

2) 市販豚レバー、野生鹿からの HEV の  
検出状況

2003 年 8 月に、県内で飼育され市販さ  
れていた豚レバー10 件、2003 年 9 月～

2004 年 1 月の期間に野生鹿を捕獲し、  
-20℃に冷凍保存されていた鹿肉、鹿レバー  
9 件の一部を採取し、RT-PCR 法で試み  
たが HEV は検出されなかった。(表 3)

表3 市販豚レバー、野生鹿からのHEVの検出状況

種 類	検体採取月日	産 地	検 査 対 象	検 査 数	HEV RT-PCR	
					1st PCR	Nested PCR
養殖豚	2003. 8	静 岡	肝臓	10	—	—
野生鹿	2003. 9	静 岡	肉	2	—	—
野生鹿	2003. 9	静 岡	肝臓	2	—	—
野生鹿	2004. 1	静 岡	肝臓	5	—	—

3) 健康者、小児胃腸炎患者からの NV  
の検出状況

2003 年 8 月～2004 年 2 月の期間に、一  
地域の 10 ヶ所の食品営業施設従事者の糞  
便を毎月同一の 50 名から採取し、NV の  
検出を行ったが、7 ヶ月の期間、50 名の  
392 検体の健康者から NV は検出されな  
かった。同時期、小児科の胃腸炎患者糞便  
154 件の NV 検査を行ったところ、154 検

体中 17 検体 (11.0%) から NV が検出さ  
れた。(表 4、表 5)

検出された遺伝子型は Genogroup II に  
属する Mexico 類似株 4 株、Lordsdale 類  
似株 5 株を確認した。(図 1)

また、NV が確認された患者から排泄さ  
れたウイルス量は、 $1.0 \times 10^4 \sim 2.5 \times 10^9$   
copy/g の範囲で確認された。(表 6)

表4 健康者、小児胃腸炎患者の検査材料

	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	1 月	2 月	計
健康者	49	49	50	50	48	49	47	342
小児胃腸炎患者	11	24	33	24	26	25	11	154

表5 RT-PCR 法およびリアルタイム PCR 法によるNVの検出状況

検査材料	検査数	RT-PCR		リアルタイム PCR	
		G I	G II	G I	G II
健康者	342	0	0	0	0
小児胃腸炎患者	154	0	17	0	17

表6 NV のウイルス量と遺伝子型

月	NV 陽性数	遺伝子型	ウイルス量(copy/g)
8	0		
9	0		
10	2	Lordsdale(2)	$10^4(1)$ 、 $10^9(1)$
11	2	Lordsdale(2)	$10^4(1)$ 、 $10^8(1)$
12	4	Lordsdale(1) Mexico(1)、NT(2、G II)	$10^4(2)$ 、 $10^7(2)$ 、
1	8	Mexico(3)、NT(5、G II)	$10^4(2)$ 、 $10^7(2)$
2	1	NT(1、G II)	

#### D. 考 察

輸入食品の安全性の評価を行うため、本年度も継続して輸入魚介類から NV、HAV、HEV の検出を試みた。検査材料は中国、韓国、北朝鮮、ベトナム、フィリピン、インドネシア、ロシアなどの7ヶ国から輸入された赤貝、ハマグリ、タイラ貝、ブラックタイガーなどの4種類の魚介類について行い、赤貝、タイラ貝、ブラックタイガーの3検体(5.0%)からNVが検出された。検出されたNVは全て Genogroup II 型であり、ウイルス量はブラックタイガーが 24copies/g、赤貝が 113copies/g であり、汚染ウイルス量としては特に多いもので

はなかった。

今回、NV が検出された魚介類はいずれも冬期に輸入されたものであったが、平成13~14年度の調査では冬期に限らず検出され、また、これら輸入食品は通年で流通しており、少数ではあるが本年度もウイルスが検出されたため、今後も季節を問わず一年を通して輸入食品のウイルス汚染の監視が必要である。また、輸入生鮮魚介類はウイルス汚染の危険性も高く、加熱して食するようにすると共に、これらの食品の調理は一番最後に行い、調理後は直ちに調理台をはじめ、周りを消毒するようにすることが必要である。

また、HEV 調査を市販豚レバー10 検体、野生鹿 9 検体について行ったが、検出はされなかった。今後は地域差、調査対象数などを検討し、詳細把握していきたい。

ヒトにおける流行期以外のNV 汚染の実態を把握するため、2003 年 8 月～2004 年 2 月の期間に、県内の一地域の健康者（調理調理者）、小児胃腸炎患者からの NV 検出を試みた。その結果、10 月の小児胃腸炎患者から Mexico 類似株、Lordsdale 類似株が検出され、これらの遺伝子型は、県内の集団事例患者糞便からも確認された。NV が冬季流行シーズン前に小児科領域の胃腸炎患者から確認されたことは、小児科領域の胃腸炎患者に感染しているウイルスが食中毒、感染症の発生に関与していることが示唆され、小児科領域の胃腸炎患者ふん便が地域における食中毒、感染症の健康被害を防止する情報提供の資料として活用できるものと考えられた。

#### E. まとめ

輸入魚介類はNV が 5.0%から検出され、HAV および HEV は検出されなかった。

市販豚レバー、野生鹿から HEV は検出されなかった。

小児胃腸炎患者から検出された遺伝子型が、県内の集団事例患者ふん便からも確認され、小児科領域の胃腸炎患者発生にともない、その地域で食中毒、感染症の集団発生が起こるので、小児科領域でのノロウイルスによる胃腸炎の発生がその地域での健康被害を防止するための情報提供の資料として活用できるものと考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

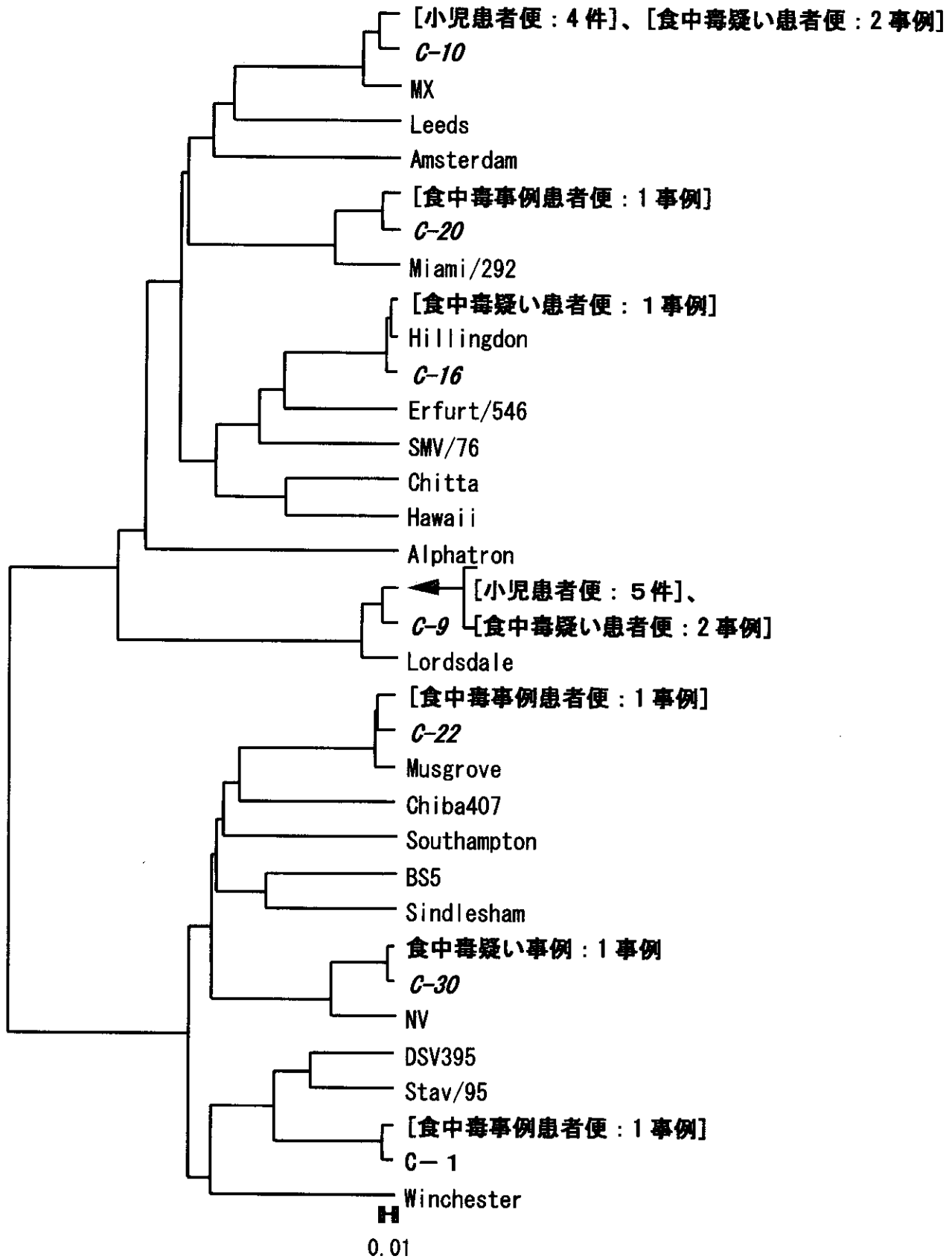
- 1) 杉枝正明、新川奈緒美、大瀬戸光明、徳竹由美、山口 卓、秋山美穂、西尾 治: Norovirusu 感染により排泄されるウイルス量について. 臨床とウイルス, **32**(2): 51-56(2004)印刷中
- 2) 杉枝正明、古屋由美子、大瀬戸光明、新川奈緒美、田中俊光、長谷川斐子、秋山美穂、西尾 治: 輸入生鮮魚介類におけるノロウイルス汚染状況. 病原微生物検出状況報, **24**(12): 9-10(2003)

##### 2. 学会発表

- 1) 杉枝正明、新川奈緒美、大瀬戸光明、徳竹由美、山口 卓、秋山美穂、西尾 治: Norovirus 感染により排泄されるウイルス量について. 第 44 回日本臨床ウイルス学会、鹿児島市、2003、6 月
- 2) 杉枝正明、古屋由美子、大瀬戸光明、藤本嗣人、新川奈緒美、田中俊光、山口 卓、長谷川斐子、西尾 治: 輸入生鮮魚介類におけるウイルス汚染状況について. 第 51 回日本ウイルス学会、京都、2003、10 月
- 3) 神田 隆、杉枝正明、乾あやの、秋山美穂、西尾 治: 胃腸炎患者および健康人からの Norovirus の検出について. 第 45 回日本臨床ウイルス学会、大阪、2004、6 月

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



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

作成ソフト : GENETYX-MAC Ver11 : 系統樹 : UPGMA 法

図 1 検出されたノロウイルスの分子系統樹

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）

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調査・研究

研究協力者 横浜市衛生研究所 宇宿 秀三  
 千葉市環境保健研究所 田中 俊光  
 国立感染症研究所 長谷川 斐子、阿部 陽子、齋藤 利江  
 愛木 智香子、秋山 美穂  
 主任研究者 国立感染症研究所 西尾 治

**研究要旨**

輸入食品のウイルス汚染状況を把握し、安全性の評価を行うため、RT-PCR 法とリアルタイム PCR 法でノロウイルス（NV）と A 型肝炎ウイルス（HAV）の検出を試みた。中国、韓国、北朝鮮、ベトナム、フィリピン、インドネシアの計 5 カ国から輸入された生鮮魚介類 94 検体中 14 検体（14%）が NV に汚染されていた。NV 陽性は韓国産のアカガイ、タイラギ、北朝鮮産のアカガイ、中国産のアカガイ、シジミ、ハマグリであった。HAV および組織培養によるウイルス分離は全て陰性であった。

**A. 研究目的**

輸入生鮮魚介類のウイルス汚染状況を調査し、食品の安全性を確保するための基礎データの蓄積を目的とした。

**B. 調査対象**

2003 年 3 月～2004 年 3 月の間に、愛知県と千葉市に輸入された生鮮魚介類 94 検体を検査対象とした。表 1 に原産国と種類別の検査件数を示した。

表 1. 種類および原産国別検査件数

	中国	韓国	北朝鮮	フィリピン	インドネシア	ベトナム	合計
アカガイ	25	13	5	0	0	0	43
ハマグリ	37	0	2	0	0	0	39
タイラギ	1	4	0	0	0	0	5
ブラックタイガー	0	0	0	2	1	1	4
シジミ	2	0	0	0	0	0	2
アサリ	0	1	0	0	0	0	1
合計	65	18	7	2	1	1	94

### C. 検査方法

貝類からのウイルスの濃縮、RNA 抽出：

貝類は3個の中腸腺を、エビ類200gのエビ類の腸管を取り出しホモジナイズした後、10%乳剤とし、10,000rpm20min 遠心後の上清を超遠心法またはポリエチレングリコールによる濃縮方法にて濃縮し、RNA 抽出に用いた。RNA 抽出はQIAamp Viral RNA Mini キット(QIAGEN)を用い、抽出 RNA は DNase I 処理後、random hexamer (Amersham Pharmacia) を用いて Super Script II RT(Invitrogen)で逆転写し、cDNA を合成した。

NV の検出：

リアルタイム PCR 法および RT-PCR 法で NV の検出を行った。リアルタイム PCR 法のプライマーは G1 では COG1F/COG1R、G2 では COG2F/ALPF/COG2R を用い、プローブは Taq Man プローブ(ABI)で G1 は RING1-TP(a)と RING1-TP(b)、G2 は RING2AL-TP を用いた。RT-PCR は、カプシド領域のプライマーを用いて行った。

HAV の検出：

リアルタイム PCR 法および RT-PCR 法で HAV の検出を行った。リアルタイム PCR 法のプライマーは HAV449 プライマーと HAV557 プライマーを用い、プローブは Taq Man プローブ(ABI)で HAV+482-P-FAM を用いた。

RT-PCR は、HAV2799/3273、及び HAV2907/3162 プライマーを用いて実施した。

シークエンス：

RT-PCR 法で増幅された PCR 産物は、ダイレクトシークエンス (ABI PRISM 310NT Genetic Analyzer) で塩基配列を決定した。塩基配列が決定できたものは、標準株を用

いて系統樹解析を行った。

### D. 結果

RT-PCR 法とリアルタイム PCR 法により、94 検体中 14 検体 (14%) から NV が検出され、HAV は 94 検体全て陰性であった。

NV が検出された魚介類の 14 検体は、韓国産アカガイ (2 検体)、タイラギ (2 検体)、北朝鮮産アカガイ (1 検体)、中国産アカガイ (1 検体)、シジミ (1 検体)、ハマグリ (7 検体) であった。月別 NV 汚染状況を表 2 に示した。最も汚染率の高い月は、5 月で 10 検体中 4 件 (40%)、次いで 4 月の 10 検体中 3 件 (30%) が陽性であった。

種類別 NV 汚染状況を表 3 に示した。種類別の汚染はシジミ 2 件中 1 件 (50%)、タイラギ 5 件中 2 件 (40%)、ハマグリ 39 件中 7 件 (18%)、アカガイ 43 件中 4 件 (9%) であった。

国別 NV 汚染状況を表 4 に示した。汚染率の高かった国は韓国の 18 件中 4 件 (22%)、次いで北朝鮮 7 検体中 1 検体 (14%) と中国の 65 検体中 9 検体 (14%) であった。インドネシア、フィリピン、ベトナムはいずれもブラックタイガーであったが、NV は検出されなかった。

更に、RT-PCR 陽性検体についてシークエンスを行った結果、遺伝子型が決定されたものは、G1 に属する C-23 類似株 1 検体、G2 に属する C-9 類似株 2 検体と C-10 類似株 2 検体であった。組織培養によるウイルス分離を試みたが、すべて陰性で、エンテロウイルスおよびポリオウイルスは分離されなかった。

表 2 : H15 年度 4 月～16 年度 3 月の輸入食品月別ノロウイルス汚染状況

月	検体数	NV 陽性数 (%)	G1 陽性数 (%)	G2 陽性数 (%)	検出された 遺伝子型
4 月	10	3(30)	3(30)	1(10)	C-10
5 月	10	4(40)	3(30)	1(10)	C-9,C-10,C-23
6 月	10	1(10)	0	1(10)	
7 月	5	1(20)	0	1(20)	
8 月	11	2(18)	1(9)	1(9)	
9 月	11	1(9)	0	1(9)	C-9
10 月	5	0	0	0	
11 月	6	0	0	0	
12 月	6	0	0	0	
1 月	10	1(10)	0	1(10)	
2 月	4	0	0	0	
3 月	6	1(17)	1(17)	0	
合計	94	14(15)	8(9)	7(7)	

表 3 : H15 年度 4 月～16 年度 3 月の輸入食品種類別ノロウイルス汚染状況

種類	検体数	NV 陽性数 (%)	G1 陽性数 (%)	G2 陽性数 (%)	検出された 遺伝子型
アカガイ	43	4(9)	2(5)	3(7)	C-9,C-10,C-23
ハマグリ	39	7(18)	4(10)	3(8)	C-9,C-10
タイラギ	5	2(40)	2(40)	0	
ブラックタイガー	4	0	0	0	
シジミ	2	1(50)	0	1(50)	
アサリ	1	0	0	0	
合計	94	14(15)	8(9)	7(7)	

表4：H15年度4月～16年度3月の輸入食品国別ノロウイルス汚染状況

国	検 体 数	NV 陽性数 (%)	G1 陽性数 (%)	G2 陽性数 (%)	種類	検 体 数	NV 陽性数 (%)	G1 陽性数 (%)	G2 陽性数 (%)	検出された 遺伝子型
インドネシア	1	0	0	0	ブラックタイガー	1	0	0	0	
韓国	18	4(22)	4(22)	1(6)	赤貝	13	2(11)	2(11)	1(6)	C-10,C-23
					アサリ	1	0	0	0	
					タイラギ	4	2(11)	2(11)	0	
北朝鮮	7	1(14)	0	1(14)	赤貝	5	1(14)	0	1(14)	
					ハマグリ	2	0	0	0	
中国	65	9(14)	4(6)	5(8)	赤貝	25	1(2)	0	1(2)	C-9
					シジミ	2	1(2)	0	1(2)	
					タイラギ	1	0	0	0	
					ハマグリ	37	7(11)	4(6)	3(5)	C-9,C-10
フィリピン	2	0	0	0	ブラックタイガー	2	0	0	0	
ベトナム	1	0	0	0	ブラックタイガー	1	0	0	0	
合計	94	14(15)	8(9)	7(7)						

#### Ⅴ.考察およびまとめ

2003年3月から2004年3月の間に94検体の輸入生鮮魚介類のウイルス汚染状況を調査した結果14%がNVに汚染されていた。このことは生鮮魚介類を介してわが国にノロウイルスが侵入してきていることを示している。種類別ではアカガイ、ハマグリ、タイラギ、シジミの二枚貝から検出されたことから、東南アジアからの二枚貝は十分加熱して、食することが重要であると思われる。

月別の汚染状況では春先から夏にかけて、高率に検出されたのでこの時期には特に注意することが必要である。しかし、貝類では冷凍されたものも輸入されており、この点を考慮すると年間を通して感染する危険性があるので、常に注意すべきであると考えられる。

NVの遺伝子型の分布については、G1が8例、G2が7例とほぼ同率で、決定されたGenotypeは、C-23類似株1検体、国内では検出されていない株であり、輸入食品を介して新しい遺伝子型のNVが国外より侵入していることが示された。これら新しい遺伝子型の病原性を含めた消長について継続して追跡する必要があると考える。

C-9類似株とC-10類似株はわが国の乳幼児下痢症患者から多く検出されており、この遺伝子型はアジア全域に存在していると推察された。

HAVは今年度の検体からは検出されなかったが、過去には輸入食品によるHAVの集団発生が起きていること、さらにわが国では毎年600人以上のA型肝炎患者は感染源不明で、この中には輸入魚介類によって発生しているものが相当数含まれていると



推察されるものの、A 型肝炎は潜伏期が平均 1 ヶ月と長いために、感染源の究明が極めて困難で、原因不明となっているのが現状である。今後も輸入食品による A 型肝炎を引き続き監視する必要があると考える。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Nishida T, Kimura H, Saitoh M, Shinohara M, Kato M, Fukuda S, Munemura T, Mikami T, Kawamoto A, Akiyama M, Kato Y, Nishi K, Kozawa K, Nishio O: Detection, quantitation, and phylogenetic analysis of noroviruses in Japanese oysters. *Appl Environl Microbiol.* 69(10):5782-5786, 2003

Yan H, Yagyū F, Okitsu S, Nishio O, Ushijima H: Detection of norovirus (GI, GII), sapovirus and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. *J Virol Methods.* 114:37-44, 2003

原みゆき、古屋由美子、片山丘、今井光信：ウイルス性食中毒の発生状況（平成 14 年度）、神奈川県衛生研究所研究報告、33：80-82、2003

藤本嗣人、近平雅嗣、秋山美穂、西尾治：ノロウイルス検査における RNA 抽出コントロールとしてのエコーウイルス 9 型 Hi11 株の適用について、兵庫県立健康環境科学研究センター年報、2：107-110、2003

### 2. 学会発表

新川奈緒美、秋山美穂、西尾治：吐物による感染が推察された Norovirus 集団胃腸炎事例、第 44 回臨床ウイルス学会、2003 年 6 月 26-27 日、鹿児島

杉枝正明、新川奈緒美、大瀬戸光明、西尾治：Norovirus 感染により排泄されるウイルス量について、第 44 回臨床ウイルス学会、2003 年 6 月 26-27 日、鹿児島

森伸生、砂川富正、多屋馨子、谷口清州、西尾治、岡部信彦：2002 年に感染症発生動向調査へ報告された A 型肝炎のまとめ、第 44 回臨床ウイルス学会、2003 年 6 月 26-27 日、鹿児島

新川奈緒美、吉澄志磨、福田伸治、西香南子、杉枝正明、古屋由美子、三上稔之、西田知子、牛島廣治、秋山美穂、岡部信彦、西尾治：全国各地で発生したノロウイルス (NV) による食中毒事例について、第 51 回日本ウイルス学会、2003 年 10 月 27-29 日、京都

西田知子、野田衛、三上稔之、篠原美千代、春木孝祐、大瀬戸光明、秋山美穂、西尾治：市販生食用カキのノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルス汚染状況、第 51 回日本ウイルス学会、2003 年 10 月 27-29 日、京都

西香南子、福田伸治、篠原美千代、大瀬戸光明、植木洋、西尾治：カキ及び養殖海域の NV 汚染調査とカキ筏における水平垂直分布調査、第 51 回日本ウイルス学会、2003 年 10 月 27-29 日、京都

杉枝正明、古屋由美子、大瀬戸光明、藤本  
嗣人、新川奈緒美、田中俊光、山口卓、長  
谷川斐子、西尾治：輸入生鮮魚介類におけ  
るウイルス汚染状況について、第51回日本  
ウイルス学会、2003年10月27-29日、京  
都

平成 15 年度 厚生労働科学研究費補助金(食品安全確保研究事業)

分担研究報告書

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 検査法の評価、食品のウイルス汚染状況調査・研究

分担研究者：春木孝祐（大阪市立環境科学研究所）

協力研究者：勢戸祥介（大阪市立大学大学院医学研究科）

入谷展弘（大阪市立環境科学研究所）

研究要旨

2002 年 4 月から 2004 年 3 月までの期間で 66 事例の患者ふん便材料からノロウイルス (NV) を検出した。胃腸炎事例から検出された NV の遺伝子型は 1 シーズンで少なくとも 11～15 種類認められ、NV 流行の多様性が示された。平成 14 年度は C-16 NV、平成 15 年度は C-9 NV が最も多く検出され、シーズンによって多く検出される NV の遺伝子型が異なっていた。

市販生カキ 77 ロットについて NV および A 型肝炎ウイルス (HAV) の検索を行った。NV は 13 ロットから検出され、生食用や加熱調理用に関係なく一定の割合で汚染が認められた。HAV は 1 ロットから検出されたが、カキ 1 個あたり 3 コピーとわずかな量であった。

A. 研究目的

ヒトにおけるノロウイルス (NV) の流行実態を明らかにするために非細菌性食中毒事例の患者ふん便、調理従事者ふん便、原因食品について NV の検索を行った。

市販されている生カキのウイルス汚染実態を明らかにするために市販の生食用および加熱調理用の生カキについて NV および A 型肝炎ウイルス (HAV) の検索を行った。

B. 研究方法

1) 検査材料

2002 年 4 月から 2004 年 3 月現在までの期間に当研究所へ検査依頼のあったウイルス性食中毒が疑われた 90 事例の患者ふん便 372 検体、調理従事者ふん便 271 検体および食品 94 検体を用いた。

市販生カキは 2002 年 10 月から 2003 年 3 月および 2003 年 10 月から 12 月に購入または収去した生食用カキ 63 ロッ

トおよび加熱調理用カキ14ロットをNVおよびHAVの検索に用いた。市販生カキは1ロットにつき、カキ3個を個別に検査し、すべて陰性の場合、そのロットは陰性とし、1個以上のカキからウイルスが検出された場合、そのロットは陽性とした。市販生カキの産地は生食用カキが広島県産37ロット、兵庫県産11ロット、宮城県産9ロット、岡山県産3ロット、三重県産3ロット、加熱処理用カキは広島県産14ロットであった。

## 2) NV および HAV の検出

NVはKageyamaら(J. Clin. Microbiol. 41, 1548-1557, 2003)のリアルタイムPCR法を用いて行った。検査結果の実測値が10コピー未満の場合は、再度リアルタイムPCRおよびnested-PCR(1st PCR: COG1F/G1SKR、COG2F/SKG2R、2nd PCR: G1SKF/R、G2SKF/R)を行い判定した。

HAVは西尾らのリアルタイムPCR法(病原微生物検出情報月報 23, 274, 2002)およびV. Afaire-Marchaisらのnested PCR法(Mol. Cell. Probes 8, 117-124, 1994)を用いて行った。

## 3) NV 遺伝子の遺伝子型別

NV陽性事例について、同事例で複数のNV陽性検体があった場合、少なくとも2検体以上についてKojimaら(J. Virol. Methods 100, 107-114,

2002)のSKプライマーを用いてPCRを行い、塩基配列を決定した。得られたNVの塩基配列の遺伝子型別は、研究班標準株の塩基配列(C-1~C-35)と共にClustal Xを用いてアライメントした後、Kimuraの2パラメーター法で遺伝的距離を算出し、近隣接合(NJ)法にて分子系統樹を作成して行った。分子系統樹の樹型はブートストラップを1,000回行い検定した。

## C. 研究結果

### 1) NV 胃腸炎事例の発生状況

表1にNVが検出された事例の概要および検査結果を示した。患者便が搬入された83事例中66事例(79.5%)からNVが検出された(平成14年度31事例、平成15年度35事例)。NV陽性66事例は、GI NVが8事例、GII NVが46事例、GI・GII NVの混合が12事例であった。NV陽性事例患者ふん便からは372検体中263検体(70.7%)でGI NVのみ18検体、GII NVのみ224検体、GI NVおよびGII NV混合21検体であった。39事例のNV陽性事例から調理従事者ふん便が搬入され、16事例44検体からNVが検出された。NV陽性事例12事例から原因究明のため食品が94検体搬入され、1検体からNVが検出された。食品からNVが検出されたのは事件番号OC04014において検査を行った社員食堂給食35検体のうち、「オクラのおかか和え」から

であり、418 コピー/g の GII NV が検出された。

## 2) 市販生カキのウイルス汚染状況

市販生カキからの NV 検査結果は、表 2 および表 3 に示した。平成 14 年度では生食用カキ 35 ロット中 7 ロット (20.0%) から GII NV が検出された (12 月: 4 ロット、1 月: 1 ロット、2 月: 2 ロット)。加熱調理用カキでは 11 ロット中 4 ロット (36.4%) から NV が検出された (12 月: 1 ロット/GI NV、1 月: 1 ロット/GI NV および GII NV の混合、2 月: 1 ロット/GII NV、3 月: 1 ロット/GII NV)。NV 陽性となったカキはすべて広島県産であった。カキ 1 個あたりの NV 汚染量 (NV 遺伝子コピー数) は、生食用カキで 71~589 コピー、加熱調理用カキで 36~518 コピーであった。HAV は 12 月に販売されていた広島県産生食用カキ 1 ロットから検出され、カキ 1 個あたりの HAV 汚染量は 3 コピーとわずかな量であった。

平成 15 年度では生食用カキ 28 ロット中、12 月に採取された広島県産 2 ロットから GII NV が検出された。カキ 1 個あたりの NV 汚染量は、約 1,000 コピーであった。HAV は検出されなかった。

## 3) 検出された NV 株の遺伝子型別

今回遺伝子型別を行ったすべての NV 株は、分子系統樹上でいずれかの標準株

と共にクラスターを形成していた。それらのクラスターはブートストラップ値が 993 以上で統計的にも支持されており、明確に遺伝子型別できた。また塩基配列の相同性においても同じクラスター内では、約 90%以上の相同性を示した。

図 1 に検出された NV の遺伝子型を示した。平成 14 年度において GI NV が検出された事例は、C-3 (Winchester) が 2 事例、C-6 (Chiba) が 1 事例、C-7 (SzUGI) が 1 事例であった。GII NV が検出された事例は、C-16 (Hillingdon) が 5 事例、C-10 (Toronto) が 3 事例、C-20 (Seacroft) が 3 事例、C-9 (Bristol) が 2 事例、C-18 (Amsterdam) が 2 事例、C-31 (KU82GII) が 1 事例、C-13 (Chitta) が 1 事例であった。複数の遺伝子型が混在していた事例は 9 事例であった。複数の遺伝子型が混在していた 9 事例のうち 5 事例に C-16 NV が含まれており、最も多く検出されたのは C-16 であった (32.3%)。C-16 NV が検出された 10 事例のうち 9 事例は、かきの喫食が疑われた事例であった。平成 14 年度に検出された NV の遺伝子型は少なくとも 15 種類 (GI: 6 種類、GII: 9 種類) 認められた。

平成 15 年度において GI NV が検出された事例は、C-6 が 2 事例、C-30 (NV/68) が 1 事例、C-1 (KU19aGI) が 1 事例であった。GII NV が検出された事例は、C-9 が 10 事例、C-10 が 4 事例、C-16 が 4

事例、C-15 (Melksham) が 4 事例、C-14 (Hawaii) が 1 事例、C-20 が 1 事例であった。複数の遺伝子型が混在していた事例は 7 事例であった。複数の遺伝子型が混在していた 7 事例のうち 3 事例に C-9 NV が含まれており、最も多く検出されたのは C-9 であった (37.1%)。平成 15 年度に検出された NV の遺伝子型は少なくとも 11 種類 (GI : 3 種類、GII : 8 種類) 認められた。

市販生カキから検出された NV の中で、遺伝子型別できたのは 7 株であった。平成 14 年度に検出された 5 株は 5 種類の遺伝子型に分類された (C-9・11・18・20・30)。平成 15 年度に検出された 2 株ともに C-10 に分類された。

#### D. 考察

平成 14 年度は、31 事例中 17 事例 (54.8%) がカキの喫食を伴う事例であった。特に C-16 NV の検出された事例のうち 9 事例はカキの喫食を伴う事例であり、カキと C-16 NV が特に関連していたことが示唆された。

平成 15 年度は NV 流行が、例年に比べて早い 11 月から始まり、カキの喫食を伴わない事例が多いことが特徴として認められた。調理従事者からの食品汚染や施設内流行など他の感染経路によって発生する場合が増えてきている事が示唆された。事件番号 0C04014 では、検査を行った推定原因食品のうち 1 検体

(オクラのおかか和え) から GII NV が検出された。本事例では、調理従事者 31 人中 11 人からも GII NV が検出されており、そのうち 8 人は患者と同程度の量の NV が検出された。また患者と調理従事者から検出された NV の遺伝子型は C-9 であり、塩基配列も 100%一致していた。NV が検出された原因食品は nested PCR では陰性であったため、塩基配列を決定することはできなかった。今回の事例は社員食堂の給食であるため共通食が多く、喫食調査等の疫学情報からは、「オクラのおかか合え」のみに原因食品を特定できなかった。以上のことから本事例は調理従事者によって幅広く食品が汚染されて発生した事例であると考えられた。

検出された NV 株の遺伝子型別を行ったところ、平成 14 年度は C-16 が最も多く検出され (32.3%)、C-9 は少なかった。しかし、平成 15 年度は C-9 が最も多く検出され (37.1%)、C-16 は少なかった。シーズンによって多く検出される遺伝子型が変化している可能性が示唆された。また検出された NV の遺伝子型は平成 14 年度に 11 種類、平成 15 年度に 15 種類であり、多くの種類の NV が混在して流行していることが判明した。

市販生カキから NV が検出されたのは 12 月から 3 月であり、カキの喫食に伴う NV 食中毒が発生していた時期と同時期であった。またカキの NV 汚染率や汚

染量は、年や月によって変動していた。一般に流通している生カキは生食用や加熱調理用に関係なく、NV 汚染が一定の割合で認められたため、今後も NV 食中毒の感染源として十分注意していく必要がある。1 ロットではあるが微量な HAV 汚染が市販生カキに確認されたことから、カキにおける HAV 汚染の自体調査および監視も NV と共に行う必要があると考えられた。

#### E. まとめ

- ・胃腸炎事例から検出された NV の種類は 1 シーズンで少なくとも 11~15 種類認められた。
- ・シーズンによって多く検出される NV の遺伝子型が異なっていた。
- ・市販生カキの NV 汚染は生食用や加熱調理用に関係なく、一定の割合で認められた。
- ・市販生カキから微量であるが HAV 汚染が認められた。

#### F. 研究発表（平成 15 年度分）

##### 1) 論文発表

○Iritani N, Seto Y, Kubo H, Murakami T, Haruki K, Ayata M, Ogura H: Prevalence of norwalk-like virus

Infections in cases of viral gastroenteritis among children in Osaka City, Japan, Journal of Clinical Microbiology, 41, 1756-1759 (2003)

○入谷展弘、久保英幸、勢戸祥介、春木孝祐、西尾 治、武田直和、村上 司、簗城昇次、改田 厚、綾田 稔、小倉 壽：平成 14 年度に大阪市で検出されたノーウォークウイルスの遺伝子型別、大阪市立環境科学研究所報告 調査・研究年報、65、29-37 (2003)

○西田知子、野田 衛、三上稔之、篠原美千代、春木孝祐、大瀬戸光明、加藤由美子、秋山美穂、西尾 治：市販生食用カキのノロウイルス汚染状況、病原微生物検出情報、24、317 (2003)

○勢戸祥介、入谷展弘、小倉 壽：ウイルスによる食中毒、医薬ジャーナル、39、1457-1461 (2003)

○入谷展弘、勢戸祥介：ノロウイルス感染症、生活衛生、47、344-349 (2003)

##### 2) 学会発表

○勢戸祥介、入谷展弘、久保英幸、春木孝祐、名取克郎、武田直和、綾田 稔、小倉 壽：Alphatron type NV について、衛生微生物技術協議会第 24 回研究会 (2003.7)

○入谷展弘、久保英幸、勢戸祥介、春木孝祐、西尾 治、武田直和、村上 司、簗城昇次、改田 厚、綾田 稔、小倉 壽、：平成 14 年度に検出された Norwalk virus のプローブ型別および遺伝子型別、平成 15 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会総会 (2003. 9)

○入谷展弘、久保英幸、勢戸祥介、春木孝祐、村上 司、改田 厚、綾田 稔、小倉 壽：小児急性胃腸炎患者から検出されたノーウォークウイルスの分子疫学的解析、第 51 回日本ウイルス学会 (2003. 10)

○勢戸祥介、入谷展弘、久保英幸、改田厚、春木孝祐、西尾 治、綾田 稔、小倉 壽：平成 14 年度に大阪市で検出された Norwalk virus の遺伝子型別、第 51 回日本ウイルス学会 (2003. 10)

○西田知子、野田 衛、三上稔之、篠原美千代、春木孝祐、大瀬戸光明、秋山美穂、西尾 治：市販生食用カキのノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルス汚染状況、第 51 回日本ウイルス学会 (2003. 10)



表 1-1 NV が検出された非細菌性胃腸炎事例（平成 14 年度）

事例No.	発生年/月	原因施設	推定原因食品	発病者数/ 喫食者数	患者ふん便	遺伝子型
					陽性数/検査数	
0C02065	4/02	特定不可	特定不可	2/5	1/2 (GI)	C-3
0C02172	9/02	施設事業所	カキ	5/28	5/5 (GI, GII)	C-10, 13, 16
0C02189	11/02	特定不可	特定不可	2/3	2/2 (GII)	C-13
0C02198	12/02	特定不可	特定不可	不明/25	3/3 (GII)	C-9
0C02202	12/02	特定不可	特定不可	4/5	1/1 (GII)	C-9
0C03006	1/03	特定不可	カキ	1/1	1/1 (GII)	C-10
0C03008	1/03	飲食店	カキ	28/35	1/1 (GII)	C-16
0C03009	1/03	特定不可	カキ	3/3	2/2 (GI, GII)	C3, 16
0C03011	1/03	特定不可	カキ	1/1	1/1 (GI)	C-3
0C03012	1/03	ホテル	カキ	77/295	9/12 (GI, GII)	C-3, 10, 16, 31
0C03017	1/03	特定不可	特定不可	10/13	8/9 (GII)	C-20
0C03020	2/03	特定不可	カキ	3/3	1/1 (GI)	C-6
0C03021	2/03	特定不可	カキ	2/2	2/2 (GII)	C-10, 14
0C03022	2/03	飲食店	カキ	5/5	4/4 (GI, GII)	C-3, 4, 10, 31
0C03024	2/03	特定不可	特定不可	6/15	3/5 (GII)	C-16
0C03026	2/03	特定不可	カキ	26/331	2/2 (GI, GII)	C-6, 16
0C03027	2/03	特定不可	カキ	2/2	1/1 (GII)	C-16
0C03028	2/03	特定不可	カキ	3/3	1/1 (GII)	C-16
0C03034	2/03	特定不可	カキ	3/3	3/3 (GI, II)	C-3, 5, 6, 10, 16
0C03035	2/03	特定不可	カキ	6/6	1/2 (GII)	C-31
0C03036	2/03	特定不可	カキ	3/5	1/1 (GII)	C-10
0C03037	2/03	特定不可	特定不可	3/15	2/3 (GI)	C-7
0C03039	2/03	飲食店	カキ	5/9	3/4 (GI, GII)	C-6, 11, 18
0C03040	3/03	飲食店	特定不可	5/9	2/4 (GII)	C-18
0C03042	3/03	飲食店	食品	20/47	1/1 (GII)	C-18
0C03047	3/03	特定不可	特定不可	2/8	1/1 (GI, II)	C-18, 30
0C03048	3/03	特定不可	特定不可	不明	1/1 (GII)	C-20
0C03050	3/03	特定不可	食品	27/62	4/7 (GII)	C-31
0C03053	3/03	特定不可	特定不可	11/50	1/3 (GII)	C-10
0C03054	3/03	特定不可	カキ	3/6	2/2 (GII)	C-16
0C03055	3/03	イベント	食品	157/283	2/2 (GII)	C-20

表 1-2 NV が検出された非細菌性胃腸炎事例（平成 15 年度）

事例No.	発生年/月	原因施設	推定原因食品	発病者数/ 喫食者数	患者ふん便	遺伝子型
					陽性数/検査数	
OC03062	4/03	養護老人施設	ヒト→ヒト	22/不明	12/13 (GII)	C-10
OC03107	7/03	社員食堂	給食	32/160	8/10 (GI)	C-6
OC03145	9/03	飲食店	カキ	3/4	1/1 (GI)	C-6
OC03177	11/03	保育園	ヒト→ヒト	51/53	40/47 (GII)	C-9
OC03185	11/03	飲食店	コース料理	8/9	4/6 (GII)	C-14
OC03187	12/03	飲食店	カキ (グラタン)	9/11	1/1 (GII)	C-9
OC03188	12/03	飲食店	カキ (丼)	4/4	2/4 (GII)	C-20
OC03190	12/03	飲食店	特定不可	26/40	1/1 (GII)	C-10
OC03193	12/03	飲食店	特定不可	3/4	3/3 (GI, II)	C-10, 20, 30
OC03194	12/03	飲食店	特定不可	5/5	5/5 (GII)	C-10
OC03196	12/03	飲食店	カキ	16/39	9/9 (GII)	C-9
OC03197	12/03	飲食店	特定不可	2/2	1/1 (GII)	C-10
OC03199	12/03	飲食店	宴会料理	16/24	4/13 (GII)	C-9, 15
OC03202	12/03	飲食店	特定不可	3/4	2/3 (GII)	C-9
OC03203	12/03	養護老人ホーム	ヒト→ヒト	不明	7/8 (GII)	C-9
OC04002	1/04	ホテル	特定不可	68/183	4/5 (GI, II)	C-6, 10, 13
OC04003	1/04	ホテル	食品	14/30	1/1 (GII)	C-9
OC04004	1/04	ホテル	食品	不明	1/2 (GII)	C-9
OC04010	1/04	飲食店	カキ (酢ガキ)	2/2	2/2 (GII)	C-9, 10
OC04011	1/04	飲食店	特定不可	3/3	1/1 (GII)	C-16
OC04014	1/04	社員食堂	給食	調査中	24/30 (GII)	C-9
OC04019	2/04	飲食店	特定不可	12/50	3/5 (GI)	C-30
OC04020	2/04	調査中	調査中	不明	1/1 (GI, II)	C-9, 30
OC04021	2/04	病院	特定不可	不明	4/6 (GII)	C-16
OC04024	2/04	飲食店	特定不可	21/66	1/1 (GII)	C-9
OC04027	3/04	旅館	調査中	調査中	3/4 (GII)	C-9
OC04029	3/04	飲食店	食品	調査中	2/4 (GII)	C-16
OC04032	3/04	調査中	調査中	調査中	5/7 (GI, II)	C-16, 30
OC04034	3/04	調査中	調査中	調査中	1/2 (GII)	C-18, 30
OC04037	3/04	調査中	調査中	調査中	1/2 (GI)	C-1
OC04038	3/04	調査中	調査中	調査中	22/29 (GII)	C-15
OC04039	3/04	調査中	調査中	調査中	1/2 (GII)	C-15
OC04041	3/04	飲食店	すし	調査中	2/2 (GII)	C-16
OC04042	3/04	飲食店	宴会料理	調査中	9/10 (GII)	C-15
OC04043	3/04	調査中	調査中	調査中	2/2 (GII)	C-15

表2 市販生カキからのNV検査結果

	平成14年度						平成15年度			合計 (%)
	2003年 10月	11月	12月	2004年 1月	2月	3月	10月	11月	12月	
生食用	0/1*	0/2	4/26	1/2	2/2	0/2	0/1	0/2	2/25	9/63 (14.3)
加熱調理用	0/1	0/2	1/2	1/2	1/2	1/2	NT	0/2	0/1	4/14 (28.6)

\* : NV陽性数/検査数

NT : not test

表3 カキから検出されたNVの遺伝子型およびウイルス量

検体 番号	種類	産地	年/月	リアルタイムPCR		遺伝子型	ウイルス量*
				GI	GII		
0Y0204	生食用	広島県	2003/12	陰性	2/3	C-11	107-589
0Y0215	生食用	広島県	2003/12	陰性	1/3	C-20	375
0Y051	生食用	広島県	2003/12	陰性	2/3	C-9	179-214
0Y053	生食用	広島県	2003/12	陰性	1/3		268
0Y057	生食用	広島県	2004/1	陰性	2/3		232-268
0Y059	生食用	広島県	2004/2	陰性	1/3		179
0Y061	生食用	広島県	2004/2	陰性	2/3		71-411
0Y0302	生食用	広島県	2004/12	陰性	1/3	C-10	964
0Y0319	生食用	広島県	2004/12	陰性	1/3	C-10	1000
0Y052	加熱調理用	広島県	2003/12	1/3	陰性		286
0Y054	加熱調理用	広島県	2004/1	2/3	2/3	C-30	GI/54-179, GII/232-518
0Y060	加熱調理用	広島県	2004/2	陰性	1/3		71
0Y064	加熱調理用	広島県	2004/3	陰性	1/3	C-18	36

\* : カキ1個あたりのNV遺伝子コピー数