

令和 5 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

腸管出血性大腸菌の食品での検査法

研究要旨

腸管出血性大腸菌の食品での検査法は、平成 27 年に通知されているが、年月の経過とともに、記載されている機器や試薬の入手が困難になっているものも見られる。このため、現状に即した機器や試薬を調査することが必要とされている。本研究で調査した結果、いくつかの販売中止品や終売になる機器があることが判明した。

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

腸管出血性大腸菌は、病原大腸菌の中で最も病原性が高く、食中毒の発生が注視されている原因物質であり、食品での検査法は、「食品からの腸管出血性大腸菌 026、0103、0111、0121、0145 及び 0157 の検査法」(食安監発 1120 第 1 号、事務連絡平成 27 年 3 月 24 日、以下通知法)に通知されている。腸管出血性大腸菌食中毒の発生は、毎

年報告があり、報告数の大きな減少も認められていない。このため、食品での検査の機会が多く、その方法は重要とされている。前述の通知法に記載されている機器や試薬が年月の経過とともに入手が困難になっているものも見られるため、本研究では、現在販売されている機器や試薬を調査した。

B. 研究方法

[1] 遺伝子検出法について

通知法記載の遺伝子検出法について、機器や試薬などが現在も入手可能であるか、また後継のものが販売されているかを調査した。

[2] 培養法について

通知法記載の培養法について、培地などが現在も入手可能であるか、また後継のものが販売されているかを調査した。

[3] その他の試薬等について

遺伝子検出法や培養法以外に使用する試薬やメーカー名等について、通知法に記載されている内容が現在も入手可能であるか、また後継のものが販売されているかを調査した。

C. 研究結果

[1] 遺伝子検出法について

(1) DNA 抽出法

DNA 抽出キットに関しては、通知法に記載のキットが現状でも販売されていることを確認した。

(2) ペロ毒素遺伝子および 0 抗原遺伝子を検出するキット

リアルタイム PCR 法および Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法のいずれも通知法に記載のキットが現状でも販売されていることを確

認した。

(3) リアルタイム PCR 法の機器

通知法に記載されている Thermal Cyclers Dice Real Time System II : Dice II の販売は終了されており、後継機として Thermal Cyclers Dice Real Time System III および Thermal Cyclers Dice Real Time System IV が販売されていることを確認した。なお、通知法記載の Dice II は、2024 年にサポートが終了される。また、Applied Biosystems のリアルタイム PCR 機器についても、後継機として QuantStudio リアルタイム PCR システムシリーズが販売されていることを確認した。なお、Applied Biosystems 7000、7300 および 7700 の各種機器はいずれも販売およびサポートが終了していた。

(4) LAMP 法の機器

通知法に記載されている Loopamp リアルタイム濁度測定機器 LA-320C および RT-160C (栄研化学) は販売およびサポートが終了しており、現状販売されている機器としては通知法記載の Loopamp EXIA (栄研化学) のみであった。

[2] 培養法について

増菌用培地である mEC の販売元として通知法に記載されているメルクは、その後販売を終了していた。また、通知法記載の XM-EHEC 寒天培地は、アキュレート™ XM-EHEC 寒天培地へ名称変更されていた。

[3] その他の試薬等について

(1) 製造販売元名

和光純薬株式会社は富士フィルム和光純薬株式会社へ、日水製薬株式会社は島津ダイアグノスティクス株式会社へ、デンカ生研株式会社はデンカ株式会社へそれぞれ名称変更されていた。

(2) 試薬

血清型別試薬である大腸菌 0157 検出試薬「UNI」は、大腸菌 0157 検出キット「UNI」へ名称を変更していた。さらに、VT 確認試験にて記載の RIDA スクリーン ベロトキシンは、販売が終了していた。

D. 考察

通知法記載の機器や試薬等の一部がすでに入手困難となっている現状が明らかとなった。また、通知法では遺伝子検出法の検出限界を $4 \log \text{CFU/mL}$ 以上と示されている。今後は、現状販売されているリアルタイム PCR 法の後継機器を用い

て、各種遺伝子検出法の検出限界が定められた値を満たしているかを確認する必要があると思われた。

E. 結論

本研究にて、通知法記載の機器や試薬等の一部がすでに入手できない状況にあるため、食品衛生検査の現場での活用性を向上すべく、現状に即した通知法改定案を作成する必要性が考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(誌上発表)

Hirose, S., Konishi, N., Sato, M., Suzumura, K., Obata, H., Otsuka, K., Doi, R., Goto, K., Kai, A., Arai, S., and Hara-Kudo, Y. Growth and survival of *Escherichia albertii* in food and environmental water at various temperature. *Journal of food protection* 87(4), 100249, 2024.

(学会等発表)

工藤由起子. *Escherichia albertii* の汚染状況及び検査法について. シンポジウム III *E. albertii* を

含めた病原大腸菌による食中毒
の発生と検査体制. 衛生微生物技
術協議会第 43 回研究会. 令和 5
年 7 月 6 日. 岐阜

H. 知的所有権の取得状況・登録状況
なし