

## 新製品

## プレストン処方カンピロバクター増菌用培地

## 「プチットーカンピロ」の紹介

## 第2報 既存培地との性能比較とその使用方法について

(株)日研生物医学研究所

加藤孝広、梅迫誠一

## はじめに

食品等におけるカンピロバクターの検査を行う場合、選択増菌培地であらかじめ増菌し、スキローやバツラーなどの選択分離培地で分離する方法が一般的である。選択増菌培地としてはプレストン (Preston) 培地、CEM培地、ボルトン (Bolton) 培地、Exeter培地などが報告されている。通常、プレストン培地が最も使用され、損傷の可能性が高い場合にはボルトン培地が用いられる。

しかし、これらの培地を自家調製する際には操作が煩雑であること、作製量が限定される不経済性や保存期間が短いこと等が欠点とされ、食品製造関連施設等におけるカンピロバクター検査の実

施が十分普及しない要因の一つであった。

そこで、弊社は、使用に際し小袋を摘んで潰すだけで培地を容易に調製出来る新商品を開発し、商品名「プチットーカンピロ」(写真1)と

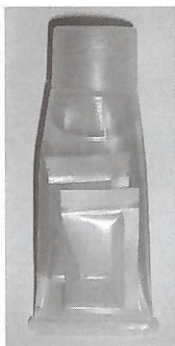


写真1 「プチットーカンピロ」(写真1)と

して、月刊HACCP2008年7月号で本商品の紹介を行った。

力価が不安定な雑菌抑制剤や単体保管が難しいうえ秤量分注することが困難な馬脱繊維溶血液を高バリア性フィルムの圧着技術により小袋に封入させ、使用直前まで基礎培地と完全に分離した状態で保持できることから長期間の保存が可能である。今回、弊社は、「プチットーカンピロ」と従来法のプレストン培地の性能試験を比較検討し有効性を確認した。その内容を本稿で紹介する。

### 1 「プチットーカンピロ」の性能比較 (カンピロバクターの発育態度)

「プチットーカンピロ」の発育性能が従来法と比べ同等か否かを検討した。従来法は定法により作成したプレストン培地を15ml (PP製) 容器に10ml分注し、微好気培養した。(写真2)

「プチットーカンピロ」はプレストン基礎培地(1.25倍濃度)を8ml分注した樹脂製チューブに、濃度調整した馬脱繊維血液及び添加剤を封入した高バリア性フィルム製の各1ml容量の子袋を潰して容量10mlとし、写真3に示すように微好気培養と好気培養を実施した。

結果は、表1に示すように、接種菌量 $10^0$ 、 $10^1$ 、 $10^2$ /mlにおいて三者ともにそれぞれ $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ /mlに増殖し、同等な発育態度を示し、

培養方法と培地形態がカンピロバクターの増殖に差異がないことが証明され、「プチットーカンピロ」は従来法と同等以上の培地性能を示した。特に、「プチットーカンピロ」の好気培養は他の2法と同等であった。

## 2 「プチットーカンピロ」の性能比較 (夾雑菌の発育抑制)

次に、*P.aeruginosa*、*B.subtilis*を供試して、夾雑菌の発育抑制について従来法と「プチットーカンピロ」を比較検討した。培養方法は1の場合と

同様であるが、検出培地にはSCD寒天培地を用いた。*P.aeruginosa*、*B.subtilis*は、接種菌量 $10^7$ 、 $10^6$ 、 $10^5$  / mlにおいて表2、表3に示すように、従来法と「プチットーカンピロ」好気培養、微好気培養の三者ともに検出されなかった。

この結果から、三者間における夾雑菌の抑制能力は同等であることが証明され、「プチットーカンピロ」は従来法と同等以上の培地性能を示した。特に、1の結果と同様に「プチットーカンピロ」の好気培養が他と優るとも劣らない結果を示した。

次に、カンピロバクターと夾雑菌が存在する状態で、カンピロバクターが増殖し、夾雑菌が抑制される培地特性が発揮されるかを調べ、3者の性能比較を実施した。菌の検出には、*C.jejuni*用にmCCDA寒天培地、夾雑菌にはSCD寒天培地を用いた。まず、*C.jejuni*と*P.aeruginosa*の共存状態では $10^1$  :  $10^7$ では3者ともに+++ ( $10^3$ オーダー) から++ ( $10^2$ オーダー) の*P.aeruginosa*が発育し、抑制が困難であることを示した。 $10^1$  :  $10^6$ では「プチットーカンピロ」の微好気培養で++ ( $10^2$ オーダー) の*P.aeruginosa*が発育し、抑制効果が認められなかったが、 $10^1$  :  $10^5$ で

表1 従来法とプチットーカンピロの比較試験 (発育性能)

| 培地形態      | 培養方法 | 接種菌量 (/ml)        |                   |                   |
|-----------|------|-------------------|-------------------|-------------------|
|           |      | $10^0$            | $10^1$            | $10^2$            |
| プチットーカンピロ | 好気*2 | $3.3 \times 10^4$ | $2.5 \times 10^5$ | $2.2 \times 10^6$ |
| プチットーカンピロ | 微好気  | $6.1 \times 10^4$ | $7.6 \times 10^5$ | $8.8 \times 10^6$ |
| 従来法*1     | 微好気  | $8.3 \times 10^4$ | $5.9 \times 10^5$ | $3.6 \times 10^6$ |

\*1: プレストン培地10mlを試験管に入れた形態

\*2: 容器内の空気を極力抜いた状態で好気培養

培養条件: 35℃、48時間 検出には血液寒天培地を使用

表2 従来法とプチットーカンピロの比較試験 (夾雑菌抑制)

| 培地形態      | 培養方法 | <i>P.aeruginosa</i> 接種菌量 (/ml) |        |        |
|-----------|------|--------------------------------|--------|--------|
|           |      | $10^7$                         | $10^6$ | $10^5$ |
| プチットーカンピロ | 好気*2 | 不検出                            | 不検出    | 不検出    |
| プチットーカンピロ | 微好気  | 不検出                            | 不検出    | 不検出    |
| 従来法*1     | 微好気  | 不検出                            | 不検出    | 不検出    |

\*1: プレストン培地10mlを試験管に入れた形態

\*2: 容器内の空気を極力抜いた状態で好気培養

培養条件: 35℃、48時間 検出にはSCD寒天培地を使用

表3 従来法とプチットーカンピロの比較試験 (夾雑菌抑制)

| 培地形態      | 培養方法 | <i>B.subtilis</i> 接種菌量 (/ml) |        |        |
|-----------|------|------------------------------|--------|--------|
|           |      | $10^7$                       | $10^6$ | $10^5$ |
| プチットーカンピロ | 好気*2 | 不検出                          | 不検出    | 不検出    |
| プチットーカンピロ | 微好気  | 不検出                          | 不検出    | 不検出    |
| 従来法*1     | 微好気  | 不検出                          | 不検出    | 不検出    |

\*1: プレストン培地10mlを試験管に入れた形態

\*2: 容器内の空気を極力抜いた状態で好気培養

培養条件: 35℃、48時間 検出にはSCD寒天培地を使用



写真2 従来法の容器形態上部キャップに小さい穴をあけて培養した

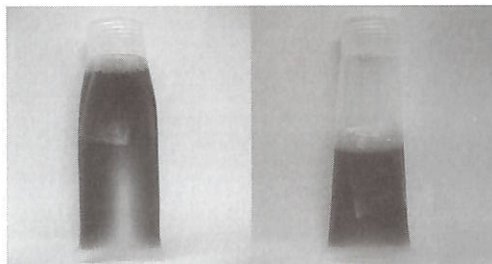


写真3「プチットーカンピロ」の培養形態  
左: 好気培養、右: 微好気培養



は3者ともに発育が抑制された。(表4)

*C.jejuni*と*B.subtilis*の共存状態では $10^1:10^7$ では従来法のように*B.subtilis*が++ ( $10^2$ オーダー)発育したが、 $10^1:10^6$ 、 $10^1:10^5$ では3者ともに発育が抑制された。(表5) *P.aeruginosa*に比べ*B.subtilis*の方が発育を抑制される傾向が顕著であった。前述の結果と同様に「プチットーカンピロ」は従来法と同等以上の培地性能を示した。さらに、1の場合と同様に好気培養が他と優るとも劣らない結果を示し、有効であることが分かった。

### 3 「プチットーカンピロ」の性能比較 (ふん便材料における発育)

平成19年に全国でカンピロバクター食中毒は416件発生し、総発生件数1289件の約1/3を占めた。食中毒発生時における関係者等のふん便や関連施設の拭き取り検査用、使用水中のカンピロバクター検査のための増菌培地の開発が必要不可欠と考えられる。そこで、「プチットーカンピロ」を食中毒発生時の関係者のふん便検査に使用することを目的として、ふん便材料における従来法と「プチットーカンピロ」の培地性能を比較した。

表6に示すように、従来法と「プチットーカンピロ」好気培養、微好気培養いずれも、 $10^1$ 、 $10^2$ 、 $10^3$ /mL接種で分離培地(mCCDA、バツラー)に関係なく $10^5$ オーダーから $10^7$ オーダーの範囲で検出された。この結果から、「プチットーカンピロ」はふん便材料からのカンピロバクターの検査に使用できることが分かった。特に、好気培養で同等の結果が得られたことは、食中毒等の緊急時の検査において、有効性を発揮すると考えられる。

## 4 まとめ

カンピロバクター食中毒発生防止は食品衛生上重要な課題であり、食品製造現場におけるカンピロバクター検査は重要である。今回、カンピロバクターの増菌培地で10mL専用として開発された「プ

表4 従来法とプチットーカンピロの比較試験(夾雑菌抑制)

| 培地形態      | 培養方法 | <i>C.j:P.a</i> 接種菌量 (/mL) |             |             |
|-----------|------|---------------------------|-------------|-------------|
|           |      | $10^1:10^7$               | $10^1:10^6$ | $10^1:10^5$ |
| プチットーカンピロ | 好気*2 | +++                       | 不検出         | 不検出         |
| プチットーカンピロ | 微好気  | +++                       | ++          | 不検出         |
| 従来法*1     | 微好気  | ++                        | 不検出         | 不検出         |

\*1: プレストン培地10mLを試験管に入れた形態

\*2: 容器内の空気を極力抜いた状態で好気培養

培養条件: 35℃、48時間 *C.j:C.jejuni,P.a:P.aeruginosa*

*C.jejuni*はいずれの条件において検出、*P.aeruginosa*の検出はSCD寒天培地を使用

表5 従来法とプチットーカンピロの比較試験(夾雑菌抑制)

| 培地形態      | 培養方法 | <i>C.j:B.s</i> 接種菌量 (/mL) |             |             |
|-----------|------|---------------------------|-------------|-------------|
|           |      | $10^1:10^7$               | $10^1:10^6$ | $10^1:10^5$ |
| プチットーカンピロ | 好気*2 | 不検出                       | 不検出         | 不検出         |
| プチットーカンピロ | 微好気  | 不検出                       | 不検出         | 不検出         |
| 従来法*1     | 微好気  | ++                        | 不検出         | 不検出         |

\*1: プレストン培地10mLを試験管に入れた形態

\*2: 容器内の空気を極力抜いた状態で好気培養

培養条件: 35℃、48時間 *C.j:C.jejuni,B.s:B.subtilis*

*C.jejuni*はいずれの条件において検出、*B.subtilis*の検出はSCD寒天培地を使用

表6 糞便における従来法とプチットーカンピロの発育比較

| 培地形態      | 培養方法 | 培養方法  | 糞便溶液中の接種菌量 (/mL) |        |        |
|-----------|------|-------|------------------|--------|--------|
|           |      |       | $10^1$           | $10^2$ | $10^3$ |
| プチットーカンピロ | 好気*2 | mCCDA | $10^5$           | $10^5$ | $10^6$ |
|           |      | バツラー  | $10^5$           | $10^6$ | $10^7$ |
| プチットーカンピロ | 微好気  | mCCDA | $10^5$           | $10^6$ | $10^6$ |
|           |      | バツラー  | $10^5$           | $10^5$ | $10^6$ |
| 従来法*1     | 微好気  | mCCDA | $10^5$           | $10^5$ | $10^6$ |
|           |      | バツラー  | $10^5$           | $10^5$ | $10^6$ |

\*1: プレストン培地10mLを試験管に入れた形態

\*2: 容器内の空気を極力抜いた状態で好気培養

培養条件: 35℃、48時間

チットーカンピロ」の培地性能が従来法と比べ同等か否かを検討した。

1)カンピロバクターの発育態度は、「プチットーカンピロ」の好気培養、微好気培養と従来法では差異がなく、同等であった。

2)*P.aeruginosa*、*B.subtilis*を供試して、夾雑菌の発育抑制について従来法と「プチットーカンピロ」を比較検討した結果、「プチットーカンピロ」は従来法と同等以上の培地性能を示した。

3)カンピロバクターと夾雑菌が存在する状態で、カンピロバクター増菌培地の特性が発揮されるかを調べた結果、「プチットーカンピロ」は従来法と同等以上の培地性能を示した。*P.aeruginosa*に比べ*B.subtilis*の発育抑制が顕著であった。

4)ふん便材料における検討結果では、従来法と「プチットーカンピロ」好気培養、微好気培養いずれも、 $10^1$ 、 $10^2$ 、 $10^3$  / ml接種で分離培地(mCCDA、バツラー)に関係なく $10^5$ オーダーから $10^7$ オーダーの範囲で検出され、「プチットーカンピロ」は食中毒発生時などのふん便材料からのカンピロバクターの検査に使用できることが分かった。

4) 今回の各実験結果から「プチットーカンピロ」の好気培養が「プチットーカンピロ」および従来法の微好気培養と同等の結果を示した。このことは、食品製造現場の拭き取り検査等で微好気条件

での培養ができない場合において、「プチットーカンピロ」の培養容器の空隙部分を2cmより小さくして培養すれば、ブロス中で微好気条件が得られることを示唆し、検査実施を可能にするものである。

#### 参考資料

- 1)新製品 プレストン処方カンピロバクター増菌培地「プチットーカンピロ」の紹介  
月刊HACCP2008年7月号 P.107-109
- 2)ISOによるカンピロバクターの検出と菌数測定法について、2006年9月21日、第27回日本食品微生物学会ランチョンセミナー資料(関東化学)
- 3)小野一晃、「食水系感染症病原体の検査法-2」  
カンピロバクター、モダンメディア54巻5号、2008、P.159-163

#### 【問い合わせ先】

株式会社 日研生物医学研究所  
京都府久世郡久御山町大橋辺堤外縁23番地  
TEL: 075-631-6187  
FAX: 075-632-0367  
URL <http://www.nikken-bio.co.jp>  
E-mail [qc@nikken-bio.co.jp](mailto:qc@nikken-bio.co.jp)