

令和5年度厚生労働科学研究（食品の安全確保推進研究事業）  
「我が国における生物学的ハザードとそのリスク要因に応じた  
規格基準策定のための研究」

令和5年度総括研究報告書

研究代表者	窪田邦宏	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
研究分担者	岡田由美子	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	百瀬愛佳	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	山崎栄樹	帯広畜産大学
	小関成樹	北海道大学大学院農学研究院
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
	田村 克	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
	都丸亜希子	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	西田智子	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	松岡英明	東京農工大学工学研究院部

研究要旨：我が国に設定されている食品中の微生物規格の多くは、昭和34年に制定された厚生省告示第370号「食品、添加物等の規格基準」に基づいており、食品とその衛生を取り巻く状況が大きく変化した現在においてもそれらが科学的に妥当か否かの検証が必要とされている。特に令和3年のHACCP（危害要因分析重要管理点、Hazard Analysis and Critical Control Point）完全制度化に伴い、そうざい、漬物等の衛生規範が廃止される等、各種食品製造工程における衛生管理はそれ以前と大きく異なっている。また食品の製造工程での衛生管理については、令和2年6月より「HACCPに沿った衛生管理」がすべての食品等事業者を対象に施行された。HACCPに沿った衛生管理は多くの国々で既に運用され、国際整合性を確保する上で重要な課題であることは周知の通りである。一方、コーデックス（Codex）委員会が求める食品衛生の体系には衛生規範と微生物規格基準があり、後者については食品衛生法一部改正時に特段の改定は行われておらず、衛生状況が相対的に良好ではなかった戦後当時に設定された内容が多くを占めている。多くの国々ではHACCPと微生物規格基準を組み合わせることで食品の生物学的ハザードの管理を実施しており、我が国でも現状に即した微生物規格基準について検討を進めることは、微生物リスク管理の国際調和を進展させる上で不可欠かつ喫緊の課題である。

一例として、国内の微生物規格基準では細菌数と大腸菌群を基本とし、直接的な危害要因である病原微生物を対象とする食品はごく一部に留まっているが、欧州等では多くの食品に対して病原微生物を成分規格に設定することが一般化している。本研究は、食品の生物的ハザード、国内外での食品衛生の体系比較や規格基準の設定状況、国内流通食品における微生物汚染実態に関する知見の取得等を行い、それらを整理・分析することで、我が国の食品のリスク要因に応じた規格基準の在り方について国際整合性を踏まえて検討することを目的とする（全体）。

国際規格・基準と日本の国内体制の比較（生鮮果実関連の Codex 規格基準）および米国における食肉加工食品が関連した食中毒アウトブレイク事例の調査では、生鮮果実を対象とした国際的な微生物規格基準に関して、Codex 委員会が策定した文書の調査を行うことで、今後注視すべき食品やその微生物規格基準の必要性を検討した。Codex 委員会は、生鮮果実カテゴリーの 28 食品について規格基準を設定していること、およびこれらの規格基準のすべてにおいて、CXG 21-1997 に沿って設定された任意の微生物基準に従うよう規定していることがわかった。また海外での食肉加工食品による最近のアウトブレイク事例を調査するために米国感染症疾病予防センター（US CDC）の Web ページに掲載されている「複数州にわたる食品由来アウトブレイク」のリストより過去 10 年間（2014～2023 年）に発生した食肉加工食品を原因食品とするアウトブレイクを抽出し、燻製、塩蔵などにより保存性を高めた食肉製品（ハム、ソーセージ、ベーコンなど）に関連する事例の概要を調査した。米国では過去 10 年間（2014～2023 年）に「複数州にわたる食品由来アウトブレイク」が計 138 件発生しており、このうち 7 件が食肉加工食品を原因食品とするものであり病因物質はサルモネラまたはリステリアであった（窪田）。

浅漬け類からの食中毒菌検出のための試験法検討および海藻類による食中毒発生状況に関する調査研究では現在微生物規格を有しない食品群において、衛生実態を管理するための微生物規格を検討する上での基礎知見の集積を図ることを目的として、国内外における海藻類を原因食品とする食中毒事例の調査報告および海藻類における細菌汚染実態についての文献調査を行った。更に、昨年度調査で高い汚染率を示した浅漬け類におけるリステリア・モノサイトゲネスについて、現在非加熱食肉製品等に用いられる公定法が浅漬け類においても適用可能かを、添加回収試験を行い検証した。その結果、2000 年以降に国内外で発生した海藻類が原因食品である集団食中毒事例は、大腸菌 O7:H4 に汚染された海藻サラダによる国内の 1 事例、ノロウイルスに汚染されたカット海苔および青のりを原因食品とする国内と韓国の各 1 事例の計 3 事例が見られた。国内外での海藻類の細菌汚染実態調査は 3 例の報告が見られ、イタリアの 1 例において非加熱喫食用の海藻類からリステリア・モノサイトゲネスとセレウス菌が 2～3 log colony forming unit (CFU)/g のレベルで検出されていた。野菜浅漬け類へのリステリア・モノサイトゲネス添加回収

試験では、白菜浅漬けを用いた場合の前増菌培地からの選択分離培養における 50% 検出水準値 (LOD<sub>50</sub>) は 0.744 CFU/25 g (検体量)、増菌培地からの選択分離培養における LOD<sub>50</sub> は 1.11 CFU/25 g (検体量) であった。非加熱食肉製品およびナチュラルチーズの公定法を用いた本菌の検出は可能であると思われた (岡田)。

果実類の細菌およびウイルスによる食中毒発生状況に関する研究では果実類の病原微生物 (細菌、ウイルス) による国内外の食中毒発生状況および果実類の汚染状況について文献調査を行った。欧米ではサルモネラ属菌がカンタロープメロン、マンゴー、パパイヤ、ナッツ等の多様な果実類による食中毒の病因物質となっており、ノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルスは冷凍ベリー類・イチゴによる食中毒の主要な病因物質であった。果実類の病原微生物による汚染は低レベルと推察されるが、市販されるカット果実については、加工から流通過程での衛生管理が最も重要であると考えられる。国内だけでなく海外における食中毒発生状況および微生物汚染状況もリアルタイムで注視していく必要があると考えられた (百瀬)。

食品における微生物汚染実態等に関する研究では国際的整合性を満たした規格基準策定を行う手順のモデルを示す事を目的として、欧州委員会規則「COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005」に示されたカンピロバクターに関するサンプリングプランを国内へ適用するモデルケースを設定し、同モデルケースについて Codex 委員会が示す「Principles and Guidelines for the Establishment and Application of Microbiological Criteria Related for foods (CAC/GL 21-1997)」に対する妥当性検証に必要な情報の収集・整理を行った。その結果、同モデルケースにおいて妥当性検証に必要な国内情報の多くが整備されている事が明らかとなった。さらに、妥当性検証の一環として同モデルケース内の微生物学的基準に対する国内生産食鳥とたいの合格率の統計的見積りを行った結果、合格率は 100% と見積もられ、設定したモデルケースが CAC/GL 21-1997 の要求事項に対して妥当性を持つ事が示された。本研究で実施した CAC/GL 21-1997 に対する妥当性確認手順は国内にて国際的整合性を確保した微生物学的基準設定を行う上で先導的なモデルとなる成果である (山崎)。

微生物リスク分析に関する研究では国際連合食糧農業機関 (FAO) /世界保健機関 (WHO) 合同微生物学的リスク評価専門家会議 (JEMRA) が公開しているサンプリングプラン検討ソフトウェア「Microbiological Sampling Plan Analysis Tool」がサンプリングプラン策定にどのように寄与するかを検討した。具体的な参照データとして、日本国内における市販低温殺菌牛乳の一般生菌数データの分布を用いて、3 階級のサンプリングプランの策定を行なった。その結果、必要なロット合格率等の入力情報から、必要最低限のサンプル数の推定が可能であることを確認した。さらに、ソフトウェアの感度分析機能を用いることで、種々の入力パラメータの影響を検討できることを確認した (小関)。

## A. 研究目的

本研究では、食品の生物的ハザード、国内外での食品衛生の体系比較や規格基準の設定状況、国内流通食品における微生物汚染実態に関する知見の取得等を行い、それらを整理・分析することで、我が国の食品のリスク要因に応じた規格基準の在り方について国際整合性を踏まえて検討することを目的とする。

### A-1. 国際規格・基準と日本の国内体制の比較（生鮮果実関連の Codex 規格基準）および米国における食肉加工食品が関連した食中毒アウトブレイク事例の調査

本分担研究では昨年度、生鮮野菜および食肉加工食品を対象食品としたが、今年度は生鮮果実を対象とした国際的な微生物規格基準に関して、Codex 委員会が策定した文書の調査を行うことで、今後注視すべき食品やその微生物規格基準の必要性を検討することとした。

また海外での食肉加工食品による最近のアウトブレイク事例を調査することで海外における食肉加工食品に関連した食中毒被害実態の把握を試みた。

### A-2. 浅漬け類からの食中毒菌検出のための試験法検討および海藻類による食中毒発生状況に関する調査研究

国内においても従来微生物規格基準が必要とされていなかった食品群と微生物の組み合わせについて、その設定が必要とされ

るか否かを考慮するための基礎的資料とする目的で、令和 5 年度は国内および諸外国における生鮮野菜類を原因とする食中毒の発生状況および国内で流通する野菜類（生鮮野菜および漬物類）における細菌汚染実態についての文献調査を行い、当該食品の喫食による食中毒発生リスクの評価に役立てることを目的とした。今年度は、海藻類について同様の調査を行うとともに、昨年度研究で市販浅漬け類での汚染率が高いことが示されたリステリア・モノサイトゲネスについて、今後汚染実態調査を行うための添加回収試験による手法の検証を行った。

### A-3. 果実類の細菌およびウイルスによる食中毒発生状況に関する研究

果実類は一般に生食される機会が多いことから一定の食中毒発生リスクがあると考えられるため、果実類の病原微生物（細菌、ウイルス）による国内外の食中毒発生状況および微生物汚染状況について文献調査を行った。

### A-4. 食品における微生物汚染実態等に関する研究

食品の製造工程での衛生管理については、令和 2 年 6 月より「HACCP に沿った衛生管理」がすべての食品等事業者を対象に施行された。一方、食品の微生物規格基準については食品衛生法一部改正時に特段の改定は行われておらず、衛生状況が相対的に良好ではなかった戦後当時に設定された内容が多くを占めている。多くの国々では

HACCP と微生物規格基準を組み合わせることで食品の生物的ハザードの管理を実施しており、我が国でも現状に即した微生物規格基準について検討を進めることは、微生物リスク管理の国際調和を進展させる上で不可欠かつ喫緊の課題である。本研究では、食品の生物的ハザード、国内外での食品衛生の体系比較や規格基準の設定状況、国内流通食品における微生物汚染実態に関する知見の取得等を行い、それらを整理・分析することで、我が国の食品のリスク要因に応じた規格基準の在り方について国際整合性を踏まえて検討することを目的とした。

#### A-5. 微生物リスク分析に関する研究

規格基準の策定において基礎的な微生物汚染状況を把握するために、重要な役割を果たすサンプリングプランの策定について、Web 上で公開されているソフトウェアを用いて、その実用性を検討した。

### B. 研究方法

#### B-1. 国際規格・基準と日本の国内体制の比較（生鮮果実関連の Codex 規格基準）および米国における食肉加工食品が関連した食中毒アウトブレイク事例の調査

Codex 委員会が策定した 379 件の文書を掲載したポータルサイト (<https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/all-standards/en/>) において、リファレンス番号が CXS で始まる規格基準文書 235

件のそれぞれについて、そのタイトルから、対象の個別食品が今年度の調査対象である生鮮果実のカテゴリに含まれるか否かを判断した。含まれると判断した場合は文書全体をダウンロードし、その内容、特に微生物規格基準についての記述を精査した。

我が国の食品別の規格基準については、厚労省のウェブページ「食品別の規格基準について」 ([https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/jigyousya/shokuhin\\_kikaku/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/jigyousya/shokuhin_kikaku/index.html)) に掲載された 23 件の規格基準より、該当するものを選択した。

海外における食肉加工食品に関連した食中毒被害実態の把握のため、以下の US CDC web ページに掲載されている「複数州にわたる食品由来アウトブレイク」のリストより過去 10 年間（2014～2023 年）に発生した食肉加工食品を原因食品とするアウトブレイクを抽出し、それらの概要を調査した。食肉加工食品は、「燻製、塩蔵などにより保存性を高めた食肉製品（ハム、ソーセージ、ベーコンなど）」を対象として調査を実施した。

Multistate Foodborne Outbreak Notices (US CDC webpage)

<https://www.cdc.gov/foodborne-outbreaks/active-investigations/all-foodborne-outbreak-notices.html>

#### B-2. 浅漬け類からの食中毒菌検出のための試験法検討および海藻類による食中毒発生状況に関する調査研究

1) 国内外における海藻等を原因食品とする

細菌性およびウイルス性食中毒に関する文献調査

国内医学文献データベースである医学中央雑誌（医中誌）、アメリカ国立生物工学情報センターの文献データベースである PubMed および Elsevier 社のデータベースである ScienceDirect を用い、2000 年以降に国内で発生した野菜に関連する食中毒事例についての報告を検索した（最終確認日：2024 年 3 月 28 日）。キーワードには「海藻」「食中毒」「細菌」「汚染」等を用いた。

2) 国内外における海藻類の細菌汚染実態に関する文献調査

医中誌、PubMed および ScienceDirect を用い、2000 年以降に報告された海藻類の細菌汚染実態調査に関する文献を検索した（最終確認日：2024 年 3 月 28 日）。キーワードには「海藻」「細菌」「汚染」「seaweed」「prevalence」「isolation」等を用いた。

3) 浅漬け類におけるリステリア・モノサイトゲネスの添加回収試験

添加回収試験は NIHSJ-08:2020 に準拠して実施し、接種菌株として *Listeria monocytogenes* ATCC19115 株（血清型 4b）を、食品検体には市販の白菜浅漬け（原材料：白菜、昆布、唐辛子、漬け原料液として昆布だしおよび食塩、pH 4.93、塩分濃度 2.1%）を用いた。試験菌株は $-80^{\circ}\text{C}$ に保存したグリセロールストックから Trypticase soy agar（Beckton Dickinson and Company）平板に単一集落を形成するように接種し、 $37^{\circ}\text{C}$ で 24 時間培養後に 1 集落を 4 mL の Brain Heart Infusion broth（Beckton Dickinson and Company 社）に

接種して  $37^{\circ}\text{C}$ で 24 時間静置培養を行った。増菌後の培養液 1 白金耳を 4 mL の Brain Heart Infusion broth に接種して  $37^{\circ}\text{C}$ で 24 時間静置培養を行った後の菌液を、滅菌リン酸緩衝液（PBS、3M 社）を用いて階段希釈したものを、浅漬けへの接種菌液とした。接種菌液は原液の $10^{-8}$ 乗希釈液を  $1/2$ 濃度としたものを低菌量、 $10^{-8}$ 乗希釈液を中菌量、 $10^{-7}$ 乗希釈液の  $1/2$ 濃度としたものを高菌量の接種菌液とした。各菌量の接種菌液は 100  $\mu\text{L}$  を接種に用い、同量を TSA 平板 2 枚に塗布したものを  $37^{\circ}\text{C}$ で 24 時間培養し、実際の接種菌数を測定した。食品検体は各接種菌量につき 4 検体を用い、陰性対象のみ 1 検体として、1 検体あたり 25 g を無菌的に計量、ストマッカー袋に分注し、あらかじめ  $30^{\circ}\text{C}$ に加温した 225 mL のハーフフレイザーブロス（メルクミリポア社）と試験菌液を加えて 2 分間ストマッキング処理を行った。その後の培養は、NIHSJ-08:2020 と同様に実施した。定型集落が得られた平板を陽性と判定した。前増菌培養から及び増菌培養からの選択分離培養における 50%検出限界値（ $\text{LOD}_{50}$ ）の算出は、ISO 16140-2:2016 に記載された方法で行った。

### B-3. 果実類の細菌およびウイルスによる食中毒発生状況に関する研究

#### 1. “果実類”の定義

総務省の日本標準商品分類、厚生労働省の食品群別表、農林水産省の作況調査対象品目から、果実類に分類される食品をまとめた。

## 2. 果実類による国内の食中毒発生状況

厚生労働省の食中毒統計資料、国立感染症研究所・感染症疫学センターの病原微生物検出情報（IASR）記事より、2000年以降の事例をまとめた。

## 3. 果実類による海外での食中毒発生状況

IASR および国立医薬品食品衛生研究所安全情報部の「食品安全情報」（<https://www.nihs.go.jp/dsi/food-info/foodinfonews/index.html>）より、2000年以降の事例をまとめた。

## 4. 果実類の微生物汚染状況

医中誌データベースを用いて文献検索を行った。また、欧州委員会（EC）の食品および飼料に関する早期警告システムより、過去10年間（2014～2023年）の主な関連通知をまとめた。

### B-4. 食品における微生物汚染実態等に関する研究

#### 5. 食品における微生物汚染実態等に関する研究

##### 5-1. CAC/GL 21-1997 の要求事項に沿った情報の整理

欧州委員会規則「COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005」のANNEX1の2.1.9で示される食鳥とたいとカンピロバクターの組み合わせに対するサンプリングプラン（以下2.1.9 criteria）に相当する微生物学的基準を国内の食鳥処理場へ適用するモデルを構築し、Codex 委員会が示す「Principles and Guidelines for the Establishment and Application of

Microbiological Criteria Related for foods, CAC/GL 21-1997」（以下、CAC/GL 21-1997）の要求事項のうち基準の構築を行う場合に考慮が必要な第3章および第4章に示された個々の要求事項への妥当性を考察する上で必要な情報の抽出を行なった。

##### 5-2. 2.1.9 criteria の国内食鳥処理場への適用の妥当性の検証

国内食鳥処理場のカンピロバクター検出状況に対して、2.1.9 criteria の基準値を適用した場合の合格率について統計的見積りを行なった。

### B-5. 微生物リスク分析に関する研究

FAO/WHO 合同微生物学的リスク評価専門家会議（JEMRA）が公開しているサンプリングプラン検討ソフトウェア「Microbiological Sampling Plan Analysis Tool (<http://tools.fstools.org/Samplingmodel/>)」を用いて、実際の食品汚染を推定するためのサンプリングプランの作成を試みた。具体的な参考データとして、研究班内の先行研究で調査がなされた、市販の低温殺菌牛乳の一般生菌数の汚染実態データを参照データとして用いた。

### C. 結果

#### C-1. 国際規格・基準と日本の国内体制の比較（生鮮果実関連の Codex 規格基準）および米国における食肉加工食品が関連した食中毒アウトブレイク事例の調査

## 1. Codex 委員会が策定した生鮮果実関連の規格基準

Codex 委員会が策定した文書を集めたポータルサイトにおいて、各文書のタイトルをもとに生鮮果実関連と判断される規格基準を抽出した。その結果、計 28 件の文書が特定された。窪田分担報告書内、表 1 にこれらの文書のリファレンス番号、タイトル、および食品名を示す。これらは、パイナップル、パパイヤ、マンゴー、ノパル（ウチワサボテン）、ウチワサボテンの果実、スターフルーツ、ライチ、アボカド、マンゴスチン、バナナ、ライム、ブント（ザボン）、グアバ、メキシカンライム、グレープフルーツ、リュウガン、ブドウホオズキ、ドラゴンフルーツ、オレンジ、ランブータン、生食用ブドウ、リンゴ、タマリロ、ザクロ、パッションフルーツ、ドリアン、キウイフルーツ、ベリー類についての規格基準である。

次にこれら計 28 件の規格基準のそれぞれについて、微生物基準がどのように記載されているかを調べた。具体的には、各文書において、「Hygiene」の項目がどのように記述されているかを調べた。その結果、28 件すべてで、「生産物は CXG 21-1997 (CAC/GL 21-1997) に沿って設定された任意の微生物基準に従うこと」と記載されていた（窪田分担報告書内、表 2）。

CXG(CAC/GL) 21-1997 (Principles and Guidelines for the Establishment and Application of Microbiological Criteria Related to Foods「食品に関連した微生物基準の設定と適用のための原則とガイドライン」)（以下 Web ページ参照）は Codex 委員会の文書の 1 つで、微生物基準の設定の

原則を示したものであり、具体的な基準を示したものではない。

## Principles and Guidelines for the Establishment and Application of Microbiological Criteria Related to Foods

「食品に関連した微生物基準の設定と適用のための原則とガイドライン」

[https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%2F3A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B21-1997%252FCXG\\_021e.pdf](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%2F3A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B21-1997%252FCXG_021e.pdf)

## 2. 我が国の食品別規格基準

我が国で策定されている食品別の規格基準 23 件には生鮮果実を対象としたものは含まれていない。

## 3. 海外における食肉加工食品に関連した食中毒被害実態の把握

海外における食肉加工食品に関連した食中毒被害実態の把握調査において、米国では過去 10 年間（2014～2023 年）に「複数州にわたる食品由来アウトブレイク」が計 138 件発生しており、このうち 7 件が食肉加工食品を原因食品とするものであった。これらのアウトブレイクの患者発症日、患者数、入院患者数、死者数、病因物質、原因食品を窪田分担報告書内の表 3 に示す。7 件の病因物質はサルモネラまたはリステリアであった。

## C-2. 浅漬け類からの食中毒菌検出のための試験法検討および海藻類による食中毒発生状況に関する調査研究



1) 国内外における海藻等を原因食品とする細菌性食中毒についての文献調査（岡田分担報告書 表 1）

2000 年以降に発生した海藻類を原因食品とする集団食中毒事例は 3 例報告されており、1 事例は学校給食で提供された海藻サラダを汚染していた大腸菌 O7:H4 によるものであり、患者数は約 3000 名であった。他の 2 事例はいずれもノロウイルスを原因物質としており、日本国内で発生したカット海苔を原因食品とする事例と、韓国で発生した青のりを原因食品とする事例であった。

2) 国内外における海藻類の細菌汚染実態に関する文献調査（岡田分担報告書 表 2）

2000 年以降の海藻類の汚染実態に関する報告は 3 報見られ、1 報は国内の市販乾燥海藻類を対象として細菌数、大腸菌群および *E. coli* について調査を行っていた。大腸菌群および *E. coli* は 11 検体すべてで陰性だったが、細菌数の中央値は 2~3 log CFU/g となっており、2 検体から 4~5 log CFU/g の細菌数が検出されていた。別の 1 報は国内の市販乾燥海藻類における *Cronobacter* 属菌の汚染状況を調査しており、8 検体の全てで陰性であった。イタリアでの調査では、そのまま喫食可能な（RTE）海藻類を対象として *L. monocytogenes* とセレウス菌を調査しており、それぞれ 14 検体中 3 検体から分離されており、いずれの菌も 2~3 log CFU/g の汚染レベルが報告されていた。

3) 浅漬け類におけるリステリア・モノサイ

トゲネスの添加回収試験（岡田分担報告書 表 3）

接種菌量の実測値は、低菌量が 0.5 CFU/25 g、中菌量が 1 CFU/25 g およ及び高菌量が 8.5 CFU/25 g であった。ISO 16140-2:2016 に記載された手法から算出された、前増菌培地からの選択分離培養における 50%検出水準値（LOD<sub>50</sub>）は 0.744 CFU/25 g（検体量）、増菌培地からの選択分離培養における LOD<sub>50</sub>は 1.11 CFU/25 g（検体量）であった。定性試験の結果は、前増菌段階と増菌段階のいずれにおいても、ALOA 培地を選択分離培地に用いた場合は 24 時間培養後に定型集落の形成が見られたが、PALCAM 培地では定型集落の形成に時間を要し、高菌量接種群のみで 48 時間での定型集落形成が見られた。また、接種菌量が低い場合は前増菌培養段階からの選択分離培養における陽性率、接種菌量が高い場合には増菌培養段階からの選択分離培地における陽性率が高い傾向が見られた。結論としては、非加熱食肉製品およびナチュラルチーズの公定法に採用されている NIHSJ-08:2020 を用いて、白菜浅漬けからの本菌の検出は可能であると思われたが、他の食品と同様に前増菌培養および増菌培養両方からの選択分離培養が必要であった。

### C-3. 果実類の細菌およびウイルスによる食中毒発生状況に関する研究

#### 1. “果実類”の定義

本研究報告においては以下の食品群を“果実類”とした。

- ・うめ、ゆず類
- ・果実的野菜 全て

- ・果実 全て（穀果類（ナッツ）も含む）
- ・果実加工品 全て
- ・ピーナッツ製品（落花生油を除く）

## 2. 果実類による国内の食中毒発生状況

2000～2023年の国内事例（疑い含む）は48件であった。その中で原因食品に果実類以外の食材が含まれていないものは4事例で、アンデスメロンのサルモネラ属菌によるものが各1件、冷やしパイン並びに柿のノロウイルスによるものが各1件、りんごの腸管出血性大腸菌によるものが1件であった。

## 3. 果実類による海外の食中毒発生状況

2000～2023年に諸外国において発生した事例における病因物質は、サルモネラ属菌、ノロウイルス、A型肝炎ウイルスが上位3種を占めていた。原因食品は輸入されたものが多く、サルモネラ属菌については多様な果実類が報告されており、ノロウイルスおよびA型肝炎ウイルスについては冷凍ベリー類・イチゴが主であった。

## 4. 果実類の微生物汚染状況

### 4-1. 国内における果実類の微生物汚染状況

市販のカット果実ではサルモネラ属菌および病原性大腸菌による汚染は低レベルであると推察されたが、メロン、スイカおよびパイナップルで大腸菌群および糞便系大腸菌汚染が認められた。

### 4-2. 欧州連合・欧州経済領域における果実類の微生物汚染状況

ベリー類およびイチゴのノロウイルスによる汚染が最も多く、A型肝炎ウイルスま

たはサルモネラ属菌による汚染も認められた。ナッツではサルモネラ属菌による汚染事例が最も多く認められた。

## C-4. 食品における微生物汚染実態等に関する研究

カンピロバクター食中毒制御において食鳥肉あるいはその加工品に対する微生物学的基準の設定は有効であると考えられるが、国内においてカンピロバクターと食鳥肉の組み合わせに関する微生物学的基準の設定は行われていない。海外においてはカンピロバクターと食鳥肉の組み合わせに関連した微生物学的基準として欧州委員会規則「COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005」の2.1.9 criteriaがよく知られていること、および、国内において「と畜検査員および食鳥検査員による外部検証の実施について（生食発0528第1号、令和2年5月28日）」に基づきカンピロバクター検査が行われていることから、2.1.9 criteriaの国内への適用の妥当検証は実践的な意義をもつと考えられる。これらの理由から、本研究では同criteriaを国内食鳥処理場へ適用して規格基準を策定するモデルケースを設定して、食品安全委員会にて「食品健康影響評価のためのリスクプロファイル～鶏肉等における *Campylobacter jejuni/coli*～（以下、食品安全委員会リスクプロファイル）」に取りまとめられた情報を中心に、上記モデルケースにおけるCAC/GL 21-1997に対する妥当性検証に必要な情報の抽出・整理を行うことで、国際的整合性を満たした規格基準策定を行う手順についてモデルを示した。

## CAC/GL 21-1997 の要求事項に沿った情報の整理

CAC/GL 21-1997の第3章および第4章に示される要求事項に対する妥当性の検証に必要な国内の情報の整備状況について情報収集および整理を行った。その結果、国内微生物基準設定モデルケースにおけるCAC/GL 21-1997に対する妥当性確認に必要な情報の多くが整備されている事が確認された。

### 2.1.9 criteria の国内食鳥処理場への適用の妥当性の検証

CAC/GL 21-1997 に対する妥当性検証の一環として、2.1.9 criteria に示されるサンプリングプランを国内のカンピロバクター検出状況に当てはめた際の合格率の統計的見積りを行い、同サンプリングプランに示された規制値の適用が国内の状況に対して現実的であるかについて検討した。その結果、国内で生産される食鳥とたいの合格率は 100%と見積もられ、国内のカンピロバクター検出状況に対して2.1.9 criteria に示された検査方法および基準値の適用が現実的であると推定された。

## **C-5. 微生物リスク分析に関する研究**

研究班内で収集された市販の低温殺菌牛乳中の一般生菌数の汚染実態調査結果を図1に示す。汚染菌数レベルは平均値で 1.26 log CFU/mL、標準偏差は0.76 log CFU/mLであり、概ね対数正規分布として記述することができた。この汚染状況から、一つの衛生規範を作成するにあたり、どの程度の

サンプル数が妥当であるかを推定した。

このような汚染レベルの製品において、実際にどの程度のサンプル数を検査すれば、そのロットが安全かどうかを判断できるかをサンプリングプランツールを使用して推定した。

前提条件として、最低限の基準値  $m$  を 10 として、許容限界値  $M$  を 499 とした場合に、5 検体 ( $c=5$ ) まではこの  $m$  と  $M$  の間に入るサンプル数であれば、そのロットを許容するといった 3 階級のサンプリングプランを想定して計算を行った。その結果、棄却率を 5%とした場合に、ロットの 5%をサンプリングすると仮定すると、9 サンプルを検査すれば良い計算になる（小関分担研究報告書、図 2）。

また、この計算推定時のロット全体が不合格となる確率は 3.1%と推定され、試験したロットサンプルが不合格になる確率は 61%になるといった計算結果が推定された（小関分担研究報告書、図 3）。

最後に、各種のパラメータを変化させた場合に、サンプリングの結果にどのような影響が現れるのかを検討する感度分析を行った。一例として、検査するサンプル数を増減させた場合に、検査サンプル数の増加に伴い、基準とする菌数 ( $m=10 (= 1 \log)$ ) での合格率は低下することが示された。合格率をどの程度に設定するかによって、サンプル数を調整することができることが示された。

## **D. 考察**

### **D-1. 国際規格・基準と日本の国内体制の比**

## 較（生鮮果実関連の Codex 規格基準）および米国における食肉加工食品が関連した食中毒アウトブレイク事例の調査

Codex 委員会による生鮮果実関連の 28 件の規格基準では微生物基準が具体的には示されておらず、代わりに、規格基準設定および適用の際に従うべき原則とガイドラインが示されている。また、我が国では生鮮果実関連の規格基準は一件も策定されていない。このため、Codex 委員会による微生物基準を我が国の既存の規格基準と比較することはできなかった。

### D-2. 浅漬け類からの食中毒菌検出のための試験法検討および海藻類による食中毒発生状況に関する調査研究

国内外での海藻類による食中毒事例は、昨年度実施した生鮮野菜類によるものに比較して稀ではあるものの、患者数が 2000 名を超える大規模事例が報告されていた。その理由としては、海藻類は生鮮野菜よりも同一ロットに含まれる製品量が大きく、他の食品と混ぜて喫食されること、および非加熱で喫食されることが多い乾燥海藻類の特性に関連していると思われた。また、消費期限が長い製品の特性により、製品の製造時点から消費および食中毒発生までに数年を経ていることも特徴的であった。市販海藻製品の細菌汚染実態調査においては、水分活性が低い製品の特長から、大腸菌群、*E. coli* およびクロノバクター属菌が属するグラム陰性菌については汚染率が低く、一方グラム陽性菌であるリステリア・モノサイトゲネスとセレウス菌については若芽、

スピルリナおよびアオサから分離されていた。海藻類による食中毒発生状況および汚染実態調査結果から、食中毒を引き起こす頻度は昨年度の調査対象である生鮮野菜類より低く、製品の規格基準設定が必要な状況とは思われなかったが、製造工程における衛生管理の重要性が示唆された。

市販浅漬け類へのリステリア・モノサイトゲネス添加回収試験の結果から、純培養菌では見られない選択分離培地の種類による定型集落形成時間の差が添加回収試験で見られたことから、食品マトリクスの性状等が定型集落の形成性に影響を与えていることが確認された。今回の添加回収試験は非加熱食肉製品等の公定法に採用されている NIHSJ-08:2020 に準拠しており、選択分離培地の培養時間は 48 時間までとなっているため、最終判定としては 48 時間での結果を採用したが、任意の試験としてその後も平板の観察を継続したところ、72 時間以降に定型集落が形成された検体も一部に見られた。今回用いた白菜浅漬けの pH は 4.93 であり、文献における本菌の増殖限界 pH である 4.6 よりも上であったが、乳酸菌等の夾雑菌を含む浅漬け検体では本菌の定型集落形成に通常よりも長い時間を要する可能性がある可能性も考えられた。今後、浅漬けに特有の問題点とその改善手法を検討することで、日本独自の食品である浅漬け類からの本菌検出を確実にを行うための試験法の検証を行うことが可能になると思われた。

### D-3. 果実類の細菌およびウイルスによる食中毒発生状況に関する研究

国内事例における主な病因物質として、

サルモネラ属菌およびノロウイルスが挙げられた。欧米の事例では、「カンタロープ、マンゴー、パパイヤ、ナッツ x サルモネラ属菌」「冷凍ベリー、冷凍イチゴ x ノロウイルス、A 型肝炎ウイルス」の組み合わせが多く報告され、原因となった果実類は輸入されたものが多かった。欧米の状況から、ノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルスがイチゴやベリー類を汚染する可能性があり、冷凍保存中にも感染性を維持していることが示唆される。輸出入の促進により、多くの果実類が国内に入ってくる可能性を考えると、国内だけでなく海外における微生物汚染状況もあわせてリアルタイムで注視していく必要があると考えられる。

#### D-4. 食品における微生物汚染実態等に関する研究

微生物学的基準はALOP (Appropriate Level of Protection: 適切な衛生健康保護水準) を達成可能とする様にフードチェーンの特定の箇所に対して設定することが最も妥当であると考えられており、CAC/GL 21-1997にも要求事項として示されている。国内においてはカンピロバクター食中毒に関するALOPの設定がなされておらず、CAC/GL 21-1997に対する妥当性検証が困難な状況となっている。このため、妥当性のある微生物学的規格基準の策定にむけてALOPの設定を優先的に進める必要性が示された。また、CAC/GL 21-1997に示された要求事項に対して妥当性のある微生物学的基準の策定に必要な情報の多くが整備されている事が明らかとなった一方で、これらの情報を利用した定量的リスク評価につ

いては行われておらず、今後、微生物学的基準の妥当性検証に向けた定量的リスク評価を実施しなければならない事が示された。本研究では、定量的リスク評価の一環として2.1.9 criteriaに示されるサンプリングプランを国内のカンピロバクター検出状況に当てはめた際の国内生産食鳥とたいの合格率の統計的見積りを行い、国内で生産される食鳥とたいのカンピロバクター汚染率は2.1.9 criteriaに対して十分に低い状況である事を確認した。しかしながら、上記の統計的見積りは試験結果の平均値に基づいて算出されたものであり、個別の検査結果の合格率と一致するとは限らない。個別の検査結果の合格率を検証するためには、個々の食鳥処理施設にて取得された結果に対してCAC/GL 21-1997の4.9にて示されるムービングウインドウを適用した検証が求められる。今後、4.9に対する妥当性を確保するために個々の食鳥処理施設にて取得された結果に対して個別の解析の実施が必要である。

#### D-5. 微生物リスク分析に関する研究

本ツールでは利用可能なサンプリングプランとして、病原微生物の検出(有・無)サンプリングプランのほかに、2クラスまたは3クラスの濃度ベースサンプリングプランが提供されている。したがって、本ツールはリスクベースでのリスク低減を実現し得る微生物検査サンプリング方法を、統計的な根拠をもとに示すことが期待できる。実際の汚染菌数データに基づいた菌数データの分布を基礎として、サンプリングプランを策定した結果、概ね妥当なサンプリ

ングプランを推定できることが確認された。したがって、本ツールは基礎的なサンプリングプラン策定に有用であることが明らかとなった。

今回は市販低温殺菌牛乳の一般生菌数といった病原性とは関係のない部分での検討であったことから、比較的菌数レベルの高い状態での推定計算であった。しかし、実際の病原菌の汚染実態を考慮すれば、より低い菌数レベルでのサンプリングプラン作成が不可欠である。これに対応するためには、既往の病原菌陽性／陰性の検査データの活用が期待できる。

## E. 結論

### E-1. 国際規格・基準と日本の国内体制の比較（生鮮果実関連の Codex 規格基準）および米国における食肉加工食品が関連した食中毒アウトブレイク事例の調査

Codex 委員会は、生鮮果実カテゴリーの 28 食品について規格基準を設定している。これらの規格基準のすべてにおいて、CXG 21-1997 に沿って設定された任意の微生物基準に従うことを規定している。

米国における食肉加工食品に関連した食中毒被害としては過去 10 年間（2014～2023 年）で発生した「複数州にわたる食品由来アウトブレイク」138 件のうち 7 件が食肉加工食品を原因食品とするもので、病因物質はサルモネラまたはリステリアであった。

### E-2. 浅漬け類からの食中毒菌検出のため

### の試験法検討および海藻類による食中毒発生状況に関する調査研究

本研究での調査により、国内外での海藻類による食中毒事例は昨年度実施した生鮮野菜類によるものに比較して稀ではあるものの、患者数が 2000 名を超える大規模事例が報告されていた。市販海藻製品の細菌汚染実態調査においては、海外の調査で若芽、スピリリナおよびアオサからリステリア・モノサイトゲネスとセレウス菌が 2～3 log CFU/g のレベルで分離されていた。市販海藻製品について、微生物規格基準設定がただちに必要状況とは思われなかったが、製造工程における衛生管理の重要性が示唆された。

市販浅漬け類へのリステリア・モノサイトゲネス添加回収試験の結果から、白菜浅漬けにおいて非加熱食肉製品およびナチュラルチーズの公定法に採用されている NIHSJ-08:2020 を用いた本菌の検出は可能であると思われたが、定型集落の形成に所定の培養時間よりも長時間を要する場合があることに注意が必要であった。

### E-3. 果実類の細菌およびウイルスによる食中毒発生状況に関する研究

国内外の果実類を原因とする食中毒事例において、サルモネラ属菌、ノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルスが主要な病因物質であった。

### E-4. 食品における微生物汚染実態等に関する研究

2.1.9 criteria を国内食鳥処理場へ適用した規格基準を策定する場合をモデルケースとして設定し、CAC/GL 21-1997 に示された要求事項に対する妥当性確認に必要な情報の抽出・整理を行うことで、CAC/GL 21-1997 の原則およびガイドラインに沿った微生物学的基準を構築する手順について考察を行った。その結果、同モデルケースにおいて CAC/GL 21-1997 に対して妥当性のある微生物学的基準の策定に必要な情報の多くが整備されている事が明らかとなった。さらに、微生物学的基準設定に向けた定量的リスク評価の一環として、2.1.9 criteria に示されるサンプリングプランを国内のカンピロバクター検出状況に当てはめた際の国内生産食鳥とたいの合格率の統計的見積りを行い、2.1.9 criteria に示された基準値の国内適用が現実的であることを示した。これらの CAC/GL 21-1997 に対する妥当性確認手順は国際的整合性を確保した微生物学的基準設定を行う上で先導的なモデルとなる成果である。

#### E-5. 微生物リスク分析に関する研究

食品の食中毒リスクは、効果的なサンプリングプランを実施することで抑えられる可能性がある。適切な微生物学的基準と、適切に設計されたサンプリングプランにより、サプライチェーン内の許容できないロットの食品の特定につながり、結果として食中毒リスク低減へと繋がる事が期待される。

現実的に、実施可能なサンプリングプランの策定には、各製造事業所での製造ロッ

トサイズ、検査実施体制、検査の厳密性などの現実的な種々の状況を考慮する必要がある。しかし、今年度検討した理論的な根拠に基づくサンプリングプラン作成ツールは、重要な指標を示し、実効性あるサンプリングプランの作成に有用である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### ○ 論文発表

1. Yamasaki E. and Fukumoto S.: Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Yezo sika deer *Cervus nippon yesoensis* in the Tokachi sub-prefecture of Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 84(6): 770-776, 2022

##### ○ 学会発表

1. 百瀬愛佳、西田智子、窪田邦宏、岡田由美子 野菜類を原因とする細菌性食中毒の国内発生状況. 第44回日本食品微生物学会 (2023. 9. 大阪)

2. 山崎栄樹、福本晋也：北海道十勝地方におけるエゾシカの腸管出血性大腸菌保有状況調査. 第24回腸管出血性大腸菌感染症研究会、2022年10月13-14日、神奈川県川崎市

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし