

200734026A

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

**輸入生鮮魚介類および動物生肉の
ウイルス汚染のサーベイランスに関する研究**

平成 19 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 西尾 治 (国立感染症研究所)

平成 20 (2008) 年 3 月

目 次

I 総括研究報告

輸入生鮮魚介類および動物肉のウイルス汚染の サーベイランスに関する研究	1
西尾 治	

II 分担研究報告

1. 国内の患者のサーベイランスに関する研究	9
山下 和予	
2. 輸入食品及び集団・散発性胃腸炎事例からの ウイルス検出状況について	15
大瀬戸光明	
3. 輸入食品のウイルス汚染状況に関する研究	22
西尾 治	
4. 輸入生食用カキのウイルス汚染状況に関する研究	27
有田 知子	
5. 輸入食品の汚染実態調査	29
古屋 由美子	
6. 輸入生鮮魚介類のウイルス汚染状況について	34
杉枝 正明	
7. 輸入生鮮魚介類および動物生肉のウイルス汚染の サーベイランスに関する研究	39
牛島 廣治	
8. 輸入食肉のE型肝炎ウイルス汚染状況調査に関する研究および 群馬県における野生イノシシおよび野生シカのE型肝炎ウイルス感染状況	47
木村 博一	
9. ベトナムの小児急性下痢症患者におけるノロウイルスの疫学的研究(2)	51
鈴木 宏	

III 研究成果の刊行に関する一覧表	59
--------------------	----

IV 研究成果の刊行物・別刷	63
----------------	----

I

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

輸入生鮮魚介類および動物生肉の

ウイルス汚染のサーベイランスに関する研究

平成 19 年度 総括研究報告書

主任研究者 西尾 治 (国立感染症研究所)

平成 20 (2008) 年 3 月

輸入生鮮魚介類および動物肉のウイルス汚染のサーベイランスに関する研究

主任研究者 西尾 治 国立感染症研究所感染症情報センター 客員研究員

研究要旨

わが国には大量の生鮮魚介類および動物肉が輸入されているものの、ウイルス学的な安全性は殆ど調べられていない。そこで、生鮮魚介類はノロウイルスおよびA型肝炎ウイルス、動物肉はE型肝炎ウイルスの汚染状況を調査・研究すると共に、日本のノロウイルス、AおよびE型肝炎の患者発生との関連およびベトナムの小児におけるノロウイルスによる流行状況と遺伝子型について研究を実施した。また、タイの加熱用カキからのロタウイルス検出法を開発した。

生鮮魚介類からのノロウイルス検出は、220検体中39検体（18%）から検出された。生食用カキが43検体中0検体、加熱用カキが10検体中1検体（10%）、アカガイ106検体中24検体（23%）、ハマグリ29検体中7検体（24%）から検出された。中国からの輸入二枚貝からGII/4型が多く検出された。わが国の2004年以降のノロウイルスによる食中毒事件および集団発生は殆どがGII/4により発生している。また、ベトナムの幼児におけるノロウイルスによる下痢症もGII/12とGII/4であり、ヨーロッパでも同様にGII/4による流行が発生している。わが国へのGII/4の侵入経路は不明であり、その一部が生鮮魚介類によることも推察され、今後の検討課題と考えている。

生鮮魚介類からのA型肝炎ウイルスは生鮮魚介類220検体中2検体（0.9%）から検出され、遺伝子型は1a型であった。2002年以降ではA型肝炎ウイルスによる食中毒事件が5件報告されており、いずれも生鮮魚介類の取扱者が感染源となっている。それらの事件を起こしたA型肝炎ウイルスの遺伝子型は1a型であり、昨年ならびに本年に輸入食品から検出された遺伝子型はいずれも1a型であり、今後輸入食品との関連性が示唆される。A型肝炎ウイルスの食中毒事件は食品取扱者が関与しているので、食品取扱者はA型肝炎ウイルスのワクチンを積極的に受けることが望まれる。

生鮮魚介類の喫食に当たっては十分な加熱あるいは中腸線を完全に除去し、感染の防止が必要である。

動物肉はアメリカ、カナダ、オーストラリア、チリ等からの104検体（豚肉、牛肉、鹿肉、羊肉、馬肉）および生鮮魚介類40検体からはE型肝炎ウイルスは検出されなかった。現在のところ、輸入動物肉および生鮮魚介類はE型肝炎ウイルスに汚染されていないと考えられた。

分担研究者

牛島廣治 鹿児島国際大学大学院福祉社会学研究科 教授

鈴木宏 新潟大学医歯学総合研究科国際感染医学講座公衆衛生学分野 教授

木村博一 国立感染症研究所感染症情報センター 室長

山下和予 国立感染症研究所感染症情報センター 主任研究官

古屋由美子 神奈川県衛生研究所微生物部 専門研究員

杉枝正明 静岡県環境衛生科学研究所微生物部 主幹

大瀬戸光明 愛媛県立衛生環境研究所衛生研究課 課長

研究協力者

有田知子 独立行政法人日本スポーツ振興センター

田中俊光 千葉市食品衛生検査所

菊池正悟 愛知医科大学公衆衛生学

沖津祥子 藍野学院短期大学

Leera Kittigul マヒドン大学

Phan Gia Tung、Pattara Khamrin 東京大学

西川眞、田村務 新潟県保健環境科学研究所ウイルス科

坂野智恵子、信澤敏夫 群馬県食肉衛生検査所

森田幸雄、塩野雅孝、小沢邦壽 群馬県衛生環境研究所

壁谷英則、丸山総一 日本大学

宮原香代子、原田美樹、片山丘 神奈川県衛生研究所

足立聡 静岡県環境衛生科学研究所

森下高行 愛知県食品衛生検査所

近藤玲子、大塚有香、市川高子 愛媛県立衛生環境研究所

岡本玲子 山口県環境保健センター

藤本嗣人、秋山美穂 国立感染症研究所

A. 研究目的

平成 18 年の厚生労働省の輸入食品監視統計によると、生鮮魚介類は主にアジアからで貝類は 71,298 トン、エビ類は 126,889 トン輸入されており、生鮮肉類の総量は 1,775,141 トンで、豚肉は 837,565 トンとなっている。輸入生鮮魚介類並びに動物肉は輸出国および輸入国であるわが国においてもウイルス学的安全性は殆ど確保されていない。

わが国で消費されるアカガイ、ハマグリは 90%程度、アサリでは半分程度が輸入品であるとされている。そこで、われわれは輸入生鮮魚介類および動物肉におけるウイルス汚染状況についての調査・研究を継続的に行い、それら食品のウイルス学的安全性の検討を行った。

また、わが国のノロウイルス、A および E 型肝炎患者、ベトナムのノロウイルス患者との関連性についても検討した。

B. 研究方法

2007 年 5 月から 2008 年 2 月の間に、市販された魚介類で中国、韓国、ロシア、アメリカ、オーストラリア、イギリス、フィリピンからの 220 検体(加熱用カキ、生食用カキ、アカガイ、ハマグリ、アサリ、タイラギ、ブラックタイガー等)について、全検体はノロウイルスと A 型肝炎ウイルスの検出を、一部は E 型肝炎ウイルスの検出を行なった。

動物肉はアメリカ、カナダ、オーストラリア、ニュージーランド、メキシコ、中国からの 144 検体(豚肉、牛肉、鹿肉、羊肉、馬肉)および中国、韓国からの生鮮魚介類 40 検体について E 型肝炎ウイルスの汚染状況を調査した。

RT-PCR 法で検出された遺伝子産物は遺伝子配列を決定し、日本の検出株との関連性について検討した。

さらに、日本の A 型および B 型肝炎ウイルスによる患者発生についてのサーベ

イランスを行なうと共に、ベトナムにおける下痢症ウイルスの流行状況についても調査・研究を行った。

C. 研究結果

感染症法に基づく感染症発生動向調査事業の中央感染症情報センターである国立感染症情報センターに報告された感染症動向調査システムによる患者データによる、2007年に診断されたA型肝炎患者は156例で、2006年(316例)に比べ半減した。国外感染は55例で2006年(60例)と同様であったが、国内感染・感染地不明は101例で2006年(256例)より減少した。

国内感染・感染地不明例では経口感染と報告された者が101例中73例(73%)で1~2月、5月、11月に増加しているが、年間を通して患者は発生していた。

2007年に診断されたE型肝炎患者は55例で、2006年(69例)に比べやや減少した。国外感染15例、国内感染・感染地不明40例であった。

2006/07シーズンは例年より早くからノロウイルスの流行がみられ、施設内集団発生より数は少ないものの食中毒あるいは食中毒疑いの有症苦情の事例も例年より多かったが、2007/08シーズンは例年並みの事例数に戻った。集団発生事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型では2006/07シーズンに引き続き2007/08シーズンもGII/4が大部分を占めていた。

ノロウイルスは生鮮魚介類220検体中39検体(18%)から検出された。加熱用カキが11検体中1検体(10%)、生食用カキが47検体中0検体、アカガイ106検体中23検体(22%)、ハマグリ29検体中8検体(28%)から検出された。タイラギ15検体中4検体(27%)であっ

た。ブラックタイガー10検体中1検体はノロウイルス陽性であった。月別では2006年5月から2007年2月まで毎月ノロウイルス陽性が認められた。検出されたノロウイルスの遺伝子型はGIの10型がロシア産から、GIIは4型が中国、韓国産から多く検出された。

なお、従来遺伝子型に属さない型も検出された。

ベトナムの下痢症患者からのノロウイルスは13人(15%)の患者から検出され、ウイルスの検出時期は、12月から4月までの間であり、月例別の検出頻度では、2歳以下が大部分であった。全てがGIIに属し、GIは検出されなかったGII型のノロウイルスのうち、遺伝子型が決定できたのは8株で、GII/4が4株、GII/12が3株、GII/6が1株であった。同時期にベトナムのハイフォン市からの検体からもGII/4株が検出されたが、GII/4bに属し、同じ国でも異なった遺伝子株が流行していることが示唆された。今回検出したGII/4株は、2005年から2007年にかけて新潟で検出した株とは異なるクラスターを形成ではあるが、2005~2006年に検出した株に近かった。

なお、カキ1検体、アカガイ32検体およびハマグリ6検体はE型肝炎ウイルス陰性であった。

生鮮魚介類からのA型肝炎ウイルス検出は生鮮魚介類291検体中1検体(0.5%)から検出され、遺伝子型は1a型であった。

動物肉の豚肉95検体、牛肉6検体、鹿肉5検体、羊肉および馬肉各2検体からはE型肝炎ウイルスが陰性であった。

また、国内のE型肝炎ウイルス患者は69名で、国内感染例は52名であった。

D. 研究考察

輸入生鮮魚介類は18%がノロウイルスに汚染しており、加熱用カキ、アカガ

イ、タイラギおよびハマグリは10%以上がノロウイルスに汚染されていた。このことから、二枚貝はノロウイルス汚染されている危険性があり、しかも、上記二枚貝は検体を採取した2007年4月～2008年2月の全ての月で陽性が認められたことから、年間を通して、ノロウイルスによる食中毒事件が発生する危険性がある。

中国、韓国からの輸入二枚貝からGII/4型が多く検出された。わが国でのノロウイルスによる集団発生は殆どがGII/4によって起きており、また、ベトナムの幼児におけるノロウイルスによる下痢症もGII/12、GII/4によって発生しており、ヨーロッパにおいてもGII/4により流行が起きている。GII/4がわが国にどのような経路で侵入してきているかは不明であるが、その一部が生鮮魚介類によることも推察される。

生鮮魚介類からのA型肝炎ウイルス検出は生鮮魚介類220検体中2検体（フィリピン、インドネシア産エビ類）から検出され、遺伝子型は1a型であった。病原微生物検出情報に報告されたA型肝炎による食中毒事件は生魚介類を扱う人が感染し、感染源となっている。A型肝炎は潜伏期が長く、殆どの事件で原因食材および感染経路は不明となっている。近年の食中毒事件は全てA型肝炎ウイルスの遺伝子型は1a型であり、今回エビ類から検出された遺伝子型と同一であった。1a型はアジア地域で広く存在している遺伝子型で、近年わが国で発生しているA型肝炎ウイルスの食中毒事件は全て1a型が原因ウイルスとなっている。今後、アジア地域からの二枚貝のA型肝炎ウイルスの汚染実態と患者発生との関連性をさらに継続して追求する必要があると考えている。

生鮮魚介類を扱う食品業者はA型肝炎

ウイルスのワクチンを積極的に受け、自らが感染源とならないようにしなければならない。また、輸入生鮮魚介類の喫食に当たっては、十分に加熱することであり、加熱できないときには二枚貝の中腸腺を完全に取り除き、良く洗浄することが感染防止に重要である。

動物肉の豚肉95検体、牛肉6検体、鹿肉5検体、羊肉および馬肉各2検体はE型肝炎ウイルスが陰性であったことから、輸入動物肉は現在のところ、E型肝炎ウイルスの汚染は無いものと考えられた。実際にわが国の昨年のE型肝炎ウイルスの患者数も少数であった。

さらに、加熱用カキからロタウイルスも検出されており、今後ロタウイルスについて、感染の危険性が示された。

E. 結論

輸入生鮮魚介類のノロウイルス汚染は18%に、A型肝炎ウイルスは0.9%に認められた。生鮮魚介類の喫食に当たっては十分な加熱あるいは中腸腺を完全に取り除き、感染の防止が必要である。また、大量に生鮮魚介類を取り扱う人はノロウイルス、A型肝炎に感染する危険性が高く、実際にA型肝炎ウイルスによる食中毒事件は食品取扱者が感染源となっているので、積極的にA型肝炎ウイルスのワクチンを受けるように努める必要があると共に、生鮮魚介類の処理に際しては感染防止と、処理した後の洗浄水の消毒と手洗いの徹底を行わなければならない。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 書籍

西尾治, ノロウイルスの知識と感染予防.
丸山務編集, ノロウイルス現場対策改訂

版. 幸書房, 東京, 2007年11月. 23-70.
西尾治. Q&A. 丸山務編集, ノロウイルス現場対策改訂版. 幸書房, 東京, 2007年11月. 139-154
西尾治, 古田太郎. 現代社会の脅威 ノロウイルス. 幸書房, 東京, 2008年2月.
西尾治. カキを主とする二枚貝におけるノロウイルス食中毒. 食の安全研究センター設立記念シンポジウム組織委員会編, 食の安全を担う科学研究の新たな展開. 三協社, 東京, 2007年. 55-65.
西尾治. ノロウイルス. 渡邊昌, 和田功総監修. 「病気予防」百科. 日本医療企画, 東京, 2007年10月. 1036-1037.

2. 論文発表

- Hansman GS, Oka T, Okamoto R, Nishida T, Toda S, Noda M, Sano D, Ueki Y, Imai T, Omura T, Nishio O, Kimura H, Takeda N. Human sapovirus in clams, Japan. *Emerg Infect Dis*, 13(4):620-622, 2007.
- Khamrin P, Nguyen TA, Phan TG, Satou K, Masuoka Y, Okitsu S, Maneekarn N, Nishio O, Ushijima H. Evaluation of immunochromatography and commercial enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of norovirus antigen in stool samples. *J Virol Methods*, 147:360-363, 2007.
- Phan TG, Khamrin P, Trinh DQ, Dey SK, Takanashi S, Okitsu S, Maneekarn N, Ushijima H. Emergence of intragenotype recombinant sapovirus in Japan. *Infection, Genetics and Evolution*, 7(4):542-546, 2007.
- Okame M, Shiota T, Hansman G, Takagi M, Yagyu F, Takanashi S, Phan TG, Shimizu Y, Kohno H, Okitsu S, Ushijima H. Anti-norovirus polyclonal antibody and its potential for development of an antigen-ELISA. *J Med Virol*, 79(8):1180-1186, 2007.
- Phan TG, Kaneshi K, Ueda Y, Nakaya S, Nishimura S, Yamamoto A, Sugita K, Takanashi S, Okitsu S, Ushijima H. Genetic heterogeneity, evolution and recombination in norovirus. *J Med Virol*, 79(8):1388-1400, 2007.
- Phan TG, Khamrin P, Akiyama M, Yagyu F, Okitsu S, Maneekarn N, Nishio O, Ushijima H. Detection and genetic characterization of Norovirus in oyster from China and Japan. *Clin Lab*, 53(7,8):405-412, 2007.
- Nguyen TA, Khamrin P, Takanashi S, Hoang PL, Pham LD, Hoang KT, Satou K, Masuoka Y, Okitsu S, Ushijima H. Evaluation of immunochromatography test for detection of rotavirus and norovirus among Vietnamese children with acute gastroenteritis and the emergence of a novel norovirus GII.4 variant. *J Tropical Pediatrics*, 53(4):264-269, 2007.
- Dey SK, Nguyen TA, Phan TG, Nishio O, Salim AFM, Rahman M, Yagyu F, Okitsu S, Ushijima H. Molecular and epidemiological trend of norovirus associated gastroenteritis in Dhaka City, Bangladesh. *J Clin Virol*, 40:218-223, 2007.
- Khamrin P, Maneekarn N, Peerakome S, Tonusin S, Malasao R, Mizuguchi M, Okitsu S, Ushijima H. Genetic diversity of noroviruses and sapoviruses in children hospitalized with acute gastroenteritis in Chiang Mai, Thailand. *J Med Virol*, 79:1921-1926, 2007.

- Phan TG, Nishimura S, Sugita K, Nishimura T, Okitsu S, Ushijima H. Multiple recombinant noroviruses in Japan. *Clin Lab*, 53:567-570, 2007.
- Shiota T, Okame M, Takanashi S, Khamrin P, Takagi M, Satou K, Masuoka Y, Yagyu F, Shimizu Y, Kohno H, Mizuguchi M, Okitsu S, Ushijima H. Characterization of broad reactive monoclonal antibody against Norovirus genogroup I and II: Recognition of a novel conformational epitope. *J Virol*, 81(22): 12298-12306, 2007.
- Takanashi S, Okame M, Shiota T, Takagi M, Yagyu F, Phan TG, Nishimura S, Katsumata N, Igarashi T, Okitsu S, Ushijima H. Development of a rapid immunochromatographic test for noroviruses genogroup I and II. *J Virol Method*, 148(1-2):1-8, 2008.
- Kittigul L, Pombubpa K, Rattanatham T, Dirapha P, Ultrarachkij F, Pungchitton S, Khamrin P, Ushijima H. Development of a method for concentrating and detecting rotavirus in oysters. *Int J Food Microbiol*, 122(1-2):204-210, 2007.
- Nishida T, Nishio O, Kato M, Chuma T, Kato H, Iwata H, Kimura H. Genotyping and quantitation of noroviruses in oysters from two distinct sea areas in Japan. *Microbiol Immunol*, 51(2):177-184, 2007.
- Saitoh M, Kimura H, Kozawa K, Nishio O, Shoji A. Detection and phylogenetic analysis of norovirus in *Corbicula fluminea* in a freshwater river in Japan. *Microbiol Immunol*, 51(9):815-822, 2007.
- Noda M, Fukuda S, Nishio O. Statistical analysis of attack rate in norovirus foodborne outbreaks. *International Journal of food microbiology*, 122:216-220, 2008.
- 西尾治. ノロウイルス感染症. 公衆衛生, 71(12):972-976, 2007.
- 西尾治. ノロウイルス. 感染・炎症・免疫, 37(4):64-66, 2007.
- 隈下祐一, 加藤由美, 高本一夫, 古田太郎, 西尾治, 木村博一. ノロウイルス代替のネコカリシウイルスおよび各種微生物に有効なエタノール製剤の開発. 防菌防黴誌, 35(11):725-732, 2007.
- 宮原香代子, 片山丘, 古屋由美子. 神奈川県におけるウイルス性集団胃腸炎の発生状況について(平成18年度). 神奈川県衛生研究所報告, 37:72-74, 2007.
- 森田幸雄, 藤田雅弘, 斎藤美香, 塚越博之, 星野利得, 加藤政彦, 小澤邦寿, 西尾治, 木村博一. LightCycler®を用いたノロウイルス遺伝子検出法の検討. 食品微生物学会誌, 24(4):183-188, 2007.
- 近藤玲子, 市川高子, 大塚有加, 大瀬戸光明, 井上博雄. 調理従事者からノロウイルスが検出された食中毒事例—愛媛県. 病原微生物検出情報, 28:285-286, 2007.

3. 学会発表

- Phan TG, Takanashi S, Okitsu S, Ushijima H. Genetic diversity of Norovirus infection in Japan, 2002-2007. 第48回日本臨床ウイルス学会, 2007.6.2-3. 富山.
- Oka T, Arita-Nishida T, Noda M, Sano D, Ueki Y, Imai T, Omura T, Nishio O, Kimura H, Takeda N, Hansman GS. Detection of human sapovirus from clams in brackish water. 14th International Symposium on Health-Related Water Microbiology, Sep 9-15, 2007, Tokyo, Japan.

2007, Tokyo, Japan.

ファム・ニヤン, カムリン・パタラ, グエン・トゥアン, シュブラ・デイファン・トゥン, 沖津祥子, 牛島廣治. Isolation and molecular characterization of Aichi viruses from fecal specimens collected in Japan, Bangladesh, Thailand and Vietnam. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会, 2007.10.21-23. 札幌.

カムリン・パタラ, 沖津祥子, 牛島廣治. Detection and molecular characterization of bovine kobuviruses from diarrheic cattle. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会, 2007.10.21-23. 札幌.

李天成, 岡本玲子, 有田知子, 田中靖人, 溝上雅史, 宮村達男, 脇田隆字, 武田直和. キメラマウスにおける E 型肝炎ウイルスの複製. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会, 2007.10.21-23. 札幌.

野田衛, 岡本玲子, 有田知子, 伊藤文明, 池田義文, 西尾治. カキからのノロウイルス検出におけるアミラーゼ処理の有用性(2). 第 55 回日本ウイルス学会学術集会, 2007.10.21-23. 札幌.

高梨さやか, Phan Tung, 沖津祥子, 水口雅, 五十嵐隆, 牛島廣治. スリランカ・ペラデニヤ大学病院における小児ウイルス性胃腸炎の分子疫学的検討. 第 39 回日本小児感染症学会学術集会, 2007.11.9-11. 横浜.

Phan Tung, 沖津祥子, 牛島廣治. Viral infection in associated with acute gastroenteritis in Japanese children. 第 39 回日本小児感染症学会学術集会, 2007.11.9-11. 横浜.

Ushijima H, Phan YG, Dey SK, Nguyen AT, Khamrin P, Takanashi S, Okitsu-Negishi S. Molecular epidemiology of Norovirus and

sapovirus infection in Asia. Third International Calicivirus Conference, Nov 10-13, 2007, Cancun, Mexico.

Khamrin P, Nguyen AT, Mizuguchi M, Okitsu S, Ushijima H. Evaluation of the immunochromatography test for rapid detection of Norovirus antigen in stool samples. Third International Calicivirus Conference, Nov 10-13, 2007, Cancun, Mexico.

Okitsu-Negishi S, Shiota T, Okame M, Takanashi S, Khamrin P, Sato K, Masuoka Y, Shimizu Y, Ushijima H. Characterization of newly identified monoclonal antibody reacted with Norovirus GI and GII: Recognition of novel conformational epitope. Third International Calicivirus Conference, Nov 10-13, 2007, Cancun, Mexico.

Nguyen TA, Khamrin P, Phan TG, Mizuguchi M, Okitsu S, Ushijima H. Evaluation of the immunochromatography test for rapid detection of norovirus antigen in stool samples. 第 4 回日本小児消化管感染症研究会, 2008.2.16. 新宿.

H. 知的財産の出願・登録状況

特になし

II

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

輸入生鮮魚介類および動物生肉の

ウイルス汚染のサーベイランスに関する研究

平成 19 年度 分担研究報告書

主任研究者 西尾 治 (国立感染症研究所)

平成 20 (2008) 年 3 月

平成19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
輸入生鮮魚介類および動物生肉のウイルス汚染のサーベイランスに関する研究

国内の患者のサーベイランスに関する研究

分担研究者 山下和予 国立感染症研究所感染症情報センター

研究要旨

2007年に感染症発生動向調査で届出されたA型肝炎156例とE型肝炎患者55例の大部分は経口感染によると推定されているが、原因食品の情報は不十分であり、患者の喫食調査の情報を追加入力するよう、地方自治体と保健所の協力を求める必要がある。2007/08シーズンに病原微生物検出情報に報告されたノロウイルス集団発生事例は346事例と減少したが、うち82事例はノロウイルスが食品で媒介されたと疑われている。2006/07シーズンに引き続き、遺伝子型別されたノロウイルスのほとんどはGII/4であったが、流行株のさらに詳しい解析結果を追加して原因食品を追求する必要がある。

A. 研究目的

わが国には大量に生鮮魚介類および動物生肉が輸入されているものの、ノロウイルス、A型肝炎ウイルスおよびE型肝炎ウイルスの汚染状況の調査は殆ど行われていない。ノロウイルス感染は、毎年年末から増加し、冬季に流行がみられるが、2006/07シーズンには過去10シーズンで最高数の集団発生事例が報告された。また、ノロウイルス集団感染は、カキを原因食品とする食中毒の他に調理中に汚染された食品による食中毒、施設内の人→人感染集団発生も多発している。

わが国のノロウイルス、A型肝炎ウイルスおよびE型肝炎ウイルスによる患者の発生動向および病原体の検出状況を把握し、患者の集積あるいは特定の型の病原体の流行を捉えて、感染原因としての食品を追及するための資料を得る。

B. 研究材料と方法

感染症法に基づく感染症発生動向調査事業の中央感染症情報センターである国立感染症研究所感染症情報センターに報告された感染症発生動向調査システムに患者データより、2007年に診断された4類感染症のA型肝炎、E型肝炎の患者データ（2008年2月15日現在までの報告分）、および地方衛生研究所から病原体検出情報システムで報告された病原微生物検出情報のデータより、2006/07～2007/08シーズン（2006年9月～2008年3月）にノロウイルスが検出された集団発生病原体票のデータ（2008年3月13日現在までの報告分）を用いた。

A型肝炎とE型肝炎の患者データについては、推定感染地別診断月別に患者数の推移を観察した。ノロウイルス感染集団発生事例については、遺伝子型別と推定感染経路別に月別事例数の推移を観察し、さらに2007/08シーズンについては全体をまとめて診断名と推定感染経路について観察を行った。

C. 研究結果

1. A型肝炎

2007年に診断されたA型肝炎患者は156例で、2006年(316例)に比べ半減した。国外感染は55例で2006年(60例)と同様であったが、国内感染・感染地不明は101例で2006年(256例)より減少した。

月別のA型肝炎患者数を表1に示した。国外感染例では経口感染有と報告された者が55例中51例(93%)で4月と9月がやや多く、国内感染・感染地不明例では経口感染有と報告された者が101例中73例(73%)で1~2月、5月、11月に増加しているが、年間を通して患者は発生していた。

表1. A型肝炎患者月別報告数、2007年

全て													
診断月													
経口感染	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	総計
無	4	4	3	1	3	3	3	3		3	3	2	32
有	8	18	6	17	15	3	13	4	12	8	10	9	124
総計	12	22	9	18	18	6	16	7	12	12	13	11	156

国外感染													
診断月													
経口感染	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	総計
無	1	1						1			1		4
有		6	3	9	5	1	7	1	9	5	2	3	51
総計	1	7	3	9	5	1	7	2	9	5	3	3	55

国内感染、不明													
診断月													
経口感染	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	総計
無	3	3	3	1	3	3	3	2		3	2	2	28
有	8	12	3	8	10	2	6	3	3	4	8	6	73
総計	11	15	6	9	13	5	9	5	3	7	10	8	101

(感染症発生動向調査:2008年2月15日現在報告数)

2. E型肝炎

2007年に診断されたE型肝炎患者は55例で、2006年(69例)にやや減少した。国外感染15例、国内感染・感染地不明40例であった。

月別のE型肝炎患者数を表2に示した。

国外感染例では経口感染有と報告された者が15例中12例(80%)で11月がやや多く、国内感染・感染地不明例では経口感染有と報告された者が40例中28例(70%)で2月がやや多いが、年間を通して患者は発生していた。

表2. E型肝炎患者月別報告数、2007年

全て													
診断月													
経口感染	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	総計
無	2	2	1		2		1	3	1	1	1	1	15
有	1	8	5	4	3	2	3	3	3	3	2	3	40
総計	3	10	6	4	5	2	4	6	4	4	3	4	55

国外感染													
診断月													
経口感染	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	総計
無	1							1			1		3
有		1	1	1	1	2	1	1	1	1	2		12
総計	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	3	0	15

国内感染、不明													
診断月													
経口感染	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	総計
無	2	1	1		2		1	3		1	1		12
有	1	8	4	3	2	1	1	2	2	2	1	1	28
総計	3	9	5	3	4	1	2	5	2	3	2	1	40

(感染症発生動向調査:2008年2月15日現在報告数)

3. ノロウイルス感染集団発生

地方衛生研究所から報告される「集団発生病原体票」には、食品媒介による感染が疑われる「食中毒」や「有症苦情」、人→人感染や感染経路不明の胃腸炎集団発生などの事例ごとの情報が含まれている。

2006/07 シーズンは、ノロウイルス genogroup II (GII) による施設内集団感染、食中毒などの集団発生の報告が例年に比べ早く10月から増加し(表3)、過去10シーズン最大の流行となった。2007/08 シーズンは、2007年12月をピークに2007年9月～2008年3月に発生した294事例が報告されている(8事例では genogroup I と II を検出)。このうち、genogroup II の遺

伝子型別まで実施された119事例中102事例では GII/4 が検出されている。他には GII/3 が13事例、GII/13 が2事例、GII/2 が2事例、GII/6 が1事例で検出されている。また、genogroup I が22事例で検出され(うち7事例は GI/4)、30事例の genogroup は不明で、2007/08 シーズンにノロウイルスが検出された集団発生事例はこれまでに計346事例となった(2008年3月13日現在)。

表3. ノロウイルス感染集団発生月別報告数、2006年9月～2008年3月

Genogroup	2006年												2007年												2008年			2007/08
	9月	10月	11月	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	9月～3月								
I	-	1	1	3	4	4	1	2	1	1	2	-	-	-	2	10	7	2	1	22								
II	6	7	419	333	156	77	64	35	20	10	5	2	-	13	73	110	72	18	-	286								
I + II	-	1	3	4	-	-	1	-	1	-	1	-	-	-	-	4	4	-	-	8								
unknown	-	-	5	5	4	1	-	-	-	-	-	-	-	1	14	9	3	3	-	30								
合計	6	73	428	345	164	82	66	37	22	11	8	2	-	14	89	133	86	23	1	346								
(GII/4 再掲)	(3)	(41)	(186)	(102)	(62)	(23)	(17)	(12)	(7)	-	(1)	(1)	-	(4)	(30)	(37)	(25)	(6)	-	(102)								
推定感染経路																												
人→人伝播の疑い	4	44	284	213	106	42	30	21	12	7	4	1	-	4	57	66	55	14	1	197								
食品媒介の疑い	1	13	73	68	28	17	23	9	5	1	1	-	-	3	14	39	21	5	-	82								
不明	1	16	71	64	30	23	13	7	5	3	3	1	-	7	18	28	10	4	-	67								
合計	6	73	426	345	164	82	66	37	22	11	8	2	-	14	89	133	86	23	1	346								

(病原微生物検出情報：2008年3月13日現在報告数)

ノロウイルスが検出された 346 事例の推定感染経路は、老人施設、病院、福祉施設、保育所、小学校、宿舍・寮、ホテル、宴会場などでの人→人感染が疑われているものが 197 事例 (57%)、食品媒介が疑われているものが 82 事例 (24%、2006/07 シーズンは 1,244 事例中 239 事例 19%)、その他感染経路が特定できず不明のものが 67 事例

(19%) であり、診断名別にみると、「感染性胃腸炎」231 事例 (67%) (海外旅行での 1 事例を含む)、「食中毒」66 事例 (19%)、「有症苦情 (食中毒疑いを含む)」46 事例 (13%)、「その他・不明」3 事例 (0.9%) で、人→人伝播が疑われる感染性胃腸炎の施設内集団発生が過半数を占めていた (表 4)。

表 4. ノロウイルス感染集団発生の推定伝播経路と診断名、2007 年 9 月～2008 年 3 月

診断名	推定伝播経路			合計
	人→人伝播の疑い	食品媒介の疑い	不明	
感染性胃腸炎	181	18	32	231
食中毒	-	62	4	66
有症苦情	15	2	29	46
不明	1	-	2	3
合計	197	82	67	346

(病原微生物検出情報:2008 年 3 月 13 日現在報告数)

D. 考察

感染症発生動向調査で収集される患者データは患者を診断した医師の届出に記載された情報を保健所がデータベースに登録しているものであり、患者届出後に積極的疫学調査等により明らかとなった情報は含まれていない。A型肝炎およびE型肝炎患者データでは原因食品の記載が乏しく、また推定原因食品が記載されていた症例においても国産か輸入であるかは全く不明であった。原因食品を追求するためには地方自治体、保健所が実施した患者の喫食調査の情報を国産・輸入の区別までを含めてシステムに追加入力するよう協力を求める必要があると考える。

2006/07 シーズンは例年より早くからノロウイルスの流行がみられ、施設内集団発生より数は少ないものの食中毒あるいは食中毒疑いの有症苦情の事例も例年より多かったが、2007/08 シーズンは例年並みの事

例数に戻った。集団発生事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型では 2006/07 シーズンに引き続き 2007/08 シーズンも GII/4 が大部分を占めていた。関係者および広く一般に対して迅速に情報を公開するため、「ノロウイルス感染集団発生<速報>」を国立感染症研究所感染症情報センター病原微生物検出情報 (IASR) ホームページ上に掲載し (<http://idsc.nih.go.jp/iasr/noro.html>)、毎週更新した。

E. 結論

A型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルスに汚染された輸入食品を追求するためには、感染症発生動向調査システムに喫食調査の情報を追加する必要がある。ノロウイルスに汚染された輸入食品を追及するためには、集団発生病原体票のノロウイルス遺伝子型の情報に国内で流行している株であるかど

うかの詳しいウイルスの解析結果を追加する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

「輸入生鮮魚介類および動物生肉のウイルス汚染のサーベイランスに関する研究」
分担研究項目 輸入食品及び集団・散发性胃腸炎事例からのウイルス検出
状況について

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、大塚有加、市川高子（同上）

研究要旨

輸入食品のウイルス学的安全性評価の一環として、平成 19 年 5 月から平成 20 年 2 月までの間に輸入された生鮮魚介類におけるノロウイルス(NV)、A 型肝炎ウイルス(HAV)の汚染状況を調査した。中国及び韓国から輸入された貝類 40 ロット 120 検体からリアルタイム PCR 及び Nested RT-PCR を用い、NV と HAV の検出を試みた。その結果、すべての検体において NV、HAV は検出されなかった。しかし、NV は Nested RT-PCR で陰性であったものの、リアルタイム PCR では、定量限界値以下であるが増幅がみられた検体はいくつかあった。このことから、ごく微量の NV が含有されていることが推測され、輸入貝類の微生物汚染モニタリングの重要性が示唆された。

平成 19 年 1 月から 20 年 3 月までの期間中の急性胃腸炎の集団発生事例の内、ウイルスが検出された 15 事例について考察した。食中毒と判断された事例いづれでも、カキ等二枚貝が関与した事例はなく、調理中の二次汚染或いはヒトーヒト感染が示唆された事例のみであった。集団発生の原因 NV と同時期の散发例から検出された NV の遺伝子型を比較すると、集団発生から検出される遺伝子型は 1 種類でしかも同時期の散发例から同じ遺伝子型が検出され、周辺地域における NV の流行が集団発生に関連していることが示唆された。

A. 研究目的

近年、魚介類等生鮮食品を介する急性胃腸炎や A 型肝炎の食中毒事例が多数報告されている。我が国は大量の魚介類等生鮮食品を大量に輸入しているため、健康危機管理対策として輸入食品の安全性を確保することは重要な課題である。しかし、これら食品中の NV や HAV 等の検査は輸出国ではほとんど行われておらず、また、国内においても、西尾らが平成 9 年度から 15 年度に行った厚生科学、厚生労働科学研究で、アジアからの二枚貝は 17%程度のノロウイルス汚染があり、A 型肝炎には 1%程度が汚染されている

ことを報告しているに過ぎない。

そこで、本研究では、輸入生鮮魚介類のノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルス等について、汚染状況を国別、材料別にサーベイランスを行って輸入食品のウイルス汚染状況の実態を把握し、食中毒の発生防止に寄与することを目的とした。

また、調査期間中の食中毒事件や胃腸炎集団発生事例、及び地域における散发性胃腸炎患者についても、NV 等の検索を行い、検出された NV 等については遺伝子解析を行い、輸入食品との関連及び集団発生の原因ウイルスと地域に

流行しているウイルスとの関連について分子疫学的解析を加えた。

B. 研究方法

検査材料:平成19年5月から20年2月の間に、愛知県北部市場に搬入された輸入貝類40ロットを買上げして用いた。貝類は中腸腺約1gを検査に供した。中腸腺約1gはアカガイでは1~3個、ハマグリでは4~6個に相当した。なお、1ロットにつき3検体ずつ検査を行った。また、食中毒等胃腸炎集団発生の原因検索のため、患者、調理従事者等の糞便を用いた。また、一部事例では施設のふき取り、食品についても検査を行った。地域社会でのNV流行の継続的監視は、感染症発生動向調査の一環として採取した散発性胃腸炎患者の糞便を用いた。

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、以下のとおり行った。貝から切り出した中腸腺1~2gを、10mlのPBSで乳剤とし、10,000回転20分冷却遠心上清をHCFC141bで処理し、得られた水相を30%ショ糖クッションに重層し、38,000rpmで2時間超遠心後、沈渣を200 μ lの蒸留水に浮遊させたものを抽出材料とした。RNA抽出にはHigh Pure RNA Kit (Roche)を用い、添付のマニュアルに従った。

NVの検出:NVは影山らの方法に準じたリアルタイムPCR及びNested RT-PCRで行った。リアルタイムPCRはCOGF/R primerとRING-TP probeを用い、ABI PRISM 7000で測定した。既知濃度NV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。Nested RT-PCRは1st PCRにgenogroup I (GI)用としてCOG1F/G1SKR primerを、genogroup II (GII)用としてCOG2F/G2SKF primerを用い、Nested PCR primerはSKF/Rを用いた。

HAV遺伝子検出:HAVはリアルタイムPCR及びNested RT-PCRを行った。リアルタイムPCRは、西尾が設定したHAV449 primerとHAV557

primerを用いたTaqMan Probe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。Nested RT-PCRには、戸塚らのprimer HAV2799/3273及びHAV2907/3162を用いた。

NVの遺伝子解析:PCR産物のダイレクトシークエンス法で遺伝子塩基配列を決定した。得られた遺伝子塩基配列のうちNVのカプシド領域部分についてNJ法により系統樹解析を行った。

C. 研究結果

1) 輸入貝類からのウイルス検出状況

平成19年度に購入された輸入貝類計40ロットについて、NV及びHAVの検査を行った(表1)。輸入国別では、韓国産はアカガイ27ロット、中国産はアカガイ9ロットとハマグリ4ロットであった。表2に輸入貝類のウイルス汚染状況を示した。NVは、いずれの検体もNested RT-PCR及びリアルタイムPCRで陰性であった。しかし、リアルタイムPCRで定量下限値以下(テストチューブあたりのコピー数が10コピー以下)ではあるものの、韓国産アカガイ9ロット及び中国産アカガイ8ロットにおいて増幅がみられた。HAVは40ロットすべての検体が、RT-PCR及びリアルタイムPCRで陰性であった。これらのことから、貝に含まれているNV量は微量ではあるものの輸入貝の汚染が持続していると推測された。

2) 愛媛県のウイルス性胃腸炎集団発生事例と散発性胃腸炎患者からのウイルス検出

平成19年1月から20年3月に発生した急性胃腸炎の集団発生事例の内、ウイルスが検出された15事例について検討した。集団発生事例は、大部分が平成19年12月から20年3月に集中して発生した。疫学的調査により、14事例が食中毒、1事例がヒト→ヒト感染と判断された。これらの事例のうち、集団発生原因ウイルスとしてNV GIが2事例で、NV GIIが12事例で、

サポウイルス (SV) が 1 事例で検出された(表 3)。平成 19 年 12 月から 20 年 1 月までの間の集団発生事例で検出された NV の一部について遺伝子解析を行ったところ、食品(カキ)から検出された NV を除き GII/4 であった。食品(カキ)から検出された NV は GII/3 であり、この事例を含む全ての事例でカキ等二枚貝の関与は確認されなかった。食中毒事例においては、従事者や施設のふき取りから検出されたウイルスと患者から検出されたウイルスが 100%一致する事例が多く、今回のほとんどの事例でも調理中の二次汚染が強く疑われた。調理者の一部から患者と異なる遺伝子型のウイルスが検出された事例が 3 事例あったが、これは調理者の散発的な胃腸炎に起因し集団発生との直接的因果関係はないものと結論づけた。

平成 19 年 12 月から 20 年 1 月までの間に散発性胃腸炎から検出された NV の一部及び食中毒例から検出された NV 株についてダイレクトシーケンスを行った。カプシド領域(約 200bp)の塩基配列を決定し系統樹解析を行い図 1 に示した。

集団発生事例から検出された遺伝子型はカキから検出された GII/3 型 1 株を除き GII/4 のみであり、同時期の散発例から検出された NV もすべて GII/4 で、そのほとんどが昨シーズン県内で流行した NV に類似した株であった。これらの NV 株の塩基配列の相同性は非常に高く、周辺地域における NV の流行が集団発生に関連していることが示唆された。

D. 考 察

わが国で消費される二枚貝の大部分は輸入品であると言われ、しかも、輸出国においてウイルス学的安全性の検査はほとんど行われていない。このことから、わが国においてそれらのウイルスの汚染状況についてサーベイランスを行い、国内における患者発生との関連を監視する必要性が高まっている。

今回の調査では、NV、HAV とともに検出されなかった。過去の調査と比較して、本年度の輸入貝から NV が検出されなかった要因は不明であるが、定量下限値以下の数値が検出された検体は 40 ロット中 17 ロットあることから、検体の個体差等も原因の一つと考えられる。さらにこれら微量のウイルスを検出する感度の向上も今後の課題である。

NV による胃腸炎の散発例と集団発生事例の原因ウイルスを遺伝子解析すると、集団発生から検出された株と、ほぼ同時期に散発例から検出された株との塩基配列は極めて高いホモロジーを示した。このことから地域社会で流行している NV が、胃腸炎の集団発生と密接に関連していることが強く示唆された。

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 19 年 5 月から平成 20 年 2 月の間に 40 ロットの輸入貝を検査した結果、NV、HAV とともにすべて陰性であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 近藤玲子、市川高子、大塚有加、大瀬戸光明、井上博雄：調理従事者からノロウイルスが検出された食中毒事例—愛媛県。病原微生物検出情報、28：285-286、2007

2) 市川高子、大塚有加、近藤玲子、大瀬戸光明、井上博雄：愛媛県における今夏のエンテロウイルス分離状況。病原微生物検出情報、28：354-355、2007

2. 学会発表

1) 近藤玲子、大瀬戸光明、稲荷公一、豊嶋千俊、市川高子、井上博雄：愛媛県における日本紅斑熱の発生状況と媒介マダニの分布。第 23 回中国四国ウイルス研究会、2007.6、愛媛県