

令和 3-5 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）
総合研究報告書

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 に沿った衛生管理を実施することが制度化され、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。実効性を考慮すると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、有用な考え方である。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、小規模事業者等が制度の運用を継続できるよう、事業者毎の手引書の作成やその見直しに求められる科学的知見の収集、提供等を行った。また、欧米等諸外国の小規模食品事業者等における HACCP に沿った監視指導に関する運用・指導現場の運用実態およびその指導にあたる職員の育成等に関する調査を実施し、日本における現場での運用・指導および職員の育成、監視指導内容の平準化等の参考とし、事業者が活用可能な検証手法の提供、並びに HACCP 制度化による効果を分析・評価するための知見を提供することを目的とした。

研究代表者は、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た。分担研究者は、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、必要であれば研究によりデータを提供した。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・評価の状況並びに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。また、④公共および民間データの比較に基づく食品への異物混入被害状況の把握を行った。

研究分担者

窪田邦宏 国立医薬品食品衛生研究所 室長

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

A. 研究目的

平成 30 年公布された食品衛生法改正により、食品を取扱う事業者に HACCP の導入が制度化された。本研究班は小規模事業者等が事業を継続できるよう、事業者毎の手引書の作成やその見直しに求められる科学的知見の収集、提供等を行った。また、欧米各国の小規模食品事業者等における HACCP の概念に沿った監視指導に関する運用・指導現場の運用実態およびその指導にあたる職員の育成等に関する調査を実施し、日本における現場での運用・指導および職員の育成、監視指導内容の平準化等の参考とし、事業者が活用可能な検証手法の提供、並びに HACCP 制度化による効果を分析・評価するための知見を提供することを目的とした。

各食品事業者が HACCP による衛生管理の取り組みを進める際に、食品に混入する異物の全体像、健康被害の実態、健康被害が発生した異物の材質、形状等を把握することがまず必要であり、それらの情報は危害要因分析の支援にもつながる。異物混入に関する分担研究では、自治体データと 2 つの民間データの相互の比較を行うことで、食品への異物混入の被害実態の把握に関して、各集計システムの性質・特徴に起因すると思われる相違や、集計システムの違いによらない類似性を明らかにすることを目的とした。これらの情報は、今後、異物混入事例を対象とした集計システムを構築する際の一助となり、また、食品事業者への HACCP 指導時に参照可能な異物混入実態データとして活用することが可能と考えられる。

海外における食品業種ごとの HACCP 制度の運用状況を把握するため、海外の HACCP 制度の運用状況について調査、分析・評価を行い、我が国における弾力的な運用について検討した。

B. 研究方法

食品業種毎（食品製造業等）における手引書作成・改定の支援では、食品衛生管理に関する技術検討会において、五十君は座長として、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。

HACCP 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。実施した研究項目を、以下に示す。

調査研究による科学的知見の提供

<令和 3 年度>

- ①高度耐熱性芽胞を形成したあるウェルシュ菌の加熱後の温度管理と菌の挙動
- 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
- ③仕出し弁当における保存時間経過に伴う衛生指標菌数挙動に関する検討

<令和 4 年度>

- ④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
- ⑤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
- ⑥非加熱喫食の水産加工品中の *Listeria monocytogenes* の増殖挙動
- ⑦いくら等魚卵製品における検証手法設定に向けた研究

<令和 5 年度>

- ⑧カット野菜等の一般生菌数や衛生指標菌、芽胞形成菌などの実態調査と衛生指標の検討
- ⑨低温保存食品（フローゼンチルド管理）の *Listeria monocytogenes* の増殖挙動
- ⑩耐塩性細菌によるヒスタミン合成の検討

異物異物混入に関する調査

<令和 3 年度>

- ⑪民間データに基づく食品への硬質異物混入被害状況の把握
- ⑫食品への異物混入被害状況の把握（民間データ：平成 27 年 1 月～平成 31 年 3 月）

<令和 5 年度>

- ⑬公共および民間データの比較に基づく食品への異物混入被害状況の把握

海外の HACCP 制度の運用状況の調査

<令和3年度>

- ⑭米国の小規模食品取扱事業者への定期監視指導による効果の調査

<令和4年度>

- ⑮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

<令和5年度>

- ⑯オーストラリア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

それぞれの具体的な研究方法については各年度の分担研究者の総括研究報告書を参照していただきたい。

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

HACCP 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。

調査研究による科学的知見の提供

<令和3年度>

- ①高度耐熱性芽胞を形成したあるウェルシュ菌の加熱後の温度管理と菌の挙動

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至適温度帯（50℃～37℃）に5時間程度曝されることを報告した。冷水で冷却を行った場合でも、ウェルシュ菌の増殖至適とされる温度帯（50℃～37℃）に、食品中心部は約2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。深鍋外部を水による冷却を行っていること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45℃から、急激に増え、予想増殖至適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。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。今回検討した酸素濃度範囲ではウェルシュ菌の増殖は増殖した。

- 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、*M. organii* の増殖抑制が重要であることを示した。

食材としてサバを用いて検討した。*M. organii* 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仕出し弁当における保存時間経過に伴う衛生指標菌数挙動に関する検討

仕出し弁当の調理・盛り付け後の保存時間（常温）の科学的根拠の提供を目的として、異なる事業所で調理・盛り付けされ、配送された仕出し弁当について、受入時及び常温等での保存過程を通じた微生物挙動を評価した。結果として、黄色ブドウ球菌の増殖リスクや過去の衛生規範で示されていた一般生菌数 6.0 log CFU/g 以下を共通に達成できた調理・盛り付け後の保存時間は 5 時間未満であり、衛生規範で示されていた 4 時間以内であれば食中毒のおそれが殆どないとされてきた、科学的根拠を提示することができた。

<令和 4 年度>

④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

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うことを示した。

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。

⑤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。

今回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。

⑥非加熱喫食の水産加工品中の *Listeria monocytogenes* の増殖挙動

増殖挙動は2種類の菌株について培地を用いて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 *L. monocytogenes* は10°C保存での増殖速度が速く4日~7日後で食中毒が起り得る菌数まで増殖した。

一方、4°C保存では15日後に食中毒発症菌数まで増殖した。4°C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°C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°C保存では25日~30日後に食中毒が起り得る菌数となり、4°C保存と10°C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°C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°C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°C保存においても30日後で10 cfu/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。

⑦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°C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

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。これらを除い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。

<令和5年度>

⑧カット野菜等の一般生菌数や衛生指標菌、芽胞形成菌などの実態調査と衛生指標の検討

カット野菜等の芽胞形成菌については、当該市販食品について、外気温の高い時期(夏季)51検体。外気温の低い時期(冬季)100検体について、芽胞形成菌、一般生菌数、腸内細菌科菌群の定量評価を行い、消費期限日並びにその2日後の定量結果から、細菌の実態を明らかにした。一般生菌数については、消費期限日で腐敗・変敗の目安とされる 10^6 CFU/gが中央値で、2日後には中央値は 10^7 CFU/gであった。芽胞菌は検出される検体では、消費期限日で 10^3 CFU/g以下で、検出

される検体と検出されない検体があった。

⑨低温保存食品(フローゼンチルド管理)の*Listeria monocytogenes*の増殖挙動

スモークサーモンでは、 10°C で5日、 4°C で20日後には、発症の目安となる 10^6 CFU/gに到達することが示された。また水産加工品等で行われている冷凍保存後、解凍しチルドで管理するいわゆる“フロチル”管理による本菌の増殖性について検証を行った。汚染率の高いスモークサーモンについて、チルド管理とフロチル管理で接種菌の菌数変動を明らかにした。比較として、培地にて同様な菌数挙動を明らかにした。

チルド管理では培地とスモークサーモンで菌数挙動は大きく異なることはなかった。一方、フロチル管理では、培地での菌数変動はチルドに比べ明らかに遅延していたが、スモークサーモンの菌数変化は新鮮菌をチルド管理した挙動とあまり変わらず、菌数の上昇が培地での結果より明らかに早く進むことが示された。

⑩耐塩性細菌によるヒスタミン合成の検討

市販の魚のぬか漬けにおけるヒスタミン汚染の実態調査では、12検体中7検体が魚醤のcodex基準であるヒスタミン濃度 $400\mu\text{g/g}$ を超える結果となった。基準値を超えた検体の内訳はサバ5検体、イワシ2検体であった。基準値を超えた検体の割合は58.3%となり、市販の魚のぬか漬けの半数以上がヒスタミン汚染されていると考えられる。codex基準値を超えた検体の中で最も値が高かったのはサバを用いて作られた検体で、 $700\mu\text{g/g}$ を超えるヒスタミン濃度が検出された。

分離菌株の評価により、耐塩性乳酸菌*Tetragenococcus halophilus*の関与が示された。それ以外の分離菌株でも活性は低いもののヒスタミン合成が認められた。

異物異物混入に関する調査

<令和3年度>

⑪⑫民間データに基づく食品への硬質異物混入被害状況の把握

民間機関から提供された食品への異物混入事例の解析から、自治体提供のデータとは別に、食品における硬質異物混入被害実態の一端が把握できた。特に食品および硬質異物の種類の組み合わせを検討することで、各種の食品に特徴的な硬質異物の概要が示された。

<令和5年度>

⑬公共および民間データの比較に基づく食品への異物混入被害状況の把握

国内の異物混入に関するデータ収集および解析では、自治体および民間機関（イカリ消毒、日本生協連）から提供された食品への異物混入事例の相互比較解析から、異物混入被害に関わる異なる集計システムの相違点・類似点が把握できた。また本研究により、全国における食品への異物混入被害実態を把握するためには、複数の集計システムが必要であること、および分類基準の統一もしくは再集計可能な分類基準の追加が必要であることが再確認された。

海外の HACCP 制度の運用状況の調査

<令和3年度>

⑭米国の小規模食品取扱事業者への定期監視指導による効果の調査

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調査、分析・評価により、米国において、定期衛生監視指導がレストランにおける食中毒発生防止のために効果的に機能していることが確認された。

<令和4年度>

⑮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

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。

<令和5年度>

⑯オーストラリア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

オーストラリアでは食品規格基準の制定はオーストラリア・ニュージーランド食品基準局（FSANZ）、輸入検疫等は農業・漁業・森林資源庁（旧オーストラリア検疫庁）といった国（連邦）の機関が担当している。州内の食品衛生行政については各州が責任を持ち、現場の実際の食品衛生監視業務は州と契約した各カウンシルが担当する。その監視結果や指導内容に関しては州としてニューサウスウェールズ州農林水産省、ニューサウスウェールズ州食品担当機関、ニューサウスウェールズ州保健機関が総括している。食中毒アウトブレイクの調査は州が行ない、それに当該施設を担当した各カウンシル担当者が情報提供等で協力する形となる。また州はリスク対策の行政施策の導入やその評価、規格基準の導入、消費者および食品事業者の教育も担当している。また各カウンシルの監視員の指導内容に差がでないように、各カウンシルでの監視指導結果の評価や定期的な監視員研修等も州でおこなっている。監視員の研修プログラム及び研修費は州が負担していた。職位に応じた対面での研修を基本とするが、専用教育サイトでも資料や動画を配信しており、対面での受講ができない監視員も受講

ができる体制をとっていた。監視指導実態等については、分担研究者の総括研究報告書に詳しく述べられているので、確認していただきたい。

D. 考察

食品業種毎における手引書作成・見直しの支援では、業界団体から提出された手引書の見直し案について検討し、必要と思われる科学的データの入手及び情報の提供等の支援を行ってきた。手引書作成において科学的根拠の明確でないものについては、研究によってデータを提供していくことは今後も重要である。今回の研究班の研究により、検討した課題については科学的根拠を提供できたものと思われる。特にウェルシュ菌の制御方法については、100℃耐熱性の芽胞形成が稀に起こることを示し、100℃耐熱性の芽胞の挙動を観察した結果から、深鍋調理の食品については危険温度帯を3時間以内通過させるのでは不十分であり、2時間以内に通過させ、10℃以下の低温まで冷やす必要があることを示した。それ以外の検討でも微生物管理に関する知見を提供できた。さらに、異物混入の実態調査と海外のHACCP管理の調査は、貴重な情報を提供することができた。

科学的知見の提供

<令和3年度>

①高度耐熱性芽胞を形成したあるウェルシュ菌の加熱後の温度管理と菌の挙動

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では、これまでの検討から流水冷却ではウェルシュ菌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値の

設定やマネジメントへの活用は困難である。

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

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、コーデックスの魚醤の基準値を上回る高いレベルのヒスタミンを検出した。魚類の糠漬けについて、菌叢解析による原因菌の特定とヒスタミン制御方法の検討が必要と思われる。

③仕出し弁当における保存時間経過に伴う衛生指標菌数挙動に関する検討

仕出し弁当について、受入時及び常温等での保存過程を通じた微生物挙動を評価した。結果として、黄色ブドウ球菌の増殖リスクや過去の衛生規範で示されていた一般生菌数6.0 log CFU/g以下を共通に達成できた調理・盛り付け後の保存時間は5時間未満であり、衛生規範で示されていた4時間以内であれば食中毒のおそれが殆どないという科学的根拠を提示することができた。

<令和4年度>

④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

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、さらに高い酸素濃度での検討が求められる。

⑤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

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. organii* 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。

今後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た。

⑥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。

⑦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。

<令和5年度>

⑧カット野菜等の一般生菌数や衛生指標菌、芽胞形成菌などの実態調査と衛生指標の検討

気温の高い時期(夏季)の調査では、51検

体を購入して消費期限日及び消費期限日 2 日後の汚染指標菌の測定したところ消費期限日での平均対数値は、一般生菌数で 7 以上 8 未満、耐熱性芽胞菌で 2 以上 3 未満、腸内細菌科菌群で 5 以上 6 未満であった。

今般の調査では一般生菌数、腸内細菌科菌群においてかなり高い菌数であったが、検出された菌種のほとんどが植物の正常菌叢由来と思われたこと、食中毒起因菌の含まれる耐熱性芽胞菌の汚染率、菌数ともに低いことからカットキャベツでの健康被害リスクは低いと考えられた。

しかしながら消費期限 2 日後では一般生菌数、耐熱性芽胞菌、腸内細菌科菌群ともに消費期限日から 1 オーダーレベルの増殖が確認されたこと、また検体によっては 10^8 CFU/g を超えてきてしまうことからカット野菜類（キャベツ等）は消費期限内に喫食することが望まれた。気温の低い時期（冬季調査）の考察

冬季の調査では、夏季調査と同様な方法で一般生菌数、腸内細菌科菌群、耐熱性芽胞菌を対象に、市販品 100 検体について調査した。全体の傾向としては、夏季調査と同様な結果が見られたが、一般生菌数、腸内細菌科菌群ともに、菌数が 1 オーダー近く低い傾向が見られた。これは、外気温が低いことに起因するものと思われる。衛生指標としては腸内細菌科菌群を用いるのは、夏季調査と同様な理由から難しいと思われた。衛生指標として、耐熱性芽胞形成菌を用いることの可能性はあると思われる。

⑨低温保存食品（フローゼンチルド管理）の *Listeria monocytogenes* の増殖挙動

スモークサーモン等の低温保存食品等のリステリアの制御については、フロチルの菌数挙動の結果に関して培地での結果に比べてスモークサーモン中での増殖性が高いデータも出ていることから、今後食品種を増やしてマトリックスについての検証を重ねる必要があると思われる。

⑩耐塩性細菌によるヒスタミン合成の検討

耐塩性細菌によるヒスタミン合成の制御に関しては、耐塩性の乳酸菌の関与が示されたことから、高塩濃度の発酵食品についてはヒスタミンを危害要因とする必要があると思われる。また、特にヒスタミンが高い濃度となるへしこについては、その重要性を事業者にも周知する必要があると思われる。

異物異物混入に関する調査

<令和 3 年度>

⑪民間データに基づく食品への硬質異物混入被害状況の把握

民間機関の協力により、食品における異物混入の被害実態の全体像が把握でき、特に事業所における混入事例について、各食品分類および異物の種類の組み合わせを解析することで、各食品分類において起きやすい異物混入の概要が得られた。食品および硬質異物の種類の組み合わせを検討することで、各種の食品に特徴的な硬質異物の概要が示された。また本調査により、健康被害に関連した硬質異物の危険性が再確認された。これらの情報は、既に得られている全国自治体データの解析結果と併せて、食品事業者への HACCP 指導時に参照可能な異物混入実態データとして活用することが可能と考えられる。

<令和 5 年度>

⑫公共および民間データの比較に基づく食品への異物混入被害状況の把握

自治体、イカリ消毒、および日本生協連から提供されたデータは、それぞれ異なる集計システム（項目、分類、集計方法）によるものであるため、当初、相互の直接的なデータ比較は困難であった。本研究では、日本生協連データを自治体もしくはイカリ消毒の異物・食品分類スキームを用いて分類し直すことで、「公共 vs 民間」および「民間 vs 民間」のデータ比較を可能とし、これによりデータ間の相違や共通性を見出すことができた。これにより全国での食品への異物混入の実態の一部が把握できたと考えられる。

海外の HACCP 制度の運用状況の調査

<令和3年度>

⑬米国の小規模食品取扱事業者への定期監視指導による効果の調査

今回は COVID-19 パンデミックの影響により現地での調査が困難となり、かわって米国の衛生監視指導に関わる担当者から得られた論文情報をもとに調査を行った。

米国では食品由来疾患を予防するための定期衛生監視指導が米国公衆衛生局のプログラムによって義務付けられているが、提示されたどちらの論文においても、定期衛生監視指導の重要性が指摘されており、これらは食中毒発生防止のために有効であるとしている。頻度に関しては、高リスクの施設に対しては年に2回以上、中リスクでは年に1.8回、低リスクでも年に1.3回の定期監視指導が実際に行われており、頻繁な指導により詳細な情報を得ることが重要であるとしている。さらに、問題があった施設については追加の監視指導が重要であるとしている。

分担研究者らはこれまで、米国における定期衛生監視指導においては、食品衛生監視員が事業者に事前に日程を知らせず突然訪問することを現地調査にもとづき報告している。これは事業者の実態をより正確に把握するためには突然訪問する方がよい、との考え方によるものであり、さらに今回の報告でも示されたリスクにもとづく頻度での訪問により食中毒発生防止に努めていることが確認された。

<令和4年度>

⑭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

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 Hygiëncode という各食品事業団体別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 (Hygiëncode)

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 (Hygiëncode) 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 (Hygiëncode) 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。

<令和5年度>

⑮オーストラリア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

オーストラリアの NSW 州では食品事業者自身の衛生管理を基本としており、監視指導は罰則を適用して改善させるよりも、あくまでアドバイスをを行い自主的に改善してもらうことに主眼を置いていた。基本的な衛生管理に加えて温度管理に重きを置き、監視指導

においては食材の温度管理に関することが重要となっていた。監視に同行した各事業者も監視指導に協力的であった。

監視結果は監視指導結果一般公開システム” Scores on Doors “により施設入口に結果を掲示することが可能となり、消費者への宣伝の一貫として事業者の衛生状態改善意識の改善に役立っていた。また、食品取扱施設の指導・処分内容一般公開サイト” Name and shame” に名前が載らないようにするための改善努力も見られた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 朝倉宏：食肉・食鳥肉製品のハザードとその管理。保健医療科学。70:100-106。2021
- 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) 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)
- 4) 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. 12 (1), 17-23, (2022).
- 5) 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。72 (6), 7-13, (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 (10), 3-5, (2022)
- 7) 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。38 (12), 32-36, (2022)

- 8) 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，フードケミカル 39 (6), 56-61, (2023)
- 9) 五十君静信。岡野花梨、檜木真吾。食中毒起因細菌の保存条件による増殖挙動の検証。飯島藤十郎記念食品科学振興財団年報. 39: 547-549, (2023)
- 10) Yoshika Momose, Yoshimasa Sasaki, KenzoYonemitsu, Makoto Kuroda, Tetsuya Ikeda, Masashi Uema, Yoko Furuya, Hajime Toyofuku, Shizunobu Igimi, Tetsuo Asai. Changes in the phenotypes of *Salmonella* spp. in Japanese broiler flocks. *Food Safety*. 12(2):25-33 (2024)
- 11) 五十君静信。リスク7 リステリア。In 食の安全の落とし穴。女子栄養大学出版部。印刷中
- 12) 五十君静信、江面早季子他。ナチュラルチーズ中における *Listeria monocytogenes* の増殖に関わる因子の検討（投稿準備中）
2. 学会発表
- 1) 田村克，天沼宏，荻原恵美子，酒井真由美，畝山智香子，窪田邦宏。「各国における消費者および食品取扱事業者等への新型コロナウイルス感染症（COVID-19）関連情報提供の調査」第42回日本食品微生物学会学術総会（2021年9月21日～10月20日）（WEB開催）
- 2) 五十君静信。基調講演：HACCP制度化後の食品衛生管理における公的検査と自主検査、その意義と役割。日本機能水学会。2021.10.31。長井記念ホール対面及びweb録画。
- 3) 田村 克，天沼 宏，今川正紀，中地佐知江，溝口嘉範，熊谷優子，窪田邦宏。全国における食品への異物混入被害実態の把握（調査対象期間：2016年12月～2019年7月）。第117回日本食品衛生学会学術講演会，2021年10月26日～11月9日（WEB開催）
- 4) 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。2022.8.24-8.26、オンライン開催
- 5) 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）
- 6) 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）
- 7) 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）
- 8) 五十君静信。食品安全委員会研究班による細胞性食品のリスク評価の方向性検討。培養食料研究会、2023.5. 16., オンライン開催、第9回培養食料研究会(2023)
- 9) Kunihiro Kubota, Masaru Tamura, Yoshinori Mizoguchi, Yuko Kumagai, Masanori Imagawa, Sachie Nakaji, and Hiroshi Amanuma. Food Contamination Incidences by Foreign Materials (FMs) Reported in Japan, 2016-2019, (International Association for Food Protection Annual meeting. IAFP2023 (July 16-19, 2023 Toronto, Ontario, Canada) (2023)
- 10) 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。NPO 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）
- 11) 五十君静信。HACCP制度下の微生物検査の考え方について。日本防菌防黴学会第50回年次大会、2023.8.9、千里ライフサイエンスセンター（大阪市）（特別公演）。
- 12) 田村 克、佐藤邦裕、黒神英司、足立真由、寺嶋 昭、田近五郎、村杉 潤、藤村 晶、熊谷優子、溝口嘉範、天沼 宏、五十君静信、窪田邦宏。食品への異物混入被害状況の把握（民間データ：2015年1月～2019年3

- 月) . 第119回日本食品衛生学会学術講演会 (2023.10.12~13) 東京
- 13) 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
- 3, 講演会等での情報発信
- 1) 五十君静信：食品衛生法改正により、微生物制御に求められる国際整合性のポイント。web開催。第14回生活とカビに関する講演会。2021.7.21。
- 2) 五十君静信：令和3年度品川区食品衛生実務講習会、令和3年10月6日/7日、オンライン、HACCP制度化に係る経緯と食品等事業者が採るべき対応
- 3) 五十君静信：工程管理の検証に用いる微生物検査の活用方法。2021.4.9。web開催。食品産業戦略研究所。微生物試験法の妥当性確認実務者講習会
- 4) 五十君静信：小規模事業者の手引書作成支援およびHACCPの検証に資する研究。2021.5.14、5.20。web開催。公社日本食品衛生協会
- 5) 五十君静信：令和3年度保健所等検査員研

- 修会、令和3年11月4日、静岡県庁
- 6) 五十君静信：令和3年度特別区専門研修「食品衛生」。2022.2.28。特別区職員研修所。HACCPの制度化に伴う微生物検査の考え方（講義）
- 7) 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NPO SFSS web開催。2022.9.27
- 8) 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

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

五十君静信は、“人の健康障害に係わる微生物の疫学並びにその制御に関する研究”で2020年度日本食品微生物学会賞を受賞した。