

37. 日付検査	生物的: なし	-		
	化学的: なし	-		
38. 保管(冷蔵庫5°C、12~24時間)	物理的: なし			
	生物的: 病原微生物の増殖	×	温度・時間で管理できる	
39. 出荷	化学的: なし	-		
	物理的: なし	-		
	生物的: なし	-		
	化学的: なし	-		
	物理的: なし	-		

当ハザード分析表における「浅漬」とは、主原料および副原料に野菜のみを用いた次のものを指す。

①キャベツミックス、②手造り白菜、③彩り白菜、④白菜ミックス、⑤フレッシュミックス、⑥からし風味胡瓜、⑦うす塩胡瓜、⑧かぶぎゅう、⑨樽前みそ漬/みそ漬胡瓜、⑩ソウルキムチ、⑪マイルドキムチ、⑫鍛高かぶ漬、⑬ハスカップ干枚、⑭さわやかなす、⑮いきいき大根、⑯たっぷり五目漬

作成者署名: _____

作成年月日: 平成21年10月1日

確認者署名: _____

確認年月日: 平成21年10月1日

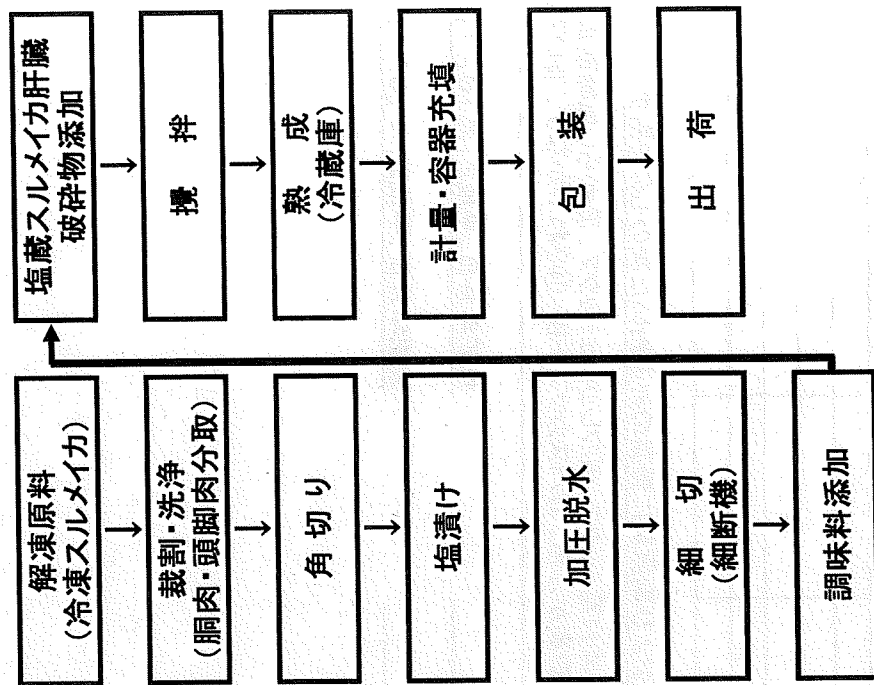


図1. イカ塩辛製造の作業工程

1748 1147 1146 1145 1144 1143 1142 1141 1140 1139 1138 1137 1136 1135 1134 1133 1132 1131 1130 1129 1128 1127 1126 1125 1124 1123 1122 1121 1120 1119 1118 1117 1116 1115 1114 1113 1112 1111 1110 1109 1108 1107 1106 1105 1104 1103 1102 1101 1100 1099 1098 1097 1096 1095 1094 1093 1092 1091 1090 1089 1088 1087 1086 1085 1084 1083 1082 1081 1080 1079 1078 1077 1076 1075 1074 1073 1072 1071 1070 1069 1068 1067 1066 1065 1064 1063 1062 1061 1060 1059 1058 1057 1056 1055 1054 1053 1052 1051 1050 1049 1048 1047 1046 1045 1044 1043 1042 1041 1040 1039 1038 1037 1036 1035 1034 1033 1032 1031 1030 1029 1028 1027 1026 1025 1024 1023 1022 1021 1020 1019 1018 1017 1016 1015 1014 1013 1012 1011 1010 1009 1008 1007 1006 1005 1004 1003 1002 1001 1000 999 998 997 996 995 994 993 992 991 990 989 988 987 986 985 984 983 982 981 980 979 978 977 976 975 974 973 972 971 970 969 968 967 966 965 964 963 962 961 960 959 958 957 956 955 954 953 952 951 950 949 948 947 946 945 944 943 942 941 940 939 938 937 936 935 934 933 932 931 930 929 928 927 926 925 924 923 922 921 920 919 918 917 916 915 914 913 912 911 910 909 908 907 906 905 904 903 902 901 900 899 898 897 896 895 894 893 892 891 890 889 888 887 886 885 884 883 882 881 880 879 878 877 876 875 874 873 872 871 870 869 868 867 866 865 864 863 862 861 860 859 858 857 856 855 854 853 852 851 850 849 848 847 846 845 844 843 842 841 840 839 838 837 836 835 834 833 832 831 830 829 828 827 826 825 824 823 822 821 820 819 818 817 816 815 814 813 812 811 810 809 808 807 806 805 804 803 802 801 800 799 798 797 796 795 794 793 792 791 790 789 788 787 786 785 784 783 782 781 780 779 778 777 776 775 774 773 772 771 770 769 768 767 766 765 764 763 762 761 760 759 758 757 756 755 754 753 752 751 750 749 748 747 746 745 744 743 742 741 740 739 738 737 736 735 734 733 732 731 730 729 728 727 726 725 724 723 722 721 720 719 718 717 716 715 714 713 712 711 710 709 708 707 706 705 704 703 702 701 700 699 698 697 696 695 694 693 692 691 690 689 688 687 686 685 684 683 682 681 680 679 678 677 676 675 674 673 672 671 670 669 668 667 666 665 664 663 662 661 660 659 658 657 656 655 654 653 652 651 650 649 648 647 646 645 644 643 642 641 640 639 638 637 636 635 634 633 632 631 630 629 628 627 626 625 624 623 622 621 620 619 618 617 616 615 614 613 612 611 610 609 608 607 606 605 604 603 602 601 600 599 598 597 596 595 594 593 592 591 590 589 588 587 586 585 584 583 582 581 580 579 578 577 576 575 574 573 572 571 570 569 568 567 566 565 564 563 562 561 560 559 558 557 556 555 554 553 552 551 550 549 548 547 546 545 544 543 542 541 540 539 538 537 536 535 534 533 532 531 530 529 528 527 526 525 524 523 522 521 520 519 518 517 516 515 514 513 512 511 510 509 508 507 506 505 504 503 502 501 500 499 498 497 496 495 494 493 492 491 490 489 488 487 486 485 484 483 482 481 480 479 478 477 476 475 474 473 472 471 470 469 468 467 466 465 464 463 462 461 460 459 458 457 456 455 454 453 452 451 450 449 448 447 446 445 444 443 442 441 440 439 438 437 436 435 434 433 432 431 430 429 428 427 426 425 424 423 422 421 420 419 418 417 416 415 414 413 412 411 410 409 408 407 406 405 404 403 402 401 400 399 398 397 396 395 394 393 392 391 390 389 388 387 386 385 384 383 382 381 380 379 378 377 376 375 374 373 372 371 370 369 368 367 366 365 364 363 362 361 360 359 358 357 356 355 354 353 352 351 350 349 348 347 346 345 344 343 342 341 340 339 338 337 336 335 334 333 332 331 330 329 328 327 326 325 324 323 322 321 320 319 318 317 316 315 314 313 312 311 310 309 308 307 306 305 304 303 302 301 300 299 298 297 296 295 294 293 292 291 290 289 288 287 286 285 284 283 282 281 280 279 278 277 276 275 274 273 272 271 270 269 268 267 266 265 264 263 262 261 260 259 258 257 256 255 254 253 252 251 250 249 248 247 246 245 244 243 242 241 240 239 238 237 236 235 234 233 232 231 230 229 228 227 226 225 224 223 222 221 220 219 218 217 216 215 214 213 212 211 210 209 208 207 206 205 204 203 202 201 200 199 198 197 196 195 194 193 192 191 190 189 188 187 186 185 184 183 182 181 180 179 178 177 176 175 174 173 172 171 170 169 168 167 166 165 164 163 162 161 160 159 158 157 156 155 154 153 152 151 150 149 148 147 146 145 144 143 142 141 140 139 138 137 136 135 134 133 132 131 130 129 128 127 126 125 124 123 122 121 120 119 118 117 116 115 114 113 112 111 110 109 108 107 106 105 104 103 102 101 100 99 98 97 96 95 94 93 92 91 90 89 88 87 86 85 84 83 82 81 80 79 78 77 76 75 74 73 72 71 70 69 68 67 66 65 64 63 62 61 60 59 58 57 56 55 54 53 52 51 50 49 48 47 46 45 44 43 42 41 40 39 38 37 36 35 34 33 32 31 30 29 28 27 26 25 24 23 22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

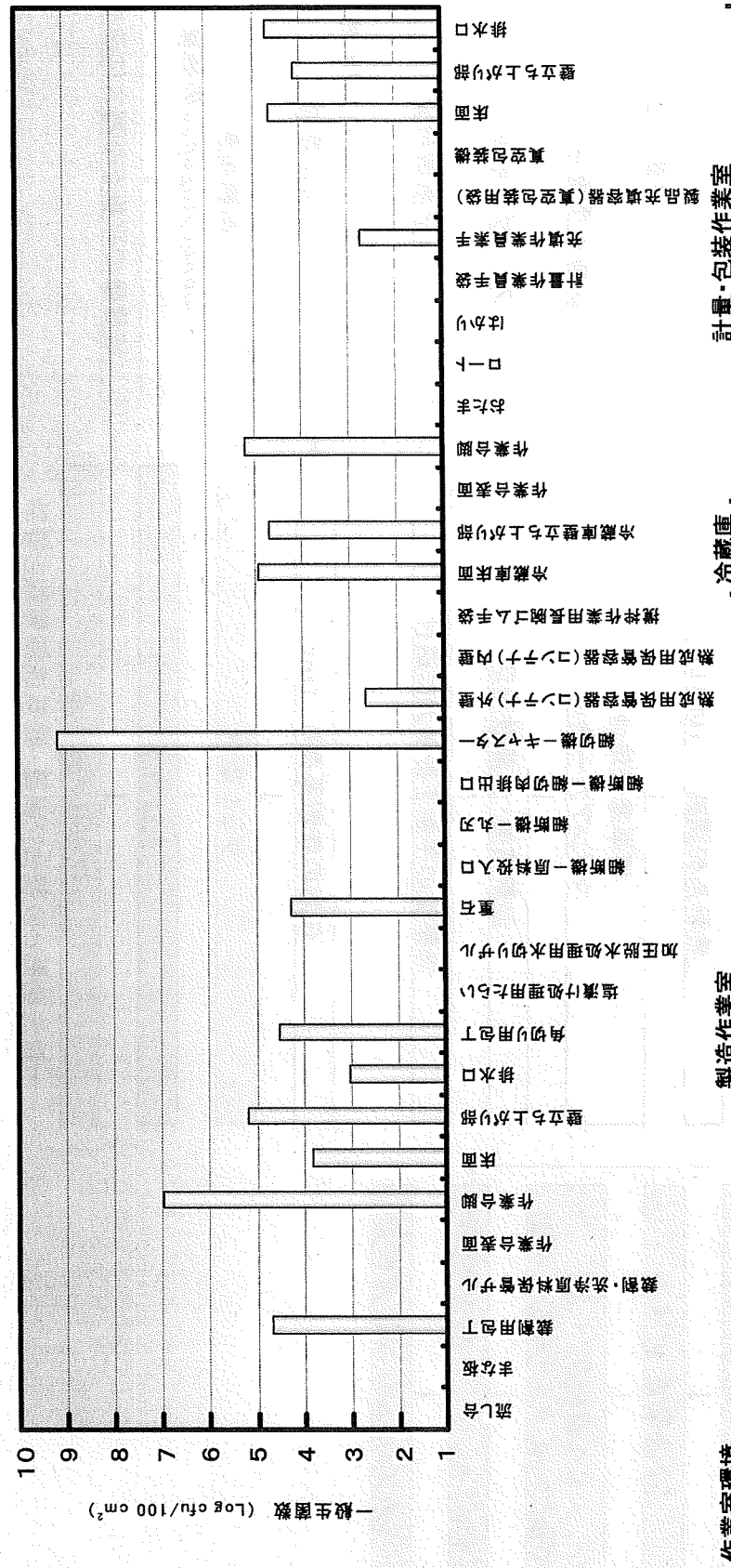


図2. イカ塩辛製造工程における拭き取り検査結果

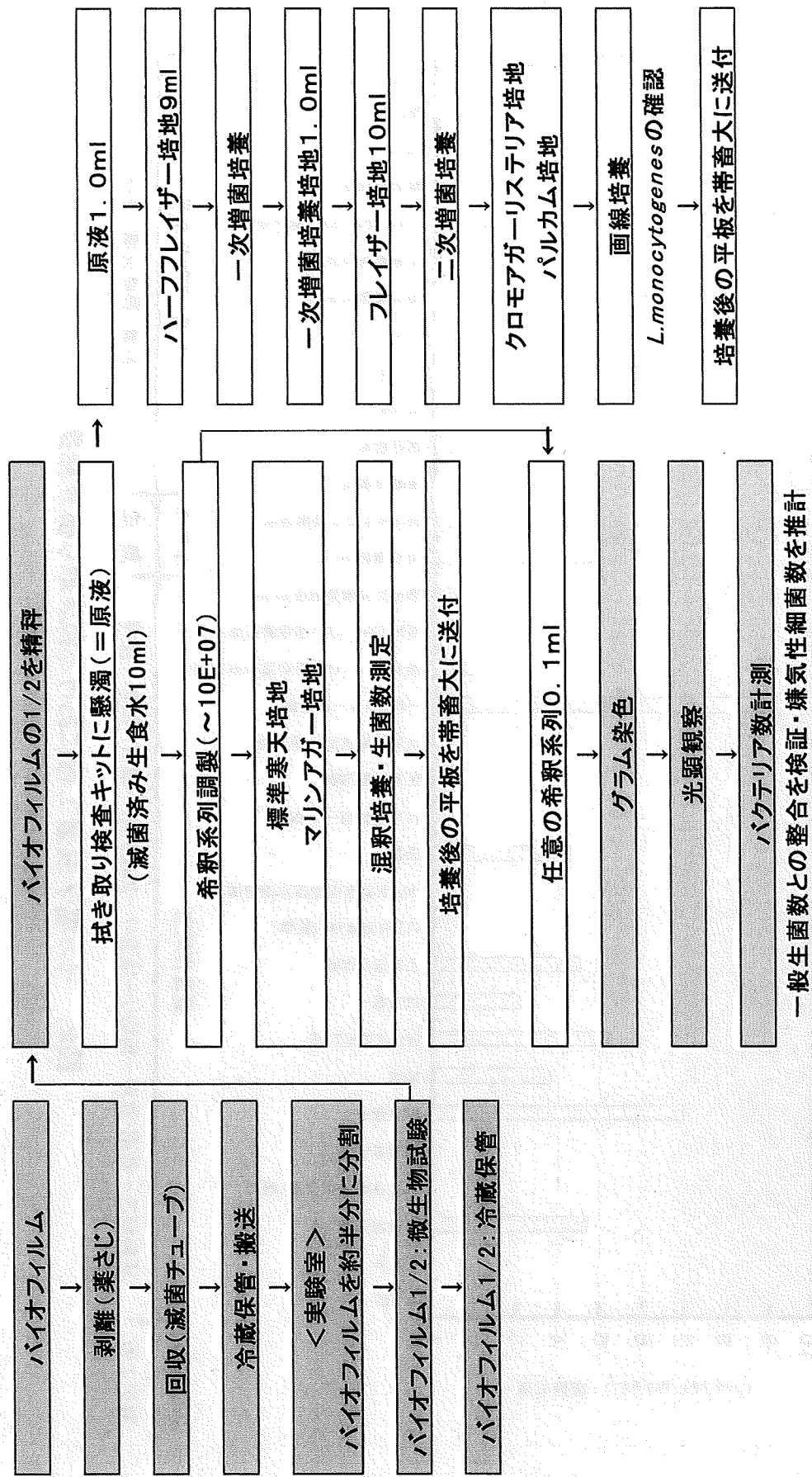


図3. バイオフィルムの菌叢解析の流れ図

一般生菌数 (log cfu/mg biofilm)

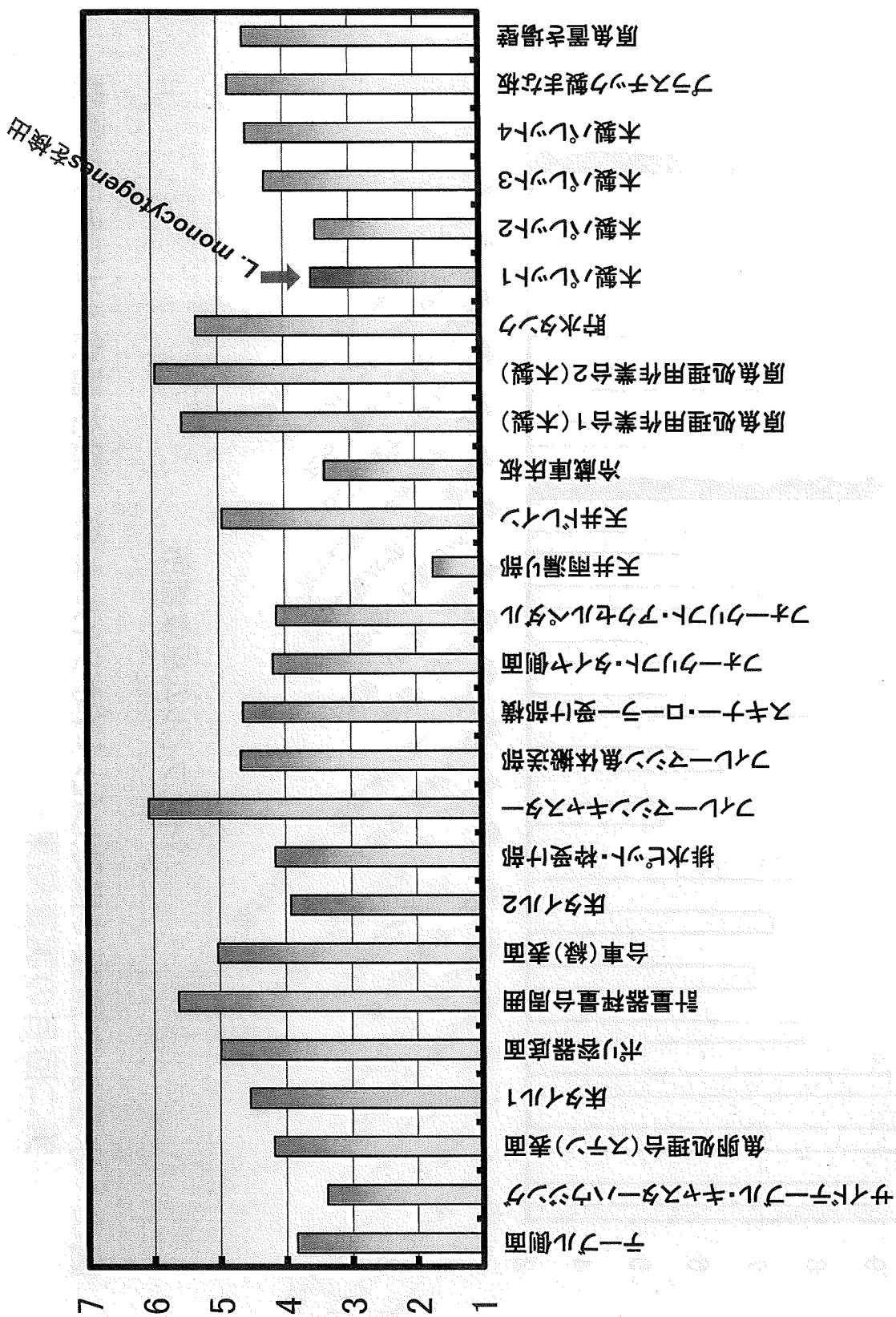
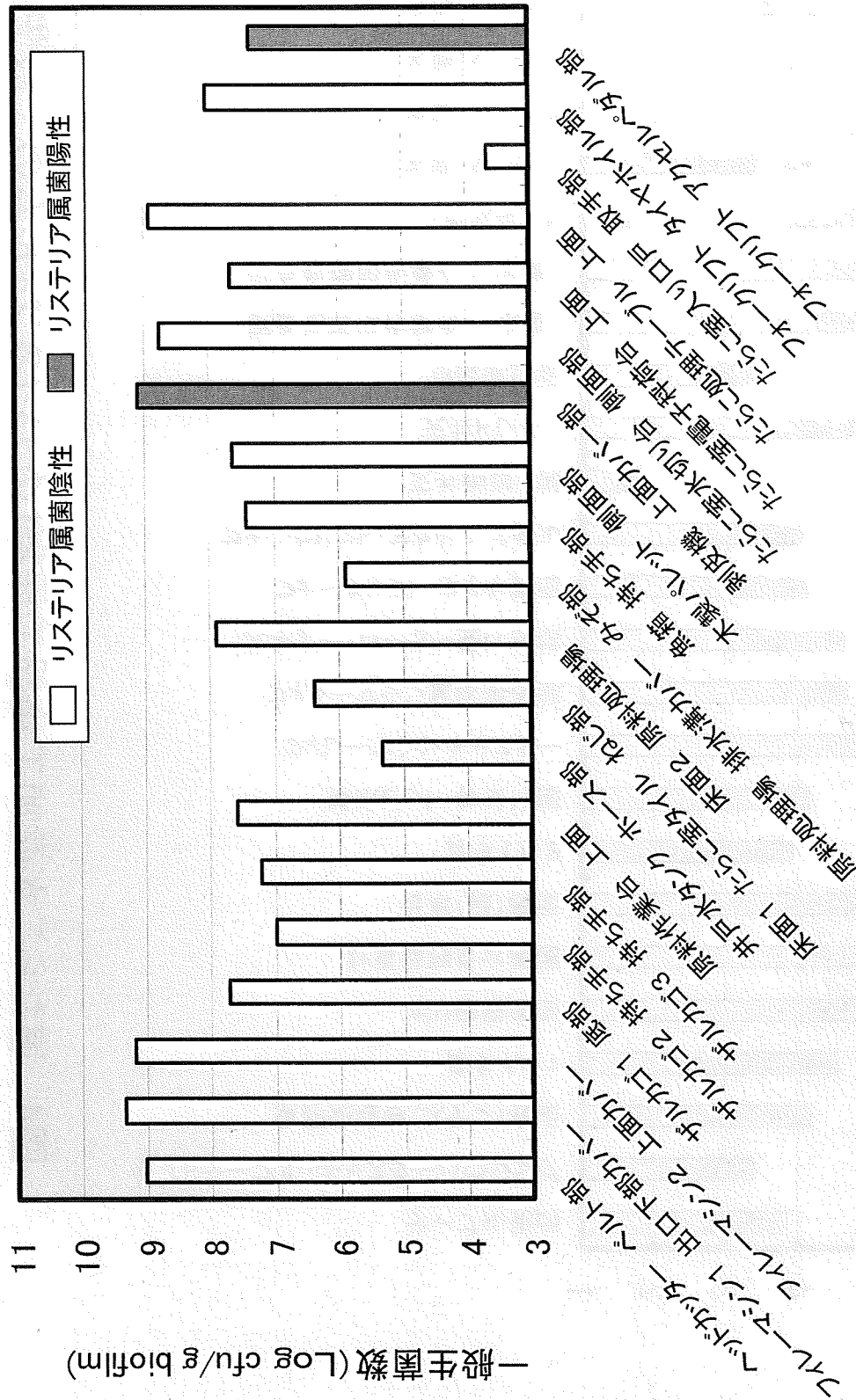


図4. 塩たらい水産加工施設で採集したバイオフィルムの一般生菌数



バイオフィルム採集箇所

図5. 水産加工施設で採取したバイオフィルムの一般生菌数とリステリア属菌第二回目の調査結果

表 21. リステリア属の疑われる箇所における菌叢の状況

x1:原液(10ml中) 菌株(0.1ml)

No.	Listeria BF重量 (mg)	一次増菌 (HF培地) 培地変色		二次増菌 (F培地) 培地変色		二次増菌 (Listeria培地) 24H 48H		一般細菌数		大腸菌群			大腸菌 1以下 (cfu/mg)		
		24H	48H	24H	48H	直読値	直読値	直読値	直読値	直読値	直読値	直読値			
		(cfu/plate)	(cfu/mg)	(cfu/plate)	(cfu/mg)	(cfu/plate)	(cfu/mg)	(cfu/mg)	(cfu/mg)	(cfu/mg)	(cfu/mg)	(cfu/mg)			
1	48.1							22.2	2,360,000	1,063,083	1.1E+06	23,200	10,450	1.0E+04	陰性
2	2.1							29.3	65	22	2.2E+01	0	0	0.0E+00	陰性
6	63.4							113.2	25,050,000	2,212,898	2.2E+06	33,500	2,959	3.0E+03	陰性
7	63.9							66.0	2,925,000	443,182	4.4E+05	4,050	614	6.1E+02	陰性
8	4.0							44.2	7,050,000	1,595,023	1.6E+06	5,050	1,143	1.1E+03	陰性
11	9.1							8.3	43,500	52,410	5.2E+04	0	0	0.0E+00	陰性
12	30.8							24.2	23,800	9,835	9.8E+03	140	58	5.8E+01	陰性
13	56.9							42.7	70,000	16,393	1.6E+04	605	142	1.4E+02	陰性
14	14.0							15.4	18,900	12,273	1.2E+04	60	39	3.9E+01	陰性
19	139.5							128.8	510,000	39,596	4.0E+04	650	50	5.0E+01	陰性
20	73.7							81.6	70,500	8,640	8.6E+03	430	53	5.3E+01	陰性
22	5.6							5.7	125	219	2.2E+02	0	0	0.0E+00	陰性
23	48.1							78.8	19,100	2,424	2.4E+03	1,150	146	1.5E+02	陰性
24	65.9							36.4	285,000	78,297	7.8E+04	20	5	5.5E+00	陰性
27	36.8							38.4	241,000	62,760	6.3E+04	65	17	1.7E+01	陰性
28	95.7							85.8	56,000	6,527	6.5E+03	5	1	5.8E+01	陰性
38	50.0							72.6	5,650	778	7.8E+02	2,450	337	3.4E+02	陰性
39	9.9							8.5	22,400	26,353	2.6E+04	0	0	0.0E+00	陰性
40	14.3							19.9	86,500	43,467	4.3E+04	7,300	3,668	3.7E+03	陰性
42	15.0							12.2	1,585,000	1,299,180	1.3E+06	1,250	1,025	1.0E+03	陰性
43	6.2							4.4	263,000	597,727	6.0E+05	0	0	0.0E+00	陰性
44	25.8							63.8	295,000	46,238	4.6E+04	5	1	7.8E+01	陰性
45	11.7							12.2	540,000	442,623	4.4E+05	0	0	0.0E+00	陰性
47	17.3							36.5	3,130,000	857,534	8.6E+05	0	0	0.0E+00	陰性
48	18.1							33.8	15	4	4.4E+00	15	4	4.4E+00	陰性
49	23.9							54.2	585,000	107,934	1.1E+05	15	3	2.8E+00	陰性
50	103.3							53.2	120,000	22,556	2.3E+04	160	30	3.0E+01	陰性

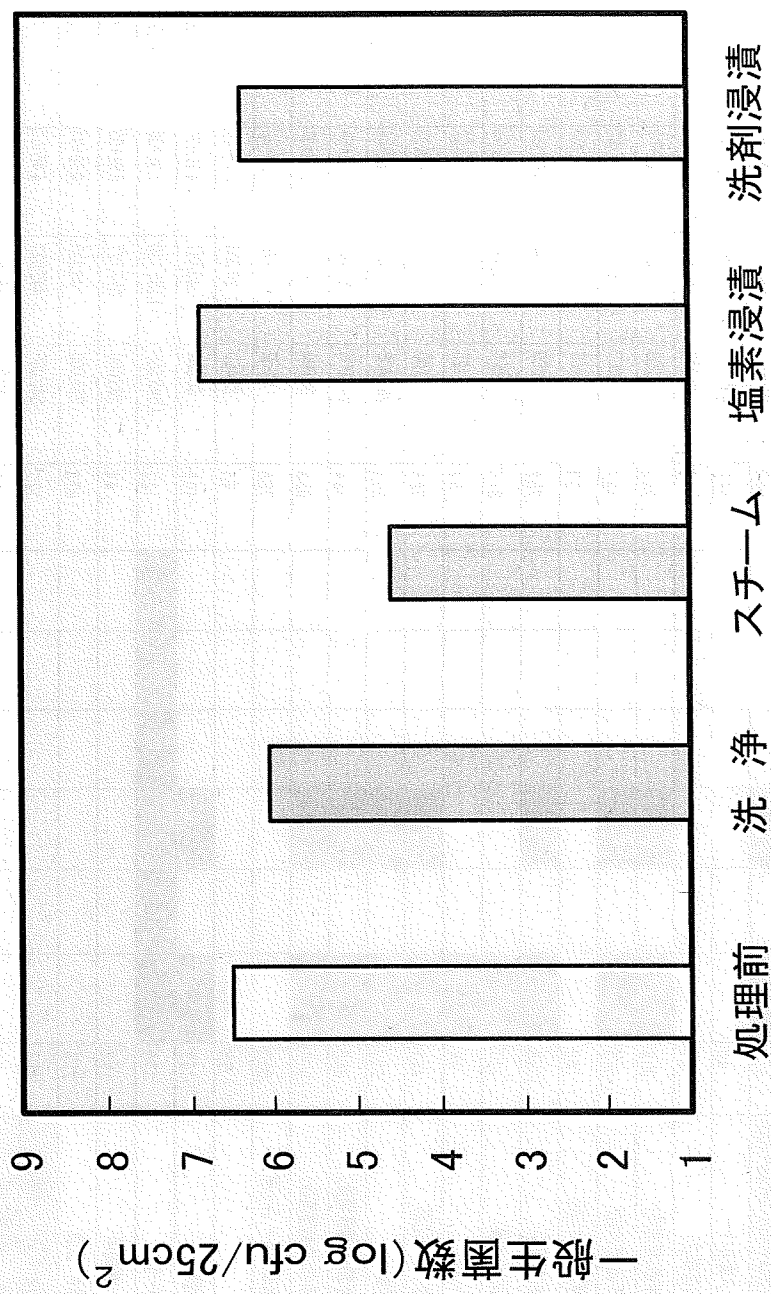
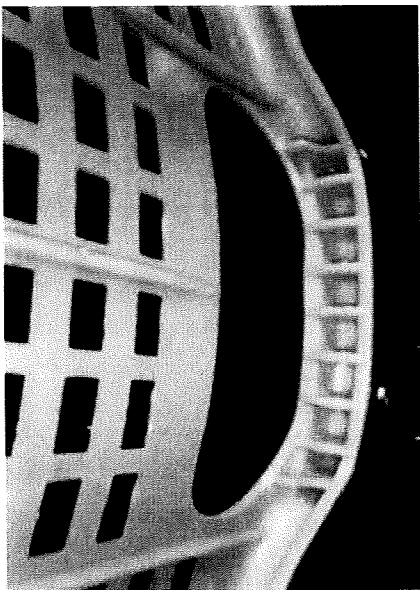


図6. バイオフィルム除去処理(単独処理)による一般生菌数の変化



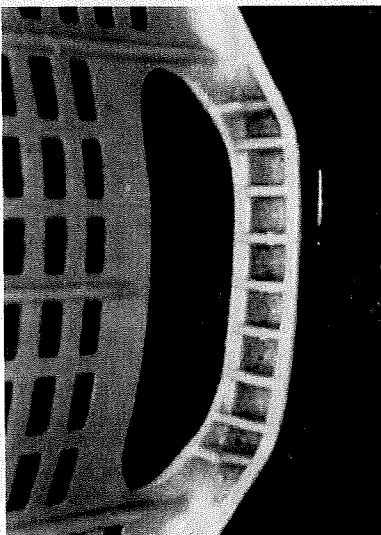
処理前



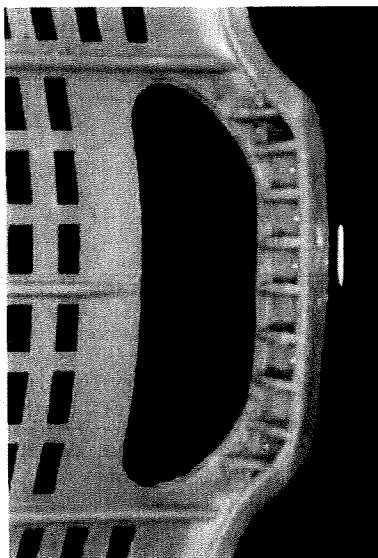
洗浄(ブラッシング)後



スチーム



塩素浸漬



洗剤浸漬

写真1 ザルカゴ(手持ち部)の各処理後のバイオフィーム付着状況(各処理単独)

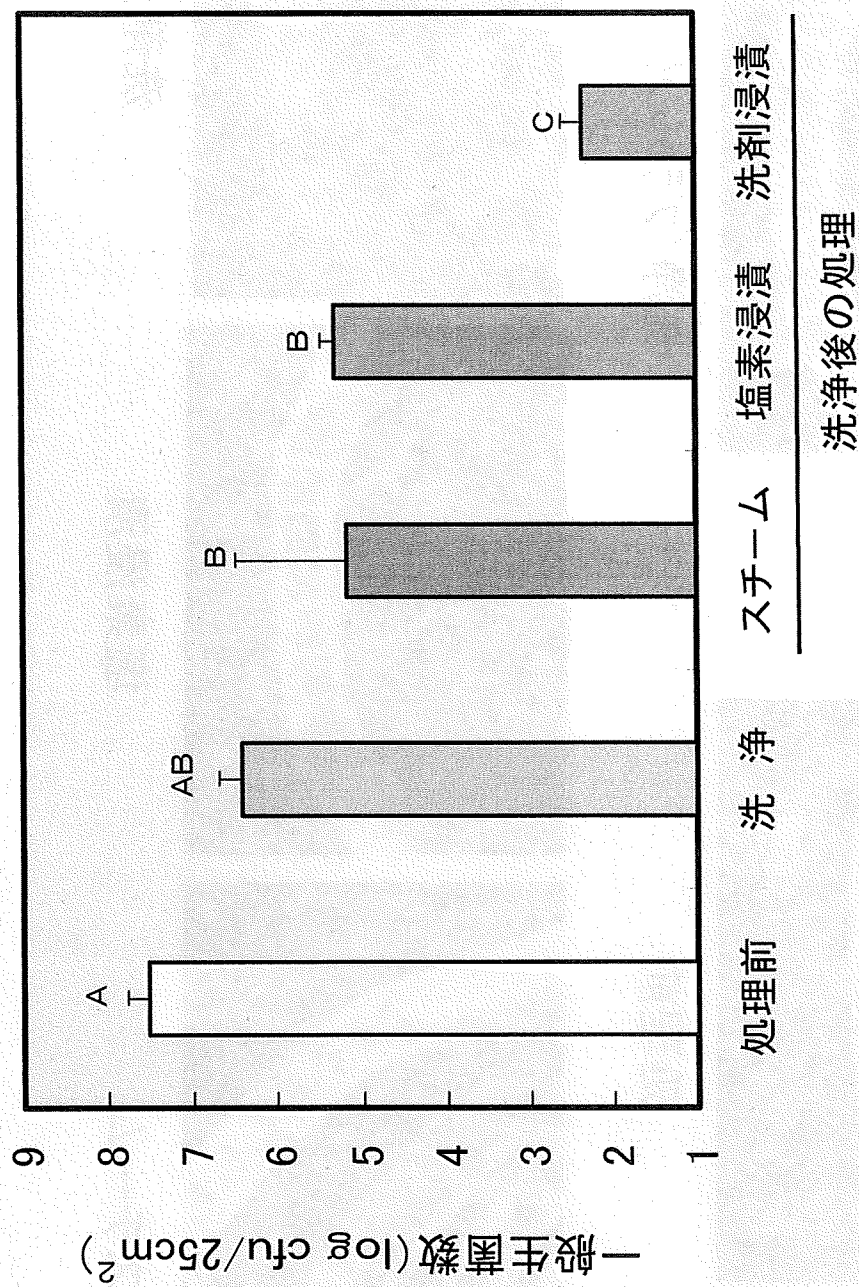


図7. 洗浄後の追加処理におけるバイオフィルムの一般細菌数の変化

* 異なるアルファベットは有意差有り(有意水準5%)

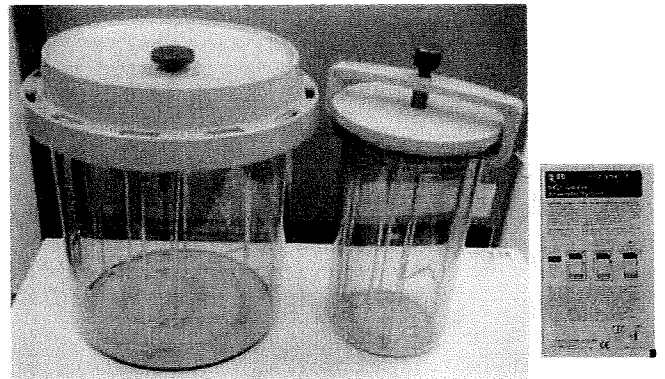
表 22. 市販鶏肉からのカンピロバクター検出結果集計

検体種	検体数	好気培養		微好気培養	
		特殊ストマッカー袋	通常ストマッカー袋	通常ストマッカー袋	通常ストマッカー袋
		陽性数/検体数	陽性数/検体数	陽性数/検体数	陽性数/検体数
冷蔵鶏肉					
秋田県	5	2/5	3/5		3/5
埼玉県	3	0/3	0/3		0/3
東京都	5	1/5	0/5		0/5
世田谷区	10	6/10	5/10		6/10
大阪府	5	3/5	3/5		3/5
山口県	5	5/5	2/5		4/5
熊本県	5	3/5	1/5		3/5
計	38	20/38	14/38		19/38
冷凍鶏肉 (含む解凍品)					
秋田県	5	1/5	1/5		1/5
群馬県	10	7/10	8/10		8/10
埼玉県	7	2/7	0/7		2/7
東京都	5	0/5	0/5		0/5
大阪府	5	3/5	2/3		4/5
山口県	5	0/5	1/5		0/5
熊本県	5	1/5	1/5		1/5
計	42	14/42	13/40		16/42
合計	80	34/80	27/78		35/80

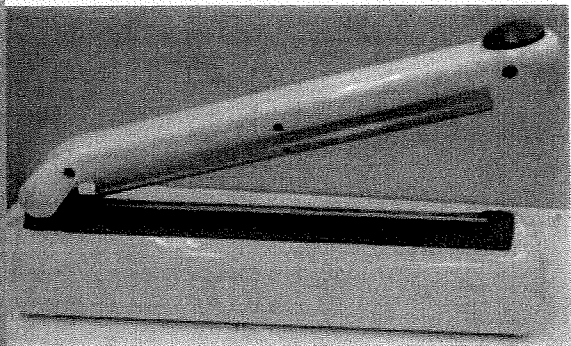
1. Microaerobic CO₂ Incubator



2. BD BBL GasPak™ System or the other systems



3. Special plastic film stomaching bag



Sealer

図 8. 微好気培養として、カンピロバクターの培養に利用できる方法

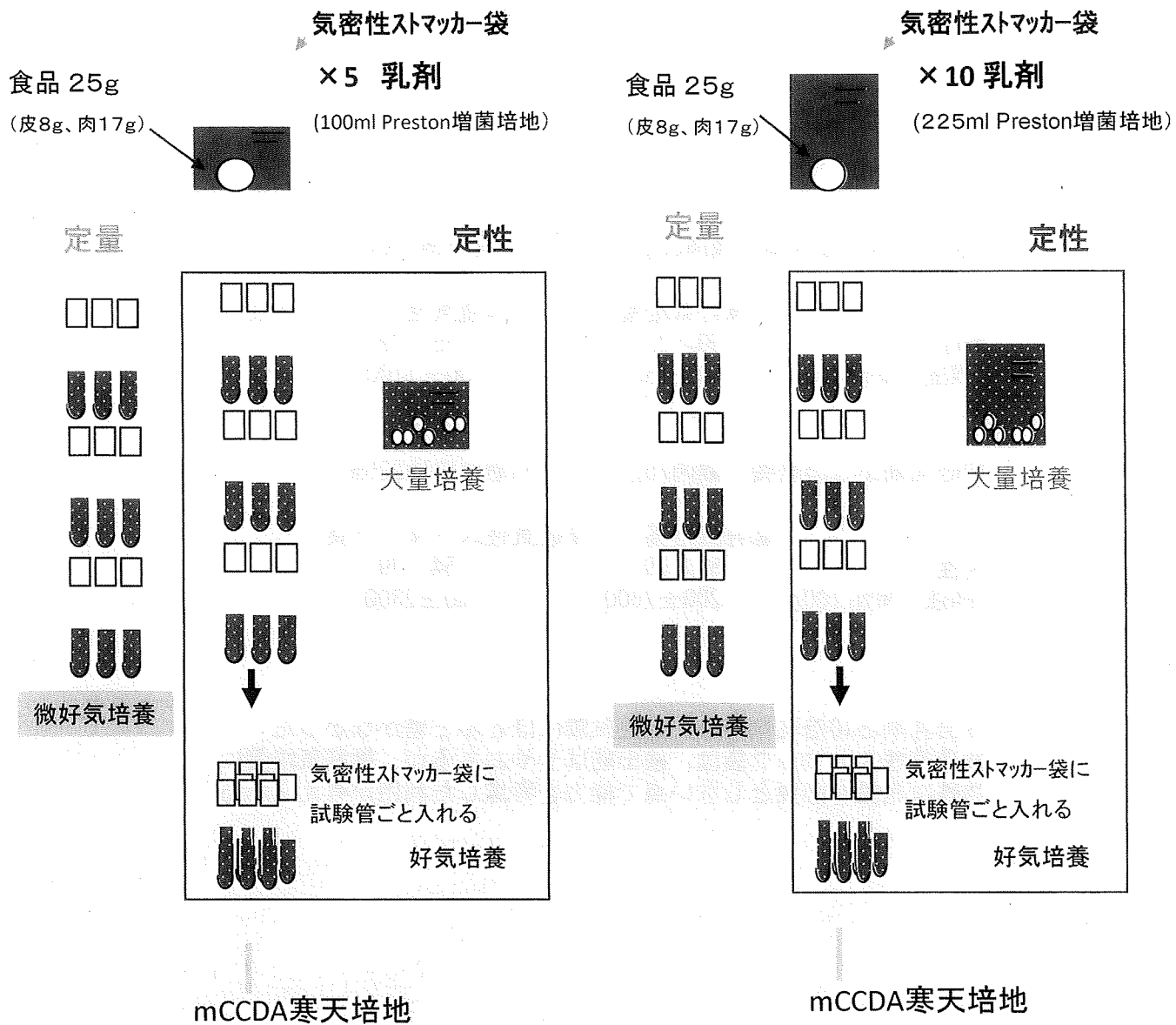


図 9. 鶏肉からのカンピロバクター検査方法の検討方法 (流れ図)

表 23. 非通気性ストマック袋の評価（市販鶏肉からのカンピロバクター分離比較）

5倍乳剤からの培養（鶏肉25g+Preston増菌培地100ml）

	微好気培養	非通気性ストマック袋
定性	60/79	55/79
MPN法 (MPN/100g)	760±1500	630±1100

10倍乳剤からの培養（鶏肉25g+Preston増菌培地225ml）

	微好気培養	非通気性ストマック袋
定性	59/79	54/79
MPN法 (MPN/100g)	1200±2600	1100±2300

5倍乳剤と10倍乳剤では、定性試験にほとんど差がなかった
 非通気性ストマック袋は、検出能はややおちるが、微好気培養に
 特殊な施設を必要としない点で能力を考慮した利用が考えられる

表 24. Bolton培地温度シフトの必要性の検討結果
同一検体を温度シフトした場合の陽性率

24時間培養（シフト：37°Cで4時間培養、42°Cで 20時間培養）

	CCDA	Butzler	Skirrow	Preston
温度シフトあり	23/53	17/37	22/37	7/9
温度シフトなし	26/53	16/37	25/37	7/9

48時間培養（シフト：37°Cで4時間培養、42°Cで 44時間培養）

	CCDA	Butzler	Skirrow	Preston
温度シフトあり	20/44	14/28	19/28	6/9
温度シフトなし	23/44	15/28	20/28	6/9

Boltonでの選択増菌に、温度シフトの必要は無いと思われる

カンピロバクター標準検査法確立のためのプレラボ実験プロトコール

1. プレラボ試験の目的

カンピロバクターによる食中毒は依然として事件数・患者数共に増加傾向にありその対策は重要であると思われるが、公定法に相当するカンピロバクターの試験法は確立されていない。実際にどれくらい食品がカンピロバクターに汚染されているのかを示すために、信頼性の高い試験法が必要とされている。このことから鶏肉におけるカンピロバクター（ジェジュニ/コリ）の試験法を確立することを目的とする。

今回はこれに先立ちカンピロバクター・ジェジュニ 1 株を用いて、市販の鶏肉に予め菌量の分かっているジェジュニ（①多い、②少ない、③なし、それぞれ n=3）をスパイクしたものを冷蔵と冷凍の 2 種類ずつ用意し、2 種類の増菌培地（プレストンとボルトン）、2 種類の分離培地（CCDA とバツラーの予定）を用いてその培地の有効性を検討する。

また同時にカンピロバクターの培養条件に関して、微好気条件を①～③設定し、各機関がどの条件で実験を行ったかを調査し、機関ごとで結果に違いが生じたかどうかの検討も行う。加えてコラボの実施にあたり用いる接種菌数レベルの妥当性を確認する。

2. 国立医薬品食品衛生研究所担当項目

I サンプルの調整

ストマック袋：市販の通気性を考慮されていないストマック袋を用いる。

検体となる鶏肉：市販の鶏のミンチ肉を用いる。ミンチ肉は凍結融解を繰り返し凍結で保管し、カンピロバクターが検出されないことを確認後、解凍後実験に用いる。

使用菌株：カンピロバクター・ジェジュニ

保護剤：Maximum Recovery Diluent (Oxoid) に菌体をけん濁し、スパイクする。

II サンプルの郵送

<1 回目>

冷蔵検体：1 機関に対して 18 サンプルを準備し、アイスパックで 7℃未満（冷蔵）に保って輸送し、到着後は当該菌の増殖しない 2-7℃で冷蔵保存。

<2 回目>

冷凍検体：1 機関に対して 18 サンプルを準備し、ドライアイスで -20℃以

下に保って輸送する。

10 機関なので全部で冷蔵 180 サンプル、冷凍 180 サンプル準備する。

検体送付先

国立医薬品食品衛生研究所	五十君 静信
秋田県健康環境センター	齋藤 志保子
埼玉県衛生研究所	小野 一晃
東京都健康安全研究センター	横山 敬子
群馬県衛生環境研究所	藤田 雅弘
愛知県衛生研究所	平松 礼司
大阪府立公衆衛生研究所	田口 真澄
広島市衛生研究所	石村 勝之
山口県環境保健センター	富永 潔
熊本県保健環境科学研究所	八尋 俊輔

III 培地などの郵送

プレストン、ボルトン、バツラー、CCDA の市販の粉末培地およびサプリメント、血液を購入し、必要な分を各研究機関に郵送する。(前もって)

3. 各機関で行うこと

(1) サンプルの処理：増菌培地（それぞれの検体にプレストンまたはボルトン）100ml を加えてホモジネートする。

(2) ボルトンの場合は微好気条件下にて $35 \pm 1^\circ\text{C}$ にて 4 時間培養後に、 $42 \pm 1^\circ\text{C}$ にて 24-44 時間培養する。24 および 44 時間後に選択培地に接種。プレストンの場合は微好気条件下にて $42 \pm 1^\circ\text{C}$ にて 24-48 時間培養する。24 および 48 時間後に選択培地に接種。微好気条件は各機関により異なる(①～③)。

①微好気ガスの組成の条件を維持できるもの

②市販の微好気ジャーシステム（ガスキットシステムなど）を利用する。

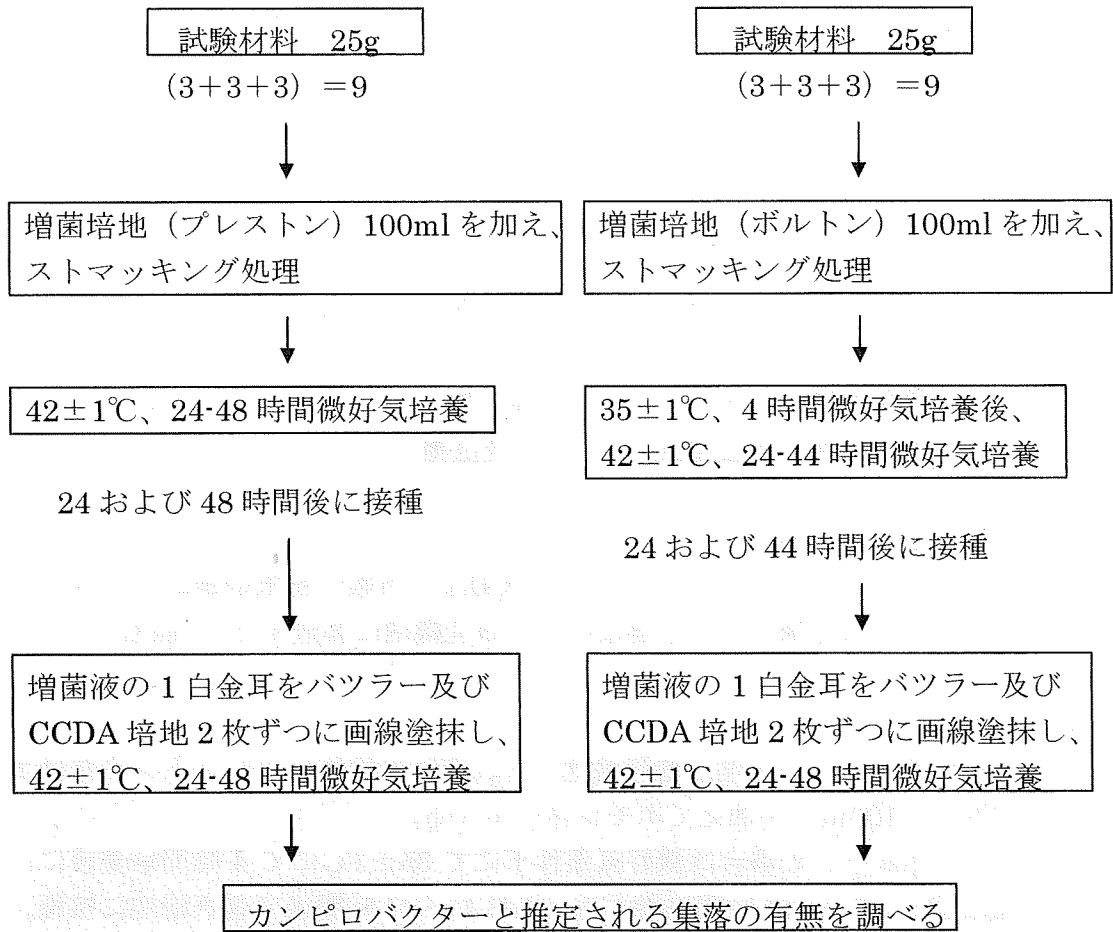
③通気性のない材質の容器または袋を使用し、これに増菌培養液を直接入れた後、密閉する。

(3) 分離培養培地（バツラーおよび CCDA、各 2 枚ずつ）に増菌培養した液を 1-2 白金耳画線塗抹し、 $42 \pm 1^\circ\text{C}$ にて 24-48 時間培養する。(1 日(24h) 後、2 日後(44-48h)に各 2 枚ずつ接種)

(4) 成育したコロニーの形態観察を行い、カンピロバクターと思われるコ

ロニーの有無を調べる。

カンピロバクターの試験法検討のフロー



このセットを冷蔵と冷凍で行う。

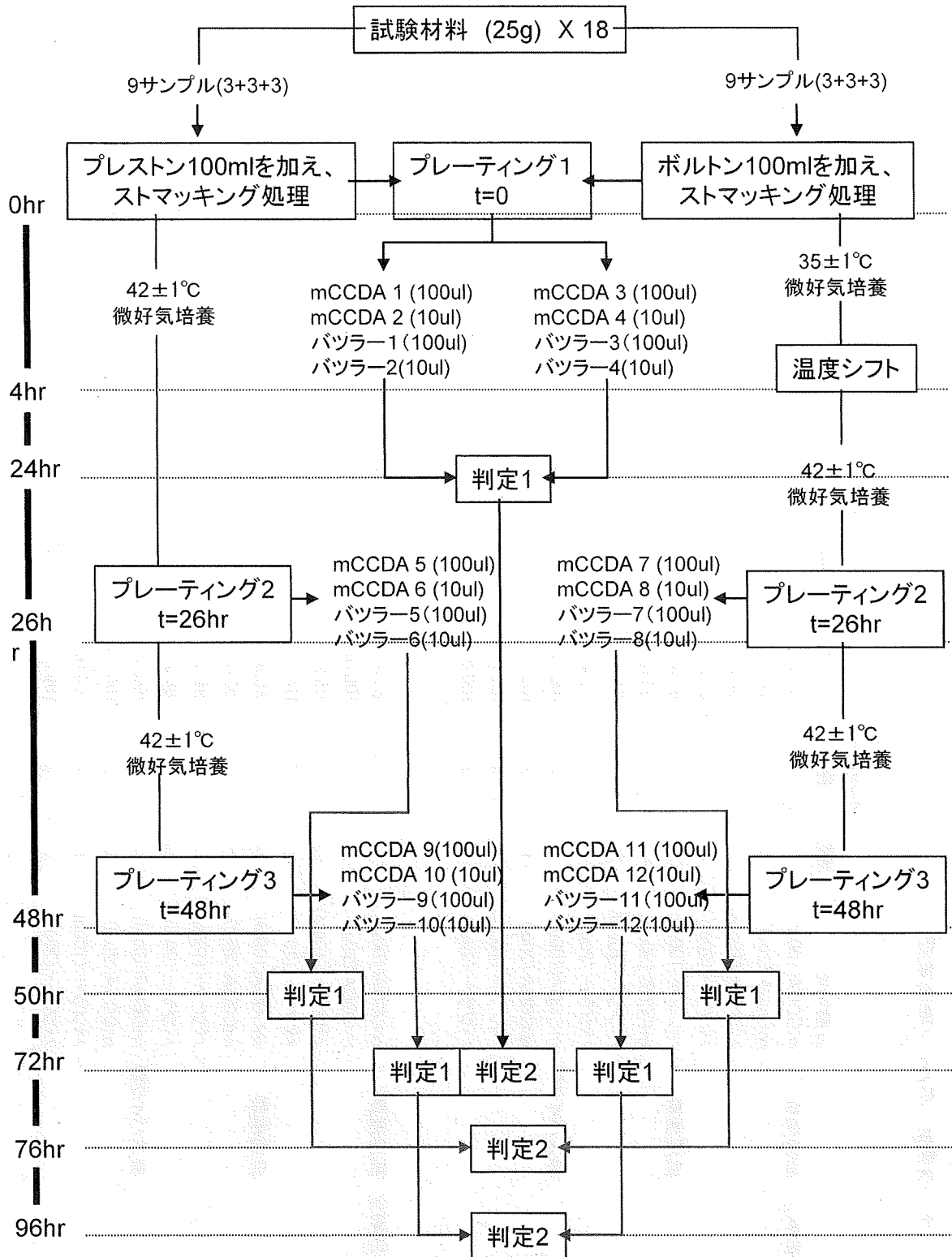


図 10. カンピロバクタープレコロラボ実験の実施フロー図

表 25. プレコラボ1 データ集計 ボルトン培地定性

24時間判定	分離培地	ボルトン0h		ボルトン26h		ボルトン48h				
		陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性			
高濃度群	mCCDA(100ul)	24	3	88.9%	7	20	25.9%	7	20	25.9%
	mCCDA (20ul)	20	7	74.1%	10	17	37.0%	6	21	22.2%
	ハツラー (100ul)	23	4	85.2%	21	6	77.8%	20	7	74.1%
	ハツラー (20ul)	23	4	85.2%	24	3	88.9%	24	3	88.9%
	mCCDA(100ul)	24	3	88.9%	6	21	22.2%	7	20	25.9%
	mCCDA (20ul)	15	12	55.6%	3	24	11.1%	4	23	14.8%
	ハツラー (100ul)	20	7	74.1%	18	9	66.7%	21	6	77.8%
	ハツラー (20ul)	19	8	70.4%	22	5	81.5%	24	3	88.9%
	mCCDA(100ul)	0	27	100.0%	7	20	74.1%	7	20	74.1%
	mCCDA (20ul)	0	27	100.0%	6	21	77.8%	6	21	77.8%
	ハツラー (100ul)	0	27	100.0%	12	15	55.6%	13	14	51.9%
	ハツラー (20ul)	0	27	100.0%	11	16	59.3%	13	14	51.9%
高濃度群	mCCDA(100ul)	24	3	88.9%	5	22	18.5%	5	22	18.5%
	mCCDA (20ul)	27	0	100.0%	18	9	66.7%	7	20	25.9%
	ハツラー (100ul)	23	4	85.2%	24	3	88.9%	20	7	74.1%
	ハツラー (20ul)	27	0	100.0%	27	0	100.0%	26	1	96.3%
	mCCDA(100ul)	24	3	88.9%	3	24	11.1%	4	23	14.8%
	mCCDA (20ul)	25	2	92.6%	13	14	48.1%	7	20	25.9%
	ハツラー (100ul)	26	1	96.3%	24	3	88.9%	23	4	85.2%
	ハツラー (20ul)	24	3	88.9%	27	0	100.0%	27	0	100.0%
	mCCDA(100ul)	0	27	100.0%	6	21	77.8%	6	21	77.8%
	mCCDA (20ul)	0	27	100.0%	3	24	88.9%	5	22	81.5%
	ハツラー (100ul)	0	27	100.0%	10	17	63.0%	11	16	59.3%
	ハツラー (20ul)	0	27	100.0%	9	18	66.7%	11	16	59.3%
低濃度群	mCCDA(100ul)	24	3	88.9%	3	24	11.1%	4	23	14.8%
	mCCDA (20ul)	25	2	92.6%	13	14	48.1%	7	20	25.9%
	ハツラー (100ul)	26	1	96.3%	24	3	88.9%	23	4	85.2%
	ハツラー (20ul)	24	3	88.9%	27	0	100.0%	27	0	100.0%
	mCCDA(100ul)	0	27	100.0%	6	21	77.8%	6	21	77.8%
	mCCDA (20ul)	0	27	100.0%	3	24	88.9%	5	22	81.5%
	ハツラー (100ul)	0	27	100.0%	10	17	63.0%	11	16	59.3%
	ハツラー (20ul)	0	27	100.0%	9	18	66.7%	11	16	59.3%