

## チルド流通食品における *Bacillus cereus* のバイオコントロール

九州大学農学研究院生命機能科学部門食品衛生化学分野・特任教授 宮本 敬久

### ■ 目 的

*Bacillus cereus sensu stricto* (セレウス菌) は芽胞形成する食中毒細菌で、その芽胞は種々の加熱済み加工食品に生残り、低温増殖性の菌株は温度管理の不備により増殖するので、これを抑制する安全性の高い方法の開発が必要である。バクテリオファージ(ファージ)は細菌に選択的に感染して殺菌するが、ヒトへの危害は無く、安全性の高さは世界的に広く認知されている。本研究では、まず、セレウス菌特異的なファージ分離のために使用するセレウス菌を種々の食品から分離して、抗生物質耐性および低温における生育挙動を調べた。分離した低温増殖性のセレウス菌等を宿主として種々の食品や土壌等からセレウス菌特異的なファージを単離し、低温下でのセレウス菌に対する殺菌効果を調べた。

### ■ 方 法

食品試料 25 g を 225 mL のトリプティックソイブロス(TSB)とよく混合して、30℃で 24 h 培養した。培養液を白金耳で取り、コンパクトドライ X-BC 寒天プレートに塗布し、30℃で 24 h 培養した。緑青色のコロニーを同じ培地で純化し、発色培地 BACARA を用いてレシチナーゼ産生を示すピンクからオレンジ色のコロニーをセレウス菌として選択した。分離菌について、抗生物質耐性、TSB 中で 7℃における生育挙動を調べた。低温増殖性の多剤耐性セレウス菌 8 株を混合してファージ分離に使用した。食品試料とセレウス菌混合物を液体培地に接種して 30℃で 24 h 培養後、メンブランフィルターで濾過して粗ファージ液を得、常法によりファージの純化を行った。セレウス菌の TSB 培養液に得られたファージを添加して培養し、殺菌効果を調べた。

### ■ 結果および考察

検査した 79 検体のうち 17 検体(22%)がセレウス菌陽性であった。陽性検体は、乳製品 8 検体、生鶏肉 4 検体、豆腐 1 検体、炊飯米 3 検体、土壌 1 検体であった。PCR 分析の結果、すべての株が少なくとも 1 つの毒素(下痢毒または嘔吐毒)遺伝子を保有していた。抗生物質耐性試験の結果、すべての分離株が多剤耐性に分類され、特に  $\beta$ -lactam 系抗生物質と Vancomycin に対して高い耐性を示した。又、分離菌は生育速度の差はあったがすべて 7℃で増殖したことから、チルド食品のセレウス菌芽胞制御の重要性が示された。これらの菌株を宿主として 5 種類の食品から 3 種類のファージが得られた。嘔吐毒産生株を含む種々のセレウス菌 36 株に対して調べた結果、ファージ BCK10 株は 26 株(72%)を溶菌し、最も宿主域が広がった。ファージ BCK10 について液体培地中での溶菌活性を調べた結果、本ファージは 30℃および 4℃において 3 桁程度生菌数を低下させたことから、チルド食品におけるセレウス菌生育制御に有効であると考えられた。

### ■ 結 語

フードロスの削減や品質が高いことからチルド流通による温和な加熱加工食品のロングライフ化が期待されている。本研究の結果、食品汚染セレウス菌はほとんどが多剤耐性かつ低温増殖性であったが、低温でもセレウス菌の殺菌に有効なファージの単離にも成功した。今後は、種々の食品における低温下でのファージの効果について検討する計画である。