福岡県の非細菌性急性胃腸炎患者から検出されたSmall Round Virus

福岡県衛生公害センター
大津　隆一　　福吉　成典　　高橋　克巳

（昭和63年12月26日受付）
（平成1年2月2日受理）

Key words: nonbacterial gastroenteritis, electron microscopy, small round virus, oyster consumption

要　旨

福岡県で1987年12月～1988年5月に発生した5件の非細菌性集団食中毒様事例の電子顕微鏡によるウイルス検索を実施し，全事例からSRVが検出された．5事例はいずれも呕気，呕吐，腹痛，下痢を臨床主徴とし，症状は比較的軽く，患者は2～3日で回復した．疫学調査の結果，推定原因食品として事例2，3で生カキが挙げられた．電顕によるウイルス検索により各事例から検出されたSRVは直径約30～35nmの辺縁に突起様構造を有するSRVであり，形態的にも類似していた．患者ペア血清を用いた免疫電顕法の結果，事例1，事例2と3及び事例4と5の3群のSRVに大別された．また事例2のSRVは都衛研より分与されたtype 11と82-21（愛媛衛研より都衛研に分与されたハワイ関連因子）患者ペア血清との間に有意な抗体上昇が認められることから，東京都と愛媛県で報告されている一部の粒子に近縁なSRVであると考えられた．

序　文

感染症としてのウイルス性胃腸炎は主として冬季に多発し，患者の糞便中からは比較的大型のロタウイルスや直径約30nm前後の小型球形ウイルスいわゆるSRV（small round virus）がしばしば検出される．これらの検出ウイルスの過半を占める乳児呕吐下痢症の原因ウイルスとされるロタウイルスの研究は進んでおり，最近，各地で従来の定型ロタウイルスと異なる非定型ロタウイルスによる急性胃腸炎の集団発生の報告もある[1)~5)]．これに対し，SRVは現状ではそのほとんどが培養不能なことや電子顕微鏡による検出しかできないことから，粒子の性状や分類上の位置など不明なことが多いが，呕吐・下痢・腹痛を伴ない冬季に頻発する非細菌性の集団食中毒様事例への関与が示唆され，あるいはSRVに起因する集団食中毒様事例が各地で報告されている[6)~11)]．

福岡県においても感染症サーベイランス事業で県内の小児科医院より搬入されるウイルス性胃腸炎疑い患児の糞便や，県内で発生した非細菌性集団食中毒様事例の患者糞便中のウイルス検索を電子顕微鏡を用いて実施しており[12)]，1987年12月から1988年5月に県下で発生した5件の非細菌性集団食中毒様事例からSRVが検出されたのでその詳細について報告する．

材料と方法

材料：1987年12月15日（事例1），同12月19日（事例2），1988年1月30日（事例3）同4月23日（事例4）及び5月25日（事例5）に県下で発生した，細菌検査で病原細菌の検出されない5件の非細菌性集団食中毒様事例において採取された糞便の中で，R-PHA法で陰性のものを供試検体とした．

電子顕微鏡（EM）法：糞便の10%乳剤にダイフロンS3を等量加えて撹拌後，低速遠心して水層を

別刷請求先：（〒818-01）福岡県太宰府市向佐野39
福岡県衛生公害センター　大津　隆一

回収し，10,000rpmで30分間遠心した上清を35%庶糖液3mlに重層し，40,000rpm（ベックマン，S50.1ローター）で2.5時間高速冷却遠心後，得られた沈渣を蒸留水に再浮遊したものを親水化処理を施した支持膜上に滴下し，リンタングステン酸でネガティブ染色して1グリッド（400メッシュ）につき少なくとも5スクェアを観察してウイルス粒子の検索を行なった．

免疫電子顕微鏡（IEM）法：急性期と回復期の患者血清をリン酸緩衝液で希釈し，56℃で30分間非働化後，40,000rpmで1時間高速遠心した上清と患者糞便から精製後，希釈調整されたウイルス浮遊液を混合し，室温で1時間静置後，4℃にて1夜放置したものをリンタングステン酸で染色した．反応の程度はウイルス粒子の凝集と粒子に対する抗体の付着度を観察し，抗体付着の認められないものを0，部分的に少量の抗体の付着したものを1＋，全体的に抗体の付着した多量の凝集粒子像を2＋，著しい抗体の付着した数個の凝集粒子像を3＋，過度の抗体が付着して粒子の原形をとどめないものを4＋とし，急性期と回復期血清との間で1以上の相異を認めるものを有意な抗体上昇と判定した．

成　績

1. 疫学調査

県下で発生した上記5件の集団食中毒様事例について，患者数，潜伏時間，推定原因食品等に関する調査を実施した（Table 1）．

事例1：1987年12月15日から16日にかけ県下K保健所管内の山間部の4小学校と1中学校で，学童と教員を含む87名が呕吐，腹痛を主徴とし，軽度の下痢を伴なう急性胃腸炎症状を呈し，給食が原因として疑われたが原因食品の特定はできなかった．

事例2：同年12月19日に県下M保健所管内の飲食店で忘年会に出席した14名中11名（20～44歳までの男性1名と女性10名）が急性胃腸炎症状を呈した（罹患率78.6%）．本事例では宴会で料理を喫食して14～42（平均31.3）時間後に呕気，下痢，腹痛などの症状を呈した．発熱（2名）は軽微で，便は軟便かあるいは下痢便であり，2～3日で回復し予後は良好であった．本事例の原因推定食品として生カキ（酢ガキ）が挙げられ，宴会出席者14名中カキを喫食した11名全員が発症しているのに対し，非発症者はカキを喫食していないことが明らかとなった．

事例3：1988年1月30日に同じくM保健所管内の飲食店での宴会に出席した22名中19名（15～39歳までの男性15名と女性4名）が集団で急性胃腸炎症状を呈した（罹患率86.4%）．この事例における潜伏時間は4～72時間で，平均は33.1時間であった．初発症状は呕気や呕吐を主徴とし，発熱は軽微のもの4名であった．原因推定食品として当日はこのグループのみが喫食していた酢ガキ（地ものの加工用カキ）が挙げられ，出席者22名中16名がこれを喫食し，喫食者全員と他に酢ガキを喫食していないもの3名を加えた計19名が発症した．

Table 1　Characteristics of outbreaks of nonbacterial gastroenteritis in Fukuoka

Outbreak	Date	Place	Number of patients	Symptoms	EM observation
No. 1	87.12.15	School	87	Nausea, Vomiting, Diarrhea Abdominal pain	SRV(13%)
No. 2	87.12.19	Restaurant	11	Nausea, Vomiting, Diarrhea Abdominal pain, Headache	SRV(33%)
No. 3	88. 1.30	Restaurant	19	Nausea, Vomiting, Diarrhea Abdominal pain	SRV(30%)
No. 4	88. 4.23	School	35	Vomiting, Diarrhea Abdominal pain, Headache	SRV(25%)
No. 5	88. 5.25	School	56	Nausea, Vomiting, Diarrhea Abdominal pain	SRV(56%)

平成元年8月20日

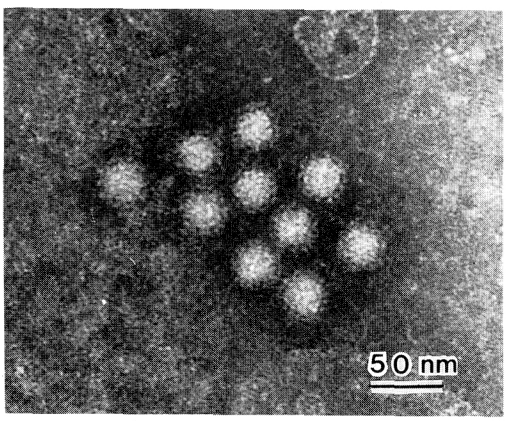
事例4：同年4月23日から25日にかけて県下Y保健所管内の女子高において生徒35名が呕吐，下痢，腹痛，頭痛を主徴とした急性胃腸炎症状を呈した．調理実習で喫食した食品が疑われたが原因食品の特定はできなかった．

事例5：同年5月25日に県下M保健所管内の小学校で1～3年生56名が急性胃腸炎症状を呈した．臨床症状は腹痛，呕気，呕吐を主徴とし他に下痢を伴なった．給食が原因として疑われたが原因食品は不明であった．

2．ウイルス学的検索

EM法によるウイルス検索の結果，全事例からFig. 1に示すようなSRVが検出された．検出されたSRVはいずれも形態学的に類似しており，直径約30～35nmの辺縁に突起様構造を有する粒子であった．事例1では供試された8検体中1検体（小2，女児）から，事例2では6検体中2検体（35歳，男性，44歳・女性）から，事例3では10検体中3検体（男性・22，27，37歳）から，事例4では4検体中1検体（女子高生）から，また事例5では9検体中5検体（9歳・男児2名，8歳・男児2名及び女児1名）からSRVが検出された．

Fig. 1 Electron micrograph of small round virus (No. 2 outbreak).



3．IEM法による血清学的検索

5件の事例により検出されたSRVと入手し得た事例1，2，5の急性期と回復期の患者ペア血清を用いたIEM法による血清学的検索の結果はTable 2に示した通りであった．また，IEMの判定はウイルス粒子の凝集及び粒子と抗体の反応の程度（Fig. 2A，B，C，D，E）を観察することにより行った．事例1の患者ペア血清には事例1で検出されたSRVが，事例2の患者ペア血清には事例2，3で検出されたSRVが，また事例5の患者ペア血清には事例4，5で検出されたSRVが有意な抗体上昇を示した．

比較的ウイルス量の多かった事例2のSRVと東京都衛生研究所より分与された患者ペア血清とを用いてIEM法を実施した結果，事例2のSRVは都衛研のNorwalk-like virus 5型（N-5粒子）で発症した患者ペア血清（type 11）に対し有意な抗体上昇を示し，また愛媛衛研82-21の患者ペア血清（愛媛衛研より都衛研に分与されたハワイ関連因子感染血清）に対しても有意な抗体上昇が認められた（Table 3）．

考　察

疫学調査の結果から，今回の5件の事例には共通所見が認められた．即ち，①患者は学童から成人に至る幅広い年齢層であること，②判明したも

Table 2 Results of immune microscopy with paired sera of patients

SRV \ Paired sera	No. 1		No. 2		No. 5	
	Acute	Conv.	Acute	Conv.	Acute	Conv.
No. 1 Outbreak	0	3+	0	0	0	0
No. 2 Outbreak	0	0	0	3～4+	0	0
No. 3 Outbreak	0	0	0	3+	0	0
No. 4 Outbreak	0	0	0	0	0	2+
No. 5 Outbreak	0	0	0	0	0	2+

Conv.: Convalescent

Fig. 2　Aggregates of SRV particles and convalescent serum from patient Antibody coating of SRV particles was scored as 0 (A), 1+(B), 2+(C), 3+(D), 4+(E) respectively.
Two SRV particles linked by a single antibody molecule (arrow).

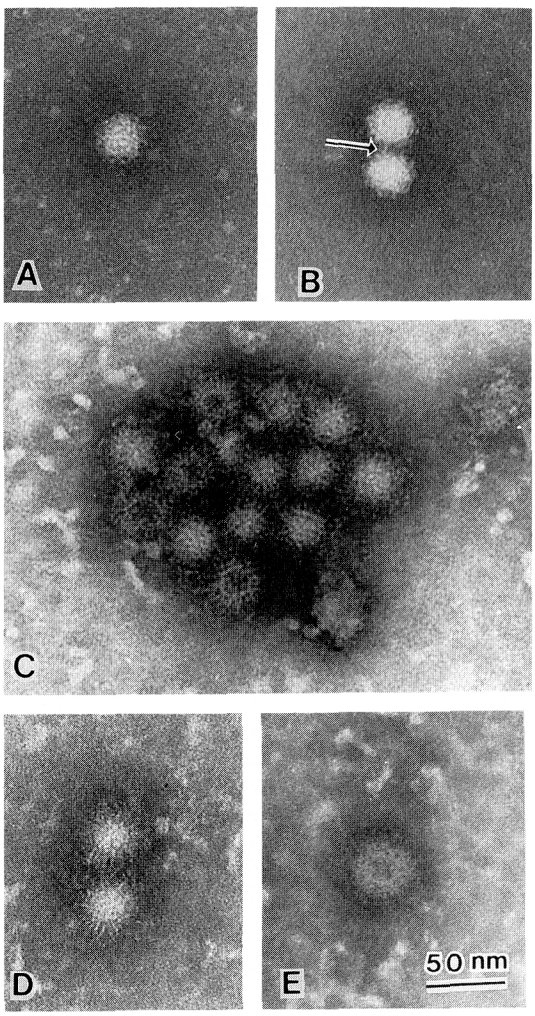


Table 3　Results of immune electron microscopy with paired sera of Hawaii agent

Paired sera	type 11(Tokyo)		82—21(Ehime)	
SRV	Acute	Conv.	Acute	Conv.
No. 2　Outbreak	0	3+	0	3+

Conv.: Convalescent

のの潜伏時間の平均が約30時間であること，③臨床症状は呕気や呕吐を主徴とすること，④有症期間は約2～3日と短く予後良好であること，⑤既知病原細菌の特定ができないこと．これらの所見の特徴はSRVに起因する急性胃腸炎の疫学所見[13]に酷似していた．

ウイルス学的検索により，5件の事例で検出された各SRVは辺縁に突起様構造を有する粒子であることから，Caul ら[14]の分類によるSRSV (small round structured virns) に属するSRVと考えられる．

各事例で検出されたSRVと事例1，2，5のペア血清を用いた血清学的検索の結果，5件の事例は事例1，事例2と3及び事例4と5の3群のSRVに大別されたが，既知の因子との類縁を論ずるまでには至らなかった．しかし，事例2のSRVは都衛研type 11のペア血清に対し有意な抗体の上昇があり，N-5粒子（都衛研ハワイ関連因子）は82-21のペア血清に対して有意な抗体上昇を示すこと，また事例2のSRVは82-21のペア血清に対しても有意な抗体上昇が認められることから，ハワイ因子に近縁なSRVと推測される．

5件の事例において検出されたSRVと病因との関連については，①他に既知病原細菌の断定ができないこと，②IEM法の結果，患者の急性期と回復期血清との反応の間に有意な抗体価の上昇が認められる（事例3，4については患者血清が得られなかったため，ウイルス検出患者の自己血清によるIEM法実施不能）ことから，検出されたSRVが今回の集団急性胃腸炎の起因ウイルスであったことが示唆された．

これら5件のSRVに起因する集団食中毒様事例で特に注目されるのは事例2，3の2件であり，この2件はSRV汚染カキ生食による急性胃腸炎であった可能性が高い．飲食物を介したSRVによる急性胃腸炎の集団発生例は各地で数多く報告されている[15)~20)]．原因としてはSRVによって汚染された飲料水や，SRVに汚染された海域で採取された二枚貝（カキ，ハマグリ，トリガイ）の喫食及び食品取扱者を介してのSRV伝播が考えられている．食品の中で報告例が多いのはカキによるもので，カキに関連する食中毒様事例は毎年その喫食時期である冬季に多発する傾向が認めら

れ，カキを生食あるいは加熱不十分なまま喫食して急性胃腸炎症状を呈することが多い．

このように近年，冬季の非細菌性集団食中毒様事例におけるSRV感染症事例の中ではカキがSRVの媒介物として推定されることが多く，食品衛生上からも食品を介したSRVの伝播防止対策を構じることの重要性が指摘されている．しかし，カキとSRVとの濃厚な関係が示唆されているにもかかわらず，カキからSRVを検出した報告はほとんどない．またSRVによる集団発生事例の場合には原因食品を特定できない場合も多いので，類似した症状を呈する他の疾病との関連も考慮に入れ，幅広い見地からSRVの生態を考えていく必要がある．

謝辞：疫学調査に御協力いただいた福岡県衛生部生活衛生課と各保健所及び患者血清を分与していただいた東京都衛生研究所の安東民衛，関根整治及び愛媛県衛生研究所の大瀬戸光明の諸先生に深く感謝いたします．

文　献

1) McNulty, M.S., Allan, G.M., Todd, A.D., McFerran, J.B. & McCracken, R.M.: Isolation from chickens of a rotavirus lacking the rotavirus group antigen. J. Gen. Virol., 55 : 405—413, 1981.
2) Nicolas, J.C., Cohen, J., Fortien, B., Lourenco, M.H. & Bricout, F.: Isolation of a human pararotavirus, Virol., 124 : 181—184, 1983.
3) Tao, H., Goungmu, C., Changan, W., Zingyi, C., Tungxin, C., Weiwei, Y., Henli, Y. & Kinghai, M.: Rotavirus-like agent in adult non-bacterial diarrhoea in China. Lancet, 2 : 1078—1079, 1983.
4) Chasey, D., Bridger, J.C. & McCrae, M.A.: A new type of atypical rotavirus in pigs. Arch. Virol., 89 : 235—243, 1986.
5) Pedley, S., Bridger J.C., Chasey, D. & McCrae, M.A.: Definition of t new froups of atypical rotavirus. J. Gen. Virol., 67 : 131—137, 1986.
6) Baine, W.B., Zampieri, A., Mazzotti, M., Angioni, G., Greco, D., Gioia M.D., Isso, E., Gangarosa, E.J. & Pocchiari, F.: Epidemiology of cholera in Italy in 1973. Lancet, 2 : 1370—1381, 1974.
7) Thornhill, T.S., Kalica, A.R., Wyatt, R.G., Kapikian, A.Z. & Chanock R.M.: Pattern of shedding of the norwalk particle in stools during experimentaly induced gastroenteritis in vollanteers as determined immune electron mucroscopy. J. Infect. Dis., 132 : 28—34, 1974.
8) Wyatt, R.G., Dolin, R., Blacklow, N.R., DuPont, H., Buscho, R.F., Kapikian, A.Z. & Chanock, R.M.: Comparison of three agents of acute infectious nonbacterial gastroenteritis by cross-challenge in volunteers. J. Infect. Dis., 129 : 709—714, 1974.
9) Appleton, H., Buckley, M., Thom, B.T., Cotton, L.J. & Henderson, S.: Virus-like particles in winter vomiting disease. Lancet, 1 : 409—411, 1977.
10) Gill, O.N., Cubbitt, W.D., Mcswiggan, D.A., Watneg, B.M. & Bartett, C.L.R.: Epidemic of gastroenteritis caused by oyster contaminated with small round structured viruses. Brit. Med. J., 289 : 1532—1534, 1983.
11) 佐藤　清，三浦理図務，梅田昭三，龍田信義，関根整治，安東民衛，林　直志，寺山　武，岡田正次朗，大橋　誠：冬季に小・中学校で集団発生する非細菌性急性胃腸炎（2）福岡県における事例．第35回日本ウイルス学会総会．1987.
12) 大津隆一，福吉成典，高橋克巳，橋爪広好：福岡県において急性胃腸炎患児糞便より電顕的に検出されたウイルス様小型粒子．臨床とウイルス，15(4) : 570—571, 1987.
13) Kaplan, J.E., Feldman, R., Campoell, D.S., Lookabaugn, C. & Gary, G.W.: The frequency of a norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastroemteritis. Am. J. Public Health, 72 : 1329—1332, 1982.
14) Caul, E.O. & Appleton, H.: The electron microscopical and physical characteristics small round human fecal virus : An schema for classification. J. Med. Viol., 9 : 257—265, 1982.
15) 岡田正次朗：飲食物に由来するウイルス性胃腸炎．New Food Industry, 28(5) : 9—14, 1986.
16) 関根整治，林　直志，安東民衛，藪内　清，大橋誠，岡田正次朗：都内において集団発生した非細菌性胃腸炎のウイルス学的検索．感染症学雑誌，60 : 453—459, 1986.
17) 岡田正次朗：カキによる急性胃腸炎とSRV—歴史的背景とSRVによる小児嘔吐下痢症．食品と微生物，4(2) : 93—102, 1987.
18) 安東民衛，関根整治，林　直志，寺山　武，大橋誠，岡田正次朗：カキによる急性胃腸炎とSRV—東京都における集団発生状況とその調査成績．食品と微生物，4(2) : 103—114, 1987.
19) 山下育孝，大瀬戸光明，桑原広子，奥山正明，井上博雄，石丸啓郎：ハワイ因子と関連する小球形ウイルスの流行．愛媛衛研年報，48 : 1—4, 1987.
20) 春木孝祐，村上　司，木村輝男：生ガキが推定原因食と考えられた非細菌性集団食中毒の原因に関するウイルス学的検索．臨床とウイルス，16(1) : 56—64, 1988.

Small Round Viruses Isolated from Acute Infectious Nonbacterial Gastroenteritis in Fukuoka

Ryuichi OHTSU, Shigenori FUKUYOSHI & Katsumi TAKAHASHI
The Fukuoka Environmental Research Center, 39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka

The existance of virus in facal specimens was investigated by electron microscopy in five outbreaks of nonbacterial acute gastroenteritis. Small round viruses (SRV) were found in all outbreaks. The negatively stained particles were about 30—35 nm in diameter and with ragged edges. Morphological characteristics resembled each other. Immune electron microscopical examination revealed large aggregates of SRV particles and antibody in convalescent sera from patients of all outbreaks. Furthermore, the second outbreak caused by oysters contaminated with SRV seemed to be associated with the Hawaii agent.

平成元年8月20日