

令和 7 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「食品取扱現場における効果的なウイルス汚染対策の策定のための研究」
分担報告書

水試料からのウイルス検出法に関する研究

研究分担者	上間 匡	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	遠矢 真理	国立医薬品食品衛生研究所
	南村 幸世	国立医薬品食品衛生研究所

研究概要

ノロウイルスによる食中毒事件発生時に、原因食品を特定することは汚染経路の解明など行政処分等の科学的な根拠となるほか、食中毒の未然防止のための具体的対策へ寄与することになる。

Codex 食品衛生部会(CCFH)では「食品生産・加工における水の安全な使用及び再使用に関するガイドライン(CXG 100-2023)」の付属文書の改訂作業が進められており、さまざまな食品取扱時の使用水についても再定義が行われている。国内では 2023 年石川県、2024 年大分県、2025 年群馬県で食品使用水が関連した食中毒事件が発生しており食品製造用水や飲料水の衛生確保や危機対応は今後大きな課題となると考えられる。現在食品全般において病原ウイルスに関する規格基準は設定されていないが、食中毒事件発生時の対応や、食品製造用水等の衛生管理手法の構築に向け、水試料から食中毒関連ウイルス遺伝子を検出する方法について検討した。

本研究では食中毒事件で実施される PEG/NaCl 法によるノロウイルス検出について、水道水や市販飲料水などを対象にウイルスの添加回収試験を実施し、比較を行った。

A. 研究目的

国内では 2023 年石川県、2024 年大分県、2025 年群馬県で食品製造時に使用する水が関連した食中毒事件が発生しており食品製造用水や飲料水の衛生確保や危機対応は今後大きな課題となると考えられる。

Codex 食品衛生部会(CCFH)では「食品生産・加工における水の安全な使用及び再使用に関するガイドライン(CXG 100-2023)」の付属文書の改訂作業が進められており、さまざま

な食品取扱時の使用水についても再定義が行われている。

現在食品全般において病原ウイルスに関する規格基準は設定されていないが、食中毒事件発生時や、HACCP に基づく食品製造用水等の衛生管理手法の構築に向け、水試料から食中毒関連ウイルス遺伝子を検出する方法のうち、特に水試料の処理方法について検討した。

本研究では上水試験法や食中毒事件で実施される PEG/NaCl 法によるノロウイルス検出について、水道水や市販飲料水などを対象にウイルスの添加回収試験を実施し、比較を行った。

B. 研究方法

B-1. 水試料

水道水、市販ペットボトル入りミネラルウォーターを用いた。

市販水は軟水(成分表表示：Ca 0.78mg, Mg 0.20mg, K 0.12mg)、硬水(成分表表示：Ca 48.80mg, Mg 7.45mg, K 0.28mg)、シリカ水(成分表表示：Ca 31.00mg, Mg 14.00mg, K 5.70mg)、炭酸水を用いた。

軟水は市販水に塩素濃度 0.2ppm あるいは 1.0ppm となるように次亜塩素酸ナトリウムを添加した試料を作成した。

炭酸水は、ばっ気を行った試料、ばっ気と pH を水道水と同程度に調整した試料も作成した。

B-2. 添加ウイルス

食中毒関連ウイルスとして A 型肝炎ウイルス(HAV)とノロウイルス GII(GII)を、工程管理用に MS2 ファージ(MS2)を用いた。水試料 40mL に HAV (約 25 コピー) と GII(約 30 コピー)、約 10^6 CFU の MS2 を加えた。

B-3. PEG/NaCl 法

ポリエチレングリコール(PEG6000)と NaCl を試料 40mL に加えて一晩 4℃にて転倒混和した。

PEG6000, NaCl は次の 5 条件の添加量で比較した。①3.2g/3.2g ②5.0g/0.87g ③5.0g/1.74g ④5.0g/3.48g ⑤3.2g/0.92g

一晩の攪拌後に 10,000xg で 30 分 (4℃) の遠心を行い、沈渣を回収し、核酸抽出に供した。

B-4. 核酸抽出

回収した沈渣から磁気ビーズを用いて核酸を自動抽出した (Maxwell RSC Viral TNA kit, Promega)。

B-5. ウイルス遺伝子検出(1Step RT-qPCR)

抽出した RNA を 1 Step RT-qPCR に供して HAV、GII、MS2 遺伝子の検出を行い、Ct 値が得られた検体を陽性と判定した。

C. 研究結果

検討に用いた水試料の pH と、HAV 及び GII の検出結果を表に示す。

- ・水道水 (塩素 0.2ppm, pH7.38) は①から⑤の条件の全てで HAV, GII とともに 100%の検出率であった。

- ・軟水 (pH7.79) は①と②の条件で GII の検出率が 91.2%となったが、HAV は全ての条件で 100%検出された。

- ・軟水(塩素 0.2ppm 添加,pH7.39)は、①の条件で HAV の検出率が 75%となった。GII は 1 から⑤の条件で全て検出された。

- ・軟水(塩素 1.0ppm 添加,pH7.40)は、①、⑤の条件で HAV,GII が検出できなかった。MS2 は 50%の検出率となった。②の条件では HAV,GII, MS2 はそれぞれ 25%, 0%, 50%の検出率となった。③では HAV, GII とともに 25%、MS2 は 75%、④では HAV, GII, MS2 はそれぞれ 50%, 25%, 50%の検出率となった。

- ・硬水(pH7.59)では①で HAV, GII がそれぞれ 505, 66.7%となり、②から⑤の条件では HAV,GII とともに 100%検出された。

シリカ水（pH6.75）では①③で GII が 91.2%、④で 66.7%となった。

・炭酸水（pH4.44）では①で HAV, GII がそれぞれ 66.7%, 100%、②で HAV, GII, MS2 がそれぞれ 66.7%, 33.3%, 66.7%、⑤で HAV, GII, MS2 がそれぞれ 100%, 66.7%, 100%となった。

・炭酸水（ばっ気あり, pH5.11）では①と④で GII が 66.7%の検出となったが HAV は①から⑤の条件で 100%検出された。

・炭酸水（ばっ気あり、pH7.47 に調整）では①から⑤までの条件で HAV, GII とともに 100%検出された。

HAV、GII の検出率は PEG6000 を 5.0g, NaCl を 0.87g あるいは 1.74g 添加した場合に検出率が高い結果となった。

D. 考察

上水試験法 1)では電化膜を用いた方法と、本報告と同様の PEG6000/NaCl 添加の 2 手法がウイルス検出の手順として示されているが、簡便な PEG/NaCl 添加の手順で検体中に存在する数十コピー程度のウイルスが検出できることが示された。水試料の性質によって PEG6000/NaCl 添加の濃度を変更することで陽性率が向上する可能性が示された。上水試験法の条件を含め、標準的な条件をさら

に検討し、食品製造用水の衛生管理法の検討を進める。

市販水（軟水）に塩素 0.2ppm, 1.0ppm となるよう調整した試料において添加ウイルスの検出率が減少したことから、塩素が水試料中のウイルスに対して殺菌作用を示した、あるいはウイルス、核酸抽出、RT-qPCR を阻害した可能性が示された。

E. 結論

一般食品を対象とした場合と同様に、PEG/NaCl 法は水試料にも対応可能であることが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 食品製造用水、飲料水からの食中毒関連ウイルス検出法の検討. 上間匡、南村幸世、遠矢真理. 第 121 回日本食品衛生学会学術講演会 2025 年 10 月 16、17 日（東京）

G. 知的財産権の出願・登録

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

表 1. 水試料の概要

	Ca(mg)	Mg(mg)	K(mg)	pH
水道水				7.38
軟水	0.78	0.20	0.12	7.79
軟水(0.2ppm)				7.39
軟水(1.0ppm)				7.40
硬水	46.80	7.45	0.28	7.59
シリカ水	31.00	14.00	5.70	6.75
炭酸水				4.44
炭酸水(ばっ気)				5.11
炭酸水(ばっ気、pH 調整)				7.47

表 2. ウイルス検出率

水試料 試料名	pH	ウイルス	PEG6000・NaCl条件				
			①	②	③	④	⑤
水道水 (塩素0.2ppm)	7.38	HAV GII MS2	6/6 6/6 6/6	6/6 6/6 6/6	6/6 6/6 6/6	6/6 6/6 6/6	6/6 6/6 6/6
軟水	7.79	HAV GII MS2	5/6 (91.2%) 6/6	6/6 5/6 (91.2%) 6/6	6/6 6/6 6/6	6/6 6/6 6/6	6/6 6/6 6/6
軟水・塩素0.2ppm	7.39	HAV GII MS2	3/4 (75.0%) 4/4 4/4	4/4 4/4 4/4	4/4 4/4 4/4	4/4 4/4 4/4	4/4 4/4 4/4
軟水・塩素1.0ppm	7.40	HAV GII MS2	0/4 (0%) 0/4 (0%) 2/4 (50%)	1/4 (25.0%) 0/4 (0%) 2/4 (50%)	1/4 (25.0%) 1/4 (25.0%) 3/4 (75.0%)	2/4 (50%) 1/4 (25.0%) 2/4 (50%)	0/4 (0%) 0/4 (0%) 2/4 (50%)
硬水	7.59	HAV GII MS2	3/6 (50%) 4/6 (66.7%) 6/6	6/6 6/6 6/6	6/6 6/6 6/6	6/6 6/6 6/6	6/6 6/6 6/6
シリカ水	6.75	HAV GII MS2	6/6 5/6 (91.2%) 6/6	6/6 6/6 6/6	6/6 5/6 (91.2%) 6/6	6/6 4/6 (66.7%) 6/6	6/6 6/6 6/6
炭酸水	4.44	HAV GII MS2	2/3 (66.7%) 3/3 3/3	2/3 (66.7%) 1/3 (33.3%) 2/3 (66.7%)	3/3 3/3 3/3	3/3 3/3 3/3	3/3 2/3 (66.7%) 3/3
炭酸水・ばっ気	5.11	HAV GII MS2	3/3 2/3 (66.7%) 3/3	3/3 3/3 3/3	3/3 3/3 3/3	3/3 2/3 (66.7%) 3/3	3/3 3/3 3/3
炭酸水・ばっ気・pH調整	7.47	HAV GII MS2	3/3 3/3 3/3	3/3 3/3 3/3	3/3 3/3 3/3	3/3 3/3 3/3	3/3 3/3 3/3