

千葉県内で発生したC群ロタウイルスによる集団下痢症

篠崎 邦子, 山中 隆也, 海保 郁男, 時枝 正吉

An outbreak of group C rotavirus associated gastroenteritis
in a elementary school in Chiba, 1994Kuniko SHINOZAKI, Takaya YAMANAKA, Ikuo KAIHO
and Masayoshi TOKIEDA

I はじめに

ロタウイルスは、1973年Bishopら¹⁾により電子顕微鏡下に発見されて以来その研究は急速に進み、冬期乳幼児下痢症の起因ウイルスであることが確定している。近年、通常のロタウイルスと抗原性の全く異なるロタウイルスがヒトや動物から検出され非定型ロタウイルスと呼ばれている。現在、通常のロタウイルスをA群、非定型ロタウイルスをB-F群に分類している²⁾。非定型ロタウイルスのなかでヒトから検出されているのはB群とC群だけである。B群は、中国において成人を中心とした大流行を起こしている³⁾。C群は、世界各地で検出が報告されているが、ほとんどが散発例で⁴⁾、日本で数例の集団発生が報告されている⁵⁻⁸⁾。

今回、著者らは、1993年4月中旬千葉県内の小学校で発生した下痢、嘔吐、腹痛を主徴とした集団下痢症から高率にC群ロタウイルスを検出したので、その発生状況およびウイルス学的検索結果について報告する。

II 材料および方法

1. 材料

1993年4月中旬に県内のA小学校で発生した急性胃腸炎患者37名の3-4病日に採取した糞便を用いた。

2. 電子顕微鏡 (EM) 観察

糞便材料は、PBSで10%乳剤とし、等量のフロロカーボン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%蔗糖に重層し、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%リンタンクスチン酸によるネガティブ染色を施し、JEM1010 (日本電子) を用いてウイルス観察を行った。

3. 免疫酵素抗体法 (ELISA)

A群ヒトロタウイルス・モノクローナル抗体を用いたサンドイッチELISAキット、ロタクロン (トーレ・フジバイオニクス) を用いた。

4. 逆受身赤血球凝集反応 (RPHA)

岡山県環境保健センターより分与をうけた、C群ロタウイルス・モノクローナル抗体を感作させた固定羊血球によるRPHAキット⁹⁾を用いた。

5. ポリアクリルアミド電気泳動 (PAGE)

ロタウイルス陽性のEM用試料に緩衝液 (0.125M Tris · HC1, 6% SDS, 3% 2ME) を等量混合し、フェノール・クロロフォルムによる核酸の抽出を行った。抽出した核酸は、Leamml¹⁰⁾の方法に従い、10%ポリアクリルアミドゲルを用い20mA 4時間電気泳動を行い、その後銀染色を施した。

6. ウイルス分離および細菌学的検査

患者の10%糞便乳剤の遠心上清をHeLa細胞、Vero細胞に接種し、2代継代を試みた。また、患者糞便、4月13日-16日の給食の検食、調理場の水について細菌学的検査を行った。

III 結果

1. 発生状況

患者発生は、図1に示すように4月14日から始まり4月15、16日をピークとして、この2日間に患者全体の7割が集中し、4月19日まで続いた。患者は、表1に示すように1年生を除く2年生から6年生までみられた。発病率は、2年生から6年生まで学年による差はなく、全体では743名中187名、25.2%であった。給食は自校の調理室で作られ、4月12日から始まっていた。給食を実施していなかった1年生に患者がみられなかったことから、給食との関連が疑われたが喫食調査から原因食品は推定できなかった。

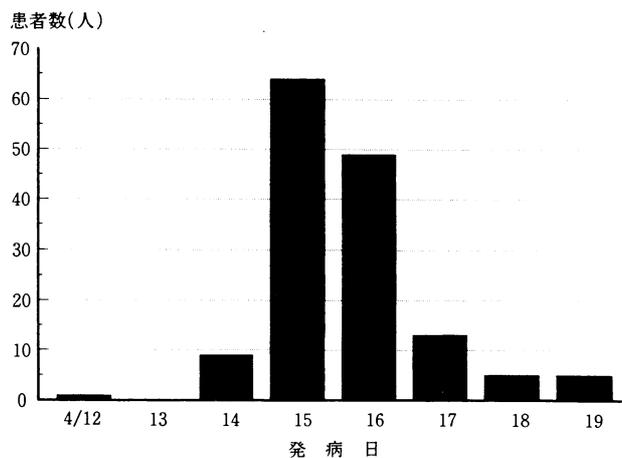


図1 A小学校における患者発生状況

表1 学年別発病率

学年	発病率 (%)
1	0 / 99 (0)
2	33 / 129 (25.6)
3	33 / 100 (33.0)
4	46 / 137 (33.6)
5	38 / 109 (34.9)
6	37 / 131 (28.2)
計	187 / 743 (25.2)

2. 臨床症状

患者の主な臨床症状を表2に示した。腹痛が60.2%と高頻度で、嘔気、下痢が約50%に認められた。嘔吐、発熱は40%以下とやや少なく、熱は37-38℃であった。

表2 臨床症状の出現頻度

	腹痛	嘔気	下痢	嘔吐	発熱
出現頻度	82/136	76/136	64/136	49/136	51/136
(%)	(60.3)	(55.9)	(47.1)	(36.0)	(37.5)

3. EMによるウイルスの検出

2, 4, 5, 6年生の患者便37検体についてEM観察を行ったところ31検体からロタウイルス粒子を検出した。(表3) 一方、A群ロタウイルス検出用ELISAでは、5年生の一名を除いて全て陰性であった。このことから、EMで検出したウイルスは非定型ロタウイルスと考えられた。

表3 ウイルス検索結果

学年	検体数	EM陽性数*	A群HRV陽性数 (ELISA)	C群HRV陽性数 (RPHA)
2	12	10	0	9
4	16	13	0	12
5	6	5	1	4
6	3	3	0	3
計	37	31	1	28

* ロタウイルス粒子を確認した数

4. C群ロタウイルスの同定

ロタウイルス粒子を多く含む糞便材料について、RNA-PAGEを行った。図2に示すように、A群ロタウイルス検出用ELISA陽性例はA群のパターンを示し、陰性例はA群のパターンと明らかに異なっていた。これらは、第2分節が第1分節に接近し、第5, 6, 7分節が接近し、第10, 11分節が比較的移动度大きいというC群ロタウイルスの特有の泳動パターンを示した。

C群ヒトロタウイルス・モノクローナル抗体を用いたRPHAでは、A群ロタウイルス検出用ELISA陰性でEM観察でロタウイルスを検出した30名中28名が陽性を示し(表3), 血清学的にC群ロタウイルスと同定された。

5. ウイルス分離および細菌学的検査

患者糞便のHeLa, Vero細胞によるウイルス分離は全て陰性であった。また、患者糞便, 食品, 水, の細菌学的検査から既知の病原細菌は検出されなかった。

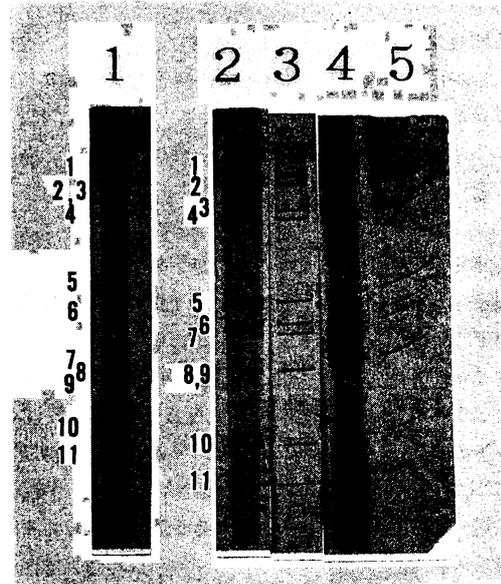


図2 集団下痢症から検出したロタウイルスのRNA-PAGE

1: A群ロタウイルス検出用ELISA陽性例
2-5: A群ロタウイルス検出用ELISA陰性例

IV 考 察

C群ロタウイルスは、1980年Saifら¹¹⁾によりブタから最初に検出され、1982年Rodgerら¹²⁾は同一のウイルスをヒトから検出した。その後、世界各地でヒトからC群ロタウイルスの検出が報告されている¹⁾。

今回、著者らは1993年4月中旬県内の小学校で発生した集団下痢症の患者糞便から高率にC群ロタウイルスを検出した。また、5年生の1名からA群ロタウイルスを検出したが、これは各学年いずれも高率にC群ロタウイルスを検出したことから散発例と推定された。これらの結果から、今回の集団発生はC群ロタウイルスによる下痢症であったことが確認された。患者発生は4月15, 16日の2日間に集中し単一暴露を思わせ、また、給食の実施していない1年生に患者がみられなかったことから給食との関連が強く疑われたが、感染源および感染経路は明らかにできなかった。

C群ロタウイルスによる集団発生は、1988年4月福井県で給食センターを介したと思われる7小学校、患者数670名におよぶ大流行³⁾のほか、1989年4月福岡県の小学校⁶⁾、1991年2月大阪府の成人例⁷⁾、1991年4月東京都の小学校⁸⁾などの流行が報告されている。これら小学校の事例はいずれも4月中旬の給食が開始された直後の発生で、患者発生が一峰性であることなど今回の事例に酷似していた。

藤井らは1993年2月から5月にかけてC群ロタウイルスの全国的流行を確認している¹³⁾。千葉県においても1993年3月、4月に散発例がみられ、今回の集団発生はこのような流行期に発生したものであった。また、大瀬戸は松山市住民のC群ロタウイルスに対する抗体保有状況を調べ、乳幼児は抗体をほとんど保有せず7-14才年長児がもっとも高かったが保有率20%以下で、A群ロタウイルスに比べ著しく低かったと報告している¹⁴⁾。全般的にC群ロタウイルスに対する抗体保有率が低いことからウイルスの浸淫度は低いと考えられるが、時として飲料水や食品が汚染された場合

など、集団発生を引き起こす可能性が高いと思われる。今後、急性胃腸炎の集団発生に際しても本ウイルスを考慮に入れて検査を行う必要がある。

V まとめ

1993年4月中旬千葉県内のA小学校で下痢、嘔吐、腹痛を主徴とした集団下痢症がみられ、EM観察より患者糞便37検体中31検体からロタウイルス粒子を検出した。これら31検体中30検体は、A群ロタウイルス検出用ELISA陰性で、非定型ロタウイルスであった。また、これらの糞便材料のRNA-PAGEではC群ロタウイルスの泳動パターンが観察され、C群ロタウイルス検出用RPHAで28検体が陽性になった。以上の結果から、今回の集団発生はC群ロタウイルスによるものであることを確認した。

謝 辞

C群ロタウイルス検出用RPHAキットを分与いただきました岡山県環境保健センター藤井理津志先生に深謝します。また、本調査にご協力いただきました県衛生指導課、県保健予防課ならびに柏保健所の関係各位に深謝します。

参考文献

- 1) Bishop, R. F., Davidson, G. P., Holmes, I. H. and Ruck, B. J. (1973): Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute nonbacterial gastroenteritis., *Lancet*, 2, 1281-1283
- 2) Bridger, J. C. (1987): Novel rotaviruses in animals and man., *CIBA Found. Symp.*, 128, 5-23
- 3) Hung, T., Wang, C., Frang, Z., Chou, Z., Chang, X., Liang, X., Chen, G., Yao, H., Chao, T., Ye, W., Den, S. and Chang, W. (1984): Waterborne outbreak of rotavirus diarrhea in adults in China caused by a novel rotavirus., *Lancet*, 1, 1139-1142
- 4) Dimitrov, D. H., Estes, M. K., Rangelova, S. M., Shindarov, L. M., Melnick, J. L. and Grraham, D. Y. (1983): Detection of antigenically distinct rotavirus from infants., *Infect. Immun.*, 41-2, 523-526
- 5) Matumoto, K., Hatano, M., Kobayashi, K., Hasegawa, A., Yamazaki, S., Nakata, S., Chiba, S. and Kimura, Y. (1989): An outbreak of gastroenteritis associated with acute rotaviral infection in schoolchildren., *J. Infect. Diseases.*, 160-4, 611-615
- 6) 大津隆一, 石橋哲也, 福吉成典, 高橋克己 (1990): 福岡県の非細菌性集団食中毒様事例から検出されたC群ロタウイルス, *感染症学雑誌*, 64-9, 1244-1245
- 7) 大石 功, 山崎謙治, 大津啓二, 峯川好一 (1991): 成人におけるC群ロタウイルス下痢症の集団発生例について-大阪府, *病原微生物検出情報月報*, 12-5, 97-98
- 8) 関根整治, 林 志直, 安東民衛, 太田建爾 (1992): 東京都で発生したC群ロタウイルスによる集団下痢症, *病原微生物検出情報月報*, 13-8, 158-159
- 9) Kuzuya, M., Fuji, R., Hamano, M., Nagabayashi, T., Tunemitsu, H., Yamada, M., Nii, S. and Mori, T. (1993): Rapid detection of human group C rotavirus by reverse passive Hemagglutination and latex agglutination tests using monoclonal antibody., *J. Clin. Microbiol.*, 31-5, 1308-1311
- 10) Leammli, U. K., (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4., *Nature*, 227, 680-685
- 11) Saif, L. J., Bohl, E. H., Teil, K. W., Cross, R. F. and House, J. A. (1980): Rotavirus-like, calicivirus-like and 23 nm virus-like particles associated with diarrhea in young pig., *J. Clin. Microbiol.*, 12, 105-111
- 12) Rodger, S. M., Bishop, R. F. and Holmes, I. H. (1982): Detection of rotavirus-like agent associated with diarrhea in an infant., *J. Clin. Microbiol.*, 16, 724-726
- 13) 大瀬戸光明 (1990): C群ロタウイルスの疫学的研究, *感染症学雑誌*, 64-10, 1264-1274
- 14) 藤井理津志, 葛谷光隆, 濱野雅子, 川本尋義, 松本和男, 森田修行, 篠川 旦, 篠崎邦子, 板垣朝夫, 石田 茂, 川本 歩, 浦沢正三 (1993): 我が国におけるヒトC群ロタウイルス流行状況, 第41回日本ウイルス学会総会演説抄録, 209