

## IV 発表業績



## 1. 学会発表

## 食品のウイルス検査法における捕捉抗体の供給源に関する研究

斎藤博之，秋野和華子，田中智之<sup>\*1</sup>  
野田 衛<sup>\*2</sup>

第25回秋田応用生命科学研究会  
2015年6月 秋田市

パンソルビン・トラップ法（パントラ法）は、食品検体からノロウイルス（NoV）を検出するための実践的な手法である。本法はウイルス粒子の回収に黄色ブドウ球菌を用い、両者を結びつけるための捕捉抗体を必要とする。開発段階で用いてきた医療用ガンマグロブリン製剤は、多くのウイルスに対する抗体を含んでいることから、捕捉抗体としての汎用性は高い。一方で、薬事法に定めのある特定生物由来製品に該当することから使用者義務が課せられ、計画生産品であることから流通量に上限があり、当然のごとく医療目的での使用が優先される。さらに、医薬品であることから、医療機関ではない試験検査機関で用いるのは難しい。そこで、本研究では工業用途に生産されているガンマグロブリンをパントラ法に導入し、さらなる汎用性を追求することを目的としている。

NoV-GII.4を含む50 mLの食品洗滌液への工業用ガンマグロブリン添加量の検討では、5%溶液を150 μL加えた条件が最も高い回収率を示した。ここで最適化された添加量を用いて、上記の5種類のNoVについて食品洗滌液からの回収を試みたところ、全てにおいて医療用ガンマグロブリン製剤と同等以上の回収率が得られた。また、実際の汚染食品をモデルとした比較試験においても、工業用ガンマグロブリンを用いた系は医療用のそれと同等以上の回収率を示した。これらのことから、工業用ガンマグロブリンを試薬としてパントラ法に導入することは大変合理的であり、流通ルートが整備されれば汎用性がさらに高まるものと考えられた。

\*1：堺市衛生研究所

\*2：国立医薬品食品衛生研究所

## 紅斑熱群リケッチア症とつづが虫病，抗体検査における抗原最適化とその効果

佐藤寛子，藤田博己<sup>\*1, 2</sup>，村井博宣<sup>\*3</sup>

The 23th Seminar on Acari-Disease Interface  
2015年6月 名取市

1992年4月～2011年3月までに、発熱、発疹、CRP（+）であり、かつ刺し口の存在や肝機能異常などの症状があった例のうち、当時つづが虫病抗体陰性と判定されていた123例197検体（急性期血清123検体、回復期血清74検体）について、IP法により紅斑熱群リケッチア症およびつづが虫の抗体検査を実施した。抗原として使用した分離株は、紅斑熱群はLON-1、Sendai-16、IM-1株、つづが虫病は、血清型Katoの株の他、当時使用していない血清型Irie/Kawasaki，Hirano/Kuroki型およびShimokoshiの株と遺伝子型JG，JP-1の株、計6株を使用した。加えて発疹熱、野兔病の抗体検査およびHHV-6，HHV-7，EBV，CMV，HSV-1およびParvo B19についても検索した。その結果、123例中、紅斑熱群リケッチア症疑い例が1例、つづが虫病抗体陽性が14例（Karp型（JP-1）10例、Shimokoshi型が3例、Gilliam型（JG）が1例）確認された。また、10例から発疹熱ウイルスが検出された（EBV：6例、HSV-1：2例、HHV-7：1例、CMV+EBV+HSV-1：1例）。野兔病と発疹熱の抗体陽性例はなかった。

秋田県において初めて紅斑熱群リケッチア症患者の存在が確認された。また、つづが虫病においては、国外分離株が標準とされていることで当時陰性と判定されていた患者がいたものと推察される。より早期の抗体検出と確実な検査診断のため、今後つづが虫病における「標準」は「国内標準」とすることが望ましいと思われる。また、ウイルスが複数検出されたが、これは潜在していたウイルスが再活性化したものと推察され、これらが症状を複雑化し、診断がより困難となっていたと考えられた。

\*1：馬原アカリ医学研究所

\*2：MFSS

\*3：泉皮膚科クリニック

## 高齢者福祉施設等における結核対応ガイドブック作成のためのインタビュー調査結果

田中貴子

第 64 回東北公衆衛生学会

2015 年 7 月 秋田市

## 高齢者福祉施設等における結核対応に関するインタビュー調査結果

田中貴子

第 74 回日本公衆衛生学会総会

2015 年 11 月 長崎市

秋田県の高齢者結核対策支援の一環として、「高齢者福祉施設等における結核対応ガイドブック」の作成に向けたインタビュー調査を実施した。

対象：平成 24～25 年に結核患者の発生があった特別養護老人ホーム及び老人保健施設（以下，施設），通所介護事業所（以下，事業所）の 10 か所。回答者は施設長，看護師長，管理者（介護支援専門員）等。方法：平成 26 年 12 月～平成 27 年 2 月に，対象施設にて約 90 分のインタビュー調査を実施した。項目は，結核患者発生時の不安，平常時の結核の意識や結核情報，施設及び事業所における結核マニュアルの有無等 36 項目であった。

結核患者発生時の不安は，結核の知識や理解不足による日常的な食器消毒，衣類・寝具の洗濯，家族への連絡等であった。過度の不安を持つ職員がいる一方で結核を全く知らず危機意識に乏しい職員もいて対応に困った。接触者健診では定期的長期的に追跡するため対応の煩雑さに困惑した施設もあった。また，利用者や職員の結核への偏見があり，風評被害の対応に苦慮した事業所もあったが，これらの不安解消には保健所の指導助言が大きい役割を果たしていた。他方で保健所の役割を知らない事業所もあった。平常時の結核の意識や結核情報では，普段は結核を考えることがなく研修の機会もないという施設や，ネットでの情報量がありすぎて結核の正しい情報を得るのが困難だという事業

所もあった。施設及び事業所における結核マニュアルの有無については，結核単独のものを保有している所は 2 か所であったが 1 か所は古い内容であった。結核対応ガイドブックの必要性については全施設及び事業所が認識しており，その内容は結核の正しい知識，発生時の具体的対応，日常生活上の一般的情報，保健所との連携等であり，医学用語が少なく理解しやすいもの，1 冊で結核対応が分かるものを希望していた。入所施設や通所事業所等の介護福祉現場においては結核に関する知識や理解が十分でないことが明らかになった。特に最近増加している通所介護事業所においてはその傾向が顕著であり，今後の結核対策の課題とも考えられた。

## 患者およびマウスの血中 *Orientia tsutsugamushi* の定量と重症化例に関する考察

佐藤寛子<sup>\*1</sup>，川森文彦<sup>\*1</sup>，藤田博己<sup>\*2, 3</sup>  
安藤匡子<sup>\*4</sup>，門馬直太<sup>\*5</sup>

第 64 回東北公衆衛生学会

2015 年 7 月 秋田市

強毒性とされる Kato 型の野鼠由来 Kakuma-2 株（強毒型株）および弱毒性とされる Shimokoshi 型の患者由来 Matsui 株（弱毒型株）を使用し致死毒性の確認と共にマウスの血中 Ot コピー数を経時的に定量した。両株は，1.0E7 および 1.0E5copies/ml に調製後，各株各濃度 100  $\mu$ l を ICR マウス 2 頭（1.0E7：A 群，1.0E5：B 群），ICR Nude マウス 2 頭（1.0E7：C 群，1.0E5：D 群）の腹腔に接種した。その後，マウス尾静脈採血を 1 日 1 回 8 日間，9 日目以降は 1~2 日毎に行なった。マウス血液は DNA 抽出後，Real-time PCR により Ot コピー数を定量し各群の 1 ml 当たり換算した平均値を求めた。同様に 2011 年～2013 年に本県で発生したつつが虫病患者 26 例について急性期血液中の Ot のコピー数を定量し，比較検討を行った。

強毒型の接種系における Ot 検出開始は，A 群が接種後 1 日目（6.5E3），B 群が 3 日目（1.16E3）で，その後コピー数は増加し 9 日目に A 群が，

10日目にB群のマウスが衰弱不動となった。この時点でA群は $1.0E5$ 、B群は $1.1E5$ であった。一方、弱毒型株の接種系でのOt検出開始は、A群が接種後2日目( $1.1E4$ )、B群が5日目( $3.1E3$ )であったが、その後コピー数に顕著な増加はなく、マウスは1ヶ月以上生存した。C群とD群も同様に強毒型株と弱毒型株を接種したところ、両群は共に死亡したが、死亡時のOtコピー数は、A群B群に比較してKakuma-2株が約10倍、Matsui株が100~1000倍であった。強毒型株は、弱毒型株よりもマウス体内での増殖が急激であることから、免疫応答が間に合わず、マウスは死に至るものと推察した。

患者血液から検出されたOtのコピー数は、DIC非併発/治療前例(平均病日4.8日)とDIC併発/治療後例(同5.5日)は、共に平均値は $1.1E4$ であった。一方、DIC併発/治療前例(同4.0日)は平均値 $2.3E5$ とDIC併発/治療後および非併発/治療前例の約20倍であった。血清抗体価から26例は全てKarp型感染例と判断され、同じ血清型でも臨床経過と血中Ot定量値に差が認められた。26例の基礎疾患や炎症マーカーの定量値等は未検討であるが、DIC併発、非併発例の有効治療までの日数差はわずか1日であった。今回の検討で、重症化防止のためには、早期の有効治療により体内でのOt増殖を早急に抑制することの必要性が血中コピー数の定量による数値から読み取れた。

\*1: 静岡県環境衛生科学研究所

\*2: 馬原アカリ医学研究所

\*3: MFSS

\*4: 鹿児島大学共同獣医学部

\*5: 福島県衛生研究所

## 食品検体の病原ウイルス検査にパンソルビン・トラップ法を用いる際の捕捉抗体供給源に関する検討

斎藤博之, 秋野和華子, 田中智之<sup>\*1</sup>

野田 衛<sup>\*2</sup>

第110回日本食品衛生学会学術講演会  
2015年10月 京都市

パンソルビン・トラップ法は、食品検体からノロウイルス(NoV)に代表される病原ウイルスを検出するための実践的な手法である。本法の基本原理は、黄色ブドウ球菌の表面に、捕捉抗体を介してウイルス粒子を吸着させて回収・検出することである。捕捉抗体として、多様なウイルスに対する抗体を含むガンマグロブリン製剤を導入することで、本法を汎用的に用いることが可能である。これまで、ガンマグロブリン製剤として、医療用のものを用いていたが、検査法の普及に当たっては、試験研究用等のガンマグロブリン製剤が望ましい。本研究では、この問題を解決し、食品のウイルス検査の円滑な普及に繋げるために、医薬品以外で安定的に使用できる捕捉抗体供給源を検討した。

NoV-GII.4を含む50 mLの食品洗滌液への工業用ガンマグロブリン添加量の検討では、5%溶液を150  $\mu$ L加えた条件が最も高い回収率を示した。ここで最適化された添加量を用いて、上記の11種類の病原ウイルスについて食品洗滌液からの回収を試みたところ、比較した全てにおいて両者は同等であった。また、実際の汚染食品をモデルとした比較試験においても、工業用ガンマグロブリンを用いた系はポテトサラダで40.6%、焼きそばで33.5%と、医療用のそれ(ポテトサラダで34.7%、焼きそばで32.4%)と同等以上の回収率を示した。これらのことから、使用において特段の制約の無い工業用ガンマグロブリンを試薬としてパントラ法に導入することは大変合理的であり、汎用性を担保する意味でも積極的な活用と流通ルートの整備が望まれるものと考えられる。

\*1: 堺市衛生研究所

\*2: 国立医薬品食品衛生研究所

## 食品のサポウイルス検査にパンソルビン・トラップ法を用いる際のRNA検出系の最適化

斎藤博之, 秋野和華子, 野田 衛<sup>\*1</sup>

第36回日本食品微生物学会学術総会  
2015年11月 横浜市

パンソルビン・トラップ法は、食品検体から病原ウイルスを検出するために開発された実践的な手法である。パントラ法にはウイルス粒子の回収に黄色ブドウ球菌（ブ菌）が用いられていることから、得られた RNA サンプルはブ菌由来の遺伝子を大量に含んでおり、RT-PCR に用いる試料としては特殊なものといえる。これまでに、ノロウイルス（NoV）に対する RT-PCR の反応系（プライマーや反応温度など）については最適化がなされている。一方、サポウイルス（SaV）に関しては、糞便検体に対する RT-PCR の反応系は報告されているものの、パントラ法で用いるには、改めて最適化を行う必要がある。本研究は、パントラ法によって抽出された SaV-RNA の検出系を最適化し、実際の食中毒事例に対応できるものとするを目的としている。

cDNA の段階希釈系列において、PCR での検出限界を比較したところ、LNA 修飾を導入したプライマーを用いて、アニーリング温度を 60°C に設定したところ、パントラ法抽出物存在下でも、蒸留水による希釈系列と同様に  $10^{-4}$  希釈まで SaV 由来バンドが観察できた。次に、RNA を蒸留水で段階希釈したものをランダムプライマーで逆転写を行った場合には  $10^{-5}$  希釈まで SaV のバンドが認められたが、パントラ法抽出物存在下では  $10^{-3}$  希釈までしか検出できなかった。逆転写反応専用プライマー(PANR-SV)を用いることで  $10^{-5}$  希釈まで検出できるようになった。さらに、SaV-GII, GIV, GV においても有効であることを確認した。ここで得られた成績は、食品検体の SaV 検査にパントラ法を導入する際に有用と考えられた。

\*1：国立医薬品食品衛生研究所

## 食品のウイルス検査における偽陽性防止対策に関する検討

秋野和華子，斎藤博之，野田 衛<sup>\*1</sup>

第 36 回日本食品微生物学会学術総会  
2015 年 11 月 横浜市

パンソルビン・トラップ法は、ノロウイルス（NoV）に代表される食中毒起因ウイルスを食品検体から検出するために開発された。一方、近年の遺伝子解析技術の高度化に伴い、実験室内で PCR 増幅産物が混入して判定結果に影響を及ぼすリスクが高まったことから、偽陽性防止対策の強化が必要とされた。本研究では、問題解決の方策として、dUTP と UNG (Uracil-N-Glycosylase) の組み合わせによる DNA 汚染の無効化と、2nd. PCR に real-time PCR を用いて、Ct 値をもって判別する方法について検討した。

ブロッコリー遺伝子の 1st. PCR の反応液に dUNG を添加することで、104 コピー/20  $\mu$ L に相当する、T を U に置換した PCR 産物を分解除去できた。2nd. PCR に real-time PCR を用いた場合の検討では、検出限界濃度 ( $10^1 \sim 10^2$  コピー/20  $\mu$ L) における Ct 値は 6.2 サイクルであった。同様に、 $10^3$  コピー/g の NoV を含むカキ中腸腺では 13~14 サイクル、35 コピー/g の NoV で汚染させた焼きそばでは 17 サイクルで増幅カーブが立ち上がった。以上のことから、1st. PCR 時のキャリーオーバーは UNG を用いて無効化し、2nd. PCR に real-time PCR を用いて、Ct 値を基準に陽性判定をする (20 サイクルを目途とする) 方法が推奨できるものと考えられた。

\*1：国立医薬品食品衛生研究所

## Optimization of RT-PCR to detect Sapovirus RNA recovered by PANtrap method

斎藤博之，秋野和華子，野田 衛<sup>\*1</sup>

第 63 回日本ウイルス学会学術集会  
2015 年 11 月 福岡市

パンソルビン・トラップ法は、食品検体からノロウイルス（NoV）を検出するための実践的な手法として開発されたが、NoV と並んで食中毒原因物質とされているサポウイルス（SaV）にも適用することができる。本法はウイルス粒

子の回収に黄色ブドウ球菌（ブ菌）を用いていることから、得られた RNA サンプルに菌由来の遺伝子が大量に混入するという性質があるものの、NoV については効率的な RNA 検出系が確立している。本研究では、パントラ法によって得られた SaV-RNA の検出系の最適化を試みた。

cDNA の段階希釈系列において、PCR での検出限界を比較したところ、蒸留水による希釈では原法により  $10^{-4}$  希釈まで 800 bps の増幅バンドが確認できたが、負荷物質を含む希釈系列ではブ菌由来の非特異バンドが多く、SaV 由来の増幅バンドは  $10^{-2}$  希釈までしか検出できなかった。LNA 修飾を導入したプライマーを用いて、アニーリング温度を  $60^{\circ}\text{C}$  に設定したところ、負荷物質存在下でも、 $10^{-4}$  希釈まで SaV 由来バンドが観察できた。次に、RNA を蒸留水で段階希釈したものをランダムプライマーで逆転写を行った場合には  $10^{-5}$  希釈まで SaV のバンドが認められたが、負荷物質存在下では  $10^{-3}$  希釈までしか検出できなかった。逆転写反応専用プライマー（PANR-SV）を用いることで  $10^{-5}$  希釈まで検出できるようになった。ここで得られた成績は、食品検体の SaV 検査にパントラ法を導入する際に有用と考えられた。

\*1：国立医薬品食品衛生研究所

## LNA (Locked Nucleic Acid) 修飾プライマーを用いたサポウイルス RNA 検出系の最適化

齋藤博之，秋野和華子，野田 衛<sup>\*1</sup>

第 26 回秋田応用生命科学研究会  
2015 年 11 月 秋田市

パンソルビン・トラップ法（パントラ法）は、食品検体からノロウイルス（NoV）を検出するための実践的な手法として開発されたが、NoV と並んで食中毒原因物質とされているサポウイルス（SaV）にも適用することができる。本法はウイルス粒子の回収に黄色ブドウ球菌（ブ菌）を用いていることから、得られた RNA サンプルに菌由来の遺伝子が大量に混入するという性

質があるものの、NoV については効率的な RNA 検出系が確立している。本研究では、パントラ法によって得られた SaV-RNA の検出系の最適化を試みた。

cDNA の段階希釈系列において、PCR での検出限界を比較したところ、蒸留水による希釈では原法により  $10^{-4}$  希釈まで 800 bps の増幅バンドが確認できたが、負荷物質を含む希釈系列ではブ菌由来の非特異バンドが多く、SaV 由来の増幅バンドは  $10^{-2}$  希釈までしか検出できなかった。LNA 修飾を導入したプライマーを用いて、アニーリング温度を  $60^{\circ}\text{C}$  に設定したところ、負荷物質存在下でも、 $10^{-4}$  希釈まで SaV 由来バンドが観察できた。次に、RNA を蒸留水で段階希釈したものをランダムプライマーで逆転写を行った場合には  $10^{-5}$  希釈まで SaV のバンドが認められたが、負荷物質存在下では  $10^{-3}$  希釈までしか検出できなかった。逆転写反応専用プライマー（PANR-SV）を用いることで  $10^{-5}$  希釈まで検出できるようになった。ここで得られた成績は、食品検体の SaV 検査にパントラ法を導入する際に有用と考えられた。

\*1：国立医薬品食品衛生研究所

## 秋田県におけるマダニの生息調査（2015）

佐藤寛子，柴田ちひろ，上田里緒奈  
上田かおり<sup>\*1</sup>，坂本尚志<sup>\*2</sup>，齊藤志保子

第 22 回リケッチア研究会合同研究発表会  
2015 年 11 月 東京都

2014 年 9 月、秋田県において初めて *Rickettsia helvetica* を保有するヒトツトゲマダニ刺咬症例が確認された。これを契機に過去（1992 年～2011 年）につつが虫病が疑われて否定された症例について紅斑熱群リケッチア抗体を検査したところ、1995 年に紅斑熱患者が発生していたことが判明した。そこで、県内において今後の患者発生危険性を明らかにするため、マダニ類とマダニ保有リケッチアの調査を行った。

植生上からの採集：秋田駒ヶ岳の中生保内登山口（2014 年の刺咬症例発生地）および大仙市

の丸子川河川敷（1995年発生の感染推定地）で旗ざり法によるマダニ採集を行った。実施時期は中生保内が2015年9月上旬、大仙市が7月下旬、8月上旬、9月上旬および下旬の計5回である。大仙市ではマダニの採集数は0であったが、中生保内ではヤマトマダニが18匹、ヒトツトゲマダニが1匹、キチマダニ1匹が採集され、このうち1匹のヤマトマダニから *R.asiatica*、ヒトツトゲマダニから *R.helvetica* の遺伝子がそれぞれ検出された。17kDa および *gltA* 領域におけるPCR およびダイレクトシーケンスにより、*R.helvetica* は2014年の刺咬症例のものと系統樹解析において100%一致した。

犬からの採集：2015年3月～6月の間に秋田市内の動物病院を受診した犬から採集されたのはフタトゲチマダニ2匹、タヌキマダニ1匹、キチマダニ1匹で、このうちタヌキマダニから *Candidatus R.tarasevichiae* が検出された。また、6月～9月の間に県内で捕獲された放浪犬からフタトゲマダニ3匹、ヤマトマダニ2匹、タネガタマダニ1匹が採集され、このうちタネガタマダニから *R.monasensis* の遺伝子が検出された。

検出された紅斑熱群リケッチアのうち、*R.asiatica* を除く3種はヒトに対して病原性があることが確認されている。本県において紅斑熱群リケッチア症は、一般県民はもとより医療機関においても未だ危機意識が低く患者の潜在が懸念される。

\*1：秋田県動物管理センター

\*2：さかもと動物病院

## 玉川酸性水に対する実証的中和の効果

成田修司，布田潔<sup>\*1</sup>，宮田直幸<sup>\*2</sup>

第50回日本水環境学会年会

2016年3月 徳島市

本年会では、平成25年10月及び平成26年10月に実施した中和実証試験（以降、本試験）における、下流域のMO酸度（JIS K0102: pH4.8）の挙動について pH と併せて報告した。本試験

は、国土交通省玉川酸性水中和処理施設の敷地内を流れる玉川支川の渋黒川で行った。玉川温泉由来の未処理強酸成分（pH約2、流量約20,000 L/min）中和のため、中和材として酸化カルシウム（CaO）を乳化状に調整し、渋黒川に投入した。本試験における平成25年度のpHの改善目標値は、中和材投入地点から下流約100mの地点（以降地点A）でpH(7±1)とした。さらにこの下流では、約pH3.5の中和処理施設放流水が合流する影響を考慮し、平成26年度は地点Aの約40m下流（以降地点B）においてpH4.8以上の改善目標値とした。これら試験の結果、H25年度は地点Aにおいて、試験前のpH2.7からpH7.6に改善した。平成26年度は、地点Aにおいて試験前のpH2.3からpH10.6まで改善したが地点BではpH4.5となり、目標値であるpH4.8以上を達成できなかった。また、両年度の最下流部の調査地点（以降地点C）における試験中のpHは、それぞれ4.0、3.8となり、地点Aにおいて改善されたpHの上昇が、地点Cにおいては反映されなかった。しかしながら、地点Cにおける平成26年度の試験中の酸性成分負荷量110 kg/h（MO酸度と流量積から算出）は、平成25年度の値(206 kg/h)と比較し低下していた。以上の結果から、pHの上昇挙動及び上記負荷量の減少挙動は、必ずしも一致しないことが明らかとなった。

\*1：秋田大学大学院工学資源学研究所

\*2：秋田県立大学生物資源科学部

## 2. 他誌掲載論文等

### 死亡例を含む A 型肝炎の家族内感染事例

斎藤博之, 秋野和華子, 佐藤寛子  
柴田ちひろ, 佐藤由衣子, 安部真理子  
飯塚禮子<sup>\*1</sup>, 木内雄<sup>\*2</sup>

Infectious Agents Surveillance Reports, **36**, No.5,  
2015, p15.

A 型肝炎の予後は一般に良好であり, 医療体制の整っている我が国では劇症例・死亡例は稀であるが, 今回死亡例を含む家族内感染事例を経験したので報告する。5 人家族の内, 1 月 13 日に最初の患者が発症し, 1~2 週間の間隔をおいて次々と発症例がみられた(発症 4 名、無症状 1 名)。その内, 50 代男性が発症 15 日後に急性肝不全で死亡した。民間検査機関において, 無症状者も含めて全員の血清から A 型肝炎ウイルス(HAV)に対する IgM が検出された。当センターでは, 民間検査機関に残存していた血清を取り寄せて, リアルタイム PCR によるウイルスゲノム RNA の検出を試みたところ, 入手できた 3 検体から HAV の遺伝子が検出された。次に semi-nested RT-PCR により, 遺伝子断片の増幅を試みたところ, 2 検体から 615 bp の増幅断片を得ることができた。両者の塩基配列は完全に一致しており, 分子系統解析では IB 型と分類された。IB 型は国内では報告が少ないが, 2014 年に千葉県で検出されたウイルスに最も相同性が高かった。聞き取り調査では, 5 人とも海外渡航歴は無かった。本事例は, 医療機関から保健所に届け出があったのが初発から一か月以上経過した 3 月 4 日であり, 共通食材などの感染ルートを特定することはできなかった。A 型肝炎は感染症法上の全数把握疾患の 4 類感染症であり, 1 人でも確認したら直ちに保健所に届け出る必要があることを今一度周知徹底しておく必要がある。

<sup>\*1</sup>: 秋田県仙北地域振興局福祉環境部

<sup>\*2</sup>: 秋田県健康福祉部健康推進課

Development of a practical method to detect noroviruses contamination in composite meals.

Hiroyuki Saito, Miho Toho<sup>\*1</sup>  
Tomoyuki Tanaka<sup>\*2</sup>, Mamoru Noda<sup>\*3</sup>

Food and Environmental Virology, **7**, No.3, 2015,  
239-248.

Various methods to detect foodborne viruses including norovirus (NoV) in contaminated food have been developed. However, a practical method suitable for routine examination that can be applied for the detection of NoVs in oily, fatty, or emulsive food has not been established. In this study, we developed a new extraction and concentration method for detecting NoVs in contaminated composite meals. We spiked NoV-GI.4 or -GII.4 stool suspension into potato salad and stir-fried noodles. The food samples were suspended in homogenizing buffer and centrifuged to obtain a food emulsion. Then, anti-NoV-GI.4 or anti-NoV-GII.4 rabbit serum raised against recombinant virus-like particles, or commercially available human gamma globulin, and *Staphylococcus aureus* fixed with formalin as a source of protein A, were added to the food emulsion. NoV-IgG-protein A-containing bacterial complexes were collected by centrifugation, and viral RNA was extracted. The detection limits of NoV RNA were 10–35 copies/g food for spiked NoVs in potato salad and stir-fried noodles. Human gamma globulin could also concentrate other NoV genotypes as well as other foodborne viruses, including sapovirus, hepatitis A virus, and adenovirus. This newly developed method can be used as to identify NoV contamination in composite foods and is also possibly applicable to other foodborne viruses.

<sup>\*1</sup>: 福井県衛生環境研究センター

<sup>\*2</sup>: 堺市衛生研究所

<sup>\*3</sup>: 国立医薬品食品衛生研究所

## カンピロバクターの Penner PCR 型別が有用であった食中毒疑い事例への対応

今野貴之, 高橋志保, 檜尾拓子, 熊谷優子  
圓子隆信, 袴田知之<sup>\*1</sup>, 金 和浩<sup>\*1</sup>

Infectious Agents Surveillance Report, **36**, No.8,  
2015, 161-162.

2015 (平成 27) 年 4 月に秋田県内の焼肉店が原因施設と推定される食中毒疑い事例が発生し, その事例対応の検査において, PCR 型別法の有用性を示した。

事例は, 患者 4 名で, 医療機関からのカンピロバクター検出の報告により探知した。保健所の調査により, 患者らが同一焼き肉店を利用していたことが判明したことから食中毒を疑い, 従業員の検便 4 検体, 施設の拭き取り 10 検体について, カンピロバクターを検査した。患者 4 名については医療機関においてカンピロバクターがすでに分離されていたことから, 菌株の提供を受け, 菌種の確認と血清型別試験を実施した。

その結果, 従業員便, 冷蔵庫, まな板, 包丁や食器棚等の拭き取りからはカンピロバクターは検出されなかった。患者から分離されたカンピロバクターについて, PCR 法により菌種の確認を行ったところ, いずれも *C. jejuni* であった。血清型別試験においては, Penner 法で 3 名が型別不能であり, 菌株間の関連性について検討することができなかった。Lior 法では, 4 株とも型別可能であり, 2 名が一致した。PCR 型別では, 患者 4 名由来の菌株はいずれも異なる型に同定された。

食中毒等の事例対応の検査において, 血清型の同定は疫学的な関連性を推定する上で非常に重要である。カンピロバクターの Penner PCR 型別はこれまで問題となっていた Penner 法の型別率の低さを補うことが可能であり, 食中毒等の事例対応時の疫学解析に寄与するものと考えられる。

<sup>\*1</sup>: 秋田県北秋田保健所

## Molecular Epidemiology of Monophasic *Salmonella enterica* serovar O7:-:1, 5 Isolates in Akita Prefecture, Japan

Takayuki Konno, Shiho Takahashi  
Yuko Kumagai

Jpn J Infect Dis, **69**, No.2, 2016, 161-163.

A total of 37 *Salmonella* strains were collected from medical institutions in Akita prefecture, Japan, in 2010, 4 of which were serotyped O7:-:1,5 by standard serological typing procedures. The frequent isolation of the O7:-:1,5 strains raised the question of their phylogenetic origin. Among *Salmonella* O7 group, *S. infantis* (O7:r:1,5), Thompson (O7:k:1,5), and Bareilly (O7:y:1,5) have been often isolated in Akita prefecture. *S. Paratyphi C* and *S. Choleraesuis* (O7:c:1,5) have been rarely isolated from diarrheal patients in Akita prefecture, but it have higher mortality rates in humans than other *Salmonella* serotypes. Therefore, we designed four primers targeting the central variable regions of the phase 1 flagellin (H1) gene, *fliC*, to detect H1 antigen, 'c', 'r', 'k' and 'y'.

We could successfully serotyped the O7:-:1,5 strains as *S. Thompson* by PCR-based serotyping, and PFGE analyses indicated that these isolates were derived from *S. Thompson* isolates from North area of Akita prefecture. It will be concerned for public health whether the isolation of such atypical monophasic variants increases or not. The PCR-based serotyping is useful for the surveillance of *Salmonella* infections by atypical monophasic variants as complementary tool of the classical serological typing.



---

秋田県健康環境センター年報

第11号 2015

---

発行日 平成28年12月

発行所 秋田県健康環境センター

〒010-0874 秋田市千秋久保田町6番6号

TEL: 018-832-5005

FAX: 018-832-5938

---