

喫食に関する情報（発症前14～50日間）

1) 生の野菜を食べましたか？（食べた、食べなかった、不明）

「食べた」と回答された方は、以下の表の該当する選択肢に○をつけてください。「食べなかった」「不明」と回答された方は2)以降に進んでください。

生野菜の種類	喫食の有無	喫食回数	喫食場所 *外食とは飲食店などを意味する	弁当・惣菜・ケータリングなど 買ってきたものを 食べましたか
レタス	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
キャベツ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
トマト	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
ピーマン	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
カブ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
キュウリ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
ネギ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
タマネギ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
セロリ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
ニンジン	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
パセリ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
有機野菜（種類を 具体的に記載 _____）	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明

冷凍野菜 ()	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
瓶詰めや缶詰の 野菜 ()	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
その他 ()	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明

2) 生の果物類を食べましたか？ (食べた、食べなかった、不明)

「食べた」と回答された方は、以下の表の該当する選択肢に○をつけてください。「食べなかった」「不明」と回答された方は3)以降に進んでください。

果物の種類	喫食の有無	喫食回数	喫食場所 *外食とは飲食店などを 意味する	弁当・惣菜・ケ ータリングなど 買ってきたもの を食べましたか
イチゴ	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
イチゴ以外のベ リー類 ()	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
メロン	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
ブドウ	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
サクランボ	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
マンゴー	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
未殺菌のフルー ツジュース ()	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
冷凍の果物 ()	食べた・食べなかった・ 不明	1〜3回・4〜6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明

瓶詰めや缶詰の 果物 (_____)	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
その他 (_____)	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明

3) 生または十分に加熱されていない肉類を食べましたか？（食べた、食べなかった、不明）
「食べた」と回答された方は、以下の表の該当する選択肢に○をつけてください。「食べなかった」「不明」と回答された方は4)以降に進んでください。

肉の種類	喫食の有無	喫食回数	喫食場所 *外食とは飲食店などを 意味する	弁当・惣菜・ケ ータリングなど 買ったものを 食べましたか
牛	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
豚	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
鶏	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
その他の種類 (_____)	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
種類不明	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明

4) 生または十分に加熱されていない魚介類を食べましたか？（食べた、食べなかった、不明）

「食べた」と回答された方は、以下の表の該当する選択肢に○をつけてください。「食べなかった」「不明」と回答された方はここまでで終了です。

魚介類の種類	喫食の有無	喫食回数	喫食場所 *外食とは飲食店などを 意味する	弁当・惣菜・ケ ータリングなど 買ったものを 食べましたか
マグロ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明

サーモン (鮭)	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
ハマチ、ブリ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
タイ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
ヒラメ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
アジ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
イカ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
エビ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
ホタテ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
カキ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
アサリ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
ハマグリ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
大アサリ (ウチ ムラサキ)	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
アカガイ	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
その他 (_____)	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明
その他 (_____)	食べた・食べなかった・ 不明	1～3回・4～6回・ 7回以上・不明	家庭のみ・外食のみ・家 庭と外食・不明	食べた・食べなかった・ 不明

自由記載欄（上記選択肢にないもの、補足など）

次ページ以降にお進みください

具体的な喫食状況について（発症前14-50日）

発症前2-7週間（14-50日）に食べた食事のメニューの記載をお願いします。欠食で何も食べなかった場合は×を、思い出せない場合は？を該当する欄に記載してください。

発症14日前 月 日 曜日	朝食	昼食	夕食	その他の喫食
店名 (外食等の場合)				
発症15日前 月 日 曜日	朝食	昼食	夕食	その他の喫食
店名 (外食等の場合)				
発症16日前 月 日 曜日	朝食	昼食	夕食	その他の喫食
店名 (外食等の場合)				
発症17日前 月 日 曜日	朝食	昼食	夕食	その他の喫食
店名 (外食等の場合)				
発症18日前 月 日 曜日	朝食	昼食	夕食	その他の喫食
店名 (外食等の場合)				

(途中省略)

発症49日前 月 日 曜日	朝食	昼食	夕食	その他の喫食
店名 (外食等の場合)				
発症50日前 月 日 曜日	朝食	昼食	夕食	その他の喫食
店名 (外食等の場合)				

自由記載欄 (特徴的な出来事など)

ご協力ありがとうございました

平成22年6月9日

厚生労働省医薬食品局監視安全課

厚生労働省健康局結核感染症課

国立感染症研究所実地疫学専門家養成コース (FETP)

国立感染症研究所感染症情報センター

A型肝炎の報告数は2010年第10週以降過去2年間の報告数と比べ多く推移している(図1.ピークは第13週の26例)。報告数は減少傾向にあるものの、依然、週あたり10例前後の報告が継続している。

図1. 診断週別のA型肝炎流行曲線(2008年～2010年第21週 n=505)

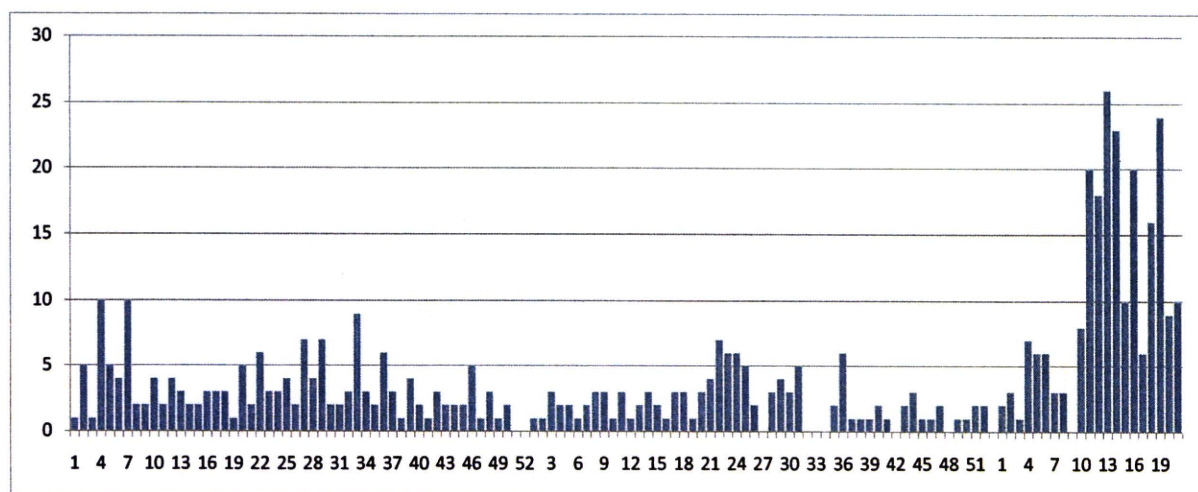
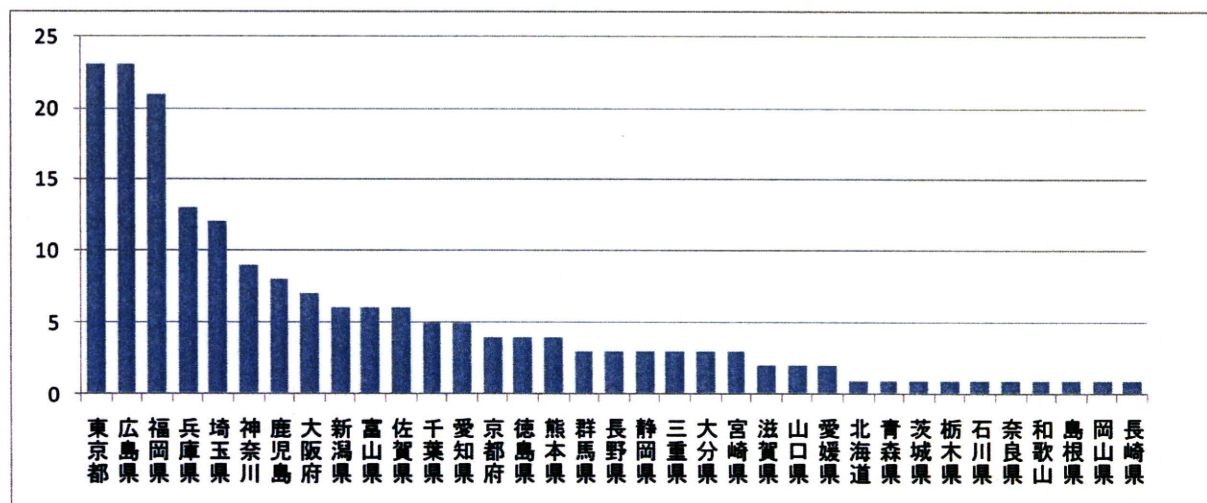


図2. A型肝炎報告例の住所地別報告数(2010年第10週～第21週の診断例 n=190)



A型肝炎のDiffuse Outbreakに関する更新情報-3

平成 22 年 6 月 9 日

厚生労働省医薬食品局監視安全課
 厚生労働省健康局結核感染症課

国立感染症研究所実地疫学専門家養成コース (FETP)
 国立感染症研究所感染症情報センター

A型肝炎の報告数は2010年第10週以降過去2年間の報告数と比べ多く推移している(図1.ピークは第13週の26例)。報告数は減少傾向にあるものの、依然、週あたり10例前後の報告が継続している。

図 1. 診断週別の A 型肝炎流行曲線(2008 年～2010 年第 21 週 n=505)

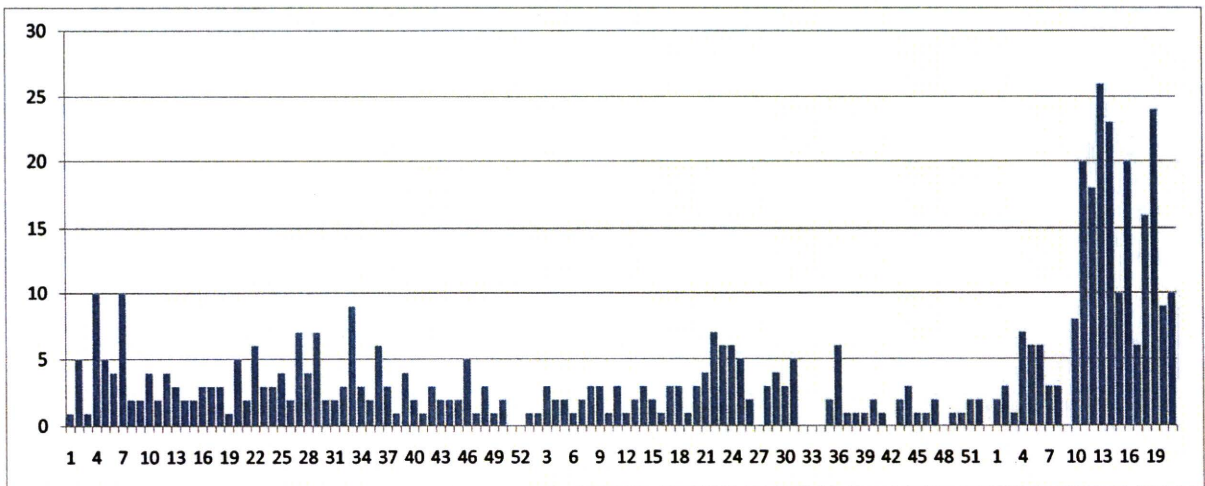
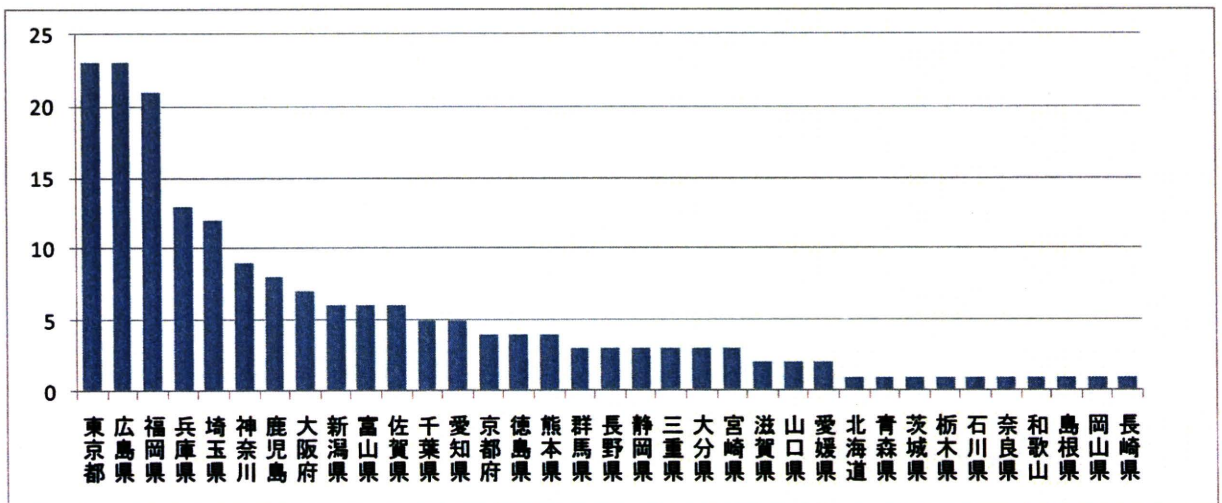


図 2 A 型肝炎報告例の住所地別報告数(2010 年第 10 週～第 21 週の診断例 n=190)



2010年第10～21週に報告された190例の住所地は、東京都23例、広島県23例、福岡県21例、兵庫県13例、埼玉県12例、神奈川県9例、鹿児島県8例、大阪府7例の順となっている(図2)。年齢の中央値は49歳(範囲:6-88歳)、性差はない。症例のうち5例に劇症肝炎の報告があった(うち1人は死亡)。ほとんどの症例において診断には血清IgM抗体検査が行われ、PCR法によるウイルス検出は第21週の集計時までには7例(3.5%)しか報告されていない(表1)。しかし、4月26日付けで、健康局健康部結核感染症課長並びに医薬食品局食品安全部監視安全課長連名による通知が出されたことをうけ、複数の自治体において検体確保の動きがみられ、地方衛生研究所及び国立感染症研究所において検査が実施されるようになった。国立感染症研究所ウイルス第二部第五室で把握されている検査実施件数は6月7日までに14自治体から35件であり、検査結果も得られているが、まだ公表の段階に至っていない。この検査結果を全国の自治体に還元し共有を図り、対策に活用する必要があると思われる。集団感染発生時には、現在実施している検体確保から遺伝子学的検査までの体制が速やかに開始され、その結果が対策に利用されることが重要と考える。

表1. A型肝炎報告例の臨床像と感染経路(NESID入力内容による)

(2010年第10週～第21週の診断例 n=190)

年齢(中央値)	6-88歳(49歳)
性別	男性104(55%)、女性86(45%)
感染経路	経口感染161(85%)、その他(不明)31(15%)
経口感染の原因食材	カキ56(35%)、さしみ・貝類21(13%)、 その他・不明など84(52%)
劇症肝炎	5例(3%) [50代3例、60代2例(うち1例死亡)] [他に第8週に1例(40代)の報告あり]
無症候	2例(1%) (30代、50代)
診断方法	血清IgM抗体のみ182(96%)、 PCR法によるウイルス検出のみ1(0.5%)、 血清IgM抗体およびPCR法によるウイルス検出6(3%)、 その他の方法1(0.5%)

A型肝炎簡易調査票 患者ID: _____

調査日: _____年 月 日

都道府県: _____ 保健所: _____

性別: _____ 年齢: _____ 歳 発病年月日: _____年 月 日

以下は、無し、不明、有りのいずれかに○をつけ、有りの場合にはさらに詳細をご記載ください。

【A型肝炎ワクチン接種歴】 _____無し・不明・有り(以下に記載)

接種回数 _____回、最終接種日 _____年 月 日

【感染源に関する情報】 ※発症前 2~8 週間における以下の行動について記載してください。

1. 喫食に関する情報(発症前)

※雑誌・ウェブ上で推定または確定されたと報告された食品・食材等には次のものがありますので、参考にしてください。

牡蠣、アサリ、ハマグリ、大アサリ(ウチムラサキ貝)、ムール貝、ラズベリー、ブルーベリー、イチゴ、レタス、ネギ、セミドライトマト、井戸水

食品	喫食の有無	喫食日	喫食場所(自宅、飲食店等)	入手先・購入店等	商品名・ロット等	産地(国内外別、産地名等)
牡蠣	有り・無し・不明					
二枚貝 (牡蠣以外)	有り・無し・不明					

2. 旅行歴 _____無し・不明・有り(以下に国内・国外の別、詳細地域、期間、同行者の有無・その発病の有無等の詳細を記載)

3. 接触者(家族等)のA型肝炎罹患歴 _____無し・不明・有り(以下に、患者ID、状況等の詳細を記載)

4. その他(輸血・血液製剤、性的接触等その他の感染源の可能性) _____無し・不明・有り(以下に詳細を記載)

【臨床経過に関する情報】

入院:有り・無し 劇症肝炎:有り・無し 転帰:軽快・死亡・その他(_____)

検査(病原体診断)

・検体から直接のPCR法による病原体遺伝子の検出:有り・無し

・検体:便・血液・その他(_____)

【病原体診断のための臨床検体の確保】 _____無し・有り(以下に記載)

・検体:便・血液・その他(_____)

・検体採取日: _____年 月 日 検査施設名: _____

研究分担報告書

本邦における環境中における A 型肝炎ウイルスの浸淫状況

研究分担者	田中 智之	堺市衛生研究所
研究協力者	入谷 展弘	大阪市立環境科学研究所
研究協力者	石橋 哲也	福岡県保健環境研究所
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	阿部 勝彦	広島市衛生研究所
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	田村 務	新潟県保健環境科学研究所
研究協力者	吉田 徹也	長野県環境保全研究所
研究協力者	小原 真弓	富山県衛生研究所
研究協力者	葛谷 光隆	岡山県保健環境研究センター
研究協力者	内野 清子	堺市衛生研究所
研究分担者	石井 孝司	国立感染症研究所

研究要旨

2010 年春季の A 型肝炎多発の原因究明の一助とするために A 型肝炎ウイルス (HAV) の本邦への汚染状況について、カキ関連ノロウイルス感染食中毒事例、市販カキ等における HAV 汚染実態、下水処理施設での流入水・放流水について HAV 遺伝子の検出を試みた。その結果、カキ関連ノロウイルス感染食中毒事例および市販カキから HAV 遺伝子は検出されなかった。しかし、2010 年 5 月の下水処理施設流入水から HAV 遺伝子が検出された。コピー数は 5 copy/ml であった。AJ299464 NOR-21/Norway_3A 株と 95% の相同性がみられた。

A. 研究目的

2010 年春、我が国で A 型肝炎患者が多数報告された。患者の多くはカキの喫食歴を有し、共通の汚染カキによる広域食中毒事例の可能性も指摘されている。

腸管系ウイルスの一つである A 型肝炎ウイルスも不顕性感染を起こすウイルスとして不顕性感染患者の存在は想像に難くない。従って、顕性感染事例のみならず、

不顕性感染による環境汚染は必定と思われる。下水を通じた養殖海域の汚染は、ウイルスを蓄積する国内産のカキの汚染に繋がり A 型肝炎拡大が懸念される。また、国内産カキの安全・安心確保のためには、下水、カキの A 型肝炎汚染実態調査は極めて重要である。

そこで今回の研究は肝炎発生後に限定して二枚貝などの食材及び下水処理場の

流入水、放流水などの環境の両面から A 型肝炎ウイルス (HAV) 遺伝子の検出を試みることを目的とした。

B. 研究方法

1. 材料

(1) カキ関連ノロウイルス感染事例における HAV 遺伝子の検出状況 (表 1a)、(2) 市販カキ等の HAV 検査 (表 1b) および (3) 下水等の環境検体検査 (表 1c) を行った。

2. 方法

検体の前処理は以下のとおりである。

1) 環境検体

富山県、岡山県、堺市で下水検体から HAV 遺伝子検査が行われた。堺市における下水処理方法を下記に記す。

採取した 2,000ml の水は粗遠心後、上清 1,000ml を分取し、HCl で pH3.5 に調整し、HA フィルター (450 μ m) でウイルスを吸着濾過した。フィルターを細断後、2.0ml の pH10.5 グリシン buffer で溶出し、HCl で pH6.5 に再調整しサンプルとした。RNA 抽出、DNase 処理、RT 反応、前処理後の便および下水各サンプル 140 μ l を QIAamp Viral RNA Mini Kit にて、RNA 60 μ l を溶出した。DNase 処理、RT 反応を行い、cDNA を作製した。(食安監発 1201 第 1 号「A 型肝炎ウイルスの検出法について」に準拠)。

2) 臨床検体

1990 年に T 市で発生した生カキ喫食による A 型肝炎事例に採取された便 10 検体を用いた。これらの便は -20°C で冷凍保存されていたものである。10% 乳剤を作製し遠心後上清を分取しサンプルとした。

3) HAV リアルタイム PCR 測定検査

当所での RT-PCR 法の手順を下記に記す。便および下水サンプルから作製した各 cDNA 5 μ l を用い 25 μ l の系にて測定し、便サンプルは便 1g 当たり、下水サンプルは採取水 1ml 当たりの HAV 遺伝子コピー数を算出した (食安監発 1201 第 1 号「A 型肝炎ウイルスの検出法について」に準拠)

4) HAV PCR 検査

A 使用プライマー:

1stPCR HAV2789s/HAV3296c

2ndPCR HAV2804s/HAV3231c

(名古屋市衛生研究所 柴田伸一郎先生作成マニュアル準拠)

B 使用プライマー:

1stPCR A(2167-2192)/B(2389-2414)

2ndPCR A(2167-2192)/C(2358-2377)

V. Afaire-Marchais らの検出法準拠 (Molecular and Cellular Probes, 1994)

3. HAV 遺伝子解析

PCR 検査で得られた遺伝子増幅産物をダイレクトシーケンスにて塩基配列を決定、系統樹解析を行った。

(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. 研究結果

結果-1

カキ関連ノロウイルス感染事例における HAV 遺伝子の検出状況、市販カキ等の HAV 遺伝子検出結果および下水等の環境検体からの検出結果をそれぞれ表 1a, 表 1b, 表 1c に示す。カキ関連ノロウイルス感染事例や市販カキからは HAV 遺伝子は

検出されなかった。下水については富山県及び岡山県の検体からは検出されなかったが、堺市の検体で2010年5月の1下水検体から HAV 遺伝子が検出された。A primer よりは B primer の検出感度が高かった。コピー数は 5 copy/ml あった。Polyprotein 165bp の解析では 95%の相同性を持って、AJ299464 NOR-21/Norway_3A に最も近縁の HAV と考えられた。増幅遺伝子産物が小さく、今回の輸入株との関連を求めた系統樹解析には到らなかった。

結果-2

過去 22 年前のカキ由来 A 型肝炎事例の 10 検体では 3 検体から HAV 遺伝子が検出され、これらは $2.5 \times 10^5 \sim 4.5 \times 10^6$ copy/gram のウイルス量であった。系統樹解析では 2010 年流行株とは異なったクラスターに存在し日本常在 HAV ウイルスと考えられた。

D. 考察

本邦における A 型肝炎血清疫学における年齢別抗体保有率では 50 歳以下の年齢では極めて低い HAV 抗体保有状況である。つまり、本邦においてはいつでも A 型肝炎の大流行が発生してもおかしくない状況である。

A 型肝炎は他の腸管系ウイルス感染症と同様に顕性感染のみならず実質的に数倍～数十倍と言われている不顕性感染患者が存在する。最も注意を喚起しなければならないのは、これら不顕性感染による二次感染(感染拡大)であり環境汚染である。幸い前者の危惧は患者発生がなかったことから解消されたが、後者の危惧は実際の検体検査を行うまでは不安材料

として残存した。今回の研究結果から、様々な環境検体から HAV 遺伝子の検出は見られなかった。ただ、堺市の下水処理施設から 2010 年 5 月に採取した 1 検体から微量(5 copy/ml) の HAV 遺伝子が検出された。この遺伝子の起源は不明瞭であるが、明白な事実 HAV の環境汚染が日本での HAV 流行年と同時期を少し経た 5 月に存在していた、ということである。

現在、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)「食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究」(野田班)の研究事業の中で、環境中のノロウイルス遺伝子検出の研究事業が進行している。下水流入・放水中のノロウイルスのカキ等二枚貝からの検出状況や感染源としての可能性などの研究、さらにはノロウイルスのみならず他の胃腸炎起因ウイルス、たとえばサポウイルス、アイチウイルス、アストロウイルス、ロタウイルスなどの検出も遂行している。

A 型肝炎ウイルスも食を介するウイルス性感症の一つである。上述の研究事業で行われているノロウイルス遺伝子学的検査に HAV を検査対象に加えることに困難な点は多くないと考える。この研究事業に HAV を加え、広域に HAV 遺伝子の検出を試みることは、HAV 感染確率の極めて高い本邦にとって極めて重要なプロスペクティブ感染予防対策事業になると考える。

E. 結論

2010 年春季を中心としたカキ関連ノロウイルス感染食中毒事例検体および市販カキから HAV 遺伝子は検出されなかった。

しかし、22年5月のA型肝炎発生にやや遅れて、下水処理施設流入水からHAV遺伝子が検出された。コピー数は5 copy/mlであった。Polyprotein 165bpの解析ではAJ299464 NOR-21/Norway_3Aに95%の相同性を有していた。

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

表 1a カキ関連ノロウイルス事例における HAV の検出状況

自治体名	事例番号	発生年月日	患者等		食品(カキ)		検査法#	食中毒届出
			検査数	陽性数	検査数	陽性数		
大阪市	18	2010/2	1	0	0	0	3	
大阪市	19	2010/2	4	0	0	0	3	
大阪市	31	2010/3	1	0	0	0	3	
大阪市	38	2010/3	2	0	0	0	3	
大阪市	40	2010/3	1	0	0	0	3	
福岡県	1	2009年12月19日	8	0	0	0	2	
福岡県	2	2010年1月6日	1	0	0	0	2	
福岡県	3	2010年1月19日	8	0	0	0	2	
福岡県	4	2010年2月11日	1	0	0	0	2	
福岡県	5	2010年2月13日	1	0	0	0	2	
福岡県	6	2010年2月22日	1	0	0	0	2	
愛媛県	1	平成22年2月19日	8	0	0	0	1	
新潟県	10-39	2010.2.22	5	0	5	0	カキ:3、 患者:2	
広島市	21006	2010/2/15	3	0	0	0	1	
広島市	21008	2月18日	2	0	0	0	1	
広島市	21011	3月7日	1	0	0	0	1	
広島市	21012	3月7日	1	0	0	0	1	
広島市	1009035	2010.01.22	12	0	1	0	2	○
島根県	24	2010.2.6	8	0	0		2	
島根県	38	2010.3.3	1	0	0		2	
合計			70	0	6	0		

#検査法 1: RT-リアルタイム PCR
2: RT-nestedPCR
3: 両方

表 1b 市販力キ等の HAV 検査

自治体	検体(産地、採取場所等)	生食用・加熱調理用区分	採取(製造)月	検査数	陽性数	検査法#	備考
大阪市	岡山県虫明海域	生食用	12月上旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	兵庫県室津海域	生食用	12月上旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	岡山県虫明海域	生食用	12月上旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	岡山県虫明海域	生食用	12月上旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	兵庫県相生海域	生食用	12月上旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	宮城県中部海域	生食用	12月上旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	岡山県日生海域	生食用	12月上旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	宮城県海域	生食用	12月上旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	兵庫県板越海域	生食用	12月上旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	兵庫県室津海域	生食用	1月下旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	宮城県荻浜湾	生食用	1月下旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	兵庫県相生海域	生食用	1月下旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	宮城県石巻湾西部	生食用	1月下旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	岡山県虫明海域	生食用	1月下旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	宮城県中部海域	生食用	1月下旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	兵庫県板越海域	生食用	1月下旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	宮城県海域	生食用	1月下旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
大阪市	岡山県虫明海域	生食用	1月下旬	3	0	3	1ロット分(3個検査)
長野県	宮城県・石巻湾西部	生食用	2010年1月	3	0	2	
長野県	宮城県・石巻湾西部	生食用	2010年1月	3	0	2	
長野県	広島県・三津湾	加熱調理用	2010年1月	3	0	2	
長野県	岡山県・虫明	生食用	2010年1月	3	0	2	
長野県	宮城県・石巻湾西部	生食用	2010年1月	3	0	2	
青森県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	3	1ロット分(延べ16個体)
青森県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	3	1ロット分(延べ16個体)
青森県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	3	1ロット分(延べ16個体)
青森県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	3	1ロット分(延べ16個体)
東京都	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	3	1ロット分(延べ16個体)
東京都	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	3	1ロット分(延べ16個体)
東京都	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	3	1ロット分(延べ16個体)
東京都	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	3	1ロット分(延べ16個体)
愛知県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	2	1ロット分(延べ16個体)
愛知県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	2	1ロット分(延べ16個体)

愛知県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	2	1ロット分 (延べ16個体)
愛知県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	2	1ロット分 (延べ16個体)
長野県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	2	1ロット分 (延べ16個体)
長野県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	2	1ロット分 (延べ16個体)
長野県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	2	1ロット分 (延べ16個体)
長野県	広島県海域	加熱調理用	2010年冬季	8	0	2	1ロット分 (延べ16個体)
合計				197	0		

#検査法 1:RT-リアルタイムPCR
2:RT-nestedPCR
3:両方

表 1c 下水のHAV検査

自治体	検体(流入水、採取場所等)	採取月	検査数	陽性数	検査法
富山県	下水流入水濃縮液	2008年4月～2010年3月 各月1回	24	0	2
岡山県	流入下水	2009年11月～2010年6月 各月1～2回	12	0	1
堺市	流入水・放流水	2010年4月～2010年12月 各月1回	54	1*	3
合計			90	1	

1* 2010/5/1 採取地点 C、
検出 HAV 遺伝子:5コピー/ml
A primer 弱反応; B primer 陽性

#検査法 1:RT-リアルタイムPCR
2:RT-nestedPCR
3:両方

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金(厚生労働科学特別研究事業)
「A 型肝炎発生報告増加に対する食品衛生上の原因究明と予防対策」
研究分担報告書

2010 年春季に多発した A 型肝炎事例の感染源の推定

研究代表者	野田 衛	国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部
研究協力者	上間 匡	国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部
研究分担者	多田 有希	国立感染症研究所・感染症情報センター
研究協力者	中島 一敏	国立感染症研究所・感染症情報センター
研究協力者	島田 智恵	国立感染症研究所・感染症情報センター
研究協力者	中村 奈緒美	国立感染症研究所・感染症情報センター
研究分担者	清原 知子	国立感染症研究所・ウイルス第二部
研究分担者	石井 孝司	国立感染症研究所・ウイルス第二部

研究要旨

2010 年春季に多発した A 型肝炎事例の感染源や感染経路を明らかにするために、NESID の疫学データと検出 HAV の系統樹解析から得た遺伝子型との共有化を図り、A 型肝炎患者の推定感染源と検出 HAV の遺伝子型との関連性を調べた。検出 HAV の遺伝子型には発生時期に違いがあり、患者報告が多かった 4 月、5 月は 1A-2010 型が主流で、同型の検出は 4 月、5 月に集中し、7 月以降は検出されなかった。1A-2010 型検出例の 40%はカキの喫食歴があり、喫食歴不明を除きカキの喫食歴がない患者からの検出はなかった。1A-2010 型の海外感染事例は報告されなかった。以上の結果から、2010 年春季に多発した A 型肝炎事例の一部は 1A-2010 型に汚染されたカキを共通の感染源とする広域的な集団発生であった可能性がある。

A. 研究目的

2010 年我が国において A 型肝炎事例の報告数が増加し、共通の汚染食品による広域的な発生である可能性も否定できなかった。このため、厚生労働省は各地で発生する A 型肝炎の感染経路や原因食品の特定などの疫学調査の精度向上のため、患者からの A 型肝炎ウイルス(HAV)の分子疫学的解析のための検体採取を各自治体に依頼した。これにより全国の A 型肝炎

患者から検出された HAV の塩基配列情報の収集、共有化が開始されたが、解析結果を還元するにあたり、株名は感染症発生動向調査(NESID)の個々の報告毎に付けられている ID 番号(報告 ID 番号)や報告月、報告自治体名等を付加したものを採用した。これは、報告 ID 番号を用いて、NESID で報告される患者情報との一元化を図り、各自治体間や国との間で患者情報と検査情報を共有し、より精度の高

い疫学調査を可能とするためのものである。

そこで、本研究では2010年春季に多発したA型肝炎事例の食品衛生上の原因究明を目的として、本命名システムを利用し分子疫学的解析結果とNESIDの報告データとの共有化を図り、検出HAVの遺伝子型と2010年のA型肝炎患者の推定感染源との関連性等を分析した。

B. 研究方法

1. 使用データ

2010年にNESIDに報告されたA型肝炎患者のNESIDのデータをエクセルファイルに抽出・変換したものをを用いた。

分子疫学的解析は、2010年に報告されたA型肝炎患者の糞便等から各自治体または国立感染症研究所ウイルス第二部で検出されたHAVのVP1-2A領域の塩基配列を基に系統樹を作成した。得られた系統樹上の位置から各株を以下のように分類した。

1A-2010型：遺伝子型1Aに属し、2010年春季のHAVの半数を占め、解析領域において100%の相同性を示した株

1A-2010型類似株：1A-2010型に近縁の株

1A-2006型：2006年に新潟市、滋賀県、名古屋市で検出された株が形成するクラスターに属する株(我が国の常在株と思われる株)

1A-その他：1Aに分類され、上記のいずれにも属さない株

1B：遺伝子型1Bに属する株

3A：遺伝子型3Aに属する株

(石井研究分担報告書参照)

2. 患者情報と分子疫学情報の共有化

エクセルで作成した分子疫学解析に供した株の受付台帳(株名および分類名等を記載)とエクセルファイルの患者情報をデータベースソフト(アクセス2007)を用いて、NESID報告ID番号を共通キー項目として結合し、データの一元化を図った後、アクセス2007のクロス集計機能を用いて、集計した。

3. 分析項目

カキの喫食歴の有無あるいは推定感染経路と検出HAVの遺伝子型の関連について分析した。患者の疫学データは以下のように取り扱った。

① カキの喫食歴の有無

推定感染場所が国外または不明の事例を除外し、報告の中にカキの喫食歴の記載があるものは「カキの喫食歴あり」、また、カキの喫食歴がないと記載されたものは「カキの喫食歴なし」、その他のものは不明と分類した。

② 推定感染源

推定感染場所が国外または不明の事例を除外し、推定感染源(原因食材)として記載があるものについて、カキ、貝類、魚介類、寿司、井戸水、カキなし(推定原因食品の記載があるものは除く)、肉類に分類し、記載がないものは不明とした。

また、海外での感染事例について検出HAVの遺伝子型と渡航先をまとめた。

なお、以降特に明示しない限り、HAVの検出月はNESIDの報告月を用いて示す。

(倫理面への配慮)

本研究では、個人が特定されないよう