

## 調査研究終了報告書

研究分野：保健

|   |   |
|---|---|
| 調査研究名   | Multiplex Real-Time SYBR Green PCRを用いた食中毒細菌の網羅的検出法の改良・応用  |
| 研究者名（所属）<br>※ 〇印：研究代表者  | 〇江藤良樹、川瀬遵（島根県保健環境科学研究所）、前田詠里子、岡元冬樹、西田雅弘、村上光一、世良暢之、福島博（島根県畜産技術センター）  |
| 本庁関係部・課   | 保健医療介護部・保健衛生課   |
| 調査研究期間  | 平成25年度 - 26年度（2年間）  |
| 調査研究種目  | 1. <input checked="" type="checkbox"/> 行政研究 <input type="checkbox"/> 課題研究<br><input type="checkbox"/> 共同研究（共同機関名： ）<br><input type="checkbox"/> 受託研究（委託機関名： ）<br>2. <input type="checkbox"/> 基礎研究 <input checked="" type="checkbox"/> 応用研究 <input type="checkbox"/> 開発研究<br>3. <input type="checkbox"/> 重点研究 <input type="checkbox"/> 推奨研究 <input type="checkbox"/> ISO推進研究 |
| 福岡県総合計画   | 大項目： 災害や犯罪、事故がなく、安全で安心して暮らせること<br>中項目： 暮らしの安全・食の安全を守る<br>小項目： 食の安全・安心の確保  |
| 福岡県環境総合ビジョン（第二次福岡県環境総合基本計画）※環境関係のみ  | 柱：<br>テーマ：  |
| キーワード   | ①食中毒細菌 ② Multiplex real-time SYBR PCR ③ 原因不明食中毒 ④網羅的検出<br>⑤健康危機管理   |
| 研究の概要   |   |
| <b>1) 調査研究の目的及び必要性</b><br><b>目的：</b> 食中毒細菌の網羅的遺伝子検出系を効率化することを目的とする。<br><b>必要性：</b> 現在の食中毒細菌の網羅的遺伝子検出系では検査に伴う作業が複雑な為、食中毒検体搬入時に分離培養の作業と同時に実施することは非常に困難である。そこで、作業負担を軽くするために、より効率的に網羅的検査ができる手法の確立が必要とされている。   |   |
| <b>2) 調査研究の概要</b><br>現在の食中毒細菌の網羅的遺伝子検出系では検査に伴う作業が複雑な為、食中毒検体搬入時に分離培養の作業と同時に実施することは、非常に困難な状況にある。より多くの事例で、遺伝子検査を実施するためには、プロトコルの改良による効率化が必要である。そこで、食中毒検体搬入時の遺伝子検査の負担を軽減するために、①PCR試薬の事前調整・保存、②糞便からのDNA抽出法、③PCR試薬の検討などで、実験手技の簡略化・省力化が可能か検討を行う。                        |   |
| <b>3) 調査研究の達成度及び得られた成果（できるだけ数値化してください。）</b><br>冷凍保存を行うこと、及び、構築したコントロールプラスミドを利用することで以前より容易に実施することができるようになり、食中毒（疑い）事例において、より効率的に食中毒細菌の推定を行うことが可能となった。例えば、10回測定する場合には、以前は毎回調整していたが、冷凍保存を利用すれば1度に10回分調整すれば、残りの9回は試薬の調整が不要になる。また、コントロールプラスミドの利用で、24回の分注が8回で済むようになった。 |   |
| <b>4) 県民の健康の保持又は環境の保全への貢献</b><br>より多くの事例での検査が可能になったことで、検体搬入当日もしくは翌日までに原因食中毒細菌の推定が可能となった。このことにより、早期の対応が可能になるとともに、稀な食中毒細菌の見逃しを防ぐことができる。   |   |
| <b>5) 調査研究結果の独創性、新規性</b><br>検査の省力化を行うために調整済み試薬を冷凍した。また、冷凍保存後の検査の信頼性を確保するために検出限界を測定した。そのほか、調整を容易にするコントロール用のプラスミドを構築した。また、Multiplex real-time SYBR PCRで食中毒細菌の遺伝子が検出されなかった事例の患者糞便の49%から粘液胞子虫遺伝子が検出され、今まで原因不明となっていた食中毒疑い事例において、粘液胞子虫が関与している可能性を明らかにした。              |   |
| <b>6) 成果の活用状況（技術移転・活用の可能性）</b><br>以前より容易に実施することができるようになり、食中毒（疑い）事例において、より効率的に食中毒細菌の推定を行うことが可能となった。また、散発下痢症患者における食中毒細菌の関与をモニタリングする手段として応用できる。  |   |