

図5-3 菌株84を卵黄で増菌したものを卵黄で希釈し 10^7 cfuを $5\mu\text{l}$ 接種したもののボルト、ナット、めん棒の菌数

($10^{6.72}$ cfuを $5\mu\text{l}$ 接種したもの:接種量 $10^{4.42}$ cfu/ネジ)

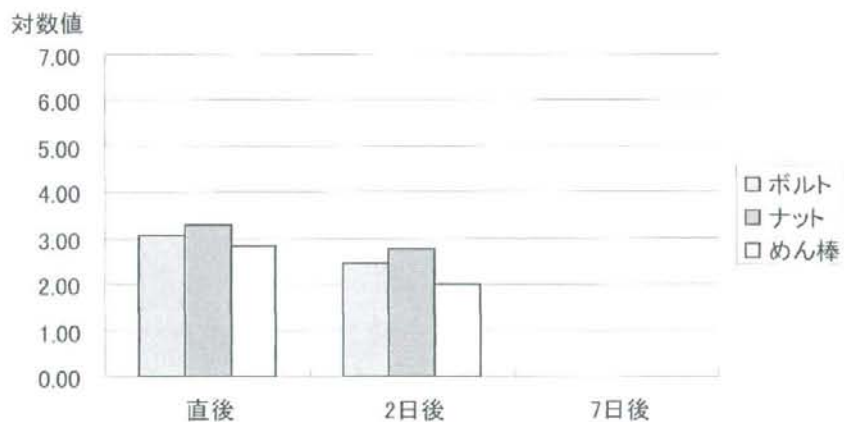


図5-4 菌株84を卵黄で増菌したものを卵黄で希釈し 10^6 cfuを $5\mu\text{l}$ 接種したもののボルト、ナット、めん棒の菌数

($10^{5.72}$ cfuを $5\mu\text{l}$ 接種したもの:接種量 $10^{3.42}$ cfu/ネジ)

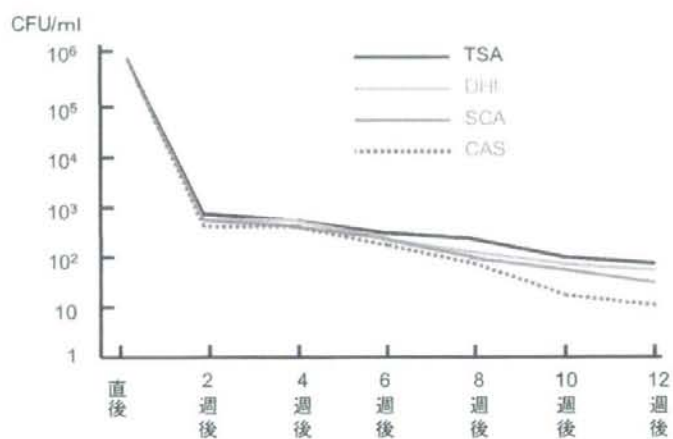


図6-1 金属表面に接種し・長期生存したサルモネラの分離による比較

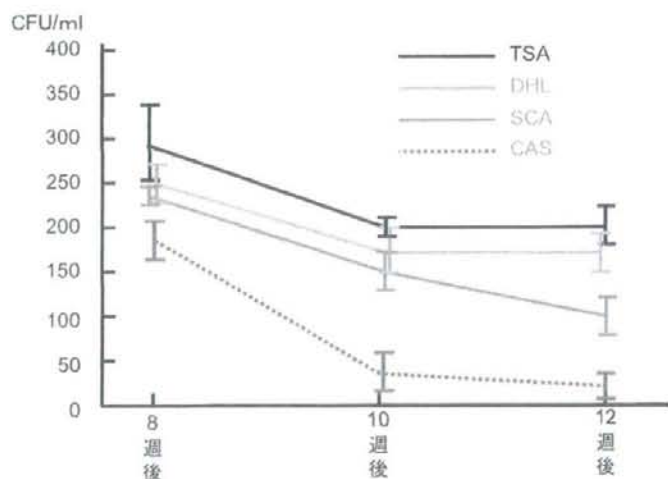


図6-2 金属表面に接種し・長期生存したサルモネラ菌数 (平均±標準誤差)

表 1 ネジでのサルモネラ長期生残性

条件	経過日									
	1	14	28	42	48	70	84	112	140	168
SE282-TSB A U1	800000	80	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-TSB A U2	700000	40	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-TSB A S1	600000	50	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-TSB A S2	600000	50	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-EY B U1	640000	120	+	+	+	+	+	+	-	-
SE282-EY B U2	700000	95	+	+	+	+	+	+	+	-
SE282-EY B S1	600000	40	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-EY B S2	600000	50	-	-	-	-	-	-	-	-
SE64-TSB C U1	900000	270	30	+	280	200	550	200	500	290
SE64-TSB C U2	900000	120	110	+	280	270	220	240	600	220
SE64-TSB C S1	400000	70	45	10	15	70	10	50	60	150
SE64-TSB C S2	400000	150	380	15	50	30	+	50	50	200
SE64-EY D U1	500000	8500	6800	28000	11000	4700	9600	13000	500	850
SE64-EY D U2	500000	8600	2200	9500	16000	6400	20000	15000	3000	1900
SE64-EY D S1	500000	480	360	150	380	30	70	120	50	40
SE64-EY D S2	500000	320	250	350	70	300	60	180	50	20

条件	経過日									
	196	224	252	280	308	336	364	392	420	448
SE282-TSB A U1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-TSB A U2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-TSB A S1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-TSB A S2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-EY B U1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-EY B U2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-EY B S1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SE282-EY B S2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SE64-TSB C U1	10	+	60	+	+	+	+	+	+	+
SE64-TSB C U2	20	20	+	+	+	+	+	+	+	+
SE64-TSB C S1	390	270	+	20	+	60	+	+	+	+
SE64-TSB C S2	210	250	+	+	+	+	+	+	+	+
SE64-EY D U1	1300	500	310	400	260	420	+	200	150	30
SE64-EY D U2	840	1200	600	560	300	360	330	280	150	140
SE64-EY D S1	40	10	60	10	+	10	+	+	+	+
SE64-EY D S2	20	80	40	30	10	30	20	20	20	20

条件は 菌株番号 - TSBまたはEY(卵黄) - U:ユニットまたはS:セパレート
で記載

単位は希釈液あたりのcfu/ml

+: 増菌培養により分離

-: 増菌培養でも分離されず

表2-1 豚の直腸内容物からのサルモネラ分離による比較

供試検体数	陽性検体数(%)	内訳	
		血清型	検体数
50	4(8)	S. Derby	2
		S. Typhimurium	2

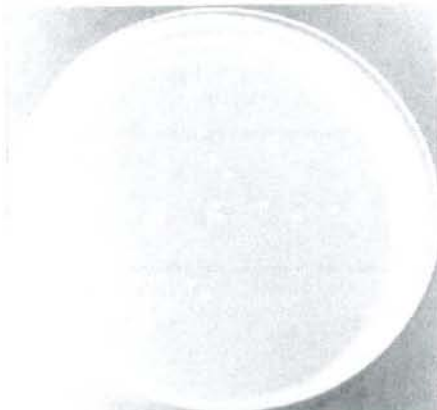
増菌培地(RV培地、TT培地)、選択培地(SCA、CAS、DHL、MLCB、BGA)のどの組み合わせにおいても、陽性検体からサルモネラ菌は分離

表2-2 各平板培地上で典型的な集落を疑い釣菌した平板培地の数
(陽性検体は4)

増菌培地	分離培地	釣菌平板培地数
RV培地	SCA	4
	CAS	4
	DHL	8
	MLCB	6
	BGA	14
TT培地	SCA	4
	CAS	4
	DHL	5
	MLCB	6
	BGA	11



SALMONELLA CHROMOGENIC AGAR
(OXOID社)



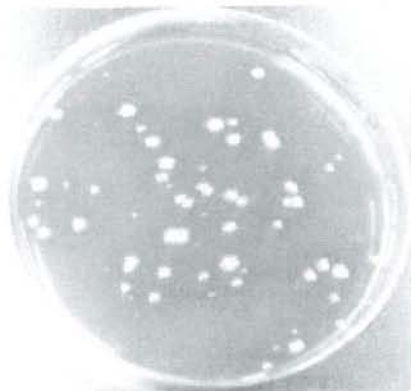
CHROMagar Salmonella
(CHROMagar社)



DHL



MLCB



BGA

写真 各培地上のサルモネラ集落

機器の衛生管理に関する研究

—ボルトにおけるサルモネラの生残性と拭き取り試験の有効性—

分担研究者 熊谷 進（東京大学）

研究協力者 小野一晃（埼玉県衛生研究所）

—研究要旨—

野外より分離したサルモネラ菌株のうちバイオフィーム産生性の高い菌株と低い菌株とをボルト上に 10^5 - 8 cfu/ml 接種してから、デシケーター内に 22.5 - 23.0°C で保存し、保存 2~14 日後に取り出して生残菌数を測定した。

ネジ上での菌の生残性は TSB 懸濁菌液と卵黄懸濁菌液とでは異なり、乾燥条件下においては TSB 懸濁液の方が生残性が高く、菌株 No.280 で保存 8 日後に 10^3 cfu/ml、菌株 No.54 で保存 14 日後に 10^1 cfu/ml の菌が検出された。他方、卵黄懸濁液では保存 2 日後に 10^1 cfu/ml の菌が検出されたが、保存 7 日後には増菌培養しても菌は検出されなかった (<0.2 cfu/ml)。

また、菌量が少ない場合には、ボルト上に菌が生残しているも、拭き取り綿棒からは菌が検出できなかったことから、表面に凹凸がみられる場合の拭き取り検査方法についての検討が必要である。

A.研究目的

機器部品として汎用されているボルトについて、サルモネラを接種し、保存 2~14 日間の菌の消長を調べると共に、綿棒での拭き取りによってボルト上の菌がどれくらい回収できるかについて検討した。

B.研究方法

図 1 に検査法の流れを示す。野外より分離したサルモネラ菌株のうち、バイオフィーム産生性の高い菌株 (No.54) と低い菌株 (No.280) を Tryptic Soy Broth(TSB)または卵黄液中で一晩培養した後、PBS で 10 倍、100 倍、1000 倍に希釈し、概ね 10^5 - 8 cfu/ml に相当する菌液を作成した。各菌培養液 $5\mu\text{l}$ をボルト上に滴下し、ナットを行き詰まるまで締めてから、も

との位置まで緩め、ボルトから完全に外した状態でシャーレ中に納め、シリカゲル (500g) を底面に敷き詰めてあるデシケーター (外寸 $300\times 300\times 300\text{mm}$) 内に 22.5 - 23.0°C で保存した。菌株 No.280 は保存 2 日後と 8 日後、菌株 No.54 は保存 7 日後と 14 日後にデシケーターからシャーレを取り出し、ボルト表面を滅菌綿棒で拭き取り、10ml 量の PBS 中で攪拌した。ボルトとナットについても、同様に 10ml 量の PBS 中で攪拌した。これら PBS 振り出し液の 0.1ml をブリアントグリーン寒天培地に接種し、24 時間培養後に菌数を測定し、さらに、振り出し液の 5ml を 45ml の BPW (Buffered Pepton Water) 培地に接種後、24 時間増菌培養を行った。

C. 研究結果

(1) 接種直後の菌数

サルモネラ菌株の一晩培養後の菌量は、菌株 No.54 は TSB 懸濁液で 6.2×10^8 cfu/ml、卵黄液懸濁液で 1.4×10^9 cfu/ml、一方、菌株 No.280 は TSB 懸濁液で 1.3×10^9 cfu/ml、卵黄液懸濁液で 1.8×10^9 cfu/ml であった。

懸濁液の原液および PBS で 10~1000 に希釈した各菌液をボルト接種 (約 1 時間) 後に菌数測定した結果を表 1 に示す。

菌株 No.54 の TSB 懸濁液原液を接種した場合、ボルトの PBS 振り出し液の菌数は 1.4×10^4 cfu/ml、拭き取り綿棒の PBS 振り出し液の菌数は 1.0×10^2 cfu/ml であった。また、卵黄液懸濁液原液を接種した場合、ボルトの PBS 振り出し液の菌数は 5.9×10^4 cfu/ml、拭き取り綿棒の PBS 振り出し液の菌数は 1.9×10^3 cfu/ml であった。これに対して、TSB 懸濁液や卵黄液懸濁液の 10 倍から 1000 倍希釈液を接種した場合にはいずれも検出限界 (10 cfu/ml) 未満であった。

菌株 No.280 の TSB 懸濁液原液を接種した場合、ボルトの PBS 振り出し液の菌数は 5.0×10^4 cfu/ml、拭き取り綿棒の PBS 振り出し液の菌数は 1.5×10^3 cfu/ml であった。また、卵黄液懸濁液原液を接種した場合、ボルトの PBS 振り出し液の菌数は 2.3×10^4 cfu/ml、拭き取り綿棒の PBS 振り出し液の菌数は 8.4×10^2 cfu/ml であった。これに対して、TSB および卵黄各懸濁液 (原液) の PBS による 10~1000 倍希釈液を接種した場合にはいずれも検出限界未満であった。

(2) 保存試験における菌数変化

菌株 No.54 について、保存 7 日および 14 日

後の菌数を表 3 に示す。

菌接種 7 日後には、TSB 懸濁液の原液を接種したボルトの振り出し液から $5.0 \sim 8.0 \times 10^1$ cfu/ml の菌が検出されたが、懸濁液 (原液) の PBS による 10~1000 倍希釈液を接種したボルトの振り出し液からは増菌培養を行っても菌は検出されなかった (< 0.2 cfu/ml)。

また、ボルトの拭き取り検体については、いずれも増菌培養を行っても菌は検出されなかった。

菌接種 14 日後には、TSB 懸濁液の原液を接種したボルトの振り出し液の 3 検体中 2 検体からそれぞれ 2.0×10^1 cfu/ml、 3.0×10^1 cfu/ml の菌が検出されたが 1 検体は増菌培養でのみ菌が検出された。また、ボルトの拭き取り検体については、いずれも増菌培養を行っても菌は検出されなかった。

菌株 No.280 について、保存 2 日後および 8 日後の菌数を表 4 に示す。

菌接種 2 日後には、TSB 懸濁液の原液を接種したボルトの振り出し液から $5.0 \times 10^8 \sim 1.2 \times 10^9$ cfu/ml の菌が検出されたが、原液の 10~1000 倍希釈液を接種したボルトの振り出し液からは増菌培養を行っても菌は検出されなかった。

また、ボルトの拭き取り検体については、3 検体中 1 検体から 3.0×10^1 cfu/ml の菌が検出されたが、他の 2 検体については増菌培養でのみ菌が検出された。

一方、卵黄懸濁液の場合には、原液を接種したボルトの振り出し液から $3.0 \sim 5.0 \times 10^1$ cfu/ml の菌が検出されたが、懸濁液 (原液) の 10~1000 倍希釈液を接種したボルトの振り出し液からは増菌培養を行っても菌は検出されなかった。また、拭き取り検体については、

増菌培養を行っても菌は検出されなかった。

菌接種 8 日後には、TSB 懸濁液の原液を接種したボルトの振り出し液から $1.9\sim 2.4 \times 10^8$ cfu/ml の菌が検出された。また、拭き取り検体については、3 検体とも増菌培養でのみ菌が検出された。

拭き取り検体については、ボルト上の菌数が PBS 振り出し液中に 10^8 (cfu/ml) 以上の場合に増菌培養で菌が検出され、一方、PBS 振り出し液中の菌数が 10^1 (cfu/ml) 以下の場合には、増菌培養を行っても菌は検出されなかった。

(3) 保存庫内の温・湿度

検体保存期間中の保存庫内の温・湿度変化を表 5 に、また、湿度の変化を図 2 にまとめた。デシケータ内の温度は $22.7\sim 22.8^\circ\text{C}$ とほぼ一定であったが、湿度は、保存直後で 20%、保存 1 日後に 10%、保存 2 日後に 5%、保存 3 日後以降は 1% にまで低下した。

D. 考察

菌株 No.54 については TSB 懸濁液を接種した検体でのみ菌が検出され、菌株 No.280 については、菌接種 2 日後には TSB および卵黄懸濁液を接種した両方の検体から菌が検出されたが、菌接種 8 日後には TSB 懸濁液を接種した検体のみ菌が検出された。このことから、No.54 および 280 の両菌株とも TSB 懸濁液を使用した方が卵黄懸濁液を使用した場合よりも生存しやすいことが示唆された。デシケータ内の湿度は保存 3 日後以降は 1% まで下がり、このような乾燥条件下では TSB 懸濁液よりも卵黄懸濁液の方が菌の死滅が早いことが考えられた。卵黄懸濁液の場合には、保存後の検査の際に菌を接種した位置に白い粉状のものが

目視されたが、TSB 懸濁液の場合には観察されず、両者でバイオフィルムの形成に差があることが考えられた。

菌株 No.54 の接種 7 日後の結果と比較した場合、菌株 No.280 では菌接種 8 日後でもボルトの PBS 振り出し液からは直接培養で 10^8 (cfu/ml) 位の菌が検出され、また、ボルトの拭き取り検体からも増菌培養で菌が検出された。このように菌株 No.280 では菌株 No.54 に比べて菌の生残性が高かったが、No.54 の初期菌量が 6.2×10^8 cfu/ml であったのに対し、菌株 No.280 の初期菌量が 1.3×10^9 cfu/ml と 1 オーダー高かったことが一因であることが考えられた。

また、拭き取り検体については、ボルト上に菌が生残していても、PBS 振り出し液中の菌数が 10^8 (cfu/ml) 以上の場合に増菌培養で菌が検出されたが、PBS 振り出し液中の菌数が 10^1 の菌数が 10^1 (cfu/ml) 以下の場合には、増菌培養を行っても菌は検出されなかったことから、機器に残存した菌の検査法について、特に表面に凹凸がみられる場合には、滅菌綿棒等を用いた拭き取り方法について更に検討する必要があることが考えられた。

E. 結論

ネジ上での菌の生残性は TSB 懸濁液と卵黄懸濁液とは異なり、乾燥条件下においては TSB 懸濁液の方が生残性が高いことが示唆された。また、ボルト上に菌が生残していても、拭き取り検査では十分には菌が検出できなかったことから、検査手法の見直しや工夫が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 菌株No.54の接種直後の拭き取り検体とポルトのサルモネラ菌数

接種菌数	TSB懸濁液: 6.2×10^8 /ml		卵黄懸濁液: 1.4×10^9 /ml	
	No.54TSB懸濁液		No.54卵黄懸濁液	
	フリトリ検体 直接	ポルト 直接	フリトリ検体 直接	ポルト 直接
原液	1.0×10^2	1.4×10^4	1.9×10^3	5.9×10^4
10^{-1}	0	0	0	0
10^{-2}	0	0	0	0
10^{-3}	0	0	0	0

表2 菌株No.280の接種直後の拭き取り検体とポルトのサルモネラ菌数

接種菌数	TSB懸濁液: 1.3×10^9 /ml		卵黄懸濁液: 1.8×10^8 /ml	
	No.280TSB懸濁液		No.280卵黄懸濁液	
	フキトリ検体 直接	ポルト 直接	フキトリ検体 直接	ポルト 直接
原液	1.5×10^3	5.0×10^4	8.4×10^2	2.3×10^4
10^{-1}	0	0	0	0
10^{-2}	0	0	0	0
10^{-3}	0	0	0	0

表3 菌株No.54の保存7、14日後の拭き取り検体およびポルトのサルモネラ菌数

保存7日後

試料	No.54TSB懸濁液				No.54卵黄懸濁液			
	フキトリ検体		ポルト		フキトリ検体		ポルト	
	直接	増菌	直接	増菌	直接	増菌	直接	増菌
原液-①	0	-	7.0×10^1	+	0	-	0	-
原液-②	0	-	5.0×10^1	+	0	-	0	-
原液-③	0	-	8.0×10^1	+	0	-	0	-
10^{-1} -①	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-1} -②	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-1} -③	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-2} -①	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-2} -②	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-2} -③	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-3} -①	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-3} -②	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-3} -③	0	-	0	-	0	-	0	-

表4 菌株No.280の保存2、8日後の拭き取り検体およびボルトのサルモネラ菌数

保存2日後

試料	No.280TSB懸濁液				No.280卵黄懸濁液			
	フキトリ検体		ボルト		フキトリ検体		ボルト	
	直接	増菌	直接	増菌	直接	増菌	直接	増菌
原液-①	0	+	1.2×10^4	+	0	-	3.0×10^1	+
原液-②	3.0×10^1	+	6.9×10^3	+	0	-	5.0×10^1	+
原液-③	0	+	5.0×10^3	+	0	-	3.0×10^1	+
10^{-1} -①	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-1} -②	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-1} -③	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-2} -①	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-2} -②	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-2} -③	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-3} -①	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-3} -②	0	-	0	-	0	-	0	-
10^{-3} -③	0	-	0	-	0	-	0	-

表5 保存庫内の温・湿度変化

	保存日数	温度℃	湿度%
菌接種	0	22.7	20
	1	22.7	10
No.280検査-1回目	2	22.7	5
	3	22.8	1
	4	22.8	1
	5	22.7	1
	6	22.8	1
No.54検査-1回目	7	22.7	1
No.280検査-2回目	8	22.8	1
	9	22.7	1
	10	22.7	1
	11	22.7	1
	12	22.7	1
	13	22.7	1
No.54検査-2回目	14	22.8	1

（協力研究報告書）

機器の衛生管理に関する研究

—ボルトとナットにおけるサルモネラの生残試験—

分担研究者 熊谷 進（東京大学）

研究協力者 小野一晃（埼玉県衛生研究所）

—研究要旨—

野外より分離したサルモネラ菌株のうちバイオフィーム産生性の高い菌株（No.54）と低い菌株（No.280）をボルト上に接種してから、デシケーター内 22.5-23.0℃に保存し、逐次取り出して生残菌数を測定した。

両菌株とも TSB 懸濁液を使用した方が卵黄懸濁液よりも菌の生残性が高い傾向を示し、菌株 No.54 で 337 日以上、菌株 No.280 で 261 日以上生存した。

卵黄懸濁液を接種した菌株 No.54 については、ボルトとナットのユニット状態の方がセパレート状態よりも生残性が高く、卵黄懸濁液の場合には TSB 懸濁液よりも保存庫内の湿度の影響を強く受けたことが示唆された。

また、2 種類の分離平板を菌数測定に用いたが、保存検体については BGM 培地の方が CHROM Agar Salmonella 培地よりも平板上に発育するコロニー数が概して多く、損傷菌を対象とした検査に適した培地の検討が必要である。

A.研究目的

機器部品として汎用されているボルトとナットについて、サルモネラを接種し、菌の消長を調べた。

B.研究方法

図 1 に検査の流れを示す。野外より分離したサルモネラ菌株のうち、バイオフィーム産生性の高い菌株（No.54）と低い菌株（No.280）を Trypticase Soy Broth(TSB)または卵黄液中で一晩培養した後に、各菌培養液 5 μ l をボルト上に滴下し、ナットを行き詰まるまで締めてから、もとの位置まで緩めた。ナットを再度行き詰まるまで締めた状態のもの（ユニット型）および、ナットをボルトから完全に外した状態のもの（セパレート型）それぞれをシャーレ中に

納め、シリカゲル（500g）を底面に敷き詰めであるデシケーター（外寸 300×300×300mm）内に 22.5-23.0℃で保存した。この保存庫内から逐次シャーレを取り出し、ボルトとナットを 10ml 量の PBS 中で攪拌してから、その 0.1ml をブリリアントグリーン（BGM）寒天培地と CHROM Agar Salmonella 培地に接種し、24 時間培養後に生残菌数を測定した。さらに、10ml の PBS 振り出し液のうち 5ml を 45ml の BPW 培地に接種し、24 時間増菌培養後に定性試験を行った。

C.研究結果

（1）保存試験における菌数変化

一晩培養後のサルモネラ菌数を表 1 に示す。No.54 の TSB 懸濁菌液で、 1.1×10^8 cfu/ml、

卵黄懸濁菌液で 5.3×10^8 cfu/ml、一方、No.280 の TSB 懸濁菌液で、 1.6×10^9 cfu/ml、卵黄懸濁菌液で 6.0×10^8 cfu/ml であった。菌数測定には BGM 寒天培地と CHROM Agar Salmonella 培地の 2 種類の分離平板を用いたが、結果に差はみられなかった。

次に、保存後のサルモネラ菌数の変化を表 2 ~5 に示す。CHROM Agar と BGM の 2 種類の培地を用いて比較したところ、BGM 培地の方が平板上に発育するコロニー数が多かったため、本培地の方が検出に優れていると判断し、表 6 に成績をまとめた。

菌株 No.54 は、TSB 懸濁菌液を接種した場合は、卵黄懸濁菌液を接種した場合よりも菌数が減少しにくい傾向がみられ、保存 337 日後でも増菌培養法で菌が検出された。TSB 懸濁菌液を接種した場合にはセパレート型とユニット型との間には顕著な差はみられなかったが、卵黄懸濁菌液を接種した場合には、セパレート型の方が急速に菌数が減少した。

菌株 No.280 は、TSB 懸濁菌液を接種した場合には保存 261 日目まで生存し、ユニット型とセパレート型で大きな差はみられなかった。他方、卵黄懸濁菌液を接種した場合には菌数の減少は顕著に早く、保存 8 日以降は 10 cfu/ml 未満となり、増菌培養後も菌は検出されなかった (<0.2 cfu/ml)。

(2) 保存庫内の温湿度変化

検体保存期間中の保存庫内の温・湿度変化を表 7 に、また、湿度の変化を図 2 にまとめた。デシケータ内の温度は $22.5 \sim 22.8^\circ\text{C}$ とほぼ一定であったが、湿度は保存 1 週間で急激に下がり、TSB 懸濁菌液を接種した検体では、5 日目に 1% まで低下し、卵黄懸濁菌液を接種した検体で

は 12 日目に 11% まで低下した。

D. 考察

本実験では、BGM 寒天培地と CHROM Agar Salmonella 培地の 2 種類の分離平板を併用して、生残菌数の測定を行った。サルモネラ菌株を TSB および卵黄液中で一晩培養後に菌数測定した場合には、平板の違いによる差はみられなかったが、保存検体については、BGM 寒天培地の平板上に発育したコロニー数は CHROM Agar Salmonella 培地よりも概して高く、CHROM Agar Salmonella 培地は損傷を受けた菌の分離には適さないことが示唆された。このことから、例えば実際の作業現場において、洗浄不十分のために菌の残存が推察された場合には、損傷菌に適した培地を用いた検査が必要であることが考えられた。

両菌株とも TSB 懸濁菌液を使用した方が卵黄懸濁菌液よりも菌の生残性が高く、懸濁液による違いがみられた。さらに、生残期間について、TSB 懸濁菌液を接種した場合にはユニット型とセパレート型の間には顕著な違いはみられなかったが、菌株 No.54 では卵黄懸濁菌液を接種した場合にはユニット状態の方がセパレート状態より生残性が高かった。これらのことから、卵黄懸濁菌液の場合には TSB 懸濁菌液よりも保存庫内の湿度に大きく影響されたことが考えられた。

デシケータ内の湿度は、検体保存直後に急激に下がり、菌株 No.280 はこの間に死滅したが、バイオフィーム産生性の高い菌株 No.54 は生き残り、より保湿度の高いユニット状態の方が長く生存したことが考えられた。卵黄懸濁菌液の場合には、保存後の検査の際に菌を接種した位置に白い粉状のものが目視され、綿棒で拭き取

ると、ボルトから容易に剥がれ落ちるような状態であった。他方、TSB 懸濁液の場合にはこのようなものは観察されず、菌はバイオフィルムを形成し、ボルト表面にしっかりと付着したことが考えられたが、これら保存条件下におけるバイオフィルム産生性については、更なる検討が必要である。

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

E. 結論

TSB 懸濁菌液の方が卵黄懸濁菌液よりもサルモネラの生残性が高く、卵黄懸濁液の場合には TSB 懸濁液よりも保存庫内の湿度に大きく影響されることが示唆された。菌株によっては、ボルトとナットのユニット状態の方が、セパレート状態よりも生残性が高いことが認められたが、この状態においてバイオフィルム産生性が高いか否かについては更なる検討が必要である。

また、保存検体については、BGM 培地の方が CHROM Agar Salmonella 培地よりも平板上に発育するコロニー数が概して多く、損傷菌を対象とした検査に適した培地の検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

表1 TSB懸濁液と卵黄懸濁液中のサルモネラ菌数

サルモネラ菌数(0.1ml塗抹)						
検体名	培地名	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	菌数(cfu/ml)	接種日
No.54-TSB	CROM	107, 105	11, 2	1, 1	1.1 × 10 ⁹	11月26日
	BGM	91, 130	10, 11	0, 0	1.1 × 10 ⁹	
No.280-TSB	CROM	145, 133	19, 21	2, 3	1.3 × 10 ⁹	
	BGM	164, 162	23, 20	0, 0	1.6 × 10 ⁹	
No.54-卵黄液	CROM	43, 52	3, 1	1, 0	4.8 × 10 ⁸	11月27日
	BGM	50, 55	6, 7	1, 1	5.3 × 10 ⁸	
No.280-卵黄液	CROM	39, 61	1, 7	0, 0	5.0 × 10 ⁸	
	BGM	71, 48	6, 9	0, 1	6.0 × 10 ⁸	

表2 10ml振り出し液中のサルモネラ菌数(TSB懸濁液一菌株No.54)

存在日数	検査月日	54S											54U												
		TSB (CROM)					TSB (BGM)						TSB (CROM)					TSB (BGM)							
		10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	増菌	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	増菌	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	増菌	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	増菌
1	11/27 av.	NT	120	14	3	0		NT	∞	38	4	1		NT	44	3	1	0		NT	70	11	3	0	
8	12/4-①	(11)	0	0	0			(47)	15	1	0			(17)	3	0	0			(71)	27	5	0		
	12/4-②	(34)	2	0	0			(76)	13	0	0			(4)	0	0	0			(27)	10	0	0		
14	12/10-①	20	4					59	7					18	1					40	3				
	12/10-②	16	3					50	5					13	0					26	2				
21	12/17-①	1	0					81	7					8	0					61	9				
	12/17-②	2	0					114	18					3	0					88	9				
28	12/25-①	3	0					192	10					2	0					53	8				
	12/25-②	1	1					138	19					4	0					82	9				
42	1/7-①	1						11						2						33					
	1/7-②	1						20						0						14					
58	1/21-①	1						9						2						3					
	1/21-②	1						5						0						11					
70	2/4-①	0						5						2						4					
	2/4-②	0						9						0						22					
84	2/18-①	1						2						0						3					
	2/18-②	1						2						1						4					
105	3/10-①	0						1						1						4					
	3/10-②	1						2						0						1					
133	4/7-①	0						0						0						2					
	4/7-②	0						1						0						3					
156	4/30-①	1						1						0						1					
	4/30-②	0						1						1						3					
178	5/22-①	1						1						1						8					
	5/22-②	0						1						1						4					
210	6/23-①	0						3						0						7					
	6/23-②	5						23						1						3					
281	8/13-①	0						-	0					0						+	0				
	8/13-②	0						+	0					0						+	1				
337	10/28-①	0						+	0					0						+	0				
	10/28-②	0						-	0					0						-	0				

