

令和4年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食中毒原因細菌の検査法の整備のための研究

研究代表者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究報告書

病原大腸菌食中毒の食品検査法確立

研究分担者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

協力研究報告書

astA 特異的 PCR 法の検討

研究要旨

astA 保有大腸菌の検出への既存の *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法の応用を検討した。その結果、Yamamoto らの PCR 法におけるプライマーを用いた場合、電気泳動での目的の PCR 産物のバンドの判定が容易であった。また、反応酵素として、Quick Taq を用いた場合に、非特異的反応由来のバンドが認められず、目的の PCR 産物のバンドが明瞭であった。この条件にて、食中毒事例由来の *astA* 保有大腸菌、*astA* 保有大腸菌以外の食中毒由来細菌および食品由来細菌を供試した特異性試験では、*astA* 保有大腸菌のみ陽性となり、*astA* 非保有大腸菌を含むその他の細菌では全て陰性であった。食品を用いた感度試験では、食品培養液 1 mL 当たりの *astA* 保有大腸菌数が概ね 5.0 log CFU 未満において検出されたため、食品中の病原細菌を検出する目的での使用に相当であると考えられた。以上より、食品を対象とした *astA* 遺伝子の検出では、Yamamoto らの PCR 法におけるプライマーおよび Quick Taq を酵素として用いることで効率的な試験が実施可能と推測された。但し、本方法はコンベンショナル PCR 法であるため、迅速性を改善するためにはリアルタイム PCR 法が必要であると考えられる。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所 大西貴弘、廣瀬昌平、新井沙倉

A. 研究目的

食品における培養法では、食品由来微生物の増殖によって食中毒細菌の増殖が抑制され、分離が困難な場合がある。さらに、食中毒細菌の食品汚染菌数レベルは低いことが予想される。そのため、対象の食中毒細菌特異的な遺伝子検出法と培養法を組み合わせることによって、効率良く試験を実施することが重要である。そこで本研究では、既存の *astA* 特異的遺伝子検出法について調査した。特に多数の報告があるコンベンショナル PCR 法に着目し、*astA* 保有大腸菌を食品から検出するために適した条件について検討することを目的とした。

B. 研究方法

(1) 既存の *astA* 特異的 PCR 法のプライマーの検討

既存の *astA* 特異的 PCR 法が複数存在するため、それらの食品での応用性について検討した。

1) *astA* 特異的 PCR 法の文献調査

既存の *astA* 特異的 PCR 法に関する文献を調査した。また、各自治体に業務にて使用している方法を問い合わせ、7 自治体から寄せられた回答とあわせ、情報収

集を行なった。

2) 食品検体

市販の国産ベビーコーン 1 検体 (ベビーコーン 1) および国産オクラ 2 検体 (オクラ 1 およびオクラ 2) を供試した。

3) 食品の増菌培養

各食品について、25 g をそれぞれ 3 枚のストマッカー袋に量りとった (n3)。ノボビオシン加 mEC (NmEC、栄研化学) 225 mL を加え、ストマッカー処理を 1 分間行った後、42°C にて 22 時間培養した。

4) DNA 溶液の調製およびコンベンショナル PCR 法

各食品増菌培養液 0.1 mL からアルカリ熱抽出法によって DNA を抽出した。この培養液から抽出した DNA に対して 4 つの文献 (Ito らの方法、Hidaka らの方法、Muller らの方法および Yamamoto らの方法) を参照したプライマー 4 セットを用いて *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法を実施した (表 1)。なお、Hidaka らの方法はプローブも含めたリアルタイム PCR 法として報告されているが、本試験ではプライマーのみを用いて検討した。また、カジトン培地に保存している *astA* 保有大腸菌株 1 エー

ゼを TSB 10 mL に接種し、37°C にて 18 時間培養した。培養液 0.1 mL から熱抽出法によって DNA を抽出し、陽性コントロールとして供試した。コンベンショナル PCR 試薬には、TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ) を用いた。機器は ProFlex PCR System (サーモフィッシャーサイエンティフィック) を使用した。TaKaRa Ex Taq での反応条件は、98°C 10 秒間、98°C 10 秒間 - 55°C 30 秒間 - 72°C 1 分間の 30 サイクル、72°C 1 分間とした。上記にて調製した希釈 DNA 溶液をコンベンショナル PCR 法では 2.5 µL 加えた。

(2) *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法の酵素の検討

1) 食品培養液

(1) での 3) で調製したオクラ 2 の培養液 1 および 3 を供試した。

2) 分離培養法

オクラ 2 の培養液 1 を Tryptic soy agar (TSA、BD) およびクロモアガー STEC 基礎培地 (CHSTEC、クロモアガー社製造、関東化学販売) に、オクラ 2 の培養液 3 を TSA に画線し、37°C にて 22 時間培養した。

3) DNA 溶液の調製およびコンベンショナル PCR 法

分離培地のコロニー密集部を Sweep し、熱抽出により DNA を抽出、Yamamoto らの *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法を実施した (表 1)。陽性コントロールとして、上記 (1) 4) にて調製した DNA を供試した。PCR 酵素を検討するため、AmpliTaq Gold (サーモフィッシャーサイエンティフィック)、TaKaRa Ex Taq および Quick Taq HS DyeMix (東洋紡) の 3 種類の酵素を供試した。また、プライマー終濃度が 0.2 µM となるよう調製した。機器および Ex Taq での反応条件は、上記の通り実施した。Quick Taq での反応条件は、94°C 2 分間、94°C 30 秒間 - 55°C 30 秒間 - 68°C 1 分の 30 サイクル、68°C 5 分間とした。AmpliTaq での反応条件は、95°C 10 分間、95°C 30 秒間 - 55°C 30 秒間 - 72°C 1 分の 30 サイクル、72°C 2 分間とした。

(3) Quick Taq を使用した *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法のプライマーの検討

(2) にて検討し決定した Quick Taq を用い、(1) にて検討した Ito らの方法、Muller らの方法および Yamamoto らの方法のプライマーについて改めて検討した。

1) 供試 DNA

分担研究者の大西が昨年度に報告した食品における *astA* 保有大腸菌の汚染実態調査にて供試した食品培養液の抽出 DNA を使用した。汚染実態調査のスクリーニング PCR 法 (Muller らの Multiplex PCR 法) にて *astA* 特異的バンドが確認された検体について、① *astA* 保有大腸菌分離陰性グループ：釣菌した 20 コロニーのうち *astA* 保有大腸菌が分離されなかった検体および② *astA* 保有大腸菌分離陽性グループ：*astA* 保有大腸菌が分離された検体、の 2 グループに分けた。両グループともに多様な食品を選択し、その DNA を下記の PCR 法へ供試した。

2) コンベンショナル PCR 法

(1) での 4) にて記載の Ito ら、Muller らおよび Yamamoto らの *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法を実施した。酵素は、(2) での 3) にて記載の Quick Taq を用いた。陽性コントロールとして、上記 (1) 4) にて調製した DNA を供試した。

(4) Quick Taq を使用した Yamamoto らの PCR 法における特異性の検討

(1) ~ (3) にて検討した結果優れていた PCR 法の条件について

特異性を検討した。

1) 菌株

食品由来細菌および食中毒事例由来の *astA* 保有大腸菌を含む細菌 26 種 41 株を供試した (表 2)。

2) DNA 溶液の調製

-80°C に冷凍保管されている菌株 1 エーゼを TSB 5 mL に接種し、37°C にて 18 時間培養した。菌培養液を NucleoSpin Tissue キット (タカラバイオ) を用いた DNA 抽出に供試した。抽出 DNA の濃度を Quantus (プロメガ) によって測定した。抽出 DNA 溶液を滅菌 DW にて 2 ng/μL の濃度に希釈した。この希釈 DNA 溶液をテンプレートとした。

3) *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法の特異性試験

(1) での 4) にて記載の Yamamoto らの *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法を実施した。酵素は、(2) での 3) にて記載の Quick Taq を用いた。陽性コントロールとして、上記 (1) 4) にて調製した DNA を供試した。

(5) Quick Taq を使用した Yamamoto らの PCR 法における感度の検討

(1) ~ (3) にて検討した結果優れていた PCR 法の条件にて感度

を検討した。*astA* 保有大腸菌は幅広い食品から分離されているため、複数種の食品からの培養液を利用した。

1) 菌株

集団食中毒事例由来の *astA* 保有大腸菌 4 株 (AST19、AST46、AST73 および AST205) を供試した。

2) 食品検体

市販の国産豚肉、輸入エビおよび国産ベビーコーン (ベビーコーン 3) を供試した。

3) DNA 溶液の調製

カジトン培地に保存している 4 株の 1 エーゼ (10 μ L) をそれぞれ TSB 10 mL に接種し、37°C にて 18 時間培養した。各食品検体を 25 g 採取し、modified EC 培地 (mEC、日水製薬) 225 mL を加えて 1 分間ストマッカー処理し、42°C にて 22 \pm 2 時間培養した。この食品培養液にて *astA* 保有大腸菌 4 菌株の増菌培養液を 10 倍階段希釈し、菌接種鶏肉培養液 (想定 8 \sim 3 log cfu/mL 食品培養液) を調製した。菌接種食品培養液各 100 μ L を上記アルカリ熱抽出法に供試した。抽出 DNA を下記 PCR 法のテンプレートとした。

4) コンベンショナル PCR 法

(1) での 4) にて記載の Yamamoto らの *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法を実施した。酵素は、(2) での 3) にて記載の Quick Taq を用いた。各 3 反応実施した。陽性コントロールとして、上記 (1) 4) にて調製した DNA を供試した。

C. 研究結果

(1) 既存の *astA* 特異的 PCR 法のプライマーの検討

各種 PCR 法の電気泳動像から、バンドの濃さなどの判定し易さを含め結果とした (表 3)。ベビーコーン 1 の培養液 1 および 2 では、4 種類の PCR 法いずれも陽性であり、そのバンドの濃さは陽性コントロールと同等であった。Ito らの PCR 法はオクラ 1 の培養液 3 以外全て PCR 陽性となった。Hidaka らの PCR 法では、オクラ 1 およびオクラ 2 の培養液 2 以外が PCR 陽性となり、Muller らの PCR 法はオクラ 1 の培養液 1、3 およびオクラ 2 の培養液 2 以外が PCR 陽性となった。Yamamoto らの PCR 法はベビーコーン 1 の培養液 1 および 2 以外全て PCR 陰性となった。

(2) *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法の酵素の検討

各種 PCR法の電気泳動像から、バンドの濃さの程度を判定した（表4）。AmpliTaqを用いた場合、3種類のいずれのDNAでも非特異的反応は認められなかったが、陽性コントロールでのバンドは他の2つの酵素よりも薄かった。ExTaqを用いた場合、3種類のいずれのDNAでも非特異的反応が強く認められ、陽性コントロールでは濃いバンドが確認された。Quick Taqを用いた場合、3種類のいずれのDNAでも非特異的反応は認められず、陽性コントロールでは濃いバンドが確認された。

(3) Quick Taqを使用した *astA* 特異的コンベンショナルPCR法のプライマーの検討

① *astA* 保有大腸菌分離陰性グループでは8食品、② *astA* 保有大腸菌分離陽性グループでは5食品を対象とした（表5）。各種PCR法の電気泳動像から、バンドの濃さの程度を判定した。① *astA* 保有大腸菌分離陰性のグループでは、豚レバー検体はMullerらのPCR法陽性の一方、ItoらのPCR法では薄いバンドが確認され、YamamotoらのPCR法ではバンドが確認されなかった。また、オクラ3の検体では

ItoらのPCR法陽性の一方、MullerらのPCR法では薄いバンドが確認され、YamamotoらのPCR法ではバンドが確認されなかった。一方、② *astA* 保有大腸菌分離陽性のグループに含まれる5つの抽出DNAは、いずれも供試した3種類のPCR法陽性となった。

(4) Quick Taqを使用した Yamamoto らの PCR 法における特異性の検討

astA 保有大腸菌11株は、*astA* 特異的コンベンショナルPCR法陽性であった（表2）。その他の菌株では、供試した30株全てPCR陰性であった。

(5) Quick Taq を使用した Yamamoto らの PCR 法における感度の検討

3反応中3反応陽性の場合に陽性と判定し、最も希釈された陽性となった最大希釈段を検出限界とした。供試した4菌株の結果を総合すると、検出限界は豚肉とエビでは5.3～5.90 CFU/PCR tube (=3.0～5.1 log CFU/mL)、ベビーコーンでは29～490 CFU/PCR tube (=3.8～5.0 log CFU/mL)であった（表6）。AST205ではいずれの食品でも検出限界がおおむね5.0 log

CFU/mL であった。AST19、AST46 および AST73 の 3 株では、検出限界は豚肉とエビでは 5.3~17 CFU/PCR tube (=3.0~3.1 log CFU/mL)、ベビーコーンでは 29~45 CFU/PCR tube (=3.8~4.0 log CFU/mL) であった。

D. 考察

文献調査では、既存の *astA* 特異的 PCR 法が多数存在することが判明した。その中で、4 種類のプライマーセットを用いたコンベンショナル PCR 法について食品培養液由来の DNA を用いて増幅性を確認したところ、PCR 法によって検出結果が異なることが判明した (表 3)。その理由として、*astA* 遺伝子には多数のバリエーションが報告されている。そのため、供試した食品中の *astA* 保有大腸菌の *astA* 遺伝子のバリエーション型によっては、PCR の検出性が異なる可能性が考えられた。また、食品は多様な細菌種が含まれているため、それらの細菌が保有している遺伝子配列と PCR 法のプライマー配列が似ていた場合に非特異的反応が生じた可能性も考えられた。コンベンショナル PCR 法では、電気泳動のバンドが薄いと判定が困難となる。そこで、PCR 陽性と PCR 陰性の判定が容易であっ

た Yamamoto らの PCR 法のプライマーについて、さらに検討を進めることとした。

Yamamoto らの PCR 法が陰性の食品培養液を分離培地へ画線し、生育したコロニーをかき取って抽出した DNA について 3 種類の酵素を用いて Yamamoto らの PCR 法を検討したところ、Quick Taq では陽性コントロールのバンドが濃くかつ非特異的反応が確認されなかった (表 4)。一方、その他の 2 種類の酵素では、非特異的反応が観察されたもしくは陽性コントロールのバンドが他の酵素よりも薄かった。そのため、Yamamoto らの PCR 法のプライマーを Quick Taq にて反応させる条件が食品の PCR 法として比較的優れると考えられた。

Quick Taq を使用した 3 種類のプライマーセットでの *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法の検討では、*astA* 保有大腸菌が分離陽性の検体からは 3 種類の PCR 法のいずれも陽性であったが、*astA* 保有大腸菌が分離陰性の検体のうち 2 検体はその他の PCR 法では陽性またはバンドが薄く見える程度であったが Yamamoto らの PCR 法は陰性であった。食品を対象とした病原細菌の試験では、PCR 法が陽性にもかかわらず分離培養法が陰性の場合、

その PCR 法の結果が偽陽性ではないかと疑われる場合がある。本試験の結果から、Yamamoto らの PCR 法を用いることでバンドの薄い陽性検体が観察される数が減り、結果として判定が容易であることが予想された。

Yamamoto らの PCR 法について食品から分離される複数の菌株を用いて試験したところ、*astA* 保有大腸菌のみ陽性となり、特異性に優れることが判明した(表 2)。また、食品を用いた感度では、3 種類の食品とも検出限界が約 5 log CFU/mL 未満となり、コンベンショナル PCR としては比較的優れると考えられた。AST205 を除く 3 株の試験結果では、約 10 倍感度が向上した。AST205 は、いずれの食品でも検出限界値が他の株よりも高かったため、DNA 抽出効率が他よりも低いなどの原因が考えられた。

E. 結論

様々な夾雑菌が存在する食品において、Yamamoto らのプライマーセットを Quick Taq にて使用する PCR 法が、PCR 産物の電気泳動による判定において陽性または陰性の判定が容易であり、特異性および感度に優れることが示された。そのため、今後食品を対象に *astA* 遺

伝子を検出する場合にはコンベンショナル PCR 法ではこの方法が効率的な試験に有用と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(誌上発表)

なし

(学会等発表)

山谷聡子、今野貴之、山中拓哉、床井由紀、柳本恵太、小嶋由香、高橋直人、小林章人、松永典久、齊木大、土井りえ、新井沙倉、廣瀬昌平、工藤由起子. *Escherichia albertii* の食品での試験法のコラボレイティブ・スタディによる評価 (1). 第 43 回日本食品微生物学会学術総会. 令和 4 年 9 月 29-30 日. 東京

柳本恵太、松永典久、小林章人、高橋直人、小嶋由香、床井由紀、山谷聡子、山中拓哉、今野貴之、土井りえ、齊木大、新井沙倉、廣瀬昌平、工藤由起子. *Escherichia albertii* の食品での試験法のコラボレイティブ・スタディによる評価 (2). 第 43 回日本食品微生物学会学術総会. 令和 4 年 9 月 29-30 日. 東京

小嶋由香、今野貴之、山中拓哉、床井由紀、柳本恵太、山谷聡子、高橋直人、小林章人、松永典久、齊木大、土井りえ、新井沙倉、廣瀬昌平、工藤由起子. *Escherichia albertii* の食品での試験法のコラボレイティブ・スタディによる評価. 第 118 回日本食品衛生学会学術講演会. 令和 4 年 11 月 10-11 日. 長崎

新井沙倉、高橋直人、床井由紀、小林章人、松永典久、山中拓哉、今野貴之、土井りえ、齊木大、山谷聡子、小嶋由香、柳本恵太、廣瀬昌平、工藤由起子. 食品における *Escherichia albertii* 検出法のコラボレイティブスタディによる評価. 第 96 回日本細菌学会総会. 令和 5 年 3 月 16 -18 日. 兵庫

H. 知的所有権の取得状況・登録状況
なし

表1. 既存の*astA*特異的PCR法

Assay	プライマー	産物 (bp)	引用	本試験 での検討
コンベンショナル PCR法	EASTOSI: GCCATCAACACAGTATATCCG	109	Ito et al., Microbiol. Immunol.58(8):467-473, 2014	有
	EASTOAS2: CGCGAGTGACGGCTTTGTAG			
	EAST-1S : GCCATCAACACAGTATATCC*	88	Kawase et al., Jpn. J. Infect. Dis. 71: 79-84, 2018	—
	astA-150R: TTCCATGACACGAAGCGCAG			
	MP-astA-F: TGCCATCAACACAGTATATCCG	102	Muller et al., Appl. Environ. Microbiol. 73(10):3380-3390, 2007	有
	MP2-astA-R: ACGGCTTTGTAGTCCTTCCAT			
	F: GCCATCACAGTATATCCG	108	Ruttler et al., BIOCELL 30(2):301-308, 2006	—
	R: GCGAGTGACGGCTTTGTAGT			
	EAST11-a: CCATCAACACAGTATATCCGA	111	Yamamoto and Echeverria., Infect. Immun. 64(4):1441-1445, 1996	有
	EAST11-b: GGTCGCGAGTGACGGCTTTGT			
リアルタイム PCR法	EAST-1S: GCCATCAACACAGTATATCC	106	Yatsuyanagi et al., JCM 40(1): 294- 297, 2002	—
	EAST_AS: GAGTGACGGCTTTGTAGTCC			
	astA-61f: ATGCCATCAACACAGTATATCCG	111	Hidaka et al., J. Appl. Microbiol. 106: 410-420, 2009	有**
	astA-171r: CGCGAGTGACGGCTTTGTA			
	astA-pro: (VIC) CATCCAGTTATGCATCGTG (MGB)			
	astAkReal_s: RCATCCAGTTATGCATCGTG	88	H21年度細菌研修（初級者対象）遺伝 子検査法	—
	astAkReal_a: TCAGGTCGCGAGTGACG			
	astAk_TET/BHQp: (Cy3) TGCCTTCGTGTCATGGAAGGACTA (BHQ2)			

*Yatsuyanagiらのプライマー

**コンベンショナルPCRの条件にて、astA-61fおよびastA-171rのみ供試し検討

表2. 食品由来細菌および食中毒細菌における *astA* 特異的PCR法による検出結果

菌種	供試菌 株数	コンベンショナル PCR法陽性株数*
<i>Arcobacter butzleri</i>	1	0
<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	1	0
<i>Arcobacter skirrowii</i>	1	0
<i>Bacillus cereus</i>	1	0
<i>Campylobacter coli</i>	1	0
<i>Campylobacter jejuni</i>	1	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0
<i>Escherichia albertii</i>	1	0
<i>Escherichia coli</i>		
Type strain	1	0
<i>astA</i> 保有大腸菌	11	11
<i>Escherichia fergusonii</i>	1	0
<i>Escherichia hermannii</i>	1	0
<i>Hafnia alvei</i>	1	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>Morganii</i>	1	0
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium	1	0
<i>Shigella boydii</i>	4	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	2	0
<i>Shigella flexneri</i>	1	0
<i>Shigella sonnei</i>	1	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	0
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	1	0
合計	41	11

*Yamamotoらの *astA* 特異的コンベンショナルPCR法をQuickTaqを用いて試験した

表 3. 食品培養液の各種 *astA* 特異的 PCR 法の結果

食品	培養液番号	コンベンショナルPCR法			
		Ito	Hidaka	Muller	Yamamoto
ベビーコーン	1	+++**	+++	+++	+++
	2	+++	+++	+++	+++
	3	+	+	+	-
オクラ1	1	±	-	-	-
	2	±	-	±	-
	3	-	-	-	-
オクラ2	1	++	+	±	-
	2	+	-	-	-
	3	++	+	+	-

*ポジコンと同等のバンドを+++とした

**薄いバンドを±とした

表 4. 各種酵素を用いた *astA* 特異的 PCR 法の結果

検体	培養液 番号	分離 培地	コンベンショナルPCR法の酵素*					
			AmpliTaq		ExTaq		Quick Taq	
			特異的 バンド	非特異的 バンド	特異的 バンド	非特異的 バンド	特異的 バンド	非特異的 バンド
オクラ2	1	TSA**	-	-	-	+++	-	-
	1	CHSTEC***	-	-	-	+++	-	-
	3	TSA	-	-	-	+++	-	-
陽性コントロール			++	-	+++	-	+++	-

*Yamamoto らの *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法を試験した

**Tryptic soy agar 上のコロニーを Sweep し、PCR を実施した

***クロモアガーSTEC 基礎培地上のコロニーを Sweep し、PCR を実施した

表 5. 汚染実態調査の *astA* スクリーニング試験陽性食品検体における各種コンベンショナル PCR 法の結果

グループ	食品（産地や状態）	コンベンショナルPCR法*		
		Ito	Muller	Yamamoto
① <i>astA</i> 保有大腸菌 分離陰性	若鶏もも肉（国産）	+**	+	+
	豚レバー（国産）	±***	+	-
	牛シマチョウ（北海道、解凍）	+	+	+
	バナメイエビ（解凍）	+	+	+
	生真さば2枚おろし（北海道）	+	+	+
	オクラ3（フィリピン）	+	±	-
	オクラ4（フィリピン）	+	+	+
	ベビーコーン2（タイ）	+	+	+
② <i>astA</i> 保有大腸菌 分離陽性	若鶏もも肉(国産、皮なし)	+	+	+
	豚レバー（国産）	+	+	+
	和牛せんまい（国産）	+	+	+
	すずき切り身	+	+	+
	オクラ5（タイ）	+	+	+

* 酵素は QuickTaq を使用した

** 電気泳動での PCR 産物のバンドが濃い場合を+とした

*** 電気泳動での PCR 産物のバンドが薄い場合を±とした

表 6. 食品を用いた *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法*の検出限界

<i>astA</i> 保有大腸菌株	検出感度 (log CFU/mL)		
	豚肉	エビ	ヤングコーン
AST19	3.0	3.0	3.9
AST46	3.1	3.1	3.8
AST73	3.5	3.5	4.0
AST205	5.1	5.1	5.0

*Yamamoto らの *astA* 特異的コンベンショナル PCR 法を QuickTaq を用いて試験した