

令和4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）
総括研究報告書

小規模事業者等における HACCP の検証に資する研究

研究代表者 五十君 静信 東京農業大学 教授

研究要旨

平成30年6月の食品衛生法改正により、全ての食品等事業者に対して HACCP に沿った衛生管理が制度化され、令和2年6月に施行された（HACCP 制度化等については猶予期間が1年設けられ完全施行は令和3年6月）。本制度化にあたっては、小規模事業者等にコーデックスが規定する HACCP 原則をそのまま実施することを義務づけることは困難である。コーデックスガイドラインにも示されている弾力的運用は、実効性を考慮すると重要である。厚労省では、小規模事業者等に対して HACCP の考え方を取り入れた衛生管理の実施を求めることとし、食品関係団体と協力して事業者毎の手引書を作成し整備を行ってきた。

本研究班では、小規模事業者等が HACCP 制度の導入・運用が可能で、事業を継続できるよう、事業者毎の手引書の作成や見直しにおける必要な科学的知見の収集、提供等を行うとともに、活用可能な検証手法を提供することを目的とした。また、制度化による効果を分析・評価するための検証手法の検討を進めた。

研究代表者五十君は、食品衛生管理に関する技術検討会の座長として手引書作成を進め、求められる科学的根拠に関する学術的支援を行ってきた実績がある。研究分担者らと共に厚生労働行政推進調査事業で手引書作成に不足している科学的根拠に関する研究を行ってきた。朝倉は、食品の微生物制御に関する調査・研究を行っており、窪田は、食品の微生物に関する安全情報収集を業務とし、国内外の食品微生物制御に関する情報収集の実績がある。このような実績を持つ研究者で研究班を組織し、HACCP に沿った衛生管理の制度の円滑な運用及び制度の導入効果の検証に資するため、科学的知見の収集、提供等を行った。

①食品業種毎における手引書作成・見直しの支援（五十君、朝倉）では、業界団体が手引書の作成・見直しに当たり、危害要因分析、CCP 設定や衛生管理の根拠となるデータの入手及び情報の提供等の支援を行った。②HACCP プラン作成・見直しにおける科学的知見の提供では、HACCP プランを作成するにあたり、管理基準設定等の根拠となる食品ごとの加工条件等に係る知見を収集、必要であれば研究データを提供した（五十君、朝倉）。③HACCP に沿った衛生管理の制度化による効果の分析手法及び弾力的運用の検討（窪田）では、既に HACCP が導入されている諸外国における導入効果の分析・評価の状況として、オランダの食品小規模事業者における衛生管理の運用状況の調査、分析を行い、小規模事業者への指導に活用できる情報をまとめた。

本年度の研究は、高度耐熱性芽胞を形成した深鍋調理食品におけるウェルシュ菌制御方法の検討、ヒスタミン様食中毒予防及び制御方法の検討、水産加工品中の *Listeria monocytogenes* の増殖挙動、いくら等魚卵製品における検証手法設定に向けた研究を行った。また、EU 加盟国であるオランダの小規模施設における HACCP や食品衛生管理に係る制度の運用状況について調査、分析・評価を行い、我が国における制度化にあたり、弾力的に運用すべき事項を検討した。

研究分担者

五十君静信 東京農業大学 教授

朝倉宏 国立医薬品食品衛生研究所 部長

窪田邦宏 国立医薬品食品衛生研究所 室長

A. 研究目的

厚生労働省では、平成 30 年 6 月に改正食品衛生法等を公布し、令和元年 6 月から全ての食品等事業者に対して HACCP による衛生管理の実施を義務づけることとしている（完全施行は猶予期間 1 年を挟み令和 3 年 6 月）。一方、小規模事業者等に対してコーデックスが規定する HACCP の導入をそのまま義務づけることは困難であり、小規模事業者等に対する弾力的な運用についての検討及び科学的知見の提供等の支援が必要である。本研究班では、HACCP の弾力的運用を必要とする小規模事業者等が手順書の作成、製造過程の検証手法に求められる事項の検討に必要と思われる科学的知見の収集、整理、必要に応じて HACCP における科学的根拠となる研究を行い、手引書作成に有用な情報を提供することを目的とした。また、制度化による効果を分析・評価するための検証手法の検討を進めた。

B. 研究方法

①食品業種毎（食品製造業等）における手引書作成の支援では、食品衛生管理に関する技術検討会において、五十君は座長、朝倉は委員として参加し、業界団体が手引書を作成するに当たり、科学的な観点から助言を行った。危害要因分析、衛生管理の根拠となるデータの入手（文献等）及び提供、手引書案の作成及び取りまとめの支援を行った。

②HACCP プランの作成において求められる科学的知見の収集では、食品等事業者や業界団体が HACCP プランを作成するにあたり、管理基準設定等の根拠となる科学的知見の提供を行った。食品ごとの加工条件等に係る知見の収集並びに整理を行った。

③HACCP に係わる情報収集では、EU 加盟国のオランダの小規模施設における HACCP や食品衛生管理に係る制度の運用状況について調査、分

析・評価を行い、我が国における制度化にあたり、弾力的に運用すべき事項を検討した。

令和 4 年度の①②に関連する具体的な研究は、（１）高度耐熱性芽胞を形成したあるウェルシュ菌の増殖挙動、酸素分圧を考慮した制御の可能性の検討、（２）水産加工品中のヒスタミン合成細菌の挙動及び制御方法の基礎となる知見の提供、（３）水産加工品中の *Listeria monocytogenes* の増殖挙動、（４）いくら等魚卵製品における検証手法設定に向けた研究を行った。③については、海外における小規模事業者の HACCP 制度の検証手法の活用方法を含む弾力的運用状況について EU 加盟国のオランダの小規模施設における HACCP や食品衛生管理に係る制度の運用状況について調査、分析・評価を行った。

食品業種毎（食品製造業等）における手引書作成の支援では、業界団体が手引書案を作成するに当たり、科学的な観点から、手引書案の実行性について検証を行い専門家としての助言や作業の支援を行った。

（１）高度耐熱性芽胞を形成したあるウェルシュ菌の増殖挙動、酸素分圧を考慮した制御の可能性の検討

昨年度までの研究により、ウェルシュ菌の芽胞は、培地での培養後は食中毒由来株でも 85℃、10 分の加熱で死滅することが多く、耐熱性は比較的弱いことを明らかにした。特定の条件の下に培養温度の制御を行うと、100℃の加熱で生残する高度耐熱性芽胞が出現することを明らかにした。この高度耐熱性芽胞を想定食材（カレー）及びシチューに接種した場合の中心温度の変化とウェルシュ菌々菌数の変動を報告した。この高度耐熱性芽胞を用いた検討により、高度耐熱性芽胞が形成されてしまうとこれまで一般的に用いられてきた深鍋の流水冷却では、食中毒発生レベルを超える菌の増殖が起こってしまうことを実証した。危険温度帯である 55℃～30℃を 3 時間以内に通過させても、発症レベルと考えられているウェルシュ菌の菌数 10⁶ 個/g を超えてしまう。危険温度帯を少なくとも 2 時間以内に通過させる必要があることを

示した。本年度は食中毒の頻発する深鍋調理食品への芽胞のスパイク実験による温度管理の検討を引き続き行い、ウェルシュ菌数の消長に関するさらなる検討を行うことに加え、偏性嫌気性菌の特性を利用した酸素分圧を考慮した制御方法の可否に関する検討を行った。

食中毒患者数の減少が見られない芽胞形成菌であるウェルシュ菌食中毒であるが、深鍋の冷却方法について、100℃の加熱で生残する高度耐熱性芽胞を用いて、温度制御の新たな条件の設定と、温度制御以外のウェルシュ菌の制御として、本菌が偏性嫌気性菌であることから酸素分圧を変化させた場合のウェルシュ菌の制御方法の可能性について検討した。酸素還元電位と酸素分圧の検討により、高度耐熱性芽胞の発芽・増殖の可能性について実証的な知見を得た。具体的な研究方法については分担研究報告書を参照していただきたい。

（２）水産加工品中のヒスタミンの汚染実態、食品中の挙動及び制御方法の検討

ヒスタミン食中毒とは主に魚類とその加工品を食べることによって発症する食中毒である。中でも、赤身魚はヒスチジン含量が多いことから主にサバを原料とする魚のぬか漬けはヒスタミン食中毒を発症する危険性が高い。

2019年に、福井県の保健所・保健衛生部・食品衛生研究グループによって市販の魚のぬか漬け（ヘシコ）31検体についてヒスタミン汚染の実態調査が行われた。その結果、21検体からヒスタミンが検出され、その平均値は魚醤のcodex基準400 µg/ gの約2倍の濃度を示したと報告があった。我々の前年度までの市販食品の汚染実態調査でも、魚のぬか漬け（ヘシコ）は他の糠漬け食品に比べ明らかにヒスタミンレベルが高いことが確認されている。令和3年度は「醤油加工品、味噌漬け、照り焼き・味噌漬け・糠漬け等のヒスタミン量と菌数の関係」の実態調査を行った。結果として103検体の中で糠加工品9検体中5検体（55%）が安全性の指標である200ppmを超える値であり。糠加工品は他の加工品に比べてヒスタミン量は高値であった。本結果を踏まえ、本年度は糠加工品でヒスタミン量が高値を示す原因として「へし

こ用の糠」が起因するものであるかを調査した。ぬか中の細菌叢から主要な菌株を分離し、ヒスタミン生成に関与する原因菌の特定を試みた。自家製のへしこを調整し、経日的にヒスタミン量を測定し、へしこ用のぬか中の細菌を分離してヒスタミン生成の原因菌の特定を試みた。ヒスタミン産生能力が高い菌として、耐塩性乳酸菌 *Tetragenococcus halophilus* を明らかにした。具体的な研究方法については、協力研究報告書、分担研究報告書を参照していただきたい。

（３）非加熱喫食の水産加工品中の *Listeria monocytogenes* の増殖挙動

スモークサーモンや魚卵製品等の水産加工品での *L. monocytogenes* の汚染が報告されており、これらの製品は低温での保存期間が比較的長い製品でもある。本菌は低温でも増殖できることから当該食品中の本菌の増殖挙動の検討は重要である。

それらの水産加工品の多くは非加熱で喫食するRTE食品として出回っているため、その温度コントロールや適切な消費期限設定は重要と考える。

本研究では、水産加工品における本菌汚染を考慮した場合の冷蔵保存温度と時間の関係について検討した。スモークサーモンや魚卵製品に菌株を接種し、食品中での *L. monocytogenes* の増殖挙動と一般生菌数推移の検証を行った。培地での増殖性に比べ、スモークサーモンや魚卵製品では、増殖が遅延する傾向を確認した。また、4℃に比べ10℃での増殖性がかなり高いことから、消費期限設定には温度管理が重要な要素他なると思われる。

（４）いくら等魚卵製品における検証手法設定に向けた研究

いくらははじめとする魚卵製品の多くは、無加熱で摂取される食品にあたることから、その衛生管理は国民の健康保持を図る上で重要な課題である。いくら製品の衛生的取り扱いについては、厚生省より通知（衛乳第231号、平成10年9月18日）が発出されており、0157を製品等試験検査の対象項目に置くこととされている。

一方、当該製品の衛生管理に係る国内の監視指導にあたっては、当該製品を冷凍食品（無加熱摂取冷凍食品）と見做し、同成分規格として定められている、細菌数（生菌数）100,000 以下/g 及び大腸菌群陰性を指標として用いられることも多い。

いくら等の魚卵製品の製造加工にあたっての検証方法の探索を行うことを目的として、いくら製品を対象とした微生物試験を行い、同成績並びに保存試験成績に基づき、当該製品に対する検証方法の在り方について考察を行った。

国内において、冷凍状態でインターネット販売されるいくら製品計 166 検体を入手した。いずれも入手時には冷凍状態であることを目視確認した上で、流水解凍させた後に以下の微生物試験等に供した。具体的な研究方法については分担研究報告書を参照していただきたい。

（５）海外における小規模事業者の HACCP 制度の検証手法の活用方法を含む弾力的運用状況

令和 5 年 2 月 20 日～24 日に、オランダ、ユトレヒト市のオランダ食品・消費者製品安全庁（NVWA: De Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit）、およびビルトーベン村のオランダ国立公衆衛生環境研究所（RIVM: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu）を訪問し、食品衛生関係者と食品安全対策に関する意見交換を行った。また、実際の食品衛生監視指導に関して、アムステルダム市、アイントホーフェン市、ズーテルメール市で、レストラン 2 件、小規模冷凍食品製造工場、食材の卸売および小規模食肉加工工場、小規模食肉加工工場等の小規模事業者に対する監視指導および監査の状況を調査した。小規模事業者に対する監視指導に同行し、実際の監視指導の内容、HACCP の導入状況、HACCP の考え方に基づく衛生管理の内容等を調査した。また担当者との議論から、NVWA の役割や、HACCP の考え方に基づくリスクベースの監視指導の実態、食中毒対応、食品衛生監視員の教育等について調査を行った。

C. 研究結果

中小零細事業者を対象とした手引書作成の

支援では、業界団体が手引書案を作成するに当たり、科学的な観点から、危害要因分析、衛生管理の根拠となるデータの入手（文献等）及び提供、対象となる事業所で実行性がある手引書（案）の作成などについて、専門家としての助言や作業の支援を行った。厚生労働省の「食品衛生管理に関する技術検討会」で、五十君は座長として、朝倉は委員として参加し、手引書作成を支援した。作成の完了した手引書は、厚生労働省の以下ホームページに公開されている。
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000179028_00003.html

（１）高度耐熱性芽胞を形成したあるウェルシュ菌の温度の夜増殖挙動、酸素分圧を考慮した制御の可能性の検討、酸素分圧を考慮した制御の可能性の検討

深鍋に粘性の高い模擬食品を作成し、外部からの冷却の有無等による食品中の中心温度変化を明らかにしたところ、深鍋を冷却しない場合、食品の中心温はウェルシュ菌の増殖危険温度帯（55℃～30℃）に、食材に寄り若干異なり 6～8 時間程度曝されることを報告した。深鍋周囲を冷水で冷却を行った場合でも、ウェルシュ菌の増殖危険温度帯（55℃～30℃）に、食品中心部は約 3 時間曝される。これらの温度変化を参考とし、食材に 100℃耐熱性芽胞を接種し、これまで得られた温度変化をコントロールしながら、ウェルシュ菌の菌数の消長を明らかにした。深鍋外部を流水による冷却を行っていることを想定した食品の中心温度変化条件で実験を行ったところ、ウェルシュ菌の菌数は、55℃から徐々にふける傾向がみられ、45℃から、急激に増え、増殖温度帯暴露時間である 2 時間程度で、一挙に 10^4 から 10^8 へと急激に増加し、その後室温放置では容易に発症菌数となってしまったことを示した。そこで本年度は、温度制御以外の方法でのウェルシュ菌制御法として、酸素分圧による制御方法について検討した。当初は酸素分圧の直接測定は非常に高価な計器を必要とするため、入手が容易であることから、酸化還元電位計を用いて検討した。閉鎖系でも食材により酸化還元電位は変化してしまい、ウェルシュ菌の制御に有効な条件の評価は困難

であった。酸素分圧計を借入れ、直接酸素濃度の値を計測しウェルシュ菌の増殖について検討した。酸化還元電位がマイナスの間は、ウェルシュ菌の増殖が観察された。培地組成を検討し酸化還元電位を±0付近に調整したところ、酸素分圧の違いによりウェルシュ菌の増殖の有無は変化した。

(2) 水産加工品中のヒスタミン合成細菌の挙動及び制御方法の検討

これまでの検討からアレルギー様食中毒予防には低温保管温度と保管日数の管理により、モルガン菌の増殖抑制が重要であることを示した。

本年度は食材としてサバを用いて検討した。*M. morganii*を接種しない検体でもヒスタミンが検出された。本菌の自然汚染頻度は高いと思われた。培養温度に伴うヒスタミン生成量および菌数を計測した結果、5℃以下での低温管理がヒスタミン生成・菌数増加の抑制に有効であることが分かった。また、シメ鯖を想定し酢酸および食塩を添加した魚肉におけるヒスタミン産生量及び菌数の計測をした結果、酢酸の添加がヒスタミン生成・菌数増加の抑制に有効であることが示唆された。よって *M. morganii* によって引き起こされるアレルギー様食中毒の制御方法として酢酸の添加と 5℃以下での低温管理が有効であることが示唆された。

(3) 非加熱喫食の水産加工品中の *Listeria monocytogenes* の増殖挙動

リファレンスとして2種類の菌株について培地を用いて単独菌株の最適な条件での菌株自体の増殖の挙動を調査した。

結果として LM は 10℃保存での増殖速度が速く 4 日～7 日後で食中毒が起こり得る菌数まで増殖した。

一方、4℃保存では 15 日後に食中毒発症菌数まで増殖した。4℃保存では増殖速度は遅くなるものの、徐々に増殖することが確認された。

スモークサーモンへのスパイクでは初発菌数 10cfu/g から 4℃保存では 30 日後でも初発菌数レベルの菌数であったのに対し、10℃保存では 25 日～30 日後に食中毒が起こり得る菌数と

なり、4℃保存と 10℃保存での有意差が認められた。

たらこへのスパイクでは初発菌数 10cfu/g から 4℃保存では 30 日後でも初発菌数レベルの菌数であった。菌株によって、10℃での菌数挙動に差がみられたことは、今後さらなる検討が必要と思われる。

10℃保存においても 30 日後で 10cfu/g～10³ cfu/g となり何らかの原因で増殖抑制されていることが示唆された。

(4) いくら等魚卵製品における検証手法設定に向けた研究

いくら製品検体における衛生指標菌の検出状況

いくら製品計 166 検体における衛生指標菌検出成績の概要について以下に記す。

○ 細菌数 (生菌数)

供試検体のうち、136 検体より細菌数が確認され、その平均値±SD は 1.92±1.08 log CFU/g であった。最大菌数は 4.40 log CFU/g、95 パーセンタイル値は 4.08 log CFU/g であった。なお、全検体は、無加熱摂取冷凍食品の成分規格として定められる 5.00 log CFU/g 以下を満たしていた。

○ 腸内細菌科菌群

腸内細菌科菌群はいくら製品計 166 検体のうち 29 検体より検出され、その平均値±SD は 0.69±0.47 logCFU/g であった。最大菌数は 3.04 logCFU/g、95 パーセンタイル値は 1.85 log CFU/g であった。なお、腸内細菌科菌群については、成分規格等で設定されている項目ではないため、参考となる数値等は特段得られなかった。

○ 大腸菌

大腸菌 (β-グルクロニダーゼ陽性大腸菌であり、国内の食品衛生法で定められる *E. coli* とは異なる) は、いくら製品計 166 検体のうち 3 検体より検出され、その最大菌数は 1.48 log CFU/g であった。95 パーセンタイル値は 0.50 log CFU/g であった。なお、冷凍食品の成分規格への適合状況を確認するための細菌試験では、検体の 100 倍希釈乳剤を調整し、これを 1mL 検査に供することとなっていることから、理論

上の検出限界は 2.0 log CFU/g と算定された。

○ 黄色ブドウ球菌

黄色ブドウ球菌は、いくら製品計 166 検体のうち、9 検体より検出され、その最大菌数は 1.65 log CFU/g、95 パーセンタイル値は 1.00 log CFU/g であった。

原料の魚種（鮭・鱒）、或いは産地（外国産・国産）による菌数分布を比較したところ、大腸菌及び黄色ブドウ球菌については魚種間及び産地間で有意差を認めたものの、当該指標菌陽性は特定製品由来検体に限定されていたことから、原料の魚種或いは産地に基づく有意差とは考え難いと判断された。

病原細菌の検出状況

いくら製品検体における志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 及びサルモネラ属菌の存在を明らかにする目的で、迅速検出法である MDS を用いたスクリーニング検査を実施したところ、供試検体はいずれも陰性を示した。

冷蔵保存を通じた微生物挙動

いくら製品検体のうち、腸内細菌科菌群陽性を呈した 6 検体 (A～F) について、解凍後に、8℃下で最長 7 日間保存を行い、保存から 0、1、3、7 日後に細菌数及び腸内細菌科菌群数を求めた。

結果として、細菌数は検体 D を除く 5 検体で保存 7 日後には保存 0 日後に比べて高い菌数を示した。また、腸内細菌科菌群については、検体 B は保存 3 日後及び 7 日後で保存 0 日後に比べて高い菌数を示したほか、検体 C、検体 E 及び検体 F では保存 7 日後で保存 0 日後に比べて高い菌数を示した。なお、検体 B で保存 7 日後に分離された腸内細菌科菌群様集落を菌種同定に供したところ、*Lelliottia amnigena* であった。

腸内細菌科菌群として検出された代表集落の菌種同定

項 2 において、腸内細菌科菌群が陽性となった 29 検体について、それぞれ VRBG 寒天培地に塗抹し、培養後に定型集落を認めた計 28 検体より代表 2 集落を釣菌し、菌種同定試験に供した。

釣菌した集落の菌属（種）同定結果として、

計 10 菌（属）が同定され、*Lelliottia amnigena* は 7 検体からと最も多く、*Serratia liquefaciens*、*Pantoea* spp.、*E. coli* が各 4 検体からと続いた。これらのうち、細菌学的分類に基づき腸内細菌科菌群とされないものは、*Serratia* spp.、*Pantoea* spp.、*Hafnia* spp. であった。これらを除外した上で腸内細菌科菌群と最終的に同定された菌種としては、*Lelliottia amnigena* が最多であり、次いで *E. coli* であった。

(5) 海外における小規模事業者の HACCP 制度の検証手法の活用方法を含む弾力的運用状況について

オランダでは食品事業者の自主的な衛生管理を基本としており、監視指導により、まずは自主的な改善を促すが、改善しない場合は罰金を適用して改善させていた。EU 規則に従い HACCP による管理が義務であるが、オランダでは各業界団体が食品分野別のガイドライン文書 (Hygiëencode) を作成しており、小規模事業者はこのガイドライン文書冊子を購入し、それに従って衛生管理を行っており、監視指導ではそれらがガイドライン文書に沿って実施されているか否かを確認していた。監視結果に関しては、タブレット端末に入力することで報告システムに入力され、消費者がオンラインで閲覧できるようにすることで消費者のみならず事業者の衛生対策に対する意識向上が見られるとのことで、日本においても同様のシステムが効果的に働く可能性が示唆された。

D. 考察

(1) 高度耐熱性芽胞を形成したあるウェルシュ菌の深鍋調理品の加熱後の温度管理と菌の挙動、酸素分圧を考慮した制御の可能性の検討

深鍋調理食品におけるウェルシュ菌制御では、これまでの検討から流水冷却では制御が難しいことから、開発した 100℃耐熱性芽胞作出条件を活用し、食材中での菌数変動を明らかにし、求められる温度管理条件を明確とすると共に、偏性嫌気性菌であるウェルシュ菌の制御に食品中の酸素濃度または、酸化還元電位をコントロールする方法の有効性を検討した。酸化還

元電位は食材の影響を強く受け、変化してしまうことから、どの値であれば制御可能という評価は困難であることが明らかとなった。酸素分圧系を用いて評価を進めたが、今回設定した酸素分圧の範囲では、ウェルシュ菌は増殖してしまったことから、次年度以降さらに高い酸素濃度での検討が求められること明らかとなった。

(2) 水産加工品中のヒスタミンの汚染実態、食品中の挙動及び制御方法の検討

アレルギー様食中毒予防には低温保管温度と保管日数の管理により、*M. morgani* の増殖抑制が重要であることをこれまでの研究で明らかにしてきた。

一方、低温増殖性、耐塩性細菌によるヒスタミン様食中毒予防のためのサーベランスとして、市販の高塩濃度の魚介食品等を購入し、103 件の市販食品中のヒスタミン濃度の測定を行った。このうち魚類の糠漬けにおいて、高いレベルのヒスタミンを検出した。次年度以降、魚類の糠漬けについて、菌叢解析による原因菌の特定、ヒスタミン制御方法の検討が必要と思われる。

(3) 非加熱喫食の水産加工品中の *Listeria monocytogenes* の増殖挙動

本菌の培地での増殖曲線に比べ、食品へのスパイク実験では増殖が遅れる傾向がみられ、食品種によりその傾向が異なることが示された。

(4) いくら等魚卵製品における検証手法設定に向けた研究

本研究では、いくら等魚卵製品における衛生実態を踏まえた上で、同製品の工程管理を行う上で妥当と思われる検証手法について検討を行った。

衛生試験成績から、今回の供試検体では過去の事例において健康被害との関連性が示される腸管出血性大腸菌は検出されなかった。衛生指標菌の定量検出試験結果として、腸内細菌科菌群が一定程度検出されたが、菌種同定成績から、*L. amnigena* 等の主に環境に由来する細菌が当該食品では優勢である実態が明らかとなった。

HACCP 検証を行う上では、ヒトの健康被害との関連性を持つ衛生指標を選択することが必要かつ重要な事項と思われる。その意味において、検証にあたって、現行の無加熱摂取冷凍食品の成分規格である大腸菌群陰性を評価項目とする評価方法は適切とはいえない状況とも思われる。なお、現行の成分規格では検体の 100 倍乳剤を調整し、定性試験により大腸菌群の有無を判定しているが、同法では実質的には大腸菌群が 2.0 log CFU/g 以下であることを確認する形となっている。

上記の方法に代わりうる方法としては、魚卵製品については、国際的な糞便汚染指標菌として汎用される β -グルクロニダーゼ陽性大腸菌（いわゆる generic *Escherichia coli*）を試験項目として、食品一般の希釈倍率である 10 倍乳剤を用いた検証を行い、その陰性を確認していく方法が科学性かつ実行性の両面から妥当と考えられる。

なお、*L. amnigena* を含めた細菌数は冷蔵保存時間の延長に伴い、特に保存 7 日後で明確な増殖を示す検体が存在した。このことは、当該食品の冷蔵保存時間帯について、各製品の特性を踏まえた検証を通じて設定していくことが、腐敗変敗の可能性を最小限にとどめ、品質の確保へと繋がることを示唆していると言えよう。腐敗変敗の原因菌は幅広く存在し得ることを鑑みると、そのための検証項目としては、細菌数を選択することが適切と考えられる。

いくら製品を対象とした微生物試験を行い、細菌数及び β -グルクロニダーゼ陽性大腸菌を当該食品の検証を進める上での試験項目として設定することが有用と考えられる知見を得た。

(5) 海外における小規模事業者の HACCP 制度の検証手法の活用方法を含む弾力的運用状況について

オランダでは、本分担研究で過去に実施したフランスやデンマークの小規模事業者の衛生監視指導の調査結果と同様、食品事業者自身の衛生管理を基本としており、監視指導により、まずは自主的な改善を促すが、改善しない場合は罰金を適用して改善させていた。監視に同行

した各事業者も罰金を避けるために監視員の質問および助言に丁寧に対応する等、監視指導に協力的であった。過去3年間の監視結果を踏まえ、監視指導時にも問題があった場合には罰金が課され、それが衛生遵守への意識に影響しているとのことであった。さらに従わない悪質な事業者には営業停止を命じる場合もあるとのことであった。

今回の監視指導同行においては営業していない事業者にあたるが多かった。これは予告なしの訪問による監視指導における問題点であり、COVID-19の影響で営業時間の変更、一時的な閉店、廃業が多くみられ、監視指導時に営業していない事業者にあたることも多いとのことであった。監視員が互いに担当事業者を調整することで再訪や、事業者までの移動時間の短縮により効率的に監視指導を行なうことで対応しているとのことであった。

監視指導内容において、食品アレルギーが重視されており、事業者が顧客から質問があったさいにすぐに説明できるように説明パンフレットをレジカウンター等、すぐに出せるところに用意しておくことを要求していた。

オランダではEU規則に従って、全ての食品取扱い事業者においてHACCPの運用が要求されており、大規模食品製造工場や大規模事業者においては独自にHACCPプランが作成され、それにもとづく管理・指導が行われている。また、EUは加盟各国に対して、HACCPの原則を導入可能とするようガイドライン文書を作成することを要求しており、オランダではガイドライン文書としてHygiënecodeという各食品事業団体にガイドラインを作成させ、それぞれの事業用のものを購入するよう指導している。小規模事業者は基本的にこのガイドラインに従って衛生管理を行っており、監視指導ではそれらがガイドラインに沿って実施されているか否かを確認していた。小規模事業者がHACCPの概念の理解を得られるよう努力していることが伺えた。またガイドライン文書(Hygiënecode)は5~8年で更新するよう法律で明記されており、策定や審査に時間がかかることから各業界団体には前もって作業を開始するように依頼しているとのことであった。今回監視指導を行

った事業者には古いバージョンのものを使用しているところもあり、監視指導により最新のものに更新するよう促す効果も見られた。

オランダでは各食品事業団体がNVWAと協力して作成したガイドライン文書(Hygiënecode)に沿った自主的な衛生管理を基本としており、行政による監視指導は食品事業者自身の衛生管理を基本としており、監視指導により、まずは自主的な改善を促すが、改善しない場合は罰金を適用して改善させていた。また、ガイドライン文書(Hygiënecode)は5~8年で更新するよう法律で明記されていた。今回監視指導を行った事業者には古いバージョンのものを使用しているところもあり、監視指導により最新のものに更新するよう促す効果も見られた。日本においても食品分野ごとの手引書をもとにした衛生管理指導を行う際に、小規模事業者に対するHACCPの考え方に基づく衛生管理指導として、温度管理やメニューに応じた注意点の実施及び記録等比較的理解が得られやすく負担の少ない部分の指導を中心としてHACCPの概念の理解を推進し、これにより事業者の衛生管理に対する意識向上や問題点の改善意欲を高めることが可能になると期待できる。また、日本においても将来、手引書の定期的な更新が、より効果的な衛生管理へとつながる可能性も示唆された。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sasaki Y, Iwata T, Uema M, Yonemitsu K, Igimi S, Asakura H. *Campylobacter* spp. prevalence and fluoroquinolone resistance in chicken layer farms. J Vet Med Sci. 84(6):743-746 (2022)
2. 五十君静信：妥当性確認された微生物試験法の重要性とHACCP制度化後の微生物検査の考え方.FFI Journal. 227 巻4-9。(2022)
3. 五十君静信。食品関係事業者・消費者などが知っておくべき、チーズにおけるリ

ステリアの挙動。食の安全と微生物検査 (2022)

4. 五十君静信。食中毒統計には表れないリステリア食中毒発生状況とその対策。ーフードケミカル(2023)
5. 五十君静信。HACCP の検証における微生物検査法の選択と活用。フードケミカル (2022) 五十君静信。HACCP 制度化における微生物の自主検査の考え方: 妥当性確認された簡便・迅速な代替法の選択と活用。食品衛生研究(2022)
6. 五十君静信。食品衛生の国際標準化の重要性と国内の HACCP 制度化。明日の食品産業(2022)
7. 山本詩織, 窪田邦宏, 吉富真理, 温泉川肇彦, 五十君静信, 朝倉宏. 仕出し弁当の保存経過にともなう細菌増殖挙動に関する検討. 日本食品微生物学会雑誌. 印刷中

2. 学会発表

- 1) 五十君静信。食の安全に求められるグローバル化は日本食の世界展開への架け橋となるか。日本食品科学工学会第69回大会web開催。2022. 8. 24
- 2) 五十君静信。ウェルシュ菌による食中毒とその制御法。日本防菌防黴学会第 49 回年次大会。2022. 9. 26 (東京)
- 3) 五十君静信。病原微生物による食中毒について。令和4年度徳島県消費者大学校大学院食品安全リスクコミュニケーター要請・食品表示コースNP0 SFSS web開催。2022. 9. 27
- 4) 安藤 洸幸、嶋岡 泰世、菊地 愛梨、近 亮子、森田 智士、五十君 静信、松尾 健児。マイクロ流路型誘電泳動分離装置とMALDI-TOF MSを組み合わせた迅速菌種同定法の検討。2022. 9. 29-30 (東京)
- 5) 五十君静信。低温流通(チルド)食品の微生物制御の基礎と対策。日本食品工業倶楽部。ハイブリッド開催。2022.10.26
- 6) 五十君静信。機能を持った有用微生物を食品として用いる場合の安全性の考え方。乳酸菌学会秋期セミナー2022. 11. 25 (東京)
- 7) 五十君静信。HACCP制度化後、微生物検査をどのように考えればよいのか。NP0 食の安全と微生物検査。微生物検査実技研修会2023. 3. 10 (東京)

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

3. その他
なし