食品検体のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の実用性の検討

〇東方　美保[1)]、斎藤　博之[2)]、田中　智之[3)]、武田　直和[4)]

（福井県衛生環境研究センター[1)]、秋田県健康環境センター[2)]、堺市衛生研究所[3)]、国立感染症研究所[4)]）

【目的と意義】ノロウイルス(NV)が原因物質と疑われる食中毒検査において、推定原因食品からのウイルス検出が切望されている。しかし、効率的な NV 濃縮法が存在しない現状では多大な労力と時間をかけても検出可能なケース（二枚貝・表面汚染・高濃度汚染等）が限られ、偽陰性のまま原因食品の汚染が見過ごされている可能性が高い。この事態に対応すべく、新規に開発したパンソルビン・トラップ法（パントラ法）での NV 濃縮により、汚染モデル食品からの NV 検出を試み、その有用性について検討した。

【材料と方法】市販の 5 種の総菜（ナポリタン、マカロニサラダ、まぐろ刺身、切り干し大根煮付け、もやし和え物）をノロウイルス陽性の糞便（GII/4 型）で汚染させて汚染モデル食品とし、20g を計り取って 0.1%の Tween20 を含む PBS(-)を 100mL 加え懸濁させた後、遠心操作で上清を分取した。この上清液を二分し、一方をパントラ法で、他方を現行の食品検査で汎用されている PEG 沈澱法で、並行して NV 濃縮を行い、比較した。パントラ法では、上清液に NV ウイルス様粒子(VLPs)で作製した抗 GII/4 血清を添加し NV-抗体複合体を作らせ、そこにパンソルビン（黄色ブドウ球菌の菌体）を加えて形成させた NV-抗体-パンソルビン複合体を遠心操作で沈澱として回収した。PEG 沈澱法では、上清液に PEG6000 と NaCl を加え 4℃で一晩放置し、遠心操作で沈澱として回収した。それぞれの沈澱は蒸留水に懸濁し、TRIzol-LS (invitrogen) を用いて RNA を抽出し、RNeasy Mini kit (QIAGEN)で精製した。その後 Real-time PCR によって NV のコピー数を測定した。

【結果と考察】パントラ法での回収率は、食品なしで同様の操作を行った場合の測定値を 100%とすると、71.0～98.3%と高い値を示した。また、PEG 沈澱法での測定値を基準とすると、ナポリタンで 2.6 倍、マカロニサラダで 0.33 倍、まぐろ刺身で 270 倍、切り干し大根煮付けで 0.63 倍、もやし和え物で 830 倍にそれぞれ相当した。品目によっては測定値が PEG 沈殿法を下回るものもあったがその差は小さく、操作の簡便さ、必要機材の少なさ、所要時間・作業時間の短さなどの利点を考えると、パントラ法は効率・実用性の高い有望な濃縮法と期待される。