

パネルディスカッション 微生物検査について

- I. 細菌検査の試験方法
従来の公定法と新しい簡易検査
等について**
- II. 今回の精度管理結果、ばらつき
原因を考える。**
- III. その他の誤差原因(試験法の行
間、あいまいな独自流)等につい
て**

テ ー マ No.	分類	質問内容	回答 以下は一例です。	備考
	質問	※1「報告会で聞きたいこと、話してほしいこと等」 ※2「各項目及び精度管理に対する全般的なご意見、ご要望」		
	その他	☆その他の誤差原因は、誤差リスクを、大→小(★★★★★→★)で示しましたが、一応の目安とお考えください。		
	ご要望	過去の経緯も考慮しながら改善に役立てさせて頂きます。		

I. 試験方法、従来の公定法と新しい簡易検査等について

1	※1	使用培地・試験方法によって、結果の差が出てきますか？	差が出るのが、普通です。 今回の精度管理クロスチェックのデータに限っては、試験法が違っても、大きな差はないように感じました。	冷凍食品規格の一般生菌数、24時間培養と、一般的な48時間培養の差 一般生菌培養温度、35℃、37℃、30℃ デノキシコレート寒天培地、メーカーにて、大きな差が出る。
2	※2	アメリカやヨーロッパの試験方法と日本の試験方法で差が出るのでしょうか？		有効数字の取り方だけでも違いがあります。
3	※1	初めての参加でしたので、戸惑う事が多くありました。ペトリフィルム検査法はポピュラーではないのでしょうか。	「ポピュラー」の意味をどう取るかですが、、、それぞれの試験法の長所短所を考えると	ペトリフィルム検査法も、徐々に公定法に取り入れられ、当協会でも採用される会社が増えています。
4	※1	(ペトリフィルム検査法)菌数の計算法として25～250が適正として扱いましたが、、、	ペトリフィルム検査法は25～250とされているようです。 多くは、30～300のようです。	

II. 今回の精度管理結果、ばらつき原因を考える。

その他の誤差原因				
5	☆1 (今回の誤差原因)	希釈率の計算間違い。	★★★★★	
6	☆1	今回のサンプルを冷蔵しなかった。	★★★★★	
7	☆1	今回のサンプル使用期限を超過して検査	★★★★★	
8	☆1	今回のサンプルを凍結させてしまった。	★★★★★	
9	☆1	サンプルを取る際に、混ぜるか混ぜないか	★ ~ ★★★	
10	☆1	今回のサンプルの受取に、不備があり、長時間そのまま放置されていた。	★	
11	☆1	今回のサンプルを冷蔵したが、5℃以下ではなかった。	★★	
12	☆1	希釈系列が、1系列	★★	
13	☆1	希釈が不足して、1000前後でカウントした。	★★★★	
14	☆1	所定の時間以上、培養している。	★★	
15	☆1	有効数字が、30～300以外を採用している。	★	
16	☆1	同じ会社なのに、判断基準が違う。	★	

III. その他の誤差原因(試験法の行間、あいまいな独自流)等について

17	※2	弊社で普段実施している検査は衛生規範に適合しているか否かを判定する目的で行っていますので、希釈倍率は-2～-4としています。精度管理においては、普段と同様の作業手順で行うのが適当であると考え、同様の希釈倍率で検査を行いました。結果として、平板当たりのコロニー数が-4で300を超える値となりました。	普段と同様の作業手順と、希釈倍率の設定は、別の判断が必要ではないでしょうか。	
18	※1	・デノキシコレート寒天培地の調整方法について。(加熱溶解方法:沸騰水中、電子レンジ調整など)	問題ないでしょう。ただし、途中で数回混ぜる必要があります。 (標準の検査方法と違う方法をとる場合は、あくまで自己責任ですが、)	・デノキシコレート寒天培地の調整方法について。(加熱溶解方法:沸騰水中、電子レンジ調整など)
19	※2	通常の検査では、製品の特性からあまり菌数が出ません。1希釈1枚、2希釈の検査ですが、問題はありますか？	検出菌数が10の4乗程度までなら、コロニーが小さいものの、異常を目視できるので、問題無いと思います。ただし、シャーレを用いた混釈培養法の例では、菌数が10の6錠を超えてくると、コロニーが小さすぎて、細菌の発生が無いように見える事があります。防御策としては、シャーレのふたを開けて、臭いを嗅げば、特有の臭いで細菌の増加を感じられます。	
20	☆2 (よくある質問等)	「シャーレ注入してから、培地を流し込むまで1時間以上経過した(夏場、室温25℃)	公定法、20分以内 自主的検査でも、自社なりの確認の上で管理基準を	細菌検査は、生き物を対象にした検査ターゲットは増殖する。 大腸菌は20分に1回分裂、腸炎ピロリは10分に1回分裂

21	☆2	標準寒天培地を湯煎せずに、直火で加熱沸騰させたら	公定法、湯煎 自主的検査でも、自社なりの確認の上で管理基準を	
22	☆2	培地調整後、1か月以上経過したものは使用可能	2,3ヶ月（乾燥させずに密封状態で）の情報もありますが、...	
23	☆2	大腸菌群だけなのに、標準寒天培地の菌数より、デソキシコレート寒天培地の菌数が低く出てしまう		
24	☆3 (その他の誤差原因)	希釈水を十分冷まさず(45℃位以上)で、使用した	★★★★★	20分以内に培地を流せないと、影響がありそう。
25	☆3	寒天培地を十分に冷まさず、シャーレに注入した。	★★★	
26	☆3	シャーレ1枚当たり、培地を10ml程度しか流し込まなかった。	★★★	15mlが規定
27	☆3	一般生菌数は、35℃または37℃、30℃の培養温度があります。	★ ~ ★★★	
28	☆3	デソキシコレート寒天培地を、再溶解して使用した。	★★★★	
29	☆3	10倍希釈の代わりに、0.1mlをシャーレへ入れ	★★	2mlのピペットで、どれだけ正確に0.1mlが計れているか
30	☆3	固形サンプルを計り取る際に、つまんだ1個が10g以上あったので、そこから10gを計り取った。	★★★★	弁当を1検体で検査するイメージで考えれば
31	☆3	培養温度を校正しておらず、ずれているのに気付かない。	★ ~ ★★★	

***** 記 *****

		以下、ご意見ご要望、有難うございました。頂きました内容を精査し、帳票の見直しや訂正などに役立たせて頂きます。しかしながら、入力時の勘違いの発生など、過去の経緯から今の形となり、防止も出来ておりますので、併せてご理解の程をお願い申し上げます。		
32	※2	・毎年1月は当社の会計年度末で、1月末は業務が多忙となります。可能であれば、2月後半以降での実施を希望します。	役員会にて相談してみますが、他の行事や、サンプル調整委託先の都合もあり、実施日変更は難しいのが現状です。	(ご要望として、ご説明のみ記載)
33	※2	・複数回検査を行った際の結果記入シートが複数のシートになっているので、一枚のシートに複数の結果を書き込める書式にした方が記入がしやすいと感じました。	過去に採用していたシート1枚の報告式では、書きにくいとの声があり、今の形に落ち着きました。今後も、改良には努めたいと考えております。	(ご要望として、ご説明のみ記載)
34	※2	・黄色ブドウ球菌など、選択培地でのコロニーの確認を要する菌の判別にも興味があります。	他も実施できるよう、考えていきたいです。ただ、黄色ブドウ球菌などの食中毒菌は、宅配便での送付に問題があるとの意見があり、過去に実施したものの今は実施しておりません。 集合教育の「技術講習会」で、取り扱えないが相談致します。	(ご要望として、ご説明のみ記載) 黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、セレウス、リステリア、サルモネラ等、日頃検出しない細菌が生じた培地を、一度見ておきたいと思う方は多いと思います。当協会で報告された、黄色ブドウ球菌の2種類の卵黄反応「レンチナーゼによる乳白色変化」と「リパーゼによる真珠様光沢」も、判定に必要な知識でした。
35	※2	・大腸菌群の帳票で1.社名~3.到着直後の評価試料の取扱いの欄の記載を省略する場合、チェックを入れたと書いてあるが、何処にチェックしているのかが分からない。 ・大腸菌群の帳票のシートに記載されているメモがシートにより違う。 ・一般生菌数の帳票で、例と実際に記載する帳票が違う。(例は事業名と会社名が別々に記載する場所があるが、実際に記載する帳票は会社名のみ) →今回、記載するにあたり困りました。	申し訳ありません。帳票を見直して、改善していきます。	(ご要望として、ご説明のみ記載)
36	※1	検査結果の表がとても分かりづらい上、何度も同じ項目を記入する必要もないと思います。	申し訳ありません。帳票を見直して、不要なところは削除する方向で進めます。/*** 誠に申し訳ありません。引き続き改良に努めます。ご理解頂きたい点として、当初採用していた単純な報告式では、入力ミスされる方が非常に多く発生しました。問題のある報告は、電話で個別に確認するなど、集計にも支障がありました。対策として、報告用紙の書式を改善し、今では入力ミスが少なくなっています。ただ、ミス防止を優先するあまりに、複雑な書式になっている点は、今後の反省材料として工夫に努めさせていただきます。誠に申し訳ありません。	(ご要望として、ご説明のみ記載)

37	※2	もし弊社と同じような希釈倍率で普段の検査を行っている施設が多い場合は、精度管理用の検体の菌数を100分の1程度に減らしていただくことをご検討いただければ幸いです。	今のサンプルは、サンプルの成分や菌数により、冷蔵で3日間菌数を維持するよう調整したものです。 したがって、当協会での今のサンプルの菌数を減らすことは難しく、ご理解していただくと幸いです。 細菌は、菌数が多いほど、死滅し難い特徴があります。 現在の精度管理用サンプルの細菌数を、10の7乗にすることで、安定した精度管理の判定が行っております。	(ご要望として、ご説明のみ記載)
38	※2	・検体と一緒にいられている説明書に報告書に記載する内容等(温度など)メモ欄があれば便利と思います。 ・報告書で2回目、3回目のデータの記載不要なところは削除しておいてもらった方が確認しやすいです。(1(11も基本おなじではないのでしょうか？)	貴重なご意見ありがとうございます。アドバイスをもとに、使いやすい帳票になるよう、改善していきます。	(ご要望として、ご説明のみ記載)
39	※2	説明書類の中で必要事項を大きな字でもっと目立つように書いてほしい。	貴重なご意見ありがとうございます。アドバイスをもとに、使いやすい帳票になるよう、改善していきます。	(ご要望として、ご説明のみ記載)
40	※1	菌数の目安が示されていたので希釈倍数を絞れましたが、それでも今回のコロニー数が適切であったのか疑問です。他社様の生データも教えて頂きたいです。	ご意見を参考に、改良に努めます。 全てのデータを集計した表を配布或いはホームページに掲載の予定です。 シャーレのカウント数までは、集計していないので、一部のデータを抜粋した資料を3/10にご提示します。	(ご要望として、ご説明のみ記載)
41	※2	【注意事項】の(4)検査は配布試料が到着した日に行ってください。とあるが、一日遅れた場合結果にどのくらい影響がでるのでしょうか。 試料が寒天で固めてあったため、サンプリングがしにくかったです。(崩したとき固体部分と液体部分とに分かれるため)	当協会のサンプルは到着後3日間、サンプルに含まれる細菌の菌数が減少しないよう、試行錯誤して作成したものです。3日間以内であれば、菌数の影響はほとんどありません。しかし、保管状態によっては、サンプル中菌数に影響を及ぼす可能性もあるため、到着した日に行うことを勧めています。また寒天の固さについては、今のサンプルが細菌の菌数など良い状態で維持されているため、ご理解いただければ幸いです。	(崩したとき固体部分と液体部分とに分かれるため)のご意見は、サンプリングに細心の注意を払っておられるのが、推奨できます。サンプルに応じた、サンプリング操作や器具も、検査精度を上げるポイントと考えております。現在のサンプルには、滅菌した薬サジを利用すると、サンプリングしやすいです。