

第4章 洗浄・消毒の評価の方法

調理器具、機材、施設、便所などの洗浄・消毒を毎日ないし定期的にも実施しても、本当に衛生的な状態になったのでしょうか。細菌など微生物は肉眼では見ることができないので、たとえ見た目がきれいであったとしても多数の細菌が残存していることがあります。また、洗い残した食品残渣があれば、そこに付着した細菌などが猛烈に増殖します。衛生的な状態であること、すなわち洗浄・消毒により、高い清浄度を保つ必要があります。洗浄・消毒がマニュアルどおりに正しく実施され、清浄度が確保されているか否かについては科学的手法により検証できます。

清浄度の科学的検証には細菌検査やATP洗浄度検査、呈色反応による食器の洗浄効果試験があります。これらの方法には、それぞれ特徴や欠点があり、目的により適した方法を選ぶ必要があります。

1. 細菌検査

拭取り培養法と**スタンプ培養法**がありますが、寒天培地で1～2日間培養するために、迅速性に欠けます。後日、培養した結果を判定し、評価します。

(1) 拭取り培養法

洗浄・消毒後の調理器具、機材の表面の菌数を定量的に把握できます。ピペットなどの検査用器具が必要ですが、高度な専門的技術がなくてもできます。

<器具・容器>

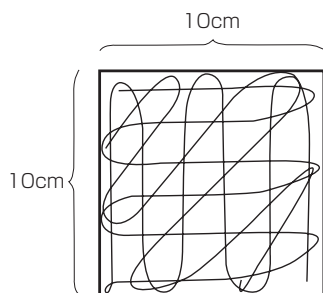
拭き取るための器具は一般に綿棒タイプです。綿棒と容器及びリン酸緩衝生理食塩液などの浮遊液が一体となった拭取りキットが市販されています。



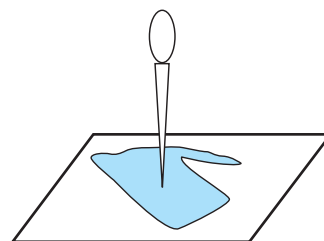
拭取りキット

<拭取り方法>

調理台やまな板では10cm×10cmの一定面積を拭き取ります。小さい容器や蛇口、包丁、手指等については面積表示が困難なので、全面を拭き取ります。液体の場合は、滅菌スポイトで採取します。



たて、よこ、ななめに10cm四方を拭き取る。



液体は滅菌スポイトで採取する。

※採取する前に、スポイト先端部で軽く攪拌する。



拭き取るときに最も注意しなければならないことは、拭き取る面が乾燥している際には綿棒を浮遊液で湿らせて拭き取ります。また、拭き取る圧力は一定とします。最適な拭取り圧力は250～300gです。綿棒を動かす方向と回数も統一した方法を決めます。一般に縦、横、斜めに5～10回ずつ綿棒を動かして拭き取ります。

消毒後のものを拭き取る場合、消毒剤が残っていると細菌の培養に影響がでますので、消毒剤を完全にすすぎ落としてから検査を行います。

綿棒が軽くしなるくらいの力加減で、250～300gの圧力になります。



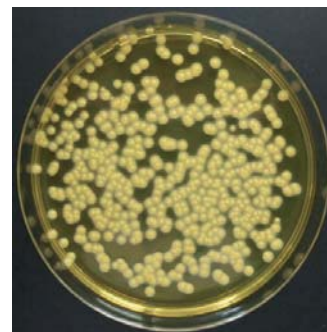
<培養>

綿棒に付着した微生物を浮遊液によく浮遊させて、定量値を求める場合には一定量(10段階希釈液0.1mL又は1mL)を目的に応じた寒天平板(一般生菌数用、大腸菌と大腸菌群用など)に塗抹し、35℃又は37℃のふらん器で培養します。

<判定>

寒天平板上の発育した集落数を測定します。一般生菌数測定では生菌数測定の培地(35℃又は37℃、2日間培養)に発育したすべての集落を食品の生菌数測定法に準じて菌数を算出します。酵素基質寒天培地による大腸菌、大腸菌群測定の培地(35℃又は37℃、1日間培養)では使用した寒天培地上の集落の色調によりそれぞれ測定します。

卵黄加マンニット食塩寒天培地(35℃又は37℃、2日間培養)による黄色ブドウ球菌測定では卵黄反応陽性、マンニット分解の集落数を測定します。



黄色ブドウ球菌
(卵黄加マンニット食塩寒天培地)

<衛生管理の指標>

●一般生菌数

食品衛生法で定められた方法(標準寒天培地を用い、酸素のある35℃の条件で48時間培養し、発育してくる菌を数える。)で検出される生きた菌の数。

飲食物や環境は通常無菌ではなく、また上記の試験法で全ての菌を検出できるわけではありませんが、菌数が多いということは食品などの中で菌が増えたことを意味します。

また、菌の数が多ければ病原菌が含まれている確率も高くなります。したがって、菌数を測ることによってその飲食物や環境の衛生状態を知ることができます。食品ではおおむね10万個/g以上は不良と判断されます。



一般生菌数(標準寒天培地)

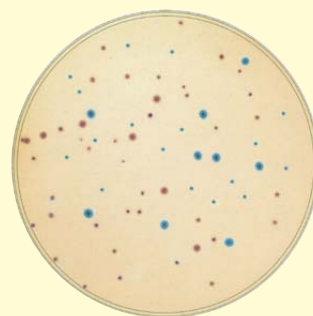
●大腸菌群

大腸菌など本来はヒトや動物の腸管(糞便)中に生息している、食品衛生法で決められている性状を示す一群の菌の総称です。赤痢菌やサルモネラなど胃腸炎や食中毒を起こす菌は多数ありますが、これらの菌を一つ一つ検査するのは手間もかかり困難です。そこで、これらの菌が生息しているのが腸管(糞便)ですから、より簡単な検査法である大腸菌群を調べることにより、上記の病原菌がいるか否かを推定できます。例えば、加熱した食品から大腸菌群が検出されたならば、加熱後の二次汚染か加熱不足など不適切な衛生管理の状態と判定できます。

●大腸菌

大腸菌とは生物分類上の名称ですが、食品衛生の分野では大腸菌群の内44.5℃で発育できるなど特定の性状を示す菌をいいます。その名称のように当然ヒトや動物の腸管(糞便)中に生息していますが、一般に環境中では長期間生存できないことから、この菌が検出されたということは大腸菌群より新鮮な糞便に汚染されているということが推察されます。

食品衛生法では最も安全性が求められる生食用カキや冷凍食品などに大腸菌の規格基準が定められています。



大腸菌・大腸菌群
(酵素基質寒天培地)
赤いコロニー：大腸菌群
青いコロニー：大腸菌

<評価方法>

算出した菌数によって洗浄や消毒の効果を評価します。管理規準値は食品衛生法等で決められていないため、各施設で設定しなければなりません。参考として、独立行政法人日本スポーツ振興センターがこれまで実施した調理室の検査データから検討した要注意の目安例を下記の表1に示します。

表1 要注意の目安例

	床、腰壁	調理施設、設備、調理器具
一般生菌数	洗浄後、使用前で 10^5 /cm ² 程度以上の検出	洗浄後、使用前で 10^4 /cm ² 程度以上の検出
大腸菌群	洗浄後、使用前に検出	洗浄後、使用前に検出
大腸菌	検出	検出

※熱風消毒保管庫などで消毒した後の調理器具等は、一般生菌数をさらに低い数値で判断する必要があります。

洗浄前と洗浄後あるいは消毒後に同一箇所について拭き取って、洗浄・消毒効果を見ることができます。

(2) スタンプ培養法

小型のシャーレに寒天培地が分注されたスタンプ培地が市販されているので、一般生菌数用、大腸菌・大腸菌群用など目的に応じた培地を選択します。ピペットや希釈液など特殊なものがいらないので、簡便に実施できます。スタンプ法は、清浄度が高いかあるいは低いかを判別する定性試験です。

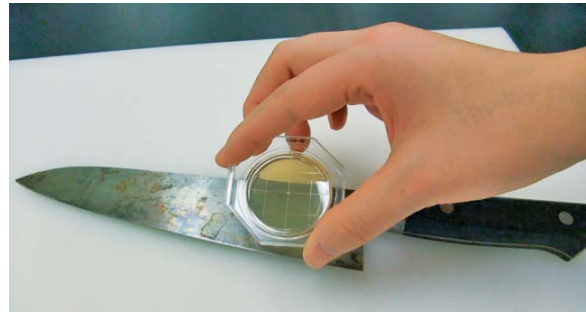


スタンプ培地



<スタンプの方法>

寒天培地を調査の必要な表面に軽く押し当てます。この際、培地を横に引くと寒天が破れて生育した菌の観察ができなくなるので注意が必要です。押し当てる圧力は25g/cm²程度、押し当てる時間は約10秒間です。



<培養>

一般生菌数、大腸菌と大腸菌群の場合には35℃、18～24時間培養後に生育した集落数を測定します。卵黄加マンニット食塩寒天による黄色ブドウ球菌では35℃又は37℃のふらん器で1～2日培養します。

<判定と評価>

寒天培地に生育した集落数を観察して評価します。参考までに、「Ten Cate」の評価方法を表2に示します。

表2 一般生菌数のTen Cate の評価方法 (例)

集落数	判定表示	汚染度合
発育なし	—	清潔
1～9個	±	ごく軽度の汚染
10～29個	+	軽度の汚染
30～99個	++	中程度の汚染
100個以上	+++	やや激しい汚染

検査面積9cm²

注意事項： スタンプ法は、表面が平らな面の微生物汚染の評価に適しています。凹凸のある表面やまな板などの包丁傷の中の細菌までは検出できません。また、曲面や複雑な構造をした連結部分などの表面細菌の試験にも本法の使用は困難で、正確な菌数が得られません。スタンプ後は、検査したものに培地が付着することがあるため洗い落とす必要があります。

なお、サルモネラ測定用など病原菌検出用スタンプ培地も市販されていますが、これらの病原菌は集落の色調のみでの判定では正確な成績が得られません。



2. ATP測定による清浄度検査

ATP（アデノシン三リン酸）(図1)とは、地球上すべての生物の生命活動を司るエネルギー物質であり、食品（動物・植物）はもちろん、細菌にもATPは存在します。逆に、生物以外のもの（金属など）には存在しません。

そのため、ATPが存在するという事は、そこに生物あるいは生物由来の生産物が存在する証拠となります。

「細菌」も生物ですのでATPとして検出されます。なお、現在のATP法では「汚れ」と「細菌」を区別することはできません。しかし、「汚れ」が残っていると、細菌増殖の原因となったり、消毒効果が損なわれたりすることがあります。

ATP法は、洗浄後にATP測定による清浄度検査を行い、一定以上の値が出た場合には、再度、洗浄した後で「消毒」することが必要です(図2)。

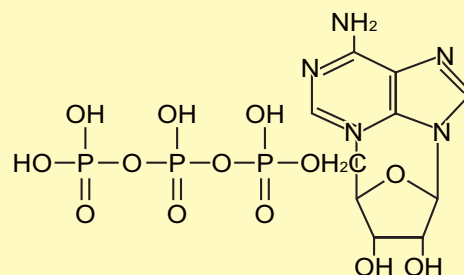
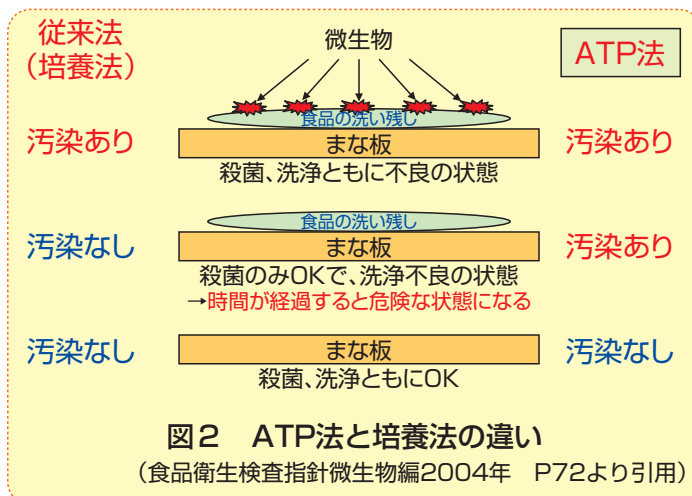


図1 ATP（アデノシン三リン酸）

地球上の全生物が持っている化合物でエネルギー源となります。



ATP拭取り検査は、サンプリングから測定まで数十秒から数分で結果が得られ、迅速性があります。ATP測定機器と試薬が必要ですが、操作は極めて簡便であり、誰でも実施できます。

<検査方法>

- ①検査キットの拭取り棒を用いて、表3に従って綿球全体でムラなく拭き取ります。
- ②検査キットの拭取り棒と試薬を混合して、よく振ります。
- ③②をATP測定器にセットし、判定（発光量が数値化される）します。

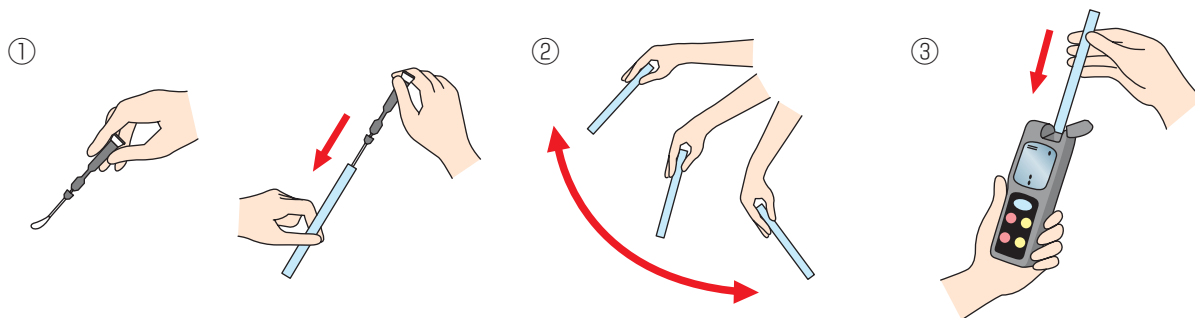




表3 細菌拭取り検査及びATP拭取り検査における主な検査対象と拭取り方法

検査箇所		拭取り方法
調理器具	まな板、バット、ボウル、食器、スパテラ	10cm×10cm
	包丁、はさみ、スライサー（刃）	全体又は部位ごとに分ける
調理機器	野菜切裁機など	接合部などの隙間や隅部分
施設設備	調理台、冷蔵庫（庫内）、シンク	10cm×10cm
	床	10cm×10cm (部位により変動が大)
	取っ手（冷蔵庫など）	全体
	ドアノブ	全体
	スプレー容器	トリガー部位、にぎり部位
調理作業	手指	利き手全体（手のひら、甲、指と指の間など）
	エプロン	食品や器具等に接触する部分 10cm×10cm

拭取り方法：常に一定した圧力で縦×横×左右斜め、各5～10回

<評価>

発光量から清浄度を判定します。「ATPふき取り及び迅速検査研究会」が示している判定基準は表4のとおりです。ただし、ATP測定機器によって発光量の表現が異なるため、各メーカーと相談して評価しましょう。

表4 ATP拭取り検査における参考値（例）

検査箇所	管理規準値	
	合格	不合格
まな板	500 以下	1,000 以上
ボウル	200 以下	400 以上
バット	200 以下	400 以上
シンク	200 以下	400 以上
調理台	200 以下	400 以上
冷蔵庫取っ手	200 以下	400 以上
手指	1,500 以下	3,000 以上

※合格と不合格の間は要注意と考えます。

注意事項： 消毒薬が残存すると測定値が変動するため、消毒液をよくすすぎ落としてから検査する必要があります。