

図2 2006年36週～52週の感染性胃腸炎およびNV集団感染発生状況

表2 不顕性感染の食品取扱者からの汚染が原因と推定される事例の検査結果

区分	症状	遺伝子型	ウイルス量 (1g当りのコピー数)
食品取扱者	無	GII/4-3	$1.7 \times 10^5$
食品取扱者	無	GII/4-1	$9.8 \times 10^7$
患者	有	GII/4-1	$3.1 \times 10^8$
患者	有	GII/4-1	$1.2 \times 10^9$
患者	有	NT	$1.3 \times 10^7$
患者	有	GII/4-1	$1.7 \times 10^7$
患者	有	NT	$4.6 \times 10^6$

表 3 2006 年、広島市及び全国における感染性胃腸炎定点当り患者報告数  
(感染症発生動向調査より)

広島市														
年	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	5~10 月平均	7~9 月平均
2000	4.78	8.87	13.42	9.03	6.79	4.28	2.06	1.51	1.59	1.84	3.51	13.57	3.01	1.72
2001	10.91	14.61	8.96	3.69	3.45	2.81	1.75	1.63	1.62	2.54	4.53	13.73	2.30	1.67
2002	11.72	12.68	10.52	6.38	3.49	2.93	3.23	2.14	2.13	3.79	16.13	13.21	2.95	2.50
2003	8.44	15.98	16.75	8.92	4.66	3.67	2.67	2.46	2.93	2.97	7.01	25.15	3.23	2.69
2004	12.05	10.56	15.21	13.62	8.51	7.07	4.10	3.40	3.89	3.96	7.26	14.41	5.16	3.80
2005	18.83	11.81	9.88	7.00	5.55	5.02	4.11	3.59	3.70	3.54	4.82	15.14	4.25	3.80
2006	14.57	14.76	14.83	9.59	6.69	5.60	4.35	3.69	4.74	11.33	19.48	16.26	6.07	4.26

全国														
年	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	5~10 月平均	7~9 月平均
2000	7.92	8.21	10.48	6.89	5.47	4.16	2.33	1.65	1.77	2.05	4.67	13.72	2.90	1.92
2001	8.52	10.57	8.53	5.30	4.24	3.31	2.24	1.75	1.86	2.36	6.12	13.42	2.63	1.95
2002	8.15	10.02	8.23	5.40	4.19	3.79	2.98	2.05	2.18	3.48	9.05	10.61	3.11	2.41
2003	6.30	9.20	8.97	5.98	4.45	3.73	2.72	1.96	2.22	3.00	6.97	14.60	3.01	2.30
2004	8.39	8.65	9.75	6.86	5.19	4.25	2.87	2.26	2.40	2.70	4.35	12.35	3.28	2.51
2005	10.91	7.85	6.13	5.58	5.30	4.50	2.77	2.20	2.35	2.73	5.55	14.22	3.31	2.44
2006	8.40	8.52	8.05	6.57	5.51	4.17	3.11	2.53	2.88	4.38	15.26	18.17	3.76	2.84

平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)  
「ウイルス性食中毒の予防に関する研究」  
協力研究報告書

感染性胃腸炎および調理施設等からのノロウイルスの検出と塩素剤消毒の効果

研究協力者	近藤 玲子	(愛媛県立衛生環境研究所)
分担研究者	田中 智之	(堺市衛生研究所)
研究協力者	豊嶋 千俊	(愛媛県立衛生環境研究所)
	市川 高子	(愛媛県立衛生環境研究所)
	大瀬戸 光明	(愛媛県立衛生環境研究所)

研究要旨：2004年1月から2006年12月の間の愛媛県内での散発性胃腸炎および胃腸炎集団発生事例について、ウイルス学的・遺伝子学的検索により感染性胃腸炎の流行状況を明らかにした。集団発生事例では食品、拭き取り調査を実施し、検出ウイルスの塩基配列から感染経路を推測した。また、感染経路を遮断出来る適切な消毒法を確認するため、ノロウイルス(NV)の塩素剤による消毒効果試験を行った。

散発性胃腸炎からNV402例(検出率28.8%)、ロタウイルス137例(9.8%)、サポウイルス100例(7.2%)、アデノウイルス29例(2.1%)、アストロウイルス24例(1.7%)が検出された。NVの遺伝子型は、GII/4 Lordsdaleが最も多く、次いでGII/6 Miami、GII/3 Mexico、GII/2 Melkshamの順であった。一方、集団発生例では食中毒16事例、施設内発生20事例の全てがNVを原因とした発生であった。これらのうち18事例からGII/4 Lordsdaleが検出され、GII/6 Miamiが3事例と次いで多かった。食品・拭き取り調査を実施した7事例のうち6事例から検出されたNVは、それぞれの患者のNVと塩基配列が100%一致し、食中毒の原因や感染拡大の要因と推測された。さらにこれら集団発生株とほとんど同一な株が同時期に散発例から検出されており、散発性胃腸炎の流行が集団発生に深く関わっていることが伺われた。

消毒効果試験結果から、次亜塩素酸ナトリウム100ppm以上の濃度、5分作用で、Genogroup、遺伝子型の異なる代表12株全てのNVで、十分な消毒効果が得られたが、高濃度でも短時間の作用では残存する株が存在した。0.1%程度の有機物の混在下では、NVの塩素剤の消毒効果が消失することが確認された。感染拡大の防止には、事例発生現場において適切な消毒法が最も重要と考えられた。

#### A. 研究目的

近年、ウイルス性胃腸炎の集団発生は増加傾向にあり、毎年発生する食中毒の中でも非カキ関連の食中毒や、施設内に

おけるヒト-ヒト感染による事例が増大している。これらの事例は、ノロウイルス(NV)感染によって発生しているものが大半を占めており、いずれも食品の2次

汚染あるいはヒトを介した2次感染によって生じた集団発生であると推定される。事例ごとの現場における感染経路の究明と発生要因の特定は、その後の感染拡大の防止あるいは発生予防を図る上で、極めて重要であると思われる。また、胃腸炎集団発生にはその背景として、地域内における散発性胃腸炎の流行があり、流行ウイルスの関与が大きな発生要因となっている。

今回、愛媛県内での散発性胃腸炎の流行状況を明らかにし、県内で発生した食中毒・施設内発生事例の原因ウイルスとの関連性をみるとともに、集団発生事例の食品検査・拭き取り調査を実施し、感染経路の究明および発生要因の推測のため、検出ウイルスの遺伝子解析を行った。さらに、NVの消毒方法の確認のため、胃腸炎患者から検出したNV株を用い、塩素系消毒剤に対する消毒効果試験を行い、NVのGenogroup、遺伝子型および株の違いによる消毒効果の差を測定した。

## B. 研究材料と方法

### 1. 材料

糞便材料は、2004年1月から2006年12月の間の、感染症発生動向調査病原体定点からの散発性感染性胃腸炎患者1396名および、胃腸炎集団発生の患者563名の便を用いた。糞便は検査実施まで $-20^{\circ}\text{C}$ で冷凍保存した。

### 2. 方法

糞便からのウイルス検索は、リアルタイムPCRまたはnested-PCRおよび電子顕微鏡(EM)で行った。NV遺伝子の検出は、影山らのCOGF/R系プライマーとRINGTaqManプローブを用いたリアルタイムPCRを行った。SV遺伝子の検出は、カ

プシド領域を増幅するSV系プライマー(千葉県衛生研究所岡田ら設計)を用いたnested-PCRを行った。EMは常法により疎精製した糞便材料を、2%PTA染色後4万倍で観察し、下痢症ウイルスの検索を行った。ロタウイルス、アストロウイルス、アデノウイルスなどは主としてEMで検出されたものについて、ELISAやイムノクロマト法によって型別した。

NVの遺伝子型別は、ABI Genetic analyzer 310を用いたPCR産物のダイレクトシーケンス法でNV遺伝子塩基配列を決定した。NV遺伝子のシーケンスの一部は国立感染症研究所の西尾博士、木村博士に依頼して行った。NVの遺伝子型別は、Katayamaらが提唱する方法で、カプシド領域の系統樹解析により行った。

拭き取り調査は、綿棒式キット(栄研器材)またはWHIRL-PAK(NASCO)を用い、使用方法にそって保健所が採取し搬入された検体について実施した。検体処理は、拭き取り検体はそのまま使用し、食品は10%乳剤として3000rpm、20分遠心後の上清を超遠心(38000rpm 2hr)した。その沈査の全量からRNAを抽出し使用した。

NVの消毒効果試験は、塩素剤として次亜塩素酸ナトリウムを使用し、NVへの塩素剤の作用は図3に示す方法で行った。塩素剤作用後のそれぞれの条件の検体からRNAを抽出し、リアルタイムPCRによりNV遺伝子のコピー数を測定した。NV遺伝子が検出されない場合に、消毒効果があったと判定した。

## C. 研究結果

### 1. 散発性胃腸炎からのウイルス検出状況

2004年1月から2006年12月の間の愛

媛県における散発性胃腸炎患者月別ウイルス検出状況を図 1 に示した。NV が 402 例と最も多く検出され、次いでロタウイルスが 137 例、サポウイルス (SV) が 100 例、アデノウイルスが 29 例、アストロウイルスが 24 例であった。検出された NV402 株では Genogroup II (GII) が圧倒的に多く 361 例 (89.8%) で、GI は 41 例 (10.2%) と非常に少なかった。また、散発性胃腸炎における NV と NV 以外のウイルスの月別検出率を図 2 に示した。NV の検出率は、例年 12・1 月に高値を示してきたが、2006 年には 1 ヶ月早い 11 月から高率に検出された。この時期の胃腸炎患者報告数の急激な増大が、NV の流行によるものであったことが裏付けられた。散発例から検出された NV の遺伝子型は、GII/4 Lordsdale が最も多く次いで GII/6 Miami、GII/3 Mexico、GII/2 Melksham、GI/3 DesertShield が多かった。

## 2. 集団発生事例からの NV 遺伝子型

3 年間の集団発生事例の発生様式を表 1 に示した。調査期間中に愛媛県内で発生し、ウイルス検索を実施した食中毒事例および施設内感染事例は 36 事例で、そのうち 3 事例がカキなど貝類の摂食が原因と推測された。カキなど二枚貝が関連しない食中毒は 13 事例で、飲食店・ホテル等の料理や仕出し弁当、福祉施設・寮・小学校等の給食が原因であった。ヒト・ヒト感染が疑われる、施設内での胃腸炎集団発生が 20 事例で、そのうち高齢者入所施設が 16 事例と最も多く、その他には医療機関、福祉施設、学校での発生であった。

これらの集団発生から、原因ウイルスとして全事例から NV が検出された。カキ等貝関連の 3 事例の患者から検出された

NV には GI、GII 両方の Genogroup が混在しており、中でもカキ関連事例では遺伝子型は患者から 6 種類、拭き取り検体も合わせると 7 種類が検出された。

非カキ関連食中毒 13 事例の NV の遺伝子型は、GII/4 Lordsdale が 8 事例、GII/6 Miami が 2 事例、その他 GII/1 Hawaii、GI/8 Sindlesham の各型がそれぞれ 1 事例から検出された。13 事例のうち 12 事例から検出された NV の遺伝子解析により、患者からの NV 遺伝子型は事例ごとに 1 種類で、同一のウイルスであったことが明らかにされた。

ヒト・ヒト感染 20 事例では GII/4 Lordsdale が 10 事例と最も多く検出され、その他は GII/6 Miami、GII/3 Mexico、GII/12 SaitamaU1、GI/3 DesertShield であった。患者から 2 種類の遺伝子型が検出された 1 事例では、施設内拭き取りからも 2 種類の遺伝子型が検出された。非カキ関連食中毒および施設内感染事例から検出された NV 株は、同じ時期に検出された散発株の塩基配列とほぼ同一のものが多く見られた。

集団発生事例のうち、食品または拭き取り検体から NV が検出された食中毒 4 事例、施設内感染 3 事例について、ウイルス遺伝子コピー数とその遺伝子型を表 2 に示した。ウイルス遺伝子コピー数は、リアルタイム PCR による測定値を、食品 1 g 当たりまたは洗浄液 10ml 当りの値として表示した。食品からは  $6.3 \times 10^4 \sim 1.1 \times 10^5$  コピー、拭き取り検体からは  $6.0 \times 10^4 \sim 8.1 \times 10^5$  コピーの範囲で検出された。これらの食品や拭き取り検体から検出されたウイルス遺伝子は、事例②を除いた全事例で、それぞれの患者から検出された NV とほぼ同一の塩基配列を示した。事例

②は表 1 のカキ関連食中毒事例で、調理台拭き取り検体からは患者便からとは別の遺伝子型が 1 種類が検出された。事例①・④の食品からは、調理従事者便の NV と同一の NV が検出されていることから、これらの食品は全て調理中に 2 次的に汚染されたものと考えられた。調理従事者専用トイレの拭き取り検体から、NV 遺伝子が検出された事例③・④では、従事者はいずれも無症状にもかかわらず、事例③では 1 人/2 人、事例④では 14 人/25 人に NV 感染が認められたことから、調理中の食品への 2 次汚染の可能性が大きいことが推測された。施設内発生でのヒト-ヒト感染とみられた事例でも、事例⑥の厨房ドア・テーブル、事例⑦の配膳車からの NV 検出は、さらに施設内食中毒へと感染が拡大する危険性を示すものと考えられた。

### 3. 塩素系消毒剤による NV の消毒効果

NV の次亜塩素酸ナトリウムに対する消毒効果をみるために、県内の胃腸炎患者から検出された NV 株を用いて、消毒効果試験を行った。NV 株は 4 種類の遺伝子型 GI/3、GII/3、GII/4、GII/12 の各 3 株ずつ使用し、試験は図 3 に示す方法で行った。図 4 は次亜塩素酸ナトリウム 1000ppm、作用時間 0.5 分、1 分、5 分における NV12 株の測定値を示した。1 分の作用では、GII/4、GII/3 の各 1 株が残存したが、5 分後では検出されなかった。図 5 の 100ppm の場合は、1 分の作用では GII/4 の 2 株、GII/3 の 2 株が残存したが、5 分後では検出されなかった。図 6 の 10ppm の場合は、5 分の作用でも、GII/4 の 2 株、GII/3 の 2 株、GI/3 の 1 株が残存した。図 7 の 1ppm の場合には、5 分間では全ての株においてウイルスの減少がほとんど見られず、消

毒効果は全く認められなかった。図 8 は、GII/12-1 株を使用し次亜塩素酸ナトリウム濃度 100ppm、有機物として牛アルブミン (BSA) を添加した条件での消毒効果試験結果を示した。BSA 濃度 0.01% では、作用時間 5 分で NV は検出されなくなったが、0.03% に増加すると減少はするものの残存がみられ、0.1% まで増加した場合は、5 分間の作用では全く効果は認められなかった。

## D. 考 察

毎年発生が繰り返される食中毒のうち、NV を原因とする食中毒事例数が増加し、食中毒事例総数に占める割合は増加を続けている。さらにその患者数においても NV を原因とするものが第一位を占めている。ウイルス性食中毒の中でも、食材であるカキの NV 汚染を原因とする事例数は年々減少し、カキの摂食がなく食品の二次汚染等が原因の、いわゆる非カキ関連性の事例数が増加傾向にある。また、食品を介さないヒト-ヒト感染による発生日もあとを絶たず、特に高齢者入所施設内では死亡事例が発生して問題となり、社会的な関心度は高い。

今回の調査で、愛媛県内においても食品の 2 次汚染によると想定される事例、施設内での 2 次感染による事例が非常に多かった。また、患者と同じ遺伝子型の NV が、摂食食品や施設内生活環境の各所拭き取り検体からも検出され、その NV 遺伝子コピー数は 2 次感染を引き起こすのに十分な量が検出されており、それぞれの事例の主な発生要因であったと考えられた。これらの 2 次的な発生は、各事例ごとの発生現場における適切な対応によって感染経路が遮断され、感染拡大の予

防が可能である。NV による食中毒の発生施設は飲食店、旅館等が多いものの、福祉施設等における給食を原因とした発生が県内でも 2 事例みられた。施設内の担当者が調理し提供している施設では、各施設の実情に即した衛生管理マニュアルの作成とその遵守が強く要望される。

NV の塩素剤における消毒について、患者から検出された NV を用いて Genogroup、遺伝子型の違い、株の違いによる消毒効果の差を観察した結果、塩素剤濃度 100ppm 以上で 5 分以上作用した場合には、いずれの株にも充分効果が見られた一方、1ppm と低濃度では全てに無効であった。塩素濃度が充分でも作用時間が短い場合には、株間で消毒効果に差が生じ残存株が見られた。また塩素濃度 100ppm の消毒効果は、0.1%の有機物混在により、その効果はほとんど失われた。これらのことから、現在 NV の消毒方法としてマニュアル等に示されている、200ppm で 10 分以上浸漬で消毒効果は十分期待できると考えられたが、これは有機物など塩素剤の不活性化物質をある程度除去することが条件である。実際には現場の状況に応じた便、嘔吐物等の除去処理が大変重要で、これらの方法を徹底し啓発していくことが、NV 感染症の減少に繋がると考えられた。

## E. 結 論

1. 2004 年 1 月から 2006 年 12 月に、散发性胃腸炎から EM、RT-PCR およびリアルタイム PCR で NV402 例 (28.8%)、ロタウイルスが 137 例 (9.8%)、SV が 100 例 (7.2%)、アデノウイルス 29 例 (2.1%)、アストロウイルス 24 例 (1.7%) が検出された。

2. 検出された NV402 株の Genogroup 別内訳は、GI は 41 例 (10.2%)、GII が 361 例 (89.8%) であった。
3. 調査期間中に発生した胃腸炎集団発生は 36 事例で、カキなど貝類関連食中毒が 3 事例、非カキ関連食中毒が 13 事例、施設内ヒト-ヒト感染が 20 事例であり、全ての事例から NV が検出された。このうち、7 事例の食品または拭き取り検体からも、それぞれの患者の NV と塩基配列が同一の NV が検出され、2 次汚染等感染拡大の要因であったと推測された。また、集団発生事例の原因ウイルスは、それぞれの同時期に散发例から検出されたウイルスと、ほぼ同一の塩基配列を示すものが多くみられ、それらの密接な関連性が伺われた。
4. 塩素剤の NV に対する消毒効果試験を行った結果、次亜塩素酸ナトリウム 100ppm、5 分間の作用で NV GI/12 株遺伝子は検出されなくなり有効であったが、0.1%の BSA 混在下では NV の効果は消失した。塩素剤による NV の消毒には、有機物等を出来るだけ除去し、塩素イオンの不活性化を避ける必要があることを確認した。
5. NV の GI/3、GII/3、GII/4、GII/12 の各 3 株を用いて、消毒効果の Genogroup、遺伝子型、株間差をみた結果、100ppm、5 分間作用では全ての株で検出されなくなり有効であった。しかし 1000ppm と高濃度であっても作用時間が 30 秒・1 分と短い場合には GI/3、GII/4 株の一部が、10ppm と低濃度の場合には 5 分間の作用でも GI/3、GII/3、GII/4 株の一部が残存し、株間に消毒効果の差が観察された。また、GII/12 の 3 株は比較的消毒され易い傾向があり、

遺伝子型間にもその効果に差がある可能性が観察された。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

(1) 豊嶋千俊、山下育孝、近藤玲子、大瀬戸光明：愛媛県内の高齢者入所施設における感染性胃腸炎の集団発生とノロウイルスの消毒について、平成 18 年度公衆衛生獣医師協議会全国調査研究発表会、2006 年 9 月（東京都）

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



表 1 集団発生事例から検出された NV の遺伝子型 (2004.1.—2006.12.)

集団発生様式	原因施設等	事例数	原因ウイルスの遺伝子型		
食中毒 カキ関連	飲食店	1	G II / 1 Hawaii	G II / 4 Lordsdale	G II / 5 Hillingdon
			G I / 2 Southampton	G I / 11 SaitamaKU8	G I / 12 SaitamaKU19a
			G I / 8 Sindlesham		
貝類関連	仕出し弁当	1	G I / nt	G II / nt	
	家庭内	1	G I / nt	G II / nt	
食中毒 非カキ関連	飲食店 旅館等	5	G II / 1 Hawaii	G II / 6 Miami	G I / 8 Sindlesham
			G II / 4 Lordsdale (2)		
	仕出し弁当	4	G II / 4 Lordsdale (3)	G II / 6 Miami	
	福祉施設給食	2	G II / 4 Lordsdale (2)		
	家庭内	1	G II / nt		
	大学寮	1	G II / 4 Lordsdale		
施設内ヒト-ヒト感染	高齢者施設	16	G II / 4 Lordsdale (10)	G II / 6 Miami	G II / 3 Mexico
			G II / 12 SaitamaU1	G II / nt (4)	(1事例からは2種類検出)
	医療機関	1	G II / nt		
	福祉施設	1	G I / 3 DesertShield		
	学校	2	G I / 3 DesertShield	G II / 4 Lordsdale	

( )は事例数

nt:未検査

事例	検査材料 採取時期	拭き取り場所 食品別	コピー数/10ml コピー数/g*	NV遺伝子型
食中毒	①2004.2月	食品(付け合せ野菜)	$1.1 \times 10^4$	GII/ 4 Lordsdale
		食品(マカロニサラダ)	$6.3 \times 10$	GII/ 4 Lordsdale
		食品(卵とじ)	$2.0 \times 10^2$	G II / nt
	②2004.12月	調理台	$8.1 \times 10^5$	GII/ 5 Hillingdon
食中毒	③2006.11月	従事者トイレ取手	$7.8 \times 10^2$	GII/ 4 Lordsdale
		男子トイレ 手洗いカラン	$6.0 \times 10$	GII/ 4 Lordsdale
	④2006.12月	従事者専用便器	$8.1 \times 10^3$	GII/ 4 Lordsdale
		食品(スパゲティー)	$8.4 \times 10^3$	GII/ 4 Lordsdale
食品(切干煮付け等)		$3.0 \times 10^2$	GII/ 4 Lordsdale	
	食品(もやし(キムチの和え物))	$8.7 \times 10^2$	G II / 4 Lordsdale	
施設内感染	⑤2005.1月	女子トイレ 便座	$7.8 \times 10^3$	GII/ 4 Lordsdale
	⑥2005.2月	厨房入口ドアノブ*	$1.1 \times 10^2$	G II / nt
		介護室ドアノブ*	$2.6 \times 10^2$	G II / nt
		テーブル	$7.2 \times 10$	G II / nt
		処方室ドアノブ	$2.3 \times 10^2$	GII/ 4 Lordsdale
⑦2005.3月	トイレ 1F	$3.3 \times 10^2$	GII/ 4 Lordsdale	
	配膳車	$7.5 \times 10^2$	GII/ 12 SaitamaU1	

\*) :リアルタイムPCRによる測定値を1g当りまたは10ml当りに換算

図1 散発性胃腸炎からのウイルス検出状況(2004.1.-2006.12.)

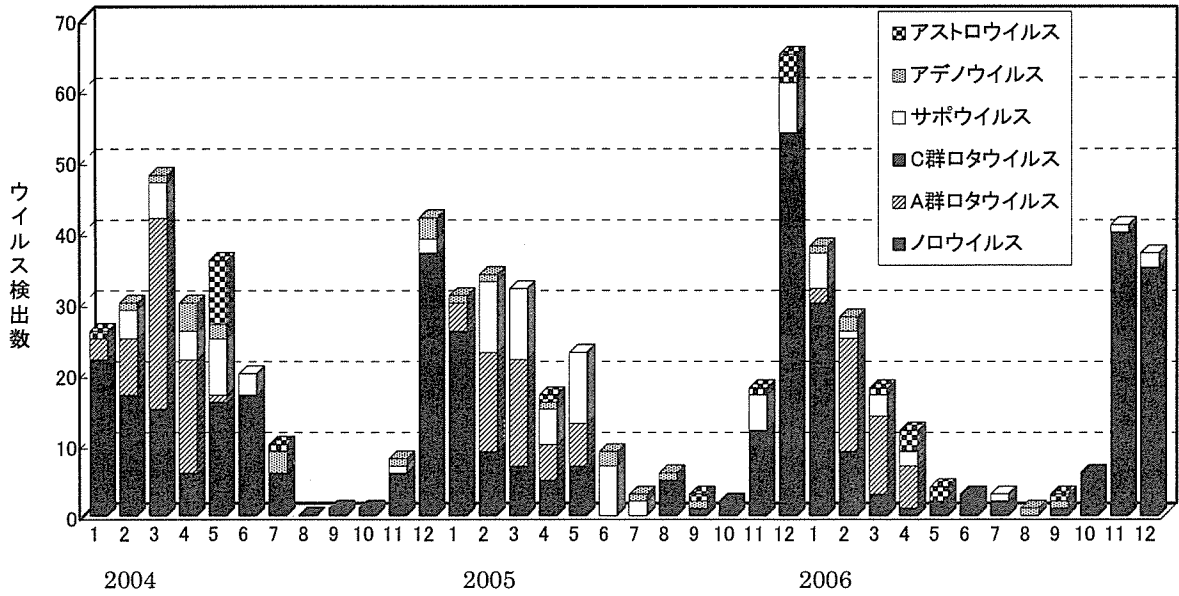


図2 散発性胃腸炎におけるNVの検出率(2004.1.-2006.12.)

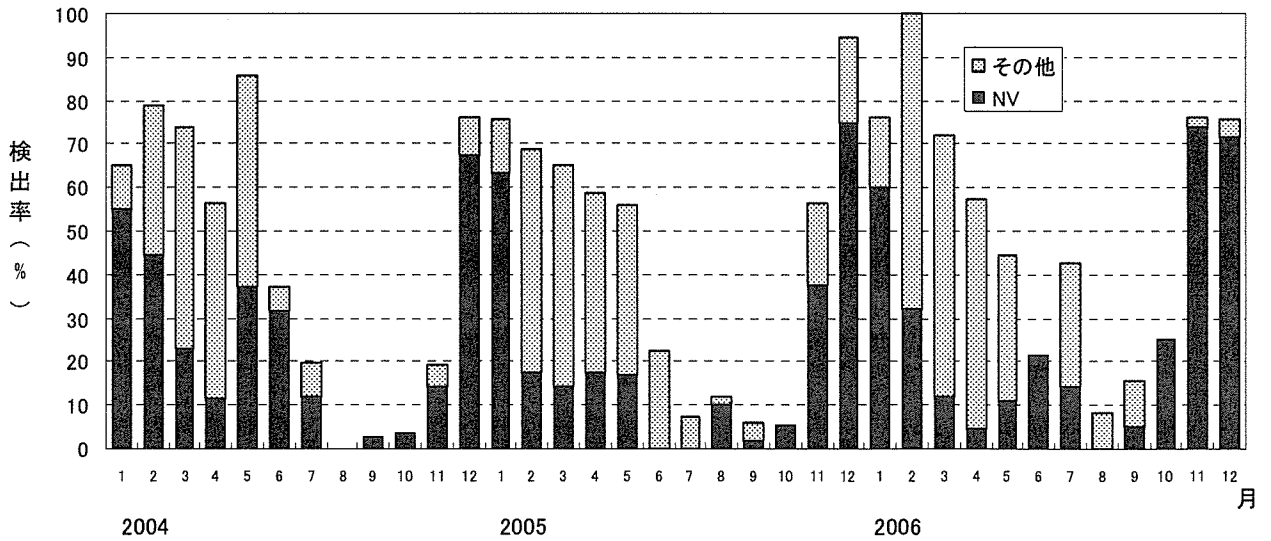


図3 ノロウイルス塩素剤消毒効果試験方法

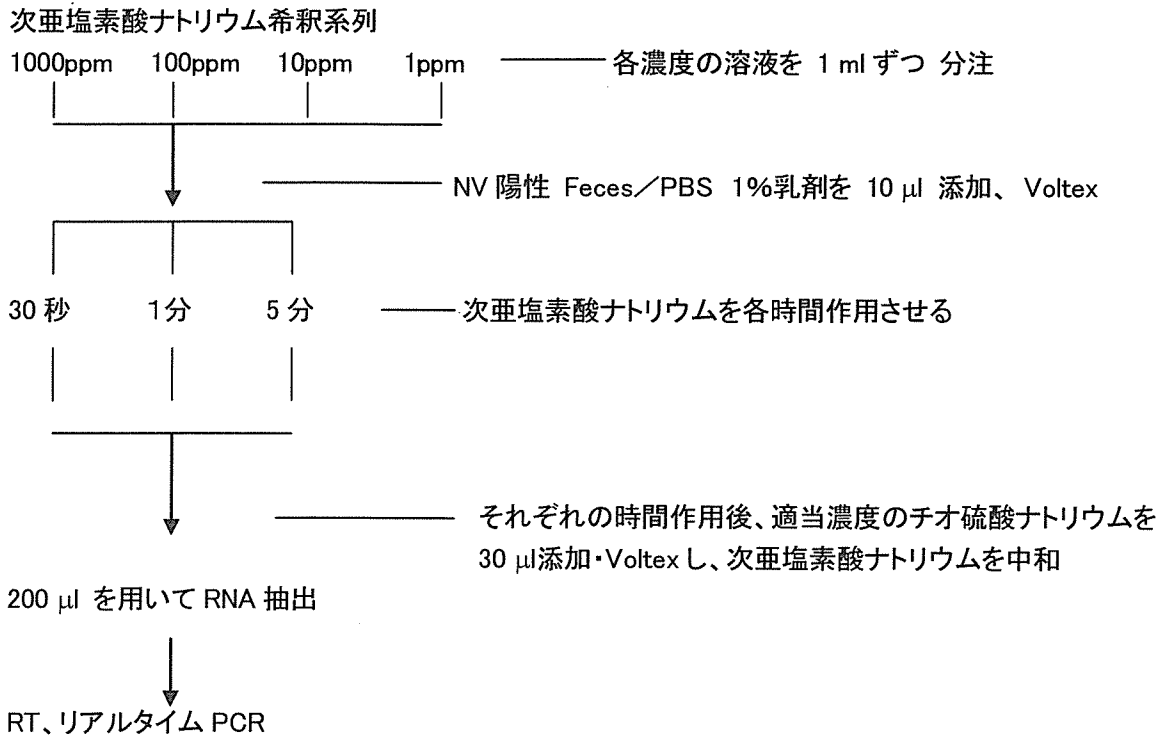


図4 次亜塩素酸ナトリウム作用時間によるウイルス量の変化(濃度 1000 ppm)

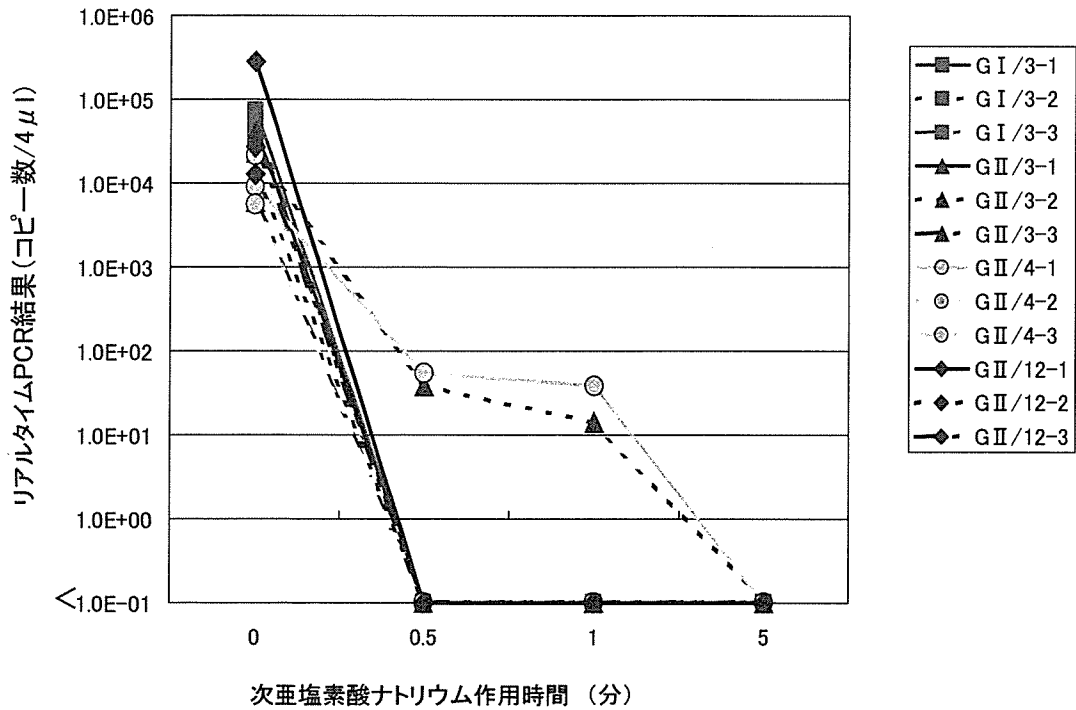


図5 次亜塩素酸ナトリウム作用時間によるウイルス量の変化(濃度 100 ppm)

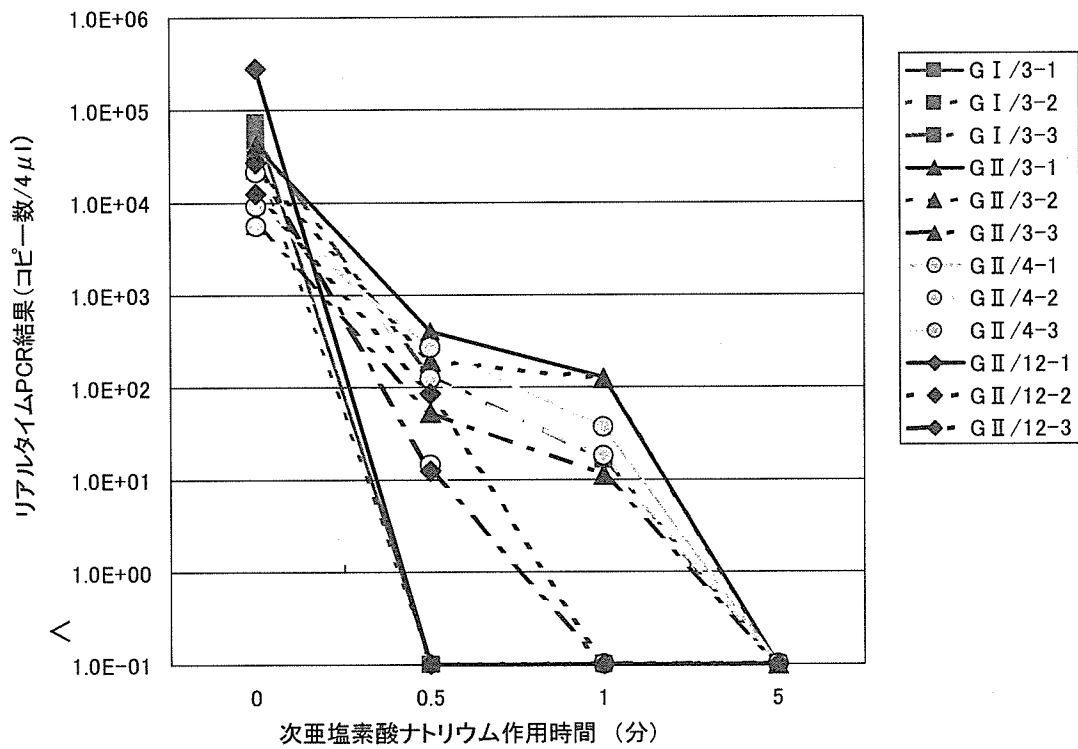


図6 次亜塩素酸ナトリウム作用時間によるウイルス量の変化(濃度 10 ppm)

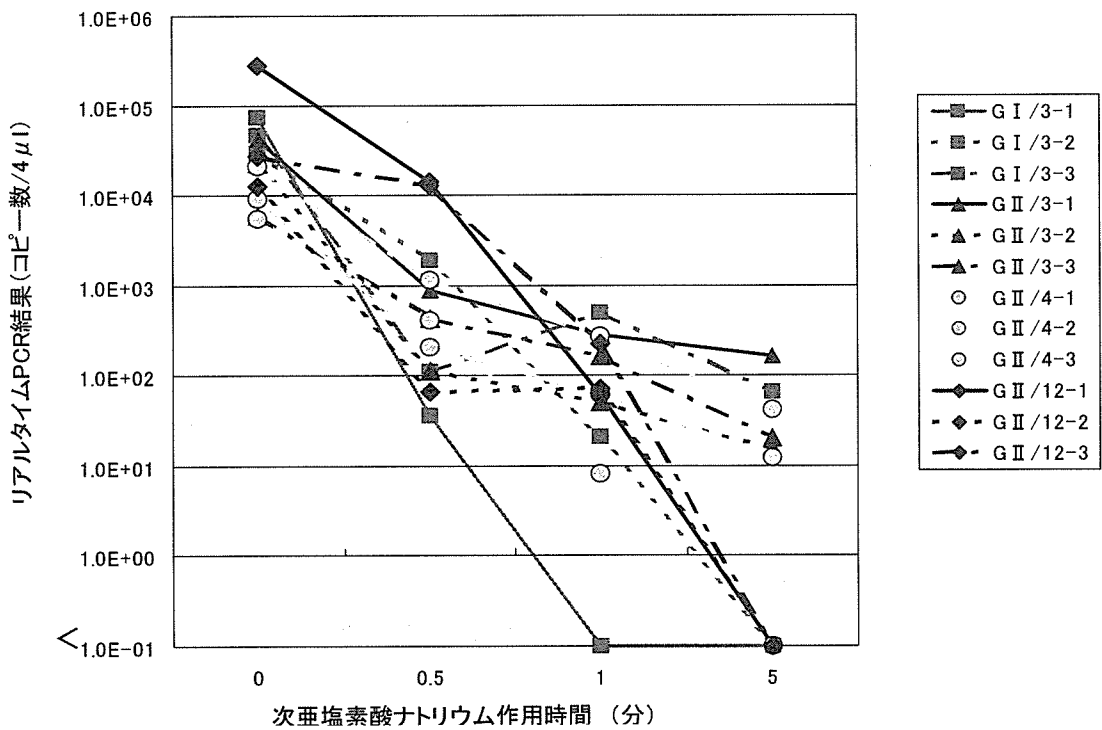


図7 次亜塩素酸ナトリウム作用時間によるウイルス量の変化(濃度 1 ppm)

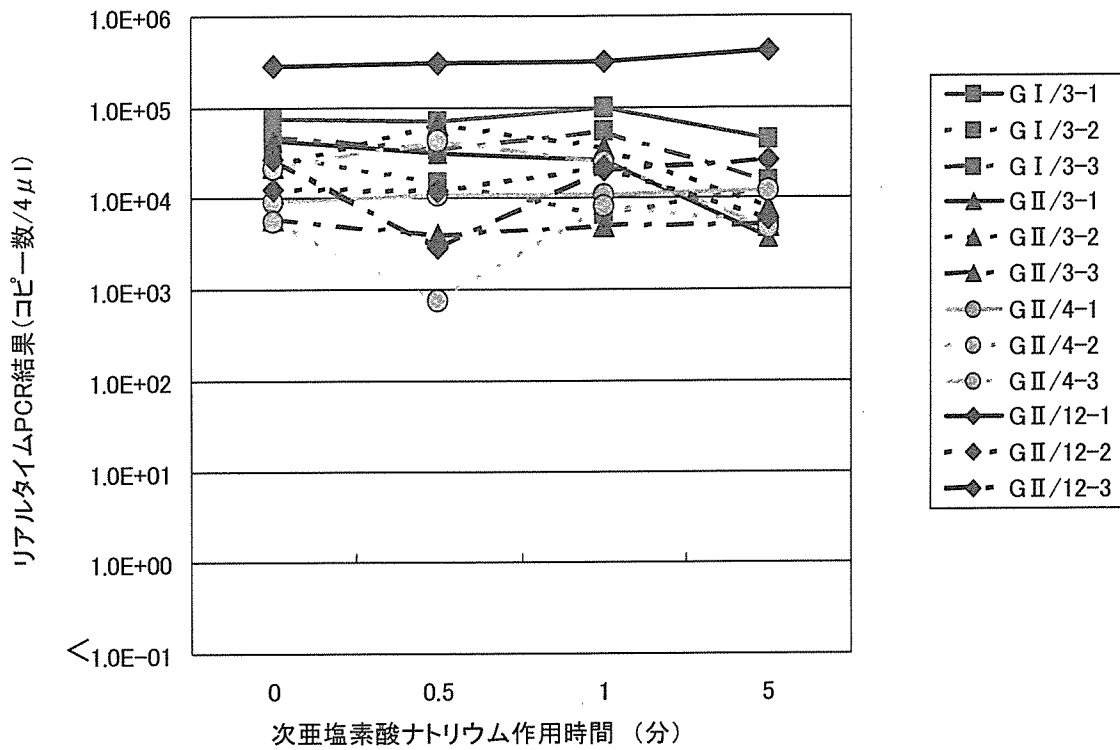
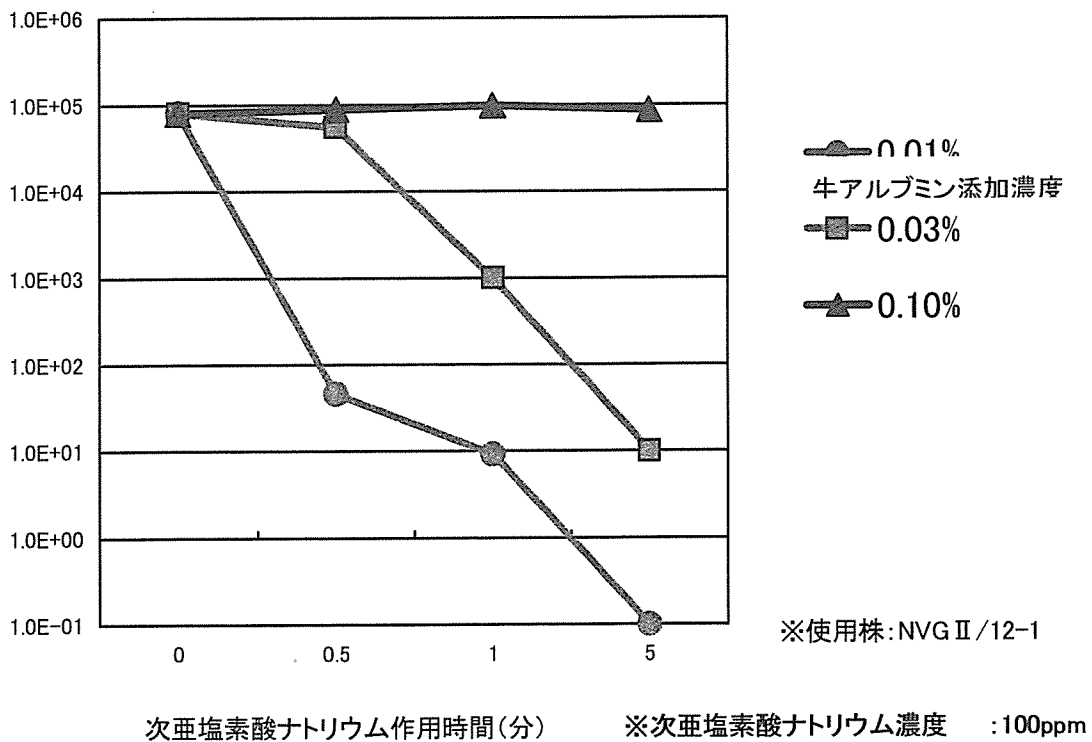


図 8 有機物混入下でのノロウイルス塩素剤消毒効果試験結果



平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金食品の安全・安心確保推進研究事業  
「ウイルス性食中毒の予防に関する研究」  
協力研究報告書

下水処理施設における流入水及び処理水のノロウイルスの消長

研究協力者 船津丸貞幸 (佐賀県衛生薬業センター)  
分担研究者 田中智之 (堺市衛生研究所)  
研究協力者 増本久人、坂本晃子 (佐賀県衛生薬業センター)

研究要旨：平成 18 年 9 月から 12 月まで、下水処理場における下水中ノロウイルス (NV) の消長を検討するため、放流水下流域における海水及び天然カキを対象に調査した。

下水流入水の NV 遺伝子は、調査期間中すべて検出された。検出された遺伝子型は、Genogroup I (以下、GI) では GI/2 型、GI/4 型、GI/8 型の 3 種、Genogroup II (以下、GII) では GI/3 型、GI/4 型の 2 種であった。GII/4 型は最初の 1 回を除き、その後毎回検出され海水中からも検出された。また下水流入水上流域での集団発生及び散发事例患者から検出された遺伝子型は GI/4 型のみであった。NV 量は感染症発生動向調査報告患者数とほぼ平行して増加し、GI に比較して GI/4 型が多い傾向にあった。

NV は下水処理水から検出され、下水処理場における標準的な処理法である活性汚泥法による放流水の塩素処理では NV 除去効果は十分ではなかった。そのため処理水の放流先である海域を汚染し、ひいてはその海域に生息するカキの汚染に繋がったと考えられる。

下水中の NV 検出状況は上流域の NV 感染症発生状況をよく反映しており、住民への衛生管理徹底を促す注意喚起の資料となり得る。

#### A. 研究目的

ノロウイルス (以下、NV) は経口感染する腸管系ウイルスであり、遺伝子群により Genogroup I (以下、GI) と Genogroup II (以下、GII) に分類され、さらに GI は 15 種、GII は 18 種の遺伝子型に分類されている。NV を含む腸管系ウイルスは感染者の糞便から排泄され下水を経て海水を汚染し、その海域に生息するカキ等に蓄積される。下水中のウイルス検出状況は流入上流域の患者の感染状況を反映していると考えられる。

NV に起因する急性胃腸炎は、毎年冬季を中心に流行がみられ、食中毒を含む集団発生事例も数多く報告されている。ヒトへの感染はカキ等の汚染食品 (2 次的汚染を含む) の喫食や嘔吐感染者の吐物・糞便から手指を介して、あるいは嘔吐物の飛沫を介して起こる。最近、高齢者入居施設での死亡例が報告され、社会問題ともなっている。

NV の発生把握は感染症発生動向調査による散发患者発生報告数により行われている。しかしこの報告は小児科定点から行われており、成人はほとんど含まれていない。このため小児を中心として検出されるロタウイルスと異なり、成人まで幅広く検出される NV ではその発生状況の正確な把握が困難である。

本調査は、下水中の NV の消長を調査することにより、感染症動向調査による散发患者発生の動向に加えて注意報発令の資料となり得るかを検討する目的で行った。

#### B. 研究材料と方法

##### 1. 材料

1) 下水処理施設における流入水及び処理水並びに海水及び天然カキ

下水処理施設は佐賀県南部の有明海の面

する A 市の西部に位置し、処理方法は標準活性汚泥法により行われ、塩素処理（0.05～0.1ppm）後、近くの河川へ放流されている。処理の対象人口は約 166 千人、下水道普及率は約 70%である。

採水は平成 18 年 9 月～12 月まで、各月の前半及び後半における流入水と処理水について行い、計 8 検体を用いた。海水は 11 月及び 12 月に下水処理場から約 2km 下流の河口（汽水域）において採水し、12 月には同海域に生息する天然カキも採取して用いた。

## 2) 急性胃腸炎患者

平成 18 年 1 月～12 月まで調査した。集団発生事例からのウイルス検出及び保健福祉事務所（保健所）から検査依頼があった患者（以下、集団患者）便等を用いた。

散発事例は佐賀県感染症発生動向調査における定点あたりの感染性胃腸炎患者（以下、散発患者）報告数を集計するとともに、病原体定点から送付された患者便を用いた。

## 2. 方法

### 1) ノロウイルス検出と遺伝子解析

下水及び海水は、500ml をセルロース膜により、カキは 10%乳剤とした中腸腺を超速心法により濃縮した。その後、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてウイルス RNA を抽出し、カプシド系プライマーを用いて RT-PCR 法を行った。下水流入水及び患者便等については、検出された増幅産物をサイクルシーケンス後、Genetic analyzer 310 (ABI) を用いたダイレクトシーケンスにより塩基配列決定後、Katayama らの方法に従って系統樹解析を行った。

### 2) ノロウイルスの定量

下水、海水、天然カキについて QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてウイルス RNA を抽出後、影山らの方法に準じて COGF/R 系プライマーと RING TaqMan Probe を用いたリアルタイム PCR 法を用いた。なお、検体中のウイルス量は 1ml (1g) あたりのコピー数を算出し、実測値 10 コピー以下は未検出とした。

## C 研究結果

### 1. ノロウイルスの検出状況

下水流入水及び処理水から GI は 9 月後半以外の調査日で、GII はすべての調査日で

検出された。

海水からは、12 月後半に GI 及び GII ともに検出されたが、11 月は検出されなかった。カキからは検出されなかった。

下水流入水から検出された遺伝子型は GI では 3 種の遺伝子型が検出された。9 月前半及び 10 月前・後半に、GI/4 Chiba407/87/JP 系統（以下、GI/4）、11 月前半、12 月前・後半は GI/2 Southampton/91/UK 系統（以下、GI/2）、11 月後半に GI/8 Shindlesham/95/UK 系統（以下、GI/8）であった（図 1）。

GII では 2 種類の遺伝子型が検出された。9 月前半に GII/3 Arg320/98/AR 系統（以下、GII/3）、9 月後半から 12 月後半までは、すべて GII/4 Camberwell/94/AU 系統（以下、GII/4）であった（図 2）。

### 2. 下水、海水、天然カキのノロウイルス定量

下水流入水と処理水における GI と GII のウイルス量を比較すると、流入水及び処理水ともに GII が GI に比較して多い傾向であった。

GI における流入水中のウイルス量は、9 月下旬に  $10^{1.9}$  コピーと 12 月前半に  $10^{3.2}$  コピー、12 月後半に  $10^{2.5}$  コピーであり、年末に多くなる傾向がみられたが、9 月前半、10 月前半・後半及び 11 月前半・後半は実測値で定量限界値以下であった。一方、処理水はすべての月で定量限界値以下であった（図 3）。

GII における流入水中のウイルス量は調査を追うに従って増加傾向がみられ、すべての調査日で定量限界値以上が検出され、11 月及び 12 月は  $10^{3.5}$  コピー以上に達した。処理水では、流入水に比較して  $10^{0.2} \sim 10^{2.1}$  コピーの減少がみられ、定量限界値以下の調査日もあった。（図 4）。

海水では 12 月に GII が  $10^2$  コピー検出されたが、GI は定量限界値以下であった。また 11 月の海水及びカキは定量限界値以下であった。

### 3. 急性胃腸炎（感染性胃腸炎）患者発生状況とウイルス検出状況

集団発生患者は県外事例 4 事例を含む 24 事例を調査した（表 1）。佐賀県内発生の食中毒と確定された事例は 11 月のホテル事例

のみであり、他の事例はヒト→ヒト感染を疑う事例であった。

本調査期間中の9月以降の集団発生施設は、グループホームを含む老人社会福祉施設が多く、病院内感染事例もみられた。そのウイルス検出状況は10月以降、すべてGII/4が検出され、調理場ふき取りや風呂水からも検出された。また3月事例では、原因と疑われた「白魚」が生息する河川からGII/6及びGI/8が検出され、GI/8は患者からも検出された。「白魚」からウイルスは検出されなかった。

散発患者報告数は、3月までが多く、その減少して10月から再び増加し、2つのピークが見られる2峰性パターンを示した。過去7年間で比較すると、平成18年は平成14年及び15年とほぼ同時期に増加傾向を示し、第45週を境に減少傾向となった(図5)。しかし全国では、その後も患者数が上昇して過去最高となった。

検査数は、月平均10件に満たないが、10月以降にGII/4のみが検出された(表1)。

#### D. 考察

食中毒を含むNVに起因する急性胃腸炎はヒトへの感染効率が高い経口感染症であり、毎年冬季に流行する。NV感染はカキ等の汚染食品の喫食に加えて、最近、感染者の嘔吐物・糞便から手指や飛沫を介する、いわゆるヒト→ヒト感染が注目されている。また高齢者入居社会福祉施設での死亡例が報告され、社会問題ともなっている。

今回調査した下水処理場における流入水中のNVはすべての調査日から検出されており、ヒト糞便中に排泄されたNVが下水・河川を経て海へ流れ、そこに生息するカキを汚染するという環境中でのウイルス汚染経路「ヒト→下水(下水処理場)→河川→海水→カキ→ヒト」が推定された。

下水からのNV検出状況と流入水上流域の患者発生をGenogroup別に比較すると、GIとGIIでは検出状況が異なっており、ウイルス側の要因、宿主側の要因が考えられる。すなわちGIで下水流入水から検出されたにもかかわらず、集団発生患者からも散発患者からも検出されなかったことは、GIによる感染は不顕性感染が多い可能性や症状が軽

く経過して患者として報告・集計されなかったことも考えられる。一方GIIでは、散発患者の増加とともに下水流入水中のウイルス量は増加し、上流域の感染状況をよく反映していた。特にGII/4は集団患者及び散発患者において10月以降は集中的に検出されており、ウイルス変異等により感染効率が増した可能性もある。

下水流入水中のNV量は、散発患者数の増加にほぼ並行して増加したこと、下水流入水において集団患者及び散発患者と同じ遺伝子型が検出されたことから上流域の急性胃腸炎の流行状況を反映しており、下水流入水のNV調査結果は散発患者発生の状況に加えて、住民への衛生管理の徹底を促す注意報発令の資料となると考えられる。

一方、本調査で下水中の11月及び12月におけるNV量が増加したにもかかわらず、散発患者報告数が11月初旬、第45週を境に減少傾向であったことは、報告定点が小児を中心とした小児科であり、成人以上の高年齢層を含めた全体の動向を正確に反映していないと思われる。このことは集団患者が保育園、小学校等の低年齢層の集団ではなく、高年齢層の集団であるグループホーム等の介護・養護老人社会福祉施設であったことから推察される。NV感染症の発生状況の正確な把握には、成人における急性胃腸炎患者の把握も必要であると考えられる。

下水流入水と比較して処理水ではウイルス量の低下を認めたが、少なからず検出されており、下水処理場における標準的な処理法である活性汚泥法での放流水の塩素処理はウイルス除去には充分ではなかった。海水の汚染を防止するため、効果的な処理方法の開発が望まれる。

今後、検出されたNVの遺伝子変異の検討を含めてさらに調査を進めていきたい。

#### E. 結論

1. 平成18年9月から12月まで8回、環境水におけるNVの消長調査を行った結果、流入水からGIIは調査期間中すべて検出されたが、GIは検出されないこともあった。そのウイルス量は患者報告数とほぼ平行して増加し、GIと比較してGIIが多い傾向にあった。



2. 検出された遺伝子型は、GIではGI/2、GI/4、GI/8の3種、GIIではGII/3、GII/4の2種類が検出された。
3. 調査期間中における上流域の集団発生事例及び散発事例においてはGII/4のみが検出された。
4. これらの状況は、上流域のNV感染状況をよく反映しており、現行の感染症発生動向調査報告患者数に加えて、住民への衛生管理の徹底を促す注意喚起の資料となり得る。
5. 下水処理場における標準的な処理法は

ウイルス除去に対して充分ではなかった。

#### F 健康危機情報

なし

#### G 研究発表

##### 1) 論文発表

なし

##### 2) 学会発表

なし

#### G 知的財産権の出願・登録状況

なし

集団発生事例

発生月	事例	発生場所	ノロウイルス検出状況			備 考
			種類(陽性/検体数)		遺伝子型	
			糞便	その他		
1月	1	病院	4/6		G II /4	精神科病院
2月	2	家庭	4/4	2/2	G II /6	吐物(1)、残飯(1)
3月	3	福祉施設	6/8	1/1	G I /8 G II /6	老人社会福祉施設、 糞便(G I /8のみを検出) 河川水(G I /8及びG II /6を検出)
4月	—	—	—	—	—	—
5月	4	不明	5/5		G II /4	旅館・飲食店？
6月	—	—	—	—	—	—
7月	—	—	—	—	—	—
8月	—	—	—	—	—	—
9月	5	不明	3/6	—	G II /2 G II /3 G II /4	修学旅行(海外)
10月	6	旅館	5/8	—	G II /4	
	7	ホテル	1/2	—	G II /4	県外事例
	8	ホテル	5/6	—	G II /4	県外事例
	9	飲食店*	1/2	—	G II /4	県外事例
11月	10	ホテル*	13/15	—	G II /4	県外事例
	11	福祉施設	8/9	—	G II /4	老人社会福祉施設及び児童養護施設
	12	福祉施設	2/2	—	G II /4	老人社会福祉施設(グループホーム)
	13	ホテル*	7/22	0/4	G II /4	食中毒事例、食品(4)
12月	14	福祉施設	4/6	2/5	G II /4	老人福祉施設(グループホーム) 調理場ふき取り(5)
	15	飲食店	1/1	—	G II /4	
	16	病院*	5/6	—	G II /4	総合病院
	17	病院	6/6	0/2	G II /4	療養型病院、 調理場ふき取り(5)
	18	病院	2/2	1/1	G II /4	精神科病院、風呂水(1)
	19	福祉施設	2/2	1/1	G II /4	老人社会福祉施設、吐物(1)
	20	福祉施設	3/3	—	G II /4	老人社会福祉施設
	21	福祉施設	2/2	—	G II /4	老人社会福祉施設
	22	福祉施設	6/6	—	G II /4	老人社会福祉施設
	23	福祉施設	2/2	—	G II /4	老人社会福祉施設
	24	旅館*	—	1/1	G II /4	老人社会福祉施設、吐物(1)

\* : 下水流入水上流域の患者を含む

表 1 a 感染性胃腸炎 (急性胃腸炎)患者発生状況とノロウイルス検出状況: 集団発生事例

## 散発事例

検体採取月	検体数	ノロウイルス検出状況*	
		検出数	遺伝子型
1月	—	—	—
2月	4	—	—
3月	7	—	—
4月	3	—	—
5月	1	—	—
6月	1	—	—
7月	1	—	—
8月	—	—	—
9月	—	—	—
10月	5	1	GII/4
11月	10	8	GII/4
12月	15	5	GII/4

\* 下水流入水上流域の患者を含む

表 1 b 感染性胃腸炎（急性胃腸炎）患者発生状況とノロウイルス検出状況：散発発生事例

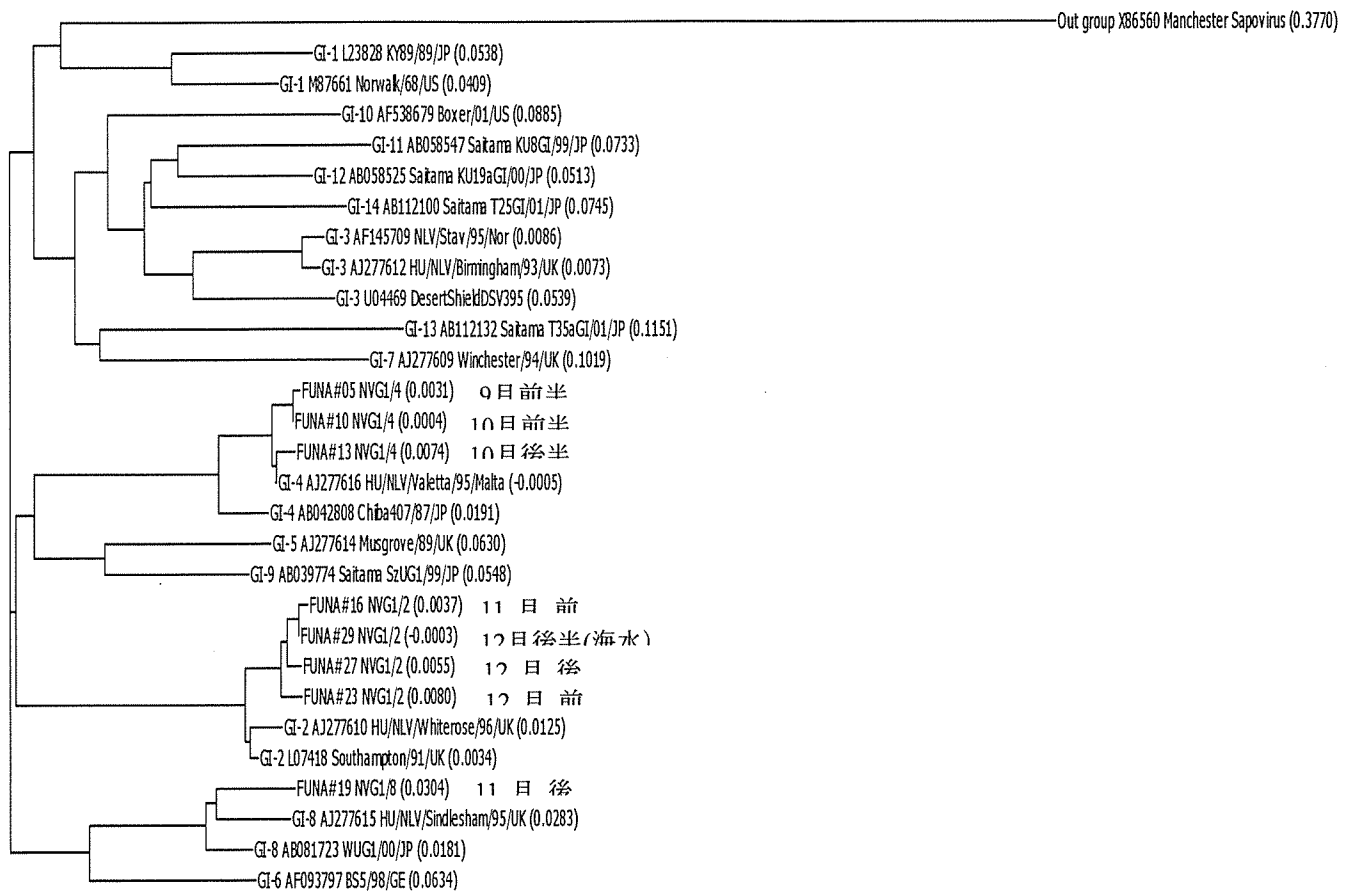


図1 下水流入水から検出されたノロウイルス Genogroup I の分子系統樹