

感染性胃腸炎流行の早期把握に関する検討

藤本泰之, 寺西彩香, 濱島洋介*

Early detection of infectious gastroenteritis outbreak with sewage surveillance

Yasuyuki Fujimoto, Ayaka Teranishi and Yosuke Hamajima*

キーワード: 感染性胃腸炎, 下水サーベイランス, ノロウイルス, サポウイルス, ロタウイルス

Key Word: infectious gastroenteritis, sewage surveillance, Norovirus, Sapovirus, Rotavirus

はじめに

感染性胃腸炎は、様々な病原体により引き起こされる下痢および嘔吐を主症状とする感染症であり、細菌、ウイルスおよび寄生虫が原因となる。ウイルスがその原因の多くを占めており、ノロウイルス (NV), A 群ロタウイルス (RVA), サポウイルス (SaV), アストロウイルス, 腸管アデノウイルスなどの胃腸炎ウイルスが原因となる。特に NV は検出報告が最も多く、小児から高齢者まで幅広い世代に渡って吐き気、嘔吐、下痢および腹痛等の急性胃腸炎症状を引き起こす。発症した患者の多くは数日の経過で症状が回復するが、高齢者や乳幼児では重症化する場合があるため、高齢者施設、保育園や幼稚園等における集団感染に注意する必要がある。

感染性胃腸炎は冬季から春季にかけて流行する季節性があり、例年 11 月から感染者数が増加しはじめ、12 月から翌年 1 月にかけて流行がピークに達する。感染症発生動向調査における定点報告対象疾患 (5 類感染症) であり、小児科定点医療機関により週毎の患者数が保健所に報告されている。この患者報告数に基づき流行状況の把握および拡大予防のために注意喚起がなされ、定点当たり患者報告数が開始基準値の 20 人を越えた場合に警報が発令される。しかしながら、患者報告

数が集計・公表されるまでに 1 週間以上を要するため、注意喚起までの間に感染が拡大するおそれがある。

地域における感染症の流行状況を把握する手法として、流入下水を用いたサーベイランスが注目されている。下水道が整備されている地域では、感染者の腸管や呼吸器内で増殖したウイルスが糞便や唾液を介してトイレなどに排出された後、下水処理場に流入する。そのため流入下水中に集積するウイルスをモニタリングすることで、処理区域内における感染症の流行状況を反映できると考えられる。

本調査研究では市中における感染性胃腸炎の流行状況の早期把握を目的とし、下水処理場の流入下水中に含まれる NV (GI および GII), RVA および SaV のウイルス濃度をモニタリングし、患者報告数との相関関係を明らかにすることで、和歌山県における感染性胃腸炎の流行状況を早期に検知する手法としての有用性について検討した。

調査方法

1. 流入下水の採水

和歌山県北部に位置する下水処理場 A および下水処理場 B の 2 か所において、2020 年 4 月から 2022 年 12 月にかけて毎月 1 回流入下水約 500

mL の採水を行い、各処理場 33 検体、計 66 検体を検査試料とした。

2. 流入下水からのウイルス濃縮

下水中に含まれるウイルス粒子は陰電荷膜吸着誘出法で濃縮した¹⁾。すなわち採水した流入下水 500 mL を 50 mL チューブに分注し、遠心分離 (4,000rpm, 30 分) 後、上清を全量回収した。回収した上清に 10 mL の 2.5M MgCl₂ を添加後 0.5N HCl を用いて pH3.5 に調整した。その後、陰電荷膜 (アドバンテック, A045A047A, 孔径 0.45 μm, サイズ 47 mm) でろ過した。ろ過後の陰電荷膜を細切し 50 mL チューブに回収した後、3% ビーフ液 10 mL を加え 1 分間ボルテックスにより攪拌した。遠心処理 (3,000 rpm, 15 分) 後、上清を 0.22 μm のシリンジフィルターでろ過し、下水濃縮液とした (50 倍濃縮)。

3. RNA 抽出および逆転写反応

下水濃縮液 140 μL から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA 抽出を行った。抽出した RNA 10 μL から PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) (TaKaRa) を用いた逆転写反応により cDNA を合成し、ウイルス遺伝子の検出に用いた。

4. 下水中ウイルス濃度の定量および統計処理

NVGI, GII, SaV および RVA の遺伝子検出には、国立感染症研究所病原体検出マニュアルに記載されているリアルタイム PCR 法を用いた²⁻⁴⁾。リアルタイム PCR 法により求めたウイルスゲノムコピー数 (GC) から、最終的な濃縮倍率等を考慮した上で、流入下水 1L 当たりに含まれるウイルス濃度 (GC/L) に換算し、得られた定量値を

統計解析に用いた。

5. 下水中ウイルス濃度と感染性胃腸炎患者報告数の相関分析

流入下水中に含まれる胃腸炎ウイルスの濃度変動と、地域における感染性胃腸炎患者数の推移と関連性を評価するため、各下水処理場における流入下水中のウイルス濃度と、和歌山県全体および処理区域の保健所 (A 保健所および B 保健所) 管内における定点当たり患者報告数の相関関係をスピアマンの順位相関係数 *R* を用いて評価した。採水を行った週の患者報告数を基準 (0 週)、採水翌週の患者報告数を+1 週として、前々週の-2 週から翌々週の+2 週までの患者報告数と下水中の各ウイルス濃度の相関係数を算出した。有意水準を 5% とし、かつ相関係数 *R* > 0.5 を正の相関関係があると判断した。なお、ウイルスが検出されなかった週については下水中濃度を 0 GC/L として統計処理に用いた。

結 果

1. 下水処理場 A における流入下水中の胃腸炎ウイルス検出状況

2020 年 4 月から 2022 年 12 月までの間に採水した流入下水における各胃腸炎ウイルスの検出結果は表 1 のとおりである。NVGI は 33 検体中 6 検体 (検出率 18.2%) で、検出時の濃度は最大で 1.1×10^6 GC/L (2022 年 10 週) であった。NVGII は 15 検体 (検出率 45.5%) で、最大で 5.2×10^6 GC/L (2021 年 10 週) であった。また SaV は 12 検体 (検出率 36.4%) で、最大で 1.1×10^7 GC/L (2022 年 50 週) であった。一方で、

表 1. 下水処理場 A における胃腸炎ウイルス検出状況

採水日	2020年												2021年												2022年												検出率
	4/22	5/27	6/17	7/16	8/6	9/24	10/8	11/12	12/8	1/14	2/9	3/9	4/13	5/18	6/22	7/20	8/26	9/27	10/12	11/12	12/14	1/27	2/15	3/8	4/22	5/20	6/24	7/22	8/26	9/22	10/21	11/24	12/13				
週	17	22	25	29	32	39	41	46	50	2	6	10	15	20	25	29	34	39	41	45	50	4	7	10	15	20	25	29	34	38	42	47	50				
NVGI	2E+04	-	-	-	-	-	-	-	-	1E+05	-	-	-	-	-	9E+05	-	-	-	-	-	9E+03	-	-	1E+06	5E+04	-	-	-	-	-	-	-	6/33 (18.2%)			
NVGII	5E+05	-	-	-	-	2E+04	-	2E+04	7E+05	-	5E+06	5E+04	8E+04	8E+04	1E+05	-	-	-	-	-	2E+06	1E+06	-	9E+05	5E+04	-	3E+04	-	-	-	-	1E+02	15/33 (45.5%)				
SaV	3E+05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4E+05	1E+04	6E+05	6E+04	1E+05	6E+04	8E+05	6E+04	2E+04	-	-	9E+04	1E+07	12/33 (36.4%)		
RVA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/33 (0%)			

下水処理場 A における採水実施日と胃腸炎ウイルス検出状況を示す。灰色が流入下水からウイルスが検出された採水日を示し、数字は検出された時の下水中ウイルス濃度 (GC/L) を、ハイフン (-) は未検出を表す。

調査期間を通して RVA は検出されなかった。

図 1 は、下水処理場 A の流入下水からウイルスが検出された週とその時の下水中ウイルス濃度をプロットしており、黒色および灰色の棒グラフはそれぞれ A 保健所管内および和歌山県全体の定点あたり感染性胃腸炎患者報告数を示している。和

歌山県全体では 2020/21 および 2021/22 の両シーズンにおいて、11 月から 12 月にかけて患者報告数が増加しはじめ、翌年 1 月にピークとなった（2020/21 シーズンは 2021 年第 4 週に 4.37 人/週、2021/22 シーズンは 2022 年第 3 週に 7.50 人/週）。また、処理区域の保健所管内においては、

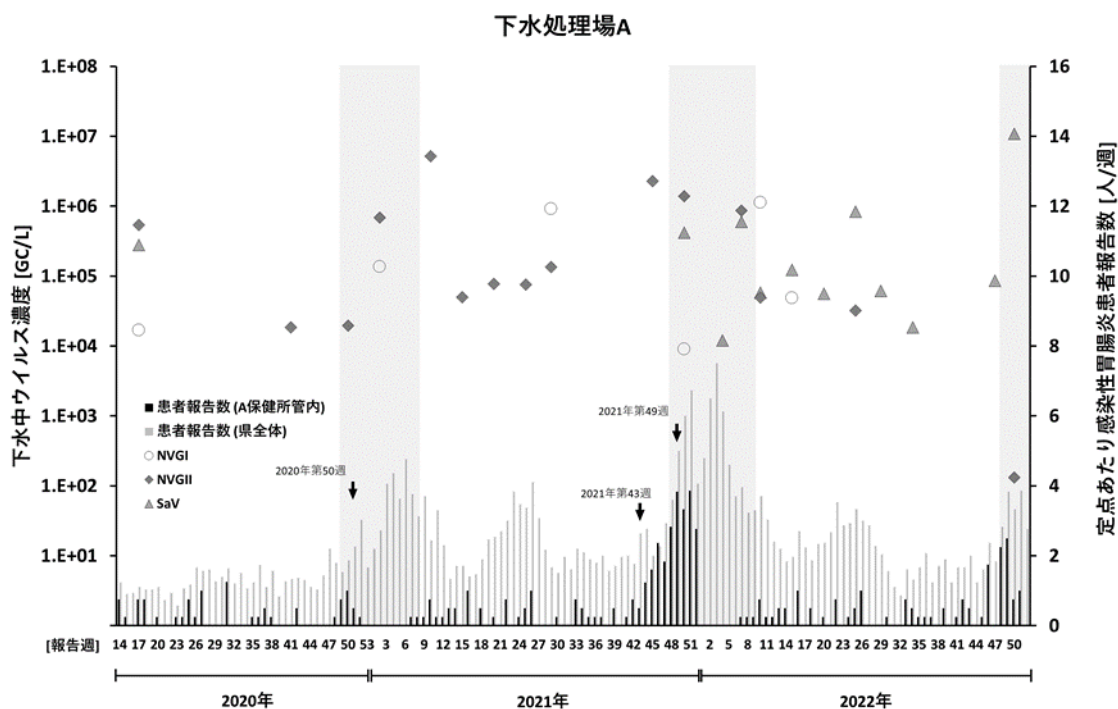


図 1. 下水処理場 A における下水中胃腸炎ウイルス濃度と定点あたり感染性胃腸炎患者報告数
白抜き丸が NVGI, 濃灰色菱形が NVGII, 灰色三角が SaV の下水中濃度を示している。灰色の棒グラフが和歌山県全体, 黒色の棒グラフが A 保健所管内の定点あたりの感染性胃腸炎患者報告数を示し, 黒矢印は A 保健所管内で感染性胃腸炎の集団感染の発生があり, 当所に検体が搬入された週を示す。いずれの集団感染事例においても搬入検体から NVGII が検出されている。

表 2. 下水処理場 A における下水中ウイルス濃度と患者報告数の相関係数 R

週	NV GI		NV GII		NV GI+GII		SaV	
	和歌山県	A保健所	和歌山県	A保健所	和歌山県	A保健所	和歌山県	A保健所
-2	0.394*	0.366*	0.417*	0.215	0.461**	0.255	0.415*	0.275
-1	0.324	0.308	0.454*	0.207	0.459**	0.241	0.499**	0.350*
0	0.357*	0.367*	0.429*	<u>0.509**</u>	0.437*	0.479**	0.465**	0.355*
+1	0.365*	0.372*	0.392*	0.399*	0.409*	0.427*	0.435*	0.450*
+2	0.350*	0.233	0.390*	0.146	0.375*	0.113	0.381*	0.158

下水中ウイルス濃度と患者報告数の相関関係。採水週（0 週）を基準として、前後 2 週にずらしの際の A 保健所管内の定点あたり感染性胃腸炎患者報告数との相関係数 R を示す。下線部は正の相関を示す（*： $P < 0.05$ **： $P < 0.01$ ）。

2020/21 シーズンの冬季における定点当たり患者報告数は最大で 1.00 人/週（2020 年第 50 週）であり、2021/22 シーズンでは最大で 3.87 人/週（2021 年第 51 週）であった。

NVGI の検出された時期に明確な季節性は認められなかった。一方で、NVGII は年間を通して検出され、感染性胃腸炎の流行期である冬季においては比較的高濃度で検出された。SaV は 2020 年から 2021 年にかけて検出率が低いものの、2021 年 12 月以降には高頻度で検出された。

表 2 は下水中の各ウイルス濃度と採水週（0 週）および、その前後 2 週における和歌山県全体および A 保健所管内の定点当たり感染性胃腸炎患者報告数との相関係数を示している。NVGI および SaV の下水中ウイルス濃度と患者報告数に相関関係は認められなかった。一方で、NVGII の下水中ウイルス濃度は、採水週（0 週）の A 保健所管内の患者報告数と正の相関関係を示した（ $R = 0.509$, $P = 0.004$ ）。

2. 下水処理場 B における流入下水中の胃腸炎ウイルス検出状況

下水処理場 B における各胃腸炎ウイルスの検出状況は表 3 のとおりである。NVGI は 33 検体中 9 検体（検出率 27.3%）で、最大で 2.3×10^5 GC/L（2022 年第 47 週）であった。NVGII は 20 検体（検出率 60.6%）で、最大で 7.5×10^6 GC/L（2021 年第 2 週）であった。また、SaV は 11 検体（検出率 33.3%）で、最大で 2.2×10^7 GC/L（2022 年第 47 週）であった。また下水処理場 A と同様に、調査研究期間を通して RVA は検出されなかった。

表 3. 下水処理場 B における胃腸炎ウイルス検出状況

下水処理場 B																																	検出率	
採水日	2020年										2021年										2022年													
	4/22	5/27	6/17	7/16	8/6	9/24	10/8	11/12	12/8	1/14	2/9	3/9	4/13	5/18	6/22	7/20	8/26	9/27	10/12	11/12	12/14	1/27	2/15	3/8	4/22	5/20	6/24	7/22	8/26	9/22		10/21		11/24
週	17	22	25	29	32	39	41	46	50	2	6	10	15	20	25	29	34	39	41	45	50	4	7	10	15	20	25	29	34	38	42	47	50	
NVGI	2E+04	-	-	-	-	-	2E+04	-	-	1.E+04	5.E+04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.E+04	2.E+04	-	-	-	6.E+04	-	-	2.E+05	6.E+04	9/33 (27.3%)
NVGII	3E+04	-	-	-	-	-	1.E+05	1.E+06	-	7.E+06	4.E+05	4.E+05	3.E+05	3.E+04	1.E+05	-	6.E+05	-	2.E+05	3.E+06	-	3.E+06	2.E+05	1.E+06	8.E+04	2.E+04	-	-	2.E+04	4.E+04	3.E+04	-	-	20/33 (60.6%)
SaV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.E+03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.E+06	1.E+06	7.E+05	1.E+06	9.E+03	7.E+04	3.E+04	-	-	4.E+04	2.E+07	1.E+07	11/33 (33.3%)
RVA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/33 (0%)

下水処理場 B における採水実施日と胃腸炎ウイルス検出状況を示す。灰色が流入下水からウイルスが検出された採水日を示し、数字は検出された時の下水中ウイルス濃度（GC/L）を、ハイフン（-）は未検出を表す。

図 2 は、下水処理場 B の流入下水からウイルスが検出された週とその時の下水中ウイルス濃度をプロットしており、黒色および灰色の棒グラフはそれぞれ B 保健所管内および和歌山県全体の定点当たり感染性胃腸炎患者報告数を示している。

B 保健所管内においては、2020/21 シーズンの流行期における定点当たり患者報告数は最大で 3.25 人/週（2021 年第 7 週）であり、2021/22 シーズンは最大で 13.75 人/週（2022 年第 3 週）であった。

NVGI の検出された時期に明確な季節性は認められなかった。一方で、NVGII は年間を通して検出されたが、感染性胃腸炎の流行期である冬季にかけて比較的高濃度で検出されており、下水処理場 A の結果と同様の傾向を示した。SaV は 2020 年から 2021 年にかけては検出率が低いものの、2022 年 1 月以降では時期に関係なく高頻度で検出された。また 2021/22 および 2022/23 シーズンの感染性胃腸炎の流行期では下水中の SaV が高濃度で検出された。

表 4 は下水中の各ウイルス濃度と、和歌山県全体および B 保健所管内の定点当たり感染性胃腸炎患者報告数との相関係数を示している。NVGI の下水中ウイルス濃度と患者報告数に相関関係は認められなかった。一方で、NVGII は採水週（0 週）および翌週（+1 週）の和歌山県全体の患者報告数と正の相関関係を示した（ $R = 0.645$, $P = 0.00026$ ）。また SaV については、採水週および前後 2 週の B 保健所管内の患者報告数と相関関係を示し、採水翌週（+1 週）に対して相関係数が最大となった（ $R = 0.693$, $P = 0.000089$ ）。

なお、下水処理場 A および B ともに、下水中ウイルス濃度と和歌山県全体および処理区域の保健所管内の定点当たり患者報告数の間に線形的な相関関係は認められなかった。

考 察

下水処理場に流入する下水中 NV 濃度の変動が市中の感染性胃腸炎の感染者数の増減と連動する

ことはすでに報告されている⁵⁾。実際に、今回調査した胃腸炎ウイルスの中では NVGII の検出頻度が最も高く、調査研究を行った 2020 年 4 月から 2022 年 12 月においては全国的にも NVGII が検出されている⁶⁾ ことから、A 保健所管内における感染性胃腸炎の多くは NVGII によるものであったと推察された。

下水処理場 B においては、流入下水中の NVGII

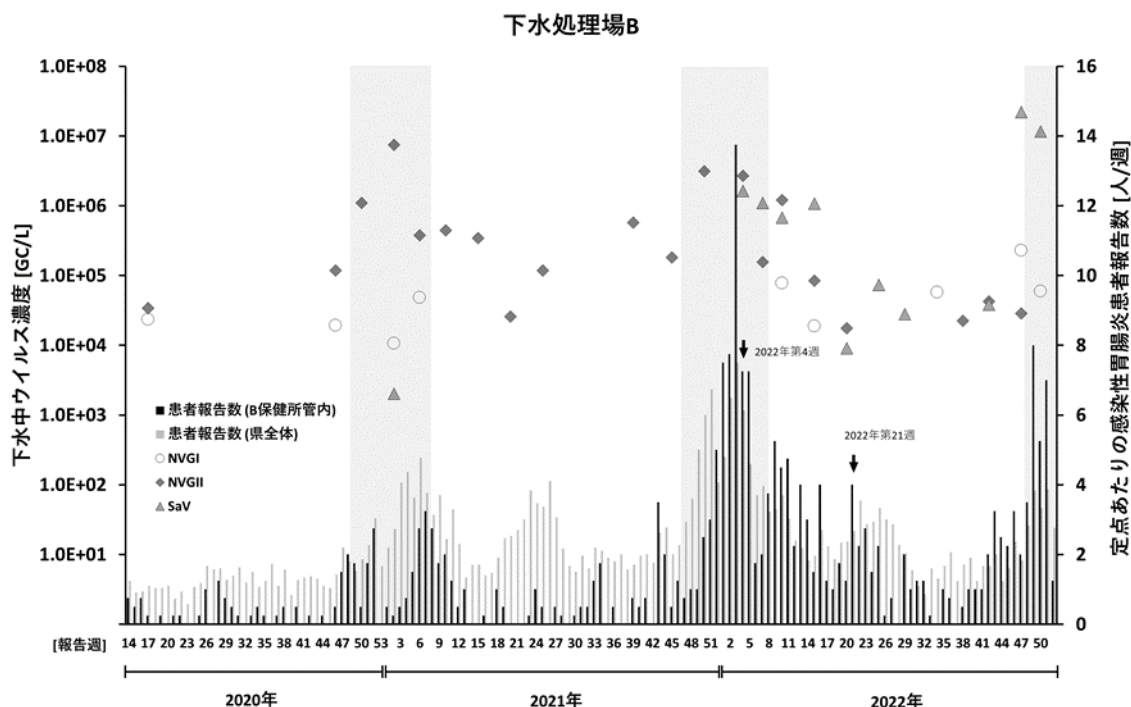


図 2. 下水処理場 B における下水中胃腸炎ウイルス濃度と定点当たり感染性胃腸炎患者報告数
白抜き丸が NVGI, 濃灰色菱形が NVGII, 灰色三角が SaV の下水中濃度を示している。灰色の棒グラフが和歌山県全体, 黒色の棒グラフが B 保健所管内の定点当たりの感染性胃腸炎患者報告数を示し, 黒矢印は B 保健所管内で感染性胃腸炎の集団感染の発生があり, 当所に検体が搬入された週を示す。いずれの集団感染事例においても搬入検体から NVGII が検出されている。

表 4. 下水処理場 B における下水中ウイルス濃度と患者報告数の相関係数 R

週	NV GI		NV GII		NV GI+GII		SaV	
	和歌山県	B保健所	和歌山県	B保健所	和歌山県	B保健所	和歌山県	B保健所
-2	0.150	0.371*	0.484**	0.352*	0.455*	0.430*	0.456*	0.659**
-1	0.246	0.419*	0.392*	0.342	0.439*	0.402*	0.558**	0.648**
0	0.257	0.369*	0.550**	0.359*	0.555**	0.395*	0.533**	0.687**
+1	0.380*	0.497**	0.645**	0.446*	0.691**	0.534**	0.555**	0.693**
+2	0.338	0.445*	0.559**	0.426*	0.620**	0.475**	0.463**	0.592**

下水中ウイルス濃度と患者報告数の相関関係。採水週 (0 週) を基準として, 前後 2 週にずらした際の B 保健所管内の定点当たり感染性胃腸炎患者報告数との相関係数 R を示す。下線部は正の相関を示す (*: $P < 0.05$ **: $P < 0.01$)。

濃度が採水した和歌山県内の定点当たり感染性胃腸炎患者報告数と相関関係を示し、採水週から1週遅れた患者報告数(+1週)と最も高い相関係数を示した。SaVは胃腸炎症状が軽度あるいは不顕性感染者からも糞便中に排出される⁶⁾ことから、流入下水から一般的によく検出されるものと考えられる。しかしながら下水中からSaVが高濃度で検出された2022年12月に、処理区域内ではないものの、隣接する他保健所管内においてSaVを原因とする感染性胃腸炎の集団感染事例が発生していたことから、SaVが感染性胃腸炎流行の一要因であったと考えられた。

今回の調査研究ではリアルタイムPCR法による流入下水からのRVA検出を試みたが、期間中にRVAを検出することはできなかった。和歌山県内におけるロタウイルスを原因とする感染性胃腸炎の患者報告はほとんどなく、また全国的にも2019/20シーズン以降検出報告数が減少している⁸⁾ことから、和歌山県内においてRVAの大きな流行はなかったと考えられた。

2019年以降の新型コロナウイルス感染症のパンデミックに伴い、社会の生活様式が大きく変化した。そのため、本調査研究の下水中のウイルス検出状況は人流が回復した状況を反映していない可能性がある。また、本調査研究では下水処理場の位置する地域における病原体定点から感染性胃腸炎の患者検体を得ることができなかった。患者由来の検体と下水中のウイルスの検出状況を比較することで、より詳細に市中における感染性胃腸炎の流行状況との関連性を評価できると考えられる。

本調査研究から、流入下水中の胃腸炎ウイルス濃度のモニタリングが市中における感染性胃腸炎の流行状況の把握に有用であることが示された。

今後も本県の流入下水および市中の胃腸炎ウイルスの流行状況のデータを収集・解析することで、感染性胃腸炎の流行予防の啓発に繋げたい。

文 献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染課：令和2年度感染症流行予測調査実施要領，2020，8
- 2) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアルノロウイルス（第1版），
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Norovirus20190611.pdf>
- 3) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアルサポウイルス（第1版），
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Sapovirus20210716.pdf>
- 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアルロタウイルス（第2版），
- 5) 三浦尚之，他：感染性胃腸炎流行の早期検知を目的とした下水中ノロウイルスモニタリングの有用性，土木学会論文集G（環境），Vol.72，No.7，III_285-III_294，2016
- 6) 国立感染症研究所：検出されたノロウイルス&サポウイルスの内訳，2019/20～2023/24シーズン，<https://kansens-levelmap.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data11j.pdf>
- 7) OKA, Tomoichiro, et al. : Comprehensive review of human sapoviruses. *Clinical microbiology reviews*, 2015, 28.1: 32-53
- 8) 国立感染症研究所：検出されたロタウイルスの内訳，2017/18～2021/22シーズン，
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/ar/gv/202122/data20212213j.pdf>