

改良した黄色ブドウ球菌用シート培地の評価

○寺村^{てらむら} 哉^{はじめ}、岩崎^{いわさき} 美穂子^{みほこ}、曾田^{そた} 浩二朗^{こうじろう}、木村^{きむら} 龍三^{りゅうざう}、牛山^{うしやま} 正志^{まさし}
(JNC 株式会社 横浜研究所)

〔目的〕

食品の衛生管理や品質管理において、手軽に黄色ブドウ球菌の存在を確認できるシート状培地として「サニ太くん黄色ブドウ球菌用」が開発された。しかし、「サニ太くん黄色ブドウ球菌用」では 24 時間培養後コロニーの発色が必ずしも明瞭とは言えず、場合によっては 6 時間の追加培養が必要であった。今回、追加培養の必要が無く、24 時間で明瞭に黄色ブドウ球菌の存在を確認できるように全面的に改良し、サニ太くん SA (黄色ブドウ球菌用) として開発を行った。今回、改良後のサニ太くん SA (SkSA) について、純培養菌株および人工的に黄色ブドウ球菌で汚染させた食品検体を用いた評価を行ったので報告する。

〔方法〕

標準菌株を用いた評価は、*S. aureus* 47 株、*S. aureus* 以外の *Staphylococcus* 属菌 22 株、それ以外のグラム陽性菌 11 株、グラム陰性菌 38 株、酵母 3 株、計 121 株を供試した。細菌はトリプトソイ寒天培地 (日水製薬) にて 35°C、24 時間培養し、酵母はサブローデキストロース寒天(Difco)にて 25°C、72 時間培養後、滅菌 Butterfield's phosphate buffer (BPB) ヘマクファーランド#1 (3×10^8 cfu/mL) 相当になるように懸濁し、供試菌液とした。各供試菌液は BPB で 10 倍段階希釈し、菌希釈液の 1mL を SkSA および簡易培地 A へ、0.1mL を Baird-Parker 寒天培地 (BP; シスメックスピオメリユー) および卵黄加マンニット食塩寒天培地 (MSEY; 日水製薬) に接種し、コンラージ棒により塗抹した。SkSA と簡易培地 A は 35°C、24 時間培養後、BP および MSEY は 35°C、48 時間培養後、各培地上での発育および集落性状の観察を行った。

黄色ブドウ球菌で汚染させた食品検体を用いた評価は、横浜市内で購入した市販食品 100 検体に、それぞれ 10^2 cfu/g - 10^4 cfu/g になるように 3 種の *S. aureus* (NBRC 14462, NBRC 15035, NBRC 100910) をランダムに接種し、3 日間冷蔵保管したものを検体として用いた。各検体に 9 倍量の滅菌 BPB を加え、90 秒間ストマッキング処理を行い試料原液とした。試料原液は滅菌 BPB で 10 倍段階希釈を繰り返し、各希釈液を調製した。各希釈液の 1mL を SkSA および簡易培地 A へ、0.1mL を BP および MSEY に接種し、コンラージ棒により塗抹した。SkSA と簡易培地 A は 35°C、24 時間培養後、BP および MSEY は 35°C、48 時間培養後、発育菌数を計測し、発育した陽性集落は PS-ラテックスにより *S. aureus* である確認を行った。各方法において得られた菌数をそれぞれ対数に変換し、SkSA の菌数の対数値を y 軸に、対照とする培地での菌数の対数値を x 軸にそれぞれプロット後、相関係数を算出し、また一元配置分散分析(ANOVA)により有意差の有無を確認した。

〔結果および考察〕

標準菌株を用いた評価では、SkSA では 24 時間培養で供試した全ての *S. aureus* が明瞭な水色 - 青色を形成し、*S. aureus* 以外の供試菌株の発育を認めなかった。本結果は ISO16140 (2003) “Protocol for the validation of alternative methods” に記載されている、包含性 30 株、排他性 20 株の要求を満たすものであった。

市販食品検体を用いた評価では、SkSA、簡易培地 A および BP で全ての検体から *S. aureus* が検出できたが、MSEY では 2 検体から *S. aureus* の検出が出来なかった。また、SkSA と簡易培地 A、BP、MSEY 間の相関係数(r)は、それぞれ 0.996、0.971、0.989 と高く、SkSA と各培地間での直線回帰式はいずれも傾きが 1 に近く、切片が 0 に近いことを認めた。また、ANOVA による SkSA と各培地間で有意差は認めなかった。

以上の結果より、SkSA 法は 24 時間培養で、従来法と高い相関を有する方法であり、結果が明瞭な水色 - 青色集落として簡単に検出できるという点から、食品製造現場などの自主衛生検査において有用な手段の一つであると考えられた。