



# 微生物学的検査における制度管理 —精度管理用試料を中心として—

(財)東京顕微鏡院 食品・環境科学センター 中川 弘

## 1はじめに

食品衛生法に基づき厚生大臣から指定された食品衛生指定検査機関は、同法第19条の4に基づく業務管理基準に合致した精度管理(GLP)を実施しなければならない。そのため各指定検査機関においては、平成9年に厚生省から通知された「検査等の業務管理要領」および「精度管理の一般ガイドライン」に基づき種々の精度管理を実施している。

本稿では、微生物学的検査における精度管理のうち、細菌数検査の精度を確保するための基礎となる菌液の調製法および保存法ならびに食品への添加試験について、食品衛生指定検査機関協議会の微生物作業部会での検討事例とあわせて、栄研器材から販売されている生菌数測定内部精度管理用の「枯草菌芽胞液」の安定性について紹介する。

## 2. 微生物学的検査における精度管理

平成9年4月1日衛食第117号の「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」によると、微生物学的検査における精度管理としては、検査を行う際に、通常検査に供する食材を用い、一般細菌数などの通常検出される微生物と大腸菌群あるいは黄色ブドウ球菌など、通常検出されない微生物を対象とした試験の実施が定められている。そして一般細菌数などの通常検出される微生物は、食材中に基準値程度(一般的には $10^5/g$ から $10^6/g$ )と基準値の1/5程度に調整した2種類の菌量について試験を行うこととされている。

一方、通常検出されない微生物を対象としたものについては、検出下限値の5倍程度の濃度に菌量を調製した試験品を用い試験を行うこととされている。

## 3. 細菌数を目的とした精度管理用試料の検討

精度管理用試料として求められる条件としては、使用方法が簡易で長期間安定していることである。このテーマの第一歩として、先天性代謝異常測定試薬(*Bacillus subtilis*の芽胞が $10^9$  cfu/mLに調製されている)を精度管理用試料として応用できないかという点について前述の微生物作業部会のメンバー10施設(AからJ)で検討を行った。検討方法としては、各検査機関で先天性代謝異常測定試薬を $10^6$  cfu/mLに調製し、冷蔵(5°C前後)および冷凍(-20°C前後)で保存し、調製直後から保存後1ヶ月ごとに保存6ヶ月まで細菌数の測定を行った。細菌数の測定は国内で一般に使用されている2種類の標準寒天培地(甲および乙)を用いた。その結果、冷蔵あるいは冷凍の保存条件に関係なく安定しており、使用した標準寒天培地による有意な差のない結果が得られた(図1, 図2)。さらに前述の芽胞液を用い、食品への添加回収試験を平成10年度の食品衛生指定検査機関の特殊技術研修会でを行った。特殊技術研修会は8班の班構成であった。8班のうち1班がガイドラインに示されている70%から120%の回収率から外れた結果であったが、その有用性が確認された(表1)。しかし、保存試験や添加回収試験に用いた試薬は本来の使用目的ではないため、精度管理用の枯草菌芽胞液が栄研器材より販売された。この精度管理用試薬には枯草菌の芽胞が $10^7$  cfu/mLに調整されている。当院で冷凍(-20°C)、冷蔵(5°C)、室温(25°C)の保存条件で調製直後から1ヶ月ごとに4ヶ月間菌数の測定を行った結果を表2に示した。冷凍保存した試料は若干の菌数低下が認められたが、冷蔵あるいは室温で保存した試料はほぼ $1.0 \times 10^7$  cfu/mLの安定した菌数であった。

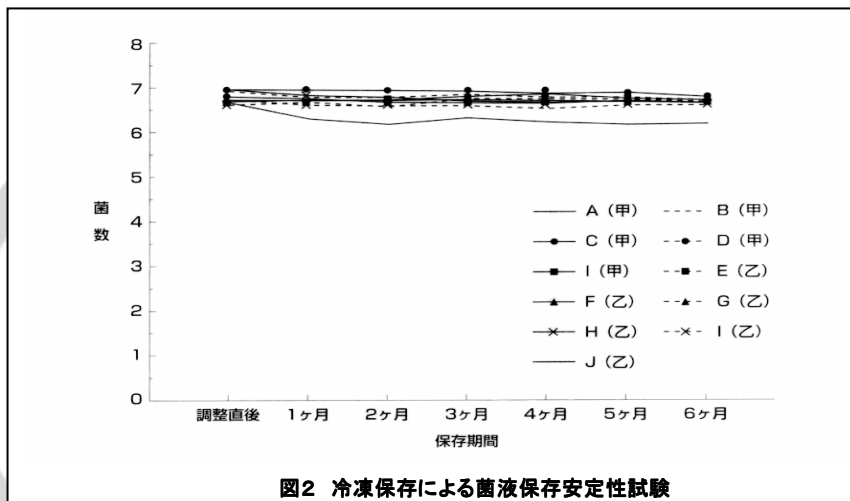
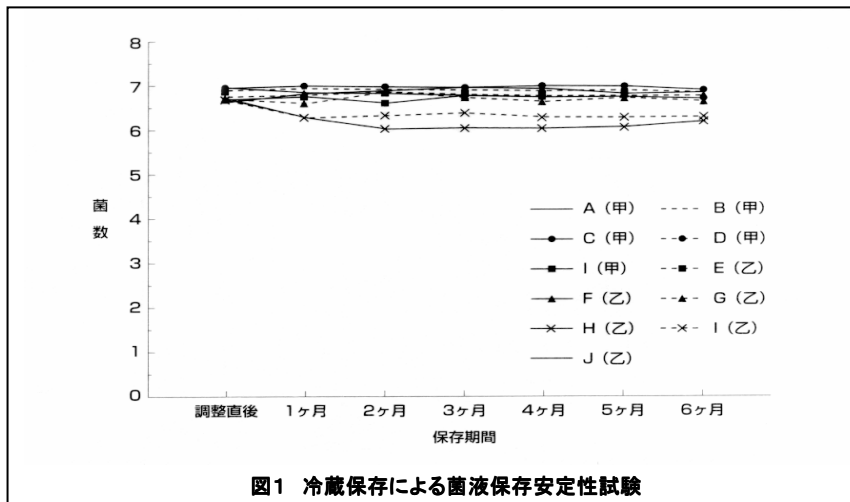


表1 平成10年度特殊技術研修会実習結果

班	菌液の菌数(CFU/g)	菌液添加食品の生菌数(CFU/g)	回収率(%)
A	$1.1 \times 10^6$	$1.1 \times 10^5$	100.0
B	$1.5 \times 10^6$	$1.1 \times 10^5$	73.3
C	$1.1 \times 10^6$	$1.1 \times 10^5$	100.0
D	$9.1 \times 10^5$	$9.5 \times 10^4$	104.4
E	$8.6 \times 10^5$	$9.0 \times 10^4$	104.7
F	$8.0 \times 10^5$	$9.7 \times 10^4$	121.3
G	$9.4 \times 10^5$	$9.4 \times 10^4$	100.0

\* : 菌液添加食品の生菌数の平均 ÷ (菌液の生菌数の平均 / 10) × 100

表2 枯草菌芽胞液の安定性

保存期間	冷凍(-20℃)	冷蔵(5℃)	室温(25℃)
直後	$1.1 \times 10^7$	$1.1 \times 10^7$	$1.1 \times 10^7$
1ヶ月	$8.2 \times 10^6$	$1.1 \times 10^7$	$1.2 \times 10^7$
2ヶ月	$8.1 \times 10^6$	$1.1 \times 10^7$	$1.1 \times 10^7$
3ヶ月	$8.2 \times 10^6$	$9.7 \times 10^6$	$1.0 \times 10^7$
4ヶ月	$8.9 \times 10^6$	$1.0 \times 10^7$	$1.1 \times 10^7$

#### 4. 今後の課題

細菌数を目的とした精度管理用試料を中心に精度管理について述べたが、各種食材による回収率や大腸菌群など通常検出されない微生物を対象とした精度管理用試料の検討は不十分であり、今後の課題として残されている。精度管理とは、試験品の受付けから結果提出の各過程で正しく試験検査が行われたことが確認でき、それを記録することである。紙面の制約があり微生物検査標準作業書や試薬管理、培地管理、機器管理などについては触れることができなかったことをお詫びする。

