



IDF ファクトシート 2019年4月

全ゲノムシーケンシング

最近の高速ハイスループット DNA シーケンシングの進歩は生物学の研究に革命をもたらし、現在、食品の安全性と安全保障を強化するための微生物リスクアセスメントに使用されている。次世代シーケンサー技術は、微生物ゲノムの塩基配列解析や微生物群集の非培養法による同定など広範囲に応用されている。

- 管轄当局はこのツールを以下のことに使用する：

- ・細菌汚染の原因の追跡
- ・単一の食品源によって引き起こされるヒトの症例の散発的な事例の識別
- ・食中毒の検出、調査および制御

- 食品メーカーはこのツールを以下のことに使用する：

- ・加工環境における汚染群集の同定
- ・食品微生物叢の特徴の明確化
- ・特定のアウトブレイクに関与しないことの記録
- ・食品の原産地の認証

これらのハイスループット技術は、*Salmonella*、*Listeria monocytogenes*、*Campylobacter jejuni*、*Cronobacter* などの懸念される重要な病原体のゲノム塩基配列を迅速に解析することができる。それらの塩基配列と臨床患者からの分離株の塩基配列を比較することにより、初期の食中毒をより迅速に検出することが可能となる。食中毒の発生は、その発生源、さらには地理的な起源までたどることもできる。

微生物分類

細菌の種は、基準株および基準株と表現型および／または遺伝子型が高度に類似した株によって表される。現在、関係性の客観的尺度（ゲノム交雑性または塩基配列の類似度）が提案されているが、分類学的単位として種を構成するものについての単純で合意された定義はない。

原核生物の種は以下の要素によって定義される：

- 系統学的要素は、最小の診断可能な個々の微生物のクラスターで示され、祖先およ



国際酪農連盟日本国内委員会

Japanese National Committee of International Dairy Federation



IDF ホームページ / <https://www.fil-idf.org/publications/ファクトシートより>

び子孫の親パターンが存在するもの。

- 分類学的要素は、類似した集団と様々な遺伝子型、表現型および／または生態学的特徴によって区別することができる微生物集団として示される。

種内の株は、同種の別の株と区別できる特定の分離体のことである。前世紀にはこのような株を識別するためのいくつかの技術が開発されたが、株の識別や系統発生を推論する究極の解決技術として全ゲノムシーケンシングに至った。

微生物源追跡のためのタイピング技術として全ゲノムシーケンシング

全ゲノムシーケンシング (WGS) は、2008 年に初めてアメリカで微生物源の追跡のために導入された。それはすぐにパルスフィールドゲル電気泳動に代わって食品医薬品局の食品サンプルからの病原性分離株の同定および追跡のための好ましい方法となった。現在、多数の食品安全当局が世界の他の地域で広くこの技術を使用している。

WGS は、微生物の完全な DNA ゲノム塩基配列の決定を可能にし得る解析技術である。WGS は、食品由来の疾患や発生に対する検出、監視および対応を向上させる。本技術は、環境、動物、食品および人間の各分野にわたって統一されたタイピングシステムを提供し、食品由来の汚染をその微生物源までさかのぼる可能性を提供する。

WGS は、PFGE やリボタイピングなどの以前の技術よりも繰返し精度や再現性に優れている。ゲノムデータはデジタルであるため、GenomeTrakr などのオープンアクセスの国際データベースを使用して、世界中の研究所間で株レベルの識別情報を共有および比較することができる。食品微生物学者および臨床微生物学者は、臨床分離株と疫学的データと比較することによって、食品由来の汚染微生物の起源を正確に特定することができる。その結果、食中毒はより容易に特定の場所や発生源まで追跡される。

規制当局は、現在、限られた数の臨床分離株で小規模な発生の原因を特定したり、集団内の散発的な症例に関連した長期にわたる汚染事象を特定することができる。

全ゲノムシーケンシングと食品の安全性：同定を超えて

WGS は、血清型よりも正確で、PFGE、リボタイピング、RAPD アッセイおよび RFLP 解析よりも識別力が高い。疫学的データでサポートされているので、限られた期間内に異なる分離株間の関係をより早く示すことができる。

WGS は、次の機能を提供する：

- 同じ発生の範囲内であっても、汚染源を識別する。
- どの原料が病気に関連する病原体によって最初に汚染されたかを特定し、汚染原料の発生源の探索範囲を絞り込む。
- 食品汚染の予期しない媒介微生物を特定し、根本原因解析のための情報を提供する。



国際酪農連盟日本国内委員会

Japanese National Committee of International Dairy Federation



IDF ホームページ / <https://www.fil-idf.org/publications/ファクトシートより>

- 分離株の抗生物質耐性、病原性、洗浄剤に対する耐性あるいは表面への付着性を特定する。

WGS の課題と限界

最近の WGS の導入以来、少なくとも北アメリカ、ヨーロッパおよびアジア太平洋地域で、疫学における WGS の使用は指数関数的に増加している。

PFGE は、30 年以上にわたり、菌株タイピングのゴールドスタンダードとして使用されてきた。キャパシティビルディング（トレーニング、機器、施設、データ処理など）のため、この PFGE 技術をまだ標準化も調和化もされていない方法で急に置き換えることはできない。また、PFGE は、世界規模での使用において WGS よりも費用対効果は高い。

現在、WGS の応用における主要な課題は以下の通りである：

- WGS 法は、他のタイピング法よりもコストが高い。
- 方法論上の WGS の技術標準の欠如。
- 株を識別するための一塩基多型（SNP）の国際的に合意されたカットオフ値の欠如。許容される SNP の数は各微生物に特有である。
- 結果の解釈にはバイオインフォマティクスの専門家が必要である。
- これまでのところ、データバンクに保存されている WGS 情報を誤用から保護するための国際的に認められた取り組み方がない。

食品安全に関する事故は、WGS のデータに基づくだけでは解決されないため、常に確認のために疫学的データとリンクさせなければならない。

酪農乳業は何を行っているのか？

WGS は、微生物の同定と特性解析をかつてないレベルの感度および特異度で可能にする。本技術は、技術としては急速に進化し続けるが、まだ限られた規格しか利用できない。IDF は、WGS を特異性、繰返し精度、再現性を必要とする技術として定義し、規格の設立のために ISO ワーキンググループにおいて積極的に協力している。

最終製品の汚染を事前に読んで対処し、消費者に害を及ぼさないようにするために、プロセス環境のモニタリング、分離株の収集、および WGS 解析による常在株と一過性株の同定および識別を行うことが推奨される。この技術は、食品微生物カルチャーの安全性の証明にも使用できる。

References

EFSA(European Food Safety Authority), García Fierro R, Thomas-Lopez D, Deserio D, Liebana E, Rizzi V and Guerra B, 2018. Outcome of EC/EFSA questionnaire (2016) on use of Whole



国際酪農連盟日本国内委員会

Japanese National Committee of International Dairy Federation



I D F ホームページ / <https://www.fil-idf.org/publications/ファクトシートより>

Genome Sequencing (WGS) for food - and waterborne pathogens isolated from animals, food, feed and related environmental samples in EU/EFTA countries. EFSA supporting publication 2018:EN-1432, 49 pages

ISO/TC34/SC9, 2018. Microbiology of the Food Chain — Genomic sequencing of foodborne microorganisms — General requirements and guidance for bacterial genomes. N2133, working document

FAO-WHO, 2016. Applications of Whole Genome Sequencing in food safety management. Technical Background Paper. Available at: <http://www.fao.org/3/a-i5619e.pdf>

Jackson B.R., Tarr C., Strain E., Jackson K.A., Conrad A., Carleton H., Katz L.S., Stroika S., Gould L.H., Mody R.K., Silk B.J., Beal J., Chen Y., Timme R., Doyle M., Fields A., Wise M., Tillman G., Defibaugh-Chavez S., Kucerova Z., Sabol A., Roache K., Trees E., Simmons M., Wasilenko J., Kubota K., Pouseele H., Klimke W., Besser J., Brown E., Allard M., Gerner-Smidt P., Implementation of Nationwide Real-time Whole-genome Sequencing to Enhance Listeriosis Outbreak Detection and Investigation. Clin Infect Dis. 2016 Aug 1;63(3):380-6.

Kovac, J., den Bakker, H., Carroll, L.M., Wiedmann, M., 2017. Precision food safety: A systems approach to food safety facilitated by genomics tools. Trends in Analytical Chemistry 96 52-61

Technical University of Denmark - National Food Institute; Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana; Federal Institute for Risk Assessment; National Institute of Public Health – National Institute of Hygiene; National Veterinary Research Institute; Public Health England; Animal and Plant Health Agency, and Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, 2018. Final report of ENGAGE - Establishing Next Generation sequencing Ability for Genomic analysis in Europe. EFSA supporting publication 2018:EN-1431. 252 pages.

翻訳： J I D F 微生物・衛生専門部会（木村 勝紀 委員）

編者注: 仮訳の正確性、完全性、有用性等についてはいかなる保証をするものではありません。参考資料として扱い、内容に疑義が生じた場合は英文の原文をご確認ください。