

阪等で new variant の報告があり、今後これら新しい株の本県への波及も考えられる。また、2009年1月から6月の間に GII/6 の地域流行が認められた。遺伝子解析の結果、これらの株は、これまでに愛媛県で検出されていた GII/6 とは異なるクラスターに属しており、この遺伝子変異が今回の流行の原因と考えられた。

E. 結論

1. 2009年1月から12月の間に、散发性胃腸炎から EM、RT-PCR 及びリアルタイム PCR で NV が 82 例 (28.4%)、SV が 37 例 (12.8%) A 群ロタウイルスが 31 例 (10.7%)、C 群ロタウイルス及びアデノウイルスがそれぞれ 11 例 (3.8%) 検出された。
2. 検出された NV の Genogroup は、GII が 75 例 (91.5%)、GI が 7 例 (8.5%) であった。遺伝子型は、GII が 7 種類、GI が 1 種類で、GII/4、GII/6、GII/1 が多く検出された。食中毒等集団発生からは、GII が 3 種類、GI が 2 種類で、GII/4、GII/6 が多く検出された。
3. 集団発生例から検出された株と 100%塩基配列が一致した株が、同じ地域の散发例から検出され、地域で流行している NV が集団発生の原因と関連していることが示唆された。
4. 2009年に検出された GII/4 は、すべて EU2006b variant に属し、2007年以降この型が GII/4 の主流行タイプとなっていることが示された。
5. 2009年3月～6月に地域流行が見

られた GII/6 は、過去の株とは異なる新しいクラスターに属していた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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 Tomoichiro Oka.

Molecular characterization of Sapovirus detected in a Gastroenteritis outbreak at a Wedding hall. (J Med Virol. In press.)

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許習得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

表2 NVが検出された集団発生事例

事例 NO	発生日	原因 施設	感染経 路(原因 食品)	喫食 者数 (入所 者)	患者	NV陽性数/検査数				遺伝子型 (例数)
						患者	従事	食品	拭取	
①	1.2	特別養護 老人施設	感染症	80	37	11/12	0/10	1/6		GII/4(7)
②	1.20	老人会	不明	17	5	2/2				GII
③	1.29	介護老人 保健施設	夕食	73	23	5/6	3/4	1/6	0/4	GII4(8) (患4、従3、食1)
④	2.8	飲食店	昼食(カキ 焼き食べ)	38	19	3/4				GI4(1)、 GII16(1)
⑤	2.14	飲食店	会席料理 [すし屋]	29	18	4/6	0/6	0/2	0/5	GI8(3)、GII4(1) GII6(1)
⑥	3.30	飲食店 (弁当店)	昼弁当	120	57	12/14	4/6			GII6(11) (患7、従4)

* No.3~6は食中毒事

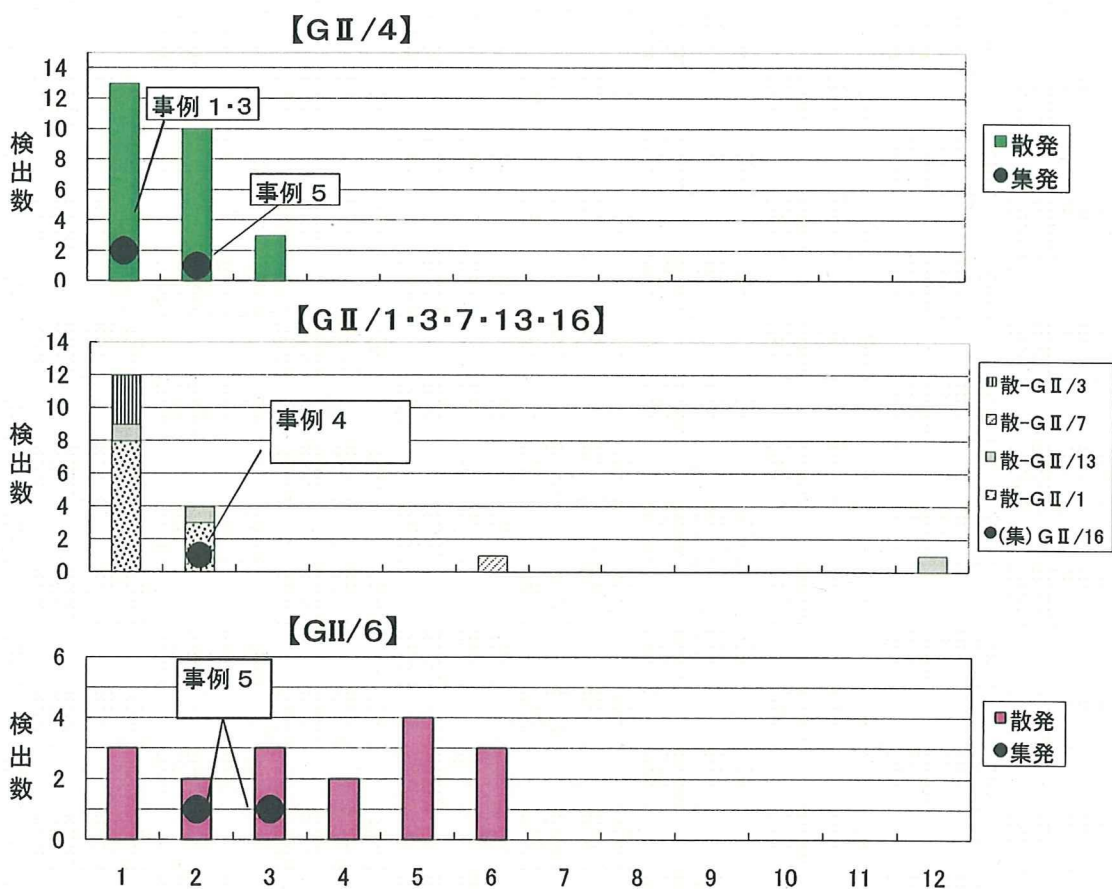


図3 月別の遺伝子型別検出状況

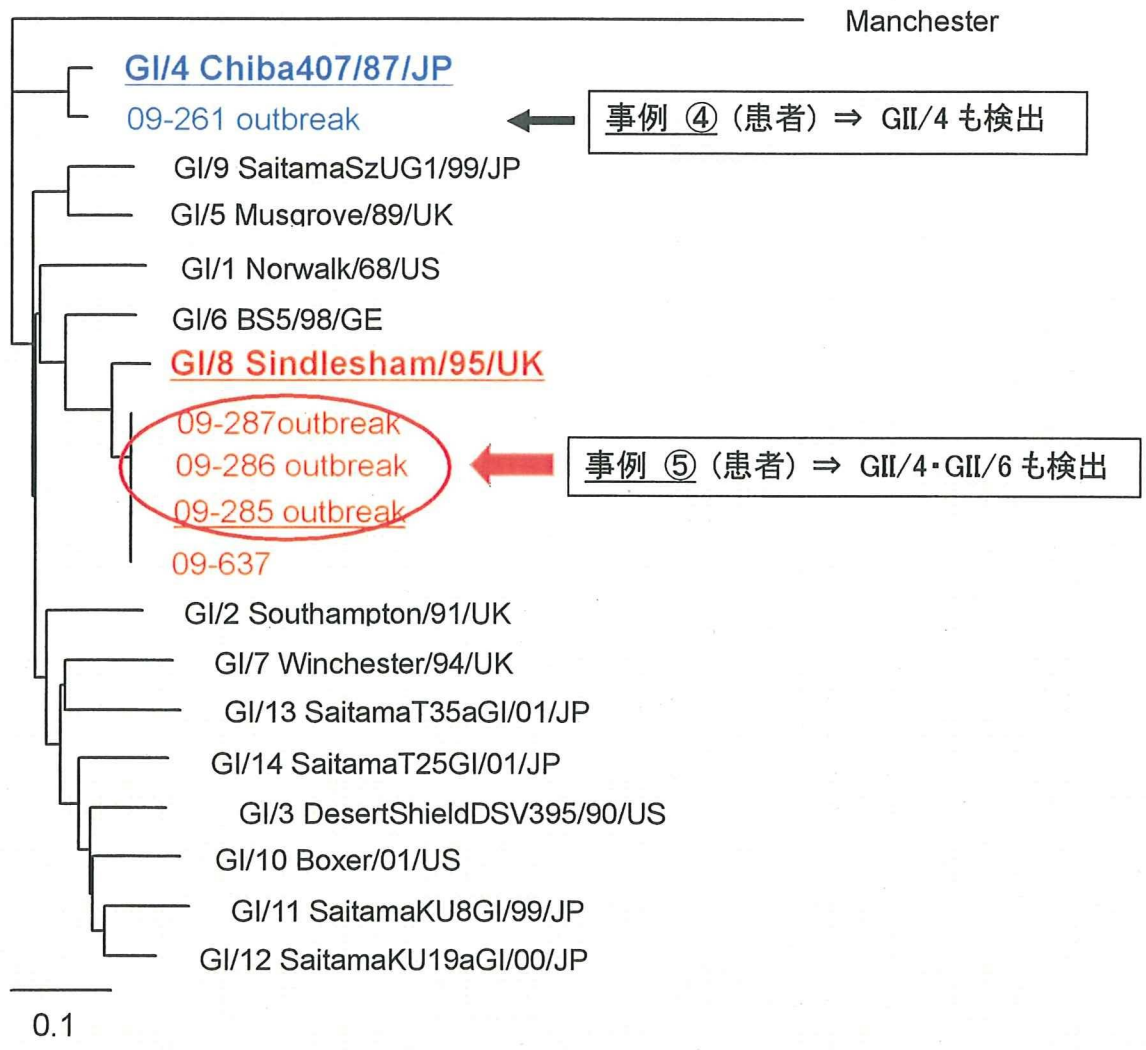


図4 NVGI の系統樹

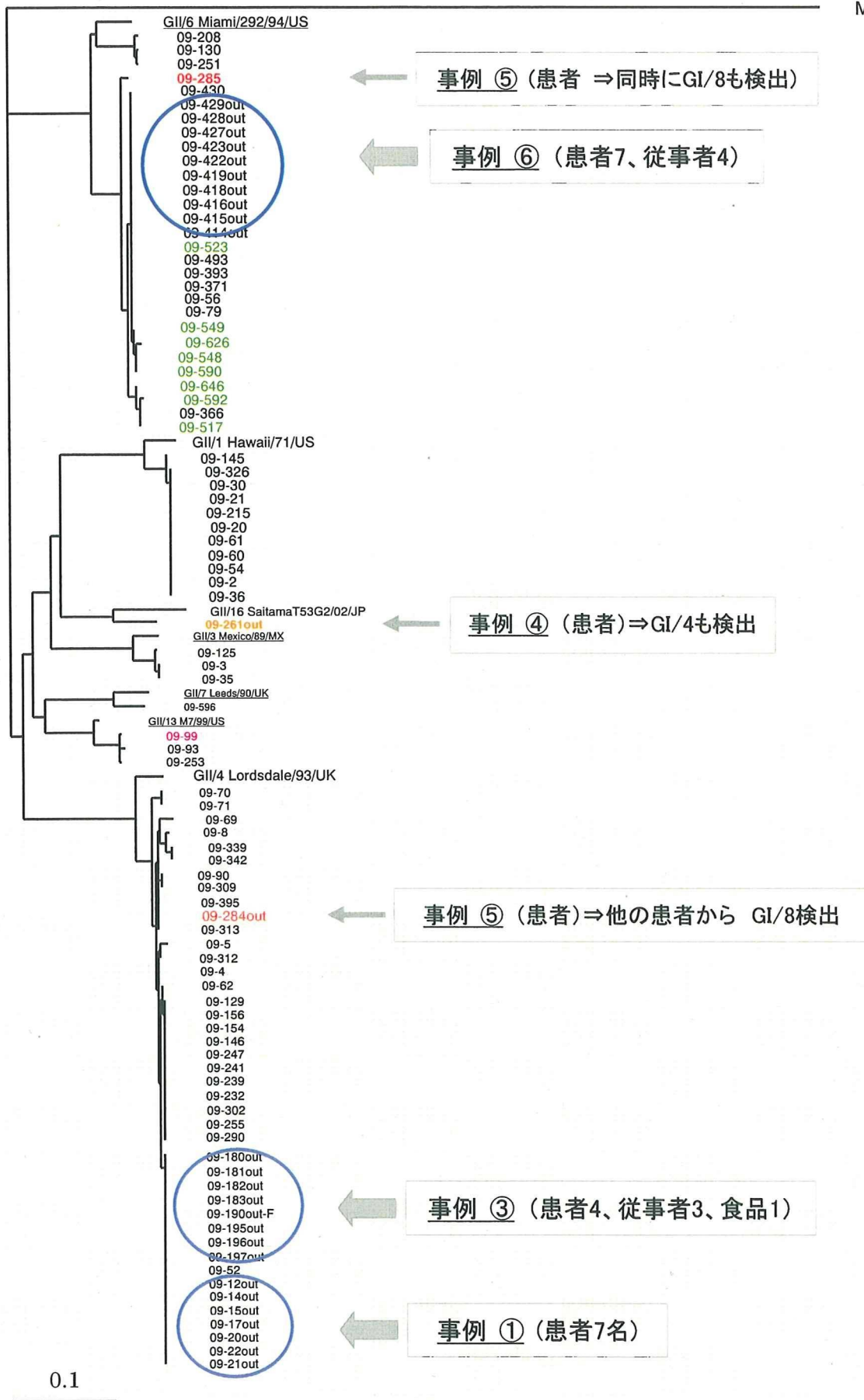


図5 NVGII の系統樹

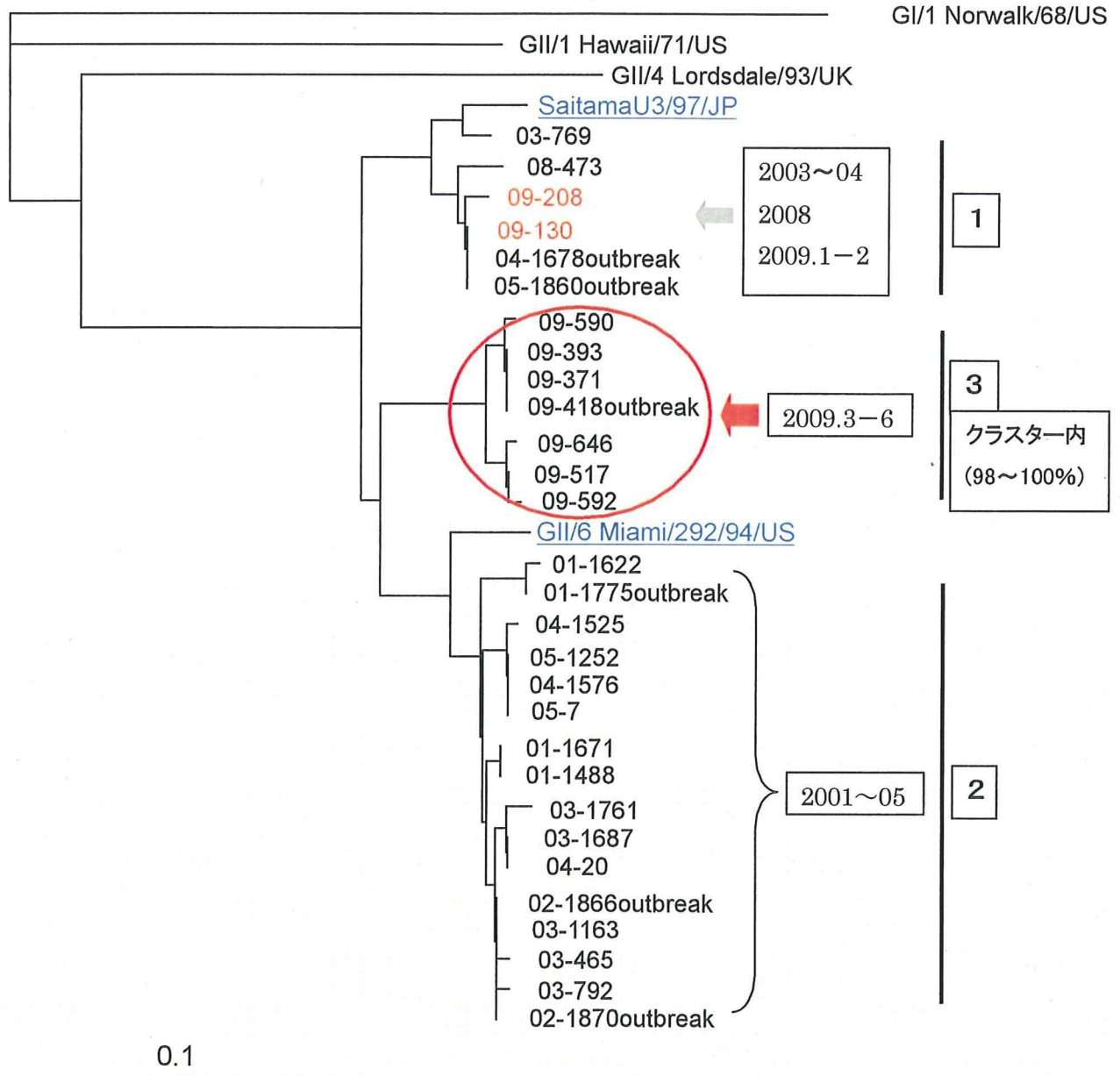


図6 NVGII/6 の系統樹

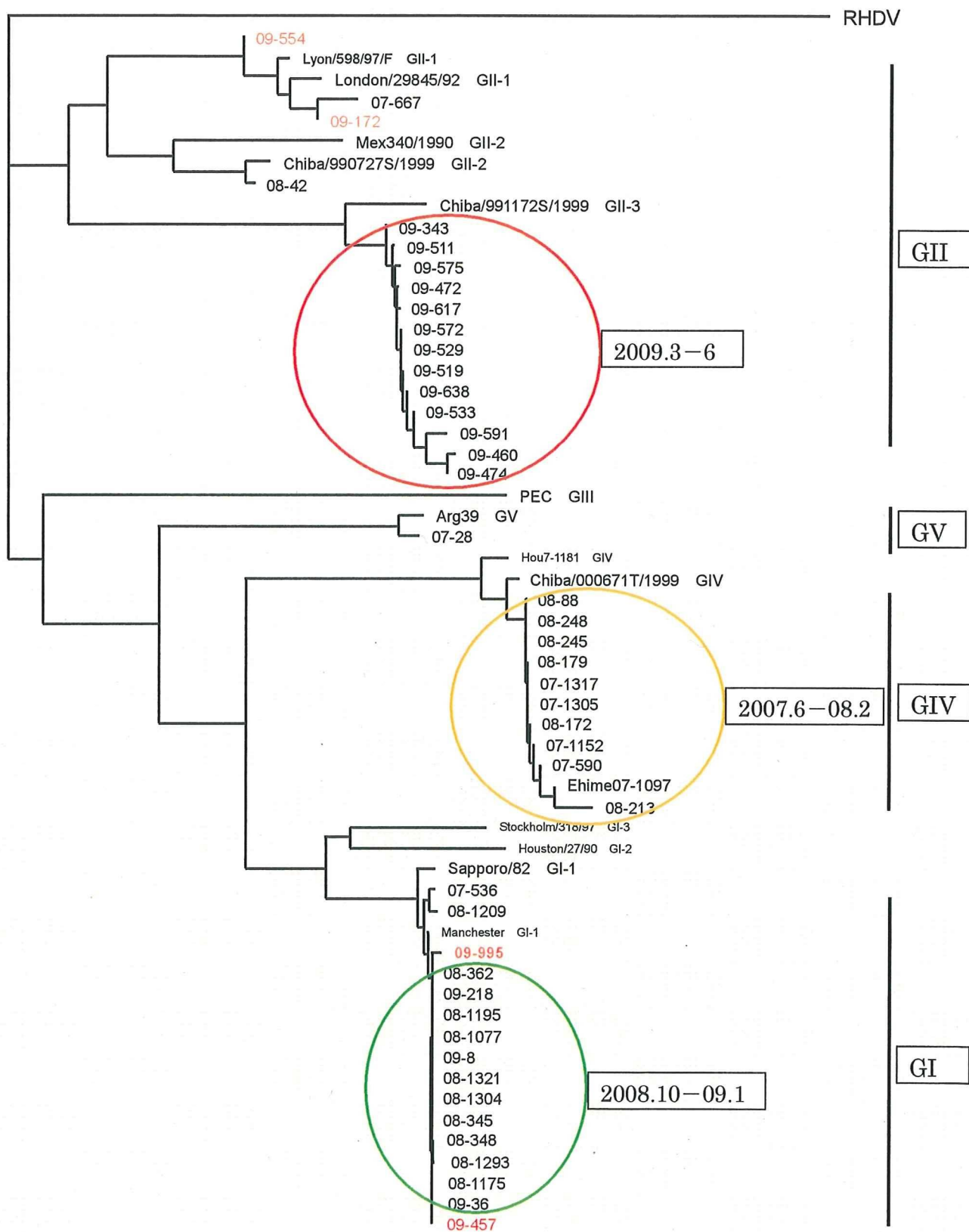


図7 SV の系統樹

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

「食品中のウイルスの制御に関する研究」

協力研究報告書

熊本県におけるイノシシとシカの E 型肝炎ウイルス汚染実態調査

研究協力者： 原田 誠也（熊本県保健環境科学研究所）
研究分担者： 田中 智之（堺市衛生研究所）
研究協力者： 西村 浩一、清田 直子（熊本県保健環境科学研究所）
研究協力者： 李 天成（国立感染症研究所）

研究要旨：

熊本県内で捕獲されたイノシシ 118 頭とシカ 59 頭から筋肉、肝臓及び血液等を採取し、Nested RT-PCR 法で E 型肝炎ウイルス（HEV）の汚染実態調査を行ったところ、シカはすべて陰性であったが、イノシシは 12 頭（10.2%）から HEV 遺伝子が検出された。ダイレクトシーケンスによる遺伝子型別では、地域特異的に 6 頭ずつ G3 と G4 に分類され、このことは制限酵素 *Hha* I による切断パターンでも簡易的に鑑別することが可能であった。

なお、筋肉や肝臓等からの有効な検査法を確立するため、検体の処理法（50%PBS 乳剤、ドリップ）、HEV-RNA 抽出法（AGPC 法、QIAamp viral RNA Mini kit 法）及び RT-PCR 法の標的（ORF1、ORF2）を比較検討した。その結果、50%PBS 乳剤、AGPC 法、ORF2 を標的とした RT-PCR 法の組合せが最も優れていた。

A. 研究目的

E 型肝炎は、E 型肝炎ウイルス（HEV）に汚染された食品や水の飲食に起因する経口感染症で、従来、輸入感染症として位置づけられてきた。しかし、近年、イノシシ、シカ、ブタ等の肉や肝臓の生食あるいは加熱不十分なままでの喫食等による国内感染事例が数多く報告され、土着株による動物由来感染症として関心が高まっている。

熊本県の E 型肝炎届出数は、2004 年の 1 例のみであったが、2006 年 1 月～3 月に 5 例が集中し、推定原因としてイノシシ肉やシカ肉の喫食が報告されている。

本研究は、熊本県内で捕獲されたイノシシとシカの肉、肝臓等の HEV 汚染実態を調査し、県民の健康被害発生の未然防止を図るとともに、食肉等からの効果的

な HEV 検査法を確立することを目的とした。

B. 研究方法

1. 材料

熊本県内の 3 保健所（八代、人吉、天草）、地元猟友会及び食肉処理業者の協力の下、イノシシとシカの筋肉、肝臓又は血液を採取し検査材料とした。内訳は、イノシシ：118 頭分 190 検体（筋肉：72、肝臓：86、血液：32）及びシカ：59 頭分 125 検体（筋肉：40、肝臓：59、血液：26）で、捕獲地域別に分類し表 1 に示した。

2. 方法

HEV 遺伝子の検査は、国立感染症研究所（感染研）の E 型肝炎検査マニュアルに記載された Nested RT-PCR 法に準じたが、検査に際し、検体の前処理法、HEV-RNA

の抽出法及びプライマーの検討を行った。

1) 検体の前処理の検討

・筋肉、肝臓：

①鋏で筋肉や肝臓を細切後、2～3gを取り、等量の PBS(-)を加えてボルテックス混合した 50%乳剤

②解凍時に生じたドリップ

・血液：凍結された全血の解凍液

上記の前処理試料を 3,000 r.p.m. で 10 分間遠心し、上清を RNA 抽出に使用した。

2) RNA 抽出法の検討

③AGPC 法

④QIAamp viral RNA Mini kit 法

3) プライマーの検討

⑤Mizuo ら (JCM, 40, p.3209, 2002) の ORF1 のプライマー(1st:HE090/094, Nested:HE092/095)

⑥感染研の E 型肝炎検査マニュアルの ORF2 のプライマー(1st:HEV-F1/R2, Nested:HEV-F2/R1)

4) DNase 処理

QIAamp viral RNA Mini kit 法で抽出した RNA 溶液のみ DNase 処理を追加した。

5) Nested RT-PCR 法

上記 2 領域のプライマーを用い、E 型肝炎検査マニュアルに準じた Nested RT-PCR 法により検査を行った。ただし、c-DNA の合成には random primer を使用し、PCR の反応液量は 25 μ l、サイクル数は 1st PCR が 40 サイクル、Nested PCR が 35 サイクルとした。

3. ORF2-Nested PCR 産物の制限酵素切断パターン (RFLP) 分析

PCR 終了後、2%アガロースゲルで電気泳動し、HEV と思われる ORF2 の Nested PCR 増幅バンドをゲルから切り出し精製した。精製 DNA 5 μ l を制限酵素 (*Hha* I, *Sac* I 及び *Sty* I) 10U と反応させて切断し、再度電気泳動して切断パターンを観察した。

なお、RFLP 解析のレファレンスとして

日本で分離され全塩基配列が解読されている HEV のうち 45 株 (遺伝子型 G3 : 30 株及び G4 : 15 株, Accession No. : AB073912, AB074915, AB074917, AB074920, AB089 824, AB091394, AB091395, AB097811, AB097812, AB099347, AB189070, AB189 071, AB189072, AB189074, AB193177, AB193178, AB200239, AB220971, AB220 972, AB220975, AB220978, AB220979, AB222182, AB222183, AB222184, AB236 320, AB248520, AB248521, AB248522, AB291951, AB291952, AB291953, AB291 954, AB291957, AB291958, AB291959, AB291960, AB291961, AB291962, AB291 963, AB291964, AB291965, AB291967, AB292955, AB292956) から ORF 2 の Nested PCR 増幅領域を抜き出し、制限酵素 (*Hha* I, *Sac* I 及び *Sty* I) による切断サイズを調査した。

4. Nested PCR 産物のシーケンス解析

ORF2 領域の Nested PCR 増幅バンドを精製後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を解読した。

(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。

C. 研究結果

1. イノシシ及びシカの HEV 保有実態

Nested RT-PCR 法によるイノシシとシカの HEV 遺伝子検査結果を表 2 に示した。シカ 59 頭分 125 検体 (筋肉 : 40、肝臓 : 59、血液 : 26) はすべて陰性であったが、イノシシ 118 頭分 190 検体 (筋肉 : 72、肝臓 : 86、血液 : 32) 中 12 頭分 17 検体 (筋肉 : 2、肝臓 : 11、血液 : 4) が陽性となった。このうち、筋肉、肝臓及び血液が揃ったイノシシ 20 頭分の検査結果を表 3 に示した。筋肉、肝臓及び血液のすべて陽性が 2 頭、肝臓及び血液が 1 頭、肝臓のみが 2 頭、血液のみが 1 頭であっ

た。

2. 検査法に関する諸条件の検討

1) 検体の前処理の検討

①50%乳剤と②ドリップを用いた RT-PCR の結果を図 1 に示した。HEV 陽性 17 検体のうち、血液を除いた筋肉と肝臓 12 検体を比較すると、陽性数は、①が 12 検体、②が 6 検体で、①の方が勝っていた。

2) HEV-R NA 抽出法

③AGPC 法と④QIAamp viral RNA Mini kit 法を用いた RT-PCR の結果を図 2 に示した。HEV 遺伝子陽性となった 17 検体を用いて比較すると、陽性数は、③が 17 検体、④が 12 検体で、③の方が勝っていた。

3) プライマーの標的部位

⑤Mizuo らの ORF1 プライマーと⑥E 型肝炎検査マニュアルの ORF2 プライマーを用いた RT-PCR の結果を図 3 に示した。HEV 陽性 17 検体を用いて比較すると、Nested RT-PCR では双方ともすべて陽性となったものの、1st PCR では⑤が 10 検体、⑥が 16 検体陽性で、⑥の方が勝っていた。

2 ORF2-Nested PCR 産物の RFLP 解析

HEV 遺伝子が検出された 12 頭分 17 検体の ORF2-Nested PCR 産物を制限酵素 *Hha* I、*Sac* I 及び *Sty* I で切断した結果を図 4 に示す。切断パターンは *Hha* I が A (切断なし)、B (約 190bp の同じ程度のサイズに切断) 及び C (約 210bp と 170bp の 2 本に切断) の 3 種類、*Sac* I が A (切断なし) と B (約 250bp と 120bp の 2 本に切断) の 2 種類、*Sty* I が A (切断なし) と B (約 330bp と不鮮明な約 50bp) の 2 種類にそれぞれ分類された。また、表 4 に示すように、本県で確認されたイノシシの HEV 遺伝子は、*Hha* I、*Sac* I 及び *Sty* I を用いた切断パターンの組み合わせにより、八代・宇城地域が AAA、天草地域が BBB 及び人吉・球磨地域が主に CAA に分類された。

RFLP 解析のレファレンスとして用いた G3 の HEV 30 株と G4 の HEV15 株の *Hha* I、*Sac* I 及び *Sty* I による理論上の切断パターンと本県の HEV のパターンをそれぞれ表 4 と図 4、表 5 と図 5 及び表 6 と図 6 に示した。レファレンスの G3 と G4 は、それぞれ *Hha* I で 10 種類と 6 種類、*Sac* I で 3 種類と 2 種類、*Sty* I で 2 種類と 4 種類に分類された。*Sac* I 及び *Sty* I では、G3 と G4 の切断パターンが同じで鑑別不可能となることのあるのに対し、*Hha* I では G3 と G4 のパターンがすべて異なっていた。このことから、*Hha* I のみで HEV の遺伝子型を区別できる可能性が示唆された。すなわち、本県で検出された HEV の切断パターンのうち、*Hha* I で切断されない A は G3 (切断なし) に、2 本に切断される C も G3 (211bp、167bp) に、190 bp 付近に 1 本のバンドがみられる B は G4 (189bp、187bp、2bp) ではないかと考えられた (それぞれ表 4 中に網掛けで示した)。したがって、ORF2-Nested PCR 産物の RFLP 解析で確認された AAA と BBB は G3、CAA は G4 と推定された。

3 Nested PCR 産物のシーケンス解析

ORF2 のシーケンス解析によって得られた遺伝子型は RFLP の結果と一致した。すなわち、検体 No. 1 と No. 9~17 が G3、No. 2~7 が G4 で、同じ G3 でも No. 9~17 は完全に一致していたが、検体 No. 1 は少し異なっていた。

なお、捕獲地域別の HIV 陽性頭数、RFLP パターン及び遺伝子型を図 8 に示した。

D. 考察

熊本県の E 型肝炎届出数は、2004 年の 1 例のみであったが、2006 年 1 月~3 月に 5 例が集中し、イノシシ肉やシカ肉の喫食が原因ではないかと推定されていた。

そこで、熊本県内で捕獲されたイノシシとシカの筋肉、肝臓又は血液を採取し、

HEV の汚染実態調査を行ったところ、シカは陰性であったが、イノシシは約 10% から HEV 遺伝子が検出された。近隣の福岡県や長崎県も同程度の検出率であることから、九州地方のイノシシは約 10% が HEV に感染していると思われる。

近年、全国的にイノシシやシカ等の野生動物が増加し、農作物や森林の生態系への被害が大きな問題となっている。熊本県でも県南部の宇城・八代地域、人吉・球磨地域、天草地域は被害の大きな地域であり、有害鳥獣駆除等で捕獲され食用となる機会も多い。そのため、各地にイノシシやシカ専用の食肉処理場も建設され始めている。今回の調査で HEV 陽性となったイノシシ 118 頭中 12 頭 (10.2%) の内訳は、猟師個人から採取した宇城・八代地域では 34 頭中 1 頭 (2.9%) であったが、食肉処理場で検体を採取した天草地域と人吉・球磨地域では、それぞれ 64 頭中 5 頭 (7.8%) と 20 頭中 6 頭 (30%) で、地域により検出率に差があった。さらに HEV の遺伝子型は、宇城・八代地域と人吉・球磨地域が主に G3、天草地域が G4 で、宇城・八代地域と人吉・球磨地域では同じ G3 でも少し異なり、地域特異性が見られた。これはイノシシの血縁関係又は群生活による感染と考えられるが、食肉処理場における相互汚染も考慮しておく必要がある。なお、遺伝子型は制限酵素 *Hha* I 切断でも推定可能であった。

また、九州各県で検出される HEV の遺伝子型は、本州以南で検出率の高い G3 が主体であるが、本県では G3 と G4 が同数検出された。G4 は G3 に比べ病原性が強いとの報告もあることから、G4 が検出された地域では特に注意が必要であろう。

筋肉、肝臓、血液の揃ったイノシシ 20 頭の検査では、肝臓からの検出率が最も高かった。さらに検体の前処理法、RNA の抽出法及びプライマーの比較検討結果

を加えると、肝臓を細切して PBS(-) 等で 50% 乳剤とし、その遠心上清から AGPC 法により HEV-RNA を抽出後、E 型肝炎マニュアルに記載された ORF2 のプライマーを使用した Nested RT-PCR で検出する方法が最も経済的で感度の良い検査方法であろうと思われた。

最後に、今回の調査でシカは陰性であったが、国内ではシカ肉による事例も報告され、わずかながら HEV 遺伝子も検出されている。また、最近では食肉衛生検査所によるブタの HEV 汚染調査が数多く報告され、こちらもわずかではあるが肥育ブタから HEV 遺伝子が検出されている。このことから、今後、シカとブタの検査頭数を強化し、引き続き調査を行う予定である。

E. 結 論

1 熊本県内で捕獲されたイノシシとシカの HEV 遺伝子検査を行った結果、シカは陰性であったが、イノシシは約 10% が陽性となった。したがって、イノシシ肉は生食を避け、十分加熱して喫食する必要がある。

2 イノシシの部位別検出率と検査諸条件の検討から、50% 肝臓乳剤遠心上清から AGPC 法で HEV-RNA を抽出し、ORF2 プライマーで Nested RT-PCR を行う方法が最も経済的で感度の良い方法であった。

4 HEV の遺伝子型は G3 と G4 が半々で、イノシシの捕獲地域によって特異性があった。また、制限酵素 *Hha* I による RFLP 解析で遺伝子型の推定が可能であった。

5 今回の調査で、シカは陰性であったが、国内ではシカからの感染事例もある。また、ブタからも HEV 遺伝子が確認されていることから、今後、イノシシともども調査を続ける必要がある。

F. 健康危機管理情報

熊本県では約10%のイノシシがHEVに感染していることが確認された。したがって、喫食する際には、調理時の相互汚染に注意し、十分加熱する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 倫理面への配慮

なし

表 1 HEV 汚染実態調査における捕獲地域別検体数

捕獲場所	イノシシ (118 頭)				シカ (59 頭)				合計
	筋肉	肝臓	血液	計	筋肉	肝臓	血液	計	
宇城・八代地域	32	51	3	86	6	25	6	37	123
人吉・球磨地域	20	20	20	60	34	34	20	88	148
天草地域	20	15	9	44				0	44
計	72	86	32	190	40	59	26	125	215

表 2 HEV 汚染実態調査における HEV 遺伝子陽性検体数

捕獲場所	イノシシ (12 頭)				シカ (0 頭)				合計
	筋肉	肝臓	血液	計	筋肉	肝臓	血液	計	
宇城・八代地域		1		1				0	1
人吉・球磨地域	2	5	4	11				0	11
天草地域		5		5				0	5
計	2	11	4	17	0	0	0	0	17

表 3 筋肉、肝臓、血液が揃ったイノシシ 20 頭分の検査部位別検出率比較

検査部位	筋肉	肝臓:	血液
陽性数(%)	2(10%)、	5(25%)、	4(20%)

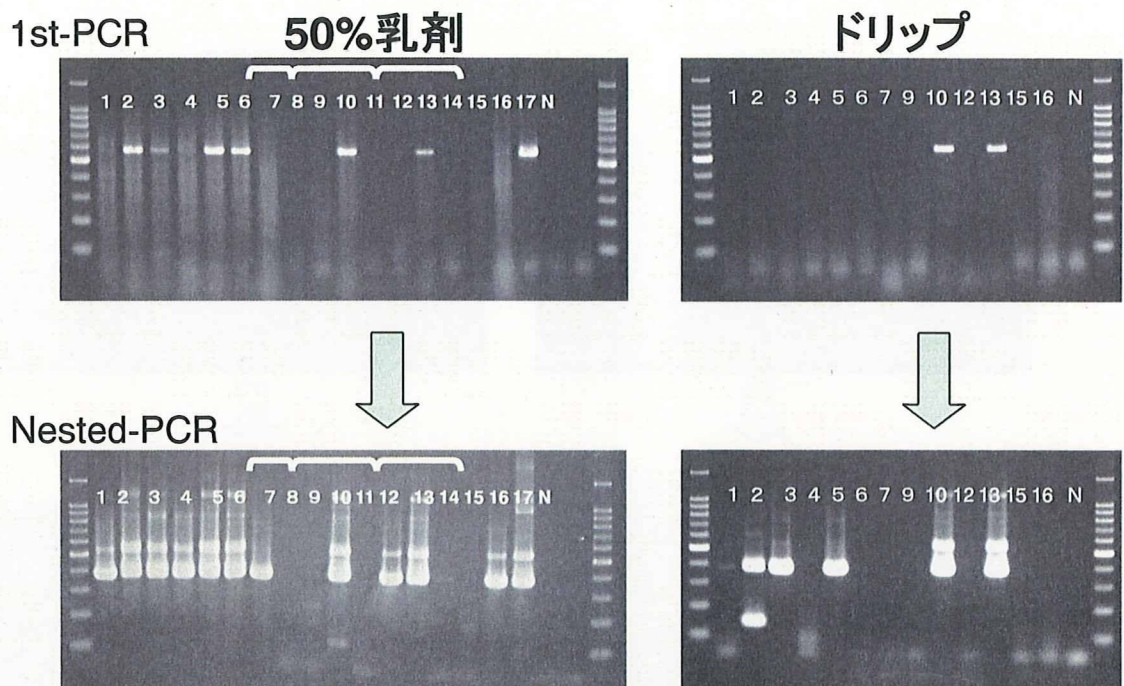


図1 50%乳剤とドリップによる検査結果の比較

1~7,10,13,15,16: 肝臓、 9,12: 筋肉、 8,11,14,17: 血液

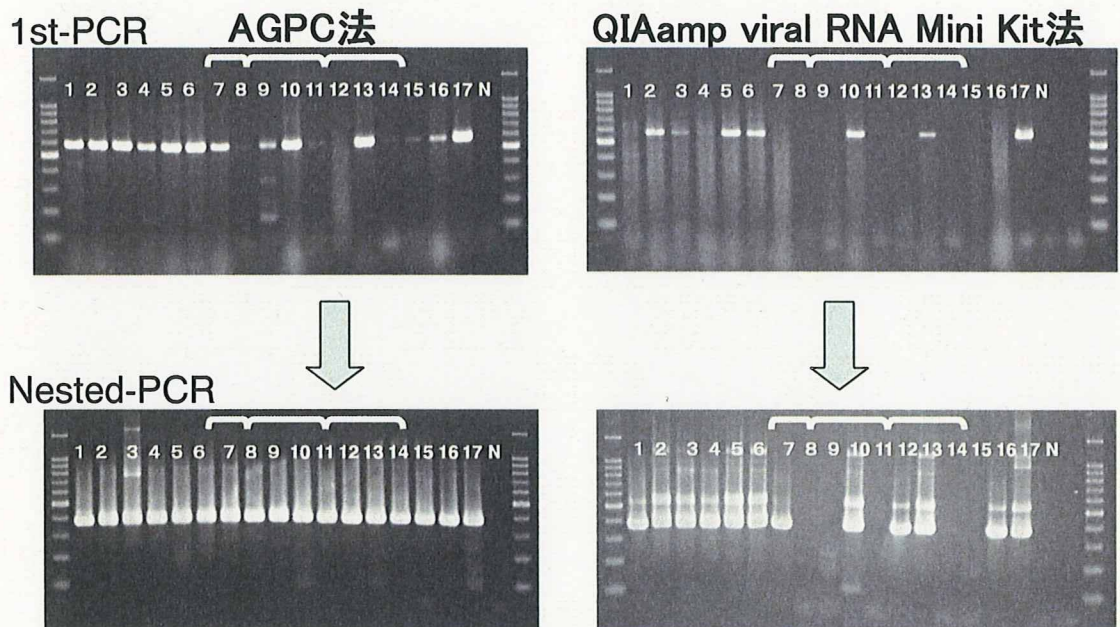


図2 AGPC法とQIAamp viral RNA Mini Kit法による検査結果の比較

1~7,10,13,15,16: 肝臓、 9,12: 筋肉、 8,11,14,17: 血液

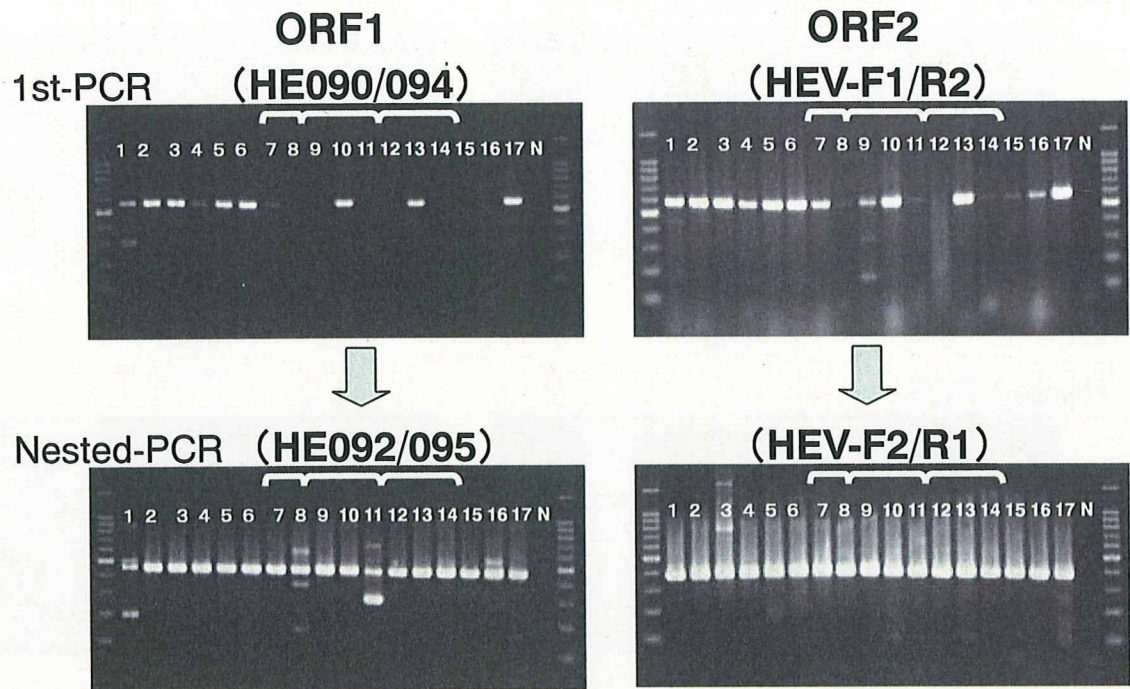


図3 ORF1領域のプライマーとORF2領域のプライマーによる検査結果の比較

1~7,10,13,15,16:肝臓、9,12:筋肉、8,11,14,17:血液

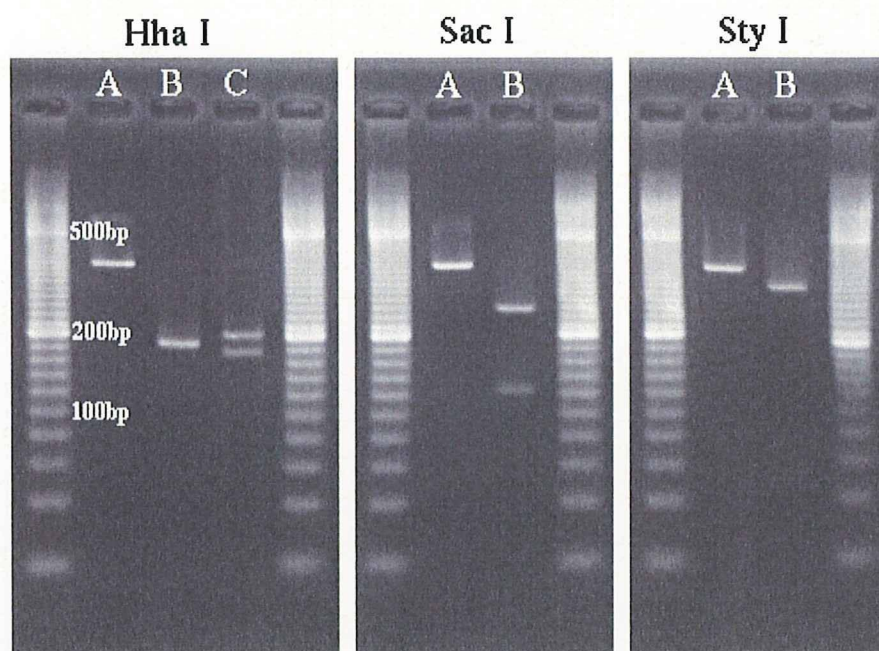


図4 HEV 遺伝子陽性検体の制限酵素切断パターン

表4 HEV 遺伝子陽性検体の制限酵素切断パターン解析

個体 番号	検体 番号	部位	制限酵素			パターン	捕獲地域
			<i>Hha</i> I	<i>Sac</i> I	<i>Sty</i> I		
1	1	肝臓	A	A	A	AAA	宇城・八代地域
2	2	肝臓	B	B	B	BBB	天草地域
3	3	肝臓	B	B	B	BBB	天草地域
4	4	肝臓	B	B	B	BBB	天草地域
5	5	肝臓	B	B	B	BBB	天草地域
6	6	肝臓	B	B	B	BBB	天草地域
7	7	肝臓	B	B	B	BBB	人吉・球磨地域
	8	血液	B	B	B	BBB	人吉・球磨地域
8	9	筋肉	C	A	A	CAA	人吉・球磨地域
	10	肝臓	C	A	A	CAA	人吉・球磨地域
	11	血液	C	A	A	CAA	人吉・球磨地域
9	12	筋肉	C	A	A	CAA	人吉・球磨地域
	13	肝臓	C	A	A	CAA	人吉・球磨地域
	14	血液	C	A	A	CAA	人吉・球磨地域
10	15	肝臓	C	A	A	CAA	人吉・球磨地域
11	16	肝臓	C	A	A	CAA	人吉・球磨地域
12	17	血液	C	A	A	CAA	人吉・球磨地域

表5 *Hha* I による切断パターン

genotype	切断サイズ	株数	
G3	127, 115, 96, 40	2	
	175, 107, 96	1	
	175, 109, 94	1	
	175, 117, 86	1	
	203, 167, 8	1	
	203, 175	7	
	211, 127, 40	1	
	211, 167	C	12
	251, 127		1
切断なし	A	3	
G4	129, 117, 72, 63, 2	1	
	164, 124, 63, 23, 2, 2	6	
	187, 175, 14, 2	1	
	187, 94, 70, 23, 2, 2	1	
	189, 124, 63, 2	5	
	189, 187, 2	B	1

Hha I

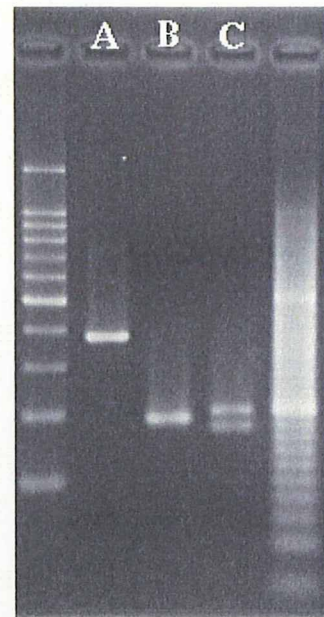


図5 *Hha* I による切断パターン

表6 *Sac* I による切断パターン

genotype	切断サイズ	株数
G3	230, 148	4
	253, 125	1
	切断なし	25
G4	253, 125	8
	切断なし	7

表7 *Sty* I による切断パターン

genotype	切断サイズ	株数
G3	330, 48	9
	切断なし	21
G4	282, 48, 48	3
	282, 96	4
	330, 48	7
	切断なし	1

Sac I

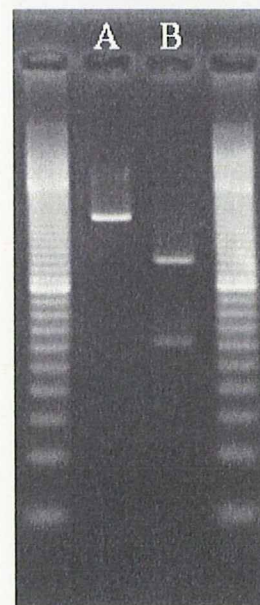


図6 *Sac* I による切断パターン

Sty I



図7 *Sty* I による切断パターン

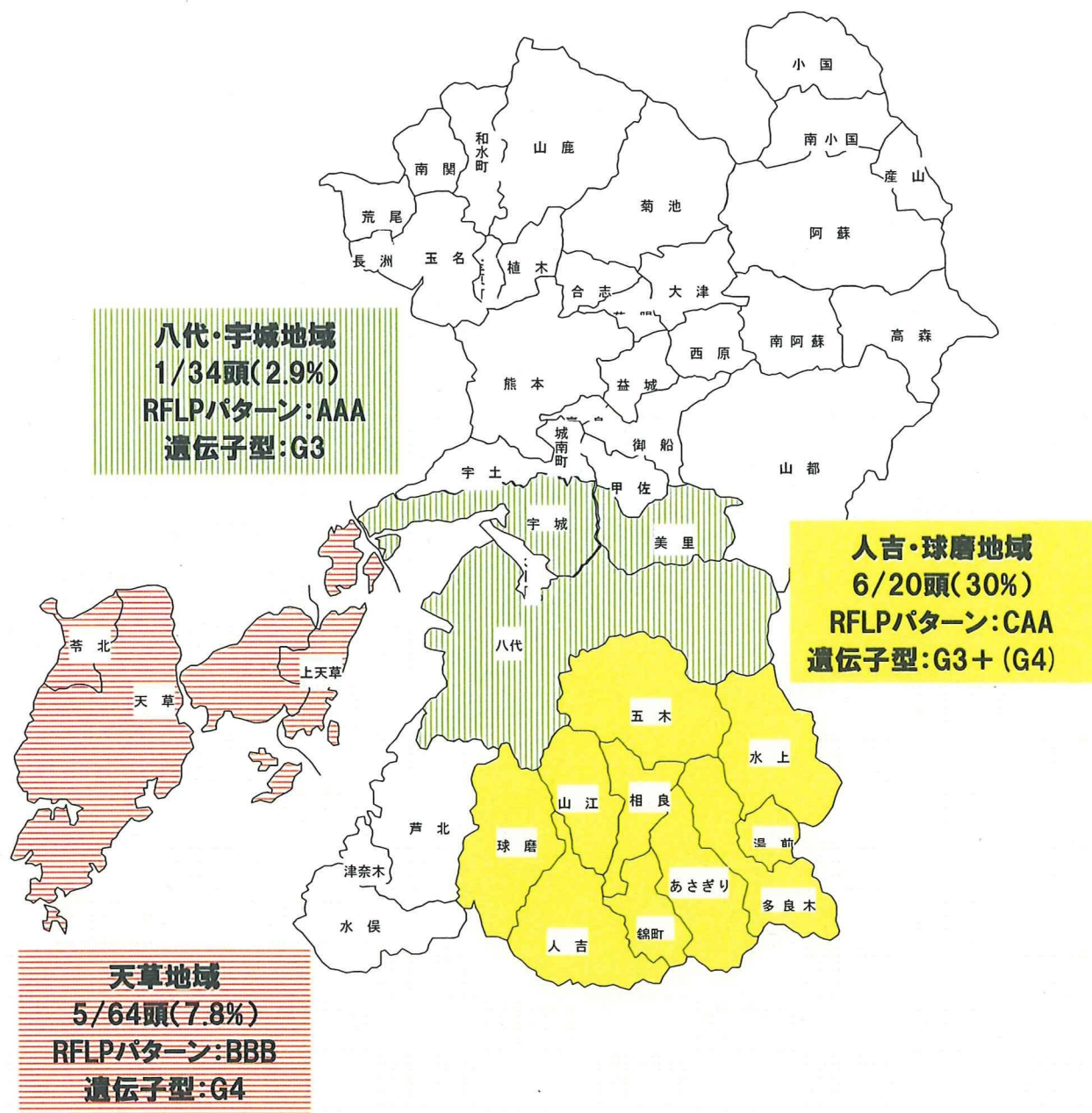


図 8 地域別 HIV 陽性頭数、RFLP パターン及び遺伝子型

感染性胃腸炎の集団発生例から検出されたノロウイルスの遺伝子解析

研究協力者：三浦 美穂（宮崎県衛生環境研究所）

研究分担者：田中 智之（堺市衛生研究所）

研究分担者：北野 智一、山本 正悟（宮崎県衛生環境研究所）

研究要旨：

2009 年 12 月に県内で発生した食中毒事例で検出されたノロウイルス (NV) について、遺伝子解析を行った。食中毒事例 2 事例から Genogroup I が検出され、原因食品としてカキが推定された。食品については検査が実施できなかったため、患者の検体より検出された NV を用いて遺伝子解析を行い、近縁性を検討した結果、2 事例で同一クラスターを形成した。カキの産地で検出された NV の遺伝子解析のデータと比較することができれば、行政判断にさらに役立つ情報を提供できると思われた。

A. 研究目的

2009/2010 シーズンは、2009 年 11 月に入ってもノロウイルス (NV) の流行はみられなかったが、12 月にカキが原因と推定される食中毒が 2 事例発生した。これらの事例で検出された NV の遺伝子解析を行い、株間の近縁性について検討した。

PCR 陽性となった検体について、cDNA を鋳型として PCR 反応を行った。PCR のプライマーには、カプシド領域増幅用に COG1F/G1-SKR を用い、PCR 産物については、ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。系統樹解析はカプシド領域 351bp について MEGA4 を用いた近隣結合法により行った。

(倫理面への配慮)

B. 研究方法

1. 材料

2009 年 12 月に発生した食中毒 2 事例より得られた患者便 8 検体を対象とした。

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。

2. 方法

平成 15 年 11 月 5 日厚生労働省食安監発第 105001 号「ノロウイルスの検出法」に準じて RNA 抽出を行った。抽出 RNA から cDNA を合成し、リアルタイム PCR 法を用いて NV の検出を行った。リアルタイム

C. 研究結果

食中毒事例 2 事例とも生ガキを食べており、カキが原因食品と推定されたが、食品については残品がなく、検査を実施することができなかった。

1. 事例 1

2009年12月11日に飲食店で食事をした2グループ13名中9名が12月12日～12月13日の間に胃腸炎（下痢・腹痛・吐気・発熱・頭痛等）を発症した。発症者9名からNVG Iが検出された。調理従事者4名は健康者でNVは検出されなかった。2グループとも生ガキを使用した料理が供されており、発症者がすべてカキを喫食していることからカキが原因食品と推定された。

2. 事例2

2009年12月22日に飲食店で食事をした2グループ23名中8名が12月23日～25日の間に胃腸炎（水様性下痢・腹痛・嘔吐・吐気・発熱）を発症した。また、12月23日に同店で2グループ14名中7名が12月24日～35日の間に胃腸炎（水様性下痢・腹痛・嘔吐・吐気・発熱）を発症した。4グループの発症者15名のうち9名の検便を実施し、8名からNVが検出された。調理従事者2名は健康者で1名の検便を実施したがNVは検出されなかった。4グループとも生ガキを使用した料理が供されており、発症者がすべてカキを喫食していることからカキが原因食品と推定された。

3. 結果

2事例の6グループについて各グループ1～2検体、合計8検体を選び、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し系統樹解析を行った。カプシド領域351bpの塩基配列について7検体で100%一致した。1検体については、塩基配列が決定できない部分があったが、系統樹解析では同一クラスターを形成した。

D. 考察

2事例で原因食品と推定されたカキの産地は同一県であった。カキからは複数の遺伝子型のNVが検出されるため、確定することはできないが、患者から検出されたNVの遺伝子解析結果より、同じ海域のカキであることが考えられた。各地の生産地でカキから検出されたNVの遺伝子解析のデータと比較することができれば、よりくわしい検討ができると考えられた。カキなどの二枚貝から検出されたNVも含め、遺伝子解析のデータベース構築の必要性がある。

E. 結論

食中毒事例において、食品の残品がなく原因食品が決定できない場合、患者から検出されたNVの遺伝子解析を有効に活用するためには、遺伝子解析のデータベース構築が必要だと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

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

図 1. NV の分子系統樹

