

表3 アミラーゼ-混合法と混合法との比較のまとめ

比較項目		アミラーゼ-混合法	混合法	
2ndRealTimePCRの結果 N=47	G1	陽性	19	10
		陰性	28	37
		陽性率(%)	40.4	21.3
	G2	陽性	24	18
		陰性	23	29
		陽性率(%)	51.1	38.3
定量値の分布 (実測値)	G1	0	21	25
		>0~<1	8	7
		1~<10	8	5
		10~<100	0	0
	G2	0	11	14
		>0~<1	12	11
		1~<10	11	9
		10~<100	3	3
定量値>0の平均値 (実測値)	G1	1.47(N=16)	1.38(N=12)	
	G2	4.96(N=26)	3.39(N=23)	
AM-混合法または混合法で 2ndRealTimePCR陽性となった検体 の定量値の平均値 (実測値)	G1	N=14 1.41	1.05	
	G2	N=21 5.91	3.57	
PC添加実験(添加量16) (実測値) N=28	平均値±SD		8.97±2.92	7.69±2.56
	最大値		14.97	11.79
	最小値		4.37	2.60

表4 アミラーゼ-混合法と個別法との比較のまとめ

比較項目		アミラーゼ-混合法	個別法	
2ndRealTimePCRの結果	G1	陽性	5	1[1]*1
		陰性	2	6[65]
		陽性率(%)	71.4	14.3[1.5]
	G2	陽性	7	2[2]
		陰性	0	5[64]
		陽性率(%)	100	28.6[3.0]
1個体当たりの平均定量値 (実測値)*2	G1	検体1	1.85	0
		検体2	6.18	0.0357
		検体3	8.665	0.00506
		検体4	0.098	0.0275
		検体5	0.04	0
		検体6	0.001	0
		検体7	0.042	0
	G2	検体1	9.13	0.0721
		検体2	16.66	0.3275
		検体3	24.68	0.284
		検体4	1.25	0
		検体5	0.738	0.2609
		検体6	0.111	0.1534
		検体7	0.27	0.107
定量値の分布 (実測値)*2	G1	0	0	[63]
		>0~<1	4	[3]
		1~<10	3	[0]
		10~<100	0	[0]
	G2	0	0	[51]
		>0~<1	3	[10]
		1~<10	2	[5]
		10~<100	2	[0]
PC添加実験(添加量16) (実測値) N=7(AM-混合法)、N=66(個別法)	平均値±SD		11.39±4.08	5.30±3.34
	最大値		15.96	14.76
	最小値		6.39	0.70

*1:[]内は個体別の結果

*2:アミラーゼ-混合法は1個当たりの値に計算して示した。

表5 各濃縮法における2ndRealTimePCR法とRealTimePCR法の比較と両法の一一致率

2ndRealTime PCR結果		アミラーゼ-混合法		混合法		個別法		全体	
		-	+	-	+	-	+	-	+
区分	0	29	1	35	4	110	3	174	8
	>0	16	42	17	18	19	0	52	60
>0の定量 値の分布	>0~<1	13	12	11	7	13	0	37	19
	1~<10	3	24	5	9	6	0	14	33
	10~<100	0	6	1	2	0	0	1	8
0を陰性、>0を陽性とした場合の全体 の一一致率(%)*1		80.7 (N=88)		71.6 (N=74)		83.3 (N=132)		79.6 (N=294)	
定量値0の陰性一致率(%)*2		96.7 (N=30)		89.7 (N=39)		97.3 (N=113)		95.6 (N=182)	
定量値>0~<1の陽性一致率(%)*3		48.0 (N=25)		38.9 (N=18)		0 (N=13)		33.9 (N=56)	
定量値1~<10の陽性一致率(%)*3		88.9 (N=27)		64.3 (N=14)		0 (N=6)		70.2 (N=47)	
定量値10~<100の陽性一致率(%)*3		100 (N=6)		66.7 (N=3)		-		88.9 (N=9)	

*1: 両法で陰性あるいは陽性となった検体数の全検体数に対する割合。

*2: 定量値0を示した検体のうち、2ndRealTimePCR法で陰性となった検体数の割合。

*3: それぞれの定量値を示した検体のうち、2ndRealTimePCR法で陽性となった検体数の割合。

平成 17 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）
「ウイルス性食中毒の予防に関する研究」
分担研究報告書

調理施設およびトイレにおけるノロウイルスの汚染状況

分担研究者 西尾 治 (国立感染症研究所 感染症情報センター)
協力研究者 杉枝正明、足立 聡 (静岡県環境衛生科学研究所 微生物部)

研究要旨

ノロウイルス(NV)のウイルス性食中毒の予防に関する研究として、ホテル、旅館、小・中学校および保育園の調理施設およびトイレにおける汚染状況を調査した。調査期間は平成 17 年 11 月 21 日～12 月 6 日の期間に、ホテル 42 施設、旅館 7 施設、小・中学校 22 施設および保育園 4 施設 7 ヶ所の計 75 施設である。各施設の拭き取り場所は、冷蔵庫の取っ手、排水溝およびトイレのドアノブの 3 箇所ですべて 225 件について、リアルタイム PCR を用いて調査した。その結果、ホテル 42 施設中 14 施設 (33.3%)、旅館 7 施設中 2 施設 (28.6%) から検出された。また、検出された遺伝子群はいずれも Genogroup (G) II 型で、冷蔵庫の取っ手、排水溝では $\geq 10 \sim < 1,000$ コピー、トイレのドブでは $\geq 10 \sim < 10,000$ コピーの範囲で検出された。NV による食中毒予防には調理場施設内および調理従事者が使用するトイレのドアノブの衛生管理が必要である。

A. 研究目的

NV による食中毒事例中、原因食品が貝類の喫食に関与しないで発生しているものが、厚生労働省食中毒統計により 2001 年以降、数多く報告されるようになった。また、本ウイルスによる食中毒事例は、事件数、患者数ともに上位を占め、食中毒を防止するための感染源、感染経路の究明が重要である。

その原因を把握するために本研究では、NV の流行初期、調理施設内における冷蔵庫の取っ手、排水溝、調理従事者が使用するトイレのドアノブについて拭き取り検査を行い、リアルタイム PCR で NV の汚染状況に調査した。

B. 研究方法

調査施設：県内の一保健所の協力を得て、ホテル 42 施設、旅館 7 施設、小・中学校 22 施設および保育園 4 施設を調査した。

調査期間、拭き取り場所および方法：2007 年 11 月 21 日～12 月 6 日の期間に採取したものを供試した。調理場内の冷蔵庫の拭き取り箇所は、原材料をストックする冷蔵庫の取っ手全面、排水溝については調理場内の排水が一箇所に集まる箇所の一部、そしてトイレのドアノブは従業員が使用するトイレ（一部外来者の共有）の出入り口のノブ全面をふきふきチェック III（栄研器材 K・K）で拭き取り供試した。

拭き取り材料の前処理：ふきふきチェック

IIIに入っている10mlの燐酸緩衝液5mlをとり除き、残りの5ml中に拭き取り材料を採取した。この試料を1分間、試験管ミキサーで攪拌(IWAKI, TM-2000)し、3,000rpm、20分間遠心後、上清を更に40,000rpm、120分間超遠心し、沈渣を30 μ LのDPEC水に浮遊したものを抽出材料とした。RNA抽出にはQIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用い、添付の説明書に従った。

cDNAの作成: 試料の30 μ Lをノロウイルス検査法マニュアルに従って作成した。

リアルタイムPCR: cDNA試料の5 μ LについてTaqManプローブ、G1: COG1F/COG1R、G2: COG2F・ALPF/COG2Rをプライマーとして用いた。遺伝子のコピー数については、既知コピー数濃度のものと対比して、実測値で10コピー以上を陽性とした。

C. 研究結果

1) 調査施設

2005年11月26日～12月6日の期間に、ホテル42施設、旅館7施設、小・中学校22施設および幼稚園4施設を対象とした。

各施設のトイレは、ホテルの調理従事者が専用として使用しているところが42施設中39施設、他の3施設は外来者と共同で使用していた。旅館7施設では、6施設が調理従事者専用で1施設が外来者と共同で使用していた。また、小・中学校では、22施設中21施設が従事者専用で1施設が外来者と共同であった。保育園4施設では、3施設が職員と共同、1施設が外来者と共同であった。

トイレの入口の機能についてみると、

手動が75施設中73施設と最も多く、自動式のものは2施設だけであった。また、トイレには各施設、逆性石鹼、ウエルパスなどの手洗い用消毒液が常備されていた(表1)。

2) 調理施設における汚染状況

ホテル42施設、旅館7施設、小・中学校22施設および幼稚園4施設、計75施設を調査し、ホテル42施設中14施設(33.3%)、旅館7施設中2施設(28.6%)から検出され、小・中学校、幼稚園からは検出されなかった(図1)。

また、ホテルの検体採取場所別の汚染状況を見ると、冷蔵庫の取っ手11施設、排水溝10施設、トイレのドアノブ11施設であった。更に拭き取り箇所全てから検出された施設が7施設、トイレのドアノブ+排水溝が1施設、冷蔵庫の取っ手+トイレのドアノブが1施設、冷蔵庫の取っ手+排水溝が2施設、冷蔵庫の取っ手、トイレのドアノブ、排水溝が各1施設であった。

また、旅館7施設中2施設では検体採取場所のすべてから検出された(表2、図2)。

3) 遺伝子群およびNVコピー数

リアルタイムPCRでGI、IIの判別を試みると共にウイルスコピー数について調査してみると、38箇所から検出された遺伝子群はいずれもGIIであった。

また、NVコピー数についてみると、冷蔵庫の取っ手では13施設が16～809コピー、排水溝では13施設が10.7～589コピー、トイレの取っ手では12施設が12.9～1,127コピーの範囲で検出された(図3)。

D. 考察

NVによる食中毒事例は、1997年5月の食品衛生法の改正以来、事件数、患者数ともに年々増加している。

厚生労働省の食中毒統計(2001～2004年)において、原因食品がカキ(貝類の喫食)に起因しないで発生している事件が、ここ数年、急増しておりその原因についての把握が必要である。

今回、食中毒事例の中でも発生規模が比較的大きな発生をみるホテル、旅館、小・中学校および保育園の調理施設を対象に冷蔵庫の取っ手、排水溝および調理従事者が利用するトイレのドアノブの拭き取り検査を、リアルタイムPCRで実施し、NV汚染の実態を把握した。

調査したホテル42施設中14施設(33.3%)、旅館7施設中2施設(28.6%)が、3箇所の拭き取り場所のいずれからNVが検出された。ホテル、旅館での汚染要因は、食品の適切な取り扱い(貝類などから他の食品・器具への汚染拡大)、健康保菌者の問題(調理従事者の手指を介して感染が拡大)などが指摘されている。ホテル、旅館では、食材の種類、量も多く、また、多種類に及んでいること。朝食、昼食および夕食の3食を調理しており、施設によっては調理後の清掃などが十分でなかったことが伺われる。一方、NVが小・中学校および保育園の調理施設で検出されなかったことは、昼食のみの提供であり、食材に貝類などのメニューが含まれておらず、調理場内の清掃が徹底していたものと思われる。

調理場内の排水溝は、施設で使用した水が集約される場所であり、汚染を知る上

で重要であると思われる。16施設中13施設(81%)からNVが検出されており、検体を採取した場所別検出状況で最も高かった。このように調理場内の汚染した水が河川、汽水および海域に拡がり、環境汚染に繋がっていることは、下水処理施設も含めたウイルス対策の必要性を感じた。

リアルタイムPCR(定量PCR)で検出された遺伝子群は、いずれもGⅡ型に分類され、コピー数も実測値で $\geq 10 \sim < 10,000$ 範囲で検出され、特にトイレのドアノブからは1,127コピーが検出された。これらの成績は、NVが100個以下という少量で感染が成立するといわれている中で、本研究班が示した国内の養殖カキの中腸腺を検査した成績と同様で発病を危惧させる十分なウイルス量と推測される。

E. 結論

流行初期、調理施設内および調理従事者が使用するトイレのドアノブの汚染実態を把握するため、NVのリアルタイムPCRによる検出を試みた。

2004年11月26日～12月6日の期間に、ホテル42施設、旅館7施設、小・中学校22施設および保育園4施設の冷蔵庫の取っ手、排水溝およびトイレのドアノブを検査し、ホテルの33.3%、旅館の28.6%からNVが検出された。

検出されたNVの遺伝子型は、いずれもGⅡ型であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

西尾治, 秋山美穂, 愛木智香子, 杉枝正明, 福田伸治, 西田知子, 植木洋, 入谷展弘, 篠原美千代, 木村博一. ノロウイルスによる食中毒について. 食品衛生学雑誌. 46:235-245, 2005.

2. 学会発表

杉枝正明, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾治: *Norovirus* による集団発生事例について, 第 46 回日本臨床ウイルス学会, 福岡市, 2005 年 6 月 3-4 日

杉枝正明, 稲吉恵, 足立聡, 三輪好伸, 増田高志, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾治: *Norovirus* による集団発生事例について, 平成 17 年度地方衛生研究所全国協議会 第 20 回関東甲信静支部ウイルス研究部会, 前橋市, 2005 年 9 月 29-30 日

秋山美穂, 愛木智香子, 西尾治, 山下育孝, 大瀬戸光明, 杉枝正明, 古屋由美子, 田中俊光, 宇宿秀三: 輸入食品のノロウイルス汚染状況について, 日本食品衛生学会第 90 回学術講演会, さいたま市, 2005 年 10 月 20-21 日

山下育孝, 豊嶋千俊, 近藤玲子, 大瀬戸光明, 杉枝正明, 古屋由美子, 田中俊光, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾治: 輸入生鮮魚介類及び急性胃腸炎患者から検出されたノロウイルス (NV) の分子疫学的解析, 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜市, 2005 年 11 月 20-22 日

秋山美穂, 愛木智香子, 杉枝正明, 入谷展弘, 吉澄志磨, 西田知子, 田中俊光, 中込治, 岡部信彦, 西尾治: ノロウイルスの Mexico 株類似リコンビナント株の国内での検出状況, 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜市, 2005 年 11 月 20-22 日

愛木智香子, 杉枝正明, 山下育孝, 福田伸治, 吉澄志磨, 西田知子, 田中俊光, 岩切章, 田村務, 大矢英紀, 秋山美穂, 岡部信彦, 西尾治: 欧米で流行している G2/4 変異型ノロウイルスの国内での検出状況, 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜市, 2005 年 11 月 20-22 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 各施設のトイレの状況

施設	(施設数)					
	専用	職員と共同	外来者と共同	自動	手動	消毒薬の使用
ホテル	39		3	2	40	42
旅館	6		1		7	7
小・中学校	21		1		22	22
幼稚園	4	3	1		4	4
計	70	3	6	2	73	75

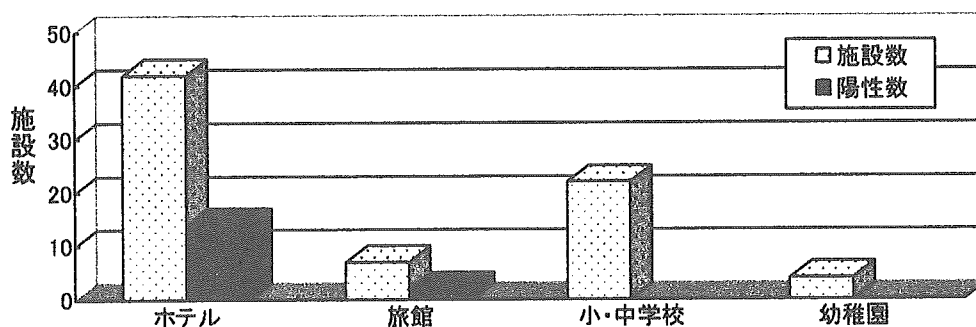


図1 調理施設における Norovirus の汚染状況

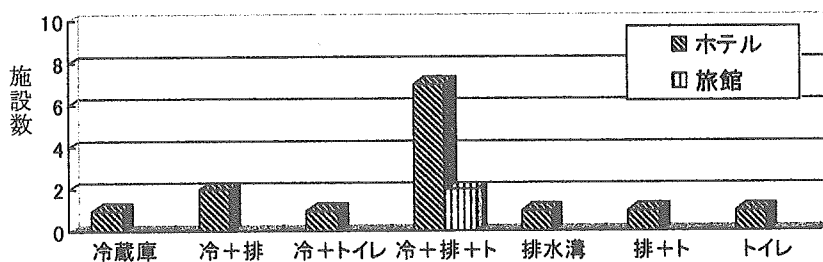


図2 ホテル、旅館の採取場所別の汚染状況

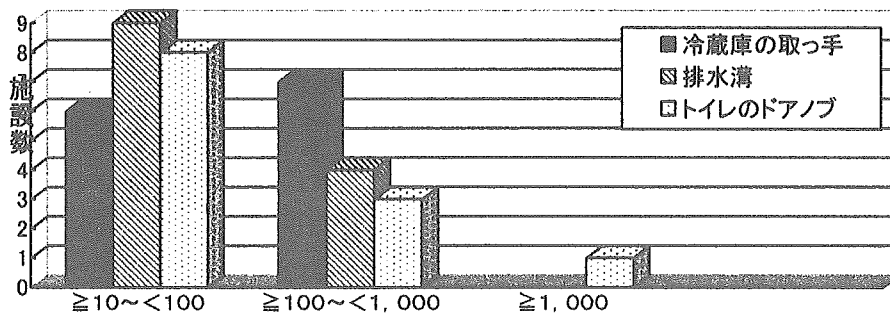


図3 リアルタイム PCR によるウイルスのコピー数

表2 各施設別のトイレの機能と検出状況

(施設数)

施設	検体 採取日	トイレ			トイレの入口		トイレの手洗い		検出状況	
		専用	職員と共同	外来者と共同	自動	手動	自動	手動	G1	G2
ホテル	11.21	8			2	6		8	0/8	0/8
	11.25	9		1		10		10	0/10	5/10
	11.28	6				6		6	0/6	4/6
	11.29	16		2		18		18	0/18	1/18
旅館	11.21	1				1		1	0/1	0/1
	11.25	1		1		2		2	0/2	0/2
	11.28	2				2		2	0/2	0/2
	11.29	2				2		2	0/2	2/2
小・中学校	12.2	10		1		11		11	0/11	0/11
	12.5	11				11		11	0/11	0/11
保育園	12.6		3	1		4		4	0/4	0/4
計		66	3	6	2	73		75	0/75	12/75

平成 17 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）
「ウイルス性食中毒の予防に関する研究」
分担研究報告書

健常者におけるノロウイルス保有状況

分担研究者 西尾 治 （国立感染症研究所 感染症情報センター）
協力研究者 植木 洋 （宮城県保健環境センター 微生物部）

研究要旨

ノロウイルス（NV）による感染性胃腸炎の流行の原因については不明な点が多く、流行拡大の防止対策を検討する上で大きな障害となっている。そこで、感染リスクの低減という観点から、流行の原因解明を目的に健常者における NV の保有状況の把握についての調査を非流行期である夏季（第 1 回目）と秋季（第 2 回目）に実施したところ、第 1 回目 74 検体からは NV が検出されず、第 2 回目では、61 検体中 1 検体から NV が検出された。M 県感染症発生動向調査の患者情報によると、同地区における調査日を含んだ週の感染性胃腸炎の定点当たり報告数は、第 1 回目の調査の実施週が 2.8 人、第 2 回目実施週が 1.6 人であり調査実施時期に感染性胃腸炎の流行は確認されなかった。しかし、第 1 回目の調査実施時期に M 町の医療機関で感染性胃腸炎と診断された複数の患者便から NV 遺伝子が検出され、従来 NV による胃腸炎の非流行期と考えられていた夏季にも NV による胃腸炎事例の発生が確認され、NV の非流行期における検出例、さらに NV の健常保有者の存在が明らかになり、NV が通年市中に侵淫していることが示唆された。

A. 研究目的

冬季に市中で流行が認められる NV による感染性胃腸炎の感染源は、明らかではない。一方、健常者における NV の保有状況についても報告例が少なく、不顕性感染者と胃腸炎の流行の関係については把握されていない。

また、NV による感染性胃腸炎は、主に冬季に流行が認められるが、それ以外の時期にも胃腸炎患者から検出されることが稀ではない。我々が下水処理場を対象に行った NV の実態調査では、流入下水からは流行期に加えて非流行期である夏季に

も検出されている。この原因については明らかではないが、従来非流行期と考えられていた時期にも散発的な発生があったことも考えられるが、感染症発生動向調査の感染性胃腸炎の患者報告数と一致しない点も多い。この相違点については様々な理由が考えられるが、不顕性感染者の存在もその原因の一つであると示唆される。

感染性胃腸炎の場合、流行の原因については不明な点が多く、流行拡大の防止対策を検討する上で大きな障害となっている。そこで、感染リスクの低減という

観点から、流行の原因解明を目的に健常者における NV の保有状況の把握についての調査を実施した。なお、調査は感染性胃腸炎の非流行期である夏季と秋季に行った。

B. 研究方法

1. 材料

調査は、県内 M 町の公的機関の職員およびその家族の健常者約 100 人に検便の協力を依頼し行った。なお、本調査に対する協力を得るために、予め対象者全員に、調査の趣旨、内容について資料を配付し同意を得た。

検査材料は以下の 2 回にわたり採取した。

調査日および検体数：

第 1 回目 2005 年 8 月 4 日実施 74 検体

第 2 回目 同年 10 月 20 日実施 61 検体

なお、調査は同一集団を対象に行った。

2. 方法

便を 10% 乳剤に調整後、QIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN) を用いてウイルス遺伝子を抽出し、DNase 処理後、逆転写反応により cDNA を作製した。NV 遺伝子の検出は公定法である定量 PCR 法で行った。なお、検出された NV 遺伝子は、塩基配列を決定後、Clustal X で系統解析を行った。

C. 研究結果および考察

図 1 と図 2 にそれぞれ今回の調査対象集団の男女別年齢構成を示した。今回調査対象とした集団の男女比は第 1 回目がそれぞれ 66.2% と 33.8%、同じく第 2 回目が 62.3% と 37.7% とほぼ同じであった。また、年齢構成は第 1 回目、第 2 回目ともに 20~29 歳代、50~59 歳代、80~89 歳代の割合がいずれも 10% 未満で、他の年齢区分と比較すると低かった。

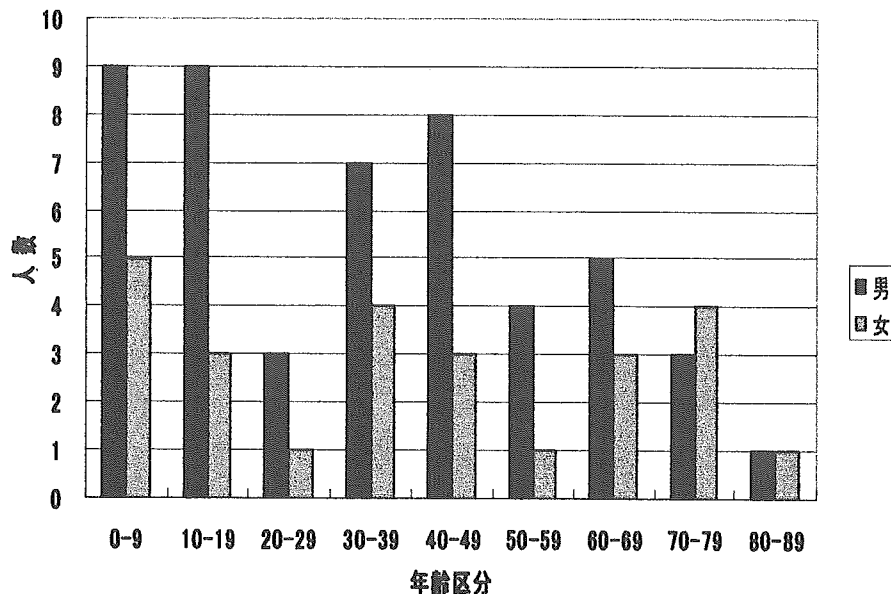


図1. 調査対象集団の年齢構成(第1回目)

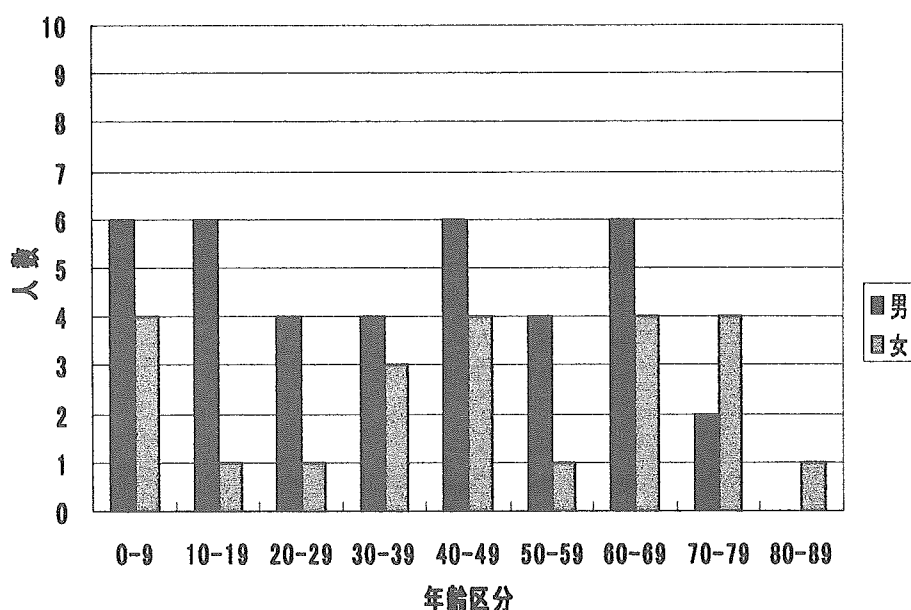


図2. 調査対象集団の年齢構成(第2回目)

定量PCR法でNV遺伝子の検出を行った結果、第1回目の調査ではすべての検体からNV遺伝子は検出されなかったのに対し、第2回目の調査では9歳の男子からG1群のNV遺伝子が検出された(検出率1.6%)。検出されたNV遺伝子数は実測値で9485コピーであった。シークエンスの結果、ORF2領域の276ntについて塩基配列を決定することができた。NJ法で系統解析した結果を図3に示す。検出された株(図中G1 M/2-8/05 Miyagi)は、G1/3 Desert Shield DSV近縁株であった。M県感染症発生動向調査の病原体検出結果によれば、平成17年度は医療機関で感染性胃腸炎と診断された患者62人中44人からNVが検出されており、検出されたNVの遺伝子群はG1群3例(6.8%)、G2群41例(93.2%)でG2群が圧倒的に多かった。検出されたG1群遺伝子はそれぞれ4月、6月、12月に医療機関で採取し

た検体からであった。このように流行期におけるG1群の検出例が少ないために、今回検出されたNV遺伝子と、流行期に認められたNVの遺伝子型についての関係を検討することは困難であった。小野らがNVの侵淫状況について健常者を対象に行った調査結果では、NVの検出率は5%(19/370)であり、月ごとの検出率は特に偏りが無いことを報告している¹⁾。M県感染症発生動向調査の患者情報によると、同地区における調査日を含んだ週の感染性胃腸炎の定点当たり報告数は、第1回目の調査の実施週は2.8人、第2回目実施週は1.6人であり調査実施時期に感染性胃腸炎の流行は確認されなかった。しかし、第1回目の調査実施時期にM町の医療機関で感染性胃腸炎と診断された複数の患者の便からG2群のNV遺伝子が検出され、従来NVによる胃腸炎の非流行期と考えられていた夏季にもNVによる

胃腸炎事例の発生が確認された。以上の結果より、NV の非流行期における検出例、さらに NV の健常保有者の存在が明らかになり、通年市中に侵淫していることが示唆された。

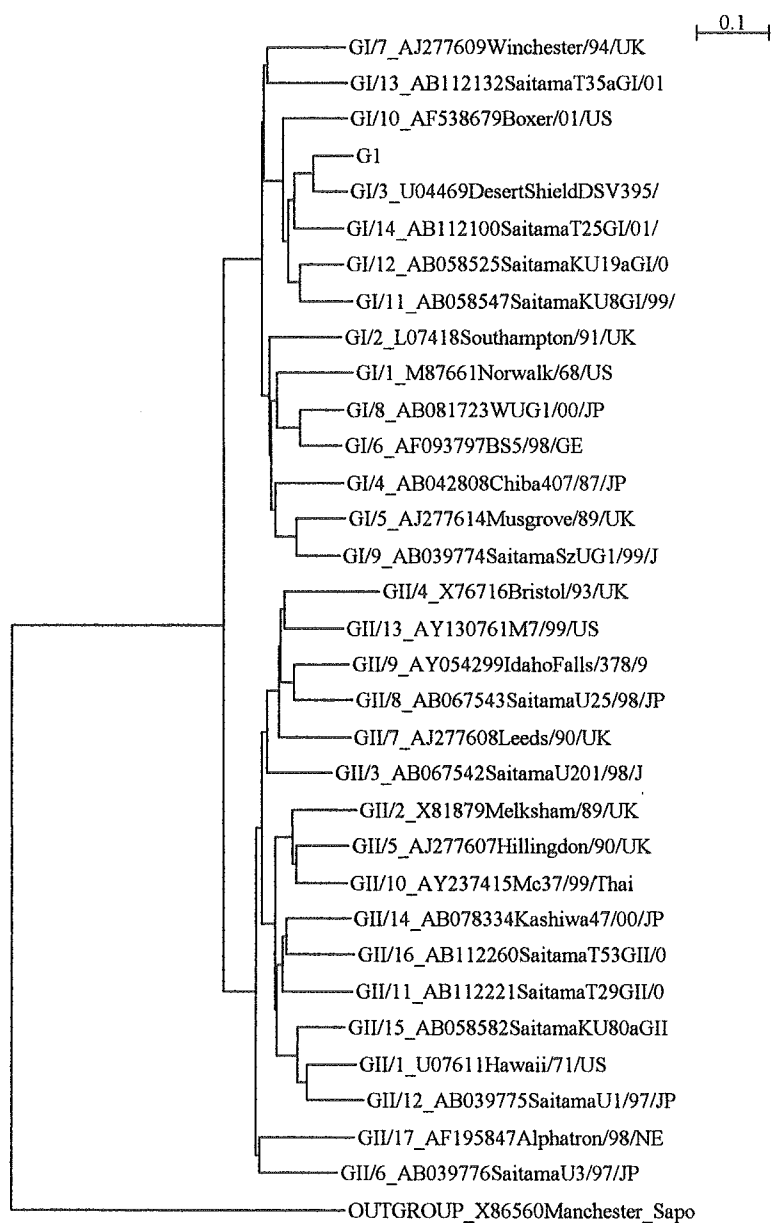


図 3. ORF2 の塩基配列に基づく分子系統樹 (NJ 法)

D. 結論

NV の非流行期における検出例、さらに NV の健常保有者の存在が明らかになり、NV が通年市中に侵淫していることが示唆された。

E. 参考文献

- 1) 小野哲郎、小河正雄、塚本伸哉. 大分地方におけるノーウォーク様ウイルスの侵淫状況(Ⅱ). 大分県衛生環境研究センター年報. 28 : 21-23, 2000.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

西尾治, 秋山美穂, 愛木智香子, 杉枝正明, 福田伸治, 西田知子, 植木洋, 入谷展弘, 篠原美千代, 木村博一. ノロウイルスによる食中毒について. 食品衛生学雑誌. 46:235-245, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

平成 17 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）

「ウイルス性食中毒の予防に関する研究」

分担研究報告書

複合技術による水浄化装置の開発と微生物除去に関する研究

分担研究者 西尾 治（国立感染症研究所）

協力研究者 木村博一、石岡大成、吉住正和、藤田雅弘、森田幸雄、高原力也、
星野利得、小澤邦壽（群馬県衛生環境研究所）

研究要旨

炭素繊維電極（CF）とオゾン水（OZ）による新たな複合技術を用いた水浄化装置を開発し、さらにこの装置を用い、いくつかの種類（大腸菌、ネコカリシウイルス、ポリオウイルス）の除去に関する研究を実施した。その結果、本装置を用いて、微生物添加水（各々大腸菌 1×10^5 cfu/ml、ネコカリシウイルス 5×10^4 TCID₅₀/ml、ポリオウイルス 1×10^5 TCID₅₀/ml）を毎分 20L（1.2t/h）処理した場合、CF 単独処理系では、各々の微生物は 1/10～1/100 に減少し、CF・OZ 複合処理系では検出限界値以下に減少した。以上のことから、複合技術を用いた本装置は、種々の水中微生物を効果的に除去可能であり、種々の環境水（井戸水や湧水など）の微生物制御に応用可能であることが示唆された。

A. 研究目的

環境水（井戸水・湧水など）には多種類の微生物が存在し、これらの一部は健康被害を与える病原体として公衆衛生学上重要視されている。現在、水道法の規定により水道水の殺菌・殺滅法は主として塩素消毒法が多く用いられている。しかし、この方法は飲料水の風味を損なう可能性があると同時に微生物の種類によっては殺菌が困難なこともある¹⁾。また、塩素添加により、有害物質トリハロメタンなどの生成も懸念される²⁾。

そこで我々は、上記問題を解決するため、水中に存在する種々の微生物を除去殺菌する新たな殺菌除去技術（炭素繊維

電極（CF）およびオゾン水（OZ）による微生物制御技術を開発してきた^{3,4)}。今回、これらの新しい技術を複合応用した試作機を作成すると同時に複数の微生物（大腸菌、ネコカリシウイルスおよびポリオウイルス）の除去試験を行ったので、その概要を報告する。

B. 研究方法

まず、実験室内で使用できる小型の CF あるいは OZ 実験装置を開発し、多種類の微生物の殺菌除去に関する実験を行った。この実験に使用した微生物は大腸菌、黄色ブドウ球菌、セレウス菌およびポリオウイルスであった。殺菌除去後の微生物

物の感染単位は常法により測定した。次に、小型実験装置により得られたデータを基に、CFとOZ装置を主たるユニットとした水浄化装置の設計と試作機開発を行った。図1と2に水浄化装置の外形および概要を示した。試作機は、3連CFユニット、OZユニット（水温20℃でオゾン濃度0.1～5ppmコントロール可能）、ポンプユニット、モニターユニットおよび制御ユニットから構成されている。浄化処理能力は毎分20L（毎時1.2t）である（図3）。

微生物浄化試験は、1000Lの微生物添加水を20L/分の流量で浄化装置を通過させ、CFの条件を60V、10Aに設定して実施した。微生物添加水は、水浄化装置のCFユニット単独処理あるいはCFユニットとOZユニット（オゾン濃度1ppm）によって複合処理した。経時的（5、10、15、20、30、40分後）に浄化水を採取し、残存するオゾンを消去するため2%の牛胎児血清を添加した。採取試料の各微生物の感染単位は常法に従って測定した。対象とした微生物と添加した微生物の感染単位は、大腸菌K12株（ 1×10^5 cfu/ml）、ネコカリシウイルス（ 5×10^4 TCID₅₀/ml）およびポリオウイルスSabin 1株（ 1×10^5 TCID₅₀/ml）とした。

C. 研究結果

試作機による微生物除去効果を図4に示した。CFユニット単独処理の場合、大腸菌とネコカリシウイルスは約1/100（図4-1と4-2）、ポリオウイルスは約1/10（図4-3）に感染単位が減少した（図4-3）。さらに、CFユニットとOZユニット複合処理系では、すべての微生物が検出限界以下にまで感染単位が減少した。

D. 考察

実証試験の結果、開発した水浄化装置試作機は、CFユニット単独あるいはCFユニット・OZユニット複合処理により、比較的大量（毎分20L）の水に含まれる細菌・ウイルスを効果的に除去できることが証明された。これは、本装置により、水の風味をほとんど損なうことなく、有害微生物が除去可能であることを示唆している。また、他の方法、例えば濾過膜を用いた浄化法は、短時間で濾過膜が目詰まりする短所があるが^{5,6)}、本装置に用いているCFは、微生物のゼータ電位（界面動電位）を利用した電氣的吸着によるものであるため、逆洗浄による再生が可能であると同時に膜の圧力損失がほとんどない^{7,8,9,10)}。さらに、電極の単価も低いため（1枚1000円程度）、コストパフォーマンスの点においても優れていると考えられる。環境水を汚染する微生物として、上下水では各種細菌・ウイルス・原虫、湧水や井戸水では各種細菌・真菌・ウイルス、温泉水ではレジオネラ菌、プールでは各種細菌・ウイルスといった種々多様な微生物が考えられる¹¹⁾。今回添加した微生物は、微生物自体の大きさや感染力の点で自然界に存在する有害微生物の中でも代表的な微生物と考えられる。本装置は、これらの微生物を効果的に除去可能であることから、井戸水、湧水、温泉およびプールの衛生対策に応用可能であることが示唆された。試作機は、本体が約1.5m x 3mとやや大型であるが、装置のコンパクト化も可能である。今後、さらに実証試験を重ね、幅広い分野での実用化・応用化につなげたい。

E. 参考文献

- 1) Goldsmith A, Edelman DA, Zatulni GI. Transcutaneous male sterilization. Res Front Fertil Regul 1985; 3: 1-8.
- 2) Masterson BF. Protection of recreational divers against water-borne microbiological hazards. Undersea Biomed Res. 1991; 18: 197-203.
- 3) Kondo Y, Iseki M, Takaoka D, Takizawa K. Highly efficient collection and deactivation of *Bacillus subtilis* spore with a carbon fiber electrode. Bokin Bobai 2003; 31: 113-21. (in Japanese)
- 4) Kondo Y, Morita Y, Yamada A, Kimura H. A highly effective method for removing suspended poliovirus from water using a positively-charged carbon felt electrode. Microbiol Immunol 2004; 48: 599-605.
- 5) Smithies O. Why the kidney glomerulus does not clog: a gel permeation/diffusion hypothesis of renal function. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 4108-13.
- 6) Sobsey MD, Oglesbee SE, Wait DA. Evaluation of methods for concentrating hepatitis A virus from drinking water. Appl Environ Microbiol 1985; 50: 1457-63.
- 7) Davis HE, Rosinski M, Morgan JR, Yarmush ML. Charged polymers modulate retrovirus transduction via membrane charge neutralization and virus aggregation. Biophys J 2004; 86: 1234-42.
- 8) Golub D, Ben-hur E, Oren Y, Soffer A. Electroadsorption of bacteria on porous carbon and graphite electrodes. Bioelectrochem Bioenerg 1987; 17: 175-82.
- 9) Lytle DA, Johnson CH, Rice EW. A systematic comparison of the electrokinetic properties of environmentally important microorganisms in water. Colloids Surf B Biointerfaces Biointerfaces 2002; 24: 91-101.
- 10) Wilson WW, Wade MM, Holman SC, Champlin FR. Status of methods for assessing bacterial cell surface charge properties based on zeta potential measurements. J Microbiol Methods 2001; 43:153-164.
- 11) Feigin RD, Cherry JD. In: Mortimer EA and Fox Jr. JP Eds, Epidemiology of infectious diseases, Textbook of pediatric infectious diseases, 4th ed. Amsterdam, Elsevier Science Health Science Div. 1981; 98-125.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

Saitoh M, Shinkawa N, Shimada S, Kato M, Shinohara M, Sadamasu K, Hasegawa M, Kuniyoshi K, Nishio O, Kimura H. Sequence and phylogenetic analysis of envelope glycoprotein (E1) gene in rubella virus detected in Japan, 2004. Microbiol Immunol in press.

Kato M, Hayashi Y, Kimura H. Viral infections and oxygen radicals. Curr Drug Targets Inflamm Allergy 2005; 4: 497-501.

Kimura H, Sawada T, Oshima H, Kozawa K,

Ishioka T, Kato M. Toxicity and roles of reactive oxygen species. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4: 489-95.

西尾治, 秋山美穂, 愛木智香子, 杉枝正明, 福田伸治, 西田知子, 植木洋, 入谷展弘, 篠原美千代, 木村博一. ノロウイルスによる食中毒について. *食品衛生学雑誌* 2005; 46:235-245.

II. 知的財産権の出願・登録状況

なし

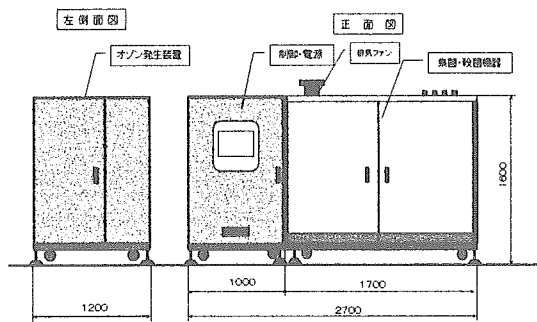


図1. 水浄化装置機器外形図

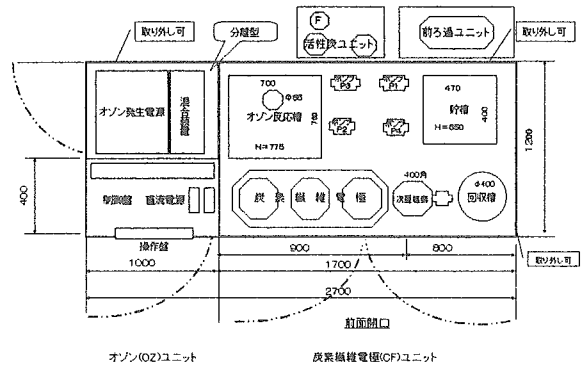


図2. 水浄化装置機器概要

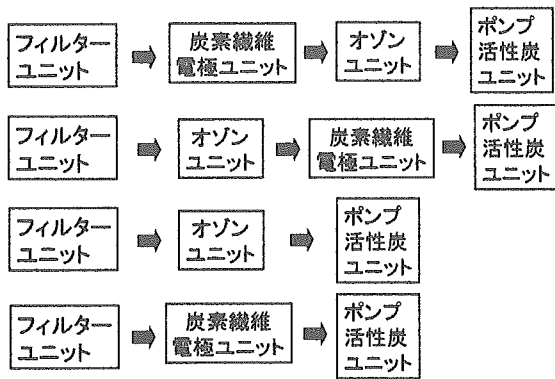


図3. 浄化プロセスパターン

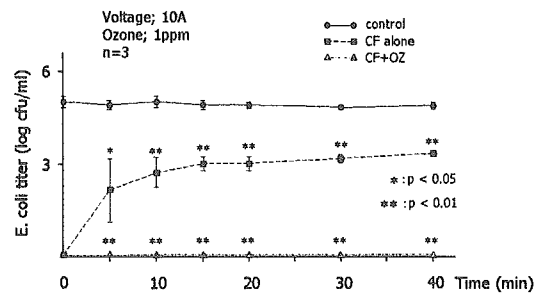


図4-1. 水浄化装置における添加微生物の経時的変化(大腸菌)

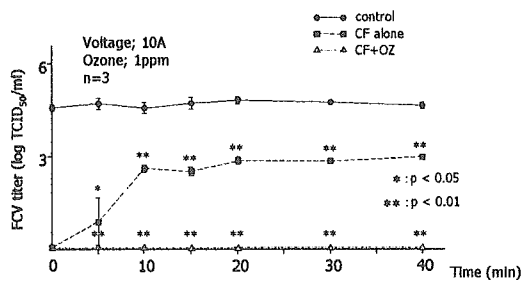


図4-2. 水浄化装置における添加微生物の経時的変化(ネコカリシウイルス)

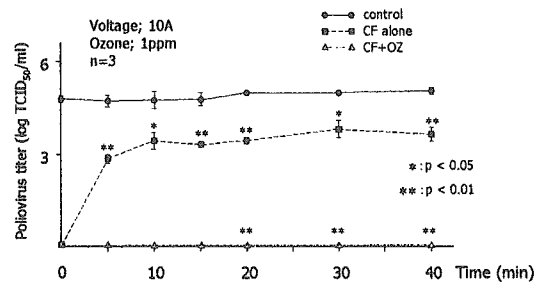


図4-3. 水浄化装置における添加微生物の経時的変化(ポリオウイルス)

平成 17 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）

「ウイルス性食中毒の予防に関する研究」

分担研究報告書

日本における A 型肝炎の血清疫学調査—2003 年度—

分担研究者：米山徹夫（国立感染症研究所ウイルス第 2 部）

研究協力者：清原知子、戸塚敦子、佐藤知子

研究要旨：血清疫学調査により、2003 年の日本人の年齢別抗 HAV 抗体の保有状況を明らかにした。50 歳以下の抗体陰性率が 98% であり、HAV 感受性者の増加と抗体保有者の高年齢化が着実に進んでいることが示された。

A. 研究の背景

A 型肝炎は A 型肝炎ウイルス（HAV）による伝染性疾患である。HAV の主な感染経路は経口・水系であり、汚染された飲食物や患者の排泄物が感染源となる。一度感染すると強い防御効果をもつ抗 HAV 抗体を獲得し再感染は見られない。日本を含めた先進工業諸国では衛生環境の改善に伴い A 型肝炎の大規模な集団発生は見られなくなった。しかしながら、流行の減少と共に抗 HAV 抗体を保有しない HAV 感受性者が増加し、患者の高年齢化、A 型肝炎流行地滞在による感染、HAV に汚染された輸入食材による感染等が危惧されている。

B. 研究目的

血清疫学調査によって抗 HAV 抗体の保有状況を把握し、A 型肝炎の流行状況を明らかにし、感受性者への感染対策や食中毒性のウイルス性肝炎を防ぐための資料を提供す

る。

C. 研究方法と材料

国立感染症研究所血清銀行保管の 2003 年採取 0-92 歳血清 2430 検体を対象とした。採取した検体の分布は図 1 に示した。スクリーニングは不活化 HAV 抗原に対する既知の抗 HAV 抗体と検体との競合抑制 ELISA を行った。競合抑制率 80% 以上の検体を抗 HAV 抗体陽性と判定した。陽性血清の抗体価は国内参照抗体をリファレンスとした競合抑制 ELISA で測定した。各検体を年齢別、男女別、地域別に分類しそれぞれの抗体陽性率について検討を行った。

D. 研究成果

全体の抗 HAV 抗体陽性率は 12.2%、男性 12.7%、女性 11.7%であった（表 1）。抗体価の平均は 6918mIU/ml で、年齢別の推移に有意差は認められなかった（図 2）。

年齢別の抗体保有率を見ると0歳から49歳までは0-7.5%で推移し、50-54歳21.8%、55-59歳44.5%、60-64歳69.4%、65歳以上86.5%と増加していった(図3)。地域別では0歳から59歳まで有意差は認められなかった。

E. 考察

1994年度の調査では抗HAV抗体を保有しないHAV感受性者が80.6%であったが、10年後の2004年度は87.8%に増加した。1994年度は40歳以下の99%がHAV感受性であったが今回は40歳以下のみならず、50歳以下でも98%がHAV感受性であった。以上のことからHAV感受性者が増加し、かつ高年齢化していることが確認された。高年齢のA型肝炎患者は重症化する率が高く、感染防御の注意が必要である。

A型肝炎の感染源として報告の多い魚介類・冷凍野菜等の輸出国はA型肝炎常在地でもあることが多く、輸入食材への対策も

必要である。また、飲食店の従業員や海外旅行添乗員は感染を広げてしまう危険性もある。A型肝炎の予防接種がこうした職業の従事者には不可欠である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 米山徹夫、宮村達男：A型肝炎・B型肝炎：プロGRESS イン メディシン 26巻、43-48、2006.

2. 学会発表

1. 清原知子、戸塚敦子、下池貴志、米山徹夫、宮村達男：日本におけるA型肝炎の血清疫学調査、第53回日本ウイルス学会総会、横浜、2005年.

H. 知的所有権の取得状況

なし。