米国における食品微生物学：科学，規制， 実用面における最近の動向

田 中 信 正

(US-Japan Science Consulting Services, Inc.)

Food Microbiology in the United States: Recent Activities in Its Science, Regulation and Practice

Nobumasa TANAKA

(US-Japan Science Consulting Services, Inc.)

As food distribution is done increasingly in a global scale, food borne pathogens also spread throughout the world rapidly. It is imperative that world health regulation and food pathogen control are done in a global scale as well. The increasing popularity of ready-to-eat foods also will have an impact on the food regulation in the world. As refrigerated, ready-to-eat foods are to have extended shelf-lives, psychrotrophic pathogens will present larger problems, while less heated, closer to fresh products with present larger problems, while less heated, closer to fresh products with shorter shelf-lives are also becoming more popular which necessitates the development of more rapid and sensitive assay methods for potential pathogens. Meanwhile, to prevent food borne illness, HACCP-type control practices are more strongly required. Federal government of the United States, both FDA and USDA, have proposed regulations based on HACCP approach in the recent months.

New, more rapid and sensitive analytical methods for pathogens are being developed, a few examples of which are presented here including automated immunoassays such as VIDAS by BioMerieux Vitek and "riboprinting" as well as "PCR-based" methodologies developed by DuPont. It is noteworthy that many new analytical methods are being approved (and given official first action status) by AOAC.

まず、この学会で講演をする機会を得たことに関して、学術総会長の波多野昌二先生を始め、プログラム委員会の諸先生方に感謝したい。経験、功績の豊かな諸先生を差し置き、講演の機会を与えられたことは極めて名誉なことであると痛感している。もし、私にこのような講演をする資格があったとすれば、それは米国に長年住み、コンサルタントなどを業とし、食品技術、規制関係のニュースレターを出版したり、情報の調査、収集をしているという比較的ユニークな立場に在るということであろう。

「米国における食品微生物学：その科学，規制，実用面における最近の動向」という題名は、いかにも大上段に振りかぶったようであるが、最近の政策、新技術の傾向を述べたい。

本原稿は第15回日本食品微生物学会学術講演会において特別講演として発表された。

さて、アメリカの食品関連の学会としては Table 1 のようなものが主であろう。IAMFES (International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians) は学会としてはなじみの薄いものであろうが Journal of Food Protection および Dairy, Food and Environmental Sanitation を出版している。AOAC は数年前に AOAC International と名称を変えたが、以前 Association of Official Analytical Chemists と呼ばれていたものである。米国で出版されている食品微生物関係の学会誌の主なものを Table 2 に挙げた。

食品の流通がグローバルなスケールで行われるようになり、食品病原微生物による感染、中毒（これをまとめて広義の「食中毒」とする）もまた、グローバルなものになってきている。南米ペルーを中心とした、世界的なコレラの流行やサルモネラ症、殊に *Salmonella* Enteritidis による感染症の世界的な拡がり、さらに *E. coli*

Table 1. Major association in the United States related to food microbiology

American Society for Microbiology (ASM)
Institute of Food Technologists (IFT)
International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians (IAMFES)
AOAC International (AOAC)

Table 2. Major periodicals in the United States on subjects on food microbiology

Journal of Food Protection (IAMFES)
Journal of Food Safety (Food & Nutrition Press, Inc., Trumbull, CT, U.S.A.)
Applied and Environmental Microbiology (ASM)
Journal of Food Science (IFT)
Food Technology (IFT, more on technical and secondary subjects than academic and original)
Dairy, Food and Environmental Sanitation (IAMFES, same as above)
Journal of AOAC International (AOAC International)
Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology (Food & Nutrition Press, Inc.)

Table 3. CDC statistics on notifiable diseases¹⁾

Year 1992	Number of cases
Food borne botulism	21
Infant botulism	66
Cholera	103
Salmonellosis	40,931
Shigellosis	23,931
Trichinosis	41

O157:H7, *Listeria monocytogenes* の世界的伝播などがあり、これらへの対策は今やグローバルな考え方で捉える必要があると言えよう。

したがって Codex Alimentarius Commission などによるハーモニゼーションの意義は大きく、諸外国の事情を熟知して置くこと、正確で緻密な情報を得ることの重要性は極めて大きい。

流通のグローバル化とともに注目したいのは、いわゆる“cooked, refrigerated, ready-to-eat”食品、つまり調理剤みの、そのまま、あるいは簡単に温めただけで食べる冷蔵食品の一般化であろう。低温で生育可能な食品病原微生物の問題はこれからますます重要なものになって行くであろう。これらの微生物としては *Listeria monocytogenes* に加え、*Clostridium botulinum* type E, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas* などが挙げられる。特に modified atmosphere package (MAP) の流通は E 型ボツリヌス中毒の危険性を増大させている。これを食品面から見ると、加熱調理時間の短い、フレッシュに近い、賞味期限の短いものがますます増えているという問題がある。したがって、製造された食品は、速やかに流通にのせることが重要になり、病原性菌の検出、同定の迅速化、および高感度化がますます重要になる。最近、アメリカにおける食品病原微生物検出、同定法の迅速化、高感度化に対する努力は大きなものがあり、その成果も現れている。

話題は多少、前後するが、最近の米国での食中毒の統計を見ると¹⁾、1992 年の CDC (Center for Disease Control and Prevention) に届け出られた主な食品関連の法

定伝染病 (Table 3) においては、サルモネラ症、赤痢が多い。ボツリヌス中毒の数は日本に比較すると極めて多いと言えるが、A および B 型のボツリヌス菌胞子が日本国内の土壌には通常検出されないのに対し、米国内の土壌からは高頻度で検出されることから見て当然であろう。以上の数字は届け出られたもののみであるが、実際には隠れた食中毒事例が極めて多いと思われ、それを推計したものを Table 4 に示す^{2,3)}。これは USDA、即ち米国農務省の FSIS (Food Safety and Inspection Service; 食品安全検査局) が発表したものであるが、これによれば年間各々約 2 百万のサルモネラおよびカンピロバクターのケースがあるということになる。また、食中毒による死者の数も極めて多く、食中毒による経済的損害も数千万ドルに上ると推定されている。したがって、食中毒のコントロールはアメリカ合衆国にとって極めて重要な問題である。米国政府の各機関、即ち、FDA (Food and Drug Administration、この中で、CFSAN: Center for Food Safety and Applied Nutrition、および National Center for Toxicological Research が中心)、USDA (U. S. Department of Agriculture、この中では FSIS が中心)、それに CDC、ベスティアサイドなどの残渣に関しては EPA (Environmental Protection Agency) が主な役割を担っているが、これらが、後にまた触れるように、HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points; ハセップと呼ぶ、「危害分析と重要管理点」と訳されているが、“Hazard”とは「危害をもたらす要因」という意味であり、むしろ障害とすべきかと思われる) システムに基づいた規制などを通して、食品の安全性の確保に躍起になるのは当然のことであろう。HACCP と言えば、先に発表になった魚介類の HACCP 規制案^{4,5)}の中で、いろいろな安全性に対する障害のコントロールが挙げられているが、従業員個人の衛生は重要であろう。しかし、これをどうコントロールするのかは難しく、各シフトの前に、すべての従業員に対して完全な健康診断をすることが無理である以上、個人の良識に任せるよりほかにはないと思われるが、ここで、教育

Table 4. Estimate of numbers of cases, deaths and costs due to food borne infections and intoxications²⁾

Causative organism	Cases	Deaths	Cost (\$millions)
<i>Salmonella</i>	1.92 million	1,440	1,740
<i>Campylobacter</i>	2.12 million	240	960
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	14,000	270	420
<i>Listeria</i>	1,500	400	220
Parasites (<i>Toxoplasma</i> , etc.)	3,200	42	2,630

Table 5. AOAC official first action adoption of methods in microbiology by analyte (Data from Silliker Laboratories Group, Inc.)

Year	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i> & other enterics	Coliforms & other enterics ex. <i>Salmonella</i>	<i>Listeria</i>	Aerobic Plate Count	<i>Staphylococcus/Staphylococcal</i> enterotoxin
1986	1		2		1	
1987	2					1
1988			2		1	
1989	3	1	2			
1990	3		1		1	
1991	4	1	2			
1992	4		1	3		1
Total	17	2	10	3	3	2

Table 6. AOAC official first action adoption of methods in microbiology by commercial status (Data from Silliker Laboratories Group, Inc.)

Year	Number of methods adopted		
	Generic	Patented	Kit
1986	1	2	1
1987	1		2
1988	2	1	
1989		2	4
1990		2	3
1991		4	3
1992	1	1	7
Total	5	12	20

の重要性が改めて認識される。HACCPの実施で最も困難、かつ重要なのが従業員の教育であることは論を待たない所であると思われる。いずれにせよ、個々のサンプルを検査、分析しても食品の安全性を確保することは難しく、HACCP方式が唯一の妥当な方法であるとされるのは当然であろうが、HACCPについての議論はまた、ほかの機会に譲りたい。ここで言及しておきたいことがあるが、それは、日本の食中毒統計を見ると、アメリカの（推計）値に比して発生件数、患者数が非常に少ないことである。しかし、上記のCDCの届出によるデータを見ると、届けられたケースの数の相違はそれほどでもなく、恐らく届出の効率の違いで説明できるものであらうかと思われる。統計数と推計数の間には例えば *Salmonella* 症の場合、約 50 倍の違いがある。食中毒由来の経済的損失やその対策に使う費用の妥当性などはこの推計値を基に産出すべきであって、推計なしにリスクアセスメントも不可能であり、食中毒対策に使用すべき費用、プロダクト・ライアビリティーに關しての保険をかける

べき額とその費用などの産出には適正な推計学が必要ないことは言うまでもない。日本ではこのような数値が全く出されていないのは奇異である。

次に、話題を変え、新しい微生物のアッセイ法について討議したい。Table 5 は最近数年間に AOAC International の first action ステータスを得たアッセイ法の数を表にしたもので、テストラボの最大手の Silliker Laboratories から入手したデータによる。1986 年から 1992 年までの 7 年間に 37 の方法が公認されているが、中でもサルモネラのアッセイ法の開発は目ざましいものがあり、また、リステリアについても、この表にはまだ、現れていないが、最近になって、新しい方法が続出している。Table 6 にあげた 37 法の中でパテントを取得、あるいは申請した、新しい方法が 12、キットにしたものが 20 ある。このように盛んな新方法の開発のバックグラウンドには、そのようなアッセイ法の必要性が存在するわけであるが、その上にアッセイ法の開発は企業的に引き合うということが最大の推進力になっているというまでもない。開発活動の一面にはコマーシャル・テスト機関の研究、開発、実際の使用すべての面におけるさかんな活躍があることは見逃せない。筆者は米国の食品微生物テスト機関である Silliker Laboratories の創始者、Dr. John Silliker および、彼の後継者である Dr. Damien Gabis ならびに現在の社長の Dr. Russell Flowers と親交があるが、Flowers 氏から次のようなデータを得ている。先ず、Table 7 は食品会社ではどのくらい、どのようなテストを行っているのかを示したもので最終製品のテストを行っている会社が全体の 97%、加工工程途中のサンプルのテストを行っているのが 81%、原料のテストを行っている会社が 76%、それに環境サンプルのテストは 64% の会社がやっているという結果

Table 7. Federal register announcements in 1994 by the United States federal government for new regulations based on HACCP principles

January 28	FDA: Proposal to Establish Procedures for the Safe Processing and Importing of Fish and Fishery Products; Proposed Rule, 59FR4142-4214 (ref. U.S. Food & Bio News Vol. 2, No. 2)
July 13	USDA/FSIS: Enhanced Poultry Inspection; Proposed Rule, 59FR35639-35657 (ref. U.S. Food & Bio News Vol. 2, No. 8)
August 4	Food and Safety Assurance Program; Development of Hazard Analysis Critical Control Points; Proposed Rule, 59FR39888-39896 (ref. U.S. Food & Bio News Vol. 2, No. 8)

Table 8. U.S. food processor testing profile*

Sample type	Food processor that test products (%)
Finished products	97
In-Process samples	81
Ingredient samples	76
Environmental samples	64

* Source: Silliker National Survey of U.S. Food Companies, 1992.

Table 9. U.S. food processor use of independent laboratories-1 number of companies (Microbiological testing)*

Testing laboratories	% of Companies
Only at in-house laboratories	15
Only at independent outside laboratories	22
Use in-house or independent labs.	63

* Source: Same as Table 8.

である。この中には、独立したテスト会社にテストをやらせているところも数多くあり、微生物テストに限って言えば (Table 8), 自社内ですべてのテストをやっている会社は全体の 15% に過ぎず、大企業も含めて 63% が、ある場合には独立テスト会社を使うと答え、小企業ではテスト会社を使うところが多く、22% の食品会社ではテスト会社にすべてを任せている。アッセイの数を見ると (Table 9) テスト会社で扱うサンプルの量は全体の 36% になる。いずれにしても、米国では数多くのテスト会社が食品の分析を行っていて、競争は激しく、したがってテスト会社として持っている技術の水準についての評判を高めることがビジネス成功の大きな鍵となる。検査のほかに、コンサルタントとしてのビジネスが大きく、これにはテスト会社の評価が極めて重要になるため、特に大きなテスト会社では技術の研究開発を極めて盛んに行っている。米国の食品微生物検査機関の場合、USDA による accreditation, 即ち公認制度はあるものの、FDA に関しては公認制度、免許制度が全くなく、それだけに検査機関の評判が重要である。公認制度については、今後 HACCP に基づく規制が制度化されるに従って必要になる可能性があるといわれている。

さて、最近の米国政府の発表を見ると、微生物問題を中心にした食品安全性問題に大きな力を注いでいることが明らかであろう。殊に HACCP 関係の規制案などが目

Table 10. U.S. food processor use of independent laboratories-2 volume of samples (Microbiological testing)*

Type of laboratories	% of total volume
In-house	64
Independent	36

* Source: Same as Table 8.

立つ。Table 10 に示したように、魚介類に関しては 1994 年 1 月 28 日に FDA が規制案を出し^{4,5)}、ヨーロッパの状況を考慮すると確定規制、規制の実施が迫っていると考えられる。ただ、FDA の HACCP チームの Acting Chief に直接聞いたところでは、確定規制の出るのは 1995 年 7 月頃になる模様という。また、1994 年 7 月 13 日には FSIS から食鳥検査法について HACCP 方式による改訂が提案されている^{6,7)}。また、FDA では魚介類以外の食品に対しても HACCP に基づく規制を考えており、既に規制案作成の予告を官報に発表し^{8,9)}、一般からの意見を募集している。まだ、どの食品に関して、どのような形で HACCP を取り入れるかは定かではないものの、近々、規制案が出されるのは間違いないと思われる。一方、USDA では FSIS が数年前から食鳥改善計画としてサルモネラなどの制御を考えた規制を取り入れている。1995 年 2 月 3 日に USDA (FSIS) から食肉、食鳥肉およびその製品に関する HACCP に基づいた規制案が出されているが、100 ページ余りに亙る膨大なものである^{10,11)}。そのほか、米国政府が研究に力を入れてきたものの一つに、 γ 線による食品の照射がある。

低度の食品照射では人の健康には全く障害の起きないことは既に何年も前から証明されており、 γ 線で処理した野菜、ニワトリのテストマーケティングが始まり、予想されていた反対運動よりも病原菌の減少、安全性の増大を期待する歓迎の気分が強いということが判断され、今後 γ 線照射食品はますます増えてくるのではないかとと思われるが、装置に費用がかかること、放射線使用に対する反対運動を恐れる業者がまだ多いことなどが障害で、増える速度はここ数年はあまり速くはないものと思われる。

概論はこの程度にして、最近市場に出された食品微生物検出法、同定法などの例を挙げてみたい。

(1) 先ず、3 M から出ているベトリフィルムであるが、これは乾燥ゲル培地をフィルムに固定したもので、サンプル溶液を 1 ml 加えることによってゲルが活性化

Fig. 1. VIDAS apparatus.

されるものであるが、大腸菌検出用のペトリフィルムを例にとると、サンプルを加え、これをフィルムの面一杯に広げると同時に空気を追い出し、培養することによって、大腸菌はグルクロニターゼ反応、つまり MUG test で青い色素が沈着し、ガスの気泡がコロニーに付着してできるので簡単に検出が可能である。このシステムは場所を取らないこと、操作が簡便であることなどが特徴で、現在、一般生菌数、大腸菌、大腸菌群、酵母/カビ用の製品があり、現在大腸菌群の迅速検出法を開発中ということで、1994年夏の IAMFES 年会での発表では8時間程度で Preliminary result が出るということである。ただし、これも、下記の Coli Complete にしても、MUG 反応陰性である *E. coli* O157:H7 の検出はできない。

(2) 次に、Coli Complete と言われるものであるが、*Salmonella* 1-2 test を出している BioControl 社の製品がある。これは Lauryl tryptose sulfate broth を用い、基質として X-Gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside) と MUG (4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide) を含むディスクをこの培地に植菌する際に入れて培養すると、大腸菌群の場合にはディスク周辺に青色の反応が出、大腸菌の場合には、長波長の紫外線をあてると蛍光を発することで判断できる。菌数は 3-tube MPN で算出するようにセットしてある。サンプルの希釈液について、直接培養で結果が出せるのが長所である。メーカーによれば大腸菌群の確認が 24 時間、大腸菌が 30 時間で確認できるという。

(3) Dynal というノルウェーの会社は抗体でコートしたポリスチレン磁気ビーズ (IMS) を使って、菌を濃縮するシステムをだしている。ビーズはサイズが一定で、抗体を安定化して固定してあり、残留磁気のないのが特徴であるという。磁気ビーズで集められた菌は、選択培地にまいて培養、あるいは ELISA で検出したり、そのほかの分析法を利用することができる。前培養のあと、IMS で濃縮、さらに選択培養を短時間行い、Organon-Teknika の ELISA 法である *Salmonella*-Tech で確認

検出するまでに約 24 から 30 時間であるという。現在、*Salmonella* と *E. coli* O157:H7 のシステムが市販されているが、裸の磁気ビーズを入手できるので、それをコートする抗体によって *Listeria*, T-cell, B-cell, HIV などの検出に応用できるという。

(4) 迅速法の一つのスタンダードとなっているのは核酸プローブ法であろう。核酸プローブについては食品微生物に関しては Gene-Trak Systems のものが標準であろう。この方法は即によく知られているが、簡単にいうと、まず溶菌し、これを Capture probe で固定、検出プローブでラベルして、余分なプローブを洗浄して取り除き、検出プローブを Horse radish peroxidase のような酵素でラベルし、発色して検出するものである。この方法も、特異性が高いが、検出までの時間は前培養、選択培養の時間を入れると少なくとも約 1 日から 1 日半、最低 10^6 程度の菌数は必要であろう。現在、サルモネラ用のシステムが最も普及している。

(5) 最近は検出、同定に必要な時間そのものは通常の迅速法と変わらないにしても、同時に多数のサンプルを取扱えるように、自動化が進んでいる。これらの中で特に注目されるものの一つに BioMerieux Vitek の VIDAS がある。VIDAS とは Vitek Immuno Diagnostic Assay System のアクリニムで、外見は Fig. 1 にあるような装置であるが、左側が免疫反応、検出を自動化したチェンバー、それにパーソナルコンピューター、プリンターを接続したものであり、チェンバーは 5 ユニットからなっていて、各ユニットには Fig. 2 に示したようなストリップが 6 本入っている。ストリップは、Fig. 3 のような構造で、自動ピペット・ティップに抗体がコートしてあり、Enzyme-linked immunofluorescent assay が自動的にできるようになっている。最後のウェルで蛍光発色が行われ、蛍光の強さが自動的に読みとられるが、これは抗原の量に比例する。この装置では一度に 30 サンプルが処理でき、1 サンプルのアッセイには約 45 分かかる (*Salmonella* Enteritidis の場合には 80 分) が、30 サンプルの反応が同時に自動的

Fig. 2. VIDAS sample chamber, outer view.

Fig. 3. VIDAS sample chamber, structure.

に進行するので大幅な時間と手間の節約になる。ただし、目的とする菌の数が 10^6 以上は必要であろうということである。現在、*Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus enterotoxin* それに *E. coli* O157 のシステムが市場に出されている。

BioMerieux Vitek ではこのほかに impedance microbiology system であるバクトメーターを出しているが、これも自動化分析システムとして広く使われている。

(6) Baxter では MicroScan (Fig. 4) と呼ばれる自動的生化学反応、読み取り、コンピューター・プログラムによる菌種判定システムを出している。この種類のものには Biologue の製品などもあるが、食品微生物に関しては Baxter のものが専門化されているので、より良いのではないだろうか。

これは 96 ウェルのプレートに生化学反応の基質が乾燥状態で入っており、これに、分離した菌を培養し、特殊装置を使って一度に加水、植菌を行い (Figs. 5, 6), 反応結果をコンピューター解析して菌の同定を行うが、植菌から読み取り、菌の同定まで、2 時間でできるという。

Fig. 4. MicroScan apparatus.

(7) 次に紹介するのは未だ市場には出されていない技術であり、最近、筆者が DuPont の研究所を訪問した際に見てきたものである⁷⁾。それは、食品病原菌の検出方法、および同定方法であるが、まず、ポリメラーゼ・チェーン・リアクション (PCR) によるスクリーニングについて以下に述べる。PCR は、そのスピードが特徴的であり、通常の培養による検出法では *Salmonella* の場合、約 4 日間を必要とするが、核酸プローブ、ELISA などでは約 2 日間、これを PCR では約 24 時間で確定的な結果が出せるのが利点であろう。PCR の欠点としては、プライマー、テンプレートの選択が難しいこと、操作が複雑であること、間違った結果が出る恐れがあるこ

Fig. 5. MicroScan culture-biochemical reaction plate-1.

Fig. 6. MicroScan culture-biochemical reaction plate-2.

と、それに阻害物質がある場合には反応が進行せず、false negative 結果が出るなどの点であろう。しかし、最近ではプライマーが商業的に入手できるようになってきた上に、サンプル DNA の抽出、調製に気を付ければ比較的簡単に PCR ができるようになってきたといえる。PCR では template の選択、つまり、DNA あるいは RNA のどの部分を増幅するか、そして、primer の選択、即ち、増幅したい DNA のみを増幅するにはどの

ような primer を選択するかが鍵になるわけであるが、DuPont ではまず、同種の菌の DNA をランダムに増幅し、その中で共通の増幅部分を見つけ、それを特異的に増幅するプライマーをきめるという方法をとっている (Random Amplified Polymorphic DNA Analysis; RAPD (特許))。DuPont の持っている知識と技術を駆使することで、この部分は非常に進歩したといえる。*Salmonella* を例にいうと、PCR を使ってこの菌の有無

HOW RIBOPRINT™ PATTERNS ARE GENERATED...

Fig. 7. Riboprint procedure.

を判定する場合、チェックした 1,500 株の *Salmonella* の中 99.7% がこの方法で検出でき、最も通常の食中毒菌、28 種に限って言えば、100% が検出可能であった、つまり false negative がなかったということで、これはほかの方法に比しても極めて優れているといえる。また false positive は全くなかったということである。現在、完成したのは *Salmonella* に関してが最初であるが、*E. coli* O157:H7, *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, などについて現在、確認実験が行われているということで、PCR キットとして来る 5 月に市場化される予定という。また、自動化されたものは明年市場に出される見込であるという。筆者が、ニュースレター “U.S. Food & Bio News” で上で、PCR のキット化にはまだ時間がかかるであろうと述べたのは、つい最近のことであったが、DuPont が早くもこれを実現しようとしているのは筆者の予測違いであった。

次に、コロニーを単離して、これを同定するには従来、生化学的な方法が用いられてきたが、これを DuPont では「リボプリント (Ribo Print)」という方法で行おうとしている。リボプリントとは、リボース RNA をコードする DNA が各々の菌についてユニークなものであることを利用したものである。リボース遺伝子は極めて良くコンサーブされていて、菌種による相違が少なく、DNA で共通の部分が非常に大きい、しかも、菌種間にこまかい相違があり、これが菌の分類に極めて有用である。また、DNA の指紋が菌の分類を、genus, species の判定だけでなく、species の中をさらに区別できるだけの变化があると言うことでこれは epidemiology (疫学) に極めて有用である。RNA, タンパク質 (免疫反応) などを選ばず、DNA を選んだのは、先ず、DNA が RNA やタンパク質よりも本質的なものであること、それに DNA のコンサーブされた部分が大きく、これを利用して DNA プローブを使用して、DNA/DNA の hybridization, 即ち、southern blot を行い、DNA の検出に使用できることで、余分な選択の手数が省けることも理由である。リボプリントは自動化されていて、制限酵

RIBOPRINT™ PATTERNS

Fig. 8. Riboprint patterns: *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*

素による DNA の切断、それをゲル電気泳動で分離、さらに分離した DNA をろ紙にプロットして、バンドの位置と濃度を分析するという手順が自動的に行われる。このリボプリントのプロセスを図式化すると Fig. 7 のようになる。各菌種によってリボプリントのパターンが異なり、さらに分離株によって、さらに細かく異なるパターンが見られるが、これをコンピューター解析してやることで、genus, species, strain の同定ができる。Fig. 8 は *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* の代表的なリボプリントのパターンを示したものである。これらのパターンをコンピューターにインプットするために、DuPont では約 1 万株の菌について分析を行い、特異的なパターンを分類してコンピューターに覚え込ませたということで、現在、30 genera (属), 190 species (種) が自動的に判定できるという。さらに、この方法の利点として、データベースが蓄積されればされるほど、精度も高くなり、判定できる範囲も広くなる、ということがあり、例えば、*Listeria monocytogenes* についていえば、血清型では現在 13 のパターンが分けられるだけであるが、リボプリントでは 40 あまりのパターンが分けられる事になる。これを利用して、より高度の疫学的検査が可能になるという。例えば、食中毒のケースで糞便から分離された菌が、どの食品に由来するか、どの原料から来たのかなどを判定するのは血清型だけでは不可能であるが、リボプリントを使えば可能であるという。リボプリント分類法は自動化されていて 1 日に約 32 サンプルを取扱うことができる。市場に出されるのは本年 7 月頃の予定であるという。

この 2 法のほかに、DuPont ではコロニーの自動計数機を開発している。これでは菌のコロニーと化学物質の沈殿、食品のパーティクルなどを分別するのに、60 余のパラメーターを使って、コンピューターに識別能力を与え、計数しようと試みているものであるが、まだ開発の

余地があり，市場化は先のことであろう。以上，DuPontの技術に多くのスペースを使ったが，発表されたばかりの新技术ということで詳しく紹介したのであり，実際の優劣，実用性などに関しては筆者は判断を差し控えていることをお断りしておく。

最後に，改めて，この講演の機会を与えられたことに深謝したい。

文 献*

- 1) CDC: Summary of Notifiable Diseases, United States 1993. Morbid. Mortal. Weekly Report, **42**(53), 1-73 (October 21, 1994).
 - 2) USDA/FSIS: Federal Register, **58**, 58922-58934 (November 4, 1993).
 - 3) US-Japan Science Consulting Services, Inc.: U.S. Food & Bio News, **1**(11), 5-6 (1993).
 - 4) FDA: Federal Register, **59**, 4142-4214 (January 28, 1994).
 - 5) US-Japan Science Consulting Services, Inc.: U.S. Food & Bio News, **2**(2), 1-10 (1994).
 - 6) USDA/FSIS: Federal Register, **59**, 35639-35657 (July 13, 1994).
 - 7) US-Japan Science Consulting Services, Inc.: U.S. Food & Bio News, **2**(8), 6-9 (1994).
 - 8) FDA: Federal Register, **59**, 39888-39896 (August 4, 1994).
 - 9) US-Japan Science Consulting Services, Inc.: U.S. Food & Bio News, **2**(8), 3 (1994).
 - 10) USDA/FSIS: Federal Register, **60**, 6774-6889 (February 3, 1995).
 - 11) US-Japan Science Consulting Services, Inc.: U.S. Food & Bio News, **3**(2), 1-2 (1995).
- * Federal Register の発表は時間がたつと入手し難いことがあるため，ニュースレター “U.S. Food & Bio News” によるこれらの発表の要約を便宜のため引用した (2-3, 4-5, 6-7, 8-9, 10-11).