

## 冬季に幼稚園で発生した急性胃腸炎の集団発生

篠崎 邦子, 山中 隆也, 小川 知子, 時枝 正吉

## An Outbreak of Small Round Structured Virus-Associated Gastroenteritis in a Kindergarten in Chiba, 1990

Kuniko SHINOZAKI, Takaya YAMANAKA, Tomoko OGAWA  
and Masayoshi TOKIEDA

## I はじめに

近年、急性胃腸炎の病因としてのウイルスは、電子顕微鏡により糞便中のウイルスを観察する方法によって検出が可能になった。その中で、直径30~35nmの小型球形ウイルス(SRV)は、多くの非細菌性胃腸炎患者から検出され<sup>1,2,3)</sup>、その病原性が問題となっている。また、最近では、冬季のかぜの集団発生例の中にもSRV感染によるものが含まれているという報告<sup>4,5)</sup>がされ注目されている。

今回我々は、千葉県内の幼稚園で冬季に発生した、かぜ様症状を伴った急性胃腸炎の集団発生から、SRVを検出したので、その概要を報告する。

## II 材料及び方法

## 1. 材料

1990年12月初旬に県内のN幼稚園において発生した急性胃腸炎患者34名から採取した。うがい液は、2~3病日に21件、糞便は、2~5病日に24件採取した。また、血清は、2~3病日を急性期としその2週間後を回復期として、ペア血清18件、回復期血清のみ14件採取した。

## 2. 電顕観察

糞便材料は、PBSで10%乳剤とし、等量のフロロカーボン(ダイフロンS3)を加え、ホモゲナイズ後、3,000r.p.m. 20分間遠心した。その上清を30%ショ糖に重層し、35,000r.p.m. 150分間遠心し、その沈渣に少量の蒸留水を加え再浮遊させ試料とした。この試料に、2%リンタングステン酸でネガティブ染色を施し、ウイルス検索をおこなった。

## 3. 免疫電顕(IEM)法

被検血清は、PBSで20倍に希釈し56℃30分間非働化した。この血清と電顕試料を等量混合し、37℃1時間反応させ、4℃1晩放置後電顕試料と同様に染色した。IEMの判定は、Kapikianら<sup>6)</sup>の方法に準じ、ウイルス粒子に付着している抗体量を0~+4の5段階に設定し、1段階以上の抗体付着量の上昇のあったものをIEM陽性とした。

## 4. Western blot(WB)法

部分精製したウイルス粒子を含む材料を4~20%のポリアクリ

ロアミドゲルで電気泳動後、ニトロセルロース膜に転写し、幅2mmのストリップを作成した。このストリップを100倍に希釈した血清と一晚室温で振とう反応させ、アビジン・ビオチン法のアルカリフォスファターゼで染色した。ペア血清で、回復期に急性期より強いバンドが認められたものを陽性とした。

## 5. ウイルス分離および細菌学的検査

うがい液は、HeLa細胞、MDC K細胞に接種し、糞便は、10%乳剤遠心上清をHeLa細胞、Vero細胞に接種し、それぞれ2代継代を試みた。

また、患者便について細菌学的検査を実施した。

## 6. 血清反応

患者ペア血清について、インフルエンザの赤血球凝集抑制試験とアデノの補体結合試験を行った。インフルエンザは、1990~1991年のワクチン株(日本インフルエンザセンター分与)について、アデノは市販3型抗原(デンカ生研)について行った。

## III 結果

## 1. 発生状況

患者発生は、図1に示すように12月3日~12月7日までみられた。その分布は、12月5日(131名)と12月6日(94名)に患者全体の90%が集中し、12月5日をピークとした一峰性を示した。患者は、年少から年長までの園全体でみられ、また、職員にも発症がみられた。発病率は、園児474名中304名、64.1%であった。

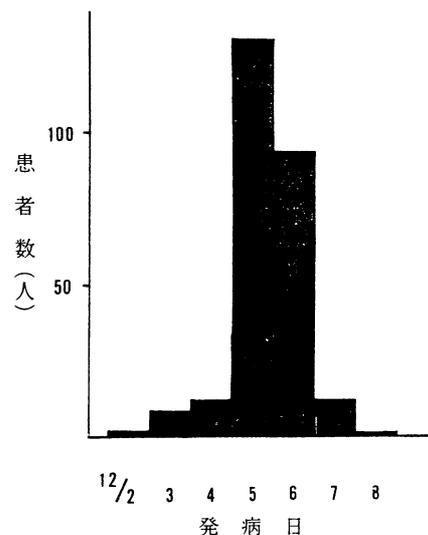


図1 日別患者発生状況

千葉県衛生研究所

(1993年11月20日受理)

冬季に幼稚園で発生した急性胃腸炎の集団発生

N幼稚園では、給食の調理を実施しておらず、外部給食施設を利用しており、喫食調査から原因食は推定できなかった。また、同給食を利用する他の施設での患者発生はみられなかった。

2. 臨床症状

患者の主な臨床症状を表1に示した。嘔吐は、76.3%と最も高頻度に認められた。嘔気、腹痛、発熱は約50%に認められたが、下痢は34.9%とやや低頻度であった。

これら臨床症状の程度を表2に示した。最も高頻度に認められた嘔吐は、1日5回以上の程度の強いものが22.8%にみられた。下痢は、1日5回以上の激しいものは6.6%と少なかった。発熱は、37~38℃が44.6%と半数にみられ、38~39℃が27.7%、39℃以上が15.5%と高熱のものが多くみられた。

表1 臨床症状の出現頻度

	嘔気	嘔吐	下痢	腹痛	発熱
出現頻度	134/304	232/304	106/304	156/304	148/304
(%)	(44.1)	(76.3)	(34.9)	(51.3)	(48.7)

表2 主な臨床症状の程度

症 状	出現頻度(%)
嘔 吐	
一日5回以上	53/232 (22.8)
下 痢	
一日5回以上	7/106 (6.6)
発 熱	
37~38℃	66/148 (44.6)
38~39℃	41/148 (27.7)
39℃以上	23/148 (15.5)

3. ウイルス粒子の検出およびIEM法による血清反応

糞便材料の電顕観察の結果24名中11名からSRVを検出した(表3)。これらSRVの直径は30nm前後で、表面に突起状の構造物が観察された(図2)。

電顕観察で糞便中のウイルス粒子が多く検出された試料を抗原として、患者ペア血清のIEM法を行った(表3)。糞便とペア血清の得られた11名中6名、ペア血清のみの7名中5名、合わせて18名中11名に抗体上昇が確認された。

表3 ウイルス検索結果

糞 便 数	EM	IEM*	
		S R V 陽 性 数	血 清 数 陽 性 数
24	11	18	11
		11**	6
		7***	5

\* EM観察でウイルス粒子が多く観察された5才女児の第5病日の材料を抗原とした。  
 \*\* 糞便とペア血清ともに採取された検体数  
 \*\*\* ペア血清のみの検体数

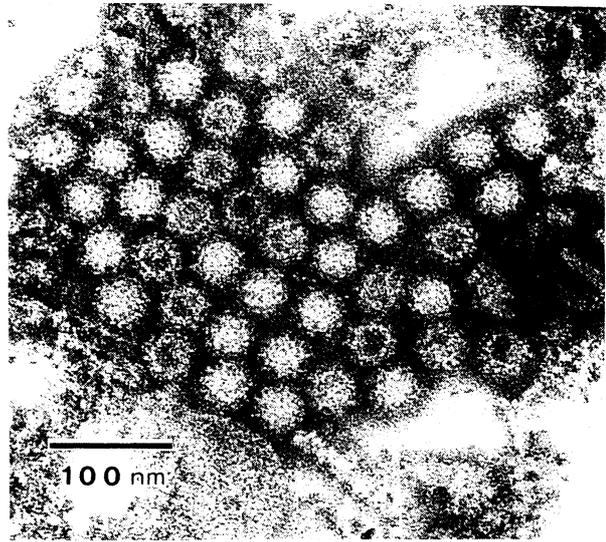


図2 検出したSRVの電顕写真

4. WB法による抗原性の検討

今回検出したSRVについて、患者血清を用いてWB法を試みたが、糞便中のウイルス量が少ないためバンドを検出することができなかった。また、当衛研で1987年の急性胃腸炎の集団発生から検出した、Hawaii関連因子、音便因子<sup>6)</sup>に共通抗原性のみられたSRV<sup>7)</sup>を抗原として、今回の患者血清とWB法による反応を見たが、陽性例は認められなかった。

5. ウイルス分離および細菌学的検査

患者糞便およびうがい液の細胞培養によるウイルス分離はすべて陰性であった。また、患者糞便の細菌学的検査から既知病原細菌は検出されなかった。

6. 血清反応

患者血清のインフルエンザ、アデノの血清反応は、いずれも抗体上昇がみられなかった。

IV 考 察

毎年全国で急性胃腸炎の集団発生が起こるが、それらの大部分が細菌に、一部が化学物質に起因しているが、原因不明に終わってしまうものが20~30%存在している<sup>8)</sup>。近年、電顕によるウイルス検索によって、これらの原因不明の集団発生事例の多くはSRVが関与していることが明らかになってきた<sup>9)</sup>。また、最近では冬季の集団かぜの中にSRV感染が含まれている可能性が示唆されている<sup>9)</sup>。

今回、12月初旬に県内の幼稚園で、かぜ様症状を伴った急性胃腸炎の集団発生がみられ、患者糞便から高率にSRVを検出した。ウイルス粒子数の多い便を抗原としたペア血清のIEM法では、回復期血清に明らかな抗体上昇がみられた。これらの結果から、今回の集団発生は検出したSRV感染によるものと思われた。しかし、患者発生状況から一斉暴露を受けたと思われたが、感染源、感染経路は明らかにできなかった。

今回検出したSRVは、直径30nm前後で表面に無定形の構造物がみられ、Caul<sup>10)</sup>の形態的特徴による分類では、表面に構

造物のあるSRV (small round structured virus) に入ると思われる。また、今回検出したSRVについてWB法を試みたが、便中のウイルス量が少ないため抗原性の検討は行えなかった。一方、患者血清について、1987年の急性胃腸炎の集団発生から検出し、Hawaii関連因子、音更因子に共通抗原性が見られたSRVとWB法を試みたが反応はみられず、検出したSRVは1987年のSRVとは異なる抗原性を有するものと思われた。

今回の流行の臨床症状は、嘔吐と発熱の頻度が高く、嘔吐の激しいもの、38℃以上の高熱のものが多くみられた。下痢は、頻度がやや低く程度も軽症であった。また、病院に通院した園児の多くは「かぜ」と診断され、発生当初は「集団かぜ」と考えられた。しかし、患者発生状況から食中毒も疑われかぜと食中毒の両方の検査を行った。

安東ら<sup>9)</sup>は、冬季に発生する集団かぜの中にSRV感染が混在し、特にインフルエンザ患者が急増する前の集団かぜにSRV陽性者が高率に検出されると報告している。今後、冬季の集団かぜ、特に初発の頃にはSRV感染を考慮して対応する必要があると考える。

## V ま と め

1990年12月初旬県内N幼稚園でかぜ様症状を伴った急性胃腸炎の集団発生がみられ、患者糞便24名中11名からSRVを検出した。IEM法による血清反応では、患者ペア血清18名中11名に抗体上昇が認められた。検出したSRVは直径30nm前後で表面に無定形の構造物がみられた。

## 謝 辞

WB法による検査をしていただきました国立予防衛生研究所 宇田川悦子先生、および県保健予防課、県衛生指導課、船橋保健所の関係各位に深謝します。

## 参考文献

- 1) Kapikian, A.Z., Wyatt, R.G., Dolin, R., Thornhill, T.S., Kalica, A.R. and Chanock, R.M. (1972): Visualization by immune electron microscopy of a 27 nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis, *J. Virol.*, 10, 1075-1081.
- 2) Madeley, C.R. and Cosgrove, B.P. (1975) Viruses in infantile gastroenteritis, *Lancet*, 2, 124.
- 3) Madeley, C.R. and Cosgrove, B.P. (1976): Calicivirus in man, *Lancet*, 1, 199-200.
- 4) 安東民衛, 藪内 清 (1989): 東京都における今冬季のSRVによる急性胃腸炎流行状況, 病原微生物検出情報月報, 10-3, 48-49.
- 5) 長谷川澄代, 森田修行 (1989): 小学校で集団発生したSRVによる急性胃腸炎, 第37回日本ウイルス学会総会演説抄録, 352
- 6) Taniguchi, K., Urasawa, S. and Urasawa, T. (1979): Virus-like particle, 35 to 40 nm associated with an institutional outbreak of acute gastroenteritis in adults, *J. Clin. Microbiol.*, 10, 730-736.
- 7) Kasuaga, K., Tokieda, M., Ohtawara, M., Utagawa, E. and Yamazaki, S. (1990): Small round structured virus associated with an outbreak of acute gastroenteritis in Chiba, Japan, *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 43, 111-121.
- 8) 財団法人厚生統計協会 (1992): 国民衛生の動向, 厚生指標 臨時増刊, 39-9, 438-439.
- 9) Sekine, S., Okada, S., Hayashi, Y., Ando, T., Terayama, T., Yabuuchi, K., Miki, T. and Ohashi, M. (1989): Prevalence of Small Round Structured Virus infections in acute gastroenteritis outbreaks in Tokyo, *Microbiol. Immunol.*, 33-3, 207-217.
- 10) Caul, E.O. and Appleton, H. (1982): The electron microscopical and physical characteristics of small round human fecal viruses, *J. Med. Virol.*, 9, 257-265.