鶏ミンチ肉のサルモネラ検出法—増菌・分離培地の比較

岡本一成^{*1,†}・浅本和徳^{*1}・今井一人^{*1}

寺本忠司^{*1}・村瀬 稔^{*2}・仲西寿男^{*3}

(^{*1}(株)ファルコライフサイエンス, ^{*2}神戸市環境保健研究所, ^{*3}日本食品危害研究所)

(受付 平成 14 年 2 月 8 日)

(受理 平成 14 年 10 月 24 日)

Comparison of Enrichment and Selective Media for Detecting *Salmonella* from Minced Chicken Meat

Issei OKAMOTO^{*1,†}, Kazunori ASAMOTO^{*1}, Kazuto IMAI^{*1}, Tadashi TERAMOTO^{*1},
Minoru MURASE^{*2} and Hisao NAKANISHI^{*3}

(^{*1}Falco Life Science, 63-2 Higashi-takeyamachi, Kawabata-higashi-iru, Higashi-takeyamachi-dori,
Sakyo-ku, Kyoto 606-8393; [†]Corresponding author)

(^{*2}Kobe Institute of Health, 4-6 Minatojima-nakamachi, Chuo-ku, Kobe 650-0046)

(^{*3}Japan Institute of Food Safety, 63-2 Higashi-takeyamachi, Kawabata-higashi-iru,
Higashi-takeyamachi-dori, Sakyo-ku, Kyoto 606-8393)

The optimal combination of culture media for the detection of *Salmonella* was investigated by testing 56 samples of minced chicken meat from the market using 2 pre-enrichment media (BPW and EEM), 2 enrichment media (RV and SBG) and 5 isolation media (BGA, DHL, MLCB, XLD and XLT4).

1. *Salmonella* was detected in 46 (82.1%) of 56 minced chicken meat samples.
2. The detection rate of *Salmonella* did not differ when 2-5 isolation media were used, therefore it could be increased by the use of 2 isolation media.
3. The combination of BPW-RV-MLCB・XLD yielded the highest detection rate of *Salmonella* from minced chicken meat.

Key words: *Salmonella*, Minced chicken meat, Enrichment broth, Selective medium

緒 言

近年, わが国のみならず世界的にサルモネラによる食中毒事例が急増している. 特に卵を含む食品を原因とする *S. Enteritidis* による事例の増加が著しい. わが国では, これらの食中毒事例における推定原因食品などからのサルモネラ検査, 食肉およびその加工品, 乳および乳製品, 卵およびその加工品などからのサルモネラ検査においても食品衛生検査指針に示された方法で行われている^{1,3)}. しかし, わが国も含めて欧米における食品のサルモネラ検査において, 各種の前増菌, 増菌および分離培

地の組合せと異なる培養温度によって行われているが, サルモネラの検査法における最適な培地の組合せはいまだに確立されていない.

サルモネラが少数存在する食品, サルモネラ以外に多数の細菌が存在する食品および加熱, 冷凍あるいは乾燥などによってサルモネラが損傷を受けた食品では, サルモネラを蘇生するために前増菌培養を必須としている⁴⁾. したがって, これらの食品からのサルモネラ検出には前増菌, 増菌および分離培養に使用するそれぞれの培地の組合せが重要な要因となる. また, 検査経費の節減に重点を置いた増菌および分離培地の選択も重要であり, それらの組合せがサルモネラの検出率に大きな影響を及ぼす可能性がある.

今回, 市販鶏ミンチ肉からのサルモネラ検出に 2 種類の前増菌培地, 2 種類の増菌培地および 5 種類の分離培地を用い, 増菌と分離培地の組合せによるサルモネラの

† 連絡先

^{*1} ☎606-8393 京都市左京区東竹屋町通川端入ル東竹屋町 63-2

^{*2} ☎650-0046 神戸市中央区港島中町 4-6

^{*3} ☎606-8393 京都市左京区東竹屋町通川端入ル東竹屋町 63-2

検出率を比較した。

材料および方法

市販鶏ミンチ肉 56 例からのサルモネラ検査法を Fig. 1 に示す。市販鶏ミンチ肉 25 g を 2 種類の前増菌培地、緩衝ペプトン水 (BPW: Oxoid) および腸内細菌増菌マニトブイオン (EEM: 日水) 225 ml に加え、BPW は 35°C で 18 時間培養、EEM は 35°C で 18 時間培養した。BPW および EEM の培養液 1.5 ml をそれぞれセレナイトブリリアントグリーン (SBG: 日水) の 15 ml に、それぞれの 1.0 ml をラポポート・バシリアディスサルモネラ増菌ブイオン (RV: Merck)⁵⁾ の 10 ml に加え、SBG を 43°C の水槽で 18 時間培養、RV を 43°C の水槽で 24 時

Fig. 1. Procedure for the detection of *Salmonella* from minced chicken meat

*1 Buffered Peptone Water

*2 *Enterobacteriaceae* Enrichment Mannitol

*3 Selenite Brilliant Green

*4 *Salmonella* Enrichment Broth acc. to Rappaport and Vassiliadis

*5 Brilliant Green Agar with sulphadiazine

*6 Deoxycholate Hydrogen Sulfide Lactose Agar

*7 Mannitol Lysine Crystal Violet Brilliant Green Agar

*8 Xylose Lysine Deoxycholate Agar

*9 XLT4 Agar

間培養を行った。これらの増菌培養液の 1 白金耳を 5 種類の分離培地、すなわち、スルファダイアジン加ブリリアントグリーン寒天 (BGA: BBL), DHL 寒天 (栄研器材), MLCB 寒天 (日水), XLD 寒天 (BBL) および XLT4 寒天 (Merck)²⁾ の各平板培地に塗抹し、35°C で 20~24 時間培養後、サルモネラを疑われる 2~5 個の集落を釣菌して TSI 寒天 (栄研器材) および LIM 培地 (栄研器材) に接種し、35°C で 24 時間培養後、サルモネラの確認を行った。分離されたサルモネラ菌株の O 群血清型別はサルモネラ O 群抗血清 (デンカ生研) を用いてスライド凝集反応を行った。

結 果

市販鶏ミンチ肉 56 例からのサルモネラ検出に 2 種類の前増菌培地、2 種類の増菌培地および 5 種類の分離培地の組合せによるサルモネラ陽性を示した鶏ミンチ肉は 46 例 (82.1%) であった。

鶏ミンチ肉 56 例に 2 種類の前増菌培地、2 種類の増菌培地および 1 種類の分離培地を用いた場合、それぞれの培地による組合せ別のサルモネラ検出率の順位を Table 1 に示す。1 種類の分離培地を用いた場合のサルモネラ陽性数は 41 例 (73.2%) であった。最もサルモネラ検出率の高い前増菌、増菌と分離培地の組合せは BPW-RV-MLCB の 73.2% (41 例) であり、次いで、BPW-SBG-MLCB の 71.4% (40 例)、BPW-SBG-XLD および BPW-RV-XLD の 62.5% (35 例) の順で、検出率の高い 6 位までの前増菌培地はいずれも BPW であった。

鶏ミンチ肉からのサルモネラ検出において 2 種類の分離培地を用いた場合のサルモネラ検出率の順位を Table 2 に示す。2 種類の分離培地を用いた場合のサルモネラ陽性数は 44 例 (78.6%) であった。最もサルモネラ検出率の高い前増菌、増菌培地と分離培地の組合せは BPW-RV-MLCB・XLD の 78.6% (44 例) であり、次いで、BPW-SBG-MLCB・XLD および BPW-RV-DHL・MLCB の 75.0% (42 例)、BPW-SBG-DHL・MLCB、

Table 1. Detection of *Salmonella* from 56 minced chicken meat samples using different combinations of pre-enrichment, enrichment and 1 kind of selective medium

Rank	Pre-enrichment medium	Enrichment medium	Selective medium	Detection of percent (No. of positive)
1	BPW	RV	MLCB	73.2 (41)
2	BPW	SBG	MLCB	71.4 (40)
3	BPW	SBG	XLD	62.5 (35)
3	BPW	RV	XLD	62.5 (35)
5	BPW	SBG	DHL	58.9 (33)
6	BPW	SBG	BGA	57.1 (32)
7	EEM	RV	MLCB	55.4 (31)
7	EEM	SBG	XLD	55.4 (31)
9	EEM	SBG	BGA	53.6 (30)
10	BPW	RV	DHL	50.0 (28)
10	BPW	RV	BGA	50.0 (28)
10	EEM	SBG	MLCB	50.0 (28)
10	EEM	RV	XLD	50.0 (28)

Table 2. Detection of *Salmonella* from 56 minced chicken meat samples using different combinations of pre-enrichment, enrichment and 2 kinds of selective medium

Rank	Pre-enrichment medium	Enrichment medium	Selective medium	Detection of percent (No. of positive)
1	BPW	RV	MLCB XLD	78.6 (44)
2	BPW	SBG	MLCB XLD	75.0 (42)
2	BPW	RV	DHL MLCB	75.0 (42)
4	BPW	SBG	DHL MLCB	73.2 (41)
4	BPW	RV	MLCB XLT4	73.2 (41)
4	BPW	RV	BGA MLCB	73.2 (41)
7	BPW	SBG	MLCB XLT4	71.4 (40)
7	BPW	SBG	BGA MLCB	71.4 (40)
9	BPW	RV	XLD XLT4	69.6 (39)
10	BPW	SBG	DHL XLD	67.9 (38)
10	BPW	RV	BGA XLD	67.9 (38)
10	BPW	RV	DHL XLD	67.9 (38)

Table 3. Detection of *Salmonella* from 56 minced chicken meat samples using different combinations of pre-enrichment, enrichment and 3 kinds of selective medium

Rank	Pre-enrichment medium	Enrichment medium	Selective medium	Detection of percent (No. of positive)
1	BPW	RV	MLCB XLD XLT4	78.6 (44)
1	BPW	RV	DHL MLCB XLD	78.6 (44)
3	BPW	RV	BGA MLCB XLD	76.8 (43)
4	BPW	SBG	MLCB XLD XLT4	75.0 (42)
4	BPW	SBG	BGA MLCB XLD	75.0 (42)
4	BPW	SBG	DHL MLCB XLD	75.0 (42)
4	BPW	RV	DHL MLCB XLD	75.0 (42)
4	BPW	RV	BGA DHL MLCB	75.0 (42)
9	BPW	SBG	DHL MLCB XLT4	73.2 (41)
9	BPW	SBG	BGA DHL MLCB	73.2 (41)
9	BPW	RV	BGA MLCB XLT4	73.2 (41)

Table 4. Detection of *Salmonella* from 56 minced chicken meat samples using different combinations of pre-enrichment, enrichment and 4 kinds of selective medium

Rank	Pre-enrichment medium	Enrichment medium	Selective medium	Detection of percent (No. of positive)
1	BPW	RV	BGA MLCB XLD XLT4	78.6 (44)
1	BPW	RV	DHL MLCB XLD XLT4	78.6 (44)
1	BPW	RV	BGA DHL MLCB XLD	78.6 (44)
4	BPW	SBG	BGA MLCB XLD XLT4	75.0 (42)
4	BPW	SBG	DHL MLCB XLD XLT4	75.0 (42)
4	BPW	SBG	BGA DHL MLCB XLD	75.0 (42)
4	BPW	RV	BGA DHL MLCB XLT4	75.0 (42)
8	BPW	SBG	BGA DHL MLCB XLT4	73.2 (41)
8	BPW	SBG	BGA DHL XLD XLT4	73.2 (41)
10	BPW	RV	BGA DHL XLD XLT4	71.4 (40)

BPW-RV-MLCB・XLT4 および BPW-RV-BGA・MLCB の 73.2% (41 例) であった。サルモネラ検出率の 1~10 位のうち前増菌培地はすべて BPW であり、増菌培地に RV を用いた場合の方が SBG よりサルモネラ検出率はやや高かった。

3 種類の分離培地を用いた場合のサルモネラ検出率の順位を Table 3 に示す。3 種類の分離培地を用いた場合のサルモネラ陽性数は 44 例 (78.6%) であった。最もサルモネラ検出率の高い前増菌、増菌培地と分離培地の組合せは BPW-RV-MLCB・XLD・XLT4 および BPW-RV-DHL・MLCB・XLD の 78.6% (44 例) であり、次い

で、BPW-RV-BGA・MLCB・XLD の 76.8% (43 例)、BPW-SBG-MLCB・XLD・XLT4、BPW-SBG-BGA・MLCB・XLD、BPW-SBG-DHL・MLCB・XLD、BPW-RV-DHL・MLCB・XLD および BPW-RV-BGA・DHL・MLCB の 75.0% (42 例) であった。

4 種類の分離培地を用いた場合のサルモネラ検出率の順位を Table 4 に示す。4 種類の分離培地を用いた場合のサルモネラ陽性数は 44 例 (78.6%) であった。最もサルモネラの検出率の高い前増菌、増菌培地と分離培地の組合せは BPW-RV-BGA・MLCB・XLD・XLT4、BPW-RV-DHL・MLCB・XLD・XLT4 および BPW-RV-BGA・

Table 5. Detection of *Salmonella* from 56 minced chicken meat samples using different combinations of pre-enrichment, enrichment and 5 kinds of selective medium

Rank	Pre-enrichment medium	Enrichment medium	Selective medium	Detection of percent (No. of positive)
1	BPW	RV	BGA DHL MLCB XLD XLT4	78.6 (44)
2	BPW	SBG	BGA DHL MLCB XLD XLT4	75.0 (42)
3	EEM	SBG	BGA DHL MLCB XLD XLT4	60.7 (34)
4	EEM	RV	BGA DHL MLCB XLD XLT4	57.1 (32)

Table 6. O serogroups of *Salmonella* isolated from minced chicken meat

O serogroup	No. of minced chicken meat
O7	40
O8	2
O9	2
O4	1
O7 and O8	1

DHL・MLCB・XLD の 78.6% (44 例) であり、次いで、BPW-SBG-BGA・MLCB・XLD・XLT 4, BPW-SBG-DHL・MLCB・XLD・XLT 4, BPW-SBG-BGA・DHL・MLCB・XLD および BPW-RV-BGA・DHL・MLCB・XLT 4 の 75.0% (42 例) であった。

5 種類の分離培地を用いた場合のサルモネラ検出率の順位を Table 5 に示す。5 種類の分離培地を用いた場合のサルモネラ陽性数は 44 例 (78.6%) であった。最もサルモネラ検出率の高い前増菌、増菌培地と分離培地の組合せは BPW-RV の 78.6% (44 例) であり、次いで、BPW-SBG の 75.0% (42 例)、EEM-SBG の 60.7% (34 例)、EEM-RV の 57.1% (32 例) であった。なお、BPW-RV でサルモネラの検出されない 2 例は他の組合せ BPW-SBG および EEM-RV・SBG で検出された。

これらの結果から、サルモネラの検出率は分離培地に MLCB と XLD を用いた場合は、5 種類の分離培地を用いた場合と同等であった。

鶏ミンチ肉 46 例から分離されたサルモネラ菌株の O 群血清型を Table 6 に示す。1 検体から 1 種類の O 群が検出された検体は 45 例、2 種類の O 群が検出された検体はわずか 1 例であった。最も多いのは O7 群の 40 例、以下、O8 群および O9 群の 2 例、O4 群の 1 例で、O7 群が著しく多かった。また、同時に 2 種類の O 群が検出された 1 例では、O7 および O8 群であった。分離培地の種類と血清型の間に特異性は認められなかった。

考 察

わが国のサルモネラ検査法で前増菌培養を必要とする食品は、サルモネラ汚染菌数の少ない食品やサルモネラの細胞壁に損傷を受けた加熱、冷凍、乾燥食品などであり、これらの食品からのサルモネラ検出には、前増菌培養に EEM, BPW や乳糖ブイオン、増菌培養に SBG, RV, セレナイトブイオン、セレナイトシスチン培地やハーナのテトラチオン酸塩培地、分離培地に BGA,

DHL 寒天, MLCB 寒天, XLD 寒天などが使用されている^{1, 3)}。サルモネラの検出率を高くするために最適な増菌培地および分離培地の組合せが重要であること、そして 1 種類の分離培地を用いるより 2 種類以上の分離培地を用いることによって当然検出率は高くなることが予想された。今回、1～5 種類の分離培地を用いたサルモネラの検出率を比較したところ、市販鶏ミンチ肉 56 例に 1 種類および 2～5 種類の分離培地を用いたサルモネラの検出率はそれぞれ 73.2% (41 例) および 78.6% (44 例) であった。また、2～5 種類の分離培地を用いてもサルモネラの検出率は全く同じであることが明らかになった。したがって、サルモネラ検出には 2 種類の分離培地 MLCB および XLD を用いることにより、良好な結果が得られることが明らかになった。

鶏ミンチ肉からのサルモネラ検出に 1～5 種類の分離培地を使用した場合、サルモネラの検出率が高かった上位 3 の前増菌培地はほとんど BPW であった。EEM のもつグラム陽性菌の抑制よりも、BPW のもつ損傷サルモネラの増殖支持能が上回った結果と思われる。

要 約

市販鶏ミンチ肉 56 例からのサルモネラ検出に 2 種類の前増菌培地 BPW および EEM, 2 種類の増菌培地 RV および SBG および 5 種類の分離培地 BGA, DHL 寒天, MLCB 寒天, XLD 寒天および XLT 4 寒天を用い、サルモネラ検出における最適な培地の組合せを調べた。

- 市販鶏ミンチ肉 56 例からのサルモネラ陽性数は 46 例 (82.1%) であった。
- 2 種類の分離培地の使用と 3 種類以上の分離培地の使用ではサルモネラ検出率に差を認められなかった。2 種類の分離培地を使用することにより、サルモネラの検出率を十分に高めることができた。
- 2 種類の分離培地を選択する場合には、BPW-RV-MLCB・XLD の組合せが良好であった。

文 献

- 小沼博隆, 熊谷 進, 仲西寿男: 4 サルモネラ. 食品衛生検査指針 追補 II, p. 7-18, 日本食品衛生協会, 東京 (1996).
- Miller, R.G. and Take, C.R.: A highly selective plating medium for the isolation of *Salmonella*. The

- Maryland Poultryman, April 2-7 (1990).
- 3) 仲西寿男: 4 サルモネラ. 食品衛生検査指針 微生物編, p. 118-126, 日本食品衛生協会, 東京 (1990).
 - 4) Pietzsch, O., Kretschmer, F. J. and Bulling, E.: Comparative studies of salmonella enrichment. Zbl. Bakt. Abt. I. Orig., **50**, 232-246 (1975).
 - 5) Vassiliadis, P., Kalapothaki, V., Trichopoulos, D., Mavrommatti, O. and Serie, C.: Improved isolation of *Salmonella* from naturally contaminated meat products by using Rappaport-Vassiliadis enrichment. Appl. Environ. Microbiol., **42**, 615-618 (1981).