

水中病原ウイルスによる水環境汚染の実態

Actual situation of water pollution with pathogenic viruses

さ の だい すけ うえ き ひろし わたな べ とおる
佐野大輔：植木 洋：渡部 徹
Daisuke SANŌ Hiroshi UEKI Toru WATANABE

はじめに

戦後の高度経済成長とともに急速に進んだ上下水道の整備に伴い、本邦におけるコレラや赤痢等の病原細菌による水系感染症の発生は制圧されつつある(田口勝久ら, 1995)。それに対して近年では、人間に感染すると胃腸炎や発熱、嘔吐等を引き起こす水中病原ウイルスを起因とする感染症が日本のみならず世界中で発生しており、新たな制御対象としてこの水中病原ウイルスが注目されてきている。少子高齢化による抵抗力の低下した人々の増加、国際化・地球温暖化による外来ウイルスを起因とする輸入感染症の発生等、社会構造や環境の変化に伴って病原ウイルスに対する感染リスクが今後さらに増加することも懸念されている。

水中病原ウイルスは、冬季に広く被害をもたらして話題となったノロウイルスを筆頭に100を越す種類が存在する。これらの病原ウイルスは患者糞便中に高濃度で存在するため、し尿処理水を主な汚染源とし河川等を介して水環境を汚染していると考えられてきた。しかしながら、水中病原ウイルスは人間への感染能力を保持しながらも一般的には希薄濃度で水環境中に存在するため、これまでその汚染実態を把握することすら非常に困難であった。ところが近年になり、水環境の病原ウイルス汚染に対する有効な施策を講じていくために水中病原ウイルスによる汚染の実態を明らかにする必要があるという認識のもと、さまざまな水環境中からの病原ウイルス検

出手法が開発され、適用されつつある。日本国内においても水中病原ウイルスに関する研究は着実に進展しており、世界に伍する研究体制のもと重要な成果が得られつつある。そこで本稿では、まずわが国における水中病原ウイルスによる被害および従来の水処理ではウイルス除去が困難である現状をまとめ、水中病原ウイルスによる水環境汚染の実態について調査した結果を示すこととする。

I. 水中病原ウイルスによる被害の現状

水中病原ウイルスによる感染症は、衛生状態が改善されている本邦においても毎年のように報告が相次いでいる。図1は、ヒト由来の検体から分離されたウイルス分離数の年次推移を示したものである。——で示した腸管系ウイルスの中には、水系感染症を引き起こすウイルスであるエコーウイルス、コクサッキーAウイルス、コクサッキーBウイルス、ロタウイルス、エンテロウイルス71型、アデノウイルス40、41型およびノロウイルスが含まれている。これらのウイルスは手足口病、胃腸炎、ヘルパンギーナ(夏風邪)および無菌性髄膜炎等を引き起こすことが知られており、これらの感染症患者からのウイルス分離数が図1に示されている。比較としてインフルエンザウイルスの分離数を——で示したが、この中には日本国内で蔓延する主要な種類であるインフルエンザウイルスA型(H1N1, H3N2)およびインフルエンザウイルスB型が含まれている。インフルエンザウイルスの分離は冬季のみに集

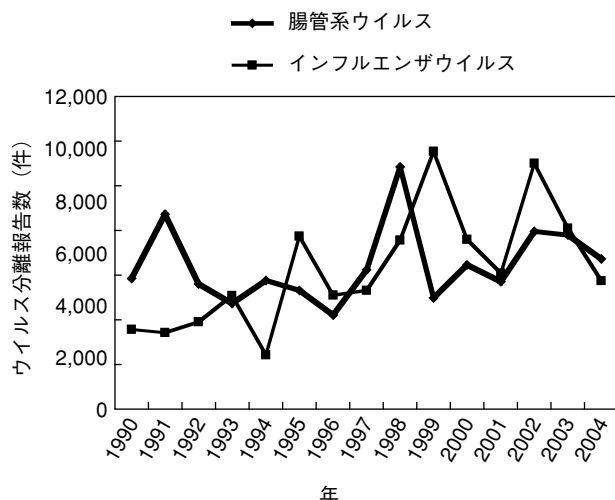


図1 日本国内における腸管系ウイルス分離数の年次推移

腸管系ウイルスにはエコーウイルス、コクサッキーAウイルス、コクサッキーBウイルス、ロタウイルス、エンテロウイルス71型、アデノウイルス40、41型およびノロウイルスが含まれている。インフルエンザウイルス(■)にはインフルエンザウイルスA型(H1N1、H3N2)およびインフルエンザウイルスB型が含まれている。これらのデータは国立感染症研究所、感染症情報センターホームページ(<http://idsc.nih.go.jp/index-j.html>)より得た。

中するのに対し、腸管系ウイルスの分離数は夏期に流行するコクサッキーウイルスや冬期に流行するロタウイルスやノロウイルスをまとめて加算した結果であるという違いがあるものの、通年で見ると腸管系ウイルスによる感染症患者数はインフルエンザのそれと比べて同程度であることが分かる。腸管系ウイルスの感染は不顕性感染に終わることが多いことを考えると、腸管系ウイルスに罹患し、ウイルス粒子を排出しているキャリアの人数は、インフルエンザの患者数を大幅に上回ることが推測される。

図2には、腸管系ウイルスの中でも分離報告の多いエコーウイルスについて、分離数の年次推移を示した。エコーウイルスの中で分離数の年次推移が特徴的であったエコーウイルス13型と30型についてもそれぞれ示してある。エコーウイルス30型の分離数には1991年と1998年に大きなピークがあるが、このような発生パターンを示すウイルスに関しては、抗体非保有人口比率の増加が考えられるであろう。ただし、このエコーウイルス30型による無菌性髄膜炎は、遺伝子的に系統の異なるウイルスが出現し、これが世界的に伝播することによって引き起こされると細矢らは指摘しており(細矢ら, 2005)、血清型の変化をもたらさない程度の遺伝子変異が周

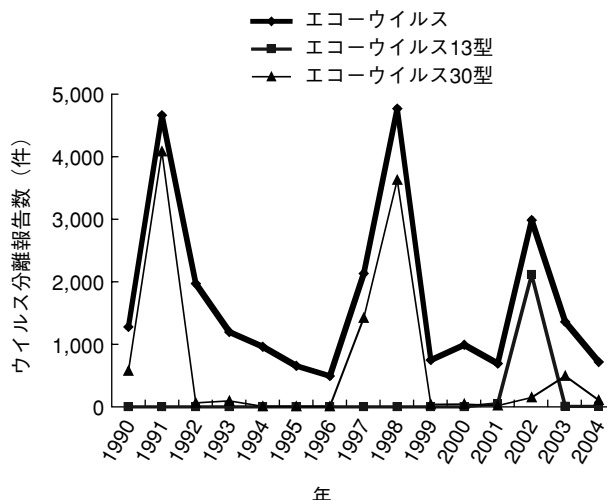


図2 日本におけるエコーウイルス分離数の年次推移

これらのデータは国立感染症研究所、感染症情報センターホームページ(<http://idsc.nih.go.jp/index-j.html>)より得た。

期的な大流行に寄与していることも推測される。エコーウイルス13型については、日本国内における分離報告が2000年まではゼロであったのに対し、2001年に49株が分離された後、2002年には2,103株に急増した。このエコーウイルス13型に関しては、2000年から米国および欧州での分離報告が急増していることから(CDC, 2001)、分離数急増の理由の1つとして輸入感染が疑われる。その後、2003および2004年は共にエコーウイルス13型の分離数が7まで激減しており、今後エコーウイルス30型と同じように周期的な推移を示すのかどうか、注意が必要であるといえる。

II. 水中病原ウイルスの除去・不活化

水中病原ウイルスは患者糞便中に多量に存在するため、わが国の都市域のように下水道が発達した地域では、家庭排水に混入した状態で下水処理場へと流れ込むことになる。したがって下水処理過程において水中病原ウイルスの除去・不活化が十分に行われなかった場合、水中病原ウイルスは下水処理水と共に水環境中へと放出される。これらの病原ウイルスにより水道水源が汚染される状況も想定され、その場合には浄水処理が水中病原ウイルスによる感染症発生を防ぐ砦となる。ここでは、浄水・下水処理過程における水中病原ウイルスの除去・不活化効率についての既往の研究をまとめることとする。

Payment は、ウイルス、細菌、寄生虫および孢子（原虫）について、環境中における生存期間、ろ過による除去効率および消毒剤に対する耐性を模式的に図3のようにまとめている（Payment, 1998）。環境中で数カ月から数年生存するウイルスは、急速砂ろ過等のろ過方式が主要な処理方法である浄水処理において、サイズが小さいために除去されにくい（図3A, B）。したがって消毒プロセスがウイルス処理において最も重要な位置を占めるが、原虫ほどではないものの、ウイルスは細菌と比べて高い消毒剤耐性を有している（図3C）。

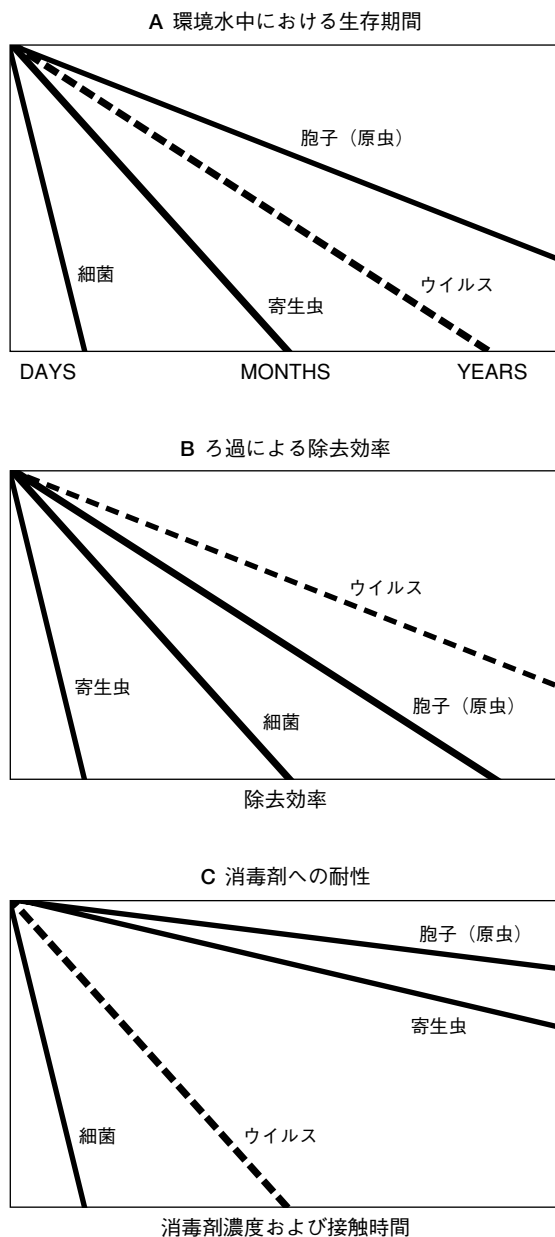


図3 環境中の主要な微生物の相対的な除去・不活化効率 (Payment, 1998. から転載)

浄水場および下水処理場において広く普及している消毒処理は、塩素処理、オゾン処理および紫外線処理である。浄水処理においては、水道蛇口で遊離残留塩素 0.1mg/L 以上であることが義務づけられているため、塩素消毒が必ず行われている。塩素消毒による不活化における CT 値を表1に示した。CT 値は実験条件により様々な値が得られているが、いずれにしてもウイルスが細菌に比べて高い塩素耐性を有していることは確かである。

表2には、2-log の不活化に必要なオゾンの CT 値を示した。オゾンの CT 値には塩素消毒に見られるような大きな耐性の違いは見られないが、USEPA はウイルスを 2-log 不活化するために必要なオゾンの CT 値 (5℃) の平均的な値を 0.6 (大腸菌の約 30 倍) としている (USEPA, 1989)。表3には 3-log の不活化に必要な紫外線露光量を示したが、大腸菌に比べ、ウイルス不活化に必要な紫外線露光量は軒並み高い値になっている。特に 2 本鎖 DNA を有するアデノウイルスが、紫外線に対して比較的高い抵抗性を有するという報告がある (Gerba, 2002)。

ウイルス独自の消毒剤耐性に加え、処理水中の懸濁有機物成分の存在により、さらにウイルス不活化効率が低下することが報告されている (Foster, 1980)。これは消毒剤要求量の増加に加え、直径が数十 nm のオーダーであるウイルス粒子が懸濁物質に吸着することにより、消毒剤との接触効率が低下することが主な理由であるとされている。細菌よりも消毒剤耐性の高いウイルスに対処するための方策として、消毒剤濃度や接触時間の増加は当然検討されるであろう。しかしながら、これらは毒性を持つ消毒副生成物発生やエネルギーコスト増の問題を生じさせるので、敬遠される方策であるといえる。

以上に述べたように、従来の水処理プロセスでは水中病原ウイルスの十分な除去・不活化は期待できず、特に下水処理過程で除去もしくは不活化されなかった水中病原ウイルスが下水処理放流水に混入した状態で水環境中へ放出されていることが容易に想像される。このような病原ウイルスは、水中懸濁質に吸着した状態で、もしくは二枚貝等の体内に蓄積された状態で、人間へ感染する機会を待ち続けることになるが、水環境中における病原ウイルスの動態については未だ明らかではなく、ウイルスによる水環境汚染を把握するための取組みは未だ途上であ

表1 不活化に必要な遊離塩素のCT値

	疾病 効率 (%)	CT値 (mg*min/L)	参考文献
<i>E. coli</i> (strain C)	99.9	0.09 ± 0.003	Taylor <i>et al.</i>
ポリオウイルス1型	99	4	Blackmer, <i>et al.</i>
A型肝炎ウイルス	99	200	Li, <i>et al.</i>

表2 2-logの不活化に必要なオゾンのCT値

	CT値 (mg*min/L)	参考文献
大腸菌	0.006 - 0.02	神子
ヒト腸管系ウイルス	0.006 - 0.72	神子
ポリオウイルス1型	0.1 - 0.2	Vulcan Chemicals
ロタウイルス	0.006 - 0.06	Vulcan Chemicals
A型肝炎ウイルス	< 0.03	Sobsey

表3 3-logの不活化に必要な紫外線(254nm)露光量

	紫外線露光量 (mJ/cm ²)	参考文献
<i>E. coli</i>	6.5	金子
ポリオウイルス1型	23	Gerba <i>et al.</i>
エコーウイルス1型	25	Gerba <i>et al.</i>
エコーウイルス2型	20.5	Gerba <i>et al.</i>
コクサッキーウイルス B5	27	Gerba <i>et al.</i>
コクサッキーウイルス B3	24.5	Gerba <i>et al.</i>
アデノウイルス2型	119	Gerba <i>et al.</i>
アデノウイルス40型	167	Thurston-Enriquez <i>et al.</i>

る。次章以降では、下水処理場への流入下水や下水処理放流水、河川水、海水および養殖カキ等のサンプルからの水中病原ウイルス検出を試み、病原ウイルスによる水環境汚染の実態を把握するための調査結果を示すこととする。

Ⅲ. 水環境を介したノロウイルスによる養殖カキの汚染経路の推定

ノロウイルスによる養殖カキの汚染は、カキがプラクトンを摂餌する際にノロウイルスと一緒に消化盲嚢部へ取り込まれ蓄積されることが原因と考えられている(染谷, 2000)。つまりカキ養殖海域のノロウイルスによる汚染がカキ自体の汚染に直結する。カキ養殖海域のノロウイルスによる汚染の経路は主にヒト、流入下水、処理水、河川、海水と考えられているが、この水環境を経由したヒトから養殖カキに至る汚染経路の実証は、同一地区で同一期間

に胃腸炎患者便、環境水およびカキの検体を採取することが困難であることから確認が難しく、これまで十分には明らかにされてこなかった。

ここでは感染性胃腸炎患者から検出したノロウイルス遺伝子と、同じ地区を流れている河川、およびその河川が流入している海域で養殖したカキから同時期に検出したノロウイルス遺伝子について塩基配列を決定し、その系統解析に基づいて養殖カキのノロウイルスによる汚染経路を明らかにすることを試みた。

Ⅲ. 1 材料および方法

Ⅲ. 1. 1 材料

患者便は感染性胃腸炎の流行期の2001年11月～2002年2月、および2003年12月～2004年1月に1つの定点医療機関で採取した。流入下水および下水処理水は同地区の下水処理場で患者便の採取と同時期に採取した。この処理場ではオキシデーショ

ドイツ法 (Oxidation Ditch : OD 法) が採用されており、同地区の下水道普及率は 62.8% (2002 年度) である。また、下水処理場の上流には各家庭に設置された浄化槽で生活排水やし尿を処理している地域が存在する。河川水は、上記下水処理場からの下水処理放流水を受容している B 川において 2003 年 12 月 12 日, 25 日, 2004 年 1 月 6 日, 15 日および 26 日に採取した。なお、河川水の検体採取地点は下水処理場の処理水が排出している地点から約 200m 下流の地点とした。養殖カキは B 川が流入する A 湾で養殖されているカキを 2003 年 12 月 8 日, 18 日, 25 日, 2004 年 1 月 6 日, 15 日および 26 日にそれぞれ 10 個体ずつ合計 60 個体採取した。

Ⅲ. 1. 2 ノロウイルス濃縮

a. 感染性胃腸炎患者便

患者便中のノロウイルスは国立感染症研究所による公定法に従って濃縮を行った。すなわち蒸留水を用いて 10% 乳剤を作成し、室温で 9,200×g、10 分間遠心分離した上清をウイルス抽出液とした。

b. 流入下水、処理水および河川水

検体 1L に対してポリエチレングリコール 6000 を終濃度 10% (w/v) に加え、さらに塩化ナトリウムを終濃度 2.34% (w/v) に加えた。その後、magnetic stirrer を用いて 4℃ で一夜攪拌した。攪拌後に遠心管へ流し込み、10,000×g、4℃、30 分間遠心分離し、沈渣を滅菌 MilliQ 水に分散した。十分に分散させた後、さらに 10,000×g、4℃、10 分間遠心分離し、上清をウイルス濃縮検体とした。

c. 養殖カキ

カキは無菌的に中腸腺を摘出後、重量を測定した。5mL のチューブに φ3.2mm のステンレスビーズ 2 個とカキ中腸腺 1 個を入れ 1mL の蒸留水を加えた後、Micro Smash™ SM-100 (TOMY) で中腸腺を 4,500rpm 1 分間破碎後、9,100×g、15 分間遠心分離し上清をウイルス抽出液とした。

Ⅲ. 1. 3 ノロウイルス RNA の抽出

ノロウイルス RNA の抽出は、ウイルス抽出・濃縮液 140μL を QIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN) を用いて添付のプロトコールに従って行った。RNA 誘出量は 60μL とした。

Ⅲ. 1. 4 ノロウイルス遺伝子の定量および塩基配列解析

ノロウイルス遺伝子の定量は公定法である Kageya-

ma ら (2003) の方法に準拠した。定量 PCR 法でノロウイルス遺伝子が検出された検体をすべて RT-PCR に供し、得られた産物の遺伝子配列を決定した。

Ⅲ. 2 結果および考察

感染性胃腸炎患者、流入下水、処理水、河川水および養殖カキから RT-PCR 法で検出されたノロウイルス遺伝子のカプシド領域の 241 ヌクレオチド (nucleotides : nt) について塩基配列を決定し、系統樹を作成した (図 4)。図 4 の Box 1 は、2001 年 12 月に感染性胃腸炎患者から得られたノロウイルス遺伝子と、カキおよび河川水から得られたノロウイルスの遺伝子配列が完全に一致したことを表している。また図 4 の Box 2 では、2003 年から 2004 年にかけての感染性胃腸炎流行時期において、下水処理場への流入下水、河川水およびカキから得られたノロウイルスの遺伝子の相同性が高かった (96% 以上) ことを示している。これらのことは、下水処理場におけるノロウイルス除去が十分でないために、家庭排水に混入しているノロウイルスが水環境中に放出され、カキを汚染していることを示唆しているといえる。

図 4 の Box 2 に分類されたノロウイルス遺伝子の配列は、ここ数年世界中から分離報告が相次いでいる Lordsdale 株に近親であった。Harrington らは、この Lordsdale 株のウイルス粒子は他の株と比べて広い範囲の組織・血液型抗原 (histo-blood group antigens : HBGA) に対して吸着能力を有すると報告しており、このような広範な吸着親和性こそが、このノロウイルスが世界中で流行した理由であろうと推測している。今回の調査対象域においても、他の地域と同様に Lordsdale 株やそれに近親な株による胃腸炎等の感染症が発生し、下水処理場等を経て水環境中および養殖カキを汚染したものと考えられる。

Ⅳ. 水中病原ウイルスによる水環境汚染の実態

水中病原ウイルスによる水環境汚染の実態を把握するため、下水処理場でのノロウイルスの挙動、および様々な水環境中におけるノロウイルス遺伝子の濃度を明らかにする調査を行った。特に下水処理場で採取された流入下水および活性汚泥については、各サンプルの遠心分離後の上清および沈渣に対してそれぞれノロウイルス遺伝子の定量を行い、ノロウ

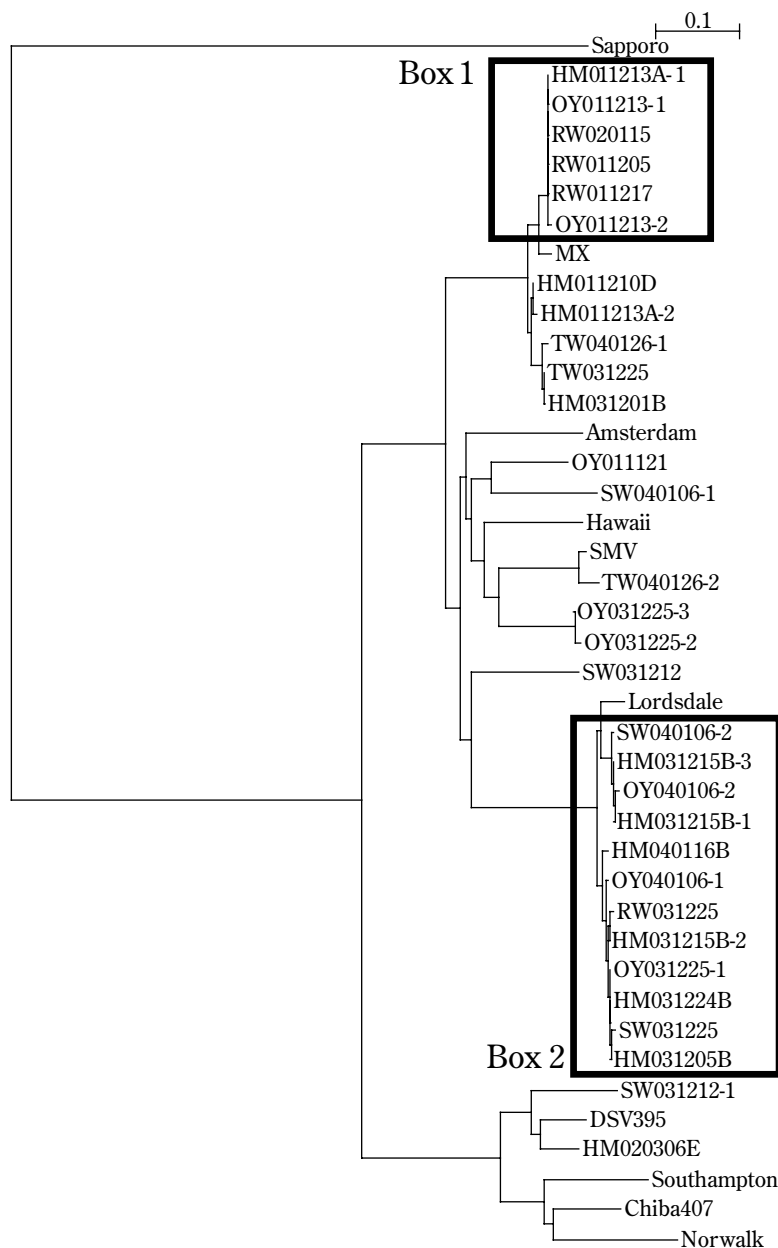


図4 ノロウイルス遺伝子配列(241塩基)を用いて、NJ法により作成した系統樹
この系統樹の作画はNjplot (<http://pbil.univ-lyon1.fr/software/njplot.html>)により行った。

イルスの挙動の解明を試みた。なお、現在のところ感染能力を保持したノロウイルスを検出する組織細胞系は確立されていないため、本調査においては定量PCRを用いてノロウイルス遺伝子を定量することを試みた。

IV. 1 実験方法

IV. 1. 1 検体採取

前章と同じ下水処理場において2003年2月～3

月にかけて2週間に1回(計3回)、2003年11月～2004年10月にかけて月1回(計12回)の検体採取を行った。検体は、流入下水、下水処理水および処理槽(オキシデーションディッチ)内の下水汚泥を10Lずつ採取し、その日のうちに実験室へ持ち帰り10℃の恒温室に保管した。また、2003年11月～2004年10月にかけての月1回(計12回)の調査においては、下水処理場での検体採取と同時に、下水処理場からの処理水を受容するB川、およびB川

が流入する A 湾において検体採取を行った（計 13 地点, 図 5）。各採取地点において、表層水を 20L 採取し、その日のうちに実験室へ持ち帰り 10℃ の恒温室に保管した。

IV. 1. 2 ノロウイルス濃縮方法

a. 流入下水および下水汚泥のノロウイルス濃縮方法

流入下水および下水汚泥からのウイルスを検出するため、以下に述べる方法により NV を誘出・濃縮した。検体 400mL を 9,000×g、4℃、15 分間遠心分離し、上清を滅菌済み 500mL ガラス瓶に移した。沈渣からのウイルス誘出には Enzymatic Virus Elution method (EVE 法) (Sano *et al.*, 2003) を用いた。遠心上清および EVE 法により得られた沈渣からの誘出検体にポリエチレングリコール 6000 を終濃度 8% になるように加え、magnetic stirrer を用いて 4℃ で一晩攪拌した。攪拌後、遠心管 8 本に流し込み、9,000×g、4℃、90 分間遠心分離し、沈渣を 0.15M リン酸バッファー (pH : 9.0) 4mL 中に分散させた。十分に分散後、さらに 9,000×g、4℃、10 分間遠心分離し、上清の pH を 7.0 に調整して検体とした。

b. 河川水、下水処理水からのウイルス濃縮

河川水および下水処理水の検体 1L に対してポリエチレングリコール 6000 を終濃度 10% (w/v) に加え、さらに塩化ナトリウムを終濃度 2.34% (w/v) に加えた。その後、magnetic stirrer を用いて 4℃ で一晩

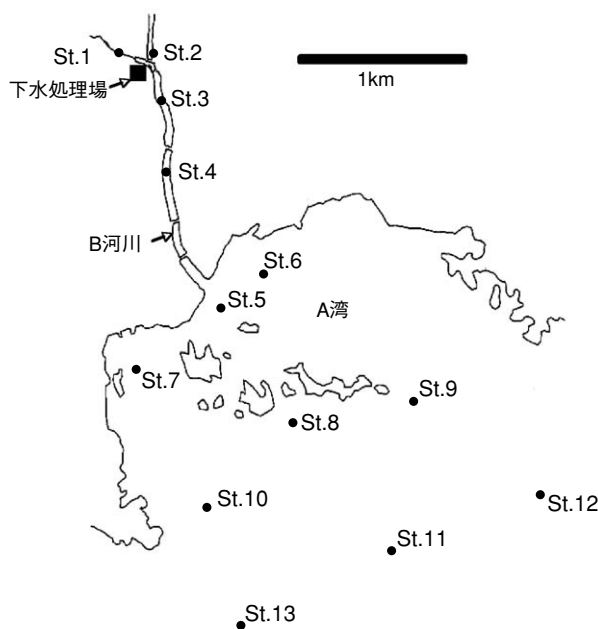


図 5 調査地域およびサンプリングポイント

攪拌した。攪拌後に遠心管へ流し込み、10,000×g、4℃、30 分間遠心分離し、沈渣を滅菌 MilliQ 水に分散した。十分に分散後、さらに 10,000×g、4℃、10 分間遠心分離し、上清をウイルス濃縮検体とした。

c. 海水

海水からのウイルスの濃縮は Katayama ら (2003) の方法によって行った。すなわち、海水 20L を孔径 0.45μm の陰電荷フィルターで加圧ろ過を行い酸洗浄後、アルカリで誘出した。得られた誘出液 50mL は限外ろ過を行ってウイルス濃縮液とした。なお、濃縮液量は 5mL とした。

IV. 1. 3 ノロウイルス遺伝子定量方法

ノロウイルス遺伝子の定量は公定法である Kageyama ら (2003) の方法に準拠した。なお、人に感染するノロウイルスの遺伝子型として GI および GII が存在するが、本調査では、GI および GII の総数をノロウイルス遺伝子数とした。

IV. 2 実験結果および考察

IV. 2. 1 流入下水

図 6 に流入下水中のノロウイルス遺伝子濃度の季節変化を示した。冬季に流入下水中のノロウイルス濃度は著しく増加し、最大値は 1mL 当たり 1.4×10^4 コピーに達した。前章で示したように、冬季に多く発生するノロウイルスによる感染性胃腸炎患者から得られたノロウイルスは流入下水に混入すると考えられるが、ノロウイルス遺伝子の定量的な分析からも同様の状況が裏付けられたといえる。Laverick ら

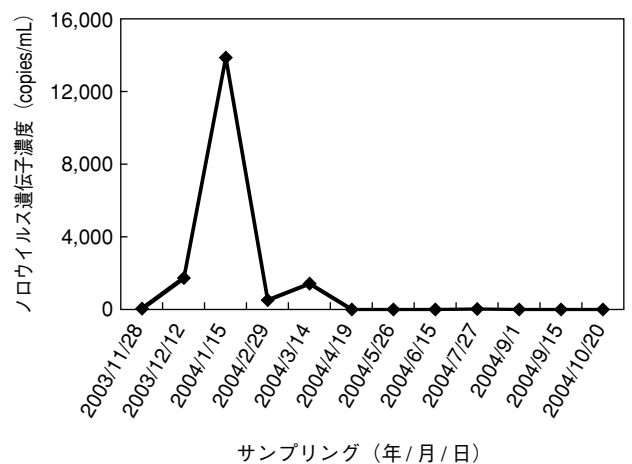


図 6 下水処理場への流入下水中のノロウイルス遺伝子定量結果

は、イギリス国内のある下水処理場における流入下水において、ノロウイルス遺伝子濃度の最大値が冬季において1mL当たり 1.8×10^4 コピーに達したことを報告している (Laverick *et al.*, 2004)。下水道の規模によって濃度は大きく変動すると考えられるものの、ノロウイルスによる感染性胃腸炎の流行時期においては、流入下水1mL当たり 10^4 コピー程度のノロウイルス遺伝子濃度には十分に達しうると考えられる。今回の調査対象である下水処理場は処理水日量が約 $4,000\text{m}^3$ であるから、ノロウイルス遺伝子1コピーをノロウイルスの1粒子に由来すると仮定すると、感染性胃腸炎の流行時期には1日当たり約 10^{13} 粒子が下水処理場へと流れ込んでいる計算になる。

IV. 2. 2 下水汚泥および下水処理水

図7には、下水処理場から得られた下水汚泥および下水処理水中のノロウイルス遺伝子濃度の季節変化を示した。これらのサンプルにおいては、流入下水と同様、冬季にノロウイルス遺伝子濃度のピークが見られたが、それらのピークは流入下水のそれと比べて1~2カ月遅れて出現した。図7で灰色の線で示した値は、下水汚泥中の固形分に含まれていたノロウイルス遺伝子濃度である。下水汚泥中の値を示した黒線と比較してわかるように、下水汚泥中のノロウイルスは、ほとんどすべてが汚泥フロック等の固形分に吸着した形で存在していた。これらの結果は、エンテロウイルスにおいても見られるのと同

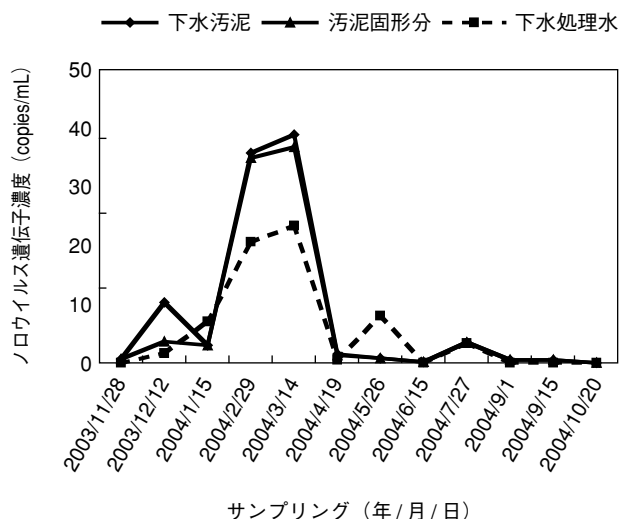


図7 下水汚泥及および下水処理水中のノロウイルス遺伝子定量結果

様に、ノロウイルスも下水汚泥中では固形分に吸着した形で存在し、少なくとも数カ月の間は下水汚泥中に留まっていると考えられた。

下水処理水中のノロウイルス遺伝子濃度は、3月に最大値23コピー/mLを得た。今回の調査対象である下水処理場は処理水日量が約 $4,000\text{m}^3$ であるから、ノロウイルス遺伝子1コピーをノロウイルスの1粒子に由来すると仮定すると、感染性胃腸炎が流行する時期には1日当たり 10^{11} 粒子が河川へと流れ込んでいる計算になる。

IV. 2. 3 河川水

図8には河川水中のノロウイルス遺伝子の季節変化を示した。St.1において、冬季のみならず夏季にもノロウイルス遺伝子濃度の増加が見られた。St.1の周辺には下水道が普及していない地域が広がっており、この地域には各家庭に浄化槽が設置されている。その浄化槽からの排水がSt.1の上流域に流れ込んでいることから、St.1におけるノロウイルス遺伝子濃度の上昇は、これら地域における感染性胃腸炎の発生と関連があるものと予想される。

St.1、2および3での夏季におけるノロウイルス遺伝子の増加は当初予期しないものであった。一般に、ノロウイルスによる感染性胃腸炎の患者数は夏季になるとほとんどゼロとなる。流入下水、下水汚泥および下水処理水に関しては、そのことを反映していると思われるが、夏季においてはノロウイルス遺伝子が検出されなかった。河川水から夏季におい

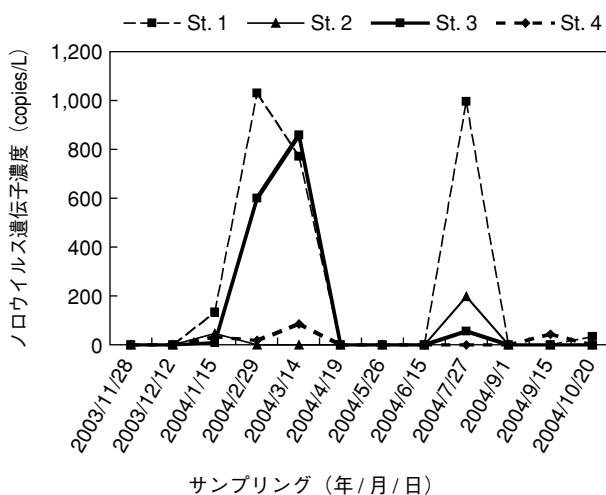


図8 河川水中のノロウイルス遺伝子定量結果

てノロウイルス遺伝子が検出されたことの理由の1つとして考えられるのは、上流域における散発的なノロウイルスによる感染性胃腸炎の発生である。夏季においても散発的な感染性胃腸炎は発生していることは他の国々でも報告されている (Lopman *et al.*, 2003)。冬季ほど大きな流行とならなくても、感染性胃腸炎患者が散発的に発生することで、浄化槽等を介して河川水中にノロウイルスが放出されることは十分考えられるが、この点については今後の精査が必要であるといえる。

IV. 2. 4 海水

ノロウイルスによる海水の汚染は、特にカキ養殖域を抱える地域で非常に重要な問題である。カキをはじめ二枚貝はウイルスを体内に蓄積する事が知られているが、その中でも火を通さずに食されることの多いカキは、ノロウイルスに起因する食中毒の重要な因子である。前章で示したようにカキと食中毒患者から得られたノロウイルス遺伝子の配列に高い相同性が見られることから、水環境を介したカキのノロウイルス汚染とそれを起因とする食中毒の発生が懸念される場所である。

図9に海水におけるノロウイルス遺伝子濃度の季節変化を示した。本調査においては、濃度は低いものの夏季の間のみノロウイルス遺伝子濃度の増加が見られた。これは流入下水や下水処理水など、ノロウイルスによる感染性胃腸炎患者の増加する冬季にのみノロウイルス遺伝子濃度の増加が見られたサ

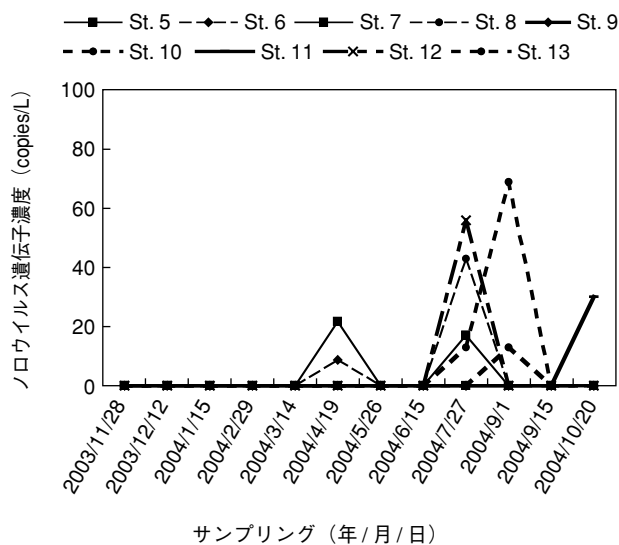


図9 海水中のノロウイルス遺伝子定量結果

ンプルとは全く逆の傾向である。このような結果が得られた理由の1つとして考えられるのは、湾内の底泥の影響である。底泥にノロウイルス遺伝子が蓄積している場合、夏季の方が台風等でその底泥が巻き上げられることが多いために、夏季のみ少量のノロウイルス遺伝子が検出された可能性が考えられる。また、湾内に大量に存在するカキによるろ過摂食もノロウイルス濃度に影響を与える可能性もある。いずれにしても、夏季における海水中のノロウイルス遺伝子の増加については引き続きの検討が必要である。

おわりに

日本の都市域のように下水道が発達した地域においても、現行の下水処理システムでは水中病原ウイルスの十分な除去・不活化が見込めないため、広い範囲で病原ウイルスによる水環境の汚染が見られるのが現状である。消毒剤耐性や環境中での安定性などの病原ウイルス自体の特性や、今後予想されるような都市過密化や高齢化等の社会構造の変化などの複合的な要因によって、将来的には病原ウイルスによる水環境の汚染が安全な水資源の確保という視点から見て深刻な状況に達する可能性がある。現段階から対応策を模索し、水環境中の病原ウイルスによる水系感染症発生を制御するシステムを考案していく必要があると考えられる。その過程で得られる知見は、日本のみならず、他の先進国やこれから下水道整備を行う途上国を含めた世界中の国々においても貴重なものとなるだろう。

文 献

- 1) 田口勝久, 田口眞: 公衆衛生における下水道の重要性. 下水道協会誌, **32**: 4-7, 1995.
- 2) 細矢光亮, 島田康司, 石古博昭: 無菌性髄膜炎より検出されたエコーウイルス 30 型の遺伝子系統解析. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会講演集, **53**: 113, 2005.
- 3) CDC. Echovirus type 13-United States, 2001. MMWR, **50**: 777-780, 2001.
- 4) Payment. Waterborne viruses and parasites: resistance to treatment and disinfection. OECD Workshop Molecular Methods for Safe Drinking Water. Interlaken'98: 1-11, 1998.
- 5) Taylor, R. H., Falkinham III, J. O., Norton, C. D. and Lechevallier, M. W.: Appl. Environ. Microbiol., **66** (4):

- 1702-1705, 2000.
- 6) Blackmer, F., Reynolds, K. A. Gerba, C. P. and Pepper, I. L.: Use of integrated cell culture-PCR to evaluate the effectiveness of poliovirus inactivation by chlorine. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66** (5) : 2267-2268, 2000.
 - 7) Li, J. W., Xin, Z. T., Wang, X. W., Zheng, J. L. and Chao, F. H.: Mechanisms of inactivation of Hepatitis A Virus by chlorine. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68** (10) : 4951-4955, 2002.
 - 8) 神子直之：塩素代替消毒技術の必要性と今後の課題. *水環境学会誌*, **21** (9) : 566-570, 1998.
 - 9) Vulcan Chemicals. Technical data sheet. 1-800-873-4898.
 - 10) Sobsey, M. D.: Health risks from enteric microbes in water and their control by disinfection. *ESE NOTES* : 1995.
 - 11) USEPA.: *Guidance Manual for Compliance with the Filtration and Disinfection Requirements for Public Water Systems Using Surface Water Sources* : 1989.
 - 12) 金子光美：水の消毒. 財団法人 日本環境整備教育センター.
 - 13) Gerba, C. P., Gramos, D. M. and Nwachuku, N.: Comparative inactivation of enteroviruses and Adenovirus 2 by UV light. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68** (10) : 5167-5169, 2002.
 - 14) Thurston-Enriquez, J. A., Haas, C. N., Jacangelo, J., Riley, K. and Gerba, C. P.: Inactivation of feline calicivirus and Adenovirus type 40 by UV radiation. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69** (1) : 577-582, 2003.
 - 15) Foster, D. M., Emerson, M. A., Buck, C. E., Walsh, D. S. and Sproul, O. J.: Ozone inactivation of cell-and fecal-associated viruses and bacteria. *Journal WPCF.*, **52** (8) : 2174-2184, 1980.
 - 16) 染谷雄一：カリシウイルス. *ウイルス*, **50** : 173-184, 2000.
 - 17) 国立感染症研究所：ウイルス下痢症マニュアル, 2003.
 - 18) Kageyama, T., Kozima, S., Shinohara, M., Fukushi, S., Hoshino, B., Takeda, N. and Katayama, K.: Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **41** : 1548-1557, 2003.
 - 19) Harrington P. R., Vinje J., Moe C. L. and Baric R. S.: Norovirus capture with histo-blood group antigens reveals novel virus-ligand interactions. *J. Virol.*, **78** (6) : 3035-3045, 2004.
 - 20) Sano, D., Fukushi, K., Yoshida, Y. and Omura, T. Detection of enteric viruses in municipal sewage sludge by a combination of the enzymatic virus elution method and RT-PCR. *Wat. Res.*, **37** (14) : 3490-3498, 2003.
 - 21) Katayama, H., Shimasaki, A. and Ohgaki S.: Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68** : 1033-1039, 2002.
 - 22) Laverick M. A., Wyn-Jones A. P. and Carter M. J.: Quantitative RT-PCR for the enumeration of noroviruses (Norwalk-like viruses) in water and sewage. *Letters in Applied Microbiology*, **39** : 127-136, 2004.
 - 23) Lopman B. A., Adak G. K., Reacher M. H. and Brown D. W. G.: Two epidemiologic patterns of Norovirus outbreaks: surveillance in England and Wales, 1992-2000. *Emerging Infectious Diseases*, **9** (1) : 71-77, 2003.