

による牛生レバーの汚染が問題になっていることから、これらの方法を用いて牛肝臓における EHEC 汚染状況を調査し、さらには、肝臓全体における EHEC の分布状況について検討する。また、牛肝臓は、カンピロバクターによる汚染についても問題視されていることから、一部の肝臓についてはカンピロバクター属菌についても検討を行う。

## B. 研究方法

### B-1. 鶏由来多剤耐性大腸菌の検索および地域における分布状況

ブロイラーを扱う大規模食鳥処理場に搬入された鶏を対象に、疾病検査時に大腸菌症および類似症状を呈すると体から肝臓を採取した。これらの組織表面を火炎滅菌後剖面を入れ、DHL 寒天培地(Desoxycholate-hydrogen sulfide-lactamase agar)に直接スタンプをして画線塗抹を実施した。37°C、24 時間培養後大腸菌が疑われるコロニーを釣菌し、TSI(Triple Sugar Iron) や LIM(Lysine-Indole-Motility)などの生化学性状試験用培地に移植した。生化学性状試験の結果から大腸菌の性状を示す菌株について市販キット (API 20E: ビオメリュー) を用いて同定を行った。大腸菌と同定された菌株については、市販血清（大腸菌免疫血清：デンカ生研）を用いて血清型別（O 群）を行った。

多剤耐性菌の検索については、薬剤ディスク（センシディスク : BD）を用いてスクリーニングを行った。また、セフタジジム、セフォタキシム、セフポドキシムに耐性を示す菌株を対象に、薬剤耐性菌検査用ディスク (ESBLs-CAZ/CVA, ESBLs-CTX/CVA,

ESBLs-CPX/CVA : 栄研化学) を用いて、 $\beta$ -ラクタマーゼ阻害の確認を行った。基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) 產生性については、寒天平板 (ChromID ESBL : ビオメリュー、CHROMagar ESBL : CHROMagar) を用いて両者の比較を行った。さらには、薬剤感受性試験紙（シカベータテスト : 関東化学）を用いて ESBL、メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ (MBL)、AmpC 型  $\beta$ -ラクタマーゼの検索を行った。MBL については、上記試験紙による検索以外に、薬剤耐性菌検査用ディスク（メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ SMA : 栄研化学）、イミペネムおよびセフタジジム（センシディスク）を用いて判定した。

### B-2. 市販ひき肉におけるアルコバクター汚染状況

関東 5 県における小売店から、牛ひき肉 50 検体、鶏ひき肉 27 検体および豚ひき肉 17 検体を購入した。各々の 25g を Arcobacter Selective Broth (ASB) 225mL で増菌培養し (25°C、48 時間)、その 1 エーゼ量を変法 CIN 寒天培地および Arcobacter Selective Medium (ASM) に画線塗抹し、25°C、3~5 日間培養した。それぞれの寒天培地上に発育したアルコバクターを疑うコロニーをブルセラ寒天培地で純培養後、生化学性状試験および PCR 法により属または種を決定した。

### B-3. 牛肝臓からの腸管出血性大腸菌 O157、O26 および O111 分離ならびに肝臓内における分布状況

食肉処理場においてと畜解体処理された牛を対象に、肝臓（胆嚢含む）および同一

個体の直腸便を検査対象とした。肝臓は、解体処理直後に採取し、直後に直腸を切開して直腸便を採取した。肝臓におけるEHECの分布状況を確認するため、胆嚢から胆汁を採取後、肝臓から胆嚢を分離し、肝臓の部位により18分割した(図1)。この際、ブロック間におけるコンタミネーションを防止するため、一刀ごとにアルコール消毒を行った。肝臓および直腸便採取牛は計8頭であった。したがって、検体数は肝臓144検体、胆汁8検体、直腸便8検体、計160検体であった。EHEC検査は、培養法およびPCR法により行った。培養法については以下の方法により行った。肝臓10g、胆汁1mL、直腸便1gをmECプロス90mL、10mL、10mLにそれぞれ添加し、42°C、18~24時間培養した。培養液をO157、O26およびO111に特異的な免疫磁気ビーズ(デンカ生研)を用いて処理し、CT-SMac、CT-RMacおよびCT-SBMacに画線塗抹した。37°C、24時間培養後、それぞれの平板上に発育したEHECを疑うコロニーを純培養し、生化学性状を確認した。PCR法については以下の方法により行った。培養後のmECプロスから遺伝子抽出キット(QIAamp DNA Mini kit: QIAGEN)を用いてDNAを抽出した。これを鋤型として市販キット(TaKaRaO-157(ベロ毒素遺伝子)PCR Screening Set: TaKaRa)を使用してPCR反応を行い、電気泳動によりベロ毒素遺伝子に特異的なバンドの有無を確認した。

一部(5頭)の牛肝臓および直腸便については、EHECと平行してカンピロバクター属菌の検出を行った。プレストンブイヨンを使用して、検体を微妙気条件で増菌培

養した(42°C、24時間)。培養後、CCDAに画線塗抹し、微妙気条件下で42°C、48時間培養した。CCDA上に発育したカンピロバクターを疑うコロニーを純培養し、生化学性状およびPCR法を用いて菌種を同定した。さらには、分離株を制限酵素*Kpn*Iおよび*Sma*Iにて処理し、pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)法により遺伝子多型性解析を実施した。

## C. 研究結果

### C-1. 鶏由来多剤耐性大腸菌の検索および地域における分布状況

大腸菌症およびその他の疾病症状を呈する鶏肝臓の炎症部位から、大腸菌は159株分離された。それらが分離された鶏は、地理的に6県18農場で飼育されていた(図2)。血清型については、159株中41株がO25で最も多く、次いでO78で31株であった。また、市販血清では型別不能(UT)である分離株も多く認められた(64株)。地域別では、今回高率に分離されたO25やO78の血清型は各地域に共通して認められたが、それ以外の血清型については、分離率が低いものの地域による特異性が認められた(表1)。分離された大腸菌159株の薬剤感受性を調べたところ、ESBL産生菌が19.5%を占めた(表2)。また、MBLおよびAmpC型β-ラクタマーゼ産生菌は検出されなかった。これらの分離株は、地域によりESBL産生菌の分離率に差が認められ、農場別では、同一県内においてもESBL産生菌の分離率に大きな差が認められた(表3)。ESBL産生菌を検出するために、薬剤ディスク法、ChromID ESBL、CHROMagar ESBL、およびシカベータテストの方法に

より検討したところ、検出率はそれぞれ、31/159 (19.5%)、3/10 (30.0%)、95/159 (59.7%)、および 31/159 (19.5%) であった。

#### C-2. 市販ひき肉におけるアルコバクター汚染状況

ひき肉からのアルコバクター検出状況を表 4 に示した。牛ひき肉からは 9/50 (18.0%)、豚ひき肉からは 5/17 (29.4%)、鶏ひき肉からは 15/27 (55.6%) 検出された。分離菌種は、牛ひき肉については、8 検体から *Arcobacter butzleii* (*A. butzleii*) のみ検出され、1 検体から *A. butzleii* および *Arcobacter creaerophilus* (*A. creaerophilus*) が検出された。豚ひき肉については、5 検体から *A. butzleii* のみ検出された。鶏ひき肉については、10 検体から *A. butzleii* のみ検出され、4 検体から *A. butzleii* および *A. creaerophilus* が、また、1 検体から *A. creaerophilus* のみ検出された。検出された *A. creaerophilus* の遺伝子型は、すべて group1B であった (表 4)。

#### C-3. 牛肝臓からの腸管出血性大腸菌 O157、O26 および O111 分離ならびに肝臓内における分布状況

牛 8 頭の肝臓 144 検体、胆汁 8 検体、直腸便 8 検体、計 160 検体から、培養法によって EHEC (O157、O26 および O111) は検出されなかった。一方、PCR 法により直腸便 2 検体からベロ毒素遺伝子が検出された。一部の牛肝臓および直腸便からカンピロバクターの検出を試みたところ、同一個体の肝臓の 3 ブロックから *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) および *Campylobacter coli* (*C. coli*) が検出され、同一個体の直腸

便から *C. coli* が検出された。また、他の個体 1 頭の直腸便からも *C. coli* が検出された。分離された *C. jejuni* および *C. coli* を検体として、二種類の制限酵素を用いた PFGE 法による遺伝子多形解析を実施したところ、同一固体においては検出部位にかかわらず全て同じ切断パターンを示した (図 3)。

#### D. 考察

##### D-1. 鶏由来多剤耐性大腸菌の検索および地域における分布状況

食鳥検査 (臨場検査) において認められる疾病の中で、鶏大腸菌症は農場のロット単位で遭遇する疾病の一つである。また、食鳥処理場における病原大腸菌などの微生物制御は、食鳥処理工程の複雑さから大変困難であることが推測される。昨年度同様、今年度も大腸菌が高率に分離されたことは、鶏肉が大腸菌などの微生物汚染を受ける可能性が高いことが示唆された。今回分離された血清型は O25 が最多で、次いで O78 であった。昨年度の調査と比較すると、O78 の検出については同様であったが、O25 については、昨年度は検出されていない。一方、昨年度高率に分離された O18 は、今年度は分離されなかった。昨年度と今年度の調査農場は一部を除き異なっていることから、地域および農場により分離される血清型に特異性が確認されたことは、鶏から分離される大腸菌には地域特異性があることが認められた。シカベータテストは検査法が容易であるが、煩雑なディスク法と同等の成績を示した。一方、ChromID ESBL は、目視による判定では感度は非常に高いものの、その後の精査により特異性は非常に低いことが判明した。したがって、ESBL の

検出には、精度と簡便さの点でシカベータテストが有用な検査方法であることが示唆された。また、今回 ESBL 産生菌は全菌株の約 20%に認められたが、農場により分離率に大きな差が認められた。食鳥としての鶏は、飼育形態から飼育ロット単位で感染が広まるものと考えられる。したがって、農場単位での大腸菌のプロファイリングは、食中毒における原因食品の推定に大いに有用であると思われた。今後は、 $\beta$ -ラクタマーゼの遺伝子型を追求することにより、さらなる詳細なプロファイリングおよび疫学解析が可能となるものと思われる。

#### D-2. 市販ひき肉におけるアルコバクター汚染状況

今回、牛、豚および鶏の市販ひき肉におけるアルコバクター汚染実態調査を実施したところ、すべての動物種からアルコバクターが検出され、特に、鶏ひき肉からは高率に分離された (55.6%)。牛肉や牛肝臓の EHEC 汚染については社会的にも問題になっているところであるが、アルコバクターについては、本邦においては集団食中毒事例が認められていないため、あまり知られていないものと推測される。アルコバクターとは、グラム陰性、S 字状桿菌で形態上はカンピロバクターと類似しているが、好気的条件および低温 (15°C) でも発育可能な食品由来感染症起因菌である。また、*A. butzleii*、*A. creaerophilus* および *A. skirrowii* は、人と動物の両者に病原性を有することが報告されており、海外ではこれらの菌による集団食中毒の報告もされている。2000～2001 年の調査では、鶏肉の 43% から、また、2010 年の調査では 52% から

本菌が分離されている。今回分離されたアルコバクターも上記菌種であったことから、現在においても感染リスクは依然高いことが確認された。したがって、今後、食肉における汚染指標菌として、継続監視が必要であることが考えられた。

#### D-3. 牛肝臓からの腸管出血性大腸菌 O157、O26 および O111 分離ならびに肝臓内における分布状況

牛肝臓を 1 頭につき 18 分割し、8 頭分、計 144 ブロックから EHEC の検出を試みたが、培養法および PCR 法のどちらにおいても EHEC は検出されなかった。過去の報告によると、牛肝臓 1/2 における任意の部分から EHEC O157 の分離を実施したところ、検出率は 1～2% であったとしている。昨年度の検討で、検査法の感度は十分確保されていることから、今回の EHEC 不検出は検査頭数の少なさによるものであることが考えられた。一方、カンピロバクターに関しては、牛の胆嚢内胆汁からは 25.4%、胆管内胆汁からは 21.8%、肝臓からは 11.4% 分離されており、肝臓実質中の菌数は、10～55 cfu/g であったと報告されている。今回は特定の牛肝臓から *C. jejuni* および *C. coli* が検出されたが、PFGE の結果から肝臓実質内の *C. coli* は全てクローニングであった。また、それらの直腸便から分離された *C. coli* もクローニングであった。これらのことから、本菌は腸管循環によって肝臓に侵入し、実質内に拡散することが示唆された。このことは EHEC に関しても同様であると予想される。したがって、保菌調査による EHEC およびカンピロバクター分離株のプロファイリングは、地域における食中毒等の疫学

解析に有用であることが示唆された。

#### E. 謝辞

本研究を実施するにあたり、材料の採取に快くご協力いただいた食肉処理施設および食鳥処理施設の関係者の方々に深謝いたします。

#### F. 発表論文

1. Sakano C, Kuroda M, Sekizuka T, Ishioka T, Morita Y, Ryo A, Tsukagoshi H, Kawai Y, Inoue N, Takada H, Ogasawara Y, Nishina A, Shimoda M, Kozawa K, Oishi K, Kimura H. (2013) Genetic analysis of non-hydrogen sulfide-producing *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* and *Infantis* isolates in Japan. *J Clin Microbiol.* 51(1):328-30.
2. Kobayashi M, Tsukagoshi H, Ishioka T, Mizuta K, Noda M, Morita Y, Ryo A, Kozawa K, Kimura H. (2013) Seroepidemiology of Saffold cardiovirus (SAFV) genotype 3 in Japan. *J Infect.* 66(2):191-193.
3. Saitoh M, Takeda M, Gotoh K, Takeuchi F, Sekizuka T, Kuroda M, Mizuta K, Ryo A, Tanaka R, Ishii H, Takada H, Kozawa K, Yoshida A, Noda M, Okabe N, Kimura H. (2012) Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus genotypes D3, D5, D9, and H1. *PLOS ONE.* 7(11):e50660.
4. Wakai K, Sano H, Shimada A, Shiozawa Y, Park MJ, Sotomatsu M, Yanagisawa R, Koike K, Kozawa K, Ryo A, Tsukagoshi H, Kimura H, Hayashi Y. Cytomegalovirus retinitis during maintenance therapy for T-cell acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol.* (in press).
5. Okazaki K, Kusaka T, Kondo M, Kozawa K, Yoshizumi M, Kimura H. (2012) Temporal alteration of serum G-CSF and VEGF levels in perinatal asphyxia treated with head cooling. *Cytokine.* 60(3):812-814.
6. Seki E, Yoshizumi M, Tanaka R, Ryo A, Ishioka T, Tsukagoshi H, Kozawa K, Okayama Y, Goya T, Kimura H. Relationships between cytokine profiles, signaling pathways (Akt, p38 MAPK, ERK1/2, and I $\kappa$ B- $\alpha$ ), and pharmacological effects of fluticasone propionate in respiratory syncytial virus-infected human fetal lung fibroblasts. *Cell Biol Int.* (in press).
7. Obuchi M, Toda S, Tsukagoshi H, Oogane T, Abiko C, Funatogawa K, Mizuta K, Shirabe K, Kozawa K, Noda M, Kimura H, Tashiro M. (2012) Molecular analysis of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus genome associated with fatal infection cases in Gunma, Tochigi, Yamagata, and Yamaguchi Prefectures, Japan during the first pandemic wave. *Jpn J Infect Dis.* 65(4):363-367.
8. Kato M, Ishioka T, Kita H, Kozawa K, Hayashi Y, Kimura H. (2012) Eosinophil granular proteins damage bronchial epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *Int Arch Allergy Immunol.*

- 158(1):11-18.
9. Yoshida A, Kiyota N, Kobayashi M, Nishimura K, Tsutsui R, Tsukagoshi H, Hirano E, Yamamoto N, Ryo A, Saitoh M, Harada S, Inoue O, Kozawa K, Tanaka R, Noda M, Okabe N, Tashiro M, Mizuta K, Kimura H. (2012) Molecular epidemiology of attachment glycoprotein (G) gene in respiratory syncytial virus in children with acute respiratory infection in Japan in 2009/2010. *J Med Microbiol.* 61:820-829.
  10. Arakawa M, Okamoto-Nakagawa R, Toda S, Tsukagoshi H, Kobayashi M, Ryo A, Mizuta K, Hasegawa S, Hirano R, Wakiguchi H, Kudo K, Tanaka R, Morita Y, Noda M, Kozawa K, Ichiyama T, Shirabe K, Kimura H. (2012) Molecular epidemiological study of human rhinovirus species ABCs from patients with acute respiratory illnesses in Japan. *J Med Microbiol.* 61(Pt 3):410-419.
  11. Tazaki E, Shimizu N, Tanaka R, Yoshizumi M, Kamma H, Imoto S, Goya T, Kozawa K, Nishina A, Kimura H. (2011) Serum cytokine profiles in patients with prostate carcinoma. *Exp Ther Med.* 2(5):887-8917.
  12. Nishina A, Kimura H, Kozawa K, Sommen G, Nakamura T, Heimgartner H, Koketsu M, Furukawa S, (2011) A superoxide anion-scavenger, 1,3-selenazolidin-4-one suppresses serum deprivation-induced apoptosis in PC12 cells by activating MAP kinase. *Toxicol Appl Pharmacol.* 257(3):388-395.
  13. Mizuta K, Saitoh M, Kobayashi M, Tsukagoshi H, Aoki Y, Ikeda T, Abiko C, Katsushima N, Itagaki T, Noda M, Kozawa K, Ahiko T, Kimura H. (2011) Detailed genetic analysis of hemagglutinin-neuraminidase glycoprotein gene in human parainfluenza virus type 1 isolates from patients with acute respiratory infection between 2002 and 2009 in Yamagata prefecture, Japan. *Virol J.* 8(1):533.
  14. Sakano C, Morita Y, Goto K, Yokota Y, Annaka H, Fujita M, Kobatake S, Ishioka T, Hoshino T, Boonmar S, Pulsrikarn C, Nishina A, Kozawa K, Yamamoto S, Kimura H. Prevalence and genotype of *Salmonella Choleraesuis* in Gunma Prefecture, Japan. *Thai J Vet Med.* 41(3):321-326, 2011.
  15. Nishina A, Kimura H, Kozawa K, Sommen G, Favero F, Heimgartner H, Koketsu M, Furukawa S. (2011) 3-(2,6-Dimethylphenyl)-2-selenoxo-1,3-thiazolidin-4-one suppresses hydrogen peroxide-induced cytotoxicity on PC12 cells via activation of MAPK. *Int J Toxicol.* 30(6):690-699.
  16. Tsukagoshi H, Mizuta K, Abiko C, Itagaki T, Yoshizumi M, Kobayashi M, Kuroda M, Kozawa K, Noda M, Ryo A, Kimura H. (2011) The impact of saffold cardiovirus (SAFV) in patients with acute respiratory infection in Yamagata, Japan. *Scand J Infect Dis.* 43(8):669-671.
  17. Ishioka T, Kimura H, Kita H, Obuchi M, Hoshino H, Noda M, Nishina A,

Kozawa K, Kato M. (2011) Effects of respiratory syncytial virus infection and major basic protein derived from eosinophils in pulmonary alveolar epithelial cells (A549). *Cell Biol Int.* 35(5):467-74.

18. Kato M, Tsukagoshi H, Yoshizumi M, Saitoh M, Kozawa K, Yamada Y, Maruyama K, Hayashi Y, Kimura H. (2011) Different cytokine profile and eosinophil activation are involved in rhinovirus- and RS virus-induced acute exacerbation of childhood wheezing. *Pediatr Allergy Immunol.* 22(1 Pt 2):e87-94.

19. Okazaki K, Matsuki T, Takashi K, Unemoto J, Kondo M, Kozawa K, Yoshizumi M, Shimada A, Takita J, Kaneko T, Kimura H. (2010) Sustained cytokinemia and chemokinemia concomitant with juvenile myelomonocytic leukemia in an infant with Noonan syndrome. *Leuk Res.* 34:e226-e228.

20. Tsukagoshi H, Masuda Y, Mizutani T, Mizuta K, Saitoh M, Morita Y, Nishina A, Kozawa K, Noda M, Ryo A, Kimura H. (2010) Sequencing and phylogenetic analyses of Saffold cardiovirus (SAFV) genotype 3 isolates from children with upper respiratory infection in Gunma, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 63(5):378-80.

平成 24 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)  
食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究  
分担研究報告書

ノロウイルス食中毒事例調査の精度向上のための  
塩基配列データと疫学情報の共有化  
-GII/4 2012 変異株の検出の探知とその後の対応を中心として-

研究分担者 野田 衛(国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部)

**研究要旨：**ノロウイルス等の食品媒介性ウイルスによる広域食中毒事例の探知など食中毒調査の精度向上に資することを目的として、全国 51 地方衛生研究所、国立感染症研究所等の協力の下、ノロウイルスおよびサポウイルスの塩基配列データおよび疫学データの共有等を実施し、以下の結果を得た。

1. 2012 年 11 月、新潟県からの情報提供および沖縄県での集団発生事例等を発端として、GII/4 の新しい変異株 (2012 変異株、仮称) の全国的な流行の可能性を察知した。その後、厚生労働省等に情報提供するとともに全国的な検出状況の入手等の対応をとり、ノロウイルスの流行のピーク前 (11 月 28 日) に、国立感染症研究所・感染症情報センターのホームページをとおし、病原微生物検出情報 (IASR) の速報記事として情報提供することができた。本情報はマスコミ等を介し、国民に対する予防対策への備えや流行への注意喚起等の一翼を担うとともに、食品衛生監視員の食中毒調査時の判断材料として有用な科学的根拠を提供することができた。
2. 共有する塩基配列データを食中毒の被害実態推定等のために有効に活用することを目的として、ノロウイルス食中毒の原因物質におけるカキの寄与率の推定を試みた。

研究協力者		福島県衛生研究所	北川 和寛
北海道立衛生研究所	吉澄 志磨	福島県衛生研究所	塚田 敏子
青森県環境保健センター	三上 稔之	茨城県衛生研究所	原 孝
青森県環境保健センター	筒井 理華	茨城県衛生研究所	増子 京子
青森県環境保健センター	東海林 彰	茨城県衛生研究所	本谷 匠
青森県環境保健センター	古川紗耶香	栃木県保健環境センター	水越 文徳
岩手県環境保健研究センター	森田 晴美	群馬県衛生環境研究所	小林 美保
宮城県保健環境センター	植木 洋	埼玉県衛生研究所	篠原美千代
仙台市衛生研究所	関根 雅夫	千葉県衛生研究所	小川 知子
山形県衛生研究所	池田 辰也	千葉県衛生研究所	堀田千恵美

千葉市環境保健研究所	横井 一	和歌山市衛生研究所	廣岡 貴之
千葉市環境保健研究所	水村 綾乃	和歌山市衛生研究所	太田 裕元
千葉市環境保健研究所	土井 妙子	島根県保健環境科学研究所	飯塚 節子
東京都健康安全研究センター	林 志直	島根県保健環境科学研究所	木内 郁代
東京都健康安全研究センター	森 功次	岡山県環境保健センター	濱野 雅子
東京都健康安全研究センター	秋場 哲哉	岡山県環境保健センター	溝口 嘉範
東京都健康安全研究センター	永野美由紀	広島県立総合技術研究所・保	重本 直樹
杉並区衛生試験所	山崎 匠子	健環境センター	
神奈川県衛生研究所	鈴木理恵子	広島市衛生研究所	藤井 延樹
相模原市衛生試験所	望月 韶子	山口県環境保健センター	濱岡 修二
新潟県保健環境科学研究所	田村 務	山口県環境保健センター	岡本 玲子
新潟市衛生環境研究所	齊藤 哲也	愛媛県立衛生環境研究所	山下 育孝
富山県衛生研究所	名古屋真弓	福岡県保健環境研究所	世良 暢之
福井県衛生環境研究センター	小和田和誠	福岡県保健環境研究所	吉富 秀亮
山梨県衛生環境研究所	大沼 正行	福岡市保健環境研究所	宮代 守
長野県環境保全研究所	中沢 春幸	福岡市保健環境研究所	梶山 桂子
長野県環境保全研究所	内山友里恵	大分県衛生環境研究センター	加藤 聖紀
静岡県環境衛生科学研究所	長岡 宏美	宮崎県衛生環境研究所	三浦 美穂
浜松市保健環境研究所	鈴木 幸恵	沖縄県衛生環境研究所	仁平 稔
静岡市環境保健研究所	伊藤 史恵	札幌医科大学	三瀬 敬治
愛知県衛生研究所	小林 慎一	国立感染症研究所	片山 和彦
名古屋市衛生研究所	柴田伸一郎	国立感染症研究所	岡 智一郎
三重県保健環境研究所	楠原 一	国立医薬品食品衛生研究所	上間 匡
滋賀県衛生科学センター	小菅 裕也	(順不同)	
京都府保健環境研究所	石崎 徹		
京都府保健環境研究所	藤原 恵子	A. 研究目的	
京都府保健環境研究所	中山淳一郎	我々は、2009年以降広域事例の早期探知	
京都府保健環境研究所	鳥居 潤	など、ノロウイルス食中毒の精度向上やノ	
大阪府立公衆衛生研究所	左近 直美	ロウイルスによる被害拡大防止等に資する	
大阪市立環境科学研究所	入谷 展弘	ことを目的として、ノロウイルス等の塩基	
堺市衛生研究所	三好 龍也	配列情報やノロウイルス食中毒事例等の疫	
神戸市環境保健研究所	田中 忍	学情報の共有化を、研究班専用のメーリン	
神戸市環境保健研究所	有川健太郎	ググループおよびホームページ	
姫路市環境衛生研究所	横山 北斗	(CaliciWeb)を利用して実施している。昨年	
和歌山県環境衛生研究センタ	仲 浩臣	度から研究協力地方衛生研究所(地研)を51	

化の強化を図った。

2012/13 シーズンは 2006/07 シーズン以降 6 年ぶりにノロウイルスが大流行し、大規模食中毒事例や死亡例を伴う高齢者施設での集団発生など多くの健康被害が発生した。その原因の一つとして、GII/4 の新しい変異株（2012 変異株、仮称）の流行が関与していることを、本研究において探し出し、流行のピーク前に広報し、マスコミ等を通じて国民への注意喚起の一翼を担うことができた。本報告では、今後のさらなる迅速な対応等の資料とするため、ノロウイルス遺伝子型 GII/4 2012 変異株の検出報告を受けた後の対応を中心に今年度の活動を取りまとめる。

## B. 研究方法

### 1. 塩基配列データの登録と還元

研究協力の承諾を得た 51 地研から、食品媒介事例を中心に散発事例、集団感染事例から検出されたノロウイルスおよびサポウイルスのシークエンスデータを、厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究」によって運用・管理されている

CaliciWeb (<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calicinew/>) に設けた研究班専用フォーラムの中に FASTA 形式で登録することにより収集した。登録されたデータを ClastalW でアラインメントした後、NJplot あるいは MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) 5 で系統樹を作成し、一般公開されている同ウェブのダウンロードのページに PDF ファイルとして還元した（「病原微生物

物検出情報、31, 315–316 (2010)」参照）。また、得られた系統樹は、厚生労働省が運営している食中毒調査支援システム (NESFD : National Epidemiological Surveillance of Foodborne Disease, <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/nesfd/index.html>) 内に設けた V-Nus Net (Virus Nucleotide Sequense Network) にも掲載した。

## 2. 情報交換

ノロウイルス等が検出された事例の疫学情報などに関する情報交換を専用のメリンググループ内で行った。メリンググループでは、全国のノロウイルス食中毒の発生状況やその疫学情報を早期に共有するため、NESFD をとおし各自治体から食中毒被害情報管理室に報告された食中毒速報やプレス発表資料なども共有した。

## （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. 塩基配列情報の登録および解析状況

2012 年 4 月以降、計 955 株の塩基配列データの登録が行われた（2013 年 1 月 31 日現在）。その内訳をウイルス別にみると、ノロウイルスが 96% (918 株)、サポウイルスが 4% (37 株) であった。解析領域別ではノロウイルスは通常の検査で実施されているキャップシド領域上流 (N/S 領域) が 90% (824 株) を占め、サポウイルスはすべて N/S 領域であった（表 1）。由来別ではノロウイルスは 51% (471 株)、サポウイルスは 24% (9 株) が食品媒介性集団発生（疑いを含む）

由来であった。

系統樹解析は延べ 49 回実施され、CaliciWeb のオープン環境であるダウンロードのページに PDF ファイルとして公開された。NESFD への登録は 25 回行われ、49 の系統樹解析結果が PDF ファイルとして掲載された。

## 2. 「GII/4 2012 変異株検出」情報の探知とその後の対応

GII/4 2012 変異株検出の情報を探知後、病原微生物検出情報(IASR)の速報として情報を掲載するに至った経緯等を以下にまとめた(表 3)。

2011 年 11 月 2 日：新潟県(田村先生)から、10 月発生の集団胃腸炎から検出された株はこれまでの GII/4 の変異株のクラスターには属さず、Blast 検索でも一致するものが多く、今後の動向が懸念される旨の情報が入った。

2011 年 11 月 5 日：沖縄県(仁平先生)から、9 月～10 月発生の食中毒を含む集団発生から検出されたノロウイルス 5 株の登録があった。これらを合わせて解析したところ、新潟株と同じクラスターを形成することが判明した。また、同時期に登録された北海道 3 株(1 月、2 月、3 月検出)、千葉市の株(10 月検出)も近縁であった。

2011 年 11 月 7 日：以上のことから、GII/4 2012 変異株の動向が注目されたことから、定期的な NESFD 内の V-Nus Net への系統樹を掲載時に、「2012 年 9 月以降に検出され、これまで報告を受けたノロウイルスは近年の主流遺伝子型である GII/4 で、これまでの流行株とは遺伝子的に異なるクラスターを形成しています

(1210-151-0-1242/030/We/NO など)。本ク

ラスターに属する株は、今年 1 月以降、北海道、新潟県、沖縄県、千葉市で検出されています。今後の動向が注目されます。」のコメントを付して、自治体に情報提供を行った。また、変異株の検出に関する速報記事の掲載を IASR 事務局に依頼した。

2011 年 11 月 8 日：食中毒被害情報管理室から GII/4 2012 変異株に関する情報提供の依頼を受けた。

2011 年 11 月 9 日：GII/4 2012 変異株の全国的な分布状況を把握するために、メーリングリストをとおし、協力地研に対して情報提供を依頼した。

2011 年 11 月 27 日：厚生労働省から「感染性胃腸炎の流行状況を踏まえたノロウイルスの一層の予防の啓発について」として各自治体の衛生主幹部局に対し事務連絡されるとともに、「ノロウイルスによる食中毒や感染に注意」として報道関係者にノロウイルス予防の一層の啓発や指導等を行うよう各自治体に周知した旨の連絡が行われた。

2011 年 11 月 28 日：GII/4 2012 変異株の遺伝子解析と全国における検出状況を取りまとめた情報が「ノロウイルス GII/4 の新しい変異株の遺伝子解析と全国における検出状況」(田村 務 他) として IASR の速報記事として、ホームページに掲載された。

2011 年 11 月 29 日：上記情報が IASR に掲載された件について、NESFD をとおして全国の自治体に情報提供した。

## 2. 2012/13 シーズンの検出ノロウイルスの遺伝子型

2013 年 1 月 31 日現在で、2012/13 シーズンに検出され、登録されたノロウイルスは

330 株で、GII/4 が 287 株(87%)を占め、以下、GII/2(16 株), GI/6(8 株), GII/6(5 株)などであった(表 4)。GII/4 のうち、2012 変異株が 254 株で、ノロウイルス全体の 77%(図 1), GII/4 の 88%(図 2)を占めた。昨年の流行で多くを占めた、2006b は 28 株、2009a は 5 株にとどまった。

### 3. 蕁積データの「ノロウイルス食中毒事例の原因食品におけるカキの寄与率の推定」のための活用

塩基配列データの共有は、広域事例の早期探知など、実際の行政対応等に寄与することを主たる目的としているが、蓄積したデータを食中毒の被害実態推定等のために活用する手法の開発も重要と考えられる。そこで、今回、ノロウイルス食中毒事例の原因食品におけるカキの寄与率を推定するための利用を試みた。その結果を、「食中毒統計、NESFD 情報および遺伝子型別結果を利用したノロウイルス食中毒事例の原因食品におけるカキの寄与率の推定」として別途取りまとめた。

### D. 考察

ノロウイルス等の塩基配列情報や食中毒事例の疫学情報を共有する中で、2012 年 11 月新潟県から、管内の福祉施設で発生したノロウイルスは、これまで検出されたノロウイルス GII/4 とは別のクラスターを形成するとの報告を受けた。その後、沖縄県で発生したノロウイルス集団食中毒から検出されたノロウイルスは新潟株と同じクラスターを形成することが確認された。これらのことから、この変異株(GII/4 2012 変異株)の流行拡大が懸念されたため、他の自治

体での同ウイルスの検出状況の把握や行政への情報提供などの対応をとり、11 月 28 日に国立感染症研究所・感染症情報センターの病原微生物検出情報(IASR)に速報記事として掲載するに至った。この情報は、ノロウイルスの 2006 年以来の大流行に加え、大規模食中毒の発生や高齢者施設での死亡例を伴う集団感染事例が相次いだことなどから広くマスコミ等に取り上げられ、ノロウイルス予防の注意喚起の一翼を担うに至った。流行のピークに近い時期とは言え、ウイルスの遺伝子解析に基づく変異株の全国的な検出状況を実際の予防対策に生きた情報として提供できたことは、各地研の検査技術力の高さと連携の成果であると考えられる。

本研究班に登録されたノロウイルスについてみると、GII/4 2012 変異株は昨年までは検出されておらず、2012 年 1 月に北海道と大阪市で検出された。その後、各地で散発的に報告されていたが、10 月以降登録数が急増した。2012/13 シーズン(2012 年 9 月以降)に登録されたノロウイルスの遺伝子型をみると、GII/4 の 88%(図 1), 全登録ノロウイルスの 77%(図 2)は GII/4 2012 変異株であった。このことから、2012/13 シーズンのノロウイルス患者の多くは GII/4 2012 変異株に感染したものと推察される。このような状況下では、GII/4 2012 変異株が検出される割合が高くなることから、塩基配列の一致は必ずしも疫学的な直接的関連性を意味しないことになる。このことは、キャプシド N/S 領域の遺伝子的多様性はそれほど高くないことから、一般的な流行状況においても言えることであるが、特に、今シーズンのように特定の株

が大流行した場合は、その可能性が高くなると考えられる。そのため、今回、GII/4 2012 変異株の全国的な流行に関して広報できることは、食品衛生監視員等、食中毒調査において、調理従事者からの二次汚染や疫学的関連性の有無を判断する際に、誤った判断を避けるためにも、寄与できたものと考えられる。一方、上述のように現在遺伝子解析に主に用いられているカプシド N/S 領域は、P2 領域など遺伝子的な多様性の富む領域と比較すると、塩基配列多様性が少なく点変異の情報を生かした感染経路特定に利用できない場合がある。今後、必要とされる情報に適した解析領域を選択できるよう、分子疫学解析の標的領域を拡大させる必要がある。

## E. 結論

ノロウイルス等の食品媒介性ウイルスによる広域食中毒事例の探知など食中毒調査の精度向上に資することを目的として、全国 51 地研の協力の下、ノロウイルスおよびサポウイルスの塩基配列データの共有化を試行的に実施し、以下の結果を得た。

1. 2012/13 シーズンのノロウイルスの流行において、流行のピーク前に GII/4 の 2012 変異株の全国的流行拡大の可能性を情報提供した。その結果、マスコミ等をとおし、広く、流行への注意喚起が行えた。また、食品衛生監視員の食中毒調査時の判断材料として有用な科学的根拠を提供することができた。

2. 共有する塩基配列データを食中毒の被害実態推定等のために有効に活用することを目的として、ノロウイルス食中毒の原因物質におけるカキの寄与率の推定を試みた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

田村 務, 渡邊香奈子, 田澤 崇, 渡部 香, 広川智香, 吉澄志磨, 横井 一, 森 功次, 入谷展弘, 藤井慶樹, 木内郁代, 加藤聖紀, 仁平 稔, 野田 衛: <速報> ノロウイルス GII/4 の新しい変異株の遺伝子解析と全国における検出状況, IASR(速報) [http://www.nih.go.jp/n iid/ja/norovirus-m/norovirus-iasrd/3007-pr3942.html](http://www.nih.go.jp/niid/ja/norovirus-m/norovirus-iasrd/3007-pr3942.html) (2012)

仁平 稔, 高良武俊, 岡野 祥, 喜屋武向子, 平良勝也, 久高 潤, 崎枝央輝, 細田千花, 富永正哉, 野田 衛: <速報> ノロウイルス GII/4 による集団食中毒事例—沖縄県—IASR(速報), <http://www.nih.go.jp/n iid/ja/norovirus-m/norovirus-iasrd/3008-pr3943.html> (2012)

### 2. 口頭発表

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

表 1 解析部位別塩基配列データ登録数

ウイルス	解析部位	2011 年度	2012 年度	計
ノロウイルス	キャップシド(N/S)	657	824	1481
	キャップシド(P2 ドメイン)	38	1	39
	ポリメラーゼ	29	93	122
サポウイルス	キャップシド(N/S)	65	37	102
	計	789	955	1744

(2013 年 1 月 31 日現在)

表 2 由来別塩基配列データ登録数 (2012 年度)

由来	ノロウイルス	サポウイルス	計
食品媒介性感染症	471	9	480
その他	447	28	475
計	918	37	955

(2013 年 1 月 31 日現在)

表 3 GII/4 2012 変異株の検出の探知とその後の対応の概要

月日	概要
11 月 2 日	新潟県から情報提供
11 月 5 日	沖縄県集団事例株登録
11 月 7 日	NESFD を通じ情報提供 IASR 事務局に速報記事の掲載を依頼
11 月 8 日	食中毒室から情報提供依頼
11 月 9 日	メーリングリストで検出状況報告依頼
11 月 10 日	食中毒室に情報提供
11 月 27 日	厚生労働省から注意喚起
11 月 28 日	GII/4 2012 変異株に関する情報を IASR(速報)に掲載
11 月 29 日	上記の IASR の速報記事について、NESFD をとおし全国の自治体に情報提供

表4 2012/13シーズンのノロウイルス遺伝子型別登録数

遺伝子型	2012年				2013年	計
	9月	10月	11月	12月	1月	
GI/1				3		3
GI/3				1		1
GI/6			3	5		8
GI/7		1				1
GI/13		1				1
GII/2		8	1	7		16
GII/4	4	31	113	127	12	287
亜型別 の再掲	2006b	1	2	11	14	28
	2009a		1	2	1	1
	2012	3	28	100	112	11
GII/5			1			1
GII/6		2	2	1		5
GII/12			2	1		3
GII/13			2	2		4
計	4	43	124	147	12	330

(2013年1月31日現在)

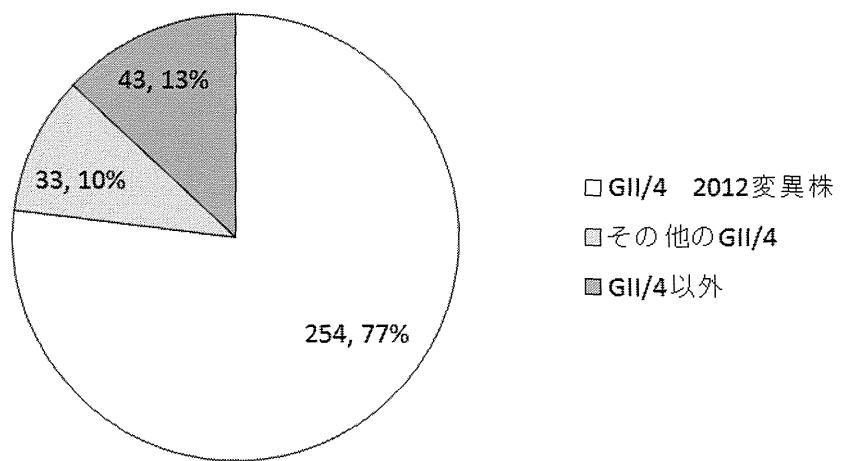


図1 検出ノロウイルスにおける GII/4 2012 変異株の占める割合(N=330)

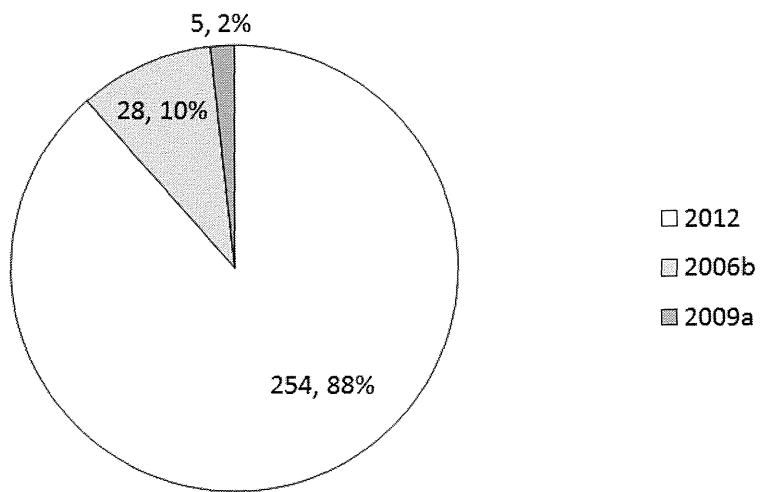


図2 検出ノロウイルス GII/4 における 2012 変異株の占める割合(N=287)

平成 24 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)  
食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究  
分担研究報告書

食中毒統計, NESFD 情報および遺伝子型別結果を利用したノロウイルス  
食中毒事例の原因食品におけるカキの寄与率の推定

研究分担者 野田 衛(国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部)

**研究要旨：**ノロウイルス食中毒の原因食品におけるカキの正確な寄与率を明らかにすることを目的として、2011 年に発生したノロウイルス食中毒事例について、食中毒統計、食中毒調査支援システム(NESFD:National Epidemiological Surveillance of Foodborne Disease)の食中毒速報および遺伝子解析結果を総合的に分析した。解析可能な 129 事例の分析の結果、食中毒統計でカキの関連性が示されていない事例のうち提供メニューにカキが含まれる事例は、ノロウイルス GI が多く検出される、複数の遺伝子型が検出されるなど、カキが原因と特定あるいは推定された事例と同様のウイルス疫学的な特徴がみられ、その多くはカキが原因であった可能性が高いと考えられた。この結果から、食中毒統計のノロウイルス食中毒の原因食品におけるカキの割合は、実際の寄与率と比較して低いと考えられた。

研究協力者	群馬県衛生環境研究所	小林 美保
北海道立衛生研究所	吉澄 志磨	埼玉県衛生研究所 篠原美千代
青森県環境保健センター	三上 稔之	千葉県衛生研究所 小川 知子
青森県環境保健センター	筒井 理華	千葉県衛生研究所 堀田千恵美
青森県環境保健センター	東海林 彰	千葉市環境保健研究所 横井 一
青森県環境保健センター	古川紗耶香	千葉市環境保健研究所 水村 綾乃
岩手県環境保健研究センター	森田 晴美	千葉市環境保健研究所 土井 妙子
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 林 志直
仙台市衛生研究所	関根 雅夫	東京都健康安全研究センター 森 功次
山形県衛生研究所	池田 辰也	東京都健康安全研究センター 秋場 哲哉
福島県衛生研究所	北川 和寛	東京都健康安全研究センター 永野美由紀
福島県衛生研究所	塚田 敬子	杉並区衛生試験所 山崎 匠子
茨城県衛生研究所	原 孝	神奈川県衛生研究所 鈴木理恵子
茨城県衛生研究所	増子 京子	相模原市衛生試験所 望月 韶子
茨城県衛生研究所	本谷 匠	新潟県保健環境科学研究所 田村 務
栃木県保健環境センター	水越 文徳	新潟市衛生環境研究所 齊藤 哲也

富山県衛生研究所	名古屋真弓	福岡県保健環境研究所	世良 暁之
福井県衛生環境研究センター	小和田和誠	福岡県保健環境研究所	吉富 秀亮
山梨県衛生環境研究所	大沼 正行	福岡市保健環境研究所	宮代 守
長野県環境保全研究所	中沢 春幸	福岡市保健環境研究所	梶山 桂子
長野県環境保全研究所	内山友里恵	大分県衛生環境研究センター	加藤 聖紀
静岡県環境衛生科学研究所	長岡 宏美	宮崎県衛生環境研究所	三浦 美穂
浜松市保健環境研究所	鈴木 幸恵	沖縄県衛生環境研究所	仁平 稔
静岡市環境保健研究所	伊藤 史恵	札幌医科大学	三瀬 敬治
愛知県衛生研究所	小林 慎一	国立感染症研究所	片山 和彦
名古屋市衛生研究所	柴田伸一郎	国立感染症研究所	岡 智一郎
三重県保健環境研究所	楠原 一	国立医薬品食品衛生研究所	上間 匠
滋賀県衛生科学センター	小菅 裕也	(順不同)	
京都府保健環境研究所	石崎 徹		
京都府保健環境研究所	藤原 恵子	A. 研究目的	
京都府保健環境研究所	中山淳一郎	食中毒統計によるとノロウイルス食中毒	
京都府保健環境研究所	鳥居 潤	事例においてカキを原因食品とする事例	
大阪府立公衆衛生研究所	左近 直美	(カキが原因食品と推定される事例を含む)	
大阪市立環境科学研究所	入谷 展弘	は約 10% (IASR, 32, 352-353, 2011) を占	
堺市衛生研究所	三好 龍也	めている。しかし、カキ関連事例を含め原	
神戸市環境保健研究所	田中 忍	因食品が特定された事例は全体の 20%程度	
神戸市環境保健研究所	有川健太郎	にすぎず、残りの約 80%は食事が特定され	
姫路市環境衛生研究所	横山 北斗	た事例あるいは原因食品不明事例など、原	
和歌山県環境衛生研究センタ ー	仲 浩臣	因食品は特定されていない。そのため、そ	
		れらの原因食品未特定事例にカキが関与し	
和歌山市衛生研究所	廣岡 貴之	ている事例が含まれていた場合、ノロウイ	
和歌山市衛生研究所	太田 裕元	ルス食中毒の原因食品におけるカキの寄与	
島根県保健環境科学研究所	飯塚 節子	率は過小評価されていることになる。	
島根県保健環境科学研究所	木内 郁代	そこで今回、原因食品が特定されていな	
岡山県環境保健センター	濱野 雅子	い事例において、カキの関与の有無を調べ、	
岡山県環境保健センター	溝口 嘉範	カキの正確な寄与率を把握することを目的	
広島県立総合技術研究所・保 健環境センター	重本 直樹	として、厚生労働省から発表されている食	
広島市衛生研究所	藤井 慶樹	中毒統計資料(食中毒事例一覧速報)，食中	
山口県環境保健センター	濱岡 修二	毒調査支援システムに各自治体から報告さ	
山口県環境保健センター	岡本 玲子	れている食中毒速報および本研究で収集し	
愛媛県立衛生環境研究所	山下 育孝	た食中毒事例から検出されたノロウイルス	
		の遺伝子型別結果を統合して、解析した。	

## B. 研究方法

### 1. 調査対象

2011年に発生したノロウイルス食中毒事例296事例を対象とした。

### 2. 解析方法

解析には、以下の2つのデータを用いた。

#### (1) 食中毒統計資料(食中毒統計)

厚生労働省のホームページ(<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html>)から2011年の食中毒発生事例(エクセルファイル)をダウンロードして集計に用いた。本データにおいて、原因食品としてカキと特定された事例に加え、推定原因としてカキが疑われる事例を原因食品が「カキ」と特定された事例(原因:カキ)とし、それ以外の事例を原因食品が「その他」(原因:その他)の事例とした。

#### (2) NESFDに各自治体から報告された食中毒速報資料(食中毒速報)

厚生労働省は食中毒の早期発見と被害の拡大防止を図るため、自治体と厚生労働省等の間で食中毒事例等に関する情報を共有する「食中毒調査支援システム(NESFD: National Epidemiological Surveillance of Foodborne Disease)」を運用している。その中で、各自治体から食中毒速報として食中毒事例の調査概要が報告されている。その調査概要に提供メニューあるいは喫食メニュー等として記載されている事例を、カキを含む(カキ+)、カキを含まない(カキ-)、および原因不明の三つに区分した。

#### (3) データの分類

上記の食中毒統計資料と食中毒速報を報告自治体、発生日、発生場所等の情報からエクセルファイル上で、一元化した後、各

食中毒事例を、①原因食品としてカキが関連する事例「原因:カキ」、②原因食品としてカキの関連が示されていないが、提供メニューにカキを含む事例「原因:その他(カキ+)」、③原因食品としてカキの関連が示されておらず、提供メニューにカキを含まない事例「原因:その他(カキ-)」、および④原因食品としてカキの関連が示されておらず、提供メニューも不明な事例「原因不明」の4群に分類した。

なお、食中毒速報でも、原因食品に関する情報は得られるが、あくまで速報であり、確定したものではない可能性があることから、食中毒統計のデータを用いた。

#### (4) 各食中毒事例から検出されたノロウイルス遺伝子型

各食中毒事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型および株名を協力地研に照会し、データを得た。

#### (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. 解析データ数

2011年のノロウイルス食中毒事例296事例のうち、NESFDで食中毒速報データが入手できた事例は238事例、遺伝子解析結果が入手できた事例は129事例であった。以上から、2011年のノロウイルス食中毒事例のうち、129事例を分析対象とした。

### 2. 各事例から検出された遺伝子群

各事例の患者から検出されたノロウイルスの遺伝子群を比較した(図1)。「原因:カキ」19事例のうち11事例(58%)は遺伝子

群 GI と GII の両方が、6 事例(32%)は GII のみ、2 事例(11%)は GI のみが検出された。

「原因：その他（カキ+）」16 事例も同様の傾向にあり、10 事例(63%)から GI と GII、4 事例(25%)から GII のみ、2 事例(13%)から GI のみが検出された。一方、「原因：その他（カキ-）」64 事例では 56 事例(88%)、「原因不明」30 事例では 24 事例(80%)から GII のみが検出され、GI と GII が検出された事例はそれぞれ 2 事例(3%)、4 事例(13%)に過ぎなかった。

### 3. 1 事例当たりの検出遺伝子型数

各事例の患者から検出されたノロウイルスの遺伝子型数を比較した(図 2)。遺伝子型が特定されていない場合において、1 事例から GI あるいは GII のみが検出された場合検出は 1 種類、GI と GII が検出された場合は 2 種類として集計した。「原因：カキ」19 事例のうち 12 事例(68%)は 2 種類以上の遺伝子型が検出され、7 事例(37%)は単一の遺伝子型が検出された。「原因：その他（カキ+）」16 事例も同様の傾向にあり、12 事例(75%)から 2 種類以上の遺伝子型が検出され、4 事例(25%)からは単一の遺伝子型が検出された。一方、「原因：その他（カキ-）」64 事例中 59 事例(92%)、「原因不明」30 事例中 26 事例(87%)から単一の遺伝子型のノロウイルスが検出された。「原因：その他（カキ-）」事例のうち 4 種類の遺伝子型のノロウイルスが検出された事例は、紅油アサリが原因と推定された事例であった。

### 4. 検出遺伝子型の特徴

各事例から検出されたノロウイルス遺伝子型をみると(図 3)、「原因：カキ」事例および「原因：その他（カキ+）」事例から検出された遺伝子型は類似した傾向を示し、

GI/1, GI/9, GI/11, GI/12, GI/13, GII/14, GII/17 など、「原因：その他（カキ-）」や「原因不明」の事例からは検出されない遺伝子型の検出もみられた。

### D. 考察

従来から、カキを原因食品とする事例においては、同一食中毒事例の患者および原因カキから、①遺伝子群 GI のノロウイルスが (GII とともに) 高頻度に検出される、②異なる遺伝子型が検出される、などの特徴が認められている。今回、このウイルス疫学的な特徴を指標として、食中毒統計において、原因食品が特定されていない事例の中にカキを原因とする事例が含まれるかを明らかにし、以て、ノロウイルス食中毒の原因食品におけるカキの寄与率を把握することを試みた。その結果、「原因：その他（カキ+）」の事例は、GI が高頻度に検出され、検出遺伝子型の多様性が認められるなど、「原因：カキ」事例とまったく同様な傾向を示した。一方、「原因：その他（カキ-）」事例では、88%は GII のみが検出され、92%は単一の遺伝子型のノロウイルスが検出され、それらとは異なる傾向を示した。この結果は、「原因：その他（カキ+）」事例の多くは、カキを原因食品とする事例であった可能性が極めて高いことを示している。

冒頭で述べたように、食中毒統計に基づくと、ノロウイルス食中毒事例の約 10%がカキを原因食品と集計される。今回、原因食品が特定されていない事例にカキを原因食品とする事例が含まれる可能性があることが明らかとなった。このため、現在の食中毒統計における原因食品におけるカキの占める割合(約 10%)は実際のカキの寄与率