

TABLE 1. Minimal detected concentrations of rVLPs by ELISA

VLP	Mean minimal rVLP concn ($\mu\text{g/ml}$) \pm SD ^a	
	Theoretical ^b	Detected ^c
GI/1	0.00106 \pm 0.00042 (3)	
GI/3	0.0368 \pm 0.0084 (3)	
GI/4		8.33 \pm 2.89 (3)
GI/8	0.118 \pm 0.084 (3)	
GI/11	0.0752 \pm 0.0273 (3)	
GII/1	0.456 \pm 0.191 (4)	
GII/2	0.116 \pm 0.012 (3)	
GII/3		6.00 \pm 3.65 (5)
GII/4	0.00298 \pm 0.00100 (3)	
GII/5	4.22 \pm 3.26 (4)	
GII/6		10 (1)
GII/7	10 < (3) ^e	
GII/12	0.468 \pm 0.393 (3)	
GII/13	10 < (3) ^e	
GII/14		3.33 (2)
GII/15		6.67 \pm 4.71 (2)

^a The values show three significant figures. Each assay was done in triplicate, and the assay for single rVLP was repeated three to six times. The number of samples is given in parentheses.

^b The theoretical values were calculated from the absorbance given by the serial dilution of rVLPs. The calculations were performed by cubic logit-log analysis ($R^2 > 0.949$). ^c These rVLPs (GII/7 and GII/13) could not be determined for values of $< 10 \mu\text{g/ml}$ in the assay.

^d The rVLPs given in this column could not be used to calculate the theoretical values because a theoretical value of $< 10 \mu\text{g/ml}$ (used maximum concentration) could not be calculated in even one assay. In these cases, the minimal detected concentrations are given.

GI/3 were done with kits of the same lot number. In the manual, the cutoff value is calculated as an absorbance value of negative control plus 0.15. Values that are 10% above or below the cutoff value are considered to be in the gray zone and therefore need to be examined again. In view of this, the theoretical minimal detectable concentration of each rVLP was determined as a calculated value which gave an absorbance value that was 10% above the cutoff value in each assay. Each assay was conducted in triplicate, and the experiment for each rVLP was repeated three to six times.

Five hundred and three stool samples were collected from infants and children with AGE who visited six pediatric clinics in Sapporo, Tokyo, Maizuru, and Osaka, Japan, from July 2004 to March 2005. All of the stool samples were stored at -30°C until testing. Watery stool samples were diluted 1:2 with phosphate-buffered saline (PBS), and hard stool samples were suspended to 1:5 with PBS. The suspensions were clarified by centrifugation at $10,000 \times g$ for 15 min. The supernatants were diluted to 1:3 with the sample dilution buffer of the kit and used for the assay. The positives or negatives of the samples were determined as mentioned above.

Ten percent stool suspensions of 503 samples were prepared with PBS from the same aliquots for ELISA, and viral RNA was extracted by the QIA amp viral RNA mini kit (QIAGEN, Tokyo, Japan). The detection of NoV (GI and GII), astrovirus, sapovirus, rotavirus, and adenovirus was performed by two sets of multiplex PCR (21, 22). NoV-negative samples were examined by using two sets of monoplex PCRs, for NoV GI and GII. Twenty samples were further assayed by seminested PCR using a primer set, which were G2SKF and G2SKR for NoV GII (9). The genotypes of NoV were determined according to the method of Phan et al. (16).

TABLE 2. Sensitivity, specificity, and agreement of ELISA and RT-PCR^a

ELISA	Detection (no. of samples) by RT-PCR		
	+	-	Total
+	87	20 ^b	107
-	27	369	396
Total	114	389	503

^a Sensitivity = 76.3% (87/114); specificity = 94.9% (369/389); agreement = 90.7% (456/503).

^b These samples were positive as determined by seminested PCR.

The minimal detectable sensitivity is indicated in Table 1. The kit could detect GI/1 and GII/4 rVLPs at concentrations of $< 0.01 \mu\text{g/ml}$. rVLPs of GI/3, GI/8, GI/11, GII/1, GII/2, and GII/12 were detectable within a range between 0.04 and $1 \mu\text{g/ml}$. On the other hand, rVLPs of GI/4, GII/3, GII/5, GII/6, GII/14, and GII/15 were detected at more than $1 \mu\text{g/ml}$. In cases where the assays for GI/4, GII/3, GII/6, GII/14, and GII/15 could not be detected at concentrations of $< 10 \mu\text{g/ml}$ and theoretical detectable concentrations could not be calculated, minimal concentrations given by the assay have been indicated (Table 1). GII/6 rVLP could be detected once at the highest concentration, $10 \mu\text{g/ml}$. Two rVLPs of GII/7 and GII/13 could not be detected at a concentration of $< 10 \mu\text{g/ml}$.

NoV in stool samples collected from sporadic cases in Japan was examined using both the ELISA kit and the RT-PCR, and the kit was evaluated based on the RT-PCR (Table 2). The calculated percent sensitivity, specificity, and agreement were 76.3, 94.9, and 90.7%, respectively. Twenty samples were determined to be positive by the kit but negative by the RT-PCR. These samples became positive when tested by the seminested PCR using NoV GII-specific primer pair. A total of 27 samples were positive with the RT-PCR but negative with the kit. The genotypes of 134 positive stool samples recorded by the RT-PCR were identified by using the clustering determined by Kageyama et al. (6) (Table 3). The genotypes of kit-positive, PCR-positive samples were 1 GI/1, 3 GII/3, 82 GII/4, and 1 GII/6, and the sensitivities of GI/1, GII/3, GII/4, and GII/6 were 50, 23.1, 85.4, and 33.3%, respectively. The low sensitivities of GII/3 and GII/6 were comparable to the results for the rVLPs. RT-multiplex PCR detected four other species of viruses in 503 stool samples. These were 7 group A rotavirus, 27 adenovirus, 30 sapovirus, and 1 astrovirus samples, and the stool samples containing these viruses were determined to be negative by ELISA. Furthermore, multiplex-PCR indicated that 8 of 112 NoV GII-positive samples were mixed infected

TABLE 3. Genotypes of norovirus in positive stool samples as determined by RT-PCR

Genogroup/genotype	No. of samples	Frequency (%)	No. of samples positive by ELISA (%)
GI/1	2	1.8	1 (50.0)
GII/3	13	11.4	3 (23.1)
GII/4	96	84.2	82 (85.4)
GII/6	3	2.6	1 (33.3)
Total	114	100.0	87

with other viruses (5 sapovirus, 2 group A rotavirus, and 1 adenovirus).

Some studies showed that the strains belonging to GII/4 cluster were most predominant not only in stool samples from sporadic cases involving infants and children but also from the outbreaks (8, 10, 12, 15, 16, 19). On the other hand, it was found that various genotypes of NoV strains were detected in the outbreak cases, and there were no predominant genotypes in outbreak strains (20). Furthermore, a change in the distribution of NoV genotypes in the sporadic cases and the emergence of recombinant viruses has been reported (7, 11, 17, 18).

The ELISA kit could detect two kinds of rVLPs (GI/1 and GII/4) with a high sensitivity. Meanwhile, the GII/3 and GII/6 rVLPs formed a group that was responsive at higher concentrations. A total of 23.1% of the stool samples containing GII/3 NoV, and 33.3% of the samples with the GII/6 genotype could be effectively examined by the kit. NoV genotypes with low reactivity levels in the stool samples could be detected by the kit in cases with a sufficient viral load. On the other hand, the genotypes of 20 samples, which were ELISA positive and semi-nested PCR positive, were 7 GII/3 and 13 GII/4. It would appear that these samples have a smaller viral load than monoplex PCR-positive stools. This suggests that there are other factors, such as inhibitors, that may cause the lower sensitivity of ELISA.

The sensitivity, specificity, and agreement of the kit were superior to those of the Denka and Dako kits (1). Dimitriadis and Marshall showed in 2005 that the RIDASCREEN ELISA kit could not be recommended for the study of stool samples in Australian outbreaks (2). In that report, the sensitivity and specificity of the kit were 71 and 47%, respectively, with the same cutoff calculations as our own. The difference between their sensitivity value and our own, which was 76.3%, was not large. On the other hand, the specificity was very different. In the present study, the specificity of the kit based on RT-PCR assay was 94.9%. There were the false-positive samples in their results. The reason for the difference in the specificities is unclear. We have been unable to obtain either the Denka kit or the Dako kit and have not been able to compare the RIDASCREEN kit with these kits using the same stool samples.

In conclusion, our results indicated that the kit could be a useful tool for sporadic diarrheal samples. However, it is quite possible to contain many kinds of genotypes in diarrheal samples derived from food-borne sources, and the particular kinds of genotypes found in such cases are not always the same as the genotypes found in sporadic cases. All in all, the reactivity for GII/3 and GII/6 needs to be improved in order to facilitate the detection of etiologic agents in outbreaks.

This study was supported by Grants-in-Aid from the Ministry of Education and Sciences of Japan.

We thank T. Kaneshi, A. Yamamoto, S. Nishimura, S. Nakaya, and T. Nishimura for collecting stool samples.

REFERENCES

- Burton-MacLeod, A., E. M. Kane, R. S. Beard, L. A. Hadley, R. I. Glass, and T. Ando. 2004. Evaluation and comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of antigenically diverse human noroviruses in stool samples. *J. Clin. Microbiol.* 42:2587-2595.
- Dimitriadis, A., and J. A. Marshall. 2005. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for detection of norovirus in outbreak specimens. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 24:615-618.
- Dimitriadis, A., L. D. Bruggink, and J. A. Marshall. 2006. Evaluation of the Dako IDEIA norovirus EIA assay for detection of norovirus using faecal specimens from Australian gastroenteritis outbreaks. *Pathology* 38:157-165.
- Reference deleted.
- Hansman, G. S., L. T. P. Doan, T. A. Kgyen, S. Okitsu, K. Katayama, S. Ogawa, K. Natori, N. Takeda, Y. Kata, O. Nishio, M. Noda, and H. Ushijima. 2004. Detection of norovirus and sapovirus infection among children with gastroenteritis in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Arch. Virol.* 149:1673-1688.
- Kageyama, T., M. Shinohara, K. Uchida, S. Fukushi, F. B. Hoshino, S. Kojima, R. Takai, T. Oka, N. Takeda, and K. Katayama. 2004. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to norovirus in Japan. *J. Clin. Microbiol.* 42:2988-2995.
- Kirkwood, C. 2004. Viral gastroenteritis in Europe: a new norovirus variant? *Lancet* 363:671-672.
- Kirkwood, C. D., R. Clark, N. Bogdanovic-Sakran, and R. F. Bishop. 2005. A 5-year study of the prevalence and genetic diversity of human caliciviruses associated with sporadic cases of acute gastroenteritis in young children admitted to hospital in Melbourne, Australia (1998-2002). *J. Med. Virol.* 77:96-101.
- Kojima, S., T. Kageyama, S. Fukushi, F. B. Hoshino, M. Shinohara, K. Uchida, K. Natori, N. Takeda, and K. Katayama. 2002. Genotype-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J. Virol. Methods* 100:107-114.
- Koopman, M., J. Vinje, E. Duizer, M. De Wit, and Y. Van Duynhoven. 2001. Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in The Netherlands, p. 197-214. In D. Chadwick and J. A. Goode (ed.), *Gastroenteritis viruses*. John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, United Kingdom.
- Lopman, B., H. Vennema, E. Kohli, P. Pothier, A. Sanchez, A. Negredo, J. Buesa, E. Schreier, M. Reuther, D. Brown, J. Gray, M. Iturriza, C. Gallimore, B. Bottiger, K. O. Gedlund, M. Torven, C. H. von Bonsdorff, L. Maunula, M. Poljsak-Prijatelj, J. Zimsek, G. Reuter, G. Szucs, B. Melegh, L. Svensson, Y. Duijnhoven, and M. Koopman. 2004. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* 363:682-688.
- Maunula, L., and C.-H. Von Bonsdorff. 2005. Norovirus genotypes causing gastroenteritis outbreaks in Finland 1998-2002. *J. Clin. Virol.* 34:186-194.
- Okada, M., T. Ogawa, I. Kaibo, and K. Shinozaki. 2005. Genetic analysis of noroviruses in Chiba prefecture, Japan, between 1999 and 2004. *J. Clin. Microbiol.* 199:4391-4401.
- Okame, M., H. Yan, S. Akihara, S. Okitsu, H. Tani, Y. Matsuura, and H. Ushijima. 2003. Evaluation of a newly developed immunochromatographic method for detection of norovirus. *Kansenshogakuzasshi* 77:637-639.
- Okame, M., S. Akihara, G. Hansman, H. Yan, H. T. T. Tran, T. G. Phan, F. Yagyu, S. Okitsu, and H. Ushijima. 2006. Existence of multiple genotypes associated with acute gastroenteritis during 6-year survey of norovirus infection in Japan. *J. Med. Virol.* 78:1318-1324.
- Phan, T. G., A. T. Nguyen, T. Kuroiwa, K. Kaneshi, Y. Ueda, S. Nakaya, S. Nishimura, T. Nishimura, A. Yamamoto, S. Okitsu, and H. Ushijima. 2005. Viral diarrhea in Japanese children: results from a one-year epidemiologic study. *Clin. Lab.* 51:183-191.
- Phan, T. G., T. Kuroiwa, K. Kaneshi, Y. Ueda, S. Nakaya, S. Nishimura, A. Yamamoto, K. Sugita, T. Nishimura, F. Yagyu, S. Okitsu, W. E. G. Muller, N. Mancekarn, and H. Ushijima. 2006. Changing distribution of norovirus genotypes and genetic analysis of recombinant GIIb among infants and children with diarrhea in Japan. *J. Med. Virol.* 78:971-978.
- Reuter, G., K. Krisztalovich, H. Vennema, M. Koopmans, and G. Szucs. 2005. Evidence of the etiological predominance of norovirus in gastroenteritis outbreaks—emerging new-variant and recombinant norovirus in Hungary. *J. Med. Virol.* 76:598-604.
- Richards, A. F., B. Lopman, A. Gunn, A. Curry, D. Ellis, H. Cotterill, S. Ratcliffe, M. Jenkins, M. Appleton, C. I. Gallimore, J. J. Gray, and D. W. G. Brown. 2003. Evaluation of a commercial ELISA for detection Norwalk-like virus antigen in faeces. *J. Clin. Virol.* 26:109-115.
- Seto, Y., N. Iritani, H. Kubo, A. Kaida, T. Murakami, K. Haruki, O. Nishio, M. Ayata, and H. Ogura. 2005. Genotyping of norovirus strains detected in outbreaks between April 2002 and March 2003 in Osaka city, Japan. *Microbiol. Immunol.* 49:275-283.
- Yan, H., F. Yagyu, S. Okitsu, O. Nishio, and H. Ushijima. 2003. Detection of norovirus (GI, GII), sapovirus, and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. *J. Virol. Methods* 14:37-44.
- Yan, H., A. T. Nguyen, G. T. Phan, S. Okitsu, and H. Ushijima. 2004. Development of RT-multiplex PCR assay for detection of adenovirus and group A and C rotavirus in diarrheal fecal specimens from children in China. *Kansenshogakuzasshi* 78:699-709.

食の安全

ノロウイルスによる 食中毒の原因食材



西尾 治

国立感染症研究所 客員研究員
愛知医科大学 客員教授

にしお おさむ

■略歴

- 1970年 鳥取大学農学研究所修士課程獣医学専攻 修了
- 1970年 愛知県衛生研究所ウイルス部
- 1994年 国立公衆衛生院衛生微生物学部 ウイルス室長
- 2002年 国立感染症研究所感染症情報センター 室長
- 2003年 東京大学医学部 非常勤講師
- 2006年 国立感染症研究所 客員研究員
- 2007年 愛知医科大学 客員教授

厚生労働省 審議官・食品衛生審議会臨時委員、食品安全委員会 専門委員 微生物・ウイルス専門調査会委員、文部科学省 学校給食における衛生管理の改善・充実に関する調査研究協力者会議委員を務めている。

●はじめに

近年、厚生労働省に届けられた病因物質別のノロウイルスの患者数は多くを占め、今や食中毒発生防止の緊急課題となっている。

ノロウイルスによる食中毒は二枚貝による事件の報告数は減少しているものの、生食用カキのノロウイルス汚染は依然として見られている。また、輸入生鮮魚介類にもノロウイルスの汚染が存在し、それらを介しての事件も起きている。一方、食品取扱者による食中毒事件は多発しており、原因食材は寿司、刺身、パン、和え物などである。

●ノロウイルスの概要

ノロウイルスは1968年にアメリカのオハイオ州のノーウォークで発生した急性胃腸炎の集団発生由来患者糞便から電子顕微鏡で発見され¹⁾、電子顕微鏡での形態学的特徴から「小型球形ウイルス：SRSV」と呼称されていた。1990年代に入ると、多くの株で遺伝子配列が決定され、ノロウイルス遺伝子検出のRT-PCR法が開発された。その後の研究により、生カキの喫食による急性胃腸炎の多くの食中毒事件は小型球形ウイルス（ノロウイルス）に起因していることが判明した²⁾。

この状況から、厚生省（現厚生労働省）は、1997年5月に食品衛生法施行規則を改正し、食中毒の病因物質に「小型球形ウイルス」および「その他のウイルス」を加えた。さらに、1998年12月には「生食用カキの養殖海域」を記載するように食品衛生法が改正された。

2002年8月の国際ウイルス命名委員会で、「ノーウォーク様ウイルス」、「小型球形ウイルス」は「カリシウイルス科」、「ノロウイルス属」に命名された。これを受けて、厚生労働省は2003年8月に食品衛生法での病因物質を「小型球形ウイルス」から「ノロウイルス」に改めた。

ノロウイルスはウイルスの中でも小さく直径30～40nm前後で球形を呈し、表面はカップ状の蛋白構造物で覆われ、その内部に長さ約7.7Kbのプラス一本鎖RNA分子ゲノムを持つが、エンベロープは持たない。

ノロウイルスは遺伝子群（genogroup：G）IとIIに大きく分けられ、GIは14、GIIは17あるいはそれ以上が知られている。ノロウイルスの増殖系（組織培養、実験動物）はいまだ見いだされていないことから血清型、免疫、感染性、抵抗性などの正確な情報が得られていない。

物理・化学的抵抗性はノロウイルスの培養系が

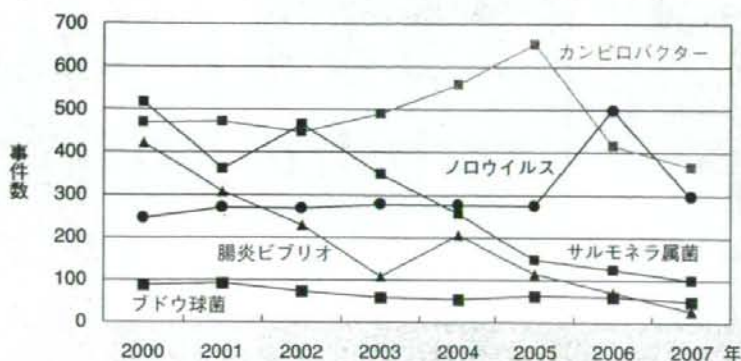


図1 病因物質別事件数の年次推移 (厚生労働省食中毒統計より)

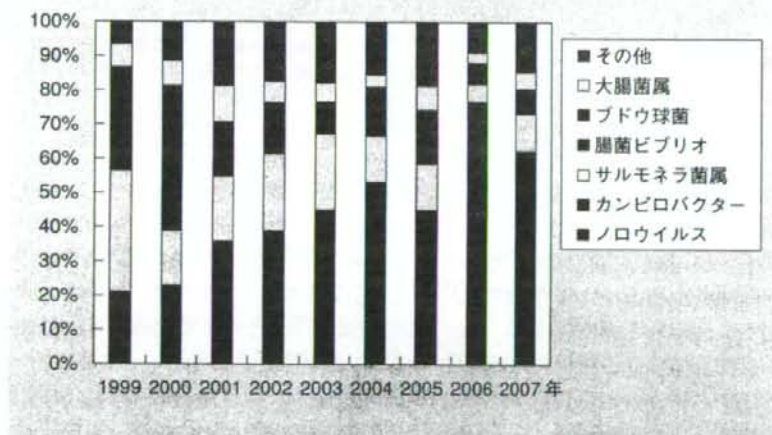


図2 年別の食中毒病因物質別患者数

ないので正確なことは不明であるが、ノロウイルスと類似の形態であるネコカリシウイルスの成績から推測すると、ノロウイルスは乾燥・液中で長期間安定であり、4℃では2か月間、20℃では1か月間程度生存可能で、加熱にも強く、60℃、30分間の処理に安定で、不活化には70℃、5分間、85℃、1分間の加熱が必要と考えられている。

●臨床症状

ノロウイルスは経口感染で、潜伏期間は通常12～72時間(主に24～48時間)、主症状は嘔気、嘔吐、下痢、腹痛である。感染部位は小腸の粘膜上皮細胞で、腸管の炎症に伴う下痢症状を呈し、

激しい水様性の便が数回続くこともある。胃内容を腸に送る運動神経の機能低下・麻痺に伴う嘔気、嘔吐の症状が見られる。嘔吐は突然、急激に起こり、その際に腸がひっくり返るような嘔吐が起きるため、腸内容物が逆流し、ウイルスが吐物中に入り込む。患者からの多くの糞便1g中にはノロウイルスが1億個以上、吐物では1g中に百万個以上が存在する。糞便・吐物中にノロウイルスが大量に排出され、ウイルスの排出は治癒後2週間程度続く。このことが食中毒事件の多発の要因となっている。症状は一般的に1～3日続いた後治癒し、後遺症は残さない。また不顕性感染もある。

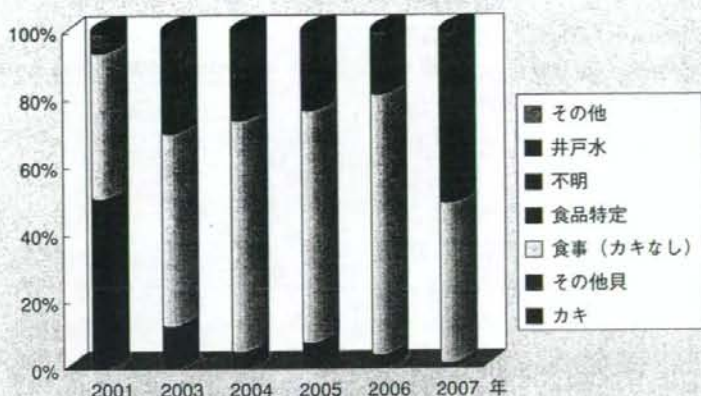


図3 2001～2006年のノロウイルスによる食中毒事件の食材別の事件数の推移 (%)
(厚生労働省食中毒統計)

●食中毒事件の発生状況

2001～2005年に厚生労働省に届けられたノロウイルスによる食中毒事件数はほぼ250～290件程度で、病因別では2001年が第4位、2002～2003年が第3位、2004～2005年が第2位、2006年は事件数が499件で1位となり、翌年には344件で2位となった(図1)。患者数は、2000年は黄色ブドウ球菌による大規模な事件が発生し第2位であったが、その後は第1位で、2004年まで患者数は増加し(約8,000人～12,000人)、2005年は減少したが、2006年は27,616人で過去最大となり、2007年は18,750人であった。食中毒患者数に占めるノロウイルスの割合は2000年が19%、2003年は30%を超え、2004年は45%と半数に迫り、2005年は32%とやや減少し、2006年はノロウイルスによる大流行に伴い71%と過去最大となり、2007年も56%を占めていた(図2)。近年では、ノロウイルスによる食中毒の患者数が全体の40%程度を占め、ノロウイルスによる食中毒の防止対策が行われれば、食中毒患者の多くを減少させることができる。

ノロウイルスによる食中毒の原因食材は1999～2001年頃まではカキを含む二枚貝事件が50%以上を占めていたが、2003年には25%、2004年および2005年は15%程度に減少した。2006年はノロウイルスの大流行が例年よりも早く、11月から見られ、西日本のカキ生産業者が生食用カキの販売を自粛

したことから事件数は4%、2007年は2%と減少した(図3)。

●食品取扱者・調理者による食品汚染

食中毒は突然起こるものではなく、ノロウイルスに感染した食品取扱者・調理者が食品を提供する前に食品、調理器具、食器などを汚染することにより起きる。近年はこの様式の食中毒が多発し、施設、学校などで患者数が100人以上の規模でしばしば発生している。汚染された食品には寿司、刺身、サラダ、和え物、饅頭、パン、サンドイッチ、うどん(後から入れたネギ、かつお節)、おかゆ(トッピングとして入れたもの)などがある。

2006年に厚生労働省に届けられた食中毒事件のうち、患者数が500以上の食中毒事件は6件で、そのすべてがノロウイルスであり、ほとんどが弁当で起きている。その原因は、短時間で大量の食品を調理するために、調理過程において漬物を切る、和え物、果物、加熱調理後の食品などを素手で取り扱い、提供したことが原因と推測されている。

調理従事者が焼き上げたパンにきな粉と砂糖をまぶす工程があり、ノロウイルスに感染していた従事者がきな粉と砂糖の混ぜ合わせを素手で行ったことにより511名が食中毒となった。この事件は手洗いが不十分などには膨大なウイルスが手に付着していることを示している³⁾。

また、ノロウイルスに感染していた給食調理員の手指を介して、調理器具、給食が汚染されると

推測された事件が発生し、患者数が779名に達し、さらに二次感染者が約400名見られた。食中毒発生後の二次感染対策が極めて重要であることをこの事件は教えている。すなわち、食中毒患者は家族、同僚などの多数の人に二次感染(人→人感染)も起こしている。このことから食中毒の発生予防は感染症の減少をもたらす。感染者は排便時に手、嘔吐物の処理時にバケツ、雑巾、洗い場などの環境を汚染し、他の人が汚染された場所に触れることにより感染症が発生する。

●二枚貝による伝播様式

1. 環境とカキの汚染

ノロウイルスは二枚貝が本来持っているものではなく、二枚貝の体内で増殖することもない。カキにノロウイルス汚染が起きるのは、人が水環境を汚染することが原因である。ノロウイルスに感染した人のウイルスを大量に含む糞便・嘔吐物は消毒せずに便器に流す。便器に流されたウイルスは下水、下水処理場に行く。下水処理場でほとんどのウイルスは除去されるが、ウイルス量、下水水量が多いときには一部が下水放流水とともに河川、海域に達する⁴⁾。汚染された海水がカキの養殖場に達すると、カキはプランクトンを食餌とし、活動が旺盛なときには1日に10億個以上のプランクトンを食すため、1時間に10L以上の海水を吸引し、カキの内臓である中腸腺に海水中のノロウイルスが蓄積・濃縮する。汚染されたカキを含む二枚貝を生あるいは加熱不足で食すると食中毒となる。

2. 市販生食用カキの個々の汚染状況

2002年10月～2008年3月の間に市販の生食用カキ1,043パックについて、パック当たり3個のカキを調べた。なお、リアルタイムPCR法で実測値(1チューブ当たり)10コピー以上を陽性とした。このときのカキ1個当たりのコピー数は125である(表1)。

カキ3個のすべてが陰性は964パック(92.4%)で、カキ3個のうち1個以上の陽性カキは79パック(7.6%)、3個のうち2個が陽性は18パック(1.7%)、3個すべてが陽性は6パック(0.6%)のみであった。同一パック内のカキ個々において汚染状況が著しく異なることが判明した。このことは同一養殖筏においても、カキの吊るしている場所

表1 カキの個々汚染状況

	ノロウイルス定量値 (カキ1個あたりのコピー数)					パック数(%)
	<125	125≦～<500	500≦～<1,000	1,000≦～<1,500	1,500≦	
0個	●●●●●●●●					964 964(92.4)
1個	●●●●●●●● ●●●●●●●●	●	●	●	●	32 15 3 5 55(5.3)
2個	●●●●●●●● ●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●	●●●●●●●●	3 2 5 2 3 1 18(1.7)
3個	●●●●●●●● ●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	1 1 1 1 1 1 6(0.6)

パック詰めカキ各3個のノロウイルス汚染状況
(2002年10月～2008年3月)

により汚染状況が異なることによる。また、カキのパック詰めに用いる海水もノロウイルスに汚染されていることが多く、パック詰めの海水の取り扱いに注意する。近年、二枚貝による食中毒事件数が減少しているのは、ホテル、旅館などで生カキの提供を控えていることも要因の1つと推察される。

3. カキの安全対策

世界各地のカキにはノロウイルス汚染が認められているが、いまだにカキのウイルス学的な規格基準はいずれの国でも定められていない。日本ではカキの安全対策として、大規模な養殖場ではノロウイルスの自主検査を行い、ノロウイルス陽性カキの出荷を控え、あるいは出荷前に紫外線照射による海水の浄化を行い、食中毒の発生防止に努めている。しかし、依然としてノロウイルス陽性のカキが市販されており、より広範囲、かつ精度の高い自主検査と、より効果的な浄化法の開発が望まれる。

4. 輸入食品におけるノロウイルス汚染率

ノロウイルスに汚染されるのはカキに限ったことではなく、二枚貝はプランクトンを食餌としているために、中腸腺にノロウイルスを蓄積・濃縮することがある。

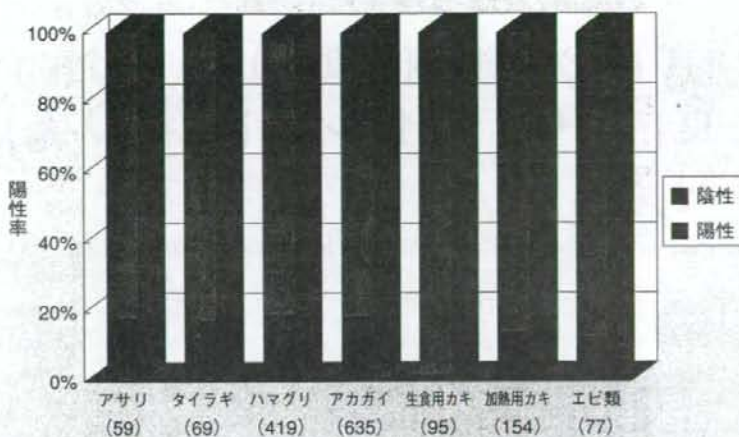


図4 輸入生鮮魚介類におけるノロウイルス汚染状況 () : 検体数

我々は2001年4月～2007年2月の間に、生鮮魚介類を扱う市場に搬入されたものを調べた。

輸出国では中国、韓国、北朝鮮、インドネシアなどの13か国で、魚介類はアカガイ、ハマグリ、カキ、タイラギ、エビなどの1,508件を用いた。

生鮮魚介類16%からノロウイルスが検出された。種類別の汚染率はハマグリ、アカガイおよび加熱用カキが約20%で、エビ類はそれよりも低く、生食用カキは4%であった(図4)。生食用カキは河川から離れ、河川水の汚染を受けることが少ない沖合の海域で養殖されており、汚染率は低い。

これらは年間を通してノロウイルス汚染が認められ、常に食中毒の発生防止に努めなくてはならない。

なお、輸入二枚貝による食中毒事件も起きている。また、輸入生鮮魚介類を介して、ノロウイルスの多様な遺伝子型がわが国に侵入してきており、日本に存在しない遺伝子型も認められている⁵⁾。

●予防

ノロウイルスに感染している人が排便時、嘔吐物の処理の際に、手に糞便・嘔吐物を付着させ、その汚染された手で、非加熱食品、加熱後の食品(パン、和え物など)、調理器具、食器などに素手で触れることにより食中毒を起こす。この防止には徹底した衛生的な手洗いとプラスチック手袋を着用して、加熱後の食品、非加熱食品、食器などを汚染させないことである。

二枚貝などの海産物の安全性確保には、水環境をノロウイルスで汚染させないことである。このためには浄化施設のノロウイルスの除去効率を高めることが必要であり、総合的な環境汚染の防止が必要である。

鶏肉、牛肉などの食品において、キャンピロバクター、O-157などによる食中毒事件も多発しており、ゼロリスクの食品はないのが現状である。生食用カキの購入に当たり、自主検査でノロウイルス陰性あるいは滅菌海水で20時間以上浄化したものを選べば、リスクはかなり低減すると推測される。それでも心配なときには加熱(85℃、1分間以上)を行えば、ノロウイルスによる食中毒を心配をすることなく、カキを食することができる。

文献

- 1) Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, et al: Visualization by immuno electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 10: 1075-1081, 1972
- 2) Inouye S, Yamashita K, Yamadera S, et al: Surveillance of viral gastroenteritis in Japan; Pediatric cases and outbreak incidents. *J Infect Dis* 181 (Suppl 2): S270-274, 2000
- 3) 西尾 治, 古田太郎: 現代社会の脅威! ノロウイルス. 幸書房, 2008
- 4) 丸山 務 (編): 改訂ノロウイルス現場対策. 幸書房, 2008
- 5) 西尾 治, 中川 (岡本) 玲子: ノロウイルス感染症と海産物の安全性. *臨床とウイルス* 36: 305-314, 2008

平成19年度 厚生労働科学研究(食品の安心・安全確保推進研究) 輸入食品中のウイルス汚染の実態と その対策

Virus Contamination in Imported Raw Foods and Prevention from Infection

国立感染症研究所 感染症情報センター

西尾 治, 秋山美穂

Department of Infectious Disease
Surveillance Center,
National Institute of Infectious Diseases

Osamu NISHIO, Miho AKIYAMA

I はじめに

食品を介するウイルスは、二枚貝ではノロウイルスおよびA型肝炎ウイルスが重要なものとして挙げられ、近年は動物の肉・内臓(肝臓)を介するE型肝炎ウイルスも問題視されている。3つのウイルスの特徴は、いずれも小型の球形で、外殻のタンパク構造物の内部に+1本鎖RNA(ノロウイルスは7.6 kb, A型肝炎ウイルスは7.5 kb, E型肝炎ウイルス7.2 kb)ゲノムを有する。しかしエンベロープはもたない。エンベロープのないウイルスの特徴は、アルコールで容易に破壊されず、加熱にも強く、殺滅が難しい。自然界では長期間感染性を維持することができるので食中毒を起こす。

ノロウイルスおよびE型肝炎ウイルスはいまだ培養系が見出されていない。A型肝炎ウイルスは培養系があるものの、分離には数週間を要し、細胞変性効果が見られないことから、臨床材料のウイルス診断には実用的ではない。

前述のウイルス検出には遺伝子増幅法(RT-PCR,

リアルタイムPCR法)あるいは酵素抗体法が用いられるが、検出されたのはウイルス遺伝子であり、必ずしもウイルスの感染性を示しているとは限らないので、結果の判断には注意を要する。

二枚貝のノロウイルスおよびA型肝炎ウイルス汚染は人から排泄されたウイルスが水系環境を汚染することにより発生している。

E型肝炎の外国感染例では環境水を介する事例が多く、国内では感染したシカ、イノシシ、ブタ等の肉、肝臓等を生あるいは加熱不足で喫食することにより健康被害が起きている。

近年わが国には、大量の生鮮魚介類および動物肉が輸入されており、2006年の厚生労働省の輸入食品監視統計によると、生鮮魚介類はおもにアジアからで、貝類は71,298トンのうち二枚貝類が66,917トン、エビ類は126,889トン輸入された。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。生鮮肉類の総量は1,775,141トンで、牛肉513,086トン、豚肉は837,565トン、馬肉8,669ト

ンであった。

それら食品のウイルス学的な安全性は、輸出国および輸入国であるわが国でもまったくと言ってよいほど確保されていない。

そこで、われわれは輸入食品のウイルス汚染状況について、2001年4月から2006年2月の間に厚生科学、厚生労働科学研究で行った研究成果を中心に述べることにした。なおE型肝炎ウイルスは2006年6月から2007年2月の成績である。

II ノロウイルス

ノロウイルスは1968年にアメリカ、オハイオ州のノーウォークで発生した急性胃腸炎の集団発生由来患者の糞便から電子顕微鏡で発見され、電子顕微鏡での形態学的特徴から「小型球形ウイルス」と呼称されていた。ノロウイルスはウイルスのなかでも小さく直径30～40nm前後で球形を呈し、表面はカップ状のタンパク構造物で覆われている。

ノロウイルスは遺伝子群(G) IとIIに大きく分けられ¹⁾、さらに多数の遺伝子型に分かれ、GIは14、GIIは18あるいはそれ以上の型が存在している。

1990年代に入ると、生カキの喫食による食中毒事件の多くが小型球形ウイルス(ノロウイルス)に起因していた²⁾。この状況から、厚生省(現厚生労働省)は、1997年5月に食品衛生法施行規則を改正し、食中毒の病因物質に「小型球形ウイルス」および「その他のウイルス」を加えた。1998年12月には、「生食用カキの採取海域」を記載するように食品衛生法が改正された。2002年に国際ウイル

ス命名委員会で「ノロウイルス」に統一され、厚生労働省は2003年8月に病因物質を「小型球形ウイルス」から「ノロウイルス」に改めた。

ノロウイルスは経口感染で、感染力が非常に強く、ウイルス粒子10～100個で感染・発病し、潜伏期間は通常12～72時間(おもに24～48時間)である。感染部位は小腸の上皮細胞で、主症状は嘔気、嘔吐、下痢、腹痛である。嘔吐は突然、急激に起こり、その際に腸内容物が逆流し、ウイルスが吐物中に入り込む。多くの急性期の患者糞便1g中には1億個以上のノロウイルスが存在し、糞便からのウイルス排泄は10日間程度続く。吐物では1g中に100万個以上のウイルスが存在し³⁾、環境を汚染する。症状は一般的に1～3日続いた後治癒する。

1 わが国におけるノロウイルスによる食中毒の発生状況

厚生労働省に届けられた食中毒の病因物質別事件数の年次推移は、2000年はノロウイルスが⁴⁾、サルモネラ、カンピロバクター、腸炎ビブリオに続いて第4位で、2002年および2003年は第3位、2004、2005年は第2位、2006年は事件数が例年の約2倍以上となり、病因物質別で第1位となった(図1)。患者数では、2000年はブドウ球菌による大事件が起こり、ブドウ球菌に次いで第2位であったが、その後は第1位で、2006年は事件数、患者数ともに過去最大となった(図2)。

事件数の割合の推移では、2001年は事件数の44%がカキを介する事件で、カキ以外の貝が9%

食品衛生検査指針【微生物編】

(厚生労働省監修)

・ 体裁 B5判 736 ページ ・ 定価 22,000 円 (本体価格+税)

社団法人 日本食品衛生協会

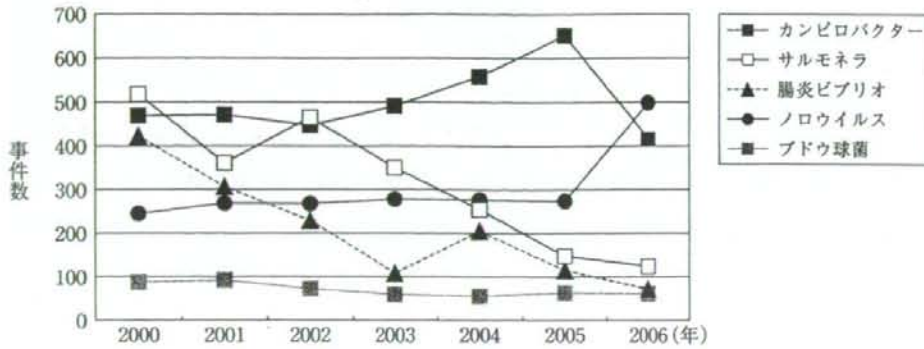


図1 病因物質別事件数の年次推移 (厚生労働省食中毒統計より)

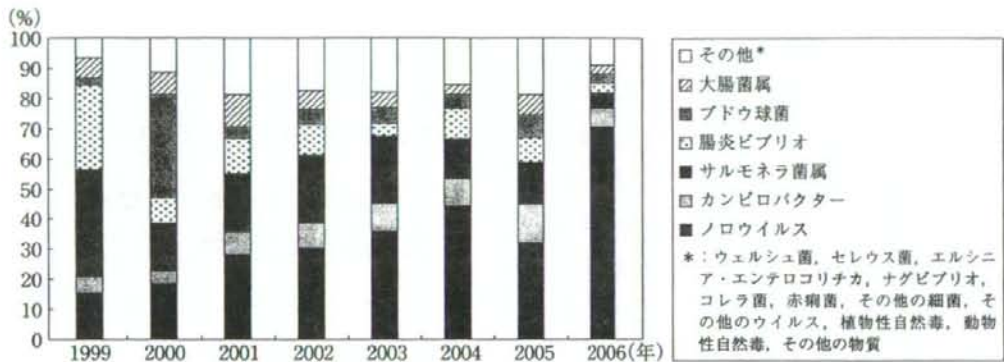


図2 年別の食中毒病因物質別患者数 (厚生労働省食中毒統計より)

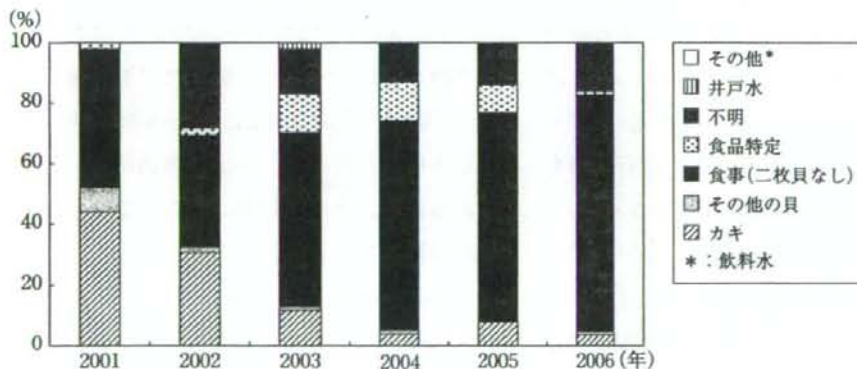


図3 ノロウイルスによる食中毒事件の食材別の事件数の推移 (2001～2006年)

で、二枚貝が全体の53%を占めていた。カキを介する事件は2003年が11%と減少し、その後はさらに低率となり、2006年は晩秋からノロウイルスによる大流行が発生したことから生食用カキの販売を多くの生産者が控えたこともあって4%と激

減した。一方、「食事(二枚貝なし)」と「不明」が著しく増加した(図3)。

また、輸入二枚貝によるノロウイルス食中毒事件はウチムラサキガイ(通称大アサリ)によって発生している。

2 輸入生鮮魚介類におけるノロウイルス汚染状況

2001年4月から2007年2月の間に、国内2カ所の生鮮魚介類を扱う市場に搬入されたものうち、おもにアジアからの生鮮魚介類を買い上げた。

輸出国では中国、韓国、北朝鮮、インドネシア、フィリピン等の13カ国で、魚介類はアカガイ、ハマグリ、カキ、タイラギ、エビ等の1,327件を用いた。

魚介類では1ロットにつき3検体を調べ、貝類では個体ごとに中腸腺を採取し、中腸腺が1個体あたりに1gに満たないときには、複数個体の中腸腺を集め1gとし、1ロットにつき3検体を調べた。エビの場合は背ワタを集めて1gを1検体とした。ウイルスの検出はRT-PCRおよびリアルタイムPCR法で行った⁴⁾。

3 輸入生鮮魚介類別ノロウイルス汚染状況

生鮮魚介類1,327件中213件(16%)からノロウイルスが検出された。種類別の陽性率はシジミが40%、タイラギ、ハマグリ、アカガイおよび加熱用カキが16~19%で、エビ類は17%、生食用カキは2%であった(図4)。

二枚貝のノロウイルス汚染様式はノロウイルスに感染した人の糞便および嘔吐物から大量に排出され、ウイルスが便器を通り、浄化施設に行き、大部分は除去されるものの、一部はすり抜け、河川から海域に達する。二枚貝はプランクトンを食餌としており、活動が旺盛なときのカキは1日にプランクトン10億個以上を食するため、海水を1時間に10L以上を吸引するので、中腸腺にノロウイルスが濃縮・蓄積する。シジミの陽性率が高いのは汽水域に生息しており、河川水の影響を最も受け、次いで、アサリ、ハマグリ、アカガイ、加

熱用カキ等は沿岸部で生息し、河川水が海水で希釈されるので汚染度が低い。生食用カキは河川から離れ、河川水の汚染を受けることが少ない海域で養殖されているので、汚染率は最も低い。

4 輸入生鮮魚介類における月別ノロウイルス汚染状況

月別のノロウイルス汚染状況は図5に示したように、1~3月は汚染率が高いものの、年間を通してノロウイルス汚染が認められた。ヒトでは常にノロウイルス感染症が起きており、常時これら食品が汚染されている可能性を示している。二枚貝を介する食中毒事件は冬期のみならず、年間を通して起こりうる。また、これらの食品は冷凍で輸入されることもあり、冷凍保存されているものは採取時期が不明である。年間を通して輸入生鮮魚介類の食中毒防止には努めなくてはならない。

5 輸入生鮮魚介類における国別ノロウイルス汚染状況

輸入生鮮魚介類における国別の汚染状況は図6に示したように、北朝鮮産がやや高い陽性率であったが、中国、インドネシア、フィリピンはともにほぼ同様で、韓国はやや低い汚染状況であった。これらの国では環境中のノロウイルス汚染はほぼ同程度と推察される。生鮮魚介類でノロウイルスに安全な国はなく、常に十分に加熱することが健康被害防止となる。

6 輸入生鮮魚介類から検出されたノロウイルス遺伝子型

輸入生鮮魚介類から検出されたノロウイルスの遺伝子型は116件決定できた。そのうちGIが22件で2, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 15型で、GIIでは1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 16型で、多くの遺伝子型が生鮮魚介類を介して侵入してきて

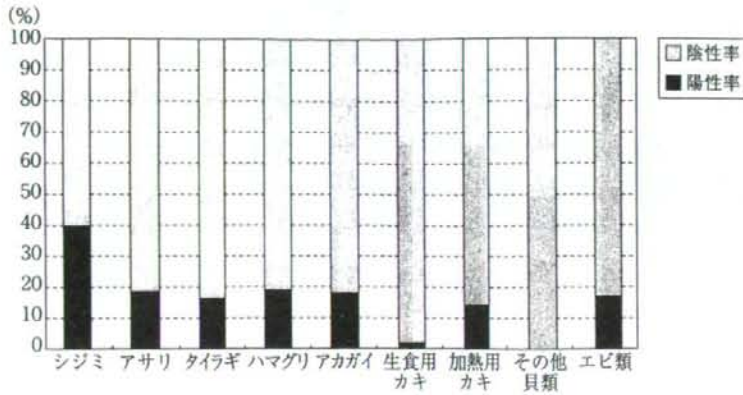


図4 輸入生鮮魚介類のノロウイルス汚染率

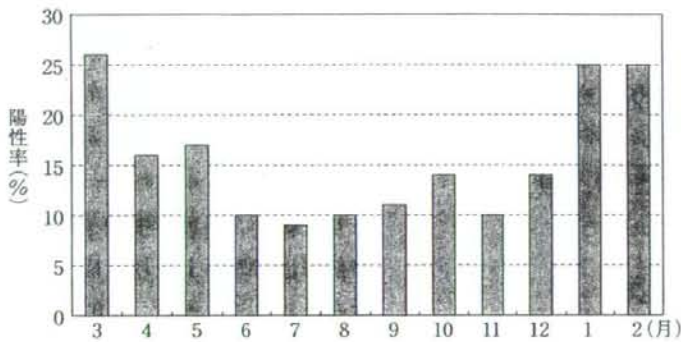


図5 輸入生鮮魚介類の月別ノロウイルス汚染状況(2001～2006年)

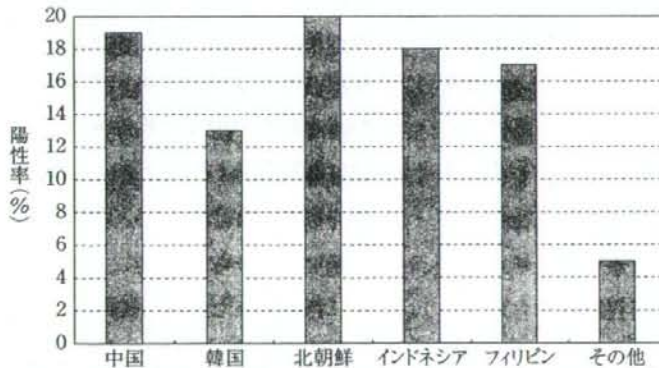


図6 輸入生鮮魚介類の国別ノロウイルス汚染状況(2001～2006年)

いる。このうち近年世界的に流行しているGII/4型が36株で最も多く、次いで日本でもしばしば検出されるGII/3型が15株と多く、アジアでも主流である遺伝子型は日本と同様であることがうかが

われる。日本では多く検出されていないGII/7型が14株検出された。さらに既存の遺伝子型に近縁なものが確認できない3遺伝子型が見出された。すなわちGII/18型に近いがそれとは異なる5株

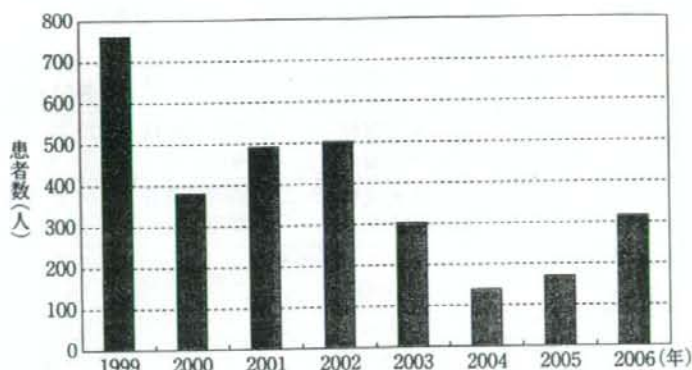


図7 年次別のA型肝炎患者発生数

(AY356543), さらに異なる1株(Genbank accession No.AY641760)の9株, GIに属する(AY356548)各1株が検出された。これらの株はわが国の下痢症患者からは検出されていないようであり, 日本に存在しない遺伝子型が食品を介して侵入していることも示唆された。

Ⅲ A型肝炎ウイルス

A型肝炎ウイルスは直径27nmの小型ピコルナウイルス科のヘパトウイルス属に分類され, 血清型は1種類で, 遺伝子型はI型からⅦ型が存在する。

A型肝炎ウイルスは経口感染で, 潜伏期間は2~6週間, 平均して約1カ月で肝炎を起こす。A型肝炎ウイルスは腸管組織を経て肝細胞に達する。肝臓で増殖したウイルスは胆汁とともに胆管系を経て, 腸管内に達し, 糞便とともに体外に排出され, 環境を汚染する。糞便からのウイルス排出は潜伏期から発症後1カ月間程度認められる。

1 わが国のA型肝炎患者発生状況

A型肝炎ウイルスの血清疫学の成績から, わが国には常在していないと考えられている。しかしながら, 2000年から2006年のA型肝炎患者は毎年100~500名程度発生している(図7)。A型肝炎患者のうち, 40%程度の患者は海外で感染した

ものあるいはA型肝炎患者が身の周りに存在し, 二次感染と考えられている。しかし, 約60%のA型肝炎患者は海外渡航歴がなく, 身の周りにA型肝炎患者がいないにもかかわらず, A型肝炎を発症していると考えられている⁵⁾。その要因の1つとして輸入二枚貝が推測されている。A型肝炎の潜伏期は平均約1カ月と長いため, 原因食材の特定がほとんどできず, 原因不明となっている。

2 わが国におけるA型肝炎食中毒発生状況

近年では国内ではA型肝炎食中毒事件は7件発生しているが, 浜松市と江戸川区の事件は中国産ウチムラサキガイによるものであった。その他の感染経路は寿司店が4件, 飲食店が1件で, いずれも生鮮魚介類を大量に扱っている調理人が感染し, 潜伏期の長いことから発症前に, 利用客にA型肝炎ウイルスに汚染された食品を提供したことによると推測されている^{6~8)}(表1)。食中毒を起こした遺伝子型はアジアで広く分布しているIA型であった。

3 輸入生鮮魚介類におけるA型肝炎ウイルス汚染状況

A型肝炎ウイルス検出法あるいは(<http://www.nih.go.jp/niid/reference/HA-manual.pdf>)を参照され

表1 国内におけるA型肝炎ウイルスによる食中毒事件

事件No.	発生時期	発生地域	感染源	感染経路	患者数 遺伝子型	その他
1	2000年9～10月	岐阜県	寿司食材 調理器具	調理従業員 寿司店員	23名 IA型	
2	2002年3月	東京都江東区	寿司食材 調理器具	調理従業員 寿司店員	24名 IA型	
3	2001年12月～ 2002年1月	浜松市	ウチムラサキガイ (中国産)	中華料理店	4名 IA型	ノロウイルス と重複感染
4	2002年4月	東京都江戸川区	ウチムラサキガイ (中国産)	飲食店	5名 IA型	ノロウイルス と重複感染
5	2006年12月	名古屋市	不明	寿司店 店主	20名 IA型	患者の接触感 染1名
6	2006年4～5月	新潟市	不明	回転寿司店 調理従事者	10名 IA型	調理従事者の 妻も感染
7	2006年7～9月	滋賀県	不明	飲食店 調理従事者	15名 IA型	調理従事者の 母も感染

たい。

輸入生鮮魚介類1,196件中7件(0.6%)からA型肝炎ウイルス検出され、アカガイ3件、ハマグリ2件、ウチムラサキガイ2件であった(表2)。ノロウイルスに比べA型肝炎ウイルスの汚染はきわめて低率であった。なお、検出されたA型肝炎ウイルスの遺伝子型はすべてIA型であり、即断はできないものの、その感染源として、二枚貝がその1つとして推察される。

4 輸入生鮮魚介類における国別A型肝炎ウイルス汚染状況

国別では中国産614件中5件(0.8%)、韓国産390件中2件(0.5%)で、ほかの国は検体が少数であったこともあり検出されなかった。二枚貝はA型肝炎ウイルスの陽性頻度が少ないものの、汚染の危険性があるものとして、取り扱う必要があり、特に大量に取り扱う調理人は感染予防に注意する。

IV E型肝炎ウイルス

E型肝炎ウイルスはヘパウイルス科、ヘパウイ

表2 輸入魚介類からのA型肝炎ウイルス検出状況
(2001年4月～2007年2月)

種類	A型肝炎ウイルス		
	検査数	陽性数	%
アカガイ	531	3	0.6
ハマグリ	390	2	0.5
カキ	60	0	0
アサリ	59	0	0
タイラギガイ	69	0	0
ウチムラサキガイ	3	2	66.7
その他の貝	21	0	0
エビ類	63	0	0
計	1,196	7	0.6

その他の貝：ミルガイ、トリガイ、シジミ、アゲマキ
カイ、ホッキガイ

エビ類：ブラックタイガー、キングエビ、大正エビ、
クルマエビ

ルス属で、遺伝子型はG1からG4の4つで、G3とG4は人と動物の両方に感染し人畜共通感染症として重要な遺伝子型である。E型肝炎ウイルスは潜伏期が平均6週間と長い。感染すると肝炎を起こす。高齢者および妊婦では重症化することがある。予後は一般的に良好である。

1 わが国におけるE型肝炎患者発生と動物生肉の汚染状況

わが国での2001年以降のE型肝炎患者数は、2001年0名、2002年16名、2003年31名、2004年41名、2005年43名、2006年71名で、近年わずかに増加しており、それらの半数以上はE型肝炎の常在している開発途上国(アジア、中国等)で感染した輸入例ではなく、国内で感染したものと推測されている。なお、わが国におけるE型肝炎ウイルスの食中毒事件は日本のシカ、イノシシ、ブタの肝臓あるいは肉の加熱不十分または生食によりE型肝炎患者が発生し、いずれも動物と人に感染する遺伝子型である3あるいは4型であった⁹⁾。ブタ、イノシシと患者からはほぼ一致する遺伝子配列が同定されていることから、動物をreserverとする人畜共通感染症と考えられている¹⁰⁾。

2 輸入動物肉および生鮮魚介類のE型肝炎ウイルス汚染状況

E型肝炎ウイルスの検出は1パックにつき3カ所から、肉を100mgずつを採取し、RT-PCR法で行った¹¹⁾。

アメリカおよびカナダ各17件、デンマークおよびメキシコ各13件、フランス11件、オーストラリア8件、チリ7件、ニュージーランドおよびスペイン各6件、ハンガリー3件、イタリア、中国、ブラジル各2件、オランダ、フィンランド、オーストリア各1件から輸入された豚肉、牛肉、鹿肉、羊肉、馬肉の計110件について実施し、すべて陰性であった(表3)。

このことから、輸入生鮮動物肉には感染性を有するE型肝炎ウイルスが存在していないと考えられた。上記の輸入国のうち、E型肝炎ウイルスの常在している国もあり、常在国からのものが陰性であったことは、おそらくブタ等では生まれた後、

表3 輸入動物別のE型肝炎ウイルス汚染状況(2006年)

動物	検査数	陽性数
豚肉	95	0
牛肉	6	0
鹿肉	5	0
羊肉	2	0
馬肉	2	0
計	110	0

早期に感染し、成長して肉として販売されるときには抗体が産生され、筋肉中のウイルスは排除された結果と推察される。今後、これらの動物は血清抗体の調査が必要と考えている。

生鮮魚介類は中国および韓国からのカキ1件、アカガイ32件およびハマグリ6件、計39件を検査したが、E型肝炎はすべて陰性であった。例数は少ないものの、二枚貝ではE型肝炎の汚染はほほないものと考えられた。

V 食品からのウイルス感染防止

現在、輸入生鮮魚介類および動物肉等は輸出国および輸入国であるわが国において、ウイルス学的な検査はまったく行われていないのが現状である。上記、食品からの健康被害の防止には自らが感染の防止に努め、身を守るほかはない。

今回取り上げたウイルスはいずれも十分に加熱すれば殺滅が可能であり、ノロウイルスおよびA型肝炎ウイルス汚染の危険性を有する二枚貝、E型肝炎ウイルスの汚染の危険性のある動物の肉および肝臓は中心部まで完全に過熱して食することである。

二枚貝で、アカガイ、トリガイ等では中腸腺を取り除く際には感染防止のマスクと手袋を装着し、取り除いた中腸腺で周りを汚さないこと、取り除いた中腸腺は消毒してから、廃棄すること。

二枚貝、動物の肉および肝臓の調理は最後に行い、調理後は使用した器具、シンク等は消毒を行

う。二枚貝、動物の肉および肝臓の調理後は手洗いを徹底すること。

A型肝炎には有効なワクチンがあり、生鮮魚介類を取り扱う調理人はA型肝炎のワクチン接種を積極的に受け、感染源となることを防止する。

A型肝炎蔓延地域への海外渡航者は事前にA型肝炎ウイルスのワクチン接種を受け、A型肝炎およびE型肝炎の蔓延地域では生水、生野菜等の非加熱食品を摂らないこと。

医療関係者はA型肝炎ウイルスのワクチンを受ける。

謝 辞

本研究は平成13年～15年度厚生労働科学研究補助金 主任研究者 西尾 治「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16、17年度厚生労働科学研究費 分担研究者 西尾治「食品由来のウイルス性感染症の検出法の高度化、実用化に関する研究」、平成18年度厚生労働

科学研究費補助金 主任研究者 西尾 治「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」の補助を受けて行われた。

国立感染症研究所：木村博一、藤本嗣人、山下和子、加藤由美子、愛木智香子、藍野大学：牛島廣治、沖津祥子、新潟大学教育研究院：鈴木 宏、西川 眞、田村 務、国立医薬品食品衛生研究所：野田 衛、神奈川県衛生研究所：古屋由美子、片山 丘、横浜市衛生研究所：宇宿秀三、静岡県環境衛生科学研究所：杉枝正明、足立 聡、山口県環境保健研究センター：岡本玲子、松本知美、独立行政法人日本スポーツ振興センター：有田知子、愛媛県立衛生環境研究所：大瀬戸光明、山下育孝、近藤玲子、大塚有加、市川高子、群馬県衛生環境研究所：森田幸雄、坂野智恵子、千葉市保健所：田中俊光の各先生の共同研究のもとに行われたものであり、感謝いたします。また検体採取に協力いただいた愛知県食品検査所の各位に深謝します。

参 考 文 献

- 1) Kageyama T. *et al.*: J Clin Microbiol, 42, 2988-2995(2004)
- 2) Inoye S. *et al.*: J. Intect. Dis., 181(52), 270-274(2000)
- 3) 西尾 治, 丸山 務編：改訂版ノロウイルス現場対策, 幸書房, p23-70(2007)
- 4) 西尾 治, 厚生労働省監修：食品衛生検査指針(微生物編), p450-474(2004)
- 5) 国立感染症情報センター：病原微生物検出情報, 23, 271-272(2002)
- 6) 猿渡正子 他：病原微生物検出情報, 23, 147-149(2001)
- 7) 貞枳健志 他：病原微生物検出情報, 23, 273(2002)
- 8) 長谷川嘉子 他：病原微生物検出情報, 27, 341-342(2006)
- 9) 国立感染症情報センター：病原微生物検出情報, 26, 261-262(2005)
- 10) Nishizaki M. *et al.*: J Gen Virol, 84, 851-862(2003)
- 11) Takahashi K. *et al.*: Intervirology, 46, 308-3128(2003)

ノロウイルス感染症と海産物の安全性

西尾 治 国立感染症研究所 感染症情報センター

中川(岡本)玲子 山口県環境保健センター 保健科学部

1. はじめに

近年、二枚貝によるノロウイルス食中毒事件の報告数は減少しているものの、生食用カキのノロウイルス汚染は依然として認められ、二枚貝による食中毒は発生しているものと推察される。また、輸入生鮮魚介類は16%がノロウイルスに汚染されており、それらを介しての感染も起きており、さらに多様な遺伝子型がわが国に侵入している。いずれにしても、海産物のノロウイルス汚染防止は水環境を汚染しないことである。

2. ノロウイルスおよび食中毒の歴史

ノロウイルスは1968年にアメリカ、オハイオ州のノーウォークで発生した急性胃腸炎の集団発生由来患者ふん便から電子顕微鏡で発見された¹⁾。電子顕微鏡での形態学的特徴から「小型球形ウイルス」,「SRSV (small round structured virus)」と呼称された。

1990年代に入ると、ノロウイルス検出のRT-PCR法が開発され、生カキを介する食中毒事件について原因ウイルスの追求が行われ、生カキによる急性胃腸炎の食中毒事件の多くは、小型球形ウイルス（現在はノロウイルス）によるものが、多くの地方衛生研究所の研究者等により明らかとなった²⁾。

厚生省（現厚生労働省）は、カキを介するノロウイルスによる健康被害の重要性から、1997

年5月に食品衛生法施行規則を改正し、食中毒の病因物質に「小型球形ウイルス（現在のノロウイルス）」および「その他のウイルス」を加えた。また、1998年12月には、生食用カキによる食中毒事件の発生時に、迅速に健康被害の防止対応が実施できるように、生食用カキの養殖海域を記載するように法改正された。

わが国で食中毒の病因物質にノロウイルスが加えられたのは、二枚貝のノロウイルス汚染による食中毒が多発したことによる。食品中で増殖しないウイルスを病因物質に加えたことは、食中毒の概念を大きく転換し、食品の取扱いに関係なく、汚染されたものを提供し、健康被害を起こしたときには食中毒事件として取り扱われることになった。この考えから、1997年に少量で健康被害を起こす腸管出血性大腸菌、1999年には赤痢菌、腸チフス、パラチフスA菌も病因物質に加えられた。

3. ノロウイルスによる食中毒の発生状況

2001～2005年に厚生労働省届けられたノロウイルスによる食中毒事件数はほぼ250～290件程度で2000～2001年は第4位、2002～2003年は第3位、2004～2005年は第2位、2006年は事件数が499件で1位となり、翌年には344件で2位となった（図1）。患者数は、2000年は黄色ブドウ球菌による大規模な事件が起きたことから、患者数は第2位であったが、その後は第1位であり、2004年まで患者数は増加し（約8,000人～

Safety in raw seafoods from norovirus infection

Osamu NISHIO, Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases.

Reiko NAKAGAWA (OKAMOTO), Yamaguchi Prefectural Institute Of Public Health

Reiko OKAMOTO - NAKAGAWA and Environment

別刷請求先：西尾 治 〒208-0011 東京都武蔵村山市学園4-7-1 国立感染症研究所村山庁舎

Tel : 042-561-0771 Fax : 042-585-3315 E-mail : nishio@mih.go.jp

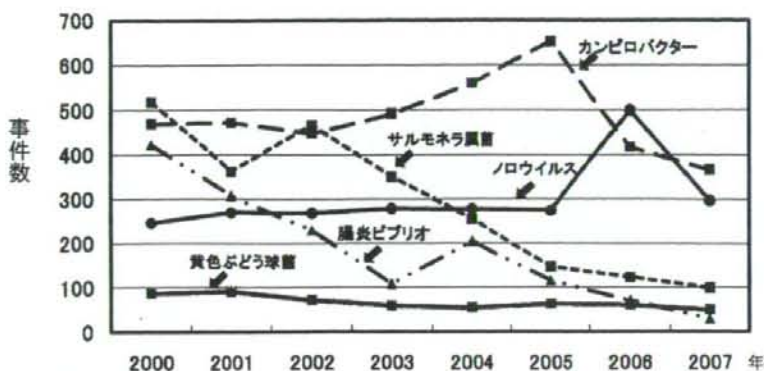


図1 年別の病因物質別事件数
(厚生労働省食中毒統計より)

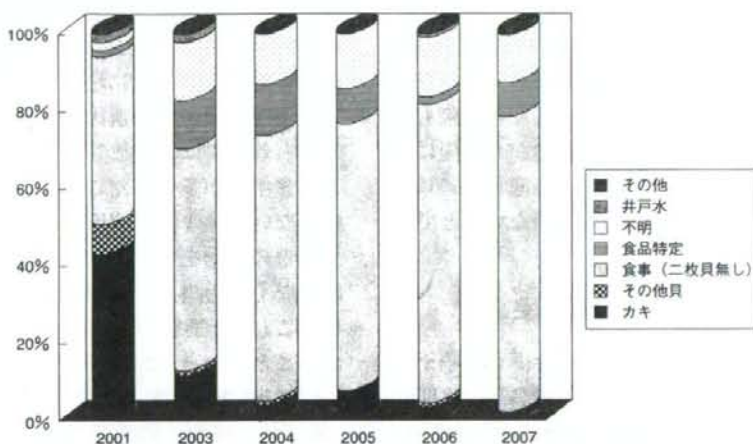


図2 年別のノロウイルスによる食中毒事件の食材別の事件数の推移 (%)

12,000人), 2005年は若干患者数が減少したが, 2006年は27,616人で過去最大となり, 2007年は18,520人であった。食中毒患者数に占めるノロウイルスの割合は2000年が19%, 2003年は30%を超え, 2004年は45%と半数に迫り, 2005年は32%にやや減少し, 2006年はノロウイルスによる大流行に伴い71%と最大となり, 2007年は55%を占めていた³⁾。

ノロウイルスによる食中毒の原因食材は1999~2001年頃まではカキを含む二枚貝事件が50%以上を占めていたが, 2003年には11%, 2004年は4%および2005年は7%に減少した。2006年はノロウイルスの大流行が例年よりも早く, 11月から見られたので, 西日本のカキ生産

業者が生食用カキの販売を自粛したことから事件数は4%, 2007年は2%と減少した(図2)。

4. 二枚貝による伝播様式

1) 環境とカキの汚染

ノロウイルスは二枚貝の体内で増殖することはない。カキにノロウイルス汚染が起きるのは, カキがプランクトンを食餌とし, 活動が旺盛なときには1日に10億個以上のプランクトンを食すためである。カキは1時間に10ℓ以上の海水を吸引し, 内臓である中腸腺に海水中のノロウイルスが蓄積・濃縮する。

2) 感染性胃腸炎発生数とカキからのノロウイルス検出時期との関係

カキのノロウイルス汚染源は主に小児における感染性胃腸炎患者の下痢便と考えられている⁴⁾。そこで、図に示したように、A 海域の近くの住人における感染性胃腸炎の発生状況とカキの汚染について調査した。感染性胃腸炎の流行の初期はカキにノロウイルス汚染が認められなかったが、感染性胃腸炎の流行の約1ヶ月後にカキが陽性となった(図3)。他の海域でもほぼ同様の傾向である。したがって、感染性胃腸炎の患者数増加の1ヶ月後以降はカキの生食に注意を要すると言える。

3) カキからのノロウイルス検出時期、陽性率および河口からの距離との関係

8月下旬から1月下旬の間に7回、河口部、河口から約10km、河口部から約15~20kmのところのカキ5個について、ノロウイルス汚染状況について調査した。その結果、河口部では11月下旬から1月下旬までの間カキにノロウイルス汚染が認められた。

河口から約10kmでは1月上旬の1調査地点で陽性となったが、河口部から約15~20kmでは全ての期間陰性であった(図4)。そのときにカキから検出された遺伝子型を示しているが、その地区で流行したGII/4が主に検出された。このことは河川水の影響を強く受けるところが早く陽性となり、影響の少ないところほど、

汚染されにくいことを表している。カキのノロウイルス汚染の安全性の確保には養殖筏を河口からより離し、河川水の影響の少ないところに置くことが重要である。

4) 市販生食用カキの個々の汚染状況

2002年10月から2008年3月の間に市販の生食用カキ1,043パックについて、それぞれのパック当たり3個のカキを調べた。なお、リアルタイムPCR法で実測値(1チューブ当たり)10コピー以上を陽性とした。このときのカキ1個当たりのコピー数は125であり、125未満は陰性とした。

カキ3個の全てが陰性は964パック(92.4%)で、1個以上の陽性カキは79パック(7.6%)で、3個のうち2個が陽性は18パック(1.7%)、3個全てが陽性は6パック(0.6%)のみであった(図5)。同一パック内のカキ個々において汚染状況が著しく異なることが判明した。このことは同一養殖筏においても、場所によりカキの汚染は異なり、特に上層が汚染の高い傾向が認められている。実際に、カキの検査数を増やせば、汚染率が高くなり⁵⁾、同一養殖海域での生食用カキは、ウイルス学的に安全と言える検査個数を決める必要があると考えている。食中毒事件時に原因食材と推定される二枚貝の検査は少なくとも3個以上の検査が必要である。

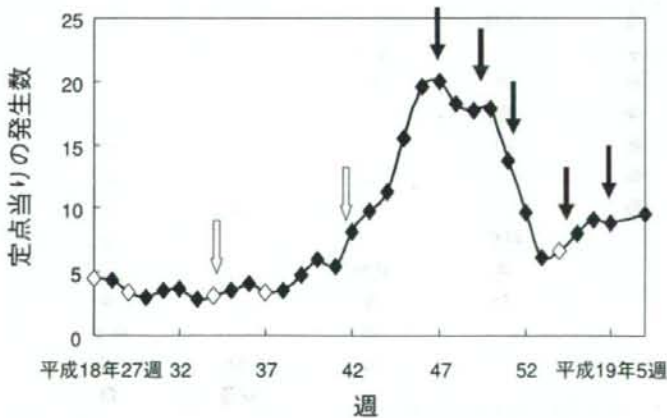


図3 感染性胃腸炎発生数とカキからのノロウイルス検出時期との関係

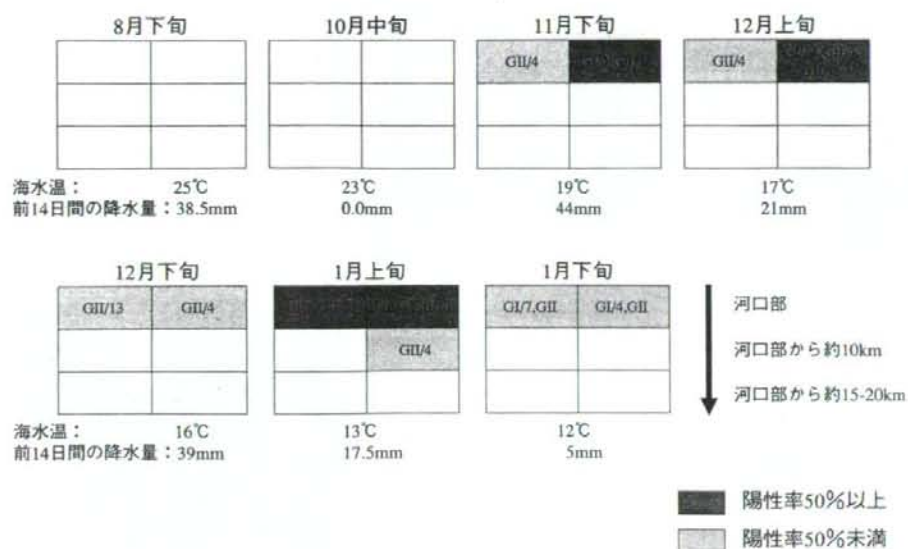


図4 カキからノロウイルス検出時期、陽性率および河口からの距離

	ノロウイルス定量値 (カキ 1個あたりのコピー数)					バック数 (%)
	< 125	125 ≤ - < 500	500 ≤ - < 1000	1000 ≤ - < 1500	1500 ≤	
0個	●●●●●					964 (92.4)
1個	●●●●●	●	●	●	●	32 (55.3)
2個	●●●●●	●●	●●	●	●●	3 (18.17)
3個	●●●●●	●●●	●●●	●●	●●●	1 (6.06)

バック詰めカキ各3個のノロウイルス汚染状況 (2002年10月~2008年3月)

図5 市販生食用カキの個々の汚染状況