

4-6. リステリアの検出キット

製品名	製造メーカー	販売元	使用目的	測定原理	測定所要時間	備考
リステリア ELISA Kit	TECRA	セティカンパニー リミテッド	リステリア	EIA法	前培養含め48時間	
32時間リステリア ユニーク	TECRA	セティカンパニー リミテッド	リステリア	EIA法	前培養含め32時間	
リステリア定性キット	Tecna	セティカンパニー リミテッド	リステリア	EIA法	前培養含め48時間	
EIA FOSS リステリア	FOSS Electric	フォス・ジャパン	リステリアELISA KIT	ELISA (ビーズ法)	24時間(培養 含む)	
VIP FOR LISTERIA	BioControl	グンゼ産業	リステリアの検出	イムノクロマト法	10分以内	
ASSURANCE Listeria EIA	BioControl	グンゼ産業	リステリアの検出	ELISA法	2時間	
(RIDスクリーン) リス テリアチェック	オルガノンテクノカ	チッソ, アゾマック	リステリア	ELISA法	2日	
Serobact Listeria	Medvet	グンゼ産業	リステリアの検出	ラテックス検出	1分	
Dynabeads anti Listeria	Dynal社	ペリタス	Listeriaの高感度 濃縮	磁気ビーズ法	約60分(濃縮)	
リステリアアッセイ100	Gene TRAK社	チッソ, アゾマック	リステリア	微生物DNAプローブ	1~2日	
リステリアアッセイ50	Gene TRAK社	チッソ, アゾマック	リステリア	微生物DNAプローブ	1~2日	
リステリアモノサイト ジェネスアッセイ100	Gene TRAK社	チッソ, アゾマック	リステリアモノサイ トジェネス	微生物DNAプローブ	1~2日	
リステリアモノサイト ジェネスアッセイ50	Gene TRAK社	チッソ, アゾマック	リステリアモノサイ トジェネス	微生物DNAプローブ	1~2日	

4-7. 黄色ブドウ球菌の検出キット

製品名	製造メーカー	販売元	使用目的	測定原理	測定所要時間	備考
黄色ブドウ球菌毒素 (量)	TECRA	セティカンパニー リミテッド	食品中のブドウ球菌 毒素	ELISA法	3.5時間	
黄色ブドウ球菌アウレ ス	TECRA	セティカンパニー リミテッド	食品中のブドウ球菌 毒素	ELISA法	前培養含め 22.5時間	
黄色ブドウ球菌サーモ クレーゼElisa kit	R-Biopharm社	セティカンパニー リミテッド	黄色ブドウ球菌	ELISA法	4時間	
黄色ブドウ球菌毒素	R-Biopharm社	セティカンパニー リミテッド	黄色ブドウ球菌	ELISA法	2時間30分	
ルシフェールBH	キッコーマン	盛進	黄色ブドウ球菌 手指検査	ELISA法	7時間	
ドライスポットテスト スタフィロ	OXOID	関東化学	ブドウ球菌鑑別	ラテックスカードシス テム	数分	
ドライスポットスタフ テストプラス	OXOID	関東化学	黄色ブドウ球菌鑑別 キット	ラテックス凝集反応	3分	
F-スタフィロ「生研」	デンカ生研	デンカ生研	培地上黄色ブドウ球 菌鑑別	スライドラテックス 凝集反応	反応時間20秒 間	
スタフィロアッセイ100	Gene Trak社	チッソ, アゾマックス	黄色ブドウ球菌	微生物DNAプローブ	1~2日	
スタフィロアッセイ 50	Gene Trak社	チッソ, アゾマックス	黄色ブドウ球菌	微生物DNAプローブ	1~2日	
核酸テスト黄色ブドウ 球菌	日本澱粉	科学飼料研究所 栄研器材	黄色ブドウ球菌検出	DNAプローブ法 (γ- RNAの菌特異的領域を 検出する)	増菌培養後	
(RIDAスクリーン) 黄 ブドウ球菌	γ-Biopharm	チッソ, アゾマックス	黄色ブドウ球菌	ELISA法	5時間	
IDテスト・SP-18「ニ ッスイ」	日水製薬	日水製薬	黄色ブドウ球菌同定 用	微量テスト法 (数値分類法)	37℃, 20~24 時間	

## Ⅱ. 細菌性食中毒起因菌検査マニュアルの作成と関連情報の収集

[2] 細菌性食中毒起因菌別検査手順

[3] 最新の免疫的ならびに分子生物学的手法

[4] 細菌性食中毒起因菌の検査に使用する培地および試薬

研究協力者：甲斐 明美  
東京都立衛生研究所

# 研究結果報告書

東京都立衛生研究所 甲斐 明美

## I I . 細菌性食中毒起因菌検査マニュアルの作成と関連情報の収集

### [ 2 ] 細菌性食中毒起因菌別検査手順

以下の 1 1 種類の食中毒起因菌について, 食品を対象とした検査方法をフローチャートで示した。

(1) 腸炎ビブリオ	図 2-2-1	表 2-2-1
(2) サルモネラ属菌	図 2-2-2(1)～(2)	
(3) 病原大腸菌：腸管出血性大腸菌以外の病原大腸菌	図 2-2-3(1)～(2)	
(4) 病原大腸菌：腸管出血性大腸菌 O 1 5 7	図 2-2-4	表 2-2-4
(5) カンピロバクター・ジェジュニ/コリ	図 2-2-5	表 2-2-5
(6) エルシニア・エンテロコリチカ	図 2-2-6	表 2-2-6
(7) リステリア・モノサイトゲネス	図 2-2-7	表 2-2-7
(8) セレウス菌	図 2-2-8	表 2-2-8
(9) 黄色ブドウ球菌	図 2-2-9(1)～(2)	
(10) ウェルシュ菌	図 2-2-10(1)～(2)	表 2-2-10
(11) ボツリヌス菌	図 2-2-11	表 2-2-11(1)～(2)

図2-2-1. 腸炎ビブリオの検査法

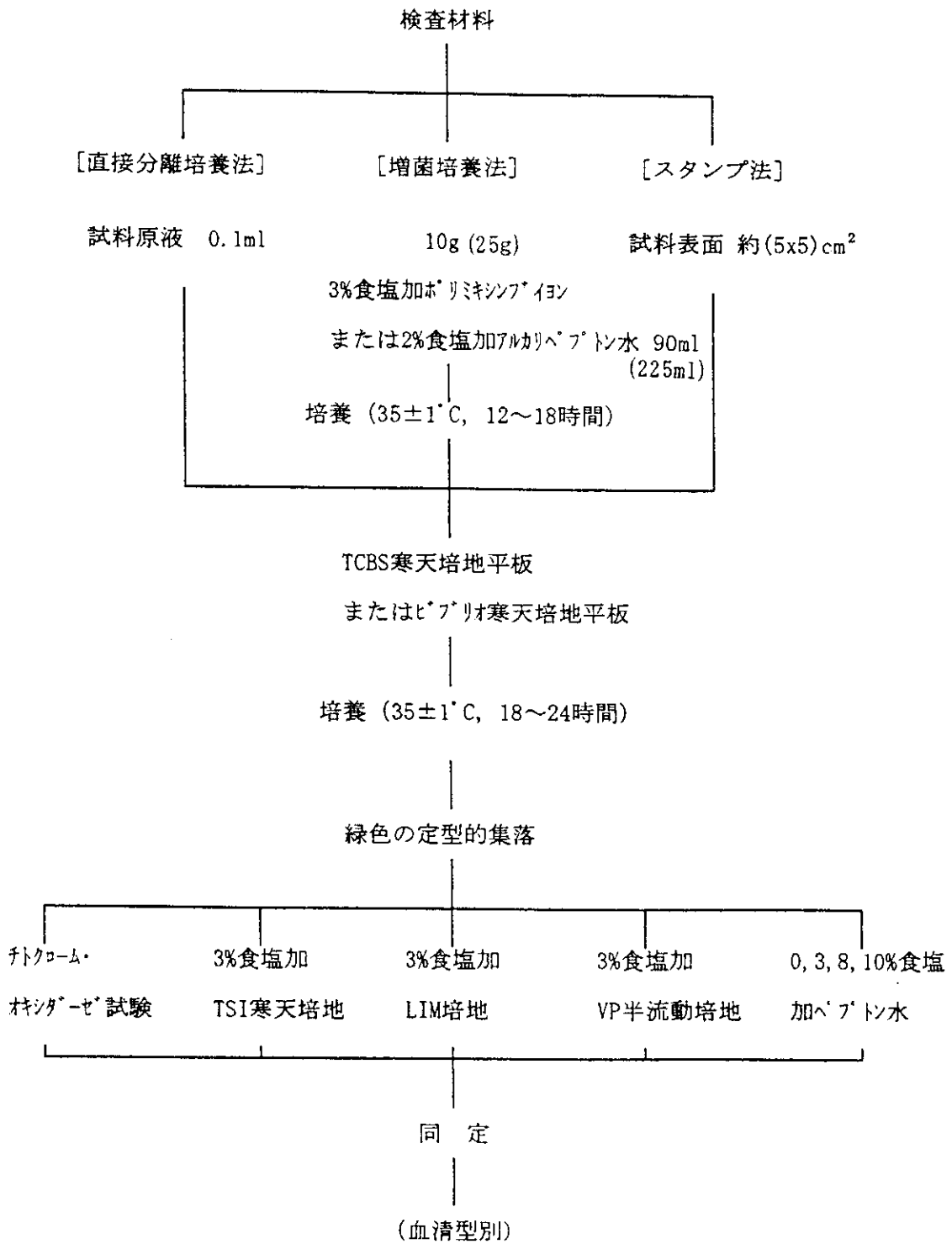


表2-2-1. 腸炎ビブリオおよびその他の病原ビブリオの鑑別性状

性 状	<i>V. parahae-</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. fluvia-</i>	<i>V. furni-</i>	<i>V. vulni-</i>
	<i>moliticus</i>			<i>lis</i>	<i>ssii</i>	<i>ficus</i>
TCBS寒天培地上の集落	青緑	黄	青緑	黄	黄	青緑
ビブリオ寒天培地上の集落	灰白	青	灰白	青	青	灰白
3%食塩加TSI寒天培地 斜面	-	+	-	+	+	-
高層	+	+	+	+	+	+
硫化水素	-	-	-	-	-	-
ガス	-	-	-	-	+	-
3%食塩加LIM培地						
リジン	+	+	+	-	-	+
イントール	+	+	+	(+)	(+)	+
運動性	+	+	+	+	+	+
食塩加ペプトン水						
0%	-	+	+	-	-	-
8%	+	-	-	d	d	-
10%	-	-	-	-	-	-
V P 反 応	-	d	-	-	-	-
トリクロムオキシダーゼ	+	+	+	+	+	+
アミノ酸脱炭酸						
リジン	+	+	+	-	-	+
オルニチン	+	+	+	-	-	d
アルギニン	-	-	-	+	+	-
糖 分 解						
アラビノース	+	-	-	+	+	-
サッカロース	-	+	-	+	+	d

+ : 90%以上陽性, - : 90%以上陰性, d : 菌株により不定 (11~89%陽性), (+) 遅れて陽性

図2-2-2(1). サルモネラの検査法

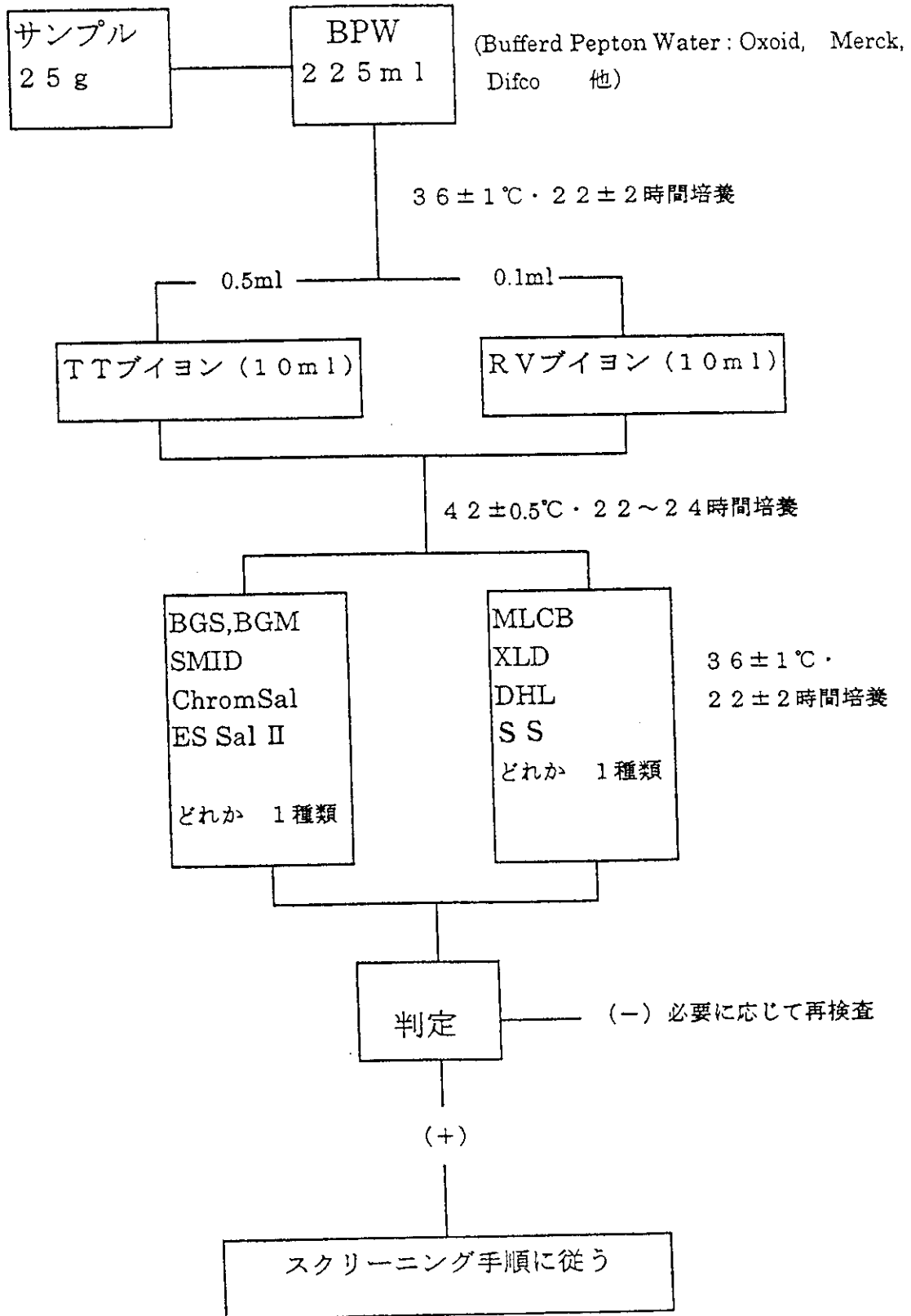


図2-2-2(2). サルモネラの検査法

スクリーニング手順

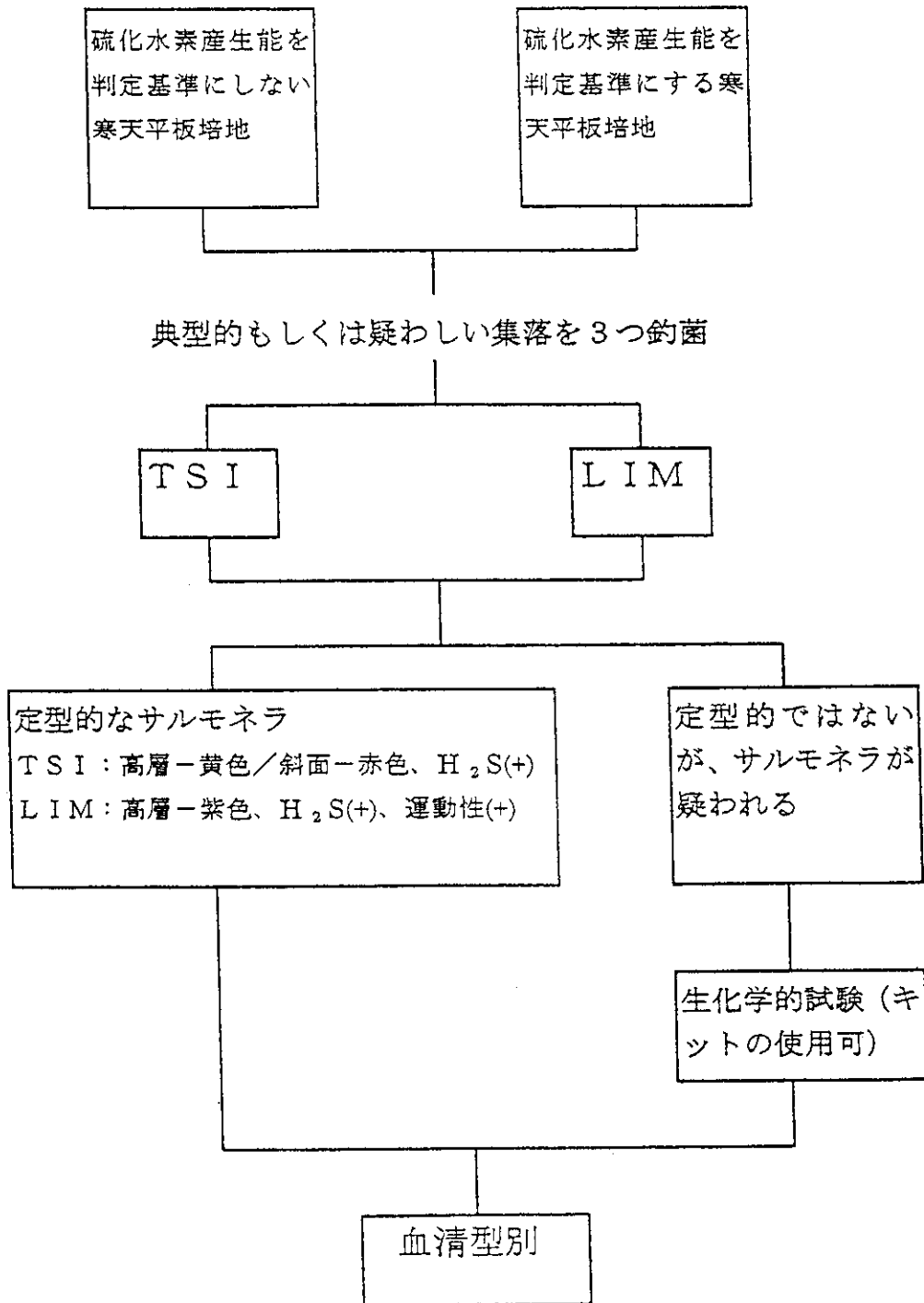


図 2-2-3(1). 病原大腸菌の検査法

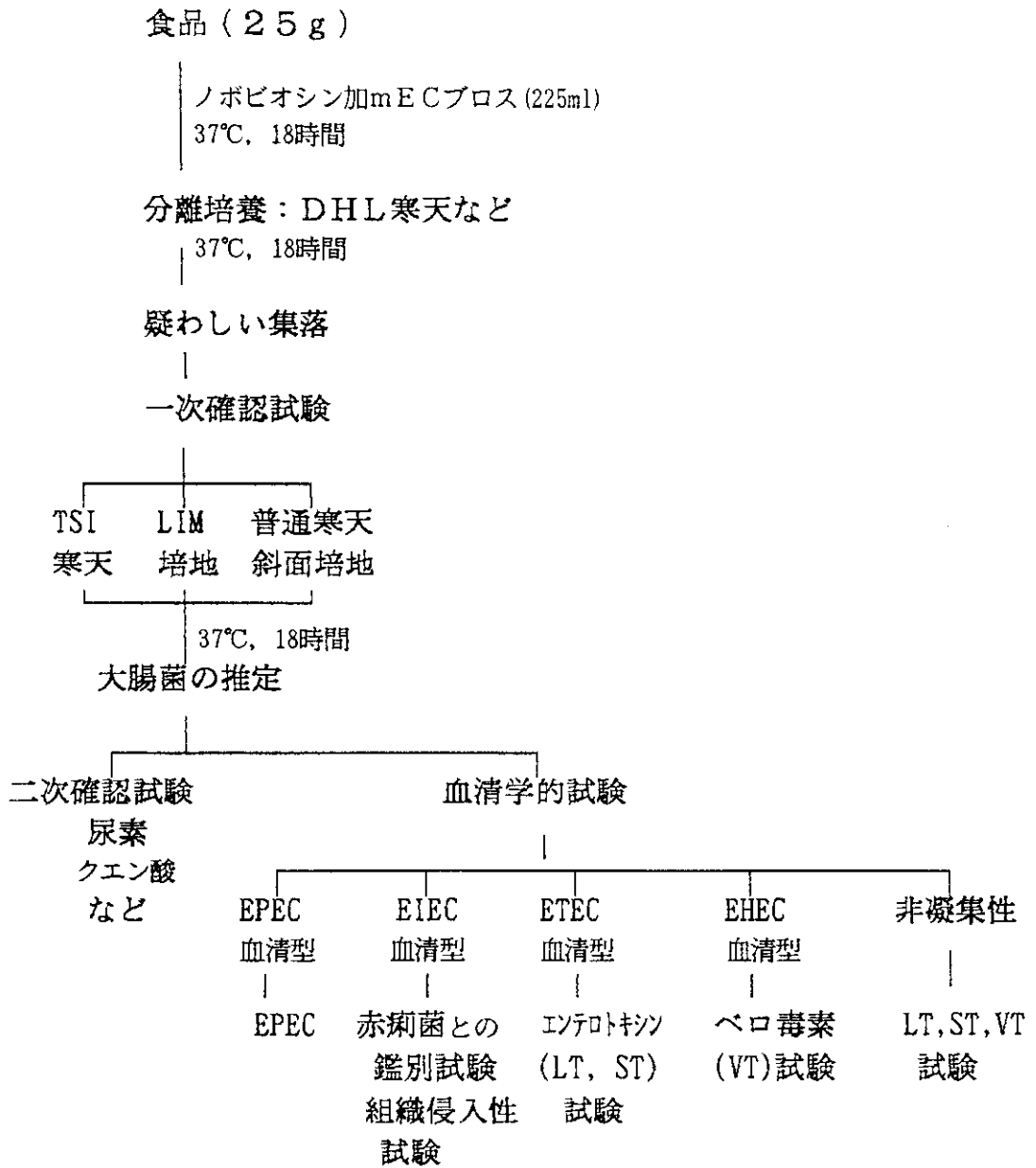
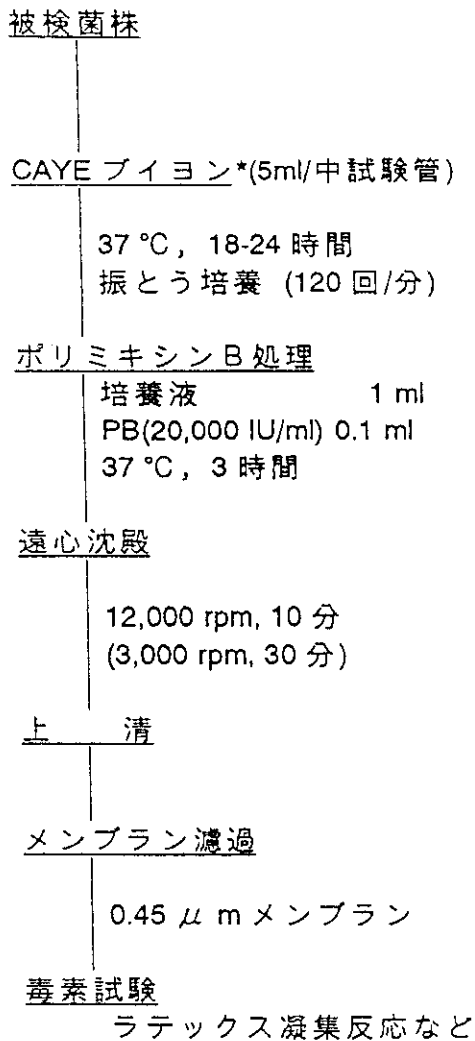


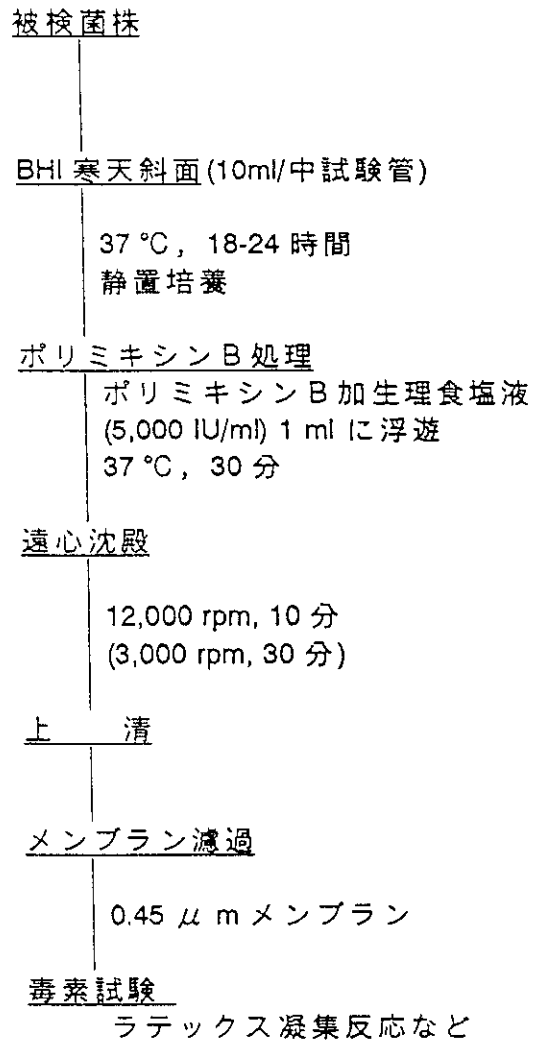


図 2-2-3(2). 大腸菌毒素の検出法

LT / ST / VT



VT



\* VT のみの検査の場合, TSB でも可。

CAYEブイヨン組成

カザミノ酸 (Difco).....	20.0 g	
酵母エキス (Difco).....	6.0 g	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	8.71g	pH 8.0-8.2に調整
NaCl .....	2.5 g	121 °C, 15分滅菌
塩類溶液** .....	1.0 ml	
精製水 .....	1,000 ml	
** MgSO <sub>4</sub> 5.0 %	} 0.001N-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> に溶解.	
MnCl <sub>2</sub> 0.5 %		
FeCl <sub>3</sub> 0.5 %		

図2-2-4. 腸管出血性大腸菌の検査法

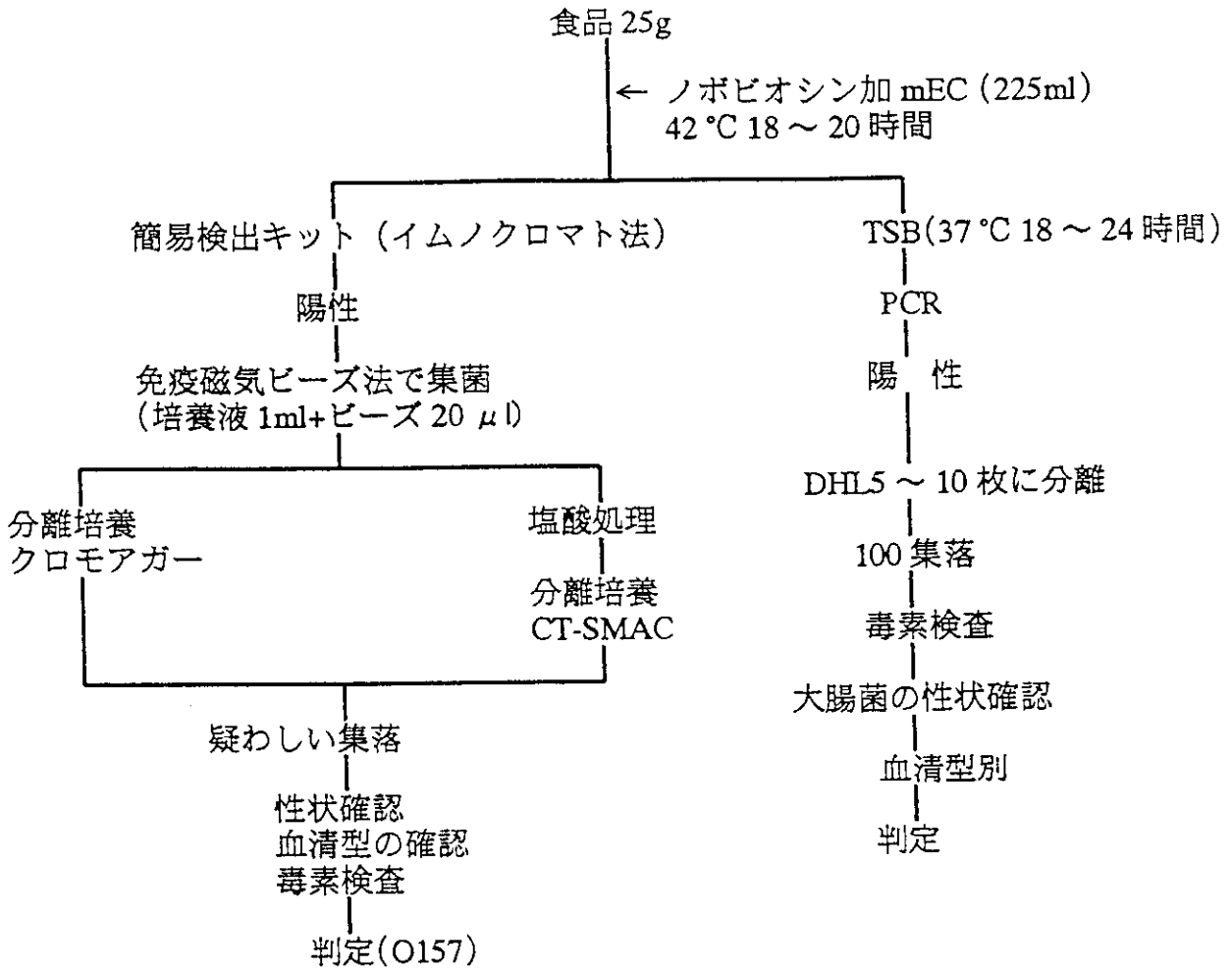


表2-2-4. 腸管出血性大腸菌の鑑別性状

菌種	オ キ シ ダ ー ゼ	TSI寒天			LIM培地			V P 反 応	ク エ ン 酸 塩	I P A 反 応	セ ロ ビ オ ー ス	ソ ル ビ ト ー ル	M U G	
		斜 面	高 層	硫 化 水 素	ガ ス	リ ジ ン ド ー ル	イ 運 動 性							
一般大腸菌 (陽性率%)	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	d	+	
EIEC	-	d	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	
EHEC 0157:H7	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	- <sup>1)</sup>	- <sup>2)</sup>	
EHEC 0157:H-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	- <sup>1)</sup>	- <sup>2)</sup>	
EHEC 他の血清型	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	d	+	
-----														
E. hermannii <sup>3)</sup>	-	d	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	d	-
Citrobacter	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	d	+	-
Klebsiella	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
Enterobacter	-	d	+	-	+	d	-	+	+	+	-	d	+	-

1) 大部分の株は遅分解または非分解であるが、一部分解株も知られている。

2) 一部陽性株も知られている。

3) 黄色色素を産生する。

図2-2-5. カンピロバクターの検査法

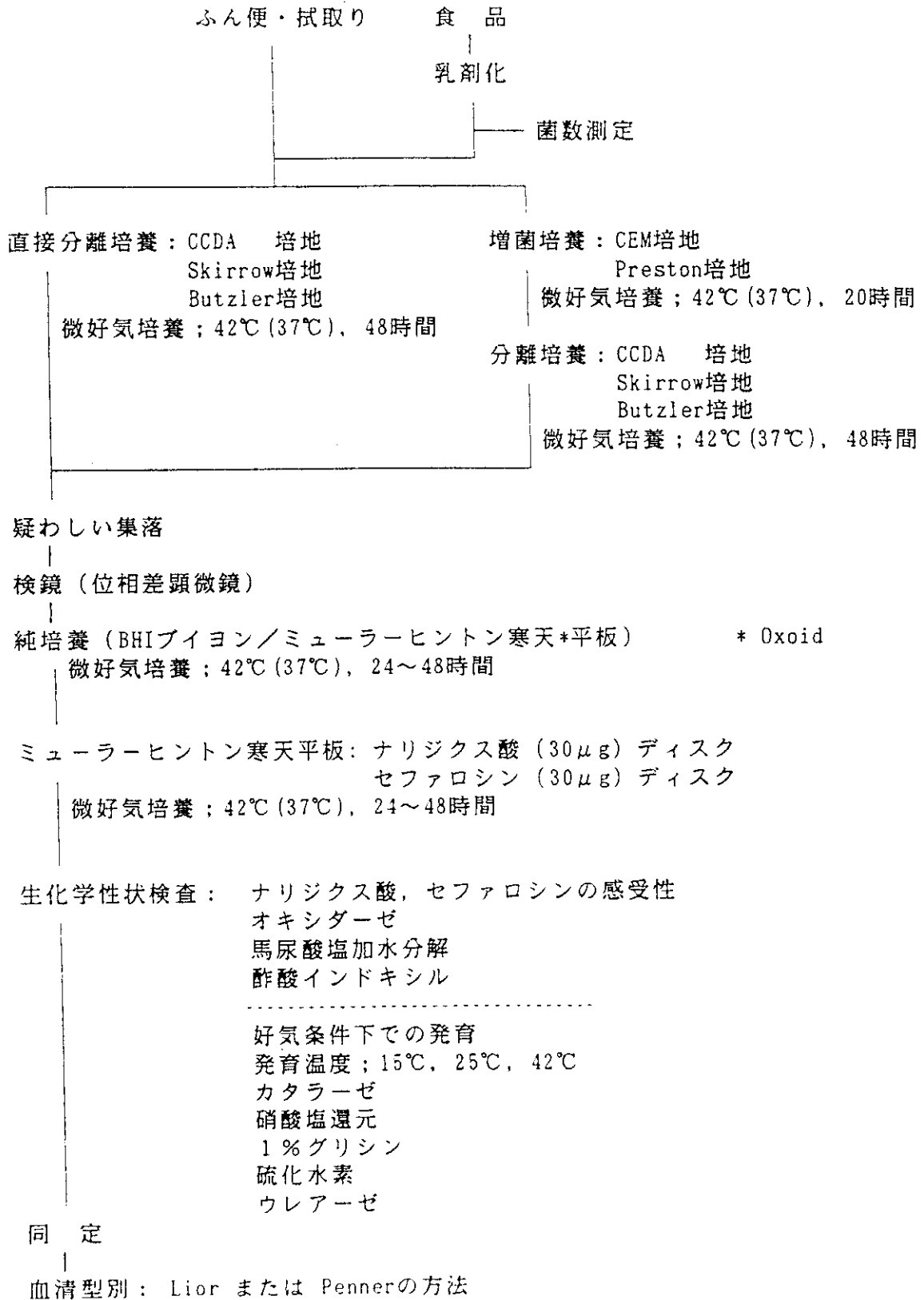


表2-2-5. *Campylobacter* 属 および *Arcobacter* 属 の主な生化学性状

	オキシダーゼ	カタラーゼ	硝酸塩還元	亜硝酸塩還元	H <sub>2</sub> 要求性	発 育			1% グリシン	硫化水素… T S I	馬尿酸塩加水分解	酢酸インドキシル	ウレアーゼ	ナリジクス酸 30 μg	セファロシン 30 μg	C <sub>19</sub> グロパン酸	G + C %
						15 °C	25 °C	42 °C									
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	S	R	+	30-33
subsp. <i>doylei</i>	+	d	-	-	-	-	-	-	+	-	d	+	-	S	S	+	30-31
<i>C. coli</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	S	R	+	30-33
<i>C. lari</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	d	R	R	-	32-32
<i>C. upsaliensis</i>	+	W	+	-	-	-	-	+	d	-	-	+	-	S	S	-	32-36
<i>C. fetus</i>																	
subsp. <i>fetus</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	R	S	-	33-35
subsp. <i>venerealis</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	R	S	-	33-34
<i>C. hyointestinalis</i>																	
subsp. <i>hyointestinalis</i>	+	+	+	-	d	-	+	+	+	+	-	-	-	R	S	-	35-36
subsp. <i>lawsonii</i>	+	+	+	+	+	-	-	+	(-)	+	-	-	+	+	+	+	31-33
<i>C. showae</i>	+	+	+	+	+	-	-	+	d	+	-	-	-	R	S	+	44-46
<i>C. hyoilei</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	S	R	+	33-37
<i>C. sputorum</i>																	
subsp. <i>sputorum</i>	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	d	S	-	29-31
subsp. <i>bubulus</i>	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	d	S	-	29-31
' <i>C. fecalis</i> '	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	d	S	-	31-32
<i>C. mucosalis</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	R	S	-	36-38
<i>C. concisus</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	R	R	-	37-41
<i>C. curvus</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	S	+	+	45-46
<i>C. rectus</i>	+	-	+	+	+	-	-	W	+	+	-	+	-	S	+	+	45-46
<i>C. helveticus</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	d	-	-	+	-	S	S	+	34
<i>C. gracilis</i>	-	-	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	44-46
<i>A. butzleri</i>	+	W	+	-	-	+	+	d	d	-	-	+	-	S	R	-	29-31
<i>A. skirrowii</i>	+	+	+	+	-	+	+	d	d	-	-	d	-	S	S	-	29-30
<i>A. cryaerophilus</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	d	R	-	29-32
<i>A. nitrofigilis</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	S	S	+	28-29

+: 陽性, -: 陰性, W: 弱陽性, d: 菌株によって異なる, .: 不明, S: 感受性, R: 耐性.

【参 考】 薬剤感受性の判定 (K-B法)

	R	I	S
ナリジクス酸 (NA)	≤13	14-18	≥19
セファロシン (CET)	≤14	15-17	≥18

図2-2-6. エルシニア・エンテロコリチカの検査法

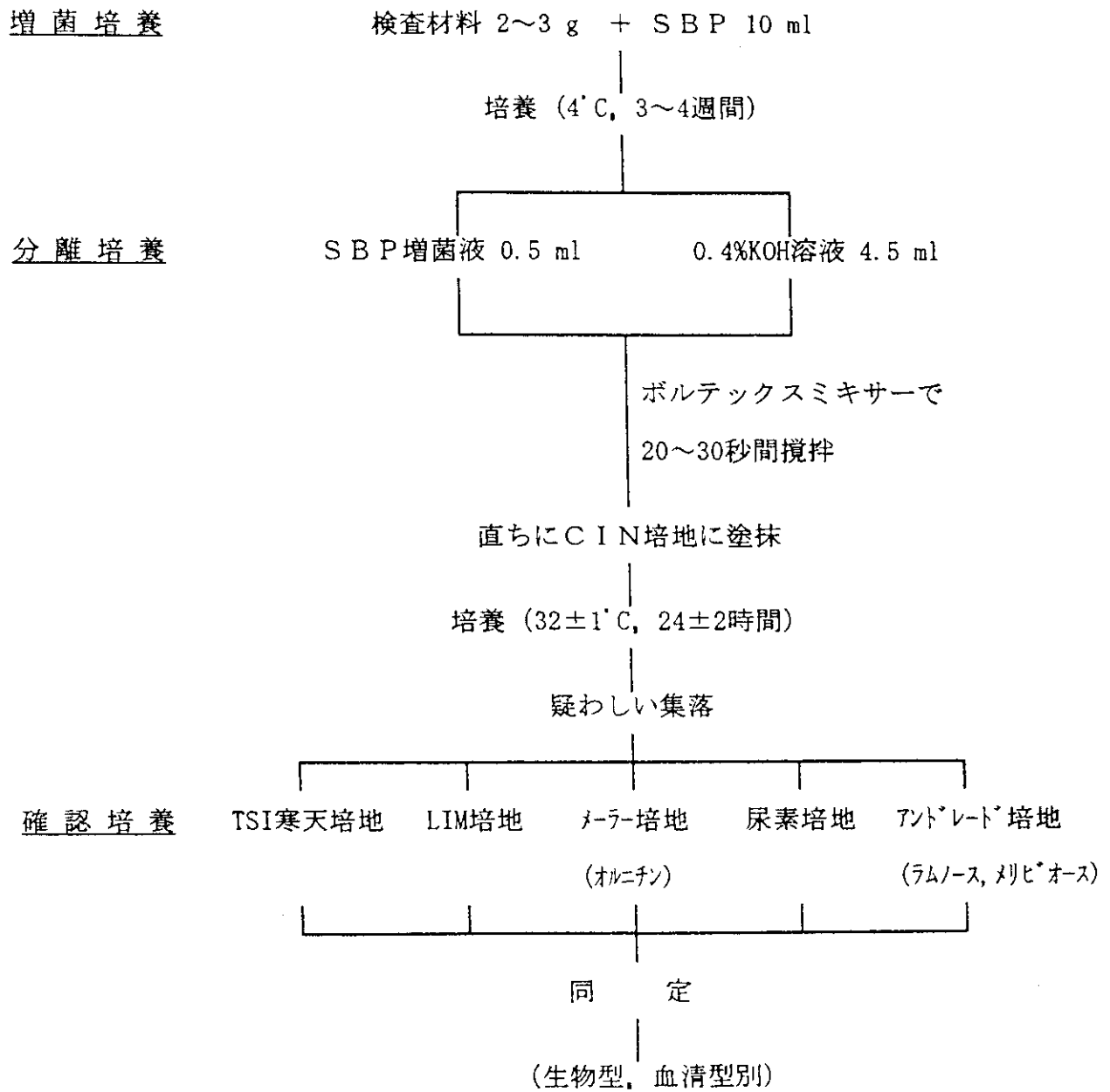


表2-2-6. エルシニアの鑑別性状

性 状	<i>Y. entero-</i> <i>colitica</i>	<i>Y. pseudo-</i> <i>tuberculosis</i>	<i>Y. frederi-</i> <i>ksenii</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>Y. kristen-</i> <i>senii</i>
インドール	d	-	+	+	+
VP反応	+または-	-	+	+	-
ウレアーゼ	+	+	+	+	+
リジン・デカルボキシラーゼ	-	-	-	-	-
オルニチン・デカルボキシラーゼ	+	-	+	+	+
ブドウ糖	+	+	+	+	+
乳糖	-	-	-	d	d
メリビオース	-	+	-	+	-
ラムノース	-	+	+	+	-
白糖	+	-	+	+	-
エスクリン加水分解	d	+	+	+	-
運動性 (25°C)	+	+	+	+	+

d : 不定

図2-2-7. リステリア・モノサイトゲネスの検査法

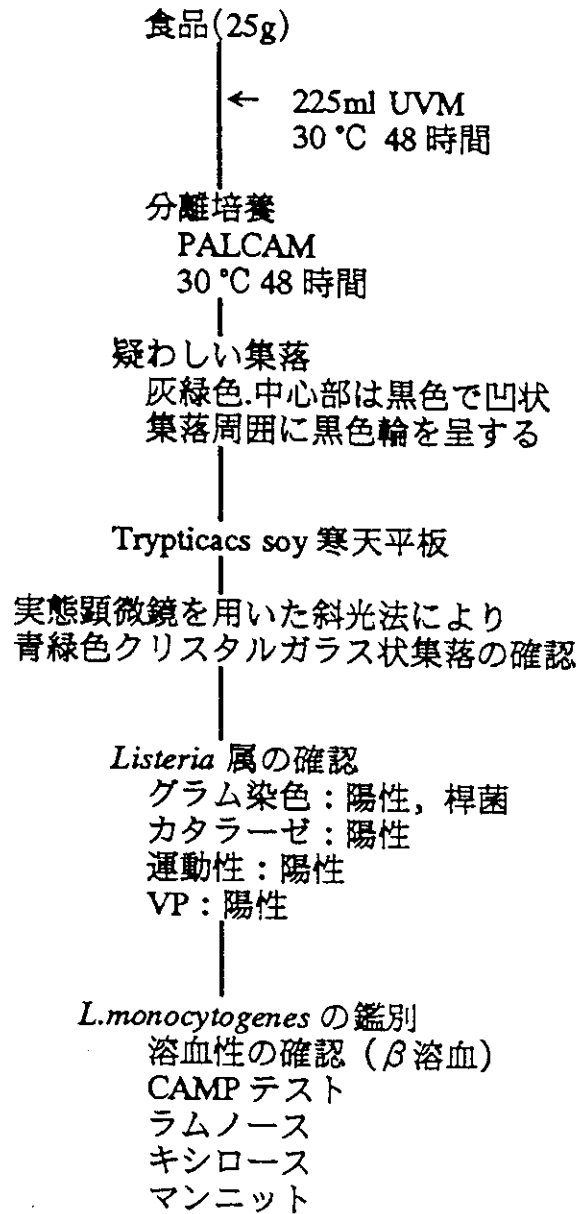


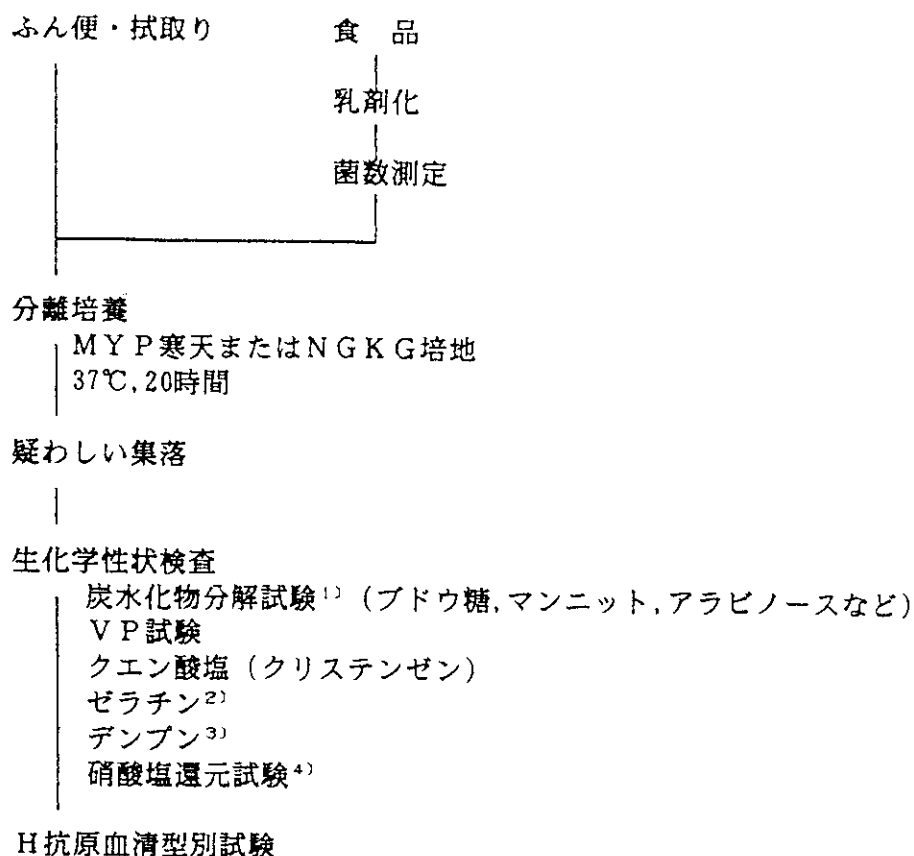


表2-2-7. リステリア・モノサイトゲネスの鑑別性状

性 状		<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. grayi</i>	<i>L. murrayi</i>
溶血性		+	++	-	-	+	-	-
CAMPテスト	<i>S. aureus</i>	+	-	-	-	+	-	-
	<i>R. equi</i>	-	+	-	-	-	-	-
糖発酵性	ラムノース	+	-	d	d	-	-	d
	キシロース	-	+	-	+	+	-	-
	マンニト	-	-	-	-	-	+	+
硝酸塩還元		-	-	-	-	-	-	+

+ : 81~100%が陽性, - : 10%以下が陽性, d : 11~80%が陽性

## 図2-2-8. セレウス菌の検査法



1) 糖加アンモニウム培地:

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
KCl	0.2g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.2g
酵母エキス	0.2g
0.04%ブドウ糖・マンニット・アラビノース	15 ml
寒天	15 g
精製水	1,000 ml

pH7.0

滅菌した基礎培地に、濾過滅菌した各糖を0.5%に加えて斜面培地にする。

2) Thiogel Medium (BBL) (ウエルシュ菌の項参照)

3) 1%可溶性デンプン加普通寒天

Lugol液:

ヨード (ヨウ素)	1g
ヨウ化カリウム	2g
蒸留水	300ml

ヨウ化カリウムを5~10mlの水に溶解, これにヨードを加えて良く溶かした後, 残りの水を加える。褐色びんで遮光保存。

但し, 本試薬はグラム染色用のルゴール液であり, 本来のLugol液は, ヨード2g, ヨウ化カリウム4g, 蒸留水100mlの組成である。

4) Indole-Nitrate Medium (Trypticase Nitrate Broth), BBL

表2-2-8. セレウス菌および類縁菌の主な生化学性状

	B. cereus	B. thuringiensis	B. mycoides	B. anthracis
卵黄反応	+	+	+	+
VP反応	+	+	+	+
クエン酸塩	+	+	d	d
ゼラチン	+	+	+	+
硝酸塩還元	+	+	+	+
ブドウ糖	+	+	+	+
マンニット	-	-	-	-
アラビノース	-	-	-	-
デンプン	+	+	+	+
チロシン	+	+	d	d
40℃での発育	d	+	d	+
運動性	+	+	-	-
足根状発育	-	-	+	-
蛋白結晶	-	+	-	-
γファージ	-	-	-	溶菌

図2-2-9(1). 黄色ブドウ球菌の検査法

