

表8. 食中毒の発生率調査の要点と問題点

1. 食中毒疾患の定義

すべての経口感染症は食中毒の可能性がある

2. 食中毒疾患と他疾患との鑑別診断

下痢・嘔吐・腹痛の症状を示す疾患は経口感染症以外にも多数存在する

3. 食中毒疾患の原因

食中毒疾患は、食物感染以外に水系感染、接触感染等でも感染する

4. 食中毒疾患の記憶

重篤でない下痢は記憶され難い

長期にわたる記憶に頼る調査はほとんど不可能

前向き調査、または短期間の後ろ向き調査

5. 食中毒疾患の頻度

英米の推計では年間20～30%の人に発生

ある程度の発生数を確保するためには調査規模を大きくする必要がある

分 担 研 究 報 告 書

HACCP導入モデル及びマニュアル作成に関する研究

分担研究者 藤 原 真一郎

厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)

分担研究報告書

HACCP導入モデル及びマニュアル作成に関する研究

分担研究者 藤原 真一郎 (国立公衆衛生院衛生獣医学部)

研究要旨

調理施設等に HACCP システムを適用しようとする場合、食品工場を対象とした従来の導入モデル (HACCP プラン、総括表等) の提示では、施設固有の諸事情に応じ、発展性を維持した HACCP システム導入は困難なことが予想される。HACCP 導入を指向するのであれば、営業者は、まず、当該施設における一般的衛生管理の達成水準を段階的に向上させるような効果的手段を講じることが不可欠である。このためには、自己努力のみでは限界があると考えられることから、地域密着型で継続的な相談相手となれるような実務アドバイザーの育成も必要となり、自主衛生管理体制水準の向上に關与する専門家育成が重要である。

A. 研究目的

調理施設における HACCP システムの適用について、各方面からその必要性が指摘されているものの、従来からの衛生管理内容そのままに HACCP を導入しようとしても困難な場合が多い。現状実施されている衛生管理に単に上乘せする形で HACCP を導入したとしても組織的衛生管理体制の基盤が脆弱な場合が多く、このような状況では HACCP 本来の効果は期待できないばかりか、作業従事者の負担が導入前に比べて増加する場合は、結果として衛生管理体制全般の形骸化が憂慮される。

調理食品製造の現場に直ちに HACCP 導入を図ることは困難にしても、HACCP 導入を指向する一般的衛生管理の基盤整備を目的とした管理組

織の再構築手法として、普遍的なものが存在すると考えられる。このような一般的衛生管理の段階的改善を実行するためには、法的な規制や流通販売業者が要求する一律の衛生管理基準を遵守すれば足りるというのではなく、当該施設における営業者、製造管理責任者、品質管理担当者、作業従事者等の管理向上のための意欲維持と継続的な実践が必須の前提となる。

本研究は、HACCP 導入を指向する営業者等を支援する有用な資料となる HACCP 導入のモデル、マニュアル類を作成することを目的とし、調理施設を中心とした HACCP 導入に関する問題点の把握により、営業者等による自主衛生管理向上のための問題解決に必要な手順と留意事項を

作成した。

B. 研究方法

主に弁当類を製造する調理施設において関係者の協力を得て、大量調理における従来の衛生管理手法やその概念等を調査した上で、HACCP導入を指向する際に必要となる衛生管理の改善手法について、前年度に引き続き検討した。

さらに、各種食品の製造調理等の現場調査及び施設の管理責任者等との意見交換を通じて、現時点における自主衛生管理実施状況を把握するとともに、調理施設等での HACCP導入に取り組む前提として必須と考えられる一般的衛生管理の基盤整備を当該施設自らが実施するための具体的方策について提示した。

C. 研究結果

1. HACCP 導入を指向し、維持するための必須事項について

HACCP 導入を指向するのであれば、対象となる食品工場における衛生管理の水準を維持しながら、必要であれば向上させることが基礎的な条件として必須であると考えられる。このためには、次のような事項について段階的、計画的、組織的に取り組むことが必要となる。

- ①一般的衛生管理事項の確実な実施
- ②一般的衛生管理水準の継続的向上
- ③HACCP 導入を目指す基盤の整備
- ④一般的衛生管理の達成度を評価
- ⑤HACCP システムの導入と定着

2. 一般的衛生管理事項とその確実な実施について

HACCP システム適用の前提条件となる「一般的衛生管理プログラム」の重要性について、以前よりは関係者の認識も深まってはいるものの、従来から実施してきた衛生管理の手法のまま、HACCP 導入を指向しようとしても様々な問題が生じてくる。これは、現時点における衛生規制として法令上規定された最低限順守すべき基準といわゆる GMP レベルでの自主的衛生管理の水準を自ら設定してこれを順守することの差異が理解しにくいことが原因と思われる。

HACCP 導入を指向するためには、一般的な衛生管理事項を自ら設定し、目標を確実に達成するために必要な仕組みを先に作り上げなければならない。この際には、次のようなことを念頭におきながら必要と考えられる事項を設定していく作業が必要となる。

- ①その施設において製造する品目の特性に適合した目標となる衛生管理の水準を設定する。
- ②その目標を、確実に達成しうる管理体制の構築に必要な衛生管理事項を衛生規制として規定されたものを最低限として、必要に応じ規制事項を超えるものも含めて自らの施設に適応したものを設定する。
- ③当該施設に適応した一般的衛生管理事項とは、経営者の方針、構造設

備、製造加工の方法、製品の特性、従事者の能力等に依存するものである。

④以上のようにして設定した一般的衛生管理事項は、当該施設固有のものであって、フレキシブルであり、成書に記載された事項を丸写しするようなものではない。

⑤このような一般的衛生管理事項に基づいて、具体的な作業内容を記載した文書を作成し、これを実行し、点検・記録、検証する仕組みが「一般的衛生管理プログラム」である。

3. 一般的衛生管理の水準を継続的に向上させるための手順について

従来型の衛生管理から、HACCP指向型に転換していくためには、そのために必要となる理念に適合した普遍的な手順があると考えられる。特に、経営トップが提示する方針とそのリーダーシップのもと、施設全体として継続的に取り組む姿勢が不可欠である。その一例として、次のような手順で、一般的衛生管理の水準を計画的、段階的に向上させることが望ましい。このようなステップを踏みながら、同時平行してHACCP導入に必要な構造設備等の改善、危害分析に必要なデータ等の収集蓄積を進めればより現実的な取組みとなる。

①経営者の意識改革、決断とその方針の提示、自ら推進役となる。

②一般的衛生管理向上のために、具体的な目標及び期限を設定する。

③自主衛生管理体制構築のために必要な組織作りとともに、実務作業実施のためのチームを編成する。

④現状における衛生管理実施状況を把握するための作業を実施する。

⑤衛生管理実施の根拠となる作業標準等の既存文書、温度管理記録、原材料、製品、製造環境等の試験成績等を収集して解析する。

⑥現状における衛生管理上の問題点、疑問点を抽出する。

⑦それらの問題解決のための手法について検討する。

⑧改善可能な手法について、その根拠となるデータ等を収集する。

⑨文書等の作成又は改訂、作業従事者の教育訓練を実施する。

⑩改善した内容は、一定期間後に評価し、必要に応じ見直しする。

以上のような手順で実施した後、段階的に衛生管理の水準向上を図るため、⑥～⑩の手順を繰り返し実施していくことがもっとも合理的であると考えられる。

4. HACCPを導入するための基盤整備について

一般的衛生管理の水準向上を図りながら、次のような事項について考慮し、衛生管理に関連するハード面、ソフト面の基盤を総合的に整備することで、現場サイドの抵抗感をより少なくし、作業の確実性を向上させるメリットを実感しつつ、HACCP導入へと進むことが目標達成の可能性を高めることになる。

①施設の構造設備におけるハード面の改善整備とその維持管理の安定化を図る。

②作業手順の標準化、それに伴う従事者の計画的、継続的な教育訓練を実施する。

③各種文書類の整備とともに、実施結果の点検と記録の習慣化を図る。

④不備な点の見直し、作業改善、文書更新、作業状況の評価を継続して実施する。

⑤製造過程における各種計測と使用する計器の信頼性確保（校正を含む。）を定期的実施する。

⑥製品等の試験検査を実施するとともに、その信頼性の確保を図る。必要に応じて、外部の試験検査機関を活用する。

⑦製品等の識別プログラムを衛生上

のトレーサビリティを担保するために確立し、維持する。

⑧製品の回収プログラムを確立し、仮想事例に対応したシミュレーションを定期的実施しておく。

5. 一般的衛生管理の達成度評価について

一般的衛生管理事項とそれらの実行に必要な基盤の整備を図った結果について、さらに、その達成度を自ら又は外部から適切に評価することが必須となる。内部的な評価は、当該施設における衛生管理システム全般の評価であり内部検証に該当する。HACCP導入を指向するのであれば、内部検証を担当する人は、この段階で、検証の実務に十分習熟するとともに、作業従事者は衛生管理実施状況の定期的なチェックを受容し、その結果を現場における継続的な改善活動に生かす技術を学んでいく必要がある。

また、内部検証が適正に実施されていることを前提として、外部からの検証を受けることも重要である。現状では、この段階で都道府県市の食品衛生監視員による外部検証とその結果に基づく意見交換を十分に行い、必要な指導助言を受けることが望ましい。これら自主衛生管理の水準維持と更なる向上に必要な事項をまとめれば、次のとおりである。

①衛生管理改善の目標とそれに対する到達度を自己点検する方法を設定

し、段階的に自主衛生管理水準の向上を図る

②「Plan-Do-Check-Act (PDCA)」のサイクルによる組織的な管理体制の維持

●経営管理（トップダウンによる組織管理の仕組み）→衛生管理（作業の文書化とその実行・点検と記録）→内部検証→計画改善のシステム化

③外部検証とその評価に基づく見直し（第三者による指導助言）

6. HACCP の導入と定着について

ここまで述べてきた、一般的衛生管理事項の確実な実施とハード面・ソフト面における基盤整備、一般的衛生管理の達成度評価を伴う自主衛生管理体制の発展的な強化により、HACCP 導入に必要となる各種の計測値や試験検査の成績、従事者の教育訓練等の実績に基づき、HACCP プランの作成に進むことになる。一般的衛生管理事項では食品の製造環境を整備することによって、製品の安全性確保を図るものであり、そのことと HACCP 導入との差異について、当事者に理解不足がみられる。HACCP の特質に関して正確に理解するために、留意すべき事項を掲げれば次のとおりである。

①HACCP では、特定品目の生産から消費までのフードチェーン全般での管理の実情、流通、時間の経過等に着眼するものである。

②HACCP プランは、危害分析に基づき、フードチェーンの流れに対応したプロセス評価の結果として作成されるものである。

③HACCP プランの策定時又は変更時における衛生管理計画の妥当性又は有効性の確認（Validation）が必要である。

④HACCP システムが機能していることを確認する検証（Verification）の実施にあたっては、常にプランの見直し、改善等の方向性を描きながら実施する必要がある。このためには、当該工場における HACCP を活用した将来のビジョンに関する方向性を持つことが必要である。

⑤HACCP チームによる検証は、HACCP プラン作成後に形骸化してしまうことを防止するため、その組織、役割、具体的な活動内容を明確にする。また、検証による評価、見直しのため定期的に会議を設定して会議内容を記録する。

⑥HACCP システムを含む衛生管理システム全般をバランスよく運営し、維持するために、次のような事項にも留意する。

●衛生管理体制と組織の機能、その役割分担、教育訓練の実施とその効果に関する評価

●一般的衛生管理事項及び HACCP プラン（文書）と現場における適合

性に関する評価

●突発的事態又は非定型作業、苦情、回収等における衛生上の問題点に関する評価

⑦製品ごとに作成する HACCP プランの策定・改訂時のシステム化がもっとも合理的であることから、次のような事項について留意する。

●危害分析と連携した、新製品の開発作業を実施する。

●新製品の試作作業において、衛生管理に必要なデータを収集しておく。

●現場における試行では、バリデーションのデータを収集しながら HACCP プランを作成する。

●従事者に対して、HACCP プランの実行に必要な教育訓練を実施する。

● HACCP プランを実行して、HACCP システムが結果として機能することを検証する。

D. 考察

1. 食品企業における姿勢と選択肢について

今後、食品企業が法令上の衛生規制を基礎とした従来型の衛生管理方法を転換して、HACCP 指向型に移行を意図するのであれば、自らどのような選択肢を持つべきなのか食品企業の姿勢が現在問われていると考えられる。HACCP 指向型へ移行するためには、従来型衛生管理の範疇を超えた部分に問題解決の糸口があると考えられ、その選択肢の例として、次のような事項が考えられる。

①従来型にとらわれない、多様な食品衛生管理の手法が選択できる。

②多様な手法とは、理想論ではなく、企業の姿勢及び人材、製造しようとする製品特性等における現実の制約のなかで開発、達成されるものである。

③実施しようとする自主衛生管理は、HACCP 指向型のプロセスの管理か、従来型の製品における適否判断に基づく管理かの選択。

④製品の衛生を確保し、その安全性を担保するのは、ハードなのかソフトなのか、それらのバランスをどうするかを選択。

⑤企業の外部から要求されて改善するのか、自発的に改善するのかの選択。

⑥その企業の衛生管理における水準は、現状どのくらいか、どこまで向上を目指すのかについて自ら目標を設定できるか。

2. 食品企業に対する支援と外部評価の必要性について

食品企業とその施設における衛生管理の取組みに対する外部支援体制の充実が必要である。地方自治体の食品衛生監視員が実施する監視指導とそのフォローアップは、従来以上にその重要性が指摘されており、特に、衛生規制の順守確認に加えて、

当該施設における衛生管理体制の確認と的確な指摘（外部検証となる）が要求されている。しかしながら、食品衛生監視員による個々の食品営業施設に対する指導助言は自ずから限界があり、詳細で継続的な支援を実施するのであれば、実務経験を持つ専門家の関与が望ましい。このような専門家がコンサルタント活動を実施している現状もある。しかし、これら活動の多くは、事業として HACCP 導入支援サービスの提供は可能であろうが、導入後も個別かつ継続的に指導する可能性は低い。今後は、地域密着型の自主衛生管理支援のための仕組みと継続して担当する専門家の育成が必要であると考えられる。

また、HACCP を導入した又は導入を意図する食品企業の立場から、HACCP 実行の維持を外部から確認する仕組みとして、例えば、ISO 9000 シリーズと同様な民間認証の制度を必要とするのか。また、そのことを前提とすれば、従来以上に食品企業の外部に対する情報開示とコミュニ

ケーションが求められると考えられるが、そのような方向性を望むのか、HACCP 指向型への転換にあたっては、この点にも大きな課題が存在する。

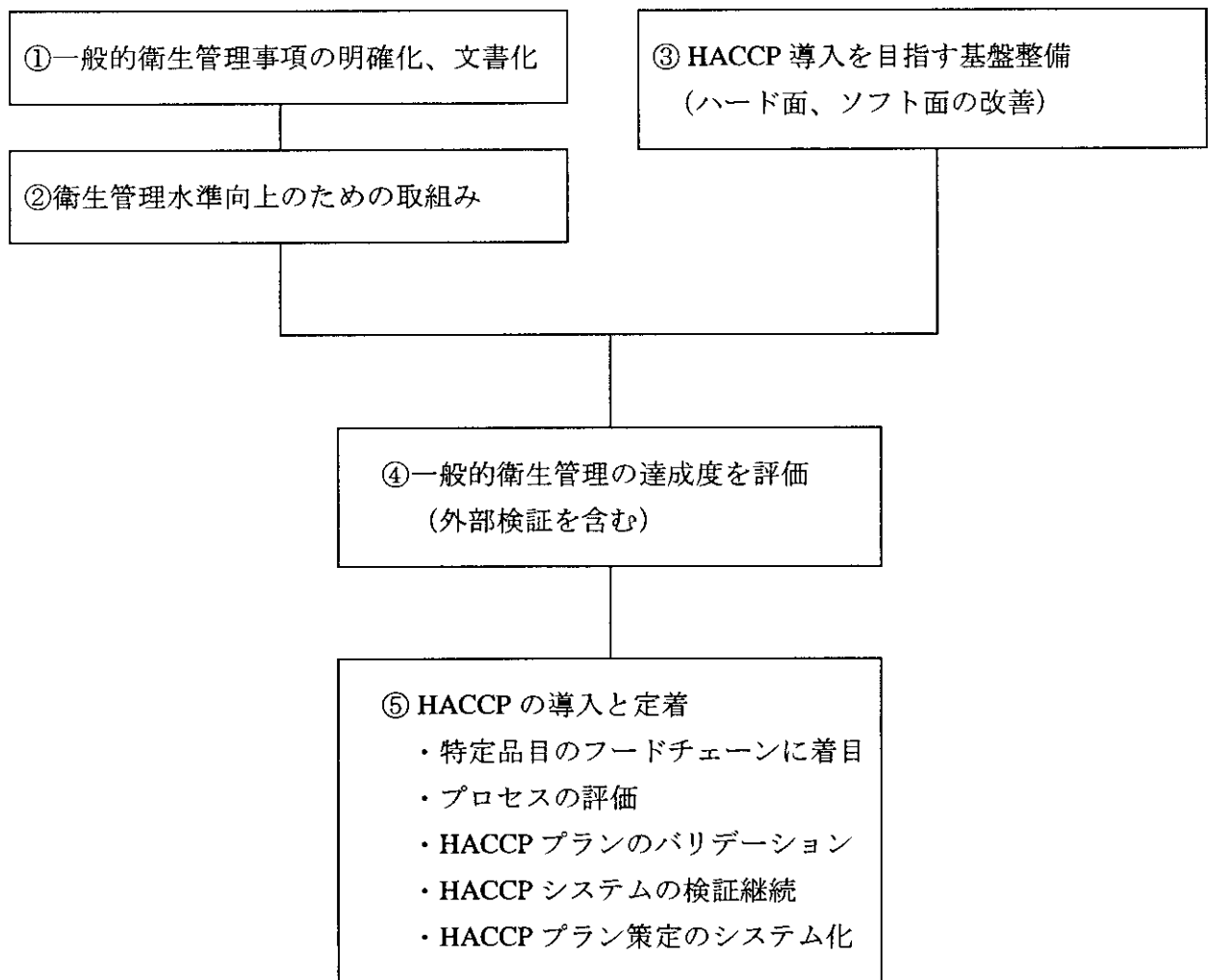
E. 結論

調理施設等における HACCP 導入のモデル、マニュアル類作成のため、自主衛生管理の水準向上に必要な手順構築について、関係業者等の協力を得ながら調査を実施した。

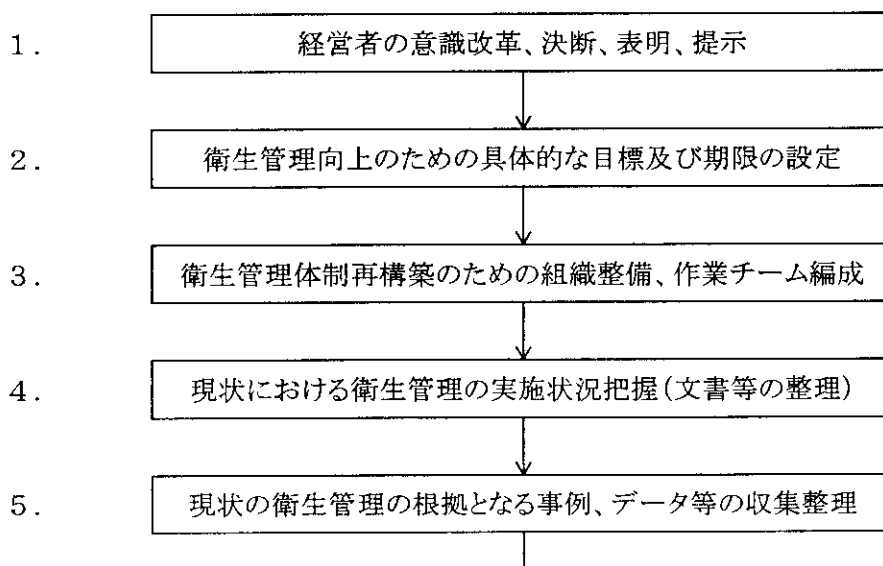
この結果、現状では直ちに HACCP 導入を図ることは困難であっても、自主衛生管理体制の充実強化と衛生管理内容の改善を進めるための普遍的な手法ないしは手順が存在すると考えられた（次ページ以降の「一般的衛生管理再構築と HACCP の導入定着を図るための指針参照」。さらに、調理施設等における自主衛生管理の水準を継続的に向上させるためには、食品企業の外部支援体制の充実、民間認証の活用が有用と考えられるが、今後解決すべき課題も多い。

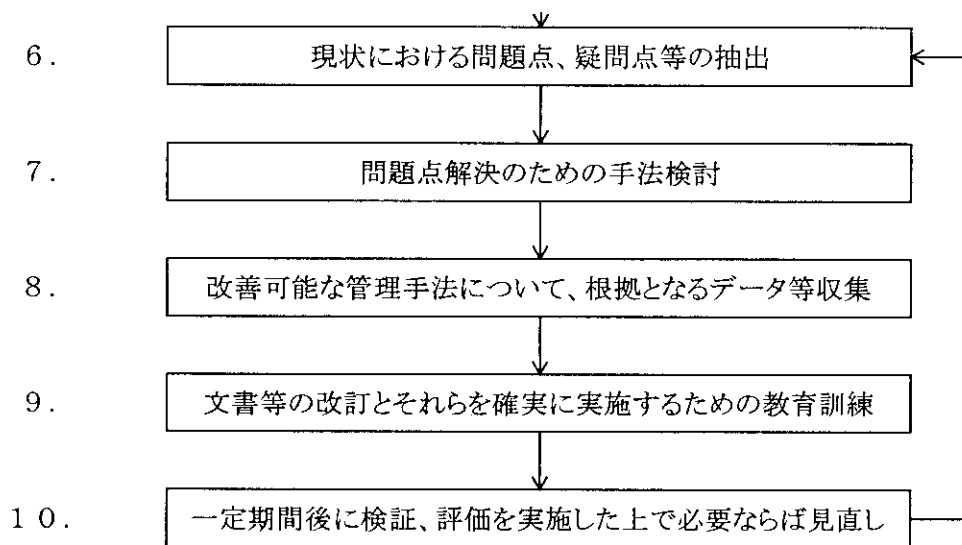
一般的衛生管理再構築と HACCP の導入定着を図るための指針(概要)

1. 全体的な枠組み



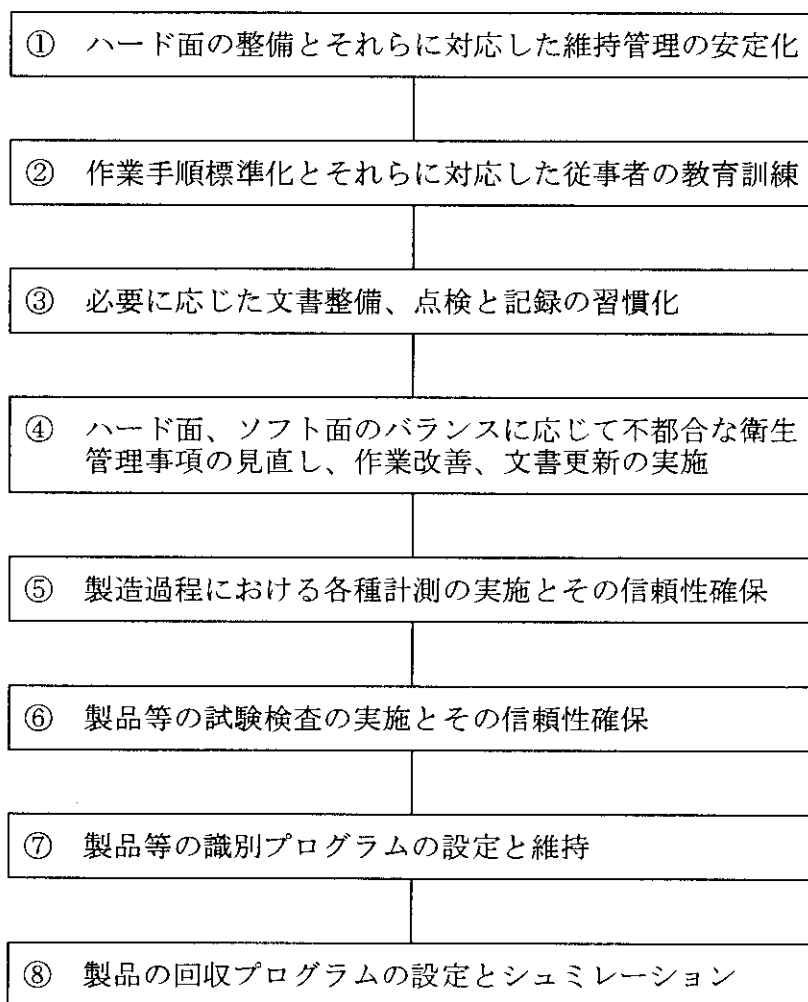
2. 一般的衛生管理の水準を向上させるための手順



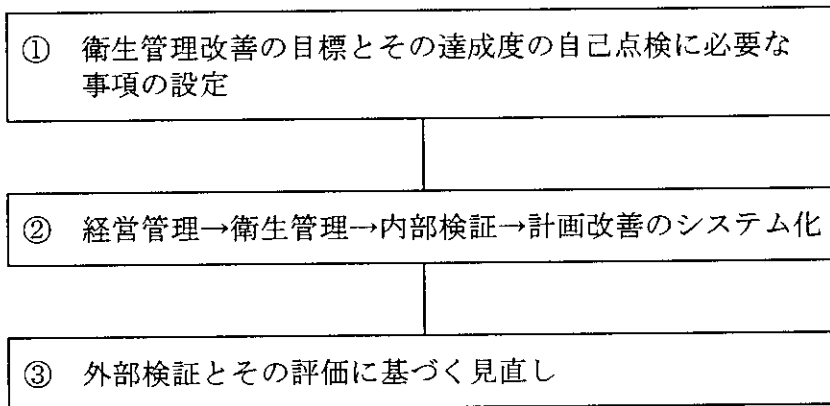


(図中の手順6から10までで、試みた手法が不都合な場合、別の手法で繰り返す。)

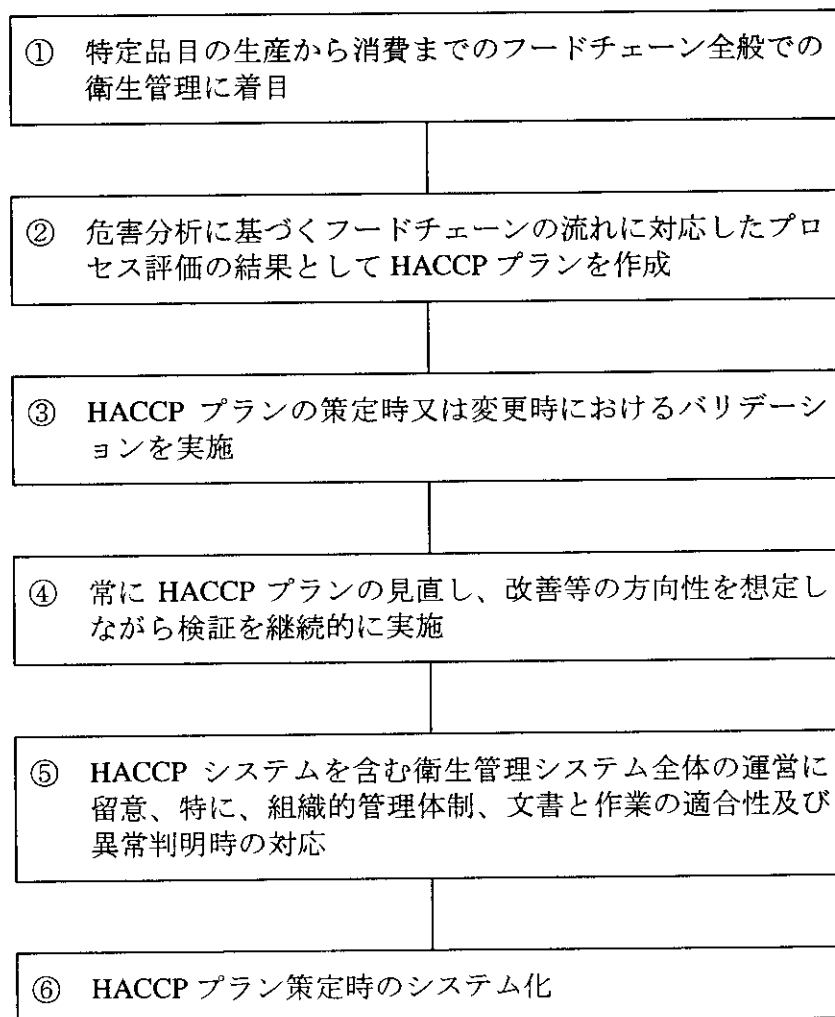
3. HACCP 導入を指向するために必要な基盤整備の手法 (前記2. の事項と並行して実施)



4. 一般的衛生管理の達成度評価の手法



5. HACCP の導入と定着にあたって留意する事項



分 担 研 究 報 告 書

調理施設と食品製造業における衛生管理に関する研究

分担研究者 小 沼 博 隆

厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)

分担研究報告書

調理施設と食品製造業における衛生管理に関する研究

分担研究者 小沼 博隆 (国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部)

研究要旨

国内における大部分の調理施設は、従来から、床面が常に濡れた状態であるウェットシステムが採用されている。ウェットシステムは床等からの跳ね水による微生物汚染の問題や、重装備の防水エプロン、長靴の着用のほか施設内が高湿度になり、床の乾燥が悪く滑り易いなど、作業環境が悪化しやすいため、ドライシステムの導入を図ることが望ましいと考えられている。調理施設におけるドライシステムとは、調理環境を乾いた状態に維持するシステムで、衛生面、作業者の健康面、作業の能率面等において有効なシステムであると考えられている。しかしながら、ドライシステムの導入による衛生面での効果、特に調理施設内の微生物検査に基づく有効性についての情報はないのが現状である。そこで今回は、ドライシステムの衛生面での有効性を調べることを目的として、ウェットシステム又はドライシステムを導入している、関東地区の小学校及び保育園給食施設を対象に微生物検査を中心とした調査を行い、以下の結論を得た。

1.今回調査した調理施設内の温・湿度は、両者ともに室温は15～20℃程度であったが、湿度はドライシステムで45～55%、ウェットシステムではほぼ70%以上であったことから、ウェットシステムの方が明らかに湿度が高く、微生物の増殖を助長する可能性が示唆された。

2.床面における微生物汚染調査では両システムともに糞便系大腸菌群、大腸菌黄色ブドウ球菌は検出されなかった。しかし、一般細菌数はドライシステム($10^4 \sim 10^6/100\text{cm}^2$ 程度)に比べウェットシステム($10^4 \sim 10^9/100\text{cm}^2$ 程度)の方が菌数が高く、平均値も10倍高く認められた。また、大腸菌群はドライシステムでは認められなかったのに対してウェットシステムでは12ヶ所中7ヶ所(58%)から検出された。

3.長靴底、運搬装置車輪等、微生物汚染を拡散する可能性がある場所の微生物汚染調査では一般細菌数の平均値がドライシステムに対してウェットシステムの方がほぼ10倍高く認められ、大腸菌群もドライシステムでは検出されなかったのに対してウェットシステムでは長靴底

で3ヶ所中3ヶ所(100%)、運搬装置車輪で3ヶ所中1ヶ所(33%)から検出された。

4.壁等の微生物汚染調査では、一般細菌数がドライシステムの床上で $10 \sim 10^4/cm^2$ 、ウェットシステムの床上で $10^5 \sim 10^7/cm^2$ と、ドライシステムに比べウェットシステムの方が1,000倍程度高い値であった。

5.ウェットシステムから検出、分離された大腸菌群のリボタイピングを実施したところ、菌株間で相似性が認められたのは、[回転釜前床、手洗い場下床、長靴底、野菜置きザル車輪]からの分離菌株、[オープン前床、炊飯器前床]からの分離菌株であり、ウェットシステム(床が濡れた状態)では1つの汚染源から大腸菌群が作業者の長靴、運搬装置の車輪等を介して各所へ拡散していくことが示唆された。

6.ウェットシステム調理施設内の湿度が著しく高くなることから、高湿度条件下に食品の残渣や跳ね水に汚染した病原菌がいかなる挙動を示すか調べてみたところ、腸管出血性大腸菌O157およびサルモネラは、室温 $30^\circ C$ ・湿度90%の条件下では、栄養成分の全くない精製水中で48時間菌数の減少は認められなかったが、湿度50%の条件下では死滅した。また、精製水にペプトンを僅かに加えた場合は、湿度90%では増殖し、湿度50%では増殖はみられなかったが減少もみられなかった。また、黄色ブドウ球菌およびセレウス菌も同様の傾向を示した。

A. 研究目的

欧米では調理施設の衛生管理に対して、「キープドライ」(乾燥状態を保つこと)という概念がある。国内における大部分の調理施設は従来から、床面が常に濡れた状態であるウェットシステムが採用されている。ウェットシステムは床等からの跳ね水による微生物汚染の問題や重装備の防水エプロン、長靴の着用のほか施設内が高温・高湿度になり床面の乾燥が悪く滑り易いなど作業環境が悪化しやすいため、ドライシステムの導入を図ることが望ましいと考えられている。

調理施設におけるドライシステ

ムとは、調理環境を乾いた状態に、しかも室内の給排気と温度管理を適切に維持するシステムで、衛生面、作業者の健康面、作業の能率面等において有効なシステムであると考えられている。しかしながらドライシステムの導入による衛生面での効果、特に調理施設内の微生物検査に基づく有効性についての情報は無いのが現状である。そこで今回は、ドライシステムの衛生面での有効性を調べることを目的としてドライシステム又はウェットシステムを導入している関東地区の保育園及び小学校給食施設を対象に微生物検査を中心とした調査を行い、以下のような結果

を得たので報告する。

B. 調査内容

1. 調査実施年月日及び実施場所

- 1) 平成13年2月28日：H保育園(ドライシステム、写真-1及び2)
- 2) 平成13年3月1日：T小学校(ウェットシステム、写真-3及び4)

2. 調査項目

- 1) 調理施設内の温湿度測定
- 2) 床、壁等のふきとり検査
- 3) 検出、分離された大腸菌群のリポタイピング

3. 試験方法

1) 温湿度測定

温湿度計(ティアンドデイ、おんどとり RH TR-72)を用いて調理施設内の温湿度変化を測定した。

2) ふきとり検査

床、壁、長靴底及び運搬装置車輪の表面約100 cm²を拭き取り検査キット(エルメックス)を用いてふきとり、その抽出液(リン酸緩衝生理食塩水)10 mlについて一般細菌数、大腸菌群数、糞便系大腸菌群(Fc)、大腸菌(Ec)、黄色ブドウ球菌(St)を測定した。

a) 一般細菌数

対象表面をふきとった拭き取り検査キットをリン酸緩衝生理食塩水10 mlで抽出し、この抽出液について標準寒天培地(栄研化学)を用いた混釈平板培養法(35℃2日間培

養)により生育した集落数を計測し、表面100 cm²当たりの一般細菌数を算出した。

b) 大腸菌群数

対象表面をふきとった拭き取り検査キットをリン酸緩衝生理食塩水10 mlで抽出し、この抽出液についてデスオキシコーレイト寒天培地(栄研化学)を用いた混釈平板培養法(重層、35℃、18～24時間培養)により生育した典型的赤色集落数を計測し、表面100 cm²当たりの大腸菌群数を算出した。

c) 糞便系大腸菌群(Fc)

対象表面をふきとった拭き取り検査キットをリン酸緩衝生理食塩水10 mlで抽出し、この抽出液1 mlをBGLB培地(栄研化学)で35℃2日間培養後ガス発生が認められた培養液の1白金耳量をEC培地(栄研化学)に接種して、44.5℃24時間培養後ガス発生が認められたものを糞便系大腸菌群陽性と判定した。

d) 大腸菌(Ec)

糞便系大腸菌群陽性と判定されたEC培地の培養液1白金耳量をEMB培地(日水製薬)に画線塗抹して、35℃24時間培養後、典型的金属光沢集落についてIMViC試験を実施し、試験のパターンが「++--」又は「-+-」となったものを大腸菌陽性と判定した。

e) 黄色ブドウ球菌(St)

対象表面をふきとった拭き取り検査キットをリン酸緩衝生理食塩水10 mlで抽出し、この抽出液1 mlを食塩7%含有のトリプトソイブイオン(栄研化学)に接種し、35℃2日間培養後、培養液1白金耳量をエッグヨーク食塩寒天培地(栄研化学)に画線塗抹して、35℃2日間培養後、典型的集落についてコアグララーゼ試験を行い、コアグララーゼ陽性のものを黄色ブドウ球菌陽性と判定した。

3) リボタイピング

ふきとり検査により検出、分離された大腸菌群(対象表面をふきとった拭き取り検査キットをリン酸緩衝生理食塩水10 mlで抽出し、この抽出液1 mlをBGLB培地(栄研化学)で35℃2日間培養後、ガス発生が認められた培養液の1白金耳量をEMB培地(日水製薬)に画線塗抹して、35℃24時間培養後、金属光沢～暗紫赤色の典型的集落)についてリボプリンター(Riboprinter™, DuPont Quarlicon 社製)を用いてリボタイピングを行った。すなわち本リボプリンターは、DNA分離から制限酵素(*EcoR* I)処理、電気泳動、Southern hybridizationまで全て自動で行うシステムである。したがって、試験方法としては純培養した菌をリボプリンター付属の試薬キットに接種し、システムにセットするのみである。ちなみに本システムの原理は、微生物集落からDNAを抽出し、これを制限

酵素でフラグメント化し、それをゲル電気泳動により分子量ごとに分離してナイロン膜へ転写する。色素ラベルしたrRNAの部分をハイブリダイゼーションさせた後、化学発光処理をして分子サイズごとに分離したバンドパターンを得る。このハイブリダイズされた断片のパターンをカメラで撮り、自動的に画像処理してコンピュータに記憶させる。記憶させたリボプリントTMパターンをデータベース化する。すなわち、すでに入力済みの標準菌株のパターンとの相同性を比較しようとするものである。したがって、属や種の同定だけでなく、同一菌種でのさらなる相似性調査が期待できるため、疫学調査や汚染原因菌調査に威力を発揮するものと思われる。

4) 湿度及び菌液調製溶液の違いによる細菌の消長試験

① 試験菌

Escherichia coli ATCC 43888; 大腸菌(O157:H7, ベロ毒素非産生株)、*Salmonella enteritidis* IFO 3313; サルモネラ、*Staphylococcus aureus* IFO 12732; 黄色ブドウ球菌、*Bacillus cereus* IFO 13494; セレウス菌(芽胞)

② 菌液の調製

普通寒天培地で35℃、16~20時間培養後の菌体を以下の菌液調製溶液(滅菌精製水、0.1%ペプトン水、0.5%ペプトン水)に菌数が $10^5 \sim 10^6$

1/ml となるように懸濁させ、菌液とした。ただし、セレウスは 35°C、7 日間培養後の菌体を 70°C、20 分間加熱し、栄養細胞を殺滅した後、遠心分離後、同様に懸濁させ、菌液とした。

③ 試料の調製

5cm×5cm に切り取ったポリエチレンフィルムの上に菌液 0.5ml を滴下し、試料とした。

④ 試験操作

試料を水飽和条件に保ったデシケーター(相対湿度 90%以上)内及び水を入れないデシケーター(相対湿度は室内湿度；約 50%) 内に入れ、30°C で保存し、保存 17 時間、24 時間、48 時間(厨房の清掃終了後から翌日の朝、更に 1 及び 2 日後を想定)に試料の生菌数を測定した。また、生菌数測定時に、菌液が乾燥しているか否かを肉眼観察により確認した。

⑤ 生菌数の測定

試料表面の生残菌を 0.05% ポリソルベート 80 加リン酸緩衝生理食塩水 10ml で洗い出し、この洗い出し液の生菌数を標準寒天培地を用いた混釈平板培養法(35°C 2 日間培養)により測定し、試料当たりに換算した。

C. 結果及び考察

1. 温湿度測定

各調理施設内の測定結果を図 1

～4 に示した。

今回の調査では調査日は異なるが、温度は両調理施設ともに 15～20°C 程度であった。しかし、湿度はドライシステム(45～55%)に比較し、ウェットシステム(ほぼ 70%以上)で高く、微生物の増殖を助長する可能性が示唆された(図 1～4)。

2. ふきとり検査

各調理施設におけるふきとり検査結果を表 1 及び 2 に、生菌数対数値の比較結果を表 3 に示した。

1) H 保育園(ドライシステム)

床の一般細菌数は $10^4 \sim 10^6/100 \text{ cm}^2$ 程度であった。検査対象全てから大腸菌群は検出されなかった。また、糞便系大腸菌群(Fc)、大腸菌(Ec)、黄色ブドウ球菌(St)は全て陰性であった(表 1)。

2) T 小学校(ウェットシステム)

床の一般細菌数は $10^4 \sim 10^9/100 \text{ cm}^2$ 程度であった。大腸菌群数は約半数(検出率：46%)の場所から $10 \sim 10^3$ 検出された。また、糞便系大腸菌群(Fc)、大腸菌(Ec)、黄色ブドウ球菌(St)は全て陰性であった(表 2)。

3) 床の生菌数の比較

一般細菌数の対数平均値は、ドライシステムで 5.69、ウェットシステムで 6.65 とウェットシステムの床面の一般細菌数はドライシス

テムに比べ10倍程度高い値であった。また、大腸菌群はドライシステムでは検出されなかったのに対し、ウェットシステムでは検査対象中58 %から検出され、ドライシステムの衛生面からの有効性が認められた(表1～3)。

4) 長靴底の生菌数の比較

一般細菌数の対数平均値はドライシステムで5.59、ウェットシステムで6.77とウェットシステムの長靴底の一般細菌数はドライシステムに比べ10倍程度高い値であった。また、大腸菌群はドライシステムでは検出されなかったのに対し、ウェットシステムでは検査対象全てから検出され、ドライシステムの衛生面からの有効性が認められた(表1～3)。

5) 運搬装置車輪の生菌数の比較

一般細菌数の対数平均値はドライシステムで5.09、ウェットシステムで5.82とウェットシステムの運搬装置車輪の一般細菌数はドライシステムに比べやや高い値であった。また、大腸菌群はドライシステムでは検出されなかったのに対し、ウェットシステムでは検査対象中1箇所(33 %)から検出されたが、ドライシステム及びウェットシステムでの明確な差は認められなかった(表1～3)。

6) 壁等の生菌数の比較

両システム共に、壁等の生菌数

は、床上50 cm、床上100 cmと、床から高くなる程明らかに少なくなり、床からの水、汚れ等の跳ね上がり状態を反映する結果であった。一般細菌数の対数平均値はドライシステムの床上で2.96、ウェットシステムの床上で6.45とウェットシステムの壁等(床上)の一般細菌数はドライシステムに比べ1,000倍程度高い値であった。また、床上50 cm、床上100 cmにおいてもウェットシステムの方が一般細菌数は高い値であり、ドライシステムの衛生面からの有効性が認められた(表1～3)。

3. 分離された大腸菌群のリボタイピング

今回の調査ではドライシステムの調理施設からは大腸菌群は検出されなかった。ウェットシステムの調理施設から検出された大腸菌群16菌株を対象にリボタイピングを実施した(参考資料)。

その結果、菌株間で相似性が認められたのは、[回転釜前床、手洗い場下床、長靴底、野菜置きザル車輪]からの分離菌株、[オープン前床、炊飯器前床]からの分離菌株であった。

以上の結果から、ウェットシステム(床がぬれた状態)では1つの汚染源から大腸菌群が各所へ拡散していると考えられた。また、床から、作業者の長靴、運搬装置の車輪等を介して拡散していると考えられ、床に食品残さ等が付着し

た場合、ウェットシステムでは、細菌の増殖に加え、増殖した食中毒菌が調理施設全体に拡散する可能性が示唆された。

4. 湿度及び菌液調製溶液の違いによる細菌の消長試験

ウェットシステム調理施設内の湿度が著しく高くなることから、高湿度条件下において食品の残渣や跳ね水などに汚染した病原菌（腸管出血性大腸菌O157、サルモネラ、黄色ブドウ球菌、セレウス菌）がいかなる挙動を示すかについての想定実験を行い表4に示した。

1) 腸管出血性大腸菌O157（無毒株）

精製水に本菌を 10^5 /mlに接種し、室温 30°C ・湿度90%の条件下に置いた場合は、48時間まで菌数の変動はみられなかった。しかし、湿度50%の条件下に置いた場合は、17時間後には 10 /ml以下に減少した（図5）。

0.1%ペプトン水に本菌を 10^5 /mlに接種し、室温 30°C ・湿度90%の条件下に置いた場合は、17時間後には 10^7 /mlに増殖し、48時間後も 10^7 /mlと変化はみられなかった。しかし、湿度50%の条件下に置いた場合は、24時間後には 10^5 /mlに減少し、48時間後には 10^4 /mlに減少した（図6）。

0.5%ペプトン水に本菌を 10^5 /mlに接種し、室温 30°C ・湿度90%の

条件下に置いた場合は、17時間後には 10^7 /mlに増殖し、48時間後には 10^8 /mlまで増殖した。湿度50%の条件下に置いた場合は、24時間後には 10^6 /mlとやや増殖し、48時間後も 10^6 /mlを保っていた（図7）。

これらの結果から、大腸菌O157は、有機物の無い精製水中では48時間程度であれば増えも減りもしないで生残するが、湿度が低く液面が乾燥する場合には、徐々に死滅し、17時間後には 10 /ml以下に減少することが明らかとなった。しかしながら、微量でもペプトンとともに存在する場合には、液面が乾燥しなければ増殖することがあり得るばかりか、湿度50%で液面が乾燥しても菌数の減少はみられないか、みられたとしてもごく僅かであることが分かった。

2) サルモネラ

精製水に本菌を 10^5 /mlに接種し、室温 30°C ・湿度90%の条件下に置いた場合は、48時間まで菌数の変動はみられなかった。しかし、湿度50%の条件下に置いた場合は、24時間後には 10^2 /ml以下に減少した。48時間後には 10 /ml以下に減少した（図8）。

0.1%ペプトン水に本菌を 10^5 /mlに接種し、室温 30°C ・湿度90%の条件下に置いた場合は、17時間後には 10^7 /mlに増殖し、48時間後も 10^7 /mlと変化はみられなかった。しかし、湿度50%の条件下に置いた場合は、24時間後には 10^3 /mlに