

令和6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）  
「国際的な基準に基づく HACCP システムの導入に資する研究」  
分担研究報告書

HACCP に関する科学的根拠：低温管理 10℃以下における細菌の挙動

研究分担者 五十君 静信（東京農業大学）  
研究協力者 黄インシュン、加藤徹大、岡野花梨、島原義臣、後藤大響、  
榎本友香、Abdullah Jubair、檜木真吾  
（東京農業大学/学校法人東京農業大学食品安全研究センター）

## 研究要旨

国内において低温管理として、4℃管理を求めている生食用食肉等食肉製品、5℃管理を求めている魚介類、8℃管理を求めている鶏の液卵、15℃管理の乳製品やナッツ類を除き、一般の食品では 10℃以下の冷蔵保存が行われている。この温度帯で管理すれば、一部の低温増殖細菌を除き、主要な食中毒細菌は人に健康影響を与えないレベルに管理されるものと考えられている。一方、令和2年埼玉県で発生した大型食中毒の原因とされた大腸菌の増殖挙動の検討では、10℃における明確な増殖が観察された。現在、国内では、主な低温管理が 10℃以下とされているが、海外では、危害要因として低温増殖菌である *Listeria monocytogenes* を重視しており、低温管理を 10℃以下を採用している国はほとんどない。そこで、我国でも、国際整合性の観点に加え、低温管理の条件を科学的根拠により決定していく必要がある。一方、この温度帯における各種食中毒起因細菌の増殖挙動に関する科学的知見は乏しい。そこで、本研究では食中毒由来の菌株等を用いて、国内外の低温増殖の目安とされる温度帯である 4℃～10℃における各種細菌の増殖挙動を明らかにし、食品の低温管理の基盤となる科学的根拠を提供することを目的とし、国内の低温管理として広く採用されている 10℃以下の温度管理下での細菌の増殖挙動に関する検証を行った。

検討した食中毒起因細菌では、4℃での増殖がみられる菌群、10℃での増殖が示される菌群および、10℃では増殖の認められない菌群の3つのグループが存在することが示され、10℃管理では多くの細菌が1週間で1オーダー以上は増殖してしまうことが示された。我が国の一般的な食品の低温 10℃以下という管理については、データ数を増やしての検証が必要と思われる。低温増殖性の知られている *L. monocytogenes* については、スモークサーモンにおける 4℃と 10℃における増殖性を検証したところ、培地でのデータより若干増殖は遅れるものの 10℃では、5日で発症菌数に到達、4℃では発症菌数に到達するまでに 14～20 日を要した。

### A. 研究目的

食中毒由来の菌株等を用いて、国内外の低温増殖の目安とされる温度帯である 4℃～10℃における各種細菌の増殖挙動を明らかにし、食品の低温管理の基盤となる科学的根拠を提供することを目的とした。国内の低温管理とされている 10℃以下の温度管理下での細菌の増殖

挙動に関する検証を行った。これらの検証実験の結果から、消費期限の設定など HACCP 管理における細菌の制御に有効と思われる基礎的情報を提供することを目的とした。

### B. 研究方法

(1) 材料と方法

## 供試菌株

- ① *Listeria monocytogenes* L4458
- ② *Yersinia enterocolitica* L9119
- ③ *Morganella morganii* L9101
- ④ *Salmonella* Enteritidis L3107
- ⑤ *Escherichia coli* ETEC 91-3
- ⑥ *E. coli* 07:H4 E1487
- ⑦ *E. coli* 07:H4 E1475
- ⑧ *Pseudomonas aeruginosa* L9920
- ⑨ *Staphylococcus aureus* L9164
- ⑩ *Vibrio parahaemolyticus* 61-99

## 培地

増殖評価：Tryptic Soy Broth (TSB) 培地

菌数測定：Tryptic Soy Agar (TSA) 培地

### (2) 菌の接種実験

保存菌株を Tryptic Soy Agar (TSA) 培地に接種し、この平板培地の集落から釣菌し Tryptic Soy broth (TSB) 培地 2 mL に植菌した後、37 °C で一晩振とう培養して培養菌液を作成した。

この培養菌液と TSB 培地を用いて、菌数が約  $10^{3\sim4}$  CFU/mL (初期菌数) の全量 2 mL の試験管を作製し、これらの試験管を各温度の低温管理のできる恒温水槽でインキュベートした (本培養菌液)。

検査日に本培養菌液を 0.85% 滅菌生理食塩水で階段希釈し、各希釈液を TSA 培地に平板培養し 37 °C で一晩培養した後、集落数を計測し、各菌株における経時的増殖を確認した。

*L. monocytogenes* については、スモークサーモンでの添加回収実験により、培地での増殖性との違いについて検証した。

## C. 研究結果

令和 2 年埼玉県で発生した大規模食中毒の原因となった大腸菌株 (ヒト由来株 E1475、食品由来株 E1487) と当研究室で保存していた他の食中毒分離大腸菌株 L9127 を比較した。その結果、10 °C における E1475、E1487 とも同様な増殖曲線が得られ、L9127 に比べ、10 °C での増殖性が明らかに高かった。また、E1475、E1487 は、10 °C において、3 日後には発症菌数に達するこ

とが示唆された (図 1)。

一方、これらの 3 菌株は、8 °C 以下での低温では増殖しなかった。さらに、当研究室で保管している環境や食品分離株や食中毒由来菌株を用いて、10 °C における増殖性の検討を行った結果、菌種や菌株により増殖性が異なっていた (図 2)。よって、今回の検証より、既知の低温増殖性細菌以外にも 10 °C の低温増殖の可能性のある菌が存在し、10 °C 以下の低温管理の妥当性について今後検討する必要があると思われる。

研究室で保管している菌株について検証したところ、10°C で増殖する菌株は多数認められ、低温増殖の知られている *L. monocytogenes* などは、3 日から 4 日程度で発症菌数に。低温増殖性とされていないその他の菌株でも、1 週間以内に 1 オーダー以上の菌数の増加が認められた。

*L. monocytogenes* を初期菌数  $10^3$  cfu/g 接種したスモークサーモンにおいて 10°C で保管した場合、発症菌数に到達するまで 5 日であったが、4°C の保管では発症菌数に到達するまでに 14~20 日を要した (図 3)。培地での増殖挙動に比べ若干遅れるもののそれほど大きな差はなかった。

海外の低温管理に関する情報収集の結果では、海外では低温管理 10°C 以下としている国は皆無であり、国際標準とされる codex や、米国、カナダ、欧州などでは、4-5°C 以下を低温管理としていることを確認した (図 4)。

## D. 考察

わが国の一般的な低温管理である 10°C 以下の低温管理下での細菌の増殖挙動に関する検証を行った。研究室で保管している菌株について検証したところ、10°C で増殖する菌株は多数認められ、低温増殖の知られている *L. monocytogenes* などは、10°C では 3 日から 4 日程度で発症菌数に増殖することが確認された。

令和 2 年に埼玉県で発生した大型食中毒の原因となった大腸菌株は、10°C 管理ではこれとほぼ同等の増殖性を示し、大腸菌の一部で 10°C での低温増殖性を獲得した株が出現していることになる。今回の検証では、これまで低温増殖

性とされていないその他の食中毒起因細菌株でも、1週間以内に1オーダー以上の菌数の増加が認められた株が確認された。

*L. monocytogenes* を初期菌数  $10^3$ cfu/g 接種したスモークサーモンにおいて  $10^{\circ}\text{C}$  で保管した場合、発症菌数に到達するまで5日であったが、 $4^{\circ}\text{C}$  の保管では発症菌数に到達するまでに14~20日を要した。培地での増殖挙動に比べ若干遅れるもののそれほど大きな差はなかったことから、培地での増殖挙動とスモークサーモンでの増殖挙動にはそれほど大きな差はないものと思われる。今回の結果から、発症菌数に至るまでの保存可能期間が $4^{\circ}\text{C}$ と $10^{\circ}\text{C}$ 管理では、10日以上差が出ることを確認された。

海外では低温  $10^{\circ}\text{C}$  以下としている国は皆無であり、国際標準とされる codex や、米国、カナダ、欧州などでは、 $4-5^{\circ}\text{C}$  以下を低温管理としていた。国際整合性の面からも低温  $10^{\circ}\text{C}$  以下については見直しが必要と思われる。

わが国の一般的な低温管理である  $10^{\circ}\text{C}$  以下における低温管理での細菌の増殖挙動に関する検証を行った結果として、 $10^{\circ}\text{C}$  以下の低温管理では、多くの菌で増殖が確認された。今回の結果では、各菌種1株での評価であったことから、さらに菌株数を増やしての検証が求められる。

F. 健康危険情報  
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表  
投稿準備中

2. 学会発表

- 1) 五十君 静信。食品における食中毒起因細菌制御の重要性。日本食品衛生学会シンポジウム。ハイブリッド開催。2024. 6. 7
- 2) 岡野 花梨、黄 インシュン、久保川 竣介、古山 裕樹、島田 慎一、土井 りえ、成澤 一美、五十君 静信。埼玉県で発生した大規模食中毒事例概要とその分離大腸菌株の低温増殖性に関する検証。日本食品衛生学会。2024. 9. 5. リンクステーションホール青森（青森市文化会館）

H. 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