下水中のノロウイルス定量観測-福井県での５年間の場合-

福井県衛生環境研究センター　○東方美保、中村雅子、川畑光政

Quantitative Survey of Norovirus in Wastewater for 5 years in Fukui Prefecture , by Miho TOHO, Masako NAKAMURA and Mitumasa KAWABATA (Fukui Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

１．目的と意義

嘔吐・下痢を主症状とするウイルス性の急性胃腸炎感染症や食中毒が増加している。その主な原因であるノロウイルス(NV)は、感染者の腸内で増殖し糞便中に排出され、下水や河川水に流れ込むと考えられる。そこで、ヒトが排出したウイルスによる汚染が高いと予想される下水を経時的に採取し、汚染状況がモニタリングできれば、より広い範囲におけるヒトの感染実態の把握が可能となると考え、調査を行った。

２．調査材料

福井県北部の坂井地区では、坂井地区全体の下水が流入するＡ地点と坂井地区北部の下水が流入するＢ地点の２地点を、福井県中央部の福井市では、福井市北部・西部・南部の下水が流入するＣ地点と福井市東部の下水が流入するＤ地点の２地点を、それぞれ採取地点とし、計４地点に流入する下水を月に１～２回、採取した。採取年度は基本的に４月～翌年３月までとし、平成15～19年度の５年間にわたり、計355検体を採取した。

３．方法

採取した下水は、PEG沈殿法により濃縮（平成15・16年度は400mL→4mLの100倍濃縮、平成17～19年度は40mL→1mLの40倍濃縮)を行った。この下水濃縮サンプルを用いたRNA抽出・逆転写反応・NV遺伝子検査は平成15年11月５日付け厚生労働省通達に準じて行った。すなわち SV Total RNA isolation system（Promega）またはQIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いてRNAを抽出し、random primerを用いた逆転写反応により、cDNAを合成した。引き続きリアルタイムPCR法でのNV遺伝子定量検査を、GenogroupⅠ(ＧⅠ）・GenogroupⅡ(ＧⅡ)の遺伝子群別に行い、コピー数を測定した。最終的な定量値は、濃縮率等を考慮し当初に採取した下水1mLあたりの遺伝子量(copies/mL)に換算して示した。得られたNV遺伝子量変動パターンを、ヒトでのNV検出動向に関連するデータ(感染症発生動向調査における感染性胃腸炎患者報告数、当センターで検査した急性胃腸炎患者における病原ウイルス検出状況)と比較し、相関性を検討した。

４．結果と考察

NV遺伝子定量結果のうち、平成15～16年度分を図１に、感染症発生動向調査における感染性胃腸炎患者報告数の変動と共に示した。

平成17～19年度分のデータは示さないが、４地点で５年間を通し、ほぼ共通してみられた傾向は、以下のとおりであった。

遺伝子群による違いとして、胃腸炎患者から検出される割合が高いＧⅡが、ＧⅠよりも高頻度・高濃度で検出された。ＧⅠは検出頻度自体が少なく、検出された場合でも同時に検出されたＧⅡの10～100分の１の定量値にとどまることが多かった。

NV遺伝子量はヒトでの流行期とされる秋季～春季を中心に高レベルの定量値(ＧⅡで10の3～4乗のオーダー)を示した。一方、夏季においても低レベルでの定量値(ＧⅡで10の1～2乗のオーダー)で検出される例がみられた。

また、NV遺伝子量の変動と、感染性胃腸炎患者報告数の変動にはかなりの相関性が伺えた。患者報告数増減の時期は年度により前後するが、下水中のNV遺伝子量の変動も、感染性胃腸炎患者報告数より約半月～１ヶ月遅れで同様のずれを示した。

一方、年度によって異なる傾向も観察された。下水1mLあたりに換算したNV遺伝子量の分布は、Ａ地点での場合(図２)とほぼ同様の傾向を各地点で示した。ＧⅡ/4に分類されるNVによる大流行が確認された平成18年度に、ＧⅡのNV定量値が特に高値に偏った分布を示すなど、年度ごとで異なる分布傾向が見られた。しかし、感染性胃腸炎患者報告数の分布を同様にグラフ化した図３と比較すると、各年度で相関性の高い傾向を示した。

また、時には特定の採取地点・採取時期のみでの検出動向も見られた。平成16年度後半(12～3月)のＣ地点では、ＧⅠがＧⅡよりも高値で検出された。同時期には、ＧⅠのNVが検出された複数の胃腸炎患者の発生を、Ｃ地点に流入する下水処理地区に隣接した地域で確認しており、Ｃ地点の処理地区においても同様に、ＧⅠのNVが流行していた可能性も考えられる。

５．結論

下水のリアルタイムPCR法によるNV定量観測は、ヒトにおけるNVの検出動向と相関性が高い量的変動パターンを得ることが可能であった。

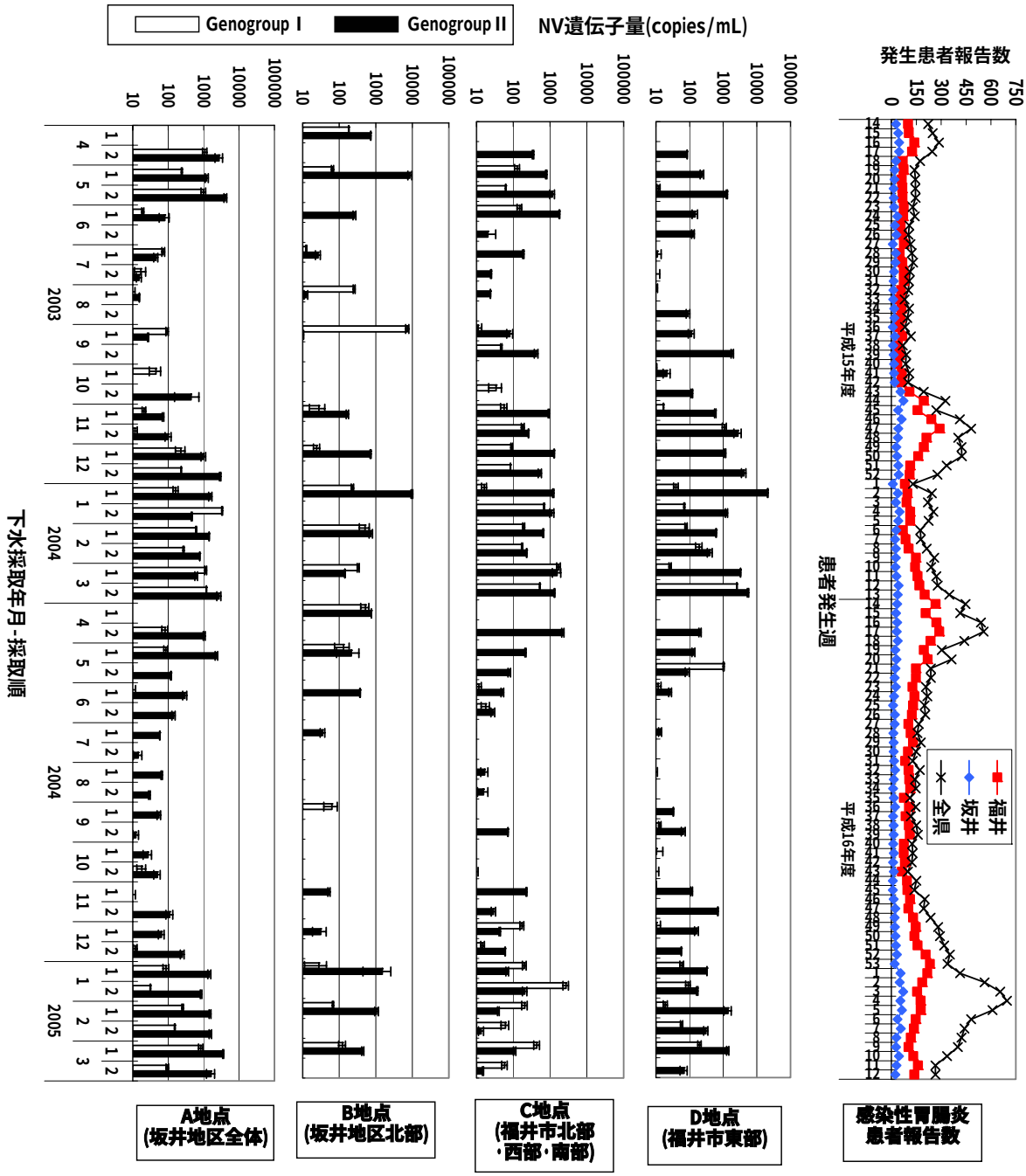

図1．福井県内における下水流入水のリアルタイムPCR法によるノロウイルス定量検査結果
および 感染症発生動向調査における感染性胃腸炎患者報告数(平成15～16年度)

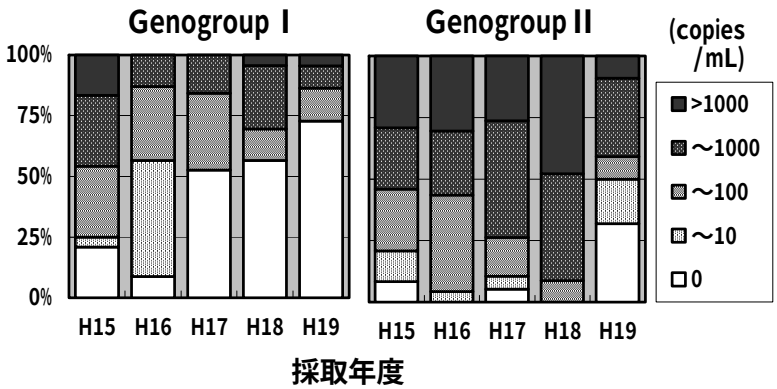

図2．A地点で採取した下水流入水におけるNV遺伝子量の分布 (n=19～24)

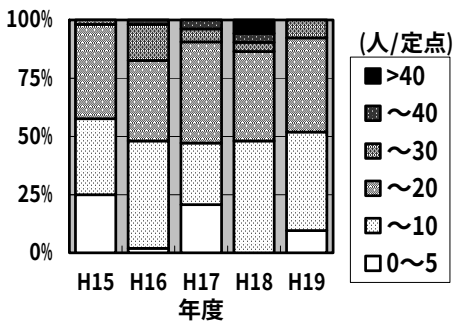

図3．福井県における感染性胃腸炎患者定点
あたり報告数の分布(感染症発生動向
調査による週ごとの集計値,n=52～53)