

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)
「食中毒原因ウイルス等の汎用性を備えた検査法と
制御を目的とした失活法の開発のための研究」
分担研究報告書

食品等従事者における上気道飛沫中の
ノロウイルスの調査

研究分担者	岡 智一郎	国立感染症研究所 ウイルス第二部
研究協力者	上間 匡	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
	植木 洋	株式会社 日本環境衛生研究所
	高木 弘隆	国立感染症研究所 安全管理研究センター

研究要旨

調理従事者・食品取扱者の上気道飛沫によるノロウイルス汚染の可能性について調査するため、昨年度と同様、登録衛生検査所の協力のもと、調理従事者・食品取扱者を対象に唾液中のノロウイルス核酸の検出を行った。

A. 研究目的

ノロウイルスによる食中毒発生要因として、ウイルス陽性調理従事者がその汚染源の1つになりうる。しかし、近年の疫学解析により、小児におけるデータではあるものの、胃腸炎症状の有無に関わらず上気道粘液（口腔、鼻腔咽頭ぬぐい液、唾液）からノロウイルス核酸が検出されることが明らかとなってきた（Dabilla N et al., J. Clin. Virol. 2017; 87:60-66., Anfruns-Estrada E et al., Viruses. 2020;12 :1369. 岡智一郎, 高木弘隆, 斎藤博之. 2022 年; 第 63 回日本臨床ウイルス学会）。さらに本研究班が開始後、ヒトノロウイルスがヒト唾液腺細胞株で増殖すること、マウスにおいて、唾液を介したマウスノロウイルス感染が起こることも報告された（Ghosh S. et al., Nature. 2022; 607:345-350. ）。

調理従事者・食品取扱者において上気道粘液からノロウイルスが検出されれば、糞便以外のルートでもノロウイルスが感染伝播する可能性が示され、食品衛生上の感染制御対策のための新たな知見となりうる。そこで、本研究では昨年度から、我が国の調理従事者・食品取扱者について、糞便に加え、上気道粘液からノロウイルスが検出されるか検討している。

B. 研究方法

1. 材料

1) 調理従事者・食品取扱者の唾液検体

株式会社 日本環境衛生研究所において糞便中のノロウイルス検査を行った調理従事者・食品取扱者 371 名から 2023 年 12 月 (n=44), 2024 年 1 月 (n=121), 2024 年 2 月 (n=124), 2024 年 3 月 (n=82) に採取され、株式会社 日

本環境衛生研究所においてPBS(-)で2倍希釈したものを解析対象とした。

2. ノロウイルスの検出

ノロウイルス検出のための核酸抽出は昨年度と同様、MagNAPure 96 (Roche)と MagNAPure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit (ロシュ 6543588001)で行った。昨年度の検討結果をふまえ、抽出核酸をそのまま鋳型にする TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix (Thermo Fisher Scientific 4444434)と、COG1 F/R プライマーと RING1-TPa, TPb プロンプ、もしくは COG2-F/R プライマーと RING2-TP プロンプを用いて、キットの指示通りの組成、温度条件で反応させ、7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems)で検出した。

RT-PCR 用によるノロウイルス検出は Random 6 mer(タカラバイオ 3801)と RevTra Ace (東洋紡 TRT-101)を用いて cDNA 合成後、G2SKF/SKR プライマーと KAPA 2G HotStart Ready Mix with dye (KAPA Biosystems KK5610)を用いて行った。

陽性コントロールとして、ターゲット領域の遺伝子配列を含む合成プラスミドもしくはノロウイルスをスパイクした唾液検体を用いた。

(倫理面への配慮)

調理従事者・食品取扱者の特定はできないよう管理されている。また国立感染症研究所において人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理審査承認を得ている(承認番号 1405)。

C. 研究結果

調理従事者・食品取扱者の唾液 371 検体については、ノロウイルス陽性例はなかった。なお、糞便については2名がノロウイルス陽性(いずれも GII, Ct 値: 33 もしくは 25)であった。残存核酸から塩基配列を決定できた1名からは、GII.17[P17]が検出された。

D. 考察

昨年度の304検体に加え、今年度新たに371検体の調理従事者唾液中のノロウイルス核酸の有無を検出した。

調理従事者・食品取扱者糞便におけるノロウイルス陽性率は例年、冬季は1%程度とのものであったが、今季も0.5%とまだ例年と比べ低い状態が続いていることが示された。

今回糞便でノロウイルスが検出された2名はいずれも自覚症状がなかったことから、無自覚なままノロウイルス感染源になりうると考えられた。

E. 結論

2年間で健常調理従事者・食品取扱者の唾液、合計675検体を解析した。現時点では唾液からノロウイルスは検出されていないが、糞便中にノロウイルスが検出されたのが2検体と限られることから、次年度も本課題に継続して取り組む。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表:

- 1) Investigation of removal and inactivation efficiencies of human sapovirus in drinking water treatment

- processes by applying an in vitro cell-culture system. Shirakawa D, Shirasaki N, Hu Q, Matsushita T, Matsui Y, Takagi H, Oka T. Water Res. 2023 Jun 1;236:119951. doi: 10.1016/j.watres.2023.119951.
- 2) Distribution of Human Sapovirus Strain Genotypes over the last four Decades in Japan: a Global Perspective. Doan YH, Yamashita Y, Shinomiya H, Motoya T, Sakon N, Suzuki R, Shimizu H, Shigemoto N, Harada S, Yahiro S, Tomioka K, Sakagami A, Ueki Y, Komagome R, Saka K, Okamoto-Nakagawa R, Shirabe K, Mizukoshi F, Arita Y, Haga K, Katayama K, Kimura H, Muramatsu M, Oka T. Jpn J Infect Dis. 2023 Jul 24;76(4):255-258. doi: 10.7883/yoken.JJID.2022.704. 10.3390/v15112164.
- 3) ヒトサポウイルス培養法の開発
高木弘隆, 岡智一郎
日本ウイルス学会誌
ウイルス 2023. 8 73(1)1-8.
- 4) Prevalence and Characterization of Gastroenteritis Viruses among Hospitalized Children during a Pilot Rotavirus Vaccine Introduction in Vietnam. Mai CTN, Ly LTK, Doan YH, Oka T, Mai LTP, Quyet NT, Mai TNP, Thiem VD, Anh LT, VAN Sanh L, Hien ND, Anh DD, Parashar UD, Tate JE and Van Trang N. Viruses . 2023 Oct 27;15(11):2164. doi: 10.3390/v15112164.
- 5) Comprehensive Full Genome Analysis of Norovirus strains from Eastern India, 2017–2021. Lo M, Doan YH, Mitra S, Saha R, Miyoshi S, Kitahara K, Dutta S, Oka T, Chawla-Sakar M. Gut Pathog. 2024 Jan 18;16 (1):3. doi: 10.1186/s13099-023-00594-5.
2. 学会発表 :
- 1) Oka T, Li T-C, Yonemitsu K, Ami Y, Suzaki Y, Okamoto-Nakamura Y, Kataoka M, Doan YH, Takagi H. Establishment and application of an efficient human sapovirus propagation method using HuTu80 cells. The 8th International Calicivirus Conference, Netherland, 2023. 5
- 2) 白崎伸隆, 胡秋晗, 白川大樹, 高木弘隆, 岡智一郎, 松下拓, 松井佳彦. 汎用細胞増殖系を活用した浄水処理におけるヒトサポウイルスの除去・不活化特性の把握. 第 60 回環境工学研究フォーラム 2023. 11/29-12/1.
- H. 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