

芽物野菜等の食中毒菌汚染実態調査

Contamination of Bacteria in Sprouts

山田 わか*¹ 菅原 直子*² 佐々木ひとえ
加藤 浩之 小林 妙子 渡邊 節
齋藤 紀行

Waka YAMADA, Naoko SUGAWARA, Hitoe SASAKI
Hiroyuki KATOH, Taeko KOBAYASHI, Setsu WATANABE
Noriyuki SAITO

市販のカイワレ大根等のスプラウトなど生食用野菜類 56 検体について、病原細菌検索および細菌学的汚染実態調査を行った結果、サルモネラ属菌は検出されなかった。大腸菌は 5 検体から 6 菌株分離されたが、病原遺伝子は検出されなかった。一般細菌数は、スプラウトで $10^7 \sim 10^8$ cfu/g、葉物野菜で $10^5 \sim 10^8$ cfu/g と高い菌数であった。またカイワレ大根の流水洗浄による細菌数の比較を行った実験では、1 桁程度の細菌数の減少であった。

キーワード：芽物野菜；一般細菌数；サルモネラ属菌；大腸菌

Key words : sprout ; number of heterotrophic bacteria ; *Salmonella* sp. ; *Escherichia coli*

1 はじめに

平成 17 年度、塩釜保健所管内の介護老人保健施設で *Salmonella* Montevideo (*S. Montevideo*) を原因物質とする食中毒が発生し、その原因食品がカイワレ大根であったことが明らかになった。さらに同時期に調査した市販カイワレ大根からも *S. Montevideo* が検出され、遺伝子解析で同一菌由来であることが確認された¹⁾。

カイワレ大根等の芽物野菜(スプラウト)は、成分の癌予防効果や手軽に摂取できることから、近年需要が増大し多くの種類が市販されている。その一方で、諸外国ではスプラウトを原因とする食中毒事例が多発し、その衛生対策が課題となっている²⁾。また、我が国でも、カイワレ大根が腸管出血性大腸菌 O157 集団食中毒の原因食品と特定されたことがあったが³⁾、スプラウトを含む生食用野菜類の食中毒菌汚染実態についての報告例は少ない^{4, 5, 6)}。そこで、市販のスプラウトを含む生食用野菜類の細菌汚染実態を明らかにし、取扱いの啓発に資するため調査を行った。

2 材料および方法

2.1 調査時期

平成 18 年 5 月から平成 19 年 1 月までの期間

2.2 対象および検査項目

市販の生食用野菜類のうち、芽物野菜等スプラウト(カイワレ大根・ブロッコリー・レッドキャベツ・アルファルファ他 8 品目) 48 検体および葉物野菜(サラダほうれん草他 4 品目) 8 検体、計 56 検体を検査対象とし、一般細菌数、サルモネラ属菌および大腸菌の項目について実施した。

2.3 培地および遺伝子検出用プライマー

増菌用培地として、mEC 培地(栄研化学)、EEM 培地(メルク)および Bufferd Pepton Water(BPW:Oxoid)を用い、サルモネラ二次増菌用として、ラポポート培地(RV:日水製薬)、ハーナのテトラチオネート培地(TT:栄研化学)を、分離用として SS 培地(日水製薬)、DHL 培地(日水製薬)、MLCB 培地(日水製薬)、クロモアガーサルモネラ培地(関東化学)および X-SAL 培地(日水製薬)を用いた。さらに大腸菌、サルモネラ等の確認用として TSI 培地(日水製薬)、LIM 培地(栄研化学)を用いた。

大腸菌血清型別試験は、病原大腸菌免疫血清(デンカ生研)を用いて行った。病原遺伝子検出用プライマーは、TaKaRa 製の、サルモネラ菌エンテロトキシン遺伝子(STN)、サルモネラ菌 invA 遺伝子(SIN)、腸管出血性大腸菌 VT 遺伝子(VT)、毒素原生大腸菌 LT 遺伝子(易熱性エンテロトキシン:LT)、毒素原生大腸菌 ST 遺伝子(耐熱性エンテロトキシン:ST)、腸管付着因子遺伝子(aggR・eaeA:日清紡)および毒素産生性大腸菌 ST 様毒素(EAST:日清紡)を使用した。

2.4 方法

検体 10 ~ 25 g を秤量し、等量の増菌培地(mEC、EEM、BPW)を加え、1 分間手揉みし 2 倍乳剤とした。一般細菌数は、BPW を用い 10 倍段階希釈し、標準寒天平板法で 37℃、48 時間培養後集落数から菌数を算出した。また 2 倍乳剤を、5 種の分離平板培地(SS、DHL、MLCB、クロモアガーサルモネラ、X-SAL)に 1 白金耳塗抹し、37℃、24 時間培養して直接分離を試みた。

一方、増菌培地は、一日培養後それぞれから RV、TT に接種し、37℃、18 時間培養を行った。培養後、RV、TT から同様に 5 種の分離平板培地に 1 白金耳ずつ塗抹し、37℃、24 時間培養を行った。大腸菌、サルモネラ等の疑わしい集落について、TSI、LIM 培地に接種し性状確認を行った。

* 1 現(財)宮城県公衆衛生協会

* 2 現 中南部下水道事務所

同時に mEC 培養液について、PCR 法でそれぞれ目的とする遺伝子のプライマーを用い病原遺伝子の検出を行った。さらに分離した大腸菌については、O 血清型別および, agg R, eaeA, EAST 遺伝子の検出も行った (図 1)。

また、検体のカイワレ大根を用いて、家庭での流水洗浄による細菌数の比較実験についても実施した。

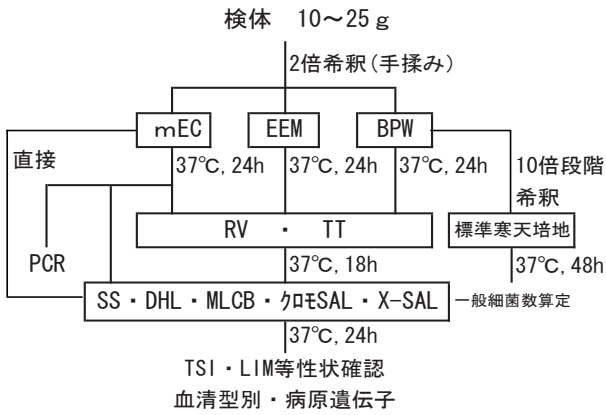


図 1 検査方法

2.5 スプラウト育成工程による一般細菌数測定

スプラウトの製造方法は大きく 2 種類に分けられ、スポンジ状 (綿花など) の床を用いる「ベンチシステム」と、回転式容器中に水を噴霧させながら栽培する「ドラム方式」がある。県内のドラム方式のスプラウト栽培製造所において、ブロッコリースプラウト育成工程別での一般細菌数の推移について調査した。また、菌の分離とそれについての同定も行った。

図 2 に、スプラウト育成工程の概要を示した。

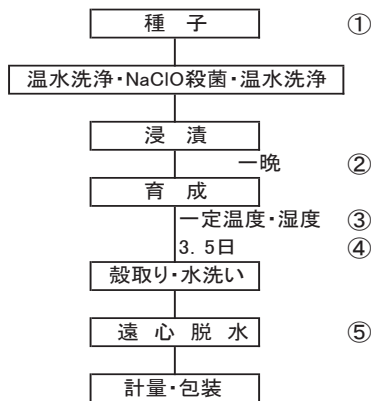


図 2 スプラウト育成工程例

3 結果

3.1 一般細菌数

市販のスプラウト 48 検体および葉物野菜 8 検体、計 56 検体についての一般細菌数汚染状況を表 1 に示した。

全ての検体から一般細菌数は $10^5 \sim 10^8$ cfu/g の範囲で検出さ

れた。カイワレ大根等のスプラウトは、いずれも $10^7 \sim 10^8$ cfu/g と高い値を示し、葉物野菜より 1~2 桁高い傾向が見られた。

表 1 芽物野菜の細菌汚染状況

品名	検体数	一般細菌数 (cfu/g)				
		10^4 以下	10^5	10^6	10^7	10^8 以上
かいわれ大根	15				10	5
ブロッコリー	11				5	6
ブロッコリースプラウト	4				2	2
レッドキャベツ	8				5	3
クレス	4				2	2
マスタード	1					1
そば若菜	1					1
アルファルファ	3				1	2
豆苗	1					1
サラダほうれん草	5			2		3
ベビーみずな	1		1			
サンチュ	1		1			
空心菜	1					1

3.2 カイワレ大根の流水による洗浄効果

流水による洗浄効果を一般細菌数の増減で調べた。すなわち 7 検体のカイワレ大根を流水で 3 回洗浄し、未洗浄との菌数の比較を行い、結果を図 3 に示した。一般細菌数は 1 桁程度の減少がみられただけであった。

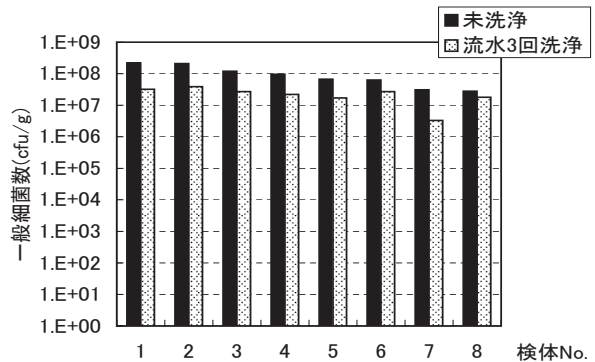


図 3 カイワレ大根の流水による洗浄効果

3.3 サルモネラ属菌

56 検体についてサルモネラ属菌の検索を実施したが、サルモネラ属菌は検出されなかった。

増菌培地 mEC について STN, SIN の PCR を行ったところ、サラダほうれん草など 3 件が STN 陽性を示したが、菌を分離し性状確認の結果, *Citrobacter* sp. であった。なお SIN は全て陰性であった (表 2)。

表 2 病原遺伝子検出状況

品名	検体数	サルモネラ遺伝子			大腸菌遺伝子	
		STN	SIN	VT	LT	ST
かいわれ大根	15	0	0	0	0	0
ブロッコリー	11	0	0	0	0	0
ブロッコリースプラウト	4	1	0	0	0	0
レッドキャベツ	8	0	0	0	0	0
クレス	4	1	0	0	0	0
マスタード	1	0	0	0	0	0
そば若菜	1	0	0	0	0	0
アルファルファ	3	0	0	0	0	0
豆苗	1	0	0	0	0	0
サラダほうれん草	5	1	0	0	0	0
ベビーみずな	1	0	0	0	0	0
サンチュ	1	0	0	0	0	0
空心菜	1	0	0	0	0	0
計	56	3	0	0	0	0

3.4 大腸菌

56検体のうち、カイワレ大根2件、ブロッコリー2件、レッドキャベツ1件から大腸菌6株を分離した。各検体の増菌培地mECについてVT、LT、STのPCRを行ったが、全て陰性であった(表2)。また、分離菌株についてO血清型別および病原遺伝子(VT、LT、ST、aggR、eaeA、EAST)について調べた結果、血清型は4株がO18、1株がO114、1株がO136であり、病原遺伝子は全て陰性であった。

3.5 ブロッコリースプラウトの育成行程別細菌数

ブロッコリースプラウト育成工程別の一般細菌数の推移を図4に示した。

材料の乾燥種子の一般細菌数は 10^2 cfu/gで洗浄・浸漬後の種子の菌数変動は小さかったが、育成1日目で 10^7 cfu/gと急激な菌増加が認められた。さらに3日目で 10^8 cfu/gとなったが、製品では、種子の殻を取り洗浄することにより1桁減少した。

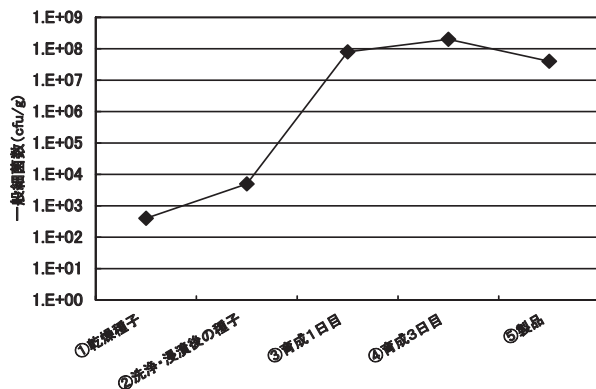


図4 スプラウト育成行程における一般細菌数の推移

3.6 ブロッコリースプラウトからの菌分離と同定

ブロッコリースプラウト乾燥種子、洗浄種子および製品から分離した40菌株について同定を行った結果、*Chryseobacterium* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. など環境中に生息する菌種が分離された。なお、サルモネラ属菌等の病原菌は検出されなかった。

4 考察

平成18年9月に米国で腸管出血性大腸菌O157による大規模な食中毒事件が発生した。感染源は、ある特定の牧草地で栽培された生鮮ほうれん草であったという調査結果が報告されている⁸⁾。このように、外国では生鮮野菜による食中毒事例が多発し、その衛生対策が問題となっている。

昨年の本県におけるサルモネラで汚染されたカイワレ大根を材料としたグリーンサラダによる食中毒事件や、

平成8年堺市のカイワレ大根による腸管出血性大腸菌O157食中毒のように、我が国でも生鮮野菜を原因とする食中毒事件が発生している。

また、厚生労働省が平成15年から17年度に実施した食中毒菌汚染実態調査⁷⁾によれば、平成15年に漬物野菜1件、平成16年にレタス1件、みつば1件、平成17年にキュウリ2件からサルモネラ属菌が検出されている。また、大腸菌はカイワレ、アルファルファを含む野菜類から検出されている。

今回、市販の生食用野菜類56検体について、病原細菌の検索と細菌学的汚染実態調査を行った。その結果、サルモネラ属菌あるいは下痢原生大腸菌などの病原細菌は検出されなかったが、一般細菌数は、スプラウトが $10^7 \sim 10^8$ cfu/g、葉物野菜が $10^5 \sim 10^8$ cfu/gとスプラウトが1~2桁高い菌数を示した。また大腸菌は6菌株が分離されたが、これら大腸菌は病原因子を保有していなかった。

次に、スプラウト製造工程での細菌汚染実験調査を、ブロッコリースプラウトのドラム方式栽培について実施した結果、種子での汚染は少ないが、高温多湿で行うスプラウト製造工程で一般細菌数の増加が認められた。一般に発芽野菜の生産は、高温多湿条件という病原細菌の増殖に最適な環境条件で行われていることから、細菌数の制御は困難であると思われる。また、カイワレ大根の流水による洗浄効果についても実験したが、有効な結果は得られなかった。

近年健康志向等から生鮮野菜の消費が増大している。これらに関する衛生基準等は定められていないが、今回の結果からも、スプラウトに対する衛生管理の徹底が必要と思われる。

参考文献

- 1) 齋藤紀行, 平塚雅之, 菅原直子, 小林妙子, 渡邊節, 山田わか, 谷津壽郎, 秋山和夫, 廣重憲生: 日食微誌, 23 (3), 143 (2006)
- 2) 金子賢一: 食衛誌, 40 (6), 417 (1999)
- 3) 甲斐明美: 日食微誌, 15 (2) 91 (1998)
- 4) 小西典子, 甲斐明美, 松下秀, 野口やよい, 高橋由美, 関口恭子, 新井輝義, 諸角 聖, 小久保弥太郎: 日食微誌, 18 (1), 9 (2001)
- 5) 小沼博隆: 日食微誌, 17 (1), 37 (2000)
- 6) 小沼博隆: 食品衛生研究, 45 (7), 25 (1995)
- 7) 豊福肇, 窪田邦宏, 森川馨: 食品衛生研究, 57 (3), (2007)
- 8) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知 “平成17年度食品の食中毒汚染実態調査の結果について” 平成18年3月17日, 食安監発第0317001号(2006)