

浄し、PBS-Tにて1,000倍希釈したHRP標識抗モルモットIgG抗体(Cappel)を1ウェルあたり100 $\mu$ lずつ添加して37°CのCO<sub>2</sub>インキュベーターで1時間インキュベートし、洗浄後、o-Phenylenediamine-dihydrochloride発色液を100 $\mu$ lずつ添加して室温で30分間静置後、4N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を1ウェルあたり50 $\mu$ lずつ添加して、プレートリーダーで吸光度の測定を行った。

(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

本研究では、COS7細胞を用いてSaV GII/2 Mc10株およびGII/3 C12株のVLPsの大量発現に成功した。超遠心分離により精製したVLPsは、電子顕微鏡観察により、いずれも直径が約40-45nmであった。今回の検討では6ウェルプレート80枚あたりGII/2 Mc10株で約120 $\mu$ g、GII/3 C12株で約80 $\mu$ gの精製VLPsが得られ、発現実験を複数回行うことで、これらのVLPsに対するウサギおよびモルモットでの特異抗血清の作製、抗体力値の測定、抗原ELISAを用いた抗原性の評価を行うことが出来た。得られた抗血清の力価はGII/2 Mc10株VLPに対するウサギ抗血清が1,024,000倍、モルモット抗血清が128,000倍、GII/3 C12株VLPに対するウサギ抗血清が1,024,000倍、モルモット抗血清が4,096,000倍であった。抗原ELISAの結果、GII/2 Mc10 VLPsに対する抗体セットでGII/2

Mc10 VLPsとGII/3 VLPsを測定した時の492nmの吸光度はそれぞれ1.63と0.25で、GII/3 C12 VLPsに対する抗体セットでGII/2 Mc10 VLPsとGII/3 VLPsを測定した時の492nmの吸光度はそれぞれ0.31と1.68であった。この結果から、GII/2 Mc10 VLPsとGII/3 C12 VLPsの抗原性が異なることが示された。

### D. 考察

昆虫細胞でのVLPs発現が困難であったGIIの異なるgenotypeに属するSaV 2株(GII/2 Mc10株、GII/3 C12株)について、哺乳動物培養細胞を用いたVLPsの大量発現、特異抗血清の作成を行い、これら2株のVLPsの抗原性が異なることを明らかにした。これまでに得られている結果と、本研究の結果から、構造タンパク質コード領域の配列を用いた系統樹解析で異なるgenogroup, genotypeに属するSaV株は抗原性も異なることが示唆された。なお、本研究では抗GII/2 Mc10 VLPs抗体のセットでGII/3 C12 VLPsを測定した場合も、抗GII/3 C12 VLPsの抗体セットでGII/2 Mc10 VLPsを測定した場合も、いずれもある程度の反応性を示したことから、これらのVLPs間に共通のエピトープが存在する可能性も示唆された。

### E. 結論

本研究により、SaVもノロウイルスと同様、異なるgenotypeに属する株間では抗原性が異なることがさらに裏付けられた。急性胃腸炎患者の糞便からは、GI、GIIともに今なお新たなgenotypeと思われるSaV株が見つかつ

てきているため、高精度な SaV 抗原検出系を確立するためには、現在までに作成された抗 VLPs 抗体に加え、さらに異なる genotype に属する株を網羅した抗原パネルの作製と、これらに対する特異抗体、あるいは共通エピトープを認識するモノクローナル抗体セットの確立が求められる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

(1) Kitajima M., Oka T., Haramoto E., Katayama H., Takeda N., Katayama K., Ohgaki S.

Detection and genetic analysis of human sapoviruses in river water in Japan

Applied and Environmental Microbiology.

*In press*

(2) Iizuka S., Oka T., Tabara K., Omura T., Katayama K., Takeda N., Noda M.

Detection of sapoviruses and noroviruses in an outbreak of gastroenteritis linked genetically to shellfish

Journal of Medical Virology. *In Press*

(3) Yamashita Y., Ootsuka Y., Kondo R., Oseto M., Doi M., Miyamoto T., Ueda T., Kondo H., Tanaka T., Wakita T., Katayama K., Takeda N., Oka T.

Molecular characterization of sapovirus detected in a gastroenteritis outbreak at a wedding hall.

Journal of Medical Virology. *In Press*

(4) Oka T., Yokoyama M., Katayama K., Tsunemitsu H., Yamamoto M., Miyashita K., Ogawa S., Motomura K., Mori H., Nakamura H., Wakita T., Takeda N., Sato H.

Structural and biological constraints on diversity of regions immediately upstream of cleavage sites in calicivirus precursor proteins.

Virology. 2009; 394(1):119-129.

(5) Kitajima M., Oka T., Tohya Y., Katayama H., Takeda N., Katayama K.

Development of a broadly reactive nested reverse transcription-PCR assay to detect murine noroviruses, and investigation of the prevalence of murine noroviruses in laboratory mice in Japan.

Microbiology and Immunology. 2009; 53(9):531-534.

(6) Oka T., Miyashita K., Katayama K., Wakita T., Takeda N.

Distinct genotype and antigenicity among genogroup II sapoviruses.

Microbiology and Immunology. 2009 53(7):417-420.

(7) Shinkawa N., Noda M., Yoshizumi S., Tokutake Y., Shiraishi T., Arita-Nishida T., Nishio O., Oka T., Hansman GS., Takeda N., Kimura H.

Molecular epidemiology of noroviruses detected in food handler-associated

- outbreaks of gastroenteritis in Japan. *Intervirology*. 2008; 51(6):422-426. Epub 2009 Mar 4.
- (8) 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.
- (9) Ootsuka Y., Yamashita Y., Ichikawa T., Kondo R., Oseto M., Katayama K., Takeda N., Oka T.  
Molecular characterization of sapoviruses detected in sporadic gastroenteritis cases in 2007 in Ehime Prefecture, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2009; 62(3):246-248.
- (10) Yoshida T., Kasuo S., Azegami Y., Uchiyama Y., Satsumabayashi K., Shiraishi T., Katayama K., Wakita T., Takeda N., Oka T.  
Characterization of sapoviruses detected in gastroenteritis outbreaks and identification of asymptomatic adults with high viral load. *Journal of Clinical Virology*. 2009; 45(1):67-71.
- (11) 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.
- (12) 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.
- 学会発表
- (1) 岡智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸、武田直和、脇田隆宇、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 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2009 年 12 月 9~12 日.
- (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、東京、2009 年 10 月 25~27 日.

- (3) 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.
- (4) 片山和彦、岡智一郎、脇田隆宇  
ノロウイルスリバースジェネティック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.
- (5) 岡智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸、武田直和、脇田隆宇、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.
- (6) 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.
- (7) 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.
- (8) 片山和彦、岡智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸、脇田隆宇  
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.
- (9) 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.
- (10) 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.
- (11) 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、Norovirus Surveillance Group  
ノロウイルス GII/4 の変異  
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.
- (12) 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.

(13) 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.

(14) 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.

109<sup>th</sup> General Meeting of American Society for Microbiology. USA, May 17-21, 2009.

#### G. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得: なし。
2. 実用新案登録: なし。
3. その他: なし。

ノロウイルスと血液型抗原との結合に関する研究

分担研究者 白土 東子 国立感染症研究所・ウイルス第2部・主任研究官

研究要旨：血液型抗原は末端の構造によって ABO 型、Lewis 型に区別され、さらに内部の linkage によってタイプ 1、2 に区別される。腸管上皮には主にタイプ 1 抗原が、赤血球上には主にタイプ 2 抗原が発現しているとされる。本研究班において、昨年度までに、ノロウイルス (NoV) が ABO 抗原において、タイプ 1、2 構造の識別を行っていることを明らかにした。今年度は、Lewis 抗原においてもタイプ 1、2 構造の識別が行われているかを明らかにするため、Virus-like particles (VLPs) を用い、Biacore により Lewis 抗原との結合パターンを検討した。その結果、Lewis 抗原においてもタイプ 1、2 構造の識別が行われていることが明らかとなった。NoV は遺伝学的、血清学的に多様であるため、ELISA などによる検出が困難であるが、血液型抗原への結合においては高い特異性と保存性を有し、これを利用した検出系の開発が期待できる。

A. 研究目的

NoV はヒト小腸上皮に感染し、下痢を引き起こす。NoV は小腸上皮に発現する血液型抗原に吸着するが、結合に重要な糖鎖構造は明らかになっていない。また、NoV が血液型抗原のタイプ間の違いを識別するかどうか不明である。本研究では、ノロウイルス全体の総合的な血液型抗原結合パターンを解析し、ウイルス結合に重要な糖鎖構造を明らかにすることを目指す。今年度は、NoV が Lewis 抗原のタイプ 1、2 構造の識別を行っているかどうかを検討した。

B. 研究方法

GI に属する 5 遺伝子型から 5 株、GII に属する 8 遺伝子型から 11 株、計 13 遺伝子型 16 株の NoV VLPs を用いた。4 種

類の Monovalent 糖鎖、Gal  $\beta$  1-3 (Fuc  $\alpha$  1-4)GlcNAc  $\beta$  1-3Gal  $\beta$  1-R (Lewis-a: タイプ 1 構造)、Fuc  $\alpha$  1-2Gal  $\beta$  1-3 (Fuc  $\alpha$  1-4)GlcNAc  $\beta$  1-3Gal  $\beta$  1-R (Lewis-b: タイプ 1 構造)、Gal  $\beta$  1-4 (Fuc  $\alpha$  1-3)GlcNAc  $\beta$  1-3Gal  $\beta$  1-R (Lewis-x: タイプ 2 構造)、および Fuc  $\alpha$  1-2Gal  $\beta$  1-4 (Fuc  $\alpha$  1-3)GlcNAc  $\beta$  1-3Gal  $\beta$  1-R (Lewis-y: タイプ 2 構造) との結合を Biacore で検出した。

C. 研究成果

1) 糖鎖を固定したチップ上に VLPs を 20  $\mu$  l/min にて 120 秒間流し、結合を Biacore にてモニターした。16 株中 5 株 (5 遺伝子型) の VLP と糖鎖との結合を検出した。Lewis-b または Lewis-y 抗原に結合した 5 株において、その結合速度

はタイプ1構造 (Lewis-b) よりタイプ2構造 (Lewis-y) の方が高く、ABO抗原の結果と一致した。Lewis-aまたはLewis-x抗原に結合したのは CV(GI/4)株、W18(GI/8)株の2株であった。W18(GI/8)株の結合速度はタイプ1構造 (Lewis-a) よりタイプ2構造 (Lewis-x) で高く、ABO抗原の結果およびLewis-b/y抗原の結果と一致した。しかし、CV(GI/4)株の結合速度はLewis-xよりLewis-aで高く、これまでの結果と一致しなかった。

(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。

#### D. 考察と結論

NoVはLewis抗原においてもタイプ1/2間の違いを認識していることが明らかとなった。A型インフルエンザの宿主特異性は、そのレセプター上のシアル酸とガラクトースをつなぐlinkageが $\alpha$ 2-3か $\alpha$ 2-6によって決定されることが知られている。本研究班において、NoVの宿主特異性も血液型抗原上のガラクトースとNアセチルグルコサミン間のlinkageが $\beta$ 1-3か $\beta$ 1-4かによって決定されることを示唆する結果を得た。NoVは遺伝学的、血清学的に多様であるため、ELISAなどによる検出が困難であるが、血液型抗原への結合においては高い特異性と保存性を有し、これを利用した検出系の開発が期待できる。

#### D. 研究発表

1. 誌上発表 なし

2. 学会発表

- (1) 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
- (2) 熊谷安希子, 久保田智巳, 伊藤浩美, 成松 久, 脇田隆字, 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
- (3) 染谷雄一, 白土東子, 武田直和, 脇田隆字「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
- (4) 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, 脇田隆字, 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
- (5) 斎藤博之, 東方美保, 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、  
2009 年 10 月、東京

- (6) 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



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 研究協力報告書

田中	智之	東方	美保
吉澄	志磨	入谷	展弘
三上	稔之	内野	清子
高橋	知子	飯塚	節子
植木	洋	福田	伸治
田村	務	山下	育孝
篠崎	邦子	原田	誠也
林	志直	三浦	美穂
吉田	徹也	北元	憲利
滝澤	剛則		

平成 22 (2010) 年 3 月

平成 21 年度厚生科学研究食品の安心・安全確保推進研究事業

「ウイルス性食中毒の予防に関する研究」

協力研究者 総括報告書

研究分担者	田中 智之	( 堺市衛生研究所 )
研究協力者	吉澄 志磨	( 北海道立衛生研究所 )
研究協力者	三上 稔之	( 青森県環境保健センター )
研究協力者	高橋 知子	( 岩手県環境保健研究センター保健科学部 )
研究協力者	植木 洋	( 宮城県保健環境センター )
研究協力者	篠崎 邦子	( 千葉県衛生研究所 )
研究協力者	林 直志	( 東京都健康安全センター )
研究協力者	田村 務	( 新潟県保健環境科学研究所ウイルス科 )
研究協力者	吉田 徹也	( 長野県環境保全研究所 )
研究協力者	滝澤 剛則	( 富山県衛生研究所 )
研究協力者	東方 美保	( 福井県衛生環境研究センター )
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 )
研究協力者	内野 清子	( 堺市衛生研究所 )
研究協力者	飯塚 節子	( 島根県保健環境科学研究所 )
研究協力者	福田 伸治	( 広島県保健環境センター )
研究協力者	山下 育孝	( 愛媛県立衛生環境研究所 )
研究協力者	原田 誠也	( 熊本県保健環境科学研究所 )
研究協力者	三浦 美穂	( 宮崎県衛生環境研究所 )
研究協力者	北元 憲利	( 兵庫県立大学環境人間学部 )

研究総括:

次の研究分野の報告に大別された。

- (1) 食中毒事例では、事例数は少なかったが、昨年同様にノロウイルス保有の調理従事者による食材汚染事例が報告された。複数の遺伝子が検出された感染事例の報告があり、その感染経路の解明は今後の課題である。外国産アサリによるノロウイルス/サポウイルス多重感染も報告された。また、E 型肝炎ウイルス (HEV) の研究では九州地域での野生イノシシから G3, G4 遺伝子型の HEV が検出された。
- (2) 下水処理施設の流入・放水中のノロウイルスの動態では、色々の遺伝子型が検出されたが通年の報告にみられるように GII/4 が主流であった。しかし、一時期のような大流行時に比べ検出頻度は低値であった。垂下カキの実験系でも同様の成績であった。下水道、漁場集落排水では通年にわたって安定したノロウイルス除去率を示したが、合併浄化槽は安定せず且つ低い除去率であった。カキ等への汚染予防に課

題を提起した。

- (3) ノロウイルス遺伝子解析では、昨年同様に GII/4 に変異株の出現が報告認められた。過去の大流行の遺伝子型 2006b のほかに、今年度に検出された遺伝子型は、多種類あった。これらには同じクラスターの中に含まれない、或いは塩基配列の変異株が報告されており、新たな変異株の出現が懸念されている。2008a 株も今後の流行株の可能性が考えられ、今後の継続した、prospective な解析が求められる。
- (4) 食品中からノロウイルス遺伝子検出方法としてパンソルビン・トラップ法が開発されているが、今後、実用化に向けて積極的に施行し、その評価の集積が必要である。サポウイルスによる食中毒事例もあり、研究班として簡便なサポウイルス診断キット開発の期待が膨らんでいる。また、ノロウイルスの簡便な診断方法は、調理従事者の定期検便等に有用となっている。
- (5) ノロウイルス発症家族でのダスト中のノロウイルス検出は 30 日後でも陽性であった。さらにサポウイルスは 106 日まで検出された。
- (6) イムノクロマト法によるノロウイルス抗原検出法の精度向上を、特に変異株との反応性の低下から、VLPs に対するモノクローナル抗体作製をもって対応している。

#### A. 研究目的

本研究は過去三年間同様にウイルス性食中毒の予防に関する研究であり、ノロウイルス/サポウイルス、ヒトとそれを媒体する食材、環境媒体等の三角関係の中での因果関係を究明し、その科学的事実から、感染経路、ウイルス学的特徴の解明、食材・環境媒体等からの迅速・正確なウイルス遺伝子・抗原を検出し食を介する感染症の予防に寄与することを目的としている。

全国のサーベイランス拠点として 18 地衛研研究者に協力依頼し、ウイルス性食中毒の実態、予防対策に向けた研究を行った。研究協力者の研究内容は、次のカテゴリーに四大別できる。

- (1) 食中毒事例に関与するノロウイルス/サポウイルスの頻度、感染経路、ウイルス遺伝子学的特徴。さらに今年度は食を介する E 型肝炎ウイルスの研究が加わった。

- (2) 環境中におけるノロウイルス汚染実態とヒト感染事例との関連、予防対策。
  - (3) 食中毒事例、環境由来ウイルス遺伝子の詳細な分子疫学的解析。
  - (4) 食材からノロウイルス/サポウイルスの検出方法の改良やヒトの検体から迅速診断方法の精度向上
- これらの 4 点の研究成果に焦点を合わせて総括する。

#### B. 研究材料と方法

研究材料には、食中毒事例の散発発生・集団発生時における感染者の臨床材料、カキ等の食材、環境水や室内ダスト等の環境材料を用いた。また、E 型肝炎ウイルスでは野生動物の肝臓、血液等を用いた。

研究方法は、従来の方法に従い、ノロウイルス遺伝子の検出・定量・キャプシド、ポリメラーゼ領域の塩基配列の解析・系統樹作成を行い、遺伝子型別の決定、相同性

を比較した。

環境材料を用いたウイルス遺伝子検出方法は昨年の方法に改良を加え、また、サポウイルスではサポウイルス中空粒子を用いて作製されたモノクローナル抗体の解析を行った。

(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. 研究成果

(1) 今年度のノロウイルス流行は2008/2009 流行シーズンに比べ、頻度は著しく減少した。しかし、大小の散発発生、集団発生の健康危機事例の報告は多い。感染経路の中には、頻度は低くなってきているが、不顕性感染調理従事者を介する事例が相変わらず認められ、後を絶たない(吉澄、林、篠崎、滝澤、山下)。遺伝子型はGII/6, GII/4, GII/3, GI/4がある。また、複数の遺伝子型のノロウイルスの混合/重症感染の報告がある(山下、林、田中(研究分担報告))。食材では同一クラスターを形成したカキ由来2事例(三浦)、GI/GII同時に検出された11事例では8事例でカキが推定原因食材(林)、カキ関連中国産冷凍カキフライでノロウイルス/アストロウイルス混合感染が報告されている(吉澄)。

遺伝子型では、保育所・小学校の集団発生ではGII/4以外にGI/4, GI/8, GII/6が目立った(林)。調理従事者の陰性確認検査には平均3.4回、陰性確認には事件発生から21.2日を要している(林)。

E型肝炎ウイルスの調査では野生イノシシからG3, G4が検出された。特に九州地域でのG4の検出は興味があり今後の継

続調査が必要と考える。

(2) 浄化槽、下水放流水、河川水におけるノロウイルス遺伝子検出が継続して調査・研究されている(高橋、内野、滝澤)。これらの環境検体から検出される遺伝子群はGI, GIIと多様である。ノロウイルスのみならずサポウイルスの検出もあった(滝澤)。ノロウイルスの下水処理による除去率の研究では、下水道、漁場集落排水では通年にわたって安定した除去率を示したが、合併浄化槽は安定せず且つ低い除去率を示した(高橋)。カキへのノロウイルス汚染の低減化と汚水処理施設放流水の低減は同じレベルの課題であることも提言している(高橋)。下水や放流水等の環境検体から上流のノロウイルス流行状況や流行予測は困難ではあるが、ウイルス遺伝子量の調査から、拡大発生の予測や流行遺伝子型による重症度の予防対策に資する可能性を含んでいる。市販生食用カキのパック水からGI/4, GII/4, GII/6の遺伝子が検出されている(三上)。生産海域などの調査が今後必要である。

また、カキの垂下実験からGIV/1クラスターに分類されるサポウイルスが検出も報告されている(植木)。

一方、環境媒体を介するウイルス汚染の中で、吐物等によって生じる汚染塵埃の調査研究ではノロウイルスのみならずサポウイルスも検出された。ノロウイルス陽性家庭、サポウイルス陽性家庭のダストは、それぞれ $10^{5.7}$ コピー/g、 $10^{6.6}$ コピー/g、またそれぞれ30日間、105日間継続して検出された(吉田)。ウイルス汚染家庭は長期の適切な使用毒が求められることになる。

(3) 近年の主流ノロウイルス遺伝子型はGII/4であり、2009/2010シーズンも同様である。P2 ドメインに集中したアミノ酸変異の詳細な報告(福田)や組替え体や新しいクラスター形成の報告もある(吉澄、篠崎、滝澤)、さらにGII/6の新しいクラスター形成(入谷)の報告もある。GII/4 変異型 2006b とは異なった新たなクラスター形成株 2008a の報告もある(田村)。また、GII/4 ノロウイルスは他の遺伝子型に比べ、排泄されるウイルス量が多い傾向を報告している(福田)。

(4) 本研究の主要課題のひとつである食品中からノロウイルス遺伝子の検出には、パンソルビン・トラップ法が昨年から継続して開発・研究がなされ、濃縮法、RNA抽出法、プライマー設定等に様々な改良が加えられてきた。反応時間の短縮、検出可能な遺伝子型の拡大が行われ、実際の収去検体を用いた評価の段階にきている(東方、斉藤分担研究者)。

サポウイルスの食中毒事例では、ウイルス遺伝子検出が主な検出方法であるがDNase の処理による検出効率の低下が研究され今後のサポウイルス検査に貢献した(飯塚)。ノロウイルス同様に迅速、簡便なイムノクロマト法の開発はサポウイルスに対するモノクローナル抗体の作製(北元)とともに測定キットが構築されているが精度の向上を計っている(研究分担田中)。

#### D. 今後の課題

1. 広域なウイルス性食中毒の疫学的のみならずウイルス学的な詳細な解析は、ノロウイルスを介する食中毒の感染経路の究明、感染拡大防止の構築にきわめて重要であり、今後も継続して調査・研究しなければならない。また、これらの検出情報を既存の「カリシネット」のようなシステムで共有することは感染予防にとって重要である。
2. 原因ノロウイルスの遺伝子型、変異の有無の解析は、感染力の強さや症状の軽重に重要な情報を与え、感染拡大防止に直結する。特に、GII/4 では 2006b とは異なる株の出現が報告されている。より注意深い監視体制・意識を持ち続け、また、「カリシネット」のようなシステムをもっと積極的に活用し情報を広く交換すべきである。
3. 食品中からパンソルビン法による食品中からのノロウイルス検出感度は高くなり、実践に移行できる状態にある。今後は本班研究協力者の評価を出来るだけ多く求め、実用性に移行していく必要がある。
4. サポウイルス迅速診断キットはすでに構築されているが、精度向上に向けた改良の段階にある。

## 北海道で発生した集団胃腸炎事例からのウイルス検出状況

研究協力者: 吉澄 志磨 (北海道立衛生研究所)

研究分担者: 田中 智之 (堺市衛生研究所)

研究協力者: 三好 正浩、石田勢津子 (北海道立衛生研究所)

### 研究要旨:

ノロウイルス感染の流行状況を把握するため、2009/10 シーズンに北海道で発生した集団胃腸炎事例について、検出ノロウイルスの分子疫学的解析を行った。2009 年 9 月から 2010 年 2 月上旬までに発生した集団胃腸炎は 29 事例であったが、このうち、食中毒は 3 事例であり、いずれも不顕性感染の調理従事者による食品汚染が原因と考えられた。食中毒 3 事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型は GII/6、GI/4 及び GII/4 であり、食中毒以外の 26 事例からは、GII/4 (16 事例)、GII/12 (4 事例)、GII/6 (3 事例)、GI/4 (2 事例) 及び GI/7 (1 事例) が検出された。食中毒事例から検出された GII/6 と GI/4 は、北海道では比較的検出頻度の高い遺伝子型であるが、N/S ドメインの塩基配列を基に過去の検出株と併せて系統樹解析を行った結果、GII/6 の主流株は 2 シーズン毎に異なるクラスタータイプに入れ替わっており、一方 GI/4 株は 6 シーズン前から続けてほぼ同じ塩基配列の株が検出されていた。2009/10 シーズンの GII/4 株は、2006/07 シーズン以降の優勢型である EU2006b タイプが最も多く検出されたが、前シーズンに引き続き Apeldoorn317/2007/NL に近縁な株が感染症 1 事例から検出され、さらに、系統樹解析で新たなクラスターを形成する株が食中毒 1 事例と感染症 3 事例から検出された。

ノロウイルス以外の胃腸炎ウイルスが食中毒発生に関与しているか否かを調査するため、二枚貝の喫食のみられた食中毒事例を対象に、サポウイルス、アストロウイルス、A 群ロタウイルス、C 群ロタウイルス、アデノウイルスの検査を実施した。その結果、原因疑い食品に中国産冷凍カキフライが含まれていた食中毒 1 事例について、ノロウイルスとアストロウイルスの混合感染が確認された。

### A. 研究目的

1. ノロウイルスによる食中毒の制御のためには、その背景にあるノロウイルス感染の流行状況を把握することが必要であ

る。そこで、2009/10 シーズンに北海道で発生した集団胃腸炎事例について、検出ノロウイルスの分子疫学的解析を行った。また、2009/10 シーズンに検出された遺伝

子型について過去の検出状況を確認し、2009/10 シーズンまでに検出株の塩基配列がどのように変化してきたかについて解析を行った。

2. 食品衛生法における食中毒の病因物質にノロウイルスが追加されたことにより、ノロウイルスによる食中毒の疫学情報は蓄積されつつある。しかし、ノロウイルス以外の胃腸炎ウイルスの食中毒への関与については、いまだ情報が不足している。そこで本研究では、調査の第一段階として、原因疑い食品の中に二枚貝が含まれていた食中毒事例を対象に、サポウイルス、アストロウイルス、A群ロタウイルス、C群ロタウイルス、アデノウイルスの関与について調査を行った。

## B. 研究方法

### 1. 材料

#### (1) ノロウイルスの分子疫学的解析

北海道において2009年9月から2010年2月初旬までに発生した集団胃腸炎事例のうち、患者検体からノロウイルスが検出された29事例（糞便216検体、拭き取り27検体、食品23検体）を対象とした。

#### (2) 二枚貝喫食事例からのウイルス検出

北海道において2004年1月から2009年3月までに発生した非細菌性食中毒のうち、原因疑い食品に二枚貝が含まれていた12事例（患者糞便81検体、患者吐物1検体及び二枚貝喫食調理従事者糞便5検体）を対象とした。

### 2. 方法

#### (1) ノロウイルスの分子疫学的解析

##### a. RNAの抽出

厚生労働省通知の方法に従い、糞便は10%乳剤、拭き取り及び食品検体はポリエチレングリコール沈殿法による濃縮溶液140 $\mu$ lから、QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いてRNAを抽出した。

##### b. ウイルス遺伝子の増幅

抽出RNAをDNaseI(TaKaRa)で処理し、random primerを用いてcDNA合成を行った。これを鋳型とし、COG1F/G1-SKR及びCOG2F/G2-SKRプライマーを用いてノロウイルス遺伝子の増幅を行った。拭き取り及び食品検体については、G1-SKF/G1-SKR及びG2-SKF/G2-SKRプライマーを用いてnested PCRを行った。

##### c. 遺伝子解析

PCR産物について、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。この際に塩基配列の異なる複数の遺伝子の混合が確認された検体については、TOPO TA Cloning Kit for Sequencing(invitrogen)を用いてクローニングを行った後、10~30クローンを選択して塩基配列を決定した。系統樹解析は、ClustalXを用いた近隣結合法により行った。遺伝子型は、キャプシドN/Sドメインの塩基配列を基に、Kageyamaらの方法(J Clin Microbiol, 42: 2988-2995, 2004)に従って分類した。

##### d. GII/4株の解析

患者から検出されたノロウイルスの遺伝子型がGII/4と同定された事例から1、2検体を選択し、P1/3IIR-4(5'-CCRCRAAGAAAGCTCCAGCCA-3')プライマーを用いて、ポリメラーゼコード領域からVP1コード領域(Lordsdale position:4292-6726)にかけて増幅を行った。ダイレクトシーケンス法により

塩基配列を決定し、ポリメラーゼコード領域(793塩基)とVP1コード領域(1,623塩基)に分けて系統樹解析を行った。

(2) 二枚貝喫食事例からのウイルス検出

#### a. 核酸の抽出

10%糞便乳剤もしくは吐物遠心上清140 $\mu$ lから、QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いて核酸を抽出した。

#### b. ウイルス遺伝子の増幅

サポウイルス、アストロウイルス遺伝子の検出のため、抽出核酸から High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems) を用いて cDNA 合成を行った。PCR 用プライマーとして、サポウイルスは SV-F13, SV-F14/SV-R13, SV-R14 (Okada et al, Arch Virol, 151 : 2503-2509, 2006)、アストロウイルスは PreCAP1 (Sakamoto et al, J Med Virol, 61 : 326-331, 2000) / AC230 (Sakon et al, J Med Virol, 61 : 125-131, 2000) を用いた。この方法によりアストロウイルス遺伝子が検出された検体については、SuperScript III ワンステップ RT-PCR システム (invitrogen) 及び AC4/AC6 プライマー (Sakon et al, J Med Virol, 61 : 125-131, 2000) による増幅を行い、この増幅領域の塩基配列を遺伝子型別に使用した。

A 群ロタウイルス、C 群ロタウイルス遺伝子の検出のため、抽出核酸を 95°C で 5 分間加熱処理した後、SuperScript III ワンステップ RT-PCR システム (invitrogen) を用いて遺伝子の増幅を行った。プライマーには、A 群ロタウイルスは Beg9/End9 (Gouvea et al, J Clin Microbiol, 28 : 276-282, 1990) を、C 群ロタウイルスに

は G8S/G8A (Kuzuya et al, J Clin Microbiol, 34 : 3185-3189, 1996) を使用した。

アデノウイルス遺伝子の検出のため、抽出核酸を鋳型として、Hex3/Hex4 プライマー (Echavarria et al, J Clin Microbiol, 36 : 3323-3326, 1998) を用いて PCR を行った。

#### c. 遺伝子解析

PCR 産物について、TOPO TA Cloning Kit for Sequencing (invitrogen) を用いてクローニングを行い、10 クローンを選択して塩基配列を決定した。この塩基配列を基に、ClustalX を用いた近隣結合法により系統樹解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、食品衛生法及び感染症法に基づく北海道の保健衛生事業により収集された試料を、個人情報の匿名化のもと、保健衛生事業の一環として使用するものであり、インフォームド・コンセントは実施しない。

## C. 研究結果

### 1. ノロウイルスの分子疫学的解析

(1) 過去 6 シーズンのノロウイルスによる集団胃腸炎事例の発生状況

2004 年 9 月以降に北海道で発生した集団胃腸炎事例のうち、道立衛生研究所における検査でノロウイルスが検出された集団胃腸炎事例の数を図 1 に示した。2007/08 シーズンまでは 11 月から 12 月にかけて事例数の急激な増加をみせたが、2008/09 シーズンはシーズン前半の 1 月までの事例数が例年に比べて少なく、明確な発生ピークを持たない結果となった。



2009/10 シーズンは事例発生数増加の開始時期が例年に比べて遅く、1月までの事例数は、2008/09 シーズンと比べても大幅に減少した。感染性胃腸炎の定点当たりの報告数を図 2 に示したが、集団胃腸炎事例と同様に、2008/09 シーズンは明確な発生ピークを持たず、2009/10 シーズンの患者数の増加開始は例年に比べて約 7 週間遅れて認められた。

#### (2) 2009/10 シーズンの発生事例について

2009/10 シーズンに発生したノロウイルスによる集団胃腸炎事例を、表 1 に示した。29 事例のうち、食中毒は 3 事例であり、いずれも、不顕性感染の調理従事者による食品汚染が原因と考えられた。このうち 2 事例では、複数の調理従事者からノロウイルスが検出された。拭き取り及び食品検体からは、ノロウイルスは検出されなかった。食中毒 3 事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型は GII/6, GI/4 及び GII/4 であり、食中毒以外の 26 事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型は、多い順に GII/4 : 16 事例 (61.5%)、GII/12 : 4 事例 (15.4%)、GII/6 : 3 事例 (11.5%)、GI/4 : 2 事例 (7.7%)、GI/7 : 1 事例 (3.9%) であった。これらの遺伝子型について、検出株の塩基配列の経年変化を確認するため、過去に北海道の集団胃腸炎事例から検出された株と併せて系統樹解析を行った。

#### (3) 検出遺伝子型 : GI/4, GI/7 の解析

2009/10 シーズンに検出された GI/4 及び GI/7 株を、2003/04~2008/09 シーズンに検出された GI/4, GI/7 株と併せて系統樹に示したものが、図 3 である。株名は、「事例番号-発生年月」で表示した。

北海道の集団胃腸炎事例において GI/4 株の検出頻度は比較的高く、2004/05 シーズンを除くすべてのシーズンで検出が確認された。2006/07, 2007/08 シーズンに検出された GI/4 株 (☆、●印) は塩基配列に若干の多様性が認められたが、その前後のシーズンに検出された GI/4 株は、N/S ドメインの塩基配列では区別ができなかった。

GI/7 は、集団胃腸炎事例からの検出頻度は低く、2003/04 シーズン以降は 3 事例から検出されたのみであった。2009/10 シーズン検出株と過去の検出株を比較すると、塩基配列に 6, 7 塩基の違いが認められた。

#### (4) 検出遺伝子型 ; GII/6, GII/12 の解析

2009/10 シーズンに検出された GII/6 及び GII/12 株を、2003/04~2008/09 シーズンに検出された GII/6, GII/12 株と併せて系統樹解析した。

GI/6 も GI/4 と同様、北海道の集団胃腸炎事例における検出頻度が比較的高い遺伝子型であるが、図 4 に示すように、2003/04~2009/10 シーズンの検出株は、大きく 3 つのクラスター (A, B, C) に分岐した。クラスター A は 2003/04 シーズン検出株、クラスター B は主に 2004/05-2005/06 シーズン検出株、クラスター C は 2008/09- 2009/10 シーズン検出株で構成された。2009/10 シーズン検出株のうち、事例 No. 965 (関東地方の高校生が北海道での修学旅行中に発症した事例) から検出された 1 株のみ、クラスター B に分岐した。

GII/12 株は、2003/04 シーズン以降 7 事例から検出されたが、検出時期は

2008/09, 2009/10 シーズンに限られていた。系統樹解析の結果、これらの GII/12 株は大きく 2 つのクラスター(図 4 の A, B) に分岐し、2009/10 シーズン検出株は A, B の 2 つのタイプに分かれた。

#### (6) 検出遺伝子型 ; GII/4 の解析

GII/4 は 2002 年以降の優勢遺伝子型であり、これまで複数の variant type が確認されている。そこで、GII/4 株については遺伝子型内の違いをより詳細に分析するため、ポリメラーゼコード領域の一部と VP1 コード領域全長の塩基配列を決定し、系統樹解析を行った。図 5 に示したとおり、2009/10 シーズンに検出された GII/4 株は、ポリメラーゼと VP1 領域のどちらの解析結果でも、大きく 3 つのクラスターに分類された。一つは Nijmegen115/2006/NL 株に近縁なタイプ(クラスター A、EU2006b variant) である。このタイプは 2006/07 シーズンに大流行して以来、3 シーズン続けての優勢型であるが、2009 年 12 月に検出された株はすべてこのタイプであった。2010 年 1 月に検出された GII/4 株も大部分は Nijmegen115/2006/NL 類似株であったが、1 株のみ Apeldoorn317/2007/NL 株や Mannheim131/2009/DE 株に近縁なタイプ(クラスター B) が検出された。このタイプは、北海道では 2009 年 1 月に小学校の 1 事例から検出されたのみである(図 5 の 917-0901 株)。その後 1 月末から 2 月にかけて、新たなクラスタータイプ(クラスター C) が 4 事例から続けて検出された。このタイプは、北海道では初めての検出であった。

## 2. 二枚貝喫食事例からのウイルス検出

### (1) 胃腸炎ウイルスの検出状況

二枚貝の喫食のあった非細菌性食中毒事例からの各種胃腸炎ウイルスの検出状況を、表 2 に示した。検査対象とした 12 事例はすべて、発生当時の検査で患者検体からノロウイルス遺伝子が検出された事例であったが、このうち 1 事例(事例 No. 234) の患者糞便 4 検体からアストロウイルス遺伝子が検出された。事例 No. 234 におけるノロウイルス陽性率は 10/15 (67%) であり、検出されたノロウイルスの遺伝子型は多種にわたっていた。アストロウイルス陽性率は 4/15 (27%) であり、アストロウイルスが検出された患者は全員、ノロウイルスとの混合感染であった。検出されたアストロウイルス遺伝子についてクローニングを行い、それぞれ 10 クローンについてシーケンスを行った。その結果、検体 No. 5 と No. 8 からは 5 種類(a-e)、No. 9 からは 3 種類(a-c)、No. 14 からは 4 種類(a-d) の異なる塩基配列の遺伝子が確認されたが、同一検体のクローン間においては、塩基配列の相違は 1~3 塩基程度であった。これらのアストロウイルス遺伝子について系統樹解析を行ったところ(図 6)、検体 No. 5, 8, 9 からの検出株はすべて Type 8、検体 No. 14 からの検出株はすべて Type 1 であることが確認された。この事例の喫食二枚貝はカキであり、残品(冷凍カキフライ)についてノロウイルス検査を実施したが陰性であった。冷凍カキフライについては検体量が少なかったため、アストロウイルスを含め、ノロウイルス以外の胃腸炎ウイルスの検査は実施できなかった。

### (2) 事例 No. 234 の疫学情報

初発患者の発症は2004年5月20日。ホテル宿泊客の間で発生した食中毒事例であり、原因食品はホテルで提供された夕食と断定された。この夕食にはカキフライが含まれており、中国産の冷凍カキフライが使用されていた。冷凍カキフライのパッケージには「風味が損なわれやすくなるため、凍ったまま調理を行う」旨の記載が2カ所にあり、これに従って調理を行った場合、加熱不十分になった可能性が懸念された。しかし、冷凍カキフライの残品からはノロウイルス遺伝子は検出されず、カキフライが原因食品とは断定されなかった。

発症者は、夕食喫食者45名中16名であり、このうち12名がカキフライを喫食していた。検査の結果、カキフライ喫食者12名中10名からノロウイルス遺伝子が検出された。カキフライを食べていなかった発症者4名中3名についても検査を実施したが、3名ともノロウイルス遺伝子は検出されなかった。ノロウイルス遺伝子陽性であった10名中8名からは複数の異なる遺伝子型のノロウイルスが検出されており、事例全体では12種類の遺伝子型の関与が確認された。

#### D. 考察

##### 1. ノロウイルスの分子疫学的解析

2009/10シーズンは、感染性胃腸炎患者数の増加開始が例年に比べて著しく遅く、集団胃腸炎事例数についても同様であった。2009/10シーズン初めの9月及び10月に発生したノロウイルス検出事例は3事例であり、これらのすべてから、2008/09シーズン終盤に検出頻度の高か

ったGII/6が検出された。さらに、12月には食中毒事例からもGII/6株が検出された。系統樹解析の結果、これら4株中食中毒由来株を含む3株は2008/09シーズン検出株と同じクラスターを形成し、2007/08シーズン以前に検出されたGII/6株とは異なる分岐をみせた。しかし、北海道での修学旅行中に胃腸炎を発症した関東地方高校生由来のGII/6株のみ、同じ時期の北海道検出株とは異なるクラスターに分岐しており、このGII/6株が関東からの持ち込みである可能性も考えられた。GII/6株は、これまで大流行することはなかったものの、北海道ではおおむね毎シーズン続けて複数の事例から検出されている。今回解析の対象とした2003/04シーズン以降は、2シーズンごとに異なるクラスタータイプが主流となっていたことから、定期的に新しいvariantに置き換わることにより、長期間にわたってヒト-ヒト感染の循環が保たれていると考えられた。一方、GI/4も北海道ではほぼ毎シーズン検出されている遺伝子型であるが、2006/07-2007/08シーズン検出株は塩基配列に若干の多様性が認められたものの、それ以外のシーズンに検出されたGI/4株については、N/Sドメイン領域の塩基配列はほぼ100%一致しており、遺伝子学的に均一なタイプが長期間（少なくとも7シーズン）に渡って維持されている可能性が示唆された。以上のように、北海道での検出頻度が類似したGII/6とGI/4で、検出株の塩基配列の経年変化のパターンが異なっている可能性が示されたが、今回の解析は、ノロウイルス遺伝子のなかでも最も保存された

N/S ドメイン領域を用いたものであったことから、P2 サブドメインなど、他の領域についても解析を行う必要があると考えられた。

GII/4 は 2002/03～2008/09 シーズンの優勢遺伝子であるが、2009/10 シーズンも同様であった。GII/4 株の検出は 2009 年 12 月から認められ、2006/07 シーズン以降の優勢 variant である EU2006b タイプが、2009/10 シーズンも最も多く検出された。2008/09 シーズンに国内の数カ所で確認され、北海道では 2009 年 1 月に 1 事例から検出された Apeldoorn317/2007/NL 株に近縁なタイプは、2009/10 シーズンにも 1 事例から検出されたのみであり、現在のところ流行の兆しは認められていない。その一方で、2009/10 シーズンに初めて確認された新しいクラスタータイプの GII/4 株は、1 月末以降続けて 4 事例から検出されており、今後の流行状況について十分な注意を払う必要があると考えられた。

## 2. 胃腸炎ウイルスの検出状況

今回の調査により、食中毒 1 事例の患者糞便検体からアストロウイルスが検出された。この事例は、発生当時の検査により患者糞便の 67% からノロウイルスが検出され、ノロウイルスによる食中毒と断定された事例である。カキフライの喫食がみられたが、その原材料である中国産冷凍カキフライからはノロウイルスは検出されず、カキの関与は不明であった。しかし、カキフライ喫食・非喫食患者からのノロウイルス検出状況や検出遺伝子型の多様性から、カキフライが原因食品であった可能性は否定できず、「冷凍」カ

キを「加熱して」喫食した場合でも、ノロウイルスだけではなくアストロウイルスに感染する可能性があることが示唆された。同様のケースとして、平成 20 年度の本研究で、中国産冷凍むき身アサリを原因とするサポウイルスとノロウイルスの複合食中毒事例が報告されており（飯塚ら、厚生労働科学研究費補助金「食品中のウイルスの制御に関する研究」平成 20 年度総括・分担研究報告書：207-217, 2009）、この事例では、原因食品のアサリについてもノロウイルスとサポウイルスの汚染が確認されている。以上のことから、原因疑い食品に二枚貝が含まれる食中毒事例においては、アストロウイルスやサポウイルスを始め、ノロウイルス以外の胃腸炎ウイルスの感染を考慮に入れる必要があると考えられた。

今回、二枚貝喫食事例において、ノロウイルスとアストロウイルスの混合感染が確認された。その他の胃腸炎ウイルスは検出されなかったが、二枚貝の喫食のない食中毒や感染症事例も含め、集団胃腸炎事例におけるノロウイルス以外の胃腸炎ウイルスの関与について、今後も調査を進める必要があるだろう。

## E. 結論

1. 2009/10 シーズンは、集団胃腸炎事例の発生数増加の開始時期が例年に比べて遅く、1 月までの事例数は例年に比べて大幅に減少した。
2. 2009/10 シーズンに発生した集団胃腸炎 29 事例のうち、食中毒 3 事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型は GII/6, GI/4 及び GII/4 であり、食中毒以外の 26