## 調査研究

# 学会・学術誌発表等

千葉市におけるA型肝炎ウイルスによる食中毒事例 について

横井 一、田中俊光、小林圭子、木原顕子、都竹豊茂、 中台啓二(千葉市環境保健研究所)

衛生微生物技術協議会 第32回研究会シンポジウム

要旨:2011年1月21日、4件のA型肝炎発生届が市内医 療機関から千葉市保健所にあり、同保健所は食品や井戸水 等の同一感染源を介した集団発生を疑い調査を開始した。 その後、複数の市内医療機関からA型肝炎発生届があり、 千葉市外を含めて患者数は合計49名となった。調査の結果、 患者49名は2010年11月下旬から12月下旬にかけて千葉 市内の飲食店(寿司店)を利用していたことが明らかとな り、保健所は当該寿司店を原因施設とする食中毒と断定し た。

保健所が採取した市内の患者33名の糞便検体についてリ アルタイム PCR 法による A 型肝炎ウイルス(HAV)遺伝 子の検出を行ったところ、全ての患者から HAV 遺伝子が検 出された。同様に寿司店の従事者34名の糞便検体について 遺伝子の検出を行ったところ、調理従事者2名及びフロア 従事者1名(その後の調査で本事件の患者であると認定さ れた)から HAV 遺伝子が検出された。HAV 遺伝子が検出 された寿司店の調理従事者2名のうち1名は2010年12月 19日から発熱や全身倦怠感等の症状を呈したことから、12 月22日に医療機関を受診し、同日に入院(後日A型肝炎と 診断)、2011年1月16日から再び調理に従事していた。

リアルタイムPCR法によってHAV遺伝子が検出された 市内の患者33名及び従事者3名についてVP1/2A領域の解析 を行ったところ、全てgenotype 1Aに分類され、2006年に 滋賀や新潟で小流行した株 (1A-NiigataC/2006J) と同じ クラスターに属していたことから、10年程度前から国内に 常在していた株であり、2010年に日本で広域的に流行した 株(1A-HAV-DE-2007/08-196)とは異なる株であると考え られた。また、本事例の株は2010年6月に千葉市内での散発 事例から検出された1株とは異なる塩基配列を有していた。 以上の結果から、本事例では2名の調理従事者による食品の 直接的な汚染、あるいは調理従事者によって汚染された調 理施設等を介した食品の汚染が強く示唆された。A型肝炎の 潜伏期間は長く(本事例においても平均32.6日)、感染源 や感染経路の特定が極めて困難である。従って、患者や調 理従事者から検出されたHAVの分子疫学的解析が疫学調査 等の方向性を左右する重要な情報(ウイルス株間の関連性 や感染地域の推定)となり、原因究明や感染拡大の防止に 貢献するものと考えられた。

#### 学会等発表

千葉市内におけるウイルス性胃腸炎の流行状況について

小林圭子、田中俊光、横井 一、木原顕子、都竹豊茂、 中台啓二(千葉市環境保健研究所)

全国公衆衛生獣医師協議会 平成 23 年度調查研究発表会

要旨:ウイルス性胃腸炎の主な原因ウイルスとして、ノロ ウイルス(NV)、サポウイルス(SaV)、アストロウイルス (AstV)、A群ロタウイルス(ARV)、アデノウイルス(AdV) 等が挙げられる。今回我々は、2004年1月から2010年12 月における胃腸炎の散発例についてウイルスの検索を実施 し、原因ウイルスの流行状況等について検討した。

市内医療機関等において採取された胃腸炎患者の糞便、 または直腸ぬぐい液等 478 検体についてウイルスの検索を 実施した結果、2009 年を除き、NVG が最も多く検出さ れた。2009 年は検査検体数が 21 検体と少なかったが、新 型インフルエンザが流行した年でもあり、手洗い・うがい などの予防対策が取られていたために胃腸炎の発症が少な かったものと推察される。NVG の遺伝子型はG /4 が最 も多く、次いで G /3、G /2 の順であった。2010 年は G /2、G /3 の増加傾向が認められたが、2009/10 シーズ ン(2009 年 9 月 ~ 2010 年 8 月)はG /2 の検出が急増し たこと、及び 2010 年以降、市内における集団感染事例はそ の殆どが G /3 であることから、今後の NV の遺伝子型の 調査継続が重要である。

ARV は月別では1月から4月にかけて検出数が多く、 2009年を除き、いずれの年もNVG に次いで多く検出さ れた。検出率に大きな変化は認められず、全国的な傾向と 一致していた。しかし、わが国でもARV ワクチンの承認申 請がなされており、今後導入された場合、ARV の流行状況 等が変化する可能性もあるため、今後も検索を継続し、動 向を監視する必要がある。

SaV 及び AdV の検出率は高くないが、年間を通じて散 発的に発生し、特に AdV は他のウイルス検出が減少する夏 季に検出されたことから、年間を通して感染予防に注意が 必要であると思われる。AstV は胃腸炎が流行する冬季から 春季にかけて検出された。今回の調査における検出率は低 いが、乳幼児のみならず、免疫力が低下した高齢者におけ る集団感染の報告もあることから、継続的な検索が必要と 思われる。今回の調査で混合感染している検体が 31 検体検 出され、NVG とARV の混合感染が最も多く検出された。 その他にも様々な組み合わせによる混合感染が認められ た。このことは、ウイルス性胃腸炎については、NV だけ ではなく、その他の下痢症ウイルスも同時に検索すること の重要性を示唆している。

## 千葉市内の1小児科クリニックにおける重症呼吸器 ウイルスの検出状況

田中俊光、横井 一、小林圭子、木原顕子、都竹豊茂、 中台啓二(千葉市環境保健研究所)

平成23年度関東・東京合同地区獣医師大会・三学会

要旨:重症呼吸器感染症に関与するウイルスの流行状況を 把握するために、2009年1月から2010年12月までの間 に、千葉市内の1小児科クリニックで下気道炎と診断され た89名の患者、およびRSV感染症と診断された56名の患 者の計145名から採取した鼻汁を検体とし、RSV、HRV、 hMPV、HBoVの遺伝子検出を実施した。また、ウイルス 分離を目的にVero-E6、HEp-2、RD-18S、CaCo-2、MDCK 細胞に検体上清を接種し、RSV 特有のCPE(合胞形成)が 確認された検体については、G蛋白領域を標的とした RT-PCRを実施した。(RT-)PCR 産物はダイレクトシーク エンス法により塩基配列の決定し、得られた配列について は既知のウイルスとの相同性を確認するとともに、培養上 清に対して行った RSV の RT-PCR で得られた塩基配列に ついては分子系統樹を作成した。

検査を実施した 145 検体のうち、複数のウイルスが検出 されたものも含め、臨床検体からの直接(RT-)PCR とウ イルス分離で、117 検体(80.7%)からウイルスが検出され た。各ウイルスの検出数(率)は、RSV が 72 検体(49.7%) HRV が 36 検体(24.8%) hMPV が 8 検体(5.5%) HBoV が 8 検体(5.5%) アデノウイルスが 4 検体(2.8%) コ クサッキーウイルスが 1 検体(0.7%) 単純ヘルペスウイ ルスが 1 検体(0.7%)であった。培養細胞に RSV 特有の CPE が認められたものは 24 検体で、培養上清の RT-PCR の結果、サブグループA が 13 検体、サブグループB が 10 検体、サブグループA とB の両方が 1 検体から検出された。

下気道炎と診断された89名からHRVが32検体(36.0%) と最も多く検出され、一般に症状が軽いと考えられていた 一方で、小児において肺炎や気管支炎などを引き起こす公 衆衛生上重要なウイルスであることが示唆された。次に検 出数が多かったのはRSVであったが、検出された20検体 (22.5%)のうち、17検体がサブグループAで、サブグル ープBに比べて優位であった。2年間にわたり、1小児科 クリニックにおいて検出される重症呼吸器ウイルスを調査 することにより、地域での流行状況を把握することができ た。しかし、重症呼吸器ウイルスの全体像を明らかにする には、更なる調査が必要と考えられ、今後、パラインフル エンザウイルスなどの他のウイルスの検査項目を加え、解 析していくことが重要であると考えられた。

## 学会等発表

## A型肝炎ウイルスによる食中毒事例について (千葉市)

横井 一、田中俊光、小林圭子、木原顕子、都竹豊茂、 中台啓二 (千葉市環境保健研究所)

平成 23 年度 (第 26 回)地研全国協議会 関東甲信静支部ウイルス研究部会

要旨:2011年1月21日、4件のA型肝炎発生届が市内医 療機関から千葉市保健所にあり、同保健所は食品や井戸水 等の同一感染源を介した集団発生を疑い調査を開始した。 その後、複数の市内医療機関からA型肝炎発生届があり、 千葉市外を含めて患者数は合計49名となった。

調査の結果、患者49名は2010年11月下旬から12月下 旬にかけて千葉市内の飲食店(寿司店)を利用していたこ とが明らかとなり、保健所は当該寿司店を原因施設とする 食中毒と断定し、2011年1月28日~1月30日までの3日 間の営業停止処分とした。

保健所が採取した市内の患者 33 名の糞便検体について リアルタイム PCR 法による A 型肝炎ウイルス (HAV)遺 伝子の検出を行ったところ、全ての患者から HAV 遺伝子が 検出された。

同様に寿司店の従事者 34 名の糞便検体について遺伝子 の検出を行ったところ、調理従事者2名及びフロア従事者1 名(その後の調査で日頃から当該寿司店の寿司を喫食して いたことが判明し、本事件の患者であると認定された)か ら HAV 遺伝子が検出された。

HAV遺伝子が検出された寿司店の調理従事者2名のうち 1名は2010年12月19日から発熱や全身倦怠感等の症状を 呈したことから、12月22日に医療機関を受診し、同日に 入院(後日A型肝炎と診断)、2011年1月16日から再び 調理に従事していた。

リアルタイムPCR法によってHAV遺伝子が検出された 市内の患者33名及び従事者3名についてVP1/2A領域の解析 を行ったところ、全てgenotype 1Aに分類され、2006年に 滋賀や新潟で小流行した株(1A-NiigataC/2006J)と同じ クラスターに属していたことから、10年程度前から国内に 常在していた株であり、2010年に日本で広域的に流行した 株(1A-HAV-DE-2007/08-196)とは異なる株であると考え られた。また、本事例の株は2010年6月に千葉市内での散発 事例から検出された1株とは異なる塩基配列を有していた。

以上の結果から、本事例では2名の調理従事者による食品 の直接的な汚染、あるいは調理従事者によって汚染された 調理施設等を介した食品の汚染が強く示唆された。

## 寿司店を原因施設とするA型肝炎ウイルス食中毒 事例

田中俊光<sup>1</sup>、横井一<sup>1</sup>、小林圭子<sup>1</sup>、木原顕子<sup>1</sup>、都竹豊茂<sup>1</sup>、 中台啓二<sup>1</sup>、大山照雄<sup>2</sup>、西村正樹<sup>2</sup>、山本一重<sup>2</sup>、野田衛<sup>3</sup> (1千葉市環境保健研究所、2千葉市保健所、3国立医薬 品食品衛生研究所)

#### 第32回日本食品微生物学会学術総会

要旨: 平成23年1月21日から2月10日までの間に市内の9医療機関から計46件のA型肝炎発生届けが出され、保健所の調査により40名が同一の市内寿司店を利用していることが判明した。このうちの患者便33検体、寿司店従事者便34検体、寿司店ふきとり6検体、参考食材5検体についてHAVのリアルタイムPCRを実施し、遺伝子が検出された検体についてはPCRを行い、ダイレクトシークエンス法により塩基配列を決定した。

患者便 33 検体と寿司店従事者便 3 検体から HAV 遺伝子 が検出された。計 36 検体の塩基配列の解析の結果、患者便 2 検体に 1 塩基の置換がみられたが、34 検体の塩基配列は 100%一致し 36 検体すべてが genotype A に分類された。 また、市外在住患者 7 名のうち 6 名 (千葉県 3 名、横浜市 1 名、東京都 1 名、茨城県 1 名)の検体の塩基配列につい ても完全に一致した。これらは平成 22 年 5 月に大阪で検出 された株、平成 22 年 11 月に長野市で検出された株とも一 致しているが、本市で平成 22 年 6 月に検出した散発例の株 とは異なった。

保健所の調査により本事例の患者は49名で、平成22年 11 月下旬から 12 月下旬にかけて当該寿司店を利用してい た。寿司店の利用日が特定できたのは 32 名で、うち 28 名 が12月16日から21日までの6日間に集中していた。HAV 遺伝子が検出された寿司店従事者のうち1名は、12月19 日に激しい倦怠感と脱力感を感じ、翌20日には黄疸等の症 状を呈しながらも、同月21日まで調理に従事していた。そ の後同月22日に医療機関を受診し、平成23年1月7日ま で入院加療となった。また、他の1名は11月21日から12 月9日までに倦怠感、微熱及び褐色尿を認めながらも調理 に従事していた。保健所は全ての患者が同一の寿司店を利 用し、患者に共通する食事は当該寿司店が平成22年11月 下旬から12月下旬に提供した寿司に限られていること、患 者及び調理従事者の便から HAV が検出されたこと、患者を 診察した医師から食中毒患者届出票が提出されたことか ら、当該寿司店を原因施設とする食中毒と断定した。A型 肝炎は潜伏期間が長く、感染源を特定することは極めて困 難な例が多いが、本事例は保健所の迅速な調査と衛生研究 所の速やかな検査対応で、探知から1週間で原因施設が判 明するに至った貴重な事例であると言える。

#### 学会等発表

# 千葉市における小児下気道炎患者から検出された呼吸器ウイルスの分子疫学

田中俊光<sup>1</sup>、横井 一<sup>1</sup>、野田雅博<sup>2</sup>、木村博一<sup>2</sup> (1千葉市環境保健研究所、2国立感染症研究所)

#### 第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会

要旨:千葉市内の小児下気道炎患者から検出された呼吸器 ウイルスの分子疫学的解析を目的とした研究を行った。 2009年1月から2010年12月までの間に、千葉市内の1 小児科医院で下気道炎と診断された89名、及びRSV感染 症と診断された56名の患者の計145名から採取した鼻汁を 検体とした。呼吸器ウイルス検出を目的とした(RT-)PCR は、RS ウイルス(RSV)、ライノウイルス(HRV)、メタ ニューモウイルス(HMPV)及びボカウイルス(HBoV) について実施した。

145 検体のうち、複数のウイルスが検出された症例を含め、114 検体(79%)からウイルスが検出された。各ウイルスの検出数(率)は、RSV が72 検体(50%) HRV が36 検体(25%) HMPV が8 検体(6%) HBoV が8 検(な6%)であった。下気道炎と診断された89 名からは HRV が32 検体(36%)と最も多く検出され、分子系統樹解析の結果、genogroup A が16 検体、B が16 検体であった。また、RSV が20 検体(23%)から検出され subgroup A が17 検体、B が3 検体であった。

下気道炎と診断された患者からは HRV が最も多く検出 されたが、genogroup に優位差は無かった。また検出され た株間での遺伝子の相同性は genogroup A で 80%、B で 75%と低く、多様なウイルスにより流行が成立しているこ とが明らかになった。また、RSV では subgroup A が多く 検出され、すべて遺伝子型 GA2 であり、subgroup B では すべて遺伝子型 BA であったが、検出された株間での遺伝 子の相同性は遺伝子型 GA2 で 98%、BA で 97%と高かっ た。

## 千葉市内における胃腸炎の散発例及び集団発生事例 からのノロウイルス検出状況

水村綾乃、小林圭子、横井 一、田中俊光、北橋智子、 木原顕子、都竹豊茂、中台啓二(千葉市環境保健研究所)

平成23年度(第50回)千葉県公衆衛生学会

要旨: ノロウイルス (NV) は冬季に流行するウイルス性胃 腸炎の主な原因ウイルスとして知られている。今回、2004 年1月から2010年12月における市内のNV による胃腸炎 の散発例及び集団発生事例の流行状況等を把握するため に、遺伝子型の解析を行ったところ、2004年から2010年 の期間に多様なNV が千葉市内で流行していたことが明ら かとなった。

2004年から2008年の散発例から検出されたNVの遺伝 子型はG /4 が最も多く、2007年以降は減少傾向を示し たものの毎年56%以上を占めていた。G /3はG /4に次 いで多く検出され、毎年11%以上を占め、2006年以降は 増加傾向を示した。しかし、2010年の散発例から検出さ れたG /4は36%(9件)とその割合は大幅に減少し、逆 にG /3が28%(7件)G /2が24%(6件)と増加し た。

一方、2004 年から 2009 年の集団発生事例から検出され たNVの遺伝子型は、毎年 G /4 の占める割合が最も高く、 次いで G /3 の順であった。しかしながら、2010 年では G /3 の占める割合が最も高く、次いで G /4 となりその 順位が逆転した。特に G /3 は 2008 年を除く集団発生事 例から毎年 1 事例ずつ検出される程度であったが、2009 年では 4 事例、2010 年では 14 事例から検出され、事例数 の明らかな増加が認められた。

現在、国内で流行しているNVの主要な遺伝子型はG /4 であるが、2009年からG /2 が急増し、次いでG /3 が 増加していることが報告されている。今回の調査結果につ いても、多くのNV遺伝子型が千葉市内で流行し、中でも G /4 がNVの主要な流行遺伝子型であることが明らかと なったが、2007年以降の散発例においてG /4 が占める割 合は減少傾向にあること、及び 2010年ではその割合が 36%と大幅に減少したことから、今後もG /4 の流行は減 少傾向を示すものと考えられた。その一方で、G /3 が散 発例や集団発生事例において増加し、2010年の集団発生事 例から最も多く検出されていること、及びG /2 が 2010 年の散発例において増加したことから、これらの遺伝子型 が今後G /4 よりも優位となる可能性が高いものと思われ る。

以上のことから、NV の主要な流行遺伝子型は G /4 か ら G /3、若しくは G /2 へと変化する可能性が示唆され、 今後流行する NV の遺伝子型の動向が注目される。

#### 学会等発表

## 千葉市内で発生したウエルシュ菌を原因とする集団食 中毒事例

北橋智子、吉原純子、奥島祥美、木原顕子、都竹豊茂 (千葉市環境保健研究所)

平成 23 年度(第 24 回)地研全国協議会 関東甲信静支部細菌研究部会

要旨:ウエルシュ菌は偏性嫌気性大桿菌で、比較的大規模 な食中毒を起こすことで知られている。今回、千葉市で9 年ぶりにウエルシュ菌による集団食中毒事例を経験したの で、その概要を報告する。

平成23年10月24日、保健所に市内短期大学の卒業謝恩 会の出席者が、食中毒症状を呈している旨の連絡が入った。 調査の結果、10月22日の謝恩会出席した56名のうち33 名が発症していた。患者の主症状は下痢及び腹痛であり、 平均潜伏時間は12.4時間であった。患者便7検体、従事者 便3検体、拭き取り3検体について、常法により食中毒検 索を実施した。提供されたメニュー20検体についてはウエ ルシュ菌の検索のみ実施した。

その結果、患者便 5 検体、従事者便 2 検体、及び提供さ れたメニューの1つである「牛肉の煮込み」計 8 検体から ウエルシュ菌様コロニーが分離された。カナマイシン含有 CW 卵黄平板で分離されたウエルシュ菌様コロニー(レシチ ナーゼ反応陽性・乳糖分解)のうち、PCR によるホスホリパ ーゼ C 遺伝子 (*plc*)とエンテロトキシン遺伝子(*cpe*)、 抗毒素によるレシチナーゼ反応の抑制、及び RPLA 法による エンテロトキシンが確認できたものをウエルシュ菌とし た。分離されたウエルシュ菌については、更に血清型別 (Hobbs)と制限酵素 Sma によるパルスフィールドゲル電 気泳動(PFGE)を実施した。これら 8 菌株の血清型別は型 別不能であったが、PFGE による遺伝子切断パターンは全て 一致した。

このことから、同一感染源に由来する株であることが示 唆された。「牛肉の煮込み」を調理した従事者からはウエル シュ菌が検出されなかったことから、原材料の汚染と調理 工程に食中毒発生の原因があったものと考えられる。調理 工程を確認したところ、寸胴鍋のまま一晩冷蔵保存されて おり、緩慢な放冷によりウエルシュ菌が増殖したと考えら れた。

保健所は当該施設を原因施設とする食中毒と断定し処分 を実施した。

Nal(TI)シンチレーションサーベイメータを使用し た食品中の放射性セシウムのスクリーニング検査に ついて

上村 勝、大坪晃子、高梨嘉光、清宮康子、山口玲子、 牧瀬博子、木原顕子、都竹豊茂、中台啓二 (千葉市環境保健研究所)

平成 23 年度(第 50 回)千葉県公衆衛生学会

要旨:平成23年3月11日に発生した東日本大震災に次 ぐ東京電力福島第一原子力発電所の事故により、大量の 放射性物質が放出され、食品中からも暫定規制値を超え る放射性物質が検出されている。「緊急時における食品中 の放射能測定マニュアル」を参考として Nal (TI) シン チレーションサーベイメータを使用し、食品中の放射性 セシウムのスクリーニング検査を実施し、確認検査の必 要性の有無を迅速に振り分けることを目的に検査を実施 した。

平成23年10月31日現在、72検体の検査を実施した。 0 cpsの検体が67検体、1 cps検出した検体が5検体、2 cps以上検出した検体が0検体で、確認検査の必要性の ある検体はなかった。(当所測定条件における換算係数: 67.8 Bq/kg/cps)

検査を実施した 72 検体のうち 8 検体について、検査に 使用した検体と同一のものを使用し、外部検査機関でゲ ルマニウム半導体検出器を用いた検査を行い、NaI (TI) シンチレーションサーベイメータでの結果を検証した。

0 cps の検体(3 検体)はヨウ素 131、セシウム 134、 セシウム 137 いずれも不検出だった。1 cps 検出した検 体(5 検体)はヨウ素 131:不検出、セシウム 134:不検 出~30 Bq/kg、セシウム 137:不検出~30 Bq/kg で、 最大のものでセシウム 134 とセシウム 137 の合計が 60 Bq/kg だった。

今回使用した Nal (TI) シンチレーションサーベイメ ータは、暫定規制値が 500 Bq/kg の食品に対して、食品 中の 線をすべてセシウム由来と見なすことによる安全 域をみたスクリーニング検査としての機能を果たしてい ると思われた。

## <u>学会等発表</u>

## 2-ピコリンボランを用いた還元的アミノ化法に よる室内環境中のアルデヒド類の分析

坂元宏成<sup>1</sup>、木原顕子<sup>1</sup>、都竹豊茂<sup>1</sup>、内山茂久<sup>2</sup> (1千葉市環境保健研究所、2国立保健医療科学院)

平成23年度(第50回)千葉県公衆衛生学会

要旨:空気中のアルデヒド類の分析方法としては、2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)誘導体化/高 速液体クロマトグラフ(HPLC)法が広く利用されてい る。しかし、非対称カルボニル化合物は、DNPH 誘導 体の C=N 二重結合に起因する幾何異性体を生成する ため、E,Z 異性体の二重ピークが存在し、定量性に 問題があることが報告されている。我々は、2-ピコリ ンボランにより C=N 二重結合を還元的にアミノ化す ることで開裂し、単一ピークにする方法を開発した。 実際の家屋に拡散サンプラー(DSD-DNPH)を設置して 本方法による分析を行い、従来の方法との比較を行っ た。

比較的ピーク面積の大きい acetaldehyde、 propanal、hexanal 、nonanal の還元体による測定値 について、従来の方法と比較すると、それぞれ R2 = 1.00、0.926、0.968、0.946と強い相関があった。ま た、回帰直線の傾きは、それぞれ0.990、1.07、1.03、 0.965 であり、この両者の差異は、異性体のモル吸光 係数の相違や、夾雑ピークの重なりに起因することが 推測された。

室内環境中のアルデヒド類の測定において、2-ピコ リンボランを用いた還元的アミノ化法により、幾何異 性体のない単一物質で定量することができ,また,二 重ピークを解消して夾雑ピークの影響を小さくする ことができたことから,分析の確度が向上した。

## <u>学会等発表</u>

エチルバイオレット法による陰イオン界面活性剤分 析における硝酸イオンの検討

金井祐貴、平山雄一、宮本 廣 (千葉市環境保健研究所)

平成 23 年度全国環境研協議会関東甲信静支部 水質専門部会

要旨: 陰イオン界面活性剤の定量分析としてメチレンブ ルー吸光度法(MB 法)とエチルバイオレットイオン対抽 出法(EV 法)がある。今回注目した EV 法は、MB 法よ りも高感度、精製の必要なし、クロロホルムによる暴露 がなく操作が簡便であるという利点があり、本研究では EV 法を採用した。しかし、EV 法の問題点として塩化物 イオン、そして硝酸イオンが共存することによって、正 の誤差を与えるという問題がある。特に、千葉市の河川 は典型的な都市河川であり、比較的硝酸イオン濃度が高 い傾向があることから、これらを解決するために次のよ うな検討を行った。

EV 法において、抽出層を洗浄することにより塩化物 イオンの影響を除去できる。しかし、硝酸イオンの影響 も同時に除かれると考えられるが、検討例はこれまでに 見受けられない。そこで、本研究では EV 法による硝酸 イオンの影響の除去について検討した。その結果、硝酸 イオン濃度に比例して正の誤差が大きくなることを確認 し、その抽出層を洗浄することにより、塩化物イオンと 共に硝酸イオンの影響を完全に除くことができることが わかった。

## 学術誌発表

## 生シラスが原因食品と疑われる有症苦情事例 -千葉市

田中俊光<sup>1</sup>、横井 一<sup>1</sup>、水村綾乃<sup>1</sup>、小林圭子<sup>1</sup>、 木原顕子<sup>1</sup>、都竹豊茂<sup>1</sup>、中台啓二<sup>1</sup>、加曽利東子<sup>2</sup>、 落合弘章<sup>2</sup>、大山照雄<sup>2</sup>、西村正樹<sup>2</sup>、山本一重<sup>2</sup>、 野田 衛<sup>3</sup>

(1千葉市環境保健研究所、2千葉市保健所、3国立医薬 品食品衛生研究所)

掲載誌: 病原微生物検出情報月報 Vol.32,363-364,2011

要旨:2011年5月に千葉市内の高等学校2年生(生徒数8ク ラス327名)が校外学習を実施後、下痢、発熱、腹痛など の食中毒様症状を呈した。調査の結果、患者便からノロウ イルス(NoV)、サポウイルス(SaV)およびアストロウ イルス(AstV)が検出され、原因食品として生シラスが 疑われたので、その概要を報告する。

2011年5月11日に千葉市内のA高等学校2年生325名が、 校外学習でB県を訪問し、48班に分かれて班ごとに散策を 行った。5月13日に欠席者が24名、早退者が9名と、体調 不良の生徒が多いことに学校が気付き、保健所の調査の結 果、44名が下痢、発熱および腹痛などを主症とする食中毒 様症状を呈していたことが判明した。14日間の遡り喫食状 況調査により、発症者44名のうち33名が校外学習時に5施 設で生シラスを喫食していたことが判明したものの、11名 は生シラスの喫食が無かったこと、および同様の苦情が認 められなかったことなどから、当該事例は食中毒と断定す るには至らなかった。

発症者44名のうち、19名の糞便についてNoV、SaVおよ びAstVのリアルタイムPCRを実施した。ウイルスが検出 された検体についてはRT-PCR後ダイレクトシークエン ス法により塩基配列を決定し、相同性検索と系統樹解析を 実施した。

その結果、15名からNoV、SaVおよびAstVが単独また は複数検出された。ウイルス別にみると、NoVは13名から GI/2、GII/2、3、12、13、14の6遺伝子型、SaVは11名 からGI/2、GII/3の2遺伝子型、AstVは3名から1型、4 型が検出された。

校外学習時に発症者44名を含む計96名が14班に分かれ て行動していたが、そのうち5つの施設で生シラスを喫食 した7班38名中33名が発症していた。また、検査を実施し た19名中16名が生シラスの喫食歴があり、その16名中15 名からウイルスが検出されたが、生シラスの喫食歴の無い 3名からはウイルスは検出されなかった。

以上のように生シラスの喫食の有無と発症またはウイ

ルスの検出の有無との間に有意な相関性がみられた。

また、生シラスを喫食した33名のうち、発症日時が特定 できている31名についての喫食から発症までの時間は27.5 ~71時間(平均42.4時間)であり、潜伏時間からも生シラ スが原因であることは否定できなかった。

現在、食中毒調査支援システム(NESFD)において、全 国の協力地方衛生研究所から提供されたNoV、SaVの遺伝 子配列情報の解析結果が公開されている(V-Nus Net)。今 回検出されたNoV GII/2、14、およびSaV GI/2については 他自治体登録株と同じクラスターに分類されているが、 NoV GII/3、12、13は他登録株と一致するものは無く、ま た、NoV GI/2、SaV GII/3については本事例の関連株のみ が登録されていた。このことも本事例が地域で流行してい るウイルス株による感染症、あるいは調理従事者等からの 二次汚染による食品媒介事例ではなく、食品の原材料汚染 による事例である可能性を示唆している。

シラスは鮮度の低下が早く、生食されるのは漁獲地近郊 が多く、生のまま広域に流通することが少ないため、生シ ラスを原因食品とするウイルス性食中毒についてはこれま で報告がみられていない。しかし、シラス(カタクチイワ シの稚魚)はプランクトンを食餌としており、漁獲域が沿 岸部であることから、カキなどの二枚貝と同じく、腸管に NoV等のウイルスを保持する可能性が考えられる。現在ま でNoVなどのウイルスがシラスの体内に保持されていたも のなのか、またはシラスの体表を汚染していたものなのか の検証には至っていないが、複数のウイルスや種々の遺伝 子型が患者から検出されたことから、なんらかの形で直接 的あるいは間接的にシラスが下水の汚染を受けた可能性が 考えられる。

以上のように本事例は生シラスの喫食とNoV、SaV、 AstVの検出、および消化器症状の有無とに因果関係が強く 認められ、生シラスを原因食品とするウイルス性食中毒が 疑われる事例であった。また、V-Nus Net による全国規模 での分子疫学的解析結果の共有が、各地の流行株の動向把 握に役立つとともに、疫学調査の科学的根拠となる可能性 を示す事例と思われ、今後とも迅速なデータの共有が望ま れる。

### 学術誌発表

# First detection of measles virus genotype G3 from a Japanese woman: An imported case

Toshimitsu Tanaka<sup>1</sup>, Hajime Yokoi<sup>1</sup>, Keiko Kobayashi<sup>1</sup>, Haruko Iwanade<sup>1</sup>, Yoshinobu Noguchi<sup>1</sup>, Yoshio Mitsui<sup>1</sup>, Akira Okamoto<sup>1</sup>, Mika Saitoh<sup>2</sup>, Masahiro Noda<sup>3</sup>, Makoto Takeda<sup>3</sup>, Nobuhiko Okabe<sup>4</sup>, and Hirokazu Kimura<sup>2, 4</sup>

<sup>1</sup>Chiba City Institute of Health and Environment <sup>2</sup>Gunma Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

<sup>3</sup>Department of Virology III and <sup>4</sup>Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases

#### Jpn. J. Infect. Dis., Vol.64, 262-263, 2011

Recent molecular epidemiological studies reported the detection of measles virus (MeV) genotypes D3, D4, D5, D9, and H1 in Japan (2-4). D4, D9, and H1 viruses have usually been detected in imported cases, while D3 and D5 have been found in domestic cases. Here, we describe for the first time the detection of another genotype, MeV G3, in a Japanese imported case.

The case was a 28-year-old Japanese female who resided in Chiba Prefecture, Japan. She had not received either measles or measles immunization. She visited Indonesia from January 31 to February 9, 2011 with six colleagues. On February 22, she developed clinical symptoms including high fever, cough, conjunctivitis, Koplik's spots on the buccal mucosa, and a rash on the face and neck.

A whole blood sample was collected on the next day after informed consent was given. Virus RNA was extracted from the samples using the High Pure Viral RNA Kit (Roche, Indianapolis, USA) and suspended in DNase/RNase-free water. Following RNA extraction, reverse transcriptase-polymerase chain reaction and nested polymerase chain reaction (PCR) were performed, as previously described. Amplicons were purified using the High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) and the nucleotide sequence was determined by direct sequencing.

The nucleotide sequences of the partial *N* gene of MVs (456 bp) were analyzed phylogenetically using Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA)

software version 4. Evolutionary distances were estimated using Kimura's two-parameter method and the phylogenetic tree was constructed using the neighbor-joining (NJ) method. The reliability of the tree was estimated using 1000 bootstrap replications.

We constructed a phylogenetic tree based on the N gene of the presently isolated MV strains, including reference strains. The strain was genotyped as MeVG3 in the tree. The homology between a reference strain (Mvi/Gresik.INO/17.02 [G3], GenBank accession no. AY184217) and the present strain was 98.2–99.1 % at the nucleotide level, and 97.4–98.7 % at the amino acid level. Epidemiological investigation has not identified any other cases among the patient's family and colleagues to date.

To our best knowledge, this is the first report of MeVG3 detection in Japan. This genotype was first detected in Australia and East Timor in 1999. It has not been frequently detected in these countries; however, aggressive MeV surveillance may not have been performed. At present, small numbers of the population in the prefecture may be susceptible to measles because they have not yet been immunized. However, as the disease is highly contagious in humans, up-to-date information on the epidemiological status of measles in our country as a whole is needed, due to its rapid spread from one area to another.

## 学術誌発表

関東甲信静における PM2.5 のキャラクタリゼーション (第3報)

大塚 大<sup>1</sup>、小倉 潔<sup>2</sup> (1千葉市環境保健研究所、2千葉市収集業務課)

平成 22 年度浮遊粒子状物質合同調査報告書 (1都9県7市)

3年計画として実施した浮遊粒子状物質の共同調査結果 について取りまとめたものです。平成20,21年度に引き 続き、その3年目として平成22年度に微小粒子状物質の 夏期における二次生成粒子の高濃度化現象に焦点をあて、 広域的な濃度レベルの把握に加え、二次生成粒子成分濃度 とその前駆物質であるガス状物質濃度を同時に観測し比 較することにより、夏期における広域二次粒子汚染のメカ ニズムについて検討しました。なお、この報告書は、関東 地方環境対策推進本部大気環境部会の浮遊粒子状物質調 査会議で計画、実施した調査を、その計画、調査を引き継 いだ関東地方大気環境対策推進連絡会の浮遊粒子状物質 調査会議が取りまとめたものです。千葉市は本編4調査 結果 4.金属元素成分濃度の執筆を担当しました。