

研究成果の刊行物・別刷

# 水環境におけるウイルス汚染の実態

近年の遺伝子検出技術の進展により、従来にはない広い対象の水におけるウイルス遺伝子の存在が明らかになってきた。また、水中ウイルスの定量的な評価法や、対象となるウイルス粒子の新たな回収方法との組み合わせ等により「生きているウイルス遺伝子」検出の可能性が示されており、ウイルスのリスク評価に関する議論やウイルスの水質基準等が再び注目されてきている。「水環境の古くて新しい問題」である水中ウイルスについて認識を新たにすきっかけとして、本特集では、水環境におけるウイルス汚染の実態やウイルス問題に関する近年の研究成果と課題について水中の健康関連微生物研究委員会の方々にご紹介いただいた。  
(担当編集企画委員 鳥取大学工学部・増田貴則)

## 腸管系ウイルスによる水質汚染と食品汚染\*

矢野 一好

### 1. はじめに

わが国におけるノロウイルスによる急性胃腸炎は、食中毒や施設内感染事例をはじめ、簡易水道が原因と考えられる水系感染事例も報告されている<sup>1-4)</sup>。特に、食中毒原因物質に占めるノロウイルス割合は年を追うごとに増加している<sup>1)</sup>。平成16年の食中毒発生状況の全国集計値をみると、患者数では43.5%、事件数では16.2%を占めるに至っている<sup>1)</sup>。

ノロウイルスが「食水系感染症（ここでは、ウイルス汚染された飲用水や環境水が関与して発生する食中毒や感染症をさす）」の起因病原体としてクローズアップされている原因の一つに、カキなどの生食が挙げられる。すなわち、ノロウイルスに感染したヒトの糞便が大量のウイルス（排便1回の糞便中に10億粒子以上と推定）を保

持したまま下水処理場に流入し、そこで一定の処理が施されるものの、生残したウイルスは下水処理水と共に河川等に放流され海洋に至る。海洋では、そこに生息しているカキなどの魚介類にウイルスが蓄積される。このようにしてノロウイルスが蓄積された魚介類をヒトが生で食することによってウイルス感染が拡大すると考えられる<sup>5)</sup>。このような感染経路は、たまたまカキは消化管を含めて丸ごと生食される機会が多いことから判明しているだけであって、この現象を大きく水環境中のウイルスという観点から捉えれば、ノロウイルスに限らず、ヒトの腸管に感染するウイルス（腸管系ウイルス）のほとんどが「食水系感染」と考えられる。

本稿では、「食水系感染」を未然に防止する対策を講ずるためにも、まずは、「敵の実態を知る」ことが重要と考え、わが国における「腸管系ウイルスによる水質汚染と食品汚染」の実態についてまとめる。

### 2. 「食水系感染」する可能性があるウイルスの種類

「食水系感染」する可能性があるウイルスには、ヒトの腸管に感染して増殖するウイルスのすべてが該当する。この範疇に入る主なウイルスの種類を表1にまとめた<sup>6)</sup>。ウイルスの種類は非常に多いが、一般的な方法で分離可能なウイルスの種類は少ない。現行の細胞培養法（特殊な細胞や動物を使用したり、培養方法が複雑なものを除く）によって分離可能なウイルスは、コクサッキーウ



Kazuyoshi Yano  
昭和46年 北里大学衛生学部卒業  
同年 東京都立衛生研究所  
平成15年 東京都健康安全研究センター科長  
保健学博士  
〔趣味〕 旅行, 写真

\* Viral Pollution of Metropolitan Water and Shellfish

表1 ヒトに水系感染する可能性がある腸管系ウイルスの種類(分類)

ウイルス科名	ウイルス属名	ウイルス種名	ウイルス血清型
ピコルナ	エンテロ	ヒトエンテロA (HEV-A)	コクサッキー A2~A8, A10, A12, A14, A16, エンテロ71
		ヒトエンテロB (HEV-B)	エコー1~7, 9, 11~21, 24, 25~27, 29~33, テロ69
		ヒトエンテロC (HEV-C)	コクサッキー A1, A11, A13, A15, A17~22, A24
		ヒトエンテロD (HEV-D)	エンテロ68, 70
		ポリオ	ポリオ1~3
ヘパト	A型肝炎	1種類(遺伝子型は7種)	
パレコ	ヒトパレコ	ヒトパレコ 1, 2(旧, エコー22, 23)	
コブ	アイチ	アイチ	
カリシ	ノロ	ノーウォーク	(遺伝子型はG1, G2)
	サボ	サッポロ	
レオ	ロタ		
	レオ		
アデノ	アデノ (亜属A~F)	アデノ	51種類(うち, 3, 4, 7, 11はプール熱に関与, 40, 41は胃腸炎に関与)
へべ	へべ	E型肝炎	

\*ウイルス名は、「〇〇ウイルス」と表記すべきであるが「ウイルス」を省略して記載した。

\*文献: 清水博之(2005)ヒトエンテロウイルスの分類と命名法, 臨床とウイルス, 3, 211.

ウイルスB群, エコーウイルスの一部, ポリオウイルス, アデノウイルスの一部程度であり, ノロウイルスをはじめとするカリシウイルスの仲間やA・E型肝炎ウイルス等の分離培養は困難, あるいは現在の技術では不可能である。したがって, 培養できないウイルスの検査は, PCR法などによるウイルス関連遺伝子の検出によって行われている。

ウイルス関連遺伝子検査の最大の難点は, 感染性の有無が判断できないことである。消毒・殺菌などの処理が行われた検査材料であって, 感染力を有したウイルスが残存しない場合でも, ウイルス関連遺伝子が残存していれば検査結果は「陽性」となる。一方, 従来から行われている培養法によって分離できた場合は, 検体とした水や食品が当該ウイルスに汚染されており, そのウイルスは感染性を有していると判断できる。

以下の項においては, PCR法などによるウイルス関連遺伝子の検査結果を「ウイルス検出」, 分離培養による検査結果を「ウイルス分離」と記載することで区別する。

### 3. 環境水のウイルス検出結果から分かること

ヒトの生活環境を取り巻く下水をはじめとした環境水中には, 前述の環境サイクルから推測してヒトに対して病原性を有する腸管系ウイルスが混入している可能性が大きい。ここでは, わが国における環境水からのウイルス検出状況を紹介しながら, 環境水中のウイルスの挙動についてその特徴をまとめる。

#### 3.1 生下水中のウイルス量は莫大!

ヒトの糞便由来ウイルスが最も多く混入してくる可能性がある環境水の一つに下水がある。下水に流入するウイルス量を推測する。推測にあたっては以下の3項目を前提とする。①ウイルス感染者が排便する1回の糞便中に $10^9$ 粒子のウイルスが存在する。②わが国における腸管系ウイルスの感染率を人口比で1%レベル(100人に1人が常時感染している)とする<sup>7)</sup>。③1人あたりの下水排出

量を400lとする。これらの前提をもとに下水流入水(生下水)中のウイルス量を推定すると, 生下水1lあたりのウイルス量は25,000粒子と算定される。このウイルス量をもとに生下水を試料としてウイルス分離を行う場合に必要な試料水の量を算出すると, 僅か0.1ml(ウイルス量は2.5粒子と算出される)でウイルス分離可能であると推測できる。

わが国における下水中のウイルス検出は, 1967年6月に当時の都立衛生研究所が開始したのが始まりである<sup>8)</sup>。開始当時は, 下水処理場で汲み取ってきた生下水(綿タンポン法<sup>8)</sup>)と沈澱汚泥を凍結融解した後, 遠心分離した上清0.4ml程度をFL, HeLa等の培養細胞に接種して分離培養を行っていた。結果の詳細は別報<sup>9)</sup>に記載したが, この程度の方法でもポリオウイルスやコクサッキーB群ウイルスなどが容易に分離できた。このことから, 前記で試算した生下水中のウイルス量は, 現実的な値であると考えられる。すなわち, 生下水1l中には $10^4$ オーダーの腸管系ウイルスが混入しているものと推定できる。

#### 3.2 下水中のウイルスの種類と量は年次変動する

下水中に流入してくるウイルスの種類と量に年次変動があるか否かを調査した。ヒトはウイルスに感染すると当該ウイルスに対する抗体を獲得することから, 再感染する機会は減少すると考えられる。すなわち, 一定地域である種のウイルス感染症が蔓延すると, 地域住民の多くがそのウイルスに対する免疫を獲得することになり, その結果として, 下水に流入するウイルスは量・種類ともに変化することが考えられる。

この現象を裏付けるデータを紹介する<sup>9)</sup>。図1には, 1967年から1991年の間に都内にある下水処理場に流入する生下水から検出されたコクサッキーB群ウイルスの種類と分離率の年次推移を示した。年次推移の解析には, 1967年から1991年の間に分離されたコクサッキーB群ウイルス807株を用いて分離率を算出した。図1からも分か

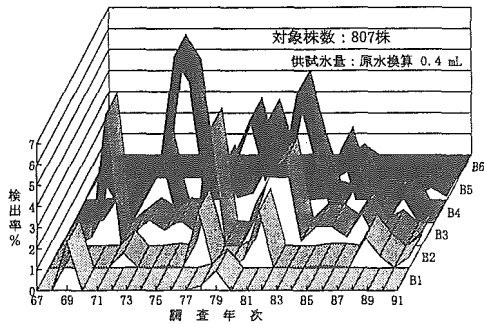


図1 コクサッキーB群ウイルス分離率の年次変動(東京衛研: 1967~1991<sup>9)</sup>)

るとおり分離率とウイルスの種類は、調査年次によって大きく変動した。このような現象は、コクサッキーウイルスに限らず、エコーウイルスやアデノウイルスにもみられる。

生下水中に流入してくるウイルスは、量、種類ともに変化する。この事実は、少なくとも以下に記載する二つの事象を解析する際の重要事項となる。一つは、生下水中のウイルスの消長を調査していれば、当該地域におけるウイルス感染症の流行実態が把握できる。もう一つは、下水処理工程におけるウイルスの除去・不活化効果を実測・判定するには、単年度の評価では不完全であるため数年間の継続調査が必要であること等である。

3.3 下水処理過程で減少するウイルス量

下水処理によってどの程度ウイルスを除去・不活化できるのかを推測する。

図2には、都市下水からのウイルス分離状況(率)を下水の処理過程別に整理して示した<sup>9)</sup>。調査期間は1967年6月から1992年12月であり、調査定点は、都市下水を処理している3か所の下水処理場である。ウイルス分離方法の概要を示す。採取した下水試料は一度、凍結融解

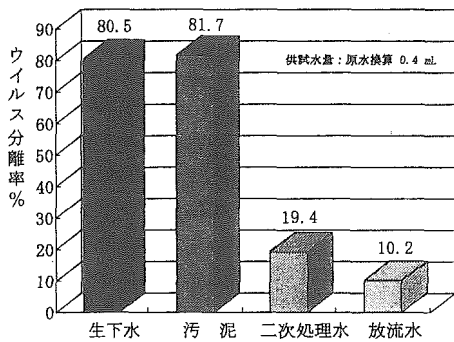


図2 都市下水からのウイルス分離率(東京衛研: 1967~1992<sup>9)</sup>)

表2 下水からのノロウイルス関連遺伝子検出例

試料水	地域	検査件数	検出件数	検出率 (%)
流入下水	北海道	14	14	100
	秋田県	12	5	41.7
	静岡県	13	9	69.2
	福井県	12	9	75.0
	愛媛県	26	16	61.5
	沖縄県	44	44	100
処理下水	大阪府	22	5	22.7

(川本ほか; 厚生省科研費報告書, 1999年)

したのちに3,000rpm, 15分間遠心分離した上清に抗生物質を添加しウイルス分離試験に供した。ウイルス分離試験には、HeLa細胞など数種類の培養細胞を使用した。細胞1種類あたりの被検試料水量は、原水換算で約0.4mlである。

下水処理過程別のウイルス分離率をみると、生下水は80.5% (675株/838検体)、沈澱汚泥は81.7% (1,157株/1,417検体)、二次処理水(塩素処理前)は19.4% (85株/438検体)を示しており、生下水中には多量のウイルスが混入しているが、活性汚泥処理によってウイルスは効率よく汚泥に吸着し除去されていることが伺える。しかし、塩素処理後の放流水でも10.2% (50株/489検体)のウイルス分離率があることから推測すると、感染性を保持したウイルスが量的には減少しているものの河川等に放流されていることが分かる。

表2には、ノロウイルス(正確には、PCR法による遺伝子検出であるので、ノロウイルス関連遺伝子と記すべきであるが、以下、ノロウイルスと略記する)の検出事例を紹介した<sup>10)</sup>。この調査は、1999年に川本らが研究班を組織し、参加可能な自治体の衛生研究所が行ったものである。流入下水からのノロウイルス(当時はノーウォーク様ウイルスと呼ばれていた)の検出率をみると、秋田県の41.7%を最低値とし最高値は北海道と沖縄県の100%となっている。この結果からもノロウイルス感染症は、全国レベルの広がりを見せていることが分かる。また、大阪府が行った処理下水(放流水)からの検出率をみると22.7%と高い値を示している。この数値は遺伝子の検出率であることから、必ずしも感染性を有したノロウイルスの存在を意味するものではないが、感染性を有したノロウイルスが下水処理場から放流されている可能性があると考えて、水環境の制御を行うべきであると考える。

3.4 ウイルスによる河川水汚染の現状

都市部を流れる河川水は、前記のような下水処理水(放流水)の流入や個別浄化槽等の処理水が流入してくる可能性がある。

図3には、都内を流れる4本の河川で採取した河川水からのウイルス分離状況を示した<sup>9)</sup>。調査期間は1985年から1995年であり、被検試料水量は細胞1種類あたり、原水換算で約1.4lである。河川水からのウイルス濃縮は、セルロース吸着凝集法<sup>11)</sup>によって行った。

各河川水からのウイルス分離率をみると、44.0%から75.0%の範囲(平均54.5%, 36株/66検体)にあり、いず

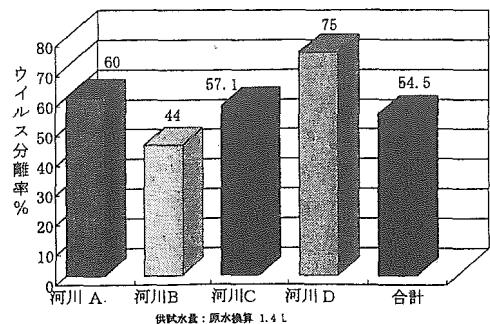


図3 河川水からのウイルス分離率(東京衛研: 1985~1995<sup>9)</sup>)

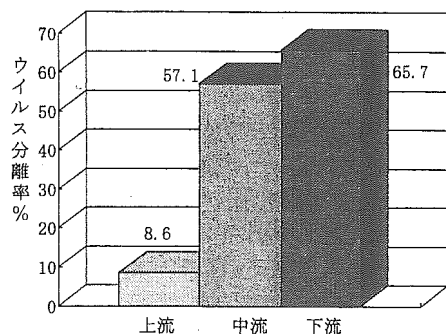


図4 河川水からのウイルス分離率 (鳥取衛研：1993～1995<sup>12)</sup>)

れの河川水もウイルス汚染されていることが判明した。検出されたウイルスは、コクサッキーB群ウイルス、エコーウイルス、ポリオウイルスおよびアデノウイルスであり、これらのウイルスは細胞培養法による分離試験によって分離されたことから、ヒトに対する感染性を有しているウイルスであると考えられる。

なかでも、河川Dは飲料水の水源として利用されており、かつ、試料水の採取場所は原水の取水口付近であることから、当該浄水場の原水に感染性を有したウイルスが混入していることは確実であると考えられる。すなわち、確実な浄水処理を怠ると、水道水を介した腸管系ウイルスによる水系感染症が当該水道利用者に拡大する恐れがある。

図4には、鳥取県で行われた河川水からのウイルス分離状況を紹介した<sup>12)</sup>。この調査は、同一河川の上流、中流、下流を調査地点として行われたものである。ウイルス分離率をみると、上流では8.6% (3株/35検体)、中流では57.1% (20株/35検体)、下流では65.7% (23株/35検体)を示しており、下流になるにしたがって生活排水によるウイルス汚染が進行していることが伺える。

わが国における河川水からのウイルス分離報告は、これら以外にも、名古屋市、横浜市、富山県、奈良県、静

岡県、北九州市など多数の報告例があるが、いずれの報告も下流域の河川水からは高率に腸管系ウイルスが分離されている<sup>13～18)</sup>。

### 3.5 危惧されるウイルスによる水道水汚染

河川水を対象としたウイルス汚染調査の結果から、都市部を流れる河川の河川水を水道原水として利用した場合は、生残ウイルスが原水に混入してくる可能性が大きいことが分かる。したがって、このような水源を利用した水道水には、感染性のあるウイルスが残留する可能性があると考えられる。

井戸水をはじめ水道水などの飲用水を対象としたウイルス汚染調査 (感染症発生時の原因究明を含む) の報告事例を表3にまとめた。わが国での報告例は、ごく最近になるまでなかったが、2003年以降、比較的規模の大きい下痢症の集団発生があり、その原因調査を行った結果、飲用水が疑われ、当該飲用水からノロウイルス (遺伝子) を検出した事例が3事例報告されている。これら3事例は、いずれも井戸水を水源としており、事故当時は塩素処理装置が故障していたことが判明している。

しかし、東京都内で行われた水道水のウイルス汚染調査事例 (2004年に報告) をみると、浄水処理過程に問題がない場合でもノロウイルスが検出されている。この結果は、前述のごとく、検査法がPCR法であるため感染性のあるウイルスが残存していたか否かの判定はできない状況にある。すなわち、原水からもノロウイルスが検出されており、浄水処理過程で塩素により感染性が消滅していてもPCR法によって検出される可能性はある。感染性の有無が判定できる検査法の開発が待たれる。

### 3.6 ウイルスは海洋に流入し魚介類に蓄積

河川水がウイルス汚染されていれば、生残ウイルスが海洋に達し、そこに生息している魚介類に蓄積され、それをヒトが生で食することによってウイルス感染する可能性がある。

表4には、ヒト由来のウイルスが下水に流入し、生残したウイルスが河川に放流され海洋に移行し、最終的に

表3 飲料水からのウイルス検出状況 (1985年以降)

国・地域	試料水	時期(年)	検査数	検出数	検出率	検出ウイルス	患者数等	文献
イギリス	広域水道	1985	54	0	0%		汚染調査	1)
イギリス	水道水	1985	26	3	11.5	ロタ	汚染調査	2)
スイス	水道水	1999	1	1	100	ノロ	1,800人以上	3)
韓国・11都市	水道水	2001	—	—	21.7	アデノ等	汚染調査	4)
イギリス	簡易水道	2002	36	26	72.2	細胞変性	汚染調査	5)
日本・東京	水道水	2003	98	4	4.1	ノロ G I	汚染調査	6)
日本・東京	水道水	2003	98	7	7.1	ノロ G II	汚染調査	6)
日本・新潟県	飲用井戸	2003	1	1	100	ノロ	151人	7)
日本・長野県	飲用井戸	2004	1	1	100	ノロ	65人	8)
南アフリカ	飲用水	2004	198	59	29.8	アデノ	汚染調査	9)
日本・秋田県	飲用井戸	2005	1	1	100	ノロ	29人	10)

\*ノロはPCR法による遺伝子検出のため感染性の有無は不明

「文献」1) Akin, E. W. (1985) *Waster Sci. Tschmol.*, 17, 689. 2) Keswick, B. H., et al. (1985) *Waster Sci. Tschmol.*, 17, 1. 3) Haefliger, D., et al. (2000) *Int. J. Food Microbiol.*, 54, 123. 4) Lee, S. H., et al. (2002), *Waster Res.*, 36, 248. 5) Wyn-Jones, A. P., et al. (2002) *Waster Sci. Tschmol. Water Supply*, 2, 17. 6) Haramoto, E., et al. (2004) *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 2154. 7) 病原微生物検出情報 (2005) 26, 330. 8) 西尾治ほか (2005) 食品由来のウイルス性感染症の検査法高度化実用化に関する研究平成16年度報告書, 69. 9) Aan, H. J., et al. (2004) *Waster Sci. Tschmol.*, 50, 39. 10) 病原微生物検出情報 (2005), 26, 150.

表4 環境水からのアストロウイルス遺伝子検出状況

	生水	放流水	海水	カキ
検査件数	24	24	120	72
検出件数	7	6	14	2
検出率 (%)	29.2	25.0	11.7	2.8

(横井ほか：感染症学雑誌，75，263-269，2001)

はカキに蓄積される現象を支持する事例を示した。この結果は、ウイルス関連遺伝子の検出であるので前述のごとく必ずしも感染性を有したウイルスの存在を意味するものではないが、生残したウイルスが海洋に至り、そこに生息する魚介類に蓄積されることが強く示唆されるデータである。

#### 4. 魚介類のウイルス検出結果から分かること

下水処理場に流入したウイルスは、下水処理場で除去・不活化され量的には減少するが、生残したウイルスが下水放流水と共に河川を經由して海洋に至る。海洋ではそこに生息する魚介類によるウイルスの蓄積が起り、ウイルスが蓄積した魚介類をヒトが生で食することによって、再度ヒト集団にウイルスが侵入してくることになる。この環境サイクルの証明ともいえる魚介類（特に、二枚貝）からのウイルス検出状況をまとめる。

##### 4.1 カキからのウイルス分離の試み

「1980年代の不思議」であった「冬のカゼはお腹に来る。カキを食べると下痢をする」。その原因究明に挑戦したのがカキからのウイルス分離である。1980年代当時は、各地方衛生研究所がカキの生食による下痢症の原因究明に奔走していたが、下痢症患者の糞便からはもちろん、原因食と考えられたカキからも下痢症の原因になったと思われる病原体を分離・検出することはできなかった。そんな中、カキが海水中に添加したポリオウイルスを蓄積することを実験的に証明し、カキからのウイルス分離に挑戦したのが都立衛生研究所であった<sup>19)</sup>。ウイルス分離用の細胞として、カキの細胞を培養して用いたこともあったが、ウイルス分離には成功しなかった。難関は、ホモジナイズしたカキ乳剤からのウイルスの抽出であった。試行錯誤の末、ホモジナイズしたカキ乳剤に凝集剤を添加して、固形物などの有機物を除去した試料から既知のウイルスを分離することに成功した<sup>20)</sup>。その最初の報告を表5に要約した。採用した技法は数種類の培養細胞を用いた分離試験であるため、当然のことながら現在のノロウイルスなどは検出不可能である。それでも、市販カキからのウイルス分離率は平均25.9%を示した。特に、生食用のカキからの分離率(35.7%)が加熱用(15.4%)より高率であったことは興味深い。この原因の一つとして、生食用のカキは水揚げされてから短時間で

表5 カキからのウイルス検出事例

種別	検査件数	検出件数	検出率 (%)	検出ウイルス
生食用	14	5	35.7	コクサッキーB5 エコー11, 18 アデノ4
加熱用	13	2	15.4	エコー18
合計	27	7	25.9	

\*1検体あたり丸ごとのカキ100グラム使用(1992年：東京衛研)

店頭販売されるためカキに蓄積されたウイルスが不活化されていなかった(時間の経過と共にウイルスは死滅するはずなので)のではないかと考えている。

いずれにしても、これらの成果によってカキが海水中のウイルスを蓄積することが裏付けられた。

##### 4.2 貝類は東京湾の浄化に寄与

魚介類がウイルスを蓄積する事実をさらに究明する目的でウイルスの流入量が多いと考えられる東京湾内で採取した貝類からのウイルス分離を試みた。1997年に調査した結果を表6にまとめた。有志による手作業での貝類採取のため供試料数は少ないが、さまざまな貝類がウイルスを高率に蓄積していることが判明した。これらの結果をみると、東京湾内の貝類は生食に適さないと考えられると同時に、湾内の浄化に大きく寄与していることが伺える。

##### 4.3 市販の魚介類にもウイルスが残留

市販されている魚介類からのウイルス検出状況をまとめる。カキからのウイルス分離試験が実施された当初のデータをみると、表5に記載したとおり、生食用カキからのウイルス分離率が35.7%という高い値を示していた。その後、1997年にウイルスが食中毒の原因物質として集計されるようになって以来、カキの養殖に関連する部署のウイルスに対する認識の高揚とウイルス除去に関する技術開発等の努力もあって、ウイルス検出率はかなり低くなっていると考えられる。すなわち、1992年当時は、ウイルス検査技術も開発途上であって、ノロウイルスの検出はもちろん、カキが蓄積しているであろうウイルスの全容を解明できない状況であったと考えられる。その当時のウイルス分離率が35.7%であったということは、極端な推測であるがカキのウイルス汚染率は100%レ

表6 東京湾で採取した貝類からのウイルス検出事例

検体	検査件数 (件)	ウイルス検出件数(検出率%)			
		ノロ	A型肝炎	細胞変性	合計
アサリ	18	4(22.2)	0(0.0)	12(66.7)	13(72.2)
シオフキ	8	3(37.5)	0(0.0)	5(62.5)	7(87.5)
バカガイ	8	3(37.5)	2(25.0)	6(75.0)	7(87.5)
コタマガイ	5	0(0.0)	1(20.0)	4(80.0)	3(60.0)
サルボウガイ	3	0(0.0)	2(66.7)	2(66.7)	2(66.7)
シジミ	3	0(0.0)	0(0.0)	3(100)	3(100)
マテガイ	3	0(0.0)	1(33.3)	3(100)	3(100)
カキ	3	0(0.0)	1(33.3)	3(100)	3(100)

(藤田ほか：第99回東京都衛生局学会，1997)

表7 首都圏市販魚介類からのウイルス検出状況

検体	検査件数 (件)	ウイルス検出件数(検出率%)			
		ノロ	A型肝炎	細胞変性	合計
カキ	76	8(10.5)	6(7.9)	12(15.8)	20(26.3)
他の二枚貝	330	22(6.7)	22(6.7)	53(16.1)	80(24.2)
巻貝	76	0(0.0)	4(5.3)	4(5.3)	8(10.5)
近海魚類	181	3(1.7)	15(8.3)	17(9.4)	24(13.3)
他の魚介類	168	0(0.0)	4(2.4)	0(0.0)	4(2.4)
魚介加工品	51	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

検査法：ノロ(PCR法)，A型肝炎(PCR法，分離試験)，細胞変性(培養細胞による分離試験)

(新開ほか：東京衛研年報，2002，改編)

表8 市販カキからのノロウイルス検出状況(山口県)

購入時期	検査件数	検出件数	検出率(%)
2001.10~	207	23	11.1
2002.4			
2002.10~	209	23	11.1
2003.4			
2003.10~	291	21	7.2
2004.4			
2004.10~	145	17	11.7
2005.4			
合計	852	84	9.9

(西田ほか:山口県環境保健研究所,2005)

ベルであった可能性も否定できない。

それに引き替え、現在では、カキが蓄積しているウイルスをカキ自体から誘出する方法の開発やノロウイルスをはじめとするウイルス検出技法が進歩している。このような状況下で実施した市販魚介類からのウイルス検出状況を表7と表8にまとめた。

表7の結果は、ウイルス検査方法としてPCR法や細胞培養法を駆使して行った結果であるため、ウイルス検出率の合計値は大きくなっている(カキでは26.3%)。この結果からは、カキをはじめとする二枚貝へのウイルス蓄積効果が高いことが伺える。カキからのノロウイルスの検出率は、山口県での報告事例(表8)ともよく一致していた(7.2%から11.1%)。このことから考えると、カキのウイルス汚染は1992年の状況と比較してかなり改善されていると推定できる。しかし、平成16年の食中毒発生状況<sup>1)</sup>をみても、カキが原因食品と推定されている事例があることから考えて、更なるカキの浄化が望まれる。

## 5. ま と め

腸管系ウイルスによる水質汚染と食品汚染調査結果から分かること;

1) ヒトに感染した腸管系ウイルスは、感染者の排便によって糞便と共に下水中に大量に流入する。その量は、流入下水1lあたり $10^4$ レベルと推定される

2) 下水に流入してくるウイルスの種類と量は年次変動する。すなわち、下水に流入してくるウイルスの種類は、下水利用地域の住民が感染している腸管系ウイルスの種類を反映していると考えられる。

3) 下水に流入したウイルスは下水処理によって減少するが、生残したウイルスが河川等に放流され海洋に達する。このような河川水が原水となる水道水にはウイルスが混入する可能性があるため、不断の浄水処理が重要である。

4) 海洋に達したウイルスは、そこに生息する魚介類に蓄積される。それをヒトが生で食することによって再度ヒト集団におけるウイルス感染が成立する可能性がある。

本稿では、以上の事実を紹介することによって、本特集の基本的な話題提供とする。

## 参 考 文 献

- 1) 東京都健康安全研究センター(2005)平成16年の食中毒発生状況, 東京都微生物検査情報, 26, 71.
- 2) 国立感染症センター(2005)東京都におけるウイルス性胃腸炎の集団発生事例(2004年), 病原微生物検出情報, 26, 113.
- 3) 簡易水道が原因と考えられたノロウイルスの流行-秋田県(2005), 病原微生物検出情報, 26, 150.
- 4) 飲料水が原因のノロウイルスによる食中毒事例-新潟県(2005), 病原微生物検出情報, 26, 330.
- 5) 矢野一好, 古畑勝則(1997)水環境のウイルス汚染と食品衛生, 月間フードケミカル, 9, 29-36.
- 6) 清水博之(2005)ヒトエンテロウイルスの分類と命名法, 臨床とウイルス, 33, 211-219.
- 7) 田口文章, 矢野一好(1988)水中ウイルスの実態, 防菌防黴誌, 16, 233-247.
- 8) 岩崎謙二ほか(1969)腸内ウイルス感染症の実態把握に関する研究, 東京衛研年報, 20, 35-39.
- 9) 矢野一好(2000)環境水を対象としたウイルス検索の目的と意義, 月刊水, 42, 32-40.
- 10) 全国ウイルス性食中毒研究班(1999)ウイルス性食中毒原因の遺伝子検査標準法確立と全国行政対応整備に関する研究, 平成11年度厚生科学特別研究事業報告書.
- 11) Yano, K., Yoshida, Y., Shinkai, T. and Kaneko, M. (1993) A practical method for the concentration of viruses from water using fibriform DEAE-cellulose and organic coagulant, *Water Sci. Technol.* 27, 1465-1474.
- 12) 戎谷佐知子, 川本歩, 木村優子, 田川陽子, 本田達之助(1995)都市河川からのウイルス分離について, 鳥取衛研年報, 35, 39.
- 13) 黒田孝一ほか(1981)河川水中のウイルス検索, 日本公衆衛生誌, 28, 481-486.
- 14) 野村泰弘, 小島基義, 遠藤貞郎, 母里啓子(1981)横浜市内の河川水のウイルス汚染, 横浜衛研年報, 20, 85.
- 15) Matsuura, K., Hasegawa, S., Nakayama, T., Morita, O. and Uetake, H. (1984) Viral pollution of the river in Toyama city, *Microbiol. Immunol.*, 28, 575-588.
- 16) 谷直人, 井上凡己, 吉田哲, 足立修, 中野守, 島本剛, 西井保司, 板野龍光(1986)河川水からの腸管系ウイルスの分離, 公衆衛生, 50, 345.
- 17) 幾島隆雄ほか(1988)河川水からのエンテロウイルスの分離, 静岡県保健環境センター報告, 32, 61-66.
- 18) 梨田実, 下原悦子, 杉島伸祿, 宮崎昭夫(1988)限外ろ過による下水及び河川水中ウイルスの検出について, 水処理技術, 29, 697-701.
- 19) 吉田靖子, 矢野一好, 藪内清(1988)マガキによるポリオウイルスの蓄積, 東京衛研年報, 39, 49-53.
- 20) 新開敬行, 吉田靖子, 矢野一好, 藪内清(1990)マガキに添加したポリオウイルスのセルロース吸着・凝集法による回収実験, 東京衛研年報, 41, 11-15.

# 水環境および飲料水におけるノロウイルス汚染\*

片山 浩之

## 1. 水中の病原微生物測定の意義

病原微生物による水系感染が起った事実が判明してウイルスが問題になるということと、実際にウイルスが水中にあって人知れず感染を起していることは、区別して議論する必要がある。以下ではまず、疫学的調査と水中ウイルスの検査の関係について少し整理してみる。

水系感染の場合は、食中毒に比べて少量の病原微生物の摂取となることが多いため、発症率が低いという傾向がある。病院などで患者数を把握しても、必ずしも感染流行が起きていることを検知できない。クリプトスポリジウムによる水系感染流行が起きた事例では、1993年のミルウォーキーや1996年の越生の例が有名であるが、ともに非常に高い感染率（発症率）の事例であった。このことは見方を変えれば、非常に高い発症率でないと、事前に察知していない場合には、感染流行が検出できないというおそれもあるということになる。すなわち、住民の1%あるいは場合によっては10%という高い発症率で感染流行が起きている、それが突き止められるのか不明である。つまり、感染症の報告がないというだけでは、感染症から安全とは言えないということになる。

疫学情報から水系感染の実態を把握することは難しいことから、水の安全性については病原微生物の存在状況から感染確率を評価していくというアプローチが採られる。つまり、水中の病原微生物の数の方が病気の発生数を調べるよりも正確に実態を把握できると考えられる。

下水試料、特に生下水の試料に含まれる病原微生物は、その集水域にいる人たちから排出されたものであり、ある都市にどれくらい感染者が発生しているかに関する情報として貴重なデータになる。このように、水試料を調べることと、感染者の発生動向を結び付けて考えることができる。また、下水処理水の病原微生物を測定すれば、放流先にどれくらい病原微生物が存在するのかを推定するために重要な情報となる。

もう一つは、飲用した場合の安全性評価につながるもので、水道試料を調べることによって、どれくらいヒトの体に病原微生物が入り得るのかということ推定し、感染確率を算出する方向がある。水道水の場合には病原

微生物の濃度が非常に低いために検査が難しいので、水道原水の病原微生物濃度を定量し、処理過程における病原微生物の除去能を評価することにより、水道水の病原微生物濃度を推定するようなことも考えられる。

## 2. ノロウイルスについて

ノロウイルスは、これまでに数多くの細胞で培養を試みられたもののすべて失敗に終わっている。そのため検査法が限られており、1990年代までは環境中での存在状況に関しては全く報告例がない。

ノロウイルス自体を検出した事例ではないが、ノロウイルスの抗体を調べた研究例がある<sup>1)</sup>。感染履歴が血液の抗体として残っていることを利用してノロウイルスの存在状況を調べるという調査である。その結果、世界各地でノロウイルスに対する抗体を人々が持っているということが判明した。すなわち、1970年代には培養できない未知の新しい病原体という見方をされたが、実は世界中に存在していて人々がこれまでに何回も感染しているようなウイルスであったということが早い時期に判明している。

PCR法が環境試料に適用されるようになった1990年代後半から、ノロウイルスの研究が報告され始めた。研究が始まると、下水、河川水、井戸水、海水など様々な水の中やカキ等の食品にノロウイルスがいるという報告が出てきている。筆者らの研究グループも様々なウイルス調査を始め、東京湾の調査、水道水、多摩川の調査、合流式下水道雨天時越流水(CSO)調査、日本の下水処理場、アジア諸国の下排水等について、ウイルスの存在状況調査研究を進めてきている。

## 3. 下水中のウイルス濃度

下水関連の水中ウイルス濃度レベルについてまとめる。ロタウイルスの場合、ウイルス感染者の糞便中に $10^{11}$  PFU (plaque forming unit)  $\cdot g^{-1}$ 程度含まれ、下水処理場の流入水中の濃度は場合によっては $10^6$  PFU  $\cdot ml^{-1}$ 程度まで高くなることも考えられる。1980年代までに行われた欧米における調査をとりまとめた推定では、下水処理水では $10^1 \sim 10^2$  PFU  $\cdot ml^{-1}$ 程度であり、下水汚泥には $10^3$  PFU  $\cdot Kg^{-1}$ 程度存在する。下水処理水の放流先である河川や海域では、 $10^1$  PFU  $\cdot ml^{-1}$ 程度は存在すると見積られている<sup>2)</sup>。

以上の推計は、実験手法上の問題で過小評価している可能性がある。すなわち、ウイルス検出試験において培養法が用いられており、水中のウイルスが濃縮過程で失活した可能性がある。近年は分子生物学的手法を用いたウイルス検出法が開発されており、それぞれのウイルスに特異的な遺伝子配列を増幅するPCR法によってウイルスの存否を調べる手法が広く用いられている。PCR法を用いた場合には、少なくともウイルス粒子の数として



Hiroyuki Katayama

平成5年 東京大学工学部卒業  
10年 東京大学大学院工学系研究科助手  
14年 東京大学大学院工学系研究科講師  
同年 東京大学大学院新領域創成科学研究科講師  
16年 東京大学大学院工学系研究科講師  
博士(工学)

\* Occurrence of Noroviruses in Water Environment Including Drinking Water



は培養法よりも大きく出てくる事例が多い。ただし、PCR法ではウイルスの感染力によらずにウイルスを検出しているため、感染力のないウイルスを陽性と判定することから、ウイルス濃度を過大評価している可能性がある。特に、消毒後の水試料を測定する場合には結果の解釈に注意が必要である。

流入下水および最初沈澱池処理水2.5ml相当量のPCR法による検出試験でノロウイルスおよびエンテロウイルスが陽性であり、ウイルス濃度の高い冬季には二次処理水2.5ml相当量からもノロウイルスが検出された<sup>3)</sup>。東京湾沿岸域で、海水50~300ml相当量からノロウイルスおよびエンテロウイルスが検出されることがあった<sup>4)</sup>。また、オランダにおける研究例<sup>5)</sup>では、ノロウイルスの流行時期である冬季には下水流入水に10<sup>2</sup>PDU (PCR Detectable Unit)・ml<sup>-1</sup>、河川水および下水処理水中に10<sup>1</sup>PDU・ml<sup>-1</sup>のオーダーで存在しているとしている。また、著者らの調査によると、わが国においてはアデノウイルスが流入水中および処理水中に6,600PDU・ml<sup>-1</sup>、36PDU・ml<sup>-1</sup>で存在し、ノロウイルスは冬季に3,000PDU・ml<sup>-1</sup>、夏季には100PDU・ml<sup>-1</sup>程度であり、従来の方法で調べられた数字に比べて大きい値を示している。ただし、この値は添加したポリオウイルスの回収率(流入水15%、処理水60~70%)に基づいて補正した値である。

以上のように、環境中の水試料にウイルスがかなりの高濃度で含まれることがあり得ることから、水道水の原水となるような水の中にウイルスが存在する可能性は十分にあるといえる。

#### 4. 介入型疫学調査

水道水に浄水器等を取り付けてその効果を疫学調査により確かめる介入型疫学調査研究が海外で行われている<sup>6~9)</sup>。これは、浄水器等により飲み水を供給された家庭と、普通水道水を供給された家庭における下痢症の発症率の違いから、水道水を原因とする下痢症の頻度を推定しようとするものである。

カナダのケベックにおいて、1988年からの18ヵ月<sup>6)</sup>にわたる調査を合計606家庭を対象に行われた。そこでは、水道水はすべての水質基準を満たしていたにもかかわらず、年間に一人あたり0.76件の下痢症があり、浄水器を取り付けた家庭では0.5件で、その差は有意であったとしており、下痢症の35%が水道水に原因があるとしている。しかし、この調査時期に、調査対象地域において感染率が33%と見られるノロウイルスの感染流行が生じたことが後に判明しており、その感染率は浄水器の有無に関連が見られなかったとしている<sup>10)</sup>。さらに、1993年からの16ヵ月にわたる調査が合計1,400家庭を対象に行われた<sup>7)</sup>。ここでは浄水器ではなく、瓶詰めされた浄水を届ける家庭と通常家庭を比較している。ここでは14~40%の下痢症が水道水を原因としていると結論している。また、この2回の疫学調査から、微生物学的に安全な水を供給することが経済的に合理的である<sup>11)</sup>と主張している。

しかしながら、この調査の結果の解釈に対しては慎重な意見もある。その代表的なものは、被験者のもつ情報量によってバイアスがかかっているというものである。

すなわち、下痢症の感染を聞き取り調査によって行う場合には、被験者がどの程度の症状を下痢症と判断するかという点が大きく結果を左右し、たとえば一過性の腹痛が下痢症かどうかの判断については被験者の持つ情報によって大きなバイアスが出る、というものである。たとえば、英国においてクリプトスポリジウム水系感染が報道されたタイミングで行ったアンケートでは、被害を受けていない地域においても下痢症をうったえる人が多くなるという現象がみられている<sup>12)</sup>。そこで、ケベックの調査結果は検証が不十分であるとする意見があったため、ダミーの浄水器を取り付けて比較対象とする研究がオーストラリアのメルボルン<sup>8)</sup>およびアメリカのアイオワ州<sup>9)</sup>で行われた。これらの調査では、浄水器を取り付けることによって下痢症が減ったとは言えないという調査結果がともに得られている。このことから、平常時の水道水を起因とする下痢症の発症数を疫学調査から推定するのはほぼ不可能であると結論できる。

#### 5. ボトル水中のノロウイルス

Beuretら<sup>13)</sup>はヨーロッパのブランドのミネラルウォーター1lからノロウイルスの遺伝子配列を検出した。この発表を受けて、PCR法によるウイルスゲノムの検出と水中ウイルスの感染リスクに関する議論が活発になされている。水中に存在するウイルスゲノムがリスク因子として認められるか否かという観点から、長時間にわたって水中でウイルスが安定であるのか、系統的にノロウイルスに近縁のネコカリシウイルスを用いて生残性を他の指標微生物と比較検討している<sup>14)</sup>。また、ポリオウイルス等を用いて水中の生残性を調べ、PCR法と培養法によって検出結果が異なることを示してゲノム検出だけではリスクの過大評価につながることを示した研究<sup>15)</sup>もある。また、ミネラルウォーターメーカーの研究者らがノロウイルスのゲノムはミネラルウォーターから検出できなかったという調査結果を発表し<sup>16)</sup>、さらにはそもそもBeuretらの調査結果の信憑性について紙上で公開討論を行っている<sup>17,18)</sup>。

水の安全性について研究成果を持って真っ向から議論している点は評価できる。ヨーロッパでは、水資源を管理して処理はしない水を「ナチュラル」ミネラルウォーターと認定して飲料水として売るといった戦略が広く受け入れられており、水処理とは相容れない思想があるため、水の中のノロウイルスの存在は非常に大きな問題となる可能性がある。

#### 6. 水道水のウイルス

地下水については、一般的には微生物学的に安全なことが多いとされているが、粒子径の小さいウイルスについては他の微生物よりも移動性に富むと考えられるため、警戒する必要がある。1971年から94年までに米国で報告された水系感染のうち58%は地下水が原因である。また、全体の8%はウイルス感染であったが、全体の47%は原因となる微生物が突き止められておらず、そのほとんどはウイルスであったのではないかと推定されている<sup>19)</sup>。また、表流水を水源とする水系感染の4%がウイルス性であると判明しているのに対し、地下水を水源とする場合は10%がウイルス性であることが判明している。

448の異なる井戸から採水した調査では、31%の井戸でエンテロウイルス、ロタウイルス、A型肝炎ウイルスもしくはノロウイルスのいずれかのウイルスが検出されている。この中ではノロウイルスの検出例が3回にとどまっておき、他のウイルスに比べて非常に少ないという結果が出ている。この結果は、Wisconsin州の井戸水を調べた調査研究<sup>20)</sup>で、A型肝炎ウイルスがロタウイルス、エンテロウイルスやノロウイルスより高頻度で検出されていることと整合性のある結果である。

表流水を水源とする処理された水道水についてもウイルスが検出された例がある。マサチューセッツにおいて通常に処理された水道水64試料のうち9%からエコーウイルス、ポリオウイルスおよびレオウイルスのうち少なくとも一つが検出されたという報告がある<sup>21)</sup>。南アフリカにおいて通常に処理された水道水100から1,000lを対象として培養PCR法によってウイルスの検出を試み、A型肝炎ウイルス(陽性率3%)、エンテロウイルス(17%)、およびアデノウイルス(4%)が検出されたという報告がある<sup>22)</sup>。ここで対象とした水道水は国際的な水道施設設計基準を満たした浄水場で作られていることから、通常の水処理が行われていてもウイルスのリスクが存在することを世に知らしめるものであった。このデータは2000年の国際水協会(IWA)のパリ会議で発表され、学会会場で活発な議論があった。著者のGrabowは、培養PCRを用いて検出している以上、感染性を有するウイルスを水道水から検出したとみなせると主張したが、培養後のPCRによっても感染性のないウイルスゲノムを検出してしまふ可能性があるという意見もあった。少なくとも、培養することなくPCR法によってウイルスを検出する手法に比べれば、感染性を有しているウイルスを検出している可能性は高いといえよう。

これにひきつづき、同じ研究グループがアデノウイルス<sup>23)</sup>およびエンテロウイルス<sup>24)</sup>の水道水からの検出を報告している。ここではパリの会議での議論を経た改良が見られ、感染性のあるウイルスのみを検出するための工夫<sup>25)</sup>を加えている。

我々の研究室においても水道水からノロウイルスのゲノムを検出している<sup>26)</sup>。これは正常に処理された水道水からノロウイルスを検出した初めての事例であり、水道水中のウイルスに関する問題は今後ますます重要な課題として認識されると考えられる。

一方で、ウイルスの感染流行は地域的な要素も多分に含まれる。そのため、他国において公衆衛生上重要なウイルスでも、わが国において警戒が必要なウイルスであるとは限らない。そのため、特定のウイルスの濃度を測定して、それぞれの感染リスクを足し合わせることで総合的なウイルスの感染リスクを推定することが考えられるが、すべての水系感染性ウイルスを測定することは事実上困難であろう。

## 7. おわりに

下水のウイルスは測定可能であり、残存ウイルスの許容濃度について議論するための技術的側面は整っていると考えられる。ウイルスをどこまで除去すればよいのか分からないが、実際の下水中に含まれているウイルス濃度のデータが出てきているのが現状である。下水処理水

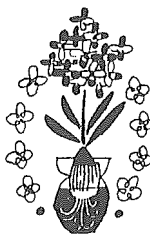
のウイルス濃度としてどれくらいが望ましいのか議論することは可能であり、そのウイルス濃度レベルは実測可能な範囲になっていると期待できる。

水道の方に関しては、施設の処理能力から安全性を担保するシステムが必要であると考えられる。原水の濃度に応じて必要な処理能力が定められ、その性能と維持管理から水道水の微生物学的安全性を保証する。そのためには、原水の濃度を測る能力が必要であるという問題と、処理装置にどれだけのウイルス除去性能があるかを評価する手法の問題がある。例えばバクテリオファージを浄水装置に投入する実験が受容されるのかといったことなど、課題が残っている。

## 参考文献

- 1) Greenberg, H.B., Valdesuso, J., Kapikian, AZ, et al. (1979) Prevalence of Antibody to the Norwalk Virus in Various Countries, *Infection and Immunity*, 26, 270-273.
- 2) Schwartzbrod, L. (1995) Effect of Human Viruses on Public Health Associated with the Use of Wastewater and Sludge in Agriculture and Aquaculture, WHO, Geneva.
- 3) Katayama, H., K. Okuma, H. Furumai and S. Ohgaki (2004) Series of Surveys for Enteric Viruses and Indicator Organisms in Tokyo Bay after an Event of Combined Sewer Overflow, *Water Science & Technology* 50 (1), 259-262.
- 4) Katayama, H., Shimasaki, A. and Ohgaki, S. (2002) Development of a Virus Concentration Method and Its Application to Detection of Enterovirus and Norwalk Virus from Coastal Sea Water, *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1033-1039.
- 5) Lodder, W.J. and A.M. de Roda Husman (2005) Presence of Noroviruses and Other Enteric Viruses in Sewage and Surface Waters in The Netherlands, *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 1453-1461.
- 6) Payment, P, Richardson, L, Siemiatycki, J., et al. (1991) A Randomized Trial to Evaluate the Risk of Gastrointestinal Disease Due to Consumption of Drinking-Water Meeting Current Microbiological Standards, *American Journal of Public Health*, 81 (6), 703-708.
- 7) Payment, P, Siemiatycki, J, Richardson, L., et al. (1997) A prospective epidemiological study of gastrointestinal health effects due to the consumption of drinking water, *International Journal of Environmental Health Research*, 7 (1), 5-31.
- 8) Hellard, ME, Sinclair, MI, Forbes, AB., et al. (2001) A randomized, blinded, controlled trial investigating the gastrointestinal health effects of drinking water quality, *Environmental Health Perspectives*, 109 (8), 773-778.
- 9) Colford, JM, Wade, TJ, Sandhu SK., et al. (2005) A randomized, controlled trial of in-home drinking water intervention to reduce gastrointestinal illness, *American Journal of Epidemiology*, 161 (5), 472-482.
- 10) Payment, P, Franco, E. and Fout, G.S. (1994) Incidence of Norwalk Virus-Infections During a Prospective Epidemiologic-Study of Drinking-Water Related Gastrointestinal Illness, *Canadian Journal of Microbiology*, 40(10), 805-809.
- 11) Payment, P. (1997) Epidemiology of endemic gastrointestinal and respiratory diseases: Incidence, fraction attributable to tap water and costs to society, *Water Science & Technology*, 35 (11-12), 7-10.
- 12) Hunter, PR. and Syed Q. (2002) A community survey of self-reported gastroenteritis undertaken during an outbreak of cryptosporidiosis strongly associated with drinking water after much press interest, *Epidemiology and Infection*, 128 (3), 433-438.

- 13) Beuret, C., D.Kohler, A. Baumgartner and T.M. Luthi. (2002) Norwalk-like Virus Sequences in Mineral Waters: One Year Monitoring of Three Brands. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 1925-1931.
- 14) Allwood, P.B., Malik, Y.S., Hedberg, C.W. and Goyal, S.M. (2003) Survival of F-Specific RNA Coliphage, Feline Calicivirus, and Escherichia coli in Water: a Comparative Study, *Applied and Environmental Microbiology*, **69**, 5707-5710.
- 15) Gassilloud, B., Schwartzbrod, L. and Gantzer, C. (2003) Presence of Viral Genomes in Mineral Water: a Sufficient Condition to Assume Infectious Risk? *Applied and Environmental Microbiology*, **69**, 3965-3969.
- 16) Lamothe, GT, Putallaz, T, Joosten, H., et al. (2003) Reverse transcription-PCR analysis of bottled and natural mineral waters for the presence of noroviruses, *Applied and Environmental Microbiology*, **69**(11), 6541-6549.
- 17) Sanchez, G, Joosten, H. and Meyer R. (2005) Presence of norovirus sequences in bottled waters is questionable, *Applied and Environmental Microbiology*, **71** (4), 2203-2203.
- 18) Beuret, C. (2005) Presence of norovirus sequences in bottled waters is questionable - Authors' reply, *Applied and Environmental Microbiology*, **71** (4), 2203-2205.
- 19) Abbazadegan, M., M. Lechevallier and C. Gerba (2003) Occurrence of Viruses in US Groundwaters, *J. Am. Water Works Assoc.*, **95**, 107-120.
- 20) Borchardt, M.A., P.D. Bertz, S.K. Spencer and D.A. Battigelli. (2003) Incidence of Enteric Viruses in Groundwater from Household Wells in Wisconsin, *Applied and Environmental Microbiology*, **2003** **69**, 1172-1180.
- 21) MacDermott, J.H. (1974) Virus Problems and Their relation to Water Supplies, *J. Am. Water Works Assoc.*, **66**, 693-698.
- 22) Grabow, WOK, Taylor, MB. and de Villiers JC (2001) New methods for the detection of viruses: call for review of drinking water quality guidelines, *Water Science & Technology*, **43**(12), 1-8.
- 23) Heerden J., M.M., Ehlers, W.B. Van Zyl and W.O.K. Grabow (2003) Incidence of adenoviruses in raw and treated water, *Water Research*, **37**, 3704-3708.
- 24) Vivier J.C., M.M. Ehlers. and W.O.K. Grabow (2004) Detection of enteroviruses in treated drinking water, *Water Research*, **38**, 2699-2705.
- 25) Agnès, F., J.M., Crance and F., Lévêque (1994) Separate detection of the two complementary RNA strands of hepatitis A virus, *Journal of Virological Methods*, **49**, 323-330.
- 26) Haramoto, E, Hiroyuki, Katayama and Shinichiro, Ohgaki. (2005) Detection of Noroviruses in Tap Water in Japan by Means of a New Method for Concentrating Enteric Viruses in Large Volumes of Fresh Water, *Applied and Environmental Microbiology*, **70**, 2154-2160.





## 簡易水道が原因と考えられたノロウイルスの流行－秋田県

(Vol.26 p 150-151)

2005年3月16日～18日にかけて山間部の集落でノロウイルスが原因の感染性胃腸炎が流行した。3日間で発症者数は14世帯29名で、そのうち16名の検便を実施したところ11名からノロウイルスGenogroup (G) II型が検出された。発症者の年齢は7～77歳と開きがあり、それぞれの世帯は集落内に分散しており、集会などで共通の食品を食べる機会は無かった。また、子供の通う学校でも胃腸炎の流行は見られなかった。これらのことから、唯一共通する感染経路として、集落内の94世帯258人に飲料水を供給している簡易水道を調査したところ、原水である井戸水(3月22日採取)からノロウイルスGII型が検出された。

糞便の検査は、プライマー「COG2F」、「COG2R」、「ALPF」とTaqManプローブ「RING2AL-TP」、およびロシュ製LightCyclerを用いたリアルタイムPCRにより行った。水検体については1リットルにポリエチレングリコールと食塩をそれぞれ10%と1Mになるように加えてウイルス粒子を濃縮し、プライマー「COG2F」と「G2-SKR」による予備増幅を行った後、上記のリアルタイムPCRを行った。また、糞便と水検体の予備増幅産物に対してビオチンラベルされたプライマー「G2-SKF」と「G2-SKR」によるPCRを行い、一本鎖高次構造多型解析(SSCP解析)によりパターンを照合した。糞便11検体と水検体から検出されたノロウイルスのSSCPパターンが一致したことから、井戸水とそれを給水する簡易水道が原因であったと考えられた。また、SSCP解析を行ったPCR増幅産物のシーケンスを決定したところすべて一致し、系統樹ではMelksham株に近い位置に分類された。

簡易水道の設備と周辺状況を調査したところ、原水を採取する井戸の深さは6mと浅く、井戸から2mのところには川が流れていた。その川には住民の生活排水が流れ込むようになっており、この集落のトイレは浄化槽、または汲み取り式であった。簡易水道は、水道法第4条に規定されているとおり、井戸から汲み上げた水を塩素滅菌機に通してからポンプで集落へ給水する構造となっていた。しかしながら、当時の塩素滅菌機は不調で機能していなかったため、この規定に違反していたことになる。感染拡大防止策として3月17日に水道を停止し、給水車に切り替えたため健康被害は最小限で食い止められた。水検体を採取した時期はその後であったため、検出されたウイルスは、16～18日に発症した人のものということになる。しかし、生活排水によって汚染されやすい位置に採水場所があったため、今回の流行が引き起こされたと考えられた。従って、簡易水道等を設置する場合には原水の採取場所を慎重に選定する必要があることを示した事例であったといえよう。

秋田県衛生科学研究所

斎藤博之 佐藤寛子 安部真理子 石塚志津子 原田誠三郎 鈴木紀行

山本地域振興局福祉環境部

北嶋哲彦 高橋 浩 川村之聡 金恵美子 堀内和之 永須昭夫 渡邊 稔

小松真吾 伊藤善信



[今月の表紙へ戻る](#)



[IASRのホームページに戻る](#)



[Return to the IASR HomePage\(English\)](#)

**IASR** *Infectious Agents Surveillance Report*

## 飲料水が原因のノロウイルスによる食中毒事例－新潟県

(Vol.26 p 330-331)

ノロウイルス(NV)による食中毒は、生カキや調理従事者を介した事例が多発している。今回、営業施設で使用されていた井戸水が原因であったことを確認したので、NVに汚染された飲料水を介した事件について報告する。

### 概要

事件の発端は、2003(平成15)年3月24日に行われた行事に参加した43名中28名が、3月24日～26日にかけて嘔吐、下痢等の食中毒症状を呈し、9名が医療機関を受診した旨、27日に保健所に届出があった。このグループは、一次会の飲食店でカキ鍋を喫食し、二次会でカラオケハウスを利用していた。一次会のみ出席した11名は発症せず、また28日以降、同じカラオケハウスを利用した4グループから食中毒の届出があった。そこで、カラオケの予約受付簿と会員登録情報から施設の利用者を把握し、主要なグループについて調査を行った。摂食者は27グループ227名で、患者は151名となった。当カラオケハウスでは、飲料水として井戸水を使用しており、井戸水はジュースディスペンサーと製水器に直結され、チューハイやジュースに供給されていた。飲物を含めた喫食状況調査に基づく $\chi^2$ 検定では、ジュースやチューハイ等の井戸水が含まれる飲物が最も高い $\chi^2$ 値(47.81)を示し、99.9%の確率で有意性を示した。これらの調査により、カラオケハウスが原因施設で、飲料水が原因食品であることが疫学的に推定された。

患者発生曲線は3つのピークを形成した(図1)。患者の発症ピークは、利用者の多い日の翌々日に形成され、潜伏時間は多くが30～36時間であった。患者が連続して発生したのは3月22日以降であり、井戸水が多くのNVに汚染されたのは、3月20日～21日の間と推測された。

### 給水施設の状況(図2)

井戸は店舗前の道路脇にあり、ポンプ小屋の着水槽にポンプアップされ、さらに鉄製で内部FRPの地下設置式貯水槽(容量9.4m<sup>3</sup>、受水槽本体は、点検スペースで周囲地盤と区分されている)に入り、塩素殺菌後、高置水槽(6m<sup>3</sup>)に揚水され、配水される構造となっていた。現場確認当時、塩素滅菌器の次亜塩素酸ナトリウムは空になっていた。浄化槽と井戸は直線で約12m、地下設置式貯水槽とは約40m離れていた。浅井戸で、蓋を開けると水面が容易に確認できる深さであった。受水槽は老朽化のため、本体の破損があり、周囲の点検スペースまで水があふれた状態で、井戸水には褐色の浮遊物が確認された。事件後の措置として、井戸水の使用を中止し、水道を施設配管に直結し、給水するよう改善した。

### 病原体の検索結果

患者便3グループ25検体、調理従事者便4検体、および流しの給水口から採取した井戸水についてNVおよび食中毒細菌の検査を実施した。NVの検査は、ポリメラーゼ領域のプライマーNV81/SM82,NV82を使用してRT-PCRを行った。RT-PCRの結果、患者便25件中21件で陽性、4名の調理従事者は陰性であった。患者便9検体について、キャプシド領域を増幅するリアルタイムPCRによる定量1)を行ったところ、9件中6件がGI陽性、1件がGII陽性、2件がGI、GIIとも陽性となった。

井戸水のNV検索は、井戸水500mlをサンプルとしてポリエチレングリコールで濃縮し、CTAB法にてRNAを抽出した。1st PCRはプライマー35'/36、2nd PCRはNV81/SM82,NV82を用いNVを検出したところ陽性となった。さらにリアルタイムPCRで、GIは井戸水100mlあたり  $9.6 \times 10^2$ コピーであったが、GIIはサンプル量が無く実施できなかった。

患者便および井戸水でPCR増幅された遺伝子について、ダイレクトシーケンス法によりポリメラーゼ領域222bpの塩基配列の解析を行ったところ、井戸水から検出されたNV遺伝子はGIグループのKY89株(Ac.No.L23828)と97.7%の相同性があり、患者便検出株と100%一致した。患者便検出株は、SRSV-KY89株とGIIグループのSaitamaU25株(Ac.No.AB039780)に近縁のクラスターに分けられ、二つの遺伝子型が関与していたことが判明した。

細菌検査では、患者便23件中5件からウェルシュ菌が、2件から黄色ブドウ球菌が検出された。井戸水からカンピロバクター、大腸菌が検出され、一般細菌数は  $5.0 \times 10^2$ /mlで、井戸水の糞便汚染が疑われた。

#### まとめ

井戸水の汚染源は調査できなかったが、浄化槽から漏出した汚水により、井戸水がNVに汚染された結果と推測された。

井戸水がNVによる汚染を受けた場合、NVに対しては水道水の水質基準程度の次亜塩素酸ナトリウム濃度(0.1ppm)では不活化はできないので、食中毒の発生を防止することは困難である。感染性胃腸炎の集団発生の際には、井戸水等の飲料水が原因となることも考慮して、調査を行う必要がある。

また、日頃から井戸の給水源が糞便等に汚染されないよう、環境の整備が必要である。

#### 文献

1) Kageyama et al., J Clin Microbiol 41: 1548-1557, 2003

新潟県保健環境科学研究所 田村 務 西川 眞

新潟県新津健康福祉環境事務所(平成15年当時) 飯田和久 新井田良平 紫竹美和子 角田由紀子

国立感染症研究所・感染症情報センター 西尾 治



[今月の表紙へ戻る](#)



[IASRのホームページに戻る](#)



[Return to the IASR HomePage\(English\)](#)

**IASR** *Infectious Agents Surveillance Report*

◀ HOME IDSC

ホームへ戻る