

## 食中毒菌の迅速検出技術の開発

○富永 達矢<sup>\*1)</sup>、常見 崇史<sup>\*1)</sup>、関根 正裕<sup>\*2)</sup>

## 1. 目的・背景

平成 24 年に北海道で起きた腸管出血性大腸菌 O157:H7 による食中毒事件では、原因食品が札幌市を中心とする広い地域へ流通していたため、広範囲にわたり患者が発生した。食品製造者は、このような事件の発生を未然に防止するため、製品に食中毒菌が混在していないか検査している。食中毒菌の検出法として、培養法や PCR 法が知られている。しかし、前者は培養に長時間を要し、出荷前に結果を得られないことが多い。後者は専用装置を要するため、製造現場への導入が難しい。このため、迅速かつ専用装置が不要な食中毒菌の検出法が求められていた。

近年、イムノクロマト法の普及が進んでいる。この技術は、特定の抗体が特定の細菌とのみ結合することを利用し、食品懸濁液中に対象菌が存在した場合、試験紙上の特定の位置にラインが見える仕組みになっている。本研究では、高感度なイムノクロマト試験紙の開発を試みた。

## 2. 研究内容

## (1) 実験方法

被検菌として *Escherichia coli* O157:H7 (O157) の加熱殺菌菌体を使用した。展開部上端より約 1.3 cm の位置に、抗体を固定した。菌体を添加した溶媒 0.2 mL を試験紙上に滴下し、展開した。溶媒展開後、試験紙の画像をスキャナーにて 600 dpi の解像度で取得し、試験紙の濃淡をピーク面積に換算した値から検出の有無を評価した。

## (2) 結果及び考察

抗 O157 抗体を用いて、イムノクロマトの試作品を作製し、 $10^5$  cfu (図 1 (A))、 $10^4$  cfu (図 1 (B)) の O157 を検出できた。厳密な測定法ではないが、ピーク面積の計算により、テストラインの濃淡を数値化できることが分かった(図 1(C))。抗体を直径 40nm、60nm 及び 80nm の金コロイドで標識し、感度を評価した。コロイド径が大きいほど、感度が高まる傾向がみられ、80nm で標識した際には、 $10^3$  cfu の O157 を検出できた。定量性を評価したところ、 $5 \times 10^2 \sim 4 \times 10^3$  cfu の範囲では、菌数とピーク面積との間で高い相関性 (相関係数 = 0.98) がみられた (図 2)。O157 以外に黄色ブドウ球菌・エルシニア菌・リステリア菌についても抗体を変えて、試作品を作製した。これら 4 種の細菌は、1 枚の試験紙でも同時に検出できた。野菜や食肉に O157 を添加し、懸濁液を試験紙上に展開したところ、 $10^3$  cfu/mL の O157 を検出できた。以上の結果から、実際の食品検査に適用できるものと期待する。

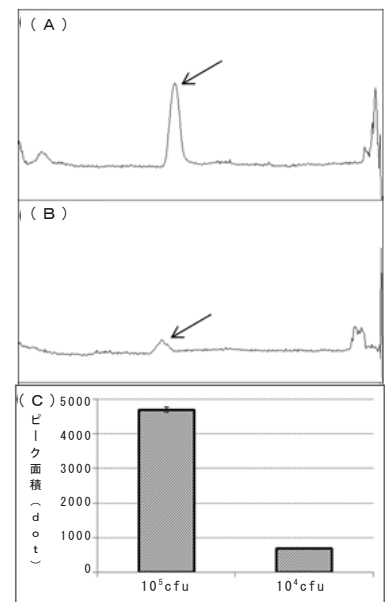


図 1. 試作品の評価

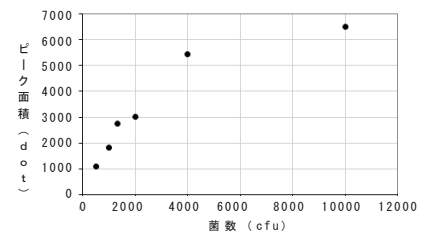


図 2. 定量性試験

## 3. 今後の展開

迅速で専用装置が不要な食中毒菌の検出法を構築することができた。今後は、埼玉県内の中小企業で実施できるように製造面の実用化を進めていきたい。

\*1)埼玉県産業技術総合センター北部研究所 \*2)埼玉県産業技術総合センター