

市販弁当類の細菌汚染状況

キタセ テルヨ ハセ アツシ ハルキ ユウスケ スギタ タカヒロ
北瀬 照代*1 長谷 篤*1 春木 孝祐*2 杉田 隆博*3

目的 弁当類は私たちの食生活に身近な食品であるが、加熱等の処理をすることなくそのまま摂食される食品であり、これまでの事例をみても細菌性食中毒の原因食品となることが多い。そこで今回食中毒予防の一助として市販弁当類の細菌汚染状況を調査すると共に保存試験を実施したので報告する。

方法 1997年から1999年にかけて大阪市内で市販されている弁当169件(給食弁当、折詰弁当、店頭調製弁当)を対象として生菌数、大腸菌群、糞便性大腸菌群、大腸菌、黄色ブドウ球菌、セレウス菌、サルモネラ、腸管出血性大腸菌O157について検査を実施した。弁当全体を滅菌ストッカー袋に取りよく混合したものを1検体とし、各細菌検査については食品衛生検査指針に準拠して実施した。保存試験については給食弁当のごはん及び2種類のおかずについて5℃、25℃に保存し、4、8、22時間後の生菌数、大腸菌群推定数、セレウス菌数、黄色ブドウ球菌数の変化を調べた。

結果 調査した弁当類全体の細菌汚染状況をみると、生菌数では1g当たり 10^4 未満が77検体(45.6%)、 10^4 台が43検体(25.4%)、 10^5 台が27検体(16.0%)、 10^6 以上が22検体(13.0%)であった。大腸菌群は114検体(67.5%)、糞便性大腸菌群は43検体(25.4%)、大腸菌は6検体(3.6%)が陽性であった。黄色ブドウ球菌は40検体(23.7%)が陽性であった。セレウス菌は43検体(25.4%)から1g当たり 10^2 以上検出された。サルモネラおよび腸管出血性大腸菌O157は検出しなかった。保存試験では5℃保存では22時間経過後も生菌数はほとんど変化しないか、やや減少した。25℃保存では4時間経過後まではあまり変化がなかったが、その後急速に増殖した。

考察 弁当の衛生規範では「サラダや生野菜などの未加熱処理の製品については1g当たり 10^6 以下のものを使用及び製造することが望ましい」としているが、今回の調査結果では22検体(13.0%)について生菌数が1g当たり 10^6 以上であり、指針が生かされているとは言い難い結果であった。また、すべてのおかずが加熱調理されていると考えられる製品からも大腸菌群が検出されており、調理後の二次汚染等製造過程の衛生管理が不十分であると考えられる。また、保存試験の結果からも特に夏場など摂食まで長時間放置されることのないよう注意が必要である。

キーワード 細菌検査、保存試験、給食弁当、折詰弁当、店頭調製弁当、衛生規範

I 緒 言

近年食生活の多様化、簡便化志向等に伴い、

弁当、そうざい等の調理済食品の消費量が増大し、これに伴って調理済食品を原因とする食中毒事件が発生している。弁当類は私たちの食生

* 1 大阪市立環境科学研究所微生物保健課研究主任

* 2 同微生物保健課課長

* 3 同所長

活に身近な食品であるが、加熱等の処理をすることなくそのまま摂食されるため、衛生的な状態で製造販売されなければならない。しかし、全国的な食中毒統計¹⁾や大阪市内の食中毒事例²⁾をみても、折詰弁当や給食弁当等が細菌性食中毒の原因食品となる事例は多い。そこで著者らは、食中毒予防の一助として市販弁当類の細菌汚染状況を調査すると共に、保存試験も実施したので報告する。

II 方 法

1997年から1999年にかけて大阪市内で市販されている弁当類169件(給食弁当61件,折詰弁当52件,店頭調製弁当56件)を対象として、生菌数、大腸菌群、糞便性大腸菌群、大腸菌、黄色ブドウ球菌、セレウス菌、サルモネラ、腸管出血性大腸菌O157(以下O157と略す)について検査を実施した。弁当全体を無菌的に滅菌ストマッカー袋(オルガノ社)にとり、よく混合したものを試料とした。試料10gを滅菌ストマッカー袋に無菌的に量り取り、システムダイリューター(イル社)を用いて滅菌生理食塩水で10倍希釈液を作成し試料原液とした。

各細菌検査については食品衛生検査指針³⁾に準拠して実施した。

生菌数については、試料原液および10段階希釈液各1mlを滅菌シャーレに取り、標準寒天培地(日水製薬)を用いてよく混釈し35℃48時間培養後、生菌数を測定した。

大腸菌群については、試料原液1mlをBGLB培地(日水製薬)に投入し、35℃48時間培養後、ガス産生をみたものを大腸菌群陽性とした。ガス産生をみたBGLB培養液1白金耳を4-メチルウンベリフェリル-β-D-グルクロニド(MUG)を添加(50mg/l)したEC培地(日水製薬)に投入し、恒温槽で44.5℃24時間培養後、ガス産生をみたものを糞便性大腸菌群陽性とした。ガス産生をみたEC培養管に366nmの紫外線ランプを照射し蛍光を発したものを大腸菌陽性とした。

黄色ブドウ球菌については直接および増菌培

養を行った。増菌培養については試料約5gを7%食塩加トリプトソイブイヨン(日水製薬)50mlに投入し、37℃24時間培養後、培養液1白金耳を食塩卵寒天培地(日水製薬)に画線塗抹した。37℃24時間培養後、真珠環および卵黄反応を有する定型的な集落を釣菌した。分離した菌株についてコアグラーゼ試験を行って陽性の菌株を黄色ブドウ球菌とした。直接培養については、試料原液0.1mlをコンラージ棒を用いて食塩卵寒天培地に塗抹し、37℃24時間培養後、定型的集落を黄色ブドウ球菌として菌数を測定するとともに、各菌株についてコアグラーゼ陽性であることを確認した。

セレウス菌については、試料原液0.1mlをコンラージ棒を用いてNGKG培地(日水製薬)に塗抹し30℃24時間培養後、卵黄反応を有する定型的な集落をセレウス菌として菌数を測定した。

サルモネラについては、試料約5gをラパボードバシリアディス増菌培地(オキシド)50mlに投入し、42℃24時間培養後、培養液1白金耳をSS培地(日水製薬)およびMLCB培地(日水製薬)に画線塗抹した。37℃24時間培養後、硫化水素を産生する定型的な集落をTSI培地(日水製薬)およびLIM培地(日水製薬)に釣菌した。37℃24時間培養後サルモネラの性状を示した菌株について市販のサルモネラ免疫血清「生研」O群血清(デンカ生研)を用いて凝集反応を行い、凝集した菌株をサルモネラとした。

O157については、試料25gをノボピオシン加mEC培地(極東製薬)225mlに投入し、37℃24時間培養後、市販のO157キット(リベールE.coli O157:H7,ネオゲン社)を用いて培養液中のO157の有無を判定した。キットで陽性となった培養液について免疫磁気ビーズ法(ダイナビーズ アンチ・E.coli O157,ダイナル社)による集菌を行いO157の分離を試みた。分離培地にはクロモアガーO157培地(関東化学),ソルビットマッコスキー(SMAC)培地(栄研化学),CT-SMAC培地(セフェキシム50μg/l,アテルル酸カリウム2.5mg/l添加SMAC培地)を用い、37℃24時間培養後、定型的なコロニーをCLIG培地(極東製薬)に釣菌した。37℃24時間

培養後、O157の性状を示した菌株について市販のO157免疫血清（デンカ生研）を用いて凝集反応を行い凝集した菌株をO157とした。

保存試験については、給食弁当のご飯および2種類のおかず（枝豆・わかめ・大根の煮物、ゆでキャベツ）について5℃、25℃に保存し、4、8、22時間後の生菌数、大腸菌群推定数、セレウス菌数、黄色ブドウ球菌数の変化を調べた。大腸菌群推定数はデスオキシコーレート培地（日水製薬）を用いて測定した。

Ⅲ 結 果

調査した弁当類の細菌汚染状況は表1に示した。弁当類全体については、生菌数では1g当たり 10^4 未満が77検体(77/169,45.6%)、 10^4 台が43検体(43/169,25.4%)、 10^5 台が27検体(27/169,16.0%)、 10^6 以上が22検体(22/169,13.0%)であった。給食弁当、折詰弁当、店頭調製弁当を比較してみると給食弁当の汚染度が高く、1g当たり 10^5 台が15検体(15/61,24.6%)、 10^6 以上が11検体(11/61,18.0%)であった。折詰弁当および店頭調製弁当では1g当たり 10^5 台の検体がそれぞれ5検体(5/52,9.6%)、7検体(7/56,12.5%)、 10^6 以上がそれぞれ6検体(6/52,11.5%)、5検体(5/56,8.9%)であった。

大腸菌群については、弁当類全体の半数以上114検体(114/169,67.5%)が陽性で、糞便性大腸菌群は43検体(43/169,25.4%)、大腸菌は6検体(6/169,3.6%)が陽性であった。給食弁当、折詰弁当、店頭調製弁当を比較してみると生菌数と同様に給食弁当の汚染度が高く、大腸菌群は54検体(54/61,88.5%)、糞便性大腸菌群は29検体(29/61,47.5%)、大腸菌は2検体(2/61,3.2%)が陽性であった。

(単位 件数, ()内%)

	件数	生菌数 (1g当たり)			
		<10 ⁴	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶ ≤
総 数	169	77	43	27	22(13.0)
給 食 弁 当 計	61	12	23	15	11(18.0)
'97 年 度	26	2	10	8	6(23.1)
'98	17	4	9	3	1(5.9)
'99	18	6	4	4	4(22.2)
折 詰 弁 当 計	52	30	11	5	6(11.5)
'97 年 度	22	15	3	4	-(-)
'98	14	8	2	1	3(21.4)
'99	16	7	6	-	3(18.8)
店 頭 調 製 弁 当 計	56	35	9	7	5(8.9)
'97 年 度	24	16	4	2	2(8.3)
'98	16	8	4	4	-(-)
'99	16	11	1	1	3(18.8)

注 ()内は、各件数を100としたときの%

黄色ブドウ球菌については、弁当類全体のうち40検体(40/169,23.7%)が陽性であったが、そのうち35検体(35/169,20.7%)は1g当たり 10^2 未満であった。給食弁当、折詰弁当、店頭調製弁当ではそれぞれ20検体(20/61,32.8%)、9検体(9/52,17.3%)、11検体(11/56,19.6%)が陽性であった。

セレウス菌については、弁当類全体のうち43検体(43/169,25.4%)が1g当たり 10^2 以上で、 10^4 以上の検体が10検体(10/169,5.9%)であった。給食弁当、折詰弁当、店頭調製弁当では、それぞれ31検体(31/61,50.8%)、8検体(8/52,15.4%)、4検体(4/56,7.1%)が1g当たり 10^2 以上であった。

サルモネラおよび腸管出血性大腸菌O157は、いずれの検体からも検出しなかった。

保存試験に用いたご飯および2種類のおかず（枝豆・わかめ・大根の煮物、ゆでキャベツ）の細菌汚染状況は表2に、保存試験の結果は図1～4に示した。

生菌数については、5℃保存では22時間経過後もほとんど変化がないか、やや減少した。25℃保存では、4時間経過後ではあまり変化がなかったが、その後急速に増殖した(図1)。大腸菌群については、ご飯およ

表2 保存試験に用いた検体の細菌汚染状況

検 体 名	生 菌 数 (1g当たり)	大腸菌群推定数 (1g当たり)	黄色ブドウ球菌数 (1g当たり)	セレウス菌数 (1g当たり)
ご は ん	<10	<10	<10 ²	<10 ²
枝豆・わかめ・大根の煮物	1.1×10^4	3.6×10^2	<10 ²	<10 ²
ゆ で キ ャ ベ ツ	1.0×10^3	4.0×10	<10 ²	<10 ²

表1 市販弁当類の細菌汚染状況

大腸菌群 陽性件数	糞 便 性 大腸菌群 陽性件数	大 腸 菌 陽性件数	黄色ブドウ球菌				セレウス菌 (1g当たり)				サルモネラ 陽 性 件 数	腸管出血性大腸菌 O157 陽 性 件 数
				(1g当たり)			<10 ²	10 ²	10 ³	10 ⁴ ≤		
				陽性件数	<10 ²	10 ²						
114(67.5)	43(25.4)	6(3.6)	40(23.7)	35	3	2	126	24	9	10	-	-
54(88.5)	29(47.5)	2(3.2)	20(32.8)	18	1	1	30	14	8	9	-	-
26(100.0)	13(50.0)	2(7.7)	12(46.2)	11	-	1	8	9	3	6	-	-
14(82.4)	10(58.8)	-(-)	4(23.5)	4	-	-	12	2	2	1	-	-
14(77.8)	6(33.3)	-(-)	4(22.2)	3	1	-	10	3	3	2	-	-
32(61.5)	10(19.2)	3(5.8)	9(17.3)	9	-	-	44	8	-	-	-	-
13(59.1)	4(18.2)	-(-)	3(13.6)	3	-	-	21	1	-	-	-	-
11(78.6)	2(14.3)	2(14.3)	-(-)	-	-	-	12	2	-	-	-	-
8(50.0)	4(25.0)	1(6.3)	6(37.5)	6	-	-	11	5	-	-	-	-
28(50.0)	4(7.1)	1(1.8)	11(19.6)	8	2	1	52	2	1	1	-	-
12(50.0)	2(8.3)	-(-)	2(8.3)	1	1	-	24	-	-	-	-	-
9(56.3)	1(6.3)	1(6.3)	2(12.5)	2	-	-	14	1	-	1	-	-
7(43.8)	1(6.3)	-(-)	7(43.8)	5	1	1	14	1	1	-	-	-

図1 25℃および5℃保存における生菌数の変化

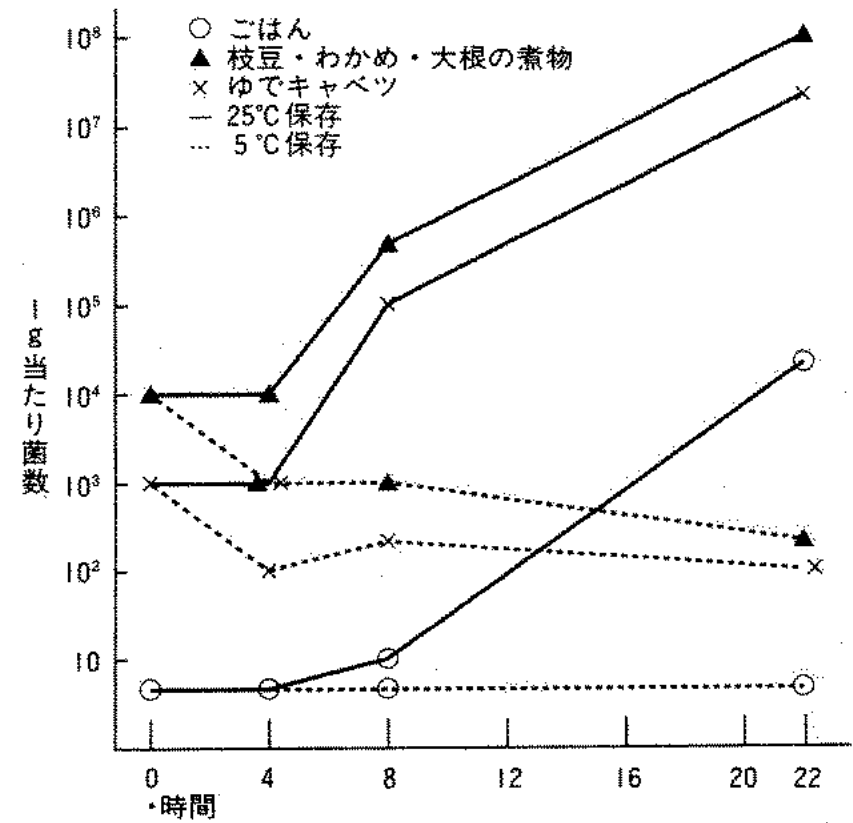


図2 25℃および5℃保存における煮物の大腸菌群推定数の変化

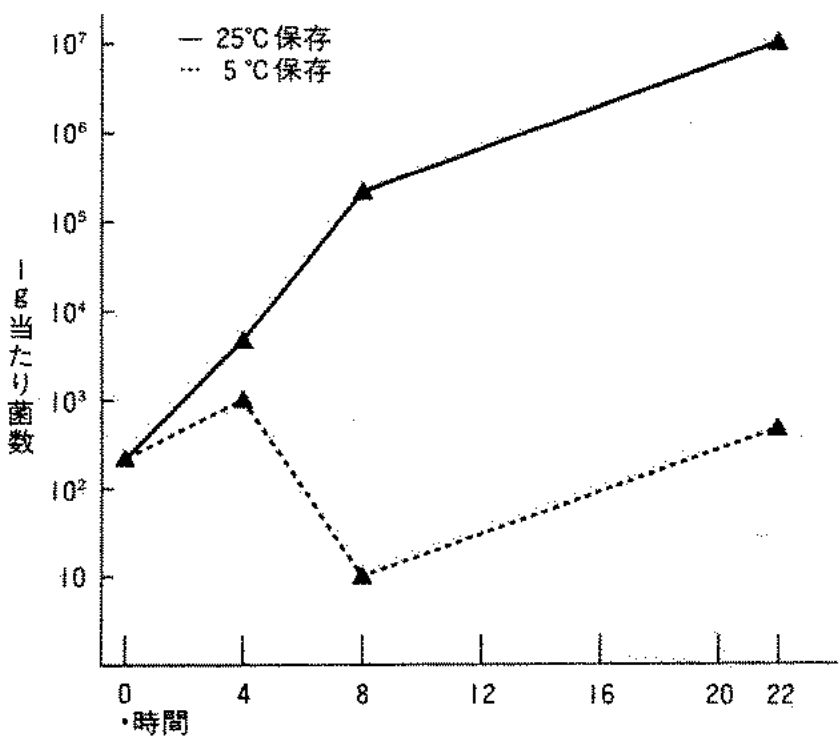


図3 25℃保存におけるセレウス菌数の変化

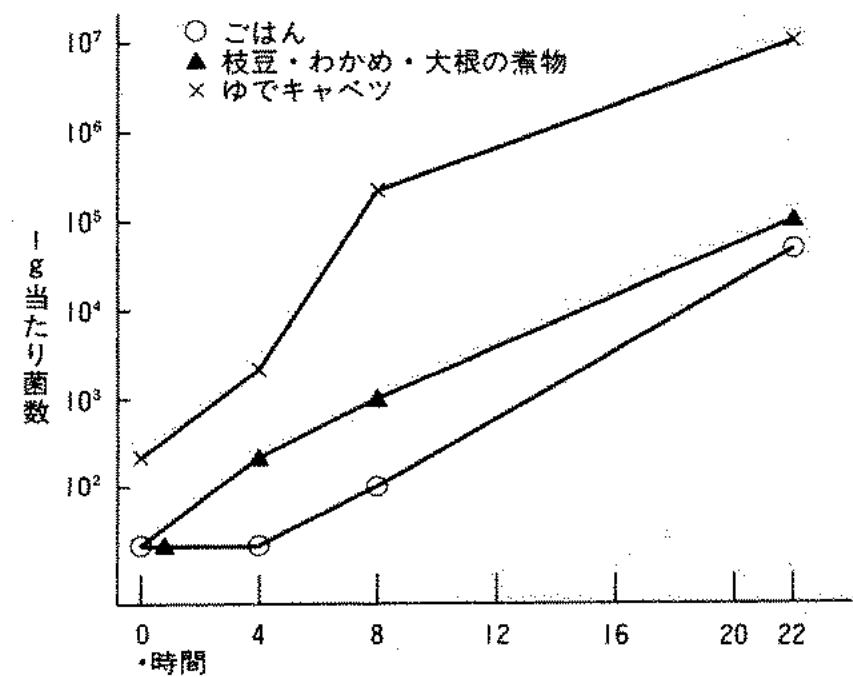
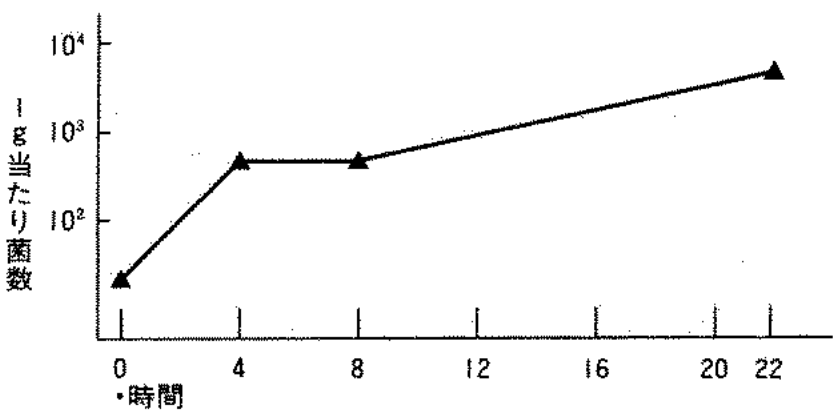


図4 25℃保存における煮物の黄色ブドウ球菌数の変化



びゆでキャベツは、大腸菌群推定数が1g当たり10未満、 4.0×10 と少数であり、5℃保存、25℃保存とも22時間保存後も10未満であった。煮物については、ほぼ生菌数と同様の挙動を示した(図2)。セレウス菌については、初期菌数は1g当たり 10^2 未満および 4×10^2 と少数であり5℃保存では変化がなかったが、25℃保存では3検体とも増殖し、ゆでキャベツでは22時間後には 10^7 に達した(図3)。黄色ブドウ球菌については、3検体とも1g当たり 10^2 未満であり、5℃保存では変化がなかったが、25℃保存では煮物からのみ4時間保存後から検出され、22時間保存後には1g当たり 6.0×10^3 検出された(図4)。

IV 考 察

弁当及びそうざいについては、微生物の制御を中心に原料の受け入れから製品の販売までの各過程全般における取り扱い等の指針を示した「弁当及びそうざいの衛生規範について」⁴⁾(以下「規範」と略す)が、1979年に策定されている。「規範」では「卵焼き・フライ等の加熱処理している製品については1g当たり 10^5 以下、サラダや生野菜などの未加熱処理の製品については1g当たり 10^6 以下のものを使用および製造することが望ましい」としている。今回の調査では、弁当全体を1検体として検査を行っているが、調査した169検体のうち27検体(16.0%)について生菌数が1g当たり 10^5 台、22検体(13.0%)については 10^6 以上であり、「規範」が生かされているとは言い難い結果であった。

生菌数については、加熱調理によって菌数の減少がみられるが、放冷、盛り付け等の工程を経るごとに汚染が進むことが報告されている⁵⁾。折詰弁当にはスーパーなどで販売されている様々な種類の弁当が含まれており一様ではないが、多くのおかずを詰め合わせた製品は食材の種類も多くなり、調理や放冷、盛り付けなどの過程で調理器具、施設設備や従事者から細菌の汚染を受ける機会も多い。給食弁当についても同様のことがいえるが、加えて容器が使い回し

されており、洗浄不足から汚染源となる可能性が存在する⁶⁾。また、弁当類は販売から消費者に摂食されるまでの時間、しばしば室温に置かれることも考慮しなければならない。保存試験の結果から生菌数は4時間経過後から急激に増殖しており、常温で保存される場合遅くとも4時間以内に摂食されるよう注意が必要である。「規範」では、弁当の保存については、盛り付け後摂食までの時間が7時間以内の場合には食中毒発生の可能性が少なく、4時間以内の場合はその可能性がほとんどないと考えられるのでこの点に留意しながら、製造及び販売を行うこととしている。店頭調製弁当は比較的おかずの種類が少なく、天ぷら・フライなど高温で調理される揚げ物類が多く使われていることから生菌数等が抑えられていると考えられる。しかし、半数から大腸菌群が検出されているのは千切りキャベツやサラダなどの生野菜の使用が影響しているものと考えられる。

大腸菌群は自然界に広く分布しており、生野菜などからも検出される可能性もありその存在は必ずしも糞便汚染を意味するものではないが、調査した検体の半数以上114検体(67.5%)から、また、使用されているおかず類がすべて加熱処理されていると考えられる検体からも検出されている。また、糞便性大腸菌群は43検体(25.4%)から、大腸菌は6検体(3.6%)から検出されており、生菌数と同様調理から盛り付けに至るまでの過程で汚染を受けていると考えられる。加熱調理後の二次汚染等を防止するための製造工程の衛生管理が重要である⁷⁾。

黄色ブドウ球菌が検出された検体は40検体(23.7%)であったが、その菌数は1g当たり 10^3 以下であり、直接食中毒に結びつく危険は少ないといえる。しかし、保存試験の結果では開始時点で 10^2 未満であった煮物から25℃、4時間放置後に黄色ブドウ球菌が検出されており、少量の汚染であっても増殖できることが示された。このことは最初の汚染菌量によっては数時間高温下で放置されることによって食中毒発生に結びつく可能性が存在することを示しており、特に夏場など摂食まで長時間放置されることのな

いよう注意が必要である。

セレウス菌は自然界に広く分布している芽胞形成菌であり、加熱調理を行っても製品中に残存する可能性がある。したがって、細菌汚染の少ない、衛生的な原材料を使用することによって、初期菌数を抑えることが重要である。保存試験の結果では、開始時点では1g当たり 10^2 未満であったごはん、煮物からも、25℃保存後にはセレウス菌が検出され、少量の汚染であっても増殖することが示された。

弁当類は原材料として使用される食材の種類も多く、その調理過程も様々であり、調理後の放冷、盛り付けおよび盛り付け後の他の調理品や弁当容器等からの相互汚染など細菌の汚染を受ける機会が多い。細菌汚染の少ない衛生的な材料を使用するとともに、材料の受け入れから調理、盛り付け、包装までの各過程全般において「規範」を遵守した適切な取り扱いが要求される。

謝辞 本調査実施にあたり、検体採取にご協力をいただきました大阪市健康福祉局の食品衛生監視員の各位、ならびに保存試験の実施にあたりご協力いただいた大阪市立環境科学研究所付

設栄養専門学校の中村裕子、長谷聖娘の両氏に深謝いたします。また、各検査の実施にあたりご援助いただいた微生物保健課ならびに企画調整課の皆様に謝意を表します。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局食品保健課、平成11年食中毒発生状況、食品衛生研究 2000；50(9)：117-95.
- 2) 大阪市環境保健局、大阪市衛生統計年報（事業編）（平成11年度）、2000：349-63.
- 3) 厚生省生活衛生局、食品衛生検査指針（微生物編）、東京：日本食品衛生協会、1990：67-91, 118-26, 160-7, 178-85.
- 4) 厚生省生活衛生局、食品衛生小六法、東京：新日本法規出版、1990：1468-83.
- 5) 渡辺剛一ほか、監視指導マニュアル作成に係る弁当の検査結果について、食品衛生研究 1989；39(8)：63-8.
- 6) 大阪市立環境科学研究所、大阪市立環境科学研究所報告 事業年報（昭和60年度）、1986：42-3.
- 7) 小沼博隆、調理施設と食品製造における衛生管理に関する研究(1)、食品衛生研究 1999；49(11)：41-67.

厚生指標・特別編集号

- *'00年 医療供給に関する統計の地域別年次推移……………本体1,048円
- *'99年 世帯統計の歩み—国民生活基礎調査— ……………本体1,000円
- *'98年 老人福祉施設の年次推移……………本体1,000円
- *'97年 平成7年都道府県別生命表 ……………本体1,000円
- *'96年 国民医療費の年次推移 ……………本体1,000円

財団法人 厚生統計協会

〒106-0032 東京都港区六本木5-13-14
TEL 03-3586-3361