

○ 熊本県食品の衛生に関する指導基準

1 目的

食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年 12 月 28 日厚生省告示第 370 号）に規定のない食品等の成分規格についての指導基準（以下「指導基準」という。）を設け、営業者の HACCP に沿った衛生管理の検証の一助とし、食品の衛生的品質の向上及び食中毒の防止を図ることを目的とする。

2 対象食品

次の食品を対象とし、必要に応じ追加変更するものとする。ただし、当該食品の原料及び半製品には適用しない。

(1) 未加熱そうざい

通常副食物としてそのまま喫食される既成食品のうち、和え物（サラダを含む。）及び酢の物等最終処理工程で加熱調理されていないもの又は加熱後調理されたもの。

(2) 加熱そうざい

通常、副食物としてそのまま喫食される既成食品のうち、煮物（佃煮を含む。）、焼物（炒め物を含む。）、揚物及び蒸し物で、加熱調理が施された後、包装容器に入れられたもの。

(3) 調理米飯・調理パン類

- ①おにぎり、折り詰めご飯又は炊きこみご飯、混ぜご飯、寿司類等調理ご飯。
- ②サラダ、ハム、カツ、コロッケ等の副食物やハンバーグステーキ、野菜類等をパンにはさみ込み、そのまま喫食できるようにしたサンドイッチ類、ハンバーガー類
- ③パンを油で揚げたいわゆる揚げパン（ソーセージパン、カレーパン等）

(4) 豆腐

大豆、脱脂大豆を原料とした木綿豆腐及び絹ごし豆腐並びにこれらを包装したもの（ただし、包装後加熱殺菌したもの及び無菌充填豆腐を除く。）

(5) 生菓子

- ①菓子類のうち饅頭、笹団子等、米粉、小麦粉、卵、砂糖等を主要原料とした和菓子であって、出来上がり直後において水分 40%以上含むもの
- ②菓子類のうち、シュークリーム、ショートケーキ等、小麦粉、卵、牛乳、乳製品、チョコレート、果実等を主要原料とした洋菓子であって、出来上がり直後において水分 40%以上を含むもの
- ③菓子類のうち、飴、クリーム、ジャム、寒天又はこれに類似するものを用いた菓子で、出来上がり直後において水分 30%以上を含むもの。

(6) 漬物（浅漬けに限る。）

通常、副食物としてそのまま喫食される既成食品のうち、生鮮野菜等（湯通しを経た程度のもを含む。）を食塩、しょう油、アミノ酸液、食酢、酸味料等を主とする調味液、または、酒粕、ぬか等を主材料とする漬床で短時日漬け込んだもので、低温管理を必要とするもの。

3 指導基準の内容

別表のとおりとし、必要に応じ追加するものとする。

4 指導基準の試験法

別記のとおりとする。

5 施行期日

この指導基準は、平成 20 年 4 月 1 日から施行する。

この指導基準は、平成 27 年 4 月 1 日から施行する。

この指導基準は、平成 31 年 4 月 1 日から施行する。

この指導基準は、令和 4 年（2022 年）4 月 1 日から施行する。

食品の衛生に関する指導基準表

基準項目 食品区分	細菌数 (生菌数) (g 当たり) * 1	大腸菌群 (希釈倍率) * 2	病原細菌			
			E. coli * 2	黄色 ブドウ 球菌	サルモネラ 属菌 * 3	カンピロ バクター 属菌 * 3
<ul style="list-style-type: none"> ・未加熱 そうざい ・加熱 そうざい ・調理米飯、 調理パン類 	100,000以下	陰性 (×100)	陰性	陰性	(陰性)	(陰性)
<ul style="list-style-type: none"> ・豆腐 ・生菓子 						
<ul style="list-style-type: none"> ・漬物（浅漬 けに限る。） 		陰性	陰性			

* 1 発酵工程があり、その後殺菌工程のない食品又は生菌等を添加する食品は除く。

* 2 収去検査する上での目的や効率性を踏まえ、どちらか1項目を選択し検査することとしても差し支えない。

* 3 必要に応じて実施する。

別 記

食品の指導基準の試験法

1 検体の採取及び試料原液の調整法

容器包装に入れられたものはそのまま、それ以外の食品にあつては必要量を無菌的に滅菌容器に採取し、5℃以下の温度に保持して、できるだけ速やかに八代保健所試験検査課に運搬する。

容器包装に入れられた食品は、外側を70%アルコール綿等で清拭殺菌する。

(1) 未加熱そうざい、加熱そうざい及び調理米飯・調理パン類（カンピロバクター属菌検査）

内容物を無菌的に25g採取し、試料とする。

(2) (1)以外の検体

内容物を無菌的に10g（又は10ml）を取り出し、滅菌リン酸緩衝生理食塩水又は滅菌ペプトン加生理食塩水90mlを加え、固形又は半固形の検体は、滅菌ホモジナイザー等を用いて細砕したものを各々試料原液（原検体の10倍液）とする。

[注]・リン酸緩衝液（原液）

リン酸二水素カリウム(KH_2PO_4)34gを500mlの精製水に溶かし、これに1N水酸化ナトリウム溶液約175mlを加えてpH7.2になるように調整し、さらに精製水を加えて全量を1000mlとしたものを原液とする。（冷蔵庫内貯蔵）

・滅菌リン酸緩衝生理食塩水

リン酸緩衝液（原液）1.25mlに生理食塩水（塩化ナトリウム8.5g精製水1000ml）を加えて1000mlとし、高圧蒸気滅菌を行う。

・滅菌リン酸緩衝希釈水

リン酸緩衝液（原液）1.25mlに精製水を加えて1000mlとし、高圧蒸気滅菌を行う。

・滅菌ペプトン加生理食塩水

ペプトン1.0gと塩化ナトリウム8.5gを精製水1000mlに加温溶解後、121℃、15分間高圧蒸気滅菌を行う。（pH7.0±0.1）

2 細菌の試験法

(1) 細菌数（生菌数）

試料原液（原検体の10倍液）を滅菌リン酸緩衝生理食塩水又は滅菌ペプトン加生理食塩水で10倍希釈を行い、必要により10倍、100倍、1000倍・・・の希釈試料を作成する。

この希釈試料を1mlずつシャーレ2枚に正確にとり、これに加温溶解して高圧蒸気滅菌後50℃に保持した標準寒天培養基約15mlを加え前後左右に傾けて混合し、冷却凝固させ必要に応じて約5mlの標準寒天培養基を加え重層する。培養基が凝固

したら倒置して 35°C (±1.0°C) で 48 時間 (±3 時間) 培養する。

培養後発生した集落数を算定する。培養時間を経過した後、直ちに算定し得ない場合 5°C の冷蔵庫に保存すれば 24 時間以内に算定できる。

細菌数の算定は、1 平板当たり 30～300 個の集落の発生をみた希釈段階の試料につき 2 枚平均の集落数に希釈倍率を乗じ原検体 1g (又は 1ml) 当たりの細菌数とする。

なお、数値は上位三けた目を四捨五入し、上位二けたを有効数字とし、三けた目以下は 0 をつけた値とする。

(2) 大腸菌群

試料原液の 10 倍希釈液 (原検体の 100 倍液) を供試する。

滅菌シャーレ 2 枚を用意し、それぞれに滅菌ピペットを用いて試料 1ml を正確にとる。

それにあらかじめ加温溶解し、50°C の温度を保持したデソキシコレート寒天培養基 10～15ml を加え前後左右に傾けて混合した後、冷却凝固させる。培養基が凝固した後、その表面に同培養基を更に約 5ml 重層し、冷却凝固させる。培養基が凝固したならば、倒置して 35°C (±1.0°C) の温度で 20 時間 (±2 時間) 培養し、上記のそれぞれの希釈段階で、2 枚とも暗赤色のコロニーを認めたものは陽性とする。

なお、計数する場合は 2 枚の平均にその希釈倍率を乗じたものを検体 1g (又は 1ml) 当たりの大腸菌群数とする。

また、数値は上位三けた目を四捨五入し、上位二けたを有効数字とし、三けた目以下は 0 をつけた値とする。

(3) 黄色ブドウ球菌

細菌数測定のため調整した試料原液 (原検体の 10 倍液) 0.1ml ずつを別に用意した 2 枚のブドウ球菌選択分離培地 (3%卵黄加マンニット食塩寒天培地) に接種し、コンラージ棒で全面に塗抹して、35°C (±1.0°C) で 48 時間 (±3 時間) 培養後集落を観察する。この選択分離培地上で、集落下及びその周辺が黄変し (マンニット分解) 不透明帯 (卵黄反応) を形成する集落について、コアグララーゼ試験を行い、2 枚とも平板表面上に典型的なコアグララーゼ陽性黄色ブドウ球菌のコロニーを認めたものを陽性とする。

*コアグララーゼ試験

無菌ウサギ血漿を 10%に加えた普通ブイヨン滅菌小試験管に 0.5ml 分注する。これに平板から黄色ブドウ球菌の疑わしきコロニーから、1 白金線を接種し、3、6 および 24 時間後に結果を判定する。

培地全体がゼリー状に凝固したもの又はフィブリンの析出したものを陽性とする。

なお、市販品等を利用する場合は、その取扱説明書に従うこと。

(4) サルモネラ属菌

検体を無菌的に細碎し、その 25g を選択増菌培地（*）225ml に加え、35℃（±1.0℃）で 18 時間（±2 時間）前培養して、その 1ml を腸内細菌用基礎培地（ラバポート・バシリアディス培地等）15ml に接種し、42℃（±1.0℃）で 22 時間（±2 時間）培養する。次に、その 1 白金耳量を DHL 寒天平板やクロモアガーサルモネラ培地等に画線し、35℃（±1.0℃）で 24 時間（±2 時間）培養を行い、培地上の H₂S 産生の黒色の定型的集落（クロモアガーサルモネラ培地は紫色の集落）を TSI 培地に釣菌し、さらに SIM 培地、VP 半流動培地、リジン脱炭酸試験用培地、マロン酸塩培地などを用いて確認培養を行う。

確認培養の成績でサルモネラの性状と一致する菌株は、さらに同定上必要な正常検査及び血清学的検査を行う。

(*) 選択増菌培地

冷凍食品や乾燥食品などのように、その食品中に存在するサルモネラの活性が減弱されていると考えられるものにあつては、直接、検体を選択培地に投入し増菌することなく、緩衝ペプトン水等で前培養を行う。

(5) E. coli

試料原液（原検体の 10 倍液）を 1ml ずつ、3 本の EC 培地（10ml 分注）に接種する。44.5℃（±0.2℃）で 22 時間（±2 時間）培養し、3 本ともガス産生が認められないものは E. coli 陰性とする。ガス産生が認められた EC 培地について酵素基質培地に 1 白金耳量を塗抹し、35℃（±1.0℃）で 22 時間（±2 時間）培養する。E. coli の定型的集落の有無を観察し、定型的集落を認めたものを E. coli 陽性とする。なお、集落の色調について判定が困難な場合は、必要に応じて確認検査（IMViC 試験等）を行う。

(6) カンピロバクター属菌

試料を 100ml のプレストン増菌培地に加えて破砕し、42℃±1℃で 24～48 時間微好気培養する。その培養液の 1 白金耳量を CCDA 培地、スキロー培地またはバツラーV 培地に塗抹し、42℃±1℃で 24～48 時間微好気培養する。カンピロバクター属菌の定型的集落の有無を観察し、定型的集落について、グラム染色、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験を行い、カタラーゼ及びオキシダーゼ陽性のグラム陰性のらせん状桿菌を認めた場合、カンピロバクター属菌陽性とする。