

## II-2 黄色ブドウ球菌試験法

河野潤一

五十君静信

厚生労働科学研究費補助金（食の安心・安全確保推進研究事業）  
平成 19 年度分担研究報告書

II-2 畜水産食品等の黄色ブドウ球菌の試験方法に関する研究

分担研究者 河野潤一 神戸大学農学部  
五十君静信 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者 尾上洋一 神奈川県衛生研究所  
金子誠二 東京都健康安全研究センター  
小野一晃 埼玉県衛生研究所

研究要旨

黄色ブドウ球菌の作業部会では、標準となる検査法原案作成のため、わが国と外国における検査法について各種を比較検討してきた。平成 19 年度では前年度に引き続き黄色ブドウ球菌検査の標準法の試案を作成するにあたって考慮すべき点を、分離培地（選択分離培地、増菌培地）、検査法などについて比較検討し、さらに問題点を整理した。

分離培地については加熱損傷菌に関連する比較検討を研究機関数ヶ所においてコラボ研究を行って十分な基礎資料を得た。また、前年度提案した黄色ブドウ球菌検査法（ステージ 1）に従い、直接平板培養法、選択増菌培養法、MPN法について実地に食品検査を行い検証した。これらの実験結果と「食品からの微生物検査標準法検討委員会」における検討から試験法の改訂、最終原案に係るコラボ研究実行案を策定できた。また、コラボ実行案は一部実施を行って検証した。

黄色ブドウ球菌検査ではエンテロトキシンの検出が重要な検査項目であることから、ラテックス凝集反応によるエンテロトキシン検出と PCR 法による遺伝子検出の比較実験を行って基礎資料を得た。

## A. 研究目的

わが国では、黄色ブドウ球菌の検査には増菌を行わず、食品の10倍乳剤を選択分離培地に塗抹する直接平板培養法が採用されている。直接平板培養法では食塩耐性ならびに卵黄反応を選択指標因子とした3%卵黄加マンニット食塩（MSEY）培地が多く検査室、研究機関で汎用されている。

一方、スイス International Organization for Standardization (ISO) の ISO6888-1~3【1-3】および米国食品医薬品局（FDA）の Bacteriological Analytical Manual (BAM)【4】では、選択指標因子として亜テルル酸カリウム、グリシン、塩化リチウム、卵黄反応を用いた Baird-Parker (BP) 培地が推奨されている。BP培地にはピルビン酸ナトリウムが添加されており、加熱や凍結などによるいわゆる損傷菌に対する修復力があり、食品材料から黄色ブドウ球菌を効果的に検出できるとして、諸外国では広く一般的に用いられている。

本研究では、前年度に続き黄色ブドウ球菌検査の標準法試案を作成するにあたって問題となっている選択分離培地の検討のため、国内4ヶ所の研究機関において市販のBP培地およびMSEY培地各種について検証を行った。なお、その際加熱損傷菌を想定した実験を行い十分な検証結果を得ることを企図した。

これまでの研究成果を基に前年度提案された黄色ブドウ球菌検査法【5-7】について、さらに問題点を追究する目的で、本法に従い食品検査を実地検証した。その結果に加えて「食品からの微生物検査標準法検討委員会」による検討から改めて「黄色ブドウ球菌検査法」の提案を行い、コラボ研究の実行案を作成した。その一部は既にプレラボ実験として検証を行なったのであわせて報告する。

黄色ブドウ球菌検査では、食品中のエンテロトキシンあるいは分離株のエンテロトキシン産生性を確認することが食品の安全性評価に最も重要であることから、エンテロトキシン産生性

やエンテロトキシン遺伝子の検出を検査法の中に組み入れる必要がある。そこで、本研究では基礎的資料の作成を目的として、鶏肉由来株について、培養液のエンテロトキシン検出を逆受身ラテックス凝集反応（RPLA）および遺伝子検出をPCR法を用いて行い検討した。

## B. 研究方法

1. 黄色ブドウ球菌加熱損傷における各種培地の比較（コラボ研究）
2. 黄色ブドウ球菌検査法（ステージ1）による食品検査実地検討
3. 改訂提案「黄色ブドウ球菌検査法」とその実施検討
4. 食品由来菌株の培養液からのエンテロトキシン検出と遺伝子検出

## C. 研究結果

1. 黄色ブドウ球菌加熱損傷における各種培地の比較（コラボ研究）

国内4ヶ所の研究機関において、黄色ブドウ球菌3株につい

て52℃60分加熱による菌回収をBP培地およびMSEY培地を用いて比較検討した。供試菌株はSa12522株（SEA、コアグラゼIII型）、Sa12508株（SEB、コアグラゼVII型）および規準株CCM885<sup>T</sup>株を用いた。供試した培地を表1に、試験方法について表2、図1に示す。なお試験は1回につき1菌株あたり2度測定を行い計3回の実験を行なった。すなわち、1菌株あたりの試験回数は計6回となる。その成績を表3に示す。評価培地はBP培地各種およびMSEY培地各種であり、TSA、TSAS、BA、MSEYPおよびEYSの各培地は性能比較の対照とした。研究機関による偏差はあるもののいずれにおいても加熱損傷菌に対してBP培地は優れた発育能を有することが確認された。MSEY培地にピルビン酸ナトリウムを添加したMSEYP培地ではMSEY培地単独より回収率の増加傾向が認められた。

2. 黄色ブドウ球菌検査法（ステージ1）による食品検査実地検討

前年度提案された黄色ブドウ球菌検査法【5-7】に従って畜水産食品検査を実施した。材料は2007年11月から2008年1月に、兵庫県内のスーパーマーケットで市販されていた鶏肉、豚肉、牛肉および各種魚介類を用いた。なお、1トレイパックを1検体とし、鶏肉11検体、豚肉13検体、牛肉18検体、魚介類37検体について試験した。

#### 1) 直接平板培養法

市販の食肉計42検体（鶏肉11検体、豚肉13検体、牛肉18検体）および各種魚介類計37検体について、直接平板培養法による黄色ブドウ球菌の検出分離を行った（表4）。肉類では鶏肉のMSEY培地の1検体（9.1%）のみから黄色ブドウ球菌を検出し、牛肉および豚肉からは黄色ブドウ球菌は検出されなかった。魚介類では37検体中BP培地で3検体（8.1%）、MSEY培地で2検体（5.4%）を検出した。肉類、魚介類ともに陽性検体であっても培養平板上の集落数は1～数個程度であり、菌数測定は不能であった。

#### 2) 選択増菌培養法

直接平板培養法と同一の検体

について選択増菌培養法による検出を試みた（表4）。増菌には10倍乳剤試料0.5 mlを用いた。その結果、肉類の鶏肉においては黄色ブドウ球菌の検出率は著しく増加した。豚肉、牛肉では、1検体ずつと少数ながら増加した。魚介類では直接平板培養法と変わりなく低率であった。

#### 3) 選択増菌培養MPN法

検体試料はさらに10 ml、1 ml および0.1 ml の系につきMPN法（3本法）を用いて選択増菌培養を行い、黄色ブドウ球菌の検出ならびに菌数測定を行った（表4、表5）。上述の選択増菌培養法では10倍乳剤試料0.5 mlを用いたのに対し、MPN法では最大試料10 mlとしたことで、検出率は肉類の鶏肉、豚肉魚介類ともに検出率は増加した。牛肉では選択増菌培養法と変わらず低率であった。

### 3. 改訂提案「黄色ブドウ球菌検査法」とその実施検討

これまでの研究成果に加え第13回「食品からの微生物検査標準法検討委員会」におけ

る検討から「黄色ブドウ球菌検査法」を改訂して提案した。その内容は、黄色ブドウ球菌菌数測定法としての直接平板培養法とMPN法に特化したものであり、選択増菌培養法はMPN法に含まれるとして削除することとなった。直接平板培養法とMPN法についてのプロトコールはそれぞれ資料1および2に示す。

本法に基づくコラボ研究に先立ち一部実施試験を行った。試験検体は豚肉（ヘレブロックを細切）を用いた。本試験では1検体あたり10gを用いた。非選択培地上（TSA）における一般細菌数は $4.1 \times 10^5$ であった。試験菌株は2種類の菌株CCM885<sup>T</sup>株（卵黄反応陽性の定型的集落形成株）およびNCTC9314（PS78）株（卵黄反応陰性の非定型的集落形成株）を使用した。菌接種試料の調製について、直接平板培養法では、スパイクによる以下の2段階の菌量レベルを検討した。菌液濃度は①10000-99999 CFU / g × 2 サンプル、②1000-9999

CFU / g × 2 サンプル、非スパイク試料 × 2 サンプル。MPN法については、スパイクによる以下の2段階の菌量レベルを検討した。菌液濃度は①100-999 CFU / g × 2 サンプル、10-99 CFU / g × 2 サンプル、非スパイク試料 × 2 サンプルとした。直接平板培養法における成績を表6、MPN法の成績を表7に示す。本試験の結果、直接平板培養法およびMPN法ともにBaird-Parker 培地、Mannitol salt 培地ともに接種菌量と大きく異なることはなかった。それぞれの実測値は表8および表9に示す。

測定はすべて良好な結果を得、以上の成績から実行案要領のとおりコラボ試験は実施に堪えることを検証できた。

#### 4. 食品由来菌株の培養液からのエンテロトキシン検出と遺伝子検出

鶏肉由来株【8】計73株を用いて培養液上清におけるエンテロトキシン検出ならびにPCR法によるエンテロトキシン遺伝子の検出を試みた。エンテロト

キシシキン検出には市販のRPLAキットを用い、PCR法では既に報告のある *sea* ~ *sei* のプライマーセット【9、10】を用いて multiplex PCR を行った(表10)。供試した73株はPCRにおいては *sea* ~ *sei* のいずれかまたは複数の組み合わせで検出された。RPLAではSEAからSEDまでしか検出できないが、遺伝子型に対応して検出され矛盾する結果はなかった。

一定温度で遺伝子増幅できるLAMP法が最近開発され、本研究においてもブドウ球菌検査への適応について検討した。プライマーセットは独自に開発したものであるが、既報【11】となったものとほぼ同一であった。菌株は、鶏肉、豚肉、牛肉由来の計25株で、すべてRPLAおよびPCRでエンテロトキシシキンを確認したものである。結果は、SEA産生8株、SEB産生7株、SEC産生8株およびSED産生2株のすべてにLAMP反応陽性が認められ、互いの交差反応やエンテロトキシシキ陰性株における疑陽性も認められなかった。

#### D. 考察

黄色ブドウ球菌の検査法について国際的な協調の観点からは諸外国で汎用されているBP培地が推奨される場所であるが、わが国で従来から使用されているMSEY培地との性能比較は標準法を策定するにあたって必須の検討事項である。そこで、国内研究機関4ヶ所において市販のBP培地およびMSEY培地各種の性能比較を行ったところ、加熱損傷菌に対してBP培地が優れた発育能を有することが確認された。その他の試験では両培地間に特に発育能に差を認めていない。したがって、加熱製品など損傷菌の存在が予想される場合にはBP培地の使用が強く推奨される。

前年度に提案された検査法に基づき食品検査の検証を行なったところ直接平板法で検出されることはきわめて低率であった。最近わが国では食塩やピルビン酸ナトリウムなどを添加した培地による選択増菌培養が各所で行われ、黄色ブドウ球菌検出率の著しい増加が報告されている【8、12-19】。これらの報告

は、各種の食品検体から黄色ブドウ球菌を確実に検出するには直接平板培養法のみでは不十分であり、選択増菌培養法の併用が必要であることを示している。前年度までの研究成果から提案された選択増菌培地は、本研究においても十分な性能が検証でき、国内での統一規格基準として十分と期待される。

本研究で検証した選択増菌培養法では検査試料量が少なく不十分であり、MPN法での増菌培養法でより確実となることが判明した。さらに第13回「食品からの微生物検査標準法検討委員会」において選択増菌培養法を除外する決定されたが、実務的には常にMPN法による測定を行うことは労力、時間、経費の点で問題が残り将来再検討の余地があるものと考えられる。

今回提案にいたった改訂「黄色ブドウ球菌検査法」ではプレラボ実験成績から現実的で有用と考えられる。加熱損傷菌を想定しない場合にはBP培地とMSEY培地は同等と考えられる結果を得た。研究機

関各所でのコラボ研究の後に標準検査法としての提案が期待される。

黄色ブドウ球菌の検査法においては菌数計測よりもエンテロトキシン産生性のものを確実に検出することが食品衛生上本来の目的である。今回の事業では到達しなかった目標であるが、検査法の検討はその継続性が重要であり、近い将来にエンテロトキシン産生黄色ブドウ球菌の検査法が検討されなくてはならない。

## E. 結論

黄色ブドウ球菌検査の標準法の試案を作成するにあたって考慮すべき点を、分離培地（選択分離培地、増菌培地）、検査法などについて比較検討し、さらに問題点を整理した。

分離培地についてはBP培地が加熱損傷菌の発育培地として優れていることを認めた。それ以外ではBP培地とMSEY培地では同等と結論した。これまでの研究成果に基づき、改めて最

終案に係る「黄色ブドウ球菌検査法」を策定できた。

#### F. 引用文献

- 1) ISO 6888-1: Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)-Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium (1999).
- 2) ISO 6888-2: Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)-Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium (1999).
- 3) ISO 6888-3: Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)-Part 3: Detection and MPN technique for low numbers (1999).
- 4) Bennet, R.W. and Lancett, G.A.: FDA Bacteriological Analytical Manual on line , Chapter 12, *Staphylococcus aureus* (2001).
- 5) NINSJ-03-ST1 : 黄色ブドウ球菌の検査法・直接平板培養法 (ステージ1) (2007).
- 6) NINSJ-04-ST1 : 黄色ブドウ球菌の検査法・選択増菌培養法 (ステージ1) (2007).
- 7) NINSJ-05-ST1 : 黄色ブドウ球菌の検査法・菌数測定法 (ステージ1) (2007).
- 8) Kitai, S., Shimizu, A., Kawano, J., Sato, E., Nakano, C., Kitagawa, H.,

- Fujio, K., Matsumura, K., Yasuda, R. and Inamoto, T.: Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken meat throughout Japan, J. Vet. Med. Sci., 67, 269-274 (2005).
- 9) Becker, K., Roth, R. and Peters, G.: Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene. J. Clin. Microbiol., 36, 2548-2553 (1998).
- 10) Omoe, K., Ishikawa, M., Shimoda, Y., Hu, D.-L., Ueda, S. and Shinagawa, K.: Detection of *seg*, *seh*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates Harboring *seg*, *seh*, or *sei* genes. J Clin Microbiol. 40, 857-62 (2002).
- 11) Goto, M., Hayashidani, H., Takatori, K. and Hara-Kudo, Y.: Rapid detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* harbouring genes for four classical enterotoxins, SEA, SEB, SEC and SED, by loop-mediated isothermal amplification assay, Lett. Appl. Microbiol., 45, 100-107 (2007).
- 12) 清水晃、堀江理香: 1 スーパ

- 一マーケットで市販されていた鶏肉・豚肉の半年間にわたる黄色ブドウ球菌汚染調査とPFGEを用いた疫学解析、日食微誌、16、257-261、(1999).
- 13) 楠くみ子、潮田弘、神真知子、新井輝美、岩谷美枝、石上武、山田澄夫：東京都多摩地区における市販生食用魚介類の細菌汚染調査成績（1986-1996）、日食微誌、15、161-165 (1998).
- 14) 野村秀一、原賀壮勇、花木秀明、永山在明：市販刺身の黄色ブドウ球菌による汚染状況調査—平板培養法と増菌培養法の比較検討—、日食微誌、19、17-20 (2002).
- 15) 潮田弘：黄色ブドウ球菌の増菌培養について—食品衛生に関わる黄色ブドウ球菌検索に増菌培養法の普及を促したい—、食衛誌、41、J335 (2000).
- 16) Wada, T., Nakayori, S., Ishibashi, W., Aoki, Y. and Murakami, K.: Rapid detection of *Staphylococcus aureus* for food hygiene using a combination of enrichment culture and gene amplification (PCR)., *Jpn.J.Food Microbiol.*, 22, 72-76 (2005).
- 17) 中 峰松、清水 晃、河野潤一、五十君静信：市販ミンチ肉における黄色ブドウ球菌汚染調査と分離株の性状、日食微誌、23、217-222 (2006).
- 18) 清水 晃、松村浩介、藤尾公輔、河野潤一、北井 智、五十君静信：綿棒を用いた拭き取り増菌培養法による市販豚および牛スライス肉における黄色ブドウ球菌汚染調査と分離株の性状、日食微誌、23、242-246 (2006).
- 19) 小沼博隆、品川邦汎：食肉および食肉製品中の黄色ブドウ球菌とセレウス菌の汚染状況、肉の科学、26、103-114 (1985)

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

(1) 藤尾公輔、清水 晃、松村 浩介、河野潤一、北川 浩、五十君 静信 (2007) : 市販食肉、健康人、豚および鶏から分離された黄色ブドウ球菌の薬剤耐性. 日食微誌、24(2)、100-106.

(2) 清水 晃、市場智子、河野潤一、五十君 静信 (2007) : 調理済み食品における黄色ブドウ球菌の汚染実態. 48(5)、J341-J344.

### 2) 学会発表

内井香里、河野潤一、清水 晃、齋藤悦子 (2007): LAMP 法による黄色ブドウ球菌毒素 TSST-1 およびエンテロトキシン(SEA、SEB) 遺伝子、第 144 回日本獣医学会学術集会講演要旨集、p.103.

## H. 知的所有権の修得状況

なし

表 1. 加熱損傷菌試験に用いた培地

- 
- マンニット (MS) 食塩培地 (卵黄液添加):
    - 生培地 「栄研」のエッグヨーク食塩寒天培地
    - 「ニッスイ」の卵黄加マンニット食塩培地
    - 粉末培地 「栄研」のマンニット食塩培地
    - 「ニッスイ」のマンニット食塩培地
    - 「栄研とニッスイ」+1%ピルビン酸ナトリウム添加
  - Baird-Parker 培地 (卵黄液添加):
    - 「Oxoid」の粉末培地
    - 「Merck」の粉末培地
    - 「Becton-Dickson」の粉末培地
  - TSA (Oxoid) 培地を base にした血液寒天培地 (5%羊血液寒天培地) (関東)
  - TSAS 培地 (TSAに7.5%の食塩添加)
- 

添加物

3.5% 亜テルル酸溶液 (Oxoid)

30% 卵黄乳液 (Oxoid)

表2. 加熱損傷菌の作製法

- 
1. 供試菌株を TSA 培地に塗抹し、コンラジー棒で全面に広げ、35℃で一夜培養する。
  2. One colony を釣菌し、TSB 培地 (10 ml) に移植し、35℃で一夜培養する。
  3. 培養液の1白金耳を、TSB 培地 (10 ml) に移植し、35℃で12~15時間培養する(静止期細胞)。
  4. この培養液を、TSB 培地 (10 ml) に  $10^7$ /ml になるように接種し、35℃で3~4時間、振とう培養(140 ストローク)し、約  $10^9$ /ml まで培養する(対数期細胞)。
  5. この培養液(静止期細胞と対数期細胞)を、3000 rpm, 15分間、遠心する。
  6. 沈渣(静止期細胞と対数期細胞)を、100 mM, PPB (Potassium phosphate buffer, pH 7.2)で、2回洗浄する。
  7. 沈渣に、PPB 1 ml を加え、混濁する(TSBの1/10量)。
  8. この試験菌液0.1 ml を、0.9 ml のPPB (1.5 mlのエッペンチューブを用いる、予め52℃の恒温水槽で暖めておく)に加え、攪拌しながら、52℃, 20分間加熱する。
  9. 冷水で冷やし、試験菌液とする。
  10. 今回は、予備実験で設定された加熱時間で、培地の性能比較を行う。
  11. 菌の接種法  
各2枚(0.4 ml, 0.3 ml, 0.3 ml) = 1 ml FDA法を用いる。
-

表3. 黄色ブドウ球菌52°C60分加熱損傷菌の各種選択分離培地における発育菌数(CFU/ml)

菌株	試験 機関	加熱前菌 数	TSA	TSAS	BA	BP(Oxoid 製)粉末 培地	BP(BD製) 粉末培地	MSEY(二 ツスイ製) 粉末培地	MSEY(二 ツスイ製) 生培地	MSEY(栄 研製)粉 末培地	MSEY(栄 研製)生 培地	MSEYP( ニッスイ 製)粉末	MSEYP( 栄研製) 粉末培地	EYS
Sa12522	A	3.1E+09	1.2E+03	0	9.6E+03	7.8E+01	3.0E+02	3.3		1.7		1.8E+01	6.7	
	B	1.0E+09	1.1E+06	2.0E+03	2.5E+06	7.0E+05	2.7E+05						1.4E+04	
	C	1.4E+09	2.9E+05	5.6E+03	5.0E+05	4.2E+04		2.7E+04		1.2E+04		2.8E+04	3.8E+04	3.8E+03
	D	1.2E+09	4.8E+04	1.1E+02	9.5E+04	5.7E+03				2.0E+01	7.7E+01		7.3E+02	4.0E+02
Sa12508	A	3.7E+09	9.5E+06	1.5E+03	7.0E+06	3.4E+06	2.9E+06	6.5E+03		5.3E+02		1.8E+04	1.0E+04	
	B	1.2E+09	1.7E+06	1.4E+03	2.5E+06	1.2E+05	8.0E+04		1.4E+03	3.4E+02			2.8E+03	1.8E+03
	C	1.6E+09	8.5E+06	3.6E+05	1.2E+07	1.5E+06		2.9E+04		4.8E+03		2.4E+05	1.9E+05	3.1E+04
	D	9.6E+08	5.3E+05	7.3E+02	7.5E+05	2.3E+05				7.5E+02	3.1E+03		8.2E+03	5.7E+03
CCM885 T	A	3.0E+09	2.6E+04	0	1.6E+05	9.1E+03	2.1E+04	0		1.7		0	1.7	
	B	1.0E+09	8.7E+03	5.3E+01	1.6E+05	1.3E+03	5.4E+02		1.8E+01	2.0E+01			9.3E+01	7.8E+01
	C	1.8E+09	3.8E+04	5.4E+02	5.3E+05	3.9E+03		2.6E+02		2.8E+02		2.7E+02	4.5E+02	3.9E+02
	D	9.5E+08	3.8E+03	8.3	1.9E+04	4.8E+02				1.0E+01	1.0E+01		1.6E+02	5.0E+01

菌数は指数で表記した。

TSA :トリプトンソーヤ寒天培地 (Oxoid)

TSAS :TSA+7.0%NaCl

BA :血液寒天培地(Oxoid TSA base)

BP :ペアドーバーカー寒天培地

MSEY :卵黄加マンニット食塩寒天培地

MSEYP :ピルビン酸ナトリウム(1%)加MSEY

EYS :エッグヨーク食塩寒天培地

表4. 肉類および魚介類における黄色ブドウ球菌検査

検体	検体数	陽性検体数(%)					
		直接平板培養法		選択増菌培養法		MPN法	
		BP培地	MSEY培地	BP培地	MSEY培地	BP培地	MSEY培地
肉類							
鶏肉	11	0	1 (9.1)	7 (63.6)	8 (72.7)	11 (100)	11 (100)
豚肉	13	0	0	1 (7.7)	1 (7.7)	7 (53.8)	8 (61.5)
牛肉	18	0	0	1 (5.6)	1 (5.6)	1 (5.6)	1 (5.6)
魚介類各種	37	3 (8.1)	2 (5.4)	2 (5.4)	1 (2.7)	4 (10.8)	6 (16.2)

黄色ブドウ球菌検査法はNIHSJ-03-ST1、NIHSJ-04-ST1、NIHSJ-05-ST1に従って行った。

表5. 黄色ブドウ球菌陽性検体におけるMPN値

検体	MPN値(1gあたり)	
	BP培地	MSEY培地
鶏肉1	9.1	21
鶏肉2	120	1100
鶏肉3	3	9.3
鶏肉4	20	75
鶏肉5	23	23
鶏肉6	23	43
鶏肉7	9	12
鶏肉8	9.3	19
鶏肉9	12	15
鶏肉10	16	16
鶏肉11	42	26
豚肉1	3.6	3.6
豚肉2	3.6	3.6
豚肉3	3.6	3.6
豚肉4	11	11
豚肉5	43	43
豚肉6	-	3.6
豚肉7	14	14
豚肉8	11	11
牛肉1	23	9.1
魚1	3	3
魚2	3.6	3.6
魚3	-	3
魚4	-	9.1
魚5	3.6	3.6
魚6	3.6	-
魚7	-	3.6

表6 直接培養法による菌数測定

検体	菌株	接種菌量 (CFU/g)	測定値 (CFU/g)			
			Baird-Parker (回収率%)	Mannitol salt (回収率%)	Mannitol salt (回収率%)	
1	CCM885T	97000	68000	70.1	55000	56.7
2		97000	65000	67	69000	71.1
3		9700	6400	66	9500	97.9
4		9700	7600	78.4	10000	103.1
5	NCTC9314	59000	33000	55.9	42000	71.1
6		59000	34000	57.6	33000	55.9
7		5900	3300	55.9	4000	67.8
8		5900	4100	69.5	5000	84.7
9	None	0	0	0	0	0
10		0	0	0	0	0

表7 MPN法による菌数測定

検体	菌株	接種菌量 (CFU/g)	測定値 (MPN/g)	
			Baird-Parker	Mannitol salt
11	CCM885T	970	1100	1100
12		970	460	460
13		97	110	110
14		97	110	110
15	NCTC9314	590	460	460
16		590	93	240
17		59	9.3	9.3
18		59	46	24
19	None	0	0	0
20		0	0	0

表8 直接培養法における実測値(0.1 mlあたりの集落数)

検体	菌株	接種菌量(CFU/g)	Baird-Parker上の集落数 *1		Mannitol salt上の集落数 *2	
			10倍	100倍	10倍	100倍
1	CCM885T	97000	602	60	668	74
2		97000	582	73	674	41
3		9700	552	54	776	71
4		9700	498	78	674	67
5	NCTC9314	59000	268	37	420	42
6		59000	326	28	490	41
7		5900	270	36	394	33
8		5900	200	34	446	36
9	None	0	39	3	42	6
10		0	28	2	37	6
			26	8	54	7
			55	2	44	6
			0	0	0	0
			2 *3	0	0	0
			6 *4	0	1 *3	0
			6 *3	0	2 *3	0

\*1 Baird-Parker上ではCCM885T株ではすべての集落が定型的であり、NCTC9314株ではすべての集落が非定型的であった。

\*2 Mannitol salt上ではCCM885T株では100個を超える場合はすべて定型的であったが、それ以下では卵黄反応は弱く非定型横であった。NCTC9314株ではすべての集落が非定型的であった。

\*3 いずれも非定型的でSAではなかった。

\*4 1集落が定型的でSAと同定された。他は非定型的でSAではなかった。