

有害影響を及ぼさないようにする。

属間永久接合部は、可能な限り連続的溶接。金属と非金属間、非金属間永久接合部は、連続的にボンド結合。床に直接据え付ける機械・装置は、平らに置き、接地面を完全シールする必要あり。機械・装置は、水分保持、有害小動物の侵入、汚染物蓄積を防止し、検査、保持、保全、洗浄・清掃、必要に応じて、消毒を容易できるようなもの。

② 保温

保温材は、機械・装置に密着させ、水分や有害生物などの浸入を防ぐもの。

③ サポート

- ・ 配管、機械・装置のサポートは、水分や汚染物がたまらないもの。
- ・ 脚などのサポートは、ねじ部を外に露出させない。
中空材で作ったサポートは、全体として閉じた構造とするか、完全にシールする。洗浄・清掃と、点検のための空間が必要。
- ・ キャスタは、機械・装置の移動が容易にできる大きさのものとし、洗浄・清掃と点検のために、ベースの一番低いところと、床の間に空間を設ける。キャスタは、容易に洗浄・清掃が可能で耐久性をもつもの。

III. 適合性検証：衛生手段の検証法

食品を特定しない食品加工機械の大部分は、II. の規定とその他関連規格の必要条件を満たしている場合は、洗浄・清掃が可能とみなす。複雑な機械については、

実地に洗浄・清掃試験を行い、査定することもできる。

特定の食品向けの食料品加工機械の大部分は、実地試験によって実証できれば洗浄・清掃可とみなす。

殺菌を受けるように設計された機械・装置、又は無菌食品を製造する機械・装置は、実地試験を行う必要あり。

IV. 機械、装置、関連機器の据付け

排水装置：排水設備は、廃水が床面に流れ出さないようにする。調理タンク、浸せき用タンク、冷却用タンクその他大きな容器は、排水溝までの距離が短い場合には、作業終了後に食品をその場所から移動した後、床を横切って放水してもよい。

床、壁及び天井からの間隔：機械・装置は、洗浄・清掃、検査のために、十分な距離。

バルブ：排水の出口のバルブは、容易に洗浄・清掃できるものとする。装置の底には一度に水が流れるようなフラッシュを設置。排水パイプは、内部・外部ともに洗浄・清掃可とする。

①-3. 「JIS 水産加工機械の安全及び衛生に関する設計基準 JIS B 9654」（日本工業規格）においては以下の機種別の安全及び衛生要求事項が掲げられている。

I. フローズン・カッター

- ・ 食品接触部の二つの面が交差してで

きる面の角度は、90 度以上、内径 3 mm以上の丸みを付ける。三つの面の交差によってできる隅の少なくとも二つの面の内径は、6 mm以上の丸みを付ける。

- ・ 洗浄水の水切りをよくするため、フレームなどは水が溜まらない構造。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

II. 魚肉採取機

- ・ 食品接触部のボルト、小ねじ、ワッシャなどは、ステンレス鋼を用い、凹部は使用しない。
- ・ 食品接触部の面の角度は、I に同じ。
- ・ 食品接触部の部品は、容易に取り外して清掃可とする。
- ・ 非食品接触部の部品で、清掃及び点検が必要な箇所は、容易に取り外して清掃可とする。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

III. スクリュープレス

- ・ 食品接触部の面の角度は、I に同じ。
- ・ パンチングメタル取付部と軸シール部は、残滓が付着しないものとする。
- ・ 内部スクリューは、容易に露出でき、洗浄しやすく、作業者に安全な開閉機構をもつ。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

IV. サイレントカッタ

- ・ 食品接触部の面の角度は、I に同じ。
- ・ 受け皿内のナイフ、アジテータなど

は、容易に分解洗浄が可。

- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置、食品から十分な距離をおき、清掃可とする。
- ・ 洗浄水などが飛散するような場所では、通気口から水滴の進入を防止できるようにする。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

V. ボールカッタ

- ・ 食品接触部の面の角度は、I に同じ。
- ・ ナイフとその組立部品は分解後、食品が滞留するようなすき間がなく組み立てられるもの。
- ・ ナイフ、シャフトなどは、容易に取り外して清掃可とする。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

VI. ミキサ

- ・ 食品接触部の面の角度は、I に同じ。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃可とする。
- ・ 食品接触部のかくはん槽内のアジテータとアジテータシャフトは、容易に分解洗浄可とする。
- ・ 機械のかくはん槽とスタンドフレームとのすき間は、100 mm以上。
- ・ かくはん槽に取り付けるセンサなどは、汚れが滞留せず、取付部はシールまたは容易に取り外して清掃が可とする。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

VII. 裏ごし機

- ・ 食品接触部の面の角度は、Iに同じ。
- ・ 駆動装置周辺の保護ガードは、容易に取り外して清掃可とする。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃が可とする。
- ・ ブレードスクリーユ及びカップジョイントは、食品が滞留しないよう排出できる。
- ・ 原料投入ホッパと伝動部は原料の落下を防ぎ、清掃、洗浄が容易で、一体化した構造。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から150 mm以上のすき間を設ける。

VIII. 竹輪成形機

- ・ 食品接触部の面の角度は、Iに同じ。
- ・ ホッパ、原材料送込みローラ、型枠ドラム、押型などは、容易に分解洗浄が可。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃ができる。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から150 mm以上のすき間を設ける。

IX. 板付かまぼこ成形機

- ・ 食品接触部の面の角度は、Iに同じ。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃ができる。
- ・ ポンプ、口金本体、ホッパ、スクリーユなどは、容易に取り外して清掃ができる。

- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から150 mm以上のすき間を設ける。

X. 揚げかまぼこ成形機

- ・ 食品接触部の面の角度は、Iに同じ。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃ができる。
- ・ ポンプ、口金本体、ホッパ、スクリーユなどは、容易に取り外して清掃ができる。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から150 mm以上のすき間を設ける。

X I. かに風味かまぼこ成形機

- ・ 食品接触部の面の角度は、Iに同じ。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃ができる。
- ・ ポンプ、口金本体、ホッパ、スクリーユなどは、容易に取り外して清掃ができる。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から150 mm以上のすき間を設ける。

X II. 竹輪ばい焼機

- ・ 食品接触部の面の角度は、Iに同じ。
- ・ 燃焼部及び燃焼操作部とこれに関連する部分は、容易に清掃できる。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から150 mm以上のすき間を設ける。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃ができる。

X III. かまぼこ蒸機

- ・ 食品接触部の面の角度は、Iに同じ。
- ・ 食品接触部におけるバーチェーン、ネットコンベア、コンベアベルト、シュートなどの搬送機能部品は、容易に洗浄ができる。
- ・ 蒸槽内部は食品のくずが落下して、たい積・付着しないもの。
- ・ 蒸槽内部は容易に排水できる。
- ・ 蒸槽内への吹込み用蒸気には、飲用に適した水を使用するように、取扱説明書に明記。
- ・ 水や蒸気の供給配管に用いられるパイプ、バルブ、継手などの附属品は、衛生的で、分解可とする。
- ・ 洗浄のために蒸槽側面に数箇所の扉を設け、かつ、簡単な操作で開閉できるようにする。
- ・ ダクトは、水抜きが完全にできるように据え付け、水が製品の通る部分へ漏れたり、滴下しないようにする。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃ができる。

XIV. 揚げかまぼこ用フライヤ

- ・ 食品接触部の面の角度は、Iに同じ。
- ・ 固定した面に隣接する取り外せない角形ダクトは、その面にシールされるか又は固定面から少なくともダクト幅の 1/5 の 50 mm以上の間隔をあける。
- ・ 油循環用配管は、分解・組立のための継手を用いる。
- ・ 外部排気のための煙突、ダクト、フ

ード、天がい類は、異物侵入防止用のフィルタを取り付け、容易に取り外して清掃可の構造とする。

- ・ フードとダクトとの結合部には、フィルタを設ける。
- ・ 油槽、タンク、配管系などは、ドレン抜きができるように適切な傾斜をつける。
- ・ スライドドアの底部ガイドは、底と両端が十分に開いていて排水と清掃ができるものとする。
- ・ ダクトは水抜きが完全にでき、水が製品の通る部分へ漏れたり、滴下しないようにする。
- ・ 円筒形ダクトは、ダクト及び隣接面に容易に近づけるように取り付ける。
- ・ 排水受けや集水受け器は、こぼれた水又は水滴を全部集められるような大きさとする。清掃ができる構造とする。
- ・ 貯蔵器やホッパにはふたをつける。ふたが 2 枚以上の場合、水滴などが滴下しないようにする。ヒンジ式のふたは軸を外側に。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

XV. かに風味かまぼこ用シート加熱機

- ・ 食品接触部の面の角度は、Iに同じ。
- ・ ジュール式に用いる食品が接触する布ベルトは、容易に取り外し清掃ができる。
- ・ 履帯のプレート継目は、容易に洗浄できる。
- ・ 床からの跳ね返り防止のため、ステンレスベルトとキャタピラのリターン部の床との間を 250 mm以上とする

か、カバーをつける。

- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

XVI. 自動くし抜き機

- ・ 食品接触部の面の角度は、I に同じ。
- ・ 竹輪取出しコンベアのベルトは、清掃のために移動、取外しが可とする。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃ができる。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

XVII. 細断機

- ・ 食品接触部の面の角度は、I に同じ。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

XVIII. 切断機

- ・ 食品接触部の面の角度は、I に同じ。
- ・ 床に密着させる場合を除き、床面から 150 mm以上のすき間を設ける。

XIX. 冷却機

- ・ 食品接触部におけるバーチェーン、ネットコンベア、コンベアベルトなどの搬送機能部品、これに関連する部品は、容易に蒸気又は熱湯で洗浄可。
- ・ 食品接触部の面の角度は、I に同じ。
- ・ 冷却機内部は、食品のくずや油かすが落下、堆積、付着しない構造。
- ・ 外壁には結露防止用の断熱材。
- ・ 熱交換器、関連部分は容易に清掃可。
- ・ 冷却機内の空気取り入れ口には、虫、

小動物など外部からの異物侵入防止用のフィルタを取り付ける。その交換及び清掃時の衛生確保に必要な事項を取扱説明書などに明記。

- ・ 通風ダクトは、容易に取り外して清掃可とする。
- ・ 電動機、伝動部、軸受部などは非食品接触部に設置し、食品との間に十分な距離を取り、清掃ができる。

②EHEDG ガイドライン

①-1. 食品製造装置の洗浄性評価方法

このガイドラインでは、洗浄可能性の試験手順が示されている。試験の対象部品として直線状パイプ片を取り上げている。洗浄性の程度は細菌を汚染物の除去に基づいて、洗浄後に残留する細菌量を求めることによって評価するとしている。洗浄の水準は、温和な洗剤を用いて、概知の表面粗さの対照パイプの中の若干の汚染を残し、試験部品と対照パイプとの間の洗浄可能性の比較を容易にしている。

1) 使用微生物

好熱性試験菌株として、*Geobacillus stearothermophilus* var *calidolactis* (NIZO C953)、(DSMZ 1550) または (ATCC 10149) を選択している。

2) 使用標準汚染食品

市販または自分で調整した酸敗ミルクを用いる。調整は、mesophilic starter culture を商業用超高温熱処理 (UHT) スキムミルクの適量 (試験部分の体積により行うこととしている。スタータカルチャーは市販フリーズドライカルチャーとして 0.1g/1 の濃度で添加する。

Geobacillus stearothermophilus 孢子懸濁液をミルクに、最終孢子濃度を約 10^5 - 10^6 ・孢子/ml とするように添加する。孢子懸濁液は MSHA との混釈平板とし、58℃で 24 時間培養することにより、細菌集落が形成され濃い黄色を呈することを確認する。

3) 洗浄剤

E0/P0-B10-Blockcopolymer 10%E0、Genapol PF10、または類似物

4) 装置

試験に先立ち、被検装置は、対照パイプ部分や補助付属品と共に解体し、完全に洗浄、脱脂する。解体された装置はオートクレーブで 121℃ 30 分間滅菌、または、再度組み立ててライン内部を蒸気で 121℃ 30 分間滅菌を施す。試験部品材質がオートクレーブに耐えない場合には、1000ppm 次亜塩素酸ナトリウム溶液 (pH6 ~7.5) 20 分間浸漬などの適切な殺菌方法を用いて殺菌をすべきとしている。

5) 試験手順

試験部分に酸敗ミルクを満たし、両端を閉じる。ついで酸敗ミルクを排出し、濾過空気を送り込んで乾燥することによって装置を汚染する。汚染した試験部分を、試験装置に据え付け、冷水、加温洗浄液、冷水の順で循環またはすすぐ。洗浄前後の冷水中の孢子数を測定する。さらに、洗浄後に試験部分は試験装置から取り外し、加熱溶解した MSHA を内部の充填し、室温下で放置し寒天を固化させた後に、58℃で最大 24 時間培養する。対照パイプも同様に処理する。

培養後に、試験装置および対照パイプについて、固化した寒天を外部に取り出

し、紫色 MSHA の黄色への変色が存在するかどうかを検査する。結果は、残留ミルクの残存 (目視で)、黄色またはコロニー又は両者の存在、両方とも認められない、のいずれかとなり、この結果によって評価を行う。

②インライン蒸気滅菌能力の評価

②-1. 使用指標菌

Bacillus subtilis の耐熱性菌株 (D120℃=0.71 分)。

②-2. 試験装置

試験前に検査する装置を分解して入念に清掃脱脂して、必要な場合はスケールを落す。分解した装置は 121℃で 30 分オートクレーブにより滅菌、または、装置をもう一度組み立ててからスチームでインライン滅菌 (121℃で 30 分)。

②-3. 試験手順

再組立後に相互接触する全表面 (例、ガスケットとガスケット溝) を含む分解設備内面を、希釈孢子懸濁液濡らす。設備は 20~25℃ (相対湿度 65%以下) で乾燥させた後に再度組み立てる。

試験回路を組み立てた後、評価対象の設備一式を 121℃で 30 分間蒸気滅菌処理する。ついで、ペリスタポンプによって試験設備の中に TSB を注入する。嫌気状態を避けるために、培養液を毎日 2 時間循環する。試験回路は、最低 5 日間室温 (約 20~25℃) に保つ。5 日後に培養液が清澄であれば、その装置はインライン蒸気滅菌適性があると評価される。

③微生物に対する不透性の評価

③-1. 指標微生物

Serratia marcescens を使用。

③-2. 試験手順

TSB で希釈した菌液を、装置の疑わしいすべての部分にブラシ、注射器などで、一日に二度、少なくとも三日間連続で、必要に応じて三日間以上処理する。培養液をペリスクポンプによって毎日二時間循環させる。温度は、汚染処理の間、室温（約 20~25℃）に保つ。

培養液が五日後に透明な状態のままであれば、汚染処理の間、装置における細菌侵入は否定される。培養液が濁ってくれば、サンプルを採取し、菌の存在について培養法によって確認する。

④衛生設計と構造の基準

④-1. 表面と形態

表面は洗浄可能で、成分の製品への到達による毒性の危険があってはならない。製品に接触する表面は、食品や洗浄・消毒剤（微生物除去剤）等に対する耐性をもつものとする。製品の接触面は、吸収性がない素材で製作され、下記の表面粗性要求を満たさなければならない。

製品に接触する表面は、隙間などの不完全部があってはならない。

④-2. 表面仕上げ

製品の接触面は、容認される粗さ Ra で、窪み、折り目及び隙間等の不完全部のないこと。広い接触面は 0.8 μmRa 粗さ以下であること。洗浄性は、適用される表面仕上げ技術に強く影響される。冷間圧延ステンレス鋼は、0.2~0.5 μm の表面粗性をもっているため、通常、最終加工形態において、製品接触面が窪み、折り目及び隙間がなければ、表面粗性要求を満た

すために研磨する必要はない。0.8 μmRa 以上の粗さは、洗浄試験結果が他の設計的特徴、又は、洗浄剤の高流量等の理由で洗浄性を達成した場合に容認される。特に重合体表面においては、疎水性、濡れ性及び非反応性が洗浄性を高める。

④-3. 排液と配置

機器と配管の内外面は、自然排液でき、洗浄容易なこと。水平面は避け、常に一方方向にむけて勾配を取る。

④-4. 溶接

金属同士の永久的接合は、連続溶接で不完全な部分がないこと。製品に接さない溶接部は連続していなければならない。適切な洗浄が出来るように円滑でなければならない。

D 考察

食中毒細菌の汚染に関連し、「JIS 機械類の安全性—設計のための基本概念、一般原則—第 1 部：基本用語、方法論 JIS B 9700-1」（日本工業規格）中では、生物（例えば、かび）と微生物（ウィルス又は細菌）による危険源が考慮されている。「JIS 食料品加工機械の安全及び衛生に関する設計基準通則—第 2 部：衛生設計基準 JIS B 9650-2」（日本工業規格）中では、リスクアセスメントにおいて、対象食品の汚染、保存、防腐処理、熱処理などの追加加工が行われるのか、その機械・装置が行う加工は、最終加工か、食品の用途、洗浄・清掃及び点検の頻度などが考慮されるべきとしている。また、機械の一般要求事項として、材料は、意図した用途に適し、材料及びコーティングの表面は、意図した用途条件下で耐久

性があり、洗浄・清掃しやすく、必要ならば消毒が必要で、破壊がなく、ひび割れ、傷入り、はく離、腐食、磨耗に対して抵抗力があり、好ましくない物質の浸透を防げるものなどを掲げている。とくに、食品接触部の設計と製造については、食材の除去を容易にし、汚染が起こりにくく、洗浄や清掃、点検が可能で、必要に応じて消毒処理が可能、外部環境からの微生物の混入を防止できる設計としている。このような条件を満たすためのさらに具体的な設計条件が、表面やデッドスペース、接合部位、面と面との角度、すみ、部品の接合部等について定められている。

「JIS 水産加工機械の安全及び衛生に関する設計基準 JIS B 9654」（日本工業規格）においては、機種別要求事項が掲げられており、その大部分は微生物汚染の防除を考慮したものと考えられる。とくに、食品の滞留防止、完全な排水、汚染の持込み防止、容易な清掃可能、跳ね返り防止などに考慮した基準となっている。

ここに示されている大部分の具体的な条件は、微生物汚染の防止に有効であると考えられるが、食品接触部のボルト、小ねじ、ワッシャなどの部品の条件や面の角度の条件など、素材を含め細部については微生物汚染防止の有効性との関連についてデータを蓄積し、それに基づいた基準が必要と考えられる。

EHEDG ガイドラインは、機械の微生物汚染に関する衛生検査の方法を示しており、この方法は有用であると考えられるが、検査対象の構造が限定されざるを得ない点が克服すべき点であろう。分解で

きない機械内部の構造との関係における微生物の残存性や洗浄性については、機械の組み立て以前の部品を用いて検査を行うことが最良であるが、既に使用している機械については他の方法を開発する必要がある。

E. 結論

JIS の機械に関する諸基準においては、微生物汚染防除に有用と考えられる基準項目が示されていることから、機械の衛生要件の基準を作成するためには、それらを考慮する必要がある。しかし、基準を満たすことを確認する方法や手段が示されていないため、「十分な距離」や「容易に洗浄・清掃できるもの」等で表現されている基準は現実対応が困難な抽象的な基準となっているため、さらに構造的な規定を設けたり、確認試験方法を示すなどの対応が必要である。

EHEDG（ヨーロッパ衛生工学設計グループ、European Hygienic Equipment Design Group）による機械の衛生的設計のガイドラインでは、食品製造装置の洗浄性評価方法、インライン蒸気滅菌能力の評価方法および微生物に対する不透性の評価方法について、評価のための試験方法を含めて定めている。しかし、それら評価方法は、閉鎖系の機械のうち、試験装置に組み込むことが可能な機械に限定されているため、その他の機械を含む衛生管理の監視のための評価のためには、これら方法とは異なる方法も必要であると考えられた。また、機械の衛生設計と構造の基準についても、とくに衛生に関わりのある点に焦点を絞った基本的な事項を示

している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

2. ボルト上の菌の生残に関する研究

A. 研究目的

複雑な構造を持つ機械部品については、衛生の確保が困難なことが予測されるが、微生物汚染の観点からの危険性についての知見が少ないため、衛生管理上の取り扱いが難しい。こうした部品の衛生上の特徴を浮き彫りにするために、本研究においては、食品が接触する機械内面に部品として依然として使われることがあり、また常時食品と接触するわけではないが、食品製造施設内部で使われることの多い複雑な構造をもつボルトをモデル部品として用い、その上に付着した細菌の生残性を調べた。

B. 研究方法

野外より分離したサルモネラ菌株のうちバイオフィーム産生性の高い2菌株と低い2菌株を Tryptic Soy Broth (TSB) または卵黄乳液中で一晚培養した後に、各菌培養液を 5.0 μ l ボルト上に滴下し、ナットを締めてからそのまま、またはナ

ットを外してからボルトと共にシャーレ中に納め、シリカゲル (500 g) を底面に敷き詰めてあるデシケーター (外寸 300x300x300mm) 内で 20-25°C 下で保存した。ボルトとナットとしては、ステンレス製の市販六角ボルト (ピッチ 1.0mm, サイズ M6, 長さ 15mm) を用いた。逐次デシケータからシャーレを取り出し、ボルトとナットを PBS 中で攪拌してから、その 10 倍段階希釈液をブリリアントグリーン寒天培地と CHROM Agar Salmonella に接種し、コロニー数を計測することによって生残菌数を測定した

C. 研究結果 (図 1)

菌株 280 と 54 を用いて、ネジに接種後一週間目までのコロニー数を CHROM Agar と BGM 培地を比較したところ、BGM 培地の方がコロニー数が約 2 倍多かったことから、同培地の方が菌検出に優れていると判断し、以下、BGM 培地の成績を用いることとした。

菌株 282 は、TSB 懸濁菌液を接種した場合は 112 日まで生残したが、卵黄懸濁菌液を接種した場合は、28 日以降検出されなかった。ユニット状態とセパレート状態の間には大きな差異は認められなかった。

菌株 280 は、TSB 懸濁菌液を接種した場合は 261 日目まで生残し、ユニット状態とセパレート状態間で大きな差異は無かった。卵黄懸濁菌液を接種した場合には菌数の減少は顕著に早く、8 日目を以降は 10 cfu/ml 未満となった。

菌株 64 は、TSB 懸濁菌液を接種した場合は、卵黄懸濁菌液を接種した場合よ

りも急速に菌数が減少する傾向が見られたが、いずれも448日後に生残が確認された。ユニット状態とセパレート状態の間には顕著な差はなかった。卵黄懸濁菌液を接種した場合に、とくにユニット状態での生残菌数が高かった。

菌株54は、TSB 懸濁菌液を接種した場合は、卵黄懸濁菌液を接種した場合よりも菌数が減少し難い傾向が見られ、保存337日後でも増菌培養法で菌が検出された。セパレート型とユニット型との間には顕著な差は認められなかった。卵黄懸濁菌液を接種した場合には、セパレート型の方が急速に菌数が減少した。

以上要約すると、菌株280、282、54についてはTSB 懸濁菌液の方が生残しやすいが、菌株64については卵黄懸濁菌液の方が生残しやすいこと、菌株54、64について卵黄懸濁菌液を接種した場合に、ユニット状態で生残しやすいことが認められた。

D. 考察

菌株280と282はプロプロピレン上でのバイオフィーム産生性が高く、菌株64と54は逆にバイオフィーム産生性が低い。前者はプロプロピレン上での生残期間が後者に比して顕著に長いことが著者らの研究で認められている。これと一致し、本研究においても後者の菌株に長期の生残が認められた。生残期間は一年以上に及ぶ場合も認められたことから、機械部品等を汚染したサルモネラは、適正な洗浄消毒が行われない場合には、一年以上の期間にわたり汚染源となり得るものと言える。とくに、食品に直接に

接触しないような施設設備の機械部品であって、洗浄をし難い場所に位置するものについては、ネズミや野鳥の侵入による汚染もあり得るため、この点に留意する必要がある。したがって、施設設備の衛生状態の監視に際しては、こうした部品についても定期的に拭き取り検査または部品を取り外して検査を行うことも、監視計画の中に含めるべきである。

本研究では、BGM 寒天培地とCHROM Agar Salmonella 培地の2種類の分離平板を併用して、生残菌数の測定を行った。サルモネラ菌株をTSB および卵黄液中で一晩培養後に菌数測定した場合には、平板の違いによる差はみられなかったが、保存検体については、BGM 寒天培地の平板上に発育したコロニー数はCHROM Agar Salmonella 培地よりも概して多かったことから、CHROM Agar Salmonella 培地は損傷を受けた菌の分離には適さないことが示唆された。作業現場においては損傷菌に適した培地を用いることも考慮に入れる必要がある。

E. 結論

バイオフィーム産生性の高いサルモネラ菌株とバイオフィーム産生性が低いサルモネラ菌株を用い、それら菌株を接種したボルト上での菌の生残を逐次的に調べた。その結果、バイオフィーム産生性の高いサルモネラ菌株は一年間以上生残することが認められた。菌の生残し易さについては、接種に用いたTSB 懸濁菌液と卵黄懸濁菌液との間に一定の差異は認められず、また、ボルトにナットを装着して保存した場合と装着しないで保存

した場合とでも一定の差異は認められなかった。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

Survival of *Salmonella* on a Polypropylene Surface under Dry Conditions in Relation to Biofilm-Formation Capability. Ruriko Iibuchi, Yukiko Hara-Kudo, Akio Hasegawa¹ and Susumu Kumagai. J. Food Prot. (in press).

新井隆三、阿部慎之介、池田典子、外丸 仁、摩庭美智子、高齋進也、摩庭秀利、森田幸雄、小澤邦壽、小野一晃、木村博一、熊谷 進、サルモネラ選択分離培地：SALMONELLA CHROMOGENIC AGAR (OXOID 社)の特徴、日本食品微生物学会、東京（発表 平成 20 年 9 月 26 日）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
なし

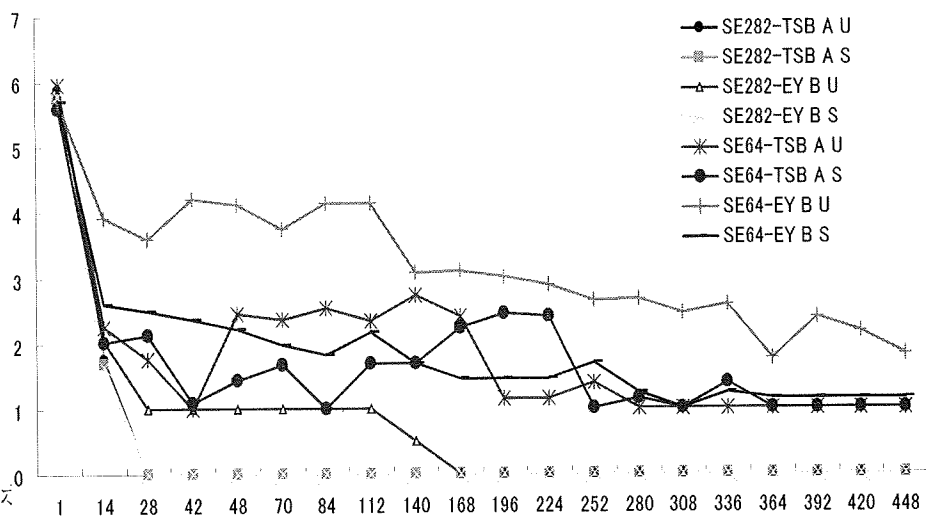
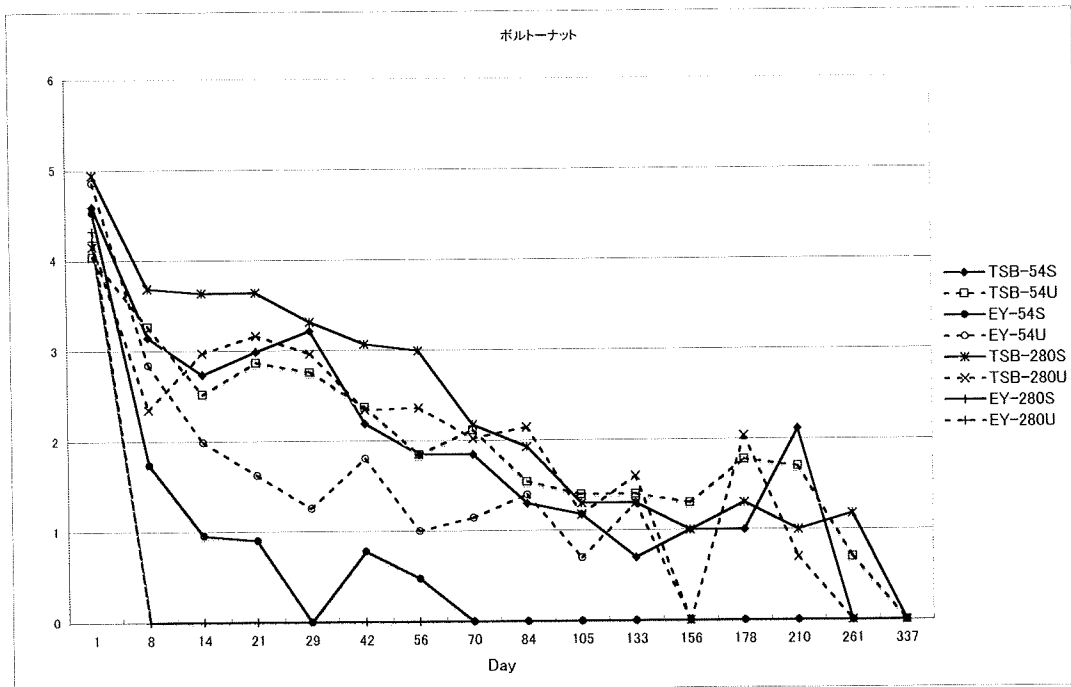


図1. ス

3. ボルトにおけるサルモネラの生残性と拭き取り試験の有効性

A. 研究目的

複雑の構造をもつ機械部品の拭き取

り試験の有効性を確かめるために、サルモネラに汚染させたボルトを通常の方法で拭き取り試験に供し、拭き取った綿棒の菌数と、拭き取った後にボルト上に残

存している菌数を比較検討した。

B. 研究方法

2. の研究で使用した菌株を使用し、TSB で増菌したものは TSB で、卵黄液で増菌したものは卵黄液で約 10^8 、 10^7 、 10^6 、 10^5 cfu/ml に希釈後、各溶液 5ml をボルト上に滴下し、ナットを締めてからそのまま、ナットを外してセパレート状態で、ボルトと共にシャーレ中に納め、シリカゲル (500g) を底面に敷き詰めてあるデシケーター (外寸 300×300×300mm) 内で 20~25℃ 下で保存した。直後、2 日後、7 日後にデシケーターからセパレート状態のネジをシャーレから取り出し、ボルト、ナット、そしてボルト上を拭き取っためん棒の生残菌数を測定した。

C. 研究結果

サルモネラ菌株の一晩培養後の菌量は、菌株 No. 54 は TSB 懸濁液で 6.2×10^8 cfu/ml、卵黄液懸濁液で 1.4×10^9 cfu/ml、一方、菌株 No. 280 は TSB 懸濁液で 1.3×10^9 cfu/ml、卵黄液懸濁液で 1.8×10^9 cfu/ml であった。

菌株 No. 54 の TSB 懸濁液原液を接種した場合、ボルトの PBS 振り出し液の菌数は 1.4×10^4 cfu/ml、拭き取り綿棒の PBS 振り出し液の菌数は 1.0×10^2 cfu/ml であった。また、卵黄液懸濁液原液を接種した場合、ボルトの PBS 振り出し液の菌数は 5.9×10^4 cfu/ml、拭き取り綿棒の PBS 振り出し液の菌数は 1.9×10^3 cfu/ml であった。これに対して、TSB 懸濁液や卵黄液懸濁液の 10 倍から 1000 倍希釈液を接種

した場合にはいずれも検出限界 (10cfu/ml) 未満であった。

菌接種 7 日後には、TSB 懸濁液の原液を接種したボルトの振り出し液から $5.0 \sim 8.0 \times 10^1$ cfu/ml の菌が検出されたが、懸濁液 (原液) の PBS による 10~1000 倍希釈液を接種したボルトの振り出し液からは増菌培養を行っても菌は検出されなかった (< 0.2 cfu/ml)。

また、ボルトの拭き取り検体については、いずれも増菌培養を行っても菌は検出されなかった。

菌株 No. 280 の TSB 懸濁液原液を接種した場合、ボルトの PBS 振り出し液の菌数は 5.0×10^1 cfu/ml、拭き取り綿棒の PBS 振り出し液の菌数は 1.5×10^3 cfu/ml であった。また、卵黄液懸濁液原液を接種した場合、ボルトの PBS 振り出し液の菌数は 2.3×10^4 cfu/ml、拭き取り綿棒の PBS 振り出し液の菌数は 8.4×10^2 cfu/ml であった。これに対して、TSB および卵黄各懸濁液 (原液) の PBS による 10~1000 倍希釈液を接種した場合にはいずれも検出限界未満であった。

菌接種 2 日後には、TSB 懸濁液の原液を接種したボルトの振り出し液から $5.0 \times 10^3 \sim 1.2 \times 10^4$ cfu/ml の菌が検出されたが、原液の 10~1000 倍希釈液を接種したボルトの振り出し液からは増菌培養を行っても菌は検出されなかった。

また、ボルトの拭き取り検体については、3 検体中 1 検体から 3.0×10^1 cfu/ml の菌が検出されたが、他の 2 検体については増菌培養でのみ菌が検出された。

一方、卵黄懸濁液の場合には、原液を接種したボルトの振り出し液から

3.0⁵~5.0×10¹cfu/ml の菌が検出されたが、懸濁液（原液）の 10⁵~1000 倍希釈液を接種したボルトの振り出し液からは増菌培養を行っても菌は検出されなかった。また、拭き取り検体については、増菌培養を行っても菌は検出されなかった。

菌接種 8 日後には、TSB 懸濁液の原液を接種したボルトの振り出し液から 1.9²~2.4×10³cfu/ml の菌が検出された。また、拭き取り検体については、3 検体とも増菌培養でのみ菌が検出された。

拭き取り検体については、ボルト上の菌数が PBS 振り出し液中に 10³ (cfu/ml) 以上の場合に増菌培養で菌が検出され、一方、PBS 振り出し液中の菌数が 10¹ (cfu/ml) 以下の場合には、増菌培養を行っても菌は検出されなかった。

菌株 282（を TSB で増菌後、TSB で 10⁹cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合（10^{6.85}cfu/ネジ）、直後のボルトは 10^{6.34}cfu、ナットは 10^{6.46}cfu、めん棒は 10^{5.85}cfu、2 日後のボルトは 10^{3.59}cfu、ナットは 10^{3.60}cfu、めん棒は 10^{3.09}cfu、7 日後のボルトは 10^{2.60}cfu、ナットは 10^{2.85}cfu、めん棒は 10^{2.00}cfu であった。

TSB で 10⁸cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合（10^{5.81}cfu/ネジ）、直後のボルトは 10^{5.30}cfu、ナットは 10^{5.48}cfu、めん棒は 10^{4.88}cfu、2 日後のボルトは 10^{2.97}cfu、ナットは 10^{3.05}cfu、めん棒は 10^{2.08}cfu、7 日後のボルトは 10^{2.00}cfu、ナットは 10^{2.00}cfu、めん棒は検出されず、7 日後ボルト・ナットから接種菌を回収することができた。

TSB で 10⁷cfu/ml になるように希釈しそ

れを 5ml、ネジに接種した場合（10^{4.81}cfu/ネジ）、直後のボルトは 10^{4.30}cfu、ナットは 10^{4.49}cfu、めん棒は 10^{3.78}cfu、2 日後のボルトは 10^{2.00}cfu、ナットは 10^{1.50}cfu、めん棒は検出されず、7 日後はボルト・ナット・めん棒ともに接種菌を回収することはできなかった。

TSB で 10⁶cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合（10^{3.81}cfu/ネジ）、直後のボルトは 10^{3.15}cfu、ナットは 10^{3.48}cfu、めん棒は 10^{3.00}cfu、2 日後、3 日後はボルト・ナット・めん棒ともに接種菌を回収することはできなかった。

卵黄で増菌後、卵黄で 10⁹cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合（10^{6.41}cfu/ネジ）、直後のボルトは 10^{5.94}cfu、ナットは 10^{6.01}cfu、めん棒は 10^{5.36}cfu、2 日後のボルトは 10^{2.80}cfu、ナットは 10^{2.97}cfu、めん棒は 10^{2.16}cfu、7 日後のボルトは 10^{2.30}cfu、ナットは 10^{2.48}cfu、めん棒は 10^{2.00}cfu であった。

卵黄で 10⁷cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合（10^{5.29}cfu/ネジ）、直後のボルトは 10^{4.91}cfu、ナットは 10^{5.08}cfu、めん棒は 10^{4.32}cfu、2 日後のボルトは 10^{2.00}cfu、ナットは 10^{1.58}cfu、めん棒は 10^{1.50}cfu、7 日後のボルトは 10^{2.00}cfu、ナットは 10^{2.00}cfu、めん棒は検出されなかった。

卵黄で 10⁶cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合（10^{4.29}cfu/ネジ）、直後のボルトは 10^{3.90}cfu、ナットは 10^{4.04}cfu、めん棒は 10^{3.26}cfu、2 日後のボルトは 10^{1.00}cfu、ナットは 10^{0.50}cfu、めん棒は 10^{0.50}cfu であり、7 日後はボルト・ナット・めん棒とも

に接種菌を回収することはできなかった。

卵黄で 10^5 cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合 ($10^{3.29}$ cfu/ネジ)、直後のボルトは $10^{2.60}$ cfu、ナットは $10^{3.11}$ cfu、めん棒は $10^{2.60}$ cfu、2 日後、7 日後はボルト・ナット・めん棒ともに接種菌を回収することはできなかった。

菌株 64 を TSB で増菌後、TSB で 10^9 cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合 ($10^{7.04}$ cfu/ネジ)、直後のボルトは $10^{6.63}$ cfu、ナットは $10^{6.69}$ cfu、めん棒は $10^{5.98}$ cfu、2 日後のボルトは $10^{4.84}$ cfu、ナットは $10^{4.91}$ cfu、めん棒は $10^{4.18}$ cfu、7 日後のボルトは $10^{3.71}$ cfu、ナットは $10^{3.66}$ cfu、めん棒は $10^{3.22}$ cfu であった。

TSB で 10^8 cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合 ($10^{5.99}$ cfu/ネジ)、直後のボルトは $10^{5.58}$ cfu、ナットは $10^{5.72}$ cfu、めん棒は $10^{5.30}$ cfu、2 日後のボルトは $10^{3.76}$ cfu、ナットは $10^{4.04}$ cfu、めん棒は $10^{3.63}$ cfu、7 日後のボルトは $10^{2.76}$ cfu、ナットは $10^{2.71}$ cfu、めん棒は $10^{2.19}$ cfu であった。

TSB で 10^7 cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合 ($10^{4.99}$ cfu/ネジ)、直後のボルトは $10^{4.58}$ cfu、ナットは $10^{4.71}$ cfu、めん棒は $10^{4.15}$ cfu、2 日後のボルトは $10^{2.90}$ cfu、ナットは $10^{3.15}$ cfu、めん棒は $10^{2.90}$ cfu、7 日後のボルトは $10^{2.00}$ cfu、ナットは $10^{1.58}$ cfu、めん棒は $10^{1.00}$ cfu であった。

TSB で 10^6 cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合 ($10^{3.99}$ cfu/ネジ)、直後のボルトは $10^{3.58}$ cfu、ナット

は $10^{3.74}$ cfu、めん棒は $10^{3.20}$ cfu、2 日後のボルトは $10^{2.48}$ cfu、ナットは $10^{2.78}$ cfu、めん棒は $10^{2.00}$ cfu、7 日後のボルトは $10^{0.50}$ cfu、ナットは $10^{0.50}$ cfu、めん棒は検出されなかった。

卵黄で 10^9 cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合 ($10^{6.45}$ cfu/ネジ)、直後のボルトは $10^{6.00}$ cfu、ナットは $10^{6.23}$ cfu、めん棒は $10^{5.81}$ cfu、2 日後のボルトは $10^{4.84}$ cfu、ナットは $10^{4.91}$ cfu、めん棒は $10^{4.18}$ cfu、7 日後のボルトは $10^{3.30}$ cfu、ナットは $10^{3.30}$ cfu、めん棒は $10^{2.35}$ cfu であった。

卵黄で 10^8 cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合 ($10^{5.42}$ cfu/ネジ)、直後のボルトは $10^{5.00}$ cfu、ナットは $10^{5.23}$ cfu、めん棒は $10^{4.80}$ cfu、2 日後のボルトは $10^{3.76}$ cfu、ナットは $10^{4.04}$ cfu、めん棒は $10^{3.63}$ cfu、7 日後のボルトは $10^{2.12}$ cfu、ナットは $10^{1.65}$ cfu、めん棒は $10^{2.08}$ cfu であった。

卵黄で 10^7 cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合 ($10^{4.42}$ cfu/ネジ)、直後のボルトは $10^{3.98}$ cfu、ナットは $10^{4.28}$ cfu、めん棒は $10^{3.66}$ cfu、2 日後のボルトは $10^{2.90}$ cfu、ナットは $10^{3.15}$ cfu、めん棒は $10^{2.90}$ cfu、7 日後のボルトは $10^{1.00}$ cfu、ナットは $10^{1.00}$ cfu、めん棒は $10^{0.50}$ cfu であった。

卵黄で 10^6 cfu/ml になるように希釈しそれを 5ml、ネジに接種した場合 ($10^{3.42}$ cfu/ネジ)、直後のボルトは $10^{3.08}$ cfu、ナットは $10^{3.30}$ cfu、めん棒は $10^{2.85}$ cfu、2 日後のボルトは $10^{2.48}$ cfu、ナットは $10^{2.78}$ cfu、めん棒は $10^{2.00}$ cfu、7 日後のボルト・ナット・めん棒は検出され

なかった。

D. 考察

研究結果全体より、菌接種に TSB と卵黄のいずれを用いた場合にも、綿棒で拭き取ることのできた菌数が、ボルトとナットに残存している菌数よりも低いことが判明した。したがって、通常用いられている拭き取り試験方法によって得られる汚染レベルは、実際の汚染レベルよりも低く見積もっていると考えられる。これが、ネジのような複雑な構造のみに成り立つのか、単純な平面においても成り立つのか、今後の検討が必要である。

E. 結論

複雑な構造を持つ機械部品のモデルとしてナットとボルトを用い、サルモネラの綿棒による拭き取り効率を調べた結果、綿棒で拭き取ることのできた菌数が、ボルトとナットに残存している菌数よりも低いことが判明した。したがって、通常用いられている拭き取り試験方法によって得られる汚染レベルは、実際の汚染レベルよりも低く見積もっていると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

4. ステンレス板上のサルモネラ生残と引き取り効率

A. 研究目的

ステンレス表面に食中毒菌などが付着した後の挙動についてはいくつかの報告があるが、ステンレスの組成や表面仕上げの違いによる生残性の差は不明である。また、ステンレスのような食品接触面における汚染菌を回収する方法として、培地によるスタンプ、緩衝液などによる汚染部の洗い出し、スワブによる拭き取りなどの方法がある。培地によるスタンプ法は簡便であるが、凹凸の多い部分や、入り組んだ部位のサンプリングには適さない。緩衝液などによる汚染部の洗い出しはサンプリング部位の形状や大きさによっては洗い出し液の回収が困難となる場合が多い。これらの方法に対して、スワブによる拭き取りは簡便であり、入り組んだ部位や凹凸のある部位でも回収可能である。しかし、拭き取り方法や拭き取り圧力の差による回収状況の違いに関しては明確にされておらず、統一的な拭き取り方法は確立されていない。

食品製造加工施設で汎用されているステンレス表面での食中毒起因菌の挙動を明確にするため、食中毒の発生事例が多く、比較的環境抵抗性が高いと考えられる食中毒起因菌であるサルモネラを用いて、JIS で推奨されている 300 シリーズ系のステンレス鋼で、クロム及びニッケル含有量と表面仕上げの異なる 4 種類のステンレス鋼における菌の生残実験を行っ

た。また併せて、添加に使用した懸濁液による生残性と回収方法に関する検討、拭き取り圧力の違いによる回収効果の検討を行った。

B. 研究方法

1. ステンレス板

JIS で推奨されている 300 シリーズ系のステンレス鋼で、組成と研磨状況の異なる 4 種類のステンレス板を用いた (表 1)。拭き取り効率の実験には SUS 304、研磨 #320 のステンレス鋼を用いた。

2. 試験菌株

液卵由来のサルモネラ 2 株を用いた (表 2)。

3. 試験菌のステンレス板への接種および生残状況確認方法

試験菌をトリプトソイブイオン培地 (OXOID LTD., Basingstoke, England, CM0129 ; 以下 TSB) および卵黄液 (OXOID SR0047C) 10 mL に接種し、35°C で一晚 (18 - 20 時間) 培養、培養液を TSB または卵黄液で 10 倍段階希釈し、10 倍~10⁵ 倍希釈液 50 μ L を各希釈段階 3 枚のステンレス板 (10 mm×10mm) に添加し、シャーレ内に収めた後シリカゲルを入れたデシケータ内で 22~25°C で保管した。

菌株 280 は 2 日目 (48 時間後)、菌株 54 は 7 日目 (168 時間後) に取り出し、PBS を 10 μ L 添加した綿棒 (日本綿棒株式会社、1A754S) で、目視で残存物が残っていない状況まで拭き取った。綿棒および拭き取り後のステンレス板をそれぞれ PBS 10 mL を入れたディスポチューブ (50 mL 容量) に入れ、ボルテックスミキサー (Vortex-Genie 2, Scientific

Industries, Inc., USA) の目盛 5 で 1 分間攪拌した後、それぞれの攪拌液 (綿棒振り出し液およびステンレス板洗い出し液) の菌数を BGM 培地により測定した。菌数が検出限界以下の検体については、増菌培養により菌の生残を確認した。すなわち、攪拌液 5 mL を 45mL 緩衝ペプトン水 (Buffered peptone water, BPW, OXOID) に入れ、35°C で 20-24 時間培養した後、0.5mL を 10 mL のテトラチオーネ培地 (TT broth, OXSOID) に入れ、42°C で 20 時間培養した。培養液 100 μ L を BGM 培地に塗抹し、35°C で一晚培養して菌の発育の有無を確認した。

拭き取り効率の試験については、菌添加ステンレス板を、1 日、3 日及び 7 日保管後に取り出し、PBS を 10 μ L 添加した綿棒 (日本綿棒株式会社、1A754S) で拭き取った。綿棒による拭き取りは、歪みセンサー (共和電業株式会社 PCD300) をピンセットに取り付け、ピンセットに綿棒を固定して圧力によるピンセットの歪みを測定しながら行った。拭き取り圧力は強 (歪みセンサー数値 750)、中 (歪みセンサー数値 400=298gm) 及び弱 (歪みセンサー数値 50) の 3 段階とし、綿棒を往復させずに 5 回拭き取った。綿棒および拭き取り後のステンレス板をそれぞれ PBS 10 mL を入れたディスポチューブ (50 mL 容量) に入れ、ボルテックスミキサー (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, Inc., USA) の目盛 5 で 1 分間攪拌した後、それぞれの攪拌液 (綿棒振り出し液およびステンレス板洗い出し液) の菌数を BGM 培地により測定した。菌数が検出限界以下の検体については、

増菌培養により菌の生残を確認した。

C. 研究結果

(1) 菌株及び懸濁溶液による生残菌数の比較

① 菌株 280・TSB 懸濁・2 日間保存

2 日間の保管により、全ての検体で生残菌数は 1% 未満となった。いずれのステンレスでも 10^6 オーダーの添加菌数では直接塗抹で菌を回収可能で、ステンレス No. 1 および 3 では、 10^5 オーダー以下の添加菌数でも、直接塗抹で菌を検出可能な検体が多くみられた。ステンレス No. 2 および 4 では、 10^5 オーダー以下の添加菌数では、1 検体を除いて直接塗抹で菌は検出されず、No. 2 の 10^2 添加及び No. 4 の 10^3 添加では増菌でも菌の生残は確認できなかった。ステンレス板の洗い出しでは、No. 1 の 10^5 オーダーの 1 検体を除いて菌は検出されず、他の検体は綿棒の拭き取りにより 100% 菌を回収可能であった。

② 菌株 280・卵黄液懸濁・2 日間保存保管 2 日で、全ての検体で生残菌数は 1/1000 未満となり、 10^3 以下の添加菌数では全ての検体で菌は検出不能であるなど、TSB 懸濁より生残菌数は低い傾向であった。ステンレスの違いによる生残性については明確な差は認められなかった。ステンレス板の洗い出しでは、全く菌は検出されず、綿棒の拭き取りにより 100% 菌を回収可能であった。

③ 菌株 54・TSB 懸濁・7 日間保存 7 日間保管した後でも、全検体から菌が回収され、菌株 280 と比較して生残性が高かった。 10^3 オーダー以上添加の検体で

は、すべての検体で直接塗抹により菌が回収され、添加菌数より回収菌数が高くなるのがみられた。綿棒による拭き取り後でもステンレス板の洗い出しにより $10^4 \sim 10^5$ 程度の菌が回収される検体のみられたが、ステンレス洗い出しによる回収菌数は添加菌数の 2% 以下であり、98% 以上は綿棒による拭き取りで回収可能であった。ステンレスの違いによる菌の生残性には明確な差は認められなかった。

④ 菌株 54・卵黄液懸濁・7 日間保管した後でも、全ての検体から菌が回収された。 10^3 オーダー以上添加の検体では、すべての検体で直接塗抹により菌が回収された。ほとんどの検体で接種菌数の 90% 以上の菌が生残しており、100% 以上の回収率となる検体もみられたが、TSB 懸濁と比較すると菌の生残性が低い傾向がみられた。添加菌数、綿棒拭き取り及びステンレス洗い出しによる回収菌数を比較すると、1 検体を除いてステンレス洗い出しによる回収菌数は 2% 以下であり、98% 以上は綿棒による拭き取りで回収可能であった。ステンレスの違いによる回収菌数には明確な差は認められなかった。

(2) 拭き取り効率

(2)-1 綿棒による回収菌数とステンレス板残存菌数

① 菌株 54 を TSB で懸濁添加

1 日保管では、添加液は乾燥しておらず、やや粘調性を帯びた状態であった。綿棒による回収菌数は全検体 10^7 以上であり、ステンレス板残存菌数は全ての検体で 10^6 以下であった。圧力の違いによる綿棒による回収菌数には明確な差はみら

れなかった。3日保管では、添加液は乾燥していた。綿棒による回収菌数は、圧力 50 では3検体とも 10^6 以下、圧力 400 では2検体が 10^6 以上で1検体が 10^6 以下、圧力 750 で3検体とも 10^6 以上であり、圧力が高い方が回収菌数が高くなる傾向がみられた。ステンレス板残存菌数は全ての検体で $10^6 \sim 10^7$ の範囲であった。7日保管では、綿棒による回収菌数は、圧力 50 では3検体とも 10^7 以下、圧力 400 及び 750 では全ての検体で 10^7 以上であり、圧力が低いと回収菌数が低くなる傾向がみられたが、圧力 400 と 750 では明確な差はみられなかった。ステンレス板残存菌数は全ての検体で 10^7 以上であった。

② 菌株 54 を卵黄液で懸濁添加

1日保管では、TSB と同様添加液は乾燥しておらず、やや粘調性を帯びた状態であった。綿棒による回収菌数は、全検体 10^7 以上であり、ステンレス板残存菌数は全ての検体で 10^6 以下であった。圧力の違いによる綿棒による回収菌数には明確な差はみられなかった。3日保管では、添加液は TSB と同様乾燥していた。綿棒による回収菌数は、圧力 50 では2検体で 10^4 以上、圧力 400 では3検体とも 10^4 以上、圧力 750 では2検体で 9.0×10^6 以上であり、圧力が高い方が回収菌数が高くなる傾向がみられた。なお、回収菌数の高かった2検体は、綿棒の拭き取りにより乾燥した試料がステンレス板から剥離して回収された。ステンレス板残存菌数は圧力 750 の2検体を除いて概ね 10^7 程度であった。圧力 700 の1検体の残存菌数は検出限界以下で増菌により残存が確認され、他の1検体は増菌でも残存は確認できな

かった。7日保管では、綿棒による回収菌数は、 $10^4 \sim 10^5$ であり、ステンレス板残存菌数は全ての検体で 10^7 以上であった。

③ 菌株 280 を TSB で懸濁添加

1日保管では、菌株 54 の場合と同様、添加液は乾燥しておらず、やや粘調性を帯びた状態であった。綿棒による回収菌数は、全検体 10^7 以上であった。ステンレス板残存菌数は圧力 50 では3検体とも $10^5 \sim 10^6$ 、圧力 400 では2検体で $10^5 \sim 10^6$ 、1検体は 10^5 以下、圧力 750 では2検体で $10^4 \sim 10^5$ 、1検体は 10^4 以下であり、綿棒による回収菌数に明確な差はみられなかったが、ステンレス板残存菌数は拭き取り圧力が高い方が低くなる傾向であった。3日保管では、菌株 54 を TSB で懸濁添加した場合と同様、添加液は乾燥していた。菌株 280 は菌株 54 と比較してバイオフィーム形成能力が低く、ステンレス板での生残性も低いことが確認されており、今回の実験でも菌株 54 と比較して生残菌数は低かった。綿棒による回収菌数は、圧力 50 では3検体とも 10^3 以下、圧力 400 では1検体が 10^3 以上、圧力 750 で2検体が 10^3 以上であり、圧力が高い方が回収菌数は高くなる傾向がみられた。ステンレス板残存菌数は圧力 50 では3検体とも菌数測定可能であったが、圧力 400 及び 750 では菌数測定不能（検出限界以下）で増菌で菌の生残を確認できたものが1検体ずつみられた。7日保管では、綿棒による回収菌数は、圧力 50 では1検体が $10^2 \sim 10^3$ で2検体が検出限界以下、圧力 400 及び 750 ではそれぞれ2検体及び3検体が 10^3 以上の菌が回収され、圧力が高いと回収菌数が高くなる傾向がみられた。ス

ステンレス板残存菌数は圧力 400 の 3 検体及び圧力 750 の 1 検体が 10^3 以下であり、他は 10^3 以上であった。

④ 菌株 280 を卵黄液で懸濁添加

1 日間保管では、添加液は乾燥しておらず、菌株 54 を卵黄液で懸濁添加した場合と同様やや粘調性を帯びた状態であった。綿棒による回収菌数は、1 検体で 10^6 以下、2 検体で 10^7 以上、他は $10^6 \sim 10^7$ であり、圧力 400 の回収菌数が低い傾向がみられた。ステンレス板残存菌数は 9.3×10^4 の 1 検体を除いて、 10^5 以上であった。3 日保管では、添加液は乾燥していた。TSB 保存と同様、菌株 280 は菌株 54 と比較してステンレス板上での生残菌数が低かった。綿棒による回収菌数は、圧力 750 の 1 検体で 10^2 以上であった他は、検出限界以下であった。ステンレス板残存菌数は圧力 50 及び 400 では 10^3 以上であったが、圧力 750 の 1 検体は検出限界以下で、増菌でも菌の生残は確認できなかった。7 日保管では、生残菌数はいずれも低く、綿棒による拭き取りでは増菌でも菌の生残を確認することはできなかった。ステンレス板残存菌数は圧力 50 及び 400 で 1 検体ずつが 10^2 以上で、他は検出限界以下であり増菌により菌の生残が確認された。

(2) -2 綿棒による回収率 (図 1 8-2 1)

綿棒による回収菌数を生残菌数と比較し、回収率を求めた。なお、検出限界は 10^2 であるが、検出界以下で、増菌により菌の生存が確認された場合は、便宜的に菌数を 10 として算出した。

① 菌株 54 を TSB で懸濁添加

1 日保管ではいずれの検体も綿棒によ

る回収率は 98% 以上であった。3 日保管では圧力 50 では 3 検体とも 15% 以下の回収率であったが、圧力 400 では 1 検体で 30% 以上、圧力 750 では 2 検体で回収率 40% 以上、そのうち 1 検体は回収率 60% 以上であり、拭き取り圧力が高い方が回収率が高い傾向がみられた。7 日保管では、圧力 50 では 2 検体で回収率 10% 以下、圧力 400 及び 750 では 1 検体を除いて回収率 30% 以上であり、圧力 50 の回収率が低い結果であった。

② 菌株 54 を卵黄液で懸濁添加

1 日保管ではいずれの検体も綿棒による回収率は 94% 以上であった。3 日保管では圧力 750 の 2 検体で 100% の回収率であったが、他は 1% 未満の回収率であった。7 日保管では、すべての検体で回収率は 1% 未満であった。

③ 菌株 280 を TSB で懸濁添加

1 日保管ではいずれの検体も綿棒による回収率は 98% 以上であった。3 日保管では圧力 50 では 3 検体とも 40% 以下の回収率であったが、圧力 400 では 1 検体で 90% 以上、2 検体で約 70% の回収率であった。圧力 750 では 3 検体とも回収率 90% 以上であり、拭き取り圧力が高い方が回収率が高くなる傾向がみられた。7 日保管では、圧力 50 では 2 検体で 1% 以下、1 検体で 10.5%、圧力 400 では 75.0~93.8%、圧力 750 では 1 検体で 81.8%、2 検体で 30% 前後の回収率であった。

④ 菌株 280 を卵黄液で懸濁添加

1 日保管では圧力 400 の 1 検体で 62.4% の他は 90% 以上の回収率であった。3 日保管では圧力 750 の 1 検体で 100% の回収率であったが、他は 1% 未満の回収率で