

9. 試験に用いる虫卵数の検討

本試験における添加虫卵数を決定するための試験を行った。

9.1. 試験操作

模擬検体は回虫卵が 125 個/50 g、250 個/50 g、500 個/50 g、1,000 個/50 g として調製した。試験数は n=1 とした。操作はストマッカー法、虫卵の計測は沈殿法によった。

9.2. 試験結果

虫卵 125 個では 34 個（回収率：27%）、虫卵 250 個では 16 個（回収率：6%）、虫卵 500 個では 187 個（回収率：37%）、虫卵 1,000 個では 1,147 個（回収率：>100%）が回収された。安定した虫卵回収が見込めむために、試験に用いる虫卵数は 1,000 個/50 g とした。

表 2. 試験の用いる虫卵数の設定試験

	125 個/50 g	250 個/50 g	500 個/50 g	1,000 個/50 g
計測数	34	16	187	1,147
回収率 (%)	27	6	37	115

10. 従来法における検体量と検出感度の検討

ストマッカー法で試験可能な検体重量は従来法の半量の 50 g であった。そこで従来法に検体量 50 g を適用した場合、検体量 100g との間に検出率で差が出るかどうかを検討した。

10.1. 試験方法

模擬検体は 1,000 個/50 g および 2,000 個/100 g で調製し、各々を洗浄液 250 mL および 500 mL で処理して所定の操作を行い、沈殿法で虫卵の検出・計数を行った。

10.2. 試験結果

いずれの検査重量においても約 50%の虫卵が回収され、本試験において検査重量を 50 g としても、従来法のデータに不都合が出る危険性は乏しいことが確認された。

表 3. 従来法における検体量と検出感度の検討

白菜重量	50 g	100 g
使用洗浄液量	250 mL	500 mL
虫卵添加量	1,000 個/白菜 50 g	2,000 個/白菜 100 g
回収数	579	1,061
回収率 (%)	58	50

11. 本試験

従来法とストマッカー法により虫卵の回収試験を実施し、両者の結果を比較した。模擬検体は1,000個/50gで調製し、虫卵の検出・計数は沈殿法によった。試験数は各試験法につき5検体ずつ(n=5)とした。なお、模擬検体に用いた白菜に寄生虫卵汚染がないことを確認するため、虫卵無添加の白菜を用いて各試験法で試験し、陰性対照とした。試験数はn=1とした。

11.1. 試験結果

回収虫卵数は、従来法：467.2 ±100.2、ストマッカー法：375.8 ±89.4となった。得られた値はF検定で等分散と判断されたことから、t検定を行ったが、P(T<=t)の両側が0.17で0.05以上となり、有意水準5%で平均値の有意差は無いと判断された。なお陰性対照からは虫卵は全く検出されなかった。

表 4. 従来法とストマッカー法による寄生虫卵汚染白菜からの虫卵回収試験

	計測数					平均値	標準偏差
従来法	447	472	376	634	407	467.2	100.2
ストマッカー法	509	339	263	379	389	375.8	89.4

《結論》

寄生虫卵汚染食品からの虫卵回収法としてストマッカー法の導入が可能かを、従来法と比較して検討した。その結果、ストマッカー法による試験可能な検体の最大重量は50gであり、従来法の100gの半量となるが、両者の虫卵検出数に統計的な有意差は認められなかったことから、寄生虫卵汚染食品からのストマッカー法による虫卵の検出率は従来法と同等であることが確認された。

試験検査区分責任者： 秋葉 達也 印

3. 容器包装詰低酸性食品におけるボツリヌス対策に係る情報収集と
食品内挙動に関する研究

平成25年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
非動物性の加工食品等における病原微生物の汚染実態に関する研究
分担研究報告書

容器包装詰低酸性食品におけるボツリヌス菌対策に係る情報収集と
食品内挙動に関する研究

研究分担者	百瀬 愛佳	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
協力研究者	廣井 豊子	帯広畜産大学 畜産学部	共同獣医学課程
協力研究者	榊田 和彌	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

研究要旨

国内に流通する容器包装詰低酸性食品については、平成20年6月17日付食安基発第0617003号及び食安監発第0617003号において、ボツリヌス対策に係る指導通知が出されている。平成22年のボツリヌス食中毒対策状況に関するフォローアップ調査では、しかしながら、指導内容を逸脱する製品の流通が認められたことを受け、本分担研究では、通年で流通する「たくあん」製品を対象に、低温流通・保存の製品表示の有無、衛生指標菌検出状況および理化学性状（pH、酸化還元電位）に関する調査を行った。インターネット検索を通じて、低温流通・保存が表示されず流通する12製品が特定され、このうち9製品30検体を選定して、衛生指標菌検出及び理化学性状を調査した。指標菌の平均検出値は、一般細菌数が $1.2E+03 \pm 3.3E+03$ CFU/g、大腸菌群数が $2.3E+01 \pm 4.7E+01$ CFU/gであった。当該製品におけるpH・酸化還元電位の平均値はそれぞれ 4.4 ± 0.6 及び 115.5 ± 35.9 mVであったが、うち2製品・9検体のpHは、 5.24 ± 0.03 と厚生労働省による指導基準を逸脱していた。37°Cでの保存試験を通じ、pH値として指導内容からの逸脱を認めた製品では、9日目までボツリヌス菌が検出されたが、60日目には認められなかった。以上より、指導通知に適合しない容器包装詰低酸性食品が依然として国内に流通する実態が明らかとなった。ボツリヌス菌の食品内挙動については、保存温度帯等も考慮した上での継続的な検討が必要と思われる。

A. 研究目的

市場に流通する食品は、原材料や産地の多様化に加え、その容器包装形態にも近年、多様化の傾向がみられる。その中で、容器包装に密閉した常温流通食品は、その利便性から、様々な原材料に適用されているが、これに包含される食品としては、120°C4分以上または同等の加熱加圧殺菌がなされている「レトルトパウチ食品（容器包装詰加圧加熱殺菌食品）」のほか、pHが4.6を超え、かつ、水分活性が

0.94を超えるものであって、120°C4分間に満たない条件で殺菌を行う、いわゆる「容器包装詰低酸性食品」等が含まれる。レトルトパウチ食品に比べ、容器包装詰低酸性食品では、常温放置により、ボツリヌス菌等のヒト健康危害の高い病原微生物の食品内増殖を招く恐れがあることが報告されており、実際に平成11年には千葉県内では家庭内で誤って常温保存された容器包装詰の要冷蔵食品の喫食により、ボツリヌス食中毒が発生している。こうした

事態を踏まえ、厚生労働省では、平成 14-16 年度厚生労働科学研究「容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に対するリスク評価」を通じて、関連食品における汚染実態や食品内挙動、および海外のボツリヌス食中毒に関する情報収集等を行ってきた。その後開催された、厚生労働省 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会（平成 19 年 6 月 26 日開催）では、上記研究課題の成果並びにコーデックス委員会をはじめとした海外諸国の対応状況を鑑み、国内に流通する当該食品の原材料の処理および製造における管理措置として、①当該食品中のボツリヌス菌を除去する、②ボツリヌス菌の増殖を防止する、または③ボツリヌス毒素の産生を防止する、のいずれかをとることとし、①中心部温度を 120°C 4 分加熱する方法またはこれと同等以上の効力を有する方法での加熱殺菌を行うこと、②冷蔵（10°C 以下）保存、③適切な常温流通期間の設定を行うよう、通知が出された（平成 20 年 6 月 17 日付、食安基発第 0617003 号、食安監発第 0617003 号）。

その後、平成 24 年 7 月 27 日に開催された薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会では、平成 22 年 7～8 月に食品等事業者団体（45 団体）を通じて、ボツリヌス食中毒対策状況についてフォローアップ調査を行った結果が開示された。平成 20 年の通知時点または調査時点では、計 59 品目の食品が容器包装詰低酸性食品に該当するとの報告がなされ、このうち、①120°C で 4 分間または同等以上の条件で加熱殺菌を行っていた食品は 12 品目、②10°C 以下の冷蔵条件で流通されていた食品が 6 品目、③pH を 4.6 以下に調整していた食品が 1 品目、④水分活性を 0.94 以下としていた食品が 5 品目、⑤ボツリヌス菌もしくは代替となる指標菌の接種試験を行っていた食品が 21 品目、⑥対策の改善が必要だと考えられた食品が 14 品目であった（うち 2 品目は部会開催時において、すでに 120°C、4 分と同等以上の殺菌を実施するよう改善が図られたほか、5 品目は販売中止となっていた）。以後、十分な対応がとられていない可能性がある食品等事業者が含まれる団体については、厚生労働省担当

者による危害性の個別周知を図っているが、その後の流通状況を踏まえた調査はなされていない。前回の調査より、3 年間が経過していることから、現在における対応状況を把握することが求められている。本分担研究では、こうした背景から、平成 25 年度にインターネットを通じて、購入可能な容器包装詰低酸性食品の情報を収集すると共に、厚生労働省による指導内容の対応状況について、検証を行ったので、報告する。

B. 材料と方法

1. インターネットを通じた食品流通情報の収集

大手インターネットサイト（楽天市場 www.rakuten.co.jp およびアマゾン www.amazon.co.jp）を通じて、容器包装詰低酸性食品として流通する製品の検索を行った。検索にあたっては、参考資料 1 に掲示された製品名称を用いることとした。

2. 衛生指標菌定量試験

各検体を 100g に切り分けたものをストマック袋に入れ、ペプトン水を 100 ml 加え、1 分間ストマッキング処理した上清を試料とした。一般細菌数は調製試料原液および同希釈液 100 μ l を標準寒天培地 (Oxoid) 2 枚に塗抹し、37°C、24 時間培養後、検体 1g あたりの菌数を算出した。大腸菌群 (Coliforms) 数は同様に調整した試料液 100 μ l を VRBL 寒天培地 (Oxoid) 2 枚に塗抹し、37 °C、24 時間培養後、赤色を呈する集落を計数し、同じく検体 1g あたりの菌数を求めた。

3. ボツリヌス菌株の MLST 解析

A 型保存株（計 49 株）について、10ml のクックドミートブロス（日本 BD）中で、一夜嫌気培養した後、DNeasy kit（キアゲン）を用いて Total DNA を抽出した。MLST プロファイルの作成にあたっては、*Clostridium botulinum* MLST database (<http://pubmlst.org/cbotulinum/>) に従って、PCR およびシーケンス反応を実施した。同データベース

上の登録情報への参照を通じ、菌株の遺伝子型 (Sequence type) を決定した。Minimum spanning tree 作成にあたっては、同データベース上の A 型・B 型株のプロファイルを併用した。

4. ボツリヌス接種芽胞菌液の調整

上述の項目より選定した *C. botulinum* 株を対象として、芽胞菌液の調整を行った。10ml のカゼインペプトン水 (5%カゼインペプトン、0.5%ペプトン、0.1%チオグリコール酸ナトリウム) 中で一夜嫌気培養した後、80℃で20分間加熱した。同加熱を翌日及び1週間後に繰り返した後、滅菌水で3回洗浄した。1.5ml チューブに分注した後、-80℃保存した。同保存液中の芽胞菌数をもとめるため、凍結融解後、各チューブより 100 μ l をクロストリジア寒天培地 (栄研化学) に塗布し、黒色を呈する発育集落数を求めた。

5. 保存試験

pH が指導基準を逸脱した製品 (検体 No. 19-24 と同一製品) を対象として、ボツリヌス菌芽胞溶液を検体 1g あたり 10^1 オーダー (18~29CFU/g) となるように、接種した後、37℃で9日、18日および60日間保存した。保存後、検体 100g にペプトン水 100ml を加え、ストマッカーにて十分に混和させた後、試料原液とした。調製した試料液 1ml をクロストリジア寒天培地 (N=2) に混釈し、37℃で24時間嫌気培養した。生育した黒色コロニーを計測し、検体 1g あたりの菌数をもとめた。なお、本試験にあたっては、各保存期間につき、3検体を供した。

C. 研究結果

1. 国内に流通する容器包装詰低酸性食品に関する情報収集

平成 25 年 7 月 24 日~同月 25 日に、国内大手インターネットサイト (アマゾン、<http://www.amazon.co.jp> ; 楽天市場、<http://www.rakuten.co.jp>) を通じて、容器包装詰低酸性食品として購入可能な食品の検索を行った。

平成 22 年 7~8 月に食品等事業者団体 (45 団体) を通じて行われた、ボツリヌス食中毒対策状況に関するフォローアップ調査で集計された食品種 (参考資料 1) を主対象として検索したところ、同リストに改善が求められるものとして掲載されていた、“天日干したくあん”等の「たくあん」製品の一部が依然として、少なくとも表示上では、常温で流通・保存されている実態が明らかとなった (表 1-3)。本検索にあたっては、“たくあん”、“天日干したくあん”、“天日干し&たくあん”、“真空パック&たくあん”をキーワードとして用い、楽天では 1523 件、45 件、231 件、16 件の製品が、アマゾンでは、285 件、1 件、13 件、4 件の製品がそれぞれ検索された (表 1)。最終的に、容器包装詰低酸性食品として、常温での流通・保存が取られていた「たくあん」製品は、楽天・アマゾンでそれぞれ 35 および 10 件に絞りこまれた (表 2-3)。

以上より、容器包装詰低酸性食品の範疇に入る「たくあん」製品の一部は、依然として常温で流通・保存している実態が明らかになった。

2. 容器包装詰低酸性食品として流通する「たくあん検体」における衛生指標菌の検出状況と理化学性状の検証

上記の調査結果を受けて、常温での流通もしくは保存がインターネットサイト上で表示されている、9 製品計 30 検体 (図 1) を入手し、当該製品における衛生指標菌の定量検出ならびに理化学性状 (pH, 酸化還元電位) を調査した。表 4 のとおり、30 検体における一般細菌数および大腸菌群数の平均値は、 $1.21E+03 \pm 3.26E+03$ CFU/g および $2.27E+01 \pm 4.65E+01$ CFU/g であった。検体 No. 1-15 ならびに No. 25-27 の 6 製品については大腸菌群陰性であったが、残り 3 製品計 12 検体では $6.67 \pm 1.15E+01 \sim 1.47E+02 \pm 3.06E+01$ CFU/g の大腸菌群数が検出された。また、検体 No. 13-15 の 1 製品では一般細菌数が陰性であったが、残りの検体からは、 $2.00E+01 \pm 1.00E+01 \sim 5.94E+03 \pm 9.89E+03$ CFU/g が検出された。

理化学性状として、厚生労働省の通知に記載されている pH については、4.6 以下にするよう指導されている。本供試検体における平均 pH 値は、 4.37 ± 0.61 であったが、このうち、検体 No. 16-24 の 2 製品計 9 検体の pH 値は 5.22~5.26 であった(表 4)。また、酸化還元電位の測定値は、平均値が 115.49 ± 35.93 であったが、指導内容から逸脱する pH を示した検体については、他検体 ($124.13 \pm 0.15 \sim 162.00 \pm 3.12$ mV) と比べて、相対的に低い酸化還元電位値を示した ($62.93 \pm 1.07 \sim 65.73 \pm 0.83$ mV) (表 4)。

以上より、「たくあん」製品の一部では、理化学性状として、指導内容に逸脱する製品が流通している実態が把握された。

3. たくあん代表検体中におけるボツリヌス菌の挙動に関する検討

厚生労働省の指導内容に逸脱の認められた、常温で流通・保存される製品(表 4 中の検体 No. 19-24 と同一製品)については、ボツリヌス汚染を受けた際の食品内増殖が懸念されたため、ボツリヌス A 型および B 型芽胞液を用いた添加回収試験を行い、その挙動を検討することとした。

(i) 接種菌株の選定

接種菌株の選定にあたっては、平成 14-16 年度厚生労働科学研究「容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に対するリスク評価」の研究報告を参照することとしたが、これを補完する意義として、当所に保存されている A 型菌株間の遺伝学的多様性を MLST 法により検討した。結果を表 5 および図 2 に記す(図 2 では、*C. botulinum* MLST database 上の A および B 型株由来プロファイルを併用して作成した Minimum spanning tree を示した)。ボツリヌス A 型供試株(計 49 株)は、計 6 種の遺伝子型に分類された。A/B 毒素型別の MST 解析では、B 型株に比べ、A 型はより多様性に富むことが示唆された(表 5、図 2)：上述の研究班で使用されていた 62A、33A、36A、CB21 は ST-1 に、Renkon1 株は新規 ST 型に分類された。ST-1 型は、供試株の 71.4% (35 株

/49 株)を占めており、最も主要な遺伝子型の株であることが実証された。以上の知見を踏まえて、添加回収試験では、62A、33A、36A、CB21、Renkon1 株を A 型として、B 型としては上述の研究報告に従い、Okra、NH-2、67B、326-5、407-1 株を対象に選定して、混合芽胞液を作成することとした。

(ii) 添加回収試験(保存試験)

上述の構成で作成した混合芽胞液を用いて添加回収試験を行った。接種芽胞菌数としては、検体 1g あたり、 $18 \sim 29$ CFU とした。37°C 下で、9 日保存後のクロストリジア属菌は、A 型接種検体・B 型接種検体双方から検出され、その数値は、接種菌数とほぼ同等であった(A 型接種検体： 56.7 ± 20.2 CFU/g、B 型接種検体： 46.7 ± 10.4 CFU/g；図 3)。60 日保存後には、しかしながら、同菌は検出されず、加熱刺激(80°C、20 分間)後も同様に非検出であったことから、当該食品内で死滅したものと考えられた。また、同期間中の一般細菌数は穏やかな減少傾向を示した(図 3)。

以上より、抽出「たくあん」検体におけるボツリヌス菌の生残が短期(9 日間)の保存試験により認められたが、保存 60 日後の検体からは検出されなかった。

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その原材料や容器包装に係る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、継続的な情報収集と実験的検証が求められる。

平成 22 年のフォローアップ調査で対象とされた容器包装詰低酸性食品のうち、特に今後も検討が必要と目された製品の多くは、正月料理用の食材である場合が多々見受けられたため(参考資料 1)、本研究では一年を通じて国内に流通が認められる「たくあん」製品を対象に選定した。その上では、

流通・保存に当たり冷蔵表示がないものが依然として流通する実態が把握された。冷蔵表示については、その多くが製造者の表示に基づくものであったが、一部の販売者では自主的に冷蔵を推奨する表記を販売サイト上に記載している事例も認められた。こうした表示に対する取り組みは、従って、製造者と販売者双方に求めていくことも、有効な対策を議論する上では、必要であろう。

冷蔵保存・流通の表示のない製品の中には、厚生労働省により当該製品に対して指導通知されている理化学性状（ $\text{pH} < 4.6$ ）を逸脱する製品も含まれていた。一方、本研究の供試検体が、十分な包装後加熱を経ているか否かについては、表示のみからは確認できなかったが、衛生指標菌として検出された菌数は少数であり、一部では非検出であった。加熱表示についても今後の課題であると考えられる。

更に、厚生労働省による指導内容の遵守が確認されない代表製品については、保存試験を通じて、ボツリヌス菌の増殖の可能性も懸念されることから、今後は異なる温度帯での保存試験を検討し、当該食品におけるボツリヌス菌の挙動を精査したい。

食品内増殖に伴い、本菌はヒト健康危害の高いボツリヌス毒素を産生することも懸念される。ボツリヌス毒素の定量試験はいまだマウスアッセイにより検討されているが、近年ではPCR-ELISA、イムノクロマト、FRET等の手法を用いた検出キットの開発も海外では進められている。来年度以降には、こうしたアッセイ系の有効性評価についても検討を行うとともに、同毒素定量を通じて食品内でのボツ

リヌス菌による危害性の動態を精査すべきと考える。また、本研究では、酸化還元電位と pH との間で関連性が想定されたことから、本菌の増殖を許容しない酸化還元電位の範囲設定の可能性についても pH 挙動と併せて検討していきたい。

E. 結論

本研究では、容器包装詰低酸性食品として国内に流通する食品のうち、「たくあん」製品が一年を通じて流通する現状を把握すると共に、厚生労働省による指導内容を逸脱した製造基準を経て、製造・流通される製品が存在することを明らかにした。更に、一部の製品では、ボツリヌス菌の短期保存が確認され、異なる温度帯での検証が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

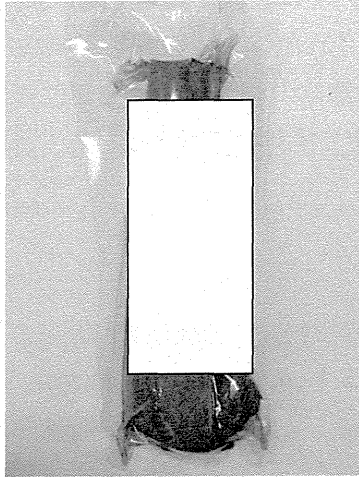
G. 研究発表

1. 論文発表（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）
なし
2. 学会発表
なし

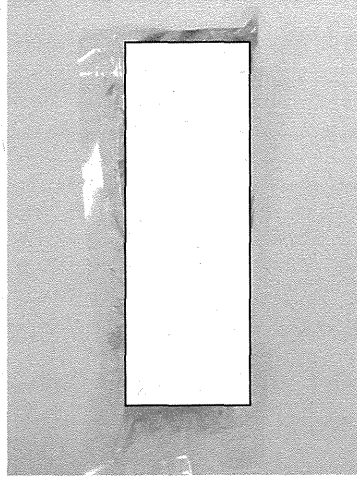
H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

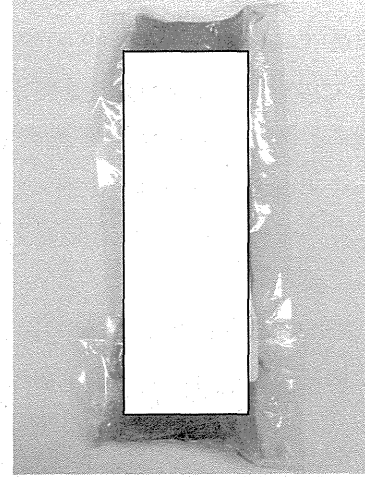
検体 No. 1-3



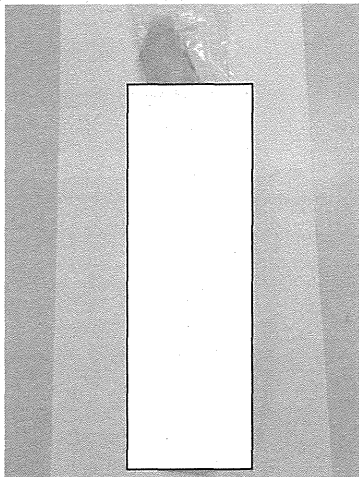
検体 No. 4-6



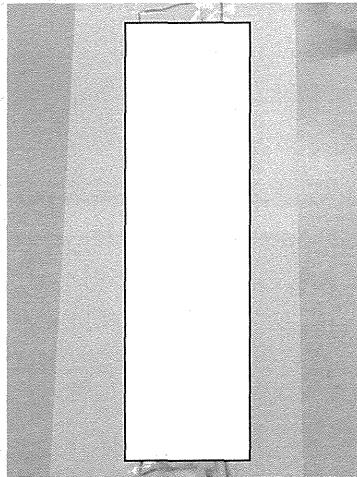
検体 No. 7-9



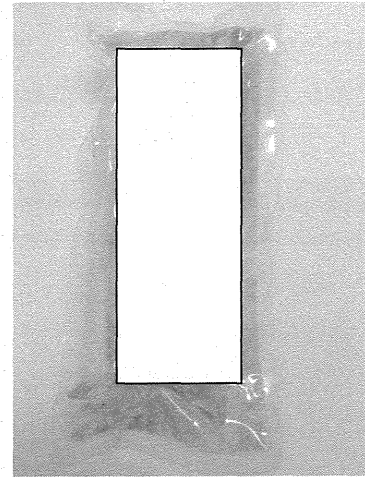
検体 No. 10-12



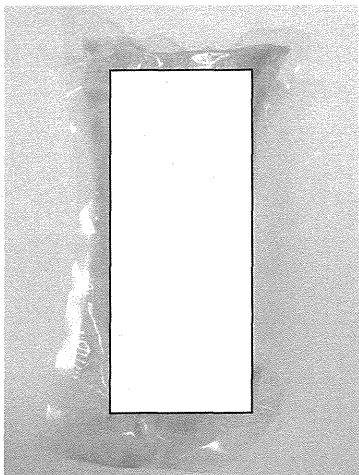
検体 No. 13-15



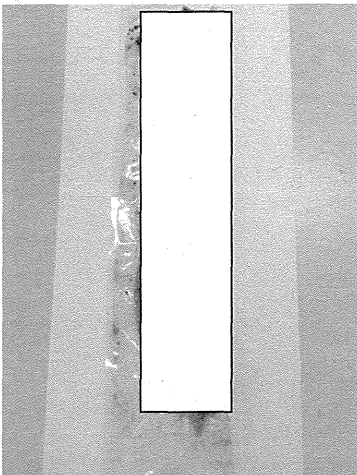
検体 No. 16-18



検体 No. 19-24



検体 No. 25-27



検体 No. 28-30

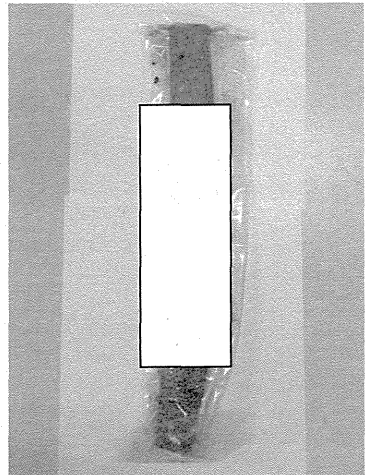


図 1. 本研究において各種性状試験に供した「たくあん」検体画像
(個々の製品が特定されないよう製品ラベルは表示していない)

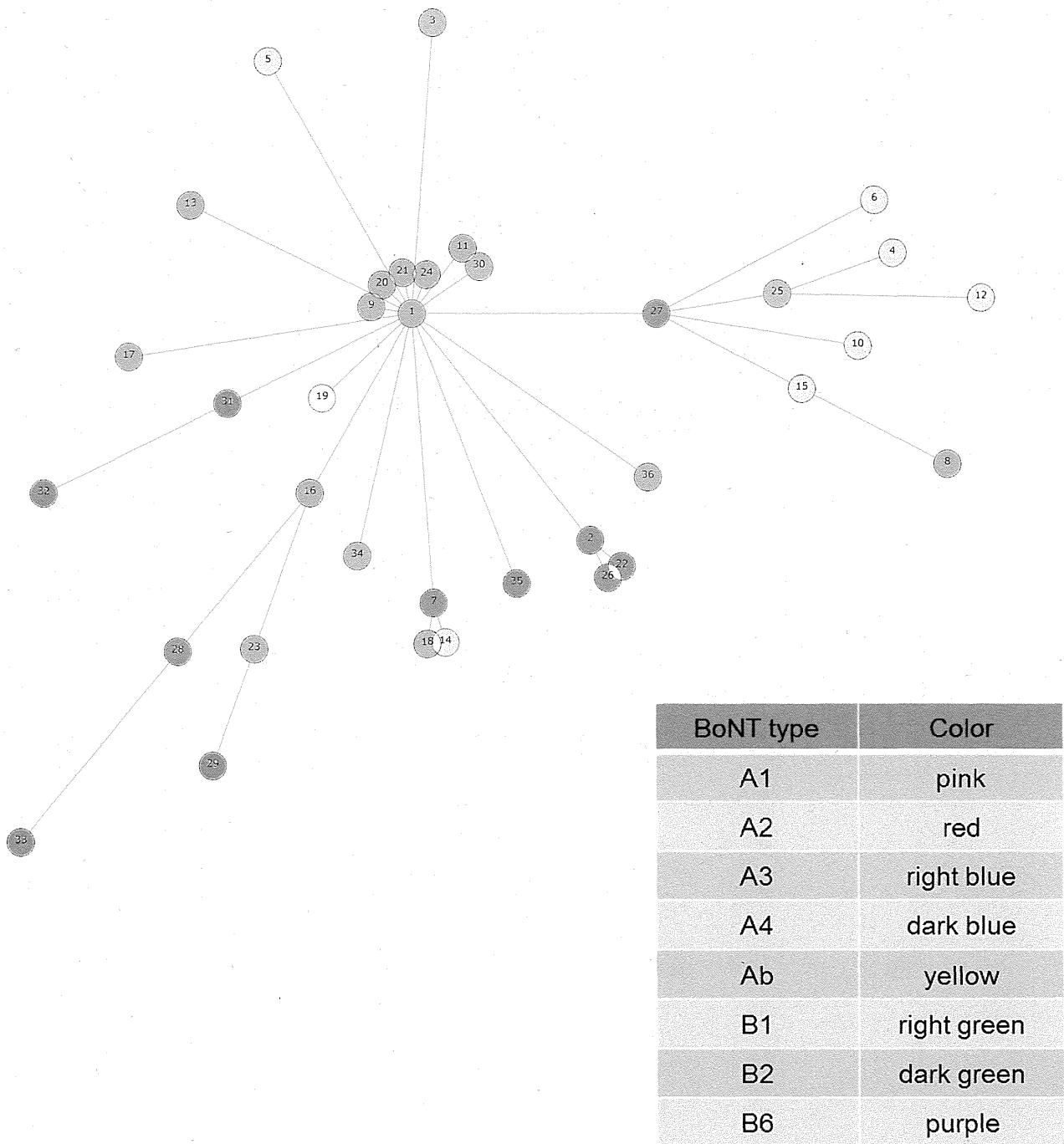


図 2. MLST 解析を通じたボツリヌス A 型及び B 型株の Minimum spanning tree

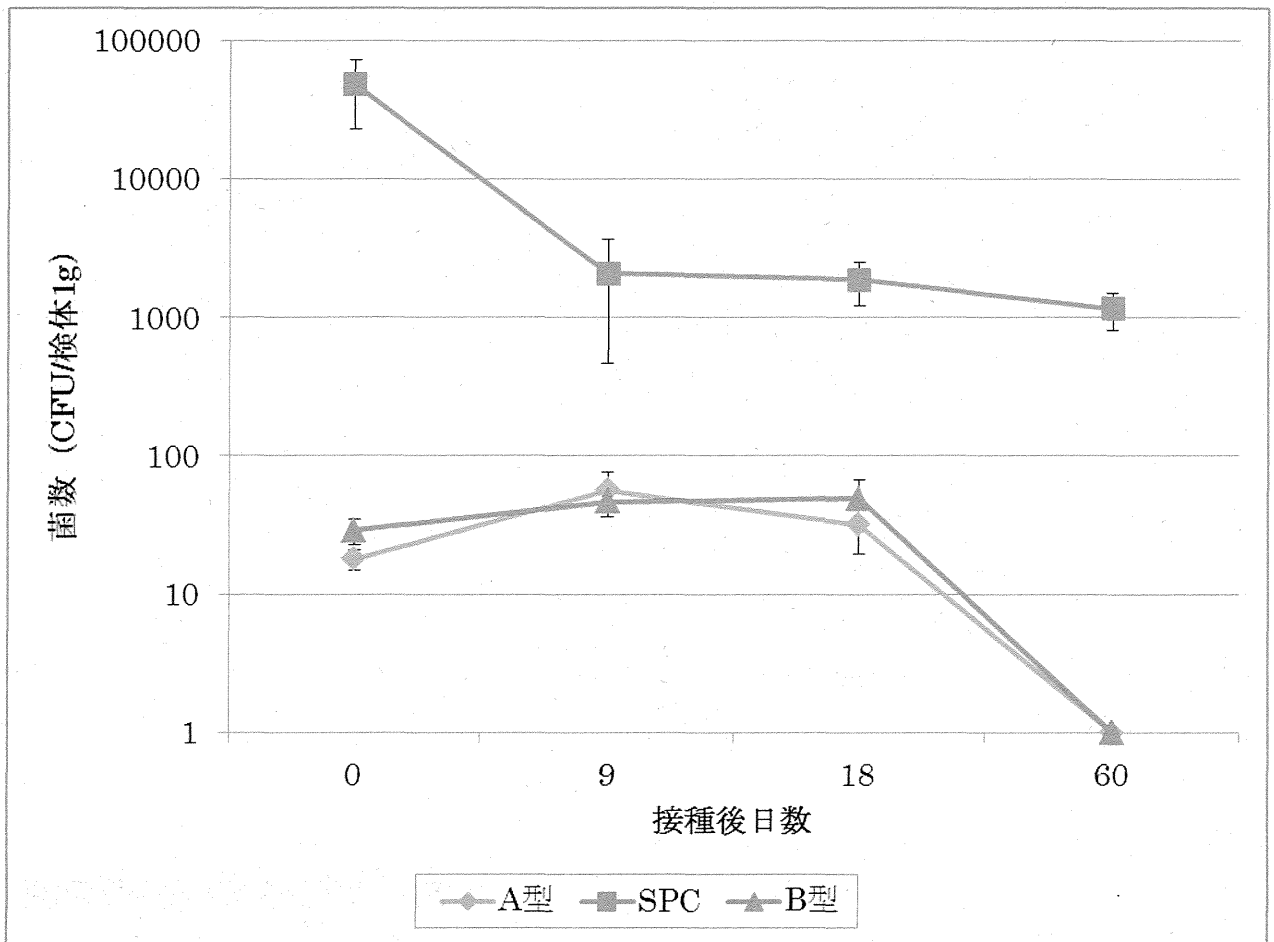


図 3. ボツリヌス菌芽胞のたくあん食品内挙動に係る検討

表1. インターネットサイト内での“たくあん”検索件数

検索サイト	カテゴリー	検索用語	検索件数
楽天市場	食品	たくあん	1523
		天日干したくあん	45
		天日干し たくあん	231
		真空パック たくあん	16
アマゾン	食品&飲料	たくあん	285
		天日干したくあん	1
		天日干し たくあん	13
		真空パック たくあん	4

2013/07/24 14:00-2013/07/25 16:00検索

表2. Amazonにおいて検索された、冷蔵での保存・流通が表記されていない「たくあん製品」の一例

通し番号	製品記号	冷蔵表示		販売事業者	生産事業者	pH調整剤・酢等の使用表示
		流通	保存			
1	A	記述なし	直射日光・高温多湿を避けて保存。開封後は必ず冷蔵庫で保管	I	a.	有(醸造酢)
2	B	記述なし	直射日光・高温多湿を避けて保存。開封後は必ず冷蔵庫で保管	I	a.	有(醸造酢)
3	C	記述なし	直射日光・高温多湿を避けて保存。開封後は必ず冷蔵庫で保管	I	a.	有(醸造酢)
4	D	記述なし	直射日光・高温多湿を避けて保存。開封後は必ず冷蔵庫で保管	I	a.	有(醸造酢)
5	E	記述なし	記述なし	II	b.	無
6	F	記述なし	常温保存・開封後要冷蔵	III	c.	記述なし
7	G	記述なし	常温保存・開封後要冷蔵	III	c.	記述なし
8	H	記述なし	記述なし	II	d.	記述なし
9	I	記述なし	開封前は直射日光、高温多湿を避けて保存。開封後は冷蔵庫に保存	IV	e.	無
10	J	記述なし	記述なし	V	f.	無

表3. 楽天市場において検索された、冷蔵での保存・流通が表記されていない「たくあん製品」の一例

通し番号	製品記号	冷蔵表示		販売事業者	生産事業者	pH調整剤・酢等の使用表示
		流通	保存			
1	K	常温	開封後は必ず冷蔵庫で保管	⑥	a.	有(醸造酢)
2	L	常温	開封後は必ず冷蔵庫で保管	⑥	a.	有(醸造酢)
3	M	常温	開封後は必ず冷蔵庫で保管	⑥	a.	有(醸造酢)
4	N	常温(一晩予冷後)	素早く冷蔵庫に保管	⑥	a.	有(醸造酢)
5	O	常温	開封後は必ず冷蔵庫に保管	⑥	a.	有(醸造酢)
6	P	常温	開封後は必ず冷蔵庫に保管	⑥	a.	有(醸造酢)
7	Q	常温	開封後は必ず冷蔵庫に保管	⑥	a.	有(醸造酢)
8	R	記述なし	高温、直射日光を避けて保存	⑦	a.	有(醸造酢)
9	S	常温	開封後は必ず冷蔵庫に保管	⑦	a.	有(醸造酢)
10	A	冷蔵	記述なし	⑧	c.	有(醸造酢)
11	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	②	b.	無
12	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	②	b.	無
13	A	記述なし	常温保存品だが、開封前も冷蔵保管を推奨	⑨	b.	無
14	A	記述なし	直射日光を避け冷暗所で保管(開封前)	⑩	b.	無
15	A	記述なし	直射日光、高温を避け常温保存	⑪	b.	無
16	A	記述なし	直射日光、高温を避け常温保存	⑪	b.	無
17	A	記述なし	常温保存品だが、開封前であっても冷蔵保管を推奨	⑫	b.	無
18	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑬	b.	無
19	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑬	b.	無
20	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑭	b.	無
21	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑮	b.	無
22	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑯	b.	無
23	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑰	b.	無
24	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑱	b.	無
25	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑲	b.	無
26	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑲	b.	無
27	A	記述なし	要冷蔵(10度以下)	⑳	b.	無

表4. たくあん検体における理化学性状と指標菌検出状況

検体 No.*	製品(記号)	理化学性状		指標菌検出菌数		
		酸化還元電位 (mV)(SM±SD)	pH (SM±SD)	一般細菌数 (SM±SD)	大腸菌群 (SM±SD)	クロストリジア 属菌
1	α					<20
2	α	162.0±3.1	3.6±0.1	1.2E+03±3.4E+02	0.0	40
3	α					<20
4	β					
5	β	134.3±1.7	4.1±0.0	2.7E+01±3.1E+01	0.0	<20
6	β					
7	γ					
8	γ	148.5±2.5	3.8±0.0	1.8E+02±2.0E+02	0.0	<20
9	γ					
10	δ					
11	δ	128.7±1.1	4.2±0.0	2.0E+01±1.0E+01	0.0	<20
12	δ					
13	ε					
14	ε	140.3±0.8	4.0±0.0	0.0	0.0	<20
15	ε					
16	ζ					
17	ζ	64.1±2.2	5.2±0.0	2.0E+02±3.5E+02	1.47E+02±3.06E+01	<20
18	ζ					
19	η					
20	η	65.7±0.8	5.2±0.0	4.2E+02±1.1E+02	3.67E+01±1.53E+01	<20
21	η					
22	η					
23	η	62.9±1.1	5.3±0.0	5.9E+03±9.9E+03	6.67±1.15E+01	<20
24	η					
25	θ					
26	θ	124.6±10.0	4.2±0.2	1.9E+03±3.1E+03	0.0	<20
27	θ					
28	ι					
29	ι	124.1±0.2	4.2±0.01	2.3E+03±1.9E+02	3.67E+01±3.79E+01	<20
30	ι					
平均値		115.5±35.9	4.4±0.6	1.2E+03±3.3E+03	2.3E+01±4.7E+01	

* 本表の検体番号は、表1-3中の検体番号とは互換性を有さない。

表5. A型ボツリヌス菌株の遺伝学的多様性プロファイル.

菌株名	分離年	由来	Allelic profile							ST
			<i>aroE</i>	<i>mdh</i>	<i>aceK</i>	<i>oppB</i>	<i>rpoB</i>	<i>recA</i>	<i>hsp</i>	
Denken	1951	-	13	6	13	10	9	8	9	1
97	-	-	13	6	13	10	9	8	9	1
62-A	1972	-	13	6	13	10	9	8	9	1
6930	1978	魚ペースト	13	6	13	10	9	8	9	1
7416	1978	魚ペースト	13	6	13	10	9	8	9	1
7510	1978	魚ペースト	13	6	13	10	9	8	9	1
33A	1982	-	13	6	13	10	9	8	9	1
36A	1982	-	13	6	13	10	9	8	9	1
77A	1982	-	13	6	13	10	9	8	9	1
12885A	1982	-	13	6	13	10	9	8	9	1
CB 21	1990	ヒト	13	6	13	10	9	8	9	1
Renkon 1	1984	辛子レンコン	9	8	11	5	8	6	8	新規
3510-2-72	-	-	13	10	12	10	9	8	7	19
712-1 S	1987	砂糖	13	6	13	10	9	8	9	1
712-2 S	1987	砂糖	13	6	13	10	9	8	9	1
702-1	-	-	13	6	13	10	9	8	9	1
702-2	-	-	13	6	13	10	9	8	9	1
712-3 M	1988	糖蜜	13	6	13	10	9	8	9	1
803-1 M	1988	糖蜜	13	6	13	10	9	8	9	1
804-1 H	1988	はちみつ	10	8	7	9	8	7	8	2
Chiba H	1986	乳幼児ボツリヌス症	10	8	7	9	8	7	8	2
7103-1 H	1987	乳幼児ボツリヌス症	10	8	7	9	8	7	8	2
7105 F	1987	乳幼児ボツリヌス症	10	8	7	9	8	7	8	2
7105 H	1987	乳幼児ボツリヌス症	10	8	7	9	8	7	8	2
KZ 1828	1990	乳幼児ボツリヌス症	10	8	7	9	8	7	8	2
Y 8036	1990	乳幼児ボツリヌス症	10	8	7	9	8	7	8	2
802-1	1988	胡椒	13	6	13	10	9	8	9	1
Kyoto F	1987	乳幼児ボツリヌス症	10	8	7	9	8	7	8	2
Kyoto Infant	-	乳幼児ボツリヌス症	10	8	7	9	8	7	8	2
89E00033-1	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
89E00035-1	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
89E00052-2	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
89E00064-3	1989	乳幼児ボツリヌス症	9	10	6	9	8	7	8	4
89E00070-1	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
89E00086-1	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	8	11	5	8	6	8	15
89E00090-1	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
89E00093-2	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
89E00097-1	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
89E00103-1	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
89E00120-1	1989	乳幼児ボツリヌス症	9	10	6	9	8	7	8	4
89E00121-4	1989	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
83E00080	1990	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
1314-1-77	1990	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
1824-1-77	1990	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
83E00068	1990	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
82E00263	1990	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
82E00331	1990	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
82E00486	1990	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1
2137-1-77	1990	乳幼児ボツリヌス症	13	6	13	10	9	8	9	1

* 太字で表記した菌株は、保存試験の芽胞混合液として使用した。

4. 国内外における食中毒発生動向・食品汚染に関する情報収集

平成25年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
非動物性の加工食品等における病原微生物の汚染実態に関する研究
分担研究報告書

国内外における食中毒発生動向・食品汚染に関する情報収集

研究分担者 窪田邦宏 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第二室長
研究分担者 春日文子 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部部长
研究協力者 天沼 宏 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
荻原恵美子 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
酒井真由美 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究要旨：食中毒を起こす病原微生物には腸管出血性大腸菌、ボツリヌス菌、リステリア、サルモネラ等、命に関わる重篤な症状を呈するものが数多くある。これらの病原微生物の食品汚染実態調査や各種規制をはじめとする対策は主に動物性食品を対象として進められてきたが、以前より非動物性食品においてもこれらの病原微生物による被害が数多く報告されている。非動物性食品を原因食品とする病原微生物アウトブレイクや非動物性食品の汚染の実態はこれまで詳細な解析が行われていない。本研究ではこれらについて国内外の情報を収集、解析し、これにより非動物性食品の喫食におけるリスクの把握と安全対策の検討に資することを目的とした。米国、カナダ、欧州での非動物性食品の回収情報（約10年分）を解析することで具体的な汚染食品および病原体の把握を試みた。さらに米国および欧州の非動物性食品由来アウトブレイク事例（6もしくは5年分）を解析することでこれらに関連した食品および病原体の把握を試みた。

A. 研究目的

食中毒を起こす病原微生物には腸管出血性大腸菌、ボツリヌス菌、リステリア、サルモネラ等、命に関わる重篤な症状を呈するものが数多くある。これらの病原微生物の食品汚染実態調査や各種規制をはじめとする対策は主に動物性食品を対象として進められてきたが、以前より非動物性食品においてもこれらの病原微生物による被害が数多く報告されている。最近でも国内では

2012年8月に札幌市で患者169人、死者8人が発生した、白菜の浅漬けの喫食に起因する腸管出血性大腸菌O157感染アウトブレイクが、2012年3月には容器包装詰低酸性食品の「あずきばっとう」の喫食によるボツリヌスアウトブレイクが発生している。海外でも、ドイツおよびフランスで2011年5～7月にかけて、エジプト産のフェヌグreek種子のスプラウトの喫食により志賀毒素産生性大腸菌(STEC)O104:H4アウトブレイクが発生し、4,000人近い患

者と 46 人の死亡者が生じた。米国では 2011 年にカンタロープメロンの喫食により、患者 146 人、死亡者 30 人、流産 1 人が発生する大規模リステリア症アウトブレイクが、同じく 2011 年にパイアの喫食に関連して 106 人が発症するサルモネラアウトブレイクが発生している。他にも 2009 年にはスプラウトの喫食に起因し 235 人が発症したサルモネラアウトブレイクが、2008 年には患者 1,400 人以上、死亡者 2 名が発生した唐辛子等の喫食によるサルモネラアウトブレイクがそれぞれ報告されている。特に規模が大きいものとしては 2008～2009 年に発生したピーナッツバターおよびピーナッツ含有製品の喫食に起因するサルモネラアウトブレイクがあげられ、このアウトブレイクでは全米およびカナダで 700 人以上が発症し、9 人の死亡に関連しているとされた。この事例では多数の会社が原材料として当該汚染元企業から汚染の可能性のあるピーナッツ加工品を購入しており、それを使用して製造した製品が多岐にわたっていたことから、200 社以上が 17 カテゴリー、2,100 種類以上の製品を自主回収するという米国史上最大規模の回収となった。当該回収対象製品の一部は日本にも輸入されていた。

最近では食品流通範囲の拡大により、食品汚染による食中毒アウトブレイクが発生した場合にその被害が広範囲にわたることが多くなっている。さらに、食品原材料が海外で汚染され、その後輸入されるケースも増加しており、特に発芽野菜や生鮮野菜等の加熱工程を経ずに喫食されるもの場合には、被害が遠く離れた他国で発生する可能性もある。また、汚染した食材を旅行

者等が喫食し、帰国した後に発症することも考えられる。

非動物性食品を原因食品とする病原微生物アウトブレイクや非動物性食品の汚染の実態はこれまで詳細な解析が行われていない。本研究ではこれらについて国内外の情報を収集、解析し、これにより非動物性食品の喫食におけるリスクの把握と安全対策の検討に資することを目的とした。

B. 研究方法

1. データ収集

海外において非動物性食品に関連して発生した食中毒アウトブレイクや食品の回収情報に関するデータベースの調査を行い、それらの発生頻度・規模・病因物質・具体的な原因食品等の解析を行った。

回収等に関するデータは米国食品医薬品局 (US FDA: US Food and Drug Administration) のデータベース (<http://www.fda.gov/Safety/Recalls/>)、カナダ食品検査庁 (CFIA: Canadian Food Inspection Agency) のデータベース (<http://www.inspection.gc.ca/about-the-cfia/newsroom/food-recall-warnings/eng/1299076382077/1299076493846>) から各国での非動物性食品の病原微生物汚染に起因する回収等のデータを抽出した。米国 FDA については 2004 年～2013 年、CFIA については 2004 年～2013 年 (2011 年は CFIA のデータベース移行の影響で半年分) のデータを使用した。これらの回収情報は判断が困難なものも含まれていることから相互の関連づけや統合は行わなかった。また対象製品の食材に関しては研究分担者が回収情報にもとづき独自に分類を行っ

た。欧州連合 (EU: European Union) での非動物性食品に関わる回収等の情報に関しては、「食品および飼料に関する早期警告システム (RASFF: Rapid Alert System for Food and Feed)」の 2001 年～2011 年のデータをまとめた報告書 (参考文献 1) が欧州食品安全機関 (EFSA: European Food Safety Authority) より公表されており、これを利用した。

米国での非動物性食品を原因食品とするアウトブレイクについては米国疾病予防管理センター (US CDC: Centers for Disease Control and Prevention) の食品由来疾患アウトブレイクサーベイランスシステム (FDOSS: Foodborne Disease Outbreak Surveillance System) のアウトブレイクデータを蓄積したアウトブレイク情報データベース (FOOD: Foodborne Outbreak Online Database)

(<http://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/>) から、2006 年～2011 年発生したサルモネラおよび志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) を病因物質とするアウトブレイクを抽出した。

欧州でのアウトブレイクについては、参考文献 1 の Table 26 (Reported outbreaks associated to FoNAO in the reporting countries in accordance with Directive 2003/99/EC, 2007-2011) にまとめられている 2007～2011 年の欧州の非動物性食品を原因食品とするアウトブレイクのリストを使用した。欧州のアウトブレイクデータ解析においてはサルモネラ、ベロ毒素産生性大腸菌 (VTEC)、およびセレウス菌を病因物質とするアウトブレイクを対象とした。

2. データ集計・解析

各種データは Microsoft Excel に入力し、Microsoft Access 等のデータベースソフト等を利用して各種の集計、解析を行った。

C. 研究結果

1. 食品の回収情報にもとづくリスク分析

1-1. 米国の非動物性食品の回収情報

米国 FDA が発表した 2004～2013 年の回収情報は合計で約 3,300 件であった。これには食品だけでなく医薬品や医療機器等の回収情報も含まれている。このうち非動物性食品と分類されるものは約 400 件であった。米国 FDA や以下に記載するカナダ CFIA の回収情報の集計件数は、同一アウトブレイクにかかわる関連回収情報や追加回収情報等が含まれている可能性があるため単に件数で評価しないよう注意が必要である。

米国 FDA の回収情報における対象食品は生鮮野菜が最多となっており (120 件)、ナッツ類 (98 件)、生鮮果物 (66 件)、コショウ・唐辛子等のスパイス (34 件) が多く報告されていた (表 1)。中でもサラダ、スプラウト、ホウレンソウ、レタス、トマト、カンタロップ、マンゴー、コショウ・唐辛子類、ナッツ類、ゴマが多く報告されていた。

回収の原因病原体として多かったのはサルモネラ (276 件)、リステリア (95 件)、大腸菌 O157:H7 (17 件)、ボツリヌス (13 件) であった (表 2)。他にも赤痢菌、大腸菌 O145、A 型肝炎ウイルス、腸チフス菌が報告されていた。

回収食品と原因病原体の組み合わせとし