

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）

ウエルシュ菌食中毒の制御のための検査法の開発
及び汚染実態把握のための研究

研究代表者 大西 貴弘 国立医薬品食品衛生研究所

総括研究報告書

研究分担者	大西 貴弘	国立医薬品食品衛生研究所
研究分担者	渡辺麻衣子	国立医薬品食品衛生研究所
研究分担者	三澤 直明	国立大学法人宮崎大学
研究分担者	岡部 信彦	川崎市健康安全研究所
研究協力者	小嶋 由香	川崎市健康安全研究所
研究協力者	川上 浩	共立女子大学
研究協力者	橋元 優香	共立女子大学

研究要旨

ウエルシュ菌食中毒の原因食材を明らかにするために、食品におけるウエルシュ菌の汚染実態調査をおこなった。今回の調査は食中毒の直接の原因となる芽胞を対象に行った。合計935検体を調査したところ、カレー粉・香辛料およびイリコ、エビ、海藻などの海産乾燥食品で、エンテロトキシン遺伝子陽性のウエルシュ菌の強い汚染が認められた。一方、従来よりウエルシュ菌食中毒の原因食材と考えられてきた牛肉、豚肉、鶏肉、根菜からはエンテロトキシン陽性ウエルシュ菌はほとんど検出されなかった。特に牛肉、豚肉では、エンテロトキシン陰性を含めウエルシュ菌はほとんど検出出来なかった。以上の結果から、ウエルシュ菌食中毒予防のためにはカレー粉・香辛料および海産乾燥食品に重点を置く必要性が認められた。さらに、本研究では免疫磁気ビーズを用いたウエルシュ菌の迅速検査法を作製した。その結果、増菌培養を行うことなく、 10^2 cfu/ml以上のウエルシュ菌を検出することができた。

A. 研究目的

ウエルシュ菌食中毒はグラム陽性桿菌 *Clostridium perfringens* によって引き起こされる食中毒である。ウエルシュ菌は芽胞を形成するため、調理時の加熱によって発芽し、加熱によって嫌気状態になった食

品中で急速に増殖するという特徴を持つ。

ウエルシュ菌食中毒は依然発生が続いており、減少の傾向が認められない。その大きな原因として、エンテロトキシン産生性ウエルシュ菌食中毒の原因食品が明らかになっていないことがあげられる。そのた

め原因食品を明らかにするために、これまでに多く食品におけるウエルシュ菌の汚染実態調査が行われてきた。しかし、これまでの調査にはいくつかの問題点が存在するため、原因食品を明らかにできるまでには至っていない。

これまでに行われてきた調査の最も大きな問題点は、芽胞と栄養体を明確に区別せずに行っている調査が多いことである。典型的なウエルシュ菌食中毒は、食品中に存在する芽胞が調理の過程で加熱によって発芽することによって発生する。栄養体は加熱によって死滅するため、食中毒の原因とはならない。よって、食中毒の原因食材を明らかにするためには、芽胞の調査を行わなければならない。また、多くの調査では検体数が数十程度と少なく、検体の種類に非常に偏りがみられる。特定の検体に偏った調査では、その食品中での汚染は理解できるが、他の検体との比較ができないため、食中毒全体の中での重要性を相対的に明らかにすることができない。さらに、動物レベルの調査が多く行われており、動物からウエルシュ菌が分離されるから、その動物が食中毒で重要であると結論を出しているものがある。しかし近年、食肉処理工程の衛生状況が改善されており、また、食肉は店頭に並ぶまでにトリミングなどのリスク低減措置が取られている。このため、動物レベルでの汚染をそのまま消費者が喫食する直前の最終製品の汚染に結び付けることはできない。

そこで本研究では、芽胞を対象とした食品におけるウエルシュ菌の汚染実態調査を行った。食品間で食中毒の原因食品としての重要性を比較できるように、検体として用いる食品の種類を偏りなく選び、統計処理が行える十分な検体数の調査を行った。

我が国のウエルシュ菌食中毒事例では、原因食品を特定できないものが多い。その理由の一つとして、感度の良い迅速検査法が確立していないことが挙げられる。今回はウエルシュ菌に対する免疫磁気ビーズの作製を試みた。特に、多くの検査機関で利用できるようにするために、一般に入手できる試薬だけを用いビーズ法を作製した。

B. 研究方法

[1] 汚染実態調査

(1) 検体

今回の調査では、牛肉、豚肉、鶏肉、根菜、魚、エビ、貝類、海藻、カレー粉、香辛料、だし、乾物を検査対象とした。食肉は、国産、外国産を問わないが、産地(国)がわかるものを購入した。また、冷凍品(解凍品)はなるべく避けるようにした。根菜は泥を落としたり、洗浄したりせず、そのまま使用した。魚、エビはボイルしたものは検査対象外とし、魚の切り身は皮ごと、エビは頭や殻をつけたまま使用した。貝類は、むき身、殻付き、生食用、加熱用のいずれも使用したが、ボイルしたものは検査対象外とした。乾燥品は戻し率を10倍と

考え、2.5 g 使用した。

(2) 検査手順

検査手順を図1に示す。検体 25 g をストマッカーバックに無菌的に採取し、チオグリコレート培地 225mL を加えた。1 分間、ストマッカー処理を行った。ストマッカーバックは 70°C、20 分間加熱後、急冷した (試料原液)。この加熱によって、検体中の栄養体は死滅し、芽胞の発芽が促進される。

芽胞数測定のため、試料原液 10mL とハンドフォード改良培地 15mL を 2 枚の嫌気パウチにそれぞれ加え、軽く混ぜた後に空気を追い出し、ヒートシールした。嫌気パウチは、46°C、18 時間培養し、2 枚の嫌気パウチ内の黒色コロニー数の平均を推定ウエルシュ菌芽胞数とした。

ストマッカーバックは、空気を追い出し、ヒートシールをし、42°C、24 時間培養した (増菌培養液)。増菌培養液からは、アルカリ熱抽出法で DNA を抽出し、マルチプレックス PCR で増菌培養液中の α 毒素 (cpa) およびエンテロトキシン (cpe) 遺伝子を確認した。

増菌培養液を 2 枚の CHROMagar *C. perfringens* (CHROMagar) に塗抹し、37°C、24 時間、嫌気培養した。検体によっては、増菌培養液中に PCR 阻害物質が含まれているため、増菌培養後の PCR 反応が阻害される場合がある。そのため、増菌培養後の PCR が陰性になった場合でも、CHROMagar への塗抹は必ず行った。CHROMagar 上のオ

レンジ色のウエルシュ菌が疑われるコロニーを 5 個取り、cpa、cpe 保有状況をコロニーPCR で確認するとともに、生化学性状試験 (グラム染色、好気培養等)、API、質量分析装置などを用い、ウエルシュ菌であるかどうか判定した。エンテロトキシン陽性ウエルシュ菌と同定された場合、7.5%DMSO を含むチオグリコレート培地に浮遊させ、-30°C以下で保存した。

増菌培養後の PCR もしくはコロニーPCR のいずれかで cpa もしくは cpe が陽性になった場合、その検体はそれぞれの遺伝子が陽性であると判定した。

(3) マルチプレックス PCR

cpa および cpe を検出するマルチプレックス PCR は Guran らの方法を参考にして行った (H. S. Guran et. al., Letters in Applied Microbiology, 2013, 57, 77-82)。PCR の条件を図2に示す。PCR 後、1.5%のアガロースゲル電気泳動を行い、324 bp のバンドが検出された場合 cpa 陽性、233 bp のバンドが検出された場合 cpe 陽性と判定した。

[2]迅速検査法

免疫磁気ビーズの作製にあたっては、入手しやすい試薬を用いること優先した。磁気ビーズとしては Dynabeads™ Protein A for Immunoprecipitation (Thermo Fisher Scientific, #DB10001)、ウエルシュ菌に対する抗体として *C. perfringens* Rabbit IgG polyclonal antibody (Thermo Fisher Scientific, #PA1-85310) を使用した。検

査手順を図3に示す。菌液1mLにウエルシュ菌抗体10 μ gを加え、チューブを1時間回転させた。その後、あらかじめPBSで洗浄しておいた磁気ビーズを10 μ L加え、1時間回転させた。その後、チューブをマグネチックスタンドに置き、PBSで磁気ビーズを洗浄した。最終的に磁気ビーズはCHROMagarに塗抹、もしくは磁気ビーズからアルカリ熱抽出法を用いてDNAを抽出し、汚染実態調査で用いたマルチプレックスPCR法を用いて、*cpa*、*cpe*の検出を行った。

検体としては、既知の菌数のウエルシュ菌を浮遊させたチオグリコレート培地、もしくはレトルトカレーをチオグリコレート培地で10倍希釈したものに既知の菌数のウエルシュ菌を浮遊させたものを使用した。

C. 研究結果

[1] 汚染実態調査

増菌培養後のPCRの結果を表1に、分離培養後のコロニーPCRの結果を表2に示した。また、増菌培養後のPCRと分離培養後のコロニーPCRの結果をまとめた最終結果を表3に示した。

カレー粉・香辛料は204検体調査した。増菌培養後のPCRでは36検体(17.6%)が*cpa*陽性、11検体(5.4%)が*cpe*陽性となった。分離培養後のコロニーPCRでは78検体(38.2%)が*cpa*陽性、8検体

(3.9%)が*cpe*陽性となった。増菌培養後のPCRと分離培養後のコロニーPCRの結果をまとめると、最終的に204検体中、79検体(38.7%)が*cpa*陽性、15検体(7.4%)が*cpe*陽性となった。また、*cpa*陽性79検体中、15検体が*cpe*陽性(19.0%)となった。ハンドフォード改良培地上に、多くのコロニーが発育した。また、*CPA*が陰性の検体からも、多くのコロニーがハンドフォード改良培地上で発育した。

貝は65検体調査した。増菌培養後のPCRでは31検体(47.7%)が*cpa*陽性、6検体(9.2%)が*cpe*陽性となった。分離培養後のコロニーPCRでは41検体(63.1%)が*cpa*陽性、6検体(9.2%)が*cpe*陽性となった。増菌培養後のPCRと分離培養後のコロニーPCRの結果をまとめると、最終的に65検体中、44検体(67.7%)が*cpa*陽性、8検体(12.3%)が*cpe*陽性となった。また、*cpa*陽性44検体中、8検体が*cpe*陽性(18.1%)となった。主にカキ、シジミ、アサリで*cpa*と*cpe*が陽性になった。

素干しエビ・イリコは21検体調査した。増菌培養後のPCRでは11検体(52.3%)が*cpa*陽性、2検体(9.5%)が*cpe*陽性となった。分離培養後のコロニーPCRでは13検

体 (61.9%) が *cpa* 陽性、1 検体 (4.8%) が *cpe* 陽性となった。増菌培養後の PCR と分離培養後のコロニーPCRの結果をまとめると、最終的に 21 検体中、13 検体 (61.9%) が *cpa* 陽性、2 検体 (9.5%) が *cpe* 陽性となった。また、*cpa* 陽性 13 検体中、2 検体が *cpe* 陽性 (15.3%) となった。

海藻は 39 検体調査した。増菌培養後の PCR では 4 検体 (10.3%) が *cpa* 陽性、1 検体 (2.6%) が *cpe* 陽性となった。分離培養後のコロニーPCRでは 4 検体 (10.3%) が *cpa* 陽性、1 検体 (2.6%) が *cpe* 陽性となった。増菌培養後の PCR と分離培養後のコロニーPCRの結果をまとめると、最終的に 39 検体中、6 検体 (15.3%) が *cpa* 陽性、1 検体 (2.6%) が *cpe* 陽性となった。また、*cpa* 陽性 6 検体中、1 検体が *cpe* 陽性 (16.7%) となった。*cpa* 陽性となったのは、昆布と海苔であった。

魚・エビは 79 検体調査した。増菌培養後の PCR では 3 検体 (3.8%) が *cpa* 陽性、2 検体 (2.5%) が *cpe* 陽性となった。分離培養後のコロニーPCRでは 2 検体 (2.5%) が *cpa* 陽性となった。増菌培養後の PCR と分離培養後のコロニーPCRの結果をまとめると、最終的に 79 検体中、5 検体 (6.3%) が *cpa* 陽性、2 検体 (2.5%)

が *cpe* 陽性となった。また、*cpa* 陽性 5 検体中、2 検体が *cpe* 陽性 (40.0%) となった。エビ、シラス、アジが *CPA* 陽性となり、エビから *CPE* が検出された。すべての検体で、ハンドフオード改良培地上にコロニーの発育は認められなかった。

乾物は 96 検体調査した。増菌培養後の PCR では 40 検体 (41.7%) が *cpa* 陽性、2 検体 (2.1%) が *cpe* 陽性となった。分離培養後のコロニーPCRでは 40 検体 (41.7%) が *cpa* 陽性、1 検体 (1.0%) が *cpe* 陽性となった。増菌培養後の PCR と分離培養後のコロニーPCRの結果をまとめると、最終的に 96 検体中、46 検体 (47.9%) が *cpa* 陽性、2 検体 (2.1%) が *cpe* 陽性となった。また、*cpa* 陽性 46 検体中、2 検体が *cpe* 陽性 (4.3%) となった。切り干し大根やそば粉からも *CPA* が検出された。また、*CPA* が陰性の検体からも、多くのコロニーがハンドフオード改良培地上で発育した。

牛肉は国産 55 検体、海外産 40 検体、計 95 検体調査した。しかし、国産、海外産にかかわらず、*cpa*、*cpe* は全検体陰性となった。

豚肉は国産 80 検体、海外産 30 検体、計 110 検体調査した。その結果、3 検体で *cpa* が陽性 (2.7%) になったが、*cpe* は全検体陰性であった。

鶏肉は105検体調査した。増菌培養後のPCRでは79検体(75.2%)が*cpa*陽性、2検体(1.9%)が*cpe*陽性となった。分離培養後のコロニーPCRでは79検体(75.2%)が*cpa*陽性、*cpe*は陰性となった。増菌培養後のPCRと分離培養後のコロニーPCRの結果をまとめると、最終的に105検体中、79検体(75.2%)が*cpa*陽性、2検体(1.9%)が*cpe*陽性となった。また、*cpa*陽性79検体中、2検体が*cpe*陽性(2.5%)となった。部位による検出率の差は認められなかった。

根菜は121検体調査した。増菌培養後のPCRでは34検体(28.1%)が*cpa*陽性、1検体(0.8%)が*cpe*陽性となった。分離培養後のコロニーPCRでは34検体(28.1%)が*cpa*陽性、*cpe*陰性となった。増菌培養後のPCRと分離培養後のコロニーPCRの結果をまとめると、最終的に121検体中、37検体(30.6%)が*cpa*陽性、1検体(0.8%)が*cpe*陽性となった。また、*cpa*陽性37検体中、1検体が*cpe*陽性(2.7%)となった。

[2]迅速検査法

チオグリコレート培地に既知の菌数のウエルシュ菌を浮遊させたものを検体として使用し、今回作製した磁気ビーズの感度を検討した。

その結果、磁気ビーズを塗沫した場合、磁気ビーズからDNAを抽出しPCRで検出した場合のいずれでも、検体中に 10^2 cfu/mL以上のウエルシュ菌が存在していれば、検出することができた。次に、カレーの10倍乳剤を作製し、同様の実験を行ったが感度は変わらず、菌濃度が 10^2 cfu/mL以上の場合、検出することができた。

D. 考察

ウエルシュ菌食中毒はカレーやシチュー、煮物などで多く発生している。特に肉類を使用した料理で発生しやすいと考えられてきた。また、ウエルシュ菌は根菜などの野菜を使用した料理でも発生しやすいと考えられてきた。実際、動物の腸内容物や土壌からウエルシュ菌の分離が報告されている。しかし、その多くがエンテロトキシン陰性株であり、エンテロトキシン陽性株の汚染源は不明のままであった。また、これらの調査は序論の項で述べたような多くの問題点を抱えていた。本研究では、従来 of 調査の問題点を克服するために、*cpe*保有の芽胞に焦点を絞り、検体とする食品のカテゴリーに偏りがないようにして、調査を行った。今回の調査から、*cpe*陽性芽胞の汚染が強く認められたのは、カレー粉・香辛料、貝、イリ

コ・エビ、海藻などであった。一方、*cpe* 陽性芽胞の汚染があまり認められなかったのが、従来、ウエルシュ菌食中毒の原因食材として重要であると考えられてきた牛肉、豚肉、鶏肉、根菜であった。今回の結果から、ウエルシュ菌食中毒の予防を考える上で、カレー粉・香辛料、貝、イリコ・エビ、海藻が重要であると考えられた。

カレーは我が国におけるウエルシュ菌食中毒の代表的な原因食品である。従来はカレーに使用される肉類や根菜がウエルシュ菌の汚染源であると考えられてきた。しかし今回の調査結果から、肉類や根菜よりも、カレー粉や香辛料が汚染源である可能性が示唆された。今回の調査では、粉末タイプのカレー粉からだけでなく、一般家庭で用いられる固形のカレールーからもウエルシュ菌が検出されており、ウエルシュ菌食中毒におけるカレー粉・香辛料の重要性が示唆された。

ウエルシュ菌食中毒が肉料理と結びつきが強い印象を受けるのは、ローストビーフなどで発生している海外の事例の影響が強いのではないかとと思われる。しかし、ローストビーフをはじめとする海外の肉料理では、ふんだんに香辛料が使用されているものが多く、肉が汚染源

なのか、香辛料が汚染源なのか、特定が難しいのではないかと考えられる。実際、FDA や USDA も香辛料とウエルシュ菌食中毒の関係性にはすでに着目しており警告を発している。現在、我が国ではカレーが香辛料を使用した代表的な料理であるが、外食を中心に香辛料を使用した料理が急速に普及している。今後、香辛料を汚染源とするカレー以外のウエルシュ菌食中毒が発生する可能性が危惧される。

今回の調査で、香辛料と並んで *cpe* 陽性ウエルシュ菌の汚染が強く見られたのが貝、イリコ・エビ、海藻などの海産物であった。*cpe* 陽性ウエルシュ菌の由来については、以前より議論されてきており、動物由来、土壌由来などが代表的である。しかし、動物や土壌からの分離ウエルシュ菌は *cpe* 保有率が低いため、他にも汚染源があるのではないかと考えられてきた。最近の研究では、*cpe* 陽性ウエルシュ菌の汚染源はヒトであり、その排泄物に含まれる *cpe* 陽性ウエルシュ菌が下水処理場で濃縮され、河川に排出され、最終的に汽水域や沿岸を汚染していることが報告されている。今回の調査では、貝で *cpe* 陽性ウエルシュ菌の汚染が強く認められた。ウエルシュ菌食中毒における貝の原因食材と

しての重要性は不明であるが、貝で強い汚染が認められたことは、我が国でも水を介したウエルシュ菌汚染が発生しており、沿岸部が *cpe* 陽性ウエルシュ菌に汚染されていることを示唆する物である。また同様に、イリコ、エビ、海藻などの海産乾燥食品からも今回の調査で *cpe* 陽性ウエルシュ菌が検出された。我が国では、煮物などの和食をはじめ様々な料理で海産乾燥食品が出汁をとるのに使用され、また、具材としても使用されている。このため、海産乾燥食品もウエルシュ菌食中毒の原因食材となりうることが考えられた。

香辛料は栽培に灌漑用水や河川の水が使用されており、また、収穫された後、洗浄される。さらに香辛料の種類によっては、収穫後、水に長期間浸漬し、発酵させ、外部の果肉が除去される。このように、香辛料の生産には多量の水が使用される。このため、生産国の水の衛生状況によっては、水を介した香辛料のウエルシュ菌汚染が発生しているのではないかと考えられた。

香辛料や海産乾燥食品に対して、今回の調査で *cpe* 陽性ウエルシュ菌の汚染があまり認められなかったのは食肉である。特に牛肉からはウエルシュ菌は一切検出されず、豚

肉からは *cpe* 陰性ウエルシュ菌がわずかに検出されただけである。鶏肉では、*cpe* 陰性ウエルシュ菌の陽性率は非常に高かったが、*cpe* 陽性ウエルシュ菌の陽性率は低かった。近年、ウシやブタの食肉処理における衛生管理が進んでいるため、食肉における汚染が少なくなっているのではないかと考えられた。また、最終製品として店頭で販売される前に、ブロック肉の外側をトリミングしてからスライスし販売している業者もある。このような衛生管理措置が、牛肉や豚肉における低いウエルシュ菌汚染率の要因のひとつになっているのではないかと考えられた。また、今回の調査では芽胞だけを調査対象としたため、陽性率はさらに下がったのではないかと考えられた。一方、食肉処理における衛生管理の改善があまり進んでいないことが、鶏肉におけるウエルシュ菌の汚染率の高さとして現れているのではないかと考えられた。しかし、従来報告同様、今回の調査でも鶏肉からウエルシュ菌は検出されるが、*cpe* 陽性ウエルシュ菌はほとんど検出されなかった。これらの結果は、ニワトリが *cpe* 陽性ウエルシュ菌の汚染源として重要でない可能性を示唆している。今後、動物個体レベルの汚染と

最終製品としての食肉における汚染の関連性について調査を進める必要があると考えられた。

根菜も、鶏肉同様に多くの検体でウエルシュ菌が検出されたが、エンテロトキシン保有ウエルシュ菌の検出率は低かった。このことから、根菜を汚染源としたウエルシュ菌食中毒の発生リスクは、香辛料や海産乾燥食品に比べて低いのではないかと考えられた。

今回、推定ウエルシュ菌芽胞数の測定のために、ハンドフォード改良培地でのコロニーの発育を調査した。しかし、ハンドフォード改良培地の選択性はそれほど強くないためか、ウエルシュ菌以外のものと思われる黒色コロニーが培地一面に広がったりしたため、計数には利用できなかった。特にカレー粉・香辛料では、*cpa* が陰性の検体でもハンドフォード改良培地上で多くのコロニーが発育したため、ウエルシュ菌以外のおそらくクロストリジウム属菌の汚染を強く受けていることが示唆された。また、魚・エビでは、*cpa* が陽性となった検体でも、ハンドフォード改良培地上にコロニーが認められなかった。このことから、魚・エビにおけるウエルシュ菌の汚染は、非常に低いものであることが示唆された。

今回作製した免疫磁気ビーズ法は 10^2 cfu/mL 以上の菌濃度でウエルシュ菌を検出することが出来た。多くのウエルシュ菌食中毒事例では、食品中の菌濃度が 10^4 cfu/mL 以上になると考えられているため、食中毒の原因究明に使用する場合、十分な検出感度を有していると考えられた。ビーズから DNA を抽出し PCR を行なった場合は当日中に、ビーズを選択培地に塗抹した場合は翌日にウエルシュ菌の存在を確認することができる。いずれにせよ、増菌培養を行わなくても済むため、増菌培養にかかる 1 日を短縮することができる。今後は、検出感度をさらに向上させ、食中毒の原因究明だけでなく、汚染調査にも使用できるようにしたい。カレー以外の他の食品中でも使用できるか検討する必要があると思われる。また、今回使用した菌株以外でも同様の結果が得られるかどうか検討する必要があると思われる。

E. 結論

今回の調査結果から、香辛料・カレー粉やイリコ、エビ、海藻などの海産乾燥食品がウエルシュ菌食中毒予防のために重要であると考えられた。一方、これまでウエルシュ菌食中毒の原因食材であると考えられてきた牛肉、豚肉、鶏肉、根菜

による食中毒発生リスクは低いと考えられた。

今回作製した迅速検査法は 10^2 cfu/mL 以上のウエルシュ菌を検出することができた。今後、特異性を確認するとともに、検出感度をさらに向上させ、食中毒の原因究明だけでなく、汚染調査にも使用できるようにしたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

cpe保有ウエルシュ菌検査手順

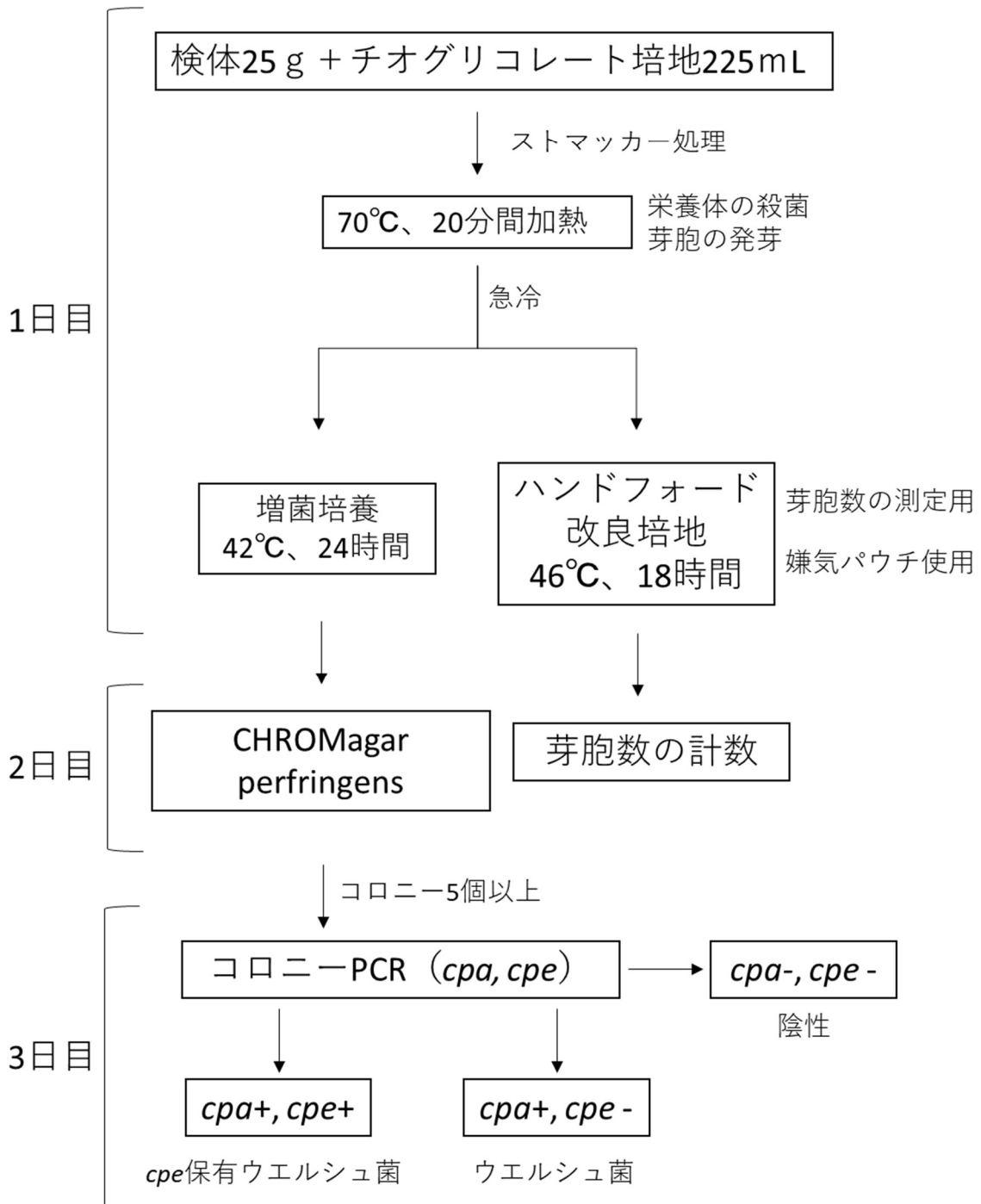


図1 汚染実態調査検査手順

- プライマー

multi-cpa-F: GCTAATGTTACTGCCGTTGA

multi-cpa-R: CCTCTGATACATCGTGTAAG

multi-cpe-F: GGAGATGGTTGGATATTAGG

multi-cpe-R: GGACCAGCAGTTGTAGATA

- 反応液

*Quick Taq HS DyeMix	12.5 μ L
multi-cpa-F (50 μ M)	0.1 μ L
multi-cpa-R (50 μ M)	0.1 μ L
multi-cpe-F (50 μ M)	0.1 μ L
multi-cpe-R (50 μ M)	0.1 μ L
Template	2.0 μ L
H ₂ O	10.0 μ L

*Quick Taq HS DyeMix (TYOBO, #DTM-101)

- プログラム

94°C	2 min
94°C	30 sec
55°C	1 min
68°C	1 min × 30
68°C	5 min

- 判定

324 bp → *cpa* (アルファ毒素遺伝子) 陽性

233 bp → *cpe* (エンテロトキシン遺伝子) 陽性

図 2 マルチプレックス PCR の条件

表 1 増菌培養後の PCR の結果

品目	検体数	CPA陽性 (%)	CPE陽性 (%)	CPE/CPA (%)
カレー粉 香辛料	204	36 (17.6)	11 (5.4)	30.5
貝	65	31 (47.7)	6 (9.2)	19.4
素干しエビ イリコ	21	11 (52.3)	2 (9.5)	18.2
海藻	39	4 (10.3)	1 (2.6)	25.0
魚・エビ	79	3 (3.8)	2 (2.5)	66.7
乾物	96	40 (41.7)	2 (2.1)	5.0
牛肉	95	0 (0.0)	0 (0.0)	0.0
豚肉	110	3 (2.7)	0 (0.0)	0.0
鶏肉	105	79 (75.2)	2 (1.9)	2.5
根菜	121	34 (28.1)	1 (0.8)	2.9

表2 コロニーPCRの結果

品目	検体数	CPA陽性 (%)	CPE陽性 (%)	CPE/CPA (%)
カレー粉 香辛料	204	78 (38.2)	8 (3.9)	10.3
貝	65	41 (63.1)	6 (9.2)	14.6
素干しエビ イリコ	21	13 (61.9)	1 (4.8)	7.7
海藻	39	4 (10.3)	1 (2.6)	25.0
魚・エビ	79	2 (2.5)	0 (0.0)	0.0
乾物	96	40 (41.7)	1 (1.0)	2.5
牛肉	95	0 (0.0)	0 (0.0)	0.0
豚肉	110	3 (2.7)	0 (0.0)	0.0
鶏肉	105	79 (75.2)	0 (0.0)	0.0
根菜	121	34 (28.1)	0 (0.0)	0.0

表3 汚染実態調査の結果

品目	検体数	CPA陽性 (%)	CPE陽性 (%)	CPE/CPA (%)
カレー粉 香辛料	204	79 (38.7)	15 (7.4)	19.0
貝	65	44 (67.7)	8 (12.3)	18.1
素干しエビ イリコ	21	13 (61.9)	2 (9.5)	15.3
海藻	39	6 (15.3)	1 (2.6)	16.7
魚・エビ	79	5 (6.3)	2 (2.5)	40
乾物	96	46 (47.9)	2 (2.1)	4.3
牛肉	95	0 (0.0)	0 (0.0)	0.0
豚肉	110	3 (2.7)	0 (0.0)	0.0
鶏肉	105	79 (75.2)	2 (1.9)	2.5
根菜	121	37 (30.6)	1 (0.8)	2.7

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広

次の職員の令和4年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 ウエルシュ菌食中毒の制御のための検査法の開発及び汚染実態把握のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 衛生微生物部 第二室長

(氏名・フリガナ) 大西 貴弘 (オオニシ タカヒロ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)