

ウイルス性食中毒

林志直*

Foodborne viral disease

Yukinao HAYASHI*

Keywords : ウイルス性胃腸炎 viral gastroenteritis , 集団発生 outbreak , ノロウイルス norovirus

はじめに

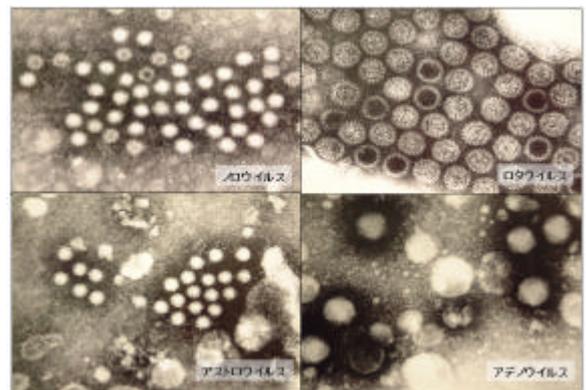
ノロウイルスは乳幼児から成人まで幅広い年齢層における急性胃腸炎の原因ウイルスであり、食品を介した集団発生の他に散発例も多く報告されている。平成9年5月に食品衛生法の一部改正が行われ、食中毒調査票の病因物質に小型球形ウイルスとその他のウイルスが加えられた。平成14年8月に、国際ウイルス分類委員会によるカリシウイルス科の分類に従って病因物質名「小型球形ウイルス (SRSV)」は「ノロウイルス (Norovirus)」に変更された。

東京都では平成9年の法改正に対応して、同年11月から都内で発生した食中毒疑いの胃腸炎集団発生について原因解明のためにウイルス検索を行ってきた。この間、ノロウイルスが検出される食中毒事例は都内において増加し¹⁾、平成13年と14年には病因物質別の食中毒発生数は最も多くなっている。また、検査法の進展により今まで原因不明とされてきた食中毒事件の多くがノロウイルスに起因していることが明らかとなってきた。ここでは主として東京都における事例からウイルスによる食中毒について紹介したい。

ウイルス下痢症の特徴 ウイルス下痢症は、何らかの原因によりウイルスによって汚染された食品や水を介して間接的に、あるいはヒトからヒトへ直接感染する。一般的な症状は嘔吐と水溶性（非血性）下痢が特徴であり、細菌性下痢症の様な粘液便となることはほとんどない。初発症状の嘔気・嘔吐は約3日、下痢は1週間以内に治まり、予後は比較的良好な疾患である。主として冬季に流行し、好発年齢層は乳幼児であるが、成人層にも患者は認められる。現在、下痢症ウイルスとしてノロウイルス、ロタウイルス、アストロウイルスおよびアデノウイルスが知られている。しかし、これらのウイルスが発見されたのは1970年代であり、以後精力的に調査が行われた結果、それまで原因不明とされていた下痢症の大部分がこれらのウイルスによるものであることが明らかになってきた。

下痢症を起こすウイルス 最初に下痢症を起こすウイルスについて概略、および電子顕微鏡写真像を写真1に示す。

写真1. 下痢症ウイルスの電顕像



1) ノロウイルス ノロウイルスはカリシウイルス科に属する一本鎖RNAウイルスであり、直径約30nmの粒子表面に突起状の構造を持つ。ノロウイルスに感受性があるのはヒトだけであり、実験動物や組織培養細胞を用いたウイルス増殖系がないため、性状について不明な点が多い。

ノロウイルスの分類は遺伝子型によって行われ、大きく分けて2群(G・G)に分類されている²⁾。遺伝子型は型別プローブを用いたハイブリダイゼーション、あるいは塩基配列の決定により判別する。近年は圧倒的にGの検出例が多い。

2002年7月に第12回国際ウイルス学会がパリで開催され、同時に開催された国際ウイルス分類委員会においてカリシウイルス科の属名に関する討議が行われた。その結果、表1に示すようにカリシウイルス科はラゴウイルス属、ノロウイルス属、サポウイルス属、ベシウイルス属に分類され、ヒトからはノロウイルス属ノーウォークウイルスとサポウイルス属サッポロウイルスが検出される。平成9年5月に食品衛生法で食中毒の原因物質に追加されたSRSVは、ノロウイルス属ノーウォークウイルスに相当する。

2) ロタウイルス ロタウイルスはレオウイルス科ロタウイルス属に分類され³⁾、ウイルス粒子は直径約80nmの正20面体構造をとり、コア、内層、外層の3層から成る。コ

* 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

表1. 国際ウイルス分類委員会 (ICTV) の
カリシウイルスについての報告(2002)

科 (Family)	属 (Genus)	種 (Species)
<i>Caliciviridae</i>	<i>Norovirus</i>	<i>Norwalk virus</i>
	<i>Sapovirus</i>	<i>Sapporo virus</i>
	<i>Lagovirus</i>	<i>Rabbit hemorrhagic disease virus</i> <i>European brown hare syndrome virus</i>
	<i>Vesivirus</i>	<i>Feline calicivirus</i> <i>Vesicular exanthema of swine virus</i>

ア内には、11本に節節した2本鎖RNAが存在する。外層タンパク質は、EDTAなどのキレート剤の処理により損傷を受け、感染性はなくなる。同様にエタノール、フェノール、ホルマリン、次亜塩素酸などで外層タンパク質は容易に破壊され、ウイルスは不活化される。

ロタウイルスの抗原性は、内層タンパク質VP6および外層タンパク質VP7とVP4により決定される。内層タンパク質VP6はウイルス群共通抗原と亜群特異的の抗原を持つ。ロタウイルスはA-F群に分類されているが、ヒトから最も高率に検出されるのはA群であり、少数ではあるがB群とC群の検出例も認められる。外層タンパク質VP7は糖鎖が付加されたタンパク質(glycoprotein)であるため、これに基づく抗原性分類はG血清型と呼ばれ、VP4はプロテアーゼにより切断される(protease sensitive)ためVP4血清型はP血清型と呼ばれる。

3) アデノウイルス アデノウイルスはアデノウイルス科マストアデノウイルス属のウイルスであり、二本鎖DNAを核酸とするウイルスである。ウイルス粒子の直径は約80nmで、正20面体構造を示す。アデノウイルスは物理・化学的に抵抗性の強いウイルスであり、環境中においても長期間感染性を保ち、大きな流行につながる。エーテル耐性であり、pH5-9で安定、凍結によっても感染性はほとんど低下しないが、56-30分の加熱により死滅する。

アデノウイルスは核酸の相同性などからA-Fまで6亜群に分類され、下痢症の原因となる腸管アデノウイルスはF亜群に分類される⁴⁾。

血清型はウイルス構造タンパク質であるヘキソンとファイバーの抗原性に基づいて分類され、中和試験により決定される。しかし、近年分子生物学的手法がアデノウイルスの分類法に導入されるようになってきた。

4) アストロウイルス アストロウイルスは、アストロウイルス科アストロウイルス属に分類される一本鎖RNAウイルスであり、核酸の全長は約7500塩基対である⁵⁾。アストロウイルスは電子顕微鏡観察を行うと、直径約30nmで辺縁は滑らかであり、粒子全体の印象は白色系が強く観察される。粒子表面に認められる5-6ポイントの星状構造が特

徴である。ボランティア感染実験から、酸(pH3)に耐性、クロロホルム耐性、60-5分の加熱に耐性であるが、10分の加熱により感染性が失われることが報告されている。

アストロウイルスは組織培養細胞を用いて増殖させることが可能で、中和試験により8種類の血清型に分類されている。アストロウイルス検出例の約70%を1型が占め、他の血清型はそれぞれ10%以下と少ない。ウイルス構造タンパク質領域の遺伝子配列による分類と血清型別は一致するため、遺伝子型別が多く用いられるようになってきた。

ノロウイルス検査法の進展 食中毒起因ウイルスの中で最も重要であるノロウイルス診断法は、これまで大きく3段階に分けて発展してきた。

第一段階は、ノロウイルスが発見される以前の時期であり、非細菌性胃腸炎の調査は疫学調査を中心に行われた。ウイルス性胃腸炎の存在は、既に1929年Zahorskyらによって冬季嘔吐症(winter vomiting disease)として報告⁶⁾され、我が国においても福見らによって1948-1949年に全国各地で発生した非細菌性胃腸炎の流行⁷⁾や、1953年に発生した「茂原下痢症」に関する調査⁸⁾等が行われ、感染性因子の存在は確認されていたが病原体の特定はできていなかった。

第二段階は、1972年にNorwalk virusが発見されたことを契機とし、ノロウイルスの検出と分類が進められた時期である。免疫電子顕微鏡法(IEM)、放射免疫測定法(RIA)、免疫粘着血球凝集反応(IAHA)、酵素抗体法(ELISA)など様々な検査法が開発された。当研究科においても、ノロウイルス検出用のウエスタンブロット法(WB)を開発⁹⁾、全国の地方衛生研究所に標準試薬を供給し、ノロウイルス診断法の進展に寄与してきた。しかし、いずれの検査も患者血清やボランティア血清を用いた方法であり、試薬の量に限りがあったため一般検査室で行うことは困難であった。

第三段階は、ノロウイルス感染症の診断に遺伝子検査法が導入された時点で始まり、現在に至っている。1990年にNorwalk virusがクローニングされ、得られた遺伝子情報¹⁰⁾に基づいてノロウイルス特異的なプライマーが設定された。このプライマーを用いて、ノロウイルスのRNAから逆転写反応により相補的DNAを得た後にPCRを行う逆転写PCR(reverse transcription-polymerase chain reaction:RT-PCR)法が行われるようになった。プライマーは、合成によって品質のそろった製品が無限に得られる。第二段階の検査法の欠点であった試薬の量的限界、不安定な特異性が克服されたのである。これによってノロウイルス感染症の診断は、全ての検査室で容易に行うことができるようになった。

ノロウイルスの感染経路 ウイルス性食中毒の主要原因となるノロウイルスの感染経路を図1に示す。ノロウイルスは人から人へ直接感染するほか、ウイルスに汚染された食品を介して感染すると考えられている。ウイルスによる食

品の汚染メカニズムとして、主として調理従事者による場合と、水系環境汚染から二枚貝にウイルスが蓄積される場合が考えられる。

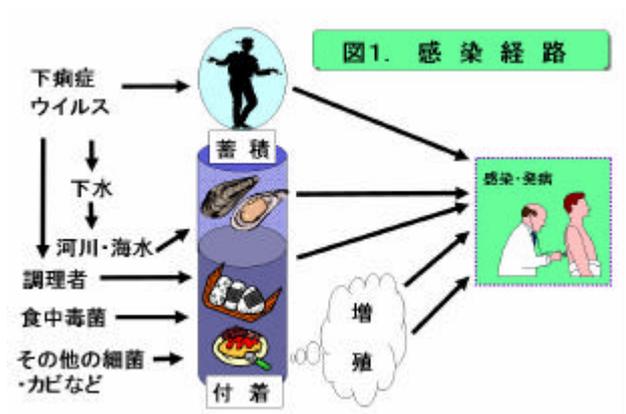


図 1 . 感染経路

ノロウイルスに感染しても、発症まで至らずにウイルスを排泄する場合が認められる。これが調理従事者であった場合、食材のウイルス汚染が発生しやすく、食中毒につながる。

また、患者から糞便中に排泄されたノロウイルスは下水から河川水さらに海水へ流入し、ウイルスに汚染された水域で養殖あるいは生育したカキやシジミ等の二枚貝に蓄積される。ウイルスに汚染された二枚貝を生食、あるいは不十分な加熱調理によって喫食した場合にノロウイルス感染が広まっていくと考えられている。

しかし、ノロウイルスは人の生きた細胞内では増殖できないため、食中毒菌のように食品中で増えることは無い。

ウイルス性食中毒疑い事例からの検索結果 以下には東京都立衛生研究所における検査成績を示す。

1997年11月から2000年12月に都内で発生した食中毒疑い事例についてのウイルス検索結果を表2に示した。調査期間中に検査事例数は毎年増加し、2000年は232事例に達した。約3年間に543事例について検査を行い、約60%の事例からウイルスが検出され、そのほとんどはノロウイルスであった。その他にロタウイルスとアストロウイルスが少数例から検出された。

表3には検査材料別の検査成績を示した。調査期間中に搬入されたヒト由来材料は合計6126件に達し、このうち1717件(28.0%)からノロウイルスが検出された。患者材料からのノロウイルス検出率は約40%、推定原因食を食べた非発症者からは約20%であった。また、健康な調理従事者の6.7%からノロウイルスは検出された。

ノロウイルスは食品中で増殖することがないため食品からの検出は困難であったが、遺伝子を増幅して検出する方法(RT-PCR法)が開発されたため、食中毒の原因と思われる食品から直接検出できるようになった。食品からのウイルス検出状況を表4に示す。

表2. ウイルス性食中毒疑い事例におけるウイルス検査成績

年	検査事例数	ウイルス陽性数(%)		
		ノロ	ロタ	アストロ
1997年	30	20(66.7)	-	-
1998年	123	73(59.3)	-	-
1999年	158	74(46.8)	1	1
2000年	232	132(56.9)	4	-
計	543	229(55.1)	5	1

表3. 検査材料別のノロウイルス検出成績

検査材料	検査件数	陽性件数	陽性率(%)
患者ふん便	3743	1452	38.8
非発症者ふん便	909	166	18.3
調理者ふん便	1474	99	6.7
計	6126	1717	28.0

表4. 推定原因食品からのノロウイルス検出

事例	事例数	陽性数(%)	ノロウイルス検出例 (陽性率)
カキ関連	79	13 (16.5)	生カキ (10)
			カキキムチ (1)
			エビ (1)
			アジマリネ (1)
カキ非関連	111	5 (4.5)	シジミ (3)
			ケーキ (1)
			給食材料 (1)

推定原因食にカキが含まれていた食中毒事例では、79例中13例(16.5%)の食品からノロウイルスが検出された。一方、推定原因食にカキが含まれない事例では、111例中5例からノロウイルスを検出し、この内3例は台湾料理「シジミの醤油漬け」であった。カキ、シジミはノロウイルスに汚染された水域で養殖されたことによりウイルスが蓄積し、それ以外の食材は調理過程でのウイルス汚染が考えられた。

市販の二枚貝からのウイルス検出状況 推定原因食品の二枚貝からノロウイルスが検出されたため、市販食品のウイルス汚染状況を調査した。その結果、406件の市販二枚貝の内8種類29件(7.1%)からノロウイルスが検出された。図2に示すように検出率が最も高かったのはシジミ(18.4%)であり、次いでタイラ貝(16.7%)、ホタテ(13.8%)、カキ(10.5%)の順であった。

こうした汚染実態にもかかわらず、カキ以外の二枚貝がウイルス性食中毒の原因食となるのが少ない原因は、カキはウイルスが蓄積されている消化器官を含めて全体を生食するのにに対し、タイラ貝・ホタテは貝柱だけを食用とす

ること、シジミはみそ汁等に入れて加熱調理することが多いためと考えられた。

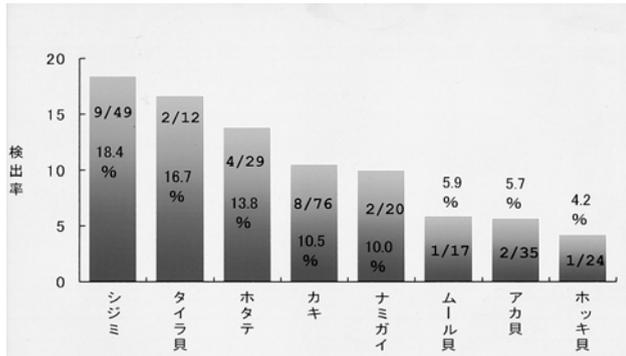


図2. 市販流通二枚貝からのノロウイルス検出成績

調理従事者による食品のノロウイルス汚染 平成 12 年の食中毒事例中、患者と調理者からノロウイルスが検出された事例が 10 例あり、調理者と食中毒事件の関連を明らかにするために検出されたウイルスが同一であるか否かを調査し、表 5 に結果を示した。これらの事例で提供された食品は、調理パン、学校給食、ホテルの宴会料理、仕出し弁当、惣菜など様々な食材であった。

患者と調理従事者から検出されたノロウイルスの遺伝子型を比較すると、両者の遺伝子型は 10 例全て一致した。さらに、ノロウイルスの遺伝子配列を比較すると、10 例の内 7 例では両者が完全に一致した。これらの 7 事例では調理従事者によって汚染された食品を介してノロウイルスの感染が広まった可能性が推測された。

表 5 . 調理者からノロウイルスが検出された事例一覧

事例	推定原因食品	患者		調理者		株の異同
		患者数	検出数	検出数	型	
1	調理パン	2	2	1	G1	同
2	給食	3	5	2	G2	同
3	宴会料理	2	0	6	G2	同
4	仕出し弁当	1	1	3	G2	同
5	仕出し弁当	1	6	3	G2	同
6	宴会料理	4	4	3	G2	異
7	惣菜	3	3	3	G2	異
8	宴会料理	1	4	5	G2	同
9	宴会料理	2	2	1	G2	異
10	給食	6	0	8	G1	同

ウイルス性食中毒対策 ノロウイルスの物理・化学的性状をみると、各種の処理に対する抵抗性は表 6 に示すようにかなり強い^{11,12)}。pH3 は胃液の pH であるが、この中に 3 時間おいても感染性は変化しないことから、ノロウイルスは容易に胃を通過し、感染部位である小腸上部に達することが示されている。また 60 ～ 30 分の加熱処理、4 ～ 6 ppm の次亜塩素酸処理に対しても抵抗性を示すことが明らかに

されている。

表 6 . ノロウイルスの抵抗性

pH 3 の溶液中		3 時間
60 分	30 分	加熱処理
4 ～ 6 ppm 次亜塩素酸中		30 分

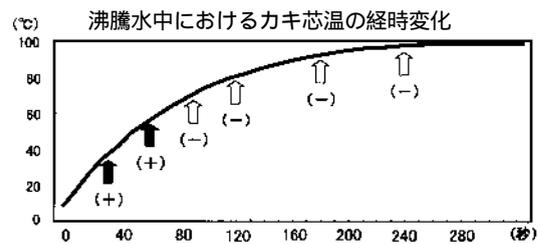
加熱によるウイルス不活化モデル実験として、ノロウイルスと同じ RNA ウィルスであるコクサッキーウィルスをカキの中腸腺に注入して実験を行った。その結果、カキの中心温度 80 °C 煮沸時間 1 分 30 秒と、かなり長時間の加熱によりようやくウイルスは不活化されることが明らかとなった。従って、食品を汚染したウイルスに対しては十分な加熱調理を行うことが最も重要である。

冬季に多発するウイルス性食中毒の予防対策を以下に要約した。

カキなどの二枚貝類は生食を避けて十分な加熱調理を行うことが重要である。他の二枚貝類も十分な加熱を行えば食中毒の原因食品となることはほとんどない。

調理従事者は、手指の洗浄消毒、健康管理を徹底し、配膳の際には使い捨て手袋、マスクの使用が効果的である。

家庭内や学校等では、子供たちに手洗いの習慣を付けさせること、また感染源は患者の糞便・吐物であることから汚染場所の洗浄を行う場合には使い捨て手袋を使用し、有効消毒薬につけるか、焼却を心がけて二次感染対策を十分に行うことが重要である。



煮沸時間	0秒	30秒	1分	1分30秒	2分	3分	4分
カキ芯温(°C)	10	41	64	80	88	88	89
ウイルス分離	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)

図 3 . コクサッキーウィルスの加熱による不活化実験

文 献

- 1) 東京都健康局食品医薬品安全部, 平成 13 年東京都の食中毒概要, 2003.
- 2) Ando, T., Noel, J. S., and Fankhauser, R. L.: *J. Infect. Diseases*, **181**(Suppl. 2), S336-S348, 2000.
- 3) Kapikian, A. Z. and Chanock, R. M.: Rotaviruses. In Fields, B.N.(ed.), *Fields Virology*, 3rd ed., 1657-1708,

- 1996 , Lippincott-Raven , Philadelphia.
- 4) Wadell, G., Allard, A., Johansson, M., Svensson, L., and Uhnnoo, I.: Enteric adenoviruses. In Gregory, B. and Whelan, J. (eds), *Novel Diarrhoea Viruses*, 63-91, 1987, John Wiley & Sons, New York.
 - 5) Matsui, S. M. and Greenberg, H. B.: Astroviruses, In Fields B.N. (ed.), *Fields Virology* 3rd ed., 811-824 , 1996 , Lippincott-Raven , Philadelphia.
 - 6) Zahorsky, I., *Arch. Pediat.*, **46** , 391-395 , 1929.
 - 7) 福見秀雄: 伝染性下痢症、1952, 協同医書出版社、東京.
 - 8) 厚生省、千葉県、茂原市: 茂原下痢症, 1954, 千葉県衛生部.
 - 9) Hayashi, Y., Ando, T., Utagawa, E., et al.: *J. Clin. Microbiol.* **27** , 1728-1733 , 1989.
 - 10) Jiang, X., Wang, M., Wang, K. et al.: *Virology*, **195** (1), 51-61 , 1993.
 - 11) Dolin, R., Blacklow, N.R. DuPont, H., et al.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **140** , 578-583 , 1972 .
 - 12) Keswick, B. H., Satterwhite, T. K., Johnson, P. C., et al.: *Appl. Environ. Microbiol.* **50** , 261-264 , 1985 .