衛生規範改正前後における市販浅漬け製品の指標菌数ならびに 菌叢動態に関する比較検討

〇橘理人1, 吉村昌徳1,2, 山本詩織1, 春日文子3, 五十君靜信1, 朝倉宏1

(1国衛研・食品衛生管理,2日冷検・関西事業所,3国衛研・安全情報)

一要旨

[目的] 2012年8月の腸管出血性大腸菌O157集団食中毒の発生を受け,浅漬けを含む漬物の製造に係る衛生規範が改正されることとなった. これに際して、演者らは白菜の浅漬けを製造する施設でのパイロットスタディを行い、同改正が病原細菌の汚染制御に有効に機能しうることを 検証した.本研究では,規範改正前後に市販された浅漬け製品を対象に,衛生指標菌数及び構成細菌叢の変動を比較検討し,規範改正後の 市販浅漬け製品の微生物汚染実態を把握することを目的とした.

[方法] 本研究では,規範改正前後に都内で市販された浅漬け8製品(各6検体)を供試し,一般細菌数,大腸菌群数,乳酸菌数を求めた.また, 各製品より4検体を無作為に抽出し、DNAを抽出後、Ion Torrent PGMを用いた16S rRNA Pyrosequencing解析に供し、各検体の構成菌叢及び主 要病原細菌の分布を比較検討した.

[結果] 検体全体での平均菌数は,一般細菌が2.3 x 10⁶CFU/g,大腸菌群が1.4 x 10⁴CFU/g,乳酸菌が2.4 x 10³CFU/gであった.多くの検体におい て,一般細菌数と大腸菌群数の低減,および乳酸菌数の増加を示した. 菌叢構成変動として,全体ではRoseateles属からLeuconostoc属への優 勢菌属の変遷が認められ、腸内細菌科菌群構成比率の減少傾向を示した.また,改正後検体からはSalmonellaおよびEscherichia属菌由来遺 伝子は検出されなかった. 改正前後で指標菌数に顕著な低減を示さなかった製品では腸内細菌科菌群に属するButtiauxella属菌の構成比率 の増加を示した.

[結論] 改正された衛生規範に則って製造された浅漬け検体は、改正前検体に比べ、病原細菌による汚染危害が低減されたと考えられた. 本 研究で用いた指標菌試験と菌叢解析の併用は食品中での病原細菌の汚染実態を精査し、ヒト病態との関わりを紐解く上で有用と思われる.

背景

2012年08月

北海道で製造された白菜の浅漬けを原因とする 腸管出血性大腸菌O157による集団食中毒事件が 発生(患者数169名 死者8名)

2012年12月「漬物の衛生規範」を改正

第5 食品等の取り扱い

(8) 次のいずれかの方法により殺菌を行うこと.

① 次亜塩素酸ナトリウム溶液(100mg/ℓで 10 分間又は200mg/ℓ で5分間) 又は これと同等の効果を有する亜塩素酸水(きのこ類を除く), 次亜塩素酸水並びに食品 添加物として使用できる有機酸溶液等で殺菌した後、飲用適の流水で十分すすぎ洗 いすること. 塩素濃度の管理を徹底し、確認を行った時間、塩素濃度及び実施した 措置等を記録すること.

② 75℃で1分間の加熱, 又はこれと同等以上の効力を有する方法で殺菌すること. 温度管理を徹底し、確認を行った時間、温度及び実施した措置等を記録すること、

特定の白菜浅漬け製品を対象としたパイロット 現在までの研究 スタディにより、改正後規範が病原細菌の汚染 制御に有効に機能しうることを検証

EVALUATION OF THE DYNAMICS OF MICROBIOLOGICAL QUALITY IN LIGHTLY PICKLED NAPA CABBAGES DURING MANUFACTURE

(Masuda *et al*. J Food Safety 2015)

目的

改正後の市販浅漬け製品における微生物汚染実態を把握する

検体及び方法

検体No	1	2	3	4	5	6	7	8
原材料	白菜	茄子	茄子	大根	白菜	胡瓜	茄子	野沢菜
製造事業者	Α	Α	В	С	Α	Α	Α	D

指標菌試験: 検体25gに緩衝ペプトン水225mLを加え懸濁後, 標準寒天 培地(一般細菌), VRBL寒天培地(大腸菌群), MRS寒天培地(乳酸菌) を用いて検体1gあたりの各指標菌数を求めた.

菌叢解析: 検体からDNAを抽出後, 16SrRNA(V5-V6)領域をPCR増幅し, Ion PGMシステムを用いたPyrosequencing解析を行った. 出力データよ り,検体毎にRDPを用いた階層別分類を行い,構成菌叢を比較した.

考察及び結論

一般細菌数

検体により異なる

大腸菌群数

減少傾向(1製品を除く) 検体により異なる

乳酸菌数 菌叢構成

Roseateles属からLeuconostoc属へ優勢菌属の変遷

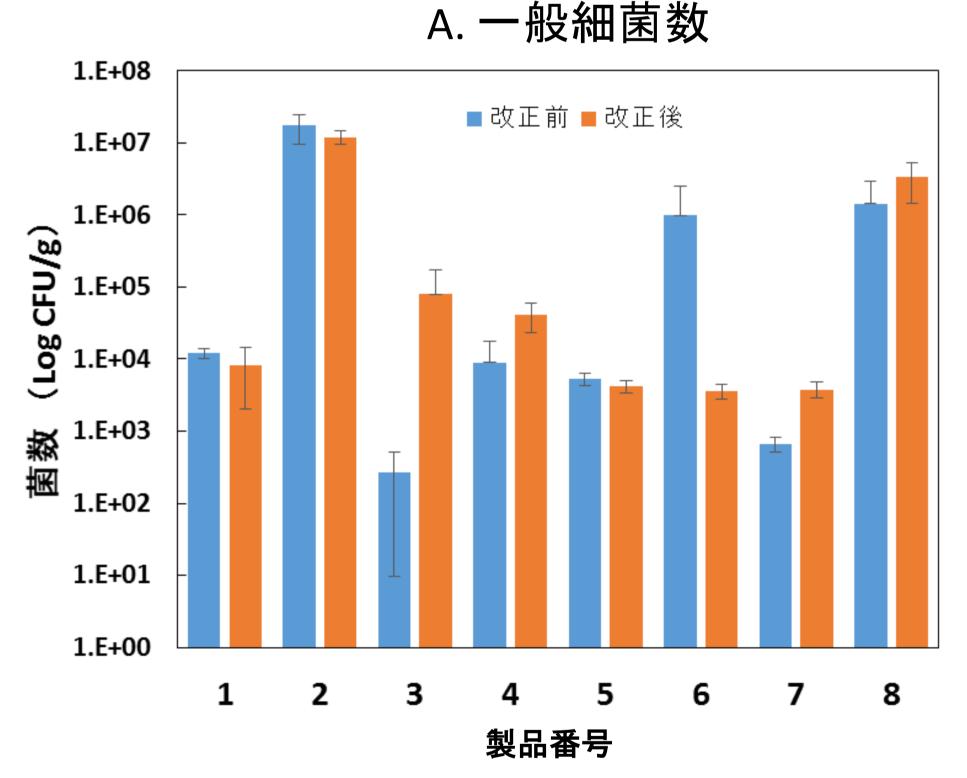
大腸菌群の構成比率低減

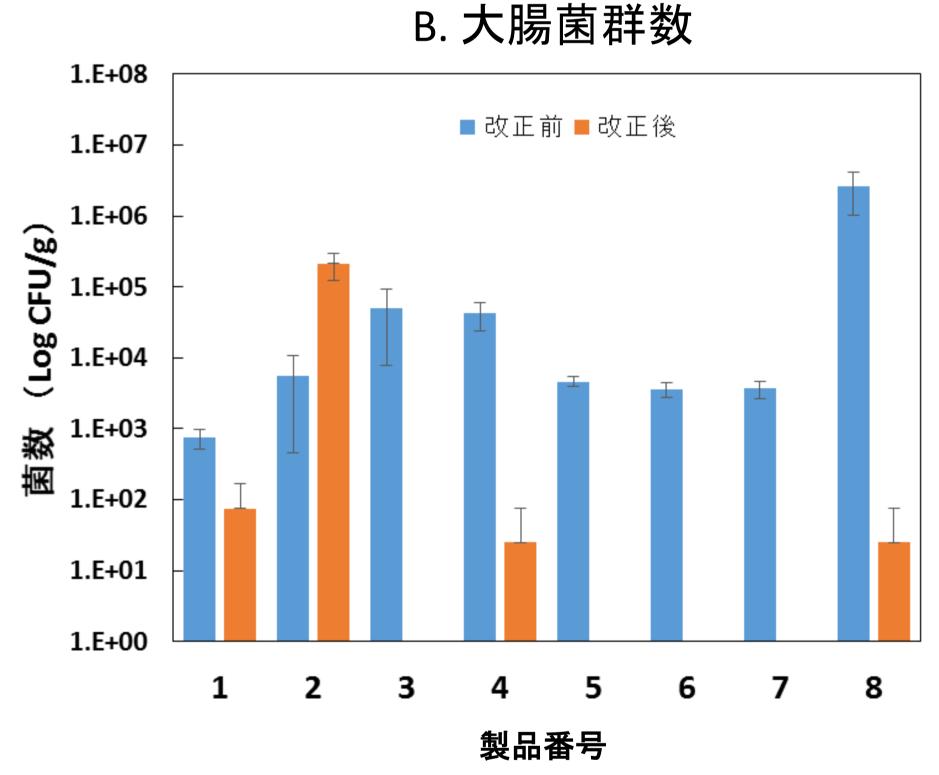
Salmonella, Escherichiaは改正後では何れも陰性

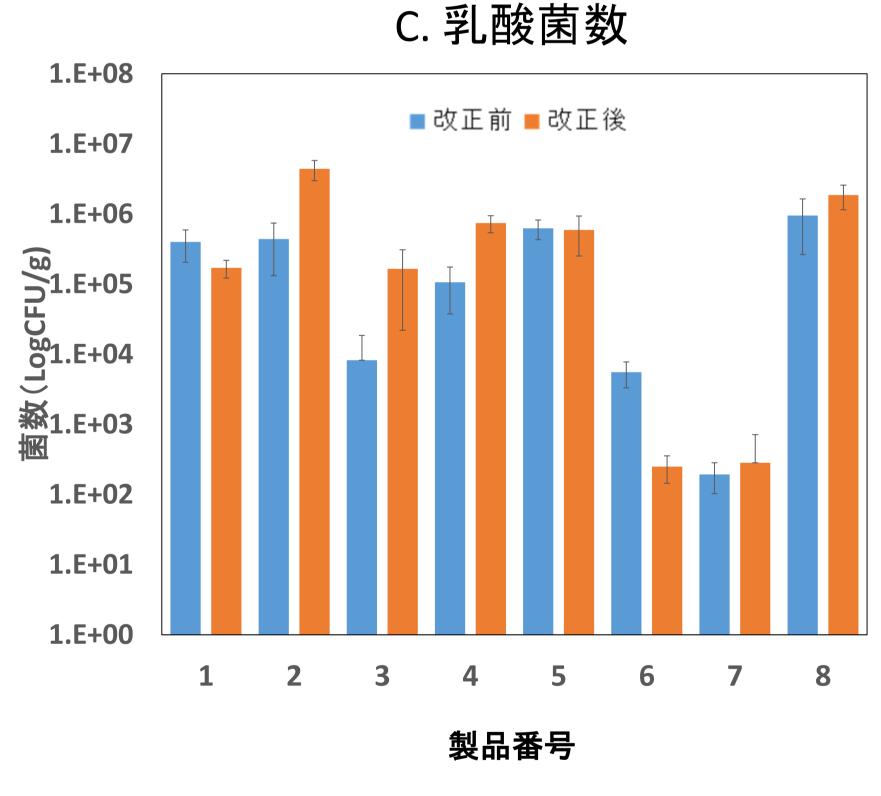
改正された衛生規範に則つて製造市販された浅漬製品は、概して改正 前製品に比べ病原菌汚染危害が低減

⇒衛生規範の改正が市販浅漬けの衛生管理に有効に機能

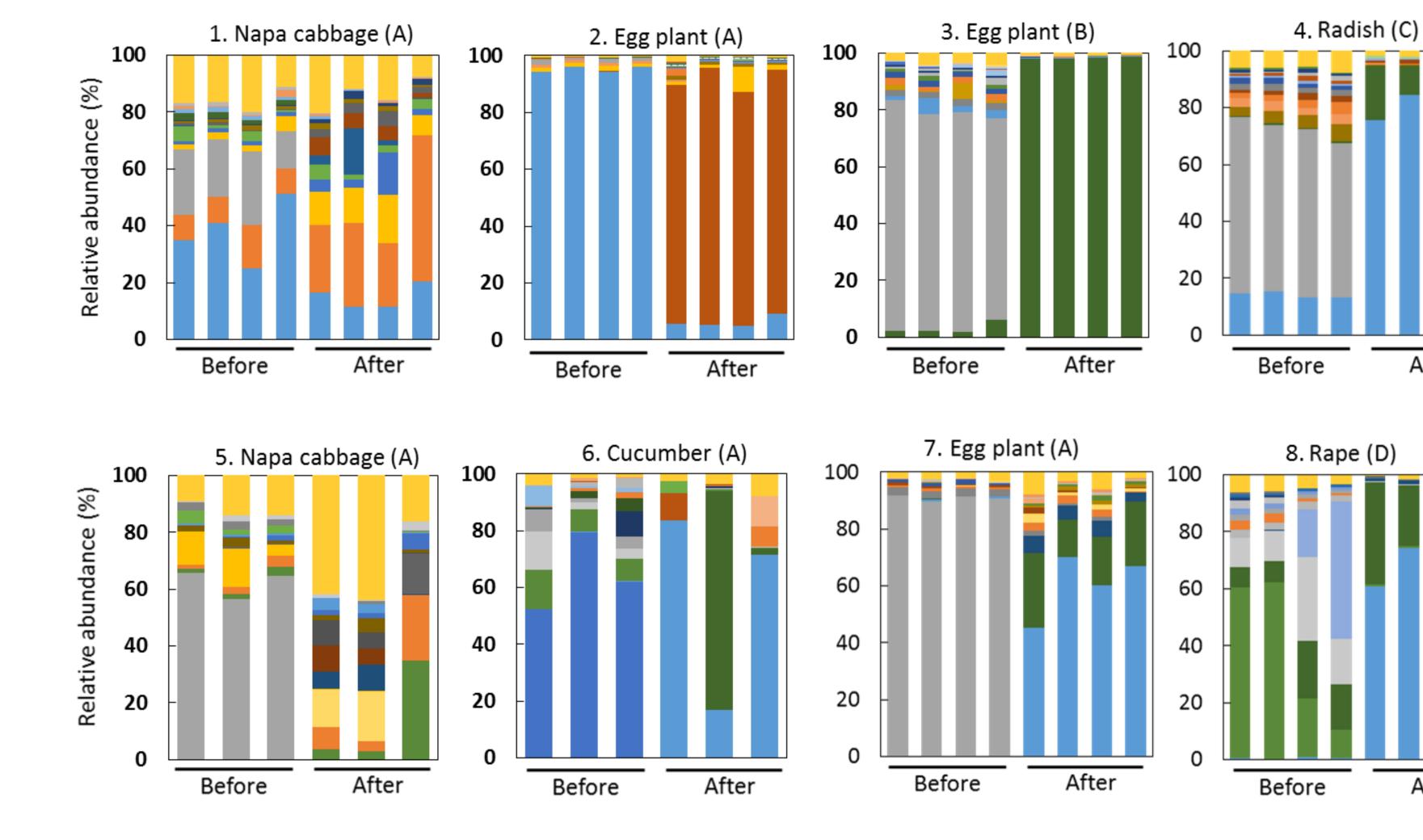
結果① 指標菌数







結果② 菌叢解析





After

Rhizobium Herbaspirillum ■ Pedobacter Arthrobacter Delftia Chryseobacterium Pantoea

Leuconostoc

■ Roseateles

- Hafnia ■ Brevundimonas Phyllobacterium
- Marinobacter Methylobacterium Weissella ■ Rhodococcus
- Enterococcus Aurantimonas Proteus
- Corynebacterium Massilia Naxibacter

Gulbenkiania

Erwinia Serratia ■ Lactobacillus Lactococcus Buttiauxella Yersisa Shewanella Paenibacillus

Pseudomonas

Raoultella

■ Vibrio

- Sphingomonas Halmonas Propinobacterium Pediocuccus Parabacteroides Psychrobacter ■ Microbacterium
- Acinetobacter Bacillus
- Hymenobacter ■ Rahnella

Other

謝辞

本研究は、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」(H25-食品-一般-010)(平成25-27年度)の補助を受け, 実施した.

