

内部精度管理における定量用標準試料作製方法の検討

田栗 利紹、石本 陽介

Production of Reference Materials for Counting *Staphylococcus aureus* in Foods

Toshitsugu TAGURI, Yosuke ISHIMOTO

key words: Reference material, Good laboratory practice (GLP), *Staphylococcus aureus*

キーワード: 標準試料、食品衛生検査施設における検査等の業務管理、黄色ブドウ球菌

はじめに

1997年1月16日付け、厚生省生活衛生局食品保健課長通知「食品衛生検査施設における検査等の業務管理について」に基づいて、長崎県では、2002年度より細菌部門における内部精度管理を実施してきた。¹⁾ その検査項目として一般細菌数と病原細菌の同定について運用してきたが、今回、新たに食品中の病原細菌を定量評価するために、標準試料(Reference material)の調製方法を検討したので概要を報告する。

調査方法

1 標準試料の調製方法

模擬食品の材料として市販マッシュポテト(雪印メグミルク、マッシュポテトの素, 150 g)を用いた。供試菌は、市販のBioBall® Multi Shot 10E8(品番 56148)及びBioBall® High Dose 10K(品番 56159)を用いた。菌株はともに *Staphylococcus aureus* (SA) NCTC10788である。

Multi Shot 10E8のバイアル中のボール状製品1個を10 mLリン酸緩衝生理食塩水に加えてSA原液とした。150 gマッシュポテトに熱湯600 mL及び20%スキムミルク30 mLを加えてよく攪拌し、常温程度まで流水中で十分に冷却した。その後、1 mL SA原液を混入させて攪拌棒の代わりに25 mL用滅菌メスピペットなどを用いて1000回程度回転させるつもりで全体を十分に攪拌した。100 gを移送容器に分注して高濃度用標準サンプルとして、その4個を冷蔵(4°C)、3個を冷凍して保管した。High Dose 10Kを用いて同じ処理を行い、低濃度用標準サンプルの4個を冷蔵(4°C)、3個を冷凍して保管した。冷蔵した標準試料は、初日、1日目、3日目及び4日目に後述する検査法にて黄色ブドウ球菌数を測定した。冷凍した標準試料は11日目、14日目及び21日目に黄色ブドウ球菌数を測定した。

2 黄色ブドウ球菌の検査

今回の精度管理では、加熱食肉製品のうち、加熱殺菌した後、容器包装に入れたもの(加熱後包装)の黄色ブドウ球菌に係る成分規格検査を想定して検討した。すなわち、検体1 gにつき1,000個以上の黄色ブドウ球菌を含有する標準試料の調製を目的とし、調製した標準試料の保管方法を検討した。検査法は、1993年3月17日衛乳第54号「食品、添加物等の規格基準の一部改正について」別紙1に準拠し(図1)、三連で行った。

結果及び考察

1 標準試料に対する保管方法の影響

Multi Shot 10E8のバイオボール1個あたりの菌量は 1.34×10^8 CFU (colony forming unit)/vialであった。高濃度標準試料について黄色ブドウ球菌検査を実施したところ、冷蔵保管において接種当日と接種後1日目の黄色ブドウ球菌数(平均値±標準偏差)はそれぞれ $13,667 \pm 2754$ 及び $13,433 \pm 884$ CFU/gであったが、同3日目及び4日目にはそれぞれ 1850 ± 325 及び 2517 ± 325 CFU/gとおよそ1オーダーの菌数低下が認められた。しかし、冷凍における黄色ブドウ球菌数は、接種後11日目、同14日目及び同21日目で、それぞれ 9750 ± 350 、 9717 ± 275 及び 9467 ± 551 CFU/gであり、大きな変動は認められなかった(図2)。冷蔵と冷凍の定量値の違いは凍結融解の影響が考えられた。低濃度標準試料は、冷蔵冷凍ともに検出数が1~5個にすぎず、3日目以降は不検出であった。

高濃度標準試料について、冷凍保管試料は非常に安定性が高く、冷凍搬送が可能であれば、今後、病原体定量を目的とする内部精度管理への適用が期待できる。しかし、現在のゆうパックによる病原体搬送はチルド(冷蔵)が主流であるため、輸送方法を検討する必要がある。

参考文献

- 1) 山崎 省吾他:平成 14 年度 長崎県立食品衛生検査施設における内部精度管理試験(微生物部門), 長崎県衛生公害研究所報, 48, 131-35, (1999).
 2) 食品衛生検査指針 微生物編, 黄色ブドウ球菌, 325-27, (2015).

