

生鮮野菜による食中毒を防ぐ



そめや・たかし
東北大学大学院農学研究科
農芸化学専攻博士課程修了。
産業医科大学医療技術短期
大学微生物学助手、同講師
を経て、現在、佐賀大学農
学部准教授。土壤微生物学
の視点から資源循環と食の
安全を研究。
農学博士

染谷 孝

1. はじめに

昨年（2011年）、欧米では農産物を介した大規模な食中毒が相次いだ。まず5月～7月にドイツのハンブルグ市で腸管出血性－腸管凝集性大腸菌 O104：H4（大腸菌 O104）による極めて大規模な食中毒と溶血性尿毒症症候群（HUS）が発生し、海外からの旅行者を含む4,000人以上の感染者と50名の死者が出た¹⁾。原因食品はスプラウト（大豆モヤシやアルファルファなどの新芽野菜）であった。さらに7月～10月、米国の28州でメロンを介したりステリア菌食中毒が発生し、感染者100名以上、死者30名を数えるに至った²⁾。

このような大規模な集団食中毒の背景には、野菜の生食やオーガニック食品を好む現代人の嗜好、生鮮野菜やカット野菜の広域流通化などがある。ヒト病原菌による生鮮野菜の汚染は、生産現場から流通、小売り、家庭での消費のどの段階でも起こりうるが、上記の二例は、生産現場での汚染の可能性が高いといわれている。

幸い我が国では、これらのような大規模な食中毒事件は起きていない。しかし、生鮮野菜を取り巻く状況は欧米と我が国でさして大差はなく、対岸の火事として看過することなく、今のうちに教訓を引き出し、未然に防止対策を強化するべきで

あろう。諸外国ではどのような汚染が生じているのか、それらを未然に防ぐためには、どのような研究と対策がなされているのか、またなされるべきなのか、紹介する。

2. 諸外国での生鮮野菜による食中毒事例

生鮮野菜を介して起きた大規模な食中毒の米国等での事例を第1表に示す。米国では毎年のように大規模な食中毒が、トマト、レタス、ハウレンソウ、メロン、スプラウトなどを介して、腸管出血性大腸菌 O157：H7（大腸菌 O157）やサルモネラにより発生している。特に2006年にハウレンソウを介した大腸菌 O157食中毒では、全米26州に加えて、輸出先のカナダ、オーストラリア、韓国まで巻き込み、感染者205名、死者3名を出した³⁾。これは広域流通が汚染を広げた典型例である。このハウレンソウはベブースピナッチ（ハウレンソウの若葉）として食されるもので、我が国でも最近普及しつつある。汚染源はカリフォルニア州の特定の有機農場と判明し、農場内の製品から本菌が検出され、パルスフィールド電気泳動法（PFGE）による遺伝子解析で患者から分離された菌株と同一であることが確認されている⁴⁾。堆肥（液肥）、用水、または野生動物の糞が本菌に

第1表 米国等で生鮮野菜を介して発生した食中毒

品目	原因菌	発生国	期間	感染者数	死者数
トマト	サルモネラ	米国	2004年7月	110	0
レタス	大腸菌 O157	米国	2005年10月	17	0
ハウレンソウ	大腸菌 O157	米国	2006年8月～12月	205	3
レタス	大腸菌 O157	米国	2006年11月	70	0
ハラペーニョペッパー, セラーノペッパー, トマト	サルモネラ	米国	2008年4月～8月	1,442	2
メロン	サルモネラ	米国	2009年1月～3月	51	0
スプラウト	サルモネラ	米国	2009年2月～4月	235	0
スプラウト	大腸菌 O104	ドイツ	2011年5月～7月	4,321	50
メロン	リステリア菌	米国	2011年7月～10月	146	30

より汚染されていたが、汚染源として断定するには至っていない。

また2008年のサルモネラ食中毒では、1,442名の感染者と2名の死者を出す大規模な事件となった。当初トマトが原因食品と断定されたが、その後、メキシコから輸入されたハラペーニョペッパーとセラーノペッパーが主因とされた（ただしトマト原因説も否定されていない⁴⁾）。

さらにスプラウトでは、2009年に全米14州で235名のサルモネラ (*Salmonella Saintpaul*) 感染者を出し、昨年(2011年)5月～7月にドイツのハンブルグ市で大腸菌 O104による食中毒が発生し、最終的にはEU諸国からの旅行者を含む4,321名の感染者と50名の死亡者が発生するという大規模なアウトブレイク(集団発症)となった¹⁾。原因食品は当初スペイン産キュウリといわれ、市内のスーパーからはキュウリのみならず生鮮野菜がすべて姿を消し、EU諸国はスペインからの輸入禁止措置をとる騒ぎとなった。その後、ハンブルグ市郊外の特定の生産施設によるスプラウトが原因と断定された。このスプラウト生産施設はいわゆる有機農場で、種子生産段階での堆肥などによる汚染、用水の汚染、あるいは人の手を介した汚染などの可能性が指摘されたが、最終的にエジプトから輸入した種子が感染源として特定された。死亡者が多数に上ったのは、HUSを発症して重篤化した感染者が多かったためである(感染者の19.7%)。また、O104という血清型は食中毒では大変珍しい。スペイン政府はこの件で風評被害を受けたとして、2億ユーロ(約230億円)の損害賠償をEUに請求している。

さらに昨年(2011年)7月～10月、米国26州でメロンを介したリステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) による食中毒が発生し、感染者146名、死者30名を数えるに至った²⁾。このメロンは、2009年のサルモネラ食中毒と同様、カンタロープという赤肉種のマスクメロンである。汚染源としてコロラド州のある農場が特定され、ここで露地栽培されたメロンや包装器具から同菌が検出され、患者の菌株と同一であることがPFGEで確認されている。注目すべきことは、メロンの果肉から同菌が検出されていることで、果実内部に侵入した可能性が高いことを示す。リステリア菌は土壌や水に広く分布し、欧米では肉や乳製品を介した食中毒が一般的で、メロンが感染源になったのは初めてであり、これほど規模が大きいのも珍しい。なお我が国ではリステリア菌による食中毒は従来なかったが、最近、食品からの感染例や生ハム汚染が起きているので、我が国でも警戒すべき病原菌である。

スプラウトに関しては、欧米各国で実に多くの食中毒が発生している(第2表)。ほとんどがサルモネラによるもので、病原性は比較的に弱いので、上記ドイツのO104の事例以外では死者は報告されていない。これらのうち豆モヤシ^ゆとは主に大豆モヤシである。我が国ではモヤシは茹でて食するのが普通であるが、欧米では生でサラダに使われることも多い。このような食習慣の違いも多発している原因の一つであろう。

3. 我が国での農産物関連の食中毒の動向

上述のように、諸外国では実に多数の食中毒が

第2表 諸外国でスプラウトを介して発生した食中毒

感染源	原因菌	発生国	期 間	感染者数	死者数
緑豆スプラウト	サルモネラ	カナダ	2001年	84	0
アルファルファスプラウト	大腸菌 O157	米国	2003年	13	0
緑豆スプラウト	サルモネラ	カナダ	2005年	648	0
アルファルファスプラウト	サルモネラ	オーストラリア	2005年	125	0
アルファルファスプラウト	サルモネラ	スウェーデン	2007年	44	0
アルファルファスプラウト	サルモネラ	デンマーク他	2007年	45	0
アルファルファスプラウト	サルモネラ	フィンランド	2009年	42	0
豆モヤシ	サルモネラ	英国	2010年	190	0
アルファルファスプラウト	サルモネラ	米国	2010年～2011年	125	0
アルファルファスプラウト他	大腸菌 O104	ドイツ	2011年 5月～7月	4,321	50
アルファルファスプラウト他	サルモネラ	米国	2011年 6月	21	0

カンサス州立大学の資料⁵⁾を改編

生鮮野菜を介して起きている。では我が国ではどうか？平成23年度の食中毒発生件数のうち、野菜およびその加工品（キノコ類を除く）による食中毒の割合は、総数1062件のうちの1.1%，総患者数21,616人のうちの1.2%で、いずれも多くはない⁶⁾。しかし、大腸菌 O157による食中毒の原因として判明している食品のうち約26%が「野菜・野菜サラダ」である（1996年～2003年の集計）⁶⁾。

野菜の汚染は従来、まな板などの調理器具を介して二次的に起きるものといわれてきたが、調理上の衛生観念の発達した今日、二次汚染ばかりで説明を付けることは難しい。

諸外国におけるスプラウトを介した食中毒の多さと比べると、我が国ではこの手の生鮮野菜による食中毒はほとんど聞かない。1996年に大阪府等で大腸菌 O157による集団食中毒が発生した際に

第3表 植物体内への食中毒菌の侵入の可否に関する実験例（水耕栽培）

出展	菌種	作物	栽培基質の減菌	接種菌濃度 (Log CFU/ mL or g dry soil)	侵入
Itoh ら, 1998	大腸菌 O157	カイワレ	減菌	3	+
Wachtel ら, 2002	大腸菌 O157	レタス	*	*	+
Warriner ら, 2003	大腸菌 P36	スプラウト	減菌	7	+
Jablasone ら, 2005	大腸菌 O157	レタス	減菌	2	+
		ラディッシュ	減菌	2	+
		ハウレンソウ	減菌	2	+
		クレス	減菌	2	+
		サルモネラ	レタス	減菌	2
	リステリア菌	ラディッシュ	減菌	2	+
		ハウレンソウ	減菌	2	-
		クレス	減菌	2	-
		レタス	減菌	2	-
		ラディッシュ	減菌	2	-
Franz ら, 2007	大腸菌 O157	レタス	非減菌	7	-
		サルモネラ	レタス	非減菌	7
	サルモネラ	レタス	—	8	+
Sharma ら, 2009	大腸菌 O157	ハウレンソウ	減菌	4～7	+

*未記載

第4表 植物体内への食中毒菌の侵入の可否に関する実験例（土耕栽培）

出展	菌種	作物	栽培基質の滅菌	接種菌濃度 (Log CFU/ mL or g dry soil)	侵入
Solomon ら, 2002	大腸菌 O157	レタス	非滅菌	4 ~ 8	
Wachtel ら, 2002	大腸菌 O157	レタス	*	*	+
Franz ら, 2007	サルモネラ	レタス	非滅菌	9	+
	大腸菌 O157	レタス	非滅菌	9	+
Sharma ら, 2009	大腸菌 O157	ホウレンソウ	低温殺菌	4 ~ 8	-
Miles ら, 2009	サルモネラ	トマト	非滅菌	7	-

*未記載

は、カイワレ大根が原因食品として疑われたが、生産施設からは培養検査で検出されず、汚染源は特定されなかった。このとき、生産業者は多大の風評被害を受け、衛生管理を強化した。その要点は(社)日本施設園芸協会による「かいわれ大根生産衛生管理マニュアル」⁷⁾に結実している。スプラウトによる食中毒の欧米との違いは、我が国では1996年の教訓が生かされているためといえよう。

4. 植物体内への侵入をめぐる

メロンやトマトの場合、食中毒菌が果肉まで侵入していないと感染することは考えにくい。事実、米国でのリステリア汚染の事例では、カンタロープメロンの果肉内から本菌が検出されている²⁾。またレタスなどの葉菜類でも、単に表面に付着しているだけではなく葉内にまで侵入していた場合、食前の洗浄では除去除菌できない。塩素消毒でも葉の内部への殺菌効果は薄くなる。そのため、植物体の内部にまで侵入するかどうかは、感染防御の上で重要な因子である。この点について内外でいくつかの試験研究がある。

水耕栽培に関しては(第3表)、カイワレ大根への大腸菌 O157の侵入を実験的に試験した日本の研究が最初の研究例である。カイワレ、レタス、スプラウト、ホウレンソウなどで大腸菌 O157やサルモネラの侵入が認められているが、研究例がまだ少ない。水耕液中の病原菌濃度が 10^2 CFU/mL という低濃度でも侵入している例もある。ただしこれらの実験の多くは、無菌水耕液を用いた幼植物(発芽10日以内)に対する試験であり、生産現場に近い条件で試験された例は Franz

ら(2007)などに限られている。彼らの試験では、 10^7 CFU/mL という比較的高濃度の菌液でも大腸菌 O157は侵入しなかった点に注目すべきだろう。彼らの場合、水耕液は非滅菌で、根圏常在菌の影響も考えられる。Jablasone ら(2005)の実験では、根圏から分離した常在菌を水耕液に混合接種すると、大腸菌 O157やリステリアのレタス中の菌数が1ケタ低下しており、根圏常在菌が侵入のバリアーになっている可能性が指摘されている。

このように、植物体内への侵入に関しては知見が限られている。侵入を左右する因子としては、病原菌の濃度、菌株の違い、水耕液や土壌の滅菌の有無、植物の種類と栽培齢、温度、土壌養分、根圏微生物の発達の程度など多くが考えられるが、これらに関するデータは極めて少ない。そこで、「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業(課題番号1950,平成19~21年度,研究代表者:染谷 孝)」で水耕栽培と土耕栽培での侵入試験が非病原性大腸菌を用いて検討された。その結果、水耕栽培では 10^7 CFU/mL 以上でコマツナ、レタス、ホウレンソウに侵入するがハツカダイコンには侵入しなかった。一方、土耕栽培では 10^8 CFU/g 乾土でも侵入が認められず、現場に近い条件では、土壌での侵入は起こりにくいと考えられた⁸⁾。さらに農水省プロジェクト「生産・流通・加工工程における体系的な危害因子の特性解明とリスク低減技術の開発(平成20~24年度)」では、大腸菌 O157やサルモネラを用いて試験的に検討されている。

土耕栽培では、さらに研究例が限られている(第4表)。レタスへの大腸菌 O157およびサル

モネラの侵入が認められているが、Solomonら(2002)のデータは幼植物による実験によるものである。Franzら(2007)は30日間以上栽培しており、この点ではより現場に近い条件であり、サルモネラと大腸菌 O157の葉内侵入を認めている。しかし現実にはあり得ない極めて高い菌濃度(10⁹ CFU/mL)での結果である。

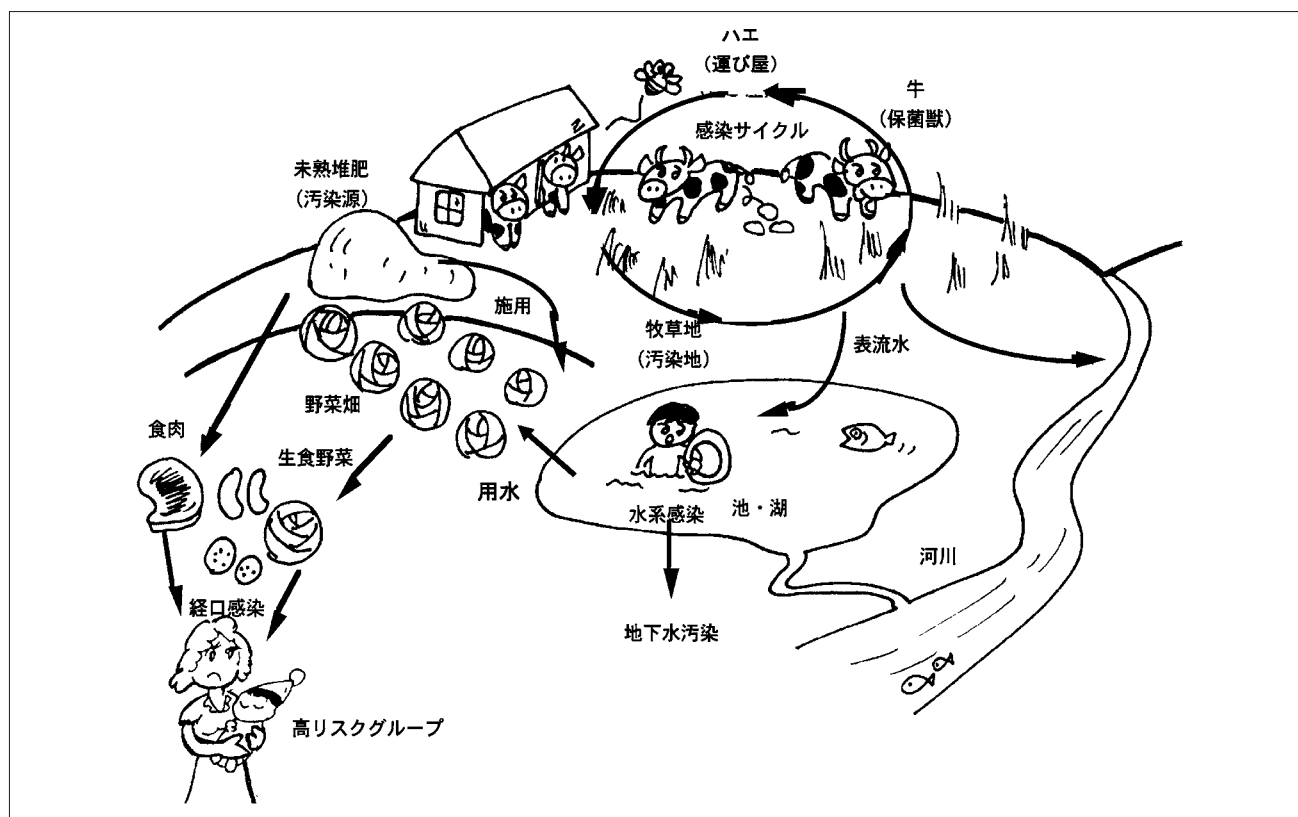
トマトやメロンなどの果菜類については、栽培期間が長いこともあり、侵入試験の報告は極めて限られている。サルモネラ菌液をトマトの幹に直接注射するという方法を用いて、果実に移行したという実験もあるが(Guoら, 2001)、傷口からの侵入を想定したとしても、やや現実からかけ離れすぎているといえよう。ただし我が国ではトマトなどで「芽欠き」という処理が行われる。このような人工的な傷口からはたして病原菌が侵入するものか、その実験的説明が望まれる。

5. 汚染経路の解明と農業資材の衛生管理

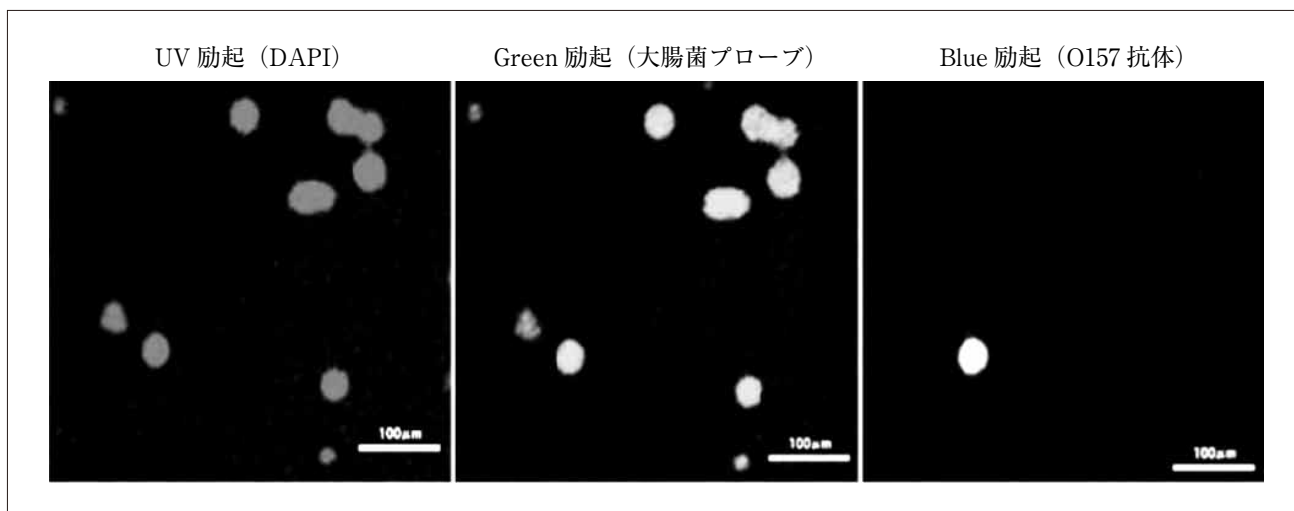
生産現場での汚染を防ぐには、ヒト病原菌の農

業環境における生態を解明し、汚染経路を断つことが重要である。最も病原性の高い大腸菌 O157に関しては、第1図のように模式化できる。すなわち、牛は本菌の健康保菌動物であり、生の牛糞は汚染源となりうる。欧米では牛糞の0.3~16%から、我が国では0.3~1.5%から本菌が検出されている⁹⁾。ハエなどの衛生昆虫が本菌を媒介伝播し、放牧は糞から牧草への汚染を介して牛の保菌率を上げる。牧野の雨水は表面水となって水系汚染をもたらし、農業用水汚染につながる。未熟な牛糞堆肥も農作物汚染の主要な原因となる¹⁰⁾。牛肉や野菜の生食は、本菌による食中毒のリスクを高める。ハイリスクグループは妊婦、乳幼児、高齢者である。

このような感染経路を考慮すると、農業環境での衛生管理がいかに重要であるか理解できよう。まず、畜舎での牛の大腸菌 O157保菌率を監視し、保菌個体を特定して除菌対策を施す。これには、飼料の種類を変えるなどの方法が検討されている¹¹⁾。牛糞などを原料に用いる家畜糞堆肥は、適切な水分制御等により温度管理に努め、病原菌



第1図 大腸菌 O157の推定される感染経路 染谷・井上(2003)の図を一部改変



第2図 マイクロコロニー FISH/蛍光抗体法による大腸菌と大腸菌 O157 の迅速検出

大腸菌 K12と大腸菌 O157の混合液を用いた。蛍光顕微鏡の同一視野で、DAPIによりすべての細菌が検出され（左図）、大腸菌プローブにより大腸菌が検出され（中央図）、O157抗原に対する蛍光抗体法により大腸菌 O157のみが検出される（右図）。

の殺菌に必要な温度と時間を達成させる（定説はないが、55℃以上で3週間以上など）。農業用水の衛生管理も重要である。

堆肥の衛生基準に関しては、米国 EPA ではバイオソリッド（汚泥発酵肥料）の微生物基準として、糞便性大腸菌数が 10^3 個/g未満またはサルモネラ3個/4g未満であれば広く流通販売できるが、糞便性大腸菌数が 10^3 個/g～ 10^6 個/gの場合、農地への使用が極めて限定される（例えば散布後2カ月以上経過しないと作付けしてはならない、など）。カナダやオーストラリア、EU 諸国では、EPA の上記基準が堆肥（コンポスト）一般に適用され、さらに厳しい基準を課している場合もある。我が国では堆肥の衛生基準はないが、(社)日本施設園芸協会が生鮮野菜衛生管理ガイド¹²⁾の中で、目安を出している。すなわち、発酵温度は60℃以上を2週間以上保持すること、製品の水分は30%以下とすること（病原菌の再増殖の防止）、作業機械や器具を原料用と製品用とで区別すること（交差汚染の防止）、製品の病原菌検査（サルモネラ、大腸菌など）の実施が好ましい等である。なお、上記ガイドは、堆肥に関してのみならず、生産現場での衛生管理^{りょう}について、施設人、用水、資材等に関して明瞭・詳細に述べており、有用な衛生管理ガイドとなっている。

6. 病原菌の迅速高感度検出技術

生産現場での食中毒菌の感染経路を具体的に解明するには、様々な解決すべき課題がある。例えば、土壌や堆肥、作物の汚染を検査するには、試料の採取法や検査法の最適化・標準化が必要である。我が国では、食品や飲料水の細菌検査に関する公定法があるが、環境試料にそのまま適用できるか不明である。

特に、汚染農産物や汚染経路の特定は多くの場合困難を極める。この原因の一つとして、環境に出たヒト病原菌が難培養状態になるという性質が指摘されている¹³⁾。ドイツでの大腸菌 O104の原因食品の解明は極めて難航し、当初原因食材とされたスペイン産のキュウリは後に白と判明し、国際的な風評被害によりスペインから損害賠償を請求されるに至った（実はキュウリからは別の血清型の腸管出血性大腸菌が検出されたのであって、まったくの潔白ではない）。ドイツのsproutから分離された大腸菌 O157は、銅イオンが存在する精製水や水道水中で急速に難培養化し、しかしその間も生存が確認され、毒素遺伝子が発現可能な状態で保たれていたこと、その後、銅イオンを除去すると、すぐさま培地上でコロニーを作り培養可能となることが判明している¹⁴⁾。すなわち、難培養化しても何らかの条件で病原性と培養

性を回復することがある。

このような場合、通常の培養検査では検出できなくなるため、培養に依存せずに生菌を検出できる方法が必要である。筆者らは、培養法と蛍光染色法を併用して難培養性菌を迅速簡便に自動検出定量できる手法の開発を進めている（第2図）。堆肥や土壌、農業用水などの試料をフィルターで濾過し、これを寒天培地上に置いて一晩インキュベーションすると、常在菌も病原菌もマイクロコロニーという肉眼では見えない小さなコロニーを形成する。このマイクロコロニーは、難培養化した病原菌でも形成することが確かめられている。そこで、大腸菌特有の遺伝子を蛍光ハイブリダイゼーション（FISH）という手法で染色し、さらにO157抗原を蛍光抗体法で染色する。こうすると、蛍光顕微鏡下で緑色の励起光をマイクロコロニーに当てると大腸菌が検出され、青色の励起光を当てるとO157が検出される。両方に反応したのが大腸菌O157のマイクロコロニーである。この手法により、難培養化した大腸菌O157でも生菌数を測定できる。さらに、マイクロコロニー自動計数装置（中央電機計器製作所、MGS-10MD）を用いると、自動定量が1試料わずか1分間で行えるので、極めて迅速簡便となる¹⁵⁾。

7. おわりに

上述のように、未熟堆肥は生鮮農産物の汚染源となり、堆肥製造における衛生管理は汚染防止上最も重要な管理ポイントの一つである。しかし我が国では、堆肥の衛生上の品質に関して公的な基準がない。そもそも、堆肥の山は温度も水分も分布が不均一であり、検査のためにどのように試料を採取していいかの基準もない。さらに、堆肥化過程で何℃を何日間維持すれば病原菌を死滅させられるかを判断するための基礎データは少ない。前述の農水省プロジェクトでは、堆肥の山の内部温度や大腸菌数等の空間的・時間的変化を現場規模で詳細に試験検討しているので、多くの知見が得られると期待される。

米国で毎年のように見られる大規模な生鮮野菜を介した食中毒の発生は、まさに他山の石として

我が国の衛生管理改善の参考とすべきである。減農薬・減化学肥料・有機栽培による持続的農業を推進するためにも、安全でかつ肥料効果の高い堆肥の製造法・衛生管理法の確立を含め、生産から消費までの衛生管理の向上が、いまやいっそう必要とされている。

本稿は、農水省委託プロジェクト「生産・流通・加工工程における体系的な危害因子の特性解明とリスク低減技術の開発」の中間成果発表会（2011年11月2日、つくば）で講演した内容に加筆修正したものである。

参 考 文 献

- 1) Robert Koch Institute, (2011) <http://www.rki.de/EN/Home/EHEC_final_report> (2012/5/15アクセス)
- 2) Centers for Disease Control and Prevention, (2011) <<http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/120811/index.html>> (2012/5/15アクセス)
- 3) J. Grant, et al., *Emerging Infectious Diseases*, **14**, 1633-1636 (2008)
- 4) FDA-CDC, (2008) <www.fda.gov/downloads/NewsEvents/Newsroom/MediaTranscripts/ucm121300.pdf> (2012/5/15アクセス)
- 5) bites (Kansas State University), <<http://bites.ksu.edu/sprouts-associated-outbreaks>> (2012/5/15アクセス)
- 6) 厚生労働省食中毒事件一覧速報, <<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html#4-2>> (2012/5/15アクセス)
- 7) 農林水産省農産園芸局野菜振興課, <<http://www.phc-japan.net/foodwater/o157HACCP.html>> (2012/5/15アクセス)
- 8) 甲斐憲郎・染谷 孝, 土づくりとエコ農業, **43**, No. 10・11, 44-47 (2011)
- 9) 染谷 孝ほか, 農業技術体系, 土壌肥料編 追録14号, 第7-①巻, 資材64の84-98, 農文協 (2003)
- 10) 糞 春明ほか, 日本土壌肥料学会誌, **76**, 865-874 (2005)
- 11) 中澤 宗生, <www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/publication/.../news1404.pdf> (2012/5/15アクセス)
- 12) 農林水産省, <www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_yasai/pdf/guide.pdf> (2012/5/15アクセス)
- 13) 染谷 孝ほか, 土と微生物, **53**, 45-51 (1999)
- 14) P. Aurass et al., *Environ. Microbiol.*, **13**, 3139-3148 (2011)
- 15) X. Wang et al., *J. Microbiol. Methods*, **71**, 1-6 (2007)