

表2. 患者糞便および嘔吐物から検出された NV のウイルス量

事例番号	検出された NV 株の遺伝子型	患者(年齢)	ウイルス量 <sup>a</sup> (コピー数/g)	
			糞便	嘔吐物
03-202	GII.4	患者 <sup>b</sup> (1 歳)	$1.1 \times 10^{10}$	$1.3 \times 10^7$
03-203	GII.4	患者 A <sup>b</sup> (88 歳)	$6.2 \times 10^7$	$5.4 \times 10^6$
		患者 B <sup>b</sup> (88 歳)	$1.4 \times 10^{10}$	$7.4 \times 10^7$
		患者 C <sup>b</sup> (80 歳)	$2.2 \times 10^{10}$	$1.0 \times 10^6$
		患者 D <sup>b</sup> (93 歳)	$1.3 \times 10^9$	$1.9 \times 10^8$
		患者 E <sup>c</sup> (不明)	検体なし	$8.9 \times 10^7$
04-17	GII.4	患者 (不明)	検体なし	$6.2 \times 10^5$
04-59	GII.2	患者 <sup>c</sup> (10 歳)	検体なし	$8.0 \times 10^5$
04-71	GII.2	患者 (幼稚園児)	$1.9 \times 10^5$	NV 陰性
04-75	GII.2	患者 (小学生)	$7.6 \times 10^8$	NV 陰性
04-165	GII.4	患者 (3 歳)	$1.1 \times 10^6$	NV 陰性
06-149	GII.4	患者 <sup>b</sup> (1 歳)	$1.0 \times 10^{10}$	$1.7 \times 10^7$
06-191	GII.4	患者 A <sup>b</sup> (17 歳)	$4.4 \times 10^{11}$	$3.3 \times 10^6$
		患者 B (17 歳)	$1.8 \times 10^8$	NV 陰性

a: 糞便または嘔吐物 1g 中に含まれる NV 遺伝子コピー数

b: 同一患者における糞便および嘔吐物由来 NV 株の塩基配列が一致

c: 同一患者から糞便は採取されなかったが、同一事例内の他の患者糞便から検出された NV 株と塩基配列が一致

平成 19 年度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)

「食品中のウイルスの制御に関する研究」班

協力研究報告書

嘔吐物等による感染の疫学的分析に関する研究  
- 嘔吐物中のノロウイルスの定量および遺伝子解析 -

研究協力者：吉田徹也、白石崇、小林正人、粕尾しず子、畔上由佳

(長野県環境保全研究所)

分担研究者：野田 衛 (国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部)

研究要旨：ノロウイルス (NV) による食中毒、集団感染症の発生要因の一つである嘔吐物に関する基礎的な疫学調査を行った。食中毒および集団感染症各 1 事例から採取された NV 陽性の嘔吐物 13 検体について、NV の定量を行ったところ、 $5.59 \times 10^3 \sim 8.64 \times 10^5$  copies/ml の範囲に分布した。また、嘔吐物中の NV 量と患者の臨床症状との関連性を検討したところ、NV 量が多い者ほど嘔吐の回数が多い傾向にあった。検出された NV を遺伝子解析した結果、食中毒由来 12 株と集団感染症由来 1 株はいずれも遺伝子型 GII/4 に属していたが、それぞれ異なるクラスターに分類され、食中毒事例はいわゆる EU2006a に、集団感染症事例は EU2006b に属した。

#### A. 研究目的

ノロウイルス (NV) による食中毒、集団感染症が、2006 年シーズン以降爆発的に流行している。その感染源の一つとして、患者便以外に重要なのが、NV 感染症患者が排出した嘔吐物であると考えられている。しかしながら、嘔吐物は現場におけるサンプリングのしにくさから、その NV 量等に関する調査報告はそれほど多くないのが現状である。

そこで本調査では、NV 食中毒、集団感染症事例において採取された嘔吐物を用い、NV 量等の基礎的な疫学データを得ることを目的とした。

#### B. 研究方法

##### 1. 調査に用いた嘔吐物および事例概要

2007 年 5 月に長野県内の旅館を原因施設として発生した食中毒事例 (事例 1) で採取された 12 検体、および 2007 年 7 月に長野県内の旅館において発生した集団感染症事例 (事例 2) で採取された 1 検体、計 13 検体の嘔吐物を用いた。両事例の概要を表 1 に示した。

嘔吐物が NV 陽性となった患者のうち臨床症状等の聞き取り調査が行われた 10 名について、嘔吐の回数と嘔吐物中の NV 量の関連性について検討した。

##### 2. 嘔吐物の前処理方法

採取された嘔吐物をフィルター付きストマッカー用ポリ袋に取り、ろ過したろ液を 1.5ml チューブに取り、4℃で

10,000rpm、10 分間遠心分離を行い、その上清を RNA 抽出用試料とした。

### 3. NV の定量および遺伝子解析

NV の定量は、前述の方法で前処理した嘔吐物から RNA を抽出し、Kageyama ら (J Clin Microbiol, 41, 1548~1557 (2003)) のリアルタイム PCR 法で行った。

遺伝子解析は、COG2F/G2-SKR あるいは G2-SKF/G2-SKR プライマーによりカプシド領域の一部を増幅し、その PCR 産物をダイレクトシーケンス法により塩基配列の決定を行った。その後、Katayama ら (Virol, 299, 225~239(2002)) の参照株を用い、遺伝子型別および分子系統樹の作成を試みた。

## C. 研究結果

### 1. 嘔吐物中の NV 量

嘔吐物 13 検体中の NV 量は、 $5.59 \times 10^3 \sim 8.64 \times 10^5$  copies/ml に分布し (表 2)、平均値は  $10^{4.9}$  copies/ml、中央値は  $1.04 \times 10^5$  copies/ml であった。度数分布でみると、 $10^5$  オーダーが最も多く 7 検体 (53.8%) が含まれた (図 1)。

### 2. 嘔吐物中 NV 量と患者の臨床症状

嘔吐物中に NV が検出された患者のうち嘔吐した回数が調査された 10 名について、NV 量と嘔吐回数に関連性について検討した。その結果、図 2 に示したとおり相関関係は特に認められないものの、嘔吐物中の NV 量の多い患者は嘔吐の回数が多い傾向が認められた。

### 3. 嘔吐物中 NV の遺伝子解析

嘔吐物から検出された NV のうち 12 株の塩基配列を決定し、遺伝子型別を行った結果、いずれも GII/4 であった (図 3)。

事例 1 由来 11 株の塩基配列はすべて一致し、相同性 100% であった。事例 2 由来株は、事例 1 由来株とは異なるクラスターに属した。

さらに、GII/4 に属する種々の参照株を用いて系統樹解析を行ったところ、事例 1 由来株はいわゆる EU2006a と、事例 2 由来株は EU2006b と同じクラスターに分類された (図 4)。

## D. 考察

今回我々が定量した嘔吐物中の NV 量は  $5.59 \times 10^3 \sim 8.64 \times 10^5$  copies/ml で、度数分布では  $10^5$  オーダーが最も多かった。西尾ら (食品衛生研究, 55 (10), 7-14 (2005)) は、患者嘔吐物中の NV 量は  $10^4 \sim 10^8$  copies/g で、 $10^6$  オーダーを頂点とする分布を示したと報告しており、我々の調査結果と比較すると、NV 量が 1 オーダー高い結果であった。これは、我々の調査した検体数が 13 件と少なく偏りが考えられること、嘔吐物の採取時期が不明であり、必ずしも嘔吐の最盛期における採取ではない可能性があることなどが、NV 量の異なる理由として考えられた。また、今回我々は、嘔吐物を希釈することなしに RNA 抽出を行ったが、嘔吐物中の食品残渣等が PCR 反応等を阻害している可能性も考えられることから、糞便の場合と同様に PBS 等で乳剤にする等、前処理方法を検討する必要があると思われる。さらに、NV 株の病原性の違いや複製効率の違い、あるいは宿主側の感受性によって、嘔吐物中の NV 量が増加する可能性も考えられ、嘔吐物中の NV 量に関して今後もデータを積み重ねる必要があると思われる。

10 検体と非常に例数は少ないが、嘔吐物中の NV 量と患者の嘔吐回数に関連性について検討したところ、明瞭な相関関係は認められなかった。しかしながら、NV 量の多い患者は嘔吐の回数が多い傾向にあり、また、事例 1 の 9 検体のみで相関性をみると  $R^2=0.5735$  であったことから、NV 量が嘔吐の回数と関連する可能性は否定できない。このことについても、上述の採取時期の問題を含め、さらに検討する必要がある。

キャプシド領域の一部の塩基配列を用い遺伝子解析を行ったところ、事例 1 および事例 2 由来株とも GII/4 に分類された。さらに、GII/4 の代表的な流行株を用い解析した結果、事例 1 由来株は Hu/GII.4/Terneuzen70/2006/NL と近縁でいわゆる EU2006a、事例 2 由来株は Hu/GII.4/Nijmegen115/2006/NL と近縁で EU2006b クラスタに分類されるものと考えられた。以上のことから、今回嘔吐物から検出された株はいずれも 2006/07 年シーズンの流行株であり、流行後もそれらの株が継続して集団感染、食中毒の原因になっているものと推察された。

今回、嘔吐物中の NV の定量および遺伝子解析について調査を行ったが、まだ例数が少ないことから、今後も継続して

調査を実施していく必要があると思われる。

#### E. 結論

嘔吐物中の NV を定量したところ、 $5.59 \times 10^3 \sim 8.64 \times 10^5$  copies/ml であった。

嘔吐物中の NV 量の多い患者ほど、嘔吐の回数が多い傾向にあった。

事例 1 の 11 株および事例 2 の 1 株を遺伝子解析したところ、いずれも GII/4 に属した。

事例 1 由来株はいわゆる EU2006a クラスタに、事例 2 由来株は 2006/07 シーズンの優勢株であった EU2006b クラスタに属した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 嘔吐物からNVが検出された事例概要

	事例1(食中毒)	事例2(集団感染症)
発 生 年 月 日	平成 19 年5月 15 日	平成 19 年7月 29 日
発生場所・施設	長野県内の旅館	長野県内の旅館
患者数(発病率%)	183 名(70.6)	26 名(37.1)
発病グループの母数(摂食者数)	259 名	70 名
発病グループの特徴	中学生の修学旅行 主に 13~14 歳	高校生の合宿 主に 15~17 歳
原因食品	旅館の食事	—
主な症状 (発頭率 50%以上の症状)	嘔気、嘔吐、発熱、 腹痛、頭痛	腹痛、嘔気
発生原因	NV陽性調理従事者による 食品汚染	施設従事者の嘔吐物による 施設内汚染
NV 陽性嘔吐物数	12 検体	1 検体

表2 嘔吐物中のNV量

事例 No.	検体 No.	患者年齢	ウイルス量(copies/ml)	備 考
1	4-12	14	$5.59 \times 10^3$	最小値
	4-13	14	$8.64 \times 10^5$	最大値
	4-14	13	$1.04 \times 10^5$	
	4-15	不明	$1.61 \times 10^4$	
	4-16	不明	$6.60 \times 10^5$	
	4-18	14	$1.05 \times 10^4$	
	4-21	14	$1.36 \times 10^5$	
	4-22	14	$1.72 \times 10^4$	
	4-23	14	$5.91 \times 10^5$	
	4-24	13	$4.02 \times 10^4$	
	4-25	13	$2.99 \times 10^4$	
	4-27	14	$1.03 \times 10^5$	
	2	11-11	16	$5.35 \times 10^5$

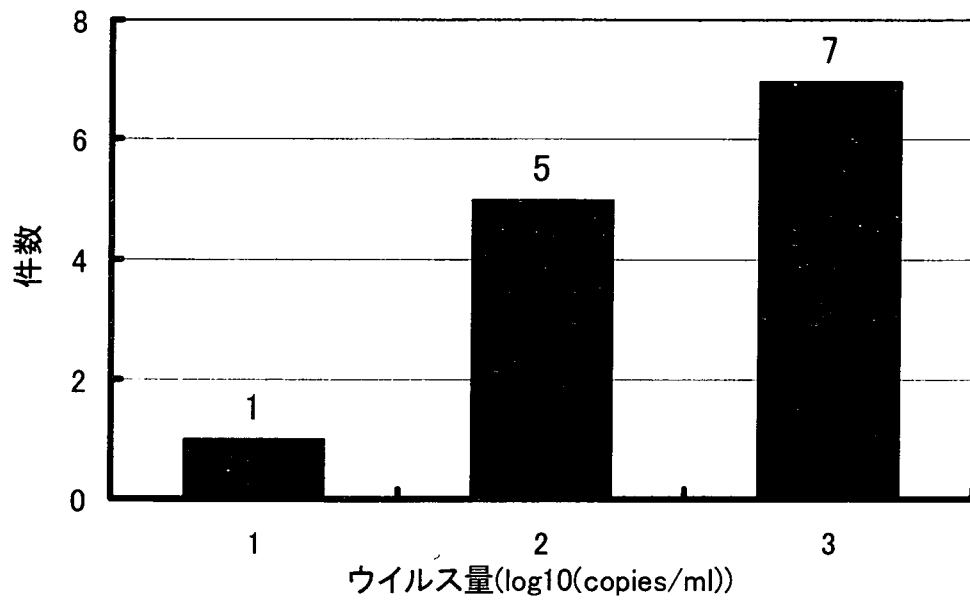


図1 嘔吐物中NV量の分布

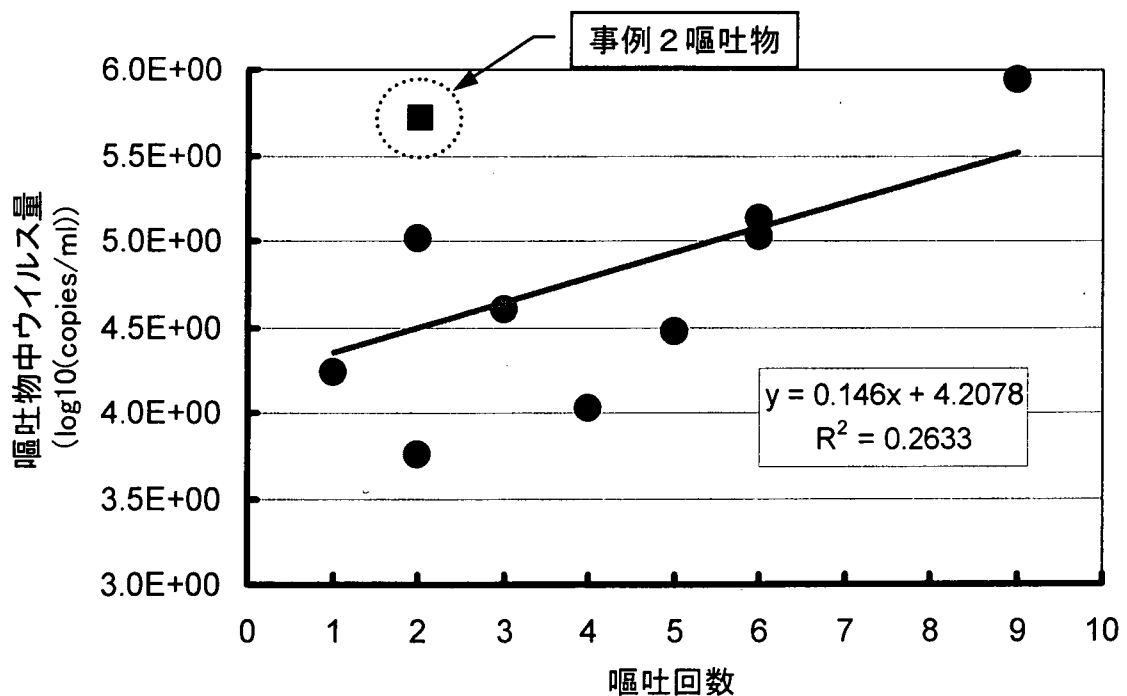


図2 嘔吐物中NV量と嘔吐回数との関係

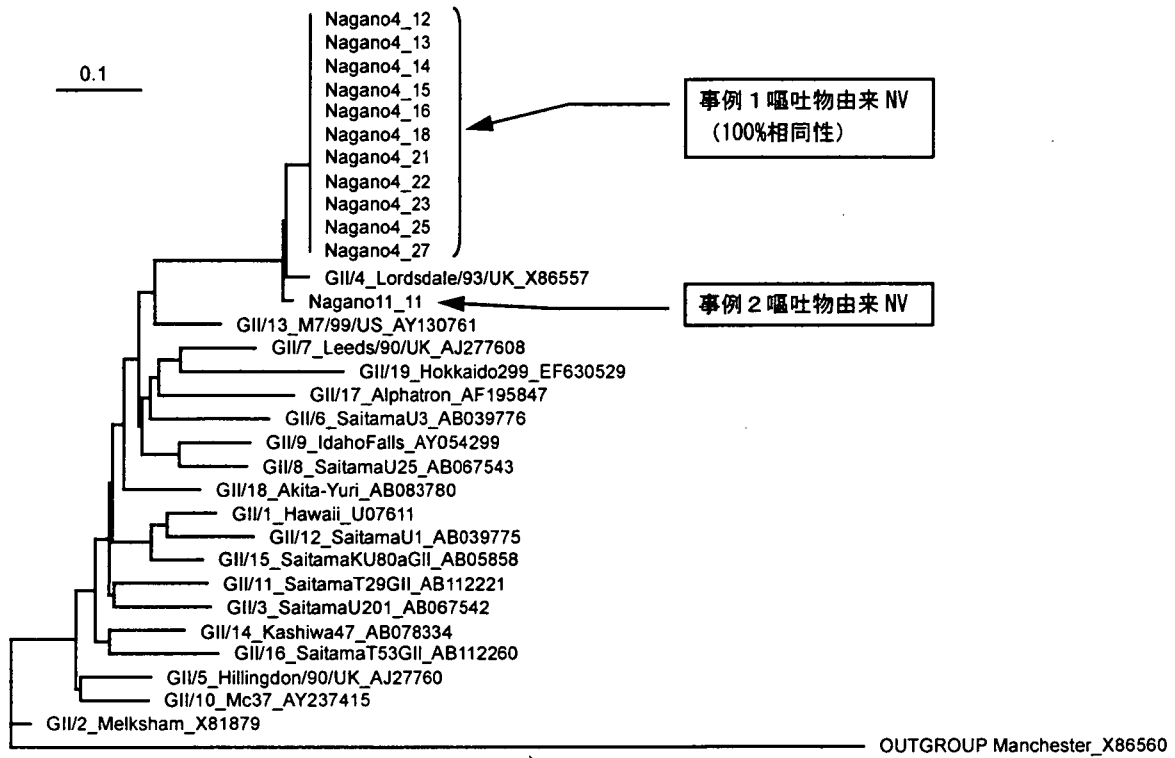


図3 嘔吐物由来NVの遺伝子系統樹解析

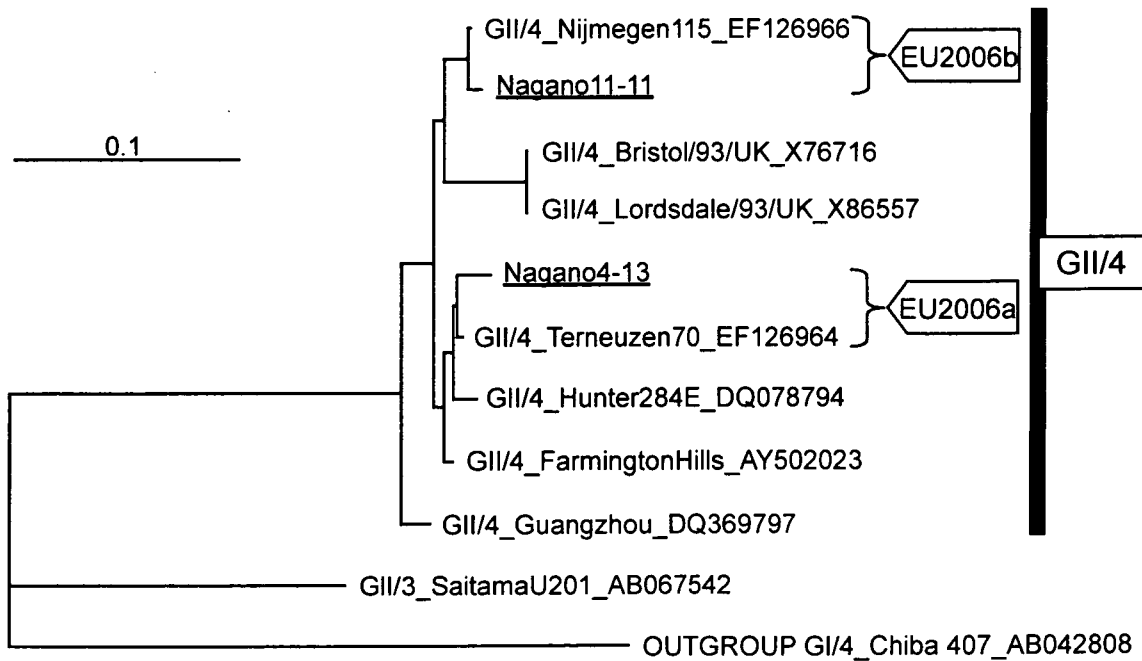


図4 GII/4近縁株の系統樹解析

平成 19 年度 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  
「食品中のウイルス制御に関する研究」  
協力研究報告書

嘔吐物等による感染の疫学的分析に関する研究  
－嘔吐物に排泄されるノロウイルス量の把握と感染源としての評価－

研究協力者： 福田伸治（広島県立総合技術研究所保健環境センター）  
分担研究者： 野田 衛（国立医薬品食品衛生研究所）

研究要旨：概要

2006 年 10 月から 2007 年 12 月の間に発生し、患者糞便および嘔吐物が採取された集団事例 11 事例から得られた患者糞便 23 検体、嘔吐物 14 検体についてノロウイルス (NoV) 遺伝子量を測定した。糞便に比較し嘔吐物中の遺伝子量は少ない傾向にあったが、嘔吐物中には  $10^2$  コピー/g 以上の NoV が排泄されており、 $10^{7-8}$  コピー/g が最も頻度が高かった。NoV のヒトにおける感染・発症ウイルス量は 10 個程度と推定されており、嘔吐物は NoV 集団事例の感染源として重要であることが示唆された。また、本報告の事例のように、嘔吐物の不適切な処理による感染が拡大することが明らかになり、嘔吐物を速やかに、しかも適切に処理することが感染拡大防止に重要であることが示された。

A. 研究目的

ノロウイルス (NoV) は食中毒患者数に占める割合が最も高い微生物であり、幼稚園、保育所、学校、病院、老人関係施設でヒト-ヒト感染の主要な起因ウイルスである。ヒトの糞便のみならず嘔吐物も NoV 集団事例の感染源と考えられる事例も発生している。ここでは、NoV 患者嘔吐物と糞便中に含まれる NoV を定量し、嘔吐物の感染源としての意義について検討した。また、院内における嘔吐物が原因と推定される事例を経験したのでその概要を報告する。

B. 研究方法

2006 年 10 月から 2007 年 12 月の間に発生し、患者糞便および嘔吐物が採取された集団事例 11 事例から得られた患者糞便 23

検体、嘔吐物 14 検体についてリアルタイム PCR (平成 15 年 11 月 5 日厚生労働省 食安監発第 1105001 号「ノロウイルスの検出法について」に準拠) により NoV 遺伝子量を測定した。さらに、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、Kageyama ら (J. Clin. Microbiol., 42, 2988-2995, 2004) のスキームに従って遺伝子型を決定した。

C. 研究結果

1. 患者糞便および嘔吐物中の NoV 遺伝子量

対象とした 11 事例の原因となった NoV 遺伝子型はすべて GII/4 であった。

表 1 には患者糞便および嘔吐物 1g 当たりの NoV コピー数を示した。患者糞便は  $\leq 10^4$  コピーが 1 検体 (4.3%)、 $10^{5-6}$  コピー



が 3 検体(13.0%),  $10^{7-8}$  コピーが 15 検体(65.2%),  $10^{9-10}$  コピーが 1 検体(4.3%),  $>10^{10}$  が 3 検体(13.0%)であり,  $10^{7-8}$  コピーが最も多かった。一方, 嘔吐物は $\leq 10^4$  コピーが 4 検体(28.6%),  $10^{5-6}$  コピーが 3 検体(21.4%),  $10^{7-8}$  コピーが 6 検体(42.9%),  $10^{9-10}$  コピーが 1 検体(7.1%)であった。図 1 には糞便および嘔吐物中の NoV コピー数の分布を示した。嘔吐物中に含まれる NoV コピー数は糞便に含まれる NoV コピー数に比較して少ない傾向になったが (Mann-Whitney U test,  $p=0.049$ ), 糞便と同様に  $10^{7-8}$  コピーが最も頻度が高かった。嘔吐物中の NoV コピー数は最低でも  $10^2$  以上のコピー数であった。また, 事例別の嘔吐物中の NoV コピー数に顕著な違いは認められなかった。

## 2. 嘔吐物が原因と推定される NoV 集団発生事例

2006 年 12 月 15 日〇〇医院から「入院患者および職員に下痢, 嘔吐等の症状がある」旨の連絡が保健所に入った。疫学調査および微生物検査から嘔吐物を原因とする集団事例であると推定された。この事例の発端は 12 月 13 日の外来患者 (小児) 2 名がトイレの前で嘔吐したことであるが, 嘔吐物を処理した職員は嘔吐物の塩素消毒などは行っておらず, しかも処理に使用した雑巾やモップ等の消毒も実施していなかった。さらに, この雑巾やモップをそのまま使用していたことが感染拡大の一因と考えられた。入院患者および職員の発症状況を時系列で見ると (図 2), 外来患者から職員, 職員から入院患者へ伝播したことが推定される。なお, 病院給食食材および調理従事者便からは NoV は検出されなかった。

## D. 考察

NoV 患者嘔吐物中に排泄される NoV 量は患者糞便に比較して少ないものの,  $10^2$  コピー以上で, 糞便と同様に  $10^{7-8}$  コピーが最も頻度が高かった。NoV の感染・発症ウイルス量は 10 個程度であると推定されている (<http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/gastro/norovirus-factsheet.html>)ことから, 嘔吐物中に排泄される NoV 量は多くのヒトを感染させるに十分なウイルス量であることが示された。本報告の事例のように不適切な嘔吐物の処理により感染が拡大した事例の報告も見られることから, 糞便と同様に, 嘔吐物を塩素消毒する等の適切な処理が重要であることが示唆された。特に, 嘔吐物は不適切な処理により, 乾燥後粉塵とともに空中に舞い上がり感染源となることも危惧されている。

## E. 結論

患者嘔吐物中にはヒトの発症に十分な NoV が排泄されており, 糞便のみならず嘔吐物も集団発生の感染源となることが示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Fukuda S, Sasaki Y, Kuwayama M, Miyazaki K: Simultaneous detection and genogroup-screening test for norovirus genogroups I and II from fecal specimens in single tube by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay. *Microbiol. Immunol.*, 51, 547-550, 2007.

## 2. 学会発表

1) 福田伸治, 佐々木由枝: 2段階等温遺伝子増幅法によるカキ中のノロウイルス遺伝子の簡易検出. 日本ウイルス学会第55回学術集会 2007年10月 札幌

2) 佐々木由枝, 福田伸治: ヒトおよびカキから検出されたノロウイルスの遺伝子学的関連. 日本ウイルス学会第55回学術集会 2007年10月 札幌

## H. 知的財産権の出願, 登録状況

なし

表1 検査材料 1g 当たりの NoV コピー数

検体名	検体数	コピー数/g (log10)				
		2-4	5-6	7-8	9-10	>10
糞便	23	1	3	15	1	3
嘔吐物	16	4	3	6	1	

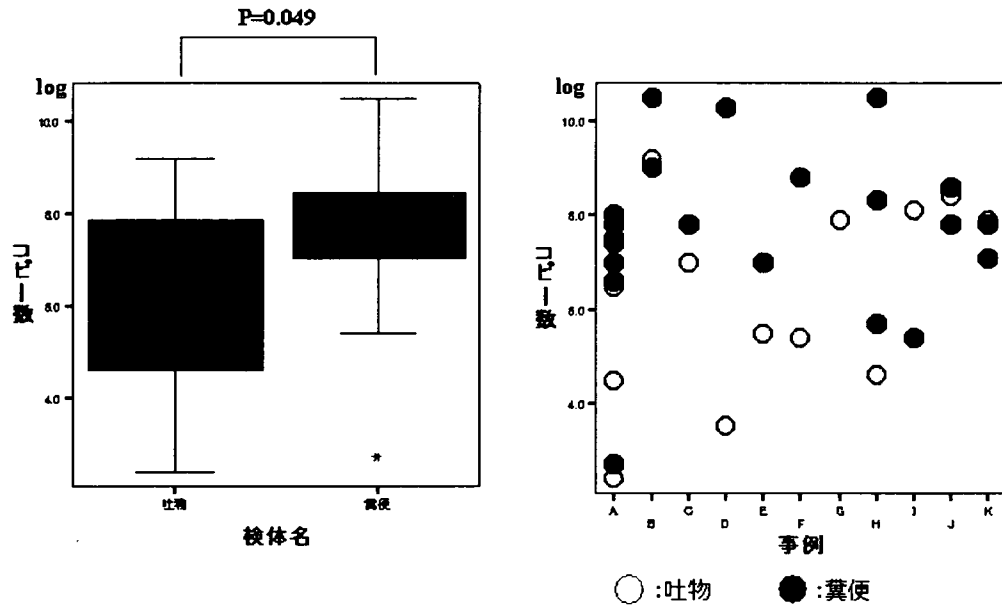


図1 糞便および嘔吐吐物中の NoV コピー数の分布

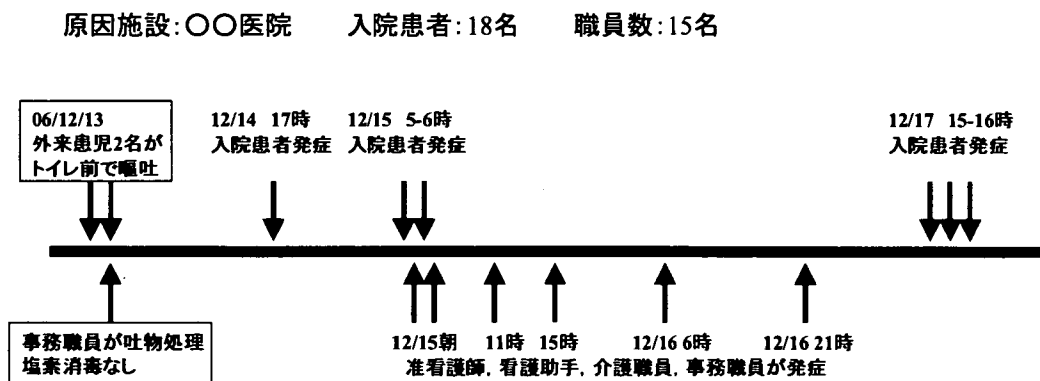


図2 嘔吐物が原因と推定される集団事例

平成19年度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)

「食品中のウイルスの制御に関する研究」

協力研究報告書

嘔吐物等による感染の疫学的分析に関する研究  
-嘔吐後の口腔内に残存するノロウイルスの定量-

研究協力者：田村 務(新潟県保健環境科学研究所ウイルス科)

分担研究者：野田 衛(国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部)

**研究要旨**：2006年12月に、嘔吐後の患者の口腔飛沫が感染源と考えられるノロウイルス胃腸炎の集団発生事例が発生した。ホテルにおける宴会で、前日から嘔吐があった参加者1名(男性)が、ホテル内のトイレで嘔吐し、その後も宴会に参加して多数の宴会出席者と接触し、75名中46名(男性26人、女性20人)が胃腸炎を発症した。従事者等からノロウイルスは検出されず、メニューが共通していた他の団体では患者発生がなかったことから、食中毒では無く感染症とみなされ、現場の状況から、患者の口腔飛沫が感染源と考えられた。

そこで、嘔吐後の患者の口腔飛沫のリスク評価のため、2008年1月に新潟県内で発生した胃腸炎の集団発生事例で、嘔吐後の患者の口腔うがい液(20mlの生理食塩水でうがいを実施)を採取し、ノロウイルスの定量を実施した。うがい液13検体中、嘔吐後3時間から20時間50分経過して採取された3検体からGⅡノロウイルスが検出され、うがい液10mlあたり $1.08 \times 10^4 \sim 4.68 \times 10^5$ コピー検出された。陽性となった3人中2人は76歳以上の高齢者であった。嘔吐後の口腔内に残存するノロウイルス量は、口腔のすすぎや歯磨き、食事、唾液の量によって変動すると考えられ、口腔ケアが不十分で、唾液量の少ない高齢者で残存傾向があると推測された。

嘔吐時の飛沫感染のみならず、患者の口腔内に残存するノロウイルスによって、人から人への飛沫感染のリスクがあると考えられ、患者には、マスクを着用させることが感染予防に必要と思われる。

#### A. 研究目的

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く、嘔吐が暴露要因として重要である。現在の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。

新潟県で、2006年に経験した事例では、嘔吐後の患者が多数の人と接触し、感染を引き起こしたことが原因と推測された。そこでこの事例の疫学的解析と嘔吐後の

患者の口腔内に存在するウイルス量を調べ、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た。

## B. 研究方法

### 1. 口腔飛沫が原因と考えられる胃腸炎の集団発生事例の疫学的解析

2006年12月に発生したノロウイルスを原因とする胃腸炎の集団発生事例で、口腔飛沫が感染源と推測される事例について、疫学的な解析を実施した。

### 2. 嘔吐後の患者の口腔内に残存するノロウイルスの定量

2008年1月に発生したノロウイルスを原因とする胃腸炎の集団発生事例の中の患者から、嘔吐後のうがい液を採取し、うがい液中のノロウイルスをリアルタイムPCR法で測定した。

注射用生理食塩液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から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すことで、口腔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。

カップのうがい液11mlを9000rpm20分遠心後、上清10mlにポリエチレングリコール0.8g、NaCl0.14g（生理食塩の濃度を考慮し、最終濃度を約2.3%とした。）を添加し、溶解後、4℃で一晩静置した。10000rpm30分遠心後、上清を除去し、管壁を1回洗浄後、沈渣に100 $\mu$ lのMillIQ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。

RTは、Primerにpd(N)6 Random Hexamer (GEヘルスケア)を使用して、MMLV-RT (Invitrogen)を用いて実施し、Kageyama<sup>1)</sup>らのリアルタイムPCR法でGIIノロウイルスを定量した。

## C. 研究結果

### 1. 口腔飛沫が原因と考えられる胃腸炎の集団発生事例の疫学的解析

2006年12月15日（金）にホテルで行われたB社の忘年会に参加した社員の多数が、16日（土）以降に胃腸炎を発症し、18日（月）に20名が勤務を休んだ。

管轄の保健所は、食中毒の疑いで調査を実施し、ホテル利用グループ毎の疫学調査結果は、表1のとおりとなった。患者発生は、2階で宴会を行ったBグループとCグループに限定され、Bグループの発症率が61.3%で、Cグループの25%に比べ著しく高かった。Bグループのメニューは、6階のDグループと9品目が共通であるにもかかわらず、Dグループでは発症者がいなかった。

アンケート形式の調査で、Bグループには、宴会開催前日の12月14日に発症し、下痢、嘔吐の症状のあった参加者が1名いることがわかった。この初発患者は、宴会前に会社のトイレで、下痢、嘔吐し、更に、宴会場のトイレでも嘔吐、下痢をしながらも、宴会に参加し続けた。しかし、宴会の会場内では嘔吐しなかった。

Bグループの参加者及び発症者の男女比は、表2のとおりで、男女とも発症者があり、女性の発症率が64.5%と男性の59.1%に比べやや高かった。Cグループに女性がいたかどうかは不明であるが、発

症した4名は全て男性であった。

検便の検査の結果、初発患者を含む5名の検便から、GⅡ-4 ノロウイルスを検出したが、調理従事者2名と接客係3名の検便からは検出されなかった。初発患者と他2名の患者のORF2のN末端とp2領域の遺伝子塩基配列を比較したところ一致した。

Bグループの流行曲線を本県で発生した代表的な調理従事者による食品汚染の食中毒事例の流行曲線と比較した(図1)。いずれも、GⅡ-4 ノロウイルスによる事例である。食中毒事例の流行曲線は、二次感染と考えられる2名を除き、一峰性の正規分布の曲線を示したが、Bグループの流行曲線は、すそ野が広く、ピークが後方に偏っていた。潜伏時間が短い患者は、ホテルにおける宴会場での暴露ではなく、会社での暴露と考えられた。潜伏時間の中央値を比較すると、食中毒事例では飲食の開始時間を起点とすると38.5時間で、Bグループでは40時間であった。潜伏時間の短い患者を除くと潜伏時間の中央値は45時間となり、Bグループの潜伏時間が遷延していることが確認された。

## 2. 嘔吐後の患者の口腔内に残存するノロウイルスの定量

結果を表3に示す。うがい液13検体中3検体からGⅡノロウイルスが検出された。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、1検体は成人のサンプルであった。

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

していた。うがい液中には、食品残渣が浮遊していた。うがい液10ml中に、 $4.68 \times 10^5$ コピーのウイルスが検出され、患者便からもGⅡ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 $2.24 \times 10^5$ コピーのGⅡ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 $1.08 \times 10^4$ コピーのGⅡノロウイルスが検出された。

この他、嘔吐後の経過時間2時間から27時間の、2名の保育園児及び成人9名のうがい液を検査したが、便で陽性であってもうがい液からは検出されなかった。

## D. 考察

ノロウイルス感染症で、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。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の事例が報告されており<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。

我々は、口腔飛沫が原因と考えられる胃腸炎の集団発生事例を経験し、この事例について、疫学的解析を実施した。また、このような事例から、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。

## 1. 口腔飛沫が原因と考えられる胃腸炎の集団発生事例の疫学的解析

当初、食中毒が疑われた事例であるが、事前に発症していた1名が、宴会場のトイレで嘔吐後、継続して宴会に参加していたことから、この患者が感染源と考えられた。この事例では、返杯等の杯やコップの共用で感染する可能性もあると考えられたが、発症率が61.3%と非常に高く、女性の発症率も高いこと、宴会場では嘔吐していないことから、患者の口腔内に残存するウイルスが、口腔飛沫により感染したと考えられた。

潜伏時間が短い患者は、会社での感染と考えられ、同じ階で宴会を実施したCグループの発症者4名はトイレの汚染から感染したものと推測された。

同じGII-4型のノロウイルスによる食中毒事例と流行曲線を比較すると、潜伏時間の遷延傾向が認められたが、これは飛沫中のノロウイルス量が少なかったためと推測された。

## 2. 嘔吐後の患者の口腔内に残存するノロウイルスの定量

嘔吐後の患者のうがい液13検体中3検体からGIIノロウイルスが検出された。うがいを20mlの生理食塩水で実施し、うがい液10mlあたりのノロウイルス量は、 $10^4$ から $10^5$ 程度であった。ノロウイルスが検出された、嘔吐後の経過時間は、3時間が最短であった。この患者は、50歳で、2回嘔吐しており、その後3時間経過しても、口腔内にノロウイルスが存在することが確認された。

嘔吐物にはノロウイルスが高濃度に含

まれるため、当然口腔内に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、唾液の分泌量、食事の摂取によって、口腔内のノロウイルス量は相当変動すると考えられる。

陽性となった3人のうち2人の患者は高齢者であり、うち1名は嘔吐後20時間50分後のうがい液からノロウイルスが検出された。高齢者は唾液の分泌量が少なく<sup>4)</sup>かつ、寝たきりで、経管栄養の場合には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と考えられる。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の際、終息するまでの期間が長引く場合があり、口腔飛沫が感染に関与している可能性もある。

嘔吐後の患者の口腔内に、かなりの時間にわたってノロウイルスが残存することが確認されたことから、大きな声を誘発しない対応や、至近距離で対面しないなどの感染予防行動の他、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。

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。唾液の多い子供や口腔ケアができる成人であれば24時間未満で検出限界以下となると考えられる。飛沫による感染リスク評価のため、100個のウイルスの摂取で感染する場合を想定して、飛沫中のウイルス濃度と飛沫粒子の大きさから、必要な飛沫の個数を算出した(表4)。ウイルスの摂取量は、飛沫の大きさ、濃度、患者との距離、空気の流れなどの状況により大きく変化すると考えられる。今後嘔吐時の飛沫や口腔飛沫の発生量に関す

るデータについて調査が必要である。

また、嘔吐後の患者を感染源とするリスクが、どの程度の時間継続するか、更にデータを収集して検討する必要がある。

#### E. 結論

- 1 嘔吐患者の口腔飛沫が感染源と考えられる事例を確認した。
- 2 嘔吐の3時間後でも患者の口腔内に、ノロウイルスが残存することが確認された。また、高齢者では、最長20時間後まで口腔内にノロウイルスが確認されたことから、嘔吐患者も感染源として重要と考えられる。
- 3 口腔飛沫による人から人への感染が認められたので、嘔吐患者を感染源とする感染予防対策として患者や患者への対面者にマスクの着用が必要と考えられる。

#### F. 謝辞

感染事例の疫学調査にあたった三条地域振興局健康福祉環境部生活衛生課、地域保健課皆様、また、うがい液の検体採取にご協力くださった新潟県地域振興局健康福祉（環境）部の皆様に深謝いたします。

#### G. 参考文献

- 1 Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, Takeda N, Katayama K. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* 41:1548~1557 (2003).

- 2 Marks PJ, Vipond IB, Carlisle D, Deakin D, Fey RE, Caul EO. Evidence for airborne transmission of Norwalk-like virus (NLV) in a hotel restaurant. *Epidemiol Infect.* 124 (3) :481-487 (2000).

- 3 Marks PJ, Vipond IB, Regan FM, Wedgwood K, Fey RE, Caul EO. A school outbreak of Norwalk-like virus: evidence for airborne transmission. *Epidemiol Infect.* 131 (1) :727-736 (2003).

- 4 Moritsuka M, Kitasako Y, Burrow MF, Ikeda M, Tagami J, Nomura S. Quantitative assessment for stimulated saliva flow rate and buffering capacity in relation to different ages. *J Dent.* 34 (9) :716-720 (2006).

#### H. 健康危険情報

なし

#### I. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### J. 知的財産権の出願・登録状況

なし



表1 ホテル利用グループと従事者の疫学調査結果

グループ	利用階	参加者 ・人数	発症者数	検便のノロウイルス検査結果	発症者の 男/女 比	発症率 (%)	ホテルのトイレ の状況	メニュー
A	1階	20	0	—		0	トイレあり (男女別)	9品目 Cと同じ Bとは2 品目のみ共通
B	2階	75	46	5/5	26/20	61.3%	トイレあり (男女別)	11品目 9品目がDと共 通
C	2階	16	4	—	4/0	25%	トイレあり (男女別)	9品目 Aと同じ Bとは2 品目のみ共通
宿泊客	3階~5階	27	0	—		0	各客室にトイレ	
D	6階	48	0	—		0	トイレあり (男女別)	10品目 9品目がDと共 通
調理従事者		2	0	0/2		0		
接客係り		3	0	0/3		0		

表2 Bグループの性別発症者内訳

	参加者	発症者	発症率
男性	44名	26名	59.1%
女性	31名	20名	64.5%
合計	75名	46名	61.3%

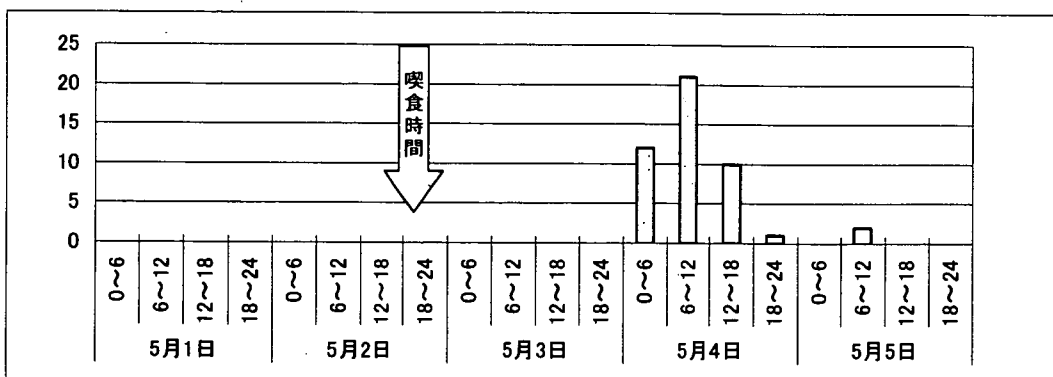
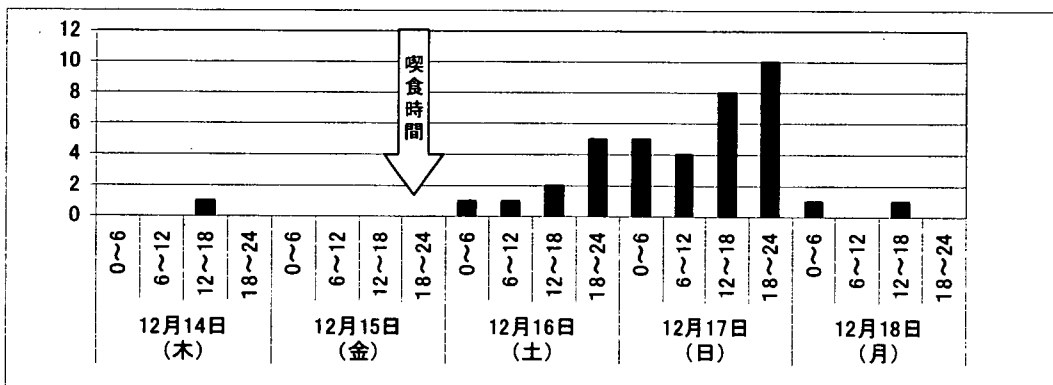


図1 Bグループと食中毒事例の流行曲線の比較

上段：Bグループ、下段：食中毒事例。いずれもノロウイルス GII-4 が原因ウイルス。

表3 嘔吐後の患者の口腔内に残存するノロウイルスの定量結果

No.	検出ノロウイルスの型	ウイルス量 (コピー数/うがい液10ml)	嘔吐後の経過時間	集団発生施設	年齢	患者の職業等	経過詳細	検便
1	G II	$4.68 \times 10^5$	20時間50分	養護老人ホーム	80歳	入所者	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
2	-	-	4時間	老人保健施設	89歳	入所者	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。	無し
3	-	-	2時間35分	保育園	24歳	保育士	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	無し
4	G II	$2.24 \times 10^5$	6時間	保育園	50歳	保育補助員	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
5	-	-	28時間	保育園	56歳	看護師	1/9 12時胃痛・背中痛・下痢・のど痛、1/10 16時うがい液採取	陰性
6	G II	$1.08 \times 10^4$	3時間	老人保健施設	76歳	入所者	1/17 14時嘔吐、17時うがい液採取	陰性(病院での検査)
7	-	-	4時間35分	保育園	5歳	園児	1/23 8時、9時に嘔吐 13時35分うがい液採取	無し
8	-	-	6時間30分	保育園	20歳代	職員	1/23 7時30分嘔吐 14時うがい液採取	G II 陽性
9	-	-	9時間20分	保育園	5歳	園児	1/23 4時嘔吐 13時20分うがい液採取	無し
10	-	-	2時間	保育園	6歳	園児	1/23 12時嘔吐、14時うがい液採取	G II 陽性
11	-	-	27時間	保育園	21歳	保育士	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
12	-	-	24時間	保育園	45歳	保育士	1/23 22時嘔吐、下痢、頭痛、1/24 下痢4回、22時うがい液採取	無し
13	-	-	25時間	保育園	56歳	調理員	1/23 16時嘔吐、20時嘔吐、1/24 21時うがい液採取	G II 陽性

※20mlの生理食塩水でうがいを実施。10mlを検体とした。

表4 飛沫中のウイルス濃度別感染に必要な飛沫の個数の算出

飛沫の直径	飛沫の体積 (ml)	飛沫中のウイルス濃度			
		10 <sup>5</sup> /ml	10 <sup>6</sup> /ml	10 <sup>7</sup> /ml	10 <sup>8</sup> /ml
50 μm	6.5 × 10 <sup>-8</sup>	15385個	1538個	153.8個	15.4個
100 μm	5.2 × 10 <sup>-7</sup>	1923個	192個	19.2個	1.9個

※至近距離での感染を想定し、感染に必要なウイルスの粒子数を100個と仮定する。

※計算方法

$$\begin{aligned} \text{飛沫の体積(直径100}\mu\text{mの場合)} &: \frac{4}{3} \times 3.14 \times 50^3 = 5.2 \times 10^5 \mu\text{m}^3 \\ &= 5.2 \times 10^{-7} \text{ml} \\ &(\text{1 ml} = \text{1 cm}^3 = \text{1000mm}^3 = \text{10}^{12} \mu\text{m}^3) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{感染に必要な飛沫の個数(飛沫中のウイルス濃度が10}^6\text{個/mlの場合)} \\ &= 100 \text{個} / 5.2 \times 10^{-7} (\text{飛沫の体積}) \times 10^6 (\text{飛沫中のウイルス濃度}) \\ &(\text{飛沫1個あたりに含まれるウイルス粒子数}) \end{aligned}$$

平成 19 年度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）  
「食品中のウイルス制御に関する研究」  
協力研究報告書

嘔吐物等による感染の疫学的分析に関する研究  
嘔吐物が関与したノロウイルスの集団発生について

協力研究者：篠崎邦子（千葉県衛生研究所）

**研究要旨：**2007 年 12 月および 2008 年 1 月に発生した急性胃腸炎集団発生事例 2 事例は、一峰性の患者発生を示し、食中毒などの一斉暴露が考えられた。患者と調理従事者からノロウイルスが検出され、患者と調理従事者の遺伝子型は同じ GII/4 であった。しかし、疫学調査から、集団発生の前に発症者が存在し、便または嘔吐物等により環境中を汚染したことによる感染が推定された。今回 2 事例から検出したノロウイルスは、いずれも GII/4 の中で、2006/07 シーズン全国で流行した Kobe034/2006、Narashino061281 に類似のウイルスであった。

#### A. 研究目的

ノロウイルス (NoV) は、近年検査法の進歩とともに非細菌性食中毒や急性胃腸炎の集団発生の主要な原因ウイルスであることが明らかになり、衛生行政上の重要な問題となっている。

NoV の感染経路は、汚染した食品や水によって引き起こされるものと、人-人感染によるものがある。さらに、レストラン、ホテルなどの集団発生の報告<sup>1,2)</sup>から、適切に処理されなかった嘔吐物等が空气中に飛散し感染を起す空気感染も考えられている。

今回、嘔吐物等により環境中が汚染されたことによる感染と推定された集団発生事例について報告する。

#### B. 研究方法

2007 年 12 月および 2008 年 1 月に千

葉県内で発生した急性胃腸炎集団発生事例 2 事例について患者便、調理従事者便を採取し検査材料とした。

NoV の検索は、リアルタイム PCR または RT-PCR で行った。リアルタイム PCR は、影山らの COGF/R 系のプライマーと RING TaqMan プローブによる方法により行った。RT-PCR のプライマーは構造蛋白領域に設定した武田らの GI、GII に特異的なものと、Alphatron、Amsterdam 検出用に GII プライマーを別途設定したもの<sup>3)</sup>を用いた。NV の遺伝子解析は、PCR 産物のダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定し系統解析を行った。

#### C. 研究結果

##### 1. 集団発生の概要

##### 事例 1