

沖縄県における感染性胃腸炎の病原体検索およびその遺伝子解析 (2016—2017)

加藤峰史*・高良武俊・喜屋武向子・宮平勝人・久場由真仁・柿田徹也・仲間絵理**

Surveillance report and gene analysis of pathogens from infectious gastroenteritis in Okinawa Prefecture (2016—2017)

Takashi KATO*, Taketoshi TAKARA, Hisako KYAN, Masato MIYAHIRA, Yumani KUBA,
Tetsuya KAKITA, and Eri NAKAMA**.

要旨：感染性胃腸炎は細菌やウイルス等の感染性病原体による嘔吐，下痢等を主症状とする感染症である。今回，本県における感染性胃腸炎の起因病原体の解明および発生動向を把握することを目的に，2016年4月～2017年12月に採取された糞便75検体を用いて細菌およびウイルス検索を実施した。細菌検索は，食中毒菌20菌種24標的遺伝子を網羅的に検索する multiplex real-time PCR 法 (Rapid Foodborne Bacteria Screening 24; RFBS ver. 5) を用いて，スクリーニング PCR を実施し，陽性となった検体について細菌分離を実施した。検査を実施した75検体中17検体でリアルタイム PCR 陽性となり，14検体から14株の細菌が分離され，うち食中毒細菌は8検体8株であった。その内訳は，カンピロバクター・ジェジュニが2株，エンテロトキシンC産生黄色ブドウ球菌が2株，腸管病原性大腸菌が2株，サルモネラ O4:i:-が1株，分散付着性大腸菌が1株であった。ウイルス検索を実施した75検体中51検体でウイルスが検出され，そのうち10検体で同一検体から複数検出された。51検体から8種類のウイルスが合計で62株検出され，最も多く検出されたのがノロウイルスで20株であり，次いでA群ロタウイルスが14株，エンテロウイルスが7株，パレコウイルスが6株，サポウイルスおよびアデノウイルスが各5株，アストロウイルスが3株，ボカウイルスが2株であった。同一検体から食中毒細菌またはウイルス，その両方が検出されたのは75検体中56検体であり，食中毒細菌およびウイルスの両方が検出されたのは3検体であった。調査した期間でノロウイルス，A群ロタウイルス，パレコウイルス1型は同時期に同遺伝子型の株が検出される傾向があったが，食中毒細菌およびエンテロウイルス，パレコウイルス4型，サポウイルス，アデノウイルス，アストロウイルス，ボカウイルスは散発的に検出された。県内において，アストロウイルスは初検出事例であった。

Key words：感染性胃腸炎，エンテロトキシンC産生黄色ブドウ球菌，カンピロバクター・ジェジュニ，腸管病原性大腸菌，サルモネラ O4:i:-，分散付着性大腸菌，ノロウイルス，サポウイルス，A群ロタウイルス，エンテロウイルス，アデノウイルス，パレコウイルス，アストロウイルス，ボカウイルス，2016年—2017年，沖縄県

I はじめに

感染性胃腸炎は細菌やウイルス等の感染性病原体による嘔吐，下痢等を主症状とする感染症である。起因病原体としてノロウイルスやロタウイルス等のウイルス感染が多く¹⁾，感染症発生動向調査では5類定点把握対象疾病として小児科定点より報告されている。全国では1年を通して発生がみられるが，例年初冬から増加し始め12月頃にピークを形成し，春になだらかなピークが形成され，その後初夏まで発生が続き，年によってはもう一度小さなピークができた後，減少していく流行パターンをとっている²⁾。感染性胃腸炎は冬季にピークがあるため，9月～翌年8月までを1シーズンとしている。県内における2012/13～2016/17シーズンまでの5シーズンの報告数は4,876～8,521件で報告数の平均は6,344件となつて

いる。2015/16～2016/17シーズンは12月前後にピークがあるものの，夏季にもピークが形成された³⁾。感染性胃腸炎は臨床症状に基づき届出されるため，これまで沖縄県における起因病原体および年間を通じた実態については不明であった。今回，本県における感染性胃腸炎の起因病原体の解明および発生動向を把握することを目的に，細菌およびウイルス検索を実施し，検出されたウイルスについて遺伝子解析を実施したので報告する。

II 方法

1. 材料

2016年4月～2017年12月に県内3医療機関において，感染症発生動向調査の症例定義にて感染性胃腸炎と診断された患者75名の糞便を検査材料とした。本検査材料は，

*現所属 中央食肉衛生検査所

**現所属 宮古農林水産振興センター

日本医療研究開発機構委託開発研究費 (AMED) 感染症実用化研究事業「下痢症ウイルスの分子疫学と感染制御に関する研究」の分担研究班「感染症発生動向調査システム (NESID) を中心とした下痢症ウイルスの疾病負荷や疫学に関する研究」にて収集された糞便を対象とし、本研究は国立感染症研究所ヒトを対象とした医学研究倫理審査委員会にて承認されている (受付番号 633)。当所においても同様に沖縄県衛生環境研究所倫理審査委員会にて承認されている (2016年1月27日付け衛環第 854号)。採取した年齢は0歳が24名 (32%)、1歳が21名 (28%)、2歳が7名 (9.3%)、3歳が6名 (8%)、4歳が3名 (4%)、5歳が2名 (2.7%)、6歳が1名 (1.3%)、7歳が3名 (4%)、8歳が1名 (1.3%)、9歳が2名 (2.7%)、12歳が1名 (1.3%)、13歳が1名 (1.3%)、14歳が1名 (1.3%)、21歳が1名 (1.3%)、不明が1名 (1.3%) であった。採取月別の検体数を図1に示す。

2. 検査方法

(1) 細菌検索

RFBS ver. 5による対象菌種および対象遺伝子を表1に示す。糞便からのDNA抽出は、イージービーズ (エーエムアール株式会社) と QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN) を用いて川瀬らの方法⁴⁾ および島根県保健環境科学研究所 (島根衛研) 作成マニュアルに従い実施した。RFBS ver. 5は、SYBR Premix DimeEraser (Takara Bio) を用い、Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR system (Applied Biosystems) を使用し実施した。PCR反応液の調整およびPCR反応条件は、川瀬らの方法⁴⁾ および島根衛研作成マニュアルに従った。対象遺伝子のプライマーセットは、川瀬らの方法⁴⁾ に従って当所で作製したものを用い、PCR増幅確認用内部標準対照 (IAC) DNA および陽性対照 DNA は島根衛研で調整されたものを使用した。結果については、検体DNAで増幅がみられたものについて融解曲線分析で陽性対照 (PC) の Tm 値と照らし合わせて判定した。島根衛研作成マニュアルに従い、PCの Tm 値と近似しており、かつ融解曲線ピークの高さが IAC の 1/2 以上のものを陽性と判定した。IAC の 1/2 以下のものは判定保留とした。RFBS ver. 5で陽性と判定された検体について、細菌分離を行った。検査項目は、陽性と判定された項目だけでなくサルモネラ属菌 (*Salmonella* spp.)、カンピロバクター・ジェジュニ (*C. jejuni*)、カンピロバクター・コリ (*C. coli*)、腸管出血性大腸菌 (EHEC)、腸管侵入性大腸菌 (EIEC)、腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)、腸管病原性大腸菌 (EPEC)、腸管凝集付着性大腸菌 (EAggEC)、分散付着性大腸菌 (DAEC)、

EAST1EC, *Escherichia albertii* (*E. albertii*)、赤痢菌、腸炎ビブリオ、コレラ菌、NAG ビブリオ、エロモナス属菌、プレジオモナス・シゲロイデス、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)、ウエルシュ菌、セレウス菌を実施した。*E. albertii* 以外の項目については食品衛生検査指針や国立感染症研究所が作成した病原体検出マニュアル等の常法に従って実施した。*E. albertii* については、検便検体 0.2~0.3 g を 10 ml の緩衝ペプトン水 (BPW) で懸濁し、42°C で一晚培養した。培養液 100 μ l を、10,000 \times g、10分間遠心し、上清を取り除いた沈渣に 50 mM NaOH 85 μ l を添加して 100°C で 10分間加熱処理した。その処理液に 1M Tris-HCl (pH7.0) 15 μ l を加えて中和し、遠心上清 (10,000 \times g、10分間) をスクリーニング PCR の鋳型とした。*E. albertii* の lysP 遺伝子⁵⁾ を対象にスクリーニング PCR を行い、判定した。

(2) ウイルス検索

検査対象とした病原体は、ノロウイルス (NoV)、サポウイルス (SaV)、A群ロタウイルス (ARV)、エンテロウイルス (EV)、アデノウイルス (AdV)、パレコウイルス (HPeV)、アストロウイルス (HAstV)、アイチウイルス (AiV)、ボカウイルス (HBoV)、A型肝炎ウイルス (HAV)、E型肝炎ウイルス (HEV)、インフルエンザウイルス (Flu) の 12項目とした。ウイルス検査には遺伝子検出および分離を実施した。ウイルス遺伝子検出には、10%糞便乳剤の上清 140 μ l から QIAamp Viral RNA Mini kit (QIAGEN) によりウイルス RNA および DNA を抽出した。抽出した RNA は DNase 処理後に逆転写反応を行い cDNA を作成した。検査法には各々のウイルスに特異的なプライマーを用い、コンベンショナル又はリアルタイム PCR 法を用いた。すなわち NoV⁶⁾、SaV⁷⁾ ではリアルタイム PCR 法で陽性となった検体について NoV⁶⁾、SaV⁸⁾ の Capsid 領域を、ARV^{8,9)} では VP7 (G型) 領域および VP4 (P型) 領域を、EV¹⁰⁾ では VP4/VP2 領域又は VP1 領域を、AdV¹⁰⁾ ではヘキソン C4 領域又は ループ 1 領域、ファイバーコード領域およびペントンベース領域を、HPeV^{11,12)} では 5' UTR 領域で陽性となった検体について VP3/VP1 領域を、HAstV^{8,13)} では Capsid 領域を、AiV⁸⁾ では 3CD 領域を、HBoV¹⁴⁾ では NS1 領域を、HAV^{10,15)} では VP1/2A 領域を、HEV^{10,16)} では ORF 領域を、Flu¹⁰⁾ では A型は M 遺伝子を、B型は NS 遺伝子をそれぞれ増幅した。ウイルス分離には 10%糞便乳剤の上清を 5倍希釈した後、0.20 μ m フィルターでろ過したものを 6種類の細胞 (Vero9013, HEp-2, RD-18S, A549, Vero E6, LLC-MK2) に接種し、継代を 2代行った。分

離の確認には前述のウイルス遺伝子検出を行った。

検出されたウイルスはダイレクトシーケンス法を用いて塩基配列を決定し、NoVはNorovirus Genotyping Tool (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>) により遺伝

子型を決定し、その他のウイルスについては相同性検索又は近隣結合法による系統樹解析によりウイルス同定を行った。

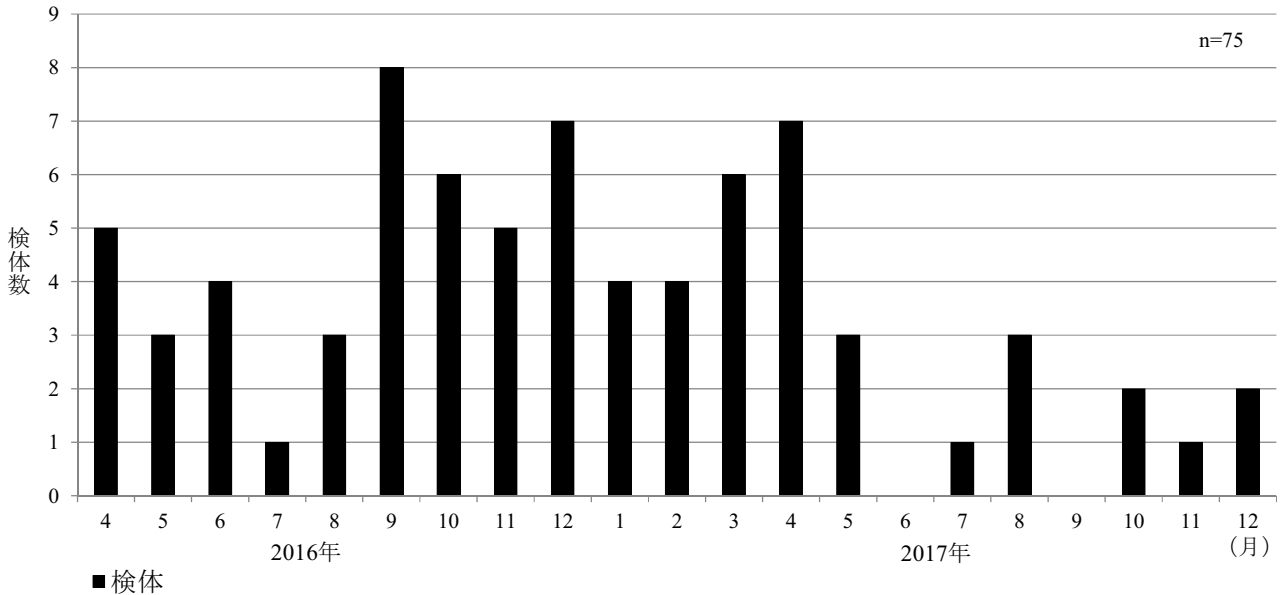


図1. 採取月別の検体数

表1. RFBS ver. 5 の対象菌種と対象遺伝子

プライマーセット	対象菌種	対象遺伝子	プライマーセット	対象菌種	対象遺伝子
A	ウエルシュ菌	<i>cpe</i>	E	カンピロバクター・コリ	<i>ceuE</i>
	プロビデンシア・アルカリファシエンス	<i>gyrB</i>		EAggEC (aggR)	<i>aggR</i>
	EHEC (Stx2)	<i>stx2</i>		黄色ブドウ球菌	<i>femB</i>
B	EHEC (Stx1)	<i>stx1</i>	F	ETEC (STp and Sth)	STp and STh
	カンピロバクター・ジェジュニ	specific DNA		腸炎ビブリオ (TDH)	<i>tdh</i>
	腸炎ビブリオ (TRH)	<i>trh</i>		プレジオモナス・シゲロイデス	<i>gyrB</i>
C	ETEC (LT)	LT	G	EAggEC (astA)	<i>astA</i>
	セレウス菌 (嘔吐型)	<i>ces</i>		EIEC/赤痢菌	<i>ipaH</i>
	コレラ菌	<i>ompW</i>		エロモナス・ヒドロフィラ	<i>ahh1</i>
D	リステリア・モノサイトゲネス	<i>hly</i>	H	エルシニア・エンテロコリチカ / エルシニア・シュードツベルク	<i>yadA</i>
	EHEC/EPEC	<i>eae</i>		サルモネラ属菌	<i>invA</i>
	セレウス菌 (下痢型)	<i>nheB</i>		DAEC	<i>afaD</i>

Ⅲ 結果

1. 細菌検出状況

検査を実施した 75 検体中 17 検体 (22.7%) でリアルタイム PCR 陽性となり、14 検体から 14 株の細菌が分離され、うち食中毒細菌は 8 検体 8 株であった。細菌病原遺伝子が検出された 17 検体の内訳は、最も多く検出され

たのが *S. aureus* で 8 検体であり、次いで EHEC/EPEC が 3 検体、*C. jejuni* が 2 検体、DAEC が 2 検体、EIEC/赤痢菌が 1 検体、*Salmonella spp.* が 1 検体、エロモナス・ヒドロフィラが 1 検体であった。*C. jejuni* が検出された 1 検体からはエロモナス・ヒドロフィラも検出された。細菌が分離された 14 検体 14 株の内訳は、最も多く分離され

たのが *S. aureus* で 8 株であり、次いで *C. jejuni* が 2 株、EPEC が 2 株、サルモネラ O4:i- が 1 株、DAEC が 1 株であった。分離された *S. aureus* 8 株中 2 株がエンテロトキシン C 産生性 (SEC-*S. aureus*) で、残り 6 株はエンテロトキシン非産生の常在菌と考えられた。1 検体から複数の細菌が分離されたものはなかった。リアルタイム PCR 陽性であったが細菌が分離されなかったものは EHEC/EPEC が 1 検体、DAEC が 1 検体、EIEC/赤痢菌が 1 検体、エロモナス・ヒドロフィラが 1 検体であった。*E. albertii* の *lysP* 遺伝子を対象にしたスクリーニング PCR で陽性となるものはなかった。

2. ウイルス検出状況

ウイルス遺伝子検出およびウイルス分離で陽性であったもの、またいずれかで陽性であったものをウイルス検出とした。検査を実施した 75 検体中 51 検体 (68%) でウイルス検出され、そのうち 10 検体で同一検体から複数検出された。51 検体から 8 種類のウイルスが合計で 62 株検出され、最も多く検出されたのが NoV で 20 株であり、次いで ARV が 14 株、EV が 7 株、HPeV が 6 株、SaV および AdV が各 5 株、HAstV が 3 株、HBoV が 2 株であ

った。検出された 62 株のうちウイルス遺伝子検出およびウイルス分離されたものは AdV が 4 株、EV が 3 株、HPeV が 1 株であり、ウイルス分離でのみ検出されたものは EV が 3 株であった。残る 51 株はウイルス遺伝子検出によるものであった。今回の検査で AiV, HAV, HEV, Flu は検出されなかった。同一検体から食中毒細菌またはウイルス、その両方が検出されたのは 75 検体中 56 検体 (74.7%) であり、食中毒細菌およびウイルスの両方が検出されたのは 3 検体 (4%) であった。食中毒細菌およびウイルス検出 56 検体の採取月別の検出数を図 2 に示す。同一検体から 2 種類のウイルスが検出されたのが、NoV および HPeV が 4 検体、NoV および SaV, NoV および EV, ARV および HPeV, EV および AdV, AdV および HBoV が各 1 検体であった。3 種類のウイルスが検出されたのが、NoV, EV および HBoV が 1 検体であった。また、同一検体から食中毒細菌およびウイルスの両方が検出されたのが、EPEC および NoV, DAEC および NoV, SEC-*S. aureus*, NoV および HPeV が各 1 検体であった。年齢別の食中毒細菌およびウイルス種別検出数を表 2 に示す。

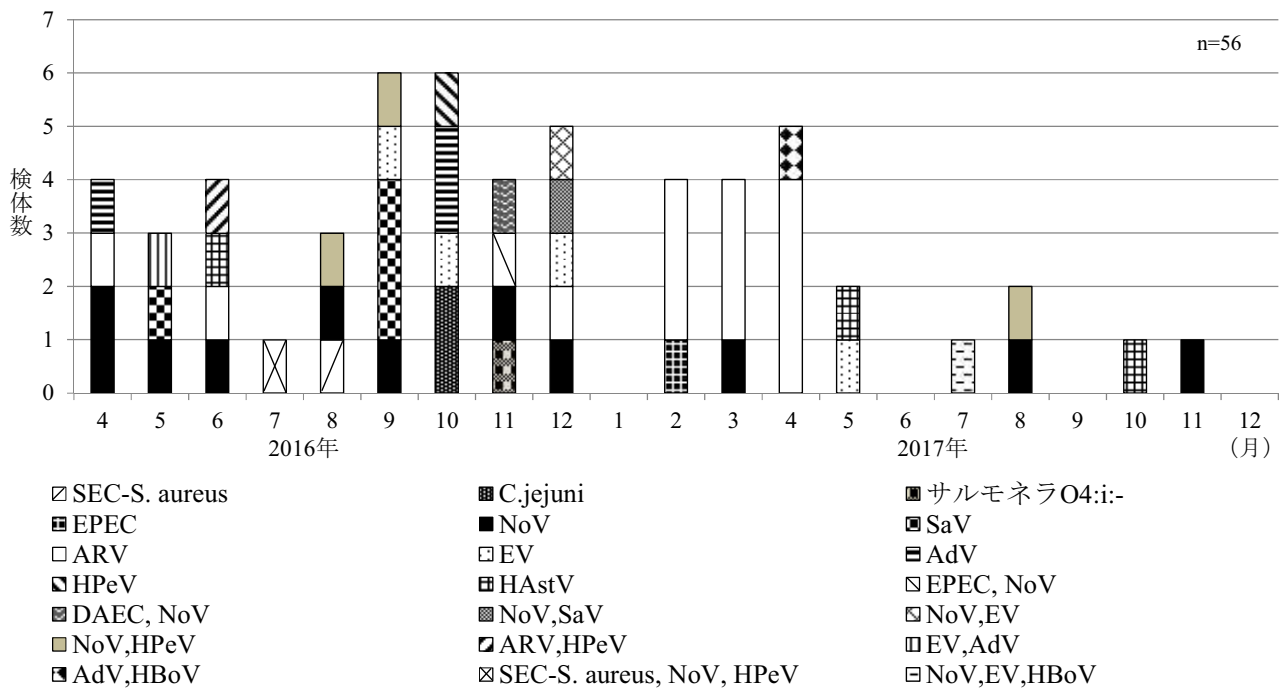


図 2. 採取月別の食中毒細菌およびウイルス検出数

表2. 食中毒細菌およびウイルス種別検出数 (年齢別)

年齢	人数	検出病原体																			検出数	検出率	
		SEC- <i>S. aureus</i>	<i>C. jejuni</i>	サルモネラ O4:i:-	EPEC	NoV	SaV	ARV	EV	AdV	HPeV	HAstV	EPEC NoV	DAEC NoV	NoV SaV	NoV EV	NoV HPeV	ARV HPeV	EV AdV	AdV HBoV			SEC- <i>S. aureus</i> NoV HPeV
0歳	24	1		1		3		4	1	1	1					2	1		1	1	1	19	79.2%
1歳	21					3	2	1	1	2		1						1				12	57.1%
2歳	7						1	3	1							1						6	85.7%
3歳	6				1	2	1		1			1										6	100.0%
4歳	3								2													2	66.7%
5歳	2											1				1						2	100%
6歳	1		1																			1	100%
7歳	3					1		2														3	100%
8歳	1																					0	0%
9歳	2					1		1														2	100%
10-14歳	3		1																			1	33%
20歳以上	1					1																1	100%
不明	1												1									1	100%
合計	75	1	2	1	1	11	4	13	4	3	1	3	1	1	1	3	1	1	1	1	1	56	74.7%

3. ウイルス遺伝子解析

ダイレクトシーケンス法を用いて塩基配列を決定し、遺伝子解析した結果に基づく採取月別のウイルス型別検出状況を表3に示す。NoVではGI.5, GII.2, GII.3, GII.4, GII.6, GII.17の6種類の遺伝子型に分類され、同時期に同遺伝子型が検出される傾向があった。SaVではGI.1, GI.3の2種類の遺伝子型に分類された。遺伝子解析を実施したSaV 3株のCapsid領域(346 bp)に基づく系統樹解析結果を図3に示す。GI.1の2株は同時期に検出されたが、異なるクラスターに分類された。また、リアルタイムPCR法陽性で、Capsid領域が増幅されず型別不明が2株あった。ARVではG2P[4], G3P[8], G3P[9], G12P[8]

の4種類の遺伝子型に分類され、同時期に同遺伝子型が検出される傾向があった。EVではCB1, E3, E6, E7, E9, E18の6種類の血清型に分類された。AdVでは1型, 2型, 3型の3種類の血清型に分類された。HPeVでは1型, 4型の2種類の遺伝子型に分類され、HPeV1型は同時期に検出される傾向があった。HAstVでは1型, 3型の2種類の血清型に分類された。遺伝子解析を実施したHAstV 3株のCapsid領域(370 bp)に基づく系統樹解析結果を図4に示す。HBoVは型別に用いる領域について遺伝子検査未実施であった。今回、SaV, EV, AdV, HPeV4型, HAstV, HBoVは散発的に検出された。

表3. 採取月別ウイルス型別検出状況

		2016年												2017年												合計
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月				
NoV	GI.5						1	1														2				
	GI.2									1	3				1						1	6				
	GI.3															1	2					3				
	GI.4	1	1	1			1		1													5				
	GI.6				1	1			1													3				
	GI.17	1																				1				
SaV	GI.1								2													2				
	GI.3		1																			1				
	unkown								1			1										2				
ARV	G2P[4]	1		1																		2				
	G3P[8]												1	3	3							7				
	G3P[9]			1						1				1								3				
	G12P[8]													1		1						2				
EV	CB1		1																			1				
	E3										2											2				
	E6							1														1				
	E7														1							1				
	E9																1					1				
	E18									1													1			
AdV	AdV-1		1																			1				
	AdV-2								1													2				
	AdV-3	1							1													2				
HPeV	HPeV-1				1	1	1	1														4				
	HPeV-4			1													1					2				
HAstV	HAstV-1			1										1								2				
	HAstV-3																			1		1				
HBoV	unkown																1					2				
合計		4	4	5	2	3	7	4	3	7	0	3	4	6	2	0	3	3	0	1	1	0	62			

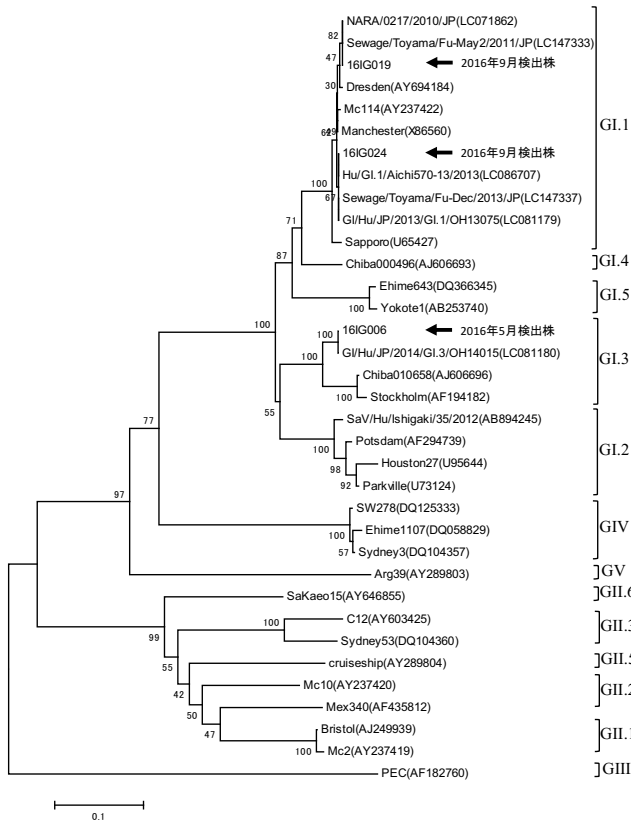


図3. SaV の Capsid 領域 (346 bp) の分子系統樹

IV 考察

今回、細菌検査を実施した 75 検体中 17 検体でリアルタイム PCR 陽性となり、14 検体から 14 株の細菌が分離され、うち食中毒細菌は 8 検体 8 株であった。ただし、SEC-S. aureus 2 株、EPEC 2 株および DAEC 1 株については散発下痢症患者由来のため起因菌であるかは不明であった。C. jejuni 2 株およびサルモネラ O4:i:- 1 株については起因菌と推測された。今回、ウイルス検査を実施した 75 検体中 51 検体から 8 種類のウイルスが合計 62 株検出された。同一検体から食中毒細菌またはウイルス、その両方が検出されたのは 75 検体中 56 検体であり、食中毒細菌およびウイルスの両方が検出されたのは 3 検体であった。食中毒細菌またはウイルス、その両方が検出された 56 検体のうち複数の食中毒細菌またはウイルスが検出された 12 検体はいずれも 5 歳以下で、この年代では免疫が不十分で感染機会が多いことが推測され、なかでも 0 歳では 2 種類の検出が 4 検体、3 種類の検出が 2 検体で確認され、嘔吐や下痢等の症状が長期間に及び重症化する可能性があるため特に注意が必要だと思われた。

検出されたウイルスは、これまでの全国での報告にあるように県内においても NoV および ARV が多く検出された。調査期間における全国の NoV および ARV の検出

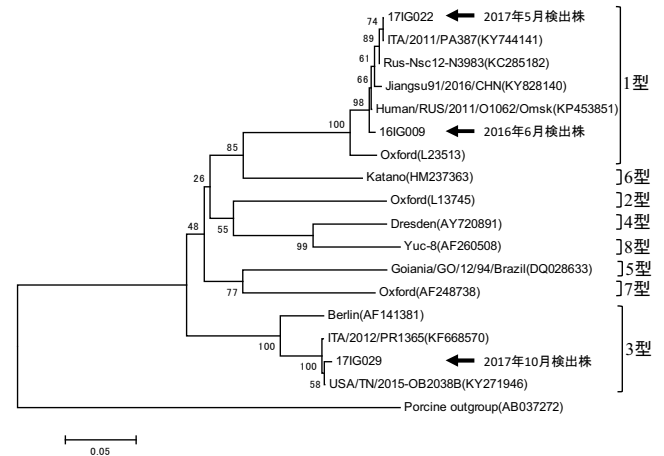


図4. HAstV の Capsid 領域 (370 bp) の分子系統樹

状況¹⁷⁾と比較すると、NoV は全国では夏季に急激に減少しているが、県内では夏季の減少はみられなかった。ARV は全国では春季に多く検出されており、県内でも同様であった。

検出されたウイルスのうち、県内において、ARV は当所では 2013 年に 26 カ所の保育所等に及ぶ 1 歳～2 歳を中心とした集団胃腸炎事例で G1P[8]の検出¹⁸⁾が、当所以外では 2007 年～2008 年に 5 歳以下の小児を対象とした胃腸炎事例の調査で G1P[8], G2P[4], G3P[8], G9P[8]の検出¹⁹⁾および 2011 年に下痢症と脳症を呈した小児 1 例で G5P[6]の検出²⁰⁾報告があるが、今回これまでに報告がなかった G3P[9]および G12P[8]が検出された。特に、G12 は全国の検出状況¹⁷⁾をみても非常に少なく、今後の流行状況を把握するためにも詳細な遺伝子解析は重要である。SaV は当所では 2012 年に施設内集団胃腸炎事例で GI.2 の検出²¹⁾があるが、検出報告数は少なく、今回これまでに報告がなかった GI.1 および GI.3 が検出され、県内に複数の異なる遺伝子型の株が存在していることが確認された。HAstV は県内初検出事例であり、今回血清型 1 型および 3 型が検出され、県内に複数の異なる血清型の株が存在していることが確認された。SaV および HAstV は、近年国内において集団胃腸炎事例^{22,23,24)}や集団食中

毒事例^{23,25)}として報告されており、今回県内において複数の型が異なる株の存在が確認されたことから、集団感染事例等でウイルス感染が疑われる場合は検査対象として考慮する必要があると思われた。

今回、年間を通じた感染性胃腸炎からの細菌およびウイルス検索を実施し、沖縄県における起因病原体の発生動向を若干ではあるが把握することができた。今後も県内における感染性胃腸炎からの細菌およびウイルス検索を行い、感染拡大防止のため注意喚起に向けた発生動向調査が重要であると考えられた。

<謝辞>

本研究の一部(検体の採取およびNoV検査)は、AMEDの課題番号(16fk0108304j1003)の支援によって行われた。

RFBS ver. 5に関する島根県保健環境科学研究所(島根衛研)作成マニュアルを教示いただき、PCR増幅確認用内部標準対照(IAC)DNAおよび陽性対照DNAを分与いただいた島根県保健環境科学研究所保健科学部細菌科の皆様へ深謝いたします。

V 参考文献

- 1) 厚生労働省 (2018) 感染症法に基づく医師の届出のお願い.
- 2) 国立感染症研究所 (2003) 感染性胃腸炎とは.
(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/383-intestinal-intro.html>)
- 3) 沖縄県衛生環境研究所感染症情報センター (2018) 感染症発生動向調査 (平成 29 年) .
- 4) Kawase J, et al. (2016) An Improved Multiplex Real-Time SYBR Green PCR Assay for Analysis of 24 Target Genes from 16 Bacterial Species in Fecal DNA Samples from Patients with Foodborne Illnesses. *Jpn J Infect Dis.*, 69 (3) :191–201.
- 5) Hyma KE, et al. (2005) Evolutionary Genetics of a New Pathogenic *Escherichia* Species: *Escherichia albertii* and Related *Shigella boydii* Strains. *J Bacteriol.*, 187 (2) :619–628.
- 6) 厚生労働省 (2013) ノロウイルスの検出法について. 平成 15 年 11 月 5 日食安監発第 1105001 号(最終改正平成 25 年 10 月 22 日食安監発 1022 第 1 号) .
- 7) Oka T, et al. (2006) Detection of Human Sapovirus by Real-Time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction. *J Med Virol.*, 78 (10) :1347–1353.
- 8) 国立感染症研究所 (2003) ウイルス性下痢症検査マニュアル (第 3 版) .
- 9) Iturriza-Gomara M, et al. (2004) Rotavirus genotyping: keeping up with an evolving population of human rotaviruses. *J Clin Virol.*, 31 (4) :259–265.
- 10) 国立感染症研究所 (2018) 病原体検出マニュアル
- 11) Joki-Korpela P and Hyypia T. (1998) Diagnosis and Epidemiology of echovirus 22 infections. *Clin Infect Dis.*, 27 (1) :129–136.
- 12) Harvala H, et al. (2008) Epidemiology and Clinical Associations of Human Parechovirus Respiratory Infections. *J Clin Microbiol.*, 46 (10) :3446–3453.
- 13) Noel JS, et al. (1995) Typing of human astrovirus from clinical isolates by enzyme immunoassay and nucleotide sequencing. *J Clin Microbiol.*, 33 (4) :797–801.
- 14) Maggi F, et al. (2007) Human bocavirus in Italian patients with respiratory diseases. *J Clin Virol.*, 38 (4) :321–325.
- 15) 厚生労働科学研究補助金「食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究」(2012)平成 23 年度総括・研究分担報告書, 89.
- 16) Mizuo H, et al. (2002) Polyphyletic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. *J Clin Microbiol.*, 40 (9) :3209–3218.
- 17) 国立感染症研究所 (2018) ノロウイルス等検出状況 2017/18 シーズン (2018 年 7 月 22 日現在報告数) .
(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/norovirus-m/2082-idsc/asr-noro/5701-iasr-noro-150529.html>)
- 18) 仁平稔 他. (2013) 石垣島内複数の保育所等で発生した A 群ロタウイルスによる集団感染性胃腸炎事例—沖縄県. *IASR.*, 34:264–265.
- 19) 石田真一 他. (2009) 沖縄県におけるロタウイルス胃腸炎の季節性, 頻度, 遺伝子型 (2007~2008 年) . *小児感染免疫.*, 21:369–372.
- 20) Komoto S, et al. (2013) Whole genomic analysis of a porcine-like human G5P[6] rotavirus strain isolated from a child with diarrhoea and encephalopathy in Japan. *J Gen Virol.*, 94 (7) :1568–1575.
- 21) Nidaira M, et al. (2014) Phylogenetic Analysis of Sapovirus Detected from an Outbreak of Acute Gastroenteritis on Ishigaki Island (Okinawa Prefecture, Japan) in 2012. *Jpn. Jpn J Infect Dis.*, 67 (2) :141–143.
- 22) 岩切章 他. (2005) サポウイルスによる感染性胃腸炎集団発生の 2 事例—宮崎県. *IASR.*, 26:338–339.
- 23) 食品安全委員会 (2011) 平成 22 年度 食品により媒介される感染症等に関する文献調査.

- 24) 堀田千恵美 他. (2013) アストロウイルスによる胃腸炎集団事例－千葉県. IASR., 34:205－206.
- 25) 小林慎一 他. (2010) 給食弁当を原因としたサボウ

イルスによる大規模食中毒事例－愛知県. IASR., 31:322－323