

■研究・実践の課題（テーマ）

食環境におけるリステリア菌の生態と検出法に関する研究

■主任研究者 岸本 満

■共同研究者 安藤 恵

■研究・実践の目的、方法、結果、考察や提案等の概要

【背景・目的】*Listeria monocytogenes*（以下 LM）は食品と環境中に存在する食中毒菌で、リステリア症の原因菌である。基礎疾患のある人や、高齢者、妊婦などは重症化することがあり致死率は 15～20%に及ぶため WHO は注意喚起をしている。欧米では LM による多数の食中毒事例が報告され問題視されている。日本でも食品の汚染率は欧米と同程度であると考えられている。LM は冷蔵保存下の食品中で緩やかに増殖し、食中毒の発症菌数に達する。また、LM は乳製品や Ready-to-eat 食品、食肉や果物等の生鮮食品から検出される。本研究では市販食品から分離・同定した LM 野生株を用いて qPCR 法で食品中の LM を培養法より迅速に検出・定量する方法を検討する。LM 迅速定量法の開発は、食品取扱施設での LM 汚染モニタリングが容易になり事故予防はもとより衛生管理体制の構築や改善に寄与する。

【方法】qPCR 法を用いた検出・定量法は、LM 汚染が疑われる食品試料を増菌培養し増菌後菌液中の LM を qPCR 法で検出・定量するもので、増菌前の菌数を推計する増菌検量線、増菌後の菌数を Ct 値から推計する PCR 検量線を作成、2 つの検量線を用いて食品中の LM を検出・定量する方法を検討した。食品成分の影響が少ない wrap 法による分離も検討し、培養法との検出率の違いも確認した。

【結果・考察】増菌検量線を作成するための培養時間は決定係数が 0.9 以上の 14 時間を採用した。PCR 検量線の傾きは-0.3 前後となり、PCR 効率は 100%に近かった。基準株を含め市販食品由来の分離株について、本 qPCR 法は増菌前の LM 細胞数の推定を可能にした。また、LM 汚染した鶏ひき肉を wrap 法でサンプリングしたところ常法と差の無い PCR 検量線が得られた。本 qPCR 法はサンプリング法によって検量線に差は無く wrap 法の有効性は確認できなかった。しかし、wrap 法のサンプルから LM 野生株を数株単離することができた。wrap 法は LM を高確率で検出するのに有効なサンプリング法であることが考えられた。