

漁業集落排水処理施設におけるノロウイルス対策について

Anti roe dear virus measures for the waste water treatment facility in the fishing community

伊藤敏朗*・久保田弘道**

Toshiaki ITO and Hiromichi KUBOTA

* (財)漁港漁場漁村技術研究所 第2調査研究部 部長

** (財)漁港漁場漁村技術研究所 第2調査研究部 主任研究員

Roe dear virus is one of the major factors to cause viral stomach and intestines flame in food poisoning. Roe dear virus is , in particular, well-known as a typical pathogen in food poisoning by eating raw oysters. Accordingly the fishery workers engaged in oyster culturing in some region worry about this risk. Considering that the waste water treatment facility is mostly located close to the culture grounds, anti roe dear virus measures for such treatment facility have been studied . This report introduces the investigation・experiment results carried out till now relating to measures against roe dear virus.

Key Words : *Norovirus*, *ultraviolet rays*

1. はじめに

最近、ノロウイルスによる食中毒が注目を集めているが、その病原因子の代表的な食品としてカキの生食によるものが知られている。伝搬経路(図-1)としては、感染した人の腸内で増殖したウイルスが糞便とともに排出され、汚水処理施設等を経由して海域を汚染し、カキにウイルスが蓄積され、それを生で食べると感染するという循環経路が解明¹⁾されている。

筆者らは、ノロウイルスによる沿岸海域の汚染を防止し、安全なカキを生産するためには、この循環経路を断ち切る必要があると考え、汚水処理施設での対策を検討した。

汚水処理施設で用いられる代表的な消毒(殺菌)法は、塩素、紫外線、オゾン等があるが、残留性による放流水域の生物に与える影響が無く、漁業集落排水のような小規模な施設の場合、比較的安価に設置できる等の理由から紫外線消毒法が最も有効な対策方法のひとつと考えた。

しかし、これまでの紫外線消毒は、大腸菌群の殺菌を目的としており、ノロウイルスの不活化に必要な紫外線照射量は把握されていなかった。また、ノロウイルスは、培養できる細胞が見つかっておらず、ウイルス量を直接確認する方法がないため、定量計測が可能でノロウイルスに類似するウイルスを用いて紫外線照射実験を行った。

2. SRSV について

SRSVとは小型な球形をした胃腸炎性ウイルスの総称であり、Small Round Structured Virusの略称で、日本語では小型球形ウイルスと呼ばれる。

最初に発見されたSRSVは、1968年に米国のオハイオ州ノーウォークという町の小学校で集団発生した急性胃腸炎の患者の糞便からウイルスが検出され、その土地の名前からノーウォークウイルスと呼ばれた。

その後、非細菌性急性胃腸炎の患者からノーウォークウイルスに似たウイルスが次々と発見されたため、一時的にノーウォークウイルスあるいはノーウォーク様ウイルス、あるいはこれらを総称して「小型球形ウイルス(SRSV)」と呼称されることとなった。我が国でも、1997年5月に改正された食品衛生法で、食中毒病原因質に「小型球形ウイルス」が追加された。

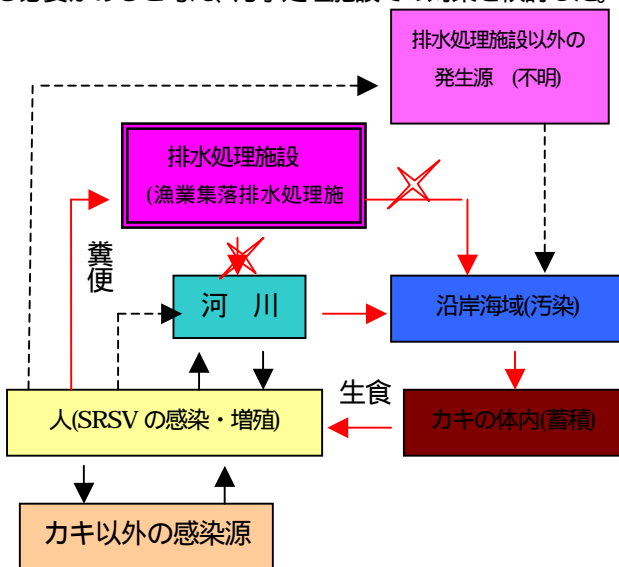


図-1 ノロウイルスの感染伝搬経路

その後、ウイルスの遺伝子解析技術が発展し、2002年8月に開催された国際ウイルス学会で正式な分類学上の名称が定められ、ノーウォークウイルスは、カリシウイルス科のノロウイルス属に分類されることとなった。

この新しいウイルス分類に基づいて、食品衛生法の食中毒原因物質名「小型球形ウイルス」は「ノロウイルス」と「ノロウイルス以外の小型球形ウイルス」に変更された。

S R S Vの構造は、直径27~38ナノメートル¹の球形構造で、ウイルスとしては小型である。構成物質は一本鎖RNA(リボ核酸)とそれを取り巻く淡白質から成る。

1 ナノメートル(nm) : 1mmの百万分の1

S R S Vの分類は以下のとおりである。

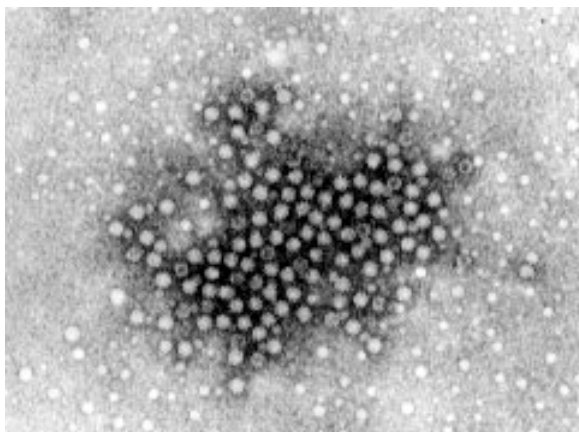
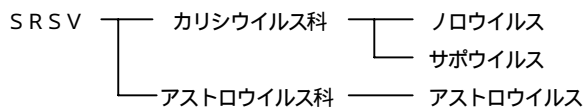


写真 - 1 ノロウイルス電子顕微鏡写真

2.1 ノロウイルス (Norovirus)

S R S Vによる胃腸炎のほとんどがノロウイルスであり、食中毒の原因物質としてよく知られている。現在、ノロウイルスは遺伝子のタイプにより、G とG の2つの群に大きく分けられ、さらに何種類もの型に細かく分かれています。

症状は、吐き気やおう吐を始め、下痢・腹痛などの胃腸炎症状や、発熱、頭痛などの軽い風邪に似た症状を起こす場合もある。健康な人の場合、これらの胃腸炎症状は1~3日で治まるが、体力の弱い幼児や高齢者などの場合は、ひどい下痢により脱水症状等をおこすことがある。平成15年度の食中毒発生件数のうち、ノロウイルスが原因物質として判明したものは17.8%、患者数では

36.5%であった。

ノロウイルスは人以外にウイルスの増殖が確認された動物はなく、また、培養細胞を用いても増殖させることができない。

一般に用いられる検出方法は、RT-PCR法、リアルタイムPCR法が用いられている。

2.2 サポウイルス (Sapovirus)

ノロウイルスと同じカリシウイルス科に属しており、電子顕微鏡像では、ノロウイルスと異なり、カリシウイルスの名前の由来となっている“ダビデの星”と称される明瞭な表面構造が確認できる。乳幼児における急性胃腸炎の主要病原体のひとつであるが、食中毒の原因となることはほとんどないと言われている。

サポウイルスもノロウイルスと同様人以外の動物に感染せず、培養細胞でも増やすことができない。サポウイルスは全塩基配列が明らかにされた2株しかなく、疫学調査、基礎的研究ともにノロウイルスに比べて大幅に遅れている。

2.3 アストロウイルス (Astrovirus)

電子顕微鏡では、粒子が星(Astorn)状構造に見えるのでこの名が付いた。

乳幼児の嘔吐下痢症の約数%から検出され、時に集団発生することがある。潜伏期間は1~2日で、下痢や嘔吐の症状を呈する。

このウイルスは、人工的に培養することが可能であるので、定量試験(プラック法)が可能である。

3. ウイルスの紫外線照射実験

汚水処理施設で用いられる代表的な消毒(殺菌)法は、塩素、紫外線、オゾン等があるが、残留性による放流水域の生物に与える影響が無く、漁業集落排水のような小規模な施設の場合、比較的安価に設置できる等の理由から紫外線消毒法が最も有効な対策方法のひとつと考えた。

しかし、これまでの紫外線消毒は、大腸菌群の殺菌を目的としており、ノロウイルスの不活化に必要な紫外線照射量は把握されていなかった。また、ノロウイルスは、培養できる細胞が見つかっておらず、ウイルス量を直接確認する方法がないため、定量計測が可能でノロウイルスに類似するウイルス(アストロウイルスとロタウイルス)を用いて下記の紫外線照射実験を行った。

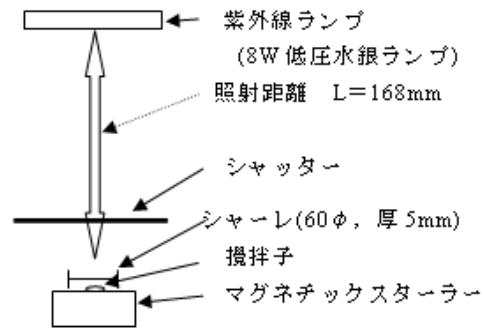
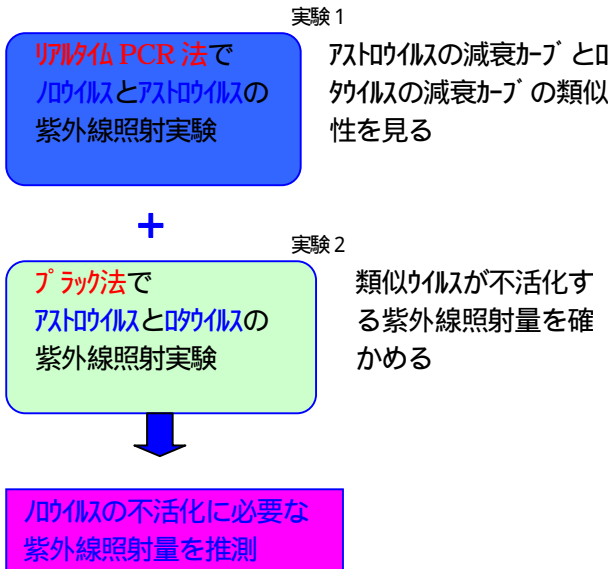


図 - 1 実験装置の構造

3.1 ノロウイルスとアストロウイルスの紫外線照射実験 (リアルタイムPCR法)

アストロウイルスとロタウイルスを用いた理由としては、以下のとおりである。

アストロウイルスはノロウイルスと同様な腸管系ウイルスであり、培養できブラック法による感染力価の評価が可能である。

アストロウイルスは、ノロウイルスと同じSRSV (小型球形ウイルス) に分類され、ウイルス粒子の大きさや1本鎖RNAの遺伝子を持つ等、ウイルス分類学上近い種であると言える。ロタウイルスは、ノロウイルスと同様、腸管系ウイルスによる病原微生物として多く検出されることから、両ウイルス共自然界に多く存在するウイルスであると言える。また、季節的な消長等も類似している。

なお、ロタウイルスは、2本鎖RNAウイルスでノロウイルスよりもやや大きい

今回の実験には次のような実験装置(写真 - 2、図 - 1)を用いて紫外線の照射量を変えておこなった。



写真 - 2 紫外線照射実験装置

アストロウイルス及びノロウイルスについて紫外線照射実験を行い、リアルタイムPCR法によるウイルス減少率を測定したところ、図 - 2 に示すとおり、アストロウイルスの減衰カーブとノロウイルスの減衰カーブはほぼ一致した。

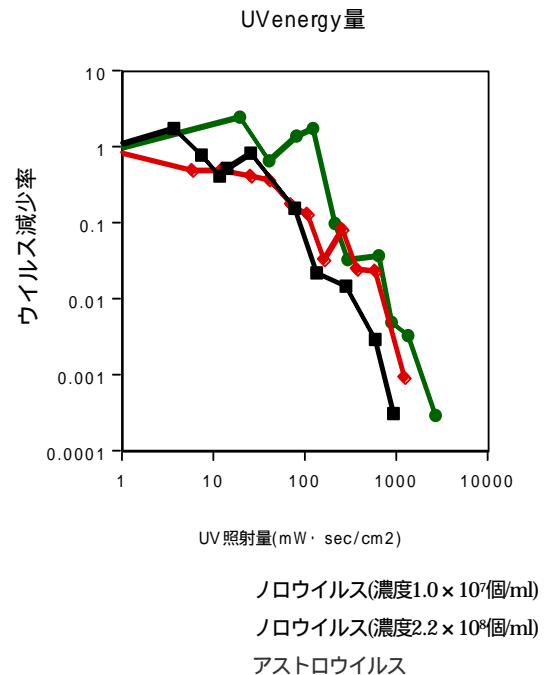


図 - 2 リアルタイムPCR法による紫外線照射量とウイルス不活化率

3.2 ブラック法によるアストロウイルスとロタウイルスの紫外線照射実験

ブラック減衰法により感染力価を測定した結果、 $55\text{mJ}/\text{cm}^2$ (図 - 3 3log 低下換算値 $66\text{mJ}/\text{cm}^2$)の紫外線を

照射すればアストロウイルス (1.82×10^6 PFU/ml) を 99.7%不活化させることが出来ることがわかった。またロタウイルス (3.8×10^5 PFU/ml) では、70mJ/cm² (図 - 4) の紫外線を照射すれば 99.9%不活化させることができることがわかった。

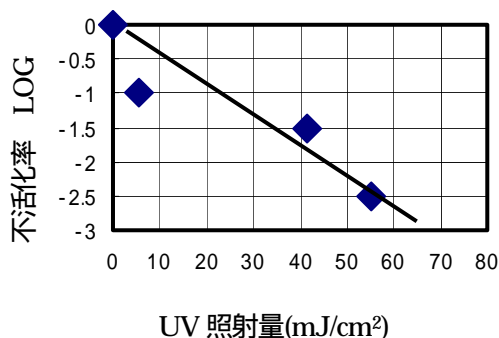


図 - 3 紫外線照射によるアストロウイルスの不活化率

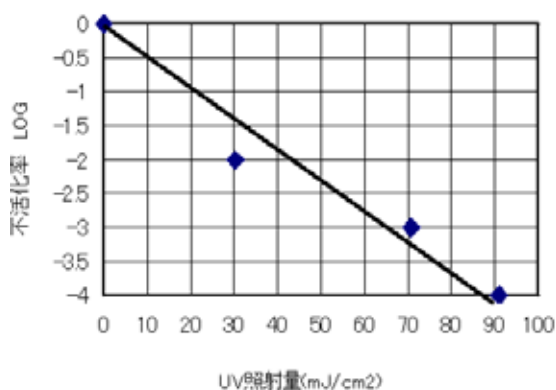


図 - 4 紫外線照射によるロタウイルスの不活化率

3.3 考察

ブラック減衰法で測定した結果、66mJ/cm² の照射量の紫外線を照射すれば、アストロウイルス量を 99.9%不活化 (3Log 低下) できることがわかった。一方、リアルタイムPCR法で測定した結果、約 1,000mJ/cm² で 99.9% (3Log 低下) の不活化が確認された。これは、紫外線照射後のウイルス量をリアルタイムPCR法で測定すると、紫外線照射による不活化したウイルスを検出してしまふことが推測される。

図 - 2のとおり、ノロウイルスとアストロウイルスの減衰カーブが一致することから、ノロウイルスは、アストロウイルスと同様な紫外線量で不活化が可能であると考えられる。このことから、現時点において、漁業集落

排水処理施設におけるノロウイルス対策として 70mJ/cm² の紫外線を照射すれば、99.9%不活化させることが出来ると推測される。

ただし、引き続きノロウイルスの他の基礎研究の動向等を見据え、必要に応じて見直しをする必要がある。

4. 今後の課題

これまでの紫外線照射実験の成果は室内実験の結果であり、更に信頼性を高めるため、既存の処理施設で1年間を通じて実証実験を行いデータの蓄積を行う必要がある。

また、漁業集落排水処理施設でのSRSV (ノロウイルス) の不活化率については、集落排水施設から放出されたウイルスがカキの体内へどのように取り込まれ、どれくらいのウイルス量で発症するのか等の調査研究の発展が必要である。

5. あとがき

本来、ノロウイルス対策は漁業集落排水処理施設独自の問題ではなく、公共下水道はじめ農業集落排水施設等下水道処理関連全体に及ぶ問題である。今後は、漁業集落排水以外の施設でも対策が行われるよう各関係機関との情報交換が必要である。

また、沿岸海域のノロウイルス汚染を防ぐためには、汚水処理施設による循環経路の遮断が重要であるが、より高い海域汚染防止効果を得るためには、循環経路に係る河川、食品衛生、医療などの行政機関やカキ生産者、飲食店、食品加工販売などの民間を含めた総合的なノロウイルス対策の構築が必要であり、各方面の関係者が一体となった取り組みが求められる。

謝 辞

本実験を行うにあたり紫外線実験装置については、岩崎電気株式会社より貸与して頂きました。ここに記して謝意を表します。

【参考文献】

- 1) 植木洋, 秋山和夫, 渡部徹, 大村達夫: 遺伝子相同性にもとづく Norovirus(NV)のカキへの汚染経路の解明, 環境工学研究論文集・第40巻・2003