

2011年の福島県におけるノロウイルスの遺伝子型解析

塚田敬子 北川和寛 五十嵐郁美 門馬直太
二本松久子 金成篤子 平澤恭子¹⁾ 佐藤弘子
微生物課 ¹⁾福島県立総合衛生学院

要 旨

2011年に当所で検出されたノロウイルスについて遺伝子型解析を行った。得られた塩基配列により系統樹の作成を行った結果、多様な遺伝子型が検出された。

当所では、散発事例（感染症発生動向調査）・食中毒疑い事例・集団発生事例についてノロウイルスの検査を行っている。今回の解析により、多様な遺伝子型のNVの検出が確認されたが、これら3種類の事例で塩基配列が一致した遺伝子型のノロウイルスが検出された事例もあり、関連性が示唆された。

キーワード：ノロウイルス、遺伝子型解析

はじめに

ノロウイルス（以下、“NV”とする）はヒトに対して急性胃腸炎症状を起こすウイルスで、冬季を中心に流行する。NVはヒトからヒトへの伝播、NVに汚染されたカキ等の二枚貝の摂食、感染した調理従事者からの二次感染等によって集団感染を起こし、毎年多くの事例が報告されている。

NVは、Genogroup I（以下、“GI”とする）とGenogroup II（以下、“GII”とする）の遺伝子群に分類され、GIは14種、GIIは17種あるいはそれ以上の遺伝子型が存在している¹⁾。そのため、集団感染時における疫学解析や原因究明を行うためには、遺伝子型まで同定する必要がある²⁾。

2011年から当所は平成23年度厚生労働科学研究費補助金・食品の安全確保推進研究事業「食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究」に参画している。これは各地方衛生研究所で検出されたNVのシーケンスデータをデータベース上で共有し、広域食中毒やウイルスの変異に対応できるようにすることを目的とするものであり、当所も検出されたNVについて塩基配列の解析を進めている。

2011年は東日本大震災以降、避難所でのNVによる集団感染に加え、食中毒事例が頻発した³⁾。一方、当所にはこのような集団感染事例だけでなく、感染症発生動向調査として毎月県内

定点医療機関から急性胃腸炎等の散発事例検体も搬入される。このため、県内における2011年のNVの流行状況を総合的に解析することを目的として、当所が検出したNVについて遺伝子型解析を行い若干の知見を得たので報告する。

材料と方法

1 材料

- 1) 2011年の散発事例（感染症発生動向調査）においてNVが検出された34事例（34検体）。
- 2) 2011年に食中毒が疑われ当所に搬入されNVが検出された14事例のうち6事例（53検体）。
- 3) 東日本大震災に伴い郡山市に設置された避難所で2011年4月に発生した集団感染1事例（3検体）。

2 NV遺伝子の検出

PBSで10%乳剤とした糞便の遠心上清から、QIAmp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)によりRNAを抽出した。抽出したRNAからcDNAを作製し、「ノロウイルスの検出法」⁴⁾に準じてRT-PCR法を行った。プライマーは構造蛋白（Capsid）領域のCOG1F/G1SKR、COG2F/G2SKRを用いた。

3 NV遺伝子の塩基配列の解析

PCR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た。得られた塩基配列はClustalWにてアライメントを行った。

さらにNJ法を用い分子系統樹を作成し、遺伝子型別を行った。

結果および考察

2011年のNVの散発事例・食中毒疑い事例・集団発生事例の3種類の事例（計90検体）について塩基配列を決定し、分子系統樹を作成した（図1）。図1は、1つの検体から2つの型が検出された3検体も含み、◇は散発事例、▲は集団感染事例、●は食中毒疑い事例を示す。記号の後ろは事例発生年月日、衛生研究所整理番号を表す。また、矢印の後ろに括弧内に「3検体」のように記載されている事例は、同一事例の複数の検体から同一の塩基配列が検出された場合であり、検出された検体数を示す。

散発事例◇からは、GI/1, GI/7, GI/8, GI/11, GI/12, GII/2, GII/3, GII/4, GII/7, GII/12, GII/13型の11種類の遺伝子型が検出され、遺伝子型に多様性がみられた。2010年まではGIIが主流であったが、2011年はGIとGIIの多様な遺伝子型のNVが県内において流行していたと考えられる。

一般的に二枚貝等を原因食品とする食中毒事例ではGIとGIIのNVがそれぞれ検出されることが多く、遺伝子型も多様であることが多い。2011年も二枚貝が関係したと思われる●2011.1.22の食中毒事例からは、GIとGIIがそれぞれ検出され、また遺伝子型も多様であった。

遺伝子型の中でも特にGII/4型は比較的多く検出された。▲で示した2011年4月に郡山市の避難所で発生したNV集団感染事例3検体から検出されたGII/4型のNVは、全て塩基配列が一致しており、同一感染源からの感染であったことが推察される。さらに、避難所でのNV集団感染発生後も、この3株と塩基配列が一致したNVが郡山市の散発事例◇2011.11.s952と食中毒疑い事例●2011.12.15.A1から検出された。2011年には、GII/4型のNVが県内で連続して流行していた可能性が考えられる。

食中毒疑い事例においては、GII/4型の●2011.11.22A8と●2011.12.31D2, GII/13型の●2011.12.31D2と●2011.11.22A7, GI/14型の●2011.12.31D4と●2011.12.23D1と●2011.12.15C1のように、異なる集団発生事例から検出されたNVの塩基配列が一致したものがあり、疫学上何ら

かの関連があった可能性が示唆される。さらには、GI/1型の◇2011.9.s841と●2011.11.22A4, GI/7型の◇2011.12.s46と●2011.11.22A6, GII/13型の◇2011.1.s172と●2011.12.31D3と●2011.11.22A7のように県内定点医療機関から搬入される散発事例と食中毒疑い事例の間で塩基配列が一致することもあり、集団感染とその前後の散発事例が関連していた可能性も示唆された。

まとめ

当所では、散発事例（感染症発生動向調査）・食中毒疑い事例・集団発生事例についてNVの検査を行っている。今回の解析により、これら3種類の事例で塩基配列が一致したNVが検出された事例もあったことから、これらは密接に関連している可能性が示唆された。また、多様な遺伝子型のNVが県内の広範な地域で流行していたことが確認された。

NVは、調理施設における食中毒だけでなく、児童施設や高齢者施設での集団感染を引き起こし、時には重篤な事例となる場合もある。県内での流行を適切に把握し、感染拡大防止策を講ずる上で重要な情報を蓄積するために、今後も、継続的にNVの遺伝子解析を行う必要があると思われる。

謝辞

今回の研究調査を行うにあたり、検体採取にご協力いただきました県民の皆様並びに各医療機関、各保健福祉事務所の皆様に深謝いたします。

文献

- 1) 国立感染症研究所 感染症情報センター
http://idsc.nih.gov/idwr/kansen/k04/k04_11/k04_11.html 2012/2/6
- 2) 国立感染症研究所 感染症情報センター
<http://idsc.nih.gov/pathogen/refer/noro-kaisetu1.html> 2012/2/6
- 3) 福島県 保健福祉部 食品生活衛生課
<http://www.pref.fukushima.jp/eisei/syokuan/syokuanindex.html> 2012/2/7
- 4) ノロウイルスの検出法 平成19年5月14日改正
食安監発第0514004号

- ◇ : 散発事例
- ▲ : 集団感染事例
- : 食中毒疑い事例
- 記号/採取年月日/衛研番号

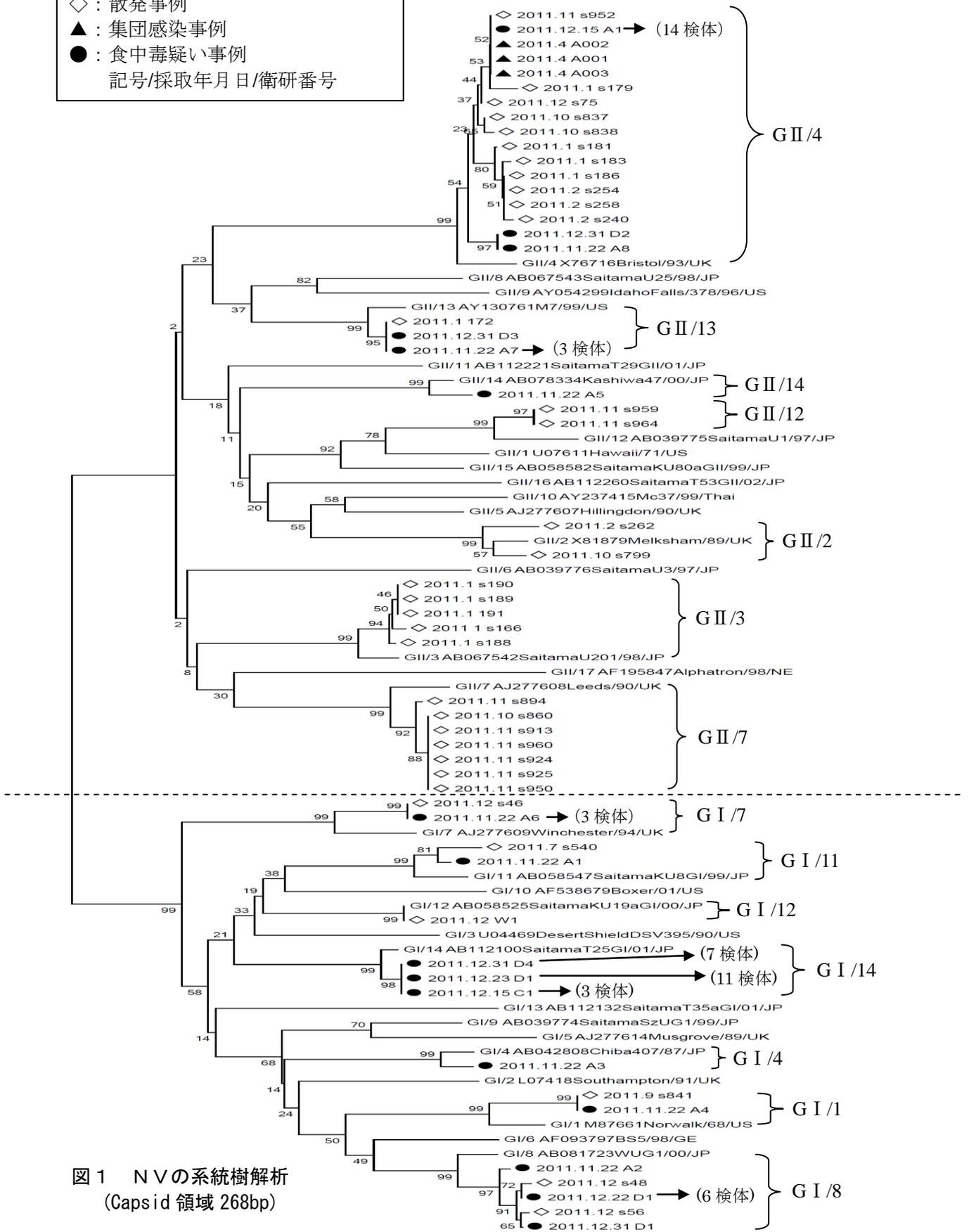


図1 NVの系統樹解析
(Capsid 領域 268bp)