

病原微生物検出情報

Infectious Agents Surveillance Report (IASR)

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr.html>

月報

Vol.45 No.12 (No.538)

2024年12月発行

国立感染症研究所
厚生労働省健康・生活衛生局
感染症対策部感染症対策課

事務局 感染研感染症疫学センター

〒162-8640 新宿区戸山1-23-1

Tel 03 (5285) 1111

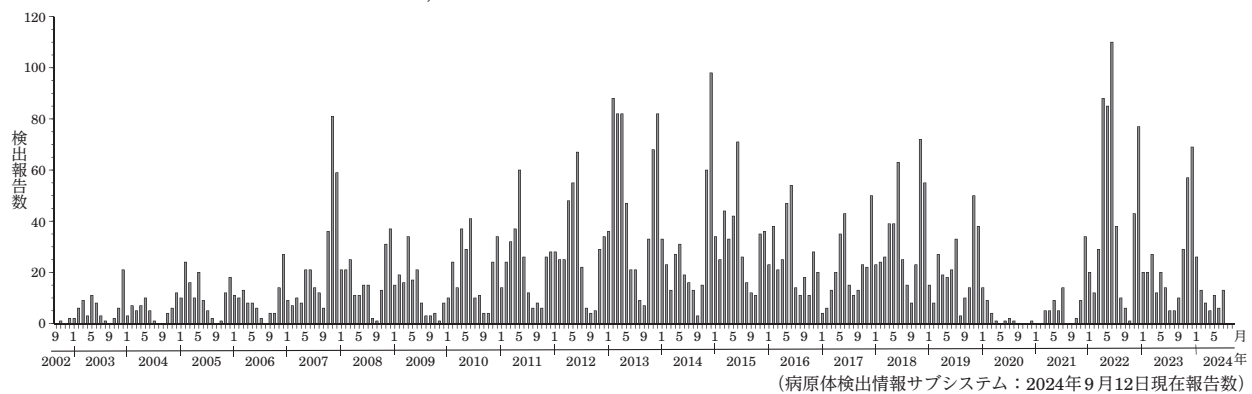
(禁、無断転載)

世界に認知されたSaV一発見と命名への日本の貢献3, SaVと他の下痢症ウイルスの同時検出に向けた取り組み：新潟県4, 胃腸炎集団事例解析SaV検出フローの見直し：若手県5, 食品衛生におけるSaV7, 感染症発生動向調査等で検出されたSaV(2002～2023年)：熊本県9, 2010/11～2023/24シーズンSaV流行の特徴と遺伝子群および遺伝子型の変遷：三重県10, 集団感染性胃腸炎等から検出されたSaV(2010/11～2023/24シーズン)：栃木県12, SaV検出状況(2019～2023年)：千葉県13, SaV集団嘔吐下痢症事例：静岡県15, 保育施設におけるSaVによる急性胃腸炎集団感染事例の集積：宮城県16, SaVの分離・増殖系の確立と応用17, EV-D68による重篤な喘息様の病態で集中治療管理を要した小児例：東京都19, 2024年に経験した輸入症例を起点とした麻疹広域集積事例の疫学および分子疫学解析：大阪府20, CODEHOP VP1 RT-semi-nested PCRの原法と変法によるEVおよびHRV遺伝子検出の比較検討22

本誌に掲載されている特集の図、表は、1)「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づく感染症発生動向調査によって報告された患者および病原体検出に関するデータ、ならびに2)感染症に関する上記1)以外のデータ、に基づいて解析、作成された。データは次の諸機関の協力により提供されている：地方衛生研究所、保健所、地方感染症情報センター、厚生労働省検疫所、健康・生活衛生局。なお掲載されている原稿は、本誌から執筆を依頼したものである。

<特集> サポウイルス

図1. 検体採取月別サポウイルス検出報告数, 2002/03～2023/24シーズン



疾患の概要

サポウイルスは、ノロウイルスと同じカリシウイルス科に属するノンエンベロープのRNAウイルスである。サポウイルスはノロウイルス同様、下痢や嘔吐を主訴とする急性胃腸炎を引き起こし、糞便中に大量のウイルスが排泄される。なお、ワクチンや特異的な治療法はない。罹患者は年齢にかかわらず発症し、症状だけではノロウイルス感染症と区別することはできない(本号3ページ)。再感染事例や不顕性感染者もみつかっている。実用的な抗原検出キットが開発されていないため、サポウイルスのスクリーニングは核酸検出系による検査で行われている(本号4-5&9-16ページ)。

疫学、病原体情報(集団発生事例、食中毒事例、遺伝子型、流行株)

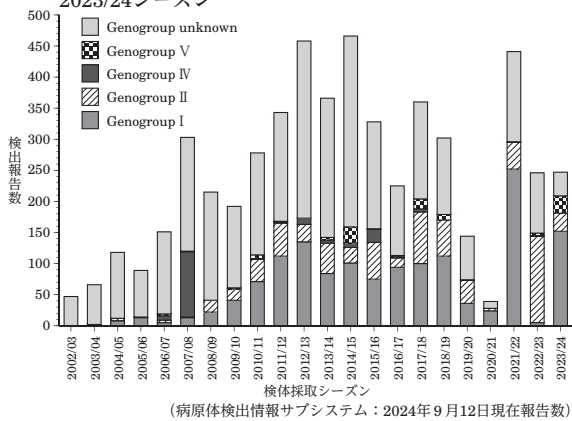
サポウイルスは、感染症法における5類定点把握対象疾患である感染性胃腸炎の原因病原体の1つであるが、サポウイルスによる感染性胃腸炎のみを示す発生動向(患者情報)は日本にはない。地方衛生研究所(地衛研)が感染症発生動向調査の病原体定点(小児科定点のうちの約10%)で感染性胃腸炎患者から採取された便材料や集団発生例の調査などで採取された検体の病原体検査を行い、感染症サーベイランスシステムの病原体検出情報サブシステムへの報告を行っている(病原体サーベイランス)。図1は病原体検出情報サブ

システムに報告されたサポウイルス検出数に基づいて作成されている。サポウイルスは夏季に検出数が少なくなるものの通年検出されている(本号9ページ)。2022年は、病原体検出情報サブシステムでの集計開始以来、最も多くのサポウイルスが報告された2013年に次ぐ報告数であった(図1)。ヒト-ヒトおよび食品媒介性と考えられるサポウイルス集団発生事例(<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/230410/norosyu241002.gif>)が、保育所、幼稚園、小学校や(本号5&12-16ページ)、福祉養護施設、老人ホーム、病院、ホテル、家庭等で発生しており、飲食店、宴会場での集団食中毒事例の報告もある(https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/230410/saposui4_241002.pdf)。サポウイルスの集団事例の発生場所、推定伝播経路(ヒト-ヒト伝播の疑い、食品媒介の疑い)はノロウイルスと同様である。

サポウイルスは、ウイルス粒子を形成する主要構造蛋白質VP1の配列により、少なくとも19のgenogroup(G)I-XIXに分けられる。ヒトからはGI, GII, GIV, GVが検出され、これらはさらに少なくとも18の遺伝子型(GIは7つ, GIIは8つ, GIVは1つ, GVは2つ)に分類される。検出されたサポウイルスの遺伝子型の決定は任意の参照株を含めた系統樹の作成(本号4&13ページ)か、オンラインタイピングツール〔Human (2ページにつづく)〕

(特集つづき)

図2. サポウイルスgenogroup別検出報告数, 2002/03～2023/24シーズン



Calicivirus Typing Tool (<https://calicivrustypingtool.cdc.gov/>) もしくはNorovirus Typing Tool Version 2.0 (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>)で行うことができる。G I.1をはじめとして多様な遺伝子型が検出されているが(本号4, 5&9-16ページ), 現在の病原体検出情報サブシステムではgenogroupのみが集計されている。

病原体検出情報サブシステムでG I, G II, G IV, G Vすべての集計が始まった2006年以降, G IもしくはG IIの報告が多い(図2)。ただし, 2007年にはgenogroup分類できたサポウイルスの90%以上をG IVが占めた(図2および本号9ページ)。このように年によってgenogroupの流行パターンが変化する点は, 常にG IIが感染性胃腸炎患者便からの検出株の主流を占めるノロウイルスにはない特徴である。

サポウイルスは乳幼児から高齢者まで全年齢から検出されているが(本号3ページ), 病原体検出情報サブシステムへ報告されたサポウイルスはG IVを除き, 15歳以下の年齢からの検出が95%程度もしくはそれ以上となっている(図3)。

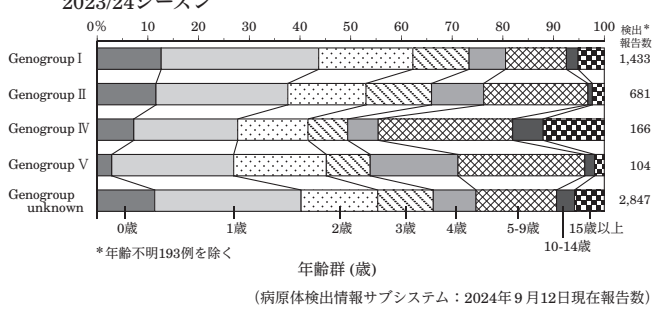
海外の状況

サポウイルスは海外でも検出されている。検出国・地域による検出株の明確な差は見出されていない。国内でG IVが主流を占めた2007年には, 北米(米国, カナダ)でもG IVが多く報告された。

現在の課題

感染性胃腸炎の病原因子調査は, 現状ノロウイルスの検索が優先されている。サポウイルスによる食中毒事例も報告があるものの(本号7ページ, <https://www.niph.go.jp/h-crisis/archives/136699/>, https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/230410/saposui4_241002.pdf), 厚生労働省食中毒統計にはサポウイルスはほとんど現れてこない(本号7ページ)。複数の感染性胃腸炎原因ウイルスの同時検索により, サポウイルスとノロウイルスなどの混合感染事例もみつまっている(本号4, 5, 9, 12&16ページ)。また病原体検出マニュアル(<https://www.niid.go.jp/niid/>

図3. サポウイルス検出例のgenogroup別年齢分布*, 2002/03～2023/24シーズン



ja/labo-manual.html#class5「サポウイルス」に記載のサポウイルスgenogroup特異的RT-PCRを用いることで, 同一事例や同一検体から異なるgenogroupのサポウイルスが検出される例も報告されている(本号5&16ページ)。病原体定点医療機関等より感染性胃腸炎と診断された症例から検出された病原体は, ノロウイルスの報告数が多いが, 一部の地衛研では1～2シーズンごとにサポウイルスがノロウイルスと同等以上に報告されている(本号10ページ, IASR 44: 62-64, 2023)。ノロウイルスに加えて, サポウイルスの検索を同時に行っていくことでサポウイルス感染症の実態把握につながる。

新たな展開

ヒト十二指腸由来の細胞株を用いた効率的なヒトサポウイルス増殖系が確立され, 現在までに15遺伝子型(G I.1-7, G II.1-5, -8, G V.1-2)のウイルス株が分離された(本号17ページ)。分離ウイルスを用いた不活化や浄水過程におけるウイルス除去条件の評価に向けた検討も始まっている。

終わりに

本号では感染性胃腸炎の主要な原因ウイルスとして近年, 注目度があがってきたサポウイルスについて, その歴史的経緯(本号3ページ)と, 病原体検出情報サブシステムでの集計結果(前ページ図1および図2&3), そして, 地衛研における小児科定点, 集団事例からのサポウイルスの解析手法と検出結果の現状(本号4-7および9-17ページ)についてまとめた。今回の特集号の作成にあたり, 症状, 患者年齢, 検出時期, 集団事例の発生場所, 伝播経路がノロウイルスと明確に区別できないサポウイルスは, ノロウイルスの検出に重点を置く従来のサーベイランス体制では, 同時検出対象になっていない場合に見落とされてきた可能性があること(本号5ページ), 地衛研において遺伝子型別を行っても病原体検出情報サブシステムで集計する体制になっていないこと, 食中毒統計では「その他ウイルス」として集計されることなど, サポウイルスの検出や集計がされにくい背景も露わになった(本号7ページ)。

サポウイルス感染症の実態把握には, ノロウイルスとサポウイルスの同時検索の実施とともに, 検出結果の集計体制および情報の入手性の改善, 整備が必要である。

<特集関連情報>

世界に認知されたサポウイルス—発見と命名への日本の貢献

サポウイルス (Sapovirus: SaV) はその発見から長い間、主に5歳未満の小児に急性胃腸炎を引き起こすと考えられてきた^{1,2)}。しかし、RT-PCR法によるSaV遺伝子の検出法が普及するにつれて、その遺伝的多様性が明らかになるとともに、学童や成人における感染や食中毒との関連など、臨床的にも新知見が得られつつある^{3,4)}。

本稿では、SaV発見当初の経緯と、なぜサポウイルスと命名されたのか、その歴史的背景について解説したい。ノロウイルス (Norovirus: NoV) もSaVと同じcalicivirus科に属し、ヒトに急性胃腸炎を引き起こすが、歴史的にヒトcalicivirusという表記は、現在のSaVとほぼ同義である。

サポウイルス研究と命名に関する歴史的経緯

SaVの発見と研究の歴史については、札幌医科大学名誉教授であった故・千葉峻三先生の論文^{1,5)}に詳しく記載されており、そのまとめを表1(文献5より引用)に示す。札幌医科大学小児科は1979~1997年までの約20年間に、サッポロウイルスの発見から、抗原的・遺伝的多様性の認識までかかわってきた。論文内と表には、SaVのプロトタイプであるサッポロウイルス (Sapporo virus: SV) と表記されている。

Calicivirusに特徴的な表面構造を持つウイルスがヒトから初めて検出されたのは、1976年、英国においてである(表1)。多数の乳幼児の糞便検体を対象に、電子顕微鏡 (EM) 法によってウイルスのスクリーニングを行ったところ、10人の乳幼児(8人が生後2か月児)の糞便から“ダビデの星”と形容される、動物calicivirusに特徴的な表面構造を持つウイルス粒子が確認された。軟便もしくは下痢といった軽症の胃腸炎症状を呈する者もいたが、必ずしも胃腸炎症状とウイルス検出がパラレルではなく、この時点では胃腸炎ウイルスかどうかは不明であった。また、それらの株の抗原解析や遺伝子解析はなされていない。

その後、ノルウェー、カナダ、英国、日本の急性胃腸炎散発例、入院例や集団発生例から同様なウイルス粒子の検出が報告された³⁾。Chibaらは、1977年に札幌市の乳児院においてみられたヒトcalicivirus(現在のサッポロウイルス)による急性胃腸炎集団発生を解析し、1979年に報告している(表1)。引き続き行われた様々な研究によってヒトcalicivirus(現在のSaV)は胃腸炎ウイルスの1つとして確立された^{3,6)}。しかし、試験管内培養法が確立できなかったため、本ウイルスの入手は容易ではなく、1980~1990年代までの研究は主に日本の札幌医科大学と英国、一部米国に限られていた¹⁻³⁾。1977~1982年にかけて、札幌市の乳児院に

表1. サッポロウイルス研究の歴史 (文献5より引用)

1976	First description of morphologically typical caliciviruses of human origin in stools Madeley CR, <i>et al.</i> (1976) <i>Lancet</i> i: 199-200; Flewett TH, <i>et al.</i> (1976) <i>Lancet</i> i: 311
1979	First description of Sapporo virus gastroenteritis in infants by electron microscopy Chiba S, <i>et al.</i> (1979) <i>J Med Virol</i> 4: 249-254
1983	Identification of Sapporo virus in diarrheic stools in infants by radioimmunoassay Nakata S, <i>et al.</i> (1983) <i>J Clin Microbiol</i> 17 :198-201
1983	Recognition of a single capsid protein of Sapporo virus Terashima H, <i>et al.</i> (1983) <i>Arch Virol</i> 78: 1-7
1995	Characterization of the genome structure and determination of the complete RNA sequence of Sapporo virus (Manchester strain) Liu BL, <i>et al.</i> (1995) <i>Arch Virol</i> 140: 1345-1356
1997	Molecular characterization of Sapporo virus (the prototype of Sapporo virus) and expression of the capsid protein in insect cells Numata K, <i>et al.</i> (1997) <i>Arch Virol</i> 142: 1537-1552
1997	Recognition of genetic and antigenic diversity of Sapporo virus Jiang X, <i>et al.</i> (1997) <i>Arch Virol</i> 142: 1813-1827

表2. EM (electron microscopy) 法とIEM (immune electron microscopy) 法による初期研究で得られた知見 (文献5より引用)

1. サッポロウイルスの抗原性はノーウォークウイルスや他のSRSVとは異なる
2. ヒトからヒトへの接触感染で拡がり流行し、食中毒によるものではない
3. ウイルスの糞便中への排泄と病日との明らかな相関が認められる
4. 感染児の臨床徴候は下痢 (95%)、嘔吐 (44%)、発熱 (18%) で、ロタウイルス胃腸炎に比して発熱率は低い
5. 不顕性感染が存在する
6. IEM抗体の年齢別保有状況から、感染は普遍的で、乳幼児期に始まるものと推測される

において4回のヒトcalicivirus胃腸炎の集団発生がみられ、札幌医科大学ではそれら抗原性が同じ一連のウイルス (SaVのプロトタイプSaV/G I.1/Sapporo/1982/JP) を材料とすることで、以下に述べるように多くの研究を行うことができた。

まず、EM法、免疫EM法を使用した札幌医科大学の初期研究で得られた知見は、後に食中毒と関連する遺伝子型が判明したものの、多くが現在でも通用する基本的なものであった(表2, 文献5より引用)(表1, Chiba S, *et al.*, 1979)^{7,8)}。英国のCubittらも抗原性の違い、臨床徴候、不顕性感染の存在、高齢者施設での感染等の報告を行っていた³⁾。その後、Chibaらは豊富な糞便材料を用いることで、このウイルス粒子は62kDaのsingle capsid proteinを持つというcalicivirusの特徴を確認した(表1)。また、radioimmunoassay(表1)やenzyme immunoassayの開発により、多くの疫学のおよび免疫学的研究を行い、主に5歳未満の小児にみ

られる世界的に普遍的な感染症であることを示した²⁾。

1990年のNorwalk virus 遺伝子クローニングの成功を契機にcalicivirusの分子生物学的解析が始まり、1995年、英国で初めてSaV全遺伝子クローニングが行われた(前ページ表1)。しかし、そのウイルスは散発例からの検出で、そのウイルスに関する包括的なデータは示されていない。札幌医科大学も米国ベイラー医科大学との共同研究で、1995年にプロトタイプSaVの部分的遺伝子解析を発表し、1997年にはcapsid proteinの発現とvirus like particle(VLP)の作製を行い、さらに、SaVの抗原的・遺伝的多様性を確認した(前ページ表1)。

このように、1970年代後半から、SaVのプロトタイプであるサポロウイルスに関して、臨床的、ウイルス学的、疫学的、分子生物学的研究を札幌医科大学小児科において継続し、1つのウイルスに関して包括的なデータをまとめたことが評価され、Caliciviridae Study Group 1997の10名の専門家の投票により、1999年の国際ウイルス分類委員会(International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV)で種名にSapporo virusの名前が付けられた。その後、属名はそれぞれのウイルス種が想起される4文字で統一するということになり、2002年のICTVでSapovirusと命名された^{3,6)}。現在、SaVのウイルス種名はSapovirus sapporoenseに変更となっているが、sapporoの名称は残っている。

サポウイルス感染症の診断法, 治療, 予防

臨床スペクトラムは、不顕性感染から下痢、嘔吐、発熱の3主徴を示すものまで多彩で、臨床的に他のウイルスとの鑑別は困難である。外来で実施できる抗原迅速診断キットの開発が望まれるが、すべてのgenogroupを検出できるものはない。2000年以降、RT-PCR法による診断・解析が世界的に導入されている³⁾。

大部分は軽症に経過し、入院が必要なものは少ないと考えられてきた^{3,9)}。しかし、RT-PCR法による解析が世界的に導入されると、入院例や重症例の報告、学童・成人での感染、食中毒事例が増加し、SaV胃腸炎の重要性が認識されつつある^{3,4,10)}。

現時点では、抗ウイルス剤といった特異的な治療法やワクチンはない。oral rehydration solution (ORS)による経口輸液、中等症以上では経静脈輸液などの対症療法と食事療法を行うことで、ほとんどの症例が自然軽快する。感染は糞便を介した接触感染によるので、十分な手洗いとマスク着用を行う。汚染されたものや場所の消毒などは、NoVの感染対策に準拠する。

参考文献

- 1) Chiba S, *et al.*, J Infect Dis 181: S303-S308, 2000
- 2) Nakata S, *et al.*, Arch Virol 12: 263-270, 1996
- 3) Oka T, *et al.*, Clin Microbiol Rev 28: 32-53, 2015
- 4) 小林慎一ら, 臨床とウイルス 41: 52-60, 2013
- 5) 千葉峻三, 臨床小児医学 51: 87-95, 2003

- 6) Green KY, in Knipe DM & Howley P(eds), Fields Virology 6th ed: 582-608, 2013
- 7) Chiba S, *et al.*, J Infect Dis 142: 247-249, 1980
- 8) Sakuma Y, *et al.*, J Med Virol 7: 221-225, 1981
- 9) Sakai Y, *et al.*, PIDJ 20: 849-853, 2001
- 10) Becker-Dreps S, *et al.*, Curr Opin Infect Dis 33: 388-397, 2020

札幌市あさぬま小児科
中田修二

<特集関連情報>

新潟県におけるサポウイルスと他の下痢症ウイルスの同時検出に向けた取り組み

ウイルス性下痢症の病原体はサポウイルス(SaV)以外に、ノロウイルス(NoV)、アストロウイルス(AstV)、アデノウイルス(AdV)、ロタウイルス(RV)などが挙げられる。これら複数のウイルスの検索に用いるPCRは、各ウイルスをそれぞれ単項目で測定すると1検体当たりのテスト数が増え、その結果、試薬調製や電気泳動の確認作業量が増加し、判定までに多くの時間が必要となる。当所では以前、上記下痢症ウイルスの検出プライマーを混合したマルチプレックスPCR法を採用していた。

しかし、近年普及してきたreal-time PCRの導入により電気泳動が不要となり、多数の検体をリアルタイムにモニターし、解析することが可能となった。中でもインターカレーター法は、プローブの設計や準備が不要であり、既存のプライマーを用いて容易に行うことができることから、当所では2011年から、感染症発生動向調査および食中毒疑いを除く胃腸炎集団事例検査でインターカレーター法を用いている。この手法は近年の測定機器や検査試薬の性能向上により、反応時間および融解曲線解析時間が短縮され、ルーチンワークとして多数の検体を迅速に処理することが可能となっている。

現在、当所の感染性胃腸炎の検査は田澤らの報告¹⁾

表. 使用プライマー一覧

Virus	Primer F/R	Product (bp)	Tm値 (目安)	参考文献
NoV-G I	G1SKF/G1SKR	330	81.9 ± 0.9	2)
NoV-G II	COG2F/G2SKR	387	82.6 ± 0.4	2)
SaV	SLV5317/SLV5749	434	84.3 ± 0.6	2)
AstV	AC1/AC230	230	80.1 ± 0.4	3)
RV-A	Beg9/VP7-1	395	75.0 ± 0.9	4)
AdV	AD1/AD2	482	80.2 ± 0.2	4)
RV-C	G8NS1/G8NA2	350	73.5 ± 0.3	4)
PeV	E23 P1/N1 R in	810	83.2 ± 0.3	5)

NoV=ノロウイルス SaV=サポウイルス AstV=アストロウイルス
RV=ロタウイルス AdV=アデノウイルス PeV=パレコウイルス

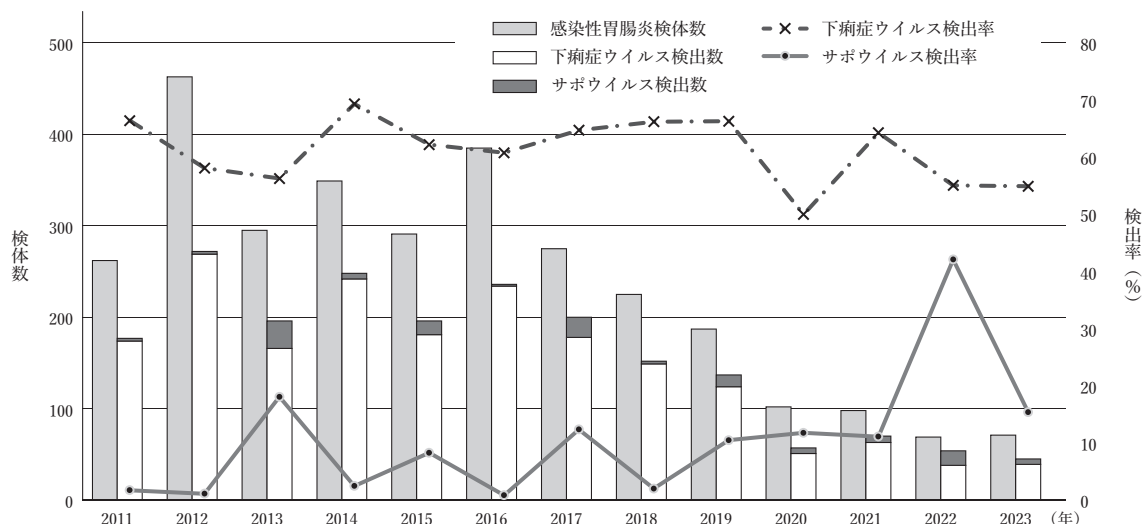


図2. 新潟県における下痢症ウイルスとサポウイルス (SaV) の検出状況, 2011～2023年

に準じて, SaV, NoV, AstV, AdV, RVの5種類のウイルス検索を同時に行っており, 必要に応じてパレコウイルス (PeV) やエンテロウイルスを追加している。前ページ表に当所で使用しているプライマーを示す。反応試薬は非特異反応が比較的少ないTaKaRaバイオ社のTB Green® Fast qPCR MixとQuantstudio real-time PCRシステムを使用し, 1時間程度で結果を得ている。インターカレーター法は非特異反応がみられる場合もあるが, 融解曲線分析において陽性対照と検体のTm値が近似する場合は, 必要に応じてPCR増幅産物を電気泳動し, 判断している。PCR陽性の場合, PCR増幅産物を精製し, シーケンス解析を行い塩基配列を決定する。得られた塩基配列は, 系統樹解析またはオンライン解析ツールにより, 遺伝子型を判定している。

図に現行の検査手法を用いて実施した検査結果として, 2011～2023年に新潟県で実施した感染症発生動向調査等におけるSaVの検出状況を示す。上記期間中に搬入された感染性胃腸炎の検体数は3,072検体で, うち1,890検体 (61.5%) から下痢症ウイルスが検出された。陽性検体のうち132検体 (7.0%) からSaVが検出された。検出されたSaV遺伝子型別の割合は, GI.1が39.4% (n=52) で最も多く, 次いでGII.1とGII.3がそれぞれ9.8% (n=13), SaV (型別不能) が8.3% (n=11), GII.5が3.0% (n=4), GI.2が1.5% (n=2), GI.3が0.8% (n=1) の順であった。下痢症ウイルスの同時検索では, 複数のウイルスが検出されることがあり, 100検体で下痢症ウイルスの混合感染が認められた。そのうち17検体からSaVと他の下痢症ウイルスが同時に検出され, 内訳はSaVとPeVが5検体, SaVとAstVおよびSaVとRVがそれぞれ4検体, SaVとAdVが3検体, SaVとNoVが1検体であった。

新潟県内の感染症発生動向調査等において, 様々な遺伝子型のSaVが検出されていることが分かった。現

在サポウイルス検出に用いているSLV5317/SLV5749プライマーは, 特定の遺伝子型の検出ができないことが報告されている⁶⁾ことから, 今後さらに検出率を向上させるために新たなプライマーを導入し, 感染状況把握に努めたい。

参考文献

- 1) 田澤 崇ら, 新潟県保健環境科学研究所年報 第28巻: 73-76, 2013
- 2) Hainian Y, *et al.*, J Virol Methods 114: 37-44, 2003
- 3) Hainian Y, *et al.*, JJA Inf D 78: 699-709, 2004
- 4) Sakon N, *et al.*, J Med Virol 61: 125-131, 2000
- 5) 池田周平ら, 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告 No.24: 23-26, 2016
- 6) Oka T, *et al.*, Arch Virol 165: 2335-2340, 2020

新潟県保健環境科学研究所

政二香理 高野 結 青木順子

田澤 崇 昆 美也子

新潟大学大学院医歯学総合研究科

国際保健学分野

田村 務

<特集関連情報>

胃腸炎集団事例解析におけるサポウイルス検出フローの見直しについて

岩手県における胃腸炎集団事例でのサポウイルスの検出状況

サポウイルス (SaV) は, ノロウイルス (NoV) に次ぐウイルス性胃腸炎の原因ウイルスの1つである。岩手県における2012～2024年 (7月末まで) の期間の感染性胃腸炎の集団発生事例は584事例あり, そのうちSaVが検出された事例は61事例であった。とくに2022年におけるSaVの集団発生事例は27例と多く,

NoVの集団事例数21事例より多かった。集団発生事例61事例の発生場所は、55事例(90.2%)が保育園、こども園等であり、2事例が小学校、4事例が飲食店等の食中毒疑い事例(他自治体依頼含む)であった。また、61事例のうち19事例(31.1%)はSaVに加えて他の胃腸炎ウイルス(NoV 15事例、アデノウイルス3事例、アストロウイルス1事例)が検出された重複感染事例であった。さらに、同一の事例で複数の遺伝子型のSaVが検出された事例が3事例あった(表)。

検出されたSaVの遺伝子型は、GI.1, GI.2, GII.1, GII.3, GII.8, GIV.1, GV.1と多様であった。最も多く検出された遺伝子型は、単独での検出事例ではGI.1が22事例あり、SaV以外に他のウイルスが検出された重複感染事例では、GI.1およびGII.3がいずれも8事例あった。また、食中毒疑い4事例のうち3事例はGI.2であった。検出された遺伝子型を年別に比較すると、2012~2021年は発生件数が少なかったため、流行していた遺伝子型は不明であるが、2022年は、27事例中22事例(81.5%)でGI.1が検出されており、当該遺伝子型のSaVが流行していたと考えられた。2022年には全国でもSaVが非常に多く検出されており、NoVの検出数が前年の約6割に減少したのに対し、SaV

は約7.6倍に増加していた¹⁾。その遺伝子型は、GIがその多くを占めていた²⁾。他の自治体でも同様の報告がされている^{3,4)}。

胃腸炎集団事例における検査フローの見直し

岩手県環境保健研究センターにおいて、2020年頃までは、胃腸炎の集団発生事例の際にNoVを第一選択として検査を実施し、NoVが不検出もしくは検出率が低い場合のみ、改めてSaVや他の胃腸炎ウイルスの検索を行っていた。つまりNoVが高率に検出されれば、NoVの遺伝子型別を行い、他の胃腸炎ウイルスは検索していなかった。

検査フローの見直しのきっかけとなったのは、2018および2019年に岩手県内で発生した3事例の胃腸炎

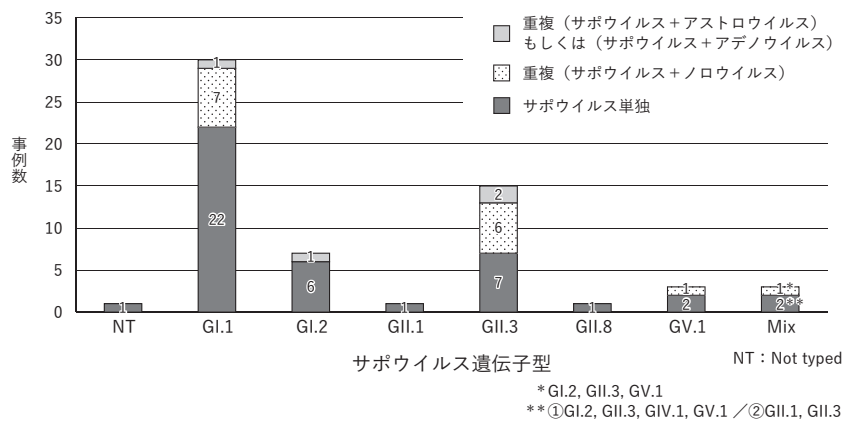


図. 岩手県におけるサポウイルス遺伝子型別重複感染事例の割合, 2012年~2024年7月末

表. 岩手県における年別サポウイルス (SaV) 遺伝子型別発生件数, 2012年~2024年7月末

検出ウイルス	検出年													計
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	
SaV GI.1				1	1		1				18		1	22
SaV GI.1 / Astro				1										1
SaV GI.1 / NoV GII.4						1					1		2	4
SaV GI.1 / NoV GII.2											1			1
SaV GI.1 / NoV GII NT											2			2
SaV GI.2	2		1				1				1		1	6
SaV GI.2 / Adeno 5										1				1
SaV GII.1								1						1
SaV GII.3						3					1	3		7
SaV GII.3 / Adeno 41								1			1			2
SaV GII.3 / NoV GII.4											1	4		5
SaV GII.3 / NoV GII NT												1		1
SaV GII.8											1			1
SaV GV.1													2	2
SaV GV.1 / NoV GII.4													1	1
SaV_mix**							1	1						2
SaV_mix* / NoV GII.2							1							1
SaV NT												1		1
発生件数合計	2	0	1	2	1	4	4	3	0	1	27	9	7	61

** : ①GI.2, GII.3, GIV.1, GV.1 (2018年)、②GII.1, GII.3 (2019年)

NoV: ノロウイルス NT: Not typed

* : GI.2, GII.3, GV.1

集団発生事例であった。当初、いずれの事例もNoVを疑い検査を実施したが、不検出もしくはわずかな人数しかNoVは検出されなかった。このため、他の胃腸炎ウイルスの検査を行い、複数名からSaVが検出されたが、その陽性率は25-40%と、いずれも低いものであった⁵⁾。

その後、この3つのSaV集団感染事例については、2021年7月に追加された国立感染症研究所(感染研)の病原体検出マニュアル⁶⁾に記載のSaVの遺伝子群別マルチプレックス RT-PCRを実施したところ、陽性率が37.5-100%に向上し、同一の事例から複数の遺伝子型のSaV、また同一検体から複数の遺伝子型のSaVも検出された⁵⁾。

岩手県では、この3事例以降、胃腸炎集団事例の際の検査フローを見直し、現在はNoVに加えてSaVについてもreal-time PCR法で同時検査を実施し、SaVが陽性となった場合、感染研の病原体検出マニュアルサポウイルス(第1版)で示されているマルチプレックス genogrouping RT-PCRにより遺伝子群を確認し、さらにシーケンス反応により塩基配列を決定し、オンラインタイピングツール(<https://calicivirustypingtool.cdc.gov/>)で遺伝子型を決定している。

まとめ

SaVの集団事例において、他のウイルスとの重複感染が約3割(19事例)にみられ、その8割近く(15事例)はNoVとの重複感染で(前ページ図)、従来の検査フローではNoVによる集団事例とされる可能性もあったことから、集団発生事例の原因ウイルスを探索する際には、NoVに加えて、SaVの検索を同時に行っていくことが望まれる。また、潜在的に他のウイルスとの重複感染があることを考慮することも必要であると考え。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所, IASR過去の集計表ウイルス, 胃腸炎ウイルス月別2022年
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/230-iasr-data/5492-iasr-table-v-p.html>
- 2) 国立感染症研究所, IASR 月別サポウイルス遺伝子群別検出報告数, 2015/16-2022/23シーズン
https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/230410/sapogm_230802.gif
- 3) 瀬野智史ら, 千葉市環境保健研究所年報 第30号: 74-77, 2023
- 4) 楠原 一ら, IASR 44: 62-64, 2023
- 5) 高橋知子ら, IASR 43: 189-191, 2022
- 6) 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアル サポウイルス(第1版), 2021年7月

岩手県環境保健研究センター
高橋知子 梶田弘子 菊地のあ
佐藤直人

<特集関連情報>

食品衛生におけるサポウイルス

食中毒統計資料

厚生労働省(厚労省)は食中毒統計資料¹⁾として、1996(平成8)年から現在までの食中毒発生状況と2000(平成12)年からの食中毒事件一覧を公開している。食中毒事件一覧は、各自治体より報告された食中毒事件について都道府県名等、発生月日、発生場所、原因食品、病因物質、原因施設、摂食者数、患者数、死者数をまとめたものとなっており、食中毒事件一覧を基に都道府県、月、原因食品、病因物質、施設別の集計データとなる食中毒発生状況が作成されている。

2019(令和元)~2023(令和5)年までの食中毒発生状況から、ウイルス性食中毒の発生状況を抜粋した数値を表1に示した。日本では食中毒事件の主な発生施設が飲食店と報告されており、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の影響を大きく受けた2020~2022年はウイルス性食中毒事件数も減少している。ウイルス性食中毒について、原因となるウイルスはノロウイルスがほとんどであり、ノロウイルス以外の「その他のウイルス」による食中毒事件報告数は5年間で全618件のうち9件と報告され、これにはロタウイルスやサポウイルスが含まれる。

食中毒事件発生時には、厚労省の「食中毒処理要領・食中毒調査マニュアル²⁾」に準じて調査が行われ、各自治体から「食中毒統計作成要領³⁾」にしたがって事件票として報告される。食中毒統計作成要領には、ウイルスについて以下の箇所を示され、ウイルス性食中毒の病因物質としてノロウイルスの他に、サポウイルス、ロタウイルス、A型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルスについては、聞き取り調査等と合わせて、検査等にて病因物質であるウイルスの特定が求められている。

別添 VI 調査事項の記入要領

1 調査票の記入要領

A 欄に関する事項

(16) 微生物学的検査の結果 ノロウイルス等と記入すること

表1. 2019~2023年のウイルス性食中毒事件における病因物質内訳

年	その他ウイルス	ノロウイルス	全数
2023	1	163	164
2022	0	63	63
2021	0	72	72
2020	2	99	101
2019	6	212	218
合計	9	609	618

厚生労働省 食中毒統計資料より抜粋
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html

B欄に関する事項

(5) 病因物質 ウイルス性については、ノロウイルス等を記入すること

3 事件票の記入要領

推定 (11) 病因物質 ウイルスについて、遺伝子型等が判明している場合は、ウイルス名とともに遺伝子型を記入すること

別表2 食中毒病因物質の分類

17 ノロウイルス, 18 その他のウイルス (サポロウイルス, ロタウイルス, A型肝炎ウイルス, E型肝炎ウイルス)

一方で、保健所から厚労省へ提出される様式第十四号 (第七十五条関係) 食中毒事件票では、(12) 病因物質の種別では「17 ノロウイルス, 18 その他のウイルス」となっており、様式第十五号 (第七十六条関係) 食中毒事件調査結果報告書にて、その他のウイルスについて詳細なウイルス名が報告されている。食中毒統計資料において (2) 過去の食中毒発生状況および (3) 過去の食中毒事件一覧では、その他のウイルスについて詳細な情報が公開されていないため、これまでサポウイルスなど、その他のウイルスがどの程度食中毒事件へ関与しているのかは公開資料からは把握できない。

サポウイルスによる食中毒事件に関する情報の得にくさ

サポウイルスによる食中毒事件の情報を探すのは容易でない。食中毒統計ではその他のウイルスによる食中毒事件について情報を得ようとする場合、食中毒事件一覧に記載の都道府県名、発生日等の情報でウェブ検索を行うと、運良く該当自治体の発表資料をみつめることができる場合もあるが、サポウイルスではなくロタウイルスなどの情報であることもある。

比較的アクセスしやすい情報源としては、国立保健医療科学院が公開している健康危機管理支援ライブラリー (H-CRISIS)⁴⁾があり、健康危機管理事例データベースにてサポウイルスやウイルス性食中毒として情報の絞り込みを行えば、6件のサポウイルスによる食中毒事件に関する情報を得ることができる (表2)。また、病原微生物検出情報 月報 (IASR) にて過去にいくつかサポウイルスによる食中毒事件は報告されている^{5,6)}が、サポウイルスによる食中毒事件に関する情報は検索、入手が簡単ではない状況にあり、食品衛生上の課題の1つとして、サポウイルスの認知度を高めるためには情報の入手性についても容易にしていく必要がある。

食品衛生上のサポウイルスの重要性は未知

長野県⁷⁾、宮城県⁸⁾、埼玉県⁹⁾は下水中の腸管ウイルスについて、ノロウイルスと同程度の検出率、ゲノムコピー数をサポウイルスが示すことを報告している。このことは、ノロウイルスと同程度に市中にサポウ

表2. 国立保健医療科学院H-CRISISにおけるサポウイルスによる食中毒事件関連情報

No.	年月	都道府県等	URL
19015	2019年3月	相模原市	https://www.niph.go.jp/h-crisis/archives/136699/
1632	2014年3月	和歌山県	https://www.niph.go.jp/h-crisis/archives/84290/
1546	2012年6月	兵庫県	https://www.niph.go.jp/h-crisis/archives/84218/
1504	2011年1月	神奈川県	https://www.niph.go.jp/h-crisis/archives/84194/
1468	2010年4月	福岡県	https://www.niph.go.jp/h-crisis/archives/84169/
1443	2008年6月	島根県	https://www.niph.go.jp/h-crisis/archives/84145/

国立保健医療科学院 H-CRISIS <https://h-crisis.niph.go.jp/>

ルス感染者がいることを示唆するが、前ページ表1に示すように、ウイルス性食中毒のほとんどはノロウイルスを病因物質として説明がついており、サポウイルス単独での食中毒事件は非常に少なく、病原性も低い可能性も考えられる。サポウイルスの病原性、食中毒への関与について、ノロウイルスとの混合感染なども含めた積極的な調査による実態把握による検証が必要である。

参考文献

- 1) 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
- 2) 厚生労働省, 「食中毒処理要領」及び「食中毒調査マニュアル」の改正について
<https://www.mhlw.go.jp/content/000496802.pdf>
- 3) 厚生労働省, 食中毒統計作成要領の改正について
<https://www.mhlw.go.jp/content/000496391.pdf>
- 4) 国立保健医療科学院H-CRISIS
<https://www.niph.go.jp/h-crisis/>
- 5) 宇宿秀三ら, IASR 28: 294-295, 2007
- 6) 辰己智香ら, IASR 40: 90-91, 2019
- 7) 塚田竜介ら, 長野県環境保全研究所報告 第17号: 39-46, 2021
<https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010941409.pdf>
- 8) 菅原直子ら, 宮城県保健環境センター年報 第35号: 31-35, 2017
<https://www.pref.miyagi.jp/documents/1979/727169.pdf>
- 9) 宮下広大ら, 埼玉県衛生研究所報 55号: 29-48, 2021
https://www.pref.saitama.lg.jp/documents/228943/55_2021_08kenkyuu01.pdf

国立医薬品食品衛生研究所
食品衛生管理部

上間 匡

<特集関連情報>

感染症発生動向調査等で検出されたサポウイルス (2002~2023年) — 熊本県

熊本県では、2002年度から感染症発生動向調査等の下痢症ウイルス検査において、ノロウイルス (NoV) 以外にもPCRを導入し、改良を加えてきた^{1,2)}。本稿では、2002~2023年までの22年間におけるサポウイルス (SaV) の検出結果について報告する。

SaVの年次検出状況と遺伝子型の推移

表1に、2002~2023年までのSaV検出数を遺伝子型別に示した。期間中に搬入された急性胃腸炎患者の検体は2,163件であり、そのうち206件 (9.5%) からSaVが検出された。また、全206件中33件 (16.0%) が他の下痢症ウイルスとの混合感染であり、中でもNoV (GII) との混合感染が16件と多くみられた。

検出された遺伝子型は、多い順にGI.1が59件 (28.6%)、GIV.1が52件 (25.2%)、GII.3が35件 (17.0%)、GI.2が16件 (7.8%)、GII.1が14件 (6.8%)、GV.1が8件 (3.9%)、GI.3が7件 (3.4%)、GI.5が5件 (2.4%)、GII.2が4件 (1.9%)、GII.4とGII.7がそれぞれ1件 (0.5%) であった。また、4件 (1.9%) は明瞭なシーケンス波形が得られず、遺伝子型別ができなかった。

SaV検出数が解析期間中最も多かった2007年にはGIV.1が集中して検出されており、熊本県内で地域流行が確認された¹⁾。なお、この年は全国的にGIV.1の検出数増加がみられた³⁾。

SaVの月別検出状況

次ページ表2に、各月のSaV検出数を示した。NoV同様冬期に多く、206件中47件 (22.8%) が11月、49件 (23.8%) が12月に検出された。一方で、夏期である7~9月でも、数は少ないものの検出例があり、SaVは年間を通して感染性胃腸炎を引き起こしていた。

期間中に搬入された2,163件から検出されたSaV以外の下痢症ウイルスの内訳は、NoV 692件、A群ロタウイルス (RV) 188件、C群RV 3件、アデノウイルス120件、エンテロウイルス110件、アストロウイルス48件、パレコウイルス17件、ボカウイルス7件、アイチウイルス4件であり、SaV検出数はNoVに次いで多かった。さらに、県内ではSaVによる集団事例あるいは食中毒事例が2014~2023年度の10年間に合計5件発生している (遺伝子型はGI.2が2件、GII.1が1件、GII.3が2件)。これらのことから、SaVは集団事例の起因ウイルスとしても重要である。しかしながら、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) が感染拡大して以降、医療機関からの検体提供が滞り、2020~2023年度の検査数は平均15.5検体と大幅に減少している。県内の流行状況の把握を行うには、発生動向調査の継続が重要であるため、定点医療機関にさらなるご協力を賜るとともに、検体の輸送方法等を再検討し、多くの検体を集める工夫が必要である。

参考文献

- 1) 原田誠也ら, IASR 29: 46-48, 2008
- 2) 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアル サポウ

表1. 熊本県におけるサポウイルス (SaV) の遺伝子型別年次検出状況, 2002~2023年

Year	No. of samples	SaV positive	GI.1	GI.2	GI.3	GI.4	GI.5	GI.6	GI.7	GII.1	GII.2	GII.3	GII.4	GII.5	GII.6	GII.7	GII.8	GIV.1	GV.1	GV.2	NT
2002	36	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2003	115	7	1	-	-	-	-	-	-	1	2	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-
2004	53	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
2005	107	7	3	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2006	75	10	5	-	-	-	-	-	-	3	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
2007	253	53	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51	-	-	-
2008	212	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-	1	-	-	1	-	-
2009	221	22	5	-	2	-	-	-	-	1	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2010	254	22	11	3	-	-	-	-	-	2	1	4	-	-	-	-	-	-	1	-	-
2011	140	7	3	1	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
2012	185	16	1	8	2	-	-	-	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
2013	103	15	6	4	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2
2014	68	3	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2015	52	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2016	65	8	6	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2017	46	2	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2018	40	12	9	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
2019	76	4	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
2020	29	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2021	12	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2022	10	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2023	11	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
合計	2,163	206	59	16	7	0	5	0	0	14	4	35	1	0	0	1	0	52	8	0	4

NT : Not typed

表2. 熊本県におけるサポウイルス (SaV) の月別検出状況, 2002~2023年

年	サポウイルス 検出件数	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
2002	2												GI.1 (2)
2003	7		GI.1 (1) GII.1 (1) GII.2 (1)	GII.4 (1)	GII.2 (1)								GII.3 (2)
2004	2						GV.1 (1)						GV.1 (1)
2005	7	GI.1 (1)										GI.1 (1) GI.5 (1)	GI.1 (1) GI.5 (3)
2006	10									GI.1 (1)		GI.1 (1) GV.1 (1)	GI.1 (3) GII.1 (3) GII.2 (1)
2007	53	GI.1 (2)								GIV.1 (1)	GV.1 (11)	GV.1 (29)	GIV.1 (10)
2008	11		GII.7 (1)		GII.3 (1) GV.1 (1)	GII.3 (2)	GII.3 (1)				GII.3 (1)	GII.3 (3)	GII.3 (1)
2009	22	GI.1 (1) GII.1 (1) GII.3 (1)	GI.1 (3) GI.3 (2)	GII.3 (6)	GI.1 (1) GII.3 (2)	GII.3 (1)					GII.3 (3)	GII.3 (1)	
2010	22		GI.1 (1)	GI.1 (4)	GI.1 (4) GII.3 (1)	GI.2 (3)	GI.1 (1) GII.1 (1)	GII.2 (1)				GII.3 (2)	GI.1 (1) GII.1 (1) GII.3 (1) GV.1 (1) GI.1 (2) GI.2 (1)
2011	7			GII.1 (2) GV.1 (1)	GI.1 (1)								
2012	16	GI.2 (1) GII.1 (1)	GI.1 (1) GI.2 (2)	GI.2 (1) NT (1)	GI.2 (1) GI.3 (1)	GI.2 (1)	GI.2 (2) GII.3 (2)					GI.3 (1)	NT (1)
2013	15	GI.2 (1) GI.3 (1) NT (1)	GI.2 (2) GI.5 (1) NT (1)	GIV.1 (1)		GI.2 (1)						GI.1 (3)	GI.1 (3)
2014	3								GII.3 (1)	GII.3 (1)			GII.1 (1)
2015	0												
2016	8						GI.1 (2)	GII.3 (1)		GI.1 (2) GII.3 (1)		GI.1 (2)	
2017	2					GI.3 (2)							
2018	12	GV.1 (1)										GI.1 (1) GII.1 (1)	GI.1 (8) GII.1 (1)
2019	4	GI.1 (1) GII.1 (1)						GV.1 (1)					GI.1 (1)
2020	1	GI.1 (1)											
2021	0												
2022	2					GI.1 (2)							
2023	0												
各月の 合計検出数	206	15	17	17	14	12	10	3	1	6	15	47	49

NT : Not typed

イルス (第1版), 2021年7月

<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Sapovirus20210716.pdf>

3) 国立感染症研究所, IASR過去の集計表ウイルス, 胃腸炎ウイルス月別

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/230-iasr-data/5492-iasr-table-v-p.html>

熊本県保健環境科学研究所

微生物科学部

笠 純華 原田誠也 徳岡英亮

<特集関連情報>

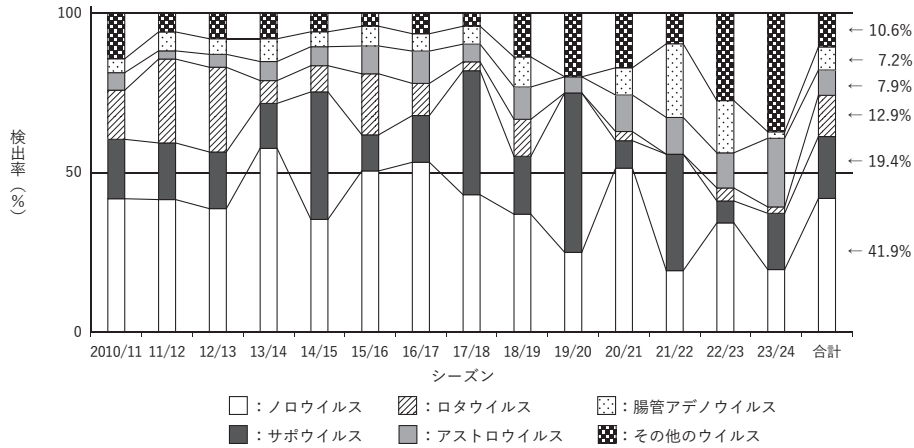
2010/11~2023/24シーズンにおけるサポウイルス流行の特徴と遺伝子群および遺伝子型の変遷 — 三重県

三重県では, 2011年より小児科定点医療機関等の感染性胃腸炎検体からのサポウイルス (SaV) の検出にVP1領域を標的としたgenogroup-PCRを, 2017年よ

り nested-PCR および 遺伝子型別を実施している¹⁾。今回, 本県における SaV の流行に特徴がみられたため, その概要について報告する。

2010/11~2023/24シーズン中はノロウイルス (NoV) が最も多く検出され, 次いで SaV, ロタウイルス, アストロウイルス, 腸管アデノウイルスの順であった (次ページ図)。2020年のロタウイルスワクチン定期接種開始以降, ロタウイルスの検出率は顕著に減少した。一方, 全国的には常に NoV が優勢であったにもかかわらず^{2,3)}, 本県では 1 ~ 2シーズンごとに SaV が NoV と同等以上に検出された (2014/15, 2017/18, 2019/20, 2021/22, 2023/24シーズン)。

検出された SaV の genogroup (遺伝子群) は 4 種類 (GI, GII, GIV, GV), 遺伝子型は 9 種類 (GI.1, GI.2, GI.3, GII.1, GII.2, GII.3, GII.5, GIV.1, GV.1) であった (次ページ表)。GI が最も多く, 全体の 50.8% を占めたが, GII が優位なシーズンもみられた (2015/16, 2019/20, 2020/21, 2022/23シーズン)。一方, 全国



検出率は陰性を除き検出されたウイルスにおける割合を示す
 その他のウイルスにはコクサッキーウイルスやライノウイルス、40/41型以外のアデノウイルス等が含まれる

図. 2010/11～2023/24 シーズンに感染性胃腸炎検体から検出されたウイルスの検出率, 三重県

表. 2010/11～2023/24 シーズンの遺伝子群別および遺伝子型別サポウイルス検出数, 三重県

シーズン	検出数	遺伝子群					遺伝子型									
		GI	GII	GIV	GV	ND ¹⁾	GI.1	GI.2	GI.3	GII.1	GII.2	GII.3	GII.5	GV.1	GV.1	ND ¹⁾
2010/11	17	8	1	-	3	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17
2011/12	21	12	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21
2012/13	22	13	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22
2013/14	14	7	6	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14
2014/15	34	14	2	4	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	34
2015/16	22	5	16	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22
2016/17	16	10	6	-	-	-	1	-	5	-	-	5	-	-	-	5
2017/18	28	14	12	1	1	-	9	5	-	-	5	7	-	1	1	-
2018/19	25	12	11	-	2	-	11	1	-	9	-	2	-	-	2	-
2019/20	10	1	9	-	-	-	1	-	-	6	-	3	-	-	-	-
2020/21	3	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-
2021/22	19	17	2	-	-	-	16	-	1	-	-	2	-	-	-	-
2022/23	5	1	4	-	-	-	1	-	-	-	-	3	1	-	-	-
2023/24	9	8	-	-	1	-	8	-	-	-	-	-	-	-	1	-
合計	245	122	90	6	22	-	47	6	5	15	5	22	4	1	4	-
% ²⁾	-	50.8	37.5	2.5	9.2	-	42.7	5.5	4.5	13.6	4.5	20.0	3.6	0.9	3.6	-

¹⁾ Not determined

²⁾ 遺伝子群は2011年以降の検出数240件、遺伝子型は2017年以降の検出数110件に対する割合

集計²⁾では2019/20シーズンを除きGIが優位であった。また、2014/15シーズンはGVがGIと並んで最多となり、GV検出数で全国集計²⁾の半数以上を占めたことから、県内におけるGVの地域流行が示唆された。遺伝子型別ではGI.1が最も多く検出され、多くのシーズンで優位であった。次いでGII.3, GII.1の順で、1シーズンで1-6種類の遺伝子型が検出された。

SaVによる小児の急性胃腸炎は、同一シーズン中でもGI.1を中心に多様な遺伝子型が関与し、シーズンによりNoVを上回る流行を起こしていた。しかし、全国集計との乖離や^{2,3)}、他の地域の流行状況と違いがみられることから^{4,5)}、SaVの流行は地域により特徴が異なると考えられた。SaVはNoVと比較して遺伝子解析が積極的に行われていない可能性もあるため、より詳細な流行状況を把握するには、全国的なサーベイランス体制を構築する必要がある。

参考文献

1) Okada M, *et al.*, Arch Virol 151: 2503-2509, 2006

2) 国立感染症研究所, IASR 過去の集計表ウイルス, 胃腸炎ウイルス

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/230-iasr-data/5492-iasr-table-v-p.html>

3) 国立感染症研究所, IASR グラフ ウイルス, 2018/19, 2023/24

<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/gv/1819/data1819.11j.pdf>

<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/gv/202324/data20232411j.pdf>

4) 伊藤彩乃ら, 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告 30: 15-20, 2022

5) Hanafusa T, *et al.*, Jpn J Infect Dis 76: 246-250, 2023

検体提供機関

落合小児科医院 さかたく小児科

すこやかこどもクリニック 三原クリニック

まつだ小児科クリニック かとう小児科医院

うめもとこどもクリニック
 国立病院機構三重病院
 国立病院機構鈴鹿病院 四日市羽津医療センター
 三重大学医学部附属病院 名張市立病院
 三重県立総合医療センター 伊勢赤十字病院
 国立病院機構三重中央医療センター
 三重県立志摩病院
 三重県保健環境研究所
 楠原 一 小林章人 川合秀弘
 下尾貴宏

<特集関連情報>

栃木県内で発生した集団感染性胃腸炎等から検出されたサポウイルスについて (2010/11~2023/24シーズン)

サポウイルス (SaV) による集団発生の報告数はノロウイルス (NoV) よりも少ないが、幼稚園、保育所、学校、社会福祉施設など、あらゆる年齢層で年間を通して発生している¹⁾。SaV感染症の症状はNoVによる症状とよく似ているため、病原体を特定するためには遺伝子学的検査が不可欠である¹⁾。このため栃木県保健環境センターでは、集団感染性胃腸炎および食中毒疑いの検体が搬入された場合、すべての検体に対してSaVとNoVの検出を行い、保健所からの依頼に応じてその他の胃腸炎ウイルスの検出も行っている。本稿では、2010/11~2023/24シーズンにおけるSaVの検出状況およびその遺伝子型の推移を解析したので報告する。

2010/11~2023/24シーズン (ウイルス性胃腸炎の発生ピークが冬季であることから、1シーズンを9月~翌年8月までとした) に、宇都宮市を除く栃木県内で発生した集団感染性胃腸炎および食中毒疑い事例から

SaVが検出された28事例を解析に使用した。SaVの検出はreal-time定量PCRおよびRT-PCR^{2,3)}、NoVの検出は厚生労働省通知⁴⁾に記載のreal-time定量PCRにより実施し、その他の胃腸炎ウイルスの検出はRT-PCRおよびイムノクロマト法により実施した。ウイルスが検出された場合、ダイレクトシーケンス法でウイルスを同定し、遺伝子型を決定した。なお、SaVの遺伝子型はVP1領域の塩基配列を解読し、Norovirus Genotyping Tool Version 2.0 (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>) により決定した。

シーズンごとのSaV検出事例数と遺伝子型の内訳を表に示した。2013/14, 2018/19, 2019/20シーズンを除く11シーズンにおいて検出され、2021/22シーズンと2022/23シーズンが最多であった。全28事例中24事例 (85.7%) は集団感染性胃腸炎から検出され、発生施設の内訳は幼稚園または保育所が17事例 (60.7%) で最も多く、社会福祉施設が5事例 (17.9%)、小学校が2事例 (7.1%) であった。その他4事例 (14.3%) は食中毒疑いから検出された。

28事例のうち17事例 (60.7%) では、SaV以外のウイルスが同一事例内で検出され、NoV GIIが最も多かった (表には記載せず)。そのうち14事例は幼稚園または保育所、1事例は社会福祉施設における集団感染性胃腸炎事例であった。その他2事例は食中毒疑いであった。また、2015/16シーズン以降はすべて幼稚園または保育所における事例であった。

シーズンごとのSaVの遺伝子型の内訳は、GI.2が9事例 (32.1%)、GI.1が8事例 (28.6%) で多くを占め、次いでGII.3の6事例 (21.4%) となった。2010/11~2012/13シーズンはGI.2が主に検出され、2021/22シーズンはすべてGI.1、2022/23シーズンはすべてGII.3であった。

この解析から、6割以上の事例が幼稚園または保育

表. 栃木県におけるシーズンごとのサポウイルス (SaV) 検出事例数と遺伝子型の内訳, 2010/11~2023/24シーズン

シーズン*	集団感染性胃腸炎				食中毒疑い	計	サポウイルス遺伝子型						計
	幼稚園/ 保育所	小学校	社会福祉 施設	小計			GI.1	GI.2	GI.3	GII.3	GI.1	GV	
2010/11	1		1	2		2		2					2
2011/12		1	2 (1)	3 (1)	1	4 (1)	1	3					4
2012/13		1	2	3	1 (1)	4 (1)		3	1				4
2013/14													
2014/15					1 (1)	1 (1)						1	1
2015/16	1 (1)			1 (1)	1	2 (1)				1	1		2
2016/17	1 (1)			1 (1)		1 (1)	1						1
2017/18	1 (1)			1 (1)		1 (1)		1					1
2018/19													
2019/20													
2020/21	1 (1)			1 (1)		1 (1)			1				1
2021/22	5 (3)			5 (3)		5 (3)	5						5
2022/23	5 (5)			5 (5)		5 (5)				5			5
2023/24	2 (2)			2 (2)		2 (2)	1					1	2
計	17 (14)	2	5 (1)	24 (15)	4 (2)	28 (17)	8	9	2	6	1	2	28

() の数字はサポウイルス以外のウイルスが同事例内で検出された事例数を示す
 * 9月~翌年8月までとした

所において発生し、SaV以外の胃腸炎ウイルスが同時に検出されることが多い、という結果が得られた。これらの施設には、同時期に複数の胃腸炎ウイルスが存在しており、集団感染性胃腸炎を発生させていることが示された。

また、事例数は少なかったが、食中毒疑いからもSaVが検出された。これらの事例では、SaVが食中毒の原因ウイルスとして断定されていないものの、他自治体においてSaVによる食中毒が発生している⁵⁾ことから、本県においても警戒する必要がある。

シーズンにより検出されたSaVの遺伝子型は異なっていたが、GI.1とGI.2が多かった。日本を含む世界で検出されるSaVの遺伝子型はGI.1とGI.2が優位であり⁶⁾、今回の解析も同様の結果となった。

全国的にSaVは検出数が少なく、流行状況には不明な点が多いため、今後も継続してデータを蓄積していく。

参考文献

- 1) Oka T, *et al.*, Clin Microbiol Rev 28: 32-53, 2015
- 2) Oka T, *et al.*, Med Virol 78: 1347-1353, 2006
- 3) Okada M, *et al.*, Arch Virol 151: 2503-2509, 2006
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全全部監視安全課長通知, 平成15(2003)年11月5日食安監発第1105001号
- 5) 辰己智香ら, IASR 40: 90-91, 2019
- 6) Doan YH, *et al.*, Jpn J Infect Dis 76: 255-258, 2023

栃木県保健環境センター微生物部
齋藤明日美 関川麻実 若林勇輝
江原 栞 永木英徳 鈴木尚子

<特集関連情報>

千葉県におけるサボウイルス検出状況(2019~2023年)

2019年1月~2023年12月までの5年間に、本市で発生したヒト-ヒト伝播(疑い)による感染性胃腸炎の集団発生は99事例であり、原因究明のために、保健所から当所に搬入された糞便435検体(事例ごとに発症者3-5名)についてウイルス検索を実施した結果、サボウイルス(SaV)が28事例で検出されたのでその概要について報告する。SaVについてはreal-time RT-PCR法¹⁾により遺伝子の検出を行った。さらに、SaVが検出された検体のうち各事例1-2検体について、1245 Rfwd/SV-R2プライマー^{2,3)}によるPCR産物(約430bp)を用いダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、近隣接合法による系統樹解析を実施した。

99事例のうちウイルスが検出されたものは97事例で、SaVは28事例、85検体から検出され(表)、その他ノロウイルスが82事例、アストロウイルスが3事例およびロタウイルスが1事例から検出された(重複感

染含む)。

SaVによる集団発生事例は、2019~2021年までの3年間では、2019年7月に認められた1事例のみであったのに対し、2022~2023年にかけては27事例と多発していた。特に2022年の5月には11事例が認められた。このことは、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の流行によってヒト-ヒト伝播の機会が減少し、胃腸炎ウイルス感受性が蓄積したこと、さらにSARS-CoV-2の流行抑制に係る行動規制が緩和されたことにより、感受性者間で流行が広がった可能性が考えられた。また、感染性胃腸炎の集団発生事例のほとんどが保育所で発生していたことは、感染性胃腸炎の流行が乳幼児に多く認められるSaVの特徴に合致していた。

本市におけるSaVによる感染性胃腸炎は3, 5, 12月に検出数が多かったことから、主に冬季~春季にかけて発生していたことが明らかとなった。SaVの系統樹解析の結果、市内におけるSaVの感染性胃腸炎はGI.1が優位な遺伝子型であったが、2022年1月および12月、2023年1月および7月にはGII.3が流行するなど、時期によって優位となる遺伝子型が異なっていたことが示唆された(次ページ図)。また、市内の流行状況と全国の流行状況を比較すると、ほぼ同様の傾向を示していた⁴⁾。2023年12月に、5年間を通じ初めて市内で遺伝子型GV.1の株が検出され、2003年に石川県で検出された株と同一クラスターに分類された(次ページ図)。さらに、GV.1株の塩基配列についてBLAST検索を行い、

表. 千葉県におけるサボウイルス(SaV)検出状況, 2019~2023年

発生年	発生月	事例番号	発生施設	遺伝子型	
2019	7	122-O-K05003	小学校	GI.1	
	2022	1	122-O-K12003	保育所	GII.3
		3	122-O-K19002	保育所	GI.1
		3	122-O-K20002	保育所	GI.1
		3	122-O-K21004	保育所	GII.3
		4	122-O-K02005	保育所	GI.1
		5	122-O-K06002	保育所	GI.1
		5	122-O-K07005	保育所	GI.1
		5	122-O-K08004	保育所	GI.1
		5	122-O-K10005	保育所	GI.1
		5	122-O-K12004	保育所	GI.1
		5	122-O-K13005	保育所	GI.1
5	122-O-K14003	幼稚園	GI.1		
2023	5	122-O-K15004	保育所	GI.1	
	5	122-O-K16003	保育所	型別不明	
	5	122-O-K17005	保育所	GI.1	
	5	122-O-K18002	保育所	GII.3	
	12	122-O-K20002	保育所	GII.3	
	12	122-O-K21001	保育所	GII.3	
	2023	1	122-O-K25002	保育所	GII.3
		1	122-O-K27005	保育所	型別不明
		1	122-O-K40004	保育所	型別不明
		7	122-O-K05002	小学校	GII.3
		11	122-O-K08005	保育所	GI.1
		12	122-O-K10002	保育所	GI.1
12		122-O-K11002	小学校	GI.1	
12		122-O-K12002	保育所	GV.1	
12		122-O-K14004	保育所	GI.1	

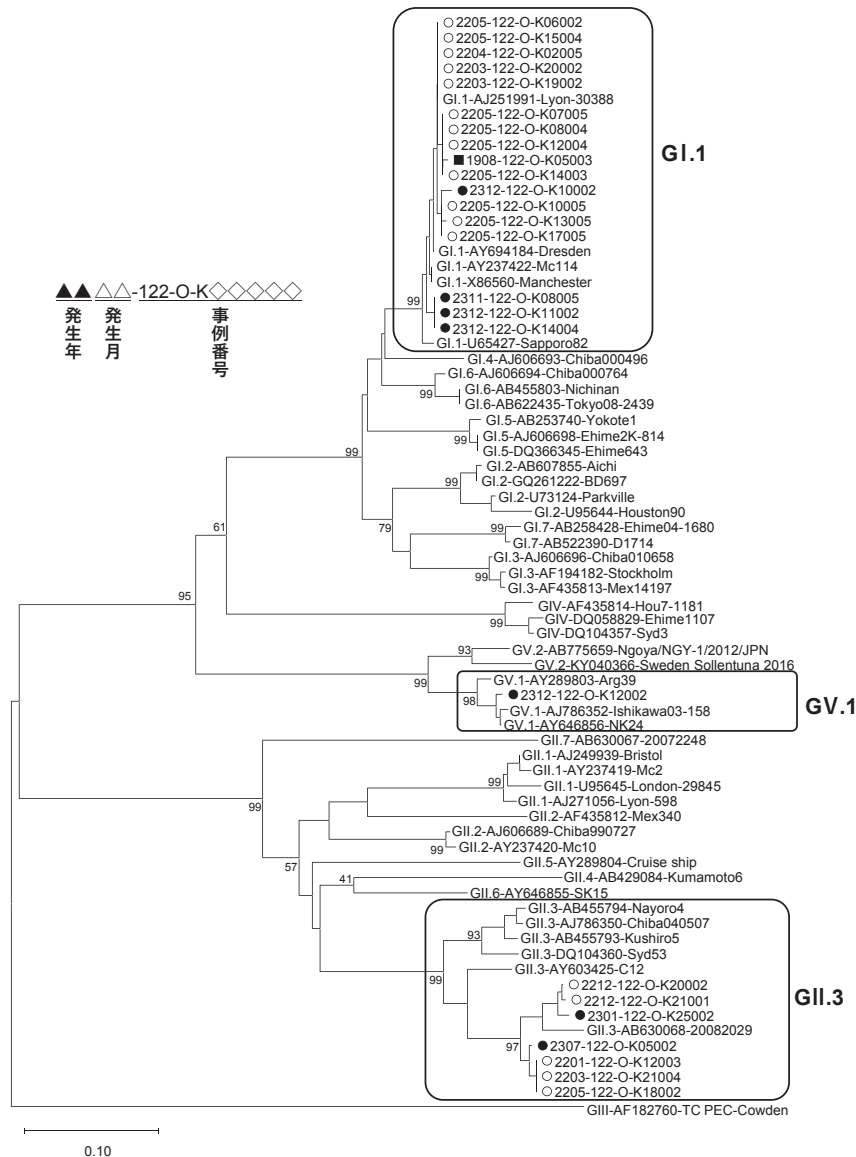


図. サポウイルス capsid領域 (約330bp) の系統樹解析
 (■: 2019年検出、○: 2022年検出、●: 2023年検出)

既知のSaVとの相同性を比較したところ、2018年に日本で検出された株であるLC787639と最も高い相同性(100%)を示した。このことから、国内で流行していた株が2023年12月頃、市内に流入、流行した可能性が示された。

SaVの遺伝子解析を行った結果、市内のSaVによる感染性胃腸炎の発生動向が明らかとなった。今後も遺伝子解析を継続し、市内のSaV遺伝子型の流行状況を包括的に把握することにより、集団発生事例の原因究明および感染拡大の防止に寄与できるものと考えられた。

謝辞: 本稿を執筆するにあたり、疫学調査資料の提供をいただいた千葉市保健所感染症対策課の方々へ深謝いたします。

参考文献

1) Oka T, *et al.*, J Med Virol 78: 1347-1353, 2006
 2) Kitajima M, *et al.*, Appl Environ Microbiol 76:

2461-2467, 2010

3) Okada M, *et al.*, Arch Virol 147: 1445-1451, 2002
 4) 国立感染症研究所, IASR 月別サポウイルス遺伝子群別検出報告数, 2015/16-2023/24シーズン
https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/230410/sapogm_240729.gif (2024年10月8日アクセス)

千葉市環境保健研究所

瀬野智史 清水幸恵 神谷美里
 水村綾乃 近藤 文 荒井健二
 田中俊光 前嶋 寿

<特集関連情報>

静岡市内で発生したサポウイルスによる集団嘔吐下痢症事例

静岡市では、平成17(2005)年2月22日付け社援発第0222002号「社会福祉施設等における感染症等発生時に係る報告について」(https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=00ta5127&dataType=1&pageNo=1)に基づき、通知に定める基準を超えた感染症等の発生が確認できた場合は、市内事業所に対して報告を義務付けており、保健所が原因究明および感染拡大防止のために当該事業所の調査を実施している。調査の一環で市環境保健研究所に検体が搬入されると、まずノロウイルス(NoV)の検査を行い、NoVが搬入検体の過半数を超える検体から検出されなかった場合、サポウイルス(SaV)の検査を追加している。

検査法としては、SuperScript III (Invitrogen) を用いてランダムプライマー(6mer)により作製したcDNAを用い、病原体検出マニュアルサポウイルス(第1版)(https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Sapovirus20210716.pdf)記載のreal-time PCR法を実施している。real-time PCR法において陽性になった検

体については、既出の検出マニュアル記載の方法もしくは、SV-F11/SV-R1およびSV-F2/SV-R2を用いたnested PCR法¹⁾にてcapsid領域の一部を増幅し、得られた塩基配列からオンライン解析ツールBLAST(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)やNorovirus Typing Tool Version 2.0(https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/) ²⁾を用いて遺伝子型の判定を行っている。

2022年度に当市内こども園および小学校において、SaVを原因とする集団嘔吐下痢症が11事例発生した。検出状況について、表に示す。2022年4～6月に発生した7事例は、遺伝子型別不能(NT)であった1事例を除き、いずれも遺伝子型GI.1に分類された。2023年1～3月に発生した4事例は、いずれも遺伝子型GII.3に分類された。発生地域別にみると、検出された遺伝子型に地域差はなく、時期によって流行していた型が異なることが推測された。SaVの症状としては、NoVに類似しているが、下痢が優位との報告がある³⁾。当市で発生した11事例に関しては、嘔吐が24名(53.3%)に対し、下痢が19名(42.2%)と、嘔吐を呈する患者の方が多かった。遺伝子型別にみると、GI.1は嘔吐のみを呈する患者が9名(39.1%)に対し、下痢のみを呈す

表. 静岡市内で2022年4月～2023年3月に発生したサポウイルス(SaV)を原因とする集団嘔吐下痢症事例の検出状況

発生施設	発生日	搬入検体数	検出ウイルス(検出数)
Aこども園	4/4～4/10	5	SaVGI.1(4), SaVNNT(1)
Bこども園	4/22～4/26	5	SaVGI.1(5)
Cこども園	5/30～6/2	5	SaVNNT(5)
Dこども園	6/1～6/6	4	SaVGI.1(4)
Eこども園	6/6～6/9	3	SaVGI.1(3)
Fこども園	6/14～6/20	4	SaVGI.1(3), 陰性(1)
Gこども園	6/14～6/20	4	SaVGI.1(4)
Hこども園	1/8～1/16	4	SaVGII.3(3), NoVGII.P16-GII.4(1)
Iこども園	1/24～1/30	4	SaVGII.3(4)
J小学校	1/24～1/26	4	SaVGII.3(3), SaVNNT(1)
Kこども園	3/2～3/15	4	SaVGII.3(3), 陰性(1)

NT: 遺伝子型別不能

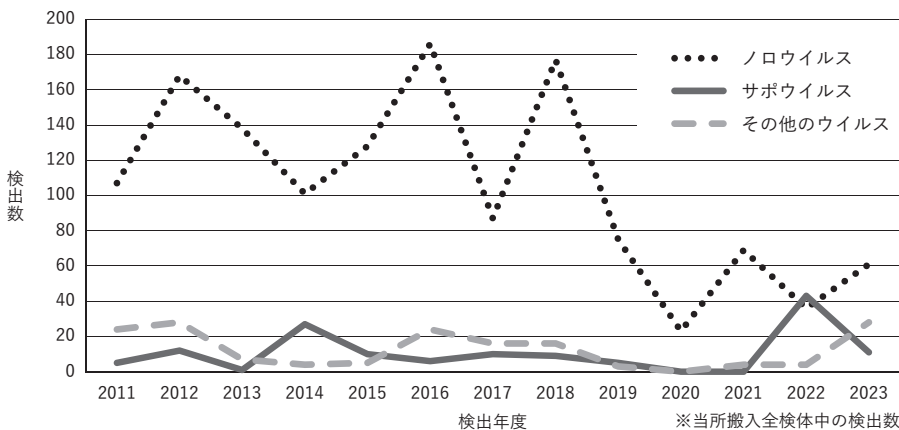


図. 静岡市における年度別胃腸炎ウイルス検出数, 2011～2023年度

※当所搬入全検体中の検出数

る患者が11名(47.8%)であった。G II.3は嘔吐のみを呈する患者が10名(76.9%)に対し、下痢のみを呈する患者が1名(7.7%)であり、遺伝子型によって症状の違いがみられた。

SaVによる集団感染事例は、当所で統計を取り始めた2008年度から例年1-3事例であったことを考えると、2022年度はまれにみる流行であった。当所での年度別胃腸炎ウイルス検出数を前ページ図に示す。2022年度はSaVの検出数がNoVを逆転している。SaVの流行だけではなく、NoVの感染者数が少なかったこともその要因として考えられる。

また、当市では、2023年度にパレコウイルス(HPeV)が原因と考えられる集団嘔吐下痢症が6事例発生し、集団嘔吐下痢症事例の原因としては珍しいとされている⁴⁾ HPeV-A3も検出された。コロナ禍を経て、様々な感染症が以前とは違う流行形態をみせている。今後も、変化していくであろう感染症の発生状況の実態把握をしていくべく、日々調査を継続していきたいと思う。

参考文献

- 1) Okada M, *et al.*, Arch Virol 147: 1445-1451, 2002
- 2) 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), 令和元(2019)年6月
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Norovirus20190611.pdf> (2024年10月22日アクセス)
- 3) 田中智之, Medical Technology 36: 1393-1399, 2008
- 4) 山元誠司ら, IASR 39: 203-204, 2018
静岡市環境保健研究所
浅沼理子 榎原広里 松下 愛

<特集関連情報>

宮城県内の保育施設におけるサポウイルスによる急性胃腸炎集団感染事例の集積

はじめに

サポウイルス(Sapovirus: SaV)はカリシウイルス科に属し、急性胃腸炎を引き起こすことが知られている¹⁾。カプシドタンパク質領域の塩基配列が遺伝子型の決定に用いられ、ヒトでは、GI(GI.1-GI.7), GII(GII.1-GII.8, GII.NA1), GIV(GIV.1), GV(GV.1-GV.2)の遺伝子型に分類される。しかし、流行状況に関する情報が少ないため、我々はこれまでSaVの集団感染事例と散发例の遺伝子型について調査を行ってきた²⁾。今般、宮城県内において、SaVが原因と考えられる集団感染事例の集積が確認されたので、その概要について報告する。

方法

2022年4月1日~7月31日の期間に、宮城県内(仙台市を除く)の保健所から感染性胃腸炎集団感染疑いとして23事例の便検体が搬入された。微生物検査は細菌検査およびウイルス検査を並行して実施した²⁾。real-

time RT-PCR³⁾によりSaV遺伝子が検出された事例について、マルチプレックスRT-PCR⁴⁾を実施し、ダイレクトシーケンスにより遺伝子型を決定した。

結果

2017~2024年に当所で検査を行った集団感染事例数と主な検出ウイルスを次ページ図1に示した。過去2年の4月1日~7月31日に発生した集団感染事例は、2020年が0事例、2021年が4事例であり、2022年の23事例は近年の発生動向と異なっていた。23事例中18事例からSaV遺伝子(1事例はアデノウイルス41型遺伝子同時検出)、4事例からノロウイルスGII群遺伝子、1事例からアストロウイルス遺伝子を検出した。SaVの遺伝子型は、12事例からGI.1、4事例からGII.3、2事例からGI.1とGII.3を検出した(次ページ図2)。集団感染事例の発生施設は、すべて保育所や幼稚園など低年齢層であった(次ページ表)。全事例で確認された症状は嘔吐であり、他に下痢、腹痛、発熱、嘔気、頭痛と続いた。

考察

国内では2007年前後にGIV.1、2012年前後にGI.2が流行し、それにともない大規模な集団感染事例の発生が報告されている⁵⁻⁸⁾。今回、宮城県内では大規模事例の発生は確認されなかったが、国内外で検出されている主要な遺伝子型であるGI.1や、近年検出数が増加しているGII.3が検出されており²⁾、今後も動向を注視する必要がある。また、他県では患者から複数の遺伝子型の検出報告があるが⁹⁾、本事例では確認されなかった。遺伝子型による年齢分布や症状の違いについては本調査では明らかではなかったが、調査を継続することで感染様式の解明に寄与していきたい。新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の流行により他の感染症の流行状況が変化していることから、感染性胃腸炎検出ウイルスの動向についても継続的なサーベイランスが必要といえる。

謝辞: 感染症発生動向調査にご協力いただいている医療機関、保健所はじめ関係機関の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Oka T, *et al.*, Clin Microbiol Rev 28: 32-53, 2015
- 2) Sakagami A, *et al.*, J Clin Virol 132: 104648, 2020
- 3) Oka T, *et al.*, J Med Virol 91: 370-377, 2019
- 4) Oka T, *et al.*, Arch Virol 165: 2335-2340, 2020
- 5) 国立感染症研究所, IASR速報集計表 ウイルス 年別 胃腸炎ウイルス (2024年10月31日作成)
<https://nesid4g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data96j.pdf>
- 6) Usuku S, *et al.*, Jpn J Infect Dis 61: 438-441, 2008
- 7) Yamashita Y, *et al.*, J Med Virol 82: 720-726, 2010
- 8) Kobayashi S, *et al.*, Arch Virol 157: 1995-1997, 2012

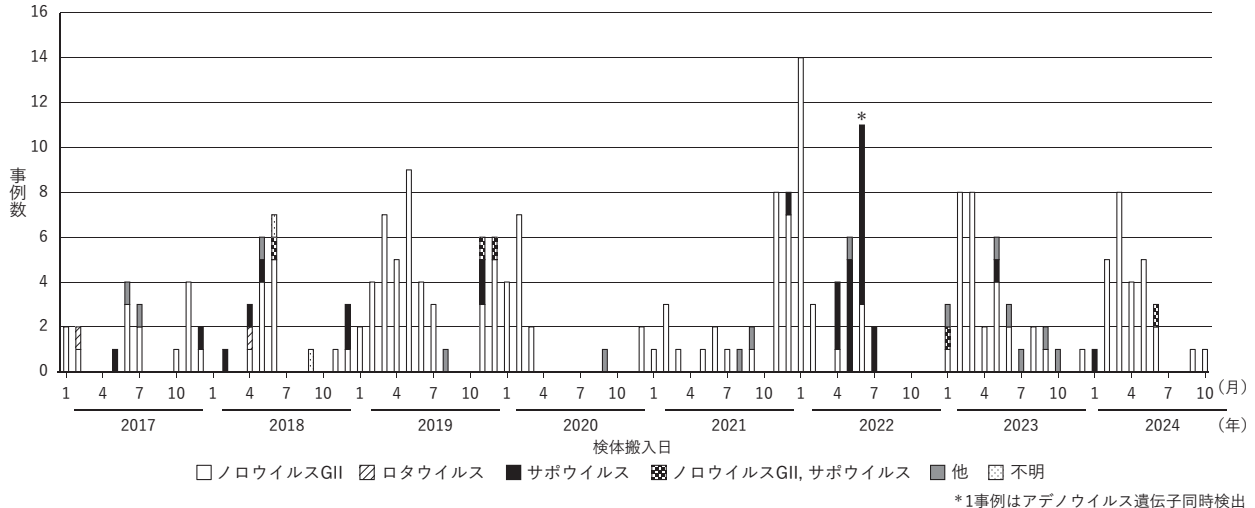


図1. 感染性胃腸炎集団感染事例数と主な検出ウイルス (2017年1月～2024年10月、宮城県)

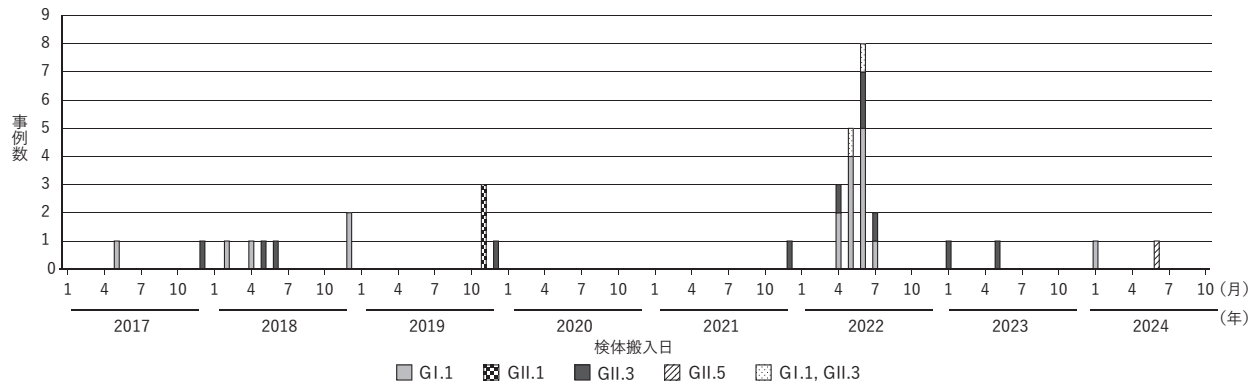


図2. 感染性胃腸炎集団感染事例から検出したサポウイルス (SaV) の遺伝子型 (2017年1月～2024年10月、宮城県)

表. サポウイルス (SaV) を検出した集団感染事例の概要 (2022年4～7月、宮城県)

No.	発生月日	保健所	発生場所	患者数	遺伝子型
1	4/6	A	保育所	24	GI.1
2	4/8	B	保育所	38	GII.3
3	4/18	C	保育所	28	GI.1
4	5/10	B	保育所	45	GI.1
5	5/11	D	保育所	37	GI.1
6	5/13	E	保育所	20	GI.1
7	5/13	E	保育所	20	GI.1
8	5/16	B	保育所	21	GI.1, GII.3
9	5/21	D	保育所	25	GI.1*
10	5/29	F	幼稚園	23	GI.1
11	5/30	E	認定こども園	11	GI.1
12	6/1	G	保育所	28	GI.1
13	6/1	G	保育所	28	GII.3
14	6/3	G	認定こども園	74	GI.1, GII.3
15	6/10	H	幼稚園	34	GI.1
16	6/11	E	認定こども園	24	GI.1
17	6/13	G	保育所	24	GII.3
18	7/21	C	保育所	34	GII.3

* 6検体中3検体でアデノウイルス41型遺伝子検出

9) 高橋知子ら, IASR 43: 189-191, 2022

宮城県保健環境センター微生物部
 坂上亜希恵 茂庭 光 小泉 光
 大槻りつ子 木村葉子 鈴木優子
 佐々木美江 山木紀彦

<特集関連情報>

サポウイルスの分離・増殖系の確立と応用

端 緒

ヒト由来カリシウイルス〔ノロウイルス (NoV)・サポウイルス (SaV)〕については、長い間様々に人工培養・増殖が試みられてきたが、その成果は結実していなかった。SaVも発見から後述する2020年の我々の報

告に至るまで、同様に培養方法はみつかっていなかった。著者も20年近く細々ではあるがNoV人工培養系について検討を続けていたが、成功に至ることはなかった。当初より培養成功の基準として、『古典的ではあるが誰もが確信に至る事象、すなわち①発症患者検体からの分離・増殖、②可能な限り発症状況を反映できる組織由来細胞で増殖、③継代培養により、精製・リソース化が可能となる』ということに課していた。

先行した米国オハイオ州立大でのブタ由来サポウイルス (PoSaV, cowden) の株化において、この培養系の土台となる細胞がLLC-PK1細胞 (ブタ腎由来) であること¹⁾、当時のプロトコルではウイルス収量や感染価測定系が芳しくなかったことから、新規培養系検索の共同研究開始と同時進行で、「ヒトSaV培養系への足がかり」のための探査も始めた。ブタ由来株化細胞に限られており、当初の基準をすべて満たすものではなかったが、ブタコロナウイルスの増殖支持細胞であるST細胞 (ブタ精巣由来) での増殖および細胞変性効果 (CPE) の明瞭な発現が確認され、また増殖サポート因子とされている胆汁酸については、主として用いられていた glycochenodeoxycholic acid (GCDCA) 以外にも、いくつか使用可能なものがみつかった。これを足がかりに、まず「ヒト精巣由来細胞でもサポウイルスが増えないのか？」という点から戦略を組み、比較的汎用性が高いと考えられたヒト精巣腫瘍由来細胞NEC8での検討準備を始めた。

意外な盲点：検体確保、検出系、細胞維持

準備開始直後から課題に直面することとなる。第1の課題は「検討に耐えうるだけの陽性検体確保」である。これまで手掛けてきたNoVは比較的検体が収集しやすかったが、SaVについては、検査対応が自治体等によってまちまちであり、ロタウイルスのようにウイルス排出が大量でないこと、小児での感染例が多く、検体当たりの収量は遺伝子検査が賄えるだけの少量という場合がほとんどであった。手元には比較的検体量が確保できているものとして、SaVGI.1とSaVGIV.1の2種類のみであり、他の検体は増殖系が確立しない限りは使える状況ではなかった。

第2の課題は「増殖確認のための検出系について」である。SaV遺伝子検出系は多岐にわたっており、主たる4つのgenogroupを個別に検出できる系が希望であったため、当時存在したprimerの組み合わせ検討から始めることとなった。その結果、陽性便検体のみならず、生活排水のサーベイにおいても高い特異性が示された。これには使用する増幅キットが感度・特異性に大きく影響することも判明し、これを機にサポウイルス病原体検出マニュアル整備に至ることになる^{2,3)}。

第3の課題は「NEC8細胞の継続培養について」である。当該細胞は代謝が活発であり、それゆえ定着性が著しく不安定であった。少なくとも7日間の連続培

養を目指していたため、培地種類選定や胆汁酸とのバランスなど、その条件検索にかなりの時間を要した。結果、7日間までの連続培養が可能となったため、ここでようやく陽性検体接種による増殖トライアル開始に至った。

NEC8細胞での限界とHuTu80細胞の台頭

トライアル開始からSaVGI.1およびSaVGIV.1をグリココール酸 (GlyCA) 存在下で7日間培養すると、その培養上清中に各SaVの特異遺伝子の明瞭な増殖が認められた。これを機に上清の継代培養やスケールアップを行い、各SaVの増殖を確認したが、virionの存在を含め増殖の確認は得られなかった。唯一定量PCRによる培養上清の経時的シグナル増加がトレースできたのみとなった。またNEC8細胞もスケールアップなど、培養条件を大きく変更すると、7日間培養の再現が不安定となった。これまでも各種汎用細胞株で検証を重ねてきたが、培養での遺伝子シグナル増加は認められておらず、さらに新規汎用細胞を再検索せざるを得なかった。そうした中、サポウイルス感染者の症状として嘔吐があることから、十二指腸腫瘍由来のHuTu80細胞に着目することとなった。加えて、食品関連研究班での呼びかけで、自治体からSaV集団感染事例検体供与の協力もあり、大きな転換期を迎えることとなった。そしてHuTu80細胞によるSaVGI.1およびGII.3増殖の成功と多面的な解析を経て、2020年の論文発表に至った⁴⁾。

ウイルス性状と感染経路解明に向けたアップデート

2020年から4年後となる本年、合計15遺伝子型のSaV増殖とリソース化、培養条件の改善条件やvirionで作成した抗血清による各遺伝子型の抗原性について発表した⁵⁾。SaVGIV.1については、いまだ有力な増殖手法に至らず、現在も模索中であるが、その突破口ともなる細胞上の感染候補因子解析が実を結びつつある。ヒトパレコウイルスでの技術検証や、細胞変性顕在化のcell-cloneを得られたことがadvantageとなった。その過程でGIV.1が増殖しうる組織や、感染経路解明の一助となりうる可能性もみえてきている。また感染力価測定もcell-cloneや培地成分の検討により、感度・精度が大幅に改善されつつあり、不活化評価などもルーティン実施が可能な段階まできている。最初に掲げた培養成功の3つの基準をほぼ達成する形となり、「NoVの日陰的存在」であったSaVの実態解明幕開けとなった。今後の展開に大いに期待したい。

参考文献

- 1) Parwani AV, *et al.*, Arch Virol 120: 115–122, 1991
- 2) Oka T, *et al.*, Arch Virol 165: 2335–2340, 2020
- 3) 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアルサポウイルス (第1版) 2021年7月
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Sapovirus20210716.pdf>
- 4) Takagi H, *et al.*, PNAS 117: 32078–32085, 2020

5) Oka T, *et al.*, J Virol 98: e0063924, 2024

国立感染症研究所
安全管理研究センター
高木弘隆
ウイルス第二部
岡 智一郎

<速報>

エンテロウイルスD68による重篤な喘息様の病態で集中治療管理を要した小児例 — 東京都

(web版速報掲載日: 2024年10月30日)

はじめに

エンテロウイルスD68 (EV-D68) は1962年に初めて分離され、2014年以降の流行ではEV-D68による重篤な呼吸器感染症の増加が注目され、また急性弛緩性麻痺 (AFP) または急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の増加との関連も示唆されている¹⁾。本邦においても喘息様患者や、複数例のAFP・AFMの患者から本ウイルスが検出された事例が報告されている²⁾。今回、同時期に重症喘息発作で集中治療管理を要した小児の2症例からEV-D68が検出されたため報告する。

症例 1

喘息の既往のない6歳男児。入院当日の未明より喘鳴、チアノーゼが出現し、前医に入院した。気管支喘息大発作と肺炎の診断となりβ刺激薬の吸入、プレドニゾロン投与が行われたが呼吸状態が悪く、当院小児集中治療室 (PICU) に搬送された。FilmArray[®]呼吸器パネル2.1検査ではhuman rhinovirus/enterovirus (HRV/EV) が陽性であった。入室時点で両側呼吸音減弱、呼気性喘鳴、陥没呼吸を認めており、高流量鼻カニューラ (high-flow nasal canula: HFNC) 酸素療法を実施したが、高度の呼吸努力が持続したため挿管人工呼吸管理となった。喘息に対する治療としてメチルプレドニゾロン1mg/kg 1日4回、β刺激薬吸入を開始した。胸部単純X線は両側中下肺野に濃度上昇を認め、細菌性肺炎の合併も考慮しアンピシリン50mg/kg 1日4回での治療を開始した。症状、HRV/EVを認めていたことからEV-D68の可能性を考え自施設にてreal-time PCRを実施したところ、EV-D68が陽性であった。その後呼吸状態は徐々に改善し、入院翌日には抜管となり以後HFNC管理となった。メチルプレドニゾロンも漸減終了し、肺炎に対するアンピシリンは6日間で終了した。入院9日目に退院となった。本症例は、これまでのところAFP・AFMを示唆する所見を認めていない。

症例 2

代謝性疾患に対して生体肝移植を受けた既往のある4歳男児。免疫抑制剤としてタクロリムスを内服中。入院の前日より咳嗽、鼻汁、呼吸苦、嘔吐、下痢が出

現し、入院当日になっても症状が改善せず、両側呼吸音減弱と呼気性喘鳴、腹式呼吸を認め、気管支喘息大発作と考えられ、PICUに入室となった。既往歴として約9カ月前に気管支喘息発作様の病態で入院歴があり、以降モンテルカストを内服していた。FilmArray[®]ではHRV/EVが陽性であった。HFNC 30L/min, FiO₂ 0.4で呼吸サポートを開始し、メチルプレドニゾロン1mg/kg 1日4回、β刺激薬吸入を開始した。症状、HRV/EV陽性からEV-D68の可能性を考えreal-time PCRを実施したところ、EV-D68が陽性であった。その後呼吸状態は徐々に改善し、入院2日目には呼吸サポート終了、入院3日目にはメチルプレドニゾロンは終了した。入院8日目に退院となった。本症例は、これまでのところAFP・AFMを示唆する所見を認めていない。

考察

同時期に集中治療管理を要したEV-D68の2症例を経験した。EV-D68感染症そのものが感染症法に基づく届出疾患には指定されておらず、その流行の把握が難しい。今回の2症例はともにFilmArray[®]でHRV/EVが陽性であった。本検査ではHRVとEVの弁別はできず、EV-D68かどうかとも判別不可だが、重篤な呼吸器感染症やAFP・AFMの症例では本検査でHRV/EVが検出されている場合、EV-D68の可能性あることをこれらの症例が示していると考えられる。本稿執筆時点では、東京都において東京都感染症週報にて2024年7月以降、定点医療機関から搬入された検体の検査情報に散発的にEV-D68が検出された患者が報告されているものの³⁾、明らかな増加は確認されていない。今回の2症例では、現時点でAFPをきたしていないが、海外ではイタリア北部でEV-D68の症例が2024年8～9月に急速に増加していることが報告されており⁴⁾、本邦においても今後、EV-D68に関連した重症急性呼吸器感染症やAFPの増加を認めないか注意深いモニタリングが必要であり、今後、開始される急性呼吸器感染症 (ARI) サーベイランス⁵⁾においても病原体検出がされる体制構築が重要であると考えられる。

参考文献

- 1) Jorgensen D, *et al.*, Lancet Microbe: 100938, 2024
<https://doi.org/10.1016/j.lanmic.2024.07.001>
- 2) 国立感染症研究所, エンテロウイルスD68 (EV-D68) 感染症とは
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/a/ev-d68.html>
- 3) 東京都感染症情報センター, 東京都感染症週報 (TIDWR), 27週-40週
<https://idsc.tmph.metro.tokyo.lg.jp/weekly/>
- 4) Pariani E, *et al.*, Euro Surveill 29: 2400645, 2024
<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.41.2400645>
- 5) 厚生労働省, 急性呼吸器感染症 (ARI) サーベイラン

スに係る具体的な方針について(報告), 第90回 厚生科学審議会(感染症部会) 2024(令和6)年10月9日 <https://www.mhlw.go.jp/content/10906000/001314356.pdf>

国立成育医療研究センター
 感染症科
 庄司健介 幾瀬 樹 二木良平
 河野直子
 集中治療科
 井手健太郎 松本正太郎
 総合診療部
 益田博司 前川貴伸
 内分泌科
 塩田翔吾
 臓器移植センター
 阪本靖介 笠原群生
 世田谷保健所感染症対策課
 高橋千香
 国立感染症研究所
 研究企画調整センター
 船木孝則

<国内情報>

2024年に経験した輸入症例を起点とした大阪府内の麻疹広域集積事例の疫学および分子疫学解析

大阪府内では2024年2月24日に関西国際空港経由で帰国した患者(初発例)¹⁾を起点とし, 2~3月にかけて麻疹広域集積事例が発生した。大阪府内ではこの期間に7例の麻疹患者届出があった。本稿では, 大阪健康安全基盤研究所(大安研)および堺市衛生研究所で実施した検査を基に, 本集積事例の疫学および分子疫学解析について報告する。

方法

大阪府内の麻疹症例および健康観察者のうち2月20日~4月12日に発熱等の症状を呈した89例について(図1), 大安研および堺市衛生研究所で国立感染症研

究所(感染研)の病原体検出マニュアル²⁾に従い麻疹検査を実施した。感染研ウイルス第三部の協力を得て, 麻疹ウイルスM/F-non cording region(NCR)領域の系統樹解析を行った。

疫学的背景

初発例は20代男性で2月20日に発熱, 2月24日に麻疹を呈し, 2月29日に麻疹と診断された。麻しん含有ワクチン(以下, ワクチン)接種歴はなく, 麻疹流行地を含む複数の国に滞在歴があった。感染性を有する期間に帰国していることから, 帰国飛行機と同乗者へ向けて, そして不特定多数との空間共有の可能性がある機会について注意喚起がなされた。

初発例の同乗者でその後麻疹と診断された3例(図1)のうち最も発症日が遅かった患者は3月15日(初発例との最終接触日から20日目)で, 修飾麻疹として届け出られ, 2回のワクチン接種歴があった。

海外渡航歴のない麻疹患者3例の届出が3月にあった。1例目はワクチン接種歴1回で, 初発例との接触が確認され健康観察中であった者。2例目はワクチン接種歴1回で, 疫学調査の結果, 初発例との空間共有が確認された者。残りの1例は0歳児(患者アとする)のワクチン未接種者で, 疫学調査の聞き取りでは, 患者の日常生活圏と初発例の行動範囲は重なる部分があったものの, 対面や空間共有機会等までは確認されなかった者であった。

本集積事例に関連した接触者のうち6例が緊急ワクチン接種, 3例が免疫グロブリン製剤の投与を受け, それらの接触者からは新規患者は発生していない。

実験室診断および分子疫学解析結果

Real-time RT-PCRの結果, 89例中7例(7.9%)で麻疹ウイルスゲノムが検出された。検査された検体全体の発症から検体採取までの日数は中央値3日(範囲0-19日), 陽性検体に限っては中央値4日(範囲1-11日)であった。麻疹ウイルス陽性患者の臨床検体抽出RNAから遺伝子型別領域[nucleoprotein(N)C末端450bp]を増幅し, 系統樹解析を行った結果, 検出された7例の塩基配列はすべて同一で, 遺伝子型は

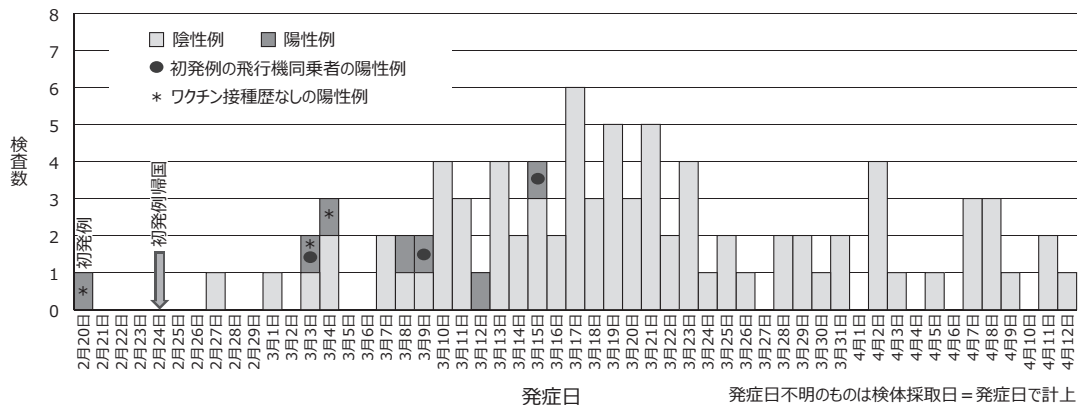


図1. 大阪で検査が実施された麻疹疑い例の発症日別検査数, 2024年第9~16週 (n=89)

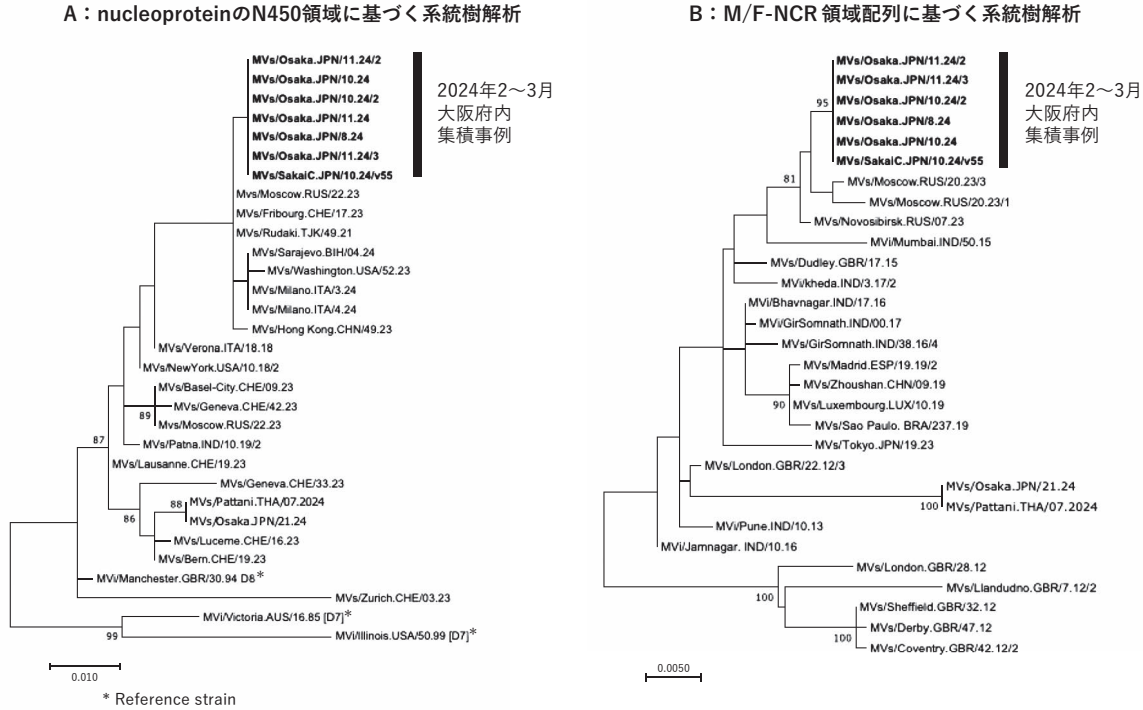


図2. 麻疹ウイルスの分子系統樹解析

D8であった(図2A)。これらの配列は、これまで国内および海外で検出されたことはなく、2021年のタジキスタン(TJK)、2023年のロシア(RUS)、スイス(CHE)で検出された配列と最も近縁であった。初発例や麻疹患者と接触歴がなく、同時期に発生した患者アの感染源探索のため、麻疹ウイルスM/F-NCR領域の増幅を試みたところ、7例中、患者アを含む6例で配列が得られた。6例の配列は完全に一致しており、同一ウイルスに由来する集積であることが示唆された。また、系統樹解析では2023年にロシア(RUS)で検出された株と最も近縁であった(図2B)。

考察

麻疹ウイルスM/F-NCR領域は配列の多様性が高いため、ウイルスの近縁系統関係を解析する際は有用な領域であることが報告されている^{3,4)}。患者アから得られたM/F-NCRの配列(MVs/Osaka.JPN/10.24)が初発例(MVs/Osaka.JPN/8.24)と一致していたことは、同一ウイルスを起源とした集積を示す重要な情報であった。今後ウイルスの近縁系統関係を解析する際、理想は全ゲノム解析であるが、技術および費用の面から迅速な対応が難しい状況も想定されるため、地方衛生研究所の検査において、M/F-NCR領域による部分配列の解析が重要になると考えられた。

患者アと初発例の疫学および分子疫学的背景から、患者アと本集積事例との関連性が推察された。ワクチン未接種で典型麻疹を発症した患者から、接種年齢に満たない等のワクチン未接種者に対しては、明確な接触歴が確認されなかった場合でも感染が起りうる可能性が示唆された。このことから適切な機会

にワクチンを接種することで、周囲の感受性者への感染機会を予防することが重要である。

参考文献

- 1) 吉田香織ら, IASR 45: 155-156, 2024
- 2) 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアル 麻疹・風疹同時検出法 第1版 令和4(2022)年10月
- 3) Penedos AR, *et al.*, PLoS ONE 10: e0143081, 2015
- 4) WHO, Wkly Epidemiol Rec 93: 55-59, 2018

大阪府感染症情報センター

本村和嗣

大阪健康安全基盤研究所

公衆衛生部健康危機管理課

柿本健作 入谷展弘

微生物部ウイルス課

倉田貴子 上林大起 改田 厚

森川佐依子 廣井 聡 平井有紀

小山芽以 阿部仁一郎

堺市衛生研究所

三好龍也 水谷英揮 小林仁美

福田弘美

大阪府総務部

松本一美

大阪府健康医療部

保健医療室感染症対策課

西野裕香 梶川智洋 坂本 愛

大阪市

健康局

吉田英樹

保健所

中山浩二 廣川秀徹 國吉裕子
齊藤武志
堺市保健所
藤井史敏 康 茆瑛 山中八重
東大阪市保健所
松本小百合
大阪府四條畷保健所
浅田留美子
大阪府岸和田保健所
宮園将哉
大阪府泉佐野保健所
柴田敏之
関西医科大学総合医療センター
田邊雅章
国立感染症研究所ウイルス第三部
大槻紀之

<国内情報>

CODEHOP VP1 RT-semi-nested PCRの原法と変法によるエンテロウイルスおよびライノウイルス遺伝子検出の比較検討

手足口病病原体検出マニュアル(国立感染症研究所, 以下, 感染研)が2023年7月に改訂され, 手足口病の原因となるエンテロウイルス(EV)・ヒトライノウイルス(HRV)共通遺伝子検査法のうち, 全国の衛生研究所で汎用されているCODEHOP VP1 RT-semi-nested PCR法(US Patent 7, 714, 122B2, May11, 2010)(以下, 原法)の変法(以下, 変法)が掲載された。変法は, 感染研で実施された調査で, ポリオウイルス1型の分離株の培養上清から抽出したウイルスRNAに対して非常に高い検出感度であることが示された¹⁾。一方, EV・HRVは100種類を超える遺伝子型が存在すること, および分離株と臨床検体の検出感度が必ずしも一致しない事象を経験したことから, 遺伝子型ごとの検出感度に関する情報が非常に重要であると考えられた。今回, 近畿ブロック所属の5地方衛生研究所(地衛研)において, EV・HRV遺伝子陽性の臨床検体から抽出したウイルスRNAを用いて, 原法, 変法および各試薬の組み合わせの結果を比較したので報告する。

1) 原法および変法の検出比較

各地衛研において, EV・HRV共通VP4-VP2部分領域で遺伝子型別¹⁾された臨床検体由来ウイルスRNA(検体番号は次ページ図の表中に記載)を用いて, 原法および変法を実施した。計28遺伝子型の比較試験の結果, ほとんどの遺伝子型で原法よりも変法で濃い電気泳動バンドが検出された(次ページ図)。特に, エコーウイルス3型(E-3), コクサッキーウイルスA4型(CV-A4), CV-A6, EV-A71, EV-D68, HRV-Aでは, 原法

で非常に薄いか検出されなかったが, 変法では検出された。

2) 原法および変法の感度

原法および変法に加え, 逆転写(RT)試薬とPCR試薬の組み合わせが結果に及ぼす影響を検討した。CV-A6, CV-A10, CV-A16, EV-A71, CV-B1, CV-B5, E-11, E-30, EV-D68, HRV-Aが陽性の臨床検体よりウイルスRNAを抽出し, 検量用に各ウイルスの5'UTR部分配列を挿入したプラスミドDNAを作製し, RT-real time PCR法²⁾で定量した。ウイルスRNAの希釈列(1.0E+02, 1.0E+01, 1.0E+00, 1.0E-01)に対し, 原法, 原法RT+変法PCR, 変法, 変法RT+原法PCRを実施した(24ページ表1の1-4)。結果は電気泳動像でバンドが検出された場合を1としてカウントし, 検出数ごとに色分けした(24ページ表2)。最も検出が多かったのは変法, 次いで原法RT+変法PCRの組み合わせであった。検出数が多かった遺伝子型は, いずれの組み合わせにおいてもCV-B1とCV-B5で, 少なかったのはEV-D68とHRV-Aであった。すべての組み合わせを通じて, EV-D68とHRV-Aの検出感度が悪く, A種のウイルスの中ではCV-A6の検出感度がやや悪かった。

3) RT試薬とPCR試薬の組み合わせ

RT試薬とPCR試薬の違いによる結果への影響をさらに調査するため, 病原体検出マニュアルに記載されていない試薬を加えて試験した(24ページ表1の1-7)。臨床分離株(CV-A6, E-25, EV-D68, HRV-A)由来ウイルスRNAを, RT-real time PCR法³⁾で定量して用いた。検討した組み合わせのうち, 変法はCV-A6, E-25, EV-D68で, RT試薬: PrimeScript II 1st strand cDNA Synthesis Kit(Random Hexamer使用)+変法PCRの組み合わせはCV-A6, EV-D68, HRV-Aで最も低コピー数まで検出が可能であり, これらで感度が最も高かった(webのみ掲載表3参照; <https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/2024/12/538d02t03.gif>)。

原法と比較して変法は, 多種のEV・HRVのVP1領域の遺伝子を検出する検査法として高感度であり, 今回の試験の結果, PCR試薬としてEmeraldAmp PCR Master Mixの使用が感度の向上に貢献していることが示唆された。実施したすべての組み合わせで, ウイルス遺伝子型による検出感度の差が確認されたが, 変法は原法のPCR試薬のように, あらかじめ試薬を混合する複雑な工程が排除されることで, 施設間での差を軽減できる可能性が示された。また, RT検討試薬は, PrimeScript II 1st strand cDNA Synthesis Kit(Random Hexamer使用)が, 変法で用いているPrimeScript RT reagent Kitと同程度の感度があり, 代替可能であると考えられた。

EV-D68の試験において, 非特異反応と思われるバンドが検出されたことから(24ページ表2), 多種のEVが検出可能な遺伝子検査では, 臨床検体に含まれる他の

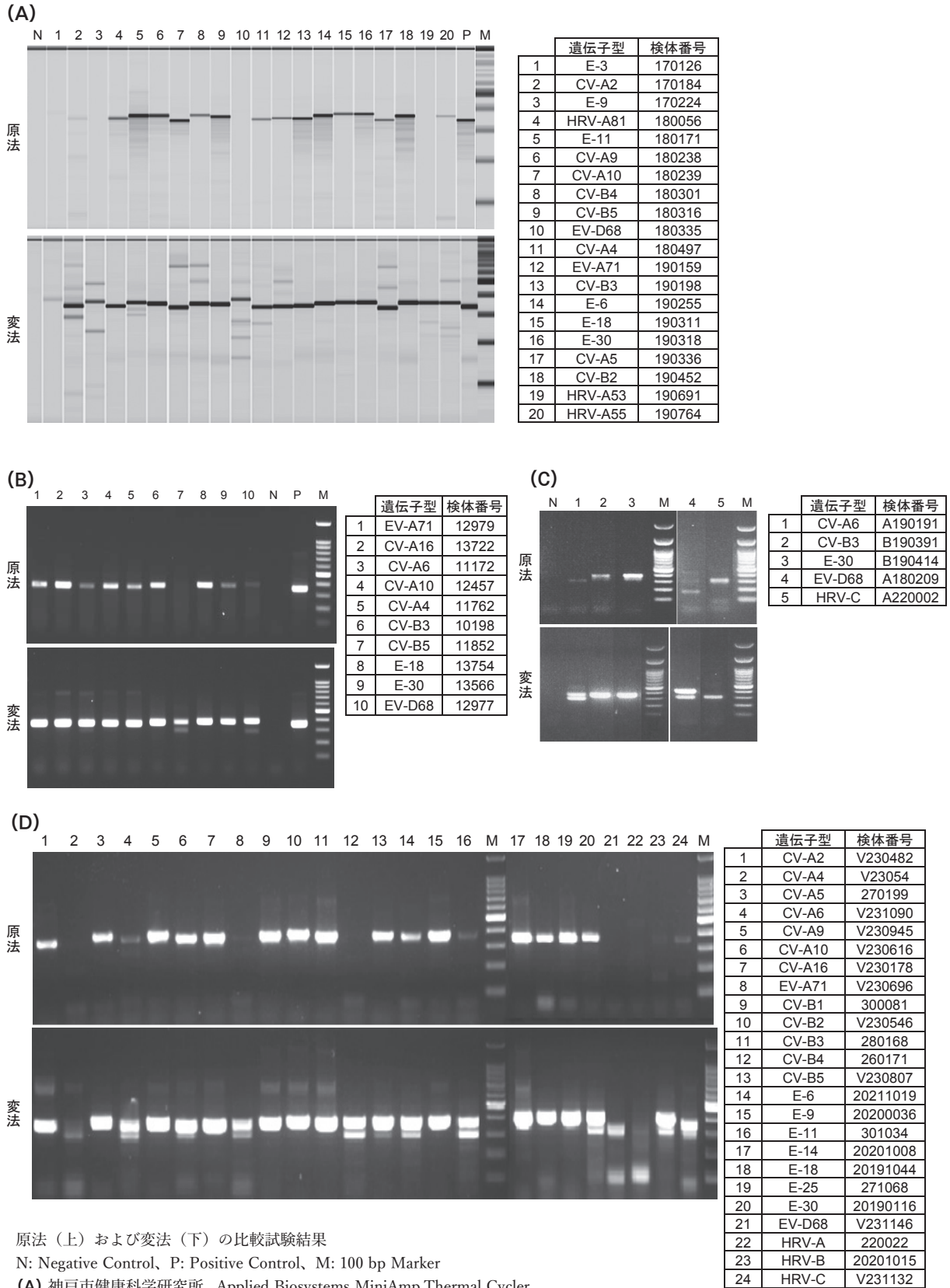


図. 各地方衛生研究所での比較試験結果

表1. 検討した各試薬の組み合わせ

組み合わせ	RT反応試薬	RT primer	1st PCR	1st PCR primer	2nd PCR	2nd PCR primer
1 原法	Thermo Fisher Scientific SuperScript II RNaseH-Reverse Transcriptase	CODE RT primer	Roche Taq DNA Polymerase	224/222	Roche Fast Start Taq DNA Polymerase	AN88/AN89
2 原法RT+変法PCR			Takara EmeraldAmp PCR Master Mix		Takara EmeraldAmp PCR Master Mix	
3 変法	Takara PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time)	Random Hexamer	Takara EmeraldAmp PCR Master Mix	224/222	Takara EmeraldAmp PCR Master Mix	AN88/AN89
4 変法RT+原法PCR			Roche Taq DNA Polymerase		Roche Fast Start Taq DNA Polymerase	
5 RT:変法試薬, CODE Primer +変法PCR	Takara PrimeScript II 1st strand cDNA Synthesis Kit	CODE RT primer	Takara EmeraldAmp PCR Master Mix	224/222	Takara EmeraldAmp PCR Master Mix	AN88/AN89
6 RT:検討試薬, CODE Primer +変法PCR			Takara EmeraldAmp PCR Master Mix		Takara EmeraldAmp PCR Master Mix	
7 RT:検討試薬, Random Primer +変法PCR	Takara PrimeScript II 1st strand cDNA Synthesis Kit	Random Hexamer	Takara EmeraldAmp PCR Master Mix	224/222	Takara EmeraldAmp PCR Master Mix	AN88/AN89

表2. 各試薬の組み合わせの検出感度1

原法	copies/μL RNA抽出液				Total
	1.0E+02	1.0E+01	1.0E+00	1.0E-01	
CV-A6	3	1	1(w+)	0	5
CV-A10	4	4	2,1(w+)	0	11
CV-A16	4	4	1	0	9
EV-A71	4	2,2(w+)	1(w+)	0	9
CV-B1	4,1(w+)	4	3,1(w+)	0	13
CV-B5	5	4,1(w+)	4	1,1(w+)	16
E-11	4	4	2,2(w+)	1(w+)	13
E-30	4	4	2(w+)	0	10
EV-D68	1(w+)	0	0	0	1
HRV-A	1,1(w+)	1	0	0	3
Total	36	31	20	3	90

変法	copies/μL RNA抽出液				Total
	1.0E+02	1.0E+01	1.0E+00	1.0E-01	
CV-A6	5	4	3	1	13
CV-A10	5	4,1(w+)	4	2	16
CV-A16	5	4,1(w+)	3,1(w+)	0	14
EV-A71	5	4,1(w+)	4	2	16
CV-B1	5	5	5	3	18
CV-B5	5	5	5	5	20
E-11	5	4,1(w+)	4	2	16
E-30	5	5	4	0	14
EV-D68	3,1*	3,1(w+)	1(w+)	0	9
HRV-A	5	2,2(w+)	0	0	9
Total	49	47	34	15	145

原法RT+変法PCR	copies/μL RNA抽出液				Total
	1.0E+02	1.0E+01	1.0E+00	1.0E-01	
CV-A6	5	2,2(w+)	1	0	10
CV-A10	5	5	3,1(w+)	1	15
CV-A16	5	5	2	0	12
EV-A71	5	5	2	0	12
CV-B1	5	5	5	2,1(w+)	18
CV-B5	5	5	5	3	18
E-11	5	5	4,1(w+)	1,1(w+)	17
E-30	5	5	1	0	11
EV-D68	2,2(w+)	0	0	0	4
HRV-A	5	2,2(w+)	0	0	9
Total	49	43	25	9	126

変法RT+原法PCR	copies/μL RNA抽出液				Total
	1.0E+02	1.0E+01	1.0E+00	1.0E-01	
CV-A6	4	2,2(w+)	0	0	8
CV-A10	4	4	4	1,1(w+)	14
CV-A16	4	4	2,1(w+)	0	11
EV-A71	4	3,1(w+)	1,2(w+)	0	11
CV-B1	4,1(w+)	4	3,1(w+)	3	16
CV-B5	5	4,1(w+)	4	3	17
E-11	4	4	4	3	15
E-30	4	4	2	0	10
EV-D68	1,1*	2(w+)	0	0	4
HRV-A	1,2(w+)	1	1(w+)	0	5
Total	39	36	25	11	111

陽性地帯研数	5	4	3	2	1
w+	弱陽性 (バンドは確認できるが、ゲルの切り出しでの塩基配列の確認は困難と思われる薄いバンド)				
*	シーケンスで確認できず (非特異反応の可能性)				
使用したRNAの検体番号; CV-A6: V231094, CV-A10: V231048, CV-A16: V230178, EV-A71: 30148, CV-B1: 281070, CV-B5: ME24012, E-11: 301033, E-30: 2019105, EV-D68: ME22050, HRV-A: 291016					

病原体を含む夾雑物の影響を排除することが困難である可能性がある。検査の正確性を求めるためには、EV・HRV 共通VP4-VP2部分領域の検査結果を併せて評価する必要がある。EV・HRV 感染症の検査において、原法および変法は全国の地衛研で汎用されているため、地衛研における遺伝子検査の精度を担保するためにも、さらなる情報を収集し、共有する必要がある。

本研究は各自自治体、地衛研の倫理規定にしたがって実施した。

謝辞: 本稿の作成にあたり、適切なお助言をいただきました国立感染症研究所ウイルス第二部第二室の有田峰太郎先生に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 国立感染症研究所, 手足口病 病原体検出マニュアル 令和5 (2023) 年6月 Ver.2
- Nijhuis M, *et al.*, J Clin Microbiol 40: 3666-3670, 2002
- Tapparel C, *et al.*, J Clin Microbiol 47: 1742-1749, 2009

地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所
 中田恵子 前田和穂
 堺市衛生研究所
 三好龍也
 兵庫県立健康科学研究所
 荻 美貴
 神戸市健康科学研究所
 谷本佳彦 大西優伽
 奈良県保健研究センター
 松浦侑輝 山本紗也 千葉翔子