

下水処理水放流先に自生する二枚貝中のノロウイルス濃度と周辺地域の感染症流行との関連

岩手大学大学院連合農学研究科
山形大学農学部
東北大学未来科学技術共同研究センター
東北大学未来科学技術共同研究センター
山形大学農学部

学生員○伊藤絵里香
正会員 西山正晃
非会員 今田義光
正会員 大村達夫
正会員 渡部徹

1. はじめに

厚生労働省の報告によると、平成23年度から28年度の食中毒事件のうち、約40~70%がノロウイルスによるものである。その原因食品は、単一の食品では二枚貝が約50%と最も高い割合を占めている¹⁾。二枚貝のノロウイルス汚染経路としては、ノロウイルス感染者が吐しゃ物や糞便とともにウイルスを排出し、排出されたウイルスが下水道などを通して海域に到達し、そのウイルスを二枚貝が体内へ取り込み濃縮していることが考えられる。

我々のグループは、東北地方のある地域において、感染性胃腸炎の患者報告数が上昇する前に、下水中のノロウイルス濃度が上昇することを明らかにした²⁾。この成果に基づき、2017年11月から、下水中のノロウイルス濃度を継続的にモニタリングし、その濃度が通常時を超えたときに感染性胃腸炎の流行に関する注意喚起を行う事業が仙台市で開始された³⁾。この事業により感染者を減少させることができれば、下水中のノロウイルスも減少し、結果として下水処理水放流先に生息する二枚貝の安全性の向上につながると期待している。本研究では、この事業の一環として、感染性胃腸炎の流行との関係に着目しながら、仙台市の下水処理放流水の影響を受ける河川に自生している二枚貝のノロウイルス汚染状況を明らかにすることを目的とする。

2. 実験方法

下水処理水を受容する二枚貝生息地として、宮城県仙台市の七北田川河口に位置する蒲生干潟を選定した。この河口付近には南蒲生浄化センターが、河口から16 km上流には上谷刈浄化センターが存在する。2017年10月中旬から2018年9月中旬まで、隔週で牡蠣およびイソシジミをそれぞれ20個体ずつ採取した。滅菌した鉗を用いて牡蠣から中腸腺を摘出し、4個体の中腸腺をコンポジットし各週5個のサンプルとした。中腸腺からウイルスRNAを抽出するまでの工程はPuら²⁾に従った。各コンポジットサンプルからウイルスRNAを約50 µL抽出し、ウイルスRNAの逆転写を行い、作製されたcDNAを用いてノロウイルスGIおよびGIIの定量を行った。

二枚貝中のノロウイルス濃度と感染性胃腸炎の発生状況との関連を評価するために、各二枚貝に蓄積したノロウイルスGIおよびGIIの濃度変化と、仙台市における感染性胃腸炎患者報告数および、南蒲生浄化センターへの流入下水中のノロウイルスGIおよびGIIの濃度との関係を調べた。ウイルスが二枚貝に蓄積されるまでのタイムラグを考慮するため、二枚貝採取日に対して流入下水の採取日および感染性胃腸炎患者数の報告日を1~3週間前および1~3週間後にずらしたデータについても同様に相関分析を行った。

3. 結果と考察

二枚貝からのノロウイルス検出結果を図1に示す。牡蠣中のノロウイルスGIは、2018年3月からウイルス濃度が上昇し、4月には濃度がピークに達した。その時の濃度は3.0 log copies/g-DTを超えていた。5月から7月はウイルス濃度が低下したが、8月から9月にかけては再び濃度が上昇する傾向が見られた。ノロウイルスGIIは、2017年10月から陽性検体数が多く、12月上旬にウイルス濃度がピークに達した。2018年2月にかけて濃度が低下する傾向にあったが、3月以降は濃度が上昇し、5月に大きく低下したのを除けば、3.0 log copies/g-DT付近で推移を続けていた。8月からはウイルス濃度が低下し、9月は8月と同程度の濃度であった。

イソシジミ中のノロウイルスGIは、流行期以前の2017年10月から検出され、ピークに達した2018年4月の濃度は3.0 log copies/g-DTを超えていた。その後5~6月は一度濃度が低下したが、7月から9月にかけては再び上昇していた。ノロウイルスGIIは、12月下旬までウイルス濃度が上昇し、ピーク時には3.0 log copies/g-DTを超えた。3月から6月にかけては大きくウイルス濃度が変動し、7月以降は3月以前と同程度のウイルス濃度となった。陽性検体数は2017年10月以降4個と5個で推移していた。

二枚貝中のノロウイルス濃度と下水中のウイルス濃度または感染性胃腸炎患者報告数との相関分析結果を表1に示す。感染性胃腸炎患者報告数とイソシジミのノロウイルスGI濃度には、-3週のタイムラグで有意な相関が見られた。感染性胃腸炎流行期（2017年11月から2018年3月まで）に着目すると、感染性胃腸炎患者報告数と牡蠣およびイソシジミのノロウイルスGII濃度には有意な高い相関が見られ、牡蠣は-1週のタイムラグ、イソシジミは-3週のタイムラグがあった。

感染性胃腸炎の流行期には、二枚貝中のノロウイルスGII濃度は1~3週前の周辺地域の感染症流行と関連して

キーワード：ノロウイルス、定量PCR、二枚貝、感染性胃腸炎

住所：〒997-8555 山形県鶴岡市若葉町1-23、Tel: 0235-28-2907 Email: to-ru@tds1.tr.yamagata-u.ac.jp

いた。流行期に感染性胃腸炎患者から検出されるノロウイルスの9割以上をGIIが占めるという報告⁴⁾からも、二枚貝中のノロウイルスGII濃度と患者報告数との間に相関が見られたことは自然である。一方で、非流行期には二枚貝中のノロウイルスGI濃度と相関していた。国立感染症研究所の報告によれば、ノロウイルスGIIの検出数が最も多いのは2017年12月であったのに対し、ノロウイルスGIの検出数は2018年4月に最も多かった⁴⁾。また、牡蠣中腸腺へのウイルス蓄積効率は、ノロウイルスGIIに比べGIの方が高いという報告がある⁵⁾。イソシジミ体内への蓄積効率とノロウイルス遺伝子型の関係は調べられていないが、牡蠣と同様の傾向があると仮定すると、非流行期に濃度が高く効率的に蓄積されるノロウイルスGIと相関が見られても不思議ではない。二枚貝中のノロウイルス濃度は、胃腸炎患者報告数と相関が見られた一方で、下水中のノロウイルス濃度とは相関が見られなかった。この解析には南蒲生浄化センターの流入下水中のノロウイルス濃度を用いたが、上谷刈浄化センターの影響が大きかったのかも知れない。

参考文献

- 1) 厚生労働省, 食中毒統計調査, <https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&toukei=00450191&tstat=000001040259>, 2018.
- 2) Pu J et al., Weekly variations in norovirus genogroup II genotypes in Japanese oysters, *Int. J. Food Microbiol.*, 284, pp.48-55, 2018.
- 3) 東北大学・山形大学・仙台市・日水コン共同研究体, 下水中ノロウイルス濃度情報発信サイト, <https://novinsewage.com/>, 2017.
- 4) 国立感染症研究所, SRSV 検出情報, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/1532-iasrgv.html>, 2018.
- 5) Maalouf H. et al., Distribution in Tissue and Seasonal Variation of Norovirus Genogroup I and II Ligands in Oysters, *Appl. Environ. Microbiol.*, 76, 16, pp.5621-5630, 2010.

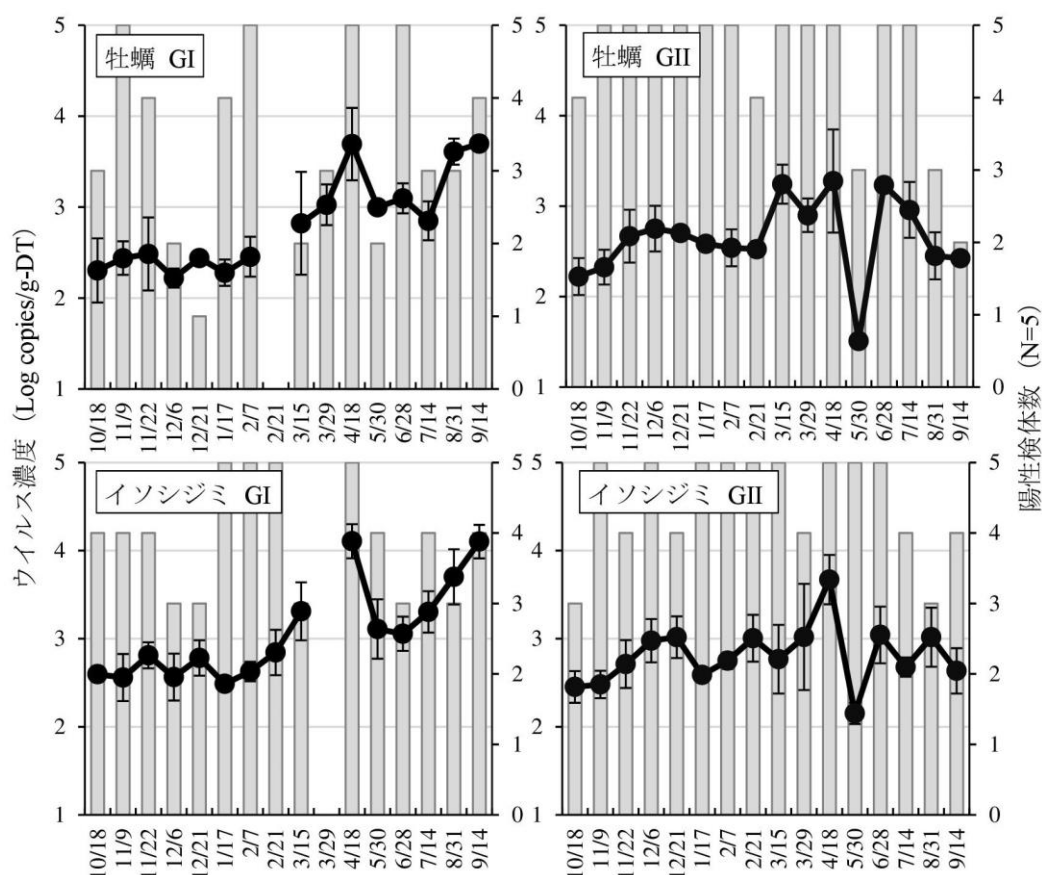


図1. 各ウイルスの検出結果（棒グラフ：陽性検体数（n=5）、折れ線グラフ：ウイルス濃度）

表1. 相関分析結果（表中の数値：相関係数、*：P<0.05）この期間においては、下水中からノロウイルスGIが検出された週は非常に少なかったため、ノロウイルスGIIについてのみ分析を行った。

二枚貝	ウイルス	全期間								胃腸炎流行期（11~3月）							
		下水中のウイルス量との相関				患者報告数との相関				下水中のウイルス量との相関				患者報告数との相関			
		D=0	-1	-2	-3	D=0	-1	-2	-3	D=0	-1	-2	-3	D=0	-1	-2	-3
牡蠣	GI	0.41	-0.40	0.67	0.74	-0.29	-0.51	-0.36	-0.48	ND				-0.27	-0.09	0.27	-0.02
	GII	0.18	-0.19	0.29	0.10	-0.18	-0.04	-0.02	-0.01	0.02	0.10	0.09	-0.46	0.53	0.82*	0.49	0.67
イソシジミ	GI	0.59	0.48	0.77	0.79	-0.23	-0.40	-0.29	-0.52*	ND				-0.18	0.09	0.39	0.15
	GII	0.42	0.41	0.47	0.15	-0.15	-0.19	-0.18	-0.02	0.33	0.27	0.57	0.35	0.21	0.51	0.45	0.70*