

令和4年度（2022年度） 事前評価調書

事前6	原因不明食中毒に関与する病原細菌を推定するための菌叢解析	課題番号	23-06
研究目的	次世代シーケンサーMiSeqおよび高性能のLinuxコンピュータを用いることで、当所においても菌叢解析を実施することが可能になった。この技術を用いて原因不明食中毒の患者糞便を解析することで、食中毒に関与する病原細菌を推定できるかもしれない。実用性を高めるため、過去の食中毒事例等について菌叢解析を実施し、実測データを蓄積する。		
研究内容	2010年以降、細菌Gに搬入された食中毒関連患者糞便が200～300程度冷凍保存されている。これらのDNAを抽出し、菌叢解析を実施する。食中毒患者であっても、菌叢解析で得られるデータの大部分は無害な常在菌の遺伝子であると考えられるが、原因細菌が既知の食中毒においては、その原因細菌の遺伝子が何パーセント程度検出されるか等のデータを蓄積する。		
研究期間	令和5年度～令和7年度	課題担当者	3人
関係施策 行政検査	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）

北海道で発生する食中毒の大部分は保健所が主体的に調査を実施するが、原因物質が何も検出されなかった場合には衛生研究所での追加調査が依頼されることがある。細菌Gにおいては、リステリア等保健所で扱わない菌種の培養が可能であることに加えて、食中毒細菌の病原遺伝子24種類を同時に検査するマルチプレックスqPCR（RFBS24）を用意しており、これまでに何度か実施したことがある。

当所に次世代シーケンサーが配備されたことで、菌叢解析が可能となった。菌叢解析により得られるデータは膨大であり、これまで実施してきた遺伝子検査では至らなかった情報が得られる可能性がある。令和4年に稚内保健所管内で原因不明の食中毒疑い事例が発生した他、過年度にも原因不明とされた食中毒（疑い）事例は度々発生している。今後未知の細菌による食中毒が発生した際、菌叢解析によって網羅的に細菌種を調査できれば、原因解明の一つの手段となるかもしれない。

菌叢解析で得られるデータの大部分は常在性の腸内細菌に関するもので、データを更に分析する必要がある。常在性の細菌のデータについて蓄積することで、対応中の事例において不要なデータを除去することが可能となり、真に原因と疑われる細菌種を選別できると考えられる。

○ 道が取り組む必要性

北海道で発生する食中毒は北海道が原因を究明すべきであり、その為の手段を用意するためには北海道が主体的に取り組む必要がある。先進的手法のため一般的な試験方法が国などで示されている訳ではない。

○ 研究手法（これまでの研究成果・知見の活用、他機関との連携等）

食品衛生（食肉検査）に関する協力研究で、家畜のサンプルを用いて過去に菌叢解析を実施したことがある。これにより、実際に当所でMiSeqを稼働して菌叢解析用のシーケンスが可能であることは確認済みである。また、得られたデータファイルをLinuxコンピュータで解析して構成菌種の分布を算出する手順も確立した。

MiSeqによるシーケンスの前段階であるライブラリ調製において、使用する酵素やキットの種類によって結果が変化するかどうか未知であるので、比較して確認する必要がある。

○ 年次別目標

年次等	主な目標（項目）
令和5～6年度	過年度の食中毒事例で集められて糞便からDNAを抽出し、菌叢解析を実施する。
令和7年度	データの選定を迅速に行うためのプロトコルもしくはプログラムを作成し、この先の食中毒事例において適用できるよう体制を整備する。

○ 成果の活用策（活用の可能性）

- 得られた知見は、培養やPCRなどの従来法で原因を特定できない食中毒疑い事例において活用できる。

	評価結果	説明	選定結果
自己評価	Ⓐ・B・C	食中毒の原因物質を推定する上で、従来の方法で有益な情報が得られないのであれば、新たな手法を導入する必要がある。菌叢解析は新たな手法としての可能性を秘めており、実用化が期待される。	Ⓐ・否
外部評価	Ⓐ・B・C	同上	Ⓐ・否
総合評価	Ⓐ・B・C	本研究は、従来の方法では原因物質が特定できない食中毒疑い事例において活用できることから、道内の食中毒発生防止対策に活用でき、道民の健康被害を未然に防止する観点から、優先的に取り組む必要がある。	Ⓐ・否