

[ノート]

## 兵庫県における胃腸炎ウイルスの検出状況と遺伝子解析 (2019/20~2021/22 シーズン)

島本 章義\* 荻 美貴 押部 智宏 大岡 徹彦

### Prevalence and Molecular Characterization of Gastroenteritis Viruses in Hyogo Prefecture (2019/20–2021/22 Epidemic Seasons)

Akiyoshi SHIMAMOTO\*, Miki OGI, Tomohiro OSHIBE and Tetsuhiko OOOKA

*Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health Science,  
1819-14, Kanno, Kanno-cho, Kakogawa 675-0003, Japan*

Gastroenteritis virus tests were conducted on 51 samples from 25 cases of sporadic pediatric illness and 213 samples from 28 cases of outbreaks from September 2019 to August 2022, which includes the pandemic period of the COVID-19. As a result, gastroenteritis viruses were detected in 14 cases of sporadic pediatric illness and 15 cases of the outbreak. Gastroenteritis viruses detected in pediatric sporadic cases included nine cases of NoV, three cases of HAstV, and one case of SaV and PeV-A. RVA and EAdV were not detected. The viruses detected in the outbreak case were 14 cases of NoV and one case of SaV.

As a result of genetic analysis of NoV, G II.4 Sydney [P31] was the most prevalent during these three seasons, and was thought to be the main cause of the epidemic.

We will continue to strive to understand the epidemic situation through viral gene analysis in order to take measures to prevent infection and food poisoning.

#### I はじめに

感染性胃腸炎は、病原体による嘔吐、下痢を主症状とする感染症で、感染症法により5類定点把握疾患に定められている。起因病原体は細菌、ウイルス、寄生虫と様々であるが、ウイルスの占める割合が多く、代表的な胃腸炎ウイルスとしてノロウイルス（以下NoV）、サポウイルス（以下SaV）、A群ロタウイルス（以下RVA）、アストロウイルス（以下HAstV）などがあげられる。全国の地方衛生研究所による胃腸炎ウイルスの検出報告<sup>1)</sup>では、NoV

が最も多く、冬季に流行する胃腸炎の主要な要因となっている。

NoV はウイルス性食中毒の原因としても重要視されており、厚生労働省が実施している食中毒統計調査の病原因物質別発生状況<sup>2)</sup>によると、2022年のNoVによる食中毒の発生件数は、アニサキス（566件）、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ（185件）に次ぐ63件であり、患者数では1位（2175人）となっている。近年、検査技術の向上により、NoVを始めとする様々な胃腸炎ウイルスについて、同定や遺伝子型別が行われるようになり、これらの手法を用いてウイルスの詳細な性状を把握し、感染源や感染経路等の原因究明に役立てることは重要である。

本稿では、今後の胃腸炎の感染対策や食中毒予防に活かすために新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の

感染症部

\*別刷請求先：

〒675-0003 加古川市神野町神野 1819-14

兵庫県立健康科学研究所 感染症部 島本 章義

流行期と重なった 2019/20～2021/22 シーズンの感染性胃腸炎の患者発生状況を把握するとともに、小児散発症例や集団発生事例の起因ウイルスを検出し、その一部について分子疫学的に解析したので報告する。

## II 材料と方法

### 1. 感染性胃腸炎患者の発生状況

兵庫県感染症発生動向調査における 2009/10～2021/22 シーズンの小児科定点からの週別患者報告により、感染性胃腸炎患者の発生状況を把握した。第 36 週（8 月末～9 月初旬）から翌年の第 35 週（8 月）までの 1 年間に 1 シーズンとした。平年値は、COVID-19 流行前の 10 シーズン（2009/10-2018/19）の定点あたり累積患者報告数の平均値及び標準偏差（SD）を用いた。

### 2. 胃腸炎ウイルス検出と遺伝子解析

#### 2.1 調査対象

##### 2.1.1 小児散発症例

2019 年 9 月から 2022 年 8 月までに、感染症発生動向調査における病原体定点医療機関（小児科）を受診した感染性胃腸炎患者 25 例から採取された糞便又は腸内容物等の 51 検体を検査材料とした。

##### 2.1.2 集団発生事例

2019 年 9 月から 2022 年 8 月までに、当所に検体が搬入された食中毒事例（有症苦情事例を含む）28 事例の調理従事者及び有症者の糞便等 213 検体を検査材料とした。

#### 2.2 ウイルス遺伝子の検出と遺伝子型別

滅菌蒸留水で 10%乳剤とした糞便の遠心上清から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてウイルス RNA を抽出し、ランダムプライマーを用いた逆転写反応により cDNA を作製したのち、PCR 法によりウイルス遺伝子を検出した。

NoV については、国立感染症研究所が示した病原体検出マニュアルノロウイルス（第 1 版）<sup>3)</sup>に収載されたプライマー及びプローブを用いた Real-time PCR 法で遺伝子検出を行った。陽性となった検体は、Conventional PCR 法で Capsid 領域の一部と RdRp 領域の一部を含む領域を増幅し、この PCR 増幅産物についてダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。遺伝子型の型別は、Norovirus Typing Tool Version 2.0 (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>) 及び BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) を用いて行った。分子系統樹解析は、Capsid N/S 領域の一部 (291 塩基) 及び RdRp 領域の一部 (226 塩基) について、MEGA 11 ソフトウェアを用いて最尤 (ML) 法により行った。

SaV, RVA, HAstV, 腸管アデノウイルス (以下 EAdV) 及びパレコウイルス A 型 (以下 PeV-A) の遺伝子検出及び型別は既報<sup>4)</sup>の方法に従った。

## III 結果及び考察

### 1. 感染性胃腸炎患者の発生状況

県内の 2009/10～2021/22 シーズンにおける感染性胃腸炎の定点あたり累積患者報告数の推移を Fig.1 に示した。2019/20, 2020/21, 2021/22 シーズンの定点あたり累積患者報告数は、それぞれ 198.7, 162.3, 262.8 で平年値の  $370.3 \pm 41.7$  より、3 シーズンとも 2SD 以上低い値だった。

2019/20～2021/22 シーズンにおける週別定点あたり感染性胃腸炎患者報告数の推移を Fig.2 に示した。2019/20 シーズンは、2019 年第 51 週（12 月下旬）にピーク（患者報告数 9.3）に達した後、減少に転じ、2020 年第 19 週（5 月上旬）には、最小値 0.7 となった。この値は、過去 10 シーズンの患者報告数と比較しても最小であった。2020/21 シーズンでは、例年ピークを形成する第 51 週付近にピークは見られず、2021 年第 17 週（4 月下旬）の患者報告数 5.6 が最も多く、シーズンを通してほぼ横ばいで推移した。2021/22 シーズンは、2021 年第 41 週（10 月中旬）から増加傾向が続き、2021 年第 51 週（12 月下旬）にピーク（患者報告数 13.0）となり、一旦減少したが、2022 年第 13 週（3 月中旬）から第 23 週（5 月中旬）にかけて再び増加傾向がみられた。

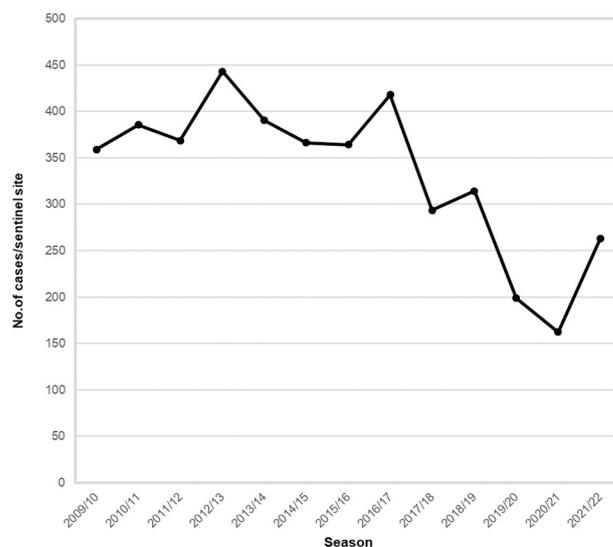


Fig.1 Total cases of infectious gastroenteritis per sentinel per season in Hyogo prefecture (2019/20-2021/22 season)

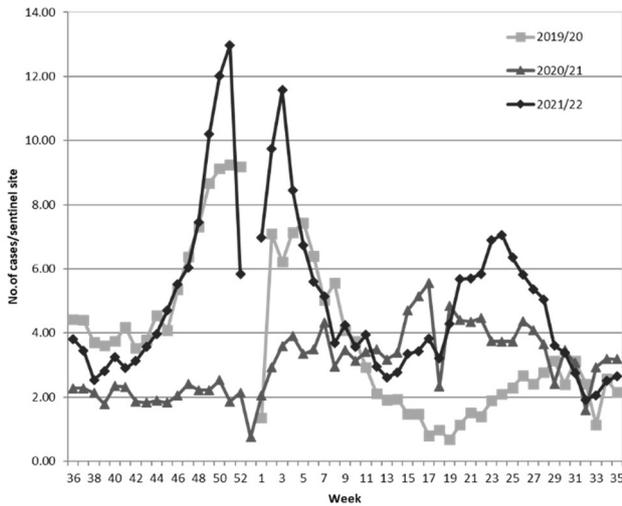


Fig.2 Weekly cases of infection gastroenteritis per sentinel in Hyogo prefecture (2019/20-2021/22 season)

2019/20 及び 2020/21 シーズンでは COVID-19 の感染拡大のため、2020 年 4 月から 2022 年 3 月まで緊急事態措置とまん延防止等重点措置が繰り返し実施され、行動制限や自粛による経済社会活動が抑制され感染機会が減少したことや、軽症患者の受診控え等の影響により、累積患者報告数は過去最低水準となった。一方、2021/22 シーズンは、累積患者報告数は平年に比べて少ない状況であったが、前の 2 シーズンより患者数は増加した。流行がみられた 2021 年 12 月下旬は、2021 年 9 月 30 日 (第 39 週) の緊急事態措置解除から再び 2022 年 1 月 27 日

(第 4 週) のまん延等重点措置が開始されるまでの期間であり、行動制限がなくなり感染機会の増加によるものと考えられた。

2. 胃腸炎ウイルスの検出と遺伝子解析

2.1 胃腸炎ウイルスの検出状況

2019/20~2021/22 シーズンにおける小児散発症例のウイルス検出状況を Table 1 (A) に示した。25 例のうち、NoV は 9 例、HAstV は 3 例、SaV、PeV-A はそれぞれ 1 例から検出され、RVA 及び EAdV は検出されなかった。累積患者報告数が 3 シーズンで最も少なかった 2020/21 シーズンは、検査した症例が 4 例と少なく、NoV は検出されず、PeV-A のみが検出された。患者年齢は 2 歳が最も多く 6 例(42.9%)、次いで 1 歳が 4 例(28.6%)、3 歳が 4 例 (28.6%) であった。

2019/20~2021/22 シーズンにおける集団発生事例のウイルス検出状況を Table 1 (B) に示した。28 事例のうち、NoV は 14 事例 (50.0%)、SaV は 1 事例 (3.6%) から検出された。そのうち 2019/20 シーズンが 12 事例と最も多かったが、すべて COVID-19 流行前に発生した食中毒であった。2020/21 シーズンは小児の散発症例から NoV は検出されなかったが、食中毒 1 事例から NoV が検出された。NoV 陽性の 14 事例の原因施設の内訳は、飲食店が 12 事例 (85.7%)、仕出しが 1 事例 (7.1%)、社会福祉施設が 1 事例 (7.1%) であり、飲食店由来の事例が最も多かった。SaV 陽性 1 事例の原因施設は飲食店であった。

Table 1 Number of gastroenteritis viruses detected from sporadic cases in children (A) and outbreak cases (B) in Hyogo prefecture (2019/20-2021/22 season)

(A)

Season	No.of cases	Total(%)	Number of detected gastroenteritis viruses (%)					
			NoV	SaV	RVA	AstV	EAdV	PeV-A
2019/20	11	7 (63.6)	6 (85.7)	1 (14.3)				
2020/21	4	1 (25.0)						1 (100)
2021/22	10	6 (60.0)	3 (50.0)			3 (50.0)		
Total	25	14 (56.0)	9 (64.3)	1 (7.1)	0	3 (21.4)	0	1 (7.1)

(B)

Season	No.of cases	Total(%)	Number of detected gastroenteritis viruses (%)	
			NoV	SaV
2019/20	17	12 (70.6)	11 (91.7)	1 (8.3)
2020/21	5	1 (20.0)	1 (100.0)	
2021/22	6	2 (33.3)	2 (100.0)	
Total	28	15 (53.6)	14 (93.3)	1 (6.7)

## 2.2 胃腸炎ウイルスの遺伝子型別と系統樹解析

小児散発症例における NoV の遺伝子型別検出状況を Table 2 (A) に示した。NoV 陽性 9 例の遺伝子型は、すべて G II.4 Sydney であった。

集団発生事例における NoV 遺伝子型別検出状況を Table 2 (B) に示した。解析できた遺伝子型の内訳は、G II.4 Sydney が 6 事例 (46.2%) で最も多く、G II.2 が 4 事例 (30.8%)、G II.17 が 2 事例 (15.4%)、G I.4 が 1 事例 (7.7%) であった。1 事例は G I.2 と G II.2 の混合感染だった。

G II.4 Sydney の 19 株 (小児散発症例 : 9 例 9 株, 集団発生事例 : 6 事例 10 株), G II.2 の 10 株 (集団発生事例 : 4 事例 10 株) 及び G II.17 の 9 株 (集団発生事例 : 2 事例 9 株) について、Capsid N/S 領域の一部 (291 塩基) 及び RdRp 領域の一部 (226 塩基) における系統樹解析を行った (Fig.3)。

G II.4 Sydney の 19 株はすべて G II.4 Sydney [P31], G II.2 株の 10 株は G II.2 [P16], G II.17 の 9 株は G II.17 [P17] に分類された。G II.2 [P16] は 2016/17~2018/19 の小児散発症例, 集団発生事例の両方で最も多く検出された遺伝子型であったが, 2019/20~2021/22 シーズンでは G II.4 Sydney [P31] が高頻度に検出されたことから, 2019/20 シーズン以降は, G II.4 Sydney [P31] が流行の主体であったと考えられた。このうち 2019/20 シーズンの小児散発症例由来の 4 株と食中毒事例由来の 2 事例 2 株の Capsid N/S 領域, RdRp 領域の塩基配列が一致した。

2016年に国内では大阪市で初めて検出<sup>9)</sup>された組換え

ウイルスである G II.4 Sydney [P16] は, 兵庫県内でも 2018/19 シーズンに検出<sup>9)</sup>されたが, 今回の 2019/20~2021/22 シーズンでは検出されなかった。しかしながら, 2020年2月に大阪府<sup>9)</sup>, 2021年度に東京都での検出<sup>7)</sup>が報告され, また, 2020年以降中国の上海地域での流行<sup>8)</sup>が報告されていることから, 引き続き今後の動向に注視する必要があると思われた。

2021/22 シーズンは, 食中毒事例から, G II.2 [P16] と G II.17 [P17] がそれぞれ 1 事例から検出された。G II.17 [P17] は 2021 年に東京で発症した複数の食中毒事例からの検出<sup>9)</sup>が報告されており, 県内では 2016/17 シーズン以降, 2020/21 シーズンを除いたすべてのシーズンで検出されているため, 今後も継続して監視する必要がある。

NoV 以外の遺伝子型は, HAstV の 3 例はすべて 1 型, PeV-A の 1 例は A1 型であった。SaV については, 小児散発症例由来の 1 例から G II.3, 集団発生事例 1 事例から G I.2 が検出された。SaV は, 食中毒事例や集団発生事例を引き起こすことがあり, 2019/20 シーズンに当所で検出された事例の他にも, 2018 年には島根県において GV.1 による食中毒事例<sup>10)</sup>, 2019 年には静岡県において G I.5 による集団感染事例<sup>11)</sup>が報告されている。NoV に比較し集団発生事例で検出されることは少ないものの, 嘔気, 嘔吐, 下痢を主症状とし, ウイルス汚染食材や調理従事者を介して感染するため留意する必要がある。これらの原因ウイルスについて, 遺伝子型別を行い流行の推移を注視することが重要である

Table 2 NoV genotypes detected from sporadic cases in children (A) and outbreak cases (B)

Genotype	Number of detection			Total
	2019/20	2020/21	2021/22	
G II.4 Sydney	6		3	9
Total	6		3	9

(B)

Genotype	Number of detection			Total
	2019/20	2020/21	2021/22	
G I.4	1			1
G II.2	3		1	4
G II.4 Sydney	5	1		6
G II.17	1		1	2
G I.2 & G II.2	1			1
Total	11	1	2	14

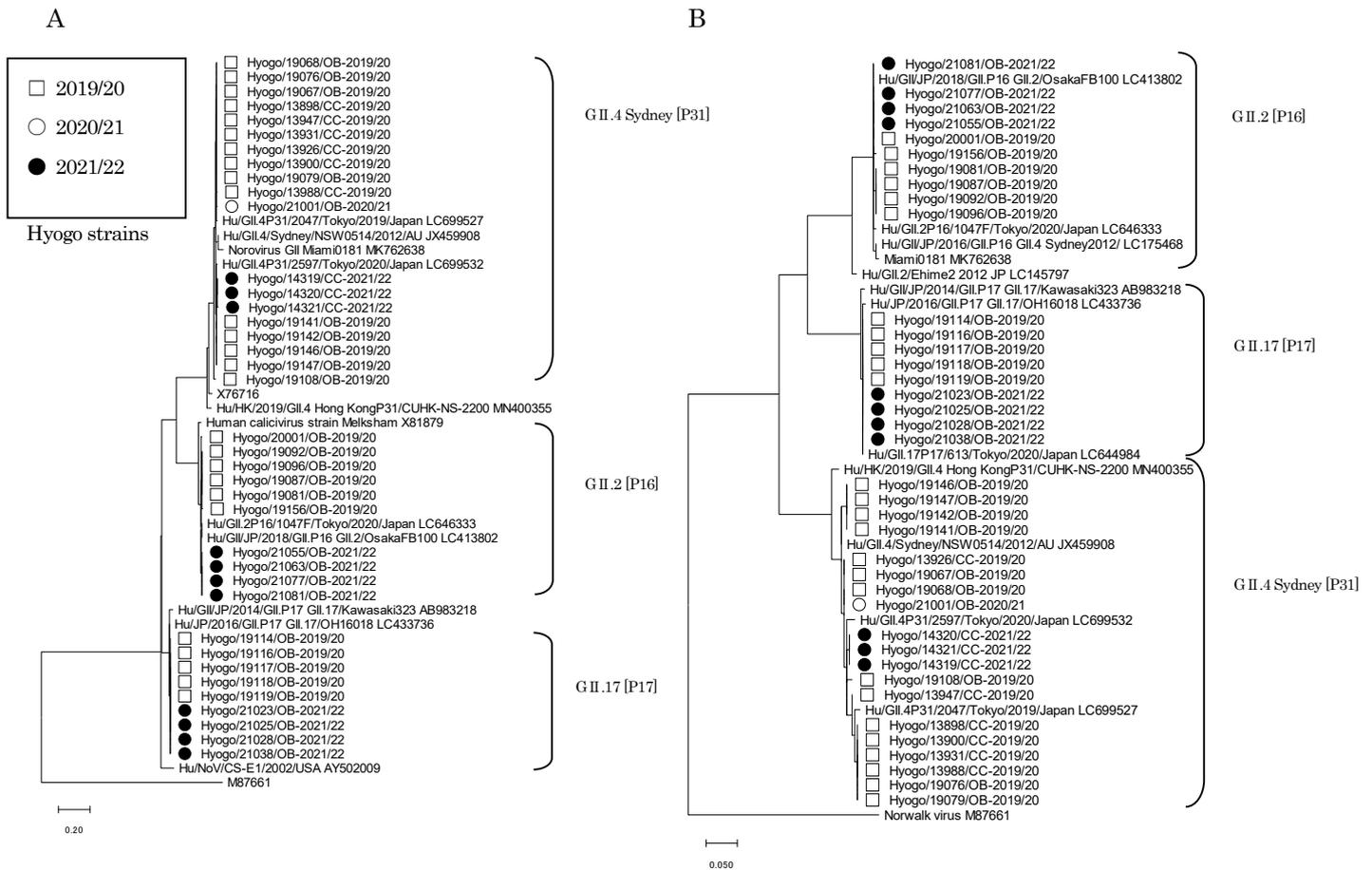


Fig.3 Phylogenetic analysis of the partial capsid N/S region (291nt) of norovirus G II.2, G II.4 and G II.17 strains (A) and the partial RdRp region (226nt) of norovirus G II. P16, G II. P17 and G II. P31 strains (B)

IV 結論

COVID-19の流行期と重なった2019年9月から2022年8月までの小児散発症例25例由来の51検体及び集団発生事例28事例由来の213検体について胃腸炎ウイルスの検査を実施し、小児散発症例14例、集団発生事例15事例から胃腸炎ウイルスを検出した。

小児散発症例から検出された胃腸炎ウイルスは、NoVが9例、HAstVが3例、SaV、PeV-Aがそれぞれ1例であり、RVA及びEAdVは検出されなかった。集団発生事例で検出されたウイルスはNoVが14事例、SaVは1事例であった。NoVの遺伝子解析の結果、3シーズンを通じてG II.4 Sydney [P31]が最も多く、流行の主体であったと考えられた。

今後とも、胃腸炎ウイルスの詳細な性状を確認することで原因究明に役立て、感染対策や食中毒予防に資するため、引き続きサーベイランスを行い流行状況の把握に努めていきたい。

謝辞

本研究を実施するにあたりご協力いただいた県保健医療部感染症等対策室感染症対策課、生活衛生課、健康福祉事務所及び検体採取にご協力いただいた関係機関の皆様方に深謝いたします。

文献

- 1) 国立感染症研究所：ノロウイルス等検出速報 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html>
- 2) 厚生労働省：食中毒統計資料 [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html)
- 3) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアルノロウイルス（第1版）（2019）
- 4) 高井伝任，荻美貴，押部智宏，近平雅嗣，秋山由美：兵庫県における胃腸炎ウイルス検出状況と遺伝子解析（2016/17～2018/19シーズン）. 兵庫県立健康科学

- 研究所研究報告, 2, 25-31 (2020)
- 5) 国立感染症研究所: G2 型の A 群ノロウイルスによる感染性胃腸炎集団事例, 2016 年—大阪市. 病原微生物検出情報 (IASR), 37 (7), 136-138 (2016)
  - 6) 白井達哉, 左近直美, 高田利香, 本村和嗣: 大阪府の食中毒事例で検出されたノロウイルス流行状況と分子疫学的解析 (2019・2020 年度). 地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報, 5, 18-24 (2021)
  - 7) 矢尾板優, 長谷川道弥, 浅倉弘幸, 永野美由紀, 林志直, 根岸あかね, 河上麻美代, 林真輝, 山崎貴子, 黒木絢士郎, 磯貝まや, 北村有里恵, 加來英美子, 藤原卓士, 鈴木淳, 三宅啓文, 長島真美, 貞升健志: 東京都内で検出されたノロウイルスの遺伝子解析 (2021 年度). 東京都健康安全研究センター研究年報, 73, 123-130 (2022)
  - 8) Ao, Y., Lu, L., Xu, J.: Emergence of GII.4 Sydney[P16]-like Norovirus-Associated Gastroenteritis, China, 2020-2022. *Emerg Infect Dis.*, 29 (9), 1837-1841 (2023)
  - 9) 国立感染症研究所: 同一の調理従事者が勤務した複数の飲食店におけるノロウイルス GII.17 [P17] による食中毒事例. 病原微生物検出情報 (IASR), 42 (8), 170-171 (2021)
  - 10) 国立感染症研究所: 自校調理施設を有する中学校でのサポウイルス食中毒事例—島根県. 病原微生物検出情報 (IASR), 40 (5), 90-91 (2019)
  - 11) 国立感染症研究所: 小学校で発生したサポウイルスによる集団感染性胃腸炎事例—静岡県. 病原微生物検出情報 (IASR), 40 (6), 108-109 (2019)

(令和 6 年 3 月 29 日受理)