

# フローラ解析によるアドバンスドサニタリーシステムの開発

富永達矢<sup>\*1)</sup>、関根正裕<sup>\*2)</sup>

## 1. はじめに

食品の製造工程では常に細菌に汚染される危険があり、特に食中毒菌の汚染事故が起きた場合、製造業者は致命的な打撃を受ける。そこで、企業では食の安全・安心を確保する目的で、自然界に多数存在する大腸菌群を汚染状態の指標として衛生管理を行っている。食品中に大腸菌群が検出された場合、直ちに製造工程の清掃強化などの対策をとるが、大腸菌群は食品工場内の各所に常在するため、汚染源を完全に除去し、食品中の大腸菌群が不検出となるまでには多大な労力と時間を要する。大腸菌群を構成する細菌種やそれらの生育至適条件は多岐に渡るため、工場内の汚染箇所環境条件が異なれば、大腸菌群の構成相（フローラ）にも影響することが予測される。そこで、食品中で検出された大腸菌群のフローラから迅速に細菌汚染経路や原因を推定する技術の開発を目指した。

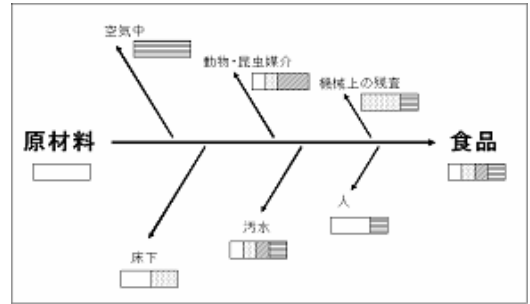


図1 汚染源推定システムの概念図

## 2. 実験方法

### 2.1. 大腸菌群の標準菌株とその培養

肉製品・魚製品・乳製品などから頻繁に分離される代表的な大腸菌群株を文献から調べたところ、10属17種の大腸菌群がその対象として挙げられた。各々の菌株はDARL培地（D-アラビトール・パープルブロスペース・寒天）に移植し、37度にて一晚培養した。培地中のpH指示薬の反応により生育コロニー周辺が紫色から黄色に変色した株をDARL発酵性(+)とした。

### 2.2. Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD)法

大腸菌群株からゲノムDNAを抽出した。ゲノムDNA、プライマー（5'-CCG CAG CCA A-3'）、dNTPs、DNAポリメラーゼを混合した。PCR反応は94（5分）・37（5分）・72（5分）を4サイクル行ったのち、94（1分）・37（1分）・72（2分）を4サイクル、最後に72（10分）の条件で行った。反応産物は1.2%アガロースゲルにて電気泳動を行い、エチジウムブロマイドにて染色したのち、UVランプにてバンドの確認を行った。

## 3. 結果・考察

17種の大腸菌群の標準菌株について、DARLの発酵性の相違を調べたところ、発酵する株と発酵しない株が区別された。DARL発酵性の有無を指標にして、もとのサンプルの大腸菌群フローラを分析できることが示唆された。食品とその製造設備・環境間の大腸菌群フローラを調べ、数値分析によりその一致性を評価した。食品分離株と汚染源と考えられた場所から分離された株のDNAの一致性から、汚染源が確認された。

## 4. まとめ

本研究では、食品とその製造設備・環境間の大腸菌群フローラの比較・照合から汚染源を推定するシステムの開発を行った。汚染源として推定された場所から優先順位をつけたうえで清掃を行うことにより、迅速かつ省力的に汚染源の駆除が可能であると期待される。

\*1) 埼玉県産業技術総合センター北部研究所 生物工学部、\*2) 埼玉県産業技術総合センター 生産技術部