

資料

福岡県における食中毒（疑い）事例からのノロウイルス検出状況および遺伝子解析 （平成22年度）

前田詠里子・吉富秀亮・石橋哲也・世良暢之

平成22年度に福岡県内で発生した食中毒（疑い）事例においてノロウイルスの遺伝子検査をおこなったところ、12事例69検体からノロウイルス遺伝子が検出された。また、ノロウイルス遺伝子が検出された検体について遺伝子解析を実施した結果、G I /7が4件、G I /8が1件、G I /11が1件、G I /12が1件、G I /14が7件、G II /3が1件、G II /4が11件、G II /12が19件、G II /13が28件であった。事例別では近年感染性胃腸炎で流行を繰り返していたG II /4による事例の割合が減少し、G II /12、G II /13など他の遺伝子型による事例の割合が増加していたことから、流行遺伝子の型が変化しつつあると考えられた。

[キーワード：ノロウイルス、系統樹解析]

1 はじめに

ノロウイルスは冬季における感染性胃腸炎の主要な原因ウイルスであり、発症すると下痢、嘔気、嘔吐を呈する急性胃腸炎を引き起こす。また、集団食中毒の原因ともなるウイルスであり、カキなどの生鮮海産物の生食や調理従事者によってウイルス汚染された食品に起因する事例がこれまで報告されている。

人に感染するノロウイルスはG I とG II に分類され、さらにG I は14種、G II は19種類の遺伝子型に細分化される。当所では、検査の結果ノロウイルスが検出された場合、詳細な遺伝子解析を行い、集団内での相同性の確認、流行遺伝子型との比較検討を行っている。

今回、平成22年度に福岡県内で発生した食中毒（疑い）事例において検出されたノロウイルスについての遺伝子解析を行ったのでその結果を報告する。

2 方法

2・1 検査材料

平成22年度に福岡県内（福岡市および北九州市管内を除く）でウイルス性食中毒の疑われた事例において採取された患者便、吐物および従事者便計189検体を材料とした。

2・2 検査方法

検体をPBSで10%乳剤とし、10000 rpm、20分遠心後の上清からQIAamp Viral RNA Mini Kitを用いてウイルスRNAを抽出した。DNase処理したRNAをSuper

Script IIIにより逆転写反応させ、cDNAを作成した。得られたcDNAを用いてノロウイルスG IにはG1SKF/G1SKRを、G IIにはG2SKF/G2SKRをプライマーとし、PCRによりノロウイルス遺伝子のキャプシド領域を増幅した。電気泳動で目的の大きさのバンドが確認されたものについてダイレクトシーケンスを行い、Clustal Wソフトウェアにより解析し、ノロウイルスの遺伝子型別を行った。

3 結果及び考察

平成22年度は12事例69検体からノロウイルス遺伝子が検出された。内訳は、G I が検出されたものが9検体、G2が検出されたものが55検体、G I とG II 両者が検出されたものが5検体であった。このうち、シーケンス可能だった68検体について遺伝子型が既知のリファレンス株（G I が14種、G II が19種）とともに系統樹解析したところ、G I /7が4件、G I /8が1件、G I /11が1件、G I /12が1件、G I /14が7件、G II /3が1件、G II /4が11件、G II /12が19件、G II /13が28件であった（図1）。事例ごとに見ていくと、ノロウイルスが検出された12事例の内訳は、G II による事例が8事例、G I による事例が2事例、G I とG II 両者によるものが2事例であった。遺伝子型別でみると、G II /4が4事例、G II /12が2事例、G II /13が2事例、G I /8が1事例、G I /14が1事例、G I /7、G I /12、G II /3、G II /12、G II /13の混合が1事例、G I /11、G II /13の混合が1事例であった（表2）。

全体的な特徴として、近年感染性胃腸炎で流行を繰り返

していたGⅡ/4による事例の割合が減少し、GⅡ/12、GⅡ/13など他の遺伝子型による事例の割合が増加していたことから(表1)、流行遺伝子型が変化しつつあると考えられた。季節別では、秋口はGⅡ/4による事例が連続していたが、年明け以降はGⅡ/12、GⅡ/13による事例が集中しており、GⅡ/4による事例は3月に発生した1例のみだった。さらに、秋口に検出されたGⅡ/4と3月に検出されたGⅡ/4を系統樹解析により比較すると別のクラスターに属することから、1シーズンに2種類のGⅡ/4のサブジェノタイプが発生したと思われる。このことより、GⅡ/4が変異している可能性があり、今後の流行に注意を払う必要がある。今回遺伝子解析に用いたのはウイルスのキャプシド領域の一部だが、今後は別の領域の解析も行うことにより、さらに詳細に遺伝子の変異をモニタリングできるかもしれない。また、事例4においてはカキの喫食歴があったが、複数の患者から複数の遺伝子型のノロウイルスが検出されるという、カキの喫食歴がある場合の特徴が出ていた。

4 まとめ

平成22年度の食中毒(疑い)時のノロウイルス遺伝子の解析により、当年度のノロウイルスの特徴の一端を把握することができた。今後も継続的にノロウイルスの遺伝子解析を進め、流行株のモニタリングを行い、食中毒発生時の原因及び集団内の感染経路の解明により、食中毒、感染症両面においてノロウイルス対策の一役を担うことができると考えられる。

文献

- 1) ウイルス性下痢症検査マニュアル(第3版), 平成15年7月.
- 2) T.Kageyama, *et al.*: J Clin Microbiol, 42, 2988-95, 2004.
- 3) L. C.Lindesmith, E F. Donaldson, & R.S.Baric: J Virology, 85, 231-242, 2011.

表1 福岡県における食中毒(疑い)事例で検出されたノロウイルスの遺伝子型(年別)

	H18	H19	H20	H21	H22
GⅠ/3	-	-	-	1	-
GⅠ/4	-	2	-	-	-
GⅠ/7	-	-	-	-	1
GⅠ/8	-	2	-	3	1
GⅠ/11	-	-	-	-	1
GⅠ/12	-	-	-	-	1
GⅠ/14	-	-	-	-	-
GⅡ/2	1	2	-	1	-
GⅡ/3	-	1	-	-	1
GⅡ/4	9	15	6	4	4
GⅡ/12	-	-	-	3	3
GⅡ/13	-	-	-	-	4
GⅡ/14	-	-	-	1	-
GⅡ/17	-	-	-	1	-

*2つ以上の遺伝子型が検出された事例含む

表2 福岡県における食中毒(疑い)事例(平成22年度)で検出されたノロウイルスの遺伝子型

事例	初回搬入日	検査材料	検体番号	遺伝子型	
				GⅠ	GⅡ
事例1	10月31日	従事者便	FE29		GⅡ/4
		従事者便	FE35		GⅡ/4
事例2	11月10日	患者便	FE44		GⅡ/4
		患者便	FE45		GⅡ/4
事例3	11月19日	患者便	FE62		GⅡ/4
		患者便	FE64		GⅡ/4
		患者便	FE65		GⅡ/4
事例4	1月25日	患者便	FE80	GⅠ/7	GⅡ/13
		患者便	FE81	GⅠ/7	GⅡ/12
		患者便	FE82	GⅠ/7	GⅡ/13
		患者便	FE83	GⅠ/7	GⅡ/3
		患者便	FE84		GⅡ/13
		患者便	FE85	GⅠ/12	GⅡ/13
事例5	1月28日	患者便	FE86		GⅡ/12
		患者便	FE87		GⅡ/12
		患者便	FE88		GⅡ/12
		患者吐物	FE89		GⅡ/12
		患者便	FE90		GⅡ/12
		患者吐物	FE91		GⅡ/12
		患者便	FE96		GⅡ/12
		患者便	FE97		GⅡ/12
		患者便	FE98		GⅡ/12
		患者便	FE99		GⅡ/12
		従事者便	FE100		GⅡ/12
		従事者便	FE101		GⅡ/12
		事例6	2月1日	患者便	FE102
患者便	FE103				GⅡ/12
患者便	FE106				GⅡ/12
従事者便	FE107				GⅡ/12
患者便	FE108				GⅡ/12
従事者便	FE110				GⅡ/12
事例7	2月17日	患者便	FE113		GⅡ/13
		患者便	FE114		GⅡ/13
		患者便	FE115		GⅡ/13
		患者便	FE116		GⅡ/13
		患者便	FE117		GⅡ/13
		患者便	FE118		GⅡ/13
		患者便	FE119		GⅡ/13
		患者便	FE120		GⅡ/13
事例8	2月24日	患者便	FE123		GⅡ/13
		患者便	FE124		GⅡ/13
		患者便	FE125		GⅡ/13
		患者便	FE126		GⅡ/13
		患者便	FE127		GⅡ/13
		患者便	FE128		GⅡ/13
		患者便	FE129		GⅡ/13
		患者便	FE130		GⅡ/13
		患者便	FE131		GⅡ/13
		患者便	FE132		GⅡ/13
		患者便	FE133		GⅡ/13
		患者便	FE134		GⅡ/13
		患者便	FE135		GⅡ/13
		患者便	FE136	GⅠ/11	
		事例9	3月1日	患者便	FE138
患者便	FE139				GⅡ/13
患者便	FE140				GⅡ
事例10	3月4日	患者便	FE141		GⅡ/13
		患者便	FE142	GⅠ/8	
事例11	3月7日	患者便	FE143		GⅡ/4
		患者便	FE144		GⅡ/4
		患者便	FE145		GⅡ/4
		患者便	FE146		GⅡ/4
事例12	3月20日	患者便	FE147	GⅠ/14	
		患者便	FE152	GⅠ/14	
		患者便	FE155	GⅠ/14	
		患者便	FE156	GⅠ/14	
		患者便	FE157	GⅠ/14	
		患者便	FE163	GⅠ/14	
事例12	3月20日	患者便	FE164	GⅠ/14	
		患者便	FE164	GⅠ/14	

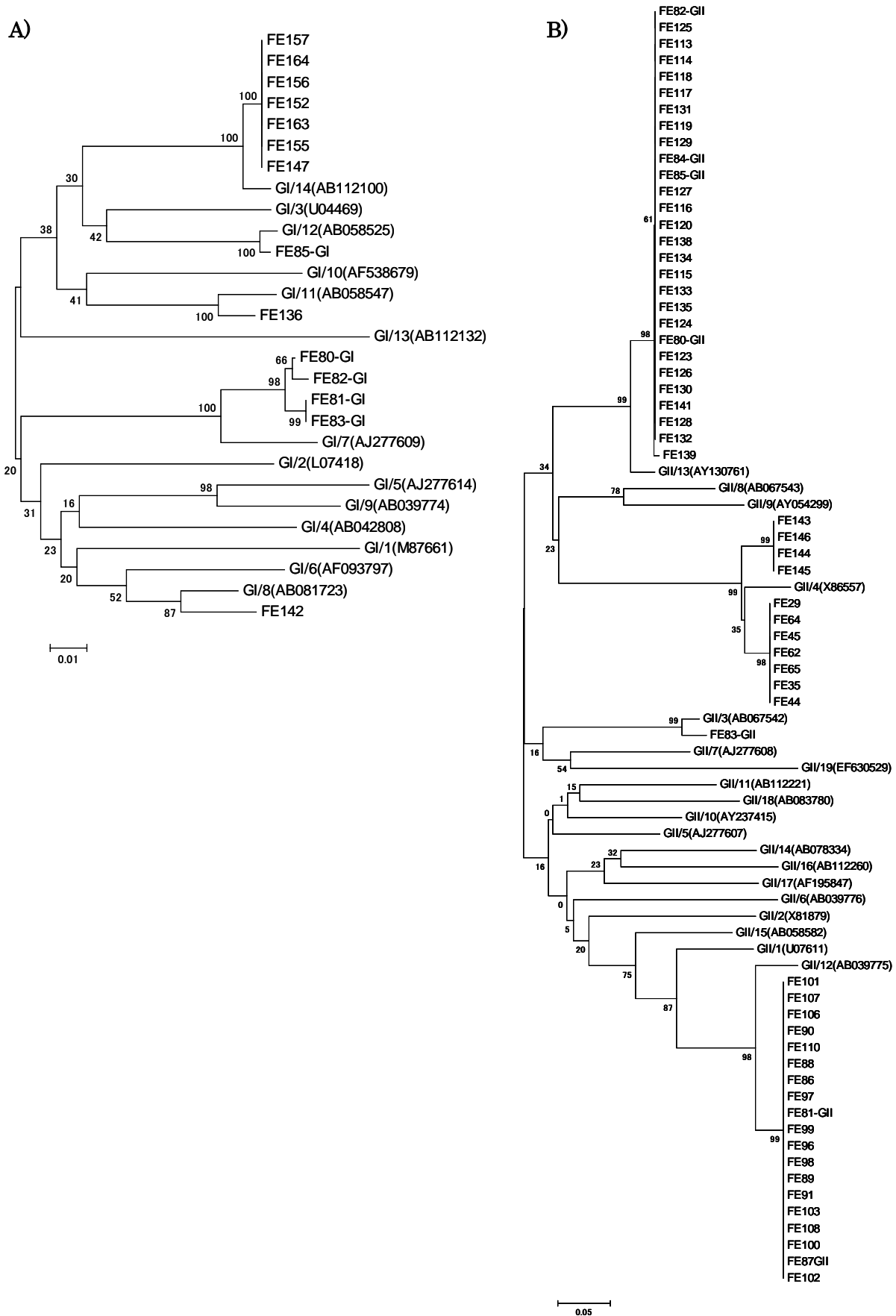


図1 福岡県における食中毒（疑い）事例（平成22年度）で検出されたノロウイルスの系統樹 A) GI 遺伝子、B) GII 遺伝子