

「冷凍食品の安全性確保のための微生物規格基準設定に関する研究」

総括研究報告書

別紙

## 食品微生物規格基準設定の基本的考え方（提案）

はじめに

コーデックス委員会では、食品微生物規格基準を基本的に「リスクに基づいて (risk-based)」策定するという枠組みを導入した。これは、既に 1990 年代半ばに世界貿易機関 (WTO) の SPS 協定において定義され、公衆衛生的目標レベルを意味する衛生植物検疫上の適切な保護の水準 (appropriate level of sanitary or phytosanitary protection: ALOP) に対応し、摂取時安全目標値 (Food Safety Objective: FSO) や達成目標値 (Performance Objective: PO) といった新たな数的指標を考慮しながら微生物規格を設定することでもある<sup>1)</sup>。一方、微生物汚染は食品中でランダムに分布しており、微生物規格は微生物検出の確率に基づいて設定される必要がある。微生物規格に加え、製造基準や保存基準、それらを含む衛生規範を定めることもある。しかし微生物規格基準はあらゆる食品に必要とされるわけではなく、また規格基準の設定によって食品の安全性が確保できるわけではないこと、食品の安全性の確保のためには、あくまでも HACCP システムなど、製造工程の衛生管理が重要であり、検査はそれを補助するものであることを認識する必要がある。微生物規格基準を設定する際には、その必要性が充分議論された上で論理的に設計され、さらにその規格基準を科学的に検証できる体制を整備して初めて有効に機能するものである。

この原則を踏まえた上で、食品微生物規格基準を新たに設定する際に考えるべき要素と手順を、以下に提案する。

### 1. 対象食品の選択

食品の規格基準は、対象となる食品（群）と微生物（毒素）との組み合わせに対して適応される。これまで、この組み合わせはその時々食品安全上の問題やそれに伴う社会からの要請に応える形で選択されてきた。今後も、緊急的な状況や問題の甚大性によっては、必然的にその組み合わせが決まる場合もあるものと思われる。しかし、一方で、食品全体を系統的に分類し、整理しておく必要もある。本研究、朝倉分担研究報告で提示された、公益財団法人日本適合性認定協会 (JAB) による食品分類法はその雛形となりうるものである。

### 2. 対象微生物の選択

食品の規格基準のもうひとつの対象として微生物（毒素）がある。現在、ほとんどの国、

地域における微生物規格は細菌を対象としているが、ウイルスや寄生虫を対象とする例もあり、また今後それらについて検討していくニーズは高いと思われる。

国際食品微生物規格委員会（International Commission on Microbiological Specifications for Foods: ICMSF）は、シリーズ刊行物である *Microorganisms in Foods* 第 6 巻<sup>2)</sup> の中で、各食品群に知られている常在微生物叢と汚染が危惧される病原体を総括している。朝倉分担研究報告では本書に基づき、食品の細分類毎に想定される病原体をリストアップした。さらに ICMSF は、*Microorganisms in Foods* 第 7 巻<sup>3)</sup> の中で、微生物をそれがもたらす危害の重篤度により 5 段階に、そして食品を保存中に微生物の濃度がどう増減するかにより 3 段階に区分し、その組み合わせにより 15 のケース分類している。

1. 2. の組み合わせに対して、それを原因として発生している疾病の状況や重篤度に基づいて、規格基準を検討する優先度を考える必要がある。なお、疾病の状況においては、単に食中毒統計や感染症サーベイランスに届出られた数だけでなく、その背後に存在する未報告の患者発生実態を考慮することが望ましい。

### 3. 食品微生物規格基準設定の目的

規格基準は、食品の微生物学的品質と安全性の双方を確認するために設定することが可能である。さらに、中間製品あるいは最終製品について品質や安全性の目標レベルを達成しているかについて確認することを目的とする場合も、あるいは品質や安全性を目標のレベルに到達させるための工程が、計画どおりに稼働しているかを検証することを目的とする場合もある。したがって、そのいずれが目的なのかを明確に定義する必要がある。

### 4. 食品微生物規格基準適用箇所

3. の目的と呼応するものであるが、・原材料の仕入れ、・加工（製造）工程、・加工（製造）環境、・最終製品などのうち、どこに適用されるべき規格基準であるかを規定する。

### 5. 規格基準導入による効果の予測

規格や基準は、それを設定することにより、3 で定義した目的に対して有効な効果が得られると期待される場合に限り、設定すべきである。

### 6. 規格基準による達成目標レベルの設定

国際的な理論によれば、疾病発生の低減目標（公衆衛生上の目標値）である ALOP 設定の議論から開始することが理想であるが、現実には ALOP を設定することは容易ではない。ALOP を念頭に置きながら、FSO を仮定することが現実的であろう。FSO を起点とし、4. で規定した規格基準適用箇所での達成目標値である PO を設定する。PO が達成されているかどうかを検証することが規格基準の目的の一つである。

## 7. 基準と規格の選択

3～6の検討の中で、おそらく必然的に、基準と規格のどちらが必要とされているかが決まってくるものと思われる。場合によっては両方が必要な場合もあるであろう。

## 8. 微生物規格の構成要素

コーデックスによる食品微生物規格(Microbiological Criteria)の一般原則<sup>4)</sup>は、現在コーデックス食品衛生部会において見直しの作業が行われているが、微生物規格の構成要素については、原則的には変わらない見込である。それは、・対象となる微生物あるいは毒素、・検査単位、・試験法(分析法)、そして・サンプリングプランである。サンプリングプランには、二階級法ならびに三階級法の二種類がある。試験法により検出される微生物種も検出限界も異なるため、これは明確に規定する必要がある。また、微生物汚染の不均一性に対応して、一定の確率でどのくらいの汚染濃度を検出するかは、サンプリングプランによって異なる。したがって、これら構成要素を総合的に規定しないと、微生物規格は成り立たないことを認識しなければならない。特にわが国において遅れているのが、サンプリングプランに対する理解である。この点は、統計学的に十分な証左に基づいて設定する必要があるため、椿・大西分担報告書ではその基礎からの検討を行っている。一方、ICMSFは上記15のケース分類毎に、典型的なサンプリングプランとそれによって実質的に達成できる微生物汚染の水準を示している<sup>3)</sup>。これを手がかりとすることも可能である。

## 9. 微生物基準の内容

基準にも、・製造基準、・加工基準、・保存基準、・出荷基準(家畜群ごとの処理区分など)、・消費者への提供規制(全面禁止、年齢制限など)など、様々な種類がある。7.で基準が選択された場合、さらにその内容を具体化する。

## 10. その他、考慮すべき要因

現行の規格基準の有無、新規規格基準設定の根拠とできるデータの存否と入手可能性、さらに規格基準設定の実効性(実行可能性、遵守度)などについて、検討する必要がある。

以上の要素について、表1ならびに表2に、生鮮肉類を例として整理した。これはまだ具体性を伴わないものであり、上記3～6、さらに8あるいは9について、対象要素を絞り込んだ後に実際の規格あるいは基準の原案が作成されるものである。次年度以降、実際の社会情勢を見据えつつ、必要な具体例を提案していきたい。

参考文献

- 1) Codex Alimentarius Commission: Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Management and its annex on Guidance on Microbiological Risk Management Metrics (CAC/GL 63- 2007) (2007)
- 2) ICMSF: Microorganisms in Foods 6, Microbial Ecology of Food Commodities, 2<sup>nd</sup> Edition, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (2005)
- 3) ICMSF: Microorganisms in Foods 7, Microbiological Testing in Food safety Management, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (2002)
- 4) Codex Alimentarius Commission: Principles for the Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods, CAC/GL 21 (1997)

表 1. 食品微生物規格基準を新たに設定する際に考えるべき要素 (肉類を例として)

食品種	管理すべき細菌性病原体(ICMSF)その他の病原体	ICMSFによるクラス分類	国内での食中毒事例	微生物規格 あるいは基準 設定の優先度	規格基準適用箇所	微生物規格設定 効果の期待度	衛生基準設定 効果の期待度	適切なのは 規格か基準か
牛肉、羊肉およびその他の反芻獣肉 (ミンチ肉を含む)	<i>Salmonella</i> spp.	13~15	+	高い		生食用であれば+ それ以外は±	生食用であれば+ それ以外は±	生食用については 両方
	STEC	13~15	+	高い		生食用であれば+ それ以外は±	生食用であれば+ それ以外は±	生食用については 両方
豚肉 (ミンチ肉を含む)	<i>Salmonella</i> spp.	13~15	+	高い	・原材料の仕入れ ・加工(製造)工程	生食用であれば+ それ以外は±	生食用であれば+ それ以外は±	生食用については 両方
	STEC	13~15	+	高い	・加工(製造)環境 ・最終製品	生食用であれば+ それ以外は±	生食用であれば+ それ以外は±	生食用については 両方
鶏肉 (ミンチ肉を含む)	<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	13~15	+	高い		生食用であれば+ それ以外は±	生食用であれば+ それ以外は±	生食用については 両方
	<i>Salmonella</i> spp.	13~15	+	高い		生食用であれば+ それ以外は±	生食用であれば+ それ以外は±	生食用については 両方

(例:最終製品の場合)

表 2. 微生物規格基準設定にあたり、さらに考慮すべき要素

微生物規格設定における考慮要因	想定される衛生基準	他に考慮すべき要因
<ul style="list-style-type: none"> <li>・代替微生物を対象として選択すべきかどうか</li> <li>・ICMSFのクラス分類にしたがったサンプリングプラン</li> <li>・試験法の選択</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・製造基準</li> <li>・加工基準</li> <li>・保存基準</li> <li>・出荷基準(群ごとの処理区分など)</li> <li>・消費者への提供規制(全面禁止、年令制限など)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・現行の規格基準があるかどうか</li> <li>・新規規格基準の達成目標(Performance)をどう設定するか</li> <li>・新規規格基準設定の根拠とできるデータがあるかどうか</li> <li>・規格基準設定の実効性(実行可能性、遵守度)はどの程度か</li> </ul>

## II. 分担ならびに委託研究報告

病原微生物汚染制御に向けた食品の分類法に関する研究

研究分担者	朝倉宏	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
協力研究者	五十君静信	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
	百瀬愛佳	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部

研究要旨

公益財団法人日本適合性認定協会が作成した食品分類表に、国際食品微生物規格委員会（ICMSF）が危害要因として定める微生物種を適合させることで、食品と危惧される病原体の組み合わせを作成し、さらに国内における流通食品の汚染実態と食中毒発生に係る情報を整理することで、個々の食品について病原微生物情報を参照できる分類表を作成した。これにより、特定の病原微生物について (i) 汚染実態が明らかでない食品群、(ii) 食中毒発生・食品汚染を認めるものの、規格基準が設定されていない食品群が抽出された。また、食肉食品では冷凍・生鮮の別の点において、食中毒統計データとは整合性が取れないことが明らかとなった他、内臓肉は枝肉とは異なる微生物挙動を顕すことが明らかとなった。今後は不足する情報を、更なる文献収集と実験データにより補い、微生物リスクの観点から食品分類の体系的整理・精査を行っていきたい。

A. 研究目的

わが国を含む先進諸国では主要な消化器系感染症が減少する中で、食中毒患者は届けられる数だけでも毎年 3~4 万人に達しており、顕著な減少傾向は認められない。その理由は種々あると思われるが、最大の原因は、細菌性食中毒の原因となる微生物が、元々自然環境の構成員であること、或いは製造・加工を通じた二次汚染等によると考えられる。従って、これを防ぐには原因菌それぞれの生息域・汚染過程を掌握し、汚染されやすい食品群と汚染菌の種類について理解することが重要であろう。

本研究では、公益財団法人日本適合性認定協会（JAB）が規定した食品の分類表を基に、(i) 国際食品微生物規格委員会（ICMSF）が取りまとめた、食品の衛生管理にあたって危害要因となる微生物（細菌）の種別を、食品・食材別に適合させた。これにより作成された食品・微生物の組み合わせを対象に、(ii) 現行の食品衛生法

において設定されている微生物の規格基準（細菌の種別および菌数）を比較できる形で統合すると共に、(iii) 国内に流通するこれらの食品についての汚染実態・食中毒発生動向をデータベース検索により明らかにすることで、食品における微生物学的情報の整理を行い、今後精査すべき微生物・食品群の組み合わせについての情報を得たので報告する。

B. 研究方法

1. JAB 分類表と ICMSF データの統合

本研究では、JAB が作成した食品分類表 R204-添付 5「試験の種類で申請する微生物試験所が妥当性確認・検証時に用いる対象品目分類表」を基に、国際食品微生物規格委員会（ICMSF）が定める、食品の衛生管理にあたり危害要因となる対象微生物（ICMSF Microorganisms in Foods 第 6 巻）を食品群ごとに追加することで、検討対象とするべき食品・微生物のリストを作

成した(表1~表10)。

## 2. 国内食中毒統計データの収集

過去5年間に国内で発生した食中毒事例について、厚生労働省・食中毒統計データを通じて検索を行ない、食中毒発生のある食品-微生物の組み合わせを、表1~表10に追記した。

## 3. 食品における微生物汚染実態の文献検索

表1~表10でリスト化した食品群と微生物の組み合わせを検索対象用語として、医学中央雑誌データベース(<http://search.jamas.or.jp/>)を用い文献検索をおこなった。ヒットした文献の中で、汚染率が明記されているもののみを更に抽出し、数値を表1~表10に追記した。検索用語・検索日時・ヒット数・抽出数については、表11~表20に記載した。

## 4. ウシ内臓肉における EHEC O157 の消長試験

カナマイシン耐性遺伝子を形質転換により腸管出血性大腸菌(以下 EHEC) O157 204 株に付与した(204-Km)。これを約  $1.7 \times 10^3$  CFU となるよう、5g のウシ内臓肉(小腸)およびロース肉に接種した後、4°Cにて、0、1、3および7日間保存した。各保存時点において、サンプルを45ml の緩衝ペプトン水(BPW)中に懸濁した後、42°Cで20時間培養し、カナマイシン(30µg/ml)を含む CT-SMAC 寒天培地(栄研化学)(CT-SMAC-Km)上に発育したコロニー数を求めた。同様の条件で、別途-20°Cにおける消長についても観察した。また、約  $1.7 \times 10^3$  CFU の 204-Km 株に対して、内臓肉より分離された乳酸菌(LAB-1~3)および大腸菌(EC-1~3)約  $1.3 \times 10^3$ ~ $5.1 \times 10^3$  CFU を5ml の BPW に添加し、4°Cにて0、1、3および7日間、共培養した。204-Km 株の生菌数は、CT-SMAC-Km 上でのプレートカウントにより求めた。

## 5. 食品微生物用語の整理

食品微生物学分野には、医科微生物学とは異なる用語が存在する。衛生管理に関する用語の中で、特に大腸菌・糞便性大腸菌・大腸菌群・腸内細菌等の用語について、図式化を行い、整理を行った(図2および表23)。

## C. 研究結果

### 1. 食品の分類を通じて得られた各食品群の微生物学的特徴

本研究では、JAB が作成した食品分類表 R204-添付5「試験の種類で申請する微生物試験所が妥当性確認・検証時に用いる対象品目 分類表」を基に、国際微生物規格委員会(ICMSF)が定めた、危害要因となる微生物種を要素として加えることで、検討対象とすべき食品-微生物の組み合わせを構築した。過去5年間の「厚生労働省食中毒統計」による食中毒発生動向と、文献検索による国内に流通する各食品群の汚染実態データを収集し、上述の組み合わせに適合させることで、各食品群について以下の微生物学的特徴を得た。併せて、代表的な食品微生物学用語について、それぞれの関係を図1および表23にまとめたので参照されたい。

#### 【穀類】—表1, 表11

本食品群は、水分(20%)により分類された後、形状もしくは発酵の有無により細分された。一部の加熱加工食品においては汚染実態データが十分には得られていないことが明らかとなった。本食品群に関連する食中毒の多くは、複数の原材料・食材が混在する、いわゆる惣菜調理品によるものであり、主要な原因菌はセレウス菌および黄色ブドウ球菌であった。

#### 【野菜・果実・種実類】—表2, 表12

本食品群は、水分(30%)により大別された後、糖度(30%)および発酵の有無により更に細分されていた。保存食品として供される、いわゆる漬物のうち、包装容器に充填後、加熱殺菌したものを食品衛生法上では「漬物」と称し、カビ・酵母の基準を設けている。また、一夜漬(または浅漬)については、これに加えて大腸菌陰性・腸炎ビブリオ陰性の基準を設けている。しかしながら、食中毒統計資料において、これらの明確な区別化ははかられておらず、分類情報の共有化が体系的な衛生管理を行なう上で好ましいと考えられた。浅漬あるいは白菜



キムチ漬による病原性大腸菌食中毒の発生動向を見る限りにおいて、現行の浅漬けに対する規格基準を少なくとも緩和する必要性は少ないと考えられた。

生野菜については、セレウス菌による汚染実態と食中毒発生が認められたが、これに該当する基準は、食品衛生法の規格基準および衛生規範において設定されていなかった。

#### 【きのこ類】—表 3, 表 13

本カテゴリーに属する食品群については、病原性細菌に関連する食中毒発生や汚染実態データは見当たらず、自然毒に起因するものが多数を占めた。

#### 【魚介類】—表 4, 表 14

本食品群は、水分(20%)を指標として中分類された後、加熱の有無により更に分類された。生鮮魚介類においては、サルモネラによる食中毒の発生と当該食品の汚染実態が認められたが、現行法では当該食品におけるサルモネラ基準は設定されていなかった。惣菜として提供される場合においても、一般生菌数の基準が設定されるにとどまっており、今後検討する余地があると考えられた。

加熱加工食品の中では、「魚肉ねり製品」によるサルモネラ・カンピロバクター食中毒の発生が認められたが、これに関連する汚染実態データは文献検索から得ることができなかった。食品衛生法では大腸菌群陰性の基準が設定されているため、サルモネラに対しては、現行法を変更する必要性は少ないと目されたが、カンピロバクターに対しては、二次汚染防止等の衛生管理を徹底する必要性が考えられた。

塩辛・いずしについては、ボツリヌスおよび腸炎ビブリオによる食中毒発生が認められたが、国内の食品汚染実態データとして、検出された事例は存在しなかった。腸炎ビブリオ食中毒の原因食品となったイカ塩辛は、通常よりも低濃度の塩分(約4%)を用いて製造されていることから、本食品については微生物の挙動に合致し

た分類が必要かもしれない。また、ボツリヌス対策についても今後考慮すべき課題であろう。

#### 【食肉製品】—表 5, 表 15

食肉製品は、水分30%を第一基準、加熱の有無を第二基準として、細分されていた。

乾燥食肉製品(5-A)：汚染実態データは少なく、関連する食中毒発生の報告は過去5年間なかった。食品衛生法上、当該食品については *E. coli* 陰性が基準として定められており、ICMSF が定義している監視対象微生物の多くは、現行の規格の対象となるものと考えられる。

生鮮食肉製品(5-B-1)：食中毒統計における原因食品の項では、冷凍・生鮮の区別を明確に行うことが困難であったため、冷凍・生鮮毎に食中毒発生との因果関係を明らかにすることは不可能であった。ICMSF では、冷凍食肉に対して、生鮮食肉よりも多種類の微生物を危害要因として設定している(サルモネラ、腸管出血性大腸菌に、大腸菌、カンピロバクター、黄色ブドウ球菌、ウェルシュ菌が追加されている)。一方、食品衛生法においては冷凍・生鮮別の明確な区別はなく、加熱加工による分類が行われている(表 24)。このような分類の違いも今後検討すべき課題の一つと考えられる。また、生食用食肉(牛馬肉、内臓を含む)については、*E. coli*・サルモネラ属菌陰性の基準があるが(表 24、生衛発第 1358 号)、これはわが国における独特の食習慣に対応したものであり、生食用食肉に対する国際的微生物基準は存在しない。しかしながら、生食用に供される食肉に起因した食中毒は依然として多数発生しており、当該食品における病原微生物の汚染実態については改めて検証する必要があると思われる。

加熱加工食肉製品(5-B-2)：惣菜として供給される食品として、ウェルシュ菌による食中毒事例が報告されていたが、これに係る食品汚染実態情報は文献検索により得ることができなかった。それ以外の微生物に関しては現行の規格基準の制御範囲にあると考えられた。

#### 【卵類】—表 6, 表 16

卵類は、生鮮および加熱加工品の 2 種に分類された。周知のとおり、本食品群はサルモネラ属菌による汚染を広範囲に受けており、食中毒事例との関連も高いことから、現行の食品衛生法においても基準の対象としている。過去 5 年間の食中毒統計資料から、卵類によるサルモネラ食中毒は、飲食店や給食施設等の大量調理施設で調理された、ゆで卵や玉子焼き等、いわゆる惣菜調理品に起因していることが明らかになった。従って、こうした大量調理施設における衛生管理の徹底と改善指導が今後の最も重要な課題のひとつといえよう。生鮮品（食鳥卵）におけるサルモネラ汚染情報は存在したが、加熱加工食品（惣菜）におけるサルモネラ属菌汚染実態に関する文献情報は得られなかった。

#### 【乳類】—表 7, 表 17

乳類は、水分 20%を第一基準として、水分 20%未満の食品は更に、脂肪分（70%）により分類されていた。また、水分 20%以上の食品は、生鮮品・加熱加工品・発酵品に分類されていた。過去 5 年間では、アイスクリームを原因食品とするサルモネラ食中毒が報告されていたが、これに関連する食品汚染実態調査データは文献検索により得られなかった。アイスクリーム製品は、アイスクリーム・アイスマルク・ラクトアイスのそれぞれについて、微生物基準（一般細菌数・大腸菌群数）が定められており、上記細菌種に対する衛生管理にも一定の有効性を示すとも考えられたが、これについては精査する必要があると考えられる。

#### 【菓子類・糖類・油脂類】—表 8, 表 18

本食品群は、水分 20%を指標として分類された後、更に脂肪分（10%）により分類された。洋生菓子の中で、ケーキやデニッシュペストリーでは黄色ブドウ球菌による食品汚染および食中毒の発生が認められた。一方、プリンやティラミス等の洋生菓子ではサルモネラ食中毒が発生していたが、当該食品におけるサルモネラの

汚染実態データを文献情報として収集することはできなかった。これら洋生菓子に対しては、衛生規範により、一般生菌数 10 万/g 以下、大腸菌群陰性・黄色ブドウ球菌陰性といった微生物基準が定められているため、前者の黄色ブドウ球菌に関する基準については変更する必要性は少ないと考えられた。同様に「もち」等の和生菓子についても黄色ブドウ球菌の汚染実態データは得られたが、食中毒発生の認められたサルモネラ属菌に関する汚染データは得られず、更に食品衛生法・衛生規範における基準対象とはなっていなかった。この点については、今後議論する必要があると思われる。

#### 【嗜好飲料】—表 9, 表 19

嗜好飲料は、タンニン濃度 0.05g/ml を基準として分類されていた。このうち、タンニン 0.05g/ml 以下の食品群に分類される、清涼飲料水・粉末清涼飲料について、ICMSF ではカンピロバクター (*C. jejuni/coli*) を危害要因としてあげている。国内においても、当該食品によるカンピロバクターによる食中毒は複数発生していたが、汚染実態データを文献情報として得ることはできなかった。上記食品は、製造・加工食品ではないため、原料の衛生管理をより図る必要があると考えられる。また、現行の微生物基準に、カンピロバクターは含まれていないため、今後議論する余地があると思われた。

#### 【調味料および香辛料】—表 10, 表 20

調味料は、ドレッシング類と発酵品に分類されていた。この中では、マヨネーズを含むサラダドレッシングによるサルモネラ食中毒が 1 件のみ記載されていたが、国内の該当食品よりサルモネラが検出された文献報告はなかった。現行法において、サルモネラに係る規格基準は設定されていなかった。また、香辛料についてはサルモネラ等の食中毒を引き起こす可能性があることを踏まえ、関連業界団体は食品衛生法の加工基準として 94 品目を対象に放射線処理の許可を求めている。

## 2. ウシ内臓肉における EHEC O157 の消長

食肉製品の中で、内臓肉は食品衛生法上、枝肉と同様に取り扱われているが、後者に比べて、汚染実態に関するデータは殆ど得られなかった。また、食中毒統計によると、当該食肉食品に起因する細菌性食中毒は多数発生していることが明らかとなった。こうしたことから、我々はウシ内臓肉における EHEC O157 の消長をロース肉のそれと比較することで一見解を得た。図 2 にその成績を示す。ウシ内臓肉（小腸）を 4℃で冷蔵保存した場合の EHEC O157 の菌数は、ロース肉に比べて、有意に減少傾向を示した（図 2A）。小腸サンプルに含まれる乳酸菌の菌数は精肉サンプルに比べて高い傾向を示し、これらとの共培養により EHEC O157 の生存性は顕著に減少することが明らかとなった（図 2B）。また、冷凍条件下では EHEC O157 の生存性は 4℃の場合に比べて、顕著に減少した（図 2C）。これらのことから、我々は当該食肉製品における常在細菌叢が EHEC O157 の生存性に大きく影響を及ぼすことを実証すると共に、ウシ内臓肉における EHEC O157 は冷凍処理により比較的速やかに低減できることを示した。

## D. 考察

食品のグローバル化が進む昨今、わが国においても輸入食品の増加と多様化に対応する必要性に迫られている。特に、病原微生物の制御に根ざした食品の衛生管理は、食中毒の発生を予防するために必要不可欠な課題であり、国際的に互換性のとれる情報の収集と共有化がその前提となるため、これに関連する試験法の統一化をはじめ、現在国内外で各方面から検討されているところである。

平成 19-21 年度に行われた厚生労働科学研究冷凍食品の安全性確保に関する研究（主任研究者：春日文子）では、冷凍食品の安全性確保のためにその規格基準のあり方を再検討し、冷凍食品および同様の温度帯で流通する食品に関する科学的な規格基準設定の理論を構築すること

を目的とし、1. 当該食品の流通実態調査、2. 微生物汚染実態調査、3. 低温帯での食品保存試験、4. 諸外国の微生物規格基準の調査、5. 微生物規格設定のための基礎資料の整理を行った。この中で、特に海外における微生物規格基準の調査を通じて、国際間で異なる食品が消費され、また異なる分類が行われていることが明らかとなった。

国際的な食品の分類には ISO16140 の Annex B 「Classification of sample types for validation studies」が用いられることが多いが、わが国は特有の食文化を有していることから、ISO で規定されない食品群が多数存在する。ISO をはじめ分類法の多くでは、食材別の大分類が行われる点において共通性を有するが、より詳細な分類に際しては異なる指標が用いられている（一例として、ISO では主に加工工程による分類が、日本の食品衛生法においては主に加熱の有無による分類が用いられている）。従って、これらの分類法の間では整合性をもった解釈を行うことが非常に困難である。これらの間に互換性を見出すことができ、かつ国内流通食品を対象とする点を考慮に入れることが、本研究で行うべき、微生物学的な食品分類作業には必要であると考えられた。

国内の食事情を鑑み、文部科学省 科学技術・学術審議会 資源調査分科会では、検証用の食品分類「対象品目（食品）分類表—妥当性確認・検証用（改訂 2）」を作成している。これに倣い、JAB の化学分野技術委員会では第 29 回食品・医薬品・微生物試験所認定プログラム分科会において、文部科学省が策定した食品分類案を基本軸として検討を行なった上で、(i) 該当する食品例、および(ii) 対応する ISO16140 Annex B 食品群を併記すると共に、(iii) AOAC INTERNATIONAL Presidential Task Force on Best Practices for Microbiological Methodology Appendix B - Matrix Extension WG Report, 2006 を参考として、微生物の増殖の要因となる食品成分（阻害要因も含め）の基準を定め、「中分類」

「小分類」からなる複合的な食品分類表を策定した。この分類表は、上述に掲げた国際的な情報共有化が容易であると共に、わが国の食事情をも反映している。更に、当該分類表は微生物の試験所において、妥当性確認・検証を行うために作成された経緯を有しており、国立医薬品食品衛生研究所を主体として現在進められている「食品からの微生物標準試験法検討委員会」(<http://www.nihs.go.jp/fhm/kennsahou-index.html>)においても採用されていることから、JAB分類表を用いた検討は、整理された事案に対して、実験的試験・研究を行う場合にも柔軟に対処しうる方法として、使用する意義が大きいと考えられた。

こうした背景から、本研究では JAB が作成した食品分類表を基本軸として採用し、ICMSF が危害要因と定義する細菌性微生物を各食品群にプロットした上で、個々の食品群・微生物の組み合わせについて、(i) 国内流通食品の汚染実態データ、および (ii) 食中毒発生動向を精査し、現行の微生物に対する食品の規格・基準として、改善・情報の収集につとめるべき課題を見出すための検討をおこなった。

食品群・微生物群の組み合わせを精査した結果、(i) 微生物汚染実態状況を更に精査する必要があると思われる組み合わせ、(ii) 食中毒発生・食品汚染実態が明らかとなった食品・微生物種の組み合わせのうち、現行の規格基準・衛生規範において直接の管理対象となっていないものが抽出された。(i) については実験的検証作業が今後必要になろう。また、(ii) の中には規格基準の設定のみならず、衛生管理の啓蒙活動によって改善される内容も多分に包含していると考えられる。以下にその概要を述べる。

(i) 微生物汚染実態状況を更に精査する必要があると思われた組み合わせ (表 21)

加熱加工食肉製品におけるウェルシュ菌については、食品内の嫌気度が保存中に上昇することが汚染拡大の要因と考えられていることから、製造および流通過程における衛生管理の改善が

最も必要な課題であると考えられる。アイスクリーム類および洋生菓子については、サルモネラ汚染実態が不明であった。これらの食品群は食品衛生法における規格基準あるいは衛生規範として、大腸菌群陰性の基準があることから、これを変更する必要性は少ないと考えられた。和菓子については、規格基準・衛生規範共に適用されるものがないため、今後の検討課題であろう。飲料水については、カンピロバクターおよびボツリヌス食中毒事例が報告されていたが、それらの汚染実態データは不明であった。いずれも周囲の家畜等の糞便汚染がその感染要因と目されることから、原料水の衛生基準として、糞便汚染指標菌として現在用いられている大腸菌群の有用性については今後検討する必要があるかもしれない。このほか、かまぼこをはじめとする加熱加工魚介類食品については、腸管病原細菌による食中毒が発生していたが、現行の規格基準である大腸菌群陰性により、その多くは対応可能であると考えられた。

(ii) 食中毒発生・食品汚染実態が明らかとなった食品・微生物種の組み合わせのうち、現行の規格基準・衛生規範において直接の管理対象となっていないもの (表 22)

穀類に属する「ゆでめん」についてはサルモネラ食中毒ならびに当該菌の汚染データが存在したが、衛生規範では大腸菌群陰性の基準が設定されているため、その多くは現行基準で対応できると考えられた。野菜・果実・種実類の中では、生野菜・生種実に関し、サルモネラや腸管出血性大腸菌 O157 に関する管理をより徹底する必要性が考えられたが、これらの食品から上記病原体が検出される割合は極めて低く、実験により汚染実態を検証する意味合いは少ないと考えられた。生種実におけるセレウス菌汚染実態データは文献情報として得られず、汚染実態の把握に努める必要性があると考えられた。

魚介類の中で、生食用鮮魚介類については、サルモネラ食中毒汚染が報告されていたが、規格基準では腸炎ビブリオ、衛生規範では一般生

菌数の基準のみであることから、その対策にあたっては今後検討すべき課題と考えられる。また塩蔵卵については、リステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) が危害微生物として挙げられており、汚染報告もあるが、わが国における食中毒との関連性についてはいまだ不明である。その評価には、疫学情報の収集が今後必要となるであろう。塩辛については、ビブリオ属菌による食中毒発生が報告されていたが、文献情報として当該食品よりビブリオ属の検出状況を示すものは得られなかった。現行の食品衛生法においては当該微生物に対する基準が設定されておらず、衛生規範では無加熱摂取食品として、一般生菌数 10 万/g 以下、大腸菌群陰性の基準が設定されているに過ぎない。他の生鮮魚介類のように、腸炎ビブリオの基準設定等が予防には有効かもしれないが、微生物の挙動等、情報を更に精査する必要があると思われる。

牛乳・乳飲料については、黄色ブドウ球菌の汚染実態と食中毒発生が認められたが、当該食品の基準として設定されているのは、一般生菌数 5 万/g 以下、大腸菌群陰性のみであり、今後精査する必要があるだろう。同様に、和生菓子についても、黄色ブドウ球菌との関係が重要であることが明らかとなり、その対策について議論する必要性があると思われる。

自主的衛生管理に資することを目的として通知される衛生規範では、惣菜や洋生菓子を含め、複数の食品群に対し、微生物基準が設定されている。沖縄県が平成 17 年に行った、衛生規範に関する調査研究では、市販弁当・惣菜のうち、加熱製品では 2.3% (8 検体/346 検体)、未加熱または未加熱物を含む製品では 2.6% (7 検体/266 検体) で一般生菌数が基準値 (10 万 CFU/g) を超えていた。本研究で分類を行った食品・微生物の組み合わせのうち、特に洋生菓子等についてはサルモネラに対する規格基準が設定されておらず、今後検討が必要な箇所になると目される。また、和菓子については規格基準のみならず、衛生規範も存在しないことから、更なる情報の収集と精査が必要であろう。

わが国では生食文化が多数の食品群において認められるが、生食用食肉に対しては厚生省通知により、衛生管理基準が別途定められている。しかしながら、腸管出血性大腸菌やカンピロバクターによる食中毒は、依然として多数発生しており、当該食肉製品に対する衛生の徹底と情報の更なる収集・精査が求められる。現在、食品安全委員会研究事業では、ウシ内臓肉における EHEC の汚染率に関する検討が行われており (主任研究者：春日文子)、229 検体の内臓肉のうち、38 検体 (16.6%) は志賀毒素遺伝子 (*stx*) が陽性を示し、更に 8 検体では血清型 O157 に特異的な遺伝子 *rfbE*<sub>O157</sub> が陽性となることが明らかになっている。このことは国内に流通する内臓肉は EHEC の汚染を広範囲に受けており、消費にあたっては加熱等の微生物汚染対策を講じるべきであることを示している。本研究の中では、EHEC O157 の内臓肉中における消長について検討し、当該病原体は内臓肉中において比較的速やかに生存性を減少させることを明らかにした。しかしながら、国内で生産される当該食品の多くは冷凍されることなく、ウシ生体をとさつ・解体した後、速やかに製品として出荷・流通され、その一部は未加熱の状態で消費されている (生レバー、生センマイ等)。従って、新鮮な状態で消費される当該食品の多くは、枝肉と同様に O157 の感染リスクを有しているといえよう。本研究では更に冷凍処理が O157 の菌数をより顕著に低下させることを示している。こうした処理工程は、微生物学的安全性の向上に寄与するかもしれないが、完全な滅菌には至らない。従って、最も有効な予防手段が十分な加熱によるものであることはいうまでもない。

## E. 結論

本研究では、微生物 (細菌) 学的リスクを主眼においた食品の分類表を提案した。国内の食品汚染実態・食中毒発生状況の情報の収集と食品衛生法における規格基準の設定を比較することで、(1) 今後汚染実態調査が必要となるであろう、あるいは (2) 現行の食品衛生法では規格基準が設定され

ていない、食品-病原微生物の組み合わせ例を挙げることができた。また、幾つかの食品については、食品衛生行政における食品分類の統一化が疫学情報の活用に寄与すると考えられた。更に、ウシ内蔵肉は枝肉と異なる微生物挙動を示すことを明らかにした。今後はこれらの点を踏まえ、微生物学的観点から食品分類の整理・評価を進めていきたい。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表 (発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

該当なし

##### 2. 学会発表

Asakura H, Makino S, Okada Y, Kasuga F, Yamamoto S, and Igimi S. *In vivo* passage modulates acid tolerance responses in *Listeria monocytogenes*. International Association of Food Protection, 2010 Annual Meeting (2010.08) at CA, USA.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

該当なし

表1. 穀類、いも及び豆類に関する分類表

大分類	小分類	食品種	管理すべき細菌性病原体(ICMSF)		国内流通食品の汚染状況		食品衛生法等における規格基準		
			病原体	陽性率(%)	参考文献	国内での食中毒事例*	分類名称	対象病原体(菌数)	
1 穀類、いも及び豆類	1-A	穀類、ブレミックス	小麦粉、シリアル、コーンスターチ、 ケーキミックス	<i>Salmonella</i> spp.	-	-	-	穀類	原材料として、耐熱性菌(芽胞菌)1000/g以下
				<i>Salmonella</i> spp.	-	-	-	穀類加工品	-
				<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-
		乾麺、パスタ	そうめん、干しうどん(そば)、スパゲッティ						
		1-B-1							
		米飯、麺類、豆腐類	白飯、おにぎり	<i>S. aureus</i>	0-1.2x10 <sup>2</sup> CFU/g	4-7	+	穀類加工品	衛生規範として一般細菌10万/g以下、大腸菌・黄色ブドウ球菌陰性
			ゆでそば、ゆでうどん、ゆでスパゲッティ	<i>C. botulinum</i>	-	-	-	穀類加工品	衛生規範として一般細菌10万/g以下、大腸菌群・黄色ブドウ球菌陰性
				<i>Salmonella</i> spp.	-	2(食中毒事例)	-	(ゆでめん類)	
				<i>S. aureus</i>	0	1	+	-	
		豆腐、生揚げ		<i>Salmonella</i> spp.	0	3	-	豆腐類	衛生規範として一般細菌10万/g以下、大腸菌・黄色ブドウ球菌陰性
		豆乳		<i>S. aureus</i>	0	3	-	-	
		1-B-2							
		発酵品	(冷凍)パン生地 納豆	<i>Salmonella</i> spp.	-	-	-	パン生地	-

\* 過去5年間の食中毒統計に基づく

表2. 野菜、果実、種実類に関する分類表

大分類	小分類	食品種	管理すべき細菌性病原体 (ICMSF)		国内流通食品の汚染状況		国内での食中毒事例*		食品衛生法等における規格基準		
			病原体 (ICMSF)	病原性	陽性率 (%)	参考文献	食中毒事例	分類名称	対象病原体 (菌数)		
2 野菜、果実、種実類	2-A-1 糖度30%以下 乾燥野菜	-	-	-	-	-	-	-	-	野菜加工品	-
		ナッツ類、ピーナッツ/バター	<i>Samonella</i> spp.	海外情報のみ (食中毒事例)	1	-	-	-	-	-	果実加工品
-----											
2 野菜、果実、種実類	2-B-1 糖度30%以下 生野菜	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		生鮮野菜	Bacterial enteric pathogens <i>L. monocytogenes</i> <i>C. botulinum</i>	0-2.4% (2/82) 5.9% (1/17) 0%	4, ** 2 3	-	-	-	-	-	生鮮野菜
2 野菜、果実、種実類	発芽野菜	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		生フルーツ	<i>Samonella</i> spp. <i>E. coli</i> O157 <i>Bacillus cereus</i>	0%(0/78)-0.9% (3/323) 0%(0/78), 0% (0/682) 41.1%(23/56)	2, ** 2, ** 2	-	-	-	-	-	生鮮野菜
2 野菜、果実、種実類	カット野菜	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		生フルーツ	<i>Samonella</i> spp. <i>E. coli</i> O157	-	5 (食中毒事例)	-	-	-	-	-	生鮮果実
2 野菜、果実、種実類	カット野菜	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		カットフルーツ	<i>L. monocytogenes</i> <i>C. botulinum</i>	-	-	-	-	-	-	-	【衛生規範における製品の基準】 未加熱処理製品 惣菜類になる場合:
2 野菜、果実、種実類	果実果汁、ピューレ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		果実果汁、ピューレ	Bacterial enteric pathogens <i>L. monocytogenes</i> (メロン)	-	-	-	-	-	-	-	【衛生規範における製品の基準】 未加熱処理製品 惣菜類になる場合:
2 野菜、果実、種実類	果実果汁、ピューレ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		清涼飲料水 (りんごジュースは大腸菌群陰性のみ) 原料用果汁	<i>Samonella</i> spp. <i>E. coli</i> O157	-	-	-	-	-	-	-	大腸菌群陰性、腸球菌陰性、緑膿菌陰性
-----											
製造基準のみ											



容器包装詰加圧 加熱殺菌食品	細菌陰性					
容器包装詰加圧 加熱殺菌食品	細菌陰性					
冷凍野菜、冷凍果実果汁(柑橘類 を除く)	製造基準のみ					
一夜漬け(浅漬け)	衛生規範において、カビ陰性、酵 母1000/g以下、大腸菌・腸炎ビ ブリオ陰性					
ジャム類	-					
漬物(包装容器に 充填後加熱殺菌 したもの)	衛生規範において、カビ陰性、酵 母1000/g以下					
清涼飲料水	大腸菌群・腸球菌・緑膿菌陰性					
原料用果汁	製造基準のみ					
冷凍果実飲料	製造基準のみ					
【衛生規範におけ る製品の基準】 未加熱処理製品;惣菜類になる場合	衛生規範として、一般細菌数100 万/g以下					

\* 過去5年間の食中毒統計に基づく  
\*\* 厚生労働省 平成18-20年度食品の食中毒菌汚染実態調査結果による

表3. きのこ類に関する分類表

大分類	小分類	食品種	管理すべき細菌性病原体(ICMSF)	国内流通食品の汚染状況 陽性率(%)	国内での食中毒事例 参考文献	食品衛生法等における規格基準 分類名称	対象病原体(菌数)
3	きのこ類	3-A					
		水分20%未満	-	-	-	乾燥きのこ類	-
		干しいたけ、乾燥キノコ類					
		3-B-1					
		しいたけ、しめじ、マツタケ類	<i>C. botulinum</i>	-	-	きのこ類	-
			Enteric bacterial pathogens	-	-		
		3-B-2					
		水煮缶詰類等	<i>C. botulinum</i>	-	-	容器包装詰 加圧加熱殺 菌食品	細菌陰性
			<i>S. aureus</i>	-	-		
			Enteric bacterial pathogens	-	-		

\* 過去5年間の食中毒統計に基づく

表4. 魚介類に関する分類表

大分類	小分類	食品種	管理すべき細菌性病原体 (ICMSF)	国内流通食品の汚染状況		国内での食中毒事例*	食品衛生法等における規格基準			
				菌性率 (%)	参考文献		分類名称	対象病原体 (菌数)		
4 魚介類	4-A	水分20%未満 煮干、鰹節、するめ、干しエビ	-	-	-	-	-	魚介乾製品	-	
			4-B-1	甲殻類(エビ、カニ等)、軟体動物(イカ、タコ等)	<i>Vibrio</i> spp.	<i>V. vulnificus</i> : 6-43.7%	1,2	腸炎ビブリオ100CFU/g以下	腸炎ビブリオ100CFU/g以下	
	生鮮品	それ以外の魚介類	<i>C. botulinum</i> Type E <i>Vibrio</i> spp.		7.7% (11/142) <i>V. cholerae</i> non-O1: 15-85% <i>Vibrio</i> spp. 1.2-33.3%	3 5 9	(ゆでたこ、ゆでがりにあつては腸炎ビブリオ陰性、冷凍ゆでがりに、冷凍ゆでたこにあつては、これに細菌数10万/g以下、大腸菌群陰性をくわえる)	腸炎ビブリオ100CFU/g以下 細菌数5万/g以下、大腸菌230/g以下 むき身にあつては、+腸炎ビブリオ100/g以下		
	4-B-2	非加熱加工品 魚肉すり身	塩蔵魚卵(いくら、すじこ、たらこ、明太子) <i>L. monocytogenes</i>	Enteric pathogen(生食の場合)	<i>V. cholerae</i> : 0.1%(O1), 37.7%(non-O1)	4	-	-	生食用鮮魚介類	腸炎ビブリオ100CFU/g以下
				それ以外の魚介類	<i>L. monocytogenes</i> : 9.0%(24/266) <i>Salmonella</i> spp. 0.6%(1/181)	13 **	-	-	生食用鮮魚介類	腸炎ビブリオ100CFU/g以下 細菌数5万/g以下、大腸菌230/g以下 むき身にあつては、+腸炎ビブリオ100/g以下
	4-B-3	加熱加工品 スモークサーモン	ゆでがりに、ゆでエビ	冷凍魚介類	-	-	-	-	生食用冷凍鮮魚介類	細菌数10万CFU/g以下、大腸菌群陰性、腸炎ビブリオ100CFU/g以下
				魚肉すり身	-	-	-	-	-	魚肉すり身
	4 魚介類	4-B-2	非加熱加工品 魚肉すり身	塩蔵魚卵(いくら、すじこ、たらこ、明太子) <i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>	辛子明太子: 11.1(16/144)-67%(6/9) すじこ100%(1/1)	11,12	-	いくら、すじこ、たらこ	-
					<i>C. botulinum</i> Type E	-	-	-	-	-
		4-B-3	加熱加工品 スモークサーモン	ゆでがりに、ゆでエビ	<i>L. monocytogenes</i>	14.1%(27/192)-27.8%(5/18)	13,15	-	魚介類加工品 (無加熱採取食品)	衛生規範において、細菌数10万/g以下、大腸菌群陰性
<i>C. botulinum</i> Type E					-	-	-	-	-	
4-B-3		加熱加工品 スモークサーモン	ゆでがりに、ゆでエビ	Enteric pathogen	-	-	-	-	-	
				<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	
4-B-3		加熱加工品 スモークサーモン	魚肉練り製品	Enteric pathogen	-	-	-	-	-	
				<i>C. botulinum</i> (カニ缶の場合)	-	-	-	-	-	
4-B-3		加熱加工品 スモークサーモン	魚肉練り製品	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	魚肉練り製品	大腸菌群陰性
				Enteric pathogen	-	-	-	-	-	-

14(カンピロバクター・サルモネラ属中 毒事例)

