食品衛生監視指導業務への簡易検査器具（培地シリンダー）の応用

渡辺昭宣* 栗栖 誠* 雨宮一彦* 徳丸雅一*

（昭和 48 年 1 月 17 日受付）

Culture Medium in Cylinder for Simplification of Food Inspection

A. WATANABE, M. KURISU, K. AMEMIYA and M. TOKUMARU

(Hygienic Laboratory, Prefecture of Saitama)

SUMMARY

A culture medium contained in a cylinder was devised to simplify the test in food inspection. Since it was used with ease in the field, some part of the technique for the laboratory test could be saved. When a selective medium was employed for a sample, it was possible to observe the state of contamination with a

given pathogenic organism, without alteration, in the cylinder. The new method was not so inferior to the swab method or the paper coli test in the rate of detection of contaminating organisms. It was regarded as an effective method for screening test in the field.

緒 言

食品衛生監視員がおこなう食品および環境衛生の監視業務は、とかく官能検査にたよることが多いが、最近では消費者および製造業者の衛生に対する知識が向上してきたため、監視業務の中にも科学的データを取り入れて、十分納得させることができる行政指導が望まれている。

しかし、行政部門からの依頼を受ける検査機関では、その受入れ能力に限度があり、常に依頼者に満足にあたえることができず、いきおいスクリーニングの現場検査が要望されることになってくる。

とくに食品に関しては、細菌学および化学的問題が常に同時に解決を迫られるので、スクリーニングテストとしては両者を満足させるようなものが要求される。ところが、化学検査には実用的なものが多く見られるが、細菌検査については、簡易現場検査法としての実用的なものはあまりみあたらない。このことは、細菌の存在を肉眼的に観察しようとするには、どんな検査法を用いても 18～24 時間の培養時間が必要とされ、そのうえ検査技術が複雑であり、さらに、その発生集落について諸検査をしなければ最終判定がでないので、現場で即決というわけにはゆかず、そのために細菌学的な簡易検査法にはあまり開発がみられないのではないと思われる。

現在、細菌学的簡易現場検査法¹⁻⁴⁾として利用されているものには、ふきとり法、洗い落とし法、スタンプ瓶法、およびペーパーコロテスト法などがあり、それぞれの特徴をもって効果をあげているようであるが、それぞれ一長一短があって、すべて完全というわけにはいかない状況である。

われわれは、食品および環境衛生の現場検査法として

* 埼玉県衛生研究所（浦和市大字大久保字東639-1）

培地シリンダー（仮称）を試作し、少数例ながら現場検査に応用することができたので、その結果について報告する。

I. 実験器具

A. 培地シリンダーの特徴

本器は写真 1～6 にみられるようなステンレス製の器具であるが、特徴をあげると次のごとくである。

- 1) 培地シリンダーは何回でも使用できる。
- 2) 検体採取後の検査技術は不要である。
- 3) 実験器具は、培地シリンダー、カット用ナイフ、滅菌シャーレ以外はいらない。
- 4) 充填する培地の種類をかえることによって、目的とする細菌を検査することができる。
- 5) 検体商品に傷をつけない。
- 6) 検体附着菌をありのままの状態で検出できる。

などの利点がある。

B. 使用方法

本器は、写真 1 に見られるように、シリンダー部はすべてステンレスで作られ、試作品では円筒の内径を 8cm、回転軸により、一定の高さに培地を押し上げることができる螺旋状の溝がぎざんである。培地の収容量は 450～500 ml で、充填法は、別にフラスコなどで加温溶解した培地をシリンダーに注入してから高圧滅菌し、そのまま冷却固化する。使用時には、回転軸にはめこんである止め具を 0.5 cm づつ回して下げ、さらにシリンダーを回転させることによって、内部の培地を上の方に 0.5 cm の厚さに押し上げることができる。

検体をスタンプする場合には、シリンダーを逆さにし、培地面を直接検体に接触させ、捺印するようにする（写真 2）。捺印後は、別に用意したカット用ナイフをア

写真1 充填培地を 0.5 cm 突出させた培地シリンダー。

写真3 火焰滅菌したカット用ナイフで突出培地をカットし、滅菌シャーレに入れる。

写真2 シリンダーを逆さにして、直接検体に接触させ、スタンプする。

写真4 写真3 を 37℃、24 時間培養したもの。
ほぼ 20 枚である。

ルコール綿でふき、さらに火焰滅菌してから、突出培地をスライスするように切断（写真3）し、そのまま接触面を上にして、滅菌シャーレに移行させる。シャーレは逆さにして孵卵器に入れる（写真4）。

また、手指などの細菌汚染度を調べる場合や、手で持てるような検体を検査する場合には、培地シリンダーをそのままおき、突出培地面に、手指または検体を直接接触させてもよい（写真5、6）。

本培地シリンダーで、1回に検査できる平板の数は、

II. 実験方法

A. 基礎実験

供試菌株は、*E. coli* 0-111 と *Staph. aureus* 209p を用い、各供試菌の普通ブイヨン 24 時間培養菌を滅菌生理食塩水で 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} に希釈し、それぞれの 0.1 ml をガラス面（シャーレ底面）および木面（ベニヤ板）のシャーレ相当面積に滴下塗抹した後、標準寒天培地およびデスオキシコレート培地（以下デソ培地）充填培地シリ

写真5 手指の検査では、直接手指を培地に押し当てる。

ンダーで、各検査部位につき、2枚ずつ捺印した。

また、比較対照として、滅菌ガーゼタンポンによるふきとり法も同時に実施した。両法の比較は、2枚の平板上に発生した集落数の平均値をもっておこなった。

B. 応用実験

1) K保健所管内のドライブイン 20 施設を選び、調理用および仕込み用まな板について、培地シリンダー法によるデゾ培地（非重層）を用いて、大腸菌群の検出を試みた。また、同時にガーゼタンポンふきとり法（以下ガーゼタンポン法）によるデゾ培地（重層法）による大腸菌群の検出と、ペーパーコリテスト法（以下コリテスト法）による大腸菌群検出をおこない、この3法による大腸菌群検出率を比較した。

2) O保健所管内の12 給食施設を選び、従業員の手指、まな板および包丁について、培地シリンダー法によって大腸菌群、病原ブドウ球菌およびサルモネラの検査をおこなった。使用培地として、大腸菌群の検出にはDHL培地、病原ブドウ球菌の検出には卵黄加マンニット食塩培地、サルモネラの検出にはMLCB培地を用いた。

III. 実験成績

A. 基礎実験

表1に示すように、ガラス面に塗抹乾燥させた検体について、ガーゼタンポン法と培地シリンダー法を比較すると、標準寒天培地を使用した場合には、両法とも接種菌の全部は回収できなかったが、測定菌数は、比較的よく一致する結果をえた。

デゾ培地による大腸菌群の検出状況を比較すると、標準寒天培地の場合より回収率は劣るが、ガーゼタンポン

写真6 写真5を 37℃, 24時間培養したもの。

法より培地シリンダー法のほうが、検出菌量は多かった。

また、木面に菌を塗抹した検体の場合には、全般にガラス面より回収率はさがり、大腸菌群については、ガラス面の場合と同様に、培地シリンダー法のほうが、ガーゼタンポン法より菌数は多く検出された。

B. 応用実験

1) ドライブインにおける調理器具の検査

表1 シリンダースタンプ法とタンポンふき取り法との実験的発生菌量の比較

1) 硝子面における菌量の比較

試験法	使用培地 ブイヨン 菌液希釈度 0.1ml	普通寒天 一般生菌数			デスオキシコレート寒天 大腸菌群数		
		10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
		塗抹菌量	塗抹菌量	塗抹菌量	塗抹菌量	塗抹菌量	塗抹菌量
比較	硝子面	∞	2,800	320	∞	1,400	130
	ガーゼタンポン ふき取り法	∞	1,800	150	∞	46	2
	シリンダース タンプ法	∞	1,200	140	∞	160	9

2) 木面（ベニヤ板）における菌量の比較

試験法	使用培地 ブイヨン菌液 希釈度 0.1ml	デスオキシコレート寒天 大腸菌群数			
		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
		塗抹菌量	塗抹菌量	塗抹菌量	塗抹菌量
比較	木面	∞	∞	2,600	210
	ガーゼタンポン ふき取り法	∞	250	41	6
	シリンダース スタンプ法	∞	∞	250	13

図1 仕込み用まな板に対する3法の比較（シリンダー法：デスオキシコレート寒天培地・非重層）

図2 調理用まな板に対する3法の比較（シリンダー法：デスオキシコレート寒天培地・非重層）

仕込み用および調理用まな板について、培地シリンダー法、ガーゼタンポン法、コリテスト法の検査結果を比較すると、図1、2に示すような結果をえた。すなわち、大腸菌群数の検出状況は、比較的汚染度の高い検体では3法とも、ほぼ一致した成績を示したが、比較的低い汚染と考えられる検体の場合は、培地シリンダーが最も高い菌数を検出した。

このことは、今回の検査に用いた大腸菌群検出用培地がデソ培地であったため、培地シリンダー法の場合は、

表面発育菌で検査しなければならないことにより、デソ培地を重層することができなかった。また、ガーゼタンポン法の場合は、常法通り重層法で培養したことから、混釈法で、大腸菌群と非大腸菌群の識別が十分できるものでも、培地シリンダー法では、培地の表面に発育した集落で鑑別するため、赤色集落をはっきり判別することができなかったものと思われ、疑わしい集落まで算出してしまったことに原因があったのではないかと考えている。

また、今回の試験で、ガーゼタンポン法およびコリテ

表2 検査法別大腸菌群陽性率

検査法	検体別 陽性率	調理用 まな板		仕込み用 まな板		計	
		陽性数	%	陽性数	%	陽性数	%
培地シリンダー スタンプ法		18	90	18	90	36	90
ガーゼタンポン ふき取り法		11	55	14	70	25	62.5
ペーパーコリテ スト法		12	60	13	65	25	62.5

表3 3検査法の一致率
(ドライブイン調理場のまな板について)

検査法	検体別 陽性率	調理用ま な板		仕込み用 まな板		計	
		一致数	%	一致数	%	一致数	%
3 法一致		11	55	14	70	25	62.5
S・F一致		2	10	2	10	4	10
S・K一致		3	15	1	5	4	10
F・K一致		0	0	0	0	0	0
3 法不一致		4	20	3	15	7	17.5

注) S: シリンダースタンプ法

F: タンポンふき取り法

K: コリテスト法

スト法が、ともに陽性を示しながら、培地シリンダー法が陰性であったものは1例もなかったが、逆に、培地シリンダー法が陽性で、他の2法が陰性であったものが7例(17.5%)あった。この誤差は、前述の理由によって生じたものと考えている。

まな板における検査法別大腸菌群の陽性率(表2)を比較すると、ガーゼタンポン法とコリテスト法は、ともに62.5%でよく一致したが、培地シリンダー法は3法の中で最も陽性率が高く、90%を示した。

さらに、これら3法の大腸菌群陽性率に対する一致率をみると、表3に示すように、3法ともよく一致したも

のは全体の62.5%で、培地シリンダー法と他の1法が一致したものは、それぞれ10%づつあった。したがって、培地シリンダー法における大腸菌群検出に対する各検査法との一致率は、全体の82.5%となる。

これらの実験から、大腸菌群検出のための使用培地をEMB培地、遠藤培地、DHL培地などの、表面発育菌で鑑別できる培地に代えることによって、今回の実験において生じた誤差をもっと少なくすることができるものと考え、次の給食施設における検査には、デソ培地の代わりにDHL培地を用いた。

2) 給食施設における調理器具の検査

これまでの基礎試験で、培地シリンダー法が、現場検査用器具として応用されることに支障のないことが認められたので、さらに、保健所における給食施設の監視業務の中に本法を導入し、大腸菌群、病原ブドウ球菌およびサルモネラについての汚染状況を調べた。

まず、手指、まな板、包丁についての培地シリンダー法における各選択培地から検出された菌数の分布を示すと、表4のとおりである。この表からもわかるとおり、サルモネラの検出については、全検体から検出されなかったが、大腸菌群については、各検体とも高率に検出された。とくに、2回目の手指の検査では83.3%の陽性率を示したのもあった。また、病原ブドウ球菌については、まな板から1例だけ検出されたが、手指からは72検体中9例(12.5%)が陽性を示した。

以上の2給食施設について、培地シリンダー法を応用した検査結果から、食中毒起因菌である病原ブドウ球菌の検出も十分可能であり、食品および器具類の汚染度を相対的に調べる方法として、本法は遜色ない結果を与えるものと考えられる。さらに、実験手技などの簡易さなども考慮にいれるならば、培地シリンダー法は、現場検査法として十分利用しうる価値があるものと思われる。

また、本器の表面積を小さくすれば狭い面積の検査にも応用することができ、円筒を長くすることにより、ス

表4 手指・まな板・包丁の細菌数分布

検 査 回 数	検 体 菌 種	1			2			3			4			5			6			計		
		細菌数			細菌数			細菌数			細菌数			細菌数			細菌数			細菌数		
		100 未 満	500 未 満	500 以 上	100 未 満	500 未 満	500 以 上	100 未 満	500 未 満	500 以 上	100 未 満	500 未 満	500 以 上	100 未 満	500 未 満	500 以 上	100 未 満	500 未 満	500 以 上	100 未 満	500 未 満	500 以 上
手 指	大 腸 菌 群	5	1	.	7	3	.	7	1	.	6	.	.	4	.	.	6	1	.	31	6	.
	病原ブドウ球菌	.	.	.	2	.	.	1	.	.	4	.	.	2	.	.	.	.	.	9	.	.
ま な 板	大 腸 菌 群	2	2	.	5	2	1	5	2	.	3	1	1	1	2	1	4	.	.	20	9	3
	病原ブドウ球菌	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	1	.	.
包 丁	大 腸 菌 群	6	.	.	7	1	.	5	.	.	3	.	.	5	.	.	3	.	.	29	1	.
	病原ブドウ球菌	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
計	大 腸 菌 群	13	3	.	19	6	.	17	3	.	12	1	1	10	2	1	13	1	.	84	16	3
	病原ブドウ球菌	.	.	.	2	.	.	1	.	.	4	.	.	3	.	.	.	.	.	10	.	.

注 1) 12検体中の陽性数 2) サルモネラはすべて陰性のため表から除外

図3 検体別陽性率

タンブ回数を多くすることもできる。また、同時に数種類の培地を充填した培地シリンダーを用意するならば、一般細菌数、大腸菌群、ブドウ球菌、サルモネラ、腸球菌、真菌などいろいろな細菌の検出も同時に行なうことができると考えられる。

考 察

食品衛生監視員が、店舗の衛生監視を行なうとき、店舗の構造、食品取り扱い設備、給水および汚物処理の施設、食品取り扱い者の衛生度などの採点は、肉眼的観察によって評価できるが、食品および器具類の取り扱い方法が衛生的であるか否かについては、肉眼的観察だけでは不可能で、どうしても、細菌学的検査による検査結果にもとづいて評価しなければ実務的でない。

しかし、監視のとき、調理場内のすべての器具について、細菌検査をおこなうことは、あまりにも負担が大きすぎ、実用的ではないと考えられるので、調理場で最も使用頻度が高く、かつ衛生的取り扱いの尺度となり易い、まな板および手指などを検査することは、その施設の衛生基準を代表するものとして、意義あるものと考えられる。

また、従来から、監視の際の、現場検査法として、食器類の洗浄度をみる沃素液による澱粉反応、バターイエ

ローによる残留脂肪試験などがあり、貝類および一般食品の鮮度試験には、TTC反応やレサズリンテストなどがおこなわれているが、いずれも化学反応によって、間接的に細菌汚染度を判定するものであるため、一般細菌数との関係はみられるが、とくに、病原菌の有無を調べたり、大便汚染を推定したりする場合には、検査機関に送附して、判定を待たねばならなかった。また、監視業務にたずさわるものは、観念的に細菌検査を苦手なものと考えられてきたが、現在の食品衛生行政では、現場で簡易法でもよいから試験をおこなうことが、一般に望まれている。

今回、われわれが考案試作した培地シリンダーは、スタンブ瓶法やコリテスト法と同様、あくまで現場検査用の簡易検査法ではあるが、その使用法によっては、直接、病原菌の検索や手型培養による手指汚染の検査も、簡単に検査できるため、監視業務に大いに役立つものと考えている。

なお、今回の実験では、例数の少ないことや、試作品の不備な点もあったため、さらに改良すべき点も多くあると思われるので、これらについては、今後さらに追試を重ねるとともに、本法利用者からのご指導あることを期待するものである。

結 論

食品衛生監視員による監視業務を、科学的データによって、さらに強力にするため、細菌学的現場検査用器具として培地シリンダーを作製し、ガーゼタンポンふきとり法およびペーパーコリテスト法と比較し、さらに、監視業務に応用した結果、次のような結論をえた。

1) 培地シリンダー法は、現場検査用器具として、その使用法が簡単であり、試験室に帰ってからの検査技術が省略されるので応用価値が高い。

2) 各種病原菌の検索には、それぞれの選択培地を用いることによって、検体中の病原菌の汚染状況を、そのままの状態を観察できる。

3) 培地シリンダー法は、ガーゼタンポンふきとり法およびペーパーコリテスト法に比べても、汚染菌の検出率には大差がない。

4) 培地シリンダーは、食品、調理器具および手指などの現場検査器具として、検体を傷つけず、非常に有利に使用できる。

本研究の要旨は第139回日本獣医公衆衛生学会(関東)において報告した。

文 献

- 1) 衛生検査指針Ⅲ—食品衛生検査指針1 加藤千里, ほか: 食品衛生研究, 206, 1 (1967).
- 2) 三浦袈裟人: 全国食品衛生監視員研修会研究発表抄録 (昭和45年10月).
- 3) J. S. KUIPERS: *J. Hyg., Camb.* 66, 625 (1968).