

## 6. マルチ蛍光スペクトル分析 FISHFC による食品衛生細菌 迅速一括検査システムの商品モデル開発

食産業技術支援グループ

○大坪雅史、清水健志

(株) 電制

須貝保徳、高瀬雅由

日本細菌検査 (株)

竹本方泰、戸ヶ崎恵一

(一社) 北海道食品産業協議会

岡田迪徳、長尾直子

北海道大学大学院水産科学研究所

山崎浩司

### 1. はじめに

食のフードチェーンにおけるリスクのなかで、食中毒菌のリスクが最も高く、安全確保のために、細菌検査は重要である。食品現場からは、食中毒菌や衛生指標細菌の迅速な検査が求められ、8項目の現場ニーズがある(①迅速、②正確、③簡易、④広汎な食品へ適用、⑤検出限界(10CFU/g以下)、⑥低コスト、⑦多数の検体に対応可能、⑧ニーズのある菌種の検査が可能(腸内細菌科、大腸菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌、リステリア))。様々な原理に基づく迅速検査法が商品化されてきたが、既存製品には現場ニーズを十分に満たすものがなかった。我々は、これまで、食品現場に普及可能な迅速微生物検査システムの確立を目指し、培養併用蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(FISHFC)システムの開発を行ってきた。FISHFCシステムは、16SrRNAを標的とする蛍光標識DNAプローブを用いて検査対象細菌のマイクロコロニーを蛍光検出し計測するもので、各種細菌の自動計測を可能とした。自動計測法は、検出器にCCDカメラを用いマイクロコロニーの形・大きさ、蛍光強度について検出条件を設定し信号計測を行うものとした。しかし、その計測法は、畜産物や水産物に対しては正確に計測できたが、緑黄色野菜やその加工品では、蛍光ノイズとなる色素が含まれその影響によりノイズと信号を区別できず、正確に信号を計測できなかった。FISHFCシステムを製品化・普及するためには、畜産物と水産物のみならず様々な食品への適用が課題となった。また、同システムの測定手順は、工程数が多く、簡易化が必要であるなどの課題もあった。本発表は、これら課題に取り組み、現場ニーズを満たす商品モデルの開発を行ったので、その研究成果の概要を紹介する。

### 2. マルチ蛍光スペクトル分析 FISHFC システム商品モデルの構築

緑黄色野菜や各種食品に適用可能で、蛍光ノイズを区別して信号を計測する方法を検討した。DNAプローブ標識に用いる蛍光物質と食品の蛍光特性を比較した結果、標識蛍光物質の励起光と蛍光の波長領域は狭い範囲であるが、各食品においては、それら波長領域は広い範囲に及び、両者の蛍光スペクトルの特徴は異なることがわかった。そこで、検出対象細菌を含む食品試料のFISHFC標本のカラー撮影画像に対し、スペクトル分析として色相と明度を指標とするノイズと信号の自動識別法の検討の結果、信号識別が可能となった。また、蛍光検出光学条件として励起光3つの領域(青励起、緑励起、橙励起)において各種の蛍光物質(Alexafluor488、TAMRA、Cy5等)が利用可能となり、原理上、マルチ蛍光検出に

よる3菌種同時計測が可能となった。青励起の場合のノイズと信号の区別を示す(図1)。

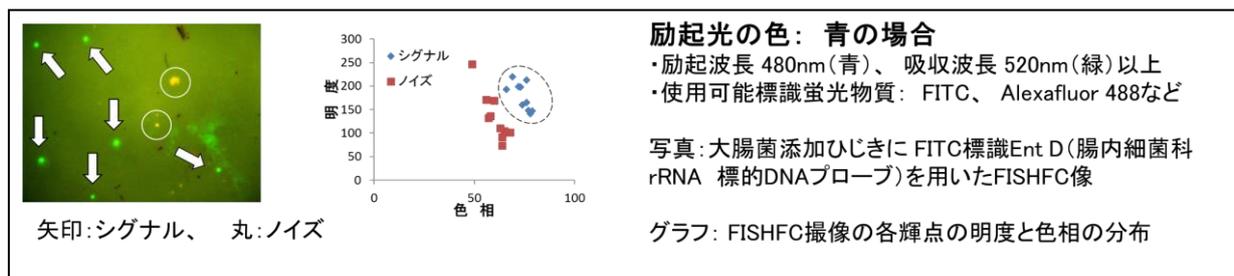


図1 FISHFC 蛍光シグナルと食品ノイズの区別

この原理に基づき、マルチ蛍光スペクトル分析 FISHFC 装置を試作した。また、簡易検査キットとして FISHFC の吸引ろ過を省略可能な「キャップ」を、また「多検体検査対応プレート」をそれぞれ試作し(図2)、マルチ蛍光スペクトル分析 FISHFC システム(商品モデル)を構築した。



図2 マルチ蛍光スペクトル分析 FISHFC システム

左 蛍光計測装置 中央 簡易検査キット(キャップ) 右 多検体検査対応プレート

### 3. 商品モデルの信頼性評価

商品モデルについて、腸内細菌科、大腸菌、サルモネラ、黄色ブドウ球菌、リステリアと腸炎ビブリオそれぞれの検査マニュアルを作成した。次に各検査の信頼性評価を行った。食品試料に3色ミックス野菜、鶏ひき肉、ヒラメを用いた。その結果、商品モデルの各種細菌の定量検査は正確で、計数値は対照の培養法と一致した(図3)また計測時間は対照法より迅速だった。商品モデルは、現場ニーズを概ね達成した。

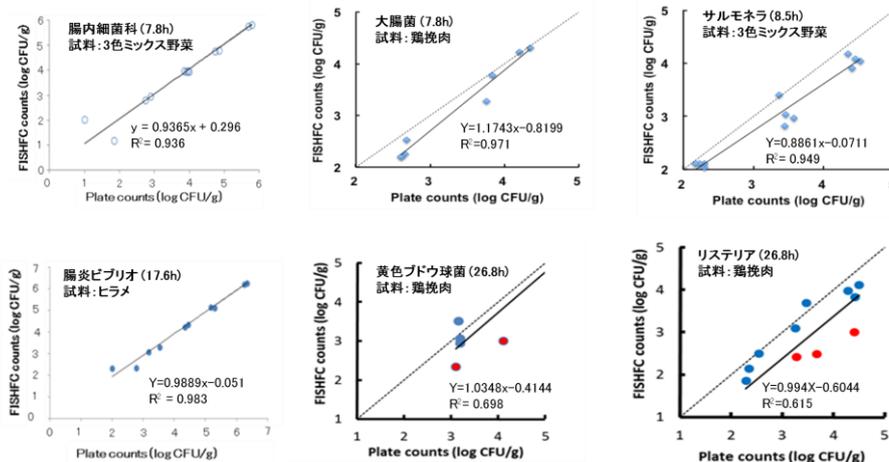


図3 マルチ蛍光スペクトル分析 FISHFC システムの信頼性評価

### 4. まとめ

現場ニーズを満たす迅速細菌検査法の開発を目指し、マルチ蛍光スペクトル分析 FISHFC システムを試作した。本システムは、食品中の検出対象細菌6種を迅速正確に計測し現場ニーズを概ね達成した。

本研究の主な成果は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業実用技術開発ステージ(農林水産省 平成25年~27年)の実施による。関係各位に深く感謝する。