

腸管系ウイルス不顕性感染のリスク分析

北川和寛 千葉一樹¹⁾ 鈴木理恵 五十嵐郁美²⁾ 柏木佳子
門馬直太³⁾ 金成篤子 吉田学⁴⁾
微生物課 ¹⁾ 総務企画課 ²⁾ 県中支所
³⁾ 県北保健福祉事務所 ⁴⁾ 県南保健福祉事務所

要 旨

腸管系ウイルスの不顕性感染者の実態解明を目的とし、ノロウイルスによる食中毒の主な発生源とされている調理従事者について調査を行った。その結果、3,267 検体中 15 検体からノロウイルスが検出され、不顕性感染の割合は 0.5 %であった。

また、不顕性感染者及び食中毒事例での発症者についてノロウイルスが消失するまでの期間を経時的にモニタリングした結果、概ね 2 週間程度、長期の者では 1 ヶ月程度ウイルスを排出することが確認された。

さらに、不顕性感染者から検出されたウイルスの塩基配列を解析した結果、多くは県内の広範囲で長期間に渡って流行している G II/4, G II/6 の株と同タイプであった。

キーワード：不顕性感染、ウイルス消失期間、分子疫学的解析

はじめに

腸管系ウイルス、特にノロウイルスは集団感染や地域流行だけでなく食中毒の原因物質として知られており、ときに大規模化し、抵抗力の弱い患者は重症化する場合もあることから社会的に大きな問題となっている^{1, 2)}。これまではウイルスを保有する二枚貝などを加熱不十分のまま喫食したことが主な原因とされてきたが、近年はウイルスに感染した調理従事者による二次汚染が原因とされる事例が多く報告されている¹⁾。

一般的に調理従事者は下痢や腹痛、発熱などの体調不良時には調理に携わらないことが求められていることから、食中毒の原因となった調理従事者の多くは不顕性感染であった可能性が高い。これまでの報告からノロウイルスの不顕性感染の割合は 0.1 ~ 1%程度と報告されているが^{3, 4)}、その後の二次感染や地域流行との関連性などに関する調査はほとんど行われていない。

そこで、腸管系ウイルス、特にノロウイルスの不顕性感染の実態解明を目的として、調理従事者の健常者便についてウイルス検索を行った。さらに、当所が行っている感染症発生動向調査（以下、“散発事例”とする。）

及び県内で発生した食中毒事例で検出されたウイルスと併せて分子疫学的な解析を行ったので報告する。

材料及び方法

1 調査期間

2013 年 10 月（2013/14 シーズン）～ 2015 年 3 月（2014/15 シーズン）

2 調査対象

1) 不顕性感染の実態調査

県北地区の学校給食センター、社会福祉施設、病院等 14 施設の調理従事者（健常者）から採取した便 3,267 検体を用いた。

腸管系ウイルスであるサポウイルス、ロタウイルス、アストロウイルス、エンテロウイルスのウイルス検索については 2013 年 10 月～ 2014 年 3 月の 1,105 検体、ノロウイルスについては 2013 年 10 月～ 2015 年 3 月までの 3,267 検体を用いた。

2) ノロウイルス消失期間の調査

不顕性感染の実態調査及び食中毒事例の不顕性感染者（調理従事者等）39 名と食中毒事例の発症者 19 名について、約 1 週間毎に採取し、ウイルス検出状況を調査した。

3) ノロウイルス分子疫学的解析

不顕性感染者及び感染症発生动向調査より検出された 90 検体及び食中毒事例より検出された 4 検体を用いた。

3 遺伝子検査方法

対象検体について通知法又は既報⁵⁻⁷⁾に従い核酸を抽出し、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法 (RT-PCR) を行った。得られた増幅産物を精製後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、NJ 法による系統樹解析を行った。

結果及び考察

1 不顕性感染の実態調査

1) 腸管系ウイルス

2013 年 10 月～2014 年 3 月までに採取された 1,105 検体中 7 検体から腸管系ウイルスが検出され、うちノロウイルスが 3 検体、サポウイルスが 1 検体、エンテロウイルスが 3 検体検出された。ロタウイルスとアストロウイルスについては未検出であった。

感染性胃腸炎の原因ウイルスとして最も多く検出報告のある^{8, 9)}ノロウイルスが一番多く検出された。

2) ノロウイルス

2013 年 10 月～2015 年 3 月までに採取された 3,267 検体中 15 検体からノロウイルスが検出され、検出率は 0.5 % であり、これまでに報告された検出率と大きな差は認められなかった^{3, 4)}(表 1)。

県内定点医療機関において感染性胃腸炎と診断された患者報告数をシーズン毎 (9 月～翌年 8 月) に集計した (図 1)。2013/14 及び 2014/15 シーズン共に感染性胃腸炎の流行期である 1 月が最も多く検出された (図 1, 表 1)。

一方、感染性胃腸炎の患者報告が少ない 5 月、6 月、8 月の時期においても 1 検体ずつ検出されており、年間を通じてノロウイルスの不顕性感染者が存在する可能性が示唆された。

ヒトに感染するノロウイルスは、主に Genogroup I (以下, “G I” とする.) と Genogroup II (以下, “G II” とする.) の 2 つの遺伝子群がある¹⁰⁾。今回の調査では, G I が 4 検体, G II が 10 検体, G I と G II 両方検出が 1 検体であった。一般的に感染性胃腸炎患者から検出される遺伝子型の多くは G II が多数報告されているが, 不顕性感染者から検出されるウイルスも G II が多く検出される結果となった。

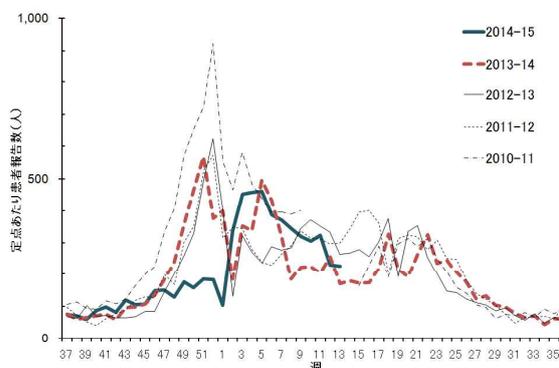


図 1 感染性胃腸炎患者報告数

2 ノロウイルス消失期間

不顕性感染者と食中毒事例の発症者について、約 1 週間毎に検体を採取し、体内からウイルスが消失するまでの期間を調査した。なお、不顕性感染者については検体採取日を起点に期間を算定した。

不顕性感染者の中央値は 15 日、最小が 6 日、最大が 38 日であるのに対して、発症者は中央値が 18 日、最小が 14 日、最大が 36 日であった。

表 1 ノロウイルス不顕性感染の実態調査

	'13-14 10月								'14-15 9月							総計			
	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	10月	11月	12月	1月	2月	3月			
検体数	178	185	188	182	185	187	188	182	199	186	165	166	181	181	183	177	175	179	3267
陽性数			3				1	1		1			1	1	4	2	1		15
検出率 (%)			1.6				0.6	0.5		0.6			0.6	0.6	2.3	1.1	0.6		0.5

発症者及び不顕性感染者についても症例の多くは2週間から3週間程度は体内にノロウイルスが存在し、長期的にウイルスを排出している可能性が示唆された。感染日時が不明な不顕性感染者については正確なウイルス排出期間は算定出来ないが、発症者と比べてもほぼ同等の期間にわたってウイルスを排出することが改めて確認された。

また、ノロウイルスに感染している間に、感染者の体内でウイルス性状が変化するか経時的に確認したところ、6症例中2症例について塩基配列の置換が認められ、うち1症例についてはアミノ酸変異を伴う非同義置換も認められた(表2)。ノロウイルスは進化スピードが早く、変異を繰り返すことでヒトの免疫機構から逃れることが知られているが¹¹⁾、不顕性感染者の体内においてもウイルス性状(抗原性)が変化する可能性が示唆された。

3 ノロウイルス分子疫学的解析

●を不顕性感染者、◇を散発事例、■を食中毒事例の検体として系統樹解析結果を示した(図2)。

さらに、系統樹解析で分類された検体を各種遺伝子型毎に月別の検出数としてまとめ、G II/4、G II/6については解析した範囲で塩基配列が一致したものを同一クラスターとしてまとめ、詳細な集計を行った(表3)。

散発事例の検体からは、G Iが2検体、G IIが78検体検出され、うちG II/4が49検体、G II/6が27検体と大部分が2つの遺伝子型に分類され、これらが県内の流行の主体であったことが示唆された。なお、G II/4に分類された49検体は、2012年に流行した2012変異株(JX459908/Sydney)と類似株であった。

不顕性感染者から検出された遺伝子型は、G I/2及びG I/4が各1検体、G II/4が3検体とG II/6が4検体、G II/11が1検体であった。

G II/4のクラスター2の不顕性感染者2検体(A595, A2937)と散発の12検体及び食中毒事例1例は、塩基配列が一致した。これらウイルスの不顕性感染者、散発事例及び食中毒事例の検体は、2013年の12月から2015年1月に採取された検体であり、県内の県北、

表2 症例毎経時的ウイルス性状の確認 (Capsid領域270bp)

	case1	case2	case3	case4	case5	case6
陽性から消失確認期間	35	27	18	31	26	24
塩基配列の相違	0	0	0	0	1	1
アミノ酸配列の相違	0	0	0	0	1	0

表3 遺伝子型毎月別検出数

クラスター	'13/14 10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	'14/15 9月	10月	11月	12月	1月	総計
G I /2														1(1)			1
G I /4																1(1)	1
G I /6				1													1
G I /14									1								1
G II /4			1	9	4										1(1)		15
1			2	5(1)	9	1									1(1)		19
2			1	5	4	3(2)	2(1)	1									16
3			1	4	1												6
Others	1																2
G II /6								1	3								4
1																	4
2				2(1)	6	1	3	1(1)	7(1)	3	1(1)						24
3																	1
Others						1											1
G II /11																1(1)	1
G II /13					1		1										2

()不顕性感染者 「」食中毒事例

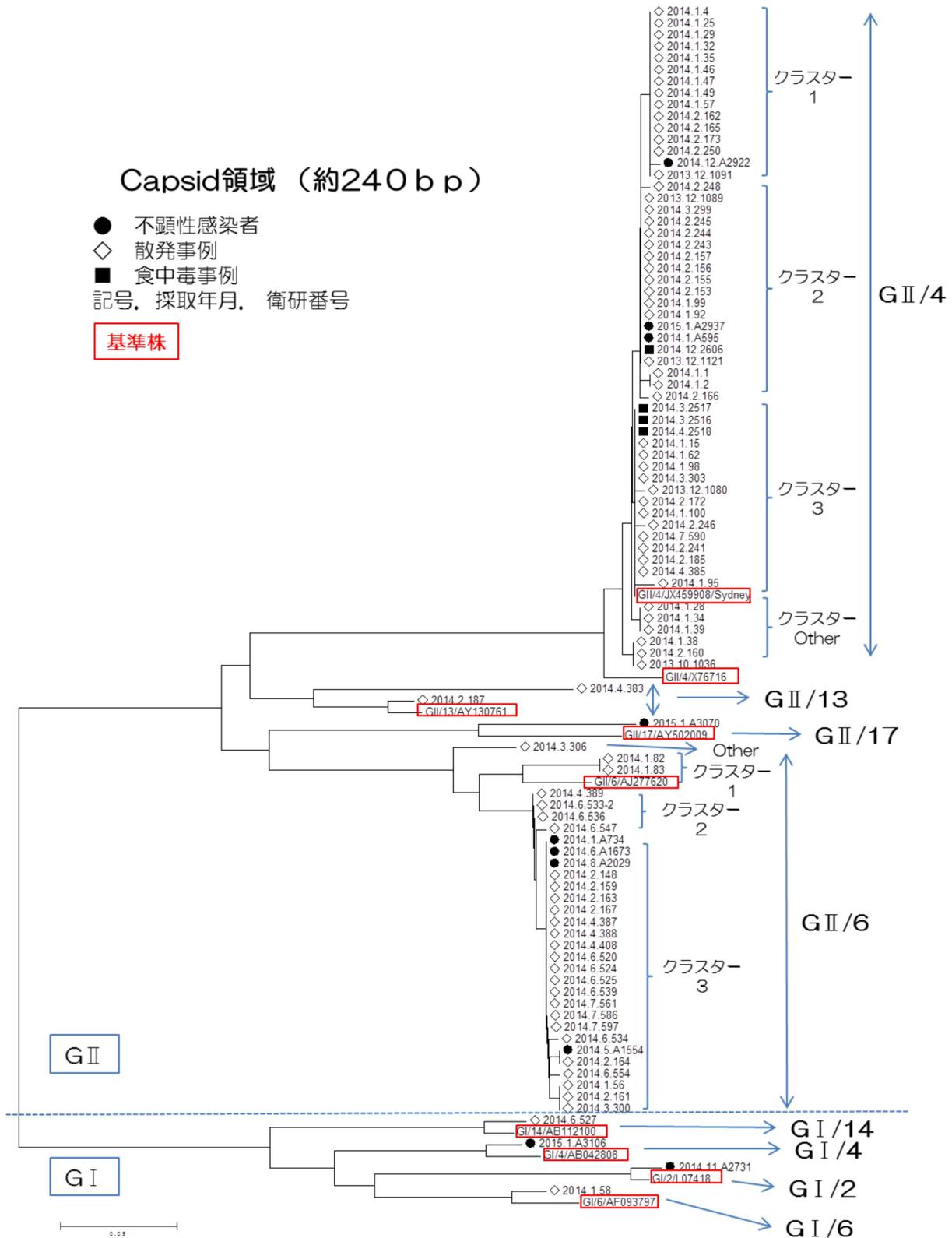


図2 ノロウイルス系統樹

県中，会津，郡山，いわき地方から搬入された検体であったことから，これらは，長期間に渡り県内で広域に地域流行しているウイルスであることが示唆された．また，G II/6 のクラスター 3 の不顕性感染者 3 検体（A734，A1673，A2029）と散発事例 12 検体は，塩基配列が一致した．2014 年の 1 月から 8 月に採取された検体であり，県北，会津，相双，郡山地方から搬入された検体であることから，この型についても長期間に渡り県内の広域で地域流行しているウイルスであることが示唆された．また，A1554 と塩基配列が同じ散発事例検体は 2014 年 2 月の会津地方からの検体であった．

分子疫学的解析の結果から，地域流行株と食中毒事例及び不顕性感染者から検出された株は密接に関与しており，地域流行株が食中毒を引き起こす要因になることが改めて示唆され，調理従事者は感染症流行の動向に留意することも必要であると思われた．

謝 辞

本調査を行うにあたり，検体の採取にご協力いただきました県民の皆様，保健福祉事務所の皆様に深く感謝いたします．

引用文献

- 1) 西尾治，秋山美穂，愛木智香子，他．ノロウイルス食中毒について．食品衛生学雑誌 2005；46：235-245.
- 2) 松永健司．ノロウイルス感染症低年齢児にみられる重症化要因．小児感染免疫 2010；22：133-138.
- 3) 細見卓司，谷脇妙，松本一繁，他．高知県の社会福祉施設従事者におけるノロウイルス及びサポウイルスの保持状況について．高知県衛生研究所年報 2011；57：35-46.
- 4) 水越文徳，鈴木尚子，船渡川圭次，他．ノロウイルス及びサポウイルスの不顕性感染者の実態調査．栃木県保健環境センター年報 2014；19：37-39.
- 5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知：ノロウイルスの検出法（平成 25 年 10 月 22 日付け食安監発 1022 第 1 号）
- 6) Liu, J. Kibiki, G. Maro, V. et al. Multiplex

- Reverse Transcription PCR Luminex Assay for Detection and Quantitation of Viral Agents of Gastroenteritis. JCM2011；50：308-313
- 7) Tapparel, C. Cordey, S. Belle, SV. et al. New Molecular Detection Tools Adapted to Emerging Rhinoviruses and Enteroviruses；JCM2009；47：1742-1749.
 - 8) 国立感染症研究所
<http://www.nih.go.jp/niid/images/iasr/arc/gv/1314/data1314.9j.pdf> 2015/2/10
 - 9) 国立感染症研究所
<http://www.nih.go.jp/niid/images/iasr/arc/gv/1314/data1314.11j.pdf> 2015/2/10
 - 10) 片山和彦．ノーウォークウイルス（ノロウイルス）の遺伝子型 2014 年版．病原微生物検出情報 2014；35：173-175.
 - 11) 本村和嗣，横山勝，岡智一郎，他．ノロウイルスのゲノム解析と流行発生のしくみ．日本伝染病学会機関誌 2012；86：563-568.