

研究課題の概要

研究課題名	生食用カキに起因するノロウイルスリスク評価に関する研究
主任研究者	西尾 治
所属機関	国立感染症研究所
研究成果の概要	<p>2004年のノロウイルスによる食中毒患者は食中毒患者総数の45%を占め、食材としては生カキが最も重要であり、その対策が急務である。本研究ではカキからノロウイルス検出の高感度検出法を開発した。生食用カキのノロウイルス汚染は小児等におけるノロウイルス感染者数に大きく影響を受け、河口域からの距離に関連性が見出され、調査用カキを海域に設置するモニタリングは汚染状況の把握に有効である。市販生食用カキのノロウイルス汚染濃度と食中毒発生との関連性が示唆される等のリスク評価のための多くの基礎データを集積した。生食用カキのリスク軽減には、各養殖海域に負荷されるウイルス量、海域のリスクの予測、漁場の管理、浄化法、モニタリング検査などのリスク管理を総合的に行い、養殖海域に適したリスク軽減策が必要と考えられた。カキの以外のノロウイルス食中毒は調理従事者による食品汚染が多数を占めていた。</p>

食品安全委員会の本研究課題に対する事後評価・総合コメント	<p>目標以上の成果が得られた。食品中のノロウイルスの高感度検出法開発をはじめ汚染・感染実態の解明等が行われた。本研究で開発された手法や知見をノロウイルスに関する食品健康影響評価に活用が期待される。</p>
------------------------------	---

研究成果報告書（研究要旨）

研究課題名	生食用カキに起因するノロウイルスリスク評価に関する研究
主任研究者名	所属： 国立感染症研究所 氏名： 西尾 治（研究課題番号：0606）

○研究要旨

平成18年のノロウイルスによる食中毒患者は、患者総数の71%を占め、食材としては生カキが最も重要であり、また、カキ以外の食中毒事件が多発し、その対策が急務である。本研究は、リスク評価の基礎資料を得ることを目的として、以下の研究を実施した。

1) カキからの高感度ノロウイルス検出法を開発

平成18～20年度に、カキからの高感度ノロウイルス検出法を開発し、より精度の高いリスク評価を行うことができることを目的としてノロウイルス検出法の開発を行った。カキからのウイルスの濃縮操作では、アミラーゼ（AM）処理、ポリエチレングリコールの添加量が、AMは2.5mg/ml、PEG 6000は12%、NaClは1Mが適していると判断され、従来法よりも、5～16倍高い検出であった。開発した方法はカキからのノロウイルス検出に優れた方法と判断された。

2) カキにおけるノロウイルス汚染様式・実態解明

カキの汚染様式を明らかにするため、北海道、宮城県、三重県、広島県の養殖海域で、平成18～20年度の3年間に、カキの汚染様式を解明し、リスクの軽減策を見出すことを目的とした。養殖海域への流入に関わる屎尿処理場及び下水処理場の放流水からは、ノロウイルスが検出され、海域には一般的に一年を通してノロウイルスの流入があることが示された。しかし、海域の海水及びプランクトンからはノロウイルスが検出されず、これらは海域の汚染指標としての使用には適さないと考えられた。小児の感染性胃腸炎の患者の多発に伴い、下水の流入水及び放流水中のノロウイルス量が増加し、河口付近に設置した調査用カキのノロウイルス汚染量及び汚染率が高くなった。しかし、河口のカキのノロウイルス汚染は必ずしも、養殖海域のカキが汚染しているとは限らなかった。

河口付近に調査用カキを海域に設置してモニタリングを行うことは、海域のノロウイルス汚染状況を把握するための有効な手段の一つであると考えられた。カキの汚染はヒトからのノロウイルスが水環境を汚染していることであり、その汚染様式は様々であった。

イワガキのノロウイルス汚染を明らかにすることを目的として、新潟県および富山県で調査を行った。春から夏に旬を迎えるイワガキの採取・流通時期がノロウイルス流行期でなく、ノロウイルス汚染は無いか、あっても微量であった。以上から、イワガキのノロウイルス汚染については余り重要でないと考えられた。

ノロウイルスの汚染様式には、ヒト以外の動物の関与も否定できない。そこでブタ、ウシについてノロウイルス汚染を調べた。ブタの糞便からヒトのノロウイルスに属するものが検出された。しかし、ウシからはヒトに属するものは検出されなかった。以上の結果か

ら動物由来のノロウイルスについてもその影響は少ないと言えるが、考慮する必要があると考えられる。

3) カキのノロウイルス汚染と食中毒事件発生に関する疫学的解析

カキを介する食中毒事件に際し、原因食材のノロウイルス汚染量、患者発生の疫学的調査を行い、喫食量と健康被害との関連性を見出すことを目的とした。

カキを介するノロウイルス事例収集期間：地方衛生研究所 15カ所で、平成18年3月～平成21年2月にカキを介する食中毒事件は5事件であった。

原因食材であるカキからノロウイルスが検出できたのは1例のみで、原因食品はカキ酢であった。

以上から、カキ事件での原因食材のカキの確保が不可欠である。

4) ノロウイルスによる食中毒事件の解析

ノロウイルスによる食中毒事件を詳細に解析し、その発生原因を明らかにし、予防策を樹立することを目的とした。ノロウイルスによる事例収集期間：平成18年3月～平成21年2月の間に、全国の15ヶ所の協力を得て100事件について、調査、解析を行った。食品の汚染経路として、カキの喫食を原因とするもの以外、従事者による食品の2次汚染が原因と考えられた。以上から、ノロウイルスによる食中毒の発生防止には調理従事者の衛生教育が必要と考えられた。

5) 市販カキのノロウイルス汚染量と食中毒事件発生の解析

カキの月別汚染と食中毒事件発生との関連性を明らかにすることを目的とした。その結果、平成18・19・20年共に、カキは出荷シーズン当初(10、11月)から高濃度に汚染されているのではなく、ノロウイルスによる感染性胃腸炎の増加に伴い、1、2月にカキの汚染率と汚染量が高くなるに伴い、カキを介する食中毒事件が多発していた。

以上から、カキのノロウイルス汚染量を監視することにより、カキ関連ノロウイルス食中毒事例発生の危険性を予測する一つの目安となるのではないかと考えられる。

6) カキの浄化法によるリスク軽減に関する研究

平成20年度にカキからウイルスを排出する目的で浄化が行われており、その効果を検証することを目的とした。その結果、人工浄化試験は20L掛流し水槽、72時間浄化および500L循環式水槽、120時間浄化において、陽性率が減少し、若干の浄化効果が認められたが、統計的に有意ではなかった。今後更なる、効果的な浄化法を開発する必要がある。

上記に示した様に、多くの成果がえられたものの、生カキのノロウイルス汚染のリスク軽減に向けて、養殖海域に負荷されるウイルス量の管理、海域の汚染リスクの事前予測(河川水の流入程度、海水の塩類濃度、海水温、プランクトン量等)、漁場の区分管理、人工浄化あるいはモニタリング検査などのカキ自体のリスク管理などを総合的に行う必要がある。また、ノロウイルスの正確なリスク評価を行うには感染性を有するノロウイルス定量法の開発が不可欠で、それを用いた研究が必要である。

研究成果報告書

研究課題名	生食用カキに起因するノロウイルスリスク評価に関する研究
主任研究者名	所属： 国立感染症研究所 氏名： 西尾 治（研究課題番号：0606）

研究の概要

本研究は平成 18 から 20 年度に実施され、10 名の分担研究者と 55 名の研究協力者の先生により以下の研究項目に関して、精力的な研究がなされた。

研究の項目は ①カキからの高感度ノロウイルス検出法の開発、②カキにおけるノロウイルス汚染様式・実態解明、③カキのノロウイルス汚染と食中毒事件発生に関する疫学的解析、④ノロウイルスによる食中毒事件の解析、⑤市販カキのノロウイルス汚染量と食中毒事件発生の解析、⑥カキの浄化法によるリスク軽減に関する研究の 6 項目に集約された。さらに、ノロウイルス胃腸炎の GIS の解析、医療経済的検討および迅速診断法の検討を行った。

分担研究者

牛島 廣治（藍野大学藍野健康科学センター）
 鈴木 宏（新潟大学医歯学総合研究科国際感染医学講座公衆衛生学分野）
 吉澄 志磨（北海道立衛生研究所微生物部）
 植木 洋（宮城県保健環境センター 微生物部）
 松本 知美（山口県環境保健センター）
 中川（岡本）玲子（山口県環境保健センター）
 有田（西田）知子（山口県環境保健センター、現 国立感染症研究所）
 入谷 展弘（大阪市立環境科学研究所微生物保健担当）
 野田 衛（国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部）
 木村 博一（国立感染症研究所感染症情報センター）

研究協力者

沖津 祥子（藍野学院短期大学藍野健康科学センター）
 Khamrin Pattara（藍野大学藍野健康科学センター）
 Chan-It Wisoot、高梨さやか（東京大学大学院医学系研究科）
 柱 新太郎（帝京大学感染制御部）
 菊地 正悟（愛知医科大学公衆衛生学講座）
 石田 勢津子、三好 正浩、池田 徹也、奥井 登代（北海道立衛生研究所微生物部）

庄司 美加、上村 弘（宮城県保健環境センター微生物部）
原田 弘美（いわき市保健所）
田村 務、西川 眞（新潟県保健環境科学研究所ウイルス科）
大金 映子（栃木県保健環境センター微生物部）
坂野 智恵子、森田 幸雄（群馬県衛生環境研究所）
田中 俊光（千葉市保健所）
古屋 由美子、片山 丘（神奈川県衛生研究所微生物部）
神田 隆、足立 聡（静岡県環境衛生科学研究所微生物部）
滝澤 剛則、中村 一哉、小原 真弓、岩井 雅恵、長谷川澄代、堀元 栄詞、
倉田 毅（富山県衛生研究所）
都築 秀明（愛知県食品衛生検査所）
中野 陽子（三重県津保健福祉事務所）
山中 葉子、岩出 義人、永井 祐樹（三重県保健環境研究所）
永田 克行（三重県健康福祉部薬務食品室）
荒井 祥二郎（三重県松阪保健所）
左近 直美、中田 恵子（大阪府立公衆衛生研究所）
改田 厚、阿部仁一郎、久保 英幸（大阪市立環境科学研究所 微生物保健担当）
福田 伸治、佐々木由枝（広島県立総合技術研究所保健環境センター）
阿部 勝彦、山本 美和子、国井 悦子、国寄 勝也、伊藤 文明、笠間 良雄、
吉岡 嘉暁（広島市衛生研究所）
大塚 有加、山下 育孝（愛媛県立衛生環境研究所）
秋山 美穂（国立感染症研究所感染症情報センター）
諏佐 恭子（独立行政法人日本スポーツ振興センター）

研究目的

近年のノロウイルスによる食中毒患者は食中毒患者総数の約半数を占め、原因食材としては生カキが最も重要であり、その対策が急務である。本研究では、カキからのノロウイルス検出のための高感度検出法の開発を行なう。生食カキのノロウイルス汚染要因の解明を目的として、小児および高齢者等におけるノロウイルス感染、河川水、海域の環境中のノロウイルス汚染とカキのノロウイルス蓄積に関するデータを収集し、これらの要因を解析し、カキにおけるノロウイルス汚染防止によるリスクの軽減策を目指す。また、カキの浄化によるリスクの軽減効果を研究する。食中毒事件におけるカキのウイルス汚染量と健康被害の発生に関する解析を行い、カキにおけるノロウイルスリスク評価手法を検討する。さらに、ノロウイルスによる食中毒事件の発生要因を明らかにし、予防策を見出す。

研究の概要

① カキからの高感度ノロウイルス検出法の開発

カキのノロウイルスのリスク評価および安全性確保に寄与するため、カキからの高感度、

迅速、簡便、安価なノロウイルス検出法の開発を行った。

カキからのウイルスの濃縮操作では、アミラーゼ（AM）処理、ポリエチレングリコールの添加量 AM は 2.5mg/ml、PEG6000 は 12%、NaCl は 1M が適していると判断された（表 1～3）。カキから検出されるノロウイルスの定量値はアミラーゼ処理の実施により大幅に増加するとともに、検査時間が短縮した。AM-直接法により、高感度、迅速、簡便な検査が可能となった。カキのノロウイルスリスクがより正確に評価できるとともに、生食用カキの安全性確保に寄与できると考えられた。

表 1 AM-PEG 沈澱法における PEG6000 濃度の検討

PEG 濃度	定量値	
	ノロウイルス G2	E9
8%	18980.3	3168.2
10%	32628.4	4228.8
12%	49233.9	6962.5
14%	38956.5	5819.5
16%	13670.5	2934.3
20%	6634.9	346.8

表 2 AM-PEG 沈澱法における NaCl 濃度の検討

NaCl 濃度	定量値	
	ノロウイルス G2	E9
0.5M	34703.3	5408.8
0.6M	39088.6	5715.4
0.8M	41379.3	7505.2
1M	43203.2	10275.8
1.2M	34021.3	8563.5
1.4M	24093.5	8395.6
1.5M	23525.0	7011.0
4M	8765.7	3904.8

表 1～表 2 の定量値は実測値

表 3 AM-PEG 沈澱法における α -AM 濃度の検討

AM 添加量	定量値	
	ノロウイルス G2	E9
0mg	9139.9	447.8
5mg	18210.4	4962.0
10mg	35646.9	9965.1
25mg	38972.5	10275.8
50mg	37226.7	9411.6
75mg	28163.6	7612.2
100mg	22659.1	5918.8
250mg	11465.1	910.8

表 3 の定量値は実測値

13 の地方衛生研究所の協力のもと、厚生労働省が示す標準法（PEG 沈澱法、超遠心法）と AM 処理を導入した PEG 沈澱法、超遠心法および直接法の 5 法について、ノロウイルス汚染カキを用いて検出率および定量値を比較した結果、PEG 沈澱法と比較して AM-直接法は 16 倍、AM-超遠心法は 7 倍、AM-PEG 沈澱法は 5 倍高い値を示した。以上の結果から、AM 処理はカキからのノロウイルス検出に有用と考えられた。一方、検出率や定量値は検査機関

で大きく異なったことから、検査法の精度管理が必要と考えられた。

カキ中腸腺乳剤にノロウイルスを添加し、より回収率の高い濃縮法を決めることを目的とし、カキの乳剤濃度を 50%、10%、1%とし、最適な乳剤濃度を推定した結果、50%乳剤より 10%乳剤が高い回収率であったが、1%であっても阻害が存在した。カキ 50%乳剤 AM-直接法と 10%乳剤 PEG 沈澱法でのノロウイルス添加回収率を比較した結果、AM-直接法の回収率は 26.9~36.9%、PEG 沈澱法は 3.3~6.7%であった。また、RNA 抽出量を通常の 10 倍量としたときの回収率もみた。その結果、SDS で希釈したことで、AM-直接法も PEG 沈法も回収率が約 2 倍に増えた。しかし、通常の 10 倍量の RNA 抽出では回収率は低くなった。以上の結果から、カキ 10%乳剤 AM-直接法後に SDS-トリスグリシンバッファーを添加することが添加回収試験には最適な条件であることが示唆された。

カキのノロウイルス RNA コピー数を正確に定量するためには、カキからのノロウイルスの精製・濃縮、RNA 抽出、DNase 処理、逆転写反応、PCR 反応の全ての検査工程を検体毎にモニターし、ウイルスの回収率を求める必要がある。ノロウイルスと同じ腸管系ウイルスであるエコーウイルス 5 型 (E5) を中腸腺乳剤に添加し、ノロウイルス定量値等に与える影響を調べた。E5 添加によりノロウイルスの定量値は影響を受けなかったことから、インナーコントロールとしてウイルス RNA を添加しノロウイルスを定量すること自体に問題はないと考えられる。一方、ノロウイルス及び E5 とも、添加量を増加すると回収量が低下した。

このことから、インナーコントロールとしてノロウイルス以外の RNA ウイルスを添加しても、RNA 定量値は影響を受けないことから、回収率を求め、定量値に回収率を考慮した補整値で定量値を示すことが可能であると考えられた。

② カキにおけるノロウイルス汚染様式・実態解明

1) 方法

カキ・カキ養殖海域のノロウイルス汚染およびノロウイルス集団感染の発生状況調査：

A 内の養殖海域において、河川水、カキ（調査用として河口付近に設置）、海水及びプランクトン（海水 500L からプランクトンネットを用いて回収）を月 1~2 回採取し、汚染量を測定した。同時に、感染性胃腸炎、食中毒事件、感染症の集団発生についてもノロウイルスの検出と検出されたノロウイルスの遺伝子型の決定を行った。

B 県下の検体採取はカキ養殖海域に面している地区の下水処理場の流入下水、処理水、処理水受容河川、同河川流入海域とした。処理水受容河川には下水処理場の放流口上流の支流、本流、放流口下流の 3 地点の採水地点を設けた。一方海域には 4 地点を設定し調査を原則としてノロウイルス流行期前から月に 1~2 回行った。漁業集落排水施設は海域の南東に位置する離島にある施設とした。

漁業集落排水施設で、接触曝気処理水に紫外線を照射し、紫外線によるウイルス除去効果を検討した。併せて、環境水の微生物学的汚染指標として用いられることの多い WG5 coliphage についてもブラック法で測定を行い、不活化効果を確認した。

2006/07 年は 37 パック 115 個体を、2007/08 年は 73 パック 219 個体を 2008/09 年は 47

バック 141 個体ノロウイルス遺伝子の検出検査を実施した。

C 県下ではカキ養殖海域 6 地点について調査した。調査地点は河口部、河口部から約 10 km 地点および河口部から約 15 から 20 km 地点のそれぞれ東西 2 ヶ所とした。なお、河口部 2 地点はカキおよびムラサキイガイを、その他の 4 地点はカキを検体とした。また、同時に水温（℃）および塩分濃度（%）を測定した。

D 県下の養殖海域で平成 19 年 6 月から 20 年 3 月まで月 1 回の採材を行い、6 月から 9 月までは前々年から養殖されている 3 海域、3 深度から別々に採捕した。10 月以降は前年夏から養殖されている「当年ものむき身カキ」で 2 海域、2 深度から採捕した。また台風が襲来し、大量の降雨があったので、7 月に 3 日間連続して採捕を行った。各海域、各深度において塩分濃度および海水温を測定し、近接の降水量観測データを収集した。

イワガキの調査：

E 県内の山北海域、M 市岩船海域、E 県海域、S 市海域の 4 カ所の海域で 6 月から 9 月にかけて採取されたイワガキを材料とした。

平成 18 年 3 月～平成 19 年 8 月の間に、F 県下の H 海域で採取されたイワガキ 4～5 個を月 1 回調査した。平成 18 年 4 月～平成 20 年 4 月まで、県内の下水処理場において、流入下水 2L を毎月 1 回採取し調査に供した。

動物からのノロウイルス検出調査：

ウシ、ブタからのノロウイルス検出は 2007 年 12 月に北海道内 3 地区の 11 農場から、1 農場あたり 10 頭ずつ、合計 220 頭分のウシ糞便を採取した。

G 県の食肉センターに搬入されたブタについて、直腸便を採取した。2008 年 9 月に 16 生産者から 80 頭分、10 月に 4 生産者から 20 頭分、11 月に 22 生産者より 105 頭分、合計 205 頭分のブタ糞便を採取した。2008 年 4 月～2009 年 2 月まで H 県食肉検査所に搬入された出荷豚の腸内容物を採材した。検体数は 20 件/月とし、農場ごとの浸淫状況を検討した。

2) 結果および考察

カキのノロウイルス汚染の成果：

A 内ではカキ養殖海域への流入に関わる屎尿処理場及び下水処理場の放流水からは、調査を行った全期間でノロウイルスが検出され、海域には一年を通してノロウイルスの流入があることが示された。しかし、海域の海水及びプランクトンからはノロウイルスは検出されず、これらは海域の汚染指標としての使用には適さないと考えられた。一方、下水の流入水及び放流水中のノロウイルス量が多い時期に、河口付近に設置した調査用カキのノロウイルス汚染量及び汚染率が高くなったことから、下水は海域のノロウイルス汚染指標として利用できると考えられた。また、流入河川水、海水及びプランクトンからノロウイルスがほとんど検出されなかった河口付近の海域に調査用カキを設置したところ、カキからはノロウイルスが検出された。このことから、調査用カキを海域に設置してモニタリングを行うことは、海域のノロウイルス汚染状況を把握するための有効な手段の一つであると考えられた。

B 県下の海域では、河川水、海域共に、ノロウイルス汚染は調査を行った全期間でノロ

ウイルスが検出され、海域には一年を通してノロウイルスの流入が認められるものの、カキは必ずしもノロウイルス陽性とはならなかった。このことは微量のノロウイルス汚染はカキをノロウイルス陽性としないようであるが今後研究すべきことと考えている。また、河川で浄化施設の上流で、浄化施設の放流水よりも高濃度のノロウイルス汚染が認められ、河川の汚染に他の要因が存在することが明らかとなった。

C 県の養殖場では定点当たりのヒトの感染性胃腸炎患者数が 5 を超えると、河口域のカキからノロウイルスが検出されるようになり、その約 1 ヶ月後に河口域のカキの陽性率が高くなること確認された（図 1）。また、河口域から約 10～15 km 地点まで拡散するには約 2.5～4 ヶ月を要することが明らかとなった。カキの安全性を確保する一つの手段として、河口からの距離も考えられるが、河川水の海域での流れについても考慮すべきと考えられ、各養殖海域において異なると言える。

さらに、不顕性感染者を感染源とした集団感染事例は近年増加傾向にある。ノロウイルス感染リスクの軽減には、不顕性感染者の動向把握は重要であり、カキのノロウイルス汚染源としても重要であるというデータが示された。

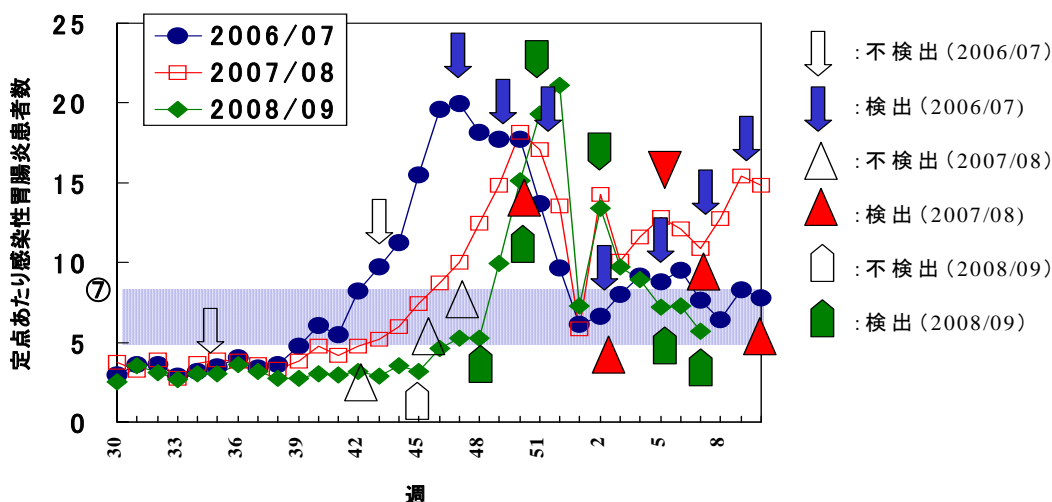


図 1 感染性胃腸炎発生状況と河口域のカキにおけるノロウイルスの動態

D 県の養殖場では、ノロウイルスが検出されたカキの採捕時の海水温は 13.1℃、10.8℃、8.4℃、9.3℃であった。塩分濃度は 32.9‰、33.3‰、33.0‰、33.6‰であった。台風が襲来し、大量の降雨があったので、ウイルス遺伝子検索を行ったところ、通過後 1 日目の中腸腺からのみ検出された。また、12 月下旬に 50mm 以上の降雨があり、その後にカキのノロウイルス陽性が多く見られた。

感染性胃腸炎の流行は 12 月上旬から始まり、その 1 週間後からノロウイルスがカキから検出されはじめた。また、海水塩分濃度は表層よりも中間層、深層の方が変動の幅が小さかった。今回の調査で降雨による塩分濃度の変化の差から、海水塩分濃度は表層よりも中間層、深層の方が変動の幅が小さかった。海水温の傾向は両海域とも夏季は深いほど低く、冬場は深い方が若干高かった。塩分濃度の変化の差から、A 海域と B 海域で同じ対策では

なく、それぞれ海域特有のリスク回避策を模索する必要性が示唆された。

各養殖海域におけるカキのノロウイルスの汚染量はノロウイルスによる感染性胃腸炎の発生が多くなると河川水、下水浄化施設でのノロウイルス量が増加し、その後にかきのノロウイルス汚染が認められ傾向が見られた。海域のノロウイルス汚染の原因はノロウイルス感染者の排泄物の流入であると言える。このことは感染性胃腸炎、河川水、下痢処理施設およびカキから検出された遺伝子型は同一のものが認められた。

イワガキ：

E 県では、4カ所の海域うち2カ所は、河川水の影響を受けやすい海域であったが、イワガキからノロウイルスは検出されなかった。このことから、夏期には河川のノロウイルス汚染が微量であり、夏期に採取されるE産岩カキのノロウイルス感染リスクは低いと考えられた（図2）。

F 県の海域では下水から多種のノロウイルスが検出されているのと対照的に、対象となったイワガキには顕著なノロウイルス汚染は確認されなかった。イワガキは水通しの良い岩場に生息しており、このことがイワガキへのウイルス蓄積量に影響を与えている可能性があり、この海域のノロウイルスによる汚染の程度は低いものと推定される。10コピー未満でも検出された検体は16.4%存在しており、検査法を含めた検出感度の改善と感染リスク評価をさらに検討する必要がある。

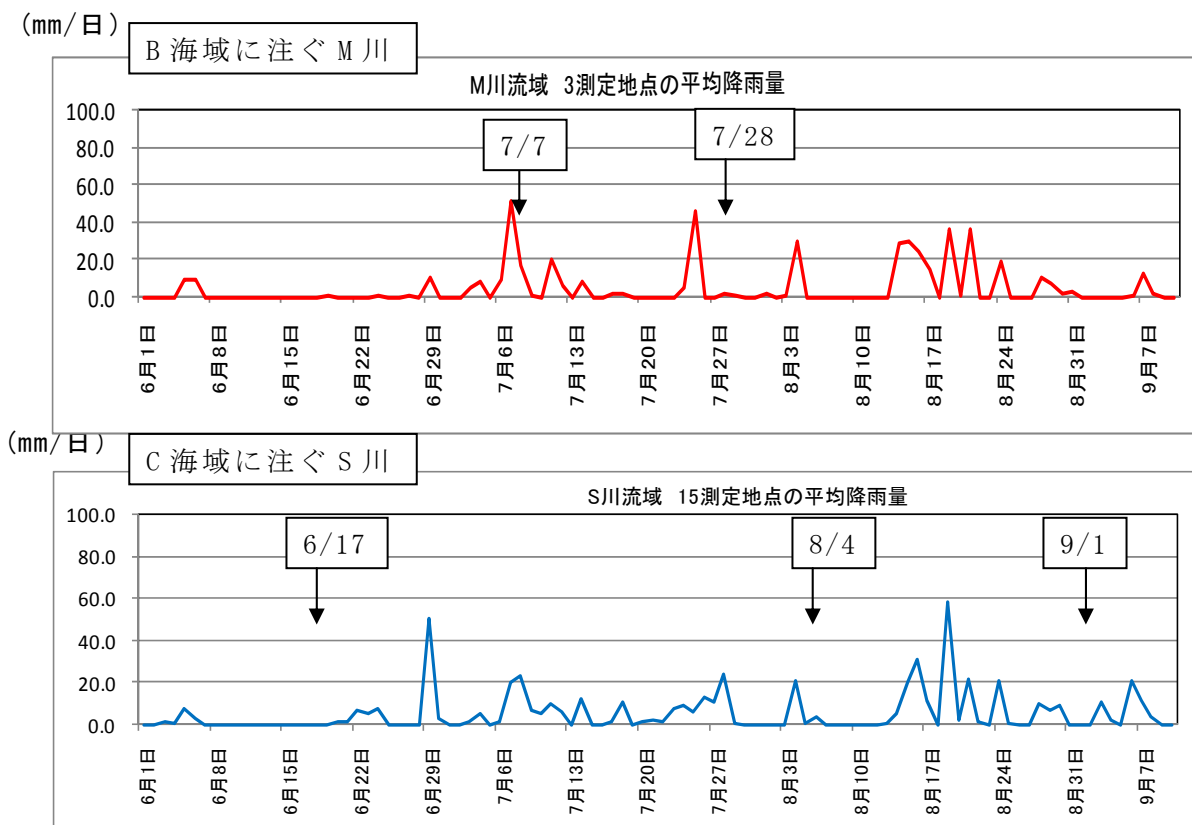


図2 カキの採取時期とM川とS川の流域の雨量観測地点の1日あたり平均降水量

動物からのノロウイルス検出：

ヒト以外の動物の関与も否定できない。そこで、A内のウシ（表4）、G県（表5）およびH県（表6）内の食肉検査所に搬入されたブタについてノロウイルス感染の実態調査を行ったところ、ウシおよびブタからノロウイルスがやや高率に検出され、ウシから検出されたノロウイルスはウシノロウイルスに分類されたが、ブタからはブタノロウイルスに分類されたものが多いものの、ヒトノロウイルスに分類されている遺伝子型のGII/3、GII/4、GII/13が検出されたことから、ウイルス量が少ないと推察されるが、今後、動物由来のノロウイルスについても考慮する必要があると考えられる。

表4 ウシからのノロウイルス検出状況

A. a地区

採便年月		2007年12月					2008年2月				
農場		A	B	C	D	E	L	M	N	O	P
陽性数 / 検査数	1歳未満	1/5	1/5	0/5	0/5	2/5	2/5	0/5	0/5	1/5	1/5
	1歳以上	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	合計	1/10	1/10	0/10	0/10	3/10	2/10	0/10	0/10	1/10	1/10

B. b地区

採便年月		2007年12月					2008年2月				
農場		F	G	H	I	J	Q	R	S	T	V
陽性数 / 検査数	1歳未満	1/2	0/5	3/5	0/5	2/5	3/4	1/5	2/5	1/6	3/5
	1歳以上	0/8	1/5	0/5	1/5	0/5	1/6	0/5	0/5	0/4	0/5
	合計	1/10	1/10	3/10	1/10	2/10	4/10	1/10	2/10	1/10	3/10

C. c地区

農場		K	
採便年月		2007年12月	2008年2月
陽性数 / 検査数	1歳未満	-	0/2
	1歳以上	0/10	0/8
	合計	0/10	0/10

表5 ブタからのノロウイルス検出状況

A. 2回採便

生産者		A (d)	B (o)	C (f)	D (g)	F (n)	I (j)	J (k)	K (i)	L (u)	M (p)	O (q)	P (s)
陽性数 /検査 数	2008 年 9月	0/5	1/5	0/5	0/5	3/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	2/4	3/6
	2008年 11月	0/5	0/4	0/5	1/5	3/5	2/5	0/5	0/4	3/7	0/5	0/4	0/5
	合計	0/10	1/9	0/10	1/10	6/10	2/10	0/10	1/9	3/12	0/10	2/8	3/11

B. 2008年9月採便

生産者	E	G	H	N
陽性数/検査 数	5/5	2/5	1/5	1/5

C. 2008年10月採便

生産者	Q	R	S	T
陽性数/検査 数	0/5	1/5	1/5	2/5

D. 2008年11月採便

生産者	a	B	c	e	h	ℓ	m	r	t	v
陽性数/検査 数	0/5	0/5	0/5	1/5	4/5	1/5	0/5	0/1	0/5	3/5

表6 豚からの検出状況 (2008年4月～2009年2月)

検出ウイルス	4月	5月	6月	7月	8月	9月
NoV GI	0/20	0/20	0/20	0/20	0/81	0/20
NoV GII	2/20	3/20*	4/20*	2/20	6/81	1/20
SnV	3/20	4/20*	3/20	4/20	23/81	1/20
BEV	0/20	1/20	1/20	2/20	2/81	1/20

検出ウイルス	10月	11月	12月	1月	2月
NoV GI	0/20	0/20	0/20	0/71	0/20
NoV GII	1/20	6/20*	6/20*	21/71	4/20
SnV	5/20	5/20	5/20*	21/71	4/20
BEV	0/20	1/20	0/20	0/71	0/20

検出数/検査回数 * : ヒト型ウイルス検出月

モニタリング:

カキのノロウイルス汚染のモニタリングとして下水は海域のノロウイルス汚染指標として利用できると考えられた。また、流入河川水、海水及びプランクトンからノロウイルスがほとんど検出されなかった河口付近の海域に調査用カキを設置したところ、カキからは

ノロウイルスが検出された。調査用カキを河口付近の海域に設置してモニタリングを行うことは、海域のノロウイルス汚染状況を把握するための有効な手段の一つであると考えられた。

D 県のカキ養殖場では海水温が 15℃を下回り感染性胃腸炎の流行期になるとカキ中腸腺からノロウイルスが検出されるものが現れ、海水温をモニターすることは併せて浄化等の対策を開始する目安となると考えられた（図 3）。

しかし、カキ養殖海域に広く分布し、採取が容易なムラサキイガイはカキに比し陽性率が低く、ノロウイルスのモニターとしては適当でないことが明らかとなった。

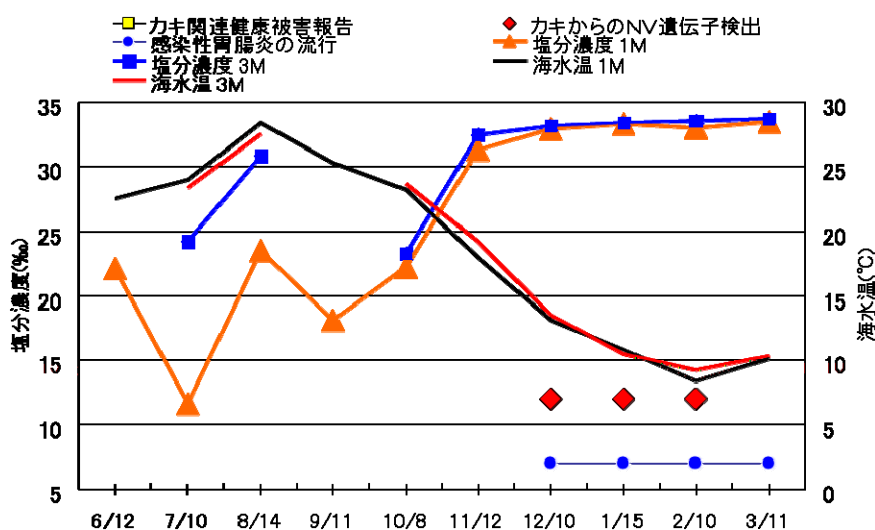


図 3 海状と周辺情報（2007 年 6 月－2008 年 3 月）

リスクの軽減：

患者報告数が少ない非流行期にも流行期と同数以上のノロウイルス遺伝子が、流入下水から検出された。一方、下水処理場と漁業集落排水処理施設でのノロウイルスの除去効果（Log Reduction）を比較した結果、漁業集落排水施設では 0.1log 以上の低い除去効果であった。養殖カキのノロウイルス汚染リスクを低減するには、養殖海域へ直接処理水を放流している施設でのノロウイルスの除去が急務と考えられた。2007/08 年には漁業集落排水施設で紫外線（紫外線量 70mJ/cm²）によるウイルス除去では、検出遺伝子数が低かったために効果を確認することはできなかったが、WG5 coliphage は紫外線照射により平均 3.7 log の不活化効果が確認された（図 4）。このことからノロウイルスにも効果があると考えられた。

陸上での人工浄化手法は大腸菌などの細菌のリスク低減に有効な方法であることが認められているが、カキのノロウイルス浄化には長時間を要し、十分な効果を上げるにはさらなる検討が必要であると推察された。カキの出荷時期における海水温は 10℃程度まで下がり、カキの代謝活性の高い 20℃を遥かに下回ることから、カキの代謝活性を利用した浄化法の検討もなされているが、実用の域には達していない。また、浄化効果の判定のためには活性のあるノロウイルスのみを検出できる方法の開発も必要である。

生カキのノロウイルスリスク低減に向けて、養殖海域に負荷されるウイルス量の管理、海域のリスクの事前予測（海水の塩類濃度、海水温、プランクトン量等）、漁場の区分管理、人工浄化あるいはモニタリング検査などのカキ自体のリスク管理などを総合的に行う必要があるが、そのためには、それぞれの養殖漁場に即したリスク要因の抽出が第一であると考えられる。

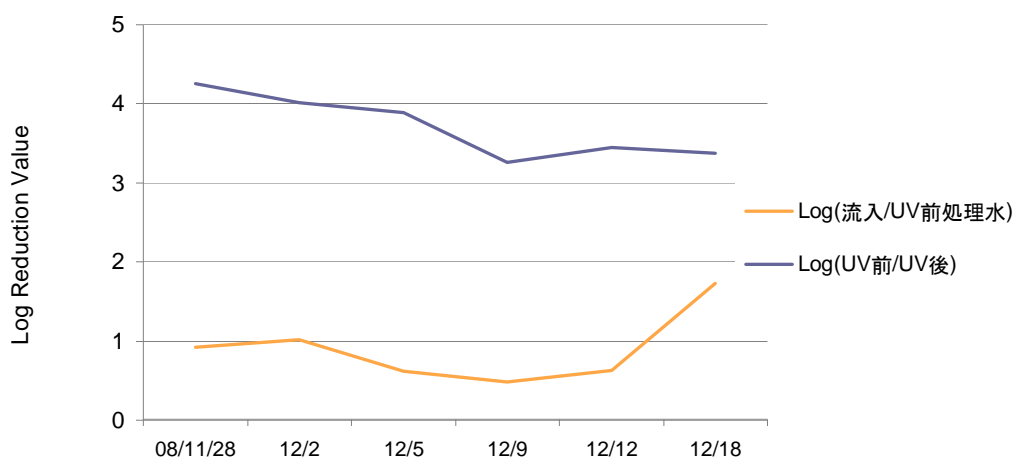


図4 紫外線照射（70m J/cm²）による WG5 coliphage の Log Reduction

③ カキのノロウイルス汚染と食中毒事件発生に関する疫学的解析

事例収集期間：地方衛生研究所 15カ所で、平成 18 年 3 月～平成 21 年 2 月にカキを介する食中毒事件は 5 事件であった。

原因食材であるカキからノロウイルスが検出できたのは 1 例のみで、原因食品はカキ酢であった。カキ酢の原材料（生食用カキのむき身パック詰め）の同一ロット製品についてノロウイルスの汚染状況を調べたところ、パック内のカキのノロウイルス陽性率は 81%、カキ 1 個当たりのノロウイルス量は 675～7,473 コピーであった。他の 4 事例ではカキを介する食中毒事件であったが、原因食材のカキの残品が無く、検査が行われていない。

原因食不明とされた事件に、宴会で生カキを喫食した 12 名中 11 名が下痢、嘔吐、腹痛を起こしたが、原因食材のカキの検査ができなかったため、原因食材不明としたものである。

カキ事件では多くの事件で原因食材の確保が困難であるので、カキの残品あるいは提供したカキの養殖海域を記載してあるパック詰め記録を保存することが望まれる。

④ ノロウイルスによる食中毒事件の解析

事例収集期間：平成 18 年 3 月～平成 21 年 2 月の間に、全国の 15ヶ所の協力を得て 100 事件について、調査、解析を行った。

感染経路：原因食を 1) 会席料理等：飲食店（旅館・ホテル含む）で提供された食事、2) 仕出し・弁当：事業所等への給食弁当含む、3) 寿司、4) カキ、5) 菓子・パン類、6) 給食：学校等での給食施設における給食、7) 施設内食堂・寮など、8) その他、に分類した。

最も件数の多かった原因食は会席料理等、飲食店で提供された料理 44%であった。次いで、仕出し、弁当 25%、寿司 11%の順であった。1事例あたりの平均患者数では施設内食堂・寮などでの提供料理を原因とする食中毒が 105 人、仕出し、弁当を原因とするものが 103 人であった（表 7）。

食品の汚染経路として、カキの喫食を原因とするもの以外、従事者による食品の 2 次汚染が原因と考えられた。下痢・嘔吐の症状を有しながら寿司、刺身の調理をしたことにより食中毒を起こしていた例も見られた。特に会席料理、飲食店での原因は和え物、寿司、刺身をノロウイルス感染者の手洗いが不十分で、素手で直接食品の触れる事で起きていると推察される事例が多い。

また、飲食店に漬け物を持ち込み、その漬け物が食中毒の原因であったものも見られた。

表 7 原因食別発生事例および患者数

	事例数	患者数/事例（平均）
会席料理等	43	44
仕出し、弁当	25	103
寿司	11	49
カキ	6	12
菓子・パン類	6	85
給食（学校）	1	39
施設内食堂・寮	5	105
その他	2	17

⑤ 市販カキのノロウイルス汚染量と食中毒事件発生の解析

市販カキの月別ノロウイルス汚染量と厚生労働省に届けられたカキによる食中毒事件発生との関連性を追及した。2006/07 年は 122 検体中 21 検体（17.2%）から、2007/08 年は 161 検体中 61 検体（37.8%）から、2008/09 年は 123 検体中 31 検体（25.2%）からノロウイルス遺伝子が検出された。リアルタイム PCR 法による定量では、ノロウイルス GI は 10～1372.5 コピー/個、ノロウイルス GII では 11～2531 コピー/個であった。2006/07 年は 10 月から 11 月は陰性で、12 月に 1 件、1 月に 3 件、2 月に 1 検体のみノロウイルス GI は 10～178 コピー/個であったが、2007/08 年および 2008/09 年では 9 月から 11 月は陰性で、12 月から検出された。2007 年～'09 年では 1 月に最も高い汚染量を示し、2008 年 1 月には今回の調査で最高値となる 2531.3 コピー/個を検出した。

厚生労働省食中毒事例（速報値）のカキ関連（疑いを含む）食中毒事例の発生状況と、今回の調査で行ったカキのノロウイルス定量値を比較すると、カキの汚染が高くなる時期に発生数が増加しており、食品を介さない感染性胃腸炎のピークとは異なるピークであった。カキは出荷シーズン当初から高濃度に汚染されているのではなく、ノロウイルスによる感染性胃腸炎の増加に伴いカキの汚染率と汚染量が高くなる。カキのノロウイルス汚染

量を監視することにより、カキ関連ノロウイルス食中毒事例発生の危険性を予測する一つの目安となるのではないかと考えられる（図5）。

カキから検出された遺伝子型は、GI/4（35検体）、GI/11（3検体）、GI/12、GI/14、GI型不明または不能、GII/2（3検体）、GII/3（33検体）、GII/4（47検体）、GII/5、GII/6（11検体）等であった。また、ノロウイルス GI 遺伝子およびノロウイルス GII 遺伝子が検出されたものが 27 検体、同じ遺伝子群が数種類検出されたものが 42 検体で。カキは複数の遺伝子型に汚染されていることが多いといえる。GII/4 が 3 シーズンともに多数検出され、この遺伝子型は日本で大流行を起こしているものである。

感染性胃腸炎患者および集団発生から検出されたノロウイルスの遺伝子型は 2006/07 シーズンは、GII/4 の占める割合が 93%以上と非常に高かった。GII/4 に次いで多く検出された遺伝子型は GII/13 であり、GII/13 の検出は、北海道においては初めてであった。GII/8 及び GII/10、GI/8 が、2007/08 シーズンも、GII/4 の占める割合は約 70%と非常に高かったが、GI/3、GI/4、GI/8 が。GII では、前シーズンに GII/4 に次いで検出頻度の高かった GII/13、GII/16 検出された。食中毒 5 事例からは、いずれも GII/4 が検出された。2008/09 シーズンは、GI/3、12 月以降は GII/4 であったが、割合は約 60%と若干減少し、GII/3、GII/19 が 2 事例から検出された。食中毒 1 事例は、GII/4 であった。2008/09 シーズンは、シーズンの始めに GI/3、GI/4、GII/2、GII/3 が検出されたが、12 月以降は GII が主流となった。このことからカキから検出された遺伝子型はヒトのノロウイルス感染症患者から見られている。

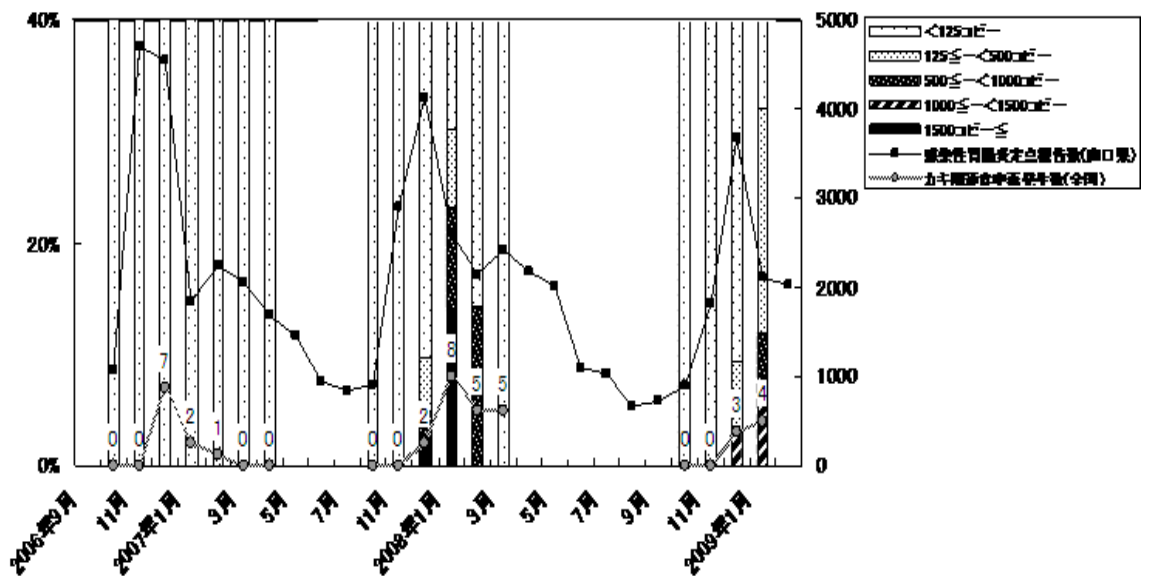


図5 カキのノロウイルス汚染量とカキ関連食中毒発生数

⑥ カキの浄化法によるリスク軽減に関する研究

人工浄化試験は 20L 掛流し水槽での、72 時間浄化および 500L 循環式水槽での、120 時間浄化において、陽性率が減少し、若干の浄化効果が認められたが、統計的に有意ではなかった。20L、72 時間および 500L、120 時間の条件下ではウイルス量も僅かながら減少する

ことが認められた(図6、左)。しかし、24時間浄化では効果は認められなかった。ノロウイルスコピー数の中央値はスタート時738、20L、24時間では1136、72時間では238、120時間では508であった(図6、右)。しかし、ノロウイルスの減少は統計的に有意ではなかった。

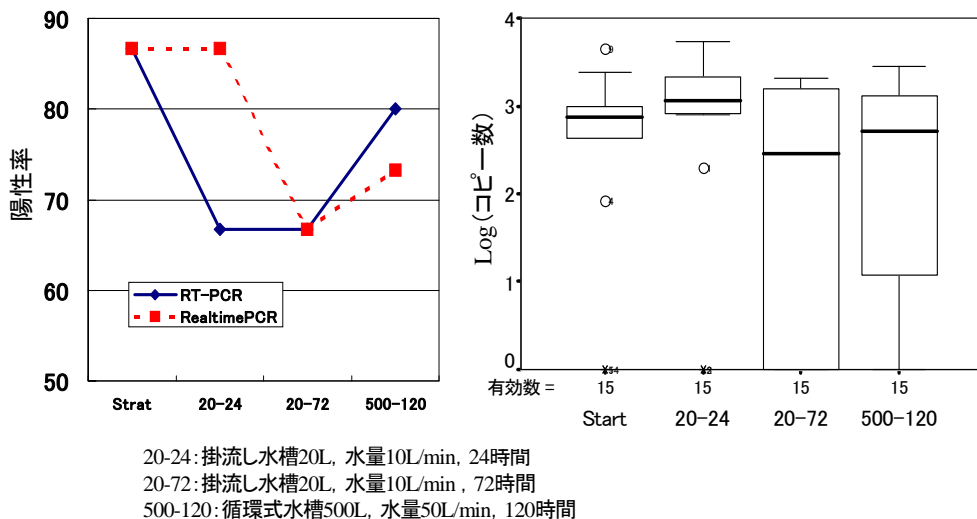


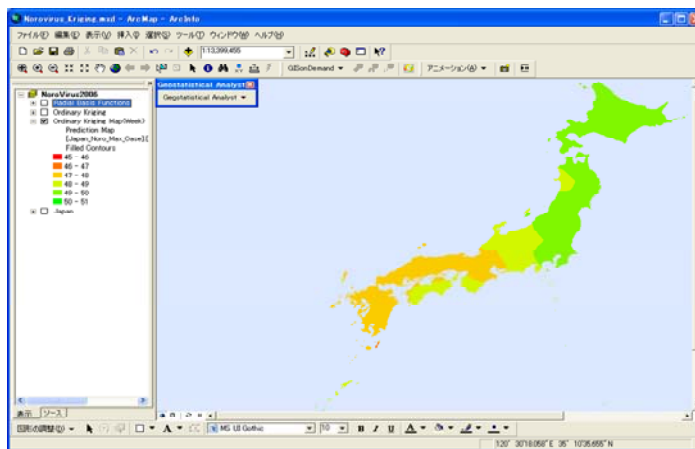
図6 人工浄化試験結果

⑦ その他の調査研究

GISによるノロウイルス胃腸炎の解析：

GISによるノロウイルス胃腸炎の解析では8年間の年ごとのノロウイルス胃腸炎の総数は、882例から最大の2006年の5040例である。各県からの報告状況から、GISの解析には2006年度の大流行の年だけが妥当と思われた。解析から、ノロウイルス胃腸炎は、九州、四国、中国地方とする日本の南部、西部から北上傾向が見られた。(図7)

冬期流行するインフルエンザでもわれわれのGISによる解析でも、今回のノロウイルス感染症と同様に本邦の南部、西部から北上傾向が認められている。今回の調査は単年度であり、更なる研究が必要と思われる。



Kriging Map; NoroVirus Cases / Sentinel

図7 GIS(地図情報を用いた)ノロウイルス国内伝播様式検索法の開発

ノロウイルス感染症の医療経済的検討：ノロウイルス感染症の医療経済的検討を試みた。オランダの試算を参考として行い、日本の患者は 370 万であり、287 億円の経済的損失となる。しかし、日本では受診患者が多く、しかも施設や病院での院内感染が多数であり、この何倍かになると推定される。

ノロウイルスの糞便からの簡易検査法の開発：

感染性胃腸炎患者からの糞便材料を用いての約 30 分で診断でき、ノロウイルスの GI と GII を別々に検出できる新しいイムノクロマトキット (IP) の開発と評価を行った。RT-monoplex PCR 法の結果を gold standard として検討した。IP-ノロウイルス GII/3、 GII/4 は RT- monoplex PCR 法に比べて感度が低いものの、特異度、一致率はほぼ同一の結果を得た。

イムノクロマトキットによりノロウイルスと判定できた事例は、感染症事例で 16 件中 6 件 (37.5%)、食中毒事例で 3 件中 2 件 (66.7%) であった。RT-PCR 法との差異については、キットで陰性で RT-PCR 法で陽性となったのは 68 検体中 41 検体 (60.3%) であり、3 検体実施した場合は 1 検体しか陽性とならない場合が多かった。

検査に要する時間は、1 時間未満で終わる場合が多く (図 8)、通常運搬するだけでも 1 時間以上を要し、更に検査結果は検体到着後、TRCR 法では抽出時間を入れて 2 時間、RT-PCR 法では結果報告が翌日となることが多く、迅速な結果把握ができたと考えられる。

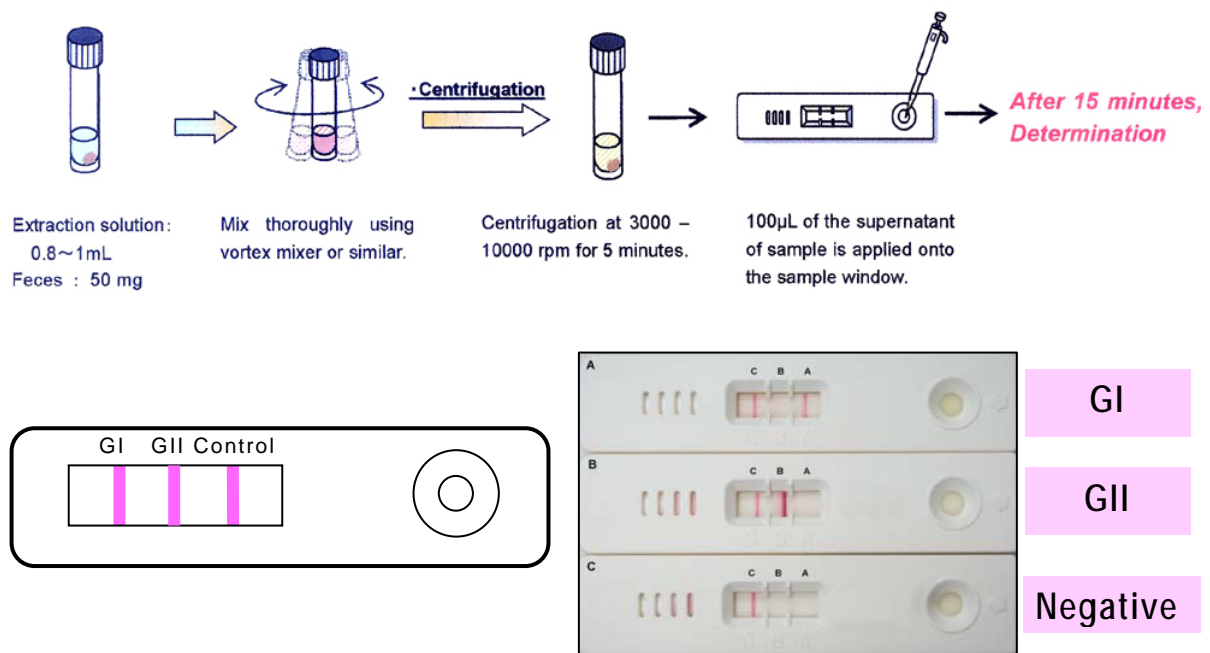


図 8 イムノクロマトキットの概要と使用方法

まとめ

①カキからの高感度ノロウイルス検出法の開発

カキから検出されるノロウイルスの定量値はAM処理の実施により大幅に増加するとともに、検査時間が短縮した。AM-直接法により、高感度、迅速、簡便な検査が可能となった。カキのノロウイルスリスクがより正確に評価できるとともに、生食用カキの安全性確保に寄与できると考えられた。

②カキにおけるノロウイルス汚染様式・実態解明

カキ養殖海域の汚染指標の一つである下水流入水、河川水中のウイルス量は、感染性胃腸炎の報告数及び集団発生数と相関して増加し、その約1ヶ月後位で河口部におけるカキのウイルス保有率が増加することが示唆され、河口からの距離が離れるとカキのノロウイルス汚染が遅れ、かつ汚染率が低い傾向が認められ、河口からの距離が一つのリスク軽減であることを見出した。

カキのリスク軽減には、下水での除去効率を高めることが有効であることを示すことができたが、ウイルスの拡散などの動態はさらに研究継続によるデータの集積が必要であった。

カキの汚染指標のモニタリングについては、養殖海域への流入に関わる屎尿処理場及び下水処理場の放流水からは、ノロウイルスが検出され、海域には一般的に一年を通してノロウイルスの流入があることが示された。しかし、海域の海水及びプランクトンからはノロウイルスが検出されず、これらは海域の汚染指標としての使用には適さないと考えられた。

小児の感染性胃腸炎の患者の多発に伴い、下水の流入水及び放流水中のノロウイルス量が増加し、河口付近に設置した調査用カキのノロウイルス汚染量及び汚染率が高くなったことから、河口付近に調査用カキを海域に設置してモニタリングを行うことは、海域のノロウイルス汚染状況を把握するための有効な手段の一つであると考えられた。

ノロウイルスの汚染様式には、ヒト以外の動物の関与も否定できず、ブタからヒトのノロウイルスに属するものが検出され、今後、動物由来のノロウイルスについても考慮する必要があると考えられた。

生カキのノロウイルス汚染のリスク軽減に向けて、養殖海域に負荷されるウイルス量の管理、海域の汚染リスクの事前予測（河川水の流入程度、海水の塩類濃度、海水温、プランクトン量等）、漁場の区分管理、人工浄化あるいはモニタリング検査などのカキ自体のリスク管理などを総合的に行う必要がある。

③カキのノロウイルス汚染と食中毒事件発生に関する疫学的解析

地方衛生研究所15カ所で、平成18年3月～平成21年2月にカキを介する食中毒事件は5事件で、原因食材の調査ができた事件は1例で、原因食品はカキ酢であった。カキ酢の原材料と同一ロット製品の調査で、パック内のカキのノロウイルス陽性率は81%、カキ1個当たりのノロウイルス量は675～7,473コピーであり、カキのノロウイルス汚染は食中毒事件を発生させる十分な量であった。カキ事件では多くの事件で原因食材の確保が困難で

あるので、カキの残品あるいは提供したカキの養殖海域を記載してあるパック詰め記録を保存することが望まれた。

④ノロウイルスによる食中毒事件の解析

平成18年3月～平成21年2月の間に、全国の15ヶ所の協力を得て100事件について、調査、解析を行った。食品の汚染経路として、カキの喫食を原因とするもの以外、従事者による食品の2次汚染が原因と考えられた。特に会席料理、飲食店での原因は和え物、寿司、刺身をノロウイルス感染者の手洗いが不十分で、素手で直接食品の触れる事で起きていると推察される事例が多く認められ、調理従事者の衛生教育が必要と考えられた。

⑤市販カキのノロウイルス汚染量と食中毒事件発生解析

市販カキのノロウイルス汚染は、2006/07年は122検体中21検体(17.2%)、2007/08年は161検体中61検体(37.8%)、2008/09年は123検体中31検体(25.2%)からノロウイルス遺伝子が検出された。リアルタイムPCR法による定量では、GIは10～1372.5コピー/個、GIIでは11～2531コピー/個であった。

市販カキの月別ノロウイルス汚染量と厚生労働省に届けられたカキによる食中毒事件発生との関連性を追及したところ、カキは出荷シーズン当初(10、11月)から高濃度に汚染されているのではなく、ノロウイルスによる感染性胃腸炎の増加に伴い、1、2月にカキの汚染率と汚染量が高くなることが分かった。カキのノロウイルス汚染量を監視することにより、カキ関連ノロウイルス食中毒事例発生の危険性を予測する一つの目安となるのではないかと考えられた。

⑥カキの浄化法によるリスク軽減に関する研究

人工浄化試験は20L掛流し水槽、72時間浄化および500L循環式水槽、120時間浄化において、陽性率が減少し、若干の浄化効果が認められたが、統計的に有意ではなかった。今後更なる、効果的な浄化法を開発する必要がある。

以上の結果は、ノロウイルスのカキにおけるリスク評価に有用な知見を多く得る事ができたと考えている。しかしながら、ノロウイルスにおける正確なリスク評価を行うには感染性を有するノロウイルスの測定法の開発が不可欠である。

(2) 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名のリスト(論文は、添付すること。)

1) 書籍

西尾治, 古田太郎. 現代社会の脅威 ノロウイルス. 幸書房, 東京, 2008年2月.

西尾治. ノロウイルスの知識と感染予防. 丸山務編集, ノロウイルス現場対策改訂版. 幸書房, 東京, 2007年11月. 23-70.

西尾治. Q&A. 丸山務編集, ノロウイルス現場対策改訂版. 幸書房, 東京, 2007年11月. 139-154.

西尾治. カキを主とする二枚貝におけるノロウイルス食中毒. 食の安全研究センター 設立記念シンポジウム組織委員会編, 食の安全を担う科学研究の新たな展開. 三協社, 東京,

2007年. 55-65.

2) 論文

西尾治, 中川(岡本)玲子. ノロウイルス感染症と海産物の安全性. 臨床とウイルス, 36:305-314, 2008.

西尾治. ノロウイルスによる食中毒の原因食材. アニムス, 14:36-40, 2008.

西尾治. ノロウイルスの食中毒対策. 臨床と微生物, 33:233-237, 2006.

野田衛, 西尾治, 山本美和子, 伊藤文明, 池田義文, 松本勝, 荻野武雄. 混合カキ検体からのノロウイルス濃縮操作におけるアミラーゼ処理の有用性. 広島市衛生研究所年報, 25:35-43, 2006.

Iwai M, Hasegawa S, Obara M, Nakamura K, Horimoto E, Takizawa T, Kurata T, Sogen S, Shiraki K. Continuous existence of noroviruses and sapoviruses in raw sewage reveals infection among inhabitants in Toyama, Japan (2006-2008). *Appl. Environ Microbiol*, 75:1264-1270, 2009.

Noda M, Fukuda S, Nishio O. Statistical analysis of attack rate in norovirus foodborne outbreaks. *Int J Food Microbiol*, 122:216-220, 2008.

Khamrin P, Nguyen TA, Phan TG, Satou K, Masuoka Y, Okitsu S, Maneekarn N, Nishio O, Ushijima H. Evaluation of immunochromatography and commercial enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of norovirus antigen in stool samples. *J Virol Methods*, 147:360-363, 2008.

Nishida T, Nishio O, Kato M, Chuma T, Kato H, Iwata H, Kimura H. Genotyping and quantitation of noroviruses in oysters from two distinct sea areas in Japan. *Microbiol Immunol*, 51(2):177-184, 2007.

Hansman GS, Oka T, Okamoto R, Nishida T, Toda S, Noda M, Sano D, Ueki Y, Imai T, Omura T, Nishio O, Kimura H, Takeda N. Human sapovirus in clams, Japan. *Emerg Infect Dis*, 13(4):620-622, 2007.

Phan TG, Khamrin P, Akiyama M, Yagyu F, Okitsu S, Maneekarn N, Nishio O, Ushijima H. Detection and genetic characterization of Norovirus in oyster from China and Japan. *Clin Lab*, 53(7-8): 405-412, 2007.

Fukuda S, Sasaki Y, Kuwayama M, Miyazaki K. Simultaneous detection and genogroup-screening test for norovirus genogroups I and II from fecal specimens in single tube by reverse transcription- loop-mediated isothermal amplification assay. *Microbiol Immunol*, 51:547-550, 2007

(3) 特許及び特許出願の数と概要

なし

(4) その他 (各種賞、プレスリリース、開発ソフト・データベースの構築等)
賞

西尾 治:ノロウイルスによる食中毒の発生要因の解明と予防策の樹立に関する研究で、「遠山椿吉記念 第1回食と環境の科学賞」を受賞した

3. 今後の問題点等

ウイルスの検出感度を向上させ、且つ、短時間で検査可能な検査法を開発したが、カキの内臓からのウイルス検出には一層の検査法の改良が必要である。

カキのノロウイルス汚染は、感染者のノロウイルスに由来すると考えられ、実際にはノロウイルス感染者が増加すると、下水浄化施設への流入水中、河川水中のノロウイルスが増加し、海域を汚染する、しかしながら、ノロウイルスには不顕性感染が多く、患者を対象とする調査ではそれらを捕らえられないこと、さらに、ウシのノロウイルスは現在われわれが用いているヒトのノロウイルスの遺伝子検出法による検査法では検出されないが、ブタのノロウイルスは検出されることから、今後、ブタを含めた動物によるノロウイルス汚染も、その程度は少ないと推測されるものの、明らかにする必要がある。

下水浄化施設においても、ノロウイルスの除去効率に差が見られ、より効率よい施設の開発が望まれる。その一つとして、紫外線照射の有効性が示唆されたが、今後さらに研究する必要がある。また、農村の集落排水施設がノロウイルス汚染の原因になっている可能性が示唆されたので、これらの浄化施設の改良が強く望まれる。

カキによる食中毒事件では、原因食材であるカキの確保が困難で、殆どできないのが現状であり、原因食材を確保するかが、大きな問題点である。

カキ養殖海域におけるモニタリングとして、河口部におけるカキが、ノロウイルスに最も早く汚染されることから、モニタリングには適切と考えられたが、それが即、河口から離れている養殖場のカキの汚染とはならないので、養殖海域毎の更なる詳細な調査が必要と考えられた。

カキのノロウイルス汚染リスク軽減には、紫外線 (紫外線量 $70\text{mJ}/\text{cm}^2$) によるウイルス除去では、検出遺伝子数が低く効果を確認することはできなかったが、WG5 coliphage は紫外線照射により平均 $3.7 \log$ の不活化効果が確認された。このことからノロウイルスにも効果があると推察された。

人工浄化試験は若干の浄化効果(カキにおける中腸腺のノロウイルスの減少)が認められたが、統計的に有意ではなく、今後有効な浄化法を見出す必要がある。

生カキのノロウイルス汚染のリスク軽減に向けて、養殖海域に負荷されるウイルス量の管理を遺伝子量でなく感染性を有するウイルス量として行わなければならない。同時に、海域の汚染リスクの事前予測 (河川水の流入程度、海水の塩類濃度、海水温、プランクトン量等)、漁場の区分管理、人工浄化あるいはモニタリング検査などのカキ自体のリスク管理などを総合的に行う必要がある。そのためには、それぞれの養殖漁場に即したリスク要因の抽出が第一であり、重要なところからの対策が必要と考えられる。