



検査技術研修会での質問から

佐川 未 弥

(公益財団法人日本乳業技術協会 〒102-0073 東京都千代田区九段北 1-14-19 乳業会館 1F)

受講者の皆様から寄せられた質問事項のいくつかについて、質疑応答形式でご紹介いたします。日々の試験検査のご参考になれば幸いです。

シャーレについて

Q：自社で微生物検査に使用しているシャーレは割れやすいので、研修会で使用しているような丈夫なシャーレを使用した方が良いでしょうか。

A：規格検査をはじめとした公的な検査では、JIS 規格 (JISK0950 : 1988) で定められている形状のものの使用が推奨されています。また、乳および乳製品の成分規格等に関する命令 (乳等命令) ではサイズについての規定があります。しかし、製造現場における自主検査で使用するシャーレの選択は任意ですので、目的に応じて使い分けると良いでしょう。

Q：培養の際、シャーレを倒置するのは何故ですか。

A：シャーレの内側に発生した水滴による寒天培地表面への落下によって起こる培養コロニーの融合や、蓋に付着している雑菌による培地の汚染防止、培養中の培地の水分の過剰な蒸発を防止する等のため (本体自体の重みでより密着度が上がる) に倒置します。

大腸菌群試験法について

Q：牛乳の大腸菌群検査で、BGLB 培地とデソキシコーレイト寒天培地はどちらを選択すべきですか。

A：公定法である、「乳および乳製品の成分規格等に関する命令 (乳等命令)」に定められている「乳および乳製品の大腸菌群の測定法」では、BGLB 培地を使用することとされていますが、一般社団法人日本乳業協会の見解 (平成 22 年 7 月 30 日) では、

①乳類の大腸菌群判定におけるデソ法 (デソキシコーレイト寒天培地を用いる平板培養法) は、昭和 52 年に東京都衛生局長通知において自主検査の一部に規定され、デソ法は大腸菌群推定試験によるスクリーニング検査と規定されていること。

②昭和 31 年の研究報告において、BGLB 法とデソ法の大腸菌群等を用いた検出比較試験結果から、デソ法が BGLB 法と同等以上の性能であり、公定法として採用し得る方法であると結論づけられていること。

③乳等命令の BGLB 法は外部認証の方法であり、それと同等の性能を確認した上でのデソ法は、自己の責任に基づく自主管理における方法であること。

これらの理由から、出荷前検査として大腸菌群の検査法にデソ法を採用するかどうかは自己責任に基づく事業者の判断によるものと考えます。としています。上記をふまえ、用途と目的に応じ試験法を選択すると良いでしょう。

抗生物質試験法について

Q：培養時間は何時間が良いですか。

A：生乳検査法の標準法である「生乳検査マニュアル」では、3～5時間の培養とされています。これは、阻止円を見ることができるのに必要な数の菌が発育する時間が3時間からであることに由来しますが、引用元の試験法（IDF法）では5時間培養とされていることから、試験法を導入する際には、3時間培養と5時間培養の両方の条件で、ペニシリンコントロールにはっきりと阻止円が形成されることを確認することを前提とした上で、阻止円の形成状態に差がないことを確認してから実施することが望ましいです。

Q：検体の阻止円がペニシリンコントロールの阻止円より小さい場合は「陰性」として良いのでしょうか。

A：その場合の表現は「基準値以下」となります。試験結果で「陽性」「陰性」とするのは、試験法の中に陽性の定義、陰性の定義がある場合のみです（大腸菌群の例では、「ガスが産生しなかったら陰性とする」など）。

Q：保存菌株の植え継ぎの期間はどのくらいですか？

A：使用している菌は芽胞菌であり、菌体内に強固な芽胞膜を形成するため熱や乾燥に強く、なかなか死滅することは無いため、頻繁な植え継ぎは必要ありませんが、植え継ぎの頻度については社内でルールを決めて適宜行ってください。なお、検査に供する際は、植え継ぎの頻度を上げて活性を高めてから用いるようにしてください。

Q：ペニシリンコントロールの保存期間についてはどのくらいですか。

A：標準原液は-20℃保存で1年間安定であることとされています（厚生労働省 飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の検査法 ベンジルペニシリン試験法（畜水産物）参照）。ただし、希釈したものについてはその都度破棄し、使用時に調製することが必要となります。保存期間については明確な取り決めはありませんので、各試験室でルール（阻止円が充分確認できる等）を定めて運用してください。

Q：ペニシリンコントロールを調整する時に使用するピペットは、ホールピペットではなく、2.2 mL牛乳用ピペットでもよいですか。

A：決められた容量を正確に採る必要があるので、牛乳用ピペットは不可となります。ホールピペットもしくは精度管理されたマイクロピペットの使用が推奨されます。