

資料3－参考2(三浦氏 提供)

カキのノロウイルス対策に関する  
国際的な動向について

国立保健医療科学院

三浦 尚之



# 自己紹介

## 略歴

2010年3月 東北大学 大学院工学研究科土木工学専攻 博士課程後期修了

2010年4月 北海道大学 大学院工学研究院環境創成工学部門 博士研究員

2012年7月 フランス海洋開発研究所 (Ifremer) 博士研究員

The logo for Ifremer, featuring a stylized fish silhouette above the text "Ifremer" on a yellow background.

2015年7月 東北大学 未来科学技術共同研究センター 准教授

2016年10月 国立保健医療科学院 生活環境研究部 主任研究官

Ifremer 微生物学研究室 室長

**Dr. Françoise Le Guyader**

- ・ EUにおけるカキのノロウイルス水準調査に関して科学的・技術的助言
- ・ 開発したノロウイルスのリアルタイムPCRアッセイ (2005年) は, ISO/TS 15216-1 に採用
- ・ カキ消化組織 (中腸腺) 上のA型類似糖鎖にノロウイルスが特異的に結合することを発見 (2006年)

## 1. 二枚貝の喫食を原因とする食中毒に対するEUにおける対策と課題

(1) これまでの対策

(2) 課題と対応状況

## 2. EUにおける現在の取り組み

# 1. EUにおける対策と課題

## (1) これまでの対策

- ・ 養殖海域の下水による汚染のコントロール

Directive 2000/60/EC



- ・ 養殖海域のクラス分けとモニタリング

EU Regulation No 854/2004

Class	微生物学的基準 ( <i>E. coli</i> /100 g)
A	検体の80% : < 230 残りの20% : < 700
B	検体の90% : < 4,600 残り10% : < 46,000
C	< 46,000



- ・ 販売のための加工（浄化，転地，調理）
- ・ 最終生産物のコントロール（品質試験，トレーサビリティ）

EU Regulation No 853/2004



## (2) 課題と対応状況

- ・ 細菌性の食中毒は激減したが、ウイルス性の食中毒は発生し続けている

- Class A (< 230 *E. coli*/100 g)で養殖されたカキを原因としたノロウイルスの集団感染

- ペルーから輸入された二枚貝 (*Donax* spp.) を原因としたA型肝炎ウイルスの集団感染 (2008年, スペイン)



<http://fishsizematters.eu/en/species/donax-clams/>

- ・ 国によって対応が異なる

例えば、食中毒の原因となったカキ養殖海域に対して

- フランス：28日間の閉鎖処分

- アイルランド：閉鎖処分 (期間は個別に判断!?)

- UK, スペイン：対応しない



- ・ 平常時にどのくらいの汚染レベルなのかデータがない
- ・ 二枚貝におけるノロウイルス濃度の基準がない



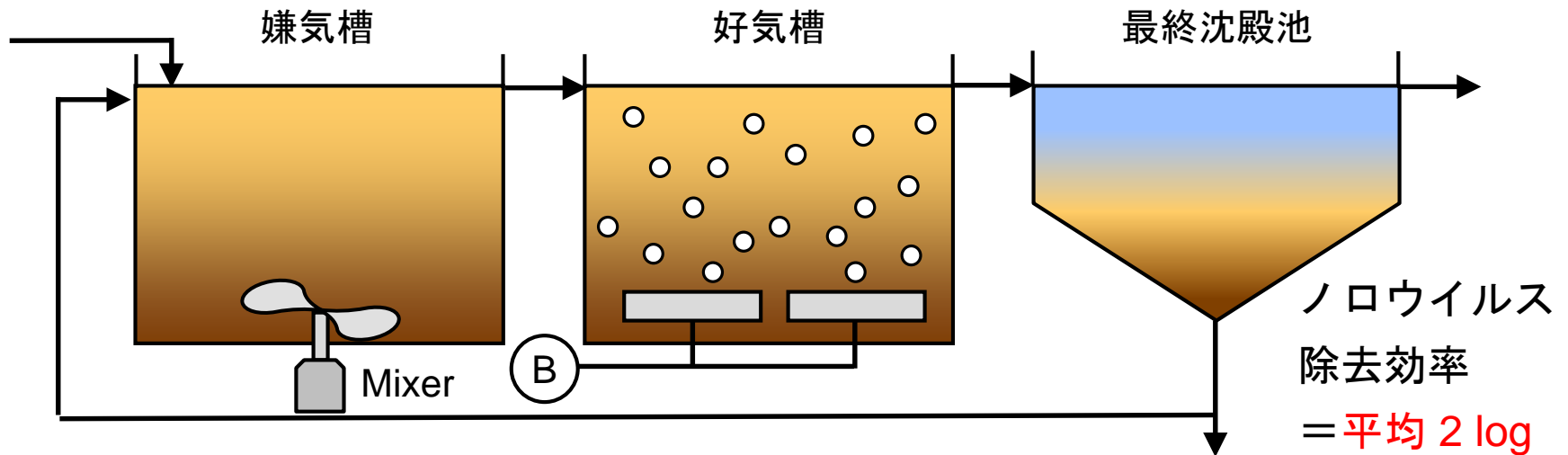
## (2) 課題と対応状況

- ・ 人口の増加に伴い， Class Bの海域数が増加している
- ・ 冬季の大雨・豪雨による未処理下水の流入
  - フランスの一部の地域では下水処理方式を変更  
ラグーン処理 →膜分離活性汚泥（MBR）法

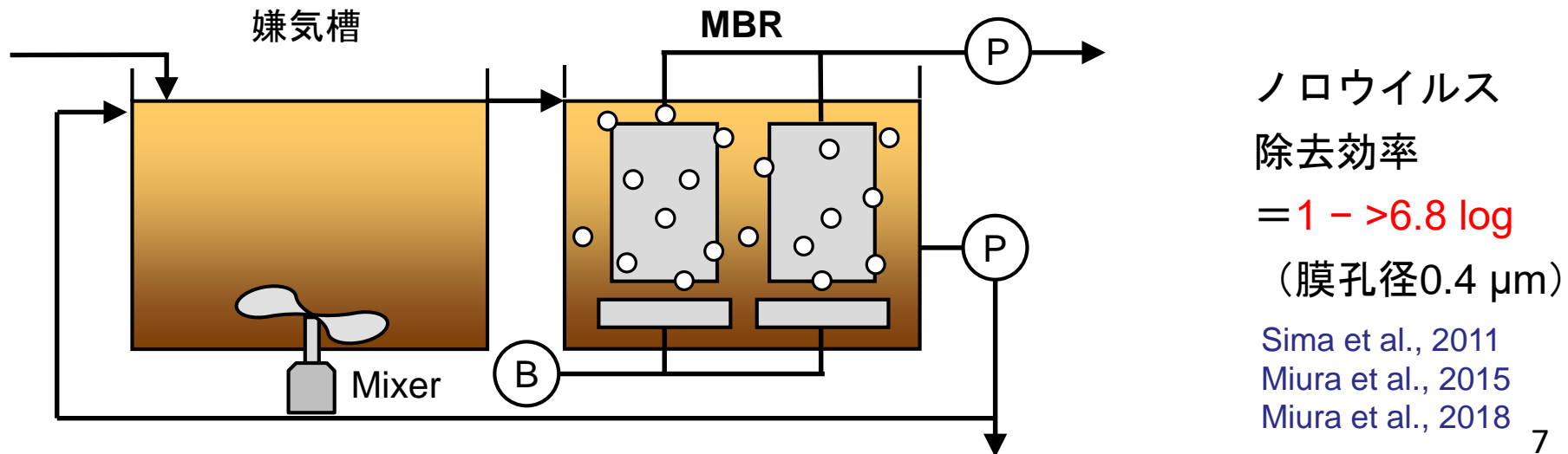


# 膜分離活性汚泥法（MBR法）による集落排水の処理

## 標準活性汚泥法



## MBR法



Sima et al., 2011  
Miura et al., 2015  
Miura et al., 2018

## (2) 課題と対応

- 2011年にFood Safety Authority of Irelandは、European Food Safety Authority (EFSA)に対し、二枚貝のノロウイルス対策について科学的見解を求めた



### EFSAの回答（2012年）

- リスク管理者は、収穫され市場に並ぶカキについて、許容されるノロウイルス濃度を設定することを検討すべきである
- 策定された許容ノロウイルス濃度を順守しているかの検証には、欧州標準化委員会（Comité Européen de Normalisation, CEN）で認められた方法を用いるべきである

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on Norovirus (NoV) in oysters: methods, limits and control options. EFSA Journal 2012;10(1):2500.

The image shows the cover page of a scientific opinion from the European Food Safety Authority (EFSA). At the top left is the EFSA logo, and at the top right is the journal reference: "EFSA Journal 2012;10(1):2500". The title of the document is "Scientific Opinion on Norovirus (NoV) in oysters: methods, limits and control options<sup>1</sup>". Below the title, it identifies the "EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)<sup>2,3</sup>" and the location "European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy". The "ABSTRACT" section begins with "NoV is highly infectious, and there is no threshold infectivity limit for NoV detected by PCR. The probability of becoming infected increases with the dose but depends also on the characteristics of the organism, the food matrix and the host factors. The relationship between the number of infectious virus particles and the number of virus genome copies detected by quantitative PCR is not a constant, and it is important to realise that the infectious risk associated with low level positive oysters as determined by real-time PCR may be overestimated." It continues with quantitative data on viral load from areas compliant with current EU legislative requirements (E. coli standards) during January-March 2010 in 3 selected member states, showing that a viral limit of 100, 200, 500, 1000 or 10,000 NoV PCR copies would result in 33.6-88.9%, 24.4-83.3%, 10.0-72.2%, 7.7-44.4% or 0-11.1% of non-compliant batches, respectively. Compliance with any of the above NoV limits would reduce the number of contaminated oysters placed on the market and therefore the risk for consumers to become infected. It is currently not possible to quantify the public health impact of different limits. Microbiological criteria for NoV in oysters are useful for validation and verification of HACCP-based processes and procedures, and can also be used by competent authorities as an additional control to improve risk management in production areas, during processing and retail. The Panel recommended that risk managers should consider establishing an acceptable limit for NoV in oysters to be harvested and placed on the market. NoV testing of oysters (standardized CEN method) should be used to verify compliance with the acceptable NoV limit established.

<sup>1</sup> On request from the Food Safety Authority of Ireland, Question No EFSA-Q-2010-00926, adopted on 8 December 2011.  
<sup>2</sup> Panel members: Olivier Andreoletti, Herbert Buřka, Sava Branic, John D Collins, Joha Griffin, Tine Haldrup, Arne Henrichsen, Janus Hoj, Claiter Kison, James McLachlan, Winy Meeusen, Christian Müller-Graf, Kostas Kontosomaris, Christophe Nguyen-The, Birgit Noerning, Luisa Peixe, Miguel Prieto Maradona, Antonia Ricci, John Sofos, John Thehill, Ivar Vigelstad, Emmanuel Vazopoulos. Correspondence: biohaz@efsa.europa.eu  
<sup>3</sup> Acknowledgement: The Panel wishes to thank the members of the Working Group on NoV in oysters: methods, limits and control options: Ana Maria de Roda Huson, William Dore, Sotirak Le Couderc, Shouan Mordkovich, Birgit Noerning, and David Lees for the preparatory work on this scientific opinion and EFSA staff: Ernesto Liebana and Prieto Stela for the support provided to this scientific opinion.

Suggested citation: EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Norovirus (NoV) in oysters: methods, limits and control options. EFSA Journal 2012;10(1):2500 [39 pp.] doi:10.2903/efsa.2012.2500 Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

© European Food Safety Authority, 2012



## (2) 課題と対応

### 二枚貝中のノロウイルスを検出するための信頼性の高い検査方法

欧州標準化委員会（Comité Européen de Normalisation, CEN）のワーキンググループが、二枚貝を含めた食品試料からのA型肝炎ウイルスとノロウイルス検査方法をISO法として開発することを提案



ISO/TS 15216-1（2013年初版，2017年改訂版）

TECHNICAL SPECIFICATION      **ISO/TS 15216-1**

First edition

---

**Microbiology of food and animal feed — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus in food using real-time RT-PCR —**

**Part 1: Method for quantification**

*Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche des virus de l'hépatite A et norovirus dans les aliments par la technique RT-PCR en temps réel —*

*Partie 1: Méthode de quantification*

---


**ISO/CEN PARALLEL PROCESSING**

This draft Technical Specification has been developed within the European Committee for Standardization (CEN), and processed under the CEN-lead mode of collaboration as defined in the Vienna Agreement. This draft Technical Specification is hereby submitted to a parallel three-month P member vote in the ISO/TC concerned and three-month vote in CEN.

---

**PROOF/ÉPREUVE**

Reference number  
ISO/TS 15216-1:2012(E)



© ISO 2012

## (2) 課題と対応

### カキの許容ノロウイルス濃度を設定する際の課題

- ・ PCR法による遺伝子検査は、感染性のあるウイルスと感染性を失ったウイルスの両者に由来する遺伝子を検出する
  - 健康被害が発生していないカキからもウイルス遺伝子が検出される場合がある
- ・ リアルタイムPCR法によってシグナルが検出されても、定量できない場合がある（定量下限値以下の陽性）
- ・ 摂取したノロウイルス量と発病（用量-反応）の関係についてデータが不足している
  - 食中毒事例の疫学調査が必要であるが、平常時におけるカキのノロウイルス濃度のデータも必要

## (2) 課題と対応

・ European Commissionは、EFSAに対し、平常時におけるカキのノロウイルス濃度調査の設計について技術的助言を求めた



サンプリング、分析、データ解析の方法についてEFSAが回答 → 参考資料 1

EFSA; Technical specifications for a European baseline survey of norovirus in oysters. EFSA Journal 2016;14(3):4414.



EUは調査を実施

調査目的：養殖海域および配送センターのカキにおけるノロウイルス濃度の水準を明らかにする

調査期間：2016年11月～2018年10月（2年間）

**SCIENTIFIC REPORT**

APPROVED: 10 February 2016  
doi:10.2903/j.efsa.2016.4414

PUBLISHED: 4 March 2016

**Technical specifications for a European baseline survey of norovirus in oysters**  
European Food Safety Authority (EFSA)

**Abstract**  
The European Commission requested scientific technical assistance in the preparation of a survey protocol for a European Union (EU) coordinated monitoring programme on the prevalence of norovirus (NoV) in raw oysters. The objective of the survey is to estimate the European prevalence of norovirus-contaminated oysters at production areas and batches of oysters at dispatch centres, with a 95% level of confidence and a level of precision of 5% considering an expected prevalence of 50%. The survey protocol defines the target population, the sample size for the survey, sample collection requirements, the analytical method for the quantification of NoV copy number (genotype I and genotype II), the data reporting requirements and the plan of analysis. The sample unit in production areas is a classified production area actively growing commercial oysters (whether harvesting or not is occurring) and for dispatch centres is a quantity of live oysters which are being packed and labelled with an Identification Mark. Based on a multistage sampling scheme, 1,026 samples from 171 production areas and 1,182 samples from 197 dispatch centres should be taken annually in Europe. To reduce the probability of surveying an atypical year, the survey is to be repeated for a second year. The samples are to be analysed according to the method specification developed by the European Union Reference Laboratory (EURL) expert working group, which is compliant with ISO/DIS 15216-1. Generalised linear models will be used to estimate proportion (with 95% confidence intervals) of sample units with NoV contamination for the following thresholds: < limit of quantification (LOQ), 100, 200, 500, 1,000, 5,000, 10,000 and > 10,000 copies/g. The necessary data to be reported by the sampler and the laboratory to support this analysis is presented in two data models. The results of the survey should be reported using the EFSA data collection framework.

© European Food Safety Authority, 2016  
**Keywords:** norovirus, oyster, survey, production area, dispatch centre

**Requestor:** European Commission  
**Question number:** EFSA-Q-2015-00455  
**Correspondence:** amu@efsa.europa.eu

www.efsa.europa.eu/efsajournal EFSA Journal 2016;14(3):4414

## 2. EUにおける現在の取り組み

- 高効率なカキのノロウイルス検査方法の開発（2013年）
- 検査方法の検証
- 外部精度管理の実施（2014～2016年）
- 平常時の水準調査（2016～2018年）
  - ワーキンググループの最終会議（2019年6月19・20日）
  - 報告書の公開（2019年7月下旬）
- リスク評価
  - 平常時と食中毒発生時のカキのノロウイルス濃度を比較
- リスク管理
  - 許容されるカキのノロウイルス濃度を設定!?