

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

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

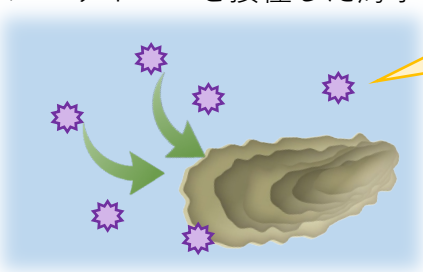
- (1) ノロウイルス汚染カキ試料作製法の手順書作成
- (2) カキ中の病原性微生物を低減する効果的な浄化法の実証試験

1. ヒトノロウイルス汚染カキ試料作製法の確立

研究内容

(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

ノロウイルスを接種した海水



様々な環境下で飼育飼育



カキ中腸腺内の
ウイルス数を測定

環境要因	試験範囲
水温	10-20℃
pH	7-8
酸素	あり・なし
餌	キートセロス
塩分濃度	25-35

➡ カキのノロウイルス取り込み効率が良い条件を検討

また、供給量に制限のあるノロウイルスに代わってサポウイルスを利用し、カキのウイルス汚染試験が実施可能か検証する。

(2) ノロウイルス汚染カキ試料作成条件の選定

汚染度合別に、試料作成に必要な飼育環境の条件を選定

汚染度	中腸腺1gあたりのウイルス量
低	3 log copies /g程度
中	4 log copies/g程度
高	5 log copies/g程度

1. ヒトノロウイルス汚染カキ試料作製法の確立

- 昨年度の検討により定めた条件でカキを飼育し、海水へのウイルスの接種濃度を変化させることで中腸腺内への蓄積量がどのように変化するか調べた。

結果

- ・ 海水へのウイルス接種濃度を下げると、カキ中腸腺中のウイルス量が減少した。
- ・ 接種濃度の減少量に対して、蓄積されたウイルス量の減少は小さかった。
- ・ ウイルス接種濃度の減少により、ウイルス蓄積個体の数が減少した。



カキ飼育海水へのノロウイルス接種濃度を変化させることにより、カキ中のノロウイルス量に差が出ることが明らかとなった。

- カキの生活環において、時期によりノロウイルス蓄積量が異なるのか検証した。

結果

9月の試験に使用した個体は、水ガキと呼ばれる放卵放精後のカキはノロウイルスを取り込まなかった。



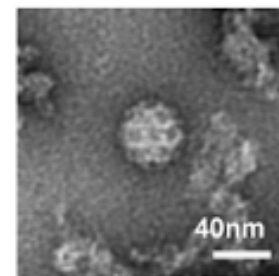
産卵期のカキであっても、放卵放精前の個体はウイルスを蓄積し、放卵放精後の個体はウイルスを蓄積しない可能性が示唆された。

サポウウイルスのノロウイルス代替ウイルスとしての有用性検討

供給量に制限のあるヒトノロウイルスに代わり、同じ腸管系ウイルスであるサポウウイルスがカキのウイルス汚染対策研究に利用可能であるのか検証する。

【サポウウイルス】

- ・ ノロウイルスと同じカリシウイルス科に属する。
- ・ ヒトに感染し、嘔吐・下痢などを引き起こす。
- ・ 生食用のカキから検出された報告がある。
- ・ 細胞を用いた増殖系が確立されている。



Takagi & Oka et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 117 (50) 32078-32085, 2020

- ノロウイルス汚染カキ試料を作製するのと同じ飼育条件で、サポウウイルスを供試した試験を実施し、ウイルス取込み量と蓄積のしやすさについて検証した。

	汚染海水への 曝露時間
1回目試験	72H
2回目試験	48H

結果

- ・ サポウウイルスを接種した海水で、カキを飼育することにより、中腸腺内にサポウウイルスが蓄積された。



海水中のサポウウイルスがカキ中腸腺内に蓄積することが明らかとなった。

2. カキおよび海水中の病原性微生物低減法の検討

研究内容

2-(1) 海水中的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および汚染カキ作製に使用した飼育海水の処理方法を検討



海水に病原性微生物を接種

- ・ ノロウイルス
- ・ サポウイルス
- ・ 大腸菌
- ・ 腸炎ビブリオ



殺菌処理
(UV、ろ過、塩素処理)

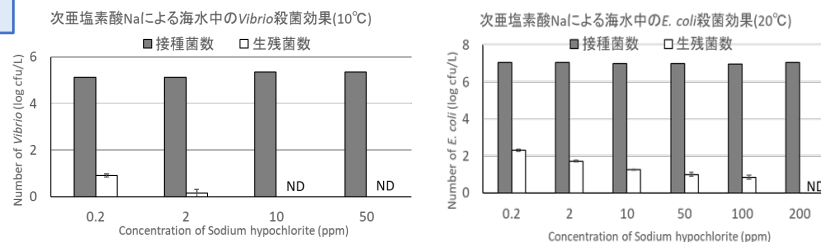


微生物減少量を測定

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

- 病原性微生物を接種した海水に、次亜塩素酸ナトリウムを添加して処理し、生残菌数を調べた。

結果

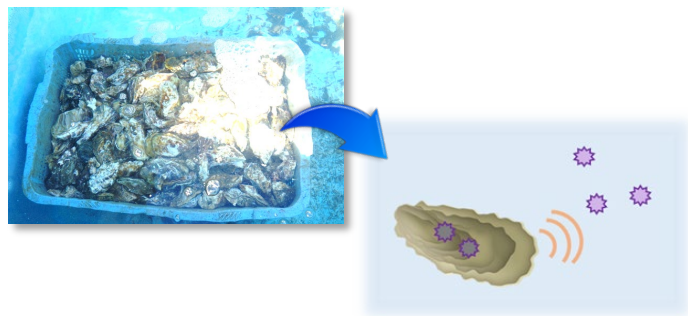


海水温によっても異なるが、0.2ppmの次亜塩素酸Naで処理した場合海水中の菌数は約4-5 log cfu/L減少した。

2. カキおよび海水中の病原性微生物低減法の検討

研究内容

2-(2) 浄化によるカキ中の病原性微生物低減法の検討



汚染カキを浄化用海水中で飼育



継時的に回収



カキ中腸腺内の微生物減少量を測定

海水の温度、pH、給餌の有無、溶存酸素濃度の違いによる浄化効率の違いを調べる
カキ汚染時に給餌をするか否かで浄化効率に差があるのか調べる

➡ 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

- 作製した高濃度汚染カキを清浄海水で飼育した際のウイルス量の変化を調べた。

結果

人工海水にて6日間飼育すると、中腸腺のウイルス数は約0.4log copies/g減少し、カキ中のウイルスが検出限界以下まで減少することはなかった。



浄化効果の検証には高濃度汚染カキを用い、浄化前のカキ中腸腺内のウイルス数平均を浄化後の中腸腺内のウイルス数平均と比較することとする。

3. ヒトノロウイルス汚染カキの作成および病原性微生物浄化法の実証化

研究内容

3-(1) ノロウイルス汚染カキ試料作成法の手順書作成

低・中・高濃度のノロウイルスに汚染されたカキ試料の作成方法について、スケールアップして再現性を検証し、手順書にまとめる



→ 研究者間で共通の実験系を用いることで、ノロウイルス汚染によるリスクや新たな汚染低減法を正しく評価できる

● ノロウイルスGIの高濃度汚染カキ作製試験のスケールを大きくし、再現性を検証する

結果

- ・ 高い陽性率を示したが、検出限界値以下のサンプルが多数出現した。
- ・ 中腸腺中の平均ウイルス量は4.3～4.7log copies/gであった。
- ・ 高濃度（5log copies/g以上）のカキは全体の内、14%であった。



高濃度まで汚染されたカキの割合が少なかった。
カキの馴致条件(水温) や実験操作を見直し再度実験を行う。

重要成果のまとめ

1. ノロウイルス汚染カキ試料作製法の開発

- ・ 中, 高濃度のノロウイルス汚染カキ試料の作製条件を明らかにした。
- ・ 放卵放精後のカキでは、検討した方法でノロウイルスを取り込まないと示唆された。
- ・ サポウイルスで汚染した海水中でカキを飼育するとカキがサポウイルスに汚染されることを明らかにした。

2. カキおよび海水中の病原性微生物低減法の開発

- ・ 作製した高濃度ノロウイルス汚染カキは、1週間清浄海水で飼育してもウイルス量が検出限界以下にはならなかった。

今後の研究計画

1. ノロウイルス汚染カキ試料作製法の開発

(2) ノロウイルス汚染カキ試料作成条件の選定

⇒より低濃度の汚染カキを安定して作製する条件の検討

- ・季節によるカキのウイルス取り込み量の比較を引き続き行う
- ・サポウイルスのカキ汚染状態がノロウイルスと同様なのか検討する

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

⇒塩素処理・UV・生物ろ過による微生物の低減量を調べる

(2) 浄化によるカキ中の病原性微生物低減法の検討

⇒飼育環境を変化させた際の中腸腺中のノロウイルス量を調べる

⇒殺菌料やその他の食品添加物を使用した際の浄化効果を調べる

3. ヒトノロウイルス汚染カキの作成および病原性微生物浄化法の実証化

汚染カキ作出試験をスケールを大きくして実施し、実証化に向けた汚染カキ作製のための手順書を作成する