総説

食品とウイルス性胃腸炎
—小型球形ウイルスを中心に—

関根 大正*

Food and Viral Gastroenteritis
—Small Round Structured Virus—

Hiromasa SEKINE

(The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health: 3-24-1, Hyakunin-cho,
Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan)

はじめに

従来より、食品由来の非細菌性の下痢症がウイルスにより引き起こされることが知られていた。日本全国で主に冬季に非細菌性下痢症の集団発生が頻発し、患者便からは小型球形ウイルス (SRSV)、ロタウイルスなどが検出されていたが、ウイルスは食中毒の原因菌に含まれていなかったために、原因不明あるいは有症苦情として取り扱われてきた。近年の研究及び検出技術の進歩により、患者便及び食品からウイルスが検出されるようになり、このような状況を背景に、平成9年厚生省はSRSVを含むウイルスを食中毒の原因物質に加え、以来食品媒介のウイルス性下痢症も食中毒として取り扱われるようになった。本稿では、食品衛生上、話題になっているSRSVを中心に、胃腸炎の発症機序、免疫、感染経路、SRSVによる胃腸炎の発生状況や検査の状況と、食品特に貝類でのウイルスの濃縮などについて概説する。

1. SRSV 発見の経過

1972年、アメリカ・オハイオ州ノーウォークの小学校で起きた急性胃腸炎の集団発生（発生は1968年）から得られた試料を用い、回復期の患者血清と患者糞便を混合し、電子顕微鏡で観察したところ、直径27ナノメートルのウイルス粒子が抗体によって集合塊を形成している像が観察された⁹⁾。この集団発生の患者糞便の無菌ろ液は、ボランティアへの経口投与実験で小腸上部、特に十二指腸を中心とする胃腸炎を起こすことが確認され、このウイルス粒子が病原体であることが明らかになった。このウイルスがノーウォーク・ウイルスで、そ

の後SRSVの標準ウイルスとして最もよく研究されてきた。

SRSVとはsmall round structured virusの略で、電子顕微鏡で観察すると、小さく (small) 球形 (round) の構造をした (structured) ウイルス (virus) ということのでこのように呼ばれている (図1)。日本語では小型球形ウイルスと呼ぶ。SRSVにはさまざまな種類があり、現在、ノーウォークウイルス群とスノーマウンテンウイルス群に大別されている。SRSV以外にも胃腸炎を起こすウイルスがあるが、主なウイルスを表1に示した¹⁹⁾。

SRSVが食品媒介のウイルス性胃腸炎の主役を演じている理由として、①少量で感染し、発症率が高く感染人口が多い、②長期免疫が獲得できないために、感染が

図1. SRSVの電子顕微鏡像

* 東京都立衛生研究所：〒169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

表 1. 胃腸炎を起こすウイルス (推定されているウイルスを含む)

ウイルス	高リスク群	症状	発生状況
S R S V	ノーウォークウイルス群	全年齢	嘔吐・下痢
	スノーマウンテンウイルス群	全年齢	嘔吐・下痢
	ヒトカリシウイルス	幼児・老人	下痢
アストロウイルス	幼児～小児	下痢	症状は軽い傾向がある. 水系感染が示唆されている
ロタウイルス	乳幼児	下痢	冬期に発生する乳幼児嘔吐下痢症. 3歳までに90%が抗体を獲得する
アデノウイルス	幼児～小児	下痢	呼吸器症状を伴う場合がある. 発生頻度は低い
エンテロウイルス	幼児～小児	下痢	呼吸器疾患や神経疾患を伴う場合がある. 発生頻度は低い

図 2. 各地のノーウォークウイルスに対する抗体保有率

繰り返される, ③不活化されにくい, ④ヒトの腸内で増殖する, などの性質が挙げられる。

SRSV に対する抗体は 3～6 か月程度で感染防御力を失うことが知られているが, ある一定地域での抗体価を測定した結果では多くの人が抗体を獲得していることが報告されている^{6), 14), 21)} (図 2)。SRSV は食品中では増殖できず, ヒトの腸内で増殖し, 糞便中に排出され水系汚染を起こして, 食品を汚染してヒトに入ると言う循環を繰り返している一種の環境ウイルスであると言うことができる。

2. SRSV による胃腸炎の臨床所見と発症機序

主要な症状は吐き気, 下痢, 腹痛である。初発症状は吐き気, 嘔吐で, 続いて激しい下痢・腹痛が現れる^{11), 18)}。下痢は激しい水様便が数回続いたりするが, 血便はほとんどない。頭痛, 発熱, 咽頭痛などの感冒様

症状も見られる場合があるが, インフルエンザウイルスなどと比較すると, 発熱の程度は低い。

症状の持続期間は数時間から数日で, 多くは治療しなくても 1～2 日間で軽快するが (図 3), 若年者や病弱者などでは, 重症化や症状が遷延する場合がある。脱水症状に対して輸液などの対症的治療が必要となる。潜伏期間は平均 1～2 日であるが, 喫食後 2, 3 時間で発症した例もある¹⁸⁾。

ボランティアにウイルスを経口摂取させ, 胃腸炎の発症過程を病理組織学的に研究した報告によれば²²⁾, 上部小腸粘膜にのみ組織学的な変化が認められ, 胃や直腸の粘膜には変化は認められない。小腸粘膜の絨毛の短縮, 陰窩の拡大がみられ, 粘膜固有層には単核球や多核白血球の浸潤が認められ, 上皮細胞内に空胞形成がみられる (図 4)。これらの変化に伴ない胃の運動機能も低下し,

図3. SRSV 検出患者の主症状
(有効患者 714 名)

吐き気や嘔吐をおこすと考えられている。上記の病理組織学的変化は臨床症状の回復に伴って消失する。

3. SRSV の感染と免疫

SRSV による胃腸炎の病態については、米国でボランティアにろ過による無菌処理した SRSV を経口摂取させた実験で報告されている (図5)²⁵⁾。それによれば、SRSV に対して感受性のある人となない人がおり、感受性者では初回発症後、抗体が上昇し、しばらくの期間はウイルスの再投与に対して抵抗性を示して、発症しないが、この効果は数か月後には急激に低下する。一方、非感受性者では発症しないだけでなく抗体上昇もみられないので、これら非感受性者の腸管にはウイルスの増殖を許さない特別な機序があるものと考えられている。

過去に SRSV に感染したことを示す IgG 抗体を調査した日本の結果では、3 歳以下の小児の抗体保有率は 10% 以下であるが、学齢期以後抗体保有率は急激に増加し、20 歳代で 70%、50 歳以上では 90% 以上となる。また米国、スイス、エクアドル、ネパール、バングラデシュなどで成人の IgG 保有率を調査した結果も、日本におけると同様 50~90% 以上の保有率となっている (図2)。ボランティア実験における数か月後の再投与や、各国の調査でも、IgG 抗体を保有しているにもかかわらず成人が頻繁に罹患しており、SRSV に対する感染防御免疫に関しては未だ不明な点が多い。

4. SRSV 起因性胃腸炎の発生状況 (東京都)

東京都では、平成元年から都内で発生した食中毒調査に係わる事例のうち、①食中毒起因菌が検出されなかつたもの、②カキが関与したもの、③その他、の事例の検

図4. SRSV を摂取したボランティアの小腸の組織像
A: 摂取前, B: 摂取後
出典: Fields VIROLOGY, p. 796

	第1回 接種		第2回 接種		第3回 接種		
	↓	月	↓	週	↓		
A	■	41	→	■	8	→	■
B	■	28	→	■	8	→	○
C	■	27	→	■	4	→	○
D	■	42	→	■	7	→	○
E	■	40	→	■			
F	■	33	→	■			
G	○	33	→	○			
H	○	34	→	○			
I	○	34	→	○			
J	○	33	→	○			
K	○	33	→	○			
L	○	31	→	○			

■ = 発病

○ = 発病せず

■ = 発病
○ = 発病せず

図5. ボランティアの SRSV 感染実験

出典: New Eng. J. Med.: Vol. 297, p. 87, 1977

たもの、②カキが関与したもの、③その他、の事例の検体について、SRSV 検査を実施してきている。

1990 年 1 月から 1996 年 10 月にかけて、飲食物に

図 6. 非細菌性胃腸炎事例の月別発生数
(1990 年 1 月～1996 年 10 月：東京都)

表 2. 非発症者・従事者からの SRSV 検出
(東京都：1995. 4～1995. 12 有症苦情事例調査結果)

	非発症者についても検査した事例中 (21 事例)	従事者（非発症）についても検査した 事例中（18 事例）
PCR 検査で検出された例	8 件 (38%)	12 件 (67%)
EM 検査で検出された例	2 件 (10%)	5 件 (28%)
両検査とも (-)	13 件 (62%)	6 件 (33%)

図 7. 原因食品別にみた SRSV 検出事例発生状況
(1991 年～1994 年の集計：東京都)

よる胃腸炎の有症苦情事例のうち、SRSV が検出された事例の月別発生状況を示したものが図 6 である。検査の結果 64% に当たる 338 事例に SRSV が検出された。PCR 検査を開始した 1994 年 1 月からの集計では 296 不明事例数のうち 71% に当たる 211 事例に

SRSV が検出された。上記の ①、② の事例は毎年 10 月から 3 月に発生が集中しており、原因推定食品別にみた発生状況は図 7 のとおりで、カキ関連の事例が流通期間内に集中しているのは当然であるが、非カキ関連の事例のうち、学校給食は発生が通年に亘っているのが特徴的である。学校給食関連の事例は一事例当たりの患者数が多く、1991 年からの 4 年間の平均で、貝類が 1 事例当たり 11 人に対して、給食は 68 人であった。

学校を原因施設とする食中毒は、抗体保有率の低い若年者が感染のリスクを受けることから注意が必要である。

学校給食事例の原因推定食品には、サラダや果物、ケーキなどの非加熱食品が挙げられている。これらの食品については、食品従事者を介して SRSV に汚染されたのか、野菜や果物そのものに SRSV が混入していたのかについては不明である。

東京都内で発生した有症苦情事例では、原因推定食品を喫食しても発症しなかった人（非発症者）や食品従事者（非発症者）からも SRSV が検出されており（表 2）、SRSV の不顕性感染の程度はかなり高いと考えた方が適当である。不顕性感染者が 2 次感染の伝達者となっている可能性もある。

5. ウイルス性胃腸炎の発生状況（国）

このような SRSV による食中毒疑い事件の頻発に対して、厚生省は平成 9 年 2 月、「ウイルスが原因と疑われる食品由来の健康被害発生時の対応について」と題して、SRSV が原因と疑われる食品に由来する健康被害の発生概要の報告を都道府県に通達した。平成 9 年 9

表 3. ウイルスが原因と疑われる食品由来の健康被害発生に関する調査結果
(平成 9 年 1 月 1 日～平成 9 年 5 月 31 日)

検査の種類	実施件数	検出件数	検出率
PCR 検査のみ	63 件	51 件	81.0%
PCR 検査 + EM 検査	49 件	PCR のみで検出 13 件	26.5%
		両方で検出 16 件	32.7%
		EM のみで検出 11 件	22.4%
EM 検査のみ	23 件	17 件	73.9%
合 計	135 件	108 件	80.0%

平成 9 年 9 月 厚生省発表

表 4. SRSV の感染源 (推定されているものを含む)

ヒト由来			食品		
便	発症者	○	貝類	カキ	○
	非発症者	○		シジミ	○
	従業員	○		アサリ	○
				ムール貝	○
嘔吐物		○		サザエ	○
唾液		×	水	飲料水	×
咽頭うがい液		×		下水	×
			その他	野菜	×
				果物	×

○: SRSV が検出された
×: 検出されない, 又は検査されていない

表 5. SRSV が検出された事例の原因推定食品
(東京都: 平成 6 年)

推定原因食品 又は 喫食食品	貝 類:	生カキ・カキ酢・カキグラタ ン・カキのクリーム和え・サ ラ目のマリネ・帆立貝のマリ ネ・むき身アサリ
	給 食:	和風サラダ・オレンジ・チョ コムス・りんごサラダ
	その他:	バナナチョコ・タコ焼・鉄板 焼・ウナギ蒲焼・牛刺身・天 丼・チゲ雑炊・実習食・アン コウ肝・にぎり寿司・海鮮 丼・ピザ・フィッシュソー セージ・ロールパン

月に発表された, 平成 9 年 1 月から 5 月の第 1 回の厚生省調査結果報告を表 3 に示したが, 患者の糞便検査の結果は検査事件のほぼ 8 割から SRSV が検出されていた. 今後, SRSV 検査法の普及とともに, SRSV の我が国における侵淫状況が解明されることと思われる.

6. SRSV の感染経路と胃腸炎の原因推定食品

SRSV の感染経路は, 汚染食品を介した経路と感染者からの 2 次感染に大別される (表 4). 表 5 に平成 6 年に東京都の SRSV 検査でプラスとなった事例の届け出喫食食品を挙げたが, SRSV による胃腸炎発症の平均潜伏時間が 1~2 日なので, 届け出られた喫食食品が原因食品でない場合もある. 原因食品中, χ^2 検定で原因食として特定できた品目は貝類であった. 学校給食は喫食人数が多いにもかかわらず, 聞き取り調査の難しさから, 給食日の特定はできても原因食品の特定はできないのが実状である.

食品を介した感染を防ぐにはウイルスで汚染された食品, 特に貝類の調理は加熱を十分に行うことが効果的である. カキについては厳しい成分規格があるが, 大腸菌数が基準以下であっても SRSV や A 型肝炎ウイルスによる胃腸炎患者が発生している.

2 次感染の予防としては, 手洗いの励行やうがいが有効である. SRSV は各種処理に対して抵抗性が強いので殺菌効果・消毒効果を期待するよりも, 汚染物に触れない, あるいは汚染物を洗い流すことの方が重要である. 調理に従事する者は, 自身が不顕性感染者となっている可能性を認識して, 十分な手洗いとうがい, マスクや手袋の着用を習慣づけ, 調理中は必要以上の会話は避けるのが望ましい.

7. 貝類へのウイルスの濃縮

貝類が関与したと思われるウイルスを起因物質とする食中毒については欧米を中心に多数報告されている⁷⁾. 原因ウイルスとしては SRSV と A 型肝炎ウイルスが代表的であるが, 頻度は SRSV によるものが圧倒的に高い. 貝類の喫食がウイルス感染症の原因となるのは, 貝類がプランクトン, 有機養分等を摂取するために海水, 河川水等を吸入, ろ過する際に, 水中に含まれるウイルスも取り込み, 濃縮するためである. ウイルスを含んだ汚水が貝類の生息区域に流入していれば, ウイルスは貝類に濃縮されてしまう.

貝類におけるウイルスの取り込み・濃縮・蓄積・排出については, 環境調査^{1), 5), 12)} とポリオウイルスなどのエ

ンテロウイルスを用いたモデル実験が行われている^{2), 3), 8), 10), 13), 17)}。

細菌・バクテリオファージとウイルスを平行して調査した実験もいくつか報告されている。それらによれば、貝からは、細菌・バクテリオファージ(90% 除去/6時間)に比べ、ウイルスは除去されにくく(同/40~60時間)^{4), 15), 16)}、細菌学的な検査結果では規格に適合していても、ウイルスが分離されたり、A型肝炎が発生したこともある⁵⁾。

以上のように、カキを含む貝類にウイルスが存在することは、疫学的にもウイルス学的にもほぼ確実と考えられたが、最も高頻度に胃腸炎をひきおこすSRSVの場合、細胞培養中で増殖させることができないことと、貝の中の量が少なく電子顕微鏡で観察することができないために、貝から直接ウイルス粒子を検出することは困難である。1990年代に入って、SRSVの遺伝子の塩基配列が明らかとなり、更に微量の遺伝子を試験管内で増やして検出できるPCR法が開発され、それらの方法を用いて貝類の中におけるSRSVの検出が試みられるようになった。イギリスにおける調査では、市販の貝の17%からSRSVの遺伝子を検出したと報告されている¹⁴⁾。我が国においても胃腸炎関連で収集された食品残品の貝や、流通品、海から採取された貝からのウイルス遺伝子の検出が報告されている。

8. 食品衛生法の改正

厚生省は前述の調査結果を踏まえて平成9年5月30日、食品衛生法施行規則(厚生省令)の一部を改正したが、その概要は以下のとおりである。

食中毒事件票の、①原因となった家庭・業者・施設等の種別、②摂取場所、③病因物質、の欄を変更した。

①では事業場、学校及び病院について、給食施設を「その他」から分離するとともに、事業場の場合は保育所、老人ホーム等に、学校の場合は幼稚園、小学校、中学校等に細分類することにより、報告の多い、小学校や保育所などの給食施設が原因施設となる食中毒の把握が計られた。

②では摂取場所を具体的に記載する欄を設けるとともに、摂取場所が、学校の教室、会社の社員食堂、保育所の保育室、老人ホームの居室等であることが多いことか

図8. 東京都立衛生研究所におけるSRSV検査の工程

(a) プローブⅠ

(ノーフォークウイルス群特異的)

1 2 3 4 5 6

(b) プローブⅡ

(スノーマウンテンウイルス群特異的)

1 2 3 4 5 6

- レーン1. カキ (事件A - カキNo.1)
- レーン2. カキ (事件A - カキNo.2)
- レーン3. カキ (事件B)
- レーン4. プローブⅡ (スノーマウンテン群特異的)
- レーン5. 糞便 (事件B - 発症者)
- レーン6. プローブⅡ (スノーマウンテン群特異的)

図9. SRSVのPCR検査とハイブリダイゼーション

ら、これらの施設を「その他」から分離した。

③では病因物質に、「小型球形ウイルス及びその他のウイルス」を追加し、「病原大腸菌」から「腸管出血性大腸菌」を分離し、「その他」を追加した。食中毒の病因物質として SRSV 等のウイルスを追加したことに伴い、各種通知中の「細菌」の用語は、「微生物」に改めることとした。

これら改正によって、従来、原因物質不明として取り扱われていた SRSV による胃腸炎の集団発生は、ウイルス起因性の食中毒として正式に行政的な処置の対象となった。

9. SRSV の検査法

SRSV の検査は、現在のところ SRSV を増殖させる培養系が確立されていないため、糞便又は嘔吐物からウイルス粒子及びウイルス遺伝子を、食品からはウイルス遺伝子を検出することにより行っている。ウイルス粒子は電子顕微鏡検査で、SRSV 遺伝子は遺伝子増幅 (PCR) 法で検査している。

SRSV が食中毒起因物質として確立されたことより、東京都では SRSV の検査結果をできるだけ早く報告することを目的として、図 8 に示した検査工程を設定し、1997 年～1998 年のシーズンに対応した。

一般的にウイルス抗原検出には、発病後できるだけ早期に検体を採取したほうが検出率が高い。特に、電子顕微鏡による検査法では、日数を経過するに従い、ウイルス排出量が検出限界以下に減少するので、発症後 2 日以内に採取した試料が望ましい。通常、検査試料として搬入される患者便に含まれる SRSV 粒子は著しく少量で、かつ糞便中の一部に局在しているので、検査でウイルスを確実に検出するために必要な試料量は細菌検査に比べるとかなり多くなる。

食品の SRSV 検査は主にカキについて行われているが、図 9 に東京都で発生した食中毒事件で収去された原因食品 (生カキ) の SRSV の PCR 検査とサザンハイブリダイゼーションの結果を示した。検査の結果、このカキはノーウォークウイルス群とスノーマウンテンウイルス群の 2 つの遺伝子を持つことが判明し、複数種の SRSV が含まれていたことが示された。発症者の糞便に片方のウイルスしか検出されないのは感染者の体内でウイルスが選択的に増殖したためと考えられる。食品と SRSV 食中毒事件の因果関係を明らかにするためには、詳細な検討が必要であることを示している。また、電子顕微鏡検査で貝類から SRSV 粒子を検出するのは困難であるので、現在のところ PCR 法によりウイルス遺伝子の確認によらざるを得ない。

10. ウイルスの不活化

一般的にウイルスは低温ではむしろ安定であり、低温による不活化は期待できない。塩素による不活化実験では、多くのエンテロウイルスは残留塩素 1.0 mg/L、5

分の処理で 99% 不活化されるので、アメリカ水産業連盟委員会は、残留塩素 1.0 mg/L、30 分処理を勧めている。しかし SRSV の場合は、ボランティアに塩素処理後の糞便ろ過液を経口投与した実験では、残留塩素 5～6 mg/L、30 分処理後の液を投与した者は発症し、残留塩素 10 mg/L、30 分処理後の液を投与した者は発症しなかった。マーマセットへの塩素処理後の A 型肝炎ウイルス (HAV) の経口投与実験では、残留塩素 2.0～2.5 mg/L、30 分処理で不活化されるので、SRSV は HAV と同程度かやや高い塩素抵抗性を示す^{20), 23), 24)}。

加熱によるウイルスの不活化実験では、カキの中のポリオウイルスを加熱した場合のウイルスの生存率は、8 分間煮た場合、8 分間油で揚げた場合、20 分間焼いた場合、30 分間蒸気加熱した場合に、それぞれ 10%、13%、13%、7% と報告されており、目の中ではウイルスはかなりの熱抵抗性を示す²⁾。HAV の場合は更に熱抵抗性で、60℃、1 時間の加熱でも感染性を失わず、不活化するには貝の肉の芯温 90℃、90 秒の加熱が必要とされる。SRSV も 60℃、30 分の処理では不活化されないが、カキの卸業者が O157 対策で芯温 70℃、3 分加熱処理したものからは食あたりの苦情がほとんどないとの情報もある。

現在のところ、SRSV はヒト以外に動物や細胞の増殖系がないので、それらを用いた感染実験を行うことができず、これまでの感染実験・不活化実験はすべてボランティアを用いて行われてきた。我が国においては、そのようなボランティアによる感染実験を実施するような状況にないので、様々な不活化条件を施した食品による SRSV 起因の食中毒の発生状況についての正確な情報収集が重要である。

おわりに

以上食品と SRSV 感染症について概説したが、SRSV 感染症は、急性期の症状は強いものの、ウイルスが排出されてしまえば短期間で軽快し、慢性化することはない急性感染症型であり、発症機序も複雑なものではない。しかし SRSV には上記本文中でも述べたように、不活化されにくい、感染力が強く発症率が高い、免疫抵抗性が持続せず感染人口が多い、ヒト以外に動物や細胞による増殖系がない、という特徴がある。そのため、研究にも検査にも困難が伴い、ウイルスの性状の分析はボランティアによる実験によってのみ可能で、SRSV による胃腸炎は世界中で常に頻発していたにもかかわらず、研究も対策も一部に限局していた。

SRSV による食中毒の実態調査や環境中の SRSV の追跡が一部可能になったのは、SRSV の遺伝子が明らかにされ、分子生物学的な方法が研究や検査に導入された結果である。SRSV の増殖系がないための障害は大きかったが、分子生物学的な方法を用いた検査、調査・研究の普及によって環境中のウイルスの動態が解明され

つつある。このウイルスによる発症機序等はずでに概略明らかになっているので、食品や糞便中のウイルスを定性的、定量的に検出する方法の確立と、発症者及び感染経路の更に詳細な疫学的調査が今後重要である。

文 献

- 1) Cook, D. W., Ellender, R. D.: Relaying to decrease the concentration of oyster-associated pathogens. *J. Food Prot.* **49**, 196~202 (1986).
- 2) Digirolamo, R., Liston, L., Matches, J. R.: Survival of virus in chilled, frozen, and processed oysters. *Appl. Microbiol.* **20**, 58~63 (1970).
- 3) Digirolamo, R., Liston, L., Maches, J. R.: Uptake and elimination of poliovirus by west coast oysters. *Appl. Microbiol.* **29**, 260~264 (1975).
- 4) Dore, W. J., Lee, D. N.: Behavior of *Escherichia coli* and male-specific bacteriophage in environmentally contaminated bivalve molluscs before and after depuration. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 2,830~2,834 (1995).
- 5) Fugate, K. J., Cliver, D. O., Hatch, M. T.: Enteroviruses and potential bacterial indicators in gulf coast oysters. *J. Milk Food Technol.* **38**, 100~104 (1975).
- 6) Greenberg, H. B., Valvesuso, J., Kapikian, A. Z., Chanock, R. M., Wyatt, R. G., Szmunes, W., Larrick, J., Kaplan, J., Gilman, R. H., Sack, D. A.: Prevalence of antibody to the Norwalk virus in various countries. *Infect. Immun.* **26**, 270~273 (1979).
- 7) Grohmann, G. S., Murphy, A. M., Christopher, P. J., Auty, E., Greenberg, H. B.: Norwalk virus gastroenteritis in volunteers consuming depurated oysters. *AJEBAK* **59**, 219~228 (1981).
- 8) Hoff, J. C., Becker, R. C.: The accumulation and elimination of crude and clarified poliovirus suspension by shellfish. *Amer. J. Epid.* **90**, 53~61 (1969).
- 9) Kapikian, A. Z., Wyatt, R. G., Dolin, R., Thornhill, T. S., Kalica, A. R., Chanock, R. M.: Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious non-bacterial gastroenteritis. *J. Virol.* **10**, 1,075~1,081 (1972).
- 10) Liu, O. C., Seraichekas, H. R., Murphy, B. L.: Viral depuration of the Northern quahaug. *Appl. Microbiol.* **15**, 307~315 (1967).
- 11) Luthi, T. M., Wall, P. G., Evans, H. S., Adak, G. K., Caul, E. O.: Outbreaks of food-borne viral gastroenteritis in England and Wales: 1992 to 1994. *Commun. Dis. Rep. CDR Rev.* **6**, R131~136 (1996).
- 12) Metcalf, T. G., Stiles, W. C.: The accumulation of enteric viruses by the oyster, *CRASSOSTREA VIRGI-*
NACA. J. Infectious Dis. **115**, 68~76 (1965).
- 13) Metcalf, T. G., Mullin, B., Eckerson, D., Moulton, E., Larkin, E. P.: Bioaccumulation and depuration of enteroviruses by the soft-shelled clam, *Mya arenaria*. *Appl. Environ. Microbiol.* **38**, 275~282 (1979).
- 14) Numata, K., Tanaka, S., Jiang, X., Estes, M. K., Chiba, S.: Epidemiological study of Norwalk virus infections in Japan and Southeast Asia by enzyme-linked immunosorbent assays with Norwalk virus capsid protein produced by the Baculovirus expression system. *J. Clin. Microbiol.* **32**, 121~126 (1994).
- 15) Power, U. F., Collins, J. K.: Differential depuration of poliovirus, *Escherichia coli*, and a coliphage by the common mussel, *Mytilus edulis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 1,386~1,390 (1989).
- 16) Scotti, P. D., Fletcher, G. C., Buisson, D. H., Frederickson, S.: Virus depuration of the pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in New Zealand. *N. Z. J. Sci.* **26**, 9~13 (1983).
- 17) Seraichekas, H. R., Brasher, D. A., Balnick, J. A., Carey, P. F., Liu, O. C.: Viral depuration by assaying individual shellfish. *Appl. Microbiol.* **16**, 1,865~1,871 (1968).
- 18) 東京都衛生局生活環境部: 東京都の食中毒概要 (1994).
- 19) 牛島廣治: “ウイルス性下痢症とその関連疾患”, 新興医学出版社 (1995).
- 20) Dolin, R. *et al.*: Biological properties of Norwalk agent of acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *P.S.E.B.M.* **140**, 578~583 (1972).
- 21) Parrino, T. A. *et al.*: Clinical immunity in acute enteritis caused by Norwalk agent. *N. Engl. J. Med.* **297**, 86~89 (1977).
- 22) Agus, S. G. *et al.*: Acute infectious nonbacterial gastroenteritis: intestinal histopathology. Histologic and enzymatic alterations during illness produced by the Norwalk agent in man. *Ann. Intern. Med.* **79**, 18~25 (1973).
- 23) Committee Report: Viruses in drinking water. *J.A.W. W.A.* 441~444 (1979).
- 24) Bruce, H. *et al.*: Inactivation of Norwalk virus in drinking water by chlorine. *Appl. Environ. Microbiol.* **50**, 261~264 (1985).
- 25) Dolin, R. *et al.*: Transmission of acute infectious nonbacterial gastroenteritis to volunteers by oral administration of stool filtrates. *J. I. D.* **123**, 307~312 (1971).
- 26) Gordon, I. *et al.*: Transmission of epidemic gastroenteritis to human volunteers by oral administration of fecal filtrates. *J. Exp. Med.* **86**, 409~422 (1947).