

3. 食器等の洗浄効果の確認検査

(1) 呈色反応試薬による検査

食器に残ったでんぷん、脂肪、たんぱく質の汚れは、呈色反応試薬を使って検査することができます。

食器等に試薬を直接振りかけるため、検査後は食器から試薬を完全に除去するために再洗浄する必要があります。

食器清浄度検査用として、試薬が調整済の検査セットも市販されています。

①でんぷんの検査（ヨウ素でんぷん反応）

試薬：ヨウ素水溶液（市販のヨウ素－ヨウ化カリウム溶液、ポピドンヨード配合のうがい薬、複方ヨード・グリセリン配合の外用消毒薬など）

操作：ア 食器にヨウ素水溶液を約10mL入れ、食器全体に試薬をいき渡らせる。

イ 流水で軽く水洗いする。

反応：でんぷんが付着している箇所が青紫色になる。



②脂肪の検査

試薬：0.1%クルクミン溶液(市販のクルクミン0.1gを99%エタノールで溶解し100mLとする。)

操作：ア 食器にクルクミン溶液を約10mL入れ、食器全体に試薬をいき渡らせる。

イ 流水で軽く水洗いする。

反応：紫外線を当てると、脂肪が付着している箇所が蛍光黄色を発する。



※この他にもオイルレッドを用いた検査方法もあります。

(2) 簡易検査キットを使用した検査

でんぷん、たんぱく質の残留検査用として、綿棒等の拭取り器具と試薬がセット化された簡易検査キットが開発されています。価格も比較的安価です。

拭き取って10秒程度で呈色の有無や色調の度合いを目視で判定ができ、操作や判定に専門的な知識や技術が不要です。

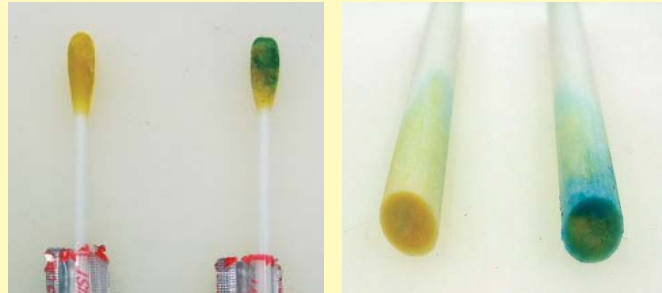


でんぷん残留簡易検査キットの判定例



左：残留なし、右：残留有り

たんぱく質残留簡易検査キットの判定例



左：残留なし、右：残留有り

4. 食器等の洗浄剤残留確認検査

(1) 中性洗剤

中性洗剤は食品由来の汚れと違って被洗浄物にこびり付くものではないため、見た目に「泡が残っておらず、触れてみてヌルヌルもしていない」状態ですすぎ完了となります。

なお、界面活性剤測定を目的として市販されている測定セットを活用することもできます。

(2) 自動食器洗浄機用アルカリ洗剤

自動食器洗浄機用洗剤は、アルカリ性(pH9～11程度)です。pH試験紙を用いて検査をすると、アルカリ洗剤が残留しているかどうかわかります。

(3) 石けん

石けんはアルカリ性 (pH9～11程度) のため、pH試験紙で確認することができます。pH試験紙で緑～青色を呈したら、すすぎが不十分です。



pH試験紙

5. ノロウイルスを対象とした拭取り検査

現在ノロウイルス検査法として、RT-PCR法、リアルタイムPCR法、イムノクロマト法、ELISA法、電子顕微鏡法などが広く一般的に用いられています。これらの検査方法以外にもノロウイルスの簡易・迅速検出を目的とした種々の検査キットが開発され市販されています。これらの検査方法やキット類は、糞便からのノロウイルス抗原あるいは遺伝子の検出用に開発されたものですが、ウイルスあるいは遺伝子の増幅を行わない検査法のため、ウイルス量の多い検体の検査には有用ですが、調理場内のノロウイルス汚染量は少量であり、こうした市販の検査キットでの拭取り検査では検出が困難です。また、ウイルスの場合、細菌と異なり一般生菌やATP等の汚染指標となるものがないため、通常の衛生管理の一環として調理場の拭取り検査の対象にノロウイルス検査を実施しても、その成果は乏しいと考えられます。

ただし、これらの前提を理解した上でノロウイルスを対象とした拭取り検査を実施する際には、以下の点に留意して行うことが望まれます。

(1) 拭取り検査方法

冷蔵庫の取っ手、水道の蛇口、ドアノブ、調理器具等は市販の拭取り棒を用いて軸がしなる程度（300g/cm²）に圧力をかけ、対象面全体を拭き取ります。拭き取るときは対象物全体を細かく繰り返し拭きます（目安として一通りの拭取りを3回繰り返す）(文献)。

シンクやトイレ個室等大きな面積を拭き取りする場合は、セルローススポンジに少量の拭取り液を浸み込ませ使い捨て手袋を装着して圧力をかけて対象面をよく拭き取った後、拭取り液の入ったビニール袋にセルローススポンジを入れ、ビニール袋をよく揉んでスポンジから拭取り液を抽出します。

(2) ノロウイルス検査法

拭取り液中のノロウイルス量がごく少量であると考えられることから、検査法には検出感度の高いRT-PCR法あるいはリアルタイムPCR法によって行います。また、超遠心法等の濃縮方法を用いて拭取り液を濃縮した後、検査に用います。

(3) 検査機関

ノロウイルスの遺伝子検査が可能な検査機関が限られていることから、上記(1)(2)を含め検査機関と十分な相談の上実施する必要があります。



＜ノロウイルス検査法＞

●遺伝子増幅による診断法

ノロウイルスの遺伝子（核酸）を増幅し、検出する方法であり、感度は高く、100個程度（理論的には1個）のノロウイルスが検出可能です。この検査法の代表的なものにはRT-PCR法とリアルタイムPCR法があります。

1) RT-PCR法

RT-PCR法はノロウイルスのRNAから逆転写酵素を用いてRNAをDNAに変換して(RT)、そのDNAを遺伝子操作により100万倍程度に増幅させて、電気泳動で、目で見えるようにして、診断する方法です(写真1)。写真のように、遺伝子(核酸)がバンドとして確認され、ノロウイルス陽性と診断されます。

しかしながら、遺伝子(核酸)検出に用いる機器・試薬が高価で煩雑であるため、実際の検査は遺伝子(核酸)増幅を実施可能な検査機関に依頼する必要があります。

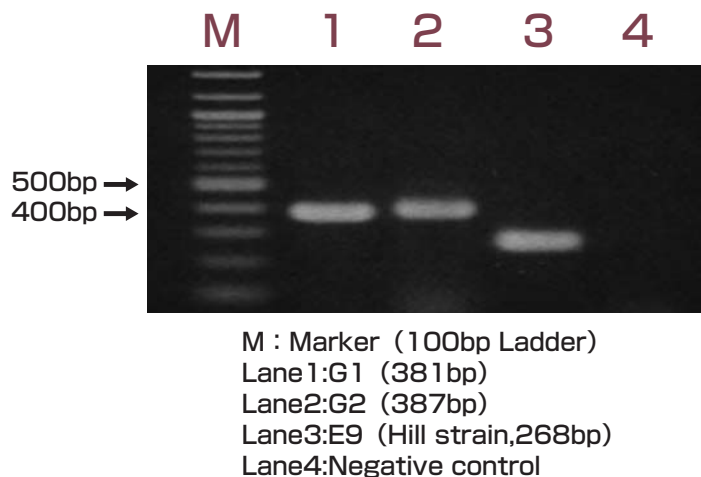


写真1 RT-PCRによるノロウイルス遺伝子の増幅を確認するゲル電気泳動写真

(Lane1はノロウイルスG1が陽性、Lane2はノロウイルスG2が陽性。Lane3は陽性コントロール、Lane4は陰性コントロールを示している。)

2) リアルタイムPCR法

リアルタイムPCR法は基本的にRT-PCR法と同様です。リアルタイムPCR法では増幅されたDNAに蛍光プローブが結合する(ハイブリダイゼーション)とプローブはエンドヌクレアーゼ(酵素)によって消化され、蛍光を発します。その蛍光強度をサイクル毎に測定することにより、ウイルス診断と定量を行う方法です(図3)。この検査法では糞便、嘔吐物等のウイルスの存在の有無とウイルス量を知ることができます。この検査の感度は100から1万/gです。リアルタイムPCR法では結果が得られるまでRT-PCR法と同様2～5時間を要します。

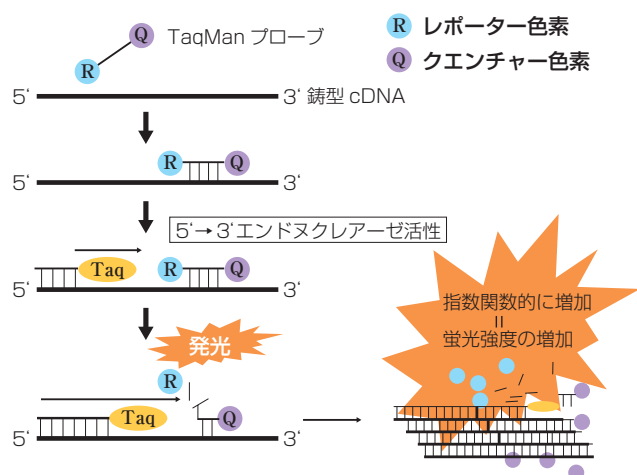


図3 リアルタイムPCR法の原理

●抗原・抗体法によるウイルス検出法

ノロウイルス（抗原）に対する特異抗体を用いて検体中のウイルス粒子を直接検出する方法であり、抗原抗体反応を利用した簡便・迅速な検査方法です。

これらの検査方法は特別な機器を必要とせず、一度に多数の検体を検査することができるのが特徴です。30分ほどでノロウイルスの有無を判定できるイムノクロマトキットやELISAキットなど検出キットが市販されています。しかし検出感度はそれほど高くないため、食品の検査は不可能ですが、急性期の患者糞便の検査には十分です。なお、ノロウイルスには34以上の遺伝子型が存在しており、用いた抗体がその遺伝子型と反応しないときには、大量にウイルスが存在しても陰性と判定されるので注意を要します。

1) イムノクロマト法

イムノクロマト法はスプリップに1次抗体（金コロイド等に色をつけた抗体）を被覆してあり、10%患者の糞便あるいは嘔吐物をテストスプリップに添加すると、ノロウイルスは1次抗体と結合します。それをスプリップに流すと、スプリップに塗布してあるノロウイルス抗体に補捉され、色の付いたバンドとして認められます。テストラインにバンドが見られたときにノロウイルス陽性と診断します。

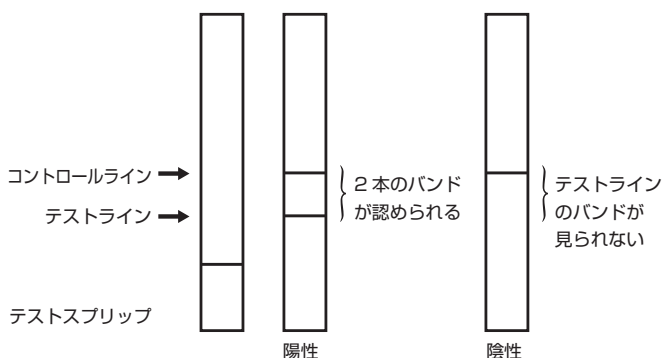


図4 イムノクロマト法の判定方法

2) ELISA 法

ノロウイルスに対する抗体をマイクロプレートに付けておきます。次いで、患者の糞便あるいは嘔吐物を10%乳剤とし、その遠心上清をマイクロプレートに入れます。ノロウイルスが検査材料中に存在していると、ノロウイルスが抗体に補捉されます。次いでノロウイルスに対する抗体に酵素を標識したものを加えると、標識された抗体がノロウイルスに結合します。すなわち、抗体で、ノロウイルスがサンドイッチされます。その後、酵素を試薬で発色させると、ノロウイルスに結合している抗体に標識した酵素が発色します。その発色によりウイルス診断をするものであり、発色したときに陽性と診断されます。

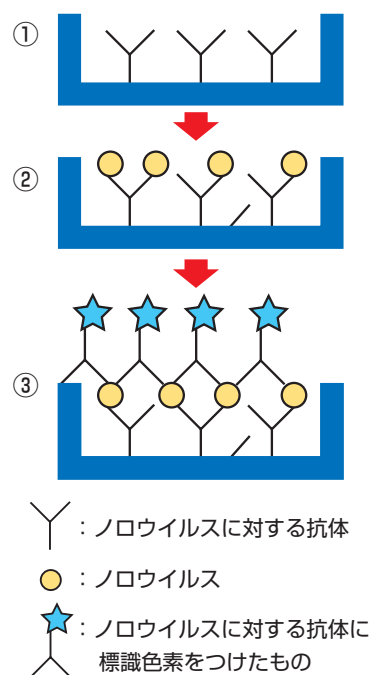


図5 ELISA 法の原理



●電子顕微鏡法

検体中のウイルス粒子を直接、電子顕微鏡で観察する方法のため、大量のウイルス粒子を必要とし、検出感度は低いですが、ウイルス粒子を直接観察できるため、新型のノロウイルスにも対応できます。

電子顕微鏡法には透過型電子顕微鏡が用いられ、光学顕微鏡の1,000倍の分解能を有しており、理論的には0.1nm（1mmの1/1,000万）程度の微小粒子の観察に用いられています。ノロウイルスは30～40nmの大きさで、ウイルスの中でも最も小さく、ノロウイルス粒子の観察には熟練を要します。写真2は、電子顕微鏡の観察窓におけるノロウイルス像です。

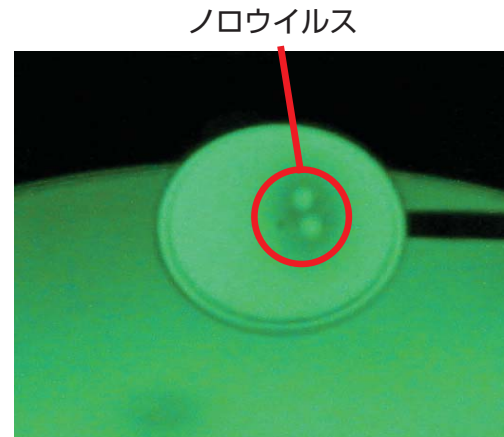


写真2 ノロウイルスの電子顕微鏡観察

●ノロウイルス検査法の検出感度

ノロウイルスの検出感度は検査法により大きく異なります。近年、ノロウイルス検査にはここに示した検査法のほかに、新たに多くの方法が開発されていますが、主な検査法は遺伝子(核酸)増幅法か抗原・抗体反応です。ノロウイルスの検査を受けるときには検査方法と検出感度について確認することが大切です。

表5 ノロウイルス検査法の検出感度

検査法	感度(/ml)
RT-PCR法	>100～1000
リアルタイムPCR法	>100～1万
ELISA法	>100万
電子顕微鏡	>100万

「現代社会の脅威!!ノロウイルス」より(西尾 治)

文献：中角実男「ノロウイルス等の検出確率を高めるふき取り方法の検討—厨房のふき取り検査によりノロウイルスを検出した事例—」、食品衛生研究、Vol.58、69-71(2008)