

サポウウイルスの加熱不活化条件の検討

研究分担者 岡 智一郎 国立医薬品食品衛生研究所

研究概要

食品衛生管理において加熱は微生物不活化法として広く用いられている。本研究では、ノロウイルスと同様に食中毒を引き起こすサポウウイルスについて、コーデックス委員会が示すノロウイルスの不活化条件である 85-90℃で 90 秒以上の加熱の有効性を検証することを目的とした。

A. 研究目的

サポウウイルスはノロウイルスと同様、年間を通じて食中毒を引き起こす。サポウウイルス感染による下痢、嘔吐といった症状、約 1-3 日程度の潜伏期間と症状の持続期間、全年齢で感染・発症する点、感染者が便中に多量のウイルスを排出し、不顕性感染者もいる点などその特徴はノロウイルスと一致する。サポウウイルスによる散発、集団感染も発生しており、浄水場流入下水、食用貝などからも頻繁に検出される。サポウウイルスによる食中毒は仕出屋、飲食店、旅館・宿泊・研修施設、給食・社員食堂、宴会施設などで発生しており、非加熱もしくは加熱不十分なアサリやカキなどの二枚貝の喫食、あるいはウイルス陽性の調理従事者を介した汚染食品の摂取が原因と考えられる点もノロウイルスと共通している。国内における最大のサポウウイルス食中

毒事件は弁当が原因とされ、約 650 人が発症した。サポウウイルスとノロウイルスが同時に検出されている食中毒事例もある。

しかし、現状、厚生労働省の食中毒統計では、サポウウイルスは「その他のウイルス」として扱われ、個別名で集計されていないため、一般には「ウイルス性食中毒＝ノロウイルス」と認識されている。さらに、サポウウイルスとノロウイルスは症状や発生場所、時期等では区別できないにもかかわらず、食中毒検査ではノロウイルスのみの検出が主で、ノロウイルスが検出された場合、他のウイルス検査は省略されることが多いことから、サポウウイルスによる食中毒が正確に把握されていない可能性が高い。一方で、感染性胃腸炎患者からのサポウウイルスの検出報告は核酸検出系の整備、改良、さらには次世代シーケンサーの普及によって、日本のみならず、海外でも増加している。（病原微生物検出情報

特集 サポウイルス 45 (12). p205-206: 2024.
<https://id-info.jihs.go.jp/surveillance/iasr/pathogens/vol45/538/538t.html>)。

食中毒予防において加熱はウイルス不活化法として汎用性の高い手法である。

ノロウイルスについては令和 4-6 年度の食品の安全確保推進研究事業「食中毒原因ウイルス等の汎用性を備えた検査法と制御を目的とした失活法の開発のための研究」(研究班代表 国立医薬品食品衛生研究所 上間匡)における先行研究において、ノロウイルス陽性糞便と腸管幹細胞由来オルガノイドおよび iPS 由来腸管上皮細胞を用いた in vitro 培養系を用いることで、「85°C 1 分間の加熱でノロウイルスが不活化できる」ことが報告されている。

サポウイルスについては、効率的な培養条件が確立され、分離ウイルスも確保できており (Takagi H. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2020;117(50):32078-32085. doi: 10.1073/pnas.2007310117. Oka T. et al., J Virol. 2024;98(9):e0063924. doi: 10.1128/jvi.00639-24.)、我々自身およびカナダ食品検査庁において、70°C 30 分間の加熱でサポウイルスが不活化されるという予備データを得ているが、高温短時間での不活化検討は未検討であった。そこで今回は、「85-90°Cで 90 秒以上の加熱でサポウイルスが不活化できるか」という点に主眼をおいて評価を行った。

B. 研究方法

1. サポウイルスの加熱処理

培養細胞で増殖させたヒトサポウイルス GI.1 もしくは GII.3 ウイルスストック液

(1×10^6 ウイルスゲノムコピー/ μL)を PCR チューブに 50 μL 分注し、サーマルサイクラー (BioRad T100)を用いて 90°C、85°Cもしくは 80°Cで 1、5、10 分間加熱後、ただちに氷冷した。別途、75、70、65°Cで 1、5、10、30 分間加熱後、ただちに氷冷したサンプルも調製した。

2. サポウイルス不活化の評価

24 ウェルプレートに培養しコンフルエントになった HuTu80 細胞の培地をウイルス接種当日に 2mM タウロコール酸ナトリウムおよび 3% 非働化 FBS 含有 IMDM 培地 (500 μL /ウェル)に置換した後、加熱処理、未処理ウイルスストック液を 1 ウェルあたり 20 μL (2×10^7 ウイルスゲノムコピー相当)加え、37°C 5% CO₂ incubator で 10 日間培養し、培養上清中のサポウイルス主要構造タンパク質 VP1 量を、それぞれの遺伝子型株に対するウサギ抗血清、モルモット抗血清を組み合わせた VP1 抗原検出用サンドイッチ ELISA (Takagi H. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2020;117(50):32078-32085. doi: 10.1073/pnas.2007310117.)で検出し、サポウイルス増殖の有無を評価した。非加熱のサポウイルスストック液を同様に 10 日間培養したウェルの培養上清を陽性コントロール、ウイルス非添加で 10 日間培養したウェルの培養上清を陰性コントロールとした。

(倫理面への配慮)

分離ウイルスを使用しているため、特になし。

C. 研究結果

非加熱のサポウイルス感染 10 日後の

HuTu80 細胞の培養上清の VP1 検出 ELISA の吸光度は、GI.1、GII.3 とともに陽性コントロールと同等の 1.0 以上と明確なウイルス構造タンパク質の増加が確認された。一方、85°C もしくは 90°C で 1 分間以上加熱したサポウイルスを接種したウェルの培養上清の VP1 検出 ELISA の吸光度はいずれも陰性コントロールと同じ吸光度 (0.1 未満) であった。さらに、70°C、75°C もしくは 80°C で 1 分間以上加熱したサポウイルスを接種したウェルの培養上清の VP1 検出 ELISA の吸光度も陰性コントロールと同じ吸光度 (0.1 未満) であった。ただし、65°C では陰性コントロールと同じ吸光度 (0.1 未満) になったのは、GI.1 では 5 分間以上、GII.3 では 10 分間以上加熱した場合のみであった。

D. 考察

培養細胞で増殖させた異なる遺伝子型のサポウイルス 2 株を用いた結果、今回の検討条件では、70°C 以上の加熱であれば 1 分間の加熱でサポウイルスが不活化されることが明らかとなった。ただし、65°C の加熱では GI.1 で 5 分間、GII.3 では 10 分間と、解析に用いた 2 株間で不活化に必要な加熱時間に差があったため、今後、食品分野のパスツール殺菌条件 (63°C 30 分間) など、65°C 未満での加熱不活化の検討を行う際にも複数のサポウイルス株を用いて評価を行う必要があると考えられる。サポウイルスはノロウイルスと同様に食中毒事件が発生しており、ノロウイルスでは未達成の 1) 効率的なウイルス増殖、2) ウイルスストックを用いた検証、3) ウイルス増殖に伴う明確なウイルス構造タンパク質量の増加を捉えることが可能であることから、食中毒予防のための各種評価において、新たな指標病

原体として重要である。

E. 結論

コーデックス委員会がノロウイルスの不活化条件として示している 85-90°C 90 秒の加熱で、サポウイルスが不活化できることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表：

1. 上間匡、岡智一郎、遠矢真理
厚生労働科学研究「食中毒原因ウイルス等の汎用性を備えた検査法と制御を目的とした失活法の開発のための研究」
食品衛生研究 76 (4) 7-12, 2026.
2. 野田衛, 山崎栄樹, 遠矢真理, 岡智一郎, 上間匡
オープンデータ活用による 2025 年 2 月に多発した感染性胃腸炎およびノロウイルス食中毒の気象要因の分析
日本食品微生物学会雑誌 42(4) 102-110, 2026.
3. Ly LTK, Doan YH, Mai CTN, Takemae N, Kageyama T, Oka T, Parashar UD, Tate JE, Trang NV.
Clinical, Molecular and Evolutionary Characterization of Noroviruses in Hospitalized Children With Acute Gastroenteritis in Vietnam, 2016 to 2021. J Med Virol. 2026 Mar;98(3):e70876. doi: 10.1002/jmv.70876.
4. 岡智一郎
サポウイルス等による食中毒とその対策

食の安全と安心通信 vol.59, 2025.12

<https://nposfss.com/quarterly-magazine/sfss59/>

5. Saha R, Lo M, Doan YH, Deb AK, Miyoshi SI, Kitahara K, **Oka T**, Chawla-Sarkar M.

Epidemiological and Full Genomic Analysis of the Sapoviruses Circulating During Post Rotavirus Vaccination Period (2021-2023) in West Bengal, India.

J Med Virol. 2025 Nov;97(11):e70712. doi: 10.1002/jmv.70712.

6. **Oka T**, Okemoto-Nakamura Y, Takagi H. CD36 is required for human sapovirus propagation.

J Virol. 2025 Nov 25;99(11):e0132525. doi: 10.1128/jvi.01325-25.

7. Aryal B, Petznick T, Takagi H, **Oka T**, Liu M, Li G, Li D, Wang Q.

Molecular characterization and isolation of contemporary porcine sapoviruses from swine farms in the United States.

Vet Microbiol. 2025 Nov;310:110709. doi: 10.1016/j.vetmic.2025.110709.

8. Kusuhara H, Doan YH, Kobayashi A, Takagi H, **Oka T**.

Genotypic Analysis and Clinical Findings of Sapovirus-Associated Acute Gastroenteritis in Mie Prefecture, Japan, 2010-2022.

J Med Virol. 2025 Jul;97(7):e70470. doi: 10.1002/jmv.70470.

2. 学会発表：

岡智一郎, 中村（桶本）優子, 高木弘隆.

ヒトサポウイルスの増殖に必要な細胞因子の同定.

第 72 回日本ウイルス学会学術集会、2025 年 10 月 28～30 日、浜松.

2) 遠矢真理, 國吉杏子, 南村幸世, 池内隼祐, 小松優樹, 鈴木亜希子, **岡智一郎**, 上間匡.

2021-2025 年におけるシジミからのノロウイルス検出状況.

第 121 回日本食品衛生学会学術集会、2025 年 10 月 16～17 日、船堀.

3) 斎藤博之, 秋野和華子, 藤谷陽子, 樫尾拓子, 小川千春, 萩生田遼, 木内雄, 遠矢真理, 上間匡, **岡智一郎**.

食中毒事例対応のためのサポウイルス検出法に関する検討.

第 121 回日本食品衛生学会学術集会、2025 年 10 月 16～17 日、船堀.

4) 遠矢真理, 南村幸世, 國吉杏子, 斎藤博之, **岡智一郎**, 上間匡.

下水疫学による食中毒関連ウイルスの流行調査

第 46 回日本食品微生物学会学術集会、2025 年 9 月 18～19 日、川崎.

5) **Oka T**, Okemoto-Nakamura Y, Takagi H. Essential cellular factor for human sapovirus propagation. (Invited State-of-the-Art-Speaker).

The 9th International Calicivirus Conference, September 7-11, 2025, Banff, Alberta, Canada.

6) Kusuvara H., Doan YH, Kobayashi A, Takagi H, **Oka T.**

Genotypes and Clinical Manifestations of Sapovirus-Associated Gastroenteritis in Mie Prefecture, Japan, 2010-2022.

The 9th International Calicivirus Conference, September 7-11, 2025, Banff, Alberta, Canada.

7) Wang Q, Aryal B, Petznick T, Takagi H, **Oka T.**, Liu M, Li G, Li D.

Characterization and Isolation of PoSaVs from Swine Farms in the U. S.

The 9th International Calicivirus Conference, September 7-11, 2025, Banff, Alberta, Canada.

8) Ly LTK, Doan YH, Mai TNC, Takemae N, Kageyama T, **Oka T.**, Parashar UD, Tate JE and Trang NV.

Clinical and Molecular Characterization of Noroviruses in hospitalized children with Acute Gastroenteritis in Vietnam, 2016 to 2021.

The 9th International Calicivirus

Conference, September 7-11, 2025, Banff, Alberta, Canada.

9) Raymond P, Allen M-M, Blain R, Larocque É, Takagi H, Qiu J, **Oka T.**

Evaluation of sensitivity and heat susceptibility of isolated human Sapovirus in the HuTu80 cells culture model.

The 9th International Calicivirus Conference, September 7-11, 2025, Banff, Alberta, Canada.

10) 遠矢真理、佐々木瑞希、佐々木貴正、**岡智一郎**、田中亜美、坂田秀勝、松林圭二、上間匡.

ブタ胆汁、肝臓および横隔膜由来 E 型肝炎ウイルスの疫学解析

第 168 回日本獣医学会学術集会

2025 年 9 月 3-6 日、宮崎.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし