E. coli 検出用 SMEC 培地の乾燥化

(昭和 44 年 11 月 12 日受理)

渡辺 昭 宣*

沖浦加智子*

檜 山 充*

Dehydration of SMEC Medium and its Application for the Detection of *Escherichia coli* from Foods

Akinobu WATANABE, Kachiko OKIURA
and Mitsuru HIYAMA

(Saitama Institute of Public Health: 1-124, Kishiki-cho,
Omiya, Saitama)

In an attempt to explore better selective medium for *E. coli* from contaminated foods, dehydration of SMEC medium has been studied.

Procedure for preparation of studied SMEC dehydrated culture medium was as follows;

Composition of the medium in 1 L was, heart infusion, 4 g; casamino acid, 15 g; L-tryptophan, 0.05 g; lactose, 5 g; K_2HPO_4 , 4 g; KH_2PO_4 , 5 g; sodium lauryl sulfate, 0.25 g; bile salt, 0.5 g and 0.2% BCP, 16 ml.

Final pH of the medium was 6.2.

Rehydration is made by suspending 33.8 g of the above mentioned dehydrated medium in 1000 ml of distilled water and boiling until the medium dissolves completely.

Then, 10 mg of streptomycin was added after cooling down of the solution to 4-5°C.

After being dispensed into fermentation tubes, tubes were subjected to sterilization at 100°C for 60 minutes.

Through application of SMEC dehydrated culture medium to detection of *E. coli* from various raw meats, following results have been obtained.

1. SMEC dehydrated medium showed the best agreement with MPN of presumptive test and MPN completed test against *E. coli*.

2. In the SMEC (at 44.5°C) confirmation test against isolated strain from raw meat, positive rate of *E. coli* group (including type I, II and III) was 88.6% while that of coliform groups was 7.8%.

Above findings were almost identical with the results observed when the original compounded SMEC medium was employed.

(Received November 12, 1969)

緒 言

著者らは、さきに報告^{1)~3)}した SMEC 培地の基礎試験および応用試験の結果から、食品中に含まれる fecal type の *E. coli* を選択的に増殖させる能力が, Hajna and Perry⁴⁾⁵⁾ の EC 培地より、はるかに優れていることを論じてきたが、最近の培地のすう勢として、いかにすぐれた培地でも自家調剤する使用法では、その利用度が激減してしまう傾向がみられる。また、組材中に外国品が含まれると高価になり、価格の点からも安易に多量の培地を使用することができなくなる。

* 埼玉県衛生研究所：埼玉県大宮市吉敷町 1-124

そこで、SMC 培地についても、乾燥培地を作製すると同時に、国産試薬を用いて原法と匹敵するものを試作して *E. coli* の検出率を比較した。さらに、その乾燥培地を、食肉の衛生検査に応用し、*E. coli* の検出率が原法培地の検出率と大差ない結果を得ることができたので報告する。

実験材料および実験方法

1) 供試菌株

実験に供した大腸菌群は、日常業務における食品検査の際、BGLB 培地、デソキシコレート寒天培地、EC 培地および SMEC 培地で陽性を示したものより EMB 培

地で分離し, IMViC 反応, IPA 反応, チトクローム・オキシダーゼ試験, ゼラチン液化能, H₂S 産生能および 44° 発育の性状をしらべ, 応用細菌学会大腸菌群小委員会 (1956) の分類により型別した菌株を使用した。

2) 培養方法

SMEC 培地を使用した場合の装置は, サーモユニット C-550 型水槽 (大洋化学製) を使用し, 44.5±0.1° の培養温度で 20±2 時間培養した。

BGLB 培地を使用した場合は 37° のふ卵器で 48 時間培養した。

3) 試料調製法

市販食肉からの試料調製法は, 冷凍輸入肉, 豚肉および食鳥肉を, それぞれ 200 g 以上滅菌広口びんに採取し, その 10 g を無菌的に滅菌ホモジナイザーカップに秤量し, 滅菌リン酸緩衝液 90 ml を加え, ホモジナイズして試料原液とした。

検査項目は, 試料原液から 10⁻¹~10⁻⁵ まで希釈し, 一般細菌数と BGLB 培地による coliform MPN, SMEC 培地による *E. coli* MPN を実施した。

菌型分類法は, 1) に示した方法により型別し, 完全試験後の MPN 値を算出した。

実験成績

A) 基礎試験

1) SMEC 培地におけるペプトンの種類と選択能の関係

原法 SMEC 培地のなかの Bacto-tryptose を国産メーカーのペプトンに置換え *E. coli* の選択性を比較し

た。使用したペプトンおよび試薬の種類は, 栄研提供試薬として, カゼインペプトン, トリプトン, ハートインフュージョン, カザミノ酸および酵母エキスを使用し, 極東提供試薬として, ネオペプトン, ミルクカゼインペプトンおよび極東ペプトンを使用し, 日本提供試薬としてペプトン「ニッサン」を使用した。

Table 1 は, これら試薬を用いて coliform と *E. coli* の選択作用を比較したものであるが, 各メーカーのペプトンを Bacto-tryptose に置換え pH を 6.2 に調整した場合には, *E. coli* の発育率には変化はみられないが, coliform の発育率が 60~70% に上昇し, coliform の抑制作用が著しく低下した。

また, Bacto-tryptose の代わりに, ハートインフュージョン 4 g, カザミノ酸 15 g および L-トリプトファン 0.05 g を用い, pH を 6.2 に調整すると, *E. coli* の発育率と coliform の抑制率において原法培地とほとんど一致した成績を示した。

また, pH との関係をみると, 国産ペプトンおよびハートインフュージョンを使用し, pH を 6.5 または 6.8 に調整すると, *E. coli* の発育率には変化を示さないが, coliform の抑制率が著しく上昇する。これは, ストレプトマイシンがアルカリ側で有効に作用するためと考えられるが, 反面, *E. coli* にとっても抑制作用が働くことがみられる。

2) SMEC 培地の pH と接種菌量との関係

SMEC 培地の選択作用が pH に関係することがみられたので, 国産 SMEC 培地について pH と接種菌量の

Table 1. Comparison of Use of Various Kinds of Peptone in SMEC Medium

Strain of EC test positive	Kinds and amount of peptone employed	Origin	Kinds of replaced peptone				
			Bacto- tryptose 20 g pH 6.2	Tryptone 20 g pH 6.2	Casein peptone or Neopeptone or Milk casein peptone 20 g pH 6.2	Heart infusion 4 g Casamino acid 15 g L-tryptophan 0.05 g pH 6.2	Heart infusion 4 g Casamino acid 15 g L-tryptophan 0.05 g pH 6.5
<i>K. aerogenes</i> I		5/10*	8/10	9/10	5/10	0/10	0/10
<i>K. aerogenes</i> II		1/2	1/2	1/2	1/2	0/2	0/2
<i>C. freundii</i> I		1/4	1/4	1/4	0/4	1/4	0/4
<i>C. freundii</i> II		1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	0/1
Irregular		1/3	1/3	2/3	1/3	1/3	1/3
Positive rate of coliform group		9/20 (45.0%)	12/20 (60.0%)	14/20 (70.0%)	8/20 (40.0%)	2/20 (10.0%)	1/20 (5.0%)
<i>E. coli</i> I		4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
<i>E. coli</i> II		2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
Positive rate of <i>E. coli</i> group		6/6 (100.0%)	6/6 (100.0%)	6/6 (100.0%)	6/6 (100.0%)	6/6 (100.0%)	6/6 (100.0%)

Note: Denominator represents the number of inoculated strain

Numerator represents the number of positive strain

関係を調べた。

結果は Table 2 に示すごとく、原法 SMEC 培地は、*E. coli* I・II 型とも接種菌量が 10/ml 前後でもよく発育し、反対に *K. aerogenes* I および *C. freundii* I では菌量 $10^7 \sim 10^9$ /ml まで発育を抑制することが示された。ハートインフュージョンおよびカザミノ酸を用いた SMEC 培地で pH を 6.2 に調整したものでは、*E. coli*

I・II 型では SM 含量 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ では、原法と同じく *E. coli* を発育させることができたが、*K. aerogenes* および *C. freundii* では、原法よりやや強い抑制作用を示し 10^8 /ml 菌量でも発育を阻止した。

しかるに、同じ組成の SMEC 培地を pH 6.5 および 6.8 に調整したものでは、*K. aerogenes* および *C. freundii* に対する抑制作用は pH 6.2 のものとほとんど

Table 2. Comparison of Various Peptones under Different Quantities of Bacterial Inoculation in Different pH of SMEC Media

Inoculated quantity		SM $\mu\text{g}/\text{ml}$	<i>E. coli</i> I					<i>E. coli</i> II					<i>K. aerogenes</i> I					<i>C. freundii</i> I				
Component			15	10	8	5	2	15	10	8	5	2	15	10	8	5	2	15	10	8	5	2
Bacto-tryptose 20 g pH 6.2 (original)		10^8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
		10^7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
		10^6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
		10^5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
		10^4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heart infusion 4 g Casamino acid 15 g L-tryptophan 0.05 g pH 6.2		10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
		10^7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
		10^6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
		10^5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
		10^4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
		10^3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heart infusion 4 g Casamino acid 15 g L-tryptophan 0.05 g pH 6.5		10^2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
		10^7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
		10^6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^5	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^4	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heart infusion 4 g Casamino acid 15 g L-tryptophan 0.05 g pH 6.8		10^3	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^2	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
		10^7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
		10^6	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^5	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Note: ⊕: Acid and gas production. +: Acid production. -: Negative

Table 3. Comparison of Dehydrated SMEC Medium and Compounded One

Strain of EC test positive	pH 6.2		pH 6.2	
	Compounded	Dehydrated	Compounded	Dehydrated
<i>K. aerogenes</i> I	40/114	81/211	78/215	90/211
<i>K. aerogenes</i> II	0/5	2/3	0/3	2/3
<i>C. freundii</i> I	2/12	2/15	4/15	2/15
<i>C. freundii</i> II	0/3	0/4	1/4	0/4
Irregular	10/23	5/19	4/19	5/19
Positive rate of coliform group	52/157 (33.1)	90/252 (35.7)	87/256 (34.0)	99/252 (39.3)
<i>E. coli</i> I	126/126	198/199	83/83	199/199
<i>E. coli</i> II	64/66	69/69	59/60	68/69
Positive rate of <i>E. coli</i> group	190/192 (99.0)	267/268 (99.6)	142/143 (99.4)	267/268 (99.6)

Note: Denominator represents the number of inoculated strain

Numerator represents the number of positive strains

ど変わらないが, *E. coli* に対する発育域が著しく変化した。すなわち, pH 6.5 では SM 10 µg/ml のところで *E. coli* の菌量が $10^2 \sim 10^3$ まで抑制し, また, pH 6.8 ではさらにその発育阻止が拡がり 10^6 /ml 菌量でも発育を阻止する結果となった。

したがって, SMEC 培地の pH を上げることは, coliform の発育抑制作用を増強すると同時に *E. coli* の発育まで阻止することから, SMEC 培地の本来の目的に反することとなり不適当と考えられる。以上のことから, 原法 SMEC 培地と匹敵する国産 SMEC 培地は, 栄養源としてハートインフュージョン, 4g; カザミノ酸, 15g; L-トリプトファン, 0.05g; 乳糖, 5g を用い, これに K_2HPO_4 , 4g; KH_2PO_4 , 5g; ラウリル硫酸ナトリウム, 0.25g; Bile salt, 0.5g; 0.2% BCP, 16ml; ストレプトマイシン, 10mg を加え精製水 1000 ml 中の組成とし pH 6.2 に調整したものが最適であると考えられる。

3) SMEC 培地の調製培地と乾燥培地の比較

SMEC 培地における原法培地と国産培地について調製培地と乾燥培地の大腸菌群に対する選択率を比較した。

結果は Table 3 に示すごとく, 原法培地では *E. coli* の発育率は調製99%, 乾燥99.6%で後者のほうが良い結果を示したが, coliform に対しては調製 33.1%, 乾燥

35.7%で後者のほうが抑制率が悪かった。

このことは, Table 4 からわかるように調製培地の SM 添加法が, 基礎培地を加熱溶解後, 冷却してから加えるため, SM の加熱回数は滅菌時の1回だけであるのに対し, 乾燥培地では, 培地の溶解時と滅菌時の2回に加熱が行なわれるためと推察される。

したがって, 乾燥培地の場合は, SM を別添し, 基礎培地を加熱溶解した後, 冷却し SM を加え分注滅菌した方が coliform の抑制率を高めることができる。

B) 応用試験

基礎試験において, 国産 SMEC 培地が原法とほぼ同率の選択性を有することが確認できたので, 市販食肉の衛生検査に応用した。

検査方法は, 前記実験方法の項に記した通りであるが, とくに, BGLB 培地による *E. coli* MPN 値と SMEC 培地による *E. coli* MPN 値について比較した。

1) BGLB および SMEC 培地における推定試験と同定試験の MPN 値の比較

市販豚肉, 食鳥肉および冷凍輸入肉について BGLB 培地と SMEC 培地における推定試験 MPN と同定試験 MPN の一致率を比較すると, 豚肉125件のうち, 両試験 MPN 値が一致したものは BGLB 法ではわずか1件であったが, SMEC 法では94件が一致した。また, 食鳥肉 99 件でも両試験で一致したものは BGLB 法で 11 件,

Table 4. Comparison of Different Procedure of Adding Streptomycin into the Dehydrated Medium

Strain of EC test positive	Component of medium	Compounded SMEC medium (control)	Dehydrated SMEC medium			
		Bacto-tryptose 20 g Lactose 5 g K ₂ HPO ₄ 2 g KH ₂ PO ₄ 6.3 g Sodium chloride 5 g S. lauryl-sulfate 0.25 g Bile salt 0.5 g 0.2% BCP 16 ml Distilled water 1000 ml pH 6.2	Bacto-tryptose 20 g Lactose 5 g K ₂ HPO ₄ 2 g KH ₂ PO ₄ 6.3 g Sodium chloride 5 g S. lauryl-sulfate 0.25 g Bile salt 0.5 g 0.2% BCP 16 ml Distilled water 1000 ml pH 6.2	Heart infusion 4 g Casamino acid 15 g L-tryptophan 0.05 g Lactose 5 g K ₂ HPO ₄ 4 g KH ₂ PO ₄ 5 g S. lauryl-sulfate 0.25 g Bile salt 0.5 g 0.2% BCP 16 ml Distilled water 1000 ml pH 6.2		
		Stm. 10 mg was added after cooling	Stm. 10 mg in dehydrated medium	Stm. 10 mg was added after cooling	Stm. 10 mg in dehydrated medium	Stm. 10 mg was added after cooling
<i>K. aerogenes</i> I		40/114	81/211	76/211	90/211	81/211
<i>K. aerogenes</i> II		0/5	2/3	1/3	2/3	1/3
<i>C. freundii</i> I		2/12	2/15	2/15	2/15	2/15
<i>C. freundii</i> II		0/3	0/4	0/4	0/4	0/4
Irregular		10/23	5/19	3/19	5/19	5/19
Positive rate of coliform group		52/157 (33.1)	90/252 (35.7)	82/252 (32.5)	99/252 (39.3)	87/252 (34.5)
<i>E. coli</i> I		126/126	198/199	198/199	199/199	199/199
<i>E. coli</i> II		64/66	69/69	69/69	68/69	68/68
Positive rate of <i>E. coli</i> group		190/192 (99.0)	267/268 (99.6)	267/268 (99.6)	267/268 (99.6)	267/268 (99.6)

Note: Denominator represents the number of inoculated strain
 Numerator represents the number of positive strain

SMEC 法で72件であった。輸入肉69件では BGLB 法9件に対し SMEC 法24件で、いずれの検体においても、SMEC 培地における両試験 MPN 値の一致率は高かった。これら各種検体を総合し、両試験 MPN 値の差を比較すると Table 5 に示すようになる。

すなわち、293件中、MPN 値の一致したものは BGLB 法で21件 (7.2%) であるのに対し、SMEC 法では190件 (64.8%) で、SMEC 培地による場合の方が推定試験と同定試験の MPN 値の一致率が高いことを示している。

また、BGLB 法では両試験の MPN 値の差が10:1のものが57件、100:1のものが98件と示すごとく、MPN 値の差が多くなるほど検体数が増加する傾向を示すが、SMEC 培地では、MPN 値の差が100:1までは認められたが、それ以上の誤差は認められなかった。

また、同定試験の結果、*E. coli* 陰性検体群について推定試験と同定試験の関係をみると、BGLB 法では、推定試験陽性でありながら同定試験で *E. coli* 陰性のものは45件あった。SMEC 法ではこのような例は全く認められなかった。

つぎに、推定試験および同定試験ともに陰性であったものは、BGLB 法で7件に対し、SMEC 法では61件あ

った。

これらのことから、BGLB 培地の推定試験では、*E. coli* 以外の大腸菌群による陽性が多いということで、反面、SMEC 培地では、推定試験の結果が、すなわち、同定試験結果になることを示すものである。

したがって、BGLB 法の場合、*E. coli* を型別同定するのに5~7日を必要としたが、SMEC 法によれば24時間以内に *E. coli* の検出を90%以上の信頼度をもって判定することができる。

しかるに、これらの結果のなかで、BGLB 法で *E. coli* 陽性を示しながら、SMEC 法で検出されなかったものが30件 (10.3%) あった。この成績の内容をみると、BGLB 培地から分離された *E. coli* は、いずれも、*E. coli* II および III 型で、EC test 陰性のものばかりであった。

2) 分離大腸菌群の型別と SMEC test 陽性率の比較
 食肉類から分離した3612株の大腸菌群について、菌型別と SMEC test 陽性率を比較した。

まず、SMEC 培地より分離された大腸菌群1450株について、*E. coli* と他の大腸菌群との検出比率をみると、*E. coli* が全体の95.1%の高い検出率に対し他の大腸菌群は4.9%の検出率であった。さらに、菌型別 SMEC

Table 5. Application of SMEC Dehydrated Medium to the Examination of Raw Meats

1) Comparison between Presumptive Test and Completed Test Against Value of *E. coli* MPN

Ratio of MPN values of presumptive test and completed test		<i>E. coli</i> positive by completed test (including <i>E. coli</i> type II, III of EC test negative)					<i>E. coli</i> negative by completed test		
		1:1	10:1	100:1	1000:1	Total	Positive by presumptive test and negative by completed test	Negative by presumptive test and completed test	Total
Meats of swine, poultry and imported various domestic animals (293 sample)	BGLB	21	57	98	65	241	45	7	52
	SMEC	190	28	14	0	232	0	61	61

2) Positive Rate of SMEC Test with Isolated Strains from Each Selective Medium

Selective broth	SMEC			BGLB			Total		
SMEC test	No. of strains	Positive	Negative	No. of strains	Positive	Negative	No. of strains	Positive	Negative
<i>E. coli</i> I	1307	1307 (100.0)	0 (0)	618	618 (100.0)	0 (0)	1925	1925 (100.0)	0 (0)
<i>E. coli</i> II	60	58 (96.7)	2 (3.3)	177	13 (7.3)	164 (92.7)	237	71 (30.0)	166 (70.0)
<i>E. coli</i> III	12	0 (0)	12 (100.0)	80	0 (0)	80 (100.0)	92	0 (0)	92 (100.0)
Total of <i>E. coli</i> group	1379	1365 (99.0)	14 (1.0)	875	631 (72.1)	244 (27.9)	2254	1966 (88.6)	258 (11.4)
<i>C. freundii</i> I	11	4 (36.4)	7 (63.6)	634	16 (2.5)	618 (97.5)	645	20 (3.1)	625 (96.9)
<i>C. freundii</i> II	47	40 (85.1)	7 (14.9)	178	34 (19.1)	144 (80.9)	225	74 (32.9)	151 (67.1)
<i>K. aerogenes</i> I	4	4 (100.0)	0 (0)	117	2 (1.7)	115 (98.3)	121	6 (5.0)	115 (95.0)
<i>K. aerogenes</i> II	0	0 (0)	0 (0)	20	1 (5.0)	19 (95.0)	20	1 (5.0)	19 (95.0)
<i>K. cloaca</i>	0	0 (0)	0 (0)	5	0 (0)	5 (100.0)	5	0 (0)	5 (100.0)
Irregular	9	2 (22.2)	7 (77.8)	320	3 (0.9)	317 (99.1)	329	5 (1.5)	324 (98.5)
Non-coliform group	0	0 (0)	0 (0)	13	0 (0)	13 (100.0)	13	0 (0)	13 (100.0)
Total of coliform group	71	50 (70.4)	0 (29.6)	1287	56 (4.4)	1231 (95.6)	1358	106 (7.8)	1252 (92.2)

test 陽性率は *E. coli* I 型 (1307株) では100%陽性を示し, *E. coli* II 型では96.7%が陽性であったが, *E. coli* III 型は全部陰性であった. *E. coli* group としては98.98%の高い陽性率を示した.

しかるに, *E. coli* 以外の大腸菌群では, SMEC 培地からの検出率 (4.9%) は非常に低いが, その分離株の SMEC test 陽性率は70.4%で高い成績を示した.

つぎに, BGLB 培地から分離された大腸菌群 2162 株についての *E. coli* と他の大腸菌群の検出比較は, *E. coli* が40.5%に対し他の大腸菌群は59.5%で約半々の検出率が示された. その菌型別 SMEC test 陽性率は,

E. coli I 型は100%陽性を示したが, *E. coli* II 型では陽性を示したものはわずか7.3%で大部分の菌株が SMEC test 陰性を示し, SMEC 培地よりの分離株の陽性率と対称的であった. また, *E. coli* 以外の大腸菌群についても *E. coli* II 型の場合と同様な傾向がみられ, SMEC test 陽性を示したものは4.4%で, 残り95.6%は SMEC test 陰性株であった.

今回の食肉よりの総分離株 3612 株についてみると, *E. coli* I 型は100%陽性を示し, SMEC 培地の *E. coli* I 型に対する検出率および確認率は非常に高いことが証明された.

しかし、*E. coli* II 型では 237 株中陽性を示したものはわずか 30% であった。また、*E. coli* III 型 92 株はいずれも陰性であった。すなわち *E. coli* group としての SMEC test 陽性率は 88.6% であったが、*E. coli* II および III 型の SMEC test 陰性株は、全体のわずか 11.4% であった。

つぎに、*E. coli* 以外の大腸菌群については、*C. freundii* II 型が 32.9% の陽性率を示した以外は、ほとんどの菌型が 5% 以下の低い陽性率を示した。したがって、*E. coli* 以外の大腸菌群としての SMEC test 陽性率は 7.8% で、本培地の選択作用の高いことが確認された。

考 察

日常の検査業務として食品を検査する目的は、食品由来の伝染病および食中毒の発生に際し、原因食品から原因物質を検索し、その汚染源および汚染経路を追求して今後の発生を予防する資料とすることと、今一つは、これら疾病が食品によって発生することを未然に防止するため、つねに食品を安全な状態に保つための手段として検査する場合とがあるが、日常の検査では、つねにすべての食品について病原菌を検索することは不可能であるため、大腸菌群を病原菌の指標として検査しているわけである。しかし、大腸菌群陽性の場合でも、必ずしもその汚染源がふん便と共通しない場合が多々あるので、大腸菌群検出の意義の評価を高くするため fecal type の *E. coli* を検出する方法が、国の内外の研究者によって研究されている^{6)~15)}。

われわれも、Kelly¹⁶⁾ らの EC test に対し検討を加え、さらに選択能の高い SMEC 培地によるところの SMEC test を考案し報告^{1)~3)}してきたが、現在の培地学の傾向として調製培地では、いくら優秀なものでも利用度が低いむきがあるので、本培地の乾燥化を進めると同時に、価格を安くするため輸入試薬を国産試薬にかえて選択能を保持することにつとめた。

SMEC 培地の乾燥化では、坂崎が培地学¹⁹⁾でも指摘しているごとく、ペプトンの選択および使用量にはとくに注意を払わねばならなかった。

本培地の特異性は、培養温度とストレプトマイシンにあるため、この抗生物質の機能が pH、温度および組材薬品との化学反応によって大きく左右されることに難点があった。

しかし、今回の研究によって、国産試薬をもつての SMEC 乾燥培地が、原法培地とその選択性にそん色ないことが確認でき、さらに食肉検査での応用試験でもほぼ原法培地による結果と一致する成績を得たので、本培地の乾燥化としての目的を果たすことができた。

現在、わが国で EC test が採用されている食品は「生カキ」のみであるが、一般食品についてもふん便汚染指標菌としての大腸菌群および大腸菌の検出の性格と意義

を十分理解して用いるならば、その応用価値は高いものと信じている。このことについては、坂崎¹⁷⁾、春田¹⁸⁾らも指摘しているごとく、大腸菌群の総体的な量の動きを十分勘案した上で意義づける必要がある。

われわれは、現在の複雑な食品形態に対する検査結果を判断する場合、まず、多種にわたる食品の全般的衛生度の尺度としては、食品中の一般細菌数をもって検討することができるが乳および乳製品のごとき加熱殺菌過程をへた食品については、一般細菌数をもって品質の衛生度を管理し、大腸菌群の検出についてはふん便汚染指標菌としての意義より、むしろ製品の加熱殺菌が確実に実施されたか否かを判定する指標として利用されるものと解釈している。一方、生鮮食肉魚介類のごとき手指の直接接触をうける食品では、病原菌の汚染も十分可能とされる環境にあるため、個人の健康管理の立場から fecal type の *E. coli* 検出は重視しなければならないと考えている。

飯田²⁰⁾によれば、大腸菌群の検査法については国際的に検討されているということであるが、われわれは食品検査の日常の検査業務において一般細菌数、大腸菌群、大腸菌およびサルモネラ菌の検査を常時実施し、食品における病原菌と指標菌の相関関係を検討し、その一部については、すでに報告²¹⁾したが、食肉についてみるならば、サルモネラと *E. coli* の相関関係は高いという成績をえている。

これからの食品検査における指標菌問題は食品の製造、包装、形態の複雑化に伴ない大きく変化していくことも予想されるので、各方面での検討が望まれ、その結果によって最良の方法が生み出されることを期待する。

結 論

食品中の *E. coli* 検出培地である SMEC 培地の乾燥化に当って、つぎのごとき結論を得た。

1) 原法 SMEC 培地での Bacto-tryptose を国産ペプトンにかえて乾燥化し、選択率の低下を防止した結果、数種の国産ペプトンでは原法に匹敵する製品はできなかったがその結果、つぎの組成の乾燥培地が、原法とほとんど差異のないことが確認された。

heart infusion, 4g; カザミノ酸, 15g; L-トリプトファン, 0.05g; 乳糖 5g; K₂HPO₄, 4g; KH₂PO₄, 5g; ラウリル硫酸ナトリウム, 0.25g; Bile salt, 0.5g; BCP, 0.032g を培地 1L 中の組成として乾燥し、基礎培地とした。使用時、精製水 1L に SMEC 乾燥基礎培地 33.8g を加熱溶解し、pH 6.2 に調整してから水冷または氷冷する。冷却後ストレプトマイシン 10mg を加え、発酵管入り試験管に分注し、コッホ消毒器で 100°, 60分滅菌した。

2) SMEC 乾燥培地(国産試薬使用)を市販食肉の検査に応用した結果、原法 SMEC 培地による一般食品からの *E. coli* 検出率および *E. coli* 以外の大腸菌群抑

制率とほとんど差異がないことが認められた。

本研究の要旨は第67回日本獣医学会公衆衛生分科会において発表した。

文 献

- 1) 渡辺昭宣, 他: 食衛誌. **8**, 141 (1967).
- 2) 渡辺昭宣, 他: 同上. **9**, 15 (1968).
- 3) 渡辺昭宣, 他: 同上, **9**, 481 (1968).
- 4) A. A. Hajna, C. A. Perry: Am. J. Pub. Health **33**, 550 (1943).
- 5) A. A. Hajna, C. A. Perry: ibid. **34**, 735 (1944).
- 6) W. H. H. Jebb: J. Hyg. **66**, 67 (1968).
- 7) W. H. H. Jebb: J. Hyg. **66**, 641 (1968).
- 8) H. Raj, J. Liston: Appl. microbiol. **9**, 171 (1961).
- 9) M. Fishbein, B. F. Surkiewicz: Appl. microbiol. **12**, 127 (1964).
- 10) E. E. Geldreich, et al.: Appl. microbiol. **12**, 63 (1964).
- 11) Herbert E. Hall, et al.: Appl. microbiol. **15**, 1062 (1967).
- 12) M. Fishbein, et al.: Appl. microbiol. **15**, 233 (1967).
- 13) 鈴木 昭: メディアサークル **47**, 359 (1963).
- 14) 佐々木 論: メディアサークル **47**, 371 (1963).
- 15) 清田亮夫: 食衛誌. **12**, 447 (1964).
- 16) C. B. Kelly: Examination of Foods for Enteropathogenic and Indicator Bacteria (1964).
- 17) 坂崎利一: メディアサークル **76**, 73 (1966).
- 18) 春田三佐夫: モダンメディア **6**, 291 (1968).
- 19) 坂崎利一: 培地学総論 (1965) 一成堂.
- 20) 飯田広夫: メディアサークル **93**, 312 (1967).
- 21) 渡辺昭宣, 他: 第110回日本獣医学会公衆衛生学会発表.