

- ・全脂チェダーチーズ(pH5.16) ATM56のみ生残(☒2-C)
- ・低脂肪チェダーチーズ(pH5.25) // (☒2-D)

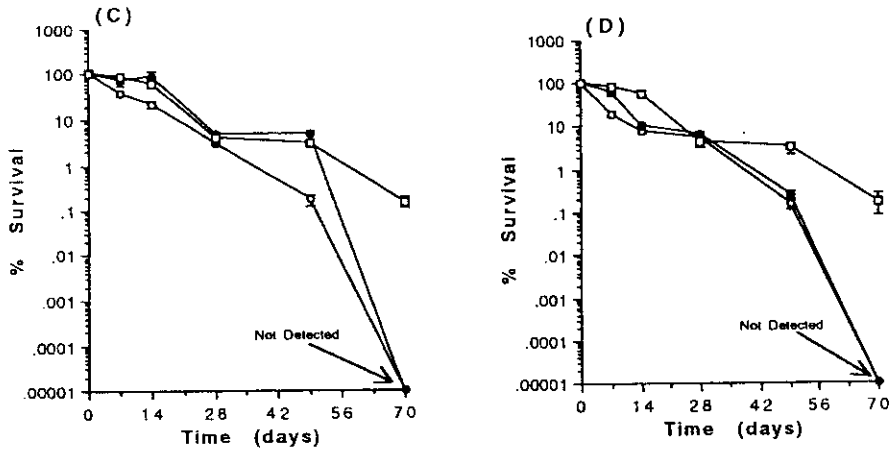


FIG. 2. Survival of *L. monocytogenes* during storage and ripening of dairy products. Symbols: ●, acid-adapted *L. monocytogenes* LO28; ○, nonadapted *L. monocytogenes* LO28; □, nonadapted ATM56. The dairy products tested were natural yogurt (pH 3.9) (A), cottage cheese (pH 4.71) (B), whole-fat cheddar cheese (pH 5.16) (C), and low-fat cheddar cheese (pH 5.25) (D). Error bars represent the standard deviation for duplicate (A) or triplicate (C and D) experiments.

(3)他の低pH食品

- ・オレンジジュース(pH3.76) ATM56 > 酸順応LO28 > 非順応LO28 (☒3-A)
- ・サラダドレッシング(pH3.0) // (☒3-B)
- ・サラダドレッシングよりオレンジジュースのほうが生残率高い

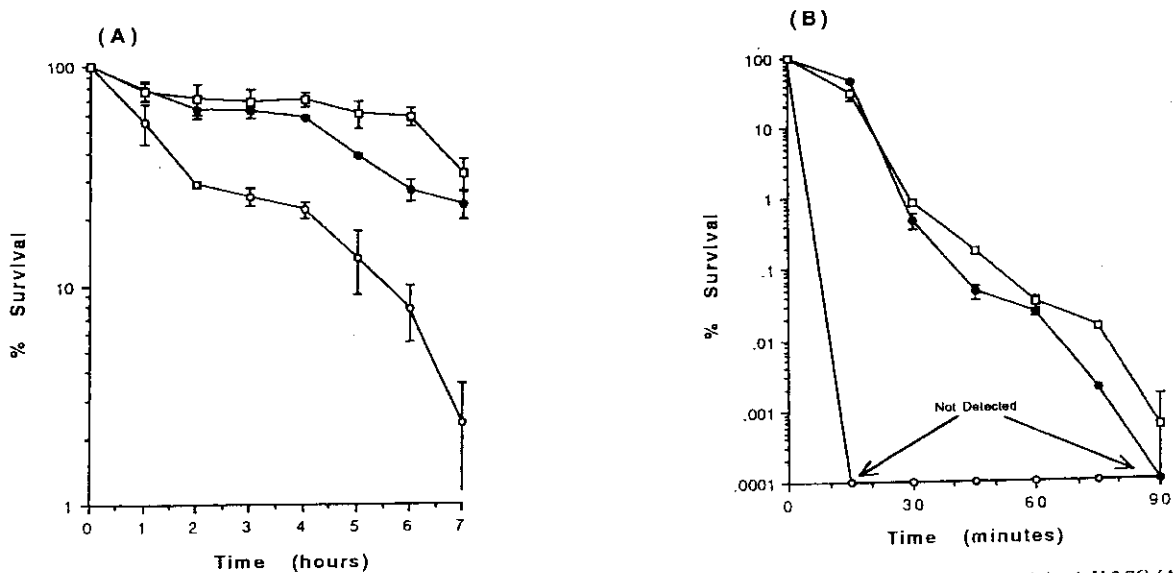




FIG. 3. Survival of *L. monocytogenes* in orange juice (pH 3.76) (A) and salad dressing (pH 3.0) (B). Symbols: ●, acid-adapted *L. monocytogenes* LO28; ○, nonadapted *L. monocytogenes* LO28; □, nonadapted ATM56. Error bars represent the standard deviation for duplicate experiments.

(4)牛乳発酵中 (*Strept.thermophilus*) における *L.monocytogenes* の生残

•pH4. 8のときにリステリア菌を添加 酸適応LO28>ATM56>非適応LO28→4—
A

•pH5. 5のときにリステリア菌を添加 酸適応LO28>ATM56>非適応LO28→4—
B

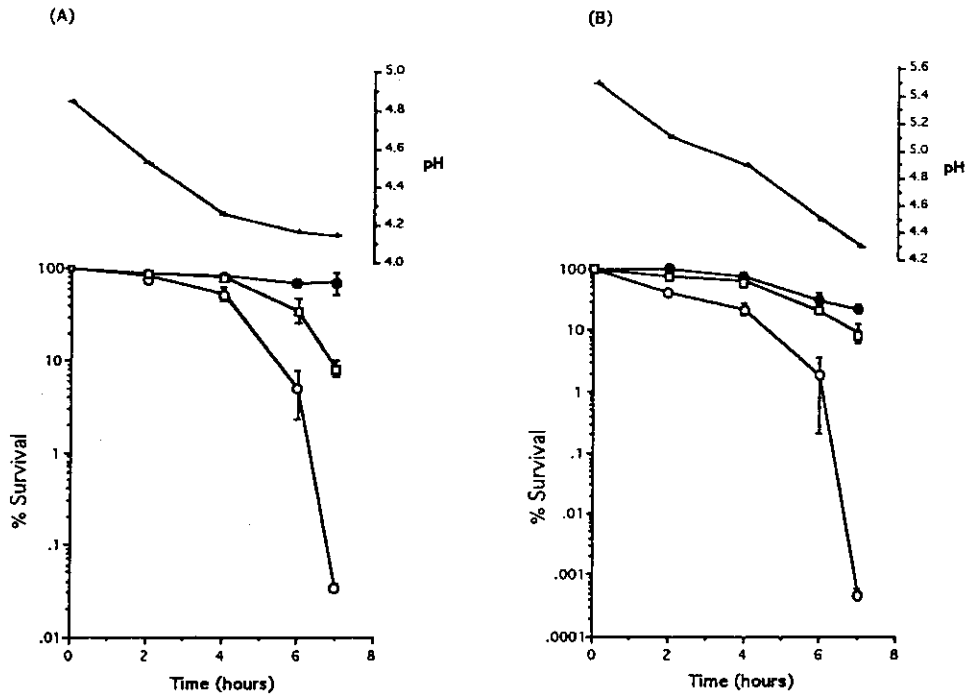


FIG. 4. Survival of *L. monocytogenes* during active milk fermentation by *S. thermophilus*. Symbols: ●, acid-adapted *L. monocytogenes* LO28; ○, nonadapted *L. monocytogenes* LO28; □, nonadapted ATM56. *L. monocytogenes* cultures were added at pH 4.8 (A) or pH 5.5 (B). Error bars indicate the standard deviation for duplicate experiments. Datum points with no visible error bars indicate deviations smaller than the symbol.

1. 文献要旨

微生物名:

Salmonella

文献No.10:

Acid Adaptation Promotes Survival of Salmonella spp. in Cheese

著者:

GREGORY J. LEYER and ERIC A. JOHNSON

出典:

APPLIED and ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, June 1992, p.2075-2080

要約:

Salmonella typhimurium は1代から2代の増殖の間、pH 5.8で塩酸にさらされることにより酸に適応した。酸適応した細胞は通常チーズ中に存在する乳酸やプロピオン酸、酢酸などの有機酸による不活性化に対する抵抗性を増す。有機酸での処理中、回収培地に0.1%のピルビン酸ナトリウムを添加することにより、細胞の回収率は1,000倍増した。乳酸菌によるミルクの醗酵中、酸適応した *Salmonella typhimurium* 細胞は酸適応していない細胞に比べ生存率が高かった。酸適応することにより、細胞は5℃で保存しているチェダーやスイス、モッツアレラチーズ中で2ヶ月以上もの間生存率が高められた。この酸適応は、食中毒に関係のある *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *Choleraesuis* serotype heidelberg, *Salmonella choleraesuis* subsp. *Choleraesuis* serotype javiana を含むサルモネラ種で認められた。これらの観察により、酸適応が醗酵乳製品やあるいは他の酸性化した食品中でサルモネラ種が生き残るための重要な生存機構であるという理論が支持される。

2. 方法

- ・指標菌株名: *Salmonella typhimurium*LT2、*S. enteritidis* E40、*Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis* serotype heidelberg SHL 39902、*Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis* serotype javiana
- ・保存: 0.1%ピルビン酸ナトリウム加トリプトースリン酸寒天培地 (TPA)
- ・前培養: E培地 (0.4%グルコース、LB培地、ビスマス亜硫酸培地加)
- ・測定: 濁度 (600 nm)
- ・酸適応菌作成: *Salmonella typhimurium*LT2、0.4%グルコース加最小E培地、37℃静置培養、0.1の濁度になった時pH 5.8 (10N塩酸)、0.25~0.30の濁度まで培養後遠心分離。コントロールは酸性化しない。これらの菌は0.1Mリン酸バッファー (pH 7.0) で洗浄後100 μlのバッファーに懸濁。

3. 結果

・いろいろな有機酸への適応性 (*S.typhimurium*)

5 × 10⁷/m^l の菌を各有機酸に添加し、25℃静置培養。

0.125 mM 酢酸、乳酸、プロピオン酸 (pH 3.85) → 図 1

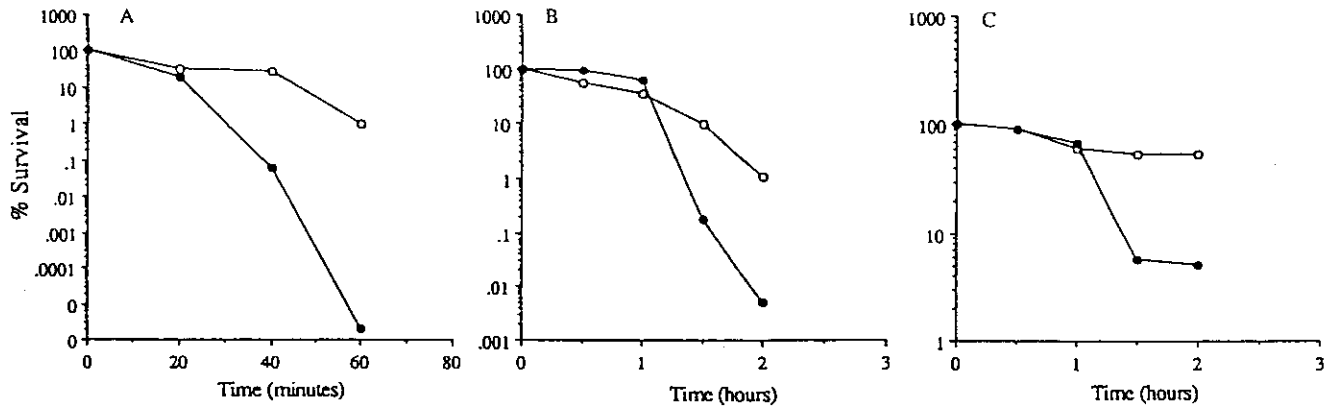


FIG. 1. Survival of acid-adapted (○) and nonadapted (●) *S. typhimurium* cells after exposure to organic acids. Cells were exposed to E buffer acidified to pH 3.85 and containing 125 mM lactic acid (A), 125 mM propionic acid (B), or 125 mM acetic acid (C).

60分後、酸適応未処理菌は10⁷~10⁸減少。一方処理菌は10²減少。

・牛乳発酵中の *S.typhimurium* の生残性

乳酸菌は *Str.salivarius* subsp. *thermophilus* 及び *L.helveticus*

発酵中 pH が 5.10 になったとき酸適応菌、未処理菌 10⁴/m^l 添加 → 図 2

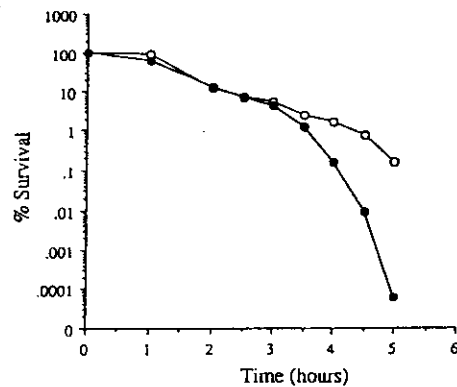


FIG. 2. Survival of *S. typhimurium* during active milk fermentation by *S. salivarius* subsp. *thermophilus* and *L. helveticus*. Symbols: ○, acid adapted; ●, nonadapted. The pH at the time of the addition of cells was 5.15 and further decreased to 4.55 and 4.27 after 3 and 5 h, respectively.

添加5時間後3オーダー、酸適応菌が未処理菌に比べ生残した。pHは各々4.55と4.27

・チーズ中の *S.typhimurium* の生残性

チェダー、モッツァレラ、スイスチーズに酸適応菌、未処理菌 $10^4/g$ となるように表面塗布し、5℃で保存。(好氣的、嫌氣的)

いずれも酸適応菌は未処理菌に比べ生残率が高い→図3

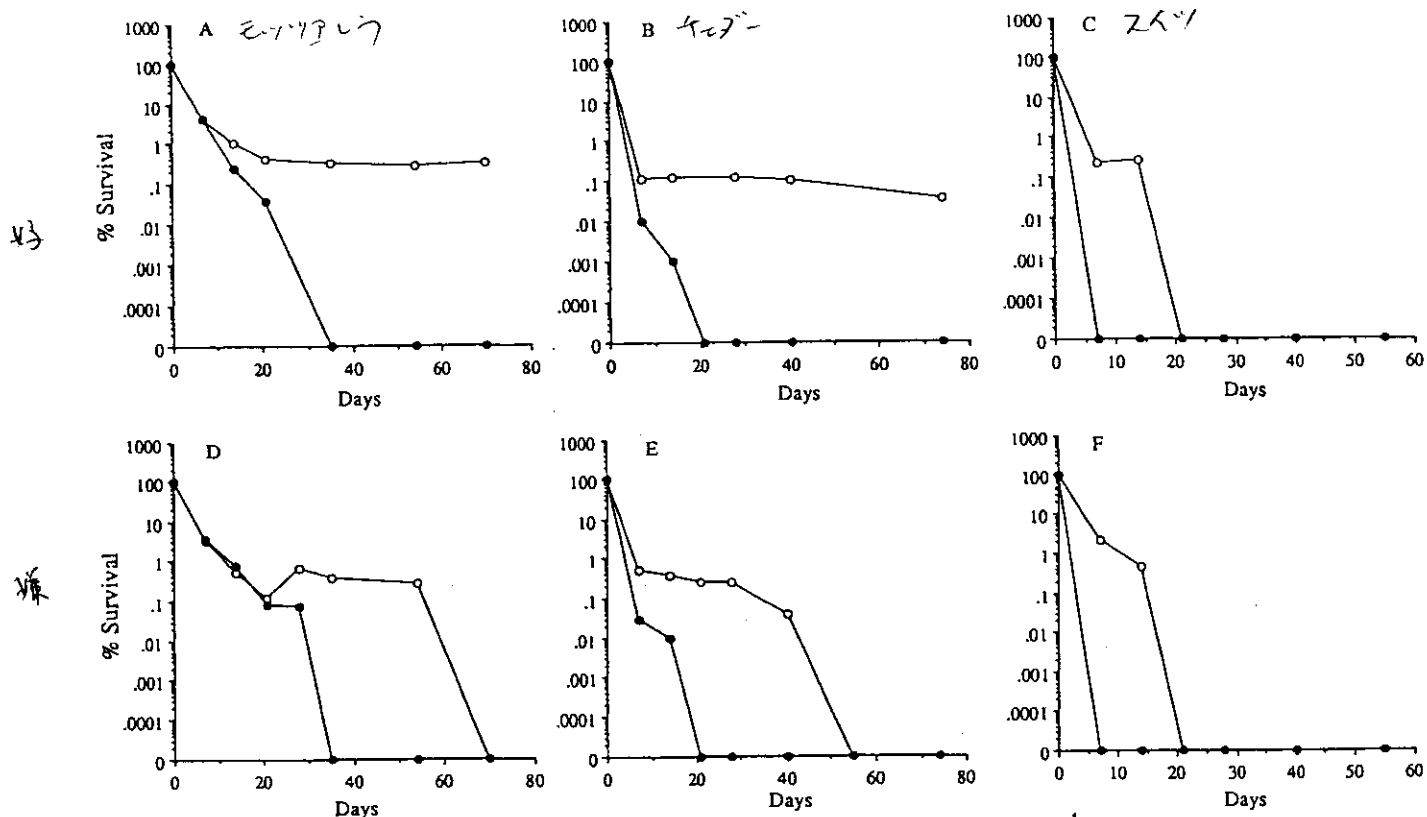


FIG. 3. Survival of *S. typhimurium* in cheeses during storage at 5°C under aerobic (A, B, and C) or anaerobic (D, E, and F) conditions. Symbols: O, acid adapted; ●, nonadapted. The cheeses used were mozzarella (A and D), cheddar (B and E), and Swiss (C and F).

・他のサルモネラ種

0. 1 2 5 mM 乳酸添加 E バッファー (pH 3. 8 5) で処理 → 図 4

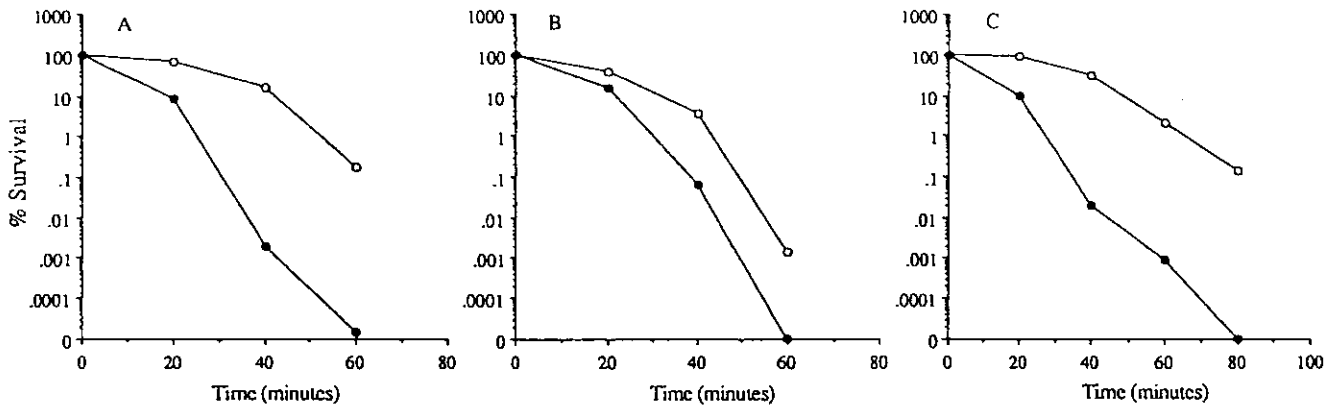


FIG. 4. Acid adaptation and tolerance of various *Salmonella* spp. Cells were exposed to acidified E buffer containing 125 mM lactic acid at pH 3.85. Symbols: ○, acid adapted; ●, nonadapted. (A) *S. enteritidis* E40. (B) *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis* serotype heidelberg SHL 39902. (C) *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis* serotype javiana.

S. enteritidis E40

60分後、4～5オーダー未処理菌に比べ酸適応菌は生残した。

Salmonella choleraesuis subsp. *choleraesuis* serotype heidelberg SH 39902

60分後、2オーダー未処理菌に比べ酸適応菌は生残した。

Salmonella choleraesuis subsp. *choleraesuis* serotype javiana

60分後、4～5オーダー未処理菌に比べ酸適応菌は生残した。

1. 文献要旨

微生物名:

Pseudomonas fluorescens, *Escherichia coli*

文献No.12:

Activity of Goats' MILK Lactoperoxidase System on *Pseudomonas fluorescens* and *Escherichia coli* at Refrigeration Temperatures

著者:

PALOMA ZAPICO, PILAR GAYA, MANUEL NUNEZ and MARGARITA MEDINA

出典:

JOURNAL OF FOOD PROTECTION, 58, No.10, P1136-1138

要約:

LPシステムの *Pseudomonas fluorescens* に対する静菌効果(山羊乳中)を調べた。活性化LPシステム下で、*P. fluorescens* は4℃24時間で1.69対数、8℃24時間で1.85対数減少した。効果は温度と時間に関係する。この系で初発菌数以下であったのは4℃で5日間、8℃で3日間であった。

E. coli は4℃においては増殖せず、この温度では効果を確認できない。8℃においてはLPシステムなしではラグフェーズなしで増殖した。LPシステム下では接種後5日間はコントロール(LPなし)に比べて増殖速度は低下した。

2. 方法

- ・指標菌株名: *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli* (INIA保存菌株、山羊乳より分離)
- ・前培養(1回目)トリプトソイブロス、30℃24時間
- ・前培養(2回目)トリプトソイブロス、20℃48時間
- ・初発菌数、 10^4 /ml(山羊乳)
- ・LP系、山羊乳100mlに25mMチオシアン酸ナトリウム1ml、25mM過酸化水素水1ml

3. 結果

・4、8℃、LPシステム有無、7日までの山羊乳中の *Pseudomonas fluorescens* の菌数の挙動 (表1)

TABLE 1. Log counts of *P. fluorescens* in control (C) and activated LP-system (A) raw goats' milk^a during storage at 4 and 8°C

Days of incubation	4°C		8°C	
	C	A	C	A
0	4.15	4.15	4.15	4.15
1	4.70	2.46 ^b	5.10	2.30 ^b
2	5.86	2.38 ^b	6.68	2.50 ^b
3	6.78	2.73 ^b	7.78	2.98 ^b
4	7.29	2.71 ^b	8.14	4.41 ^b
5	7.86	2.68 ^b	8.30	6.00 ^b
6	8.28	4.58 ^b	8.64	6.96 ^b
7	8.30	5.29 ^b	8.73	7.30 ^b

^a Mean values from two experiments.

^b Data significantly ($P < 0.01$) lower than the respective value in control milk.

・4、8℃、LPシステム有無、7日までの山羊乳中の *E.coli* の菌数の挙動 (表 2)

TABLE 2. Log counts of *E. coli* in control (C) and activated LP system (A) raw goats' milk^a during storage at 4 and 8°C

Days of incubation	4°C		8°C	
	C	A	C	A
0	4.26	4.26	4.26	4.26
1	4.58	4.53	4.89	4.52 ^b
2	4.45	4.54	5.39	4.64 ^b
3	4.53	4.52	6.22	5.24 ^b
4	4.60	4.50	7.00	6.09 ^b
5	4.59	4.46 ^b	7.57	6.92 ^b
6	4.52	4.37 ^b	8.07	8.07
7	4.55	4.39 ^b	8.16	8.27

^a Mean values from two experiments.

^b Data significantly ($P < 0.01$) lower than the respective value in control milk.

1. 文献要旨

微生物名:

Salmonella typhimurium, *Listeria monocytogenes*,
Pseudomonas fragi, *Escherichia coli* O157:H7,
Pseudomonas fluorescens

文献No.14:

Adherence to stainless steel by foodborne microorganisms during growth in model food systems

著者:

Scott K. Hood, Edmund A. Zottola

出典:

International Journal of Food Microbiology 37(1997)145-153

要約:

Salmonella typhimurium, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas fragi* として *Pseudomonas fluorescens* の食品モデル系での発育を通じて、ステンレススチール上のバイオフィーム形成について研究した。

テスト培地は、トリプシン分解ソイブロス (TSB)、希釈した TSB (dTSB)、1%脱脂粉乳溶解液 (RSM) として肉汁希釈液 (DMJ) を使用した。

粘着細胞は、*acridine orang* で染色し、蛍光顕微鏡と画像解析を用いて計測した。全ての培地において、ステンレススチール表面上に、1時間後に粘着細胞が認められた。

しかし、時間経過に伴う粘着細胞数の増加は、DMJ中の *S. Typhimurium*、TSB、dTSBとDMJ中の *E.coli* O157:H7、RSM中の *P.fluorescens* のみ見られ、粘着細胞の増殖に適した培地は、菌種によって異なっていた。

2. 方法

・指標菌株名: *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* V7 株 (食中毒事例)、
Escherichia coli O157:H7 (FDA)、*Pseudomonas fragi* ATCC4973、
Pseudomonas fluorescens (野生株)

・前培養: TSBで23℃24時間、2回

・バイオフィーム発生表面の材料: 304ステンレススティール片

・バイオフィーム発生の媒体

TSB培地、希釈TSB培地 (dTSB)、1%脱脂粉乳溶液 (RSM)、希釈肉汁 (DMJ、ろ過滅菌)

・バイオフィームの形成

テスト培地 125ml、ステンレススティール片 20片に 10^5 /ml の菌を接種し 23℃で静置培養。培養後 0.1%ペプトン水で洗浄、10mlの滅菌水に浸漬、水を減圧除去、アクリジンオレンジ溶液に浸漬し、粘着細胞を染色、蛍光顕微鏡で観察・

定量。

3. 結果

・ TSB、dTSB、RSM、DMJ中23°Cでの *S. typhimurium* の増殖、バイオフィルムの形成→図1

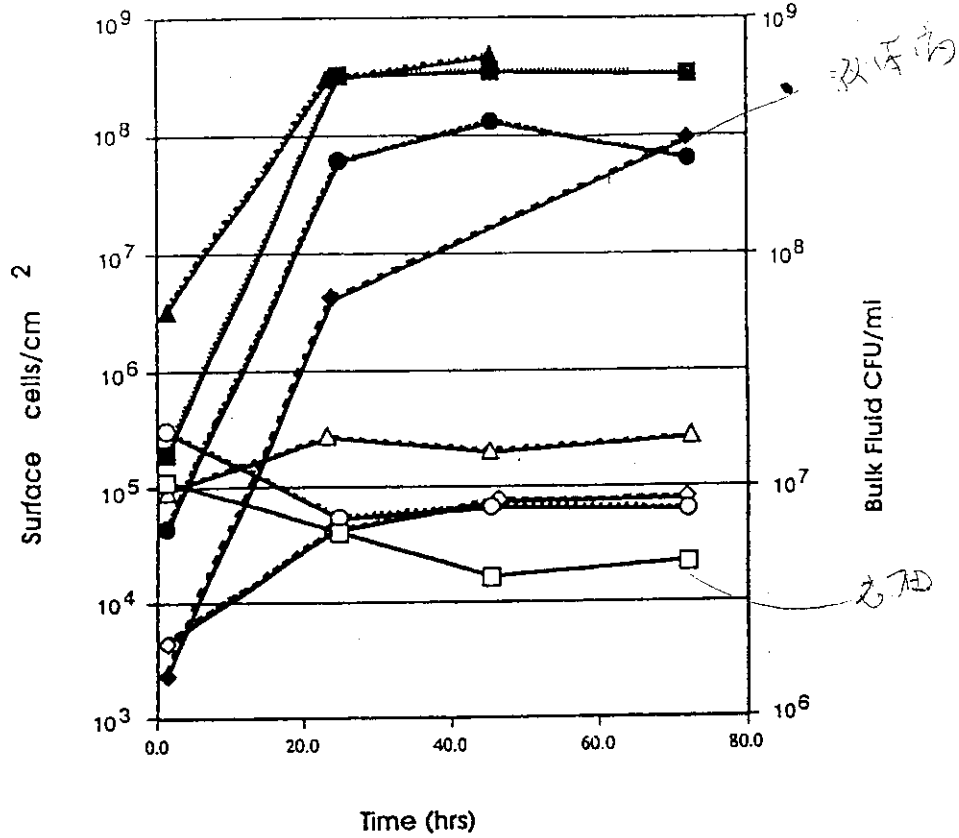


Fig. 1. Growth of and biofilm formation during growth by *Salmonella typhimurium* at 23°C in TSB, dTSB, RSM and DMJ. □, surface, TSB; ■, bulk fluid, TSB; ○, surface, dTSB; ●, bulk fluid, dTSB; △, surface, RSM; ▲, bulk fluid, RSM; ◇, surface, DMJ; ◆, bulk fluid, DMJ.

培養1時間後DMJを除いてステンレス表面に10⁵/cm²以上付着しそれ以降ほぼ一定。DMJは7×10³付着し、72時間後1オーダー増加。

・ TSB、dTSB、RSM、DMJ中23°Cの E. coli O157:H7 の増殖、バイオフィルムの形成→図2

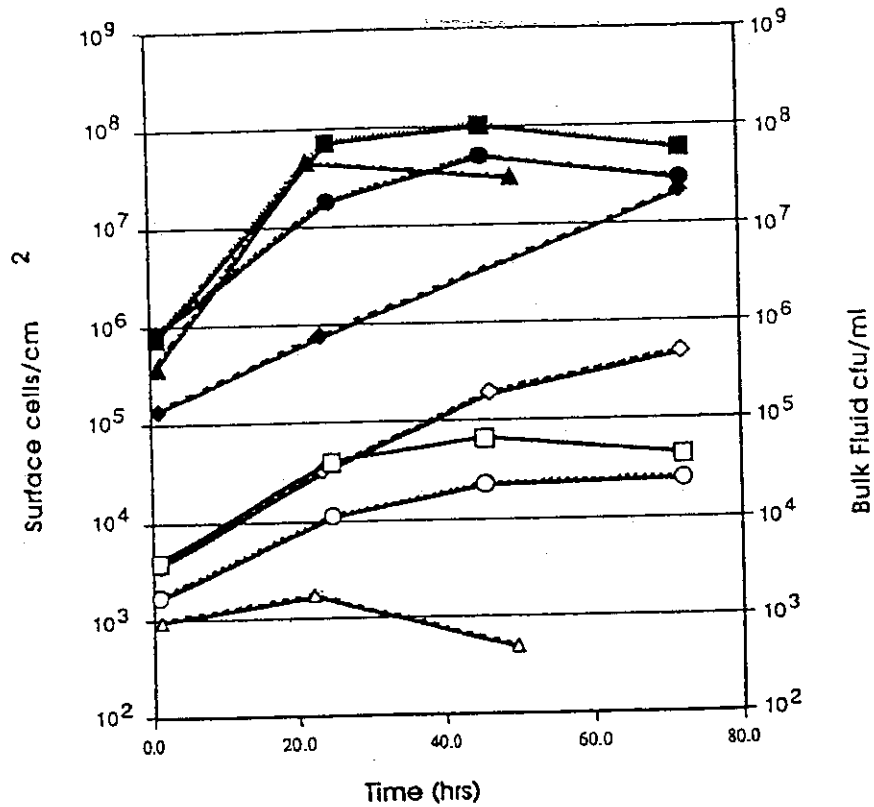



Fig. 2. Growth of and biofilm formation during growth by *Escherichia coli* O157:H7 at 23°C in TSB, dTSB, RSM and DMJ. □, surface, TSB; ■, bulk fluid, TSB; ○, surface, dTSB; ●, bulk fluid, dTSB; △, surface, RSM; ▲, bulk fluid, RSM; ◇, surface, DMJ; ◆, bulk fluid, DMJ.

1時間後 $10^3 \sim 6 \times 10^3 / \text{cm}^2$ 付着したが、TSB、dTSBでは72時間後1オーダー、DMJでは2オーダー増加し、RSMでは僅かに減少。

・ TSB、dTSB、RSM中、23°Cでの *L. monocytogenes* の増殖、バイオフィルムの形成→3

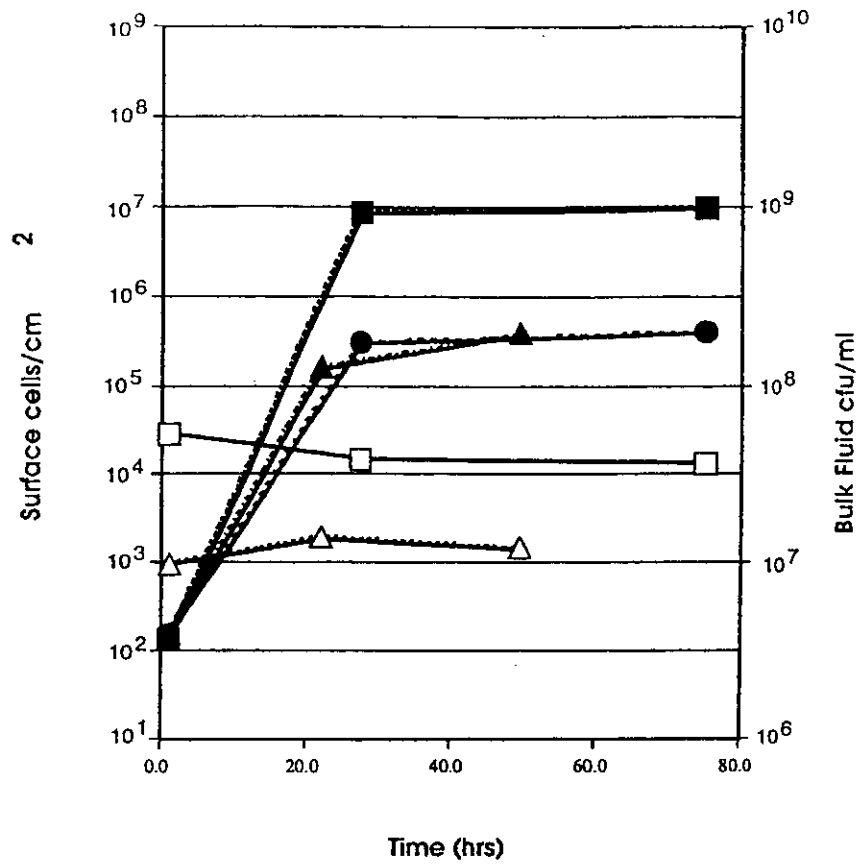



Fig. 3. Growth of and biofilm formation during growth by *Listeria monocytogenes* at 23°C in TSB, dTSB, and RSM. □, surface, TSB; ■, bulk fluid, TSB; ○, surface, dTSB; ●, bulk fluid, dTSB; △, surface, RSM; ▲, bulk fluid, RSM.

1時間後の付着量は $10^3/\text{cm}^2$ 以下であったが(dTSB、RSM)、TSBでは $5 \times 10^3/\text{cm}^2$ であったが、それ以降は増加しなかった。

・ TSB、dTSB、RSM、DMJ中23°Cでの *P. fragi* の増殖、バイオフィルムの形成→4

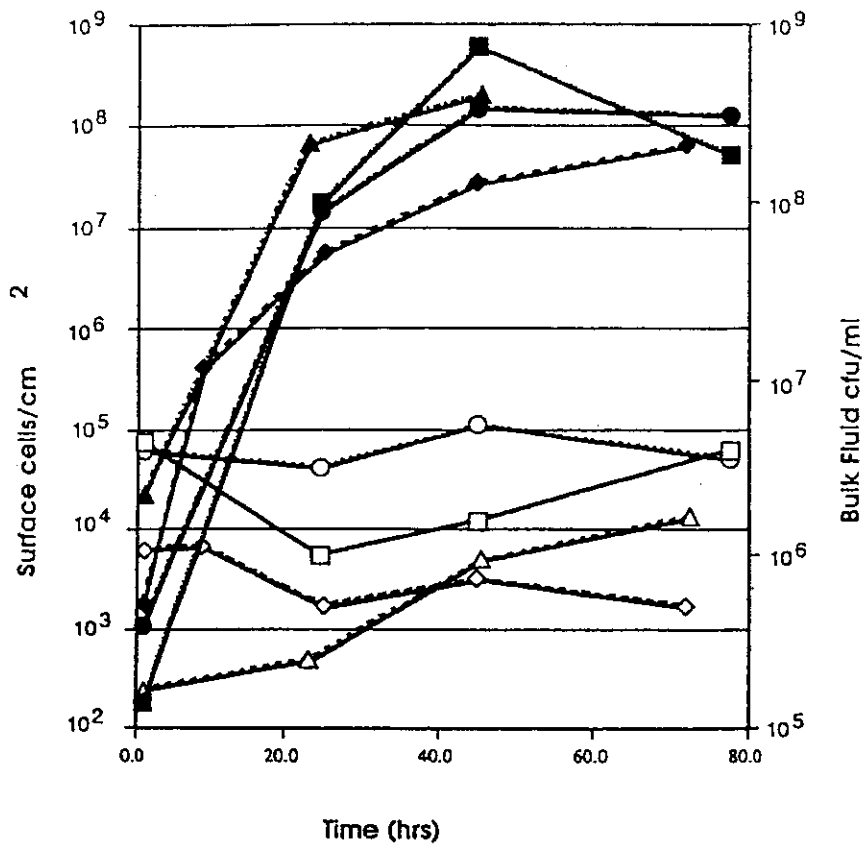


Fig. 4. Growth of and biofilm formation during growth by *Pseudomonas fragi* at 23°C in TSB, dTSB, RSM and DMJ. □, surface, TSB; ■, bulk fluid, TSB; ○, surface, dTSB; ●, bulk fluid, dTSB; △, surface, RSM; ▲, bulk fluid, RSM; ◇, surface DMJ; ◆, bulk fluid, DMJ.

S. typhimurium と類似。DMJは、1時間後の粘着レベルはTSB、dTSBより低く、時間経過で増加しない。また1時間のRSMで最も付着量が少なかったが、72時間後に2オーダー増加した。

・ TSB、dTSB、RSM、DMJ中23°Cでの *P. fluorescens* の増殖、バイオフィルムの形成→図5

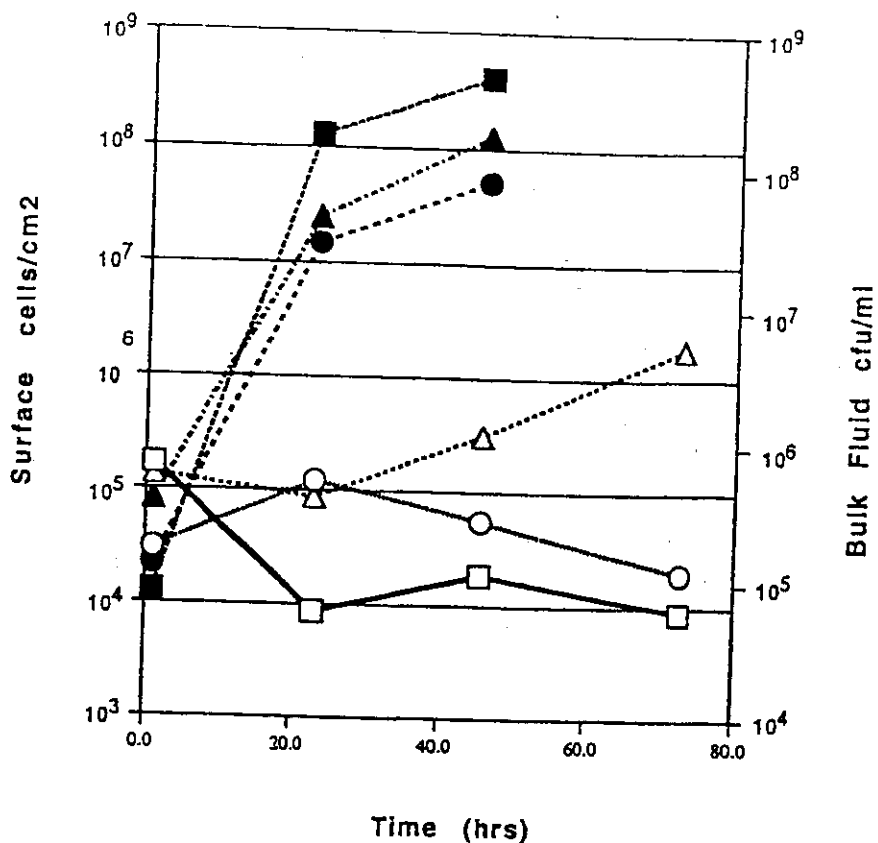


Fig. 5. Growth of and biofilm formation during growth by *Pseudomonas fluorescens* at 23°C in TSB, dTSB, and RSM. □, surface, TSB; ■, bulk fluid, TSB; ○, surface, dTSB; ●, bulk fluid, dTSB; △, surface, RSM; ▲, bulk fluid, RSM.

1時間後の付着レベルはTSB、dTSB、RSMでやや高く、時間経過でTSB、dTSBでは減少したが、RSMでは1オーダー増加した。

•各々の培地、微生物で最もバイオフィルム形成レベルの高い組み合わせ→図6

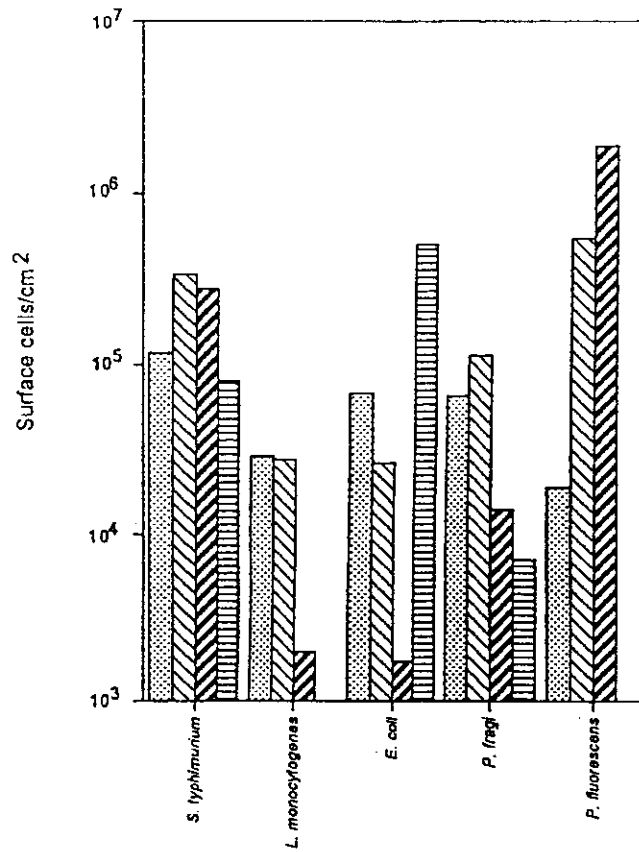


Fig. 6. The highest observed level of biofilm formation during growth at 23°C by *S. typhimurium*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *P. fragi* and *P. fluorescens* in TSB, dTSB, RSM, and DMJ. *L. monocytogenes* and *P. fluorescens* did not grow in DMJ, thus results for these two organisms in this media are not given in this figure. □, TSB; ▤, dTSB; ▨, RSM; ▩, DMJ.

1. 文献要旨

微生物名:

Listeria monocytogenes

文献No.15:

Antagonism Between *Listeria monocytogenes* and Lactococci During Fermentation of Products from Ultrafiltered Skim Milk

著者:

FATHY E. EL-GAZZAR, HANS F. BOHNER, and ELMER H. MARTH

出典:

1992 J Dairy Sci 75:43-50

要約:

未濾過処理脱脂乳、限外濾過脱脂乳からの濃縮液（5倍または2倍量に濃縮）及び透過液の試料をチンダル化し、 $5.5 \times 10^3 \sim 1.5 \times 10^5$ cfu/ml の *Listeria monocytogenes* California 株及びV7株を、 $4 \times 10^7 \sim 2.3 \times 10^8$ cfu/ml の中温性乳酸菌と一緒に接種した。*L.monocytogenes* (McBride Listeria agar) と乳酸菌 (all purpose Tween agar) の菌数は、30℃で0、6、12、24、30、36時間培養後測定した。乳酸菌は3試料全てで *L.monocytogenes* を有意に抑制または失活していた。失活は、未濾過脱脂乳（3.67オーダー）や濃縮乳（4.21オーダー）よりも、透過液で有意に大きかった（6.77オーダー）。濃縮乳における失活の程度は、濃度に関連していた。失活は完全なものではなく、*L.monocytogenes* は、36時間に達するまで、発酵中の試料に残存していた。

発酵した試料の冷蔵保存中（4℃）に、*L. monocytogenes* は、脱脂乳中では4～6週間、濃縮乳中で3～5週間、そして透過液中では1週間生存した。冷蔵温度では、生存の期間は、試料の種類とリステリア菌株の種類に左右される。

2. 方法

- ・指標菌株名：*Listeria monocytogenes* California 株（メキシコチーズ分離、血清型4b）及びV7株（牛乳より分離、血清型1）
- ・乳酸菌：Chr.Hansen、*Lactococcus lactis* ssp. *Cremonis* 4種の株混合
- ・増殖媒体：脱脂乳、濃縮乳、透過液（チンダル化：0.5時間蒸気殺菌、25℃一昼夜保持を4日間繰り返し）
- ・前培養：トリプトースブイヨン、35℃、24時間、2回
- ・作業用カルチャー：210mlのサンプルに0.1ml接種、35℃、24時間、更に同様に植え継ぎ35℃、48時間培養→作業用カルチャーとして保存。（210mlの試料にこのカルチャー0.1mlを接種すると *L. monocytogenes* は $5.5 \times 10^3 \sim 1.5 \times 10^5$ /ml。
- ・乳酸菌は約 $4 \times 10^7 \sim 2.3 \times 10^8$ /ml（210ml試料に菌末1g）

3. 結果

・*L. monocytogenes* V7株+乳酸菌、2倍濃縮乳中； \square 1

30°C 6時間後の2倍濃縮乳と透過液で*L. monocytogenes*が減少、脱脂乳では僅かに減少。36時間後はコントロール(*L. monocytogenes*のみ)と比較し透過液、2倍濃縮乳、脱脂乳で6.77、3.67、4.21オーダー差があった。

・*L. monocytogenes* CA株+乳酸菌、2倍濃縮乳中； \square 2

V7株と同様であったが、脱脂乳、2倍濃縮乳でややV7株に比べて減少割合が大きかった。

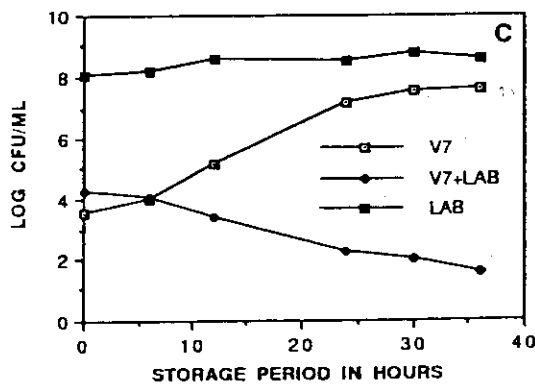
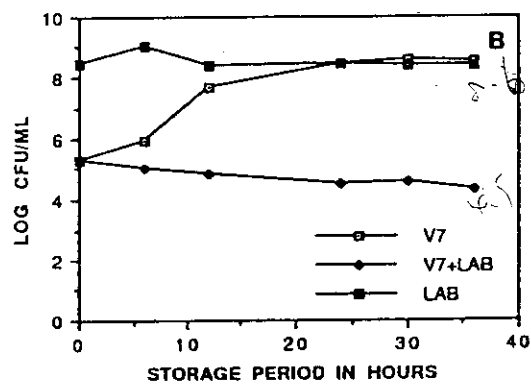
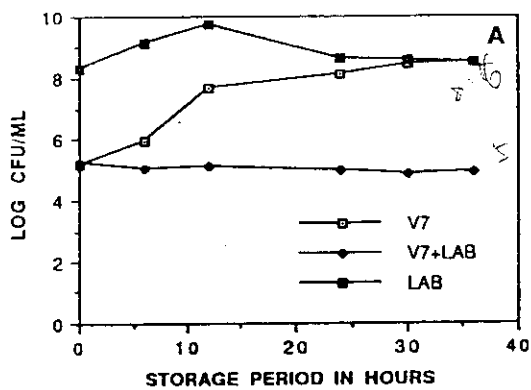


Figure 1. Antagonism between *Listeria monocytogenes* strain V7 and *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* during fermentation at 30°C of Tyndallized skim milk (A), Tyndallized twofold retentate (B), and permeate (C) from UF skim milk. LAB = Lactic acid bacteria.

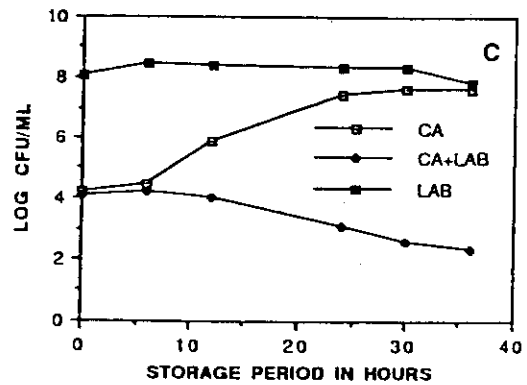
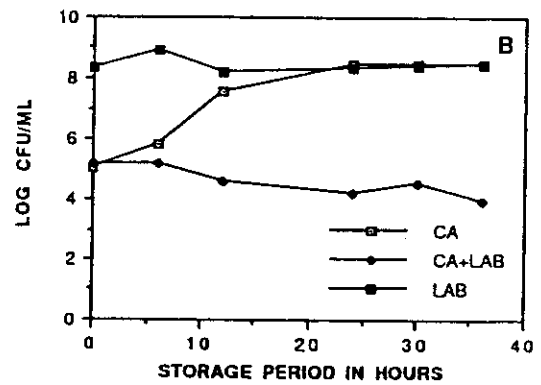
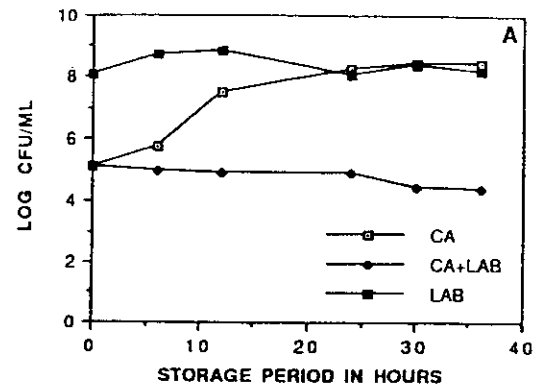




Figure 2. Antagonism between *Listeria monocytogenes* strain California (CA) and *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* during fermentation at 30°C of Tyndallized skim milk (A), Tyndallized twofold retentate (B), and permeate (C) from UF skim milk. LAB = Lactic acid bacteria.

• *L. monocytogenes* V7株+乳酸菌、5倍濃縮乳中； 3

• *L. monocytogenes* CA株+乳酸菌、5倍濃縮乳中； 4

L. monocytogenes の増殖には影響しない。乳酸菌混合の場合はCA株では5倍濃縮よりも2倍濃縮のほうがやや *L. monocytogenes* が減少。V7株ではそういう現象はない。

• 透過液中での *L. monocytogenes* の減少が脱脂乳、濃縮乳に比べ激しい。

• 未発表データ

4°Cでの *L. monocytogenes* の残存、脱脂乳で4~6週間、濃縮乳で3~5週間、透過液中で1週間であった。

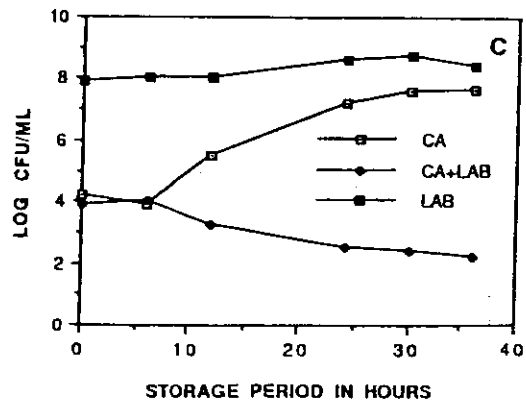
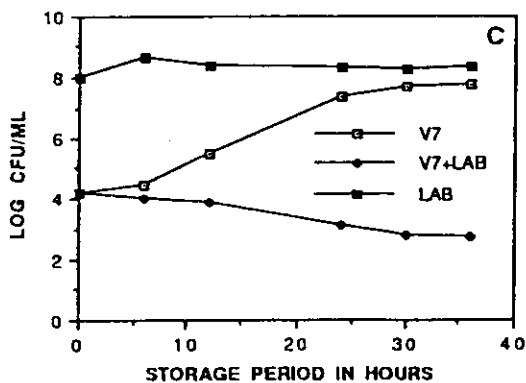
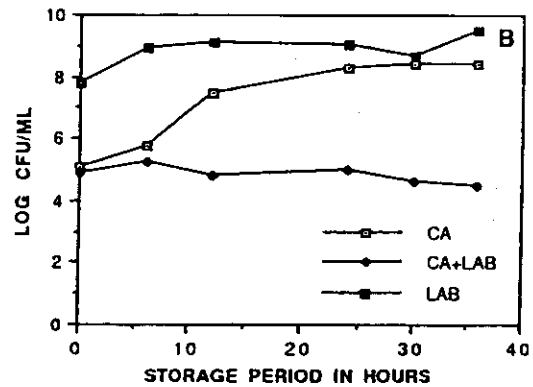
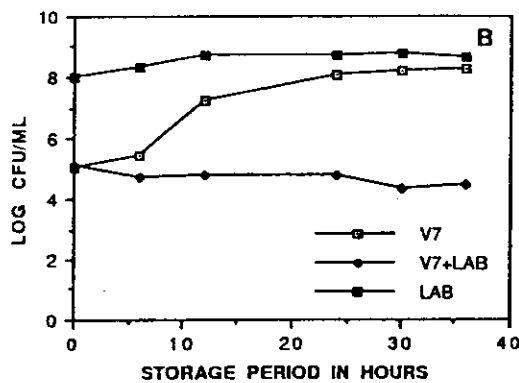
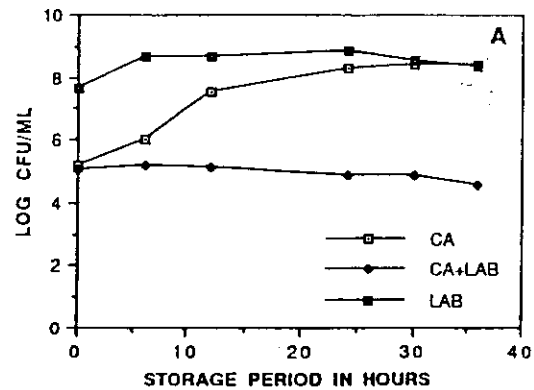
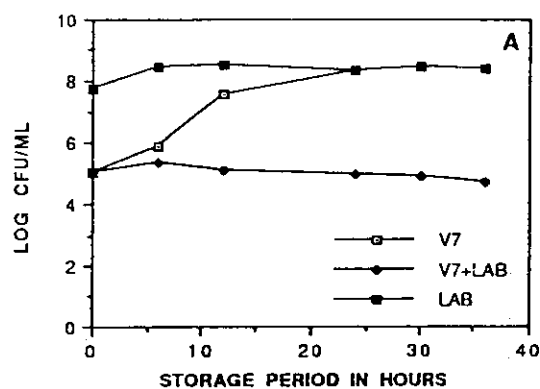


Figure 3. Antagonism between *Listeria monocytogenes* strain V7 and *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* during fermentation at 30°C of Tyndallized skim milk (A), Tyndallized fivefold retentate (B), and permeate (C) from UF skim milk. LAB = Lactic acid bacteria.

Figure 4. Antagonism between *Listeria monocytogenes* strain California (CA) and *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* during fermentation at 30°C of Tyndallized skim milk (A), Tyndallized fivefold retentate (B), and permeate (C) from UF skim milk. LAB = Lactic acid bacteria.

HACCP に基づく衛生管理の評価方法の開発に関する研究

分担研究者 山崎省二 国立公衆衛生院衛生獣医学部長

(研究要旨)

動物性加工食品等の高度衛生管理を HACCP システムを用いて行うにあたり、清浄度の評価方法が問題となる。すなわち従来より清浄度の評価方法として用いられている培養法は培養時間が長く迅速性に欠ける、微生物以外の汚れを検出できないなど実用的でない。

近年これらに対応するため生物発光法を用いた ATP 検出法が開発が進んでいる。一昨年度は国内で入手可能で比較的広く用いられている ATP 抽出法 7 社の製品の性能および再現性について比較検討を行い、昨年度は ATP 法と AMP を同時に測定する PPDK 法などについて検討した。本年度は、その他の微生物における迅速測定法、すなわち培養に基づいた検査方法の簡易・迅速・自動化、新しい原理に基づいた微生物検査方法、微生物同定法の簡易・迅速・自動化、特定微生物検査法の簡易・迅速・自動化について調査検討をした。

A. 研究目的

動物性加工食品等の高度衛生管理を HACCP システムを用いて行うにあたり、清浄度の評価方法が問題となる。すなわち従来より清浄度の評価方法として用いられている培養法は培養時間が長く迅速性に欠ける、微生物以外の汚れを検出できないなど実用的でない。近年これらに対応するため生物発光法を用いた ATP 検出法に加え、ATP より物性的に安定である AMP を同時に定量測定する PPDK 法等が開発され利用されつつある。この ATP 法および PDDK 法については一昨年、昨年と検討し、動物性加工食品等の清浄度評価に適していることを報告した。本年度はその他の微生物の迅速測定法につき調査検討した。

B. 研究方法

主として文献検索と関連企業を交えた委員会での調査検討を行った。

C. 結果及び考察

環境微生物の迅速測定法

近年の微生物検査の潮流は、従来の培養法による原因追求型（レトロスペクティブ）の検査法から、迅速に結果が得られる確な対応を可能にする事故未然防止型（パーセプティブ）の検査法へと確実に移行しつつある。その背景には、微生物が原因となる危害が一向になくならないという危機の念と、1995 年の PL（製造物責任）法の施行がある。製造者は GMP や HACCP システムなどを新たに導入し、より高い安全性確保の道を模索している。これらのシステムでは最終製品の微生物検査だけに依存せず、製造環境工程を管理して憂慮される危害を未然に防止する仕組み作りが重点が置かれている。製造環境・工程を管理するには従来の培養に基づいた微生物検査法では役割を果たせず、リアルタイム、あるいはそれと同程度の検査方法で管理する必要がある。近年、微生物の迅速測定法が特に製造環境の検査手法として渴望されている

理由がそこにある。

このようなニーズを受け、微生物検査の迅速化を目的とした様々な角度からのアプローチがなされている。昨年までにATP法及びPPDK法を検討した。そこで本年度はATP法及びPPDK法を除く迅速測定法全般すなわち、1. 培養に基づいた検査方法の簡易・迅速・自動化 2. 新しい原理に基づいた微生物検査方法 3. 微生物同定法の簡易・迅速・自動化 4. 特定微生物検査法の簡易・迅速・自動化について述べる。

迅速測定法の概説

培養法は19世紀後半にLouis PasteurやRobert Kochらが近代細菌学の基礎を築いて以降、100年以上にわたり継承されてきた伝統的な微生物検査手法であり、この長い歴史こそが信頼性の証となってきた。現在でも微生物検査法のよりどころとなっており、将来的にも培養法が完全になくなることはないであろう。そこでまず、培養に基づいた検査方法の簡易・迅速・自動化について述べる。現在、サンプル調整から形成されたコロニー計測に至るまでの各ステップに対応した機器が市販されており、培養そのものの時間は変わらないがその前後の工程を迅速化できる。次に新たな原理に基づいた検査方法について述べる。これは、微生物のコロニーが形成される以前の段階で、生理・生化学的なインジゲーターを測定することによって微生物を検出する方法である。一方微生物を量だけではなく質で評価する方法、すなわち、同定あるいは特定微生物検査法の簡易・迅速・自動化も進んでいる。微生物の同定というと学術的な印象が強く、現場での有用性については疑問がもたれていたようである。しかし、同定によって微生物の性質を詳しく理解することは、微生物危害の予防・再発防止に、そして、事故が起こった際の発生原因追及の過程でも必要な操作である。また、食中毒菌や病原微生物による環境汚染は近年特に深刻であり、これら特定の微生物を検査する必要性は今後ますます増加してくるであろう。これら特定

の微生物を検査する必要性は今後ますます増加してくるであろう。これら検査法の技術開発は近年特に盛んであって目を見張るものがあるが、ここでは製品化されているものについてのみ述べる。

1. 培養に基づいた検査方法の簡易・迅速・自動化

微生物検査の基本となるのは、現在でも培養に基づいた方法であることには変わりはない。培養に依存する限り培養時間を大幅に短くすることはできないが、培養以外の工程を簡易化・迅速化・自動化する器具や装置が市販されている。また、形成されたコロニーを染色して見やすくすることにより、培養時間を短縮する試薬も製品化されている。これら培養に基づいた検査方法を支援する器具・装置を表1にまとめた。また、これらを培養法の作業工程中の何処で使用するのかを図1に示した。以下、作業工程に沿って紹介する。

(1) 試料調整、培地作成装置

液状試料はそのまま試験に用いるが、固形物を含む試料はホモジナイズして液状化する必要がある。この際に、専用のポリエチレン製袋に固形試料をはかりとり生理的食塩水やペプトン加生食などの希釈液を加えるが、この操作を簡易化する装置として自動秤量・希釈装置がある。これは自動天秤と分注ポンプがマイクロコンピューターで連動制御された装置であり、秤量値にあわせて必要量の希釈液が自動分注される。試料のホモジナイズにはストマッカー等のホモジナイザーが用いられる。なお、ストマッカー専用のポリエチレン製袋として、ろ過機能を備えたストマフィルターが市販されており、これを用いると破碎断片によるピペットの目詰まりが解消される。

(2) 簡易培地

調整不要の出来上がり培地で、いつでもどこでも使用できるように工夫されている。大きく分類すると、乾式のフィルム培地、表面附着微生物のサンプリングがそのまま実施できるスタンプ培地、サンプリング用のスワ