

抗菌性物質残留検査

Hokkaido Dairy Milk Recording and Testing Association



1

抗菌性物質は、なぜ問題？

1. 人体に悪影響を及ぼす
 - アレルギーを起こす場合がある
 - 腸内細菌に影響
 - 耐性菌の出現
MRSA（院内感染）など
2. 乳製品の製造に悪影響を与える
 - ヨーグルト、チーズ等を作る乳酸菌の働きを阻害する

2

主な抗生物質の系統

- ✓ ペニシリン系 ; ペニシリンG
- ✓ セフェム系 ; セファゾリン
- ✓ マクロライド系 ; エリスロマイシン・タイロシン
- ✓ アミノグリコシド系 ; カナマイシン・ストレプトマイシン・フラジオマイシン
- ✓ テトラサイクリン系 ; オキシテトラサイクリン
- ✓ その他 ; バンコマイシン、ニューキノロン系、
リンコマイシン系

3

抗菌性物質検査法

- 高速液体加圧法ほか（乳等省令）
 - 機器が高価で、手間がかかる
 - 時間が1日程度かかる
 - 検査コストが高い
- μ -H⁺-ディスク法
 - 微生物細菌を使っているため、培地の調製が難しい
 - 検査コストが安い
 - 時間が3時間かかる
- 迅速簡易法 ; (チャム法・SNAP法ほか)
 - 検査時間が約10分間
 - 特定薬剤しか検出できない
 - 検査コストが若干高い

4

抗菌性物質残留検査 その1 ペーパーディスク法

Hokkaido Dairy Milk Recording and Testing Association

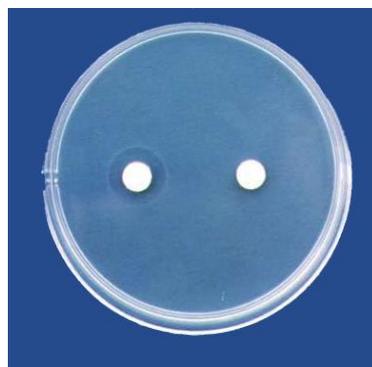


5

生乳流通で広く実施されているペーパーディスク法

☆ 原理

- ◆ ペニシリンによる阻止に特に敏感な試験菌を接種した寒天平板培地に、検体を浸漬させたペーパーディスクをのせ、55℃で培養する。ペニシリンが存在する場合は試験菌の発育を阻止しディスクの周囲に円形透明な阻止帯を形成する。

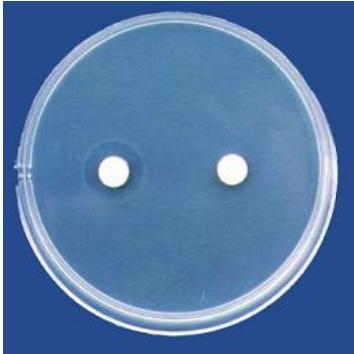


☆ 出典: IDF STANDARD 57 :1970

“ディスク法によるペニシリンの検出法、”としているが、正確には変法

6

抗菌性物質残留検査 ペーパーディスク法



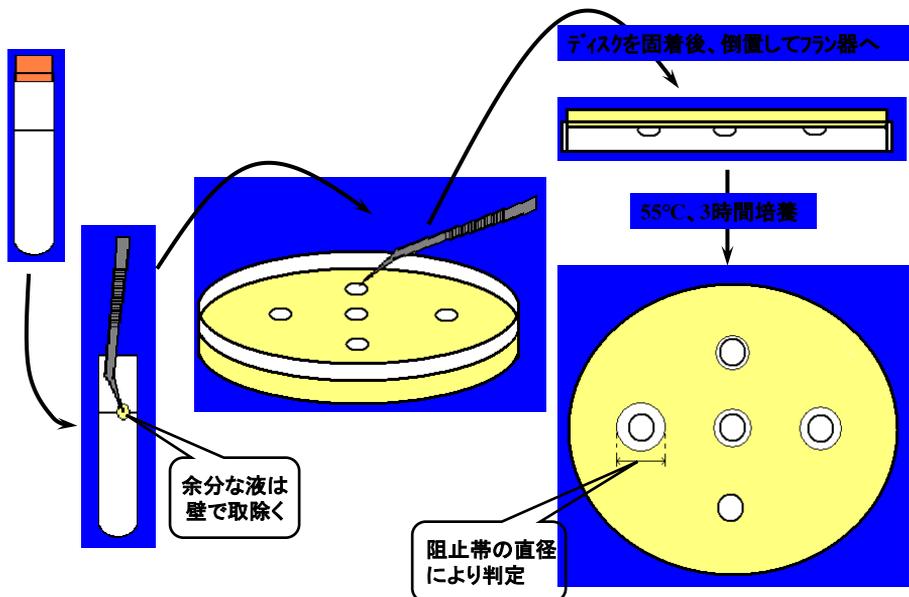
左側が陽性
(阻止帯)

- 目的
 - 抗菌性物質残留の有無の最終判断を行う。
- 方法
 - 乳をしみ込ませたディスクを 検査用シャーレにのせ、55°C で 3時間培養後判定。

陽性の場合には受入できない。

7

検査の実施手順



8

1) 器具の準備



9

2) 生乳由来抗菌因子の存在

【乳等省令】（成分規格及び製造の方法の基準）

乳等は、抗生物質及びその他の化学的合成品たる抗菌性物質を含有してはならない

- ✓ 乳汁中で生理的抗菌作用を示す生体由来タンパク質の存在
 - ⇒ ラクトフェリン (Lf)、リゾチム (Lys)、免疫グロブリン (Ig)
 - ⇒ 乳房炎乳、初乳、乾乳期に多く含まれる

【試料の80℃_5分間の加熱処理】

- ⇒ F D A（米国食品医薬品局）；82℃_2分以上と明記
- ⇒ 北海道；80℃_5分間（T T C法に準拠）

10

3) ペーパーディスクへの浸漬方法

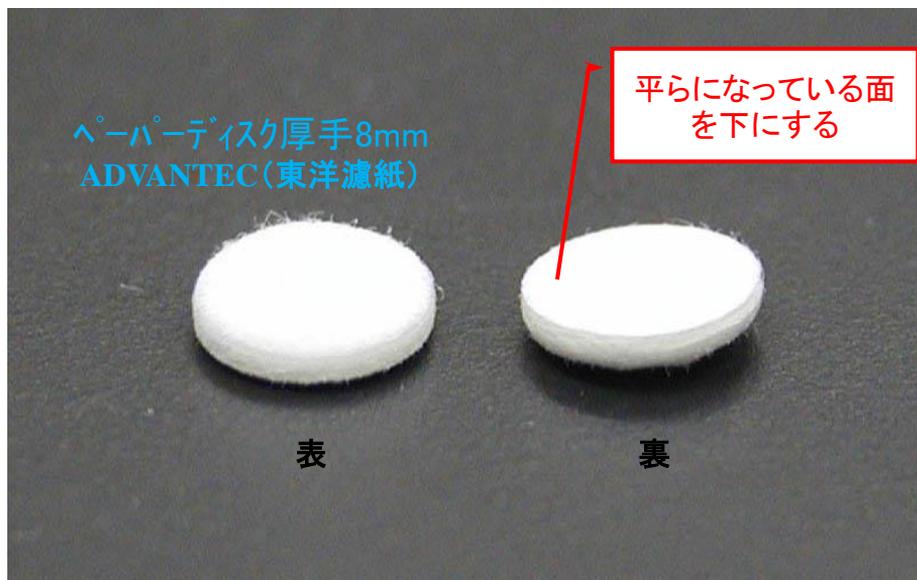
1. 浸漬量が一定でなければ阻止円形成に影響を与える
2. 8mmのペーパーディスクが吸収する飽和量は約65~70 μ l

□ 試料中に浸漬し、過剰の試料をびん壁に接触、排除した後に平板上に平らに置く

(乳製品試験法・注解)

11

ペーパーディスクの裏表に注意



12

4) 培養温度と時間 (菌の発育と阻止帯形成に影響)

□ 55±1℃_3時間培養

※ 注意点

- ワン器が正しく動作しているか
- 全ての平板培地が同条件になるようにする
- 既定の時間で阻止帯が不明瞭な場合は延長して判定する

13

5) 適合検査法と標準検査法 判定基準の比較

1. 適合検査法(スクリーニング)

阻止帯の径	判定
10mm以上のもの	陽性
10mm未満のもの	陰性

2. 標準検査法

ペニシリン標準液による阻止帯	
に対して	
阻止帯が大きい	陽性
阻止帯が小さい	陰性

14

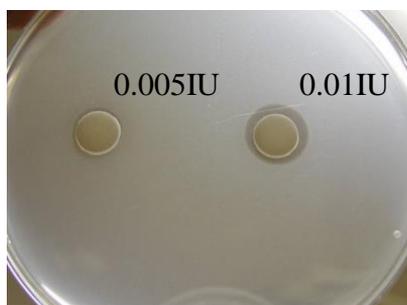
PD実演動画

15



16

紫外線の影響による菌の発育不全



30分間太陽光線下に放置



通常の状態

17

抗菌性物質残留検査 その2 迅速簡易法（チャーム法）

Hokkaido Dairy Milk Recording and Testing Association



18

抗菌性物質残留検査（迅速法）の実施

1. 迅速法の実施

- 搬入前に検査を実施

2. 方法

- テストキットに生乳をしみ込ませ判定。

陽性の場合、
ペーパーディスク法で確認する



19

抗菌性物質残留検査（迅速法）の実施 チャーム法（手順1）

1. 温度を確認する

- 55又は56の部分が緑色

2. くぼみに合わせてストリップを置く

- ストリップのふくらみを潰さないようにする
- 変形しているものは元に戻す

3. ストリップをラインまで開封する

- 折れ曲がる事を避けるため、上に持ち上げずに横に開封する
- 折れたストリップは使用しない(失敗する可能性あり)



20

抗菌性物質残留検査（迅速法）の実施 チャーム法（手順2）

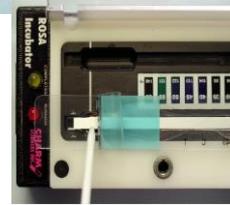
1. サンプル吸引

- サンプル温度は2～4℃
- 吸引前にサンプルをよく攪拌し、脂肪層の吸引を避ける
- 吸引時にはスポイトのふくらみを下に向け、泡が入らない様に注意する
- 正確なサンプル量(0.3ml)が重要



2. サンプル注入

- インキュベーターの白線の位置でストリップと直角に注入する
- 紙の部分ではなく、その脇のふくらみ部分にサンプルがあふれない様にゆっくり注入する
- 封をする際も紙の部分ではなく、その脇を2本指でなぞる様に閉じる



21

抗菌性物質残留検査（迅速法）の実施 チャーム法（手順3）

1. 加温

- サンプル注入後、インキュベータのカバーを閉じるとタイマー(8分間)が開始される。
- 赤ランプが点灯している加温中は、蓋を開けないこと(タイマーが作動)



2. 取り出し及びCラインの確認

- 8分後電子音が鳴ったら、2分以内にストリップを取り出す(ふくらみ部分を持たないこと)
- 目視でCラインが十分に着色していることを確認する
- 部分的に着色しているもの、線が切れているものは操作ミスなので再テストする
- ライン上に水滴の付着、または汚れのない事を確認する



22

抗菌性物質残留検査（迅速法）の実施 チャーム法（手順4）

1. 読取

- 正常にテストされたストリップをEZリーダーに挿入し、画面表示の指示に従いカバーを閉じる
- 画面上部に測定するテストキット名が表示されていることを確認する



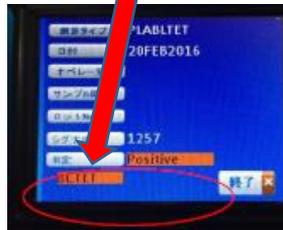
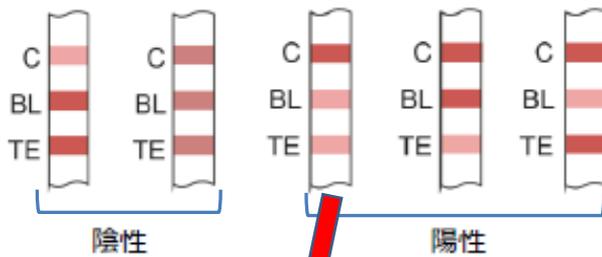
2. 判定

- 約3秒後、画面に結果が表示される
- 結果は数値ではなく、+/-及び、ポジティブ（陽性）/ネガティブ（陰性）で判定する



23

Read the red lines

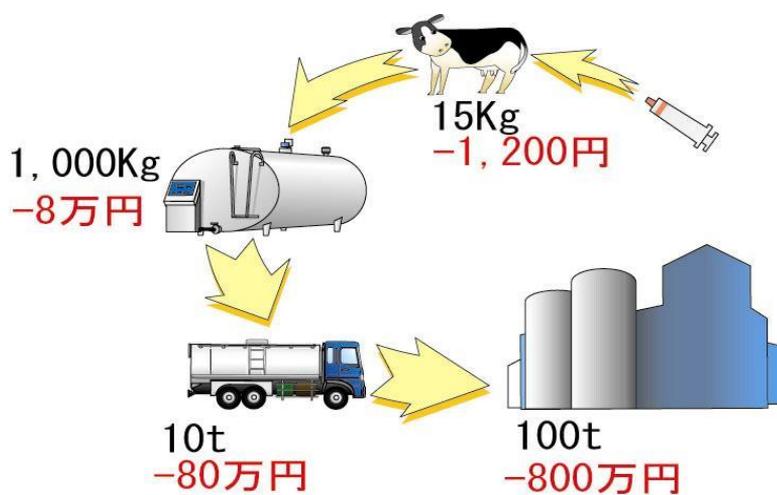


24

チャーム実演動画

25

抗菌性物質残留事故



26

参考文献：

生乳取扱技術必携

フォス・ジャパン株式会社：チャームROSAテスト使用
手順書

音声：音読さん <https://ondoku3.com/>