

【資料】平成 28～29 年度食品中の微生物検査結果

森尾和美 大場浩美 齋藤美香 小浦方久美子* 紫藤哲生**

はじめに

食品安全検査センターでは、県内で製造された食品や流通している食品について食品衛生法に基づき微生物検査を行っている。

検査は、「群馬県食品衛生監視指導計画」で毎年度毎に策定される食品等・収去検査計画に基づき行っており、平成28年度は565検体について1,640項目、平成29年度は567検体について1,648項目の検査を行った。本稿では平成28～29年度に行った検査の結果について報告する。

試料及び方法

1 試料

平成28及び29年度に、各保健福祉事務所の食品衛生監視員が県内で収去あるいは採取した食品を検査対象とした。

2 検査項目

食品衛生法等で食品の種別ごとに定められている成分規格や衛生規範などの対象項目を基本的に検査を実施した。

検査項目は汚染指標としての細菌数や大腸菌群、E.coli、食中毒の原因となるサルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、クロストリジウム属菌、リステリア・モノサイトゲネス及び腸管出血性大腸菌O157について実施した。また、成分規格で規定のある乳酸菌数についても検査を実施した。

3 検査方法

当センターでは食品衛生法や通知等に基づき検査実施標準作業書（SOP）を作成している。各検査項目ともこのSOPに従って検査を実施した。

結 果

1 計画検査実施状況

年間計画に従って収去検査及び買い上げ検査を実施した。

平成28年度の実施状況について、表1に示した。収去検査は525検体（うち輸入食品は7検体）1,440項目、買い上げ検査では40検体（うち輸入食品は27検体）200項目を実施した。

平成29年度の実施状況について、表2に示した。収去検査では527検体（うち輸入食品は1検体）1,408項目、買い上げ検査では40検体（うち輸入食品は40検体）240項目を実施した。

表1 平成28年度計画検査実施状況

食品の種類	検体数	輸入	検査数
収去検査			
乳及び乳製品	94		184
アイスクリーム類・氷菓	10		20
清涼飲料水	50	(6)	50
食肉製品	22		58
生食用鮮魚介類	10		10
冷凍食品	20	(1)	40
弁当・そうざい	50		150
調理パン	25		75
洋生菓子	20		60
生めん	50		150
鶏卵加工品	20		67
浅漬	40		120
検食	94		376
豆腐	20		80
小計	525	(7)	1,440
買い上げ検査（衛生実態調査）			
香辛料・調味料	40	(27)	200
合計	565	(34)	1,640

輸入（）は内数

* 現 伊勢崎保健福祉事務所
** 現 前橋市保健所

表 2 平成 29 年度計画検査実施状況

食品の種類	検体数	輸入	検査数
収去検査			
乳及び乳製品	93		183
アイスクリーム類・氷菓	10		20
清涼飲料水	50		50
食肉製品	23		59
生食用鮮魚介類	10		10
冷凍食品	20		40
弁当・そうざい	50		150
調理パン	25		75
洋生菓子	20		60
生めん	50		150
鶏卵加工品	20		67
浅漬	40	(1)	80
検食	96		384
豆腐	20		80
小計	527	(1)	1,408
買い上げ検査（衛生実態調査）			
香辛料	40	(40)	240
合計	567	(41)	1,648

輸入（ ）は内数

2 収去検査結果の概要

平成28年度の収去検査結果について、表3に詳細を示した。アイスクリーム類で大腸菌群「陽性」が2検体あり、成分規格違反となった。また、鶏卵加工品で細菌数超過が2検体あり、衛生規範不適合となった。

なお、項目別の検出率では、大腸菌群5.4%（16/297件）、細菌数超過1.0%（4/385件）、E.coli 0.9%（3/326件）であった。

平成29年度の検査結果について、表4に詳細を示した。牛乳及び冷凍食品で大腸菌群「陽性」が各1検体あり、成分規格違反となった。

また、洋生菓子で大腸菌群「陽性」が3検体（うち1検体は細菌数超過）、生めんでE.coli「陽性」が1検体、黄色ブドウ球菌「陽性」が2検体、鶏卵加工品で細菌数超過が1検体あり、衛生規範不適合となった。

なお、項目別の検出率は、大腸菌群11.3%（34/302検体）、細菌数超過1.6%（6/386検体）、黄色ブドウ球菌1.0%（3/298検体）、E.coli 0.9%（3/325検体）であった。

表 3 平成 28 年度収去検査実施件数

食品の種類	乳及び乳製品	アイスクリーム類 氷菓	清涼飲料水	食肉製品	生食用鮮魚介類	冷凍食品	弁当 そうざい	調理パン	洋生菓子	生めん	鶏卵加工品	浅漬	検食	豆腐	合計
検体数	94	10(2)	50	22	10	20	50	25	20	50	20(2)	40	94(14)	20	525(18)
検査項目数	184	20(2)	50	58	10	40	150	75	60	150	67(2)	120	376(19)	80	1,440(23)
検査項目															
細菌数	76	10				20	50	25	20	50	20(2)		94(2)	20	385(4)
大腸菌群	90	10(2)	50	2		11			20				94(14)	20	297(16)
E.coli				18		9	50	25		50	20	40	94(3)	20	326(3)
サルモネラ属菌				17							7				24
黄色ブドウ球菌				17			50	25	20	50	20		94	20	296
加シジウム属菌				2											2
腸炎ビブリオ					10							40			50
O157												40			40
リステリア	4			2											6
乳酸菌数	14														14

（ ）は検出・不適項目数

表 4 平成 29 年度収去検査実施件数

食品の種類	乳及び乳製品	アイスクリーム類 氷菓	清涼飲料水	食肉製品	生食用鮮魚介類	冷凍食品	弁当 そうざい	調理パン	洋生菓子	生めん	鶏卵加工品	浅漬	検査	豆腐	合計
検体数	93(1)	10	50	23	10	20(1)	50	25	20(3)	50(3)	20(1)	40	96(26)	20(3)	527(38)
検査項目数	183(1)	20	50	59	10	40(1)	150	75	60(4)	150(3)	67(1)	80	384(33)	80(3)	1,408(46)
検査項目															
細菌数	75	10				20	50	25	20(1)	50	20(1)		96(4)	20	386(6)
大腸菌群	90(1)	10	50	2		14(1)			20(3)				96(26)	20(3)	302(34)
E.coli				18		6	50	25		50(1)	20	40	96(2)	20	325(3)
カモチ菌属				17							7				24
黄色ブドウ球菌				17			50	25	20	50(2)	20		96(1)	20	298(3)
クロストリジウム属				2											2
腸炎ビブリオ					10							20			30
O157												20			20
リステリア	3			3											6
乳酸菌数	15														15

() は検出・不適項目数

3 計画外検査の状況

平成28年度の検査状況について、表5に詳細を示した。衛生実態調査の関連試験として20検体（すべて国産品）80項目の検査を行った。

平成29年度の検査状況について、表6に詳細を示した。給食施設の指導検査及び衛生実態調査の関連試験等について159検体（すべて国産品）590項目の検査を行った。

表 5 平成 28 年度計画外検査実施状況

検査の種類	検体数	項目数	検査項目
乾燥農作物 の実態調査	20	80	セレウス、E.coli、大腸菌群、クロストリジウム属菌

表 6 平成 29 年度計画外検査実施状況

検査の種類	検体数	項目数	検査項目
給食施設の 指導検査	59	413	一細菌数、セレウス、E.coli、大腸菌群、黄色ブドウ球菌、カビ、酵母
セレウスの 同定試験	22*	99	毒素型 <i>B.thuringiensis</i> の結晶タンパク検査
牛乳等の低 温細菌	78*	78	低温細菌
合計	159	590	

*は計画検査と重複有

【資料】県内に流通する香辛料等の微生物学的実態調査

森尾和美 大場浩美 齋藤美香 小浦方久美子* 紫藤哲生**

はじめに

群馬県では食中毒発生の未然防止対策を図るため、毎年、「食中毒菌衛生実態調査」を実施している。平成28年度及び平成29年度は、「香辛料・調味料」の細菌汚染実態を把握するため検査を実施した。

試料及び方法

1 試料

食品衛生監視員が小売店で買い上げ、当センターに搬入した香辛料及び調味料の合計80検体を実施した。

2 検査項目

一般細菌数、大腸菌群、大腸菌、セレウス菌、クロストリジウム属菌の5項目及び平成29年度については、サルモネラ属菌を追加し6項目を行った。

3 検査方法

当センターでは食品衛生法や通知等に基づき検査を実施しているが、香辛料・調味料ともに検査の指針が無いこと、主に加熱せずに用いられることから「検食等（規格基準及び衛生規範等に該当しない食品）」とし、下記(1)～(4)のとおり検査を実施した。

また、セレウス菌、クロストリジウム属菌、サルモネラ属菌については、当センターの「試験検査実施標準作業書」に準じて、下記(1)～(7)のとおり検査を実施した。

(1) 希釈液：滅菌リン酸緩衝生理食塩水

(2) 試料の調製：香辛料については、細断・混合後、滅菌ストマッカー袋に採り希釈液で50倍希釈し、試料液とした。調味料については、二層に分離している場合は、油分を取り除いた残りを、分離していない場合は、そのままを滅菌ストマッカー袋に

採取し、希釈液で10倍希釈した。さらに、必要に応じて段階希釈し、以下の(3)～(6)の試験に用いた。

(3) 一般細菌数：標準寒天培地（日水製薬）
35±1□、48±3時間

(4) 大腸菌群・大腸菌：ペトリフィルムEC（3M）
35±1□、48±2時間

(5) セレウス菌：MYP培地（BD）・X-BC培地（日水製薬）・クロモアガーバチルス

セレウス培地（関東化学）培養温度及び時間は各培地の添付文書のとおり分離した菌は、生化学的性状試験、同定試験を実施
(6) クロストリジウム属菌：クロストリジア測定用培地（日水製薬）嫌気用パウチ（スギヤマゲン）
35±1□、24±2時間

(7) サルモネラ属菌：試料を細断・混合後、滅菌ストマッカー袋に採りBPW（エルメックス）で50倍希釈後、増菌培養、
37±1□、22±2時間

RV プイヨン（バイオメリュー）TT培地（日水製薬）
42±0.5□、22±2時間

MLCB培地（日水製薬）クロモアガーサルモネラ（関東化学）
37±1□、22±2時間
分離した菌は、生化学的性状試験を実施

結果

1 香辛料

平成28年度に実施した20検体については5項目、平成29年度に実施した40検体については6項目について検査を行い、検出数は表1のとおりとなった。

表1 香辛料検出数

検体数	検出数 (%)					
	細菌数 10 ⁶ 超過	大腸菌 群	大腸菌	セレウス 菌	クロストリジ ウム属菌	サルモネ ラ属菌*
60	2 (3)	12 (20)	1 (2)	5 (8)	27 (45)	0 (0)

* サルモネラ属菌は、H29年度のみ40検体実施

* 現 伊勢崎保健福祉事務所

** 現 前橋市保健所

60 検体中 12 検体から大腸菌群（検出率 20%）、1 検体から大腸菌（同 2%）、5 検体からセレウス菌（同 8%）、27 件からクロストリジウム属菌（同 45%）が検出された。一般細菌数については基準値が設けられていないが、目安となる弁当・そうざい（未加熱）の目標値 10^6CFU/g^1 を超えるものが 2 検体（同 3%）あった。また、サルモネラ属菌については、実施した 40 検体すべて未検出であった。

なお、60 検体はすべて輸入品であった。

2 調味料

平成 28 年度に実施した 20 検体について、5 項目検査を行い、検出数は表 2 のとおりとなった。

表 2 調味料検出数

検体数	検出数 (%)				
	細菌数 10^6 超過	大腸菌群	大腸菌	セレウス菌	クロストリジウム属菌
20	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (10)	3 (15)

20 検体中 2 検体からセレウス菌（検出率 10%）が、3 検体からクロストリジウム属菌（同 15%）が検出された。大腸菌群及び大腸菌は不検出、一般細菌数は 10^6CFU/g を超過するものはなかった。

なお、20 検体のうち、国産品 13 検体、輸入品 7 検体であった。菌の検出数については、国産、輸入ともに差異は見られなかった。

まとめ

香辛料は、食品の調理のために用いる芳香性と刺激性を持った植物加工食品であり、通常、調理行程で原材料として微量に使用され、消費者が喫食する機会も多い。

アメリカでは、香辛料が原因である食中毒事例が複数件発生した事をうけ、米国食品医薬品庁（FDA）が 2013 年 10 月 30 日に「香辛料中の病原体・異物に係るリスクプロファイル（案）」²⁾を公表した。ファイルには、香辛料の微生物汚染実態、危害、それらの管理等について記載されており、追って、2016 年 2 月 26 日に香辛料の安全向上に関する Q & A が公表された。

国内では、統計資料³⁾によると、香辛料

の多くが輸入品であり、輸入量は右肩上がりに推移し、製造量、販売量も増加している。厚生労働省では、検疫所で輸入された香辛料についてアフラトキシン、残留農薬検査を実施しているが、細菌に関する検査は行っていない。

輸入後の細菌に関する規制としては、食品衛生法で、食肉製品等に使用する香辛料について基準（芽胞数 1000 個 / 1g 以下）⁴⁾が定められているのみであり、それ以外の食品に使用する場合の基準は規定されていない。

今回の結果から、香辛料等から大腸菌群等の汚染指標となる菌やセレウス菌が検出された。

これらを原材料として調理する際、加工時や、調理後の保管等に適切な衛生管理がなされなかった場合、菌が残存・増殖し、食中毒が発生する可能性も否定できない。

よって、今後も香辛料等について汚染の実態把握を継続して行うとともに、調理施設や消費者へ食中毒予防について啓発指導を行うことが望ましいと思われる。

文献

- 1) 厚生省「弁当及びそうざいの衛生規範について」昭和 54 年 6 月 29 日環食第 161 号、改正平成 7 年 10 月 12 日衛食第 188 号・衛乳第 211 号・衛化第 119 号
- 2) 米国食品医薬品庁（FDA）: Risk Profile: Pathogen and Filth in Spices、Q&A
- 3) 財務省、農林水産省：統計資料
- 4) 厚生省「食品，添加物等の規格基準」昭和 34 年 12 月 28 日厚生省告示 370 号

【資料】牛乳等における低温細菌検出の検討

大場浩美 齋藤美香 紫藤哲生* 森尾和美

はじめに

低温細菌は水や土壌、生乳、食肉、生鮮魚介類など自然界に広く分布し、低温下で食品を腐敗・変敗させる。このため、食品の保存状態や衛生状態を把握するのに低温細菌の検出が広く用いられている。低温細菌とは、一般的に5~7℃で7~10日間以内に肉眼で認められる集落を形成する細菌を総称し、特に生理的性質における共通点はない¹⁾。

現在、わが国において食品中の低温細菌検査に関する公定法は示されていない。乳および乳製品などを低温保存した際に乳質変化をおこす原因菌が主としてグラム陰性菌であることから、今回、グラム陰性菌の選択培地である CVT 寒天培地を用いて牛乳等からの低温細菌の検出について検討を行ったので、その概要について報告する。

対象および方法

1 対象

事前検査の標準菌として *Enterobacter aerogenes* NCTC 10006 (Bio Ball : BIOMERIEUX) を3検体、および県で策定した「食品等検査計画」に従い、平成29年5月8日~平成30年2月26日に県内8保健所管内で食品衛生監視員が製造所から収去し、当センターに搬入のあった牛乳、乳飲料、加工乳75検体を対象とした(表1)。

2 方法

(1) 事前検査

当センターの試験検査実施標準作業書(SOP424)

表1 検体の内訳

検体搬入日	検体数	検体の種類別			
		牛乳	乳飲料	加工乳	
H29.	5.8	15	11	3	1
	8.28	8	7	1	0
	9.25	14	10	3	1
	12.11	12	9	2	1
H30.	1.22	15	13	2	0
	2.26	11	8	2	1
合計	75	58	13	4	

に従い検査を実施した。滅菌牛乳40mLにBio Ball(9366.0CFU)を1個添加した菌液、さらに滅菌生理食塩水で10倍希釈した菌液(n=3)を2枚のシャーレに各1mL分注した。CVT(Crystal Violet Triphenyltetrazolium chloride)寒天培地(日水製薬)15~20mLを加え混釈し、20~25℃で48~72時間培養後、培地上に発育した赤色コロニーを計測した。

(2) 収去検体

1回目および2回目の検査では、牛乳等を滅菌生理食塩水で10倍希釈したものを試料液とし、CVT寒天培地を加え混釈後、20~25℃で48~72時間培養した。3回目以降の検査では、牛乳等の原液、および滅菌生理食塩水で10倍希釈したものを試料液とした。20~25℃で48~72時間培養し、コロニーの発育の有無を確認後、7日目まで培養を継続した。培地上に発育したコロニーを釣菌し、トリプトソーヤ寒天(TSA)培地(日水製薬)で純培養を行った後、簡易同定検査試薬(BBLCRYSTAL:BD)を用いて菌の同定を行った。

結果

* 現 前橋市保健所

1 事前検査

標準菌 3 検体について CVT 寒天培地上に発育したコロニー数を計測したところ、平均 1.9×10^2 CFU/mL、回収率 79.0%であった。

2 牛乳等からの細菌分離・同定

1 回目および 2 回目の検査では 10 倍希釈液を試料としたところ、全ての検体でコロニーの発育を認めなかった。このため、3 回目以降の検査では 10 倍希釈試料液だけでなく、原液についても 48~72 時間培養し、コロニーの発育の有無を確認した。さらに、培養時間を延長し、7 日目まで継続して観察した。その結果、75 検体中 12 株が分離され(表 2)、その同定結果を表 3 に示した。同定した 12 株は、*Streptococcus* 4 株 (33.3%)、*Klebsiella* 3 株 (25.0%)、*Bacillus* 2 株 (16.7%)、*Acinetobacter* 1 株 (8.3%)、*Pantoea* 1 株 (8.3%)、*Escherichia* 1 株 (8.3%) だった。このうち、48~72 時間培養で CVT 寒天培地上に発育したのは分離株 No.1 *Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae*、No.6 *Acinetobacter lwoffii*、No.7 *Pantoea agglomerans* の 3 株で、その他の分離株は 72 時間以降に確認された。

搬入検体別にみると、12 株のうち 8 株 (66.7%) が低温殺菌牛乳から分離され、超高温瞬間殺菌牛

表 2 CVT 寒天培地からの分離数

検体搬入日	分離数/検体数 (%)
H29. 5.8	0 / 15 (0.0)
8.28	0 / 8 (0.0)
9.25	6 / 14 (42.9)
12.11	2 / 12 (16.7)
H30. 1.22	4 / 15 (26.7)
2.26	0 / 11 (0.0)
合計	12 / 75 (16.0)

乳からは分離されなかった。牛乳 C および牛乳 H はそれぞれ *Streptococcus* が 2 株ずつ分離され、乳飲料 D からは *Bacillus* が 1 株ずつ 2 回、牛乳 F からは *Pantoea* と *Klebsiella* が 1 株ずつ異なる搬入日で分離された。乳飲料 D からの分離株 No.5 *Bacillus cereus* については、*Bacillus cereus* (CRS gene) PCR Detection Kit (TaKaRa) を用いた PCR 法による嘔吐毒産生試験、および CRET-RPLA「生研」(デンカ生研)を用いた逆受身凝集反応による下痢毒産生試験を行い、下痢毒産生株であることを確認した。

また、CVT 寒天培地上に発育した低温細菌数、同時に実施した乳等省令²⁾で定められている標準寒天培地による一般細菌数、および BGLB 発酵管 (Brilliant Green Lactose Bile Broth) を用いた大腸菌群検査結果を表 3 に示した。低温細菌数は分離

表 3 同定結果

検体搬入日	検体名	BBL同定結果	低温細菌数 (CFU/mL)	一般細菌数 (CFU/mL)	大腸菌群
1 H29. 9.25	牛乳 A	<i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</i>	1	1.3×10^3	陰性
2 9.25	牛乳 B*	<i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</i>	2	300以下	陰性
3 9.25	牛乳 C*	<i>Streptococcus intermedius</i>	1	300以下	陰性
4 9.25	牛乳 C*	<i>Streptococcus constellatus</i>	1	300以下	陰性
5 9.25	乳飲料 D*	<i>Bacillus cereus</i>	2	300以下	陰性
6 9.25	牛乳 E	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	7.9×10	300以下	陽性
7 12.11	牛乳 F	<i>Pantoea agglomerans (Enterobacter agglomerans)</i>	10	300以下	陰性
8 12.11	加工乳 G*	<i>Escherichia vulneris</i>	1	300以下	陰性
9 H30. 1.22	牛乳 F	<i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</i>	1	300以下	陰性
10 1.22	乳飲料 D*	<i>Bacillus licheniformis</i>	2	300以下	陰性
11 1.22	牛乳 H*	<i>Streptococcus salivarius</i>	1	300以下	陰性
12 1.22	牛乳 H*	<i>Streptococcus vestibularis</i>	8	300以下	陰性

* 低温殺菌

菌 No.6 (牛乳 E) を除いて 10 CFU/mL 以下、一般細菌数は分離菌 No.1 (牛乳 A) を除いて 300 CFU/mL 以下、大腸菌群は分離菌 No.6 (牛乳 E) を除いてすべて陰性だった。

考察

1 回目および 2 回目の検査では CVT 寒天培地上にコロニーの発育を認めなかったため、試料液の希釈濃度の変更、および培養時間の延長を試みたところ、75 検体中 10 検体から 12 株の分離同定が可能となった。低温細菌の中で最も広く分布しているとみられる *Pseudomonas* は分離されなかったが、牛乳や乳製品の保存性に影響を及ぼし、品質に様々な変化を生ずるものとして主要な *Klebsiella*、*Acinetobacter*、*Enterobacter*、*Escherichia* 等のグラム陰性菌が分離された。このうち、大腸菌群に含まれる *Klebsiella*、*Enterobacter*、*Escherichia* は、BGLB 発酵管による 32~35 での培養では分離されず、CVT 寒天培地を用いた 20~25 で分離され、大腸菌群が低温下で発育することが確認された。

また、グラム陰性菌を選択的に検出する CVT 寒天培地を用いたが、*Streptococcus* や *Bacillus* などのグラム陽性菌も分離された。低温下での *Streptococcus* の発育は食品の腐敗にあまり関与せず重視されていないが、食中毒の原因菌となる *Bacillus cereus* が乳飲料 D から分離された。毒素産生試験では下痢毒産生株であったことから、低温細菌が食中毒を引き起こす可能性を否定できない。

さらに、乳飲料 D および牛乳 F は、異なる搬入日の検体からそれぞれ細菌が分離され、同一商品から複数回の検出を確認した。低温細菌は水や土壌などの自然界に広く分布し、一般的には従来の殺菌条件で死滅するが、細菌の種類や数により生存する可能性も報告されている³⁾。殺菌後も低温細菌の残存の可能性、殺菌不十分、あるいは殺菌後の再汚染等さまざまな要因で、食品を低温下での保存中に細菌が増殖すると考えられる。同一商

品から複数回分離されていることから、今後も継続して調査を行い、低温細菌の検出により食品の保存状態や衛生状態を把握し、食の安全を確保するよう努めたい。

低温細菌の検出には、22~25 で 48~72 時間などの測定条件による迅速法が行われることが多い。しかしながら、これらの便宜的な培養では 5~7 で発育可能な低温細菌だけでなく、その他の中温細菌の可能性も否定できないため、分離株が 5~7 で増殖することの確認を今後の課題としたい。

文献

- 1) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針 微生物編 改訂第 2 版 2018、215、公益社団法人日本食品衛生協会、東京、2018。
- 2) 厚生省「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」昭和 26 年 12 月 27 日、厚生省令第 52 号。
- 3) 矢野信礼：牛乳・乳製品の好冷細菌、食品衛生学雑誌、5、(2) 103 - 111、1964。