

## 調製粉乳にセレウスの規格基準を設定することに係る 食品健康影響評価についての論点メモ

### 1. はじめに

食品安全委員会は、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）に基づき調製粉乳にセレウスの規格基準を設定することに対し、厚生労働省より食品健康影響評価について意見を求められた（平成 15 年 10 月 6 日付け厚生労働省発食安第 1006001 号、関係書類を接受）。

今回の食品健康影響評価の要請は、近年報告されている低出生体重児におけるセレウス感染症に対する予防的措置として調製粉乳に対しセレウスの規格基準を設定する必要性について評価するものである。

### 2. セレウスとは

セレウス（*Bacillus cereus*）はグラム陽性の大桿菌で芽胞を形成する。自然界に広く分布し、食品腐敗菌として知られている。日和見感染として敗血症、心内膜炎、髄膜炎、気管支肺炎などの疾病を起し、時に重症化し致命的になる。本菌は 1950 年に食中毒菌として紹介されて以来、世界各国で下痢・腹痛または悪心・嘔吐を主症状とする食中毒を起こすことが明らかになった。わが国でも本菌による食中毒は 1960 年から発生が知られ、食中毒菌に指定されている。

参考：戸田新細菌学（南山堂）

### 3. 背景

#### （1）低出生体重児におけるセレウスの全身性感染症について

近年、我が国において低出生体重児におけるセレウスによる全身性感染症が何例か報告され、重度の場合には死亡例も報告されている。また諸外国においても、セレウスを原因とする低出生体重児のセレウス感染症が報告されている。ただし、調製粉乳との関係については明確にされていない。

#### （2）セレウスによる食中毒事例

セレウスによる食中毒は欧米において、肉類、スープ、米飯等によるものが多く、我が国でも米飯類で発生している。症状は下痢型、嘔吐型が主である。なお、調製粉乳におけるセレウス食中毒事例は報告されていない。

#### （3）国内における調製粉乳に対するセレウスの対策について

現在のところ、乳・乳製品を含めて個別の食品に対する規格基準は設けられていない。厚生労働省は低出生体重児のセレウス感染症の発生報告を踏まえ、

因果関係は不明であるが予防的な措置として、調製粉乳にセレウスの規格基準を設定することを検討している。また社団法人日本乳業協会では、海外での基準設定状況に準じて予防的にセレウス 100 個/g ( MPN 法 ) の自主規制を行っている。

#### ( 4 ) 調製粉乳の規制状況

##### 国内

わが国における調製粉乳の微生物基準は細菌数 ( 50,000 個/g ) 及び、大腸菌群 ( 陰性 ) の 2 項目が乳等省令に定められているが、セレウスについての基準値は設定されていない。

##### オーストラリア、ニュージーランド

100 個/g の規制値を設定している。

##### 米国

FDA ( 米国食品医薬品庁 ) が 1g 当たり 1,000 個/g の規制値を設定しているが、100 個/g とすることを提案中。

#### ( 5 ) 調製粉乳に関する国際的な動向

2003 年 2 月に FAO と WHO が育児用調製粉乳中の *Enterobacter sakazakii* および他の微生物に関する専門家会議を共同で行った。ワークショップはコーデックス食品衛生委員会の「乳幼児と子供のための食品の衛生基準」に関する国際規約改訂のために組織されたものであり、両組織の加盟各国に対し適切な情報提供を行うことを目的とした会議であった。専門家会議は入手可能な科学的情報を検討した上で、育児用調製粉乳中の *E. sakazakii* と *Salmonella* の汚染が重篤な後遺症や死亡を招く乳児の伝染病疾患の原因と結論づけている。なお、セレウスを含む他の微生物と育児用調製粉乳との食中毒の関連性は確認されなかった。

## 4 . 意見聴取の概要

厚生労働省は、近年報告されている低出生体重児におけるセレウス感染症に対する食中毒予防のため、調製粉乳に対してセレウスの規格基準を設定することについて当委員会へ意見を求めた。なお、厚生労働省においては、今回の食品健康影響評価の結果を踏まえ、米国、オーストラリアに準じて、調製粉乳にセレウスの成分規格「 100/g ( MPN 法 ) 」を設定する予定としている。

## 5 . 調製粉乳中のセレウスについての食品健康影響評価

### ( 1 ) 調製粉乳中のセレウスに対する基準値を設定することの必要性について

近年、我が国において低出生体重児におけるセレウスによる全身性感染症が何例か報告され、重度の場合には死亡例も報告されている。また諸外

国においても、セレウスを原因とする低出生体重児のセレウス感染症が報告されている。調製粉乳との関係については明確にされていないものの、乳幼児は微生物やその産生毒素に対する感受性が高いと推定されるため、その安全性の確保が求められる。調製粉乳は乳幼児における唯一の栄養源であることにも考慮するべきである。調製粉乳の製造特性からセレウスに容易に汚染され、調乳後に増殖し毒素を産生することが指摘されている。

## (2) 国際的規制

### コーデックスにおける育児用調製粉乳の取扱い

コーデックスにおける育児用調製粉乳中の細菌による健康被害について、症例との因果関係を根拠として3段階のカテゴリーに分類されており、因果関係が明確であり証明されているものをカテゴリーA、因果関係が明確であるが証明されていないものをカテゴリーB、因果関係が明確でなく証明されていないものをカテゴリーCと分類している。セレウスについては調製粉乳と食中毒の疫学的な関連性が認められないこと、症例が報告されていないことよりカテゴリーCに分類されている。

### オーストラリア、ニュージーランド

100 個/g の規制値を設定している。

### 米国

FDA( 米国食品医薬品庁 )が 1g 当たり 1,000 個/g の規制値を設定しているが、100 個/g とすることを提案中。

### カナダ

カナダ健康保護局は育児用調製粉乳 1g 中の *B. cereus* について  $n = 10$ 、 $c = 1$ 、 $m = 10^2$ 、 $M = 10^4$ \* という微生物ガイドラインを勧告している。

\* )  $n$ : 1 ロットから検査すべき最小サンプル数、 $c$ : 欠陥サンプルの最大許容数、 $m$ : 許容できる菌量、 $M$ : 1 サンプル以上でこの菌量を超えた場合、そのロットは拒絶される菌量。

### オランダ、ポルトガル

100 個/g の規制値を設定している。

### ハンガリー、ポーランド

100 個/g の規制値に同意している。

### スイス

1000 個/g の規制値を設定している。

### イラン、デンマーク

0.01g 中に *B. cereus* が含まれないこととしている( <100/g に相当 )。

## (3) 感染菌量

セレウスによる食中毒では一般成人の場合  $10^5$  以上の菌数が必要との報告がある<sup>6)</sup>。乳児に対する発症菌量は明確ではないが、成人より低いレベルで発症するものと考えられている。溶解した調製粉乳を用いた増殖試験では、 $10^3$ /g レベルが 26 で 24 時間以内に  $10^6$ /g レベルに増加し<sup>7)</sup>、ま

た、30 2 時間、10~12 24 時間で、 $3.2 \times 10^3/\text{ml}$  増加する<sup>8)</sup>。調製粉乳を原因とする食中毒事例に関する国内の発生報告はなく、乳製品による食中毒事例としては1990年に発生した牛乳による1件のみである。海外においては、チリにおける新生児35名(4名死亡)に発生した1件が報告されており<sup>3)</sup>、当該事例では原因食品中の菌量は $10^6$ 以下であり、発症者のうち70%が未熟児、80%が出生時の体重2,500g以下と報告されている。なお、オーストラリアにおける評価においては入手可能なデータを考察し、乳幼児に対する最小感染菌量を $10^5$ と結論づけている<sup>4)</sup>。

#### (4) 原料乳中のセレウスの菌量の季節変動

原料乳中の菌量には季節変動があり、春と夏に最高の菌量となる。また、土壌中の菌量の変動と牛乳中の菌量との関係から、土壌が汚染源となって乳頭を介して牛乳を汚染する可能性も報告されている<sup>9)</sup>。

#### (5) 製造工程

国内における基本的な製造工程

加熱による変化を受けない原料を混合して加熱殺菌してから熱に不安定なビタミン等を混合して製品とする(酪農技術普及学会発行、乳業技術綜典上巻より)。

オーストラリアにおける基本的な製造工程

乾燥品を調合する製造工程によるものと、液状物を混合してから噴霧乾燥する製造工程によるものの2種類の工程がある。前者は最終製品における殺菌工程がないため、構成する乾燥材料の微生物的品質によってその製品の微生物的品質が決まる。また後者は製造工程中の加熱処理によりセレウスの栄養細胞は不活性化されるが、芽胞はこのような加熱処理でも生残するだけでなく加熱処理自体が芽胞の発芽を促す。最終製品は水分活性が低く、セレウスが増殖するようなことはないとされている<sup>4)</sup>。

#### (6) 調製粉乳の汚染実態

国内での汚染実態

国内における調製粉乳の汚染実態について、平成15年1月から平成16年7月に国内製造者が行った検査によると、直接法(塗抹平板培養)で7,402件の検査を行い、結果はすべて $<100/\text{g}$ であった。またMPN法(最確数)で1,453件の検査を行い、うち214件が陽性ですべて $0.3 \sim 10/\text{g}$ であった。これらの結果は(社)日本乳業協会にて設定している自主基準( $<100/\text{g}$ )を満たしていた<sup>資料6)</sup>。原材料については一部直接法にて30個/gとの結果があり、業界の自主基準を満たす結果であった。

海外での汚染実態

17カ国の育児用調製粉乳に対してセレウスの汚染を調べた報告によると、194試料のうち104試料(53.6%)にセレウスの汚染があり、そのう

ちの 83 試料 ( 79.8% ) が 0.3 ~ 10/g、17 試料 ( 16.3% ) が 10 ~ 100/g、4 試料 ( 3.8% ) が > 100/g であった。<sup>5, 資料 6)</sup>。また、1995 年のニュージーランドでの ‘ 育児用調製粉乳の化学的および微生物的組成 - ESR 委員会からの保健/公衆衛生大臣への報告 ’ によると、市場から入手できる 20 種の市販育児用調製食品を調査したところ、8 種の試料で低菌数 ( 7 試料で 20 個/g、1 試料で 40 個/g ) の汚染を認め、その他の全ての試料 10 個/g またはそれ以下であった<sup>4)</sup>。また、2000 年から 2001 年にかけて Anchor Products 社が提供したデータでは、調製粉乳の 82.2% は < 10 個/g、15.8% は 10-90 個/g の範囲、0.8% は 100-140 個/g、1.2% は 150-1,000 個/g の範囲であった<sup>4)</sup>。

## ( 7 ) 調製粉乳とセレウス感染症の因果関係

### 国内における事例

新生児におけるセレウス感染症の報告 ( 学会発表も含む ) は、厚生労働省が把握している症例として、日本新生児学会 ( 3 例 ) 及び日本未熟児新生児学会 ( 2 例 ) の 5 例である。これらの症例について各担当医に確認を行ったところ、調製粉乳を摂取している症例が 1 例、調製粉乳による経腸栄養が実施されたものの成立しなかった症例が 1 例、調製粉乳を使用しなかった症例が 3 例であった<sup>資料 4)</sup>。また、調製粉乳を摂取している症例については、調製粉乳中のセレウスとセレウス感染症の因果関係が PCR 検査により否定されていた<sup>1)</sup>。

### 海外における事例

1970 年以降の乳児 22 症例 ( 新生児 17 例、低出生体重児と確認できるのは 14 例 ) におけるセレウス感染症について報告されているが、調製粉乳とセレウス感染症との因果関係を示す報告はない<sup>2)</sup>。また、チリにおいて粉ミルクが原因となった新生児のセレウス感染症について報告されているが、原因は調乳後の取扱いによるものであった<sup>3)</sup>。

## ( 8 ) 調製粉乳の摂取状況

### 国内での状況

国内における調製粉乳の摂取状況は、厚生省児童家庭局母子保健課による平成 7 年乳幼児栄養調査によれば、1 か月時で「母乳栄養」46.2%、「混合栄養」45.9%、「人工栄養」7.9%、3 か月時で「母乳栄養」38.1%、「混合栄養」34.8%、「人工栄養」27.1%となっている。また、離乳の時期については「離乳の開始」は 5 か月が 43.5% と最も多く、「4 ~ 6 か月」で 9 割弱となっている。「離乳の完了」は 12 ヶ月が 60.8% と最も多く、「13 ~ 15 か月」で 9 割強である<sup>資料 5)</sup>。

### 諸外国での状況

オーストラリアにおいては、1995 年に行われた国民栄養調査によると 1 か月時で「母乳栄養」70.3%、「混合栄養」2.7%、「人工栄養」25.1%、

3 か月時で「母乳栄養」57.8%、「混合栄養」32.2%、「人工栄養」23.1%である<sup>4,資料5</sup>）。

#### (9) 調乳後のセレウスの増殖

調乳及び冷却・保存の方法により食中毒を発生しうるセレウスの菌量になる可能性が報告されている。チリで発生した乳児のセレウス食中毒事例の発生原因は、調乳後の取扱いの問題によるものと報告されている。この報告によれば調製粉乳中のセレウスの菌数は50~200/gであり、調乳後の保存方法等の取扱いに関する問題点が指摘されている<sup>3)</sup>。また、低温条件下におけるセレウスの増殖および毒素産生能について報告もあるが、おおむね低温で保管された場合には重大な問題が発生しないという結果であった<sup>6,8,10,11)</sup>。調乳後の取扱いについて、アメリカにおける授乳調査では、33%の母親が調製粉乳を温めた水道水で調乳し、15%の母親が残った調製乳を2時間以上も室温で放置していることがわかった。シドニーで実施された授乳調査では、14%の母親が、冷却した沸騰水のかわりに沸かしてすぐの沸騰水を使用して調乳しており、1人の母親は水道水を直接使用していた。また、同じ調査で多くの母親(94%)が、一度に多くの哺乳瓶に調乳してそれを必要になるまで冷蔵庫に保管していることも明らかになった。さらに、時々余分に調乳したものを保温容器に入れて運んでいる母親も多くいた。また、これらの母親の3分の2が調乳後にあらかじめ温めてから保温容器に入れると報告している。この調査は、消費者の中には不適切に調乳したり保管したりする人たちがいることを示している<sup>4)</sup>。また、小児科医への聞き取り調査において、小児用調製粉乳の調乳から授乳までの時間がかかること、再加熱を行っていること等の国内の病院における実態についての指摘があった。

#### 参考文献

- 1) 辻 章志, 木下 洋, 北村 直行, 辰巳 貴美子, 大橋 敦, 竹安 晶子, 伊藤 太一, 畑埜 泰子: *Bacillus cereus* による新生児敗血症? NICU内での *Bacillus cereus* 定着の危険性とその対策? . 日本周産期・新生児医学会雑誌, 40, 534-538 (2004).
- 2) Hilliard J. N., Schelonka L. R. and Waites B. K. : *Bacillus cereus* Bacteremia in a Preterm Neonate. J. Clin. Microbiol., 41, 3441-3444 (2003).
- 3) Cohen, J., Marambio, E., Lynch, B., and Moreno, A. : Infección por *Bacillus cereus* en recién nacidos. Revista Chilena de Pediatría . 55, 20-25 (1984).
- 4) Final Assessment Report, Food Standards Australia New Zealand, Application A454. (18 February 2004).
- 5) Becker, H., Schaller, G., Wiese, W. and Terplan G. : *Bacillus cereus* in infant

- foods and dried milk products. *Int J Food Microbiol*, 23,1-15 (1994).
- 6) The International Commission on Microbiological Specifications for Foods ( ICMSF ) of the International Association of Microbiological Societies, 5, 21-35 (1996).
  - 7) Federal Register, U. S. A., 5, 21-35 (9 July 1996).
  - 8) Initial Assessment Report, Food Standards Australia New Zealand, Application A454. (19 March 2003).
  - 9) Crielly, E.M., Logan, N.A., and Anderton, A. : Studies on the *Bacillus* flora of milk and milk products. *Journal of Applied Bacteriology*, 77, 256-263 (1994).
  - 10) Rowan, J. N. and Anderson, J. G. : Diarrhoeal enterotoxin production by psychrotrophic *Bacillus cereus* present in reconstituted milk-based infant formulae (MIF). *Lett Appl Microbiol.*, 26 161-165 (1998).
  - 11) Rowan, J. N., Anderson, G. J. and Anderton A. : Bacteriological quality of Infant milk formulae examined under a variety of preparation and storage conditions. *J. Food Prot.*, 60,1089-1094 (1997).