

平成 21 年 5 月に発生した腸管出血性大腸菌感染 O157:H7(VT1&2 陽性)を
原因とする食中毒事件について

北九州市環境科学研究所 久保田 勉、清水寧、村瀬浩太郎、下原悦子
北九州市保健所保健予防課 境 美津枝、永富あかね、小川真由美、佐藤 優
北九州市保健所東部生活衛生課 刀根誠一、北村尚男、太田宏一、稲富秀敏

要旨

平成 21 年 5 月に大腸菌 O157:H7(VT1&2 陽性)を原因とする 10 件の腸管出血性大腸菌感染症の届出が相次ぎ、原因菌が同一由来である可能性が考えられたので、患者からの分離株 10 株についてパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)を行いその異同を調べた。その結果 PFGE パターンがほぼ一致し、このうち患者 4 名については、疫学調査の結果を加味することで、同一感染源を原因とする食中毒と断定できた。また後日実施した IS-printing System と薬剤感受性試験の結果も PFGE 同様、4 名からの分離株が同じ由来であることを示唆する結果であった。

A. 目的

平成 21 年 5 月、腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157 による同感染症の届出が相次ぎ、患者への聴き取り調査で全員が牛レバー刺身や焼肉を摂食後に発症していることが判明し、同一の感染源を有する食中毒である可能性が示唆された。そこで、感染源を特定するため、摂食状況、食材の流通経路などの詳しい疫学調査を実施するとともに、患者の糞便から分離された EHEC O157(VT1&2) について、その異同を調べるため、パルスフィールドゲル電気泳動 (以下 PFGE) を行った。また後日 IS-printing System による遺伝子解析及び薬剤感受性試験を追加した。

B. 材料と方法

1. 供試菌株

平成 21 年 5 月 15 日から 26 日の間に発症し、腸管出血性大腸菌感染症として届け出があった患者 10 名からの O157 分離株 10 株を供試菌株とした。なお、これらはすべて民間の検査機関で分離され、O 型別と毒素型が判明した菌株で、国立感染症研究所に送付するため、保健所が分与を受けたものである。

2. PFGE

当所での PFGE は、国立感染症研究所の方法をもとに作成した「大腸菌のパルスフィールドゲル電気泳動法による解析 九州ブロックマニュアル(2005)」により実施した。制限酵素は *Xba* I を用い、泳動は電圧 6.0V/cm、パルスタイム 2.2~54.2 秒、バッファー温度 14°C、泳動時間 19 時間の条件で行った。また供試菌株は、後日国立感染症研究所細菌第一部において PFGE 型のサブタイプ名が付与された。

3. IS-printing System

IS-printing System による解析は、東洋紡績(株)の試薬キット「IS-printing System」(Ver. 2)を用い、添付のプロトコールに準じて実施した。各菌株の遺伝子の増幅産物をアガロースゲル電気泳動した後、得られたバンドの出現の有無を 2 進数(1,0)で表現し、さらに 10 進数に変換して 11 桁の挿入配列の組み合わせに固有の ID コード番号を付与した。

4. 薬剤感受性試験

分離株 10 株の薬剤感受性試験をセンシ・ディスク(BD BBL)を用い、KB 法により実施した。供試薬剤は、アンピシリン (AM)、セフトキサシム(CTX)、ゲンタマイシン(GM)、カナマイシン(K)、ストレプトマイ

シン(S)、テトラサイクリン(TE)、シプロフロキサシン(CIP)、クロラムフェニコール(C)、ナリジクス酸(NA)、スフファメトキサゾール/トリメトプリム(STX)、ノルフロキサシン(NOR)、ホスホマイシン(FF)の12種である。

C. 結果及び考察

1. 疫学調査結果

表1に疫学調査の結果を示す。

10名の患者は、個別に届出があったが、摂食状況から8つのグループに分けられた。そしてグループG2、G3、G4、G7の患者であるNo. 3、4、5、6、9の5名には次のような共通点があった。

- ① 利用施設はすべて焼肉料理店であった。
- ② 患者は全員牛レバー刺身を摂食していた。
- ③ 患者が摂食した牛レバーの処理・流通ルートが同一であった。

即ち、摂食した焼肉店は異なるものの、同じ5月15日に処理された牛レバー刺身を摂食しており、その牛レバーの仕入れ先もすべて同じKという取扱業者であった。これらから、肉料理(焼肉・牛レバー刺身等)を原因食品とする同一の感染源による細菌性食中毒であることが強く疑われた。

その他のグループについては、焼肉や牛レバー刺身を摂食していることで食中毒の疑いがあったが、上記の5名との共通点が明らかではなかった。

2. 遺伝子型の比較

患者10名のO157分離株のPFGEの結果を図1に示す。10株のうち、1株(No.9)を除く9株はほぼ同じパターンであった。No.9の株は、他の株とバンド2本の位置の違いが見られた。PFGE解析の結果からは、10株が同一由来であることが示唆された。

一方、後日実施したIS-printing Systemの結果は、図2及び表2に示すように10名全員が同じIDコード番号「56643812046」となった。

3. 薬剤感受性

分離株の12種類の抗生物質に対する感受性を調べた。その結果、患者No.1由来の1株を除き、残り9

株がほぼ同じ薬剤感受性パターンを示した。このNo.1由来の1株だけがSとTEに感受性を示したが、他の9株は両薬剤に耐性を示した。SとTEを除く他の薬剤については、10株すべてが感受性を示した。

以上の結果をまとめたものを表3に示す。

疫学状況から、食中毒を強く疑った4グループ5名の株に限ってみると、患者No.3、4、5、6の4名はPFGEパターンがほぼ同一であったこと、及び疫学情報から肉料理(焼肉・牛レバー刺身等)を原因食品とする同一の感染源による集団食中毒事件と断定された。なお患者No.9については、これと同じ食中毒であることが強く示唆されたが、行政処分までには至らなかった。

一方、患者No.1、2、7、8、10については、食中毒事例とほぼ同じPFGEパターンであったことから、双方の関連性が示唆されたが、摂食状況に関する聴き取り調査に協力が得られなかったり、レバーの仕入れ日や取扱業者が異なる、摂食日が異なるなど若干の疫学状況の違いがあり、集団食中毒事件と断定するまでには至らなかった。

E. まとめ

今回、O157による腸管出血性大腸菌感染症の中から、遺伝子解析を行うことにより、疫学調査の結果を裏付け、3件の食中毒事件を見つけ出すことができた。

またPFGEやIS-printing Systemのような遺伝子解析法は、食中毒の可能性が否定できない場合や摂食から探知までに長くかかって検査のための食材が得られない場合などに、原因菌検査や疫学調査の結果を補強あるいは裏付けるものとして、その有用性が非常に高いことがわかった。

事例発生時にはPFGEとIS-printing Systemの両方を同時併行することが望まれるが、原理の違いから解析結果が一致しないことも多く、今後も事例ごとにデータを積み重ねて検討することで、それぞれの特性を活かした活用方法が選定されてくると思われる。

謝辞 分離株を分与くださった関係者の皆様、またPFGE型別を実施してくださった国立感染症研究所細菌第一部の関係者の皆様に深謝いたします。

グループ	患者No	年齢	性別	発症日	症状	摂食状況		摂食日	レバーの仕入れ日と取扱業者	会食者数	牛レバー刺身の摂食者数	有症者数	特記事項
						焼肉店	生レバー刺身摂食						
G1	1	8	M	5/17	腹痛、下痢	市内	○	5/12	不明	不明	不明	2	家族
	2	33	F	不明	腹痛、下痢		○						
G2	3	10	M	5/20	腹痛、下痢、血便、その他	S	○	5/15	5/15 K	4	2	1	
G3	4	6	M	5/18	腹痛、嘔吐、発熱(37°C)、下痢、血便、その他	A	○	5/15	5/15 K	8	7	1	
G4	5	24	F	5/19	腹痛、下痢、血便	Y	○	5/16	5/16 K	17	9	2	同一グループレバーの処理は5/15
	6	59	F	5/20	腹痛、発熱(37°C)、下痢、血便		○	5/16	5/16 K				
G5	7	52	F	5/19	腹痛、下痢、血便	知人宅でバーベキュー		5/14	/	不明	不明	1	同系列の食肉販売店で購入の肉
						自宅で焼肉		5/16		2	不明		
G6	8	10	M	5/19	腹痛、嘔吐、発熱(37.6°C)、下痢、血便	O	○	5/16	5/12 F	4	4	1	
G7	9	8	M	5/19	腹痛、発熱(39°C)、下痢、血便	T	○	5/17	5/15 K	7	6	1	
G8	10	7	F	5/26	腹痛、下痢、血便	市外	○	5/17	5/12 J	2	3	1	

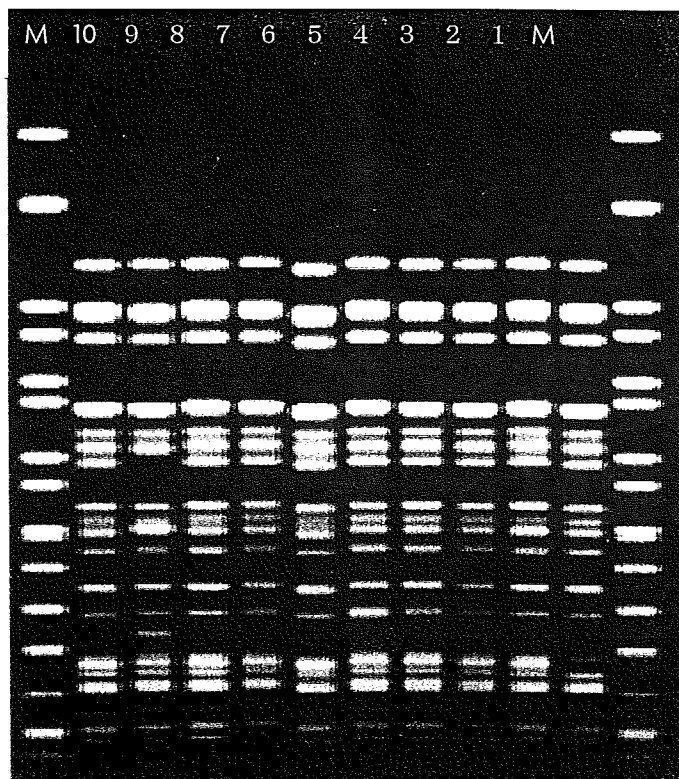
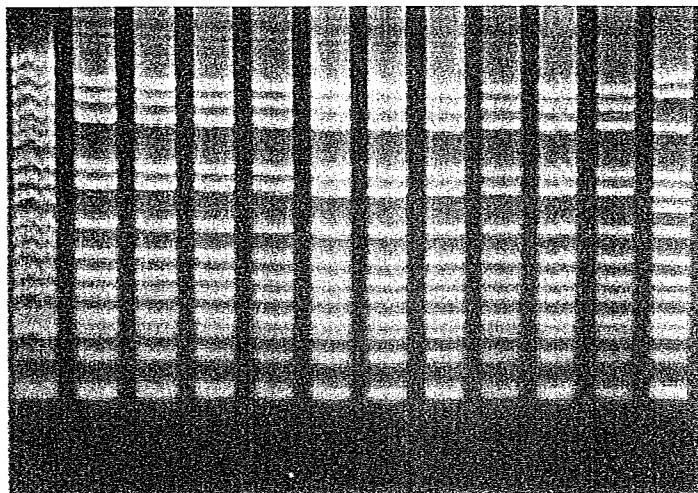


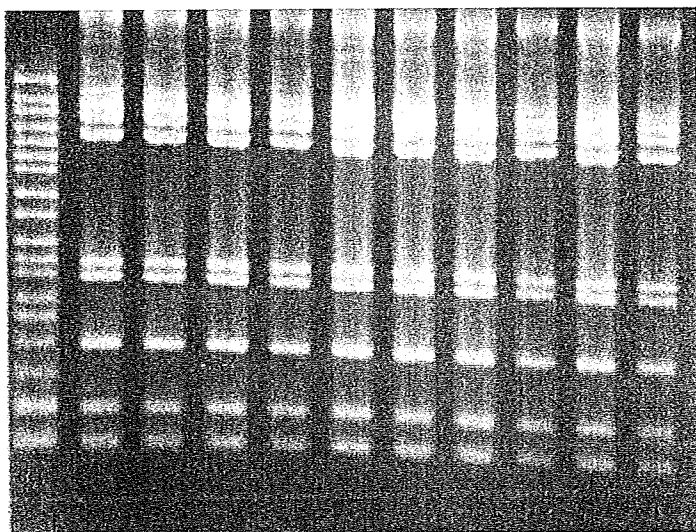
図1 分離株の PFGE パターン

St 1 2 5 3 6 4 7 8 9 10



1st primer set

St 1 2 5 3 6 4 7 8 9 10



2nd primer set

図2 患者分離株の IS-printing System の結果

表2 IS-printing System のまとめ

primer 15 : eae primer 17 : hlyA primer 34 : stx2 primer 35 : stx1

統合結果

Name	10進数	Results																																						
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35			
1	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
2	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
3	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
4	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
5	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
6	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
7	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
8	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
9	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1
10	56643812046	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1

1st set

2nd set

表3 O157分離株についての遺伝子解析と薬剤感受性試験のまとめ

グループ	患者No.	PFGE コメント (感染研による)	感染研 PFGE E型	IS-printing Systemの コード番号	薬剤感受性			摂食日	レバーの 仕入れ日と 取扱業者	特記事項	備考
					S	TE	SとTE 以外				
G 1	1	No 2と1本違い	e307	566438 12046	○	○	○	5/12	不明	家族	散発
	2		e308	同上	×	×	○	5/12			散発
G 2	3	No 2と同じ	e308	同上	×	×	○	5/15	5/15 K		食中毒
G 3	4	No 2と1本違い	e45	同上	×	×	○	5/15	5/15 K		食中毒
G 4	5	No 2と同じ	e308	同上	×	×	○	5/16	5/16 K	同一グループ レバーの処理 は5/15	食中毒
	6	No 5と3本違い	e306	同上	×	×	○	5/16	5/16 K		
G 5	7	No 4と同じ	e45	同上	×	×	○	5/14 5/16	同系列の食 肉販売店で 購入の肉		散発
G 6	8	No 2と同じ	e308	同上	×	×	○	5/16		5/12 F	
G 7	9	No 2と2本違い	e316	同上	×	×	○	5/17	5/15 K		散発
G 8	10	No 2と同じ	e308	同上	×	×	○	5/17	5/12 J		散発

○:感受性あり ×:耐性あり

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等 新興・再興感染症研究事業)

「食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究」

分担研究報告書

A 焼肉店が原因施設と推定された腸管出血性大腸菌 O157 集団発生事例

研究協力者 大分県衛生環境研究センター微生物担当

緒方喜久代 若松正人 成松浩志

研究要旨

平成 21 年 8 月 6 日から同月 21 日の間、7 名の腸管出血性大腸菌 (EHEC O157:H7、VT1&2) 感染症の発生について、医療機関からの届け出が管轄保健所にあった。

疫学調査の結果、患者らの共通点として同年 7 月 18 日から 8 月 1 日までの間に、T 保健所管内の A 焼肉店における食事や同店で製造したキムチを購入し、摂食していたことが判明した。

これらの疫学情報を元に、入手した患者由来の 6 株及び無症状保菌者由来の 1 株について、IS-printing System による遺伝子解析を試みたところ、いずれも同じ IS パターンを示した。

また、患者宅に保管されていたキムチ (開封済み) から当該菌が検出され、IS パターンも一致したことから、キムチが一連の感染源として強く示唆された集団事例であった。

A. 研究目的

事件探知後、感染源の特定や感染者の拡がりの確認など疫学調査の一助とするため、入手した分離菌株について随時、IS-printing System による遺伝子解析を行い、行政サイドへの迅速な情報還元を試みた。

IS-printing System (東洋紡) を用い、添付プロトコールに準じて実施した。なお、サンプルの調製は、クロモアガー O157 培地に発育した 1mm 程度のコロニーを、推奨法であるアルカリ溶解法で処理して行った。ゲル作製および泳動に使用する buffer は 0.5×TBE を使用した。buffer は泳動の都度、新しいものと交換した。

B. 研究方法

1. 分離菌の同定

入手した菌株は、CT-SMAC 寒天培地、クロモアガー O157 培地で純培養であることを確認し、定法に従い同定を行い、EHEC O157 の特異的生化学的性状を確認した。VT 遺伝子および VT 型の確認は PCR 法で実施した。

2. IS-printing 法

C. 研究結果

1. 疫学調査及び感染源調査

患者の発生状況等を表 1 に示した。平成 21 年 8 月 6 日に T 保健所管内の医療機関から EHEC O157(VT1&2) が下痢症患者便から検出された旨の届出があった。同日、H 保健所においても当該保健所管内の医療機関から EHEC O157(VT1&2) の患者発生

の届け出があった。続いて、同月 10 日 1 人、11 日 1 人、13 日 2 人と T 保健所に管内の医療機関から同様の患者発生の届け出があった。T 保健所の食品監視員らは患者発生の届け出を受け、患者や家族からの聞き取り調査を行い、共通する A 焼肉店を把握するに至った。そこで、患者らの同店の利用が判明する都度、立ち入り調査を行い、他の苦情の有無や調理・提供方法、衛生管理状況のチェックをするとともに、T 保健所の検査課では作業場内の拭き取り検査や従業員の検便、原因と推定される食品の検査を患者の濃厚接触者検便と並行して実施した。

その結果、A 焼肉店の施設作業場内の拭き取り検体および従事者便、A 焼肉店から提供されたキムチ(患者の共通食品)は、いずれも O157 陰性であった。しかし、患者宅の冷蔵庫に保管されていたキムチ(A 焼肉店で 8 月 1 日に購入。開封済み)と濃厚接触者 1 名から EHEC O157(VT1&2)が検出された。当該菌が検出された濃厚接触者は、患者と同様にキムチを食していたが、症状を呈していなかった。

なお、A 焼肉店は、平日に 150 人から 200 人、週末や休日には 400 人から 600 人の利用客があるが、患者が利用したとされる 7 月中旬から 8 月上旬の期間に、同店や T 保健所に対して健康被害の訴えはなかった。

2. IS-printing 法

図 1 に示すとおり、分離菌株の IS パターンはいずれもよく一致しており、同一菌株由来と推察された。

D. 考察

疫学調査と細菌検査の結果から、A 焼肉店

が製造したキムチが感染源であった可能性が強く示唆されたが、行政上、食中毒事件としての処分等の取り扱いはされなかった。喫食から調査開始に至るまで長期間を要したため、調査で得られる物的証拠に限界があることがその理由とされたが、一方で、遺伝子解析法としての IS-printing 法の認知度が低く、迅速な遺伝子解析手法としての役割を十分に果たせなかったことも一因と考えられる。

しかし、本事例の発生後、食品安全・衛生課長から保健所等関係機関の長あてに、感染症担当者と食中毒調査担当者との連携を密にし、再発を防止するため、初動時の喫食状況の遡り調査など迅速かつ的確な対応を求めた「腸管出血性大腸菌感染症等の初動調査について」(平成 21 年 8 月 31 日付け食衛第 1152 号)が発出され、diffuse outbreak の探知に向けた取り組みの強化が図られることとなった。

今後、迅速かつ簡便に結果が得られる疫学解析手段として、IS-printing 法は行政現場での即応に大いに役立つものと思われる。行政対応に十分貢献できるよう、さらなる精度を確保し、事例を重ねる必要がある。

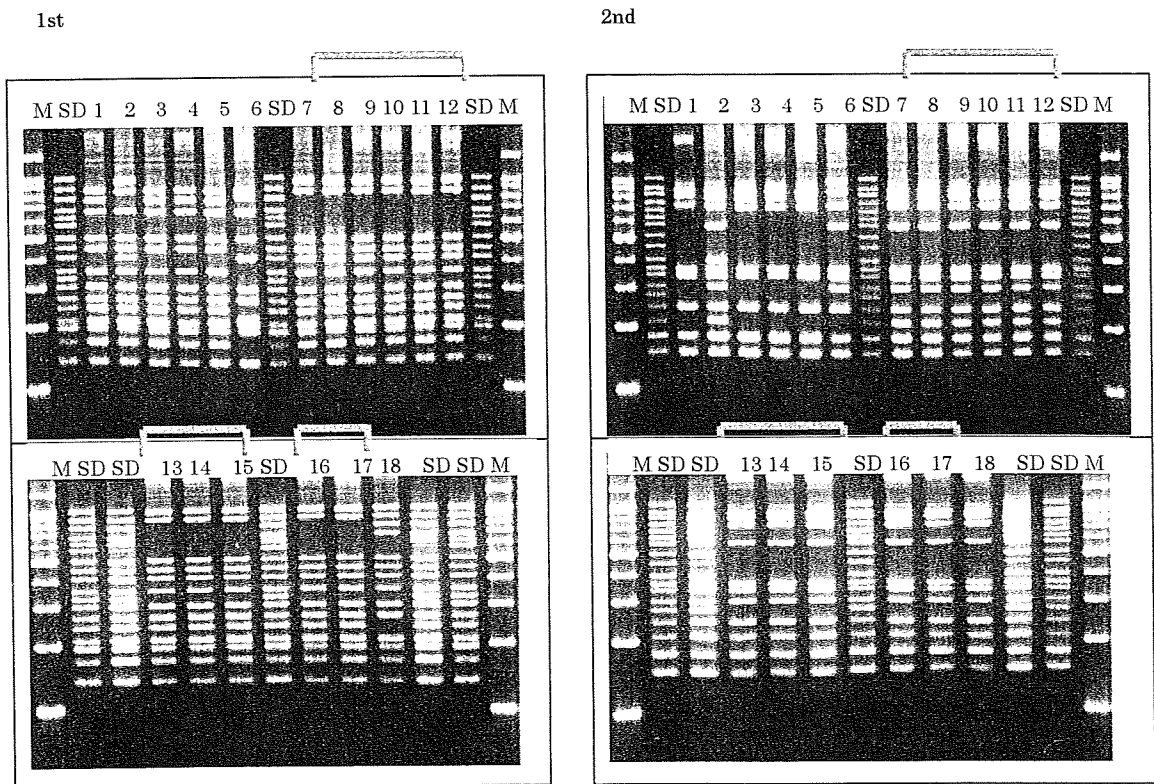
E. 研究発表

なし

表 1

IS レーン	性別	年齢	喫食 日	発症 日	探知 日	メニュー	備考
7	F	78	7/18	8/2	8/6	冷めん、キムチ	T 保健所管内居住 血便、下痢、腹痛、発熱
8	M	7	7/26	7/30	8/7	豚肉、ウインナー、シャーベツト、冷めん、キムチ	H 保健所管内居住 腹痛、血便、嘔吐
9	M	83	7/28	8/6	8/11	ロース焼肉、チシャ、キムチ他	T 保健所管内居住 腹痛、水様性下痢、血便、発熱、嘔吐
10	F	77	8/1	8/10	8/13	キムチ(A 焼肉店で8月1日に購入。)	T 保健所管内居住 腹痛、下痢、血便
11	M	64	7/28	8/5	8/13	冷めん、ロース焼肉、キムチ	T 保健所管内居住 腹痛、水様性下痢、血便
12	M	80	8/1		8/16	キムチ(A 焼肉店で8月1日に購入。)	T 保健所管内居住 無症状 レーン10の夫
17	M	34	7/25	8/6	8/10	肉、ホルモン、キムチ	T 保健所管内居住 腹痛、水様性下痢、血便
13~16	患者宅(レーン10)の冷蔵庫に保管されていたキムチ(A 焼肉店で8月1日に購入。開封済み)						
株なし	M	3	7/30	8/2	8/21	冷めん、キムチ	県外在住 家族(両親、姉)は無症状保菌者 共通喫食者は、祖父(T 保健所管内在住・無症状)・父・姉

図 1



で示したレーンが患者、接触者及びキムチから分離された株

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

平成 21 年度分担研究報告書

2009 年に福岡県で発生した腸管出血性大腸菌感染 O157:H7 食中毒事例における
IS-printing System の活用例

福岡県保健環境研究所

濱崎光宏、江藤良樹、市原祥子、村上光一、竹中重幸、堀川和美

福岡県保健医療介護部保健衛生課

石田一義

福岡県嘉穂・鞍手保健福祉環境事務所

梅崎由佳、甲斐田美菜

要旨

2009 年 9 月 29 日夜、A 市の医療機関から「腹痛、血便等の食中毒様症状を呈した患者 3 名を診察し、うち 1 名から腸管出血性大腸菌 O157（以下 O157）を検出した」旨の届出があった。食中毒、感染症の両面から調査したところ、3 名はそれぞれ別々のグループで平成 21 年 9 月 20 日、22 日及び 23 日に A 市内の B 飲食店を利用していることが判明した。原因菌が同一由来である可能性が考えられたので、患者分離株について IS-printing System およびパルスフィールドゲル電気泳動による遺伝子解析を実施した。本報告書では本事例の概略およびその検査の過程について紹介する。

A. 事件概要

2009 年の福岡県（福岡市、北九州市、久留米市および大牟田市を除く）における腸管出血性大腸菌 O157 の発生は、7 月までは例年に比べ非常に少なかったが、8 月から急激に発生届出が相次ぎ、IS-printing System（以下 IS）解析により、IS パターンによる発生動向調査を行っていた。

9 月 29 日夜、A 市内の医療機関から食中毒疑いのある患者を診察したとの連絡が保健福祉環境事務所（以下保健所）にあった。患者 3 名（患者 5、6、7）はいずれも B 飲食店で摂食履歴があった。翌 30 日関連株が搬入され、生化学性状検査および志賀毒

素（Stx）型別検査を行った後、IS 解析とパルスフィールドゲル電気泳動（以下 PFGE）解析を平行して行った。一方、本事例が探知される 3 日前に、9 月初旬に B 飲食店で焼肉等を摂食した兄弟から分離された菌株（患者 1、2）が搬入され、すでに諸性状検査が完了していたので食中毒事例株と同時に IS 解析および PFGE 解析を実施した。10 月 2 日に前述の 5 株と 9 月 18 日に摂食履歴がある患者由来 1 株（患者 3）、合計 6 株の IS パターンが同一であることが判明したので、関係課へ連絡を行った。現場での疫学調査と IS 結果を踏まえ、PFGE の結果は判明していなかったが、被

害拡大防止のため当該飲食店に営業停止の対応がとられた。

B. 材料と方法

1. O157 の検出

9月30日から10月5日、保健所職員によりO157検査のために搬入された検体は、患者4名の菌株、B飲食店従業員24名の便、同店調理場内の食品7件および拭き取り材料19件の計54件であった。菌株以外の材料については、クロモアガーO157 (CHROMagar)、CT-SMAC寒天培地 (Oxoid) およびDHL寒天培地 (栄研) を用いて直接分離培養を行った。増菌培養検査は、ノボビオシン加mEC培地 (栄研) にて42°C、一夜培養後、免疫磁気ビーズ (Dynabeads anti-E.coli O157 ; invitrogen) によりO157を選択濃縮後、直接培養と同じ分離培地に塗抹した。分離されたコロニーは生化学的性状検査、血清学的検査、逆受け身ラッセックス凝集反応およびPCR法により志賀毒素 (Stx) 型およびStx遺伝子型別を行なった。

一方、医療機関から発生届のあった6名からの分離菌株および患者等の接触者から分離された8名分の菌株は、保健所職員が民間検査機関および保健所検査課から譲り受け当所に搬入された。

2. PFGE

PFGEは、国立感染症研究所 (感染研) の方法をもとに作成した「大腸菌のパルスフィールドゲル電気泳動法による解析九州ブロックマニュアル(2005)」²⁾により実施した。また、PFGE型は、後日感染研にて実施されたPFGEパターンのサブタイプ名を使用した。PFGEパターンの評価は、

Tenoverらの評価基準³⁾に従って評価した。

3. IS-printing System

ISによる解析はIS Ver. 2 (東洋紡) を用い、添付のプロトコールに従って実施した。各菌株の電気泳動により得られた36本の遺伝子増幅産物の出現パターンを2進数(1, 0)で表現した後に10進数に変換し、11桁の挿入配列の組み合わせ、固有の番号とした。解析方法は、Matching法による近似度計算を行い、NJ法にて系統樹解析を実施した。

C. 結果

1. O157 の検出状況

食品および拭き取り材料からO157は検出されなかった。しかし、従業員は24名中10名からStx1およびStx2を産生するO157:H7が検出された。

2. 疫学調査とISおよびPFGE解析

1) 菌検出と疫学調査結果

患者およびO157検出者のB飲食店の利用状況は表1のとおりであった。

2) ISおよびPFGE解析結果

患者8名、患者家族および関係保菌者8名、患者とは関係のない保菌者2名およびB飲食店従業員10名、計28名から分離されたO157分離株についてのISおよびPFGE解析結果を表2に示した。28株のIS解析結果は、いずれも同一パターンを示すISコード番号[66324257743]であった。PFGEの結果は、28株中26株は同一パターンを示し、感染研PFGEサブタイプe537であった。また、患者No.3 (保環研菌株No. 09E063) および患者No.4の家族保菌者 (保環研菌株No. 09E096) のPFGEパターンは、e537とバンド1本違い (感染

研 PFGE サブタイプ e587) であった。以上の結果および疫学調査の結果から O157 が検出された患者および保菌者の感染源は、同一であることが示唆された。

表 1. B 飲食店の利用状況

摂食日	保環研番号	
2009/9/7 月	09E057(患者1) 09E058(患者2)	G 1
9/8 火		
9/9 水		
9/10 木		
9/11 金	09E075(保菌者)	G 2
9/12 土		
9/13 日		
9/14 月		
9/15 火		
9/16 水	09E076(保菌者)	G 3
9/17 木		
9/18 金	09E063(患者3)	G 4
9/19 土	09E096(患者4家族保菌者) 09E097(患者4家族保菌者)	G 5
9/20 日	09E060(患者5) 09E079(患者5家族保菌者) 09E080(患者5家族保菌者)	G 6
9/21 月		
9/22 火	09E061(患者6) 09E083(患者6家族保菌者)	G 7
9/23 水	09E062(患者7) 09E081(患者7家族保菌者) 09E082(患者7家族保菌者) 09E093(患者7知人保菌者)	G 8
9/24 木		
9/25 金	09E099(患者8)	G 9
9/26 土		
9/27 日		
9/28 月		
9/29 火	09E102(患者9)	G 10
9/30 水		

D. 考察およびまとめ

腸管出血性大腸菌食中毒は、原因食品を摂食してから探知までに長時間を要するため、原因食品を特定できない事例が多い。その原因の一つは、細菌検査を病院で実施するところが少なく、ほとんどが民間検査機関で行われているため、患者が原因食品を摂食して、菌株が地方衛生研究所に搬入されるまでに時間がかかっていることにある。今回の事例でも届出医療機関からの搬入の患者 3 名分は、原因食品の摂食から 7 日から 10 日後であったが、事件判明後緊急に

菌株を取り寄せた 1 名以外のその他 4 名分は、19 日から 32 日を要していた (表 2)。今回の事例は、細菌検査室を有する医療機関で複数の患者 (表 2: 患者 No.5、6、7) が受診し、医師が患者にきめ細やかな聞き取りを行ったことが、事件解明に繋がった。また、その後の保健所職員による患者聞き取り調査をはじめとした疫学調査の結果から、同一施設が提供した食品が原因と推察された。さらに、菌株を医療機関から直接譲り受けることができたため、届出の当日から細菌学的検査が着手できた。その結果、菌株の到着から 2 日で結果が得られる IS 解析により、3 名から分離された O157 が同一の IS パターンを示すことが分かった。一方で、これらの菌株より先に、患者発生届出を受け感染研への送付のために搬入されてきた O157 の IS パターンと比較することにより、同食中毒事例との関連性を疑う患者が判明した。これらの結果を保健所等に速やかに還元することは、早期原因究明に繋がるものと考えられた。

IS は PFGE に比べ約半分の時間で結果が得られ、手技に要する労力が非常に少ない。PFGE は菌株の搬入毎に実施することは困難であるが、IS は比較的手軽に検査でき、数値化されたデータは菌株間の比較が容易である。さらに当所で開発した IS 検査結果の解析ソフトは、瞬時に解析結果を 11 桁の IS コード番号に変換でき、O157 による食中毒や感染症事例の長期の監視が可能となった。

食中毒事件解明には、医師の速やかな届出、事件探知後行政が早期に菌株の収集および患者への聞き取り調査をはじめとした疫学調査を行うこと、および菌株の到着次

第速やかに細菌学的検査および PFGE や IS を用いた遺伝子解析を行うことが重要であると考えられる。

謝辞

分離株を分与して頂いた関係者の皆様、また PFGE 型別を実施して頂いた感染研第一部の関係者の皆様に深謝いたします。

E. 文献

1) Ooka T, Terajima J, Kusumoto M, Iguchi A, Kurokawa K, Ogura Y, Asadulghani M, Nakayama K, Murase K, Ohnishi M, Iyoda S, Watanabe H, and Hayashi T.: Development of a

multiplex PCR-based rapid typing method for enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains. *J Clin Microbiol.* 2009 , 47: 2888-94.

2) 厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業 食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究 報告書(主任研究者 寺嶋淳)、2005 (平成 17 年) : 168-185.

3) Tenover, F. C., R. Arbeit, R. Goering, P. Mickelsen, B. Murray, D. Persing, and B. Swaminathan.: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 1995 , 33: 2233-2239.

表 2. 食中毒患者、保菌者の疫学調査および遺伝子型別検査結果

保菌研No.	患者	グループ	年齢	摂食歴	発症日	潜伏時間	届出	探知までの日数 ¹⁾	搬入日 ²⁾	菌株搬入までの日数 ³⁾	IS型 ⁴⁾	PFGE型 ⁵⁾	備考
09E057	患者 No.1	G-1	8	9.7	9.8	1日	9.16	9日	9.26	19日	A	e537	食中毒患者
09E058	患者 No.2		1		9.16	9日	9.20	13日	9.29	22日	A	e537	食中毒患者
09E075	保菌者	G-2	19	9.11	—	—	10.1	—	10.5	—	A	e537	定期検便で判明(Stx2)の弟
09E076	保菌者	G-3	51	9.16	—	—	9.30	—	10.7	—	A	e537	食品取扱従事者 定期検便
09E063	患者 No.3	G-4	17	9.18	9.21	3日	9.28	10日	10.1	13日	A	e587	食中毒患者
菌株無し	患者 No.4	G-5	3	9.19	10.3	14日	10.16	27日	—	—	—	—	食中毒患者
09E096	家族		4	9.19	—	—	10.16	—	10.27	—	A	e587	
09E097	家族		6	9.19	—	—	10.16	—	10.27	—	A	e537	
09E060	患者 No.5	G-6	7	9.20	9.25	5日	9.30	10日	9.30	10日	A	e537	食中毒患者
09E079	家族		9		—	—	10.3	—	10.13	—	A	e537	
09E080	家族		62		—	—	10.4	—	10.13	—	A	e537	
09E061	患者 No.6	G-7	2	9.22	9.28	6日	10.2	10日	9.30	8日	A	e537	食中毒患者
09E083	家族		6		—	—	10.7	—	10.13	—	A	e537	
09E062	患者 No.7	G-8	12	9.23	9.27	4日	10.2	9日	9.30	7日	A	e537	食中毒患者
09E081	家族		37		—	—	10.7	—	10.13	—	A	e537	
09E082	家族		13		—	—	10.7	—	10.13	—	A	e537	
09E093	同行者		32		—	—	10.9	—	10.21	—	A	e537	
09E099	患者 No.8	G-9	33	9.25	9.29	4日	10.5	10日	10.27	32日	A	e537	食中毒患者
09E102	患者 No.9	G-10	46	9.29	10.5	6日	10.12	13日	10.29	30日	A	e537	食中毒患者
09E064	B店従業員	G-11	59	(不明)	—	—	10.4	—	10.4	—	A	e537	食中毒調査 においてO157 が 検出された 飲食店従業員
09E068	B店従業員		20	(不明)	—	—	10.5	—	10.5	—	A	e537	
09E069	B店従業員		46	(不明)	—	—	10.5	—	10.5	—	A	e537	
09E070	B店従業員		21	(不明)	—	—	10.5	—	10.5	—	A	e537	
09E071	B店従業員		19	(不明)	—	—	10.5	—	10.5	—	A	e537	
09E072	B店従業員		20	(不明)	—	—	10.5	—	10.5	—	A	e537	
09E073	B店従業員		35	(不明)	—	—	10.5	—	10.5	—	A	e537	
09E074	B店従業員		38	(不明)	—	—	10.5	—	10.5	—	A	e537	
09E077	B店従業員		19	(不明)	—	—	10.6	—	10.6	—	A	e537	
09E078	B店従業員		22	(不明)	—	—	10.7	—	10.7	—	A	e537	

- 1) ここで示す探知までの日数は、患者が原因食品を摂食してから届出ができるまでの日数を示す。
- 2) 菌株搬入までの日数は、原因食品を摂食して当研究所に搬入されるまでの日数を示す。
- 3) 搬入日の網掛けは、福岡県保健環境研究所で分した株を示す。
- 4) IS-printing System 型Aは、ISコード番号[66324257743]を示す。
- 5) PFGE型は、国立感染症研究所にて実施されたPFGEパターンのサブタイプ名を示す。

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症 研究事業)
分担研究報告書

保育園で発生した腸管出血性大腸菌 O157 集団感染事例

福岡市保健環境研究所
尾崎延芳 財津修一 樋脇弘

要 旨 2009年7月に市内のA保育園においてEHEC O157:H7(VT2)(以下O157)による集団感染事例が発生した。園児、職員及びO157陽性者の家族について検便を行い、14名からO157を検出した。また、これらの菌株のPFGEパターンはほぼ一致した。本事例は、疫学調査および検査結果より、初発園児を含むクラスを中心とした、園児および家族間でのヒト→ヒト感染が強く推察された。

A. 事例の概要

2009年7月7日、市内医療機関より2歳男児からEHEC O157:H7(VT2)(以下、O157)が検出された旨の届出が管轄保健所にあった。患児は市内のA保育園(園児135名、職員36名)に通園していたため、保健所が保育園において調査を行ったところ、同じクラスの2歳男児も7月7日15時より軟便を呈していたことが判明した。保健所は初発園児の家族、全園児、職員およびO157陽性者の家族を対象に検便を実施した(園児、職員は2回の検便を行い、延べ383件。)

B. 検査方法

①直接分離培養

糞便を2.5mg/L 亜テレル酸カリウム添加ソルビトールマッコンキー寒天培地(BD)及びクロモアガーO157培地(CHROMagar)に塗抹後、37°Cで18~20時間培養した。

②磁気ビーズ法

糞便をTryptic Soy Broth(BD)に接種し、37°Cで6時間培養後、免疫磁気ビーズ法

(Dynabeads anti-E.coli O157;invitrogen)によりEHEC O157を選択濃縮後、①の方法で分離培養した。

③スクリーニング検査

糞便を100μg/L マイトマイシンC添加CAYE培地(自家製)に接種し、37°Cで18時間以上浸盪培養後、EIA法(ノバパスベロ毒素EIAキット;BIO-RAD)によりベロ毒素を測定した。

④分離菌の同定

分離されたコロニーに対して生化学的性状検査、血清学的検査およびPCR法(One-shot O157 typing kit;TaKaRa)によるベロ毒素遺伝子の型別を行なった。

⑤パルスフィールド電気泳動

検出されたEHEC O157から代表株として10株を選び、同月に分離した他の事例由来のEHECと共にパルスフィールド電気泳動を実施した。制限酵素はXba Iを用いた。

C. 検査結果

園児10名(2名は医療機関で検出)、職員

1名および菌陽性園児の家族3名の計14名からO157を検出した。また、1名からOUT:H21(VT2)を検出した。

O157陽性園児の年齢分布は1歳が5名、2歳が3名、3歳が2名であった。3歳児2名を除く園児8名は、全て初発園児と同クラスの園児であった。また、O157陽性の職員は同クラスの担任であった。

O157陽性者14名のうち、有症者は3名で、残りは全て無症であった。有症者のうち1名は少量の血便が認められたが、3名とも症状は軟便程度と軽いものであった。

また、分離された菌株の代表株10株についてPFGEを行った(図1)。9株は17本のバンドが全く同じ位置に現れた。1株(9レーン)は、1本のバンドの相違が見られたが、それ以外の17本のバンドパターンは完全に一致した。このパターンは福岡市において同月に発生した他の事例とは大きく異なったパターンであった。

D. 結論

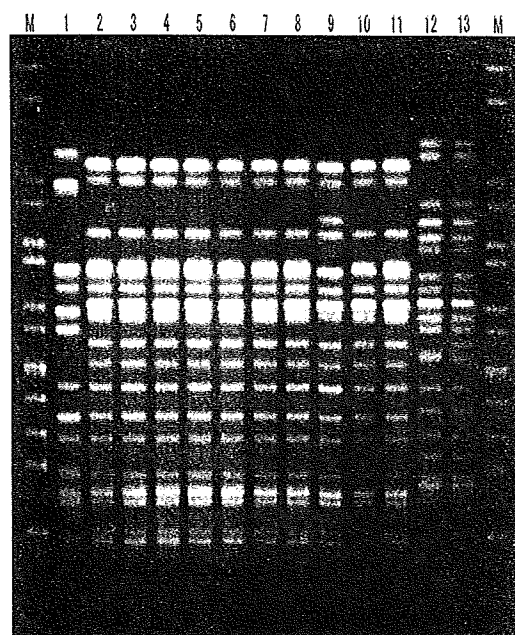
本事例は、疫学調査および検査結果より保育園の給食等、園が提供した飲食物が原因とは考えにくいと思われた。分離された菌株の代表株におけるPFGEパターンからは、同一の感染源に由来するものと考えられ、感染源は不明であったが、初発園児を含むクラスを中心とした、園児および家族間でのヒト→ヒト感染が強く推察された。

保育園における、ヒト→ヒト感染によるEHEC集団感染事例は数多く報告されており、また、患者発生に伴う家族内の二次感染も多く報告されている。今後とも基本的な予防策として、手洗い等の衛生管理および二次感染防止の徹底的指導が必要であると思われた。

なお、1名からのみ検出されたOUT:H21は、EIA法によるスクリーニング検査が陽性であったにもかかわらず、O157が検出されなかった検体から分離されたものであり、このスクリーニング法はO157以外のEHECの検査にも有効であると思われた。

E. 研究発表

なし



M マーカー; *Salmonella* Braenderup H9812

レーン	症例	年齢	性別	分離株(血清型、毒素型)	備考
1	散発(健康保衛者)	30	女	O157:H7 VT2	
2	集団:A保育園(軟便、血便)	2	男	O157:H7 VT2	初発園児
3	集団:A保育園(健康保衛者)	30	女	O157:H7 VT2	レーン2の家族
4	集団:A保育園(軟便)	1	女	O157:H7 VT2	
5	集団:A保育園(健康保衛者)	1	女	O157:H7 VT2	
6	集団:A保育園(健康保衛者)	1	女	O157:H7 VT2	
7	集団:A保育園(健康保衛者)	3	女	O157:H7 VT2	
8	集団:A保育園(健康保衛者)	67	女	O157:H7 VT2	レーン7の家族
9	集団:A保育園(健康保衛者)	3	男	O157:H7 VT2	※
10	集団:A保育園(軟便)	2	男	O157:H7 VT2	
11	集団:A保育園(健康保衛者)	34	女	O157:H7 VT2	園職員
12	家族内発生(腹痛、下痢)	70	女	O111:HNM VT1&2	
13	家族内発生(健康保衛者)	43	女	O111:HNM VT1&2	レーン12の家族

図1 福岡市における2009年7月に分離されたEHECのPFGEパターン

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症 研究事業)
分担研究報告書

2つの保育園で発生した腸管出血性大腸菌 O26 による集団感染事例

佐賀県衛生薬業センター

西 桂子 諸石 早苗 福富 由美子 増本 久人

唐津保健福祉事務所

角 典子 野田 日登美 川内 保典

要 旨 2009年10月～11月にかけて2つの保育施設で腸管出血性大腸菌(EHEC)O26:H11(VT1産生)による集団感染が発生した。総感染者数は133名(園児101名、職員4名、家族28名)で、そのうち有症者は71名、無症状病原体保有者は62名であった。分離した18株をパルスフィールド・ゲル電気泳動法(PFGE、制限酵素 Xba I 使用)により遺伝子解析を実施した結果、2つの保育園での遺伝子パターンはほぼ一致していた。このことから本事例は同一感染源によるものと考えられた。

A. 研究目的

2009年10月医療機関から腹痛・水様性下痢・嘔吐を訴え受診した5歳児保育園児から腸管出血性大腸菌(EHEC)O26(VT1産生)が検出されたと届出があった。管轄保健所では、患者及び家族、患者の通う保育園(以下A保育園)を対象に疫学調査と検便を実施したところ、園児89名と職員4名から本菌が検出されたため検便対象をその家族まで拡大した。対象者の中には他の保育園(以下B保育園)に通っている園児(水溶性下痢を発症)が含まれていたため、検便と疫学調査をB保育園に広げた。その結果B保育園の園児数名からも本菌が検出された。以上のことから2事例の関連性と感染源について原因究明を行った。

B. 研究方法

1. 材料

保健福祉事務所検査室でO26ラテックス凝集法で陽性を示した136検体(便134検体、食品2検体)と食品増菌液37検体について、PCR法を用いてVT遺伝子検出を行った。VT遺伝子を検出した菌株については生化学性状を確認し、パルスフィールド・ゲル電気泳動法(PFGE、制限酵素 Xba I 使用)を実施した。

2. 検出方法

保健福祉事務所検査室にて、便はCT-RMAC培地(基礎培地 Difco)に直接培養を行うと共に、ノボピオシン加 mEC 培地(栄研化学)にて増菌培養後、ヒーズ法で集菌し、CT-RMAC 培地で培養した。食品については、増菌培養(食品の10倍量のノボピオシン加 mEC 及び TSB ブイヨン(日水製薬)で培養)後、ヒーズ法で集菌し、CT-RMAC 培地で培養を行っ

た。疑わしいコロニーについて O26 ラテックス凝集法(E.coli O26F「生研」(デンカ生研))にて陽性を示したのものについて、当センターに搬入後、PCR(Polladら¹⁾)を用いて VT 遺伝子の検出を行った。VT 遺伝子を確認した菌株については、CT-RMAC 培地と Chromocult (MERCK) を用い分離培養を行った後、大腸菌の同定および血清型の確認をした。

3. PFGE による遺伝子解析

「大腸菌のパルスフィールドゲル電気泳動法による解析 九州ブロックマニュアル(2005)」に沿って行った。制限酵素 Xba I (ロシユ)、1%アガロース(Seakem Gold Agarose, CAMBEX)により。電圧 6v/cm、泳動時間 19 時間、バッファ一温度 14°Cで実施した。

C. 研究結果

1. 事例の概要

平成 21 年 10 月 21 日、医療機関から腹痛・水様性下痢・嘔吐を訴え受診した 5 歳児保育園児から腸管出血性大腸菌(EHEC)O26(VT1 産生)が検出されたと届出があった。これを受けて管轄保健所では、患者及び家族に対する疫学調査と検便を実施した。翌日に患者の通う A 保育園で、疫学調査とともに全園児・職員の検便、施設内の拭取り及び検食の検査を実施した。

その結果 80 名の陽性者が判明した。24 日に陽性となった園児と職員の家族を対象に検便を実施し、陽性者は 24 名(16 家族)増えた。この家族陽性者の中には A 保育園とは別の B 保育園に通っていた園児 C が含まれており、24 日の陽性者家族対象の調査時には水様性下痢症状を発症していたが、既に医療機関を受診し検査及び抗菌薬を処方されていたことから保健福祉事務所では改めて検便を実施しなかった。後日(30日)園児 C から本菌が検出されたと報告が

あったことから、園児 C が通う B 保育園についても 11 月 2 日から調査と検便を開始した。

B 保育園においてはまず園児 C と同じクラスの園児と、隣接するクラスの園児及び全職員を対象に検便を実施した。その結果園児 C と同じクラスの園児 5 名から本菌が検出されたことから検便対象を全園児へと拡大したが、他のクラス園児から本菌は検出されなかった。その後、医療機関から新たに園児 2 名(C と同クラス)の本感染症の発生届出が提出され、園児 C のクラス園児のみ再度検便を実施した。初回検便では陰性だった園児 2 名の感染が判明し、最終的な終息を確認するまでには長期間を要した。

2. EHEC の検査結果

保健福祉事務所では便 1093 件(陰性確認を含む)、A 保育園のふき取り 8 件、食品 37 件の計 1138 件の検査を行った。陽性者は、A 保育園関係は 119 名(園児 90 名、職員 4 名、家族 25 名)、B 保育園関係者は 14 名(園児 11、家族 3 名)となった。また食品からは 10 月 15 日の給食の検食混合及び検食原材料(レタス)から本菌を検出した。

A 保育園の園児 10 名(初発届出者)、職員 3 名、家族 1 名、B 保育園の園児 3 名、家族 1 名の 18 検体と食品 2 検体について制限酵素 Xba I によるパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)を実施した結果、16 名と 2 食品からの検出菌株の遺伝子パターンは一致した(図 1)。他 2 名(B 保育園園児、家族)については 1 バンド異なったパターンを示した。

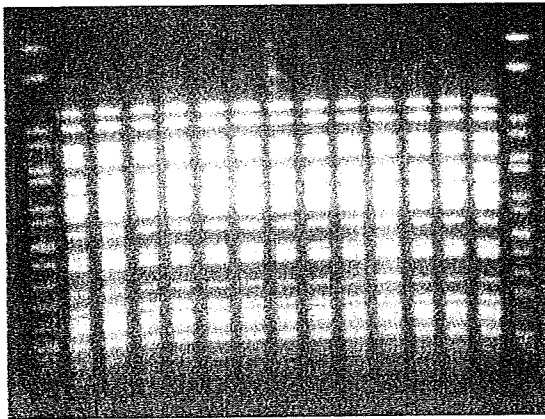


図1 腸管出血性大腸菌 O26 PFGE パターン

3. 疫学調査結果

有症者71名の主症状は水様性下痢、腹痛でHUS等の重症者はいなかった。A保育園での感染者はクラスに偏りはなかったが、有症者61名の発症日は10月17日～23日の1週間に集中していた。一方B保育園での感染者は1歳児の1クラスとその接触者のみであり、有症者10名の発症日は10月19日～11月9日の3週間と長期に亘っていた(図2)。

D. 考察

保育園での腸管出血性大腸菌感染症発生はオムツの交換等を介して感染拡大する事例が数多く報告されているが、A保育園の場合10月15日の給食の検食混合及び検食原材料(レタス)から本菌が検出されたこと、感染の状況等(有症者の発症日は1週間に集中、有症者は全クラスに散在)から食中毒が強く疑われた。また疫学調査の結果、A保育園に通う園児の家族内感染によりB保育園へと拡大していったと考えられた。B保育園については感染者が1歳児クラスに限られていたことから、オムツの交換等を介しての接触感染で感染拡大したと推測された。

E. 結論

2つの保育園にまたがって発生した腸管出血性大腸菌O26の集団感染事例の感染源については、A保育園の給食の検食混合及び検食原材料(レタス)から本菌が検出されたこと、感染の状況等から食中毒が強く疑われた。また、国立感染症研究所情報センターによるとこの時期に九州地区のみだけO26による腸管出血性大腸菌感染症が報告されていたことから、レタスによる広域の食品起因感染症を疑い国立感染症研究所に九州各県から提供されたO26分離株のパルスフィールド・ゲル電気泳動を依頼した。その結果、遺伝子パターンは一致しなかった。疫学調査や検食の調理済み単品(レタス)から同菌が検出されなかったことから食中毒とは断定できず、原因の特定には至らなかった。

腸管出血性大腸菌感染症は保育施設ではオムツの交換等を介しての感染拡大事例が数多く報告されていることから、園児の健康管理及びオムツの取扱には慎重を期す必要がある。A保育園では、保健所が検便を行う3日前から下痢等の症状が現れた園児がいたが、季節の変わり目の園児の体調不良と受け止めており、異常な変化としては捉えていなかった。園児の体調変化を早期に捉えることは感染症の早期発見と感染拡大防止につながるものと考えられ、健康観察の重要性を再確認した。

A保育園からB保育園へ広がる原因にもなったと考えられる家族内感染は、21世帯28名に見られ、家庭内における二次感染予防対策等の普及の啓発の重要性を感じた。

PFGEの遺伝子解析結果からは、A保育園で発生した感染症が家庭内感染を経てB保育園に拡大したと考えられることから、腸管出血性大腸菌が強い感染力を持つことが推測された。

F. 参考文献

- 1) Pollard D.R., et al. Rapid and Specific detection of verotoxin Genes in *Escheriachia coli* by The Polymerase chain reactin. J Clin Microbiol 1990;28:540-545

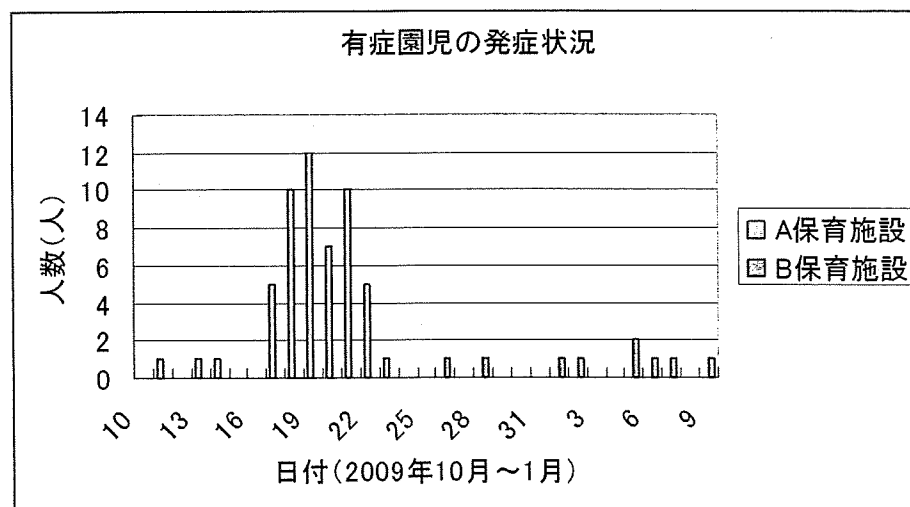


図2 各保育園における有症園児の発症状況

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ新興・再興感染症研究事業）

「食品由来感染症調査における分子疫学的手法に関する研究」

研究分担報告書

ノロウイルスゲノムの分子進化

研究分担者 片山和彦 国立感染症研究所 ウイルス第2部

研究要旨

ノロウイルス (Norovirus; NoV) は、冬季非細菌性胃腸炎や冬季非細菌性集団症中毒の主因ウイルスとして知られている。本研究では NoV の流行のメカニズムを解析するため、近年流行した NoV 株の全塩基配列を決定し、ゲノム全長に渡る塩基配列を蓄積すると共に、得られた情報を分子遺伝学的に解析した。NoV は、非構造蛋白質領域 (ORF1) 構造蛋白質領域 (ORF23) とのジャンクション領域でゲノムの組換えを起こすことが知られている。本研究の結果、NoV におけるゲノムの組換えが高頻度で起きていることが示唆された。NoV のゲノム組換えは毎年繰り返される NoV の流行と関係する可能性がある。

A. 研究目的

ノロウイルス (Norovirus; NoV) は直径約 38nm の小型球形ウイルスで、冬季非細菌性胃腸炎や冬季非細菌性集団症中毒の主因ウイルスとして知られている。NoV のゲノムはプラス 1 本鎖の RNA で、3 つの ORF を持つ。ORF1 には非構造蛋白質、ORF2 と 3 には構造タンパク質がコードされている。NoV は、ORF2 の塩基配列に基づき 5 つの genogroup (GI, GII, GIII, GIV, GV) に分類され、このうち GI, GII, GIV がヒトに感染する。GI, GII にはそれぞれ 15 以上の遺伝的に異なる genotype が存在する。ヒト由来の NoV は細胞培養系や実験動物系が確立されていない。そのため、NoV の抗

原性は、バキュロウイルスに NoV の構造蛋白質領域を組み込み、昆虫細胞発現系で発現して作製したウイルス様中空粒子 (VLPs) を用いて調べられた。その結果、NoV の genotype 間の抗原性は互いに異なっていることが明らかになった。現在、NoV の genotyping は、ノロウイルスの抗原性に関する情報を蓄積し、抗原検出系の作出や、分子疫学に利用するため、構造蛋白質コード領域の N 末端側約 300 塩基の塩基配列を用いて行われている。しかし、NoV は、ゲノムの ORF1 と ORF2 のジャンクション領域にゲノム組換えのホットスポットがあり、非構造蛋白質領域と構造蛋白質領域では異なる genotype となるゲノム組換え