

ノロウイルスが検出されない下痢症患者における アストロウイルス，サポウイルス，アイチウイルスの調査

山崎俊治・若月紀代子・真鍋和義・武田昭

福岡市保健環境研究所保健科学部門

Survey of *Astrovirus*, *Sapovirus* and *Aichivirus*
in diarrhea patients where *Norovirus* was undetected

Shunji YAMASAKI, Kiyoko WAKATSUKI, Kazuyoshi MANABE,
and Akira TAKEDA

Health Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

要旨

ノロウイルスが検出されない下痢症患者について，RT-PCR 法を用い，下痢症の原因ウイルスとして知られているアストロウイルス，サポウイルス，アイチウイルスの検査を行った．その結果，アイチウイルスでは，有症苦情 38 検体中 1 検体，感染症動向調査事業の 38 検体中 1 検体からウイルス遺伝子が検出された．一方，アストロウイルスおよびサポウイルスは全検体から検出されなかった．

Key Words : 下痢症 diarrhea , ノロウイルス *Norovirus* ,
アストロウイルス *Astrovirus* , サポウイルス *Sapovirus* , アイチウイルス *Aichivirus*

はじめに

平成 9 年 5 月 30 日食品衛生法施行規則の一部が改正され，食中毒の原因物質として小型球形ウイルスおよびその他のウイルスが追加された．中でもウイルス性食中毒の主な原因物質がノロウイルス（以下 NV）であることから，当時の厚生省が NV の検査法を示し，それに基き多くの地方衛生研究所で NV の検査を行っている．しかし他の下痢症を起こす可能性のあるウイルスについては検査法が示されていないこともあり，NV に比べあまり調査が行われていない．

NV 以外にヒトに感染して下痢症を起こすと考えられているウイルスには，乳幼児下痢症を起こすロタウイルス，アストロウイルス（以下 AstV），NV と同じカリシウイルス科に属するサポウイルス（以下 SV），ピコルナウイルス科に属するアイチウイルス（以下 AiV），腸管アデノウイルス 40/41 型等がよく知られている¹⁾．

当所では平成 14 年度より九州衛生環境技術協議会の共同研究として AstV，SV および AiV の遺伝子検出を行い，食中毒への関連性について調査している．今回，有症苦情事例に加えて感染症動向調査事業検体について調査したので報告する．

実験方法

1. 材料

平成 14 年 4 月から平成 16 年 3 月の期間に発生した有症苦情として当所に搬入され NV が検出されなかった 12 事例 38 検体，および平成 13 年 1 月から平成 16 年 3 月にかけて当所に搬入された感染症発生動向調査事業の検体で下痢または胃腸炎の症状を呈し，かつ NV が検出されなかった 38 検体を対象とした．

2. 前処理

ふん便・吐物を 10%乳剤として、3000rpm で 30 分冷却遠心し、上清を QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN) を用いて RNA を抽出した。

3. RT-PCR

国立感染症研究所の示した方法²⁾で cDNA を作製し、ウイルス分科会共同研究マニュアルに従い³⁾PCR 法を行い遺伝子検出を行った。AstV、SV および AiV の遺伝子検出には各々に特異的なプライマーセット^{4,5)}を使用した。1st PCR で遺伝子産物が認められた場合には Nested PCR で確認検査を行った。1st および Nested PCR には表 1 に示したプライマーを使用した。また陽性となった検体はダイレクトシーケンスを用い塩基配列を決定した。

表 1 使用したプライマー

		Primer
Astrovirus	1st PCR	Mon269/mon270
	Nested PCR	Mon224/82b
Sapovirus	1st PCR	SV-F11/SV-R1
	Nested PCR	SV-F2/SV-R2
Aichivirus	1st PCR	C6261/C6779
	Nested PCR	C94b/264K

実験結果及び考察

AiV は有症苦情 38 検体中 1 検体、感染症発生動向調査 38 検体中 1 検体から検出された。陽性となった 2 検体をダイレクトシーケンスで塩基配列を決定した結果、AiV 標準株 (accession no. AB010145) と塩基配列の同一性は 97 %であった。一方、AstV および SV は今回の検体からは検出されなかった (表 2)。

福岡市では平成 13 年から平成 15 年にかけて NV を有症苦情検体から 45.6 %、感染症動向調査事業検体から 22 %検出している。NV の検出率は AstV、SV および AiV に比べて高く、有症苦情では 63 事例中 48 事例(76.2 %)で NV の関与が認められている。また、福田らは乳幼児感染性胃腸炎患者から NV (23.6 %)、AstV (3.2 %)、SV (2.5 %)を検出したと報告している⁶⁾。下痢症の多くが NV に起因していると示唆される。今回 AstV、SV が 1 検体も検出できなかったことから福岡市では少なくとも平成 14 年 4 月から平成 16 年 3 月の間に AstV、SV の流行はなかったことが示唆された。また胃腸炎の集団発生事例で RT-PCR 法により 37 事例中 12 例(32.4 %)で AiV の関与が認められた報告⁷⁾もあるが、今回の調査では AiV

は 50 事例中 2 事例 (4.0 %) の関与しか認められず大きく異なっている。これは AiV についても福岡市ではこれまでに大きな流行が発生していないと考えられる。

このように平成 14 年 4 月以来、福岡市では AstV、SV、AiV の大きな流行はなかったと考えられるが、今後流行が発生する可能性も考えられるので引き続き調査を行う必要があると思われる。

表 2 AstV、SV および AiV の検出結果

	AstV	SV	AiV
検体数	76	76	76
陽性数	0	0	2
陽性率	0	0	2.6

文 献

- 1) 牛島廣治：ヒト急性胃腸炎の起因ウイルス，総合臨床，51：2923-2927，2002
- 2) 国立感染症研究所：ウイルス性下痢症診断マニュアル (第 3 版)
- 3) ウイルス分科会共同研究マニュアル (改訂版 ver3)
- 4) JACQUELINE S. NOEL, TERRY W. LEE, JHON B. KURTZ, ROGER I. GLASS, and STEPHAN S. MONROE: Typing of Human Astrovirus From Clinical Isolates by Enzyme Immunoassay and Nucleotide Sequencing. Journal of Clinical Microbiology, Apr. 1995, p. 797-801
- 5) 山下輝男ほか：胃腸炎患者から分離された新型ピコルナウイルス (アイチウイルス) の RT-PCR 法による検出，臨床とウイルス，27，127-132，1999
- 6) 福田伸治ほか：乳幼児感染性胃腸炎患者における Norwalkvirus, Sapporovirus および Human astrovirus の検出状況と流行型，感染症誌，77：965-970，2003
- 7) 山下照夫：新型ピコルナウイルス「アイチウイルス」の性状と疫学，ウイルス，49 (2)，183-191，1999