

厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

ウイルス性食中毒の予防に関する研究

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 武田 直和

平成 18 (2005) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告書

ウイルス性食中毒の予防に関する研究	武田 直和	1
-------------------	-------	---

II. 分担研究報告書

1. ノロウイルスのリスクアセスメント	春日 文子	9
---------------------	-------	---

2. 紀伊半島における野生動物の HEV 保有調査	田中 智之	21
---------------------------	-------	----

3. 東海地区における動物からの E 型肝炎ウイルス検出	榮 賢司	27
------------------------------	------	----

4. E 型肝炎ウイルス感染豚肝臓中の感染ウイルス量	恒光 裕	31
----------------------------	------	----

5. 家畜の抗体調査と汚染実態調査	有川 二郎	37
-------------------	-------	----

6. 食品のウイルス汚染状況に関する研究	西尾 治	41
----------------------	------	----

7. カキのノロウイルス定量検査の改良、標準化に関する研究 —混合カキ検体からのノロウイルス濃縮操作における アミラーゼ処理の有用性—	西尾 治	51
---	------	----

8. 調理施設およびトイレにおけるノロウイルスの汚染状況	西尾 治	63
------------------------------	------	----

9. 健常者におけるノロウイルス保有状況	西尾 治	69
----------------------	------	----

10. 複合技術による水浄化装置の開発と 微生物除去に関する研究	西尾 治	75
11. 日本におけるA型肝炎の血清疫学調査－2003年度－	米山 徹夫	81
12. 沖縄に生息するマンガースの E型肝炎ウイルス抗体保有状況	李 天成	87
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧		91
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別冊		93

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

ウイルス性食中毒の予防に関する研究

平成 17 年度 総括研究報告書

主任研究者 武田 直和

平成 18 (2006) 年 4 月

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）
総括研究報告書

ウイルス性食中毒の予防に関する研究

主任研究者 武田 直和 国立感染症研究所ウイルス第二部第一室長

研究要旨

紀伊半島において、野生イノシシ 36 頭、野性シカ 14 頭をしらべたが、E 型肝炎ウイルス (HEV) 遺伝子は検出されなかった。しかし、一地域から捕獲された 2 頭のイノシシに、低値ながら HEV 抗体が検出された。また、この地域を狩猟基地とする猟師 8 名中 1 名に HEV 抗体が検出された。東海地区に生息する野生のサル及び実験飼育サルの血清中の HEV 遺伝子は全て陰性であった。また、愛知県内の肥育豚 90 例、および同県内の豚舎排水も全て陰性であった。日本シカ、エゾジカ、合計 374 頭で HEV 抗体陽性個体はみつからなかった。2002 年から 2005 年まで沖縄で捕獲した 199 匹のマンガースの IgG 陽性率は 22.1%、IgM のそれは 0.5% であった。HEV RNA は全て陰性であった。豚を用いた HEV 感染実験から、肝臓中には、0.1g あたり約 10^6 50% 豚感染量の HEV が含まれることが明らかとなった。また、ウイルス投与量の減少により感染時期の遅延やウイルス血症の軽減が起こる可能性が示唆された。

アミラーゼ (AM) によるグリコーゲンの消化は、カキ混合検体からの NoV (NoV) の濃縮操作において有用であった。2005 年 10 月～2006 年 2 月の間に市販された生食用カキ 146 件中 47 件、32% から NoV が検出された。2005 年 4 月～2006 年 1 月に輸入された輸入魚介類 129 件中 24 件、19% から NoV が検出された。A 型肝炎ウイルス (HAV) は全ての食品で汚染が認められなかった。ホテル、旅館、小・中学校および保育園の調理施設およびトイレにおける汚染状況を調査した結果、NoV による食中毒予防には調理場施設内および調理従事者が使用するトイレのドアノブの衛生管理が必要であることが明らかになった。従来 NoV による胃腸炎の非流行期と考えられていた夏季にも NoV による胃腸炎事例の発生が確認された。NoV の非流行期における検出例、さらに NoV の健常保有者の存在が明らかになり、NoV が通年市中に侵淫していることが示唆された。血清疫学調査により、2003 年の日本人の年齢別抗 HAV 抗体の保有状況を明らかにした。50 歳以下の抗体陰性率が 98% であり、HAV 感受性者の増加と高年齢化が着実に進んでいることが示された。

炭素繊維電極とオゾン水による新たな複合技術を用いた水浄化装置を開発し、さらにこの装置は、種々の水中微生物を効果的に除去可能であり、井戸水や湧水など種々の環境水の微生物制御に応用可能であることが示唆された。

昨年度、本研究事業においてまとめられた「感染のリスクアナリシスの為のリスクプロファイル」に基づき、NoV の定量的リスクアセスメントを試みた。シミュレーションによって求めた NoV 食中毒の集団発生件数は実際の集団発生件数と概ね一致していたものの、一部で大きな乖離があった。

分担研究者		李 天成	同上
春日 文子	国立医薬品食品衛生研究所		
田中 智之	堺市衛生研究所	協力研究者	
榮 賢司	愛知県衛生研究所	鈴木穂高	国立医薬品食品衛生研究所
恒光 裕	動物衛生研究所	内野 清子	堺市衛生研究所
有川 二郎	北海道大学	三好 龍也	同上
宮村 達男	国立感染症研究所	山下 照夫	愛知県衛生研究所
西尾 治	同上	小林 慎一	同上
米山 徹夫	同上	伊藤 雅	同上

長谷川晶子	同上
池田 秀利	動物衛生研究所
勝田 賢	同上
神山麻理子	同上
川畷 健司	同上
宮崎 綾子	同上
吉井 雅晃	同上
加藤花名子	同上
山口 成夫	同上
松浦友紀子	北海道大学
吉松 組子	同上
杉枝 正明	静岡県環境衛生科学研究所
足立 聡	同上
古屋由美子	神奈川県衛生研究
片山 丘	同上
山下 育孝	愛媛県立衛生環境研究所
西田 知子	山口県環境保健研究センター
野田 衛	広島市衛生研究所
福田 伸治	広島県保健環境センター
植木 洋	宮城県保健環境センター
吉澄 志磨	北海道立衛生研究所
田中 俊光	千葉県環境保健研究所
篠原美千代	埼玉県衛生研究所
森下 高行	愛知県北部市場食品衛生検査所
秋山 美穂	国立感染症研究所
愛木 智香子	同上
木村 博一	群馬県衛生環境研究所
吉住 正和	同上
藤田 雅弘	同上
高原 力也	同上
星野 利得	同上
森田 幸雄	同上
石岡 大成	同上
小澤 邦壽	同上
清原 知子	国立感染症研究所
佐藤 知子	同上
戸塚 敦子	同上
斉藤 美加	琉球大学
小倉 剛	同上
石橋 治	同上

A. 研究目的

食品由来ウイルス感染症は国民の食生活にとり益々脅威となってきた。ノロウイルス (NoV) による集団食中毒や A 型肝炎ウイルス (HAV) による集団急性肝炎、野生動物の生肉喫食による劇症 E 型肝炎など、ウイルスに汚染された食品が原因となった疾病が的確に捉えられるようになってきた。

事件数、患者数、発生状況をつぶさに把握し、その結果を国民、行政機関、および医療関係者に迅速かつ的確に提供することは、上記の感染症を制圧する上で重要な施策のひとつである。これらの感染症の制御を困難にしている最大の理由は、現在ある検出法の検出限界を超えた、極めて微量のウイルス量で感染が成立することである。このため、二枚貝と NoV、二枚貝と HAV の組合せ以外は原因食品や原因物質を特定することが極めて困難な状況にある。食品由来ウイルス感染症からは、NoV、HAV、E 型肝炎ウイルス (HEV) の三つのウイルスが緊急度、重要度の点で突出している。いずれも RNA を遺伝子にもつウイルスであるが、これらを効率よく、かつ厳密に区別する必要もある。また、これらの感染症の制圧には、原因となった食品が汚染されるまでのウイルスの伝播経路を明らかにする必要がある。

本研究では以下を研究目的とした。

(1) 原因食品からのウイルス検出では遺伝子増幅による定量法を確立するとともに、免疫学的手法を用いた濃縮法を導入し、検出効率の向上を目指す。

(2) 食品や環境からのウイルス検出を行うことによって汚染実態調査を行う。

(3) 個々のウイルスについてその発症ウイルス量を把握するため感染実験モデルを構築する。

(4) マーカー遺伝子を人工的に導入した組換え粒子を作製し、ウイルス不活化の条件を検討する。

(5) 以上の結果を総合的に解析し、ウイルス毎にリスクプロファイルを作成する。

(6) リスクプロファイルに基づいてリスクアセスメントモデルを構築する。

B. 研究方法

(1) 血清および臓器の収集

野生ザル血清、飼育ザル血清、豚舎排水を用いた。イノシシ、シカ、ブタ、血清、便、肝臓等を採取した。沖縄島に生息する野生のマンガース 199 匹を捕獲し、血清を採取した。

(2) 抗体検出 ELISA

抗 HEV 抗体の測定：E 型肝炎検査マニュアル (地方衛生研究所全国協議会、国立感染症研究所監修) に従い、精製した HEV 中空粒子 (VLPs) を抗原として 98 穴マイクロプレートにコーティングし、動物血清をこのマイクロプレート上で 2 倍階段希釈した。基質 OPD の吸光度を測定し、カットオフ値を示す最高希釈倍数の逆数を血清抗体価とした。抗体保有率の測定には被検血清は 200 倍希釈して使

用した。血清材料で非特異反応が確認されたものは、抗原固相化ウエルと抗原非固相化ウエルの両方を用い、両者の OD 値の差を正味の OD 値として表した。

抗 HAV 抗体の測定：国立感染症研究所血清銀行保管の 2003 年採取 0-92 歳血清 2430 検体を対象とした。不活化 HAV 抗原に対する既知の抗 HAV 抗体と検体との競合抑制 ELISA を行い、競合抑制率 80% 以上の検体を抗 HAV 抗体陽性と判定した。

(3) RT-PCR による HEV 遺伝子の増幅

E 型肝炎検査マニュアルに従い HEV 遺伝子の検出を行った。First PCR には HEV-F1 および HEV-R2 プライマーを、Second PCR には HEV-F2 および HEV-R1 を用いた。

(4) HEV 検出蛍光抗体法

HEV 遺伝子陽性の野生イノシシ肝臓凍結切片を用いて HEV 抗原の局在を検討した。凍結切片は直ちに冷アセトンにて 15 分間固定した。その後 PBS にてリンスし、HEV モノクローナル抗体 MAb133 培養上清を一次抗体として 37℃、一時間反応させた。PBS にて洗浄後、二次抗体として FITC-標識 anti-Mouse IgG にて、37℃、30 分反応させた。PBS にて洗浄後封入し、蛍光顕微鏡で観察した。

(5) ブタを用いた HEV 感染実験

ノトバイオート豚で 2 代継代した豚由来 HEV (遺伝子型 3) 含有 肝臓を 10、10³、10⁵ および 10⁷ 倍に希釈して乳剤を調整し、各 1ml を生後 3 日齢のノトバイオート豚に静脈内投与した。定期的に採取した血清、便に含まれる RNA、IgG、IgA を検出した。また、HEV (遺伝子型 3) RNA 陽性の肝臓 1 例の 10%乳剤 1ml を生後 3 日齢のノトバイオート豚に静脈内投与し、感染の有無をしらべた。

(6) アミラーゼ処理によるカキ中腸腺からのウイルスの濃縮

1 検体について 10 個体程度のカキから中腸腺部分 (10g~25g 程度) を切り出し、ストマッキングにより PBS (-) で 10%乳剤にした後、10,000rpm、30 分、4℃で遠心分離を行った。その遠心上清に 1/4 量の×5 ポリエチレングルコール (PEG) 溶液 (40% PEG6000, 2.5M NaCl) と 50mg の α -アミラーゼ (和光純薬) を添加し、室温にて一夜スターラーで攪拌し PEG による沈殿と AM による消化を行った。その後、3,000rpm、15 分粗遠心分離を行った上清を 40% ショ糖液 3ml に重層し、27,000rpm、3 時間、4℃で超遠心分離を行い、沈渣を少量の蒸留水に再浮遊した。

(7) 調理施設およびトイレにおける NoV の汚染状況

ホテル 42 施設、旅館 7 施設、小・中学校 22 施設および保育園 4 施設 7 カ所の計 75 施設である。各施設の拭き取り場所は、冷蔵庫の取っ手、排水溝およびトイレのドアノブの 3 箇所計 225 件について、リアルタイム PCR を用いて調査した。ふきふきチェックⅢ (栄研器材 K・K) に入っている 10ml の磷酸緩衝液 5ml をとり除き、残りの 5ml 中に拭き取り材料を採取した。この試料を 1 分間、試験管ミキサーで攪拌 (IWAKI、TM-2000) し、3,000rpm、20 分間遠心後、上清を更に 40,000rpm、120 分間超遠心し、沈渣を 30 μ L の DPEC 水に浮遊したものを抽出材料とした。

(8) 複合技術による水浄化装置の開発と微生物除去に関する研究

炭素繊維電極 (CF) ユニット、オゾン水 (OZ) ユニット、ポンプユニット、モニターユニットおよび制御ユニットを持つ装置を開発して用いた。浄化処理能力は毎分 20 L である。種々の微生物添加水は、水浄化装置の CF ユニット単独処理あるいは CF ユニットと OZ ユニットによって複合処理した。経時的に浄化水を採取し、各微生物の感染単位は常法に従って測定した。

(9) 定量的リスクアセスメントの作成

カキの摂食による NoV による食中毒についての定量的リスクアセスメントのためのモデルを作成し、シミュレーションソフトウェアである WinBUGS を用いて、NoV 集団食中毒の発生件数の推定を試みた。

(倫理面への配慮)

本研究にあたっては、試料提供者、その家族の人権、尊厳、利益が保護されるよう十分に配慮した。具体的には、各研究実施機関の医学研究倫理審査委員会に申請し、インフォームドコンセントに係る手続きを実施し、また提供試料、個人情報厳格に管理、保存した。そのデータについて個人が特定されないよう配慮した。動物実験に関しては「動物の保護及び管理に関する法律」(昭和 48 年法律第 105 号) 及び「実験動物の飼育及び保管に関する基準」(昭和 55 年総理府告示第 6 号) の法律及び基準の他、「大学等における実験動物について」(文部省国際学術局長通知、文学情大 141 号) の通知を踏まえつつ、動物実験が有効かつ適切に行われるよう配慮した。また感染研における動物実験指針に基づき、用いる動物の数は最小限とし、採血時には麻酔を施し動物愛護の精神のもとに実験を行った。

C. 研究結果

[1] E 型肝炎ウイルス

(1) 紀伊半島の定点における HEV 汚染実態調査
紀伊半島において、本年度、新たな定点地区を設け、野生イノシシ、野生シカにおける E 型肝炎ウイルス (HEV) 保有状況を調査研究した。その結果、野生イノシシ 36 頭、野性シカ 14 頭から HEV 遺伝子は検出されなかった。しかし、一昨年度調査から続いて HEV が検出されている一地域から捕獲された 2 頭のイノシシに、低値ながら HEV 抗体が ELISA 法で検出された。また、この地域を狩猟基地とする猟師 8 名中 1 名に HEV 抗体が検出された。

(2) 野生サル、飼育サル、肥育豚および豚舎排水の HEV 汚染実態調査

野生ザル 100 頭の血清、実験飼育サル 36 頭の血清、肥育豚 90 頭の血清は、全て HEV 遺伝子陰性であった。排水も HEV 遺伝子陰性であった。

(3) 本州の日本シカと北海道のエゾシカの HEV 抗体保有状況調査

本州の日本シカ 175 検体、北海道のエゾシカ 199 検体調べたが、明らかな陽性例は認められなかった。エゾシカからは肝臓・直腸糞・胆汁の採材も行い、RT-PCR によるウイルス遺伝子検出も試みたが、陽性個体はみつからなかった。

(4) 沖縄に生息するマングースの E 型肝炎ウイルス抗体保有状況

HEV 組換え中空粒子をマイクロプレートに固相化し、HRP-anti cat IgG および IgM を二次抗体とした ELISA 法を確立し、マングース血清中の抗体を検出した。199 検体中 44 検体に IgG 抗体を検出した。その陽性率は 22.1% であった。1 検体だけが IgM 陽性であり、その陽性率は 0.5% であった。IgG の陽性率はマングースの体重および身長が増加とともに高くなる傾向も見られた。現在まで RNA 陽性例はまだ見つかっていない。

(5) HEV 感染実験

HEV を 10^6 あるいは 10^5 希釈投与した豚では、ウイルス RNA が糞便ならびに血清中に投与後 7-14 日から検出された。両希釈とも血清中 IgG 抗 HEV 抗体ならびに糞便中 IgA 抗 HEV 抗体は 21-28 日より検出された。 10^5 希釈を投与した豚では、糞便中の RNA は 10-14 日より検出されたが、血清中の RNA はほとんど検出されなかった。HEV 抗体は、血清中 IgG が 28-35 日より検出されたが、糞便中 IgA は検出されなかった。 10^7 希釈を投与した豚では、糞便ならびに血清中にウイルス RNA は検出されず、抗体応答も認められなかった。実験に使用した肝臓中には、0.1g あたり約 10^6 (6) 50% 豚感染量の HEV が含まれることが明らかとなった。また、ウイルス

投与量の減少により感染時期の遅延やウイルス血症の軽減が起こる可能性が示唆された。HEV (遺伝子型 3) RNA 陽性の肝臓 1 例の 10% 乳剤 1ml を静脈内投与したノトバイオト豚では、糞便ならびに血清中にウイルス RNA やウイルス抗体は全く検出されず、当該肝臓 0.1g 中に感染に必要な量のウイルスは確認できなかった。

[2] ノロウイルス

(1) カキの NoV 定量検査の改良、標準化に関する研究

アミラーゼ処理によってセカンドリアルタイム PCR 法で高い NOV 検出率が得られた。いろいろな濃縮法で得られた cDNA 検体に G1 陽性コントロールを添加してリアルタイム PCR 法で定量した結果、検体の PCR 阻害作用を受けにくく、添加量に近い定量値を示した。さらに、コピー数を指標としたリアルタイム PCR 法の結果とセカンドリアルタイム PCR 法の結果の一致率はアミラーゼ処理が最も高かった。

(2) 食品のウイルス汚染状況

生食用カキの NOV 汚染は 32% に、輸入魚介類の NOV 汚染は 19% に認められ、例年とほぼ同様の汚染率であった。リアルタイム PCR により検出されたカキ 1 個あたりの NOV コピー数が 500 以上の高濃度に汚染されたカキが 5% に認められ、カキ 1 個で感染発病させる十分な NOV 量が含まれていた。

(3) 調理施設およびトイレにおける NoV の汚染状況

各施設の冷蔵庫の取っ手、排水溝およびトイレのドアノブの 3 箇所調査した。ホテルの 33.3%、旅館 28.6% から NoV が検出された。検出された遺伝子群はいずれも GII で、冷蔵庫の取っ手、排水溝では $\geq 10 \sim < 1,000$ コピー、トイレのドブでは $\geq 10 \sim < 10,000$ コピーの範囲で検出された。

(4) 健常者におけるノロウイルス保有状況

夏季と秋季に実施したところ、夏季 74 検体からは NoV が検出されず、秋季では、61 検体中 1 検体から NoV が検出された。夏季の調査実施時期に当該医療機関で感染性胃腸炎と診断された複数の患者便から G1/3 Desert Shield DSV 近縁株の遺伝子が検出された。

(5) NoV 集団食中毒の発生件数推定のためのモデル構築

1 件の NoV 食中毒事例の NoV 感染者から始まる NoV 感染のサイクルを図式化し、モデル化を行ったが、利用可能なデータが十分ではなく、WinBUGS を用いて、シミュレーションを行った。食中毒の集団発生件数は実際の集団発生件数と概ね一致し

ていたものの、一部で大きな乖離があった。

[3] A 型肝炎ウイルス

(1) 日本における HAV 抗体保有状況

全体の抗 HAV 抗体陽性率は 12.2%、男性 12.7%、女性 11.7%であった。抗体価の平均は 6918mIU/ml で、年齢別の推移に有意差は認められなかった。年齢別の抗体保有率を見ると 0 歳から 49 歳までは 0-7.5%で推移し、50-54 歳 21.8%、55-59 歳 44.5%、60-64 歳 69.4%、65 歳以上 86.5%と増加していった。地域別では 0 歳から 59 歳まで有意差は認められなかった。

[4] その他

(1) 複合技術による水浄化装置の開発と微生物除去

大腸菌 K12 株、ネコカリシウイルスおよびポリオウイルス Sabin 1 株を用い、小型の炭素繊維電極とオゾン水実験装置を開発し、殺菌除去に関する実験を行った。毎分 20L (1.2t/h) 処理した場合、炭素繊維電極単独処理系では、各々の微生物は 1/10~1/100 に減少し、炭素繊維電極とオゾン水複合処理系では検出限界値以下に減少した。

D. 考察

(1) HEV 汚染実態調査

紀伊半島 A 地区のイノシシ二頭の血中抗体価は低値であるものの、HEV 抗体陽性が強く示唆された。この地域では、一昨年度、昨年度に亘ってイノシシから HEV 遺伝子が検出されている。この地区の狩猟歴 40 年、60 代の男性 1 名が HEV 抗体陽性であった。イノシシ生食歴、20 年前に肝炎歴もある。しかし、狩猟歴 30 年以上の三名、イノシシ生食歴のある八名には、HEV 抗体は検出されず、必ずしも狩猟歴とイノシシ生食歴に相関は見られなかった。どのタイミングで HEV 保有イノシシの肝あるいは筋肉を生食するか、猟師が E 型肝炎に発症する重要な要因と考えられた。

(2) HEV 感染実験

感染実験 1 の肝臓中の RNA 量は、cDNA コピー数を RNA コピー数として計算した場合に 10^7 ゲノムコピー/0.1g であった。よって、静脈内接種では最小数十個のウイルスで感染が成立すると推測された。出荷豚から検出された HEV 遺伝子陽性肝臓の感染性は確認されなかったが、豚の主要な感染時期は 1-3 ヶ月齢であることから、多くの豚は 6 ヶ月齢の出荷時点では既に中和抗体を有していると考えられた。

(3) マングースの E 型肝炎ウイルス抗体保有状況
沖縄では HEV の宿主と思われる琉球イノシシが数

多く生息している。同じ地域で生息しているマングースがイノシシの糞便とともに環境に排泄された HEV に暴露されることが十分考えられる。マングースにおける抗体保有率および遺伝子の検出を調べることは、動物間での HEV の伝播の状況を把握する上で重要である。

(4) HAV 抗体保有状況

1994 年度の調査では HAV 感受性者が 80.6%であったが、10 年後の 2004 年度は 87.8%に増加した。1994 年度は 40 歳以下の 99%が HAV 感受性であったが今回は 40 歳以下のみならず、50 歳以下でも 98%が HAV 感受性であった。以上のことから HAV 感受性者が増加し、かつ抗体保有者が高年齢化していることが確認された。高年齢の A 型肝炎患者は重症化する率が高く、感染防御の注意が必要である。A 型肝炎の感染源として報告の多い魚介類・冷凍野菜等の輸出国は A 型肝炎常在地でもあることが多く、輸入食材への対策も必要である。また、飲食店の従業員や海外旅行添乗員は感染を広めてしまう危険性もある。A 型肝炎の予防接種がこうした職業の従事者には不可欠である。

(5) 定量的リスクアセスメントモデル

今回のモデルは、現在までに集められたデータに対応して著しく簡略化したことから、カキの消費量と下水処理水中の NoV 量だけの簡素なモデルとなっているが、今後、データが集まれば、より複雑で現実的なモデルへと発展させることも可能だと思われた。

(6) 水浄化装置による微生物除去

炭素繊維電極とオゾン水による新たな複合技術を用いた水浄化装置は、種々の水中微生物を効果的に除去可能であり、種々の環境水（井戸水や湧水など）の微生物制御に応用可能であることが示唆された。

E. 結論

紀伊半島 3 定点地区における野生イノシシ、野生シカの HEV 保有状況調査を行った。合計 50 頭の野生動物から HEV 遺伝子は検出されなかった。しかし、前年に HEV 遺伝子が検出された 1 定点では、2 頭のイノシシから、低値ながら HEV 抗体が認められた。一方、同地域での猟師 8 名中 1 名に HEV 抗体が検出された。HEV 実験感染実験から、豚 1 頭の肝臓 0.1g 中には 10^6 50%豚感染量の HEV が含まれていた。HEV の暴露量が少なくなることにより感染時期の遅延やウイルス血症の軽減が起こること、HEV の静脈内接種では最小数十個のウイルスで感染が成立すると推測された。沖縄に生息している

マンガースの抗体保有率は 22.1%で、HEV に暴露されていることが明らかになった。マンガースが HEV のリザーバーであるかどうかは、遺伝子の検出と感染実験が必要である。カキ混合検体からの NoV 濃縮法としてアミラーゼによるグリコーゲンの消化を行う方法を開発した。この方法はアミラーゼ処理を行わない場合および個別検査と比較して、検出率が高い。検体中の PCR 阻害物質の影響が少なく実際のコピー数に近い定量値が得られることから、カキ混合検体の NoV の濃縮法として有用と考えられた。2005 年 10 月～2006 年 2 月の間に市販された生食用カキ 32%から NoV が検出された。2005 年 4 月～2006 年 1 月に輸入された輸入魚介類 19%から NoV が検出された。HAV は全ての食品で汚染は認められなかった。流行初期、調理施設内および調理従事者が使用するトイレのドアノブは NoV によって高率に汚染されていた。NoV の非流行期における検出例、さらに NoV の健常保有者の存在が確認され、NoV が通年市中に侵淫していることが示唆された。2003 年の日本人の年齢別抗 HAV 抗体の保有状況を明らかにした。50 歳以下の抗体陰性率が 98%であり、HAV 感受性者の増加と抗体保有者の高年齢化が着実に進んでいた。炭素繊維電極とオゾン水による新たな複合技術を用いた水浄化装置は、種々の水中微生物を効果的に除去することが可能であった。NoV の定量的リスクアセスメントを試みたが、シミュレーション結果は概ね現実の値と一致していたものの、一部で大きな乖離があり、必ずしも現実を反映したものではなかった。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hirakata Y, Arisawa K, Nishio O, Nakagomi O. Multifunctional spread of gastroenteritis outbreaks attributable to a single genogroup II norovirus strain from a tourist restaurant in Nagasaki, Japan. *J Clin Microbiol.* 43:1093-1098, 2005.

Phan TG, Okame M, Nguyen TA, Nishio O, Okitsu S, Ushijima H. Genetic of Sapovirus in fecal specimens from infants and children with acute gastroenteritis in Pakistan. *Arch Virol.* 150:371-377, 2005.

Seto Y, Iritani N, Kudo H, Kaida A, Murakami

T, Haruki K, Nishio O, Ayata M, Ogura H. Genotyping of norovirus strains detected in outbreaks between April 2002 And March 2003 in Osaka City, Japan. *Microbiol Immunol.* 49:275-283, 2005.

Li T-C, Saito M, Ogura G, Ishibashi O, Miyamura T, Takeda N: Serological evidence for hepatitis E virus infection in mongoose. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006:in press.

Li TC, Takeda N, Miyamura T, Matsuura Y, Wang JC, Engvall H, Hammar L, Xing L, Cheng RH: Essential elements of the capsid protein for self-assembly into empty virus-like particles of hepatitis E virus. *J Virol* 2005;79:1299-3006.

Li T-C, Chijiwa K, Sera N, Ishibashi T, Etoh Y, Shinohara Y, Kurata Y, Ishida M, Sakamoto S, Takeda N, Miyamura T: Hepatitis E Virus Transmission from Wild Boar Meat. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1958-1960.

Kamata, K., Shinozaki, K., Okada, M., Seto, Y., Kobayashi, S., Sakae, K., Oseto, M., Natori, K., Shirato-Horikoshi, H., Katayama, K., Tanaka, T., Takeda, N., Taniguchi, K.: Expression and antigenicity of virus-like particles of Norovirus and their application for detection of Noroviruses in stool samples. *J. Med. Virol.* 76:129-136, 2005.

Hansman GS., Natori K., Shirato-Horikoshi H., Ogawa S., Oka T., Katayama K., Tanaka T., Miyoshi T., Sakae K., Kobayashi S., Shinohara M., Uchida K., Sakurai N., Shinozaki K., Okada M., Seto Y., Kamata K., Miyamura T. and Takeda N. Genetic and antigenic diversity among noroviruses. *Journal of General Virology.* 2006: 87, 909-919.

恒光 裕. 動物での E 型肝炎ウイルス感染. *病原微生物検出情報* 26: 269-270, 2005

入谷展弘, 勢戸祥介, 春木孝祐, 西尾治, 久保英幸, 改田厚, 村上司, 綾田稔, 小倉壽. 市販生カキからの NoV および A 型肝炎ウイルスの検出. *生活衛生.* 49:279-287, 2005.

西尾治, 古屋由美子, 大瀬戸光明. ウイルス性食中毒の予防—NoV, A 型肝炎ウイルス—. *食品衛生研究.* 55 (4) :19-24, 2005.

西尾治, 山下育孝, 宇宿秀三. NoV による食中毒, 感染症. 食品衛生研究. 55 (10) :7-16, 2005.
西田知子, 岡本玲子, 中尾利器, 松村健道, 大瀬戸光明, 西尾治. 山口県内における NoV 胃腸炎集団発生事例および市販生食カキの汚染状況. 獣医公衆衛生研究. 7:24-25, 2005.
西尾治, 山下育孝, 宇宿秀三. NoV による食中毒, 感染症. 食品衛生研究. 55 (10) :7-16, 2005.
田中俊光, 西尾治. 輸入生鮮魚介類からの NoV 遺伝子検出状況. 日本獣医公衆衛生学会誌. 58:627-630, 2005.
西尾治, 秋山美穂, 愛木智香子, 杉枝正明, 福田伸治, 西田知子, 植木洋, 入谷展弘, 篠原美千代, 木村博一. NoV による食中毒について. 食品衛生学雑誌. 46:235-245, 2005.
米山徹夫, 宮村達男: A型肝炎・B型肝炎: プログレス イン メディシン 26 巻、43-48、2006.

2. 学会発表

Matsuura Y, Yoshimatsu K, Suzuki M, Yokoyama M, Igota H, Arikawa J, "Prevalence of antibodies to the hepatitis e virus in wild sika deer in Japan." Thelst Scientific Meeting of the Asian Zoo & Wildlife Medicine. Bangkok, Thailand (October 2005).
Matsuura Y: "Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in wild sika deer in Japan." 2006 Joint Workshop between Laboratory of Wildlife Biology, Department of Environmental Veterinary Sciences, The Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University and Conservation Genome Resource Bank for Korean Wildlife (CGRB), Seoul National University College of Veterinary Medicine. "Wildlife Research, Conservation and Veterinary Science" Seoul, Korea (January 2006)
山下照夫, 伊藤 雅, 谷口晶子, 藤浦 明, 榮 賢司: 新型アイチウイルス (2 型) の VP1 遺伝子の検出. 第 53 回日本ウイルス学会、横浜、2005 11 月
小林慎一、小原真弓、長谷川澄代、大矢英紀、尾西 一、東方美保、猿渡正子、青木 聡、田中保和、柴田伸一郎、中野陽子、杉山 明、榮 賢司: 平成 16 年度の東海・北陸地域における NoV の検出状況と遺伝子解析. 第 53 回日本ウイルス学会、横浜、2005 11 月
伊藤 雅、山下照夫、谷口晶子、榮 賢司: 臨床

検体からの Human parechovirus (HPeV) 属の検出. 第 53 回日本ウイルス学会、横浜、2005 11 月
本郷美那子, 李 天成, 伊藤 雅, 榮 賢司, 宮村達男, 武田直和: イノシシおよびヒト由来 Genotype4 HEV の構造蛋白の発現及び抗原性の解析. 第 53 回日本ウイルス学会、横浜、2005 11 月
伊藤 雅、山下照夫、藤浦 明、榮 賢司: 野生動物の E 型肝炎ウイルス (HEV) および HEV 抗体保有状況. 平成 17 年度 日本獣医師会学会年次大会、つくば、2006 3 月
恒光 裕、勝田 賢、川島健司、神山麻理子、小野寺利幸、庄司智太郎、池田秀利、宮崎綾子、吉井雅晃、李天成、武田直和. ノトバイオート豚での E 型肝炎ウイルスの実験感染. 第 140 回日本獣医学会学術集会.
西尾治: 食品を介する NoV による食中毒の現状と対策. 第 46 回日本臨床ウイルス学会、福岡市、2005 年 6 月 3-4 日
杉枝正明、愛木智香子、秋山美穂、西尾治: *Norovirus* による集団発生事例について、第 46 回日本臨床ウイルス学会、福岡市、2005 年 6 月 3-4 日
杉枝正明、稲吉恵、足立聡、三輪好伸、増田高志、愛木智香子、秋山美穂、西尾治: *Norovirus* による集団発生事例について、平成 17 年度地方衛生研究所全国協議会 第 20 回関東甲信静支部ウイルス研究部会、前橋市、2005 年 9 月 29-30 日
杉枝正明、愛木智香子、秋山美穂、西尾治: *Norovirus* による集団発生事例について、第 46 回日本臨床ウイルス学会、福岡市、2005 年 6 月 3-4 日
原俊吉、大石陽子、山上隆也、小澤茂、西尾治: 2004 年度冬季に山梨県内の高齢者施設で発生した NoV 急性胃腸炎集団事例、平成 17 年度地方衛生研究所全国協議会 第 20 回関東甲信静支部ウイルス研究部会、前橋市、2005 年 9 月 29-30 日
秋山美穂、愛木智香子、西尾治、山下育孝、大瀬戸光明、杉枝正明、古屋由美子、田中俊光、宇宿秀三: 輸入食品の NoV 汚染状況について、日本食品衛生学会第 90 回学術講演会、さいたま市、2005 年 10 月 20-21 日
西尾治: NoV による感染症、食中毒の現状と予防、平成 17 年度獣医公衆衛生講習会、山口市、2005 年 11 月 5 日
山下育孝、豊嶋千俊、近藤玲子、大瀬戸光明、杉

枝正明、古屋由美子、田中俊光、愛木智香子、秋山美穂、西尾治：輸入生鮮魚介類及び急性胃腸炎患者から検出された NoV (NV) の分子疫学的解析、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜市、2005 年 11 月 20-22 日

西田知子、中尾利器、岩田祐之、秋山美穂、愛木智香子、西尾治：山口県内で発生した NoV による胃腸炎、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜市、2005 年 11 月 20-22 日

秋山美穂、愛木智香子、杉枝正明、入谷展弘、吉澄志磨、西田知子、田中俊光、中込治、岡部信彦、西尾治：NoV の Mexico 株類似リコンビナント株の国内での検出状況、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜市、2005 年 11 月 20-22 日

愛木智香子、杉枝正明、山下育孝、福田伸治、吉澄志磨、西田知子、田中俊光、岩切章、田村務、大矢英紀、秋山美穂、岡部信彦、西尾治：欧米で流行している G 2/4 変異型 NoV の国内での検出状況、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜市、2005 年 11 月 20-22 日

松岡由美子、平野敬之、小河正雄、愛木智香子、

秋山美穂、西尾治：熊本市、佐賀県、大分県で検出された NoV (NV) の分子疫学について、第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜市、2005 年 11 月 20-22 日

清原知子、戸塚敦子、下池貴志、米山徹夫、宮村達男：日本における A 型肝炎の血清疫学調査、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005 年。

李 天成、斉藤 美加、小倉 剛、宮村 達男 武田 直和。沖縄に生息するマングースの E 型肝炎ウイルス抗体保有状況。日本ウイルス学会、第 53 回学術集会 2005 年 11 月 横浜

李 天成、宮村 達男、武田 直和。E 型肝炎ウイルス中空粒子形成に必須な領域の同定。日本ウイルス学会、第 53 回学術集会 2005 年 11 月 横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

ウイルス性食中毒の予防に関する研究

平成 17 年度 分担研究報告書

春日 文子
田中 智之
榮 賢司
恒光 裕
有川 二郎
西尾 治
米山 徹夫
李 天成

平成 18 (2006) 年 4 月

平成 17 年度 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業
「ウイルス性食中毒の予防に関する研究」

分担研究報告書

分担研究：ノロウイルスのリスクアセスメント

分担研究者 春日文字 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 第三室長
協力研究者 鈴木穂高 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 主任研究官

研究要旨

昨年度、本研究事業において、西尾治、武田直和、春日文字によってまとめられた「感染のリスクアナリシスの為のリスクプロファイル」に基づき、ノロウイルスの定量的リスクアセスメントを試みた。集めたデータを元に、海外コンサルタントの助言の下、モデル化を行ったが、シミュレーションによって求めたノロウイルス食中毒の集団発生件数は実際の集団発生件数と概ね一致していたものの、一部で大きな乖離があった。さらなるデータの集積により、より現実に即したモデルの構築が必要であると考えられた。

A. 研究目的

ノロウイルスによる食中毒は、最近の食中毒統計によれば、2001、2002、2003、2004 年に年間 269、268、278、277 件発生しており、感染者数は 7,335、7,961、10,603、12,537 名に上る。2000 年 1 月～2003 年 10 月に、地方衛生研究所から国立感染症研究所感染症情報センターに報告された集団発生事例としてのノロウイルス検出報告のうち、推定原因食品が記載されていた 287 件の中では、カキが 154 件 (53.6%) で、カキ以外の貝類 45 件を含めると、貝類が原因とされたものは 69.3%であった (IASR Vol. 24 No. 12 (No. 286), 2003)。このことから、本研究においては、貝類、特に (生) カキ

の摂食によるノロウイルスによる食中毒についての定量的リスクアセスメントを行うことを目的とした。

B. 研究方法

(生) カキの摂食によるノロウイルスによる食中毒についての定量的リスクアセスメントのためのモデルを作成し、シミュレーションソフトウェアである WinBUGS を用いて、ノロウイルス集団食中毒の発生件数の推定を試みた。モデルやデータの詳細は、C. 研究結果に示す。

C. 研究結果

1. ノロウイルス集団食中毒の発生件数推定のためのモデル構築

まず、1件のノロウイルス食中毒事例のノロウイルス感染者から始まるノロウイルス感染のサイクルを図式化した(図1)。すなわち、ノロウイルスは感染者の糞便とともに下水中に排出され、下水処理場で処理された後、河川水中から海水中へと達する。カキを始めとする貝類は、海水をろ過し、栄養分を得ていることから、海水中のノロウイルスを体内に蓄積し、貝類の汚染が起こる。これら汚染された貝類が採捕され、食物としてヒトに摂食される。また、世界各国より合法的、あるいは違法に輸入された貝類においても、同様に汚染された貝類が、食物としてヒトに摂食される可能性がある。汚染した貝類を摂食したヒトは、生食、あるいは加熱不十分な場合、ある割合でノロウイルス感染者となりうる。ノロウイルス感染はヒト-ヒト感染が起こることが知られており、食物由来の一次感染者からさらに二次、三次の感染者が発生する場合もある。

2. 利用可能なデータの扱い

この図に基づき、集めた文献(図1文献リスト)を図1中のA~Iの各過程に当てはめたところ、汚染された貝類から感染者の過程、あるいは一次感染者からのヒト-ヒト感染、二次感染者以降のヒト-ヒト感染については、データがほとんど集められていないことが明らかになった。

このため、モデルを簡略化した(図2)。輸入貝類に関してはノロウイルス汚染実態の調査は行われているものの、加熱

用カキとして消費されているものが大部分であると考えられる(少なくとも国産カキと同程度に生食されているとは考えられない)ことから、今回のモデルから削除することとした。

また、食品由来の一次感染者とヒト-ヒト感染による二次、三次感染者に関するデータがないことから、感染者数ではなく、ノロウイルス集団食中毒の発生件数を単位として考えることとした。

カキに含まれるノロウイルス量は、海域や水深、季節等によるばらつきは大きいですが、およそ海水中に含まれるノロウイルス量に比例することが推測される。しかし、海水中に含まれるノロウイルス量は、汚染が非常に低い濃度、頻度であるためと考えられるが、ほとんどが陰性であり、数学的に取扱い得なかった。さらに、

- 感染者の糞便から排出されるウイルス量には非常に大きなばらつきがあること
- 糞便1g当たりのウイルス量についてはよく調べられているが、感染者1人の発症経過全体を通してのウイルス排出量については報告が見られないこと
- 河川水による希釈、海水による希釈、カキによる濃縮の程度も一般的な推定が困難であること

から、最終的に海水中に含まれるウイルス量の推定は難しいと考えられた。

そこで、下水処理水中のノロウイルス量に着目した。下水処理水中のノロウイルス量は海水中のノロウイルス量と比

例関係があることが推測され、また、前述したように海水中のノロウイルス量とカキに含まれるノロウイルス量についても比例関係があることが推測されることから、下水処理水中のノロウイルス量に一定の係数を乗じたものをカキに含まれるノロウイルス量として取り扱うこととした。

生ガキの消費量については、データがなかったため、カキの消費量に比例するものと考えた。

3. シミュレーションとその結果

これらの推測の下、シミュレーションソフトウェアである WinBUGS を用いて、シミュレーションを行った。データはすべて月ごとのデータを用い、

生ガキの消費量×カキのノロウイルス量×係数＝集団発生件数 - - (式1)としてシミュレーションを行なった結果を図3に示す。実際の集団発生件数は、式1の結果を平均値とするポアソン分布を持つものと仮定した。生カキの月別消費量には、10 都市中央卸売市場卸売数量を元に計算したカキ(生食用、加熱用を含む)の卸売数量を用いた。カキ中のノロウイルス濃度については、海水中のノロウイルス濃度を介して、下水処理水中のノロウイルス濃度と比例するものとして取り扱った。また、食中毒発生件数に関しては、感染症情報センターの病原微生物検出情報のデータを用いた。

シミュレーションによって導き出された集団発生件数と実際の集団発生件数は、2月から10月までは概ね一致し

ていたが、1月、および11月、12月は実際の集団発生件数と乖離していた(図3)。

そこで、ノロウイルス感染の集団発生件数とガキの消費量に相関があるか調べるため、カキの消費量(10 都市中央卸売市場卸売数量を元に計算したカキの卸売数量)とノロウイルス感染の集団発生件数(感染症情報センターの病原微生物検出情報のデータ)を同一グラフ上に表示した(図4)。その結果、月別のカキの消費量とノロウイルス感染の集団発生件数は概ね類似した傾向を示したが、集団発生件数には5月に小さなピークがあるのに対し、カキの消費量にはそのようなピークは見られないという不一致も認められた。この不一致は、ノロウイルス感染の集団発生件数をカキの消費量で除した値をグラフ化すると、5月前後で一層顕著になった(図5)。

D. 考察

集めたデータを基に、カキの消費量と下水処理水中のノロウイルス量から集団発生件数を月ごとにシミュレーションした結果、シミュレーションによって導き出された集団発生件数と実際の集団発生件数は、1月、11月、12月には大きな乖離が認められた。このことから、ノロウイルス感染の集団発生がカキの消費とのみ相関しているかについては、若干の疑念が生じた。5月前後のピークについては、この年、特異的な集団発生があった可能性もある。

前述のように、集団発生事例としてのの

ノロウイルス検出報告のうち、推定原因食品が記載されている事例に関しては、カキの占める割合は非常に高い。平成16年のノロウイルス食中毒事例(表1)では、推定原因食品が記載されている62例中、カキが関係するものが31例(50.0%)を占めており、カキとの強い関連が示唆される。しかし、総件数279件中、原因食品が不明な事例が実に217例(77.8%)にも上り、カキが原因の事例は総件数からすると、11.1%に過ぎない。

しかしそれでもなお、月ごとにシミュレーションした集団発生件数は、2月から10月までは概ね一致していた。このことから、このシミュレーションはある程度、現実を反映しているものと考えられる。しかし、このシミュレーションにおいて使われている下水処理水中のノロウイルス量は、カキの養殖の盛んな広島県や宮城県の数値ではなく、北海道の数値であり、代表的なデータとはいえない等、問題点も多い。今後、さらにデータを集め、より現実に即したモデルを構築する必要がある。

また、今回のモデルは、現在までに集められたデータに対応して著しく簡略化したことから、カキの消費量と下水処理水中のノロウイルス量だけの簡素なモデルとなっているが、今後、データが集まれば、より複雑で現実的なモデルへと発展させることも可能だと思われる。

本研究において浮かび上がった、ノロ

ウイルス食中毒が本当にカキの消費のみと相関していると考えてよいのかという疑問については、今後のノロウイルス食中毒の調査、研究等で新たな知見が出るのを待ちたい。

E. 結論

ノロウイルスの定量的リスクアセスメントを試みたが、シミュレーション結果は概ね現実の値と一致していたものの、一部で大きな乖離があり、必ずしも現実を反映したものではなかった。今後、モデルの改良に有用なデータが収集されるよう、他の分担研究者と協力を重ねていく必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 謝辞

リスクアナリシス・コンサルティング会社 Vose Consulting の David Vose 氏、Huybert Groenendaal 氏、Timour Koupeev 氏に、モデル作成に協力をいただいたことに対して深謝する。

図1. 図式化したノロウイルス感染のサイクル

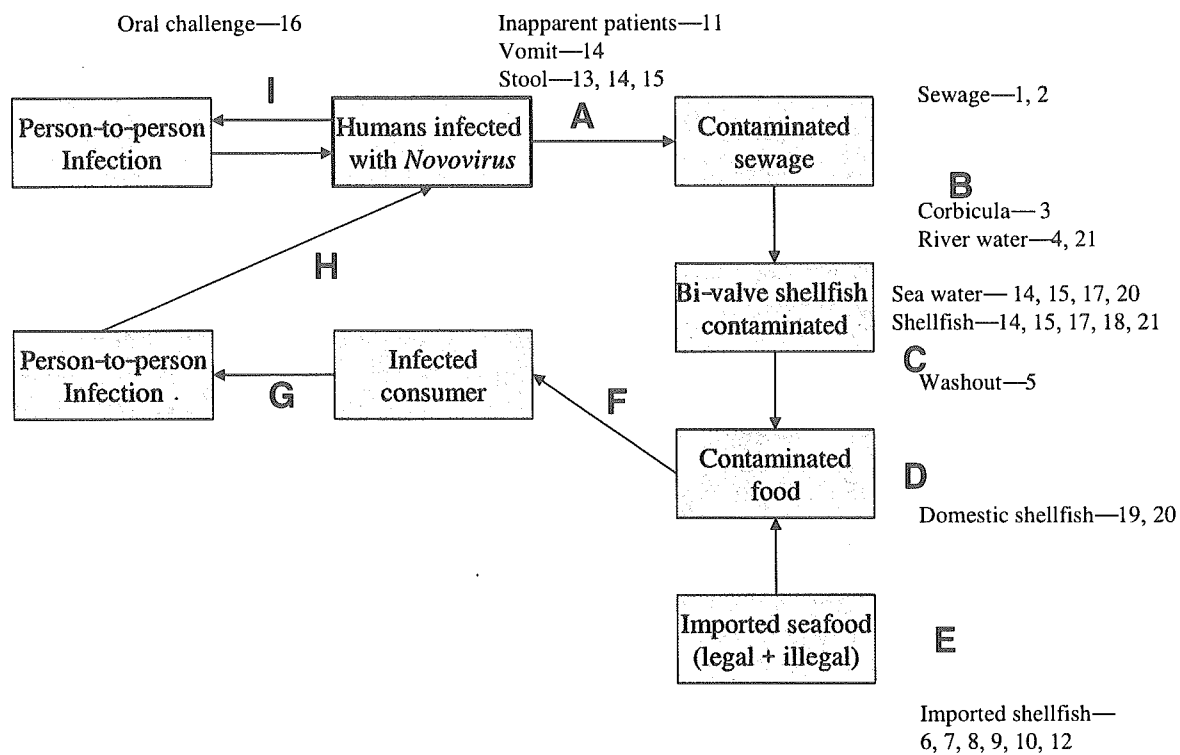


図1に使用した文献リスト

1. 西尾治他, 下水処理場におけるノロウイルスの消長, 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全性高度化推進研究事業 ウイルス性食中毒の予防に関する研究 平成16年度 総括・分担研究報告書, pp53-57, 2005
2. 西尾治他, カキ養殖海域のウイルス汚染について, 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全性高度化推進研究事業 ウイルス性食中毒の予防に関する研究 平成16年度 総括・分担研究報告書, pp59-68, 2005
3. 西尾治他, 群馬県における感染性胃腸炎患者とシジミ (*Corbicula japonica*) から検出されたノロウイルスの分子疫学に関する研究, 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全性高度化推進研究事業 ウイルス性食中毒の予防に関する研究 平成16年度 総括・分担研究報告書, pp69-74, 2005
4. 入谷展弘他, 河川水からの Norwalk Virus の検出, 生活衛生, vol.46, p137-143, 2002
5. 福田美和他, 養殖カキのウイルス浄化試験, 感染症学雑誌, vol.77, p95-102, 2003
6. 田中俊光他, 輸入二枚貝からの SRSV 遺伝子検出状況, 獣医公衆衛生研究, vol.5, p15-17, 2003
7. 古屋由美子, 輸入、国内の食品および環境中のウイルス汚染に関する研究, 厚生労働科学研究費補助金 生活安全総合研究事業 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 平成13年度 総括・分担研究報告書, pp76-80, 2002
8. 古屋由美子他, 輸入食品のウイルス汚染状況調査・研究, 厚生労働科学研究費補助金 食品・化学物質安全総合研究事業 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 平成14年度 総括・分担研究報告書, pp100-104, 2003
9. 大瀬戸光明, 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の検討に関する研究, 厚生労働科学研究費補助金 生活安全総合研究事業 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 平成13年度 総括・分担研究報告書, pp61-69, 2002
10. 大瀬戸光明他, 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, 厚生労働科学研究費補助金 食品・化学物質安全総合研究事業 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 平成14年度 総括・分担研究報告書, pp86-93, 2003
11. 森功次他, 発症者および非発症者糞便中に排出される Norovirus 遺伝子量の比較, 感染症学雑誌, vol.79, p521-526, 2005
12. 西尾治他, 輸入食品のウイルス汚染状況に関する研究, 厚生労働科学研究費補助金 生活安全総合研究事業 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 平成13年度 総括・分担研究報告書, pp29-33, 2002
13. 古田敏彦他, ノロウイルス(ノーウォーク様ウイルス)とA型肝炎ウイルスに汚染さ

- れたウチムラサキ貝による食中毒事例, 感染症学雑誌, vol.77, p89-94, 2003
14. 新川奈緒美, 海域のウイルス汚染状況ならびに食品媒介ウイルス感染症の集団発生に関する研究, 厚生労働科学研究費補助金 生活安全総合研究事業 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 平成 13 年度 総括・分担研究報告書, pp52-60, 2002
 15. 新川奈緒美, 海域のウイルス汚染調査 食品媒介ウイルス感染症の集団発生状況調査, 厚生労働科学研究費補助金 食品・化学物質安全総合研究事業 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 平成 14 年度 総括・分担研究報告書, pp80-85, 2003
 16. 牛島廣治他, 保育施設におけるウイルス性胃腸炎の前向き研究とアストロウイルス、ノーウォークウイルスの分子疫学に関する研究, 厚生労働科学研究費補助金 生活安全総合研究事業 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 平成 13 年度 総括・分担研究報告書, pp90-94, 2002
 17. 西尾治他, カキ養殖海域におけるノロウイルスの定量的定点観測について, 厚生労働科学研究費補助金 食品・化学物質安全総合研究事業 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 平成 14 年度 総括・分担研究報告書, pp43-55, 2003
 18. 西香南子, 海域および食品のウイルス汚染状況調査・研究, 厚生労働科学研究費補助金 食品・化学物質安全総合研究事業 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 平成 14 年度 総括・分担研究報告書, pp67-79, 2003
 19. 西尾治他, 市販カキのノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルスの汚染と安全性に関する研究, 厚生労働科学研究費補助金 食品・化学物質安全総合研究事業 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 平成 14 年度 総括・分担研究報告書, pp27-35, 2003
 20. 武田直和他, ノーウォークウイルスのリスク評価に関する研究, 厚生労働科学研究費補助金 健康安全確保総合研究事業 食品中の微生物のリスク評価に関する研究 平成 13 年度 総括・分担研究報告書, pp104-122, 2002
 21. 西尾治他, 市販生カキおよび食中毒原因食材あるいは有症苦情カキにおけるノロウイルス汚染について, 厚生労働科学研究費補助金 食品・化学物質安全総合研究事業 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 平成 14 年度 総括・分担研究報告書, pp19-26, 2003