

安全な農畜水産物安定供給のための
包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業
短期課題解決型研究

カキ中のノロウイルス低減対策に関する研究

研究総括者
水産研究・教育機構 水産技術研究所
松嶋 良次

(発表者) 水産研究・教育機構 水産技術研究所
大島 千尋

1

研究の背景

カキは出荷前に浄化処理される ex) 殺菌海水のかけ流し etc...

ノロウイルス浄化処理の効果を体系的に検証するデータが不足



将来的に、**人工的なノロウイルス汚染カキ試料**を用いてノロウイルスを効果的に浄化できる方法を検証する必要



研究内容

1. ノロウイルス汚染カキ試料作製法の開発
 - (1) カキ飼育環境の違いがノロウイルスの取り込み効率に与える影響の検討
 - (2) ノロウイルス汚染カキ試料作製条件の選定
2. カキおよび海水中の病原性微生物低減法の検討
 - (1) 海水中のノロウイルスを含む病原性微生物低減法の検討
 - (2) 浄化によるカキ中の病原性微生物低減法の検討
3. ノロウイルス汚染カキの作製および病原性微生物浄化法の実証化
 - (1) ノロウイルス汚染カキ試料作製法の手順書作成
 - (2) カキ中の病原性微生物を低減する効果的な浄化法の実証試験

2

R4年度研究内容

1. ヒトノロウイルス汚染カキ試料作製法の確立

(2) ノロウイルス汚染カキ試料作製条件の選定

- ・ カキを検討した条件で飼育し、ノロウイルスの接種濃度を変化させて、特定の濃度のウイルスを取込む条件を選定する。

* Conventional RT-PCR	
汚染度	中腸線1gあたりのウイルス量
低	3 log copies /g *
中	4 log copies/g程度
高	5 log copies/g程度

課題

- ・ 低濃度汚染カキの作製条件が定まっていない
- ・ 汚染カキの陽性率が低いことがある
 - ➡ プラクトン摂餌によりカキのウイルス取込量が安定するか調べる
- ・ 毎月同条件で汚染試験を実施し、カキの生活環の違いによるノロウイルス取込量の差を調べる。

3

R4年度研究結果

1. ヒトノロウイルス汚染カキ試料作製法の確立

(2) ノロウイルス汚染カキ試料作製条件の選定

【プラクトンの摂餌量と中腸線に取り込まれるウイルス量の関係】

- ・ プラクトンの摂餌量と中腸線に取り込まれるウイルス量には相関が見られなかった
- ・ GIおよびGIIの取り込み量にも相関はなかった

【海水へのノロウイルス接種量とカキ中腸線へ取り込まれるウイルス量の関係】

- ・ 海水のウイルス濃度が下がると、カキ中腸線の陽性率が下がる傾向が見られた。
- ・ 低濃度汚染カキでは陽性率が低くなるため、低濃度汚染カキの作出に適当なウイルス濃度ははっきりしなかった。

➡ 汚染実験に使用するウイルスの遺伝子型などにより、取り込まれるノロウイルスの量は変化した。よって、手順書にはこれまでに得られた検証データについて「**海水中のウイルス濃度・カキへ取り込まれたウイルス量・使用したノロウイルスの遺伝子型**」を掲載し、参照できるようにする。

【カキの生活環のちがいによるノロウイルス取り込み量の変化】

- ・ 軟体部に水ガキと呼ばれるような変化が見られてからは陽性率が急激に低下し、ノロウイルスに汚染された個体の中腸線内の平均ウイルス量も減少した。
 - ⇒産卵後のカキは本課題の方法ではノロウイルス汚染されにくいことが明らかとなった

4

R4年度研究内容

2. カキおよび海水中の病原性微生物低減法の検討

2-(1) 海水中のノロウイルスを含む病原性微生物低減法の検討

➡ カキの浄化試験に使用する、**浄化用海水の処理方法を検討**



海水に病原性微生物を人為的に接種

殺菌処理
(UV、ろ過、塩素処理)

微生物減少量を測定

・ノロウイルス
・サポウイルス
・大腸菌
・腸炎ビブリオ

各処理による殺菌効果を調べ、効果的な海水処理法を選定

凝集補助剤を併用したPEG沈殿法を用いてウイルスの回収率を上げて
ウイルス低減量を測定する。

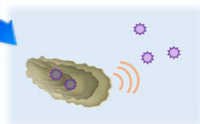
5

R4年度研究内容

2. カキおよび海水中の病原性微生物低減法の検討

2-(2) 浄化によるカキ中の病原性微生物低減法の検討

➡ カキ中の病原性微生物を最もよく浄化する方法を検討



汚染カキを浄化用海水中で飼育

継続的に回収

カキ中腸線内の微生物減少量を測定

海水の温度、pH、塩分濃度の違いによる浄化効率の違いを調べる

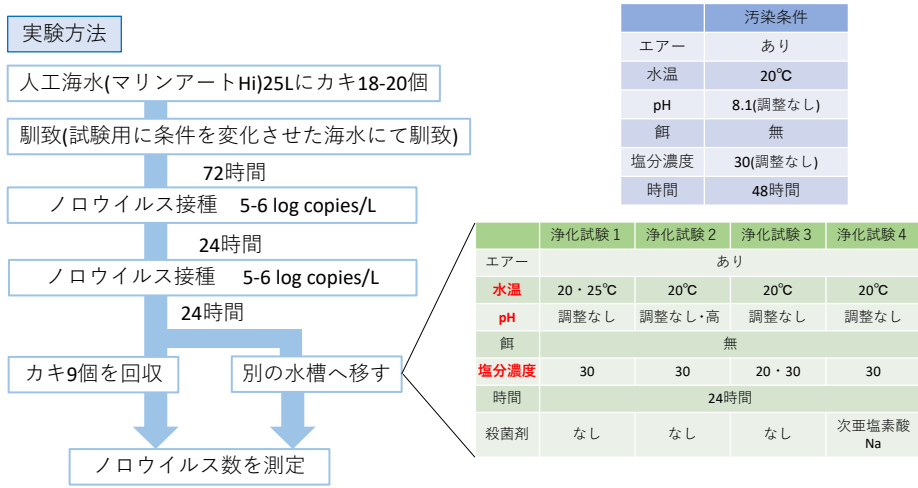


浄化による病原性微生物の低減効果について正しく評価
浄化条件別に病原性微生物の低減効果を整理

6

R4年度研究内容

先に検討した条件で高濃度汚染カキを作製し、水温・pH・塩分濃度の異なる条件でカキを飼育し、ノロウイルスの低減量を調べる。
次亜塩素酸ナトリウムを添加した海水中でカキを飼育し、ノロウイルスの低減量を調べる。



7

R4年度研究結果

2. カキおよび海水中の病原性微生物低減法の検討

2-(2) 浄化によるカキ中の病原性微生物低減法の検討

- ・25℃で浄化した場合は未浄化のカキおよび20℃で浄化したカキと比較してノロウイルスGIIが非検出となるカキの割合が高くなった。
- ・ノロウイルスGIIに汚染されたカキをpHを高く調整した海水中で24時間浄化したところ、通常の人工海水で浄化したカキに比べて、中腸線中のノロウイルスが非検出となる個体が増えた。
- ・200ppmまでの次亜塩素酸Naを添加した海水でノロウイルス汚染カキを浄化したが、カキ中腸線中のノロウイルスはGI、GIIともに低減されなかった。
200ppmの海水で飼育されたカキは、外套膜の黒い部分がはがれていた。

8