# アイスクリーム類の細菌汚染実態調査

Study on Contaminaition of ice cream

中村 久子 小泉 光 坂上 亜希恵 木村 葉子\*<sup>1</sup> 小林 妙子 渡邉 節

Hisako NAKAMURA, Hikari KOIZUMI, Akie SAKAGAMI, Yoko KIMURA, Taeko KOBAYASHI, Setsu WATANABE

宮城県内で製造されたアイスクリーム類の細菌汚染の実態を調査し、保健所の衛生指導の一助とすることを目的に、平成 26 年度から平成 27 年度にかけて県内のアイスクリーム類 71 検体の買上検査を実施した。延べ 6 施設 12 検体で汚染(細菌数超過 5 検体、大腸菌群陽性 6 検体、食中毒原因菌検出 6 検体)が確認されたが、そのうち 1 施設で製造工程ごとに施設の汚染調査を実施し、汚染箇所の特定を行い指導したところ、効率的指導により改善が認められた。

キーワード: アイスクリーム類, 細菌数 (標準平板菌数), 大腸菌群, 食中毒原因菌 *Key words*: ice cream; standard plate count; colifom group bacteria; bacteria causing foodborne diseases

#### 1 はじめに

アイスクリーム類は「乳及び乳製品の成分規格等に 関する省令」により、その分類及び規格が定められた 食品である。幼児から高齢者まで広く食される嗜好品 であるが、栄養が豊富で、かつ保存料の使用が認めら れていないうえ、そのまま喫食される食品であること から、不適正な取扱いによって食中毒等の重大な事故 が発生するおそれがある。そのため、製造所や販売所 における衛生管理が重要である。

本県では、平成 22 年 1 月にソフトクリームを原因とする黄色ブドウ球菌による大規模な食中毒が発生している。また、例年食品収去検査においても成分規格違反(細菌数超過、大腸菌群陽性)が認められ、保健所において回収命令等の措置及び衛生指導を行っているところである。そこで、県内の製造業者におけるアイスクリーム類の汚染実態を把握し、保健所の衛生指導の一助とすることを目的に調査を実施した。

### 2 対象および検査方法

#### 2.1 対 象

## 2.1.1 買上検査

平成26年5月から平成27年7月に宮城県内で製造されたアイスクリーム類14施設(A~N)57検体を買い上げし、成分規格検査(細菌数及び大腸菌群)を実施するとともに食中毒原因菌(黄色ブドウ球菌,セレウス菌、リステリア菌、サルモネラ属菌、大腸菌、エルシニア菌)の分離を試みた。

また、継続汚染の有無を確認するため、1回目の買上検査で汚染が確認された2 施設 (D,J) と汚染が確認されなかった1 施設 (B) のアイスミルク 14 検体について同様の検査を実施した。

検査結果は、製造所を管轄する保健所に適時情報提供 を行い、各保健所において製造施設の衛生指導等を行っ た。

なお、今回の検査は、公定法で定められている検査供 試時間(検体採取から4時間以内)を超過して検査を行っているため、成分規格違反が確認された場合でも回収 命令等の行政処分は行っていない。

#### 2.1.2 施設調査

買上検査で汚染が確認された 1 施設 (N) については、保健所と合同で施設調査を行った。原材料及びふきとりを検体として検査を実施し、原因の究明を試みた。

### 2.2 方 法

#### 2.2.1 買上検査

アイスクリーム類 71 検体の成分規格検査は、食品衛生法の公定法に従った。食中毒原因菌については、検体20gを無菌的に量り取り、滅菌生理食塩水 20ml を加えてストマッカーで1分間混合した後、「宮城県保健環境センター食中毒検査マニュアル」に従って、各菌の培養及び分離を行った。

#### 2.2.2 施設調査

調査は、買上検査の結果を踏まえ保健所が衛生指導を行った後(1回目)と1回目の施設調査を受けて保健所が衛生指導を行った後(2回目)の2回実施した。1,2回あわせて原材料5検体及びふきとり26検体を採取した。検査項目は成分規格の他、買上検査の結果を考慮して大腸菌、黄色ブドウ球菌及びセレウス菌とした。原材料は、買上検査と同様の方法で検査を行い、ふきとりはふきふきチェックIII(栄研化学)を使用した。

なお、菌種の同定には、BBL CRYSTAL (日本ベクトン・ディッキンソン)を使用した。

#### 3 結 果

## 3.1 アイスクリーム類の汚染状況

#### 3.1.1 第1回買上検査結果

14 施設 (A~N) のアイスクリーム類計 57 検体を検査した結果,5 施設 10 検体で汚染が確認された(表 1)。アイスミルク 4 検体 (7.0%) で細菌数を超過し、アイスクリーム 2 検体、アイスミルク 4 検体の計 6 検体 (10.5%) から大腸菌群が検出された。また、アイスクリーム 1 検体 (1.8%) から黄色ブドウ球菌 (エンテロトキシン C,D)、アイスミルク 4 検体 (7.0%) からセレウス菌 (エンテロトキシン産生)が検出された。

細菌数超過検体のうち、N 施設の 3 検体中 2 検体は、追加検査により乳酸菌の混入が認められた。残りの 1 検体は、セレウス菌が  $1.1 \times 10^5 \mathrm{CFU/g}$  検出されていることから原材料もしくは環境由来のセレウス菌による汚染と思われた。

大腸菌群陽性となった検体について菌種を同定したところ, Enterobacter 属, Klebsiella 属及び Kluyvera 属等であった。

また、N施設の2検体からは、公定法では検出されなかった大腸菌群が食中毒原因菌検査法により検出された。菌種はKlebsiella属とEnterobacter属であった。

検査結果を踏まえ、各保健所において汚染を確認した 製造施設の指導を行ったところ、主な推定汚染原因は、 表2のとおりであった。従業員の手指及び器具洗浄の不 備が2施設(A,J)、衛生意識の欠如及び工程管理の不 備1施設(D)、製造時の温度管理及び副原材料の殺菌 不良のおそれが1施設(G)であった。また、乳酸菌が 混入していたN施設では、当該製品製造前に発酵乳を使 用した製品を製造していたことから、製品切り替え時等 の器具洗浄及び温度管理の不備が原因で乳酸菌が残留、 増殖したと推定された。なお、各製造施設とも指導事項 を改善し、自主検査を実施して製品の衛生状態を確認し たのちに、販売を開始している。

表 1 第 1 回買上検査結果

製造施設	分類	検体数	汚染 検体数	公定法		食中毒原因菌検査		
				細菌数	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	セレウス菌	大腸菌群
A	アイスクリーム	5	2		2	1		
В	アイスミルク	5						
С	アイスクリーム	2						
U	ラクトアイス	1						
D	アイスミルク	5	2		2			
E	アイスミルク	1						
<u> </u>	ラクトアイス	1						
F	アイスクリーム	3						
G	アイスミルク	6	1	1			1	
Н	アイスクリーム	3						
"	アイスミルク	3						
I	アイスミルク	3						
J	アイスミルク	3	1		1			
K	アイスクリーム	3						
L	アイスクリーム	3						
M	アイスクリーム	4						
N	アイスミルク	6	4	3	1		3	2
合計		57	10	4	6	1	4	2

製造施設	細菌数超過 検体数	大腸菌群 陽性検体数	食中毒菌 検出検体数	推定汚染原因
A		2	1	従業員の手指及び器具洗浄の不備
D		2		   衛生意識の欠如及び工程管理の不備 
G	1		1	製造時の温度管理及び副原材料の 殺菌不良のおそれ
J		1		   従業員の手指及び器具洗浄の不備 
N	3	1 (2)**	3	器具洗浄の不備及び温度管理の不備

表 2 第 1 回買上検査汚染施設における推定汚染原因 (保健所)

※ ( )内は食中毒原因菌検査による大腸菌群検出数

製造施設	分類	検体数	汚染 検体数	公定法		食中毒原因菌検査		
<b>发</b> 旦				細菌数	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	大腸菌群	
В	アイスミルク	3					1	
D	アイスミルク	6	2	1		1		
J	アイスミルク	5						
合計		14	2	1		1	1	

表 3 第 2 回買上検査結果

表 4 第 2 回買上検査汚染施設における推定汚染原因 (保健所)

製造施設	細菌数超過 件数	大腸菌群 陽性件数	食中毒菌 検出件数	推定汚染原因
В		(1)**		手袋の交換及び器具洗浄の不備
D	1		1	器具消毒の不備, 衛生意識の欠如及び 従事者の手指消毒の不備

※ ( )内は食中毒原因菌検査による大腸菌群検出数

#### 3.1.2 第2回買上検査結果

継続した汚染があるか否かを調査するため、第1回買上検査で汚染が確認された 2 施設 (D, J) と、参考として汚染が確認されなかった 1 施設 (B) の計 3 施設についてアイスミルク 14 検体を検査した (表 3)。その結果、1 施設 (D) で細菌数超過と食中毒原因菌(黄色ブドウ球菌(エンテロトキシン (L,D))がそれぞれ 1 検体ずつ別々の検体で検出された。細菌数超過検体では乳酸菌の混入が認められた。(D) 施設における第1回買上検査の汚染項目は大腸菌群が陽性であったことから、同じ菌種による継続汚染ではないことがわかった。

なお、B施設の1検体から公定法では検出されなかった大腸菌群が食中毒原因菌検査法により検出された。菌種を同定したところ、Klebsiella属であった。

検査結果に基づき、保健所が製造施設の衛生指導を行った結果、D施設は、当該品製造前に発酵乳を使用した製品を製造していることが判明し、製品切り替え時の器具洗浄の不備が原因と考えられた(表 4)。さらに、製品の表示も不適切で、従業員の手指消毒の不備に加え、衛生意識の欠如が汚染原因にあげられた。また、B施設は手袋交換及び器具洗浄不備が汚染原因と推定された。なお、第1回及び第2回買上検査とも、リステリア菌、

サルモネラ属菌、大腸菌、エルシニア菌は検出されなかった。

#### 3.1.3 施設調査結果

施設調査を行った N 施設は, アイスクリーム類を通年 製造しており、店頭販売のみを行っている。製造は1名 で行い、定期的に製品の自主検査を実施していた。N施 設の製造工程は図1のとおりである。牛乳,糖等の原材 料をパステライザー(殺菌機)に投入し、加熱・溶解・ 殺菌・冷却・熟成を行い, 「ベース」が完成する。ベー スとは,アイスクリームの基本的な材料を混ぜた共通原 料のことで、卵を使用したイエローベースと卵未使用の ホワイトベースの2種類がある。N施設では、2台のパ ステライザーを用いて, イエローベースとホワイトベー スをそれぞれの専用機器で製造していた。ベースはパス テライザーから金属製のカップに取り出し,ブレンダー で、抹茶やごま、苺等の副原料を混ぜ合わせ、ジェラー ド機に入れて混合した後、バットにアイスを充填して製 品としていた。ベース製造後、すぐに製品を製造しない 場合は金属缶に取り置き,冷凍庫で保存していた。

1回目の施設調査は、検体として原材料 3 検体及び施設内の器具等のふきとり 13 検体を採取し、買上検査の結果を考慮して細菌数、大腸菌群、大腸菌、黄色ブドウ球菌、セレウス菌の検査を実施した。検体採取時、施設はホワイトベースを使った製品を製造しており、ブレンダーまで使用中であったが、他の機器は洗浄後であった。

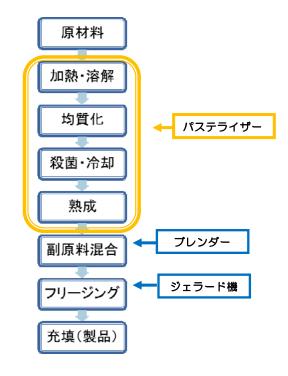


図1 製造工程略図

表 5 施設調査結果

188								
分類	品名		1回目		2回目			
		細菌数 (CFU/g)	大腸菌群	食中毒菌	細菌数 (CFU/g)	大腸菌群	食中毒菌	
	ホワイトベース	12, 000	陽性 ( <i>Enterobacter</i> 属)	セレウス菌	300以下	陰性		
原材料	イエローベース	3, 400	陽性 ( <i>Kluyvera</i> 属)	セレウス菌	1, 600	陽性 ( <i>Kluyvera</i> 属)	セレウス菌	
	バニラビーンズ	44, 000	陰性		_	-	_	
	パステライザー出口 (イエローベース)	3,000以下	陰性		3,000以下	陰性		
	パステライザー内部 (イエローベース)	12, 000	陽性 ( <i>Klebsiella</i> 属属)		3,000以下	陰性		
- ふきとり	パステライザー出口 (ホワイトベース)	43, 000	陽性 ( <i>Enterobacter</i> 属)	セレウス菌	3,000以下	陰性		
	ブレンダー	3,000以下	陽性 ( <i>Enterobacter</i> 属)		3,000以下	陰性		
	ジェラード機 ハネ	3,000以下	陰性		3,000以下	陰性		
	ジェラード機 パッキン	3,000以下	陰性		3,000以下	陰性		
	ジェラード機 出口①	3,000以下	陰性		3,000以下	陰性		
_	ジェラード機 出口②	3,000以下	陰性		3,000以下	陰性		
	冷蔵庫取っ手	3,000以下	陰性		3,000以下	陰性		
	蛇口取っ手	3,000以下	陰性		3,000以下	陰性		
	手拭き	3,000以下	陰性		3,000以下	陰性		
	台拭き	3,000以下	陰性		3,000以下	陰性		
	床	3,000以下	陰性	セレウス菌	3,000以下	陰性		

結果を表 5 (1回目) に示した。製造中であったホワイトベース系統の 3 検体から同じ菌種の大腸菌群

(Enterobacter属)が検出され、洗浄後のイエローベース及びイエローベースパステライザー内部のたまり水からも大腸菌群が検出された。また、セレウス菌は、ベース2検体、ふきとりのホワイトベースパステライザー出口及び床の2検体から検出された。

殺菌工程を経たベース及び洗浄済みのパステライザー の汚染が確認されたことから、パステライザーの機器洗 浄の不備及び殺菌不良が原因であると推察された。

検査結果に基づき、保健所で再度パステライザーを重点に調査を行ったところ、洗浄方法が機器の取扱説明書とおりに行われておらず、機器内部に乳石の付着も確認され、殺菌温度及び時間も確認していなかったことが判明した。

保健所で改めて機器洗浄の徹底と殺菌条件の確認を指導した2ヶ月後,2回目の施設調査を実施した。検体は、原材料2検体及び同じ箇所のふきとり13検体とした。検体採取時ホワイトベースのパステライザーは使用中であったが、他の機器は洗浄後であった。結果を表5(2回目)に示した。イエローベースのみから大腸菌群

(Kluyvera属)とセレウス菌が検出された。大腸菌群陽性検体は1回目の施設調査の5検体から1検体に、セレウス菌検出検体も1回目の4検体から1検体に減少した。ホワイトベースの系統及び洗浄後のイエローベースパステライザーからは汚染は確認されなかった。

2回目の汚染はイエローベースのみで発生している。 原因としては、製造工程から外れていたため、今回調査 外であったベースを一時保管しておく金属缶からの移行 汚染の可能性が考えられた。

#### 4 考 察

本県の平成22年から27年度までのアイスクリーム類の収去検査結果を図2に示した。例年20検体前後の検査を行っているが、毎年成分規格違反が確認されている(平成23年度は東日本大震災の影響により未実施)。

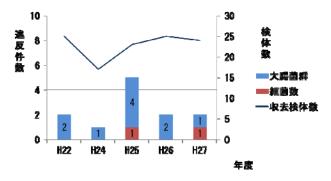


図2 アイスクリーム類の収去検査結果

本県では平成 22 年にソフトクリームを原因とする黄色ブドウ球菌による大規模な食中毒が発生した $^{1)}$ 。また,

平成 27 年にはアメリカでアイスクリームを原因食品とするリステリア菌による食中毒が発生し、死者もでている 2)。アイスクリーム類は危害の高い食品であり、衛生管理の不備等により食中毒を発生させるリスクがある。

今回, 県内で製造されるアイスクリーム類の汚染実態の把握を試みたところ, 前述のとおり多くの検体で成分規格違反が確認されるとともに, 食中毒原因菌も検出された。汚染が確認された製造施設に対しては, 管轄する保健所で衛生指導を行った後, 自主検査で汚染のないことを確認して再販売しているが, 製品自体の特性から買上検査後の収去検査で再び成分規格違反が確認されるなど, 改善の難しさを痛感している。

事業者の中には、従事者の手指消毒や器具洗浄・消毒 方法の不徹底や表示違反、製品切り替え時の器具洗浄等 の不備により細菌数が超過するなど、基本的なロット管 理ができていない事例もみられ、食品衛生についての理 解が十分ではない施設が認められている。

本調査では、成分規格違反及び食中毒原因菌(セレウス菌)が検出された施設に対して、ふきとり検査などの施設調査を実施した。ふきとり検査により、汚染の原因が明確に特定でき、ポイントを絞った衛生指導を行った結果、完全とはいかないものの一定の改善がみられており、施設調査の効果が現れている。また、大腸菌群の菌種同定により、同系列で同じ大腸菌群によって汚染されていることが判明し、個々の工程による単独汚染ではなく、前工程からの移行汚染の可能性が示唆されるなど、工程管理の衛生指導に有用であることも示すことができた。

食中毒原因菌として製品及び施設から検出されたセレ ウス菌は環境細菌の一つであり、環境に広く分布する好 気性の芽胞形成桿菌である。食品への汚染の機会が多く, 食材,食料,調理加工食品等が本菌に汚染すると腐敗, 変敗を引き起こす他、嘔吐型及び下痢型毒素による食中 毒を発生させることがあるため、食品衛生法上重要視さ れている。下痢型食中毒時の感染菌量は一般に 107~ 10<sup>8</sup>CFU/g 以上とされている <sup>3)</sup>。今回検出したセレウス 菌は、買上検査の1検体が105CFU/gであり、下痢毒産 生が認められた。セレウス菌に関しては、2回目の施設 調査ではイエローベースのみからの検出となっているが, 菌数は1回目の施設調査と同様103CFU/gであった。器 具洗浄の徹底により他の器具等からの検出はなかったが, 今回調査しなかった金属缶からの移行汚染の可能性もあ り、食品中で 1℃でも発育可能であるとの報告もあるこ とから 4),5),6), 今後調査を継続し原因を追及したいと考 えている。

従来,食品中の大腸菌群の存在は,糞便汚染により, 赤痢菌,コレラ菌などの腸管系病原菌や食中毒菌の存在 の可能性がある不潔な食品と判定されてきた。しかし, 大腸菌群の性状を示す菌は、ヒトや動物のふん便とは直 接関係ない自然界にも広く分布するため、今日では環境 衛生管理上の汚染指標菌と考え、一層良好な環境のもと で、より安全性の高い良質の食品を製造し確保するのに 必要な尺度を示すものとされている 70。

今回、大腸菌群について、公定法では非検出であったが、食中毒原因菌検査法で検出された検体があった。管轄する保健所を通じて事業者に注意喚起を行ったが、その後の収去検査でも同じ菌種の大腸菌群を検出した事例が認められた。公定法による大腸菌群検出は、デソキシコーレイト寒天培地による直接混しゃく方法を用いているが、食中毒原因菌検査法では液体培地による増菌培養を経て培養しているため、菌数が少なくても検出が可能となる。前述の事例からみて、施設指導の際には衛生管理の指標として、有効な方法となり得るであろう。

現在,厚生労働省は HACCP による衛生管理を中小規模の一般製造施設まで拡大し,世界への競争力を高めようとしている。本県でも国の動きを受け,食品衛生施行条例を改正し,平成 27 年 10 月には HACCP 導入型の管理運営基準が施行され,みやぎ HACCP (みやぎ食品衛生自主管理認証制度)の要綱も併せて改正されている。HACCP の導入にあたっては,事業者自らが製造工程を把握し,管理することが求められる。現在,本県では,最終製品の収去検査によって汚染の有無を保健所が確認し,事業者の衛生指導を行っているが,今後は工程管理の面からも汚染のポイントを適確にアドバイスしていくことも考えていかなければならない。今回の調査研究のように,保健所と検査機関が合同で調査にあたり,問題の解決につなげていくことも効果的である。

宮城県食品衛生監視指導計画には平成27年度から「違反事例の多い食品に対して重点的に検査を実施すると共に、より効率的な検査法の開発等、食品衛生の課題解決へ向けた調査研究に積極的に取り組む」との方針が示されている。今後も保健所と保健環境センターとの連携を強化し、本県の食品の安全確保に努めていきたい。

#### 5 謝 辞

本研究を実施するにあたり、御協力いただきました保健所・支所の関係各位に感謝申し上げます。

#### 6 参考文献

- 1) 平成 22 年宮城県食中毒事件録, 10-12, 2010
- Centers for Disease Control and Prevention http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/ice-crea m-03-15/index.html
- 社団法人日本食品衛生協会食中毒予防必携第3版, 115-125,2013
- 4) 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,366,2015
- 5) 水系感染症と細菌性食中毒 中央法規, 308-309, 1994
- 6) 日本食品微生物学会監修 食品微生物学辞典, 134, 2010
- 7) 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, 172-188, 2015