

- area of Japan, Hiroshima Prefecture, during eight epidemic seasons. Arch. Virol., 155, 111-115, 2010.
- Yasutaka Yamashita, Yuka Ootsuka, Reiko Kondo, Mitsuaki Oseto, Mitsunori Doi, Takeshi Miyamoto, Tetsuroo Ueda, Hirokazu Kondo, Tomoyuki Tanaka, Takaji Wakita, Kazuhiko Katayama, Naokazu Takeda, and Tomoichiro Oka. Molecular characterization of Sapovirus detected in a Gastroenteritis outbreak at a Wedding hall. (J Med Virol. In press.)
- Harada S., Okada M., Yahiro S., Nishimura K., Matsuo S., Miyasaka J., Nakashima R., Shimada Y., Ueno T., Ikezawa S., Shinozaki K., Katayama K., Wakita T., Takeda N., Oka T. Surveillance of pathogens in outpatients with gastroenteritis and characterization of sapovirus strains between 2002 and 2007 in Kumamoto Prefecture, Japan. Journal of Medical Virology. 2009 ;81(6):1117-1127.
- Iwakiri A., Ganmyo H., Yamamoto S., Otao K., Mikasa M., Kizoe S., Katayama K., Wakita T., Takeda N., Oka T. Quantitative analysis of fecal sapovirus shedding: identification of nucleotide substitutions in the capsid protein during prolonged excretion. Archives of Virology. 2009; 154(4):689-693.
- 田中 智之. 改良ノロウイルス抗原 検出 EIA キットの評価. 医学と新薬 61(1);93-98, 2009
- 田中智之, 田尻 仁, 奥田真珠美, 後藤泰浩, 豊田 茂, 佐藤雅久, 五十嵐隆夫, 田村 務, 西川 眞. ノロウイルス抗原迅速診断試薬クイックナビ TM ノロの評価. 医学と新薬 61(5);779-785, 2009
- 田中智之, 三好龍也, 内野清子. ノロウイルス迅速診断法. 診断と治療 97(9); 1728-1731, 2009
- 佐藤寛子, 柴田ちひろ, 斎藤博之, 安部真理子, 山脇徳美: ノロウイルス抗原キット”クイック Ex-ノロウイルス”の行政検査における有用性の検討, 医学検査, Vol.58, No.4, 321-325 (2009)
- 本村和嗣, 横山勝, 佐藤裕徳 “ヒトノロウイルス 2006 年株”; 臨床と微生物 2009 年 5 月号 p205-p209 ;近代出版
- 岡 智一郎: ノロウイルス, サポウイルス感染症 「臨床検査」 2009; 53 (6): 665-672.
- 吉田徹也, 粕尾しず子, 畔上由佳, 内山友里恵, 薩摩林一代, 白石崇, 中沢春幸, 園田春美, 藤田暁: 結婚式披露宴会場で発生したノロウイルスによる集団感染性胃腸炎事例. ビルと環境, 125: 33-36, 2009.
- 吉田徹也, 粕尾しず子, 畔上由佳, 内山

友里恵, 笠原ひとみ, 上田ひろみ, 長瀬博, 藤田暁, 山川晋, 園田春美, 中村安満: 加熱調理不足のカキが原因の一つとして疑われたノロウイルス等による食中毒事例—長野県. 病原微生物検出情報, 131: 18-19, 2010.

東方美保, 川畑 光政, 斎藤 博之, 田中 智之, 武田 直和: パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収検討(第1報), 福井県衛生環境研究センター年報, 7, 69-72(2009)

2. 学会発表

野田衛, 阿部勝彦, 吉澄志磨, 植木洋, 庄司美加, 大金映子, 坂野智恵子, 古屋由美子, 足立聡, 滝澤剛則, 中村一哉, 左近(田中)直美, 中田恵子, 入谷展弘, 福田伸治, 松本知美, 岡本玲子, 大塚有加, 山下育孝, 西尾治: コラボスタディによるカキからのウイルス検出法の評価と課題, 第98回日本食品衛生学会, 函館市, 2009年10月

Tomoyuki Tanaka, Daisuke Kato, Kunio Kamata, Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Hisaaki Yoshida, Hitoshi Tajiri, Masumi Okuda, Yoshiko Yamashita, Noritoshi Kitamoto and Naokazu Takeda Improved Norovirus rapid diagnostic kit, immunochromatography(IC) kit -its advantages as a prophylactic tool-The 4th Bangladesh-Japan Joint International Conference on Microbiology, Food safety and Hygiene. 2009.3 Nara, Japan

三好龍也, 内野清子, 李 天成, 武田直和, 北元憲利, 田中智之 野生イノシシのE型肝炎ウイルス保有状況調査 第57回日本ウイルス学会学術集会 2009年10月 東京都

Tomoyuki Tanaka, Hitoshi Tajiri, Masumi Okuda, Yoshiko Nakayama, Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Hisaaki Yoshida, Noritoshi Kitamoto Daisuke Kato, Kunio Kamata and Naokazu Takeda. DEVELOPED NOROVIRUS ANTIGEN DETECTION IMMUNOCHROMATOGRAPHY (IC) KIT WITH ADVANTAGES OF PROPHYLACTIC TRIAGE IN PEDIATRIC WARDS. The 13th Asian Pacific Congress of Pediatrics and 3rd Asian Pacific Congress of Pediatric Nursing. 2009.10. Shanghai, China

小林慎一, 伊藤 雅, 山下照夫, 皆川洋子: 平成20年度の愛知県におけるノロウイルスとサポウイルスの検出状況. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京都, 2009年.

斎藤博之, 東方美保, 白土東子, 田中智之: 食品のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の実用化の検討, 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月, 東京

本村和嗣, 横山勝, 岡智一郎, 中村浩美, 守宏美, Hansman Grant, 片山和彦, 田中智之, 真崎宏則, 星野和彦, 蒔本恭, 秋山美穂, 木村博一, 神田忠仁, 武田直和,

佐藤裕徳, Norovirus Surveillance Group of Japan “ノロウイルスの免疫淘汰と周期的流行の分子機序”, 第 83 回 日本感染症学会総会, 東京(2009. 4)

本村和嗣, 横山勝, 岡智一郎, 中村浩美, 守宏美, 片山和彦, 田中智之, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳, Norovirus Surveillance Group of Japan “2006-2008 秋冬期までに流行したノロウイルス GII/4 株のゲノム解析”, 第 30 回, 衛生微生物技術協議会, シンポジウム “ウイルス性下痢症”, 大阪(2009. 7)

本村和嗣, 横山勝, 大出裕高, 中村浩美, 守宏美, 岡智一郎, 片山和彦, 田中智之, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳, Norovirus Surveillance Group of Japan “下痢症ウイルスの生き残り戦略 ノロウイルス GII/4 の変異”, 第 21 回 下痢症研究会, 特別企画, 東京(2009. 10)

本村和嗣, 横山勝, 大出裕高, 中村浩美, 守宏美, 岡智一郎, 片山和彦, 田中智之, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳, Norovirus Surveillance Group of Japan “ノロウイルス GII/4 ゲノムとキャプシド構造の自然界での進化”, 第 57 回 日本ウイルス学会総会, ワークショップ, 東京(2009. 10)

Ivo N Sah Bandar, 高橋清実, 本村和嗣, 長縄 聡, 北村勝彦, 佐藤裕徳, 佐藤成大 “Near full length sequence analysis of CRF33_01B among Indonesian patients” 第 23 回日本エイズ学会総会,

名古屋(2009. 11)

本村和嗣 “ウイルス感染症の実態”, 平成 21 年度下期協同組合中央接骨師会学術講習会, 講演 東京(2009. 12)

横山 勝, 岡智一郎, 片山和彦, 遠矢幸伸, 神田忠仁, 武田直和, 佐藤裕徳. マウスとヒトのノロウイルスの酵素の構造類似性. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月.

李 天成, 宮村 達男 武田 直和, 脇田 隆字. 培養細胞を用いた E 型肝炎ウイルスの安定性の検討. 日本ウイルス学会, 第 57 回学術集会 2009 年 10 月 東京

李 天成, 片野 晴隆, 片岡 紀代, 中村 智之, 永田 典代, 宮村 達男, 佐多徹 太郎, 脇田 隆字, 鈴木 哲朗. メルケル細胞ポリオーマウイルス (MCV) 様粒子の作製およびその応用. 日本ウイルス学会, 第 57 回学術集会 2009 年 10 月 東京

落合 晋, 石古 博昭, 李天成. イムノクロマト法による抗 Hpatitis E virus 抗体の測定. 日本ウイルス学会, 第 57 回学術集会 2009 年 10 月 東京

山本 博, 松田淳志, 李 天成, 鈴木樹理, 田貴文, 武田直和. サルにおける E 型肝炎ウイルスの感染. 日本ウイルス学会, 第 57 回学術集会 2009 年 10 月 東京

三好 龍也, 内野清子, 李天成 武田直

和 北本憲利, 田中智之。野生イノシシの E 型肝炎ウイルス保有状況調査。日本ウイルス学会, 第 57 回学術集会 2009 年 10 月 東京

岡智一郎, 高木弘隆, 遠矢幸伸, 武田直和, 脇田隆字, 片山和彦 バイオセンサー発現細胞を用いたネコカリシウイルス感染検出系の構築 第 32 回日本分子生物学学会年会, 横浜, 2009 年 12 月 9~12 日.

中西章, Benoit Chapellier, 片山和彦, 岡智一郎, 武田直和 ノロウイルスを利用した経口ワクチン用ベクター作成の試み 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月 25~27 日.

片山和彦, 岡智一郎, 脇田隆字 ノロウイルスリバーシジェネティクスシステムのノロウイルスプロテアーゼを利用した制御 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月 25~27 日.

岡智一郎, 高木弘隆, 遠矢幸伸, 武田直和, 脇田隆字, 片山和彦 カリシウイルス増殖阻害物質スクリーニング系の構築 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月 25~27 日.

北島正章, 岡智一郎, 遠矢幸伸, 高木弘隆, 片山浩之, 武田直和, 片山和彦 Nested RT-PCR および Real-time RT-PCR によるマウスノロウイルス核酸検出系の構築 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月 25~27 日.

北島正章, 岡智一郎, 原本英司, 片山浩之, 大垣眞一郎, 武田直和, 片山和彦 多摩川河川水からのサポウイルスの検出および遺伝子解析 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月 25~27 日.

片山和彦, 岡智一郎, 高木弘隆, 遠矢幸伸, 脇田隆字 マウスノロウイルスの複製機構の解析 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月 25~27 日.

高木弘隆, 遠矢幸伸, 片山和彦, 岡智一郎, 杉山和良 マウスノロウイルス (MNV) のエタノール感受性と粒子, 遺伝子への影響についての検討 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月 25~27 日.

岡智一郎: カリシウイルスの新知見ウイルス性下痢症研究会第 21 回学術集会, 東京, 2009 年 10 月 24 日.

Kitajima M., Oka T., Katayama K., Takeda N., Haramoto E., Katayama H., Ohgaki S. Seasonal distribution and genetic diversity of noroviruses, sapoviruses, and Aichi viruses in river water in Japan. 15th International Symposium on Health-Related Water Microbiology. Greece, May 31-Jun 05, 2009.

Kitajima M., Oka T., Katayama K., Takeda N., Haramoto E., Katayama H.,

Ohgaki S. Genetic diversity of noroviruses and sapoviruses in river water in Japan. 109th General Meeting of American Society for Microbiology. USA, May 17-21, 2009.

熊谷安希子, 久保田智巳, 伊藤浩美, 成松久, 脇田隆宇, 石井孝司, 染谷雄一, 白土東子「X線結晶構造解析によるノロウイルスと血液型抗原の結合解析」第29回日本糖質学会年会, 2009年9月, 岐阜

染谷雄一, 白土東子, 武田直和, 脇田隆宇「ノロウイルス様中空粒子の大きさに影響を及ぼすアミノ酸残基置換」第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月, 東京

熊谷安希子, 久保田智巳, 伊藤浩美, 成松久, 石井孝司, 染谷雄一, 脇田隆宇, 白土東子「X線結晶構造解析によるノロウイルスと血液型抗原の結合解析」第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月, 東京

吉田綾子, 筒井理華, 石川和子, 河内暁一, 三上稔之: 2008/09 シーズンに散発及び集団事例から検出されたサポウイルスの遺伝子解析及び過去の検出株との比較. 第57回日本ウイルス学会学術集会 東京都, 2009年10月

高橋知子, 高橋雅輝, 高橋朱実, 齋藤幸一, 蛇口哲夫. 水系におけるNVの挙動とリスク低減に関する研究. 第63回日本細菌学会. 東北支部総会, 盛岡市, 2009年

8月

高橋知子, 高橋朱実, 高橋雅輝, 蛇口哲夫. 下水処理におけるノロウイルスの挙動について. 第44回日本水環境学会. 福岡市, 2010年3月

Ueki Y., Shoji M., Okimura Y., Masago Y., Miura T., Omura T., Oka T., Katayama K., Takeda N., Noda M., Miyota Y. Prevalence and genotypes of Sapovirus in wastewater, oysters and gastroenteritis patients in Japan. 15th International Symposium on Health-Related Water Microbiology. Greece, May 31-Jun 05, 2009.

田村務, 西川眞, 三好龍也, 田中智之, 武田直和, 鈴木宏: GII.4 ノロウイルスの新変異株[Apeldoorn 317/2007/NL]に近縁なノロウイルスの検出動向. 第57回日本ウイルス学会学術集会 2009年11月 東京都

森 功次, 秋場哲哉, 林 志直, 白澤 浩, 永野美由紀, 田中達也, 保坂三継, 甲斐明美: 急性胃腸炎事例における real-time PCR 法を用いたウイルスの迅速検索について, 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009年10月25日~27日

藤井まや, 小船順子, 大和真一, 望月利彦, 吉田徹也, 嘔吐物中のノロウイルスの定量および感染源としての嘔吐物の重要性, 平成20年度日本獣医師会学会年次大会, 盛岡市, 2009年

吉田徹也, 粕尾しず子, 畔上由佳, 内山友里恵, 笠原ひとみ, 上田ひろみ, 長瀬博, 藤田暁: 長野県におけるアストロウイルス血清型 8 型の検出. 日本ウイルス学会第 57 回学術集会, 2009. 10, 東京都.

中村一哉, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 小原真弓, 長谷川澄代, 倉田毅, 滝澤剛則: サポウイルスの遺伝的多様性獲得への豚の関与. 第 57 回日本ウイルス学会, 東京都, 2009 年.

中村一哉: 豚カリシウイルスの分子疫学: 豚サポウイルスで観察される高度な遺伝的多様性. 第 21 回ウイルス性下痢症研究会, 東京都, 2009 年.

東方美保, 斎藤博之, 白土東子, 田中智之, 野田 衛「食品検体のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の開発」衛生微生物技術協議会・第 30 回研究会, 2009 年 7 月, 大阪

東方美保, 斎藤博之, 白土東子, 田中智之, 野田衛: パンソルビン・トラップ法により汚染食品から濃縮回収したノロウイルスの遺伝子検出条件の検討, 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京都, 2009 年 10 月,

中田恵子, 左近(田中)直美, 入谷展弘, 三好龍也, 改田 厚, 久保英幸, 阿部仁一郎, 後藤 薫, 長谷 篤, 内野清子, 高橋幸三, 田中智之, 山崎謙治, 加瀬哲男, 高橋和郎, 織田 肇 大阪府・大阪

市・堺市の連携による大阪府内におけるノロウイルスの流行解析 第 57 回日本ウイルス学会学術集会 2009 年 10 月 東京都

中田恵子, 左近(田中)直美, 山崎謙治, 加瀬哲男, 高橋和郎, 織田肇, 入谷展弘, 改田厚, 久保英幸, 阿部仁一郎, 後藤薫, 長谷篤, 三好龍也, 内野清子, 高橋幸三, 田中智之: ノロウイルスをモデルとした大阪府全域での健康危機管理のための情報システムの構築, 平成 21 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, 2009 年 9 月

中田恵子, 左近(田中)直美, 入谷展弘, 三好龍也, 改田厚, 久保英幸, 阿部仁一郎, 後藤薫, 長谷篤, 内野清子, 高橋幸三, 田中智之, 山崎謙治, 加瀬哲男, 高橋和郎, 織田肇: 大阪府・大阪市・堺市の連携による大阪府内におけるノロウイルスの流行解析, 第 25 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, 京都市, 2009 年 12 月

福田伸治, 重本直樹, 谷澤由枝, 高尾信一: 8 流行シーズンにノロウイルス集団感染事例から検出した遺伝子型 GII. 4. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会 2009 年 10 月 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: ノロウイルス対外診断 ELISA キット
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

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

平成 21 年度 研究分担報告書

田中 智之
小林 慎一
斎藤 博之
恒光 裕
本村 和嗣
横山 勝
李 天成
岡 智一郎
白土 東子

平成 22 (2010) 年 3 月

平成 21 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」
研究分担報告書

2009 年ノロウイルス感染状況とノロウイルス診断 IC キット非反応株の対策

研究分担者: 田中 智之 (堺市衛生研究所)
研究協力者: 田村 務 (新潟県保健環境科学研究所)
北元 憲利 (兵庫県立大学 環境人間学部)
本村和嗣、佐藤裕徳
(感染研病原体ゲノム解析センター)
三好 龍也、内野 清子、吉田 永祥、松尾 光子、
高橋 幸三 (堺市衛生研究所)

研究要旨:

ノロウイルス流行事例の少ない中、複数の遺伝子型が検出された食中毒事例があった。中規模の高齢者収容施設での感染事例では患者、調理従業員合計 14 検体中 5 検体からノロウイルス遺伝子が検出され、1 名の患者からは GII/3, GI/4、調理従業員からは GI/4、GII/4 同時検出が 2 名であった。ホテル内感染事例では料理長から GII/4 が検出されたが、患者 9 名中 5 名から GII/4、2 名から GII/2 が検出された。塩基配列の解析でも両者間の株に有意な相同性は見られなかった。広域感染事例では GI/4, GII/2 の同時検出例が 1 名、GII/4 が 2 名、GII/2 の混合感染事例、さらに GII/4, GII/2, GII/12 混合感染事例があった。同時感染、または混合感染事例における感染経路は不明であった。

ノロウイルスの変異につれて IC 法の精度の低下が認められた。VLPs, MAbs 作製とともに IC 法の改良向上には絶えまない改良が求められる。そのためには全国地衛研、感染研と協働して変異株の情報収集が必要がある。

A. 研究目的

今シーズンのノロウイルス感染症は例年になく低い流行である。新型インフルエンザパンデミックの感染予防対策としての手洗いなどの影響が報告されているが、科学的な証明には至っていない。

そのような状況の中でノロウイルス感染事

例として複数の遺伝子型の関与した感染事例があった。その感染様式は不明だが 5 事例について紹介する。

また、ノロウイルス感染予防対策の中で施設内、院内等で発端者の早期発見は感染拡大防止に、現時点で最も有効な方法と考えられる。その一手段として、早期の迅速診

断系として開発されたイムノクロマトグラフィ- (IC)法はウイルスの変異などに反応しない株があり、高感度な検出率を維持するためこの取り組みについて報告する。

B. 研究方法

1. 複数のノロウイルス遺伝子検出事例

食中毒事例として5事例から搬入された検体について原因ウイルスの検出を試みた。遺伝子検出および塩基配列の解析は地衛研・国立感染研共編の「ウイルス性下痢症診断マニュアル」に従った。

事例1. 高齢者マンションで有症者8名の届け出があった。患者2名、同所への調理・配食業者従業員12名の便検体が収去されノロウイルス、ロタウイルス、病原細菌検査を行った。

事例2. 某ホテルで調理された料理を原因とする集団食中毒事例であった。法事の後に懐石を喫食し親族17名中14名が発症したが、内1名は喫食していない。料理長および9名から便検体が収去され原因ウイルス、原因細菌の検査を行った。

事例3～事例4. これらの事例は他府県からの広域感染症事例で、本市在住の関連患者について原因病原微生物の検査を行った。

事例5. 同様に広域感染症である。「鳥の刺身」の喫食によると考えられる食中毒事例で、原因微生物の検索を行った。

2. IC法の精度向上の試み

現行のIC法に反応しない糞便検体について、その検出感度等の精度向上を試みた。糞便検体は新潟県保健環境科学研究所田村先生から分与を受けた。この検体の詳細な情報は本報告書で田村が報告している。

Baculovirus発現系を構築VLPsの作製を試みた。このVLPsを用いて、定法に従ってモノクローナル抗体の作製を試みた。

複数のノロウイルス遺伝子が検出された。

(倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

C. 研究結果

1. 複数のノロウイルス遺伝子検出事例 (表1)

事例1: 患者2名中1名、調理従業員12名中4名、合計14検体中5検体からノロウイルス遺伝子が検出された。1名の患者からはGII/3, GI/4が同時に検出された。調理従業員からはGI/4, GII/4同時検出が2名、GI/4検出が2名であった。患者から検出されたGII/3は従業員からは検出されなかった。

事例2. 料理長からGII/4が検出された。患者9名中5名からGII/4、2名からGII/2が検出された。2名は陰性であった。8検体における塩基配列の解析では、料理長と喫食者との間の有意な相同性は見られなかった(図1)。疫学調査でも料理長が感染源である結論には至っていない。しかし、興味あることに、これらの塩基解析では明確にT, A, C, Gと読めない部分が多くあり、多分GII/2とGII/4が入り混じって感染したものと推測された。つまり、混合感染というよりは感染感受性細胞に重または同時感染したことが示唆される結果であった。

事例3. 1名からGI/4, GII/2が同時に検出された。他の1名からはGII/2が検出された。

事例 4. GII/4 が 2 名, GII/2 が 1 名から検出された。

事例 5. 3 名からそれぞれ GII/4, GII/2, GII/12 が検出された。この事例ではカンピロバクターが検出されており、原因食と考えられる「鳥の刺身」の喫食から考えると食中毒原因細菌と考えられる。ノロウイルスは偶然検出されたものか、あるいは混合感染であったのかは特定できていない。

2. IC 法の精度向上の試み

現行のイムノクロマト法と RT-PCR 法との比較では、一致率 89.3 %、感度 81.6 %、特異性 89.3 %である(表 2)。この成績はノロウイルス感染症や食中毒の初期対応には耐えられる成績である。しかし、変異株には反応しきれない検体も存在している。本研究協力者の田村(新潟県保健環境科学研究所)が検体情報を詳細に報告しているが、遺伝子系統樹では 2008a 株にあたる(図 2)。この株を用いて Baculovirus で発現した VLPs(図 3)を用いてモノクローナル抗体の作製を試みた。現在 5 クローンが穫れ、腹水による抗体を大量に作製中である。

D. 考察

今年度はノロウイルスによる食中毒、感染症事例の報告は少なかった。新型インフルエンザウイルス予防のための手洗いの励行等が功を奏しているとの報告もあるが、科学的な裏付けはない。その中で複数のノロウイルス遺伝子が関与した食中毒事例があった。それぞれの事例には 2~3 個のノロウイルス遺伝子型が検出されている。これらの事例では明確な

感染源が特定できておらず、したがって各々の遺伝子型をもつウイルスがどのような役割を果たして、一個体の中で存在(増殖)しているのか興味ある点である。今後の課題は事例の集積と共に、感染源(と思われる)から確実に検体の収集を計ること、遺伝子学的に解析が行われることが重要である。そして総合的な解釈が必要となる。

これまでノロウイルス感染予防の一手段として調理に関与する人からウイルス抗原検出系の開発を試みてきた。厚生労働省通達、「大量調理施設衛生管理マニュアル」においても、調理人のノロウイルス検査は重要である。しかし、測定手段を RT-PCR 法に定めるのは、高感度であるがゆえに長期に亘る微量のウイルス遺伝子が検出され、かえって調理従事者に不安を与えるなど、また、多量の検体測定的时间・経費など、現場に混乱が生じることが推測される。この通達の趣旨は、用便後など調理の前に十分な手洗い等を行うため、且つノロウイルスキャリアーであるとの自覚を与えるための一手段と解釈できる。IC 法は、 $10^5 \sim 10^6$ コピー/g 糞便の検出感度であるが、この状態では多くの場合臨床症状は顕著ではない。この時期、調理従事者が用便後、手洗い等の消毒を十分に行えば、食材への汚染頻度は極めて少ないと考えられる。いたずらに不安を与えることなく、事前の予防対策を講じるには IC 法の利用で十分対応が可能である。

しかし、IC 法には遺伝子変異に伴う抗原が検出されない株も存在し、今回の 2008a 株はその好例である。このような株の出現には、VLPs の作製→特異抗体の作製→IC

法の改良、の過程が必要になる。このイタチごっこは今後も IC 法の感度、特異性を高めるためには通過しなければならない一過程と考える。

E. 結論

今年度のノロウイルス流行事例は減少していた。しかし、少ないのなかにも複数の遺伝子型が検出された貴重な食中毒事例があった。各々の遺伝子の関与、役割分担等は解明できていない。

適切なノロウイルス感染対策は、食材からノロウイルス検出と同等に、早期の正確・迅速な診断が重要である。

IC 法の精度向上は、ノロウイルスの変異と追隨して絶えまない改良が必要である。そのためには今後も、全国地衛研、感染研と協働して変異株の情報を得ながら、VLPs, MAbs 作製、IC 法の改良に努める必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 誌上发表

(1) Yasutaka Yamashita, Yuka

Ootsuka, Reiko Kondo, Mitsuaki

Oseto, Mitsunori Doi, Takeshi

Miyamoto, Tetsuroo Ueda,

Hirokazu Kondo, Tomoyuki Tanaka,

Takaji Wakita, Kazuhiko

Katayama, Naokazu Takeda and

Yomoichiro Oka. Molecular

characterization of Sapovirus

detected in a gastroenteritis as a

wedding hall. (J.Med.Virol. in press)

(2) 田中 智之. 改良ノロウイルス抗原検出 EIA キットの評価.

医学と新薬 61(1):93-98, 2009

(3) 田中智之、田尻 仁、奥田真珠美、後藤泰浩、豊田 茂、佐藤雅久、五十嵐隆夫、田村 務、西川 眞. ノロウイルス抗原迅速診断試薬クイックナビ™-ノロの評価.

医学と新薬 61(5):779-785, 2009

(4) 田中智之、三好龍也、内野清子. ノロウイルス迅速診断法.

診断と治療 97(9); 1728-1731, 2009

2) 学会発表

(1) Tomoyuki Tanaka, Daisuke Kato, Kunio Kamata, Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Hisaaki Yoshida, Hitoshi Tajiri, Masumi Okuda, Yoshiko Yamashita, Noritoshi Kitamoto and Naokazu Takeda.

Improved Norovirus rapid diagnostic kit, immunochromatography(IC) kit

-its advantages as a prophylactic tool-

The 4th Bangladesh-Japan Joint International Conference on Microbiology, Food safety and Hygiene.

2009.3 Nara, Japan

(2) 本村和嗣、横山 勝、大出裕高、中村浩美、守 宏美、岡智一郎、片山和彦、神田忠仁、田中智之、武田直和、佐藤裕徳

ノロウイルス GII/4 ゲノムとキャプシド構造の自然界での進化

第 57 回日本ウイルス学会学術集会
2009 年 10 月 東京都

(3) 中田恵子、左近(田中)直美、入谷展弘、三好龍也、改田 厚、久保英幸、阿部仁一郎、後藤 薫、長谷 篤、内野清子、高橋幸三、田中智之、山崎謙治、加瀬哲男、高橋和郎、織田 肇

大阪府・大阪市・堺市の連携による大阪府内におけるノロウイルスの流行解析

第 57 回日本ウイルス学会学術集会
2009 年 10 月 東京都

(4) 三好龍也、内野清子、李 天成、武田直和、北元憲利、田中智之

野生イノシシの E 型肝炎ウイルス保有状況調査

第 57 回日本ウイルス学会学術集会
2009 年 10 月 東京都

(5) 東方美保、齋藤博之、白土東子、田中智之、野田 衛

パンソルビン・トラップ法により汚染食品から回収したノロウイルス遺伝子検出条件

第 57 回日本ウイルス学会学術集会
2009 年 10 月 東京都

(6) 齋藤博之、東方美保、白土東子、田中智之、野田 衛

食品のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の実用化の検討

第 57 回日本ウイルス学会学術集会
2009 年 10 月 東京都

(7) 田村 務、西川 眞、武田直和、田中智之、鈴木 宏

新潟県における GII.4 ノロウイルス新変異株[Apeldoorn317/2007/NL]に近縁なノロウイルスの検出動向

第 57 回日本ウイルス学会学術集会
2009 年 10 月 東京都

(8) Tomoyuki Tanaka, Hitoshi Tajiri, Masumi

Okuda, Yoshiko Nakayama, Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Hisaaki Yoshida, Noritoshi Kitamoto Daisuke Kato, Kunio Kamata and Naokazu Takeda.

DEVELOPED NOROVIRUS ANTIGEN DETECTION

IMMUNOCHROMATOGRAPHY(IC) KIT WITH ADVANTAGES OF PROPHYLACTIC TRIAGE IN PEDIATRIC WARDS. The 13th Asian Pacific Congress of Pediatrics and 3rd Asian Pacific Congress of Pediatric Nursing. 2009.10. Shanghai, China

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

ノロウイルス対外診断 ELISA キット

2. 実用新案登録

なし

表 1 複数のノロウイルス遺伝子型が検出された事例

事例 1.	検体番号	G. I	G. II	
	v 533	—	—	高齢者マンション
	v 534	GI/4	GII/3	高齢者マンション
	v 535	—	—	某 調整食従業員
	v 536	—	—	同 従業員
	v 537	—	—	同 従業員
	v 538	GI/4	GII/4	同 従業員
	v 539	GI/4	GII/4	同 従業員
	v 540	—	—	同 従業員
	v 541	—	—	同 従業員
	v 542	GI/4	—	同 従業員
	v 543	—	—	同 従業員
	v 544	—	—	同 従業員
	v 545	GI/4	—	同 従業員
	v 546	—	—	同 従業員

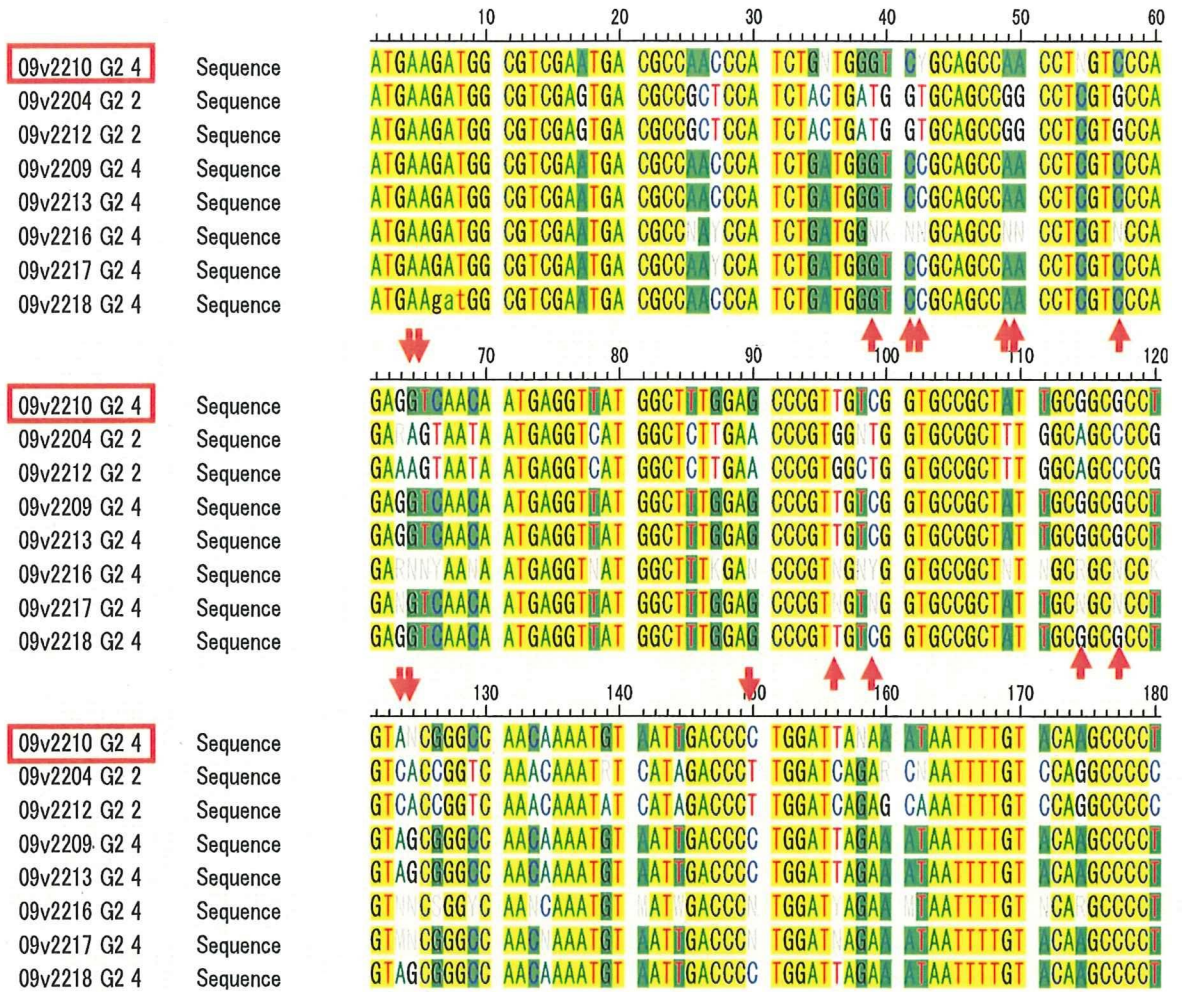
事例 2.	検体番号	G. I	G. II	
	v 2210	—	GII/4	S ホテル従業員、 料理長
	v 2204	—	GII/2	客
	v 2209	—	GII/4	客
	v 2212	—	GII/2	客
	v 2213	—	GII/4	客
	v 2216	—	GII/4	客
	v 2217	—	GII/4	客
	v 2218	—	GII/4	客
	v 2211	—	—	客
	v 2214	—	—	客

事例 3	検体番号	G. I	G. II	
.	v 2073	GI/4	GII/2	広域感染事例
	v 2078	—	GII/2	

事例 4	検体番号	G. I	G. II	
.	v 2261	—	GII/4	広域感染事例
	v 2263	—	GII/4	
	v 2268	—	GII/2	

事例 5	検体番号	G. I	G. II	
.	v 2303	—	GII/4	カンピロ食中毒 より検出
	v 2304	—	GII/2	
	v 2307	—	GII/12	

図 1. 事例 2 の GII/2, GII/4 遺伝子の塩基配列解析



調理従業員

塩基解析では明確に T, A, C, G と読めない部分が多数存在する(N で表示されている)。多分 GII/2 と GII/4 が入り混じって感染(感染感受性細胞に重感染)したものと推測された。

表2 現在のIC法の感度、特異性、RT-PCR法との一致率

		RT-PCR		
		+	-	合計
クイックナビ TM-ノロ	+	80	3	83
	-	18	95	113
	合計	98	98	196

感 度 : 81.6%、 特異性 : 96.9%、 一致率 : 89.3%

図 2. ノロウイルス 2008a 遺伝子系統樹
 (新潟県保健環境科学研究所 田村 務 先生)

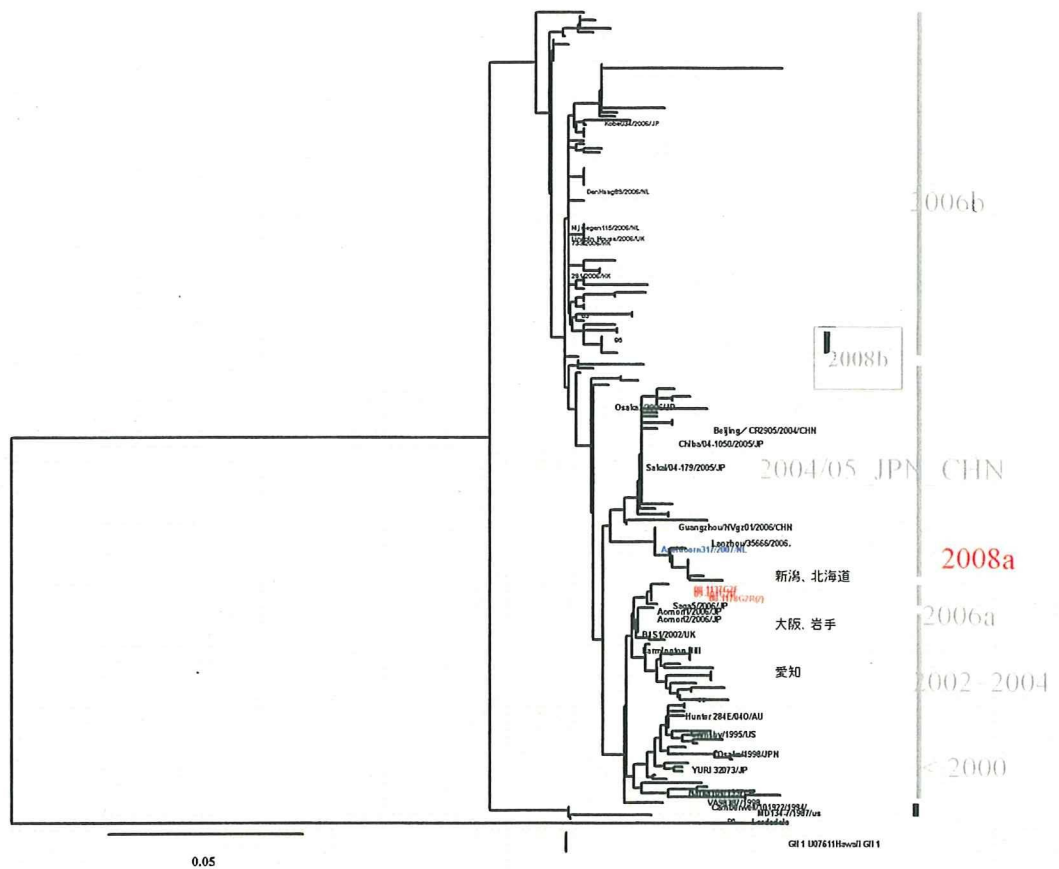
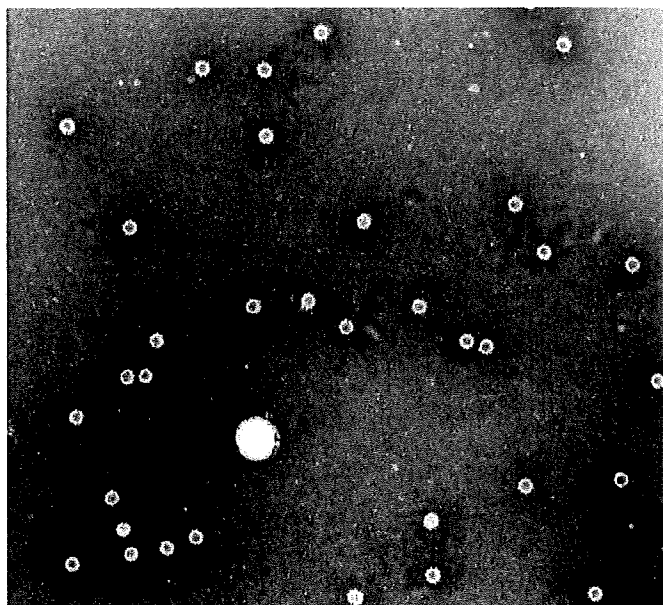


図 3. 2008a VLPs の電子顕微写真



08-1178 (新潟株)から作製された VLPs

平成 21 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」
研究分担報告書

平成 20 年度の愛知県におけるノロウイルスとサポウイルスの検出状況および
ノロウイルスの血清疫学調査

研究分担者	小林慎一	愛知県衛生研究所
研究協力者	山下照夫	愛知県衛生研究所
	皆川洋子	愛知県衛生研究所

研究要旨

平成 20 年度の愛知県におけるノロウイルス(NoV)とサポウイルス(SaV)の流行状況を把握するために、感染性胃腸炎の散発事例および非細菌性胃腸炎の集団発生事例からの NoV と SaV の検出を試みた。その結果、NoV については GI. 7、GII. 3、GII. 4、GII. 16、GII. 12、GII. 13 が検出されたが、GII. 4 の検出頻度は昨シーズンと比べて大きく減少した。また、SaV については、GI のみが検出され、昨シーズン高頻度に検出された GIV は検出されなかった。さらに、愛知県民の NoV に対する抗体保有状況を把握する目的で、GI の 2 株と GII の 5 株、計 7 株のウイルス様粒子(VLPs)を抗原とした酵素抗体法(ELISA)で愛知県民の NoV 抗体保有率を調査した。その結果、県民全体では GII. 4(Narital04)に対する保有率が最も高かった。抗体保有率と流行株との関連性を継続調査することにより、今後の流行株の予測、また感染症や食中毒の防疫対策のための基礎資料となることが期待された。

A. 研究目的

カリシウイルス科に属するノロウイルス(NoV)とサポウイルス(SaV)は、感染性胃腸炎の主要な病原ウイルスである。特に、18 年度の冬季には、NoV に起因する食中毒事件や病院、学校、高齢者施設等でのヒト-ヒト感染による NoV 集団感染事例が全国的に多発し、大きな社会問題となった。また、近年は、SaV による食中毒事件や集団感染事例も報告され、ウイルス性胃腸炎の病因物資の一つとして注

目されている。そこで、平成 20 年度の愛知県における NoV と SaV の流行状況を把握するために、感染性胃腸炎の散発事例および非細菌性胃腸炎の集団発生事例からの NoV と SaV の検出を試みた。また、愛知県民の NoV に対する抗体保有状況を把握する目的で、遺伝子グループ I(GI)の Seto 株(遺伝子型: G1)と Chiba 株(G4)及び GII の Sinsiro 株(G3)、Narital04 株(G4)、Hokushin 株(G10)、Chitta 株(G12)と Kamo 株(G15)、計 7 株のウイルス様粒子(VLPs)

を抗原とした酵素抗体法(ELISA)を用いて NoV に対する抗体保有率を調査した。

B. 研究方法

1. 材料

①散発事例の検体として、平成 20 年度に感染症発生動向調査協力医療機関で採取された感染性胃腸炎患者糞便 362 検体と嘔吐物 45 検体を使用した。

②集団発生事例の検体として、当所に搬入された胃腸炎集団発生 6 事例の患者 119 名の糞便検体を使用した。

③平成 18 年の 7 月～9 月に採血された愛知県民 200 名(1～62 歳)の血清で、NoV 抗体測定について本人(本人が未成年者の場合は親)の同意が得られた血清を使用した。

2. NoV と SaV の RT-PCR 法

臨床検体から RNA 抽出キット(Roche 社製)で RNA を抽出後、RT-PCR 法で NoV と SaV の検出検査を実施した。

NoV の検出には、構造タンパク領域の一部を増幅するプライマーを用いて RT-PCR を行なった。GI と GII の検出用プライマーとして、それぞれ、GIFa (5' -CGYTGGATGCGBTTCATGA-3')/GIRv (5' -CCMACCCADCCATTRTACATYTG-3')と GIIFb (5' -TGGGAGGGC GATCGCAATCT-3') /GIIRv (5' -GCATAMCCRTTRTACATTCT-3')を使用した。

SaV の検出は、Okada らの報告 (Arch. Virol. 151:2503-9. 2006)に従い、F13/14 と R13/14(1stPCR 用)及び F22/R2 (2ndPCR 用)のプライマーを用いた Nested RT-PCR を実施した。

ウイルス陽性バンドを認めた PCR 産物

を pGEM-T Vector を用いてクローニング後、LI-COR 社製オートシーケンサーで塩基配列を決定した。

3. NoV 抗体測定法

遺伝子グループ I(GI)の Seto 株(遺伝子:G1)と Chiba 株(G4)及び GII の Sinsiro 株(G3)、Narita104 株(G4)、Hokushin 株(G10)、Chitta 株(G12)と Kamo 株(G15)、計 7 株のウイルス様粒子(VLPs)を抗原として ELISA プレートに固相化後、サンドイッチ型 ELISA 法で抗 NoV 抗体を測定し、吸光度 0.15 以上を示した披検血清を陽性と判定した。

(倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。また、血清の採取は本人(本人が未成年者の場合は親)の同意が得られた血清を用いた。

C. 研究結果

1. 感染性胃腸炎患者からの NoV と SaV の検出状況

①RT-PCR による検査成績

愛知県では、平成 20 年の第 51 週で定点当たりの報告数が 20 を越え、感染性胃腸炎は例年並みの流行状況であった。感染症発生動向調査協力医療機関から搬入された感染性胃腸炎患者の臨床検体を検査した結果、糞便 92 検体(92/362, 25.4%)と嘔吐物 3 検体(3/49, 6.1%)から NoV が検出された。その内訳は、糞便検体で GI 陽性が 1 検体(1.1%)と GII 陽性が 91 検体(98.9%)、嘔吐物では、4 検体全て GII 陽性であった。また、SaV は糞便 3 検体(3/362, 0.83%)から検出されたが、昨年度の陽性率 5.2%と比べると、SaV の陽