

食鳥処理場外部検証実施計画

高松市

改訂履歴

日付	改訂要旨
令和3年7月30日	初回発行
令和4年12月9日	一部改訂（改訂履歴一覧の作成、語句、別表1、2項目及び微生物検査修正）

1 目的

HACCP に沿った衛生管理の制度化に伴い、食鳥処理業者（認定小規模食鳥処理業者を除く。以下同じ。）は、自らが作成した衛生管理計画及び手順書に基づく措置について、食鳥検査員の実施する検査又は試験を受け、その結果に基づき必要に応じて見直しを行うこととなった。

このため、高松市食肉衛生検査所では、各大規模食鳥処理場が運用する HACCP に沿った衛生管理により、食品衛生上の危害の発生が防止され、製品の安全性が保証されているかどうかを検証すべく「食鳥処理場外部検証実施計画」を策定し、食鳥検査員はこの計画に基づき、各食鳥処理場の衛生管理の実態に応じた確認表を作成し、検査又は試験を実施し、その結果に基づき措置を行う。

2 用語の定義

(1) 外部検証

食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律（以下「食鳥処理法」という）施行規則第4条第4項に基づき食鳥検査員が実施する、衛生管理計画及び手順書の確認、施設の衛生管理の実施状況の確認

(2) 衛生管理計画

食鳥処理法施行規則第4条第3項に基づき、食品衛生上の危害の発生の防止のため、食鳥処理業者により、施設の衛生管理及び食鳥処理に関して作成される衛生管理計画

(3) 手順書

食鳥処理法施行規則第4条第3項に基づき、食品衛生上の危害の発生の防止のために食鳥処理業者が作成する、食鳥処理場の施設設備、機械器具の構造及び材質並びに食鳥処理の工程の衛生管理その他公衆衛生上必要な措置を適切に行うための手順書

(4) 記録検査

食鳥検査員が外部検証として実施する、食鳥処理業者が衛生管理計画及び手順書に従い作成した衛生管理の実施記録の内容の確認

(5) 現場検査

食鳥検査員が外部検証として実施する、食鳥処理場の従事者等が衛生管理計画及び手順書に従い行う食鳥処理場の衛生管理及び衛生的な食鳥処理の実施状況の作業現場における直接確認

(6) 改善措置

食鳥処理法施行規則別表第4第5号に基づき食鳥処理業者が設定する、個々の重要管理点において、モニタリングの結果、管理基準を逸脱したことが判明

した場合の措置。改善措置には製品に対する措置と工程や衛生管理に対する措置が含まれる

(7) 内部検証

食鳥処理場施行規則別表第4第6号に基づき食鳥処理業者が実施する、重要管理点又はその他の工程における管理措置、管理基準、モニタリング及び改善措置が食品衛生上の危害の発生の防止に効果的であることの定期的な確認

(8) 指摘文書

食鳥検査員による記録検査及び現場検査の結果、不適合となる項目がある場合に食鳥処理衛生管理者を通じて、食鳥処理業者等に対して、その項目を通知するための文書

3 外部検証で確認する事項

(1) 衛生管理計画及び手順書の確認

ア 食鳥処理法施行規則別表第3第1号に基づく、いわゆる「施設衛生」に関する事項の衛生管理計画及び手順書について、以下の事項を対象に、当該食鳥処理場の実際の構造設備や食鳥処理の工程を考慮して作成され、かつ最新の状況を踏まえて適切に維持・更新されているかを確認する。

- (ア) 施設の衛生管理
- (イ) 設備等の衛生管理
- (ウ) 薬品・洗浄剤等の管理
- (エ) 使用水等の管理
- (オ) ねずみ・昆虫対策
- (カ) 廃棄物及び排水の取扱い 等

イ 食鳥処理法施行規則別表第3第2号に基づく、いわゆる「作業衛生」に関する事項の衛生管理計画及び手順書について、以下の食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等の衛生的な取扱いに関する基準に基づき、当該食鳥処理場の実際の構造設備や食鳥処理の工程を考慮して作成され、かつ最新の状況を踏まえて適切に維持・更新されているかを確認する。

- (ア) 生体の受入れ
- (イ) 放血
- (ウ) 湯漬
- (エ) 脱羽
- (オ) 内臓摘出
- (カ) 冷却 等

また、生体の搬入、食鳥処理の各工程において、発生するおそれがある危害要因、当該危害要因の発生を防止するための管理措置及び重要管理点を含む危害要

因分析表が適切に作成されていることを確認する。

さらに、重要管理点における管理基準、モニタリングの内容及びその頻度、管理基準に適合していない場合に講じられる製品及び工程等の改善措置、重要管理点が適切に管理されていることの検証の内容及びその頻度、重要管理点の記録様式が適切に作成されていることを確認する。

(2) 食鳥処理場の衛生管理の実施状況

ア 衛生管理計画及び手順書に従い、適切な衛生管理を毎回漏れなく実施していることを確認するため、別表1を参考に、食鳥処理業者による(1)アに関連する一般衛生管理の点検結果及び重要管理点のモニタリングの結果等の記録の内容を確認する。

イ 別表1を参考に、(1)アに関連する一般衛生管理の実施状況及び食鳥処理場の構造設備や機械器具等の状態について、管理や作業の現場に出向いて、それらの状況を直接観察して確認する。

(3) 食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等の衛生的な取り扱い

ア 衛生管理計画及び手順書に従い、適切な衛生管理を毎回漏れなく実施していることを確認するため、別表2と参考に、食鳥処理業者による(1)イに関連する一般衛生管理の点検結果及び重要管理点のモニタリング結果等の記録の内容を確認する。

イ 別表2を参考に(1)イに関連する食鳥処理の各作業の実施状況及び食鳥とたいや食鳥肉等の状態について、管理や作業の現場に出向いて、それらの状況を直接観察して確認する。

上記(1)～(3)について、内部検証が適切に実施されていることを記録等により確認する。

(4) 衛生指標菌を用いた微生物試験の実施

食鳥処理法第11条に基づく食鳥処理場における衛生管理の実施状況を客観的に評価するため、食鳥検査員は、衛生指標菌（一般細菌数（生菌数）及び腸内細菌科菌群数）を対象にして、切除法（食鳥とたいの表面を無菌的に切り取ることにより検体を採取する方法）を用いた微生物試験を外部検証として実施する。試験方法は別紙1のとおりとする。

また、必要に応じてカンピロバクター属菌の定量試験を実施する。試験方法は別紙2のとおりとする。

4 外部検証の実施頻度

記録検査、現場検査及び微生物検査ともに各食鳥処理場ごとに原則として毎月1回実施する。

なお、検証の実施時は、当該施設の食鳥処理衛生管理者等に対して、実施時間及

びその内容について事前に通告するとともに、外部検証の結果を直接共有するため、実施の際は可能な限り食鳥処理衛生管理者等又は代わりの者を同行又は同席させる。

5 結果に基づく措置

- (1) 食鳥検査員は、3 (1) ア及びイに基づく衛生管理計画及び手順書の確認をした際、これらの文書が、実際の設備構造及び工程並びに最新の状況を反映していない場合は、速やかにその内容を更新するよう、食鳥処理衛生管理者を通じ、食鳥処理業者に対して、口頭又は文書により指導する。
- (2) 食鳥検査員は、現場検査の実施中に食鳥処理法第11条に規定する食鳥処理場の衛生管理の基準及び食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜きとたい及び食鳥肉等の衛生的な取扱いに関する基準への不適合若しくは重要管理点の管理基準からの逸脱を確認した際には、食鳥処理衛生管理者又は従事者に対し、衛生管理計画及び手順書に規定されている改善措置を速やかに実施するように指導する。

これらの指導の内容については、(3)の文書に記載し、食鳥処理衛生管理者を通じて、食鳥処理業者に通知する。

- (3) 食鳥検査員は、記録検査及び現場検査の結果、不適合となる項目がある場合は、食鳥処理衛生管理者を通じて、食鳥処理業者に対して、以下の項目を記載した指摘文書により通知する。

ア 検証実施日及び通知年月日

イ 検証実施者

ウ 通知を受ける者（食鳥処理業者）

エ 検証の結果（食鳥処理法施行規則や衛生管理計画等の不具合の詳細）

オ 検証の結果に基づき食鳥検査員が行った指導の内容

通知を受けた者は、以下の事項を記載した文書を食鳥検査員に提出し、食鳥検査員にその内容の確認を受ける。

ア 通知を受けた者の通知確認日

イ 短期的改善措置の内容

ウ 長期的改善措置の内容

- (4) 食鳥検査員は、食鳥処理衛生管理者が回答した改善措置が、食鳥処理法施行規則の規定の基づく基準に適合するか確認するとともに、それらの改善措置が計画的に実施されているかについて、現場検査により継続的に確認する。

5 外部検証結果の記録及び保存

衛生管理計画等の確認、記録検査、現場検査及び微生物検査の結果を記録し、保存する。

また、現場検査や微生物試験等の結果については、食鳥処理業者に、できる限り写真や記録、グラフ等を活用し、目に見え分かりやすい形での情報提供を行う。

別表1 食鳥処理場の衛生管理に関する確認事項（食鳥処理法施行規則）

施設の衛生管理	適否	指摘事項
清掃を適切に行い、衛生上支障ないように保持しているか。		
整理整頓を行い、不必要な物品等を置いていないか。		
床、内壁、天井、窓又は扉等に破損又は故障等があるときは、速やかに補修又は修理を行っているか。		
汚臭及び過度の湿気を除くよう十分に換気しているか。		
採光又は照明装置により必要な照度を確保しているか。		
排水溝は、固形物の流出を防ぎ、かつ、排水がよく行われるように清掃し、破損した場合は速やかに補修しているか。		
便所は、清潔に保ち、定期的に消毒を行っているか。		
洗浄消毒に薬剤を使用する場合にあつては、目的に応じたものを適正な方法で使用しているか。		
温湯を使用して消毒する場合にあつては、摂氏 83 度以上の熱湯を使用しているか。		
手洗い設備には、手洗いに必要な洗浄消毒液を備え、常時使用できるようにしているか。		
清掃用器材は所定の場所に保管しているか。		
設備等の衛生管理	適否	指摘事項
機械器具は、その使用目的に応じたものを使用しているか。		
食鳥とたい、食鳥中抜とたい又は食鳥肉等に直接接触する機械器具の面を、使用する前に必ず洗浄消毒しているか。		
疾病若しくは異常又はこれらの疑いのあるもの等を処理した場合であつて、他に汚染のおそれがあるときには、使用した機械器具は、その都度洗浄消毒等を行っているか。		
機械器具は、作業終了後洗浄消毒しているか。		
機械器具及び分解したこれらの部品を、それぞれ所定の場所に衛生的に保管しているか。		
機械器具は、定期的に点検し、故障又は破損等があるときは、速やかに修理又は補修を行い、常時適正に使用できるよう整備しているか。		
温度計、圧力計及び流量計等の計器類は定期的にその精度を点検し、故障又は異常等があるときは、速やかに修理等を行っているか。		
製品保管室の冷蔵・冷凍設備は、冷蔵保存の場合にあつては摂氏 10 度以下、冷凍保存の場合にあつては摂氏-15 度以下となるよう管理を行っているか。		

殺そ剤及び殺虫剤等の薬剤は、食鳥処理施設及び製品保管室以外の所定の場所に保管しているか。		
使用水等の管理	適否	指摘事項
水道法に規定する水道事業、専用水道及び簡易専用水道以外の水を使用する場合は、1年に1回以上水質検査を行い、その結果を証する書類を検査の日から1年間保存しているか。		
消毒装置又は浄水装置を設置している場合は、これらの装置が正常に作動していることを毎日確認しているか。		
貯水槽を使用する場合は、定期的に点検、清掃を行っているか。		
給湯設備は目的に応じた温湯が得られるよう適正な温度管理を行っているか。		
ねずみ及び昆虫対策	適否	指摘事項
食鳥処理施設、製品保管室及び包装資材室へのそ族、昆虫等の侵入を防止するため、防そ・防虫設備に破損又は故障があるときは、速やかに補修又は修理を行っているか。		
防そ・防虫設備のない窓及び出入口を開放状態で放置していないか。		
定期的に駆除作業を行い、その記録は少なくとも1年間保存しているか。		
廃棄物及び排水の取扱い	適否	指摘事項
不可食部分は、食鳥処理場の衛生管理に支障を生じないように適切に不可食部分用容器に収納、搬出するとともに、当該不可食部分用容器は、作業終了後、空にして洗浄しているか。		
食鳥処分用容器、廃棄用容器は汚液、汚臭等が漏れないよう適切に食鳥処理施設外に搬出するとともに、作業終了後、空にして洗浄消毒しているか。		
廃棄等の措置を講じなければならない食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい又は食鳥肉等及び不可食部分は、衛生上支障がないように適正に処理しているか。		
食鳥処理場内の衛生管理	適否	指摘事項
衛生管理計画及び手順書で定められた通りに、食鳥処理場内の衛生管理を実施しているか。		

別表2 食鳥、食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等の衛生的な取扱いに関する確認事項（食鳥処理法施行規則）

生体の受入	適否	指摘事項
食鳥処理をしようとする食鳥の集荷に当たっては、異常なものの排除に努めるとともに、生体の健康の保持に留意して輸送しているか。		
生体輸送用容器は、清潔なものを使用し、使用後十分に洗浄消毒しているか。		
生体検査に合格したもの又は食鳥の生体の状況についての基準適合の確認がされたものは、速やかにとさつ放血しているか。		
生体検査に合格しなかったもの又は基準不適合の確認がされたものは、廃棄等の措置を講じているか。		
放血	適否	指摘事項
放血は十分に行っているか。		
放血された血液による生体及びとさつ後の食鳥の汚染を避けるよう留意しているか。		
血液を回収する場合は、不浸透性材料で作られた容器に回収し、適宜搬出しているか。		
湯漬	適否	指摘事項
放血後速やかに湯漬を行っているか。		
湯漬は、十分な水量を用いて行っているか。		
湯漬に当たっては、併せて汚染物をできるだけ除去するよう配慮しているか。		
脱羽	適否	指摘事項
脱羽に当たっては、噴射水洗をする等により羽毛が飛散しないようにするとともに、脱離した羽毛は、不可食部分用容器に収納し、作業中においても頻繁に食鳥処理施設外に搬出しているか。		
残留した羽毛は毛焼き等により除去しているか。また、脱羽が不十分なものは、内臓の摘出を行っていないか。		
脱羽後検査又は食鳥とたいの体表の状況についての基準適合の確認の前に食鳥とたいの脱羽を終了しているか。		
不可食部分、廃棄等の措置を講じなければならない食鳥とたいの全部又は一部は、他を汚染しないように取り扱い、それぞれ不可食部分用容器又は廃棄用容器に収納しているか。		

内臓摘出	適否	指摘事項
内臓摘出後検査又は基準適合の確認に際して、食鳥中抜とたい及び当該食鳥中抜とたいに係る内臓が同一の食鳥に由来するものであることが確認可能な状態で検査又は確認に供しているか。		
内臓摘出後検査又は基準適合の確認に際して、検査又は確認のための腹部の切開は、検査又は確認が実施可能な程度にとどめているか。		
内臓摘出後検査又は基準適合の確認に際して、心臓、肝臓、脾臓、筋胃等は検査又は確認のために十分引き出しているか。		
消化管の内容物の漏出により食鳥中抜とたい及び食鳥肉等が汚染されないよう、腹部の切開は、消化管の損傷がないように注意して行うとともに、不要な切開は避けているか。		
消化管の内容物の漏出により食鳥中抜とたい及び食鳥肉等が汚染されないよう、総排泄腔の切除は、内容物の漏出がないよう注意して行っているか。		
消化管の内容物の漏出により食鳥中抜とたい及び食鳥肉等が汚染されないよう、内臓摘出後検査に合格し、又は基準適合の確認がされた内臓は、食用部分と不可食部分に区分し、食用部分は十分に洗浄しているか。		
消化管の内容物の漏出により食鳥中抜とたい及び食鳥肉等が汚染されないよう、不可食部分及び廃棄等の措置を講じなければならない部分は、食用部分を汚染しないように取り扱い、それぞれ不可食部分用容器又は廃棄用容器に収納しているか。		
冷却	適否	指摘事項
洗浄した食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等は、速やかに摂氏 10 度以下に冷却しているか。		
食鳥とたい、食鳥中抜とたい、食鳥肉等を冷水により冷却する場合は、冷却機で冷却された水又は適量の砕氷を入れた水で十分に換水しながら行うとともに、水分の吸収及び残量を最小限にとどめているか。		
冷却槽は、作業終了後、空にして洗浄消毒を行っているか。		
その他の衛生措置	適否	指摘事項
食鳥とたい、食鳥中抜とたい及び食鳥肉等は、清潔で衛生的な方法で取り扱い、汚物、有毒若しくは有害な物質又は病原微生物により汚染されないように措置しているか。		
衛生管理計画及び手順書で定められた通りに、と畜・解体の衛生措置を実施しているか。		

別紙 1

微生物試験（一般生菌数、腸内細菌科菌群数）

【検体の採取】

- 対象
 - ・最終冷却（チラー冷却）水切りを行った後の食鳥とたいから検体を速やかに採取する。
 - ・検体を採取する食鳥とたいの選定に当たっては、食鳥処理の初めのロットは可能な限り避け、処理半ばの食鳥とたいと選定する。
- 頻度
 - ・効果的に外部検証を行うため、月 1 回の試験を年間通じて実施する。
- 検体数
 - ・同日に処理された最終冷却水切り後の食鳥とたいについて、同一ロットより 5 羽を選定し、これをプールして 1 検体とする。
 - ・プール検体を 5 検体（計 25 羽）準備する。
- 採材部位
 - ・原則として、食鳥とたいの首皮を採取部位とする。計 5 羽の食鳥とたいの首皮を集め、1 検体（計 25 g）とする。

【準備】

- 1 検体採取用
 - ・滅菌済ハサミ
 - ・滅菌済ピンセット
 - ・滅菌スクリューコップ
 - ・保冷剤、保冷ボックス
 - ・アルコール系消毒剤
- 2 検体の前調整用
 - ・滅菌済ストマッカー袋（フィルター付）
 - ・ストマッカー
 - ・ボルテックス
 - ・ピペット及びピペットチップ
 - ・滅菌ピペット
 - ・アルコール系消毒剤
 - ・滅菌済希釈容器
 - ・滅菌済希釈液（緩衝ペプトン水、リン酸緩衝生理食塩水等）

3 検体の培養

- ・ふらん器
- ・電子天秤
- ・ボルテックスミキサー
- ・滅菌袋または滅菌缶
- ・ピペット及びピペットチップ
- ・ペトリフィルム(一般生菌数:AC、腸内細菌科菌群数:EB)

【方法】

1 検体の採取

- (1) 手指を石鹼等で十分洗った後、アルコール系消毒剤を噴霧し、消毒する。
- (2) 使い捨て手袋を装着し、その上からさらにアルコール系消毒剤を噴霧し消毒する。
- (3) 平らな作業台等の上にアルミ箔等を敷き、その上に食鳥とたいを静置する(5羽同時でも1羽ずつでも良い)。
- (4) 滅菌済ピンセット及び滅菌済ハサミを用いて、食鳥とたいより検体を可能な限り無菌的に切除し、滅菌スクリーコップに入れる(5羽分の首皮を1つのスクリーコップに入れる。この際、5羽の重量がなるべく均等となるようにする)。
- (5) 首皮を入れた滅菌スクリーコップは、交差汚染が生じないように密封した後、保冷ボックス内で一時保管する。採材から2時間以内に冷蔵状態で検査室に搬送し、試験に供する。

2 検体の前調整手順

- (1) 滅菌スクリーコップの中の検体を滅菌済ピンセット及び滅菌済ハサミを用いて細切した後、25gを計量する。
- (2) (1)の計量済検体を、あらかじめ225mlの滅菌済希釈液を入れた滅菌済ストマッカー袋に入れて、1分間ストマッキング処理を行う。
- (3) 1検体につき、滅菌済希釈液9mlを含む滅菌済希釈容器を3本準備する。
- (4) ストマッキング処理後の上記検体懸濁原液を、ストマッカー袋付属のフィルターを通じて、50ml遠沈管に回収する。
- (5) 上記懸濁液1mlを、(3)で準備した滅菌済希釈液9mlに加え、ピペッティングにより攪拌を行い、10倍、100倍、1,000倍階段希釈液を順に作製する。なお、試験の進行に伴い、結果に基づいて、希釈段階を調整し作業効率を上げることができる。
- (6) 以上の操作は、1検体につき30分以内に終え、次の操作へと進める必要がある。

3 培地接種

- (1) ペトリフィルムを2枚ずつ、それぞれの希釈倍率に合わせて用意する。
- (2) フィルムに、希釈した検体を1ml ずつ滴下し、上にフィルムを重ねてプラスチックの重りを載せて拡散させる。
- (3) できたフィルムをふらん器に入れ、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ で 48 ± 3 時間 (AC) または 24 ± 2 時間 (EB)、それぞれ好気培養する。

4 その他の代替法

ペトリフィルムの培養の代替法として、一般細菌数では標準寒天培地、腸内細菌科群数ではバイオレットレッド胆汁ブドウ糖寒天培地 (VRBG 培地) を使用する。なお、その際は、ペトリディッシュに検体懸濁液又は希釈液1ml を加えたのち、 $47 \sim 50^\circ\text{C}$ に加温調整した各培地15～20ml を注ぎ、固化させた後に、各々の時間で好気培養する。

【結果の判定、記録】

結果の判定は次の基準により行う。

- 1 細菌数については、AC ペトリフィルムの発育集落数を求める。計数にあたっては、原則として1フィルムあたり300個以下の集落数を示すフィルムの希釈列を記録対象とする。なお、拡散集落は1集落として計数することを基本とするが、フィルムの1/4以上が拡散集落により覆われている場合、同フィルムは計数対象から外す。
- 2 腸内細菌科菌群数については、EB ペトリフィルム上の定型もしくは疑わしい集落数を求める。計数にあたっては、原則として1フィルムあたり100個以下の集落数を示すフィルムの希釈列を記録対象とする。なお、拡散集落は1集落として計数することを基本とするが、フィルムの1/4以上が拡散集落により覆われている場合、同フィルムは計数対象から外す。
- 3 検体ごとに 1 cm^2 または1g 当たりの菌数を『CFU/cm²』、または『CFU/g』として記録することを基本とする。各検体が示す集落の発生状況に合わせ、以下のいずれかの方法により結果を記録する。
- 4 同一希釈列の2枚のペトリフィルム上に発育する集落数が上記の範囲であれば、算術平均を算出した上で、希釈率を乗じて検体 1 cm^2 または1g 当たりの菌数を求める。
同一希釈列で適正範囲内の集落数を示すフィルムが2枚は得られないが、1枚は得られる場合、連続する2段階の希釈試料液で加重平均として検体中の菌数 (N) を以下の計算式を用いて求める。

$$\bullet N = \Sigma C / (\text{希釈率} \times 1.1)$$

ΣC：各フィルムの集落数の合計 (例：10倍希釈液接種フィルムで148個、

100倍希釈液接種フィルムで17個であれば、 $148 + 17 = 165$)

希釈率：適正範囲内の集落数を認めるフィルムの希釈率を指数で用いる

(例： 10^{-2})

- 5 フィルムあたりの集落数が4個以上10個未満の場合、その結果は4と同様に求めた上で、 1 cm^2 または 1 g 当たりの推定菌数として表示する。
- 6 フィルムあたりの最大集落数が1～3個の場合、結果の精度は極めて低く、次のように表記する。

『検出はあるが、 1 cm^2 または 1 g 当たり ($4/d$) 未満』

- 7 全てのフィルムで集落が認められない場合、次のように表記する。

『 1 cm^2 または 1 g 当たりの菌数は、($1/d$) 未満』

ここでいうdは検体懸濁原液または同階段希釈液の希釈率を示す

(例：検体原液を接種した場合のdは、 10^{-1})。

別紙2

微生物試験（カンピロバクター定量試験法）

【準備】

検体採取及び検体の前調整に必要な器具等は、別紙1「微生物試験（一般生菌数、腸内細菌科菌群数）」に準ずる。

○ 検体の培養

1 準備すべき器具・試薬等

- ・ mCCDA寒天培地
- ・ 微好気ガスパック
- ・ 滅菌済遠心管
- ・ 滅菌済コンラージ棒（スプレッター）
- ・ 滅菌済白金耳及び白金線
- ・ 非選択寒天培地（血液寒天培地等）
- ・ オキシダーゼ試験用ろ紙

2 準備すべき機器等

- ・ ふらん器
- ・ 微好気ジャーシステム
- ・ 寒天平板用乾燥器あるいはふらん器（25～50℃）
- ・ オートクレーブ（121℃、15分以上の高圧蒸気滅菌が可能なもの）
- ・ 電子天秤
- ・ 顕微鏡

【方法】

1 検体の採取

別紙1「微生物試験（一般生菌数、腸内細菌科菌群数）」に準ずる。

2 検体の前調整手順

別紙1「微生物試験（一般生菌数、腸内細菌科菌群数）」に準ずる。本試験を行う場合に作製する階段希釈液は10倍、100倍を基本とする。また、本試験を実施する場合、カンピロバクターが微好気性菌である特性を踏まえ、一般細菌数及び腸内細菌科菌群の定量試験に先行して進めることが必要である。

3 培地接種

- (1) 検体の前調整手順で調整した検体懸濁液（10倍及び100倍階段希釈）1 ml を滅菌ピペット及びピペットチップを用いてあらかじめ十分に乾燥させた5枚のmCCDA寒天培地に接種する（培地1枚あたりの懸濁液量は200 μ l）。接種後は培地表面上に懸濁液が残らないよう塗抹を行う。
- (2) 微好気ジャーシステムを用いて42 \pm 1 $^{\circ}$ C、培養時間は44 \pm 4時間微好気培養を行う。
- (3) 培養後、培地上に発育した定型又は疑わしい集落数を求める。計数に当たっては1枚当たりの発育集落数が150未満の寒天培地を対象とし、2階段以上の希釈列を接種した場合には、本過程でいずれか適切な階段希釈を選択し、以後の確定試験に供する。
- (4) 確認試験：上項（3）で選択した1希釈列より、計5つの定型又は疑わしい集落を無作為に釣菌し、それぞれ血液寒天培地等の非選択寒天培地に継代し、純培養を行う。37 \pm 1 $^{\circ}$ Cで48 \pm 2時間微好気培養を行った後に、以下の性状試験によりカンピロバクター・ジュジュニ／コリであることを確認する。

ア グラム染色

グラム染色等による菌形の確認を行う。一般的にはらせん状のグラム陰性桿菌として観察されるが、球状の場合もある。

イ カタラーゼ試験

純培養した1集落より1白金耳量をスライドガラス上に取り、3%過酸化水素水1滴を滴下する。30秒以内に気泡の発生を認めた場合には、カタラーゼ反応陽性と判定する（カンピロバクター・ジュジュニ／コリは陽性である）。

ウ オキシダーゼ試験

白金耳又は白金線を用いて単離集落の一部を取り、オキシダーゼ試薬を含ませたる紙又は市販のオキシダーゼ試験用ろ紙の上に塗抹する。10秒以内にろ紙が暗色化した場合、オキシダーゼ反応陽性と判定する。カンピロバクター・ジュジュニ／コリは本試験陽性である。

エ その他

判定に迷う場合には、必要に応じて、市販ラテックス凝集試験用キット等を追加で活用しても良い。また、追加で馬尿酸塩加水分解試験、インドキシル酢酸塩加水分解試験等を利用することで菌種を決定することもできる。

【結果の記録】

結果は次の手順により判定し、記録を行う。

- 1 mCCDA 寒天培地上に発育した定型又は疑わしい集落数を、同一検体・同一階段希釈列毎に合計し、記録する。
- 2 確認試験の結果（陽性集落数／共試集落数、通常後者は5）を1で求めた集落数に乘じる。
- 3 希釈倍率を2に乘じ、検体1 gあたりの菌数として記録する。