

図16

iap 遺伝子内の多型領域における挿入と欠損

EGD	1282	1283	1307	1385	1403	1429	1430	1439	1507	1508
1 351-8	GCA	GCT AAT	AAT	ACA AAT
2 351-12	AAT	...	GCA	GCT AAT	AAT	ACA AAT
3 343-10	GCA	GCT AAT	AAT	ACA AAT
4 343-11	GCA	GCT AAT	AAT	ACA AAT
5 334-12	GCA	GCT AAT	AAT
6 347-13	GCA	GCT AAT	AAT	ACA AAT
7 350-14	GCT	GCT AAT	AAT	ACA AAT
8 332-8	AAT	GCT AAT	AAT	ACA AGT
9 332-9	AAT	GCT AAT	AAT	ACA AGT
10 350-12	GCA	GCT AAT	AAT	ACA AAT
11 350-13	AAT	GCT AAT	AAT	ACA AGT
12 350-10	GCT	GCT AAT	AAT	ACA AAT
13 350-8	AAT	GCT AAT	AAT	ACA AGT
14 350-11	AAT	GCT AAT	AAT	ACA AGT
15 346-10	GCA	AAC	...	ACA AGT	ACT	AAC

図17

iap 遺伝子内の多型領域における反復配列構造

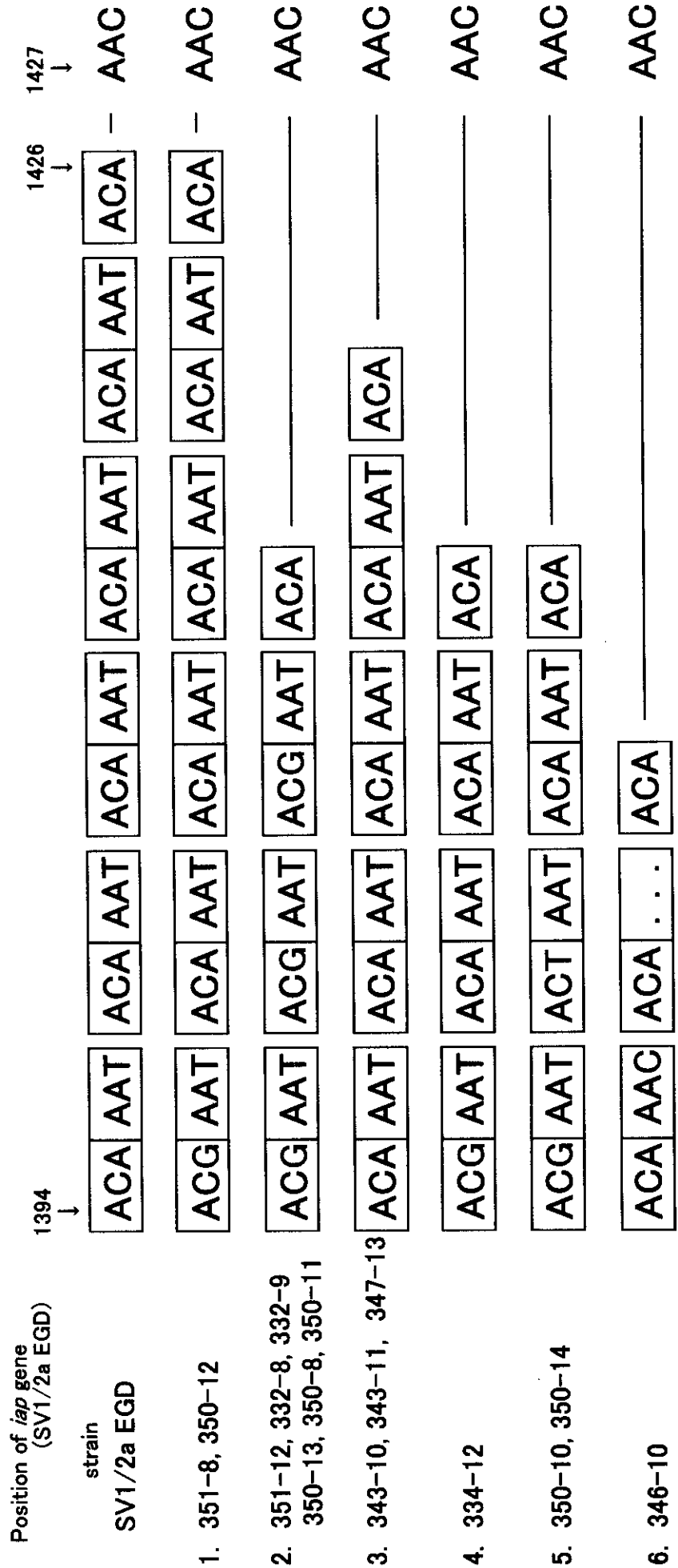


表3

L.m 血清型1/2a 分離株の疫学

事例名	事例詳細	No.	肉の種類	検体採取日	分離菌株名	制限酵素 切断パターン	点変異	反復配列	挿入	欠損	分類(群)
ヒト	敗血症患者	1	血液	960318	L96-HM1	■	9	2	0	0	I
		2	糞便	960408	L96-HM2	■	9	2	0	0	I
	髄膜炎患者	3	血液	020000	L2K1-12H	●	1	3	0	0	II
A	加工場 a	4	豚肉	960624	L96-11P1	■	9	2	0	0	I
		5	豚肉	980210	L98-76P2	▲	8	1	0	0	III
	加工場 m	6	豚肉	980211	L98-78P5	▲	8	1	0	0	III
		7	豚肉	980417	L98-104P5	★	?	2	0	0	(IV)
		8	鶏肉	980213	L98-80C1	■	9	2	0	0	I
	加工場 k	9	鶏肉	980311	L98-89C5	▲	8	1	0	0	III
		10	豚肉	990612	L99-183P1	▲	8	1	0	0	III
B		11	鶏肉	990620	L99-213C1	★	0	2	0	0	IV
		12	牛肉	990613	L99-173B3		0	5	0	0	VII
C		13	鶏肉	990620	L99-221C1	★	0	2	0	0	IV
		14	鶏肉	990613	L99-186C1	●	1	3	0	0	II
D		15	鶏肉	000611	L2K-265C1		3	2	0	0	VIII
		16	鶏肉	990620	L99-223C3		3	4	0	0	IX
E		17	鶏肉	000611	L2K-268C1	★	2	2	1	0	V
		18	鶏肉	000619	L2K-307C1		0	2	0	0	VI
F		19	牛肉	000611	L2K-312B1	▲	8	1	0	0	III
G		20	鶏肉	990614	L99-188C3	●	1	3	0	0	II

表4

L. m 輸入株のゲノム構造の特性と疫学

No.	分離菌株	血清型	肉種*	輸出国	点変異	欠損	挿入	反復
1	351-8	1/2a	P	CA	4	0	0	4
2	351-12	1/2a	P	CA	23	1	1	2
3	343-10	1/2a	C	US	0	0	0	3
4	343-11	1/2a	C	US	0	0	0	3
5	334-12	1/2a	P	DK	1	2	0	2
6	347-13	1/2a	P	IE	0	0	0	3
7	350-14	1/2a	C	CN	9	0	0	2
8	332-8	1/2b	B	CA	23	1	1	2
9	332-9	1/2b	B	CA	23	1	1	2
10	350-12	1/2b	C	CN	4	0	0	4
11	350-13	1/2b	C	CN	23	1	1	2
12	350-10	3a	C	CN	9	0	0	2
13	350-8	3b	C	CN	23	1	1	2
14	350-11	3b	C	CN	23	1	1	2
15	346-10	4b	C	BR	55	3	3	0

* P: 豚肉
C: 鶏肉
B: 牛肉

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
分担研究報告書

魚介類加工品及び漬物の *Listeria* 属菌汚染実態調査

分担研究者 神保勝彦 東京都立衛生研究所 乳肉衛生研究科 科長
協力研究者 仲真晶子 東京都立衛生研究所 乳肉衛生研究科 主任研究員

研究要旨

2002年に首都圏で市販された魚介類加工品（乾製品・珍味・練り製品）121検体、漬物103検体について *Listeria* 属菌の汚染実態を調査した。魚介類加工品では15検体(12.4%)から *Listeria* 属菌が検出され、うち4検体(3.3%)から *L. monocytogenes* が検出された。漬物では1検体(1.0%)から *L. monocytogenes* が検出された。これらの *L. monocytogenes* 汚染菌量は1/g未満であった。

A. 研究目的

わが国で消費される ready-to-eat の魚介類加工品のなかで、魚卵、スモークサーモンについての *Listeria* 属菌汚染についての報告はあるが、乾製品および珍味類についての報告はほとんどみられない。また、農産物加工品のなかで消費の多い漬物類についての調査はなされていない。

今回はこれら魚介類乾製品・珍味類および漬物について *Listeria* 属菌の汚染実態を把握することを目的とした。さらに、*L. monocytogenes* については汚染菌量および血清型を含めて調査した。

B. 研究方法

魚介類加工品としては2002年に首都圏で市販された魚介類乾製品（イカ乾製品、鱈・鮭乾製品、干し貝柱等）71検体、珍味・総菜類（塩辛、松前漬、ちりめん、魚介酢漬、海鮮サラダ等）43検体、魚練り製品（かまぼこ、さつまあげ等）7検体合計121検体を対象とした。また、漬け物類として、浅漬、ぬか漬、キムチ、たくわん、しば漬等103検体を対象とした。

Listeria 属菌の検出は食品衛生検査指針

の方法に準じておこなった。すなわち、検体25gをUVM培地225mlに加え30℃48時間増菌培養後PALCAM寒天培地に塗抹して30℃48時間分離培養した。平板上に発育した *Listeria* 属菌を疑う集落を釣菌して6%酵母エキス加Trypticase soy agarで再分離し、Henryの斜光法により真珠様青緑色を呈する集落について、グラム染色陽性、カタラーゼ反応陽性、半流動寒天培地で傘状発育を示すことを確認して *Listeria* 属菌を同定した。さらに、糖分解（ラムノース、キシロース、マンニット）、β-溶血性、CAMP試験を行い菌種を鑑別した（図1）。

さらに、各種食品の *L. monocytogenes* 検出法として用いられているISO 11290-1に準じた方法も同時に実施した。すなわち、検体25gに225mlの一次増菌培地（half Fraser）を加え30℃で24時間培養し、増菌液0.1mlを二次増菌培地（Fraser）10mlに接種し、35℃で48時間培養した。分離培養は一次増菌液及び二次増菌液の2回行ない、増菌液をPALCAM寒天培地に塗抹し、30℃48時間培養した。平板上に発育した *Listeria* 属菌を疑う集落

について上記と同様の方法で確認、同定を行った(図2)。

なお、両方法とも分離培地としてPALCAM培地に加えCHROMagar *Listeria*培地を併用した。

*L. monocytogenes*が検出された検体については、UVM培地を用いた最確数法(3本法)により汚染菌量を測定した。また、デンカ生研製リステリア型別用免疫血清を用いて血清型別を実施した。

C. 研究結果

魚介類加工品で*Listeria*属菌が検出されたものは121検体中15検体(12.4%)であった。魚介類乾製品では71検体中7検体(9.9%)、珍味・総菜類では43検体中8検体(18.6%)に*Listeria*属菌汚染が認められた。魚練製品7検体から*Listeria*属菌は検出されなかった。

*L. monocytogenes*は121検体中4検体(3.3%)から検出された。内訳は魚介類乾製品3検体(4.2%)、珍味・総菜1検体(2.3%)であった。*L. monocytogenes*以外では、121検体中*L. innoua*が13検体(10.7%)、*L. seerigeri*が1検体(2.3%)から検出された。(表1)。

*Listeria*属菌を検出した魚介類加工品は、イカ乾製品、鱈乾製品、鮭乾製品、松前漬、生珍味などであった。これらのうち*L. monocytogenes*を検出した4検体中2検体からは*L. innocua*が、1検体からは*L. seerigeri*がともに検出された(表2)。

汚染菌量は、1検体が90/100gであったが、その他の3検体は30/100g未満であった。血清型別では1/2a菌が2検体、1/2b菌が2検体から検出された。1検体からは1/2a菌と1/2b菌が同時に検出された。(表3)。

漬物類では103検体中1検体(1.0%)、ぬか漬から*L. monocytogenes*が検出さ

れた。その他の*Listeria*属菌は検出されなかった。汚染菌量は40/100gで、菌株の血清型は1/2aであった(表4~6)。

今回、検査法として食品検査指針の方法とISO法とを同時に実施した。検査指針とISO法では異なる選択増菌培地が使用されている。検査した合計224検体中*Listeria*属菌が検出された16検体の増菌培地別の検出数は、UVM培地10検体、half Fraser培地9検体、Fraser培地12検体であった(表7)。また、*L. monocytogenes*が検出された検体数は、UVM培地2検体、half Fraser培地2検体、Fraser培地5検体であった(表8)。

D. 考察

今回調査した魚介乾製品、珍味類の*L. monocytogenes*検出率は3.3%で、今までに報告されているready-to-eatの鮮魚介類、魚介類加工品と同等であった。しかし、*Listeria*属菌の汚染率は12.4%とやや高かった。*L. monocytogenes*が検出された4検体中3検体が*Listeria*属のほかの菌種と同時に汚染されていたことを考慮すると、*Listeria*属菌に汚染されていた食品は*L. monocytogenes*汚染の可能性もあったと考えられる。

汚染菌量は、1検体が90/100gで、その他の3検体は30/100g未満と少なかった。

*Listeria*属菌に汚染されていた魚介乾製品7検体中6検体は常温保存可能(冷蔵の表記がない)で内5検体は品質保持期限が購入時点で3週間を越えて残っていた(表2)。これらの多くは開封後冷蔵して早めに消費するように表示されていた。*L. monocytogenes*が検出された2検体について開封後4℃保存2週間後に菌量を測定したところ30/100g未満であった。魚介類乾製品の水分活性は通常0.58~0.90程度であり、*L. monocytogenes*増殖の可能性は

低いと考えられるが、最近は 0.92~0.95 の製品もあることから注意を要する。珍味類 8 検体はすべて冷蔵保存の表示がなされており、7 検体が期限 3 週間以内であった(表 2)。

ready-to-eat の農産物加工品として漬物類を調査したが、ぬか漬けから *L. monocytogenes* が検出された。菌量は 40 /100g と少なかったが、消費頻度、消費量の比較的高い食品であることから今後継続的に調査する必要がある。

これらの食品から検出された菌株の血清型は 1/2a および 1/2b 株であり、どちらも臨床由来株から分離される血清型であった。

検査法の比較では、UVM 培地 48 時間増菌で分離する食品衛生検査指針の方法に比べ、一次増菌 (half Fraser 培地) 24 時間の後、二次増菌 (Fraser 培地) 48 時間し、それぞれの増菌液から分離培養する ISO 法の検出率が高かった。乾燥などのため損傷を受けた菌の回復に二段階増菌が適していることも考えられるが、さらに、検体数を増やして検討する必要がある。

E. 結論

魚介類乾製品、珍味等 121 検体中 15 検体(12.4%)から *Listeria* 属菌が検出された。4 検体(3.3%)からは *L. monocytogenes* が検出されたが菌量は 4 検体とも 1/g 未満と少なかった。

漬物 103 検体中 1 検体、ぬか漬けから *L. monocytogenes* が検出された。菌量は 1/g 未満と少なかったが消費頻度、消費量が比較的多いことから今後も継続して調査する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

その他

訳書

(1)仲真晶子：図説食品汚染病原微生物，図説食品汚染病原微生物，丸山 務・熊谷進 (監訳)，16. リステリアモノサイトゲネス，327-354，廣川書店，2003.

解説

(1)仲真晶子：食品の食中毒検査法 14. リステリアモノサイトゲネス，日本防菌防黴学会誌，31，159-168，2003.

表1. 魚介類加工品(ready-to-eat)のListeria属菌汚染状況

食品区分	検体数	Listeria属菌	陽性検体数 (%)		
			<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. seerigeri</i>
魚介類乾製品	71	7(9.9%)	3(4.2%)	6(8.5%)	0
珍味, 総菜類	43	8(18.6%)	1(2.3%)	7(16.3%)	1(2.3%)
魚練製品	7	0	0	0	0
合計	121	15(12.4%)	4(3.3%)	13(10.7%)	1(0.8%)

表2. Listeria属菌を検出した魚介類加工品

食品区分	食品名	Sample No	菌種	期限表示	保存温度
魚介乾製品	一夜干し焼きいか	02-A2	<i>L. innocua</i>	3週間超	常温
	一夜干しあたりめ	02-A8	<i>L. monocytogenes, L. innocua</i>	3週間超	常温
	つまみたら	02-A17	<i>L. monocytogenes</i>	3週間超	常温
	チーズ鱈	02-A84	<i>L. innocua</i>	3週間超	常温
	つまみ鱈	02-A92	<i>L. innocua</i>	3週間超	常温
	鮭トバ	02-A22	<i>L. innocua</i>	3週間以内	常温
	鮭ジャーキー	02-A117	<i>L. monocytogenes, L. innocua</i>	3週間以内	10°C以下
珍味, 総菜類	松前漬け	02-A60	<i>L. innocua</i>	3週間超	10°C以下
	数の子松前	02-A53	<i>L. innocua</i>	3週間以内	10°C以下
	松前漬け	02-A118	<i>L. innocua</i>	3週間以内	10°C以下
	うにいか	02-A99	<i>L. innocua</i>	3週間以内	10°C以下
	身欠きウニみそ	02-A43	<i>L. innocua</i>	1週間以内	10°C以下
	海藻帆立	02-A55	<i>L. monocytogenes, L. seerigeri</i>	1週間以内	10°C以下
	貝しぐれ	02-A115	<i>L. innocua</i>	1週間以内	10°C以下
	磯ちりあわび	02-A122	<i>L. innocua</i>	1週間以内	10°C以下

表3. 魚介類加工品から検出された*L. monocytogenes*の汚染菌量と血清型

検体番号	食品名	菌量(/100g)	保存後*	血清型
02-A8	一夜干しあたりめ	<30	<30	1/2a
02-A17	つまみたら	<30	<30	UT
02-A117	鮭ジャーキー	<30		1/2b
02-A55	海藻帆立	90		1/2a, 1/2b

* 開封後4°Cで2週間保存

表4. 漬物の*Listeria*属菌汚染状況

食品区分	検体数	陽性 検体数 (%)	
		<i>Listeria</i> 属菌	<i>L. monocytogenes</i>
漬物	103	1(1.0%)	1(1.0%)

表5. *Listeria*属菌を検出した漬物

食品区分	食品名	Sample No	菌種	期限表示	保存温度
漬物	ぬか漬けきゅうり	02-B101	<i>L. monocytogenes</i>	1週間以内	10°C以下

表6. 漬物から検出された*L. monocytogenes*の汚染菌量と血清型

検体番号	食品名	菌量(/100g)	血清型
02-B101	ぬか漬けきゅうり	40	1/2a

表7. 検査法の比較(*Listeria*属菌の検出)

食品名	Sample No	増菌培地		
		UVM	half-Fraser	Fraser
一夜干し焼きいか	02-A2	—	—	+
一夜干しあたりめ	02-A8	—	+	+
つまみたら	02-A17	—	—	+
チーズ鱈	02-A84	+	+	+
つまみ鱈	02-A92	+	—	—
鮭トバ	02-A22	+	+	+
鮭ジャーキー	02-A117	—	+	+
松前漬け	02-A60	+	—	—
数の子松前	02-A53	—	+	+
松前漬け	02-A118	+	—	—
うにいか	02-A99	+	+	+
身欠きウニみそ	02-A43	+	—	+
海藻帆立	02-A55	+	+	+
貝しぐれ	02-A115	+	+	+
磯ちりあわび	02-A122	+	—	—
ぬか漬けきゅうり	02-B101	—	+	+
	検出数	10	9	12

表8. 検査法の比較(*L. monocytogens*の検出)

食品名	Sample No	増菌培地		
		UVM	half-Fraser	Fraser
一夜干しあたりめ	02-A8	—	—	+
つまみたら	02-A17	—	—	+
鮭ジャーキー	02-A117	—	—	+
海藻帆立	02-A55	+	+	+
ぬか漬けきゅうり	02-B101	+	+	+
	検出数	2	2	5

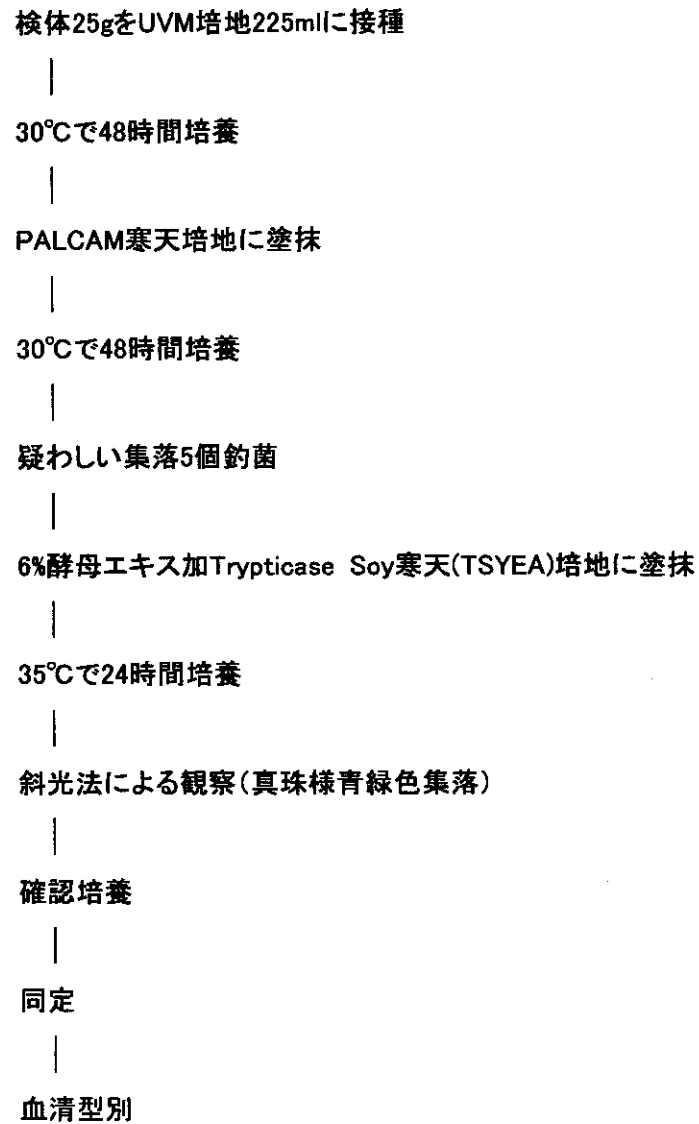


図1 *L. monocytogenes*の検査手順 (食品衛生検査指針準拠)

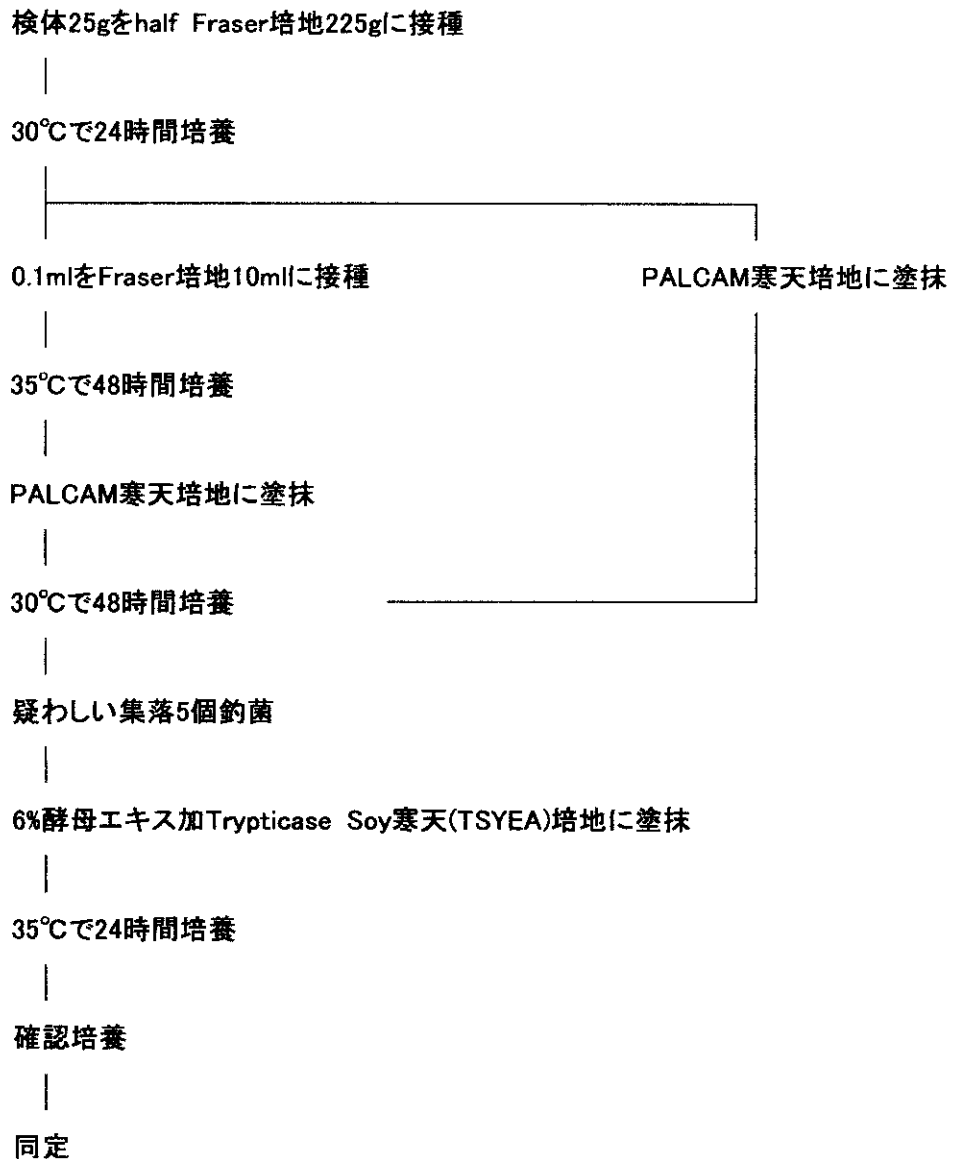


図2 *L. monocytogenes*の検査手順 (ISO 11290-1準拠)