

得られた。

ブタ血清の72%がHEVに対するIgG抗体陽性であり、ブタの高いHEV感染リスクが示唆された。また、養豚場間で抗体保有率に大きな差がみられたことから、ブタへのHEV感染は飼育環境等に影響されていることが推察された。

### (3) A型肝炎の分子疫学的研究

2011年1月に千葉市で多発したA型肝炎は、寿司店においてA型肝炎に罹患した調理従事者により直接的に、または調理施設等を介して間接的に汚染した食品が原因であった集団食中毒事例であることが明らかにされた。生鮮魚介類を扱う生産者や調理従事者への衛生管理の徹底とA型肝炎ワクチン接種が強く推奨される。2010年の全国的なA型肝炎多発の主要な原因であったIA-2クラスターに属する株は、2011年には類似株を含めて3株のみしか検出されず、ほぼ消失したものと推定された。IIIAに属する株は2010年に引き続き2011年も検出されており、地域的な偏りは見られていないことから、日本への定着が懸念される。

## 4. 食品媒介性ウイルスの疫学的、基礎的研究

### (1) アサリ関連事例由来サポウイルスの遺伝子解析

2008年の食中毒発生時の行政対応における各ロットのアサリの混合検査では患者から検出されたすべての遺伝子型のSaVの検出はできなかった。今回アサリを個別に処理し、PCR後、増幅産物をクローニングして塩基配列を決定した結果、それらを検出することができた。特定の貝

(個体)の抜き取り検査等では必ずしも患者と同一株の検出に至らない可能性があり、食中毒検査の技術的な注意点として留意が必要である。

### (2) 食品媒介事例におけるノロウイルス以外の胃腸炎ウイルスの検索

食中毒の原因調査においてはNoV以外のウイルスは検査されない場合が多いことから、それらのウイルスの食品媒介事例への関与およびその割合は不明である。昨年に引き続き、二枚貝関連事例を中心に食中毒事例等について調査した結果、NoV以外にSaV、AiV、AstV、ARVが検出された。その検出頻度は昨年との調査とほぼ同様であり、一定の割合でNoV以外のウイルスが関与しているものと推察された。しかし、多くの事例はNoV等との混合検出でありNoV以外のウイルスの食中毒の原因との関与は不明な部分がある。一方、これらのウイルスの単独検出事例もあり、今後さらなる調査が必要である。

また、これらの食品媒介事例から検出されるウイルスが常在的に糞便から検出される可能性も否定できない。そこで食品非媒介事例を中心に調査した結果、乳幼児や小児の事例を除き、検出されることは少なかった。特にAiVの検出は乳幼児や小児の集団事例を含めほとんどなかったことから、二枚貝事例においてこれらのウイルスが検出されたのは、食品の喫食により感染したものと考えられた。

### (3) 地域における食品媒介事例等の疫学的研究

食中毒事例において、患者と無症状の調理従事者から検出された株の塩基配列

が一致し、また、感染症集団発生事例から検出された株と同一の株が散発性胃腸炎から検出されていた。これらのことから地域で散発的に流行しているウイルスが、調理従事者等を介して調理中の食品を2次汚染し、食中毒の原因となり、また、学生寮、宿泊施設等に持ち込まれて、施設内でヒト-ヒト感染で集団発生を引き起こしたことが示唆された。食中毒等集団発生の予防には、調理従事者への更なる衛生指導の徹底と入所者、職員等への日常の手洗い等の指導が重要である。

2006/07 シーズンに NoV GII.4 の 2006b 亜型に分類される新たな変異株が出現し、世界的な大流行を起こして以後、2009/10 シーズンまでの4シーズンの間、2006b 亜型が主流株として流行してきたが、2010/11 シーズンは GII.3 が台頭し、NoV の流行遺伝子型に変動を認めた。2009/10 シーズンに検出された GII.4 の亜型解析を実施した結果、2006 亜型と 2009a 亜型の2つのクラスターに分類され、新たな変異株の出現は認められなかったことから、GII.4 の流行規模の減少は、2006b 亜型の感受性者の減少がひとつの要因と推察された。

NoV GII.4 の VP1 領域における特定部位のアミノ酸の変異の5シーズンの分析からについて、特定の変異型が継続して流行している例はなく、GII.4 が変遷を繰り返していることが示唆された。

## E. 結論

### 1. 食品からのウイルス検出法の開発・標準化

- パンソルビンの自作品作製のための

プロトコルを構築し、市販品と同等の感度を得た。

- パンソルビントラップ法の汎用化プロトコルを用いて、実際の食中毒事例の食品から NoV を検出することに成功した。
- キメラ型 NoV 検出用のプライマーセットを新たに構築し、従来の SK シリーズと同等の感度を得た。
- ACP 微粒子濃縮法で概ね良好な食品からのウイルス回収率を得ることができた。回収率が低かったミートソーススパゲティではイソアミルアルコール処理で回収率が改善された。
- ヒト糞便由来ウイルス汚染指標のためのカキ中の F フェージ検出法を検討した結果、プラーク法による F フェージの感染価は予期した値より低く、遺伝子検査結果とは必ずしも一致しなかった。

### 2. ウイルス性食中毒の検査体制の強化

- 変異によりギャップの挿入等がある場合の非同義置換速度/同義置換速度比推定には、アミノ酸配列で多重整列を作成してから個々のアミノ酸をコドンに変換するという方法は推奨されないと考えられた。
- HAV 検出 nestedPCR 用のプライマーセットを新たに設計し、検出感度および分子疫学的解析能の向上が図れた。
- 新たに SaV5 株の VLP の作成に成功した。
- SaV のすべての遺伝子群に交叉する抗体および遺伝子群特異的あるいは遺伝子型特異的な抗体を得た。

- 新しい遺伝子型 G5 および G6 HEV の抗原性は G1, G3, G4 HEV と類似する。
  - 蛍光マルチプレックス RT-PCR 法の迅速化を図り、新たに AiV, BoV, PeV の系を確立した。
  - マルチプレックスリアルタイム PCR による SaV, AstV, ARV, CRV, EA dV, EnV の同時検出系を確立した。
  - BSA, PEG6000 および NaCl を使用した水性二相分配法で清浄な液体に存在する NoV を高感度に回収することができた
- 3. 食品、動物、環境の汚染実態調査と分子疫学的研究**
- ブタの廃棄肝臓の 6% から HEV 遺伝子が検出された。また、ブタ血清の 72% が抗 HEV IgG 抗体陽性で、養豚場間で抗体保有率に大きな差がみられた。
  - 改良した検査法で NoV 陽性となった市販生食用カキはリアルタイム RT-PCR 法の判定基準値である実測値 10 コピー以上の定量値を示した。
  - 6 月採取の岩ガキから NoV が検出された。
  - 2010/11 シーズンの GII. 4 等 NoV 分離株 118 株のゲノム全長の塩基配列を新たに決定した。2006/07 年以降主流であった 2006 亜型は減少傾向を示し、2010/11 年 流行期は 2006b 亜型と 2009a 亜型が流行した。
  - 20010/11 シーズンに検出された GII. 2 および GII. 3 はキメラウイルスであった。
  - SaV の 1D-3D プロファイル法による解析により、カプシド蛋白質上の機能部位および抗原部位を推定される部
- 位を推定した。
- 下水流入水からの NoV, AstV の検出は冬期においては患者発生数と同様の傾向を示したが、AstV は春から秋においては胃腸炎患者報告数とは異なる傾向を示した。
  - 人口集落地域の放流水が集約する河口部での垂下カキによるウイルスのモニタリングは、集落における下痢症ウイルスの動向を反映した。
  - SaV 検出にプライマー等の変更で下水から高頻度に SaV を検出した。
  - 臨床検体から SaV の検出は少なく、AstV, AiV はの検出はなかったが、環境検体では高頻度に検出された。
  - 2011 年 1 月千葉市で多発した A 型肝炎は患者数 49 名をみた市内の寿司店を原因施設とする集団食中毒であることが明らかになった。原因 HAV は国内常在株 (1A-1) であり、2010 年に多発した 1A-2 とは異なった。IIIA の HAV は 5 株検出された。
- 4. 食品媒介性ウイルスの疫学的、基礎的研究**
- 食中毒関連のアサリを個別に処理し、PCR 産物をクローニングした結果、患者から検出されたすべての遺伝子型の SaV を検出することができた。
  - 二枚貝食中毒事例等について検査した結果、NoV 以外に SaV, AiV, AstV, ARV, AdV が検出された。
  - SaV と ARV は成人における集団胃腸炎 (食中毒を含む) の起因ウイルスとして、NoV の次に注目すべきウイルスであると考えられた。
  - 糞便中に排泄される NoV 量は、患者

と不顕性感染調理従事者者で大差はなかった。

## F. 健康危害情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Akazawa D., Morikawa K., Omi N., Takahashi H., Nakamura N., Mochizuki H., Date T., Ishii K., Suzuki T. and Wakita T. Production and Characterization of Hepatitis C Virus Particles from Serum-free Culture. *Vaccine*, 29: 4821-4828 (2011)
- Hansman G. S., Taylor D. W., McLellan J. S., Smith T. J., Georgiev I., Tame J. R. H., Park Sam-Yong., Yamazaki M., Gondaira F., Miki M., Katayama K., Murata K., Kwong P. D. Structural basis for broad detection of genogroup II noroviruses by a monoclonal antibody that binds to a site occluded in the viral particle. *J. Virol.* published ahead of print 25 Jan. 2012.
- Hansman, G. S., Biertumpfel, C., Georgiev, I., McLellan, J. S., Chen, L., Zhou, T., Katayama, K., Kwong, P. D. Crystal structures of GII.10 and GII.12 norovirus protruding domains in complex with histo-blood group antigens reveal details for a potential site of vulnerability. *Journal of virology* vol. 85, 6687-701, 2011.
- Hansman, G. S., Shahzad-Ul-Hussan, S., McLellan, J. S., Chuang, G. Y., Georgiev, I., Shimoike, T., Katayama, K., Bewley, C. A., Kwong, P. D. Structural basis for norovirus inhibition and fucose mimicry by citrate. *J of Virol.* Vol.86, 284-92, 2012.
- Iritani N., Kaida A., Abe N., Sekiguchi J., Kubo H., Takakura K., Goto K., Ogura H., Seto Y.: An increase of GII.2 norovirus infections during the 2009-2010 season in Osaka City, Japan, *Journal of Medical Virology* 84, 517-525, 2012
- Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Shimada T., Nakamura N., Tada Y., Noda M. and Wakita T.: Epidemiological and genetic analysis of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010., *Hepatology International*, 5: 204-205 (2011)
- Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Wakita T., Shimada T., Nakamura N., Nakashima K., Tada Y. and Noda M. Epidemiological and genetic analyses of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. *Journal of Clinical Virology*, 53(3)219-224 (2012)
- Ivo N. SahBandar, Kiyomi Takahashi, Kazushi Motomura, Zubairi Djoerban, Iman Firmansyah, Katsuhiko Kitamura, Hironori Sato, Herdiman T. Pohan, Shigehiro Sato : The Indonesian Variants of CRF33\_01B: Near-Full Length Sequence Analysis, *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Jan;27(1):97-102
- Iwasaki Y., Mori K., Ishii K., Maki N.,

- Iijima S., Yoshida T., Okabayashi S., Katakai Y., Lee Y.J., Saito A., Funai H., Kimura N., Ageyama N., Yoshizaki S., Suzuki T., Yasutomi Y., Miyamura T., Kannagi M. and Akari H. Long-term persistent GBV-B infection and development of a chronic and progressive hepatitis C-like disease in marmosets. *Frontiers in Microbiology*, in press
- Kitajima, M., Oka, T., Haramoto, E., Phanuwat, C., Takeda, N., Katayama, K., Katayama, H. Genetic diversity of genogroup IV noroviruses in wastewater in Japan. *Letters in applied microbiology*. Vol. 52, 181-4, 2011.
- Kumagai Y, Noda M, and Kasuga F.: New Approaches for Tackling Foodborne Infections, *Journal of Disaster Research*, 6(4), 451-458 (2011)
- Li T.C., Song S. Yang Q., Ishii K., Takeda N., and Wakita T. A cell culture system for hepatitis E virus. *Hepatology International*. 5: 202 (2011)
- Matsuhira, T. Kaji, C. Murakami, S. Maebashi, K. Oka, T. Takeda, N. Katayama, K. Evaluation of four antiseptics using a novel murine norovirus. *Exp Anim*. Vol.61, 35-40, 2012
- Miyamura T., Ishii K., Kanda T., Tawada A., Sekimoto T., Wu S., Nakamoto S., Arai M., Fujiwara K., Imazeki F., Kiyohara T., Wakita T. and Yokosuka O. Possible widespread presence of hepatitis A virus subgenotype IIIA in Japan: recent trend of hepatitis A causing acute liver failure. *Hepatology Research*, in press
- Murakami K, Suzuki S, Aoki N, Okajima T, Nadano D, Uchida K, Yamashita K, Oka T, Katayama K, Takeda N, Matsuda T. Binding of Norovirus virus-like particles (VLPs) to human intestinal Caco-2 cells and the suppressive effect of pasteurized bovine colostrum on this VLP binding. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 74(3): 541-547. 2010.
- Nakamura S, Tsuchiya H, Okahara N, Nakagawa T, Ohara N, Yamamoto H, Li TC, Takeda N, Ogasawara K, Torii R. Epidemiology of Hepatitis E Virus in Indoor-Captive *Cynomolgus* Monkey Colony. *J Vet Med Sci*. 2012. in press.
- Oka T, Mori K, Iritani N, Harada S, Ueki Y, Iizuka S, Mise K, Murakami K, Wakita T, Katayama K. : Human sapovirus classification based on complete capsid nucleotide sequences. *Arch Virol.*, 2011 Nov 11, [Epub ahead of print]
- Oka T, Takagi H, Tohya Y, Murakami K, Takeda N, Wakita T, Katayama K. : Bioluminescence technologies to detect calicivirus protease activity in cell-free system and in infected cells. *Antiviral Res.*, 2011 Apr;90(1):9-16.
- Oka, T., Murakami, K., Wakita, T., Katayama, K. Comparative site-directed mutagenesis in the catalytic amino acid

triad in calicivirus proteases. *Microbiol Immunol*. Vol. 55, 108-14. 2011.

Sharp, T. M., Guix, S., Katayama K., Crawford, S. E., Estes, M. K. Inhibition of Cellular Protein Secretion by Norwalk Virus Nonstructural Protein p22 Requires a Mimic of an Endoplasmic Reticulum Export Signal. *PLoS ONE* 5(10) e13130, 2010.

Takanashi S, Chen N, Shen Q, Jung K, Zhang Z, Yokoyama M, Lindesmith L, Wang Q, Saif LJ Characterization of the emerging GII.g/GII.12 norovirus from a gastroenteritis outbreak in US in 2010. *J. Clin. Microbiol.*, 49:3234-3244, 2011.

Tetsuya Yoshida, Tatsuko Miyasaka, Yuka Azegami, Yurie Uchiyama, Hitomi Kasahara, Hiromi Ueda, Koji Ishii, Mamoru Noda: Investigation of epidemiology and HAV genomes regarding three hepatitis A infections that occurred in April -May, 2010, *Jpn J Infect Dis*, 64, 260-261 (2011)

Tian-Cheng Li, Susumu Ochiai, Hiroaki Ishiko, Takaji Wakita, Tatsuo Miyamura, and Naokazu Takeda. A retrospective study on imported hepatitis E in Japan. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2012. In press.

Tian-cheng Li, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Arikawa J, Koma T, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Mai LT, Hoa NT, Yamashiro T, Hasebe F, Takeda N, Wakita T.

Characterization of self-assembled virus-like particles of rat hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. *Journal of General Virology* (2011), 92, 2830-2837.

Yoshiyuki Suzuki: Overestimation of nonsynonymous/synonymous rate ratio by reverse-translation of aligned amino acid sequences. *Genes & Genetic Systems*, 2011, 86:123-129.

横井 一, 田中俊光, 小林圭子, 岩撫晴子, 野口喜信, 三井良雄, 岡本 明, 若岡未記, 西郡恵理子, 渡部展彰, 清田智子, 加曾利東子, 大山照雄, 西村正樹, 本橋 忠, 小川さやか, 小山大雅, 長嶋真美, 大野喜昭, 大塚正毅, 中台啓二, 池上 宏, 石井孝司, 野田 衛: A型肝炎ウイルスによる食中毒事例-千葉市, 病原微生物検出情報, 32(3), 18-19 (2011)  
岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、徐 紅、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金 南希、菅原裕美、佐藤 彩、今井正樹、小田切孝人、田代真人、本村和嗣、横山 勝 終元 巖、佐藤裕徳、小口晃央、山崎秀司、藤田信之: 2010/11 シーズンのインフルエンザ分離株の解析, 病原微生物検出情報月報 Vol. 32 p. 317-323: 2011年 11月号

吉澄志磨, 後藤明子, 石田勢津子, 野田衛: 二枚貝関連の食中毒疑い事例における各種胃腸炎ウイルスの関与-北海道, 病原微生物検出情報, 32(12)361-363 (2011)

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、野田 衛: ノロウイルス

- およびサポウイルスの掃除機内ダスト中の汚染実態調査, 小児科, 52(10)1419-1423 (2011)
- 溝口嘉範、木田浩司、葛谷光隆、濱野雅子、藤井理津志、岸本壽男、安原広己、上間 匡、野田 衛: ふき取り検体のノロウイルス検査法の改良, 病原微生物検出情報, 32(12)358-359 (2011)
- 斎藤 博之, 東方 美保, 岡 智一郎, 片山 和彦, 田中 智之, 野田 衛: パンソルビン・トラップ法による食品からのウイルス検出法, 病原微生物検出情報, 32(12)355-357 (2011)
- 斎藤博之: 食品のノロウイルス検査の汎用化を目指したパンソルビン・トラップ法の開発, 日本食品微生物学会雑誌, Vol. 1, No. 1, 2012 (印刷中)
- 細見卓司, 谷脇 妙, 松本一繁, 藤戸亜紀, 鍋島 民, 下司 勲, 松本道明, 今井 淳, 大野雅子, 麻岡文代, 吉澄志磨, 井手 忍, 山崎謙治, 左近直美, 中田恵子, 増本久人, 南 亮仁, 野田日登美, 野田 衛, 片山和彦: 高知県で発生したNorovirus GII/14による食中毒事例と他県事例株との比較, 病原微生物検出情報, 32(7), 199-201 (2011)
- 篠原美千代, 富岡恭子, 峯岸俊貴, 内田和江, 鈴木典子, 島田慎一, 河橋幸恵, 岸本剛, 野田衛: 非晶性リン酸カルシウム微粒子を用いた食品からのウイルス検出法, 病原微生物検出情報, 32(12)357-358 (2011)
- 小林慎一、藤原範子、安井善宏、伊藤 雅、山下照夫、藤浦 明、皆川洋子: 2005~2009年の5年間におけるA群ロタウイルス検出状況—愛知県, 病原微生物検出情報, 32(3): 72-73, 2011.
- 植木 洋, 高橋由理, 鈴木優子, 阿部美和, 佐藤由紀, 沖村容子, 高橋達也, 佐藤 淳, 豊嶋 潤, 熊谷 祥, 野田 衛: 2010年度に県内で集団発生した感染性胃腸炎事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型—宮城, 病原微生物検出情報, 32(6), 173-174 (2011)
- 青木紀子, 青木里美, 山下育孝, 田中 博, 岡 裕三, 土井光徳, 本村和嗣, 野田 衛: 愛媛県における急性胃腸炎の散発例および集団発生例からのノロウイルスの検出状況と遺伝子型別分類(2009/2010 シーズン). 愛媛衛環研年報, 13, 7-14 (2010)
- 石井孝司 A型肝炎ウイルスのウイルス学的特徴 日本臨床 69:559-565 (2011)
- 石井孝司 B型肝炎の現状とワクチン 愛知県小児科医会会報 94: 38-46 (2011)
- 石井孝司、清原知子 A型肝炎の血清保有状況と最近の流行状況 小児科 52: 1819-1825 (2011)
- 石井孝司、李 天成 E型肝炎 公衆衛生 75: 43-46 (2011)
- 田中俊光, 横井一, 水村綾乃, 小林圭子, 木原顕子, 都竹豊茂, 中台啓二, 加曾利東子, 落合弘章, 大山照雄, 西村正樹, 山本一重, 野田 衛: 生シラスが原因食品と疑われる有症苦情事例について—千葉市, 病原微生物検出情報, 32(12)363-364 (2011)
- 田中智之. 消化器症候群 ノロウイルスウイルス感染症の検査・診断スタンダード. 羊土社発行 P129-133, 2011
- 道免和文、小野原伸也、田中博文、春野政虎、下田慎治、姜 貞憲、石井孝司、

高橋和明 2010年A型肝炎ウイルス福岡株に対する分子疫学的検討-1999年ボルネオ(カリマンタン)島由来株との近縁性  
肝臓 52: 497-502 (2011)

本村和嗣: ノロウイルスの生き残り戦略,  
Medico Vol. 42 No.2 p. 32-35: 2011年2月号, 協企画

本村和嗣: ノロウイルス感染症” 臨床とウイルス Vol 39 p.115-p.122: 2011年7月

野田 衛、山下和予: ノロウイルス食中毒の発生動向および調査・検査体制の取り組み, 食品衛生研究, 62(1):1-19 (2012)

野田 衛、上間 匡、片山和彦、岡 智一郎、山下和予、岡部信彦、石丸 歩、松岡隆介、温泉川肇彦、地方衛生研究所(51機関): 食品媒介事例を中心としたノロウイルス、サポウイルスの塩基配列情報および疫学情報の共有化の取り組み, 病原微生物検出情報, 32(12)354-355 (2011)

野田 衛: 生牡蠣におけるノロウイルス汚染と検査・除去法, 日本医事新報, 4584, 55-56 (2012)

## 2. 学会発表

Akari H., Iwasaki Y., Mori K., Ishii K., Maki N., Iijima S., Yoshida T., Okabayashi S., Katakai Y., Lee Y. J. and Saito A. Long-term persistent GBV-B infection and development of a progressive chronic hepatitis C-like disease in marmosets. 15th International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 11-16, 2011.,

Hiroyuki Saito, Miho Toho, Mamoru Noda, Tomoyuki Tanaka, Tomoichiro Oka, Kazuhiko Katayama: Development of a PANTRAP method to detect norovirus from contaminated food, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, 札幌市, 9/13 (2011)

Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Shimada C., Nakamura N., Tada Y., Noda M. and Wakita T.: Epidemiological and genetic analysis of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010., Asian Pacific Association for the Study of the Liver, バンコク(タイ), 2/17 (2011)  
Katayama K, Oka T, Hansman GS, Murakami K, Wakita T. : Norovirus as gastrointestinal flu. IUMS 2011, 2011年9月、札幌

Kazushi Motomura, Masaru Yokoyama, Tomoichiro Oka, Kazuhiko Katayama, Mamoru Noda, Tomoyuki Tanaka, Hironori Sato: Structural dynamics of norovirus GII.4 genome in nature, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, 札幌市, 9/15 (2011)

Kohji Mori, Tetsuya Akiba, Miyuki Nagano, Sanae Emura, Noriko Akamatsu, Katsushi Iwakoshi, Yukinao Hayashi, Akemi Kai, Mamoru Noda: Prevalence of sapovirus-related community gastroenteritis in Tokyo from April 2008 to March 2011, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, 札幌市, 9/13 (2011)

Koji Ishii, Tian-Cheng Li, Sayaka Yoshizaki, Tomoyuki Shioda, Takanobu



Kato, Naokazu Takeda, and Takaji Wakita. Cloning of permissive and nonpermissive human hepatoma cell lines for hepatitis E virus infection. The 22th Conference of the Asian Pacific Association for the study of the liver. 2012. February 16-19. Taipei.

Koji Ishii, Tomoko Kiyohara, Sayaka Yoshizaki, Takaji Wakita, Tomoe Shimada, Naomi Nakamura, Yuki Tada, Mamoru Noda: Epidemiological and genetic analyses of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, 札幌市, 9/15 (2011)

Li T.C., Song S., Yang Q., Ishii K., Takeda N. and Wakita T. The stability and inactivation of hepatitis E virus grown in cell culture. Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Bangkok, Thailand, February 17-20, 2011.

Mamoru Noda, Masashi Uema, Noriko Aoki, Satomi Aoki, Yumiko Furuya, Osamu Nishio, Shinichiro Shibata, Akari Kodaira, Koji Ishii, Yasutaka Yamasita: Role of imported seafood as a vehicle of hepatitis A virus, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, 札幌市, 9/15 (2011)

Mamoru Noda, Yuki Tada, Masashi Uema, Kazutoshi Nakashima, Tomoe Shimada, Naomi Nakamura, Tomoko Kiyohara, Koji Ishii: Food hygienic investigation of

hepatitis A cases in the spring of 2010 in Japan, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, 札幌市, 9/15 (2011)

Mayumi Obara, Masae Iwai, Masatsugu Obuchi, Eiji Horimoto, Takeshi Kurata, Takenori Takizawa . Recombinant noroviruses of GII/3 prevalent from 2003 to 2010 in Toyama prefecture, Japan. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo

Murakami K, Oka T, Todaka R, Wakita T, Matsuda T, Katayama T. : Microscopic analysis of human norovirus-like particles bound to Caco-2 cells. IUMS 2011、2011年9月、札幌

N. Nakamura, T. Shimada, Y. Tada, N. Okabe, T. Kiyohara, K. Ishii, M. Noda: Diffuse outbreak of hepatitis A suspected by national case based surveillance in Japan, 2010, International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance (IMED 2011), ウィーン(オーストリア), 2/6 (2011)

Noritoshi Kitamoto, Tomoichiro Oka, Grant S. Hansman, Kazuhiko Katayama, Yoji Kato, Tomoyuki Tanaka. Broadly reactive monoclonal antibody with several recombinant Sapovirus-like particles (SV-VLPs). International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. 2011(September), Sapporo.

Oka T, Hansman GS, Murakami K, Todaka R, Wakita T, Katayama K, sapovirus study group of Japan. : Human sapovirus

classification scheme based on pairwise distance analysis of complete capsid nucleotide sequences. IUMS 2011, 2011年9月、札幌

Shimoike T, Takagi H, Oka T, Murakami K, Wakita T, Katayama K. : Sub-localization of Murine Norovirus proteins and its genome RNA. American Society for Cell Biology, 2011年12月、Denver

Shimoike T, Takagi H, Oka T, Murakami K, Wakita T, Katayama K. : Visualization of murine norovirus replication complex in RAW264.7 cells. IUMS 2011, 2011年9月、札幌

Shinichi Kobayashi, Noriko Fujiwara, Yoshihiro Yasui, Teruo Yamashita, Akira Fujiura, Mamoru Noda, Hiroko Minagawa: A foodborne outbreak of sapovirus linked to catered box-lunch in Japan, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, 札幌市, 9/13 (2011)

Someya Y., Shirato H., Kumagai A., Ito H., Furukawa S., Wakita T., Ishii K., Narimatsu H. and Kubota T. Structural basis for recognition of Lewis A antigen by norovirus. 15th International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 11-16, 2011

Tian-Cheng Li, Kumiko Yoshimatsu, Shumpei P. Yasuda, Jiro Arikawa, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Naokazu Takeda, and Takaji Wakita. Expression of rat HEV virus capsid protein and generation of the virus-like particles. The 22th Conference of the Asian Pacific Association for the study of the liver. 2012. February 16-19. Taipei.

Tian-cheng Li, Kumiko Yoshimatsu, Shumpei P. Yasuda, Jiro Arikawa, Michiyo Kataoka, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, and Takaji Wakita. Characterization of Self-Assembled Virus-Like Particles of Rat Hepatitis E Virus Generated by Recombinant Baculoviruses cell culture. IUMS2011, XV international congress of virology. 2011. September, Sapporo.

Tomoyuki Tanaka, Noritoshi Kitamoto, Tomoichiro Oka, Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Hisaaki Yoshida, Setsuko Iizuka, Yoshiharu Morino, Yasutaka Yamashita, Seiya Harada, Naokazu Takeda and Kazuhiko Katayama. Rapid Detection kit for norovirus and sapovirus with viruses specific monoclonal antibodies. The 5th China Medicinal Biotech Forum November 7-9, Beijing, China

Uema M., Aoki N., Aoki S., Furuya Y., Nishio O., Shibata S., Kodaira A., Ishii K. and Noda M. Role of imported seafood as a vehicle of hepatitis A viruses. 15th International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 11-16, 2011

Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Kanda T, Sato H. STRUCTURAL FEATURES FOR THE SUBSTRATE RECOGNITION BY SAPOVIRUS 3C-LIKE

PROTEASE. XV International Congress of Virology (International Union of Microbiological Societies 2011 Congress), Hokkaido, Japan, 9/11-16, 2011.

阿部 勝彦, 山本美和子, 伊藤文明, 野田 衛: 広島市におけるノロウイルス GII/4 のカプシッド蛋白質の P2 ドメインの解析(2006~2010 年), 第 81 回日本感染症学会西日本地方会学術集会, 北九州市, 10/6 (2011)

岡智一郎, 横山勝, 本村和嗣, 村上耕介, 脇田隆宇, 佐藤裕徳, 片山和彦: Role of conserved amino acid residues in the protease among different genera of Caliciviruses” 第 131 回 日本薬学会 2011 年 3 月 28-31 日 静岡

吉澄志磨, 後藤明子, 石田勢津子, 田中智之, 野田 衛: 二枚貝の喫食のみられた食中毒疑い事例における各種胃腸炎ウイルスの関与について, 第 32 回日本食品微生物学会学術総会, 江戸川区, 10/7 (2011)

溝口嘉範, 上間 匡, 木田浩司, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 岸本壽男, 安原広己, 野田 衛: ふき取り検体からのノロウイルス検出法に関する検討, 第 32 回日本食品微生物学会学術総会, 江戸川区, 10/6 (2011)

斎藤博之, 東方美保, 岡智一郎, 片山和彦, 田中智之, 野田衛: 食品中のノロウイルス検出のためのパンソルビン・トラップ法の開発, 第 102 回日本食品衛生学会学術講演会, 秋田市, 9/29-30 (2011)  
斎藤博之, 東方美保, 岡智一郎, 片山和彦, 田中智之, 野田衛: 病原ウイルスに

よる食品汚染を検出するパンソルビン・トラップ法の開発, 第 19 回秋田応用生命科学研究会, 秋田市, 11/25 (2011)

斎藤博之: 食品のノロウイルス検査の汎用化を目指したパンソルビン・トラップ法の開発, 第 32 回日本食品微生物学会学術総会, 2011, 東京

山下育孝, 青木紀子, 青木里美, 土井光徳, 古屋由美子, 西尾 治, 石井孝司, 野田 衛: A 型肝炎の国内発生における輸入生鮮魚介類の関与, 第 32 回日本食品微生物学会学術総会, 江戸川区, 10/6 (2011)

篠原美千代, 富岡恭子, 峯岸俊貴, 鈴木典子, 内田和江, 島田慎一, 河橋幸恵, 岸本 剛, 吉川悠子, 大橋典男, 野田衛: 非晶性リン酸カルシウム微粒子を用いた食品からのウイルス検出法, 第 32 回日本食品微生物学会学術総会, 江戸川区, 10/7 (2011)

小和田和誠, 中村雅子, 平野映子, 大村勝彦, 東方美保: マルチプレックスリアルタイム PCR 法を利用した腸管系ウイルスの検出. 第 39 回北陸公衆衛生学会, 2011 年 11 月, 福井県福井市

上間 匡, 石井孝司, 小原真弓, 田中俊光, 増本久人, 入谷展弘, 斎藤哲也, 吉田徹也, 山下育孝, 柴田伸一郎, 田中智之, 内田清子, 野田 衛: A 型肝炎ウイルス検出 PCR の高感度化の検証: 第 32 回日本食品微生物学会学術集会(2011 年 10 月, 東京)

西村浩一, 原田誠也, 李 天成, 石井孝司, 田中智之, 野田 衛: 熊本県におけるイノシシ, ブタ及びシカの E 型肝炎ウイルス保有状況に関する実態調査, 第 32

回日本食品微生物学会学術総会，江戸川区，10/6（2011）

石井孝司、清原知子、島田智恵、中村奈緒美、多田有希、野田 衛、脇田隆字：2010年春季のA型肝炎のdiffuse outbreakの分子疫学的解析，第47回日本肝臓学会総会，港区，6/3（2011）

村上耕介、岡智一郎、下池貴志、脇田隆字、松田幹、片山和彦：分化ヒト腸管由来培養細胞へのノロウイルスの結合様式の解析、日本分子生物学会第34回年会、2011年12月、横浜

田村 務、渡邊香奈子、田澤 崇、渡部香、昆美也子、野田 衛：牛血清アルブミンとポリエチレングリコールを使用した水性二相分配法によるノロウイルスの濃縮，第32回日本食品微生物学会学術総会，江戸川区，10/7（2011）

田中俊光、横井一、小林圭子、木原顕子、都竹豊茂、中台啓二、大山照雄、西村正樹、山本一重、野田衛：寿司店を原因施設とするA型肝炎ウイルス食中毒事例，第32回日本食品微生物学会学術総会，江戸川区，10/6（2011）

田中聖一、山本博、万年和明、李天成。ニッポンザルにおけるE型肝炎ウイルス感染状況。第152回日本獣医学会学術集会 2011年9月 堺市

道免和文、田中博文、春野政虎、姜 貞憲、石井孝司、高橋和明：2010年A型肝炎ウイルス福岡株に対する分子疫学的検討-1999年ボルネオ(カリマンタン)島由来株との近縁性、第39回日本肝臓学会西部会、平成23年12月、岡山

本村和嗣、横山勝、岡智一郎、片山和彦、野田衛、田中智之、佐藤裕徳：ゲノミクス

と計算科学の手法によるノロウイルスGII/4進化様式の解析，第85回日本感染症学会総会 ワークショップ 2011年4月21-22日 東京

本村和嗣：2006-2011年シーズンに国内で流行したノロウイルスの全長ゲノム解析，平成23年度 地方衛生研究所全国協議会近畿支部 ウイルス部会研究会 教育講演 2011年9月30日 奈良

野田 衛，上間 匡，多田有希，中島一敏，島田智恵，中村奈緒美，清原知子，田中智之，石井孝司：2010年のA型肝炎の分子疫学と食品衛生上の原因究明，第32回日本食品微生物学会学術総会，江戸川区，10/6（2011）

野田 衛、多田 有希、田中智之、清原知子、石井 孝司：2010年のA型肝炎の分子疫学的解析とA型肝炎サーベイランスシステムの構築，衛生微生物技術協議会第32回研究会，江戸川区，6/30（2011）  
李 天成、高橋 和明、片岡 紀代、吉崎 佐矢香、網 康至、須崎 百合子、石井 孝司、脇田 隆字、三代 俊治：Genotype 5 HEV 構造蛋白の発現および抗原性の解析第152回日本獣医学会学術集会 2011年9月 堺市

厚生労働科学研究費補助金  
食品の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

平成 23 年度 研究分担報告書

田中 智之  
斎藤 博之  
鈴木 善幸  
本村 和嗣  
横山 勝  
片山 和彦  
村上 耕介  
石井 孝司  
野田 衛  
李 天成

平成 24 (2012) 年 3 月

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の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」

研究分担報告書

パンソルビン・トラップ法による食品中からノロウイルス遺伝子の検出  
—幼稚園で見られた集団ノロウイルス食中毒事例から—

研究分担者	田中 智之	堺市衛生研究所
研究協力者	三好龍也、内野清子、 岡山文香、西口智子、 吉田永祥	堺市衛生研究所
研究協力者	斎藤博之	秋田県衛生環境研究センター
研究協力者	野田 衛	国立医薬品食品衛生研究所

### 研究要旨

調理配給機関で作製された弁当を喫食した幼稚園 園児、職員 430 名の内 105 名に下痢、腹痛、発熱等の食中毒様症状の発症がみられた。調理配給機関従業員を含む臨床検体 94 検体中、33 検体(35%)がノロウイルス陽性であった。遺伝子型では G1.4 29 例(88%)と最も多く、次いで G1.3 2 検体、G1.14 1 検体、G1.4 +GII. 型別不明 1 検体であった。クローニング解析の結果、GII.4, GII.2, GII.6 の関与も認められた。保存食材からパンソルビン・トラップ法でノロウイルス遺伝子検索を試みたところ、豆煮物から GI first, GII first でそれぞれ 102 copy/食品 1 gram, 46 copy/食品 1 gram の遺伝子が検出され、GII nested-PCR からも煮物(そら豆)、大人用こんにやくキンピラからウイルス遺伝子が検出され、ノロウイルスの食材汚染が科学的に証明された事例となった。パンソルビン・トラップ法による食材から原因ウイルス検出方法は食中毒予防に対する衛生基準の遵守・徹底の指標となり、食の安心・安全に大きな貢献ができると考える。全国的な普及は急務である。

#### A. 研究目的

ノロウイルスによる食中毒事例は減少する傾向は見えない。細菌性食中毒に比べ、発生事例数は及ばないものの、患者数ははるかに凌駕している。厚生労働省食中毒統計資料においても、過去 5 年間の患者発生数は対細菌性食中毒患者数を

1とした場合、1:2.5~1:4の比率である。

患者数の多い原因には、ノロウイルスの感染力の強さ、環境での安定性、感染者の症状軽減後の長期に亘るウイルス排泄とそれに対する衛生行為の油断、そして食品中からノロウイルスの検出が困難で科学的な衛生基準の遵守が指導できな

かった点にあると考えられる。

本班の斎藤らの開発したパンソルビン・トラップ法はノロウイルス食中毒の原因食材を科学的に特定する方法であり、揺るぎない証拠を提示すものである。因果関係を明示することにより、食品関係者に対し予防意識の徹底が計られ、食中毒事例の減少が大いに期待されるものと考ええる。

今回、当市での食中毒事例から、本邦で初めて食品中からノロウイルス遺伝子が検出され、因果関係の究明に至った事例を報告し、併せて今後の期待と課題について報告する

## B. 研究方法

### 1. 材料

#### (1) ノロウイルスによる食中毒感染事例事例 1:

この事例は対照事例として紹介する。平成23年12月に飲食店が関与せる、喫食者数16名、有症者数12名の食中毒事例である。検査材料として患者糞便5検体、従業員糞便10検体 が得られた。しかし、原因食材の特定や残品の収去は極めて困難であった。

#### 事例 2:

幼稚園での大規模集団感染事例である。9月3日(土)昼の給食に市内F会社で調製された弁当を喫食した園児および職員に下痢、腹痛、発熱等の食中毒様症状の発症がみられた。

9月8日(木) 園児3名、職員4名の発症者からノロウイルス遺伝子が検出された。

9月8日(金) 疫学的解析から患者の共

通食事は同弁当以外にないこと、発症状況が類似していることから通報医療機関から食中毒の疑いの届出がなされた。

以上から同施設が提供した弁当を原因とする食中毒事例が疑われ、9月9日(土)同会社に対して9月10日(土)~12日(月)まで営業停止命令がなされた。

発症状況の集約。

#### ●発生年月日 (初発)

平成23年9月3日 (土)

#### ●摂食者数

園児 397名、職員 33名 (計 430名)

#### ●有症者数 園児 83名、職員 21名 (計 104名) 入院者なし。

#### ●主症状 下痢、腹痛 等

#### ●原因食事 原因施設が調製した弁当 (2) 収去食材

<メニュー> チンジャオロース、イカの唐揚げ、卵焼き、煮物(そら豆)、ほうれん草と人参のナムル、一口ゼリー、フルーツ(缶詰)、ご飯、コンニャクのきんぴら等 である。

### 2. 遺伝子検査

便検体は10%乳剤とし、RNA抽出後、マニュアル(国立感染症研究所下痢症ウイルス検出マニュアル)に準じ、ノロウイルス遺伝子の検出を試みた。ノロウイルス陽性株は、ノロウイルス遺伝子Capsid領域の5'側約282bpの塩基配列を決定し、系統樹解析により遺伝子型を判定した。ダイレクトシーケンスで型別不能な検体についてはノロウイルス遺伝子型別はCapsid領域を増幅し、TAクローニンベクターに挿入し、判定した。

### 3. 収去食材からノロウイルス遺伝子検出の試み

秋田県衛生環境研究センターで齋藤らにより、パンソルビン・トラップ法にて遺伝子検査を試みた(表1)。

(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) 事例1: 検査結果: 患者5名中5名、従業員10名中1名からノロウイルスGII.12が検出された。これらの6検体の相同性は100%であった(図1)。
- 2) 事例2: 園児、職員、給食提供施設従業員を含む94検体中、33検体(35%)がノロウイルス陽性であった。遺伝子型ではGI.4 29例(88%)と最も多く、次いでGI.3(2検体)、GI.14(1検体)、GI.4+GII.型別不明(1検体)であった。クローニング解析の結果、GI.4を含めGII.4, GII.2, GII.6の関与も認められた(図2, 図3)。
- 3) 食材からのノロウイルス遺伝子検索  
検出結果を表2に示す。  
大人用そら豆煮物からGI first, GII firstでそれぞれ102 copy/食品1 gram, 46 copy/食品1 gramの遺伝子が検出された。これらはnested-PCRでも検出された。しかし、GII nested-PCRでは煮物(そら豆)、大人用こんにゃくキンピラからも検出された。

### D. 考察

ノロウイルスはヒト-ヒト感染や塵埃感染の原因ウイルスのみならず食中毒の原因ウイルスの一つでもある。後者の場

合、サポウイルス、アストロウイルス、アイチウイルス等のその他のウイルスに比べ感染頻度・発症率の極めて高いウイルスである。臨床面からのノロウイルス感染症の診断には、RT-PCR法に加えて、抗原・抗体反応を用いたELISA法やイムノクロマト法による診断方法が開発され、医療現場に大きな貢献をしている。しかし、これらを用いて食材中のノロウイルス検出は検出感度による大きな障壁があり検出不可能であることを既に報告した。

これまで、ノロウイルス食中毒事例では積極的疫学調査から疑い食材はある程度まで絞り込むことが可能であったが原因食材の特定には至らない場合が殆どであった。また、除去すべき食材の保存が行われていない、というごく初歩的な問題点もあった。今回の食中毒事例1は好例である。さらに、検査分野においても、大きな食材体積中に含まれるごく微量のウイルス量検出は不可能に近い作業であった。磁気ビーズ法を用いたノロウイルス遺伝子検出方法の報告もあるが検出率の向上は依然大きな課題となっている。

本班では以前から食材中からノロウイルス検出方法の開発を試みてきたが、昨今、パンソルビン・トラップ法が開発され、食材中からノロウイルス遺伝子が検出されることが確認されるようになった。パンソルビン・トラップ法の詳細は齋藤らの報告を参照して戴きたい。

報告の食中毒事例2は、積極的疫学調査に加えて食材が保存されていたことがノロウイルス原因食中毒事例と特定できた一つの大きな要因であった。この事例は



パンソルビン・トラップ法により原因食品中からノロウイルス遺伝子が検出された本邦で初めての報告である。

パンソルビン・トラップ法には、長所と課題、そして限りない可能性を含んでいる。最大の長所は食中毒事例の原因を科学的に究明できる点、そしてこの結果が食中毒予防を含めた食の安心・安全に大きな貢献ができる点である。その余波が食品業界や調理師会に与える影響は計り知れないと考える。食材の調理製造過程における衛生基準の遵守・徹底の指標に大きな貢献が出来ると考える。検出系をマニュアル化し全国に検査方法の普及を計るべきと考える。総合的な判断・期待感からノロウイルスを含めた食中毒の減少に繋がる検査方法と考える。

課題は検出産物の遺伝子解析をスムーズに遂行できる技術的な改良である。今回の事例では検出産物の解析に努力している。また、今回の事例2では、GI.4以外の GII.4, GII.12 などのウイルスが臨床検体から検出されている。これらのウイルスの果たしている食中毒発症への任務は何か、この究明は深くノロウイルス感染症について解析すべき大きな課題である。

限りない可能性は、ノロウイルス以外の食中毒に関与するウイルスの食材からの検出系の構築である。他のウイルスの捕捉特異抗体やRT-PCR法のためのプライマー設計など、不可能と思われる課題は見受けられない。

今後の食中毒原因究明二世代パンソルビン・トラップ法の構築が可能と考える。

以上から、少なくともウイルスが関与

する食中毒事例では、原因ウイルスの特定に大きく前進したと考える。

## E. 結論

本班で完成の域に達したパンソルビン・トラップ法は、食中毒原因ノロウイルス遺伝子を検出する大きなツールとなった。今回、幼稚園で発生した100名以上のノロウイルス食中毒事例の食材から本邦で初めてウイルス遺伝子を検出することが出来た。本法の活用は食中毒原因物質の特定のみならず、食品業界等への食材の調理製造過程における衛生基準の遵守・徹底の指標に発信することが出来る。食中毒予防を含めた食の安心・安全に大きな貢献ができる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) 田中智之. 消化器症候群 ノロウイルス ウイルス感染症の検査・診断スタンダード. 羊土社発行 P129-133, 2011

2) 三好龍也 内野清子 西口智子 岡山文香 吉田永祥 田中智之 瀬尾宗治 辻本裕貴 大橋吾郎 藤井史敏 野田 衛 斎藤博之

食品中からノロウイルス遺伝子が検出された食中毒事例一堺市

病原微生物検出情報 32 (12) 364-365: 2011

3) 斎藤博之、東方美保、岡智一郎、片山和彦、田中智之、野田衛:パンソルビン・トラップ法による食品からのウイルス検出法、病原微生物検出情報、Vol.32、No.12、4-6、

## 2. 学会発表

1) 吉澄志磨, 後藤明子, 石田勢津子,  
田中智之, 野田衛: 二枚貝の喫食の  
みられた食中毒疑い事例における各  
種胃腸炎ウイルスの関与について,  
第32回日本食品微生物学会, 2011年  
10月, 東京

2) Tomoyuki Tanaka, Noritoshi  
Kitamoto, Tomoichiro Oka, Tatsuya  
Miyoshi, Kiyoko Uchino, Hisaaki  
Yoshida, Setsuko Iizuka, Yoshiharu  
Morino, Yasutaka Yamashita, Seiya  
Harada, Naokazu Takeda and Kazuhiko  
Katayama. Rapid Detection kit for  
norovirus and sapovirus with viruses  
specific monoclonal antibodies. The  
5<sup>th</sup> China Medicinal Biotech Forum  
November 7-9, Beijing, China

## 3. その他: なし

## H. 謝辞

藤井史敏、大橋吾郎、瀬尾宗治  
辻本裕貴(堺市保健所)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

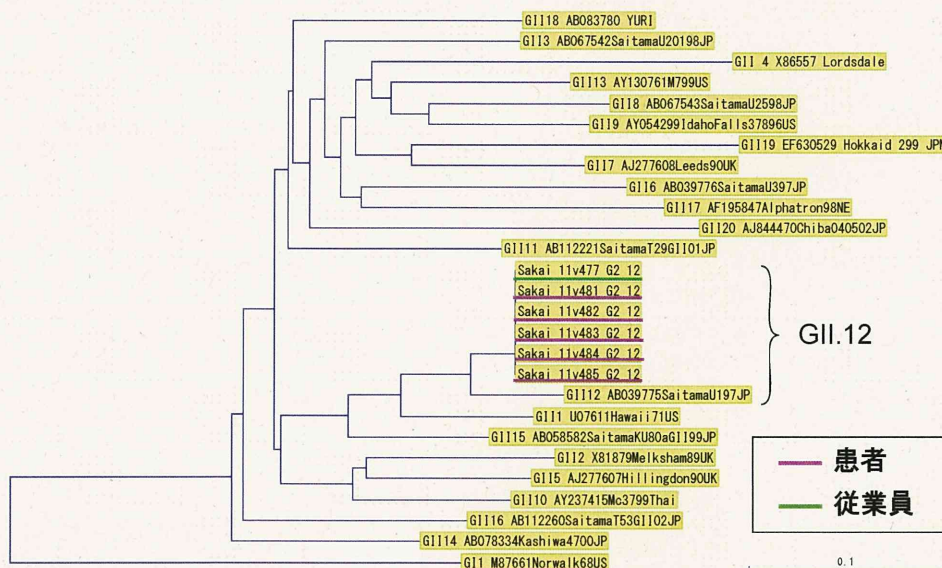
1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし

表 1. 食品中からのノロウイルス検出手順

1. 固形食品は重量測定後、全量をバッファー50mL に懸濁してからパンソルビン・トラップ法で RNA 抽出を行った。
2. A31 は 0.1M NaOH を 5mL、2M Tris-HCl(pH8.4) を 5mL、NaCl 粉末を 4g、Tween20 を 50  $\mu$  L 添加してからパンソルビン・トラップ法を行った
3. 添加した抗体はバクスター社の Gammagard。
4. 抽出した RNA は DNase I 処理（食品由来 DNA の除去と、コンタミ対策）、Amylase 処理（食品由来炭水化物の除去）を行った。
5. プライマー COG1F/COG1R、及び COG2F/COG2R で合成した cDNA を 1st. PCR (real-time PCR) で分析した。
6. プライマー COG1F/G1-SKR、及び COG2F/G2-SKR で合成した cDNA を、同じプライマーで conventional PCR を行い、その産物を real-time PCR で分析した。結果は定性とみなした。
7. 増幅カーブが立ち上がってきた検体について、+ と表記した。
8. 食品 1g 当たりのコピー数に換算したものの。

図 1 事例 1 におけるノロウイルス遺伝子解析系統樹

### ノロウイルスGII遺伝子系統樹解析結果



ノロウイルスGI遺伝子系統樹解析結果

