資料１

微生物・ウイルス専門調査会における審議結果について

１．審議結果

厚生労働大臣から食品安全委員会に求められた「豆腐の規格基準の改正」に係る食品健康影響評価（平成 29 年 4 月 12 日付け厚生労働省発生食 0412 第 1 号）については、第 69 回（平成 29 年 5 月 24 日）、第 70 回（平成 29 年 7 月 24 日）、第 71 回（平成 29 年 9 月 15 日）及び第 72 回（平成 29 年 10 月 30 日）微生物・ウイルス専門調査会において審議され、審議結果（案）が取りまとめられた。

２.「豆腐の規格基準の改正」に係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

１）募集期間

平成 29 年 11 月 21 日（火）開催の食品安全委員会（第 674 回会合）の翌日の平成 29 年 11 月 22 日（水）から平成 29 年 12 月 21 日（木）までの 30 日間。

２）受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

３）意見・情報への対応

いただいた意見・情報を取りまとめ、必要に応じて、微生物・ウイルス専門調査会の座長の判断により、専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

（案）

微生物・ウイルス評価書

豆腐の規格基準改正に係る
食品健康影響評価

２０１７年　１１月

食品安全委員会
微生物・ウイルス専門調査会

目次

頁
目次 1
＜審議の経緯＞ 3
＜食品安全委員会委員名簿＞ 3
＜食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会専門委員名簿＞ 3
要　約 5
Ⅰ．　評価要請の経緯 6
　１．背景 6
　２．現行の豆腐の規格基準について 7
　　（１）豆腐の製造基準 7
　　（２）豆腐の保存基準 7
　３．評価要請の内容 7
　　（１）リスク管理機関（厚生労働省）の考え方 7
　　（２）評価要請の内容 8
　４．海外における無菌充填豆腐の規制状況 9
Ⅱ．　評価の基本的考え方 10
Ⅲ．　ハザードとなり得る対象病原体について 10
　１．ボツリヌス菌 12
　　（１）特徴 12
　　（２）増殖条件 12
　　（３）失活条件（加熱条件） 13
　２．セレウス菌 14
　　（１）特徴 14
　　（２）増殖条件 14
　　（３）失活条件（加熱条件） 15
Ⅳ　ハザードとなり得る対象病原体による健康被害解析 16
　１．引き起こされる疾病の特徴 16
　　（１）ボツリヌス菌 16
　　（２）セレウス菌 20
　２．無菌充填豆腐による国内外における食中毒の発生状況 26
Ⅴ　ばく露評価 26
　１．無菌充填豆腐の細菌検出状況 26
　２．製造工程ごとのハザード制御 26
　　（１）豆乳の製造工程 26
　　（２）凝固剤の添加工程 29

（３）無菌充填工程等 29
３．成分規格の設定について 29
Ⅵ　リスク特性解析 31
Ⅶ．食品健康影響評価 32
＜略語一覧＞ 34
＜参照＞ 35

別添資料

朝倉 宏:「無菌充填豆腐中の微生物に関する試験検査」（平成 29 年５月 24 日 食品安全委員会第 69 回微生物・ウイルス専門調査会資料）

＜審議の経緯＞

2017 年　4 月　12 日　厚生労働大臣から豆腐の規格基準の改正に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
2017 年　4 月　18 日　第 646 回食品安全委員会（要請事項説明）
2017 年　5 月　24 日　第 69 回微生物・ウイルス専門調査会
2017 年　7 月　24 日　第 70 回微生物・ウイルス専門調査会
2017 年　9 月　15 日　第 71 回微生物・ウイルス専門調査会
2017 年　10 月　30 日　第 72 回微生物・ウイルス専門調査会

＜食品安全委員会委員名簿＞

佐藤　洋（委員長）
山添　康（委員長代理）
吉田　緑
山本　茂貴
石井　克枝
堀口　逸子
村田　容常

＜食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会専門委員名簿＞

（2017 年 9 月 30 日まで）

岡部　信彦（座長）
吉川　泰弘（座長代理）
浅井　鉄夫
安藤　匡子
大西　貴弘
大西　なおみ
小坂　健
甲斐　明美
木村　凡
工藤　由起子
小関　成樹
鈴木　孝子
砂川　富正
田村　豊
豊福　肇
野崎　智義
野田　衛
皆川　洋子
脇田　隆字

＜食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会専門委員名簿＞

（2017 年 10 月 1 日から）

脇田　隆字（座長）	木村　凡
豊福　肇（座長代理）	工藤　由起子
浅井　鉄夫	小関　成樹
安藤　匡子	鈴木　孝子
大西　貴弘	砂川　富正
大西　なおみ	野田　衛
甲斐　明美	三澤　尚明
岸本　剛	皆川　洋子

要　約

厚生労働省からの諮問を受け、豆腐の規格基準では冷蔵保存することとされている無菌充填豆腐について、その保存基準を常温保存に変更した場合の食品健康影響評価を実施した。

厚生労働省が条件として示す製造工程を踏まえて製造された無菌充填豆腐は、常温下で長期間保存及び流通することが想定されることから、ハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌が当該食品の最終製品に残存した場合、人に健康被害を引き起こす可能性がある。

「食品等事業者が実施すべき管理運営基準に関する指針」（平成 26 年 10 月 14 日付け食安発 1014 第 1 号。以下「管理運営基準指針」という。）に基づき十分に衛生管理されることを前提として、かつ、厚生労働省が条件として示す殺菌、除菌等の製造工程を経た場合、ボツリヌス菌及びセレウス菌は死滅し、最終製品に残存しないと考えられることから、現在、豆腐の規格基準に基づき冷蔵で保存されている無菌充填豆腐について、冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクに差があるとは考えられないと結論付けた。

なお、大豆の浸漬工程については、耐熱性が高い毒素を産生する細菌を、毒素産生に必要とされる菌数まで増殖させないように適切に管理することが必要である。

また、120℃・4 分間加熱又はこれと同等以上の殺菌条件を確保するための工程管理にはモニタリングが必要であり、管理措置が適切に講じられていないと認められたときには、速やかに改善措置を実施することが必要である。

容器包装には、種々の物理的影響に耐え、破損等による微生物の汚染を防止できるものを用いること、並びに冷蔵保存が必要な豆腐には冷蔵が必要である旨及び常温で保存できる豆腐には常温保存ができる旨を消費者等が明確にわかるように表示することに留意する必要がある。

Ⅰ. 評価要請の経緯

1. 背景

豆腐については、食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）において 1974 年に規格基準が定められた（参照 1)。

1974 年当時、豆腐による人の健康危害のほとんどは、製造及び保管中における食品及び器具等の不衛生な取扱いにより、腸チフス、赤痢等の病原細菌に汚染されたことが原因とされていた。そのため、豆腐の製造工程における細菌汚染をできるだけ少なくするための製造基準及び細菌の増殖を防ぐためできるだけ低温で管理するための保存基準が規定された。（参照 1、2）

現在は、技術の進歩に伴い、豆腐の原料である豆乳を連続流動式の加熱殺菌機で殺菌した後、殺菌・除菌した凝固剤を添加し、無菌的に充填を行った豆腐（以下「無菌充填豆腐[1]」という。）が製造されており、告示に規定する保存基準に基づき、冷蔵で流通している（参照 3, 別添資料） 。

厚生労働省によると、常温保存の無菌充填豆腐は、欧州等諸外国への輸出の実績及び米国での現地製造の実績がある。欧州等諸外国への輸出は、過去 10 年間で合計約 5,995 トンであり、常温で流通している。また、米国での現地製造は過去 10 年間で約 52,000 トンであり、常温で流通している。どちらについても、食中毒等の健康被害の報告は確認されていない。（参照 4、5）

なお、連続流動式の加熱殺菌機で殺菌した後、無菌的に充填する技術については、既に牛乳等の常温保存可能品等他の食品でも用いられている。

厚生労働省は、無菌充填豆腐の細菌汚染に関する試験検査等調査（参照 3）[2]を実施し、これまでの健康被害の報告は確認されていないという実績及び調査結果を踏まえ、豆腐の規格基準の改正について、2016 年 11 月 29 日に薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会において審議し、了承された。

2017 年 4 月 12 日、食品安全委員会は、厚生労働大臣から、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号に基づき、豆腐の規格基準の改正に係る食品健康影響評価について意見を求められた（参照 3)。

---

[1] 厚生労働省は、連続流動式の加熱殺菌機で殺菌した後、無菌的に充填を行った豆腐を「無菌充填豆腐」（参照 3）と定義しているが、本評価書では、重要な工程である豆乳殺菌後に凝固剤を添加する工程を定義に追加している。

[2] 平成 27 年度に国立医薬品食品衛生研究所が実施し、無菌充填豆腐の最終製品において、一般細菌数、大腸菌群、好気性芽胞形成細菌、嫌気性芽胞形成細菌及び発育し得る微生物（恒温試験及び細菌試験）の試験結果が陰性であった。

２．現行の豆腐の規格基準について

現行の豆腐の製造基準及び保存基準は、以下に示すとおりである（参照 1）。

（１）豆腐の製造基準

①原料用大豆は、品質が良好できょう雑物を含まないものでなければならない。［以下「製造基準の①」という。］

②原料用大豆は、十分に水洗しなければならない。［以下「製造基準の②」という。］

③豆汁又は豆乳は、沸騰状態で 2 分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法により殺菌しなければならない。

④豆汁のろ過、凝固剤の添加及び豆腐の成型は、清潔で衛生的に行わなければならない。

⑤豆腐の水さらしは、絶えず換水をしながら行わなければならない。

⑥包装豆腐（豆乳に凝固剤を添加して容器包装に充てんした後加熱凝固させたものをいう。）は、90℃で 40 分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法により殺菌しなければならない。

⑦豆腐を製造する場合に使用する器具は、十分に洗浄し、かつ、殺菌したものでなければならない。［以下「製造基準の⑦」という。］

⑧豆腐を製造する場合に使用する水は、食品製造用水でなければならない。［以下「製造基準の⑧」という。］

（２）豆腐の保存基準

①豆腐は、冷蔵するか、又は十分に洗浄し、かつ、殺菌した水槽内において、冷水（食品製造用水に限る。）で絶えず換水をしながら保存しなければならない。ただし、移動販売に係る豆腐及び成型した後水さらしをしないで直ちに販売の用に供されることが通常である豆腐にあっては、この限りでない。

②移動販売に係る豆腐は、十分に洗浄し、かつ、殺菌した器具を用いて保冷をしなければならない。

３．評価要請の内容

（１） リスク管理機関（厚生労働省）の考え方

現在、無菌充填豆腐は、豆腐の製造基準に基づき製造され、保存基準に基づき冷蔵で保存されている。無菌充填豆腐は、主原料の大豆が土壌由来細菌に汚染されている可能性があるため、常温で流通させるには、特に耐熱性を示す細菌（バチルス属菌やクロストリジウム属菌）等の芽胞形成細菌の制御が可能な殺菌条件が求められる。このため、豆乳の殺菌に関しては、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の殺菌条件である 120℃・4 分間加熱と

同等以上の条件を置くこととしている。

また、豆乳を固めるための凝固剤は、食品添加物として製造されているものであり、凝固剤由来の特定のハザードとなる病原体は考えられないが、豆乳の殺菌後に添加されることから、発育し得る微生物を死滅させ又は除去するのに十分な効力を有する殺菌又は除菌を行う必要がある。このため、凝固剤を除菌する場合は、適切なフィルターを用い、かつ、豆腐の製造中はフィルター性能を恒常的に確認しながら除菌する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法により、除菌することとしている。

そして、これらの原材料を無菌充填が可能な機器を用いて、あらかじめ殺菌された適切な容器包装に無菌的に充填されることが必要である。

最終製品に対しては、常温下で長期流通することを考慮して、安全性の確保のため、成分規格として、発育し得る微生物が陰性であることが必要である。

さらに、食品等事業者が実施すべき管理運営基準に関する指針（平成 26 年 10 月 14 日付け食安発 1014 第 1 号。以下「管理運営基準指針」という。）（参照 6）に基づき十分な衛生管理の下、製造することが必要不可欠である。

（２）評価要請の内容

厚生労働省からの諮問は、（１）の考え方を踏まえ、２.（１）豆腐の製造基準の①、②、⑦及び⑧並びに以下の無菌充填豆腐に必要な条件により製造された無菌充填豆腐の保存について、現行の冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクの比較について、食品健康影響評価を依頼するものである。

＜無菌充填豆腐に必要な条件＞（参照 3）

①原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させ、又は除去するのに十分な効力を有する次の全てを満たす方法で殺菌又は除菌を行うこと。

・豆乳にあっては、120℃・4 分間加熱と同等以上で殺菌すること。

・凝固剤にあっては、衛生度の高い凝固剤を用いた上で、殺菌又は適切なフィルターを用い、かつ、製造時にフィルター性能を恒常的に確認する方法により除菌すること、又はこれと同等以上の効力を有する方法で行うこと。

②無菌充填が可能な機器を用いて、あらかじめ殺菌された適切な容器包装を用いて、無菌的に充填されていること。

③最終製品に対する、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格に規定する試験の結果、発育し得る微生物が陰性であること。

４．海外における無菌充填豆腐の規制状況

厚生労働省からの提出資料では、無菌充填豆腐に関して規格基準等を設定している国は確認できなかった。

なお、米国で製造・流通している無菌充填豆腐は、低酸性無菌充填食品に位置付けられ、その規制に従った製造が必要となっている。具体的には、無菌充填豆腐を製造する際には、低酸性食品の製造設備登録及び製品登録の規制（21 CFR part 108.35）に基づき食品工場登録を実施し、無菌処理工程に関する情報を FDA へ提出、登録する必要がある。さらに、加熱処理された密封容器の低酸性食品の規制（21 CFR part 113）に基づき、コミッショナーの研修認証を受けた者の監督下での製造（Sec. 113.10）、GMP の適用(Sec. 113.5)、設備及び手段(Sec. 113.40)、Scheduled Process の設定(Sec. 113.83)並びに記録(Sec. 113.100)に関する規制に従う必要がある。（参照 7～10）

また、EU における輸入規制は、欧州議会及び理事会指令に規定されている。EU 地域の市場に提供される輸入食品は食品規制関連法に適合しているか、又は EU と輸出国との間で最低でも EU178/2002 に記載されている要求事項と同等とみなされる状態であることが求められている。（参照 10、11）

Ⅱ. 評価の基本的考え方

対象食品を厚生労働省から諮問された規格基準の改正内容に基づいて製造された無菌充填豆腐とし対象者を日本に在住する全ての人とする。

評価に当たっては、無菌充填豆腐が常温下で長時間保存及び流通することを想定し、原料及び製造工程に由来し、人に健康被害を引き起こす可能性のあるハザードについて特定する。そして、特定したハザードについて、厚生労働省から諮問された改正内容に基づく殺菌、除菌等の工程におけるリスク低減効果、管理運営基準指針に基づく十分な衛生管理及び最終製品に対する安全性の確保のための成分規格（発育し得る微生物が陰性）の規定を踏まえ、現在、豆腐の規格基準に基づき冷蔵保存されている無菌充填豆腐について、冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクについて評価することとする。

Ⅲ. ハザードとなり得る対象病原体について

現在、無菌充填豆腐は、豆腐の規格基準の包装豆腐として、サルモネラ属菌等の細菌を殺菌するため、90℃・40 分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法で殺菌し、冷蔵保存で流通することにより安全性を担保している。

一方、今回の規格基準の改正内容は、充填後に常温で長期間保存及び流通することを前提としていることから、原料の大豆に存在する可能性があり耐熱性を示す芽胞形成細菌に対応するため、豆乳は 120℃・4 分間加熱と同等以上で殺菌すること、凝固剤は衛生度の高い凝固剤を用いた上で、発育し得る微生物を死滅させ又は除去するのに十分な効力を有する殺菌又は除菌すること等を条件としている。無菌充填豆腐の保存を現行の冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクを評価するに当たり、ハザードとなり得る対象病原体について、以下のとおり整理した。

- 耐熱性を示す芽胞形成細菌には、クロストリジウム属菌、バチルス属菌等があるが、本評価では、以下の考えにより、その代表として、ボツリヌス菌（*Clostridium botulinum*）及びセレウス菌（*Bacillus cereus*）を対象病原体として特定することとした。

  クロストリジウム属菌については、耐熱性の高い細菌として、*Clostridium thermoaceticum*（参照 12、13）*Clostridium sporogenes*（参照 14）等があるが、食中毒細菌としては、ボツリヌス菌及びウエルシュ菌（*Clostridium perfringens*）が代表的である。ボツリヌス菌を死滅させる加熱条件にてウエルシュ菌の芽胞も死滅することから、ボツリヌス菌をハザードとなり得る対象病原体の代表と考えた。（参照 15）

バチルス属菌については、耐熱性の高い細菌として、*Bacillus circulans*、*Bacillus stearothermophilus*[3]、*Bacillus coagulans* 等があり、このような耐熱性の高い細菌は、缶・瓶詰め食品及び加熱包装食品の腐敗細菌として重要（参照 16、17）ではあるが、食中毒細菌としては、セレウス菌をハザードとなり得る対象病原体の代表と考えた。

- サルモネラ属菌等については、今回の規格基準の改正内容の条件である豆乳の 120℃・4 分間加熱と同等以上の殺菌及び凝固剤の殺菌又は除菌方法により、殺菌又は除菌できると考えられるため、ハザードとなり得る対象病原体として特定しなかった。
- なお、耐熱性が高い毒素を産生する細菌は、加熱により菌が死滅しても、食品中に残存した毒素が原因となって食中毒を起こすことがある。耐熱性が高い毒素としては、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）の産生するエンテロトキシン及びセレウス菌の産生するおう吐毒（セレウリド）がある。

  2000 年から 2016 年までの厚生労働省の食中毒統計[4]に基づき、食中毒発生事例を調査した結果、豆腐の喫食に伴って生じた黄色ブドウ球菌及びセレウス菌による健康被害情報は報告されていない（参照 18）。また、公表されている文献・データベース検索を通じ、1990 年から 2016 年 2 月までの食中毒情報を調査した結果、豆腐の喫食に伴って生じたセレウス菌による健康被害情報は報告されていない（参照 19）。

  これらを考慮すると、これまでの豆腐の衛生管理と同様に、製造基準の①及び②並びに管理運営基準指針に基づき、適切に衛生管理することで毒素産生に必要とされる菌数まで増殖させないよう管理できると考えられる。そのため、耐熱性の高い毒素はハザードとして特定しなかった。
- ノロウイルス等のウイルスについては、今回の規格基準の改正における、無菌充填豆腐の豆乳の殺菌条件 120℃・4 分間加熱と同等以上の処理により、完全に不活化されると考えられる。

---

[3] 2001 年に、新しい属名 *Geobacillus stearothermophilus* として提案された。（Nazina TN et al.: Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzenensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, G. th. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 51(Pt2): 433-446）

[4] 食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 58 条第 1 項の規定に基づき、食品等に起因して中毒した患者若しくは疑いのある者を診断した医師は保健所長への届出義務がある。届出を受けた保健所長は、疫学的調査等を実施し、食中毒か否かの判断を行う。食中毒と断定した事例は、同条第 3 項の規定に基づき、都道府県等から厚生労働省に報告される。食中毒統計は、それらの報告を取りまとめたものである。

また、豆乳殺菌後の製造過程においては、適切な衛生管理が行われている限り、ウイルスに汚染される可能性は、容器の破損等の事故を除き、ほとんどないと考えられる。
上記のことから、ウイルスについてはハザードとなり得る対象病原体として特定しなかった。
なお、食品添加物として製造された衛生的な凝固剤がウイルスに汚染されている可能性はないと考えられるが、凝固剤の除菌にあっては、ろ過膜の孔径サイズより小さいウイルスは、完全に除去できるとは限らないことに留意すべきである（参照 20)。

１．ボツリヌス菌

（１）特徴

グラム陽性及び偏性嫌気性を示す芽胞形成桿菌で、土壌、河川及び海洋に広く存在する（参照 21、22)。菌体の大きさは 0.3～0.7×3.4～7.5 μm とされている。抗原性が異なる A、B、C、D、E、F 及び G 型のうち A、B、E 及び F 型のボツリヌス毒素を産生する A、B、E 及び F 型菌が主にヒトのボツリヌス症（ボツリヌス中毒）と関連している。血清学的には 8 つの神経毒素が同定されている。(参照 21)

食品媒介性としてのボツリヌス症には､以下に示すものが知られている。(参照 23、24)

・ボツリヌス毒素に汚染された食品を摂取することにより発症するボツリヌス食中毒（食餌性ボツリヌス症)
・生後 1 年未満の乳児がボツリヌス菌芽胞を経口的に摂取した場合、乳児の消化管内で増殖した菌により産生されたボツリヌス毒素の作用により発症する乳児ボツリヌス症
・成人及び 1 歳以上の小児が、乳児ボツリヌス症と同様の病態で、ボツリヌス毒素産生細菌が消化管内で増殖し産生されたボツリヌス毒素により発症する（消化管に器質的又は機能的異常があるか、抗菌薬を使用している場合が多いとされる）成人腸管定着ボツリヌス症

なお、近年、乳児ボツリヌス症の患者から分離された菌株から H 型の毒素産生が認められたとする報告がある。(参照 25)

（２）増殖条件

増殖許容温度は 10～45℃で､A 型菌及び B 型菌の至適増殖温度は 37℃とされている（参照 26)。3℃未満では菌は増殖及び毒素を産生することはできない (参照 27)。真空包装辛子蓮根に A 型菌を接種した試験では、

10℃及び 15℃保存では菌数の増加が見られなかったのに対し、25℃保存では最初の接種菌数に関係なく、保存 7 日後から菌が増殖し毒素産生が見られ、15 日後では大量の毒素産生が見られた（参照 26）。

ボツリヌス菌は、低 pH 又は低水分活性のものを除くほとんどの食品で増殖し得る。ボツリヌス菌のうち、第 I 群菌に属するタンパク分解性の A、B 及び F 型菌のグループ（以下「第 I 群菌」という。）では、pH が 4.6 未満、第Ⅱ群菌に属するタンパク非分解性の B、E 及び F 型菌のグループ（以下「第Ⅱ群菌」という。）では、pH が 5.0 未満の条件では増殖できないとされている。水分活性については、第 I 群菌では水分活性 a_w 値として 0.94 未満及び第Ⅱ群菌では a_w 値として 0.97 未満の条件では増殖できないとされている。（参照 15）

微生物の増殖に影響を与える環境因子は、培地の構成、pH、水分活性、酸化還元電位、温度及び大気等様々であり、ボツリヌス菌のような芽胞形成細菌に関連したハザードを理解する上で、個々の芽胞の増殖能を予測することは重要である。ボツリヌス菌の芽胞が増殖を開始する時期（誘導期間）は、発芽する間の芽胞の処理及び増殖条件に依存し、芽胞により多様であるとされている。(参照 28)

（３）失活条件（加熱条件）

ボツリヌス菌の芽胞のうち、第 I 群菌は、耐熱性が高く、最も強い加熱条件を必要とし、低酸性缶詰食品の加熱条件（121℃・3 分間）が適用される。この条件は、ボツリヌス菌の生存菌数を 1/10 に減少させるのに要する時間である *D* 値[5]の 12 倍である 12*D* 値[6]の条件であり、この過程によりウエルシュ菌の芽胞も死滅させられるとしている。（参照 15）

ボツリヌス菌の芽胞の耐熱性については、第 I 群菌が高いことが知られており、缶詰のハザードとして第 I 群菌が対象となっている。

第 I 群菌の芽胞の 121℃の *D* 値は 0.1～0.2 分と報告されている（参照 21）。缶詰産業において、芽胞数 10^{12} 個を 1 個に減少させる 12*D* の過程は、低酸性缶詰食品の最小加熱条件であり、第 I 群菌の菌株では、121℃で 12×0.2 分間＝2.4 分間となる。食品内に残存したボツリヌス菌は食品内で致死性の神経毒を産生する可能性があることから、ボツリ

---

[5] *D* 値：生存菌数を 1/10 に減少させるのに要する加熱時間を時間単位で表したもの（*D*-value: Decimal reduction time）（参照. 食品安全委員会: 生食用食肉（牛肉）における腸管出血性大腸菌及びサルモネラ属菌。微生物・ウイルス評価書 2011 年 8 月）。

[6] 12*D* 値：D 値の 12 倍の時間。芽胞数 10^{12} 個を 1 個に減少させ得る殺菌値。（参照. 一般社団法人日本医療機器学会：医療現場における滅菌保証のガイドライン 2015。 2015 年 5 月 25 日及び参照 102）

ヌス菌は重要な懸念事項として挙げられている。（参照 29）

なお、市販の豆乳（pH 7.0、加熱殺菌済みの紙容器詰製品）を材料とし、豆乳中におけるボツリヌス菌芽胞（62A: ATCC7948 の 3 株及び A90 の A 型菌計 4 株、BIG4、B Lamanna 及び 213B の B 型菌計 3 株の合計 7 株を用いた）の耐熱性を測定した結果に基づき、ボツリヌス菌の芽胞を死滅させるには、少なくとも 121℃・ 2 分間加熱の殺菌値（*F*値 [7]）が必要と予測されている。また常温下で流通・販売される容器詰豆乳には、加熱温度 100～103℃では 121℃の F 値が 2 分間（120℃では 2.6 分間）に相当する加熱殺菌を施せば、ボツリヌス菌芽胞を死滅させることができると予測した報告がある。（参照 30）

一方、第Ⅱ群菌は耐熱性が低く、90℃・10 分間又はこれと同等の加熱条件で失活する。（参照 15、31、32）

なお、ボツリヌスの毒素はいずれも易熱性タンパクであり、80℃・20 分間又は 100℃・1～2 分間の加熱で失活する（参照 22)。

２．セレウス菌

（１）特徴

グラム陽性及び通性嫌気性を示す芽胞形成桿菌で、土壌、空気、河川水等の自然環境を始め、農産物、水産物、畜産物等の食料、飼料等に広く分布する（参照 22、33)。菌体の大きさは 1.0～1.2×3～5 μm とされている（参照 34)。セレウス食中毒の主な原因食品は、おう吐型では米飯類、麺類等による事例が多い。下痢型では肉類、野菜類、乳製品等、原因食品の種類は多様である。おう吐型食中毒の原因毒素はセレウリドであり、下痢型食中毒の原因毒素は下痢原性毒素（エンテロトキシン）である。（参照 33、34）

（２）増殖条件

10～50℃で増殖し、至適増殖温度は 28～35℃とされている。7℃以下の低温で増殖する菌株の存在も報告されている。（参照 34）

セレウス菌の増殖及び生残性は菌株により異なる。至適増殖温度は、30～40℃とされている。同様に最低増殖 pH についても菌株によって様々であり、酸性度に依存する。一般的に、塩酸により酸性化させた pH4.8 の

---

[7] *F*値：加熱（高圧蒸気又は乾熱）滅菌処理における微生物致死量であって、定められた *z* 値（*D* 値を 10 分の 1 に低減あるいは 10 倍に増大させるのに必要な温度）を持つ微生物に関して、規定された参照温度での等価な加熱時間（参照. 一般社団法人日本医療機器学会：医療現場における滅菌保証のガイドライン 2015。 2015 年 5 月 25 日）。

培地又は乳酸により酸性化させた pH5.6 の培地では増殖しない。食中毒菌株の増殖における水分活性の影響については報告が少ないが、水分活性 a_w 値として 0.92～0.93 の以下の条件下では増殖できないとされている。（参照 35）

微生物の増殖挙動における誘導期間は、その細胞の履歴、初期菌数等、複合要因が影響するとされ、完全には解明されていないが、セレウス菌の誘導期間の予測モデルを示した報告がある。この報告によれば、食塩濃度 0.5%、pH6.0 で温度を 10℃、15℃又は 20℃とした際のセレウス菌の増殖挙動を調べた結果、誘導期間は温度により変化し、温度が低いほど誘導期間は長くなることが示された。（参照 36）

（３）失活条件（加熱条件）

セレウス菌の芽胞は高い耐熱性を示し、90℃・60 分間の加熱に抵抗性を示す（参照 33）。0.067M のリン酸緩衝液（pH 7.0）で懸濁した芽胞の 121.1℃の D 値は培養株の違いにより 0.03～2.37 分であったとする報告がある（参照 35、37）。オイル中の芽胞は熱抵抗性が 10 倍以上高くなるとされ、使用する懸濁液の種類により D 値は大きく異なり（参照 34）、大豆油中における 121.1℃の D 値が 30 分、オリーブオイル中の 121.1℃の D 値は 17.5 分であったとする報告がある。（参照 35、38）

2005 年の EFSA の意見書（以下「EFSA（2005 年）」という。）では、加熱はセレウス菌の芽胞の制御に最も効果的な方法であり、105℃・3 分間の加熱により、加熱耐性の高い菌株を 5 log 減少させることができるとされ、105℃より高い温度での加熱は、ほとんどの場合において、セレウス菌の危害から食品を守ることができるとしている。また、缶詰製造に用いられる加熱条件のみがセレウス菌の芽胞を完全に殺滅できるとしている。（参照 39）

別の研究結果として、豚肉ランチョンミートを加熱調理した結果、セレウス菌の栄養細胞では菌数を 6 log 減少させるためには 70℃・12 秒間の加熱が必要とされた。また、芽胞では菌数を 6 log 減少させるためには 105℃・36 秒間の加熱が必要であったとされている。（参照 40）

なお、セレウリドは 126℃・90 分間の加熱処理でも失活しない一方で、下痢型のエンテロトキシンは熱に感受性があり、56℃・5 分間の加熱処理により不活化される（参照 35）。

Ⅳ　ハザードとなり得る対象病原体による健康被害解析

１．引き起こされる疾病の特徴

（１）ボツリヌス菌

①　ボツリヌス菌による食中毒

ボツリヌス食中毒（食餌性ボツリヌス）は、本菌が食品の保存中に産生する菌体外毒素により汚染された食品を摂取することによって起こる。原材料の芽胞汚染の機会は多いため、嫌気性下で長期保存された食品中における毒素産生が食中毒発生の必要条件とされる。主な原因食品は、野菜及び果実の缶詰・瓶詰、食肉及び食肉加工製品、魚及び魚製品（日本では、魚を用いた発酵食品のいずし[8]等）がある。（参照 21、22、41、42）

食餌性ボツリヌス症の潜伏期間は、8～36 時間とされている。神経症状の発現の前におう吐、下痢の胃腸炎症状を示すこともある。ボツリヌス症の特異症状としては、倦怠感、眼瞼下垂等の視神経麻痺及び嚥下困難等の咽頭喉麻痺があり、筋麻痺から呼吸困難となり死に至ることがある。ボツリヌス症は急性胃腸炎ではなく、神経麻痺がその主徴であり、死亡率の高い毒素型の食中毒であるとされてきた。（参照 22、32）

WHO は、食品由来疾患を対象に Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group (FERG)と称する組織を設立し、世界及び地域における疾患への食品の寄与について推定している。この FERG 内のウイルス疫学、細菌及び寄生虫感染症分野の 14 名の専門家から構成される Enteric Diseases Task Force (EDTF)により、公衆衛生上重要であること、データ入手可能なものを含むこと等を条件として 19 の細菌又はウイルス疾患及び 3 つの原虫性疾患が選択され、これらの 22 の疾患について、2010 年における食品由来疾患の発生、死亡数、障害調整生存年（Disability Adjusted Life Years: DALYs）[9]等を推定する研究が行われた。その結果、2010 年では、22 の疾患により 109 万人（95%信頼区間値は 89 万～137 万人）の死者が発生したと推定され、そのうちの 34%（95%信頼区間値は 29~38%）は 5 歳未満の子どもであったとされた。また、ボツリヌス菌による食品由来疾患の 2010 年の患者数を推定すると 475 人(95%信頼区間値は 183～990 人)、死亡者数を推定すると 24 人(95%信頼

---

8 いずし：生魚と米飯と麹を交互に重ねて樽につめ、3～４週間自然に発酵させたすしの原型というべきもの（参照 51）。

9 DALYs: 障害調整生存年数。集団の健康状態の指標の一つ。DALYs=生命損失年数 Years of Life Lost（YLL）+障害生存年数 Years of Life Lived with Disability（YLD）の関係にある。YLL とは、ある健康リスク要因が短縮させる余命を集団で合計したもの。YLD とは、ある健康リスク要因によって生じる障害の年数を集団で合計したもの。（参照. 食品安全委員会: 食品中のリステリア・モノサイトゲネス。微生物・ウイルス評価書 2013 年 5 月）

区間値は 7~65 人)、DALYs は 1,036 DALYs[10] (95%信頼区間値は 299～2,805 DALYs)とされた。(参照 43)

なお、米国における 31 の食中毒関連病原体について、病原体ごとに致死率を推定した結果では、ボツリヌス菌を原因とする致死率は 17.3%と推定された。また、入院率は 82.6%とされた。(参照 44)

近年、国内で発生したボツリヌス症[11]には、1999 年 8 月に千葉県で発生した、要冷蔵のレトルト類似食品(ハヤシライスの具)を常温で保存したことによる食中毒事例がある(参照 45)。また、2012 年 3 月に鳥取県で発生した岩手県の業者が製造した要冷蔵のあずきばっとう[12]を常温で保存したことによる食中毒事例もある(参照 46)。

国内では、1951 年以降、2012 年 4 月までに 120 事例の食中毒の発生報告がある(患者数 542 人、死者数は 113 人)(参照 24)。

2012 年 4 月以降、厚生労働省に報告のあったボツリヌス菌による食中毒は、2017 年 2 月の東京都の 1 事例である[13](2017 年 10 月 2 日現在)(参照 47、48)。

＜参考＞

1997～2016 年の間の人口動態統計における、死因(死因基本分類)が「ボツリズム(ボツリヌス中毒)」(A05.1)となっている死者数として、1 人報告[14]がある(2012 年、男性)(参照 49)。

---

[10] 1,036 DALYs とは、世界の推計人口において、1,036 年の健康年の損失という解釈になる(参照. United Nations：Country-level population data for 2010. World Population Prospects. The 2012 Revision. Methodology of the United Nations Population Estimates and Projections 2014 及び World Health Organization:WHO methods and data sources for global burden of disease estimates 2000-2011. November 2013)。

[11] ボツリヌス症の定義は、ボツリヌス菌(*Clostridium botulinum*)が産生する毒素、又は *Clostridium butyricum* 及び *Clostridium baratii* 等が産生するボツリヌス毒素により発症する神経、筋の麻痺性疾患とされている(参照. 厚生労働省　ボツリヌス症)。2014 年 2 月に宮崎県で発生したボツリヌス症例では、患者(19 歳 男性)の便からは、報告の少ない E 型ボツリヌス毒素産生性の *C. butyricum* が分離された。感染源は特定できなかった。患者は後遺症もなく軽快退院となった。(参照. 田代研之, 他： *Clostridium butyricum* によるボツリヌス症について。IASR 2014; 35: 159-160)。

[12] あずきばっとう：ぜんざいの餅の代わりに平打ちのうどんが入った食品(参照.厚生労働省：ボツリヌス食中毒の発生について。平成 24 年 3 月 26 日　厚生労働省資料)。

[13] 本事例は、蜂蜜を原因食品とする乳児ボツリヌス症による死亡事例(参照 48)。

[14] 人口動態統計の死者とは、戸籍法(昭和 22 年法律第 224 号)第 86 条に基づく死亡の届書に添附する医師等の死亡診断書の死因に「ボツリズム(ボツリヌス中毒)」と記載されたもの。食中毒統計と収集方法が異なり、数値等が異なる場合がある。なお、感染症発生動向調査によると、2012 年には、食餌性ボツリヌス症が 2 人、不明のボツリヌス症が 1 人発生している。(参照. 厚生労働省：国立感染症研究所： 感染症発生動向調査年別報告数一覧(全数把握　四類)

国内で発生したボツリヌス菌による食中毒の主な報告事例を表１に示した。

表１．国内で発生したボツリヌス菌による食中毒の主な報告事例

発生年月	発生場所	原因食品	毒素型	患者数/喫食者数	死者数	食品中の毒素量
1951 年 5 月	北海道	ニシンのいずし	E 型	14/24	4	
1953 年 10 月	秋田県	小鯛のいずし	E 型	4/6	2	
1955 年 9 月	青森県	サンマのいずし	E 型	7/12	3	
1969 年 8 月	宮崎県	瓶入り輸入キャビア	B 型	21/65	3	
1973 年 7 月	滋賀県	ハス（淡水魚）のいずし	E 型	3/3	2	
1976 年 8 月	東京都	さつまあげ	A 型	2/4	1	
1981 年 3 月	福島県	アユのいずし	E 型	2/3	0	
1984 年 6 月	熊本県*	カラシレンコン（真空包装）	A 型	36/不明	11	原因食品 1 g 当たり 24～21,844 マウス LD_{50}[15] (ip) **
1984 年 12 月	北海道	ハタハタ・サケのいずし	E 型	6/34	0	

[15] マウス LD_{50}：ボツリヌス毒素の検出検査法のうち、マウスバイオアッセイにおいて測定された毒素濃度を表す単位で、マウスの腹腔内または尾静脈内に希釈した毒素液を注射した場合、半数（50%）を死亡させると推定される量（参照. 公益社団法人日本食品衛生協会：食品衛生検査指針. 微生物編 2004 及び参照 42)。

発生年月	発生場所	原因食品	毒素型	患者数/喫食者数	死者数	食品中の毒素量
1993 年 1 月	秋田県	里芋の缶詰	A 型	4/4	0	
1995 年 10 月	北海道	サケのいずし	E 型	6/8	0	
1997 年 2 月	福島県	いわなのいずし	E 型	1/1	0	
1998 年 7 月	東京都	輸入グリーンオリーブ(瓶詰)	B 型	18/50	0	
1999 年 8 月	千葉県	ハヤシライスの具（レトルト類似品****)	A 型	1/1	0	
2007 年 4 月	岩手県	アユのいずし	E 型	1/1	0	
2012 年 3 月	鳥取県	あずきばっとう	A 型	2/2	0	原因食品 1 g 当たり約 75,000 マウス LD_{50} (iv)***

*1984 年の熊本県の報告事例では、患者の発生は 14 都府県にまで広がった。

**検体の毒素量（マウス LD_{50}）は、製造日及び検査検体の部位（中央部又は端部）によって幅がある。本検査の毒素量（マウス LD_{50}）は、毒素をマウス腹腔内に投与する方法で算定されたものである。

***本検査の食品中の毒素量（マウス LD_{50}）は、毒素をマウス静脈内に投与する方法で算定されたものである。

****原因食品として、気密性のある容器包装に入れられた要冷蔵食品が疑われた。本事例により、「気密性のある容器包装詰めの要冷蔵食品に係る取扱いについて」が発出された。（参照 50）

*****菌数又は毒素量について参照中に情報の無いものは記載していない。

参照 24、45、46、51～62)から引用、作成。

② 発症に必要なボツリヌス菌数及び毒素量

発症に必要なボツリヌス菌数は 10^5 個以上とされ（参照 63)、一般的に毒素を産生する菌数は食品 1 g 当たり 10^4～10^5 個とされている(参照 41)。

また、少なくとも 30 ng の毒素の摂取により、ヒトが発症及び致死となるとされている（参照 64)。別の報告では、ヒトにおける A 型毒素の致死量は 0.1～1.0 μg と推定されている（参照 21)。あずきばっとうの事例では食品中の毒素量（マウス LD_{50}）の推定結果として、あずきばっとう 1 g 当たり約 75,000 マウス LD_{50} の毒素が検出された（参照 46)。

（２）セレウス菌

① セレウス菌による食中毒

セレウス菌は環境に広く分布しているため、食品への汚染の機会が多く、食料・食材・調理加工食品の衛生的な取扱いがなされなかった場合、それらの腐敗・変敗や食中毒をもたらすことがあり、食品衛生上重要視される。セレウス菌による食中毒は、しばしば世界各国で発生している。原因食品としては穀類及びその加工品が多い。国内では、欧米諸国と比較して、セレウス菌による食中毒発生事例は必ずしも多くないとされ、1978～2005 年の 28 年間のセレウス菌による食中毒事例は 337 件、患者数は 10,242 人で、日本の全食中毒発生事例数に対するセレウス菌による食中毒発生件数の占める割合は 0.3～2.3 %とされている。（参照 65）

さらに、2005 年以降の食中毒統計の調査では、食中毒発生件数総数に占めるセレウス菌食中毒の件数の割合は、1 %程度とされている（参照 47、66)。

FERG 内の EDTF の研究結果によれば、セレウス菌による食品由来疾患の 2010 年の患者数を推定すると 256,775 人（95%信頼区間値は 43,875– 807,547 人）、死亡者数を推定すると 0 人(95%信頼区間値は 0~0 人)、DALYs は 45DALYs[16] (95%信頼区間値は 7～171DALYs)とされた（参照 43)。

また、米国における 31 の食中毒関連病原体について、病原体ごとに致死率を推定した結果では、セレウス菌を原因とする致死率は 0 %と推定されており、入院率は 0.4%と推定された（参照 44)。

[16] 45 DALYs とは、世界の推計人口において、45 年の健康年の損失という解釈になる（参照. United Nations: Country-level population data for 2010. World Population Prospects. The 2012 Revision. Methodology of the United Nations Population Estimates and Projections 2014 及び World Health Organization:WHO methods and data sources for global burden of disease estimates 2000-2011. November 2013)。

セレウス菌食中毒はその臨床症状から、以下に示すような a.おう吐型又はｂ. 下痢型の 2 つに分けられる。セレウス菌による食中毒は、日本国内においては、そのほとんどがおう吐型であるとされている。1975～1981 年に東京都内で発生したセレウス菌によると推定された食中毒の 15 事例及びその後に東京都で発生した 24 事例のセレウス菌による食中毒は、いずれもおう吐型であったとする 1992 年の報告がある（参照 67、68）。セレウス菌食中毒は臨床症状、潜伏期間、関係検体からの原因菌検出頻度などによって診断され、通常は下痢及びおう吐に対する水分・栄養補給等の対症療法が行われる程度であり、特別な治療は行われない。（参照 34、66、69）

a. おう吐型食中毒

おう吐型食中毒の場合には、セレウス菌が増殖する際に食品中で生成されたセレウリドを摂取した後、潜伏期間 0.5～6 時間を経て悪心及びおう吐を主症状として発症する。まれに下痢を併発することもあるが、発熱はほとんどない。症状持続時間は 6～24 時間とされている。（参照 34）

国内で発生したおう吐型食中毒のうち、食品中の菌数又はセレウリド量が確認できた主な報告事例を表 2 に示した。

表 2. 国内で発生したセレウス菌によるおう吐型食中毒の主な報告事例

発生年月	発生場所	原因食品	患者数/喫食者数	死者数	食品中の菌数又は毒素量
1977 年 9 月	大阪府	給食弁当	9/ 13	0	食品中の菌数：2.0×10^6 CFU* / g 及び 2.6×10^7 CFU* / g
1977 年 10 月	大阪府	パック弁当	211/ 1,809	0	食品中の菌数: おにぎり弁当（5 検体） 7.5×10^7～9.0×10^8 / g 巻ずし弁当（2 検体） 8.0×10^3/ g 及び 1.7×10^4 / g いなりずし弁当（3 検体） 1.1×10^3～9.5×10^4 / g
発生	発生	原因食品	患者数/	死者	食品中の菌数

年月	場所		喫食者数	数	又は毒素量
1981 年 7 月	千葉県	豆腐のおから	172/338	0	食品中の菌数:4.5×10^9/ g
2001 年 12 月	熊本県	あん入り餅	346/441	0	食品中の菌数:4.4×10^4～1.6×10^6 CFU*/ g（参考） 食品中のセレウリド量: 160 ng/ g
2005 年 7 月	東京都	学童クラブのおにぎり弁当	67/110	0	食品中の菌数:3.3×10^8～6.0×10^8 CFU*/ g 食品中のセレウリド量: 520～557 ng/ g
2008 年 10 月	大阪府	家庭での昼食調理品	3/3	1**	食品中の菌数：食品残品***から検出されたセレウリド合成酵素遺伝子陽性のセレウス菌は 1.0×10^8/ g 又は 5.7×10^8 / g 食品中のセレウリド量: 詳細不明。
2009 年 6 月	福岡県	学生寮で提供された炒飯	8/11	0	食品中の菌数:実際に喫食された食品は保存されておらず、検査は実施できなかった。炒飯の具材（加熱済み）から検出された菌数:4.2×10^3 CFU*/ g
2010 年 8 月	東京都	みたらし団子	5/6	0	食品中の菌数:残品の生団子から 6.9×10^7 / g, 参考品の生団子 2 点からは 7.1×10^7 / g 又は 5.6×10^7 / g 食品中のセレウリド量: 残品の生団子から 150 ng/ g, 参考品の生団子 2 点からは 130 ng/ g 又は 74 ng/ g

*菌数を計数しているものの中で、参照中に CFU と記載のあったものには CFU を付記した。

**患者 3 人のうち、成人の患者は輸液療法後速やかに回復し、2 歳の女児は血清交換及び血液

透析後速やかに回復したが、1歳の男児が死亡した。なお、死亡した男児は、数日前より風邪をひき、体力的にも弱っていた状態であったとされている。

***本事例の食品残品は、患者宅キッチンの流しの残渣入れ及びゴミ箱から採取されたものを示す。

参照 70～79 から引用、作成。

b. 下痢型食中毒

下痢型食中毒の場合には、食品中で増殖したセレウス菌を摂取し、腸管内で増殖してエンテロトキシンが産生される（参照 19)。潜伏期間 8～16 時間を経て腹痛及び水様下痢を発症するが、おう吐及び発熱はほとんどないとされ、症状持続期間は 12～24 時間、まれに数日とされている。(参照 34)

2007 年から 2015 年までの間に、地方公共団体から厚生労働省へ報告されたセレウス菌食中毒の事例のうち、エンテロトキシン産生又は下痢型のセレウス菌と記載のあった事例は 5 件(うち混合型の事例[17]は 3 件)である（参照 80)。

国内では、2006 年 8 月に喫食者数 25 人、患者数 17 人が発症した食中毒事例の調査結果において、事例の食材とされた大葉から、エンテロトキシン が陽性でセレウリドが陰性とされたセレウス菌が検出されたとする報告がある（参照 81)。

＜参考＞

セレウス菌食中毒は、いずれの型の食中毒でも、症状は一両日中に回復することが多く（参照 34)、セレウス菌は通常、食中毒の原因菌としてよく知られている。

しかし、非常にまれな例として、国内では、2005 年にセレウス菌食中毒に合併した脳症を発症した 5 歳の男児の事例報告がある（参照 82)。

セレウス菌食中毒による死亡例の報告は、非常にまれな例として、おう吐型食中毒では、国外において、劇症肝不全と脳浮腫により死亡したスイスの事例及び代謝性アシドーシス[18]及び肝不全を併発して喫食後 13 時間で急死したベルギーの事例の報告がある（参照 83、84)。下痢型食中毒で

---

17 セレウリド産生及びエンテロトキシン産生又はおう吐型及び下痢型のセレウス菌の事例を示す。

18 代謝性アシドーシス：酸塩基平衡を酸性側にしようとする状態をアシドーシスという。代謝性アシドーシスは、固定酸（不揮発性の酸）が増加する乳酸アシドーシス、糖尿病性ケトアシドーシス、腎不全、サリチル酸中毒等及び重炭酸イオン（HCO_3^-）が過剰に排泄されて生じる下痢、腎尿細管アシドーシス等がある。(参照．日本救急医学会: 医学用語解説集)

は、国外において、老人ホーム等施設に入居していた虚弱であったとされる高齢者 6 人が血性下痢を発症し、そのうち 3 人が死亡した 1998 年のフランスの事例がある。フランスの国立食品環境労働衛生安全庁（ANSES）は、特記すべき事項として、本事例では、これまでに観察されたことのない、極めてまれなセレウス菌株（NVH391-98)が分離され、この菌株が産生した毒素[19]を原因とした事例であったとしている。（参照 34、85、86）

セレウス菌により引き起こされる疾病は、ほとんどが食中毒であるが、消耗性疾患にり患した患者又は外傷を負った後の患者でセレウス菌による感染症の事例が発生することがあり[20]、免疫機能が未熟又は低下した状態での日和見感染の場合には、敗血症、髄膜炎等の重篤な病態を起こすことがある。（参照 87、88、89、90）

1997～2016 年の間の人口動態統計における、死因（死因基本分類）が「セレウス菌食中毒[21]」（A05.4）となっている死者数として、計 2 人報告がある（2013 年に女性 1 人及び 2014 年に男性 1 人）（参照 49)。

② **発症に必要なセレウス菌数及び毒素量**

諸外国のリスク管理機関及びリスク評価機関は、多くの事例の情報から、発症に必要なセレウス菌数は、食品 1 g 当たり 10^5 ～ 10^8 個の細胞又は芽胞であるとしている（参照 19、39、91、92)。香港の食物安全センター（Centre for food Safety）の食品中の微生物のガイドラインでも同様に、ヒトの健康に影響を引き起こすと考えられる食品中のセレウス菌数は、食品 1 g 当たり 10^6 個の細胞又は芽胞より多いと位置付け、ヒトの疾病に関連するような菌数は、大部分は食品 1 g 当たり 10^5 ～ 10^8 個の細胞又は芽胞であるとしている（参照 93)。

一方、ニュージーランドの第一次産業省（MPI）による乳製品中のセレウス菌に係るリスクプロファイル（2016 年）では、ほとんどの事例におけるセレウス菌数は、食品 1 g 当たり 10^5 ～ 10^8 個の細胞又は芽胞であ

---

19 サイトトキシン K (CytK)が本菌株から分離された。CytK は壊死性及び溶血性を示すとされている。（参照 85）

20 敗血症、肺炎、壊死性筋膜炎、骨髄炎、全眼球炎、髄膜炎、心内膜炎及び外傷等を含むとされている（参照 87、88)。

21 戸籍法第 86 条に基づく死亡の届書に添附する医師等の死亡診断書の死因に「セレウス菌食中毒」と記載されたもの。なお、食中毒統計と収集方法が異なり、数値等が異なる場合がある。

るとするEFSA（2005年）に対して、以下の理由によりその解釈は単純ではないとしている。（参照94）

a. 毒素産生量は菌株により異なり、同じ毒素量でもいくつかの菌株では、大量の菌数が必要となること。
b. セレウリドは耐熱性が高いため、加熱処理された食品中セレウス菌自体は存在しない、又はわずかしか残っていない場合であってもヒトに健康影響を引き起こすレベルのセレウリドが存在し得ること。

発症に必要な毒素量については、菌株、食品及び条件に依存するとされている。様々な論文の情報に基づいたまとめとして、セレウリドの摂取量が10 μg /kg 体重であると例示している報告がある（参照95）。

また、セレウリドによる食中毒事例の原因食品とされたパスタ料理に含まれていたセレウリド量を、*in vitro*の精子運動抑制試験[22]及び液体クロマトグラフィー/質量分析法（LC/ MS）により測定及び分析した結果からは、事例の原因食品中には、約1.6 μg/gのセレウリドが含まれていたとされ、患者が喫食したパスタの量を300 gと推定した場合、400～500 μg のセレウリドを摂取したことになり、体重を60 kgと仮定すると、ヒトの発症に必要な毒素量は8 μg /kg 体重以下であるとされた（参照96）。

国内では、1974～1999年に日本で発生したおう吐型食中毒とみなされた14の事例の原因食品中のセレウリド量を調べた報告がある。本報告では、ヒトの上皮細胞 HEp-2 細胞（ヒト喉頭がん由来細胞株）を用いて、セレウリドによる細胞の空胞化活性を指標としてセレウリド量を測定している。その結果、事例の原因とされた焼き飯、焼きそば、カレーライス、スパゲッティ、麺類、ご飯といった食品 1 g 当たりに含まれていたセレウリド量は、0.01～1.28 μgであった。（参照97）

また、別の報告では、9つのおう吐型食中毒事例の原因食品中のセレウリド量は、食品1 g当たり0.02～1.28 μgであったとする結果を基に、一般的な喫食量からヒトにおけるセレウリドの最少発症毒素量を、およそ1 μg程度と推定している（参照98、99）。

---

[22] 精子運動抑制試験：Anderssonらが1998年に発表した、ブタの精子をセレウス菌株又はセレウス菌に汚染された食品の抽出物に24時間ばく露させ、精子運動の抑制を調べる方法。精製セレウリドを用いた試験において、50%影響濃度は、ブタの精子1 ml当たり0.5 ngのセレウリドとされている。（参照. Andersson MA et al：A Novel Sensitive Bioassay for Detection of *Bacillus cereus* Emetic Toxin and Related Depsipeptide Ionophores. Applied And Environmental Microbiology 1998；64(4): 1338-1343）
本研究では、Anderssonらの方法を改変した方法を用いている。

２．　無菌充填豆腐による国内外における食中毒の発生状況

欧州等諸外国への輸出は、過去 10 年間で合計約 5,995 トンであり、常温で流通している。また、米国での現地製造は、過去 10 年間で約 52,000 トンであり、常温で流通している。どちらも食中毒等の健康被害の報告は確認されていない。（参照 4、5）

Ⅴ．ばく露評価

１．無菌充填豆腐の細菌検出状況

厚生労働省から提出された国内で製造されている無菌充填豆腐 2 製品 240 検体についての細菌検出状況の調査結果では、一般細菌数、大腸菌群、好気性芽胞形成細菌及び嫌気性芽胞形成細菌が全て陰性であり、かつ容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格である発育し得る微生物の試験が全て陰性であったと報告されている（別添資料）。

なお、豆類加工品及び豆腐におけるセレウス菌の汚染状況には、以下のような報告がある。

- 1998～2006 年に東京都内の市場に流通する各種食材、加工食品、調理食品等を対象に、セレウリド産生性セレウス菌の汚染状況を調査した結果の中で、豆類の加工品として、豆乳 1 検体からセレウリド産生株が検出され、その菌数は 50 CFU/g であった（参照 100）。
- 種々の食品からのセレウス菌の検出状況を調べた報告の中で、野菜、果実及びその加工品（豆腐、果実、ナッツ及び野菜）からは 51～56%の率で検出され、特に豆腐の汚染率が高かった（参照 65）。
- 豆腐は一般的にセレウス菌の汚染率が高いと考えられているが、細菌の増殖は製品によって異なるとともに、毒素の産生性は低いとされ、研究に用いられた大部分の製品は陰性であった（参照 97）。

２．製造工程ごとのハザード制御

（１）豆乳の製造工程

①　原料大豆の選別、洗浄及び浸漬工程

これまでの豆腐と同様に、原料大豆について、品質が良好できょう雑物を含まないものを使用し、十分に水洗いすることにより、土壌由来細菌による汚染が低減されると考えられる。

さらに、ボツリヌス菌及びセレウス菌の増殖についての既往の科学的知見に照らし合わせて考えると、浸漬工程においても、管理運営基準指針に基づき適切に管理された場合、偏性嫌気性細菌であるボツリヌス菌の増殖は考えにくい。また、浸漬工程におけるセレウス菌にとっての培地は低栄

養成分とみなせる水であること、及び芽胞が発芽し、増殖を開始するまでに一定の時間を要することから、セレウス菌の増殖の程度は限られると考えられる。なお、加熱処理（ヒートショック）により芽胞の発芽誘導を行うことなしに培地の代わりに水中でセレウス菌の芽胞の挙動を見た結果では、3 時間経過してもほとんど芽胞の発芽は見られなかった（参照 101）。

② 豆乳の殺菌工程

豆乳の殺菌については、発育し得る微生物を死滅させるのに十分な効力を有する方法として、厚生労働省は、豆乳の殺菌条件を 120℃・4 分間加熱又はこれと同等以上としている。

a. ボツリヌス菌の失活条件（加熱条件）

ボツリヌス菌を加熱殺菌の対象とする場合の失活条件は、芽胞数 10^{12} 個を 1 個に減少させ得る殺菌値に相当する加熱処理であるとされている。なお、A 及び B 型ボツリヌス菌 8 株の芽胞を用いてリン酸緩衝液（pH7.0）中におけるボツリヌス菌の芽胞の耐熱性を調べ、得られた耐熱性値に基づき 120℃における 12D 値を算出した結果は、1.2～2.7 分であり、4 分を超えるものはなかったとする報告がある。（参照 102）

b. セレウス菌の失活条件（加熱条件）

セレウス菌芽胞の加熱耐性については、ばらつきが報告されている。EFSA（2005）の意見では、セレウス菌の加熱耐性の幅は広いとされている（参照 39）。EFSA（2005）の意見では、低酸性食品の缶詰に用いられるボツリヌス菌を不活化する加熱処理 121°C・3 分間という条件は、セレウス菌 の芽胞も死滅させることができるとした（参照 39）。そして、EFSA（2016）の意見においても、EFSA（2005）の意見を支持している。（参照 91）

EFSA（2005）に引用されているセレウス菌株の失活条件（加熱条件）についての情報は以下のとおりである。

(a) 種々の起源の菌株の芽胞を用いた、pH 7.0 のリン酸緩衝液中の 90℃における D 値は、4.6～200 分未満と幅があり、中央値は 9.2 分であった（参照 103）。

(b) 米国（菌株の分離源は不明）、ロシア（菌株の分離源は不明）、ベルギー（菌株の分離源は不明）、ベルギー（豆のスープから分離された菌株）、英国（調理米から分離された菌株）、米国（缶詰のスープから分離された菌株）といった種々のセレウス菌株を pH8.3 のイオン交換水に入れて加熱した試験の結果では、これらの菌株の 100℃の D 値は、0.6～27 分であった。一番高い耐熱性を示した菌株は、Bradshaw らが米国の缶詰のスープ

から分離した菌株（Brad 2 株）であり、115℃の *D* 値は 1.8 分であった。（参照 104）

(c) 腐敗した野菜の缶詰(缶詰のスープ)から分離された菌株の 130℃の *D* 値は、およそ 0.3 分であった（参照 39)。分離した菌株の中で耐熱性の高い菌株（Culture 2, 上記 Brad 2 株と同じ）について、0.067 M のリン酸緩衝液に縣濁して加熱した試験では、115.6℃の *D* 値は 11.44 分、121.1℃における *D* 値は 2.37 分、129.4℃における *D* 値は 0.28 分であった。（参照 37）

(d) 調理済みチルド食品に含まれていた野菜から分離された菌株の芽胞の 105℃の *D* 値は 0.63 分であったと報告されている。（参照 105）

(e) セレウス菌の芽胞の加熱耐性は pH により変化し、95℃におけるセレウス菌の芽胞の生残性は、pH を 6.2 から 4.7 に減少させると、3 倍減少するという報告（参照 106）及び pH7 から pH4 に酸性化させた場合には、103℃の *D* 値が 5 倍減少したという報告（参照 107）がある。

微生物・ウイルス専門調査会では、以下の理由から、2017 年時点で再現可能な科学的知見に基づいて考えると、殺菌前の製造工程が適切に管理された豆乳を 120℃・4 分間で加熱殺菌することにより、セレウス菌についても死滅させることができると判断した。

・(c)は、1975 年の Bradshaw らの報告であり、極めて高い耐熱性が報告されているが（参照 37)、この報告以降、近年の水系（aw=0.999）における報告では、最大でも、115℃の *D* 値が 0.25 分である。121℃の *D* 値が 0.44 分の報告もあるが、これは高食塩水濃度環境下（aw=0.750）の特異な環境下であり、それ以外の報告は確認できなかった。（参照 108）

・また、(b)は、1987 年の報告であり、(c)で、Bradshaw らが分離した菌株（Brad 2 株）を用いて 0.067 M のリン酸緩衝液に縣濁して加熱した知見も含まれている。一番高い耐熱性を示した菌株は、米国（缶詰のスープから分離された菌株）の Brad 2 株であり、115℃の *D* 値は 1.8 分と、(c)で報告された耐熱性より低かった。（参照 104）

・セレウス菌の耐熱性は、菌株間の差異のほか、調整方法によっても大きく異なるとされ、芽胞形成（実験的調整）時の温度や、芽胞のコア [23]の構成イオン量（Ca^{2+}、K^{+}等）も耐熱性の影響因子として重要であると報告さ

[23] 芽胞のコア：芽胞の中心部分のコア（core）は細胞質に相当し、核酸及び種々の酵素等が含まれている（参照. 渡部一仁：細菌芽胞（胞子）－その特徴と調製法, 抵抗性試験法, 第 14 改正日本薬局方での関連記載項目および芽胞形成菌管理の意義。PDA　Journal of GMP and Validation in Japan 2001；3(2): 67-73)。

れている。さらに、他の環境因子も耐熱性に関連していると考えられる。（参照 109、110）

・種々の菌株のセレウス菌を用いた上述の(a)、(d)及び(e)のような失活条件（加熱条件）の報告があり、これらの結果から、120℃・4 分間の加熱処理で豆乳中に残存し得るセレウス菌を死滅させることが可能である。（参照 103、105、106、107）

（２） 凝固剤の添加工程

豆乳の殺菌後に添加する凝固剤については、無菌充填豆腐に必要な条件(参照 3)にある、発育し得る微生物を死滅させ又は除去するのに十分な効力を有する方法により適切な殺菌又は除菌が行われることが確保されることを前提とすれば、凝固剤の添加工程でハザードが混入することは考えにくい。

（３） 無菌充填工程等

殺菌された豆乳に殺菌又は除菌された凝固剤を添加し、容器包装に無菌的に充填する工程については、既に牛乳等の常温保存可能品等他の食品でも多くの使用実態のある技術である。厚生労働省が諮問内で規定する無菌充填が可能な機器を用いて、あらかじめ殺菌された適切な容器包装を用いて無菌的に充填されることが確保されることを前提にすれば、無菌充填工程において、ハザードが混入することは考えにくい。

充填後、無菌充填技術を用いて製造され常温保存で長期間保存及び流通している牛乳等の常温保存可能品等の他の食品と同様に、流通・販売過程等における荷積等の運搬に伴う外圧等の種々の物理的影響に耐え、破損等による微生物の汚染を防止できる容器包装を用いることを前提にすれば、無菌充填工程後の保管、流通、小売及び消費者の保管中に、ハザードが混入することは考えにくい。

３． 成分規格の設定について

厚生労働省が示す無菌充填豆腐に必要な条件では、最終製品に対して、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格に規定する試験の結果、発育し得る微生物が陰性であることとされている。（参照 3）

容器包装詰加圧加熱食品の規格基準を規定した「食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について」（昭和 52 年 3 月 23 日付け環食第 52 号）では、成分規格について、常温下で長期流通する食品であることを考慮して定められたものであるとし、「発育し得る微生物が

陰性」であることとは、恒温試験を 14 日間行った結果、容器包装の膨張又は漏えいを認めず、かつ、その検体について細菌試験を行った結果、培養基のいずれにも菌の増殖を認めないこととしている。（参照 111）

ハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌は、当該試験で検出されることから、発育し得る微生物が陰性であることという条件を成分規格で規定することは、適切な管理の下に製造されたことを検証するのに有効であると考えられる。

Ⅵ.　リスク特性解析

無菌充填豆腐が常温下で長期間保存及び流通することを想定すると、ハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌が当該食品の最終製品に残存した場合、人に健康被害を引き起こす可能性がある。

そのため、管理運営基準指針に基づき十分に衛生管理されることを前提として、厚生労働省が条件として示す無菌充填豆腐の製造工程及び最終製品に対する成分規格による管理に基づき製造された無菌充填豆腐の保存を現行の冷蔵保存から常温保存に変更した場合のボツリヌス菌及びセレウス菌によるリスクの差について検討する。

豆乳の製造工程については、以下の知見等により、ボツリヌス菌及びセレウス菌が残存するリスクは、十分に低減すると考えられる。

・原料大豆は、品質が良好できょう雑物を含まないものが使われること。
・原料大豆は、十分に水洗いされること。
・ボツリヌス菌及びセレウス菌の増殖について、既往の科学的知見に照らし合わせて考えると、浸漬工程において、管理運営基準指針に基づき適切に管理されることにより、偏性嫌気性細菌であるボツリヌス菌の増殖は考えにくく、また、セレウス菌の増殖の程度は限られると考えられること。
・ボツリヌス菌は、豆乳の殺菌条件（120℃・4 分間加熱又はこれと同等以上）により、死滅すること。
・セレウス菌は、豆乳の殺菌条件（120℃・4 分間加熱又はこれと同等以上）により、死滅すること。

豆乳殺菌後の凝固剤の添加工程及び無菌充填工程については、規格基準及び管理運営基準指針に基づき適切に管理されていることを前提とした場合、ボツリヌス菌及びセレウス菌に汚染され、リスクが高まるとは考えられない。

また、既に常温で流通している欧州等諸外国への輸出又は米国での現地製造については、食中毒等の健康被害の報告はこれまで確認されていない（参照 4、5）。

以上のことから、無菌充填豆腐の保存を現行の冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクに差があるとは考えられない。

Ⅶ.　食品健康影響評価

上記のリスク特性解析を踏まえ、微生物・ウイルス専門調査会としては、以下のように結論付ける。

1　原料の大豆に存在する可能性があり、耐熱性を示す芽胞形成細菌には、クロストリジウム属菌、バチルス属菌等がある。評価対象の無菌充填豆腐は、常温下で長期間保存及び流通することが想定されることから、厚生労働省が条件として示す製造工程を踏まえ、ハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌が当該食品の最終製品に残存した場合、人に健康被害を引き起こす可能性がある。

2　管理運営基準指針に基づき十分に衛生管理されることを前提として、厚生労働省が条件として示す殺菌、除菌等の製造工程を取った場合、本評価でハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌は死滅し、最終製品に残存しないと考えられる。なお、発育し得る微生物が陰性であることという条件を成分規格で規定することは、当該食品が適切な管理の下で製造されたことの検証に有効であると考えられる。

3　したがって、現在は豆腐の規格基準に基づき冷蔵保存されている無菌充填豆腐について、冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクに差があるとは考えられない。

なお、大豆の浸漬工程で耐熱性が高い毒素を産生する細菌が増殖し、毒素を産生した場合、その後の殺菌工程で除去することができないため、現行の豆腐の衛生管理と同様、管理運営基準指針を踏まえ、毒素産生に必要とされる菌数まで増殖させないように適切に管理することが必要である。

また、120℃ 4 分間加熱又はこれと同等以上の殺菌条件を確保するための工程管理は、その実施状況の連続的又は相当の頻度のモニタリングが必要であり、当該モニタリングにより管理措置が適切に講じられていないと認められたときには、速やかに改善措置を実施することが必要である。

また、無菌充填豆腐に使用する容器包装については、以下の点に留意する必要がある。

・無菌充填豆腐が常温下で長期間保存及び流通することを考慮し、既に無菌充填技術を用いて製造され常温下で長期間保存及び流通している牛

乳等の常温保存可能品等他の食品と同様に、流通・販売過程における荷積等の運搬に伴う外圧等の種々の物理的影響に耐え、破損等による微生物の汚染を防止できる容器包装を用いること。

・消費者等が保存方法を誤解しないように、冷蔵保存が必要な豆腐には冷蔵が必要である旨及び常温で保存できる豆腐には常温保存ができる旨を消費者等が明確にわかるように、容器包装に表示すること。

＜略語一覧＞

略語	名称
ANSES	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environment et du travail （国立食品環境労働衛生安全庁）
DALYs	Disability Adjusted Life Years (障害調整生存年)
EDTF	Enteric Diseases Task Force
EFSA	European Food Safety Authority (欧州食品安全機関)
EU	European Union (欧州連合)
FERG	Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group
LC-MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (液体クロマトグラフ質量分析)
LD_{50}	50% Lethal Dose (半数致死量)
MPI	Ministry for Primary Industries （ニュージーランド第一次産業省）

＜参照＞

1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年 12 月 28 日付け厚生省告示第 370 号）厚生省
2. 中岡愛子：店頭露出飲食品の細菌学的研究 第一報 特に「豆腐漬水」の細菌学的考察。食物学会誌 1958. 5: 50-59
3. 食品健康影響評価について．別添 豆腐の規格基準の改正について（平成 29 年 4 月 12 日付け厚生労働省発生食 0412 第 1 号）
4. 海外輸出品出荷実績について（2017 年 7 月 14 日）厚生労働省資料
5. 無菌充填豆腐に係る施設からの報告事項（2017 年 7 月 11 日）厚生労働省資料
6. 食品等事業者が実施すべき管理運営基準に関する指針（ガイドライン）の改正について（平成 26 年 10 月 14 日付け 食安発 1014 第 1 号）厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知
7. FDA: CFR-Code of Federal Regulations Title 21. PART 108 EMERGENCY PERMIT CONTROL
8. FDA: CFR-Code of Federal Regulations Title 21. PART 113. THERMALLY PROCESSED LOW-ACID FOODS PACKAGED IN HERMETICALLY SEALED CONTAINERS
9. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition: Submitting Form FDA 2541 (Food Canning Establishment Registration) and Forms FDA 2541d, FDA 2541e, FDA 2541f, and FDA 2541g (Food Process Filing Forms) to FDA in Electronic or Paper Format: Guidance for Industry. 2016
10. 欧州への輸出及び米国での生産に関する無菌充填豆腐の規制状況（2017 年 5 月 19 日）厚生労働省資料
11. REGULATION (EC) No 178/2002 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL. 28 January 2002. laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety
12. 山本和則，神谷隆久，小室道彦，掛札しげ子，村上りつ子，高井勝美：フラットサワー変敗しるこ缶詰から分離した好熱性，偏性嫌気性有芽胞細菌の性状について。食品衛生学雑誌 1984；25(3): 233-240
13. 山本和則，神谷隆久，小室道彦，掛札しげ子，村上りつ子，一条悟朗：フラットサワー変敗原因クロストリジウムの亜硫酸塩及び熱に対する耐性について。食品衛生学雑誌 1988；29(4): 256-261

14. 蜂須賀養悦：芽胞（細菌胞子）の耐熱性の機構。化学と生物；18(11): 731-739
15. EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Clostridium* spp in foodstuffs. The EFSA Journal. 2005. 199: 1-65
16. 宮本敬久：食品における耐熱性芽胞形成菌の生育特性と制御。日本食品微生物学会雑誌 2009；26(2): 92-97
17. 中條均紀, 森山裕子：*Bacillus coagulans*：選択培地ならびに耐熱性胞子検出法の開発。日本食品工業学会誌 1994；41(4): 281-286
18. 厚生労働省: 食中毒統計資料 平成 12 年（2000 年）～平成 28 年（2016 年） http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html#j4-2
19. FOOD STANDARDS Australia New Zealand (FSANZ): Imported food risk statement. Bean curd and *Bacillus cereus* 2016；1-4
20. WHO: Annex 6. WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products. WHO Technical Report Series 2011; No. 961: 261-284
21. ICMSF: MICROORGANISMS IN FOODS 5 1996.5; *Clostridium botulinum*
22. 花岡正季: 細菌性食中毒とその予防（２）。 生活衛生 1991；35(4): 301-307
23. 国立感染症研究所：ボツリヌス症をひきおこす細菌について（2017 年 5 月 19 日改訂）
24. 国立感染症研究所：レファレンス委員会地方衛生研究所全国協議会：ボツリヌス症 2012 年 12 月 07 日
25. Barash JR, Arnon SS: A Novel Strain of *Clostridium botulinum* That Produces Type B and Type H Botulinum Toxins. The Journal of Infectious Diseases 2014; 209: 183-191
26. 伊藤武, 坂井千三: 主な食中毒起因細菌の食品中における増殖について。食品衛生学雑誌 1989；30(2): 123-137
27. CODEX STAN 311-2013：Standard for Smoked Fish, Smoke-Flavoured Fish and Smoke-Dried Fish. P. 8-9
28. Stringer SC, Webb MD, Peck MW: Lag time variability in individual spores of *Clostridium botulinum*. Food Microbiology 2011；28: 228-23528. FAO. Assessment and management of seafood safety and quality 2014；1-432

29. FAO：Assessment and management of seafood safety and quality 2014；1-432
30. 松田典彦, 駒木勝, 市川良子：豆乳中における A 及び B 型ボツリヌス菌芽胞の耐熱性。食品衛生学雑誌 1988；29(2): 151-155
31. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food. Report on Vacuum Packaging and Associated Processes 1992; 1-69
32. 阪口玄二:ボツリヌス症－病因、病形、発病機構、診断と治療 - IASR 2008;29: 37-38
33. 熊谷進 編集代表, 小久保彌太郎, 小沼博隆, 豊田正武編:HACCP:衛生管理計画の作成と実践。改訂データ編.中央法規.8.セレウス菌 2003; p.122-141
34. 仲西寿夫, 丸山 務 監修. 食品由来感染症と食品微生物. 中央法規. 2009 年
35. ICMSF. MICROORGANISMS IN FOODS 5. 1996. 2. *Bacillus cereus*
36. Koseki S, Nonaka J:Alternative Approach To Modeling Bacterial Lag Time, Using Logistic Regression as a Function of Time, Temperature, pH, and Sodium Chloride Concentration. Applied and Environmental Microbiology 2012; 78(17): 6103-6112
37. Bradshaw JG, Peeler JT, Twedt RM: Heat Resistance of Ileal Loop Reactive *Bacillus cereus* Strains Isolated from Commercially Canned Food. Applied Microbiology 1975; 30(6): 943-945
38. Molin N, Snygg BG: Effect of lipid materials on heat resistance of bacterial spores. Applied Microbiology 1967; 15(6): 1422-1426
39. EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus spp* in foodstuffs. The EFSA Journal 2005; 175:1-48
40. Byrne B, Dunne G, Bolton DJ. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork lucheon roll. Food Microbiology 2006; 23: 803-808
41. 熊谷進 編集代表, 小久保彌太郎, 小沼博隆, 豊田正武編. HACCP:衛生管理計画の作成と実践。 改訂データ編. 中央法規. 6. ボツリヌス菌 2003; p. 100-111
42. 公益社団法人日本食品衛生協会: 食品衛生検査指針。微生物編 2015
43. Kirk MD, Pires SM, Black RE, Caipo M, Crump JA, Devleesschauwer B et al: World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and

Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. PLOS Medicine 2015; 12(12): e1001921: 1-21
44. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson M-A, Roy SL et al: Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens. Emerging Infectious Diseases 2011; 17(1): 7-15
45. 内村眞佐子, 小岩井健司, 門間千枝, 柳川義勢: 千葉県柏市で発生したボツリヌス食中毒事例。IASR 1999；20(12)
46. 鳥取県衛生環境研究所上田裕, 花原悠太郎, 独立行政法人国立病院機構米子医療センター阪本智宏, 鳥取県西部総合事務所生活環境局松村毅, 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部北村勝, 百瀬愛佳, 他:鳥取県で発生した国内 5 年ぶりとなる食餌性ボツリヌス症。IASR 2012. vol. 33: 218-219
47. 厚生労働省. 年次別病因物質別食中毒発生状況.
48. 厚生労働省. 平成 29 年食中毒発生事例（速報：平成 29 年 10 月 2 日までに厚生労働省に報告のあった事例）
49. 厚生労働省. 政府統計の総合窓口. 人口動態調査. 人口動態統計
50. 気密性のある容器包装詰めの要冷蔵食品に係る取扱いについて（平成 11 年 8 月 30 日付け厚生労働省発衛食第 120 号）厚生省生活衛生局食品保健課長通知
51. 阪口玄二: ボツリスムと私。食品と微生物 1990；7(1): 43-46
52. 北海道立衛生研究所 三田村弘, 小笠原和夫, 砂川紘之, 中根正行, 衛生部環境衛生課 竹村恒男：16 昭和 42 年北海道に発生した「いずし」によるボツリヌス E 型の食中毒例について。北海道立衛生研究所報 1968；第 18 集：104-107
53. 大友良光, 豊川安延：1991 年青森県内で発生した 2 事例の E 型ボツリヌス食中毒. 1992。食品と微生物 1992；9(3): 177-181
54. 東京都立衛生研究所 坂井千三：東京都内に発生したボツリヌス A 型菌による食中毒（昭和 51 年)。食品衛生学雑誌 1982；23(2): 204-205
55. 福島県衛生公害研究所宇寿山満：福島県におけるボツリヌス菌食中毒とその疫学背景の考察(昭和 56 年)。食品衛生学雑誌 1982；23(6): 497-498
56. 国立感染症研究所感染症情報センター, 熊本県衛生公害研究所 道家直, 熊本市保健衛生研究所 竹田哲郎,他:からしれんこんによるボツリヌス中毒事件の概要。IASR 1984；5: 1-3
57. 熊本県衛生公害研究所 道家直：からし蓮根を原因食とするボツリヌス中毒。食品衛生学雑誌 1985；26(5): 536-537
58. 北海道立衛生研究所：相川孝史, 三田村弘, 武士甲一, 亀山邦男, 北海道

衛生部食品衛生課：北海道釧路保健所：いずしによるボツリヌス中毒. 食品衛生学雑誌 1985; 26(5): 545-546
59. 秋田県湯沢保健所 白井一: 缶詰の里芋による A 型ボツリヌス食中毒。食品衛生学雑誌 1994；35(5): 551-552
60. 北海道保健環境部食品衛生課 高橋俊幸: サケのいずしによるボツリヌス菌中毒。食品衛生学雑誌 1996；37(5): 246
61. 渡部勝彦: 3. いわなのいずしによるボツリヌス中毒. 食品衛生学雑誌. 1998. 39(2): 196-197
62. 岩手県環境保健センター 岩渕香織, 松舘宏樹, 高橋雅輝, 高橋朱実, 藤井伸一郎, 蛇口哲夫, 他: 岩手県で発生したボツリヌス食中毒事例について。IASR 2008；29: 38
63. 伊藤武 : 厨房をおびやかす病原菌－食品から施設まで－。生活衛生 2001；45(1): 3-13
64. Peck MW, Goodburn KE, Betts RP, Stringer SC：*Clostridium botulinum* in vacuum packed (VP) and modified atmosphere packed (MAP) chilled foods. Institute of Food Research (IFR). Final Project report (B13006)；JULY 2006
65. 上田成子：食品の微生物検査法と食中毒発生時の疫学調査法 12 セレウス菌。防菌防黴 2007；Vol. 35(11): 761-777
66. 研究代表者 鎌田洋一, 研究分担者 山本茂貴: 厚生労働省科学研究補助金食品の安全確保推進研究事業 食品中の毒素産生微生物及び試験法に関する研究。 平成 24 年度分担研究報告書 セレウス菌のリスクプロファイル; 2013 年 3 月
67. 伊藤武, 甲斐明美, 斎藤香彦, 柳川義勢, 稲葉美佐子, 高橋正樹, 他: 1975～1981 年の 7 年間に東京都内で発生した *Bacillus cereus* による食中毒 15 事例の疫学的・細菌学的検討。東京衛研年報 1982；33: 9-18
68. 新井輝義, 池島伸至, 平田一郎, 柳川義勢, 新垣正夫, 伊藤武, 他: 嘔吐型食中毒および市販食品由来セレウス菌の各種培地における HEp-2 培養細胞空胞化活性の産生性。食品と微生物 1992; 9(3): 159-164
69. 東京都立衛生研究所 柳川義勢: セレウス菌感染症とは。国立感染症研究所公開情報
70. 安川章, 岡田陽一, 宮本三郎, 吉村陽, 福島猛, 種村昌城, 他: 大阪市内で発生した *Bacillus cereus* によると推定される嘔吐型食中毒例について。食品衛生学雑誌 1979; 20(8): 186-191
71. Shinagawa K, Matsusaka N, Konnuma H, Kurata H: The Relation Between the Diarrheal and other Biological Activities of *Bacillus*

cereus Involved in Food Poisoning Outbreaks. Jpn. J. Vet. Sci 1985; 47(4): 557-565

72. 千葉県衛生研究所 三瓶憲一, 小岩井健司, 内村真佐子, 七山悠三, 他: *Bacillus cereus* による食中毒。食品衛生学雑誌 1982；23(6): 505-507
73. 熊本市環境総合研究所 松岡由美子, 新屋拓郎, 藤井幸三: あん入り餅を原因とする嘔吐型セレウス菌による食中毒事例-熊本市 - 初めての健康危機管理対策部設置 - 。IASR 2002；23:93-94
74. 門間千枝, 石﨑直人, 小西典子, 下島優香子, 尾畑浩魅, 仲真晶子, 他: 関連資料:「おにぎり」から嘔吐毒素が検出された *Bacillus cereus* 集団食中毒事例。 第 26 回日本食品微生物学会学術総会 2005 年。国立保健医療科学院　健康被害危機管理事例データベース H・CRISIS No. 1280 「おにぎり弁当を原因とするセレウス菌食中毒」
75. 厚生労働省：平成 20 年食中毒発生事例、抜粋
76. Shiota M, Saitou K, Mizumoto H, Matsusaka M, Agata N, Nakayama M et al. Rapid Detoxification of Cereulide in *Bacillus cereus* Food Poisoning. PEDIATRICS. 2010. 125(4): e951-e955
77. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課: 平成 20 年全国食中毒事件録. 第二編　主な食中毒事例. 9. 家庭調理食品を原因とするセレウス菌による食中毒事例。
78. 麻生嶋七美, 吉澤千尋, 江渕寿美, 宮基良子, 樋脇弘：学生寮で発生したセレウス菌食中毒。平成 21 年度福岡市保健環境研究所所報 35: 69-71
79. 東京都：2 食中毒事件の詳報. 事件番号 No. 93. 平成 22 年東京都の食中毒概要; 2012
80. 厚生労働省医薬生活衛生局食品安全部監視安全課：全国食中毒事件録. 平成 19 年～平成 27 年、 抜粋
81. 今川快恵, 小林祥子, 岡本利洋, 藤村紳一郎, 後藤孝一, 中原繁, 他: 大葉の汚染実態調査 - 下痢型セレウス菌食中毒事例による一考察 - 。食品衛生研究 2008；58(7): 49-52
82. 吉本 昭, 有元秀樹, 松浦康司, 宮市功典, 林下浩士, 韓正則, 他: 症例報告. 持続脳圧センサーにより管理を行ったセレウス菌による脳症の一例。日集中医誌 2011；18: 105-109
83. Mahler H, Pasi A, Kramer JM, Schulte P, Scoging AC, Bär W et al : Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*. The New England Journal of Medicine 1997；1142-1148
84. Dierick K, Van Coillie E, Swiecicka I, Meyfroidt G, Devlieger H, Meulemans A：Fatal Family Outbreak of *Bacillus cereus* -Associated

Food Poisoning. Journal of Clinical Microbiology 2005；43(8): 4277-4279

85. Lund T, De Buyser M-L, Granum PE: A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. Molecular Microbiology 2000; 38(2): 254-261
86. ANSES: French agency for food, environmental and occupational health & safety. *Bacillus cereus*. Data sheet on foodborne biological hazards; 2011
87. Orrett FA: Fatal *Bacillus cereus* bacteremia in a patient with diabetes. Journal of the National Medical Association 2000; 92(4): 206-208
88. Bottone EJ: *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. Clinical Microbiology reviews 2010; 23 (2): 382-398
89. 寺島英一, 土屋俊夫, 奥山清子, 堀越昶, 高橋好一, 武尾宏, 他: 急性骨髄性白血病に合併した *Bacillus cereus* による敗血症の 1 例。感染症学雑誌 1977；51(8):438-442
90. 数川久恵, 荻田純子, 牧野巧, 石和田稔彦, 大塚春美, 黒崎知道, 他: 当院 NICU における新生児敗血症の検討 - B 群溶連菌, 緑膿菌を中心に - 。小児感染免疫 2007；19(1): 3-8
91. EFSA: Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. The EFSA Journal 2016; 14(7):4524
92. BfR: *Bacillus cereus*；2017
93. Centre for Food Safety：Microbiological Guidelines for Food. For ready-to-eat food in general and specific food items 2014；1-38
94. New Zealand Government：Ministry for Primary Industries. RISK PROFILE: *BACILLUS CEREUS* IN DAIRY PRODUCTS. MPI Technical Paper 2016; No. 2016/58: 1-98
95. Rajkovic A: Microbial toxins and low level of foodborne exposure. Trends in Food Science & Technology 2014; 38: 149-157
96. Jääskeläinen EL, Teplova V, Andersson MA, Andersson LC, Tammela P, Andersson MC et al: In vitro assay for human toxicity of cereulide, the emetic mitochondrial toxin produced by food poisoning *Bacillus cereus*. Toxicology in Vitro 2003; 17(5-6): 737-744
97. Agata N , Ohta M, Yokoyama K: Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereulide) in various foods. Int J Food Microbiol 2002; 73(1):23-27

98. 安形則雄, 太田美智男: *Bacillus cereus* の食中毒毒素。日本細菌学雑誌 1996; 51(4): 993-1002
99. 梶田弘子, 岩渕香織, 藤井伸一郎, 畠山えり子：LC/MS/MS による嘔吐毒セレウリドの分析。岩手県環境保健研究センター年報 2007；7: 75-78
100. 新井輝義, 千葉隆司, 秋場哲哉, 門間千枝, 仲間晶子, 甲斐明美：各種食品のセレウス菌汚染状況と分離菌株の嘔吐毒産生性。東京都健康安全研究センター年報 2012；63: 173-179
101. Løvdal IS, Hovda MB, Granum PE, Rosnes JT：Promoting *Bacillus cereus* Spore Germination for Subsequent Inactivation by Mild Heat Treatment. Journal of Food Protection 2011；74(12): 2079-2089
102. 松田典彦, 駒木勝, 松縄桂子：A および B 型ボツリヌス標準菌株の芽胞の耐熱性。食品衛生学雑誌 1980；21(5): 398-404
103. Dufrenne J, Soentoro P, Tatini S, Day T, Notermans S：Characteristics of *Bacillus cereus* related to safe food production. International Journal of Food Microbiology 1994；23: 99-109
104. Rajkowski KT, Mikolajcik EM：Characteristics of selected strains of *Bacillus cereus*. Journal of Food Protection 1987；50(3): 199-205
105. Fernández A, Ocio MJ, Fernández PS, Rodrigo M, Martínez A：Application of nonlinear regression analysis to the estimation of kinetic parameters for two enterotoxigenic strains of *Bacillus cereus* spores. Food Microbiology 1999；16: 607-613
106. Fernández A, Collado J, Cunha LM, Ocio MJ, Martínez A：Empirical model building based on Weibull distribution to describe the joint effect of pH and temperature on the thermal resistance of *Bacillus cereus* in vegetable substrate. Int J Food Microbiol 2002; 77(1-2): 147-153
107. Mazas M, López M, González I, González J, Bernardo A, Martin R: Effects of the heating medium pH on heat resistance of *Bacillus cereus* spores. Journal of Food Safety 1998; 18: 25-36
108. Mazas M, Martínez S, López M, Alvarez AB, Martin R: Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores affected by the solutes used to control water activity of the heating medium. International Journal of Food Microbiology 1999; 53:61–67
109. González I, López M, Martínez S, Bernardo A, González J. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores formed at different temperatures. International Journal of Food Microbiology 1999; 51: 81-84
110. Setlow P: Spores of *Bacillus subtilis*：their resistance to and killing by

radiation, heat and chemicals. Journal of Applied Microbiology 2006; 101: 514-525
111. 食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について（昭和 52 年 3 月 23 日付け環食第 52 号） 厚生省環境衛生局長通知

別添資料

朝倉 宏:「無菌充填豆腐中の微生物に関する試験検査」(平成 29 年５月 24 日 食品安全委員会第 69 回微生物・ウイルス専門調査会資料)

平成29年5月24日
内閣府食品安全委員会
微生物・ウイルス専門調査会　資料

別添資料

無菌充填豆腐中の微生物に関する試験検査

国立医薬品食品衛生研究所
食品衛生管理部
朝倉　宏

豆腐の種類（1）

・木綿豆腐

純木綿または普通豆腐と呼ばれていたもので、日本古来の豆腐を指す。原料に対し、約10倍量の水を加え、豆乳濃度6～8%、塩化マグネシウム（にがり）の凝固剤、硫酸カリウム（すまし粉）等を使用して凝固熟成後、荒し（崩し）と湯取りを行い成形、水切り、カット、水晒し、冷却したもので、製造設備が十分整備されていなかった時代には理想的な加工方法とされた。現在は、凝固後の湯取りをせず、成型、水切り、カット、水晒し、冷却したものが主体となっている。

・絹ごし豆腐

グルコノデルタラクトンの使用と同時に普及した豆腐で硫酸カルシウムを併用し製造されていた。豆乳濃度10%以上の豆乳と凝固剤を同時に容器内で短時間に凝固させ、熟成後、カット、水晒し、包装したもの。

出典：豆腐入門（日本食糧新聞社）

豆腐の種類(2)

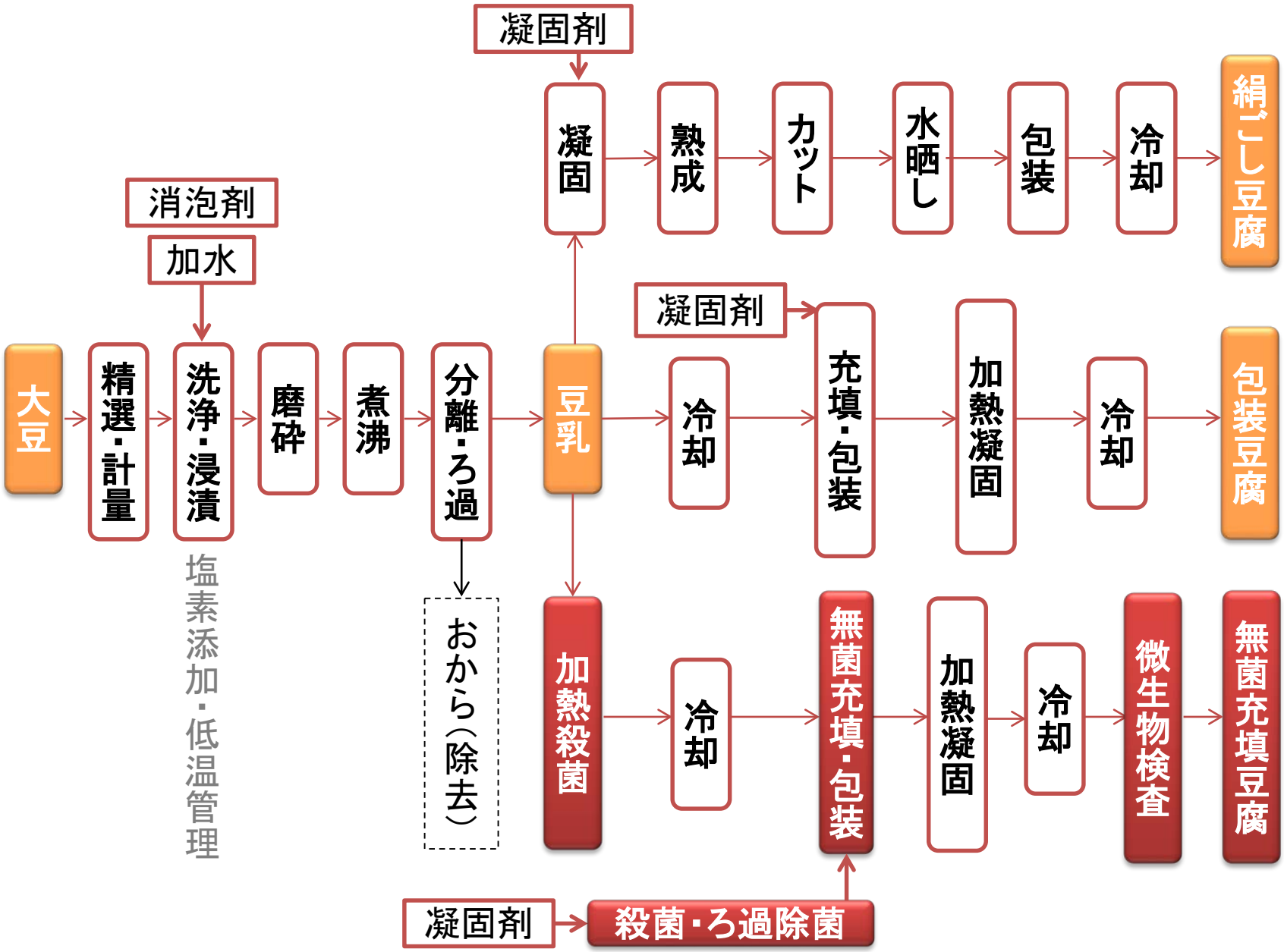
- 包装豆腐

  豆乳に凝固剤を添加して、容器包装に充填した後加熱凝固させたもの(殺菌方法は90℃・40分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法)。

- 無菌充填豆腐

  120℃・4分と同等以上の加熱殺菌条件にて製造した豆乳を冷却し、殺菌又はろ過除菌した凝固剤を無菌充填装置を用いて充填した後、凝固させることで無菌性を担保したもの。

豆腐の製造工程概要


凝固剤
凝固
熟成
カット
水晒し
包装
冷却
絹ごし豆腐
消泡剤
加水
大豆
精選・計量
洗浄・浸漬
磨砕
煮沸
分離・ろ過
豆乳
凝固剤
冷却
充填・包装
加熱凝固
冷却
包装豆腐
塩素添加・低温管理
おから（除去）
加熱殺菌
冷却
無菌充填・包装
加熱凝固
冷却
微生物検査
無菌充填豆腐
凝固剤
殺菌・ろ過除菌

豆腐製品の細菌検出状況

絹ごし豆腐製品（8製品・24検体）

- 一般細菌数は、平均2.5 x 10^3 CFU/g （7製品・15検体で陽性）
- 大腸菌群は、1検体から検出 （1.0 x 10^3 CFU/g）

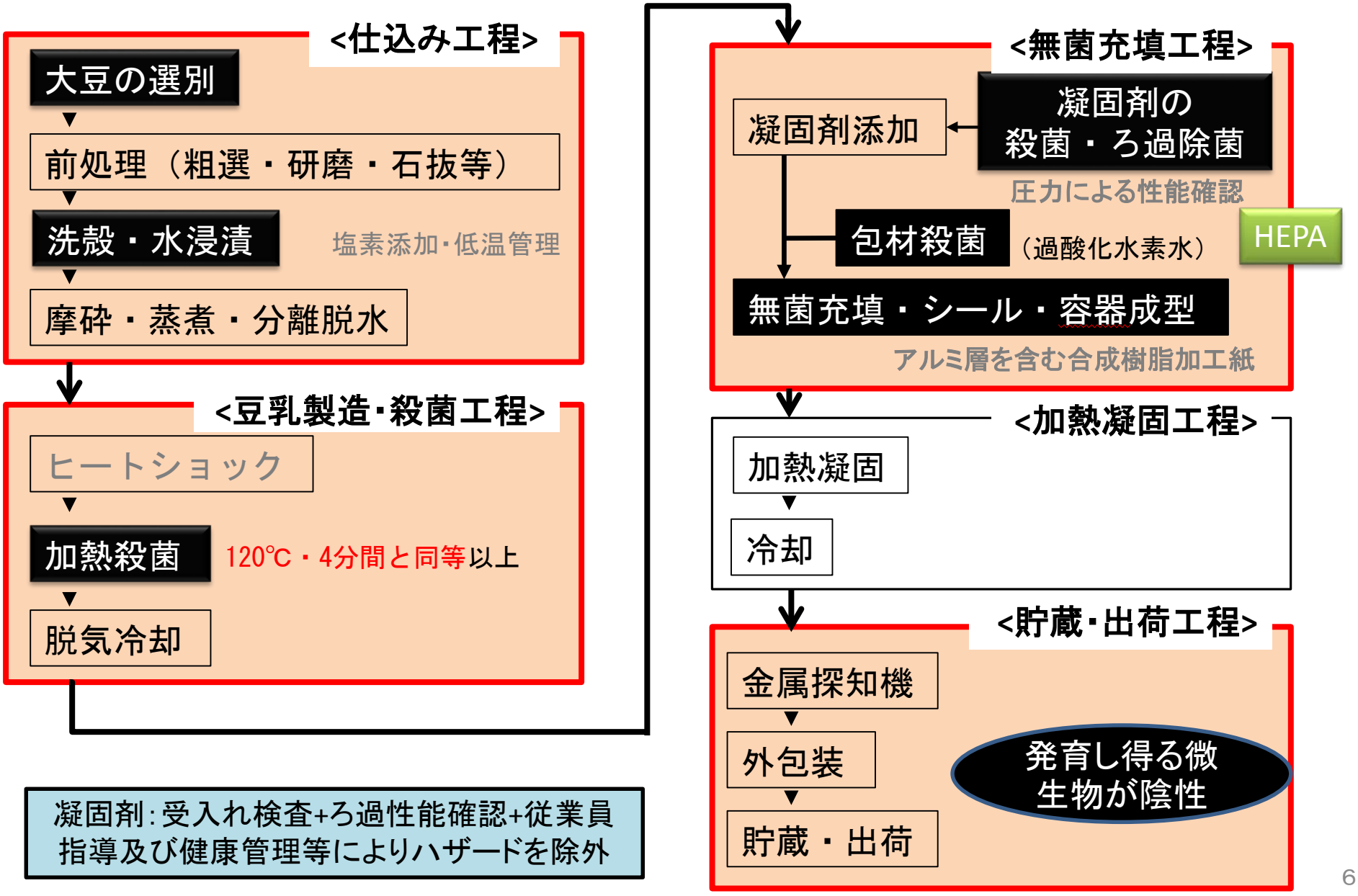
包装豆腐製品（8製品・24検体）

- 一般細菌数は、平均3.4 x 10^{-1} CFU/g （5製品・13検体で陽性）
- 大腸菌群は検出されず
- バチルス属菌が5製品13検体より検出（特に*B. licheniformis*）

無菌充填豆腐（2製品・240検体）

- **一般細菌数、大腸菌群、好気性芽胞形成菌、嫌気性芽胞形成菌（全て陰性）**
- **発育し得る微生物（恒温試験・細菌試験）（全て陰性）**

無菌充填豆腐の製造工程（例）



無菌充填豆腐に必要な条件

＜仕込工程＞

〇原料用大豆は、品質が良好できょう雑物を含まないものでなければならない。

〇原料用大豆は、十分に水洗しなければならない。

＜豆乳製造・殺菌工程＞

〇原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させ、又は除去するのに十分な効力を有する、次の全てを満たす方法で殺菌又は除菌を行うこと。

・豆乳にあっては、120℃で4分間と同等以上で殺菌すること

・凝固剤にあっては、衛生度の高い凝固剤を用いた上で、殺菌又は適切なフィルターを用い、かつ、製造時にフィルター性能を恒常的に確認する方法により除菌すること又はこれと同等以上の効力を有する方法で行うこと。

＜無菌充填工程＞

〇無菌充填が可能な機器を用いて、あらかじめ殺菌した適切な容器包装を用いて、無菌的に充填されていること

＜貯蔵・出荷工程＞

〇最終製品に対する、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格に規定する試験の結果、発育し得る微生物が陰性であること

＜工程全体＞

・豆腐を製造する場合に使用する器具は、十分に洗浄し、かつ、殺菌したもの。

・豆腐を製造する場合に使用する水は、食品製造用水でなければならない。

現行の製造基準も重要な事項と考えられる。（黄色ブドウ球菌等の汚染リスクの除外に有効）

無菌充填豆腐の製造工程で想定される微生物危害要因

- 仕込み工程（原材料及びその取扱い時）
  耐熱性芽胞形成菌（ボツリヌス菌等）の混入
  黄色ブドウ球菌等の混入

- 豆乳製造、加熱凝固、充填、貯蔵・出荷工程
  耐熱性芽胞菌（ボツリヌス菌等）の生残
  ろ過不備等による微生物汚染

無菌充填豆腐の製造工程を通じた細菌汚染動態

施設	検体	検体数	衛生指標菌数（平均値･CFU/g）			
			一般細菌	大腸菌群	好気性芽胞形成菌	嫌気性芽胞形成菌
A	原料大豆	3	7.9E+03	ND	3.5E+03	ND
	浸漬大豆	3	4.3E+06	ND	3.4E+05	ND
	加熱殺菌後凝固剤添加前の豆乳	3	ND	ND	ND	ND
	最終製品	63	ND	ND	ND	ND
B	原料大豆	4	8.2E+03	3.8E+03	9.1E+03	ND
	浸漬大豆	4	7.3E+04	2.5E+04	4.9E+04	ND
	加熱殺菌前凝固剤添加前の豆乳	4	1.25E-01	ND	1.25E-01	ND
	加熱殺菌後凝固剤添加前の豆乳	4	ND	ND	ND	ND
	最終製品	64	ND	ND	ND	ND

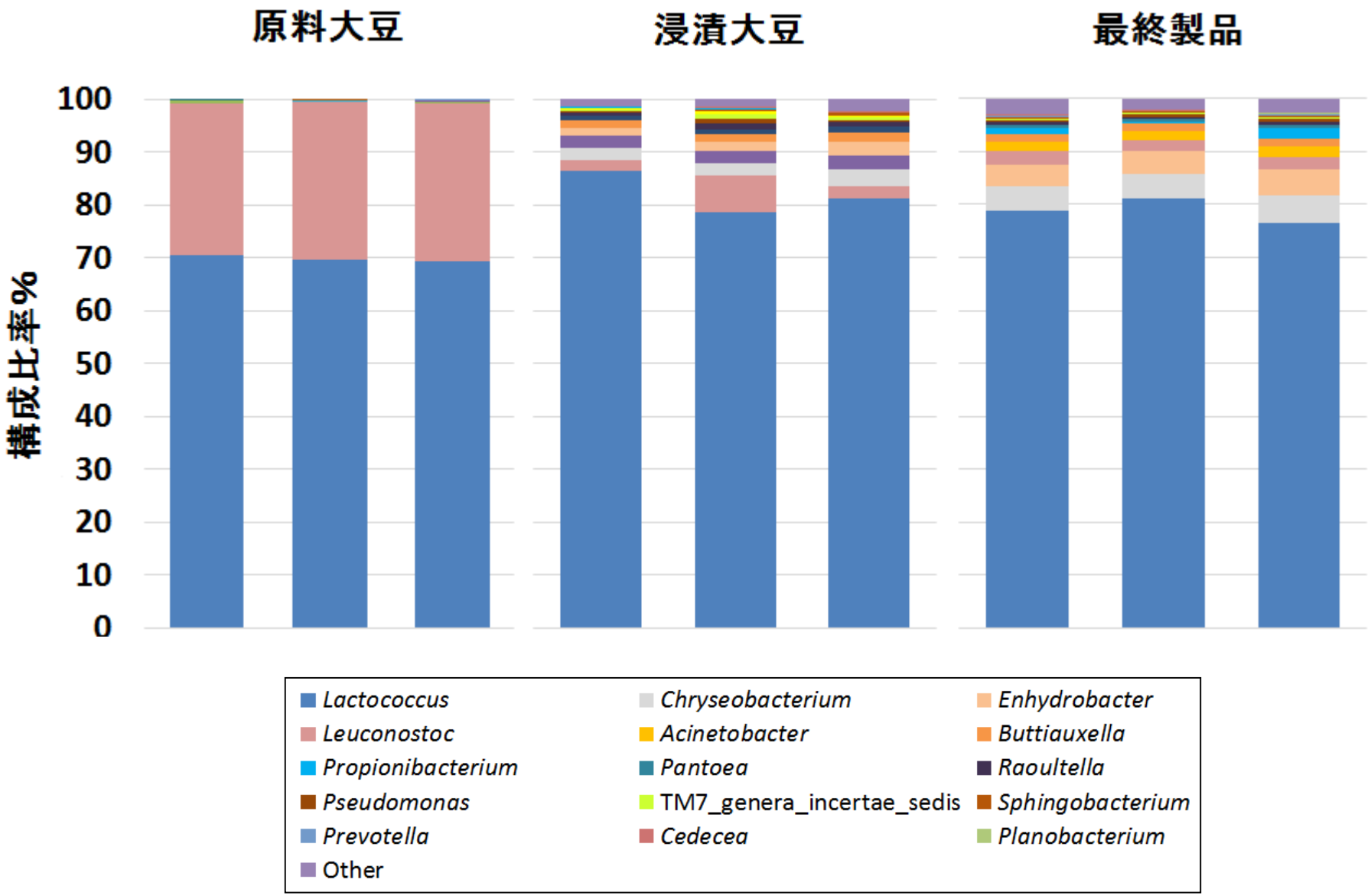
（ND, 検出されず）

無菌充填豆腐の製造環境における細菌検出状況

施設	検体	検体数	衛生指標菌数（平均値･CFU/g）			
			一般細菌	大腸菌群	好気性芽胞形成菌	嫌気性芽胞形成菌
A	大豆秤量槽内壁	4	9.8E+01	ND	ND	ND
	大豆浸漬槽内壁	4	3.9E+05	4.0E+01	3.8E+05	1.5E+03
	床（豆乳製造殺菌）	2	1.0E+05	ND	1.8E+05	ND
	床（充填）	2	1.2E+02	ND	6.0E+02	ND
B	大豆秤量槽内壁	4	7.0E+02	ND	2.0E+02	2.5E+00
	大豆浸漬槽内壁	4	2.7E+07	5.0E+05	9.4E+06	2.9E+04
	床（豆乳製造･殺菌）	2	1.1E+04	2.5E+01	5.2E+03	ND
	床（充填）	4	8.8E+03	5.0E+01	1.8E+03	ND

（ND, 検出されず）

無菌充填豆腐の製造工程（A社）における構成菌叢動態



*Staphylococcus*属菌の検出状況

単位（%）

区分	工程	*Staphylococcus*	*Escherichia/Shigella*
環境	大豆秤量槽内部	2.4028	0.5222
		3.7045	0.0219
		1.0865	0.0873
	大豆浸漬槽内部	0.0000	0.0021
		0.0064	0.0000
		0.0000	0.0000
製品	原料大豆	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
	浸漬大豆	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0044
		0.0000	0.0052
	加熱凝固前	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
	最終製品	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000

原材料取扱い時の汚染は想定されるが、その後の洗浄等で十分に低減可能

容器包装詰加圧加熱殺菌食品の微生物規格基準

～危害要因、保存流通形態等の共通性を踏まえて～

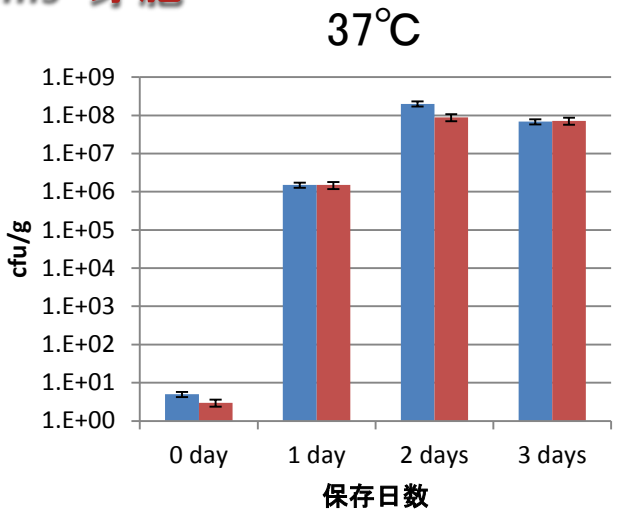
- 加熱殺菌基準：ボツリヌス菌を5D減少させることのできる工程管理基準（例：120℃・4分間）
- 成分規格：発育し得る微生物が検出されないこと

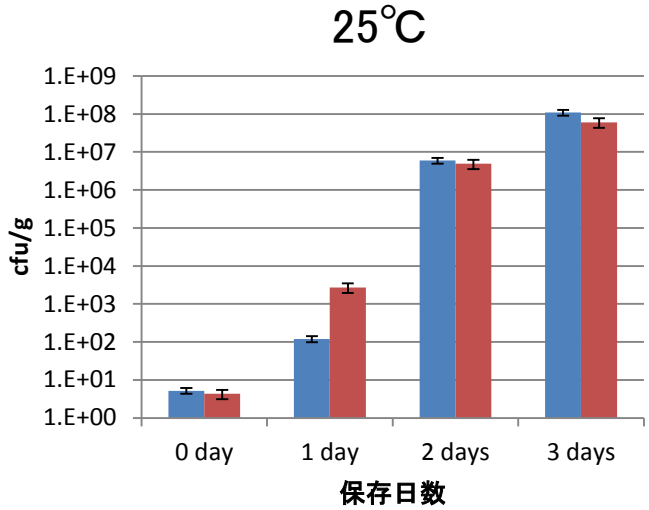
試験項目	操作概要	確認事項	対応
恒温試験	35℃で14日間保持	容器包装の膨張、内容物の漏えいの有無を確認	陰性の場合、細菌試験を実施
細菌試験	10倍乳剤をチオグリコール酸塩培養基にて、35℃で48時間培養	培養基の肉眼観察により、細菌増殖の有無を確認	培養基の何れかに細菌の増殖を認めたものを陽性とする

- 製造施設では、一般細菌を対象とした自主検査を実施
- 各製品につき、計120検体を供試
  - 一般細菌は検出されず（混釈法、60検体）
  - 上記無菌試験において、発育し得る微生物は陰性（60検体）
    （好気性・嫌気性細菌の両者を含む）

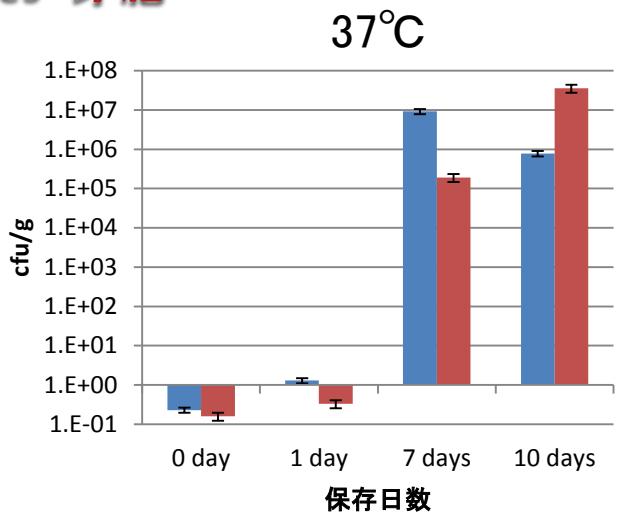
添加回収試験による無菌充填豆腐中での芽胞の増殖挙動

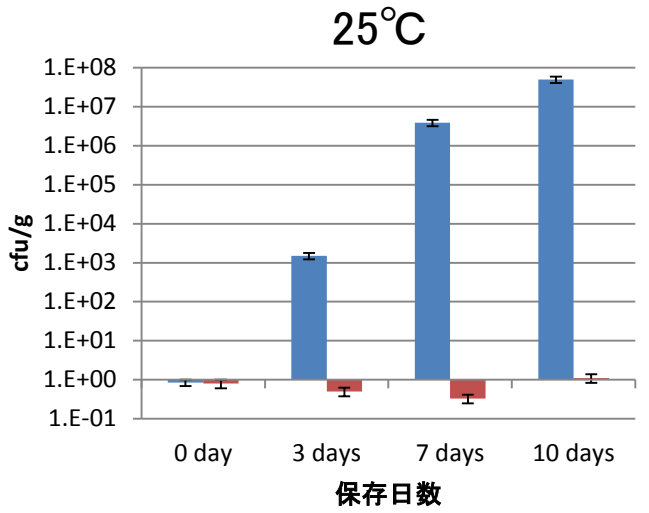
B. licheniformis 芽胞





C. sporogenes 芽胞





製品によらず、工程管理の不備により当該食品中で増殖する恐れがありうる

豆乳中での耐熱性試験等より

無菌充填豆腐の殺菌工程は、容器包装詰加圧加熱殺菌食品と同等のボツリヌス菌制御効果を有することが示された。

無菌充填豆腐の長期保存試験

- 2製品 x 60検体 x 2ロット
  ※賞味期限の各1.1～1.2倍の期間、25℃下で保存
  ⇒　一般細菌の検出試験（混釈法による）
  ⇒　容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格
- 上記2法において、陽性検体は認められず
- 保存後の理化学性状にも顕変は認められず
  （pHおよび酸化還元電位）

ま と め

- 今般、厚生労働省から諮問した豆腐の規格基準の改正に記載のある、「無菌充填豆腐に必要な条件」の遵守により製造される豆腐について、微生物学的安全性は確保されることが示された。
- 又、食品取扱設備等の衛生管理として、各施設で実施する一般衛生管理の適切な実施（管理運営基準の遵守）により、十分な衛生管理が必要不可欠である。
- なお、最終製品において、微生物的危害を適切に除去されていることの検証として、成分規格を設定することが有効であると考えられる。