

# 急性胃腸炎患者から嘔吐後に採取された口腔うがい液中の ノロウイルスの定量

田村務, 広川智香, 渡邊香奈子, 昆美也子, 西川眞

## Norovirus count in Gargling Water Collected from Gastroenteritis Patients after Vomiting

Tsutomu Tamura, Chika Hirokawa, Kanako Watanabe, Miyako Kon and Makoto Nishikawa

Keywords: ノロウイルス, 定量, うがい液, 急性胃腸炎, 嘔吐

### 1 はじめに

ノロウイルス感染症では、嘔吐と下痢が主要な症状である。ノロウイルスによる胃腸炎の集団発生事例では、嘔吐によって感染拡大する事例が多発しており、手を介した糞口感染の他に、嘔吐も暴露要因として重要である。現在行われている感染拡大防止対策では、嘔吐物の処理や消毒方法に視点が置かれ、嘔吐後の患者のケアや患者に存在する感染リスクに対する検討はあまり行われていない。

そこで胃腸炎の集団発生事例の疫学的解析を行うとともに、嘔吐後の患者の口腔内に存在するウイルス量を調べて、嘔吐後の患者に存在する感染リスクを評価することを目的として検査を実施した。

### 2 材料と方法

#### 2.1 材料

2008年1月に、新潟県内で発生した6件のノロウイルスによる胃腸炎の集団発生事例で、患者12名から採取した嘔吐後のうがい液を検体とした。また、うがい液を採取した患者のうち、6名からは便も採取した。胃腸炎の集団発生事例の病原体の確認は、当所における患者集団の検便からのノロウイルスの検出か、もしくは、発生施設での独自検査結果によった。

注射用生理食塩水 20ml を 100ml の滅菌カップに入れ、これを使用して嘔吐後の患者に口をすすぐよううがいをしてもらい、そのまま滅菌カップに吐き出してもらうことで、うがい液を採取した。採取したうがい液は、冷蔵又は冷凍保存して回収した。

#### 2.2 方法

カップに回収したうがい液 11ml を 9,000rpm 20 分遠心後、上清 10ml にポリエチレングリコール 0.8g, NaCl 0.14g (生理食塩の濃度を考慮し、最終濃度を約 1.6 % とした。) を添加し、溶解後、4℃で一晩静置した。

10,000rpm 30 分遠心後、上清を除去し、管壁を1回洗浄した後、沈渣に 100  $\mu$ l の超純水を加え溶解した。これを抽出用サンプルとして、High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche) を使用して RNA/DNA を抽出した。

逆転写反応は、プライマーに pd(N)6 Random Hexamer (GE ヘルスケア) を使用し、MMLV-RT (Invitrogen) を用いて実施し、Kageyama からのリアルタイム PCR 法で G II ノロウイルスを定量した。

患者便からのノロウイルスの検出は、平成 15 年 11 月 5 日付け食安監発第 1105001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知「ノロウイルスの検出法」を参考とした。リン酸緩衝生理食塩水に約 10% の濃度で糞便を溶解した後、9,000rpm 20 分遠心した上清を抽出用検体とした。Extragen II (TOSOH) により RNA/DNA を抽出し、うがい液と同様に逆転写反応を行い、ノロウイルス検出用プライマーに、G I は G1SKF/G1SKR, G II は COG2F/G2SKR を使用して、PCR 反応を行った。アガロースゲル電気泳動により、目的サイズのバンドを検出した。

### 3 結果

うがい液 12 検体中 3 検体から G II ノロウイルスが検出された (表)。陽性となった 3 検体のうち、2 検体は高齢者から採取されたものであった。

患者 No.1 は 80 歳の養護老人ホーム入所者で、嘔吐後 20 時間 50 分経過後にうがい液を採取した。この患者は、嘔吐後は食事をとらず、点滴での栄養補給対応となっており、うがい液中に、食品残渣が浮遊していた。うがい液 10ml 中から  $4.7 \times 10^5$  コピーのウイルスが検出され、患者便からも G II ノロウイルスが検出された。

患者 No.4 は、50 歳の幼稚園の保育補助員で、嘔吐後 6 時間経過後にうがい液を採取した。うがい液 10ml から  $2.2 \times 10^5$  コピーの G II ノロウイルスが検出された。

患者 No.6 は、76 歳の老人保健施設の入所者で、嘔

吐の3時間後にうがい液を採取した。うがい液 10ml 中に  $1.1 \times 10^4$  コピーの GII ノロウイルスが検出された。

この他、嘔吐後に2時間から 27 時間経過した3名の保育園児及び成人6名のうがい液を検査したが、糞便からノロウイルスが検出された患者であっても、うがい液からは検出されなかった。

#### 4 考 察

一般的にノロウイルス感染症では、患者の嘔吐物中にノロウイルスが多量に存在することが確認されている<sup>2)</sup>。そして、集団の中でノロウイルス感染による嘔吐が発生すると、周囲にいた人が一斉に発症する事例が多い。また、エアロゾルが感染源となる、airborne infection の事例も報告されており<sup>2),3)</sup>、嘔吐によるエアロゾルの発生は、接触感染とともに、ノロウイルスの感染伝播に重要な役割を果たしていると考えられる。

そこで、ノロウイルスによる感染症で、嘔吐後の患者の口腔内にどの程度の量のウイルスが残存するのか、また、残存時間はどの程度かを把握するため、嘔吐後の患者の口腔内ノロウイルス量を定量した。

嘔吐後の患者のうがい液 12 検体中 3 検体から GII ノロウイルスが検出された。20ml の生理食塩水で実施した、うがい液 10ml あたりのノロウイルス量は、 $10^4$  コピーから  $10^5$  コピー程度であった。嘔吐後の経過時間は、3 時間が最短で、20 時間 50 分後のうがい液からも検出された。

嘔吐物にはノロウイルスが高濃度に含まれるため、口腔内にもノロウイルスが残存することが想定されるが、嘔吐後のうがいや歯磨きの有無、唾液の分泌量、食事の摂取等によって、口腔内のノロウイルス量は相当変動するものと考えられる。

陽性となった3人のうち2人の患者は、高齢者であった。高齢者は唾液の分泌量が少ないと言われており<sup>4)</sup>かつ、寝たきりで、経管栄養の場合の口腔ケアが不十分な場合があることから、口腔内の汚染が継続するものと考えられる。また、うがい液中に食物残渣があったことから、嘔吐後のうがいが不十分であったり、繰り返す嘔気のため、胃内容の口腔への逆流があった可能性も考えられる。高齢者福祉施設におけるノロウイルスによる胃腸炎の集団発生では、終息するまでの期間が長引く場合があり、口腔から飛散する飛沫が原因である可能性も考えられる。

嘔吐後の経過時間とうがい液からのノロウイルス検出状況に相関は見られなかった。個人差や抽出法が不適切であった可能性があるが、唾液の多い子供や口腔ケアができる成人であれば速やかに検出限界以下となるものと考えられる。

嘔吐後の患者の口腔内にノロウイルスが残存することが確認されたことから、患者が使用した食器の取り扱い

の注意や、患者及び患者に接する人は、感染予防のため、マスクの着用が必要と考えられる。

#### 5 ま と め

嘔吐後の患者の口腔内に、ノロウイルスが残存することが確認された。

嘔吐後の患者の口に触れた物、特に、コップなどの食器や歯ブラシ等が汚染されることから、食器の洗浄消毒が必要である。

嘔吐後患者の口腔から飛散する飛沫もノロウイルス感染症の感染源と考えられ、飛沫による人から人への感染があることが推測され、感染予防対策としてマスクが必要と考えられる。

本研究の一部は、平成 19 年厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業の「食品中のウイルスの制御に関する研究」(主任研究者武田直和)として行われた。

#### 謝 辞

本稿を終えるにあたり、検体の収集にご協力いただいた、県内の各地域振興局健康福祉(環境)部及び施設等の関係各位に感謝します。

#### 文 献

- 1) Kageyama T. et al., J Clin Microbiol. 41,1548 (2003).
- 2) 丸山 務, 井上栄, 西尾治, 中村明子, 相楽裕子, 古田太郎: 改訂ノロウイルス現場対策 その感染症と食中毒, 幸書房, p58, (2007).
- 3) Marks PJ., Vipond IB., Carlisle D., Deakin D., Fey RE. and Caul EO. Epidemiol Infect. 124,481 (2000).
- 4) Marks PJ., Vipond IB., Regan FM., Wedgwood K., Fey. RE, Caul EO. Epidemiol Infect. 131,727 (2003)
- 5) Moritsuka M., Kitasako Y., Burrow MF., Ikeda M., Tagami J. and Nomura S. J Dent. 34,716(2006).

表 嘔吐後に採取された口腔うがい液中のノロウイルスの定量結果

患者 No.	集団発生施設	年齢	患者の職業等	検出ノロウイルスの型	ウイルス量 (コピー数/うがい液10ml) ※1	嘔吐後の経過時間	経過詳細	便からのノロウイルス検出	患者集団のノロウイルス検査結果 (陽性数/便検査数) ※2
1	A 養護老人ホーム	80歳	入所者	G II	$4.68 \times 10^5$	20時間50分	1/6 23時嘔吐・下痢、1/7 下痢が継続、1/7 19時50分うがい液採取。発症後、食事はとらず、点滴対応。	G II 陽性	4 / 4
2	B 老人保健施設	89歳	入所者	-	-	4時間	1/6 3時腹痛、その後下痢、1/7 12時嘔吐、16時うがい液採取。	検体無し	(6 / 12) (病院での検査による)
3	C 幼稚園	24歳	保育士	-	-	2時間35分	1/10 7時20分嘔気、12時嘔吐、腹痛、関節痛、寒気 14時35分うがい液採取 下痢症状無し	検体無し	1 / 2
4	C 幼稚園	50歳	保育補助員	G II	$2.24 \times 10^5$	6時間	1/10 夜半吐気・腹痛、3時嘔吐、9時嘔吐・下痢、 15時うがい液採取	G II 陽性	1 / 2
5	D 老人保健施設	76歳	入所者	G II	$1.08 \times 10^4$	3時間	1/17 14時嘔吐、17時うがい液採取	陰性 (病院での検査による)	陽性患者あり (病院での検査による)
6	E 保育園	5歳	園児	-	-	4時間35分	1/23 8時、9時に嘔吐 13時35分うがい液採取	検体無し	2 / 2
7	E 保育園	20歳代	職員	-	-	6時間30分	1/23 7時30分嘔吐 14時うがい液採取	G II 陽性	2 / 2
8	E 保育園	5歳	園児	-	-	9時間20分	1/23 4時嘔吐 13時20分うがい液採取	検体無し	2 / 2
9	E 保育園	6歳	園児	-	-	2時間	1/23 12時嘔吐、14時うがい液採取	G II 陽性	2 / 2
10	F 保育園	21歳	保育士	-	-	27時間	1/23 12時吐気、17時嘔吐、1/24 7時腹痛 20時 うがい液採取	G II 陽性	3 / 3
11	F 保育園	45歳	保育士	-	-	24時間	1/23 22時嘔吐、下痢、頭痛、1/24 下痢4回、22時 うがい液採取	検体無し	3 / 3
12	F 保育園	56歳	調理員	-	-	25時間	1/23 16時嘔吐、20時嘔吐、1/24 21時うがい液採取	G II 陽性	3 / 3

注1：20ml の生理食塩水でうがいをし、うがい液10ml 中のウイルス量を定量した。

注2：陽性となった検体は全てG II ノロウイルスであった。