報 文

2016年から2017年の東京都におけるA型肝炎ウイルスの分子疫学的解析

(平成30年7月10日受理)

小田真悠子^{*,1} 宗村佳子¹ 永野美由紀¹ 木本佳那¹
奥津雄太² 新開敬行¹ 貞升健志¹

Molecular Epidemiological Analysis of Hepatitis A Viruses Circulating in Tokyo, 2016–2017

Mayuko ODA^{*,1}, Yoshiko SOMURA¹, Miyuki NAGANO¹, Kana KIMOTO¹,
Yuta OKUTSU², Takayuki SHINKAI¹ and Kenji SADAMASU¹

¹ Tokyo Metropolitan Institute of Public Health: 3–24–1 Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169–0073, Japan;

² Tokyo Food Sanitation Association, Food Research Laboratory: 1–19–10 Tokumaru, Itabashi-ku, Tokyo 175–0083, Japan;

*Corresponding author

Hepatitis A virus (HAV) is a common infectious agent that causes acute hepatitis worldwide. Since the incubation period of HAV infection is about one month, it is difficult to identify the source of infection based only on medical interviews. Molecular epidemiological analysis of HAV isolated from patients can help to reveal the infection route and to identify diffuse outbreaks caused by common food vehicles. In the present study, samples were collected from 108 cases notified to the active epidemiological investigation system in Tokyo between 2016 and 2017. Samples found to be HAV-positive by semi-nested RT-PCR were subjected to sequencing and phylogenetic analysis; the results were analyzed together with the epidemiological data. HAV was detected in 99 out of 108 cases. Phylogenetic analysis showed that the 99 HAV strains were divided into 91 of genotype IA, two of IB, and six of IIIA. The 91 HAV strains typed as IA were further divided into four main lineages, IA-1, IA-2, IA-3, and IA-4, each with a unique epidemiological background. Our nucleotide sequence database of HAV and epidemiological background data will be helpful to investigate sources of infection and the epidemiology of hepatitis A cases in the future.

(Received July 10, 2018)

Key words: A型肝炎ウイルス hepatitis A virus; 遺伝子型 genotype; 系統樹解析 phylogenetic analysis

はじめに

A型肝炎ウイルス (HAV) の遺伝子型はIからVIに分類され, そのうち遺伝子型IからIIIがヒトに感染することが知られている。また, 遺伝子型IからIIIはサブタイプAとBに亜分類され, これらは地理的分布と密接に関連している^{1),2)}。

日本におけるA型肝炎の発生は, 以前は1月から5月に多いという季節性が認められていた。しかし, 2004年以降, 患者数の減少とともに, その季節性は患者の多い年に限られるようになった³⁾。HAVに感染すると, 発熱, 倦怠感に続き腹痛, 黄疸などの急性肝炎症状を呈し, 多くは

1~2か月で回復し慢性化しない。しかし長期の入院などによる社会生活への影響は少なくない。また, 高齢者の感染では劇症化しやすいため注意が必要とされる。

HAVの感染は主に汚染された水や食品を介した糞口経路によるものである。わが国における食中毒事例としては2000年以降8事例の報告があり, 主な発生原因は調理従事者による二次汚染や二枚貝の喫食である。このうち2事例は都内で発生している⁴⁾。最近では, 2017年に長野県において調理従事者を介した食中毒事例が報告されている⁵⁾。また, 注射器による薬物使用者 (以下IDU; injecting drug use) や男性同性間の性的接触 (以下MSM; men who have sex with men) 関連の感染も報告されている¹⁾。

近年では大規模な集団発生は見られなくなりほとんどが散发事例であるが, 時折小規模な集団発生が報告されている⁶⁾。A型肝炎の潜伏期間は約1か月と長く, 聞き取りに

* 連絡先 Mayuko_Oda@member.metro.tokyo.jp

¹ 東京都健康安全研究センター:

〒169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

² 一般財団法人 東京都食品衛生協会 東京食品技術研究所:

〒175-0083 東京都板橋区徳丸1-19-10

よる感染源調査が困難なことから、散発事例の感染経路は不明として処理される場合が多い。これらの感染経路の解明や広域集団発生の確認を行うためには、患者検体から検出されたウイルス株の分子疫学的解析が有用であるとされている^{7),8)}。これまでも食中毒の疑われる事例が発生した際には、原因究明の判断材料として遺伝子検査が用いられてきた^{4),5),9)}。

A型肝炎は感染症法において4類感染症に分類され、無症状病原体保有者を含む全数把握対象疾患として届出が義務付けられている。都内の患者報告数は例年20例から50例程度で推移していたが、2016年は65例、2017年は64例と連続して多発しており、患者報告数は増加傾向にある。しかし、これらの多くは原因の特定できない散発事例として処理されている。東京都健康安全研究センター（以下センター）では、2010年4月以降、感染症法に基づく積極的疫学調査として、確保したA型肝炎患者検体についてHAVの遺伝子検査を実施し、遺伝子型の動向把握に努めている¹⁰⁾。今回、2016年から2017年までの2年間にセンターへ搬入された検体について、HAV遺伝子の検出と遺伝子型別を実施し、疫学情報を含めた解析から事例間の関連性や感染経路などについて検討を行ったので報告する。

実験方法

2016年1月から2017年12月の2年間に都内医療機関においてA型肝炎と診断された129例のうち、積極的疫学調査としてセンターに搬入された患者検体108例（2016年：55例、2017年：53例）を対象とした。検体の内訳は血清102件、血液2件、糞便4件である。また、患者の疫学情報については保健所からの積極的疫学調査票および感染症サーベイランスシステム（NESID）から収集した。

HAV遺伝子の抽出は、厚生労働省通知^{*1}に従い実施した。HAVのVP1/2A領域を含む配列を標的とするプライマー¹¹⁾を使用し、OneStep RT-PCR Kit（QIAGEN）を用いてRT-PCRを実施した（1stPCR）。陰性だったものについては1stPCR産物を材料とし、Takara EX Taq（Takara）を用いてsemi-nested PCRを行った。PCR産物はdirect sequencing法により塩基配列を決定し、得られた配列（568塩基）について、遺伝子解析ソフトMEGA7を用い近隣結合（Neighbor-Joining: NJ）法による分子系統樹を作成した。樹形の信頼性に関してはブートストラップ法を用いて確認を行った。また、得られた配列の一部はGene BankにAccession No. LC388409からLC388416として登録した。

*1「A型肝炎の検出法について」（平成21年12月1日付け職安監発1201第1号）

結 果

1. 疫学情報

検査を実施した108例に付随する患者の疫学情報は以下のとおりであった。

1) 報告時期

2016年、2017年ともに春先に報告が多く、ピークは3月であった（Fig. 1）。

2) 性別年齢分布

108例中65例（60%）は男性、43例（40%）は女性であった（Table 1）。男性は30代（19例）、女性は50代（9例）が最も多く、患者の平均年齢は45歳であった。

3) ワクチン接種歴

108例中63例はワクチン接種歴がなく、残りの45例は不明（無記載を含む）であった（Table 1）。

4) 推定感染地および感染経路

108例の推定感染地は国内が70例、国外が30例、不明（疫学情報から国内外を特定できない例を含む）が8例であった（Table 2）。国外の主な推定感染地はフィリピン5例、台湾4例、カンボジア3例、中国3例であった。

国内感染疑い70例の感染経路の内訳は、食品等の摂取による感染疑い50例、性的接触による感染疑い8例、家族内感染疑い2例、食品等の摂取または性的接触による感染疑い1例、不明9例であった。国外感染疑いは食品等の摂取による感染疑い28例、不明2例であった。感染地不明は食品等の摂取による感染疑い3例、食品等の摂取または性的接触による感染疑い3例、不明2例であった。

食品等の摂取による感染疑い全81例のうち44例（54.3%）は原因食品が不明であった。疫学情報に推定原因食品の記載があったのは37例で、そのうち31例（83.8%）にはカキ等の二枚貝や海産物が挙げられていた（複数回答は1例として計上）。このほか、渡航先の水やコナッツジュース、さらに、アレルギー治療のためフィリピンで便から採取された回虫卵を取り寄せ、定期的に摂取しているという特殊な背景を持つ事例もあった。

2. HAV遺伝子の検出と遺伝子型

108例中99例（91.7%）、年別では2016年94.5%（52/55）、2017年88.7%（47/53）からHAV遺伝子が検出された。これらの遺伝子型はIAが91例と最多で、IBが2例、IIIAが6例であった。

3. 疫学および系統樹解析

HAV遺伝子が検出された99例についてVP1/2A領域を含む568塩基に基づき系統樹解析を実施した結果、今回最も多く検出されたIAの91例中78例は同一亜型内で4つの単系統を形成した（Fig. 2）。これらのうち2系統は、石井らが報告¹²⁾しているIA-1、IA-2と一致したため、今回新たに認められた2系統について、本報ではIA-3、IA-4とした。

今回検出されたIAの91例中51例はIA-1に分類された。2014年に日本の広域で流行した株（AB973401）を含むこのクラスターは、わが国に常在する型である可能性が示

Fig. 1. Monthly reported numbers of acute hepatitis A cases, 2016–2017, in Tokyo

Table 1. Age distribution, sex, and vaccination history of acute hepatitis A cases ($n = 108$)

		Age groups (Year)										Total
		0–9	10–19	20–29	30–39	40–49	50–59	60–69	70–79	80–90	>90	
Sex	Male	0	2	10	19	11	9	8	3	3	0	65
	Female	0	3	7	7	8	9	5	1	3	0	43
Vaccination history	Not vaccinated	0	3	10	12	11	15	7	3	2	0	63
	Unknown	0	2	7	14	8	3	6	1	4	0	45

Table 2. Suspected infection routes of acute hepatitis A cases analyzed in this study

Suspected infection route		Domestic cases	Imported cases	Domestic or imported cases	Total
Water- and food-borne transmission		50	28	3	81
	Oyster	*12	*3	*3	*18
	Clam	*8	1	0	*9
	Other shellfish	*4	0	0	*4
	Fishery products	*8	*2	*1	*10
	Other	*4	4	*1	*9
	Unknown	25	19	0	44
Sexual transmission		8	0	0	8
	Homosexual	7	0	0	7
	Heterosexual	1	0	0	1
Water- and food-borne or sexual transmission		1	0	3	4
	Oyster, Homosexual	1	0	1	2
	Oyster, Heterosexual	0	0	2	2
Household contact		2	0	0	2
Unknown		9	2	2	13
Total		70	30	8	108

“*” When two or more food items were reported for notification, they were listed in each food category.

Fig. 2. Neighbor-Joining phylogenetic tree of 568 nucleotide sequences in the VP1/2A junction region of hepatitis A virus strains in Tokyo, 2016–2017

For each sequence of 99 isolates from this study, the reported year (16: 2016, 17: 2017), the reported week and the sequence ID are indicated after the suspected transmission routes indicated by symbols (●: water- and food-borne transmission, ▲: sexual transmission, ◆: household contact, No symbol: the source of infection is unknown) and accession number for DDBJ in brackets. Reference strains are shown in bold italic as accession number followed by detection. Bootstrap values less than 70 are not presented.

Fig. 3. Monthly detection numbers of the strains clustered in three different groups (groups, 1, 2, and 3) of IA-1 HAV subtype detected from acute hepatitis A patients. “Jan-16” for example shows January in 2016

唆されている⁶⁾。さらにこの系統内で塩基配列が100%一致するグループが3つ（グループ1～3）認められた（Fig. 2）。

グループ1は2016年5月～2017年12月にかけて、特に2017年以降の3月から6月に集中して検出された（Fig. 3）。グループ1が検出された患者21例中18例は国内感染疑いで、そのうち13例は食品等の摂取による感染疑いであった。ほか3例はドイツ、中国、香港、スペインへの渡航歴があり、そのうち2例は食品等の摂取による感染疑い、1例は食品等の摂取または異性間性的接触による感染疑いであった。

グループ2は2017年3月～8月にかけて、特に3月に集中して検出された（Fig. 3）。グループ2が検出された患者9例中7例は国内感染疑いで、そのうち6例は食品等の摂取による感染疑いであった。ほか1例は韓国への渡航歴および国内でカキの喫食歴があった。

グループ3は2016年2月～4月にかけて集中して検出された（Fig. 3）。グループ3が検出された患者8例中5例は国内感染疑いで、そのうち3例は食品等の摂取による感染疑いであった。ほか3例の患者は中国や台湾への渡航歴があり、そのうち1例は現地においてカキや海産物の喫食歴があった。家族内感染疑いの1例は、家族内で最初のA型肝炎患者（食品等の摂取による感染疑い）が報告された5週間後に発症し、両者から検出されたHAVは系統樹解析の結果どちらもこのグループに属した。

IA-2は10例の患者から検出された（Fig. 2）。2010年流行株が属するこの系統は、フィリピンで検出されているHAVとの関連が強く示唆されており¹²⁾、今回IA-2が検出された患者のうち5例にフィリピンへの渡航歴が認められた。ほか3例にはインドネシア、マレーシア、ベトナム、ハワイへの渡航歴があり、1例は渡航先不明であった。これらの渡航歴がある患者9例中3例は現地で水や二枚貝を摂取していた。また、1例のみ国内感染疑い患者由来で

あったが、この患者はアレルギー治療のためにフィリピンから取り寄せた回虫卵を摂取していた。

IA-3は11例の患者から検出され、そのうち9例のHAVは塩基配列が100%一致した（Fig. 2）。11例中7例に同性間の性的接触歴が認められ、この中の1例を含む4例に台湾への渡航歴があった。また、これらの塩基配列は、2015～2016年に台湾のMSM間でA型肝炎が流行した際に検出されたKX151459と、99.8～100%一致した。

IA-4は6例の患者から検出され、塩基配列は100%一致した（Fig. 2）。報告時期は2016年4月～8月で、いずれも国内感染疑い患者由来であった。

IBが検出された2例の患者には共に海外渡航歴が認められた。1例は南アフリカ共和国、1例は発症2か月前にカンボジア、ベトナム、1か月前にエジプトへ渡航していた。

IIIAに分類された6例のHAVは、およそ20塩基の違いから、インドまたはネパールへの渡航歴がある患者由来と海外渡航歴がない患者由来の2つの系統に分かれた（Fig. 2）。前者はインド検出株を含む系統、後者は2011年の韓国流行株や2014年に日本の東北地方で流行した株が属する系統に分類された。

考 察

日本で最も多く検出されるA型肝炎ウイルスの遺伝子型はIAで、世界的にも南北アメリカ、ヨーロッパ、アジア、アフリカなど、広い地域に分布している^{2),14)}。このほか、IBは中東^{15),16)}や南アフリカ¹⁷⁾、IIIAはアジアやヨーロッパ、アメリカで検出されている^{1),14)}。

今回東京都で検出されたHAVについて系統樹解析を実施した結果、IAには4つ（IA-1～4）の単系統、さらにIA-1には3つのグループが存在し、それぞれに共通する疫学的背景が明らかとなった。Nainanらはアメリカ合衆国で検出されたIAについて、系統樹上で分類された3つの

系統が、それぞれ渡航先、IDU、MSMなどのリスク因子と関連し、感染とその広がりとはそうした共通の疫学的背景を持つ集団内に局限していたことを報告している¹⁸⁾。3つの系統に関しては検出株の塩基配列が公開されていないため、今回の検出株との比較はできなかった。

IA-1が検出された患者に共通する疫学的特徴は、国内での食品等の摂取による経口感染疑いが多いことであった。一部には渡航歴があり、その渡航先はアジア諸国が多く、ヨーロッパ諸国も少数認められた。また、2016年にはIA-1のグループ3、2017年にはグループ1および2が、1月から6月にかけて偏って検出された。Tsatsralt-Odらは系統樹解析結果と患者の地理的な疫学情報を関連付け、IAについて、アジアとそれ以外の地域で検出される系統に細分類している¹⁹⁾。IA-1に属する2014年に日本の広域で流行した株（AB973401）は前者のアジアで検出される系統に分類された。さらにこの株が属する系統は過去の報告から日本に常在すると推定されている⁶⁾。以上のことから、IA-1に属する株は、国内またはアジア地域における流行が強く疑われた。さらに、解析領域の塩基配列が100%一致する事例に時期的な偏りが認められたことから、国内において春先に流通する同一汚染源を介した感染の可能性が示唆された。特にグループ2は2017年3月に食中毒事例特有の一峰性の増加が認められたが、共通の疫学的特徴を見いだすことはできなかった。グループ2以外についても、詳細な疫学情報は不明であり原因の特定には至らず、食中毒事例として扱われなかった。

食中毒事例として調査が開始された場合、分子疫学的解析は原因究明の手段として非常に有効である。しかし、広域流通食品を原因とする場合、喫食時期や場所は個人により異なる。さらに潜伏期間が長いことから、患者数が特別多くない限り原因不明の散发事例として処理されてしまう可能性が高い。この際に行われる分子疫学的解析では、患者検体のHAV遺伝子を比較することによって事例間の関連性を推定することが可能であるが、結果判明時には原因食品の喫食からかなりの時間が経過している。このため原因の特定には至らず、共通の汚染源が存在していた可能性についての議論に終始してしまう。そこで、食中毒の原因究明、特に広域流通食品を原因とするものについては、患者検体の検査だけでなく、原因としてリスクの高い食品のHAV汚染のモニタリング調査などについても考えていかなければならない。今回、疫学調査による推定原因食品として多く記載されていたのはカキ等の二枚貝や海産物であった。このうちカキは過食性の二枚貝の中でも生食が好まれることから、HAVに汚染されていた場合の感染リスクは高く、全国へと広域に流通する食品かつ季節性もあるため、汚染実態について継続的に調査する意義は大きいと思われる。また、2016年にはハワイにおいて、フィリピンから輸入されたイタヤガイによる食中毒事例が発生しており^{*2)}、こうしたHAV常在国から輸入される生食用鮮魚介類や二枚貝等についても同様である。さらに欧米で

は、HAV常在国から輸入された野菜や果実による大規模なA型肝炎食中毒事例が複数報告されており^{20),21)}、このような非加熱で摂取する海産物以外の食品についても、感染原因として今後注意を払うべきである。

IA-2は分子疫学的解析から東南アジア、特にフィリピンの流行株と強い関連性を示した。過去の報告でもフィリピン流行株との関連が強く示唆されている¹²⁾。今回疫学情報から海外感染が疑われた中で、最も多い渡航先はフィリピンであった。フィリピンを含む東南アジア諸国は日本から近く、海外旅行先として人気である。しかし、HAV感染リスクの高い地域の1つであり、渡航の際にはワクチン接種が推奨されている。今回IA-2が検出された患者の一部には、現地における生水や二枚貝の摂取といった感染リスクの高い行為が認められた。旅行者に対してワクチン接種を推奨するだけでなく、HAV流行地でのこうした行為は慎むよう今後も地道に啓発していく必要がある。

IA-3が検出された患者に共通する疫学的特徴は台湾への渡航歴および同性間性的接触であった。同性間性的接触によるA型肝炎の流行は1970年代以降、世界中でたびたび確認されており、日本でも1998～1999年に発生している^{22),23)}。最近では2015～2016年に台湾²⁴⁾、2016～2017年にヨーロッパ各地で大規模な流行が確認されている^{*3)}。このヨーロッパで流行したHAVのうち、R1VM-HAV16-090の塩基配列は台湾で流行した株と一致している¹³⁾。また、今回の系統樹解析結果では、IA-3が台湾のMSM間における流行株と同じ系統に属していたことから、一連の流行が同一株由来である可能性が示唆された。2012年以降にセンターで得られたHAVの塩基配列データを解析すると、IA-3は2016年に初めて、台湾渡航中に同性間性的接触歴のある患者から検出されている。その後、台湾への渡航歴という共通の疫学情報を持つ患者からの検出が続き、2017年以降は同性間性的接触歴がある国内感染疑い患者からの検出が増加した。今回IA-3が検出された患者のうち1例は、渡航歴や同性間性的接触歴等の情報がなかった。引き続き、詳細な疫学情報を集積していく必要がある。

IA-4が検出された患者の疫学情報から得られた共通点は、いずれも国内感染という点のみであった。類似株（AB020564）は上述のTsatsralt-Odらの分類によるとアジア地域のIAとされており¹⁹⁾、系統樹解析からも国内感染が疑われた。IA-4の検出は2016年4月～8月にかけて散発的であり、同様に国内感染が疑われるIA-1とは検出時期やパターンが異なっていた。このことから、疫学調査では明らかになっていない、IA-1とは異なる共通の感染源の存在が示唆された。

*2) <http://health.hawaii.gov/docd/hepatitis-a-outbreak-2016/>

*3) https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/RRA%20hep%20A%20outbreak%20EU%20EEA%20in%20MSM%20third%20update%2028%20June%202017_0.pdf

これら以外の IA が検出された 13 例については、系統樹解析結果と疫学情報の関連性を見出すことができなかった。

IB と IIIA は渡航先とサブタイプが大きく関連しており、今回の系統樹解析結果によって疫学情報から推定される感染地が裏付けられた。

IB の検出は日本では珍しく、これまでの報告の多くは中東や南アフリカでの検出となっている^{15)~17)}。IB の患者 2 例はそれぞれ渡航先での感染が示唆された。

IIIA が検出された患者 6 例中 4 例には海外渡航歴があった（インド 1 例、ネパール 2 例、インドおよびタイ 1 例）。この 4 例から検出された HAV は、系統樹上でインドの株を含む系統に属した。インドにおいては IIIA が主流の遺伝子型となっており^{25)~27)}、ネパールは地理的にインドと接している。渡航歴のない患者由来の 2 例は、上述とは異なる 2011 年の韓国流行株や 2014 年に東北地方で流行した株が属する系統に分類されたことから、国内での感染が示唆され、国内感染疑いという患者情報とも一致した。

A 型肝炎は潜伏期間が長いことやその他複数の要因が影響するため、感染源や感染経路の特定は医師の問診や疫学調査による情報収集だけでは限界がある。しかし今回、疫学情報と遺伝子解析結果を組み合わせることによって、散発事例間の関連性や感染に関与する因子の存在等の事象を明らかにすることができた。さらに今回の解析で得られた HAV のシーケンズデータおよびそれらが検出された患者の疫学的背景に関する情報は、今後新たに A 型肝炎患者が発生した場合の感染源や感染経路を推定するための科学的根拠としての活用が期待できると考えられた。しかし、未だ不明な点は数多く残されており、原因究明のためには更に詳しい疫学情報の収集や継続的な汚染実態調査が必要である。

2003 年の調査では、日本の 40 歳未満の抗 HAV 抗体保有率はほぼ 0% であった²⁸⁾。すでに 15 年が経過していることから、現在のわが国における抗体保有率はより一層の低下が予想され、国内流行はいつ起きても不思議ではない。さらに抗体非保有者の高齢化によって、重症化のリスクも年々高まっている。A 型肝炎の流行を常態化させないためにも、発生の早期探知、情報の共有化、普及啓発、手洗い、ワクチン接種等の重要性に関する働きかけは急務である。今後も引き続き、HAV 遺伝子の動向把握と検査データの収集および流行株の解析等に取り組み、発生予防・感染拡大防止に努めていかなければならない。

倫理規定

本研究は東京都健康安全研究センター倫理委員会の承認を得ている。

文 献

- 1) Vaughan, G. *et al.* Hepatitis A virus: Host interactions, molecular epidemiology and evolution. *Infect. Genet.*

- Evol.*, **21**, 227–243 (2014).
- 2) Costa-Mattioli, M. *et al.* Genetic variability of hepatitis A virus. *J. Gen. Virol.*, **84**, 3191–3201 (2003).
- 3) A 型肝炎 2010 年～2014 年 11 月 現在. *IASR*, **36**, 1–2 (2015).
- 4) 新開敬行他. 東京都内で発生した A 型肝炎ウイルスによる食中毒 2 事例について. *東京健安研セ年報*, **54**, 36–39 (2003).
- 5) 小林広記他. 長野県における A 型肝炎の集団発生について. *IASR*, **39**, 25–26 (2018).
- 6) Ishii, K. *et al.* Epidemiological and genetic analysis of a 2014 outbreak of hepatitis A in Japan. *Vaccine*, **33** (45), 6029–6036 (2015).
- 7) Bruni, R. *et al.* Hepatitis A virus genotypes and strains from an endemic area of Europe, Bulgaria 2012–2014. *BMC Infect. Dis.*, **17**(1), 497 (2017). doi: 10.1186/s12879-017-2596-1.
- 8) 石井孝司. A 型肝炎の現状. *臨床検査*, **59**, 1358–1364 (2015).
- 9) Bruni, R. *et al.* Key role of sequencing to trace hepatitis A viruses circulating in Italy during a large multi-country European foodborne outbreak in 2013. *PLOS ONE*, **11**(2), e0149642 (2016). doi: 10.1371/journal.pone.0149642.
- 10) 長島真美他. 東京都内における A 型肝炎ウイルスの検出状況 (2014 年). *IASR*, **36**, 5–6 (2015).
- 11) 石井孝司他. A 型肝炎検査マニュアル通知法のリアルタイム PCR による広域株の偽陰性の可能性について. *IASR*, **36**, 7–8 (2015).
- 12) Ishii, K. *et al.* Epidemiological and genetic analyses of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. *J. Clin. Virol.*, **53**(3), 219–224 (2012).
- 13) Freidl, GS. *et al.* Hepatitis A outbreak among men who have sex with men (MSM) predominantly linked with the EuroPride, the Netherlands, July 2016 to February 2017. *Euro. Surveill.*, **22**(8), pii: 30468 (2017). doi:10.2807/1560-7917.ES.2017.22.8.30468.
- 14) Nainan, OV. *et al.* Diagnosis of hepatitis A virus infection: a molecular approach. *Clin. Microbiol. Rev.*, **19**(1), 63–79 (2006).
- 15) Nejati, A. *et al.* Molecular epidemiology of hepatitis A virus in patients in the Ahwaz region of Iran. *J. Med. Virol.*, **84**(4), 582–586 (2012). doi: 10.1002/jmv.23238.
- 16) Normann, A. *et al.* Acute hepatitis A virus infection in Turkey. *J. Med. Virol.*, **80**(5), 785–790 (2008).
- 17) Taylor, MB. Molecular epidemiology of South African strains of hepatitis A virus. *J. Med. Virol.*, **51**(4), 1982–1996 (1997).
- 18) Nainan, OV. *et al.* Hepatitis A molecular epidemiology in the United States, 1996–1997: Sources of infection and implications of vaccination policy. *J. Infect. Dis.*, **191** (6), 957–963 (2005).
- 19) Tsatsralt-Od, B. *et al.* Molecular analysis of hepatitis A virus strains obtained from patients with acute hepatitis A in Mongolia, 2004–2013. *J. Med. Virol.*, **88**, 622–630 (2016).
- 20) Hepatitis A outbreak associated with green onions at a restaurant—Monaca, Pennsylvania, 2003. *MMWR*, **52**

- (47), 1155–1157 (2003).
- 21) Tavoschi, L. *et al.* Food-borne diseases associated with frozen berries consumption: a historical perspective, European Union, 1983 to 2013. *Euro. Surveill.*, **20**(29), 21193 (2015).
- 22) Kuan-Yin, L. *et al.* Hepatitis A virus infection and hepatitis A vaccination in human immunodeficiency virus-positive patients: A review. *World J. Gastroenterol.*, **23**(20), 3589–3606 (2017).
- 23) 武市朗子他. 男性同性愛者における急性A型肝炎の流行についての検討. *感染症誌*, **74**(9), 716–719 (2000).
- 24) Chen, G. J. *et al.* Incidence of acute hepatitis A among HIV-positive patients during an outbreak among MSM in Taiwan: Impact of HAV vaccination. *Liver Int.*, **38**(4), 594–601 (2018). doi: 10.1111/liv.13468.
- 25) Arankalle, VA. *et al.* Molecular characterization of hepatitis A virus from a large outbreak from Kerala, India. *Indian J. Med. Res.*, **123**(6), 760–769 (2006).
- 26) Chobe, LP. *et al.* Investigation of a hepatitis A outbreak from Shimla Himachal Pradesh. *Indian J. Med. Res.*, **130**(2), 179–184 (2009).
- 27) Barde, M. K. *et al.* Circulation of hepatitis A genotype IIIA virus in paediatric patients in central India. *Indian J. Med. Res.*, **139**(6), 940–944 (2014).
- 28) Kiyohara, T. *et al.* Shifting seroepidemiology of hepatitis A in Japan, 1973–2003. *Microbiol. Immunol.*, **51**(2), 185–191 (2007).