



Title	加熱損傷ウェルシュ菌の検出培地の比較と改良
Author(s)	清水, 茂雅; 堀口, 明日香; 山崎, 浩司 他
Citation	北海道大学水産科学研究彙報, 59(2), 37-42
Issue Date	2009-08-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/39007
Type	departmental bulletin paper
File Information	59-2_001.pdf



加熱損傷ウェルシュ菌の検出培地の比較と改良

清水 茂雅¹⁾・堀口明日香²⁾・山崎 浩司³⁾・川合 祐史³⁾

(2009年1月14日受付, 2009年2月19日受理)

Comparison and Improvement of Detection Media for Sub-lethal Injured *Clostridium perfringens*

Shigemasa SHIMIZU¹⁾, Asuka HORIGUCHI²⁾, Koji YAMAZAKI³⁾ and Yuji KAWAI³⁾

Abstract

Recovery of heat-injured vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* was evaluated on selective media, CW Egg-yolk agar with kanamycin (ECW⁺A), Tryptose sulfite cycloserine agar (TSC⁺A) and modified Handford agar (mHFA). As a result of heat treatment at 54°C for 15 min, viable counts of *C. perfringens* vegetative cells on a selective medium (ECW⁺A) was significantly less than those on non-selective media. This means *C. perfringens* vegetative cells should be in an injured state. Comparing of the three selective media, TSC⁺A was the best growth and recovery of heat-injured *C. perfringens* vegetative cells. Recovery on ECW⁺A was 1 log CFU/ml less than that on TSC⁺A.

Supplementation of TSC⁺A with sodium pyruvate (0.1-0.5%) further enhanced recovery and detection of heat-injured *C. perfringens* vegetative cells, and its efficacy was the highest on TSC⁺A supplemented with 0.3% sodium pyruvate. Supplementation of TSC⁺A with sodium pyruvate did not affect recovery of heat-injured (95°C, 2 or 60 min) *C. perfringens* spores. These findings suggest that TSC⁺A is the most favorable medium for enumeration of *C. perfringens* and supplementation with sodium pyruvate improves recovery and detection of heat-injured *C. perfringens*.

Key words : *Clostridium perfringens*, Injured cell, Recovery, Sodium pyruvate

緒 言

Clostridium perfringens (ウェルシュ菌) は芽胞形成グラム陽性の偏性嫌気性細菌であり、土壌、河川などの自然界や人、動物の腸管などに広く常在する細菌である (Oka et al., 1989; Oka and Oishi, 1989)。本菌の中にはエンテロトキシンを産生するものが存在し、そのような毒素産生株に汚染された食品を摂取することで食中毒が発生する (青山ら, 1960; Bauer et al., 1981; 杉谷・高松, 1961)。食品や環境から *C. perfringens* を分離する方法はこれまで多数報告されており (Harmon et al., 1971; Hauschild and Hilsheimer, 1974; Shahidi and Ferguson, 1971), そのいくつかは公定法または標準法として採用されている。我が国における食品からの *C. perfringens* の検出には、3種類の培地、すなわちカナマイシン含有卵黄加 CW 寒天培地, Tryptose sulfite cycloserine (TSC) 寒天培地およびハンドフォード

改良寒天培地が食品衛生検査指針 (2003) で推奨されており、その中でもカナマイシン含有卵黄加 CW 寒天培地が平板塗抹法による生菌数測定を行う際に良く利用されている。一方、海外では TSC 寒天培地を推奨している場合が多い (石村, 2001; U.S. FDA, 1995)。これらの培地は、比較的類似した成分を基礎成分としているが、選択剤として含有する抗生物質の種類と濃度に大きな差異がある。

一般に、非致死的なストレスを受けた微生物では、その細胞膜や代謝系に何らかの損傷部位があるため、薬剤感受性や発育時の栄養要求性の変化が起こる (森地, 1989; Straka and Stokes, 1959)。食品中に存在または食品表面に付着する微生物は、食品の製造・流通過程で様々なストレス (加熱, 低温, 凍結, pH, 紫外線や乾燥など) を受けると考えられることから、一部の微生物はこのような損傷菌として存在していると容易に推察される。そのため、損傷菌が検体中に存在した場合には、選択培地上で増殖できな

¹⁾ 北海道大学大学院水産科学院生物資源利用学講座
(Chair of Marine Products and Food Science, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

²⁾ 北海道大学水産学部海洋生物資源化学科
(Department of Marine Bioresources Chemistry, School of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

³⁾ 北海道大学大学院水産科学研究院生物資源利用学分野
(Laboratory of Marine Products and Food Science, Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

いことがしばしば発生する (Chambliss et al., 2006; Miller et al., 2006; Rayman et al., 1978)。したがって、食品微生物検査から逃れた損傷菌が食品中で増殖し、食中毒を引き起こす可能性が懸念されている。

そこで本研究では、我が国で *C. perfringens* の検出に頻繁に用いられている選択培地での加熱損傷 *C. perfringens* の検出感度および損傷回復剤の効果について検討した。

材料および方法

供試菌株

本実験で使用した *Clostridium* 属およびその他の細菌は Table 1 に示した通りである。*Clostridium* 属は GAM ブイヨン (日水製薬) を用いて 30 または 37°C で 24 時間の嫌気培養を行った (アネロパック, 三菱ガス化学)。*Clostridium* 属以外の細菌は Tryptone Soya Broth (Oxoid) を用いて 30°C, 24 時間好気培養した。

加熱処理と生残菌数の測定

C. perfringens ATCC3624 の新鮮培養菌を遠心分離 (10,000×g, 2 分間) で集菌した後, 0.1% ペプトン水で洗浄

(2 回) し, これを 0.1% ペプトン水に再懸濁して, *C. perfringens* 懸濁液を得た (8 log CFU/ml)。この *C. perfringens* 懸濁液 0.05 ml を, 予め 54°C に保温した 0.1% ペプトン水 4.95 ml に接種し, 54°C で加熱処理した。加熱処理液から 5 分間隔で試料液を採取し, 0.1% ペプトン水で適宜 10 倍段階希釈後, 各種寒天平板培地を用いた表面塗抹法によって生菌数測定を行った。なお本実験では, Brain Heart Infusion 寒天培地 (BHIA, Difco), D-シクロセリン添加および非添加 TSC 寒天培地 (TSC+A および TSC-A, Merck), クロストリジア測定用培地 (CCA, 日水製薬), 卵黄加カナマイシン含有および不含 CW 寒天培地 (ECW+A および ECW-A, 日水製薬), ハンドフォード改良寒天培地 (mHFA, 栄研化学) を用いた。CCA および mHFA はパウチ法に使用する培地のため, 本実験では寒天平板を作製するに当たりパウチ法での使用濃度の 0.6 倍濃度で使用した (日本水道協会, 2001)。各々の寒天平板は 37°C, 24 時間の嫌気培養後 (アネロパック, 三菱ガス化学), 平板上に出現したコロニー数を計数し, 生菌数を算出した。

ビルビン酸ナトリウムの影響

上述と同様の方法で調製した *C. perfringens* ATCC3624

Table 1. Bacterial strains used in this study

Species	Strain	Species	Strain
<i>Clostridium perfringens</i>	JCM1290 ^T *	<i>Bacillus cereus</i>	JCM2152 ^T
	ATCC3624	<i>B. coagulans</i>	JCM2257 ^T
	NCTC8235	<i>B. megaterium</i>	JCM2506 ^T
	NCTC8238	<i>B. thuringiensis</i>	IAM12077
	NCTC8239	<i>B. weihenstephanensis</i>	DSM11821
	NCTC8449	<i>Enterococcus durans</i>	JCM8725 ^T
	NCTC8679	<i>E. faecium</i>	JCM8727 ^T
	NCTC8798	<i>E. hirae</i>	JCM8729 ^T
	NCTC9851	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	IFO3427
	NCTC10611	<i>Listeria grayi</i>	ATCC25401 ^T
	NCTC10613	<i>L. innocua</i>	ATCC33090 ^T
	NCTC10614	<i>L. ivanovii</i> subsp. <i>ivanovii</i>	ATCC19119 ^T
	NCTC10239	<i>L. monocytogenes</i>	ATCC7644
	ATCC27638 ^T	<i>L. seeligeri</i>	ATCC35967 ^T
<i>C. baratii</i>		<i>L. welshimeri</i>	ATCC35897 ^T
<i>C. botulinum</i>	Iwanai	<i>Micrococcus luteus</i>	IFO3333
	Mashike	<i>Pediococcus acidilactici</i>	IFO12231
<i>C. butyricum</i>	JCM1391 ^T	<i>Staphylococcus aureus</i>	JCM2413
<i>C. pasteurinum</i>	JCM1408 ^T		
<i>C. sadinense</i>	ATCC27555	<i>Aeromonas hydrophila</i>	IFO3820
<i>C. sporogenes</i>	JCM1416 ^T	<i>Escherichia coli</i>	IFO3301
		<i>E. coli</i> O157:H7	RIMD0509939
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	JCM5963 ^T
		<i>Salmonella</i> Enteritidis	IFO3313
		<i>S. Typhimurium</i>	IID1000 ^T

*T; type strain

細胞懸濁液 0.05 ml を 0.1% ペプトン水 4.95 ml に接種し、これを 54°C、15 分間加熱して、加熱損傷 *C. perfringens* を作製し、生菌数測定を行った。生菌数測定にあたっては、TSC+A にピルビン酸ナトリウム (Pyr) を 0-2% 添加した培地を使用し、平板塗抹法によって菌数を測定した。なお、平板培地は 37°C、24 時間の嫌気培養を行った。

また、Pyr 添加効果の菌株間による差異を検討するために *C. perfringens* 7 株 (ATCC13124, NCTC8235, 8238, 8239, 8798, 10611 および 10614) に対しても同様の実験を行った (Pyr 濃度; 0.3%)。

次に Pyr 添加による TSC+A 培地の選択特異性を調べた。すなわち、*C. perfringens* 21 株を含む合計 45 株 (Table 1) の新鮮培養菌を 0.3%Pyr+TSC+A 平板培地に塗抹し、37°C、24 時間で嫌気培養後、平板上に出現したコロニーの特徴 (色調と形状) を調べた。

芽胞の調製と検出

C. perfringens 芽胞の調製は、易熱性芽胞形成株 (ATCC3624) では Jose ら (1992) の方法、また、耐熱性芽胞形成株 (NCTC8238) では Ando ら (1985) の方法に従って調製した。まず、調製した芽胞懸濁液を 75°C、20 分間加熱活性化した後、易熱性芽胞懸濁液は 95°C、2 分間、また、耐熱性芽胞懸濁液は 95°C、60 分間加熱後、直ちに TSC+A および 0.3%Pyr+TSC+A 平板培地に表面塗抹した。各々の平板培地は 37°C、24 時間の嫌気培養後、生菌数を測定した。

結 果

C. perfringens 選択培地による検出菌数比較

非致死的な加熱ストレスを受けた *C. perfringens* 栄養細胞の各種培地における検出菌数を比較することにより損傷程度を評価した (Fig. 1)。54°C 加熱処理前の新鮮培養菌では、選択培地を含む 6 種類の培地では検出菌数に有意な差は見られなかった (6.53-6.71 log CFU/ml)。その後、54°C での加熱処理時間が長くなるにつれて各々の培地における *C. perfringens* 検出菌数に差が見られはじめた。54°C、15 分間の加熱後の検出菌数を比較すると、CCA, TSC+A および TSC-A で検出菌数が多く 6.43-6.49 log CFU/ml であったが、BHIA, ECW-A および mHFA では 6.07-6.15 log CFU/ml となり、前述の培地と比較すると約 50% 程度しか検出できなかった。さらに、日本で *C. perfringens* の検出によく用いられる ECW+A での検出菌数は 5.44 log CFU/ml となり、最大の検出菌数を示した CCA (6.49 log CFU/ml) の約 10% しか検出できず、両者の間には有意差があった ($p < 0.05$)。

加熱損傷 *C. perfringens* の検出に及ぼすピルビン酸ナトリウムの影響

54°C で加熱処理した損傷 *C. perfringens* に対するピルビ

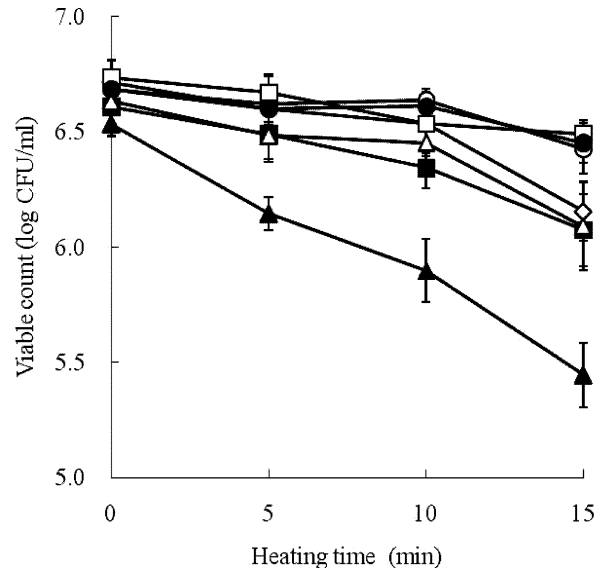


Fig. 1. Viable cell counts of *C. perfringens* on the different culture medium during heating at 54°C. The viable counts were enumerated with Brain-heart infusion agar (◇), Tryptose sulfite cycloserine agar base (○), Clostridia count agar (□), CW Egg-yolk agar without kanamycin (△), Tryptose sulfite cycloserine agar (●), Handford Modified agar (■) and CW Egg-yolk agar with kanamycin (▲).

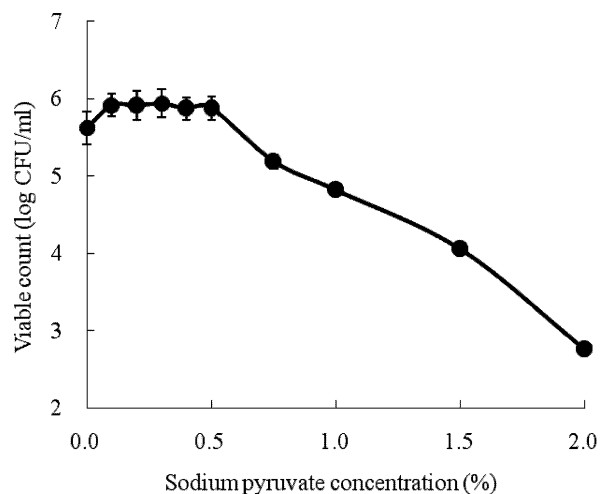


Fig. 2. Effect of sodium pyruvate on the viable counts of heat-injured *C. perfringens*. The viable counts were enumerated with Tryptose sulfite cycloserine agar supplemented with sodium pyruvate after the heat treatment at 54°C for 15 min.

ン酸ナトリウム (Pyr) の影響を調べた (Fig. 2)。54°C、15 分間加熱後の *C. perfringens* ATCC3624 株の細胞懸濁液を試料とし、Pyr 濃度の異なる TSC+A での検出菌数を比較した。Pyr 非添加 TSC+A (対照区) の生菌数が 5.62 log CFU/ml であったのに対し、Pyr 濃度が 0.1-0.5% では、*C. perfringens* 検出菌数の増加が見られ、0.3% 添加時に最大と

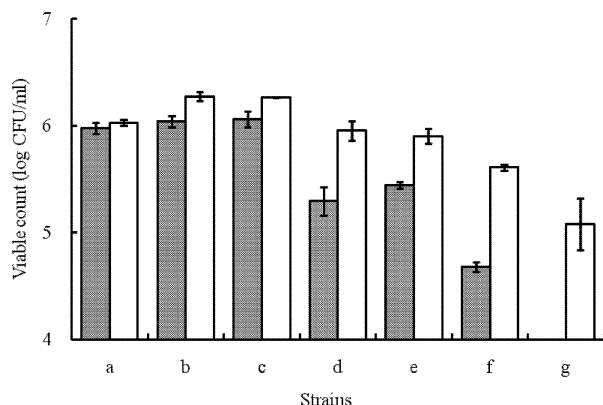


Fig. 3. Effect of sodium pyruvate on the viable counts of heat-injured *C. perfringens*.

The viable counts were enumerated with Tryptose sulfite cycloserine agar (■), Tryptose sulfite cycloserine agar supplemented with 0.3% sodium pyruvate (□) after the heat treatment at 54°C for 15 min. ATCC13124^T (a), NCTC8239 (b), NCTC10614 (c), NCTC8235 (d), NCTC8798 (e), NCTC8238 (f) and NCTC10611 (g) were used as *C. perfringens* strain.

なった (5.94 log CFU/ml)。しかし、0.5% より高濃度で Pyr を添加した場合には、濃度上昇に伴って *C. perfringens* 検出菌数は低下した。2.0% の添加ではわずか 2.76 log CFU/ml しか検出できなかった。

次に、ATCC3624 株以外の *C. perfringens* 7 株に対する Pyr 添加効果を検討した。54°C、15 分間加熱後の生菌数を測定したところ、0.3%Pyr 添加の効果は菌株により差は見られたがすべての菌株で Pyr 添加培地での検出菌数は Pyr 非添加の場合より高かった (Fig. 3)。特に *C. perfringens* NCTC10611 株では、Pyr 非添加 TSC+A では検出限界未満 (<2 log CFU/ml) と評価された試料でも、0.3%Pyr 添加によって 5.08 log CFU/ml の菌数が検出された。

TSC+A への Pyr 添加による培地選択性への影響を Table 1 に示す菌株を用いて調べた。その結果、0.3%Pyr 加 TSC+A 上での *C. perfringens* は、Pyr 非添加の場合と同様の典型的な黒色のコロニーを形成した。他菌種においても Pyr 非添加の場合と相違なかった。

Pyr 添加 TSC+A による *C. perfringens* 芽胞の検出

損傷した *C. perfringens* 芽胞の検出に Pyr が影響を及ぼすか検討した。95°C、2 分間の加熱処理を行った易熱性芽胞 (ATCC3624) 懸濁液の 0.3%Pyr+TSC+A と TSC+A での検出菌数には有意差は認められなかった ($p>0.05$, Table 2)。また、耐熱性芽胞 (NCTC8238) でも 95°C、60 分間の加熱処理後に生菌数測定を行ったが、0.3%Pyr+TSC+A と TSC+A での検出菌数には有意差はなかった ($p>0.05$)。

考 察

半致死的なストレスを受けて生じた損傷菌の栄養要求性と薬剤感受性は、健常菌と性質が異なることが知られている (森地, 1989; Straka and Stokes, 1959)。通常、食品中の微生物検査では、特定の細菌のみを増殖・識別するため培地に様々な抗菌物質等 (一般に抗生物質) が添加されている。これまでに、*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* などの多くの食中毒細菌においても、非致死的なストレスを受けた場合にこれらの細菌が損傷菌となり、検出用選択培地に含有される抗菌物質に対する感受性が高まり、生きていてもかかわらず検出不能となることが報告されている (Alonso et al., 1999; Calabrese and Bissonnette, 1990; Sandel et al., 2003; Yan et al., 2006)。したがって、現在の標準的な食品微生物検査手法は、実際には「生きている」細胞があるにも関わらず生菌数として計数できていない可能性が推察される。したがって、*C. perfringens* の検出においても菌の存在状態 (芽胞か栄養細胞) によって、試料の加熱処理の有無、培養温度、嫌気培養法、培地の種類、検査法などを適切に選択する必要がある。事実、培地の選択性が強すぎると損傷菌の検出率が悪くなることも指摘されている (Hood et al., 1990)。日本では *C. perfringens* を含むクロストリジアの検出にはパウチ法を用いる方法もあるが、この方法は 1) 感度が従来の平板法より高く、2) 嫌気培養装置を必要とせず嫌気培養ができるといった利点はあるが、日常の検査においていくつか問題点が指摘されている (副島ら, 2001)。本研究において平板法に使用した日本でよく用いられる ECW+A (赤真ら, 1966) による検出菌数は、海外でよく使用される TSC+A (Jong et al., 2003) による検出菌数よりも少なかった。

Table 2. Detection of heat-injured *C. perfringens* spores

	Bacterial counts (log CFU/ml)			
	Heat sensitive spores (ATCC3624)		Heat resistant spores (NCTC8238)	
	Control	95°C, 2 min	Control	95°C, 60 min
TSC+A	3.71±0.04	2.69±0.07	3.73±0.00	3.36±0.05
0.3%Pyr+TSC+A	3.77±0.02	2.59±0.07	3.76±0.03	3.36±0.05
Mean±Standard deviation (n=3)				

た。これらの検出菌数の差（損傷菌数）は加熱時間が長くなるにつれて、すなわち加熱損傷程度が大きくなるにつれて顕著となった（Fig. 1）。ECW⁺A を用いて加熱損傷を受けた *C. perfringens* を検出する場合、カナマイシンに対する感受性が増大し、ECW⁺A 平板上でコロニーを形成できなくなるため、加熱された試料にはカナマイシン不含の培地（ECW⁻A）を用いることが推奨されている（赤真ら、1966）。一方、TSC⁺A には選択抗菌剤として D-シクロセリンが添加されているが、Barach ら（1974）は、加熱損傷 *C. perfringens* 芽胞の回復培地について検討し、TSC 培地が他の選択培地よりも検出菌数が多く、また選択抗菌剤ではカナマイシンよりも D-シクロセリンのほうが加熱損傷芽胞への影響の少ないことを示している。また、Jong ら（2003）および Brodsky and Ciebin（1979）も *C. perfringens* の検出用培地の有効性を比較し、TSC 培地での検出菌数が最も多くなることを報告している。さらに近年、カナマイシンに感受性を示す *C. perfringens* による食中毒事例も報告された（門間ら、2008）。したがって、*C. perfringens* を嫌気性芽胞菌の汚染の少ない食品等から検出する場合には、カナマイシンを選択剤とした ECW⁺A よりも D-シクロセリンを含有させた TSC⁺A の方が損傷菌をも含めた検出・評価ができる点で優れていると考えられる。

ピルビン酸ナトリウム（Pyr）が損傷細菌に対して回復効果を有することはよく知られている（Chambliss et al., 2006；Hood et al., 1990；Nebra et al., 2002）。また、酵素基質などを添加し、標的菌の識別を容易にした培地では、損傷菌の回復を期待して Pyr が添加されている。偏性嫌気性菌の *C. perfringens* の栄養細胞においても損傷回復に Pyr が有効に働き、検出菌数が増加し、その回復効果は 0.3%Pyr 添加で最大であった。Pyr 添加による検出菌数の増大する割合は菌株によって回復効果に差が見られたが、耐熱性および易熱性芽胞形成株のいずれに対しても Pyr の添加は有効であった。また、*C. perfringens* 芽胞の検出において Pyr 添加は検出菌数に影響しなかった。Pyr は、無機酸塩よりも代謝経路に損傷を受けた細菌の損傷回復に有効であり、細菌の代謝経路に直接組み込まれることで細菌に効果を発揮することが報告されている（Chambliss et al., 2006；Hood et al., 1990）。さらに、Pyr は自己酸化の原因となる酸化還元反応の中間生成物の形成阻害効果があることも報告されている（Baird-Parker and Davenport, 1965；Nebra et al., 2002）。よって、偏性嫌気性の *C. perfringens* に対しても同様な機構によって Pyr が損傷回復に寄与したものと推察される。TSC⁺A への Pyr 添加による培地の選択性と平板上での *C. perfringens* に典型的な黒色コロニーの形成性を調べたところ、Pyr の有無による差は見られなかった。他菌種においても差は見られなかったことから、Pyr 添加は TSC 培地の鑑別能への影響はなかった。

本研究では、*C. perfringens* の加熱損傷栄養細胞の検出に 0.3%Pyr を添加した TSC⁺A の有効性を示したが、*C. perfringens* 栄養細胞が 4°C の低温ストレスによって損傷細菌

となった場合にも、培地への Pyr 添加が有効であることも報告されている（Hood et al., 1990）。したがって、食品や環境などに存在し、何らかの損傷を受けていると考えられる *C. perfringens* を検出する場合、食品衛生検査指針で推奨されている分離培地では TSC⁺A を使用することが望ましく、またこれに Pyr を添加することで、よりも検出感度を増大させられることが明らかとなった。

文 献

- 赤真清人・大谷 昌・亀山昭一・伊藤明治・村田良介（1966）ウェルシュ菌の分離同定用培地の検討。日本細菌学雑誌，**21**，564-573。
- Alonso, J.L., Soriano, A., Carbajo, O., Amoros, I. and Garelick, H. (1999) Comparison and recovery of *Escherichia coli* and thermotolerant coliforms in water with a chromogenic medium incubated at 41 and 44.5°C. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 3746-3749.
- Ando, Y., Tsuzuki, T. and Sunagawa, H. (1985) Heat resistance, spore germination, and enterotoxigenicity of *Clostridium perfringens*. *Microbiol. Immunol.*, **29**, 317-326.
- 青山 巖・渡辺泰子・中田二三男・山田美弥雄・大島豊正・渡辺皎平・清水 正（1960）*Clostridium welchii* による食中毒事例について（第 1 報）。日本伝染病学会雑誌，**34**，634-638。
- Baird-Parker, A.C. and Davenport, E. (1965) The effect of recovery medium on the isolation of *Staphylococcus aureus* after heat treatment and after the storage of frozen or dried cells. *J. Appl. Bacteriol.*, **28**, 390-402.
- Barach, J.T., Adams, D.M. and Speck, M.L. (1974) Recovery of heated *Clostridium perfringens* type A spores on selective media. *Appl. Microbiol.*, **28**, 793-797.
- Bauer, F.T., Carpenter, J.A. and Reagan, J.O. (1981) Prevalence of *Clostridium perfringens* in pork during processing. *J. Food Prot.*, **44**, 279-281.
- Brodsky, M.H. and Ciebin, B.W. (1979) Effect of heat treatment on the performance of tryptose-sulfite-cycloserine agar for enumeration of *Clostridium perfringens*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 1038-1040.
- Calabrese, J.P. and Bissonnette, G.K. (1990) Improved detection of acid mine water stressed coliform bacteria on media containing catalase and sodium pyruvate. *Can. J. Microbiol.*, **36**, 544-550.
- Chambliss, L.S., Narang, N., Juneja, V.K. and Harrison, M.A. (2006) Thermal injury and recovery of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in ground chicken with temperature, pH, and sodium chloride as controlling factors. *J. Food Prot.*, **69**, 2058-2065.
- Harmon, S.M., Kautter, D.A. and Peeler, J.T. (1971) Improved medium for enumeration of *Clostridium perfringens*. *Appl. Microbiol.*, **22**, 688-692.
- Hauschild, A.H. and Hilsheimer, R. (1974) Evaluation and modifications of media for enumeration of *Clostridium perfringens*. *Appl. Microbiol.*, **27**, 78-82.
- Hood, A.M., Tuck, A. and Dane, C.R. (1990) A medium for the isolation, enumeration and rapid presumptive identification of injured *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus*. *J. Appl. Bacteriol.*, **69**, 359-372.
- 石村勝之（2001）食品中の食中毒菌検査法 7. ウェル

- シュ菌. 防菌防黴, **29**, 675-685.
- Jong, A.E.I., Eijhusen, G.P., Brouwer-Post, E.J.F., Grand, M., Johansson, T., Karkkainen, T., Marugg, J., Veld, P.H., Warmerdam, F.H.M., Wörner, G., Zicavo, A., Rombouts, F.M. and Beumer, R.R. (2003) Comparison of media for enumeration of *Clostridium perfringens* from foods. *J. Microbiol. Methods*, **54**, 359-366.
- Jose, S.G.-A., Labbe, R.G. and Manuel, A.R. (1992) Sporulation and enterotoxin production by *Clostridium perfringens* type A at 37 and 43°C. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 1411-1414.
- Miller, F.A., Brandão, T.R.S., Teixeira, P. and Silva, C.L.M. (2006) Recovery of heat-injured *Listeria innocua*. *Int. J. Food Microbiol.*, **112**, 261-265.
- 門間千枝・下島優香子・小西典子・尾畑浩魅・石崎直人・仲真晶子・甲斐明美・柳川義勢・山田澄夫 (2008) カナマイシンに感受性を示すウェルシュ菌食中毒事例と分離菌株の性状. 日本食品微生物学会雑誌, **25**, 76-82.
- 森地敏樹 (1989) 各種理化学的処理で生ずる非致死の損傷菌の特徴とその検出法. 防菌防黴, **17**, 541-550.
- Nebra, Y., Jofre, J. and Blanch, A.R. (2002) The effect of reducing agents on the recovery of injured *Bifidobacterium* cells. *J. Microbiol. Methods*, **49**, 247-254.
- 日本水道協会 (2001) 3.6 ウェルシュ菌. pp. 853-856, 上水試験法解説編, 日本水道協会, 東京.
- Oka, S., Ando, Y. and Oishi, K. (1989) Distribution of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in water and soil in the southern part of Hokkaido. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 71-78.
- Oka, S. and Oishi, K. (1989) Distribution of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in fish and shellfish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 79-86.
- Rayman, M.K., Aris, B. and El Derea, H.B. (1978) The effect of compounds which degrade hydrogen peroxide on the enumeration of heat-stressed cells of *Salmonella senftenberg*. *Can. J. Microbiol.*, **24**, 883-885.
- Sandel, M.K., Wu, Y.-F.G. and McKillip, J.L. (2003) Detection and recovery of sublethally-injured enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*. *J. Appl. Microbiol.*, **94**, 90-94.
- Shahidi, S.A. and Ferguson, A.R. (1971) New quantitative, qualitative, and confirmatory media for rapid analysis of food for *Clostridium perfringens*. *Appl. Microbiol.*, **21**, 500-506.
- 副島隆志・長尾英二・井上雄二・福渡康夫 (2001) 耐熱性偏性嫌気性菌 (クロストリジウム属) の芽胞数測定法の改良. 日本食品微生物学会雑誌, **18**, 151-157.
- Straka, R.P. and Stokes, J.L. (1959) Metabolic injury to bacteria at low temperatures. *J. Bacteriol.*, **78**, 181-185.
- 杉谷 哲・高松茂夫 (1961) *Clostridium welchii* に汚染されたカマボコによる食中毒. 日本公衆衛生雑誌, **8**, 681-686.
- 植村 興 (2003) ウェルシュ菌. pp. 297-396, 食品衛生検査指針, 日本食品衛生協会, 東京.
- U.S. FDA (1995) Chapter 16 *Clostridium perfringens*. pp. 16.01-16.05, *Bacteriological Analytical Manual 8th edition*, AOAC International, U.S.A.
- Yan, Z., Gurtler, J.B. and Kornacki, J.L. (2006) A solid agar overlay method for recovery of heat-injured *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.*, **69**, 428-431.