

食品中の微生物汚染状況の把握と安全性の評価に関する研究
分担研究項目 海域のウイルス汚染状況調査
食品媒介ウイルス感染症の集団発生状況調査

分担研究者 新川奈緒美 鹿児島県環境保健センター 微生物部主任研究員

研究要旨

食品及び海域のウイルス汚染実態を把握するために、県産のヒオウギ貝、市販の生ガキ（広島産生食用、韓国産加熱用）、自生カキ、プランクトンから *Norovirus* (NV)、A 型肝炎ウイルス (HAV) の検索を試みた。その結果、HAV は検出されなかったが、NV は、ヒオウギ貝 4 件、広島産カキ 1 件からから genogroup2 (G2) が検出された。また、自生カキとプランクトンからはそれぞれ 9 件 (G2)、3 件 (G2) 検出された。この結果は、昨年度（ヒオウギ貝 1 件）に比べ高率に検出されていることから、今年度は海域の糞便汚染が著しいことが明らかになった。

また、胃腸炎集団発生事例について患者検体及び食材から原因ウイルスの検索を行ったところ、5 事例の患者検体から NV が検出され、原因食品はバカガイ（推定）1 事例、カキ（推定）3 事例、不明が 1 事例であった。患者から検出された遺伝子型は、事例 1（バカガイ）では、C-7 (G1)・C-8 (G1)・C-10 (G2)・C-16 (G2)・C-18 (G2) の 5 株、事例 2（酢ガキ）では、C-9 (G2)・C-10 (G2)・C-31 (G2) の 3 株、事例 3（酢ガキ）では、Hillingdon (G2)・C-11 (G2)・C-30 (G1) の 3 株、事例 4（酢ガキ）では、C-8 (G1)・C-10 (G2)・C-11 (G2)・C-28 (G2) の 4 株と同一事例内で複数の遺伝子型が検出された。

A. 研究目的

2001 年 12 月から 2003 年 3 月までに鹿児島県下で発生し、当センターに検体が搬入されたウイルス性食中毒の発生状況を調査し、原因ウイルス及び原因食品を追究する。

また、食品及び環境水中のウイルス汚染状況を把握するために、県産ヒオウギ貝、市販の生カキ、自生カキ、プランクトンから NV、HAV を検索する。さらに、検出されたウイルスについて、系統解析する。

B. 研究方法

1) 検査材料

自生カキ：2001 年 12 月から 2003 年 2 月にかけて採取した県内 1 地点の自生カキ 12 ロット 30 件

プランクトン：2001 年 12 月から 2003 年 2 月の期間に 1 地点の海水 5~10L 中のプランクトン 11 件

ヒオウギ貝：2001 年 12 月から 2002 年 5 月に

買い上げたヒオウギ貝 4 ロット 20 件の中腸腺
生カキ：市販の広島産生食用カキ 6 ロット 22 件及び韓国産加熱用カキ 4 ロット 11 件の中腸腺

胃腸炎集団発生事例：2002 年 3 月から 2003 年 3 月に発生した胃腸炎集団発生 9 事例の糞便 59 件、食材 21 件の計 80 件

ブタ血清：食肉処理場で採血された、生後 6~9 ヶ月のブタ血清 80 件

HAV 患者糞便：中国旅行後、A 型肝炎を発症した患者糞便

2) 方法：自生カキは、摘出した中腸腺を 5g プールあるいは、2~3 個をプール（中腸腺 1.5g 以内）したものを用いて 1 ロット 2~3 件、ヒオウギ貝及び市販の生カキは、摘出した中腸腺をプールせずに、1 ロット 3 件~5 件をそれぞれ PBS で 10% 乳剤とした後、10,000rpm、20min 遠心した。そして、その上清を 35% シュークロースに重層後、35,000rpm、180min 遠心し、pelet を 500 μ l の蒸留水 (DNase, RNase free) に再浮遊し、それを RNA 抽出に用いた。プランクトンは、5~10L の汽水の中のプランクトンをネットで回収し、3000rpm、30min 遠心後、その pelet を 500 μ l の蒸留水 (DNase, RNase free) に再浮遊し、それを RNA 抽出に用いた。胃腸炎集団発生事例の糞便は、PBS で 10% 乳剤とし、3000rpm、30min 遠心後、その上清を RNA 抽出に用い、食材は、超遠心後、pelet を

500 μ l の蒸留水 (DNase、RNase free) に再浮遊し、RNA 抽出に用いた。

RNA は、QIAmp Viral RNA Mini キット (QIAGEN) を用いて抽出し、DNase I (TaKaRa) 処理後、random hexamer (Amersham Pharmacia) を用いて Super Script™ II RT (Invitrogen) で逆転写し、cDNA を作製した。cDNA の 30 μ l は国立感染症研究所に送付し、TaqMan Universal PCR Master Mix (ABI 社) を用いて NV 及び HAV について Real Time PCR を実施した。NV の PCR は、1st PCR に COG1F/G1SKR、COG2F/G2SKR を用い、食材については、COG1F/COG1R、G1SKF/R、COG2F/COG2R、G2SKF/R を用いて nested PCR を行った。HAV の検出には、1st PCR を +2799/-3273、nested PCR は、+2907/-3162 を用いた。NV の PCR 産物は、RING1、RING2 プローブを用いて、ドットプロットハイブリダイゼーションを行った。塩基配列については、国立感染症研究所に依頼した。

生後 6~9 ヶ月のブタ血清 80 件を用いて、RNA を抽出後、1st PCR を 5687d/6417R、nested PCR は、5972d/6319Rd を用いて HEV の検出を試みた。

中国旅行後、A 型肝炎を発症した患者糞便を用いて、RNA を抽出後、HAV の RT-PCR を行った。

C. 研究結果及び考察

1) HEV 検索

食肉処理場で採血された、生後 6~9 ヶ月のブタ血清 80 件については、Nested PCR の結果、HEV は検出されなかった。

2) 中国旅行者の HAV 検索

中国旅行後、A 型肝炎を発症した患者糞便については、1st PCR で HAV が確認され、ウイルス量は、 1.2×10^6 copies/g で、シーケンスの結果、横浜で検出された中国産大アサリと 99.5% の相同性があり、両者の関連性が示唆された。

3) NV 検出状況

表 1 にヒオウギ貝、市販カキ、自生カキ、プランクトン及び乳幼児下痢症患者からの NV 検出状況を示した。ヒオウギ貝からは、2001 年 12 月、2002 年 1 月、2 月、5 月に採取した 4 ロットすべてから NV が検出された。市販のカキについては、1 ロットのみ NV (G2) が陽性でシーケンスの結果 C-18 のクラスターであった。自生カキは及びプランクトンからは、冬季のみならず、夏季にも検出され、すべて G2 であった。

なお、いずれのサンプルについても HAV は検出されなかった。

集団食中毒については、9 事例中 5 事例から NV が検出された。5 事例中、貝が直接関与していた事例は 4 事例で、事例 1 は「酢の物」に用いたバカガイ (産地不明)、事例 2 は「酢ガキ」に用いたカキ (宮城産、生食用)、事例 3、4 は「酢ガキ」に用いたカキ (広島産、生食用) が食中毒の原因と推定された。事例 5 は非貝関連事例で、給食従事者からも NV が検出された。ハイブリダイゼーションの結果、患者から検出された遺伝子型は、貝関連事例では、G1 と G2 が混在して検出された。非貝関連事例は、G1 のみ検出された。また、シーケンスの結果、事例 1 では、G1 が 2 つ、G2 が 3 つ、計 5 つの遺伝子型、事例 2 では、G2 が 3 つの遺伝子型、事例 3 では、G1 が 1 つ、G2 が 2 つ、計 3 つの遺伝子型、事例 4 では、G1 が 1 つ、G2 が 3 つ、計 4 つの遺伝子型が検出された。貝が関与した事例では、同じ事例であっても患者によって異なる遺伝子型が排泄されていた。これは、貝が不特定多数のヒトからの NV に汚染されることにより、貝には多くの遺伝子型が蓄積され、それを摂食したヒトは、複数の遺伝子型のうち、そのヒトの小腸で最も多く増殖したものが検査で見出されることから、事例全体では多様な遺伝子型が見られたと推測された。事例 5 は、患者のみならず、給食従事者 4 名のうち、3 名からも G1 が検出された。そのうち、2 名は集団発生前に医院を受診して胃腸炎症状を伴う風邪と診断されていた。このときの胃腸炎が NV に起因するものであれば、この給食従事者が非加熱食品の調理に従事していたことから、感染源と疑われたが、原因と推定される給食を喫食していたことから、集団発生の感染ルート の 解明には至らなかった。

なお、事例 3、4 の原因食品と推定された酢ガキに用いられたものと同ロットのカキからは NV は検出されなかった。

乳幼児下痢症患者からは、10 月に 4 名、11 月に 5 名、12 月に 1 名、計 10 名 (20%) から NV が検出され、これらはすべて G2 であった。

今回の調査で、海域では年間を通して NV によって汚染されていたことから、NV 感染は季節を問わず、ヒト-ヒト感染が繰り返されており、乳幼児下痢症患者からは、秋から冬季にかけて NV が多く検出されたことから、NV はこの時期に活性が増すものと考えられた。また、食中毒事例の多くの患者、乳幼児下痢

症患者、自生カキ及びプランクトンから検出された遺伝子型はG2であったことから、貝を介する食中毒発生、乳幼児下痢症及び海域汚染との関連性が示唆された。

昨年度の調査期間、2000年4月から2001年11月では、NVがヒオウギ貝から1件のみ検出されたのに対し、本調査期間は自生カキ、プランクトンからも高率に検出されていることから、糞便による海域汚染の度合い高いことが明らかになった。

また、年によって海域のNV汚染度に差があることから、ヒト間のNV感染にも年によって流行に差があることが考えられた。

従って、NV流行の規模を決定するものが何であるのか、プロモーターが何であるのかを解明する必要があり、それを明らかにしなければ、安全なカキを供給することも不可能であると考えられ、今後も下痢症ウイルスの発生と動向を監視する必要があると思われた。

プランクトンからNVが検出されたことから、NVは海水中ではプランクトンに付着していることが明らかになった。

また、自生カキやプランクトン中のウイルスを検索することは、海域のウイルス汚染状況を把握する指標として有用であり、特に、プランクトンについては、比較的容易な作業でウイルスを回収することができたことから、その量や濃縮の方法を改良することによって、検出感度を上げることができると予想され、今後検討したい。

NVのウイルス量は、糞便で $2.2 \times 10^4 \sim 5.5 \times 10^{10}$ copies/gと多く含まれていた。ヒオウギ貝からは、 $1.9 \times 10^3 \sim 3.5 \times 10^5$ copies/g、自生カキ及びプランクトンには、それぞれ $1.6 \times 10^2 \sim 1.6 \times 10^4$ copies/個、 $4.8 \times 10^2 \sim 1.2 \times 10^3$ copies/L含まれていた。NVに感染すると多量のウイルスを排泄し、しかも、ウイルスの排泄は10日間程度持続し、稀に1ヶ月にわたって検出された例も見られている。

このことから、食品を取り扱う前の手洗いが不徹底であると、付着したウイルスによるヒトからヒトへ伝播、あるいは、付着後乾燥したウイルスにより空気感染が成立し、感染が拡大する危険性がある。特に、調理従事者には、日ごろから十分な啓発、教育が必要である。従事者本人が胃腸炎症状のあるときだけでなく、回復後も少なくとも2週間程度、また、家族に胃腸炎症状者がいるときには従事の内容に気を配ることが必要であるといえる。今後、従事者に対しては、細菌検査のみならず、下痢症ウイルス検査の実施について

その必要性の是非が問われる時期にきているのではないかと思われた。

また、リアルタイムPCRとnested-PCRの成績（陽性率）が一致していたものは1件のみであったことから、1st PCRのプライマーの選定など検討する必要があると思われた。

生食用カキには、ウイルス学的な規格基準は制定されていないので、ノロウイルスの食中毒の発生を完全に防ぐことは、生食をしている限り困難であるといえる。

食中毒などの集団発生の原因食品、汚染源を迅速かつ正確に特定し、集団発生の拡大を未然に防止することが重要であり、基本的にはカキなどの貝類が棲息する場所を可能な限り汚染させない環境整備が、食品衛生・公衆衛生学的にも必要であると思われる。

なお、自生カキからのNV検出状況と海域の環境因子（天気、水温、降水量、汽水のpH・塩分濃度・比重）とは、相関はみられなかった。

D. 学会発表

新川奈緒美、伊東祐治、西尾 治 他；ノーウォークウイルスによる食中毒事例と排泄されるウイルス量について、第44回鹿児島県公衆衛生学会、鹿児島市、2002

新川奈緒美、中山浩一郎、湯又義勝、西尾治；Norwalk virusによる集団発生事例の疫学と患者から排泄されるウイルス量、第28回九州衛生環境技術協議会、宮崎市、2002

新川奈緒美、中山浩一郎、伊東祐治、西尾治；Norwalk virusによる胃腸炎集団発生患者から排泄されるウイルス量と遺伝子型について、第50回日本ウイルス学会、札幌、2002

杉枝正明、大瀬戸光明、福田伸治、川本 歩、木村博一、三上稔之、西田知子、新川奈緒美、西 香南子、古屋由美子、西尾 治：全国各地で発生したノーウォークウイルス（NV）による食中毒事例について、第50回日本ウイルス学会、札幌、2002

E. 論文発表

Tetsuo Yoneyama, Akira Sasagawa, Masayuki Kikuchi, Nobuji Noda, Naomi Shinkawa, Kimi Yoshida, Tatsuo Miyamura ; Surveillance of Poliovirus-Isolates in Japan, 2001, JJID, 55, 57-58, 2002

西尾 治、西 香南子、福田伸治、西田知子、篠原美千代、沖村容子、新川奈緒美、杉枝正明、古屋由美子、大瀬戸光明、鈴木 宏；ウイルス性食中毒の病因、臨床とウイルス、

31 : (1)、2003 印刷中

西尾 治、新川奈緒美；ノーウォーク様ウイルスによる集団発生、日本医事新報、No. 4105、5-9、2002

新川奈緒美、永田告治、有馬忠行、本田俊

郎、吉國謙一郎、上野伸広、湯又義勝、西尾治；鹿児島県における海域のウイルス汚染実態調査及びウイルス性胃腸炎集団発生事例、鹿児島県環境保健センター所報、3、102-105、2003

表1 NV 検出状況

種 類	検査数	2002年												2003年				
		2001年	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
ヒオウギ貝	4(4)		1(1)	1(1)	1(1)			1(1)										
広島産生カキ(生食用)	6(1)																5(1)	1(0)
韓国産生カキ(加熱用)	4(0)																4(0)	
自生カキ	12(9)	1(1)	1(1)		1(0)			2(2)	1(1)	1(1)	1(1)		1(1)	1(1)	1(0)	1(0)		
プランクトン	11(4)	1(1)	1(1)					2(1)	1(0)	1(0)	1(0)		1(0)	1(0)	1(0)	1(0)		
乳幼児下痢症	50(10)					5(0)	7(0)	4(0)	3(0)	9(0)	3(0)	10(4)	6(5)	2(1)	1(0)	0(0)		

()は陽性数

表2 NV が検出された集団食中毒の発生状況

事例	発生月日	管轄保健所	患者概要	摂食者数	患者数	発症率(%)	原因食品	陽性数/検体数	リアルタイムPCR copies/g		ハイブリダイゼーション			遺伝子型	
									G1	G2	G1	G2	G1・G2	G1	G2
1	2002.3	鹿屋	職場送別会	263	146	55.5	パカガイの酢の物(推定)	10/10	$2.2 \times 10^4 \sim 9.8 \times 10^9$	$1.5 \times 10^7 \sim 5.5 \times 10^{10}$	1/10	2/10	7/10	C-7 C-8	C-10 C-16 C-18
2	2002.12	伊集院	職場忘年会	82	23	28.0	酢ガキ(推定)	7/9	0	$1.5 \times 10^8 \sim 5.6 \times 10^9$	0	7/9			C-9 C-10 C-31
3	2003.2	鹿屋	職場懇親会	47	25	53.2	酢ガキ(推定)	5/6	$1.3 \times 10^8 \sim 1.6 \times 10^9$	$3.0 \times 10^8 \sim 1.1 \times 10^9$	2/6	1/6	2/6	C-30	C-11 Hillingdon
4	2003.2	鹿屋	職場新年会	16	15	93.8	酢ガキ(推定)	6/6	$3.1 \times 10^5 \sim 3.8 \times 10^9$	$9.8 \times 10^7 \sim 2.3 \times 10^8$	0	2/6	4/6	C-8	C-10 C-11 C-28
5	2003.3	宮之城	中学校・幼稚園	232	65	28	不明	6/7	検査中	検査中	6/6			検査中	

表3 ヒオウギ貝, カキからの NV, HAV 検出状況

No.	材料名	採取月日	中腸腺(g)	採取海域	リアルタイムPCR コピー数/個					
					NV G1		NV G2		HAV	
					1ウェル	2ウェル	1ウェル	2ウェル	1ウェル	2ウェル
115	ヒオウギ貝	18.DEC.2001	4.1	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
116	ヒオウギ貝	18.DEC.2001	4.0	出水郡長島町	0	0	1.2×10^4	0	0	0
117	ヒオウギ貝	18.DEC.2001	3.8	出水郡長島町	0	0	1.8×10^4	3.1×10^2	0	0
118	ヒオウギ貝	18.DEC.2001	3.7	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
119	ヒオウギ貝	18.DEC.2001	3.6	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
122	ヒオウギ貝	29.JAN.2002	4.5	出水郡長島町	0	0	3.1×10^3	3.5×10^5	0	0
123	ヒオウギ貝	29.JAN.2002	4.3	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
124	ヒオウギ貝	29.JAN.2002	4.0	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
125	ヒオウギ貝	29.JAN.2002	4.4	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
128	ヒオウギ貝	29.JAN.2002	3.6	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
130	ヒオウギ貝	18.FEB.2002	5.8	出水郡長島町	0	0	2.6×10^4	1.4×10^4	0	0
131	ヒオウギ貝	18.FEB.2002	5.0	出水郡長島町	0	0	5.7×10^4	5.0×10^4	0	0
132	ヒオウギ貝	18.FEB.2002	4.7	出水郡長島町	0	0	4.2×10^4	3.6×10^4	0	0
133	ヒオウギ貝	18.FEB.2002	4.7	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
134	ヒオウギ貝	18.FEB.2002	4.6	出水郡長島町	0	0	7.4×10^4	9.3×10^4	0	0
201	ヒオウギ貝	27.MAY.2002	5.6	出水郡長島町	0	0	3.61	0	0	0
202	ヒオウギ貝	27.MAY.2002	4.8	出水郡長島町	0	0	0	4.8×10^3	0	0
203	ヒオウギ貝	27.MAY.2002	4.6	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
204	ヒオウギ貝	27.MAY.2002	4.5	出水郡長島町	0	0	3.0×10^3	1.9×10^3	0	0
205	ヒオウギ貝	27.MAY.2002	4.3	出水郡長島町	0	0	0	0	0	0
236	加熱調理用カキ(韓国産)	17.FEB.2003	4.3	韓国2号海域	0	NT	0	0	0	0
237	加熱調理用カキ(韓国産)	17.FEB.2003	3.8	韓国2号海域	0	NT	0	0	0	0
238	生食用カキ(広島産)	16.FEB.2003	1.7	広島県三津湾	0	NT	0	0	0	0
239	生食用カキ(広島産)	16.FEB.2003	1.6	広島県三津湾	0	NT	0	0	0	0
240	生食用カキ(広島産)	16.FEB.2003	2.7	広島県三津湾	0	NT	0	0	0	0
241	生食用カキ(広島産)	16.FEB.2003	4.6	広島湾中部	0	0	0	0	0	0
242	生食用カキ(広島産)	16.FEB.2003	1.6	広島湾中部	0	0	0	8.5×10^2	0	0
243	生食用カキ(広島産)	16.FEB.2003	2.6	広島湾中部	<10	0	0	0	0	0
244	生食用カキ(広島産)	16.FEB.2003	1.2	広島県.W	0	0	0	0	0	0
245	生食用カキ(広島産)	16.FEB.2003	2.3	広島県.W	0	0	0	<10	0	0
246	生食用カキ(広島産)	16.FEB.2003	1.6	広島県.W	0	0	0	0	0	0
252	加熱調理用カキ(韓国産)	16.FEB.2003	1.3	韓国2号海域	0	0	0	0	0	0
253	加熱調理用カキ(韓国産)	16.FEB.2003	1.1	韓国2号海域	0	0	0	0	0	0
254	加熱調理用カキ(韓国産)	16.FEB.2003	2.1	韓国2号海域	0	0	0	0	0	0
255	加熱調理用カキ(韓国産)	19.FEB.2003	2.2	韓国2号海域	0	0	0	0	0	0
256	加熱調理用カキ(韓国産)	19.FEB.2003	2.8	韓国2号海域	0	0	0	0	0	0
257	加熱調理用カキ(韓国産)	19.FEB.2003	2.5	韓国2号海域	0	0	0	0	0	0
258	加熱調理用カキ(韓国産)	18.FEB.2003	1.9	韓国2号海域	0	0	0	0	0	0
259	加熱調理用カキ(韓国産)	18.FEB.2003	2.8	韓国2号海域	<10	0	0	0	0	0
260	加熱調理用カキ(韓国産)	18.FEB.2003	2.4	韓国2号海域	0	0	0	0	0	0
鹿屋39	生食用カキ(広島産)	3.FEB.2003	3.1	広島県三津湾	0	0	0	0	0	0
鹿屋40	生食用カキ(広島産)	3.FEB.2003	1.9	広島県三津湾	0	0	0	0	0	0
鹿屋41	生食用カキ(広島産)	3.FEB.2003	2.7	広島県三津湾	0	0	0	0	0	0
鹿屋42	生食用カキ(広島産)	3.FEB.2003	1.1	広島県三津湾	0	0	0	0	0	0
鹿屋43	生食用カキ(広島産)	5.FEB.2003	4.5	広島県三津湾	0	0	0	0	0	0
鹿屋44	生食用カキ(広島産)	5.FEB.2003	2.8	広島県三津湾	0	0	0	0	0	0
鹿屋45	生食用カキ(広島産)	5.FEB.2003	2.3	広島県三津湾	0	0	0	0	0	0
鹿屋46	生食用カキ(広島産)	5.FEB.2003	2.8	広島県三津湾	0	0	0	0	0	0
鹿屋47	生食用カキ(広島産)	5.FEB.2003	2.3	広島県三津湾	0	0	0	0	0	0
261	生食用カキ(広島産)	28.MAR.2003	2.0	広島県広湾	<10	0	0	0	0	0
262	生食用カキ(広島産)	28.MAR.2003	2.1	広島県広湾	0	0	0	0	0	0
263	生食用カキ(広島産)	28.MAR.2003	2.2	広島県広湾	0	0	0	0	0	0
264	生食用カキ(広島産)	28.MAR.2003	2.3	広島県広湾	0	0	<10	<10	0	0
265	生食用カキ(広島産)	28.MAR.2003	2.3	広島県広湾	0	0	0	0	0	0
266	生食用カキ(広島産)	28.MAR.2003	2.9	広島県広湾	0	0	0	0	0	0
267	生食用カキ(広島産)	28.MAR.2003	2.3	広島県広湾	0	0	0	0	0	0

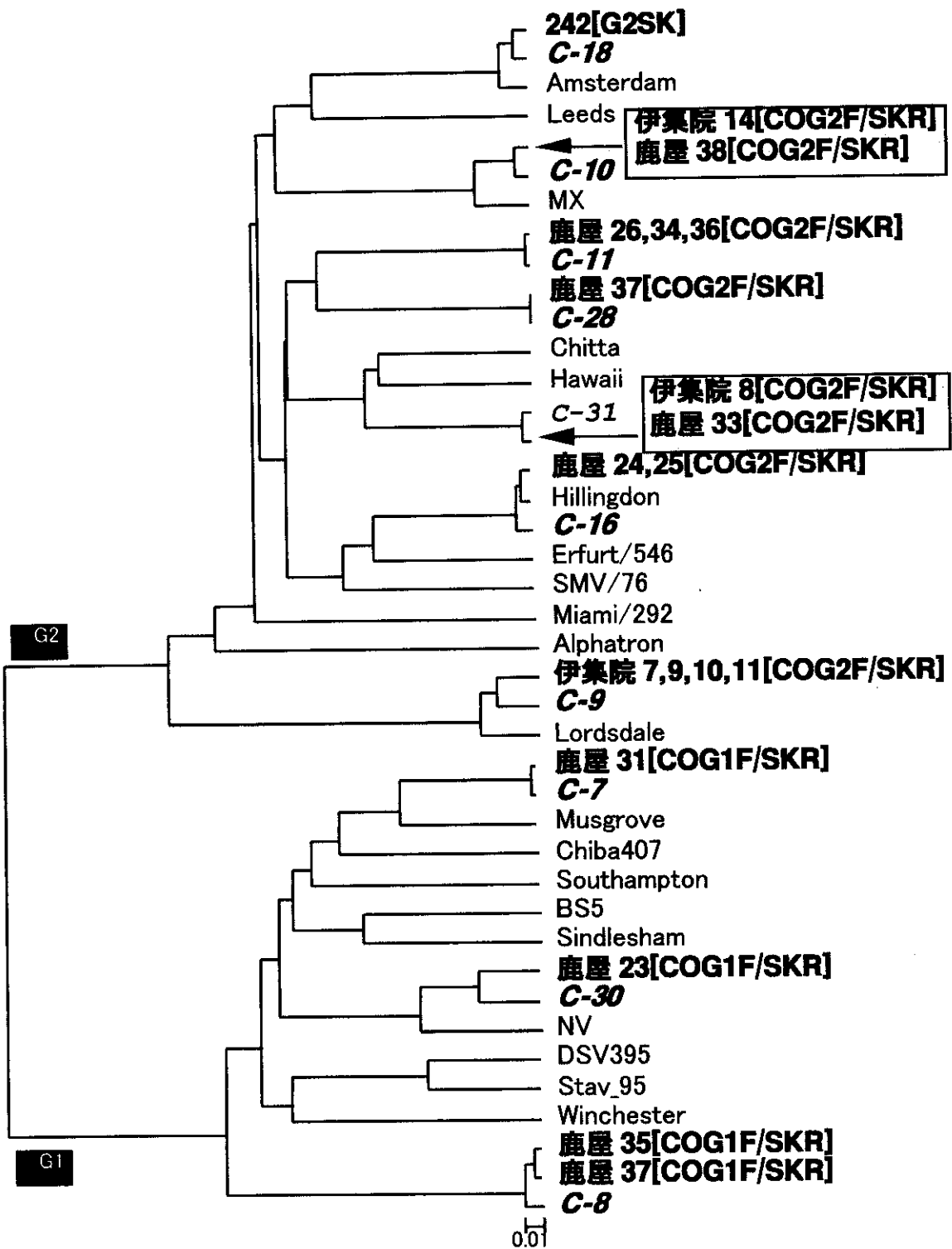


図1 集団食中毒及び生食用カキから検出された NV

作成ソフト：GENETYX-MAC Ver11

GAP ペナルティ：「GAP Insert/-8」「GAP Extend/-3」

系統樹：UPGMA 法

食品中の微生物汚染状況の把握と安全性の評価に関する研究
分担研究項目 **輸入食品のウイルス汚染状況の把握と食品からのウイルス
検出法に関する研究**

分担研究者 大瀬戸光明（愛媛県立衛生環境研究所）

協力研究者 近藤玲子、山下育孝、吉田紀美（同上）

研究要旨

食品のウイルス学的安全性評価の一環として、前年度から引き続いて輸入貝類からリアルタイム PCR 及び nested RT-PCR を用い、ノロウイルス(NV)、A 型肝炎ウイルス(HAV) の検出を試みた。平成 14 年 3 月から 15 年 2 月の 12 か月間に、韓国及び中国から輸入された貝類 69 例から、NV が 19 例 (27.5%)、HAV が 1 例 (1.4%) 検出された。NV 検出率は 11 月から 3 月の寒冷期に多くみられた。赤貝、はまぐり、あさり等の貝の種類による汚染状況に差異はなかった。貝類の NV 含有量は少なく、リアルタイム PCR の定量限界値以下であった。HAV が検出されたことは、輸入貝類の微生物汚染モニタリングの重要性を示唆している。

A. 研究目的

魚介類や果実等生鮮食品を介する A 型肝炎や急性胃腸炎の食中毒事例が多数報告されている。我が国は大量の食品輸入国であるため、健康危機管理対策として輸入食品の安全性の確保は重要な課題である。しかし、食品のウイルス学的安全性の評価は最近までほとんどなされていない。そのため本研究は、統一したウイルス検査方法を用いて、輸入食品のウイルス汚染状況の実態を把握し、健康被害対策に資することを目的とした。本年度は 13 年度に引き続き、輸入貝類からの NV 及び HAV の検出を行った。

B. 研究方法

検査材料:平成 14 年 3 月から 15 年 2 月の間に、愛知県北部市場に搬入された輸入貝類を買上げしたものを用いた。また、平成 14 年 12 月から平成 15 年 3 月まで、月 2 回県内産のカキを採取したものを供試した。

貝類からのウイルスの濃縮、RNA 抽出:貝類からのウイルス濃縮は、図 1 に示した方法で実施した。中腸腺乳剤の濁りが著しい検体には、Vertrel XF 処理を加えたところ、後の RNA 抽出操作が速やかに行われた。RNA 抽出には QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen)を用いた。

NV の検出:NV 遺伝子検出 RT-PCR は、平成 13 年 11 月 16 日付食監第 26 号厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課長通知「ノーウォーク様ウイルス(NLV)の RT-PCR 法について」で改訂された方法に準じ、本研究班で統一された検査法を用いた。1st PCR プライマーは genotype 1(G1)用として COG1F/G1SKR を、genotype 2(G2)用として COG2F/G2SKF を用い、nested PCR プライマーは COG1F/COG1R と COG2F/COG2R を用いた。検出陽性の確定には、Digoxigenin(DIG)を標識した RING1 及び RING2 プローブを用い、ドットプロットハイブ

リダイゼーションによる確認を行った。

NVのリアルタイムPCRは景山らの方法に準じ、COGF/RプライマーとRING-TP タックマンプローブを用い、ABI社のプリズム7000で測定した。既知濃度スタンダードは国立感染症研究所西尾治博士から分与を受けた。PCR条件は50°C2分、95°C10分の後、95°C15秒、56°C1分を50サイクルで行った。

HAVのRT-PCRは、戸塚らの推奨するプライマーHAV2799/3273及びHAV2907/3162を用いたnested RT-PCRを行った。リアルタイムPCRは西尾が設定したHAV449プライマーとHAV557プライマーを用いたタックマンプローブ法で行った。既知濃度HAVスタンダードは国立感染症研究所西尾治博士から分与を受けた。

C. 研究結果

1) 輸入貝類からのウイルス検出状況

平成14年3月から15年2月までに、計69検体について輸入魚介類からのウイルス検査を実施した(表1)。輸入国別では、韓国産は赤貝22検体を含め29検体、中国産はハマグリ23検体、あさり10検体を含め40検体であった。

リアルタイムPCRとRT-PCRによるNVとHAV遺伝子の検出結果を表2に示した。リアルタイムPCRとRT-PCRの両方又はいずれか一方でNVが検出された検体は20例(検出率30.0%)で、輸入貝類が比較的高率にウイルス汚染されている状況が示唆された。韓国産では7例(24.1%)からNVが検出され、中国産では14例(35.0%)からNVが検出された。貝の種類別には赤貝から8例(32.0%)、はまぐりから7例(30.4%)、あさりから4例(36.4%)平貝から1例それぞれNVが検出され、NVの汚染度は貝の種類によらないことが示された。検出されたNVの遺伝子型は、G1が13例、G2が16例で、そのうちG1とG2重複例が9例あった。リアルタイムPCRではG1が9例、G2が14例であったが、RT-PCRではG1が10例、

G2が7例で、方法によって遺伝子型の分布が異なっていたが、いずれにしてもG1の検出率が高いことが注目された。

調査期間を通じてHAVが1例検出された。HAVはリアルタイムPCR、RT-PCR両方法で検出され、増幅された遺伝子はダイレクトシーケンスで塩基配列が決定された。この検体は韓国産赤貝で、同時にNV(G1、G2重複例)も陽性であった。

図2には輸入貝類からのウイルス検出状況を、月別に示した。NVは3月、4月に検出されたが、その後10月まで全く検出されず、11月から再び検出され始め、12月、1月はそれぞれ80%、60%以上の極めて高い検出率を示した。

表3にはウイルスが検出された20例のリアルタイムPCRとRT-PCRの検査結果を示した。リアルタイムPCRでは17検体、RT-PCRでは14検体が陽性と判定された。リアルタイムPCRで得られたウイルスcopy数は、ほとんどリアルタイムPCRの定量限界値以下であったが、ウイルス数の目安として、中腸腺1gあたりのcopy数に換算して表した。それぞれの検体毎に2本或いは3本の重複検査を行ったが、3本全てが陽性になった例はなく、また、リアルタイムPCRとRT-PCRの結果が一致していない例が多かった。このことは輸入貝類のウイルス汚染率は高いが、含まれているウイルス量は両検査法の検出限界近い微量であったことを示しているものと考えた。

現在までに2例のNVのシーケンス成績が出ており、参照株とともに系統樹解析を行った結果を図3に示した。韓国産あさりから検出されたE01-63株はG1のWinchester株と比較的近縁であることが伺われた。また、中国産あさりから検出されたE02-7株はMexico株と近縁な位置関係にあった。

2) 愛媛県産カキからのウイルス検出状況

平成14年11月下旬から15年3月までの間、県内のカキ養殖場3か所から毎月2回ずつ採取

し、リアルタイム PCR で NV の検出を試みた。その結果は表 4 に示したとおり、12 月下旬に I 地点採取カキから NV が検出され、次いで 2 月上旬の N 地点、3 月上旬の I 地点採取カキが NV 陽性であった。NV 陽性であった 3 例の NV ウイルス copy 数は全て定量限界値以下でウイルス濃度は非常に低かったことが推測された。

D. 考 察

2002 年には輸入貝（ウチムラサキ）を摂食して約 1 か月後に A 型肝炎の集団発生を起こした事例が 2 回も報告された。これらの 2 事例ともに、貝の摂食 2 日後に NV による急性胃腸炎集団発生を起こしており、貝が糞便汚染を受ける状況にあったことが推測された。これらの事例が発生したため、特に魚介類のウイルス学的安全性を評価し、安全性の基準を定める必要性が高まっている。食品の安全性を判断するためには、食品から直接病原ウイルスを検出し、さらには汚染量を定量することが最も確実な方法である。それには高感度で再現性の高いウイルス検出法が必要とされる。

最近新しいプライマー、プローブを用いた NV 検出リアルタイム PCR が開発され、高い評価を得ている。今回、輸入貝類のウイルスによる汚染状況を把握するため、昨年度に引き続き、国立感染症研究所を中心とした地方衛生研究所等との業務分担体制のもと、NV 及び HAV を定量的に検出するため、リアルタイム PCR を実施した。当所では今年度中に中国及び韓国から輸入された 69 検体の貝類の検査を行った。結果は昨年度の NV 検出率 5% に比べると、今年度は 30% で NV 汚染が高頻度であった。また、NV が貝類から検出された時期は中国産、韓国産ともに 11 月から 4 月の寒冷期で、日本国内でカキ関連食中毒が発生する時期に一致していた。中国や韓国での NV 流行時期に貝類がウイルス汚染を受けていると考えられことから、輸入量が多い両国における NV 流行情報を把握する必要があ

ると思われた。

HAV は韓国産赤貝から 1 例のみ検出された。A 型肝炎のほとんどは国内感染であるとされているが、国内での HAV 常在流行はみられておらず、輸入貝類による HAV 持込が一定の役割を果たしていることが推測される。A 型肝炎の潜伏期は約 1 ヶ月と長いため、原因食材の究明は困難である。A 型肝炎の予防には、貝類の HAV 汚染モニタリングが高い精度で行えれば極めて有効と考えられる。そのためリアルタイム PCR、RT-PCR の検出限界、検出可能なウイルス株の範囲等を明確に示し、プライマー、プローブの有効性を評価する必要があると思われた。

NV のリアルタイム PCR は、反応チューブに 1copy の cDNA がはいっておれば、ほぼ検出可能なレベルにあると思われる。従って、さらに高感度のウイルス検出には、食品からのウイルス粒子の精製、濃縮法や、ウイルス RNA 抽出法の段階が大きく影響すると考えられる。また、混入している微量のインヒビターの影響についても検討することが必要である。

E. まとめ

輸入貝類のウイルス汚染状況を把握するため、リアルタイム PCR 及び nested RT-PCR による NV 及び HAV 遺伝子の検出を行った。

平成 14 年 3 月から 15 年 2 月の間、69 検体の輸入貝類から NV を 20 例（検出率 30%）、HAV を 1 例（1.4%）検出した。

NV は 11 月から 3 月の寒冷期に検出され、温暖期には全く検出されなかった。また、赤貝から 8 例（32.0%）、はまぐりから 7 例（30.4%）、あさりから 4 例（36.4%）平貝から 1 例それぞれ NV が検出され、NV の汚染度は貝の種類によらないことが示された。

NV の遺伝型の分布は、G1 が 13 例に対し G2 が 16 例で、G1 の割合が多かった。

F. 健康危険情報

平成14年12月赤貝からA型肝炎ウイルス検出に際し、主任研究者 西尾治（国立感染症研究所）を通じ、厚生労働省担当課に連絡した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 近藤玲子、山下育孝、吉田紀美、大瀬戸光明、浅井忠男、井上博雄、西尾治、秋山美穂：愛媛県において10月から流行したノーウォークウイルス様ウイルス胃腸炎。病原微生物検出情報、24：9-10（2003）

2) 大瀬戸光明、近藤玲子、山下育孝、吉田紀美、浅井忠男、井上博雄、岡田峰幸、篠崎邦子、石丸啓郎、中野省三：急性胃腸炎における Sapporo Virus の役割。愛媛県衛環研年報、3：5-9（2002）

2. 学会発表

1) 岡田峰幸、篠崎邦子、大瀬戸光明：Sapporo virus の検出及び分子疫学的解析。第43回日本臨床ウイルス学会、秋田市、2002、6月。

2) 大瀬戸光明、近藤玲子、山下育孝、吉田紀美、杉枝正明、古屋由美子、藤本嗣人、長谷川斐子、加藤由美子、秋山美穂、西尾治：輸入魚介類のウイルス汚染実態調査。第50回日本ウイルス学会、札幌市、2002、10月。

3) 西田知子、三上稔之、沖村容子、篠原美千代、西香南子、川本歩、木村博一、杉枝正明、大瀬戸光明、春木考祐、鈴木宏、西尾治：国内産および韓国産カキのノーウォークウイルスおよびA型肝炎ウイルスの汚染状況。第50回日本ウイルス学会、札幌市、2002、10月。

4) 杉枝正明、大瀬戸光明、福田伸治、川本歩、木村博一、三上稔之、西田知子、新川奈緒美、西香南子、古屋由美子、西尾治：全国各地で発生したノーウォークウイルス（NV）による食中毒事例について。第50回日本ウイルス学会、札幌市、2002、10月。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

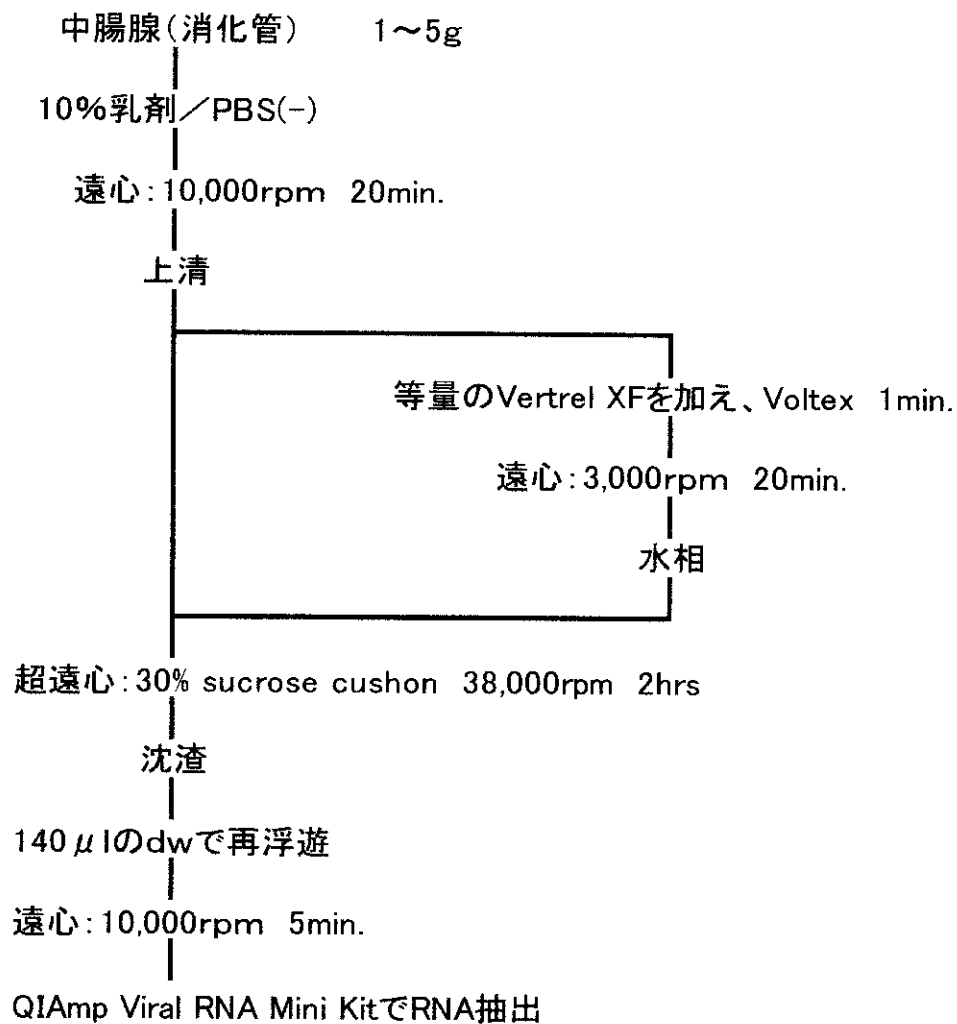


図1 魚介類からのウイルスRNA抽出法

表1 平成14年度月別・輸入国別貝類検査実施数

国名	種別	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	計
韓国	赤貝	2	3	1	4		2	1	2	2	3	2		22
	その他 ¹⁾	1	2					1		1	1		1	7
中国	はまぐり	2	1	3	2	2	2	1	3	3	2	2		23
	あさり		3	1			2	1				2	1	10
	その他 ²⁾				1			1	1		1	3		7
計		5	9	5	7	2	6	5	6	6	7	9	2	69

その他¹⁾ : あさり、とり貝、しじみ、あげまき貝、みる貝、ほっき貝、あおやぎ各1

その他²⁾ : 平貝3、みる貝1、赤貝3

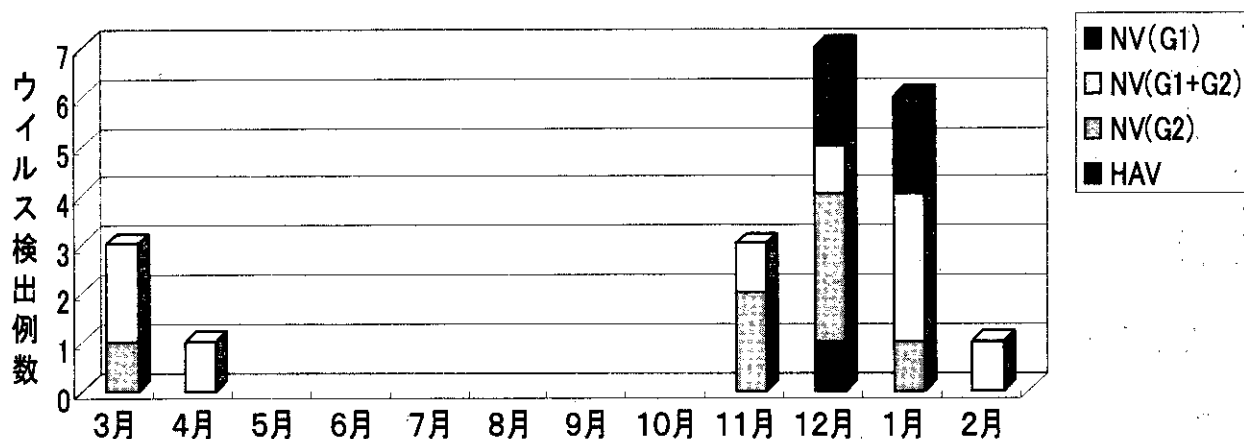


図2 平成14年度輸入貝類からの月別ウイルス検出状況

表2 貝種別・検査方法別ウイルス検出状況

国名	種別	検査例数	NV Real Time		NV RT-PCR		NV 陽性数	HAV Real Time	HAV RT-PCR	HAV 陽性数
			G I	G II	G I	G II				
韓国	赤貝	22	2	4	2		6	1	1	1
	その他	7	1	1	1	1	1 ^{a)}			
中国	はまぐり	23	2	4	2	5	7			
	あさり	10	2	3	3	1	3			
	その他	7	2	2	2		3 ^{b)}			
計		69	9	14	10	7	20	1	1	1

a): あさり

b): 平貝1、赤貝2

表3 ウイルス陽性例におけるReal Time PCRとRT-PCRの結果比較

Sample name	産地	種類	採取日	Real time PCR[NV] ^{a)}		PCR [NV] ^{b)}	Real time PCR [HAV] ^{a)}	PCR [HAV] ^{b)}
				G1	G2			
E01-62	中国	はまぐり	03.11	175	11	COG2F/R	-	-
E01-62-2				88	241	COG1F/R、COG2F/R	-	-
E01-63	韓国	あさり	03.11	48	21	COG1F/R	-	-
E01-63-2				-	20	COG1F/R、COG2F/R	-	-
E01-65-1	中国	はまぐり	03.11	-	8	-	-	-
E01-65-3				-	-	COG2F/R	-	-
E02-07	中国	あさり	04.25	-	16	COG2F/R	-	-
E02-07-2				132	568	COG1F/R、COG2F/R	-	-
E02-41-1	韓国	赤貝	11.15	-	143	-	-	-
E02-41-2				-	-	-	-	-
E02-41-3				-	-	-	-	-
E02-42-1	中国	はまぐり	11.15	-	-	G2SKF/R、COG2F/R	-	-
E02-42-2				-	35	G2SKF/R、COG2F/R	-	-
E02-42-3				-	-	-	-	-
E02-46-1	中国	はまぐり	11.19	-	118	-	-	-
E02-46-2				-	-	G1SKF/R、COG1F/R	-	-
E02-46-3				-	78	-	-	-
E02-47-1	韓国	赤貝	12.07	-	-	-	-	-
E02-47-2				-	-	G1SKF/R	-	-
E02-47-3				-	-	-	-	-
E02-49-1	中国	はまぐり	12.07	-	-	-	-	-
E02-49-2				-	-	-	-	-
E02-49-3				-	-	G2SKF/R	-	-
E02-50-1	中国	はまぐり	12.07	-	-	-	-	-
E02-50-2				-	-	-	-	-
E02-50-3				-	-	G2SKF/R	-	-
E02-51-1	韓国	赤貝	12.13	-	-	-	-	-
E02-51-2				-	-	-	-	-
E02-51-3				-	28	-	-	-
E02-52-1	韓国	赤貝	12.13	-	-	-	-	2903/3162
E02-52-2				-	-	-	-	-
E02-52-3				23	65	G1SKF/R	91	2903/3162
E02-53-1	中国	赤貝	12.25	3	-	-	-	-
E02-53-2				-	-	-	-	-
E02-53-3				-	-	-	-	-
E02-55-1	中国	はまぐり	01.11	11	-	-	-	-
E02-55-2				-	-	-	-	-
E02-55-3				-	-	-	-	-
E02-56-1	韓国	赤貝	01.11	-	-	-	-	-
E02-56-2				-	625	-	-	-
E02-56-3				-	-	-	-	-
E02-57-1	中国	平貝	01.11	-	25	-	-	-
E02-57-2				5	105	G1SKF/R	-	-
E02-57-3				-	-	-	-	-
E02-59-1	中国	赤貝	01.31	-	-	-	-	-
E02-59-2				-	-	-	-	-
E02-59-3				-	15	G1SKF/R	-	-
E02-60-1	中国	あさり	01.31	60	28	G1SKF/R	-	-
E02-60-2				17	-	G1SKF/R	-	-
E02-60-3				-	-	-	-	-
E02-62-1	韓国	赤貝	01.31	1	-	-	-	-
E02-62-2				-	-	-	-	-
E02-62-3				-	-	-	-	-
E02-63-1	中国	あさり	02.06	-	1	-	-	-
E02-63-2				-	-	G1SKF/R	-	-
E02-63-3				-	4	-	-	-

a) : ウイルス copy 数 / 中腸腺 1g

b) : 陽性となったプライマー名

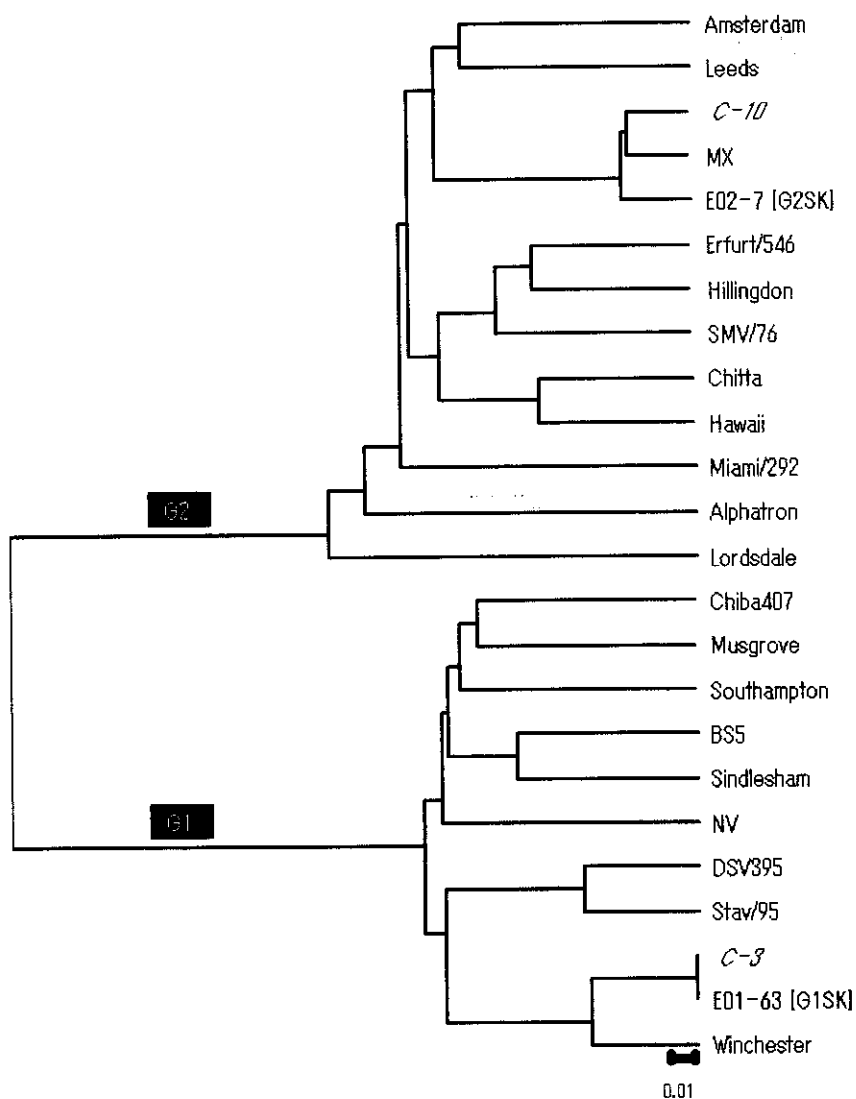


図3 輸入貝類から検出されたNVの系統樹解析

表4 愛媛県産カキのウイルス検査結果

採取月日	採取地点			陽性例copy数
	I	N	K	
11.19	0/3	0/3	0/3	G2:0.6copies/g
12.03	0/3	0/3	0/3	
12.17	1/3	0/3	0/3	
1.07	0/3	0/3	0/3	
1.22	0/3	0/3	—	G2:62copies/g
2.04	0/3	1/3	—	
2.18	0/3	0/3	—	
3.04	1/3	—	—	G2:33copies/g
計	2/24	1/21	0/12	

食品中のウイルス学的安全性の評価に関する研究

分担研究者 杉枝正明（静岡県環境衛生科学研究所、微生物部）

研究要旨

2002 年 1 月から 12 月の期間に、静岡県内で発生した急性胃腸炎事例（非細菌性食中毒）の患者糞便材料などから RT-PCR 法によるウイルス遺伝子の検出およびその遺伝子解析を行った。その結果、全食中毒 27 事例中 11 事例（40.7%）が Noroviruses (NVs) 感染により発生していたことを確認した。そして、各事例から検出された NVs 遺伝子を解析し、Genogroup I・II に属する Southampton/91/UK・SMV/76/US, Lordsdale/93/UK、MX/89/Mexico に類似する複数の遺伝子型が感染に関与していたことが確認された。

さらに、NVs による感染がヒトの血液型に関係していることが国外で報告されていることから、食中毒事例（NV、Lordsdale/93/UK に類似）の 1 集団を対象に発症者の血液型を調査し、感染が A、B、O 式の血液型に有意な差を認めず発生していることを確認した。

また、感染源、感染経路の詳細を把握するために、これまでに集団発生事例で NV 感染が確認された感染者の糞便（発症者、非発症者）および吐物中より排泄される NV ウイルス量を定量し、患者の吐物・発病初期の糞便中には、大量のウイルスが存在していることが確認されたと共に非発症者（食中毒事例の調理従事者）糞便中にも二次感染・環境汚染が示唆されるウイルス量が存在していることを確認した。

さらに、諸外国から輸入されている魚介類の NVs、A 型肝炎ウイルス(HAV)および E 型肝炎ウイルス(HEV)の汚染状況を RT-PCR、リアルタイム PCR で試み、HEV は検出されなかったが、NVs および HAV が冬季の輸入魚介類から検出され、監視体制を含む食品の取り扱いなどを考慮した十分な注意が感染を防止する上で重要と考えられた。

A. 研究目的

毎年、食中毒事例の病因物質が報告される中で、全食中毒事例中の約 30% がウイルスを原因として発生しており、感染源、感染経路を含めた調査が食中毒の予防対策上最も重要である。

今回、2002 年に静岡県内で発生した急性胃腸炎（非細菌性食中毒事例）の発生状況、患者糞便・吐物および非発症者の糞便中に含まれるウイルス量を継時的に調査すると共に原因食品の追求を実施した。

また、諸外国から冷蔵・冷凍で輸入されている魚介類のウイルス汚染を把握するため、NV、HAV、HEV の検出を RT-PCR、リアルタイム PCR を用い、遺伝子検出およびウイルス量を定量し、感染源としての意義を検討することを目的とした。

B. 研究方法

2001 年 1 月から 12 月の期間に、静岡県内で発生した食中毒 9 事例（政令市での 2 事例の発生を除く）の患者糞便 106 件、調理従事者糞便 84 件、原因食品（推定食品を含む）37 件、原因施設調理場内の拭き取り材料 18 件を調査対象とした。

また、血液型別による発症者の調査は仕出し屋で調理された給食弁当を喫食し、食中毒と診断された 215 名中 121 名（男性 121 名、女性 39 名）の協力を得てまとめた。

感染源、感染経路を究明するための調査として、NVs 感染が確認された食中毒事例の患者糞便 7 件、吐物 5 件、調理従事者（非発症者）糞便 14 件を用いた。

また、輸入魚介類の調査は、2001 年 11 月～2003 年 1 月の期間に千葉市内に輸入され、

千葉県保健所で購入した赤貝 29 件、ハマグリ 20 件、タイラ貝 7 件、カキ 4 件、エビ 3 件、アオヤギ 1 件およびアサリ 1 件、計 65 検体の各腸内容物を検査対象とした。

各検査材料の前処理、RNA 抽出は、本研究班のマニュアルに従って実施した。

NVs 遺伝子の検出に使用したプライマーは、キャプシド領域を増幅する G I /G II・COG/FR、G I /G II・SKF/SKR を用い RT-PCR を行った。

HAV 遺伝子の検出に使用したプライマーは、本研究班の主任研究者（西尾ら）が設定した HAV + 2795/HAV - 3351 (1st PCR)、HAV + 2903/HAV - 3296 (Nested PCR) で行った。

HEV 遺伝子の検出に使用したプライマーは、2000 年に Sonia らが Journal of Hepatology に報告している First PCR を 5687 d 5' -AAYTATGCMCAGTACCGGTTG-3' /6417R 5' -CCCTTATCCTGCTGAGCATTCTC-3' を 5972d5

-GTYATGYTYTGCATACATGGCT-3

/6319Rd5' -AGCCACGAAATYAATTCTGTC

3' で Nested PCR を行った。

リアルタイム PCR での NVs、HAV ウイルスの検出および定量は、cDNA を作成し、国立感染症研究所、愛媛県立衛生環境研究所および神奈川県衛生研究所に依頼した。

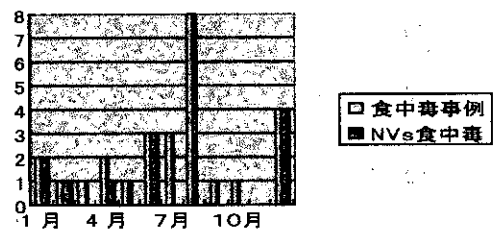
検出された遺伝子産物の解析は、国立感染症研究所（西尾治、研究班主任研究者）に依頼した。

C. 研究結果

1. 静岡県における食中毒の発生状況

2002 年 1 月から 12 月の期間に、静岡県内では 27 事例の食中毒事例が発生しており、その内 11 事例 (40.7%) が NVs により発生していることが確認され、病因物質別の内訳で第 1 位を占めた(図 1)。

図 1 静岡県内の食中毒の発生状況

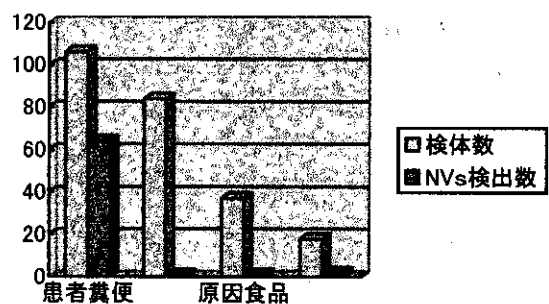


2. 食中毒事例における NVs 遺伝子の検出状況

NVs による 11 事例の食中毒事例のうち、2 事例が政令市、浜松市) で確認されたもので、9 事例の患者・調理従事者糞便、原因食品 (推定食品) および拭き取り材料を対象に、RT-PCR 法による検出を試みた。

食中毒 9 事例の患者糞便 106 検体中 64 検体 (60.4%)、調理従事者糞便 84 検体中 1 検体 (1.2%)、原因食品 37 検体中 1 検体 (2.7%)、拭き取り材料 18 検体中 2 検体 (11.1%) から NVs 遺伝子が検出された (図 2)。

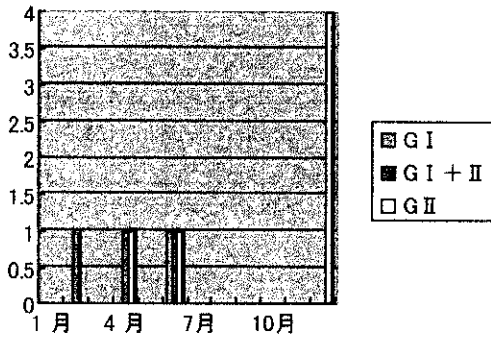
図 2 食中毒事例の各検査材料からの NVs 遺伝子の検出状況



3. 食中毒事例から検出された NVs 遺伝子の型および遺伝子解析

9 事例から検出された NVs 遺伝子の型別についてみると、1 事例が Genogroup I、3 事例が Genogroup I + Genogroup II の混在、5 事例が Genogroup II で発生していた(図 3)。

図3 食中毒事例から検出された NVs 遺伝子の型別



4. 食中毒事例から検出された NVs 遺伝子の解析およびウイルス量

5 事例の患者糞便、原因食品および拭き取り材料から検出された NVs 遺伝子の解析およびウイルス量を表1に示した。

Genogroup I に属する Southampton/91/UK、Genogroup II に属する SMV/76/US、Lordsdale/93/UK、MX/89/Mexico が検出された。

表1 食中毒事例から検出された NVs 遺伝子の解析およびウイルス量

事例	検出材料	遺伝子型	ウイルス量
1	患者糞便	SMV	
	マカロニサラダ	SMV	8.8×10^3 copies/g
	トイレの取っ手	SMV	9.3×10^4 copies/g
2	患者糞便	Lordsdale	
	排水溝	Lordsdale	1.1×10^6 copies/g
3	患者糞便	Lordsdale	
4	患者糞便	MX	
5	患者糞便	Southampton	

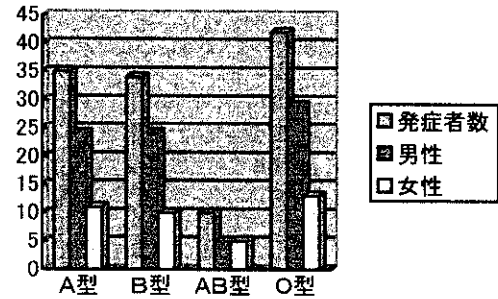
5. NV 感染者（発症者）の血液型

給食センターで調理された給食弁当を喫食し、喫食者 2,462 名中 215 名（発病率 8.8%）の NV (Lordsdale/93/UK) による食中毒事件で発症者の 121 名（男性 82 名、女性 39 名）の血液型を調査した。

発症者 121 名の型別は、O 型 42 名 (34.7%)、A 型 35 名 (28.9%)、B 型 34 名 (28.1%)、A B 型 (8.3%)、また、性別では、男性 82 名中、

O 型 29 名 (35.4%)、A 型・B 型の 24 名 (29.3%)、A B 型 (6.0%)、女性の 39 名中、O 型 13 名 (33.4%)、A 型 11 名 (28.2%)、B 型 10 名 (25.61%)、A B 型 5 名 (12.8%) であった (図 4)。

図4. NV 感染者（発症者）の血液型



6. 食中毒事例の患者糞便・吐物および調理従事者（非発症者）から排泄されるウイルス量

食中毒の発病初期に採取された患者糞便 7 件、吐物 5 件、食中毒の原因施設と断定された調理従事者（非発症者）の糞便 14 件を患者発生時から継続的に採取し、NVs のウイルス排泄量を調査したところ、患者の糞便・吐物では、 $1.3 \times 10^4 \sim 2.8 \times 10^9$ copies/g、調理従事者便で 3 日後で $6.4 \times 10^4 \sim 1.1 \times 10^7$ copies/g、8～9 日後で $6.0 \times 10^3 \sim 9.61 \times 10^4$ copies/g、13～15 日後で $9.0 \times 10^4 \sim 9 \times 10^7$ copies/g の範囲であった (表 2)。

表2 食中毒患者便・吐物および調理従事者便（非発症者）から排泄されるウイルス量

由来	発病後の日数						
	1～5		6～9		10～15		
	10^4	10^3	$>10^6$	10^3	10^4	10^4	$10^5 \sim 6$
患者便		5		2			
吐物		5					
従事者便	4	2	2	1	2	1	2

7. 輸入食品の検査状況 (RT-PCR 法)

2001 年 11 月から 2003 年 1 月の期間に、中国、韓国、北朝鮮、タスマニアから輸入された、赤貝 29 検体、ハマグリ 20 検体、タイラ貝 7 検体、カキ 4 検体、エビ 3 検体、アオヤギ 1 検体