

食中毒起因菌の増菌培地検討

保健科学課 細菌担当

1 はじめに

食中毒発生時には、原因究明のため、便及び食品から食中毒起因菌の検出が重要であるが、当所では現在、各菌に応じた増菌培地を使用しているため、その準備等に時間を要している。

そこで、当所で増菌培養することが多いサルモネラ属菌、病原性大腸菌、腸炎ビブリオ及びウエルシュ菌を対象に、増菌培地をトリプチケースソイブロス (Tryptic Soy Broth, 以下、「TSB」とする。) 又は緩衝ペプトン水 (Buffered peptone water, 以下、「BPW」とする。) に統一するための検討を行ったので報告する。

2 方法

2.1 使用菌株

菌株には、*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Abony (ATCC BAA-2162), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802) 及び *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) を使用した。

2.2 使用培地

統一用の増菌培地には、TSB (ベクトンディッキンソン) 及び BPW (メルクミリポア) を用いた。また、比較用の増菌培地には、常法に従い、サルモネラ属菌には BPW, 大腸菌には mEC ブイヨン (以下、「mEC」とする。) (関東化学), 腸炎ビブリオにはアルカリ性ペプトン水 (以下、「APW」とする。) (日水製薬), ウエルシュ菌にはチオグリコレート培地 (以下、「TGC」とする。) (日水製薬) を用いた。

2.3 予備実験

各菌株をリン酸緩衝生理食塩水 (セントラル科学貿易) に懸濁した菌液 (以下、「菌液」とする。) をリン酸緩衝生理食塩水で希釈し、2.2 に示す統一用及び比較用の増菌培地に 1 mL あたり約 10^1 cfu となるよう添加して、 35°C 好気条件下 (ウエルシュ菌の統一用増菌培地は嫌気条件下) で静置培養を行い、24 時間培養した。なお、添加菌数の測定については、サルモネラ属菌及び大腸菌については標準寒天培地を、腸炎ビブリオは 3% 塩化ナト

リウム (和光) 添加標準寒天培地を、ウエルシュ菌は CW 寒天培地 (栄研化学) を用い、食品衛生検査指針¹⁾ に従い、実施した。

2.4 本実験

2.4.1 サルモネラ属菌, 大腸菌及び腸炎ビブリオ

各菌液をリン酸緩衝生理食塩水で希釈し、統一用及び比較用の増菌培地に 1 mL あたり 10^1 cfu 以下となるように各 4 本に添加して、 35°C 好気条件下で静置培養を行い、1 本については 6 時間培養後の菌数を、残り 3 本については 24 時間培養後の菌数を測定し平均値を求めた。添加菌数及び培養後の菌数の測定については、2.3 に示す方法と同様に実施した。

2.4.2 ウエルシュ菌

菌液をリン酸緩衝生理食塩水で希釈し、統一用及び比較用の増菌培地に 1 mL あたり 1.2×10^2 cfu, 1.2×10^1 cfu, 1.2×10^0 cfu となるように各 2 本に添加して、統一用の増菌培地は 35°C 嫌気条件下, TGC は 35°C 好気条件下にて静置培養を行い、24 時間培養後の増菌結果を確認した。

なお、添加菌数の確認については、2.3 に示す方法と同様に実施した。

3 結果

各菌の増菌結果を表 1~4 に示す。サルモネラ属菌及び大腸菌については TSB, BPW のいずれにおいても 6 時間培養後には 10^4 cfu/mL 程度に達し、24 時間培養後には 10^8 cfu/mL に達した。

次に、腸炎ビブリオについては、6 時間培養後の TSB のみ 10^1 cfu/mL であったものの、BPW 及び APW においては 10^3 cfu/mL となり、24 時間後にはいずれの培地においても 10^7 cfu/mL 以上に達した。

ウエルシュ菌については、予備実験で統一用増菌培地での増菌を確認できなかったため、複数の希釈段階の菌液を統一用及び比較用の増菌培地に添加し、添加菌数と増菌結果の関係を確認したところ、TGC は 1.2×10^1 cfu/mL 添加で、TSB は 1.2×10^2 cfu/mL 添加で増菌が認められたが、BPW では 1.2×10^2 cfu/mL 添加でも増菌は確認できなかった。

表1 サルモネラ属菌の増菌結果

増菌培地	菌数 (cfu/mL)		
	0h	6h	24h
TSB	1.0×10^1	1.4×10^4	7.8×10^8
BPW	1.0×10^1	1.1×10^4	7.3×10^8

表2 大腸菌の増菌結果

増菌培地	菌数 (cfu/mL)		
	0h	6h	24h
TSB	9.2×10^0	3.1×10^4	6.4×10^8
BPW	9.2×10^0	1.6×10^4	5.3×10^8
mEC	9.2×10^0	3.0×10^3	6.1×10^8

表3 腸炎ビブリオの増菌結果

増菌培地	菌数 (cfu/mL)		
	0h	6h	24h
TSB	5.9×10^0	1.5×10^1	1.1×10^8
BPW	5.9×10^0	1.5×10^3	8.2×10^7
APW	5.9×10^0	6.9×10^3	6.1×10^7

表4 ウエルシュ菌の増菌を認めた本数

増菌培地	添加菌数 (cfu)		
	1.2×10^2	1.2×10^1	1.2×10^0
TSB	2	1	0
BPW	0	0	0
TGC	2	2	1

4 まとめ

食中毒起因菌の増菌培地を TSB 又は BPW に統一するための検討を行ったところ、サルモネラ属菌は TSB において、現在検査に使用している BPW と同程度まで増菌することを確認した。また、大腸菌及び腸炎ビブリオは、現在検査に使用している増菌培地と同程度まで増菌することを確認した。今後、損傷菌においても増菌が確認されるか検証が必要である。

文献

- 1) 公益社団法人日本食品衛生協会：食品衛生検査指針微生物編，公益社団法人日本食品衛生協会（東京），2018