

食中毒原因菌 24 標的遺伝子の網羅的迅速検出法の評価

川瀬 遵、江藤良樹 (福岡県保健環境研究所)、池田徹也 (北海道立衛生研究所)、綿引正則
(富山県衛生研究所)、堀川和美 (福岡県保健環境研究所)、調恒明 (山口県環境保健センター)

第 87 回日本細菌学会総会 (平成 26 年 3 月 26 日～28 日 : 東京都)

福島らは食中毒発生時の細菌培養法 (培養法) の効率化と迅速な情報提供を目的として、食中毒原因菌 24 標的遺伝子の網羅的迅速検出法 (Rapid Foodborne Bacteria Screening 24: RFBS24II) を報告した。これは患者便 DNA 試料について、8 set の Multiplex リアルタイム SYBR Green PCR を 96 穴 PCR プレート上で行うことで、食中毒原因菌 24 標的遺伝子を網羅的に検出できる方法であるが、サルモネラなど一部の食中毒原因菌の検出感度不足などが課題となっていた。これらの課題を解決するために、プライマーの変更、競合型 PCR 内部増幅標準の導入等を行い、RFBS24II を改良した (RFBS24V)。RFBS24V の検出限界を算出したところ、一部の遺伝子を除くと 10～100 copies/PCR tube であった。

6 道県で発生した食中毒 77 事例 364 糞便検体から DNA を抽出し、RFBS24V キットによるリアルタイム PCR を行った。その結果、国内で発生件数が多いサルモネラ (6 事例 28 検体)、カンピロバクター (16 事例 66 検体)、EHEC (3 事例 25 検体)、ウェルシュ菌 (3 事例 20 検体) の事例で培養法と遜色ない結果を得ることができた。さらに希少事例の仮性結核菌やプレシオモナス・シグロイデスによる有症事例について培養法と同等の結果を得ることができた。今回、検討した範囲では、RFBS24V は検出感度の改善により病因物質の早期推定に有用な方法であると評価できた。今後は事例検討を追加し、培養法と同等の結果を得ることが可能か確認する必要がある。(会員外共著者 : 北海道立衛生研究所 山口敬治、後藤良一、富山県衛生研究所 嶋智子、山口県環境保健センター 亀山光博、静岡県環境衛生科学研究所 飯田奈都子、島根県畜産技術センター 福島博)