

表1. 2006年1月～2007年12月のNV集団発生事例の概要

発生年月日	発生施設 原因施設	感染源(推定)	患者数	陽性数/検査有症者		無症状者(従事者 genotype)		SSCPパターン	備考
				陽性数/検査数	陽性数/検査数	陽性数/検査数	陽性数/検査数		
2006.1.20	飲食店	食品(酢力キ)	11	5/7	5/7			G I、G II	
2006.1.22～29	病院	ヒト-ヒト	26	2/5	2/5			G II/4	
2006.2.23	飲食店	食品	117	9/17	8/8	1/9		G I	
2006.10.18	飲食店	食品	21	7/13	6/6	1/7		G II/4	
2006.10.19	飲食店	食品	123?	11/26	10/11	1/15		G II/4	
2006.10.31	飲食店	食品	52?	8/12	8/8	0/4		G II/4	
2006.11.11	飲食店	食品	8		県外	0/5		G II/4	
2006.11.17	飲食店	食品	179	11/17	9/9(従事者1)	2/8		G II/4	
2006.11.24	福祉施設	不明	10	7/11	7/7	0/4		G II/4	
2006.11.25	保育所	ヒト-ヒト	27	7/7	7/7			G II/4	
2006.11.28	飲食店	食品	3	4/4	3/3	1/1		G II/4	
2006.11.28	飲食店	食品	3	1/2	1/2			G II/4	
2006.12.3	高齢者施設	ヒト-ヒト	23	10/13	8/9	2/4		G II/4	
2006.12.6	飲食店	食品	117?	15/17	15/17			G II/4	
2007.3.27	飲食店	食品	21	11/13	11/12(従事者1)	0/1		G II/4	G II/4-a
2007.6.2	飲食店	食品	25	9/15	6/6(従事者1)	3/9		G I/14	
2007.7.5	職場の寮	不明	4	4/4	4/4			G II/4	G II/4-d
2007.10.19	団体旅行中	ヒト-ヒト	9	5/6	5/6			G II/4	G II/4-f
2007.11.13-15	保育所	ヒト-ヒト	31	4/5	4/5			G II/3	G II/3-e
2007.11.26	仕出し屋	食品	17(67)	5/6	5/6			G II/4	G II/4-g 原因施設は県外

表2. SSCPパターン(2007.4～12)

	G II/3						G II/4							G II/13		
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d	e	f	g	a		
集団事例					1						1			1	(1)	
散发例	15	9	2	3	1	1	9	2	1	2	1					2

():原因施設が県外

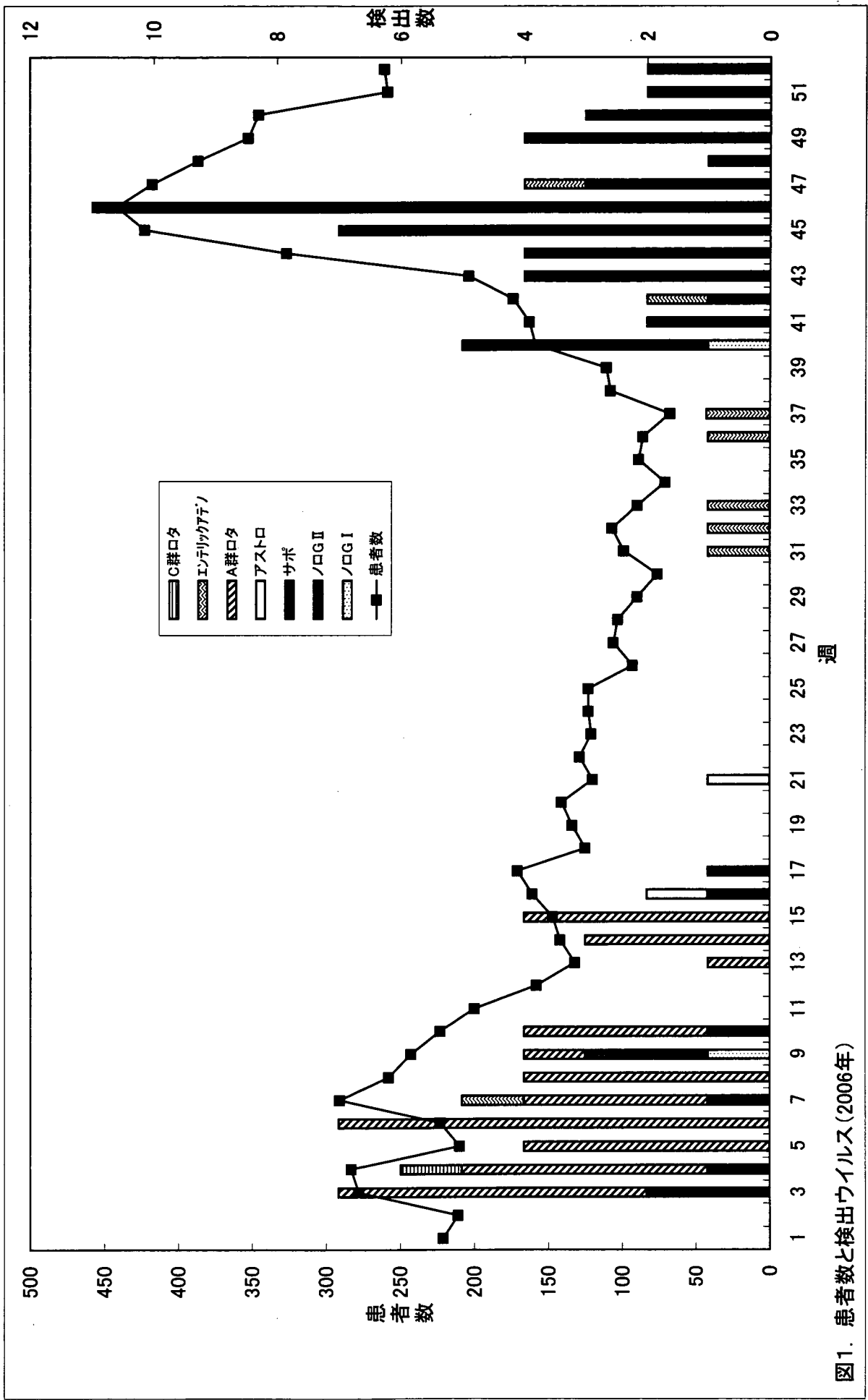


図1. 患者数と検出ウイルス(2006年)

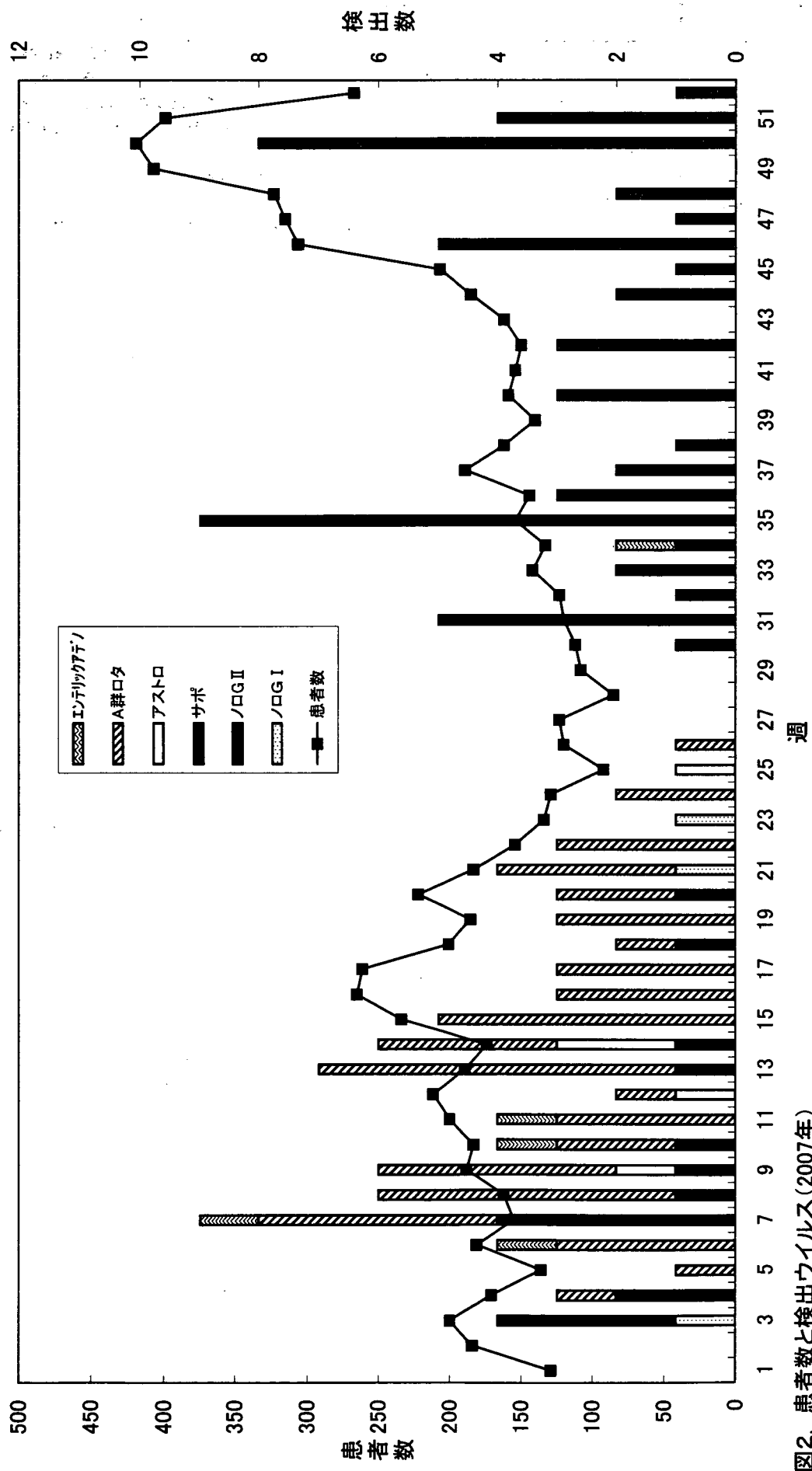


図2. 患者数と検出ウイルス(2007年)

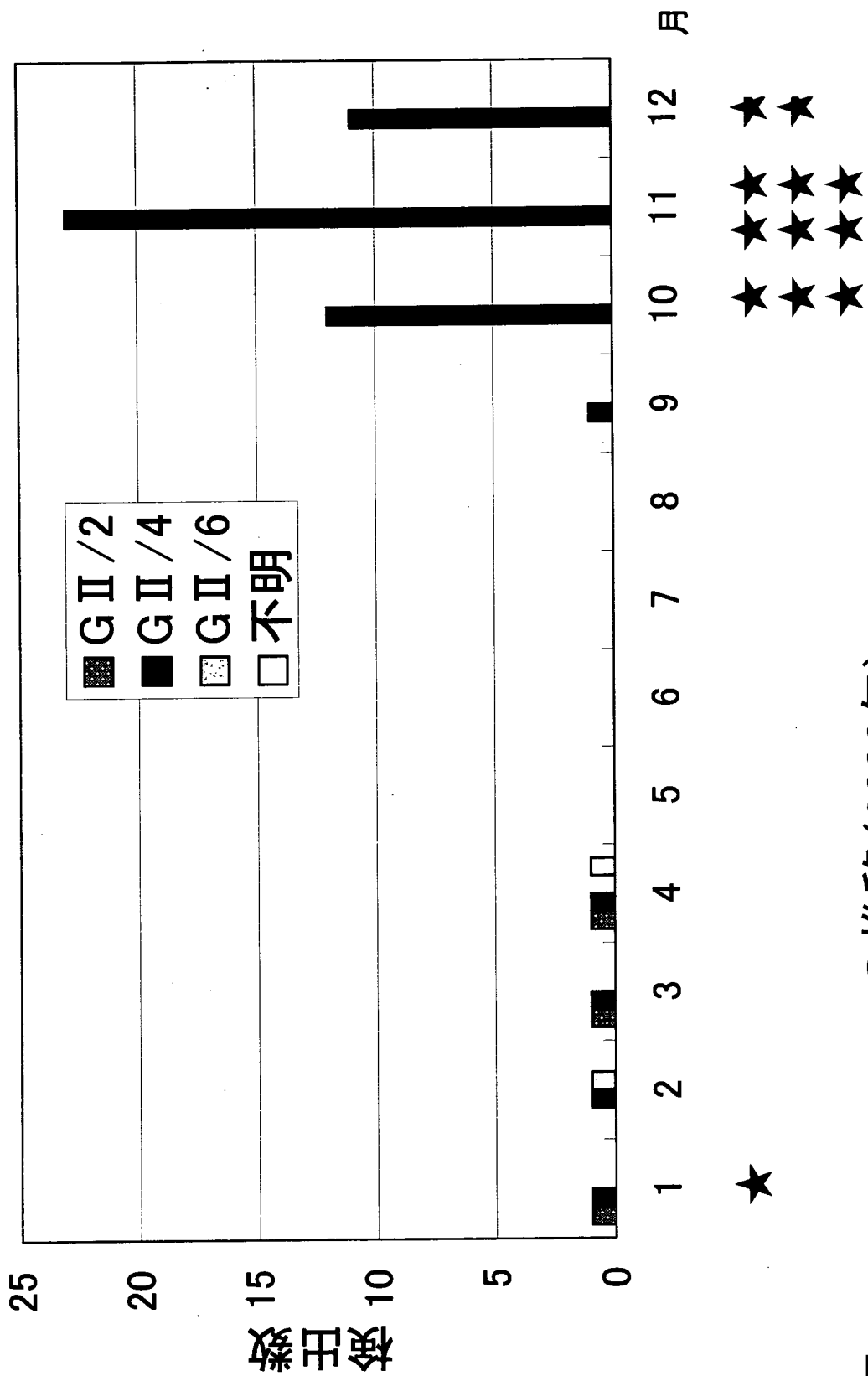


図3. GI genotypeの推移(2006年)

☆:GIが検出された集団発生事例

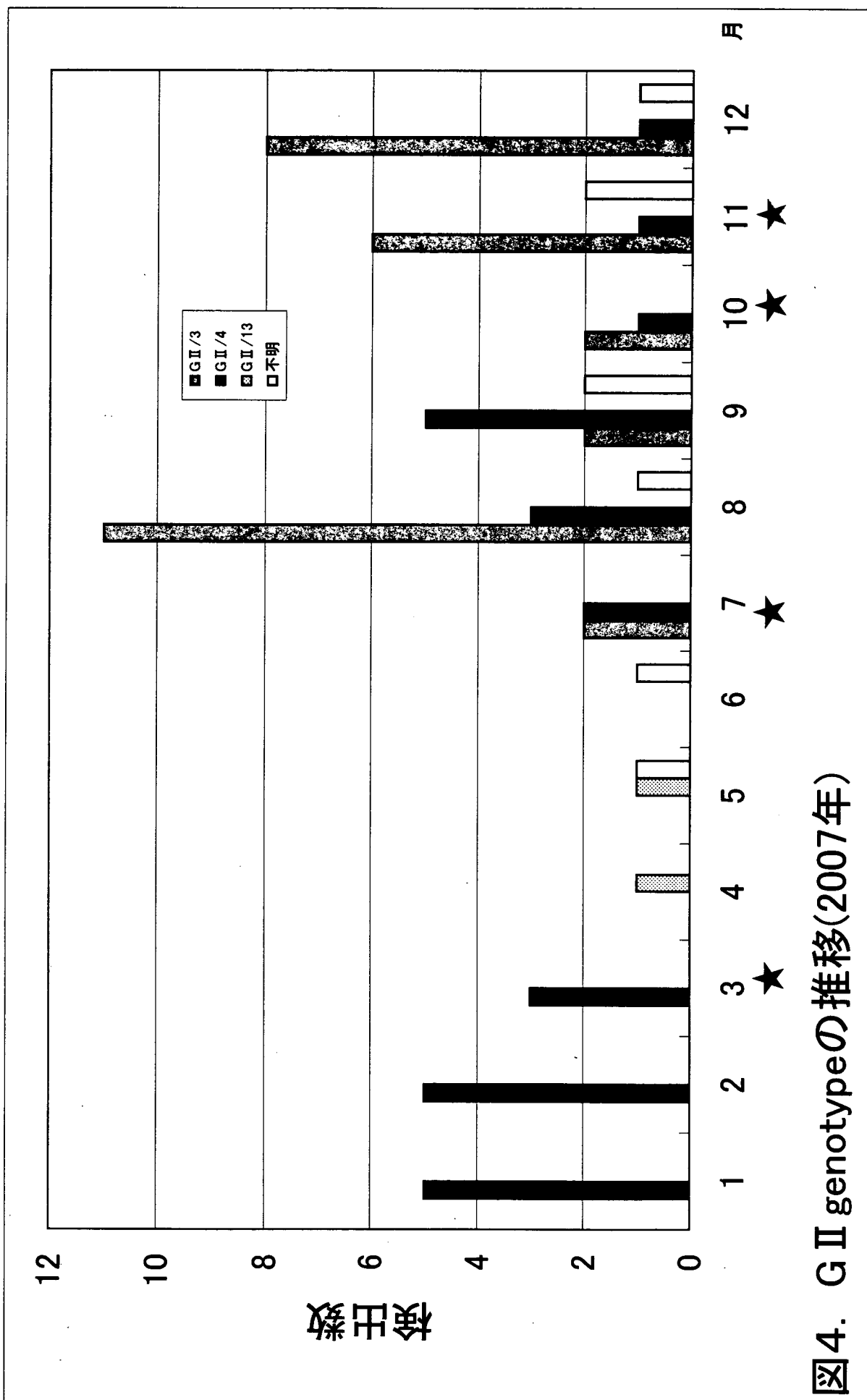


図4. G II genotypeの推移(2007年)

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
「食品中のウイルス制御に関する研究」
協力研究報告書

カキにおけるノロウイルスの量的分布と推移および
ノロウイルス簡易検出法のカキへの応用

研究協力者 福田伸治 (広島県立総合技術研究所保健環境センター)
分担研究者 田中智之 (堺市衛生研究所)

研究要旨:

食品中でのノロウイルス (NV) 制御の一助とすることを目的に、市販カキにおける NV の量的分布の推定と養殖場における NV 量の時系列的推移を検討した。また同時に NASBA 法と RT-LAMP 法を組合わせた方法 (NASBA-RT-LAMP 法) による NV の簡易検出 (モニタリング手法) の有用性を検討した。市販カキにおける NV の分布は対数正規分布であると仮定され、これを基に多くの食中毒事例の解析を実施することにより、発症ウイルス量が推定できる可能性が示唆された。養殖場におけるカキの NV は陽性率および量ともに 12 月あるいは 1 月にピークとなることが確認された。また、NASBA-RT-LAMP 法は養殖場等のカキの NV モニタリングの 1 手法として有用であることが確認された。

A. 研究目的

ノロウイルス (NV) はヒトの下痢症の原因微生物として重要である。最近では、NV 集団事例はヒト-ヒト感染によるものが多く認められるが、食中毒患者数が最も多い原因微生物も NV である。

今年度は、食品中での NV 制御の一助とすることを目的に、市販カキ (パック) 中の NV の量的分布と養殖場カキにおける NV 量の推移を時系列で調査解析した。また、2004 年 3 月に発生した、原因食品と推定されたカキが検査に供された 1 事例から発症ウイルス量の推定を行った。

併せて、Nucleic Acid Sequence Based Amplification (NASBA) 法と Reverse Transcription-Loop Mediated Isothermal Amplification

(RT-LAMP) 法を組合わせた 2 段階等温遺伝子増幅法によるカキからの NV 検出の応用性について検討した。

B. 研究方法

1. カキ中の NV 遺伝子の検出および定量

市販カキ (加熱調理用) は平成 19 年 12 月から平成 20 年 1 月に加工された 8 パックについて、1 パック当たり 10 個を試験に供した。また、養殖場カキ (沿岸部) は 1 地点 (養殖筏) 当たり 5 個を試験に供した。養殖場カキの採取は 10 月中旬、11 月中旬、12 月中旬、1 月上旬、1 月下旬および 2 月中旬の 6 回行った。

カキに含まれる NV 遺伝子の検出および定量は平成 15 年 11 月 5 日厚生労働省 食安監発第 1105001 号「ノロウ

イルスの検出法について」に準拠して行った。なお、本研究のカキ1個体当たりの検出限界は21.4コピーである。また、検出されたNVの一部については、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、Kageyamaら(J. Clin. Microbiol. 2004: 42; 2988-2995,)のスキームに従って遺伝子型を決定した。

2. 2段階等温遺伝子増幅法：NASBA-RT-LAMP法によるカキ中のNVの検出法については、既に発表した方法に従った(福田ら：日本ウイルス学会第55回学術集会講演要旨集 p. 388, 2007年10月, 札幌)。

養殖筏から加熱調理用カキ6ロットを採取し、1ロット当たり4個を試験に供した。遺伝子RNAは平成15年11月5日厚生労働省食安監発第1105001号「ノロウイルスの検出法について」に従いポリエチレングリコールで沈殿・濃縮を行った後、QIAamp viral RNA mini kit (キアゲン)で抽出した。まず、RNA 5 μ lを用い、NASBA法で41 $^{\circ}$ C 90分間NoV遺伝子の1次増幅(GIおよびGIIを同一チューブ同時増幅)を行った。NASBA法にはNASBA Amplification Kit (カイノス)を用い、取扱説明書に従って試薬等を調整した。そして、NASBA産物2 μ lを用いて、genogroup-specific RT-LAMP法(Fukudaら：J. Clin. Microbiol. 2006: 44; 1376-1381,)で2次増幅(遺伝子グループ別)を行った。

C. 研究結果

1. カキ中のNV遺伝子の量的分布

市販カキ8パックの1個体当たりのNV遺伝子量の分布(Boxplot)を図1に示した。検査に供した10個/パック

のカキは不検出のものが多かったが、試料D, FおよびHは対数正規分布と考えられる分布を示した(図1A)。また、NV陽性検体のみにおけるNVの分布は対数正規分布(試料A, C, D, FおよびH)であることが確認された(図1B)。この結果からカキにおけるNV量の分布を対数正規分布と仮定し、さらに、ヒトのNVに対する感受性は一定であると仮定し、2004年3月に発生した事例で得られた残品5個体のNV量を測定した。そのNV量と当該事例の発症率(28.9%)から推定した場合、発症NVコピー量は37から92コピーであった。

2006/07年シーズンと2007/08年シーズンにおける養殖場カキ1個体当たりのNV量(5個体の平均値)はシーズンにより若干の差があるものの、12月から1月のカキは陽性率およびNV量ともにピークとなることが認められた(図2)。なお、2007/08年シーズンにカキから検出された遺伝子型はGI/2, GI/4, GI/8, GII/3, GII/4, GII/13であり、GIではGI/4, GIIではGII/4が主流であった。

2. 2段階等温遺伝子増幅法：NASBA-RT-LAMP法によるNVの検出

6ロット24個体のカキのRT-seminested PCR法とNASBA-RT-LAMP法によるNV検出状況を表1に示した。24個体のNVコピー数は2個体を除き<100/個であったが、NASBA-RT-LAMP法はRT-seminested PCR法とほぼ同等の検出感度を示した。2法の一一致率は遺伝子グループI(GI)およびII(GII)ともに70.8%であった(McNemarテスト, 2法に有意差なし)。一方、ロット単位の一一致率はGIおよびGIIともに83.3%(5/6)であっ

た。

D. 考察

カキ中のウイルス制御あるいはリスク低減を実行するためには、提供されるカキにおける NV の分布を明らかにすることが重要である。本研究で供試したカキの多くは NV 定量限界以下であったため、検出限界以下のカキが多く含まれる場合には、NV の分布を特定することができなかったが、NV 量が測定可能であったカキにおける NV の分布は対数正規分布であることが示唆された。通常、カキ 1 個体当たりに含まれる NV 量は少なく、濃縮等の操作を行い遺伝子量を測定するが、カキに含まれる NV 量が数十コピーを下回るとその測定が困難となる。仮にカキ中の NV 量が数コピー単位で測定可能であれば、その分布も対数正規分布であることが推定される。一般的に食品中の細菌などの微生物の分布は対数正規分布であることが認められており、NV も同様と考えられる。更なる検討が必要であるが、食品中での NV の分布が特定できれば、その発症ウイルス量の推定も可能になると考えられる。本研究での 1 事例における発症ウイルス量は 37-92 コピーと推定された。これは、食品中の NV の分布を対数正規分布と仮定し、また、ヒトの NV に対する感受性を一定と仮定した上での推定量である。近年では血液組織型抗原と NV 感受性との関係も報告されており、食品中での NV の分布の検討と食中毒事例の例数を重ねた検証が必要となってくる。

さらに、養殖場における NV の動態把握は NV 食中毒に対するリスク低減に大きく貢献すると考えられる。特に、

12 月あるいは 1 月に沿岸部養殖場カキの NV 陽性率および量がピークとなり、食中毒発生に対する要注意時期であると考えられる。このピークはヒトでの発生のピークから若干遅れる傾向にあり、カキのみならずヒトにおける NV の動態把握は NV のリスク制御に重要な要因であると考えられる。また、一般的に行われているカキからの NV の検出法は時間が掛かるため、その有無を迅速に検出する方法を構築することもリスク制御に重要である。本研究で用いた NASBA-RT-LAMP 法は RT-seminested PCR 法とほぼ同等の感度を有し、約 3 時間で NV 遺伝子の増幅が可能で、特別機器が必要でないことから、カキに含まれている NV の簡易検出（モニタリング手法）の 1 手法として有用であると考えられた。

E. 結論

1. 市販カキにおける NoV の分布は対数正規分布であると仮定され、これを基に多くの食中毒事例を解析することにより、発症ウイルス量を推定することが可能となると考えられた。
2. 養殖場におけるカキは陽性率および量ともに 12 月あるいは 1 月がピークとなることが認められた。
3. NASBA-RT-LAMP 法は NoV を簡易検出する 1 手法（モニタリング手法）として有用であることが認められた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
1) Fukuda S, Sasaki Y, Kuwayama M, Miyazaki K: Simultaneous detection

and genogroup-screening test for norovirus genogroups I and II from fecal specimens in single tube by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay. *Microbiol. Immunol.*, 51, 547-550, 2007.

2. 学会発表

- 1) 福田伸治, 佐々木由枝: 2段階等温遺伝子増幅法によるカキ中のノロウイルス遺伝子の簡易検出. 日本ウイルス学会第55回学術集会 2007年10月 札幌
- 2) 佐々木由枝, 福田伸治: ヒトおよびカキから検出されたノロウイルスの遺伝子学的関連. 日本ウイルス学会第55回学術集会 2007年10月 札幌

H. 知的財産権の出願, 登録状況

なし

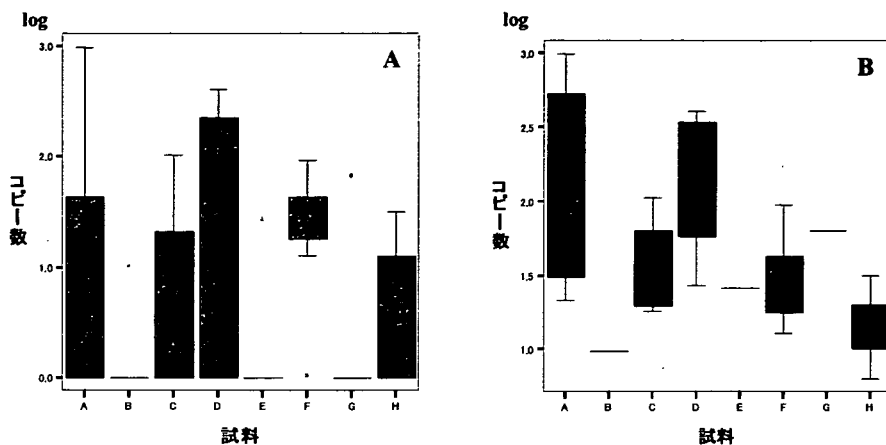


図1 市販カキにおけるノロウイルスの量的分布 (Boxplot)

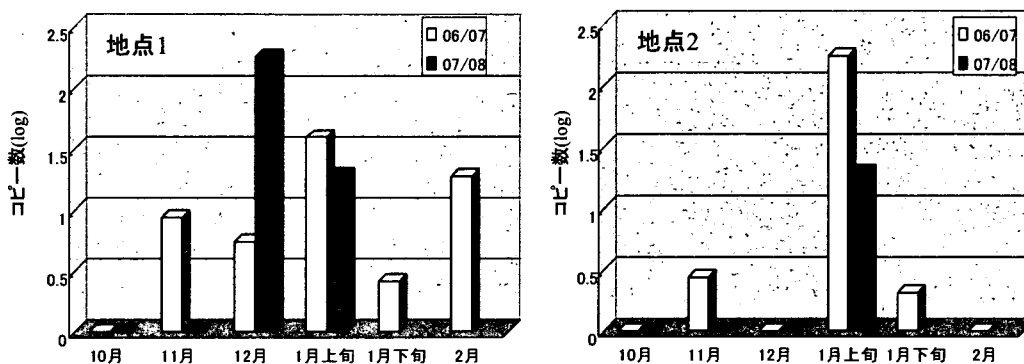


図2 養殖場カキにおけるノロウイルス量の経時的推移 (5個体の平均値)

表1 RT-seminested PCR と NASBA-RT-LAMP の比較

lot	Genogroup I			Genogroup II		
	RT-seminested PCR	NASBA-RT-LAMP	コピー数/個	RT-seminested PCR	NASBA-RT-LAMP	コピー数/個
1	○○○○	○○○●	<100	○○○●	●○○○	<100
2	○●●●	○●●●	<100~436	●○○●	●●●●	<100~209
3	○○○○	○○○○	<100	○●●●	●○○●	<100
4	○○○○	○○○○	<100	○○○○	●○○○	<100
5	●●○○	○○○○	<100	○○○●	○○●●	<100
6	○○○●	○●○○	<100	●●○○	●●○○	<100

○: Negative, ●: Positive

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）
食品中のウイルスの制御に関する研究
協力研究報告書

散発性胃腸炎および食中毒事例からのサポウイルスの検出

研究協力者 近藤玲子 （愛媛県立衛生環境研究所）
分担研究者 田中智之 （堺市立衛生研究所）
研究協力者 大塚有加、市川高子、大瀬戸光明
（愛媛県立衛生環境研究所）

研究要旨：

2007年1月から2008年2月の間に、愛媛県内でウイルス性食中毒事例が11事例みられた。これらの事例の発生施設は、飲食店6事例、結婚式場、福祉施設、学生寮、宿泊施設、家庭が各1事例であった。原因ウイルス別では、ノロウイルス(NV) Genogroup 2 (G2) が9事例、NVG1が1事例、サポウイルス(SV)が1事例であった。SVを原因とする事例は、結婚式場を原因施設として患者発生は4グループの109名(喫食者数249名)に及んだ。ウイルス検索の結果、患者43名中19名、調理従事者8名中3名からSV遺伝子が検出された。

一方で、2007年の散発性胃腸炎からSVの検出は、2006/07流行シーズン1月～8月に26例、2007/08シーズンの11月4例、12月5例であり、SVの検出数が例年より多いことに注目された。例年、NVの流行が始まる11月に、本年はNVの検出はなくSVが優先的に流行していたと推察された。

SVによる食中毒事例の患者18名、調理従事者2名および散発6例から検出されたSV遺伝子の塩基配列の解析の結果、散発例の1株がgenogroup (G) Iに属し、残りSV25株は全てGIVに属していた。GIV株の塩基配列は食中毒、散発例のいずれの株も相互にほぼ100%に近い相同性を示し、食中毒発生と地域の散発的流行との深い関連性が推察された。

リアルタイムPCR法により、SV陽性者のうち20名(患者18名、調理従事者2名)の糞便のSVコピー数は、1g中 $10^6 \sim 10^{10}$ (平均 5.6×10^9 コピー)であり、患者のみならず無症状の調理従事者でも 10^6 、 10^9 と大量に排泄されていたことが明らかになった。

A. 研究目的

近年、ウイルス性の胃腸炎集団発生の報告は増加傾向が強い。胃腸炎の起因ウイルスには、ノロウイルス(NV)、サポウイルス(SV)、アストロウイルス、腸管アデノウイルス等が知られているが、集団発生事例の原因ウイルスはその大半がNVであり、衛生

行政上重要視されている。しかし、ここ数年にはSVを原因とする胃腸炎の集団発生報告が見られ注目されたが、2007年に入って食中毒・施設内集団発生事例が相次いで報告された。本年、愛媛県においてもSVによる食中毒事例が発生し、原因究明のためウイルス学的検索を実施した。原因ウイルスと

して検出されたSVおよび、食中毒の発生要因と推定される散発例から検出されたSVについて遺伝子解析を行い、疫学的考察を加えた。

B. 研究方法

1. 材料

感染症胃腸炎患者数は、感染症発生動向調査における定点当たり週別患者報告数を使用した。糞便材料は、2007年1月から12月の間の、感染症発生動向調査病原体検査用の散発性感染者胃腸炎患者および、2008年2月までの胃腸炎集団発生の患者の糞便を用いた。糞便は検査を実施するまでは、 -20°C で冷凍保存した。

2. 方法

糞便からのウイルス検索は、電子顕微鏡法(EM)、リアルタイムPCR法またはRT-PCR法で行なった。EMは常法により粗精製した糞便材料を、2%PTA染色後4万倍で観察し、胃腸炎起因ウイルスの検索を行なった。NV遺伝子の検出は、影山らのCOGF/R系プライマーとRING TaqManプローブを用いたリアルタイムPCRを行なった。NV陽性の一部は、COG2F/G2SKRプライマーを用いてRT-PCRを行い、ダイレクトシーケンシング法で塩基配列を決定した。

拭き取り調査は、綿棒式キット(栄研器材)またはWHIRL-PAK(NASCO)を用い、使用方法にそって保健所が採取し搬入された検体について実施した。検体前処理は、拭き取り検体はPBSで洗い3,000rpm、20分遠心後の上清を超遠心(40,000rpm 1hr)し、食品は10%乳剤として3,000rpm、20分遠心後の上清を超遠心(38,000rpm 2hr)した。その沈査の全量からRNAを抽出し使用した。

SV遺伝子の検出は、岡田らの方法に準じ、カプシド領域を増幅するSV系プ

ライマー(1st SV-F1/R1、nested SV-F22/R2)を用いたnested PCRを行った。SVのリアルタイムPCR法の実施およびSV遺伝子解析は、国立感染症研究所(岡 博士)に依頼し、SVの糞便中への排泄コピー数の測定を行なうとともに、カプシド領域(300bp)および一部の株ではVP1コード領域全長(2264bp)の塩基配列を決定し、系統樹解析を行なった。

C. 研究結果

1. 散発性胃腸炎患者のウイルス検出状況

2007年の愛媛県内の感染性胃腸炎患者報告数(定点当たり/週)を図1に示した。この年の患者発生は、冬季に2峰性のピークを示し、1月から4月までは10人/週以上の比較的なだらかなピークが見られたが、11月下旬から12月下旬にかけて急峻な患者発生ピークが見られた。2007年1月から12月の間の愛媛県における、検出ウイルスの月別検出数を図2に示した。NVは1月に検出率40.6%を示したが、その後徐々に減少し、夏季の7月まで検出された。8月から11月までは検出されなかったが、12月に入って検出され始め、一気に検出率のピーク(64.1%)を示した。

一方、SVは主にNVの検出率が低下する3月から7月にかけて検出され、6月にピーク(23.8%)を示した。その後11月に入って、SVが高い検出率がみられ、NVの流行が遅かったためSVがこの月に検出された胃腸炎起因ウイルスの約70%の割合を占めたことは、本年に特徴的であった。ロタウイルスは例年同様に2月から4月にかけて多く検出され、NVからおよそ2ヶ月遅い流行が観察された。

散発性胃腸炎患者359名から検出された160例(検出率44.6%)の、ウイル

ス別検出割合を図3に示した。NVが68例と最も多く、次いでロタウイルス44例、SV35例、アデノウイルス6例、アストロウイルス6例、小型球形ウイルス1例であった。

検出NV株のgenogroupはGIIが61例でほぼ9割を占め、GIは7例(約1割)と少なかった。また本年は、SVの検出割合が大きく、散発性胃腸炎の起因ウイルスとしての関与が高かったと考えられた。

2. 愛媛県における集団発生事例

2007年1月～2008年2月の間に、愛媛県内で報告されたウイルス性胃腸炎の集団発生12事例を表1に示した。食中毒11事例、嘔吐物を介した集団発生が1事例がみられた。食中毒事例のうち、カキの摂食が原因と推定された事例はなく、飲食店・結婚式場の料理や仕出弁当、福祉施設等の給食が原因であった。これらの食中毒事例からは原因ウイルスとしてNVが10事例(GIIが9事例、GIが1事例)、SVが1事例から検出された。患者と同時に調理従事者からもウイルスが検出された事例は9事例、食品および拭き取り検体から検出されたのはそれぞれ1事例、5事例であった。ウイルスが検出された調理従事者のうち、胃腸炎症状を有したのは事例⑨の1名のみで、それ以外は無症状であった。

唯一食品からNVが検出された事例⑦では、患者・調理従事者および拭き取り検体からはNVのgenotype 4(GII/4)が、食品(カキ)からはGII/3が検出されたことから、カキの喫食が原因ではなく、調理従事者を介した食品の2次感染による食中毒と考えられた。事例⑩は、飲食店で飲食中に発端となった患者が嘔吐し、それにより同席していた2人が感染した事例で、拭き取り検体も嘔吐物によって汚染された座布

団、お膳、タタミのいずれからも患者と同じNVGII/4が検出された。調理従事者からはGIが検出されたため、食中毒ではなくヒト→ヒト感染事例と推定された。

3. SVによる食中毒事例

表1の事例⑤は、結婚式場(K会館)を原因施設とする食中毒事例で、SVが原因ウイルスとして検出された。この事例の概要を表2に示した。K会館を利用して結婚式を行ったA・B・Cグループおよび、この施設で調理された弁当を喫食したDグループの計249名のうち、109名が発症し、発病率は44.0%であった。発端となったAグループの患者は嘔気・嘔吐、下痢、腹痛を主徴とする胃腸炎症状を呈し、EM観察の実施により15名中9名、調理従事者8名中1名にSV様粒子を認めた。そこでSVのRT-PCR法を行い患者14名からSV遺伝子を検出した。その後他の3グループにも患者発生が判明し合わせて調査を行った。

表3には、食中毒事例から検出されたSVと、関連性をみるために散発例から検出されたSVについて、遺伝子解析の結果およびリアルタイムPCR法で測定したSVの核酸量を1g当たりのSVコピー数を示した。食中毒事例の20株(患者18株、調理従事者2株)と散発例の5株のSVは、GIVに属し、散発例の1株のみGIであった。また、SVのコピー数は 10^6 ～ 10^{10} に分布し、糞便中に多量のSVが排泄されていたことが明らかになった。調理従事者は症状が無いにもかかわらず、患者と同等レベルのウイルスが排泄されていることが示された。

D. 考察

2007年1月から12月の間に、散発性急性胃腸炎患者から例年より高頻度にSVが検出され、特に患者数が急増し始

めた11月には、SVが検出ウイルスの大半を占めた。また、集団発生事例のうち食中毒1事例が、SVを原因として発生したと推察された。SVは主に乳幼児における急性胃腸炎の起因ウイルスとして知られているが、集団発生例では乳児園や保育園等での胃腸炎集団発生における重要性が報告されてきた。しかし、SVはNVに比べて集団発生事例の報告数も、疫学的調査に関する情報も少なく、成人での感染や食中毒への関与などの実態はなお明らかでないことも多い。

近年、SVの検出法の新たな開発で、その検出スペクトル、感度の向上と共に国内でも福祉施設等での集団発生事例の報告が蓄積されつつあった。2007年にSVを原因とする京都市での食中毒事例、熊本県での地域流行、和歌山市の福祉施設内集団発生が相次いで報告された。これらの報告事例で検出されたSVの遺伝子型は、いずれもGIVに属したとの報告から、SVGIVの流行は全国的な広がりがあったと考えられた。SVにおいても、遺伝子型の多様性が認められている。ヒトから検出されたSVはgenogroup I～VのうちGIII以外の4つのgenogroup属している。愛媛県内で過去に検出されたSVは、散発例からは1シーズン中に複数の遺伝子型の流行が認められたものの、そのほとんどはGI・GIIに属し、集団発生例でも2000年に成人の食中毒例からGIが、また2003年幼稚園での施設内発生ではGIIが検出された。一方、GIV型は1999年の散発例から検出されて以来、県内での流行は確認されなかった。今回のSVによる食中毒事例は、GIVの全国的な流行が県内にも波及した結果と推察された。

リアルタイムPCRによるSVコピー数の測定の結果、患者および無症状の調

理従事者から、NV同様に多量のウイルスが排泄されていることが明らかになり、食中毒発生におけるSVの関与について、今後十分な注意を払う必要があると考えられた。

ウイルス性急性胃腸炎の原因検索において、EMをPCR法と併用することの重要性が認められた。EMではウイルス検出感度は低い、多種類のウイルスの検索が同時に可能で、特に集団発生等の行政対応に急を要する場合に威力が発揮される。また散発例においても、胃腸炎の起因ウイルスの流行状況の把握が出来ることは、EMの特徴であり、利点である。

E. 結論

- 1) 2007年1月から12月に散発性胃腸炎からEM及びRT-PCR、リアルタイムPCRでNVが68例(42%)、ロタウイルスが44例(27%)、SVが35例(22%)検出され、アデノウイルス、アストロウイルスはそれぞれ4例(4%)、SRSV1例(1%)検出された。これらのうちSVの検出数の増加が注目された。
- 2) 集団発生12事例の原因ウイルスとして、NVのGII/4が10事例、GII/13が1事例、GIが1事例、SVが1事例から検出された。食中毒事例から検出されたNVと、同時期に地域で流行していたNVとは、塩基配列の相同性が極めて高いことが示された。
- 3) 2007年10月には、結婚式場でSV/GIVによる食中毒が発生し、調理従事者を介した食品の2次汚染が原因と推定された。また、同地域内の散発例からも同一のSV株が検出され、これらの地域流行が発生要因と考えられた。SVの糞便1g中への排泄コピー数は、 $10^6 \sim 10^{10}$ に分布しており、患者と調理従事者(無症状)にその差は認められなかった。

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

2) 市川高子、大塚有加、近藤玲子、豊嶋千俊、大瀬戸光明、井上博雄：愛媛県におけるヒト・メタニューモウイ

ス及びRSウイルスの検出状況. 第23回中国四国ウイルス研究会、2007. 6、愛媛県

3) 市川高子、大塚有加、近藤玲子、大瀬戸光明、井上博雄：愛媛県における急性気道感染症からのヒト・メタニューモウイルス及びRSウイルスの検出. 第66回日本公衆衛生学会総会、2007. 10、愛媛県

4) 近藤玲子、大瀬戸光明、市川高子、井上博雄：愛媛県の日本紅斑熱発生と患者発生地域でのマダニ類の *Rickettsia japonica* 保有状況. 第66回日本公衆衛生学会総会、2007. 10、愛媛県

G. 知的財産権の出願、登録状況

なし

表1 ウイルス性集団発生事例 (2007年1月～2008年2月)

事例 No.	発生時期	発生施設	原因食品	陽性数/検査数				検出ウイルス
				患者	調理従事者	食品	ふき とり	
1	2007. 2	家庭	仕出料理	4/4				NV GII/4
2	2007. 3	学生寮	給食	9/13	0/2	0/12		NV GII/4
3	2007. 4	飲食店	弁当	4/5	7/7			NV GII/4
4	2007. 5	飲食店	弁当	3/6	0/4			NV GII/13
5	2007. 10	結婚式場	会席料理	19/43	3/8	0/14	0/10	SV G IV
6	2007. 12	福祉施設	給食	7/9	2/4		1/4	NV GII/4
7	2007. 12	飲食店	会席料理 弁当	5/6	4/6	1/1 ※	1/3	NV GII/4
8	2008. 1	飲食店	会席料理	5/5	1/2		0/5	NV GII/4
9	2008. 2	飲食店	会席料理	8/8	(1) 1/3 (1)			NV GII/4
10	2008. 2	飲食店	ヒト(嘔吐物) →ヒト	3/3	1/1		3/3	NV GI (調理者) NV GII (患者・ふきとり) /4
11	2008. 2	飲食店	弁当	16/17	3/4		1/7	NV GII/4
12	2008. 2	宿泊施設	食事		2/5		1/10	NV GI/* (調理者1人はGII)

() 内は有症者数 ※食品(カキ) : NVGII/3 *解析中

表2 サポウイルスによる食中毒事例(2007年)

グループ 別	喫食日	喫食 者数	発症 者数	発症率 (%)	SV陽性数 /検査数	陽性率 (%)	検体 採取日	潜伏 期間
A	2007.10.20. (PM)	76	39	51.3	14/15	93.3	10.25.(5日目) 10.26.(6日目)	35.2
B	2007.10.20. (AM)	93	27	29.0	1/11	0.9	11.7.(18日目)	56.5
C	2007.10.21. (AM)	70	37	52.9	3/12	25.0	11.5.(15日目)	30.2
D	2007.10.23. (昼食)	9	6	66.7	1/5	20.0	11.6.(14日目)	53.0
調理 従事者		—	—		3/8	37.5	10.24.	—
計		249	109	44.0	22/51	43.1		—

表3 散発例および食中毒事例から検出されたSV

No.	検体No.	検体採取月日	グループ	電子顕微鏡	nested RT-PCR	シーケンス キャプシド領域 (300bp)	real-time RT-PCR (copies/g stool)
1	07-987	10.25.	A	SV+	+	GIV	9.79×10^8
2	07-991	10.26.	A	SV+	+	GIV	4.72×10^9
3	07-992	10.26.	A	SV+	+	GIV	9.54×10^9
4	07-993	10.25.	A	-	+	GIV	5.36×10^7
5	07-994	10.25.	A	SV+	+	GIV	3.24×10^8
6	07-995	10.25.	A	SV+	+	GIV	1.22×10^9
7	07-996	10.25.	A	-	+	GIV	3.83×10^9
8	07-997	10.25.	A	-	+	GIV	7.78×10^8
9	07-998	10.25.	A	-	+	GIV	1.09×10^8
10	07-999	10.25.	A	SV+	+	GIV	3.03×10^{10}
11	07-1000	10.25.	A	SV+	+	GIV	7.68×10^7
12	07-1001	10.25.	A	-	+	GIV	2.36×10^6
13	07-1002	10.26.	A	SV+	+	GIV	2.64×10^9
14	07-1003	10.26.	A	SV+	+	GIV	1.72×10^{10}
15	07-1006	10.24.	K	-	+	GIV	2.19×10^6
16	07-1007	10.24.	K	SV+	+	GIV	1.18×10^9
17	07-1008	10.24.	K	-	+		undetectable
18	07-1044	11.5.	C	ND	+	GIV	1.19×10^8
19	07-1047	11.5.	C	ND	+	GIV	3.34×10^7
20	07-1048	11.5.	C	ND	+		undetectable
21	07-1056	11.7.	B	ND	+	GIV	2.70×10^8
22	07-1059	11.6.	D	ND	+	GIV	1.77×10^8
23	07-683	7.4	S	SV+	+	GIV	2.74×10^9
24	07-742	7.18	S	SV+	+	G I	1.63×10^8
25	07-1097	11.16	S	-	+	GIV	5.52×10^7
26	07-1111	11.21	S	-	+	GIV	2.12×10^8
27	07-1116	8.28	S	-	+	GIV	3.84×10^8
28	07-1121	11.19	S	SV+	+	GIV	1.32×10^9

の14検体はVP1コード領域(2264bp)全長の遺伝子配列を解析

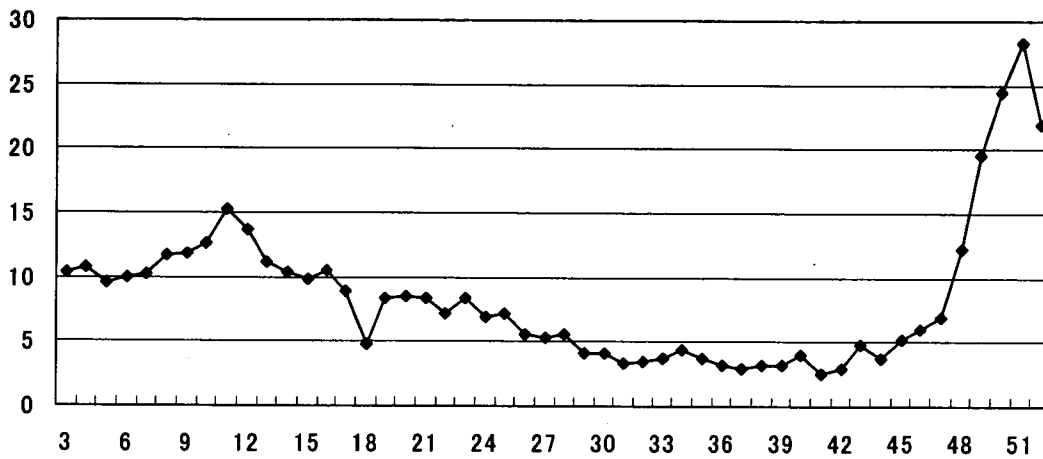


図1 散発性胃腸炎患者定点あたり週別届出数(2007年)

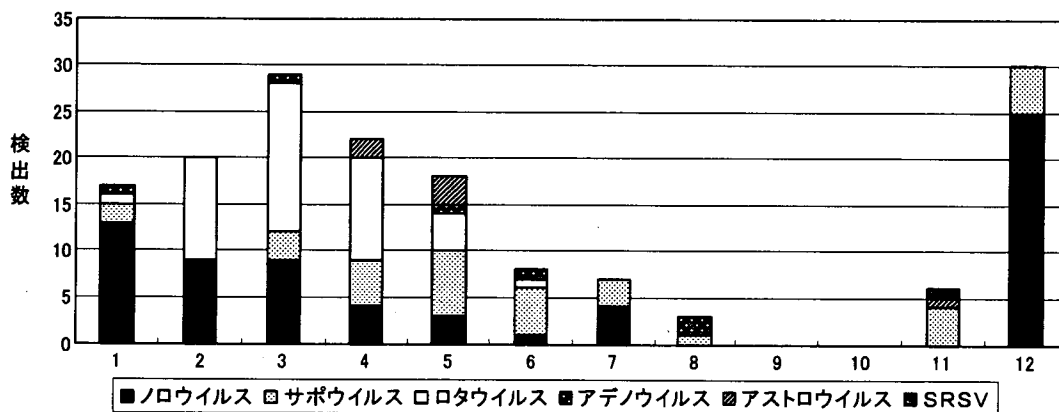


図2 散発性胃腸炎の月別ウイルス検出状況(2007年)

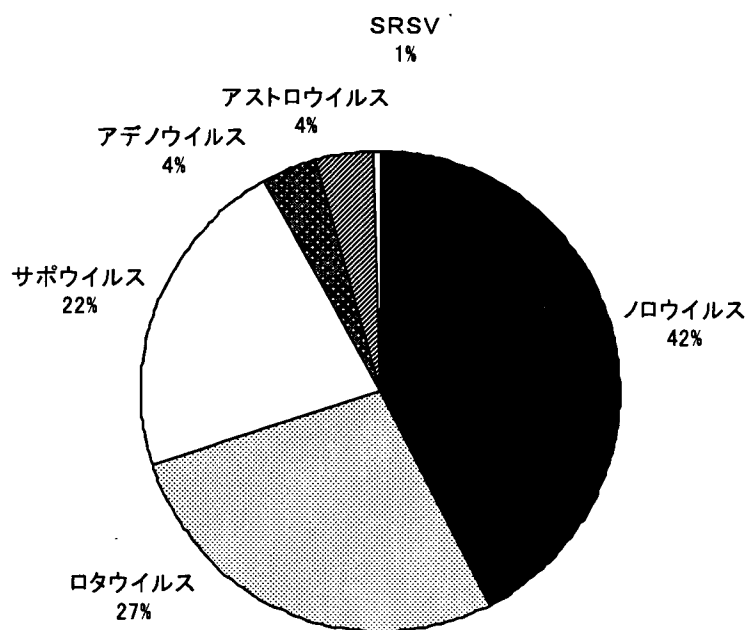


図3 散発性胃腸炎から検出されたウイルス(n=160)

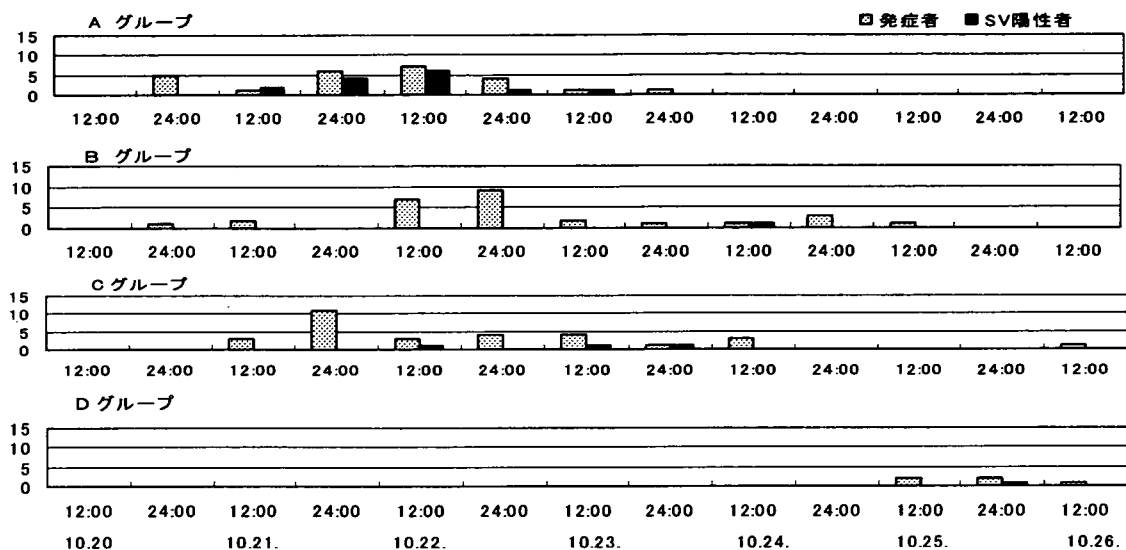


図4 SVによる食中毒事例の有症者発生状況

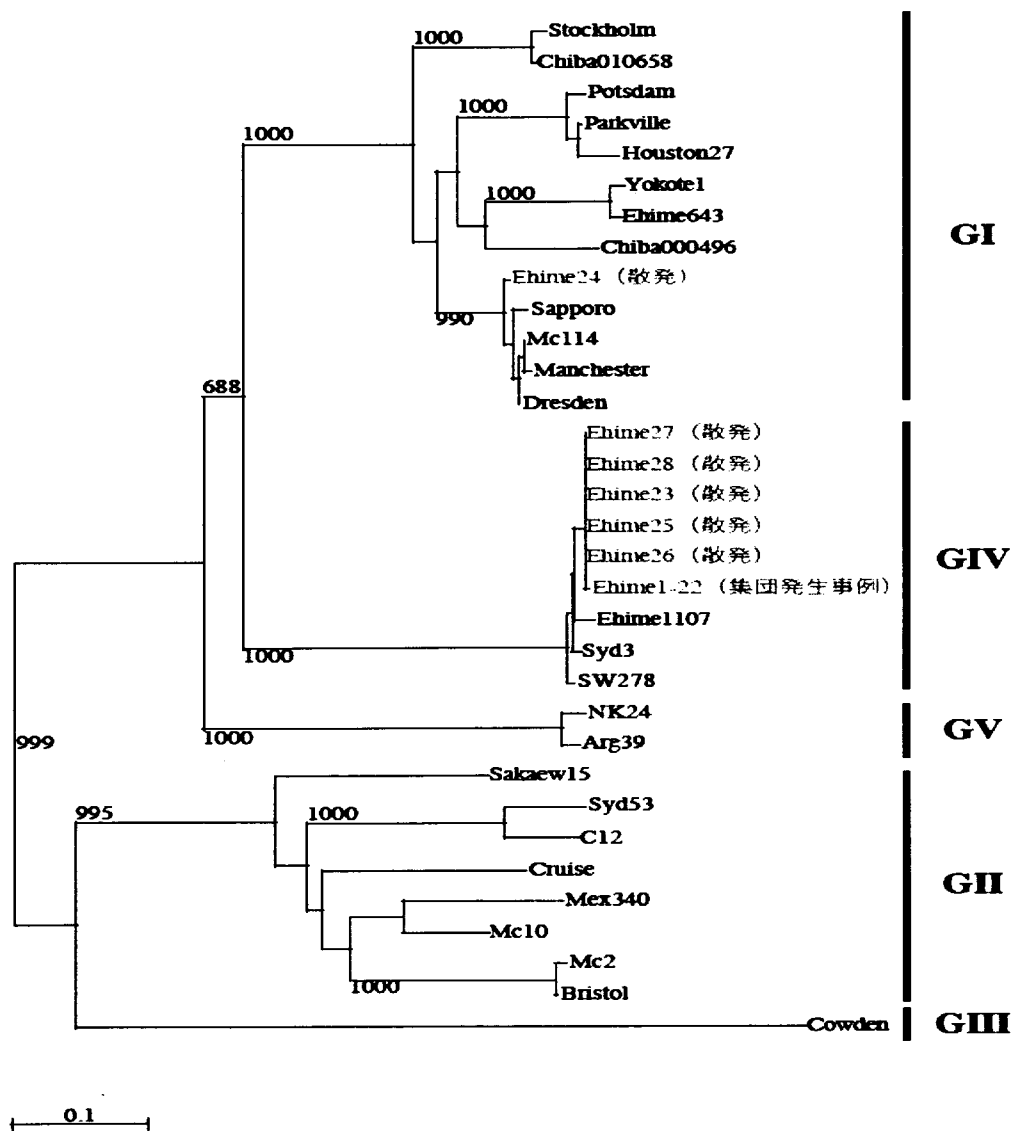


図5 SV塩基配列の分子系統樹

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金食品の安全・安心確保推進研究事業
「ウイルス性食中毒の予防に関する研究」
研究協力報告書

下水処理施設における流入水のノロウイルスの消長 (2007)

研究協力者	船津丸貞幸	佐賀県衛生薬業センター
分担研究者	田中智之	堺市衛生研究所
研究協力者	増本久人、坂本晃子	佐賀県衛生薬業センター

研究要旨:

2007 年 (平成 19 年) 1 月から 12 月まで毎月 1 回、計 12 回、下水処理場における流入水のノロウイルス (NV) の消長を調査した結果、下水流入水の NV は、Genogroup I (GI) 及び Genogroup II (GII) のいずれか、あるいは両方が流行間期を含め 1 年を通じて検出された。GI で検出された遺伝子型は、GI ではすべて Genogroup I, Genotype 4 (GI/4) であった。一方、GII では GI/2、GI/4、GI/5、GI/7、GI/13 の 5 種であった。2006 年の主要な流行型であった GI/4 は 2007 年も優勢であった。

下水流入水から検出された遺伝子型は、上流域での集団発生事例患者及び散発事例患者から検出された遺伝子型を反映していた。流行期の遺伝子量は感染症発生動向調査報告患者数とほぼ平行して増加し、GI に比較して GI が多い傾向にあった。

下水中の NV 検出状況は上流域の NV 感染症発生状況をよく反映しており、住民への衛生管理徹底を促す注意喚起の資料となり得る。

A. 研究目的

経口感染する腸管系ウイルスであるノロウイルス (以下、NV) は毎年冬期に流行し、15 種の遺伝子型がある Genogroup I (以下、GI) と 18 種の遺伝子型がある Genogroup II (以下、GII) に分類される。NV を含む腸管系ウイルスは、感染者の糞便から排泄され下水を経て海水を汚染し、その海域に生息するカキ等に蓄積される。

我々は 2006 年に、感染性胃腸炎患者が多発する時期 (以下、流行期) を含めた 9 月～12 月に下水 (流入水及び放流水) とともに海水及びカキにおける NV の消長を調査した。その結果、下水中の NV 検出状況は流入上流域の患者の感染状況を反映していると考えられた。

2006 年の調査は限定した期間であったため、2007 年は 1 年を通じて行い、流行期に加えて感染性胃腸炎患者が少ない時期 (以下、流行間期) における下水中の NV の消長を調査することを目的として行った。

B. 研究方法

1. 材料

1) 下水処理施設における流入水

下水処理施設は佐賀県南部の有明海の面する A 市の西部に位置し、処理方法は標準活性汚泥法により行われ、塩素処理 (0.05～0.1ppm) 後、近くの河川へ放流されている。処理の対象人口は約 166 千人、下水道普及率は約 70% である。

採水は、流入水について 2007 年 1 月～12 月まで毎月下旬に行い計 12 検体を用いた。

2) 感染性胃腸炎患者

2005 年～2007 年までに亘って調査した。

集団発生事例からウイルス遺伝子の検出は、保健福祉事務所 (保健所) から検査依頼があった患者 (以下、集団患者) 便等の検体を用いた。

散発事例は、佐賀県感染症動向調査における定点あたりの感染性胃腸炎患者 (以下、散発患者) 報告数を集計するとともに、病原体定点から送付された患者便検体を用いた。