

市販豚肉・内臓肉に存在する致死性病原体の危険度調査

東京大学大学院農学生命科学研究科附属食の安全研究センター・教授、センター長 関崎 勉

■ 目的

豚にはヒトに対して致死性となる病原体が潜んでいる。中でも豚レンサ球菌は、健康な豚からも検出されることがあり、香港では市販豚肉からの検出報告がある。昨年度本研究助成のもとに、豚レンサ球菌の DNA を高感度に検出する LAMP 法を開発し、我が国の市販豚肉・内臓肉にも汚染があることを示したが、遺伝子検査陽性試料から必ずしも菌分離は成功せず、その原因が凍結融解による菌の死滅、あるいは培養法の不備によるのか疑問が残った。本研究では、定量的 real-time PCR 法を開発して正確な菌数測定を行うと共に、凍結融解による菌の生死への影響を調べ、日本の市販豚肉・内臓肉における実用上の危険性を科学的に明らかにすることを目的とした。

■ 方法

豚レンサ球菌には 35 種類の血清型が報告されているが、近年別種に分類すべきと言われている 6 つの血清型を除く真の豚レンサ球菌にのみ反応するプライマーセットと Taqman プローブを用いた定量的 real-time PCR 法を設計した。昨年と本年に収集した市販豚肉・内臓肉試料から肉汁を調整し、遺伝子検査と菌分離、総菌数測定を行った。菌分離には、レプリカ法と LAMP 法を組み合わせた手順により実施した。菌数測定では、選択培地上に発育した総コロニー数を総菌数とした。凍結融解による影響では、薬剤耐性マーカーを付与した豚レンサ球菌を作製し、これを市販豚肉等に接種して、菌数の減衰を測定した。

■ 結果および考察

2 回の凍結融解を繰り返しても豚レンサ球菌の生菌数は殆ど変化がなかったが、4 回繰り返したところ、最初の 1/2 までに減少した。Taqman プローブを用いた定量的 real-time PCR 法を開発し、検出限界は 9.9CFU/反応であった。生菌のみを検出するため、EMA を使用した系を確立し、これらの方法に適した DNA 調整法を確立した。市販豚肉・内臓肉から調整した肉汁を用いて定量的 real-time PCR による菌数推定、総菌数測定、菌分離成績との比較を行った。その結果、調べた多くの試料では、定量的 PCR 法の定量限界以下の菌数しか検出されなかった。定量可能な試料の中には、肉汁 1ml あたり 10,000 を超える推定菌数を示す試料もあったが、全てタンなどの内臓肉であった。菌分離ができなかった試料のうち、レプリカマスタープレートでの LAMP 法が陰性の試料は、豚レンサ球菌に対する総菌数の比が大きく、さらに豚レンサ球菌の菌数も少なかった。レプリカマスタープレートでの LAMP 法が陽性の試料で、菌分離が陽性だったものと陰性だったものとの豚レンサ球菌数およびそれと総菌数との比には大きな違いはなかった。

■ 結語

豚レンサ球菌の遺伝子検査による定量法を確立した。市販豚肉・内臓肉における菌数を推定した結果、豚肉では概して汚染菌数は少ないが、内臓肉では概して多く、肉加工中の内臓肉の処理工程で肉への汚染が起こることが示唆された。内臓肉では高度に汚染された試料もあり、加工処理に対する注意だけでなく、作業員への感染に対する注意も必要であることが示唆された。また、菌分離の成否は、分離方法の不備によるものではなく、豚レンサ球菌の菌数およびそれと総菌数との比に影響されることが分かった。