

短報

ウイルス性食中毒の発生状況 (平成15年度)

原みゆき*, 古屋由美子, 片山 丘
高橋孝則, 今井光信

Occurrence of Epidemic Gastroenteritis Caused by Viral Agents in Kanagawa Prefecture (2003)

Miyuki HARA, Yumiko FURUYA,
Takashi KATAYAMA, Takanori TAKAHASHI
and Mitsunobu IMAI

はじめに

ウイルス性食中毒は毎年10月頃から始まり翌年の5月頃まで発生している。従来、食中毒の原因物質として届けられていた小型球形ウイルス (SRSV) は、ほとんどが遺伝子増幅反応 (PCR) によって検出されるノロウイルスであることから、平成15年8月29日に食品衛生法の一部改正にともない、病因物質がSRSVからノロウイルスに改められた。昨年度の原因別食中毒発生状況ではノロウイルスによるものが最も多く、感染の経路はノロウイルスに汚染された魚介類を生あるいは加熱不足の状態での摂取することや調理従事者が調理中に食品をウイルスで汚染することによる場合が考えられている。

しかし最近、老人保健施設や保育園のような集団生活の場所での発生が増加しており、しかも患者発生の規模が大きい事例もあることから拡大を防ぐためにも原因調査などの早期の対応が重要となっている。

そこで平成15年4月から平成16年3月にかけて、県域で発生したウイルス性食中毒が疑われた事例について、ウイルス学的原因調査を行ったので報告する。

材料と方法

1. 検査材料

平成15年4月から平成16年3月に神奈川県域で発生した、ウイルス性食中毒が疑われた25事例より得られた便と吐

物308検体、事例関連の食品7検体を用いた。

2. ノロウイルスの遺伝子検出法

便および吐物は滅菌リン酸緩衝液 (PBS(-)) で10%乳剤とし、攪拌後10,000rpm 10分間遠心後上清をRNAの抽出に使用した。RNAの抽出はQIAamp Viral RNA mini kit (Qiagen社製) を用いて行い、抽出RNAはDNaseで処理後、random hexamer (Amersham社製) およびSuper Script RT (Invitrogen社製) を用いて42 1時間逆転写反応を行いcDNAを作製した。リアルタイムPCRは影山らの方法¹⁾に従って、TaqMan Universal PCR Master Mix (ABI社製) を用いて、genogroup (G) はプライマー: COG1F/COG1R, プローブ: RING1-TP (A) / RING1-TP (B), genogroup (G) はプライマー: COG2F, ALPF/COG2R, プローブ: RING2AL-TPを使用し、G, G のそれぞれについてウイルス遺伝子の定量を行った。さらにリアルタイムPCRでノロウイルス遺伝子が検出された代表的な検体についてPCR産物を用いてダイターミネーター法でダイレクトシーケンスを行い、塩基配列を決定した。

食品 (加熱調理済み) は約1gを取り、滅菌PBS(-)を9ml加えて混合し、攪拌後3,000rpm 20分間遠心後上清を30%シヨ糖溶液に重層し、40,000rpm 2時間遠心した。沈査を滅菌PBS(-)で再浮遊し、RNAの抽出に用いた。抽出、逆転写反応およびリアルタイムPCRは便と同様に行った。

3. 電子顕微鏡観察

便は滅菌PBS(-)で10%乳剤とし、攪拌後3,000rpm 20分間遠心後上清を30%シヨ糖溶液に重層して40,000rpm 2時間遠心した。沈査を滅菌PBS(-)で再浮遊し、2%リソチグステン酸ナトリウムでネガティブ染色後40,000倍で検鏡した。

結果および考察

平成15年度に発生した25事例のうち14事例 (56%) の84検体から遺伝子検出法でノロウイルスが検出され、そのうち1事例の3検体からは電子顕微鏡でもウイルス粒子が確認された (表1)。この検出されたノロウイルスのgenogroupはG が1事例 (7.1%), G が11事例 (78.6%) で大部分を占めており、G とG の両方が検出された事例は2事例 (14.3%) であった。事例2はG とG・G重複とGであり、事例14はG とG・G重複であった。G とG の両方が検出された事例は、2事例とも生カキを摂取していた。摂取したカキが複数のノロウイルスに汚染されており、そのために異なるgenogroupが同一事例から検出されたことが推察された。しかしこれらの事例で原因食品の生カキは残っておらず、

神奈川県衛生研究所 微生物部

〒253-0087 神奈川県茅ヶ崎市下町屋1-3-1

* 現 地域調査部

表1 平成15年度ウイルス性食中毒発生事例

事例 No.	発生年月	管轄保健福祉事務所	原因施設	原因食品	検体名	検体数	RT-PCR 陽性数	genogroup	電顕陽性数
1	H15.5	茅ヶ崎	飲食店	不明	患者便	2	2	GI	0
					従事者便	1	0		0
2	H15.12	小田原	飲食店	生力キ	患者便	19	14	GI,GI&II,GII	3
					従事者便	7	0		0
3	H15.12	藤沢	弁当屋	不明	患者便	5	1	G II	0
4	H15.12	平塚	養護施設	不明	患者便、吐物	5	3	G II	0
					従事者便	10	1		0
5	H15.12	藤沢	飲食店	不明	患者便	4	3	G II	0
					従事者便	2	1		0
6	H15.12	厚木	弁当屋	仕出し弁当	患者便	7	1	G II	0
					従事者便	23	0		0
7	H15.12	小田原	飲食店	不明	患者吐物	1	1	G II	0
					従事者便	0	0		0
8	H15.12	鎌倉	養護施設	不明	患者便	2	1	G II	0
					従事者便	7	0		0
					食品	2	0		0
9	H16.1	厚木	弁当屋	不明	患者便	22	21	G II	0
					従事者便	18	3		0
10	H16.2	厚木	飲食店	不明	患者便	10	4	G II	0
					従事者便	12	0		0
11	H16.2	平塚	老人保健施設	不明	患者便、吐物	10	8	G II	0
					従事者便	13	0		0
12	H16.2	鎌倉	老人保健施設	不明	患者便、吐物	4	4	G II	0
					従事者便	15	6		0
13	H16.3	鎌倉	老人保健施設	不明	患者便、吐物	6	4	G II	0
					従事者便	17	4		0
14	H16.3	茅ヶ崎	飲食店	生力キ	患者便	2	2	GI,GI&II	0
					従事者便	9	0		0

検査は不可能であった。原因食品の検査を行った事例8では原因として疑われた食品2検体に生鮮魚介類は含まれておらず、施設で提供された加熱した食事であり、ノロウイルスは検出されなかった。今後、生力キ等の生鮮魚介類の汚染状況把握のためにも食材を確保して、検査する必要があると思われる。

検出されたウイルスの遺伝子の塩基配列をしらべたところ、事例2のG はチバ株、事例2から13のG はローズディール株であった。チバ株は以前に県域で発生した生力キが原因のウイルス性食中毒からも検出されている株である。平成15年度全国で検出されたノロウイルスのgenogroupは平成14年度に引き続きG が多く、検出されたノロウイルスのgenogroupの傾向は同様であった²⁾。

生鮮魚介類を摂食せず、原因食品が不明であった事例4について、患者と従事者の塩基配列をしらべたところ、両者ともローズディール株であった(表2)。患者とともに調理従事者から同一のウイルス株が検出されたことから、調理従事者が食品を汚染したことにより食中毒が発生した可能性もあり、調理従事者には手洗いの励行や調理用手袋の着用など食中毒発生予防のための注意を喚起する必要があると思われる。

表2 事例4におけるノロウイルス株

検体名	RT-PCR	genogroup	株名
患者便	陽性	G II	ローズディール
従事者便	陽性	G II	ローズディール

平成15年度には、老人保健施設などの施設内でのノロウイルスによる食中毒様の集団発生は5事例あり、そのうち3事例が老人保健施設、2事例が養護施設で発生していた。事例11、12の老人保健施設での集団発生は発生時間にばらつきがあったことや聞き取り調査の結果から、人から人への感染により広がったことが考えられ、感染性胃腸炎の集団発生事例であった。またこの2事例はいずれも患者に嘔吐症状が強く、得られた患者吐物からノロウイルスが検出された。この患者吐物中のウイルス量は患者便のものと同程度であり、検体1gあたり10⁵コピー以上が含まれていた。ノロウイルスの場合100 個程度のウイルスが体内に侵入した場合に発症する可能性がある³⁾。そのためこの吐物のなかのウイルス量はノロウイルスによる感染性胃腸炎を起こすには十分であることから、吐物による施設内の汚染がノロウイルスによる感染を拡大したと考えられた。聞き取り調査の結果、事例12

の老人保健施設では平成14年にもロタウイルス感染症の集団発生を起こしていた。この施設では身の回りの介護を行う人が食事の給仕も行っており、日常的に便等の汚物が施設内を汚染している可能性があることがわかった。このように施設内でひとたび感染性胃腸炎を起こすウイルスの感染症が起こると患者の便や吐物から容易に室内環境を汚染し、その結果多くの患者が発生する。そのため拡大防止の迅速な対応や指導が必要である。調理従事者からの食品の二次汚染ばかりでなく、介護を担当する職員によるウイルス汚染の拡大を防止するための衛生教育を調理従事者ととも介護職員にも実施する必要があると思われる。さらに施設内で集団発生が疑われた場合は、調理従事者や職員を含めた施設全体の発症者を把握し原因ウイルスの検出を速やかに行うことで、感染源および感染経路の推測ができ、集団発生を早期に終息に

導く事が可能になると考えられた。

最後になりましたが衛生研究所への迅速な検体搬入や情報提供にご尽力いただきました各保健福祉事務所、県生活衛生課の方々に深謝いたします。

(平成16年7月28日受理)

文 献

- 1) 影山努, 小嶋慈之, 福士秀悦, 片山和彦: 蛍光プローブを用いた Norwalk virus (NV) の高感度検出法の開発, *Vita*, 18, 14-17 (2001)
- 2) ウイルス検出状況・2004年3月24日現在, 病原微生物検出情報, 25, 110-113 (2004)
- 3) 西尾治, 西香南子, 福田伸治, 西田知子, 篠原美千代, 沖村容子ほか: ウイルス性食中毒の病因, *臨床とウイルス*, 31, 163-169 (2003)