

を行った。すなわち、① 1st ; SV-F13, F14/SV-R13, R14, nested ; F22/R2 (Okada et al, Arch Virol, 151: 2006)、② 1st ; F11/R1, nested ; F21/R2 (Okada et al, Arch Virol, 147 : 2002)、③ 1st ; SaV124F, 1F, 5F/SV-R13, R14、 nested ; 1245Rfwd/R2 (Kitajima et al, Appl Environ Microbiol, 76 : 2010) の 3 組のプライマーを用いた nested PCR のいずれかで SaV 遺伝子が増幅された検体、またはリアルタイム PCR で実測値 25 コピー以上の値を示した検体を SaV 陽性と判定した。

#### 4. 遺伝子型の同定

NoV, SaV, AstV, AiV, RV, AdV については遺伝子型別を行った。NoV, AiV, RV, AdV は検出用 PCR の増幅産物、SaV は前述①、②、③のいずれかの増幅産物の塩基配列を基に、系統樹解析により遺伝子型別を行った。AstV は、AC4/AC6 及び S4/AC6 プライマーを用いた One-Step PCR を行い、増幅産物の塩基配列を遺伝子型別に用いた (AC4, AC6 ; Sakon et al, J Med Virol, 61:2000, S4; Sakamoto et al, J Med Virol, 61 : 2000)。

#### (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。また北海道立衛生研究所ヒトを対象とする医学研究に関する規定に基づいて審査を受け、非該当と判定された。

### C. 研究結果

#### 1. 食中毒事例

検査対象とした食中毒は 13 事例で、こ

のうち 7 事例に二枚貝の喫食がみられた。

二枚貝喫食事例のウイルス検索結果を表 1 に示した。4 事例 (No. 1~4) からは NoV のみが検出され、同一事例内で検出された NoV の遺伝子型はいずれも 1 種類であった。一方、加熱用二枚貝の喫食が原因と推定された 3 事例 (No. 5~7) においては複数の遺伝子型の NoV が検出され、NoV 以外の胃腸炎ウイルスの感染も認められた。加熱用カキの喫食事例からは SaV, AiV, AstV が、アサリ喫食事例からは AstV が検出された。

次に、調理従事者による食品汚染が原因と考えられた食中毒事例 (すべて非二枚貝喫食事例) について、そのウイルス検索結果を表 2 に示した。いずれの事例も、同一事例内では 1 種類のウイルスのみが検出され、塩基配列もそれぞれ一致した。6 事例のうち 5 事例からは NoV が、1 事例からは SaV が検出された。事例 No. 6 において検出された SaV の遺伝子型は GI. 2 であった。

#### 2. 食中毒疑い事例

表 3 に、食中毒疑い事例として検査依頼があったが、NoV 検査結果や疫学情報などから食中毒と断定されなかった 10 事例 (すべて非二枚貝喫食事例) についてのウイルス検索結果を示した。No. 6 を除く 9 事例からは NoV が高率に検出され、塩基配列はそれぞれの事例内で一致した。その他のウイルスは、事例 No. 1 において 0 歳児から NoV と AdV が検出されたのみであった。事例 No. 6 では、1 検体 (47 歳) から AiV のみが検出された。

#### 3. 感染症事例

感染症事例のウイルス検索結果を、発

生施設別に表4に示した。

保育所・幼稚園事例では、今回検索対象としたウイルスのうち、AiVとC-RVを除くすべての胃腸炎ウイルスが検出された。保育所・幼稚園事例から検出されたA-RVのG型は、多い順にG3, G1, G2であり、2010年はG3を主流に、2011年4月以降G1に置き換わった。G2は2011年4月に1検体から検出されたのみであった。その他の胃腸炎ウイルスでは、SaVの検出遺伝子型は多い順にGI.3, GII.3, GV, GI.1であり、AstVはtype3主流のなかtype8, type1がそれぞれ1検体から検出された。腸管AdVは41型のみを検出であった。

一方、中学生以上の年齢層の施設から検出されたウイルスは、A-RV、AdV(40, 41型以外)、AiVの3種類のみであった。A-RVは中学校(G1)、高等専門学校(G2)、高齢者施設(G9)から、AdVは児童養護施設、病院、高齢者施設から検出された。AiVは小児事例からは検出されなかったが、高校事例の1検体(17歳)から検出された。C-RVはいずれの検体からも検出されなかった。

表5に、患者糞便における検出ウイルスの組み合わせを示した。保育所・幼稚園の事例では、ウイルスが検出された237検体のうち胃腸炎ウイルスの単独検出例は80%(190検体)で、20%の検体から複数(最大3種類)のウイルスが検出された。小学生以上の年齢層の施設においても2種類のウイルスの検出例が認められたが、すべてNoVと他の胃腸炎ウイルスの組み合わせであり、検出検体数も1~数検体程度であった。A-RVは、小学生以下の年齢

層だけでなく、中学校、高等専門学校、高齢者施設でも単独検出例が認められた。

#### 4. 集団胃腸炎事例の原因ウイルス

集団胃腸炎事例の原因ウイルスを「検査検体の半数以上から検出されたウイルス」と設定した場合、今回対象とした集団胃腸炎139事例のうち116事例(83%)の原因ウイルスはNoVであり、18事例(13%)においてNoV以外の胃腸炎ウイルスの関与が認められた。その他に、検査検体の半数以上からなんらかのウイルスが検出されたものの特定のウイルス検出は半数に満たなかったものが1事例(飲食店;二枚貝喫食事例)、原因ウイルスが確認されなかったものが4事例(飲食店、保育所、中学校、高校それぞれ1事例)あった。NoV以外の胃腸炎ウイルスの関与がみられた18事例の内訳は、表6に示すとおり、A-RV単独によるものが8事例、SaV単独が3事例、SaVとA-RVが1事例あり、NoVと他のウイルス(A-RV, SaV, 腸管AdV, PeV)の組み合わせが合わせて6事例あった。

#### D. 考察

食中毒事例について各種胃腸炎ウイルスの検索を行ったところ、二枚貝の喫食のみられた7事例のうち3事例から複数の胃腸炎ウイルスが検出された。これら3事例はいずれも加熱用二枚貝の喫食が原因と推定された事例であり、加熱不十分な状態で喫食することにより、NoV以外にSaV, AstV, AiVの感染が成立することが示された。ただし、これらのウイルスの多くはNoVとの組み合わせで検出されている。AiVとAstVについては単独検出例

が 1 例ずつ認められたが、成人の胃腸炎発症に関与しているかどうかについてはさらに検討を行う必要があると考えられた。一方、非二枚貝関連事例において SaV 単独感染による食中毒が 1 事例確認され、感染症事例では成人層(高等専門学校と高齢者施設)において A-RV 単独の集団胃腸炎事例が認められた。このことから、SaV と A-RV 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。

今回の対象事例において、A-RV 単独による成人の集団胃腸炎は 2 事例あり、検出された A-RV の G 型は、高等専門学校の事例は G2、高齢者施設は G9 であった。北海道ではこれ以外にも成人層の集団胃腸炎が 7 事例確認されており、検出 A-RV の G 型は、高校 2 事例(G1, G3)、知的障害者施設 1 事例(G1)、食中毒疑い飲食店 1 事例(G1)、高齢者施設 3 事例(G1, G3×2)であった。A-RV は乳幼児の時期にほとんどのヒトが感染して免疫を持つことから、免疫能が低下する高齢者を除いて、成人では集団胃腸炎が発生しにくいとされている。しかし、これまでの成績から、乳幼児感染の主流タイプである G1 や G3 を含め、いずれの G 型についても成人層に集団胃腸炎を引き起こす可能性があることが示された。

SaV については、単独感染による食中毒が 1 事例確認され、検出遺伝子型は GI.2 であった。同時期の北海道の小児事例からは GI.2 型は検出されなかったが、全国の地方衛生研究所から SaV の塩基配列が登録されている CaliciWeb

(<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calicinew/>)で 2011 年に検出された SaV 株の系統樹解析結果を確認したところ、登録 SaV の遺伝子型は GI.2 に集中しており、北海道の食中毒由来株(1103-011-F-1134 株)を含め GI.2 株のほとんどが高い相同性を持つことが示された。また、GI.2 型による成人の集団胃腸炎事例(食中毒を含む)も、2010 年以降、他県において複数報告されていた(IASR 31: 322-323, 2011、IASR 31: 323-324, 2011、IASR 32: 201-202, 2011)。以上のことから、2011 年に GI.2 型が全国規模で流行していたことが示され、さらに、成人の集団胃腸炎事例が複数確認されたことから、この GI.2 型は比較的成人で感染拡大が起りやすいタイプであった可能性が考えられた。SaV は NoV と同様に複数の遺伝子型の存在が確認されており、成人の SaV 感染状況を把握するためには、遺伝子型情報の蓄積が必要であると考えられた。

感染症事例の実態調査では、ほとんどの胃腸炎ウイルスが保育所・幼稚園事例で最も高い検出頻度をみせたが、AiV は保育所・幼稚園事例からはまったく検出されず、高校事例 1 検体からのみ検出された。食中毒事例等も含めると、AiV 検出例の年齢は、17 歳 1 名、30 代 2 名、40 代 3 名であった。保育所・幼稚園事例では 2 種類以上のウイルスの検出例が多数認められており、この検出ウイルスの中には、集団胃腸炎とは無関係のバックグラウンドのウイルス感染(散发例、不顕性感染例など)も多く含まれていると推測される。それにも関わらず、小児施設で AiV がまったく検出されないということから、

AiV 感染の至適年齢層が他の胃腸炎ウイルスより高い可能性が示唆された。

今回の調査では年齢層別にウイルス感染状況の把握を試みたが、乳幼児と高齢者の事例数が多く、中間層の事例数は不足していた。次回は中学生以上の年齢層を中心に、感染ウイルスの種類と遺伝子型についての情報を収集する予定である。

#### E. 結論

実態調査の結果、成人の集団胃腸炎(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はSaVとA-RVであることが示された。また、成人の集団胃腸炎の発生状況を把握するためには、原因ウイルスの種類だけでなく遺伝子型の情報も併せて収集する必要があると考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

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事例における各種胃腸炎ウイルスの関与ー北海道. 病原微生物検出情報, 32: 361-363, 2011.

##### 2. 学会発表

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

#### 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1 二枚貝喫食食中毒事例についてのウイルス検索結果

| No. | 発生年月    | 原因施設 | 喫食二枚貝                 | 検査数 | 検出検体数(遺伝子型)             |          |           |           |
|-----|---------|------|-----------------------|-----|-------------------------|----------|-----------|-----------|
|     |         |      |                       |     | NoV                     | SaV      | AiV       | AstV      |
| 1   | 2010.12 | 飲食店  | カキ(生、熱) <sup>※1</sup> | 4   | 4 (GII.13)              | -        | -         | -         |
| 2   | 2010.12 | 飲食店  | カキ(生)                 | 10  | 9 (GII.13)              | -        | -         | -         |
| 3   | 2011.04 | 飲食店  | カキ(生)                 | 17  | 13 (GII.3)              | -        | -         | -         |
| 4   | 2011.04 | 事業所  | カキ(生)                 | 3   | 2 (GII.3)               | -        | -         | -         |
| 5   | 2010.10 | 飲食店  | カキ(熱)                 | 8   | 7 (mix-1) <sup>※2</sup> | 1 (GI.3) | 3 (typeA) | -         |
| 6   | 2011.03 | 飲食店  | カキ(熱)                 | 15  | 10 (mix-2)              | 1 (GI.3) | 3 (typeA) | 1 (type3) |
| 7   | 2011.07 | 飲食店  | アサリ                   | 7   | 3 (mix-3)               | -        | -         | 1 (type3) |

※1 生:生食用、熱:加熱用

※2 mix-1: GI.4, GI.8, GII.2, GII.12, GII.14

mix-2: GI.4, GI.7, GI.8, GII.6, GII.12, GII.13, GII.14

mix-3: GI.4, GI.8, GII.12, GII.15

表2 非二枚貝関連食中毒事例についてのウイルス検索結果

| No. | 発生年月    | 原因施設 | 検査数 | 検出検体数(遺伝子型) |          |
|-----|---------|------|-----|-------------|----------|
|     |         |      |     | NoV         | SaV      |
| 1   | 2010.05 | 集会施設 | 10  | 10 (GII.4)  | -        |
| 2   | 2010.05 | 飲食店  | 7   | 7 (GII.4)   | -        |
| 3   | 2010.06 | 旅館   | 7   | 6 (GII.6)   | -        |
| 4   | 2011.02 | 飲食店  | 9   | 9 (GII.4)   | -        |
| 5   | 2011.02 | 飲食店  | 4   | 3 (GII.4)   | -        |
| 6   | 2011.03 | 飲食店  | 5   | -           | 5 (GI.2) |

表3 食中毒疑い事例についてのウイルス検索結果(非二枚貝関連、食中毒とは断定されず)

| No. | 発生年月    | 発生施設 | 検査数 | 検出検体数(遺伝子型) |           |                        |
|-----|---------|------|-----|-------------|-----------|------------------------|
|     |         |      |     | NoV         | AiV       | AdV                    |
| 1   | 2010.04 | 飲食店  | 7   | 5 (GII.4)   | -         | 1 (type2) <sup>※</sup> |
| 2   | 2010.11 | 飲食店  | 6   | 6 (GII.4)   | -         | -                      |
| 3   | 2010.11 | 飲食店  | 2   | 2 (GII.13)  | -         | -                      |
| 4   | 2011.01 | 集会施設 | 8   | 7 (GII.2)   | -         | -                      |
| 5   | 2011.01 | 家庭   | 6   | 6 (GII.3)   | -         | -                      |
| 6   | 2011.02 | 飲食店  | 19  | -           | 1 (typeA) | -                      |
| 7   | 2011.03 | 飲食店  | 2   | 2 (GII.4)   | -         | -                      |
| 8   | 2011.03 | 船舶   | 3   | 3 (GII.2)   | -         | -                      |
| 9   | 2011.04 | 飲食店  | 5   | 5 (GII.2)   | -         | -                      |
| 10  | 2011.06 | 飲食店  | 2   | 2 (GII.12)  | -         | -                      |

※0歳児からNoVとAdVを検出

表4 感染症事例のウイルス検索結果

| 発生施設    | 事例数 | 検査数 | 検出検体数（延べ数） |      |     |      |         |     |     |     |     |      |
|---------|-----|-----|------------|------|-----|------|---------|-----|-----|-----|-----|------|
|         |     |     | NoV        | A-RV | SaV | AstV | AdV     |     | PeV | AiV | BoV | C-RV |
|         |     |     |            |      |     |      | 40, 41型 | その他 |     |     |     |      |
| 保育所・幼稚園 | 49  | 252 | 194        | 25   | 24  | 7    | 5       | 19  | 16  | -   | 1   | -    |
| 小学校     | 21  | 126 | 110        | 7    | 2   | 1    | -       | 5   | -   | -   | -   | -    |
| 児童養護施設  | 3   | 14  | 11         | -    | -   | -    | -       | 1   | -   | -   | -   | -    |
| 中学校     | 2   | 9   | 4          | 1    | -   | -    | -       | -   | -   | -   | -   | -    |
| 高校      | 4   | 25  | 16         | -    | -   | -    | -       | -   | -   | 1   | -   | -    |
| 高等専門学校  | 1   | 4   | -          | 2    | -   | -    | -       | -   | -   | -   | -   | -    |
| 障害者施設   | 10  | 48  | 44         | -    | -   | -    | -       | -   | -   | -   | -   | -    |
| 病院      | 4   | 14  | 13         | -    | -   | -    | -       | 1   | -   | -   | -   | -    |
| 高齢者施設   | 22  | 112 | 93         | 5    | -   | -    | -       | 3   | -   | -   | -   | -    |

表5 感染症事例の糞便検体から検出された胃腸炎ウイルスの組み合わせ

| 検出ウイルス         |                   | 検出検体数      |     |            |     |    |            |           |    |           |
|----------------|-------------------|------------|-----|------------|-----|----|------------|-----------|----|-----------|
|                |                   | 保育所<br>幼稚園 | 小学校 | 児童養護<br>施設 | 中学校 | 高校 | 高等専門<br>学校 | 障害者<br>施設 | 病院 | 高齢者<br>施設 |
| 単独             | NoV               | 153        | 104 | 10         | 4   | 15 | -          | 44        | 12 | 90        |
|                | A-RV              | 18         | 7   | -          | 1   | -  | 2          | -         | -  | 5         |
|                | SaV               | 14         | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
|                | AdV               | 3 (1)      | 2   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
|                | PeV               | 2          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
| 2種類<br>(NoV+1) | NoV + AdV         | 15 (3)※    | 3   | 1          | -   | -  | -          | -         | 1  | 3         |
|                | NoV + SaV         | 5          | 2   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
|                | NoV + AstV        | 3          | 1   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
|                | NoV + A-RV        | 2          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
|                | NoV + PeV         | 8          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
|                | NoV + BoV         | 1          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
| 2種類<br>(NoV以外) | SaV + A-RV        | 3          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
| SaV + AstV     | 1                 | -          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  |           |
| A-RV + PeV     | 1                 | -          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  |           |
| AstV + PeV     | 1                 | -          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  |           |
| 3種類<br>(NoV+2) | NoV + AdV + PeV   | 4 (1)      | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
|                | NoV + AstV + A-RV | 1          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
|                | NoV + SaV + AdV   | 1          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
|                | NoV + AstV + AdV  | 1          | -   | -          | -   | -  | -          | -         | -  | -         |
| ウイルス検出なし       |                   | 15         | 7   | 3          | 4   | 9  | 2          | 4         | 1  | 14        |

※ ( ) : アデノウイルスのうち、40, 41型が検出された検体数

表6 集団胃腸炎の原因ウイルスとして NoV 以外の胃腸炎ウイルスの関与が認められた事例

| 検出<br>ウイルス | 発生年月    | 発生施設         | 検査数 | 検出検体数(遺伝子型) <sup>※</sup> |        |           |            |     |
|------------|---------|--------------|-----|--------------------------|--------|-----------|------------|-----|
|            |         |              |     | NoV                      | A-RV   | SaV       | AdV        | PeV |
| A-RV       | 2010.04 | 高等専門学校       | 4   |                          | 2 (G2) |           |            |     |
|            | 2010.05 | 保育所          | 5   |                          | 5 (G3) |           |            |     |
|            | 2010.05 | 保育所          | 4   |                          | 2 (G3) |           |            |     |
|            | 2010.07 | 高齢者施設        | 5   |                          | 5 (G9) |           |            |     |
|            | 2011.04 | 保育所          | 2   |                          | 2 (G3) |           |            |     |
|            | 2011.05 | 保育所          | 5   |                          | 5 (G1) |           |            |     |
|            | 2011.05 | 保育所          | 4   |                          | 3 (G1) |           |            |     |
|            | 2011.05 | 小学校          | 6   |                          | 6 (G2) |           |            |     |
| SaV        | 2010.12 | 保育所          | 4   |                          |        | 4 (GI.3)  |            |     |
|            | 2011.03 | 飲食店<br>(食中毒) | 5   |                          |        | 5 (GI.2)  |            |     |
|            | 2011.05 | 幼稚園          | 6   |                          |        | 4 (GI.1)  |            |     |
| SaV + A-RV | 2010.05 | 保育所          | 5   |                          | 3 (G3) | 5 (GII.3) |            |     |
| NoV + A-RV | 2010.04 | 保育所          | 6   | 3 (GII.2)                | 3 (G3) |           |            |     |
| NoV + SaV  | 2010.12 | 保育所          | 4   | 2 (GII.3)                |        | 4 (GI.3)  |            |     |
|            | 2011.02 | 保育所          | 5   | 4 (GII.13)               |        | 4 (GV)    |            |     |
| NoV + AdV  | 2010.11 | 保育所          | 5   | 4 (GII.3)                |        |           | 4 (type41) |     |
| NoV + PeV  | 2010.11 | 保育所          | 5   | 4 (GII.13)               |        |           |            | 4   |
|            | 2010.11 | 保育所          | 4   | 4 (GII.13)               |        |           |            | 2   |

※ 検査検体の半数以上から検出されたウイルスについてのみ記載

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」

研究協力報告書

## 食品の関与が推定される集団胃腸炎におけるウイルス検索

|       |        |               |
|-------|--------|---------------|
| 研究協力者 | 森 功次   | 東京都健康安全研究センター |
| 研究分担者 | 田中 智之  | 堺市衛生研究所       |
| 研究協力者 | 秋場 哲哉  | 東京都健康安全研究センター |
| 研究協力者 | 永野 美由紀 | 東京都健康安全研究センター |
| 研究協力者 | 林 志直   | 東京都健康安全研究センター |

### 研究要旨

2010 年に引き続き、集団胃腸炎発生時にノロウイルス (NoV) 以外の胃腸炎起因ウイルスについて検索を行い、それらの発生状況についてデータの集積をはかった。2011 年 1 月～12 月にかけて得られた 565 件の胃腸炎事例についてウイルス検索を実施したところ、ウイルス検出事例数は 269 事例 (47.6%) であった。内訳は NoV が検出された事例が 256 事例と多くを占めていたが、27 事例 (10.1%) からその他のウイルスが検出された。これら NoV 以外のウイルスが検出された事例のうち、食品の関与が推定される集団胃腸炎はサポウイルス (SaV) によるものが 4 事例であった。その他に生カキを喫食した事例において SaV が同時に検出される事例がみられた。これらの結果から SaV の関与した胃腸炎は調理従事者の関与や二枚貝類の喫食など NoV と同様の感染経路で発生していることが確認できた。

### A. 研究目的

ウイルス性胃腸炎の集団事例において、その主な病因ウイルスはノロウイルス (Norovirus : NoV) である。食品や調理従事者の関与が推定される食中毒事例および、幼稚園や小学校などのほか高齢者施設内でみられる、食品を介さないと考えられる感染症的な施設内流行においてもその傾向は同様である。

しかし、NoV と比較すると事例数は少ないものの、例年 NoV 以外のウイルスが関与

した集団胃腸炎も発生しているのが現状である。そこで、食品の関与が推定される集団胃腸炎発生時に、原因物質の確定率を向上させることを目的として、NoV 以外のウイルスについて集団胃腸炎の起因ウイルスであるか検索を行い、それらの発生状況について 2010 年の検索を継続してデータの集積をはかった。

### B. 研究方法

#### 1. 材料



2011年1月から12月にかけて得られた565件の胃腸炎事例に関連した糞便を主な検査材料とした。

## 2. 胃腸炎ウイルスの検索

2010年の調査と同様の方法により、NoV、SaV、A群ロタウイルス（GARV）、C群ロタウイルス（GCRV）、アストロウイルス（AstV）、および腸管アデノウイルス（AdenoV）について real-time PCR 法を用いて検索を実施した。

## 3. 塩基配列の解析

real-time PCR 陽性の場合 conventional PCR を実施し、明瞭なバンドの得られた事例についてはダイレクトシーケンスにより塩基配列解析を試みた。

### （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. 胃腸炎ウイルス検出状況

ウイルス検索を実施した565事例のうち、検索対象としたウイルスが検出された事例数は269事例(47.6%)であった。内訳はNoVが検出された事例が256事例(95.2%)と最も多く占めていたが、SaV:7事例(2.6%)、GARV:4事例(1.5%)、AstVおよびSV+AstV:各1事例(0.4%)とその他のウイルスに起因すると考えられる事例が13事例(4.8%)みられた(表1)。その他に生カキ等の喫食歴のある胃腸炎事例からNoVと同時にSaVおよびAstVが検出される事例がみられ、2011年にNoV以外のウイルスが検出された事例は計27事例(10.1%)であった。

2010年同様に検出数に大きな差はあるが、NoVの次に多く検出されたウイルスはSaVであった。SaVの検出時期は1月、2月、4～8および12月と2010年同様に季節的な特徴はみられなかった(図1)。

これらNoV以外のウイルスが検出された事例のうち、食品の関与が推定される集団胃腸炎はSVによるものが4事例であった。この4事例はいずれも調理従事者の関与が推定され、うち2事例は他県市に関連した事例であった。

### 2. 塩基配列の解析

臨床検体から検出されたウイルスの塩基配列による遺伝子型を図2に示した。SaVの検出された16事例のうち12事例はGI/2、3事例はGI/1、1事例はGI/1とGI/2の混合事例であった。それらのSaV検出事例のうち、食品の関与が推定された上記のSaV胃腸炎4事例の遺伝子型はいずれもGI/2であり、Oshima1/2009類似株であった(図3)。また、各事例に関連して得られたカキからSaVは非検出であった。検出されたAstVは二枚貝類の喫食歴のある事例からtype1が5事例、type4が1事例検出され、小学校で発生した感染症的な週胃腸炎からtype8が1事例検出された。また、いずれも感染症的な事例であったがGARVの関与が推定される4事例はいずれも明瞭なバンドが得られず型別不能であった。

## D. 考察

2011年の胃腸炎集団事例におけるウイルス検出状況において、起因ウイルスとしてNoVが大きな割合を占めていることは例年の流行と同様であった。しかし、2010年4月～12月にかけて発生したウイルス

性胃腸炎の 8.9%からその他のウイルスが検出され、2011 年にも 10.1%の事例から NoV 以外のウイルスが検出されたことから、ほぼ一定の割合で NoV 以外のウイルスが胃腸炎事例に関与しているものと推察された。NoV 以外のウイルスが検出された事例のうち、調理従事者の関与が推定される事例や生カキの喫食歴のある事例から SaV が検出されたことから、施設内の感染症的な集団事例のほか、NoV 同様の要素により SaV による胃腸炎が発生していることが確認できた。2011 年に検出された SaV は食品の関与が推定される事例および感染症的な事例において近縁な GI/2 が多くの割合を占めており、GI/2 の大きな流行があったものと思われた。しかし夏以降 GI/1 が検出されており、流行の主体が変化する可能性も考えられる。今後も NoV 以外の胃腸炎ウイルスについて検索を継続し、データの集積をはかる予定である。

#### E. 結論

・NoV 以外のウイルスがほぼ一定の割合で胃腸炎事例に関与しているものと推察され

た。

・SaV が調理従事者の関与が推定される事例や生カキの喫食歴のある事例から検出されたことから、NoV 同様の感染経路で SaV による胃腸炎が発生していることが確認できた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

・Mori K. ほか：Prevalence of Sapovirus-related community gastroenteritis in Tokyo from April 2008 to March 2011. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, 2011, 札幌市

#### 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1 : 東京都における胃腸炎ウイルス検出状況 (2011年1月～12月)

|              |     |              |
|--------------|-----|--------------|
| 検査事例数        | 565 |              |
| ウイルス検出事例数    | 268 | (検出事例における割合) |
| NoVG I       | 23  | (8.6%)       |
| NoVG II      | 200 | (74.6%)      |
| NoVG I +G II | 18  | (6.7%)       |
| SaV          | 7   | (2.6%)       |
| GARV         | 4   | (1.5%)       |
| その他*         | 16  | (6.0%)       |

\* : NoVG I+GII+SaV : 3, NoVG I+SaV : 1, NoVGII+SaV : 5, NoVGII+AstV : 1,  
NoVG I+SaV+AstV : 1, NoVG I+GII+SaV+AstV : 3, SaV+AstV : 1, AstV : 1

図1 : 東京都における胃腸炎ウイルス検出状況 (月別、2011年1月～12月)

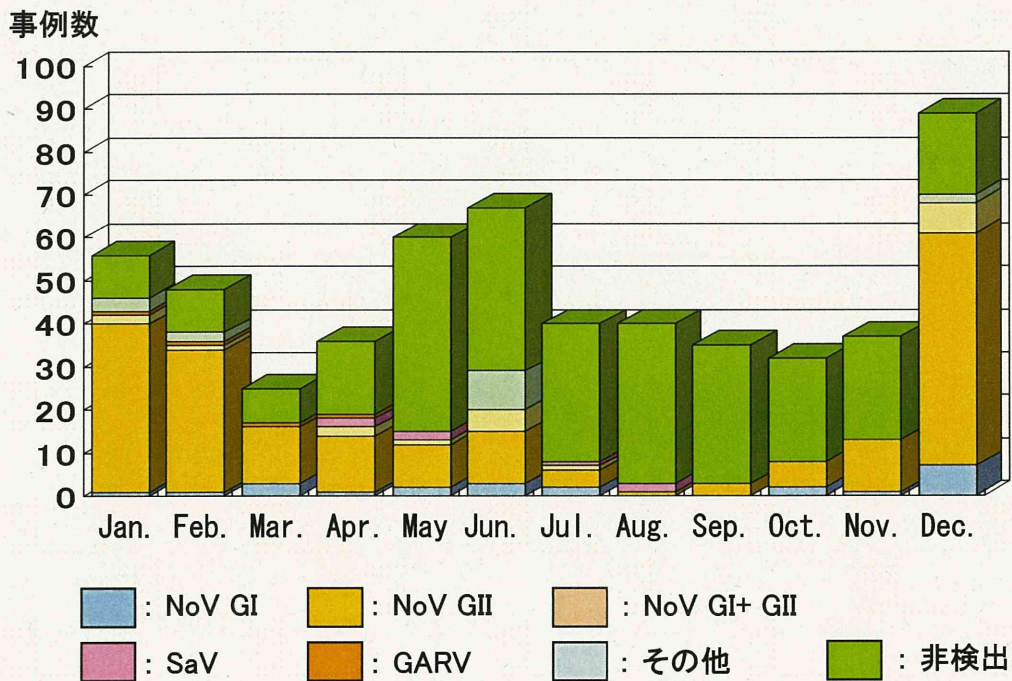
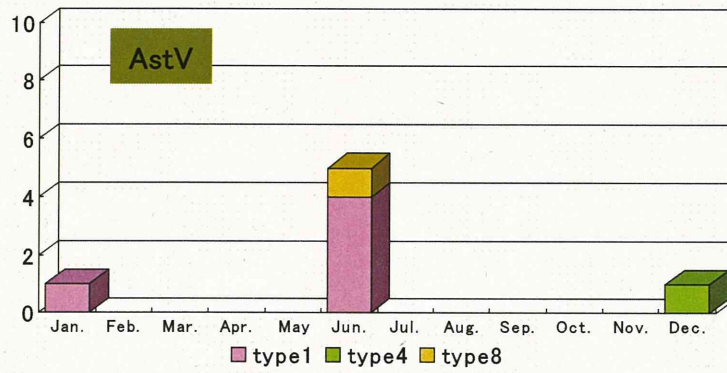
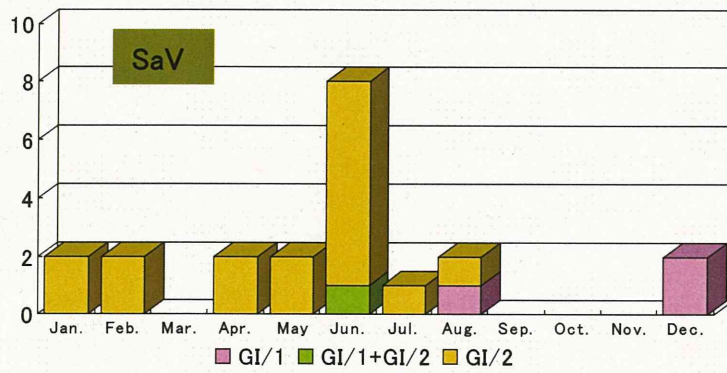


図2 : 東京都における検出されたSaV、AstVの型別分布 (月別、2011年1月~12月)



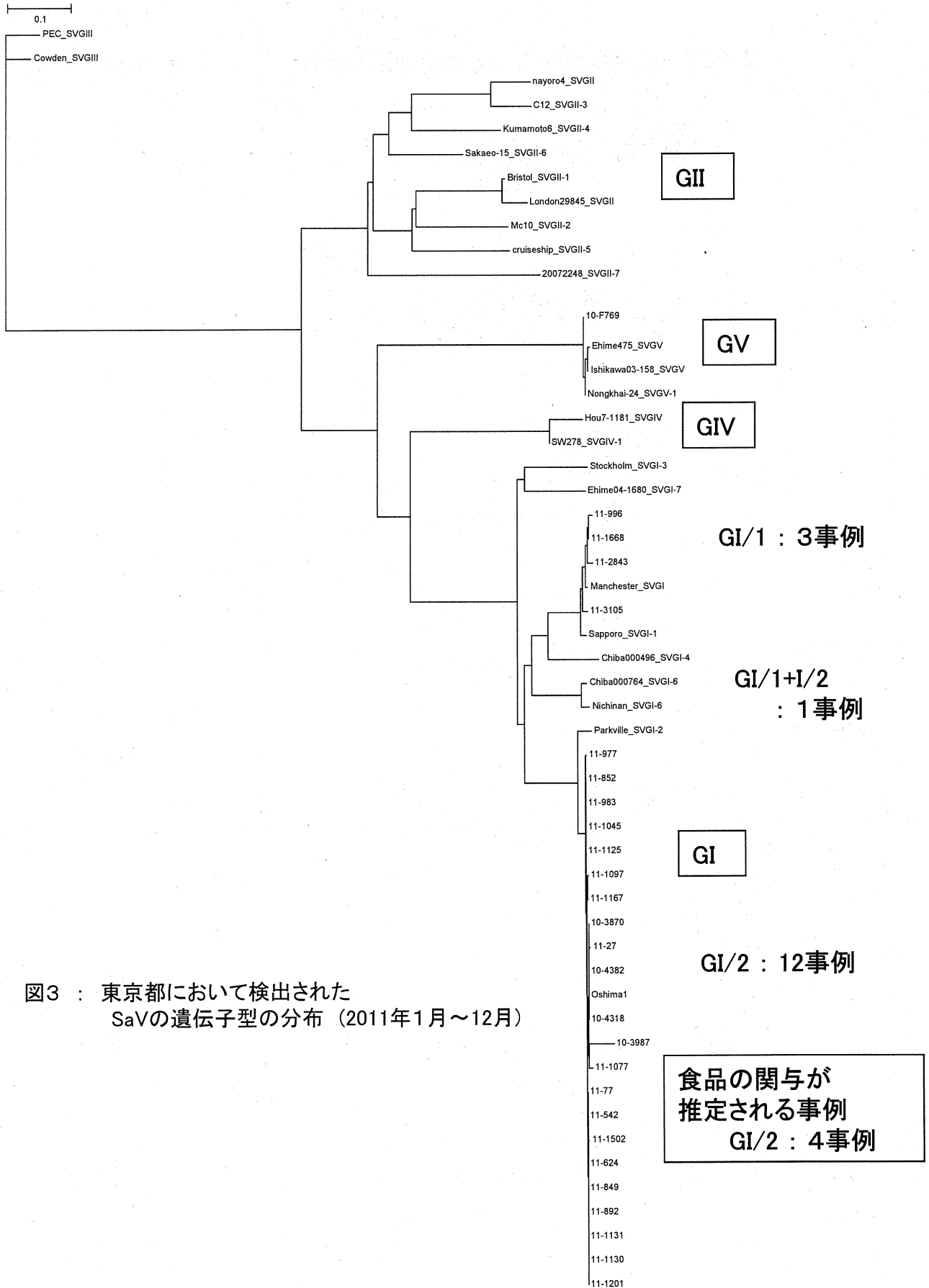


図3 : 東京都において検出された  
SaVの遺伝子型の分布 (2011年1月~12月)

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」

研究協力報告書

カキ関連食中毒疑い事例からのウイルスの検出および  
国産生食用カキのノロウイルス・A 型肝炎ウイルス汚染調査

|       |        |             |
|-------|--------|-------------|
| 研究協力者 | 入谷 展弘  | 大阪市立環境科学研究所 |
|       | 改田 厚   | 大阪市立環境科学研究所 |
|       | 阿部 仁一郎 | 大阪市立環境科学研究所 |
|       | 関口 純一朗 | 大阪市立環境科学研究所 |
|       | 久保 英幸  | 大阪市立環境科学研究所 |
| 研究分担者 | 田中 智之  | 堺市衛生研究所     |

### 研究要旨

2001 年 1 月～2004 年 11 月、2010 年 12 月～2011 年 12 月の期間に当研究所に搬入されたカキの喫食を伴う食中毒疑い事例について腸管系ウイルスおよび A 型肝炎ウイルスの検索を行った。その結果、ノロウイルス以外に 4 種類のウイルス（アイチウイルス、アストロウイルス、サポウイルス、A 群ロタウイルス）が 18 事例（36.0%）32 検体（17.2%）から検出され、カキの喫食にはノロウイルス以外に少なくとも 4 種類のウイルス感染リスクがあることが示された。また、9 検体（アイチウイルス 7 検体、アストロウイルス 1 検体、サポウイルス 1 検体）は単独でウイルスが検出され、胃腸炎の原因はそれぞれのウイルス感染によるものであったと考えられた。

2011 年 12 月初旬の市販国産生食用カキについてノロウイルスの検索を行ったところ、37.5%がノロウイルス陽性であった。2011-2012 シーズンは、大阪府でカキ関連食中毒事例の発生がほとんど認められなかったが、依然として生食用カキにノロウイルス汚染があり、今後もノロウイルス食中毒の感染源として注意が必要であると考えられた。

#### A. 研究目的

冬季に多発する食中毒は主にノロウイルスが原因である。他の腸管系ウイルスも食中毒の原因になりうるが、その関連については不明な点が多い。今回、昨年度に引き続いてノロウイルス以外のウイ

ルスと食中毒との関連性を明らかにすることを目的としてカキの喫食を伴う食中毒疑い事例を対象にウイルスの検出を行った。

また、生食用カキにおけるウイルスの汚染状況把握とカキからのウイル

ス検査方法の確立を目的に国産市販生食用カキのノロウイルスおよびA型肝炎ウイルス検査を実施した。

## B. 研究方法

### 1. 材料

2001年1月～2004年11月、2010年12月～2011年12月の期間に当研究所に搬入されたカキの喫食を伴う食中毒疑い50事例の患者糞便186検体(すべてノロウイルス検査済)を対象として、7種類のウイルス(サポウイルス、アストロウイルス、アイチウイルス、腸管アデノウイルス、ロタウイルスA群・C群、A型肝炎ウイルス)の検査を実施した。C群ロタウイルスについては、2001年1月～2004年11月までの45事例164検体を対象とした。

国産生食用カキは、2011年12月初旬に市販されていた8ロットを、1ロットにつきカキ3個をまとめて、ノロウイルスおよびA型肝炎ウイルスの検査に用いた。8ロットの産地は、岡山県産4ロット、広島県産2ロット、兵庫県産2ロットであった。

### 2. カキ関連食中毒患者糞便材料からのウイルス検出

サポウイルスはOkaらのリアルタイムRT-PCR法(JMV 78, 1347-53, 2006)、アストロウイルスはSakonらのRT-PCR法(JMV 61, 125-131, 2000)、アイチウイルスはYamashitaらのRT-PCR法(JCM 38, 2955-61, 2000)、C群ロタウイルスはKuzuyaらのRT-PCR法(JCM 34, 3185-9, 1996)、A型肝炎ウイルスは西尾らのリア

ルタイム RT-PCR 法 (IASR 23, 274-5, 2002)、A 群ロタウイルスおよび腸管アデノウイルスは市販の ELISA キット (ロタクロンおよびアデノクロン E、TFB) を用いて検査を実施した。

### 3. カキからのノロウイルス検出

カキは、むき身カキから中腸腺を摘出し、凍結融解により粉碎した後、PBS(-)で30-40%乳剤を作製し、野田ら(広島市衛生研究所年報 25, 35-43, 2006)のアミラーゼ処理・PEG法を用いて前処理を実施した。即ち、上記カキ乳剤に25mgの $\alpha$ -アミラーゼを加えて、37°Cで60分間攪拌し、グリコーゲンの消化を行った。アミラーゼ処理後、10,000rpm 20分間遠心した上清にPEG溶液(最終濃度12%PEG#6000および1M NaCl)を加え、4°Cで2-3時間放置した。さらに4°C 10,000rpm 20分間遠心した沈渣に0.4mlのDEPC処理水を加え、RNA抽出用試料とした。

ウイルスRNAの抽出にはHigh Pure Viral RNA kit (Roche)、抽出したRNAのDNase処理にはTurbo DNA-free kit (ABI)、cDNAの作製にはHigh-Capacity cDNA RT kit (ABI)、ノロウイルス検査にはKageyamaらのリアルタイムRT-PCR(JCM 41, 1548-57, 2003)を用いた。さらにノロウイルスが検出された検体については、Capsid N/S領域の遺伝子を増幅し、遺伝子型別した。A型肝炎ウイルスは糞便の場合と同様の方法で実施した。

### (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. カキ関連食中毒疑い事例からのウイルス検出状況

今回対象としたカキ関連食中毒疑い事例すべてから、ノロウイルスが検出された。ノロウイルス以外には、合計 18 事例 (36.0%) 32 検体 (17.2%) から 4 種類のウイルスが検出された (表 1)。18 事例の中で、2 事例から 3 種類のウイルス (ノロウイルス、アイチウイルス、アストロウイルス)、1 事例から 4 種類のウイルス (ノロウイルス、アイチウイルス、サポウイルス、アストロウイルス) が検出された。ノロウイルス以外で最も多かったのは、13 事例 (26.0%) 20 検体 (10.8%) から検出されたアイチウイルスであった。次いでアストロウイルスが多く (5 事例、8 検体)、サポウイルス (3 事例、1 検体)、A 群ロタウイルス (1 事例、1 検体) であった。また、アイチウイルス 7 検体、アストロウイルス 1 検体、サポウイルス 1 検体はノロウイルス陰性例における単独検出であった。他のウイルスはすべて陰性であった。

今回、ノロウイルスの検出率が低かった事例の中で、他のウイルス検査を行うことによって、患者のウイルス陽性率が高くなった事例が 2 事例 (事例番号 01-12 および 01-17) 認められた。事例番号 01-12 では、患者からノロウイルスが検出されたのは 3/8 (37.5%) であったが、他のウイルス検査を実施することで 5/8 (62.5%) がウイルス陽性となった (表 2)。事例番号 01-17 においても、患者からノロウイルスが

検出されたのは 5/22 (22.7%) であったが、他のウイルス検査を実施することで 11/22 (50.0%) がウイルス陽性となった (表 3)。

### 2. 生食用カキのノロウイルス汚染状況

2011 年 12 月に収去された 8 ロット中 3 ロット (37.5%) からノロウイルスが検出された (表 4)。産地別では、岡山県産、広島県産、兵庫県産がそれぞれ 1 ロットずつ陽性であった。カキ 1 個あたりのウイルス量 (RNA コピー数) は 192~325 コピーであり、すべての陽性検体においてリアルタイム RT-PCR 法の判定基準値である実測値 10 コピー以上であった。今回リアルタイム RT-PCR で陽性となったすべての検体は、Capsid N/S 領域の PCR で遺伝子が増幅されなかったため、遺伝子型は不明であった。今回検査したカキから A 型肝炎ウイルスは検出されなかった。

## D. 考察

今回対象としたカキ関連食中毒疑い事例の患者糞便材料より、ノロウイルス以外にアイチウイルス、アストロウイルス、サポウイルスおよび A 群ロタウイルスが検出された。これらのウイルスの多くは、ノロウイルスなどとの共検出であり、カキの喫食に伴う混合感染であったことが示唆された。単独のウイルス検出例では、ノロウイルスを含む他の胃腸炎ウイルスや食中毒起因細菌が陰性であったため、胃腸炎の原因ウイルスであったと考えられた。カキには様々なウイルスが蓄積されていることが報告されており、昨年度を含めた 2 年間の結果から、カキの喫食



を伴う食中毒疑い事例ではノロウイルス以外に少なくとも4種類のウイルス感染があったことが示された。現状の食中毒原因究明におけるウイルス検査では、ノロウイルスのみ検査されることが多い。今回は、2事例だけであったが、ノロウイルス以外のウイルス検査を実施することで、患者からのウイルス陽性率が高くなった。ノロウイルス陰性や検出率が低い事例については、他のウイルス検査を追加実施する必要があると考えられた。

2011年12月初旬に市販されていた国産食用カキに37.5%のノロウイルス汚染が認められた。2011-2012シーズンの大阪市におけるカキ関連食中毒疑い事例は、1月までに2事例の発生が認められている。カキ関連の食中毒事例は減少傾向にあるが、カキのノロウイルス汚染は依然として認められ、今後もノロウイルス食中毒の感染源として十分な注意が必要であると考えられた。

カキや他の食品から信頼性の高いウイルス検査法を確立するために、昨年度から、カキのウイルス検査のRNA抽出、DNase処理およびcDNAの作製において新たな方法を導入している。その結果、すべてのノロウイルス陽性検体において、リアルタイムRT-PCRの判定基準値以上という良好な結果が、昨年度と同様に得られた。本方法は、カキからのウイルス検査において有用であると考えられた。

#### E. 結論

・カキ関連食中毒疑い事例の患者便からノロウイルス以外に4種類のウイルスが検出され、カキの喫食にはノロウイルス

以外のウイルス感染リスクがあることが示された。

・カキ関連食中毒疑い事例において、ノロウイルスだけでなく他のウイルス検査の実施が原因究明に有用である場合が認められた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 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

2) 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, *Archives of Virology* 157, 349-352, 2012

##### 2. 学会発表

1) 上間 匡, 石井孝司, 小原真弓, 田中俊光, 増本久人, 入谷展弘, 齋藤哲也, 吉田徹也, 山下育孝, 柴田伸一郎, 田中智之, 内野清子, 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, 東京 (2011.10.6-7)

#### 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1 カキ関連食中毒疑い事例からのウイルス検出状況

| ウイルス     | 陽性事例数 (%)               | 陽性検体数 (%)               |
|----------|-------------------------|-------------------------|
| ノロウイルス   | 50 (100.0)              | 127 (68.3)              |
| その他ウイルス  | 18 <sup>1)</sup> (36.0) | 32 <sup>2)</sup> (17.2) |
| アイチウイルス  | 13                      | 20                      |
| アストロウイルス | 5                       | 8                       |
| サポウイルス   | 3                       | 3                       |
| A群ロタウイルス | 1                       | 1                       |

1) 2事例から3種類のウイルス(ノロウイルス、アイチウイルス、アストロウイルス)、1事例から4種類のウイルス(ノロウイルス、アイチウイルス、サポウイルス、アストロウイルス)が検出された。

2) 単独検出例は9検体(アイチウイルス7検体、アストロウイルス1検体、サポウイルス1検体)

表2 事例番号01-12におけるウイルス検査結果<sup>1)</sup>

| 検体番号 | ノロウイルス | アイチウイルス | アストロウイルス | サポウイルス | A群ロタウイルス | C群ロタウイルス | 腸管アデノウイルス | A型肝炎ウイルス |
|------|--------|---------|----------|--------|----------|----------|-----------|----------|
| 1    | -      | -       | -        | -      | -        | -        | -         | -        |
| 2    | +      | -       | -        | -      | -        | -        | -         | -        |
| 3    | -      | +       | -        | -      | -        | -        | -         | -        |
| 4    | +      | -       | -        | -      | -        | -        | -         | -        |
| 5    | +      | -       | -        | -      | -        | -        | -         | -        |
| 6    | -      | -       | -        | -      | -        | -        | -         | -        |
| 7    | -      | +       | -        | -      | -        | -        | -         | -        |
| 8    | -      | -       | -        | -      | -        | -        | -         | -        |

1) -は陰性、+は陽性

表3 事例番号 01-17 におけるウイルス検査結果<sup>1)</sup>

| 検体<br>番号         | ノロウイルス | アイチウイルス | アストロウイルス | サポウイルス | A 群<br>ロタウイルス | C 群<br>ロタウイルス | 腸管<br>アデノウイルス | A 型肝炎<br>ウイルス |
|------------------|--------|---------|----------|--------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1 <sup>2)</sup>  | +      | NT      | NT       | NT     | NT            | NT            | NT            | NT            |
| 2                | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 3                | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 4 <sup>2)</sup>  | +      | NT      | NT       | NT     | NT            | NT            | NT            | NT            |
| 5                | -      | -       | +        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 6                | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 7                | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 8                | -      | +       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 9                | -      | +       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 10               | +      | -       | +        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 11               | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 12               | -      | +       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 13 <sup>2)</sup> | +      | NT      | NT       | NT     | NT            | NT            | NT            | NT            |
| 14               | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 15               | -      | +       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 16               | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 17               | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 18               | -      | +       | +        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 19               | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 20               | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 21               | -      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |
| 22               | +      | -       | -        | -      | -             | -             | -             | -             |

1) -は陰性、+は陽性、NTは“not tested”

2) 材料が残っていなかったため、他のウイルス検査を実施できなかった。

表4 国産市販生食用カキからのノロウイルスおよびA型肝炎ウイルス検出結果<sup>1)</sup>

| 検体<br>番号             | 採取海域・産地 | 採取年月     | ノロウイルス                                 |     | A型肝炎ウイルス |               |
|----------------------|---------|----------|--|-----|----------|---------------|
|                      |         |          | リアルタイム RT-PCR <sup>2)</sup><br>(コピー/個) |     | PCR      | リアルタイム RT-PCR |
|                      |         |          | GI                                     | GII |          |               |
| OY11-1               | 岡山県日生海域 | 2011年12月 | —                                      | —   | NT       | —             |
| OY11-2 <sup>3)</sup> | 岡山県邑久海域 | 2011年12月 | —                                      | 195 | —        | —             |
| OY11-3 <sup>3)</sup> | 兵庫県相生海域 | 2011年12月 | —                                      | 221 | —        | —             |
| OY11-4               | 兵庫県相生海域 | 2011年12月 | —                                      | —   | —        | —             |
| OY11-6 <sup>3)</sup> | 広島県呉湾   | 2011年12月 | —                                      | 181 | —        | —             |
| OY11-7               | 岡山県日生海域 | 2011年12月 | —                                      | —   | —        | —             |
| OY11-8               | 広島県呉湾   | 2011年12月 | —                                      | —   | NT       | —             |
| OY11-9               | 岡山県日生海域 | 2011年12月 | —                                      | —   | NT       | —             |

1) -は陰性、+は陽性、NTは“not tested”

2) カキ1個あたりのNV RNA コピー数

3) PCR 陰性だが、リアルタイム RT-PCR の実測値が10 コピー以上のため、ノロウイルス陽性と判定