B-15　ディジタル顕微鏡法による病原微生物の迅速検出法

（財）東京顕微鏡院　　○中川　弘・伊藤　武
マイクロバイオ（株）　　小川廣幸・宮下光良
国立仙台電波工業高等専門学校　　竹茂　求・那須潜思

[目的]

本研究は食品中に存在する *E. coli* O157、*Salmonella*、および低温細菌を従来の寒天平板培養法とディジタル顕微鏡を組み合わせることで迅速に標的細菌を検出するシステムを開発し、安全・安心な食品供給と食品製造業者のコスト軽減を目的に行った。

[材料および方法]

実験 1.　至適発育温度の検討　*E. coli* O157、*Salmonella*、*Psudomonas* spp を TSB で 35℃、18 時間培養し、滅菌生理食塩水で 10^{-7} まで希釈し、TSB 培地に接種し、振盪温度勾配装置（ADVANTEC 社 TVS126MA 型）で培養した。実験 2.　試作培地の発育支持の検討　*E. coli* O157 14 株、*Salmonella* 9 株を用いて、Miles & Misra によって行った。試作培地との比較としては、*E. coli* O157 は CHROM agar O157、CT-SMAC、*Salmonella* は DHL および MLCB を用いた。実験 3.　食材を用いた検討　カイワレ大根、玉子焼など市販 14 食材 25g に *E. coli* O157 は 44cfu/g、*Salmonella* は 30cfu/g、*Psudomonas* spp は 10^6cfu/25g を接種し、*E. coli* O157 を接種した食材は、mEC+n で 42℃、18 時間、*Salmonella* は BPW で 35℃、18 時間培養後、試作培地分離培養し、試作測定器機で検出を試みるとともに、その培養液はミニバイダスで接種菌の存在を確認した。

[結果および考察]

至適発育温度を確認するために振盪温度勾配装置で検討した結果、*E. coli* O157 および *Salmonella* は 41℃、*Psudomonas* は菌株によって異なり、*P. aeruginosa* は 40℃、*P. fluoroscens* は 32℃付近が至適発育温度であった。

E. coli O157 の試作培地は市販の CT-SMAC に比較し選択性が強く菌株によっては抑制が強く発育を阻止するものの、集落の色調は市販品に比較し褐色が明瞭であり判定が簡易でまた、CHROM agar O157 と同等の発育支持が認められた。*Salmonella* の試作培地は DHL、MLCB と同等もしくはそれ以上の発育支持があり、試作培地で *Citrobacter* は緑色を呈することから *Salmonella* の分離培地としては汎用性に優れる結果が得られた。

試作機器を用いた検出では、*E. coli* O157 及び *Salmonella* を接種した 14 食材すべての試験品から *E. coli* O157 は 8 時間、*Salmonella* は 11～12 時間、*Psudomonas* は 13～15 時間で検出された。

以上の結果から、調製した選択培地を使用し、ディジタル顕微鏡を組み入れた本システムを使用することで、短時間で食中毒菌や腐敗菌の汚染をより確実に把握することが示唆された。

なお、本研究は平成 14 年度補正予算による「中小食品産業活性化技術開発支援事業」の補助金で実施した。農林水産省総合食料局技術室ならび関係の方々に深謝いたします。

http://www.microbio.co.jp/
mailto:info@microbio.co.jp