー(PANR-SV)の効果
 2×10^6 コピー/ μ L の RNA を段階希釈したものをおよび、real-time PCR で定量した。

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」

総合研究分担報告（平成 25～27 年度）

富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況 及び胃腸炎集団発生事例の次世代シークエンサーによる解析

| | | |
|-------|--------|----------|
| 研究分担者 | 滝澤 剛則 | 富山県衛生研究所 |
| 研究協力者 | 名古屋 真弓 | 富山県衛生研究所 |
| 研究協力者 | 稻崎 優子 | 富山県衛生研究所 |
| 研究協力者 | 板持 雅恵 | 富山県衛生研究所 |
| 研究協力者 | 嶋 一世 | 富山県衛生研究所 |
| 研究協力者 | 長谷川 澄代 | 富山県衛生研究所 |

研究要旨

2013～2015 年に胃腸炎患者、下水流入水、岩ガキからノロウイルス (NoV)・サポウイルス (SaV) の検出を試みたところ、患者からも下水からも NoV GII.4 が最も多く検出された。GII.4 の亜型は Sydney 2012 亜型が中心であった。NoV の GI、特に GI.4、GI.6 は下水から多数検出されたものの患者は少なく、不顕性感染が多いと考えられた。岩ガキから NoV が検出されたことで、生食による感染リスクが改めて示唆された。NoV が検出された集団胃腸炎事例検体について次世代シークエンサーを用いた PCR 産物のディープシークエンスとメタゲノム解析を行ったところ、ディープシークエンスにより NoV の複数遺伝子型への重複感染例が確認できた。また、メタゲノム解析ではダイレクトシークエンスで複数の NoV 遺伝子型が検出されていた事例について感染源の推測ができたほか、カキ喫食事例ではカキに含まれた複数種のウイルスへの暴露が示唆された。

A. 研究目的

胃腸炎患者、下水流入水、岩ガキからノロウイルス (NoV)・サポウイルス (SaV) を検出し、患者での流行型や不顕性感染を含めた地域の流行状況を把握すること、岩ガキによるウイルス性食中毒のリスクの可能性を推測することを目的とした。

また、食中毒調査において、患者と從

業員、食品、環境等から検出されたウイルスの遺伝子型が一致せず、それらとの因果関係が不明な事例がみられる。これは、現在行っているダイレクトシークエンスでは主要な遺伝子型しか検出できないためと考えられる。そこで、そのような検体を材料に次世代シークエンサー (NGS) を用いて遺伝子を解析することで、

少数の遺伝子型も検出し、感染源や感染経路を推定することを目的とした。

B. 研究方法

1. 患者検体

富山県において 2013 年 1 月から 2015 年 12 月に発生した食中毒、感染性胃腸炎（集団発生例及び小児散発例）から得られた糞便を用いた。検体採取は管轄の厚生センター、保健所が行った。

糞便検体の 10% 乳剤上清から、厚生労働省通知（食安監発 1105001 号）に基づき RNA を抽出し、DNase 処理、逆転写反応及び PCR を行った。NoV の検出には、リアルタイム PCR を用い、PCR には、ポリメラーゼ領域 3' 末端からカプシド領域を対象とした G1-SKF/G1-SKR, G2-SKF/G2-SKR もしくは ORF1/ORF2 ジャンクション領域を対象としたプライマー 1421f/G1-SKR 及び 1364f/G1-SKR (GI 用)、1421f/NV2oR 及び 1364f/G2-SKR (GII 用) (Nakamura et al., Jpn. J. Infect. Dis., 62: 394-398, 2009) を用いた nested PCR を行った。SaV の検出には、カプシド領域を対象としたプライマー SV-F11/SV-R1 及び SV-F2/SV-R2 による nested-PCR (Okada et al., Arch. Virol., 147: 1445-1451, 2002) を用いた。PCR 産物から、ダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定した。NoV の型別判定にはカプシド領域を用いて、Norovirus Genotyping Tool (URL: <http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>) により行い、遺伝子型番号は、新しい遺伝子型分類法（国立感染症研究所, IASR 病原微生物検出情報, 35(7), 173-175, 2014) により表記

した。SaV の型別判定には基準配列を用いた近接接合法による系統樹解析を行った。

2. 下水流入水

県西部に位置する下水処理場において、2013 年 1 月から 2015 年 12 月の毎月 1 回下水流入水 1 リットルを採取した。

下水流入水を 3,000rpm で 30 分遠心して得られた上清に、最終濃度 0.05M になるように塩化マグネシウムを添加し、0.5 標定の塩酸を用いて pH3.5 に調整した。この液を陰電荷膜にろ過した後、細切した陰電荷膜を 3% beef extract 液 10ml に浸漬し、Vortex 処理により吸着分子を溶出した。溶出液を遠心し、回収した上清を 100 倍濃縮下水検体とした。また、2013 年 1 月から 2014 年 4 月採水については、PEG 沈殿法により 250 倍濃縮下水検体も調整した。濃縮下水検体から、ヒト検体と同様に RNA 抽出、DNase 処理、逆転写反応、PCR を行った。

3. 岩ガキ

2013 年 4~6 月、2014 年 4~6 月の計 10 回、富山県の 3 渔港（魚津、新湊、氷見）で採取した岩ガキ 102 個を用いた。

岩ガキは中腸腺を取り出したあと、同一ロット 3 個分を 1 検体として PBS(-) にて 10% 乳剤にした。α-アミラーゼを加えて 37°C 1 時間消化したのち遠心した。上清に 12% PEG6000 及び 5.8% NaCl を加えて凝集させ、遠心により回収した。0.5% Zwittergent 加 PBS(-) にて沈殿を再浮遊させ、濃縮カキ検体とした。

濃縮カキ検体から、ヒト検体と同様に RNA 抽出、DNase 処理、逆転写反応を行った。NoV の検出には、リアルタイム PCR とコンベンショナル PCR を用いた。コン

ベンショナル PCR は、ポリメラーゼ領域 3' 末端からカプシド領域を対象としたプライマー COG1F/G1-SKR 及び G1-SKF/G1-SKR (GI 用)、COG2F/G2-SKR を及び G2-SKF/G2-SKR (GII 用) を用いて Semi-nested PCR を行った。SaV の検出は、ヒト検体と同様に行った。

4. 胃腸炎集団発生事例の NGS による解析

富山県において 2010 年度から 2012 年度にかけて発生した NoV による胃腸炎集団発生事例のうち、複数の遺伝子型の重複感染が疑われる事例及びカキ喫食事例（計 8 事例）を対象とした（表 6）。

事例番号 1~4 においては、各事例 1~2 検体、計 5 検体において、NoV GII の ORF1/ORF2 ジャンクション領域を対象としたプライマー 1421f/NV2oR 領域の PCR 産物より、Nextera DNA Sample Preparation Kits (Epicentre) により DNA ライブライアリを作成した後、NGS (MiSeq; Illumina) により、MiSeq Reagent Kit (50 Cycle) を用いて塩基配列を解読した。

事例番号 4~8 においては、各事例 1~7 検体、計 20 検体の 10% 便検体よりキャリアフリーの抽出液を用いて RNA 抽出を行い、ScriptSeq v2 RNA-Seq Library Preparation kit (Epicentre) を用いて RNA-Seq ライブライアリを作製した後、NGS (MiSeq; Illumina) により、MiSeq Reagent Kit v2 (500 cycle) または MiSeq Reagent Kit Micro v2 (300 cycle) または MiSeq Reagent Kit v3 (150 cycle) を用いて（表 8）塩基配列を解読した。

解読結果は、国立感染症研究所病原体

ゲノム解析研究センターの Metagenomic Pathogen Identification for Clinical specimens (MePIC) ソフト (Takeuchi, F., et al. Jpn. J. Infect. Dis., 2014, 67:62) によりヒト遺伝子配列を除いて megablast 解析を行った。MePIC により分類された塩基配列は MEtaGenome Analyzer (MEGAN) 4 (Universität Tübingen) により閲覧を行い、NoV の配列を抽出した。CLC Genomics Workbench (ver. 6) を用いて抽出した NoV のリードをアセンブリして Contig を作成し、再度 BLAST 検索を行った。得られた基準配列を元に Norovirus Genotyping Tool により NoV 遺伝子型 (ORF2) の推定を行った。

（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

3 年間にウイルス性感染性胃腸炎及び食中毒等の集団発生は 45 事例あった。42 事例から NoV が検出され、3 事例から SaV が検出された。4 事例はカキ（生岩ガキ 2 事例、加熱カキ 2 事例）を喫食していた（表 1）。小児散発例では、24 例から NoV、14 例から SaV が検出された（表 2）。

2. 患者、下水流入水、岩ガキから検出された NoV 及び SaV の型別

集団発生の患者からは NoV GII.4 が最も多く検出され、2015 年 3~5 月には NoV GII.17 も多く検出された（表 1）。散発例

の患者からは NoV GII.4、GII.3、SaV GI.1 などが検出された。(表 2)。下水流入水からは、NoV GII.4、GI.4、GI.6 が多く検出された(表 3)。下水中の NoV GI.4 は 2013 年 1 月から 6 月まで、GI.6 は 2013 年 11 月から 2014 年 6 月まで継続して検出された。岩ガキは、2013 年の検体から NoV GI.4、NoV GII.4、GII.14 が、2014 年の検体から NoV GII.6 が検出された(表 4)。

患者、下水、岩ガキから検出された NoV 及び SaV についてまとめた(表 5)。NoV GI は、患者から検出された遺伝子型は下水から検出された 5 種類の型のうち 3 種類であり、下水から高頻度で検出された GI.4 や GI.6 についても患者数は各 1 例と少なかった。NoV GII では、GII.3、GII.4、GII.14、GII.17 が患者からも下水からも検出され(検出された 6 種類の型のうち 4 種類)、特に NoV GII.4 は患者と下水の検出時期がおおむね一致していた。患者から検出された GII.6 および GII.12 は下水からは検出されなかった。SaV は、GI.1、GI.2、GII.1 が患者からも下水からも検出された。GII.1 は検出時期がいずれも 2014/15 シーズン中心であり、おおむね一致していた。

カキから NoV が検出された時期の前後には、下水と患者のいずれかから同じ遺伝子型の NoV が検出された。

3. 検出された NoV、SaV の比較

得られた NoV の塩基配列を用いて系統樹解析を行った(詳細は平成 25、26、27 年度総括・研究分担報告書を参照)。特に 2013 年に下水から多数検出された NoV GI.4 は、同時期に検出されたカキ由来株と近縁であった。2014/2015 シーズンには

患者と下水で近縁な NoV GI.2 が検出された。2014/15 シーズンに患者から検出された NoV GII.3 はいずれも互いに近縁であった。NoV GII.17 は、2013 年に患者から検出された株は 2013/14 シーズンに国内で検出された Kawasaki323/2014/JP 株(Accession No. AB983218) と近縁であり、2015 年に患者と下水から検出された株はいずれも 2014/15 シーズンに国内で検出された Kawasaki308/2015/JP 株(Accession No. LC037415) と近縁であった。SaV GI.1 においては、2013~2014 年に下水と患者から検出された株が近縁であった。

NoV GII.4 については、2012/13 シーズン以降増加した Sydney 2012 亜型は、2013 年~2015 年にわたって患者、下水、カキのいずれにおいても主要な亜型であった。他の亜型は、2006b 亜型が 2014 年 9 月と 2015 年 1 月に患者各 1 例から検出されたのみであった。

4. 胃腸炎集団発生事例の NGS による解析

事例 1~4 の検体 1~5 の NGS による PCR 産物からのディープシークエンスにより検出された NoV 配列の遺伝子型の内訳を表 7 に示す。検体 1 のディープシークエンスにおいては、ダイレクトシークエンスで検出された GII.12 のリードは全 NoV リード中 60.9%、続いて GII.2 が 36.0% を占めた。検体 2、3、4 は、ダイレクトシークエンスで検出された遺伝子型のリードが全体の 99.9% 以上を占めた。検体 5 においては、ダイレクトシークエンスで検出された GII.12 が 99.5% を占め、GII.4 が 0.4% であった。

メタゲノム解析により検出された NoV 配列の遺伝子型と NoV の胃腸炎ウイルスの内訳を表 8 に示す。全ての検体より、ノロウイルスのリードが検出され、SaV のリードが 2 検体より、アイチウイルス (AiV) のリードが 17 検体より検出された。

事例 4 では、ダイレクトシークエンスで GII.12 (検体 5) あるいは、GII.4 が検出された従業員 (検体 6) からは、NGS でもそれぞれダイレクトシークエンスと同じ遺伝子型のみが検出された。検体 5 はディープシークエンスでは複数の遺伝子型が検出されており (表 7)、結果は異なっていた。ダイレクトシークエンスで GII.4 が検出された患者 2 名 (検体 7, 8) のうち 1 名から GII.4 のリードが検出され、2 名から GII.12 のリードが検出された。また、リアルタイム PCR で NoV 陰性であった 3 名 (検体 9, 10, 11) からは GII.12 のリードが検出された。

事例 5において、患者 3 名 (検体 12, 13, 14) はそれぞれダイレクトシークエンスと同じ遺伝子型のリードが検出されたが、検体 12 は検体 13, 14 と同じ遺伝子型 GII.4 のリードも検出された。従業員からは患者とは異なる遺伝子型が検出された。

カキ関連事例である事例 6, 7, 8 のいずれの検体も、ダイレクトシークエンスで検出された遺伝子型だけではなく、多種の遺伝子型が検出された。事例 8 では、リアルタイム PCR で NoV 陰性であった 2 検体 (検体 23, 24) からも NoV のリードが検出され、2 検体 (検体 18, 19) からは SaV のリードも検出された。一方、ダ

イレクトシークエンスで SaV GI.2 が検出されていた検体 24 からは SaV のリードが検出されなかった。ダイレクトシークエンスで混合波形を示し、遺伝子型が判定できなかった検体 (検体 19) から、複数の遺伝子型が検出された。また、アイチウイルス (AiV) が事例 8 の全ての検体から検出された。

D. 考察

3 年間にわたる調査では、患者、下水両方において NoV GII.4 の検出が最も多く、GII.4 Sydney 2012 亜型が主流であった。

NoV GII.17 は 2014 年以前には、2013 年 1 月の患者 1 例のみであったが、2015 年 3 月～5 月には患者、2015 年 4 月～12 月には下水から多く検出され、2015 年に入つてから県内でも流行が始まったと考えられた。2015 年の検出株はいずれも Kawasaki308/2015/JP 株に近縁であり、このタイプが県内における流行の中心であると推定された。患者から検出例のなかった 2015 年 7 月～12 月にも下水から検出されており、動向に注意していく必要がある。

NoV GI は下水からのみ検出された型 (GI.3, GI.5) や、下水から多く検出されたものの患者は少ない型 (GI.4, GI.6) が存在し、これらは不顕性感染例が多いと考えられた。一方、患者からのみ検出された型 (NoV GII.6, GII.12, SaV GII.3, GIV) は、下水では他の主要な型に隠されて検出されなかつたか、一過性の流行であったと推測された。同じ時期に患者と下水両方から検出された場合、互いに近縁であることが多く、下水が不顕性感染

を含めた流行型の指標となりうることが示された。

SaV は小児散発例や下水から検出されることが多かった。特に GI. 1 は継続して流行しており、GII. 1 は 2014/15 シーズンに流行していたとみられた。2013 年 7 月に発生した SaV による集団感染事例は成人集団におけるものであったことから、成人での SaV 感染リスクも注意する必要があると考えられた。

岩ガキから検出される NoV は同じ遺伝子型が下水または患者から同時期に検出されることが多いことから、岩ガキから検出されるウイルスには採取時期付近の患者発生状況が反映されると考えられた。

ノロウイルスの検出された胃腸炎事例の患者及び従業員の検体について、NGS による解析結果から、感染原因や感染経路の推定を行った。

検体 1 はダイレクトシークエンスで混合波形がみられた検体であり、NGS ではダイレクトシークエンスとは異なる遺伝子型のリードも高い割合で検出された。患者は加熱カキを喫食していることから、カキに存在したこれら複数の NoV に同時に感染した可能性が示唆された。

検体 2、3、4 については NGS の解析でも単一の遺伝子型による感染と考えられ、同一事例である検体 2、3 は感染源が異なると考えられた。他の遺伝子型のリードが少数検出されたことについては、NGS により得られた配列が短いため正確な型別が行えなかった可能性や、ウイルスは存在するものの発症には関与していない可能性が考えられた。

事例 4 では、従業員 2 名（検体 5、6）

からは、メタゲノム解析ではダイレクトシークエンスと同じ単一の遺伝子型のみ検出された。しかし、検体 5 は、ディープシークエンスにより、ダイレクトシークエンスで検出された GII. 12 のほか、少數ながら GII. 4 も検出された。事例 4 は他の患者および従業員から GII. 4 が検出されていることから、検体 5 の従業員も GII. 4 に暴露していたと考えられた。患者からは GII. 4 と GII. 12 の一方もしくは両方が検出されていることから、2 名の従業員がともに感染源となったと考えられた。

事例 5 では、メタゲノム解析で患者から共通の遺伝子型が検出されたのに加えて、2 名からはそれぞれ異なる遺伝子型も検出された。また、従業員からは患者と共に存在する遺伝子型は検出されなかつた。このことから、従業員が感染源の可能性は低く、複数の遺伝子型を含む単一の感染源もしくは異なる感染源が存在していた可能性が考えられた。

事例 4、5 は一部の検体から NoV GI. 3 が検出された。NoV GI. 3 は下水と患者の調査結果から不顕性感染例が多く存在することが示唆されているため、これらの検体も不顕性感染していた可能性もあり、事例との関連は不明であった。

生ガキを喫食していた事例（事例 6、7、8）の 9 検体はいずれもメタゲノム解析で複数の NoV 遺伝子型が検出され、うち 2 検体からは SaV、7 検体からは AIV も検出されたことから、患者はカキに存在した複数種のウイルスに暴露していた可能性が考えられた。

PCR 産物を用いたディープシークエンスでは、胃腸炎の原因と考えられる NoV

の遺伝子が主に検出されたが、ごく少数のみ存在する型の遺伝子も検出されることが判明した。その結果の意義は不明である。

メタゲノム解析で検出される配列には、NoV の遺伝子型別判定が可能な配列が含まれるとは限らず、型別判定の困難な場合があった。そのため、PCR 法による再確認や、ディープシークエンスを行うなどの方法も考慮する必要があると考えられた。

E. 結論

2013~2015 年の調査では、患者からも下水からも NoV GII.4 の検出が最も多いかった。さらに GII.4 の亜型をみると、Sydney 2012 亜型が中心であった。NoV の GI は不顕性感染が多い傾向を示した。2015 年 3~5 月は集団事例を中心に NoV GII.17 の流行がみられた。岩ガキから NoV が検出され、生食による感染リスクが示唆された。

NGS を用いたディープシークエンスでは、カキ喫食事例において複数の NoV 遺伝子型に混合感染している検体が確認された。メタゲノム解析では、ダイレクトシークエンスで複数の遺伝子型が検出された事例では感染源の推測に有用であった。カキ喫食事例では、複数の NoV 遺伝子型や SaV、AiV の遺伝子が検出され、カキに含まれた複数種のウイルスの暴露を反映していると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

- 1) 名古屋真弓、稻崎倫子、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
- 2) 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
- 3) 名古屋真弓、稻崎倫子、嶋一世、板持雅恵、稻畑良、小渕正次、野田衛、佐多徹太郎、滝澤剛則：胃腸炎集団発生事例のメタゲノム解析によるノロウイルスの検索. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 平成 27 年 11 月 22 日
- 4) Noriko Inasaki, Mayumi Nagoya, Masae Itamochi, Ichiyo Shima, Masatugu Obuchi, Ryo Inahata, Sumiyo Hasegawa, Makoto Kuroda, Tetsutaro Sata, Takenori Takizawa: Detection of sapovirus GV.2 by the next generation sequencer in the stool specimens of patients of gastroenteritis outbreak from which pathogen had not been identified. FEMS 2015 (第 6 回欧州微生物学会議), マーストリヒト, 平

成 27 年 6 月 9 日

2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし

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 | | | | | | | | | | | | 2014年 | | | | | | | | | | | | ウイルス別 計 |
|------|-----------------|---|---|---|---|---|---|---|-----|-----|----|----|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
| NoV | Gl.2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 1 | | | 2 |
| | Gl.I.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl.I.4 | 3 | 1 | 1 | | | | 1 | (1) | (1) | 2 | | 4 | 1 | 2 | | | | 1 | 1 | | | | | 3 |
| | Gl.I.6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| | Gl.I.12 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl.I.17 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl.6+Gl.4+Gl.17 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 6 |
| | Gl.4+Gl.12 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl.4+Gl.17 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| SaV | Gl.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl.2 | | | | | | | 1 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | 2 |
| | 計 | 5 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 4 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 2 |

(数値 : 事例数)

○はカキ関連事例を含む (各 1 事例)

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 | | | | | | | | | | | | 2014年 | | | | | | | | | | | | ウイルス別 計 |
|------|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
| NoV | Gl.4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl.I.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 6 |
| | Gl.I.4 | 1 | | | | | | | | | | | | 1 | 1 | 1 | | | | | | | | | 11 |
| | Gl.I.14 | | | | | | | | | | | | | 1 | 1 | | | | | | | | | | 2 |
| | Gl.I.17 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl型不明 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 |
| SaV | Gl.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| | Gl.2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl.I. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 5 |
| | Gl.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl.V | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | 計 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 |

(数値 : 検体数)

GII 型不明のうち、2015 年 3 月、12 月の各 1 検体はリアルタイム PCR 陽性であったものの、PCR 陰性であった。2015 年 12 月の 1 検体は、シークエンスにより单一の塩基配列が検出されなかった。

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 | | | | | | | | | | | | 2014年 | | | | | | | | | | | | 計 |
|------|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
| NoV | Gl.2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 |
| | Gl.I.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 6 |
| | Gl.I.4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 |
| | Gl.I.5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 |
| | Gl.I.6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 10 |
| | Gl.I.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 |
| | Gl.I.4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 21 |
| | Gl.I.14 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | Gl.I.17 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 6 |
| SaV | Gl.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 |
| | Gl.2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 |
| | Gl.I. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 |

ウイルスが検出された月を灰色で示した。