

## 食品衛生ミニ講座

### 57. H A C C P に関する微生物制御のデータバンクの整備の必要性と予測食品微生物学

#### はじめに わが国におけるH A C C P の現状

ここ数年来、わが国でもH A C C Pという言葉が聞かれるようになったが、必ずしも正しく理解されているとは言えないようである。一方、H A C C P方式が欧米先進諸国ではすでに正式の規制方式として取り入れられている現状から、厚生省や農水省では、国際貿易や国際的調和の観点からH A C C P方式の導入を検討してきた。

厚生省では平成7年5月に改正された食品衛生法に基づき、食品工場の自主衛生管理を強化するため、H A C C Pの概念を取り入れた「総合衛生管理製造過程による製造の承認制度」を発足させた。しかし、欧米のように強制的な規制方式と違って、申請に基づき厚生省が承認した工場の特定の品目のみに適用される自主管理制度で、当面乳、乳製品ならびに食肉製品製造業が対象業種として申請手続き等が示された。今後は食品衛生法第7条で規格基準等が規定されている他の業種にこの制度が拡張されるようである。一方、農水省では平成6年度から「食品工場安全向上総合管理システム開発事業」を開始し、その一環として「H A C C Pマニュアル」策定事業をスタートさせた。この事業は農水省からの委託を受けて、食品産業センターが実施したもので、平成6年度には対象品目として6品目の「冷凍惣菜類」が取り上げられ、平成7年9月には報告書「危害分析・重要管理点方式(H A C C P)マニュアル—調理冷凍食品」が公表された。また水産庁でも平成7年度から5か年計画で「水産食品品質確保対策事業」、つまり水産食品に対するH A C C Pの概念に基づく品質管理マニュアル策定事業を開始し、大日本水産会が受け皿となって総合検討委員会が設置され、H A C C Pマニュアルの策定作業が開始された。なお、7年度には「冷凍すり身」、「冷凍貝むき身(生食用)」、および「冷凍魚フレー(加熱調理用)」の3品目が取り上げられ、平成8年9月には上記3品目のH A C C Pマニュアルが公表された。平成8年度には魚肉練り製品等6品目が対象食品として取り上げられ、マニュアル策定作業が進められている。

#### 食品衛生法に基づく食品等の 加熱殺菌条件とH A C C P

わが国では、食品衛生法第7条並びに乳及び乳製品の成分規格等に関する省令(乳等省令)に基づいて、乳及び乳製品、清涼飲料水、氷菓子の原料、食肉製品(特定加熱食肉製品、加熱食肉製品)、魚肉練り製品、包装豆腐、容器包装詰加圧加熱殺菌食品については食品衛生上の見地から、殺菌温度・

時間の基準や製品の保存基準等が設定されている。しかし、魚肉練り製品など多くの伝統的な食品製造・加工の加熱殺菌は、対象微生物を理解した上で行うのではなく、もっぱら経験と勘で殺菌条件を決めてきた。そして、また温度・加熱時間などの記録は大企業の乳製品や食肉製品あるいは規定のある缶詰工場を除いてはほとんど実施していなかった。また、行政当局にしても殺菌条件の規定されている食品に対し、H A C C Pの考え方では、生産対象になる食品の安全性・保存性にかかる微生物について、それぞれあらかじめ確実な殺菌条件を求めてから(必要なら対象食品へ実際に菌を接種して効果を確認する接種試験の実施)実際の殺菌処理を行うようになっている〔この工程は当然C C P(重要管理点)とする—H A C C Pの原則第3に基づく管理基準の設定〕。しかも、その殺菌を計画的に監視／測定し(原則第4)、その結果(温度・時間、冷却条件等)を必ず記録するよう規定されている(原則第7)。この管理記録は従来の日本的な管理方式ではほとんど実施されてこなかつたところで、最も日本人の苦手とすることかもしれない。なお、これら記録は、ほぼリアルタイムに得られる仕組みになってるので、工場の責任者にとって出荷直前までに製品の安全確認ができる大切な判断材料になるし、また第三者、例えば食品衛生監視員が工場の監視に訪れた際に、工場での衛生管理の適否や製品の安全性についての有力な判断材料になろう。もし万一、その工場の製品で食中毒事故が発生したとしても、合理的H A C C P計画と、正確なCCPの監視・測定記録があれば、製品で食中毒事故が発生したとしても、その原因が工場側の殺菌ミスや管理体制に問題があったのか、あるいは出荷以降の製品の保管・流通段階での不適切な保管が原因だったのか、あるいは家庭などの消費段階で不適切な保管や取り扱いなどによるのかなどの発生原因の究明に役立つし、ことにPL訴訟などの際に、工場の責任の有無の判断に有力な証拠を提供することになろう。

#### 予測食品微生物学とは

近年欧米諸国においては、H A C C P方式で微生物制御の基礎となる「予測食品微生物学(Predictive Food Microbiology)」について関心が持たれていて、すでに一部実用化段階に入りつつある。予測食品微生物学は予測微生物学(Predictive Microbiology)ともいわれているが、特定の食中毒細菌など病原微生物について、その生育、生残、死滅と環境要因の関係を量化して、そのデータベースを作るとともに、その微生物の生育、生残、死滅のプロセスと環境因子との関係を関数として数式で表わし、さらに既往のデータとの比較検討および実際の食品について接種試験を行って、数式の妥当性を検証・確認する。これらの結果に基づいて適切なモデル式を作成し、これを特定の食品の製造環境因子に当てはめることにより、その食品の安

全性や保存性をコンピューターを利用して予測できるようにすることを目的とした研究分野である。つまり、この技術・手法は、特定の微生物の生育や死滅の条件を実測データに基づいて、モデル数式の形に要約し、それを対象食品中でその微生物の増殖や死滅あるいは毒素産生などを予測しようとするものである。

欧米諸国での予測食品微生物学の

## 取り組みとその背景

欧米において1980年代になって予測食品微生物学が急速に発展した背景には次のような事情があるといわれている。

- (1) 1980年代前半にアメリカやヨーロッパにおいて食品を媒体とする極めて病原性の強い菌、すなわち腸管出血性大腸菌(Enterohaemorrhagic *E.coli*, EHEC; O157:H7)およびリストリア菌(*Listeria monocytogenes*)による数度にわたる集団発症事件が発生したこと。さらに、90年代になり鶏卵を介するゲルトネル菌(*Salmonella enteritidis*)中毒事件が欧米諸国だけでなく世界的規模(日本も含まれる)でしばしば大発生するようになったことなど、食品の微生物学的安全性に関しては国際的にも大きな問題となったこと。
  - (2) 食品に対する本物志向、天然志向の高まり、より温和な処理をしたチルドタイプの製品が好まれるようになり、さらに家庭での調理の機会が減少し、調理済み食品(Precooked ready to eat foods)のチルド流通が増加してきた。この傾向とともに、サルモネラをはじめ各種食中毒細菌など病原菌の製品中での生残、増殖の可能性が問題になってきた。事実、欧米先進諸国においては1980年代以降食中毒が急増している。
  - (3) コンピューターの進歩によりデータ処理、複雑な計算処理が効率良くできるようになって、モデルの作成および評価が比較的容易にできるようになったこと。

現在は情報化時代といわれるが、食品分野でも特に安全性および品質確保・保持の立場から「予測食品微生物学」の出現は必然的な対応といえるであろう。またこの研究分野の性格上から、産学官の学際的（食品微生物学と数学および情報科学）、国際的（EU、WTO）な取り組みがなされている。

## 欧米における予測食品微生物学の進捗状況

### (1) イギリス (UK)

英国農業漁業食品省 (Ministry of Agriculture, Fishery and Food:MAFF) では1988年から5年の共同研究計画で食品媒介病原菌（食中毒細菌）の食品中における増殖、生残、死滅とこれに及ぼす要因との相互作用を量 化してモデルを開発し、コンピューターを利用するデータベースおよびモデルベースを開発し、パソコンで使用できるソフト“Food Micro—model”を開発し1992年10月からコマーシャルサービスを開始したという。

イギリスのデータベースの対象微生物は現在のところ下記の細菌である。すなわち、サルモネラ *Salmonella*、リストリア・モノサイトジェネス *Listeria monocytogenes*、黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*、エルシニア・エンテロコリチカ *Yersinia enterocolotica*、腸管出血性大腸菌 *Escherichia coli* O157:H7、セレウス菌 *Bacillus cereus*、枯草菌 *B. Subtilis*、低温性ポツリヌス菌 (E およびF型菌を指す) *Clostridium botulinum*、ウェルシュ菌 *C. perfringens*、カンピロバクター・ジェジュニ *Campylobacter jejuni*、エロモナス・ヒドロフィラ *Aeromonas hydrophila* の10菌種である。

## (2) アメリカ合衆国 (U.S.A.)

米国農務省 (USDA) の Microbial Food Safety Unit, Eastern Regional Research Center, USDA Agricultural Research Service (Philadelphia, PA) が中心となって "Microbe-Model"

インターネットフォーラムを作成したという。

### (3) 欧州連合 (E U)

EUではFLAIR(Food Linked Agricultural and Industrial Research)プログラムを通じて10か国の30研究機関が広範な生産物における病原菌と腐敗菌の挙動について行動研究を行っている。さらに1993年から8か国の23研究機関がEUの資金によるプロジェクト「食品関連の主要なストレスに対する食中毒菌一サルモネラ、病原大腸菌*Escherichia coli*、黄色ブドウ球菌*Staphylococcus aureus*、リストeria、モナサイトジェネス*Listeria monocytogenes*、エロモナス・ヒドロフィラ*Aeromonas hydrophila*、セレウス菌*Bacillus cereus*、ポリス菌*Clostridium botulinum*、ウェルシュ菌*C.perfringens*の生残および抵抗性と生理学的生化学的、遺伝学的基盤、および感染性と毒素産生性に及ぼす要因の研究」が実施されているという。

おわりに—わが国の食品微生物制御

## に関するデータバンクの整備と

予測食品微生物学の開発を望む

上記イギリスや米国で出されたソフトはわが国でも入手できる。それらは欧米ではHACCP計画を立てるときには有効に活用ができるといわれているが、残念ながら、それらソフトは食肉や乳製品など欧米の食品が対象になっているので、わが国の伝統的な食品や近頃量産されるようになってきた和洋中華風など数百品目に及ぶ惣菜類などには直接適用は困難である。これまでわが国では、予測食品微生物学に対する関心も低く、実際にこの分野の研究開発に携わってきた研究者は皆無であるといって差し支えない。ところで、わが国の食品製造業の規模を見ると、10人以下の施設が70%以上、30人以下の施設が95%以上を占め、300人以上の大規模工場はわずか0.3%に過ぎないといわれる。HACCP方式がごく一部の近代的設備を有する大企業にしか適用されないというのでは公衆衛生の向上という立場では全く意味がない。極めて零細、あるいは家内工業的な製造・加工施設は別としても、食中毒事故の防止や製品の安全性・品質向上という立場からは、少なくとも中小規模の工場でも日常容易に活用できる自主衛生・品質管理方式でなければ意味はないといってよいであろう。しかしながら、わが国の中小食品工場の経営者、技術者の多くは取り扱っている原材料や製造工程、あるいは製品について食中毒細菌や腐敗細菌による危害、あるいはその適切な制御技術に対する知識や理解は極めて低いのが実情である。従って、現在の中小企業はもちろん大工場の多くを含めて、それぞれの工場が独力で、食品の原材料段階から製造・加工工程を経て最終製品の出荷・流通に至るまでのHA(危害分析)を実施し、それに基づいてCCPの決定(原則第2)、管理基準の設定(原則第3)および監視/測定方法の設定(原則第4)を含めたHACCP計画を立てることは決して容易なことではないというより、むしろ不可能なことと言えよう。ことにわが国では、HACCPに関する食品別のHA(危害因子とその制御方法を含む)のデータやCCPに関する必要なデータについてはほとんど整備されていないし、欧米諸国と違って国レベルでの食品微生物に関するデータベースも全く整備されていないのが現状である。このままでは行政主導型で形式的なHACCP方式は普及しても、それがどこまで実質的に安全で良質の食品の生産に寄与できるかは疑問である。今後は欧米のように国レベルで「予測食品微生物学」の開発に早急に取り組む必要があろう。

## 微生物制御に関するトピックス

### その4 リステリア菌の制御について

その3では腸管出血性大腸菌O157:H7の制御について述べたが、リステリア菌についてもこれに劣らず注目すべき病原菌であるのでここで取り上げることにした。この菌については日本食品微生物学会雑誌においてスキムミルク、生鮮魚介類とその加工品、生ハンバーグ、ピザ用チーズ、スマートサーモンについての汚染に関する報告や検査法などの解説があり、さらにInternational Association of Milk, Food and Environmental Sanitationの機関誌の1つであるJournal of Food Protectionにおいて、過去10年間に二百数十のリステリア菌に関する報告が発表されている。

リステリア菌は人畜共通の感染症の起因菌であって、食品を介して人間の感染症（髄膜炎、敗血症、流産など）を起こす。欧米では1980年代の10年間で食品媒介のリステリア菌の集団発生の原因食品として、生野菜、生かき、海産鮮魚、牛乳、クリーム、アイスクリーム、ソフトチーズ、サラミソーセージ、キャベツサラダなどが見い出されている。そのため各種の食品素材、加工品について *Listeria monocytogenes* 汚染状況が検討され検出率が発表されている。次にその例を示すと、生乳0.3～45.3%、ナチュラルチーズ0.5～10.4%、豚肉10.0～94.7%、牛肉24.0～58.0%、鶏肉15.0～47.1%、食肉加工品5.0～56.7%、魚介類（冷凍魚介、鮮魚）1.8～37.0%、魚介加工品3.5～31.3%、野菜17.6%となっている。

わが国においても年間数件のリステリア症の発生があったが、1973年頃から20～40件と増加の傾向にある。しかし今のところ発症例が約600症例に達しているが集団発生は1件もないといわれている。しかしあわが国においても各種食品でリステリア菌が検出されている。例えば、生乳4.0%、ナチュラルチーズ2.1%、豚肉43.8%、牛肉37.2%、鶏肉44.1%、鮮魚とその加工品1.8%、生ハンバーグ36.4%、スマートサーモン15.8%のようにかなり高い検出率が示されている。さらに米国の食肉加工工場41か所における環境（床、壁、天井、排水源、食品接触面など）で4～37%と高い検出結果が得られているし、牛乳冷却系統、食品製造や小売店での従業員の汚染も認められている。

以上示したような状態から見てわが国においても集団発生の危険性は十分あるものと危惧される。

リステリア菌はグラム陽性、無胞子性、通性嫌気性の短桿菌であって8菌種に分類されている。しかし人畜共通の感染起因菌は *Listeria monocytogenes* (LE) であって、他の病原性細菌と異なる点は4°C以下の低温でも増殖可能であることである。発育最適温度は30～37°Cであるが40～45°Cでも増殖することができる。トリプチックソイプロース (TSB) + 酵母エキス培地では誘導期が4°Cで69.8～270.8h、10°C 36.5～68.9h、37°C 4.4～11.1h、スキムミルク中の世代時間は4°Cで49～53h、10°C 5.3～6.0h、20°C 108～120分、30°C 48～54分の値が示されている。TSB培地での発育可能最低pHは4.5付近であり最低Awは0.90～0.92である。

種々の食品中での生存性については多数の報告があるが、次に2、3の例を示す。まずスマートサーモンにLEを $10^2/g$ 接種し低温貯蔵するとき、2°C貯蔵で10日で $10^{4\sim 5}$ 、20日で $10^8$ 、10°C貯蔵で5日で $10^{7\sim 8}$ に到達している。サケに接種 ( $10^{4\sim 5}/g$ ) して-20°Cに貯蔵した場合6か月後でも $10^{3\sim 4}$ 検出されている。Orangeserum (pH3.6～5.6) に $10^6$ CFU/ml接種した場合、

25CFU/mlに低下する日数は、4°C貯蔵ではpH3.6で25日、pH4.0で43日、pH4.6で81日であり、pH4.8～5.0では90日後でも $10^2$ CFU/ml検出できた。また卵殻に $4.91 \log_{10}$ CFU/g接種した場合、5°Cまたは20°C貯蔵6週間後に0.58～0.38 $\log_{10}$ CFU/g検出されている。

7種のチーズの熟成中の生存期間として21日から434日という例も示されている。

LEは食品に接種した場合、食品の種類、貯蔵条件（温度、包装など）によりかなり長期にわたり菌数の低下の見られない場合があるし、比較的速やかに低下する例、さらにまたスマートサーモンの例のように増殖するという例外も見い出される。食品中ではリステリア菌が単独に存在することは限らないが、色々の細菌との共存についてもその影響が検討されているがこの場合菌種によって影響は一定しない。

リステリア菌の制御法の第1に挙げられるのは加熱殺菌であって、表1に示したように各種食品中の熱抵抗特性値 (D, Z) が示されている。食品成分の影響があるが、牛乳、乳製品の殺菌条件 (62～68°C、30分) で十分殺菌可能であろう。

表1 種々の食品中の *L.monocytogenes* の熱抵抗特性値

| 食 品               | D <sub>60</sub> °C (分) | Z (°C) |
|-------------------|------------------------|--------|
| T S Y E 培地        | 1.58                   | 6.6    |
| 0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0) | 0.63                   | —      |
| 牛乳 (全)            | 1.0 (62.7°C)           | 4.3    |
| 原料乳               | 0.33 (63.3°C)          | 6.3    |
| 液 卵               | 1.3                    | 7.0    |
| ひき豚肉              | 1.14                   | 5.05   |
| ハ ム               | 1.82                   | 5.05   |
| ひき牛肉              | 3.14～18.4              | —      |
| ソーセージ             | 9.13                   | —      |
| カニ肉               | 1.31                   | 6.99   |
| ザリガニ肉             | 1.98                   | 5.5    |
| ロブスター肉            | 2.39                   | 5.0    |
| 青カニ肉              | 2.61                   | 8.4    |
| 鶏肉汁               | 7.07                   | 6.1    |
| アイスクリームミックス       | 2.13～4.79              | —      |

しかしここで注意しなければならないことは、加熱直前の保持温度条件（予備保温、熱ショック）であって条件によっては抵抗性の上昇の可能性がある。例えば48°C、10分保温した後加熱処理するとき次の例に示すように約2倍のD値が得られる。

| 加熱温度 (°C) | D値 (分)  |         |
|-----------|---------|---------|
|           | 予備保温+   | -       |
| 5 0       | 9 6 . 9 | 4 9 . 4 |
| 5 5       | 2 0 . 0 | 8 . 8   |
| 6 0       | 3 . 3 2 | 1 . 5 8 |
| 6 5       | 0 . 5 4 | 0 . 2 8 |
| Z         | 6 . 7   | 6 . 6   |

この現象は熱伝達の遅い食品の内部に存在するリステリア菌は浮遊細胞や表面に存在する細胞に比べて上記のような予備保温効果の現われる可能性がある。

冷殺菌法としてのガンマ線、電子線照射による殺菌においてはD<sub>10</sub>線量がチーズ、食肉等の色々の条件（温度、酸素の有無）のもとで試験され、LM菌に対して0.42～0.61KGyの値が得られている。

環境殺菌剤によるリステリア菌の殺菌作用力は一般に強く、例えば塩化ベンザルコニウムでは100～800ppmの濃度で1分以内の処理で $10^{-6}$ の菌数低下が示され、塩素系殺菌剤などに対しても感受性が大きい。しかしこれらは浮遊細胞について得られた結果であって、材料表面に付着している細胞について

ては付着時間が長くなる殺菌剤に対して抵抗性を増大する傾向が認められている（この点については別の項で詳述する予定である）。LMを対象とする例を次に示す。図1はガラス上に付着させた細胞に対する塩化ベンザルコニウム100、400、800ppmによる殺菌効果であって、浮遊細胞では1分以内に $10^{-6}$ 以下に死滅するのに対して、付着単細胞に対しては100ppmで16分、400、800ppmでは12分で、付着ミクロコロニーでは20分あるいは以上の処理時間の必要なことを示している。

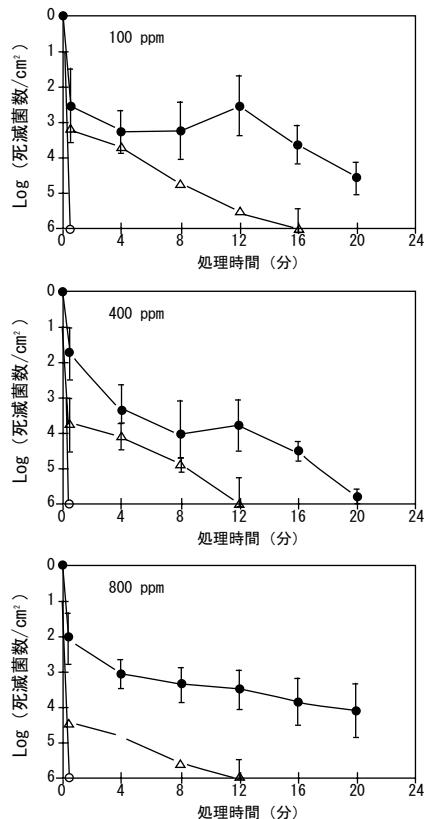


図1. *Listeria monocytogenes* 付着細胞の Benzalkonium chloride (100, 400, 800ppm) に対する抵抗性  
○—○ 浮遊細胞 ●—● 付着ミクロコロニー  
△—△ 付着単細胞

図2は塩素系殺菌剤の殺菌効果で付着単細胞（4時間付着処理）に比べて8日間付着処理では殺菌効果の低下することが認められる。

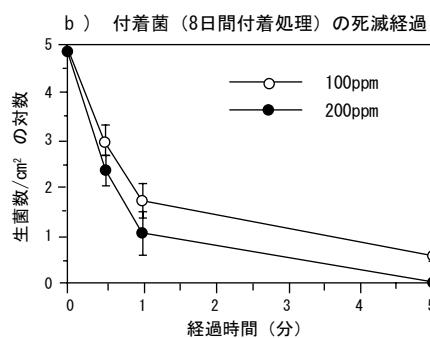
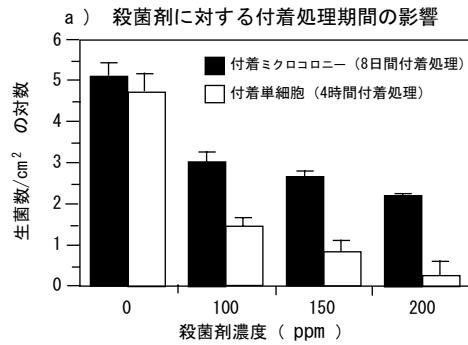


図2. 付着 *Listeria monocytogenes* の塩素系殺菌剤に対する抵抗性

殺菌剤の利用に当たっては従来から洗浄が欠くことのできない操作といわれているが、生物膜 (Biofilm)内の細胞の死滅のためには上記の例からも洗浄操作のより一層の重要性が強調される。

微生物制御方法として抗菌物質の添加があるが、対象が食品であるので利用可能な物質は限定される。表2にまとめたのは食品添加物である保存料、有機酸、二酸化炭素、酸化防止剤、香辛料など天然物その他日持ち向上剤、酵素系である。これらの物質は条件によっては死滅効果の期待できるものもあるが大多数のものは静菌剤ということができる。

表2 *L.monocytogenes*に対する抗菌活性

| 抗菌物質                | 濃 度                        | 作 用  |
|---------------------|----------------------------|------|
| 安息香酸ナトリウム           | 0.15, 0.3% (pH5.0, 5.6)    | 静菌作用 |
| ソルビン酸ナトリウム          | 0.2, 0.3% (pH5.0)          | "    |
| プロピオン酸ナトリウム         | 0.25% (pH5.0)              | "    |
| 酢酸、クエン酸、乳酸、二酢酸ナトリウム |                            |      |
| 過酸化水素               | 0.0, 4.95%                 | 殺菌作用 |
| キノラウリン              | 50, 100 μ g /ml            | 静菌作用 |
|                     | 300 μ g /ml                | 殺菌作用 |
| B H A               | 128ppm                     | 静菌作用 |
| 没食子酸プロピル            | 256ppm                     | "    |
| T B H Q             | 64ppm                      | "    |
| ナイシン                | 1.85~10 <sup>5</sup> IU/ml | 静菌作用 |
| バクテリオシン             |                            | 殺菌作用 |
| リゾチーム               | 100ppm                     | "    |
| クローブ、シナモンなど         | 0.5%                       | 静菌作用 |
| 香辛料                 | 1%                         | "    |
| Lactoperoxidase 系   |                            | 殺菌作用 |
| Glucoseoxidase 系    |                            | "    |
| Lactoferricin       | 0.3~9 μ g /ml              | 静菌作用 |
| 二酸化炭素               | 飽和                         | "    |
|                     | 超高压 (6.18MPa, 35°C)        |      |

LMの制御の目的には以上のほか、制御手段の併用、包装（真空、置換）、低温、水分低下、pH低下などの効果も検討されている。

以上リストリア菌の制御に関する参考資料をまとめたが、この菌が低温性細菌であるので、食品原料素材にしても加工した食品にても冷蔵では制御できないことが明らかで、汚染を未然に防止することが先決であり環境の洗浄、殺菌操作が重要であることが明白である。

(芝崎 熱：大阪大学名誉教授)

アサマ化成株式会社

E-mail : asm@asama-chemical.co.jp  
http://www.asama-chemical.co.jp

- ・本 社／〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町20-3 TEL (03) 3661-6282 FAX (03) 3661-6285
- ・大 阪 営 業 所／〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル TEL (06) 6305-2854 FAX (06) 6305-2889
- ・東京アサマ化成／〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町16-5 TEL (03) 3666-5841 FAX (03) 3667-6854
- ・中部アサマ化成／〒453-0063 名古屋市中村区東宿町2-28-1 TEL (052) 413-4020 FAX (052) 419-2830
- ・九州アサマ化成／〒811-1311 福岡市南区横手2-32-11 TEL (092) 582-5295 FAX (092) 582-5304
- ・桜 陽 化 成／〒006-1815 札幌市手稲区前田五条9-8-18 TEL (011) 683-5052 FAX (011) 694-3061