資料3

# 令和2年度調査で得られた ノロウイルス遺伝子型の網羅解析 (結果速報)

消費・安全局食品安全政策課

令和5年10月3日

農林水産省

1

## 網羅解析の目的

農林水産省

- > 令和2年度輸出環境整備推進委託事業(カキ中のノロウイルスの平常時の水準調査)でカキ中腸腺から抽出したRNA 試料について、ノロウイルス(以下「NoV」という。)遺伝子の遺伝子配列の解読を行い、生産段階におけるカキの NoVの衛生管理の検討に必要な疫学情報を得る。
  - ✓ 浄化処理の前後で、遺伝子型別(GI・GII)の検出率や存在割合に違いはあるか。
  - ✓ 二枚貝に蓄積した遺伝子型と、検体を採取した同時期におけるヒトの流行しているノロウイルス遺伝子型との関連性はあるか。

農林水産省 消費・安全局 /Food Safety and Consumer Affairs Bureau. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries.

## 網羅解析の対象



3

▶ 令和2年度水準調査でカキ中腸腺から抽出したRNA試料

採取期間:令和2年10月~令和3年3月(令和2年度)

実施地域:マガキ生産道府県 15道府県 (海域調査 29産地)

29産地のうち、浄化処理を実施している18産地を対象に

浄化処理後のカキをあわせてサンプリング

検体:海域で採取した浄化処理前のカキ及び浄化処理を行う施設に

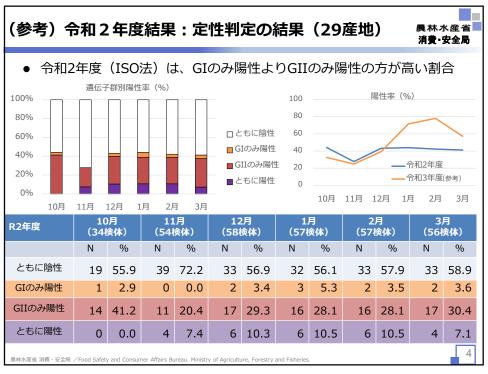
おいて浄化処理された後のカキ

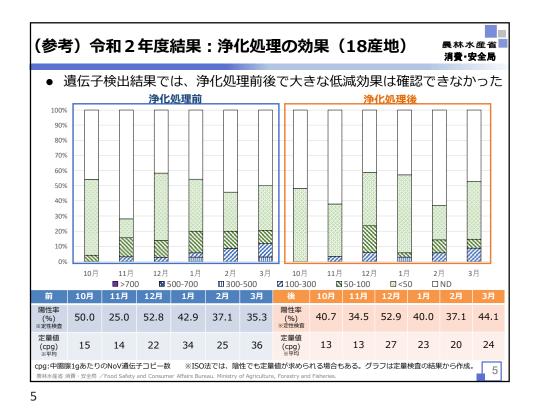
検査法:10粒のカキ中腸腺を1検体として、ISO15216に沿った

検査法 (ISO法) を用いて2種類の遺伝子群 (GI・GII) を

検査し、「陽性」となったRNA試料を使用。

農林水産省 消費・安全局 /Food Safety and Consumer Affairs Bureau. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries.





(参考) 感染性胃腸炎の発生状況 消費・安全局 ● 全国約3,000カ所の小児科医療機関の届出に基づく感染性胃腸炎(NoV以 外も含む)の定点報告数 ● 令和2年3月末頃から低い値で推移し、令和3年11月頃から例年に近い傾向 (令和元年に比べ令和2年は48%減、令和3年は37%減、令和4年は24%減 令和元年~4年における感染性胃腸炎報告数(定点) 9.00 7.00 6.00 5.00 4.00 3.00 1.00 --令和元年 ---令和2年 ---令和3年 ---令和4年 国立感染症研究所.感染症発生動向調査から作成 6

## 網羅解析の方法

農林水産省 消費・安全局

### 1 サンプル調製(RT-PCR法によるNoV遺伝子の増幅)

RNA抽出試料

逆転写反応(cDNA合成)

標的遺伝子領域の増幅

※cDNA検体中から標的遺伝子の増幅を確認できなかった場合は、一次増副産物を 鋳型として再度標的遺伝子の増幅をする。

### 2 次世代シークエンサーによる網羅的な塩基配列の解読

1で得られた2ndPCR後の<u>遺伝子増副産物</u>を網羅解読可能な次世代シークエンサーを用いて解析



#### 3 NoV遺伝子の同定

解読した塩基配列について、Genebankに登録されている既知のNoV遺伝子の塩基配列に対してマッピング実施

各検体に含まれるNoVの遺伝子型(GIの1~9、GIIの1~22)の同定

農林水產省 消費·安全局 / Food Safety and Consumer Affairs Bureau. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries.

/ rood safety and Consumer Analis Bureau. Philistry of Agriculture, Porestry and Pisheries.

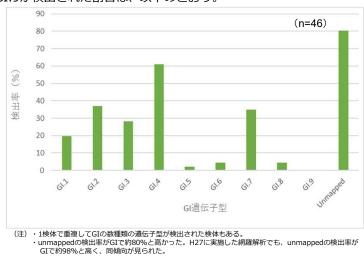
7

## 結果①ノロウイルスG I の遺伝子型別検出率

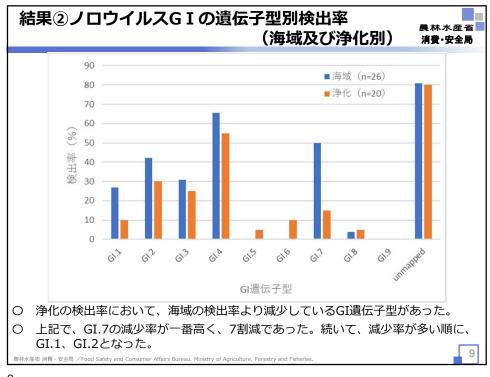
農林水産省 消費・安全局

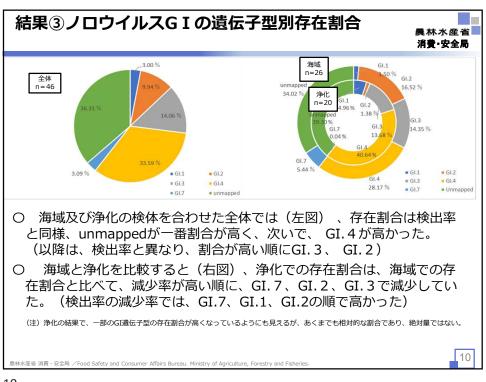
8

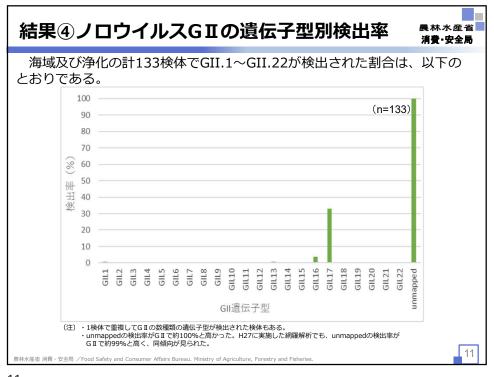
海域で採取した浄化処理前のカキ(以下、「海域」とする。)及び浄化処理を行う施設において浄化処理された後のカキ(以下、「浄化」とする。)の計46検体でGI.1~GI.9が検出された割合は、以下のとおり。

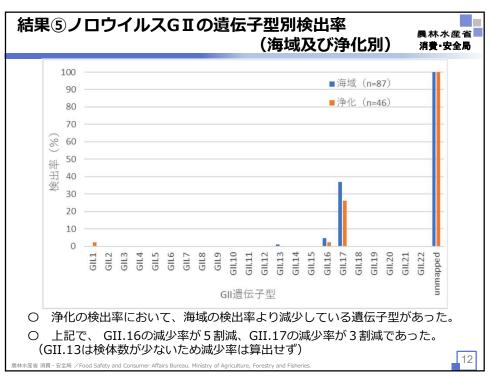


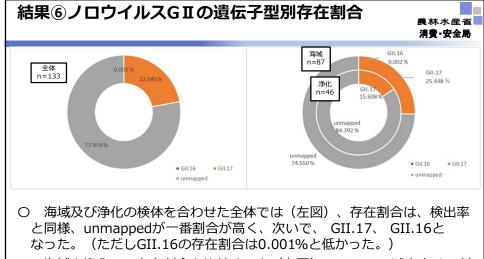
農林水産省 消費・安全局 /Food Safety and Consumer Affairs Bureau. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisherie











- 海域と浄化での存在割合を比較すると(右図)、GII.17の減少率は4割であった。(GII.16は存在割合が低いため減少率は算出せず)
  - (注) 浄化の結果で、一部のGI遺伝子型の存在割合が高くなっているようにも見えるが、あくまでも相対的な割合であり、絶対量ではない。

無井水产化 浅潭、安全屋 / Food Safety and Concurrent Affairs Rurany Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries

Food Safety and Consumer Affairs Bureau. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries.

### 13

## 結果のまとめ

農林水産省 消費・安全局

13

- O unmappedの検出率が、GI・GIIともに高く、H27年度解析と同傾向がみられた。
- O unmappedを除くと、検出率及び遺伝子型存在割合ともに、GIではGI.4、GIIではGII.17が 一番割合が高く、H27年度解析と同傾向がみられた。
- カキが採取された2020/2021年シーズンのヒト由来のウイルス検出状況(国立感染症研究所)によると、GIでは、GI.4及びGI.6が一番報告数が高く、GIIでは、GII.2、GII.4及びGII.17で報告数が高かった。GI.4については、ヒト由来のウイルス検出状況と今回のカキ由来の検出率の傾向が一致したが、GII.2及びGII.4についてはカキから検出されなかった。
- 〇 今回、浄化処理後の検体において検出率が減少する遺伝子型があった。GIではGI.7、GIIでは GII.16の検出率の減少率が一番高かった。
- 今回、浄化処理後の検体において存在割合が減少する遺伝子型があった。GIでは GI.7の存在割合の減少率が一番高く、GIIでは、GII.17の存在割合の減少を確認した。

		検出率	検出率の減少率 (浄化処理前後の比較)	遺伝子型存在割合	遺伝子型存在割合の 減少率	2020/2021年 シーズン別*1ウイルス 検出状況
遺伝子型	GI	GI.4(61%) GI.2(37%) GI.7(35%)	GI.7(▲70%) GI.1(▲63%) GI.2(▲29%)	GI.4(34%) GI.3(14%) GI.2(10%)	GI.7(▲99%) GI.2(▲92%) GI.3(▲5%)	GI.4(11件,40%) GI.6(11件,40%) GI.2(3件,11%)*2
	GII	GII.17(33%) GII.16(4%) GII.13(1%) GII.1(1%)	GII.16(▲53%) GII.17(▲29%)	GII.17(22%)*3	GII.16(▲100%) GII.17(▲39%)	GII.2(347件,61%) GII.4(131件,23%) GII.17(65件,11%)*4

\*1:9月~翌年8月を指す。\*2: 分類されなかったGIを除き、28報告のうちの件数及び検出率を示す。\*3:GII16は、表には記載していないが、0.001%であった。
\*4: 分類されなかったGIを除き、567報告のうちの件数及び検出率を示す。
#4: 分類されなかったGIPを除き、507報告のうちの件数及び検出すを示す。
#4: 分類されなかったGIPを解き、Soff報告のうちのManage Affairs Bureau、Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries.

### 考察

農林水産省 消費・安全局

#### <GIについて>

- **GI.4**は、カキからの検出率も存在割合も一番高く(H27年度解析と同傾向)、 同時期のヒトからの検出報告件数も最多であった。また、浄化後の検体では検出率が 約16%減少していたが、他のGI遺伝子型と比べて、カキに定着されやすい可能性や 浄化処理の影響を受けにくい可能性が考えられる。
- **GI.7**は、カキからの検出率が35%で存在割合が3%であったが、同時期のヒトからの検出報告数件数は1件のみであった。浄化後の検体では、検出率及び存在割合の減少率がGI遺伝子型の中で1番高く、浄化処理の影響を受けやすい可能性が考えられる。
- **GI.6**は、カキからの検出率が4%と低かったが、同時期のヒトからの検出報告件数は GI.4と並んで最多であり、カキに定着しにくい可能性やカキ以外の感染源が重要である 可能性が考えられる。

#### <GIIについて>

- **GII.2及びGII.4**は、今回カキから検出されなかったが、同時期のヒトからの検出報告件数は高かった。GII.4についてはEUにおけるCefasの報告(2022年)と同様の傾向であり、カキに定着しにくい可能性やカキ以外の感染源が重要である可能性が考えられる。
- **GII.17**は、カキからの検出率及び存在割合がGIIの中で一番高く(H27年度解析と同傾向)、一方、同時期のヒトからの検出報告件数はGII.2及びGII.4に次いで3番目であった。また、浄化後の検体では、検出率及び存在割合の減少が確認され、カキに定着しにくい可能性や浄化処理の影響を受けやすい可能性が考えられる。

農林水產省 消費·安全局 / Food Safety and Consumer Affairs Bureau. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries

15

15

## 今後の方向性

農林水産省 消費・安全局

O R5輸出環境整備推進委託事業(次世代シーケンサーによるノロウイルス 遺伝子の性状解析)で、R3年度の水準調査で得られた検体についても同様 のノロウイルス遺伝子型の網羅解析を行う予定。

さらに、今回のR2年度検体で得られた結果と合わせて、各海域で検出される遺伝子型の傾向について可能な範囲で解析し、産地に個別返却予定。

〇 今後、農林水産省の事業においてNoV低減対策の検討に係る試験研究を 行う際や、各産地においてNoV低減対策の導入や条件検討のための試験研 究を行う際に、今回や今後の結果も考慮して人為汚染力キの作成に用いる NoV遺伝子型を選択し、NoV低減効果を検証できる可能性がある。

は林水産省 消費・安全局 /Food Safety and Consumer Affairs Bureau. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries