

平成 18 年度 学会誌等論文発表

表 題	氏 名	雑 誌 名	巻(号)・頁・年(西暦)	抄録 No.
LC/MS/MS によるフグ組織およびヒト血清・尿中のテトロドトキシンの分析	赤木 浩一 畑野 和広	食品衛生学雑誌	47(2), 46 ~ 50, 2006	1
Two Outbreaks Caused by <i>Salmonella</i> Derby and <i>S. Anatum</i> at Grilled Meat-Restaurants in Fukuoka City	Sumi Ebuchi Ai Baba Kayo Uryu Hiroshi Hiwaki	Japanese Journal of Infectious Diseases	59(6), 405 ~ 406, 2006	2
Light Up on Extension Fluorogenic Primer を使ったリアルタイム PCR 法による <i>Listeria monocytogenes</i> の検出	樋脇 弘 馬場 愛 江淵 寿美 宮本 敬久	日本防菌防黴学会誌	34(6), 329 ~ 328, 2006	3
辛子明太子製造過程における <i>Listeria monocytogenes</i> の消長	樋脇 弘 馬場 愛 江淵 寿美 瓜生 佳世 宮崎 悦子 宮本 敬久	日本食品微生物学会雑誌	23(2), 85 ~ 92, 2006	4
PFGE , RAPD-PCR , ERIC-PCR および <i>iap</i> 遺伝子の PCR-SSCP による <i>Listeria monocytogenes</i> の遺伝子解析	樋脇 弘 馬場 愛 江淵 寿美 宮本 敬久	日本防菌防黴学会誌	35(1), 13 ~ 22, 2007	5

学会誌等論文発表抄録

1. LC/MS/MS によるフグ組織およびヒト血清・尿中のテトロドトキシンの分析

保健科学部門 赤木 浩一・畑野 和広
食品衛生学雑誌

LC/MS/MS を用いて、フグ組織およびヒト血清・尿中のテトロドトキシン(TTX)の迅速分析法を開発した。試料を 2%酢酸で抽出し、フグ組織については水で希釈し、ヒト血清および尿については分子量分画 5000 の遠心フィルターでろ過後、メタクリレート-スチレンジビニルベンゼンカートリッジを用いて精製した。フグ組織に TTX を 0.1μg/g と 1μg/g 添加した場合の回収率は 79 ~ 90%、ヒト血清および尿に 0.5ng/mL と 5ng/mL 添加した場合の回収率は 93 ~ 101%であった。検出限界は、フグ組織では 0.01μg/g、ヒト血清および

尿では 0.1ng/mL であった。本法を用いて市販のフグの筋肉・皮・肝臓計 30 検体、フグ中毒による患者の血清 7 検体、尿 5 検体について分析した結果、すべての検体からそれぞれ 0.04 ~ 140μg/g、0.9 ~ 1.8ng/mL および 15 ~ 150ng/mL の範囲で TTX が検出された。

2. Two Outbreaks Caused by *Salmonella* Derby and *S. Anatum* at Grilled Meat-Restaurants in Fukuoka City

Health Science Division Sumi Ebuchi, Ai Baba
Kayo Uryu, Hiroshi Hiwaki

Japanese Journal of Infectious Diseases

From August to October 2005, two outbreaks caused by *Salmonella* Derby and *S. Anatum* occurred at grilled meat-restaurants in Fukuoka city. In the first case, 44 persons of a junior high school ate grilled meat at a grilled meat-restaurant. Among them, 16 students developed

symptoms and *Salmonella* Derby strains were isolated from 9 students by stool examination. The median incubation period was 28 h and the predominant symptoms were diarrhea, stomachache and fever. It is thought that insufficient heating of the meat or oral infection through chopsticks for eating is a cause in this food poisoning. In the second case, 7 persons of company employees ate grilled meat at a grilled meat-restaurant. All members exhibited food poisoning symptoms and *S. Anatum* strains were isolated from 6 persons of them and 1 employee of the restaurant by stool examination. The median incubation period was 18 h and the predominant symptoms were the same as the first case. The sashimi of lightly roasted chicken was doubted as a causal food.

3. Light Upon Extension Fluorogenic Primer を使ったリアルタイム PCR 法による *Listeria monocytogenes* の検出

保健科学部門 樋脇 弘・馬場 愛・江淵寿美
宮本敬久(九州大学大学院農学研究院)

日本防菌防黴学会誌

L. monocytogenes の *hly* 遺伝子を特異的に検出する LUX 蛍光プライマーを作製し、本プライマーを使ったリアルタイム PCR 法(LUX-qPCR)の反応条件を検討した。作製した 2773FL/2882RU および 916FL/970RU のプライマーセットを用いて、58℃ アニーリングで LUX-qPCR を実施した結果、検出感度は 3×10^3 CFU/ml (PCR 反応溶液中 15CFU)と良好で、特異性と定量性も優れていた。*L. monocytogenes* が検出された食品の増菌液から LUX-qPCR による *hly* 遺伝子の検出を行ったところ、定性試験では培養法と LUX-qPCR の結果は一致したが、定量試験では培養法よりも LUX-qPCR で得られた菌数の方がやや多かった。今後、増菌液からの鋳型 DNA 作製方法や分離方法を見直すことで両者の成績は一致していくものと考えられ、LUX-qPCR による *hly* 遺伝子の検出法は食品検査の迅速試験として有用であることがわかった。

4. 辛子明太子製造過程における *Listeria monocytogenes* の消長

保健科学部門 樋脇 弘・馬場 愛・江淵寿美
瓜生佳世・宮崎悦子
宮本敬久(九州大学大学院農学研究院)

日本食品微生物学会雑誌

辛子明太子の製造過程における *L. monocytogenes* の消長を調べた。自作調味液 3 種(pH 5.9 , 6.5 および 7.0 ,

Aw はいずれも 0.95)とメーカー 4 社の調味液(pH 5.7 ~ 6.1 , Aw は 0.89 ~ 0.93)を用いて *L. monocytogenes* FCI-Lis10 株(血清型 1/2a)を接種し、増殖実験を行った。6℃ では、いずれの調味液中でも FCI-Lis10 株の菌数は保存期間に減少した。パラコ試料 3 種(pH 6.0 , 6.5 および 7.0 , Aw はいずれも 0.97)を用いて、調味液と同様の増殖実験を行った。6℃ で保存した pH 6.0 の試料では、菌数の大幅な増加はなく 14 日目の菌数は接種菌数とほぼ同数であった。自作調味液 3 種と 2 社の調味液(pH 5.7 および 6.3 , Aw はいずれも 0.93)を用いて辛子明太子の製造実験を行い、FCI-Lis10 株の消長を調べた。いずれの調味液を使用しても、FCI-Lis10 株の菌数は製造実験中に減少した。さらに、pH 5.9 の自作調味液と上記 2 社の調味液を用いて辛子明太子の製造実験を行い、FCI-Lis12 (血清型 1/2b) , FCI-Lis29 (血清型 3a) および LM17 (血清型 4b) 3 株の消長を調べたが、いずれの調味液を使った製造実験でも 3 株とも菌数は減少した。

したがって、少なくとも pH 5.9 以下かつ Aw 0.95 以下の調味液を使用して 6℃ 以下の温度で辛子明太子を製造すれば、*L. monocytogenes* の菌数は減少していくことがわかった。これは、温度、pH、Aw あるいは浸透圧など複数の要因によって菌の増殖が抑制され、培養法で検出される生菌数が減少したことによるものと思われる。辛子明太子製造業者のリスティア対策としては、調味液の pH と Aw をできるだけ低く調整し、6℃ 以下で製造することが重要と考えられる。

5. PFGE , RAPD-PCR , ERIC-PCR および *iap* 遺伝子の PCR-SSCP による *Listeria monocytogenes* の遺伝子解析

保健科学部門 樋脇 弘・馬場 愛・江淵寿美
宮本敬久(九州大学大学院農学研究院)

日本防菌防黴学会誌

水産食品などから分離された *L. monocytogenes* 株を用いて PFGE , RAPD-PCR , ERIC-PCR および PCR-SSCP の識別能を比較した。RAPD-PCR および ERIC-PCR は、複数のプライマーで得られた結果を組み合わせることで PFGE と同等の識別能が得られ、迅速な遺伝子解析法として有用であることがわかった。*iap* 遺伝子を標的にした PCR-SSCP については、その識別能が PFGE に及ばなかったが、今後、複数の遺伝子を標的に実施することで識別能が向上すると考えられ、迅速な遺伝子解析法としての利用が可能である。