

二枚貝や食品、臨床検体には複数の遺伝子型のノロウイルスが同時に含まれる可能性があるが従来のクローニングやダイレクトシーケンスでは、検体に含まれるごく一部の主要な遺伝子型のみしか検出できない状況であった。検体に含まれる複数のノロウイルスの遺伝子型を可能な限り検出するための検査法の確立を目的に、市販カキから検出されるノロウイルス遺伝子について網羅的解析を行い現状把握を試みた。

## B. 研究方法

### 1. 材料

#### 1-1. 市販カキ検体

複数の海域から1週おきにカキを入手した(カキは1海域1ロット)。本報告では2015年11月9日から2015年11月30日までの合計25ロットを用いた。

### 2. 方法

#### 2-1. カキからのNoV検出

カキからNoV RNAを抽出し逆転写にてcDNAを合成する際に同一ロットについて通知法に準じてランダムプライマーを用いて逆転写を行う従来法と、dTプライマーを用いる感染性推定遺伝子法(推定法)の2法でRT-PCRを行った(25ロット50検体)

#### 2-2. 次世代シーケンス用PCR

通知法に準じたRT-nested PCRにてNoV GI またはGII陽性となった検体について、1stPCR産物からLife Technologies ION PGMでの解析用に2nd PCRを実施した。

1st PCRではGI遺伝子群増幅にCOG1F/G1-SKR, GII遺伝子群増幅にCOG2F/G2-SKRのプライマーセットを用い

た。

2nd PCRではGI遺伝子群増幅にG1-SKF/G1-SKR, GII遺伝子群増幅にG2-SKF/G2-SKRを用いた。ION PGM解析用には2nd PCR用プライマーにION PGM用のTag配列を付加したプライマーを作成した。

#### 2-3. 次世代シーケンス

Life Technologies社ION PGMを316chipにて使用した。

#### 2-4. NoV遺伝子型の解析

ローカルBLASTにより次世代シーケンスにて得られたNoV遺伝子の遺伝子型決定を行った。

(倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

## C. 研究結果

### 1. 市販カキ検体の陽性率

通知法RT-PCRにより25ロット50検体の市販カキのうちGI遺伝子群は2検体、GII遺伝子群は7検体がNoV陽性となった。

### 2. 次世代シーケンスの結果

合計9検体についてION PGMを用いてシーケンス解析を行った結果、合計リード数2,194,520リードを得た。取得リードのうち200base以上の長さを持つリードは1,064,888リード(48.5%)、250base以上の長さを持つリードは383,281リード(17.5%)であった。

### 3. NoV遺伝子型BLAST検索

250base以上のリードについてローカ

ル BLAST を実施した結果を表 1 に示す。GI 遺伝子群では GI.4, GI.5, GI.12 が, GII 遺伝子群では GII.3, GII.4, GII.13, GII.17 が検出された。GII 遺伝子群のうち, 多くは GII.3 または GII.13 であった。また検体 No.19 については従来法および推定法にて GII 遺伝子が検出されたが, 興味深いことに従来法では GII.3 と GII.13 が主要であったのに対して, 推定法では GII.4 が主要な遺伝子群となっていた。

また検体 No.25(11月 30 日)では GII.17 のみが検出され, GII.3, GII.13 が検出されない結果となった。

200base 以上のリードについて同様に BLAST を実施した結果を表 2 に示す。検出される遺伝子型の傾向は 250base 以上のリードの解析とほぼ同様であった。

100-200base の短いリードについても同様に BLAST を実施した結果, 250base, 200base 以上のリードの解析結果と同様の遺伝子型検出の傾向を示し, ほぼすべてのリードが NoV と判定された。

#### D. 考察

生食されるカキをはじめとした二枚貝は, 成長過程で大量の海水を体内にとりこみ, 消化管内でプランクトンなどを濾しとるといった性質から, ノロウイルス等の環境中に存在する病原微生物の汚染リスクが存在するとともに, 体内に同時に複数の病原体を蓄積する可能性が非常に高い。このことから, とくに二枚貝が関連する食中毒事例や感染性胃腸炎事例においてはカキ等の食品から複数の遺伝子型のウイルスが検出されたり, 患者・食品間,

患者間で異なる遺伝子型のウイルスが検出されるなど, 詳細な感染ルートや原因食品の解明の際に求められる科学的な根拠を示すことが困難な事例が少なくない, という問題がある。

本研究では市販カキに含まれる複数の遺伝子型の NoV を同時にできるだけ検出できる方法の一つとして次世代シーケンサーを用いた網羅的解析の適用を検討した。市販カキから検出される NoV 遺伝子のみをターゲットとするため, 通知法に準じた RT-PCR によって NoV 特異的な PCR 産物(アンプリコン)を獲得し, アンプリコンシーケンス(ディープシーケンス)によって通常検査で実施されているダイレクトシーケンスやクローニングでは不可能な 1 検体あたり数千から数万クローンの遺伝子解析を行うことが可能である。

この手法により, NoV 陽性検体からは最大 3 遺伝子型を検出することができ, 通知法の検査のあとにより詳細な解析を行う手法として次世代シーケンサーによる網羅的解析が有用であることが示された。

また, 本解析ではリードの長さが 100-200base と短いリードも多数得られたが, これらのリードについてもそのほとんどがローカル BLAST で NoV と判定され, 通知法の NoV 検出 RT-PCR が NoV を特異的に検出していることが示された。

検出遺伝子型の分布については, 11月 9 日から 25 日までは GII.3 や GII.13, GII.4 が検出されていたのに対して, 11月 30 日の検体からは GII.17 のみが検出されており, カキに含まれる遺伝子型の動向調査にも本手法が応用出来る可能性が示された。

さらに11月25日のGII検出検体では、逆転写にランダムプライマーを用いる従来法ではGII. 3, GII, 13が主な検出株であるのに対して、dTプライマーを用いる感染性推定遺伝子法ではGII. 4が主要検出遺伝子型となっており、カキに含まれるNoVのうち、遺伝子型によって生存性に大きな違いがある可能性が示唆される結果となった。今後従来法と推定法で同時に陽性判定された検体について同様の傾向が見られるのか引き続き検証していく必要がある。

本報告では市販のカキについて網羅的解析を行ったが、今後食中毒事例や環境水についても応用することで、感染ルートや患者・食品間、患者間の関連性の解明や、環境からの汚染リスク評価などに科学的なデータを提供できる手法として期待できる。

#### E. 結論

- ・市販カキについて次世代シーケンサによるNoV遺伝子型の網羅的検出をおこなった。

- ・カキ中には同時に複数の遺伝子型のNoVが含まれることが示された。

- ・遺伝子型によってカキ体内での生存性に差がある可能性が示唆された。

- ・今後は患者検体や環境検体などに応用し、カキからの検出遺伝子型との関連性の解明につながることを期待できる。

- ・従来は困難であったNoV関連食中毒や感染性胃腸炎事例において、原因食品や感染ルート解明の科学的根拠を得る手段として網羅的解析が応用できるとかんがえられた。

#### F. 研究発表

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

表 1. 検体採取日と検出遺伝子型

| No | 採取日        | 250base 以上のリード |          |          |          | 200base 以上のリード |          |          |          |
|----|------------|----------------|----------|----------|----------|----------------|----------|----------|----------|
|    |            | GI             |          | GII      |          | GI             |          | GII      |          |
|    |            | 従来法            | 推定法      | 従来法      | 推定法      | 従来法            | 推定法      | 従来法      | 推定法      |
| 1  | 11月<br>4日  |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 2  |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 3  |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 4  |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 5  | 11月<br>9日  |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 6  |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 7  |            |                |          | 3        |          |                |          | 3        |          |
| 8  | 11月<br>16日 |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 9  |            |                |          | 3        |          |                |          | 3        |          |
| 10 |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 11 |            |                |          | 3,14     |          |                |          | 3, 14    |          |
| 12 |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 13 |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 14 | 11月<br>25日 |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 15 |            | 16             |          |          |          | 5, 16          |          |          |          |
| 16 |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 17 |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 18 |            |                |          | 3, 14    |          |                |          | 3, 4, 14 |          |
| 19 |            |                | 4, 5, 16 | 3, 4, 14 | 3, 4, 14 |                | 4, 5, 16 | 3, 4, 14 | 3, 4, 14 |
| 20 | 11月<br>30日 |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 21 |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 22 |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 23 |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 24 |            |                |          |          |          |                |          |          |          |
| 25 |            |                |          |          | 17       |                |          |          | 17       |

表 2 陽性検体からの検出遺伝子型とリード数(250base 以上のリード)

| 検体番号 | GI      |         |         |         | GII     |         |         |         |
|------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|      | 従来法     | リード数    | 推定法     | リード数    | 従来法     | リード数    | 推定法     | リード数    |
| 7    |         |         |         |         | GII. 3  | 5, 379  |         |         |
| 9    |         |         |         |         | GII. 3  | 65, 534 |         |         |
| 11   |         |         |         |         | GII. 3  | 33, 255 |         |         |
|      |         |         |         |         | GII. 14 | 1       |         |         |
| 15   | GII. 16 | 65, 534 |         |         |         |         |         |         |
| 18   |         |         |         |         | GII. 3  | 64, 694 |         |         |
|      |         |         |         |         | GII. 14 | 2       |         |         |
| 19   |         |         | GI. 4   | 44      | GII. 3  | 49, 373 | GII. 3  | 5       |
|      |         |         | GI. 5   | 110     | GII. 4  | 547     | GII. 4  | 23, 831 |
|      |         |         | GII. 16 | 1       | GII. 14 | 5, 056  | GII. 14 | 1       |
|      |         |         | 該当なし    | 224     | 該当なし    | 47      |         |         |
| 25   |         |         |         | GII. 17 | 40, 470 |         |         |         |

平成 27 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検出法に関する研究」

研究分担報告(研究協力報告総括)

## 市販カキの食品媒介性ウイルスの汚染調査および 検査法における課題の把握

|       |        |                     |
|-------|--------|---------------------|
| 研究分担者 | 野田 衛   | 国立医薬品食品衛生研究所        |
| 研究協力者 | 吉澄 志磨  | 北海道立衛生研究所           |
|       | 佐藤 直人  | 岩手県環境保健研究センター       |
|       | 重本 直樹  | 広島県立総合技術研究所保健環境センター |
|       | 田村 務   | 新潟県保健環境科学研究所        |
|       | 山本 美和子 | 広島市衛生研究所            |
|       | 斎藤 博之  | 秋田県健康環境センター         |
|       | 秋野 和華子 | 秋田県健康環境センター         |
|       | 吉富 秀亮  | 福岡県保健環境研究所          |
|       | 吉岡 健太  | 熊本県保健環境科学研究所        |
|       | 筒井 理華  | 青森県環境保健センター         |
|       | 入谷 展弘  | 大阪市立環境科学研究所         |

### 研究要旨

カキの食品媒介性ウイルスの汚染状況および検査法の問題点の把握等を目的として、全国 10 自治体において 2015 年 2 月を中心に採取された国産の市販生カキを対象に、食品媒介ウイルスの検出を試みた。ノロウイルスは 79%(50/63)、サポウイルスは 20%(10/50)のロットから検出され、A 型肝炎ウイルスおよび E 型肝炎ウイルスは陰性(それぞれ 50, 36 ロット検査)であった。加熱調理用カキは生食用カキと比較してノロウイルスの検出率、定量値とも高い値を示した。産地別のノロウイルス検出率は 58%~100%であった。ノロウイルス遺伝子群ごとの検体別検出率およびリアルタイム PCR 法による平均定量値は GI が 25%, 228 コピー数/g, GII が 66%, 5,270 コピー数/g で、GII が高い検出率、定量値を示した。検出ノロウイルスの遺伝子型は GI が 6 種類, GII が 6 種類に分類され、GII.17(91 株), GI.2(29), GII.4(23), GII.3(19)が多かった。サポウイルスは GI と GV が検出され、GI.2(10)が多く検出された。リアルタイム PCR 法の定量値と nested PCR 法の結果を比較すると、陽性基準である 10 コピー以上を示した検体は、nested PCR 法陽性検体のうち、GI は 7%(2/29), GII は 64%(43/67)に過ぎず、リアルタイム PCR 法では偽陰性となる場合が多かった。以上の結果から、ノロウイルス流行期における市販カキのノロウイルス汚染リスクは極めて高いことおよび現在の陽性基準に基づくリアルタイム PCR 法では偽陰性となる場合が少なくないことが示された。

なお、本研究の詳細については、各研究協力報告に取りまとめられている。

## A. 研究目的

ノロウイルスの汚染リスクのある食品は二枚貝であり、とりわけカキは生食用として販売されていることから、食中毒の原因となる場合が多い。

現在、カキのノロウイルスの検査は厚生労働省から示されている通知法で実施される場合が多いと推定される。しかし、通知法では、検査感度が十分ではないことから、検査法の改良等が行われている。これまで、カキのウイルス汚染率に関して多くの報告があるが、改良された試験法での汚染実態調査はあまり実施されていない。また、現在、リアルタイム PCR 法における陽性基準は実測値 10 コピー数以上とされているが、汚染量が少ない場合、陰性と判定される可能性がある。

一方、カキにはヒトで流行したウイルスが蓄積されることから、カキから検出されたウイルスの遺伝子型を調べることで、下水と同様にヒトで流行した遺伝子型を把握することができると考えられる。

そこで、改良された試験法を用いてのカキの食品媒介ウイルスの汚染状況の把握、検査法における問題点の把握、検出ウイルスの遺伝子型を特定し、ヒトの流行との関連性を明らかにすることなどを目的として、2015年2月を中心に全国10自治体で市販カキを採取し、代表的な食品媒介ウイルスであるノロウイルス、サポウイルス、A型肝炎ウイルスおよびE型肝炎ウイルスの検出を試みるとともに遺伝子型別を実施した。

なお、検査機関ごとの調査結果につい

ては、各研究協力報告を参考にしていたきたい。

## B. 研究方法

### 1. 材料

2015年2月（一部は1月後半）に全国10自治体で購入した国産の市販生カキ63ロット203検体を検査材料とした(表1)。供試カキは6（便宜的に、養殖海域を都道府県別にまとめ、A~Fと表記）の産地のものであった。原則として1ロット（パック）につき、中腸腺1.5~2.0gを1検体として、3検体を検査に用いた。

### 2. 検査対象ウイルスおよび検査方法

ノロウイルスを中心として、サポウイルス、A型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス等について検査した。

検査方法は、カキの前処理については、「食品のウイルス標準試験法検討委員会」のホームページに記載されている「二枚貝（カキ）からのウイルスの濃縮法」([http://www.nihs.go.jp/fhm/csvdf/kentest/csvdf001\\_wg\\_100820.pdf](http://www.nihs.go.jp/fhm/csvdf/kentest/csvdf001_wg_100820.pdf))を基本とした方法（一部改変）で実施した。

濃縮材料からのRNA抽出、DNase処理および逆転写反応も同ホームページに掲載されている、「濃縮材料からのウイルスRNAの抽出・DNase処理・逆転写反応」([http://www.nihs.go.jp/fhm/csvdf/kentest/csvdf002\\_wg\\_100820.pdf](http://www.nihs.go.jp/fhm/csvdf/kentest/csvdf002_wg_100820.pdf))を基本とした方法（一部改変）で実施した。各検査対象ウイルスの遺伝子検出は、リアルタイムPCR法またはnested PCR法で行った。

Nested PCR法でウイルスが検出された

場合、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定後、系統樹を作成し、遺伝子型を決定した。ノロウイルスの遺伝子型は新遺伝子型別法に従った。サポウイルスの遺伝子型別は岡らの分類法に従った。一部の株については、クローニング後各クローンの塩基配列を決定した。

(検査法の詳細については、各研究協力者の研究協力報告を参照)

#### (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. 市販カキ等からのウイルスの検出状況

##### (1) 各食品媒介ウイルスの検出状況

Nested PCR 法あるいはリアルタイム PCR 法により市販カキ 63 ロット 203 検体のうちノロウイルスは 50 ロット (79.4%)、135 検体 (66.5%) から検出された (表 2)。

サポウイルスは nested PCR 法またはリアルタイム PCR 法により 50 ロット中 10 ロット (20%)、164 検体中 15 検体 (9.1%) から検出された (表 3, 4)。

A 型肝炎ウイルスは 50 ロット 164 検体、E 型肝炎ウイルスは 36 ロット 130 検体について検査したが、いずれも陰性であった (表 3, 4)。

##### (2) 産地別のウイルス検出率の比較

産地別のノロウイルス検出率をロット別にみると、GI は加熱調理用カキが 42.9%~100%、生食用カキが 0%~61.5%、GII は加熱調理用カキが 57.1%~100%、生食用カキが 58.3%~100%に

分布した (表 3)。

検体別では (表 4)、GI は加熱調理用カキが 36%~66.7%、生食用カキが 0%~22.7%、GII は加熱調理用カキが 56%~90%、生食用カキが 23.5%~77.3% に分布し、産地により検出率に違いが認められた。

サポウイルスの多くは産地 B のカキから検出された。

#### (3) 生食用カキと加熱調理用カキのウイルス検出率および定量値の比較

生食用カキと加熱調理用カキのノロウイルス検出率をロット別にみると、加熱調理用カキ 84.6% (22/26)、生食用 75.7% (28/37)、検体別にみると加熱調理用カキ 79% (64/81)、生食用カキ 58.2% (71/122) であった (表 2)。

サポウイルスの検出率はロット別では加熱調理用カキ 21.1% (4/19)、生食用カキ 19.4% (6/31)、検体別では加熱調理用カキ 13.3% (5/60)、生食用カキ 6.7% (7/104) であった (表 3, 4)。

ノロウイルスのリアルタイム PCR 法で定量値が得られた (実測値 10 未満のデータを含む) ものについて、定量値の算術平均値を比較すると、GI では加熱調理用カキ 155 コピー数/g、生食用カキ 439 コピー数/g、GII では加熱調理用カキ 6,915 コピー数/g、生食用カキ 3,414 コピー数/g であった (表 5)。定量値の最大値は加熱調理用カキで GI が 1,320 コピー数/g、GII が 6,0861 コピー数/g、生食用カキでは GI が 2,414 コピー数/g、GII が 37,569 コピー数/g であった。GI と GII の定量値の平均値の比較では、GII が約 20 倍程度高い値を示した。



## 2. 検出ウイルスの遺伝子型

197 株のノロウイルスが遺伝子型別され、GI (48 株) が 6 種類、GII (149 株) が 6 種類に分類された (表 6)。GII. 17 が 91 株と最も多く、全検出遺伝子型の 46.2% を占め、産地 F を除き A から E の各産地のカキから検出された。以下、GI. 2 (29 株)、GII. 4 (23 株)、GII. 3 (19 株) などが多く検出された。GII. 4 では、Sydney 2012 変異株が 16 株 (GII. 4 の 69.6%) と大半を占めた。群別・型別不明のノロウイルスが 5 検体から検出された。

サポウイルスは 15 株が遺伝子型別され、GI. 2 が最も多く 10 株、以下、GI. 1 と GI. 3 が各 2 株 1 株、GV. 1 が 1 株であった。

## 3. リアルタイム PCR 法と nested PCR 法の比較

リアルタイム PCR 法による定量値と nested PCR 法の結果を比較した結果、nested PCR 法陽性検体のうち、リアルタイム PCR 法で 10 以上の定量値を示し、陽性と判定されたものは、GI で 29 検体中 2 検体 (6.9%)、GII で 67 検体中 43 検体 (64.2%) に過ぎず、特に定量値が低い傾向にある GI で、リアルタイム PCR で偽陰性となる傾向が高かった (表 7)。また、nested PCR 法陽性で、リアルタイム PCR 法で実測値 10 未満の定量値が得られたものは、GI が 21 検体 (72.4%)、GII で 18 検体 (26.9%) であった。一方、nested PCR 法陰性で、リアルタイム PCR 法陽性 (定量値 10 以上) と判定されたものはなく、実測値 10 未満の定量値が得られたものは GI で 8 検体 (12.3%)、GII で 20 検体 (74.1%) 認められた。

## D. 考察

### 1. カキのノロウイルス汚染状況

過去 2 年に引き続きノロウイルスの流行期における市販カキのノロウイルス汚染状況を調べた。その結果、市販カキの多くがノロウイルスに汚染されていることが明らかになった。2013 年 2 月、2014 年 2 月に採取された市販カキの調査結果と比較すると、汚染率 (2013 年 : 73%, 2014 年 : 73%)、汚染量 (GII の定量値の平均、2013 年 : 2,747 コピー/g, 2014 年 : 38,44 コピー/g) とともに高い傾向を示した。このことは後述のように GII. 17 が広く汚染したことが原因と考えられる。

### 2. 産地別のノロウイルス検出率の比較

過去 2 年の調査と同様にノロウイルス検出率は産地ごとに大きく異なり、特に産地 A のカキの検出率が高い傾向にあった。

### 3. 生食用カキと加熱調理用カキのノロウイルス検出率、定量値の比較

生食用カキと加熱調理用カキのノロウイルス検出率および定量値を比較すると、検出率、定量値とも加熱調理用カキが高い値を示した (表 3, 4, 5)。加熱調理用カキについては、加熱調理を徹底する必要がある。また、生食用カキにも汚染のリスクがあることから、生食でのリスクがあることを正しくリスクコミュニケーションするとともに、流行期には生食を控えるなどの指導が必要である。一方、産地を考慮すると、加熱調理用カキが生食用カキよりノロウイルス検出率が高いとは必ずしも限らなかった。

これらの傾向も過去 2 年の結果とほぼ同様であった。

#### 4. 検出ノロウイルスの遺伝子型

今回、市販カキから GI が 6 種類、GII が 6 種類の遺伝子型のノロウイルスが検出された (表 6)。病原微生物検出情報によると (2016 年 1 月 15 日現在), 2014 年 11 月~2015 年 2 月に GI は GI. 2, GI. 3, GI. 6, GI. 7 の 4 遺伝子型, GII は GII. 2, GII. 3, GII. 4, GII. 7, GII. 12, GII. 13, GII. 14, GII. 21 の 8 遺伝子型が感染性胃腸炎患者から検出されている。これらのうち, GI は 3 種類が, GII は GII. 7, GII. 12, GII. 14 を除く 5 種類が今回の調査で市販カキから検出された。一方, 同期間に患者から検出されていない遺伝子型として, GI では GI. 1, GI. 4, GI. 5 の 3 種類, GII では GII. 6 が市販カキから検出された。以上のように, 市販カキから検出されるノロウイルス遺伝子型は, ヒトにおけるノロウイルスの流行状況をよく反映しているものと思われた。

今回検出されたノロウイルス遺伝子型のうち最も多かったものは GII. 17 (91 株) で遺伝子型別されたもののうち約 46% と半数近くを占めた。病原微生物検出情報によると GII. 17 は 2015 年 2 月を中心に 1 月から 4 月にかけて患者から多く報告されている。また, 1 月から 3 月のノロウイルス食中毒事例は過去 10 年間で最多となり, カキ関連事例も最多となっている。今回の市販カキの汚染実態において, 産地 F を除く 5 つの産地で生産されたカキの半数近くから GII. 17 が検出されたことから, 当時我が国で流通していたカキの多くが GII. 17 に汚染されていたことが示された。このことが 1 月から 3 月にカキによる食中毒が多発した大きな原因であ

ると考えられた。

#### 5. リアルタイム PCR 法と nested PCR 法の比較

リアルタイム PCR 法と nested PCR 法の結果を比較した結果, nested PCR 法陽性検体のうち, リアルタイム PCR 法で実測値 10 以上を示し陽性と判定されたものは GI で 2%, GII では 46% に過ぎなかった (表 7)。このことから, 現在の陽性判定基準に基づくリアルタイム PCR による検査では, 偽陰性となる場合が多く, カキの安全性を確保することが困難であることが示された。

一方, リアルタイム PCR 法で実測値が得られたものを陽性とした場合では, nested PCR 法陽性検体の GI で 74%, GII で 75% が陽性となり, 両法の一致率は高くなったが, nested PCR 法陰性でリアルタイム PCR 陽性となるものが GI で 8 例, GII で 20 例認められた。この原因として, コピー数が少ないことによる結果の解離に加え, リアルタイム PCR 法の偽陽性の可能性も否定できない。

これらの結果についても, 過去 2 年の結果と概ね同様であった。

#### 6. その他の食品媒介ウイルスの汚染状況

サポウイルスはロット別では 20%, 検体別では 9% から検出され, 過去 2 年の結果と比較すると, 両者の中間の検出率であった。検出されたサポウイルスの遺伝子型は GI. 1, GI. 2, GI. 3 及び GV. 1 の 4 遺伝子型に型別され, GI. 2 が多くを占めた。この結果は過去 2 年間と同様であり, サポウイルスについては, 過去 3 年間では GI. 2 が主要流行株であったものと考え

られる。

一方、A型肝炎ウイルスおよびE型肝炎ウイルスは検査数が少ないものの、全て陰性であった。このことから、市販カキにおける両ウイルスの汚染リスクは高くないものと考えられる。

## E. 結論

カキの食品媒介性ウイルスの汚染状況および検査法の問題点の把握等を目的として、10自治体において2015年2月を中心に採取された国産の市販生カキ等を対象にウイルス検出を試み、以下の結果を得た。

1. ノロウイルスは79%(50/63)、サポウイルスは20%(10/50)のロットから検出され、A型肝炎ウイルスおよびE型肝炎ウイルスは陰性(それぞれ50, 36ロット検査)であった。
2. 加熱調理用カキは生食用カキと比較してノロウイルスの検出率、定量値とも高い値を示した。
3. ノロウイルス検出率は産地より異なっていた。
4. ノロウイルスの遺伝子群別では、GIIが高い検出率、定量値を示した。

5. 検出ウイルスの遺伝子型はノロウイルスGIが6種類、GIIが6種類に分類され、GII.17が半数近くを占めた。このことが2015年1月から3月にカキ関連のノロウイルス食中毒多発した原因と考えられた。
6. リアルタイムPCR法とnested PCR法の結果を比較すると、nested PCR法で陽性、リアルタイムPCR法で陰性となる場合がみられ、特にGIで顕著であった。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
(各研究協力報告に記載)
2. 学会発表  
(各研究協力報告に記載)

## 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 検査機関別・産地別検査検体数

| 検査機関 | 産地(都道府県)別検査検体数 |    |    |    |    |   | 計   |
|------|----------------|----|----|----|----|---|-----|
|      | A              | B  | C  | D  | E  | F |     |
| ①    | 6              | 12 |    |    |    |   | 18  |
| ②    | 3              |    | 1  | 1  |    |   | 5   |
| ③    | 6              |    | 3  | 6  |    | 6 | 21  |
| ④    | 18             |    | 3  |    |    |   | 21  |
| ⑤    | 18             |    |    |    |    |   | 18  |
| ⑥    | 16             |    | 4  |    |    |   | 20  |
| ⑦    | 2              | 14 |    |    |    |   | 16  |
| ⑧    | 12             | 12 | 6  |    | 12 |   | 42  |
| ⑩    | 9              | 3  |    | 6  |    |   | 18  |
| ⑪    | 4              | 20 |    |    |    |   | 24  |
| 計    | 94             | 61 | 17 | 13 | 12 | 6 | 203 |

表2 市販カキのノロウイルス検査結果

| 区分   |       | GI 結果 | GII 結果 |    | ノロウイルス結果 |     |       |
|------|-------|-------|--------|----|----------|-----|-------|
|      |       |       | -      | +  | -        | +   | 検出率   |
| ロット別 | 加熱用*1 | -     | 4      | 6  | 4        | 22  | 84.6% |
|      |       | +     |        | 16 |          |     |       |
|      | 生食用   | -     | 9      | 16 | 9        | 28  | 75.7% |
|      |       | +     |        | 12 |          |     |       |
|      | 全体    | -     | 13     | 22 | 13       | 50  | 79.4% |
|      |       | +     | 0      | 28 |          |     |       |
| 検体別  | 加熱用   | -     | 17     | 31 | 17       | 64  | 79.0% |
|      |       | +     | 1      | 32 |          |     |       |
|      | 生食用   | -     | 51     | 53 | 51       | 71  | 58.2% |
|      |       | +     | 1      | 17 |          |     |       |
|      | 全体    | -     | 68     | 84 | 68       | 135 | 66.5% |
|      |       | +     | 2      | 49 |          |     |       |

結果は原則として nested PCR 法の判定に基づく。

\*1:加熱用は調理用カキを、生食用は生食用カキを示す(以下の表も同様)。

表3 市販カキの産地別ウイルス検査結果(ロット別)

| ウイルス       | 区分     | 結果  | 産地(都道府県別) |       |       |       |        |        | 計     |
|------------|--------|-----|-----------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|
|            |        |     | A         | B     | C     | D     | E      | F      |       |
| NoV<br>GI  | 加熱用    | -   | 6         | 4     |       |       |        |        | 10    |
|            |        | +   | 11        | 3     |       |       |        | 2      | 16    |
|            |        | 検出率 | 64.7%     | 42.9% |       |       |        | 100.0% | 61.5% |
|            | 生食用    | -   | 5         | 8     | 5     | 5     | 2      |        | 25    |
|            |        | +   | 8         | 4     | 0     | 0     | 0      |        | 12    |
|            |        | 検出率 | 61.5%     | 33.3% | 0.0%  | 0.0%  | 0.0%   |        | 32.4% |
|            | 全体     | -   | 11        | 12    | 5     | 5     | 2      | 0      | 35    |
|            |        | +   | 19        | 7     | 0     | 0     | 0      | 2      | 28    |
|            |        | 検出率 | 63.3%     | 36.8% | 0.0%  | 0.0%  | 0.0%   | 100.0% | 44.4% |
| NoV<br>GII | 加熱用    | -   | 1         | 3     |       |       |        |        | 4     |
|            |        | +   | 16        | 4     |       |       |        | 2      | 22    |
|            |        | 検出率 | 94.1%     | 57.1% |       |       |        | 100.0% | 84.6% |
|            | 生食用    | -   |           | 5     | 2     | 2     | 0      |        | 9     |
|            |        | +   | 13        | 7     | 3     | 3     | 2      |        | 28    |
|            |        | 検出率 | 100.0%    | 58.3% | 60.0% | 60.0% | 100.0% |        | 75.7% |
|            | 全体     | -   | 1         | 8     | 2     | 2     | 0      | 0      | 13    |
|            |        | +   | 29        | 11    | 3     | 3     | 2      | 2      | 50    |
|            |        | 検出率 | 96.7%     | 57.9% | 60.0% | 60.0% | 100.0% | 100.0% | 79.4% |
| NoV 検査ロット数 |        |     | 30        | 19    | 5     | 5     | 2      | 2      | 63    |
| SaV        | 加熱用    | -   | 9         | 4     |       |       |        | 2      | 15    |
|            |        | +   | 1         | 3     |       |       |        | 0      | 4     |
|            |        | 検出率 | 10.0%     | 42.9% |       |       |        | 0.0%   | 21.1% |
|            | 生食用    | -   | 6         | 9     | 3     | 5     | 2      |        | 25    |
|            |        | +   | 2         | 3     | 1     | 0     | 0      |        | 6     |
|            |        | 検出率 | 25.0%     | 25.0% | 25.0% | 0.0%  | 0.0%   |        | 19.4% |
|            | 全体     | -   | 15        | 13    | 3     | 5     | 2      | 2      | 40    |
|            |        | +   | 3         | 6     | 1     | 0     | 0      | 0      | 10    |
|            |        | 検出率 | 16.7%     | 31.6% | 25.0% | 0.0%  | 0.0%   | 0.0%   | 20.0% |
| 検査ロット数     |        |     | 18        | 19    | 4     | 5     | 2      | 2      | 50    |
| HAV        | 加熱用    | -   | 12        | 7     |       |       |        | 2      | 21    |
|            | 生食用    | -   | 10        | 8     | 4     | 5     | 2      |        | 29    |
|            | 検査ロット数 |     | 22        | 15    | 4     | 5     | 2      | 2      | 50    |
| HEV        | 加熱用    | -   | 10        | 4     |       |       |        | 2      | 16    |
|            | 生食用    | -   | 5         | 4     | 4     | 5     | 2      |        | 20    |
|            | 検査ロット数 |     | 15        | 8     | 4     | 5     | 2      | 2      | 36    |

結果は nested PCR 法の判定に基づく。表中の NoV, SaV, HAV および HEV はそれぞれ、ノロウイルス、サボウイルス、A 型肝炎ウイルス、E 型肝炎ウイルスを示す(以下の表も同様)。

表4 市販生カキの産地別ウイルス検出状況(検体別)

| ウイルス       | 区分    | 結果  | 産地(都道府県別) |       |       |       |       |       | 計     |
|------------|-------|-----|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|            |       |     | A         | B     | C     | D     | E     | F     |       |
| NoV<br>GI  | 加熱用   | -   | 30        | 16    |       |       |       | 2     | 48    |
|            |       | +   | 20        | 9     |       |       |       | 4     | 33    |
|            |       | 検出率 | 40.0%     | 36.0% |       |       |       | 66.7% | 40.7% |
|            | 生食用   | -   | 34        | 28    | 17    | 13    | 12    |       | 104   |
|            |       | +   | 10        | 8     | 0     | 0     | 0     |       | 18    |
|            |       | 検出率 | 22.7%     | 22.2% | 0.0%  | 0.0%  | 0.0%  |       | 14.8% |
|            | 全体    | -   | 64        | 44    | 17    | 13    | 12    | 2     | 152   |
|            |       | +   | 30        | 17    | 0     | 0     | 0     | 4     | 51    |
|            |       | 検出率 | 31.9%     | 27.9% | 0.0%  | 0.0%  | 0.0%  | 66.7% | 25.1% |
| NoV<br>GII | 加熱用   | -   | 5         | 11    |       |       |       | 2     | 18    |
|            |       | +   | 45        | 14    |       |       |       | 4     | 63    |
|            |       | 検出率 | 90.0%     | 56.0% |       |       |       | 66.7% | 77.8% |
|            | 生食用   | -   | 10        | 15    | 13    | 6     | 8     |       | 52    |
|            |       | +   | 34        | 21    | 4     | 7     | 4     |       | 70    |
|            |       | 検出率 | 77.3%     | 58.3% | 23.5% | 53.8% | 33.3% |       | 57.4% |
|            | 全体    | -   | 15        | 26    | 13    | 6     | 8     | 2     | 70    |
|            |       | +   | 79        | 35    | 4     | 7     | 4     | 4     | 133   |
|            |       | 検出率 | 84.0%     | 57.4% | 23.5% | 53.8% | 33.3% | 66.7% | 65.5% |
| NoV 検査検体数  |       |     | 94        | 61    | 17    | 13    | 12    | 6     | 203   |
| SaV        | 加熱用   | -   | 27        | 19    |       |       |       | 6     | 52    |
|            |       | +   | 2         | 6     |       |       |       | 0     | 8     |
|            |       | 検出率 | 6.9%      | 24.0% |       |       |       | 0.0%  | 13.3% |
|            | 生食用   | -   | 27        | 32    | 13    | 13    | 12    |       | 97    |
|            |       | +   | 2         | 4     | 1     | 0     | 0     |       | 7     |
|            |       | 検出率 | 6.9%      | 11.1% | 7.1%  | 0.0%  | 0.0%  |       | 6.7%  |
|            | 全体    | -   | 54        | 51    | 13    | 13    | 12    | 6     | 149   |
|            |       | +   | 4         | 10    | 1     | 0     | 0     | 0     | 15    |
|            |       | 検出率 | 6.9%      | 16.4% | 7.1%  | 0.0%  | 0.0%  | 0.0%  | 9.1%  |
| 検査検体数      |       |     | 58        | 61    | 14    | 13    | 12    | 6     | 164   |
| HAV        | 加熱用   | -   | 35        | 25    |       |       |       | 6     | 66    |
|            | 生食用   | -   | 35        | 24    | 14    | 13    | 12    |       | 98    |
|            | 検査検体数 |     | 70        | 49    | 14    | 13    | 12    | 6     | 164   |
| HEV        | 加熱用   | -   | 29        | 19    |       |       |       | 6     | 54    |
|            | 生食用   | -   | 21        | 16    | 14    | 13    | 12    |       | 76    |
|            | 検査検体数 |     | 50        | 35    | 14    | 13    | 12    | 6     | 130   |

結果は nested PCR 法の判定に基づく。

表5 生食用カキと加熱調理用カキにおけるノロウイルス定量値の比較

| 項目    | ノロウイルス GI |       |       | ノロウイルス GII |        |        |
|-------|-----------|-------|-------|------------|--------|--------|
|       | 生食用       | 加熱用   | 全体    | 生食用        | 加熱用    | 全体     |
| 平均値   | 439       | 155   | 228   | 3,414      | 6,915  | 5,270  |
| 最小値   | 10        | 10    | 10    | 1          | 7      | 7      |
| 最大値   | 2,414     | 1,320 | 2,414 | 37,569     | 60,861 | 60,861 |
| 陽性検体数 | 8         | 23    | 31    | 39         | 44     | 83     |

リアルタイム PCR で実測値が得られた(>0)検体の集計。

数値はカキ中腸腺 1g 当たりのコピー数。

表6 検出ウイルスの遺伝子型

| ウイルス     | 遺伝子群 | 遺伝子型        | 産地(都道府県別) |    |   |   |     |     | 計  |
|----------|------|-------------|-----------|----|---|---|-----|-----|----|
|          |      |             | A         | B  | C | D | E   | F   |    |
| NoV      | GI   | GI.1        | 4         |    |   |   |     |     | 4  |
|          |      | GI.2        | 14        | 15 |   |   |     |     | 29 |
|          |      | GI.3        | 5         |    |   |   |     |     | 5  |
|          |      | GI.4        | 7         |    |   |   |     |     | 7  |
|          |      | GI.5        | 2         |    |   |   |     |     | 2  |
|          |      | GI.7        | 1         |    |   |   |     |     | 1  |
|          |      | 計           | 33        | 15 | 0 | 0 | 0   | 0   | 48 |
|          | GII  | GII.3       | 12        | 3  | 2 |   | 2   |     | 19 |
|          |      | GII.4       |           |    |   |   |     | 3   | 3  |
|          |      | GII.4.2012  | 6         | 8  | 1 |   | 1   |     | 16 |
|          |      | GII.4.2006b | 2         | 2  |   |   |     |     | 4  |
|          |      | GII.6       | 2         |    |   |   |     | 1   | 3  |
|          |      | GII.13      | 5         | 1  |   | 1 | 1   |     | 8  |
|          |      | GII.17      | 60        | 23 | 1 | 6 | 1   |     | 91 |
|          |      | GII.21      | 4         | 1  |   |   |     |     | 5  |
| 計        | 91   | 38          | 4         | 7  | 5 | 4 | 149 |     |    |
| GIとGIIの計 |      | 124         | 53        | 4  | 7 | 5 | 4   | 197 |    |
| 群別・型別不明  |      | 3           |           |    |   | 2 |     | 5   |    |
| SaV      | GI   | GI.1        | 1         | 1  |   |   |     |     | 2  |
|          |      | GI.2        | 3         | 7  |   |   |     |     | 10 |
|          |      | GI.3        |           | 1  | 1 |   |     |     | 2  |
|          | GV   | GV.1        |           | 1  |   |   |     |     | 1  |
|          | 計    |             | 4         | 9  | 1 | 0 | 0   | 0   | 15 |

表7 リアルタイム PCR 法の定量値と nested PCR 法の結果の比較

| 項目        |     | 定性判定 | NoV GI 定量結果<br>(実測値) |       |     | NoV GII 定量結果<br>(実測値) |     |     |
|-----------|-----|------|----------------------|-------|-----|-----------------------|-----|-----|
|           |     |      | -                    | <10*1 | ≥10 | -                     | <10 | ≥10 |
| 全体        |     | -    | 57                   | 8     |     | 7                     | 20  |     |
|           |     | +    | 6                    | 21    | 2   | 6                     | 18  | 43  |
| 区分別       | 加熱用 | -    | 18                   | 5     |     | 1                     | 7   |     |
|           |     | +    | 4                    | 17    | 1   | 2                     | 7   | 28  |
|           | 生食用 | -    | 39                   | 3     |     | 6                     | 13  |     |
|           |     | +    | 2                    | 4     | 1   | 4                     | 11  | 15  |
| 検査<br>機関別 | ③   | -    | 13                   | 3     |     | 4                     | 4   |     |
|           |     | +    | 2                    | 3     |     | 5                     | 5   | 3   |
|           | ④   | -    | 1                    | 5     |     |                       | 2   |     |
|           |     | +    |                      | 15    |     |                       | 1   | 18  |
|           | ⑤   | -    | 11                   |       |     | 1                     |     |     |
|           |     | +    | 2                    | 3     | 2   | 1                     |     | 16  |
|           | ⑦   | -    | 16                   |       |     | 1                     | 12  |     |
|           |     | +    |                      |       |     |                       | 3   |     |
|           | ⑩   | -    | 16                   |       |     | 1                     | 2   |     |
|           |     | +    | 2                    |       |     |                       | 9   | 6   |

定性判定は nested PCR 法の結果に基づく。

\*1：実測値が 10 未満の定量値が得られた(増幅曲線が得られた)もの。



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検出法に関する研究

平成 27 年度 研究協力報告書

|        |        |
|--------|--------|
| 吉澄 志磨  | 入谷 展弘  |
| 筒井 理華  | 三好 龍也  |
| 佐藤 直人  | 重本 直樹  |
| 秋野 和華子 | 谷澤 由枝  |
| 植木 洋   | 山本 美和子 |
| 田村 務   | 山下 育孝  |
| 森 功次   | 吉富 秀亮  |
| 小林 慎一  | 吉岡 健太  |

平成 28 (2016) 年 3 月

## 市販カキからの腸管系ウイルスの検出

研究協力者 吉澄 志磨 北海道立衛生研究所  
研究分担者 野田 衛 国立医薬品食品衛生研究所

### 研究要旨

カキのウイルス汚染実態の把握を目的として、2015 年 2 月上旬に加工された国産の市販生カキ; 7 海域(ロット)を対象に、1 ロットあたり 6 検体について 4 種類の腸管系ウイルスの検索を行った。生食用カキでは、検査を行った 5 ロットのすべてからノロウイルス(NoV) 遺伝子が検出されたが、各ロットの陽性率は 1/6~6/6 と大きな差が見られた。加熱用カキ 2 ロットの NoV 陽性率はどちらも 6/6 と高かった。最も多くの検体から検出された NoV 遺伝子型は GII. 17 であり、次いで GII. 4\_Sydney2012 であった。NoV の他、サポウイルス遺伝子が生食用 2 ロット及び加熱用 2 ロットから検出された。A 型肝炎ウイルス及び E 型肝炎ウイルスの遺伝子は検出されなかった。生食用として販売されているカキについても、特に NoV は海域にかかわらず検出されており、ヒトの健康被害の原因として注意が必要であると考えられた。

### A. 研究目的

カキなどの二枚貝を食した場合は加熱不十分な状態で喫食することにより、急性胃腸炎などの健康被害が引き起こされることが知られている。これは、二枚貝の生育海域にヒトの腸管系ウイルスが流れ込んだ場合、二枚貝が餌のプランクトンとともにウイルスも取り込み、それが中腸腺に蓄積されるためである。健康被害としては、ノロウイルス(NoV) やサポウイルス(SaV) などによる急性胃腸炎のほか、A 型肝炎ウイルス(HAV)、による急性肝炎があげられる。さらに、E 型肝炎ウイルス(HEV) についても二枚貝からの検出報告

があり、二枚貝を介しての健康被害が懸念されている。そこで今回、カキのウイルス汚染の実態を把握するため、2015 年 2 月に加工された国産の生カキを対象に、NoV、SaV、HAV、HEV の 4 種類の腸管系ウイルスの検索を行った。

### B. 研究方法

#### 1. 材料

2015 年 2 月に購入した国産の市販むき身生カキを調査対象とした。購入品は、生食用が 4 県 5 海域(ロット)、加熱用が 2 県 2 海域(ロット)である。加工年月日は 2015 年 2 月 9 日から 12 日までであっ

た。これら7ロットの生カキをそれぞれ2パックずつ用意し、カキの中腸腺1.5~2.0gを1検体として、1パックにつき3検体(1ロットあたり6検体)を調査に用いた。

## 2. 検索ウイルス

NoV, SaV, HAV 及び HEV を対象とした。

## 3. 方法

平成25年度報告書に記載の方法を用いた。すなわち、10%中腸腺乳剤を $\alpha$ -アミラーゼ(和光純薬)で処理した後ポリエチレングリコール沈殿法により得られた濃縮沈査に、0.5% Zwittergent 加 PBS(-)を加えて再浮遊させた溶液をRNA抽出材料とした。RNA抽出にはHigh Pure Viral RNA Kit(Roche)を使用し、カラム上でDNase I(Roche)処理を行った。cDNAは、High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit(Life Technologies)によりランダムプライマーを用いて合成した。これを鋳型とし、Nested PCR法により各ウイルスの遺伝子の増幅を試みた。

増幅産物については、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、MEGAを用いた系統樹解析により遺伝子型別を行った。塩基の混合がみられた検体についてのみ、TOPO TA Cloning Kit(Life Technologies)を用いてクローニングを行い、それぞれ16クローンの塩基配列を決定した。NoVのGII.4型については亜型分類も行った。

(倫理面への配慮)

本研究では特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

## C. 研究結果

市販生カキからのウイルスの検出状況を表1に示した。

生食用カキでは5ロット(a~e)すべてからウイルス遺伝子が検出された。30検体中20検体からNoVが検出され、このうち2検体からはSaVも検出された。HAVとHEVは検出されなかった。ロットeの2検体は群/型不明のNoV(図1, ●e-1, 4)の検出であり、これを除く既知のヒト型NoVの陽性率は、a:6/6、b:6/6、c:2/6、d:1/6、e:3/6であった。また、検出遺伝子型は、aが7種類(GI.5, GII.3, GII.4, GII.6, GII.13, GII.17, GII.21)、bが3種類(GI.2, GII.4, GII.17)、cが2種類(GII.3, GII.17)、dが1種類(GII.3)、eが4種類(GII.3, GII.4, GII.13, GII.17)であった。SaVの遺伝子型は、2検体ともGI.2であった。

加熱用カキでは、2ロットの12検体すべてからNoVが検出され、このうち6検体からはSaVも検出された。NoVの検出遺伝子型は、fが7種類(GI.1, GI.4, GII.3, GII.4, GII.6, GII.13, GII.17)、gが5種類(GI.2, GII.3, GII.4, GII.13, GII.17)であった。SaVの陽性率はfが2/6、gが4/6であり、遺伝子型はいずれもGI.2であった。HAVとHEVは検出されなかった。

今回検出されたGII.4の亜型は、ロットgの1検体からDenHaag\_2006bが検出された他は、すべてSydney\_2012であった。

## D. 考察

### 1. 検出ウイルスの種類

ウイルスが検出された30検体のすべてがNoV陽性であり、一部からはSaVも検出された。HAV及びHEVは検出されなかった。今回はNoVの流行期である2月に加工されたカキのみの調査であるが、カキ喫食による健康被害としてはNoVに次いでSaVへの注意が必要であり、HAVとHEVの関与はあまり高くないと考えられた。

## 2. 生食用カキからのNoVの検出

今回の調査に用いた生食用カキの養殖地は4県5海域であり、そのすべてのロットからNoVが検出された。

検出率は、最も低いものは1/6(1海域)であったのに対し、最も高いものは6/6(2海域)であり、同じ時期に採捕されたカキでも、採取海域によりNoV陽性率が大きく異なることが示された。また、検出率の高いロットほど、ロットあたりの検出遺伝子型の種類が多い傾向にあった。

このようにNoV汚染の程度に違いはあるものの、NoV流行期には、生食用として販売されているカキについても海域にかかわらずNoVが検出されることが判明した。NoV非流行期については今後の調査が必要であるが、少なくともNoVの流行期には、生食用カキでも加熱調理を推奨するなどの対策が必要である。

## 3. 生食用と加熱用の比較

養殖地がA及びB県のカキは、生食用・加熱用ともにウイルス陽性率が100%であった。しかし、1検体から検出されるNoV遺伝子型の数は加熱用カキの方が多く、またSaVが検出された検体数も加熱用カキの方が多かったことから、ウイルス汚染の度合いは、生食用カキよりも加熱用カキの方が高いと考えられた。

## 4. NoVの流行株とカキへの蓄積

今回のカキ調査において最も多く検出されたNoV遺伝子はGII.17(6ロット、25検体)であり、次いでGII.4\_Sydney2012(5ロット、13検体)、GII.3(6ロット、9検体)であった。GII.17は、特に養殖地がA及びB県のカキで高率に検出された。

ヒトでのNoV流行状況を確認するため、国立感染症研究所のウェブサイトに掲載されている病原微生物検出情報の月別胃腸炎ウイルス検出状況(<http://www0.nih.go.jp/niid/idsc/iasr/Byogentai/Pdf/data63j.pdf>)を利用した。今回のカキの採捕時期は2015年2月上旬頃と推測されることから、2015年1月と2月にヒトから検出されたNoV遺伝子型を確認したところ、遺伝子型が判明しているもののうち報告数が多い順に、1月はGII.4(72%)、GII.3(13%)、GII.17(10%)、2月はGII.4(40%)、GII.17(38%)、GII.3(12%)、GI.2(8%)であり、カキからの検出率が高かったGII.17、GII.4、GII.3が同じ時期のヒト胃腸炎患者からも多く検出されていたことが確認された。しかし、全国の患者由来データと比較して、養殖地B県以外のカキではGII.4の検出率が低く、またA及びB県のカキではGII.17の検出率が高い傾向をみせた。県別の患者及び下水のNoV検出データがあれば、GII.17やGII.4のヒトからの排泄とカキへの蓄積に関して詳細な検討を行うことが可能と考えられた。

## 5. ヒト型以外のNoVの検出について

2014年2月の調査と同様に、養殖海域