



食中毒検査の注意点 ～培地塗布条件の観点から～

長野県環境保全研究所 感染症部

主旨

- 食中毒の検査について、「食品衛生検査指針 微生物編」や、各種文献を参考にしながら、当所で作成した検査実施標準作業書（SOP）に沿って実施している。しかし、マニュアル等に記載されていない培地への菌液塗布方法により検査手技による検出率のばらつきが生じることが考えられる。
- 当県では、食中毒検査時の培地への菌液塗布方法は、「菌液が培地に吸収されるまで塗り込む」と定型的に引き継がれている。
- マニュアル等に記載が無い、培地への菌液塗布について、塗布の強さと塗布時間の長さを変化させたときの検出菌数を比較したため、報告する。

検証内容

- 1 塗布の強さによる菌数変化の比較
- 2 塗布時間の長さによる菌数変化の比較

統計の検定を行い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

※すべての検証において事前にクリーンベンチで培地を5分間乾燥させた。

試供菌株と使用培地

- 大腸菌 (ATCC11775)
XM-G寒天培地
- セレウス菌 (ATCC11778)
X-BC寒天培地
- 黄色ブドウ球菌 (ATCC6538)
X-SA寒天培地

※培地については、菌数を測定することが目的のため、コロニーの外観が明瞭な酵素基質培地を用いた。

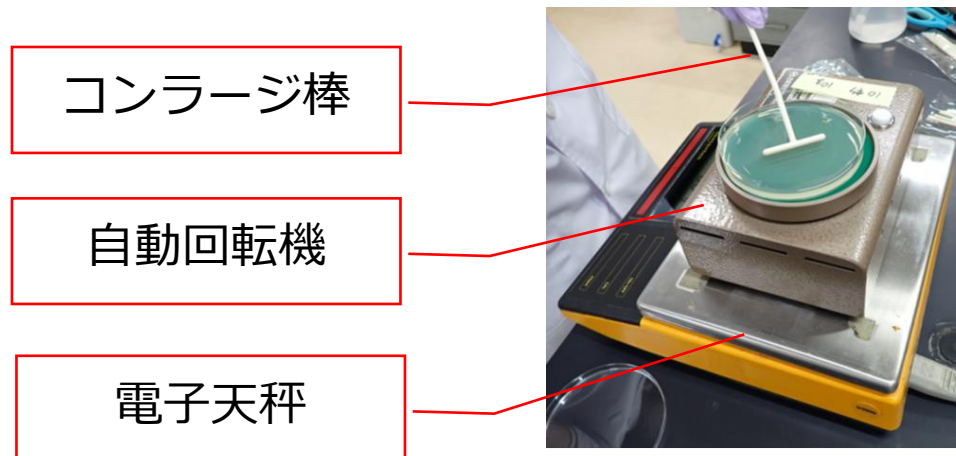
使用器具等

- コンラージ棒 (日水製薬)
- 電子天秤 (ザルトリウス)
- 自動回転機 (日本理化学器械)
- タイマー

1 塗布の強さによる菌数変化の比較

<方法>

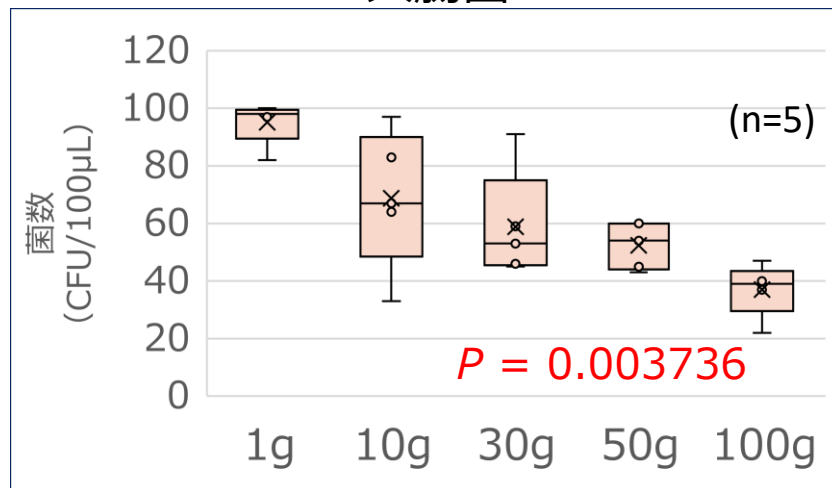
- ① それぞれの菌を $\times 10^3$ CFU/100 μ L程度に調製し試供菌液とした。
- ② 試供菌液100 μ Lを培地へ添加。
- ③ 電子天秤の上に自動回転機を置き、その上に培地を置き、重さを確認しながら1g、10g、30g、50g、100gの5段階の条件で塗布した（時間は10秒で統一し同じ操作を5回繰り返した）。
- ④ 菌液が培地に吸収されるまで室温放置し、恒温器内で1日培養後、検出菌数を計測した。



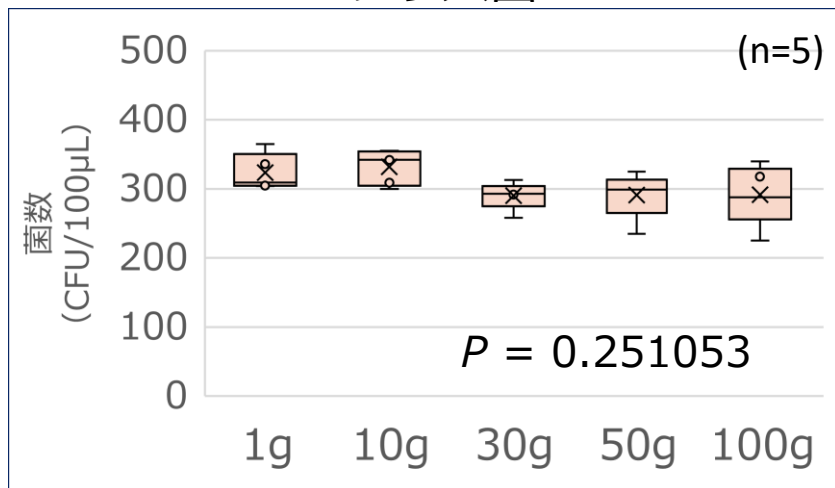
1 塗布の強さによる菌数変化の比較

結果

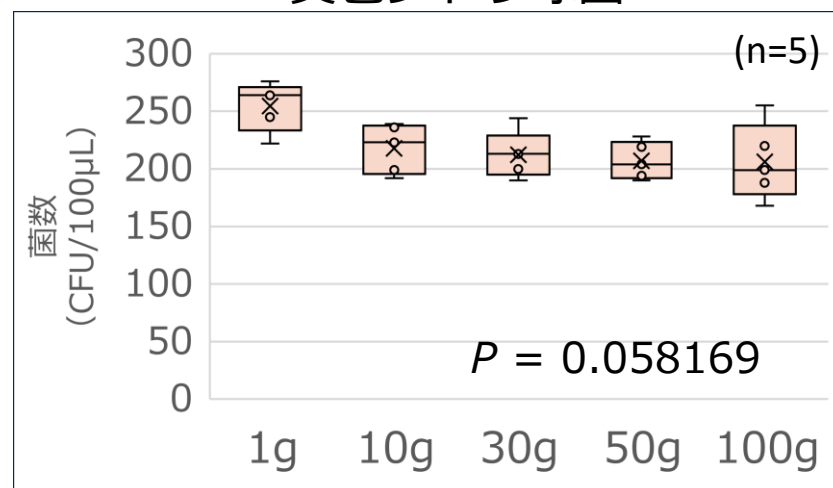
大腸菌



セレウス菌



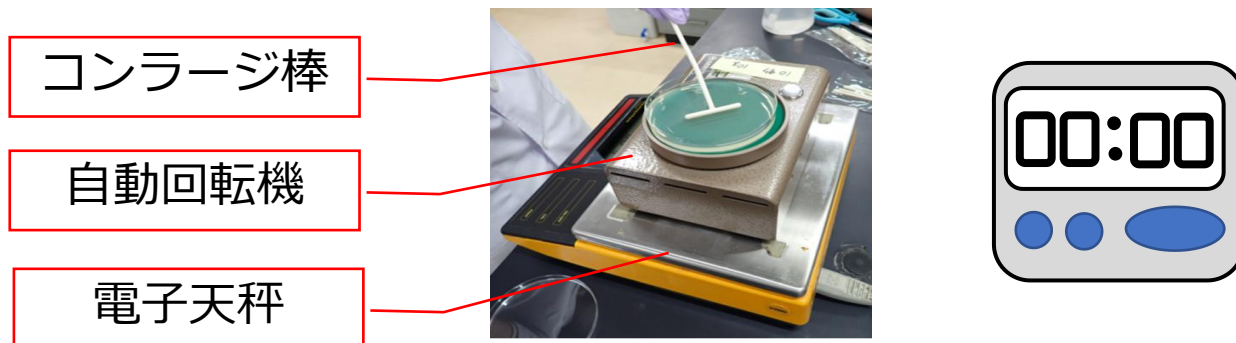
黄色ブドウ球菌



2 塗布時間の長さによる菌数変化の比較

<方法>

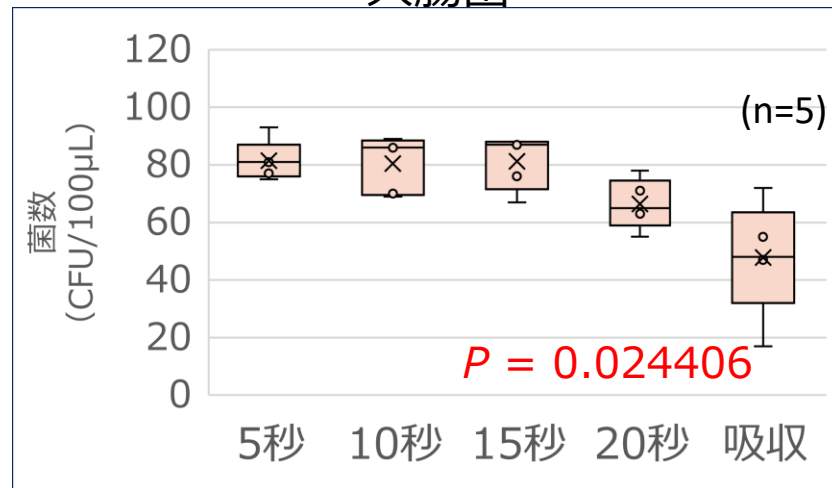
- ① それぞれの菌を $\times 10^3$ CFU/100 μ L程度に調製し試供菌とした。
- ② 試供菌液100 μ Lを培地へ添加。
- ③ 電子天秤の上に自動回転機を置き、その上に培地を置き、タイマーを用いて時間を測りながら、5秒、10秒、15秒、20秒、菌液が培地に吸収されるまでの5段階の条件で塗布した（塗布の強さは10gで統一し同じ操作を5回繰り返した）。
- ④ 菌液が培地に吸収されるまで室温放置し、恒温器内で1日培養後、検出菌数を計測した。



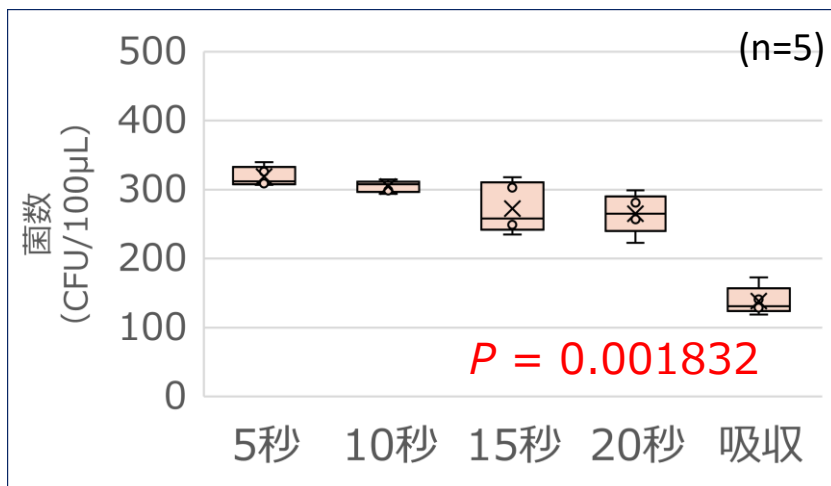
2 塗布時間の長さによる菌数変化の比較

結果

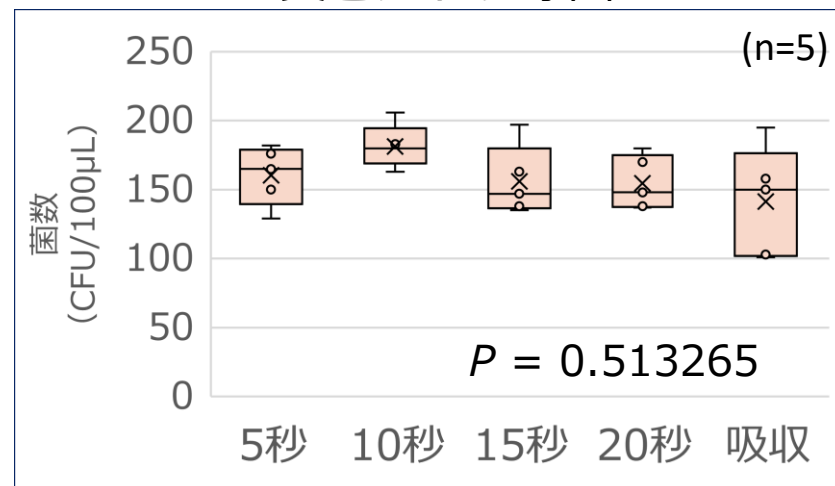
大腸菌



セレウス菌



黄色ブドウ球菌



まとめ

- 1 塗布の強さによる菌数変化の比較
 - **大腸菌**は塗布の強さを強くするほど検出菌数が減少し、**有意差が認められた**。
 - セレウス菌、黄色ブドウ球菌では、有意差は認められなかった。
- 2 塗布時間の長さによる菌数変化の比較
 - **大腸菌、セレウス菌**では、塗布時間の長さによる検出菌数に**有意差が認められた**。
 - 黄色ブドウ球菌では、有意差は認められなかった。

考察

1 塗布の強さによる菌数変化の比較

- 3菌種中1菌種で検出菌数に有意差が認められた。
- 菌種によっては、塗布の強さによる菌数への影響があった。

2 塗布時間の長さによる菌数変化の比較

- 3菌種中2菌種で検出菌数に有意差が認められた。
- 菌液が完全に吸収されるまで塗布すると、著しく減少する傾向にあった。

菌液が**乾かない程度に力を加えず塗布**することで、菌数の減少を防ぐことができると考えられた。
培地に**菌液が完全に吸収されるような手技が、菌数に影響を及ぼす**可能性があると考えられた。