

論文要旨

区分	甲	氏名 古川真斗
<p>論文題名 ウマにおける <i>S. fayeri</i> の簡易検査法の開発を基盤とした寄生部位の解析</p> <p>論文の要旨 平成 15 年から生鮮食品を共通食とする原因不明有症事例（食中毒事例を含む）が全国的に増加しており、原因が特定できないため、多くの事例が有症苦情として処理されていた。熊本県においても、平成 23 年頃までは、食後数時間程度で一過性の嘔吐や下痢といった食中毒様症状を伴う事例が年間 20 件以上発生しており、その共通食に生食用馬肉が含まれていた。いずれも、症状は嘔吐や下痢といった食中毒様症状であり、喫食後数時間程度で発症している。原因究明のための厚生労働省の特別研究調査により、馬肉に寄生している住肉胞子虫は <i>S. fayeri</i> であることが確認され、ウサギに対して下痢原性を有しており、その下痢原性は、ブラディゾイトの構成タンパク質の 1 つである 15kDa のタンパク質に起因するものであることが報告されている。</p> <p>このような状況の中、厚生労働省は馬肉中の <i>S. fayeri</i> の検査法について、通知を發出しており、各都道府県においては、この通知に基づき検査を実施しているところである。具体的な <i>S. fayeri</i> の検査法は、コンベンショナル PCR により馬肉中の <i>S. fayeri</i> の 18SrRNA の遺伝子を検査し、陽性である検体については、馬肉を直接実体顕微鏡で観察し、<i>S. fayeri</i> を検出する方法である。しかしながら、この検査法については、PCR に時間を要し、煩雑な操作も必要であり、実態顕微鏡での観察については、筋肉中のシストと脂肪との区別がつきにくいことから、汎用性に乏しいと考えられるため、簡易で迅速的に結果が判明する簡易検査法を開発することは有意義であると考えられる。</p> <p>一方で、<i>S. fayeri</i> の病原性に関する研究については、報告があるものの、ウマにおける寄生分布の解明は実施されておらず、寄生の多い部位や寄生の見られない部位等は解明されていない。馬肉の衛生管理の向上や有症事例発生時の検査部位の選定等のために、寄生部位の偏在等を明らかにすることが非常に有意義であると考えられる。</p> <p>このような背景の下、<i>S. fayeri</i> の簡易検査法の開発や寄生分布の解析するために、簡易検査法として有用であると考えられる loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法を活用した <i>S. fayeri</i> 簡易検査法について検討した。次いで、馬肉中の <i>S. fayeri</i> の寄生分布について解析を行った。また、簡易検査法として検討した LAMP 法について、有用性評価を行った。以下に、得られた知見を要約する。</p>		

1) LAMP 法を活用した *S. fayeri* の簡易検査法の開発

従来法と比べ、非常に短時間で検査結果を得ることができ、汎用性の高い検査法である LAMP 法を採用し、簡易検査法の開発を行ったところ、従来法と比べて迅速で汎用性の高い検査法であり、検出感度は 10^4 コピーであった。また、5 つの機関が参加したコラボスタディーを実施することで実験室間の室間再現性について確認し、全ての機関で一致する結果が得られた。

2) 馬体内における *S. fayeri* の寄生分布解析

ウマの喫食部位を調べることにより高濃度寄生部位を選定するために検討した結果、調べた 6 頭の純国産馬は *S. fayeri* の寄生が確認されなかった。24 頭の外国産馬については全て *S. fayeri* の寄生が確認された。部位別にみると、タテガミ、心臓、肝臓及び心根については、純国産馬及び外国産馬ともに *S. fayeri* の寄生が確認されなかったが、その他の部位については、寄生量にばらつきがみられるものの、*S. fayeri* の寄生が確認された。主成分分析を行い、高濃度寄生部位を選定したところ、ヒレ、フタエゴ、外モモ、カクマク及びヒレ下がりが高濃度寄生部位であることが示唆された。

3) 簡易検査法の有用性評価

高濃度寄生部位を含めた複数の部位を、簡易検査法及びリアルタイム PCR 法で得られた結果を比較したところ、半数以上の検体で結果の一致が確認されたものの、一部の検体では結果に相違が見られた。しかし、今回選定した 3 部位の中で、1 部位でも *S. fayeri* が検出されたウマについては、*S. fayeri* が寄生していることを判別することが可能であり、3 部位全てで *S. fayeri* が検出されなかったウマについては、*S. fayeri* が寄生していないと判別することが可能であることが示唆された。

以上の結果より、*S. fayeri* の寄生分布解析により選定された高濃度寄生部位を含む 3 部位を、今回開発した汎用性の高い簡易検査法で検査することにより、迅速的にウマの個体別に *S. fayeri* の寄生の有無を判別することが可能となることが示唆された。今回得られた知見は、馬肉に関する衛生管理の向上に寄与するだけでなく、公衆衛生の向上のために検査法を開発する上での有用な基礎データになるものと考えられる。

[作成要領]

1. 用紙は A 4 判上質紙を使用すること。
2. 文字の大きさは 10 ポイント程度とすること。
3. 要旨は、2,000 字程度にまとめること。
4. 本様式によりワープロ浄書すること。