

表 4 2013 年 8 月の成績 (検体 1g あたりの菌数)

| 検体 番号 | 検体名 | 細菌数 (生菌数) | 大腸菌 群数 | β-グルクロニダー ゼ産生大腸菌数 | VT 遺伝子 | サルモ ネラ | リステリア | 備考 |
|----------|---------|-------------------|-----------|----------------------|-----------|-----------|-----------|------|
| MH11 | 白菜 | - | - | - | - | - | - | |
| MH12 | 日の菜 | 1.0×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH13 | 壬生菜 | 1.2×10^5 | - | - | - | - | - | |
| MH14 | 茄子 | 20 | - | - | - | - | - | |
| MH15 | きゅうり | 40 | - | - | - | - | - | |
| MH16 | 白菜 | 4.7×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH17 | 白菜 | 3.9×10^4 | - | - | - | - | - | |
| MH18 | 野沢菜 | 1.5×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH19 | 壬生菜 | 8.0×10^3 | - | - | - | - | 30 CFU/g | 1/2b |
| MH20 | 白菜 | 6.1×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH21 | 野沢菜 | 660 | - | - | - | - | - | |
| MH22 | 茄子 | 1.6×10^4 | - | - | - | - | - | |
| MH23 | 茄子 | 1.3×10^4 | - | - | - | - | <10 CFU/g | 1/2a |
| MH24 | 瓜 | 7.1×10^4 | - | - | - | - | <10 CFU/g | 1/2a |
| MH25 | 茄子・きゅうり | 4.8×10^4 | - | - | - | - | - | |
| MH26 | 白菜 | 80 | - | - | - | - | - | |
| MH27 | 野沢菜 | 9.1×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH28 | 壬生菜 | 140 | - | - | - | - | - | |
| MH29 | 高菜 | 20 | - | - | - | - | - | |
| MH30 | 茄子 | 40 | - | - | - | - | - | |
| MH31 | 茄子 | 60 | - | - | - | - | - | |
| MH32 | 長いも | - | - | - | - | - | - | |
| MH33 | 壬生菜 | 120 | - | - | - | - | - | |
| MH34 | 野沢菜 | 7.3×10^4 | - | - | - | - | - | |
| MH35 | 茄子 | 7.3×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH36 | 壬生菜 | 3.1×10^4 | - | - | - | - | - | |
| MH37 | 蕪 | 7.3×10^4 | - | - | - | - | - | |
| MH38 | 茄子 | 2.4×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH39 | 瓜 | 5.0×10^4 | - | - | - | - | - | |
| MH40 | 瓜 | 3.7×10^4 | 130 | - | - | - | - | |

表 5 2013 年 10 月の成績 (検体 1g あたりの菌数)

| 検体 番号 | 検体名 | pH | 細菌数 (生菌数) | 大腸菌 群数 | β-グルクロニ ダーゼ産生 大腸菌数 | VT 遺伝子 | サルモ ネラ | リステリア | 備考 |
|----------|--------|-----|-------------------|-----------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| MH41 | 野沢菜 | 5.3 | 100 | - | - | - | - | - | |
| MH42 | 茄子 | 6.0 | 3.6×10^3 | - | - | - | - | <10 CFU/g | 1/2a |
| MH43 | 白菜 | 5.4 | 60 | - | - | - | - | - | |
| MH44 | 白菜 | 4.7 | 100 | - | - | - | - | - | |
| MH45 | 赤蕪 | 5.1 | 1.1×10^5 | 120 | - | - | - | - | |
| MH46 | 野沢菜 | 5.8 | 1.7×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH47 | 茄子 | 6.1 | 7.3×10^3 | 40 | - | - | - | - | |
| MH48 | 壬生菜 | 5.1 | 20 | - | - | - | - | 10 CFU/g | 1/2a、1/2b |
| MH49 | 壬生菜 | 5.1 | 20 | - | - | - | - | <10 CFU/g | 1/2b |
| MH50 | 大根・壬生菜 | 5.0 | 500 | - | - | - | - | <10 CFU/g | 1/2a |
| MH51 | 茄子 | 4.7 | - | - | - | - | - | - | |
| MH52 | 白菜 | 4.7 | 340 | - | - | - | - | - | |
| MH53 | 野沢菜 | 4.9 | 60 | - | - | - | - | - | |
| MH54 | 壬生菜 | 4.8 | - | - | - | - | - | - | |
| MH55 | 大根 | 4.5 | 500 | - | - | - | - | - | |
| MH56 | 大根 | 5.2 | 220 | - | - | - | - | - | |
| MH57 | 大根 | 4.1 | 200 | - | - | - | - | - | |
| MH58 | きゅうり | 5.0 | 440 | 40 | - | - | - | - | |
| MH59 | 野沢菜 | 4.6 | 3.5×10^4 | - | - | - | - | - | |
| MH60 | 白菜 | 4.6 | 3.3×10^4 | - | - | - | - | - | |
| MH61 | 京菜 | 5.2 | 40 | - | - | - | - | - | |
| MH62 | 白菜 | 4.4 | 3.2×10^3 | 60 | - | - | - | <10 CFU/g | 1/2a |
| MH63 | 蕪 | 5.1 | 3.0×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH64 | 茄子 | 4.2 | 60 | - | - | - | - | - | |
| MH65 | 壬生菜 | 5.1 | 1.4×10^5 | 40 | - | - | - | - | |
| MH66 | 野沢菜 | 4.9 | 1.7×10^3 | - | - | - | - | - | |
| MH67 | 白菜 | 4.6 | 140 | - | - | - | - | - | |
| MH68 | 高菜 | 5.2 | 120 | - | - | - | - | - | |
| MH69 | 大根 | 5.3 | 20 | - | - | - | - | <10 CFU/g | 3c |
| MH70 | 白菜 | 4.8 | 60 | - | - | - | - | - | |

表 6 2014 年 2 月の成績 (検体 1g あたりの菌数)

| 検体 番号 | 検体名 | pH | 細菌数 (生菌数) | 大腸菌 群数 | β-グルクロニ ダーゼ産生 大腸菌数 | VT 遺伝子 | サルモ ネラ | リステリア | 備考 |
|----------|------|-----|------------------------|-----------|--------------------------|-----------|-----------|----------------------|----|
| MH71 | 白菜 | 4.8 | 1.5 × 10 ⁴ | - | - | - | - | - | |
| MH72 | キャベツ | 5.1 | - | - | - | - | - | - | |
| MH73 | 高菜 | 3.6 | - | - | - | - | - | - | |
| MH74 | 茄子 | 5.5 | 1.04 × 10 ³ | - | - | - | - | - | |
| MH75 | 高菜 | 4.8 | - | - | - | - | - | - | |
| MH76 | 大根 | 4.9 | - | - | - | - | - | - | |
| MH77 | 蓮根 | 3.0 | - | - | - | - | - | - | |
| MH78 | 大根 | 5.0 | 120 | - | - | - | - | - | |
| MH79 | 野沢菜 | 5.3 | - | - | - | - | - | - | |
| MH80 | 牛蒡 | 4.1 | 4.3 × 10 ³ | - | - | - | - | - | |
| MH81 | 蕪 | 5.7 | 4.2 × 10 ⁴ | - | - | - | - | - | |
| MH82 | 壬生菜 | 4.9 | - | - | - | - | - | - | |
| MH83 | 蕪 | 3.9 | - | - | - | - | - | - | |
| MH84 | 赤蕪 | 3.7 | - | - | - | - | - | - | |
| MH85 | 壬生菜 | 5.3 | - | - | - | - | - | <10 CFU/g 1/2a, 1/2b | |
| MH86 | 野沢菜 | 5.2 | - | - | - | - | - | - | |
| MH87 | 野沢菜 | 5.2 | 120 | - | - | - | - | - | |
| MH88 | 白菜 | 5.4 | 220 | - | - | - | - | - | |
| MH89 | 蕪 | 5.5 | - | - | - | - | - | - | |
| MH90 | 蕪 | 5.2 | 580 | - | - | - | - | - | |
| MH91 | 蕪 | 4.0 | 240 | - | - | - | - | - | |
| MH92 | 赤蕪 | 6.4 | 300 | - | - | - | - | - | |
| MH93 | 茄子 | 4.4 | - | - | - | - | - | - | |
| MH94 | 白菜 | 5.9 | - | - | - | - | - | - | |
| MH95 | なの花 | 5.6 | - | - | - | - | - | - | |
| MH96 | 茄子 | 4.4 | - | - | - | - | - | - | |
| MH97 | 野沢菜 | 5.2 | 40 | - | - | - | - | - | |
| MH98 | 蕪 | 6.1 | 120 | - | - | - | - | - | |
| MH99 | 大根 | 4.1 | - | - | - | - | - | - | |
| MH100 | 白菜漬 | 5.4 | 40 | - | - | - | - | - | |

表 7 *Listeria monocytogenes* 検出 12 検体

(検体 1g あたりの菌数)

| 試験月 | 製造 施設 | 検体名 | <i>L. monocytogenes</i> | | 衛生指標菌 | | pH |
|----------------|----------|------------|-------------------------|-----------|-------------------|-------|-----|
| | | | 菌数 | 血清型 | 生菌数 | 大腸菌群数 | |
| 2013 年 5 月 | A | みぶな | <10 | 1/2b | 180 | <10 | ND |
| | D | 白菜 | <10 | 1/2a | 4.4×10^4 | <10 | ND |
| 2013 年 8 月 | A | みぶな | 30 | 1/2b | 8.0×10^3 | <10 | ND |
| | B | なす | <10 | 1/2a | 1.3×10^4 | <10 | ND |
| | C | うり | <10 | 1/2a | 7.1×10^4 | <10 | ND |
| 2013 年 10 月 | A | みぶな | 10 | 1/2a,1/2b | 20 | <10 | 5.1 |
| | A | みぶな | <10 | 1/2b | 3.6×10^3 | <10 | 6.0 |
| | B | なす | <10 | 1/2a | 20 | <10 | 5.1 |
| | B | 白菜 | <10 | 1/2a | 500 | <10 | 5.0 |
| | C | 大根、 みぶな | <10 | 1/2a | 3.2×10^3 | 60 | 4.4 |
| | E | 大根 | <10 | 3c | 20 | <10 | 5.3 |
| 2014 年 2 月 | A | みぶな | <10 | 1/2a,1/2b | <10 | <10 | 5.3 |

表 8 施設 C の *L. monocytogenes* 調査成績 (調査日 2014.07.24)

| 場所 | 検体名 | 検体 No. | 検出 | 菌数* |
|------|---------------------------|--------|----------|-------------------|
| | 1F 塩漬け用シンク内塩水 | 1 | - | |
| | 1F 下準備用まな板 | 2 | +1/2a | 98 |
| | 1F 製造所内真空パック機横床 | 3 | +1/2a | <10 |
| | 1F かぶらアク抜き用水 | 4 | - | |
| 下処理室 | 1F フードスライサー回転軸(根菜用) | 5 | - | |
| | 1F フードスライサーベルト(根菜用) | 6 | - | |
| | 1F 洗浄機(葉物用)金網ベルト | 7 | - | |
| | 1F かぶらの皮(廃棄分) | 8 | - | |
| | 1F きざみかぶら用スライサー刃 | 9 | - | |
| 冷蔵室 | 2F 冷蔵チャンバー内床 | 10 | +3a | <10 |
| | 2F 冷蔵チャンバー内コンテナ | 11 | - | |
| | 2F 冷蔵チャンバー内タルキャリア | 12 | +1/2a,3a | 1.1×10^6 |
| | 2F 冷蔵チャンバー内床たまり水 | 13 | +1/2a,3a | 78 |
| 包装室 | 2F 作業台 | 14 | - | |
| | 2F 充填機袋とりアーム | 15 | - | |
| | 2F 充填機投入口 | 16 | - | |
| | 2F 充填機本体 | 17 | +1/2a | |
| | 2F 調味液 | 18 | - | |
| | 2F 充填機本体かど | 19 | +1/2a | 1.1×10^3 |
| | 2F ターンテーブル(充填前漬物入れるカップ置き) | 20 | - | |
| | 2F 充填前漬物入れるカップすすぎ水 | 21 | - | |
| 食品 | 最終製品(かぶら漬) | 22 | - | |
| | 最終製品(〇〇漬) | 23 | - | |
| | 最終製品(白菜漬) | 24 | +1/2a | <10 |

*算出限界はふきとり水で 100 cm³ 中 1 CFU、食品検体で 1g 中 10 CFU、液状検体で 1 mL 中 1 CFU である。

表 9 施設 A の *L. monocytogenes* 調査成績

| 場所 | 検体名 | 1回目 | | | 2回目 | | |
|-----------|-------------------|-----------|--------------|---------|-----------|------|--------|
| | | 検体 No. | 検出 | 菌 数* | 検体 No. | 検出 | 菌 数 |
| 下処理 室 | カッターの歯 | 3 | — | | | | |
| | カットしたみぶながはいるタンク | 4 | — | | | | |
| | みぶなの根本を切るまないた | 10 | — | | | | |
| | シャワーコンベアの洗浄中の水 | 11 | — | | | | |
| | シャワーコンベアの排水 | 12 | — | | | | |
| | カットしたみぶなを上げる台 | 13 | — | | | | |
| | カットしたみぶなを上げる台の下の水 | 14 | — | | | | |
| | 塩漬タンク内の水（使用前） | 16 | — | | | | |
| 冷蔵室 | 床 | 9 | + | 90 | 36 | + | <10 |
| | | | 1/2a,1/2b | | | 1/2a | |
| | 塩漬タンクの上澄液 | 8 | — | | | | |
| 下漬洗 浄室 | 塩漬みぶなを洗った水の廃液 | 7 | — | | | | |
| | | | | | | | |
| 包装室 | 計量カップを置く台 | 24 | + | 10 | 28 | — | |
| | | | 1/2a,1/2b | | | | |
| | 計量カップ | 25 | + | <10 | 29 | — | |
| | | | 1/2a,3a | | | | |
| | 包装机 袋を回す部分 | 17 | +1/2a | 40 | | | |
| | 包装机 塩漬みぶな投入部分 | 18 | +1/2a | <10 | 34 | — | |
| | 包装机 袋を開ける部分 | 19 | +1/2a | 10 | 31 | — | |
| | 包装机 調味液注入口 | | | | 30 | — | |
| | 調味液廃液 | 23 | + | 60 | 35 | — | |
| | | | 1/2a,1/2b,3a | | | | |
| | 包装机の下の床 | 21 | + | 60 | 33 | +3b | 10 |
| | | | 1/2a,1/2b,3a | | | | |
| | 包装机 作業台の下 | | | | 32 | +3b | 35 |
| | 作業台の下の床 | 22 | — | | | | |
| | 計量前のみぶなが浸かっていた塩水 | 26 | — | | | | |
| 食品 | 原材料みぶなの根本、葉 | 1,2 | — | | | | |
| | 洗って水を切ったみぶな | 6 | — | | | | |
| | 塩漬時使用する水 | 15 | — | | | | |
| | 塩漬したみぶな | 5 | — | | | | |
| | しょうがと唐辛子 | 20 | — | | | | |
| | 最終製品 | 27 | + | 50 | 37 | — | |
| | | | 1/2a,1/2b,3a | | | | |

*算出限界はふきとり水で 100 cm³中 10 CFU(2 回目調査は 5CFU)、食品検体で 1g 中 10 CFU、液状検体で 1 mL 中 10 CFU である。

表 10 施設 B の *L. monocytogenes* 調査成績

| 場所 | 検体名 | 1 回目 | | | 2 回目 | | | 3 回目 | |
|------|---------------|--------|---------|-----|--------|---------|-----|--------|----|
| | | 検体 No. | 検出 | 菌数* | 検体 No. | 検出 | 菌数 | 検体 No. | 検出 |
| 下処理室 | 壁部分の床の水 | 12 | — | | | | | | |
| | 8 つ切りカッターの歯 | 17 | — | | | | | | |
| | カッター横の排水溝周り | 18 | — | | | | | | |
| | 床のホースの外側 | 19 | — | | | | | | |
| | 下漬前タンク 上部内壁 | 25 | — | | 27 | — | | | |
| 冷蔵室 | 床 | 15 | + | 30 | 28 | + | <10 | 43 | — |
| | | | 1/2a,3a | | | 1/2a,3a | | | |
| | 下漬タンク 外側 | 16 | +1/2a | 10 | 29 | — | | | |
| | 下漬タンク 内壁 | 7 | — | | | | | | |
| | 下漬タンク 水抜き部分 | 8 | — | | | | | | |
| | 重し板(合成樹脂製) | 6 | — | | | | | 45 | — |
| | 重し板(ステンレス製) | | | | | | | 42 | — |
| | コンテナ | 4 | — | | | | | | |
| | ザル | 5 | — | | | | | | |
| | 計量器の上皿 | 1 | — | | 32 | — | | 52 | — |
| | 計量器を置く作業台 | 2 | +3a | <10 | 33 | — | | 51 | — |
| 包装室 | 包装機(コンベア入口) | 3 | +1/2a | 10 | 34 | — | | | — |
| | 包装機(コンベア中腹) | | | | 35 | — | | | |
| | 重しを押さえる棒(内側) | 9 | +3a | 10 | 31 | — | | | |
| | 重しを押さえる棒(外側) | | | | | | | 44 | — |
| | 包装機(調味液充填ノズル) | 10 | + | 180 | 36 | + | <10 | 46.47 | — |
| | | | 1/2a | | | 3a | | | |
| | 包装機(ヒートシート部分) | 24 | + | 50 | 37 | — | | 53 | — |
| | | | 1/2a,3a | | | | | | |
| | 包装機(スライダ一部分) | 21 | + | 760 | 38 | + | <10 | 48 | — |
| | | | 1/2a,3a | | | 1/2a | | | |
| | 包装後に乗るコンベア | | | | 39 | — | | 49 | — |
| | 包装機の下床 | 23 | + | 40 | 40 | + | 30 | 50 | — |
| | | | 1/2a,3a | | | 1/2a | | | |
| 食品 | 原材料 茄子(洗浄前) | 13 | — | | | | | | |
| | 原材料 茄子(洗浄後) | 14 | — | | | | | | |
| | カット後茄子 | 26 | — | | | | | | |
| | 下漬終了後の茄子 | 11 | +3a | <10 | 30 | — | | | |
| | 調味液 | 20 | — | | | | | | |
| | 最終製品 | 22 | +1/2a | <10 | 41 | — | | 54 | — |

*算出限界はふきとり水で 100 cm³ 中 10 CFU、食品検体で 1g 中 10 CFU、液状検体で 1 mL 中 10 CFU である。

表 11 施設 A 分離 *L. monocytogenes* の解析成績

| 採取場所 | 検査日 | 検体 No. | 検体名 | 菌株 No. | 血清型 | Ribo Group | PEGE profile | | |
|-------|------------|------------|----------------|-----------|-------|------------|--------------|---|------|
| | | | | | | | AscI | / | Apal |
| 製品 | 2013.05.21 | MH5 | 市販製品(みぶな) | 1 | 1/2b | II | B2 | / | b |
| | 2013.08.19 | MH19 | 市販製品(みぶな) | 3 | 1/2b | II | B | / | b |
| | | | | 7 | 1/2a | I | A | / | a |
| | 2013.10.07 | MH48 | 市販製品(みぶな) | 8,9 | 1/2a | I | | | |
| | | | | 10,11 | 1/2b | III | B | / | b |
| | 2013.10.07 | MH49 | 市販製品(みぶな) | 12 | 1/2b | III | B | / | b |
| | 2014.02.03 | MH85 | 市販製品(みぶな) | 16 | 1/2a | I | A | / | a |
| 17 | | | | 1/2b | II | | | | |
| 冷蔵室 | 2014.06.16 | 9 | 冷蔵室内の床 | 21,23 | 1/2a | IV | A | / | a1 |
| | | | | 22 | 1/2b | V | B1 | / | b1 |
| 包装室 | 2014.06.16 | 24 | 計量カップを置く台 | 38,39 | 1/2a | I | A | / | a |
| | | | | 40 | 1/2b | II | B | / | b |
| | | | | 33,37 | 1/2a | I | A | / | a |
| | 2014.06.16 | 23 | 調味液廃液 | 34 | 3a | I | A | / | a |
| | | | | 35,36 | 1/2b | II | B | / | b |
| | 2014.06.16 | 17 | 包装機 袋を回す部分 | 24,25 | 1/2a | I | A | / | a |
| | 2014.06.16 | 25 | 計量カップ | 42 | 1/2a | I | A | / | a |
| | | | | 41 | 3a | I | A | / | a |
| | 2014.06.16 | 19 | 包装機 袋を開ける部分 | 27,28 | 1/2a | I | A | / | a |
| | 2014.06.16 | 18 | 包装機 みぶな投入部分 | 26 | 1/2a | I | A | / | a |
| | | | | 30,32 | 1/2a | I | A | / | a |
| | 2014.06.16 | 21 | 包装機の下 の床 | 29 | 3a | I | A | / | a |
| | | | | 31 | 1/2b | II | B2 | / | b |
| | 食品 | 2014.06.16 | 27 | 最終製品(みぶな) | 43,45 | 1/2a | I | A | / |
| 44 | | | | | 3a | I | A | / | a |
| 46 | | | | | 1/2b | II | B | / | b |
| 14 検体 | | | | 36 株 | | | | | |

表 12 施設 B 分離 *L. monocytogenes* の解析成績

| 採取場所 | 検査日 | 検体 No. | 検体名 | 菌株 No. | 血清型 | Ribo Group | PEGE profile | | |
|------------|------------|--------|-------------------|--------|------|------------|--------------|---|------|
| | | | | | | | AscI | / | Apal |
| 製品 | 2013.08.19 | MH23 | 市販製品(茄子) | 4 | 1/2a | VI | C | / | c |
| | 2013.10.07 | MH42 | 市販製品(茄子) | 6 | 1/2a | VI | | | |
| | 2013.10.15 | MH62 | 市販製品(白菜) | 14 | 1/2a | VI | C | / | c |
| 冷蔵室 | 2014.06.30 | 16 | 冷蔵中の下漬タンク外側 | 55 | 1/2a | VI | C | / | c |
| | 2014.06.30 | 15 | 冷蔵室の床 | 53 | 1/2a | VI | C | / | c |
| | | | | 54 | 3a | VI | C | / | c |
| | 2014.08.18 | 28 | | 64 | 1/2a | VI | C | / | c |
| 63 | | | | 3a | VI | C | / | c | |
| 包装室 | 2014.06.30 | 2 | 計量器を置く作業台 | 47 | 3a | VI | C | / | c |
| | 2014.06.30 | 3 | 包装機(コンベア) | 48 | 1/2a | VI | C | / | c |
| | 2014.06.30 | 9 | 下漬の重しを押さえる棒 | 49 | 3a | VI | C | / | c |
| | 2014.06.30 | 10 | 包装機 (調味液充填ノズル) | 50 | 1/2a | VI | C | / | c |
| | | | | 65 | 3a | VI | C | / | c |
| | 2014.08.18 | 36 | | 61 | 1/2a | VI | C | / | c |
| | | | | 62 | 3a | VI | C | / | c |
| | 2014.06.30 | 24 | 包装機 (ヒートシート部分) | 56 | 1/2a | VI | C | / | c |
| | | | | 57 | 3a | VI | C | / | c |
| | 2014.08.18 | 38 | 包装機(スライダー) | 66 | 1/2a | VI | C | / | c |
| | 2014.06.30 | 23 | 包装機の下 の床 | 59 | 1/2a | VI | C | / | c |
| 60 | | | | 3a | VI | C | / | c | |
| 2014.08.18 | 40 | | 67 | 1/2a | VI | C | / | c | |
| 食品 | 2014.06.30 | 11 | 中間製品 (下漬後の茄子) | 52 | 3a | VI | C | / | c |
| | 2014.06.30 | 22 | 最終製品(茄子) | 58 | 1/2a | VI | C | / | c |
| 18 検体 | | | | 23 株 | | | | | |

表 13 施設 C 分離 *L. monocytogenes* の解析成績

| 採取場所 | 検体 No. | 検体名 | 菌株 No. | 血清型 | Ribo Group | PEGE profile | | |
|-------|--------|---------------------|----------|------|------------|--------------|---|------|
| | | | | | | AscI | / | Apal |
| 下処理室 | 2 | 1F 下準備用まな板 | 68,69,70 | 1/2a | VI | A | / | a1 |
| | 3 | 1F 製造所内 真空パック機横床 | 71,72 | 1/2a | VI | A | / | a1 |
| 冷蔵室 | 10 | 2F 冷蔵チャンパー内床 | 73,74,75 | 3a | VI | C | / | c |
| | 12 | 2F 冷蔵チャンパー内 | 76,79 | 1/2a | IV | A | / | a1 |
| | | タルキヤリー | 77,78,80 | 3a | IV | C | / | c |
| | 13 | 2F 冷蔵チャンパー内 | 81,84,86 | 1/2a | IV | A | / | a1 |
| 床たまり水 | | 82,83,85 | 3a | IV | C | / | c | |
| 包装室 | 17 | 2F 充填機本体 | 87,88 | 1/2a | IV | A | / | a1 |
| | 19 | 2F 充填機本体かど | 89,90,91 | 1/2a | IV | A | / | a1 |
| 食品 | 24 | 最終製品(白菜) | 92,93 | 1/2a | IV | A | / | a1 |
| 8 検体 | | | 26 株 | | | | | |

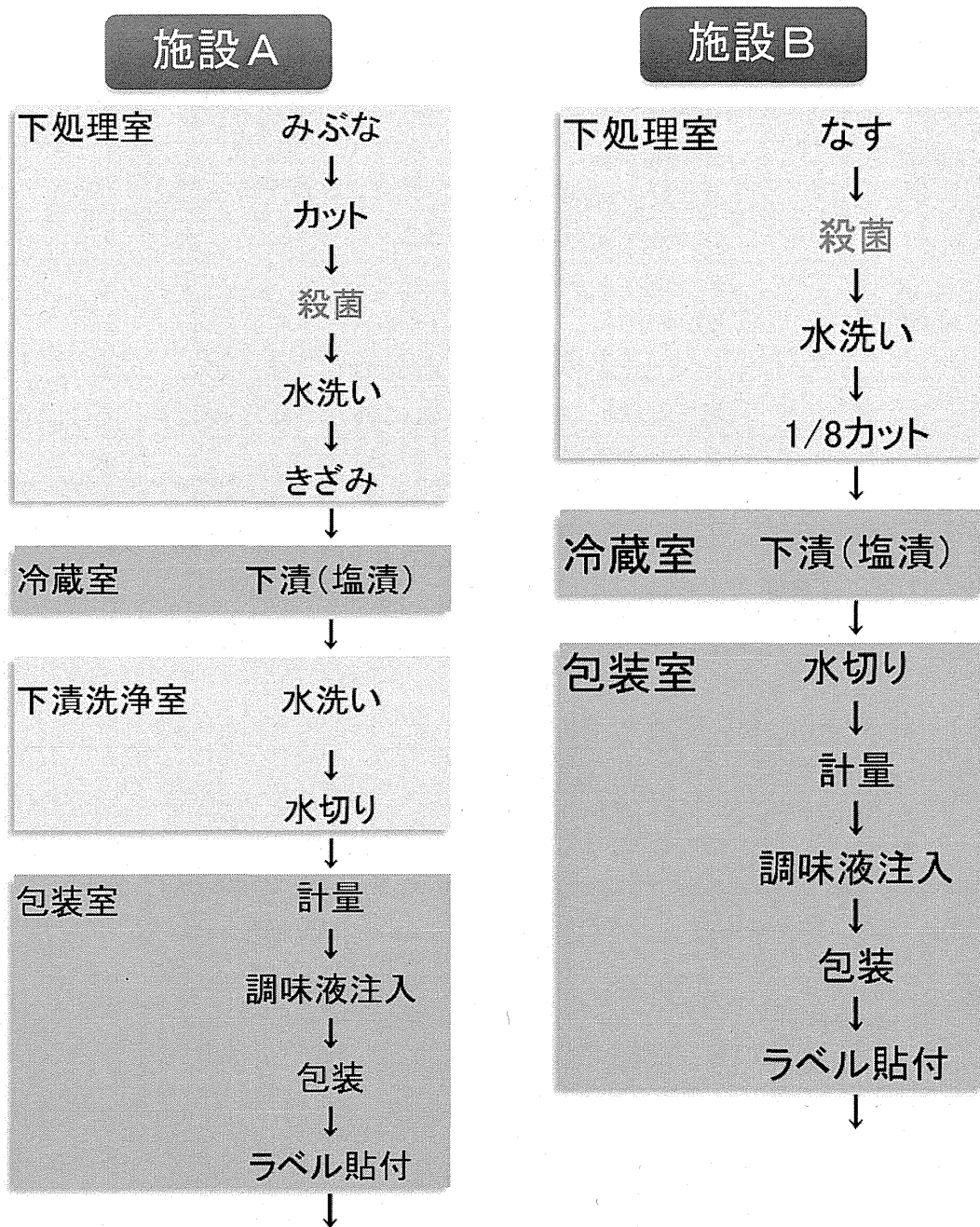


図 1 施設 A と B の製造工程

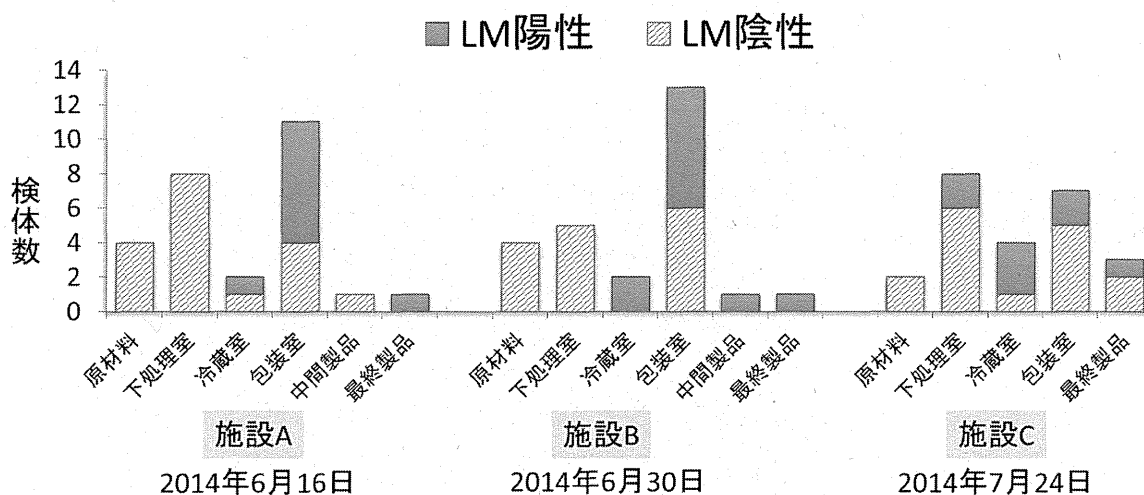


図 2 施設調査 1 回目の成績

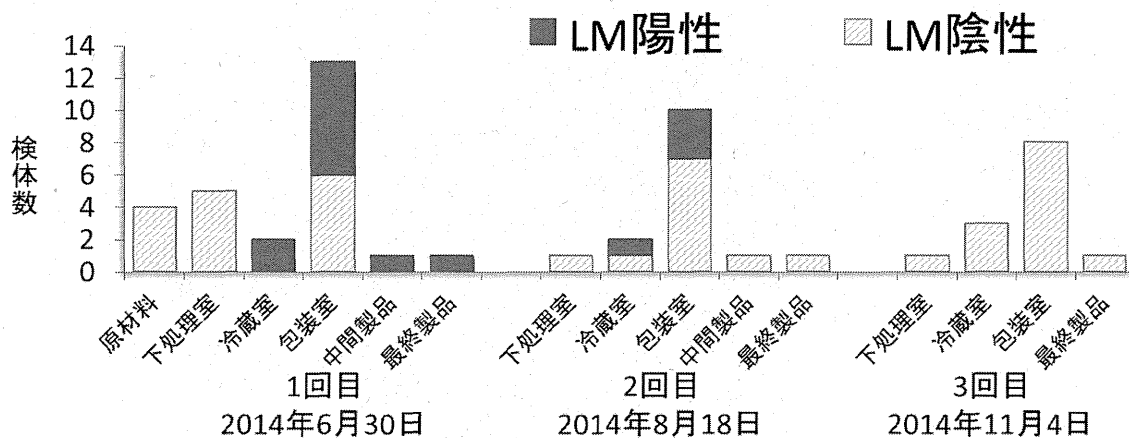
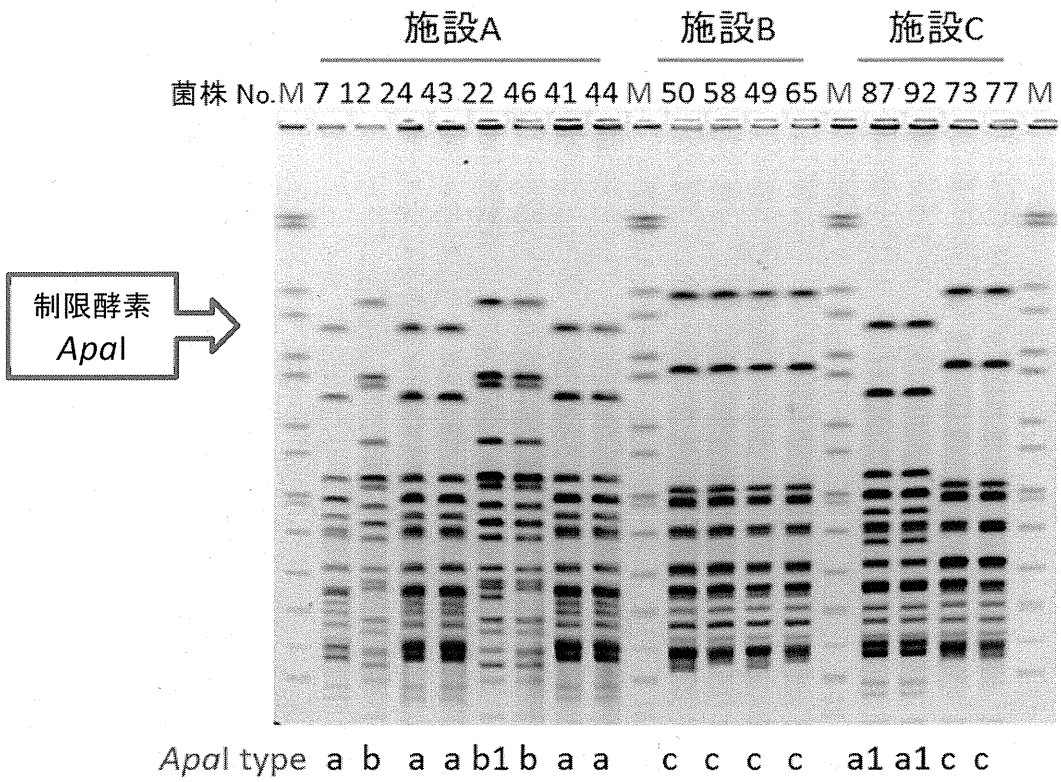
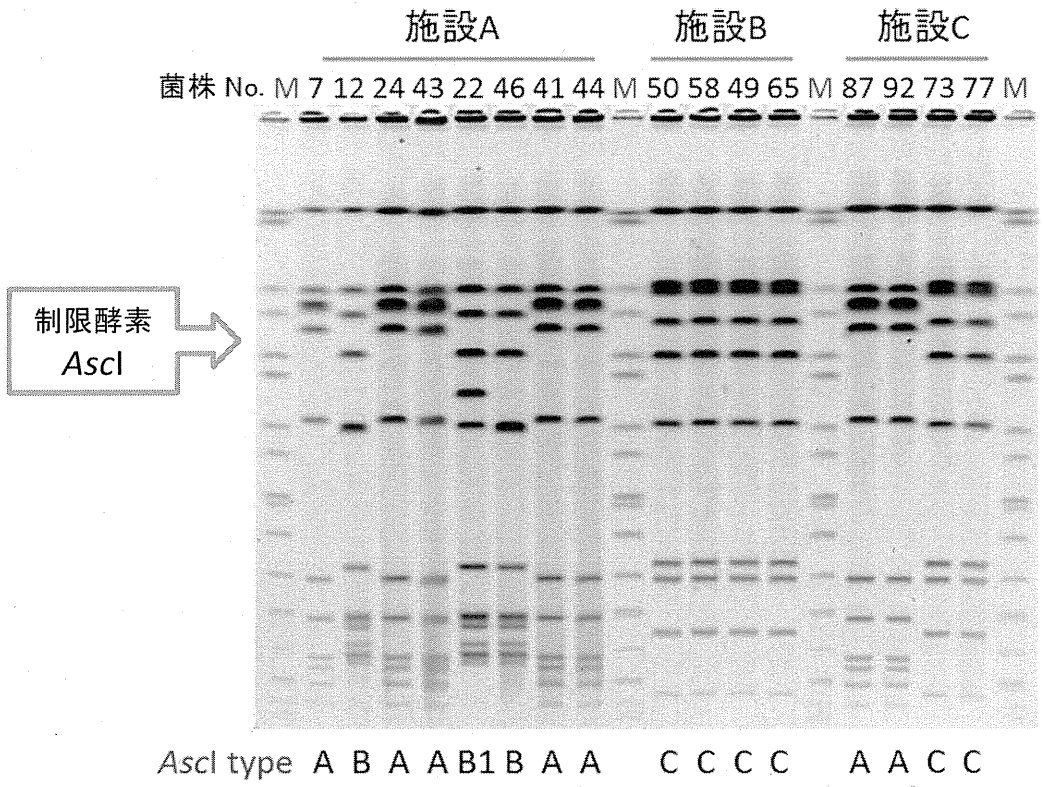


図 3 施設 B の成績



M : *Salmonella* Braenderup H9812 PulseNet Standard Strain

図 4 *Listeria monocytogenes* の PFGE profile

| No. | Sampling date | Serotype | Dupont ID | Ribogroup | Source | RiboPrint™ Pattern |
|-----|---------------|----------|-----------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| | | | | | | 1 kbp 5 10 15 50 |
| 1 | May/21/2013 | 1/2b | DUP-1052 | II | Final product (Mibuna) | |
| 3 | Aug/19/2013 | 1/2b | DUP-1052 | | Final product (Mibuna) | |
| 17 | Feb/03/2014 | 1/2b | DUP-1052 | | Final product (Mibuna) | |
| 31 | Jun/16/2014 | 1/2b | DUP-1052 | | Bottom of packaging device | |
| 35 | Jun/16/2014 | 1/2b | DUP-1052 | | bucket for excessive liquid seasoning | |
| 36 | Jun/16/2014 | 1/2b | DUP-1052 | | bucket for excessive liquid seasoning | |
| 40 | Jun/16/2014 | 1/2b | DUP-1052 | | bench on which measuring cup stands | |
| 46 | Jun/16/2014 | 1/2b | DUP-1052 | Final product (Mibuna) | | |
| 8 | Oct/07/2013 | 1/2a | DUP-20226 | I | Final product (Mibuna) | |
| 7 | Oct/07/2013 | 1/2a | DUP-20226 | | Final product (Mibuna) | |
| 9 | Oct/07/2013 | 1/2a | DUP-20226 | | Final product (Mibuna) | |
| 16 | Feb/03/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Final product (Mibuna) | |
| 24 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Packaging device | |
| 25 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Packaging device | |
| 26 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Packaging device | |
| 28 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Packaging device | |
| 30 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Bottom of packaging device | |
| 32 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Bottom of packaging device | |
| 33 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | bucket for excessive liquid seasoning | |
| 37 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | bucket for excessive liquid seasoning | |
| 38 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | bench on which measuring cup stands | |
| 39 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | bench on which measuring cup stands | |
| 42 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Measuring cup | |
| 43 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Final product (Mibuna) | |
| 45 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | | Final product (Mibuna) | |
| 27 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-20226 | Packaging device (opener) | | |
| 44 | Jun/16/2014 | 3a | DUP-20226 | Final product (Mibuna) | | |
| 29 | Jun/16/2014 | 3a | DUP-20226 | Bottom of packaging device | | |
| 41 | Jun/16/2014 | 3a | DUP-20226 | Measuring cup | | |
| 34 | Jun/16/2014 | 3a | DUP-20226 | bucket for excessive liquid seasoning | | |
| 11 | Oct/07/2013 | 1/2b | DUP-18596 | III | Final product (Mibuna) | |
| 12 | Oct/07/2013 | 1/2b | DUP-18596 | | Final product (Mibuna) | |
| 10 | Oct/07/2013 | 1/2b | DUP-18596 | IV | Final product (Mibuna) | |
| 21 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-1045 | | Sloppy floor in cold room | |
| 23 | Jun/16/2014 | 1/2a | DUP-1045 | | Sloppy floor in cold room | |
| 22 | Jun/16/2014 | 1/2b | DUP-1043 | V | Sloppy floor in cold room | |

図 5 施設 A 由来株のリボプリンター解析

| No. | Sampling date | Source | Serotype | Dupont ID | Ribogroup | RiboPrint™ Pattern | | | |
|-----|---------------|-------------------------------------------------|----------|-----------|-----------|--------------------|---|----|-------|
| | | | | | | 1 kbp | 5 | 10 | 15 50 |
| 4 | 2013.8.19 | Final product (egg plant) | 1/2a | DUP-20237 | VI | | | | |
| 6 | 2013.10.7 | Final product (egg plant) | 1/2a | DUP-20237 | VI | | | | |
| 14 | 2013.10.15 | Final product (Napa cabbage) | 1/2a | DUP-20237 | VI | | | | |
| 47 | 2014.06.30 | Scale device | 3a | DUP-20237 | VI | | | | |
| 48 | 2014.06.30 | Conveyor on packaging device | 1/2a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 49 | 2014.06.30 | Pickle-tub cover of pre-pickled tank | 3a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 50 | 2014.06.30 | Filling nozzle of liquid filling device | 1/2a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 52 | 2014.06.30 | salt-soaked egg plant | 3a | DUP-20237 | VI | | | | |
| 53 | 2014.06.30 | Floor close to Pre-pickling tank in cold room | 1/2a | DUP-20237 | VI | | | | |
| 54 | 2014.06.30 | Floor close to Pre-pickling tank in cold room | 3a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 55 | 2014.06.30 | Outer surface of pre-pickling tank in cold room | 1/2a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 56 | 2014.06.30 | Post-packaging conveyer | 1/2a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 57 | 2014.06.30 | Post-packaging conveyer | 3a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 58 | 2014.06.30 | Final product (egg plant) | 1/2a | DUP-20237 | VI | | | | |
| 59 | 2014.06.30 | Slopping floor close to packaging machine | 1/2a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 60 | 2014.06.30 | Slopping floor close to packaging machine | 3a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 61 | 2014.06.30 | Packaging device (sealing after liquid filling) | 1/2a | DUP-20237 | VI | | | | |
| 62 | 2014.06.30 | Packaging device (sealing after liquid filling) | 3a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 63 | 2014.08.18 | Floor close to Pre-pickling tank in cold room | 3a | DUP-20237 | VI | | | | |
| 64 | 2014.08.18 | Floor close to Pre-pickling tank in cold room | 1/2a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 65 | 2014.08.18 | Filling nozzle of liquid filling device | 3a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 66 | 2014.08.18 | Post-packaging conveyer | 1/2a | DUP-16619 | VI | | | | |
| 67 | 2014.08.18 | Sloppy floor close to packaging machine | 1/2a | DUP-16619 | VI | | | | |

図 6 施設 B 由来株のリボプリンター解析

| No. | Sampling date | Serotype | Dupont ID | Ribogroup | Source | RiboPrint™ Pattern | | | | |
|-----|---------------|----------|-----------|-----------|----------------------------------------------|--------------------|---|----|----|----|
| | | | | | | 1 kbp | 5 | 10 | 15 | 50 |
| 68 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | VI | Chopping board | | | | | |
| 69 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | VI | Chopping board | | | | | |
| 70 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | VI | Chopping board | | | | | |
| 71 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | VI | Floor close to vacuum-packaging device | | | | | |
| 72 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | VI | Floor close to vacuum-packaging device | | | | | |
| 73 | Jul/24/2014 | 3a | DUP-16619 | VI | Floor inside cold chamber | | | | | |
| 74 | Jul/24/2014 | 3a | DUP-16619 | VI | Floor inside cold chamber | | | | | |
| 75 | Jul/24/2014 | 3a | DUP-16619 | VI | Floor inside cold chamber | | | | | |
| 76 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Barrel inside cold chamber | | | | | |
| 77 | Jul/24/2014 | 3a | DUP-20237 | IV | Barrel inside cold chamber | | | | | |
| 78 | Jul/24/2014 | 3a | DUP-20237 | IV | Barrel inside cold chamber | | | | | |
| 79 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Barrel inside cold chamber | | | | | |
| 80 | Jul/24/2014 | 3a | DUP-20237 | IV | Barrel inside cold chamber | | | | | |
| 81 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Stagnant water on the bottom of cold chamber | | | | | |
| 82 | Jul/24/2014 | 3a | DUP-20237 | IV | Stagnant water on the bottom of cold chamber | | | | | |
| 83 | Jul/24/2014 | 3a | DUP-20237 | IV | Stagnant water on the bottom of cold chamber | | | | | |
| 84 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Stagnant water on the bottom of cold chamber | | | | | |
| 85 | Jul/24/2014 | 3a | DUP-20237 | IV | Stagnant water on the bottom of cold chamber | | | | | |
| 86 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Stagnant water on the bottom of cold chamber | | | | | |
| 87 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Filling device | | | | | |
| 88 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Filling device | | | | | |
| 89 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Filling device | | | | | |
| 90 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Filling device | | | | | |
| 91 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Filling device | | | | | |
| 92 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Final product (Napa cabbage) | | | | | |
| 93 | Jul/24/2014 | 1/2a | DUP-1045 | IV | Final product (Napa cabbage) | | | | | |

図 7 施設 C 由来株のリボプリンター解析

平成25-27年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
非動物性の加工食品等における病原微生物の汚染実態に関する研究
分担総合研究報告書

細菌汚染実態に関する研究
市販浅漬け食品における細菌汚染実態と衛生指標菌に関する研究

| | | |
|-------|-------|----------------------|
| 研究代表者 | 朝倉 宏 | 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 |
| 研究分担者 | 田口真澄 | 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課 |
| 研究協力者 | 梶田和彌 | 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 |
| 研究協力者 | 吉村昌徳 | 日本冷凍食品検査協会関西事業所 |
| 研究協力者 | 須田貴之 | 日本食品分析センター大阪支所 |
| 研究協力者 | 山本詩織 | 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部 |
| 研究協力者 | 橘 理人 | 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部 |
| 研究協力者 | 小西良子 | 麻布大学 生命・環境科学部 |
| 研究協力者 | 倉園久生 | 帯広畜産大学 畜産衛生学専攻 |
| 研究協力者 | 五十君静信 | 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 |

研究要旨：国内に流通する浅漬け製品については、平成24年度に北海道で発生した腸管出血性大腸菌 O157 集団食中毒事例を受けて、衛生規範の見直しが行われたところである。乳肉製品とは異なり、野菜や果実を原材料とする食品には、土壌や水等に由来する様々な微生物叢が含まれることが経験的には知られているが、乳肉製品に比べて病原微生物の汚染実態に関する定量的な知見には乏しい。本研究では、国内（関東）に流通する浅漬け製品を対象として、FAO/WHOの提唱する、野菜・果実類への汚染リスクの懸念される代表的な病原微生物（腸管出血性大腸菌、サルモネラ属菌、*Listeria monocytogenes*）と共に、衛生指標菌として一般細菌、大腸菌群、 β -グルクロニダーゼ産生性大腸菌の定量検出を試みた。更に、供試検体の構成細菌叢を16S rRNAをターゲットとするメタゲノム解析を通じて、原材料や季節等との関連性について考察した。平成25年6月～10月の間に収集した計66検体は、上記病原細菌陰性であった。指標菌数として、 β -グルクロニダーゼ産生性大腸菌は同じく陰性であったが、検体1gあたりの一般細菌数および大腸菌群数の平均値は、それぞれ $2.27E+06$ 、 $6.32E+04$ であった。白菜浅漬け検体では、同指標菌数は夏季に上昇傾向が認められた。メタゲノム解析を通じ、構成細菌叢は概ね原材料別に分類され、当該食品の衛生管理向上には、原材料別の対策設定が有効と目された。また、白菜検体では夏季に *Leuconostoc* 科が全体の90%以上を占め、指標菌数の季節変動との関連性が示唆された。白菜浅漬けの実験的製造・保存試験を通じ、多数の接種 O157 が同検体内で長期的に生残すること、塩漬けにより構成細菌叢は単純化される傾向を示すこと等が明らかとなった。以上の知見を踏まえ、浅漬け食品の衛生管理には、原材料や漬込液の性状、保存期間等を踏まえた対策が有効と考えられた。

衛生規範の改正前後に市販された同一の浅漬け計8製品について、衛生指標菌数及び構成菌叢に関する比較検討を行ったところ、大腸菌群数については概ね改正後に有意な大腸菌群数の低下と乳酸菌数の増加を認めた。大腸菌は何れも陰性を示した。菌叢解析より、計6製品は改正後において *Roseateles* 属菌の構成比率に明瞭な減少を認めると共に、4製品では改正後に *Leuconostoc* 属菌の構成比率の上昇を認める等、改正前後で構成菌叢の顕著な変動を示す製品が多数を占めた。衛生規範改正を通じ、1製品は大腸菌群数の増加を示したが、優勢菌叢が *Leuconostoc* 属より *Buttiauxella* 属へと変動を認めたためと推察された。本比較解析より、衛生規範改正に伴い、供試製品の細菌学的衛生状況は改善されたことが実証された。また、大腸菌群には複数の植物性常在菌叢が含まれることから、浅漬け等、原材料由来菌叢を包含する非動物性食品の衛生指標としては望ましくはなく、大腸菌等がこれに代わり得るものと想定された。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌やボツリヌス菌等、毒素産生微生物の中には人命を脅かすものが少なくない。これ迄の対策は主に動物性食品で進められてきたが、近年では漬物や容器包装詰低酸性食品等に起因する食中毒事例が相次いでおり、汚染実態を把握し、食の安全確保に必要となる基

礎的知見を集積することが求められている。

上記食品に関連する O157 等食中毒の危害評価は必要不可欠であるが、これ迄の知見の多くは定性的な汚染実態に留まり、定量的知見は十分とは言えない。危害性判断に当たっては、従って国内外の情報収集・整理および実態を捉えた定量データの集積が必要となる。

更に食品の製造加工過程では様々な指標菌を用いた衛生管理がなされるが、申請者等の予備調査では動物性食品とは異なり、植物性食品は生育過程を通じて環境由来の多様な細菌叢を形成し、多くが指標菌として検出される状況であることが明らかになりつつある。従って、上記食品に対する適切な指標菌の在り方を議論する為の基礎知見を得ることが、衛生管理を通じた安全確保に必須と考えられる。

本研究において、本年度は平成 24 年 8 月に北海道において発生した腸管出血性大腸菌 O157 による集団食中毒を受けて、その後、衛生規範の改正等が行われている社会的影響の大きさを鑑み、浅漬け食品を対象として、病原微生物汚染実態に係る細菌学的調査を行うと共に、衛生指標菌の定量検出を行った。また、16S rRNA をターゲットとする pyrosequencing 解析を通じ、これらの検体を構成する細菌叢に関する知見を収集した。更に、白菜の浅漬けを実験的に製造・保存し、添加回収試験を通じて、O157 の食品内挙動と細菌叢変動に関する知見を得ることとした。更に、衛生規範改正を通じた市販製品の衛生実態については不明であることから、衛生規範前後に流通した計 8 製品・96 検体の市販浅漬け製品を対象に、主要指標菌の定量及び構成細菌叢解析を行い、衛生状況に関する比較検討を行ったので、報告する。

B. 材料と方法

1. 食品検体の収集と構成

平成 25 年 6 月～10 月の間に東京都および神奈川県内で市販される浅漬け製品、計 66 検体を購入し、以下の試験に供した。当該検体は購入後、速やかにアイスボックスにて試験実施機関に搬入・前処理を行った。購入検体の原材料別構成は以下のとおりである：白菜浅漬け 30 (5 x 6) 検体；茄子浅漬け 18 (3 x 6) 検体；きゅうり浅漬け 6 (1 x 6) 検体；野沢菜浅漬け 6 (1 x 6) 検体；大根浅漬け 6 (1 x 6) 検体。

2. 衛生指標菌定量試験

各検体より無菌的に 25g を採材し、約 3 x 3cm 角に細断した後、滅菌ストマック袋（関東化学）に入れ、緩衝ペプトン水（Oxoid）225 ml 加えて、1 分間ストマッキング処理を行った。同懸濁液 100 μ l を標準寒天培地（Oxoid）、VRBL 寒天培地（Oxoid）および TBX 寒天培地にそれぞれ 2 枚ずつ、スパイラルプレーター（Interscience）を用いて塗布し、一般細菌数、大腸菌群数、 β -グルクロニダーゼ産生大腸菌の定量を製造メーカーの指示書に従って行った。

3. 各種病原細菌の検出

上述の緩衝ペプトン水懸濁液を 37°C で 20 時間培養した後、①腸管出血性大腸菌（EHEC）の検出にあたっては、同培養液より全 DNA を抽出し、stx 遺伝子をターゲットとした PCR 反応によるスクリーニングを行った。同反応で陽性が見られた場合には、免疫磁気ビーズを用いた分離培養を行うよう準備を行った。②サルモネラ属菌およびリステリア・モノサイトゲネスの検出については、ISO 法に準拠して実施した。

4. 菌叢解析

上記 2. において調整した緩衝ペプトン水懸濁液 10ml より、PowerFood DNA Extraction kit（MO Bio）を用いて、全 DNA を抽出した。これを鋳型として、16S rRNA 792-1152 領域を PCR 増幅した。増幅産物を定量した後、Ion OneTouch Duo システムを用いてエマルジョン PCR 及び精製をおこなった。その後、サンプルを 318 v2. Chip 上へマニュアルロードし、Ion Torrent PGM 装置で配列解読を行った。

5. データ解析

取得配列データは、Ion Torrent サーバー上で、シーケンスタグ別に識別した後、fastaq フォーマットで出力した。配列ファイルは CLC Genomic Workbench v. 6.5 を用いて不要配列を除去した。Blast 検索後、Metagenome@KIN を用いて、階層解析・主成分分析等を実施した。

6. 白菜浅漬けの実験的製造とこれに伴う O157 添加回収試験、指標菌・構成細菌叢変動解析

市販白菜より 25g を採材し、約 3 x 3 cm に細分したものを滅菌ストマック袋中に入れ、食塩（最終濃度 2%）あるいは市販浅漬けの素（指示書に従って調整）を加えて、4°C にて保存した。保存開始と共に、腸管出血性大腸菌 O157 EDL933-KM 株を 1.4×10^2 CFU/g となるよう、同検体に接種または非接種し、0、3、6、12 日間の保存期間を経て、各検体（N=3）に 225ml の緩衝ペプトン水を加え、ストマッカー処理を行った後、以下の試験に供した。

①指標菌としては、一般細菌数および大腸菌群数を項目 2. に準じて求めた。

②O157 の挙動測定には、カナマイシン（30 μ g/ml）を含むソルビットマッコンキー寒天培地（栄研化学）を用い、発育集落数から食品中の生存菌数を求めた。

③構成細菌叢の変動解析には、項目 4-5. に記載された方法を用いた。

7. 浅漬け検体の比較解析

計 4 製造施設において製造され、東京都内で市販される、8 製品を対象として、改正前（2013 年 2 月）及び改正後（2015 年 3 月）に、各製品 6 検体を購入した（計 96 検体）。なお、各製品の主原料となる野菜は、白菜・茄子・胡瓜・大根・野沢菜である。各検体に係る指標菌定量検出及び菌叢解析は上述と同様である。

C. 研究結果

1. 国内浅漬け製品における主要病原細菌の汚染実態と衛生指標菌の定量検出結果

平成 25 年 6 月～同年 10 月の間に、東京都および神奈川県内で市販されていた野菜浅漬け製品（白菜・茄子・きゅうり・大根・野沢菜）計 66 製品について、主要病原細菌（EHEC、サルモネラ属菌、リステリア・モノサイトゲネス）の検出を行ったが、いずれも陰性であった。衛生指標菌の定量結果としては、一般細菌数が平均値として、 $2.27E+06 \pm 5.67E+06$ CFU/g、大腸菌群数の平均値が $6.32E+04 \pm 2.89E+05$ CFU/

gであり、 β -グルクロニダーゼ産生性大腸菌については何れも陰性であった(表1)。これらの成績を原材料別に観察したところ、白菜浅漬けでは、同時期に試験に供した他の原材料浅漬け製品に比べ、有意に高い菌数を認めた(図1)。

また、白菜検体の一部には、異なる時期の同一製品が含まれており、これらの衛生指標菌数の季節性挙動について検討することとした。結果として、6月購入検体の一般細菌数・大腸菌群数が $1.1\text{E}+04\text{CFU/g}$ 及び $9.5\text{E}+03\text{CFU/g}$ であったのに比べ、8月購入検体では $3.5\text{E}+06\text{CFU/g}$ および $5.3\text{E}+05\text{CFU/g}$ と上昇傾向を示した(図2)。10月購入検体では、これに比べて減少傾向を示した($7.4\text{E}+05\text{CFU/g}$ 及び $1.1\text{E}+04\text{CFU/g}$)(図2)。

以上より、本研究における供試浅漬け検体では、主要病原細菌は検出されなかったが、指標菌の分布には原材料あるいは季節により差異を示すことが明らかとなった。

2. メタゲノム解析による構成細菌叢解析

上記の調査結果を受けて、①原材料別、あるいは②季節別の指標菌の検出数値変動と、構成細菌叢変動の関連性について検証するため、メタゲノム解析を実施することとした。

①原材料別の構成細菌叢変動

計66検体の構成細菌叢ならびに検体間の系統学的関連性について検討するため、メタゲノム解析を実施した。なお、本検討にあたっては、各検体より約80,000-100,000リードを解析に供した。Phylum階層での系統樹を作成したところ、3つのクラスター(A, B, C)に大別された(図3)。原材料等の検体情報を加味したところ、野沢菜および白菜(10月)検体はクラスターAに、茄子、きゅうり、大根検体はクラスターBに、白菜(6月、8月)および野沢菜検体はクラスターCに分類されることが明らかとなった。

種階層での主成分分析によっても、これら供試検体は、3クラスターに大別化される傾向が認められた(図4)。

以上より、本研究で用いた浅漬け製品は、原材料別に構成細菌叢の共通性を示すことが明らかとなった。

②季節別の構成細菌叢変動

異なる時期に購入した白菜の浅漬け製品を対象として、構成細菌叢の比較を行った。月別にそれぞれ2検体を無作為に抽出、比較した棒グラフを図5に示す。当該製品では気温上昇に伴い、*Leuconostoc*科が優勢となる一方、*Lactobacillus*科、*Pseudomonas*科、腸内細菌科の構成比は顕著に低減を認めた。

以上より比較対象として用いた白菜浅漬け製品では気温上昇を認める夏季には*Leuconostoc*科細菌が優勢となることが示された。

3. 白菜浅漬け中における0157挙動と構成細菌叢変動

白菜浅漬けを食塩或いは市販浅漬けの素を用いて実験的に製造し、0157および指標菌の食品内変動を検討した(図6)。漬け込み液の種別を問わず、0157は接種(製造)後、12日目においても、接種時の菌数から顕著な低減を示さず、長期的な生残を示すことが明らかとなった(図

7)。また、指標菌については、0157添加により、一般細菌数が若干の低減を示したが、非添加群では、穏やかな増加傾向を示した(図7)。非接種群における大腸菌群の挙動については、市販浅漬けの素で製造された検体では保存6日目まで検出されなかったが、12日目で 10^1 オーダーが検出された。一方、食塩で製造された検体では、保存3日目で 10^2 オーダーが検出された。同検体の製造・保存における細菌叢変動をメタゲノム解析により検討したところ、供試白菜原料は約80%が*Pseudomonas*属菌により占められていたが、市販浅漬けの素を使用して製造された検体では、0157接種により*Pseudomonas*属の経時的減少と*Flavobacterium*属・*Sphingomonas*属の経時的増加が認められた(図8-9)。一方、食塩を用いて製造された検体では、0157接種の有無に関わらず、*Pseudomonas*属の更なる優勢化が保存を経るにつれて顕著となった(図10-11)。

以上より、白菜の浅漬け中において0157は長期的に生残しうることで、製造時の漬込み液の性状や保存時間により、同検体を構成する細菌叢が大きく変動することが明らかとなった。

4. 衛生規範改正前後に市販された浅漬け製品中の衛生指標菌数の比較

衛生規範改正前後に、4施設にて製造された、計8種の浅漬け製品を対象として、製品・サンプリング時期の別にそれぞれ6検体(計96検体)における衛生指標菌数を直接塗抹法により求め、改正前後での各製品の衛生状況に関する知見の収集をはかった。サンプリング時期別の比較成績概要については、表1に記す。

生菌数は、検体全体を対象とした改正前後での比較により有意差は認められず、改正前の平均生菌数は $2.52 \times 10^6 \text{CFU/g}$ 、改正後の同数値は $2.05 \times 10^6 \text{CFU/g}$ であった。製品別では、計5製品では改正前後で有意差を以て数値の変動が認められた($p < 0.05$)が、残り3製品の同数値は改正前後で有意差を認めなかった。

大腸菌群については、製品全体での平均値が改正前で $1.77 \times 10^3 \text{CFU/g}$ 、改正後では $2.57 \times 10^4 \text{CFU/g}$ と若干上昇傾向にあった。しかしながら、製品別での比較を通じ、同数値の多くは製品No.5に因るものであることが明らかとなり、他の6製品(製品No.1, 2, 3, 4, 7, 8)について、製品別に改正前後間での同菌数を比較検討したところ、有意差をもって減少傾向を示した。なお、大腸菌については本研究で供試した全ての検体で陰性となった。

乳酸菌数は、改正前の平均値が $3.17 \times 10^5 \text{CFU/g}$ であったのに対し、改正後には $9.93 \times 10^5 \text{CFU/g}$ と増加傾向を示した。製品別では、計4製品(製品No.5, 6, 7, 8)において有意な増加を認めた($p < 0.05$)。一方、製品No.2およびNo.3の乳酸菌数は、改正後に減少を示した。

以上より、衛生規範の改正を通じて、供試対象とした市販浅漬け製品における各種衛生指標菌は顕著に変動したことが明らかとなった。

5. 衛生規範改正を通じた市販浅漬け検体の構成菌叢変動

(i) 優勢菌叢の変動

衛生規範改正前における優勢構成菌叢は、*Roseateles* spp. (平均構成比 40.56%)、*Leuconostoc* spp. (同 19.72%)、*Rhizobium* spp. (6.71%)、*Sphingomonas* spp. (6.59%)、*Methylobacterium* spp. (3.28%) 等であった。一方、同規範改正後における各製品の優勢菌叢については、*Leuconostoc* spp. (32.52%)、*Lactobacillus* spp. (23.60%)、*Buttiauxella* spp. (11.20%)、*Pseudomonas* spp. (5.87%)、*Sphingomonas* spp. (5.47%) 等となり、何れの製品においても、最も優勢となる菌叢については改正前後で異なっていた (図 15)。

(ii) 大腸菌群に分類される菌叢の検証

大腸菌群に属すると推察される菌属として、供試検体より検出されたものは、*E. coli* の他、*Klebsiella*, *Buttiauxella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Pantoea* spp. 等があった。大腸菌群は、更に糞便由来または非糞便 (環境) 由来とする細分類の他、病原性を指標とした識別も学術的には行われている。製品別に見た、改正前後での構成菌叢比較を通じ、製品 No. 5 では、*Buttiauxella* spp. の構成比が、改正前の $2.02 \times 10^{-2} \%$ から改正後には 83.19% にまで急激に増加している実態が把握された (図 15)。

(iii) 乳酸菌構成比の変動

構成菌叢解析を通じ、供試検体において乳酸菌として検出された菌属としては、*Aerococcus*, *Carnobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* spp. 等が含まれると想定された。漬物製品一般において高頻度に検出される乳酸菌としては、*Lactobacillus* spp. や *Leuconostoc* spp. が知られている。浅漬け製品を構成する乳酸菌に該当する菌叢の構成比は、全検体では改正前で 25.40% であったが、改正後には 57.00% と増加傾向にあった。製品別での比較により、計 4 製品 (製品 No. 3, 4, 6, 7) では改正後に有意な乳酸菌に該当する菌属構成比の増加が確認された (表 2)。一方、製品 No. 2 及び No. 5 では改正後の乳酸菌構成比率は改正前に比べ、減少傾向にあった。

(iv) 主要食中毒起因菌の構成比変動

EHEC, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* は生鮮野菜・果実に起因する細菌性食中毒の主たる原因菌として知られる。改正前後でのこれら 3 菌属 (種) の構成比比較を行ったところ、*Salmonella* spp. については、衛生規範改正前の製品 No. 5 より検出され、その構成比は、 $2.23 \times 10^{-3} \%$ であったが、改正後検体は何れも陰性を示した。また、*Listeria* spp. については、改正前の 3 製品 (No. 2, 5, 7) より検出され、その構成比はそれぞれ $1.42 \times 10^{-3} \%$, $1.05 \times 10^{-2} \%$, $2.15 \times 10^{-3} \%$ であり、改正後検体での同菌由来遺伝子は製品 No. 5 の 1 検体のみから認められた (データ未載)。

D. 考察

食品の分類については、平成 22-24 年度 厚生労働科学研究「冷凍食品の微生物規格基準に関する研究」において、検討してきたところであるが、この中でも、「野菜・果実類」に関する微生物汚染実態については依然として知見に欠ける部分が多い。また、国内では農林水産省・厚生労働省による汚染実態調査も進められてきたが、試験法として定性法が用いられている現状を踏まえ、本研究では、「野菜浅漬け食品」を対象として、衛生指標菌ならびに主要病原細菌の定量検出を試みた。

主要病原細菌として試験対象に選定した、腸管出血性大腸菌、サルモネラ属菌、リステリア・モノサイトゲネスは、何れも野菜・果実類への汚染リスクが相対的に高い病原体として国際的に認識されている。わが国においては、特に平成 24 年 8 月に北海道で発生した、白菜の浅漬けによる腸管出血性大腸菌 0157 集団食中毒事例を契機として、漬物の衛生管理に対する社会的関心が高まりを見せると共に、原材料の受け入れから製品の販売までの各工程における漬物の取り扱い等の指針を示し、漬物に関する衛生の確保及び向上を図ることを目的として、衛生規範の改正が行われたところである (平成 25 年 12 月 13 日付け食安発 1213 号第 2 号)。当該規範では、次亜塩素酸での殺菌処理を一例として提唱し、その具体的条件を定めている。本研究に供試した浅漬け食品検体はいずれも主要病原細菌が陰性であった。野菜全般については、大腸菌の定性陽性率が概ね 1% 未満であることに加え、本試験で用いた検体製品では次亜塩素酸による殺菌工程の導入されていること、あるいは製造事業者の意識向上・教育の充実化が図られた結果によるものかもしれない。

次亜塩素酸については、一方で有機物存在下では急速に殺菌能力を失うという特性が以前より明らかとなっており、塩素臭が残るため、風味の劣化が懸念されること等も生産者・消費者側からの疑問点として挙げられている。浅漬けを含めた、野菜類の殺菌方法については、代替可能な物質の探索・開発が十分に達成されていないが主因と目されるが、近年では、酸性次亜塩素酸・ペルオキシ酢酸・電解水、マレイン酸、あるいはそれらの混合等、多様な溶媒を用いた手法が研究レベルで検討されており、今後も更なる開発検証の進展が望まれる。しかしながら、次亜塩素酸等の化学物質による殺菌は原材料の表面に付着する病原微生物に対して広域性効果を示す一方、原材料の内部やカット面に侵入した微生物に対する有効性は低いとされる。これに関連して、Hou らはエタノール殺菌および次亜塩素酸による殺菌後に、レタス内部組織中には多様な細菌が生残することを報告しており、0157 やサルモネラが内部へ侵入することが細菌学的あるいは分子生物学的に証明されている実情を踏まえると、こうした侵入性微生物に対する実態解明と制御対策等についても今後の取り組むべき課題として想定されよう。更に、今回の検討により明らかにされた構成細菌叢の分布・動態と、細菌の局在との関連性についても、