

演題名：Multiplex PCRを用いた *Salmonella* Typhimurium の迅速判定法の検討
発表者名：○北野崇¹⁾ 銘苺朋子¹⁾ 大場三緒子¹⁾ 久高潤²⁾
発表者所属：1) 中央食肉衛生検査所 2) 衛生環境研究所

1. はじめに

豚のサルモネラ感染症として、と畜場法及び家畜伝染病予防法で全部廃棄の対象に指定されている血清型には *Salmonella* Typhimurium (以下 *S. T*)、*Salmonella* Dublin、*Salmonella* Enteritidis、*Salmonella* Choleraesuis(以下 *S. C*)の4つがある。本県では平成20年5月より本症が多発しており、その原因菌の多くは *S. C* であるが *S. T* の発生も認められる。*S. T* は人間を含む哺乳類及び鳥類にも感染しうる公衆衛生上重要な細菌であるとともに近年多剤耐性株が出現し、その拡大が懸念されている。しかし通常の方法では本菌判定に7日、APIを用いた判定法でも6日を要する。今回 *S. T* 迅速判定の一助とすることを目的に、Multiplex PCR(以下MPCR)を用いた方法を検討したので報告する。

2. 材料及び方法

(1) 材料： *S. T* は沖縄県家畜衛生試験場(以下家衛試)で分離された2株および当所で分離された1株を用いた。*S. T* と同じ04血清型として、同じく家衛試で分離された *Salmonella* Agona(以下 *S. Agona*)2株、当所で分離した *Salmonella* Derby (以下 *S. Derby*) 3株、群馬県食肉衛生検査所で分離された *Salmonella* Schwarzengrund(以下 *S. Schwarzengrund*)1株を用いた。

(2) 方法： Youngら(Jpn J Infect Dis. 2003 Aug;56(4):151-5)を参考に、QUIAGEN Multiplex PCR KITを用いてアルカリ熱抽出法でDNAを抽出した。

プライマー(invitrogen社)と増幅領域は以下の通りである。

Rfbj...04抗原(663bp) Flic...H1:i抗原(183bp) Fljb...H2:1,2抗原(526bp)

増幅サイクル数をYoungらの方法の5/6(25回)に、プライマー濃度をQUIAGEN社推奨の1/2(0.1 pmol/ μ l)に設定しPCRを行った。反応後、アガロースゲル電気泳動で得た増幅産物を確認した。

3. 結果

S. T からは04抗原、H1:i抗原、H2:1,2抗原の各領域に増幅産物を確認した。一方、*S. Agona*、*S. Derby*、*S. Schwarzengrund* では04抗原領域にのみ増幅産物が確認できた。

4. 考察

2000種以上知られている血清型の中で04:i:1,2の抗原組み合わせを有するのは *S. T* のみであるため、MPCR法は本菌の判定に有効と考えられる。MPCR法は採材から4日で結果を得ることが可能であり、迅速性において現行法及びAPIを用いた方法より優れている。さらに安価に利用できる上、手技も平易である。今後、分離株の多くを占める *S. C* に対するMPCRを用いた迅速判定法の検討も含め、さらに例数を増やし検査実績を重ねていきたい。