
東京都微生物検査情報

MONTHLY MICROBIOLOGICAL TESTS REPORT, TOKYO

第46巻 第7号
2025年7月号
月 報



東京都健康安全研究センター

<https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/>

ISSN 1883-2636

食品からの腸管出血性大腸菌ベロ毒素(VT)遺伝子検査法の 検討と検査成績について

1. はじめに

健康安全研究センター（以下、当センター）では、一般食品からの腸管出血性大腸菌の検査について、厚生労働省通知¹⁾（以下、通知法）に準じたベロ毒素（VT）遺伝子を対象としたスクリーニング検査を実施している。一方、検査の過程において、チョコレートや褐藻類を含む食品、ベリー類等、食品によっては阻害物質の影響でPCR反応が正常に行われないことがある^{2,3)}。我々も、これまでにPCR反応が阻害され内在性コントロールが検出されず、検査不能となった事例を経験している⁴⁾。そこで、検査不能となった食品及び既知のPCR反応阻害物質を含む食品について、通知法に則った遺伝子抽出法及びリアルタイムPCR Master Mix（以下、Master Mix）を用い、PCR反応に及ぼす影響を検討した。また、この検討実験で得られた内容を当センターにおける腸管出血性大腸菌の検査業務に反映した結果を報告する。

2. 抽出法及び Master Mix の検討

通知法では、培養液からのVT遺伝子抽出法はアルカリ熱抽出法を含めた5種類の方法（A-E）と、その他同等品（F）が使用できることが記載されている。さらに、VT遺伝子検出に用いる Master Mix については、Nielsen らの方法⁵⁾を参照する場合に TaqMan Environmental Master Mix 2.0（Thermo Fisher Scientific：以下、Environmental）とその他同等品が使用できることが記載されている。そこで、リアルタイムPCR法による遺伝子の増幅実験を行い、PCR阻害物質の影響を比較した。検

討実験では、PCR反応が阻害されやすい加工食品（チョコレートを含む食品、褐藻類を含む食品、ベリー類、菓子類及びソース類）計14検体について、A-Fの6種類の遺伝子抽出法を用いてVT遺伝子の抽出を行った。Master Mix は通知収載の Environmental 及び同等品としてキャリーオーバーによるコンタミネーションを防止できる TaqMan Universal Master Mix II, with UNG（Thermo Fisher Scientific：以下、Universal）の2種類を用いた。その結果、Environmentalを使用した場合、チョコレートを含む食品はアルカリ熱抽出法（A）ではPCR反応阻害物質は除去されることがあるが、その他の抽出法（B-F）を用いることでPCR反応阻害物質が除去されPCR反応が改善された（表1）。一方、Universalを使用した場合、アルカリ熱抽出法（A）及び（B）の非カラム抽出法ではPCR反応阻害物質は残留しやすい傾向があり、カラム抽出法（C-F）を用いた場合でも、褐藻類を含む食品では阻害物質の影響を受けやすい傾向があった（表2）。

3. 当センターにおける検査成績

当センターの一般食品からの腸管出血性大腸菌の検査は、これまでVT遺伝子抽出法にはアルカリ熱抽出法を用い、Master Mix はUniversalを用いていた。しかし、2019年～2023年の5年間に検査した2005検体中121検体（6.0%）が食品の成分によりPCR反応が阻害され、検査不能となっていた（表3）。そこで、前述の検討実験を参考に、2024年度はEnvironmentalを用いた。カラム抽出法はアルカリ熱抽出法に比べて

手間と時間がかかることから、抽出法はアルカリ熱抽出法を実施した。その結果、PCR反応が阻害され検査不能となった検体数は、435検体中2検体（0.5%）にまで低下し、検査不能の検体数が減少した。なお、検査不能となった検体はすべてチョコレートを含む食品であり、これらの検体はカラム抽出法を用いて再抽出することでPCR反応の阻害物質の影響を改善することができた。

4. まとめ

PCR反応が阻害されやすい食品について、6種類のDNA抽出法と2種類のリアルタイムPCR Master Mixを用いて検討実験を実施した。その結果、使用するMaster Mixや抽出法の違いによってPCR反応阻害物質の除去に差が生じた。さらに検討実験の結果から、当センターの検査業務において、2024年度からMaster Mixを変更し、食品によって抽出法を変えたところ、検出率が改善した。検討実験及び検査実績の結果から、PCR反応阻害物質を多く含む食品につ

いては使用するリアルタイムPCR Master Mixの特性に合わせた抽出法の組み合わせを考え、適した方法を選択する必要があると考えられる。

<参考文献>

- 1) 厚生労働省：食安監発1120第1号，腸管出血性大腸菌026，0103，0111，0121，0145及び0157の検査法について（通知），平成26年11月20日．
- 2) 吉田加寿子，柳沼 幸，伊藤岩夫：福島衛研年報，25，76-81，2007
- 3) Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., et al.: J. Appl. Microbiol., 113, 1014-1026, 2012
- 4) 永田 真理菜，小林 真紀子，樋口容子，他：食品からの腸管出血性大腸菌ベロ毒素（VT）遺伝子の抽出法及び検出法の検討，東京健安研セ年報，75，83-87，2024
- 5) Nielsen, E.N., Andersen, M.T.: J. Clin. Microbiol., 41, 2884-2893, 2003

（食品微生物研究科 永田真理菜）

表 1. 検討実験における PCR 反応阻害数
(Environmental を使用した場合：n=3)

食品名	抽出法					
	非カラム		カラム			
	A	B	C	D	E	F
チョコレートケーキ	3	—	—	—	—	—
ガトーショコラ	3	1	—	—	—	—
チョコマフィン	—	—	—	—	—	—
ひじき煮	—	—	—	—	1	—
昆布巻き	—	—	—	—	—	1
昆布顆粒だし	—	—	—	—	—	—
冷凍いちご	—	—	—	1	—	—
冷凍ラズベリー	—	—	—	—	—	—
羊羹	—	—	—	—	—	—
プリン	—	—	—	—	—	—
いちごジャム	—	—	1	—	—	—
ウスターソース①	—	—	1	—	—	—
ウスターソース②	—	—	—	—	1	—
中濃ソース	—	—	—	—	—	—

A：アルカリ熱抽出法、B～F：市販キット / —：阻害なし

表 2. 検討実験における PCR 反応阻害数
(Universal を使用した場合：n=2)

食品名	抽出法					
	非カラム		カラム			
	A	B	C	D	E	F
チョコレートケーキ	2	2	—	—	—	—
ガトーショコラ	2	2	—	—	—	—
チョコマフィン	2	2	—	—	—	—
ひじき煮	2	2	2	2	—	2
昆布巻き	2	2	1	1	—	1
昆布顆粒だし	2	2	2	2	—	2
冷凍いちご	2	2	—	—	—	—
冷凍ラズベリー	1	2	—	—	—	—
羊羹	—	—	—	—	1	—
プリン	—	—	1	—	—	—
いちごジャム	1	—	—	1	—	—
ウスターソース①	2	1	—	—	1	—
ウスターソース②	2	1	—	—	—	—
中濃ソース	1	—	—	—	—	—

A：アルカリ熱抽出法、B～F：市販キット / —：阻害なし

表 3. 当センターにおける腸管出血性大腸菌の検査実績

年度	検査数	検査不能検体数	検査不能率
2019 年度	647	39	6.0%
2020 年度	334	17	5.1%
2021 年度	323	24	7.4%
2022 年度	292	14	4.8%
2023 年度	409	27	6.6%
2019～2023 年度（合計）	2005	121	6.0%
2024 年度	435	2	0.5%

表1 病原体搬入・検出状況(4種等)※

2025 年 7 月分

機関名		コレラ菌	赤痢菌	チフス菌	パラチフス A 菌	腸管出血性 大腸菌	結核菌
区	千代田区						
	中央区					1	
	港区		1			2	1
	新宿区		1			3	
	文京					1	
	台東						1
	墨田区						
	江東区						
	品川区					5	
	目黒区					2	
	大田区		1			2	
	世田谷					3	3
	渋谷区					2	
	中野区					5	
	杉並区					3	
	豊島区					2	1
	北区					1	
	荒川区					1	
	板橋区					1	
	練馬区					2	1
	足立区					3	1
	葛飾区						2
	江戸川						2
市	町田市					4	
	八王子市					7	1
小 計			3			50	13
都	西多摩					3	
	多摩立川					5	1
	南多摩					2	
	多摩府中					6	3
	多摩小平					5	1
	島しょ						
小 計						21	5
合 計			3			71	18

東京都健康安全研究 センター分離分					39	
----------------------	--	--	--	--	----	--

※2016 年 4 月より、各保健所から搬入された検体を集計することとした

表2 検体搬入状況(全数把握対象疾患-五類)*

2025年7月分

	検体数	2025年累計
侵襲性インフルエンザ菌感染症(菌)	6	52
侵襲性髄膜炎菌感染症(菌)	1	11
侵襲性肺炎球菌感染症(菌)	6	91
カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症(菌)**	11	46
播種性クリプトコックス症(菌)	2	9
合 計	26	209

*2016年4月(第37巻・第4号)から追加 **2023年5月本庁通知による名称変更

表3 病原微生物検出状況(食中毒関連)

2025年7月分

	菌 種 名	検体数	2025年累計
細菌	大腸菌		
	毒素原性		
	組織侵入性		
	病原血清型		
	腸管出血性	9	9
	その他・不明		
	サルモネラ		
	O4	7	11
	O7		
	O8		5
	O9		
	その他		
	不明		
	エルシニア・エンテロコリチカ		
	エルシニア・シュドツベルクローシス		
	腸炎ビブリオ		
	その他のビブリオ		
	エロモナス		
	プレジオモナス・シゲロイデス		
	カンピロバクター	25	99
	黄色ブドウ球菌	23	23
	F型ウエルシュ菌	10	32
	ボツリヌス菌		
	F 型ボツリヌス毒素産生性 クロストリジウム・バラティイ		
	リステリア・モノサイトゲネス		
	セレウス菌		
	赤痢菌		
	エシェリキア・アルベルティイ		
	プロビデンシア・アルカリファシエンシス		
ウイルス	ノロウイルス(G I)		17
	ノロウイルス(G II)	13	854
	ノロウイルス(G I , G II)		8
	ロタウイルス		24
	サポウイルス		
寄生虫	アニサキス	2	18
	クドア		
合 計		89	1100

表4 HIV 検査数及び陽性数

2025 年 7 月分

	男性		女性		性別不明		合計	
	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数
検査数	119	0	41	0	0	0	160	0
2025 年累計	660	6	281	0	2	0	943	6

表5 性感染症検査数及び陽性数

2025 年 7 月分

	梅毒検査		クラミジア遺伝子検査		淋菌遺伝子検査	
	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数
検査数	162	14	207	9	141	0
2025 年累計	939	63	1,225	43	841	1

表6 定点把握疾患別病原体分離状況（ウイルス）

2025 年過去 3 か月

定点種別	対象疾患名	検出病原体	5 月	6 月	7 月	合計
急性呼吸器感染症 (小児科・内科)		RS ウイルス	5			5
		エンテロウイルス		1		1
		アデノウイルス	9	4		13
		インフルエンザウイルス AH1pdm09	3			3
		インフルエンザウイルス AH3	1			1
		インフルエンザウイルス B 型 Victoria 系統	6			6
小児科	不明発疹症	アデノウイルス	1			1
	手足口病	エンテロウイルス		1		1
	伝染性紅斑	エンテロウイルス		2		2
眼科	流行性角結膜炎	アデノウイルス	1	4		5

◆東京都微生物検査情報◆

2025年8月29日

編集・発行

東京都健康安全研究センター

東京都感染症情報センター

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-24-1

TEL : 03-3363-3213

FAX : 03-5332-7365

S1153803@section.metro.tokyo.jp

<https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/>

(2023年7月1日よりURLを変更しました)