飲食物の安全性に関する細菌学的研究（第 9 報）

― 野菜サラダとコロッケを対象として ―

薩田 清明[1]　糸永 美穂[2]　矢野 千尋[3]　植村 あやの[4]
菅野 渚[5]　柴田 真理子[6]　青木 梢[7]　齋藤 あゆみ[8]　山北 怜子[9]
山名 慶美[10]　幡野 弥生[11]　千田 亜希子[12]　本田 悦子[13]
小俣 茂子[14]　谷 真沙美[15]　蓮見 朋子[16]

現在バイキング方式で市販されている非加熱の各種の野菜サラダを対象にその安全性について，加熱されたコロッケを対照に細菌学的に比較検討し，次のような成績が得られた。両製品から検出された一般細菌数はいずれも基準値以下であった。また各種サラダからの大腸菌群の検出率は 87 ～ 97%に認められた。一方加熱コロッケから大腸菌群は全く検出されなかったが，しかし非加熱のコロッケからは 60%に認められた。さらにサラダ，コロッケの両製品から糞便汚染の指標である糞便性大腸菌（*Escherichia coli*）とともに食中毒細菌である黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）の検出が認められたことは，食品衛生学的にみて安全性に重大な問題のあることを強く示すものである。

キーワード：野菜サラダ，コロッケ，黄色ブドウ球菌，糞便性大腸菌，大腸菌群

Ⅰ　はじめに

共働きや学生の一人暮し，単身赴任労働者，特に女性の社会進出の著しい進展に伴い，日常の食生活では簡便性や利便性が強く求められているのが現状である。この食生活に対応するものとして急速に発展したのが中食産業である。中食（調理済み食品）の利用は外食に比べて家庭における調理時間の短縮とともに，一方では家族団欒に要す

1　東京家政学院大学家政学部健康栄養学科
2　東京家政学院大学家政学部家政学科（2004 年度卒業）：現・ヘルス・ウェーブ・ジャパン
3　同　上（2005 年度卒業）：現・医療法人社団足の蔦会南晴病院
4　同　上（2006 年度卒業）：現・株式会社メディカルラボ
5　同　上（2007 年度卒業）：現・横浜市磯子福祉保健センター生活衛生課食品衛生
6　同　上（1996 年度卒業）：現・服部栄養専門学校
7　同　上（2005 年度卒業）：現・小松会病院
8　同　上（2005 年度卒業）：現・厚木市立依知南小学校
9　同　上（2006 年度卒業）：現・富士産業株式会社東京事業部所属東芝病院
10　同　上（2006 年度卒業）：現・富士産業株式会社所属医療法人社団親和会杉並病院
11　同　上（2007 年度卒業）：現・介護老人保健施設カトレア
12　同　上（2005 年度卒業）：現・ピノーコーポレーションピノキオ幼稚園西八王子園
13　同　上（2006 年度卒業）：現・グレープストーン
14　同　上（2007 年度卒業）：現・相模原市農業協同組合大野支店
15　同　上（2007 年度卒業）：現・多摩信用金庫八木町支店
16　同　上（2008 年度卒業）：現・館林市

る時間の延長をもたらしその意義は大きいものである。

このような社会的背景の中で，平成 12 年 3 月に策定された食生活指針にも「たっぷり野菜と毎日の果物でビタミンやミネラル，食物繊維を摂取しましょう」ということが盛り込まれている。この目的を満たす中食の一つとして野菜を中心に製造されるサラダやコロッケなどが挙げられるであろう。

バイキング方式で市販されているサラダ類は消費者（購入者）が望む（必要とする）量だけ購入することができるという最大の利点がある。しかし，その販売のあり方は，製造後から蓋のない大きな皿またはトレイに山盛りの状態で市販されていることは空気中浮遊細菌や人の往来，会話などによる細菌汚染のリスクは高い。その上に，野菜サラダ類は汚染を受けやすい生野菜を原料とし，かつ加熱調理することが少ない（あっても軽度）ため，細菌汚染や調理者の手指からの二次汚染と増殖の可能性を考えなければならない。またコロッケは野菜を中心に製造されるものの最終段階で加熱処理（油で揚げる：170℃で 3 ～ 5 分）される。

そこで著者らは，バイキング方式の惣菜店で市販されている各種の野菜サラダおよびその対照としてコロッケ（2 種）に着目し，その安全性について細菌学的方向から比較検討したので報告する。

Ⅱ　検討試料および検討方法

1．検討試料について

本検討試料は，某バイキング方式の惣菜店で市販されているポテトサラダ（以下試料 A とする），海老とブロッコリーサラダ（以下試料 B とする），鶏とクラゲの中華サラダ（以下試料 C とする），肉厚コロッケの周辺部（以下試料 D とする），同中心部（以下試料 E とする），普通のコロッケの周辺部（以下試料 F とする），同中心部（以下試料 G とする），さらに非加熱のコロッケ（以下試料 H とする）を対象とした。また，いずれの試料も各検討日ごとに，開店後 5 時間以内に購入し，購入後は低温で搬送し，冷蔵庫保存，もしくは直ちに検討を開始した。なお容器の安全性については初回試料購入後に試料の触れていない部分のふき取り検査により，少なくとも *Escherichia coli* の付着していないことを細菌学的に確認した。さらに，本検討試料数はいずれも 30 試料ずつである。また，検討時期は 5 月から 10 月までの約 6 ヶ月間である。

2．検討方法について

各試料 10 g を無菌的に採取し，90 ml の滅菌生理的食塩水とともに滅菌済みストマフィルターバックに投入し，3 ～ 5 分間ストマッカーにかけて磨砕した乳剤を原液とした。この原液を必要に応じて滅菌生理的食塩水で 10 倍段階希釈した。なお各試料は滅菌した薬耳で採取し計量した。

1）一般細菌の検出について

一般細菌の検出は原液および各希釈液 1 ml をハートインフュージョンブイヨン培地（日水）に接種し，37℃で 24 時間培養した。培養後の判定は同培地に混濁が認められた場合を細菌陽性と判定した。各試料とも細菌陽性と認められた希釈倍数をもって菌数を測定し，さらに各試料別の平均菌数（標準偏差）を求め，その差を統計学的（t －検定）に比較検討した。後述の大腸菌群の平均菌数についても同様に検討した。

2）大腸菌群の検出について

大腸菌群の検出は原液および各希釈液 1 ml を BGLB 培地（栄研）に接種し，37℃で 48 時間培養した。培養後の判定は同培地のダーラム管内にガスの産生が認められた場合を大腸菌群陽性と判定した。なお大腸菌群の検出率の比較は χ^2－検定で実施した。

さらに，それぞれ陽性を示した培地から一般細菌は普通寒天平板培地（栄研）へ，大腸菌群は EMB 寒天平板培地（栄研）へそれぞれ 1 白金耳量を塗抹し 37℃で 24 時間培養した。

培養後の各平板培地上に形成されたコロニーの大きさや表面の隆起（形状），色調などの性状から代表的な集落を鉤菌し，普通寒天斜面培地に塗沫し，37℃で 24 時間培養し，その後の菌株は同定試験まで冷蔵庫に保管した。

3）同定試験について

分離細菌の同定試験は次の方法で実施した。

まず，グラム染色（Hucker の変法）による染色性や菌型を顕微鏡下で観察するとともに，チトクローム・オキシターゼ試験による腸内細菌と非腸内細菌の鑑別，TSI 寒天培地（栄研）を利用して糖分解能試験などの結果から，同定試験用の日水製の ID キット（NF‐18，SP‐18，EB‐20）を選択し，その使用方法に従って実施した。

Ⅲ　結果

1．一般細菌について

各種の野菜サラダの試料別にみた一般細菌の検出状況は表 1 に示す通りである。試料 A についてみると 10^3 ～ 10^4 を中心に分布し，その平均菌数は $10^{3.2}$（SD：$10^{0.944}$）を示している。以下同様にみると試料 B，C は 10^4 ～ 10^5 を中心に分布し，その平均菌数はそれぞれ $10^{4.8}$（SD：$10^{1.540}$），$10^{4.8}$（SD：$10^{1.019}$）を示している。さらにコロッケの試料 D，E，F，G はそれぞれ 10^1 を中心に分布し，その平均菌数はそれぞれ $10^{1.0}$（SD：$10^{0.669}$），$10^{1.0}$（SD：$10^{0.461}$），$10^{1.0}$（SD：$10^{0.718}$），$10^{1.1}$（SD：$10^{1.029}$）を示している。試料 H は 10^3 を中心に分布し，その平均菌数は $10^{3.9}$（SD：$10^{1.306}$）を示している。

表1．各試料別にみた一般細菌数の比較

試料＼菌数	10^0	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8	平均菌数(SD)
A (30)		1	5	11	11	2				$10^{3.2}$ (0.944)
B (30)			3	2	8	7	6	3	1	$10^{4.8}$ (1.540)
C (30)				2	10	11	5	2		$10^{4.8}$ (1.019)
D (30)	5	20	4	1						$10^{1.0}$ (0.669)
E (30)		26	3	1						$10^{1.0}$ (0.461)
F (30)	5	21	2	2						$10^{1.0}$ (0.718)
G (30)	7	17	4	1		1				$10^{1.1}$ (1.029)
H (30)	1		1	11	7	7	3			$10^{3.9}$ (1.306)

A：ポテトサラダ，B：海老とブロッコリーのサラダ，C：鶏とクラゲの中華サラダ，D：肉厚コロッケ(周辺部)，E：肉厚コロッケ(中心部)，F：薄いコロッケ(周辺部)，G：薄いコロッケ(中心部)，H：薄いコロッケ非加熱
( )は試料数，　SD：標準偏差

さらに，各試料間の平均菌数の差を統計学的に比較検討してみたのが図 1（野菜サラダ），図 2（コロッケ）である。図 1 で野菜サラダについてみると試料 A と試料 B・C との間に有意差（t －検定）が認められた。すなわち試料 A に比べて，試料 B および試料 C は有意に平均菌数の多いことが認められた。（それぞれ $t = 4.851$，$P < 0.01$，及び $t = 6.439$，$P < 0.01$）。しかし，試料 B と試料 C との間には有意差（t －検定）は認められなかった。

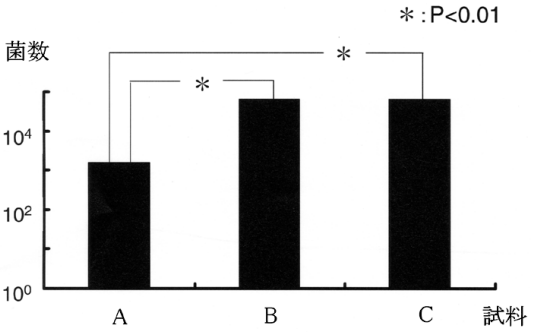

図1．各試料別にみた一般細菌数の平均値の比較

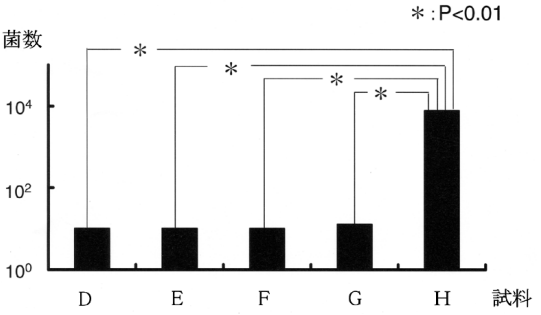

図2．各試料別にみた一般細菌数の平均値の比較

一方，図 2 でコロッケについてみると試料 H と他の 4 試料（D，E，F，G）との間にいずれも有意差のあることが認められた。すなわち試料 H の方が，他の 4 試料に比べて有意に平均菌数の多いことが認められた。（それぞれ $t = 10.825$，$P < 0.01$，及び $t = 11.469$，$P < 0.01$，及び $t = 10.658$，$P < 0.01$，及び $t = 9.224$，$P < 0.01$）。

2．大腸菌群について

各試料別にみた大腸菌群の検出状況は表 2 に示す通りである。まず表 2 で野菜サラダの大腸菌群の検出率をみると試料 A は約 87%，試料 B は 97%，試料 C は 93%にそれぞれ認められた。各試料間の検出率に有意差（χ^2－検定）は認められなかった。一方コロッケについてみると試料 D, E,

F，G からは大腸菌群の検出は全く認められなかった。しかし試料 H からは 60%の検出率で認められた。

表2. 各試料別にみた大腸菌群数の比較

試料＼菌数	$<10^0$	10^0	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	平均菌数(SD)
A (30)	4	15	10	1					$10^{0.2}$ (0.266)
B (30)	1	7	9	10	3				$10^{1.2}$ (1.040)
C (30)	2	7	8	7	3	3			$10^{1.3}$ (1.401)
D (30)	30								$<10^0$ (—)
E (30)	30								$<10^0$ (—)
F (30)	30								$<10^0$ (—)
G (30)	30								$<10^0$ (—)
H (30)	12	5	7	3	2	1			$10^{1.4}$ (0.792)

A：ポテトサラダ，B：海老とブロッコリーのサラダ，C：鶏とクラゲの中華サラダ，D：肉厚コロッケ(周辺部)，E：肉厚コロッケ(中心部)，F：薄いコロッケ(周辺部)，G：薄いコロッケ(中心部)，H：薄いコロッケ非加熱
( )は試料数，　SD：標準偏差

さらに各試料別に大腸菌群の検出状況を表 2 でみると，試料 A は 10^0 以下を中心に分布し，その平均菌数は $10^{0.2}$（SD：$10^{0.266}$）を示している。以下同様にみると試料 B は 10^1 ～ 10^2 を中心に分布し，その平均菌数は $10^{1.2}$（SD：$10^{1.040}$）を，試料 C は 10^0～10^2 を中心に分布し，その平均菌数は $10^{1.3}$（SD：$10^{1.401}$）をそれぞれ示している。一方，試料 H は 10^1 を中心に分布し，その平均菌数は $10^{1.4}$（SD：$10^{0.792}$）を示している。

次に各試料別の平均菌数の差についてみると，図 3 の野菜サラダでは試料 A と試料 B や C との間に有意差（t －検定）が認められた。すわなち試料 A に比べて，試料 B 及び試料 C の方が有意に平均菌数の多いことが認められた。（それぞれ $t = 3.803$，$P < 0.01$，及び $t = 4.151$，$P < 0.01$）。

しかし，試料 B と C の間に有意差（t －検定）

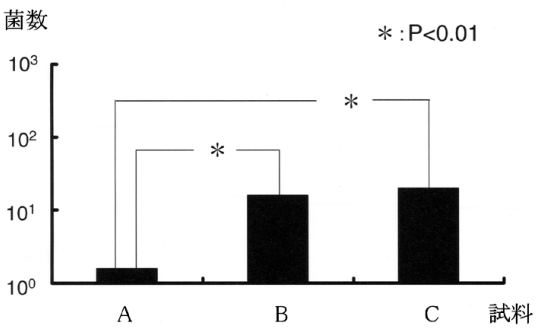

図3. 各試料別にみた大腸菌群数の平均値の比較

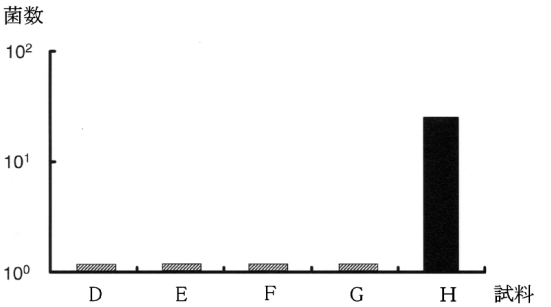

図4. 各試料別にみた大腸菌群数の平均値の比較

は認められなかった。さらに図 4 のコロッケについてみると試料 D，E，F，G からは大腸菌群の検出が認められなかったので，試料 H と比較検討することはできなかった。

3. グラム染色について

各試料別に各平板培地から分離された細菌の生化学的性状は表 3（野菜サラダ），表 4（コロッケ）に示す通りである。表 3 で野菜サラダについてみると試料 A から 40 菌株，試料 B から 47 菌株，試料 C から 43 菌株の合計 130 菌株が分離された。これらのうち試料 A から 55%の 22 菌株，試料 B から約 57%の 27 菌株，試料 C から約 67%の 29 菌株の合計 130 菌株中の 60%の 78 菌株についてグラム染色，糖分解能などの生化学的性状を検討した。

表3. 各試料から分離された菌株の性状

試料＼性状	分離株数	グラム染色 染色株	染色性	菌型	チトクローム・オキシターゼ 1)
A	40	22		球菌 6	陽性菌 5
			陰性菌 22	桿菌 18	陰性菌 17
B	47	27	陽性菌 6	球菌 8	陽性菌 6
			陰性菌 21	桿菌 19	陰性菌 21
C	43	29	陽性菌 5	球菌 9	陽性菌 3
			陰性菌 24	桿菌 20	陰性菌 26
合 計	130	78	陽性菌 11(14.1) 陰性菌 67(85.8)	球菌 21(26.9) 桿菌 57(73.1)	陽性菌 14(17.9) 陰性菌 64(82.1)

A：ポテトサラダ，B：海老とブロッコリーのサラダ，C：鶏とクラゲの中華サラダ，
1）陽性菌とは非腸内細菌、陰性菌とは腸内細菌を示す．（　）は%

まず，分離株の染色性についてみると 78 菌株中グラム陽性菌は 11 菌株の 14.1%に対し，陰性菌は 67 菌株の約 86%にそれぞれ認められた。次に顕微鏡下で菌型についてみると 78 菌株中球菌が 21 菌株の約 27%に対し，桿菌は 57 菌株の約

表4. 各試料から分離された菌株の性状

試料＼性状	分離株数	グラム染色 染色株	染色性	菌型	チトクローム・オキシターゼ 1)
D	18	9	陽性菌 2	球菌 7	
			陰性菌 7	桿菌 2	陰性菌 9
E	16	8			陽性菌 2
			陰性菌 8	桿菌 8	陰性菌 6
G	12	6	陽性菌 1	球菌 1	陽性菌 1
			陰性菌 5	桿菌 5	陰性菌 5
H	104	51			
			陰性菌 51	桿菌 51	陰性菌 46
合計	150	74	陽性菌 3(4.1) 陰性菌 71(94.4)	球菌 3(4.1) 桿菌 71(94.4)	陽性菌 8(10.8) 陰性菌 66(89.2)

D：肉厚コロッケ(周辺部)，E：肉厚コロッケ(中心部)，G：薄いコロッケ(中心部)，H：薄いコロッケ非加熱
1) 陽性菌とは非腸内細菌、陰性菌とは腸内細菌を示す．（　）は%

73%にそれぞれ認められた。

一方，表4のコロッケについてみると試料Dから18菌株，試料Eから16菌株，試料Gから12菌株，試料Hから104菌株の合計150菌株が分離された。これらのうち試料Dから50%の9菌株，試料Eから50%の8菌株，試料Gから50%の6菌株，試料Hから49%の51菌株の合計150菌株中約49%の74菌株について同様に検討した。

染色性についてみると74菌株中グラム陽性菌が3菌株の4.1%に対し，陰性菌は71菌株の約94%にそれぞれ認められた。さらに菌型についてみると74菌株中球菌が3菌株の4.1%に対して，桿菌は71菌株の約94%にそれぞれ認められた。

4. チトクローム・オキシターゼ試験について

さらに，チトクローム・オキシターゼ試験の結果を表3の野菜サラダについてみると78菌株中陽性を示す非腸内細菌が14菌株の約18%に対し，陰性を示す腸内細菌は64菌株の約82%にそれぞれ認められた。さらに表4のコロッケについてみると74菌株中陽性を示す非腸内細菌は8菌株の約11%に対し，陰性を示す腸内細菌は66菌株の約89%にそれぞれ認められた。

5. ID試験について

以上のグラム染色やチトクローム・オキシターゼ試験による腸内細菌の鑑別およびTSI寒天培地による糖分解能試験の成績などからIDプレートを選択し，野菜サラダ（表5）から63菌株，コロッケ（表6）から72菌株を対象にID試験による同定を実施し，次のような菌種名を明らかにすることができた。

表5. 同定された菌種名

(サラダ)

試料	菌種名	菌株数
A	*Enterobacter cloacae*	5
	Escherichia coli	5
	Klebsiella oxytoca	2
	Pseudomonas cepacia	1
	Staphylococcus aureus	1
	Aeromonas sobria	1
	Pasteurella multocide	1
	同定不能	4
B	*Aeromonas hydrophila*	9
	Enterobacter cloacae	4
	Klebsiella oxytoca	3
	Enterobacter aerogenes	2
	Staphylococcus lentus	1
	Staphylococcus warneri	1
	同定不能	2
C	*Enterobacter cloacae*	8
	Enterobacter sakasakii	3
	Enterobacter aerogenes	3
	Klebsiella pneumoniae	2
	同定不能	5
	合計	63

A：ポテトサラダ，B：海老とブロッコリーのサラダ，C：鶏とクラゲの中華サラダ

表5の野菜サラダから分離同定された菌種についてみると，最も多く明らかにされた菌種は大腸菌群を構成する細菌の一つで，*Enterobacter cloacae*が17菌株（試料Aから5菌株，試料Bから4菌株，試料Cから8菌株）である。本菌は人や動物の糞便から分離されることが多く，その他下水や土壌などにも広く分布がみられる。次いで多く分離同定されたのは河川水や土壌中に存在し，水棲動物の腸内から検出される*Aeromonas hydrophlia*で9菌株（試料B）である。さらに糞便汚染を示す糞便性大腸菌である*Escherichia coli*が5菌株（試料A），温血動物（人や動物）の腸管だけでなく，下水や土壌などに広く分布する*Enterobacter aerogenes*が5菌株（試料Bから2菌株，試料Cから3菌株），出血性腸炎の原因細菌で臨床材料から分離されることもある*Klebsiella oxytoca*が5菌株（試料Aから2菌株，試料Bから3菌株）などであった。また食中毒細菌である黄色ブドウ球菌

（*Staphylococcus aureus*）も試料 A から 1 菌株が同定された。

表6. 同定された菌種名

（コロッケ）

菌　種　名	菌株数
Pseudomonas cepacia	20
Serratia marcescens	12
Echerichia coli	8
Xanthmonas maltophilia	7
Enterobacter cloacae	6
Serratia liquefaciens	3
Staphylococcus lentus	3
Staphylococcus aureus	2
Citrobacter freundii	2
Aeromonas hydrophila	1
同　定　不　能	8
合　　計	72

次に表 6 でコロッケから分離同定された菌種についてみると，最も多く明らかにされた菌種は *Pseudomonas cepacia* が 20 菌株である。本菌は土壌中や水中など自然界および人の皮膚，喀痰や糞便などからも分離される。次いで多く同定されたのは *Serratia marcescens* が 12 菌株である。さらに大腸菌群を構成し糞便汚染の指標細菌である糞便性大腸菌（*Escherichia coli*）が 8 菌株も同定された。また大腸菌群を構成する *Enterobacter cloacae* が 6 菌株，食中毒細菌である *Staphylococcus aureus*（黄色ブドウ球菌）が 2 菌株などである。

Ⅳ　考察

食品による健康被害には物理的被害，化学的被害，生物学的被害，その他のことが考えられる。このうち生物学的危害は，すでに生産地で食材が病原体に汚染され，かつ増殖していた，購入後の食材が保管中に病原体に汚染され・かつ増殖した，製造工程で食品が病原体に汚染され・かつ増殖した，包装や輸送中に食品が病原体に汚染され・かつ増殖したなどが考えられる。生物学的危害例として代表的なものは毎年の食中毒事件の発生[1]，BSE（狂牛病）[2]，2000（平成 12）年の黄色ブドウ球菌による大型食中毒事件[3]，2000（平成 12）年のバタークリーム[4] や 2002（平成 14）年の月見まんじゅう[5]，2003（平成 15）年のカスタードクリーム[6] などにおける *Salmonella enteritidis* 事件，2007（平成 19）年 8 月の石屋製菓事件（アイスクリームから黄色ブドウ球菌を検出），さらにノーウォークウイルス[7]，セレウス菌[8]，A型肝炎ウイルス[9]，腸管出血性大腸菌[10]，赤痢菌[11]，サルモネラ菌[12] などの流行例がある。

当研究室では永年にわたり各種の市販飲食物を対象として，その安全性について食品衛生学的見地から細菌学的な検討を継続実施している。これまでに豆腐[13, 14, 15]，レトルト食品[16, 17, 18]，ミネラルウォーター[19, 20, 21]，厚焼き卵とアイスクリーム[22, 23, 24]，カップ野菜サラダ[25, 26, 27]，サンドイッチ[28]，カット野菜[29, 30, 31]，シュークリーム[32, 33, 34, 35, 36]，串ダンゴ[36, 37, 38]，食用カキ[39, 40]，各種のサラダ[41, 42]，コロッケ[43, 44]，牛肉[45, 46]，回転寿司ネタ[47] などの成績については報告してきた。さらに野菜の関連した細菌性食中毒事件も多数報告[48] されている。

そこで著者らは，今回野菜を中心に製造されている各種の野菜サラダおよびコロッケを対象に食品衛生学的立場からその安全性について細菌学的に比較検討してみた。厚生労働省が示す「弁当及び惣菜の衛生規範」[48] によると製品のうちサラダ・生野菜等の未加熱処理したものは試料 1 g 当たりの一般細菌数は 10^6 個以下，大腸菌群は陰性であることとしている。

豊島ら[50] のカット野菜の調査によると一般細菌数は 10^5／g 以下，大腸菌群数は 10^1 ～ 10^2／0.1 g 程度，小地原ら[51] によると一般細菌数は 10^4 ～ 10^5／g，大腸菌群数は 10^2 ～ 10^4／g 程度，薩田らによるとカップ入り野菜サラダ[25, 26, 27] の一般細菌数は $10^{2.7}$ ～ $10^{3.5}$／g，大腸菌群数は $10^{0.3}$ ～ $10^{0.9}$／g，またカット野菜[29, 30, 31] の一般細菌数は $10^{3.4}$ ～ $10^{5.5}$，大腸菌群数は $10^{0.6}$ ～ $10^{4.4}$／g などの検出を認めている。

以上のごとく，生野菜には一般細菌数が 10^3 ～ 10^5／g，大腸菌群数が 10^1 ～ 10^4／g 程度付着しているのは常在的な細菌数であると理解される。こ

の程度の細菌が付着（または汚染）している生野菜がサラダの製造では洗浄後ほとんど非加熱または軽度の加熱で使用されていることになる。従って，製造後の陳列販売中の保存のあり方やその時間，購入後の消費までの時間や保存のあり方によってはさらなる細菌汚染やその増殖などの問題を含んでいる。

そこで現在市販されている各種のサラダ類の販売形態をみると，1）すでにプラスチェック容器に入りられ包装された状態のもの，2）消費者の注文を受け販売員が計量し容器に詰めたもの，3）陳列されているサラダを消費者が自ら希望する購入量を容器に詰めたものを販売員が計量するなどの購入方法がある。本検討に用いた野菜サラダは3）の方法，すなわちバイキング方式で市販されているものである。

本検討に取りあげた各種の野菜サラダの保有細菌数についてみると，各試料 1 g 当たりの一般細菌数は試料 A が $10^{4.2}$／g を，試料 B，C が $10^{5.8}$／g を，さらに大腸菌群数はそれぞれ $10^{1.2}$／g，$10^{2.2}$／g，$10^{2.3}$／g を示し，いずれも試料 A に比べて試料 B，C の方が有意に平均菌数の多いことが認められた。

そこで，なぜ試料 A（ポテトサラダ）に比べて他の2試料（海老とブロッコリーサラダ，鶏とクラゲの中華サラダ）の方が有意に平均菌数が多く認められたのかについて検討してみた。ポテトサラダに比べて細菌数の多かった 2 種のサラダは消費者に人気が低いため製造されてから販売まで包装されず店頭にフタのない大きな皿または陳列ケース入りの状態で出店されている時間が長い上に，人の往来，会話，空気中浮遊細菌の落下などによる新たな細菌汚染に加え，すでに付着していた細菌などの増殖により多く認められたものと考えるのが妥当であろう。一方ポテトサラダはよく売れるので，新しい製品が頻回にわたり追加されるため細菌数が少なかったものと考えられる。

次にコロッケからの一般細菌の検出状況についてみると，試料 D から G のいずれからもその検出された 1 g あたりの平均菌数は $10^{2.0}$／g 前後を示し，各種の野菜サラダに比べて著しく平均菌数の低いことが認められた。さらに大腸菌群についてみると，いずれの試料からも全く検出が認められなかった。このことはコロッケを形成後の加熱温度・時間（170℃ 3 ～ 5 分）により付着細菌が死滅したものと考えられる。従って本製品を揚げる温度・時間が適切であったものと考えられる。しかし非加熱の冷凍コロッケ解凍後（試料 H）の一般細菌数が $10^{4.9}$／g，大腸菌群数が$10^{2.4}$／gのごとく，加熱されたコロッケ（試料 D ～ G）に比べて一般細菌数が有意に多く，かつ大腸菌群の検出率も 60%に認められた。

そこで，冷凍食品の成分規格についてみると，加熱後摂取冷凍食品のうち凍結前未加熱冷凍食品については「一般細菌数は 3× 10^6／g 以下，*Escherichia coli* は陰性である」と規定されている。さらに凍結前加熱冷凍食品については「一般細菌数は 10^5／g 以下，大腸菌群は陰性である」と規定されている。

本検討に用いた非加熱コロッケは「冷凍前未加熱冷凍食品」に該当する。その規定に比べると本検討コロッケの一般細菌数は著しく少なく問題はない。また本製品から同定された細菌の中に *Escherichia coli* が認められたことは不適切な製品であるといわなければならない。しかし本菌のみの存在ならば加熱を十分にすることにより死滅するので加熱温度・時間に注意が必要であろう。

次に分離同定された主な菌種について検討してみた。

本検討で最も多く分離同定されたのは *Pseudomonas cepacia*（コロッケから 20 菌株，野菜サラダから 1 菌株）で，本菌は土壌や河川水など自然界に広く分布がみられる。また生鮮食品の代表的な腐敗細菌で，低温でも増殖するため特に生鮮食品の貯蔵では問題となる。このような細菌の増殖を防ぐために購入後は速やかに調理し喫食することである。さらに抵抗性の減弱したヒトに感染し，院内感染や日和見感染の原因細菌としても重要である。

次いで多く分離同定されたのは *Enterobacter cloacae* で野菜サラダから 17 菌株（試料 A から 5 菌株，試料 B から 4 菌株，試料 C から 8 菌株），コロッケから 6 菌株であった。本菌は下水や土壌など自然界および人や動物の腸管にも分布し，糞便からもよく分離される大腸菌群の一つである。時とし

て尿路感染症，化膿部位などからも検出され敗血症や創傷感染などを引き起す。

次に *Serratia mercescens*（*liquefaciens*）はコロッケから 12 菌株である。本菌は腸内細菌科に分類され，院内感染のほか尿路感染症，肺炎，敗血症などを起こす。また各種の臨床材料から分離されるほかに，空気中や水中，土壌，食品など広く自然界に分布がみられる。食品中でもパン，牛乳，肉などの中でもよく増殖して血液のように赤変させることから霊菌ともいわれている。

次の *Aeromonas hydrophlia* は 10 菌株（野菜サラダから 9 菌株，コロッケから 1 菌株）である。*Hydrophlia* とは「水を好む」という意味で河川，下水や海水中に生息し，カキや魚介類から高頻度に検出される。本菌は腐敗を促進させる細菌でもあり，しばしば敗血症，胃腸炎，肺炎などの日和見感染を引き起こすこともある。さらに本菌は低温で増殖し，増殖最適温度は 28℃で食品を十分に加熱することによって死滅させることが可能である。また本菌は食中毒細菌の一つであるがここ十数年間に本菌による食中毒事件の報告例はない。

次に飲食物の糞便汚染を示す指標細菌である糞便性大腸菌（*Escherichia coli*）の 13 菌株（野菜サラダから5菌株，コロッケから 8 菌株）や *Klebsiella oxytoca*（野菜サラダから 5 菌株）を含む大腸菌群について検討してみた。本来飲食物から大腸菌群が検出されるということは，その食品がヒトや動物の糞便に直接的，または間接的に汚染された可能性のあることを強く意味するものである。

従って，本菌群と出所（腸管から糞便とともに外界へ）を同じくする赤痢，腸チフス，コレラなどの消化器系感染症（感染症法では平成 18 年 12 月の改正で三類感染症に分類された）の病原体を持つ健康保菌者の糞便による汚染の可能性も考えなければならない。すなわち飲食物から大腸菌を含む大腸菌群の存在が認められるということは，その飲食物が三類感染症の感染経路になることである。なお平成 11 年 4 月から赤痢，腸チフス，パラチフス，コレラなども食品を介して体内に侵入し，発症した場合には食中毒の病因物質として取り扱うことになっている。

さらに，野菜サラダから 1 菌株，コロッケから 2 菌株も分離同定された *Staphylococcus aureus* は代表的な食中毒の病因物質である。本菌はヒトの口腔，鼻腔，毛髪，手指などに存在（保有率は 20 ～ 30%ともいわれている）することから餅やダンゴなど手作り製品が原因食品となることが多い。また化膿性疾患や院内感染などを引き起こす細菌としても重要である。本菌による食中毒は食品中で本菌が増殖する時に産生した毒素（エンテロトキシン）によるものである。本毒素は熱抵抗性が強く 100℃ 3 時間の加熱でも無毒化されない（菌体は 80℃ 30 分の加熱で死滅する）。また本菌は食塩に対する抵抗性の強いことから耐塩性菌ともいわれている。

V　結論

著者らは，バイキング方式の惣菜店で市販されているほとんど非加熱，または軽度に加熱された各種の野菜サラダとその対照として加熱されたコロッケを対象に，その安全性について細菌学的に比較検討し，次のような成績が得られた。

1. 野菜サラダについて

1）一般細菌の平均菌数はいずれのサラダも基準値以下を示した。しかしポテトサラダの方が海老とブロッコリーサラダと鶏とクラゲの中華サラダに比べて有意（1 %）に少ないことを認められた。

2）大腸菌群の検出率はポテトサラダが 87%，海老とブロッコリーサラダが 97%，鶏とクラゲの中華サラダが 93%を示し，検出率に差は認めらなかった。

3）しかし大腸菌群の平均菌数の上では，一般細菌と同様にポテトサラダの方が有意（1%）に少ないことが認められた。

4）糞便汚染の指標である *Escherichia coli*（糞便性大腸菌）が 5 菌株も分離同定された。さらに大腸菌群を構成する *Enterobacter cloacae* や *Klebsiella oxytoca*，さらに食中毒細菌である黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）なども分離同定された。

2. コロッケについて

1）一般細菌の平均菌数は，加熱製品ではいずれもその値は基準値以下を示し，さらに製品間に有意の差は認められなかった。しかし非加熱製品の値は有意（1%）に多いことが認められた。

2）大腸菌群の検出は加熱製品からは全く認められなかった。しかし非加熱製品の 60%に認められた。

3）糞便汚染の指標である糞便性大腸菌（*Escherichia coli*）が 8 菌株も分離同定された。さらに大腸菌群を構成する *Enterobacter cloacae* が 6 菌株，*Citrobacter spp* が 2 菌株などが，さらに食中毒細菌である黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）が 2 菌株も分離同定された。

以上のごとく，非加熱または軽度に加熱された各種の野菜サラダから大腸菌群の検出が 87 ～ 97%に，非加熱の冷凍コロッケから 60%に認められたことは，食品衛生法に違反することは明らかである。しかし，加熱製品のコロッケからは大腸菌群の検出は全く認められなかった。さらに両製品（野菜サラダ，コロッケ）から糞便汚染の指標である糞便性大腸菌を含む大腸菌群や食中毒細菌である黄色ブドウ球菌などが認められたことは，食中毒予防の上からみても，食品衛生学的にみても安全性に重大な問題のあることを強く示すものである。

なお，本論文の内容の要旨は日本公衆衛生学会総会〔第 66 回：2007（平成 19）年 10 月松山市，第 67 回 2008（平成 20）年 11 月福岡市）および第 79 回日本衛生学会総会（2009（平成 21）年 3 月東京都〕でそれぞれ発表した。

Ⅵ　文献

1）　厚生統計協会：厚生の指標，国民衛生の動向 55，285 - 289（2008）

2）　山内一也：牛海綿状脳症の現状と今後の対策．食品衛生研究 51，7 - 18（2001）

3）　雪印食中毒事件に係る厚生省・大阪市原因究明合同専門家会議：雪印乳業食中毒事件の原因究明調査結果について（最終報告）―低脂肪乳等による黄色ブドウ球菌エンテロトキシン A 型食中毒の原因について―．食品衛生研究 51，17 - 91（2001）

4）　斎藤紀行，佐々木美江，山口友美，畠山敬，秋山和夫，白石広行，鈴木功，佐藤俊郎，中島博：ウェディングケーキが原因食品となった Salmonella thompson 食中毒事例宮城県．病原微生物検出情報 21，8 - 9（2000）

5）　松井珠乃，鈴木里知，柴田和顕，木島秀雄，瀬尾幸嗣，塚田真樹，松崎利奈子，泉谷秀昌，渡辺治雄，大山卓昭，岡部信彦，高橋央：市内一円で発生した Salmonella Enteritidis 食中毒の集団発生事例豊橋市．食品衛生研究 52，29 - 34（2002）

6）　橋渡佳子，下村佳，古田佳美，毛利好江，佐々木敏之，石村勝之，萱原隆行，河本秀一，平崎和幸，荻野武雄：洋菓子店の洋生菓子を原因とした Salmonella entritidis 食中毒事例広島市．病原微生物検出情報 25，20（2004）

7）　Karitsky, J,, N., Osterholm, M, T., Greenberg, H, B., Keriath, J, A., Godes, J, R., Hedberg, C, W., Forfang, J, C., Kapikian, A, Z., Mccullough, J, C., White, K, E.,：Norwalk gastroenteritis a community outbreak associated with bakery product consumption. Ann. Intern. Med., 100，519 - 521（1984）

8）　Harmon, S, M., Kautter, D, A., Solomon, H, M.,：Bacillus cereus contamination of seeds and vegetable sprouts grown in a home sprouting kit. J. FoodProt., 50, 62 - 65（1987）

9）　Niu, N, T., Polish, L, B., Robertson, B, H., Khanna, B, K., Woodru ff, B, A., Shapiro, C, N., Miller, M, A., Smith, J, D., Gedrose, J, K., Alter, M, J., Margoles, H, S.,：Multisate outbreak of hepatitis A associated with frozen strawberries. J. Infect. Dis., 166，518 - 524（1992）

10）Besser, R, E., Lett, S, M., Weber, J, T., Doyle, M, P., Barrett, T, J., Wells, J, G., Griffin, P, M.,：An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from Escherichia coli O157:H7 in fresh-pressed apple cider. J. Am. Med. Assoc., 269，2217 - 2220（1993）

11）Frost, J, A., McEvoy, M, B., Bedntley, C, A., Andersson, Y., Rove, A.,：An outbreak of Shigella sonnei infection associated with consumption of iceberg lettuce. Emerg.

Infet. Dis., 1，26 - 29（1995）
12）Boonmar, S., Bangtrakulnonth, A., Pornruangwong, S., Samo sornsuk, S., Kaneko, K., Ogawa, M.,：Significant increase in antibiotic resistance of salmonella isolates from human be9ngs and chicken meat in Thailand. Vet. Microbiol., 62，73 - 80（1998）
13）大谷千津子，薩田清明，高橋昌巳：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第一報．豆腐を対象に～．日本公衆衛生学雑誌 45，696（1998）
14）薩田清明，黒木玉枝，柴田真理子，石井直美，今井優子，辻雅子，中島麻美：飲食物の安全性に関する細菌学的研，～第1報．特に豆腐を対象として～．東京家政学院大学紀要，自然科学・工学系 39，9 - 16（1999）.
15）辻雅子，薩田清明，中島麻美：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第二報．特に豆腐を対象に～．日本公衆衛生学雑誌 46，719（1999）
16）川村綾子，薩田清明，浅井康枝：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第三報．レトルト食品を対象として～．日本公衆衛生学会雑誌 46，713（1999）
17）長谷川祐子，薩田清明，浅井康枝，川村綾子，竹内美佳：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第四報．レトルト食品を対象として～．日本公衆衛生学会雑誌 47，785（2000）
18）薩田清明，堺由布子，佐々木玲子，浅井康枝，川村綾子，竹内美佳，長谷川祐子：飲食物の安全性に関する細菌学的研究，～第 2 報．レトルト食品を対象として～．東京家政学院大学紀要，自然科学・工学系 40，15 - 20（2002）
19）薩田清明，川合由希子，山村淳子：ミネラルウォーターにおける細菌学的検討．東京家政学院大学紀要，自然科学・工学系 38，21 - 26（1998）
20）薩田清明，宮崎美紀，吉見玲子：飲食物の安全性に関する細菌学的研究，～第 3 報．ミネラルウォーターを対象として～．東京家政学院大学紀要，自然科学・工学系 41，15 - 20（2001）
21）吉見玲子，薩田清明：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 5 報．ミネラルウォーターを対象に～．日本公衆衛生学雑誌 48，846（2001）
22）鵜飼香内子，薩田清明，石井恵子，浦田和子，戸木真由美：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第六報．厚焼き卵を対象に～．日本公衆衛生学会雑誌 48，846（2001）
23）薩田清明，石井恵子，浦田和子，戸木真由美，鵜飼香内子，佐藤友子，矢野知世子，吉田奈緒子，飯村美和子，村岡範子，牟田美紀子：飲食物の安全性に関する細菌学的研究，～第4報．厚焼き卵とアイスクリームを対象として～．東京家政学院大学紀要，自然科学・工学系 42，25 - 34（2002）
24）村岡範子，薩田清明，矢野知世子，飯村美和子，牟田美紀子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第八報．アイスクリームを対象に～．日本公衆衛生学雑誌 49，902（2002）
25）中川幸子，薩田清明，藤居仁美，豊岡香奈，羽木麻里子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第九報．野菜サラダを対象に～．日本公衆衛生学雑誌 49，902（2002）
26）薩田清明，樋口幸子，中川幸子，木村由郁，宇留野京子，藤井仁美，豊岡香奈，羽木麻里子，仁張恭子，佐藤依子，鈴木理恵：飲食物の安全性に関する細菌学的研究，～第 5 報．カップ野菜サラダとサンドイッチを対象として～．東京家政学院大学紀要，自然科学・工学系 44，9 - 39（2004）
27）木村由郁，薩田清明，鈴木理恵：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 12 報．生野菜サラダを対象として～．日本公衆衛生学雑誌 50，881（2003）
28）樋口幸子，薩田清明，宇留野京子，仁張恭子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第十報．サンドイッチを対象として～．日本公衆衛生学雑誌 50，881（2003）
29）石井奈緒子，薩田清明，鈴木由実子，久保田明子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 11 報．カット野菜を対象として～．日本公衆衛生学雑誌 50，889（2004）
30）山本美穂，薩田清明，有尾優希：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 16 報．カット

野菜を対象として～．日本公衆衛生学雑誌 52，1006（2005）
31）薩田清明，山本美穂，柴田真理子，石井奈緒子，久保田明子，有尾優希，鈴木由実子，蛭田栄子：飲食物の安全性に関する細菌学的研究，～第6報．カット野菜を対象として～．東京家政学院大学紀要，自然科学・工学系46，7‐15（2006）
32）山崎敬子，薩田清明，松山ゆみ子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 15 報．シュークリームを対象として～，日本公衆衛生学会誌 52，1005（2005）
33）田辺祐子，薩田清明，仲野諭子，山本美穂，柴田真理子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 20 報．各種のシュークリームを対象に～，日本公衆衛生学会誌 53，980（2006）
34）木下雅代，薩田清明，山本美穂，柴田真理子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 22 報．各種のシュークリームを対象に～，日本公衆衛生学雑誌 54，627（2007）
35）薩田清明，山本美穂，山崎敬子，松山ゆみ子：シュークリームの細菌学的にみた安全性について，第 1 報．日本衛星学雑誌 63，487（2008）
36）薩田清明，糸永美穂，山　敬子，上田佳奈，田辺祐子，木下雅代，柴田真理子，松山ゆみ子，安達恵，武内由香里，沼山紘子，上島妙子，横堀陽子，仲野諭子，草野亜季子，田村ゆう子：飲食物の安全性に関する細菌学的研究．～第 8 報．シュークリームと串ダンゴを対象として～．東京家政学院大学紀要，自然科学・工学系 48，9‐20（2008）
37）上田佳奈，薩田清明，上島妙子，横堀陽子，山本美穂，市川恵，金澤由香里，沼山紘子，柴田真理子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 18 報，串ダンゴを対象として～．日本公衆衛生学雑誌 53，979（2006）
38）薩田清明，山本美穂，上島妙子，横堀陽子：串ダンゴの細菌学的にみた安全性について．第 2 報，日本衛生学雑誌 63，487（2008）
39）清水佳美，薩田清明，岡村悠夏，中村彩子，山本美穂，山中真由美，秋山久美子，佐川純子，前場佐祐里，柴田真理子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 19 報，食用カキを対象として～．日本公衆衛生学雑誌 53，979（2006）
40）薩田清明，清水佳美，山本美穂，山中真由美，岡村悠夏，中村彩子，柴田真理子，秋山久美子，佐川純子，前場佐裕里：飲食物の安全性に関する細菌学的研究．～第 7 報．食用カキを対象として～．東京家政学院大学紀要，自然科学・工学系 47，1‐10（2007）
41）齋藤あゆみ，薩田清明，矢野千尋，青木梢，山本美穂，植村あやの，山北怜子，山名慶美，柴田真理子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 23 報，各種のサラダを対象として～．日本公衆衛生学雑誌 54，627（2007）
42）菅野渚，幡野弥生，糸永美穂，柴田真理子，小野かお里，薩田清明：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 26 報，各種のサラダを対象として～，日本公衆衛生学雑誌 55，617（2008）
43）山本美穂，薩田清明，柴田真理子，千田亜希子，本田悦子：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 24 報，各種のコロッケを対象として～．日本公衆衛生学雑誌 54，627（2007）
44）植村あやの，糸永美穂，柴田真理子，小野かお里，薩田清明：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 28 報，各種のコロッケを対象として～．日本公衆衛生学雑誌 55，617（2008）
45）竹山悠子，糸永美穂，柴田真理子，鈴木佳奈，生田目香織，小野かお里，薩田清明：細菌学的にみた飲食物の安全性について，～第 27 報，焼肉（牛肉）を対象として～．日本公衆衛生学雑誌 55，617（2008）
46）薩田清明，竹山悠子，糸永美穂，柴田真理子，椿佳央理，仲野沙織，中野鈴子，石毛久美子，鈴木佳奈、生田目香織，小野かお里：焼肉（牛肉）の細菌学的にみた安全性について．第 3 報．日本衛生学雑誌 64，510（2009）
47）薩田清明，阿部瑶子，吉川直美，糸永美穂，柴田真理子，小野かお里：回転寿司の細菌学的にみた安全性について．第 4 報．日本衛生学雑誌 64，509（2009）
48）厚生省生活衛生局監修：食品衛生小六法，弁当

およびそうざいの衛生規範，新日本法規出版ＫＫ，1459（1989）
49）豊島重美，鈴木秀和，藤田満，長末修，船山芳樹，土屋敬文，佐藤桂介：カット野菜の衛生学的調査，食品衛生研究 39，63 - 68（1989）
50）小地原直美，木川守平：サラダおよび冷凍食品の細菌汚染に関する考察，信愛紀要 33，45～51（1993）
51）金子賢一：生食用野菜及び果実が媒介食品となる感染症，食品衛生学雑誌 40，417 - 425（1999）

（2009.3.25 受付　2009.5.20 受理）