

チーフ“GLPSG”が存在した。

アライメント後の配列をもとにUPGMA法で作製した系統樹を図4および図5に示した。その結果、広島市で検出されたカリシウイルスはG IとG IIの2つに大きく分けられ、塩基配列のホモロジーが88.8%以下を異なるクラスターとすると9つのクラスターに分類された。一方、塩基配列は異なるものの、アミノ酸翻訳後のホモロジーが100%となる株もみられた（データ示さず）。

2つの系統樹を基に、塩基配列のホモロジーが100%の株は同じアルファベットと番号で示し、アミノ酸配列で1つ異なる株は検体採取の早い順に遺伝子型として番号をつけた（表1）。その結果、6年間に広島市で検出されたカリシウイルスはA～Jの10遺伝子型に分けられた。なお、C型とE型の塩基配列は92.6～94.4%のホモロジーであるが、アミノ酸配列のホモロジーは96.8%のため、別の遺伝子型とした（データ示さず）。

遺伝子型別の検出状況を7月～6月のシーズン別にみると（図6）、シーズン毎に異なる遺伝子型のウイルスが検出され、複数の型が流行していることが示唆された。家庭内、施設内の集団発生から検出される遺伝子型は散発例に類似するが、飲食店の発生例との関

連性は低かった。しかし、97～98シーズンはD型のみが多数検出され、特異なシーズンと思われた。

RT-PCRのプライマーとして種々のものが考案されているが、今回の調査で用いた2組（81/82系およびYuriF/R系）のプライマーでは、YuriF/R系の検出率が高く、遺伝子型を反映する結果が得られた。

97～98シーズンの8検体についてマイクロプレートハイブリダイゼーション法で確認したところ、5検体はG IIであったが、3検体は両者と反応しなかった（図7）。プローブの塩基配列は明らかにされてはいないもの、プローブの選択には細心の注意が必要と思われた。

D. 結論

1992年12月から1998年2月までの6年間に広島市において検出された38株のカリシウイルスの塩基配列を決定し、塩基配列およびアミノ酸配列のホモロジーから10種類のクラスターに分けられた。

遺伝子解析法はSRSVの確認検査および疫学解析において、有用な方法であることが明らかにされた。

かき中腸腺のウイルス濃縮

- ① 中腸腺10個程度をストマッカー用滅菌ポリ袋に入れ、秤量する。
- ② 9倍量のPBS(-)および四分の一量のダイフロンを加える。
- ③ ストマッカーに約3分間かける。
- ④ 3,000rpm、15分、冷却遠心。
- ⑤ 遠心上清にPEG 6,000(最終濃度8%) NaCl(最終濃度0.5M)を添加。
- ⑥ 十分に攪拌後、4°Cに一夜放置する。
- ⑦ 10,000rpm 60分、冷却遠心。
- ⑧ 上清を捨て、沈渣にPBS(-)10ml、ダイフロン5mlを加え再浮遊する。
- ⑨ ストマッカー用滅菌ポリ袋に移し、ストマッカーに約3分間かける。
- ⑩ 3,000rpm、15分、冷却遠心。
- ⑪ 上清を40%蔗糖液3mlに重層し、27,000rpm 3時間、超高速冷却遠心。
- ⑫ 沈渣に蒸留水400 μ l、ダイフロン400 μ lを加え再浮遊する。
- ⑬ 微量遠心管に移し、9,000rpm、5分、冷却遠心。
- ⑭ 上清を新しい微量遠心管に移し、濃縮材料とする。

↓
RNA抽出

糞便のウイルス濃縮

- ① 滅菌蒸留水にて糞便を10%乳剤にする(乳鉢、海砂)。
- ② 10%乳剤を高速遠心管に移し、四分の一量のダイフロンを加える。
- ③ 蓋をして、十分に攪拌する。
- ④ 10,000rpm 30分冷却遠心。→ ウイルス分離材料
- ⑤ 上清を40%蔗糖液2mlに重層し、40,000rpm 90分超高速冷却遠心。
- ⑥ 上清を捨て、沈渣を蒸留水300 μ lに再浮遊する。

↓
RNA抽出、電子顕微鏡試料

セパジーンRV-RによるRNA抽出

[[短時間法]]

- ① 1.5mlチューブに試薬(1) 300 μ lを入れる。
- ② 電子顕微鏡用検体50 μ lを入れる。
- ③ ボルテックス, spindown.
- ④ 試薬(2) 300 μ lを試薬(3) 600 μ lを入れる。
- ⑤ ボルテックス。
- ⑥ -40°Cで5~10分
- ⑦ 12,000rpm, 4°C, 15分遠心。 [[12,000rpm, 4°C, 5分]]
- ⑧ 別の1.5mlチューブにイソプロピルアルコール 600 μ lを分注。
- ⑨ 上層 600 μ lをイソプロ入りのチューブに入れ、上下転倒混和。
- ⑩ -40°C, 30分。 [[室温, 5分]]
- ⑪ 12,000rpm, 4°C, 15分遠心。 [[15,000rpm, 4°C, 10分]]
- ⑫ 上清を捨て、70%エタノール 400 μ lを入れる(混ぜない)。
- ⑬ 12,000rpm, 4°C, 15分遠心。 [[15,000rpm, 4°C, 10分]]
- ⑭ 上清を完全に捨て、フタを開け風乾(室温30分程度)。
- ⑮ DEPC-DW 30 μ lに溶解, ボルテックス, spindown.

図1 検体の処理方法

DNase 処理

	1 検体	n 検体	備考
DNase I (1unit/ μ l, ニッポノジーン)	1		
×5Ampdirect (島津)	10		
RNasin(40unit/ μ l, TOYOBO)	1		

0.5ml tube にミツル材 1 滴滴下後、12 μ l ずつ分注、抽出 RNA を 5 μ l 分注
37℃、10min → 65℃、5min、氷冷、spindown

RT-1st PCR

	1 検体	n 検体	備考
Premix 液	32.4		
dNTPs mix(0.5mM each, 7カ7)	4		
NV-35(20 μ M)	1		
NV-36 (20 μ M)	1		
MR-3 (20 μ M)	1		
MR-4 (20 μ M)	1		
Oligo(dT) (0.5 μ g, Gibco)	1		
DEPC-DW(Research Genetics)	23.4		
ExTaq (5U/ μ l, 7カ7)	0.5		
MMLV Rtase (200U/ μ l, TOYOBO)	0.1		

DNase 処理後の 0.5ml tube に 1stPCR プレミックスを 33 μ l ずつ分注後、
spindown → RT-1st PCR 反応

Nested PCR

	1 検体	n 検体	備考
Premix 液	43.5		
dNTPs mix	4		
NV81(20 μ M)	1		
NV82(20 μ M)	0.5		
SM82(20 μ M)	0.5		
DEPC-DW	37.5		
×10 EX Taq buffer (7カ7)	5		
ExTaq	0.5		

もしくは

NV82(20 μ M)	1		
NV82(20 μ M)	1		

0.5ml tube にミツル材 1 滴滴下後、49 μ l ずつ分注、spindown
RT-1stPCR 産物を 1 μ l 分注 → Nested PCR 反応

PCR 反応条件

RT-1st PCR	Nested-PCR
37℃ 60min → 94℃ 3min	94℃ 3min
94℃ 1min	94℃ 1min
45℃ 1min	50℃ 1min
72℃ 1min	72℃ 1min
72℃ 15min → 4℃	72℃ 15min → 4℃

図 2 RT-PCR の試薬組成と反応条件

	検体
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	

表1 供試ウイルス株の由来と検査結果

年	疫学事項 ^{*1}	事例番号	受付番号	検体 ^{*2}	発生日	電顕	81/82	YuriF/R	遺伝子型
93	定点		930002	F	92/12/15	+	+	+	A
	集発(家族内)	93-1	93-36029	F	93/2/1	-	+	+	A
			93-36030	F	93/2/1	-	+	+	B-1
	定点		930076	F	93/2/8	-	-	+	C-1
	定点		930477	F	93/11/13	+	+	+	C-2
	定点		930479	F	93/11/22	+	+	+	C-3
94	集発(飲食店)	94-1	94-31002	F	94/1/26	+	+	+	D-1
95	集発(小学校)	95-1	95-31070	F	95/5/20	+	+	+	B-2
			95-31076	F	95/5/20	+	+	+	B-3
			95-31080	F	95/5/20	-	+	-	B-2
	集発(保育園)	95-2	95-36090	F	95/10/25	+	-	+	E-1
	定点		950772	F	95/11/6	+	-	+	E-1
	定点		950776	F	95/11/4	+	-	+	E-1
	定点		950787	F	95/11/7	+	-	+	E-1
	定点		950799	F	95/11/12	+	-	+	E-2
96	集発(飲食店)	96-1	96-34011	F	96/3/8	+	-	+	F
	定点		961083	F	96/12/11	+	+	+	G-1
	集発(小学校)	96-2	96-320020	F	96/12/18	+	+	+	G-2
			96-320023	F	96/12/18	+	+	+	G-2
97	定点		970074	F	97/1/11	+	-	+	E-3
	集発(飲食店)	97-1	97-310004	F	97/1/12	-	+	+	H
	定点		970082	F	97/1/12	+	+	+	G-3
	定点		970249	F	97/2/19	+	+	+	D-2
	定点		970317	F	97/3/5	+	-	+	I
	集発(飲食店)	97-2	97-350080	F	97/3/7	-	+	+	H
	集発(小学校)	97-3	97-320084	F	97/11/19	-	+	+	D-3
	集発(飲食店)	97-4	97-300088	F	97/12/1	+	+	-	J
	集発(飲食店)	97-5	97-300123	F	97/12/13	+	+	+	D-3
			97-300099	oy	97/12/14	NT	+	+	D-3
			97-300100	F	97/12/14	+	+	+	D-3
	集発(飲食店)	97-6	97-300121	F	97/12/15	+	+	+	D-3
	定点		971505	F	97/12/16	+	+	+	D-4
98	集発(高校)	98-1	9801-02	F	98/1/4	-	+	+	D-3
	集発(家族内)	98-2	9809-03	F	98/1/13	+	+	+	D-3
	定点		980125	F	98/1/20	+	-	+	D-5
	集発(飲食店)	98-3	9822-01	F	98/2/15	-	+	+	D-3
	集発(飲食店)	98-4	9823-01	F	98/2/22	-	+	+	D-3
			9823-03	F	98/2/22	-	+	+	D-3

*1 定点:感染症発生動向調査, 集発:集団発生, *2 F:糞便, oy:力キ, NT:未検査

SMA	1	SRWDS	TOORAVLAAALEIMVKFSPEPLAQLVAEDLLAPSMVDVGFKITINEGLPSGVPCTSOHNSIAHMLLTLCALSEVTNLPDIIQANSL	94
96-34011F	1	G.M.V....A.E..V....RL....V.SVG.....I...S.M...SG.S.EW....C	94
97-310004F	1	S.M....A.E.V.D....SL..IVSQ.....T....M....G.S.W..Y..	94
SWINE CV	1	GID.....A.E..V....L.....R.S.V.....F...I...M....G.S.V...H.C	94
97-320084F	1	R.A.Q.....V.....	94
980125F	1	R.A.Q.....V.....	94
971505F	1	R.A.Q.....V.....	94
970249F	1	R.A.Q.....V.....	94
TV	1	R.A.Q.....V.....	94
94-31002F	1	R.A.Q.....V.....	94
MV	1	R.A.Q.....V.E.....R.T.....	94
97-300088F	1	MR.A.Q.S.K.....V.....S.....T.....	94
930479F	1	S.....S.....	94
CAV	1	S.....S.....	94
930076F	1	S.....S.....	94
930477F	1	S.....S.....	94
BV	1	S.....S.....	94
LV	1	S.....S.....	94
961083F	1	A.N.....S.....	94
970082F	1	A.N.....S.....	94
96-320020F	1	A.N.....S.....	94
95-36090F	1	S...V...S...V...S...S.....	94
950799F	1	S...V...S...V...S...S.....	94
970074F	1	S...V...S...V...S...S.....	94
HV	1	T.....V...S...S...T.....	94
95-31070F	1	MA.Q.....S...V...S...D.S...V...	94
95-31076F	1	MA.Q.....S...V...S...D.S...V...	94
MK	1	MA.Q.....S...V...S...D.S...V...	94
93-36030F	1	MA.Q.....S...V...S...D.S...V...	94
KY89	1	N.QIMTESFS.SRLTAS.E.EV.Q....E..YV.RVK...F...V.N.II...A.G.S.W.SM.Y	94
NV	1	N.QIMTESFS.SRLTAS.E.EV.Q....E..YV.RVK...F...V.N.II...A.G.S.W.SM.Y	94
SOV	1	N.QIMTESFS.CRLTAS.E.SV.Q....E..YV.RVK...F...V.N.II...G.S.V..SM.Y	94
930002F	1	N.QIMTESFA.CRLTAS.E.SV.K....E...YI.RVK...F...V.N.II...M...G.S.V..SQ.Y	94
970317F	1	N.QIMTESFS.CRLTAT.E.SV.K....E...YI.RVK...F...V.N.II...G.S.V..SQ.Y	94
DSV	1	N.EIMMESFN.C.LTAN.S.AV.Q....S.E...YV.SVKD...F...V.N.II...G.S.VL.SQ.Y	94
			***** ** ** ** ** ** ***** ** ** * ** * ** * ** * ** *	

図3 RNAポリメラーゼ領域285bpのアミノ酸配列

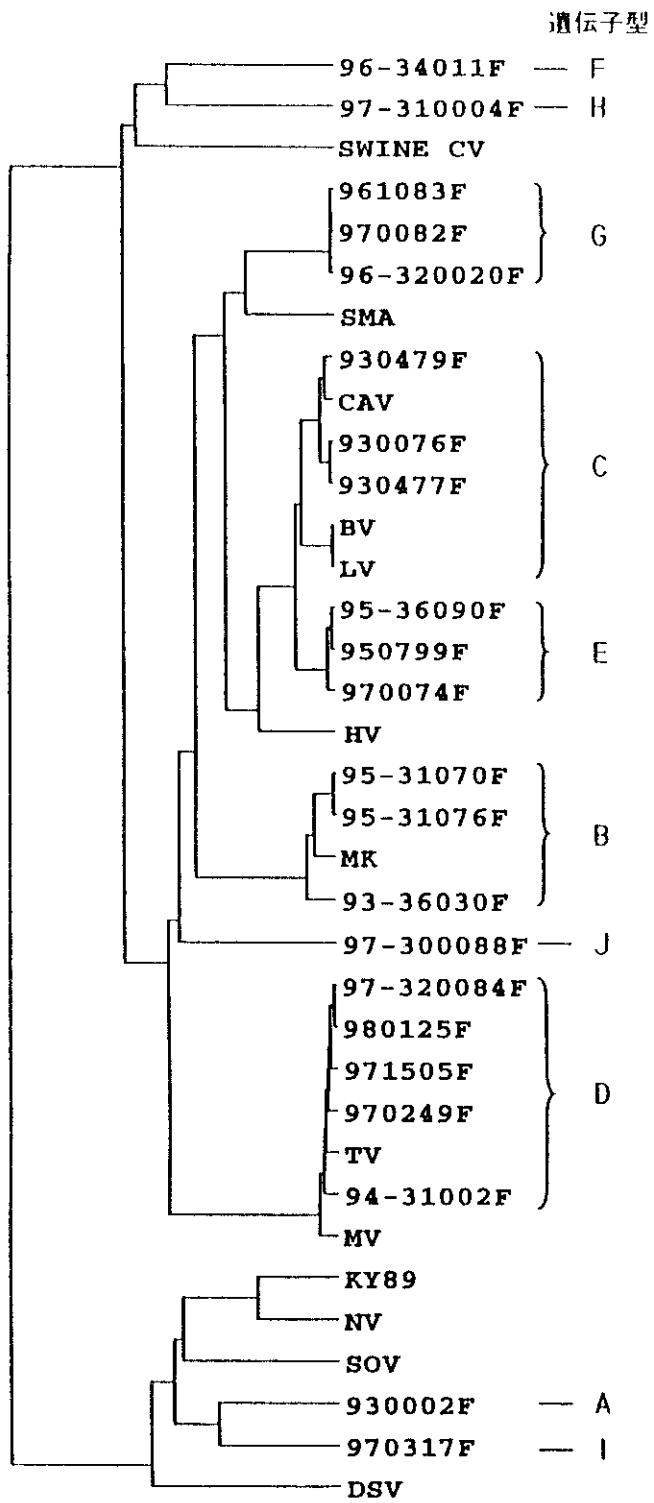


図4 RNAポリマラーゼ領域285bpの塩基配列比較を基にした系統樹

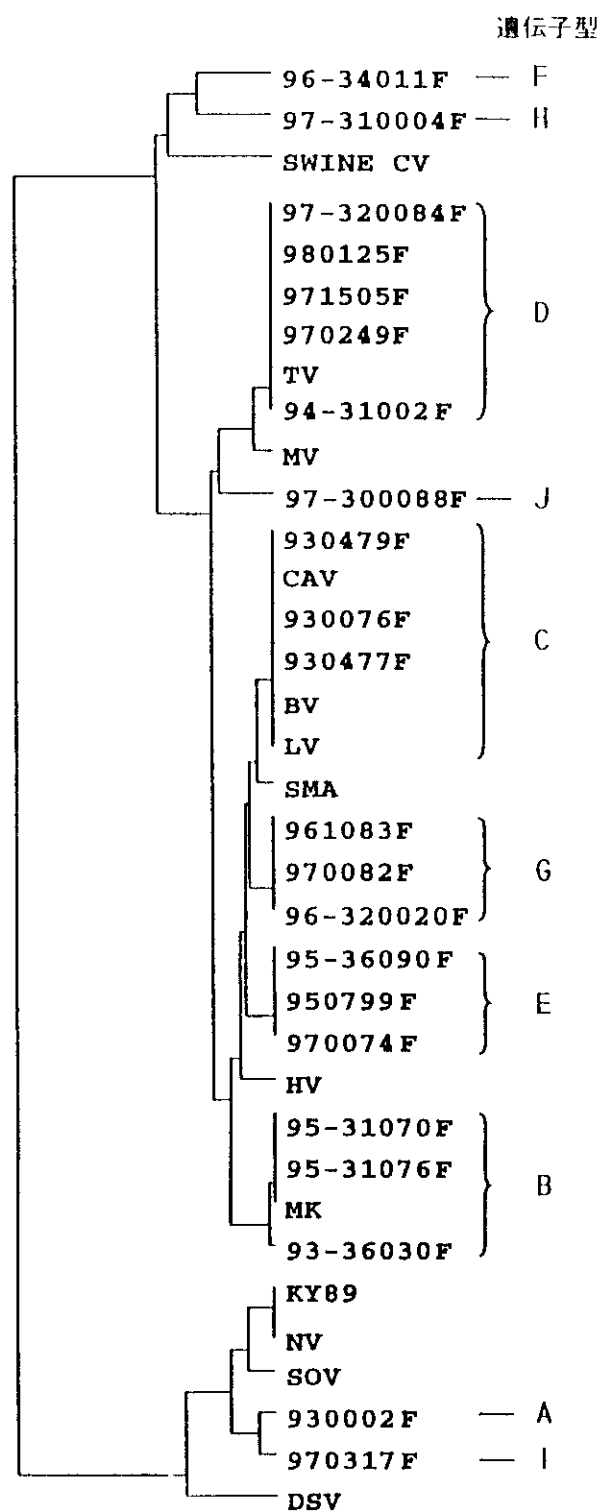
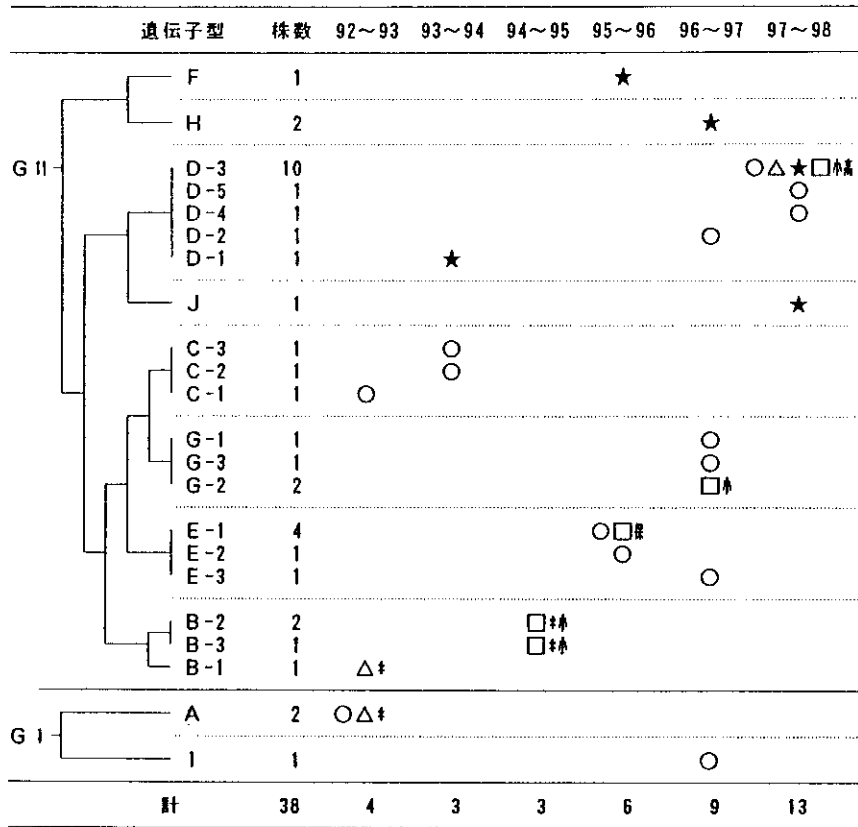


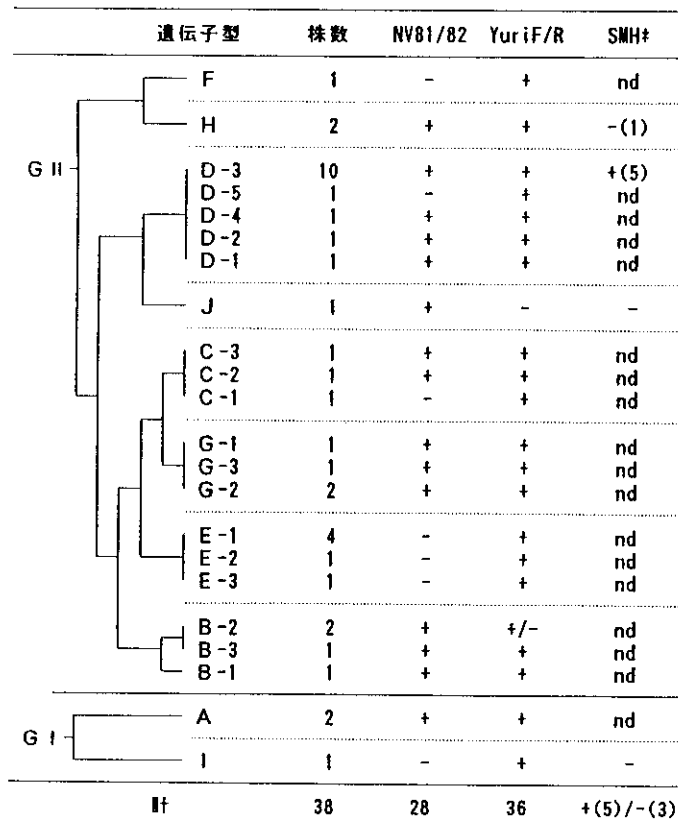
図5 のRNAポリマラーゼ領域285bpのアミノ酸配列比較を基にした系統樹

図6 遺伝子型別、シーズン別検出状況



(アミノ酸). ○: 定点, △: 家族内, □: 施設内, ★: 飲食店, †: 同一事例.

図7 遺伝子型別、プライマー別検出状況



†: マイクロレフトハイブリダイゼーション. (): 株数

分担研究報告書

ウイルス性食中毒原因の遺伝子検査標準法確立と 全国行政対応整備に関する研究

分担研究者 大津 隆一 福岡県保健環境研究所

研究要旨：国内SRSV流行株の分子疫学的特徴を明らかにするため、九州地方で発生した集団食中毒事例で検出されたSRSV株の遺伝子解析を実施し、流行状況を解明した。

A. 研究目的

SRSVの遺伝子診断法を標準化し、高精度化を図るには、国内流行株の遺伝子解析を実施し、主要株の分子疫学的特徴を明らかにするとともに、地域特性についても把握することが必要とされる。

B. 研究方法

福岡県において1988年－1993年に発生した集団食中毒事例の中で電頭法によって検出されたSRSV株について、36/35プライマーを用いたRT-PCR産物のダイレクトシーケンシングにより塩基配列を決定し解析を行った。

C. 研究結果

塩基配列の決定が可能であった集団発生8事例のうち、3事例（1988年1事例、1989年1事例、1992年1事例）がNVタイプに、5事例（1988年2事例、1989年1事例、1993年2事例）がSMタイプに分類された。また、これらの結果はサザンハイブリダイゼーション法で実施した型別と一致した。さらに、決定された塩基配列（430bp, 292bp）の遺伝子解析（GENETYX-MAC Ver.10）の結果、NVタイプに属する3事例は2グループに、SMグループに属する5事例は3グループに分類されることが明らかになった。現在、既に登録済みのSRSV代表株（DSV, SA, MX, HW, TRV等）とのホモロジーについて解析を継続中である。

D. 考察

福岡県においては1988年頃からNVタイプとSMタイプとが既に混在して流行していたことが判明した。当県のSRSV感染症集団発生事例においては、NVタイプが1988年-1989年頃の流行の主体と考えられ、1992年の事例に関与していたものの、それ以後は検出されていない。一方、SMタイプは1988年から既に関与しており、それ以降も1993年に検出され、近年の流行の主体となっているものと推察されるが、現在のNVタイプの流行状況については不明である。また、既に報告されている大阪KY株と高ホモロジーを示す株も認められ、国内代表株と地域特異株との混在が示唆された。

E. 結論

SRSV株の遺伝子解析が全国レベルで進み、国内主要株の特徴や地域特性が把握されれば、検出感度の高いプライマーの開発が可能となり、SRSVの生態系における挙動や制御など行政対応への寄与が期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Otsu R.; Outbreaks of gastroenteritis caused by SRSVs from 1987 to 1992 in Kyushu, Japan: Four outbreak associated with oyster consumption. Eur. J. Epidemiol. (in press)

ウイルス性食中毒原因の遺伝子検査標準法確立と全国行政対応整備に関する研究

分担研究者 大野 惇 沖縄県衛生環境研究所

研究要旨：沖縄県におけるウイルス性胃腸炎の浸淫状況と実態を把握するために、感染性胃腸炎患者下痢便13検体からの病原体検索と県内で流通している市販生カキ8検体及び県産の二枚貝であるヒメジャコ4検体の生鮮食品からの小型球形ウイルス（SRSV）の検出を行った。その結果、沖縄県で初めて感染性胃腸炎患者下痢便から1検体と市販生カキから2検体のSRSV遺伝子が検出された。

研究協力者 糸数清正 沖縄県衛生環境研究所

中村正治 沖縄県衛生環境研究所

A. 研究目的

沖縄県におけるウイルス性胃腸炎の浸淫状況と実態を把握するために、感染性胃腸炎患者下痢便からの病原体検索を行った。さらに、県内で流通している市販生カキ及び県産二枚貝で生食用ヒメジャコの生鮮食品からの小型球形ウイルス（SRSV）のウイルス検出を行った。このことよりウイルス性胃腸炎の浸淫状況とウイルス汚染食品の実態を把握し、今後の行政対応の一助とするために、調査を実施した。

B. 研究方法

1. ウイルス性胃腸炎のサーベイランス

平成10年5月から平成11年1月に沖縄県南部地区の内科及び小児科の2定点より散发事例の感染性胃腸炎患者下痢便13検体からのウイルスの病原体検索を行った。

ウイルス抗原検出には、市販のキット、ロタスクリーン（A群ロタ）とC群ロタウイルス及びアデノクロンE（40/41型）を用いた。また、ウイルス分離には、RD-18S、HEp-2、CaCo-2、HeLaの4種類の細胞を用いた。

SRSV検査は、RT-PCR法で行いRNA抽出には、Ultraspec 3 Reagent（Biotec Lab）キットを用い、プライマーは1ST PCRでは、

35′/36とYuri52F/Yuri52R、Nested PCRでは、NV81/NV82:SM82とYuri22F/Yuri22Rを用い、Gene Amp PCR System 9600-R（PERKINELMER）で増幅し、PCR産物は、2%アガロース、TAEバッファーで泳動後、紫外線照射により検出した。RT-PCRにより得られた増幅産物の特異性確認は、マイクロプレートハイブリダイゼーション法と塩基配列決定解析法で行った。ゲルからのDNA抽出は、QIAquick PCR Purification Kitを用い、プローブは、国立公衆衛生院より分与されたG1、G2を用いた。

また、塩基配列決定解析法は、国立感染症研究所ウイルス第二部の宇田川先生に確認検査を依頼した。

2. 生カキ等の生鮮食品からのSRSV検出材料は、平成11年1月に県内のスーパーで「生食用」として市販されているカキで、むき身の状態でパック詰めされたもの（H県産2社、M県産1社）8検体を供試した。また、県内で生食用として販売されている2枚貝のヒメジャコ（N湾の天然物とO村海域の養殖物）4検体を供試した。

市販生カキは1パック中の5個をヒメジャコは8から10個を1検体として、中腸腺のみを検査対象とした。SRSV検査は、糞便と同様な方法で行った。

C. 研究結果

平成 10 年 5 月から平成 11 年 1 月の期間に収集した散発事例の感染性胃腸炎患者下痢便 13 検体のウイルスの病原体検索結果を表 1 に示す。5 月 12 日から 6 月 6 日に採取された検体番号 1 から 5 の 6 か月から 1 才の小児科患者から A 群ロタウイルスが検出された。なお、検体番号 1 と 2 は同一患者で検体採取日が異なるだけである。

SRSV 遺伝子は、9 月 7 日に採取された検体番号 10 の 1 才、男、小児科患者から検出されたが、RT-PCR で検出された増幅産物の特異性確認をマイクロプレートハイブリダイゼーション法で行ったが確認されなかった。しかし、国立感染症研究所での塩基配列決定解析法によって G 2 型であることが判明した。

この患者の下痢便は、水様便で 1 日 6 から 7 回有り、発熱 37℃、嘔吐は 1 日 4 から 5 回で、生カキ等の摂食は無かった。

また、市販の生ガキ等の生鮮食品の SRSV 検出結果を表 2 に示す。生ガキ 8 検体のうち H 県産の B 社の製品 3 検体中 2 検体より SRSV 遺伝子が検出された。検出された 2 検体の RT-PCR 増幅産物の特異性確認をマイクロプレートハイブリダイゼーション法で行ったところ G 1 と G 2 型で異なっていた。また、県産のヒメジャコ 4 検体からは SRSV 遺伝子は検出されなかった。

D. 考察

今回、感染性胃腸炎患者下痢便からのウイルスの病原体検索を行ったところ、5 月中旬から 6 月上旬にかけて小児の間で A 群ロタウイルスの流行が示唆された。また、13 検体中 1 検体から SRSV 遺伝子が検出された。この SRSV 遺伝子が確認された患者の聞き取り調査の結果、時期同じくして家族内の数名に同様な症状（下痢、悪心、嘔吐、腹痛）が確認されたが生カキは摂食していなかった。これらのことより、この事例は、SRSV による

家族内感染か、生カキ以外のウイルス汚染食品からのウイルス性食中毒の可能性が考えられた。

また、県内で流通している H 県産の B 社製品の生カキから SRSV が検出されたことは、本県においても生カキの SRSV によるウイルス性食中毒が発生する可能性が示唆された。

今回、検体数は少ないが県産のヒメジャコから SRSV 遺伝子は検出されなかったことと、過去にヒメジャコで下痢をしたという情報も皆無に近いことから県産のヒメジャコは、SRSV に汚染していないであろうと思われた。

E. 結論

今回、調査した感染性胃腸炎患者下痢便からのウイルスの病原体検索によって、A 群ロタウイルスの 5 月中旬から 6 月上旬の流行と 9 月上旬に SRSV による感染性胃腸炎が確認された。また、本県は生カキの観点からは、生産地でも大量な消費地でもないが、流通機構により SRSV に汚染された食品が県内で販売されており、今後、本県においても SRSV における集団ウイルス性食中毒の発生の可能性が示唆された。

また、県産のヒメジャコは SRSV に汚染されていないであろうと思われた。

その他に今回 SRSV の特異性確認にあたり国立公衆衛生院より分与のプローブに反応せず、塩基配列決定解析法により特異性が確認された。しかし、行政検査上は、RT-PCR 法により SRSV 遺伝子の増幅産物がみられた場合には、マイクロプレートハイブリダイゼーション法による特異性確認を行うことになっており、今後、特異性確認にあたり塩基配列決定解析法を取り入れるか、万能なるプローブの開発が必要ではないかと思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

表1 感染性胃腸炎の病原体サーベイランス (1998年5月～1999年1月)

検体番号	性別	年齢	発病日	検体採取日	症状		生カキ 摂食	検査結果		備考
					下痢	嘔吐		A群ロタ	C群ロタ	
*1	男	1	5/12	5/12	有	有	無	○		
*2	男	1	5/12	5/13	有	有	無	○		
3	女	1	5/24	5/25	有	有	無	○		77' /NT
4	女	1	5/30	6/6	有	有	無	○		
5	男	6ヵ月	6/1	6/19	有	無	無	○		77' /NT
6	男	8ヵ月	6/17	6/26	有	有	無	○		77' /NT
7	女	30	6/24	7/8	有	無	有			
8	女	11ヵ月	7/6	7/8	有	無	無			77' /NT
9	男	2	7/25	7/27	有	無	無			
10	男	1	9/5	9/7	有	有	無			◎ 家族内に同構症者有り
11	女	9ヵ月	10/25	10/28	有	無	無			
12	男	3	10/23	10/28	無	無	無			
13	男	7ヵ月	1/15	1/26	有	有	無			

* : 同一患者

SRSV検出の詳細

検体番号	性別	年齢	1ST PCR		Nested PCR		特異性	確認
			35'/36	Yuri52F/52R	NV81/NV82:SM82	Yuri22F/22R		
10	男	1	陰性	陰性	バンド検出	陰性	陰性	G2

表2 生カギ等の二枚貝からのSRSV検出状況

種類	由来	検体番号	IST PCR		Nested PCR		特異性確認	
			35'/36	Yuri52F/52R	NV81/NV82:SM82	Yuri22F/22R		
生カギ	H県産	A社	1	陰性	陰性	陰性	陰性	ハイリゲ代・-3537法
		2	陰性	陰性	陰性	陰性		
		3	陰性	陰性	陰性	陰性		
	B社	4	陰性	陰性	バンド検出	陰性	G 2	
		5	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	
		6	陰性	陰性	バンド検出	陰性	G 1	
	M県産	C社	7	陰性	陰性	陰性	陰性	
		8	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	
ヒメジャコ	N湾	天然物	1	陰性	陰性	陰性	陰性	
		2	陰性	陰性	陰性	陰性		
	O村海域	3	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	
		4	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	

研究報告書

ウイルス性食中毒の原因究明のためのラテックス凝集反応（LA法）法を用いた簡便なアストロウイルス抗原検出法の開発及びフィールド調査への応用

研究者 宇田川 悦子 国立感染症研究所 主任研究員

研究要旨

小型球形ウイルス（SRSV）の検査技術の開発と全国整備リファレンスを目的として、SRSVの一つであるアストロウイルスの抗原検出法を新しく開発した。アストロウイルスはウイルス性食中毒の原因ウイルスとして世界各国で広くその疫学的研究が行われている。がしかし、本アストロウイルスもまた簡便なアストロウイルス抗原検査方法が確立されていないために疫学情報が入手困難な現状にある。そこで、アストロウイルス抗原の検査方法として、簡便で再現性の高いラテックス凝集反応法（LA法）に注目して検査法を開発研究した。すなわち、アストロウイルス1型から4型までの各血清型別抗アストロウイルス抗体を作成しこの抗体中のIgG文画を精製後、ラテックス粒子に感作し抗原検出用LA試薬を作製した。これらの抗アストロウイルス抗体感作LA試薬を用いて、アストロウイルス標準株抗原1型から7型に対する検出感度、特異性等に関し基礎的研究を行った。

また、開発したLA試薬のフィールド試験を行うために、中量規模（500 ml）の試薬を作成した。今回のフィールド試験用に6地方衛生研究所で発生した7嘔吐下痢症事例から患者便材料を収集し、LA法によるアストロウイルス抗原検出を行いRT-PCR法、EIA法と比較検討を行った。

分担研究者 宇田川悦子
国立感染症研究所 主任研究員

A. 研究目的

ウイルスが原因と考えられる食品媒介性食中毒は毎年世界各国で報告がなされてきている。わが国では平成7年終結したわれわれの研究班の報告書に記載した通り、毎年原因不明として処理されてきた食中毒事件の原因の大多数が小型球形ウイルス（SRSV）であることを報告した。これらの結果を踏まえて、平成9年5月30日付けで厚生省は食品衛生法の改正を行い、食中毒の中へウイルスが起因するものも含めて報告するよう法律改正を行った。この

ようにウイルス性食中毒という今までのカテゴリーの中に入らなかった領域が食中毒の概念のなかへ入れられることになった。しかしながら、現状ではこれらのSRSVを簡便で再現性よく検出できる検査法及び確認試験法が無いということが大きな問題として浮上してきた。即ち、今回の食品衛生法改正で食中毒事件が発生した場合起因ウイルスの検出報告が義務づけられている。がしかし、前述の通り、簡便で再現性のよいSRSV検査方法はいまのところ全く無いと言わざるを得ない現状にある。このため、各地の衛生研究所、保健所等の検査機関は簡便でしかも再現性よくSRSVを検出する検査法の開発研究を待ち望んでいる。

今回、私はSRSVの一つであるアス

トロウイルスに注目して本研究を開始した。アストロウイルスはカリシウイルスに近縁ではあるがアストロウイルス科に分類され、そのウイルス粒子は直径が約30 nmで核酸はシングルストランドのRNAウイルスである。血清型によりアストロウイルスは1型から7型（最近8型が報告されてきているがわが国ではいまのところウイルス抗原は入手されていない。）に分類されている。アストロウイルスによる嘔吐下痢症の臨床症状はロタウイルス（乳幼児）よりも感染する年齢層が高いこともあって（児童、学童から成人にまで至る）比較的軽少ではあるが、しかし大規模な流行が発生している。また、現在までのアストロウイルス疫学調査の結果を見ると、院内感染、集団食中毒事件等多岐に渡っている。事実、他のSRSVに比較して非常に大規模な流行がアストロウイルスで引き起こされたことが1991年大阪府で報告されている。このアストロウイルスによる食中毒流行事件では、4,000人以上の人が発症した事が報告されている。一般的に食中毒の場合、生カキ等の二枚貝を喫食した後に多く発生しているようであるが、この時のアストロウイルスによる流行は学校給食が原因と考えられた。残念ながら原因食の特定は出来なかった。

また、アストロウイルスはSRSVの中で唯一細胞により培養できる小型球形ウイルスであるが、血清型7つの型のうち特に嘔吐下痢症、食中毒等に関連が高いと報告されている型は1型から4型までであることから（検出されたアストロウイルスのうち約80%）、これらの4型について簡便で再現性の良いラテックス凝集反応によるアストロウイルス抗原検出法の開発と基礎的研究を検討した。

B. 研究方法

1、ウイルス抗原：

アストロウイルス1、2、3、4型の標準株（米国CDCより分与）のCaCO₂細胞培養上清を使用した。

2、抗血清の作成：

各型のウイルス上清をPEG濃縮後CsCl平衡密度勾配遠心により精製ウイルス分画を得た。各型の精製ウイルスを抗原として頻回免疫法により高度免疫家兎血清を作成した。これらの血清から40%冷硫酸分画法で各血清のIgGを析沈し、これをポリスチレンラテックス粒子（LA：IMMUTEX）に感作してラテックス試薬を作製し、以下の実験に使用した。

3、患者便材料：電子顕微鏡検索によりアストロウイルス陽性となった非細菌性嘔吐下痢症患者便材料26検体を使用した。これらの検体はCaCO₂細胞でウイルスの分離培養を行った。これら培養上清も以下の実験に使用した。

3、検査方法

3-1（LA法）：

A）培養したアストロウイルス抗原検出法は、96穴静電気除去マイクロプレート上で、1型から7型までの各型のウイルス培養上清を50μl/穴となるように2倍階段希釈を行う。各型特異抗血清で感作した0.2%LA試薬を25μlづつ各穴へ滴下し、約30秒間震盪後、プレートにフタをして室温で2時間静置した。陰性対照のLA粒子が完全に底へ沈んだ像をコントロールとして各穴の凝集像を観察する。

B）患者便材料からのアストロウイルス抗原検出法は、まず便材料を10%W/Vになるように蒸留水に懸濁し遠心分離上清液を検体としている。各検体を10倍階段希釈し、96穴静電気除去マイクロプレートへ50μl分注する。各型別アストロウイルスLA試薬を25μl分注後、約30秒間震盪する。その後、室温2時間静置し凝

集象を観察する。

3-2 (型別-EIA法) : 大瀬戸等の方法に順じた。

3-3 (RT-PCR法) : 大石等の方法に順じた。使用したプライマーはアストロウイルス遺伝子の3'-末端側 (構造タンパク認識部位) をターゲットとしている。PCR産物は390bpで、アガロースゲル電気泳動法により各サンプルを泳動後、ゲルからバンドを切りだし直接シーケンス法により塩基配列を解析した。

C. 研究結果

1、アストロウイルス1型から4型までの抗体を感作したLA試薬はそれぞれの型に対して特異的な凝集反応を示した。

(2、560倍~5、120倍) この時、それぞれの型特異的LA試薬は、他の型のアストロウイルス抗原に対して総て凝集価10倍以下であった。

2、アストロウイルス2型特異抗体感作ラテックス試薬と精製した2型アストロウイルス抗原を2倍階段希釈で希釈した希釈列とを反応させて得られた結果、本LA試薬はアストロウイルス精製抗原蛋白濃度10.38ng/mlまで検出可能であった。

3、1型から4型までの各型のアストロウイルス抗原をブラック法で定量後、その各抗原を用いてアストロウイルス粒子検出感度を測定した。1型は1mlあたり 1.3×10^4 、2型は 8.2×10^4 、3型は 2.3×10^4 、4型は 2.9×10^4 までLA法で検出が可能であった。

4、26検体の非細菌性嘔吐下痢症患者糞便材料を用いて、大瀬戸らが確立したアストロウイルス型特異的EIA法 (TYPE-EIA法) と比較した結果、われわれが開発したLA法は検出されたアストロウイルス抗原の血清型がよく一致していた。また、分離培養したアストロウイルス抗原の型別を行った結果、直接便材料から検出し

た抗原型と培養上清中のウイルス抗原の血清型は一致していた。

5、代表的な株を用いてRT-PCR法により各遺伝子を検出した。それぞれの血清型と遺伝子による分類の結果は良く一致した。

D. 考察

SRSVの一つであるアストロウイルスに関し、簡便で再現性のよいラテックス凝集反応試薬の開発をおこなった。高度免疫兎抗アストロウイルス抗血清を血清型1型から4型まで作製し、これらの血清中のIgG分画をラテックス粒子に感作したアストロウイルス抗原検出試薬を作製した。精製標準ウイルス抗原 (1型から7型まで) を使用した研究から、これらの試薬はそれぞれの型に特異的に反応し、各型別の検出感度はウイルス抗原蛋白質10.38ng/mlまで検出可能であった。さらに、患者糞便材料を使用してアストロウイルス抗原検出を試みた結果、直接便材料からアストロウイルス抗原を検出する事が可能であり、かつRT-PCR法による遺伝子型及びTYPE-EIAによる抗原血清型と同一の結果が得られた。また、これらのウイルス抗原をCaCo2細胞により分離培養が出来たので培養上清から得られたそれらの抗原を用いてアストロウイルス抗原の型別を行った結果、直接便材料から得られた結果と一致した。このことは、分離培養によっても検出ウイルス抗原の抗原変異はないことが明かとなった。また、現在使用可能な他の検査方法と比較してLA法は時間的にも操作法においても簡単でありしかも再現性が良いことが示された。

E. 結論

厚生行政に対応できるSRSV検出法の開発が急務とされているが、今回簡便で再現性のよいアストロウイルス抗原検出法が開発できた。食中毒事件のうちアストロウイルス関連の事件については、本検査法を用いることで近い将来全国各地の地方衛生研究所や他の検査機関等においても簡単に原因究明が可能となるであろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) 集団食中毒と小型球形ウイルス(SRSV)-学校給食を狙う知られざる食中毒ウイルス-宇田川悦子
Medical Technology, vol.25 No.9(1997.8).

(2) ラテックス粒子による小型球形ウイルス抗原検査試薬の開発研究。宇田川悦子
ヒューマンサイエンス基礎研究事業官民共同プロジェクト研究報告(平成8年度)
1997、7月。

2. 学会発表

(1) 宇田川悦子、大瀬戸光明、小島禎：
ラテックス凝集反応(LA)法を用いたアストロウイルス検出法の開発。第37回臨床ウイルス学会、1996年5月、宮崎市。

(2) 宇田川悦子、三上稔之、齋藤博之、関根整治、川本尋義、大石功、大瀬戸光明：
ラテックス凝集反応(LA)法を用いたアストロウイルスの疫学-第1報-。第37回臨床ウイルス学会、1996年5月、宮崎市。

(3) 荒木和子、小林正明、篠崎立彦、藤田靖子、阿部俊郎、宇田川悦子：
一定点におけるアストロウイルス流行疫学。第44回日本ウイルス学会総会、1996年10月、静岡市。

(4) 荒木和子、小林正明、篠崎立彦、藤田靖子、阿部俊郎、宇田川悦子：
アストロウイルス感染症-一定点における6年間の成績-第28回日本小児感染症学会総会、19

96年11月、東京都。

(5) 宇田川悦子、荒木和子、藤田靖子、篠崎立彦、入江嘉子：
ラテックス凝集反応(LA)法によるアストロウイルス感染伝播の解析。第71回日本感染症学会総会、1997年4月、札幌市。

(6) 小林祥子、小林正明、荒木和子、藤田靖子、篠崎立彦、阿部敏明、宇田川悦子：
過去5年間におけるアストロウイルスによる院内感染の調査。第29回日本小児感染症学会総会、1997年11月、佐賀市。

(7) 宇田川悦子：
小型球形ウイルス検査法について-最近のSRSV検査法の現状と問題点-。第12回関東甲信静支部ウイルス研究会、1997年10月、横浜市。

(8) 小島禎、柿島博志、池戸正成、宇田川悦子：
ラテックス凝集法によるアストロウイルス抗原の検出。日本臨床化学会関東支部会、1997年12月、宇都宮市。

(9) Utagawa E.T., :
Detection of serotypes 1-4 human astrovirus in feces by a new latex agglutination method. 30th Joint Working Conference on Viral Diseases Japan-US Cooperative Medical Science Program. Sapporo, Japan, 30 July - 1 August, 1996.

(10) Utagawa E.T., :
Serotype distribution and genetic analysis of human astrovirus isolates from Hospitalized children in Tokyo. 31th Joint Working Conference on Viral Diseases Japan-US Cooperative Medical Science Program. Atlanta, USA, 7-10 July 1997.

(11) Kawamoto et al :
Food-born Gastroenteritis Outbreaks due to SRSVs in Japan, and their Identification by RT-PCR. 31th Joint Working Conference on Viral Diseases Japan-US Cooperative Medical Science Program. Atlanta, USA, 7-10 July 1997.

3. 講演

(1) 宇田川悦子：
小型球形ウイルスについて。第12回関東甲信静支部ウイルス研究会、1997年10月、横浜市。

輸入食品のウイルス学的安全性に係る研究

分担研究者 西尾 治 (国立公衆衛生院 衛生微生物学部)

要旨

輸入食品のウイルス安全性を確保することを目的として、発展途上国からの二枚貝およびエビ類について、カリシウイルス、A型肝炎ウイルス(HAV)および組織培養法によるポリオウイルスを中心にウイルス汚染状況の実態解明の調査・研究を行った。その結果、中国および韓国産の二枚貝からカリシウイルスが8検体から検出され、G1は3件、G2型は6件であった。食品を介して外国からウイルスが侵入していることが明らかとなった。輸入食品からのウイルスの遺伝子配列を調べたところ、日本の下痢症患者からのウイルスと全く同じ配列のものも見られた。さらに中国産シジミ15件中5件からHAVが検出された。しかし、エビ類からウイルスは検出されなかった。今後も輸入食品、特に二枚貝のウイルス汚染状況の監視ならびに輸入食品から検出されたウイルスのわが国における動向を継続調査する必要がある。これら食品の取り扱いについての安全教育が望まれる。

研究目的

発展途上国、特にアジア地域では依然として衛生環境が悪く、野生ポリオウイルスが未だに根絶されて無く、野生株によるポリオ患者の発生が続いている地域あるいはA型肝炎ウイルス(HAV)等の危険度の高い病原体の濃厚汚染地域が存在している。またカリシウイルスは世界的にその存在が認められている。わが国にはこのような地域から魚介類が大量に輸入されている。輸入食品のウイルス学的安全性を確保することは国民の健康維持および食品の衛生確保と観点から極めて重要であるにも係わらず、これら食品のウイルス学的安全性は輸出国および輸入国であるわが国においても全くと言って良いほど調べられていない。そこで発展途上国からのエビ類と二枚貝のウイルス汚染状況の実態を解明すると共に、食品の衛生確保に寄与する事を目的としてウイルス学的安全性について調査研究する事とした。さらに検出されたウイルスの遺伝子配列を調べ、日本の下痢症患者からの

ウイルスと分子疫学的解析を行った。

研究方法

輸入魚介類は主に愛知県北部市場に搬入されたもので、韓国産のものは牡蠣1件、アカガイ6件およびたいらぎ1件、北朝鮮産ハマグリ1件、中国産はシジミ15件、タイ国産エビ3件、アカガイ1件、名称不明貝3件、計31件を用いた。

PCR法

RNAの抽出：二枚貝は中腸腺を、エビ類は腸管(いわゆる背腸の部分)を摘出し、PBSで10から20%乳剤としたのち、10,000rpm・20min遠心し、その上清を30%シュークロースに重層、35,000rpm・180min遠心し、そのpelletをPBSで再浮遊させた。それをRNAの抽出およびウイルス分離に用いた。

ウイルスRNAの抽出はSV Total RNA isolation system(Promega, USA)を用いて行った。

カリシウイルスおよびA型肝炎ウイルスのcDNAの作製には{Oligo(dT)(12-18)}とSRSVは35', A型肝炎ウイル

スは P17 のプライマーを用い、M-MLV RT で作製した。用いたプライマーについては図 1 に示した。

図 1. 使用プライマー

カリシウイルス

35' : 5'-CTT gTT ggT TTg Agg CCA TA-3'(位置 4,944)

36 : 5'-ATA AAA gTT ggC ATg AAC A-3'(4,475)

NV81 : 5'-ACA ATC TCA TCA TCA CCA TA-3'(4,872)

NV82 : 5'-TCA TTT TgA TgC AgA TTA-37 (4,543)

SM82 : 5'-CCA CTA TgA TgC AgA TTA-3' (4543)

Yuri22F : 5'-ATg AAT gAg gAT ggA CCC AT-3'(4495)

Yuri22R : 5'-CAT CAT CCC CgT AgA AAg Ag-3' (4865)

SR33 : 5'-TgT CAC gAT CTC ATC ATC ACC-3'(4,876)

SR48 : 5'- gTG AAC AgC ATA AAT CAC Tgg-3'(4,754)

SR50 : 5'-gTg AAC AgT ATA AAC CAC Tgg-3'(4,754)

SR52 : 5'-gTg AAC AgT aAT AAA CCA T-3'(4,754)

SR46 : 5'-Tgg aat TCC ATC gCC CAC Tgg-3'(4,754)

A 型肝炎ウイルス

P17:ATTGAGATTAGACTGCCTTGGTA-3' (3333)

N16: 5'-CCA AgA AAC CTT CAT TAT TTC ATg-3' (3273)

N17: 5'-CCA gCA gCT AAA gAA AAC CCA Aa-3'(2799)

P15:5'-GCAAATTACAATCATTCTGATGA-3' (2907)

ポリオウイルス

24 5'-gAA TTC CAT gTC AAA TCT AgA-3(2,872)

#21 5'-TTT gTg TCA gCg TgT AAT gA-3' (2,399)

1st PCR : SRSV は 35' と 36, A 型肝炎ウイルスにはプライマー P17 と N18 (535bp) を用い、PCR 反応は 94 ° C 3 分間 1 回、94 ° C 1 分、48 ° C 1 分、72 ° C 2 分の 40 サイクル行った。

Nested PCR : SRSV は NV81/82/SM82, Yuri22R/F, G1 (CDC) および G2 (CDC) のを、A 型肝炎ウイルスはプライマー N16 と P15(367bp) を用い、PCR 反応は 1st PCR と同じ条件で行ったが、サイクル数は 35 回とした。

PCR 産物は電気泳動を行い、エチジウムブロマイドで染色しバンドの確認を行った。

遺伝子配列の決定

PCR 法で遺伝子が増幅された小型球形ウイルスおよび A 型肝炎ウイルスの遺伝子決定には、PCR で増幅された遺伝子を大腸菌に組み込んだ後ダイターミネーター法で遺伝子配列を決定した。

組織培養法

細胞は VERO 細胞、Hep2 細胞および L α 細胞を用いた。VERO 細胞と Hep2 細胞は試験管法で、L α 細胞はマイクロトレイ法で行った。

成績

カリシウイルスは二枚貝 8 件から検出され、中国産シジミ 15 件中 6 件、韓国産アカガイ 2 件であった。カリシウイルス G 1 は 3 件で、韓国産アカガイから 2 件 (No.67,43) および中国産シジミから 1 件 (No.61) 検出された。韓国産アカガイの遺

伝子配列は Norwalk, Southampton とは異なり、KY-89/J に近縁のウイルスであったが、韓国産アカガイの1件と中国産シジミ (No.48,61) は同一の遺伝子配列であったものの、韓国産アカガイ1件は少し異なっていた。

カリシウイルス G2 は中国産シジミ5件から検出された。遺伝子配列からメキシコ (MX) が3件、MX と少し異なったものが2件であった。その他の検体は陰性であった。

A 型肝炎ウイルス (HAV) は中国産シジミ5件から検出され、その HAV の遺伝子配列の結果、1A は3件 (No.52,54,53)、1B は1件 (No.56) および 3B (No.60) が1件認められた。

エビ類からカリシウイルスおよび HAV は検出されなかった。また、今回行った全ての検査材料は組織培養法で陰性であった。

考察

わが国に輸入食品が大量に輸入されているが、ウイルス学的安全性は全くと言ってよい程調べられていない。そこで昨年度の厚生科学特別研究 (主任 西尾治、二枚貝のウイルス学的安全性に係る研究) で東南アジアの二枚貝からカリシウイルスを検出、さらに北朝鮮産のハマグリからポリオウイルス3型を分離し、このポリオウイルスは遺伝子配列からワクチン株であった。しかし世界各地からのエビ類はウイルス検査で全て陰性であったと言う報告を行っている。

そこで本年度は二枚貝を主として調査研究を行った。その結果中国産シジミから高率にカリシウイルスと HAV が、韓国産のアカガイからカリシウイルスが検出された (図1, 2)。検出されたカリシウイルスの遺伝子配列についてわが国

で牡蠣関連下痢症あるいは牡蠣からのウイルスと比較した。その結果カリシウイルス G1 では、韓国産アカガイの No.67 は新潟での牡蠣関連下痢症から検出されたウイルスと全く同一の遺伝子配列であった。中国産シジミ (No.61)、韓国産アカガイ (No.48) は Norwalk 株に近い遺伝子配列であったが、この株と類似のものは日本では見られていないようである。カリシウイルス G2 型は中国のシジミ4件から検出され、遺伝子配列から全て MX 型 (メキシコ) であった。この内の2株 (No.62,66) は日本の埼玉県、三重県、香川県、広島県、滋賀県での食品関連下痢症患者から検出されたウイルスと極めて類似していた。しかし、2株 (No.48,61) は MX 型ではあるものの、これに近縁のウイルスは日本では未だ見られていない。わが国でのカリシウイルスによる食中毒様下痢症集団事件は毎年、冬から春に全国的に事件が起きている。それらは一般的に生牡蠣によることが多い。しかしながら、牡蠣を喫食しない時期にも散発的に起きている。その要因の一つとして、昨年度から行っている本研究の成績から輸入食品特に二枚貝からの感染が示唆されるものの、この点に関しては未だ確証は得られていない。しかしながら外国の二枚貝から検出されたウイルスと全く同じ遺伝子配列のものが日本の下痢症患者からも見られている事から輸入されたウイルスによる感染とも考えられる。これらウイルスのわが国における過去の侵淫状況を明らかにしなければならないと考えている。さらに日本では未だ検出されていない遺伝子配列を持つウイルスもみられ、今後日本でのこれらウイルスの動向を監視する必要がある。

二枚貝による HAV の集団発生は中国における数千人の大流行がよく知られて

いる。また日本においてもシジミ、生牡蠣を介しての流行が起きている。実際にはわが国で現在の HAV 感染の殆どは海外からの輸入感染と考えられる。何故ならわが国の血清疫学調査から HAV は常在していないと考えられているからである。食品を介しての感染も含まれていると推測されるものの、HAV は感染から発症まで 2 から 6 週間を要するので、多くは原因不明となっていると推察される。HAV は中国産シジミ 15 検体中 5 件と極めて高率に検出され、遺伝子配列を調べ、Robertson ら (1) による分類で、4 株 (No.52,53,54 および 56) は 1A 型で、この型は過去に日本の各地で検出されている。1 株 (No.60) は 3B 型で九州地区と三重県で検出されている。恐らくこれら過去の事例もヒトあるいは食品を介して輸入されたウイルスによると推察される。

今回の成績から現実に HAV に汚染された二枚貝が輸入されており、HAV を不活化するためには 60 ° C 60 分間、100 ° C 5 分間の加熱処理しなければならない。さらにわが国の 45 歳以下の住民は HAV の抗体を保有していないので一旦ウイルスが侵入すれば感染の拡大が起こる危険性が予測される。今後これら食品から感染を防止するには取り扱いが重要で、食品の取り扱いに関する衛生教育が必要と言える。

今後も輸入食品のウイルス学的安全性に関する監視はさらに規模を拡大し行う必要性があり、輸入食品から検出されたウイルスの国内動向並びに患者発生状況についての継続調査を行い、食品の安全性と国民の健康を確保することが肝要である。

研究まとめ

輸入食品のウイルス安全性を確保する

ことを目的として、発展途上国からの二枚貝およびエビ類について、カリシウイルス、A 型肝炎ウイルスおよび組織培養法によるポリオウイルスを中心にウイルス汚染状況の実態解明の調査・研究を行った。その結果、中国および韓国産の二枚貝からカリシウイルスの G1 および G2 型が検出され、日本の下痢症患者からのウイルスと全く同じものも見られた。さらに中国産シジミからは高率に HAV が検出された。しかし、エビ類からウイルスは検出されなかった。今後も輸入食品、特に二枚貝のウイルス汚染状況並びに輸入食品から検出されたウイルスの国内の動向を規模を拡大し継続して監視しなければならない。さらにこれら食品の感染防御に関する取り扱いの教育が望まれる。

(本報告の要旨は第 46 回日本ウイルス学会総会、1998 年 10 月、東京で発表した)

文献

1. Robertson BH et al: Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. J Gen Virol. 73:1365-77, 1992