ポータブル・マイクロ流路システムによる
食品中の危害細菌のオンサイト・モニタリング

(地独) 大阪健康安全基盤研究所衛生化学部生活環境課・課長 山口 進康

■ 目 的

わが国では衛生水準が向上しているにもかかわらず、食中毒が依然として大きな社会問題であり、食中毒予防の重要性が高まっている。食中毒の検査には、培養法が一般的に用いられているが、培養法では結果を得るまでに数日を要すること、および培養条件に適していない細菌は検出できないことが大きな課題となっている。さらに、食中毒が発生した際に検査機関への運搬に時間を要した場合は、原因菌の生理状態が変化し、培養が難しくなることがあることから、可能な限り現場(on-site: オンサイト)での迅速な検査が望ましいと考えられている。

本研究では、これまでの微生物迅速検出に関する研究成果および独自に試作したポータブル・マイクロ流路システムを基盤として、食品中の危害細菌の迅速かつ高精度なオンサイト・モニタリング法の作成を行った。

■ 方 法

- (1)食中毒菌の特異的検出：食中毒菌の特異的検出には市販の蛍光抗体を用いた。
- (2)食材中の食中毒菌の回収：モニタリング対象とする食材・食品から、危害細菌を高精度に回収するための方法として、これまでの研究成果をもとに、ストマッカーを第一候補とした。さらに、ミルクやミンチ肉等で検討した実績をもとに、遠心分離を用いた処理法を採用した。
- (3)マイクロ流路デバイスの作製：マイクロ流路デバイスは、ポリジメチルシロキサンとカバーガラスを用いて、ソフトリソグラフィーにより作製した。
- (4)ポータブル・マイクロ流路システムによる食中毒菌の検出：マイクロ流路内を流れる細菌の検出にあたっては、先に作製したポータブル・マイクロ流路システムを使用した。マイクロ流路デバイスの検出部を流れる細菌を CCD により検出するとともに、映像を録画した。
- (5)画像解析：ポータブル・マイクロ流路システムで録画した映像から細菌数を自動測定するために、数値解析ソフトウェア MATLAB(MathWorks 社製)を用い、Image Processing Toolbox および Computer Vision System Toolbox を使用した。

■ 結果および考察

- (1)食中毒菌の自動計数プログラムの作成：ポータブル・マイクロ流路システムで検出した食中毒菌を高精度に計数するために、細菌数測定用画像解析ソフトウェアの改良を行った。画像解析アルゴリズムとして、「ビデオデータからの画像列データの取得→背景の除去→細菌の抽出→細菌の計数→結果の可視化」を考案し、各プログラムを作成した。作成したプログラムにより得られた自動計数値と目視計数値を比較した結果、両者の間に大きな差は見られず、自動計数値は目視計数値の96%であった。
- (2)モニタリング・プロトコルの作成：食材に細菌を添加して調製したモデル食材を用いて、ポータブル・マイクロ流路システムを用いて食肉から食中毒菌を検出するためのプロトコルを作成した。
- (3)モニタリングの実施：今回の検討により、サンプリング後2時間以内に食中毒菌数を測定することを可能にした。

■ 結 語

マイクロ流路デバイスを用いる方法は試料中の細菌を自動的に蛍光染色し計数するため、操作に特別なスキルを必要としない。さらに、ディスプレイ上で試料中の細菌を可視化できることが大きな長であり、その映像を目視で確認することにより、微生物学的な知識が無くても微生物汚染を認識しやすい。したがって、国内はもとより、途上国でも使用可能である。

今後、各食材に応じた前処理法を検討することにより、様々な食材・食品中の危害細菌量のオンサイト測定を実現し、食の衛生微生物学的安全の確保に貢献することが可能である。