

発症への関与を推測する方法として、感染ウイルスの組み合わせと症状・重篤度の関連性や、患者体内での各ウイルスの増殖状況を把握することなどがあげられる。今回はリアルタイム PCR 法による定量検査系が確立している NoV と SaV について増殖状況の把握を試みた。NoV GI, GII のコピー数は、単独感染時と比べて混合感染時に特に減少するという傾向は認められなかった。SaV については、前ページ表 2 に、PCR 法で SaV 遺伝子が検出された 33 検体をコピー数の高い順に示した。SaV 単独感染の検体はコピー数が高い傾向にあった。また、SaV コピー数が高い 7 検体 (No.1~7, 9.5×10^8 以上) からは NoV GII は検出されておらず、SaV コピー数が低い (No.8~33) 26 検体中 25 検体は NoV GII 陽性であった。このことから、二枚貝喫食による SaV 感染例では、特に NoV GII との混合感染がある場合に SaV の増殖が抑えられる可能性が示唆された。これについては、さらにデータを集積して検証を行う必要がある。

現在の食中毒検査では、NoV が高率に検出された事例について、他の胃腸炎ウイルスの検査は通常行われていない。しかし、今回の調査結果から、少なくとも二枚貝関連事例については他の胃腸炎ウイルスを含めた検索が望ましいと考えられた。また、検討数は少ないが、二枚貝のウイルス汚染状況と喫食者の感染状況が必ずしも相関しないことや、SaV の増殖が混合感染、特に NoV GII の存在に影響を受ける可能性があることが示された。今後このようなデータをさらに蓄積し、様々な胃腸炎ウイルスについて、食品媒介による感染リスクや発症リスクなどを明らかにする必要があると考えられた。

参考文献

- 1) Kageyama T, *et al.*, J Clin Microbiol 41: 1548-1557, 2003
- 2) Oka T, *et al.*, J Med Virol 78: 1347-1353, 2006

北海道立衛生研究所感染症部ウイルスグループ
吉澄志磨 後藤明子 石田勢津子
国立医薬品食品衛生研究所 野田 衛

<速報>

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 — 堺市

2011年9月、市内の幼稚園（園児数409名、職員数41名）において、ノロウイルス（NoV）による食中毒事例が発生したので、その概要について報告する。

9月5日、市内医療機関から当該幼稚園職員20名程度が下痢、発熱などの症状を呈していると堺市保健所に連絡があった。調査の結果、9月3～5日にかけて、4日をピークとして118名（園児96名、職員22名）が、下痢、腹痛、発熱等の食中毒症状を呈していることが確認された（図1）。疫学調査の結果、幼稚園では、9月2日の昼食に給食業者で調製された弁当を喫食しており、患者に共通する食事はこの弁当以外にないことや、患者の発生状況などから、この給食業者が提供した弁当を原因とする食中毒と断定し、営業停止処分を行った。

幼稚園のクラス別の発症状況（次ページ表1）をみると、教職員の発症は喫食率（80.5%）に一致した高い発症率（66.7%）であった。園児の発症率は教職員に比べて低く、クラスによって差がみられた。また、給食業者はこの幼稚園以外にも同一弁当を提供していたが、他のグループでは同様の苦情はなかった。

当所に搬入された患者糞便113検体、給食業者の従業員糞便7検体について、RT-PCR法によるNoV遺伝子検出を行った。その結果、患者40名からNoV遺伝子が検出され（GI/4：34例、GI/3：2例、GI/14：1例、GII/6：1例、GI型別不明：1例、GI/4とGII型別不明1例）、従業員1名からNoV遺伝子（GI/4）が検出された。複数の遺伝子型のNoVが検出されたことから、NoV混合感染事例と考えられた。保存食品の細菌検査では食中毒の原因と考えられる細菌は検出されなかった。

パンソルビン・トラップ法（本号4ページ参照）を用いて保存弁当からNoV遺伝子の検出を試みた結果、リアルタイムPCR法によりNoV GIおよびGII遺伝子（食品1g当たりGI：102コピー、GII：46コピー）が検出された。

今回の事例はNoVに汚染された弁当を原因とする食中毒事例ではあったが、教職員と園児、またクラス

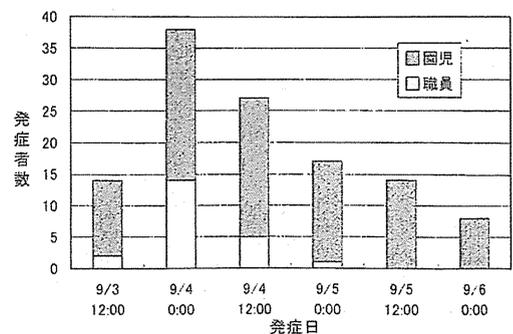


図1. 患者発生状況

表1. クラス別ノロウイルス検出状況

クラス別	在籍数	喫食者数	有症者数 (発症率)	検査数	NoV検出数	
					GI/4	その他
教職員	41	33	22(66.7%)	18	8	3(GI/3 GI/6 GI型不明)
クラス1	18	15	4(26.7%)	3	0	
クラス2	25	22	5(22.7%)	3	0	
クラス3	24	21	4(19.0%)	3	0	
クラス4	24	23	4(17.4%)	4	0	
クラス5	24	18	1(5.6%)	0	0	
クラス6	23	19	1(5.3%)	0	0	
クラス7	32	31	14(45.2%)	11	4	
クラス8	32	23	6(26.1%)	4	0	
クラス9	32	24	10(41.7%)	7	6	1(GII型不明)*
クラス10	31	23	12(52.2%)	9	4	1(GI/3)
クラス11	28	21	6(28.6%)	2	0	1(GI/14)
クラス12	29	21	8(38.1%)	6	3	
クラス13	29	25	6(24.0%)	6	2	
クラス14	29	22	4(18.2%)	4	1	
クラス15	29	21	11(52.4%)	8	2	

* GI/4との混合感染

間で発症率に差がみられ、弁当のNoV汚染の度合いが異なっていた可能性が考えられた。従業員1名からNoVが検出されたが、この従業員も弁当を喫食しており、疫学的調査および潜伏期等のウイルス学的考察から、従業員による汚染の有無を含め、弁当の汚染経路を特定することはできなかった。

NoVの食品汚染による食中毒事例では、多数の患者が発生し、大規模な事例になる頻度は高い。これまで原因食材の推定ができていても食品からのNoV検出は困難であったが、今回パンソルピン・トラップ法により食品からNoV遺伝子を本邦で初めて検出することができた。本法は、食品の関与を明確にし、かつ汚染食品の特定を可能とする優れた方法である。さらにこの方法はノロウイルス食中毒予防のための調理施設での衛生管理の徹底をさらに加速させる大きなツールとなると思われる。また、食品取り扱い者の健康管理および衛生意識も連鎖的に高まるものと考えられる。

堺市衛生研究所

三好龍也 内野清子 西口智子 岡山文香
吉田永祥 田中智之

堺市保健所食品衛生課 瀬尾宗治 辻本裕貴

堺市保健所 大橋吾郎 藤井史敏

国立医薬品食品衛生研究所 野田 衛

秋田県健康環境センター 斎藤博之

<特集関連情報>

ノロウイルス食中毒の調査・検査体制に関する研究の動向

ノロウイルス (NoV) による食中毒の患者数は全食中毒患者の半数程度を占めており、その制御が食品の安心・安全を確保する上で重要な課題となっている。ここでは、最近の NoV 食中毒の調査・検査体制に関する研究の動向を紹介する。

食品からのウイルス検出法の開発

近年の NoV 食中毒は、調理従事者からの食品の二次汚染を原因とする事例が多数を占めている。そのため、多種多様な食品・食材が原因となっているが、二枚貝を除き食品からウイルスが検出される例は少なく、原因食品の特定や汚染経路の究明が困難な状況にあり、食品からのウイルス検出法の確立が急務の課題となっている。2007～2009 (平成19～21) 年度食品の安心・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」班において、パンソルビン・トラップ法という新しい食品検査法が開発された。本法は免疫磁気ビーズ法で使用されている磁気ビーズの代わりにパンソルビン (免疫グロブリン結合性蛋白質プロテイン A を持つ黄色ブドウ球菌菌体) を使用し、NoV-抗体-菌体の複合体を形成させ、NoV を特異的に濃縮するものである。本法の特徴は、多種多様な食品に対して同一の手技で実施できること、種々のウイルスに応用可能であること、多検体処理が可能であること、安価であること、高速遠心機等特殊な機器を必要としないこと、などである。本法の最大の課題は抗血清の安定した供給体制の確立にあり、現在、その課題を克服するために検査法の改良に取り組んでいる。

食品のウイルス試験法の標準化

一方、上記の食品検査法以外にもいくつか検査法の開発の報告がある。これらの新たに開発された試験法を地方衛生研究所 (地研) 等で導入するためには、複数の検査機関による共同研究などにより試験法を評価し、標準化を行うことが重要であるが、わが国においてはそのことを実施する組織は存在していなかった。また、最近の NoV 食中毒は二枚貝を原因とする事例が増加傾向にあるが、出荷前に自主検査で陰性となった二枚貝による食中毒事例も散見され、食品のウイルス検査に関する精度管理体制の確立が求められている。さらに、輸入食品に伴うウイルス性食中毒の発生への対応や、輸入食品の安全性確保の国際的な取り決めの必要性から、国際的なウイルスの食品検査の標準化の動きも見られている。これらの背景から、わが国の食品のウイルス検査法の標準化を行い、今後の精度管理の在り方などを議論するために、2010 (平成22) 年6月に「食品のウイルス標準試験法検討委員会」 (<http://www.nihs.go.jp/fhm/csvdf/index.htm>) を設立した。

本委員会は主に以下の点に関して検討する予定としている。

- ①各種ウイルスの食品からの検出法の標準化に関すること
- ②検査に必要な標準品に関すること
- ③食品のウイルス検出法の精度管理に関すること
- ④その他、食品媒介性ウイルスの食品検査に関すること

一方、食品からの NoV 検出法に関しては、厚生労働省の通知法である「ノロウイルスの検出法について」 [2007 (平成19) 年5月14日食安監発第0514004号] および国立感染症研究所 (感染研) 編集の「ウイルス性下痢症検査マニュアル (第3版)」がある。前者は食中毒発生時における原因究明検査、後者は感染症診断のための検査を主に意図したものである。実際の集団事例においては食中毒か感染症かの判断は困難な場合が多く、また、それぞれの検査法が異なることは、検査の効率性や実行性に問題を生じることになる。現在、感染研においては「ウイルス性下痢症検査マニュアル (第3版)」を含む病原体検出マニュアルの改訂作業が進行中である。NoV のみならず、他の胃腸炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、E 型肝炎ウイルスを含めた食品媒介性ウイルスの食品検査法について、これらの既存の検査法との整合性を図りつつ、作業を進めていく予定である。

NoV の塩基配列データ共有化の試み

食品流通の国際化、大規模化、広域化に伴い NoV の原材料汚染による広域散発食中毒事例の発生が危惧されている。その探知に有効な実験室内解析手法は塩基配列の比較であると考えられるが、現在、全国で検出された NoV の塩基配列データを迅速に収集し、比較・解析するシステムはない。2008 (平成20) 年度食品の安心・安全確保推進研究事業「食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究」班において、全国の地方衛生研究所 (地研) に対して、NoV のシーケンス検査の導入状況および塩基配列データのデータベース化等に関するアンケート調査を実施した結果、データベース化は多くの地研が望んではいないものの、データ登録に伴う業務の増大化、既存の DDBJ 等との役割分担などの問題点が指摘された。そこで、2008～2009 (平成20～21) 年度の同研究班において、NoV の塩基配列データ共有化の有用性、実行性、問題点等を把握することを目的として、感染研ウイルス第二部および13の地研の協力の下、塩基配列データを疫学情報とリンクさせ、タイムリーに収集し、還元することを試行的に実施している。本研究でのデータ収集および分子系統解析は、2008 (平成20) 年度新型インフルエンザ等新興再興感染症「食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究」によって構築されている CaliciWeb (<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calicinew>)

のプライベートフォーラム（閉鎖環境）をプラットフォームとして用いている。系統樹解析結果は、還元データとして同サイトのオープン環境に掲載しているのを参照していただきたい。

本塩基配列データの共有化の中で、我々は、同一塩基配列を持つ NoV 遺伝子型 GI/4 3 株が大阪府および大阪市から登録され、2009年8月初旬に奈良市、大阪市および神戸市の同一居酒屋チェーン店3店舗で同時多発的に発生した食中毒事例を探知した。そこで、これら3事例に関連する6自治体の協力を得て、患者等から検出した NoV のカプシド領域およびポリメラーゼ領域の塩基配列の比較およびパンソルピン・トラップ法による食品からのウイルス検出を実施した。その結果、3店舗の患者の塩基配列は完全に一致し、食材の一つであるタコからリアルタイム PCR 法で GI が検出されたことなどから、当該3事例は共通の汚染食品による NoV の広域食中毒事例であると考えられた。塩基配列情報共有化の有用性を示す例であるといえる。

V-Nus Net Japan (Virus Nucleotide Sequence Network)

広域食中毒事例の探知には、共有化された塩基配列データ（実験室内情報）を実際の疫学調査に利用できるかが重要となる。厚生労働省は食中毒の早期発見と被害の拡大防止を目的として、自治体間での情報の共有、交換を行うためのポータルサイトである食中毒支援調査システム（NESFD）の運用を2010（平成22）年4月26日から開始した。本システムでは、自治体から厚生労働省への食中毒調査報告の他、食中毒発生状況など、食中毒調査に有用な情報を掲載している。その中で実験室内情報として腸管出血性大腸菌などの PulseNet の情報とともにウイルス検査情報として A 型肝炎ウイルスの系統樹解析結果（IASR 31: 287-289, 2010参照）および CaliciWeb に還元されている NoV の系統樹解析結果を掲載し、自治体の検査担当者および行政担当者への情報提供を開始した（IASR 31: 289-291, 2010参照）。しかしながら、前述のアンケート結果にあるように、塩基配列データの共有化が広域食中毒事例の探知に実行性を持って機能する体制を構築するためには問題点が少なくない。忌憚の無い意見をいただければ幸いである。

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

野田 衛 山本茂貴

国立感染症研究所ウイルス第二部

片山和彦 岡 智一郎

国立感染症研究所感染症情報センター

山下和予 岡部信彦

秋田県健康環境センター 斎藤博之

福井県衛生環境研究センター 東方美保

札幌医科大学・医療人育成センター 三瀬敬治

北海道立衛生研究所 吉澄志磨

宮城県保健環境センター 植木 洋

東京都健康安全研究センター

森 功次 林 志直

杉並区衛生試験所 山崎匠子

富山県衛生研究所 滝澤剛則 小原真弓

長野県環境保全研究所 吉田徹也

愛知県衛生研究所 小林慎一

大阪府立公衆衛生研究所 中田恵子

大阪市立環境科学研究所 入谷展弘

堺市衛生研究所 三好龍也

広島市衛生研究所 阿部勝彦

愛媛県立衛生環境研究所 山下育孝

沖縄県衛生環境研究所 糸数清正 仁平 稔

神戸市環境保健研究所 田中 忍

奈良市保健所 西川 篤

奈良県保健環境研究センター 北堀吉映

京都府山城北保健所 三谷亜里子

厚生労働省医薬食品局監視安全課

食中毒被害情報管理室 田中 誠 熊谷優子

<特集関連情報>

ノロウイルス GII/4 の 2008a 亜株の動向とイムノクロナマト法の改良

GII ノロウイルス（NoV）の中でも特に遺伝子型が GII/4 の NoV は、過去に大規模な流行を繰り返してきた。これは、免疫圧力によって出現した新たな亜株が次々に流行を引き起こしたと考えられている。GII/4 亜株は、検出された西暦とアルファベットのオーダーで GII/4 2006a, GII/4 2006b のように示され、区別されている。GII/4 2006b 亜株（2006b）は、2006～2007年の冬期に日本でも大流行した亜株であり、その後も本年に至るまで継続して検出されている。

新たな GII/4 亜株の出現は、新たな大流行につながる可能性があるため、GII/4 亜株の出現状況を継続して監視していたところ、2007年12月にオランダで GII/4 の新亜株として報告された Apeldoorn317/2007/NL (AB445395) に近縁な GII/4 亜株が、2008年11月に新潟県内で発生した集団胃腸炎患者から検出された。この亜株は、Motomura ら¹⁾によって、2008a GII/4 subtype (2008a) として報告された。2008a は、北海道、岩手県、大阪府、愛知県でも存在が確認された。

2008年11月～2010年3月の間に、新潟県内で発生した食中毒の疑い事例、および胃腸炎の集団発生事例において、保健所から病原体の検索依頼があった148事例中109事例から NoV が検出された。これらのうち GII が検出された90事例中76事例について遺伝子型別を実施したところ、GII/4 : 39事例、GII/6 : 19事例、GII/2 : 9事例、GII/3 : 7事例、その他 : 4事例であった。GII/4 陽性の33事例に由来する株について P2 領

域の遺伝子解析を実施したところ、11事例が2008aに極めて相同性が高かった。22事例は2006bに相同性が高く、依然として2006bが主な亜株として流行していると考えられたが、2009/10シーズンと2008/09シーズンにおける2006bと思われる亜株の検出頻度を比較すると、2006bが減少し、2008aの割合が増加する傾向が認められた。

P2領域を含む196アミノ酸配列を用いた系統解析の結果、2008aはbootstrap値100で2006bと別クラスターを形成した(図1)。2010年2月以降に新潟県A市内で発生した4件の集団事例から検出された2008a4株(10-206, 238, 304, 308)は、bootstrap値100でアメリカ、フランス、香港など海外で検出された株を含むクラスターを形成し、国外からの侵入が示唆された。2008aは、デンマーク、オーストラリア、韓国でも検出されたことから、世界に広く浸潤していると考えられる。2009/10シーズンでは、2006bの減少とともに、2008aやGII/4以外の遺伝子型が占める割合が増加する傾向が観察されており、2006bに変わる新たな亜型の流行を捉えるために、継続した監視が必要である。

一方、NoVのイムノクロマト迅速診断法(IC法)が開発されてから、多くの医療施設、高齢者福祉施設等で活用されている。IC法の感度、特異性はそれぞれ81.1%, 100%, RT-PCR法との一致率は89.6%である。遺伝子型ではGII/4を含む23遺伝子型を捕捉可能な抗体が使用されている。しかし、上述の2008aが検出された糞便検体は、IC法で陰性反応を示した。本IC法では、既存のGII/4亜株2006a, 2006b等は検出可能であったことから、2008aに固有なアミノ酸残基の変異が、抗体との反応性に影響を与えている可能性が考えられた。我々は、2008aに対するIC法の感度向上を図るため、2008aのウイルス様中空粒子(VLPs)を作出し、2008aを認識するモノクローナル抗体の作製に成功した。現在、この抗体を用いてIC法の改良が進行中である。

参考文献

- 1) Motomura K, et al., J Virol 84: 8085-8097, 2010
新潟県保健環境科学研究所
田村 務 田澤 崇 渡邊香奈子
渡部 香 昆 美也子
堺市衛生研究所
三好龍也 内野清子 吉田永祥
松尾光子 西口智子 田中智之
兵庫県立大学人間環境学科 北元憲利
国立感染症研究所 本村和嗣 佐藤裕徳

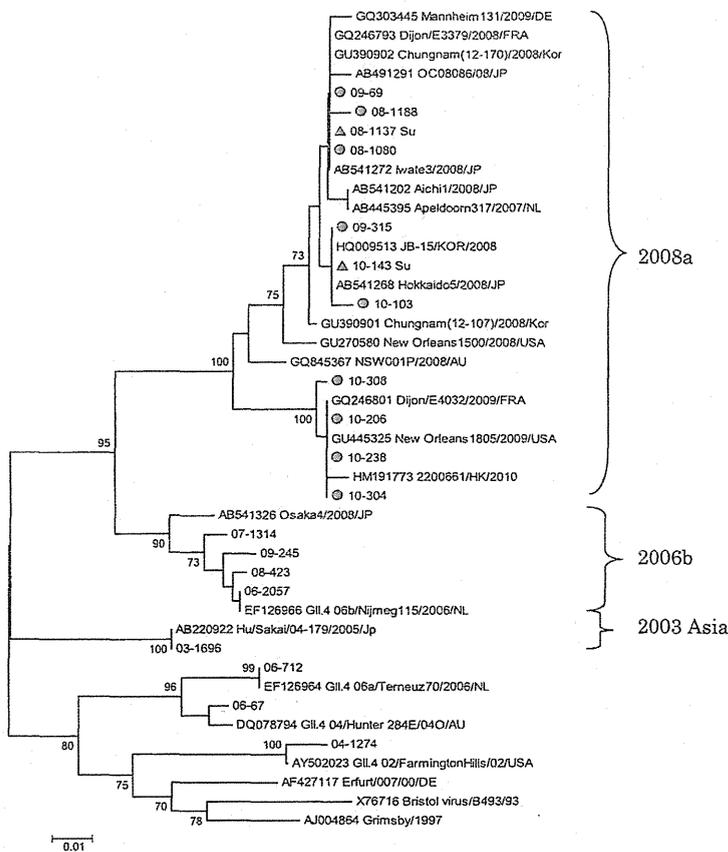


図1. GII/4ノロウイルスのアミノ酸配列による系統樹 Nj法、P2領域を含む196アミノ酸による。Bootstrap値70未満は消去。
●: 集団事例からの2008a検出株、▲: 小児散発事例からの2008a検出株

<特集関連情報>

掃除機内ダストにおけるノロウイルスおよびサポウイルス汚染実態調査

我々は、2008年4月に長野県内の結婚式披露宴会場の床がノロウイルス(NoV)に汚染し、それが感染源と推定された集団感染症事例を経験した¹⁾。その際、当該会場専用の掃除機内ダスト(ダスト)からNoVを検出したことなどから、当該事例は食中毒の可能性は低く、塵埃とともに浮遊したNoVに曝露・感染した塵埃感染であったと推定された。この事例を通じ、我々はダストがNoVによる環境汚染の把握や感染経路の追及のための、有用な試料になり得ると考えた。そこで、ダストから簡便で効率よくNoVを回収するための検出法を確立し、ダスト中のNoV等における汚染実態調査を実施した^{2,3)}ので、その概要を報告する。

2008年12月~2009年3月(2008/09シーズン)および2009年11月~2010年3月(2009/10シーズン)のウイルス性胃腸炎の流行時期に、一般家庭で使用されている掃除機内から採取された59検体(47家庭)を試料用ダストとした。ダストがNoVあるいはサポウイルス(SaV)陽性となった場合は、当該家庭のダスト試料を継続して採取し、ウイルス量の推移を調査するとともに、家庭内における胃腸炎患者の発生等について

図. ダストからの NoV 等回収方法

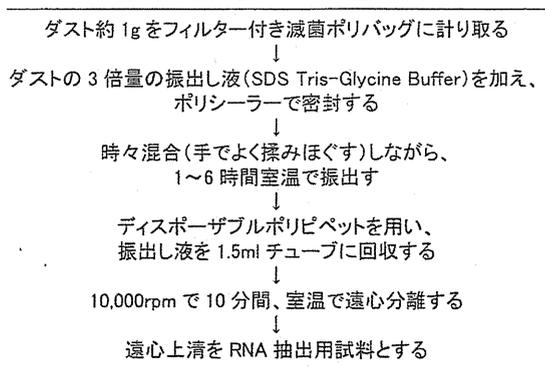


表 1. 一般家庭ダストの NoV および SaV 汚染実態調査結果

試料採取 シーズン	供試検体数	結果 (陽性数%)	
		NoV	SaV
'08/09	35	1 (2.9)	1 (2.9)
'09/10	24	1 (4.2)	0 (0.0)
合計	59	2 (3.4)	1 (1.7)

表 2. NoV 陽性家庭のダストにおけるウイルス量の推移

家庭 (シーズン)	経過日数 ^a					家庭内における 胃腸炎患者 発生の有無
	0	18	30	50	60	
A ('08/09)	+	NT ^c	+	NT	-	有 (14 日前)
	(5.7) ^b		(4.3)			
B ('09/10)	+	+	NT	-	NT	有 (27 日前)
	(3.5)	(2.5)				

a: 最初に試料を採取した日を 0 とした, b: log₁₀(copies/g of dust),
c: 試験実施せず

表 3. SaV 陽性家庭のダストにおけるウイルス量の推移

ダスト 採取箇所	経過日数 ^a							
	0	34	45	68	77	92	105	107
集塵器内	+	+	+	NT ^c	-	-	NT	NT
	(6.6) ^b	(5.2)	(5.2)					
集塵器奥	NT	NT	NT	+	NT	+	+	-
				(6.2)		(4.4)	(5.4)	

a: 最初に試料を採取した日を 0 とした, b: log₁₀(copies/g of dust),
c: 試験実施せず

での聞き取り調査を実施した。ダストからの NoV 等の回収は図に示すとおり行い、RNA 抽出用試料とした。NoV および SaV の定量は、それぞれ Kageyama ら⁴⁾ および Oka ら⁵⁾ の報告したリアルタイム PCR 法に準じて実施した。リアルタイム PCR 法で陽性となった試料の一部については、nested PCR 法でカプシド領域の一部を増幅し、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。

一般家庭のダスト 59 検体中 2 検体 (3.4%) が NoV 陽性、1 検体 (1.7%) が SaV 陽性であった (表 1)。NoV および SaV がともに陽性となったダストは認められなかった。2008/09 シーズンは 35 検体中 NoV あるいは SaV 陽性がそれぞれ 1 検体 (2.9%)、2009/10 シーズンは 24 検体中 1 検体 (4.2%) が NoV 陽性であった (表 1)。

NoV が検出された 2 家庭におけるダスト中のウイルス量の推移をみると (表 2)、A 家庭の初回採取時 (0 日) の NoV 量は 10^{5.7} コピー/g で、30 日に 10^{4.3} コピー/g に減少し、60 日で定量下限未満となった。また、0 および 30 日に採取された試料から検出した株はいずれも GII/6 に属し、カプシド領域の一部 287 塩基が 100% 相同であった。このことから、同一株によ

て A 家庭内環境が少なくとも 30 日間汚染されていたことが示唆された。B 家庭については、0 日の NoV 量が 10^{3.5} コピー/g で、18 日に 10^{2.5} コピーとなり、50 日で定量下限未満となった。

聞き取り調査の結果、A 家族では初回採取時の 14 日前に 4 名中 2 名が嘔吐・下痢症状を呈していたことが、B 家族では初回採取時の 27 日前に 5 名中 1 名が嘔吐症状を呈し、寝具を汚染していたことがそれぞれ確認された。このことから、これら有症状者が NoV 感染者であり、これらの感染者によりそれぞれの家庭内環境が本ウイルスに汚染されたものと推察された。

一方、SaV 陽性家庭で使用されていた掃除機からは、集塵器内ダスト (集塵器内) および集塵器奥のフィルター付着ダスト (集塵器奥) の 2 種類を試料として採取した。0 日の集塵器内 SaV 量は 10^{6.6} コピー/g で、34 および 45 日に 10^{5.2} コピー/g に減少し、77 日に定量下限未満となった (表 3)。集塵器奥から採取した試料では、68 日でも 10^{6.2} コピー/g で、定量下限未満になったのは 107 日であった。0、45、68 および 105 日の試料から検出された株について遺伝子解析を行ったところ、いずれも GI に属し、カプシド領域の一部 399 塩基の配列は 100% 相同であった。このことから、約 3 カ月

にわたり家庭内環境あるいは掃除機のフィルター面が、同一株によって継続して汚染されていたことが明らかとなった。なお、当該家庭においても胃腸炎症状を呈する家族の存在について聞き取り調査を実施したが、明確な回答は得られなかった。

以上のように、家庭内のダストからNoVおよびSaVのゲノムを検出し、その汚染ダストの中にはウイルス量が 10^6 コピー/gを超えるものも存在していたことを明らかにした。さらに、ダストのNoV, SaVの汚染は長期間にわたり継続したことから、ダストがNoV, SaVの感染源となる可能性が示唆された。今後、さらなる事例の調査が必要であるが、ダストの取り扱いに対する注意喚起が必要と考えられた。

参考文献

- 1) 吉田徹也, 他, IASR 29: 196, 2008
- 2) 吉田徹也, 他, 食品中のウイルス制御に関する研究, 平成20年度総括・分担研究報告書: 165-171, 2009
- 3) 吉田徹也, 他, 食品中のウイルス制御に関する研究, 平成21年度総括・研究分担報告書: 169-177, 2010
- 4) Kageyama, *et al.*, J Clin Microbiol 41: 1548-1557, 2003
- 5) Oka, *et al.*, J Med Virol 78: 1347-1353, 2006

長野県環境保全研究所感染症部

吉田徹也 宮坂たつ子 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
 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
 野田 衛

<特集関連情報>

ノロウイルス陽性となった調理従事者の陰性確認検査——東京都

2009年5月～2010年1月にかけて東京都内で発生した胃腸炎集団発生のうち、調理従事者からノロウイルス (NoV) が検出された事例について行った陰性確認試験成績を報告する。NoV 検査は、厚生労働省通知によるリアルタイム PCR 法によって行った。また、遺伝子型は、NoV カプシド領域のプライマー G2SKF /G2SKR を用いた増幅産物から塩基配列を調べ、系

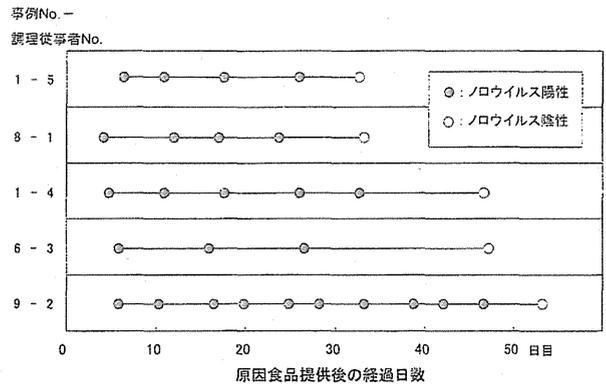


図1. ノロウイルス検査状況(1カ月以上検出された調理従事者)

統樹解析によって決定した。

陰性確認のために被検材料が搬入された10事例の概要 (表1) を示した。集団事例の推定原因食品は飲食店の食事 (4 事例), 披露宴・会食料理 (4 事例), 仕出し弁当・ケータリング (2 事例) であり, NoV 陽性となった調理従事者合計28名を対象とした。検出された NoV の遺伝子型は GII/2 が 1 事例, GII/4 が 7 事例, GII/7 が 1 事例, GII/2 と GII/13 の同時検出例が 1 事例であった。

調査対象とした調理従事者の健康状態は全員が良好であったため、感染日の特定ができない。ここでは、推定原因食品が提供された日を基点とし、経過日数で示した。NoV が検出された28名の調理者について、原因食品が提供されてから4日目～8日目までに初回検査が行われて陽性となり、陰性確認試験を1回から10回実施した。1回で陰性化した調理者が14名、2回3名、3回6名、4回2名、5回2名、10回1名であり、平均2.4回の陰性確認試験が実施された。また、NoV 陰性が確認されるまでに要した日数を調査した結果、11日2名、12日と13日各1名、14日2名、16日4名、17日6名、18日1名、21日3名、24日1名、26日2名、33日・34日・47日・48日・53日各1名、平均21.9日であった。11～21日目までに28名のうち20名 (71.4%) が陰性化していたが、5名 (17.9%) では1カ月以上を要した (図1)。この5名から検出された NoV の遺伝子型は GII/4 が 4 例, GII/7 が 1 例であった。

今回の調査では、調理従事者の71.4%では3週間以

表1. 陰性確認試験対象とした集団事例の概要

事例	発生年月	原因食品	喫食者数	患者数	検査対象従事者数	遺伝子型
1	2009. 5	会食料理	182	57	5	GII/4
2	12	会食料理	7	6	6	GII/2 + GII/13
3	12	飲食店の食事	不明	17	1	GII/4
4	12	会食料理	11	8	1	GII/4
5	2010. 1	仕出し弁当	45	29	2	GII/4
6	1	飲食店の食事	36	32	6	GII/7
7	1	飲食店の食事	21	6	1	GII/4
8	1	披露宴	62	25	2	GII/4
9	1	飲食店の食事	105	11	3	GII/4
10	1	ケータリング	22	12	1	GII/2

内で NoV は検出されなくなったが、17.9%では陰性確認まで1カ月以上の長期間を要した。胃腸炎集団発生の再発防止のために、調理従事者の陰性確認の重要性が改めて確認された。今後、長期間にわたって NoV が排泄され続ける事例についてウイルス側・宿主側両面から検討を進める必要性が示された。

東京都健康安全研究センター

微生物部ウイルス研究科

林 志直 秋場哲哉 森 功次 赤松紀子

江村早苗 永野美由紀

<特集関連情報>

給食弁当を原因としたサポウイルスによる大規模食中毒事例——愛知県

カリシウイルス科のサポウイルス (SaV) は、主に乳幼児の感染性胃腸炎の原因ウイルスに位置づけられているが、近年は全国的に年長者の SaV 集団感染事例の報告が増えている。2010 (平成22) 年1月に愛知県内の弁当調理施設を原因とする大規模食中毒が発生し、病因物質として SaV が検出されたので、その概要を報告する。

事例の概要

2010年1月に、愛知県内のI弁当調理施設が調製した給食弁当を喫食した愛知県、三重県、岐阜県下の在勤者3,859名のうち、680名 (17.6%) が食中毒症状を呈した。有症者171名 (男性144名、女性27名、平均年齢42.8歳) の主な臨床症状は、下痢158名 (92.4%)、嘔気110名 (64.3%)、腹痛109名 (63.7%)、悪寒75名 (43.9%)、嘔吐65名 (38.0%)、倦怠感65名 (38.0%) であり、下痢の頻度が最も高かった。図1に日時別の患者発生状況を示した。一峰性であり、平均潜伏時間は、1月21日の13時を基点として、41.9時間と算出された。

微生物学的検査

有症者9名と原因施設の従事者52名の糞便検体について、ノロウイルス (NoV)¹⁾ および SaV²⁾ の定量検査をリアルタイム RT-PCR 法で実施し、また食中毒原因菌検査も並行して実施した。SaV の遺伝子型は構造タンパクコード領域の上流域を Okada らのプライマー SV-F13:14/SV-R13:14, SV-F22/R2³⁾ を用いて nested RT-PCR 法で増幅後、ダイレクトシーケンス法で決定した。

検査結果

有症者9名と原因施設従事者52名の細菌学的検査および NoV 検査は、すべて陰性であったが、SaV が有症者7名 (7/9) と従事者7名 (7/52) から検出された。リアルタイム RT-PCR 法による糞便1g当たりの SaV コピー数は、有症者で $10^8 \sim 10^{10}$ コピー、従事者 (2名が有症) で $10^7 \sim 10^9$ コピーと、検出コピー数には有意な差異を認めなかった。リアルタイム法で SaV 陽性の14検体のうち、nested RT-PCR で SaV 陰

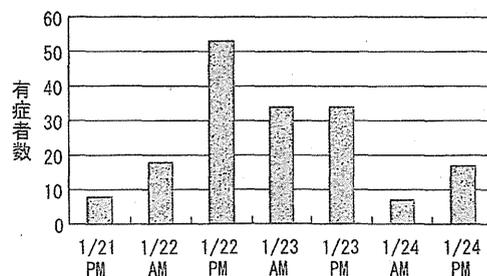


図1. 有症者の日時別の発生状況

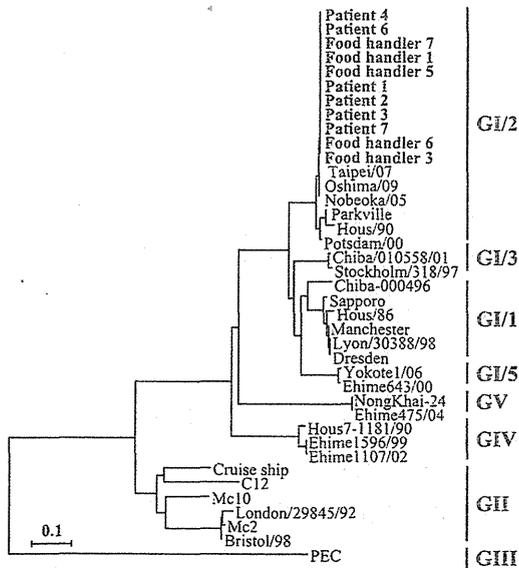


図2. サポウイルスの系統樹解析

伝子を検出できた11検体（有症者6検体と従事者5検体）の系統樹解析の結果、有症者と従事者由来のSaVは互いに高い相同性を示し、検出SaVはGI/2に分類された（図2）。DDBJのBlast検索では、Sapovirus Hu/Oshima/2009/JP（AB518056）に最も近縁であった。

考察

今回の食中毒事例から検出されたGI/2は、愛知県で過去に検出例のない遺伝子型であったが、本県の2009/10シーズンの感染症発生動向調査では、例年と異なる特徴を有するSaV流行は認められなかった。国内のGI/2型SaVの集団感染例として、2009年3月の北海道の小学校⁴⁾や2005年5月の宮崎県の知的障害者施設での事例⁵⁾が報告されているが、両事例ともに人一人感染による集団感染である。海外では2007年5月の台湾の大学でのGI/2の集団感染事例⁶⁾をはじめ、2007年以降、オランダ、スウェーデン、スロベニアなどのヨーロッパ諸国よりGI/2の集団発生が多数報告されている⁷⁾。世界各地で同時多発的にGI/2型の集団発生が起きていると推察されるが、その要因は不明である。

また、GI/2型以外のSaVによる食中毒は、いずれもGIV型による2007年5月に中学生の修学旅行先の宿泊施設が提供した食事を原因とした事例⁸⁾や、同年10月に結婚式場の披露宴で提供された料理を原因とした事例⁹⁾が発生している。近年は、乳幼児よりもむしろ、GI/2型やGIV型による年長者間の集団発生が目立っている。

今回の事例では、弁当調理施設は時間差をもって、1本のコンペアーで3種類の弁当を調理していたが、3種類の弁当喫食者にそれぞれ食中毒患者が認められたことから、特定の食材や調理品の汚染よりも、手洗いの不備や手袋の不適切な使用により複数の調理品を汚染したことが要因と推察された。SaVが調理施設

に持ち込まれた経緯は現時点で未解明であるが、今回の事例を通じて、SaVもNoVと同様に大規模な食中毒事例の病因物質となることが示唆された。

謝辞：本事例に関する情報を提供いただいた愛知県健康担当局生活衛生課に深謝致します。

参考文献

- 1) Kageyama T, *et al.*, J Clin Microbiol 41: 1548-1557, 2003
- 2) Oka T, *et al.*, J Med Virol 78: 1347-1353, 2006
- 3) Okada M, *et al.*, Arch Virol 151: 2503-2509, 2006
- 4) Miyoshi M, *et al.*, Jpn J Infect Dis 63: 75-78, 2010
- 5) IASR 26: 338-339, 2005
- 6) Wu FT, *et al.*, Emerging Infect Dis 14: 1169-1171, 2008
- 7) Svraka S, *et al.*, J Clin Microbiol 48: 2191-2198, 2010
- 8) IASR 28: 294-295, 2007
- 9) IASR 29: 198-200, 2008

愛知県衛生研究所

小林慎一 藤原範子 水谷恵美 安達啓一
 伊藤 雅 安井善宏 山下照夫 平松礼司
 下岸 協 皆川洋子
 一宮保健所
 大嵐誠司 林 克巳 野田耕平 丹羽哲久
 子安春樹

<特集関連情報>

愛知県と川崎市の食中毒事例から検出されたサポウイルス GI/2 の塩基配列の比較

2010年1月に愛知県で発生した給食弁当を原因とした食中毒事例(本号11ページ参照)、および2010年4月に神奈川県川崎市の中華料理店で発生した食中毒事例(本号12ページ参照)から検出されたサポウイルス(SaV)株は、カプシドの部分配列(333塩基)を用いた系統樹解析により、いずれもGI/2に分類された。そのため、両事例で検出された株の異同性を把握

するために、両株の塩基配列を比較したところ、333塩基のうち、331塩基(99.4%)の配列が一致し、株間で異なった2塩基はアミノ酸変異を伴わない同義置換であった。また、川崎市の事例で検出されたSaV株の塩基配列は2009年に北海道と宮城県の急性胃腸炎患者糞便から検出された株(GenBank Accession No. AB518056, AB510009)と100%一致した。

これらの結果から、同様のSaV株が2009~2010年にかけて国内の異なる地域、事例で食中毒や急性胃腸炎を引き起こしていたことが示され、今後の動向に注目する必要がある。ただし、より詳細に株間の相同性を評価するためには、少なくともカプシド全長領域の塩基配列を決定する必要がある。

一方、ここ数年で進めてきた地方衛生研究所、国立感染症研究所、および国立医薬品食品衛生研究所の共同研究により、SaVは年ごとに検出される株が大きく変化するという特徴が認められており、新たな流行株の出現も懸念される。SaVはもはや従来考えられてきた乳幼児を中心とする散発性急性胃腸炎の原因ウイルスだけではなく、ノロウイルス(NoV)と同様に成人を含めた急性胃腸炎集団発生や食中毒の重要なウイルスの1つであると考えられる。NoVで確立された全国的な検出、解析体制(本号4ページ参照)をSaVについても早急に構築し、国内での発生動向を把握するとともに、ウイルスが疑われる食中毒ではSaVの検査も積極的に行う必要がある。

国立感染症研究所ウイルス第二部

岡 智一郎 片山和彦

愛知県衛生研究所 小林慎一

川崎市衛生研究所 飯高順子

国立医薬品食品衛生研究所

食品衛生管理部 野田 衛

