

集団胃腸炎から検出されたノロウイルス G の遺伝子解析 (2009 ~ 2012)

大沼正行 三橋加世子 佐久間たかね

Norovirus G detected from patient with gastroenteritis in Yamanashi prefecture. (2009 ~ 2012)

Masayuki OONUMA , Kayoko MITSUHASHI , Takane SAKUMA

キーワード：ノロウイルス，2012 変異，ウイルス性下痢症

ノロウイルス(以下、NV)は、嘔吐・下痢を主徴とした急性胃腸炎の起因ウイルスである。NV は患者の糞便・吐物中に大量に排泄されること、感染力が非常に強いことなどから、保育園・幼稚園、学校、老人福祉施設等、集団生活を送る施設では、毎年多数の患者発生がみられる。特に高齢の患者は、吐物による呼吸困難、肺炎等で毎年死者が発生している。近年は、冬期のみならず夏期においても患者発生がみられるため、1年を通じて感染防止対策を講じる必要がある。

当所では、保健所を通じて食中毒・感染症疑い事例として検査依頼のあった検体から NV が検出された場合、事例毎に塩基配列の決定を行っている。今回、最近4年間の NV の遺伝子型の解析を行った結果、若干の知見が得られたので報告する。

材料および方法

2009年4月～2013年3月の4年間、食中毒・集団下痢症疑い事例として保健所から検査を依頼された事例を調査対象とした。NV 及び NV 以外のウイルスの検出は厚生労働省通知²⁾によるリアルタイム PCR 法とコンベンショナル RT-PCR 法を用いた。NV の遺伝子型別は、コンベンショナル RT-PCR 法で増幅した増幅断片についてダイレクトシーケンス法を用いて行った³⁾。

結果および考察

1 年度別ウイルス検出状況

2009年4月～2013年3月の調査期間中に263事例(2009年65事例、2010年67事例、2011年58事例、2012年73事例)の食中毒・感染症疑い事例が発生し、3130検

体(糞便2957件、吐物15件、食品74件、ふきとり84件)の検査材料が保健所から搬入された。

リアルタイム PCR およびコンベンショナル RT-PCR を用いてウイルス検索を行った結果、212事例(80.8%) (2009年50事例、2010年59事例、2011年46事例、2012年57事例)から何らかのウイルスが検出された。

2 月別ウイルス検出状況

月別のウイルス検出状況を表1に示した。すべての年度において NV が最も多く検出され、特に NVG のみ検出された事例が163事例(76.8%)と多数を占めた。次いで NVG ・G が同時に検出された事例が19事例(9.0%)、サポウイルス(SV)が単独で検出された事例が11事例(5.2%)と続いた。SV、ロタウイルス(RV)が毎年度検出され、エンテロウイルス(EV)、アイチウイルス(AiV)が2011年度、アデノウイルスが2012年度にそれぞれ1事例ずつ検出された。検出事例の多い NVG は10月から発生がみられ12月と1月に検出のピークを示した。NVG は検出事例が少なかったが、NVG 同様12月に検出のピークを示した。SV、RVはNVに比較して事例発生時期が遅く2～3月以降から検出された。すべてのウイルスが冬期～春期に事例が増加し夏期に減少した。

3 発症者及び非発症者のウイルス検出率

発症者(調理者、従業員等含む)・非発症者の糞便、吐物検体由来のウイルス検出状況を表2に示した。当所で得られた疫学調査情報から糞便・吐物検体提供者で発症している者は1156人、非発症者は948人であった。発症者からのウイルス検出率は1156人中859人(74.3%)、非発症者からのウイルス検出率は948人中79人(8.3%)であった。検体提供者が患者グループに属していても非発症者であればウイルス検出率は低く、食品を取り扱う調理

表1 月別ウイルス検出状況

ウイルス	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	合計
NVG	7	4	2	3	1		4	21	40	38	20	23	163
NV混合	2		1					1	6	6	1	2	19
RV	3	3	1								1	3	11
NVG								3		1	1		5
NVG, RV	1	1										2	4
SV	1	1	2										4
NVG, SV	1												1
NVG, RV												1	1
NV混合, SV, AiV			1										1
NV混合, SV, RV, EV												1	1
SV, RV												1	1
アデノウイルス								1					1
合計	15	9	7	3	1	0	4	22	50	44	23	34	212

表2 発症者・非発症者由来検体からのウイルス検出状況

	件数	陽性	陽性率
発症者	1156	859	74.3
非発症者	948	79	8.3

表3 検体別ウイルス検出状況

	検体数	陽性数	陽性率 (%)
糞便	2957	1223	41.4
吐物	15	7	46.7
食品	74	0	0
ふきとり	84	0	0

表4 施設別ウイルス検出状況

施設	保育園 幼稚園	福祉 施設	飲食店	小学校	宿泊 施設	中、高 大学	不明	その他
検出ウイルス								
NVG	49	46	19	11	20	8	8	2
NV混合	2		13	2		1		1
RV	7	2		2				
NVG		1	1	3				
NVG, RV	3			1				
SV	1			2				1
NVG, SV				1				
NVG, RV	1							
NV混合, SV, AiV			1					
NV混合, SV, RV, EV			1					
SV, RV	1							
アデノウイルス	1							
合計	65	49	35	22	20	9	8	4

者や従業員等であっても発症者であればウイルス検出率は高かった。このことから食中毒・感染症の原因究明のためには発症者の検体が最も重要であると再確認できた。

4 検体種類別ウイルス検出状況

検体別のウイルス検出状況を表3に示した。糞便検体は2957検体中1223検体(41.4%)から、吐物は15検体中7検体(46.7%)から何らかのウイルスが検出された。食品、ふきとりはすべての検体でウイルス検査陰性であった。吐物の検体数は少なかったが、ウイルスの検出率は検便と同程度あり、検体としての有用性は高いと思われた。食品やふきとりは、検便や吐物と異なり、検体中のウイルス量が極めて少ないこと、食品によって油分、塩濃度等が違ふことから、検体の前処理、濃縮方法等、検査法について検討する必要があると思われた。

5 施設別ウイルス検出状況

何らかのウイルスが検出された212事例の施設別ウイルス検出状況を表4に示した。ウイルス性下痢症は保育園・幼稚園で65事例(30.7%)と最も多く発生し、次いで福祉施設で49事例(23.1%)、飲食店で35事例(16.5%)、小学校で22事例(10.4%)、宿泊施設で20事例(9.4%)と続いた。保育園・幼稚園および小学校が原因施設となった事例では、他の施設と比べ、NV以外のウイルスが原因となる事例が多くみられた。特にRVが単独で検出された事例が11事例あったが、そのうち9事例が保育園・幼稚園、小学校で発生し、残りの2事例も児童が利用する福祉施設で発生していた。このことは低年齢の患者間での感染・流行が多いといわれるRVの特徴と一致していた。飲食店ではNVG・G混合感染事例が、他の施設よりも多くみられ、NVG・G、RV、SV、EVが検出された事例が

1事例あった。NV混合感染事例のうち飲食店で発生した事例では、患者の喫食調査から生カキが推定原因食品と疑われた事例が3事例あった。宿泊施設では20事例すべてがNV 単独感染事例であった。

6 NVの遺伝子解析結果

NVが検出された196事例のうち、塩基配列の決定が可能であった事例は185事例(NVG :3、NVG :165、NV混合:17)であった。事例数の多かったNVG 及びNV混合182事例の遺伝子型別の結果を表5に示した。各事例2株(食品従事者、患者)の塩基配列の決定を行い、2株とも同一株であった場合、1株を代表株とし、2株とも異なる遺伝子型が検出された場合は、さらに他の株についても塩基配列の決定を行った。感染症が疑われた事例、特に老人福祉施設、保育園・幼稚園等は2株とも同一株である事例が多く、生食用食品や生カキが原因食品と疑われた食中毒事例では、複数の遺伝子型が検出された。

G /4 はすべての年度で最も多く検出された遺伝子型であり、検出数は少なかったが、G /4の他にG /2が毎年検出された。2009年は2011年に次いで複数の遺伝子型が検出され、G /7が唯一検出された。2010年度は他の年度と異なり、G /3が最も多く検出され、G /4に比べて多かった。この傾向は、全国的にも見られ2010年のみG /3が多く検出された。G /3の主な検出事例は、保育園や老健施設であり、2010年10月後半から12月にかけて発生した31事例中30事例(97%)から集中して検出された。

2011年は、解析を行った3年間で最も多くの遺伝子型が検出され、2009～2010年度の2年間に検出されなかったG /13、14、16、19が原因となった事例が、それぞれ1事例ずつ発生した。この原因として、生カキによる集団食中毒事例が同年6月に発生したこと、その後も生食用食品による食中毒疑い事例が複数発生したことが考えられた。2011年に発生した生カキによる食中毒事例は、山梨県外でも発生し、NVの他にSV、AiVが検出された⁴⁾。

2012年は、今まで流行したことのないG /4の変異株(以下、2012変異株)が全国的に検出され、県内でも同様であった⁵⁾。

2012変異株は、2012年9月に医療機関から搬入された検体(散発事例)で初めて検出され、11月下旬に保健所から搬入された検体(集団事例)で検出数が増加した。2012年12月には22事例中20事例から2012変異株が検出され、2013年1月以降はすべての事例(21事例)から2012変異株が検出されている。関連性のない事例間でも同一遺伝子型の2012変異株が検出される事例が増加しており、塩基配列の比較検討が食中毒・感染症事例の原因究明の一助にならない事例が増加している。このことから患者の喫食状況や原因施設の衛生状態等、疫学調査の重要性が高まっていると考える。

表5 NVG の年度別遺伝子型別結果

	2009	2010	2011	2012
G /2	7	7	9	2
G /3	1	31	3	
G /4	23	11	26	45
G /6	6		2	
G /7	1			
G /12	3	1	2	
G /13			1	3
G /14			1	
G /16			1	1
G /19			1	
合計	41	50	46	51

同一事例で複数遺伝子検出例有り

まとめ

- 2009年3月から2013年3月の期間に県内で発生した食中毒・感染症疑い事例263事例のうち、212事例(80.6%)から何らかのウイルスが検出され、NVGのみ検出された事例が163事例(76.9%)と多数を占めた。
- NVGの遺伝子型は、G /4が主流であったが、年度によって占める割合が異なり、その他の遺伝子型も検出され多様性がみられた。
- 2012年末～現在、検出されるNVが2012変異株のみとなり、疫学的関連性がない事例間でも同一の遺伝子型をもつ株が検出される事例が増加している。

参考文献

- 国立感染症研究所感染症情報センターホームページ：ノロウイルスの流行 2006/07～2009/10シーズン(<http://idsc.nih.go.jp/iasr/31/369/tpc369-j.html>)
- 国立感染症研究所：ウイルス性下痢症診断マニュアル(第3版)
- 浅川洋美ら：山梨県衛生公害研年報 52,93～94(2008)
- 大沼正行，三橋加世子：病原微生物検出情報 32, 360～361，No.12 (2011)
- 田村務ら：病原微生物検出情報 33,333～334，No.12(2012)