

5) 市販カキの年別月別汚染状況と食中毒事件発生との関係

2001年10月から2008年3月の間に市販食用カキの中腸腺内のノロウイルス汚染状況をリアルタイムPCR法で定量的に調査した、1パックにつき、3個のカキを調べ、最も汚染が多いものをそのパックのカキの汚染量とした。折れ線グラフは厚生労働省に届けられたカキによる食中毒事件数を示した(図6)。

カキのノロウイルス陽性は早い年では10月(03/04年)から、他の年では12月から汚染が認められ、1月および2月が高い汚染率であった。1, 2月はカキによる食中毒事件が多発し、カキのノロウイルス汚染率とカキによる食中毒事件の発生は極めてよく一致し、関連性が強く示唆された。

近年はカキによる食中毒事件数が減少してき

ているが、カキの汚染状況には変化が認められていない。

近年の二枚貝による食中毒事件の報告数の減少は多くの旅館、ホテル等で生カキの提供を控えていることも要因の一つと推察される。

6) 二枚貝による食中毒事件による検出される遺伝子型

表1には、二枚貝による食中毒事件の原因食材の二枚貝、患者および従事者からの検出された遺伝子型を示した。

事例1, 2, 4では原因食材であるカキと患者から検出された遺伝子型は一致していない。カキは不特定多数のヒトから排泄された、その地域に侵淫している多様な遺伝子型に汚染されている。検査でカキから検出された遺伝子型はその中で最も多く汚染されている遺伝子型(GII/4は大きな流行を起こす)が見出される。カキ

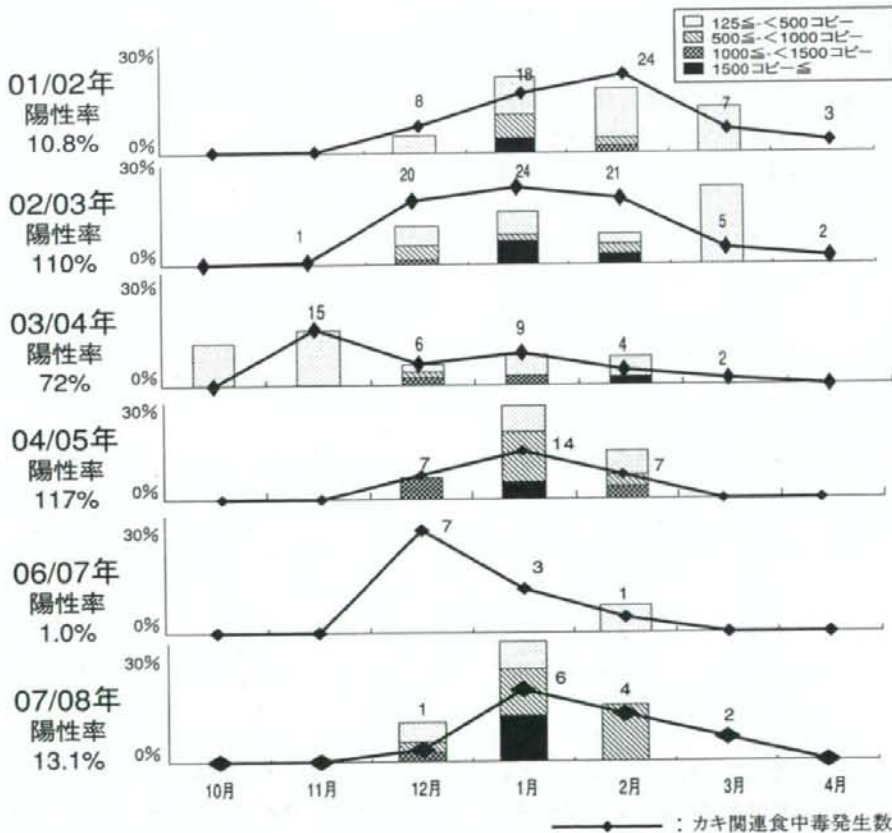


図6 生食用市販カキの月別ノロウイルス汚染状況とカキによる食中毒事件発生数

表1 二枚貝による食中毒事件から検出された遺伝子型

事件 No	施設	原因食品	発病者/ 喫食者数	原因食材	患者	従事者
1	食堂	生カキ	9/14	G II/4(1)	G II/5(3) G II/7, 6(1)	G I/15(1)
2	旅館	カキのオリーブ漬	69/515	G II/4(2)	G I/9(1) G II/2(3)	G I/9(1)
3	食堂	生カキ	11/13	G I/4(1) G II/6(1)	G I/4(2) G I/14(1) G II/14(1)	
4	飲食店	酢カキ	16/22	G II/4(1)	G I/4(2) G I/17(1) G II/3, 7(1)	G I/18(1)
5	家庭	加熱カキの生食	8/8	G I/17(1) G II/5, 12, 14(1)	G I/9(1) G II/3(2), 5(2) 1, 6, 12(1)	
6	飲食店	シジミ醤油漬	5/6	G I/2, 4, 5, 12(1) G II/3, 4, 14(1)	G I/2, 4, 11(2), 12(1) G II/3(1), 14(4), 16(2)	

() : 検出数

の汚染がノロウイルスの流行が始まって約1ヶ月後から陽性になることから、患者はこの間にこの主流の遺伝子型に既に感染し抗体を獲得し、それ以外の遺伝子型については個々の患者のレセプター^{6,7)}、免疫状態から最も増殖した遺伝子型が検出されたと考えられる。事例3ではカキから検出された遺伝子型は余り大きな流行を起こさないG I/4とG II/6であり、G I/4が患者2名から、その他にも2つの遺伝子型(G I/4, G II/14)が検出されている。

事例5と6では二枚貝からPCRで増幅された産物について、クローニングを行ったもので、多くの遺伝子型が検出され、患者と同一のものも見出される。すなわち、事例5のカキからは4遺伝子型、事例6のシジミからは7遺伝子型が見出され⁸⁾、二枚貝は多様な遺伝子型に汚染されている。

二枚貝によるノロウイルス食中毒事件に際して、原因食材の確保が出来ないとき、原因食材と患者からの遺伝子型が一致しないときには、原因食材不明と取り扱われることもあり、二枚貝による食中毒事件の報告数が少なくなっていると考えられる。原因食材と喫食者で遺伝子型が一致しない時は喫食調査、疫学調査で原因食

材を判断すべきと考えている。

7) カキの安全対策

世界各地のカキにノロウイルス汚染が認められているが⁹⁾、未だにカキのウイルス学的な規格基準はいずれの国でも定められていない。カキの安全対策として日本では、

1. 大規模な養殖場では自主検査を行い、ノロウイルス陽性のカキの出荷を控え、食中毒事件の発生防止に寄与しているが、依然としてノロウイルス陽性のカキが市販されているので、より広範囲で、かつ精度の高い自主検査が望まれる。
2. 生食用カキは出荷前に主に紫外線照射海水による浄化を20~40時間行っているところが多くなってきている。浄化の際に、深さ25cmの籠にカキを入れて、1~3段と籠を重ねる方法や、あるいは1mあるいはそれ以上の深さの籠まで多様である。流入する紫外線照射海水量は水槽の容量を満たすのに、要する時間は2~5時間と様々である。近年、カキの浄化に電解水あるいはマイクロバブルが試験的に用いられているが、ノロウイルスはカキの細胞と結合していると報告があり、容易に体外からはウイルスが排出されないよ

うであり¹⁰⁾、実際に海水温22℃48時間の海水浄化では大腸菌の大部分は除去されたが、ノロウイルスの減少は少なかったとの報告も見られる¹¹⁾。カキの浄化効果を科学的に証明し、浄化の基準を定める必要がある。

5. 輸入食品におけるノロウイルス汚染率

ノロウイルスに汚染されるのはカキに限ったことではなく、二枚貝はプランクトンを食餌としているために、海水を大量に吸引することから、中腸腺にノロウイルスを蓄積・濃縮する。

2001年4月から2007年2月の間に、国内2ヶ所の生鮮魚介類を扱う市場に搬入されたもののうち、主にアジアからの生鮮魚介類を買い上げ、汚染状況を調べた。

輸出国は中国、韓国、北朝鮮、インドネシア、フィリピン等の13ヶ国で、魚介類はアカガイ、ハマグリ、カキ、タイラギ、エビ等の1,547件を用いた。なお、アカガイ、ハマグリは日本で消費される90%、アサリは60%程度が輸入品である。

生鮮魚介類1,547件中252件(16%)からノロウイルスが検出された。種類別の汚染率はタイラギ、ハマグリ、アカガイおよび加熱用カキが約20%で、生食用カキおよびエビ類はそれよりも低く、生食用カキは4%であった。生食用カキは河川から離れ、河川水の汚染を受けることが少ない沖合いの海域で養殖されているので汚

染率は低い。

二枚貝は年間を通してノロウイルス汚染が認められることから、食中毒防止には年間を通して努めなくてはならない。

なお、輸入二枚貝による食中毒事件は中国産ウチムラサキ貝(大アサリ)により起きている^{12,13)}。

輸入生鮮魚介類における国別の汚染状況は、北朝鮮産がやや高く、中国、韓国は共にほぼ同様な汚染状況で、これらの国では水環境中のノロウイルス汚染はほぼ同程度と推察される。

近年、A型肝炎ウイルスによる食中毒事件が7件発生しているが、そのうちの2件は中国産ウチムラサキ貝(大アサリ)によるもので、4件は寿司店、1件は料理店で、いずれも海外渡航歴のない調理従事者がA型肝炎に感染し、店の客あるいは家族に二次感染させたものである^{14,15)}。この食中毒の発生要因として、二枚貝の中腸腺を取り出して提供するアカガイ、トリガイ等の取扱い時に調理従事者の手、調理場、食材等を汚染したことによる食中毒が推測される。従って、調理従事者には衛生教育が必要である。

6. 輸入生鮮魚介類から検出されたノロウイルス遺伝子型

輸入生鮮魚介類から遺伝子型が決定できたのは117件でGIが19件、GIIが98件で、GIは10遺伝子型が検出されたがいずれも少数であつ

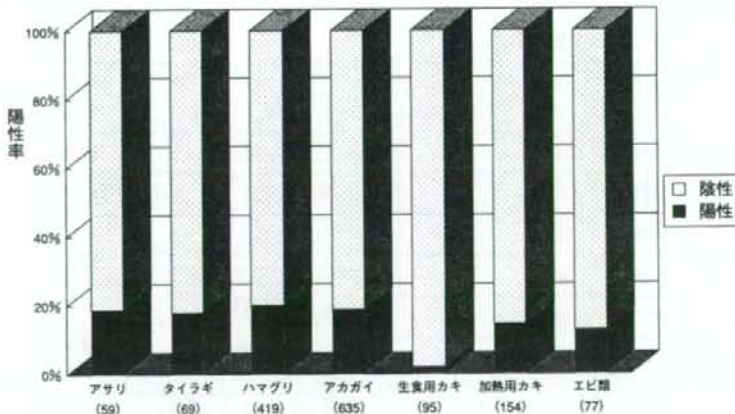


図7 輸入生鮮魚介類におけるノロウイルス汚染状況
(): 検体数

た。なお、G I/13に近いがそれとは異なる Gen Bank accession No. AY356548各1株、G Iと考えられるが既知のクラスターに属さない AY356546, AY356546が各1株検出された。G IIでは17遺伝子型が検出され、多くの遺伝子型が生鮮魚介類を介して侵入してきている¹⁶⁾。このうち近年世界的に流行しているG II/4型が38株で最も多く^{17,18)}、次いで日本でもしばしば検出される3型が16株と多く、アジアでも主流である遺伝子型は日本と同様であることがうかがわれる。さらに既存の遺伝子型に近縁なものが確認できない5遺伝子型が見出された。すなわちG II/18型に近いがそれとは明らかに異なる1株(AY356543)、さらに異なる5株(AY641760)。それらにも属さないC41(未登録)が検出された。これらの既知のクラスターに属さない株はわが国の下痢症患者からは検出されていないようであり、日本に存在しない遺伝子型が食品を介して侵入していることが考えられる。

表2 輸入生鮮魚介類から検出されたG I 遺伝子型

遺伝子型	検体数	国	年	検出数
G I/2	2	中国	2001	1
			2002	1
G I/3	3	中国	2001	1
			2004	1
			2005	1
G I/4	2	中国	2006	2
G I/5	2	中国	2002	1
			2006	1
G I/7	1	韓国	2002	1
G I/8	2	中国	2002	1
			2006	1
G I/10	1	中国	2006	1
G I/11	2	韓国	2005	2
G I/12	1	中国	2002	1
G I/15	1	中国	2001	1
AY356548	1	中国	2001	1

表3 輸入生鮮魚介類から「検出されたG II 遺伝子型

遺伝子型	検体数	国	年	検出数	
G II/1	3	韓国 中国	2005	1	
			2004	1	
			2005	1	
G II/2	3	中国	2004	1	
			2006	2	
G II/3	16	韓国	2001	3	
			2003	1	
			2006	1	
		中国	2001	1	
			2002	2	
			2003	1	
			2006	7	
G II/4	38	韓国	2005	2	
			2006	2	
		北朝鮮	2006	1	
			2002	1	
		中国	2003	2	
			2004	2	
		フィリピン	2005	9	
			2006	14	
			2007	4	
			2006	1	
G II/5	5		韓国	2005	1
				2005	1
		北朝鮮	2006	1	
			2005	1	
		中国	2005	1	
			2006	1	
G II/6	13	韓国	2004	1	
			2005	1	
		中国	2004	4	
			2006	6	
		フィリピン	2005	1	
			G II/7	1	中国
G II/8	2	韓国 中国			
			2006	1	
G II/11	2	韓国 中国	2001	1	
			2001	1	
G II/12	1	韓国	2004	1	
G II/13	1	ロシア	2006	1	
G II/16	2	中国 韓国	2002	1	
			2002	1	
AY356543	1	中国	2002	1	
AY356546	2	韓国 中国	2002	1	
			2006	1	
AY356545	2	中国	2007	1	

AY641760	5	韓国	2003	1
			2006	1
		中国	2005	1
			2006	1
			2007	1
C41	1	中国	2005	1

7. 今後の課題

二枚貝等の海産物の安全性確保には水環境をノロウイルスで汚染させないことである。このためには浄化設備のノロウイルスの除去効率を高める必要があるが、浄化施設の上流の河川水においてもノロウイルス汚染が認められており、総合的な環境汚染の防止が必要である。

現在カキ1個からのノロウイルス検出限界は125コピーである。二枚貝からのノロウイルスの高感度検出法の開発が不可欠であり、感染性の有無も重要であり、そのためには組織培養法の確立が不可欠である。

また、二枚貝による食中毒事件は減少しているものの、市販カキのノロウイルス汚染率は減少しておらず、市販前の生食用カキの一層の自主検査が望まれる。

ノロウイルスをカキから除去する、より効果的な浄化法の開発が望まれる。また、むき身等の作業過程、調理時にノロウイルス汚染が起きることもあるので、二枚貝の衛生的な取り扱いの教育が必要であると考えている。

さらに、わが国に輸入されている生鮮魚介類を介して多種類の遺伝子型のノロウイルスが侵入し、健康被害を起こす危険性がある。しかし輸出国およびわが国においてウイルス学的安全性は確保されていないので、これらの生鮮魚介類は充分に加熱してから食し、自らを守ることである。

謝 辞

終わりに当たり、本論文の成績は平成13年～15年度厚生労働科学研究補助金 生活安全総合研究事業主任研究者西尾 治「食品中の微生物汚染状況の把握と安全性の評価に関する研究」、平成16、17年度厚生労働科学研究費新興・再興感染症研究事業分担研究者西尾 治「食品由来のウイルス性感染症の検出

法の高度化、実用化に関する研究」、平成18～19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主任研究者西尾 治「輸入生鮮魚介類および動物生のウイルス汚染のサーベイランスに関する研究」および平成18～19年度内閣府食品安全委員会食品健康影響評価技術研究主任研究者西尾 治「生食用カキに起因するノロウイルスリスク評価に関する研究」の補助を受けて行われ、協力を得た多くの分担・協力研究者に深謝いたします。

参考文献

- 1) Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR, Chanock RM: Visualization by immunoelectron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1: 1075-81, 1972
- 2) Inouye S, Yamashita K, Yamadera S, Yoshikawa M, Kato N, Okabe N: Surveillance of viral gastroenteritis in Japan. *J Infect Dis* 18: (S2), 270-274, 2000
- 3) 厚生労働: 食中毒統: <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/index.html>
- 4) 植木 洋, 秋山和夫, 渡邊 徹, 木村達夫: 遺伝子相同性にもとづくノロウイルス(NV)のカキへの汚染経路の解明. *環境工学研究論文集* 4: 607-616, 2003
- 5) 野田 衛, 藤井彰人, 西尾 治, 池田義文, 秋山美穂, 平崎和孝, 荻野 武: ノロウイルスの検出率に及ぼすカキ検査個数の影響, 広島市衛生研究所年報 2: 70-73, 2004
- 6) Huang P, Farkas T, Marionneau S, Zhong W, Ruvoen-Clouet N, Morrow AL, Altaye M, Pickering LK, Newburg DS, LePendu J, Jiang X: Noroviruses bind to human ABO, Lewis, and secretor histo-blood group antigen: identification of 4 distinct strain-specific patterns. *J Infect Dis* 18: 19-31, 2003
- 7) Huang P, Farkas T, Zhong W, Tan M, Thornton S, Morrow AL, Jiang X: Norovirus and histo-blood group antigen: demonstration of a wide spectrum of strain specificities and classification of two major binding groups among multiple binding patterns. *J Virol* 7: 6714-22, 2005
- 8) 横井 一, 田中俊光, 秋元 徹, 三井良雄,

- 小笠原義博, 池上 宏: シジミ醤油漬けによるノロウイルス食中毒事例に対する一考察, 千葉市環境保健研究所年報 1: 49-54, 2006
- 9) Cheng PK, Wong DK, Chung TW, Lim WW: Norovirus contamination found in oysters world-wide. *J Med Virol* 7: 593-7, 2005
- 10) Tian P, Bates AH, Jensen HM, Mandrell RE: Norovirus binds to blood group A-like antigens in oyster gastrointestinal cells. *Lett Appl Microbiol* 4: 645-51, 2006
- 11) Schwab KJ, Neill FH, Estes MK, Metcalf TG, Atmar RL: Distribution of Norwalk virus within shellfish following bioaccumulation and subsequent depuration by detection using RT-PCR. *J Food Prot* 6: 1674-80, 1998
- 12) 古田俊彦, 秋山美穂, 加藤由美子, 西尾 治: ノロウイルス (ノウォークウイルス) A 型肝炎ウイルスに汚染されたウチムラサキ貝による食中毒事例, 感染症学雑誌 77, 89-94, 2003
- 13) 新川奈緒美, 伊東祐治, 西尾 治: ウチムラサキ貝が原因で夏季に発生したノウォーク様ウイルスによる食中毒事例—鹿児島県—, 病原微生物検出情報 2: 222-23, 2001
- 14) 貞升健志, 新開敬行, 中村敦子, 山崎 清, 村田以和夫, 諸角 聖, 荒井美子, 清水名永之, 山野美代: A 型肝炎ウイルス (HAV) による食中毒 2 事例について—東京都, 病原微生物検出情報 2: 273, 2002
- 15) 猿渡正子, 青木 聡, 野田伸司, 所 光男, 木方 正, 安江智雄, 大平恵美子, 日置 敦: A 型肝炎患者 (寿司店主) が感染源と思われる A 型肝炎ウイルスによる食中毒—岐阜県, 病原微生物検出情報 2: 147-149, 2002
- 16) 西尾 治, 秋山美穂: 輸入食品のウイルス汚染の現状, 食品衛生研究 印刷中
- 17) Bull RA, Tu ET, McIver CJ, Rawlinson WD, White PA: Emergence of a new norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 4: 327-33, 2006
- 18) AKroneman J, Vennema H, Harris J, G Reuter G, von Bonsdorff CH, Hedlund KO, Vainio K, Jackson V, Pothier P, Koch J, Schreier E, Bottiger: Increase in norovirus activity reported in Europe. *Euro Surveill* 1: 3093, 2006

短報

神奈川県で検出された ノロウイルスの解析

片山 丘, 宮原香代子, 古屋由美子

Analysis of norovirus in Kanagawa Prefecture.

Takashi KATAYAMA, Kayoko MIYAHARA
and Yumiko FURUYA

はじめに

ウイルスを原因とする感染性胃腸炎は、ノロウイルスやロタウイルスによる胃腸炎が一般的に知られている。神奈川県(川崎市、横浜市、横須賀市、相模原市、藤沢市を除いた地域)ではこれらのウイルスの他にアデノウイルス、サポウイルス、アストロウイルスによる胃腸炎も見られている^{1, 2)}。このなかでもノロウイルスを原因とした食中毒や感染性胃腸炎が毎年多数発生しており^{3, 4)}、社会的問題となっている^{5, 6)}。

そこで県域でのノロウイルスの流行状況と流行株との関連および発生地域とノロウイルス流行株との関連を調べるため感染性胃腸炎患者検体から検出されたノロウイルスについて遺伝子の解析を行った。

材料および方法

1. 検査材料

ノロウイルスの流行状況の把握には、平成17年4月から平成20年3月までに小児科定点医療機関から得られた感染性胃腸炎患者便489検体を用いた。また遺伝子解析のためには、定点医療機関からの検体でノロウイルスが検出された142検体の中から33検体とさらに平成17年5月にノロウイルスgenogroup I (G I) が検出された感染性胃腸炎集団発生⁷⁾の2事例から6検体(患者便および調理従事者便)を用いた(表1)。

2. RNAの抽出

便を滅菌リン酸緩衝液で10%乳剤とし、15,000rpm, 5分間遠心分離後の上清140 μ lから、QIAamp Viral RNA mini Kit (QIAGEN) を用いて、キット添付のプ

ロトコールに従いRNAを抽出した。

3. ノロウイルスの遺伝子検出

RNA抽出液とDNase I (タカラバイオ) を37°C, 30分間反応させた後、Random Hexamer (Amersham) およびSuperScript II RT (Invitrogen) を用いて42°C, 1時間の逆転写反応を行いcDNAを作製した。

定量PCRは影山らの方法⁸⁾ に従ってTaqMan Universal PCR Master Mix (ABI) を用い、G IはプライマーにCOG1F, COG1R, プロープにRING1-TP(A), RING1-TP(B), genogroup II (G II) はプライマーにCOG2F, ALPF, COG2R, プロープにRING2AL-TPを使用し、G I, G IIについてそれぞれウイルス遺伝子の定量を行った。

4. ノロウイルスのキャプシドタンパク質遺伝子の解析

定量PCRによってノロウイルス遺伝子が検出された検体についてG IはプライマーにCOG1F, G1-SKR, G IIはプライマーにCOG2F, G2-SKRを用いてさらにPCRを行った。得られたPCR産物から1.5%アガロースゲル電気泳動により380bp付近(G I:381bp, G II:387bp)の目的バンドを切り出し、BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit(ABI)を用いて、キット添付のプロトコールに従い、ABI PRISM 3100-Avant Genetic Analyzer(ABI)により塩基配列の決定を行った。

遺伝子の塩基配列が決定された検体についてはそれぞれG I/1からG I/15, G II/1からG II/18の塩基配列⁹⁾を基にその分布状況をGENETYX-MAC(ゼネティックス)を用いて解析した。

結果

神奈川県における感染性胃腸炎患者からの3年間のノロウイルス検出状況は、平成17年度患者100例中23例(鎌倉地域2例, 厚木地域1例, 小田原地域19例, 藤沢地域1例), 平成18年度患者186例中71例(茅ヶ崎地域2例, 厚木地域8例, 小田原地域61例), 平成19年度患者203例中48例(茅ヶ崎地域3例, 厚木地域19例, 小田原地域26例)であった(表2)。またgenogroup別検出状況は、平成17年度はG Iが2例, G IIが20例, G IとG IIの混合が1例, 平成18年度はG Iが2例, G IIが69例, 平成19年度はG Iが5例, G IIが43例であった。各年ともにG IIの流行が起り、その最後の頃にG Iが散発的に検出された(表3)。

キャプシドタンパク質遺伝子塩基配列から、平成17年度に小田原地域より検出されたG IはG I/8であり、平成17年5月に秦野保健所管内でおこった食中毒事例の患者および調理従事者から検出されたG Iと同時期に厚木保健所管内でおこった集団発生の感染性胃腸炎患者か

ら検出されたG IはともにG I/3であった(図1)。また、平成17年度に鎌倉地域、藤沢地域、厚木地域および小田原地域より検出されたG IIは共にG II/4であった(図2-4)。平成18年度では、小田原地域より検出されたG IはG I/7(図1)、茅ヶ崎地域と厚木地域より検出されたG IIは共にG II/4、小田原地域より検出されたG IIは平成18年5月がG II/2、11月がG II/10であった(図2-4)。平成19年度では、小田原地域より検出されたG Iは平成20年2月の1例がG I/14でその他はG I/4(図1)、茅ヶ崎地域より検出されたG IIは共にG II/4、厚木地域より検出されたG II3例は平成19年6月がG II/2、7月がG II/13でその他の月はG II/4、小田原地域より検出されたG IIは平成19年4月、20年3月がG II/13でその他はG II/4であった(図2-4)。

考 察

ノロウイルスの検出率(検出数/検査数)は、平成17年度、19年度が共に23%程度であったのに対し、平成18年度は38.2%と増加しており、ノロウイルスの大流行が起こっていたことが伺われる。また、複数年でノロウイルスが検出されている地域を比較すると、茅ヶ崎地域では平成18年度が40.0%、19年度が13.6%であり、小田原地域では平成17年度20.6%、18年度39.9%、19年度19.3%と両地域とも全国的に流行のあった平成18年度⁷⁾に流行があったことが示唆された。また、厚木地域では平成17年度14.3%に比べ18年度32.0%、19年度41.3%と全国的な流行年の後もノロウイルスの流行があったことが示唆された。これらのことからノロウイルスの流行やその動向を把握する上で、小児科定点医療機関からのウイルス検出は大変有意義なものであると考えられる。

今回我々は、県域での流行状況を把握するため感染性胃腸炎患者検体を中心に、各年度の定点地域で検出された全てのノロウイルスG I検出検体および年度最初に検出されたノロウイルスG II検出検体、さらに平成19年度に関しては、各定点地域で毎月最初にノロウイルスG IIが検出された検体を選択し、キャプシドタンパク質遺伝子の解析を行った。晩秋から冬期のノロウイルスG IIの流行は各定点地域ともにそのほとんどがG II/4のグループに属する株によるものであり、これらの株が継続的に流行を引き起こし、さらに、春や初夏の散発例はG II/2、G II/10およびG II/13のグループに属する株によるものであることが明らかとなった。ノロウイルスG IIは、流行期にはそのほとんどがG II/4に属する株によるもので、流行期以外では他のグループに属する株によるものが、これら遺伝子の解析により見られたことは興味深いことである。

日本国内で全国的に発生しているノロウイルス感染症の流行のほとんどがG II/4のグループに属している株によるものであり⁷⁾、神奈川県におけるノロウイルスの流行もこれらと同様にG II/4に属するウイルスによるものであることが示唆された。

近年の神奈川県における感染性胃腸炎集団発生事例を見ると、秋から春にかけてのノロウイルスG IIによる事例が大問題となるなか、平成17年度のように5月に冬期の流行期とは別のノロウイルスG Iによる食中毒や感染性胃腸炎の集団発生が散発的に確認されており(表1)、秦野の食中毒事例および厚木の胃腸炎集団発生事例ではG I/3であった。しかしながら県域における定点医療機関からの検体では、ノロウイルスG Iの検出は小田原地域のみで、平成17年度はG I/8であった。このことより、県域で少なくとも2種類のノロウイルスG Iが散発的に活動していたことが確認された。さらに平成18年度はG I/7、19年度は平成20年2月のG I/14検出を除きG I/4であり、ノロウイルスG Iは各年度で同じ株か同じグループに属する株であることがわかった。ノロウイルスG IはノロウイルスG IIとは異なり発生年度、発生地域共に共通して継続的に検出されているグループの存在が無く、発生年度や発生地域により散発的に一つの株が発生する傾向が見られ、ノロウイルスG IとノロウイルスG IIの流行性の違いであると示唆された。

秦野の食中毒患者2例と調理従事者2例から検出されたノロウイルスG Iの遺伝子は同一であったが、厚木の感染性胃腸炎集団発生事例の患者2例とは、340番目の塩基がCとTとで異なるものであった。今回我々が行った塩基配列決定は、クローニングを行っていないPCR産物のダイレクトシーケンシングであり、その領域も381bpと短いものであるため、この僅かに一ヶ所の違いで秦野の事例と厚木の事例からの検出株に差異があるとは言いつけず、さらに多くの遺伝子の領域について詳細な検討を行う必要があると考えられた。

今後は解析を行う検体数を増やすとともに他の領域の遺伝子の検討も加えることにより、県域におけるノロウイルスの動向をさらに詳しく探ることが可能であると考えられる。

謝 辞

最後になりましたが、検体および患者情報の収集にご協力いただきました小児科定点医療機関の先生方々に感謝いたします。さらに検体搬入や情報提供にご尽力いただきました各保健福祉事務所、県健康増進課および生活衛生課の方々に感謝いたします。

(平成20年7月28日受理)

文 献

- 1) 伊達佳美, 片山 丘, 古屋由美子: 県域の感染性胃腸炎患者からの原因ウイルス検出状況 (平成16年度, 17年度), 神奈川県衛生研究所報告, 36, 51-52 (2006)
- 2) 片山 丘, 宮原香代子, 古屋由美子: 感染性胃腸炎患者からの原因ウイルス検出状況 (平成18年度), 神奈川県衛生研究所報告, 37, 75-77 (2007)
- 3) 宮原香代子, 片山 丘, 古屋由美子: 神奈川県におけるウイルス性集団胃腸炎の発生状況 (平成17年度), 神奈川県衛生研究所報告, 36, 48-50 (2006)
- 4) 宮原香代子, 片山 丘, 古屋由美子: 神奈川県におけるウイルス性集団胃腸炎の発生状況 (平成18年度), 神奈川県衛生研究所報告, 37, 72-74 (2007)
- 5) 食品衛生専門監視班編: 食中毒, かながわの食品衛生, 12, 9 (2008)
- 6) 食品衛生専門監視班編: ノロウイルスを知って防ごう食中毒, かながわの食品衛生, 12, 10-12 (2008)

表1 キャプシドタンパク質の塩基配列決定に用いた検体

1-1 定点医療機関症例

検体番号	検体情報				検査結果		
	定点地域	発病年月日	年齢		定量PCR		
			歳	ヶ月	性別	G1	G2
H17-5-Odawara1	小田原	H17.5.21	9		男	+	
H17-5-Odawara2	小田原	H17.5.23	5		女	+	
H17-10-Odawara3	小田原	H17.10.31	32		女		+
H17-12-Atsugi1	厚木	H17.12.15		10	女		+
H17-12-Kamakura1	鎌倉	H17.12.28	1	2	男		+
H18-2-Fujisawa1	藤沢	H18.2.6	1	1	男		+
H18-6-Odawara1	小田原	H18.5.6	13		女		+
H18-11-Atsugi1	厚木	H18.11.4		8	男		+
H18-11-Odawara2	小田原	H18.11.6	31		女		+
H18-11-Chigasaki1	茅ヶ崎	H18.11.22	1		男		+
H19-1-Odawara3	小田原	H19.1.25		10	女		+
H19-2-Odawara4	小田原	H19.2.22	6	6	女		+
H19-4-Atsugi1	厚木	H19.4.11	1	8	男		+
H19-4-Chigasaki1	茅ヶ崎	H19.4.17		11	女		+
H19-4-Odawara1	小田原	H19.4.23	1	10	男		+
H19-5-Odawara2	小田原	H19.5.11	0	5	女		+
H19-6-Odawara3	小田原	H19.6.4	12		女		+
H19-6-Atsugi2	厚木	H19.6.11	35		男		+
H19-7-Atsugi3	厚木	H19.7.5	2	1	女		+
H19-10-Odawara4	小田原	H19.10.26	1	5	男		+
H19-11-Chigasaki2	茅ヶ崎	H19.11.20	1	9	女		+
H19-11-Atsugi4	厚木	H19.11.25	1	2	女		+
H19-11-Odawara5	小田原	H19.11.29	1	4	女		+
H19-12-Odawara6	小田原	H19.12.1		7	女		+
H19-12-Chigasaki3	茅ヶ崎	H19.12.4		10	男		+
H19-12-Atsugi5	厚木	H19.12.7	2	1	女		+
H20-1-Odawara7	小田原	H20.1.5	72		女		+
H20-2-Atsugi6	厚木	H20.2.3	3	3	女		+
H20-2-Odawara8	小田原	H20.2.4	34		男		+
H20-2-Odawara9	小田原	H20.2.4	12		女		+
H20-2-Odawara10	小田原	H20.2.6	4	6	女		+
H20-3-Odawara11	小田原	H20.3.3	8	3	男		+
H20-3-Odawara12	小田原	H20.3.3	7	7	女		+

1-2 集団事例

検体番号	検体情報				検査結果	
	発生地域	発生年月	発生施設	種別	定量PCR	
					G1	G2
H17-5-Hadano1	秦野	H17.5	飲食店	従事者		+
H17-5-Hadano2						+
H17-5-Hadano3						+
H17-5-Hadano4						+
H17-5-Atsugi1	厚木	H17.5	小学校	患者		+
H17-5-Atsugi2						+

- 7) ノロウイルスの流行 2006/07シーズン, 病原微生物検出情報, 28, 1-2 (2007)
- 8) 影山努, 小嶋慈之, 福士秀悦, 片山和彦: 蛍光プローブを用いたNorwalk virus (NV) の高感度検出法の開発, Vita, 18, 14-17 (2001)
- 9) Okada, K., Ogawa, T., Kaiho, I. and Shinozaki, K.: Genetic analysis of norovirus in Chiba Prefecture, Japan, between 1999 and 2004. J. clin. Microbiol., 43, 4391-4401 (2005)

表2 感染症発生動向調査定点からの年度別ノロウイルス検出状況

	定点地域	検体数	ノロウイルス		
			GI	GII	GI&GII
平成17年度	鎌倉	6	0	2	0
	平塚	2	0	0	0
	厚木	7	0	1	0
	小田原	84	2	16	1
	藤沢	1	0	1	0
	年度合計	100	2	20	1
18年度	茅ヶ崎	5	0	2	0
	平塚	3	0	0	0
	厚木	25	0	8	0
	小田原	153	2	59	0
	年度合計	186	2	69	0
19年度	茅ヶ崎	22	0	3	0
	厚木	46	0	19	0
	小田原	135	5	21	0
	年度合計	203	5	43	0
検査合計	489	9	132	1	

表3 茅ヶ崎・厚木・小田原地域3地点からの月別ノロウイルス検出状況

	茅ヶ崎地域		厚木地域		小田原地域		
	GI	GII	GI	GII	GI	GII	GI&GII
H17.4							
5					2		
6							
7							
8							
9							
10						1	
11							
12			1			7	
H18.1						7	1
2						1	
3							
4							
5						1	
6							
7							
8							
9							
10							1
11			1	5		8	
12				2		22	
H19.1	1				1	14	
2						1	10
3				1			4
4		1		2			1
5						1	
6				2		1	
7				1			
8							
9							
10							1
11			1	2			1
12		1		10			5
H20.1							3
2					2	2	2
3						1	8

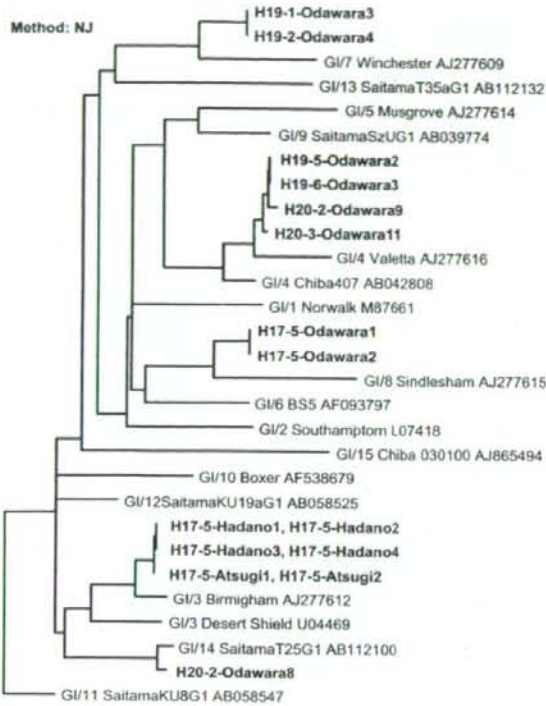


図1 ノロウイルスG I の系統樹

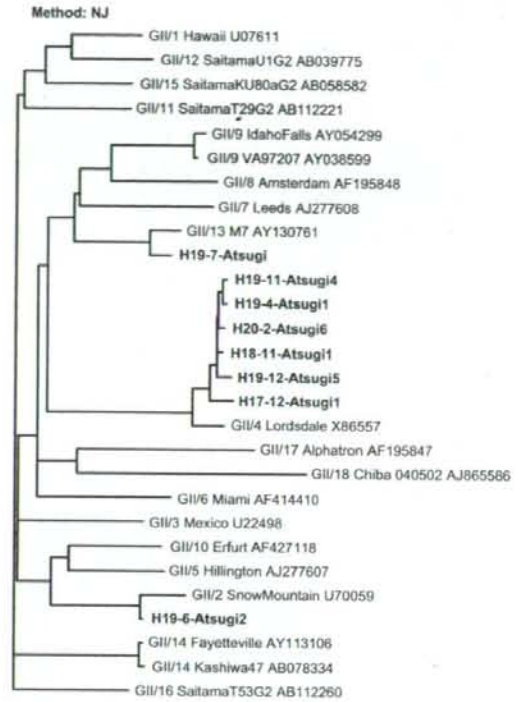


図3 ノロウイルスG II の系統樹 (厚木地域)

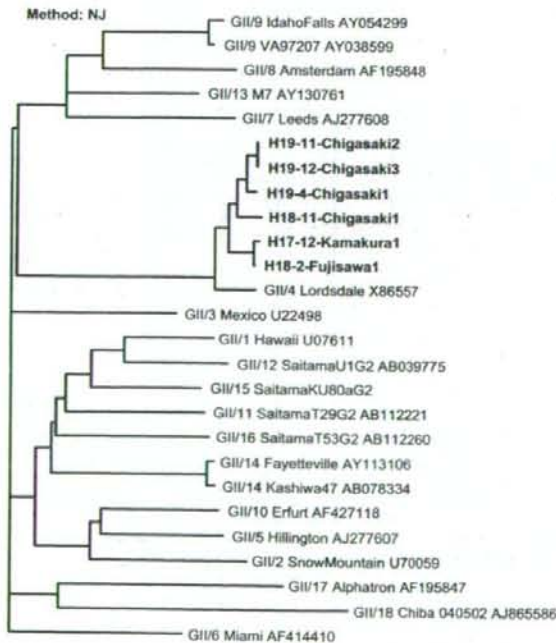


図2 ノロウイルスG II の系統樹 (茅ヶ崎・鎌倉・藤沢地域)

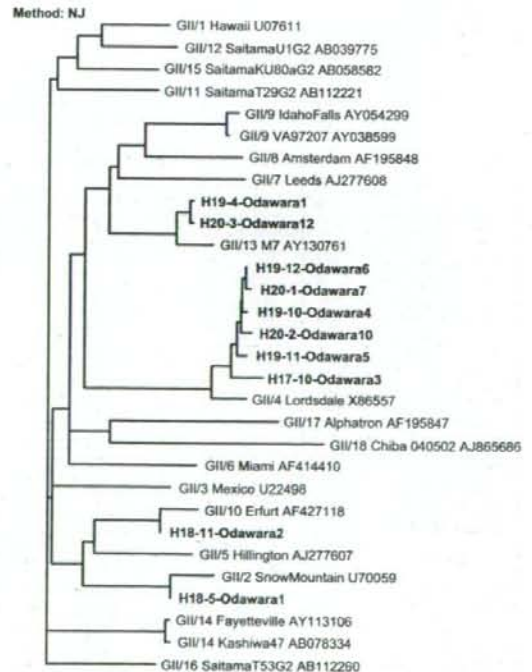


図4 ノロウイルスG II の系統樹 (小田原地域)

資料

神奈川県における
ウイルス性胃腸炎の集団発生状況
(平成19年度)

宮原香代子, 片山 丘, 原田美樹, 古屋由美子

Occurrence of viral gastroenteritis
in Kanagawa Prefecture
(April, 2007-March, 2008)

Kayoko MIYAHARA, Takashi KATAYAMA,
Miki HARADA and Yumiko FURUYA

ウイルスによる胃腸炎の集団発生は、主に食品を介する食中毒やヒトからヒトへ伝播する感染性胃腸炎として冬期を中心に起きている。ノロウイルス、サポウイルス、ロタウイルス、アデノウイルスなどがその原因ウイルスであるが、特にノロウイルスによる事例が多く、平成18年11月から平成19年1月には、全国的にノロウイルスによる食中毒や感染性胃腸炎の大流行がみられた。厚生労働省平成18年全国食中毒発生状況の病因物質別統計では、ノロウイルスを原因とする食中毒が総事件数1,491件中499件(33.5%)、総患者数39,026名中27,616名(70.8%)で、事件数および患者数ともに第1位であった。

我々は胃腸炎の集団発生時にその感染拡大を防止するため、原因ウイルスや感染源の早期解明を目的とした検査および調査を実施している。そこで平成19年4月から平成20年3月にかけて神奈川県域で発生した胃腸炎の集団発生事例について、原因ウイルス検出状況を報告する。

ウイルス検査を行った胃腸炎の集団発生は85事例で、検体数は便および吐物661検体、食品8検体、ふきとり21検体の690検体であった。平成18年度には98事例1,318検体と急増したが、今年度は平成17年度の72事例625検体と同程度の検体数であった。

ウイルスの検出については、ノロウイルスは定量PCR、サポウイルスとC群ロタウイルスは逆転写PCR、A群ロ

タウイルスとアデノウイルスはイムノクロマトを用いた。また原因ウイルスを広く迅速に検索するため、発症者の検体を中心に電子顕微鏡観察を行った。定量PCRでノロウイルスgenogroup Iが検出された食中毒1事例の一部の検体については、さらにプライマーCOG1F/G1-SKRを用いたPCRを行い、その産物の塩基配列をダイレクトシーケンシスにより決定した。

その結果、52事例の便および吐物261検体、食品1検体、ふきとり2検体からウイルスが検出された。検出されたウイルスはノロウイルスが46事例で最も多く、サポウイルスが4事例、A群ロタウイルスとC群ロタウイルスがそれぞれ1事例であった。これらの検査結果および疫学調査から、食中毒と判定されたものが8事例、感染性胃腸炎と判定されたものが9事例であった。その他の35事例は有症苦情が14事例、他の自治体からの関連調査が21事例であった。ふきとり検査では、飲食店の刺身用まな板1検体と宿泊施設のトイレ便器1検体からノロウイルスを検出したが、いずれの事例も有症苦情と判定された。

食中毒8事例はノロウイルスを原因とするものであり、検出されたノロウイルス遺伝子は事例CとHの2事例がgenogroup I(以下GI)、それ以外の6事例はgenogroup II(以下GII)であった(表1)。事例Cでは発症者便からGIのみが検出されたが、調理従事者便からはGIのみとGIとGIIの混合が検出された。GIとGIIが混合して検出される場合は魚介類の生食を原因とすることが多いが、調理従事者の感染原因については不明であった。また定量PCRと同時にを行った電子顕微鏡観察では、5事例の発症者便16検体から小型球形ウイルス粒子が検出され、これらの粒子はノロウイルスであると確定された。

食中毒事例の発生時期は、8事例中6事例が12月から1月と冬期に集中していた。また原因食品や施設の汚染場所を調べるため、事例D、F、Hについては食品やふきとりの検査を行った。その結果、事例Fでは発症者便および参考品の生カキからノロウイルスGIIが検出された。しかし今回ノロウイルスが検出された生カキは、当日の残品ではなく参考品のため原因食品と決定されなかった。一方事例F以外の7事例においては、調理従事者便からノロウイルスが検出されたことから、その調理従事者を介して食品が汚染され食中毒が発生した可能性が考えられた。

食中毒事例Eでは、ノロウイルスGIIが検出された調理従事者3名(検出例a、b、c)について、ノロウイルスが便中に排泄される期間を調査することができた(表2)。ウイルス遺伝子量は定量PCRの結果から便1g当た

りのコピー数を算出し、ウイルスの便中への排泄期間は初回の検出日を基準とした。初回検出のウイルス遺伝子量は検出例aが 7.3×10^5 コピー/g、bが 7.2×10^6 コピー/g、cが 2.6×10^8 コピー/gであり、いずれの例でも大量のノロウイルスを排泄していた。aは6日後、bは10日後の検査でノロウイルスが検出されなくなったが、初回検出でウイルス遺伝子量が最も多かったcは25日後まで検出が続いた。我々は昨年度、約4週間にわたりノロウイルスが排泄された例を経験したが、今回の調理従事者の調査においても長期間排泄される例を確認することができた。食中毒予防の観点から調理従事者は、ノロウイルス

に感染すると便や吐物には大量のウイルスが含まれていることや、症状が改善された後も長期間ウイルスが排泄される可能性があることを認識して、日頃から自己の健康管理および手洗いの励行や調理手袋着用などさらなる注意が必要である。

ノロウイルスによる食中毒はGIIの事例が多いが、3月にGIによる事例が発生した(表1)。この事例Hについて、当該飲食店を利用した3グループの発症者便および調理従事者便から検出されたノロウイルス遺伝子と、遺伝子型GI/1からGI/15の代表株遺伝子の塩基配列を用いて、Neighbor-Joining法による系統樹を作成した

表1 平成19年度食中毒事例

事例	発生年月	管轄保健 福祉事務所	原因施設	原因食品	検体	ノロウイルス定量PCR			電子顕微鏡観察	
						検体数	陽性数	検出遺伝子	検体数	陽性数
A	H 19.4	茅ヶ崎	飲食店	不明	発症者便	4	4	GII	4	2
					調理従事者便	2	2	GII	N.T.	
B	H 19.12	秦野	飲食店	不明	発症者便	21	14	GII	2	0
					摂食者便	30	6	GII	N.T.	
					調理従事者便	32	5	GII	N.T.	
C	H 19.12	小田原	旅館	不明	発症者便	2	1	GI	2	0
					調理従事者便	10	2	GI, GI & II	N.T.	
D	H 20.1	小田原	仕出し屋	不明	発症者便	5	4	GII	5	4
					調理従事者便	11	3	GII	N.T.	
					食品	5	0		N.T.	
E	H 20.1	平塚	飲食店	不明	発症者便	14	9	GII	9	6
					調理従事者便	8	3	GII	N.T.	
F	H 20.1	平塚	飲食店	不明	発症者便	11	9	GII	8	3
					調理従事者便	3	0		N.T.	
					食品	1	1	GII	N.T.	
G	H 20.1	小田原	従業員食堂	不明	発症者便	10	10	GII	10	1
					調理従事者便	2	1	GII	N.T.	
					食品	35	28	GI	N.T.	
H	H 20.3	小田原	飲食店	不明	摂食者便	3	2	GI	N.T.	
					調理従事者便	19	3	GI	N.T.	
					ふきとり	2	0		N.T.	

GI : genogroup I

GII : genogroup II

N.T. : 検査せず

表2 調理従事者の便中におけるノロウイルス遺伝子の検出状況

検出例	初回検出の ノロウイルス遺伝子量*	初回検出後の経過日数					
		4日	6日	10日	14日	25日	32日
a	7.3×10^5	+	-				
b	7.2×10^6	+	+	-			
c	2.6×10^8	+	+	+	+	+	-

* : 定量PCRから便1g当たりのコピー数を算出

+ : 検出 - : 不検出

(図1). その結果, 検出されたノロウイルスの塩基配列は全て一致し, G I /8に分類された. この時期に神奈川県域でG I /8の集団発生が確認されたが, この遺伝子型が今後も流行するのか, その動向に注意する必要があると考えられた.

感染性胃腸炎9事例で検出された原因ウイルスは, ノロウイルスが7事例, C群ロタウイルスが1事例, サボウイルスが1事例であった(表3). ノロウイルスが検出された7事例は全てG IIであった.

感染性胃腸炎の発生施設は高齢者施設が6事例で最も多く, 小学校が2事例, 福祉施設が1事例であった.

C群ロタウイルス(事例A)およびサボウイルス(事例B)による集団発生事例は, 平成17年5月に神奈川県域で初めて確認されて以来の発生であった. C群ロタウイルスによる事例は平成17年度も今回も, 春期における小学校での発生であった. この事例A, Bは定量PCRでノロウイルスが検出されず, 同時に進めていた電子顕微鏡観察によりロタウイルス粒子, ノロウイルス以外の小型球形ウイルス粒子を検出することができたため, それぞれのウイルスの確認検査を早期に進めることが可能であった. このようにノロウイルスが検出されない場合には, 多種類のウイルスが同時に検索できる電子顕微鏡観察が有用であった.

平成19年度の神奈川県域におけるウイルス性胃腸炎の集団発生は, ノロウイルスが大流行した前年度と比較すると食中毒事例, 感染性胃腸炎事例共に減少した. しかしこの傾向が続くかどうかは疑問であり, 特にノロウイルスについては今後の動向を監視する必要がある. 集

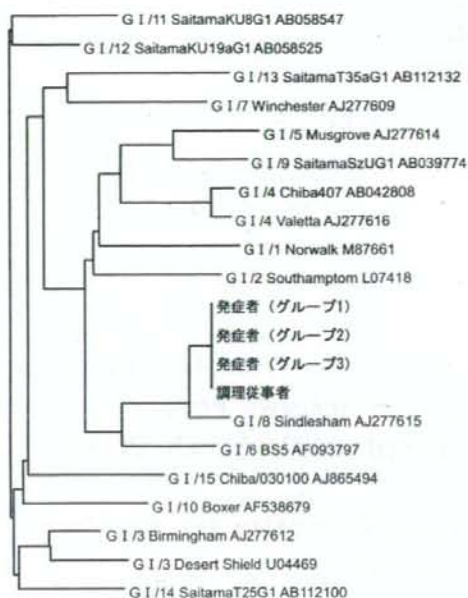


図1 ノロウイルスgenogroup Iの系統樹

団発生時には速やかに原因ウイルスを検出し感染の拡大を防止するとともに, 集団発生を予防するために感染源および感染経路の解明が重要であると考えられた.

最後に, 衛生研究所への検体搬入や情報提供にご尽力いただいた各保健福祉事務所, 県生活衛生課および健康増進課の方々に感謝いたします.

(平成20年7月28日受理)

表3 平成19年度感染性胃腸炎事例

事例	発生年月	管轄保健福祉事務所	発生施設	検体	検体数	陽性数	検出ウイルス	電子顕微鏡観察	
								検体数	陽性数
A	H 19.5	鎌倉	小学校	発症者便	3	3	C群ロタウイルス	3	3
				調理従事者便	10	1		N.T.	
				ふきとり	6	0		N.T.	
B	H 19.10	茅ヶ崎	福祉施設	発症者便	4	2	サボウイルス	4	2
C	H 19.11	鎌倉	高齢者施設	発症者便	2	2	ノロウイルス(G II)	2	1
D	H 19.12	小田原	小学校	発症者便	2	2	ノロウイルス(G II)	N.T.	
E	H 20.1	鎌倉	高齢者施設	発症者便	3	3	ノロウイルス(G II)	3	3
F	H 20.1	厚木	高齢者施設	発症者便・吐物	6	6	ノロウイルス(G II)	4	1
				調理従事者便	9	0		N.T.	
G	H 20.2	鎌倉	高齢者施設	発症者便	3	1	ノロウイルス(G II)	3	0
				介護職員便	1	1		N.T.	
H	H 20.2	厚木	高齢者施設	発症者便	6	6	ノロウイルス(G II)	N.T.	
I	H 20.2	厚木	高齢者施設	発症者便	2	1	ノロウイルス(G II)	N.T.	

G II : genogroup II

N.T. : 検査せず

資料

感染性胃腸炎患者からの
原因ウイルス検出状況
(平成19年度)

片山 丘, 原田美樹, 宮原香代子, 古屋由美子

Surveillance of Viral Gastroenteritis
in Kanagawa Prefecture
(April, 2007~March, 2008)

Takashi KATAYAMA, Miki HARADA,
Kayoko MIYAHARA and Yumiko FURUYA

感染症予測監視事業の一環として、感染性胃腸炎の原因ウイルスを把握する目的で、神奈川県域の小児科定点医療機関から得られた感染性胃腸炎患者の検体から原因ウイルスの検索を行っている。ウイルスを原因とする感染性胃腸炎は、冬期の前半を中心に流行がみられるノロウイルス(図1-1)による乳幼児から成人に至るまで幅広い年齢層での胃腸炎と、冬期の後半を中心に流行がみられるロタウイルス(主にA群:図1-2)による乳幼児の胃腸炎が良く知られている。県域ではこれらのウイルスの他にアデノウイルス(図1-3)、サポウイルス(図1-4)、アストロウイルス(図1-5)も検出されている。さらに、過去2、3年の間に県域において、5月、6月の春から初夏や10月の秋に幼稚園や小学校および老人福祉施設で感染性胃腸炎の集団発生からノロウイルス、サポウイルス、A群ロタウイルスおよびC群ロタウイルスが検出されている。そこで、時期・年齢に関わらず原因ウイルスの検索を行った。

平成19年4月から平成20年3月に感染性胃腸炎と診断された患者の便203検体を用いた。ウイルスの検出はノロウイルス、A群ロタウイルス、アデノウイルス、サポウイルスおよびアストロウイルスを対象とした。ノロウ

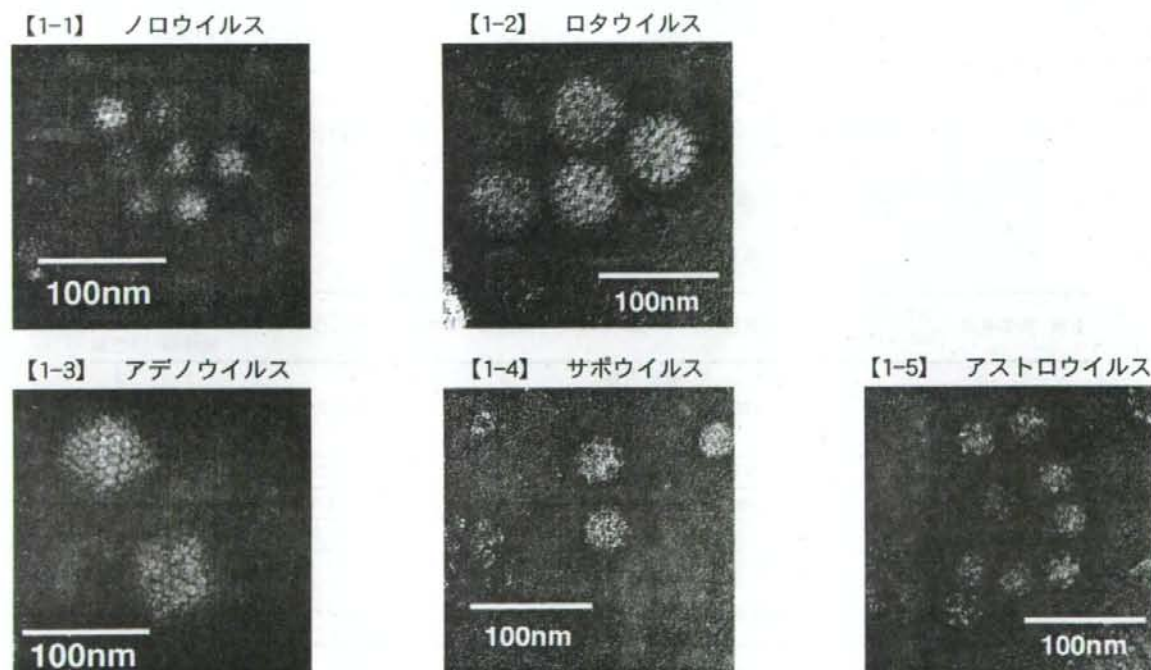


図1 平成19年度に検出されたウイルスの電顕像

ウイルスには定量PCR、A群ロタウイルスおよびアデノウイルスにはラビッドテストターアデノ (Orion Diagnostica社製)、サポウイルスおよびアストロウイルスにはPCRを用いた。また電子顕微鏡によるウイルス検索も併せて行った。

検査の結果、203検体中98検体から感染性胃腸炎の原因ウイルスが検出された。検出されたウイルスは、ノロウイルスが48検体、A群ロタウイルスが19検体、アデノウイルスが7検体、サポウイルスが20検体、アストロウイルスが4検体であった(表1)。これらウイルスの検出状況は、18年度に比べノロウイルスが約2/3に減少し、A群ロタウイルス、アデノウイルスは同程度、サポウイルスがおよそ2倍に増加した。さらにアストロウイルスが複数検出されたことは県域で初めてのことであり、サポウイルス、アストロウイルスの流行が確認された。

患者の年齢を6歳以下、7歳から12歳、13歳から22歳、23歳から64歳および65歳以上に分け、ウイルスの検出状況を年齢別にみると、A群ロタウイルスとアデノウイルスは6歳以下からの検出数が多く、A群ロタウイルスは僅かながら23歳以上からも検出されている。ノロウイルスは全ての年齢層で検出された。サポウイルスはノロウイルスと同様に低年齢層に次いで、23歳から64歳からも検出されている。またノロウイルスとサポウイルス以外のウイルスは、13歳から22歳では検出されなかった(表1)。

月別の検出状況を見ると、平成19年4月には18年度の流行の最後と思われるノロウイルスとA群ロタウイルスが4例ずつ検出された。5月にはノロウイルスとアストロウイルスが1例ずつとサポウイルスが4例検出された。6月にはアデノウイルス以外のウイルスが少数であるが検出され、7月にアデノウイルスが2例、ノロウイルス、サポウイルスが1例ずつ検出された。19年度は感染性胃腸炎からウイルスが検出されなかったのは8月の一ヶ月のみで、それ以外の月には散発的ではあるが何れかのウイルスが検出されていた。9月にアデノウイルス、10月にノロウイルスが1例ずつ検出され、11月のノロウイルスが4例、サポウイルスが1例、アデノウイルスが2例を皮切りにそれ以降は12月にノロウイルスが16例、アデノウイルスが1例、平成20年1月にノロウイルスが3例、サポウイルスが2例、2月にノロウイルスが6例、サポウイルスが4例、A群ロタウイルスが5例、3月にノロウイルスが9例、サポウイルスが6例、アストロウイルスが2例、A群ロタウイルスが9例、アデノウイルスが1例と全てのウイルスが多数検出されている(表2)。

検出されたノロウイルスのgenogroupをみると、48検体のうち43検体がgenogroup II、5検体がgenogroup Iであり、ノロウイルスの流行は平成19年11月から平成20年3月であった。ノロウイルスのgenogroup Iは、18年度のgenogroup IIの流行が終わった5月と6月に1例ずつと19年度の流行が終盤に近づいてきた平成20年2月に2例、3月に1例と散発的に検出されている。サポウイルスの流行は二ヶ月遅れて平成20年1月から3月であった。A群ロタウイルスの流行は18年度より一ヶ月早い平成20年2月からであった。アデノウイルスは検出数も少なく流行は見られなかった(表2)。

19年度の調査において興味深いのはアストロウイルスが平成19年の5月と6月、平成20年3月に合計4例見られたことであった。県域においてアストロウイルスが検出されたのは10年程前に1例確認されたのみで、それ以降は確認されていない。アストロウイルスの検出された4例について検体情報と臨床症状をまとめた(表3)。検出されたのは厚木と茅ヶ崎地域でいずれも乳幼児であった。厚木地域では平成19年5月と6月に散発症例から検出され、茅ヶ崎地域では平成20年3月に地域流行の2症例から相次いで検出された。しかしこれら2つの地域でのアストロウイルスの関連については不明であり、今後遺伝子解析等をする事によりこれらウイルスの詳細が明らかになると考えられる。また臨床症状は嘔吐が無く、下痢のみの場合が多いようである。特に厚木地域の散発症例では下痢のみであり、茅ヶ崎地域の地域流行症例では嘔吐や発熱を伴っていることから、感染したウイルス株が違っているのか、患者自身に関係しているのか注目される。

今後も引き続き本調査を継続するにあたり、定点医療機関への検査結果の迅速な還元や病原微生物検出情報等により広く情報の提供に努めていきたい。

最後になりましたが、検体および患者情報の収集にご協力いただきました小児科定点医療機関の先生方々に感謝いたします。さらに本事業にご尽力いただきました県健康増進課の方々に感謝いたします。

(平成20年7月28日受理)

表1 年齢別ウイルス検出状況

年齢層	ノロウイルス	A群ロタウイルス	アデノウイルス	サボウイルス	アストロウイルス	合計
6歳以下	29 ^{*1}	16	6	12	4	67
7～12歳	5 ^{*1}	1	1	4	0	11
13～22歳	1	0	0	1	0	2
23～64歳	10 ^{*1}	2	0	3	0	15
65歳以上	3	0	0	0	0	3
合計	48	19	7	20	4	98

*1: genogroup I が検出された検体を含む。

表2 発病月別ウイルス検出状況

年月	陽性数						合計
	ノロウイルス		A群ロタウイルス	アデノウイルス	サボウイルス	アストロウイルス	
	genogroup I	genogroup II					
平成19年 4月	0	4	4	0	0	0	8
5月	1	0	0	0	4	1	6
6月	1	2	1	0	2	1	7
7月	0	1	0	2	1	0	4
8月	0	0	0	0	0	0	0
9月	0	0	0	1	0	0	1
10月	0	1	0	0	0	0	1
11月	0	4	0	2	1	0	7
12月	0	16	0	1	0	0	17
平成20年 1月	0	3	0	0	2	0	5
2月	2	4	5	0	4	0	15
3月	1	8	9	1	6	2	27
合計	5	43	19	7	20	4	98

表3 感染性胃腸炎患者に対する臨床症状（アストロウイルス検出事例）

定点地域	検体情報					臨床症状					備考			
	発病日	検体採取日	病日	年齢		性別	発熱	最高℃	胃腸炎					
				歳	ヶ月				下痢	血便		嘔気	嘔吐	腹痛
厚木	H19.5.29	H19.5.31	3	1	7	女			+					
厚木	H19.6.18	H19.6.19	2	1	1	男			+					
茅ヶ崎	H20.3.10	H20.3.11	2	3	10	男			+		+	+	+	地域流行
茅ヶ崎	H20.3.19	H20.3.21	3	1	5	男	+	38.3	+					地域流行

ノロウイルス感染症①

ノロウイルス感染症

西尾 治

ノロウイルスは1997年に食中毒病因物質に加えられたことから、食中毒を起こすウイルスとの認識が強く、感染症は軽視されていた。ところが、2004年末から2005年の初めに、ノロウイルスによる感染性胃腸炎の集団発生が高齢者特別養護施設で全国的に多発し、社会的にも大問題となった。当時、ノロウイルスが聞き慣れなく、新たに出現したウイルス、殺人ウイルス如きの誤った情報が一部で言われた。ノロウイルスは約40年前に発見され、名前が新しいだけで、死亡例は極めて稀である。

2年後の2006年11月から2007年の初めに、小児科、学校、高齢者施設等でノロウイルスによる感染性胃腸炎のヒト-ヒト集団発生、および食中毒事件が全国的に多発し、共に過去最大となった¹⁾(図1)。ノロウイルスによる感染症と食中毒は表裏一体であり、両面からの対策が必要である。

ノロウイルスの歴史

ノロウイルスは1968年にアメリカ、ノーウォークで急性胃腸炎患者の糞便から電子顕微鏡で発見された。形態的特徴は小さく、球形を呈し、表面に構造が見られることから小型球形ウイルス(SRSV)と呼称されていた。2002年8月国際ウイルス命名委員会でカリシウイルス科、ノロウイルス属と命名された。

ノロウイルスの概要

ノロウイルスは直径30~40nm前後で球形を呈し、表面はカップ状の蛋白構造物で覆われ、その内部に長さ約7.7kbのプラス1本鎖RNA分子ゲノムを持つ。エンベローブはない。遺伝子型が多く、genogroup(G) IとIIに分けられ、34以上の型が存在している。増殖系(組織培養、実験動物)は未だ見出されていないことが、ノロウイルスの感染性、血清型、消毒効果は正確な意味で明らかでない。最近、腸管細胞の3D培養により感染性の検査法が開発されたものの²⁾、日常的に用いるには難しく、簡便な増殖法の確立が望まれる。

ノロウイルスの特性

感染力が非常に強く、ウイルス粒子10~100個で感染・発病させることができる。

ノロウイルスに類似のネコカリシウイルスから推測すると、物理化学的抵抗性は強い。ノロウイルスは乾燥・液中で長期間安定であり、4℃では2か月間、20℃では1か月間程度生存可能と考えられる³⁾(図2)。pH3~10では短時間で不活化されない。

ノロウイルスの不活化には85℃1分間あるいは70℃で5分間の加熱が必要である。70%アルコールでの不活化には5分以上要し、噴霧あるいは単に70%アルコールで拭く程度ではノロ

にしお おさむ：国立感染症研究所感染症情報センター
連絡先：☎ 208-0011 東京都武蔵村山市学園4-7-1 国立感染症研究所村山庁舎

ウイルスを完全に殺滅できない。
塩素濃度3~6ppmでは短時間で不活化されない。

免疫

ノロウイルスの感染防御には腸管のIgA抗体が重要な役割を担う。このIgA抗体は持続が短く、数か月で消滅し、同じ遺伝子型に再感染する。得られた抗体は他の遺伝子型には感染を防御しないので、他の遺伝子型に感染・発病する。したがって、乳幼児から高齢者に至るまで、何度でも感染・発病を繰り返す。

ノロウイルスによる感染性胃腸炎の発生状況

感染症法では感染性胃腸炎は最も軽い5類感染症である。厚生労働省の感染症発生動向調査で、「感染性胃腸炎」は全国の定点(3,000か所の小児科病院または診療所)から、毎年90万程度の患者数が報告されている。感染性胃腸炎はノロウイルスの他に、サポウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、細菌、原虫等によっても起きる。感染性胃腸炎患者の病原体検査は完全に行われていないので、正確にはわからないが、感染性胃腸炎患者の20%程度はノロウイルスと推定され、10倍すると実数に近いとされ、例年では180万人程度で、昨年は2倍の約360万人が小児科領域でのノロウイルスによる感染性胃腸炎患者と推定されている。

ノロウイルスの感染様式

ノロウイルスはヒトの小腸でのみ感染し、そこで増殖する。感染者の糞便・嘔吐物からウイルスが排泄され、それが口に入り感染する。環境中、食品中で増殖することはない。

ノロウイルスによる感染症の集団発生、食中毒事件は突然起きるものではない。その前にノロ

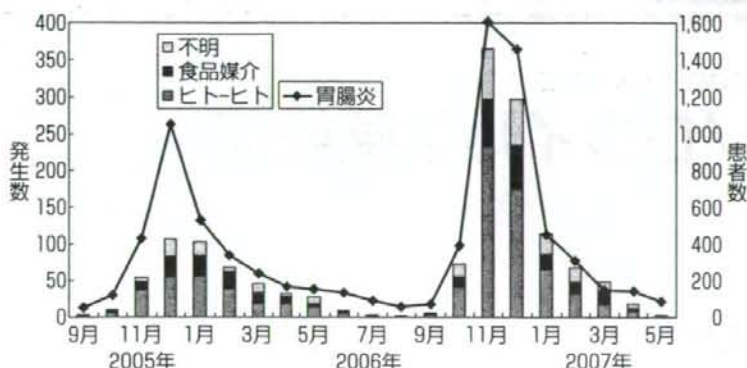


図1 月別のヒト-ヒト感染集団発生、食中毒事件、原因不明集団発生数ならびに感染性胃腸炎患者からのノロウイルス検出数(2005年9月~2007年5月)(病原微生物検出情報, 2007年5月31日)

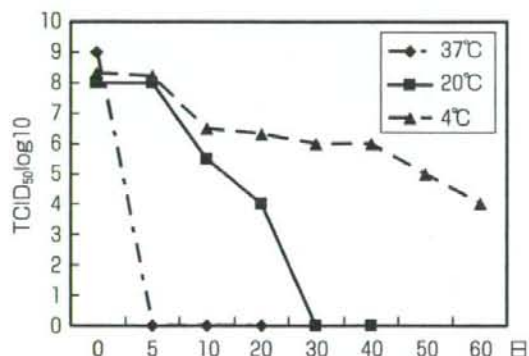


図2 ネコカリシウイルスの乾燥状態で温度による感染性の持続日数 (Douttree JC: J Hos Infect 41:51, 1999を改変)

ウイルス感染者が必ず存在し、その感染者が身の周りを汚染すれば、感染症の集団発生が、食品を汚染すると食中毒となる。感染者が環境と食品を同時に汚染すると両方が同時に起こり、判断が困難となる。そのような事例も多く見られる。

1. ヒト-ヒト感染

ノロウイルス感染源は感染者の排便後にウイルスが手に付いたり、嘔吐物を処理する際に、消毒しないと雑巾、バケツ、洗い場等を汚染し、手にも付く。汚染された場所を触れることによりウイルスが手に付き、食事の際(サンドイッチ、おにぎり、果物等)に手を介して口に入り、感染が成立する。

表1に高齢者施設での集団発生後の拭取り検査

表1 集団発生施設内のウイルス汚染状況

場所	コピー数(/cm ²)
トイレの便座	520~15,000
手すり	110~5,900
ドアノブ	120~270

成績を示したが、いずれの場所も大量のノロウイルスに汚染されており、われわれの身の周りは糞便にまみれた状況にあると言える。

2. 空気感染

ノロウイルスに汚染された糞便、嘔吐物が乾燥すると舞い上がり、塵となり、糞便・吐物には大量のウイルスが存在することから、空気中にものごい量のウイルスが漂う。いったん舞い上がるとノロウイルスは極めて微小のため、なかなか落下せず、長時間空中に漂う。舞い上がったウイルスが直接口に入る、あるいは食べ物、衣類に付き、そして手に付き、口に入り感染する。ノロウイルスの流行期は冬期であり、窓を閉めているため、舞い上がったウイルスはなかなか外に出て行かない。近年は空調が発達しており、空気が常に動いており、ウイルスは広範囲に撒布され、多くのヒトが感染することになる。さらにウイルスが空調のフィルターに付着すると、そこが感染源となり3週間程度は撒布され、患者発生が続くこともある。

学校等では体育館、講堂での行事の後に、ノロウイルスの集団発生が起きることがある。以前に、その場所が嘔吐物あるいは糞便を介して汚染されていたことが推測され、使用前に換気と床を消毒する。

3. 食品を介する感染

1) 食品取扱者・調理者による食中毒事件

ノロウイルスに感染した食品取扱者・調理者がノロウイルスに汚染された糞便・吐物を食品に付着させることにより、食中毒事件となる。食品を提供する直前にウイルスが付着した手で直接、刺身、寿司、サラダ、パン、和え物等を取り扱ったことにより起きている。近年はこの食中毒事件が多発しており、しばしば施設、学校等で患者数が

100人以上で発生している。手に大量のウイルスが付着し、多数の患者を感染させている。

2) 汚染されたカキ等の二枚貝を介するもの

ノロウイルスによる感染性胃腸炎患者の糞便・吐物から膨大な量のウイルスが排出され、ノロウイルスに汚染された糞便等は便器に流され、ウイルスは下水処理場へ行き、ごく一部が河川水、海域を汚染する。ウイルスは海水と共に二枚貝(カキ、シジミ、アサリ、ハマグリ等)の中腸腺に濃縮・蓄積する。ウイルスに汚染された二枚貝を生あるいは加熱不足で食することにより、食中毒となる⁴⁾。

3) 環境汚染における飲料水汚染による食中毒

近年、飲料水(井戸水、簡易水道)による事件が発生している⁵⁾。飲料水が汚染されると、患者発生が連日見られる。事件を起こした井戸の深さは10m以内で、浅井戸は特に注意が必要である。水源では排便、嘔吐をさせない環境対策を行い、ヒトは環境を守る義務がある。

臨床症状

経口感染で、潜伏期間は通常12~72時間、主症状は嘔気、嘔吐、下痢、腹痛である。感染部位は小腸の粘膜上皮細胞で、腸管の炎症に伴う下痢症状を呈し、激しい水様性の便が数回続くこともある。胃の病理学的病変は認められないが、内容を腸に送る運動神経の機能低下・麻痺に伴う嘔気、嘔吐の症状が見られる。

ノロウイルスによる嘔吐は突然、急激に強く起こるため、トイレに行く時間がなく、所構わず嘔吐する。その際に腸内容物が逆流し、ウイルスが吐物中に入り込み、感染源となる。このことがノロウイルスの感染拡大防止を困難にしている。症状は1~2日続いた後治癒し、後遺症は残さない。不顕性感染は30%程度と考えられている。

高齢者、乳幼児等の抵抗力の弱いヒトでは、脱水症状を起こすことがある。嘔吐により誤嚥性肺炎や窒息を起こし、重症化することがあるので、健康観察をしっかりと行う。高齢者や体力の弱いヒトの嘔吐時には、嘔吐物が詰まっていないかを確

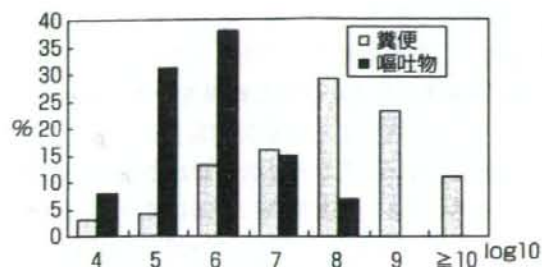


図3 急性期の患者の糞便および嘔吐物中のウイルス量(コピー数/g)

認する。詰まっているときには背中を手で数回叩き、嘔吐物を吐き出させる。出ないときには嘔吐物を指で掻き出し、直ちに医師や看護師を呼ぶ。不在の時には救急車を呼ぶか、病院に連れて行く。

ノロウイルスに直接効果のある薬剤はなく、脱水症状が強いときには補液などの対症療法を行う。下痢止めは症状を長引かせるので、極力避ける。ワクチンは存在していない。

多くの患者の糞便1g中には1億個以上、吐物では1g中に百万個以上のウイルスが存在する(図3)。

症状の消失後、10日間程度、長いときには1か月ほど、ウイルスの排出が続く。この間は手洗いの徹底、介護業務、食品を直接取り扱わない等の感染拡大防止を行う。

下痢等の症状がなくてもウイルスを糞便から排出することがあり(不顕性感染)、患者と同様にウイルスを大量に排出するヒトも見られる⁹⁾。ヒトは常にノロウイルスを排出する可能性がある。家族、職場等で患者がいる時には、自身も感染する危険性が高いので、健康管理に特に注意する。

近年の流行株

2004年以降、世界的にノロウイルスが流行し、集団発生が多発している。主流株はG II/4株であり、2002年以降ポリメラーゼ領域で、2年ごとに変異株が出現し(2002年型、2004年型、2006年a、b型)、変異が起きた年に大流行が発生している。遺伝子の変異領域からウイルスの増殖性が旺盛になっていると推測される。最近、ウシ、

表2 ノロウイルス検査法の検出感度

検査法	感度(/ml) [*]
電子顕微鏡	>100万
RT-PCR	>100~1000
リアルタイムPCR	>100~1万
ELISA法	>100万

*: 1 ml 中に含まれるウイルス量、それぞれの検査法で陽性となる最小のウイルス量

ブタからG II/4株を検出し、ブタ/ヒトまたはウシ/ヒトのノロウイルス間で遺伝子組替えが起こり、親和性や病原性が変化した株の出現する可能性が示唆され⁶⁾、動物由来の組換え株の監視が必要である。

診断法

ヒトの検査材料は糞便あるいは嘔吐物を検査する。二枚貝は中腸腺を、その他の食材はヒトが直接、ノロウイルスを付けているので、野菜、刺身等の表面が水に溶けないものは表面を洗い、洗った液を、洗えないものは表面を薄く削り取り検査する。

検査法はRT-PCRあるいはリアルタイムPCRで行うのが望ましい。ただし、RT-PCRでは増幅された遺伝子について、ハイブリダイゼーションで確認するか、あるいは遺伝子配列を決定して、ノロウイルスのクラスターに属することを確認する(詳細は厚生労働省のノロウイルス検出法 <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/kanren/kanshi/031105-1.html>を参照)。

電子顕微鏡およびELISA法では1 ml中にウイルス粒子が100万個以上存在しないと陽性ならない。両検査での陰性はウイルスが存在しないことを必ずしも表していない、両検査で陰性はウイルス量が0~99万個の間であることを意味している。リアルタイムPCRでは1万個以下、RT-PCRでは1,000個以下である(表2)。

検査を受けるときには検査法とウイルスの検出感度について確認する。