

## 鹿児島県における胃腸炎集団発生事例 から検出された*Norwalk virus*

新川奈緒美 吉國謙一郎 上野伸広  
有馬忠行 榎元磨加\* 永田告治

### 要 旨

鹿児島県において、1998年12月から2000年3月の期間に搬入された胃腸炎集団発生事例計13件の患者等の便及び食品計131件について原因ウイルスの検索を行った。その結果、8事例の便39検体及び食品5検体から*Norwalk virus*遺伝子が検出され、遺伝子型はgenogroup 2が主流でP2-AとP2-Bの混在であることが判明した。

また、環境水中の汚染状況を把握するために、県内5地点に自生するカキについても*Norwalk virus*遺伝子の検索を行った。その結果、夏場でもカキの中に存在し、しかも冬季に起きた集団発生とは無関係に採捕したにもかかわらず、患者等から検出された遺伝子型と同じ遺伝子型を保有することが判明した。

以上の結果から、*Norwalk virus*は冬季に流行するとされているが、夏場にも集団発生の可能性があることが推察された。さらに、自生カキ中に*Norwalk virus*遺伝子が確認されたということは、散发事例が存在していたことが推察され、それが集団発生と何らかの関係があるのではないかとこの可能性も示唆された。

キーワード：*Norwalk virus*, SRSV, 集団発生, PCR, ハイブリダイゼーション, genogroup

### 1 はじめに

わが国では、夏季に多発する細菌性下痢症とは異なり、*Norwalk virus* (以下NV) が原因と考えられるウイルス性胃腸炎が、毎年1、2月をピークに発生している。

また、生ガキなど二枚貝による食中毒の病因ウイルスである小型球形ウイルス (Small Round Structured Viruses, 以下SRSV) は、平成9年5月に食品衛生法施行規則の一部を改正する省令により、食中毒事件票の病因物質に加えられたが、このSRSVもNVの範疇に含まれるウイルスである。

1999年の食中毒事件発生状況によると、原因物質が明らかになった全国の食中毒事件総数2,602件のうち、SRSVによるものは、116件(4.5%)・患者数5,217人(15.6%)となっている<sup>1)</sup>。

本県においては、1998年12月に食中毒事例では初めてSRSVを確認して以来、当該ウイルスが検出された集



図1 自生カキ採捕地点

団胃腸炎事例7件(病因物質が当該ウイルスと断定されていない事例1件を含む)を経験したので、それらの検査結果を患者の症状についての解析も含めて報告する。

表1 便検体からのNV遺伝子検出状況

発生年月	患者の概要	患者数(人)	発症率(%)	陽性数/ 患者検体数	検出率(%)	遺伝子型
1998.12	職場忘年会	24	70.6	5/8	63	G2/P2-A
1999.11	小学校	260	29.1	11/18	61	G2/P2-B
1999.11	保育園	38	40.4	8/9	89	G2/P2-B
1999.12	児童福祉施設	39	36.4	3/7	43	G2/P2-B
1999.12	高校の寮	16	50.0	4/7	57	G2/P2-A, G1/P1-A
2000.1	老人福祉施設	77	54.6	3/8	38	G2/P2-A
2000.1	法事	10	41.7	1/1	100	G2*
2000.3	高校バレーボール大会	12	28.6	4/7	57	G2/P2-A

\* プローブと反応せず

また、環境水中の汚染状況を把握するために自生するカキについてもNVの検索を行ったので、併せて報告する。

## 2 材料

### 2.1 便及び食品等

1998年12月から2000年3月の期間に搬入された集団胃腸炎事例計13件の患者等便(吐物を含む)及び食品検体計131件について原因ウイルスの検索を行った。

### 2.2 自生カキ

1999年4月から2000年2月にかけて、無作為に選出した県内5地点の自生カキの中腸腺、計21サンプルを自生カキ検体とした。

## 3 方法

検体を前処理後、SV Total RNA isolation system キットを用いてRNAを抽出し、RT-PCRによりNV遺伝子の検出を行った<sup>2)</sup>。逆転写反応のプライマーには、Random 9merを用いた。1st PCRには、35' / 36プライマーを用い、470bpが増幅されたものを1st PCR陽性とした。nested PCRには、NV81/82, SM 82及びYuri22F/Rを用いて、それぞれ330bp, 370bpにバンドが確認されたものをnested PCR陽性とした。NV遺伝子の増幅が見られたものについては、Andoらが報告したオリゴヌクレオチド(SR47d, SR61d, SR63d, SR65d, SR67d, SR69d)の3'末端をジゴキシゲニンで標識したプローブを用いてドットプロットハイブリダイゼーションにより確認検査を行った<sup>3), 4), 5)</sup>。

便及び食品検体から増幅されたRT-PCR産物の遺伝子解析は、国立感染症研究所に依頼した。

## 4 結果と考察

NVは、集団発生8事例の便39検体及び食品5検体から検出された(表1)。

1998年12月から2000年3月の期間に本県で発生した集団胃腸炎事例におけるNVの遺伝子型は、genogroup 2(以下G2)が主流でP2-AとP2-Bの混在であることが判明した。

小学校事例については、遺伝子解析の結果、塩基配列が100%一致していたことから、単一のNVによって集団発生が起きたと考えられた。

NV遺伝子が検出された患者等の症状を年齢別に分析したところ、14歳以下の低年齢群では、下痢よりも嘔気・嘔吐の発症率が高かった。

一方、30歳以上の成人群では、嘔気・嘔吐よりも下痢症状が高率であった。15~19歳では、両者の中間的症状を呈した。特に、14歳以下の低年齢群では、腹痛の発症率が高いことも顕著であった(図2)。

自生カキについては、1999年8月に東町、加治木町、垂水市で採捕した3サンプル、同年10月に東町で採捕した1サンプル、2000年1月に長島町、東町で採捕した2サンプル、同年2月に福山町で採捕した1サンプルの計7サンプルからNV遺伝子が検出され、遺伝子型はG2であった(表2)。

このことから、NVは夏場でもカキの中に存在し、しかも冬季に起きた集団発生とは無関係に採捕したにもかかわらず、患者等から検出された遺伝子型と同じ遺伝子型を保有することが判明した。

以上の結果より、NVは冬季に流行するとされているが、夏季にも集団発生の可能性があることが示唆された。

さらに、自生カキ中にNV遺伝子が確認されたということは、散發事例が存在していたことが推察され、それがNVの集団発生と何らかの関係があるのではないかと

いう可能性も示唆された。

今後も自生カキのNVの汚染状況調査を継続し、NVのみでなく、他の下痢症ウイルスの検索についても行うことによって環境水中のウイルス汚染実態を把握し、本県で流行する下痢症ウイルスの集団発生事例、さらには散発事例との関連性についても検討していきたい。

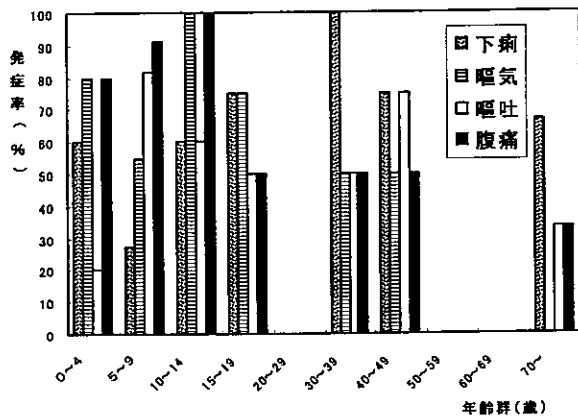


図2 NV遺伝子陽性者の症状

表2 自生カキからのNV遺伝子検出状況

年月	出水郡長島町	出水郡東町	始良郡加治木町	始良郡福山町	垂水市
1999.4				(-)	(-)
5			(-)		(-)
6	(-)	(-)			
7					
8	(-)	G2	G2	(-)	G2
9					
10	(-)	G2	(-)	(-)	(-)
11					
12					
2000.1	G2	G2			
2			(-)	G2	(-)

## 5 まとめ

- 1) 1998年12月から2000年3月の期間に本県で発生した胃腸炎集団発生事例から検出されたNorwalk virus遺伝子型は、genogroup 2が主流でP2-AとP2-Bの混在であった。
- 2) 自生カキについては、夏季にもNorwalk virus遺伝子が検出され、冬季に起きた集団発生の患者から検出された遺伝子型と同じ遺伝子型が検出されたことにより、自生カキのNorwalk virus汚染状況と集団発生との間には、何らかの関係があるのではないかと推察された。

## 謝辞

PCR産物の遺伝子解析を実施していただいた国立感染症研究所 松野重夫博士及びドットプロットハイブリダイゼーションを指導していただいた熊本県保健環境科学研究所 西村浩一博士並びに患者情報収集等に協力していただいた出水・加治木・隼人・鹿屋の各保健所職員の方々に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) 厚生省；食中毒事件発生状況 平成11年（平成12年）
- 2) 西尾治；ヒトカリシウイルスの検査法，1998
- 3) 西村浩一；ドットプロットハイブリダイゼーションによるカリシウイルスの確認検査法．第25回九州衛生公害技術協議会抄録，96-97，1999
- 4) Rebecca L. Frankhauser, et al；Molecular Epidemiology of “Norwalk-like Viruses” in Outbreaks of Gastroenteritis in United States. The Journal of Infectious Disease, 178, 1571-1578, 1998
- 5) Tamie Ando, Stephan S. Monroe, et al；Detection and Differentiation of Antigenically Distinct Small Round-Structured Viruses (Norwalk-like Viruses) by Reverse Transcription-PCR and Southern Hybridization. Journal of Clinical Microbiology, 33, 64-71, 1995