

食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）

「我が国における生物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」

総合分担研究報告書（令和4年～令和6年）

食品における微生物汚染実態等に関する研究

研究分担者	山崎栄樹	帯広畜産大学 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究協力者	福岡頌大 松井翔哉 金子真奈 齋藤里歩 長谷川あや 矢崎伶奈 山本詩織 上間匡	帯広畜産大学 帯広畜産大学 鎌倉女子大学 家政学部 鎌倉女子大学 家政学部 鎌倉女子大学 家政学部 鎌倉女子大学 家政学部 鎌倉女子大学 家政学部 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部

**研究要旨：**国内流通食品に対する規格基準設定においては国際的整合性を考慮しつつ、国内の食品に関するリスク要因の状況を踏まえた検討が求められる。本研究では、微生物学的規格基準の構成要素の一つであるサンプリングプランの国内流通食品への適用の必要性について考察を行う目的で、過去に国内で発生した食中毒事例を食品-病因物質の組み合わせに基づいて整理・分類した。その結果、国内で発生した食中毒事例の原因食品の大部分が三階級サンプリングプランの適用が推奨されるものであることが明らかとなり、国内流通食品に対する規格基準設定においてサンプリングプラン導入の必要性を明確にした。さらに、国際的整合性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」に示された食鳥と体に対するカンピロバクターを対象微生物とした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、妥当性検証に必要な情報の多くが国内においても整備されている事が明らかとなった。また、妥当性検証の一環として、モデルケースで採用した欧州委員会規則のサンプリングプランに対する国内生産食鳥と体の合格率の統計的見積りを行った結果、国内生産食鳥と体の合格率は 100%と見積もられ、上記のモデルケースが 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的基準設定を行う上で先導的なモデルとなる成果であり、食品の微生物規格基準の国際的調和の点から厚生労働省および消費者庁が推し進める食品安全行政の

進展に寄与するものであると考える。

本研究ではさらに、アイスクリームの副原料として利用される果物に対する次亜塩素酸ナトリウムを用いた適切な殺菌方法および殺菌効果の評価方法について検討する目的で、次亜塩素酸ナトリウムを用いた殺菌過程における有効塩素濃度変化と生菌数変化について検証を行った。その結果、次亜塩素酸ナトリウム処理過程における有効塩素濃度の減少度は対象となる果物種によって大きく異なること、殺菌効果は処理条件よりも果物種に大きく依存し、処理工程を通じた有効塩素濃度の減少度と生菌数の減少度に相関が見られないことが明らかとなった。以上の結果は次亜塩素酸ナトリウムによる殺菌においては、原材料等の特性を勘案しつつ、製造基準と成分規格を組み合わせた慎重な管理が必要であることを示すものであると考える。

#### A. 研究目的

食品の微生物学的規格基準設定の考え方については国際食品微生物規格委員会 (International Commission on Microbiological Specification for Foods: ICMSF) により Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management (以下、Microorganisms in Foods 7)<sup>1)</sup> が2002年に刊行され、食品の安全性を管理するための体系化した手法が示されている。同書では、HACCPや適正衛生規範 (GHP) を用いた食品安全管理システムにおける微生物学的検査利用の合理的なアプローチ (役割と意義) についても解説がなされており、食品衛生法の改正に伴って「HACCPに沿った衛生管理」が導入された本邦の食品衛生管理の新たなステージにおける微生物学的規格基準のあり方を検討する上で重要な指針を与えるものとなっている。また同書では、生物学的規格基準の構成要素は、対象となる微生物や毒素とそれらの限度、分析単位 (ロット)、試験法およびサンプリングプ

ランとしており、微生物学的規格基準の決定において適切なサンプリングプランの検討が重要であることを示している。

一方で、コーデックス委員会は食品の微生物学的基準の設定の際に考慮すべき事項について「Principles and Guidelines for the Establishment and Application of Microbiological Criteria Related for foods (食品に関連した微生物学的基準の設定および適用の原則およびガイドライン) , CAC/GL 21-1997」<sup>2)</sup> (以下、CAC/GL 21-1997) を示している。同文書では、「微生物学的基準の構築および適用は、本文書に示された原則に従うと共に科学的知見に基づいて行われなければならない」とされており、国際的整合性の観点から、我が国においても規格基準策定を行う際には同文書に従った慎重な考察が求められる。しかしながら、国内の微生物学的規格基準においては同文書に示される要求事項への適合について考慮されないままとなっているものが多く、今後、規格基準を改訂もしくは新たに策定する際には同文書との整合性に関する対応が必要

であると考えられる。

本研究では、国内流通食品に適用すべきサンプリングプランについて考察する目的で、国内で発生した食中毒事件情報の収集・整理を行い、得られた情報について Microorganisms in Foods 7で提案されたケース分類に基づいた整理を行った。また、CAC/GL 21-1997に示された要求事項に対して妥当な微生物学的規格基準の策定に向けて、カンピロバクターをモデルとして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国内流通食品の汚染状況、フードチェーン、危害発生状況等に関する既知情報から、妥当性検証に必要な情報の抽出・整理を行うことで、規格基準を策定する上で不足する情報の特定を行うとともに、国際的整合性満たした規格基準策定を行う手順について考察した。

加えて、アイスクリームの副原料として利用される果物に対する次亜塩素酸ナトリウムを用いた適切な殺菌方法および殺菌効果の評価方法について検討する目的で、複数の果物に対して次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いた際の有効塩素濃度変化と生菌数変化について検証を行った。

## B. 研究方法

### 1-1. 食中毒統計調査結果のハザードと原因食品特性に基づく分類

平成24年(2012年)から令和3年(2021年)の10年間に食中毒統計に報告された細菌性食中毒事例について、原因物質および原因食品による分類を行った。原因物質の分類においては Microorganisms in Foods 7 の Table 8.2 に示される Ranking of foodborne pathogens or toxins into

hazard group (severity of threat to health)に従った分類を行い、また、原因食品の分類においては同書の「食品の特性や取扱条件による当該食品中での検出指標の挙動に基づくケース分類」(以下、ケース分類)に対応する形で各病原微生物の特性を勘案して分類を行った(分類法の詳細については令和4年分担研究報告書を参照されたい)。

### 1-2. 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<sup>3)</sup>の ANNEX1 Microbiological criteria for foodstuffs の Chapter 2 Process hygienic criteria 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想定し、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章及び第4章で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。

### 1-3. 2.1.9 criteriaの国内食鳥処理場への適用の妥当性の検証

「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について(薬生食監発 0528 第6号)」<sup>4)</sup>にて取りまとめられた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。

### 2. 次亜塩素酸ナトリウムを用いた殺菌の評価方法についての検討

次亜塩素酸ナトリウム溶液に果物を皮付

きそのまま投入し、2.5、5、7.5、10 分間の処理を行った。処理中の次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度をリアルタイムモニタリングするとともに、各処理時間後における生菌数を評価した。

## C. 結果

### 1-1. 食中毒統計調査結果のハザードと原因食品特性に基づく分類

Microorganisms in Foods 7 においては病因物質のハザードの severity と、原因食品の取扱条件および摂食される状態等の組み合わせにより食中毒をケース 1 から 15 までの 15 種類にケース分類するとともに、各ケースにおいて推奨されるサンプリングプランを示している。本研究では、食中毒統計に報告されている食中毒事例の中から細菌を病因物質とする事例を抽出し、抽出された事例について病因物質と原因食品の特性に基づいた分類を行った。病因物質のハザードの severity に関する分類においては、抽出された 1912 件のうち緩やかなハザードに分類されるものが 82.2% (1571 件/1912 件) と大部分を占めており、重大なハザードおよび深刻なハザードに分類される事例はそれぞれ 12.8% (244 件/1912 件) および 5.1% (97 件/1912 件) であった。さらに、各病因物質について食品の取り扱い条件および摂食される状態によるリスク分類を行った結果、本邦で細菌性食中毒の病因物質として最も報告数の多いカンピロバクター・ジェジュニ/コリにおいては 83.4% (857 件/1028 件) が「リスクに変化無し」(ケース 8) に分類される製造後に病因物質の増減の可能性が低かった食品を原因とした事例が大部分を

占めていた。一方で、その他病原大腸菌および腸管出血性大腸菌 (VT 産生) においては「リスクに変化無し」(ケース 11 および 14) に比較して「リスクの減少」(ケース 10 および 13) に分類される事例が多くなっており、ウエルシュ菌においては「リスクに変化無し」(ケース 8) に比較して「リスクの増加」(ケース 9) に分類される事例が多くなっていった(分類結果の詳細については令和 4 年分担研究報告書を参照されたい)。

### 1-2. 国際的整合性満たした規格基準策定モデルの検討

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<sup>3)</sup>がよく知られており、食鳥処理場において最終冷却後の食鳥と体に対するカンピロバクターを対象微生物とした基準が示されている。本邦にてカンピロバクターに対する微生物学的規格基準を設定する場合において、上記の criteria は国際的整合性の観点からも妥当性のあるリファレンスになりうる。また、国内において「と畜検査員及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)」<sup>5)</sup>にて食鳥処理場における外部検証の一環として 2.1.9 criteria で参照されている ISO 法と同等性を持つカンピロバクター定量検査法が示されていることから、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て、同モデル

ケースについてCAC/GL 21-1997に示された要求事項への適合性の評価を行なった。その結果、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国内状況に対しても整備・取得されていることが明らかとなった（各要求事項に対して妥当性検証に必要な情報の詳細については令和5年分担研究報告書を参照されたい）。

加えて、2.1.9 criteriaを国内のカンピロバクター検出状況に当てはめた場合に、2.1.9 criteria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の検討を行った。「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について（薬生食監発0528第6号）」<sup>4)</sup>に取りまとめられている国内で実施されたカンピロバクター検査結果のデータを2.1.9 criteriaに示されたサンプリングプラン（ $n = 50$ ,  $c = 15$ ,  $m = 1000$  cfu/g）に適用した際の合格率を求めたところ、国内で生産される食鳥と体の合格率は100%と見積られた。このことから、国内で生産される食鳥と体に対して2.1.9 criteriaに示されたサンプリングプランの適用が現実的であると推定された。

## 2.次亜塩素酸ナトリウムを用いた殺菌の評価方法についての検討

アイスクリーム製造においては、そのフレーバーを決定づける副原料として様々なものが利用されているが、果物の様に加熱によってその風味特性が失われてしまうものも多い。そのため加熱以外での殺菌について様々な方法が検討されているものの、現状では多くの事業者において「大量調理施設衛生管理マニュアル」<sup>6)</sup>を参照した次亜塩素酸ナトリウム（200 mg/Lで5分間又は100

mg/Lで10分間）を用いた殺菌方法が利用されているところである。アイスクリームの副原料として利用される果物に対する次亜塩素酸ナトリウムを用いた適切な殺菌方法および殺菌効果の評価方法について検討する目的で、複数の果物に対して次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いた際の有効塩素濃度変化と生菌数変化について検証を行った。すなわち、キウイ、みかん、メロンを対象として100 ppmに調整した次亜塩素酸ナトリウム溶液に果物を投入後、遊離塩素濃度をリアルタイム測定するとともに、2.5、5、7.5、10分後に果物を取り出して、各処理時間における殺菌効果を生菌数を指標として検証を行った。その結果、遊離塩素濃度については果物投入後にキウイにおける急激な減少と、みかんにおける緩やかな減少が観察された一方で、メロンについては処理時間内に大きな変化は観察されなかった。この結果は、果物種によって遊離塩素消費の度合いが大きく異なることを示唆しているものと考えられた。一方で、生菌数については、みかん、キウイに比較してメロンで処理時間に応じた有意な減少が観察された。メロンで観察された有意な生菌数減少が処理時間を通じた遊離塩素濃度の維持によるものかを検討する目的で、処理開始後に急激な遊離塩素濃度減少が観察されたキウイに対する更なる検討を行った。すなわち、キウイにおいて1回あたりの処理量を減少させ、処理時間を通じて遊離残留塩素を高濃度で維持した条件下での処理を行ったところ、遊離塩素濃度と菌数減少に相関は観察されなかった（各処理条件における遊離塩素濃度変化と菌数減少度の詳細については令和6年分担研究報告書を参照されたい）。

## D. 考察

### 1. 国際的整合性満たした規格基準策定の手法に関する検討

国内においてはこれまで、微生物学的基準へのサンプリングプランの導入についての議論が続けられてきたものの、サンプリングプランの適用は進んでこなかった。本研究では本邦におけるサンプリングプラン適用の妥当性の検討を目的として、国内食中毒事例に関する情報の整理を行った。食中毒統計に報告された国内の健康被害実態に関して食品-病原微生物の組み合わせによる整理を行った結果、Microorganisms in Foods 7のケース分類のうち  $n = 5$ ,  $c = 1$  の三階級サンプリングプランの適用が推奨されているケース 8 に分類される事例が最も多く (1054 件/1912 件)、国内の食中毒制御において現行の  $c = 0$  の二階級サンプリングプランでは効果的な対策が困難であることが示唆された。

国内で最も多くの食中毒事例が報告されているカンピロバクター・ジェジュニ/コリはMicroorganisms in Foods 7に基づくケース分類においてケース7から9に分類 (GBSを続発した場合を除く) され、同ケースに対してはいずれも三階級サンプリングプランが提案されている。三階級サンプリングプランの実施には試験法として定量法が要求されるが、現在国内では「と畜検査員及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)」<sup>5)</sup> に基づいて、国内食鳥処理場におけるカンピロバクター・ジェジュニ/コリの定量的試験が実施されている。このことから、カンピロバクター・ジェジュニ/コリは国内流通食品に対する三階級サ

ンプリングプラン適用の妥当性検証のモデルケースになるものと考えられた。本研究では、欧州委員会規則で示されるカンピロバクターに対するサンプリングプラン (2.1.9 criteria) 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体の合格率の統計的見積りを行った。その結果、2.1.9 criteriaにおける現在の基準値である  $n = 50$ ,  $c = 15$ ,  $m = 1000$  cfu/gのサンプリングプランに対して国内で生産される食鳥と体の合格率は統計的には100%と見積もられ、国内で生産される食鳥と体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が確認された。これらの結果は、2.1.9 criteriaに相当する微生物学的基準を国内向けに提案する上でその提案の妥当性を示す結果の一つである。

### 2. 次亜塩素酸ナトリウムを用いた殺菌の評価方法についての検討

アイスクリームの副原料には果物のように加熱殺菌が難しく次亜塩素酸ナトリウムによる殺菌が利用されているものが多数存在する。アイスクリームの副原料の様に多種多様な品目が対象である場合には、その効果について慎重な検討が必要であると考えられる。本研究では、アイスクリームの副原料として利用される果物について次亜塩素酸ナトリウム処理中の有効塩素濃度変化と生菌数減少度の解析を行った。その結果、次亜塩素酸ナトリウム溶液中の有効塩素濃度の減少度は果物種によって大きく異なる事が明らかとなった。有効塩素濃度と生菌数減少度の間に相関は確認されなかったが、次亜塩素酸ナトリウム溶液による殺菌効果は果物種によって大きく異なる事が明らか

となった。この結果は、次亜塩素酸ナトリウムを用いた殺菌工程の効果を適切に評価するためには有効塩素濃度の監視のみならず、処理後の検体の細菌検査も重要である事を示すとともに、検体の種類ごとに慎重な検証が必要である事を示すものである。

## E. 結論

### 1. 国際的整合性満たした規格基準策定の手法に関する検討

本研究では国内流通食品に対するサンプリングプラン適用の必要性について検討する目的で、国内食中毒事例を食品-病原細菌の組み合わせに基づいて整理・分類し、国内流通食品に対する三階級サンプリングプラン適用の必要性を明確にした。さらに、欧州委員会規則に示されるカンピロバクターに関する 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検証に必要な情報の抽出・整理を行い、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国内においても整備されている事が明らかとなった。加えて、同 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体の合格率の統計的見積りを行い、同 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。本研究で実施したサンプリングプランの国内への適用の必要性に関する検討および、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り、食品の

微生物学的規格基準の国際的調和の観点から厚生労働省および消費者庁が推し進める食品安全行政の進展に寄与するものであると考える。

### 2. 次亜塩素酸ナトリウムを用いた殺菌の評価方法についての検討

アイスクリームの副原料として利用される果物について、次亜塩素酸ナトリウムを用いた適切な殺菌方法および殺菌効果の評価方法について検討する目的で殺菌過程における有効塩素濃度と生菌数の変化について評価を行った結果、1) 次亜塩素酸ナトリウム溶液中の有効塩素濃度の減少度が果物種によって大きく異なること、2) 殺菌効果は有効塩素濃度の減少度とは必ずしも相関しないこと、および、3) 殺菌効果が果物種によって大きく異なることが示された。本結果は次亜塩素酸ナトリウムを用いた殺菌方法を利用する際に、原材料等の製品特性を勘案しつつ、製造基準と成分規格を組み合わせた管理が必要であること示唆するものであると考える。

## F. 研究発表

### 学会発表

1. 山崎栄樹, 福岡頌大, 松井翔哉, 窪田邦宏. 国際的整合性を満たしたカンピロバクターに関する規格基準構築に向けた情報整理および定量的リスク解析. 第 45 回日本食品微生物学会学術総会 (2024. 9. 5-6, リンクステーションホール青森, 青森).
2. 山崎栄樹, 窪田邦宏. 国際的整合性を満たした微生物学的基準設定に向けた妥当性検証モデルケースに関する検討. 第 167 回日本獣医学会学術集会

(2024. 9. 10-13, 帯広畜産大学, 北海道)

改正:平成 28 年 10 月 6 付け生食発 1006  
第 1 号

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

H. 引用文献

1. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management (Second edition). Springer International Publishing, 2018.
2. Codex Alimentarius Commission: Principles and Guidelines for the Establishment and Application of Microbiological Criteria Related for foods, CAC/GL 21-1997, Revised and renamed 2013), 2013 年 7 月
3. EUROPEAN COMMISSION: COMMISSION REGULATION (EU) 2017/1495 of 23 August 2017. Amending Regulation (EC) No 2073/2005 as regards *Campylobacter* in broiler carcasses. *Official Journal of the European Union*: 2017
4. 厚生労働省: と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について 薬生食監発 0531 第 6 号, 令和 3 年 5 月 31 日
5. 厚生労働省: と畜検査員及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
6. 大量調理施設衛生管理マニュアル(平成 9 年 3 月 24 付け衛食第 85 号別添、最終