

食品から分離された微生物の簡易同定法

野菜や魚・肉等、様々な天然原料から作られる食品は、原料由来の微生物や、加工工程中に作業者や加工器具から微生物が混入する可能性があります。その為、食品の加工においては加熱等による殺菌処理が行われますが、殺菌が不十分な場合や保存条件が不適切な場合に、腐敗等の品質劣化が問題となります。このような場合、原因となった微生物を食品より分離・同定し、その原因究明と対策が必要となります。

その対策として、食品から分離された微生物の簡易同定法について、紹介します。

微生物の簡易同定法

食品より検出された微生物を同定するためには、従来より形態観察や生理・生化学性状を調べて簡易同定する方法が行われてきました。また、最近ではPCRとDNAシーケンサーを利用したDNA塩基配列解析が行われてきています。

食品からの微生物の分離及び同定は、図1の様にされます。

食品よりの微生物の単離

微生物が検出された食品を試料として、希釈平板培養法により微生物を単離します。使用する培地に選択培地を使えば、この段階である程度の菌種を予想できます。

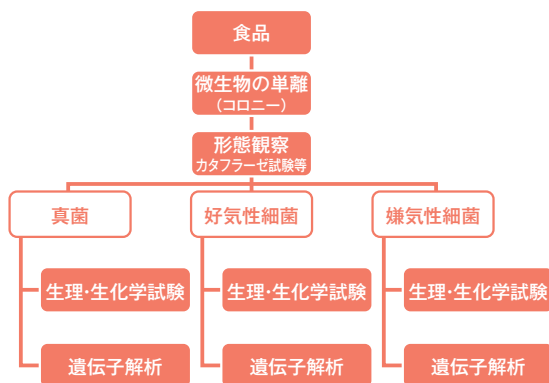


図1 食品からの微生物の分離、同定

形態観察、生理・生化学試験

コロニーの形状やグラム染色による形態観察、カタラーゼ試験及び培養可能温度等を考慮して、真菌、好気性細菌、嫌気性細菌等の大まかな分類を行います。

次に、それぞれの微生物の種類に応じて、更に詳細な生理・生化学試験を行います。これらの試験では、糖の資化性試験等、煩雑な試験操作が必要となるため、キット化された商品やキットを利用した判別システムが機械化されています。次項で、利用可能なキットについて紹介します。

同定キットによる同定

国内では、臨床現場で使用される病原菌用のキットは種々ありますが、食品分野に使用できるキットは少なく、現在、シスメックス・バイオメリュー社の「アピマニユアルキット」と、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社の同定検査試薬『BD BBLCRYSTAL 産業用』(環境微生物検査用)が販売されています。

rDNA遺伝子による同定

リボソームDNA(rDNA)遺伝子は、生物の系統分類の指標として広く認められており、微生物から抽出したDNAから、現在はPCRを使って簡単にリボソームDNA遺伝子を増やすことが出来ます。この遺伝子をシーケンサーで配列を解析し、インターネットを通じてデータベース検索することにより、簡単にある程度の菌種の推定が出来ます。しかし、類縁菌や新種の場合など、データベース検索結果だけでは判別できないこともあり、DNA-DNAハイブリダイゼーション等の追加試験や、生理・生化学試験結果と合わせて判断することも必要となります。



図2 遺伝子解析による微生物の同定

その他の検出・同定法

食中毒菌など、特に検出に迅速性を要求される菌は、イムノクロマト法やリアルタイムPCR法等、新しいキットや機械を使用した検出・同定法も増えてきています。今後、様々な菌種に対応した検出・同定法が開発されることが期待されます。