

Japan
Food
Research
Laboratories

試験報告書

第 502100634-007 号
2003年（平成 15年）03月12日

依頼者 有限会社 アーク技研

検体 ARK菌

仮称：No.007

試験項目 細菌の分離・同定

2002年（平成14年）10月23日当センターに提出された
上記検体について試験した結果は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番

細菌の分離・同定

1 依頼者

有限会社 アーク技研

2 検体

ARK菌

仮称：No.007

3 試験目的

検体から優勢に分離される細菌について同定を行う。

4 試験概要

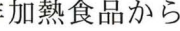
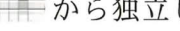
検体を寒天平板培地に直接接種・培養し、優勢に生育した形状の異なる集落をそれぞれ釣菌して分離菌a～dとした。

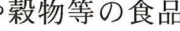
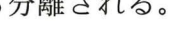
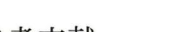
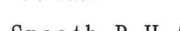
分離菌a～cについては形態観察、生理的性状試験及び菌体内DNAのGC含量の測定を行い、文献^{1)～5)}を参考にして同定した。

分離菌dについては形態観察、生理的性状試験、菌体内DNAのGC含量の測定を行うとともに、16S rDNAの塩基配列の解析を基に近縁種との系統樹を作成し、文献^{1)～4)}を参考にして同定した。なお、16S rDNAの塩基配列はABI PRISM™ 310NT Genetic Analyzer[Applied Biosystems]を用いて塩基配列を解析し、得られた配列をMicroSeq™ Analysis Software [Applied Biosystems]のデータベースと比較した。また、系統樹はMicroSeq™ Analysis Softwareを用いて近隣結合法(NJ法)により作成した。

5 試験結果

分離菌の同定結果を表-1に、性状試験結果を表-2及び3に示した。また、分離菌dの近隣結合法(NJ法)により作成した系統樹を図-1に示した。

なお、分離菌dについては470 bpの塩基配列が解読され、解析にはそのすべてを用いた。は腸球菌とも呼ばれ、ヒトや動物の腸管内に高い割合で存在しているグラム陽性球菌である。はヒトの糞便や、温血動物、変温動物等から分離されるが、非加熱食品からの分離例も多い。なお、属は1984年にから独立している⁶⁾。

は糖を発酵して主に乳酸を生成するグラム陽性桿菌で、乳製品や穀物等の食品、動物の腸管等から分離される。また、乳酸菌飲料など多くの発酵食品の製造に関わる菌群としても知られている。はヒト由来である。は乳製品、臨床材料などから分離される。なお、から新種として提唱された種だが⁷⁾、1996年にに戻すべきであるとの報文が出ている⁸⁾。は牛乳、チーズ、漬物、並びにヒトの口腔及び腸管から分離される。

6 参考文献

1) Sneath,P.H.A., Mair,N.S., Sharpe,M.E. and Holt,J.G. : “Bergey's Manual of Systematic Bacteriology” Vol.2, (1986) Williams & Wilkins.

2) Holt,J.G., Krieg,N.R., Sneath,P.H.A., Staley,J.T. and Williams,S.T. : “Bergey's Manual of Determinative Bacteriology” Ninth Edition (1994) Williams & Wilkins.

3) 光岡知足 : “腸内菌の世界” (1984)叢文社.

4) 辨野義巳 :微生物 6, 3-14(1990).

5) 厚生省生活衛生局監修 : “食品衛生検査指針-微生物編-” (1990)日本食品衛生協会.

6) Schleifer,K.H. and Kilpper-Bälz,R. : Int.J.Syst.Bacteriol., 34, 31-34 (1984).

7) Collins,M.D., Phillips,B.A. and Zanoni,P. : Int.J.Syst.Bacteriol., 39, 105-108 (1989).

8) Dicks,L.M.T., Du Plessis,E.M., Dellaglio,F. and Lauer,E. : Int.J.Syst.Bacteriol., 46, 337-340 (1996).

表-1 分離菌の同定結果

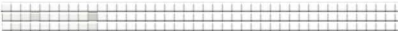
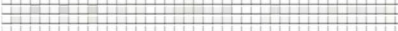
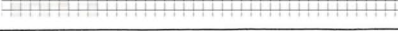
分離菌	同定結果
a	<i>Enterococcus</i> 
b	<i>Lactobacillus</i> 
c	<i>Lactobacillus</i> 
d	<i>Lactobacillus</i> 

表-2 分離菌aの性状

試験項目	試験結果
形態	■■■■■
グラム染色性	■■■
孢子	■■■
運動性	■■■
酸素に対する態度	■■■■■
カタラーゼ	■■■
グルコースからのガスの生成	■■■
生成乳酸	■■■
10℃での生育	■■■
45℃での生育	■■■
50℃での生育	■■■
6.5 %NaCl存在下での生育	■■■
pH9.6での生育	■■■
40 %胆汁存在下での生育	■■■
黄色色素の生成	■■■
アルギニンジヒドロラーゼ	■■■
馬尿酸の加水分解	■■■
エスクリンの加水分解	■■■
0.04 %亜テルル酸塩存在下での生育	■■■
0.1 %メチレンブルーミルクでの生育	■■■
酸の生成	
D-キシロース	■■■
L-ラムノース	■■■
シュークロース	■■■
ラクトース	■■■
メリビオース	■■■
ラフィノース	■■■
メレチトース	■■■
グリセロール	■■■
アドニトール	■■■
ソルビトール	■■■
マンニトール	■■■
菌体内DNAのGC含量(mol%)*3	■■■

*1 写真-1

*2 非典型性状

*3 HPLC法によった。

表-3 分離菌b～dの性状

試験項目	試験結果		
	b	c	d
形態			
グラム染色性			
孢子			
運動性			
酸素に対する態度			
カタラーゼ			
生成乳酸			
グルコースからのガスの生成			
グルコネイトからのガスの生成			
15℃での生育			
45℃での生育			
糖の発酵性			
L-アラビノース			
D-キシロース			
ラムノース			
ソルボース			
リボース			
グルコース			
マンノース			
フルクトース			
ガラクトース			
シュークロース			
マルトース			
セロビオース			
ラクトース			
トレハロース			
メリビオース			
ラフィノース			
メレチトース			
スターチ			
マンニトール			
ソルビトール			
エスクリン			
サリシン			
アミグダリン			
グルコネイト			
菌体内DNAのGC含量 (mol%)*5			

*1 写真-2

*2 写真-3

*3 写真-4

*4 非典型性状

*5 HPLC法によった。

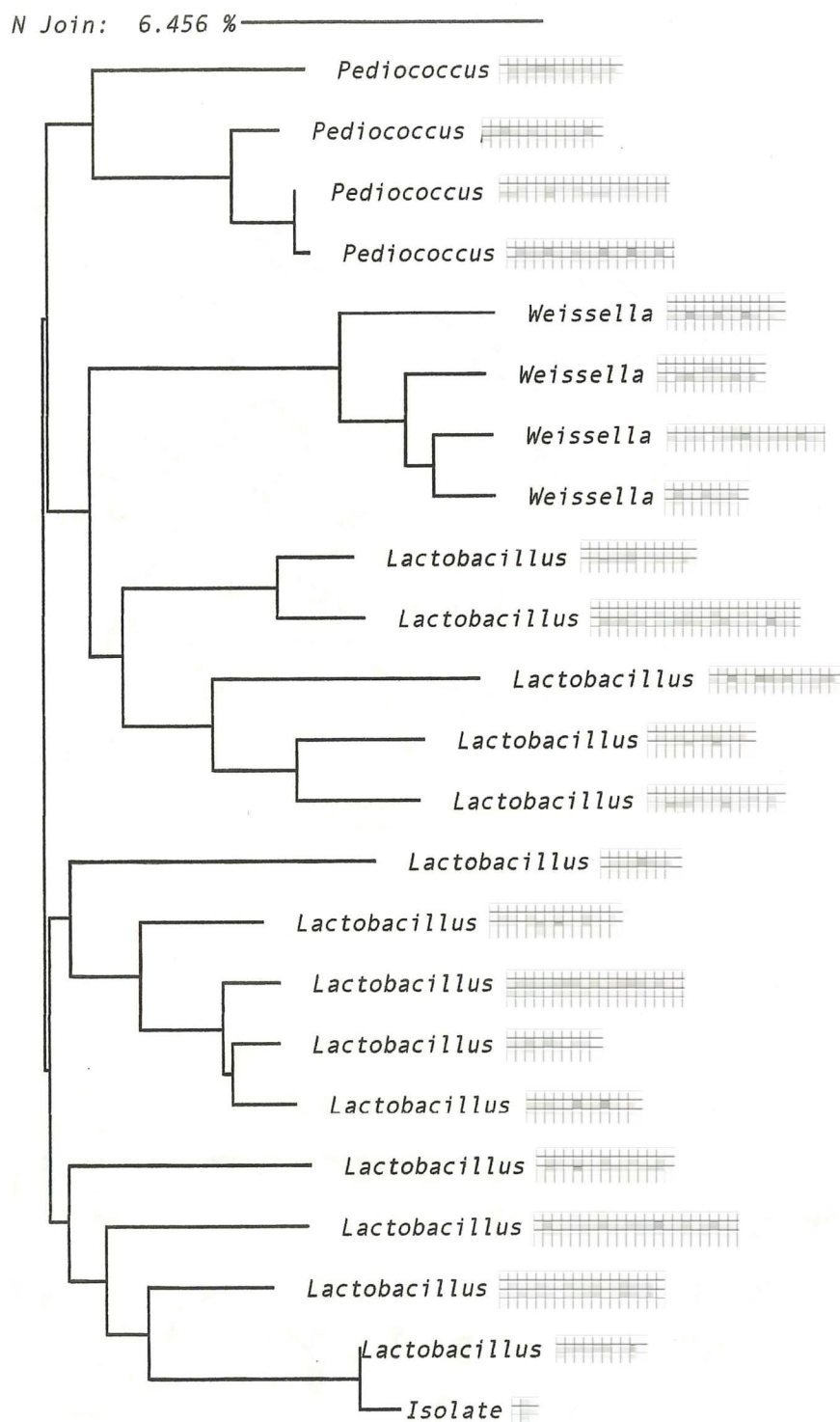


図-1 分離菌dとその近縁種の系統樹

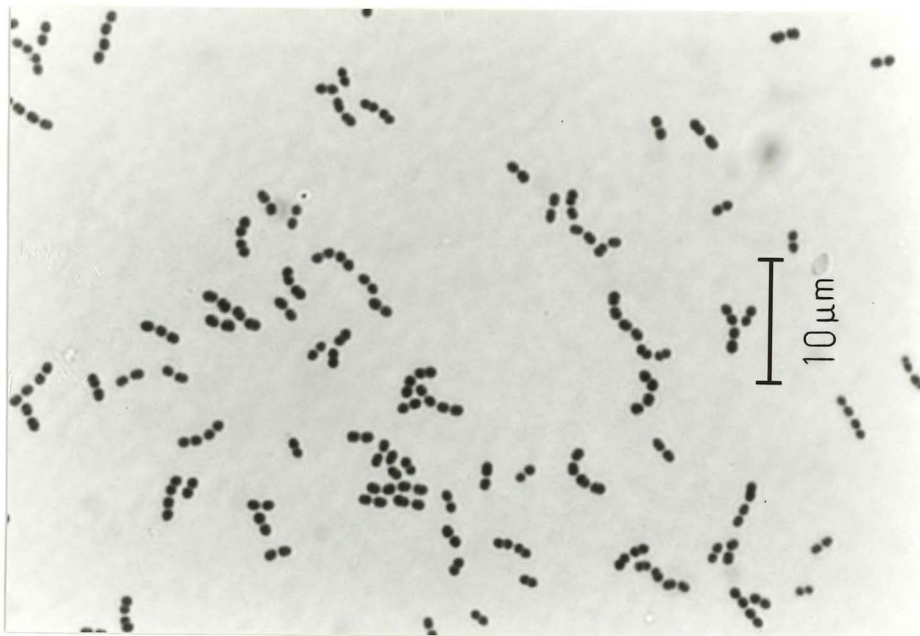


写真-1 分離菌の形態の一例



写真-2 分離菌の形態の一例

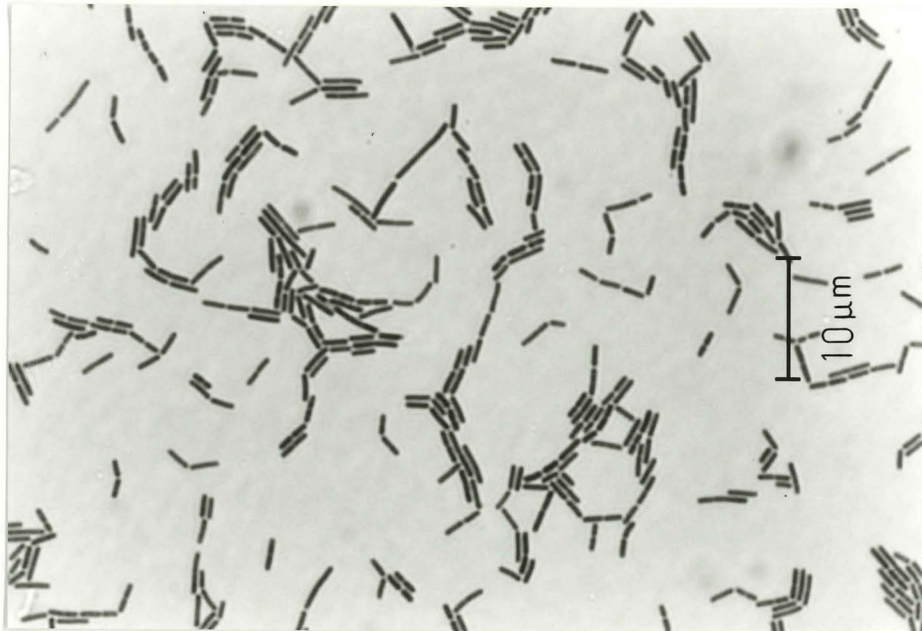


写真-3 分離菌の形態の一例



写真-4 分離菌の形態の一例

以 上