

令和3年度 事後評価調査

事後6	カンピロバクターを迅速かつ簡便に型別する新たな遺伝子検査法の研究	課題番号	31-05
研究目的	カンピロバクターの市販血清による型別検査では、型別不能となることが多く、保健所でもその対応に苦慮している。そこで、カンピロバクター分離株の比較を迅速かつ簡便に実施するため、血清型別の代替となるPCR検査法を構築する。		
研究内容	2008年から2010年の一般試験研究で得られたカンピロバクター菌株（約200株）および2008年以降に食中毒で分離された菌株（約60事例分）についてmultilocus sequence typing (MLST) による遺伝子型別を実施する。これらの菌株におけるsequence type (ST) を決定した後、同じSTの全ゲノム情報を公開データベースから取得し、菌株を区別できる遺伝子を選定する。選定した遺伝子を検出できるPCRの検査法を構築・検証する。		
研究期間	令和元～令和2年度	課題担当者	4人
関係施策 行政検査	平成30年度北海道食品衛生監視指導計画		

○ 研究ニーズ（背景、必要性、緊急性）

カンピロバクターが細菌性食中毒に占める割合は多く、平成29年度の全国統計では細菌性食中毒全449件のうち320件（71％）で、北海道の細菌性食中毒全21件中17件（81％）がカンピロバクターによるものであった。このように、カンピロバクターは保健所の細菌検査において重要な病原細菌である。

また、食中毒検査において複数の試料から分離された菌株を比較することは重要である。食中毒を起こすカンピロバクターは主にジェジュニとコリの2菌種であるが、これらに対する市販血清を用いた血清型別はスライド凝集法が使えず、赤血球凝集法を用いるので操作が煩雑であり、また、それを実施しても型別不能となる株が約半数ある。当所ではカンピロバクター分離株を比較する際にはpulsed-field gel electrophoresis (PFGE)かMLSTを実施しているが、どちらも保健所では実施できない。食中毒検査においては迅速性が求められることから、保健所においても利用可能な簡便な型別手法の構築が望まれている。

○ 道が取り組む必要性

カンピロバクターによる食中毒は北海道でも件数が多く、これらに対応する必要がある。

また、各センター保健所では食中毒検査における迅速性が求められており、カンピロバクター分離株を比較する手段を確保する意義は高い。

○ 研究の成果

年次等	主な目標（項目）	達成状況
令和元年度	・調査対象となる菌株のMLST ・データベースを活用した型別用遺伝子の選定	・予定していた菌株のMLSTを実施し、北海道において優勢な遺伝子型を明らかとした。 ・新しいPCR検査系の構築に利用する遺伝子を選定した。
令和2年度	・multiplex PCR系の構築 ・構築した系の実効性の確認と検証	・対象遺伝子の配列からプライマーを作成し、各遺伝子を同時に検出できるPCR系を構築した。 ・構築したPCRを用いて過去の食中毒菌株などを検査し、遺伝子型に応じてグループ分けができることを確認した。

○ 成果の活用策（活用の可能性）

構築した遺伝子検査法は保健所における食中毒検査で活用できる。

また、本研究の成果は、令和元年度、令和2年度の調査研究発表会で公表した他、令和3年度の衛生研究所報に投稿中である。

	評価結果	説明
自己評価	Ⓐ・B・C	構築したPCR検査系は、北海道におけるカンピロバクターの主たる遺伝子型を区別できた。また、それらに該当しない遺伝子型についても何れかのグループに該当し、広くカンピロバクターを型別できた。よって、本研究の目標は達成されたと考えられる。
外部評価	Ⓐ・B・C	同上
総合評価	Ⓐ・B・C	本研究により、カンピロバクター属菌の遺伝子型を迅速に検査するPCR検査法を確立し、道立保健所の食中毒菌検査体制の強化が可能になったことから、一定の研究成果が得られている。