

中間3	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～令和7年度	課 題 担当者	5 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sqPCR（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。

○ 研究の進捗状況

年次等	主な目標（項目）	進捗状況
令和5年度	過年度の食中毒事例で集められた糞便からDNAを抽出し、菌叢解析を実施する。	研究を進めるにあたって、適切なPCR試薬や解析方法を検討し、手順を決定した。凍結保存してある糞便検体について古いものから順にDNAを抽出し、定めた手順に沿って116検体について菌叢解析を実施した。既知事例の検体に対する検証では、常在性の菌種については菌叢解析による検出と該当事例の相関がみられていないが、カンピロバクター、リステリア等の非常在性の細菌については該当事例における約半数の検体で病原体を検出することができた。得られたデータについては食品微生物学会（大阪）、微生物研修会（道衛研）、所内発表（道衛研）で発表した。
令和6年度	過年度の食中毒事例で集められた糞便からDNAを抽出し、菌叢解析を実施する。	調査1年目が経過してところで、糞便ではなく食品における菌叢解析に適用できるか試験したが、食品由来の葉緑体やミトコンドリアを優位に検出してしまふことが明らかとなった。食品に適用する場合には別の手法でDNAを抽出するなど再検討すべき課題が明らかとなった。

○ 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	継続判定
自己評価	Ⓐ・B・C	最初に条件検討を実施した上で糞便検体の菌叢解析を順次進め、100を超える検体についてデータが得られた。一部の検体では既存の検査結果と相関した結果が菌叢解析でも得られており、このまま解析を進めることで予定通りの達成が見込まれる。	Ⓐ・否
外部評価	S Ⓐ・B・C	同上	Ⓐ・否
総合評価	Ⓐ・B・C	本研究により、従来法では原因不明とされた食中毒の究明に寄与すると見込まれることから、今後も更なる研究を進める必要がある。	Ⓐ・否