

イクラ製造施設における微生物学的危害分析について

Microbiological Hazard Analysis in Ikura Processing Plant in Hokkaido

武士 甲一 手塚 弘幸* 中村 暢人*
熊沢 英一* 米川 雅一** 北川 雅彦***
 西 紘平*** 牧野 壮一****

Kouichi Takeshi, Hiroyuki Tezuka, Nobuto Nakamura,
Ei-ichi Kumazawa, Masaichi Yonekawa, Masahiko Kitagawa,
Kouhei Nishi and Sou-ichi Makino

目 的

平成10年5月中旬から6月にかけて、N物産㈱(北海道中標津町)で製造されたイクラ醤油漬を原因とする腸管出血性大腸菌 O157(以下、O157)による食中毒事件が7都府県で発生し、感染者数は62名にのぼった¹⁾。本食中毒事件は O157に汚染された魚卵製品の摂取による世界でも例をみない事例で、その発生により北海道産の水産加工品に対する消費者の信頼を大きく損なうこととなった。

本報告は事故の再発防止を目的として、イクラ製造における危害分析重要管理点(Hazard Analysis Critical Control Point; 以下、HACCP)導入の基礎となる微生物危害について調査したので報告する。

方 法

1. 調査対象施設と試料

平成10年10月1日~10月2日までの間、北海道釧路市で操業している K イクラ製造工場(以下、K 施設、対米輸出 HACCP 認定工場)を調査対象施設とし、原料となるサケの捕獲から最終製品に至るすべての工程において、微生物危害の分析のための試料を採取した。採取した試料および調査の内容を以下に示す。

(1) サケの捕獲から陸揚

原料用サケ(シロサケ; *Oncorhynchus keta*)は、釧路

市沖約2 kmの太平洋上に設置された定置網で捕獲された。捕獲開始から帰港および陸揚の間に要した時間を計測し、また、海水、保管水槽およびサケ体表については、各作業時点で温度と細菌を測定した。

(2) 製造工程

イクラ醤油漬のフローダイアグラムを図2に示す。各工程をサケ処理工程、原卵処理工程および包装工程に区分し、各々、作業前、作業中、作業後の試料について細菌検査を行った。また、落下細菌や跳ね水による製造環境への細菌汚染に関する調査も併せて行った。

(3) 細菌検査

拭き取り試料、海水および使用水、半製品および最終製品、製造環境への汚染調査において、一般生菌数、大腸菌群、腸炎ビブリオ、サルモネラ、O157、黄色ブドウ球菌を検出対象とした。

拭き取り試料については、5×5 cmの面積を4カ所拭き取り、これを10 mlの滅菌リン酸緩衝液(終濃度2%に塩化ナトリウムを添加)に浮遊させ、これを試料原液とした。マキリ包丁、ゴム手袋、軍手、トンゴおよび手指については全面を拭き取った。

一般生菌数、大腸菌群の測定には試料原液1 mlずつを標準寒天培地(日水製薬)およびデソキシコレート培地(日水製薬)にて混積培養を行った。腸炎ビブリオ、サルモネラおよびO157については、試料原液1 mlを測定量とし、以後の操作は厚生省から示されている指針^{2,3)}にしたがって検査した。

海水および使用水については無処理とし、拭き取り試料と同様に測定したが、O157については試料3 lを濾過・濃縮して検査に供した。

*日本冷凍食品検査協会札幌検査所

**北海道保健福祉部食品衛生課

***北海道立中央水産試験場

****帯広畜産大学畜産学部

原材料、半製品および最終製品については、試料25gに上記緩衝液を加えて10倍乳剤とし、これを試料原液として試験に供した。サルモネラおよびO157については測定量を各々25gとし、厚生省から示されている指針^{3,4)}にしたがって検査を行った。落下細菌や跳ね水等による製造環境への汚染については、標準寒天培地（径90mmのシャーレを使用）を各対象箇所です15分間暴露させて培養を行った。

結果および考察

1. 原料用サケの捕獲からK施設への搬送

原料用サケの捕獲からK施設への搬送までのフロー図を図1に示す。

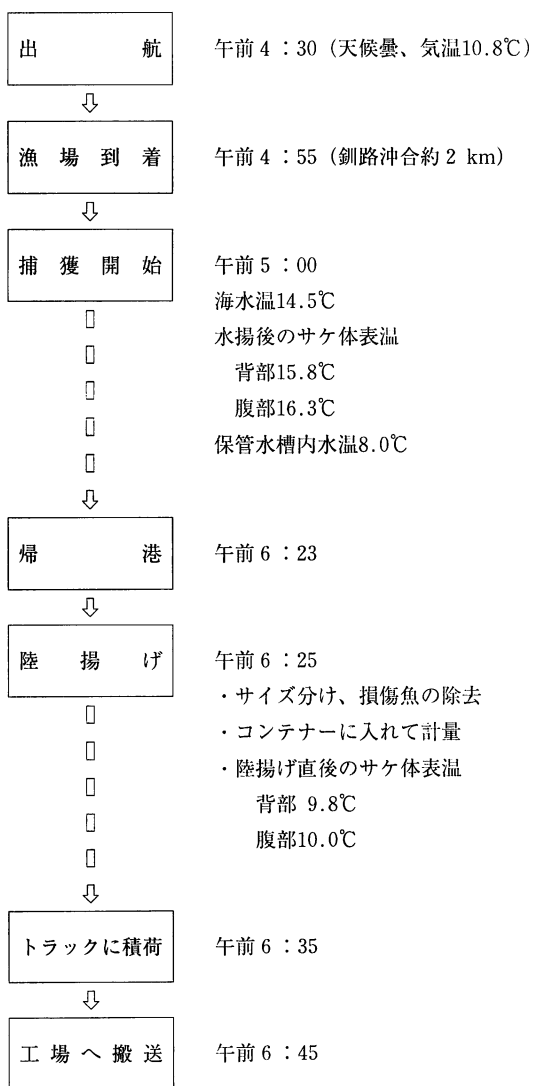


図1 原料用サケの捕獲から工場への搬送までのフロー図

サケの捕獲は午前5時30分に開始された。定置網は4回の網上げで（1回の所要時間は約10分）捕獲を終了し、帰港は1時間23分後であった。当日の海水温は14.5℃、水揚げ直後のサケ体表背部と腹部の温度は各々、15.8℃および16.3℃、保管水槽の水温（海水を氷600kgで冷却）は8.0℃であった。競りにかけられないため、サケは帰港後直ちに陸揚げされ、陸揚げ直後のサケ体表背部と腹部の温度は各々、9.8℃および10.0℃であった。陸揚げ後、サケはフォークリフトで市場内へ移送され、サイズによる選別作業と損傷の著しいサケの除去が行われた。次いでサケをコンテナに詰め、計量後、フォークリフトでトラックに積載し、K施設まで搬送された。この日に搬送されたサケの量は約2.4tであった。原料用サケについて行った細菌検査結果を表1に示す。

イクラ醤油漬製造における原材料由来の危害については、腐敗細菌および腸炎ビブリオによる汚染、アニサキスの寄生、ヒスタミンなどが挙げられる。サケ体表の拭き取り試験では、約 10^3 cfu/mlのオーダーで一般生菌数が検出された。捕獲後の管理が不適切であるとこれらの細菌が増殖し、腐敗の原因になると考えられるが、サケの捕獲からK施設への搬送までの間、所要時間と温度が適切に管理されているので、腐敗細菌による危害は生じないとする。腸炎ビブリオは海底の泥の中で生存し、海水温が18℃以上になると動物性プランクトンのキチン質を介して海中に出現し、魚介類を汚染する。秋サケ漁は9月に解禁されるので、漁初期に捕獲されるサケについては海水温の関係から腸炎ビブリオによる汚染が予想されるが、本調査ではサケから腸炎ビブリオは検出されず、また、イクラ醤油漬を原因とする本菌食中毒の報告はない。アニサキスはサケやマスにも寄生するが⁴⁾、生卵巣および分離卵を十分に洗浄することでその除去が可能であり、また、たとえ僅かの混入があっても冷凍保管中に死滅する。死滅した虫体を食しても健康被害は発生しない。アニサキスは冷凍保管される市販品では危害とならないが、冷凍保存せずに食する場合の自家製品でその健康被害の発生が確認されている⁵⁾。ヒスタミンについては、新鮮なサケやマスを用いる限り危害となることはない。

原料となるサケの鮮度は、製品の品質を左右する最も重要な要件である。捕獲されたサケの魚体内における卵巣の生存時間は保存温度により異なり、11~12℃では約8時間、13~14℃では約5時間、17~18℃では約1.5時間であり⁶⁾、これらの時間を過ぎると生卵巣は粘度が増加して製品の質が低下する。

2. 製造工程における危害分析

イクラ醤油漬製造におけるフローダイアグラムを図2に

表1 サケの水揚げから陸揚げまでの調査結果

番号	検査試料	一般生菌数*	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ	腸炎ビブリオ	O157
1	捕獲直後サケ体表(1)	1.5×10 ³	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
2	〃 (2)	1.4×10 ³	〃	〃	〃	〃	〃
3	〃 (3)	1.4×10 ³	〃	〃	〃	〃	〃
4	〃 (4)	1.6×10 ³	〃	〃	〃	〃	〃
5	陸揚直後サケ体表(1)	1.2×10 ³	〃	〃	〃	〃	〃
6	〃 (2)	2.0×10 ³	〃	〃	〃	〃	〃
7	〃 (3)	1.2×10 ³	〃	〃	〃	〃	〃
8	捕獲水域海水	4.0×10 ¹	〃	〃	〃	〃	〃
9	保管水槽内海水	9.7×10 ²	〃	〃	〃	〃	〃

* cfu/ml

示し、その時間と温度の管理については図3に示す。

港から工場へ搬送されたサケは、魚体の洗浄、マキリ包丁による開腹の後、卵巣（原卵）が摘出される。原卵を専用のステンレス製トイの中で流水（3%食塩水）により洗浄しながら受け籠に集め、塩水を切った後、直ちに専用ボックスに入れてフォークリフトで別棟の食品工場へ運搬する。卵巣を約10kgずつに分け、同塩水でシャワーリングによる洗浄を2回行った後、卵巣包膜を開いて卵割を行い、揉み網で卵分離を行う。分離卵を揉み機台下に設置されたトイを流して集め、塩水で洗浄後、塩水を切って10kgずつ計量する（半製品）。半製品10kgをポリエチレン製容器に入れ、これに2ℓの調味液を加えて10℃以下で約18時間漬込む。漬込み後、調味液を切り、これをプラスチック製トレーに入れて計量・包装し、金属探知機を通したものを最終製品として冷凍状態で保管する。

製造に使用される機械や器具の洗浄・殺菌はロットごとに、また、作業が連続する場合には2時間毎に行われている。その方法は、器具・機材をまず中性洗剤で洗浄し、水道水で十分に濯いだ後、残留塩素濃度を20~30ppmに調製した酸性水中に浸漬して殺菌している。揉み網については、高圧洗浄機で洗浄してから洗浄・殺菌を行う。いずれの器具・機材も作業中および作業終了後において、洗剤による洗浄、水道水による濯ぎの過程を経て、酸性水への浸漬は1分間とし、揉み網については作業終了後、一晚浸漬する。洗浄・殺菌を終えた器具・機材は、専用の保管棚に置かれて乾燥される。

これら製造工程をサケ処理工程、原卵処理工程および包装工程に区分して危害を微生物学的に分析し、また、落下細菌や跳ね水による製造環境への細菌汚染に関する調査を行った。

(1) サケ処理工程

サケ処理工程については、原料用サケの受入から摘出さ

れた原卵の食品工場への搬送までの工程を含み、その調査結果を表2に示す。

サケは処理作業が開始されるまでの間鉄製の角型タンク内に保管され、保管タンク1基には200匹のサケ、使用水100kgおよび氷260kgが入られる。この工程では、作業中および作業後の腹出しまな板、腹出しマキリ包丁、原卵投入口および腹出し処理用ゴム手袋において、一般生菌数および大腸菌群による汚染が確認された。これら使用器具の細菌汚染は、連続作業による洗浄・殺菌の不備および腹出し時における内臓や体表からの汚染に起因すると考えられる。また、腹出しマキリ包丁については、作業前においても7.6×10¹cfu/180cm²の一般生菌数が検出されたことから、マキリ包丁については刃部は勿論のこと、柄部も十分に洗浄・殺菌して汚染原因とならないよう注意する必要がある。しかし、最終原卵の細菌汚染は著しく低かったことから、卵巣表面に付着した細菌はシャワーリングによる十分な洗浄によって除去されたものと推察された。本工程において、保管水槽中のサケの品温-0.3℃、腹出し・1次洗浄後の原卵の品温4.0℃、サケの受入から原卵の運搬終了までの所要時間は29分で、この条件ではいずれの病原細菌も危害となり得ない。

元来、新鮮なサケ由来の卵巣は無菌状態に近く、腹出し作業を衛生的に行えば外部からの卵巣への細菌汚染を防ぐことができる⁷⁾。平成10年に発生したO157汚染イクラ醤油漬食中毒事件の調査において、O157が検出された製品の一般生菌数の最大値は10⁷cfu/g、大腸菌群数の最大値は10⁶cfu/gであった⁸⁾。本来、新鮮な卵巣は無菌状態に近いにもかかわらず、最終製品から多数の汚染指標細菌が検出されたということは、とりもなおさず製造工程において一般的衛生管理事項の管理・運営が破綻していたことを裏付けるものである。このような状況下、イクラへのO157汚染については、産業廃棄物運搬車による外部からの工場敷

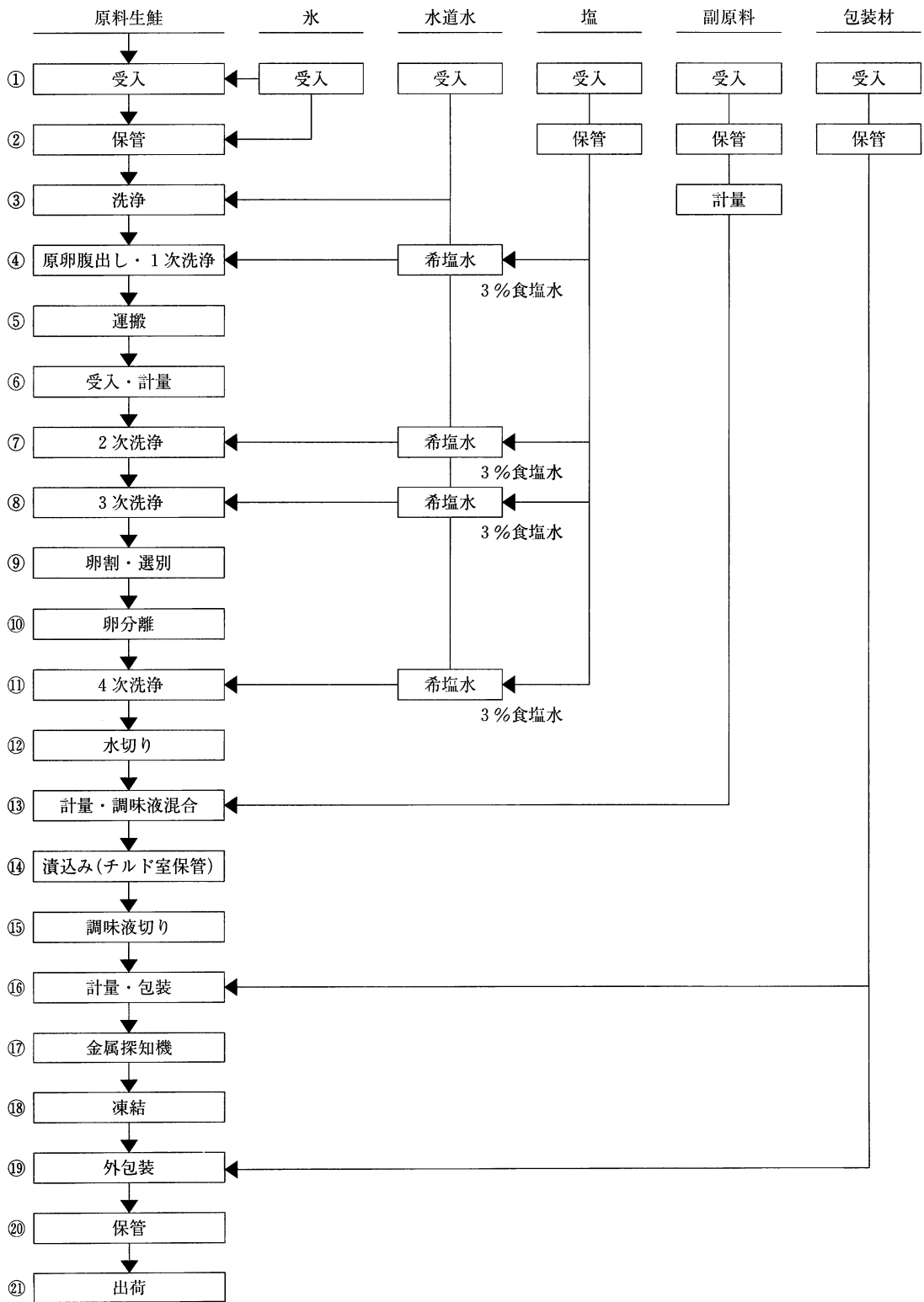


図2 イクラ醤油漬製造工程のフローダイアグラム

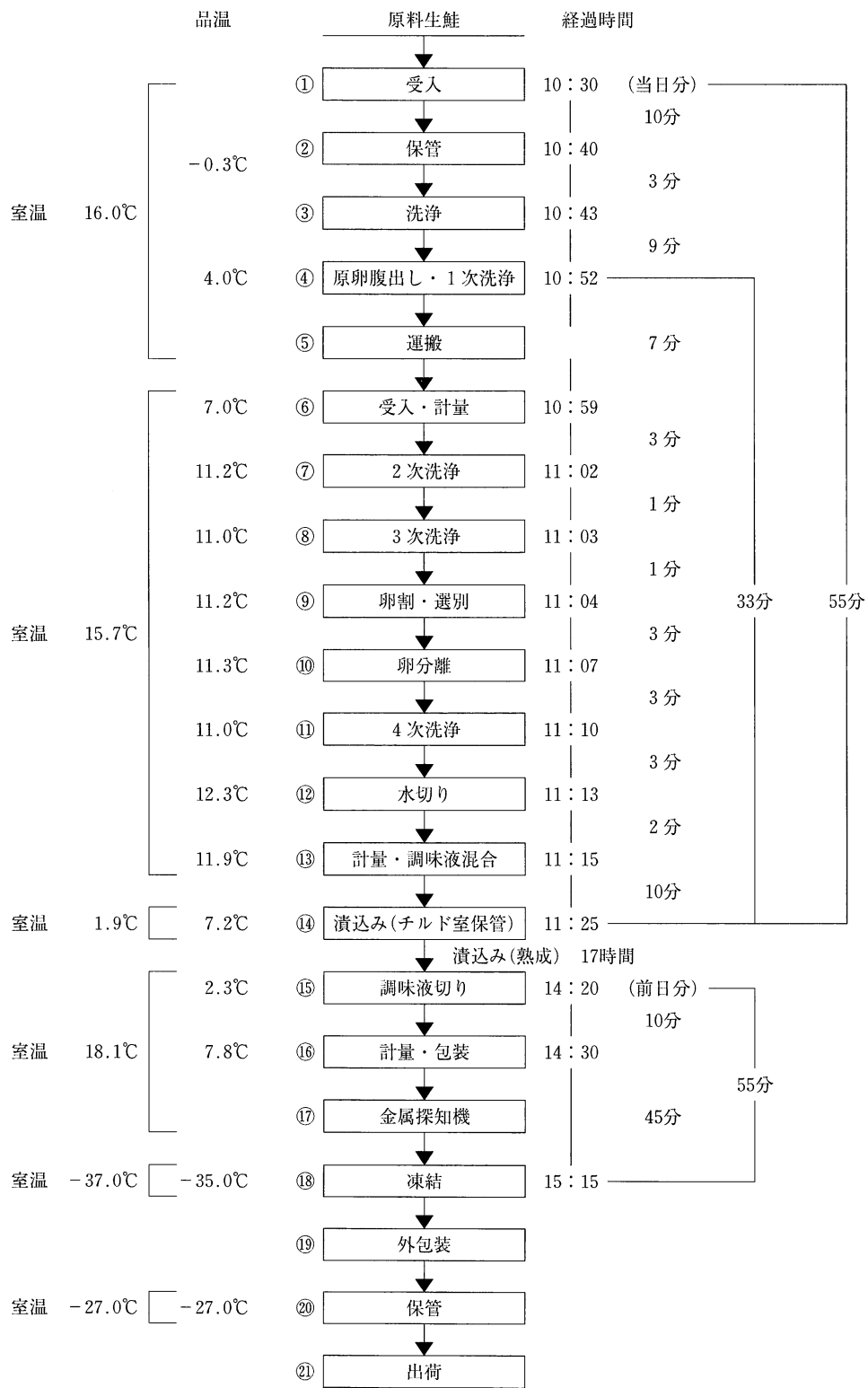


図3 イクラ醤油漬製造工程における温度と時間の管理について

表2 サケ処理工程における調査結果

番号	検査材料	一般生菌数*	大腸菌群*	黄色ブドウ球菌	サルモネラ	腸炎ビブリオ	O157
10	サケ体表(保管水槽)	7.7×10 ²	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
11	サケ保管台(作業前)	<300(19)	〃	〃	〃	〃	〃
12	〃 (作業中)	<300(8)	〃	〃	〃	〃	〃
13	〃 (作業後)	<300(25)	〃	〃	〃	〃	〃
14	腹出まな板(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
15	〃 (作業中)	3.1×10 ³	5.3×10 ²	〃	〃	〃	〃
16	〃 (作業後)	3.2×10 ³	陰性	〃	〃	〃	〃
17	マキリ包丁(作業前)	7.6×10 ⁴	〃	〃	〃	〃	〃
18	〃 (作業中)	1.1×10 ⁵	<300(20)	〃	〃	〃	〃
19	〃 (作業後)	3.0×10 ⁵	5.3×10 ³	〃	〃	〃	〃
20	原卵投入口(作業前)	<300(0)	陰性	〃	〃	〃	〃
21	〃 (作業中)	1.5×10 ⁴	〃	〃	〃	〃	〃
22	〃 (作業後)	4.5×10 ³	<300(11)	〃	〃	〃	〃
23	ゴム手袋 (作業前)	<300(0)	陰性	〃	〃	〃	〃
24	〃 (作業中)	4.2×10 ²	〃	〃	〃	〃	〃
25	〃 (作業後)	6.8×10 ⁴	<300(5)	〃	〃	〃	〃
26	原卵流トレ(作業前)	<300(1)	陰性	〃	〃	〃	〃
27	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
28	〃 (作業後)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
29	原卵受け籠(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
30	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
31	〃 (作業後)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
32	原卵搬送箱(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
33	〃 (作業中)	<300(1)	〃	〃	〃	〃	〃
34	〃 (作業後)	<300(1)	〃	〃	〃	〃	〃
35	塩水攪拌機(作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
36	タンク内水(作業中)	4.7×10	〃	〃	〃	〃	〃
37	器具洗浄水(作業中)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
38	〃 (作業中)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
39	〃 (作業後)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
40	処理用塩水(作業中)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
41	原卵 (作業中)	<300(10)	〃	〃	〃	〃	〃

* cfu/ml, g

地内への汚染の持ち込み、汚染作業区域と清浄作業区域との間を区別なく運行していたフォークリフトによる汚染の拡散と工場内への持ち込み、作業用長靴を履いたまま従業員が作業台上にのぼって作業を行ったこと、あるいは汚染された床からの跳ね水による汚染、などにより卵巣が部分的に汚染されたと推察されている。そして、当日は通常の処理能力を大幅に超えて作業が行われたため、半製品が長時間に渡って放置され、その中でO157が増殖した結果、溜め水方式による塩水処理工程で汚染が拡散されたと考え

られている。健康保菌者、使用水および衛生動物などは、1日のみの汚染要因としては考え難く、原材料のサケとその卵巣および調味液については細菌学的実験の結果、汚染原因とはなり得ないことが確認された⁸⁾。

(2) 原卵処理工程

原卵処理工程については、原卵の受入から調味液中での熟成までの工程を含み、その調査結果を表3に示す。

表3に示したとおり、この工程において使用された器具・機材、洗浄水および塩水ならびに半製品や調味液から、

表3 原卵処理工程における調査結果

番号	検査材料	一般生菌数*	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ	腸炎ビブリオ	O157
42	原卵受入台(作業前)	<300(0)	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
43	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
44	〃 (作業後)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
45	原卵処理策(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
46	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
47	〃 (作業後)	<300(1)	〃	〃	〃	〃	〃
48	原卵卵割台(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
49	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
50	〃 (作業後)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
51	原卵もみ網(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
52	〃 (作業中)	<300(2)	〃	〃	〃	〃	〃
53	〃 (作業後)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
54	卵洗浄トイ(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
55	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
56	〃 (作業後)	<300(1)	〃	〃	〃	〃	〃
57	卵受取策(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
58	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
59	〃 (作業後)	<300(1)	〃	〃	〃	〃	〃
60	計量受取策(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
61	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
62	〃 (作業後)	<300(1)	〃	〃	〃	〃	〃
63	水切り棚(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
64	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
65	〃 (作業後)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
66	漬込バット(作業前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
67	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
68	漬込室ドア(作業前)	<300(1)	〃	〃	〃	〃	〃
69	〃 (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
70	〃 (作業後)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
71	漬込室内壁(作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
72	揉解し軍手(作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
73	〃 (作業後)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
74	2次洗浄水(作業前)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
75	〃 (作業中)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
76	3次洗浄水(作業前)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
77	〃 (作業中)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
78	4次洗浄水(作業前)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
79	〃 (作業中)	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
80	希塩水	<30(0)	〃	〃	〃	〃	〃
81	2次洗浄卵	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
82	3次洗浄卵	<300(4)	〃	〃	〃	〃	〃
83	卵割後原卵	<300(2)	〃	〃	〃	〃	〃
84	解し後原卵	<300(2)	〃	〃	〃	〃	〃
85	4次洗浄卵	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
86	水切り後卵	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
87	漬込直後卵	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
88	漬込中間卵	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
89	調味液	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃

* cfu/ml, g

調査対象の細菌は何れも検出されず、微生物学的に極めて清潔な状態であった。K施設では、原卵腹出し・1次洗浄以降のすべての工程において塩水が用いられており、溜め水方式による塩水処理を採用していないので汚染の拡散の可能性は低く、また、作業効率は極めて良好である。本工程において品温は7.0～12.3℃の範囲に管理され、原卵の受入から調味液混合までの所要時間は26分で、極めて短時間内に効率よく処理されていることが伺える。熟成はチルド室内で行われ、室温1.9℃、品温7.2℃、所要時間は17時間で、熟成開始直後、中間および熟成終了直後の半製品からは調査対象の細菌はいずれも検出されなかった。

著者らは塩分濃度の異なる市販のイクラに種々の食中毒菌を添加し、その消長を観察した⁷⁾。その結果、塩分濃度が5%である製品を除き、20℃の保存下において16時間および40時間後において、黄色ブドウ球菌とリステリア菌が顕著に増殖することを確認した。本結果により、著者らはイクラ醤油漬製造における重要管理点を熟成工程と定め、その品温を自記記録装置付きデジタル温度計を用いてモニターすることを推奨している。

(3) 包装工程

包装工程は、熟成終了後の調味液切りから製品の冷凍保管までの工程を含み、その調査結果を表4に示す。

本工程において、使用した器具・機材、包装用トレー、

計量従事者の手指および製品からは、調査対象の細菌はいずれも検出されなかった。本工程において、調味液切り直後の品温は2.3℃、計量・包装時の品温は7.8℃で、凍結までの所要時間は55分で、この条件下では微生物危害の発生には至らない。

(4) 製造環境への汚染調査

製造環境への汚染調査については、卵分離工程における分離卵受取台、水切り工程における水切り棚下段、計量・調味液混合工程における計量台周辺、漬込み・熟成工程におけるチルド室内および計量・包装工程における包装室を対象とし、落下細菌および跳ね水による細菌汚染を作業中に調査した。その結果を表5に示す。

作業中におけるこれら対象箇所においては、一般生菌数のみがわずかに検出されたが、大腸菌群および食中毒菌はすべて検出されなかった。作業中であるにもかかわらず、これらの対象箇所は極めて清潔な状況であることが確認された。

高品質のイクラ醤油漬を製造するためには、サケの捕獲から卵巣を加工して最終製品とするまでの時間を如何に短縮するか、すべての工程において材料の扱いを如何に低温で行うかがポイントとなる。K施設では、原料用サケの捕獲から調味液混合までの所要時間は2時間40分で、その間の品温は-0.3～12.3℃の範囲(平均9.9℃)で、各工

表4 包装工程における調査結果

番号	検査材料	一般生菌数*	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ	腸炎ビブリオ	O157
90	液切り筥(作業中)	<300(0)	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
91	計量 tong (作業中)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
92	計量者手指(作業中)	<300(10)	〃	〃	〃	〃	〃
93	500g トレー内面	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
94	漬込終了直後卵	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
95	製品(凍結前)	<300(0)	〃	〃	〃	〃	〃
96	製品(凍結後)	<300(8)	〃	〃	〃	〃	〃
97	製品(凍結後1週間)	<300(2)	〃	〃	〃	〃	〃

* cfu/ml.g

表5 製造環境への汚染に関する調査結果

番号	検査材料	一般生菌数°	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ	腸炎ビブリオ	O157
98	解した後卵受取り台	3	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
99	水切り棚(下段)	3	〃	〃	〃	〃	〃
100	計量台周辺	1	〃	〃	〃	〃	〃
101	チルド室内	0	〃	〃	〃	〃	〃
102	包装室	15	〃	〃	〃	〃	〃

* cfu/plate

