

市販生鮮青果物の衛生細菌学的調査成績（1999年～2010年）

上原 さとみ，岸本 泰子，池内 容子，加藤 玲，新井 輝義，平井 昭彦，仲真 晶子，甲斐 明美

Surveys of Bacterial Contaminations in Vegetables in Tokyo from 1999 to 2010

Satomi UEHARA, Yasuko KISHIMOTO, Youko IKEUCHI, Rei KATHO,
Teruyoshi ARAI, Akihiko HIRAI, Akiko NAKAMA and Akemi KAI

[研究年報 第62号 (2011) 正誤表 Errata]

東京健安研セ年報 *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health*, **62**, 151-156, 2011

市販生鮮青果物の衛生細菌学的調査成績 (1999 年～2010 年)

Surveys of Bacterial Contaminations in Vegetables in Tokyo from 1999 to 2010

page 156 authors 著者

[誤 Error]

, Rei KATHO^a,

[正 Correct]

, Rei KATOH^a,

市販生鮮青果物の衛生細菌学的調査成績（1999 年～2010 年）

上原さとみ^a, 岸本泰子^a, 池内容子^a, 加藤玲^a, 新井輝義^a, 平井昭彦^a, 仲真晶子^a, 甲斐明美^b

1999 年から 2010 年までに搬入された市販生鮮青果物 1,531 検体を当研究科で細菌学的に検査した成績をまとめた。細菌数は、 $10^2 \sim 10^{10}$ CFU/g に分布しており果菜類とカット野菜は他の野菜と比べて低く、芽物野菜は高い傾向であった。工場野菜は露地物の野菜に比べて少なかった。工場野菜を除く 1,497 検体のうち、大腸菌が検出された野菜は 182 検体であった。このうちベロ毒素産生性大腸菌が 2009 年に 1 検体から検出されたほかは易熱性毒素及び耐熱性毒素産生性の大腸菌は検出されなかった。また、腸管出血性大腸菌 O157 及び O26、サルモネラ属菌も検出されなかった。

キーワード：生鮮青果物、大腸菌、ベロ毒素産生性大腸菌、もやし

はじめに

生鮮青果物の栽培方法は多様化しており、従来の露地栽培に加え、土壌を使用せず水に無機成分で構成された肥料を溶解し、その溶液で栽培する水耕栽培、あるいは天然の有機物や天然由来の無機物などを熟成した有機質肥料を用いる有機栽培など、様々な方法で栽培された野菜が流通している。更に近年は、内部環境をコントロールした閉鎖的または半閉鎖的な空間で野菜を計画的に生産するシステム、いわゆる工場野菜も流通している。これらの方法で栽培された野菜は、手軽に喫食できる生食用カット野菜やサラダ等としても市販されている。

これらの野菜は栽培時の環境に由来した細菌汚染を受ける可能性があり、培養液を循環させて栽培する水耕栽培や、堆肥などによる土づくりを行ったほ場において生産される有機栽培では、培養液の管理や有機肥料の取扱い方によって製品の衛生状態が変わるものと考えられる。

厚生労働省が実施している食品の食中毒菌汚染実態調査によると、生鮮野菜からサルモネラ属菌、大腸菌が検出されており¹⁾、また今年に入ってこれまで世界的にも稀であった腸管出血性大腸菌 O104 による大規模食中毒事件が海外で発生し、芽物野菜の生食が原因として推定されている²⁾。

さらに、工場野菜については細菌学的な衛生状態の報告がほとんど無い。これらのことから、市販生鮮青果物の細菌学的な衛生状態を把握しておくことは重要である。そこで、これら市販生鮮青果物の細菌学的な検査成績 12 年分を取りまとめて報告する。

実験方法

1. 試料

1999 年から 2010 年までに当研究科に搬入された生鮮青果物 1,531 検体を供試した（表 1）。内訳を栽培法別に分けると、露地栽培を含むその他の栽培方法（露地栽培等）が 1,182 検体、有機栽培が 127 検体、水耕栽培が 188 検体、工

場野菜が 34 検体であった。なお水耕栽培又は有機栽培の表記がなかったものについては、すべて露地栽培等に含めた。内訳を野菜の種類別に分けると、葉菜類 722 検体、根菜類 142 検体、果菜類 280 検体、花菜類 23 検体、カット野菜 85 検体、芽物野菜 279 検体であった。

検体は可食部を含む全体について外皮を中心に採取した。なお、皮に泥が付着している場合もそのまま検査に用いた。工場野菜は細菌数のみ検査した。

表1. 青果物検体数内訳

	種類数	検 体 数				合 計
		露地栽培等	有機栽培	水耕栽培	工場野菜	
葉菜類	35	531	47	110	34	722
根菜類	16	105	35	2	0	142
果菜類	11	231	43	6	0	280
花菜類	3	23	0	0	0	23
カット野菜	Mix	84	0	1	0	85
芽物野菜	7	208	2	69	0	279
合 計		1,182	127	188	34	1,531

2. 検査方法

1) 細菌数

細菌数は検体 25 g をリン酸緩衝液で 10 倍乳剤とし、標準寒天培地で混釈し、35℃、48±3 時間で培養後、集落数を計測した。

2) 食中毒起因菌

検査項目は、大腸菌、腸管出血性大腸菌 O157 (EHEC O157)、腸管出血性大腸菌 O26 (2008 年以降実施、EHEC O26) 及びサルモネラ属菌とした。

大腸菌は検体 25g をノボバイオシン加 mEC 培地 (2005 年まで) 又は緩衝ペプトン水 (2006 年以降) で 10 倍乳剤とし、35℃、22±2 時間前増菌培養した。培養液を EC 培地に接種し、44.5±0.2℃で 24±2 時間培養後、食品衛生検査指針³⁾に従い大腸菌を確認した。分離した大腸菌について O 群血清型別試験と大腸菌毒素試験を行った。易熱性毒素 (LT) は

^a 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター微生物部 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

セロトキシLT (栄研), 耐熱性毒素 (ST) はコリストEIA (生研), ペロ毒素はVTEC-RPLA (生研) により行った. ペロ毒素を検出したものについては, *ipaH*遺伝子をターゲットとしたPCR法により組織侵入性因子 (*eaeA*) の検索を行った.

EHEC O157及びEHEC O26の検出は, 検体25 gをノボバイオシン加mEC培地で10倍乳剤とし $42 \pm 1^\circ\text{C}$ で 22 ± 2 時間前増菌培養した後, 培養液よりアルカリ熱抽出法を用いてDNAを抽出し, タカラバイオ社製O157 PCR Screening Kit によるPCR法により行った.

サルモネラ属菌は検体25 gを緩衝ペプトン水で10倍乳剤とし 35°C で 22 ± 2 時間前増菌培養した後, RV培地及びTT培地に接種し $42 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 22 ± 2 時間選択増菌培養した. 培養後, DHL及びESサルモネラ寒天培地II (栄研化学) に画線塗抹し, 発育した定型的集落を定法に従い同定した.

結 果 及 び 考 察

1. 細菌数

生鮮青果物 1 g 当たりの細菌数を栽培方法別に見ると露地栽培等が $10^2 \sim 10^{10}$ CFU, 水耕栽培が $10^3 \sim 10^9$ CFU, 有機栽培が $10^2 \sim 10^8$ CFU, 工場野菜が $10^2 \sim 10^6$ CFU に分布していた (図 1). 分布の中央値は, 露地栽培等が 10^6 CFU, 水耕栽培が 10^7 CFU, 有機栽培が 10^6 CFU, 工場野菜が 10^4

CFU であった. 工場野菜が他の栽培方法に比べて 2~3 オーダー低い値であった. 工場野菜は環境制御された密閉空間を使用した衛生管理がなされていることにより, 他の栽培方法と比較して細菌数が低く抑えられているものと推定された.

生鮮青果物 1 g 当たりの細菌数を野菜の種類別に見ると葉菜類が $10^2 \sim 10^{10}$ CFU, 根菜類が $10^2 \sim 10^8$ CFU, 果菜類が $10^2 \sim 10^8$ CFU, 花菜類が $10^4 \sim 10^8$ CFU, カット野菜が $10^2 \sim 10^7$ CFU, 芽物野菜が $10^2 \sim 10^9$ CFU に分布していた (図 2). 分布の中央値は, 葉菜類が 10^6 CFU, 根菜類が 10^6 CFU, 果菜類が 10^5 CFU, 花菜類が 10^6 CFU, カット野菜が 10^5 CFU, 芽物野菜が 10^8 CFU であった. 果菜類とカット野菜は他の野菜と比べて 1 オーダー程度低く, 芽物野菜は 2 オーダー程度高い傾向であった. この傾向はこれまでの報告とほぼ同程度であった^{4,7)}.

工場野菜やカット野菜には, サラダ等としてそのまま喫食するタイプも多いことから, 厚生労働省の示した衛生規範の未加熱そうざい (1.0×10^6 CFU / g 以下) に当てはめると, 工場野菜で 34 検体中 5 検体 (14.7%), カット野菜で 85 検体中 16 検体 (18.8%) がこの規格値を越えていた. 野菜の細菌数は水洗による洗浄工程を経ても 1~2 log 程度しか低減されないとの報告もあることから⁸⁾, 流通や保管時の温度管理が重要であると考えられた.

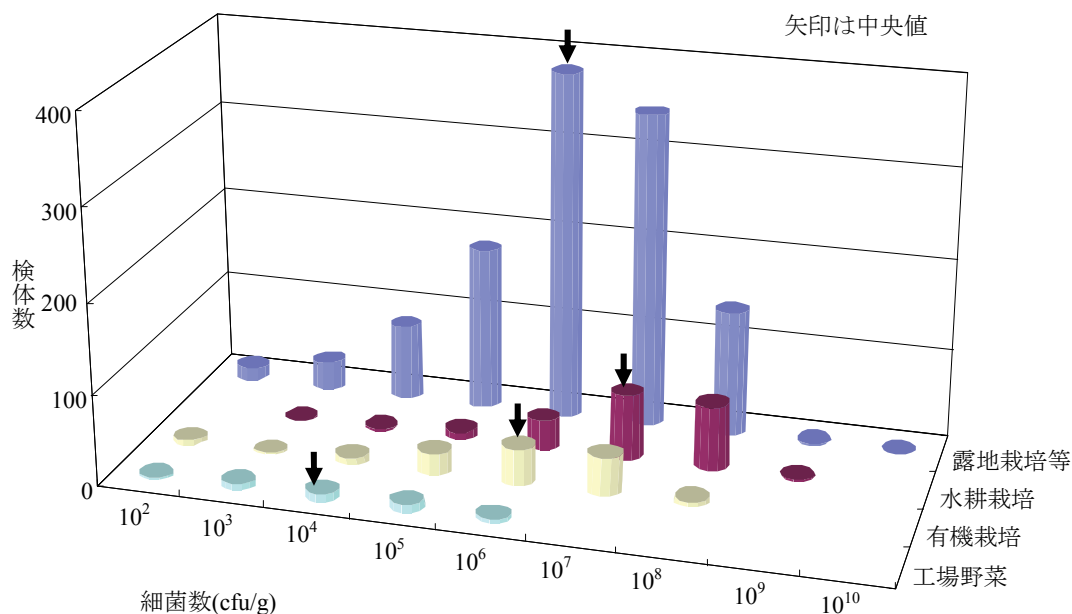


図 1. 栽培方法別による細菌数の分布

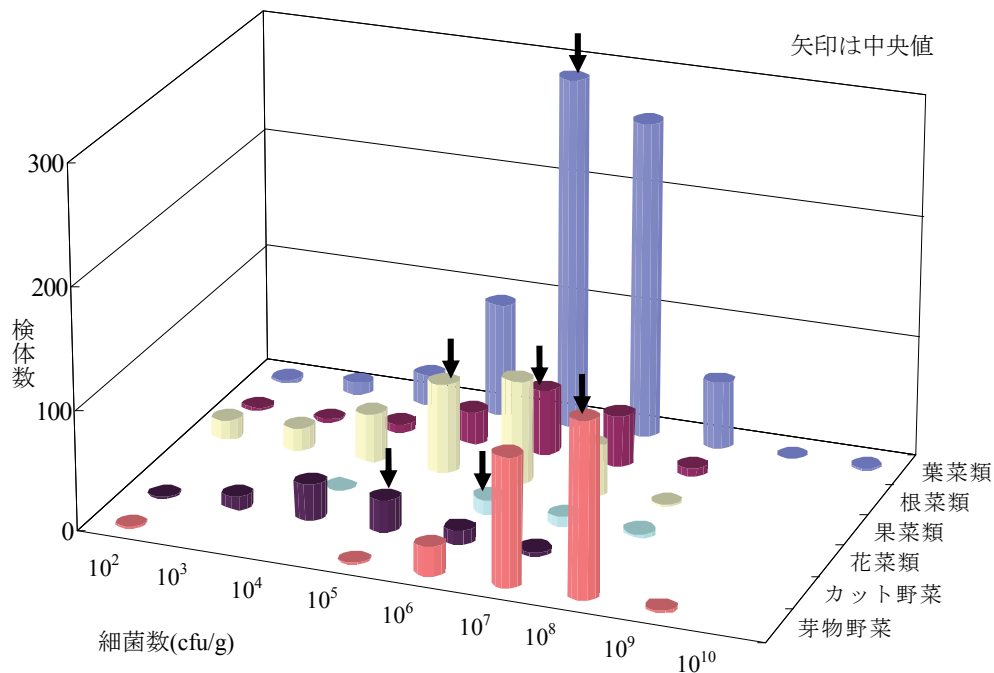


図 2. 野菜の種類別による細菌数の分布

2. 食中毒起因菌

1) 大腸菌

1,497 検体中 182 検体 (12.2%) から大腸菌が検出された。前増菌培養法が異なるため、2005 年までと 2006 年以降で分けて集計すると、大腸菌の検出率は、2005 年までは 63/890 (7.1%)、2006 年以降は 119/607 (19.6%) であった (表 2)。今回の大腸菌検出率は、前増菌培養液を緩衝ペプトン水に変更した 2006 年以降でこれまでの報告 (0.3～10.6%) よりも高くなっていた^{5-7,9)}。これは前増菌培養の有無と選択増菌培地の違いによるものと考えられた。

栽培法別に検出率を見ると 2005 年まで、2006 年以降どちらにおいても、有機栽培が最も低くなった。堆肥の中間製品から EHEC O157 が検出されたとの報告¹⁰⁾や、流通している完熟堆肥から大腸菌とサルモネラが検出されたとの報告¹¹⁾もあることから、有機栽培の成績が懸念されたが今回の結果では有機栽培の方が水耕栽培や露地栽培等に比べて大腸菌検出率は低かった。最も検出率が高かったのは 2006 年以降の露地栽培等であった。農林水産省の調査によれば、生食用野菜栽培の土壌から大腸菌が 2.6～15% 検出されており¹²⁾、露地栽培では土壌の衛生状態が青果物に影響

を与えている可能性が考えられた。

野菜の種類別に見ると表 3 の通りであった。検体数の少ない花菜類を除くと芽物野菜、根菜類、葉菜類がいずれの増菌方法でも高く、果菜類とカット野菜が低い傾向が見られた。葉菜類は 1 g 当たりの表面積が広くなるために高くなる傾向があり⁸⁾、果菜類は地上部に結実するため土壌からの汚染が少ないこと、またカット野菜は消毒工程があるためと推察された。

検出された大腸菌 182 株の O 群血清型別試験を試みたところ、市販血清に凝集したものが 16 株でその他 166 株は型別不能 (OUT) であった (表 4)。

大腸菌毒素産生性試験の結果、T 県産もやし 1 検体からベロ毒素 (VT2) 産生性大腸菌が検出された。当該株を詳細に調べたところ、OUT : H8 で付着因子 (*eaeA*) を保持しておらず、病原性は不明であった。また、LT 及び ST 産生性大腸菌は検出されず、組織侵入性因子 (*ipaH*) を保有している大腸菌も検出されなかった (表 5)。

表 2. 栽培方法別の大腸菌陽性数

	露地栽培等	水耕栽培	有機栽培	計
	陽性数/検体数 (%)			
1999年～2005年	48/671(7.2%)	13/141(9.2%)	2/78(2.6%)	63/890(7.1%)
2006年～2010年	108/511(21.2%)	7/47(14.9%)	4/49(8.2%)	119/607(19.6%)

表3. 野菜の種類別大腸菌陽性検体数

	1999年～2005年		2006年～2010年	
	陽性検体数/検体数 (%)		陽性検体数/検体数 (%)	
葉菜類	33/414	(8.0)	65/274	(23.7)
エゴマ	0/2	(0.0)	2/3	(66.7)
エンダイブ	0/2	(0.0)	1/3	(33.3)
大葉	1/14	(7.1)	2/11	(18.2)
おかひじき	1/3	(33.3)	0/0	
キャベツ	2/36	(5.6)	3/17	(17.6)
クレソン	0/5	(0.0)	3/3	(100.0)
サラダ菜	5/28	(17.9)	5/18	(27.8)
春菊	0/5	(0.0)	1/1	(100.0)
セロリ	2/17	(11.8)	0/14	(0.0)
香菜	1/2	(50.0)	0/0	
つるむらさき	1/1	(100.0)	0/0	
ねぎ	2/32	(6.3)	1/16	(6.3)
ハーブ	1/10	(10.0)	3/16	(18.8)
はくさい	0/10	(0.0)	2/16	(12.5)
ベビーリーフ	2/16	(12.5)	8/16	(50.0)
ほうれん草	1/44	(2.3)	6/22	(27.3)
マスタードグリーン	0/0		1/2	(50.0)
水菜	0/15	(0.0)	1/19	(5.3)
みつば	6/49	(12.2)	14/22	(63.6)
ルッコラ	0/19	(0.0)	7/18	(38.9)
レタス	8/75	(10.7)	5/40	(12.5)
その他	0/29		0/16	
根菜類	4/84	(4.8)	17/58	(29.3)
エシヤレット	0/4	(0.0)	1/1	(100.0)
かぶ	0/0		2/8	(25.0)
ごぼう	0/2	(0.0)	1/1	(100.0)
しょうが	1/4	(25.0)	1/4	(25.0)
大根	2/24	(8.3)	6/19	(31.6)
長いも	0/4	(0.0)	1/4	(25.0)
にんじん	0/18	(0.0)	3/10	(30.0)
ラディッシュ	1/6	(16.7)	2/4	(50.0)
その他	0/22		0/7	
果菜類	4/156	(2.6)	15/124	(12.1)
オクラ	1/6	(16.7)	1/2	(50.0)
きゅうり	1/46	(2.2)	8/33	(24.2)
トマト	2/49	(4.1)	2/27	(7.4)
なす	0/11	(0.0)	4/27	(14.8)
その他	0/44		0/35	
花菜類	2/8	(25.0)	1/15	(6.7)
みょうが	2/6	(33.3)	1/10	(10.0)
その他	0/2		0/5	
カット野菜	1/61	(1.6)	1/24	(4.2)
芽物野菜	19/167	(11.4)	20/112	(17.9)
アルファルファ	2/18	(11.1)	5/18	(27.8)
かいわれ	5/51	(9.8)	1/27	(3.7)
スプラウト	1/38	(2.6)	1/29	(3.4)
そばの芽	1/12	(8.3)	2/5	(40.0)
紅蓼	1/2	(50.0)	0/0	
豆苗	1/10	(10.0)	0/2	(0.0)
もやし	8/34	(23.5)	11/31	(35.5)
その他	0/2		0/0	
総計	63/890	(7.1)	119/607	(19.6)

表4. 検出された大腸菌の血清群

O 群	検体数
O6	3
O8	1
O18	3
O63	1
O74	1
O103	2
O112ac	1
O128	2
O146	1
O148	1
OUT	166

表5. 大腸菌の陽性率と毒素産生性試験結果

	陽性/検体数 (%)	VT	LT	ST	ipaH
				陽性数	
1999	1/90 (1.1)	—	—	—	—
2000	8/120 (6.7)	—	—	—	—
2001	2/120 (1.7)	—	—	—	—
2002	22/192 (11.5)	—	—	—	—
2003	6/128 (4.7)	—	—	—	—
2004	13/120 (10.8)	—	—	—	—
2005	11/120 (9.2)	—	—	—	—
2006	21/118 (17.8)	—	—	—	—
2007	26/120 (21.7)	—	—	—	—
2008	19/105 (18.1)	—	—	—	—
2009	34/132 (25.8)	1*	—	—	—
2010	19/132 (14.4)	—	—	—	—
合計	182/1497 (12.2)	1	0	0	0

*: VT2産生性, *eaeA* (-)

2) EHEC O157, EHEC O26 及びサルモネラ属菌

EHEC O157, EHEC O26 及びサルモネラ属菌はいずれも検出されなかった。

ま と め

1999年から2010年までの12年間に市販生鮮青果物1,531検体を対象に当研究科で細菌学的に検査した成績をまとめた。細菌数は、水耕栽培が $10^3 \sim 10^9$ CFU/g、有機栽培が $10^2 \sim 10^8$ CFU/g、露地栽培等が $10^2 \sim 10^{10}$ CFU/g、工場野菜が $10^2 \sim 10^6$ CFU/gに分布していた。野菜の種類別に見ると、果菜類とカット野菜は他の野菜と比べて低く、芽物野菜は高い傾向であった。工場野菜は露地栽培等に比べて細菌数が少なかった。

工場野菜を除く1,497検体のうち、大腸菌が検出された野菜は182検体(12.2%)であった。大腸菌の毒素産生性試験ではベロ毒素産生性大腸菌が2009年に1検体から検出された。本菌株は付着因子を有しておらず、病原性については不明であった。

工場野菜及びカット野菜は衛生規範のそうざいにあてはめると、それぞれ34検体中5検体(14.7%)、85検体中16検体(18.8%)で細菌数の規格基準値を越えていた。

LT及びST産生性大腸菌は検出されなかった。またEHEC O157, EHEC O26 及びサルモネラ属菌はいずれも検出されなかった。

謝 辞 工場野菜の検査にご協力いただきました当センター広域監視部の肝付康人氏、新井聡美氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課：食安監発0330第1号、平成22年度食品の食中毒菌汚染実態調査の結果について、平成23年3月30日。
- 2) WHO, EHEC outbreak: update 14
<http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/emergencies/international-health-regulations/news/news/2011/06/ehec-outbreak-update-14> (2011年8月26日現在、なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 3) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針 微生物編、

- 129-145, 日本食品衛生協会, 東京, 2004.
- 4) 森哲也, 田中廣行, 和田真太郎, 他: 日食微誌, **27**(3), 163-170, 2010.
- 5) 小西典子, 甲斐明美, 松下秀, 他: 日食微誌, **18**(1), 9-14, 2001.
- 6) 新井輝義, 池内容子, 柴田幹良, 他: 東京衛研年報, **55**, 133-137, 2004.
- 7) 久門勝利, 内村眞佐子, 依田清江, 他: 千葉衛研報告, **23**, 15-1, 1999.
- 8) 食品微生物の生態, 328-386, 2011, 中央法規出版, 東京.
- 9) 徳丸雅一, 正木宏幸, 板屋民子, 他: 埼玉衛研研究所報, **24**, 85-88, 1990.
- 10) 眞子純孝, 松雪星子, 増本喜美子ら: 新鮮野菜等の微生物汚染に関する調査, 佐賀県衛生薬業センター所報, **28**, 34-36, 2002.
- 11) グン春明, 越田淳一, 森山典子ら: 種々の堆肥中における大腸菌群等の生残, 日本土壌肥科学会誌, **76**, 865-874, 2005.
- 12) 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
<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/100608.html>
(2011年8月26日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)

Surveys of Bacterial Contaminations in Vegetables in Tokyo from 1999 to 2010

Satomi UEHARA^a, Yasuko KISHIMOTO^a, Youko IKEUCHI^a, Rei KATHO^a, Teruyoshi ARAI^a,
Akihiko HIRAI^a, Akiko NAKAMA^a and Akemi KAI^a

A total of 1,531 fresh market vegetables in Tokyo from 1999 to 2010 were examined for bacterial contamination. Standard plate counts (SPC) of those samples ranged from 2 to 10 log colony-forming units (CFU) per gram. Fruit vegetables and cut vegetables had approximately 1 log lower bacterial levels than the other vegetables, whereas sprouts had higher bacterial levels than the other one.

A total of 182 samples were positive for *Escherichia coli*. Although enterohemorrhagic *E. coli* O157 and O26 were not detected, verotoxin producing *E. coli* (VT2) was detected from one sample. Enterotoxigenic *E. coli*, enteroinvasive *E. coli* and *Salmonella* were not isolated.

Keywords: fresh vegetables, *Escherichia coli*, verotoxin-producing *Escherichia coli*, bean sprouts

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan