

■研究・実践の課題（テーマ）

スワブ法でカンピロバクター属菌の推計生菌数を算出できる回帰式の作成

■主任研究者 岸本 満

■共同研究者 伊藤 智

■研究・実践の目的、方法、結果、考察や提案等の概要

【目的】近年、*Campylobacter* 食中毒は細菌性食中毒で事件数・患者数ともに第1位を占めている。*Campylobacter* 食中毒発生の主な原因は、生又は加熱不十分な鶏肉、調理中の取り扱い不備による二次・三次汚染とされ、フードチェーン下流の調理・消費段階での対策が必要とされている。しかし、*Campylobacter* 属菌はその特性(VBNC など)から実験環境でのコントロールが難しく、市販鶏肉の汚染実態を継続的に定量した報告は少ない。

ベースラインデータ作成のため、汚染調理器具はスワブ法で検体採取するが、汚染菌液濃度によって回収率が異なるため、実際の汚染菌数と推計値に乖離が生じる。2025 年度はより精度の高い推計生菌数を得るために、回帰式の改良を検討する。

【方法】*Campylobacter jejuni*(GTC00259)をプレストン培地に植菌し、37°Cで24時間、増菌培養した菌液を汚染菌液とした。汚染菌液 5 μ L をステンレス板に20か所滴下し、Pro-media ST-25 PBS(エルメックス)で拭き取った。拭き取った Pro-media ST-25 の綿球部分をプチット-カンピロ/10(日研生物)に入れ、37°Cで16時間、増菌培養した。増菌培養液を KAPA 3G PCR KIT と TaqMan MGB Prime/Probe (標的遺伝子：*hipO*) と混和し、LightCycler(Roche)で C_T 値を測定した。得られた C_T 値から既知の回帰式*を用いて、拭き取った生菌数を推計した。汚染菌液の生菌数は、増菌培養せずに C_T 値を測定、既知の回帰式で推計した。推計生菌数から拭き取り回収率(拭き取った生菌数/汚染菌液生菌数)を算出し、さらに拭き取った生菌数から真の生菌数を推計できる回帰式を作成した。

【結果】拭き取り回収率は汚染菌液が高濃度だと低値(7.0 log 以上で 1.0%未満)だったが、低濃度だと高値(3.0 log 未満で 60%以上)だった。得られた拭き取り回帰式($y=0.9648e^{0.421x}$ ($R^2=0.8746$))だった。

【考察】拭き取り回収率において汚染菌液が高濃度で低値だったのは、拭き取る綿球の回収限界を超える菌数だったと考える。汚染菌液が低濃度だと回収率が高かったことから、スワブ法を用いて定量的調査をする場合は低菌量(3.0 log 未満)の汚染調査が適していると考えられた。

* S. Ito, M. Kishimoto, Development of a sampling and real-time PCR method for the quantitative detection of *Campylobacter* spp. in retail chicken meat without DNA extraction, J. Food Protect., 86(1), 2023