

〈報告〉

ステロイド使用患者の持続ウイルス排泄が伝播に関連したと考えられる ノロウイルス胃腸炎集団発生事例

長崎 奈穂¹⁾・田中 裕之²⁾・徳田 浩一³⁾・川村 英樹⁴⁾
児玉 祐一⁴⁾・藺牟田直子⁵⁾・西 順一郎^{4,5)}

Nosocomial Norovirus Outbreak Associated with Persistent Norovirus Excretion in a Patient Receiving Corticosteroid Therapy

Naho NAGASAKI¹⁾, Hiroyuki TANAKA²⁾, Koichi TOKUDA³⁾, Hideki KAWAMURA⁴⁾,
Yuichi KODAMA⁴⁾, Naoko IMUTA⁵⁾ and Junichiro NISHI^{4,5)}

¹⁾Department of Medical Safety Management, Kagoshima Prefectural Satsunan Hospital, ²⁾Department of General Internal Medicine, Kagoshima Prefectural Satsunan Hospital, ³⁾Department of Infection Control, Tohoku University Hospital, ⁴⁾Department of Infection Control, Kagoshima University Hospital, ⁵⁾Department of Microbiology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

(2019年9月9日受付・2019年11月15日受理)

要 旨

移植や癌の化学療法中の免疫不全者では、ノロウイルス (NV) 排泄期間が長期化することが知られているが、ステロイド薬使用中の患者での排泄遷延が院内感染に関連したという報告はみられない。ステロイド使用患者が多い内科病棟で、201X年3月、患者4名、職員1名のNV胃腸炎の集団発生が起きた。発症者2名がみられた多床室に、1例目の発症から23日前にNV胃腸炎で入院し、症状が軽快したため転棟したステロイド療法中の特発性間質性肺炎の患者が同室していた。この患者のNV持続排泄を評価する目的で、感染性のあるウイルス粒子を検出できる糖鎖固定化金ナノ粒子 (SGNP) を用いた高感度ウイルス検査 (SGNP-RT-qPCR) を実施したところ、発症から35日経過した時点で陽性であった。したがって、本患者は発症者2名と同室の時期に、下痢症状はないもののNVを排泄していたことが推定され、今回の多発事例の発端となった可能性が示唆された。また、ステロイド薬使用中に発症した他の患者1人も、発症10日目の本法による検査が陽性になった。今回の事例をふまえ、ステロイド治療を受けたNV胃腸炎患者の隔離解除については慎重に行う必要があると考えられた。また、感染性のあるウイルス粒子を検出できるSGNP-RT-qPCR法は、ステロイド薬使用患者や免疫不全者が多い病棟において、院内感染対策に有用性が高いと考えられる。

Key words : ノロウイルス胃腸炎, 集団発生, ステロイド薬, 高感度ウイルス検査, 遺伝子診断

序 文

ノロウイルス (NV) は感染性胃腸炎・食中毒の主要な原因ウイルスであり、病院や介護・福祉施設でしばしばアウトブレイクがみられる。24~48時間の潜伏期間

ののち、嘔気・嘔吐、下痢、腹痛、ときに発熱を主症状とし、1~2日続いたのちに治癒する。健常者でも治癒後1週間から10日程度ウイルスを排出する可能性があるが、造血幹細胞移植、臓器移植、癌の化学療法、HIV感染症患者などの免疫能が低下した患者では、下痢症が慢性化することや、便からのNV排泄期間が延長することが指摘されている¹⁾。しかし、ステロイド薬を投与されている患者でのNV排泄遷延が院内感染につな

¹⁾鹿児島県立薩南病院医療安全対策室, ²⁾鹿児島県立薩南病院総合診療科, ³⁾東北大学病院感染管理室, ⁴⁾鹿児島大学病院感染制御部, ⁵⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科微生物学分野

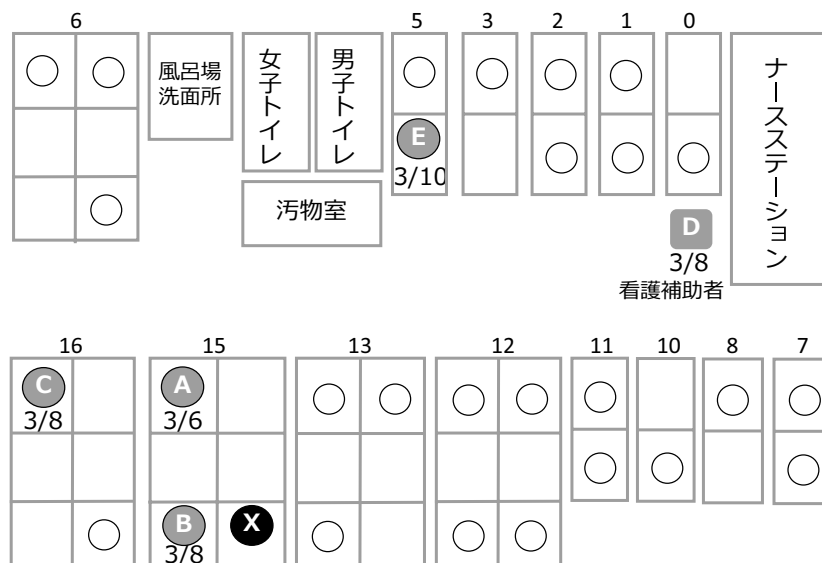


図1 a病棟の病室とノロウイルス胃腸炎発症患者の配置
数字は病室番号、日付(月/日)は発症日。

がったという報告はみられない。

今回、鹿児島県立薩南病院の内科病棟でNV胃腸炎のアウトブレイクを経験し、高感度ノロウイルス遺伝子検査の結果、ステロイド薬投与患者のNV持続排泄が院内伝播の契機になった可能性が示唆されたので概要を報告する。

材料と方法

アウトブレイクの概要

鹿児島県立薩南病院は、病床数175の2次医療機関である。アウトブレイクがみられたa病棟(総合診療内科と腎臓内科, 48床)は、おもに痛患者の終末期、関節リウマチ、間質性肺炎などの長期入院患者が多くを占め、日常生活自立度は準寝たきり状態の患者が多かった。また、原疾患に対するステロイドパルス療法やプレドニゾロン(PSL)投与が頻繁に行われ、アウトブレイク発生時のステロイド使用患者は入院患者の44.8%(13/29)を占めていた。

201X年3月6日、入院患者Aが突然の発熱と下痢症状を呈し、NV迅速抗原検査が陽性となった。病棟での患者配置を図1に示す。患者Aは入院22日目ですぐに外出履歴はなく、共有トイレを使用していた。患者Aと同室の患者Xは、間質性肺炎で通院中であったが2月8日にNV胃腸炎を発症し、同11日にb病棟に入院、下痢症の症状が改善したのち基礎疾患の間質性肺炎に対して2月20日からステロイドパルス療法を開始、2月25日にa病棟に転棟となった(図2)。なお、それ以前に患者Xへのステロイド薬投与はなかった。転棟後はPSL 30 mgを内服、酸素投与のため3月3日まで患者A同

じ部屋で専用のポータブルトイレを利用し、4日から共有トイレを使用した。共有トイレでは、特に患者Xに専用のトイレはもうけなかった。また患者Xのベッド周囲や使用したトイレは通常通りの清掃だけで、次亜塩素酸ナトリウムによる特別の消毒は行っていなかった。患者Aの発症時には患者Xに下痢症状はみられず、3月7日に実施した患者XのNV迅速抗原検査は陰性だった。なお、患者Xは間質性肺炎の病状が安定していたため3月8日に退院し外来での経過観察となった。患者Xが転棟した2月25日から患者Aの発症前日である3月5日までの期間に、入院患者、付き添い家族、面会者および病棟職員には胃腸炎の発症者がいなかったかについて聞き取り調査を行ったが、該当する者はいなかった。

3月8日には、患者A・Xと同室の患者Bと隣室の患者Cが嘔吐・下痢症状を呈し、NV迅速抗原検査が陽性となった。また9日には患者Cのケアを担当していた職員Dにも嘔吐・下痢症状がみられたという報告があった。10日には、患者Eに下痢症状がみられ、NV迅速抗原検査が陽性となったが、患者Eの同室患者の面会者にNV胃腸炎患者がいたことがのちに判明した。

3月6日以降、発症患者を隔離し、標準予防策に加えて接触予防策を徹底し、1日3回以上の次亜塩素酸ナトリウムによる全病棟の環境消毒を実施した。具体的には、トイレの環境消毒、体液や目に見える汚れがある場所は1,000 ppm (0.1%)、目に見える汚れが無い場所は200 ppm (0.02%)で消毒した。ノロウイルス検出者のトイレは、隔離した部屋でポータブルトイレを用いて行ったが、症状が改善して自立している場合は、他の患者が使

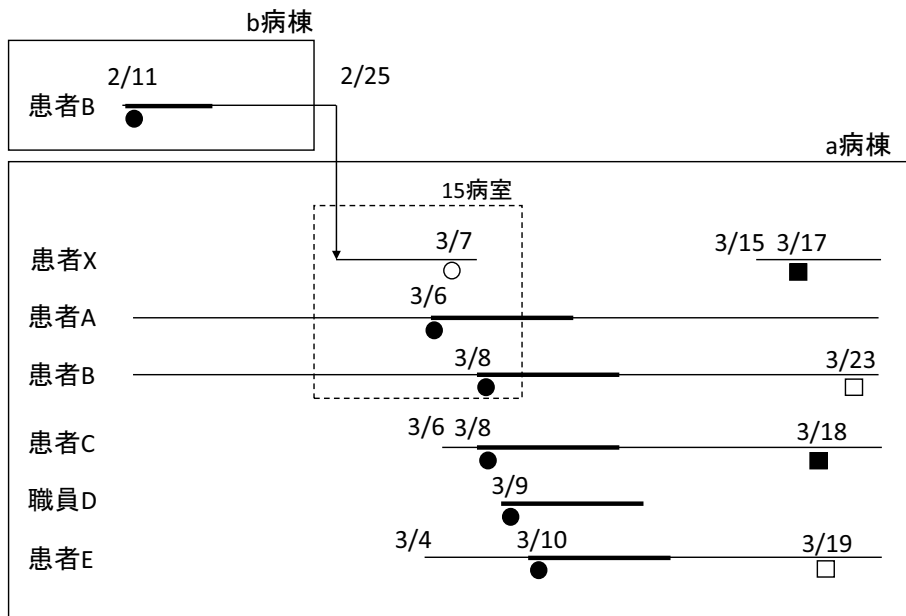


図2 ノロウイルス胃腸炎発症患者の発症経過
 実線は入院期間，太線は消化器症状がみられた期間．ノロウイルス迅速抗原検査：●陽性，○陰性．
 SGNP 高感度ノロウイルス検査：■陽性，□陰性．検査結果の上の日付（月/日）は検査日．

えないよう『使用禁止』と表示したトイレを専用で使用し，次亜塩素酸ナトリウムによる消毒を行った．3月8日に所轄の保健所に報告し，9日に緊急の感染対策委員会を開催した．地域の感染制御ネットワークである鹿児島感染制御ネットワークに相談し，入院患者の多くがステロイド薬使用者であることから隔離解除期間の延長，環境消毒回数の増加，新規入院受入れの制限，面会制限，リハビリテーションの病棟内実施等の強化策を実施した．その後は発症を認めず，3月23日に終息と判断した．

なお，一時退院していた患者Xが3月15日にa病棟に再入院となったため，個室に隔離するとともに，他の発症患者とともに高感度NV遺伝子検査を実施しNV排泄の有無を確認することとした．なお，患者Xは自宅療養中および再入院後下痢症状はみられなかった．

糖鎖結合金ナノ粒子 (SGNP) を用いた高感度 NV 遺伝子検査^{2,3)}

本検出法は，鹿児島大学大学院理工学研究科の隅田泰生教授らが開発した糖鎖ナノテクノロジーを用いた高感度ウイルス検査法である．すなわち，ウイルスに付着しやすい糖鎖を結合したナノレベルの金粒子（糖鎖固定化金ナノ粒子，sugar-chain immobilized gold nanoparticles, SGNP）を患者検体と反応させ，金粒子が結合したウイルス粒子を磁力または遠心分離によって濃縮したのちに，リアルタイムPCRでウイルス遺伝子を増幅するものである．これまでのPCR法に比べて約1000倍の感度上昇があり，インフルエンザウイルス²⁾やデングウイルス³⁾に応用されているが，ノロウイルスでもPCR阻害物質

の多い便からの検出が容易になり，検出感度の上昇がみられている．なお，本法のSGNPが結合できるのはウイルス粒子そのものであり，遊離したウイルス遺伝子には結合できない．したがって，本法で陽性になった場合は感染性を保ったウイルス粒子が存在することを意味する．同年3月17日から23日にかけて，患者X, B, C, Eから文書による同意を得た上で便検体を採取し，鹿児島大学隅田研究室に移送し測定した．

検体（便）約10 mgをphosphate buffered salts (PBS) 1 mLに入れ，よく攪拌したのち，14°C，2000 g，10分間遠心分離し上清を得た．その上清500 μLと（株）ステイクスバイオテックがノロウイルス用に開発したSGNPを混合し，30分間遮光して攪拌後，4°C，14,000 gで15分間遠心分離したのち，上清を捨てた．沈殿物に500 μLのPBSをいれ，再度4°Cで14,000 g，15分間遠心分離したのち，上清を捨て沈殿物を得た．ウイルス粒子がある場合はこの沈殿物に濃縮されている．さらに20 μLの1% sodium dodecyl sulfate (SDS)を沈殿物に加え，ビペッティングを行って沈殿物を攪拌してウイルス粒子を破壊した後，diethylpyrocarbonate (DEPC)水で10倍希釈してから，PrimeScript™ RT-PCR Kit（タカラバイオ社製）を試薬として，Thermal Cycler Dice™ Real Time（タカラバイオ社）を用いてRT-qPCRを行った．ノロウイルス用のプライマーは国立感染症研究所のマニュアル⁴⁾に定められたものを用い，PCR産物の大きさはNoro G1が85 bp，Noro G2が98 bpである．

本法を用いた臨床研究「糖鎖ナノテクノロジーを用い

表 1 発症患者のリストと糖鎖結合金ナノ粒子 (SGNP) を用いた高感度ノロウイルス遺伝子検査の結果

患者	性別	年齢	基礎疾患	NV 胃腸炎発症日 ^a	NV 胃腸炎発症時の PSL 1 日投与量	SGNP 高感度 NV 検査				
						検査日	検査時の PSL 1 日投与量	発症から検査までの日数	G1 NV	G2 NV
X	M	80代	間質性肺炎	2/11	- ^b	3/17	25 mg	35	-	+
A	M	70代	間質性肺炎	3/6	25 mg	-	-	-	NT	NT
B	M	70代	関節リウマチ	3/8	-	3/23	-	15	-	-
C	F	80代	肺癌	3/8	7.5 mg	3/18	7.5 mg	10	-	+
E	F	70代	膵臓癌	3/10	2.5 mg	3/19	0 mg ^c	9	-	-

^a迅速検査陽性日, ^b下痢軽快後ステロイドパルス療法を実施し, ^ca 病棟転棟後は 30mg. ° 前日まで水溶性 PSL 5 mg 静注. 日付: 月/日, PSL: プレドニゾロン, NV: ノロウイルス, NT: 検査なし

た高感度ウイルス検査法の臨床応用 (前方視的観察研究)」は、ノロウイルスも対象に含めており、鹿児島大学病院臨床研究倫理委員会承認されている [承認番号 160183 (28-204)]. また、インフルエンザウイルスについては、先進医療 A「糖鎖ナノテクノロジーを用いた高感度ウイルス検査法による感染症診療および院内感染対策支援」として 2018 年 1 月 1 日付で承認され、鹿児島大学病院をはじめ数施設ですでに実施されている。

結 果

4 名の SGNP 高感度ノロウイルス検査結果を表 1 に示す。患者 X と患者 C は G2 型の NV が陽性で、患者 B・E は陰性だった。患者 X は発症から 35 日経過した時点で、患者 C も発症から 10 日の時点でウイルス粒子が検出され、NV の排泄が遷延していることがわかった。検査時の 1 日 PSL 内服量は、患者 X が 25 mg、患者 C が 7.5 mg だった。患者 X と患者 C の検体の RT-qPCR のメルティングカーブでは、陽性コントロールと同様の Tm を持つ明確なピークがみられた。なお、ノロウイルス G2 遺伝子を含むプラスミドをコントロールとして、便 1 mg 中のノロウイルス推定コピー数を計算したところ、患者 X では 3,100 コピー、患者 C では 1.7×10^5 コピーとなった。一方、患者 B と患者 E では、発症からそれぞれ 15 日と 9 日の時点で NV は検出されなかった。患者 B は PSL を内服しておらず、患者 E は前日まで水溶性 PSL 5 mg を静注しており、検査日は投与されなかった。

考 察

高感度ノロウイルス遺伝子検査の結果、患者 X は発症から 35 日経過した時点で、感染性があると考えられる NV 粒子を排泄していたことが明らかになった。このことから、患者 X は患者 A と同室だった時期にも NV を排泄していたことが推定され、患者 A の発症に関与し、今回の多発事例の発端となった可能性が示唆される。ノロウイルスのヒトでの感染量 (infectious dose) は、

ウイルス粒子 18~1000 個とされており⁵⁾、35 日経過した時点でも患者 X の便 1 mg 中に感染を成立させるのに十分なウイルス粒子が含まれていたことから、a 病棟に転棟した発症 17 日目にはさらに多くの感染性ウイルス粒子を排泄していたことが推定される。なお、患者 B には症状のあった患者 A からの伝播が考えられるが、患者 X からの伝播の可能性もあり得る。患者 C の感染経路は院内での伝播、持ち込みのいずれかの特定はできなかった。患者 E については、面会者からの感染が疑われるが、院内での伝播も否定はできない。

患者 X の検査時の PSL 1 日量は 25 mg であり、また患者 C も 1 日に 7.5 mg を内服しており、PSL 使用がウイルス排泄の遷延に関与した可能性がある。一方、PSL を内服していない患者 B では、発症から 15 日の時点で NV が検出されなかった。また、患者 E は、発症時の PSL 1 日量は 2.5 mg と少なく、その後内服困難なため水溶性 PSL を静注していたものの、発症から 9 日目で NV は検出されなかった。移植、抗がん剤投与、HIV 感染など細胞性免疫能が低下した患者では、便からの NV 排泄期間が延長することが報告されている¹⁾。これらと同様に細胞性免疫を低下させる機能をもつステロイド薬を投与されている患者でも、NV 排泄遅延が予想されるが、具体的な事例報告は調べた限りではみられなかった。なお、細胞性免疫を低下させるステロイド薬の投与量については明確な基準はないが、生ワクチンの接種を避けるべき投与量が PSL 換算で 20 mg/日以上 (14 日間以上) とされている⁶⁾。また、細胞性免疫が発症予防に重要な深在性真菌症のリスクとなる投与量が PSL 換算 0.3 mg/kg/日 (3 週以上) とされており⁷⁾、この場合でも体重 60 kg の成人では 18 mg/日となる。本事例でも 25 mg/日の投与量でノロウイルス排泄遅延が認められたことから、おおよそ PSL 換算で 1 日 20 mg 以上の投与量では注意が必要と考えられる。

CDC ガイドラインでは、NV 胃腸炎の隔離解除基準は「症状が消失して 48 時間」⁸⁾とされているが、ステロイド療法中の患者の隔離解除基準については明確にさ

れていない。本事例では、b病棟の患者Xが発症から14日経過したのちに、a病棟の多床室に転棟したことが伝播につながったと推定される。ステロイド治療を受けたNV胃腸炎患者の隔離解除についてはもっと慎重に行う必要があったと考えられる。

NV迅速診断検査の感度は、RT-PCR法と比較して65.3~71.4%と報告されており⁹⁾、十分ではない。したがって、NVの排泄の有無を正確に確認するためには、便のRT-PCR検査が必要になる。一般的には、病棟でのNV伝播は、下痢症をきたした患者から起こり、下痢のない無症候性キャリアからは起こらないとされている¹⁰⁾。一方、調理師では無症候性キャリアを原因とする食中毒事例も報告され¹¹⁾、わが国の大量調理施設衛生管理マニュアルでは、必要に応じて流行期のRT-PCRなどの感度の高いNV検査が推奨されている¹²⁾。今回のような、ステロイド治療を受けたNV胃腸炎患者の回復期のNV排泄の確認は、必要であればRT-PCRなどの高感度検査で行ったほうがよいと考えられる。

通常のNVのRT-PCR検査では、ウイルス粒子が存在しなくても、ウイルス粒子が破壊されて生じたRNAがあるだけで陽性となるため、回復期のRT-PCR陽性がすぐに感染性のあるウイルス粒子の存在を示すとは限らない。その点で、感染性のあるウイルス粒子を検出するSGNP-RT-qPCRによる高感度NV遺伝子検査法は、免疫不全者の多い病棟や小児病棟などハイリスクの病棟においては、院内感染対策に有用性が高いと考えられる。

謝辞：SGNP高感度NV遺伝子検査を実施していただいた鹿児島大学大学院理工学研究科 隅田泰生教授（株式会社スディックバイオテック）に深謝いたします。

本論文の内容は、2017年2月24~25日に神戸市で開催された第32回日本環境感染学会総会・学術集会で発表した。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文 献

- 1) Green KY: Norovirus infection in immunocompromised

- hosts. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20(8): 717-23.
- 2) Suda Y, Nagatomo M, Yokoyama R, Ohzono M, Aoyama K, Zhang X, *et al.*: Highly sensitive detection of influenza virus in saliva by real-time PCR method using sugar chain-immobilized gold nanoparticles; application to clinical studies. *Biotechnol Rep (Amst)* 2015; 7: 64-71.
- 3) Saksono B, Dewi BE, Nainggolan L, Suda Y: A highly sensitive diagnostic system for detecting dengue viruses using the interaction between a sulfated sugar chain and a virion. *PLoS One* 2015; 10(5): e0123981.
- 4) 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>：2019年11月4日現在。
- 5) Barclay L, Park GW, Vega E, Hall A, Parashar U, Vinje J, *et al.*: Infection control for norovirus. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20(8): 731-40.
- 6) General recommendations on immunization - recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2011; 60(2): 1-64.
- 7) De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, *et al.*: Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008; 46(12): 1813-21.
- 8) CDC: Guideline for the prevention and control of norovirus gastroenteritis outbreaks in healthcare settings (2011): <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/norovirus/index.html>. accessed November 6, 2019.
- 9) 三好龍也, 内野清子, 田中智之：ノロウイルス抗原検出ICキットの現状と今後の課題。 *臨床とウイルス* 2017; 45(3): 114-8.
- 10) Sukhrie FH, Teunis P, Vennema H, Copra C, Thijs Beersma MF, Bogerman J, *et al.*: Nosocomial transmission of norovirus is mainly caused by symptomatic cases. *Clin Infect Dis* 2012; 54(7): 931-7.
- 11) Rumble C, Addiman S, Balasegaram S, Chima K, Ready D, Heard J, *et al.*: Role of food handlers in norovirus outbreaks in London and South East England, 2013 to 2015. *J Food Prot* 2017; 80(2): 257-64.
- 12) 厚生労働省：大量調理施設衛生管理マニュアル 2017：http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryu/shokuhin/syokuchu/01.html：2019年11月6日現在。

〔連絡先〕〒890-8544 鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科微生物学分野 西順一郎
E-mail: nishil@m2.kufm.kagoshima-u.ac.jp]

Nosocomial Norovirus Outbreak Associated with Persistent Norovirus Excretion in a Patient Receiving Corticosteroid Therapy

Naho NAGASAKI¹⁾, Hiroyuki TANAKA²⁾, Koichi TOKUDA³⁾, Hideki KAWAMURA⁴⁾,
Yuichi KODAMA⁴⁾, Naoko IMUTA⁵⁾ and Junichiro NISHI^{4,5)}

¹⁾Department of Medical Safety Management, Kagoshima Prefectural Satsunan Hospital, ²⁾Department of General Internal Medicine, Kagoshima Prefectural Satsunan Hospital, ³⁾Department of Infection Control, Tohoku University Hospital, ⁴⁾Department of Infection Control, Kagoshima University Hospital, ⁵⁾Department of Microbiology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Abstract

Although chronic norovirus infection has been reported in immunocompromized patients receiving chemotherapy or undergoing transplantation, there have been few reports of nosocomial norovirus outbreaks associated with persistent norovirus excretion in a patient receiving corticosteroid therapy. In a medical ward with several patients receiving corticosteroid therapy, an outbreak of norovirus gastroenterocolitis was observed in four patients and one healthcare worker. Two of the four patients shared a room with an asymptomatic patient with idiopathic interstitial pneumonia who was receiving corticosteroid therapy and who had been admitted with norovirus infection 23 days ago. Norovirus sugar-chain-immobilized gold nanoparticle (SGNP) reverse-transcription (RT) quantitative PCR (qPCR) demonstrated the presence of infectious norovirus virions in the patient's stool 35 days after the onset of diarrhea. Thus, the patient was assumed to have excreted norovirus while sharing a room with the two patients who developed norovirus gastroenterocolitis; this suggested that the patient's prolonged excretion of norovirus triggered the outbreak. In addition, norovirus SGNP-RT-qPCR tests of other patients receiving corticosteroid therapy yielded positive results 10 days after the onset. Considering the course of this outbreak, a longer than usual isolation period may be required for norovirus gastroenterocolitis patients receiving corticosteroid therapy. Norovirus SGNP-RT-qPCR tests may be useful in determining the isolation period required for immunocompromised patients with norovirus gastroenterocolitis in the setting of high-risk wards for norovirus infection.

Key words: norovirus enterocolitis, outbreak, corticosteroid, real-time PCR, sugar-chain-immobilized gold nanoparticles