



試験検査室における培地類の 望ましい取り扱い方

国立医薬品食品衛生研究所

小沼博隆

食品を取り巻く環境は、近年の輸入食品の増加、多種多様な加工食品の出現など、食品の安全性に関する問題は複雑化し、腸管出血性大腸菌O157、サルモネラエンテリティディス、クリプトスポリディウムなど病原微生物の検査の重要性が増大しているのが現状である。それに伴って、病原菌を正確、迅速・簡易に検査、判定できる方法や検査培地・試薬およびキット類も増加してきている。また、最近の試験検査の内容は高度化すると同時に、その信頼性確保は国際的にも重要視され、FAO/WHO合同食品規格委員会において、精度管理、検査業務管理等の標準的手法がISO、AOAC Internationalなどと共にとりまとめられるなど、試験検査の分野においても世界的調和が望まれるようになってきた。そのため、厚生省は検査の信頼性確保に関する基準(業務管理基準)を定め、指定検査機関では平成8年4月1日、国では平成9年2月1日、地方公共団体では平成9年4月1日から施行した。微生物学的検査における精度管理の主な内容は、食品検査の実施にあたっては、当該食品に標的微生物を接種した陽性対照試験品、陰性対照試験品および培地対照(未使用の調製した培地、希釈液、血清等)をおき、精度管理に必要な目標値を設定し、回収率と検出限界値を平均値や標準偏差を求めて確認しておくことにある。

このような現状の中で、実務担当者が最初に心配する問題は培地類の性能や保存中の安定性が保証されているのか否かである。すなわち、メーカー別、ロット別、組成内容(精製度・純度)、あるいは保管条件(期間・温度・湿度・光線・他)等による性能と安定性の良否である。しかしながら、培地類の性能試験に関する公的な規格は特定培地を除き見あたらないのが現状である。そこで、本稿では試験室内で実施可能な培地類の適切な取り扱いについて紹介する。

①製造メーカーの選択

培地類の購入に際しチェックしたいのは、品質保証書、試験成績書(規格試験)等の貼付の有無、ロットの明記、使用期限の根拠の確認および保管方法の記載などである。

②培地の保管

培地は、大半の実験室では市販の乾燥培地が使用されている現在、その保管は論議の対象になっている。使用期限は培地メーカーが独自に設定し表示している。Standard Methods for The Examination of Water and Waste-water, 19th. (1995)では、未開封培地では室温で2年間、開封したものでは6ヶ月間以内の保管が推奨されている。

③培地の調製

調製した培地の無菌性の確認には、空培養(混釈培養法では希釈液の無菌性確認を含めた空培養、寒天平板では、上記に加え、平板作製時に平板乾燥を兼ねて18~24時間空培養)があらかじめ必要ではあるが、実際にはコントロール試験を同時進行させて代用している場合が多い。そのほか、無加熱殺菌溶液(添加試薬)サプリメントの添加による微生物汚染や、選択物質の分解等が重要な問題となる。

④培地の性能

培地の性能に関しては菌の発育支持能力と阻止性(選択性を含む)が問題となる。基本的には検体や特定微生物を接種・培養し、生育状態や色調の変化等を比較することである。このような考え方は特に医薬品の微生物試験で取り入れられているが、重要なことは検体が培地に接種さ

れた状態での発育支持能力あるいは阻止性の確認である。食品でも菌に阻害的に作用するもの(濃縮コーヒー、ロイヤルゼリー、ワサビ、カラシ等)やpHを極端に変化させるもの(濃縮果汁、梅干し、ラーメンの麺)があるので、このような食品検体や初めての検体については培養直前の状態の発育支持阻害試験を実施する必要があると考えられる。培地のメーカーやロットが変わった場合でも培地自体の性能試験は比較実験を含めて実施することが望ましい。

⑤使用水

使用水の問題も重要であり、AOAC QAfor Microbiological Laboratories Short Course Manual(1995)でも、Standard Methods for The Examination of Water and Waste-water, 19th. (1995)の試験法を紹介している。この試験法は水自体の分析に加え、特定菌を使用して増殖や阻害の有無を試験するものである。

⑥滅菌

滅菌の確認には温度の実測に加え、インディケーターが使用されている。また、滅菌の容量も問題である。なお、オートクレーブはメーカーによる定期的な点検修理が必要であり、滅菌温度、時間、圧力調製弁の点検、交換などを行う必要がある。

⑦培養

培養も温度管理が必要である。インキュベーターの点検に加え、温度記録を行って培養中の温度と時間の確認が必要になる。

⑧施設・装置の点検

無菌室やクリーンベンチが該当し、落下菌、空中浮遊菌あるいは付着菌などが問題となる。

以上のことから、培地の性能試験を実施するためには、現実的にはメーカーが出荷に際して貼付する試験成績書(品質<性能>保証書)にたよる部分が多いが、将来的には培地類であっても公定法として承認される場合は、AOAC Internationalで行われているようなCollaborative Study(研究室間共同研究と略)を組み入れたバリデーションプログラム【表1】に従った性能評価試験成績が必要になると思われる。

●表1 AOAC公定法の承認プロセス

		研究室間 共同研究参加ラボ	準レフェリー (自発的又総レフェリーより任命)	総レフェリー	統計学委員	安全性 相談役	各委員長	公定法評議員会
予備研究室間 共同研究	プロトコール*		プロトコール*の提出 →	審査 →	審査 →	審査 →		
			修正** ←					
			再提出 →	承認 →	承認 →	承認 →	承認 →	
	実際の共同研究	試験実施	結果の分析、レポート作成					
本研究室間 共同研究	プロトコール*		プロトコール*の提出 →	審査 →	審査 →	審査 →		
			修正** ←					
			再提出 →	承認 →	承認 →	承認 →	承認 →	
	実際の共同研究	試験実施	結果の分析、レポート作成					審査、承認、公式ファーストアクションとして採用 (初回決定公定法)
			提出 →	審査 →	審査 →	審査 →		
			修正** ←					
			再提出 →	承認 →	承認 →	承認 →	承認 →	

*計画書、**修正、審査のプロセスが承認されるまで繰り返される