

---

# 一般細菌数用簡易検出紙

使用法と 評価の仕方

国際学院埼玉短期大学名誉教授

医学博士 渡 邊 昭 宣

 **サン**化学株式会社

---

# 目 次

はじめに .....	1
1. 一般細菌数用簡易検出紙の特長 .....	2
2. 簡易検出紙の使い方 .....	2
1) 基本的使い方 .....	2
2) 応用的使い方 .....	4
a) 液状食品の場合 .....	4
b) 固形食品の場合 .....	4
c) 器具、容器、環境一般の場合 .....	6
3. 培養と判定方法 .....	7
4. 使用上の注意 .....	8
5. 一般細菌用簡易検出紙と標準寒天培地による公定法の比較実験 ..	9
6. 一般細菌数用簡易検出紙における結果の評価の仕方 .....	12

# 一般細菌用簡易検出紙

## 使い方と判定の仕方

国際学院埼玉短期大学名誉教授

医学博士 渡 邊 昭 宣

### はじめに

食品の製造で最も重要なことは、より安全かつ健全な食品を消費者に提供することです。そのためには、日頃から原材料、加工、調理で用いられる器具、器材類更に従業員の方々などについて、衛生面特に微生物汚染に対しての厳しい管理が必要です。

しかしながら食品製造過程の細部に公的機関で行われるような、高度な知識と技術を必要とする検査は、様々な制約を受けることが多い。そこで、食品工場などにおける製品や環境など微生物管理を目的としての簡易検査器材として開発されたものがこの一般細菌用簡易検出紙です。

ほとんどの食品は、我国の食品衛生法で一般細菌数においては基準が規定されているのでこの検出紙によって製品中の細菌数を把握することが可能です。

## 1. 一般細菌用簡易検出紙の特長

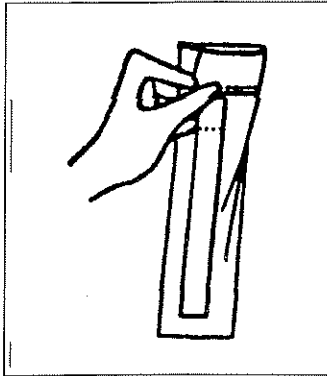
- ① シャーレ、試験管など器具、器材類が一切必要ありません。
- ② 操作方法が極めて簡単なので熟練を必要としません。
- ③ 屋外においても検査を行うことができます。
- ④ 検出紙上での微生物の反応が明瞭なので、容易に判定することができます。
- ⑤ 検出済みの検出紙を保存乾燥させ、現場の資料として保存ができます。
- ⑥ 保存の必要のない検査済み検出紙は、焼却処分すれば問題はありません。

## 2. 簡易検出紙の使い方

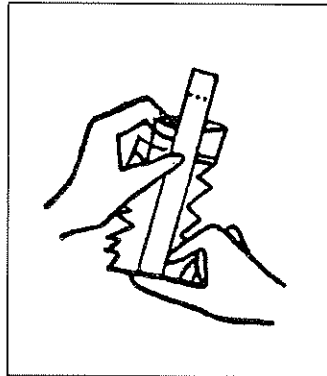
### 1) 基本的使い方

- ① ミシン線の上の部分を指でつまんでペーパーを引き出す。
- ② ミシン線より下の部分を用意した検体中にそのまま浸漬し、すぐ取り出し、余分の試料液をおとす。(浸漬する場合、一気に試料中にペーパーを浸漬するのが「コツ」である)
- ③ ミシン線の部分がチャックより下になるようにサンパックに入れる。
- ④ ペーパーを袋の上から押えて、ミシン線より上の部分を指できりとる。
- ⑤ そのまま平らに置き、指で押しながら袋の中の空気をぬき、ペーパーと袋を密着させてチャックを閉じる。

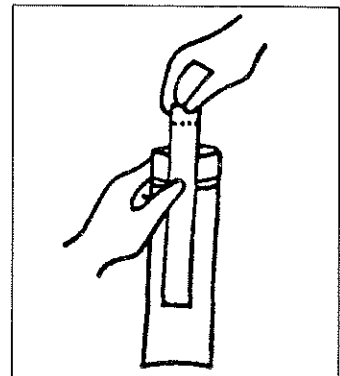
## 一般細菌数用簡易検出紙の使用手順



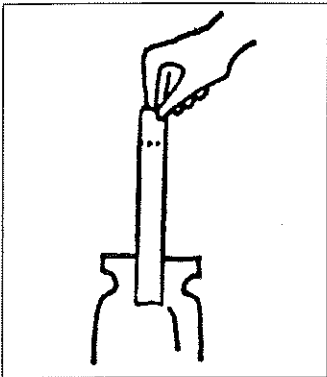
① サンパックのチャックをよじって口を開ける。



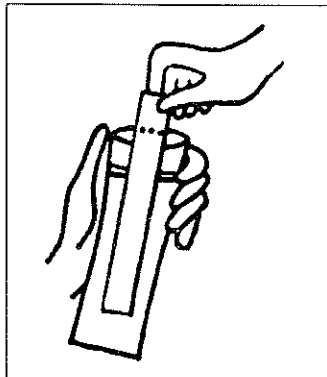
② 中のペーパーを押上げミシンの部分を外に出す。



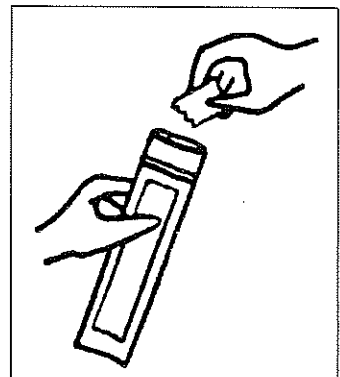
③ ミシンの上の部分を指でつまんでペーパーを引き出す。



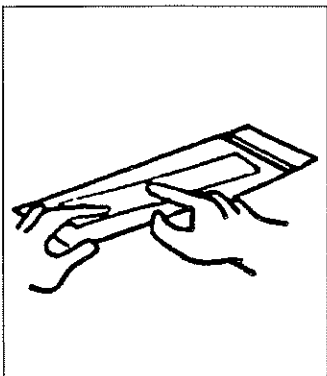
④ ミシンより下の部分を検体に浸漬したらすぐ取り出し



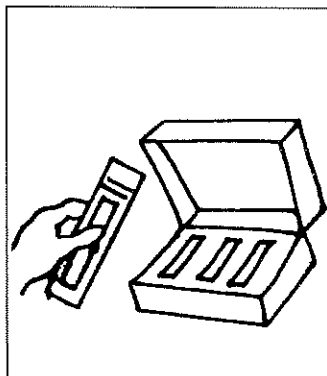
⑤ ミシンの部分がチャックより下になるように入れる。



⑥ ペーパーを袋の上から押さえて、ミシンの上の部分を指できりとる。



⑦ 平らにおき指の腹でなぜるように空気をぬきペーパーと袋を密着させてチャックを閉じる。



⑧ 密封したペーパーを35～37℃の恒温器に入れる。

## 2) 応用的使い方

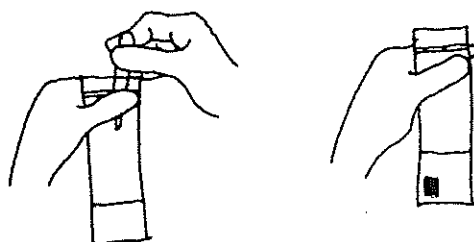
### a) 液状食品の場合

液状食品の場合はそのまま、或は次にのべる滅菌計量棒によって10倍希釈した試料について、1)の基本的使い方に従って検査する。

### b) 固形食品の場合

魚介類、肉類、野菜類及びその加工品を検査する場合は、滅菌生理食塩水又は精製水を滅菌サンパックの10mlの線まで入れておき、検体の切片を希釈液量の1/10量程度その中に投入し、よく指で押し、攪拌、振とうをして試料原料とする。この試料原料を用い、1)の基本的使い方に従って検査する。

#### (1) 滅菌サンパックの使用法



検出紙の場合は検体を持ちかえることなく、そのまま現場で検査ができる。しかし、海水浴場の水や下水などを持ち帰って検査するときは、希釈したりするので不便であるとともに、その間に経過する時間中に菌の増減が考えられる。そこで滅菌サンパックを次のように使用することにより現場で検査ができる。

- ① サンパックの目盛 (10ml) まで滅菌生理食塩水又は精製水を10ml入れ、当社製滅菌計量棒 (1mlの目盛り) で、必要量の検体を加え、よく振って均一化した後、必要ならばさらに希釈する。
- ② 各段階の希釈液を試料として、1)の基本的使い方に従って検査

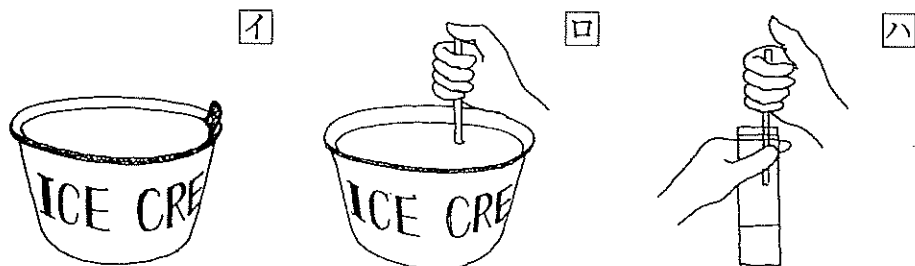
する。

- ③ この方法は全くの推定検査であるが、希釈液と検体の割合を目分量でもほぼ一定としておけば、だいたいの推定には役立つ。
- ④ 滅菌サンパック（エントル入り）の中にいれてある小沢紙片には、チオ硫酸ナトリウムが含まれている。

塩素殺菌した水道水で検査する場合には、検水を10～20ml注入しよく攪拌することによって塩素剤は中和され、一般細菌数用の検水となる。

## (2) 滅菌計量棒の使用法

アイスクリーム及びアイスクリーム類、下水、海水、食器等の洗い水等に使用する。例えばアイスクリームの一般細菌数を調べる場合の操作は、



- ① カップに入っているアイスクリームをそのまま室温に放置し、溶解させる。
- ② 溶解したクリームに計量棒を最初の日盛まで入れる（1g）。その後計量棒の頭の部分を親指でふさぎ、アイスクリームを採取する。
- ③ これを滅菌生理食塩水又は精製水10mlの入った滅菌サンパックの中に入れ、よく攪拌し、その後は1)の基本的使い方に従って検査する。

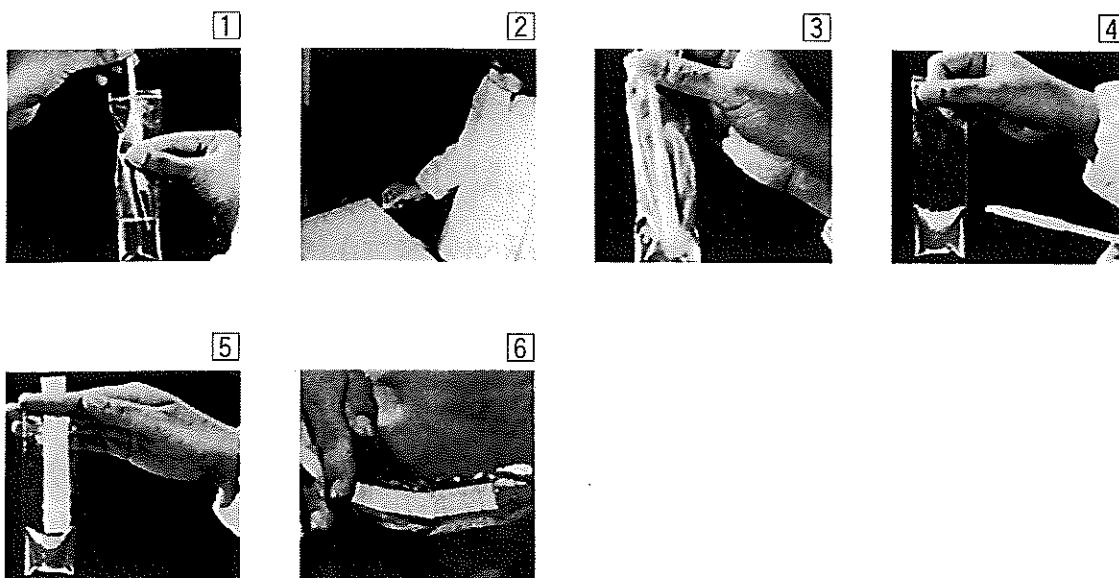
c) 器具、容器、環境一般の場合

検査対象がマナイタ、作業台、庖丁などの器具、容器、環境一般の場合にはふきとり法（Swab法）で検査する。ふきとりはサン滅菌綿棒を用いる。

サン滅菌綿棒の使用方法

- ① 綿棒入り袋の口を開いた後、滅菌生理食塩水又は精製水（以下液という）10～20ml（袋の1目は10ml）を綿棒の柄の上部にかからないように静かに入れる。
- ② 綿棒を少し持ち上げて、液に浸ったガーゼを袋の外から指で軽く押さえて綿棒を回すように取り出すと、ガーゼの液は軽く絞れる。  
（下図）
- ③ 取り出した綿棒のガーゼ部分で検体の面をよく拭き取る。（下図2）
- ④ 拭き取った綿棒を元の袋に入れ、すでに入っている液でよく振るか、または液の外からガーゼの部分を指で押し出すようにして検体をすすぎ出す。（下図3）
- ⑤ よくすすぎ出したら、ガーゼの部分を袋の外から強くおさえて絞るようにして取り出す（綿棒は1回毎に捨てる）。（下図4）
- ⑥ 綿棒を取り出したあとの袋にペーパーを入れ、袋の口のところを、人差し指と中指で両面から挟むようにして、水を傾けるとペーパーに浸漬するから、それを静かに取り出し、余液をおとし、1)の基本的使い方に従って検査を行う。（下図5、6）
- ⑦ 袋の液は口を封じ、口の部分を立て掛けて上にしておけばこぼれないから、また次のペーパーを入れて、同様の操作をする。





### 3. 培養と判定方法

- ① 密封したペーパーは35～37℃の恒温器に入れ24時間培養する。
- ② 細菌が存在した場合、赤色斑を形成するので、その赤色斑を算定する。
- ③ 一般細菌数の算出は検出紙上に出現した赤色斑の数に希釈倍数と次に示す品目より各々の系数を乗じて1gまたは1ml中の一般細菌数と推定します。

水質検体の場合            赤色斑×1×希釈倍数

食品検体の場合            赤色斑×30×希釈倍数

器具、容器及び手指      赤色斑×40×希釈倍数

(例) 具体的に生じたスポットの数が水質が10、食品が30、器具及び手指が50であった場合 (10倍希釈段階において)

検査品目	結果 = 赤色斑数	一般細菌数
水質	10	$10 \times 1 \times 10 = 100 / ml$

食 品	30	$30 \times 30 \times 10 = 9,000 / ml$
器具及び手指	50	$50 \times 40 \times 10 = 20,000 / ml$

以上のような検査結果となります。

#### ④ 判定する際の留意点

- 検出紙の表面から裏面まで達している赤色斑は 1 個として計算する。
- 検出紙にまったく変化がない場合、水質はゼロ、食品及び器具、手指のふきとりの場合、300～400個未満と判定して下さい。
- 赤色以外（黒または青など）の点状もしくは斑状が認められた場合は、算定の対象とはしないで下さい。
- 赤色斑が認められずに検出紙が全体的にピンク色に変色した場合は、ごく微量な活性度の弱い菌が反応している場合が多く、算出は困難であるが、菌は存在した、つまり+の判定になります。

## 4. 使用上注意

- ① 検出紙を操作する時は、あらかじめ指先をアルコール（70%消毒液）綿でよく消毒する。
- ② 検出紙は無菌的に取り扱わなければならない。ミシン目の上部以外は直接手を触れてはならない。
- ③ 検出紙は約 1 ml の試料を吸着するよう工夫されているので、検体、試料原液に浸漬したら、余分な液をよく落として吸着量を常に一定（1 ml）に保つよう留意する。
- ④ 試料を吸着させた検出紙は袋に戻した後、検出紙面と袋のビニール面が十分密着するよう、圧して空気をぬき、口のシールを閉じ、

中がなるべく嫌気状態に近くなるようにする。

- ⑤ 検出紙には光により敏感な成分を含んでいるので冷暗所（冷蔵庫など）で保存することがのぞましい。

## 5. 一般細菌用簡易検出紙と標準寒天培地による公定法の比較実験

### (1) 実験品目

- ① 水質（飲料水、井戸水など50検体）
- ② 食品（そうざい、刺身、豆腐、生菓子、畜肉類など50検体）
- ③ 環境（食品製造における、器具、器材、容器、従業員の手指など50検体）

### (2) 実験方法

検査試料は、秤量した検体1容に対して滅菌生理食塩水9容をストマッカー用滅菌ポリ袋に入れ、ストマッカーで約30秒間ストマッキングすることによって調整した。

この試料原液から10倍段階希釈液を作り、公定法によって一般細菌数を測定する一方、検出紙については、各希釈液の1 mlを滅菌ピペットで検出紙にしみこませ、これを各希釈液毎に3枚ずつ作製し、35℃で24時間培養した後出現した赤色集落数を算出し、3枚の平均値をもって検出紙の一般細菌数とした。

#### a) 検出紙上の集落数の計測基準

検出紙上には食品の種類、品質などによって様々な状態で赤色集落が出現するので、一定の基準を設定して計測した。

検出紙上の集落の計測範囲は、ペーパーのミシン線以下の部位につい

て表裏面及び内部の赤色集落をかぞえた。

b) 集落の読み方

- ① 発生集落が100個以下の場合は、袋の上からマジックインキ等で集落の上に印をつけながら数える。
- ② 検出紙の表面から裏面にまで達している集落はこれを1個として計算する。
- ③ 検出紙に変化のない場合は0とする。
- ④ 大小の赤い斑点（以下赤点という）が出現し明瞭であるものは集落として計算する。また、赤斑の中に赤点が核となっている場合も集落として計算する。
- ⑤ 針頭大～けし粒大の赤点が密発している場合も集落として計算する。
- ⑥ 部分的に赤斑があるが、核をなすような赤点を認めない場合は0とする。
- ⑦ 検出紙が黒色、青色または黒褐色などの点状又は斑状をなした場合は試料の残渣又は夾雑物によるものとして計算しない。

(3) 実験結果

① 水質について

(水質)

公定法		一般細菌簡易検出紙		公定法 検出紙法
細菌数の範囲	平均細菌数	細菌数の範囲	平均の細菌数	
$1 \leq \sim < 10^2$	51	$1 \leq \sim < 10^2$	45	1.13
$10^2 \leq \sim < 10^3$	171	$10^2 \leq \sim < 10^3$	158	1.08
$10^3 \leq$	2300	$10^3 \leq$	1850	1.24/ $\bar{x}$ 1.2

② 食品について

(動物性、脂肪、蛋白の多い食品)

$10^3 \leq \sim < 10^4$	1680	$1 \leq \sim < 10^2$	46	36.52
$10^4 \leq \sim$	11500	$10^2 \leq \sim < 10^3$	299	38.46
	50600	$10^3 \leq$	1200	42.17/ $\bar{x}$ 39.1

(植物性、脂肪、蛋白の多い食品)

$1 \leq \sim < 10^2$	23	$1 \leq \sim < 10^2$	3	7.7
$10^2 \leq \sim < 10^3$	310	$10^2 \leq \sim < 10^3$	35	8.9
$10^3 \leq$	2145		348	6.2/ $\bar{x}$ 7.6

③ 環境について

(環境)

$10^2 \leq \sim < 10^3$	165	$1 \leq \sim < 10^2$	4	41.3
$10^3 \leq \sim < 10^4$	6900	$10^2 \leq \sim < 10^3$	101	68.3
$10^4 \leq$	35000	$10^3 \leq$	1850	18.9/ $\bar{x}$ 42.8

## 6. 一般細菌数用簡易検出紙における結果の評価の仕方

簡易検査法には公定法と検出メカニズムを異にするものや、特定の片寄りを示すものなど、それぞれの特長をもたして簡易検査用具が作られている。従って、簡易検査法の利点、欠点などを十分知った上で、公定法と対比できるデータを常に求められるよう検査計画をたて、簡易検査法の欠点を補いながら、長所を活かして応用にふみきるべきであるが、あくまで基準は公定法にあることを忘れないようにすべきである。

しかし、検査準備の整っていない食品工場、または調理販売施設などで微生物学的品質管理を日常の自主検査の中に取り入れる場合には、簡易検査法で十分であり、そのかわり頻繁な検査をくり返すことによって、品質管理の実をあげることが効果的である。一般細菌数用の簡易検出紙は、まだ十分な性能をひきあげるまでには至らない点もあるが、公定法との比較による片寄りは、検体中の細菌数がごく少ない場合に認められ、ある一定量以上に含有されている場合には、一定の比率をもって検出されてくる。

従来の大腸菌群用簡易検出紙及び黄色ブドウ球菌用簡易検出紙と同じ目的で、簡単に現場で検査し、自己の製品についての衛生微生物学的管理を行うための一般細菌数用簡易検出紙が開発された。

前者は、ある目的菌を検出するために、目的菌以外の細菌を抑制するメカニズムを強化しているが、一般細菌数の場合は抑制作用を極力少なくし、あらゆる中温細菌を発育させようといつくりられたわけだが、これらは生培地と異なり、ある限られた菌種についての抑制作用を取り

除くことはなかなか難しい。

将来、これらの問題を解決する努力が必要であるが、食品の品質管理の物差しとしての簡易検出紙の利用は評価されるべきものであると考える。