本邦食品中のブドウ球菌エンテロトキシン C の 血清学的簡易検出法

(昭和 47 年 2 月 28 日受理)

藤原喜久夫* 栗田啓幸*

A Simple Method for Serological Detection of Staphylococcal Enterotoxin C in Japanese Foods

Kikuo FUJIWARA, Nobuyuki KURITA

(Institute of Food Microbiology, Chiba University:
Izumicho, Narashino, Chiba-Ken)

A procedure to detect Staphylococcal enterotoxin C in foods was devised.

The method is as follows.

1. Sample is homogenized in tap water at room temperature.
2. The homogenate is centrifuged and the supernatant is concentrated by dialysis against polyethylene glycol.
3. A paper disc immersed with this concentrate is placed on agar plate for precipitation test with antienterotoxin.

Food samples containing more than 0.4 μg enterotoxin C per gram showed a precipitation line of identity with this procedure.

(Received February 28, 1972)

まえがき

食中毒事件が発生した場合、それがブドウ球菌によるものかどうかを調べるには、細菌学的検査はもちろん重要であるが、さらに直接的な証拠を得るためには原因食と推定される試料からエンテロトキシンを検出することが必要である。また、この検出法が実用的であるためには、できるだけ簡便かつ正確なものが望ましい。著者らは、食品からエンテロトキシンを検出する血清学的方法を検討し、簡便かつ比較的高い感度の高い手技を考案したのでその概要を報告する。

実験材料および実験方法

エンテロトキシン標品: Strain 137 を用いて Borja¹⁾の方法に従って精製したエンテロトキシン C₁ を平板ゲル内沈降反応試験の対照として用いた。

エンテロトキシン C 抗血清: 上記のエンテロトキシン C₁ 標品を用いて Silverman²⁾の方法によりウサギを免疫し、エンテロトキシン抗血清を作製した。なお、この抗血清には制菌剤としてマーズニンを 0.01% の割合に添加した。

沈降反応用ゲル: 0.02 M リン酸塩緩衝液 (pH 7.4) に寒天 (1%), 食塩 (0.85%), を加熱溶解したものにマーズニン (0.01%) を添加し、ペトリザラに流して平板寒天ゲルを作製した。

試料食品: 市販のまんじゅう (あずきあん), カマボコ, 米飯, および卵焼を用いた。

食品中のエンテロトキシン検出手技:

1) 試料食品 50 g にエンテロトキシン C₁ をそれぞれの試料 1 g につき 0.1 μg , 0.2 μg , 0.4 μg および 0.8 μg を添加したものを検体とし、これに水道水 100 ml を加え乳鉢中にて磨砕し、十分かく拌した。

2) 6,000 $\times$ g で 15 分間遠心沈殿し、上清をとり、ポリエチレングリコールに対し室温で一晩透析濃縮した。つぎに水道水の流水中で約 30 分間透析し、濃縮試料液の最終体積を約 2 ml とした。

3) この試料液を円形ろ紙片 (直径 8 mm, 厚さ 1 mm) に浸潤させ、前記平板寒天ゲル上にのせた。また対照として用いたエンテロトキシン C₁ 標品およびその抗血清も同様に円形ろ紙片に浸潤させてこの平板寒天ゲル上にのせ沈降反応を行なわせた。これら円形ろ紙片の配置は Fig. 1 に示すとおりである。

* 千葉大学腐敗研究所: 千葉県習志野市泉町 3-9-1

Fig. 1. Precipitation band formed by enterotoxin C from rice (A), kamaboko (Japanese fish cake) (B), and manju (bean cake) (C).

The center paper disc contains enterotoxin C antiserum. The discs marked with C contain purified enterotoxin C. Each figure on the other discs represents micrograms of enterotoxin C in 1 g of original sample.

4) このペトリザラを、乾燥を防ぐためふたとの間隙をセロテープで密封し、27° に放置し、沈降反応帯形成の有無を3日間逐日観察した。

結果および考察

まんじゅう、米飯、およびカマボコの場合は、Fig. 1に示すように最初添加したエンテロトキシンが試料食品1g 当り 0.4 μ g 以上であれば、抗血清口紙片と試料液口紙片との間に沈降反応帯を形成し、かつ対照として用いたエンテロトキシン C₁ の沈降反応帯と融合した。このことは、すなわち試料食品中にエンテロトキシン C₁ が、1g 当り 0.4 μ g 以上産生されている場合は、この実験手技によって検出が可能であることを示している。これらの試料液は、ゲル内沈降反応に供する際に不純けん濁物が多く、かなり濁っていたが円形口紙片に浸潤させて用いるにはとくに取り除かなくてもさしつかえなかった。しかし卵焼を試料として用いた場合は、卵黄由来の非透析性コロイド粒子がゲル内に拡散し濁りを生ずるので、この手技は適用困難であった。

なお、検体 1g 当り 0.4 μ g のエンテロトキシン C₁ を含有している場合においても、検体の量が 50 g 以下

であると、この方法によって正確な結果を得ることは困難である。

エンテロトキシンの血清学的検出には、一般には Oudin tube による一次拡散法が用いられているが、この方法により食品中のエンテロトキシン C₁ の検出を試みると、沈降反応帯が不明瞭であったり、あるいはまったく生じなかったりしてその目的を達しないことが多い。しかし、本法によるときは、比較的容易に沈降反応帯を認め得ることを知った。

結 語

食品中のエンテロトキシン C₁ を水道水で抽出し透析濃縮したものを円形口紙片に浸潤させ、平板寒天ゲル内沈降反応を試みた結果、カマボコ、米飯、およびまんじゅうの場合は、検体 1g 当り 0.4 μ g 以上のエンテロトキシン C₁ を含むとき、この手技を適用し得ることを認めた。

文 献

- 1) Borja, C. R., Bergdoll, M. S.: *Biochemistry* 6, 1467 (1967).
- 2) Silverman, S. J.: *J. Bacteriol.* 85, 955 (1963).