

○愛玩動物用飼料等の検査法（平成 21 年 9 月 1 日付け 21 消技第 1764 号）一部改正 新旧対照表

(下線部は改正箇所)

改 正 後	改 正 前
目 次	目 次
第 1 章~第 7 章 (略)	第 1 章~第 7 章 (略)
第 8 章 病原微生物	第 8 章 病原微生物
1 (略)	1 (略)
2 糞便系大腸菌群	(新設)
第 9 章~第 11 章 (略)	第 9 章~第 11 章 (略)
別表 1~3 (略)	別表 1~3 (略)
第 1 章~第 7 章 (略)	第 1 章~第 7 章 (略)
第 8 章 病原微生物	第 8 章 病原微生物
1 (略)	1 (略)
2 糞便系大腸菌群	(新設)
(適用範囲：ドライ製品、セミドライ製品、ウェット製品、成型ジャーキー及び素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ ^{注 1} 及びソフトタイプ）)	
第 2 章の 2 に定める分析用試料の調製は行わず、分析に用いる。	
水、試薬等並びに器具類は必要に応じ、滅菌したものをを用いる。	
培地等で pH の調整を要する場合は、塩酸（1 mol/L）又は水酸化ナトリウム溶液（1 mol/L）を用いる。	
A 試薬等の調製	
1) 0.1 w/v%ペプトン加生理食塩水 ペプトン 1 g 及び塩化ナトリ	

改 正 後	改 正 前
<u>ウム 8.5 g を水 1,000 mL に溶かし、pH を 6.9~7.1 に調整した後、121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌する。</u> 2) <u>EC 培地^{注 2} ペプトン 20.0 g、ラクトースー水和物 5.0 g、デオキシコール酸ナトリウム 1.5 g、リン酸水素二カリウム 4.0 g、リン酸二水素カリウム 1.5 g 及び塩化ナトリウム 5.0 g を水 1,000 mL に加え、沸騰水浴中で加熱して溶かし、pH を 6.8~7.0 に調整する。</u> <u>これをダーラム管を入れた中試験管に 10 mL 分注し、121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌する（以下「EC 発酵管」という。）。滅菌後、流水で急冷し、ダーラム管に気泡が入っていないことを確認する。</u> 3) <u>EMB 寒天培地^{注 2} ペプトン 10.0 g、ラクトースー水和物 10.0 g、リン酸水素二カリウム 2.0 g、エオシン Y 0.4 g、メチレンブルー 65 mg 及びカンテン 18.0 g を水 1,000 mL に加え、沸騰水浴中で加熱して溶かし、pH を 7.2~7.4 に調整した後、121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌する。</u> <u>これをペトリ皿に一樣に広がるように 20 mL 分注し、水平に静置して凝固させた後、倒置してふたをわずかにずらし、35~37 °C で 1 時間静置して培地表面を乾燥させる。</u> 4) <u>乳糖ブイヨン培地^{注 2} 肉エキス 3.0 g、ペプトン 10.0 g、ラクトースー水和物 5.0 g 及びブロモチモールブルー 0.024 g を水 1,000 mL に加え、沸騰水浴中で加熱して溶かし、pH を 7.1~7.3 に調整する。</u> <u>これをダーラム管を入れた中試験管に 10 mL 分注し、121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌する（以下「乳糖ブイヨン発酵管」という。）。滅菌後、流水で急冷し、ダーラム管に気泡が入っていないことを確認する。</u>	

改 正 後	改 正 前
5) <u>標準寒天斜面培地^{注 2} カゼイン製ペプトン 5.0 g、酵母エキス 2.5 g、ブドウ糖 1.0 g 及びカンテン 15.0 g を水 1,000 mL に加え、沸騰水浴中で加熱して溶かし、pH を 7.0~7.2 に調整する。</u> <u>これを中試験管に 10 mL 分注し、121 °C で 15 分間高圧蒸気滅菌した後、斜面に凝固させる。</u> B 培 養 <u>分析試料（成型ジャーキー、素材乾燥ジャーキー（ハードタイプ及びソフトタイプ）は、1 カ所以上を切断し、20 mm 以下とする。）25 g を量って滅菌済みストマッカー袋に入れ、0.1 w/v% ペプトン加生理食塩水 225 mL を加えた後 30 分間静置する。これをストマッカーにより 200 rpm で 5 分間かくはん混合し、試料液とする。</u> <u>試料液 1 mL を 5 本の EC 発酵管にそれぞれ加え、恒温水槽中で 44.5 °C (±0.2 °C) で 22~26 時間培養する。培養後、5 本すべてにガス発生を認めない場合、糞便系大腸菌群陰性と判定する。</u> <u>ガス発生が認められた EC 発酵管から、その培養液の 1 白金耳を EMB 寒天培地に画線塗抹し、倒置して 34~36 °C で 22~26 時間培養する。</u> <u>EMB 寒天培地表面の糞便系大腸菌群の定型的集落（黒色の金属光沢または暗紫赤色）を釣菌し、乳糖ブイヨン発酵管に接種及び標準寒天斜面培地に塗抹し、それぞれ 34~36 °C で 24~48 時間及び 34~36 °C で 22~26 時間培養する。</u> C 判 定 <u>乳糖ブイヨン発酵管でガス発生が認められ、これに対応する標準寒天斜面培地上で発育した菌を釣菌してグラム染色し、グラム陰性の無芽胞桿菌が認められた場合、糞便系大腸菌群陽性と判定する。</u> <u>注 1 切断できない試料を除く。</u>	

改 正 後	改 正 前
2 培地は、これと同等の組成を有する市販の乾燥粉末培地を用いてもよい。 第 9 章~第 10 章 （略） 第 11 章 試験法の妥当性確認法 1~2 （略） 3 確認の方法 （略） (1)~(2) （略） (3) 精度 （略） i 共同試験を実施する場合 有効データを得る試験室は 8 以上とし、5 種類以上の試料について、非明示の 2 点反復により分析を行う。 上記の条件が困難な場合は、試験室／試料／濃度の組み合わせとして 16 以上×2 反復の有効データを得ることとする。 なお、「飼料分析基準」（<u>令和 5 年 12 月 1 日付け 5 消安第 4714 号農林水産省消費・安全局長通知</u>）等において、類似のマトリックスに対する同一の操作による分析法がある場合は、当該分析法の室間再現精度の確認を省略することができる。 （略） ii （略） (4) （略） 4 （略） 別表 1	第 9 章~第 10 章 （略） 第 11 章 試験法の妥当性確認法 1~2 （略） 3 確認の方法 （略） (1)~(2) （略） (3) 精度 （略） i 共同試験を実施する場合 有効データを得る試験室は 8 以上とし、5 種類以上の試料について、非明示の 2 点反復により分析を行う。 上記の条件が困難な場合は、試験室／試料／濃度の組み合わせとして 16 以上×2 反復の有効データを得ることとする。 なお、「飼料分析基準」（<u>平成 20 年 4 月 1 日付け 19 消安第 14729 号農林水産省消費・安全局長通知</u>）等において、類似のマトリックスに対する同一の操作による分析法がある場合は、当該分析法の室間再現精度の確認を省略することができる。 （略） ii （略） (4) （略） 4 （略） 別表 1

改 正 後	改 正 前
(略) イプロベンホス $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{PS}$ (CAS : 26087-47-8) 純度が明らかなもの <u>エオシン Y $\text{C}_{20}\text{H}_6\text{Br}_4\text{Na}_2\text{O}_5$ (CAS : 17372-87-1)</u>	(略) イプロベンホス $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{PS}$ (CAS : 26087-47-8) 純度が明らかなもの (新設)
(略) ブロモクレゾールパープル 特級 $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$ (CAS : 115-40-2) <u>ブロモチモールブルー 特級 $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$ (CAS : 76-59-5)</u>	(略) ブロモクレゾールパープル 特級 $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$ (CAS : 115-40-2) (新設)
(略) メチルレッド試液 メチルレッド 0.1 g をエタノールに溶かして 100 mL とする。必要があれば、ろ過する。 <u>メチレンブルー $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$ (CAS : 61-73-4)</u>	(略) メチルレッド試液 メチルレッド 0.1 g をエタノールに溶かして 100 mL とする。必要があれば、ろ過する。 (新設)
(略) リン酸 特級 H_3PO_4 (CAS : 7664-38-2) <u>リン酸水素二カリウム 特級 K_2HPO_4 (CAS : 7758-11-4)</u> (略)	(略) リン酸 特級 H_3PO_4 (CAS : 7664-38-2) (新設) (略)
別表 2・別表 3 (略)	別表 2・別表 3 (略)