

山梨県内に流通する貝類におけるウイルス汚染実態調査

西潟 剛 大沼正行

Survey of the Viral Contamination in Shellfish Supplied in Yamanashi Prefecture

Tsuyoshi NISHIGATA and Masayuki OONUMA

キーワード：二枚貝、ウイルス、食中毒

ウイルス性食中毒は、ウイルスに汚染されたかき等の二枚貝の生食や加熱不足の喫食が原因となることがある。二枚貝が原因とされる食中毒事例では、患者便から複数のウイルス遺伝子が検出されることがあり、山梨県内でも平成23年に発生した岩かきの喫食が原因と推定される食中毒事例で患者便から複数のウイルス遺伝子が確認された¹⁾。また、北海道では加熱用冷凍かきが過熱不十分な状態で提供されたことが原因と推定される食中毒事例において、患者便や同一ロットのかきから複数のウイルス遺伝子が検出された²⁾。

このように、貝類を原因とする食中毒事例では複数のウイルスが関与していると推定される。貝類のウイルス汚染調査は複数の自治体で実施されているが、山梨県内ではこれまで実施されていない。そこで、食中毒及び感染症対策の予防普及啓発に係る基礎資料とするため、県内に流通している貝類を対象にウイルス汚染実態調査を実施した。

材料および方法

1 検査材料

2015年6月～2017年3月の期間内において県内のスーパーから、しじみ、あさり、はまぐり、かき、ほたて、ホンビノス貝（はまぐりのみ外国産、その他の貝は国内産）の計6種類の加熱用二枚貝を購入し、検査に用いた。一部のかきやあしりは水が充填されたパック詰めになっていたため、そのパック水も検査に用いた。個体が小さいしじみとあしりは5個を1検体、その他の貝は1個を1検体、パック水は20mlを1検体とし、計285検体を検査対象とした。

2 検査項目

ノロウイルスGⅠおよびGⅡ、アイチウイルス、アストロウイルス、エンテロウイルス、A型肝炎ウイルス、A

群C群ロタウイルス、サポウイルス、アデノウイルスを検査項目とした。

3 前処理および検査方法

国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに準拠し二枚貝から中腸腺を摘出後、ポリエチレン・グリコールで濃縮した。パック水も同様にポリエチレン・グリコールで濃縮した。RNA抽出は、QIAamp Viral RNA Mini kit(QIAGEN)を用いて実施し、PrimeScript RT Reagent (TaKaRa)を用いてcDNAを作成した³⁾。ノロウイルス、A型肝炎ウイルスはリアルタイムPCR法による遺伝子検出を実施し、その他のウイルスでは、RT-PCR法による遺伝子検出を実施した⁴⁾。また、陽性検体について、ダイレクトシーケンス法にて塩基配列を決定し遺伝子型を確定し、系統樹解析を行った。

結果

しじみ、あさり、はまぐり、かき、パック水計50検体からウイルス遺伝子が検出されたが、ほたて、ホンビノス貝からウイルス遺伝子は検出されなかった(表1)。

検出されたウイルス遺伝子は、ノロウイルスGⅠおよびGⅡ、アイチウイルス、アストロウイルス、エンテロウイルスであった。その他のA型肝炎ウイルス、ロタウイルス、サポウイルス、アデノウイルス遺伝子は検出されなかった。また、しじみ、あさり、かきの計15検体からは、2～3種類のウイルス遺伝子が検出された(表2)。

ノロウイルス遺伝子は8月にしじみやはまぐりから検出されたが、その他のウイルス遺伝子は冬期を中心として11月から5月に検出された。今回の調査では、かきからはノロウイルス遺伝子は検出されなかった。また、あさりのパック水1検体と同パックのあさりからアストロウイルスが検出された(表3から表6)。

表1 各検体別陽性率

	しじみ	あさり	はまぐり	かき	ほたて	ホンビノス貝	パック水	計
検体数	67	53	80	46	12	12	15	285
陽性検体数	22	10	11	6	0	0	1	50
陽性率 (%)	32.8	18.9	13.8	13.0	0	0	6.7	17.5

表2 各検体別検出ウイルス

検出ウイルス	しじみ	あさり	はまぐり	かき	パック水	計
ノロウイルスG I	4		3			7
ノロウイルスG II	7		1			8
アイチウイルス	16	4		6		26
アストロウイルス	8	8	7	2	1	26
エンテロウイルス	2	1				3
計	37	13	11	8	1	70
陽性検体数	22	10	11	6	1	50

表3 月別ウイルス検出状況 (しじみ)

	2015年												2016年												計
	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	12								
検体数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	67							
ノロウイルスG I			3								1							4							
			*1																						
ノロウイルスG II						3		1	1	2								7							
										*2															
アイチウイルス	1			4	2	2	3	1	1									2							
アストロウイルス				1			3	1	2	1								8							
エンテロウイルス							1	1										2							
計	1	3		8	3	3	8	3	5	1								2							

*1 ノロウイルスG I.3(2検体) *2 ノロウイルスG II.2(1検体)

表4 月別ウイルス検出状況 (あさり)

	2015年							2016年							計
	6	7	8	9	11	12	1	2	4	5	6	7			
検体数	4	4	4	3	4	2	4	4	8	8	4	4	53		
アイチウイルス									1	1	2		4		
アストロウイルス									4	4			8		
										*3					
エンテロウイルス									1				1		
計									2	5	6		13		

*3 パック水からウイルス遺伝子が検出

表5 月別ウイルス検出状況 (はまぐり)

	2015年												2016年												2017年												計
	6	7	8	9	10	11	12	1	2	4	5	6	7	9	10	11	1	2	3																		
検体数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	8	80																	
ノロウイルスG I																					3																
																					**																
ノロウイルスG II																					1	1															
アストロウイルス																						7															
計																					1	11															

*4 ノロウイルスG I.3(2検体)

表6 月別ウイルス検出状況 (かき)

	2015年												2016年												2017年												計
	10	11	1	2	3	4	10	11	12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1															
検体数	4	8	8	4	4	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	46															
アイチウイルス																																					
アストロウイルス																																					
計																																					

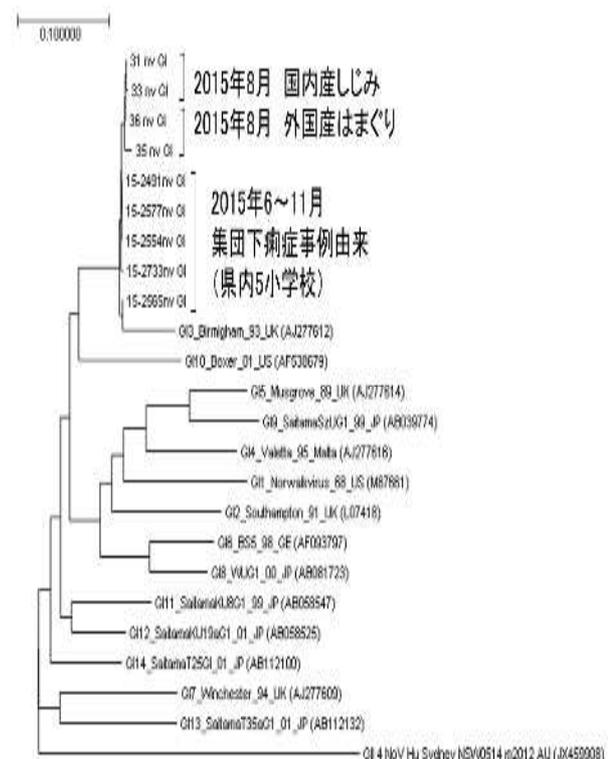


図1 系統樹解析 ノロウイルスG I.3

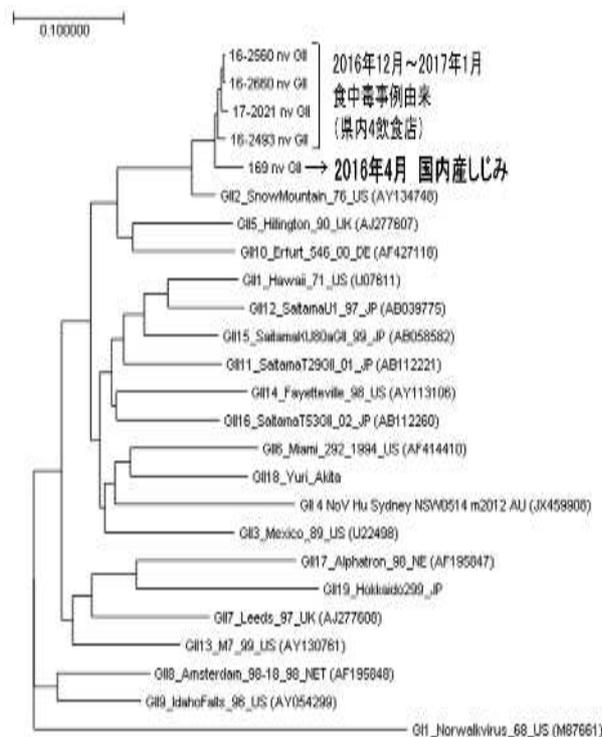


図2 系統樹解析 ノロウイルス GII.2

考察

あさりのパック水1検体と同パックのあさりからアストロウイルスが検出されており、あさり中腸腺がパック水中に漏出したと推定されることから、パックを開封する際に、調理場内の汚染に注意が必要と考える。

15検体から2~3種類のウイルス遺伝子が検出されており、二枚貝の喫食が確認されている県内食中毒事例の一部でも、複数のウイルス遺伝子が検出されている。このため、ノロウイルス遺伝子が検出されていても、二枚貝の喫食が確認されている事例では、ノロウイルス以外の下痢症ウイルス検査の実施も考慮する必要がある。

ノロウイルスGIについては、7検体中4検体(2015年8月、国内産しじみ2検体・外国産はまぐり2検体)において遺伝子型がノロウイルスGI.3であった。検出されたノロウイルスGI.3による集団下痢症事例は、2015年に流行が認められ、山梨県内でも5事例で確認された。国内産しじみ、外国産はまぐりから検出されたことから、広域の範囲で流行していたことが示唆された(図1)。

ノロウイルスGIIについては、8検体中1検体(2016年4月採取、国内産しじみ)において遺伝子型がノロウイルスGII.2であった。検出されたノロウイルスGII.2による集団下痢症事例は、2016年12月から2017年1月

に県内での流行が認められ、12月には20事例でノロウイルスGII.2が確認された(図2)。今回の結果から、二枚貝を検査することで地域において流行する可能性のある株をいち早く探知することが可能であることが示唆された。

まとめ

今回の調査結果から、加熱用二枚貝やパック水の取り扱いには、十分な注意が必要であるとともに、喫食においては十分な加熱が必要である。

過去に流行していない新しいタイプのウイルスは拡がりやすく、新たな流行の原因となる可能性がある。このため本調査結果を含めたウイルス情報を関係者と共有し食中毒や感染症予防啓発を図ることが重要である。

参考文献

- 1) 病原微生物検出情報(IASR) : Vol. 32(12), 360-361 (2011)
- 2) 病原微生物検出情報(IASR) : Vol. 32(12), 361-363 (2011)
- 3) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル
- 4) 国立感染症研究所: ウイルス性下痢症診断マニュアル(第3版)