

図1 2007/08 シーズン集団事例から抽出された NVG I (Capsid 領域) 系統樹
番号：集団事例番号
枝番：同事例で塩基配列が一致しなかった NV

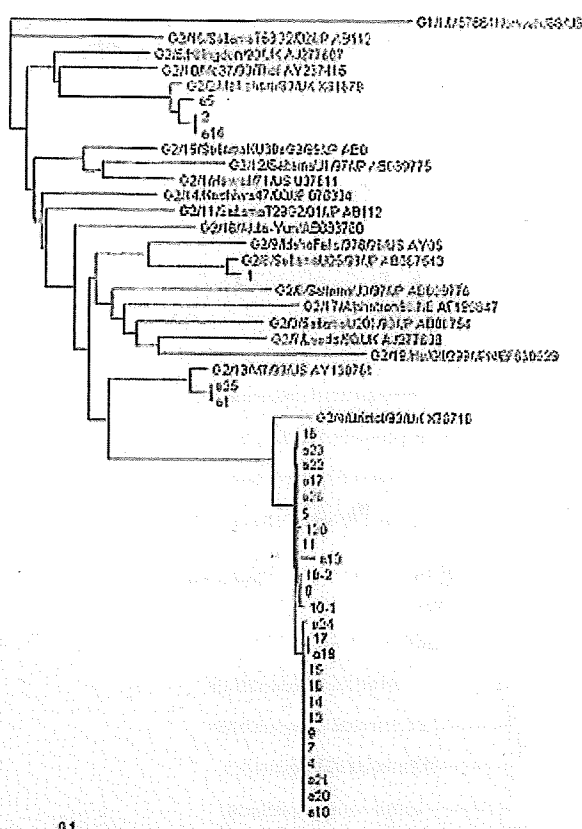


図1 2007/08 シーズン集団事例から抽出された NVG II (Capsid 領域) 系統樹
番号：集団事例番号
枝番：同事例で塩基配列が一致しなかった NV

次に、過去3シーズンの感染性胃腸炎の定点当たりの患者数、月別集団事例数、集団発生施設等、遺伝子型について比較検討を行った。感染性胃腸炎は、感染症法の5類感染症定点把握疾患で、県内の小児科定点医療機関から保健所を経由して当感染症情報センターに患者数が報告される。感染性胃腸炎には、NV以外にロタウイルス、サボウイルス、アストロウイルスなどほかの胃腸炎起因病原体が報告されるため、必ずしもNV胃腸炎患者数だけではないが、NVの大きな傾向を見るために、全国と県内の定点当たりの患者数を図3に示した。3シーズンの患者数/定点は、全国を下回って推移しており、2006/07シーズンのピーク時は全国並で、前シーズンの2倍ほどの患者数であった。

ノロウイルス集団事例数は、2005/06シーズンでは18事例で5月の4事例が最も多かった。2006/07シーズ

ンでは38事例で12月に12事例、1月、2月7事例と多い事例数であった。2007/08シーズンは35事例で1月に15事例と集中して発生した(図4)。

集団発生施設を図5に示した。3シーズンとも、高齢者施設、福祉養護施設での発生が多く見られた。2006/07シーズンに多かった宿泊施設は、2007/08シーズンは、大幅に減少した。

2005/06シーズンの遺伝子型は、図6に示すように、G I 4種類、G II 6種類で、最も多く検出されたのは、G II /4類似株であった。2006/07シーズンは、G I 1種類、G II はすべてG II /4類似株であった。2007/08シーズンは、G I 2種類、G II 4種類で最も多く検出された株はG II /4類似株であった。そこで、G II /4変異株である281/2006/HK, Sakai/04-79/2005/JP, AC3-1/2006/UK3株を用いて2007/08シーズンに検出されたG II /4

類似株の近縁性を比較した。その結果、2007/08シーズンには前シーズン主流の281/2006/HK株であった(図7)。

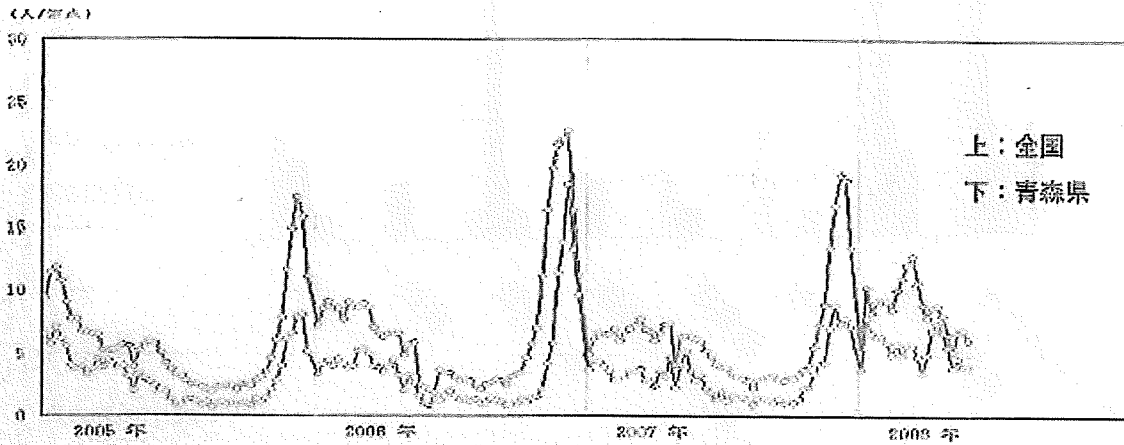


図3 感染性胃腸炎の定点当たりの患者数

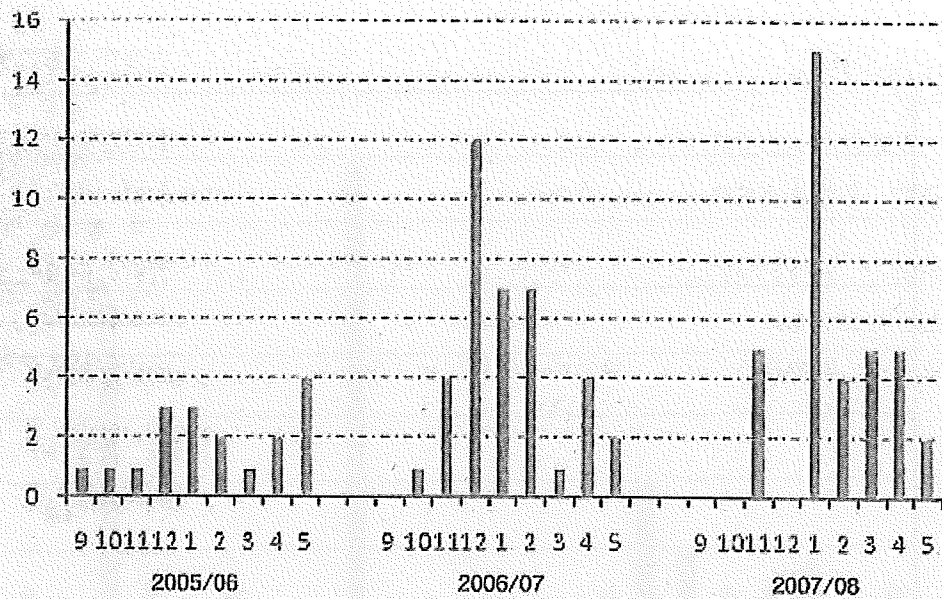


図4 シーズン別・月別ノロウイルス集団事例数

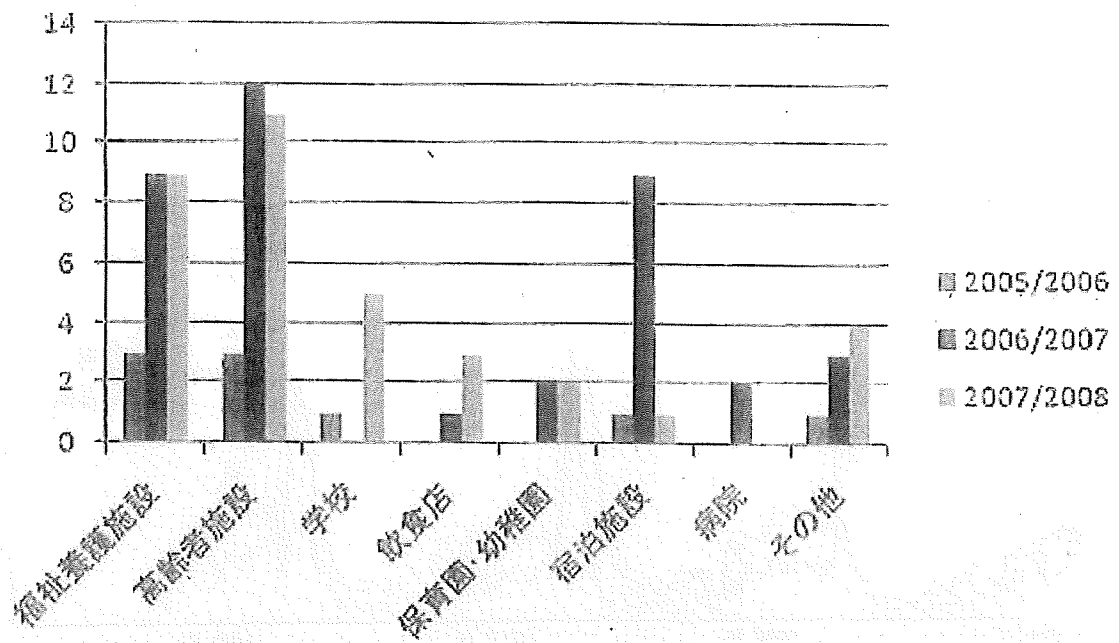


図5 ノロウイルス感染集団発生施設等

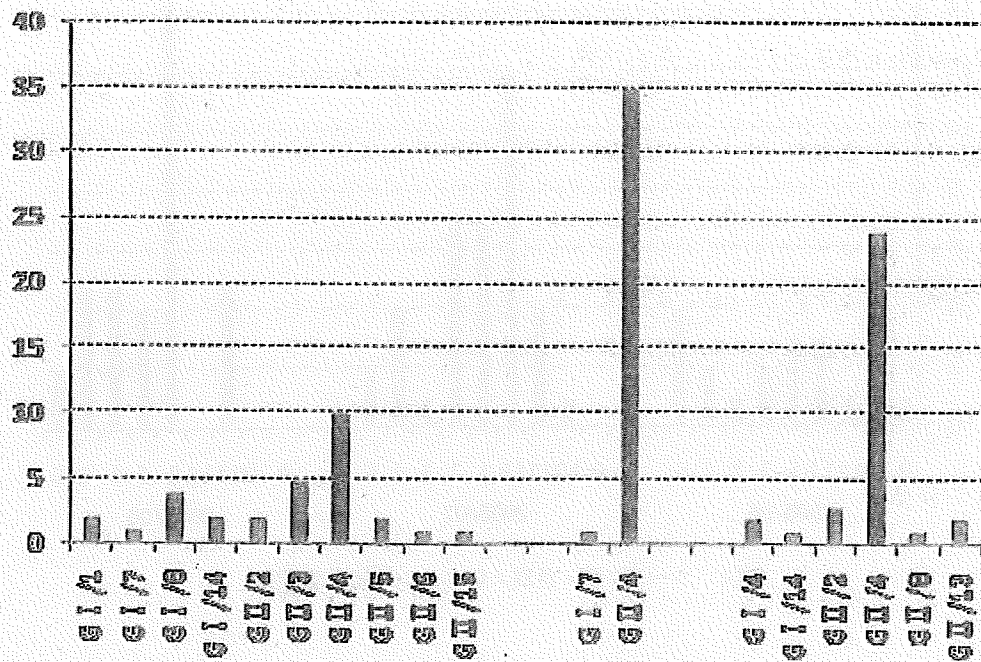


図6 シーズン別ノロウイルス遺伝子型

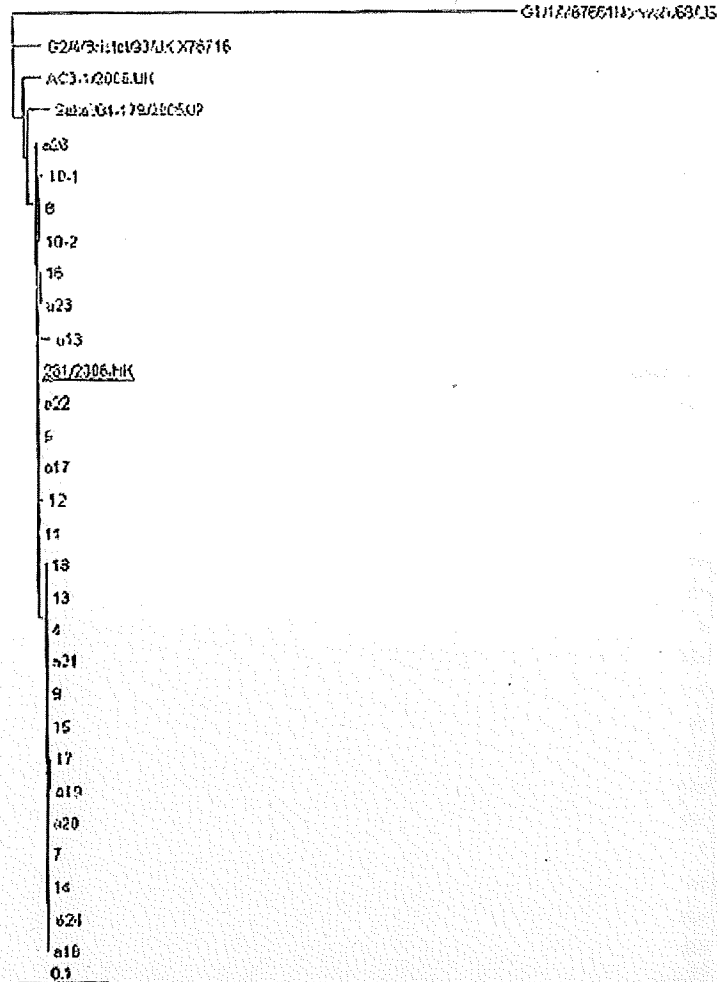


図7 2007/08 シーズン集団事例から検出された NVG II /4 (Capsid 領域) 系統樹
 番号：集団事例番号
 枝番：同事例で塩基配列が一致しなかった NV

5. 考 察

2007年11月から2008年5月までのNVが原因の集団発生は35事例であった。35事例中34事例は疫学調査の結果、人→人感染が考えられる感染症事例であった。発生場所として高齢者施設、福祉養護施設での事例数が多く、昨シーズン多かった宿泊施設での発生が減少した。その理由としては、NVに関する正しい衛生知識の普及によるものと考えられた。食中毒1事例はいずれもG II /4類似株による単一暴露で、調理従事者便と発症者便から検出されたNVの塩基配列が100%一致していることや、疫学調査から調理従事者の手指を介しての食品への直接汚染か、調理器具及び

厨房の環境汚染が食中毒の原因と推察された。

感染性胃腸炎患者は、2007/08シーズンには平年並みに推移したが、集団発生事例が前シーズンと変わらず35事例と多いのは小規模高齢者施設であるグループホームでの発生増加が上げられる。グループホームは、外部からの人の出入りが自由なことなどから、外から持ち込まれたNVにより、感染が広がった可能性が示唆された。

遺伝子型は、2005/06シーズンは10種類と多種類のNVが検出された。2006/07シーズンは2種類で、人→人感染による事例が多かった。2007/08シーズンも人→人感染による事例が多かったが、6種類の遺伝子型

が検出された。その中で最も多く検出された型はG II /4類似株で、2006/07シーズンの主流の281/2006/HK株が、2007/08シーズンも引き続き流行していたことが判明した。

今後、G II /4型は遺伝子変化を繰り返し集団発生の原因になっていくのか、引き続き遺伝子解析を進めていきたい。

6. ま と め

1. 2007/08シーズンの集団発生は36事例(青森市保健所管内以外:19, 青森市保健所管内:17)で、1事例がサボウイルスで、他はすべてNVによる集団事例であった。
2. 遺伝子解析の結果、G I はG1/4/AB042808Chiba407/1987/JP類似株(2事例)、G I /14/AB112100SaitamaT25G1/01/JP類似株(1事例)、G II はG2/2/Malksham/89/UKX81879類似株(3事例)、G2/8/SaitamaU25/98/JPAB067543類似株(1事例)、G2/13/M7/99/USAY130761類似株(2事例)で、その他23事例がG II /4/Bristol/93/UK(G II /4)類似株であった。
3. G II /4類似株の分子系統樹を作製した結果、

2007/08シーズンは前シーズン主流の281/2006/HK株であった。

本稿を終えるにあたり、疫学調査資料を提供していただきました保健所各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 石川和子他: ノロウイルス分子疫学解析(2005/2006シーズン), 青森県環境保健センター研究報告, 17, 1-6, 2006.
- 2) 石川和子他: ノロウイルス分子疫学解析(2006/2007シーズン), 青森県環境保健センター研究報告, 18, 1-7, 2007.
- 3) 本村一嗣他: 2006秋冬シーズンに流行したノロウイルスG II /4株のゲノム解析, 病原微生物検出情報, Vol.28, No.10, p3-4, 2007.

Abstract

Molecular epidemiological analysis of norovirus (2006-2008)

Kazuko Ishikawa, Kunihiko Kumagai, Rilca Tsutsui, Ayako Yoshida, Mihoko Matsui²,
Toshiyuki Mikami, Ichiro Hatayama

The number of mass outbreaks of norovirus (NV) infection and suspected food poisoning was 35 incidents during November 2007 to May 2008. The NV gene was detected in 153 of 259 stool samples from infected patients and food preparation workers, in 1 of 6 samples of vomit, in 0 of 63 samples of food, and in 1 of 72 samples of wiping. Among the mass outbreaks, the detected genogroup was GI for 2 incidents, both GI and GII for 3 incidents, and GII for all other incidents. As a result of gene analysis, GI were GI/4/AB042808Chiba407/1987/JP-related strains (2 incidents) and GI/14/AB112100SaitamaT25G1/01/JP-related strains (1 incident), GII were GII/2/Melksham/89/UKX81879-related strains (3 incidents), GII/8/SaitamaU25/98/JPAB067543-related strains (1 incident) and GII/13/M7/99/USAY130761-related strains (2 incidents) and the other 23 incidents were GII/4/Bristol/93/UK(GII/4)-related strains. The genotype that was most commonly detected every season was that of GII/4-related strains, and as a result of analysis, the main strain for the 2005/2006 season was Sakai/04-79/2005/JP, and the main strains for the 2006/2007 season were 281/2006/HK strain and AC3-1/2006/UK strain, predominantly 281/2006/HK. The 2007/2008 season strain was the same as the main strain for the 2006/2007 season, 281/2006/HK.

Keywords: Norovirus, RT-PCR, phylogenetic analysis

2008/09 シーズンに散発及び集団事例から検出された サポウイルスの分子疫学解析

吉田綾子 筒井理華 石川和子¹ 河内暁一² 三上稔之

2008年10月～11月の散発10事例と、2009年2月と4月の集団2事例から、サポウイルス (*Sapovirus*: SV) が検出された。これらの遺伝子解析を行った結果、散発10事例は同一地域において約2か月間に渡って発生したが、全てSV G I /Manchester 類似株で、局地的流行が示唆された。一方、集団2事例においては、地域的に離れた場所での発生であったが、ともにSV G I /Potsdam 類似株が検出され、当該株の広域的な存在が考えられた。

また、2008/09シーズンの散発及び集団事例のSV G Iは、2006年検出のSV G I /YokoteI 類似株とは異なる系統であり、県内では2006/07～2007/08シーズンに、G Iの他にG II・G IVが検出されていることから、県内に複数系統のSVが存在していることが示唆された。

Key words : *Sapovirus*, Genogroup, Phylogenetic Tree

1. はじめに

サポウイルス (以下 *Sapovirus*: SV) は、カリシウイルス科サポウイルス属に属し、直径30～38 nm、約7500塩基の1本鎖(+)RNAウイルスである (図1)。培養系は確立されていないので、遺伝子解析により型 (以下 genogroup: G) を決定している。

また、SVは感染性胃腸炎の原因ウイルスとして知られており、近年、全国的にSVによる集団胃腸炎事例が報告されている。しかし、下痢症の原因ウイルスとして保健衛生上重要なウイルスであるが、ノロウイルスに比較して分子疫学的情報が少ないことから、その蓄積が必要と考えられる。

2008/09シーズンに散発及び集団事例から、SVが検出された。これらの遺伝子解析により、遺伝子型がG Iと確認され、過去に検出されたG Iとの比較解析を行った。また、過去に検出されたSVについても、分子疫学的に検討した。

2. 材料と方法

2.1 検査材料

中津地域県民局地域健康福祉部保健総室 (以下弘前保健所) 管内で発生した、散発10事例の胃腸炎患者の糞便または直腸ぬぐい液10検体を用いた。

また、上北地域県民局地域健康福祉部保健総室 (以下上十三保健所) 管内及び青森市保健所管内で発生した、集団発生2事例の胃腸炎患者の糞便10検体を用いて検査を実施し、そのうち4検体について遺伝子解析を行った。

2.2 遺伝子解析

(1) ウイルスRNAの抽出・cDNA合成

糞便は滅菌蒸留水あるいはEagle MEM (ニッスイ) を用いて10%乳剤とし、10000 rpm、20分遠心後、速心上清140 μ LをQIAmp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN社製) を用い、RNA抽出を行った。抽出RNAはDNase I (Takara) で37 $^{\circ}$ C、30分間処理した。cDNA合成にはrandom hexamer (Amersham社製) およびSuper Script II RT (Invitrogen社製) を用いた。

(2) SV遺伝子の検出 (RT-PCR法)

サポウイルス、アストロウイルス multiplex PCRについて、プライマーはYanら¹⁾の方法により調整し (サポウイルス: SLV5317, SLV5749: 434 bp, アストロウイルス: PreCAPI, 82b: 719 bp)、増幅はEx Taq (Takara) を用い、反応系は50 μ L、熱変性94 $^{\circ}$ C 30秒、アニーリング55 $^{\circ}$ C 30秒、伸長反応72 $^{\circ}$ C 1分を1cycleとして、35cycleをGeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) を用いて行った。

(3) 遺伝子解析

得られたPCR産物をQIAquick PCR Purification Kit

1 青森県東青地域県民局健康福祉部保健総室
2 河内小児科・内科クリニック

(QIAGEN)により精製し、蛍光ラベルには、BigDye Terminator Kit(ABI PRISM)を用い、オートシーケンサー ABI PRISM 310(Applied Biosystems)でダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。

SV遺伝子解析は、Capsid領域についてKimuraのtwo parameter法によりClustal Wでアライメント(塩基配列比較)を行い、系統樹はNJ法(bootstrap1000回)により作成した。参照株はHansmanら²⁾によった。

3. 事例の概要

3.1 散発事例

弘前保健所管内において、検体採取日が2008年10月から11月の2カ月間に、感染性胃腸炎による散発事例が14件あった。このうち、10件からサボウイルスが検出され、残る4件は胃腸炎原因ウイルスが検出されなかった。

患者年齢は、0歳～2歳の小児で、主な症状は下痢・嘔吐、発熱は37℃前後の微熱で、症状はノロウイルスと比較すると軽症が多かった(表1)。

3.2 集団事例

集団事例(1)は、2009年2月21日にM県の民宿で発生した食中毒疑い事例で、本県から1人が参加し、帰省後検査を行った結果、サボウイルスが検出された。

(ただし、本事例は県外で発生した食中毒事例であるが、本事例は時期と症状が異なることから、本食中毒事例に関係するとは断定できなかった。)(表2)

また、集団事例(2)は、2009年4月9日に青森市保健所管内の知的障害児施設で発生し、発症者は入所者37人中23人、職員57人中6人で、発症者の内訳は、未就学2人、小学生4人、中学生3人、高校生11人、18歳以上3人、職員5人と小児から成人まで確認された。発生状況は、4月9日に1人が発症し、その後感染が広がり、10日1人、11日4人、12日には7人とピークとなり、発症は19日まで続いた(表2、図2)。

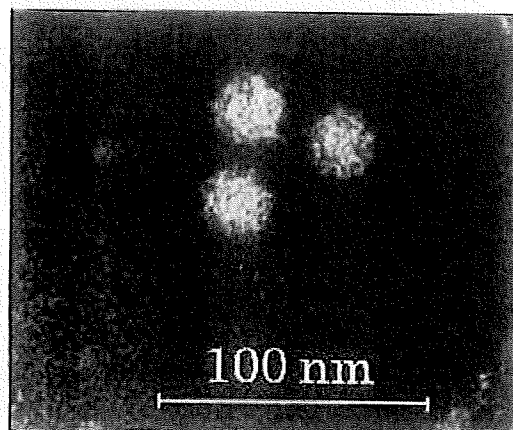


図1 SVの電子顕微鏡像

表1 2008/09シーズンのSV散発事例

事例の種類	検体採取日	年齢	性別	臨床症状	発熱状況(℃)
散発事例①	2008.10.9	0歳10ヶ月	男	下痢	37.2
散発事例②	2008.10.9	0歳4ヶ月	男	下痢・嘔吐	37.3
散発事例③	2008.10.21	1歳1ヶ月	女	下痢・嘔吐・上気道炎	36.6
散発事例④	2008.10.27	2歳	男	下痢	—
散発事例⑤	2008.10.27	1歳5ヶ月	男	下痢・嘔吐	—
散発事例⑥	2008.11.4	2歳3ヶ月	女	下痢	36.8
散発事例⑦	2008.11.7	0歳10ヶ月	男	下痢	36.9
散発事例⑧	2008.11.6	0歳11ヶ月	女	下痢	38.7
散発事例⑨	2008.11.18	0歳11ヶ月	男	下痢・咽頭炎	37.1
散発事例⑩	2008.11.25	1歳2ヶ月	男	下痢	—

表2 2008/09シーズンのSV集団事例

事例の種類	発生場所	発生年月日	検体採取日	発症者数	発症者年齢	検体(数)	管轄保健所
集団事例(1) (食中毒疑い)	民宿 (M県)	2009.2.21	2009.2.26	喫食者25名中13名 (青森県参加者では 発症者1名)	37歳	発症者便(1)	上十三保健所
集団事例(2) (感染症疑い)	知的障害児施設 (児童福祉施設)	2009.4.9	2009.4.13 ~17	入所者37名中23名 職員57名中5名	未就学2名 小学生4名 中学生3名 高校生11名 18歳以上3名 職員5名	発症者便(3) 発症者便(職員)2 発症者吐物(1) 食品(3)	青森市保健所

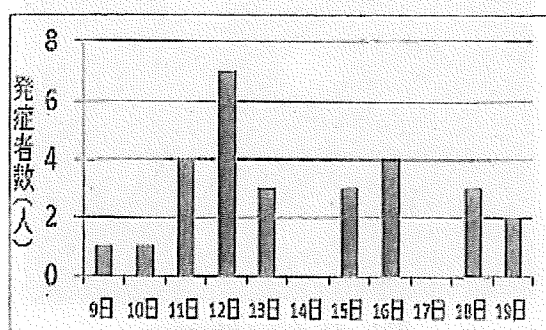


図2 集団事例(2)における発症者の発生状況

4. 結果

4.1 SV検索結果

感染性胃腸炎による散発事例についてRT-PCR法によりウイルス検索を行ったところ、14件のうち表1に示す10件がSV陽性で、残る4件はウイルス陰性であった。

また、集団事例(1)の1検体及び集団事例(2)の9検体(発症者便3、発症者便(職員)2、発症者吐物1、食品3)について、同様にウイルス検索を行ったところ、集団事例(1)の1検体及び集団事例(2)の5検体(発症者便3、発症者便(職員)2)からSV遺伝子が検出された。

4.2 SV遺伝子解析結果

検出されたSVについて、散発10検体及び集団事例(1)の1検体、集団事例(2)の3検体(発症者便2、発症者便(職員)1)のシーケンスを行い、遺伝子型を解析した。その結果、散発・集団事例ともに、全てSV G Iだった(表3)。

次に、散発10検体から検出されたSVG Iの塩基配列を比較した結果、図3に示したようにCapsid領域の327 bpでは、97.9~100%の相同性であった。

また、集団事例(2)の3検体はCapsid領域の333 bpが100%一致し、さらに、集団事例(1)と(2)で同領域を比較すると、1塩基が異なるのみで、99.7%の相同性であった(図4)。

一方、散発事例の①を代表株とし、集団2事例と同領域の塩基配列を比較すると、81%の相同性であった(図5)。

4.3 分子系統樹解析

2008/09シーズン検出のG Iについて、Capsid領域の分子系統樹を作成した(図6)。県内では、2006年~2007年にG I/Yokote 1類似株、G II/Cruiseship類似株、G IV/Ehime1107類似株の3系統のSVが確認されており4)、図6にはそれらも併せて示した。

2008/09シーズンの散発事例10株はManchester類似株、集団2事例からの検出株はPotsdam類似株で、2つのクラスターに分かれた。また、2006年のG I/Yokote1類似株ともそれぞれクラスターが異なり、2006~2007年に検出したSVG II・G IVを含め、県内に複数系統のSVが存在していることが確認された。

さらに、系統樹のG I部分をみると、2008/09シーズンの散発・集団事例は81%の相同性であったが(図5)、2006年のG I/Yokote1類似株とCapsid領域の塩基配列を比較すると、散発グループが83~84%、集団グループが80%の相同性であった(図7)。

表 3 2008/09 シーズンの SV 検出結果

事例の種類	検体採取日	検体の種類	陽性数/検査数	遺伝子型	管轄保健所
散发事例①~⑩	2008.10.9~11.25	糞便・直腸ぬぐい液	10/10	SVG I	弘前保健所
集団事例(1)	2009.2.26	発症者便	1/1	SVG I	上十三保健所
集団事例(2)	2009.4.13~17	発症者便	3/3	SVG I	青森市保健所
		発症者便 (職員)	2/2		
		発症者吐物	0/1		
		食品	0/3		



図 3 散发事例 SVG I の Capsid 領域塩基配列 (*は同一の塩基を表す)

集団事例(1) ATGGAGGGCAATGGCTCCAGTTCGAACCAATCAAAATGGTGGCCATGTTGGCCAGGAT
 集団事例(2) ATGGAGGGCAATGGCTCCAGTTCGAACCAATCAAAATGGTGGCCATGTTGGCCAGGAT

 集団事例(1) GTTGACCCGCTGGCGGACTGGTCCGACCACATCCCATGTTGTTGTGTCTAATCCAGAA
 集団事例(2) GTTGACCCGCTGGCGGACTGGTCCGACCACATCCCATGTTGTTGTGTCTAATCCAGAA

 集団事例(1) CAACCCAATGGCCCGCACAACGCCCTGGAATGGCTGTGCTACTGGTCCATCCAATCA
 集団事例(2) CAACCCAATGGCCCGCACAACGCCCTGGAATGGCTGTGCTACTGGTCCATCCAATCA

 集団事例(1) AATGTCCCTGAAGCGATACGCAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGGCTTGGAAATGAC
 集団事例(2) AATGTCCCTGAAGCGATACGCAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGGCTTGGAAATGAC

 集団事例(1) AGAATGCCCACTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAAATCCATAC
 集団事例(2) AGAATGCCCACTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAAATCCATAC

 集団事例(1) ACATCCCATCTTTGAGGCATGTGGCCAGGGTGG
 集団事例(2) ACATCCCATCTTTGAGGCATGTGGCCAGGGTGG

↓

99.7%の相同性
 (解析塩基数: 333 bp)

図4 集団事例 SVG 1 の Capsid 領域塩基配列 (*は同一の塩基を表す)

集団事例(1) ATGGAGGGCAATGGCTCCAGTTCGAACCAATCAAAATGGTGGCCATGTTGGCCAGGAT
 集団事例(2) ATGGAGGGCAATGGCTCCAGTTCGAACCAATCAAAATGGTGGCCATGTTGGCCAGGAT
 散発事例(①) ATGGAGGGCAATGGCTCCAGTTCGACAGGCTGTCGCAATGGAACACTGTTGGCT
 ***** * * * * *
 集団事例(1) GTTGACCCGCTGGCGGACTGGTCCGACCACATCCCATGTTGTTGTGTCTAATCCAGAA
 集団事例(2) GTTGACCCGCTGGCGGACTGGTCCGACCACATCCCATGTTGTTGTGTCTAATCCAGAA
 散発事例(①) GTTGACCCGCTGGCGGACTGGTCCGACCACATCCCATGTTGTTGTGTCTAATCCAGAA
 ***** * * * * *
 集団事例(1) CAACCCAATGGCCCGCACAACGCCCTGGAATGGCTGTGCTACTGGTCCATCCAATCA
 集団事例(2) CAACCCAATGGCCCGCACAACGCCCTGGAATGGCTGTGCTACTGGTCCATCCAATCA
 散発事例(①) CAACCCAATGGCCCGCACAACGCCCTGGAATGGCTGTGCTACTGGTCCATCCAATCA
 ***** * * * * *
 集団事例(1) AATGTCCCTGAAGCGATACGCAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGGCTTGGAAATGAC
 集団事例(2) AATGTCCCTGAAGCGATACGCAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGGCTTGGAAATGAC
 散発事例(①) AATGTCCCTGAAGCGATACGCAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGGCTTGGAAATGAC
 ***** * * * * *
 集団事例(1) AGAATGCCCACTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAAATCCATAC
 集団事例(2) AGAATGCCCACTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAAATCCATAC
 散発事例(①) AGAATGCCCACTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAAATCCATAC
 ***** * * * * *
 集団事例(1) ACATCCCATCTTTGAGGCATGTGGCCAGGGTGG
 集団事例(2) ACATCCCATCTTTGAGGCATGTGGCCAGGGTGG
 散発事例(①) ACATCCCATCTTTGAGGCATGTGGCCAGGGTGG

↓

81%の相同性
 (解析塩基数: 333 bp)

図5 散発及び集団事例 SVG I の Capsid 領域塩基配列 (*は同一の塩基を表す)

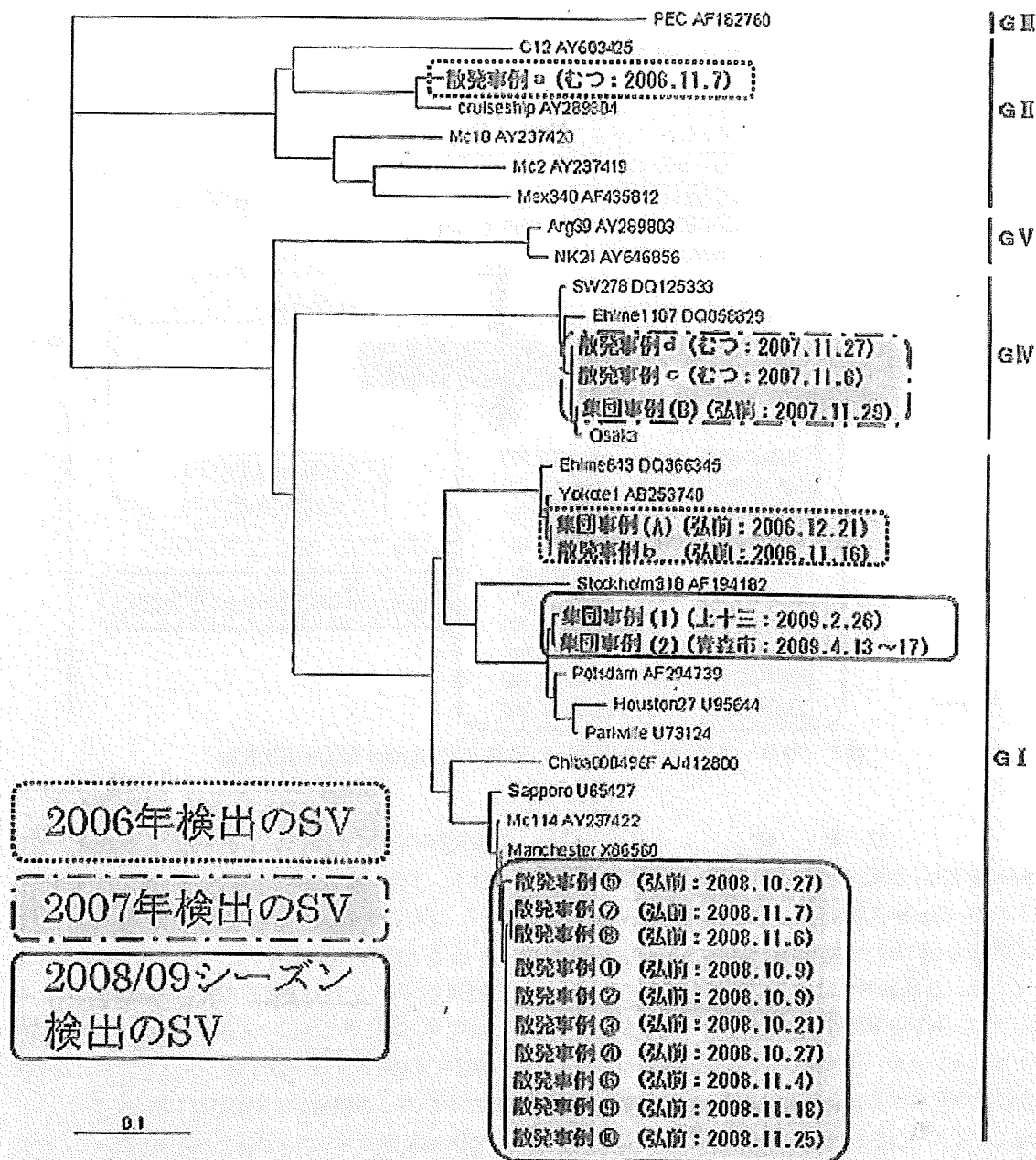


図6 2006～2009年に検出されたSVのCapsid領域分子系統樹

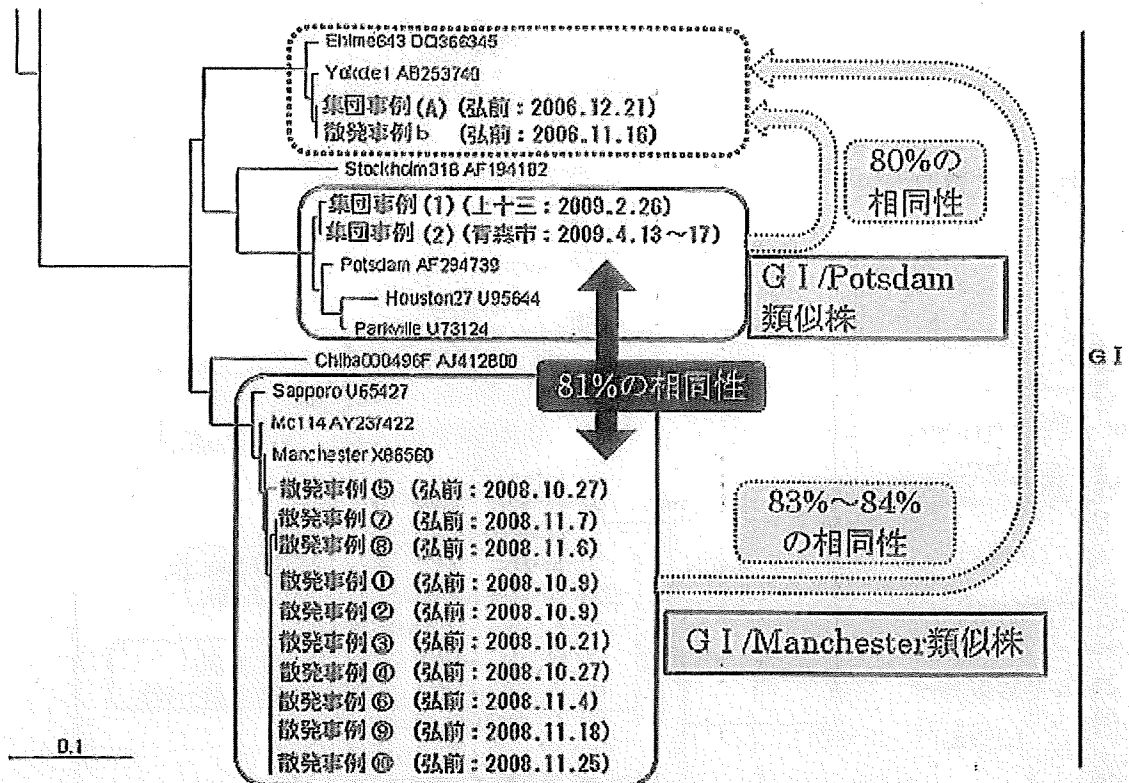


図7 2006～2009年に検出されたSVG IのCapsid領域分子系統樹

5. 考 察

散発10事例は、弘前地域において約2か月に渡って発生したが、Capsid領域が97.9～100%の相同性で、当該株が弘前地域において局地的に流行していたことが考えられた。散発事例では患者年齢が0～2歳の小児であったが、患者の保護者など成人についての症状を調査していないため、当該株の局地的流行という特徴に患者年齢が関係するかは不明である。仮に、成人では発症しにくく、小児を中心に感染する特徴を持った株であるとすれば、そのことが局地的流行にどのように関係するかを見出すことなどに、患者家族の疫学的情報が重要と考える。

一方、集団2事例は地域的に離れた場所での発生であったが、Capsid領域が99.7%の相同性で、散発事例に比較してより広域的に存在したことが考えられた。集団2事例ではいずれも成人にも発症があり、広域的な存在が認められたことから、当該株の感染力の強さが考えられる。また、移動範囲の広い成人での発症が、当該株の地域拡散に影響を与える可能性も推察された。

全国的なSVの検出状況を見ると、2007/08シーズン

は横浜市⁵⁾や熊本県⁶⁾などでGIVによる集団事例が発生し、また、散発事例においてもGIVが主流であった⁷⁾。このことから、今後のGIVの発生動向に注目していたが、2008/09シーズンになると散発事例でGIVが検出されず、GI及びGIIが検出された⁸⁾。本県においても、2007年はGIVによる散発事例が2件、集団事例が1件発生したが、2008/09シーズンにはGIVが検出されず、GIが散発及び集団事例で検出された。

今後、2009/10シーズン以降に、県内においてこれまで確認されたSVが引き続き流行し、流行の範囲を拡大するか、また、新たなSV株が検出されるかなど監視を続け、さらに分子疫学的情報の蓄積を進めたい。

6. まとめ

2008/09シーズンに発生したSVの散発10事例について、Capsid領域の327 bpの塩基配列を解析した結果、97.9～100%の相同性で、GI/Manchester類似株であった。また、集団2事例はCapsid領域の塩基配列333 bpについて、99.7%の相同性で、GI/Potsdam類似株であった。

一方、散発事例と集団事例について、上記と同じ領

域の塩基配列を比較すると、81%の相同性で、系統樹において2系統のクラスターに分類された。

また、2008/09シーズンの散発及び集団事例の SVG I は、2006年検出の G I とはそれぞれ異なる系統であり、遂去に検出された SVG II 及び G IV を含め、県内に複数系統の SV の存在が確認された。

文 献

1) H. Yan, et al.: Detection of norovirus (G I, G II), *Sapovirus* and *Astrovirus* in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. *J. Virol. Methods*, 114, 37-44, 2003

2) G. S. Hansman, et al.: Outbreak of gastroenteritis due to *Sapovirus*. *J. Clin. Microbiol.*, 45, 1347-1349, 2007

3) Wisool Chanit, et al.: Intergenogroup Recombinant *Sapovirus* in Japan, 2007-2008. *Number*, 7(15), 2009

4) 熊谷邦彦他: 散発および集団事例から検出されたサボウイルスの遺伝子解析. 青森県環境保健センター研究報告, 18, 8-12, 2007

5) 宇宿秀三他: 修学旅行時に発生したサボウイルスによる集団食中毒事例 - 横浜市. 病原微生物検出情報, 28(10), 294-295, 2007

6) 原田誠也他: サボウイルス G IV による感染性胃腸炎の地域流行 - 熊本県. 感染症発生動向調査週報, 9(52), 12, 2007

7) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, 29(4), 20-24, 2008

8) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, 30(4), 25-28, 2009

Molecular Epidemiological Analysis of *Sapovirus* (Sporadic and Group Cases) in 2008/09 Season

Ayako Yoshida, Rika Tsutsui, Kazuko Ishikawa¹, Kyoichi Kawauchi², Toshiyuki Mikami

Sapovirus (SV) was detected in ten sporadic cases in October - November 2008 and two group cases in February and April 2009. While the ten sporadic cases developed in the same area over about two months, all were determined to be SV GI/Manchester analogous strains as a result of gene analysis, suggesting a local epidemic. On the other hand, although the two group cases occurred at regionally distant sites, SV GI/Potsdam analogous strains were detected in both of them. Thus, the existence of the strains over a large region was considered.

Moreover, the SV GI of the sporadic and group cases in the September 2008 season had a different phylogeny from the SV GI/Yokote1 analogous strain detected in 2006, and GII + GIV were detected in addition to GI within the prefecture between the July 2006 and August 2007 seasons. Therefore, it was suggested that several different SV phylogenies existed in the prefecture.

Key words : *Sapovirus*, Genogroup, Phylogenetic Tree

【調査研究部門 最優秀課題】

結婚式披露宴会場で発生したノロウイルスによる 集団感染性胃腸炎事例

※長野県環境保全研究所保健衛生部

吉田徹也・粕尾しず子・畔上由佳・内山友里恵・薩摩林一代・白石 崇

※平成21年4月1日改編「長野県環境保全研究所感染症部」

※※長野県伊那保健所食品・生活衛生課

中沢春幸・園田春美・藤田 暁

※※平成21年4月1日改編「伊那保健福祉事務所」

1. はじめに

ノロウイルスは、乳幼児から高齢者まで幅広い年齢層に急性の胃腸炎を引き起こすウイルスの一つである。ノロウイルスによる胃腸炎の主な臨床症状は、吐き気、嘔吐、下痢、腹痛、発熱（37℃台）などである。患者の糞便中には、非常に多くのウイルス粒子が存在し、症状が治まっても1週間程度はウイルスの排出が続く¹⁾。一方、ノロウイルスは非常に感染力が強く、わずか10～100個のウイルス粒子で感染が成立してしまうといわれている。さらに、ノロウイルスは乾燥にも強く、4℃では2ヵ月間、20℃でも1ヵ月程度は生存可能と考えられている²⁾。そのため、様々な経路でヒトからヒトへ感染を起こすことが知られている。

今回著者らは、2008年4月に長野県内の結婚式披露宴会場において、会場の絨毯張りの床がノロウイルスにより汚染されたことが原因と考えられた、集団感染性胃腸炎事例を経験したので、その概要を報告する。

2. 調査方法

2.1 調査に用いた試料

患者糞便8検体、従事者糞便20検体（内訳：調理従事者糞便11検体、フロアスタッフ糞便9検体）および患者の発生した披露宴会場専用の掃除機内のダスト3検体を試料として用いた。

2.2 試料の前処理方法

糞便はリン酸緩衝生理食塩水で10%程度の乳剤を作製し、その遠心上清をRNA抽出用試料とした。ダストは、リン酸緩衝生理食塩水をダスト重量の3倍量加え、よく混和した後、フィルターを過および遠心分離し、その上清をRNA抽出用試料として用いた。

2.3 ノロウイルスの検出および遺伝子解析

ノロウイルスの検出は、前述の方法で前処理した試料からRNAを抽出し、Kageyamaら³⁾のリアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（リアルタイムRT-PCR法）に準じ実施した。

遺伝子解析は、COG2F/G2-SKRあるいはG2-SKF/G2-SKRプライマーによりカプシド領域の一部を増幅し、そのRT-PCR法により生成された増幅産物をダイレクトシーケンス法を用いて、塩基配列の決定を行った。その後、Katayamaら⁴⁾の参照株を用い、遺伝子型別および分子系統樹の作成を試みた。

3. 結果

3.1 疫学調査結果

患者の認められたグループ（グループA）は総勢119名で、そのうち67名（56.3%）が発症していた（表1）。患者の主な臨床症状は、吐き気が43名（66.2%）、水様性下痢が41名（63.0%）、嘔吐、発熱および腹痛が34名（52.3%）であった（n=65）。患

者の発生状況は、4月28日の午前中をピークとする一峰性を示していた(図1)。披露宴開始時刻を暴露点と仮定した潜伏時間は10.5～56.5時間で、平均34.3時間であった(n=65)。

当該結婚式場では、Aグループの利用した日の午前中に、他グループ(Bグループ)が別会場で披露宴を行っていたことから、本グループについても調査を実施した。しかしながら、調査の結果、胃腸炎症状を呈する者は、Bグループには認められなかった。これら2グループに共通して提供された献立は、2品のみであった。また、当該披露宴会場は4月1日～25日までの間、10グループ(延べ930名)が使用していたが、いずれも会場内で嘔吐した者や胃腸炎症状を呈した者の情報はなかった。

表1 事例概要および患者の臨床症状

発生年月日	2008年4月26日
発生場所	長野県南部
発生施設	結婚式披露宴会場
患者数/グループ人数(%)	67/119(56.3%)
患者年齢層	19-69歳
臨床症状(調査対象者 n=65)	
嘔気(%)	43(66.2)
水様性下痢	41(63.0)
嘔吐	34(52.3)
発熱	34(52.3)
腹痛	34(52.3)
悪寒	29(44.6)
頭痛	15(23.1)
倦怠感	14(21.5)

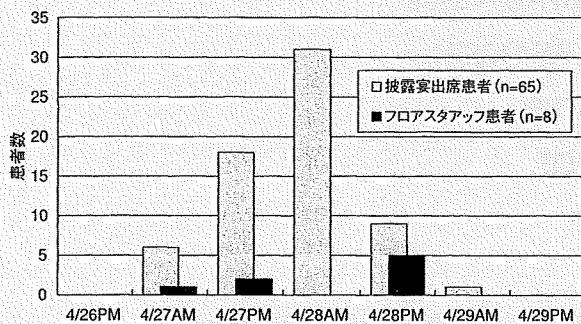


図1 日別患者発生状況

当該結婚式場の調理従事者11名はいずれも発症しなかったのに対し、Aグループの披露宴を担当した

フロアスタッフ26名中8名(30.8%)が4月27日～28日にかけて胃腸炎症状を呈していた(図1)。発症したフロアスタッフの披露宴開始時刻を暴露点と仮定した潜伏時間は8.5～55.5時間(平均40.4時間)で、披露宴参加者中の患者の潜伏時間とほぼ重なっていた。なお、フロアスタッフの喫食調査の結果、披露宴参加者との共通食は認められなかった。また、Aグループの宴会中に会場内で嘔吐した者も、認められていなかった。

3.2 ノロウイルスの検出結果

患者糞便8検体について、リアルタイムRT-PCR法を用いノロウイルス遺伝子の検出を試みたところ、7検体がGⅡ陽性であった。また、調理従事者(いずれも非発症)糞便11検体およびフロアスタッフ(発症5名、非発症4名)糞便9検体も同様にノロウイルス検査を実施したところ、発症していたフロアスタッフ糞便4検体がGⅡ陽性であった(表2)。

さらに、感染源追及のため、Aグループの利用した披露宴会場の床を清掃した掃除機内のダスト3検体についても、ノロウイルス検査を実施した。その結果、3検体ともGⅡ陽性で、ウイルスの量はダスト1gあたり $1.3 \times 10^4 \sim 1.2 \times 10^5$ コピーであった(表2)。

なお、患者糞便、調理従事者糞便、フロアスタッフ糞便、検食、調理室内拭取り等を検体として細菌検査を実施したが、いずれも食中毒起因菌は不検出であった。

表2 ノロウイルス検査結果

検体名	検体数	陽性数 ^{※1}
患者便	8	7
調理従事者	11	0
結婚式場 従事者便		
フロア	5	4
スタッフ	4	0
掃除機ダスト	3	3 ^{※2}

※1:すべてGⅡ

※2: $1.3 \times 10^4, 2.8 \times 10^4, 1.2 \times 10^5$ copies/g

3.3 ノロウイルス遺伝子解析結果

患者糞便、発症したフロアスタッフ糞便およびダストから検出されたノロウイルス各3株ずつ、計9株について塩基配列を決定し、遺伝子型別を行った結果、いずれもGⅡ.3であった(図2)。また9株の塩基配列は、すべて100%一致した。

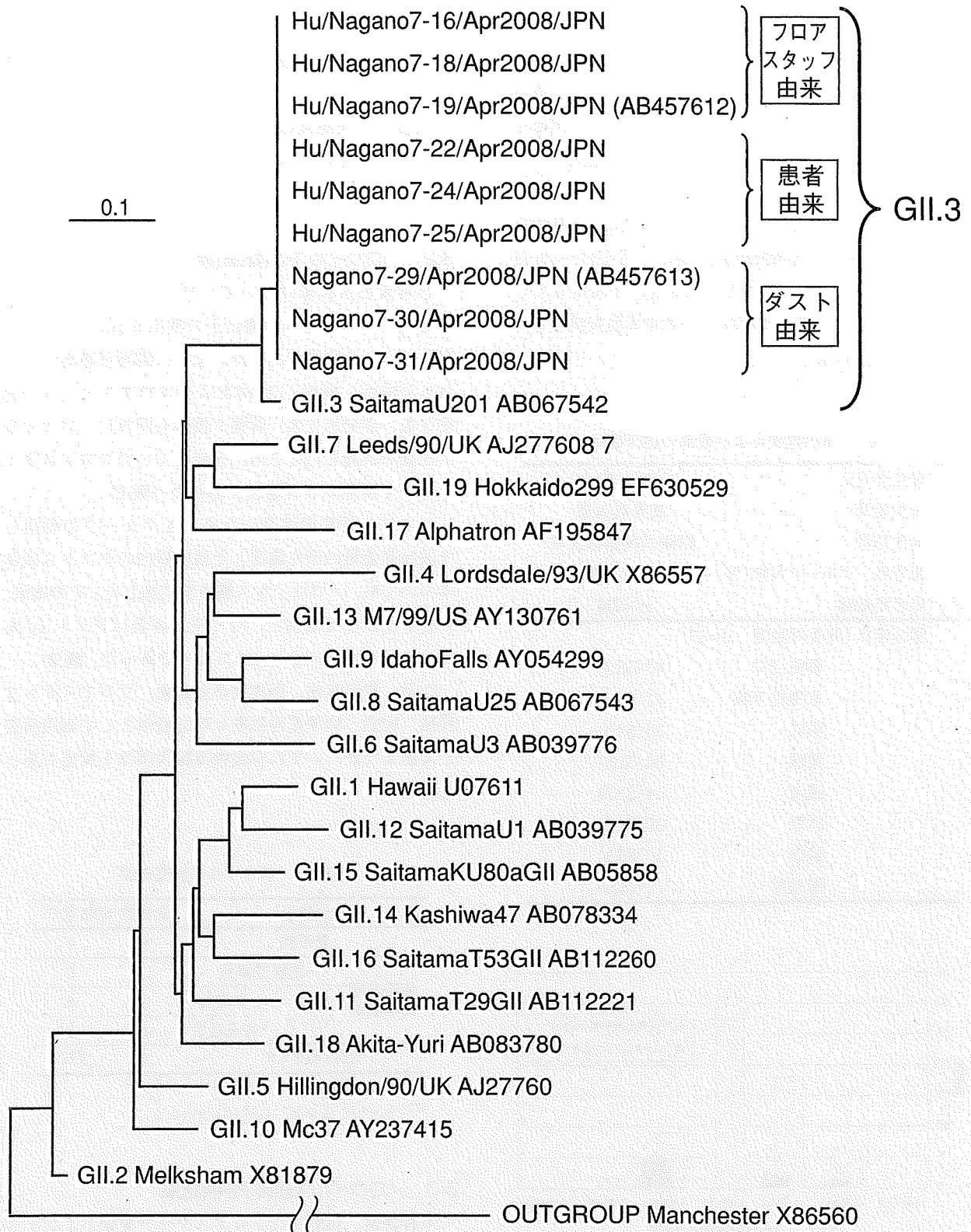


図2 ノロウイルス capsid 領域の塩基配列に基づく系統樹解析

4. 考察

以上の調査結果から、本事例はノロウイルスによる当該結婚式披露宴会場における単一暴露が強く示唆された事例であった。感染経路については、調理従事者便がノロウイルス陰性であったこと、共通する献立は少ないものの当該披露宴会場を同じ日に利用したBグループから発症者が認められないこと、喫食調査の結果において有意差の認められる献立がなかったことなどから、当該結婚式場が提供した飲食物を媒介とする感染症（食中毒）の可能性は低いと考えられた。また、Aグループの利用した披露宴会場の床を清掃した掃除機内のダスト3検体がいずれもノロウイルス陽性だったことから、何らかの原因で当該会場内の絨毯張りの床が、ノロウイルスによって広範囲に汚染されていたことが考えられた。さらに、当該披露宴会場の空調設備は個々に独立（室内空気循環）しており、本事例発生当日は、冷房を使用していたことが聴き取り調査によって確認された。室内空気循環による冷房が使用されていたため、一旦床から舞い上がったノロウイルスに汚染されたダストが、長時間雰囲気中に漂い暴露の機会を増加させた可能性も示唆された。これらのことが重なって、会場内に入出入りした者が宴会時間内に塵埃とともにノロウイルスに暴露（塵埃感染）したと考えられた。

遺伝子解析を行ったノロウイルス9株の塩基配列は100%一致し、遺伝子型は2006～2007年シーズン以降日本国内で流行している遺伝子型（G II.4）ではないG II.3であったことから、披露宴会場由来株と患者由来株は強い関連性が示唆され、同一タイプのノロウイルスによる単一暴露である可能性を強く裏付ける結果となった。

掃除機内のダストは、ノロウイルス集団感染症の感染ルート解明の一助として、適当な試料になり得ると考えられた。また、本事例ではリアルタイムRT-PCR法を用い掃除機内のダスト中ノロウイルス量を測定したことで、ダスト1gあたりの汚染レベルが $1.3 \times 10^4 \sim 1.2 \times 10^5$ コピーと比較的高濃度であったことが明らかとなった。このことから、ノロウイルスに汚染したダストは重要な感染源の一つであり、集団感染症を引き起こす可能性が強く示唆された。一方、清掃作業に携わる方にとっても、ダストからのノロウイルスによる感染を自ら防ぐために、次の点などについて対策を講ずることが望まれる。

- ①特に冬場において、掃除機内ダストはノロウイルスに汚染している可能性がある、といった意識を持って作業にあたる。
- ②掃除機内ダストを廃棄する際は、手袋やマスクを着用し、作業後にはうがいや石鹸を用いた手洗いをおこなう。
- ③ダストの廃棄作業は風通しの良い屋外でおこない、そのダストはポリ袋などの密封できる容器に入れ、保管・処分する。

【引用文献】

- 1) 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: 臨床とウイルス第32巻第3号 pp.189～194 2004年
- 2) Doultree, J.C., Druce, J.D., Birch, C.J., Bowden, D.S., and Marshall, J.A.: Journal of Hospital Infection 41 pp.51～57 1999
- 3) Kageyama, T., Kojima, S., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S., Hoshino, F.B., Takeda, N., and Katayama K.: Journal of Clinical Microbiology 41 pp.1548～1557 2003
- 4) Katayama, K., Shirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T. and Takeda, N.: Virology 299 pp.225～239 2002



ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について (2006年度)

長谷川澄代 小原真弓 岩井雅恵 堀元栄詞 滝澤剛則 倉田 毅

Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture
in the Fiscal Year 2006

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

要旨 2006年4月から2007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28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,旅館等)12件,保育園1件,小学校3件,病院2件,老人保健施設等10件であった。
3. 飲食店はカキの喫食によるものは無く,殆んどの場合,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. 学校,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. 28事例それぞれの事例からは一つの遺伝子型のみが検出され,1事例が Genogroup I (G I)G I / 8 で他の27事例はすべて G II / 4 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 [2]。NV は, 感染者から2週間以上にわたり排泄され [3], 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 [4]。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 [5]。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 [6]。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 [2]。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[7], 富山県でも2004年には5, 6月にNV が検出されている[8]。近年, 本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生が, 2003年度には10事例, 2004年度には20事例, 2005年度には17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, 本年度も引き続き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

- (1) 2006年4月~2007年3月までに調査した集団発生事例30事例を対象とした。検体採取と疫学的調査は各事例の管轄保健所, 厚生センターで実施した。
- (2) Rota ウイルスの検出方法
デンカ生研のロタ-RPHA「生研」を用いて糞便からRota A, Rota Cウイルスの検索をした。
- (3) NV の検出方法,

平成19年12月1日

糞便からのRNA抽出法、RT-PCR法、リアルタイムPCR法については、厚生労働省通知[9]に準じて行った。PCR産物の一部は、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した[10]。

結 果

感染性胃腸炎の集団発生30事例のうち、28事例からウイルスが検出された(表1-1, I-2)。本年はカキ関連の事例はなかった。

(1) 施設別発生事例数(図1)

飲食店等での発生は、5、8月に2件、11月に4件、12月に3件、1月に1件であった。老人保健施設等での発生は、5月に1件、11月に4件、12、1月に各2件、3月に1件であった。病院は11月に2件、学校は4、1、3月に各1件、保育園は11月に1件であった。

(2) 月別発生事例数(図2)

平成16年度、17年度、18年度の月別発生状況を示した(図2)。本年度の集団発生は4、5、8、11、12、1、3月に発生し、11月が最多であった。1月にピークが見られた平成16、17年度と比較して本年度は、事例数も2倍近くであった。

(2) 施設別発生状況とウイルス検出状況

1) 飲食店等(12事例)

事例No.2, 3: 事例No.2は温泉旅館の利用者の146名(5月9~12日)中43名が、11~12日に嘔吐、下痢、腹痛の症状を呈した。患者3名、従業員(調理人含む)27名の糞便の検査を行った。患者2名、従業員12名(調理人2名含む)からNV Genogroup II(GII)が検出され、遺伝子型はGII/4であった。患者1名以外の遺伝子型は一致した。調理人1名が10日に発症していたことから、調理人が食品を汚染することにより発生したと考えられた。患者1名の感染経路は不明であった。従業員(調理人等)5名の追跡調査したところ、14病日ぐらゐまで糞便にウイルスが検出されたが、1名は57病日まで、ウイルスが検出された。

事例No.3は、食堂兼旅館に5月14日に宿泊した10名中9名が15~16日に、嘔吐、下痢、腹痛、発熱の食中毒症状を呈した。患者は検査出来なかったが、従業員とその家族2名の糞便を検査したところ、従業員4名、家族(子供1名)からNVGII/4が検出されそれらの塩基配列は一致した。調理人、従業員はすべて無症状だったことから、本事件は無症状の従業員が食品を汚染することで発生したと考えられた。

事例No.5: 海拔2000メートルを越すR山小屋で7月31日~8月1日にかけて宿泊利用者457人のうち58人が

下痢、嘔吐、腹痛等の症状を呈した。患者11名の糞便、患者1名の吐物、従業員22名の糞便の検査をおこない、患者5名、従業員7名からNVGII/4を検出し、これらの塩基配列は一致した。従業員の糞便中には、13病日から37病日までウイルスが検出された。本事例は、有症状の従業員からNVによる食品の汚染、環境の汚染が拡大し、さらに山小屋という特殊な環境のため多数の患者が発生したと考えられた。

事例No.18: 調理人(無症状)が食品を汚染することにより起きた事例と考えられた。

事例No.20, 22, 24: これら3件も、調理人が食品を汚染することにより発生したと考えられた。

事例No.6: A山小屋の主人と作業員3名が、8月9日に悪寒、下痢の症状を呈した登山客1名を介助したところ、4名全員が8月12日に嘔吐、下痢、発熱の症状を呈し、病院を受診した。これら4名からNVGII/4が検出され塩基配列は一致したことから、登山患者との密な接触によって、作業員が全員感染したと考えられた。

事例No.13: 11月15、16日の仕出し弁当を食べた病院などの従業員や看護師が、食中毒を起こした。当該の弁当屋の従業員に関しては食中毒症状は全くなかった。患者、仕出し弁当屋の従業員とその家族の糞便40件、弁当3件、弁当屋の施設の拭き取り10件についてウイルス検査を行った。患者28名中23名、従業員9名中5名、従業員の1歳の子供からNVGIIが検出され、また、弁当の食材「昆布じめ」からもNVGIIが検出された。従業員の家族2名(1名有症、1名無症状)からもNVGIIが検出された。これらNVの遺伝子型はGII/4であったが、無症状の家族一名以外の塩基配列は一致した。従業員が15日朝に嘔吐、下痢の症状を呈した1歳の子供を作業所につれてきていたこと、患者は16日午後2~3時ごろから発生し始めていたが、患者のなかには、16日お昼に「昆布じめ(15日作製)」だけを食べて発症した人がいたこと等から、弁当屋の従業員らが、発症した幼児に接触し、手指などを介して、食品を汚染させ、従業員自身も幼児から感染したと考えられた。

事例No.11, 12, 15: 事例No.11調理人からの食品汚染によるものと考えられた。事例No.12は、宿泊先の旅館で11月12日(日)昼に会食をした1グループ20名中17名が、嘔吐、下痢の症状を呈した。本県から参加した親子3人の糞便を検査したところ全員からNVGIIが検出されこれ等の塩基配列は一致した。この1歳の子供は会食の前日11日に自宅で発症しており、旅館での患者発生はこの20名のグループだけであったことからこの1歳の子供から感染が広がったと考えられた。

事例No.15は2台のバスで11月17~18日の旅行に出か

表1-1. 平成18年度ウイルス性胃腸炎集団発生事例 (2006年4月~12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		
1	2006年4月15日 ~4月末	小学校 18/38	患者	5/6	G I /8	ヒト-ヒト
2	5月11日 ~12日	温泉旅館 (43/146)	患者 従業員	2/3 12/27	G II /4	食品
3	5月15日 ~16日	食堂・旅館 (9/10)	従業員 とその家族	5/6	G II /4	食品
4	5月21日 ~25日	老人保健施設 17/81	患者	5/5	G II /4	ヒト-ヒト
5	8月 1日 ~3日	宿泊施設 (山小屋) (58/457)	患者 従業員	5/11 7/22	G II /4	食品
6	8月12日	宿泊施設 (山小屋) 4	患者 (従業員含む)	4/4	G II /4	ヒト-ヒト
7	11月 7日 ~8日	保育園 16/144	患者 調理人	5/5 0/3	G II /4	ヒト-ヒト
8	11月 1日 ~13日	老人保健施設 83	患者	5/7	G II /4	ヒト-ヒト
9	11月 4日 ~14日	老人保健施設 36	患者	8/9	G II /4	ヒト-ヒト
10	11月 6日 ~15日	老人保健施設 6	患者	4/6	G II /4	ヒト-ヒト
11	11月10日	温泉旅館 石川県	患者	1/2	G II /4	食品
12	11月11日 ~16日	旅館 岐阜県	患者	3/3	G II /4	ヒト-ヒト
13	11月16日 ~17日	飲食店 (弁当屋) (176/294)	患者 従業員	23/27 8/12	G II /4	食品
14	11月12日 ~25日	老人保健病院 22	患者 (従業員含む)	5/5	G II /4	ヒト-ヒト
15	11月19日	旅行 (岐阜県) 20人位	患者	4/5	G II /4	ヒト-ヒト
16	11月19日 ~28日	病院 43	患者 (職員含む)	6/8	G II /4	ヒト-ヒト
17	11月10日 ~26日	老人保健施設 34	患者 (従業員含む)	4/8	G II /4	ヒト-ヒト
18	12月 7日 ~8日	宿泊施設 (39/154)	患者 従業員	8/8 2/7	G II /4	食品
19	12月 6日 ~12日	老人保健施設 26	患者 (職員含む)	5/5	G II /4	ヒト-ヒト
20	12月10日 ~11日	飲食店 (50/143)	患者 従業員	11/11 2/6	G II /4 G II /4	食品

G I, G IIは NVG I, NVG IIを表す。