

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）
総括研究報告書（令和元年度）

小規模な食品事業者における食品防御の推進のための研究

研究代表者 今村知明（奈良県立医科大学 公衆衛生学講座・教授）

研究要旨

食品テロによる被害から国民を守る視点は、テロの未然防止と円滑な事件処理である。しかし、食品テロの被害はフードチェーンに沿って広域に拡大、散発的に発生するため、原因の特定が困難である。このため、フードチェーンを構成する食品工場から流通施設、食事提供施設に至るまで、上流から下流まで全ての段階における食品防御対策が必要不可欠である。

このような観点から、今村はこれまで、「食品防御の具体的な対策の確立と実行可能性の検証に関する研究」、「行政機関や食品企業における食品防御の具体的な対策に関する研究」等の研究代表者として、食品工場等への訪問調査を行い、食品防御対策のためのチェックリストやガイドライン（大規模食品工場、流通施設向け）の作成を行ってきた。また独自に構築したインターネットアンケートシステムを活用して、食品テロの早期察知に資する食品の市販後調査（PMM）の実行可能性を検証してきた。

以上の状況の中、近年食品への意図的な毒物混入事件が頻発したことも相まって、特に大規模食品事業者（食品工場等）では食品防御への対応が進んできた。一方、サプライチェーンの大部分を占める小規模食品事業者（飲食店を含む）では、参考となる食品防御ガイドラインが存在せず、十分な対応が行われているとは言えない。折しも政府は、オリンピック・パラリンピック東京大会を前に、訪日外国人数 4,000 万人（令和 2 年時点）を目標として掲げている。これを達成するためには、安全・安心な日本食の提供が重要である。そこで本研究では、大規模食品事業者だけでなく、飲食店を含む小規模食品事業者においても、食品への意図的な毒物混入を防御するための方策について研究する。

本研究における研究体制は以下の通り。

- ・ 今村知明（公立大学法人奈良県立医科大学 医学部 教授）[代表]
- ・ 岡部信彦（川崎市健康安全研究所 所長）[分担]
- ・ 赤羽学（国立保健医療科学院 医療・福祉サービス研究部 部長）[分担]
- ・ 鬼武一夫（日本生活協同組合連合会 品質保証本部 総合品質保証担当）[分担]
- ・ 穂山浩（国立医薬品食品衛生研究所 食品部 部長）[分担]
- ・ 工藤由起子（国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部 部長）[分担]
- ・ 高畑能久（大阪成蹊大学 フードシステム研究室 教授）[分担]
- ・ 神奈川芳行（奈良県立医科大学 公衆衛生学講座 非常勤講師）[協力]
- ・ 鶴身和彦（公益社団法人日本食品衛生協会

公益事業部 部長）[協力]

高谷幸（公益社団法人日本食品衛生協会 技術参与）[協力]

- ・ 赤星千絵（川崎市健康安全研究所 食品担当）[協力]
- ・ 田口貴章（国立医薬品食品衛生研究所 食品部第三室長）[協力]
- ・ 岸 美紀（川崎市健康安全研究所）[協力]
- ・ 林谷秀樹（東京農工大学）[協力]
- ・ 佐野達哉（川崎市健康安全研究所 残留農薬・放射能検査担当）[協力]
- ・ 吉田裕一（川崎市健康安全研究所）[協力]

A. 研究目的

近年食品への意図的な毒物混入事件が頻発したことも相まって、特に大規模食品事業者（食品工場等）では食品防御への対応が進んできた。一方、サプライチェーンの大部分を占める小規

模食品事業者（飲食店を含む）では、参考となる食品防御ガイドラインが存在せず、十分な対応が行われているとは言えない。折しも政府は、オリンピック・パラリンピック東京大会を前に、訪日外国人数 4,000 万人（令和 2 年時点）を目標として掲げている。これを達成するためには、安全・安心な日本食の提供が重要である。そこで本研究では、大規模食品事業者だけでなく、飲食店を含む小規模食品事業者においても、食品への意図的な毒物混入を防御するための方策について研究する。

本研究では、以下を明らかにするための研究を実施する。

- ・ 食品防御対策の実態調査（赤羽、高畑、神奈川）
- ・ 中小事業所の食品防御に関する脆弱性の評価（鬼武、鶴見、神奈川、高谷）
- ・ フードチェーン全体の安全性向上に向けた食品防御対策ガイドラインの改善（赤羽、高畑、高谷、神奈川）
- ・ 中小事業所向けの食品防御対策教育ツール等の検討（赤羽、高畑、神奈川）
- ・ 国立医薬品食品研究所における人体（血液・尿等）試料中の毒物の検査手法の開発と標準化（穂山、工藤）
- ・ 地方自治体試験検査施設における人体（血液・尿等）試料中の毒物の検査手法の開発と標準化（岡部）
- ・ 食品の市販後調査（PMM）手法の確立（赤羽）
- ・ 海外（主に米国、英国）における食品防御政策の動向調査（今村、穂山、工藤）

B. 研究方法

1. 全体概要

研究は、A. に示した 8 項目について、国内外の政府機関ウェブサイト・公表情報の収集整理、実地調査、検討会における専門家・実務家らとの討議を通じて実施した。

検討会の参加メンバーと開催状況は以下の通りである。

（検討会の参加メンバー）（敬称略、順不同）

- ・ 今村 知明（奈良県立医科大学 公衆衛生学

講座 教授）

- ・ 岡部 信彦（川崎市健康安全研究所 所長）
- ・ 赤羽 学（国立保健医療科学院 医療・福祉サービス研究部 部長）
- ・ 鬼武 一夫（日本生活協同組合連合会 品質保証本部 総合品質保証担当（Senior Scientist））
- ・ 穂山 浩（国立医薬品食品衛生研究所 食品部長）
- ・ 工藤 由起子（国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部 部長）
- ・ 高畑 能久（大阪成蹊大学 フードシステム研究室 教授）
- ・ 鶴身 和彦（公益社団法人日本食品衛生協会 公益事業部長）
- ・ 稲見 成之（東京都福祉保健局健康安全部 食品監視課長）
- ・ 高谷 幸（公益社団法人日本食品衛生協会 技術参与）
- ・ 田崎 達明（関東学院大学 栄養学部 管理栄養学科）
- ・ 神奈川 芳行（奈良県立医科大学 公衆衛生学講座 非常勤講師）
- ・ 中村 啓一（公益財団法人食の安全・安心財団 理事・事務局長）
- ・ 赤星 千絵（川崎市健康安全研究所 食品担当）
- ・ 矢野 義輝（厚生労働省 医薬・生活衛生局 生活衛生・食品安全企画課 課長補佐）
- ・ 金子 敏明（厚生労働省 医薬・生活衛生局 生活衛生・食品安全企画課）
- ・ 岡崎 隆之（厚生労働省 医薬・生活衛生局 食品監視安全課 食中毒被害情報管理室 室長補佐）
- ・ 新川 俊一（農林水産省消費・安全局食品安全政策課 食品安全危機管理官）
- ・ 吉田知太郎（農林水産省消費・安全局食品安全政策課 課長補佐（危機管理））
- ・ 石田 千草（農林水産省消費・安全局食品安全政策課 危害要因情報班化学物質対策係長）
- ・ 星野 純輝（農林水産省 消費・安全局 食品安全政策課 危害要因情報班化学物質対策係長）
- ・ 加藤 礼識（別府大学 食物栄養科学部 発

酵食品科学 講師)

- ・ 寺村 渉 (東京都 福祉保健局健康安全部 食品監視課 統括課長代理)
- ・ 佐野 達哉 (川崎市健康安全研究所 残留農薬・放射能検査担当)
- ・ 名倉 卓 (SGS ジャパン株式会社)
- ・ 一蝶 茂人 (SGS ジャパン株式会社)
- ・ 南谷 怜 (SGS ジャパン株式会社)
- ・ 平野 展代 (一般社団法人日本食品安全支援機構)
- ・ 田口 貴章 (国立医薬品食品衛生研究所 食品部第三室長)
- ・ 山口 健太郎 (株式会社三菱総合研究所 次世代インフラ事業本部 インフラビジネスグループ 主任研究員)
- ・ 池田 佳代子 (株式会社三菱総合研究所 ヘルスケア・ウェルネス事業本部 ヘルスケア・ウェルネス産業グループ 主任研究員)
- ・ 東穂 いづみ (株式会社三菱総合研究所 科学・安全事業本部 リスクマネジメントグループ)

(検討会の開催状況)

- ・ 令和元年8月26日 (於:TKP 新橋カンファレンスセンター新館)
- ・ 令和2年2月14日 (於:TKP 新橋カンファレンスセンター新館)

◆倫理面への配慮

本研究で得られた成果は全て厚生労働省に報告しているが、一部人為的な食品汚染行為の実行の企てに悪用される恐れのある情報・知識については、本報告書には記載せず、非公開としている。

2. 分担研究について

2. 1 中小事業所の食品防御に関する脆弱性の評価

食品を取り扱う2箇所物流倉庫を訪問し、食品防御の観点からみた脆弱性に関する情報を収集・整理を行った。

2. 2 わが国の食品流通業 (調理・提供施設) における食品防御対策の現状調査

2. 2. 1 アンケート調査

一般社団法人日本フードサービス協会の協力を得て、同協会の会員企業390社を対象とした。食品防御対策ガイドラインに記載された「1. 優先的に実施すべき対策」の5分野〔組織マネジメント、人的要素 (従業員等)、人的要素 (部外者)、施設管理、入出荷等の管理〕、「2. 可能な範囲で実施が望まれる対策」の2分野〔人的要素 (従業員等)、施設管理〕に対応した調査票を作成し、郵送法により調査した。調査期間は、令和2年1月下旬から令和2年2月下旬である。

2. 2. 2 ヒアリング調査

食品流通業 (調理・提供施設) への現地視察は、協力が得られた大手外食企業3社の品質保証部門責任者を対象として実施された。

2. 3 フードチェーン全体の安全性向上に向けた食品防御対策ガイドラインの改善および中小事業所向け教育ツールの検討

既存の「食品防御対策ガイドライン (食品製造工場向け) (平成25年度改訂版)」、「食品防御対策ガイドライン (運搬・保管施設向け)」、「食品防御対策ガイドライン (調理・提供施設向け)」の試作版をもとに、別の分担研究「中小事業所の食品防御に関する脆弱性の評価」および「わが国の食品流通業 (調理・提供施設) における食品防御対策の現状調査」における事業者への訪問・ヒアリング調査の結果を合わせて研究を行った。

2. 4 国立医薬品食品衛生研究所における人体 (血液・尿等) 試料中の毒物の検査手法の開発と標準化

2. 4. 1 対象農薬及び重金属

有機リン系農薬は、「有機りん農薬混合標準液」FA-1、FA-2、FA-3 (いずれも FUJIFILM Wako 製) に含まれる計56成分を対象とした。カーバメート系農薬は購入可能な17種について検討した。重金属は、ヒ素 (As)、鉛 (Pb、塩化鉛として)、亜鉛 (Zn、塩化亜鉛として)、六価クロム (Cr⁺⁶、クロム酸カリウムとして) の4種について検討した。

法

2. 4. 2 人体試料

血液はコスモ・バイオ株式会社が販売するヒト全血 A 型（個別別、品番 12081445、450 mL [1 バッグ]）を、国立医薬品食品衛生研究所の研究倫理審査を受け、条件付き承認を得た後で購入した。購入後、未開封のバッグを 4 °C で約 1 か月保管した後、約 50 mL ずつ 10 本のバイアルに分注し、5 本を 4 °C で、残り 5 本を -20 °C で保管した。使用直前に、冷蔵保管のものから必要量を取り、40 °C の水浴で加温してから実験に用いた。

一方、尿は、「JIS T 3214:2011 ぼうこう留置用カテーテル」に記載の組成の人工尿を調製し使用した。

2. 4. 3 LC-MS/MS 装置条件

(1) LC 条件

装置：Acquity UPLC H-Class (Waters 社)
カラム：Acquity UPLC BEH C18 (1.7 μ m), 2.1 x 100 mm (Waters 社)

温度：40 °C

移動相：A) 0.1% ギ酸水溶液、B) 0.1% ギ酸含有アセトニトリル溶液

グラジエント：0 min: 5%B, 9 min: 95%B, 12 min: 95%B, 13 min: 5%B, 15 min: 5%B

流速：0.3 mL/min

注入量：1.5 μ L

(2) MS/MS 条件

装置：Xevo TQ-S micro (Waters)

イオン化：ESI (+)

Acquisition：MRM モード

Capillary voltage：0.75 kV

Source temperature：150 °C

Desolvation temperature：600 °C

Cone gas flow：50 L/hr

Desolvation gas flow：1,000 L/hr

Cone voltage (CV) and Collision energy (CE)：Quanpedia (Waters 社) に登録の条件、又は IntelliStart (Waters 社) で最適化した条件を使用。プリカーサーイオン及び定量イオンの m/z は分担研究報告書（表 2, 3）参照のこと。

2. 4. 4 LC-MS/MS 分析のための前処理方

血液試料又は人工尿試料は、使用直前に 40 °C の水浴で 10 分間加温してから用いた。血液又は人工尿 250 μ L をマイクロチューブにとり、2 倍量のメタノール (500 μ L) を加えヴォルテックスミキサーで 20 秒間攪拌した後、冷蔵庫 (4 °C) で 10 分間静置した。12,000 \times g, 4 °C で 10 分間遠心分離し、上清の一部をコスモスピンフィルター H (ナカライテスク社製) にて限外ろ過して得られたろ液を試料溶液として LC-MS/MS 分析に供した。

2. 4. 5 検査キット

人体試料中の有機リン系農薬検出には、「有機リン系農薬検出キット」（関東化学）を用いた。重金属検出には、「パックテスト ひ素（低濃度）セット」（型式：SPK-As(D)）、「パックテスト 鉛セット」（型式：SPK-Pb）、「パックテスト 亜鉛」（型式：WAK-Zn）、「パックテスト 6 価クロム」（型式：WAK-Cr⁶⁺）（いずれも株式会社共立理化学研究所）を用いた。

2. 5 国立医薬品食品研究所における人体（血液・尿等）試料中の病原細菌の検査法の開発と標準化

2. 5. 1 供試菌株

供試菌株として、病原性 *Y. enterocolitica* O3、O5、27、O8、O9 の 4 菌株、*Y. pseudotuberculosis* 1a、1b、2a、2b、2c、3、4a、4b、5a、5b、6 の 11 菌株、*Y. intermedia*、*Y. kristensenii*、*Y. aldovpvae*、*Y. rhodei* の 4 菌株および *Salmonella* Enteritidis、*Salmonella* Weltevreden の 2 菌株の計 21 菌株を用いた。

2. 5. 2 培養

スキンミルクに -80 °C で保存していた菌株を、trypticase soy agar (TSA) (BD) に接種し、発育した *Y. enterocolitica* と *Y. pseudotuberculosis* は自家製抗血清を用いて確認した。

2. 5. 3 DNA の抽出

供試菌株を trypticase soy broth (TSB) (BD) 10 ml に接種し、*Yersinia* については 25 °C で、*Salmonella* は 37 °C で 24 時間振盪培養した。DNA の抽出はボイル法で行い、まず

培養液 0.5 ml を 10,000×g で 10 分間遠心し、その沈渣沈渣に滅菌蒸留水 0.5 ml を添加して再浮遊させ、10,000×g で 10 分間遠心した。上清を捨てたのち、その沈渣に、滅菌蒸留水 0.5 ml を添加して再浮遊させ、100℃で 10 分間加熱した後、10,000×g で 10 分間遠心し、その上清を鋳型 DNA 溶液とした。

2. 5. 4 プライマー

(1) 改良 Multiplex PCR

改良した Multiplex PCR に用いる標的遺伝子とプライマーは、分担研究報告書の表 1 に示した。VirF は病原性 *Y. enterocolitica* を、ail は病原性 *Y. enterocolitica* を、inv は *Y. pseudotuberculosis* を、ならびに irp2 は病原性 *Y. enterocolitica* のうち American strains と *Y. pseudotuberculosis* の血清型 1 と 3 の一部を検出できる。

(2) Real-time Multiplex PCR

Real-time Multiplex PCR に用いる標的遺伝子とプライマーは分担研究報告書の表 2 に示した。標的遺伝子として、ail、inv および irp2 を用いた。

2. 5. 5 PCR 反応

(1) 改良 Multiplex PCR

PCR 用マイクロチューブに鋳型 DNA 溶液を 5.0 μl、Taq GoTaq® DNA Polymerase set (Promega) を 7.625 μl、4 種の標的遺伝子に対する 50 μM プライマー (Forward と Reverse) をそれぞれ 0.5 μl、および UltraPure™ Distiller Water(Life Technologies) を 8.375 μl 加え、計 25 μl の反応液を作製し、T100™ Thermal Cycler(Bio-rad) を用いて行った。PCR 条件は、反応温度と反応時間を変えて、すべての標的遺伝子が検出できる最適な条件を探索した。PCR の遺伝子産物については、1.5%アガロースゲルを用いて、Mupid®-α (アドバンス) で 50V、40 分間程度の電気泳動を行った。泳動終了後、ゲルをエチジウムブロマイド溶液で染色し、バンドを確認した。また、最適な条件が設定できた後は、抽出した DNA を希釈し、改良 PCR 法で検出できる検出限界を求めた。

(2) Real-time Multiplex PCR

PCR 用のマイクロチューブに、供試菌株から抽出し滅菌精製水を用いて 100 ng/μl に調整した鋳型 DNA 溶液を 2.0 μl、TB Green Premix Ex Taq II (タカラバイオ(株), 滋賀) を 10 μl、10 μM プライマー (Forward と Reverse) をそれぞれ 0.8 μl ずつおよび滅菌水 6.4 μl を加え、計 20 μl の反応液とした。陰性コントロールとしては、鋳型 DNA の代わりに滅菌精製水 2.0 μl を加えたものを用いた。発色基質としては、サイバーグリーンを用いた。Real-time PCR 反応には、MiniOpticon™ (Bio-rad) を使用した。Real-time PCR の反応条件としては、反応温度と反応時間を変えて、すべての標的遺伝子が検出できる最適な条件を探索した。

2. 6 地方自治体試験施設における人体(血液・尿等)試料中の有害物質の検査法の開発と標準化～試料の取扱いの標準化～

過年度研究(「行政機関や食品企業における食品防御の具体的な対策に関する研究」(研究代表者: 今村知明))において検討した、川崎市健康安全研究所内における人体試料及び人体試料含有液(以下、人体試料等)の理化学試験における取扱方法を参考に、異なる設備や体制環境下の全国の地衛研においても実施されるべき対応について基本事項として整理し、ガイドラインとしてまとめた。

2. 7 海外(主に米国)における食品防御政策の動向調査

米国については、FDA (Food and Drug Administration)、USDA (United States Department of Agriculture) のウェブサイト等の公表情報や研究会議において収集された関連情報に基づき、令和元年度に講じられた主な食品テロ対策の最新情報を抽出し、その概要をとりまとめた。

C. 研究成果

本年度研究によって以下の成果を得た。詳細については、それぞれの分担研究報告書を参照されたい。

1. 中小事業所の食品防御に関する脆弱性の評価

現地訪問を行った物流倉庫における意図的な食品汚染に関する脆弱性や、脆弱性への対処等について、以下のような点を把握した。

- ・ 冷蔵庫内について、食肉などの輸入食材は、長距離の流通過程で段ボールが擦り切れたり、崩れたりしていた。特に段ボールの角の部分の穴、隙間、開閉部の破れが顕著であった。
- ・ 薬剤の管理について、「あるべき保管状態」を写した写真が大きく引き伸ばされた状態で壁に貼りだされており、保管状態と模範状態に違いがあった場合、従業員がすぐ気づくことができる工夫がされていた。
- ・ 入退室管理は、個人の交通系 IC カードと連携しており、階段の通行もその IC カードが必要であった。
- ・ 倉庫内の一部をテナントとして外部の業者の貸し出しているケースがあった。
- ・ 物流以外の業者、すなわちお弁当販売の業者や修理業者などについても、持ち込むもの（工具等）全てを写真に撮り、帰る時もチェックが行われていた。
- ・ 記録作業が多いため、現場の負荷が高そうであった。巡回で見るポイントも、とても多くなっている。
- ・ 飲料について、特に夏季等において体調不良になる可能性を指摘され、糖分を含まないものであれば、休憩フロアに置いておくことは良いという基準に緩和したとのことであった。
- ・ 倉庫内にラボがあり、ポジコンも保有しているようであった。
- ・ 野菜などを一度開封し、引き込み外注のベトナム人実習生が乱切りなど簡単な加工を行って、詰め直すという工程が存在するケースがあった。調査時にご対応頂いた担当者によれば、言葉が通じないこれら作業の方々とは十分なコミュニケーションがとれていないとのことであり、加えて、空のペットボトルも放置されており、“開放系”“私物持ち込み容易”“コミュニケー

ション不十分”という3点が揃い、この工程は脆弱性が非常に高いと考えられた。

2. わが国の食品流通業（調理・提供施設）における食品防御対策の現状調査

アンケート調査は対象企業 390 社のうち、38 社より回答を得た（回収率 9.7%）。これらについて組織マネジメント、人的要素（従業員等）、人的要素（部外者）、施設管理、入出荷等の管理、の観点から結果を取りまとめた。

ヒアリング調査に関しては、令和元年 12 月から令和 2 年 2 月にかけて東京都、神奈川県にある大手外食企業 3 社の品質保証部門責任者を訪問し、実施した。対象企業の主な業態は、ファストフード 2 社、ファミリーレストラン 1 社であったが、食品製造工場やセントラルキッチンと店舗における相違点として、フロアと厨房の業務を掛け持ちしている従業員が多く移動範囲を明確化することや、外部者用に駐車エリアを設けることは困難であるなどの共通点が明らかとなった。

3. フードチェーン全体の安全性向上に向けた食品防御対策ガイドラインの改善および中小事業所向け教育ツールの検討

別の分担研究「中小事業所の食品防御に関する脆弱性の評価」および「わが国の食品流通業（調理・提供施設）における食品防御対策の現状調査」における事業者への訪問・ヒアリング調査の結果をもとに、「食品防御対策ガイドライン（食品製造工場向け）」、「食品防御対策ガイドライン（運搬・保管施設向け）（令和元年度版）（案）」、「食品防御対策ガイドライン（調理・提供施設向け）（令和元年度版）（案）」の改善・作成を行った。

結果は分担研究報告書の別紙 1、2 に示す。

4. 国立医薬品食品衛生研究所における人体（血液・尿等）試料中の毒物の検査手法の開発と標準化

LC-MS/MS による人体（血液・尿等）試料中の有機リン系農薬及びカーバメート系農薬の分析法を検討した。詳細は分担研究報告書を参照されたい。

5. 国立医薬品食品衛生研究所における人体（血液・尿等）試料中の病原細菌の検査法の開発と標準化

病原性 *Y. enterocolitica* の強毒な American strains と European strains および *Y. pseudotuberculosis* を識別できる、より高感度な Multiplex PCR 法ならびにインターカレーター法による Real-time Multiplex PCR 法の開発を試みた。詳細は分担研究報告書を参照されたい。

6. 地方自治体試験施設における人体（血液・尿等）試料中の有害物質の検査法の開発と標準化～試料の取扱いの標準化～

各地衛研向けに、「感染性物質を含有する可能性のある人体試料等の理化学試験に関するガイドライン」を作成した。ガイドラインに含まれる基本は以下の5項目である。

1. 感染性試料として管理する人体試料及び人体試料含有液の設定
2. 人体試料及び人体試料含有液の取扱方法の設定
3. 担当者等の選定及び教育・健康管理の実施
4. 実施状況の管理、記録及び保管
5. 曝露事故が起きた際の対応の設定

7. 海外（主に米国）における食品防御政策の動向調査

米国の食品安全強化法 (FSMA) に関する「食品への意図的な混入に対する緩和戦略」ガイダンス（産業界向け）について、修正版が公表された。

主な修正の内容として、①「食品への意図的な混入に対する緩和戦略」ガイダンス（産業界向け）の修正版が公表されたこと、②教育プログラムの改善（教育プログラムの一部を FDA の e-learning から外部大学のリカレント教育プログラムに移行）の2点を把握することができた。修正内容の詳細は分担研究報告書を参照されたい。

D. 考察

中小事業所の食品防御に関する脆弱性の評

価については、食品を取り扱う2箇所の物流倉庫（一方の倉庫はアクリフーズ事件を契機に親会社からの指示のもと食品防御に既に取り組んでおり、もう一方の倉庫はまだ食品防御に取り組んでいない）を訪問し、食品防御の観点からみた脆弱性に関する情報を収集・整理した。

その結果、今後の各種ガイドライン作成に反映できる可能性のある内容として、以下のような項目が考えられた。

- ① 段ボールの角の部分の穴、隙間、開閉部の破れ等について、異物混入の形跡がないかどうかの確認。
- ② 定位置定数管理が必要な場所において、「あるべき管理状態」の写真の掲出。（具体的な対策案として）
- ③ 通勤に用いる交通系 IC カードと連携した入退室管理。
- ④ 施設を共有する外部業者（テナント貸し出し先等）や引き込み外注業者との食品防御対策の連携。
- ⑤ 外部業者（お弁当販売や修理業者等）の持ち込み検査について、来訪時に荷物を全て写真に撮り、帰る際に突合のチェックを行うという対策方法。（具体的な対策案として）
- ⑥ 飲料の施設内持ち込みと食品防御の両立。

わが国の食品流通業（調理・提供施設）における食品防御対策の現状調査については、アンケート調査の結果から食品防御対策は、大手企業が中小企業より先行している傾向が認められた。また、フードディフェンスに取り組んでいない企業が22社であり全体の57.9%を占めていた。特に店舗においては私物の持ち込みや給水施設の管理、施錠の管理が不十分な傾向が見られ、今後の改善が期待される。

本調査と平成29年度の食品製造業（食品製造工場）および、平成30年度の食品流通業（運搬・保管施設）において実施されたアンケート調査の結果を比較したところ、フードディフェンス全体の達成度は、食品製造業が6.3点であったのに対し、食品流通業（運搬・保管施設）では4.6点、食品流通業（調理・提供施設）でも4.7点と低くなっており、人的要素（従業員

等)を除いて殆どの分野において取り組みが十分ではないことが示された。

なお、留意点として回収率が低かったことが挙げられるため、次年度の調査では回収率を高める工夫を行う。

フードチェーン全体の安全性向上に向けた食品防御対策ガイドラインの改善および中小事業所向け教育ツールの検討については、現場における操業状況や就業環境を、実際に現場に行き確認することが極めて重要である。そのため今年度も、中小規模事業者の現場訪問を想定していたが、検討会内部で年間を通じて調整を行ったものの、調査協力先が見つからず、調整不調に終わった。検討会内部で相談した結果、今年度は大規模物流倉庫2か所の調査を行うなどし、「食品製造工場向け」、「運搬・保管施設向け」、「調理・提供施設向け」(それぞれ大規模施設)の食品防御対策ガイドライン(案)の改善検討を行ったが、次年度は、中小規模の事業所への訪問もしくは調査を通じて分析を行い、本研究のタイトルでもある中小規模向けの食品防御対策を検討する必要がある。なお、新型コロナウイルス流行の収束状況次第では、現地訪問に代わる調査手段を検討しなければならないと考えている。

国立医薬品食品衛生研究所における人体(血液・尿等)試料中の毒物の検査手法の開発と標準化については以下のとおりである。

- ・ LC-MS/MS による有機リン系農薬及びカーバメート系農薬の分析： 本法により人体試料から多くの農薬を検出可能となったが、回収率の低い農薬もあった。回収率が低下した原因として、アルブミン等血漿中タンパクへの吸着等相互作用の可能性が考えられる。血漿中タンパクの量は生活習慣や既往歴により個人差が大きく、また食品テロ発生直前に喫食したものによっては、血糖値や中性脂肪量も大きく変動し、抽出効率、回収率に影響を及ぼす可能性が高い。本研究で用いた血液試料は市販の全血試料1種類のみであり、添加回収試験は1日、1機関でのデータのみである。今後、由来の異なる血液試料についても添加回

収試験を実施しデータを収集し、必要に応じて抽出法の改良を検討する。

- ・ 有機リン系農薬の簡易検出キットによる分析： 本キットで検出感度1 ppmと保証されている農薬については、血液試料及び尿試料から検出可能と考えられる。ただし、本キットで検出感度が明記されていない有機リン系農薬の検出感度の確認は必要である。また、より高感度の検出が可能となるよう、抽出法または呈色方法の改良検討は必要と考えられる。
- ・ 水質検査用パックテストによる重金属の分析： ヒ素、鉛、亜鉛、六価クロムの4種についてパックテストを用いた測定方法を検討した。人工尿試料についてはヒ素、鉛、亜鉛が検出可能であったが、六価クロムは検出不可であった。また、ヒト全血では、4種すべて検出不可であった。クロムについては、六価クロムを摂取しても体内または人体試料中で即座に三価に変換される可能性が高い。本研究では六価クロム検出用パックテストを検討したが、総クロム検出用パックテストについても検討する必要がある。使用するパックテストによって、手順の煩雑さや溶媒耐性等が異なるため、操作手順の確認は十分に行う必要がある。また、検水中の共存物質の影響を受けることが注記されており、人体試料にはリン酸イオンやアンモニウムイオン等各種イオンをはじめ、金属やタンパクが多数含まれている。血液試料へのパックテストの適用は困難であるが、尿試料は前処理方法を最適化することで、より高感度な検出の実現可能性がある。加えて、農薬と同様、パックテストと ICP-MS 等の高精度の分析法を組み合わせることが重要であるとも考えられる。

国立医薬品食品研究所における人体(血液・尿等)試料中の病原細菌の検査手法の開発と標準化については、昨年度、日本で問題となっている病原性 *Yersinia* である病原性 *Y. enterocolitica* と *Y. pseudotuberculosis*、特に病原性 *Y. enterocolitica* に関しては、血清型 O8 を含む強毒性 American strains と弱毒性の European

strains を識別して検出できる Multiplex PCR の開発を試みた。その結果、これらの 3 菌種・グループを識別して分離・同定することが可能であったが、*ail* と *inv* のバンドの大きさが近かったため、より明確に識別できるプライマーを選んで、最適な Multiplex PCR の確立を試みた。その結果、改良した Multiplex PCR では、昨年度のものより、より明確に 3 菌種・グループを識別し同定できた。また、検出感度もおおむね 101~103 CFU/tube で高かった。これらのことから、今回改良した Multiplex PCR 法は、病原性 *Y. enterocolitica* 血清型 O8 が広く侵淫し、また、*Y. pseudotuberculosis* も散発している我が国においては、実用的で有用な診断ツールになり得ると思われる。

本研究では、さらに病原性 *Yersinia* のより迅速な検出・同定を目指して、インターカレータ法による Real-time Multiplex PCR 法を用いた迅速検出法の開発を試みた。標的遺伝子として、*ail*、*inv* および *irp2* を標的とした。その結果、3 つの標的遺伝子の Tm 値は異なっており、今回開発した Real-time Multiplex PCR 法により、3 つの菌種・グループを迅速に識別することが可能であった。改良 Multiplex PCR に比べ、Real-time Multiplex PCR 法は、2 時間以内で迅速に診断が可能であるので、病原性 *Yersinia* 検出の有用なツールになり得ると思われる。現在、さらに TaqMan 法による Real-time Multiplex PCR 法も開発中であり、さらに IMS による *Y. enterocolitica* ならびに *Y. pseudotuberculosis* の主要な血清型に対する IMS 法の開発も進めている。

分担研究報告書の図 4 は、血液・糞便や食品検体から、病原性 *Yersinia* を迅速に分離するために作成したプロトコールである。検体を 25-32℃ で 12 時間増菌後、Multiplex または Multiplex Real-time PCR で、病原性 *Y. enterocolitica* または *Y. pseudotuberculosis* の保有する病原遺伝子を検出し、陽性になった検体について、さらに増菌培地を、1. 直接選択培地に塗抹、2. 代表的な病原性 *Y. enterocolitica* または *Y. pseudotuberculosis* の血清型に対する抗体を用いた IMS で処理後、選択培地に塗抹し、標的とする病原体の分離・同定を行う。本プロトコールにより、病原性 *Yersinia* 病原遺伝

子検出ではおおむね 1 日、菌の分離まで 3 日程度で終了できる。昨年度ならびに今年度の研究で、このプロトコールのうち、Multiplex または Multiplex Real-time PCR での迅速検出法を確立し、また、IMS についても一部方法を確立できた。

最終年度は、次のステップとして、このプロトコールに従って、開発した遺伝子ならびに免疫学的診断法を用いて、血液などの臨床検体への応用を試みる予定である。

地方自治体試験施設における人体（血液・尿等）試料中の有害物質の検査法の開発と標準化～試料の取扱いの標準化～については、過年度研究（「食品防御の具体的な対策の確立と実行検証に関する研究」（研究代表者：今村知明））において実施した全国の地衛研へのアンケート調査結果により、地衛研の理化学検査部門において、人体試料の検査受け入れに対する問題点は、大きく 2 点が挙げられることが判明した。感染性試料としての取扱いを要する可能性と、食品試料や環境試料に対するものとは異なる成分組成や標準品（代謝物を含む）の入手の必要性についてである。後者は、検査目的物質のヒト体内挙動や検査方法の調査及び検討を要する点で早期対応が困難となっており、本研究の分担研究課題「国立医薬品食品衛生研究所における人体（血液・尿等）試料中の毒物の検査手法の開発と標準化」において検討が進められている。本研究では前者について注目した。

地衛研では、微生物検査部門においては病原体等を含む人体試料を取扱うための設備及び教育体制が整っている一方、理化学検査部門においては病原体を取扱わないため、感染性物質を含有する可能性のある検体の検査依頼を想定していない。また、微生物検査部門と理化学検査部門は、一般的に試験エリアも検査担当教育も全く別で実施されており、理化学検査部門において感染性試料の取扱いに関する教育はほとんど実施されていない。しかし、オリンピック・パラリンピック東京大会等を控え、食品テロ等の健康危機管理事象発生時の原因究明検査に備え、各地衛研において人体試料の理化学試験の検査依頼を想定する必要がある。その際、感染性試料による曝露事故等の未然防止を図った対

応ができるよう、あらかじめ対応について検討する必要がある。そこで、本研究では人体試料の理化学部門における取扱手法について検討した。

全国の地衛研における試料の取扱いを標準化する方法として、具体的な取扱手法を規定する方法もあるが、各地衛研において設備や取り扱う検体内容、使用機器等が異なるため、一律な対応を検討するのは困難である。そのため、過年度研究で一地衛研モデルとして川崎市健康安全研究所における対応を検討し要綱等で規定した主な内容を基本事項とし、その基本事項に基づいて各地衛研で対応を検討し規定等とすることを推奨するガイドラインを作成することとした。

本ガイドラインは、特に人体試料に着目して作成したが、他にも検体の取扱いに注意すべき状況が考えられる。例えば、近年検討されている病原体産生物質（エンテロトキシン等）を理化学検査機器により分析する場合や、健康危機管理事象発生時の原因究明検査のために正体不明の物質を分析する場合などである。このような場合においても、本ガイドラインに沿って各地衛研が検討した対応を軸として、それぞれの検体の取扱方法に応用できるものと考えられる。本ガイドラインが、全国の地衛研における健康危機管理事象への早期対応及び安全な試験検査の実施の一助となることを期待するとともに、今後の知見及び各地衛研での状況等を踏まえて、適宜見直していきたい。

海外（主に米国）における食品防御政策の動向調査については、米国 FDA が令和元年度に講じた主な食品テロ対策のうち、特筆すべき事項として、2011年1月に成立した食品安全強化法（FSMA）に関する「食品への意図的な混入に対する緩和戦略」ガイダンス（全産業向け）の改訂が挙げられた。

具体的には、脆弱性評価の具体的な手順が記載されたことと、従業員への教育・訓練の必要性／標準化されたカリキュラム受講の推奨などについて記載が追加された点を確認した。

前者については、これまで FDA より「CARVER+Shock Method」として紹介されていたもののうち、評価結果全体からみて支配

的である3つの評価項目（Criticality, Accessibility, Vulnerability）のみを切り出したものと考えられる。以前から CARVER+Shock Method においては、工程別の Recuperability（回復可能性）および Effect（生産に与える影響）の違いが評価しにくい（一つの工程が攻撃されれば工場のシステム全体が影響を受け、生産全体が止まってしまうことは明らかなため）という難しさがあったため、この簡便化は歓迎すべきことと考えられる。

後者については、FDA だけで全ての教育プログラムを準備・提供するのではなく、官民連携のもと、大学においても一部の教育プログラムが提供され始めている点が特徴的である。

E. 結論

中小事業所の食品防御に関する脆弱性の評価については、食品を取り扱う2箇所の物流倉庫を訪問し、食品防御の観点からみた脆弱性に関する情報を収集・整理した。

その結果、今後の各種ガイドライン作成に反映できる可能性のあるポイント6点を抽出できた。今後研究班の中で議論を重ね、ガイドラインへの反映を検討していく。

わが国の食品流通業（調理・提供施設）における食品防御対策の現状調査については、食品防御対策の取り組みが進んでいない食品流通業（運搬・保管施設）の大手・中小企業に対し、今後より一層の普及・啓発が求められる。

フードチェーン全体の安全性向上に向けた食品防御対策ガイドラインの改善および中小事業所向け教育ツールの検討については、「食品防御対策ガイドライン（食品製造工場向け）（令和元年度改訂版）」、「食品防御対策ガイドライン（運搬・保管施設向け）（令和元年度版）」、「食品防御対策ガイドライン（調理・提供施設向け）（令和元年度版）」については、検討結果を分担研究報告書の別紙1, 2に示す。

今後、これらの大規模施設を念頭に置いた検討結果を用いて、実行性の高い対策を抽出し、中小規模向けのガイドラインの検討を進める予定である。

国立医薬品食品衛生研究所における人体（血液・尿等）試料中の毒物の検査手法の開発と標準化については、LC-MS/MS による人体（血液・尿等）試料中の有機リン系農薬及びカーバメート系農薬の分析法を検討した。農薬各 50 ng/mL 添加の血液試料からは有機リン系農薬 47 成分、カーバメート系農薬 16 成分を、農薬各 50 ng/mL 添加の人工尿試料からは有機リン系農薬 46 成分、カーバメート系農薬 17 成分を検出できる分析法を確立した。

「有機リン系農薬検出キット」の人体試料への適用可否を検討した。人工尿試料は添付のマニュアルの通り、血液試料は LC-MS/MS 分析用の前処理により、検出感度 1 ppm または 10 ppm とされている有機リン系農薬を検出できる可能性が高いことを明らかにした。

水質検査用パックテスト各種セットのうち、ヒ素、鉛、亜鉛、六価クロムについて人体試料への適用可否を検討した。人工尿試料については、ヒ素、鉛、亜鉛が検出可能であったが、六価クロムでは検出不可であった。また、ヒト全血では、4 種すべてでパックテストによる検出は不可であった。

国立医薬品食品研究所における人体（血液・尿等）試料中の病原細菌の検査法の開発と標準化については、病原性 *Y. enterocolitica* の強毒な American strains と European strains および *Y. pseudotuberculosis* を識別できる、より高感度な Multiplex PCR 法ならびにインターカレーター法による Real-time Multiplex PCR 法の開発を試みた。標的遺伝子として、*ail*、*inv*、*irp2* および *virF* の 4 種を選び、これらの遺伝子を同時に検出できる PCR 条件を探索し、その条件で病原性 *Yersinia* の識別が可能かを検討した。その結果、改良した Multiplex PCR 法ならびに Real-time Multiplex PCR 法で、*Y. pseudotuberculosis* と病原性 *Y. enterocolitica* の American strains ならびに European strains を識別することが可能であった。

地方自治体試験施設における人体（血液・尿等）試料中の有害物質の検査法の開発と標準化～試料の取扱いの標準化～については、健康危

機管理事例への早期対応及び安全な試験実施のため、地衛研の理化学検査担当における人体試料の取扱いについて参考となるべく、「感染性物質を含有する可能性のある人体試料等の理化学試験に関するガイドライン」を作成し、公表した。

海外（主に米国）における食品防御政策の動向調査については、米国において令和元年度に講じられた主な食品テロ対策の最新情報を把握した。具体的には、2011 年 1 月に成立した食品安全強化法（FSMA）に関して、FDA が「食品への意図的な混入に対する緩和戦略」ガイダンス（全産業向け）の改訂を行った（2019 年 3 月）点に着目し、この改訂内容を中心に整理を行った。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 田口貴章、山下涼香、成島純平、岸美紀、赤星千絵、岡部信彦、穠山浩. 食品テロ対策のための LC-MS/MS による血液・尿等人体試料中の有機リン系農薬の一斉分析法の検討. 日本食品化学学会誌、印刷中（2020 年 3 月 26 日受理）.

2. 学会発表

1) 田口貴章、成島純平、穠山浩. 食品テロ対策のための人体試料(血液・尿等)中の有機リン系農薬の定量評価法検討. 日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会 第 5 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム（東京）2019 年 9 月 14 日.

2) 田口貴章、山下涼香、岸美紀、赤星千絵、岡部信彦、穠山浩. 食品テロ対策のための人体試料(血液・尿等)中のカルバメート系農薬の分析法検討. 日本食品衛生学会 第 115 回食品衛生学会学術講演会（東京）2019 年 10 月 4 日.

3) 田口貴章、山下涼香、岸美紀、赤星千絵、岡部信彦、穠山浩. 食品テロ対策のための人体試料(血液・尿等)中の有機リン系農薬の分析法検討. 全国衛生化学技術協議会（広島）

2019年12月4日.

4) Bui Thi Hien、池内隼佑、工藤由起子、林谷秀樹、病原性 *Yersinia* の Multiplex PCR による迅速検出法の開発。第 40 回 日本食品微生物学会学術集会、東京、2020 年 11 月.

5) 井手尾百紀奈、加藤礼識、神奈川芳行、赤羽学、今村知明. 過去の意図的な異物混入事件から見える食品防御対策の必要性についての検討. 第 78 回日本公衆衛生学会抄録集. p566 (2019.10). 高知

6) 高畑能久、神奈川芳行、赤羽学、今村知明. わが国の食品流通業（運搬・保管施設）における食品防御対策の現状調査. 第 78 回日本公衆衛生学会抄録集. p566 (2019.10). 高知

7) 神奈川芳行、赤羽学、加藤礼識、高畑能久、吉田知太郎、今村知明. 大規模イベントに向けた食品防御対策ガイドラインの試作と改善について. 第 78 回日本公衆衛生学会抄録集. p566 (2019.10). 高知

8) 加藤礼識、神奈川芳行、赤羽学、今村知明. 大規模イベントに向けた食品防御対策学習ツールの開発と今後の課題. 第 78 回日本公衆衛生学会抄録集. p566 (2019.10). 高知

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし