

# 酸処理の利用によって *Escherichia albertii* を

## 食品から分離する方法の検討

宇山 千晴<sup>1</sup>、Sharda Prasad Awasthi<sup>2,3</sup>、畑中 律敏<sup>2,3</sup>、日根野谷 淳<sup>2,3</sup>、山崎 伸二<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>大阪府立大学 生命環境科学域 獣医学類、<sup>2</sup>大阪公立大学大学院 獣医学研究科、<sup>3</sup>大阪国際感染症研究センター

【背景】2003年に新たに承認された新興食中毒起因菌である *Escherichia albertii* (以下、*Ea*) は、これまで我が国において11例の集団食中毒事例の起因菌となった。また一部の菌株は、重篤な症状を引き起こす可能性がある2型志賀毒素の産生が確認されていることから、本菌の感染経路・汚染状況を明らかにすることが重要である。しかしながら、抗菌剤への耐性や糖分解の違いを利用した既存の方法のみでは、通常 *Ea* の菌数が少なく多様な夾雑菌が含まれる、食品検体からの分離が困難である場合が多い。本菌による食中毒の制御には、夾雑菌をできる限り除去し、本菌を分離する新たなアプローチが必要である。これまでの研究で *Ea* は他菌よりも耐酸性があることを見出した。そこで、本研究では、「*Ea* の耐酸性」を利用して、本菌の分離効率の向上させる新たな分離方法を考案した。すなわち、*Ea* がより高い耐酸性を得る培養条件及び、本菌を特異的に生残させる酸処理条件を探索した。

【方法】①食品由来 *Ea* 2株をTSB培地100 mLで培養し、1又は2時間毎に菌液を採取した。生理食塩水で洗浄後、8 log CFU/mL程度に菌数を調整した。被検菌液を塩酸でpH=1.12に調整した条件下に30秒間静置し、1/3 M PBS (pH =6.35) で中和 (以下、酸処理) 後の生菌数をレザズリン試験で調べた。② *Ea* 6株と、酸感受性菌として *Klebsiella pneumoniae* (以下、*Kp*) をTSB培地100 mLで37°C、16±2時間、静止期まで培養した。培養液を①と同様に被検菌液を調製後、塩酸で調整した様々な条件(pH=1.12~3.0/1~5分)で酸処理し、レザズリン試験で生菌数を調べた。③ *Ea* 陰性の鶏肉3検体の増菌液に対して、酸処理を行った。酸処理には、pH=2.0/3分及びpH=1.12/30秒の条件を用いた。酸処理による生菌数の減少量を *Ea* 用鑑別分離培地を用いた平板塗抹法で調べた。

【結果と考察】①pH=1.12/30秒の酸処理後の減少生菌数は、37°Cでの振とう培養後5~7時間(増殖期)で1~2.5 log CFU/mL程度、5~7時間以降(静止期)では、0.8 log CFU/mL未満の減少だった。さらに37°Cで16±2時間の静置培養後(静止期)では、減少生菌数は0.5 log CFU/mL未満だった。*Ea* の耐酸性は、菌の増殖ステージが静止期に入ることによって高くなると考えられた。② *Ea* 生菌数への影響が小さい処理条件の中で(0.5 log CFU/mL未満の減少に留まる条件)、*Kp* 生菌数が顕著に減少したのは、pH=2.0/3分及びpH=1.12/30秒であり、減少幅は3 log CFU/mL以上であった。③ 鶏肉増菌液2検体において、pH=2.0/3分、及びpH=1.12/30秒の酸処理により、生菌数が1~2 log CFU/mL減少した。酸処理を利用した *Ea* の分離には、一般的な食品の増菌培養に適用される16±2時間の静置培養と、プロトコールとしての安定が見込まれるpH=2.0/3分の酸処理条件が有用であることが示唆された。今後、本プロトコールを用いることで、様々な食品検体にスパイクした *Ea* の分離率が向上するかを調べていく予定である。