

ノロウイルスの高感度・迅速検出法の開発

カキのノロウイルスを出荷前に検査できます！

【保健環境センター】

1 背景と目的

カキ等二枚貝は、ノロウイルスによる食中毒が懸念されています。そのため、本県では業界団体が定期的に、水揚げ前のカキについてノロウイルスの検査を行っています。

しかし、現行のカキのノロウイルス検査方法では、結果が出るまで数日かかるため、水揚げした後に、生産流通の現場において、出荷直前のカキを検査できません。出荷前の検査ができれば、現状よりもノロウイルスのリスクを下げ、安全性を高めてカキを出荷することができます。

そこで、出荷前検査の実現を目的として、現行の検査方法と比べて（１）圧倒的な短時間で、（２）できるだけ簡単に、（３）同等の感度で検査できる手法の開発に取り組みました。

2 研究成果の概要

（１）迅速性（短時間）

海水中にノロウイルスがいた場合、カキの体内に極めて微量のノロウイルスが蓄積されることがあります。これを検出するために、現状では前処理（カキからのノロウイルス精製と遺伝子抽出）を経て、RT-PCR法によって遺伝子の一部を増幅して確認する手法が用いられています。

今回、結核菌検査に用いる還元剤処理方法を応用することで、前処理工程を約2時間程度に短縮しました。また、RT-PCR法とは異なる2つの増幅方法（NASBA法とRT-LAMP法）を組み合わせることで、遺伝子増幅工程を約3時間に短縮しました。これにより、トータル約5時間で検査可能となり、出荷直前のカキを検査することが出来るようになりました（図1）。

（２）簡便性

現行のRT-PCR法による検査と比べて、今回開発した方法は、高度な手技や高額な専門検査機器が不要です。また、市販の試薬類、検査キットを組み合わせるため、検査工程も簡単かつ簡素化できました。RT-LAMP法の特徴を活かして検査結果を検査液の白濁で判別する（蛍光あるいは呈色での判別も可能）ため、経験の少ない人でも、容易に判定出来ます（図2）。

（３）現行の検査方法と同等の感度（高感度）

今回開発した遺伝子増幅法は、カキに含まれる極めて微量なノロウイルスを効率よく精製・遺伝子抽出し、二段階増幅により爆発的に増やすことにより、現行の検査方法と同等の感度を確保しました。カキ1個当たり約100個のノロウイルスが含まれていれば検出可能です（表1）。

これらの成果は、特許出願（特願2008-090013）を行っています。

3 今後の対応

現在取組んでいる実証試験の結果を踏まえて、現場での検査手順として実用的な改善等を行い、逐次技術移転・普及を行う予定です。

4 研究期間 平成18年度～20年度

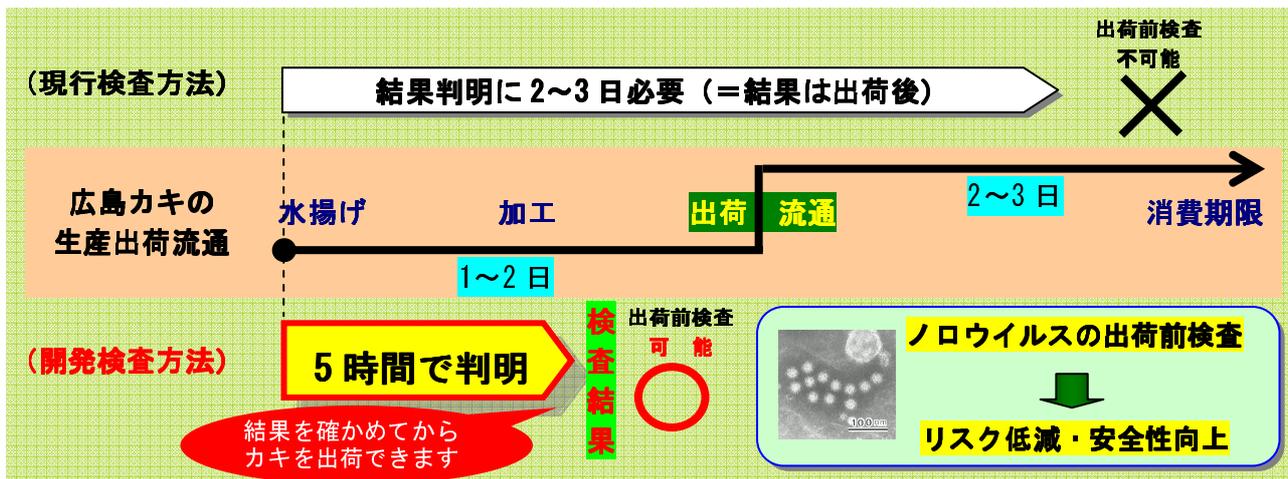


図1 水揚げ後のカキの出荷前ノロウイルス検査の実現

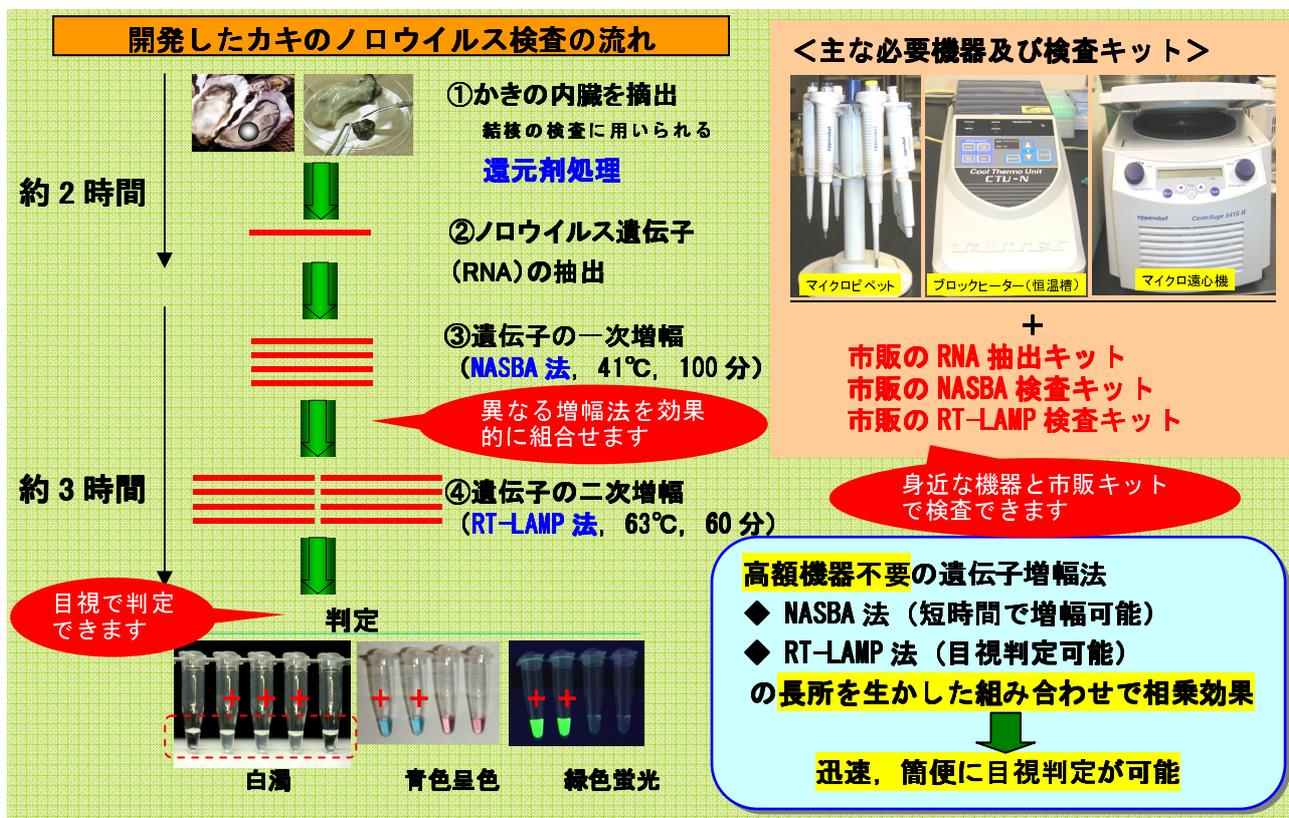


図2 開発の方法によるノロウイルス検査

項目	開発検査法	現行検査法
検査精度	カキ1個当たりノロウイルス100個	カキ1個当たりノロウイルス100個
検査時間	5~6時間	2~3日
操作簡便性	○	△
目視判定	○	×
高額検査機器	不要	必要

表1 開発検査法と現行検査法の比較

現行方法と同等の検出感度 (高感度)

検出方法の検証例

ロット	開発方法	現行方法	ノロウイルス量
1	●●○	●●○	<100
2	●●○	●●○	<100
3	●●○	●●○	<100
4	○○○	○○○	<100~110
5	●●○	●●○	<100~120
6	○○○	○○○	<100
7	○○○	○○○	<100~120
8	○○○	●●○	<100
9	●●○	●●○	<100
10	○○○	○○○	<100
11	●●○	○○○	<100
12	○○○	○○○	<100
13	●●○	●●○	<100
14	○○○	●○○	<100

※1ロット当たり3個のカキを検査 ●陽性, ○陰性