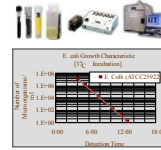


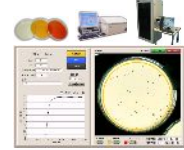
Growth Suppression Effect of Cocoa on *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium*

Hiroyuki Ogawa
MicroBio Corporation

■ SensiMedia Methodology
(Qualitative analysis)



■ Digital Microscope Methodology
(Quantitative analysis)



1. Introduction

The effect of cocoa was studied for microbial growth as polyphenole is said to be the immune system for plants.

Microorganisms Under Test were chosen from gram-staining classified group among food poisoning ones.

Gram-Positive : *Staphylococcus aureus*

Gram-Negative: *Salmonella typhimurium*

To observe the effect clearly, the systems, that can express the microbial growth in numerical value, were used.

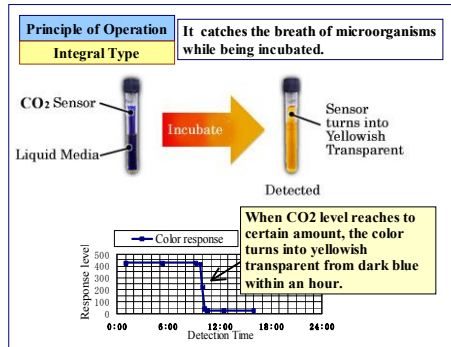


www.microbio.co.jp

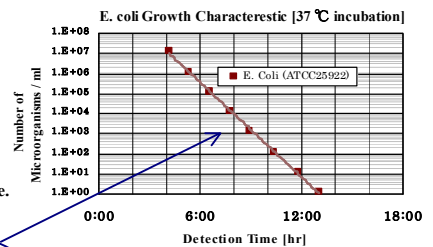
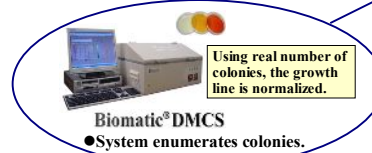
2. Experiment A

2.1 Set-up A

To clearly verify its effect, the microbial growth was expressed in a graph, using dilution-series samples of microorganisms in liquid culture media, and the time microorganisms took to produce a certain amount of carbon dioxide in each test tube was measured.



Biomatic® 20
● System monitors CO₂ sensor every minute.



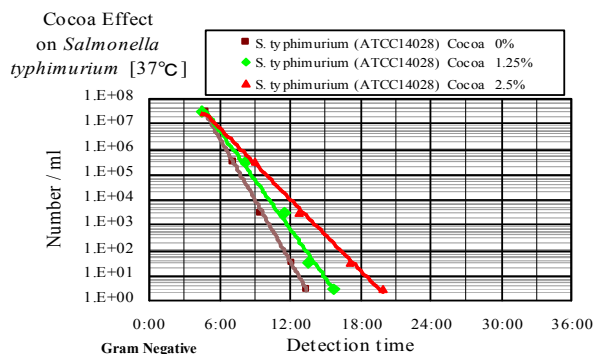
Dilution Series

1 → 1/10 → 1/100

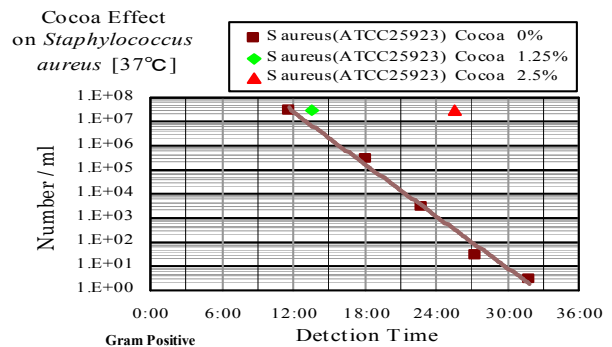
Characterization can be performed with sets of dilution series.

2.2 Result A

It was clearly observed that as the amount of cocoa, a composition of culture media, increases from 1% to 2%, the growth of *Salmonella typhimurium*, a gram-negative microorganism, was suppressed accordingly.



In the case of *Staphylococcus aureus*, a gram-positive microorganism, as the amount of cocoa increases from 1% to 2%, the growth of the microorganism was suppressed entirely or even killed completely when cocoa concentration exceeded 3%. This particular *Staphylococcus aureus* was methicillin-resistant so it was verified at the same time that the growth of MRSA was also suppressed.



3. Experiment B

3.1 Set-up B

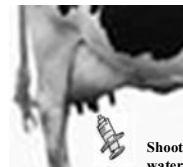
Based on the result of experiment A, it was determined that cocoa might be effective for treating cow mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. Therefore, 40ml of sterilized 3% cocoa water solution was injected once a day into a cow suffering from mastitis.



cow with mastitis caused by *Staphylococcus aureus*.



Milk completely from the mastitis breast



Shoot 40ml of sterilized 3% cocoa water solution into the breast.

3.2 Result B

It was observed that the symptoms of mastitis disappeared after two days of treatment with Cocoa solution.

4. Conclusion

Conclusion from Experiment A and B

- Cocoa is very effective to suppress the growth of *Staphylococcus aureus*, including MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.
- Cocoa suppress the growth of *Salmonella typhimurium* slightly.
- Cocoa can be used to cure cow mastitis caused by *Staphylococcus aureus*.

Future Study Theme

- MRSA Antiseptic
- *Staphylococcus aureus* food poisoning preventive medication
- Effect of Cocoa on Gram Positive and Negative microorganisms in wide range
- Medicine for Cow Mastitis caused by Gram Positive microorganisms, using Cocoa.

黄色ブドウ球菌とサルモネラに及ぼす ココアの増殖抑制効果

小川 廣幸
マイクロバイオ株式会社

1. はじめに

ポリフェノールは植物の免疫機能と言われているので、細菌の増殖についてココアの影響を研究した。

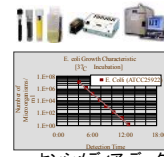
試験用細菌は、食中毒菌でグラム染色で分けられるものから選定された。

グラム陽性: *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌)

グラム陰性: *Salmonella typhimurium* (サルモネラ)

効果が明確に観察できるように、細菌の増殖が数値で表現できるシステムを使用した。

■ センシメディア法
(定性試験)



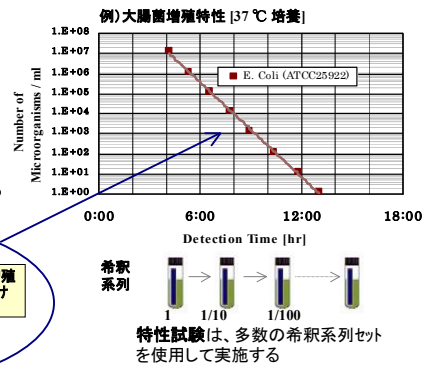
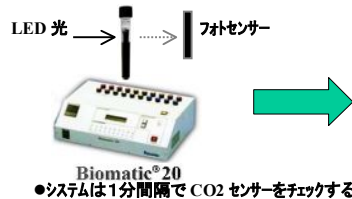
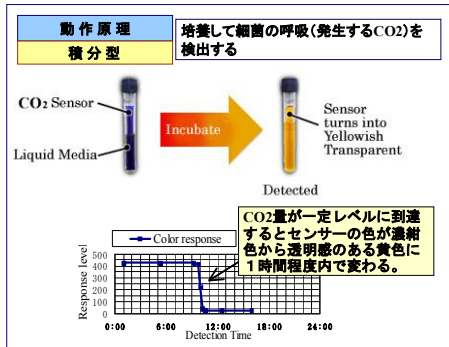
■ デジタル顕微鏡法
(定量試験)



2. 実験 A

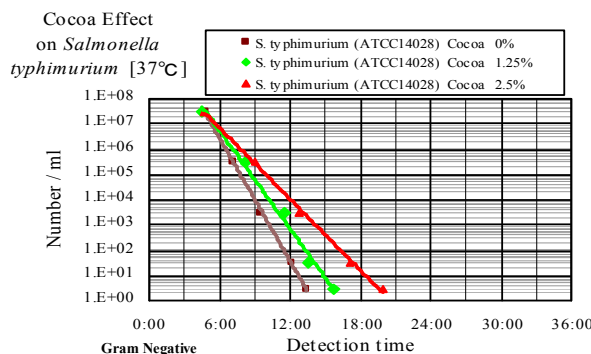
2.1 設定 A

効果を明確に検証するため、試料菌入り液体培地の希釈系列を使用し、各試験管に発生する二酸化炭素が一定量に達する時間を計測して菌の増殖をグラフで表現した。

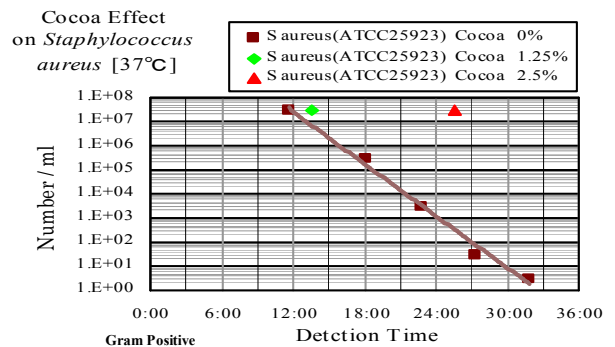


2.2 結果 A

グラム陰性菌であるサルモネラの増殖は、培養液中のココア成分が1%から2%に増加することに応じて抑制されることが明確に確認できた。



グラム陽性菌である黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus Aureus*) の場合は、培養液のココア成分が1%から2%に増加すると増殖が全面的に抑制され、3%を超えると完全に殺菌されることが確認された。実験に使用した黄色ブドウ球菌はメチシリン耐性菌(Methicillin-Resistant)だったので、MRSA の増殖が抑制されることも同時に確認できた。



3. 実験 B

3.1 設定 B

実験Aの結果に基づき、黄色ブドウ球菌により引き起こされた乳牛の乳房炎の治療にココアが有効であろうと結論づけられたので、滅菌されたココア3%の水溶液を乳房炎の牛の乳房に一日一回40mlを注入した。



3.2 結果 B

ココア溶液による治療を始め2日後には乳房炎の症状が消えたことが確認された。

4. 結論

実験 A と B からの結論

- ココアは、MRSA(メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)を含む黄色ブドウ球菌の増殖抑制に非常に有効である。
- ココアは、サルモネラの増殖を僅かに抑制する。
- ココアは、乳牛の乳房炎の治療に利用できる。

今後の研究課題

- MRSA の殺菌剤
- ココア成分によるブドウ球菌食中毒の予防
- 広範なグラム陽性菌と陰性菌におけるココアによる増殖抑制効果
- グラム陽性菌によって引き起こされた乳牛の乳房炎のココア成分による治療薬