



栄研化学における培地の性能試験

栄研化学株式会社 微生物グループ 品質管理 小林二一

近年、わが国では細菌性の食中毒の頻繁な発生が問題になっています。特に腸管出血性大腸菌O157が原因となった食中毒はここ数年増加傾向が見られます。このような背景で、食品業界に対して食品の安全性、流通の安全管理が強く要望されるようになりました。

食品の微生物検査は、食品衛生検査指針などの公定法に基づいた検査の実施が基本となっていますが、それぞれの検査対象、目的などにより個々の施設ごとの自主検査が行われているのが実状です。これらの検査には、種々の培地が用いられますが、これらの培地の性能が検査結果を左右することから厳密に管理された培地を使用する必要があります。ここでは、こうした培地の性能の試験法、管理法の概要について紹介します。

培地の精度管理法として日本薬局方に「微生物限度試験法」や「無菌試験法」に培地の性能試験の方法が記載されていますが、培地の製造・販売を行う立場では、これらの試験法を含め、より厳しい規格で管理し、また個々の培地の特性にあった性能試験を行っています。一方、培地性能の基本ともいえる原料からの性能試験を実施しています【表1】。

表1 性能試験項目および社内規格

性能試験項目		外 観	溶 状	水 分	pH	ゼリー強度	培養試験
原料試験		○	○	○	○	○ (寒天)	○
製品試験	寒天	○	○	○	○	○	○
	ブイヨン	○	○	○	○	×	○

社内規格/原則的に日本薬局方に記載されている品目は、日本薬局方を準用して規格にしております。但し、日本薬局方に記載されていない場合は当社内で規格設定を行っています。

培地の原料にはペプトン類、エキス類、寒天、胆汁酸塩など天然物由来のもの、塩類、炭水化物、アミノ酸、色素類など化学合成品があり、それぞれ社内で設定した規格をもとに受け入れ試験を行っています。これらの試験項目には色調や溶状などの外観試験、水分量、pH、寒天についてはゼリー強度など物理化学的試験と培養能の試験などがあります。このような試験の結果、社内規格を満たした原料が製造に用いられています。製品の性能試験は原料と同様の試験が行われますが、それぞれの培地の特性にあった培養能試験が実施されます。寒天培地とブイヨン培地とで試験項目が異なりますが、概要は以下の通りです。

①外観

色調及び培地形状、異物混入のないことを確認します。原料、培地の種類により吸光度計や色差計が用いられます。

②溶状

使用方法に準じた溶解性・色調を確認します。

③水分量

赤外線水分計(ケット式)により水分量を測定します。

④pH

ガラス電極法によりpHを測定します。

寒天培地は蒸留水で5倍希釈、ブイオン培地は希釈なしで測定します。

⑤ゼリー強度

寒天培地のみ実施します。使用法に従って培地を作製し、レオメーターにてゼリー強度を測定します。

⑥培養能

社内指定検定菌を用い、寒天培地の場合はミスラ法(Miles & Misra法)及び混釈法にて発育支持力及び生菌数測定と培養性状(コロニー色・形状・抑制力)を確認します。ブイオン培地の場合は指定量の試験菌を接種し、濁度法にて発育支持力及び抑制力を確認します。特に日本薬局方に記載されている培地は、日本薬局方の規格に準じた試験を実施し、その規格を満たすよう管理しています。その他は社内規格を満たしたものを合格とします。培養操作法について説明します。

[a]ミスラ法(Miles & Misra法)

- 1) 試験する培地は平板培地とし、表面をよく乾燥させます。
- 2) 試験菌株を液体培地に培養、あるいは懸濁して所定の濁度に調製します。
それを滅菌生理食塩液で連続希釈し、7段階の10倍希釈系列の菌液を作製します。
- 3) マイクロピペットあるいは注射針を用いて、各希釈の菌液を20 μ Lずつ試験する培地表面に滴下します。通常、培地の中心とその周囲に均等に6カ所、計7カ所に滴下接種することになります【図】。
- 4) 接種菌液が完全に培地に吸収したのち所定の条件で培養し、接種した試験菌の発育の状態を判定を行います【図】。判定は対照培地との比較で行います。

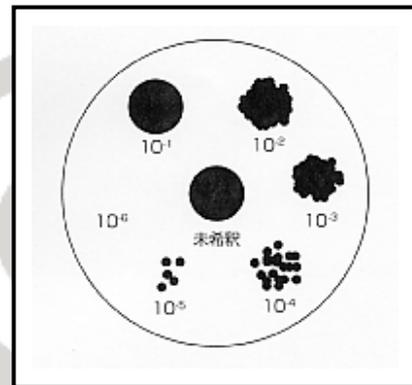


図 ミスラ法による試験法

[b]混釈法

- 1) 試験する培地を使用法に従って調製し、約50 $^{\circ}$ Cに保温します。
- 2) 所定濃度の試験菌懸濁液を入れたシャーレに培地を約20mL加え、菌液を均等に攪拌し平板に固めます。
- 3) 所定の条件で培養後、発育状態を観察、判定します。

[c]濁度法

- 1) 試験する液体培地を試験管に調製します。
- 2) 試験菌株を液体培地で培養あるいは懸濁して所定の濁度に調製します。それを生理食塩液で連続した10倍希釈系列の菌懸濁液を作製します。
- 3) 所定量の各希釈菌液を接種し、所定の条件で培養します。
- 4) 試験菌の発育を濁度で判定します。

⑦容器表示確認

ラベル表示内容の確認、製品のロット番号及び使用期限の確認。(使用期限表示は一部指定製品) 前述したように、培地の原料の多くは天然物由来で安定した品質のものを継続的に確保するのが困難なものもあります。従って、受け入れ試験を厳密に行い、大量の原料を保有することでロット差を最小に抑えるよう努力しています。当社の培地の性能試験結果は、自家試験成績

書添付及び使用期限表示を食品検査関係培地に昨年より実施し、品質保証を行っております【表2】。

尚、培地性能を確保するためには製品の使用方法に従って正しく用いることが必要です。例えば、培地の保管法・培地の溶解法・培地の滅菌法・調製した培地の保存法・平板培地表面の乾燥法などの取扱いを理解して使用することが重要です。更には検体の処理方法を理解して実施することも重要と考えます。これらに関する参考資料として、弊社では栄研マニュアル及び食品微生物検査マニュアルなどを発行していますので、これらを参考にして頂ければ幸いです。

表2 自家試験成績書添付培地

	製品コード	製品名	包装
1	E-MA13	EMB培地‘栄研’	300g
2	E-MA27	TSI寒天培地‘栄研’	100g
3	E-MA32	SIM培地‘栄研’	100g
4	E-MA34	シモンズ・クエン酸ナトリウム培地‘栄研’	100g
5	E-MA46	テトラチオネート液体培地‘栄研’	100g
6	E-MA47	XLD寒天培地‘栄研’	300g
7	E-MA49	乳糖ブイヨン培地JP‘栄研’	100g
8	E-MA87	パールコア®マッコンキー寒天培地‘栄研’	300g
9	E-MB25	ラパポート培地‘栄研’	70g
10	E-MB61	パールコア®デスオキシコーレイト培地‘栄研’	300g
11	E-MB63	パールコア®BGLB培地‘栄研’	300g
12	E-MB65	パールコア®標準寒天培地‘栄研’	235g
13	E-MC13	トリプトソイブイヨン培地‘栄研’	100g
14	E-MC26	NAC寒天培地‘栄研’	100g
15	E-MC29	キングA培地‘栄研’	100g
16	E-MC30	キングB培地‘栄研’	100g
17	E-MC33	ブドウ糖リン酸ペプトン培地‘栄研’	100g
18	E-MC83	パールコア®トリプトソイ寒天培地‘栄研’	300g
19	E-ME11	フォーゲル・ジョンソン寒天培地‘栄研’	100g
20	E-ME21	パールコア®マンニット食塩培地‘栄研’	300g
21	E-MF03	サブロー寒天培地‘栄研’	300g
22	E-MF21	パールコア®ポテトデキストロース寒天培地‘栄研’	300g
23	E-MIO7	チオグリコレート培地‘栄研’	300g
24	E-MI12	チオグリコール酸培地Ⅱ‘栄研’	300g
25	E-MA52	BCMO157寒天培地‘栄研’	100g