

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、小林圭子、横井一

要 旨

2011年1月に千葉市内の寿司店を原因施設とするA型肝炎ウイルス(HAV)による食中毒事例が発生した。患者便31検体、寿司店従事者便34検体、患者家族便27検体、寿司店の拭き取り6検体、及び参考食材5検体の計103検体についてHAV遺伝子の検出を行った。その結果、患者便31検体、寿司店従事者便3検体、患者家族便1検体の計35検体からHAV遺伝子が検出され、系統解析が可能であった34検体はすべてAに分類された。

1 はじめに

同時期に複数の医療機関からA型肝炎の届け出が出された事例において、患者便からのHAV遺伝子の検出、及び系統解析を行うことにより、保健所の疫学調査を支援し、感染の拡大防止、再発防止の一助とすることを目的とした。

2011年1月21日に市内の医療機関から千葉市保健所に4件のA型肝炎発生届が出された。保健所が当該患者4名の聞き取り調査を実施したところ、発症がほぼ同時期であること、隣接地域内に居住していることが判明した。その後、1月26日までに同医療機関を含む5医療機関から12件のA型肝炎発生届が出され、調査の結果、届出患者16名のうち患者14名は1月8日から19日にかけて食欲不振、発熱、肝機能異常等の症状を呈していること、居住区が一部の区域に局限していることが判明した。更に喫職調査の結果、患者14名中10名が2010年12月に同一の市内寿司店を利用していることが確認された。以上のことから保健所は患者、患者家族の検便及び行動調査、並びに当該寿司店の施設拭き取り、食材の採取と従事者の検便を実施した。検査の結果、患者及び調理従事者のふん便からHAVが検出されたことを踏まえ(表1)、2011年1月28日付けで当該寿司店を原因施設とする食中毒と断定し、3日間の営業停止措置を行った。

なお、2011年1月1日から1月20日までの感染症法に基づく本市のA型肝炎の発生届は0件であるが、1月21日以降、2月20日現在までの発生届は45件であり、保健所は感染経路の解明や、感染源の特定などの詳細な調査を継続中である。

2 方法

保健所が同意を得た上で採取した患者便31検体、寿司店従事者便34検体、患者家族便27検体の計92検体のふん便、及び保健所が2011年1月25日付けで採取した寿司店の拭き取り6検体、参考食材5検体の計87検体を用いた。ふん便についてはPBS(-)で10%乳剤を作成し、遠心分離を行った上清、拭き取りは、Nylon Regular Flocked Swab (Copan)で施設を拭き取り、1mlのPBS(-)に良く浸し、攪拌後に遠心分離を行った上清、参考食材は等量のPBS(-)で表面を良く洗い、その20mlを超遠心法で濃縮して200 μ lにしたものを検査材料とした。

検査は厚生労働省通知(平成21年12月1日付食安監発第1201第2号)に準拠して行った。検査材料各200 μ lからHigh Pure Viral RNA Kit (Roche)を用いてウイルス核酸を抽出し、DNase 処理後、Super Script (Invitrogen)で逆転写を行いcDNAを得た。このcDNAを用いてリアルタイムPCRを実施した。また、リアルタイムPCRでHAV遺伝子が検出されたcDNAについてはPCRを実施し、その産物についてHigh Pure PCR Product Purification Kit (Roche)で精製した後、Big Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)を用いてシーケンス反応を行い、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)を使用してダイレクトシーケンス法により塩基配列の決定をした。得られた塩基配列についてはDDBJのBLASTで検索を行い、既知のウイルスとの相同性を確認した。なお分子系統樹はMEGA4を使用し、Clustal Wによるアライメント後、NJ法により作成した。

3 結果

患者便 31 検体、寿司店従事者便 3 検体、患者家族便 1 検体の計 35 検体からリアルタイム PCR で HAV 遺伝子が検出された（表 1）。拭き取り 6 検体、参考食材 5 検体はすべて陰性であった。なお、保健所のその後の調査により、HAV 陽性の患者家族 1 名は、当該寿司店を利用していることが判明している。

HAV 陽性の 35 検体のうち、解析可能だった 34 検体の塩基配列の解析の結果、患者便 2 検体に 1 塩基の置換が見られたが、残り 32 検体は 100%一致し、34 検体すべてが genotype A に分類された。

また、当該寿司店を利用した市外在住の患者について、千葉県、横浜市、東京都から塩基配列情報の提供を得て、解析を行ったところ、千葉県患者 2 検体、横浜市患者 1 検体、東京都患者 1 検体と 100%一致した。これらの株は過去に大阪市で報告された 1005-13313-OsakaC-100142 と 100%の相同性を示した。また、長野市で報告された 1012-37891-NaganC-102 と 1 塩基異なるものであった。千葉市に関連する株とも解析を行ったが、2010 年 6 月に本市で散発した株や、2007 年から 2008 年に千葉市内でサンプリングされたブラックタイガー（ウシエビ）から検出された株とは異なるものであった（図 1）。

4 考察

本事例については千葉市保健所の調査が現在も継続中であるため、喫食状況等の詳細なデータが示せないが、千葉市内の患者 32 名（うち 1 名は患者家族便として採取）と、市街在住の患者 4 名の計 36 名のうち、35 名が 2010 年 11 月下旬から 12 月中旬に当該寿司店を利用していること、さらに、33 名のふん便から検出された HAV の塩基配列と、寿司店従事者 3 名のふん便から検出された HAV の塩基配列が完全に一致したこと、また、この寿司店従事者 3 名のうち 2 名は調理を担当していたことから、本事例は当該寿司店の提供した料理を原因とした食中毒であることが判明した。A 型肝炎は HAV の暴露から発症までの潜伏期間が長く、感染源を特定するには非常に困難を極めるケースが多い。本事例は同時期に複数の医療機関から A 型肝炎の発生届が出されたことに対して、保健所の迅速な調査と衛生研究所の速やかな検査対応によって、原因施設が判明した貴重なケースであると言える。なお、本事例は 2010 年に我が国で広域に流行した A-2 クラスタや A と異なっていたが、2000 年以降国内各地で報告されている A-1 に分類され、特に 2010 年 5 月に大阪市で散発した事例や 2010 年 12 月に長野市で散発した事例と高い相同性を示している。本市事例を含むこれらの事例が疫学的にどう結びつくかは、今後の調査が期待されるところである。

表 1 H A V 陽性検体一覧

検体番号	年齢	性別	届出年月日	発症年月日	検体採取日	copies/cDNA	sequence	NESID-ID
58013	44	男	2011/1/31	-	2011/1/26	5.3×10^1	A	04662
58015	48	男	2011/1/28	2010/12/19	2011/1/26	1.4×10^4	A	04652
58032	20	男	2011/2/2	2011/1/28	2011/1/27	3.5×10^8	A	03465
KHAV1	37	女	2011/1/21	2011/1/8	2011/1/26	2.7×10^4	A	02334
KHAV2	56	女	2011/1/21	2011/1/15	2011/1/24	5.0×10^6	A	02330
KHAV3	43	男	2011/1/21	2011/1/9	2011/1/28	4.1×10^4	A	02335
KHAV4	43	男	2011/1/21	2011/1/12	2011/1/27	7.9×10^5	A	02333
KHAV5	61	男	2011/1/24	2011/1/9	2011/1/25	3.0×10^2	A	02505
KHAV6	43	男	2011/1/24	2011/1/14	2011/1/25	3.1×10^5	A	02507
KHAV7	54	男	2011/1/24	2011/1/13	2011/1/26	4.0×10^3	A	02506
KHAV9	56	女	2011/1/24	2011/1/18	2011/2/3	6.4×10^5	A	02606
KHAV10	21	男	2011/1/25	2011/1/15	2011/1/31	1.9×10^3	A	02624
KHAV12	61	男	2011/1/25	2011/1/10	2011/1/28	3.5×10^5	A	02743
KHAV13	42	男	2011/1/26	2011/1/17	2011/1/28	8.7×10^6	A	02749
KHAV14	55	女	2011/1/26	2011/1/16	2011/1/28	4.8×10^5	A	02744
KHAV15	43	男	2011/1/26	2011/1/10	2011/1/28	2.9×10^5	A	02745
KHAV17	28	女	2011/1/27	2011/1/17	2011/2/9	5.0×10^6	A	02968
KHAV19	31	女	2011/1/27	2011/1/21	2011/2/3	4.1×10^6	A	02970
KHAV20	35	男	2011/1/27	2011/1/18	2011/1/31	2.9×10^5	A	02971
KHAV21	61	男	2011/1/31	2011/1/18	2011/2/3	9.7×10^5	A	03259
KHAV22	54	男	2011/1/31	2011/1/20	2011/2/1	1.1×10^2	-	23261
KHAV23	76	女	2011/1/31	2011/1/17	2011/2/7	1.2×10^3	A	03263
KHAV24	12	男	2011/2/1	1900/5/3	2011/2/2	7.1×10^2	A	03776
KHAV25	58	男	2011/2/2	2011/1/13	2011/2/4	5.2×10^1	A	03460
KHAV29	18	女	2011/2/2	2011/1/31	2011/2/10	3.8×10^5	A	03464
KHAV30	31	女	2011/2/3	2011/1/17	2011/2/8	1.1×10^5	A	03623
KHAV31	42	女	2011/2/3	2011/1/10	2011/2/8	5.7×10^4	A	03625
KHAV32	41	女	2011/2/4	2011/1/20	2011/2/10	3.6×10^4	A	03700
KHAV33	53	女	2011/2/4	2011/1/23	2011/2/7	1.2×10^5	A	03708
KHAV34	33	女	2011/2/7	2011/1/23	2011/2/8	2.0×10^5	A	03965
KHAV35	34	男	2011/2/7	2011/1/22	2011/2/10	3.3×10^5	A	03966
KHAV38	35	男	2011/2/10	2011/1/17	2011/2/17	1.4×10^3	A	04452
KHAV39	33	女	2011/2/10	2011/1/15	2011/2/17	9.7×10^4	A	04458
KHAV41	38	男	2011/2/17	2011/2/3	2011/2/18	5.6×10^3	A	05100
K107	43	女	2011/2/8	-	2011/1/31	1.1×10^5	A	04664

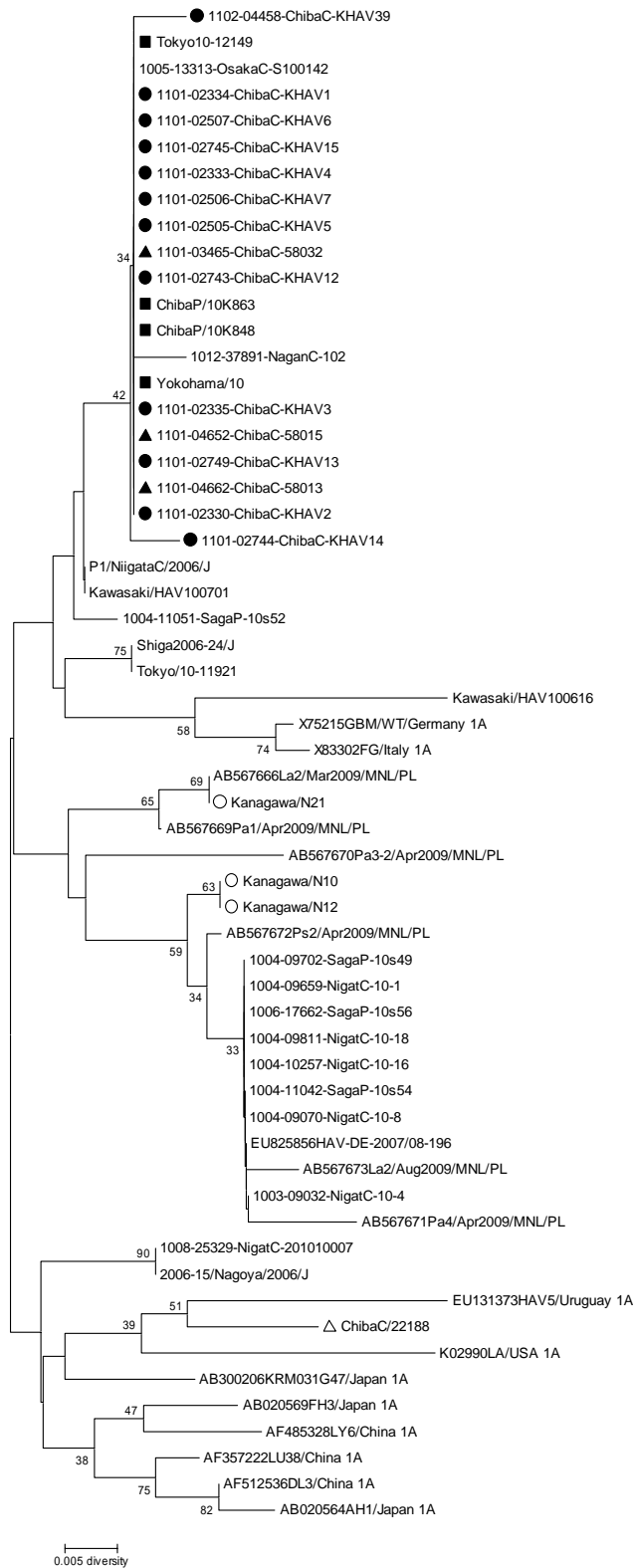


図1 HAVのVP1-2A領域の一部約200ntの塩基配列に基づく分子系統樹 (A)

● : 千葉市患者 ○ : 調理従事者 △ : 市外患者
 ■ : ブラックタイガー由来 □ : 千葉市散発例