

表1-2. 平成18年度ウイルス性胃腸炎集団発生事例（2007年1月～3月）

事例番号	発生時期	発生地区・状況 患者数 (患者数/喫食者数)		ウイルス検出		推定 伝播経路
				検出数	検査数	
21	2006年12月27日 ～2007年1月4日	老人保健施設 20/170	患者	4/4	GII/4	ヒト-ヒト
22	2006年12月31日 ～2007年1月1日	飲食店 (10/115)	患者 従業員	4/4 2/11	GII/4	食品
23	2007年1月9日 ～27日	知的障害者施設 63/145	患者 (職員含む)	4/4	GII/4	ヒト-ヒト
24	2007年1月11日 ～12日	飲食店 6/8	従業員	1/7	GII/4	食品
25	2007年1月11日 ～15日	小学校 5年2組	患者	2/3	GII/4	ヒト-ヒト
26	2007年1月24日 ～2月18日	老人保健施設 31/100	患者 (職員含む)	6/6	GII/4	ヒト-ヒト
27	2007年3月1日	小学校 4年2組20名	患者	3/3	GII/4	ヒト-ヒト
28	2007年3月15日 ～20日	老人保健施設 15	患者	4/4	GII/4	ヒト-ヒト

G I, G IIは NVG I, NVG IIを表す.

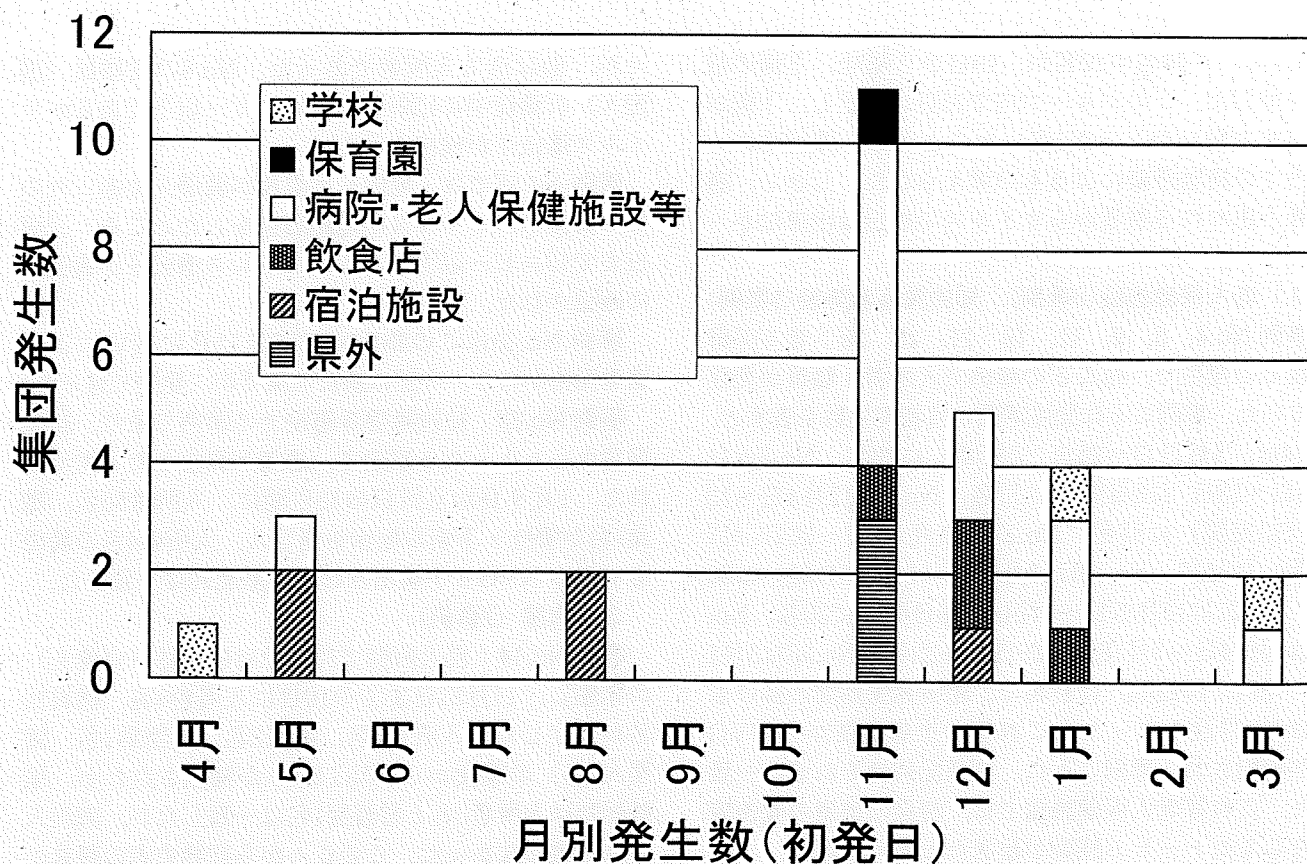


図1. 平成18年度ウイルス性胃腸炎集団発生（施設別）

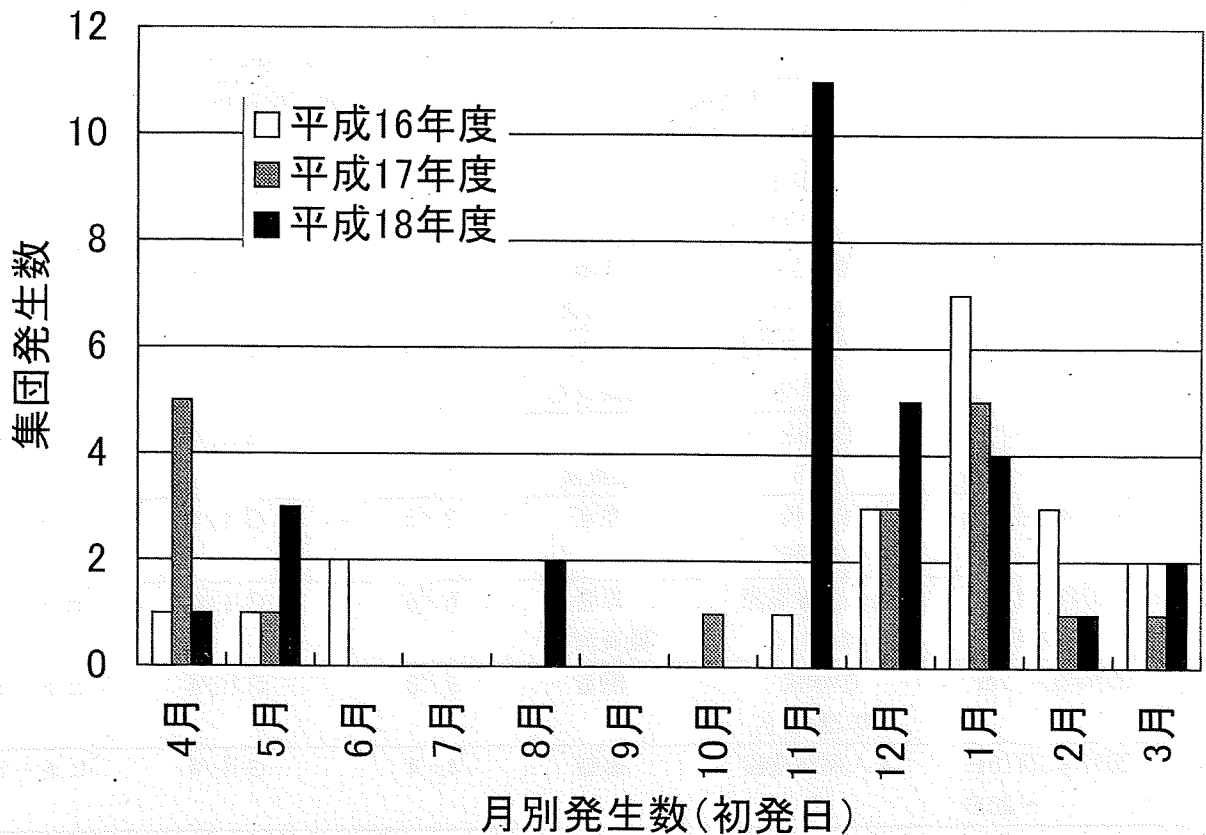


図2. ウイルス性胃腸炎集団発生の月別発生状況 (平成16, 17, 18年度)

け1台のバス40名中20名が、19日から嘔吐、下痢の症状を呈した。このグループ内で15日に発症し、下痢が18日まで続いたヒトが1名いたことから、旅行中のバス内での接触感染によるものと考えられた。しかし、感染源と思われる患者からウイルスの検出は出来なかった。

2) 老人保健施設(8事例)、知的障害者施設(1事例)

事例 No.4, 8, 9, 17, 19, 21, 26, 28: 老人保健施設での発生で、殆どどの事例で入所者と職員が発症していた。事例ごとに発生期間と患者発生数を表すと、No.4は、5月21日～25日(5日間)に22名、No.8は11月1日～13日(13日間)に77名、No.9は11月4日～13日(10日間)に57名、No.17は11月10日～26日(17日間)に34名、No.19は12月6日～11日(6日間)に30名、No.21は12月27日～1月4日(9日間)に20名、No.26は1月24日～2月18日(26日)に35名、No.28は3月15日～20日(6日間)に17名で、患者発生期間の長いものは1ヶ月近くあった。これ等の患者糞便から NVG II が検出され、事例ごとに、塩基配列はそれぞれ一致した。これ等老人保健施設では、初発の患者の糞便等を介してヒト-ヒト感染が起きたと考えられた。

初発患者は1事例 (No.8) だけが、従業員であっ

たが、他は全て入所者であった。No.8の従業員(調理人)の糞便中に13病日まで10コピー以下であるがウイルス遺伝子が検出された。

事例 No.17では、発症した職員が調理人であったので、糞便中のウイルスの追跡調査をしたところ、12病日まで10コピー以下であるがウイルス遺伝子が糞便中に確認された。

事例 No.28はこの施設で2006年12月に NV による患者発生があり、今回は新たな棟での、発生で有った。

事例 No.23: 知的障害者施設での事例であり、初発患者からヒト-ヒト感染で、患者が発生したと考えられた。1月9日から27日の18日間に、入所者56名、職員7名が嘔吐・下痢の症状を呈した。入所者4名の糞便全てから NVG II が検出され、塩基配列は一致した。

3) 病院 (2事例)

事例 No.14: 老人病院で11月12日に患者(介護士)が発生し、11月22日までの10日に入所者9名、職員22名が発症した。入所者3名、職員2名(看護師1名、調理人1名)の糞便から NVG II / 4 が検出されたが、塩基配列は入所者3名と看護師1名は一致したが、調理人とは一致しなかった。このことから初発患者の職員から感染が広がったと考えられたが、調理人は別の感染

と考えられた。

**事例 No.16**：11月19日に病院で職員が発症し、12月3日までの15日間に入院患者23名、職員19名が発症した。NVGⅡ/4が検出されたが、塩基配列がわずかに違うものが存在し3グループに分かれた。それぞれ感染ルートが違うことが考えられた。

### 3) 学校 (3事例)、保育園 (1事例)

**事例 No.1, 25, 27**：事例 No.1では、4月19日に5年生の1クラス38名中18人が嘔吐、吐気症状を呈した。患者6名の糞便中5名からNVGⅠが検出され、これらの塩基配列は一致した。聞き取りでは15日(土)、16日(日)には同クラスの8名が嘔吐症状を呈し、このうちの5名が17日(月)に登校し、1名は給食当番をしていたとのことであった。このことから、8名が最初に感染し、このなかの給食当番(1名)により、食品等が汚染されクラスの半数が感染したと考えられたが、感染源は特定出来なかった。

**事例 No.25**は、1月12日、5年生の1クラス在籍者21名中20名が嘔吐、下痢の症状を呈した。患者3名中2名の糞便からNVGⅡが検出され、塩基配列は一致した。11日に嘔吐、下痢で早退した者が1名いたことから、この初発患者から接触感染により広がったと考えられた。

**事例 No.27**は3月1日に4年生の1クラス在籍者30名中21名、教師1名が嘔吐、腹痛、下痢、発熱の症状を呈した。患者3名の糞便からNVGⅡが検出され、塩基配列は一致した。患者の発生時期が集中していたことから単一暴露の感染が考えられた。同クラスの生徒1名が、2月21日～26日まで感染性胃腸炎で出席停止であったことが分った。このことからこの初発の生徒が、症状が治まって、登校した時点でも糞便中にウイルスを排出し、接触により同クラス内の児童に感染させたと考えられた。

**事例 No.7**：保育園1歳児のクラスで園児8名、保育士2名が嘔吐、下痢を発症した。患児5名からNVGⅡが検出され、これらの塩基配列は一致した。この数日前に症状を呈していた1歳園児が1名いたことから、この園児から感染が広がったと考えられた。

## 考 察

本年は飲食店等での発生は、カキの関与した事例は全く無く、NVに感染した調理人等により、食品が二次汚染された場合が殆んどであった。

NVの集団発生は冬季に多いが、本年度は飲食店、宿泊施設などでは5, 8, 11, 12, 1月に発生があり、殆んど年間を通して発生していた。また保育園、学校、

老人保健施設等でも4, 11, 12, 1, 3月に発生していた。2次感染が起こりやすいと考えられる施設では、冬季以外にも十分な注意が必要であると考えられた。

富山県感染症発生動向調査によれば、本年度も一昨年・昨年同様に感染性胃腸炎患者の報告数は、第1位を占めていた。また、これらの発生は感染性胃腸炎の集団発生事件が多発していた時期と一致していた。

我々は、NVに感染しても発症しない場合や、回復した後でも2ヶ月近く糞便中にウイルスを排泄している例のあることを確認した。小野ら[11]は、学校給食従事者(健康者)の糞便を検査し、NVの遺伝子が年間を通じて4.7%の割合で検出されることを報告している。このことは、発症あるいは発症しなくても、長期にわたりウイルスを糞便中に排泄し続け、感染源となる可能性が十分にあることを示唆している。感染症発生動向調査情報により患者発生状況を監視し、食中毒と感染症の両方の観点から事例ごとの個別調査研究を積み重ねていく必要があると考えられた。

## 謝 辞

検体採取等にご協力いただきました富山市保健所、高岡厚生センター、高岡厚生センター氷見支所、高岡厚生センター射水支所、中部厚生センター、新川厚生センター、新川厚生センター魚津支所、砺波厚生センター、砺波厚生センター小矢部支所の関係者各位に感謝します。

## 文 献

1. 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班：国立予防衛生研究所(1995)。
2. 西尾 治, 新川奈緒美(2002)。日本医事新報, 5, 6-9。
3. 杉枝正明, 新川奈緒美, 大瀬戸光明, 徳竹由美, 山口 卓, 秋山美穂, 西尾 治(2004)。臨床とウイルス, 32, (3), 189-194。
4. lass, R. I., Noel, J., Ando, T., Fankhauser, R., Belliot, G., Mounts, A., Parashar, U. D., Bress, J. S., Monroe, S. S. (2000)。J. Infect. Dis. 2, S254, 181。
5. 長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 安藤秀二, 永井美之(2004)。富山衛研年報, 27, 106-111。
6. 染谷雄一(2000)ウイルス, 50, (2), 173。
7. 2005年病原微生物検出情報, 月報, 12, 1-2。
8. 長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子,

- 堀元栄詞, 永井美之 (2005). 富山衛研年報, 28, 93-98
9. 厚生労働省医薬食品局食品案全部監視安全課長 (2003) 食安監初115001号.
10. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 滝澤剛則, 倉田 毅 (2007). 富山衛研年報, 30, 98-104.
11. 小野哲郎, 小河正雄, 塚本伸哉 (2000). 大分県衛生環境研究センター年報, 21 - 23.

## 2006年度に検出されたノロウイルス Genogroup II の遺伝子解析

小原真弓 長谷川澄代 岩井雅恵 堀元栄詞 滝澤剛則 倉田 毅

Genotyping of Noroviruses Genogroup II detected in the fiscal year 2006

Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Masae IWAI, Eiji HORIMOTO,  
Takenori TAKIZAWA and Takeshi KURATA

**要 旨** 2006年度に発生した感染性胃腸炎のうち、ノロウイルス (NV) Genogroup II (GII) が検出されたものについて遺伝子解析を行った。集団発生事例27事例、散発例5例から NVGII が検出された。さらに遺伝子型別を行うと、GII は1月の散発例1例のみ GII/6型であり、他は全て GII/4型であった。GII/4型はさらに2つのクラスターに分けられた。これらは2003年から2005年度までの調査で得られた GII/4型とは異なるクラスターであった。

5月に発生した集団食中毒事例において、従業員から長期にわたり NV が検出された。2名から検出されたウイルスのカプシド領域で、塩基およびアミノ酸の経時的变化がみられた。PCR 産物をクローニングして解析したところ、クローンの割合が徐々に変化していた。

ノロウイルス (NV) はカリシウイルス科のノロウイルス属に属し、冬季のウイルス性胃腸炎の原因となる。汚染された二枚貝の喫食や、感染者から2次汚染された食品の喫食、ヒトとヒトとの接触などによって感染する。遺伝子解析により、NV は Genogroup I (GI) と Genogroup II (GII) に分けられる。研究者によって若干異なるものの、さらに各 Genogroup 内でいくつかの遺伝子型に分類される[1, 2, 3, 4]。GII は NV 流行の大部分を占めるが、中でも、GII/4型が近年全国的に流行している[5]。そこで今回、2006年度に流行した GII、主として GII/4型について解析を行った。また、長期にわたって NV が検出された例について、排出期間における NV 遺伝子の変化を調べた。

### 材料と方法

1) 2006年4月から2007年3月までに発生した感染性胃腸炎集団発生事例 (食中毒事例、県内者の県外感染事例を含む) と散発例のうち、遺伝子検出で NVGII が確認された糞便171検体を用いた。糞便の処理から RT-PCR 法については厚生労働省通知[6]に準じ、2004年度[7]、2005年度[8]と同様に行った。PCR 産物は、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列はプライマー部分を除き、ClustalW (DDBJ) にてアライメントを行った。さらに Njplot により分子系統樹を作成した。参考株は、2004年度[7]と同様、片山らの分類に従い[3]、CaliciWeb (<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calici/>) よりダウンロードした塩基配列を使用した。

2) 2006年5月に発生した NV を原因とする食中毒事例において、2名の調理従事者 (有症者 a、無症者 b とする) の糞便を7回及び4回にわたり採取した。これ

らの糞便から RNA を抽出し、NV 遺伝子をポリメラーゼ領域プライマー COG2F/COG2R を用いたリアルタイム PCR 法[6]で検出した。また、プライマー G2-SKF/G2-SKR で増幅したカプシド領域の PCR 産物を用い、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。同時に、TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen) を用いて PCR 産物をクローニングし、各20~30クローンについて塩基配列を決定した。

### 結果および考察

1) 2006年4月から2007年3月までに得られた塩基配列を用いて系統樹を作成したところ、NVGII は散発例の1例のみ GII/6型であり、他は全て GII/4型であった (図1)。この GII/4型は、2つのクラスターを形成しており、302塩基について比較したところ、事例番号3と4で形成されるクラスター内では相同性99.3% (2塩基の相違)、その他の検体で形成されるクラスター内では相同性100~98.3% (0~5塩基の相違) であった。

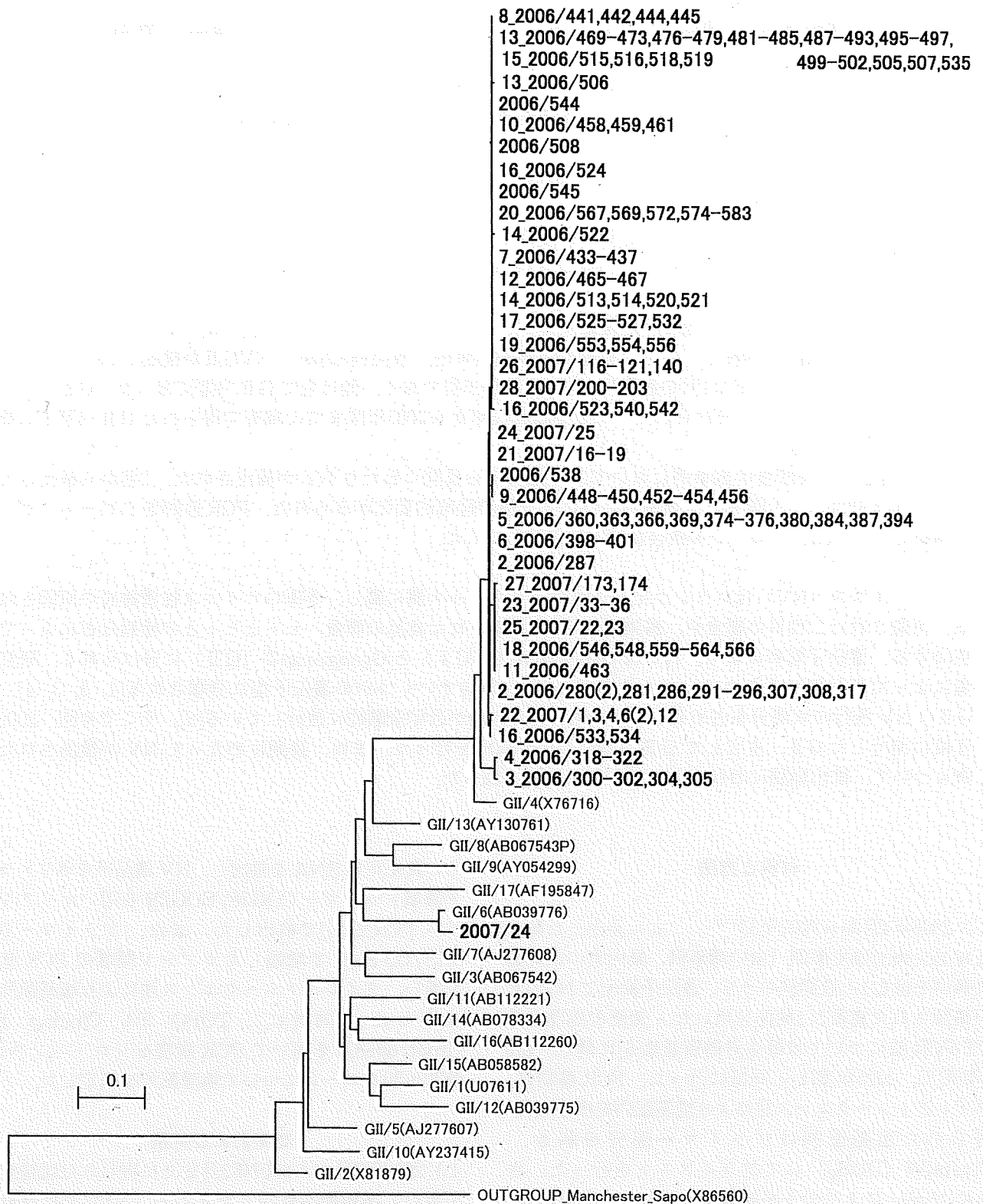


図1. 2006年度に得られた検体のNVG II 遺伝子解析

集団発生事例の検体は「事例番号\_年/検体番号」、散发例の検体は「年/検体番号」で示す。  
 参考株については「遺伝子型(accession No.)」で示す。

- ☆・・・2003年度
- ・・・2004年度
- ・・・2005年度
- ▲・・・2006年度

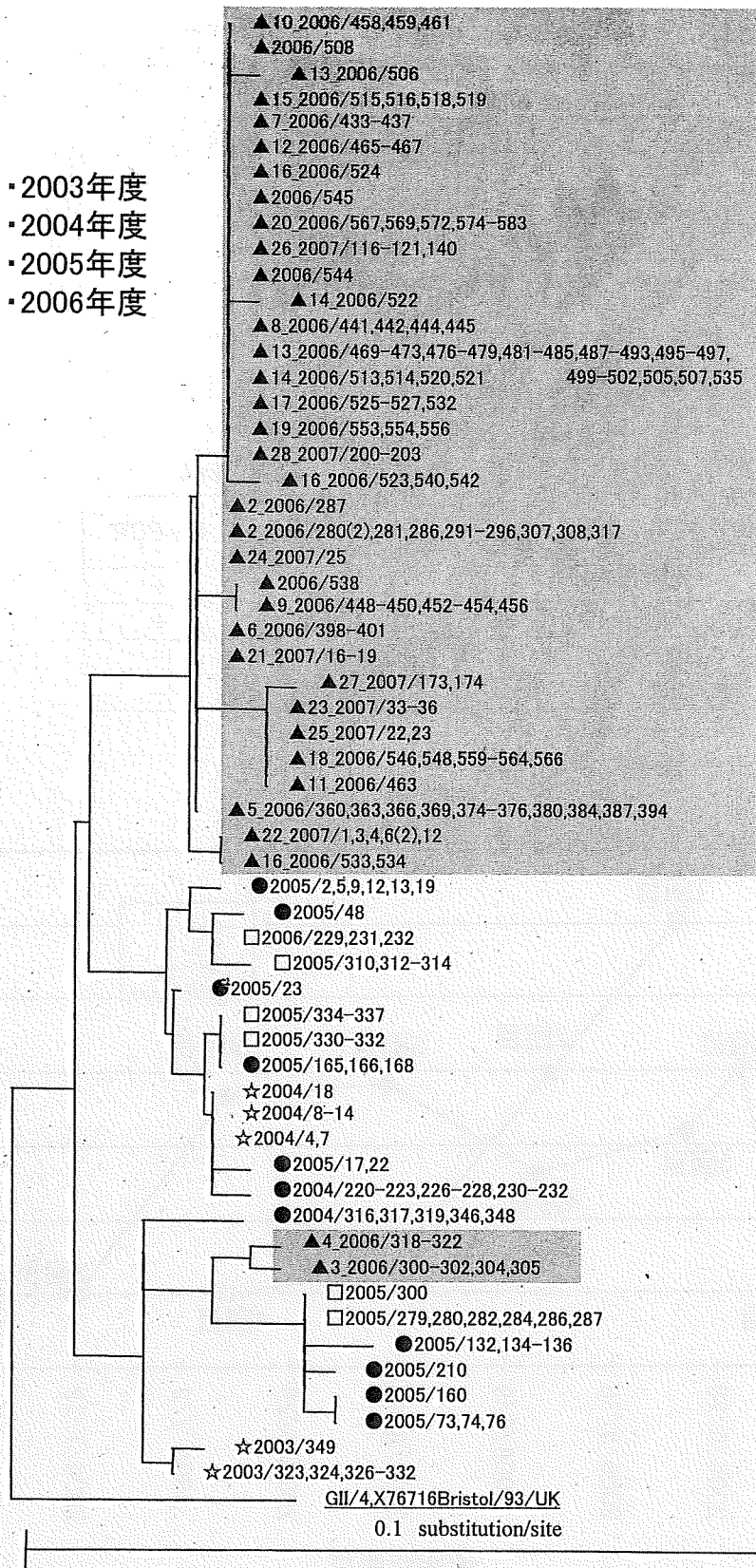


図2. 2003～2006年度に得られた検体の遺伝子解析(NVGII/4比較)

2006年度の検体については、集団発生事例の検体は「事例番号\_年/検体番号」、散发例の検体は「年/検体番号」で示す。

2003～2005年度の検体については全て「年/検体番号」で示す。

表1-1. 従業員 a (有症者) のノロウイルス検出結果

検体採取	病日	リアルタイム PCR		RT-PCR
		結果	平均コピー数/g	
1回目	4	-	-	+
2回目	9	+	1.13E+07	+
3回目	14	+	1.53E+06	+
4回目	28	+	4.10E+05	+
5回目	42	+	6.74E+06	+
6回目	57	+	4.70E+06	+
7回目	71	-	-	-

表1-2. 従業員 b (無症状) のノロウイルス検出結果

検体採取	検体採取日	リアルタイム PCR		RT-PCR
		結果	平均コピー数/g	
1回目	2006/5/24	+	1.07E+09	+
2回目	2006/6/5	+	9.24E+06	+
3回目	2006/6/20	+	2.11E+04	-
4回目	2006/7/5	-	-	-

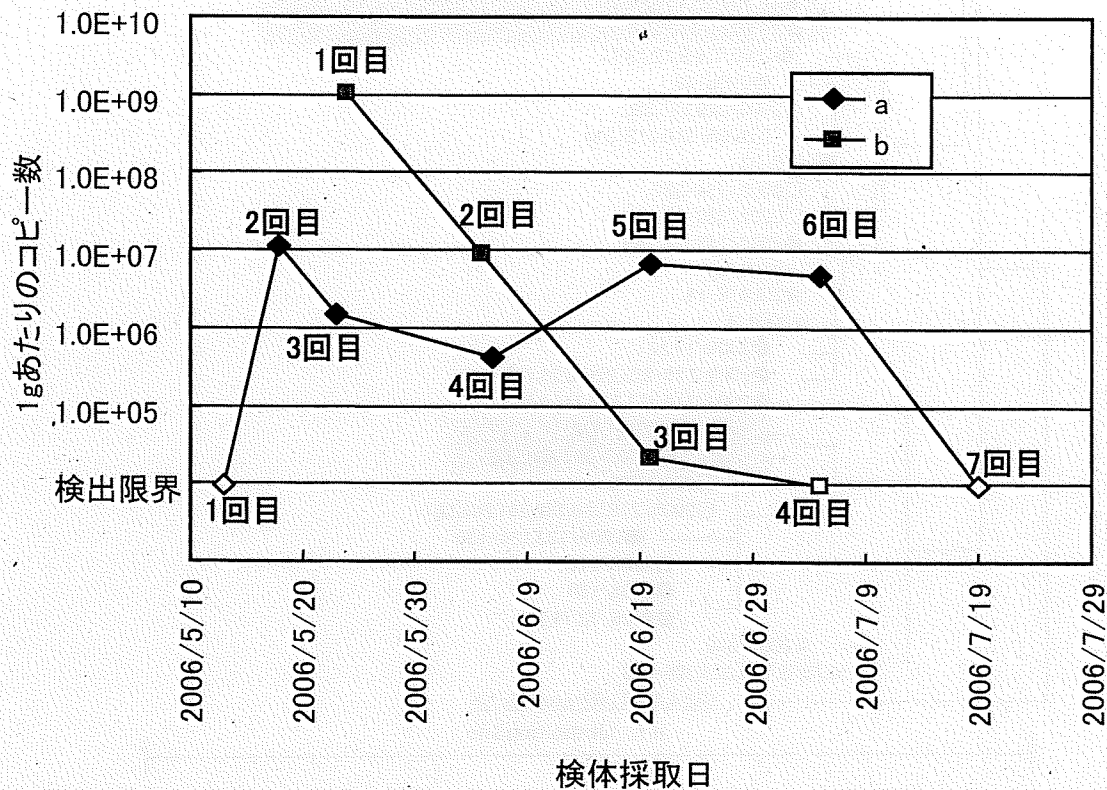


図3. 従業員aおよびbの便1gあたりのNVコピー数

白抜きはリアルタイムPCR陰性



		(カプシド領域の塩基番号)					
		231	240	250	260	270	280
a	1回目	-----	-----	-----	-----	-----	C-----
	2回目	-----	-----	-----	-----	-----	T-----
	3回目	-----	-----	-----	-----	-----	T-----
	4回目	-----	-----	-----	-----	-----	T-----
	5回目	-----	-----	-----	-----	-----	T-----
	6回目	-----	-----	-----	-----	-----	T-----
b	1回目	-----	-----	-----	-----	-----	T-----
	2回目	-----	-----	-----	-----	-----	T-----
(nt)		GAGCGCGCCC	TTAGGCCCTG	ATCTGAATCC	CTACCTATCT	CATTGGG	CYA GA
(aa)		S A P	L G P D	L N P	Y L S	H L A	R
						A	

図4-1. カプシド領域第279番目の塩基における変化

		(カプシド領域の塩基番号)						
		1	10	20	30	40	50	60
a	1回目	-----	-----	-----	-----	-----	-----	A-----
	2回目	-----	-----	-----	-----	-----	-----	A-----
	3回目	-----	-----	-----	-----	-----	-----	A-----
	4回目	-----	-----	-----	-----	-----	-----	G-----
	5回目	-----	-----	-----	-----	-----	-----	G-----
	6回目	-----	-----	-----	-----	-----	-----	G-----
b	1回目	-----	-----	-----	-----	-----	-----	A-----
	2回目	-----	-----	-----	-----	-----	-----	G-----
(nt)		ATGAAGATGG	CGTCGAATGA	CGCCAACCCA	TCTGATGGGT	CCGCAGCCAR	CCTCGTCCCA	
(aa)		M K M A	S N D	A N P	S D G S	A A N	L V P	
						S		

図4-2. カプシド領域第50番目の塩基における変化

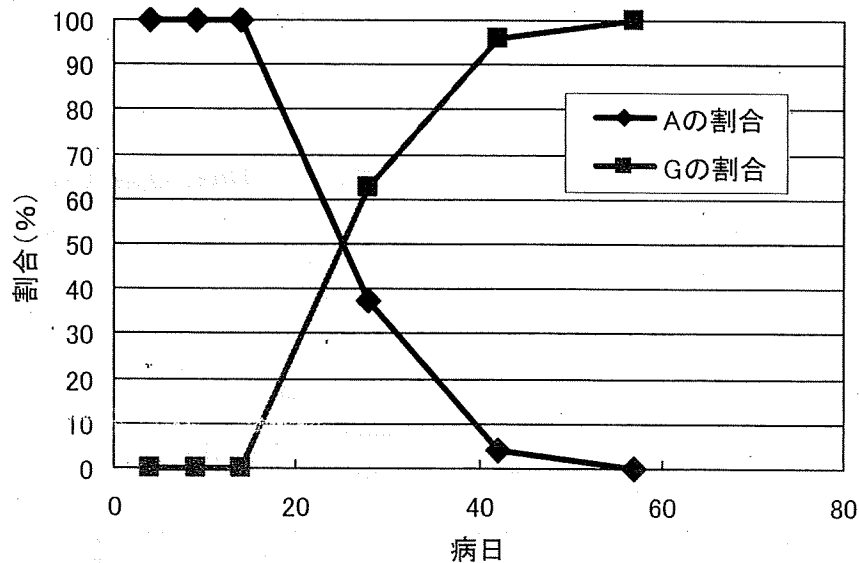


図5. 従業員aから得られたNVのカプシド領域第50番目がAであるクローンとGであるクローンの割合

違うクラスター同士では相同性95.7~96.7% (10~13塩基の相違)であった。この2006年度に得られたG II/4型を、これまでの富山県内の調査で得られたG II/4型と比較したところ (図2), 2006年度のクラスターはいずれも富山県内の2003~2005年度の調査で得られたG II/4型と異なっていた。2006年度は、11月をピークとして例年の1.5倍のNV集団発生があった。世界的にも同時期に、これまでと異なるG II/4型が大規模な流行を起こしており[9], 日本においても新たな株が2006年度の流行の原因となったと考えられる。

2) 従業員aおよびbのNV検出結果について表1-1, 1-2に示す。リアルタイムPCR法により, aは2回目(9病日)から6回目(57病日)にかけて, bは1回目から3回目にかけてNVG IIが検出された。aとbの糞便1gあたりのコピー数を図3に示す。aは2回目から4回目(28病日)にかけて減少したが, 5回目(42病日)で再び増加し, 7回目(71病日)に陰性となるまで減少した。bのコピー数は4回目に陰性となるまで減少し続けた。

PCR産物のダイレクトシーケンスの結果では, aのカプシド領域第279番目の塩基が1回目から2回目にかけてシトシン(C)からチミン(T)に変化していた(図4-1)。さらに, aおよびbのカプシド領域第50番目の塩基がアデニン(A)からグアニン(G)に変化していた(図4-2)。これはアスパラギン(AAC)からセリン(AGC)へのアミノ酸変異を伴っていた。

aは3回目(14病日)から4回目(28病日)に, bは1回目から2回目にA→Gの変化がみられた。この2名におけるA→Gの変化の時期はほぼ一致していた。クロニングを行い解析したところ, カプシド領域第279番目においてはaの1回目のみ全クローンCであり, 他は全てTであった。カプシド領域第50番目については, Aのクローン数:Gのクローン数の割合はそれぞれ, aの1回目27:0, 2回目24:0, 3回目23:0, 4回目9:15, 5回目1:24, 6回目0:20と徐々に変化していた(図5)。bは1回目27:0, 2回目1:28であった。

ab二名と同じ事例内のNV陽性者において, カプシド領域第50番目の塩基でAがGに変わっているのがダイレクトシーケンス法で確認できたのは, この二名のみであった。また, 有症者a以外にカプシド領域第279番目の塩基がCであった者はいなかった。このことから, カプシド領域第279番目の塩基は感染当初Cであったが, aを含む感染者の誰かの中でTに変わったと考えられる。カプシド領域第50番目の塩基の変化は, ab二名が感染していたNVが偶然同じ時期・同じ場所に変異を起こしたとは考えにくいことから, この二名のどちらかでウイルスが変異し, 相手に感染した可能性が高い。

本事例において, aは約2ヶ月, bは約1ヶ月にわたりNVを排出しつづけていた。この間にNVのカプシド領域で, 塩基およびアミノ酸の経時的変化がみら

平成19年12月1日

れた。このことは、長期排出者は二次感染の原因となるだけでなく、ウイルスの病原性変異の要因ともなりうることを示唆している。

#### 謝 辞

本研究を実施するに当たり、検体採取にご協力くださった病院と厚生センター、富山市保健所の関係各位に心より感謝いたします。

#### 文 献

1. Ando, T., Noel, JS., Fankhauser, RL. (2000). *J. Infect. Dis.*, 181, S336-348
2. Kawamoto, H., Yamazaki, K., Utagawa, E., Ohyama, T. (2001). *J. Med. Virol.*, 64, 569-576
3. Katayama, K., Shirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T., Takeda, N. (2002). *Virology*, 299, 225-223
4. Vinje, J., Green, J., Lewis, DC., Gallimore, CI., Brown, DW., Koopmans, MP. (2000). *Arch. Virol.*, 145, 223-241
5. 国立感染症研究所編 (2006). 病原微生物検出情報, 速報 (2007年6月21日現在報告数)
6. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2003). 食安監発第115001号.
7. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 松浦久美子, 永井美之 (2005). 富山衛研年報, 28, 99-104
8. 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 永井美之 (2006). 富山衛研年報, 29, 121-125
9. 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部編 (2006). 食品安全情報2006年26号

## 下水流入水の腸管系ウイルス調査 (2006-2008年)

岩井雅恵 中村一哉 小原真弓 長谷川澄代 堀元栄詞 倉田 毅 滝澤剛則

Enteric viruses in raw sewage in Toyama Prefecture from 2006 to 2008

Masae IWAI, Kazuya NAKAMURA, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA,  
Eiji HORIMOTO, Takeshi KURATA, Takenori TAKIZAWA

**要 旨** 地域住民の腸管系ウイルス感染状況を知るために、2006年4月から2008年3月まで、富山県内の1下水処理場において、毎月1回下水流入水のウイルス調査を実施した。ポリオウイルスは、生ワクチン接種時期から3ヶ月以内に検出され、ウイルス遺伝子のVP1領域の塩基配列解析により、すべてワクチン由来株と判定された。その他、ヒトエンテロウイルスB群(HEV-B)、レオウイルス、アデノウイルス、ノロウイルス、サポウイルスが検出された。調査期間中、無菌性髄膜炎や感染性胃腸炎の患者と、下水流入水とから検出されたHEV-B、ノロウイルス、サポウイルスの検出状況を比較したところ、コクサッキーウイルスB2型(CoxB2)、CoxB5、ノロウイルス Genogroup(G)I/8, GII/4, GII/13は、無菌性髄膜炎や感染性胃腸炎の患者からの検出とほぼ同時期に下水流入水からも検出された。下水流入水からは、これら以外にも、多種類の型のウイルスが検出された。

エンテロウイルスや、ノロウイルス、サポウイルスなどの腸管系ウイルスは、経口感染によってヒトの間を伝播する[1, 2]。エンテロウイルスは、感染しても無症状のことが多いが、時に上気道炎やヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎、脳炎などを起こし[1, 3]、ノロウイルスおよびサポウイルスは、感染性胃腸炎の原因となる[2, 4]。これらのウイルスによる患者発生動向は、感染症法に基づいて、調査されている。これらの流行状況は毎年異なり、時として大流行を起こすこともあるため、継続的に流行状況を把握することは、公衆衛生上重要であると考えられる。しかしながら、富山県においては、無菌性髄膜炎などの報告症例数が少なく、腸管系ウイルスの流行状況の把握が不十分である可能性がある。そこで、地域住民の便中に排泄されるウイルスが含まれる下水流入水を調査することで、住民のウイルス感染状況を把握することを試みた。下水流入水中には、不顕性感染しながら地域住民の間を伝播しているウイルスも含まれていると考えられる。したがって、本調査では、地域住民の不顕性、不顕性を含む包括的な腸管系ウイルス感染状況を明らかにすることを目的として、毎月1回、下水流入水から検出されるウイルスの種類を調べ、ヒト(無菌性髄膜炎や感染性胃腸炎の患者や健康者)由来の腸管系ウイルスと比較した。

### 材料と方法

#### 1) 下水流入水の採取

2006年4月～2008年3月の間に、県内の1下水処理場において、月1回下水流入水を2リットル採取した。当該処理場は、計画処理人口が約30万人の流域下水道の処理施設である。

#### 2) 下水流入水の濃縮

下水流入水は、3000rpm、30分間遠心し上清を回収後、「ポリエチレングリコール法」[5]または「フィルター吸着溶出法」[6]により濃縮した。

「ポリエチレングリコール(PEG)沈殿法」：遠心上清1Lに、80gのPEG6000を添加し、4℃で2時間攪拌した後、10,000rpm、30分間遠心しウイルスを濃縮沈殿させた。沈殿は4mLのリン酸緩衝液に懸濁し、ポアサイズ0.45μmのフィルターを通して雑菌を除き、ウイルス検査材料とした。

「フィルター吸着溶出法」：遠心上清1LにMgCl<sub>2</sub>を最終濃度0.05Mとなるように加え、さらに0.5N HClを加えてpH3.5に調整し、陰電荷膜(Mixed cellulose ester type membrane フィルター、直径142mm、ポアサイズ0.45μm、ADVANTEC)にろ過することによりウイルスを吸着させた。次いでフィルターを細断して10mLの3%Beef extract液中で、1分間、超音波処理(TAITEC VP-5S、出力50W、周波数20

kHz) することによりウイルスを誘出した。誘出液の雑菌を除き、ウイルス検査材料とした。

### 3) 患者および健康者のウイルス調査

県内で2006年4月～2008年3月に発症した6名の無菌性髄膜炎患者の糞便、咽頭拭い液、および髄液、805名の感染性胃腸炎の患者から得られた糞便、および134名の健康な乳幼児から得られた糞便を用いた。糞便はPBSで10%乳剤を作製した。便乳剤と咽頭拭い液は13,000rpmで30分間遠心することで雑菌を除き、髄液はそのままウイルス検査材料とした。

### 4) エンテロウイルス、アデノウイルス、レオウイルスの分離

2) の各処理により得られた下水流入水のウイルス濃縮液および3) のヒトからの臨床検体を、培養細胞(Vero, MA104, RD-18S, HEp-2) に接種し、細胞変性効果やヒトO型血球との凝集性を指標としてウイルス分離を行った。分離ウイルスの同定は、抗エンテロウイルス血清(国立感染症研究所分与, デンカ生研), 抗アデノウイルス血清(デンカ生研), 抗レオウイルス血清(自家製)を用いた中和試験あるいは赤血球凝集抑制試験によって行った。

### 5) ポリオウイルス、ノロウイルス、サポウイルスの遺伝子検出と塩基配列の比較

分離ウイルス、または、濃縮処理後の下水流入水から、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてRNAを抽出した。濃縮下水については、DNase処理を行なった。抽出RNAにランダムヘキサマーまたはオリゴdT15～18、およびSuper Script III Reverse Transcriptase (Invitrogen) を加え、逆転写反応でcDNAを作製後、Ex Taq (TaKaRa) を用いてPCRを行った。PCRのプライマーは、ノロウイルスGenogroup I (GI) 用に、GI-SKFおよびGI-SKR、ノロウイルスGII用に、GII-SKFおよびGII-SKR[7]を、サポウイルス用に、SV-F11およびSV-R1[8]を、ポリオウイルス用に、UG1およびUC11[9, 10]を用いた。PCR産物は、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。また、2006年7月～10月に採取した下水流入水から検出されたノロウイルスGIIについては、TAクローニングにより1月につき25プラスミドずつクローニングを行った。

ポリオウイルス分離株の塩基配列は、VP1全領域について、ワクチン株Sabin1, Sabin2, Sabin3の塩基配列(1型906塩基, 2型903塩基, 3型900塩基)(GenBankアクセッション番号はそれぞれAY184219,

AY184220, X00596)と比較した。

ノロウイルス遺伝子の塩基配列は、プライマー部分を除き、GIは291塩基(Norwalk/68/US, M87661のポジション5362-5652), GIIは302塩基(Lordsdale/93/UK, X86557のポジション5065-5366)について、参考株[11-17]と比較し、遺伝子型を決定した。サポウイルス遺伝子の塩基配列は、約686塩基(Manchester virus, X86560のポジション5170-5856)について参考株[18]と比較し、遺伝子型を決定した。

### 6) ノロウイルス遺伝子の定量

ノロウイルス遺伝子のコピー数は、厚生労働省の通知[19]に従い、Kageyamaら[20]のTaqMan real time PCR法により求めた。

### 7) 大腸菌群数の測定

滅菌水で10倍希釈した下水流入水を1mlずつ、直径90mmのディッシュに入れ、20mlのデソキシコレート培地を加えて混合した後、7mlのデソキシコレート培地を重層し、35℃で一晩培養した。培養後、出現した赤色のコロニー数を計測して、大腸菌群数(CFU/ml)とし、2枚のディッシュのコロニー数を平均した。

## 結 果

### 1) 下水流入水からのウイルス検出状況

図1に、下水流入水から検出されたウイルスの種類を月別に示した。下水流入水からは、年間を通して、ポリオウイルス、ヒトエンテロウイルスB群(HEV-B)、レオウイルス、アデノウイルス、ノロウイルス、サポウイルスなどの腸管系ウイルスが検出された。

#### 1-1 ポリオウイルス

ポリオウイルスは、2年間で35株が分離された。血清型別では、1型が2006年4月、2007年11月、12月に計4株、2型が2006年5月、6月、10月、11月、2007年5月、6月、11月に計19株、3型が2006年10月、11月、12月、2007年6月、10月、11月に計12株であった。下水処理場所在地域の乳幼児へのポリオワクチン集団接種時期は、2006年4/13-5/24, 9/7-10/18, 2007年4/11-5/24, 9/5-10/18であり、ポリオウイルスは、ワクチン接種時期から約2ヶ月の間に検出された。健康なヒトの場合、腸管で増殖したウイルスは、通常2週間～1ヶ月間排出されることから、今回分離されたポリオウイルスは、流域の地域のワクチン接種に関連して検出されたことが推測された。また、分離株とワクチン株との

ウイルス	2006												2007												2008			
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月				
ポリオ	Polio1																											
	Polio2																											
	Polio3																											
HEV-B	CoxB2																											
	CoxB4																											
	CoxB5																											
	Echo1																											
	Echo11																											
	Echo18																											
	Echo25																											
Echo30																												
レオ	Reo1																											
	Reo2																											
アデノ	Ad1																											
	Ad2																											
	Ad5																											
	Ad6																											
	Ad not typed																											
ノロ	GI/1																											
	GI/2																											
	GI/4																											
	GI/5																											
	GI/8																											
	GI/11																											
	GI/12																											
	GI/14																											
	GII/3																											
	GII/4																											
	GII/6																											
	GII/7																											
	GII/10																											
	GII/13																											
	GII/14																											
GII/15																												
サボ	GI/1																											
	GI/2																											
	GII/1																											
	GIV/1																											

図1. 下水流入水からのウイルス検出状況 (2006-2008)

VP1領域の塩基配列の差異は、1型では、0~0.33%、2型では、0~0.22%、3型では、0.11~0.56%であった。いずれもワクチン株と1%未満の差であるため、世界保健機関の基準によるOPV (Oral polio vaccine)-like ポリオウイルスであると確認された。このように、今回の調査における分離株は、すべてワクチン由来であり、野生株は検出されなかった。

1-2 HEV-B

調査期間中、HEV-Bは、CoxB2、CoxB4、CoxB5、エコーウイルス1型 (Echo1)、Echo11、Echo18、Echo25、Echo30の8種類が検出された。このうち、最も頻繁に検出されたのは、CoxB5であり、次いでCoxB2が多かった。その他、CoxB4およびEcho18が主に2006年に、Echo30が2007年9月、2008年1月および2月に検出された。

1-3 レオウイルスおよびアデノウイルス

レオウイルス1型、2型、アデノウイルス1型、2型、5型、6型が検出された。レオウイルスは2型が頻繁に検出された。アデノウイルスでは2型が多く検出され、次いで1型、5型が多かった。

1-4 ノロウイルス

ノロウイルスは、Genogroup I (GI) およびGIIともにはほぼ毎月検出された。遺伝子型別では、GIがGI/1, 2, 4, 5, 8, 11, 12, 14の計8種類、GIIはGI I/3, 4, 6, 7, 10, 13, 14, 15の計8種類が検出されたが、GIではGI/4が、GIIではGII/4が主であった。GI/4は、特に2007年から2008年にかけて多く、その他のGIの型は散発的に検出された。GII/4は、2006年4月、6月、2007年7~9月以外のすべての月に検出された。GII/7は2006年10月に、GII/13は2007年9月に検

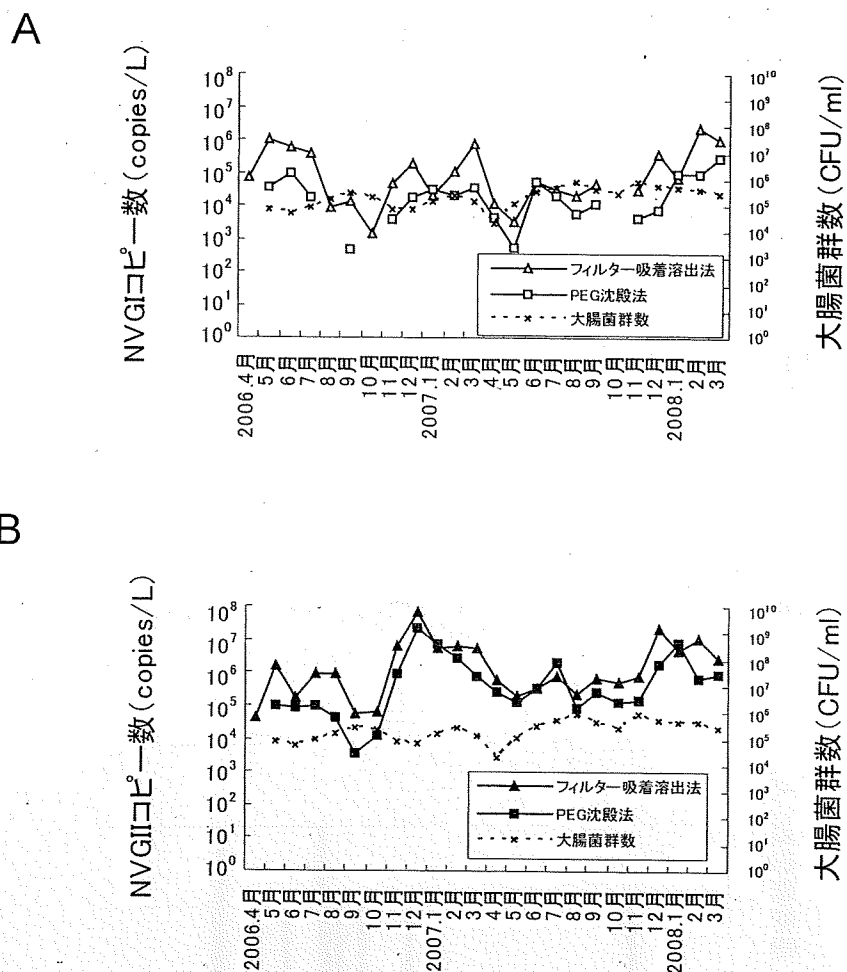


図2. 下水流入水中のノロウイルス遺伝子コピー数 (2006-2008)  
 (A) ノロウイルス GI. (B) ノロウイルス GII.

出された。その他の GII の型は、2006年6~10月、2007年7~10月の間に散発的に検出された。

下水流入水中のノロウイルス遺伝子の、リアルタイム PCR による定量結果を図2に示す。ウイルスの濃縮方法について、「PEG 沈殿法」と「フィルター吸着溶出法」の2種類とを比較したところ、フィルター吸着溶出法の方が、PEG 沈殿法よりもノロウイルスの濃縮効率が良かったが、下水流入水中のノロウイルス遺伝子量の季節的な変化は、両方法で類似していた。ノロウイルス GI は、 $10^3 \sim 10^8$  copy/L であり、GII は $10^4 \sim 10^8$  copy/L であった。GI, GII ともに夏季よりも冬季にノロウイルス遺伝子量が多く、特に2006/2007年の冬季は、ノロウイルス GII の遺伝子量が多かった。下水流入水中の大腸菌群数は、調査期間中、 $2.0 \times 10^4 \sim 8.1 \times 10^5$  CFU/ml、幾何平均は $2.0 \times 10^5$  CFU/ml であり、変動は少なかった。したがって、雨水などによる下水流入水の変動は少ないものと考え

られた。

### 1-5 サポウイルス

サポウイルスは主に冬季から春季にかけて検出された。遺伝子型別では、GI/1が最も多く検出され、その他、GI/2, GII/1, GIV/1が検出された。

### 2) 患者と健康者からのウイルスと下水流入水からのウイルスとの比較

無菌性髄膜炎、感染性胃腸炎、および健康者からの腸管系ウイルス検出状況を表1に示した。無菌性髄膜炎患者からは HEV-B が、感染性胃腸炎患者からは主にノロウイルスと、ノロウイルスと同じカリシウイルス科のサポウイルスが、また、健康者からは HEV-B, アデノウイルス, ノロウイルス, パレコウイルスが検出されたため、HEV-B, ノロウイルス, およびサポ

表1. 患者と健康者からの腸管系ウイルス検出状況

疾患名	ウイルス	2006年			2007年									2008年												
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
無菌性髄膜炎 (被検者数)	CoxB2	1																								
	CoxB5							1					1													
	その他ウイルス*																									
感染性胃腸炎 (被検者数)	ノロGII/4	2				1	1		4	2	2	3	2	1	3	3					1				3	2
	ノロGII/6														1											
	サボGII/3														1											
	サボGIV/1																									1
	その他ウイルス*	2					1								1	1	3	3								
	CoxB5+ノロGII/13																									10
	Ad1																									51
	Ad2+ノロGII/13																									
ノロGII/4																										2
ノロGII/4+パレコ1							1																			
ノロGII/7																										6
ノロGII/13																										5
パレコ1																										7
健康者 (被検者数)																										12
CoxB5+ノロGII/13																										61
Ad1																										1
Ad2+ノロGII/13																										3
ノロGII/4																										2
ノロGII/4+パレコ1																										2
ノロGII/7																										1
ノロGII/13																										10
パレコ1																										51

\*その他ウイルス, A群ロタウイルス, アストロウイルス, アデノウイルス, パレコウイルス1型

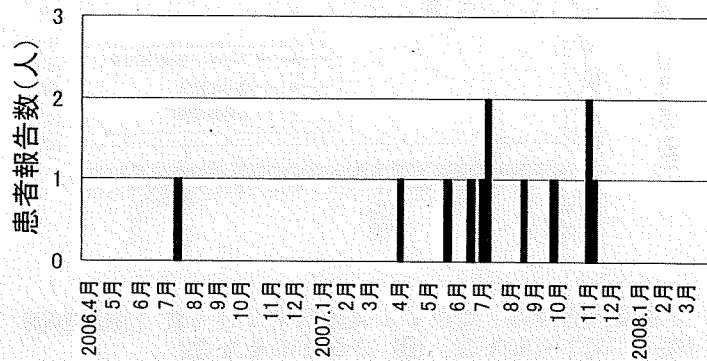


図3. 県内5箇所の基幹定点医療機関における無菌性髄膜炎患者発生状況

ウイルスについて、下水流入水由来ウイルスと比較した。

2-1 無菌性髄膜炎患者と健康者からの HEV-B

県内5箇所の基幹定点医療機関における、無菌性髄膜炎患者発生状況を図3に示す。無菌性髄膜炎患者からは、2006年5月にCoxB2が、2006年10月および12月にCoxB5が検出された(表1)。これらのウイルスが検出されたのは、いずれも0歳児であった。CoxB5は、2007年1月に無症状の健康者1名(6歳児)からも検出された。これらの検出時期は、下水流入水から検出された時期とほぼ一致した。下水流入水からはこれら以外にも数種類のHEV-Bが検出されていた(図1)。

2-2 感染性胃腸炎患者と健康者からのノロウイルスとサボウイルス

2006/2007および2007/2008シーズンの冬季を中心に、ノロウイルスGII/4を原因とする感染性胃腸炎の集団発生事例が多発した(図4-A)[21, 22]。小児科医療機関を受診した散発例の患者からも、ノロウイルスGII/4が、2006年11月、12月、および2007年12月に検出された(表1)。下水流入水からのノロウイルスGII/4の検出も患者と同時期であり、下水流入水中のノロウイルスGII遺伝子量の増減(図2)も、集団発生事例発生状況(図4-A)や小児科医療定点における患者発生数(図4-B)の動向と類似していた。これらの検出されたノロウイルスGII/4は、遺伝子解析により、Chiba-4e, 2006a, 2006bの3つのクラスターに分類された(図5)[11, 12, 16, 17]。各クラスターの代表株は、それぞれ、Chiba/04-1050/2005/JP(AB220921), Rhyl440/2005/UK(DQ665819), LincolnHouse/2006/UK(DQ676865)である。下水



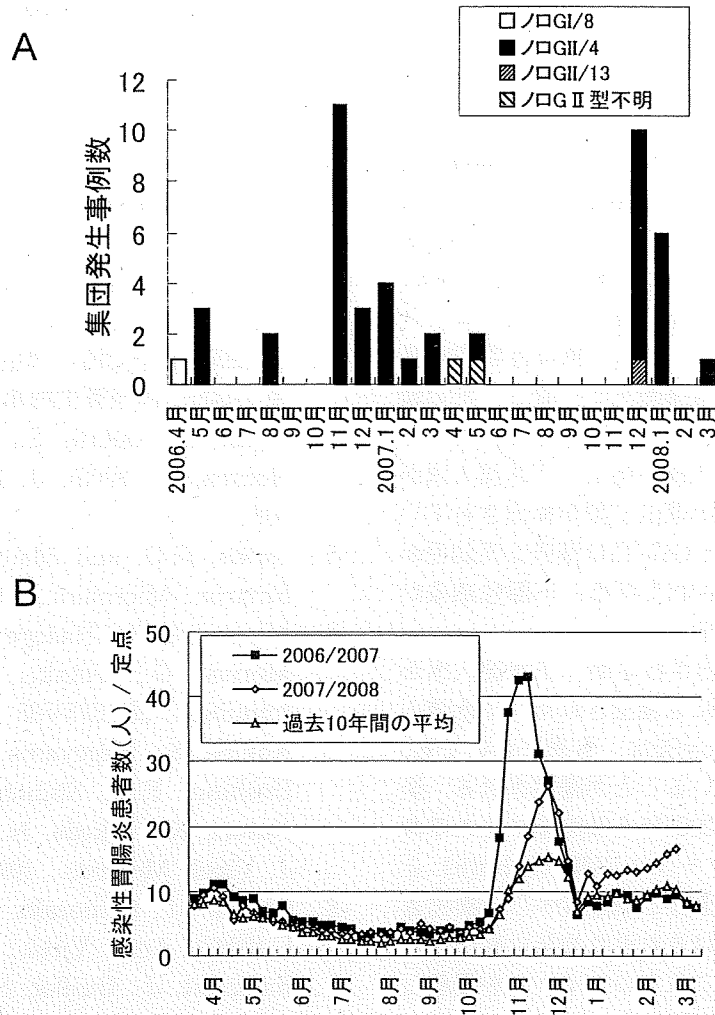


図 4. 感染性胃腸炎患者発生状況. (A) ウイルス性感染性胃腸炎の集団発生事例発生状況. (B) 県内29箇所の小児科定点医療機関における定点あたり感染性胃腸炎患者報告数.

流入水由来では、2006年5月と2006年7-8月に検出されたノロウイルス GII/4がそれぞれ2006a と Chiba-4e に属したが、2006年7月以降に検出された GII/4は、すべて2006b であった。感染性胃腸炎患者と健康者由来では、2006年5月の集団発生2事例と2006年9月に健康者1名から検出されたノロウイルス GII/4がそれぞれ2006a, Chiba-4e に属したが、それ以外（2006年5月～2008年3月の患者由来株、2007年1月の健康者由来株）はすべて2006b であった。

その他の遺伝子型では、ノロウイルス GI/8が2006年4月に集団発生1事例から、GII/13が2007年1月に8人の健康者、および2007年12月の集団発生1事例から、ノロウイルス GII/6が2006年12月に1名の散発例の患者から、ノロウイルス GII/7が2007年1月に6名の健康

者から検出された（図4-A, 図5, 表1）。下水由来と、感染性胃腸炎および健康者由来のノロウイルスの塩基配列は、解析した領域で、GI/8が99.3～100%, GII/7が96.4～97.4%, GII/13が98.0～99.3%一致した。

サポウイルスは、感染性胃腸炎患者から GII/3と GIV/1が、2007年2月と2008年3月にそれぞれ検出された。健康者からは、検出されなかった（表1）。一方、下水流入水からは、GI/1が頻繁に検出され、2006年4月には GIV/1が検出された。GII/3は検出されなかった（図1）。このように、患者と健康者、および下水流入水からの検出状況は、異なっていた。

## 考 察

下水流入水からは、ポリオウイルス、HEV-B、レオウイルス、アデノウイルス、ノロウイルス、サポウイルスなど、さまざまな腸管系ウイルスが検出された。これらのうちのほとんどは、ヒト（無菌性髄膜炎や感染性胃腸炎の患者や健康者）から検出されなかったが、一部、CoxB2やCoxB5、ノロウイルスGI/8、GII/4、GII/7、GII/13などは、ヒトからも検出された。特に、2006年7月以降、下水流入水から検出されたノロウイルスGII/4は、2006/2007シーズンの感染性胃腸炎患者から検出されたGII/4と塩基配列が一致し、その流行[21, 22, 24]をよく反映していると考えられた。しかしながら、感染性胃腸炎の流行時も、下水流入水からはGII/4以外にも多種類の遺伝子型が検出されていた。これらのうち、GII/7とGII/13は健康な乳幼児から、GII/4よりも多く検出されたため、不顕性感染が多かった可能性も考えられる。

HEV-Bは夏季に多く検出されるが、下水流入水からは、夏季のみならず冬季にも検出された。下水流入水から頻繁に検出されたCoxB5は、冬季においても、ヒト-ヒト感染が継続していることが推定される。全国の無菌性髄膜炎患者から2006年と2007年にそれぞれ検出例の多かったエコーウイルス18型(Echo18)とEcho30[25, 26]は、県内の患者と健康者からは検出されなかったが、下水調査ではそれぞれの年に検出されたため、富山県においてもこれらのウイルスが侵淫していたのではないかと推測された。

下水流入水からのサポウイルス検出状況が、患者や健康者と一致しなかったのは、ヒトの検査件数が少なかったことが一因と考えられる。アデノウイルス、レオウイルスなどについても同様であり、症例数の少ないこれらのウイルスによる地域住民への感染と発症については、今後検討したい。

ポリオウイルスについては、今回の調査で検出された分離株は、すべてワクチン由来株であり、野生株はみられなかったため、野生株の侵入の可能性は低いと考えられた。しかしながら、これらのウイルスがポリオ流行地から侵入する可能性は否定できないため、伝播の監視は続ける必要があると考えられる。

今後は、県民のウイルス感染状況の実態をよりよく反映する調査となるように、感染症発生動向調査の検査数がさらに増えるように、工夫していく。

## 謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取等にご協力い

ただいた下水道処理施設、医療機関、厚生センター、保健所、保育所、その他関係各位に深謝いたします。

## 文 献

1. White, D.O. and Fenner, F.J. (1996). 医学ウイルス学<第4版> (北村敬訳), p349-352 近代出版.
2. Hedberg, C.W. and Osterholm, M.T. (1993). Clin. Microbiol. Rev., 6, 199-210
3. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2000). 病原微生物検出情報月報, 21, 211-213.
4. Chiba, S., Nakata, S., Numata-Kinoshita, K., Honma, S. (2000). J. Infect. Dis., 181, S303-308
5. Lewis, G.D. and Metcalf, T.G. (1988). Appl. Environ. Microbiol., 54, 1983-1988.
6. Matsuura, K., Hasegawa, S., Nakayama, T., Morita, O., Uetake, H. (1984). Microbiol. Immunol., 28, 575-588
7. Kojima, S., Kageyama, T., Fukushi, S., Hoshino, F.B., Shinohara, M., Uchida, K., Natori, K., Takeda, N., Katayama, K. (2002). J. Virol. Methods., 100, 107-114
8. Okada, M., Shinozaki, K., Ogawa, T., Kaiho, I. (2002). Arch. Virol., 147, 1445-1451
9. Balanant, J., Guillot, S., Candrea, A., Delpeyroux, F., Crainic, R. (1991). Virology, 184, 645-654
10. Rico-Hesse, R., Pallansch, M.A., Nottay, B.K., Kew, O.M. (1987). Virology, 160, 311-322
11. Food-borne viruses in Europe network report. (2008). Eurosurveillance, 13,
12. Gallimore, C.I., Iturriza-Gomara, M., Xerry, J., Adigwe, J., Gray, J.J. (2007). Arch. Virol., 152, 1295-1303
13. Kageyama, T., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S., Hoshino, F.B., Kojima, S., Takai, R., Oka, T., Takeda, N., Katayama, K. (2004). J. Clin. Microbiol. 42, 2988-2995
14. Katayama, K., Shirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T., Takeda, N. (2002). Virology, 299, 225-239
15. Lindesmith, L.C., Donaldson, E.F., Lobue,

- A.D., Cannon, J.L., Zheng, D.P., Vinje, J., Baric, R.S. (2008). PLoS Med., 5, e31, 0269-0290.  
<http://medicine.plosjournals.org/perlserv/?request=get-document&doi=10.1371/journal.pmed.0050031>
16. Okada, M., Ogawa, T., Yoshizumi, H., Kubonoya, H., Shinozaki, K. (2007). Arch. Virol., 152, 2249-2252
  17. Siebenga, J.J., Vennema, H., Renckens, B., de Bruin, E., van der Veer, B., Siezen, R.J., Koopmans, M. (2007). J. Virol., 81, 9932-9941
  18. Hansman, G.S., Oka, T., Katayama, K., Takeda, N. (2007). Rev. Med. Virol. 17: 133-141
  19. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2003). ノロウイルスの検出法について, 食安監発第1105001号
  20. Kageyama, T., Kojima, S., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S., Hoshino, F.B., Takeda, N., Katayama, K. (2003). J. Clin. Microbiol., 41, 1548-1557
  21. 長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 倉田毅 (2007). 富山県衛生研究所年報 (平成18年度), 30, 91-97
  22. 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 倉田毅 (2007). 富山県衛生研究所年報 (平成18年度), 30, 98-104
  23. HEV-B 夏季に多い
  24. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2007). 病原微生物検出情報月報, 28, 277-286
  25. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2006). 病原微生物検出情報月報, 27, 230-232, 254
  26. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2007). 病原微生物検出情報月報, 28, 338

## ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について (2007年度)

長谷川澄代 小原真弓 中村一哉 岩井雅恵  
堀元栄詞 倉田 毅 滝澤剛則

### Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2007

Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Kazuya NAMURA, Masae Iwai,  
Eiji HORIMOTO, Takeshi KURATA and Takenori TAKIZAWA

**要 旨** 2007年4月から2008年3月までの1年間に検査したウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。

1. ウイルス性の急性胃腸炎の集団発生事例が20件あった。これら全てがノロウイルス感染によるものであった。
2. 発生施設別にみると飲食店(食堂, 宿泊施設, 民宿, 旅館等)11件, 保育園2件, 病院1件, 老人保健施設4件, 公民館1件, 家族内1件であった。
3. 飲食店はカキの喫食によるものは無く, 感染者からのノロウイルスで食品等が汚染されることによって発生したと考えられた。
4. 保育園, 老人保健施設等での発生は, 手指が感染者の吐物や糞便で汚染されてヒトからヒトへ直接伝播したと考えられた。
5. 20事例中19事例から検出されたノロウイルスは全てが Genogroup II (GII) であった。そのうち18事例が GI/4 で, 1事例が GI/13 であった。

### はじめに

ノロウイルス (Norovirus:NV) は, 冬季に散発及び集団発生する感染性胃腸炎の主たる原因ウイルスであり, 乳幼児から高齢者までの全年齢層に経口感染する [1]。NV は遺伝子解析により, Genogroup I (GI) と Genogroup II (GII) にわけられる。更に研究者によるが, Genogroup 内でもいくつかの遺伝子型に分類される [2,3,4,5]。

NV はヒトの小腸で増殖し, 吐物や糞便中に排泄され, 吐物には1g あたり  $10^3 \sim 10^6$  個, 糞便には  $10^9$  個もの NV が含まれている [6]。NV は, 感染者から2週間以上にわたり排泄され [7], 環境中でも長期間感染性を維持し, 100個以下で感染・発病させるといわれている [8]。このため, 感染者である調理従事者の手指を介して食品が NV で汚染され, 急性胃腸炎の集団発生を引き起こすこともある [9]。ヒトから排泄された NV は, 海に入り, カキなどの2枚貝の中腸腺に蓄積される [10]。2枚貝を生あるいは不十分な加熱で

喫食することによって起こる急性胃腸炎は, NV による食品媒介事例の約40%を占めている [6]。一方, NV は食中毒のみならず, 冬季に小児の間で散発, あるいは集団発生する感染性胃腸炎の流行も引き起こすことが知られている。しかしながら, 冬季以外にも NV の流行が認められるようになっており [11], 富山県でも2004年には5,6月に NV が検出されるなど [12], 冬季以外にも NV の流行が認められるようになってきた [12, 13]。このように近年, 本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生が2003年度に10事例, 2004年度には20事例, 2005年度には17事例, 2006年度には28事例と年々増加傾向にあり, それらの殆んどが, NV によるものである。そこで, 原因ウイルスの特徴と発生傾向を把握するために, ウイルス性胃腸炎の集団発生事例の個別調査を実施した。

### 材料と方法

検査対象事例および検査材料