

## 目錄

頁次

圖次與表次.....	2
中文摘要 .....	3
英文摘要 .....	4
第一章 前言 .....	5
第二章 文獻探討 .....	6
第一節、輪狀病毒之流行病學特徵 .....	6
第二節、輪狀病毒引起的經濟負擔 .....	7
第三節、輪狀病毒引起的臨床表徵 .....	8
第四節、輪狀病毒的特性 .....	9
第五節、輪狀病毒株型的檢測及特徵 .....	11
第六節、輪狀病毒株的盛行率與其分佈 .....	12
第七節、輪狀病毒疫苗發展之可能性 .....	14
第三章 實驗材料與方法 .....	16
第一節、研究目的 .....	16
第二節、研究材料 .....	17
第三節、研究方法 .....	18
一 萃取與清洗病毒 RNA ( Extraction and Purification of Viral RNA).....	18
二 挑選與使用引子 ( Select and Use the Primers ) .....	19
三 反轉錄 ( Reverse Transcription ) .....	20
四 聚合酶連鎖反應方法放大樣本 ( Polymerase Chain Reaction).....	21
五 輪狀病毒基因序列定序 ( Sequence of Rotavirus Gene ).....	23
六 序列分析與比較 (Analysis and Alignment of Sequence).....	23
第四章 實驗結果 .....	26
第五章 實驗討論與未來目標.....	31
參考資料 .....	34

## 圖次與表次

	頁次
圖一 電子顯微鏡下的輪狀病毒.....	44
圖二 輪狀病毒的世界分佈圖.....	45
圖三 輪狀病毒的結構圖.....	46
圖四 PCR Typing of the Human Rotavirus Group A ( Partial VP7 Genes).....	47
圖五 Bootstrap Test of Phylogenetic Analysis of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G1 ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.....	48
圖六 Bootstrap Test of Phylogenetic Analysis of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G3 ( Partial VP7 Genes ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.....	49
圖七 Bootstrap Test of Phylogenetic Analysis of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G9 ( Partial VP7 Genes ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.....	50
表一 All the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains.....	51
表二 Screening Results of the Human Rotavirus Group A ( Partial VP7 Genes) by RT-PCR.....	54
表三 Alignment Of The Nucleotide Sequences Of The Human Rotavirus Group A G1 ( Partial VP7 Gene ) From The Central Taiwan Strains And Reference Strains.....	55
表四 Alignment of the Deduced Amino Acid Sequences of the Human Rotavirus Group A G1 (partial VP7 gene) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.....	58
表五 Comparison of the Human Rotavirus Group A G1 ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.....	59
表六 Alignment of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G3 ( Partial VP7 Gene ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.....	60
表七 Alignment of the Deduced Amino Acid Sequences of the Human Rotavirus Group A G3 ( Partial VP7 gene ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.....	63
表八 Comparison of the Rotavirus Group A G3 ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains .....	64
表九 Alignment of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G9 ( Partial VP7 Gene ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains .....	65
表十 Alignment of the Deduced Amino Acid Sequences of the Human Rotavirus Group A G9 (partial VP7 gene) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.....	69
表十一 Comparison of the Human Rotavirus Group A G9 ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains .....	71

## 中文摘要

由於輪狀病毒為造成全世界兒童急性腸胃炎之主要病原體，因此為了更充實本地輪狀病毒的資料庫及流行病毒株的演化性，故我們設計了該研究計劃。我們的實驗是收集中台灣部份不同年份和季節的醫院檢體進行輪狀病毒 A 群、B 群及 C 群的初步篩選，所使用的主要實驗技術採用具專一性很高的反轉錄與聚合酶連鎖反應方法放大樣本並將所得之片段序列加以定序、分析與比較。本實驗總共收集了自 1996 年 6 月至 9 月與 2001 年 10 月至 2002 年 3 月共 81 個糞便檢體，結果總共篩選得到 10 株輪狀病毒 A 群的病毒株；然而，對於輪狀病毒 B 群與 C 群的篩選並無發現。在樣本與相關序列比對分析結果方面，所得到的 10 株輪狀病毒 A 群的產物進行基因序列定序，並採用電腦軟體比較分析其核苷酸基因序列與氨基酸序列，得到這 10 株病毒株序列皆屬於輪狀病毒 VP7 之部分基因序列，然後利用 G-typing PCR 方法來確認所分離出樣本之血清型，將所得到的序列分為 G1, G3, G9 等三種血清型，其中 CS96-40 為 G1 血清型與自烏拉圭所分離出來的 MVD9816 序列最為相似(兩者相似度為 97.15%)；CS02-01 則為 G3 血清型與由日本所分離出來的 98-B31 序列最為相似(兩者相似度為 98.93%)；而 CS01-05, CS01-06, CS01-07, CS01-09, CS01-13, CS02-02, CS02-03, CS02-04 共 8 株病毒株則為 G9 血清型與已證實為 G9 血清型的相關病毒株都很相似(相似度 96.85~99.88%)，其中 CS02-04 與由日本所分離出來的 SP2737 序列，兩者間相差最少(其兩者之相似度為 99.88%)。我們發現此次實驗中所分離出 G3 與 G9 之病毒株為台灣地區第一次所發表的亞型，因此對於未來台灣在輪狀病毒疫苗的研發上有相當重要的參考性。

## 英文摘要

**Rotaviruses** are a major cause of gastroenteritis in children worldwide.

Purpose: Phylogenetic analysis of the partial VP7 gene of the human rotavirus in central Taiwan. Total 81 stool samples from cases of acute gastroenteritis, occurring in the hospital of the central Taiwan at 1996, 2002, 2003, were selected by polyacrylamide gel electrophoresis and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for partial VP7 gene of the human rotavirus group A, B, C. Then confirmed by comparative nucleotide and deduced amino acid sequence analysis for the relative sequence. A total of 10 stool sample were selected by polyacrylamide gel electrophoresis. The sequence analysis of the gene encoding the major neutralization glycoprotein (VP7) was performed on ten human isolates of serotype 1,3,9 of rotavirus and their genetic variations were examined. The partial VP7 gene of nucleotide sequence and the deduced amino acid sequence of CS96-40 of G1 are similar to MVD9816 (identity rate 97.15%, from Uruquay) ; The sequence of CS02-01 of G3 are similar to 98-B31 (identity rate 98.93%, from Japan) ; The sequence of CS01-05, CS01-06, CS01-07, CS01-09, CS01-13, CS02-02, CS02-03, CS02-04 and established G9 rotaviruses sequence are very similar (identity rate 96.85% ~ 99.88%), especially CS02-04 and SP2737 (from Japan) the identity rate is 99.88%. The first data of the human rotavirus group A serotype G3, G9 distribution in central Taiwan is reported. These data are important for the development of an appropriate rotavirus vaccine.

## 第一章 前言

輪狀病毒因為此病毒在電子顯微鏡下為輪狀而因此命名(見圖一)，根據世界衛生組織(WHO)所作的研究與相關的文獻報導，發現嬰幼兒及兒童因罹患腹瀉住院及死亡的個案中，分別有 20~70% 及 20 % 可歸因於輪狀病毒感染所引起的[1]。在 1986 年所作的研究中，估計每年約有一億三千萬人因感染輪狀病毒而引起腸胃炎，其中有一千八百萬人發生中度及嚴重的脫水，甚至因此造成多達八十七萬個嬰幼兒的死亡[2, 與圖二]。因此在全世界各個地方，不論是在已開發或待開發中的國家，皆認為輪狀病毒是最常造成嬰幼兒和兒童急性腸胃炎疾病的主要感染病原體，且多發生於年齡六個月至二歲間的幼童，同時也會有發生感染於較大兒童及成年人的病例出現。因此由於輪狀病毒感染是造成嬰幼兒因腹瀉住院及死亡的重要疾病，為了有效控制這疾病對人們健康的威脅，除了基本層面上可做到改善公共衛生環境，避免接觸病人糞便、或其它分泌物，並要徹底實施洗手等基本感染預防步驟之外，住院病童在需要時也應隔離，這樣措施下除對疫情有一定防治之外，最主要的還是要發展疫苗來防治輪狀病毒的感染才是根本之道。但目前尚未有有效之抗病毒藥物上市以供直接治療，至於利用疫苗來做為預防的方法，目前雖然已有減毒和人工合成抗原的疫苗，但其全面性施打的可行度及疫苗本身的效果和安全性也只是正在審慎的評估中[2,3,4]。

台灣目前對輪狀病毒的研究資料仍然不多，為了更充實本地的輪狀病毒的資料庫及流行病毒株的演化性，本研究的目的除了要針對輪狀病毒作一文獻探討之外，並利用實驗方法找出流行病毒株之基因演化變異性之相關性，以提供我國處理輪狀病毒策略的參考。

## 第二章 文獻探討

### 第一節、輪狀病毒之流行病學特徵

由相關研究已知，嬰幼兒與孩童在出生後幾年內一直受到輪狀病毒感染的威脅。在已開發國家及待開發中國家，輪狀病毒是引起幼兒嚴重腹瀉及脫水的主要原因，在所有因腹瀉而住院的病人中約有 20~70% 的病人可歸因於該病毒[1]。在待開發中國家所作的研究，發現幼童因輪狀病毒而引起腹瀉的發生率為每年每位小孩的機率自 0.007 至 0.8，在 24 個月的年齡內，幾乎所有小孩都曾因輪狀病毒感染而發病，而大部份 (65~80%) 的小孩在出生 12 個月都曾感染過[2,4,5,6,7,8,9,10]。根據資料在台灣輪狀病毒感染病例，一歲以下佔一半，三個月以下佔四分之一左右[11,12]。出生三個月後的第一次感染通常會有嚴重的症狀，而腹瀉的發生率於 2~3 歲左右開始下降。在已開發國家中也有類似的情形，約有 80% 的小孩在五歲前發生由輪狀病毒所引起的腹瀉症狀。在美國，因輪狀病毒感染住院的病例約有 72% 發生在兩歲以前，有 90% 發生在三歲之前[13]。而在台灣，因輪狀病毒感染而住院的病例有 88% 是發生在兩歲以前，而約有 95% 發生在三歲之前[14,15]。綜合上述，待開發中國家的輪狀病毒疾病發生最高峰為出生 6 至 11 個月大的小孩；而在美國及加拿大等已開發中國家，疾病發生最高峰為 1~2 歲的時候[11,12]。

在某些待開發中國家，大部份的感染是由社區感染所引發，但有 10% 的感染病例則是在醫院內被感染，尤其是在新生兒加護中心、或由醫護人員全責照顧的新生兒病房最容易引起。在醫院內感染的病患中，新生兒受到輪狀病毒感染常常是沒有症狀的[16,17,18,19]。例如，在印

度所做的研究調查，住院三天或以上的新生兒中有 40~50% 的新生兒雖然有輪狀病毒所造成的感染，卻沒有太嚴重的症狀[20]；在台灣，1994 年 10 月至 1995 年 5 月之間有一育嬰室爆發輪狀病毒感染，其中有 16% 的新生兒因此受到其感染[21]。於新生兒時若受過輪狀病毒感染，以後若再感染相同病毒，其症狀會比較輕微，所以，對於待開發中國家輪狀病毒疫苗效力的研究，會受到該地區新生兒感染率的影響[22]。

另一方面輪狀病毒腹瀉也會因緯度差異而有季節性的變動。一般在溫帶地區的國家，輪狀病毒感染好發於冬季較冷的月份，在其他季節則幾乎很少或沒有疾病發生[14,15,21,23,24,25,26]。在熱帶國家，該病一年四季中皆會發生，沒有或很少有季節性的變動[27]。在台灣全年皆有感染的病例發生，但以冬季較多在 11 月起感染數即逐漸上升，2 月達高峰後就逐漸下降，5 月至 11 月間即較少[28]。但目前，仍沒有一完美的假說能解釋上述之現象，不過，這現象可應用在疫苗的計劃；從這些差異可以提示該病毒感染可能有不同的傳播方式及危險因子，而且可以因此闡釋為什麼在已開發國家及待開發國家的輪狀病毒感染上會發生有年齡上的差異[29,30,31,32,33]。

另外，在四季季節分明的國家（大多是已開發國家），有些嬰兒必須等到下次流行季節才會得到感染，這也可能是已開發國家受到感染年齡影響較大的原因之一[34,35]。

## 第二節、輪狀病毒引起的經濟負擔

在 1986 年所做的研究調查發現，全世界估計每年約有一億三千萬人因輪狀病毒感染而引起腹瀉；其中一千八百萬人有中度及嚴重脫水現

象，八十七萬三千人死亡[2]。在 WHO 所作的一篇文獻探討中指出，五歲以下因腹瀉而死亡的小孩中，有 20% 可歸因輪狀病毒引起[1]。

在台灣及美國，高峰流行期間，超過 50% 的住院腹瀉病人可歸因於輪狀病毒所引起[23,36,37,38,39]。依據台灣地區 86 年衛生署全民健康保險局資料，顯示五歲以下兒童因腹瀉相關的治療成本約需花費十三億六千萬台幣以上，其中輪狀病毒所引起之腹瀉症狀即佔百分之二。而美國小孩在五歲時，七十個小孩中有一個會因輪狀病毒感染引起的腹瀉而住院[25]。最近，有關美國在治療輪狀病毒相關的成本估計，顯示每年約花費超過二億四千美元以上，社會所需付的成本約一兆美元[40,41]。

### 第三節、輪狀病毒引起的臨床表徵

輪狀病毒傳染主要途徑為糞口傳染，這包括了器具污染與接觸傳染，也有學者認為呼吸道傳染也是可能的傳染途徑之一。感染後的潛伏期只有一至三天，臨床症狀包括：嘔吐、稀水樣腹瀉、發燒、腹痛、輕度至中度脫水、電解質失衡等的症狀最常見[3]，亦可能會造成中樞神經系統的症狀出現，例如：無熱性痙攣、無菌性腦膜炎、腦炎、和神經發育遲緩等，有少部份重症者甚至引起死亡[42,43,44]。所以感染輪狀病毒的幼兒，也有可能有癲癇發生，但一般癒後良好不必長期服用抗癲癇藥物治療[45,46]。

感染輪狀病毒的患者，病毒會侵襲腸道的黏膜上皮細胞造成黏膜細胞變行與生理的異常，諸如：絨毛變短而鈍，使得小腸的吸收機能降低；以及刷狀緣上之酵素之改變，如：雙醣酶的分泌減少。其結果造成小腸暫時性吸收障礙，以致病人無法正常吸收水份、電解質及消化營養物

質，因此病童常因此需要改用不含乳糖之特殊奶粉；另外一方面在黏膜細胞受損嚴重的情況下，可能會因腸道出血及大量細菌的入侵而導致血痢和敗血症的併發症[47]。腹瀉通常會持續 3-8 天，然後通常會自行痊癒。不過，也有腹瀉持續 22 天的報導[48]，另外，嬰兒的症狀持續時間可能較年長的小孩久。在剛發生疾病的幾天內，發燒以及嘔吐是最明顯的病徵。與其他常見病原所引起的腹瀉相比較，輪狀病毒感染所產生的腹瀉通常較嚴重且可能會導致脫水住院。嚴重脫水與住院的病人大多是 3 個月至 3 歲之間的小孩[6,49,50]。

所以，因腹瀉而住院的小孩中，輪狀病毒是小孩急性腸胃炎最重要的原因，佔了所有小孩腸胃炎的 5~10%，幾乎所有小型在三歲至五歲以前，至少都會得一次輪狀病毒感染[51]。大多數的輪狀病毒感染是沒有臨床症狀，特別是小於 3 個月的嬰兒及年長的成年人。可能因重複暴露於輪狀病毒所引起的免疫力，輪狀病毒所引起的免疫反應並無法絕對避免下一次的感染，但對於以後感染的保護力約為 40%，對於以後發生腹瀉的保護力約為 75%，因此，年紀越大的小孩及成人有較高的感染率，但罹病率卻相對較低[52,53]。所以有很多兒童會不只得到一次輪狀病毒感染。新生兒及年紀較小的嬰兒中，為何感染後，無臨床症狀比率相當高，目前仍未有明顯的解釋，不過，應與母親殘存的抗體及腸胃未完全成熟有關。輪狀病毒感染可導致嚴重得疾病而且在免疫力失調或缺乏的病人，可能會延長病毒的排出時間[54,55,56]。

#### 第四節、輪狀病毒的特性

輪狀病毒在分類學上屬於呼吸道與腸胃道病毒科 Reovirous 中輪狀

病毒屬。在西元 1973 年，由 Ruth Bishop 等人發現，利用電子顯微鏡檢查技術發現在急性腸胃炎患者的糞便中有一種特殊形狀之病毒顆存在，因其形狀與輪狀相似故取名為輪狀病毒[圖一]。此病毒顆粒具有非常明確的雙層蛋白殼體構造，病毒大小約 60-75nm，有內外兩層正二十面體。病毒顆粒內層由 VP1、VP2 和 VP3 組成，且被 VP6 蛋白包裹，再由外層正十二面體的 VP7 和 VP4 蛋白包圍[圖三,57,58,59,60]。

輪狀病毒殼體內的核酸結構屬於雙股 RNA，可分為 11 段，分別編譯著輪狀病毒的六種不同的結構蛋白 (VP1-VP4, VP6, VP7) 和五種不同的非結構蛋白 (NSP1-NSP5) [61]。VP7 [ 為一種糖蛋白(glycoprotein) 或稱為 G 蛋白 ] 及 VP4 [ 為一經蛋白酶切割蛋白 (protease-cleaved protein) 或稱為 P 蛋白 ] 兩種結構蛋白構成病毒的外層，且該部份對發展疫苗非常重要，因為該位置決定病毒的血清型，且中和病毒時為主要抗原。

VP6 是病毒蛋白最豐富的部分且是最容易測到抗原標的。在非結構蛋白部份，NSP4 (non-structural protein) 被認為是一種與疾病相關的因素，病毒顆粒的兩種重要抗原，被作為各別的抗原特殊專一性質及基因序列的差異，分類依據而將輪狀病毒再分為不同的血清型 G 和 P[3]。其中是一種上述的 VP7 糖蛋白共有 14 型，其中以 G1、G2、G3、G4 最常見[62]。另一種抗原是 VP4 共有 20 型。這兩種抗原的不同血清型 (serotype) 都可以引起特異性的免疫反應。

VP6 的蛋白抗原性在輪狀病毒之 Group 及 Sub-group 的分型上扮演相當重要的角色，根據 VP6 的不同抗原特性輪狀病毒至少可分為 A、B、C、D、E、F、G 等七群，其中以 A、B、C 群會引起人類之感染，而在此三群中，以 A 群感染最普遍，同時也是最被廣泛的研究，為了研究方

便在 A 群中又依 VP6 之性質細分成 I , II , non- I -non II 和 I + II 四種亞群[64,65,66,67]。

## 第五節、輪狀病毒株型的檢測及特徵

1. 利用免疫反應的專一性質偵測病毒的抗原，例如乳膠凝集法及酵素免疫法等。
2. 利用電子顯微鏡直接偵測檢體中病毒顆粒的存在的型態。
3. 利用細胞培養的技術來觀察細胞病變，確定是否有病毒生長。
4. 使用分子測驗法之 RT-PCR 的原理偵測檢體中輪狀病毒核酸之存在。
5. 測定感染病毒後患者體內所產生之特異性抗體，如 IgG 、 IgM 、 IgA 等。

輪狀病毒的臨床以及流行病學研究需要用一種敏感的方法，測得糞便檢體中的輪狀病毒以及追蹤小孩感染後的免疫反應情形。早期的研究方法是利用電子顯微鏡，隨著免疫分析法，乳膠凝集檢驗法的進步，使得病毒的診斷較為實際可行。這些分析方法不但快速、敏感、精確、容易操作，且在最簡單的實驗室配置下亦可進行[68,69,70]。病毒可從檢體中培養，而在特殊的研究中也可利用分子測驗法檢測（例如：dot blot hybridization reverse transcription and polymerase chain reaction , RT-PCR），不過，這些檢驗法是用於較特殊的研究，一般例行的診斷中並不採用[43,44,71]。因為這兩種與中和反應有關的蛋白基因轉譯過程是單獨分開的，因此，VP7 (G) 以及 VP4 (P) 二套血清分類系統被採用來分類不同的血清型的特異性，G 與 P 血清型的鑑定可採用酵素分析法

(EIA)，該方法是利用單株抗體針對 VP7 及 VP4 蛋白的特殊血清抗原決定基因或表位 (epitope) 進行，該抗原決定基因或表位亦可採用分子方法來偵測；例如聚合酶連鎖反應 (PCR)，寡糖核酸探針結合反應，中和反應，及免疫分析方法[72]。

另外，不同病毒的 VP4 之氨基酸序列有大於 98% 相同時，則其血清學較不易區分。進一步使用反轉錄聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) 及雜交方法 (hybridization) 發展特殊基因型的探針可決定 P 基因型[42]。

## 第六節、輪狀病毒株的盛行率與其分佈

輪狀病毒株在臨牀上主要會引起病毒性腸胃炎。輪狀病毒 A 群的感染大多發生於嬰兒及孩童身上，世界各地均有病例。目前經中和試驗及雜交及基因定序的方法，發現輪狀病毒 A 群至少分成不同得 14 種 G 型和 20 種 P 型[20]。其中 G1-G4 型在流行病學上最為常見[73,74,75]，分佈亦最廣。不過，最近更有學者研究報告指出其他特殊 G 型也在一些國家陸續的發現，並且有些許病例的報導，例如：G5，G10 在巴西 (Brazil)；G8 在馬拉威 (Malawi)[62]。其中尤其是 G9 在世界各地一直不斷的有被發現和疫情報導，包括：印度、美國、法國、日本、義大利、孟加拉共和國 (Bangladesh)、馬拉威、英國 (the United Kingdom)、澳大利亞、泰國等國家[42,44,56,76]。並有研究學者提出這些奇特的 G 型輪狀病毒株有可能將會造成另一波感染的大流行，是值得我們密切關查和注意的[77]。

人類輪狀病毒 B 群則主要在成年人造成腸胃炎，但偶爾也有新生兒或孩童之感染發生，此群病毒首先爆發在中國大陸，在 1982 - 1983 年當

時由於感染 B 群病毒株型而造成大流行，然而從此卻也很少有其他國家有因為感染 B 群相關病毒株感染病例的報導[78,79]。但是在 1997 和 1998 年印度的加爾各答市（Calcutta）發現了五個輪狀病毒 B 群的報導[44]。因此這也引起科學家對輪狀病毒 B 群原始病毒株型和其他相關毒株在人類與動物間演化及地緣上的相關性的研究。

過去對於輪狀病毒 C 群被認為是在動物上最主要造成腸胃炎的病原。但經過一些研究發現輪狀病毒 C 群亦會對孩童及成年人造成感染，例如：在日本（Japan）[22]。直到最近，又有屬於零星散發性病例相繼發出，如：在阿根廷（Argentina）[36]。由此，引起科學家對人類輪狀病毒 C 群在地球上分佈狀況的興趣，並且認為 C 群的輪狀病毒亦可能造成人類腸胃炎另一致病原體[37]。

台灣輪狀病毒的感染主要影響 2 歲以下的嬰幼童，並且目前在台灣本土只有輪狀病毒 A 群的發現病例，對於 B 群和 C 群的輪狀病毒則尚未有病例報導。根據流行病學統計指出除了在 1992 – 1993 年爆發 G2 輪狀病毒株的大流行外，在本地感染率上以 G1 型最多，其次為 G3 型，並且大部份的輪狀病毒株多以基因型 P[8] 或 P[6] 和血清型 G1 或 G3 組合為主，而 G2 的血清型則與基因型 P[4] 有關[39-40]。這些組合中以 P[8]G1 是主要株型，約佔所有株型 53%，接著是 P[8]G3 約佔 14%、P[4]G2 佔 19% 以及 P[8]G4 佔 5%，至於其它較少見的不同株型也相繼被發現，由於台灣地處於亞熱帶故一年之中皆有病例出現，但以冬季較冷的月份為輪狀病毒流行高峰期[80,81]。

由台大醫院所收集 1981 至 1996 年之輪狀病毒檢體分析在不同時期流行的血清分佈情形，選擇輪狀病毒的 VP7 和 VP1 之基因來作比較分析，以瞭解 G2 各病毒株間的基因變化與演化關係。經基因核酸序列比

較發現在 90 年代的 G2 輪狀病毒株間其 VP7 和 VP1 核酸序列相似度分析分別高達 97% 和 99%；但和過去 80 年代流行的 G2 輪狀病毒株其核酸序列比較相似度卻較低。又經種系分析與國外一些參考毒株比較發現在台灣流行的 G2 病毒株和日本的病毒株 S2 比較相近，而與美國、澳洲的病毒株關係較遠。顯示這兩個不同時期的輪狀病毒株在其基因體已發生相當成度的變異[82]。

另一篇相關報告則由中部彰化基督教醫院所做的研究，該醫院收集了 1994 年 10 月至 1995 年 4 月的檢體，並選殖與分析輪狀病毒之 VP7 和 VP4 基因序列探討了 G1 血清型輪狀病毒之間的關係。其中針對新生兒室所爆發院內感染的輪狀病毒株 G1P[6]和小兒感染的輪狀病毒株 G1P[8]與台大醫院收集 1993 年之輪狀病毒株 G1P[6]和 1978、1988、1989、年的輪狀病毒株 G1P[8]做比較，分析結果發現彼此間差異性小，然而，其 VP4 基因定序與社區性的輪狀病毒株則有較明顯的差異，並且也對其 VP4 基因定序來和一些參考病毒株（例如：1076、M37、RV3、及 ST3），及社區性輪狀病毒株作相較，結果發現病毒株間的基因序列有所不同[41]。

依據以上的研究報告我們認為在台灣本土的輪狀病毒株在演化上可能已經有基因重組的現像，且因為不同的病毒株型在個各地有不同的盛行率，這會影響到疫苗計劃的成功與否，因此許多國家對於建立輪狀病毒及其病毒株型的監測系統有高度興趣。

## 第七節、輪狀病毒疫苗發展之可能性

為了發展輪狀病毒的疫苗，幾項策略目前持續進行中。第一個代表

性的輪狀病毒疫苗是由牛或恒河猴分離的單價輪狀病毒株。這種疫苗相當安全，但效能（efficacy）卻還有爭議。最早通過許可及使用的疫苗是將人-動物的病毒經重新組合而製成的多價疫苗。這種疫苗的每個病毒株是由 10 個取自動物的基因及一個取自人輪狀病毒的 G 型。在這些研究當中，恒河猴-人類的四價輪狀病毒疫苗（RRV-TV，Wyeth - Lederle Vaccine and Pediatrics)已被廣泛研究，且已於 1998 年取得美國 FDA 許可上市。此疫苗已證明在預防輪狀病毒引起的腹瀉有接近 50% 的效力，對嚴重輪狀病毒腹瀉更有高達 70% 以上的保護力。相同的，一多價的人-牛-輪狀病毒經重組過的疫苗在預防輪狀病毒腸胃炎也能產生大約 70% 的保護作用，不過在 10054 位接受 RRV-TV 疫苗者中，有五位（0.05%）發生腸套疊症狀者，但與對照組比較，並未具有統計學上的差異 [47,48,49]。

目前尚需要更多資料來證明這疫苗的安全性，各種製造疫苗的方法也正被測試著；包括考慮使用活的人類病毒株作為疫苗，不活化的、經腸胃道使用的疫苗，次單元的疫苗以及其他等。初期配合其他常態實施的疫苗，未來提供的疫苗將是口服的疫苗。這些疫苗皆需要冷藏運送系統。就像自然感染輪狀病毒一樣，在接種第一劑疫苗後，能產生部份的免疫能力。陸續追加接種後將能產生更大的免疫力。

因為小孩子於輪狀病毒第一及第二感染時最有可能會發生嚴重脫水性腸胃炎，疫苗將會取代這些早期的感染，之後若在自然感染到病毒，可能僅發生無症狀感染或輕微的疾病。因為接種疫苗是對輪狀病毒發生嚴重疾病有效的方法，因此在監視疫苗計劃的效力時，應著重在降低輪狀病毒感染造成之死亡率及住院率[82,83]

## 第三章 實驗材料與方法

### 第一節、研究目的

許多國家對於研究輪狀病毒分佈情況及其不同病毒株型演化關聯性具有高度的研究興趣，如何利用這些寶貴的研究資料更進一步的建立更完整的監測系統更是科學家們下一步的目標。台灣目前對輪狀病毒的研究資料仍然不多，為了更充實本地輪狀病毒的資料庫及流行病毒株的演化性，故我們設計了該研究計劃以達成更長遠的研究目標。我們的實驗是收集中台灣部份不同年份和季節的醫院檢體進行輪狀病毒 A 群、B 群及 C 群的初步篩選，所使用的主要實驗技術是具專一性很高的 RT-PCR 方法[84,85]。引子的選擇是參考過去研究的相關報告，對 A 群所進行的定型引子對其該群之 VP7 的專一性很高，可以用來作為感染輪狀病毒 A 群的確認[44]。對 B 群的輪狀病毒的篩選，是選擇過去研究較多的第 8 個基因(VP7)作為篩選輪狀病毒 B 群的初步確認。另一方面，對輪狀病毒 C 群的引子選擇一樣選擇該群之 VP7 蛋白作為輪狀病毒 C 群的篩選[45]。

## 第二節、研究材料

本實驗總共收集了自 1996 年 6 月至 2002 年 3 月共 81 個糞便檢體。其中檢體來源陳述如下：

- 1 從 1996 年 6 月至 9 月間，由中部地區署立雲林醫院及聖若瑟醫院所收集的 32 個輪狀病毒抗原呈陽性反應的糞便檢體。
- 2 從 2001 年 10 月至 12 月間，由中部地區署立雲林醫院及聖若瑟醫院所收集的 19 個只經由臨床醫生認為可能是因病毒感染而造成的腸胃炎的糞便檢體。
- 3 從 2001 年 1 月至 3 月，由中部地區署立雲林醫院、聖若瑟醫院及台中市林新醫院所收集的 20 個只經由臨床醫生認為可能是因病毒感染而造成的腸胃炎的糞便檢體。

### 第三節、研究方法

#### 一 萃取與清洗病毒 RNA ( Extraction and Purification of Viral RNA)

a. 先調製一反應混合物約 400μl :

(A 400μl reaction mixture was adjusted to contain)

1% SDS

0.15M NaCl

1.25mM EDTA

0.1M Tris-HCl(PH 7.5)

and 100μg of proteinase K per ml.

↓

b. 加溫至 56°C , 30 分鐘 ( Incubation at 56°C for 30 min )

↓

c. 使用 phenol-chloroform ( 1:1 )萃取

[ Extraction with phenol-chloroform(1:1) ]

↓

d. 再使用 chloroform ( 1:1 ) 清洗一次

[ Again with chloroform alone (1:1)]

↓

e. 加入兩倍量之 ethanol 並置於-70°C 環境下靜置一夜使樣本沉澱

( Precipitation with 2 volumes of ethanol at -70°C overnight )

↓

- f. 使用離心收集 RNA pellet  
( Collect RNA pellet by centrifugation )
- ↓
- g. 使用 70% ethanol 清洗 RNA pellet  
( Wash pellet with 70% ethanol )
- ↓
- h. 將 RNA pellet 懸浮於 20μl DEPC-water  
(Suspend in 20μl DEPC-water)

## 二 挑選與使用引子 ( Select and Use the Primers )

引子的選擇是參考過去研究的相關報告，對 A 群所進行的定型引子對其該群之 VP7 的專一性很高，可以用來作為感染輪狀病毒 A 群的確認。對 B 群的輪狀病毒的篩選，是選擇過去研究較多的第 8 個基因(VP7)作為篩選輪狀病毒 B 群的初步確認。對輪狀病毒 C 群的引子選擇一樣選擇該群之 VP7 蛋白作為輪狀病毒 C 群的篩選[44,45]。另外我們選用 G1、G9 和一常用引子(G-type-specific-oligo-nucleotide primers, specific for G1 and G9, and common primer)，用來作為使用 G-typing PCR 方法來確認所分離出樣本之血清型[45]。

### I. Screen rotavirus group A

Beg9→ GGCTTAAAAGAGAGAATTCCGTCTGG

End9→ GGTCACATCATACAATTCTAATCTAAG

### II. Screen rotavirus group B

GRB-1F→ CTATTCAGTGTGCGTGAGAGG

GRB-1R→ CGTGGCTTGGAAAATTCTTG

### III. Screen rotavirus group C

G8S → GGCATTAAAAAGAAGAAGCTGT

G8A → AGCCACATGATCTTGTTCACGC

### IV. Genotyping of rotavirus

G1 sense → CAAGTACTCAAATCAATGATGG

G9 sense → CTAGATGTAACACTACAACACTAC

Common antisense → GGTCACATCATACAAATTCT

## 三 反轉錄 ( Reverse Transcription )

- 將 4 $\mu$ g extracted RNA 加入 2 $\mu$ l 10 $\mu$ M 特殊引子 (specific primer)後，加入 DEPC-water 至 12.5 $\mu$ l

↓

- 加熱至 70°C， 5 min 並迅速至於冰上冷卻

( Heat mixture to 70°C for 5 min and quick chill on ice )

↓

- 加入下列物質並使用離心萃取

(Collect the contents of the tube by brief centrifugation and add)

4 $\mu$ l 5X First-strand Buffer  
2 $\mu$ l 0.1M DTT  
1 $\mu$ l 10mM dNTP Mix

↓

d. 輕微搖晃混合並加熱至 37°C , 2 分鐘

( Mix gently and incubate at 37°C for 2 min )



e. 加入 0.5μl M-MLV reverse transcriptase 並使用吸量管上下混合

(Add 0.5μl M-MLV reverse transcriptase; mix by pipetting gently up and down.)



f. 加熱至 37°C , 60 分鐘 ( Incubate 60 min at 37°C )



g. 所得到之 cDNA 接著用聚合酶連鎖反應方法放大

(The cDNA can be used as a template for amplification in PCR.)

#### 四 聚合酶連鎖反應方法放大樣本 ( Polymerase Chain Reaction)

a. 泡製一反應混合物包含下列 (Reaction mixture contain) :

Take 1μl cDNA  
5μl 10X PCR buffer  
3μl 50mM MgCl<sub>2</sub>  
1μl 10mM dNTP  
1μl 10mM specific primer1  
1μl 10mM specific primer2  
0.5μl super Taq DNA polymeras



b. 將樣本置入 thermocycler



C. 照下圖之流程操作：

(1) For rotavirus group A

No. cycles	Temperature (°C)	Time (min)
1	95	5
30	94	1
	42	2
	72	1
1	72	7
1	4	Hold

(2) For rotavirus group B

No. cycles	Temperature (°C)	Time (min)
1	95	5
30	94	1
	42	2
	72	1
1	72	7
1	4	Hold

(3) For rotavirus group C

No. cycles	Temperature (°C)	Time (min)
1	95	5
30	94	1
	48	2
	72	2
1	72	7
1	4	Hold

d. 之後將 PCR 所得之產物轉錄至 Agarose gel 上然後在紫外光下觀察：

1. PCR products 10μl were loaded on 1.5% agarose gel in TAE buffer.
2. Run electrophoresis at 100V for 40 min
3. The gels were photographed under UV light.

## 五 輪狀病毒基因序列定序 ( Sequence of Rotavirus Gene )

將所得之純化樣本委請明欣公司代做基因序列定序。

## 六 序列分析與比較 (Analysis and Alignment of Sequence)

### I. 選擇相關序列 ( Select Reference Strains )

a. Group A G1 for partial VP7 gene :

WA (GenBank accession number : K02033 ) in U.K (英國) ;  
KU ( D16343 ) , 2TT ( D16321 ) in Japan (日本) ;  
C2 ( D17718 ) , DCO3 ( AF183859 ) , TE56 ( AF183856 ) in Taipei (台北) from 臺大醫院 ;  
CH9 ( AF183848 ) , CH31 ( AF183849 ) in Changhua (彰化) from 彰基醫院  
MVD9816 ( AF480293 ) in Uruguay (烏拉圭) 。

b. Group A G3 for partial VP7 gene :

107ELB ( HRU04350 ) , JA1 ( D86271 ) , JA2 ( D86266 ) , MO ( D86280 ) , 98-B31 ( AF260958 ) in Japan (日本) ;  
MP126 ( AF386915 ) in India (印度) ;  
T108 ( AF450293 ) in China (中國) ;  
KC814 ( HR0311739 ) in U.S.A.(美國) ;  
CP-1(AF448852) in United Kingdom (英國) 。

c. Group A G9 for partial VP7 gene :

SP2737 ( AB091752 ) in Japan (日本) ;  
DL73 ( AJ491165 ) , US1205 ( AF060487 ) , R136 ( AF438228 ) in U.S.A. ;  
Brazil ( AJ279082 ) in Brazil (巴西) ;  
GH1319 ( AY211065 ) in Ghana (迦納共和國) ;  
MR4703 ( AY262746 ) , 8253NN ( AF529869 ) in South Africa(南非) ;  
Kolkata ( AF501580 ) in India (印度) 。

## 七 基因序列與氨基酸序列之比較分析

使用 DNAMAN version 4.15 軟體做樣本與相關病毒株之基因序列與氨基酸序列之比較分析 [Alignment of the deduced amino acid sequences and the nucleotide sequences of the human rotavirus group A (partial VP7 gene) from the central Taiwan strains and reference strains.]

## 八 基因演化樹分析：

使用 MEGA 2.1 軟體之 neighbor-joining method 畫出其基因演化樹 [Bootstrap test of neighbour-joining method of mega 2.1 used for phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of the human rotavirus group A( partial VP7 gene ) from the central Taiwan strains and reference strains.]

## 第四章 實驗結果

### 一、 輪狀病毒樣本的篩選結果：

本實驗分別收集了來自 1996 年，2001 年，2002 年，台灣中部地區地區醫院之輪狀病毒抗原呈陽性反應或經由臨床醫生認為可能是因病毒感染而造成腸胃炎的病人之大便檢體，總共 81 個大便檢體。在經過將檢體萃取、清洗出病毒 RNA、挑選與使用適當引子( Primers )等實驗步驟後，我們將樣本再經過反轉錄與聚合酶連鎖反應方法(RT-PCR)放大後，將所得之產物放入電泳跑膠，結果總共篩選得到 10 株輪狀病毒 A 群的病毒株；然而，對於輪狀病毒 B 群的篩選，在 1996 年所收集的檢體中，我們發現之中有兩個病人檢體在經由 PCR-Typing 與電泳跑膠後，雖然有呈現出明顯的 PCR 產物，在選擇其中之一進行定序後，經過比對則顯示其產物是人體的 genomic DNA；而對於 2001 年與 2002 年的部份，由於先前只是經由臨床醫生認為可能是因病毒感染而造成的腸胃炎的大便檢體，故這些檢體的感染病原是未知的。所以我們針對其它無 PCR 產物的檢體進行輪狀病毒 B 群的篩選，結果我們有發現之中雖然有一個檢體在輪狀病毒株 B 群篩選時有 PCR 的產物出現，但我們仍然採保守懷疑的看法，所以沒有進行定序與分析比對；然而對輪狀病毒 C 群的篩選我們則無任何的發現。我們將電泳跑膠後的結果呈現於圖四。

### 二、 樣本與相關序列比對分析結果：

接著我們將經過反轉錄與聚合酶連鎖反應方法(RT-PCR)放大所得的 10 株輪狀病毒 A 群的產物進行基因序列定序，得到下列序列：

CS96-40(1996) , CS01-05(2001) , CS01-06(2001) , CS01-07(2001) , CS01-09(2001) , CS01-13(2001) , CS02-01(2002) , CS02-02(2002) , CS02-03(2002) , CS02-04(2002) 總共 10 株輪狀病毒序列，並將其序列分別呈現於表一。

接下來我們採用 DNAMAN version 4.15 軟體做這 10 株病毒株與相關病毒株之核苷酸基因序列與氨基酸序列之比較分析，並使用 MEGA 2.1 軟體分析其基因之演化種系，得到這 10 株病毒株序列皆屬於輪狀病毒 VP7 之部分基因序列，然後利用 G-typing PCR 方法來確認所分離出樣本之血清型、可將所得到的序列分為 G1 , G3 , G9 等三種血清型，其中 CS96-40(1996)為 G1 血清型；CS02-01(2002)則為 G3 血清型；而其餘 CS01-05(2001) , CS01-06(2001) , CS01-07(2001) , CS01-09(2001) , CS01-13(2001) , CS02-02(2002) , CS02-03(2002) , CS02-04(2002) 共 8 株病毒株則為 G9 血清型。將其整理列於表二。

其後我們將所得到之 10 株輪狀病毒序列登錄於 GenBank，其登錄碼(accession number)分別為 CS96-40(1996)(AY165008) , CS01-05(2001)(AY165009) , CS01-06(2001)(AY165010) , CS01-07(2001)(AY165011) , CS01-09(2001)(AY165012) , CS01-13(2001)(AY165013) , CS02-01(2002)(AY165014) , CS02-02(2002)(AY165015) , CS02-03(2002)(AY165016) , CS02-04(2002)(AY165017)

### 三、 輪狀病毒之部分 VP7 基因，G1 血清型的核苷酸序列與氨基酸序列之比較分析結果：

我們利用基因庫與其他已被其他發表論文選用的相關序列：如 WA , KU , 2TT , C2 , DCO3 , TE56 , CH9 , CH31 , MVD9816 等 9 株

病毒株序列與我們所分離出之 CS96-40 進行核苷酸序列與氨基酸序列之比對分析，結果得到 CS96-40 與其他相關病毒株在核苷酸序列上相差約有 24~86 個核苷酸(相似度約 89.79~97.15%)，其中與自烏拉圭所分離出來的 MVD9816 序列，兩者間相差有 24 個胺基酸為最少(其兩者之相似度為 97.15%)；與自英國所分離出來的 WA 序列，兩者間相差達 86 個胺基酸度為最多(其兩者之相似度為 89.79%)；而在胺基酸序列比對上則與 MVD9816 相差 11 個胺基酸，而與 WA 相差 23 個胺基酸。將 G1 相關序列間之比對結果分別列於表三、表四、表五。

#### 四、輪狀病毒之部分 VP7 基因，G3 血清型的核苷酸序列與氨基酸序列之比較分析結果：

我們同樣利用基因庫選擇較相近之相關序列：如 107ELB，JA1，JA2，MO，98-B31，MP126，T108，KC814，CP-1 等 9 株病毒株序列與我們所分離出之 CS02-01，進行核苷酸序列與氨基酸序列之比對分析，結果得到 CS02-01 與其他相關病毒株在核苷酸序列上相差約有 10~108 個核苷酸(相似度約 88.46~98.93%)，其中與由日本所分離出來的 98-B31 序列，兩者間相差有 10 個胺基酸為最少(其兩者之相似度為 98.93%)；而與英國所分離出來的 CP-1 序列，兩者間相差達 108 個胺基酸為最多(其兩者之相似度只有為 88.46%)，將其比對結果列於圖五；而在胺基酸序列上比對的結果，我們發現 CS02-01 與 98-B31 的胺基酸序列上僅相差 4 個胺基酸，而與 CP-1 則相差 15 個胺基酸。將 G3 相關序列間之比對結果分別列於表六、表七、表八。另外，我們在比對過程中發現 CS02-01 病毒株，為台灣地區所分離出之輪狀病毒株中第一個 G3 血清型的。

## 五、 輪狀病毒之部分 VP7 基因, G9 血清型的核苷酸序列與氨基酸序列之比較分析結果：

我們同樣也利用基因庫選擇較相近之相關序列：如 SP2737, DL73, US1205, R136, Brazil, GH1319, MR4703, 8253NN 等 9 株病毒株與我們所分離出之 CS01-05, CS01-06, CS01-07, CS01-09, CS01-13, CS02-02, CS02-03, CS02-04 等 8 株病毒株序列，進行核苷酸序列與氨基酸序列之比對分析，結果得到這 8 株病毒株序列與其他相關病毒株在核苷酸序列上，相差約有 1~26 個核苷酸(相似度約 96.85~99.88%)，其中 CS02-04 與由日本所分離出來的 SP2737 序列，兩者間相差只有 1 個胺基酸為最少(其兩者之相似度為 99.88%)；而 CS01-06 與我們自己所分離出來的 CS02-03 序列，兩者間相差達 26 個胺基酸為最多(其兩者之相似度只有為 96.85%)；而在胺基酸序列上比對的結果，我們發現 CS02-04 與 SP2737 的胺基酸序列幾乎相同，而 CS01-06 與 CS02-03 則相差 12 個胺基酸。將 G9 相關序列間之比對結果分別列於表九、表十、表十一。

## 六、 輪狀病毒之部分 VP7 基因其演化種系發生之分析結果：

另外，我們使用 MEGA 2.1 軟體之 neighbour-joining method 來分析輪狀病毒之部分 VP7 基因之種系發生情況，並畫出其演化樹狀圖。在 G1 血清型相關序列之演化樹狀圖中(如圖五)，CS96-40 與自烏拉圭分離出之 MVD9816 在演化樹的距離最為接近，其次與自台北臺大醫院所分離出之 C2 較為接近，但卻與其他來自台北台大醫院或彰化彰基醫院所分離出之病毒株序列，如 TE56、CH9、CH31、DC03 有稍遠的距離；並與自英國與日本所分離的病毒株序列，如 WA、KU、2TT 相距最遠(如圖

五)。

而在 G3 血清型相關序列之演化樹狀圖中，CS02-01 與自日本分離出之 98-B31、JA2 在演化樹的距離較為接近，其次為自日本，印度與中國所分離出之病毒株序列，如 107ELB、MP126、T108 較接近，但與其他來自日本之病毒株序列，如 MO、JA2 有稍遠的距離；並與自美國與英國所分離的病毒株序列，如 KC814、CP-1 相距最遠(如圖六)。

最後在 G9 血清型相關序列之演化樹狀圖中，我們可以將其分為 4 個主要亞群分枝，其中第一個亞群為我們所分離出之 CS01-05、CS01-06、CS01-09 彼此較為接近，並與其他病毒株序列有些許的距離；第二個亞群為我們所分離出之 CS01-07、CS02-03；第三個亞群為我們所分離出之 CS01-13、CS02-02、CS02-04 並與日本所分離出之 SP2737 最為接近；而第四亞群則為其他病毒株序列(如圖七)。

## 第五章 實驗討論與未來目標

由過去的流行病學研究我們知道台灣輪狀病毒的感染主要影響 2 歲以下的嬰幼童，並且目前在台灣本土只有輪狀病毒 A 群的發現病例，對於 B 群和 C 群的輪狀病毒則尚未有病例報導。除了在 1992 – 1993 年爆發 G2 輪狀病毒株的大流行外，在本地感染率上以 G1 型最多，然而在我們的研究中得知除了 1996 年分離出一株 A 群 G1 型，2002 年分離出一株 A 群 G3 型外，我們從 2001 與 2002 的檢體中分離出八株 A 群 G3 型的，顯示目前台灣所流行的輪狀病毒已與過去有所不同。雖然我們在 1996 年只分離出一株 A 群 G1 型，但由演化樹狀圖及核酸相似度的結果看來 CS96-40 與其它 G1 病毒株間仍有些許的差異，這是值得我們未來更進一步繼續研究和探討的。當然繼續篩選該年份的輪狀病毒對於增加資料的說明及客觀性也是我們必須更加努力的。

另外，CS01-05，CS01-06，CS01-07，CS01-09，CS01-13，CS02-02，CS02-03，CS02-04 等 8 株病毒株為台灣地區第一次所發現的 G9 亞型，在與世界各地之輪狀病毒 A 群 G9 型比對後竟有高達 97% 的相似性，這一點是值得我國人注意的。國外一些研究曾提出警訊，認為其它不常見的血清型輪狀病毒尤其是 G9 這個血清型將有可能成為另一波流行的輪狀病毒株血清型，雖然尚未經過更進一步的確認，但也與我們實驗結果不謀而合。況且目前疫苗對於血清型 G9 尚未有防治力，故這個病毒株對國人來講將有可能造成一定的威脅，值得我們密集監測的。而 CS02-01 此病毒株是屬於輪狀病毒株 G3 的型，也為台灣地區第一次所發現的血清亞型。這一點同樣值得我國人注意的。我們需密切注意與監測，是否 G3 這個血清型將也有可能成為另一波流行的輪狀病毒株血清型。況且

目前疫苗對於血清型 G3 也尚未有防治力，故這個病毒株對國人來講將有可能造成一定的威脅，也同樣值得我們密集監測的。

綜合以上各型血清型的比較，我們也注意到我們所分離出之病毒株 CS96-40 與烏拉圭所分離出之病毒株( 如 MVD9816 )有最高的相似度，因為此兩地相隔甚遠，我們認為可能為一種旅行行為所造成之感染，也無法排除為一種突變所造成的結果，需要更進一步的研究與更多的病毒資料才能作更進一步的推論。至於 2002 年所篩選出的唯一一株 G3 血清型的病毒株 CS02-01 竟與日本所分離出之病毒株 ( 如 107ELB , JA2 )，並與中國大陸所分離出之病毒株( 如 98-B31 )有高達 98% 以上的相似度，因為此兩地與我國為相鄰國家，而我國無論就地緣的臨界接近程度或人民的互動交流活動，平時就與這兩國相當頻繁，所以極有可能為地緣性感染所造成的結果。而 CS01-05 , CS01-06 , CS01-07 , CS01-09 , CS01-13 , CS02-02 , CS02-03 , CS02-04 等 8 株 G9 病毒株雖然為台灣地區第一次所發現的血清亞型，卻與世界各地之病毒株皆有高達 98.5% 的相似度，使我們推論此血清型以正在造成一大流行，直得我們做為未來的追蹤與密集監測。

雖然對於 B 群及 C 輪狀病毒的篩選未能有所斬獲，但值得我們注意的是世界貿易的往來頻繁和兩岸三地的交流及地理環境上等因素，更讓我們對於 B 群及 C 群的輪狀病毒不可乎視的。過去研究已有顯示輪狀病毒株間基因重組及變異性很高，儘管先前只出現在中國大陸的輪狀病毒 B 群的病例也在印度的加爾各答市(Calcutta)發現[21,45]，就地緣的臨界及人民的互動交流上是可以理解為何會有人類輪狀病毒 B 群的發現。所以台灣過去與大陸如此來往，以至未來兩岸三通等人民更頻繁的互動，則對於除了 A 群以外其它輪狀病毒群的感染是我們不得不更加重視。

同時由於我們也想知道過去國外所使用的基因型 G-typing 輪狀病毒株的引子利用反轉錄與聚合酶連鎖反應方法來篩選臺灣本土的輪狀病毒株是否適用及這對引子是否可以做為臨床上檢驗的應用，結果發現其篩選方式之敏感性與特異性皆有不錯的表現，所以對於在臨床針對輪狀病毒感染症篩選部分，使用此方法替代傳統只檢驗檢體中輪狀病毒抗原有否呈現陽性反應的檢查方式也許可行，但需要更進一步的實驗來作確認。

## 參考資料

1. de Zoysa I, Feachem RV. Interventions for the control of diarrhoeal disease among young children: rotavirus and cholera immunization. Bull WHO 1985; 63: 569- 83.
2. Black RE, Brown KH, Becker S, Abdul Alim ARM, Hugi. Longitudinal studies of infectious disease and physical growth of children in rural Bangladesh; II. Incidence of diarrhea and association with known pathogens. Am J Epidemiol 1982;115:15-24.
3. Black RE, Greenberg HE, Kapikian AZ, Brown KH, Becker S. Acquisition of serum antibody to Norwalk virus and rotavirus and relation to diarrhea in a longitudinal study of young children in rural Bangladesh. J Infect Dis 1982; 145: 483- 9.
4. Velazquez R, Calva JJ, Guerrero ML et al. cohort study of rotavirus serotype patterns in symptomatic and asymptomatic infections in Mexican children. Pediatr Infect Dis J 1993; 12: 54- 61.
5. Zaki AM, DuPont HL, EI Alamy MA et al. The detection of neteropathogens in acute diarrhea in a family cohort population in a rural Egypt. Am J Trop Med Hyg 1986; 35: 1013- 22.
6. Mata L, SIMHON A, Uemtia JJ, Kronmal RA, Fernandez R, Guatamalan Mayan Indian children observed from birth to the age of three years. J Infect Dis 1983; 148: 452- 61.
7. Linhares AC, Gabbay YB, Freitas RE, da Rosa ES, Mascarenhas JD, Loureiro EC. Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belem, Brazil. Epidemiol Infect 1989; 102: 129- 45.
8. Simhon A, Mata L, Vives M et al. Low endemicity and low pathogenicity of rotaviruses among rural children in Costa Rica. J Infect Dis 1985; 152: 1134- 42.

9. Grinstein S, Gomez JA, Bercovich JA, Biscotti EL. Epidemiology of rotavirus infection and gastroenteritis in prospectively monitored Argentine families with young children. *Am J Epidemiol* 1989; 130: 300- 8.
10. Reves RR, Hossain MM, Midthun K et al. An observational study of naturally acquired immunity to rotaviral diarrhea in a cohort of 363 Egyptian children. *Am J Epidemiol* 1989; 130: 981- 8.
11. Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD et al. Longitudinal study of rotavirus infection and gastroenteritis in families served by a pediatric medical practice: clinical and epidiatic medical practice: clinical and epidemiology observations. *Pediatr Infect Dis* 1987;6: 170- 6.
12. Gurwith M, Wenman M, Hinde D, Feltham S, Greenberg H.A prospective study of rotavirus infect in infants and young children. *J Infect Dis* 1981; 144: 218- 24.
13. Parashar UD, Holman RC, Clarke MJ, Bresee JS, Glass R. Hospitalizations associated with rotavirus diarrhea in the United States, 1993 through 1995: surveillance based on the new ICD-9-CM rotavirus specific diagnostic code. *J Infect Dis* 1997; 177: 13- 7.
14. Lin CL, Huang FY, chyou SC, Lee HC. Clinical observation of rotavirus gastroenteritis in children. *Acta paed Sin* 1984; 4: 407- 11.
15. Lo YS, Huang BL, Tsai LY, Lu CC, Chen TS. Clinical observations of infants and children with rotavirus gastroenteritis in southern Taiwan. *Kaohsiung. J Med Sci* 1988; 4: 358- 63.
16. Sukumaran M, Gowda K, Maiya PP et al. Exclusive asymptomatic neonatal infections by human rotavirus strains having subgroup I specificity and “long” RNA electropherotype. *Arch Virol* 1992; 126: 239- 51.

17. Omoignerale AI, Abiodun PO. Nosocomial rotavirus infection in newborns. *East Afr Med J* 1995; 72: 220- 1.
18. Kilgore PE, Unicomb LE, Gentsh JR, Albert MJ, McElroy CA, Glass RI. Neonatal rotavirus infection in Bangladesh: Strain characterization and risk factors for nosocomial infection. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15; 72- 7.
19. Perez-Schael I, Daoud G, White L et al. Rotavirus shedding by newborn children. *J Med Virol* 1984; 14: 127- 36.
20. Cicirello HG, Das BK, Gupta A et al. High prevalence of rotavirus infection among neonates born at hospitals in Dehli, infection with unusual rotavirus. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 720- 4.
21. Chen HN, Dennehy PH, Oj W, Lee CN, Huang ML, Tsao LY. Outbreak and control of a rotaviral infection in a nursery. *J Formos Med Assoc* 1997;96:884-9.
22. Anonymous. Rotavirus vaccine for the prevention of rotavirus gastroenteritis among children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practice (ACIP) *Morb Mortal Wkly Rep* 1999; 48: 1- 35.
23. Chyou SC, Leu YJ, Huang FY, Lee HC, Yang DI. An etiological study of infectious diarrhea in infants and children in Taipei area. *Acta Paed Sin* 1988;29:213-20.
24. Chen HJ, Wang SF, Lai MH. Rotavirus gastroenteritis in children: a clinical study of 125 patients in Hsin-Tien area. *Acta Paed Sin* 1997; 32: 73- 8.
25. Ryan MJ, Ramsay M, Brown D, Gay NJ, Farrington CP, Wall PG. Hospital admission attributable to rotavirus infection in England and Wales. *J Infect Dis* 1996; 174:(supple) S12- 18.

26. Ho M-S, Glass RI, Pinsky PF, Anderson LJ. Rotavirus as a cause of diarrhea morbidity and mortality in the United States. *J Infect Dis* 1988; 158: 1112- 6.
27. Cook SM, Glass RI, Lebaron CW, Ho MS. Global seasonality of rotavirus infections *Bull WHO* 1990; 68: 171- 7.
28. Dessel berger, U.(2000) Rotavirus: basic facts. In: rotavirus: Method and Methods (Gray, J. and Desselberger, U. Eds.), pp.1-8.Humana, Totowa, NJ.
29. Centers for Disease Control and Prevention, U.S.A. rotavirus: Vaccine for the prevention of rotavirus gastroenteritis it is among children. *MMWR* 1999; 18: 1-20.
30. Rodriguez WJ, Kim HW, Arrobio JO, et al. Clinical features of acute gastroenteritis associated with human removers like agent in infants and young children. *A pediatr.* 1977; 91: 188- 93.
31. Mary LC, Howard C. Virus causing gastroenteritis. In: Balows A. William JH. Kenneth LH. eds. *Manual of Clinical microbiology* 5<sup>th</sup> ed. Washington, DC: American Society for Microbiology.
32. Salmi T, Arsitla D, Kovokko A. Central nervous system involvement with rotavirus gastroenteritis. *Scand J Infect Dis* 1978; 10: 29- 31.
33. Wong CJ, Zane MT, Bruckner A. Aseptic meningitis in an infant with rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis* 1984; 3: 244- 6.
34. Ushijima H, Bosu K, Abe T, et al. Suspected rotavirus encephalitis. *Arch Dis Child* 1986; 1: 692-4.
35. Keidan Is, Heren GL. Rotavirus encephalopathy evidence of central nervous involvement during rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis* 1992; 11: 773- 5.

36. Brandt CL, Kim Hw, RODRIGUEZ JO et al. Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 71- 8.
37. Mtson DO, Estes MK. Impact of rotavirus infection at a large pediatric hospital. *J Infect Dis* 1990; 162: 589- 604.
38. Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD et al. Rotavirus gastroenteritis in the Washington, DC, area. *Am J Dis Child* 1980; 134: 777- 9.
39. Koopaman JS, Turkis VJ, Monto AS, Gouvea V ,Srivastava S, Isaacson RE. Patterns and etiology of diarrhea in three Clinical settings. *Am J Epidemiol* 1984; 119: 114- 23.
40. Jin S, Kilgore PK, Holman RC, Clarke MJ, Gangarosa EJ Glass RI. Trends in hospitalizations for diarrhea in the United States 1979-1992:estimates of the morbidity associated with rotavirus. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15: 397- 404.
41. Tucker AW, Breaee JS, Haddix AC, Holman RC, Parashar UD, Glass RT. Cost-effectiveness analysis of a rotavirus immunization program in the United States *JAMA* 1998; 279: 1371- 6 °
42. Lee CN, kao CL, Ning HC, Fuh HL, Lee CY. Identification of V7 serotypes of human rotaviruses by enzyme linked immuno sorbent assay and reverse transcription polymerase chian reaction. *Acta Pediater Sin* 1997; 38: 454- 62.
43. Institute of Medicine. The Prospects of immunizing against rotavirus. In: New vaccine development: disease of importance in developing countries. Volume 2 ed. Washington, D.C.: National Academy Press,1986: D-13 to D-13-2 °
44. Velazquez FR, Matson DO, Calva JJ, et al. Rotavirus infection in infant as protection against subsequent infections. *N Engl J Med* 1996; 335: 1022- 8 °

45. Iturriza-Gomara M, Isherwood B, Desselberger U, Gray J. Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J of Virol*. 2001; 75(8):3696-705
46. Unicomb LE, Podder G, Gentsch JR, Woods PA, Hasan KZ, Faruque AS, Albert MJ, Glass RI. Evidence of high frequency genomic reassortment of group A rotavirus strains in Bangladesh: emergence of type G9 in 1995. *J of Clin Microbiol*. 1999; 37(6): 1885-91.
47. Watanabe M, Nakagomi T, Koshimura Y, Nakagomi O. Direct evidence for genome segment reassortment between concurrently-circulating human rotavirus strains. *Arch Virol* 2001; 146(3): 557- 70.
48. Bass DM, Greenberg HE. GROUP a rotaviruses. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HE, Guerrant RL eds. *Infections of the gastrointestinal Tract*. New Yourk: R- Aven Press; 1995. p.967- 81.
49. Wyatt RG, Yolken RH, Uimtia JJ et al. Diarrhea associated with rotavirus in rural Guatemala: a longitudinal study of 24 infants and young children. *Am J Trop Med Hyg* 1979; 28: 325- 8.
50. Black RE, Lopez de Romana G, Brown KH, Brave N, Bazalar OG, Kanashiro HC. Incidence and etiology of infantile diarrhea and major routes of transmission in Huascar, Peru. *Am J Epidemiol* 1989; 129: 785- 99.
51. Palombo EA. Genetic and antigenic diversity of human rotaviruses: potential impact on the success of candidate vaccines. *FEMS Microbiol Lett*. 1999; 181(1): 1-8. Review.
52. Midthun K, Kapikian AZ. Rotavirus vaccines: an overview. *Clin Microbiol Rev*. 1996; 9(3): 423-34. Review.

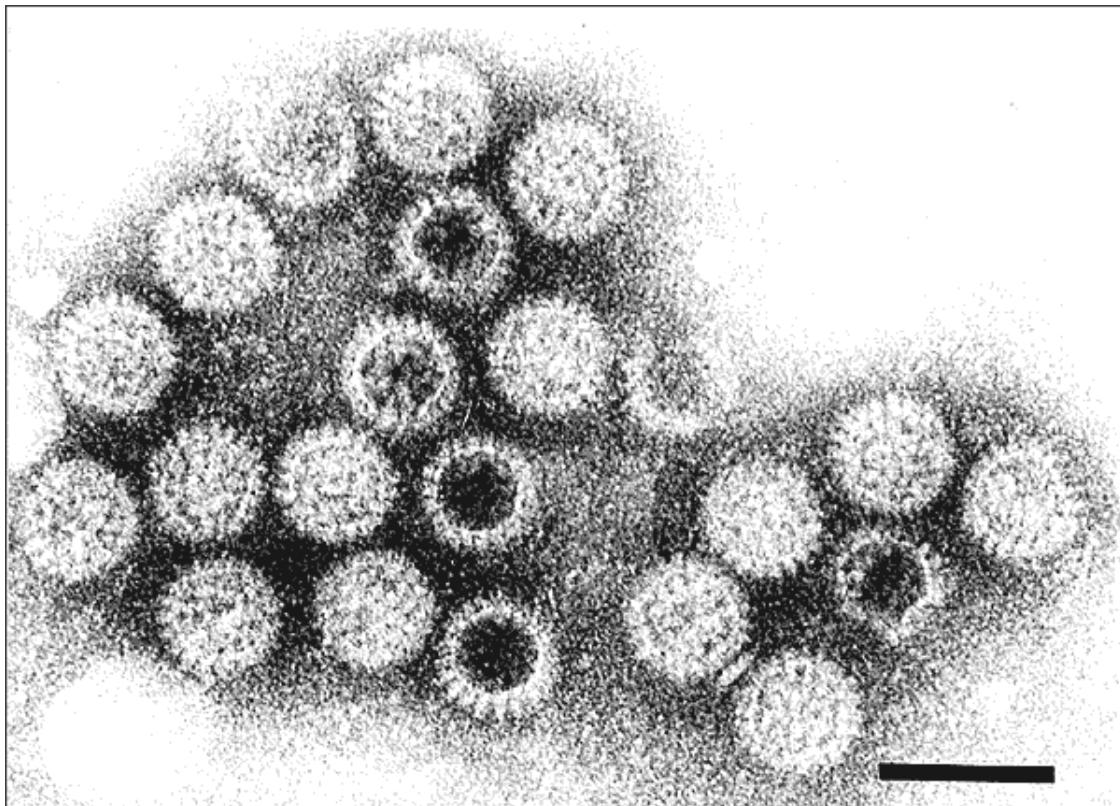
53. Bishop RF. Natural history of human rotavirus infection. *Arch Virol Suppl*. 1996; 12: 119-28. Review.
54. Okada J, Urasawa T, Kobayashi N, Taniguchi K, Hasegawa A, Mise K, Urasawa S. New P serotype of group A human rotavirus closely related to that of a porcine rotavirus. *J Med Viro* 2000; 20: 63- 9.
55. Bearda Gm, Desselberger U, Flewett Th. 1989. Temporal and geographical distributions of human rotavirus genotypes, 1983 to 1988. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2827- 33.
56. Cunliffe NA, Gondwe JS, Broadhead RL, Molyneux E, Woods PA, Bresee Ts, Glass RI, Gentsch JR, Hart CA. rotavirus G and P types in children with acute diarrhea in blantyre, Malawi, from 1997 to 1998: predominance of novel P[6]G8 strain. *J Med Virol* 1999; 57: 308- 12.
57. LeBaron CW, Lew J , Glass RI et al. Annual rotavirus epidemic patterns in North America: Results of a five-year retrospective survey of 88 centers in Canada, Mexico, and the United States. *JAMA* 1990; 264: 983- 8.
58. Yeager M, Dryden KA, Olson NH, Greenberg HE, Baker TS. Three dimensional structure of rhesus rotavirus by cryoelectron microscopy and image reconstruction. *J Cell Biology* 1990; 110: 2133- 44.
59. Prasad BV, Burn TW, Marietta E, Estes MK, Chiu W. Localization sites in rotavirus by three-dimensional cryoelectro microscopy. *Nature* 1990;343:476-9.
60. Ball M,Tian P, Zeng CQ-Y, Morris AP, Eates MK. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science* 1996;272:101-4.

61. Gouvea V, Castero L, Timenetsky MC, Greenberg H, Santo N, rotavirus serotype G5 associated with diarrhea in Brazilian children, *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1408- 09.
62. Santo Nlima R, Pereira C, Gouvea V. Detection of rotavirus types G8 and G10 among Brazilian children with diarrhea. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2727-29.
63. Araujo IT, Ferreira MS, Fialho AM, Assis RM, Cruz CM, Rocha M, Leite JP. Rotavirus genotypes P[4]G9, P[6]G9, and P[8]G9 in hospitalized children with acute gastroenteritis in Rio de Janeiro, Brazil. *J of clin Microbiol*. 2001; 39(5) : 1999- 01.
64. Kirkwood CD, Gentsch JR, Hoshino Y, Clark HF, Glass RI. Genetic and antigenic characterization of a serotype P[6]G9 human rotavirus strain isolated in the United States. *Virology*. 1999; 256(1): 45- 53.
65. Oka T, Nakagomi T, Nakagomi O. Apparent re-emergence of serotype G9 in 1995 among rotaviruses recovered from Japanese children hospitalized with acute gastroenteritis. *Microbiol & Immunol*. 2000; 44(11): 957- 61.
66. Iturriza-Gomara M, Cubitt D, Steele D, Green J, Brown D, Kang G, Desselberger U, Gray J. Characterisation of rotavirus G9 strains isolated in the UK between 1995 and 1998. *J of Med Virol*. 2000; 61(4): 510- 7.
67. Racz ML, Kroeff SS, Munford V, Caruzo TA, Durigon EL, Hayashi Y, Gouvea V, Palombo EA. Molecular characterization of porcine rotaviruses from the southern region of Brazil: characterization of an atypical genotype G[9] strain. *J of Clin Microbiol*. 2000; 38(6): 2443- 6.
68. Unicomb LE, Podder G, Gentsch JR, Woods PA, Hasan KZ, Faruque AS, Albert MJ, Glass RI. Evidence of high frequency genomic reassortment of group A rotavirus strains in Bangladesh: emergence of type G9 in 1995. *J of Clin Microbiol*. 1999; 37(6): 1885- 91.

69. Ramachandran M, Gentsch JR, Parashar UD, Jin S, Woods PA, Holmes JL, Kirkwood CD, Bishop RF, Greenberg HB, Urasawa S, Gerna G, Coulson BS, Taniguchi K, Bresee JS, Glass RI. Detection and characterization of novel rotavirus strains in the United States. *J of Clin Microbiol.* 1998; 36(11): 3223-9.
70. Hung T, Chen GM, Wang CG, et al. rotavirus-like agent in adult non- bacterial diarrhea in China. *Lancet.* 1983; 2: 1078- 9.
71. Fang ZY Ye Q, Ho MS, et al. Investigation of an outbreak of adult diarrhea in China. *J Infect Dis.* 1989; 160: 948- 53.
72. Keishnsn T, Sen A, Choudhury JS, Das S, Naik TN, Ahtattacharya SK. Emergence of adult Diarrhea rotavirus in Calcutta, India. *Lancet.* 1999; 353: 380- 81.
73. Ishimaru Y, Nakano S, Nakano H, Oseto , Yamashita Y. Epidemiology of group C rotavirus gastroenteritis in Matsuyama, Japan. *Acta Ped Jap.* 1991; 33(1): 50- 6.
74. Castello AA, Arguelles MH, Villegas GA, Lopez N, Ghiringhelli DP, Semorile L, Glikmann G. Characterization of human group C rotavirus in Argentina. *J of Med Virol.* 2000; 62(2):199-207 .
75. Nilsson M, Svenungsson B, Hedlund KO, Uhnoo I, Lagergren A, Akre T, Svensson L. Incidence and genetic diversity of group C rotavirus among adults. *J of Inf Dis.* 2000; 182(3): 678- 84.
76. Masendycz PJ, Palombo EA. Genetic relatedness of VP1 genes of Australian and Taiwanese rotavirus isolates. *FEMS Microbiol Let.* 2001; 198(2): 147-50.
77. Chiu TF, Lee CN, Lee PI, Kao CL, Lin HC, Lu CY, Tseng HY, Hsu HL, Lee CY, Huang LM. Rotavirus gastroenteritis in children: 5-year experience in a medical center. *J of Microbiol, Immunol & Inf.* 2000; 33(3): 181- 6.

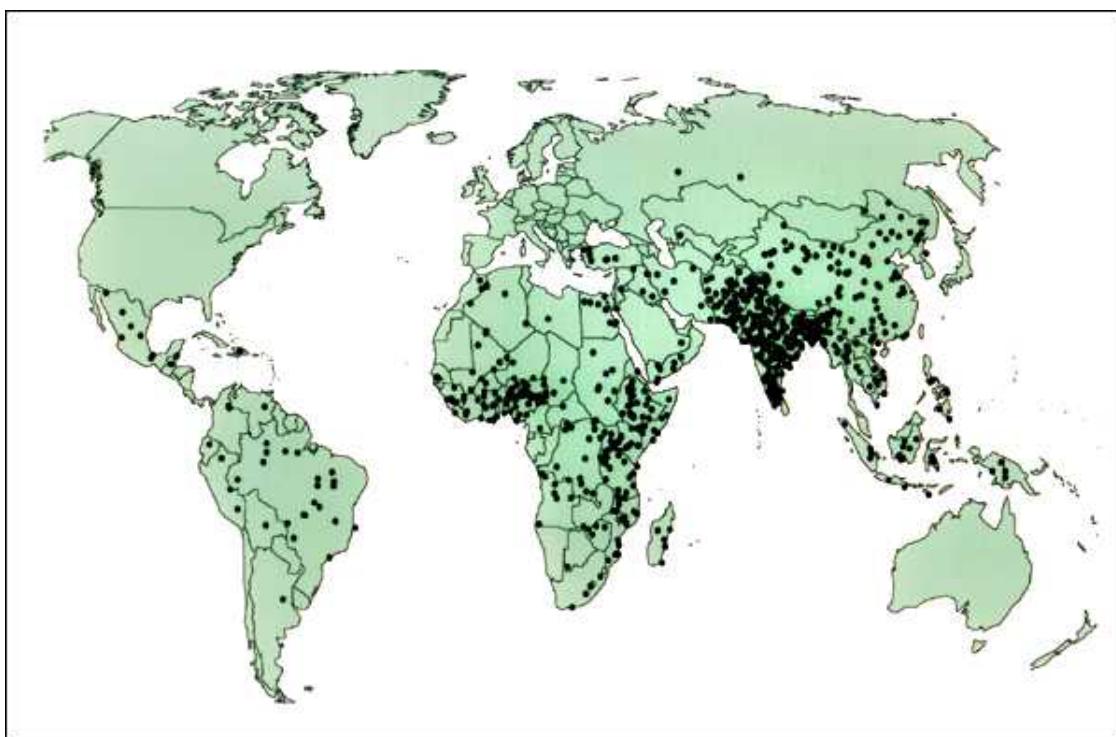
78. Amerian Academy of Pediatrics, Committee on infectious Disease. Prevention of rotavirus disease: guidelines for use of rotavirus vaccine. *Pediatrics* 1998; 102: 1483-91.
79. Perez-Schael I, Guntias MJ, Perez M, et al. Efficacy of the rhesus rotavirus-based quadrivalent vaccine in infants and young children in Venezuela. *N Engl J Med* 1997; 337: 1181- 7.
80. Zao CL, Yu WN, Kao CL, Taniguchi K, Lee CY, Lee CN. Sequence analysis of VP1 and VP7 genes suggests occurrence of a reassortant of G2 rotavirus responsible for an epidemic of gastroenteritis. *J of Gen Virol.* 1999; 80( Pt 6): 1407- 15.
81. Smith JC, Haddix AC, Teutsch SM, Glass RI.Cost-effectiveness analysis of a rotavirus immunization program for the United States. *Pediatrics*.1995; 96: 609-15.
82. Nakagomi O, Nakagomi T. Molecular evidence for naturally occurring single VP7 gene substitution reassortment between human rotaviruses belonging to two different genogroups. *Arch Virol.* 1991; 119(1-2): 67-81.
83. Ward RL, Nakagomi O, Knowlton DR, McNeal MM, Nakagomi T, Clemens JD, Sack DA, Schiff GM. Evidence for natural reassortment of human rotaviruses belonging to different genogroups. *J Virol.* 1990; 64(7): 3219- 25.
84. Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF, Forrester B, Fang ZY. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J of Clin Microbiol.* 1990; 28: 276- 82.
85. Gouvea V, Allen JR, Glass RI, Fang ZY, Bremont M, Cohen J, McCrae MA, Saif LJ, Sinarachatanant P, Caul EO. Detection of group B and C rotaviruses by polymerase chain reaction. *J of Clin Microbiol.* 1991; 29(3): 519-23

圖一 電子顯微鏡下的輪狀病毒



(Rotavirus particles visualized by immune electron microscopy in stool filtrate from child with acute gastroenteritis.)  
from Lancet 1973;1:1281-3.

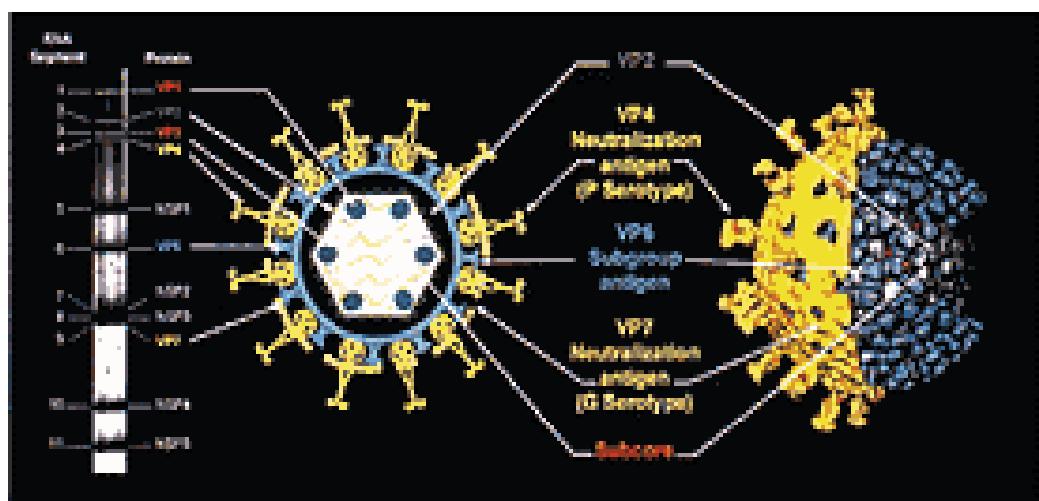
圖二 輪狀病毒的世界分佈圖



(Estimated global distribution of the 800,000 annual deaths caused by rotavirus diarrhea.)

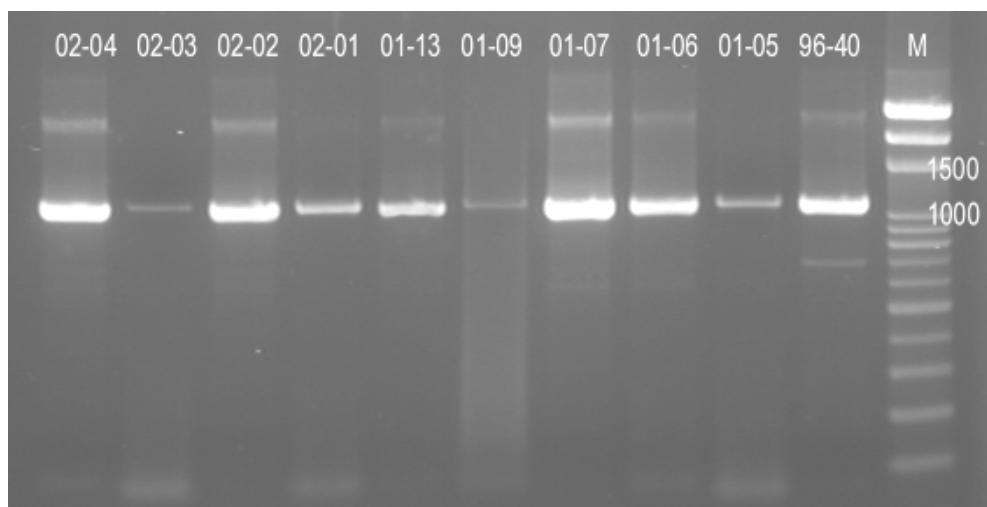
from Fields virology, 3rd ed. Vol. 2. New York: Raven Press; 1996. p. 1625-55.

圖三 輪狀病毒的結構圖

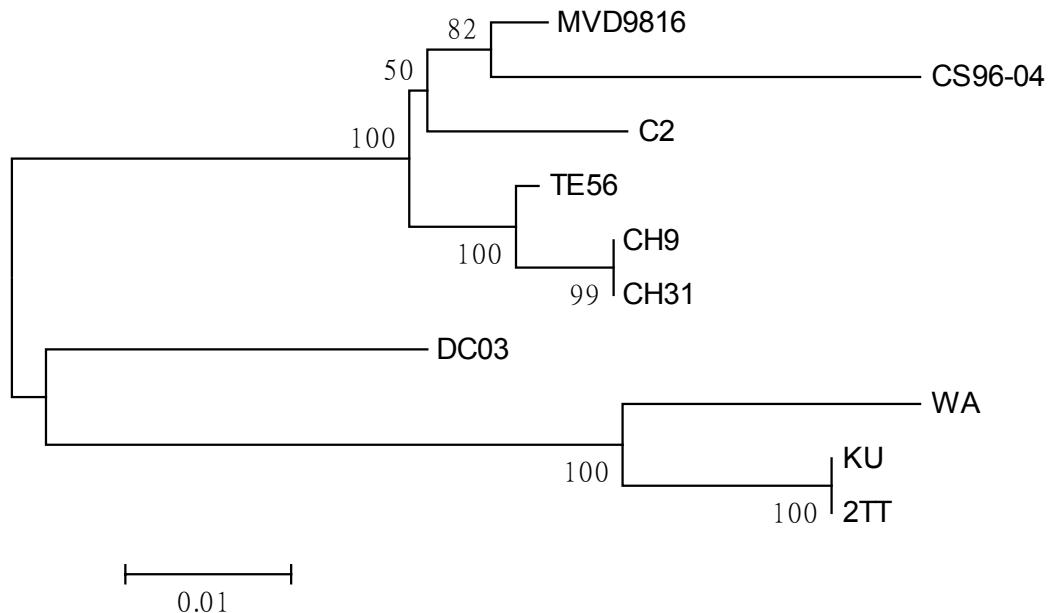


Outer capsid proteins VP4 and VP7 are neutralization antigens, which induce neutralizing antibody; protein that makes up intermediate protein shell, VP6, is the subgroup antigen.  
from Nat Med 1997;3:10-1

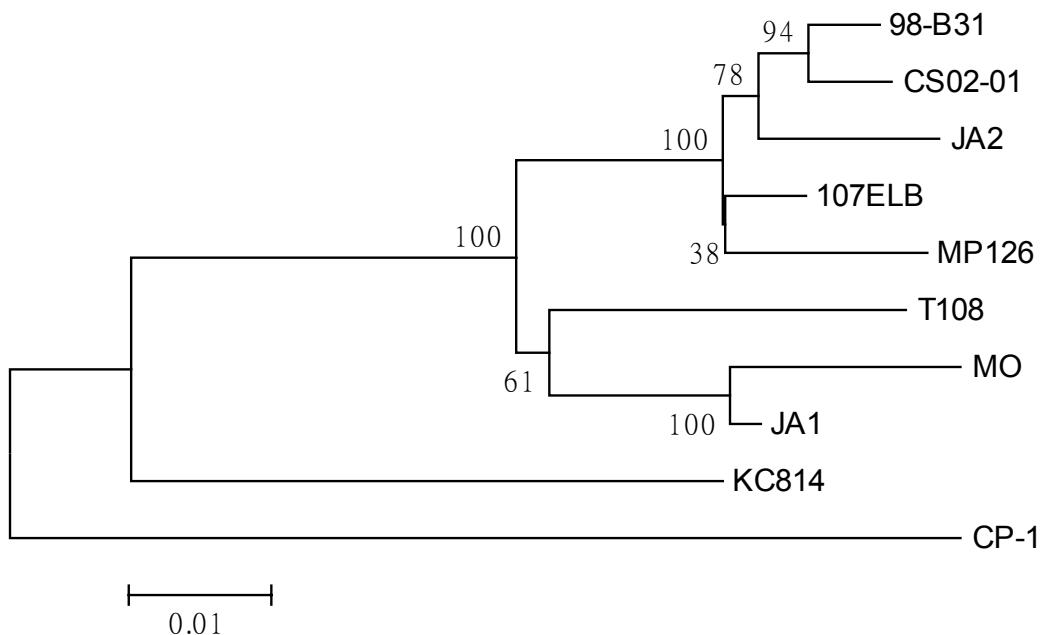
圖四 PCR Typing of the Human Rotavirus Group A ( Partial VP7 Genes)



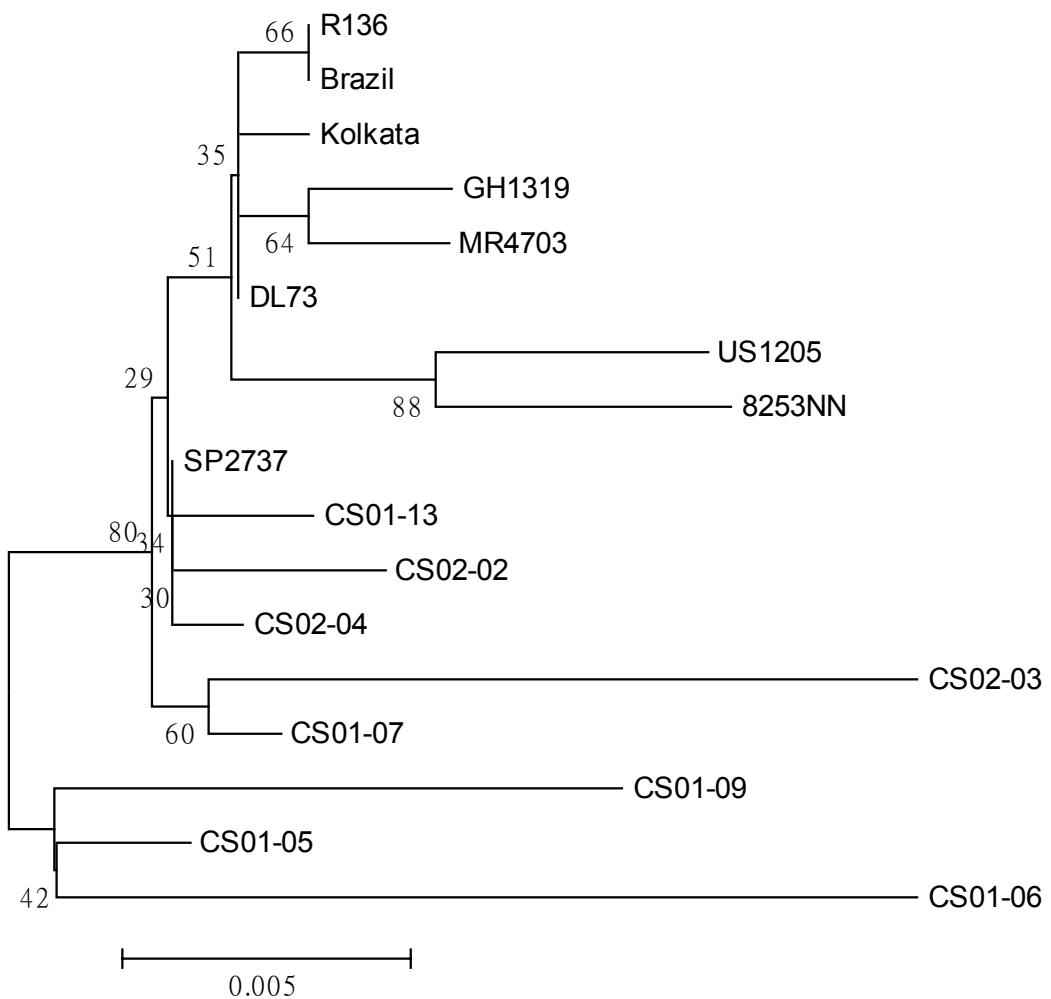
圖五 Bootstrap Test of Phylogenetic Analysis of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G1 ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.



圖六 Bootstrap Test of Phylogenetic Analysis of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G3 ( Partial VP7 Genes ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.



圖七 Bootstrap Test of Phylogenetic Analysis of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G9 ( Partial VP7 Genes ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.



**表一 All the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains**

**#CS96-40-843bp**

AAATCAGTGACCCGAATAATGGACTACATTATATAGATTTGTTAATTGTGGAGCATTATTCCTTAACAAAGCTCAGAA  
 CTATGGACTTAATATACCAATAACAGGATCAATGGACTACTGCTACTCCAACACTCAAGAAGGAGTATTCTAACATCCACAT  
 TATGTGAGTATTATCCAACGTGAAGCAGGTACTCAAATCAGTGACGGTAATGGAAAGACTCATTATCGAAATGTTCTACAAAA  
 GGTTGGCCAACAGGATCAGTCTATTCAAAGAGTACTCAAATATTGTGATTTCCGTTGACCCACAATTATATTGTGATTATAA  
 CTTAGTACTAATGAAGTATGATCAAATCTGAATTAGATATGCTCAGAATTAGCTGATTGATATTGAATGAATGGTTATGTAATC  
 CAATGGATATAACATTATATTCAACAATCGGGAGAATCAAATAAGTGGATATCAATGGGATCATCATGACTGAGAAAGTG  
 TGTCTACTGAATGAGCTCGTAGGAATAGGTTGCAAACAACGAATGTAGACTCATTGAAACAGTTGCTGAGAATGAAAATT  
 AGCTATAGTGGATGTTGTTGATGGGATAAAATCATAAAATAAATTGACAACACTACGACATGACTATTGAAATTGTAAGGTTAG  
 GTCCAAGAGAGAATGGCTGTAATACAAGTGGCGCTAATATATTAGACATAACACGGATCCAACGACTAATCCACAAATT  
 GAGAGAATGATGAGAGTGAATTGAAAAGATGGCAAGTGGTCTACTATAGTAGATTATTCAT

**#CS01-05-825bp**

CTGATATCAATAGTTTATTGAACTATATATCAAACACTAAGTGCAGGACTTATAATTAGATTTCTTTACTTAT  
 TGTTATTGCATCATCTTGTAAACACAAATTATGGAATTAAATTACCGATCACTGGCTCATGGATAACGCATATGCAAATT  
 CATCACAGCAAGAAACATTTGACTTCAACGCTATGCTTATATTATCCTACAGAAGCATCAACTCAAATTGGAGATACGGAATGG  
 AAGGAACTCTGCTCAATTATTTGACTAAAGGGTGGCCAAGTGGATCAGTCTATTAAAGAATACACTGATATCGCTTCATT  
 CTCATTGATCCACAACCTTATTGTGATTATAATGTTGACTGATGAAGTATGATTCAACGTTAGAGCTAGATATGCTGAATTAG  
 CTGATTTAATTCTAAATGAATGGTATGTAACCCATGGATATAACATTATATTATCAGCAACCAGATGAAGCGAATAATGG  
 ATATCGATGGGACAGTCTGTACCAAAAGTATGCTTACGACTTTAGGAATAGGTTGATTACCAACAGC  
 AACATTGAAAGAGGGTGGCTACAAGTAAAAATTAGTAATAACCGATGTTGATGGTGTGAAACCATAAACTGATGTGACTACAA  
 ATACCTGTACAATTAGAATTGTAAGAAGTTAGGACCAAGAGAAAATGTAGCGATTATAACAGTCGGTGGCTCAGATGTGTTAGAT  
 ATTACAGCGGATCCAACACTGCACACAAACTGAACGTATGCGAGTA

**#CS01-06-825bp**

CTGATATCAATCGCCTATCGACCTATATATCAAACACTAAGTGCAGGACTTCAATCTATAGATCTCTTTACTTAT  
 TGTTATCGCATCATCTTGTAAACACAAATTATGGAATTAAATTACCGATCACTGGCTCATGGATAACGCATATGCAAATT  
 CATCACAGCAAGAAACATTTGACTTCAACGCTATGCTTATATTATCCTACAGAAGCATCAACTCAAATTGGAGATACGGAATGG  
 AAGGAACTCTGCTCAATTATTTGACTAAAGGGTGGCCAAGTGGATCAGTCTATTAAAGAATACACTGATATCGCTTCATT  
 CTCATTGATCCACAACCTTATTGTGATTATAATGTTGACTGATGAAGTATGATTCAACGTTAGAGCTAGATATGCTGAATTAG  
 CTGATTTAATTCTAAATGAATGGTATGTAACCCATGGATATAACATTATATTATCAGCAACAGATGAAGCGAATAATGG  
 ATATCGATGGGACAGTCTGTACCAAAAGTATGCTTACGACTTTAGGAATAGGTTGATTACCAACAGC  
 AACATTGAAAGAGGGTGGCTACAAGTAAAAATTAGTAATAACCGATGTTGATGGTGTGAAACCATAAACTGATGTGACTACAA  
 ATACCTGTACAATTAGAATTGTAAGAAGTTAGGACCAAGAGAAAATGTAGCGATTATAACAGTCGGTGGCTCAGATGTGTTAGAT  
 ATTACAGCGGATCCAACACTGCACACAAACTGAACGTATGCGAGTA

**#CS01-07-825bp**

CTGATATCAATAGTTTATTGAACTATATATCAAACACTAAGTGCAGGACTTATAATTAGATTTCTTTAATTAT  
 TGTTATTGCATCATCTTGTAAACACAAATTATGGAATTAAATTACCGATCACTGGCTCATGGATAACGCATATGCAAATT  
 CATCACAGCAAGAAACATTTGACTTCAACGCTATGCTTATATTATCCTACAGAAGCATCAACTCAAATTGGAGATACGGAATGG  
 AAGGAACTCTGCTCAATTATCTGACTAAAGGGTGGCCAAGTGGATCAGTCTATTAAAGAATACACTGATATCGCTTCATT  
 CTCATTGATCCACAACCTTATTGTGATTATAATGTTGACTGATGAAGTATGATTCAACGTTAGAGCTAGATATGCTGAATTAG  
 CTGATTTAATTCTAAATGAATGGTATGTAACCCATGGATATAACATTATATTATCAGCAAACAGATGAAGCGAATAATGG

ATATCGATGGGACAGTCTGTACCATAAAAGTATGCCATTGAATACGCAGACTTAGGAATAGGTGATTACCACAAATACAGC  
GACATTGAAAGAGGTGGCTACAAGTGAAAAATTAGTAATAACCGATGTTGTGATGGTGTGAAACCATAAACTGATGTGACTACAA  
ATACCTGTACAATTAGAATTGTAAGAAGTTAGGACCAAGAGAAAATGTAGCGATTATAACAGTCGGTGGCTCAGATGTGTTAGAT  
ATTACAGCGGATCCAACACTGCACCTCAAACACTGAACGTATGATGCGAGTA

### #CS01-09-825bp

CTGGTATCAATAGTTTATTGAACTATCTATTAAAATCACTAACACTGCCATGGACTTATAATTAGATTCTTTACTTAT  
TGTTATTGCATCATCTTGTAAACACAAAATTATGAAATTAAATTACCGATCACTGGCTCCATGGATAACGCATATGCAAATT  
CATCACAGCAAGAAACATTTGACTTCAACGCTATGCTTATATTACCTACAGAAGCATCAACTCAAATTGGAGATACGGAATGG  
AAGGATACTCTGCTCAATTATTTGACTAAAGGTGGCCAAGTGGATCAGTCTATTAAAGAATACACTGATATCGCTTCATT  
CTCAATTGATCCACAACTTATTGTGATTATAATGTTGACTGTGAAAGTATGATTCAACGTTAGAGCTAGATATGCTGAATTAG  
CTGATTTAATTCTAAATGAATGGTATGTAACCCAATGGATATAACATTATATTATCAGCAAACAGATGAAGCGAATAATGG  
ATATCGATGGGACAGTCTGTACCATAAAAGTATGTCATTGAATACGCAGACTTTAGGAATAGGTGATTACCACAAATACAGC  
AACATTGAAAGAGGTGGCTACAAGTGAAAATTAGTAATAACCGATGTTGTGATGGTGTGAAACCATAAACTGATGTGACTACAA  
ATACCTGTACAATTAGAATTGTAAGAAGTTAGGACCAAGAGAAAATGTAGCGATTATAACAGTCGGTGGCTCAGATGTGTTAGAT  
ATTACAGCGGATCCAACACTGCACCAACACTGAACGTATGATGCGAGTA

### #CS01-13-825bp

CTGATATCAATAGTTTATTGAACTATATATTAAAATCACTAACACTGCGATGGACTTATAATTAGATTCTTTACTTAT  
TGTTATTGCATCATCTTGTAAACACAAAATTATGAAATTAAATTACCGATCACTGGCTCCATGGATAACGCATATGCAAATT  
CATCACAGCAAGAAACATTTGACTTCAACGCTATGCTTATATTACCTACAGAAGCATCAACTCAAATTGGAGATACGGAATGG  
AAGGATACTCTGCTCAATTATGACTAAAGGTGGCCAAGTGGATCAGTCTATTAAAGAATACACTGATATCGCTTCATT  
CTCAATTGATCCACAACTTATTGTGATTATAATGTTGACTGTGAAAGTATGATTCAACGTTAGAGCTAGATATGCTGAATTAG  
CTGATTTAATTCTAAATGAATGGTATGTAACCCAATGGATATAACATTATATTATCAGCAAACAGATGAAGCGAATAATGG  
ATATCGATGGGACAGTCTGTACCATAAAAGTATGCCATTGAATACACAGACTTTAGGAATAGGTGATTACCACAAATACAGC  
GACATTGAAAGAGGTGGCTACAAGTGAAAATTAGTAATAACCGATGTTGTGATGGTGTGAAACCATAAACTGATGTGACTACAA  
ATACCTGTACAATTAGAATTGTAAGAAGTTAGGACCAAGAGAAAATGTAGCGATTATAACAGTCGGTGGCTCAGATGTGTTAGAT  
ATTACAGCGGATCCAACACTGCACCAACACTGAACGTATGATGCGAGTA

### #CS02-01-936bp

ATGTATGGTATTGAATATACCACAGTTAACCTTTGATATCAGTTATTGTTGAATTACGTACTCAAATCCTTAACAGAAAT  
AATGGACTTTATTATTTACAGATTCTTTAATTACAGTTATTACCACTCCTTAATGCACAAATTATGAAATAATCTTC  
CGATTACTGGCTCAATGGACACACCATACTAACCTAACGCGAGAGGAAGTATTCTCAGCTATTAACTCAAGGATGGCAACAGGATC  
ACTGAAGCAGCAACAGAAAATGATAATTGAAAGGATACACTTCTCAGCTATTAACTCAAGGATGGCAACAGGATC  
TATTATTAAAGATTATACTGATATTGCTCGTTTCAGTCGATCCACAACTGTATTGTGATTATAATTGGTATTATGAAAT  
ATGACGCTACACTGCAACTGGACATGTCGAACACTGAGATTGTTACTTAATGAGTGGTTATGTAATCCTATGGATATTACTTG  
TATTATTCAACAAACTGATGAGGAAATAATGGATTCAATGGATCATCTGTACTATAAGGTATGTCACAAATACGCA  
AACATTAGAATTGGTGCCTAACAACTGATAACACACGTTGAAGAAGTGTGCAACAGCTGAAAATTAGTGTACTGACGTTG  
TAGATGGAGTCAATCATAATTGAACTGACAACAAACACTTGTACGATTAGAAATTGAAAAATTAGGACCAAGGGAAAACGTA  
GCAGTTACACAGTAGGTGGCCCAGATGTGCTGACATAACAGCTGATCCAACGACAATGCCACAAACAGAAAGAATGATGCGAGT  
GAATTGGAAGAAATGGTGGCAAGTGTGTTACAAATAGTGAACGTGAATCAAATTGCAACAAATGTCCAAA

### #CS02-02-825bp

CTGATATCAATAGTTTATTGAACTATATATTAAAATCACTAACACTGCGATGGACTTATAATTAGATTCTTTACTTAT  
TGTTATTGCATCATCTTGTAAACACAAAATTATGAAATTAAATTACCGATCACTGGCTCCATGGATAACGCATATGCAAATT  
CATCACAGCAAGAAACATTTGACTTCAACGCTATGCTTATATTACCTACAGAAGCATCAACTCAAATTGGAGATACGGAATGG  
AAGGATACTCTGCTCAATTATGACTAAAGGTGGCCAAGTGGATCAGTCTATTAAAGAATACACTGATATCGCTTCATT

CTCAATTGATCCACAACTTATTGTGATTATAATGTTACTGATGAAGTATGATTCAACGTTAGAGCTAGATATGTCGAATTAG  
CTGATTTAATTCTAAATGAGTGGTATGTACCCCCAATGGATATAACATTATATTATCAGCAAACAGATGAAGCGAATAATGG  
ATATCGATGGGACAGTCTGTACCATAAAAGTATGCCATTGAATACGCAGACTTTAGGAATAGGTTGATTACCACAAATACAGC  
GACATTGAAAGAGGTGGCTACAAGTGAAAAATTAGTAATAACCGATGTTGATGGTGTGAACCATAACTGATGTGACTACAA  
ATACCTGTACAATTAGGAATTGTAAGAAGTTAGGACCAAGAGAAAATGTAGCGATTATACAAGTCGGTGGCTCAGATGTGTTAGAT  
ATTACAGCGGATCCAACACTGCACCAACACTGAACGTATGATGCGAGTA

### #CS02-03-825bp

CTAATATCAATAGTTTATTGAACATATATTAACACTAACTAGCGCATGGACTTTATAATTATAGATTCTTTAATTAT  
TGTTATTGCATCCTCTTGTAAAACACAAACATGGAATTAAATTACCGAACACTGGCTCATGGATACAGCATATGCAAATT  
CATCACAGCAAGAAACATTCTGACTTCAACGCTATGCTTATATTACCTACAGAACATCAACTCAAATTGGAGATACGGAATGG  
AAGGAACTCTGTCCTAAAGGGTGGCCAAGTGGATCAGTCTATTAAAGAATACACTGATATCGCTTCATT  
CTCAATTGATCCACAACTTATTGTGATTATAATGTTACTGATGAAGTATGATTCAACGTTAGAGCTAGATATGTCGAATTAG  
CTGATTTAATTCTAAATGAAATGGTTATGTAACCCAATGGATATAACATTATATTATCAGCAAACAGATGAAGCGAATAATGG  
ATATCGATGGGACAGTCTGTACCATAAAAGTATGCCATTGAATACGCAGACTTTAGGAATAGGTTGATTACCACAAATACAGC  
GACATTGAAAGAGGTGGCTACAAGTGAAAAATTAGTAATAACCGATGTTGATGGTGTGAACCATAACTGATGTGACTACAA  
ATACCTGTACAATTAGGAATTGTAAGAAGTTAGGACCAAGAGAAAATGTAGCGATTATACAAGTCGGTGGCTCAGATGTGTTAGAT  
ATTACAGCGGATCCAACACTGCTGCACCAACACTGGACGTATGATGCGAGTA

### #CS02-04-825bp

CTGATATCAATAGTTTATTGAACATATATTAACACTAACTAGTGCATGGACTTTATAATTATAGATTCTTTACTTAT  
TGTTATTGCATCATCTTGTAAAACACAAATTATGGAATTAAATTACCGATCACTGGCTCATGGATACAGCATATGCAAATT  
CATCACAGCAAGAAACATTCTGACTTCAACGCTATGCTTATATTACCTACAGAACATCAACTCAAATTGGAGATACGGAATGG  
AAGGAACTCTGTCCTAAAGGGTGGCCAAGTGGATCAGTCTATTAAAGAATACACTGATATCGCTTCATT  
CTCAATTGATCCACAACTTATTGTGATTATAATGTTACTGATGAAGTATGATTCAACGTTAGAGCTAGATATGTCGAATTAG  
CTGATTTAATTCTAAATGAAATGGTTATGTAACCCAATGGATATAACATTATATTATCAGCAAACAGATGAAGCGAATAATGG  
ATATCGATGGGACAGTCTGTACCATAAAAGTATGCCATTGAATACGCAGACTTTAGGAATAGGTTGATTACCACAAATACAGC  
GACATTGAAAGAGGTGGCTACAAGTGAAAAATTAGTAATAACCGATGTTGATGGTGTGAACCATAACTGATGTGACTACAA  
ATACCTGTACAATTAGGAATTGTAAGAAGTTAGGACCAAGAGAAAATGTAGCGATTATACAAGTCGGTGGCTCAGATGTGTTAGAT  
ATTACAGCAGATCCAACACTGCACCAACACTGAACGTATGATGCGAGTA

表二 Screening Results of the Human Rotavirus Group A ( Partial VP7 Genes) by RT-PCR

Years	1996	2001	2002
Specimens	32	19	20
PCR products	1	11	4
Sequences	1	5	4
Strains	CS96-40	CS01-05 CS01-06 CS01-07 CS01-09 CS01-13	CS02-01 CS02-02 CS02-03 CS02-04
NCBI blast	G1	All G9	One (CS02-01) G3, Others G9

表三 Alignment Of The Nucleotide Sequences Of The Human Rotavirus Group A G1 ( Partial VP7 Gene ) From The Central Taiwan Strains And Reference Strains.

MVD9816	GGCTTTAAAGAGAGAATTCCGCTGGCTAACGGTTAGCTCCTTTAATGTATGGTATTGAATATACCAATT	75
KU	-----T-----	
2TT	-----T-----	
C2	-----G-----	
DC03	.....	47
TE56	.....	
CH9	...G...	
CH31	...G...	
WA	.....	
CS96-04	.....	0
		75
MVD9816	CTAATCTTCTGATATCAATCATTCTACTCAACTATATATAAATCAGTGACCGAATAATGGACTACATTATA	150
KU	-----T-----	
2TT	-----T-----	
C2	-----	
DC03	-----T-----A-T-----	122
TE56	-----T-----	
CH9	-----T-----	
CH31	-----T-----	
WA	-----T-----	
CS96-04	.....	33
		150
MVD9816	TATAGATTTGTTGATTTCTGTAGCATTATTCGCTTAACAAAGCTCAGAACTATGGACTTAATATACCAATA	225
KU	--C-----A-----G-G-G-----T-----CT-----	
2TT	--C-----A-----G-G-G-----T-----CT-----	
C2	-----A-A-----	
DC03	-----C-----A-----G-A-G-----T-----G-----CT-----	197
TE56	-----A-----G-----	
CH9	-----A-----G-----	
CH31	-----A-----G-----	
WA	-----A-----T-----G-----A-G-----T-----CT-----	225
CS96-04	-----A-----G-G-----	108
		225
MVD9816	ACAGGATCAATGGATACTGTATACTCCAACCTACTCAAGAAGGAGTATTCCTAACATCCACATTATGTTGTAT	300
KU	-----C-----TA-----A---G-C-----T-T-----C-A-----	
2TT	-----C-----TA-----A---G-C-----T-T-----C-A-----	
C2	-----C-----A-----G-----	
DC03	-----C-----G-T-----A-----G-----T-----	
TE56	-----T-----A-----	
CH9	-----G-----A-----	
CH31	-----G-----A-----	
WA	-----CG-----TA-T-----A-----G-----T-----T-G-----C-----	300
CS96-04	-----C-----	183
		300
MVD9816	TATCCAACGTAAAGCAAGTACTCAAATCAGTGATGGTAATGGAAAGACTCATTATCACAAATGTTCTTACAAAAA	375
KU	-----A-----C-----G-G-----C-G-----	
2TT	-----A-----C-----G-G-----C-G-----	
C2	-----	
DC03	-----A-----A-G-----G-----C-----	347
TE56	-----	
CH9	-----	
CH31	-----	
WA	-----A-----C-----G-G-----G-----	375
CS96-04	-----G-----C-----G-----	258
		375

MVD9816	GGTTGCCAACAGGATCAGTCTATTAAAGAGTACTCAAATATTGTTGATTTCCGTTGACCCACAATTATAT	450
KU	-----T-T-C-C-----G-----T-----G-C-G-----	
2TT	-----T-T-C-C-----G-----T-----G-C-G-----	
C2	-----T-----T-----T-----	
DC03	-----T-----T-----T-----	422
TE56	-----	
CH9	-----T-----	
CH31	-----T-----	
WA	-----T-T-C-----T-----GC-G-----	450
CS96-04	-----C-----	333
 MVD9816	 TGTGATTATAACTTAGTACTAATGAAGTATGATCAAATCTGAATTAGATATGTCAGAATTAGCTGATTTGATA	525
KU	-----A-C-G-----G-----A-----	
2TT	-----A-C-G-----G-----A-----	
C2	-----C-----	
DC03	-----A-----G-----A-----	497
TE56	-----	
CH9	-----	
CH31	-----	
WA	-----C-T-T-A-C-G-----G-----A-----	525
CS96-04	-----	408
 MVD9816	 TTGAATGAATGGTTATGTAATCCAATGGATATAACATTATATTATTCAACAATCGGGAGAATCAAATAAGTGG	600
KU	-----C-C-----C-----	
2TT	-----C-C-----C-----	
C2	-----	
DC03	-----	572
TE56	-----T-----C-----	
CH9	-----T-----C-----	
CH31	-----T-----C-----	
WA	-----C-----G-----C-----	600
CS96-04	-----	483
 MVD9816	 ATATCAATGGGATCATCATGTACTGTGAAAGTGTGTCCACTGAATACACAAACGTTAGGAATAGGGTGTCAAACA	675
KU	-----G-----G-----G-----	
2TT	-----G-----G-----G-----	
C2	-----	
DC03	-----C-----A-C-----G-----T	647
TE56	-----	
CH9	-----	
CH31	-----	
WA	-----G-----C-----G-A-----G-----	675
CS96-04	-----A-----GAG-TCT-----	558
 MVD9816	 ACGAATGTAGACTCATTGAAACAGTTGCTGAGAATGAAAAATTAGCTATAGTGGATGTCGTTGATGGGATAAAT	750
KU	--A-C-----TG-----G-----	
2TT	--A-C-----TG-----G-----	
C2	-----G-----A-----	
DC03	--A-----G-----TG-----G-----	722
TE56	-----T-----	
CH9	-----T-----	
CH31	-----T-----	
WA	--A-C-----TGA-----G-----	750
CS96-04	-----T-----	633
 MVD9816	 CATAAAATAAATTGACAACTACGACATGTACTATTCGAAATTGTAAGAAGTTAGGTCCAAGAGAGAATGTGGCT	825
KU	-----A-----A-----A-----A-----	
2TT	-----A-----A-----A-----A-----	
C2	-----C-----	
DC03	-----	797
TE56	-----	
CH9	-----G-----	
CH31	-----G-----	
WA	-----A-----A-----A-----A-----	825
CS96-04	-----A-----	708

MVD9816	GTAATACAAGTTGGTGGCTCTAATGTGTTAGACATAACAGCGGATCCAACGACTAATCCACAAATTGAGAGAATG	900
KU	-T-----A-----T-----A-----A-----C-----	
2TT	-T-----A-----T-----A-----A-----A-----C-----	
C2	A-C-----A-A-----	
DC03	-----A-----A-----A-----C-----	872
TE56	-----A-A-----	
CH9	--G-----A-A-----	
CH31	--G-----A-A-----	
WA	-----T-----A-----A-----C-----	900
CS96-04	-----G-----A-A-----	783
 MVD9816	 ATGAGAGTGAATTGAAAAGATGGTGGCAAGTATTCTATACTATAGTAGATTATTAATCAGATTGTACAGGTA	975
KU	-----A-----T-----C-A-----G-----	
2TT	-----A-----T-----C-A-----G-----	
C2	-----T-----	
DC03	-----A-----T-C-----C-----CA-----	
TE56	-----T-----	
CH9	-----T-----C-----	
CH31	-----T-----C-----	
WA	-----AG-----T-----A-----	975
CS96-04	-----G-----C-----.....	843
 MVD9816	 ATGTCCAAAAGATCAAGATCATTAAAGTTCTGCTGCCTTTATTATAGAGTATAGATATCTTAGATTAGAATTG	1050
KU	-----A-----G-T-----	
2TT	-----A-----G-T-----	
C2	-----A-----A-T-----	
DC03	-----A-----A-T-----C-----	1007
TE56	-----A-----	
CH9	-----A-----	
CH31	-----A-----	
WA	-----A-----A-T-----	
CS96-04	.....	1050 843
 MVD9816	 TATGATGTGACC 1062	
KU	-TC-----	
2TT	-TC-----	
C2	-----	
DC03	..... 1007	
TE56	.....	
CH9	.....	
CH31	.....	
WA	-TC----- 1062	
CS96-04	..... 843	

**表四 Alignment of the Deduced Amino Acid Sequences of the Human Rotavirus Group A G1 (partial VP7 gene) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.**

MVD9816	MYGIEYTTILIFLISIILLNYILKSVTRIMDYIIYRFLLISVALFALTAKAQNGLNIPITGSMDTVYSNSTQEGV	75
KU	-----T-----R-----L-----T-----E-----	
2TT	-----H-----	
C2	-----I-----	
DC03	S---Y-----R-----L-----A-----I-----	
TE56	-----I-----	
CH9	-----R-----I-----	
CH31	-----R-----I-----	
WA	T-----R-----L-----A-----T-----E-----	46
CS96-40	CG-----	52
 MVD9816	 FLTSTLCLYYPTEASTQISDGEWKDSLQMFLTKGWPTGSVYFKEYSNIVDFSVDPQLYCDYNLVLMKYDQNLEL	150
KU	N---D-----S-----S-----S-----	
2TT	IE-D-----	
C2	-----	
DC03	N-R-----	
TE56	-----	
CH9	-----	
CH31	-----	
WA	N---D-----S-----	121
CS96-40	E-----G-----	127
 MVD9816	 DMSELADLILNEWLCNPMDITLYYYQQSGESNKWISMGSCTVKVCPLNTQTLGIGCQTTNVDSFETVAENEKLA	225
KU	-----M-----	
2TT	-----	
C2	-----	
DC03	-----M-----	
TE56	I-----I-----	
CH9	I-----I-----	
CH31	I-----I-----	
WA	V-----MI-----	196
CS96-40	E-----ELS-----	202
 MVD9816	 IVDVVDGINHKINLTTTCTIRNCKKLGPRENVAVIQVGGSNVLDITADPTTNPQIERMMRVNWKRWWQVFYTIV	300
KU	-----T-----K-----	
2TT	M-----I-----	
C2	I-----I-----	
DC03	-----T-----K-----	
TE56	I-----	
CH9	I-----	
CH31	I-----	
WA	T-----K-----	271
CS96-40	A-I-----	277
 MVD9816	DYINQIVQVMSKRSRSLSSAAFYYRV	326
KU	N-----	
2TT	N-----	
C2	N-----	
DC03	I-----N-----	
TE56	N-----	
CH9	N-----	
CH31	N-----	
WA	N-----	297
CS96-40	H.....	281

表五 Comparison of the Human Rotavirus Group A G1 ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains

Strain(%)	MVD9816	KU	2TT	C2	DC03	TE56	CH9	CH31	WA	<b>CS96-40</b>
MVD9816	—	93.22	93.22	98.12	94.74	98.51	98.01	98.01	93.22	97.15
KU	93.22	—	100	92.75	93.74	93.25	92.75	92.75	97.36	90.61
2TT	93.22	100	—	92.75	93.74	93.25	92.75	92.75	97.36	90.61
C2	98.12	92.75	92.75	—	94.74	97.91	97.52	97.52	92.84	95.96
DC03	94.74	93.74	93.74	94.74	—	94.84	94.54	94.54	93.45	92.39
TE56	98.51	93.25	93.25	97.91	94.84	—	99.3	99.3	92.95	96.43
CH9	98.01	92.75	92.75	97.52	94.54	99.3	—	100	92.45	95.96
CH31	98.01	92.75	92.75	97.52	94.54	99.3	100	—	92.45	95.96
WA	93.22	97.36	97.36	92.84	93.45	92.95	92.45	92.45	—	89.79
<b>CS96-40</b>	<b>97.15</b>	<b>90.61</b>	<b>90.61</b>	<b>95.96</b>	<b>92.39</b>	<b>96.43</b>	<b>95.96</b>	<b>95.96</b>	<b>89.79</b>	—

**表六 Alignment of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G3 ( Partial VP7 Gene ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.**

107ELB	GGCTTTAAAGAGAGAATTCCGTTGGCTAGCGGTTAGCTCCTTTAATGTACGGTATTGAATATACCACAGTT	75
98-B31	-----C-----T-----	
MP126	-----	
CP-1	-----T-----C-----T-----	
T108	-----C-----T-----	
JA2	-----C-----T-----	
MO	-----T-----C-----T-----	
KC814	.....G-----T-----	48
JA1	-----	75
CS02-01	.....T-----	27
107ELB	TTAACCTGTTGATATCAGTTATATTGTTGAATTACGTACTCAAATCCTTAACAGAATAATGGACTTTATTATT	150
98-B31	-----CT-----	
MP126	-----T-----G-----	
CP-1	-----T-----A-----T-----A-----C-C-----	
T108	-----T-----A-----G-----A-----	
JA2	-----T-----	
MO	-----T-C-----A-----A-----	
KC814	-----T-----G-T-----A-----C-----C-----	123
JA1	-----	150
CS02-01	-----T-----	102
107ELB	TACAGATTCTTTAATTATAGTTATATTACCACTTCCTTAATGCACAAAATTATGGAATAATCTCCGATT	225
98-B31	-----C-----	
MP126	-----C-----	
CP-1	-----C-C-----C-----T-----A-----	
T108	-----G-----C-G-----C-----	
JA2	-----C-----	
MO	-----C-G-----C-----	
KC814	-----T-----G-----G-C-G-----T-----C-G-----	198
JA1	-----	225
CS02-01	-----C-----C-----	177
107ELB	ACTGGCTCAATGGACACACCATAATGAACTCAACACGAGAGGAAGTATTCTAACCTCGACTTTATGTTGTAT	300
98-B31	-----G-----	
MP126	-----C-----TG-----	
CP-1	-----A-----TG-T-----CA-----G-----A-----A-----G-----A-A-----C-----	
T108	-----A-----T-----T-----C-----G-----TT-----A-----	
JA2	-----C-----G-----G-----	
MO	-----A-----G-----C-----	
KC814	-----G-----T-----CA-----G-A-----A-----G-----T-----C-----	273
JA1	-----	300
CS02-01	-----CT-----G-----	252
107ELB	TACCCAACGTAAAGCAGCAACAGAAATAATGATAATTGAAAGGATAACACTTCTCAGCTATTAAATCAA	375
98-B31	-----	
MP126	-----	
CP-1	-----T-----T-G-----C-----C-----A-----CT-----	
T108	-----T-----G-----	
JA2	-----GG-----	
MO	-----G-----C-C-G-----	
KC814	-----T-----A-----G-----CT-----	348
JA1	-----	375
CS02-01	-----	327

107ELB	GGATGGCCAACAGGATCTGTTATTAAAGATTATACTGATATTGCCTCGTTTCAGTTGATCCACAACGTGAC	450
98-B31	-----CA-----C-----T	
MP126	-----	
CP-1	--G-----C-----A-----A-----T-A-----	
T108	-----CA-----	
JA2	-----A-----	
MO	--C-----CA-----C-----A-----T-----T-A-----	
KC814	-----C-----C-----G-----A-----	423
JA1	-----	450
CS02-01	-----A-----C-----T	402
107ELB	TGTGATTATAATTGGTATTAATGAAATACGACGCTACACTGCAACTGGACATGTCCGAACTAGCAGATTGTTA	525
98-B31	-----G-----T-----	
MP126	-----T-----	
CP-1	-----A-A-----G-----T-----GT-A-----A-----T-----AA-----	
T108	-----	
JA2	-----	
MO	-----C-----	
KC814	-----C-----G-----T-----T-----T-----C-----A-----	498
JA1	-----	525
CS02-01	-----T-----	477
107ELB	CTTAATGAGTGGTTATGTAATCCTATGGATATCACTTGTATTATTATCAACAAACTGATGAGGCAAATAATGG	600
98-B31	-----T-----	
MP126	-----T-----	
CP-1	-----C-----T-----C-C-----A-G-----C-G-----	
T108	-----A-----A-----G-----	
JA2	-----T-----	
MO	-----T-----	
KC814	-----G-----C-----T-----A-----C-----G-----	573
JA1	-----	600
CS02-01	-----T-----	552
107ELB	ATTTCAATGGGATCATCTGTACTATAAGGTATGTCCACTAAATACGAAACATTAGGAATTGGGTGCCTAAC	675
98-B31	-----	
MP126	-----T-----	
CP-1	--A-----G-----C-----A-----C-----T-----A-----TT-G-----T	
T108	-----C-----G-----T-----	
JA2	-----	
MO	-----C-----A-----T-----	
KC814	-----G-----A-----G-----G-----T-----	648
JA1	-----	675
CS02-01	-----	627
107ELB	ACTGATACAAACACGTTGAAGAAGTTGCAACAGCTGAAAAATTAGTGATTACTGACGTTGTAGATGGAGTC	750
98-B31	-----	
MP126	-----G-----C-----	
CP-1	-----C-----G-----G-----C-----C-----	
T108	-----C-----G-----	
JA2	-----A-----A-----A-----	
MO	-----C-----G-----G-----CT-----	
KC814	-----G-----GT-----A-----G-----C-----G-----	723
JA1	-----	750
CS02-01	-----C-----	702
107ELB	CATAAATTGAACGTGACGACAAACACTTGTACGATTAGAAATTGAAAAATTAGGACCAAGGGAAAACGTAGCA	825
98-B31	-----A-----T-----	
MP126	-----C-----A-----C-----A-----	
CP-1	-----C-----GT-----T-----A-----T-----A-----C-----C-----G-----A-----G-----	
T108	-----T-----A-----	
JA2	-----G-----T-----G-----	
MO	-----C-----C-----C-----	
KC814	-----T-----A-----G-----G-----A-----G-----	798
JA1	-----	825
CS02-01	-----A-----	777

107ELB	GTTATACAGGTTGGTGGCCCAGATGTACTTGACATAACAGCTGATCCAACGACAATGCCACAAACAGAAAATG	900
98-B31	-----G-----	
MP126	-----A-----T-----	
CP-1	-----A-----TT-----A-----	
T108	-----TT-----C-----	
JA2	-----T-----	
MO	-----T-----A-----	GC-----
KC814	-----T-----A-----C-----G-----	GC-----
JA1	-----	900
CS02-01	-----A-----G-----	852
107ELB	ATGCGAGTGAATTGGAAGAAATGGTGGCAAGTGTGTTTATACAATAGTTGACTACGTGAATCAAATTGTGCAAGCA	975
98-B31	-----	
MP126	-----C-----	
CP-1	-----A-----A-----C-----T-----C-----G-----G	
T108	-----T-----A-----A-----A-----G-----	
JA2	-----	
MO	-----A-----	G-----
KC814	-----A-----A-----T-----C-----G-----	948
JA1	-----	975
CS02-01	-----A-----	927
107ELB	ATGTCCAAAAGATCGAGATCATTAATTCTGCTGCATTTACTACAGAGTATAGATATAGCTTAGGTTAAAGCTG	1050
98-B31	-----A-----G-----AT-----	
MP126	-----	
CP-1	-----A-----G-----C-----G-----C-----T-----	
T108	-----G-----G-----A-----G-----AT-----G-----A-----G-----AT-----	
JA2	-----AT-----GTA-----G-----G-----AT-----	
MO	-----ACTA-----GA-----TGT-----GA-----G-----AT-----	
KC814	-----C-----G-----	1007
JA1	-----	1050
CS02-01	.....	936
107ELB	TATGATGTGACC	1062
98-B31	-----	
MP126	-----C-----	
CP-1	-----A-----	
T108	-----	
JA2	-----	
MO	-----	
KC814	.....	1007
JA1	-----	1062
CS02-01	.....	936

表七 Alignment of the Deduced Amino Acid Sequences of the Human Rotavirus Group A G3 ( Partial VP7 gene ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.

107ELB	MYGIEYTTVLTCLISVILLNYVLKSLTRIMDFIIYRFLLIIVILSPFLNAQNYGINLPIYGSMDTPYMNSTREEV	75
98-B31	-----L-----	
MP126	-----F-----D-----L-----	T-M-----
CP-1	-----F-----	A-T-Q---
T108	-----F---I-----V-----L-----	I-L-T-----
JA2	-----F-----	T-G--
MO	-----F-----	P-----CT-----
KC814	-----F-----	V-V-----T-Q---
JA1	-----F-----	T-----T
CS02-01	-----F-----	T-----T
107ELB	FLTSTLCLYYPTEAATEINDNSWKDTLSQLFLIKGWPTGSVYFKDYTDIASFSVDPQLYCDYNLVLMKYDATLQL	150
98-B31	-----I-----	
MP126	-----	
CP-1	-----Q-----T-----	I-----
T108	-----D-----T-----I-----	
JA2	-----G-----L-----I-----	
MO	-----W-----HG-----T-----I-----A-N-----	
KC814	-----T-----	A-----
JA1	-----CT-----I-----N-----	
CS02-01	-----I-----	
107ELB	DMSELADLLLNEWLCNPMDITLYYYQQTDEANKWISMGSCTIKVCPLNTQTLGIGCLTTDTNTFEEVATAEKLV	225
98-B31	-----	
MP126	-----	S-----
CP-1	-----I-----T-----	
T108	-----	G-----
JA2	-----	I-T-----
MO	-----	
KC814	-----I-----	S-----
JA1	-----	
CS02-01	-----	
107ELB	ITDVVDGVNHKLNVTTNTCTIRNCKKLGPRENVAVIQVGPDVLDITADPTTMPQTERMMRVNWKKWWQVFYTIV	300
98-B31	-----	
MP126	-----E-K-----I-----	
CP-1	-----S-----S-I-----A-----	
T108	-----Q-----S-----T-----C-----	
JA2	-----N-----G-N-----	
MO	-----A-----S-I-----A-----	
KC814	-----S-----S-I-----A-----	
JA1	-----S-----A-----	
CS02-01	-----	
107ELB	DYVNQIVQAMSKRSRSLNSAAFYYRV	326
98-B31	-----	
MP126	-----	
CP-1	-----	
T108	-----	
JA2	-----	
MO	-----TN-I-----	
KC814	-----	
JA1	-----I-----	
CS02-01	-----T-----	312

表八 Comparison of the Rotavirus Group A G3 ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains

Strain(%)	107ELB	98'B31	MP126	CP-1	T108	JA2	MO	KC814	JA1	<b>CS02-01</b>
107ELB	—	98.12	98.21	89.36	95.48	97.27	94.26	92.06	95.67	98.18
98'B31	98.12	—	97.27	88.79	95.48	97.46	94.07	91.76	95.48	98.93
MP126	98.21	97.27	—	88.98	94.35	96.42	93.22	91.66	94.63	97.54
CP-1	89.36	88.79	88.89	—	88.23	87.85	87.85	89.57	88.98	88.46
T108	95.48	95.48	94.35	88.23	—	94.44	94.35	91.46	95.67	94.87
JA2	97.27	97.46	96.42	87.85	94.44	—	93.79	91.33	95.57	97.86
MO	94.26	94.07	93.22	87.85	94.35	93.79	—	90.33	97.36	94.44
KC814	92.06	91.76	91.66	89.57	91.46	91.33	90.33	—	92.03	91.35
JA1	95.67	95.48	94.63	88.98	95.67	95.57	97.36	92.03	—	95.73
<b>CS02-01</b>	<b>98.18</b>	<b>98.93</b>	<b>97.54</b>	<b>88.46</b>	<b>94.87</b>	<b>97.86</b>	<b>94.44</b>	<b>91.35</b>	<b>95.73</b>	—

**表九 Alignment of the Nucleotide Sequences of the Human Rotavirus Group A G9 ( Partial VP7 Gene ) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.**

SP2737	GGCTTTAAAGAGAGAATTCCGTCTGGCTAGCGGTTAGCTCCTTAAATGTATGGTATTGAATATACCAATT	75
DL73	-----	
US1205	-----T-----	
R136	-----	
Brazil	.....	
GH1319	-----T-----	48
MR4703	--T-----T-----	75
Kolkata	-----	
8253NN	-----T-----	
CS01-05	.....	0
CS01-06	.....	
CS01-07	.....	
CS01-09	.....	
CS01-13	.....	
CS02-02	.....	
CS02-03	.....	
CS02-04	.....	
SP2737	CTAACCTTCTGATATCAATAGTTTATTGAACTATATATTAAAATCACTAACTAGTGCGATGGACTTATAATT	150
DL73	-----	
US1205	-----A-T-----	
R136	-----	
Brazil	-----	
GH1319	-----	123
MR4703	-----	150
Kolkata	-----	
8253NN	-----	
CS01-05	.....	
CS01-06	.....C-CC-C-C.....	66
CS01-07	.....	
CS01-09	.....G-C.....GCC-C.....	
CS01-13	.....	
CS02-02	.....	
CS02-03	.....A-C.....	
CS02-04	.....	
SP2737	TATAGATTCTTTACTTATTGTTATTGCATCATCTTTGTTAAACACAAAATTATGGAATTAATTACCGATC	225
DL73	-----C-----	
US1205	-----C-----	
R136	-----C-----	
Brazil	-----C-----	
GH1319	-----C-----	198
MR4703	-----C-----	225
Kolkata	-----C-----	
8253NN	-----C-----G-----	
CS01-05	-----	
CS01-06	-----C-----C-----	141
CS01-07	-----A-----	
CS01-09	C-----C-----	
CS01-13	-----	
CS02-02	-----	
CS02-03	-----A-----C-----CA-----A-----	
CS02-04	-----	

SP2737	TATCCTACAGAAGCATCAACTCAAATTGGAGATA CGGAATGGAAGGACTCTGTCCCAATTATTCTTGACTAAA	375
DL73	-----	
US1205	-----	T-----
R136	-----	
Brazil	-----	
GH1319	-----	
MR4703	-----	
Kolkata	-----	
8253NN	G-----	
CS01-05	-----T-----	291
CS01-06	-----T-----	
CS01-07	-----	
CS01-09	-----T-----	
CS01-13	-----	
CS02-02	-----G-----	
CS02-03	-----	
CS02-04	-----	
SP2737	GGGTGCCAACTGGATCAGTCTATTAAAGAACACTGATATCGCTTCATTCTCAATTGATCCACAACTTAT	450
DL73	-----	
US1205	-----C-----G-----	
R136	-----	
Brazil	-----	
GH1319	-----	
MR4703	-----	
Kolkata	-----	
8253-NN	C-----G-----	
CS01-05	-----	423
CS01-06	-----	450
CS01-07	-----	
CS01-09	-----	
CS01-13	-----	
CS02-02	-----	
CS02-03	-----	
CS02-04	-----	366
SP2737	CTAAATGAATGGTTATGTAACCCAATGGATATAACATTATATTATTATCAGCAAACAGATGAAGCGAATAATGG	600
DL73	-----	
US1205	-----	
R136	-----	
Brazil	-----	
GH1319	-----	
MR4703	-----G-----N-----	573
Kolkata	-----	600
8253NN	-----G-----C-----	
CS01-05	-----	516
CS01-06	-----	
CS01-07	-----	
CS01-09	-----	
CS01-13	-----	
CS02-02	-----G-----C-----	
CS02-03	-----	
CS02-04	-----	

SP2737	ATATCGATGGGACAGTCTTGTACCATAAAAGTATGTCCATTGAATACGCAGACTTTAGGAATAGGTTGTATTACC	675
DL73	-----	
US1205	-----	
R136	-----	
Brazil	-----	
GH1319	-----T-----G-----	648
MR4703	-----	675
Kolkata	-----	
8253NN	-----	
CS01-05	-----	
CS01-06	-----	
CS01-07	-----	
CS01-09	-----	
CS01-13	-----G-----A-----	591
CS02-02	-----	
CS02-03	-----	
CS02-04	-----	
SP2737	ACAAAATACAGCGACATTGAAAGAGGTGGCTACAAGTAAAAATTAGTAATAACCGATGTTGTTGATGGTGTGAAC	750
DL73	-----	
US1205	-----	
R136	-----	
Brazil	-----	
GH1319	-----	723
MR4703	-----	750
Kolkata	-----	
8253NN	-----	
CS01-05	-----A-----	
CS01-06	-----A-----	666
CS01-07	-----	
CS01-09	-----A-----	
CS01-13	-----	
CS02-02	-----	
CS02-03	-----	
CS02-04	-----	
SP2737	ATTATACAAGTCGGTGGCTCAGATGTGTTAGATATTACAGCGGATCCAACACTGCACCAACAACTGAACGTATG	900
DL73	-----	
US1205	-----	
R136	-----	
Brazil	-----	
GH1319	-----C-----	873
MR4703	-----	900
KOLKATA	-----	
8253NN	-----	
CS01-05	-----	
CS01-06	-----A-----	816
CS01-07	-----A-C-----	
CS01-09	-----T-----	
CS01-13	-----	
CS02-02	-----	
CS02-03	-----G-----G-----	
CS02-04	-----A-----	

SP2737	ATGCGAGTAAATTGGAAGAAATGGTGGCAAGTTTCTATACGGTAGTAGATTATTAATCAGATTGTGCAAGTT	975
DL73	-----	
US1205	-----A-----	
R136	-----A-----	
Brazil	-----A-----	
GH1319	-----	
MR4703	-----	
Kolkata	-----	
8253NN	-----C-A-----	
CS0105	.....	948
CS0106	.....	975
CS0107	.....	
CS0109	.....	
CS0113	.....	
CS0202	.....	
CS0203	.....	
CS0204	.....	

SP2737	ATGATGTGACCA	1062
DL73	.....	1041
US1205	.....	1050
R136	-----.	1061
BRAZIL	.....	1007
GH1319	-----.	1061
MR4703	-----.	
Kolkata	-----.	
8253NN	-----.	
CS01-05	.....	825
CS01-06	.....	
CS01-07	.....	
CS01-09	.....	
CS01-13	.....	
CS02-02	.....	
CS02-03	.....	
CS02-04	.....	

表十 Alignment of the Deduced Amino Acid Sequences of the Human Rotavirus Group A G9 (partial VP7 gene) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains.

SP2737	MYGIEYTTILTFLISIVLLNYILKSLTSAMDFIIYRFLLLIVIASSFVKTQNYGINLPI	TGSMDTAYANSSQQET	75
DL73	-----	P-----	
US1205	-----	P-----	
R136	-----	P-----	
Brazil	-----	P-----	
GH1319	-----	P-----	
MR4703	-----A-----	P-----	
Kolkata	-----P-----	V-----	
8253NN	-----P-----	S-----	
CS01-05	-----		63
CS01-06	-----A-ST-----T-----S-----		
CS01-07	-----	I-----	
CS01-09	-----V-----L-----A-----H-----A-----		
CS01-13	-----		
CS02-02	-----		
CS02-03	-----I-----N-----N-----		
CS02-04	-----		
SP2737	FLTSTLCLYYPTEASTQIGDTEWKDTLSQLFLTKGWPTGSVYFKEYTDIASFSIDPQLYCDYNVVLMKYDSTLE	L	150
DL73	-----		
US1205	-----		
R136	-----		
Brazil	-----		
GH1319	-----		
MR4703	-----		
Kolkata	-----		
8253NN	-----		
CS01-05	-----		138
CS01-06	-----		
CS01-07	-----		
CS01-09	-----		
CS01-13	-----		
CS02-02	-----		
CS02-03	-----		
CS02-04	-----		
SP2737	DMSELADLILNEWLCNPMDITLYYYQQTDEANKWISMGQSCTIKVCPLNTQTLGIGCITTNTATFEEVATSEKLV	W	225
DL73	-----		
US1205	-----		
R136	-----		
Brazil	-----		
GH1319	-----		
MR4703	-----V-----X-----		
Kolkata	-----		
8253NN	-----A-----		
CS01-05	-----V-----P-----		213
CS01-06	-----		
CS01-07	-----		
CS01-09	-----		
CS01-13	-----W-----		
CS02-02	-----T-----		
CS02-03	-----		
CS02-04	-----		

SP2737	ITDVVDGVNHKLDVTTNTCTIRNCKKLGPRENVAIIQVGGSVL	DITADPTTAPQTERMMRVNWKWWQVFYTVV	300
DL73	-----	-----	
US1205	-----	-T-----	
R136	-I-----		
Brazil	I-----		
GH1319	-----		
MR4703	-----	-T-----	
Kolkata	-----		
8253NN	-----		
CS01-05	-----	.....	275
CS01-06	-----	T-----V.....	274
CS01-07	-----	.....	275
CS01-09	-----	.....	
CS01-13	-----	.....	
CS02-02	-----	.....	
CS02-03	-----	-A-----G.....	
CS02-04	-----	.....	
SP2737	DYINQIVQVMSKRSRSLNSAAFYYRV	326	
DL73	-----		
US1205	-----		
R136	-----		
Brazil	-----		
GH1319	-----		
MR4703	-----		
Kolkata	-----V-----		
8253NN	-----L-----		
CS01-05	.....	275	
CS01-06	.....	274	
CS01-07	.....	275	
CS01-09	.....		
CS01-13	.....		
CS02-02	.....		
CS02-03	.....		
CS02-04	.....		

表十一 Comparison of the Human Rotavirus Group A G9 ( Partial VP7 Genes) from the Central Taiwan Strains and Reference Strains

Strain(%)	SP2737	DL73	US1205	R136	Brazil	GH1319	MR4703	Kolkata	8253NN	CS01-05	CS01-06	CS01-07	CS01-09	CS01-13	CS02-02	CS02-03	CS02-04
SP2737	—	99.9	99.05	99.72	99.7	99.53	99.25	99.72	98.82	99.39	98.18	99.76	98.67	99.76	99.64	98.67	99.88
DL73	99.9	—	99.14	99.81	99.8	99.62	99.33	99.81	98.94	99.27	98.06	99.64	98.55	99.64	99.52	98.55	99.76
US1205	99.05	99.14	—	99.14	99.21	98.95	98.67	98.95	99.05	98.67	97.45	98.79	97.94	98.79	98.67	97.7	98.91
R136	99.72	99.81	99.14	—	100	98.95	98.67	98.95	99.05	98.67	97.45	98.79	97.94	98.79	98.67	97.7	98.91
Brazil	99.7	99.8	99.21	100	—	99.5	99.3	99.6	99.01	99.15	97.94	99.52	98.42	99.52	99.39	98.42	99.64
GH1319	99.53	99.62	98.95	98.95	99.5	—	99.34	99.43	98.77	98.91	97.7	99.27	98.18	99.27	99.15	98.18	99.39
MR4703	99.25	99.33	98.67	98.67	99.3	99.34	—	99.15	98.49	99.03	97.58	99.15	98.06	99.15	99.03	98.06	99.27
Kolkata	99.72	99.81	98.95	98.95	99.6	99.43	99.15	—	98.77	99.15	97.94	99.52	98.42	99.52	99.39	98.42	99.64
8253NN	98.82	98.94	99.05	99.05	99.01	98.77	98.49	98.77	—	98.55	97.21	98.79	97.7	98.79	98.67	97.7	98.91
<b>CS01-05</b>	99.39	99.27	98.67	98.67	99.15	98.91	99.03	99.15	98.55	—	98.3	99.15	98.79	99.15	99.03	98.06	99.27
<b>CS01-06</b>	98.18	98.06	97.45	97.45	97.94	97.7	97.58	97.94	97.21	98.3	—	98.06	97.58	97.94	97.82	96.85	98.06
<b>CS01-07</b>	99.76	99.64	98.79	98.79	99.52	99.27	99.15	99.52	98.79	99.15	98.06	—	98.42	99.52	99.39	98.67	99.64
<b>CS01-09</b>	98.67	98.55	97.94	97.94	98.42	98.18	98.06	98.42	97.7	98.79	97.58	98.42	—	98.42	98.3	97.58	98.55
<b>CS01-13</b>	99.76	99.64	98.79	98.79	99.52	99.27	99.15	99.52	98.79	99.15	97.94	99.52	98.42	—	99.39	98.42	99.64
<b>CS02-02</b>	99.64	99.52	98.67	98.67	99.39	99.15	99.03	99.39	98.67	99.03	97.82	99.39	98.3	99.39	—	98.3	99.52
<b>CS02-03</b>	98.67	98.55	97.7	97.7	98.42	98.18	98.06	98.42	97.7	98.06	96.85	98.67	97.58	98.42	98.3	—	98.55
<b>CS02-04</b>	99.88	99.76	98.91	98.91	99.64	99.39	99.27	99.64	98.91	99.27	98.06	99.64	98.55	99.64	99.52	98.55	—