

「生の野菜・果物を加工・提供する施設」における製品等の微生物検査

藤原茜 鹿島かおり 千葉雄介 吉野典孝 大塚佳代子 島田慎一 石井里枝

Microbiological examination for products and others
in facilities processing and providing fresh vegetables and fruits

Akane Fujiwara, Kaori Kashima, Yusuke Chiba, Noritaka Yoshino, Kayoko Otsuka, Shin-ichi Shimada, Rie Ishii

はじめに

本県では、「安全な食品の生産・供給の促進」、「生産から消費にわたる監視・指導の徹底」、「県民参画による相互理解と信頼関係の構築」を図り、「埼玉県の食の安全・安心」を確保することを目的として埼玉県食品衛生監視指導計画¹⁾を策定している。埼玉県衛生研究所ではこれに基づいて、保健所等の食品衛生監視員が収去した食品の微生物検査及び理化学検査を実施している^{2,3)}。令和元年度は619検体について微生物検査を実施した。

埼玉県では、野菜を原因食品とした腸管出血性大腸菌食中毒が過去3年間で2件発生している⁴⁾（さいたま市、川口市、川越市、越谷市を除く）。そのため、令和元年度は、「生の野菜・果物を加工・提供する施設」に対する重点監視指導が行われた¹⁾。これに伴い、当所では各保健所食品監視担当及び本庁食品安全課との事前協議の下、「生の野菜・果物を加工・提供する施設」から収去した製品（以下、生食用カット野菜とする）に加え、当該施設の機械器具等拭き取り検体（以下、拭き取りとする）、製造・加工工程の途中にある半製品（以下、中間製品とする）及び使用水の検査を令和元年夏期に行った。本報ではその概要を報告する。

材料及び方法

1 供試検体

令和元年6月から令和元年9月までの期間、各保健所が8施設（A～H）から収去した生食用カット野菜19検体、拭き取り47検体、中間製品12検体及び使用水2検体の合計80検体について検査を実施した。

2 検査項目

生食用カット野菜については、弁当及びそうざいの衛生規範⁵⁾における未加熱そうざいの検査項目である細菌数に加え、E. coli（糞便系大腸菌群）⁶⁾及び腸管出血性大腸菌 O26, O103, O111, O121, O145及びO157（以下、腸管出血性大腸菌とする）の定性試験を行った。

拭き取り、中間製品及び使用水については、E. coli 及び腸管出血性大腸菌の定性試験を実施した。

3 検査方法

厚生労働省の通知で示された検査法^{5,7,8)}をもとに、当所で策定した検査実施標準作業書に準じて実施した。

以下に検査の概要を示した。

(1) 試料液の調製

生食用カット野菜及び中間製品は、検体25 gと滅菌リン酸緩衝希釈水（以下、PBとする）225 mLを滅菌ストマッカー一袋にとり、1分間ストマッキングし、これを試料液（10倍希釈液）とした。さらに試料液をPBにより希釈し、 10^2 ～ 10^5 倍希釈液とした。

拭き取りは、拭き取り検査キット（フキトレール、関東化学）の滅菌希釈水を捨ててから検査対象を拭き取ったものに、キャップ部を外しPBを10 mL入れた後、約10秒間混和したものを試料液とした。

使用水は、メンブランフィルター（孔径0.45 μm, ADVANTEC）を用いて3 Lろ過した後、このメンブランフィルターをストマッカー一袋に入れPB10 mLを加え混和したものを試料液とした。

(2) 細菌数

(1)で調製した 10^2 ～ 10^5 倍希釈液各1 mLを滅菌シャーレ各2枚に接種し、標準寒天培地で混積し、 $35.0^\circ\text{C} \pm 1.0^\circ\text{C}$ で48時間±3時間培養後、集落数を計測した。未加熱そうざいの基準値（ $1.0 \times 10^6/\text{g}$ ）を超過した場合、衛生規範不適合とした。

(3) E. coli

生食用カット野菜は、(1)で調製した 10^2 倍希釈液1 mLずつを3本のECはっ酵管に、拭き取り、中間製品及び使用水は(1)で調製した試料液1 mLを1本のECはっ酵管にそれぞれ接種した。 $44.5^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$ で24時間±2時間培養後、ガス発生が認められたECはっ酵管から1白金耳量をEMB培地へ画線塗抹し、 $35.0^\circ\text{C} \pm 1.0^\circ\text{C}$ で24時間±2時間培養した。EMB培地における金属光沢～暗紫赤色の集落を乳糖ブイオンはっ酵管及び普通寒天斜面培地に移植した。乳糖ブイオンはっ酵管については $35.0^\circ\text{C} \pm 1.0^\circ\text{C}$ で48時間±3時間培養し、ガス発生の有無を確認した。普通寒天斜面培地については $35.0^\circ\text{C} \pm 1.0^\circ\text{C}$ で24時間±2時間培養し、グラム染色を行い鏡検した。乳糖ブイオンはっ酵管におけるガス発生及びグラム陰性無芽胞桿菌を認めた場合をE. coli陽性とした。

(4) 腸管出血性大腸菌

生食用カット野菜及び中間製品は検体25 gにmEC培地225 mLを加えてストマッキングした。拭き取り及び使用水は(1)で調製した試料液5 mLを倍濃度mEC培地5 mLに接種し混和した。それぞれ42.0°C±1.0°Cで22時間±2時間増菌培養後、増菌培養液からDNA抽出を行い、VT遺伝子検出試験等を実施した⁸⁾。

結果

生食用カット野菜の検査結果を表1に、拭き取りの検査結果を表2に、中間製品の検査結果を表3に、使用水の検査結果を表4に示した。生食用カット野菜は19検体中1検体が衛生規範不適合であった。拭き取り、中間製品及び使用水でいずれかの検査項目で陽性を示した検体は61検体中4検体であった。

衛生規範不適合の検体はベースサラダ (No. 16) で、細菌数 $1.7 \times 10^6/g$ であった。それ以外の検体は15検体 (No. 3~11, No. 13~19) が $7.4 \times 10^2/g \sim 8.7 \times 10^4/g$, 3検体 (No. 1, No. 2, No. 12) が定量限界以下の300以下/gであった。生食用カット野菜の E. coli 及び腸管出血性大腸菌は、全ての検体で陰性であった。

表1 生食用カット野菜の検査結果

No.	検体名	施設	細菌数 (/g)	E.coli	腸管出血性大腸菌
1	キャベツスライス	A	300以下	—	—
2	レタスカット	A	300以下	—	—
3	玉葱スライス	A	8.7×10^4	—	—
4	人参スティック	A	7.4×10^2	—	—
5	胡瓜スライス	A	8.4×10^4	—	—
6	せん切りキャベツ	B	1.3×10^3	—	—
7	大根おろし	C	5.5×10^3	—	—
8	大根つま	C	2.8×10^3	—	—
9	キャベツ千切り	C	8.7×10^2	—	—
10	カットレタス	C	2.9×10^3	—	—
11	グリーンリーフ	C	1.0×10^4	—	—
12	カット大根	D	300以下	—	—
13	小ねぎ	D	4.8×10^4	—	—
14	青ネギスライス	D	2.1×10^3	—	—
15	ツナコーンサラダ	E	4.3×10^3	—	—
16	ベースサラダ	F	1.7×10^6	—	—
17	緑の野菜のサラダ	F	3.1×10^4	—	—
18	国産じゃがいものポテトサラダ	G	4.3×10^3	—	—
19	生食用キャベツ	H	4.4×10^3	—	—

拭き取りは47検体中3検体、使用水は2検体中1検体が E. coli 陽性であった。製品番重 (No. 37), 下処理室包丁 (No. 39), 下処理室まな板 (No. 40) の拭き取り及びストリーマー (水流搬送式食品洗浄機) 内の使用水 (No. 2) が E. coli 陽性であった。腸管出血性大腸菌は全ての検体で陰性であった。中間製品の12検体は、E. coli 及び腸管出血性大腸菌は全ての検体で陰性であった。

なお、生食用カット野菜が衛生規範不適合であった検体については、保健所が衛生指導を行った。また、拭き取り及び使用水の検体で陽性の項目があった場合も、検査結果をもとに被取去者に対して食品衛生監視員が衛生管理の指導等を行った。

表2 拭き取りの検査結果

No.	検体名	施設	E.coli	腸管出血性大腸菌
1	洗浄後のキャベツが入っていたカゴ	A	—	—
2	計量前のキャベツを投入するステンレス槽	A	—	—
3	キャベツを計量している人の手袋	A	—	—
4	2F包装室のキャベツ計量用ステンレスボウル	A	—	—
5	芯とりカットのベルト裏	B	—	—
6	スライス(ベルト表(入口))	B	—	—
7	スライス(ベルト表(出口))	B	—	—
8	ベルト表	B	—	—
9	ベルト裏	B	—	—
10	脱水機(ふた表面)	B	—	—
11	計量(金属ベルト裏)	B	—	—
12	検品台	C	—	—
13	カゴ	C	—	—
14	手袋	C	—	—
15	ボウル	C	—	—
16	エプロン	C	—	—
17	スライサーカバー内側 青ネギ洗浄後	D	—	—
18	脱水機内側壁面 洗浄後	D	—	—
19	包装ラインコンベア 洗浄後	D	—	—
20	カット大根包丁 使用中	D	—	—
21	カット大根まな板 使用中	D	—	—
22	脱水機内フタ	E	—	—
23	脱水機スイッチ	E	—	—
24	ラクーン槽内	E	—	—
25	ランドリー槽内	E	—	—
26	アルコールスプレー	E	—	—
27	ザル	E	—	—
28	スライサーカバー内側(グリーンカール) 作業中	F	—	—
29	脱水機内側カバー(玉ネギ) 作業中	F	—	—
30	ラクーンガイド(グリーンカール) 作業中	F	—	—
31	ラクーン洗浄機 1槽目	G	—	—
32	ラクーン洗浄機 製品出口	G	—	—
33	脱水機スイッチ	G	—	—
34	脱水機槽内ザル内側	G	—	—
35	バッチ殺菌 2槽目	G	—	—
36	重量チェック表用ボールペン	G	—	—
37	製品番重	G	+	—
38	製品ライン容器置き台	G	—	—
39	下処理室 包丁	H	+	—
40	下処理室 まな板	H	+	—
41	スライサーコンベア(洗浄済)	H	—	—
42	殺菌槽 フタ	H	—	—
43	チラー槽 フタ	H	—	—
44	脱水機 内部	H	—	—
45	計量 カゴ(黄色)取っ手	H	—	—
46	計量 ボール	H	—	—
47	出荷冷蔵庫 加工室側取っ手	H	—	—

表3 中間製品の検査結果

No. 検体名	施設	E.coli	腸管出血性大腸菌
1 殺菌前中間品	B	—	—
2 スライサー後カット青ネギ	D	—	—
3 脱水後カット青ネギ	D	—	—
4 グリーンカール	E	—	—
5 にんじん千切り	E	—	—
6 キャベツ千切り	E	—	—
7 きゅうり	F	—	—
8 グリーンカール	F	—	—
9 レタス	F	—	—
10 オニオン	F	—	—
11 パプリカ	F	—	—
12 きゅうりスライス(殺菌済)	G	—	—

表4 使用水の検査結果

No. 検体名	施設	E.coli	腸管出血性大腸菌
1 水	A	—	—
2 使用水(ストリーマー内)	B	+	—

まとめ

今回の検査では、生食用カット野菜の衛生規範不適合は1検体のみで、E. coli 及び腸管出血性大腸菌による汚染は確認されず、中間製品も陰性であったことから、おおむね適切な衛生管理が行われているものと思われた。また、拭き取り、中間製品及び使用水からも腸管出血性大腸菌は確認されなかったが、一部の機械器具や使用水は E. coli が陽性であった。農林水産省による調査結果⁹⁾によると、一部の野菜試料から大腸菌が検出されている。今回 E. coli が陽性だった拭き取りの包丁とまな板は原料野菜の下処理用で、使用水は原料野菜を洗浄するストリーマー内から採取された。いずれも殺菌工程前の原料野菜に触れるものであり、殺菌前の原料野菜に付着していたものと予想される。これらの拭き取りや使用水を採取した施設の生食用カット野菜は E. coli が陰性であったことから、殺菌等の工程により E. coli が除去できたものと思われる。番重は生食用カット野菜を置くのに使用していたものであり、機械器具等の適切な洗浄・消毒により、生食用カット野菜への汚染を防ぐことが大切である。

なお、今回の検査を行うに当たり、「0157検査データ評価マニュアル」の改正¹⁰⁾が行われた。このマニュアルは、埼玉県食の安全推進会議¹¹⁾において課題解決専門部会として設置される 0157検査データ評価部会で、信頼性確保部門責任者による検査過程の信頼性の評価に用いられる。腸管出血性大腸菌の検査法は平成9年に示されてから、複数回の改定が行われており、その都度、検査体制の見直しが行われている。今回検査を行うにあたり、本マニュアルについても見直しが行われたことで、腸管出血性大腸菌による健康危害発生時の検査体制を再確認することができた。

今後も保健所等と協力して収去検査等を実施し、データを還元することにより食品衛生の向上に寄与したいと考えている。

文献

- 1) 埼玉県：埼玉県食品衛生監視指導計画2019. 平成31年4月1日
<http://www.pref.saitama.lg.jp/a0708/kanshi-shido/kanshi-keikaku/h31-kanshikeikaku/documents/kanshikeikaku2019.pdf> (令和2年7月9日現在)
- 2) 石井里枝, 島田慎一, 吉田栄充：埼玉県衛生研究所の業務紹介—食品検査(理化学, 微生物及び放射能検査)を中心に. Foods & food ingredients journal of Japan, 225, 12-20, 2020
- 3) 吉野典孝, 野口貴美子, 河手達彦, 他：埼玉県衛生研究所における収去食品の微生物検査実施状況. 埼玉県衛生研究所報, 52, 110-117, 2018
- 4) 厚生労働省：4. 食中毒統計資料. 令和2年7月7日
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html (令和2年7月9日現在)
- 5) 厚生省環境衛生局食品衛生課長：弁当及びそごいの衛生規範について. 昭和54年6月29日環食第161号
- 6) 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. 179, 東京, 2015
- 7) 厚生省：食品, 添加物等の規格基準. 昭和34年12月28日厚生省告示第370号
- 8) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長：腸管出血性大腸菌 026, 0103, 0111, 0121, 0145及び0157の検査法について. 平成26年11月20日食安監発1120第1号
- 9) 農林水産省：生食用野菜における腸管出血性大腸菌及びサルモネラの実態調査結果. 平成22年6月8日
https://www.maff.go.jp/j/syuan/nouan/kome/k_yasai/pdf/press.pdf (令和2年7月9日現在)
- 10) 保健医療部長：0157検査データ評価マニュアルの一部改正について(通知). 令和元年6月11日食品安第151-1号
- 11) 食品安全局長：埼玉県食の安全推進会議等運営要領. 平成15年6月17日生衛第22012号