

平成 28 年度・衛生研究所研究費事業報告  
リアルタイム PCR 法による食中毒原因菌の  
一斉迅速検出に関する検討（その 3）

（計画年度：平成 28 年度）

研究代表者

食品微生物担当

門脇奈津子

共同研究者

食品微生物担当

星野梢\* 大阪美紗 大塚佳代子

はじめに

現在、食中毒の細菌検査は培養法により行われているが、様々な作業が必要なため結果が確定されるまでに日数を要している。当担当では平成 26 年度から衛生研究所研究費事業により、リアルタイム PCR を利用した一斉迅速検出法を実用化するため、検討を行ってきた。

便からの検出については、平成26年度及び27年度の衛生研究所研究費事業で、有用性の期待できるリアルタイム PCRによる方法を策定することができた。平成28年度は食中毒疑い事例検体についてリアルタイムPCR検査の陽性結果を保健所に還元していくと同時に、リアルタイムPCR法と培養法の結果を比較解析し、本法の実用性を評価した。

また、平成27年度の衛生研究所研究費事業で食品からの検出法の検討を行ったところ、2菌種において食品培養液からも便検体と同様にリアルタイムPCR法による検出が可能であった。今年度はさらに4菌種を追加し、検出の検討を行った。

方法

1 便検体への適用

平成 28 年度に当所に搬入された埼玉県内食中毒疑い事例 27 件に由来する患者便 139 検体、従事者便 94 検体、計 233 検体を検査対象とした。

1つの反応系に2種類のプライマーを用いる duplex リアルタイム SYBR Green PCR 法にて、食中毒原因菌の 12 遺伝子を対象に一斉スクリーニング検査を行った。また事例によっては、腸炎ビブリオ (TDH 及び TRH) を検索対象に加え検査を行った。一斉スクリーニング検査と並行して通常の培養法による便検査を実施し、両法の検査結果を比較した。

2. 食品の添加回収試験

遺伝子検査及び培養検査にて標的菌が陰性であることを確認した食品の培養液に3段階に希釈した菌液を添加し、

培養法及びリアルタイム PCR 法による検出を行った。菌種はサルモネラ、赤痢菌、腸炎ビブリオ及びウェルシュ菌の 4 菌種を使用し、食品は 1 菌種につき 2 食品を使用した。

成果概要

今年度から実施したリアルタイムPCR法による食中毒原因菌の検出は、患者便については培養法とほぼ同等の検体数で検出され、一斉スクリーニング検査が有効であることが確認できた。従事者便については培養法で食中毒原因菌が検出されること自体が少なく、リアルタイムPCR法の実用性を評価するには適した検査材料ではないものと思われた。

食中毒原因菌の検査に培養法では数日を要するのに対して、リアルタイムPCR法では当日または翌日に原因菌の推定が可能であった。平成28年度は8件の事例で、培養法による結果報告に先立ちスクリーニング検査による陽性結果を保健所に対し情報提供することができた。食中毒事件への迅速な対応の一助となるものと期待される。一方、今年度検出された事例の多くはカンピロバクター・ジェジュニによるものであり、他の菌種に対する検討が十分であったとは言い難い。

食品からの検出は、今回使用した4菌種についてはリアルタイムPCR法で $10^2$  cfu/ml以上の食品培養液検体から検出することができた。

展望

今後も一斉スクリーニング検査を継続し、本法の実用性を評価していく必要があると思われた。また、食中毒事件の原因食品特定の検査時において、リアルタイムPCR法で検出された検体に重点を置いた培養検査を実施することにより、菌検出率の向上が期待できると考えられた。

公表等

第29回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会：山梨 (2017)

\*現 朝霞保健所