

市販生鮮青果物の食品細菌学的調査

新井輝義¹, 池内容子², 柴田幹良³, 横山敬子⁴, 高橋正樹^{*},
河村真保¹, 和宇慶朝昭¹, 柳川義勢², 甲斐明美³,
矢野一好¹, 諸角聖⁴

Food Bacteriology Assessment of Fresh Vegetables on the Market in Tokyo

Teruyoshi ARAI¹, Youko IKEUCHI², Mikiyoshi SHIBATA³, Keiko YOKOYAMA⁴, Masaki TAKAHASHI¹,
Maho KAWAMURA¹, Tomoaki WAUKE¹, Yoshitoki YANAGAWA², Akemi KAI³,
Kazuyoshi YANO¹ and Satoshi MOROZUMI⁴

Authors studied the bacterial contamination of 814 samples of fresh vegetables marketed in Tokyo from 2000 to 2002. Those samples were tested for standard plate count (SPC) and coli form group (CFG) as an indicator of environmental hygiene, and fecal *Escherichia coli* (FEC) as a contamination indicator of feces of human or animals, and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 (EHEC O157), *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* which are food poisoning bacteria.

The results were as follows: SPC per gram of vegetables was distributed generally from $<10^1$ to 10^{10} , and the peaks were root vegetables 10^6 , stalk vegetables $10^6\sim 10^7$, leafy vegetables $10^6\sim 10^7$, fruit vegetables 10^5 , fruits 10^3 , sprout vegetables $10^7\sim 10^8$ and cut vegetables $10^4\sim 10^6$. However, CFG per gram in each vegetable group was distributed widely from $<10^1$ to 10^8 and the peaks were not shown. The isolation rate of FEC in each group was different and was not related to the order of CFG. The lowest result was 3.0% (4 out of 132 samples) in fruit vegetables and the largest was 17.0% (28 out of 165 samples) in sprout vegetables. These results suggested the possibility of contamination by entero-pathogenic bacteria. EHEC O157 and *Salmonella* were not isolated, but *Listeria monocytogenes* was isolated from a welsh onion and packaged beansprout. *Staphylococcus aureus* was isolated from 35 (4.3%) out of 814 samples, in particular we noted 20 (6.8%) of 293 samples of leafy vegetable were contaminated.

Keywords : 生鮮青果物 fresh vegetable, 有機栽培 organic culture, 細菌数 standard plate count, 糞便系大腸菌 Fecal *Escherichia Coli*(FEC), リステリア・モノサイトゲネス *Listeria monocytogenes*

緒言

近年,健康指向の高まりに伴って,都内の生鮮青果物消費においても,大きな変化がみられる.一つには,「自然=安全性」という概念から,有機栽培野菜への要求が増え,健康志向という観点から栄養価に期待した芽物野菜の消費増,そしてライフスタイルの変化から,利便性と経済性を兼ね備えたカット野菜の消費が増加している.

その一方で,生鮮青果物が媒介した,または媒介したと疑われる腸管出血性大腸菌 O157 (EHEC O157 と略記)による食中毒の発生¹⁾や,腸管系病原細菌による生鮮青果物の汚染の報告がある²⁻⁴⁾.しかしながら,その生産から消

費に至るまでの安全確保の施策⁵⁻⁶⁾は緒についたばかりである.

著者らは,平成 12~14 年度の 3 年間に,「食中毒起因菌による汚染実態調査」を目的とした都の食品監視事業,厚生労働省からの委託事業及び「有機農産物の品質に関するプロジェクト研究」で入手した都内に流通するカット野菜を含む生鮮青果物について衛生指標とされる「細菌数 (SPC と略記)」と「大腸菌群 (CFG と略記)」及び糞便汚染の指標⁷⁻⁹⁾とされる「糞便系大腸菌 (FEC と略記)」の検査を行なった.併せて, EHEC O157, サルモネラ等の腸管系病原細菌による汚染状況を調査した.

* 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

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科

*** 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科

*4 東京都健康安全研究センター微生物部

調査対象と方法

1. 調査対象

平成 12~14 年度に当研究科に搬入された生鮮青果物及び都内小売店舗や市場で購入した生鮮青果物、合計 814 検体を調査対象とした。その内訳は Table 1 に示した。可食部位により分類し、根菜 34 検体、茎菜 70 検体、葉菜 293 検体、果菜 132 検体、果物 5 検体、芽物 165 検体及びカット野菜 115 検体である。更に栽培方法により有機栽培物 66 検体及び慣行栽培物 468 検体に分けた。なお、慣行栽培区分の検体数が 468 検体に対して有機栽培区分の検体数が 66 検体と少ないのは、日本農林規格に有機栽培物の厳密な栽培条件が定められたのが平成 11 年であり¹⁰⁾、これに適合する生産体制が整備され始めた時期の検体収集であったためである。したがって、結果の評価にあたっては栽培区分による検討をしなかった。

Table 1. Fresh vegetables studied from 2000 to 2002

	Organic culture	Ordinary culture	The others	Subtotal
Root vegetables	8	26		34
Stalk vegetables	7	63		70
Leafy vegetables	29	264		293
Fruit vegetables	22	110		132
Fruits	0	5		5
Sprout vegetables			165	165
Cut vegetables			115	115
Total	66	468	280	814

2. 検査方法

1) 検体の前処理: 根菜類は泥付きのものは泥を落とさず庖丁で表皮を剥き集め、葉菜類のキャベツ等は表面の葉を含め、果菜類のトマト等は表皮を剥き集め、芽物のカイワレ等は根の直上部分から上を、モヤシやカット野菜は全体を検査の対象とした。これらの 25 g を秤量し、ペプトン加食

塩緩衝液を加えてストマッキングし、10 倍乳剤を調製した。
2) 検査項目: SPC, CFG, FEC, 黄色ブドウ球菌, リステリア, セレウス菌, EHEC O157 及びサルモネラとした。なお, EHEC O157, サルモネラ及びリステリアの増菌には 25 g の検体を供試した。

3) 試験方法: 各々の細菌検査は、食品衛生検査指針¹¹⁾ 又は厚生労働省通知⁵⁾ に示された方法に準拠して行なった。分離した FEC 株は病原性大腸菌免疫血清(デンカ生研)により血清型別を行なった。また、これら分離株は、耐熱性及び易熱性エンテロトキシン産生能の確認試験を行なった。すなわち、耐熱性エンテロトキシンは培養した菌液の上清をセロトキシ LT 栄研(栄研化学)を用いた RPLA 法で、易熱性エンテロトキシンは CA-YE 培地で培養した上清をコリスト EIA「生研」(デンカ生研)を用いた ELISA 法で確認した。分離した黄色ブドウ球菌の菌型試験はコアグラゼ型別用免疫血清(デンカ生研)による中和法で、エンテロトキシン産生能試験は SET RPLA キット(デンカ生研)を用いて行った。

結果と考察

1. 衛生指標菌の検出状況

1) SPC: 調査対象とされた生鮮青果物 1 g あたりの SPC の分布についてオーダーレベルで集計し、Table 2 に示した。根菜の SPC は $10^4 \sim 10^7$ の範囲に分布しており、その 55.9% が 10^6 に集中していた。

茎菜は、 $10^3 \sim 10^{10}$ まで広範囲に分布していたが、 10^6 と 10^7 で 70.0% を占めた。特に「ネギ」は $10^7 \sim 10^8$ に 78% が集中していた。

葉菜は、 $10^3 \sim 10^8$ に広範囲な分布を示したが、 10^6 と 10^7 で 75.1% を占めた。菌数分布の詳細をみると、サラダ菜やレタスは少ない傾向が認められたが、ほうれん草、みつば、キャベツ及びブルッコラの多くは 10^7 以上を示した。

果菜は、 $< 10^1 \sim 10^8$ までと広範囲な分布であったが、 10^5

Table 2. Distribution of SPC* values for fresh vegetables

	No. of samples	Distribution of SPC* values (%)										
		$<10^1$	$\times 10^1$	$\times 10^2$	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$	$\times 10^7$	$\times 10^8$	$\times 10^9$	$\times 10^{10}$
Root vegetables	34				2	7	19	6				
		(5.9%) (20.6%) (55.9%) (17.6%)										
Stalk vegetables	70				2	3	6	18	31	8	1	1
		(2.9%) (4.3%) (8.6%) (25.7%) (44.3%) (11.4%) (1.4%) (1.4%)										
Leafy vegetables	293				2	10	42	111	109	19		
		(0.7%) (3.4%) (14.3%) (37.9%) (37.2%) (6.5%)										
Fruit vegetables	132	1	2	0	9	21	40	43	14	2		
		(0.8%)	(1.5%)	(0.0%)	(6.8%)	(15.9%)	(30.3%)	(32.6%)	(10.6%)	(1.5%)		
Fruits	5	1	0	0	2	1	1					
		(20.0%)	(0.0%)	(0.0%)	(40.0%)	(20.0%)	(20.0%)					
Sprout vegetables	165				1	3	21	88	52			
		(0.6%) (1.8%) (12.7%) (53.3%) (31.5%)										
Cut vegetables	115	1	1	2	11	31	25	24	17	3		
		(0.9%)	(0.9%)	(1.7%)	(9.6%)	(27.0%)	(21.7%)	(20.9%)	(14.8%)	(2.6%)		
Total	814	2	3	2	24	68	123	236	264	84	1	1

*:Standard plate counts(cfu/g).

と 10^6 で 62.9 % を占めた。

果物は、1 検体が $< 10^1$ 、4 検体は $10^3 \sim 10^5$ であり比較的少ない菌数であった。

芽物は、 $10^4 \sim 10^8$ に分布しており 10^7 と 10^8 で 84.8 % を占めた。特にアルファルファやブロッコリー等のスプラウト、カイワレ及びモヤシは高い菌数を示した。

カット野菜は、 $< 10^1 \sim 10^8$ と広範囲な分布であったが、 $10^4 \sim 10^6$ レベルで 69.6 % を占めた。

以上の結果から、可食区分によって特徴ある SPC 分布のピークがみられた。すなわち、根菜で 10^6 、茎菜と葉菜で $10^6 \sim 10^7$ 、果菜で $10^5 \sim 10^6$ 、果物で 10^3 、芽物で $10^7 \sim 10^8$ 、カット野菜で $10^4 \sim 10^6$ を示した。このような特徴ある SPC の分布は、各青果物種固有の生育圏(根菜は土壌表層と中層、茎菜や葉菜は土壌表層と地上、果菜は土壌表層或いは地上、果物は地上)に形成される細菌叢を反映したものであって、産地の異同にかかわらず同一種に分類される青果物は同様な SPC 分布パターンを示すものと推察された。

2) **CFG**: 調査対象とした生鮮青果物 1 g あたりの CFG の菌数分布をオーダーで集計し Table 3 に示した。SPC の分布 (Table 2) に比較して、CFG の菌数は一定範囲に集中することなく $10^1 \sim 10^8$ レベルにわたって広く分布し、特段のピークは認められなかった。すなわち、根菜は $10^1 \sim 10^5$ の範囲に、茎菜は $< 10^1 \sim 10^8$ の範囲に、葉菜は $< 10^1 \sim 10^8$ の範囲に、果菜は $< 10^1 \sim 10^6$ の範囲に、果物は $< 10^1 \sim 10^2$ の範囲に、芽物は $10^1 \sim 10^8$ の範囲に、カット野菜は $< 10^1 \sim 10^7$ の範囲にと広く分布していた。

大腸菌群は、比較的検査法が簡単であることから、食品や飲料水分野においてはヒトの腸管系病原体汚染の可能性のある糞便汚染指標として広く使われている。しかし、大腸菌群として検出される細菌には土壌由来のものも含まれているため、土壌で栽培される青果物の場合は、大腸菌群が多く検出されたからといっても、糞便汚染を強く示唆するとは言い切れない側面がある。

今回の調査結果をみると、大腸菌群数は、検査例数の少ない果物を除いて $< 10^1 \sim 10^8$ まで幅広く分布していた。前述のような大腸菌群がもつ特性から考えると、青果物の栽培土壌がヒトの糞便によって汚染されているのか否かについて即断することはできないが、衛生指標菌としてみると、「SPC」とは異なり栽培土壌を含めた生育圏の衛生状態に大きなバラツキがあったと推察された。

3) **FEC**: 大腸菌群に比較して、ヒトの糞便汚染をより正確に表す指標である FEC の検出状況を Table 4 に示した。FEC は 814 検体中 86 検体 (10.6 %) から検出された。内訳は、根菜 34 検体中 3 検体 (8.8 %), 茎菜 70 検体中 8 検体 (11.4 %), 葉菜 293 検体中 39 検体 (13.3 %), 果菜 132 検体中 4 検体 (3.0 %), 果物 5 検体中 0 検体, 芽物 165 検体中 28 検体 (17.0 %), カット野菜 115 検体中 4 検体 (3.5%) であった。しかしながら、Table 3 に示したように FEC 汚染と大腸菌群汚染菌量との間に強い関連性は認められなかった。FEC 汚染菌量は増菌法による検査のため不詳であるが、検出限界は 1 cfu / g と推定される。比較的検体例数が多く検出率の高いものは、青果物の種類別にみると、みつ

Table 3. Distributin of CFG* values for fresh vegetables and FEC** positive samples for each order

	No. of samples	Distributin of CFG* values (%) and [FEC** positive samples]								
		$< 10^1$	$\times 10^1$	$\times 10^2$	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$	$\times 10^7$	$\times 10^8$
Root vegetables	34		5 (14.7 %)	8 (23.5 %)	6 (17.6 %)	9 (26.5 %)	6 (17.6 %)			
				[1]***		[1]	[1]			
Stalk vegetables	70	3 (4.3 %)	16 (22.9 %)	5 (7.1 %)	5 (7.1 %)	11 (15.7 %)	16 (22.9 %)	10 (14.3 %)	3 (4.3 %)	1 (1.4 %)
							[3]	[4]		[1]
Leafy vegetables	293	5 (1.7 %)	44 (15.0 %)	40 (13.7 %)	44 (15.0 %)	76 (25.9 %)	58 (19.8 %)	21 (7.2 %)	3 (1.0 %)	2 (0.7 %)
			[2]	[3]	[5]	[11]	[12]	[4]	[1]	[1]
Fruit vegetables	132	16 (12.1 %)	23 (17.4 %)	28 (21.2 %)	29 (22.0 %)	24 (18.2 %)	7 (5.3 %)	5 (3.8 %)		
				[2]	[1]	[1]				
Fruits	5	1 (20.0 %)	1 (20.0 %)	3 (60.0 %)						
Sprout vegetables	165		10 (6.1 %)	9 (5.5 %)	10 (6.1 %)	22 (13.3 %)	44 (26.7 %)	56 (33.9 %)	12 (7.3 %)	2 (1.2 %)
					[1]	[4]	[11]	[9]	[3]	
Cut vegetables	115	1 (0.9 %)	31 (27.0 %)	23 (20.0 %)	25 (21.7 %)	18 (15.7 %)	14 (12.2 %)	2 (1.7 %)	1 (0.9 %)	
				[1]	[2]		[1]			
Total	814	25	129	113	119	160	145	94	19	5

*: Coli form group (cfu/g).

** : Fecal *Escherichia coli*.

*** : Number of FEC positive samples.

Table 4. FEC positive vegetables* and the details of the positive samples

	No. of samples	No. of positives (%)	Details of the positive samples		
			FEC positive fresh vegetables	No. of samples	No. of positives(%)
Root vegetables	34	3 (8.8 %)	Carrot	14	1 (7.1 %)
			Japanese radish	13	1 (7.7 %)
			Bulldock	3	1 (33.3 %)
Stalk vegetables	70	8 (11.4 %)	Welsh onion	41	6 (14.6 %)
			Celery	9	2 (22.2 %)
Leafy vegetables	293	39 (13.3 %)	Salad lettuce	26	3 (11.5 %)
			Lettuce	65	7 (10.8 %)
			Parsley	12	4 (33.3 %)
			Spinach	33	1 (3.0 %)
			Cabbage	16	2 (12.5 %)
			Honewort	60	12 (20.0 %)
			Santyu	8	3 (37.5 %)
			Komatuna	8	2 (25.0 %)
			Rukkora	13	3 (23.1 %)
			others	5	2 (40.0 %)
Fruit vegetables	132	4 (3.0 %)	Okura	3	1 (33.3 %)
			Tomato	68	2 (2.9 %)
			Green pepper	14	1 (7.1 %)
Fruits	5	0			
Sprout vegetables	165	28 (17.0 %)	Alfalfa	19	3 (15.8 %)
			White radish	53	6 (11.3 %)
			Celery	1	1 (---- %)
			Broccoli	9	1 (11.1 %)
			Red cabbage	2	1 (50.0 %)
			Buckwheat	6	1 (16.7 %)
			String beans	12	2 (16.7 %)
			Beans	49	13 (26.5 %)
Cut vegetables	115	4 (3.5 %)	Complex	75	4 (5.3 %)
Total	814	86 (10.6 %)			

*:FEC were positive by enrichment culture method for 1.1 g of samples.

Table 5. O-antigen types of FEC isolated from fresh vegetables

O-antigen	Root	Stalk	Leafy	Fruit*	Sprout	Cut	Total
1				1			1
6			3		4		7
8			6		2		8
18					2		2
25		1			1		2
63					3		3
86a			3				3
112ac			1				1
114		1			2		3
119					2		2
125			2				2
136					1		1
143							2
146			1				1
152			1				1
153		1	1				2
159					1		1
168					1		1
UT	3	7	47	7	20	1	85

*: Fruit vegetables.

ば (60 検体のうち 12 検体(20.0 %))とモヤシ (49 検体のうち 13 検体(26.5 %))であった。

生鮮青果物 86 検体から分離された FEC128 株の血清型別試験成績を Table 5 に示した。O6 型と O8 型が多い傾向にあった。また、これら 128 株について耐熱性及び易熱性エンテロトキシン産生試験を行なったが、結果はすべて陰性であった。なお、上田ら¹²⁾も 1996~1997 年に露地栽培野菜、水耕栽培野菜及び種子合計 456 検体について細菌検査を行い 75 検体(16.4 %)から分離した糞便系大腸菌 84 株について血清型別を行ない O167 型が 8 株、他に O29, O119, O127a 各 1 株を認めたと、Shigatoxin 産生性大腸菌およびサルモネラは陰性であったと報告している。

2. 病原菌の検出状況

1) 黄色ブドウ球菌：黄色ブドウ球菌は全体 814 検体中の 35 検体(4.3 %)から検出された。可食区分別でみると、Table 6 に示したように、葉菜からの分離例が多かった(293 検体中の 20 検体で 6.8 %)。それらのうち、直接培養法により検出された例では、茎菜のネギ、葉菜のみぎ菜、芽物のべ

Table 6. Isolation of entero-pathogenic bacteria from fresh vegetables

	No. of samples	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Bacillus cereus</i>	EHEC* O157	<i>Salmonella</i>
Root vegetables	34	3 (8.8 %)	0	16 (47.0 %)	0	0
Stalk vegetables	70	1 (1.4 %)	1 (1.4 %)	47 (87.1 %)	0	0
Leafy vegetables	293	20 (6.8 %)	0	175 (59.7 %)	0	0
Fruit vegetables	132	3 (2.2 %)	0	47 (35.6 %)	0	0
Fruits	5	0	0	0	0	0
Sprout vegetables	165	7 (4.2 %)	1 (0.6 %)	50 (30.3 %)	0	0
Cut vegetables	115	1 (0.8 %)	0	19 (16.5 %)	0	0
Total	814	35 (4.3 %)	2 (0.2 %)	354 (43.5 %)	0	0

*:Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*.

ピーリーフ各 1 検体で、その菌量は各々 600 cfu / g , 1,600 cfu / g , 1,800 cfu / g であった。その他は増菌法により検出されたものであって 100 cfu / g 未満と推定された。検出された 35 菌株についてコアグラゼ型別とエンテロトキシン産性をみた。その結果、コアグラゼ型は 型(8 株)、型(6 株)及び 型(5 株)が多く、エンテロトキシン産性は 5 株 (14.3 %) で認められた。

2) リステリア：リステリア・モノサイトゲネスは茎菜 (ネギ) 及び芽物 (カイワレ) から 1 例ずつ検出された。その血清型はいずれも 1/2a 型であった。いずれの検体も FEC 陽性、SPC は 10^8 レベル、CFG は $10^5 \sim 10^6$ であることから、糞便汚染の可能性が高い栽培環境での生産が窺えた。

3) セレウス菌：セレウス菌は直接培養法で 814 検体中の 354 検体 (43.5 %) から検出されたが、土壌菌であることから当然の結果とみられる。

4) EHEC O157 及びサルモネラ：EHEC O157 及びサルモネラは供試検体 814 件のいずれからも検出されなかった。

結 論

平成 12~14 年度に都内で流通していた生鮮青果物 814 検体について、衛生指標菌及び腸管系病原細菌の検査を実施し以下の結論を得た。

1) 衛生指標である「SPC」は、 $< 10^1 \sim 10^{10}$ の範囲で検出された。検出菌数のピークは、可食区分によって異なり、根菜の 55.9 % が 10^6 、茎菜の 70.0 % と葉菜の 75.1 % が $10^6 \sim 10^7$ 、果菜の 62.9 % が $10^5 \sim 10^6$ 、果物の 60.0 % が $10^3 \sim 10^4$ 、芽物の 84.8 % が $10^7 \sim 10^8$ 、カット野菜の 69.6 % が $10^4 \sim 10^6$ を示した。

2) 糞便汚染の指標である「CFG」は、特段のピークがみられず、 $< 10^1 \sim 10^8$ まで広範囲に分布していた。また「FEC」の検出率は、可食区分によって若干の差が認められた。最

低は果菜で 132 検体中の 4 検体 (3.0 %)、最高は芽物で 165 検体中の 28 検体 (17.0 %) であった。

3) 腸管系病原細菌検査の結果、黄色ブドウ球菌は 814 検体中の 35 検体(4.3 %)から検出され、葉菜からの検出率は 293 検体中 20 検体で 6.8 % であった。リステリア・モノサイトゲネスは「ネギ」と「カイワレ」から 1 例ずつ検出された。セレウス菌は 814 検体中 354 検体(43.5 %)から検出された。EHEC O157 及びサルモネラは検出されなかった。

謝 辞

本調査にあたり、リステリア・モノサイトゲネスの血清型別を快く引き受けて下さいました仲真晶子氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 甲斐明美：日食微誌，**15**(2)，91-95，1998。
- 2) 金子賢一：食衛誌，**40**，417-425，1999。
- 3) 一色賢司：日食微誌，**17**(1)，31-35，2000。
- 4) 小沼博隆：日食微誌，**17**(1)，37-41，2000。
- 5) 厚生省通知：生衛発第 1000 号，平成 12 年 6 月 8 日
- 6) 日本施設園芸協会「水耕栽培の衛生管理ガイド」：(2000)。
- 7) 草刈 真一：防菌防黴，**29**(6)，397-404，2001。
- 8) 白川 隆：防菌防黴，**30**(1)，21-28，2002。
- 9) 森 達摩：防菌防黴，**31**(2)，85-89，2003。
- 10) 農林水産省告示第 59 号：(平成 12 年 1 月 20 日)。
- 11) 食品衛生検査指針・微生物編，社団法人 日本食品衛生協会，1990。
- 12) 上田成子，桑原好浩：防菌防黴，**26**(12)，673-678，1998。