

い結果が得られている。

また、すべての genogroup に交叉する MAb 8127 についても腹水を用いて検討したところ、GI-、GIV-、および GV-VLPs には強い反応性を示したが、GII-VLPs のみ反応性が認められなかった。MAbs が SV の共通領域を認識したが、変化しやすいか、discontinuous な部分を認識したものと推測される。しかし、今回、培養上清を用いた場合でも、GII-VLPs との反応性が弱い結果が得られている。例えば、ELISA 法において、GII-VLPs を抗原とした場合、他の genogroup と比べて OD 値が常に低い傾向がみられた。また、ウエスタンブロット法の結果においても、GII-VLPs はハーフサイズに切れやすい傾向がみられている。元来、SV-VLPs は NV-VLPs などと比較して、VLPs 産生量が悪く、研究の隘路となっているが、GII において特にその傾向が強いのかかもしれない。今後、新たに GII の VLPs を作製し検討する必要がある。また、予備実験では腹水の初発希釈を 400 倍にして検討したが、その初発濃度を濃くして検討する必要があるかもしれない。

SV に交叉性を示す MAbs については、さらに VLPs の数を増やして検討する必要がある。交叉性を示す MAbs であれば、SV の検出に有用なばかりでなく、共通エピトープを解析するにも多いに役立つものと考えられる。また、genogroup に特異性のある MAbs であれば、既存のノロウイルスの診断キット (GI および GII を区別) のように genogroup の鑑別診断に利用することも可能である。

今後、臨床材料を用いて MAbs の有用

性を検討する予定である。MAbs を利用することにより、SV の抗原的解析、SV-ELISA 法や SV-IC 法の検出系の構築が考えられ、さらに SV の流行疫学、早期発見および早期予防に寄与することが期待される。

E. 研究業績

1. 論文発表

1) 北元憲利、中村俊之、今森雅子ら、兵庫県内の河川源流、上流および名水の総括的水質調査. 人間と環境 33 (2): 69-74, 2007

2. 著書 (総説)

1) 北元憲利. ノロウイルス—今や食中毒の横綱に! New Food Industry 49(4):51-68, 2007

3. 学会発表

1) 北元憲利、三好龍也、内野清子、Grant S. Hansman, 武田直和、田中智之. サポウイルスに対する単クローン抗体の樹立とその交叉性. 第 55 回日本ウイルス学会 (札幌) 2007

F. 知的財産の出願、登録状況

1. 特許取得

申請中

2. 実用新案登録

なし

表1. 主なMAbsのSV-VLPsに対する反応性 (ELISA法)

	MAb	Antigen (VLPs)				
		GI/1	GI/5	GII/3	GIV/1	GV/1
GI/1	5011	+	-	-	-	-
	1325	+	+	-	-	-
GI/5	616	+	++	-	-	-
	8127	++	++	+	++	++
GII/3	930	NT	-	+	-	-
	912	NT	-	+	-	-
GIV/1	806	NT	-	-	++	-
	800	+	+	+	++	+
GV/1	1496	-	-	-	-	++
	4737	-	-	-	-	++

++, 強陽性 +, 陽性 NT, not tested

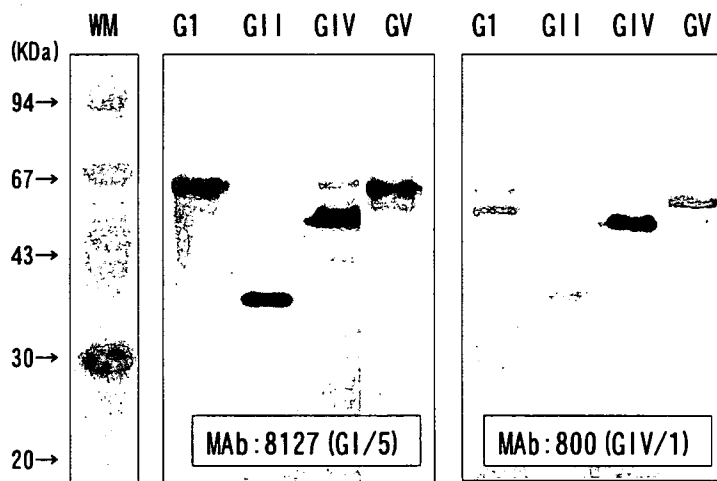


図1 ウェスタンブロット法による単クローン抗体の反応性
 GI (GI/5, Yokote1 株)-、GII (GII/3, Syd53 株)-、GIV (GIV/1, Syd3 株)-、および GV (GV/1, NK24 株)-VLPs を抗原とした。
 単クローン抗体として、GI/5 に対する MAb 8127 および GIV/1 に対する MAb 800 の培養上清を用いた。WM は分子量マーカー。

厚生労働科学研究補助金

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

平成 19 年度 協力研究報告書 II

(嘔吐物等による感染の疫学的分析に関する研究)

野田 衛
田中 智之
小林 慎一
入谷 展弘
吉田 徹也
福田 伸治
田村 務
篠崎 邦子
斎藤 博之
谷口 力夫
小暮 実
岩切 章
林 志直

平成 20(2008)年 4 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)

「食品中のウイルスの制御に関する研究」

協力研究総括報告書

嘔吐物等による感染の疫学的分析に関する研究

分担研究者	野田 衛	(国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部)
分担研究者	田中 智之	(堺市衛生研究所)
分担研究者	小林 慎一	(愛知県衛生研究所)
研究協力者	入谷 展弘	(大阪市立環境科学研究所)
研究協力者	吉田 徹也	(長野県環境保全研究所)
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)
研究協力者	田村 務	(新潟県保健環境科学研究所)
研究協力者	篠崎 邦子	(千葉県衛生研究所)
研究協力者	斎藤 博之	(秋田県健康環境センター)
研究協力者	谷口 力夫	(杉並保健所)
研究協力者	小暮 実	(中央区保健所)
研究協力者	岩切 章	(宮崎県衛生環境研究所)
研究協力者	林 志直	(東京都健康安全研究センター)

研究要旨:近年、患者嘔吐物が感染源として推定されるノロウイルス(NV)集団発生が注目されているが、その疫学的特徴について十分には理解されていない。そこで、嘔吐物関連 NV 集団事例の適切な予防措置を講ずるために必要な疫学的、ウイルス学的な基礎データを得ることを目的として、地方衛生研究所、保健所の協力の下に、嘔吐物等に含まれる NV の定量と遺伝子解析、嘔吐物等が関与する集団感染・食中毒の疫学的解析、嘔吐後に口腔内に残存する NV の感染源としてのリスク評価、NV 集団感染発生後に施設環境に残存する NV の検出、NV 感染症に関する疫学的研究、食中毒事例と感染症事例の判断における遺伝子解析等の適用、健康調理従事者からの NV の検出などを実施した。その結果、嘔吐物による事例では、嘔吐物の的確な処理が感染拡大防止に極めて重要であることが示唆されるとともに、その疫学的、ウイルス学的様相には不明な部分が多く、具体的かつ効果的な予防対策を明示するためには、今後も詳細に調査・研究を継続する必要があると考えられた。

A. 研究目的

ノロウイルス(NV)による集団感染症・食中毒の感染源として、患者糞便以外に

患者の嘔吐物の重要性が指摘されている。嘔吐物は、①急激に発症するので、時間・場所を選ばず環境を汚染する、②、

乳幼児や高齢者では日常的にみられることや初発例では NV による嘔吐と気づかれにくいことなどから、感染源として認識されにくい、③嘔吐物が乾燥すると、塵埃感染(空気感染、飛沫感染)を起こす可能性がある、などの点から、集団感染の感染源になりやすいと考えられる。一方、検体採取時期が限られることや、糞便検査で NV 感染の確定が可能であることなどから、嘔吐物の検査はこれまであまり行われておらず、嘔吐中に存在するウイルスの遺伝子解析や定量などは十分には実施されていない。また、特にヒト-ヒト感染事例においては、感染拡大防止対策に重点が置かれるため、集団発生に至った詳細な発生要因分析が行われない場合も少なくなく、嘔吐物を感染源とする集団事例に関する疫学的、ウイルス学的なデータが不足している。

以上の背景から、本研究では嘔吐物を感染源とする集団事例に対し適切な予防措置を講ずるために必要な疫学的、ウイルス学的な基礎的なデータを得ることを目的として、地方衛生研究所、保健所の協力の下に以下の解析を行った。

- ① 嘔吐物等に含まれる NV の定量と遺伝子解析
- ② 嘔吐物等が関与する集団感染・食中毒の疫学的解析
- ③ 嘔吐後に口腔内に残存する NV の感染源としてのリスク評価
- ④ 集団感染発生施設の消毒方法とその効果確認法の検討
- ⑤ NV 感染症に関する疫学的研究
- ⑥ 食中毒事例と感染症事例の判断における遺伝子解析等の適用

- ⑦ 胃腸炎集団事例と健康調理従事者からの NV の検出と検出 NV の遺伝子型の比較

B. 研究方法

1. 嘔吐物中等に含まれる NV の定量と遺伝子解析

患者から採取された嘔吐物、嘔吐後の口腔うがい液、糞便を対象に、リアルタイム PCR 法による NV RNA 量の定量および PCR 産物のシーケンス法による遺伝子型別並びに系統樹解析を行った。

2. 嘔吐物等が感染源と推定される事例の疫学解析

各自治体で発生した嘔吐物等が感染源と推定される事例について疫学調査を行い、特に発生要因・感染拡大要因について分析した。また、嘔吐物が関与する事例の疫学的な特徴を把握するために、乳幼児施設、小学校、高齢者施設における集団感染 56 事例(2004 年 11 月～2007 年 12 月発生)を統計学的に解析した。

3. NV 集団感染発生後に施設環境に残存する NV の検出

集団発生事例において、嘔吐物等により汚染した室内や廊下等の施設環境について、掃除機による清掃、雑巾による清拭、次亜塩素酸ナトリウム 200ppm 溶液による清拭と散布、スチームクリーナーによる加熱消毒、乾熱消毒(90℃30分間)、送風ファンによる強制換気、高性能フィルター付き掃除機等を実施した。清掃後、環境中に NV が残存するか否かを確認するために、掃除機で室内の塵を吸引し、ダストパック中の塵を検体とし

10%乳剤を作成し、RT-PCR法によりNVを検査した。

4. 感染症事例と食中毒事例の判断における NV 定量検査、遺伝子検査の適用

患者と調理関係者から NV が検出された3事例について、NV の定量と遺伝子解析を行い、感染症事例と食中毒事例の行政判断時における検査室データの有用性と限界について検討した。

5. 胃腸炎集団事例と健康調理従事者からの NV の検出と検出 NV の遺伝子型の比較

胃腸炎集団発生について起因ウイルスの検索を行うとともに、高齢者施設の健康な調理従事者を対象に NV 検索を行い、検出ウイルスの遺伝子型を比較した。

C. 研究結果

1. 嘔吐物等に含まれる NV の定量

嘔吐物中の NV RNA コピー数は4施設で検査され、 $10^2 \sim 10^9$ コピー数/ml に分布した。検査施設ごとの定量値分布をみると、 $2.5 \times 10^3 \sim 2 \times 10^4$ コピー数/ml(最も頻度が高いオーダー： $10^3 \sim 4$)、 $5.6 \times 10^3 \sim 8.6 \times 10^5$ コピー数/ml(10^5)、 $6.2 \times 10^5 \sim 1.9 \times 10^8$ コピー数/ml(10^7)、 $10^2 \sim 10^9$ コピー数/ml($10^7 \sim 8$)で、バラツキがみられた。

嘔吐の回数と嘔吐物中のウイルス量との関連を調べた結果、明瞭な相関性は認められなかったものの、嘔吐回数が多いと嘔吐物中のウイルス量が多い傾向がみられた。

糞便と嘔吐物におけるウイルス量の比

較では、嘔吐物中のウイルス量は糞便と比較して、低い傾向にあり、糞便陽性、嘔吐物陰性の例も認められた。

2. 嘔吐後の口腔うがい液からの NV の検出

嘔吐発症後 2~27 時間後の口腔うがい液 13 検体のうち 3 検体から NV が検出され、その定量値はうがい液 10ml 当り $1.1 \times 10^4 \sim 4.7 \times 10^5$ コピー数であった。NV 陽性検体は嘔吐後 3 時間、6 時間、20 時間 50 分経過時に採取されたもので、2 検体は高齢者(80 歳、76 歳)、1 検体は成人(50 歳)からの採取であった。

3. 嘔吐物から検出された NV の遺伝子解析

同一患者の糞便と嘔吐物から検出された NV の塩基配列は一致した。

今シーズンに検出された NV の遺伝子型は GII.4 が主流であった。詳細なクラスター分析が行われた GII.4 株は、2006/07 年流行株と同じクラスター(EU2006b、EU2006a)に分類され、昨年度の流行株が引き続き流行していることが示された。

4. 集団発生後に施設に残存する NV の検出

嘔吐物等により汚染した施設環境に残存する NV を、高性能フィルター付掃除機で吸引したダストパック中の塵を検体として検査した結果、59 検体中 12 検体から NV が検出された。ウイルス検出率は施設の消毒・殺菌を繰り返すごとに減少した。

5. 嘔吐物等が感染源と推定される集団発生事例

嘔吐物等が感染源と推定される集団

発生事例における感染経路としては、嘔吐物の処理の不徹底により残存した NV の感染によると推定される事例が多かった。詳しくみると、①廊下の嘔吐残存物が乾燥し、空気中に飛沫したものが、食堂に達し食品を汚染した事例(推定)、②嘔吐後の口腔内に残存した NV の飛沫による感染事例(推定)、③バス内における感染拡大が推定された事例、④嘔吐物処理に使用した雑巾、モップの継続使用による施設汚染の拡大が、感染拡大の要因と推定された事例など、その感染様式は多彩であった。また、感染拡大の要因としては、①嘔吐物処理の不徹底、②室内の換気不足、③空調、④嘔吐物処理に使用した雑巾等の処理の不徹底、⑤嘔吐後の口腔内ケアの不徹底、⑥マスクの不着用、などが考えられた。

6. 嘔吐物関連 NV 集団感染事例の疫学解析

約3年間の乳幼児施設、小学校、高齢者施設における NV 集団感染 56 事例を統計学的に解析し、以下の結果を得た。①NV 事例数に対する嘔吐物関連事例の割合は高齢者施設、乳幼児施設で高く、それぞれ 50%、32%であった。②感染経路として、嘔吐物飛散による直接的暴露と、嘔吐物の不適切な処理による汚染環境等からの間接的暴露が考えられた。③集団発生の継続期間は、嘔吐物事例と他の事例で違いは認められなかった。④嘔吐物事例は他の事例と比較し、発症率が高い傾向にあった。⑤高齢者施設における施設職員の発症率は他の施設と比較して高かった。

7. 感染症事例と食中毒事例の判断

における NV 定量検査、遺伝子検査の適用

感染症か食中毒かの判断が困難であった3事例において、患者と調理関係者の糞便中の NV の定量と検出 NV の遺伝子解析を行い、以下の結果を得た。

事例1:調理従事者から患者と同程度の量の NV が糞便から検出されたが、調理従事者由来 NV の遺伝子型(GII.6)は患者由来株(GII.4)とは異なった。事例2:調理関係者から検出された NV の塩基配列は解析した3領域で患者由来株と完全に一致し、かつ調理従事者から初回採取後7日目に採取された検体から検出された NV も3領域で完全に一致した。事例3:調理従事者から少量の NV が検出され、その NV は患者と同じ遺伝子型に属したが、解析した capsid 領域に1塩基の違いが認められた。各事例の検査結果は、保健所の最終的な疫学調査結果(事例1と3は感染症、事例2は食中毒)と矛盾せず、保健所の疫学調査を裏付ける結果であった。

8. 胃腸炎集団事例と健康調理従事者からの NV の検出と検出 NV の遺伝子型の比較

2007年4月～2008年1月に発生した胃腸炎集団事例428事例中210事例からウイルスが検出され、その90%以上は NV GIIが関与した。検出 NV の遺伝子型をみると、高齢者施設、病院の事例ではそれぞれ96%、83%が GII.4 であったのに対し、保育園、幼稚園、小学校の事例では GII.4 は50%にとどまり、GII.4 以外の遺伝子型も比較的多く検出された。2007年11月～2008年1月に実施した

健康調理従事者のNV検索の結果、1月採取の24施設中5施設(20.8%)、197名中13名(6.6%)からNVが検出された。検出NV13例中12例はGII.4であり、胃腸炎集団事例由来 GII.4 と同じクラスターに分類された。

D. 考察

嘔吐物中のNV量を定量した結果、RNAコピー数は 10^2 ~ 10^9 コピー数/mlと幅があり、一般に糞便中のウイルス量と比較して低い傾向にあった。しかし、 10^7 ~ 10^8 コピー数/ml程度の多量のウイルスが含まれる例も多く認められたことから、嘔吐物には感染源となるに足りるウイルス量が含まれるものと考えられた。一方、 10^3 ~ 10^5 コピー数/mlと嘔吐物中のウイルス量がさほど多くない例も少なからず認められた。嘔吐物中のウイルス量は、腸管でのウイルス増殖部位(胃の近くで増殖しているのか)、検体採取時期、検体の保存状態、年齢等の宿主要因、前処理等の検査方法の違いなど、種々の要因の影響を受ける可能性がある。また、嘔吐の回数が多いほど、嘔吐物中のウイルス量が多くなる傾向も認められた。今後、これらの点について明らかにする必要があるとともに、嘔吐物中のNVの感染性の保持時間等についても検討する必要がある。

嘔吐物等が感染源となる様々な集団感染事例が報告された。感染経路としては嘔吐物飛沫の直接的暴露以外に、嘔吐残存物との接触による経口感染、嘔吐残存物の飛沫感染、口腔内残存ウイルスの飛沫感染など、多彩な感染経路

が推定された。これらの事例の多くは、嘔吐物の処理の不徹底により施設環境等に残存したNVからの感染であり、嘔吐物等の的確な処理が実施されていれば、集団発生を未然に防止、あるいは被害を軽減できたものと考えられる。しかしながら、乳幼児や高齢者では、嘔吐は日常的にみられる症状であること、単発例ではNVによる嘔吐と気づかれにくいこと、嘔吐物は糞便ほど不衛生とは認識されていないことなどから、安易な処理が行われやすい。さらにNVによる嘔吐は、時間、場所を選ばず急激に発症するため、絨毯、畳、布団、衣類など、殺菌消毒が困難な環境を汚染することもある。これらのことから、嘔吐物の的確な処理の徹底およびその実施は、多くの困難性を伴う。今後も、嘔吐物の感染源としての重要性を広く広報するとともに、施設、処理対象等に応じた具体的な嘔吐物処理マニュアルを作成し、情報提供することが必要である。また、これまでは、食品取扱従事者等への啓蒙・啓発が主体であったが、ホテルのフロアや客室係などに対する嘔吐物処理の指導も必要である。一方、今回報告した事例の感染経路の多くは推定されたものであり、感染経路が明確な例はあまりみられない。集団発生事例における感染源、感染経路、感染拡大要因分析等は、再発防対策を講ずる上で極めて重要であることから、各事例において詳細な疫学調査が望まれるとともに、今後も同様のデータの積み重ねが必要である。

約3年間の乳幼児施設、小学校、高齢者施設におけるNV集団感染56事例を

統計学的に解析した結果、特に、高齢者施設や乳幼児施設で嘔吐物が感染源として大きく関与していることが明らかになった。また、高齢者施設では、施設職員の発症率が高いことから、職員の罹患リスクが高い一方、職員が感染拡大の要因となる可能性が高いことも推察される。前述のように乳幼児や高齢者では嘔吐は日常的にみられる症状であることや、自ら衛生的な嘔吐処置ができない(できにくい)ことに加え、乳幼児や高齢者では成人と比較して嘔吐の発症率が高いことも、これらの施設で嘔吐物関連事例が多発する原因になっているものと思われる。これらのことから、特に高齢者施設や乳幼児施設において、嘔吐物による感染防止対策の徹底が重要であると考えられる。

これまで、嘔吐物やその処理後の施設環境中の残存物が感染源として注目されていたが、今回の研究で、嘔吐後の患者口腔内に残存する NV の飛沫感染が原因と推定される事例が示された。さらに、嘔吐後の口腔内ケアが不十分な場合、20 時間後でも NV が口腔内に残存していることが明らかになった。これらのことから、①嘔吐後の口腔内の洗浄・消毒(うがい)の徹底および適切なおうがいや歯磨きの指導、②マスクの着用なども、感染拡大防止対策として念頭に置く必要があると考えられた。今後も、嘔吐後の口腔内残存ウイルスに関する調査を継続し、より詳細なリスク評価を行うためのデータを得る必要がある。

嘔吐物により汚染された施設環境に残存する NV の検出を目的として、高性能

フィルター付掃除機で集めたダストパック中の塵を対象として検査を実施した結果、NV を検出することができた。また、検出率は消毒清掃を繰り返すことにより減少したことから、本法が消毒効果を含め環境に残存する NV の確認法として有用と考えられた。一方、畳やマットなど NV が残存しやすい環境には、集団事例とは関連しない NV が存在する可能性も否定できないことから、環境から検出したウイルスの遺伝子解析を行い、集団事例由来株との同一性を確認する必要がある。また、掃除機で環境中の NV を集めるためには、通常の掃除機では吸気が漏れ、NV が拡散する危険性があるので、高性能フィルター付きの掃除機を使用する必要がある。

嘔吐物事例に限らず、NV 集団感染は、食中毒と感染症の両方の感染形態を示し、時には複合的な発生を起こすため、感染症か食中毒の判断は困難な場合が少なくない。しかしながら、保健所においては、日々、迅速かつ正確な判断が求められる。今回の事例において、NV の定量および遺伝子検査は、食中毒か感染症かの判断に有用な情報となることが示唆された。その一方で、検査情報には限界があり、あくまで保健所の疫学的調査結果を科学的データとして補完するに過ぎず、疫学調査の重要性が変わるものではない。また、遺伝子検査には時間と労力が必要であり、遺伝子解析結果をリアルタイムに行政に反映するためには、検査目的に応じた検査法の選択、保健所で NV のスクリーニング検査を行い、衛生研究所で遺伝子解析を行うなどの、検

査体制の見直しも必要である。

高齢者施設等の集団感染の発生要因として不顕性感染者の関与の可能性を調べるために、胃腸炎集団発生の起因ウイルスの検索と高齢者施設の健康調理従事者を対象とした NV 検索を行い、検出 NV の遺伝子型を比較した。その結果、高齢者施設、病院の集団発生から多く検出された GII.4 が健康調理従事者からも検出され、かつ両者から検出された GII.4 は同じクラスターに分類されたことから、これらの施設に NV が持ち込まれる要因のひとつとして不顕性感染の調理従事者が関与している可能性が示唆された。流行期には症状の有無に関わらず、手洗いの励行の重要性が改めて示されるとともに、今後も不顕性感染の実態把握を継続する必要があると考えられる。

E. 結論

- ① 嘔吐物中に含まれる NV RNA コピー数は $10^2 \sim 10^9$ コピー数/ml に分布した。また、嘔吐後の口腔うがい液から NV が検出された。
- ② 嘔吐物から検出された NV の塩基配列は同一患者の糞便から検出された NV の塩基配列と一致した。今年度流行株は 2006/07 年流行株と同じクラスターに属する株が主流であった。
- ③ 嘔吐物等が感染源と推定される集団発生事例では、嘔吐物の処理の不徹底により残存した NV の感染によると推定される事例が多く、飛沫感染を含め多彩な感染経路や感染拡

大要因が推定された。また、嘔吐後の口腔内に残存する NV の飛沫が原因と推定される事例が報告された。

- ④ 嘔吐物関連事例は高齢者施設、乳幼児施設の発生頻度が高く、高齢者施設は施設職員の発症率が高い傾向にあった。
- ⑤ 高性能フィルター付掃除機で吸引したダストパック中の塵から、嘔吐物等により汚染した施設環境に残存する NV を検出した。
- ⑥ NV の定量および遺伝子解析は、感染症か食中毒かの判断時に保健所の疫学調査結果を補完することにおいて有用性が認められた。
- ⑦ 高齢者施設の健康調理従事者から、集団発生由来 GII.4 と同じクラスターに分類される GII.4 が検出された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kumar S., Ochoa W., Kobayashi S., Reddy VS. Presence of a surface-exposed loop facilitates trypsinization of particles of Sinsiro virus, a genogroup II.3 norovirus. *J. Virol.* 2007;81: 1119-1128.
- 2) 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.
- 3) N Iritani,, T Seto, H Hattori, K Natori, N Takeda, H Kubo, T Yamano, M Ayata, H Ogura, Y Seto: Humoral immuno responses against norovirus infections of children, *J Med Virol* 79, 1187-1193, 2007
 - 4) 入谷展弘, 久保英幸, 改田 厚, 阿部 仁一郎, 後藤 薫, 石井營次:2006 年度に大阪市で認められたノロウイルス流行, 大阪市立環境科学研究所報告 調査・研究年報 69, 7-12, 2007
 - 5) 野田 衛, 集団感染症・食中毒 ノロウイルスはなぜ多発したのか? *食と健康* 4, 6-17 (2007)
 - 6) 野田 衛, 山下和予, ノロウイルス食中毒・感染症の現状と取り組み 2006 年の早期流行と多発の要因 *食品衛生研究* 57, 9-18 (2007)
 - 7) 野田 衛, 近年のノロウイルス感染症の疫学的特徴 *公衆衛生* 71,977-980 (2007)
 - 8) 野田 衛, ノロウイルス感染症はなぜ大流行したか *感染と抗菌薬* 10,381-385 (2007)
 - 9) Mamoru Noda, Shinji Fukuda, Osamu Nishio, Statistical analysis of attack rate in norovirus foodborne outbreaks *Int J Food Microbiol* 122, 216-220 (2008)
2. 学会発表
- 1) 小林慎一、川口まり子、長谷川晶子、伊藤 雅、山下照夫、武田直和、皆川洋子: 愛知県下流入下水からのノロウイルスとサボウイルスの検出状況、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌市、2007 年.
 - 2) 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
 - 3) 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
 - 4) 入谷展弘, 久保英幸, 改田 厚, 阿部仁一郎, 後藤 薫, 石井營次:2006 年度に大阪市で認められたノロウイルス流行, 平成 19 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, 大阪市 (2007.9.7)
 - 5) 入谷展弘, 久保英幸, 改田 厚, 阿部仁一郎, 後藤 薫, 石井營次:2006/07 シーズンに認められたノロウイルス流行について, 第 23 回地方衛生研究所全国協議会近畿支部疫学情報部会定期研究会, 和歌山市(2007.11.6)
 - 6) N Iritani, H Vennema, JJ Siebenga, RJ Siezen, B Renckens, Y Seto, A Kaida, M Koopmans: Genetic analysis of the capsid gene of GII.2 genotype noroviruses, Third

- International Calicivirus Conference, Cancun Mexico (2007.11.10-13)
- 7) Y Seto, N Iritani, T Seto, H Hattori, K Natori, N Takeda, H Kubo, T Yamano, M Ayata, H Ogura: Humoral immune responses against norovirus infections of infants, Third International Calicivirus Conference, Cancun Mexico (2007. 11.10-13)
- 8) JJ Siebenga, S Bidawid, S Broor, Z Dusan, Z Fang, CI Gallimore, G Greening, J Hewitt, M Hohne, N Iritani, BE Lee, W Lim, Y Lucero, K Mattison, XL Pang, R Ratcliff, G Reuter, ML O’Ryan, E Schreier, MB Taylor, ETV Tu, J Vinje, P White, D Zheng, WB van Zyl, M Koopmans: Global Molecular Epidemiology of subsequent emerging variants of the dominant GII.4 genotype of noroviruses between 2001 and 2007, Third International Calicivirus Conference, Cancun Mexico (2007. 11.10-13)
- 9) 渡辺裕子、斎藤博之、松野重夫: 2006年～2007年に発生した感染性胃腸炎におけるノロウイルス遺伝子型の比較、日本感染症学会第56回東日本集会、東京都、2007年10月26～27日
- 10) 佐藤瑞絵ほか: ノロウイルスによる急性胃腸炎の集団発生と施設消毒方法の一考察, 食品衛生研究, 57(1), 55-59(2007)
- 11) 小暮 実: ノロウイルスに汚染された施設の消毒方法の検討と一考察, 月刊 HACCP, 13(3), 26-31(2007)
- 12) 小暮 実: ノロウイルス感染症の予防と消毒, 食品機械装置, 44(5), (2007)
- 13) 小暮 実: 患者発生現場でのバイオセーフティ現場の調査と処理から学ぶノロウイルス感染症の予防と消毒, BMSA会誌, 19(2), (2007)
- 14) 岩切 章、山本正悟: ノロウイルス(NV)の遺伝子解析による疫学調査への有用性の検討、日本ウイルス学会第55回学術集会、北海道札幌市、2007年10月21～23日
- 15) 林 志直、森 功次、野口やよい、秋場哲哉、貞升健志、新開敬行、長島真美、長谷川道弥、田部井由紀子、吉田靖子、矢野一好: 社会福祉施設の調理従事者からのノロウイルス検索、第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌市、2007年10月21日～23日
- 16) 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 (2007.10)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

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

嘔吐物等による感染の疫学的分析に関する研究
愛知県における嘔吐物からのノロウイルス検出状況

分担協力者：小林慎一 (愛知県衛生研究所)

分担研究者：野田 衛 (国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部)

研究協力者：川口まり子、皆川洋子 (愛知県衛生研究所)

研究要旨：平成 19 年 4 月から 12 月に愛知県の感染症発生動向調査事業で採取された感染性胃腸炎患者の嘔吐物 27 検体及び胃腸炎集団発生 2 事例からの 2 検体についてノロウイルス (NV) の検出検査を実施した。その結果、感染性胃腸炎患者の 5 検体 (GI 陽性の 1 検体と GII 陽性の 4 検体) 及び集団発生の 1 検体 (GII 陽性) から NV が検出された。リアルタイム PCR 法で測定した嘔吐物中のウイルス量は GI 陽性検体で 5×10^4 コピー/ml、GII 陽性検体で $2.5 \times 10^3 \sim 2 \times 10^4$ コピー/ml であった。NV 陽性検体の遺伝子解析の結果、GI 陽性の 1 検体は GI/4 に、GII 陽性の 5 検体は全て GII/4 に分類された。嘔吐物由来の GII/4 は、昨冬の流行ウイルスに高い相同性を示した。

A. 研究目的

近年、ノロウイルス (NV) 感染者の嘔吐物飛沫あるいは処理が不十分な嘔吐物由来の空気を介した感染が疑われる NV 集団感染事例が国内外で報告されており、嘔吐物に対して NV 集団感染の感染源としての注目度が高まってきている。

そこで、嘔吐物からの NV 検出とウイルス量の定量、次いで、嘔吐物から検出された NV の遺伝子解析を実施し、胃腸炎患者の嘔吐物に由来する NV を分子疫学的に検討することを目的とした。

B. 研究方法

1. 材料

平成 19 年の 4 月から 12 月に愛知県感染症発生動向調査事業で採取された感染性胃腸炎患者の嘔吐物 27 検体と当所で検査した胃腸炎集団発生 2 事例からの嘔吐物 2 検体、計 29 検体を使用した。

2. ノロウイルスの検査法

液状の嘔吐物をそのまま遠心 (12,000rpm、10 分) し、上清から RNA 抽出キット (Roche 社) で RNA を抽出した。NV 検出を目的とした RT-PCR 法及びリアルタイム PCR 法はウイルス性下痢症診断マニュアル第 3 版に準拠し

て実施した。

PCR増幅産物はT-ベクターでクローニング後、塩基配列を決定し、片山らの方法に従い遺伝子型を分類した。

C. 研究結果

散発性胃腸炎患者の嘔吐物27検体のうち、1stPCRで1検体(3.7%)がGI陽性であり、2ndPCRで4検体(14.8%)がGII陽性となった。また、胃腸炎集団発生2事例からの嘔吐物2検体中のうち、1検体が2ndPCRでGII陽性であった。

NV陽性の嘔吐物検体中のウイルス量をリアルタイムPCR法で測定した結果、GI陽性検体で 5×10^4 コピー/ml、GII陽性検体で $2.5 \times 10^2 \sim 2 \times 10^4$ コピー/mlであった。

NV陽性5検体のPCR産物の遺伝子解析の結果、GI陽性の1検体はGI/4型に、また、GII陽性の5検体は全てGII/4型に分類された。表1に、NV陽性検体の概要をまとめて示した。

嘔吐物5検体から検出されたGII/4 NVを04/05と06/07シーズンに検出されたGII/4と比較検討し、その結果を図1に示した。嘔吐物由来のGII/4は、全て06/07シーズンに流行したGII/4と同じクラスターを形成し、昨冬の流行ウイルスに高い相同性を示した。

D. 考察

今回の調査では、胃腸炎患者の嘔吐物29検体のうちの6検体(20.8%)からNVが検出された。GI型が1検体であるが、1stPCRで検出されたのに対し

て、GII陽性の5検体は全て2ndPCRでの検出であった。リアルタイムPCRによるウイルス定量の結果では、GI陽性検体が 5×10^4 コピー/mlと最も高く、GII陽性検体は、 $2.5 \times 10^3 \sim 2 \times 10^4$ コピー/mlであった。患者の嘔吐物と糞便を同時に検査していないので、嘔吐物と糞便から検出されるNVの遺伝学的類似性やウイルス量の相関性については不明である。また、嘔吐物の採取時期によるウイルス量の変化に関しても今後の検討課題である。

NVの感染性や病原性に関する指標がない現段階では、嘔吐物の処理についても感染性廃棄物としての処理の徹底が、2次感染予防の観点から重要と考えられる。

E. 結論

ノロウイルスの流行時期の感染性胃腸炎患者の嘔吐物からNVが検出されることから、患者や介護者に対して適切な嘔吐物の処理を指導し、嘔吐物を介する2次感染予防を徹底する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kumar S., Ochoa W., Kobayashi S., Reddy VS. Presence of a surface-exposed loop facilitates trypsinization of particles of Sinsiro virus, a genogroup II.3

norovirus. J. Virol. 2007;81:
1119-1128.

2. 学会発表

小林慎一、川口まり子、長谷川晶子、
伊藤 雅、山下照夫、武田直和、皆川
洋子：愛知県下流入下水からのノロ
ウイルスとサポウイルスの検出状況、
第 55 回日本ウイルス学会学術集会、
札幌市、2007 年。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 ノロウイルス陽性検体の概要

ID No.	性別	年齢	採取年月日	RT-PCR	コピー数/ml
20213	F	7	2007/12/15	1st	5×10^4
20165	F	5	2007/11/13	2nd	2.5×10^3
20183	M	3	2007/12/10	2nd	2.5×10^3
20209	F	4	2007/12/13	2nd	2×10^4
20212	F	3	2007/12/20	2nd	1×10^4
T-1 (集発)			2007/12/24	2nd	3.5×10^3

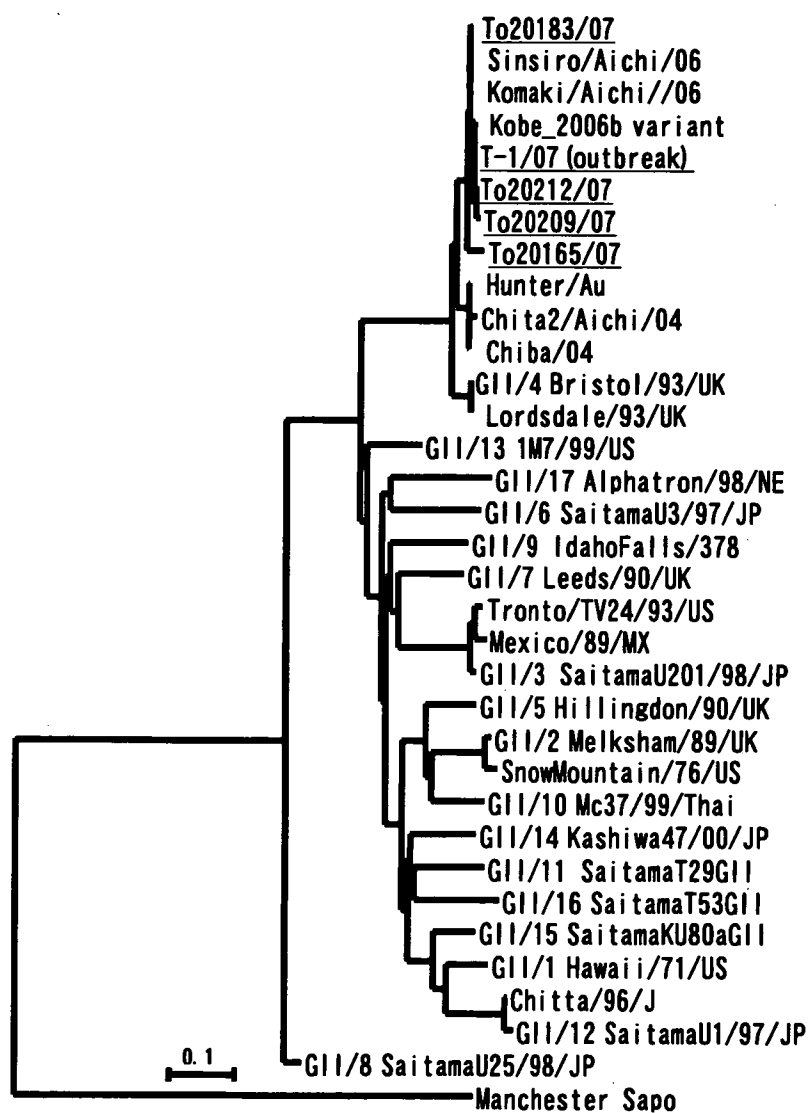


図1 ノロウイルスの系統樹解析
嘔吐物由来 NV

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

嘔吐物等による感染の疫学的分析に関する研究

-ノロウイルス感染患者から採取された嘔吐物中のウイルス定量
および検出ウイルスの遺伝子解析-

研究協力者： 入谷展弘（大阪市立環境科学研究所 微生物保健担当）

分担研究者： 野田 衛（国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部）

研究要旨：

NV 集団胃腸炎 10 事例から採取された 19 検体の患者嘔吐物についてリアルタイム PCR 法を用いてノロウイルス検査を実施した。その結果、6 事例 10 検体からノロウイルスが検出され、嘔吐物中には、糞便中と同一と考えられるウイルスが多量に排出されていることが示された。また今回の調査からは、年齢や遺伝子型によって嘔吐物中に排出されるウイルス量に差は認められなかった。

A. 研究目的

ノロウイルス（NV）は、ヒトに胃腸炎を引き起こし、ウイルス性食中毒の主要な原因となっている。感染ウイルスは小腸上皮細胞で増殖し、糞便や嘔吐物中に排出され、次の感染源となる。一般に NV の検査や解析は、容易に採取できる糞便について実施されている。一方、NV 患者の嘔吐物については、嘔吐が発症初期に認められ、検体採取することが困難なことから、嘔吐物中の NV に関するデータは十分とはいえない。また、最近では幼稚園や小学校など施設内で嘔吐物を介して感染したと考えられる NV 集団胃腸炎事例も少なくない。嘔吐物中の NV について

ウイルス量や遺伝子型との関係など調査し、情報を蓄積していくことは、NV 感染の予防対策に重要であると考えられる。

今回、NV 胃腸炎事例において患者から採取された嘔吐物について NV 検出および遺伝子解析を行い、嘔吐物中のウイルス量、NV 株の遺伝子型別について明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. 材料

2001 年 4 月から 2007 年 11 月の期間に大阪府で発生した NV 陽性胃腸炎事例の中で、患者嘔吐物が採取された 10 事例（患者嘔吐物 19 検体）を対象とした（表

1)。

2. 方法

嘔吐物の NV 検査は、糞便と同様に 10-20%乳剤から QIAamp Viral RNA mini kit を用いてウイルス RNA を抽出し、ランダムプライマーで cDNA を作製した。NV の検出および定量は Kageyama らのリアルタイム PCR 法 (JCM 2003, 41 1548-1557) を用いて行った。NV の遺伝子型別は、Capsid N terminal/S domain 領域において、Katayama らの方法 (Virology 2002, 299, 225-239) に準じて行った。

C. 研究結果

検査対象とした 10 事例のうち患者糞便が採取されたのは 9 事例であり、糞便から検出された NV 株は、6 事例が GII. 4 型、3 事例が GII. 2 型に分類され、すべて 1 種類の遺伝子型のみ検出された事例であった (表 1)。1 事例 (事例番号 04-17) は、同一事例内で患者糞便が採取されず、患者嘔吐物 1 検体のみの検査であった。嘔吐物の NV 検査では、6 事例 10 検体 (52.6%) から NV が検出され、糞便の場合 (88.2%) と比較して陽性率は低かった。表 2 に、嘔吐物が採取された 19 例のうち、NV 陰性で同一患者から糞便が採取されなかった 5 例 (事例番号 03-177/2 例、03-203/1 例、04-59/1 例、06-191/1 例) を除く 14 例のウイルス量を示した。嘔吐物から検出された NV のウイルス量は、 $6.2 \times 10^5 \sim 1.9 \times 10^8$ コピー数/g の範囲で認められ、同患者から採取された糞便中

のウイルス量よりも少なかった。今回の調査において、年齢および遺伝子型別による嘔吐物中のウイルス量には、特に差が認められなかった。また 7 例の同一患者糞便および嘔吐物から検出された NV 株の塩基配列は、それぞれ一致した。同一患者から糞便が採取されなかった 2 例 (事例番号 03-203/患者 E、04-59) においても、同一事例内の他の患者糞便から検出された NV 株の塩基配列と一致していた。

D. 考察

嘔吐は発症初期に認められることや時・場所を選びにくいこと、嘔吐時に内容物が飛沫状態になりやすいことなど、嘔吐物中のウイルスは感染拡大に大きな要因となりうる。今回の調査から、嘔吐物には糞便中と同一と考えられるウイルスが多量に含まれていることが示された。同一患者の糞便に含まれるウイルス量よりも少ない傾向にあるが、感染には十分な量であった。年齢や遺伝子型別による排出ウイルス量については、調査対象とした事例数、検査数が少ないため、引き続き本調査を実施し、データを蓄積していく必要があると考えられた。

E. 結論

- NV 患者の嘔吐物中に含まれるウイルス量は、 $6.2 \times 10^5 \sim 1.9 \times 10^8$ コピー数/g の範囲で認められた。
- 同一患者もしくは同一事例内におい

て、糞便から検出された NV 株と嘔吐物から検出された NV 株の塩基配列は一致していた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

N Iritani, T Seto, H Hattori, K Natori, N Takeda, H Kubo, T Yamano, M Ayata, H Ogura, Y Seto: Humoral immune responses against norovirus infections of children, J Med Virol 79, 1187-1193, 2007

入谷展弘, 久保英幸, 改田 厚, 阿部 仁一郎, 後藤 薫, 石井營次: 2006 年度に大阪市で認められたノロウイルス流行, 大阪市立環境科学研究所報告 調査・研究年報 69, 7-12, 2007

2. 学会発表

入谷展弘, 久保英幸, 改田 厚, 阿部仁一郎, 後藤 薫, 石井營次: 2006 年度に大阪市で認められたノロウイルス流行, 平成 19 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, 大阪市 (2007.9.7)

入谷展弘, 久保英幸, 改田 厚, 阿部仁一郎, 後藤 薫, 石井營次: 2006/07 シーズンに認められたノロウイルス流行について, 第 23 回地方衛生研究所全国協議会近畿支部疫学情報部会定期研究会, 和歌山市

(2007.11.6)

N Iritani, H Vennema, JJ Siebenga, RJ Siezen, B Renckens, Y Seto, A Kaida, M Koopmans: Genetic analysis of the capsid gene of GII.2 genotype noroviruses, Third International Calicivirus Conference, Cancun Mexico (2007.11.10-13)

Y Seto, N Iritani, T Seto, H Hattori, K Natori, N Takeda, H Kubo, T Yamano, M Ayata, H Ogura: Humoral immune responses against norovirus infections of infants, Third International Calicivirus Conference, Cancun Mexico (2007.11.10-13)

JJ Siebenga, S Bidawid, S Broor, Z Dusan, Z Fang, CI Gallimore, G Greening, J Hewitt, M Hohne, N Iritani, BE Lee, W Lim, Y Lucero, K Mattison, XL Pang, R Ratcliff, G Reuter, ML O'Ryan, E Schreier, MB Taylor, ETV Tu, J Vinje, P White, D Zheng, WB van Zyl, M Koopmans: Global Molecular Epidemiology of subsequent emerging variants of the dominant GII.4 genotype of noroviruses between 2001 and 2007, Third International Calicivirus Conference, Cancun Mexico (2007.11.10-13)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1.患者糞便および嘔吐物からの NV 検査および遺伝子型別結果

事例 番号	発生 年月	発生 場所	推定 原因	患者 数	糞便			嘔吐物		
					検査 数	NV 陽性数	遺伝子 型	検査 数	NV 陽性数	遺伝子 型
03-177	2003.11	保育園	ヒト→ヒト	53	51	47	GII.4	2	0	
03-202	2003.12	飲食店	不明	4	3	2	GII.4	1	1	GII.4
03-203	2003.12	老人施設	ヒト→ヒト	8	8	7	GII.4	6	5	GII.4
04-17	2004.1	飲食店	不明	4	0	0		1	1	GII.4
04-59	2004.4	小学校	ヒト→ヒト	268	84	74	GII.2	2	1	GII.2
04-71	2004.5	幼稚園	ヒト→ヒト	95	56	49	GII.2	1	0	
04-75	2004.5	小学校	ヒト→ヒト	41	22	19	GII.2	1	0	
04-165	2004.12	保育園	ヒト→ヒト	26	3	3	GII.4	1	0	
06-149	2006.11	飲食店	食品	19	14	11	GII.4	1	1	GII.4
06-191	2006.11	飲食店	食品	69	31	28	GII.4	3	1	GII.4
合 計					272	240 (88.2%)		19	10 (52.6%)	