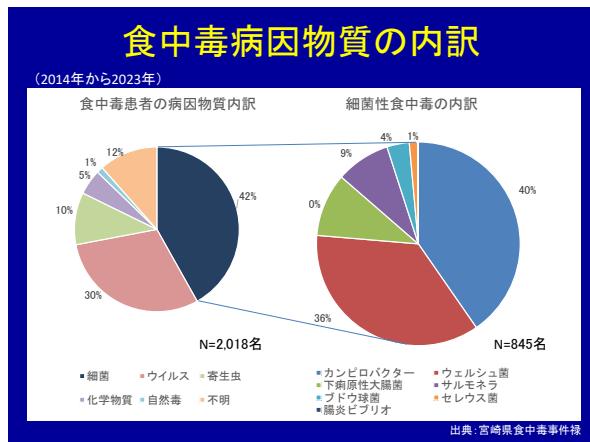


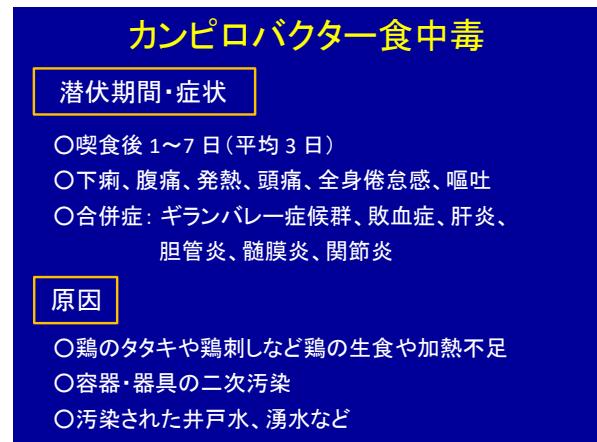
1



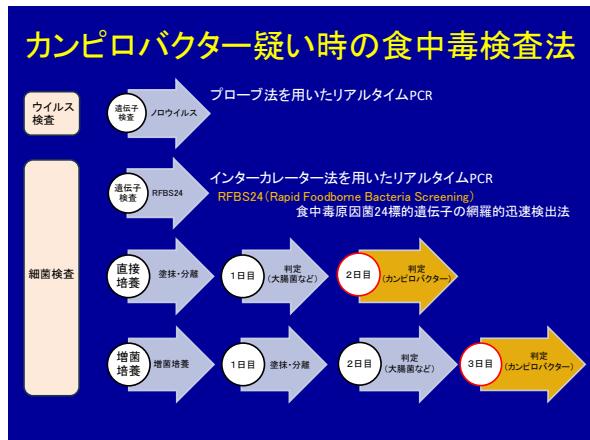
2



3



4



5

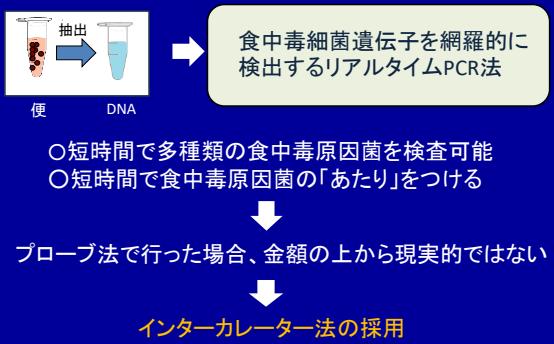
プローブ法とインターラーカレーター法

	プローブ法	インターラーカレーター法
長 所	<ul style="list-style-type: none"> ● 特異性が高い (目的菌とプローブとプライマーの二重特性) 	<ul style="list-style-type: none"> ● コストが低い ● 手間がかからない ● 反応系の構築が比較的容易 (ターゲット遺伝子毎にプローブの設計、合成が不要)
短 所	<ul style="list-style-type: none"> ● コストが高い (ターゲット配列ごとにプローブの設計および合成が必要) 	<ul style="list-style-type: none"> ● 特異性は高がない ● 非特異的増幅産物も検出

出典:株式会社 池田理科

6

RFBS24について



7

RFBS24 検査対象

検出頻度が多い	検出頻度が少ない
ウェルシュ菌	プロビデンシア・アルカリファシエンス
カンピロバクター・ジェジュニ	コレラ菌
カンピロバクター・コリ	リステリア・モノサイトゲネス
腸炎ビブリオ (TDH, TRH)	ブレンショナス・シゲロイディス
セレウス菌 (嘔吐型, 下痢型)	赤痢菌(<i>path</i>)
黄色ブドウ球菌	エロモナス・ハイドロフィラ
サルモネラ	エルシニア・エンテロコリチカ
下痢原性大腸菌	食中毒細菌の24遺伝子を網羅的に検出できる リアルタイムPCR法
EHEC (<i>eae</i> , <i>stx1</i> , <i>stx2</i>)	
ETEC (LT, STp, STh)	
EPEC (<i>eae</i>)	
EAEC (<i>aggR</i> , <i>astA</i>)	
EIEC (<i>path</i>)	
DAEC (<i>afadD</i>)	

8

実際のRFBS24の運用

スクリーニングで陽性が判明した以降に搬入された検体

1

培養法のみ実施 (カンピロバクターの培養は時間がかかる)

- ・RFBS24が食中毒原因菌のあたりをつける目的
 - ・菌種によっては感度が低い
 - ・対象が患者便のみ
 - ・便の量や状態によって培養法と結果が異なる

9

Campylobacter jejuni の血清型 (Pennerの血清型)

【受身血球凝集反応(PHA法)】

1

【PCR法】

これまで報告していなかった血清型が報告可能
ギランバレー症候群を起こしやすい血清型も網羅

10

PHA法

夾膜多糖をもとに25種が免疫血清として市販

血清群	抗原因子	血清群	抗原因子	血清群	抗原因子
A群	1, 44	K群	12	V群	32
B群	2	L群	15	Y群	37
C群	3	N群	18	Z群	38
D群	4,13,16,43,50	O群	19	Z2群	41
E群	5	P群	21	Z4群	45
F群	6,7	R群	23,36,53	Z5群	52
G群	8	S群	27	Z6群	55
I群	10	U群	31	Z7群	57
J群	11				

11

PCR法

- ・*C. jejuni* の血清型関連遺伝子を特異的に検出
 - ・37種類のプライマーを使用したマルチプレックス PCR
 - ・抗原因子が耐熱性抗原(heat-stable antigen)であることから HS:__ と表記
(ギランバレーを起こしやすい抗原因子 HS:19)

12

PCR法

37種類のプライマーを4つのグループに分けたマルチブレックスPCR

グループI		グループII		グループIII		グループIV	
対応する 血清群	抗原因子 (HS)	対応する 血清群	抗原因子 (HS)	対応する 血清群	抗原因子 (HS)	対応する 血清群	抗原因子 (HS)
gB	2	gA	1	gA	44	gV,g28	32,58
gC	3	gD(4B)	4B	gZ4,gE,gV,g29	45,5,32,60	gZ5	52
gD(4A)	4A	gG	8,17	gT	29	g29	60
gF	6,7	gR	23,36	gQ	22	gZ6	55
gI	10	gZ3	42	gH	9	gV	32
gI,gU,gZ8	15,31,58	gZ7	57	gY	37	gJ	11
gZ2	41	gK	12	gN	18	—	40
gR	53	gS	27	—	C. jejuni Sp.	gZ	38
gO	19	gP	21				
—	63	gE,gU	5,31				
gW,gX	33,35						

PCR法でのみ検出可能な抗原因子

PHA法とPCR法との比較

C. Jejuni 77株を用いてPHA法、PCR法にて血清型別を実施

【対象】ヒトから分離された 23株
食品から分離された 54株

型別可能(株)	型別不能(株)	型別率(%)
PHA法	32	45
PCR法	72	5

香川県環境保健研究センター所報 第19号 2020年

13

14

調査研究の目的

- 培養に時間がかかるカンピロバクターを迅速に検出できる遺伝子検査体制の確立
(対象) • C. jejuni / coli
• Genus Salmonella
- C. jejuni 血清型の遺伝子
型別(PCR法)を用いて過去の事例や市販鶏肉の血清型の保有状況を明らかにする

計画

- 令和7年度 : Genus Salmonella、C. jejuni / coliの Triplex Real-time PCRの設計 (Probe法)
- 令和8年度 : 既報との比較、検証
 - 抽出方法、検出感度
 - 培養法との比較
 - 血清型のPCR型別調査
- 令和9年度 : 血清型のPCR型別調査
食材、拭き取り検査への応用

15

16

効果



新たな検査体制の提供
状況に応じた適切な遺伝子検査を選択し、迅速な結果の提供



原因菌と感染者の早期把握
培養法の結果の前に原因菌の推定と陽性者が判断できる



感染拡大防止
原因菌が早期に判明することで、感染拡大防止に寄与できる

17