

埼玉県における食中毒関連検査のウイルス検出状況（2018年度）

小川泰卓 峯岸俊貴* 青沼えり 富岡恭子 鈴木典子
宮下広大 篠原美千代 内田和江 倉園貴至

Report on Detection of Virus from Food Poisoning in Saitama (April 2018 - March 2019)

Yasutaka Ogawa, Toshitaka Minegishi, Eri Aonuma, Kyoko Tomioka, Noriko Suzuki,
Kodai Miyashita, Michiyo Shinohara, Kazue Uchida and Takayuki Kurazono

はじめに

2018年に全国で発生した食中毒事例のうちノロウイルス (NoV) が原因とされたものは、256事例、患者数8475人であり、2017年と比較して事例数はやや増加したものの、患者数は同程度であった¹⁾。しかし、依然として食中毒全体の患者数の約半数を占めており、食中毒の主要な病原体となっている。埼玉県においてもNoVを原因とした多くの食中毒事例が発生している。今回、2018年度の当所における食中毒関連検査のウイルス検出状況及び検出されたウイルスにおける遺伝子解析結果について報告する。

対象および方法

2018年4月から2019年3月の間に食中毒疑いとして搬入された糞便検体91事例、478検体を対象とした。病原ウイルスが確定しており、検査対象ウイルスを指定した検査依頼があった場合はそのウイルスの検査を、病原ウイルスが未確定の場合は、NoV 遺伝子群 I (NoVGI) 及び遺伝子群 II (NoVGII) について検査を実施した。また一

部の検体は、保健所の依頼に基づきサポウイルス (SaV)、ロタウイルス A 群 (RotaA)、ロタウイルス C 群 (RotaC) についても検査を実施した。

検査にはリアルタイム PCR 法を用いた遺伝子検出を行った^{2,3,4)}。また、NoV が検出された事例の従業員及び患者 1~2 検体について、RdRp 領域及び VP1 の N/S 領域の塩基配列をダイレクトシーケンス法にて決定し、RdRp 領域及び N/S 領域について MEGA7 を用いて系統樹解析を行った。また、得られた配列は Norovirus Genotyping Tool (<http://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>) (最終閲覧日：令和元年12月6日) を使用し型別を行った。型別表記は Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping⁵⁾ の推奨表記法に準じ、遺伝子群. RdRp 遺伝子型 (P) -遺伝子群. VP1 遺伝子型 (G+数字. P+数字-G+数字. 数字) のように記載した。

結果及び考察

1 遺伝子検出結果

2018年度の食中毒関連検査状況を表1に示した。NoVGI

表1 食中毒関連検査状況

年月	事例数	県内事例						関連調査事例							
		事例数*	患者検体数	検出ウイルス			従事者検体数	検出ウイルス			事例数*	患者検体数	検出ウイルス		
				GI	GII	その他		GI	GII	その他			GI	GII	その他
2018年4月	8	2(1)	7	4			11	3			6(4)	17	1	9	
5月	8	3(2)	14		10		7		2		5(4)	7		5	1(RotaA)
6月	5	2(1)	14		9		7				3(2)	8		7	
7月	3	1	1								2	2 [†]			
8月	6	2	29								4(1)	18		2	
9月	11	4	12								7(1)	15		2	
10月	7	3	4				2				4	12			
11月	8	4(1)	16		7		15		2		4	8			
12月	10	6(4)	61		51		23		4		4(3)	11		5	
2019年1月	4	2(1)	5	2**	3**						2(2)	20		9	
2月	12	3(2)	23		18				3		9(9)	39	10	17	
3月	9	7(4)	33 ^{††}		13	11(SaV)	17				2(1)	4			3(SaV)
計	91	39(16)	219	6	111	11	98	3	11	0	52(27)	161	11	56	4

* ()内陽性事例数再掲

† 非発症者1件を含む

GI NoVGI

GII NoVGII

** GI, GIIの両方が検出された検体は、それぞれに集計した。

†† 非発症者3件を含む

RotaA ロタウイルスA群

SaV サポウイルス

*現 本庄保健所

と NoVGII の両方が検出された検体はそれぞれに集計した。

県内発生事例は 2017 年度と比べ増加し⁶⁾、39 事例 317 検体の検査を実施した。内訳は患者 219 検体、調理従事者 98 検体であった。県外発生の関連調査事例（以下、関連調査事例という）は 52 事例 161 検体の検査を実施した。

NoV は、県内発生事例では 7 月～10 月以外の各月で検出され、12 月及び 3 月に各 4 事例、5 月と 2 月に各 2 事例、4 月、6 月、11 月及び 1 月に各 1 事例ずつから検出された。4 月の 1 事例から NoVGI が、1 月の 1 事例からは NoVGI 及び NoVGII の両方が検出された。それ以外の事例からは全て NoVGII が検出された。一方、関連調査事例では 4 月の 1 事例及び 2 月の 4 事例から NoVGI が検出され、4 月～6 月、8 月、9 月及び 12～2 月に NoVGII が検出された。

SaV は 1 月及び 3 月の県内発生事例 4 事例 23 検体及び 3 月の関連調査事例 1 事例 3 検体について検査を実施した。3 月の県内発生事例 1 事例 11 検体及び関連調査事例 1 事例 3 検体から SaV が検出され、この時期に SaV の流行があったことが示唆された。

RotaA は 1 月の県内発生事例 1 事例 2 検体、4 月及び 5 月の関連調査事例 2 事例 5 検体について検査を実施し、5 月の関連調査事例 1 事例 1 検体で検出された。

RotaC は 1 月の県内発生事例 1 事例 2 検体、5 月の関連調査事例 1 事例 1 検体について検査を実施し、全て不検出だった。

2 NoV 遺伝子型別と系統樹解析

県内発生事例 16 事例 46 検体、関連調査事例 24 事例 25 検体の遺伝子型別ができた。検出された遺伝子型を表 2 に示した。RdRp 領域及び N/S 領域の両方が型別できたのは、NoVGI は 3 種類、NoVGII は 7 種類であった。

2018 年度は 2016 年度に検出数の多かった GII. P16-GII. 2 が⁷⁾最も多く、検出事例 40 事例中 11 事例から検出された。次いで GII. Pe-GII. 4 が、検出事例 40 事例中 8 事例から検出された。2017 年 12 月に新たに報告された組み換えウイルス GII. P12-GII. 4 Sydney_2012 は⁸⁾、埼玉県では確認されなかった。

表2 検出NoV遺伝子型

NoV GI	検出事例数	NoV GII	検出事例数
GI.P2-GI.2	4	GII.P16-GII.2	11
GI.Pd-GI.3	1	GII.P16-GII.4	3
GI.Pb-GI.6	1	GII.Pe-GII.4	8
		GII.P17-GII.17	5
		GII.P12-GII.3	4
		GII.P7-GII.6	1
		GII.P8-GII.8	1
		(GII.3)	1

[遺伝子群. RdRp遺伝子型-遺伝子群. VP1遺伝子型]

()内は、VP1領域のみ遺伝子型別ができた株

生カキの喫食が確認された事例は 3 事例あり、1 事例は NoVGI と NoVGII の両方が、また、2 事例は NoVGII のみが検出された。

NoVGI の RdRp 領域の系統樹を図 1a に示した。GI. P2 は 4 月に 1 事例、2 月に 3 事例の合計 4 事例から検出され、それぞれの塩基配列は類似していた。この他、2017 年度には検出されなかった GI. Pd と GI. Pb が 1 事例ずつから検出された。このうち GI. Pb は、2016 年度に検出されたものと塩基配列が類似していた。

N/S 領域の系統樹を図 1b に示した。GI. 2 及び GI. 6 は RdRp 領域と同様、それぞれの塩基配列は類似していた。一方で GI. 3 は、2016 年度に検出された株と N/S 領域は類似していたが、RdRp 領域は 2018 年度の株が GI. Pb であるのに対し、2016 年度の株は GI. P3 で異なる遺伝子型だった。

NoVGII の RdRp 領域の系統樹を図 2a に示した。2018 年度に検出された主要な RdRp 遺伝子型は GII. P16 で、2016 年度及び 2017 年度に検出された株と塩基配列は類似していた。GII. P16 の VP1 遺伝子型は多くは GII. 2 であったが、3 株は VP1 遺伝子型 GII. 4 であった。この組み合わせの遺伝子型は 2016 年度に 1 株検出されており、この株とも塩基配列は類似していた。今回、Norovirus Genotyping Tool で GII. P12 と分類された株が、系統樹解析ではそれぞれ GII. Pj に分類された。これは、これまでの RdRp 解析領域よりも短い配列で系統樹解析を行ったことが原因と推測された。

NoVGII の N/S 領域の系統樹を図 2b に示した。2018 年度に検出された主要な VP1 遺伝子型は GII. 2 及び GII. 4 で 2017 年度と同様であった。GII. 2 の塩基配列は、2016 年度及び 2017 年度に検出された各遺伝子型と類似していた。一方、GII. 4 は RdRp 遺伝子型が GII. Pe と GII. P16 のもので、異なるクラスターを形成した。GII. P16 をもつクラスターには、2016 年に大阪市から報告された GII. P16-GII. 4 Sydney2012 変異株⁹⁾が含まれている。2018 年度は 2 種類の GII. 4 が流行していたことが示唆された。また、GII. 3 の 1 株 (18-52 GII. 3 18.8) が系統樹上他の GII. 3 検出株と異なる場所に位置しており、その他の GII. 3 検出株とは解析領域の 281 塩基中約 20 塩基が異なっていた。この株は RdRp 領域の解析ができなかったため詳細については不明であった。

今年度は途中から遺伝子型別に使用するプライマーを dual-typing プライマー¹⁰⁾に変更した。これまで RdRp 領域と N/S 領域を解析するにはそれぞれ検査を行う必要があったが、この dual-typing プライマーを用いることで RdRp 領域の一部と N/S 領域を一度に解析することが可能となり、より迅速に検査が可能となった。しかし、一部の RdRp 遺伝子型において、Norovirus Genotyping Tool による遺伝子型と系統樹解析による遺伝子型が異なっていた。今後、系統樹解析の手法やレファレンス株の選定等について検討が必要と考えられた。

2016 年 4 月に食中毒事例において NoV 遺伝子型別を行う

よう通知がなされ¹¹⁾、食中毒の判断をする際の科学的根拠は重要性を増している。速やかな解析を行うために、必要に応じて新たな検査技術の導入を考慮する必要がある。また近年、GII.P12-GII.4 Sydney_2012⁸⁾のような新たな組み換えウイルスが報告されている。常に市中流行株の動向を把握し、新たな組み換えウイルスの出現を監視することも必要である。

文献

- 1) 厚生労働省：食中毒統計資料
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunit-suite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/sy-okuchu/04.html (最終閲覧日：令和元年12月6日)
- 2) 食安監発第1105001号 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知 平成15年11月5日
- 3) T. Oka, K. Katayama, GS. Hansman, et. al : Detection of human sapovirus by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. *J. Medic. Virol*, 78, 1347-1353, 2006
- 4) 田所健一, 山口敏和, 篠原美千代：マルチプレックス-リアルタイムPCRを用いた感染症胃腸炎ウイルスの網羅的検出法の開発. *臨床と微生物*, 36, 251-256, 2009
- 5) Kroneman A, Vega E, Vennema H, et al. : Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Arch Virol*, 10, 2059-2068, 2013
- 6) 峯岸俊貴, 富岡恭子, 鈴木典子, 他：埼玉県におけるウイルスを原因とする食中毒関連検査状況(2017年度), *埼玉県衛生研究所報*, 52, 106-109, 2018
- 7) 峯岸俊貴, 富岡恭子, 鈴木典子, 他：埼玉県におけるウイルスを原因とする食中毒関連検査状況(2016年度), *埼玉県衛生研究所報*, 51, 92-95, 2017
- 8) 世田谷区世田谷保健所生活保健課, 他：都内で発生したノロウイルス GII.P12-GII.4 Sydney_2012 による食中毒事例について, *病原微生物検出情報*, 39(8), 146-147, 2018
- 9) 入谷展弘, 上林大起, 改田厚, 他：集団胃腸炎事例からのノロウイルス GII.P16-GII.4 Sydney_2012 の検出—大阪市, *病原微生物検出情報*, 37(7), 136-137, 2016
- 10) 病原体検出マニュアル ノロウイルス(第1版), 令和元年6月
- 11) 生食監発0401第1号 厚生労働省医薬・生活衛生局, 生活衛生・食品安全部監視安全課長通知 平成28年4月1日

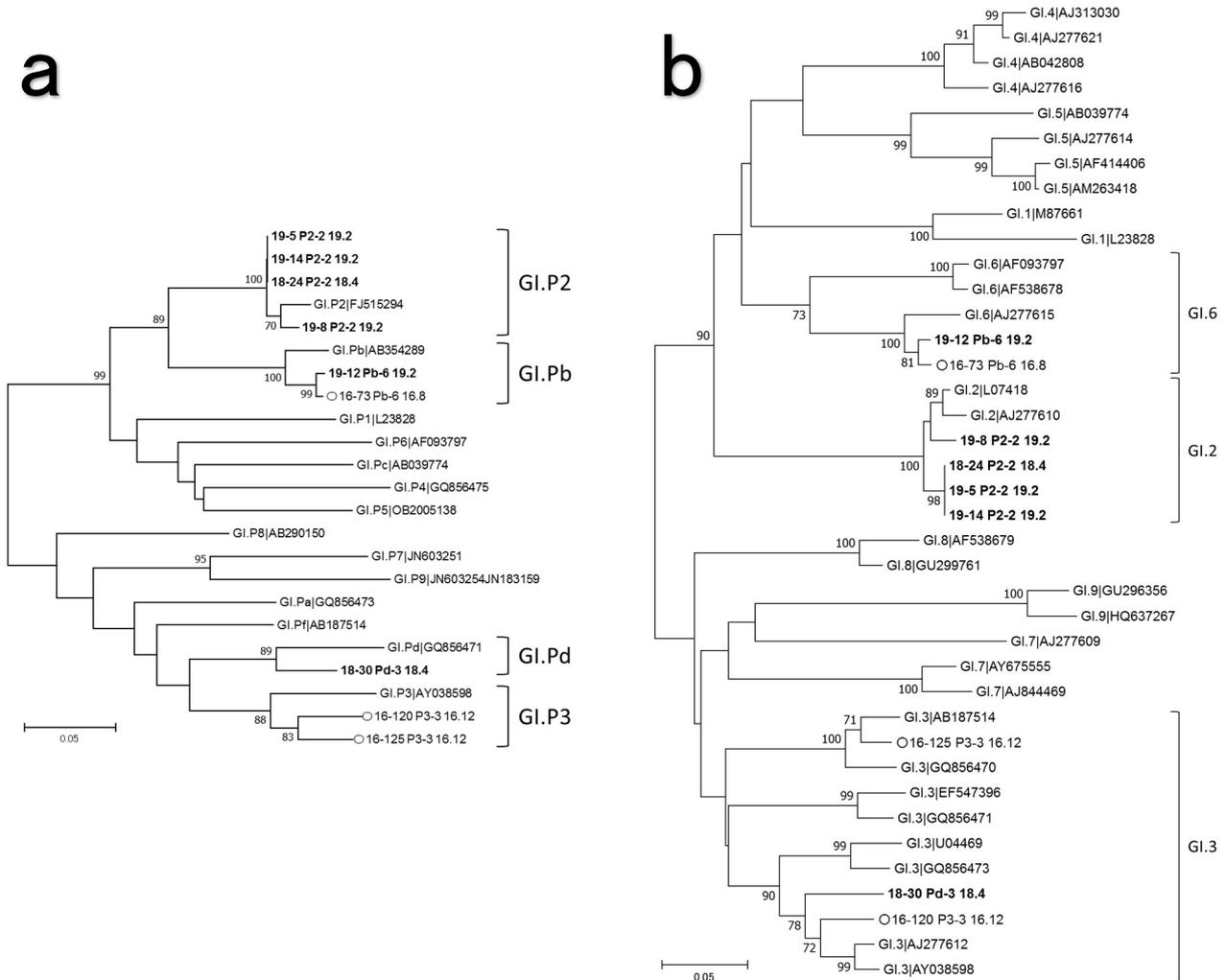


図1 NoV GI系統樹(NJ法)

a RdRp 領域(245 塩基), b N/S 領域(294 塩基)

当所で2018年度に解析した検体は太字とし, 検体名は 事件番号 RdRp 型(P+番号)-VP1 型 発生年. 月となっている. 参照株の名称は 遺伝子型 | アクセシオン番号となっている.

○ 2016年度検出株

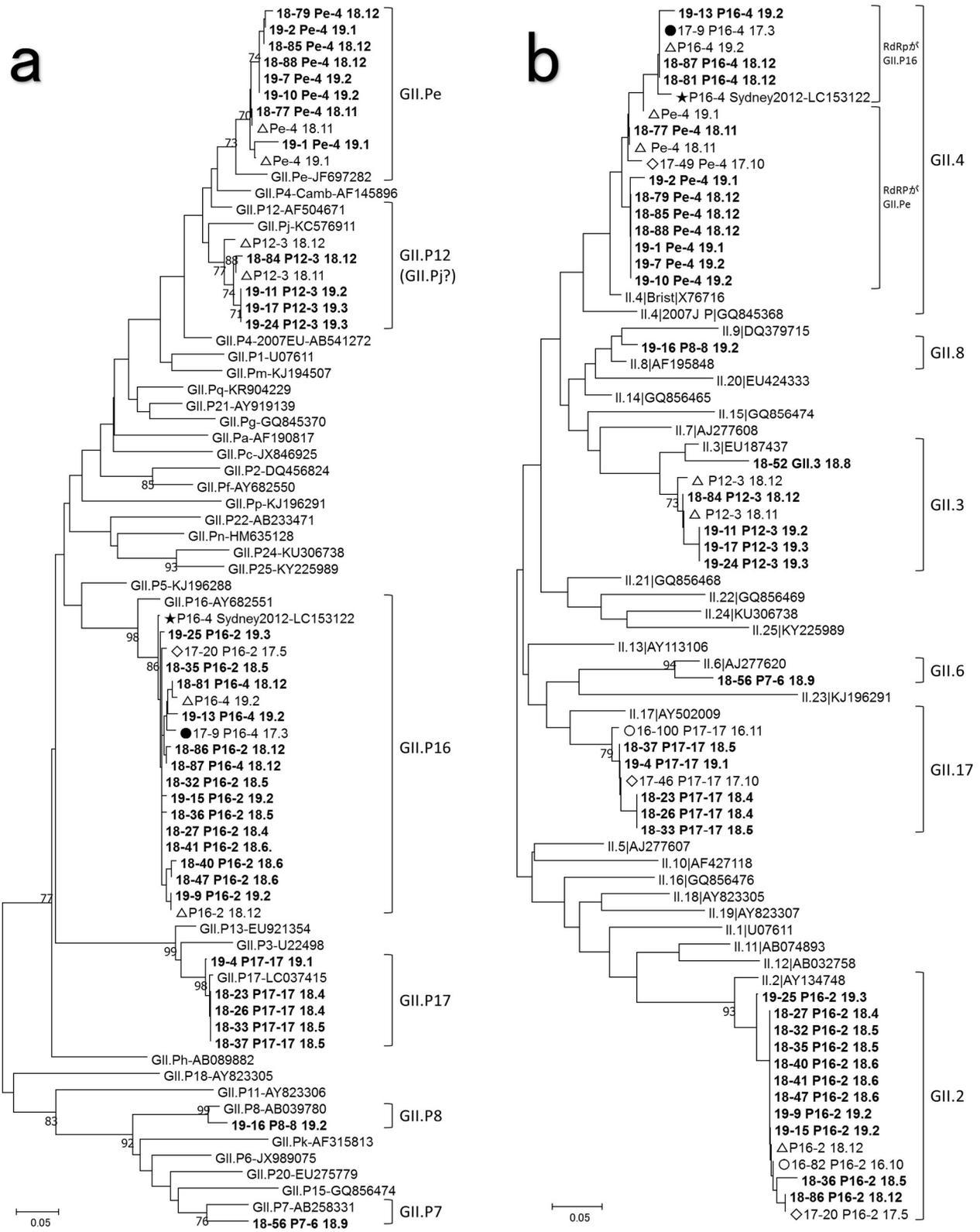


図2 NoV GII 系統樹(NJ法)

a RdRp 領域(265 塩基), b N/S 領域(281 塩基)

当所で2018年度に解析した検体は太字とし, 検体名は 事件番号 RdRp 型(P+番号)-VP1 型 発生年. 月となっている。参照株の名称は 遺伝子型 | アクセション番号となっている。

○ 2016年度検出株 ◇ 2017年度検出株 △ 2018年度発生動向調査検出株

● 2016年度検出 GII.P16-GII.4 株 ★ GII.P16-G.II.4 Sydney2012 変異株(2016年大阪市報告)