

資 料

ノロウイルス食中毒注意報・警報制度に係る環境水調査

葛口 剛, 山口智博*, 西岡真弘, 小林香夫**

要 旨

冬季における感染性胃腸炎や食中毒の主な原因となっているノロウイルスは現在、感染症発生動向調査における感染性胃腸炎の報告数によって全国規模でその流行がモニタリングされ、流行期における食中毒発生予防啓発等に利用されている。しかしながら、この感染症発生動向調査は行政が報告を求めている小児科定点医療機関に通院した患者の数であり、他の病院に通院した人や、症状が軽く病院に通院しない人の数は反映されていない。

今回、県内の主な流域下水道への流入下水におけるノロウイルス遺伝子量を定期的にモニタリングすることにより、採水時におけるウイルスの絶対量を把握、また、同時期における感染性胃腸炎患者報告者数や管内施設を原因として発生したノロウイルスを原因とする食中毒事例数との比較を行うことにより、このウイルス遺伝子のモニタリングがウイルス感染拡大防止に役立てられるかを検証した。

キーワード：ノロウイルス, ノロウイルス食中毒注意報・警報, 感染症発生動向調査, 環境水調査

1 はじめに

ノロウイルスは、冬季の感染性胃腸炎、食中毒の主な原因となるウイルスであり、感染すると激しい嘔吐、下痢、腹痛などの症状を示す。平成29年厚生労働省食中毒統計資料によると年間食中毒事例数で約5分の1、同患者数では約半数の原因物質がノロウイルスであったと報告されている。以前は、ノロウイルスによる食中毒が発生するとその原因としてカキ等の二枚貝の生食が疑われたが、最近ではウイルスに感染していた調理従事者等が食品を汚染したと考えられる事例の方が多数報告されている^{1,2)}。

この様にウイルス性食中毒発生のリスクは感染性胃腸炎患者数と正の相関をすることが想定できることから、岐阜県においても平成26年度にノロウイルス食中毒注意報及び警報発令要領が策定された。感染症発生動向調査における感染性胃腸炎患者数が前週比1.1倍以上を2週続ける若しくは前週比2倍を超えた場合、ノロウイルス注意報を県内に発令し、さらに注意報発令時に県内においてノロウイルスを原因とする食中毒事例が複数発生した場合は、同警報を発令し注意喚起を行っている³⁾。一方、この感染症発生動向調査は行政が報告を求めている小児科の定点医療機関に通院した患者の数であり、定点以外の病院に通院した人や、無症状（不顕性感染）を含め症状が軽く病院を受診しない人の数は反映されていない。

本研究では、定期的に県内の主な流域下水道への流入下水に含まれるノロウイルス遺伝子量を測定、同時期における感染性胃腸炎報告者数や管内施設を原因として発生したノロウイルスを原因とする食中毒事例数との比較を行うことにより、ウイルス遺伝子の定期的なモニタリングがウイルス感染拡大防止に役立てられるかを検証した。

2 検査材料および検査方法

2.1 検査材料

県内にある流域下水道流入水を毎月1回500 mL採水し検体とした。

2.2 検査方法

2.2.1 検体処理

検体を3,000 rpm, 4°C, 30 min 粗遠心した上清に終濃度0.05 mol/Lになるように塩化マグネシウム水溶液を添加し、さらに1 N 塩酸を加えてpH 3.5に調製した。

2.2.2 検体濃縮

pHを調製した検体を陰電荷膜（孔径0.45 μm, 直径47 mm）で加圧ろ過し、膜を裁断後、3%ビーフェキス5 mLに浸し、ボルテックス1 min, 超音波処理10 min後、3,000 rpm, 4°C, 10 minの遠心にて得られた上清を100倍濃縮サンプルとした。

2.2.3 ウイルスRNA抽出とウイルス遺伝子増幅

RNA抽出試薬としてQIAamp Viral RNA QIAcube

Kit (QIAGEN) を用い、リアルタイム RT-PCR には PrimeScript OneStep RT-PCR Kit (TaKaRa) を用いた。各月採取の濃縮検体 140 μ L について QIAcube (QIAGEN) を用いてウイルス RNA の抽出 (抽出量 60 μ L) を行い、このうち 2.5 μ L を用いてリアルタイム RT-PCR を行い、ウイルス遺伝子の検出と流入水 1 mL あたりに含まれるウイルスの定量を行った。ノロウイルス G1 の増幅には COG1F/COG1R をプライマーに用いて増幅反応を行い、蛍光プローブ RING1a-TM/RING1b-TM により遺伝子増幅が確認されたものをノロウイルス遺伝子検出とし、あらかじめ濃度既知の陽性コントロールを用いて検量線を作成し、検体に含まれていたウイルス量を算出した。同様に G2 の増幅、検出にはプライマー COG2F/COG2R とプローブ RING2-TM を用いた⁴⁾。

3 結果と考察

調査を開始した平成 27 年 4 月から平成 30 年 1 月まで各月に採取した環境水検体に含まれるノロウイルス量は図 1 に示すように推移した。毎年 11 月から翌 2 月頃までウイルス量は大きなピークを示し、冬季に感染性胃腸炎報告数が増える大きな要因であることが改めて確認できた。更に、検査した全 34 検体のうち G1 及び G2 共に 33 検体とほとんどの検体からウイルス遺伝子が検出され、ウイルスが冬季だけではなく夏季においても少なからず市中に存在していることが示され、過去に県内で行われた定性調査の結果とも一致していた⁵⁾。

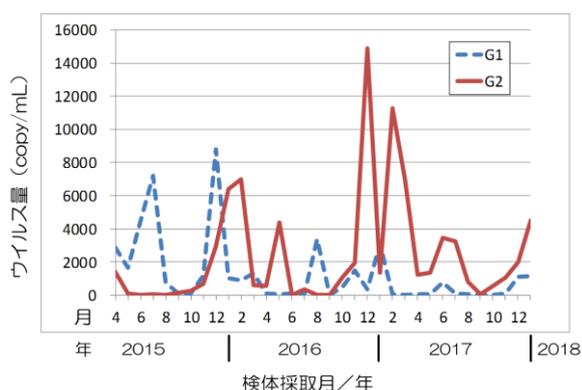


図1 ウイルス検出量の推移

一方、岐阜県における感染症発生動向調査での感染性胃腸炎報告患者数を検査した検体採取週についてプロットしたところ、図 2 に示すとおり冬季における患者数のピークが一旦落ち着きかけた 5~6 月頃に患者数が再び増加する時期が存在していた。この現象は、環境水におけるウイルス量の推移でも観察され (図 1),

この時期の患者数増加の一因がノロウイルス感染によるものである可能性が示唆された。



図2 岐阜県における感染性胃腸炎報告患者数

図 3 にウイルス検出量と発生動向調査患者報告数を示す。これによると、環境検体中のウイルス量は患者報告数よりも 1 か月程遅れて増減していることがわかった。

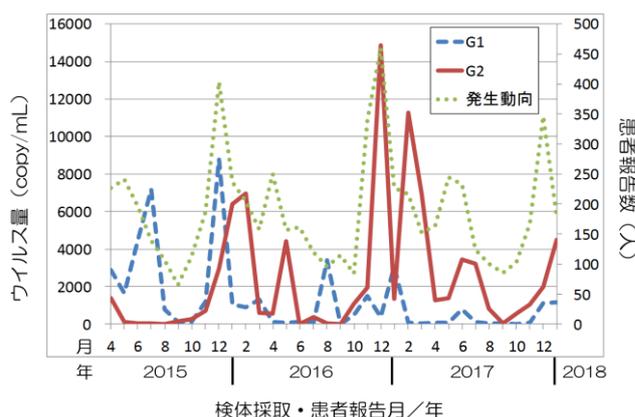


図3 ウイルス検出量及び患者報告数の推移

4 まとめ

調査を開始した当初は、不顕性感染者等から排出されるウイルスも検出可能な本調査の方が、感染性胃腸炎患者報告数よりも早くウイルス増加の傾向を把握できると考え、ノロウイルス注意報・警報の的確な発令に役立てられると予想していた。しかし、前述のとおり患者発生数の方が環境中のウイルス量よりも早い周期で推移しており、現状の患者報告数を基に運用することが現状で最良と判断された。一方、定期的なウイルス量のモニタリングを行ったことにより、冬季のウイルス量のピークのほかにウイルス量および感染性胃腸炎患者数が同時に増える時期が存在していることが判明した。この時期の前後には県内でノロウイルスを原因とする食中毒事例が毎年発生しており、この時期についても改めて食中毒や感染症予防の注意喚起を行っていく必要があると考えている。

謝 辞

本調査に関し、検体採取に協力していただきました
県内浄水場の関係者に深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生労働省：平成 29 年（2017 年）食中毒発生状況，厚生労働省 HP 食中毒統計資料，平成 30 年。
- 2) 厚生労働省：ノロウイルスに関する Q&A（平成

30 年 5 月 31 日最終改訂），厚生労働省 HP，平成 30 年。

- 3) 岐阜県：ノロウイルス食中毒注意報及び警報発令要領，平成 26 年 8 月 21 日付け生衛第 453 号別添
- 4) ウイルス下痢症診断マニュアル（第 3 版），44-66，国立感染症研究所，平成 15 年。
- 5) E. Koyama, T. Kuzuguchi, H. Kawamoto: Detection and Sequence Analysis of Norwalk Viruses in Sewage. XIIth International Congress of Virology, 平成 14 年。

Detection of norovirus gene from waste water

Tsuyoshi KUZUGUCHI, Tomohiro YAMAGUCHI*, Masahiro NISHIOKA, Yoshio KOBAYASHI**

Gifu Prefectural Research Institute for Health and Environmental Sciences:

1-1, Naka-fudogaoka, Kakamigahara, Gifu, 504-0838, Japan

** Gifu Prefectural Department of Health and Welfare, Public Health and Medical Treatment Division:*

2-1-1, Yabutaminami, Gifu, 500-8570, Japan

*** Gifu Prefectural Seki Public Health Center Gujo Branch:*

1727-2, Hatsune, Hachiman-cho, Gujo, Gifu, 501-4292, Japan