

■研究・実践の課題（テーマ）

フードチェーン下流(調理段階)におけるカンピロバクター属菌の定量的リスク評価

■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。

環境衛生学研究室では、市販鶏肉に低菌量汚染している *Campylobacter* 属菌を迅速・簡便に検出・定量できる Wrap 処理と Direct-qPCR 法を開発した。本研究では市販鶏肉の *C. jejuni/coli* 菌種別汚染実態調査を行うため、Direct-qPCR 法で *C. jejuni/coli* を同時に検出できる方法を開発した。

本年度は、Direct-qPCR 法で測定した C_T 値から *C. jejuni/coli* 菌量を推計するため、*C. jejuni/coli* 標準菌で汚染した鶏キモ・ササミを用いて、回帰式を作成した。

【方法】標準菌 (*C. jejuni*: JCM 2013、*C. coli*: JCM 2529) で汚染した鶏キモ・ササミを用いて、従来法 (homogenization 処理) と wrap 処理でサンプリングした場合の、増菌前生菌数、増菌後生菌数、 C_T 値を測定し、増菌回帰式、PCR 回帰式を作成した。具体的には標準菌で汚染した鶏キモ・ササミを Wrap 処理でサンプリング後、プチットカンピロ (日研生物) に入れて均一化した。37°C、16 時間増菌培養後、標的遺伝子 *hipO* (*C. jejuni*)、*ceuE* (*C. coli*) で作成した TaqManMGB 遺伝子検出キットを Primer/Probe として、Direct-qPCR 法で C_T 値を測定した。

【結果】増菌前後の生菌数、および増菌後生菌数と C_T 値の回帰式には相関があることが分かった ($R^2=0.56\sim0.91$)。Wrap 処理でサンプリングし、プレストン培地で増菌培養すると、homogenization 処理でサンプリングした場合より増菌数が多かった。さらにその増菌培養液の C_T 値検出率は、wrap 処理でサンプリングした場合は、*C. jejuni*、*C. coli* ともに 100% だった。Homogenization 処理でサンプリングした場合、*C. jejuni* はキモで 45.8%、ササミで 100%、*C. coli* はキモで 100%、ササミで 89.5% だった。

【考察】Wrap 処理でサンプリングすると homogenization 処理より、増菌後生菌数数が多く、 C_T 値の検出感度が高かったことから、wrap 処理と Direct-qPCR 法を組み合わせると、高感度で *C. jejuni/coli* を同時に検出可能だった。さらに回帰式を用いることで、 C_T 値から増菌前生菌数を推計することができる。公定法の生菌数検出率は 47.4%~75.0%だが、wrap 処理

でサンプリングすると、100%の検出率で C_T 値が検出でき、回帰式からおおよその生菌数を推計することで、リスクアセスメントに役立てることができる。