

表7 日本で分離された臨床由来 *L. monocytogenes* の薬剤感受性

抗生剤	MIC (μ g/ml)			抗生剤	MIC (μ g/ml)		
	範 囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀		範 囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀
PCG	0.2 ~ 3.13	0.78	1.56	CEZ	1.56 ~ 50	3.13	6.25
ABPC	0.2 ~ 1.56	0.78	0.78	CEPR	1.56 ~ 12.5	3.13	6.255
MPIPC	3.13 ~ 25	6.25	6.25	CTX	1.56 ~ >100	> 100	> 100
MCLPC	3.13 ~ 25	6.25	6.255	CTZ	0.78 ~ 6.25	3.13	6.25
MFIPC	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25	CTM	0.39 ~ 12.5	> 100	> 100
CBPC	3.13 ~ 100	25	50	CFX	6.25 ~ 200	100	100
TIPC	1.56 ~ 12.5	6.25	12.5	CMX	3.13 ~ > 200	200	> 200
PIPC	0.78 ~ 6.25	3.13	6.25	CPZ	6.25 ~ 100	25	50
CER	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13	CMZ	25 ~ 50	25	50
CET	1.56 ~ 6.25	6.25	6.25	CZX	> 100	> 100	> 100
CEX	25 ~ 50	50	50	LMOX	50 ~ 200	100	200

SM	1.56 ~ 6.25	3.13	6.25	EM	0.1 ~ 0.39	0.2	0.2
KM	0.78 ~ 3.13	0.78	1.56	MDM	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13
GM	0.1 ~ 0.39	0.2	0.2	LM	1.56 ~ 3.13	1.56	1.56
DKB	0.2 ~ 0.78	0.39	0.39	LCM	3.13 ~ 6.25	3.13	6.25
AMK	0.39 ~ 25	0.78	1.56	RFP	0.05 ~ 0.2	0.1	0.1
TOB	0.39 ~ 1.56	1.56	1.56	SA	> 100	> 100	> 100
CP	3.13 ~ 12.5	6.25	6.25	NA	25 ~ > 100	> 100	> 100
TC	0.39 ~ 1.56	1.56	1.56	ENX	6.25 ~ 12.5	6.25	12.5

MIC₅₀: 供試菌株の50%の菌株の発育を阻止する濃度

MIC₉₀: 供試菌株の90%の菌株の発育を阻止する濃度

MIC: minimum inhibitory concentration, 最小(発育)阻止濃度

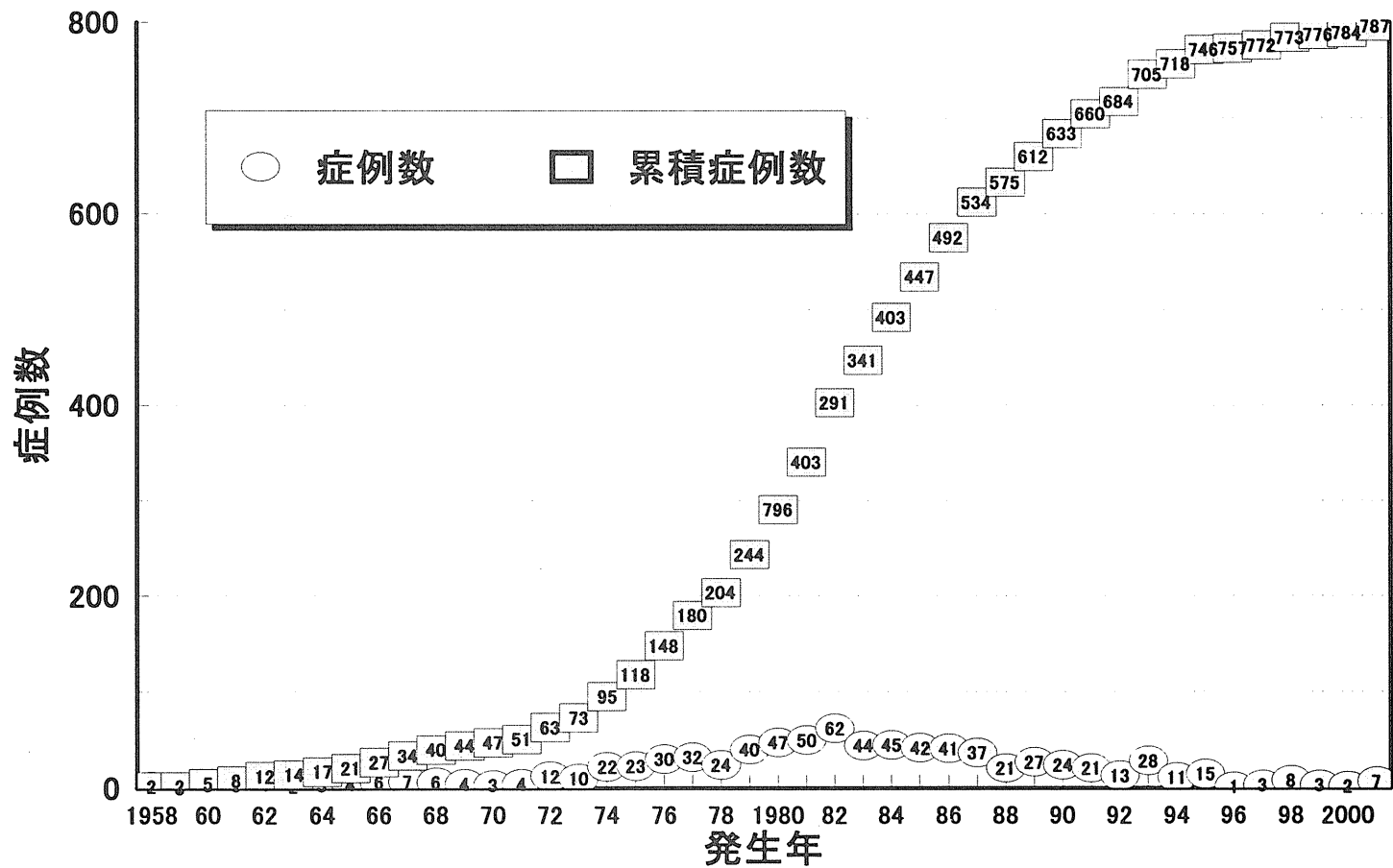


図1 リステリア症症例数と累積症例数 (1958-2001)

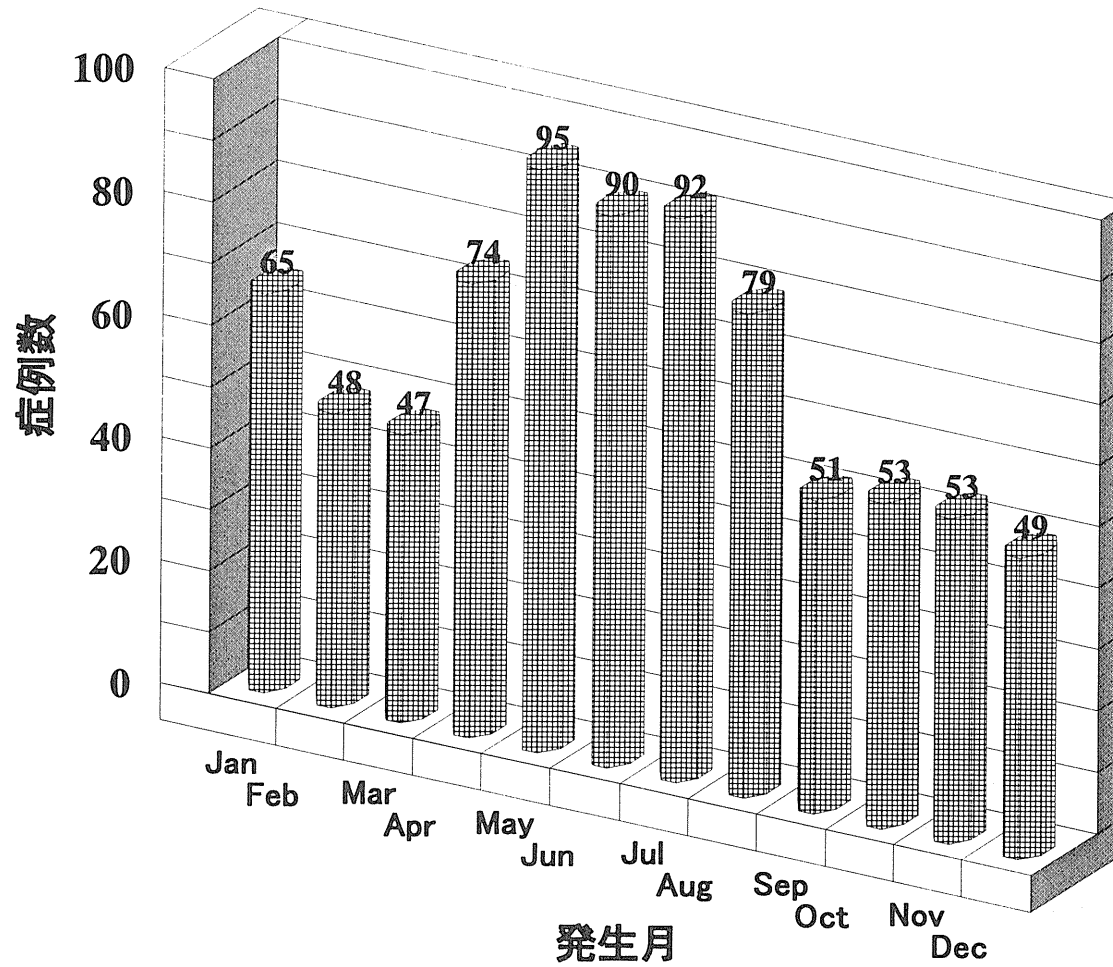


図 2 リステリア症の月別発生状況(1958-2001)

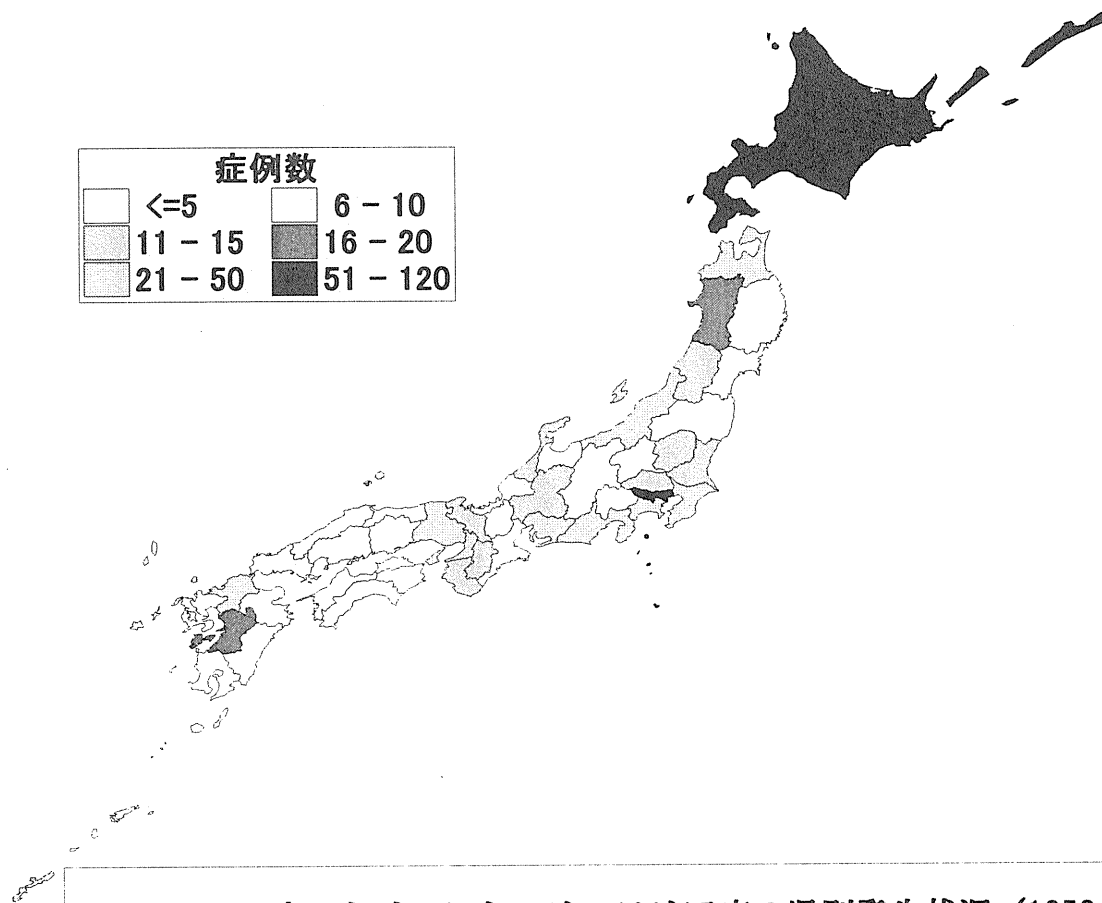


図3 日本におけるヒト・リステリア症の県別発生状況（1958-2001）

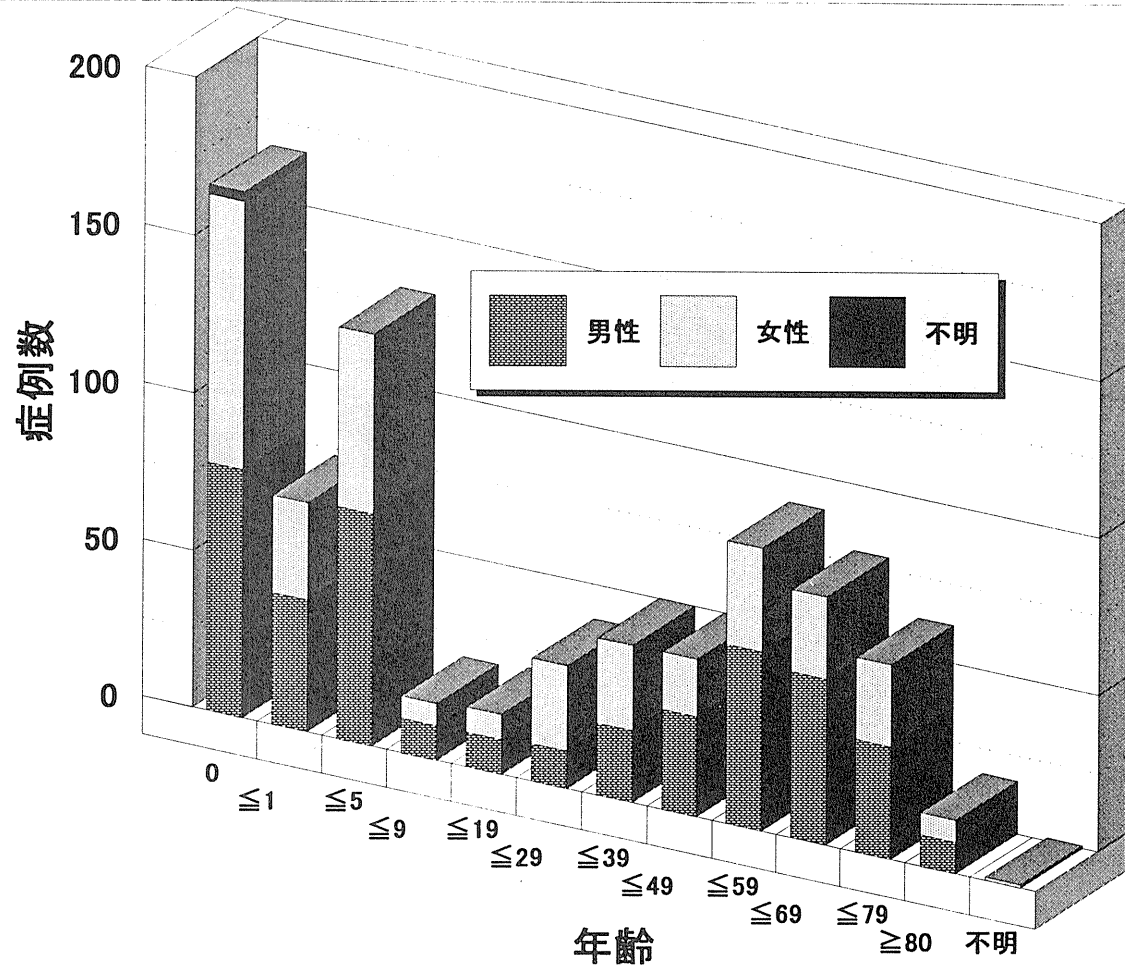


図4 年齢別リステリア症症例数(1958-2001)

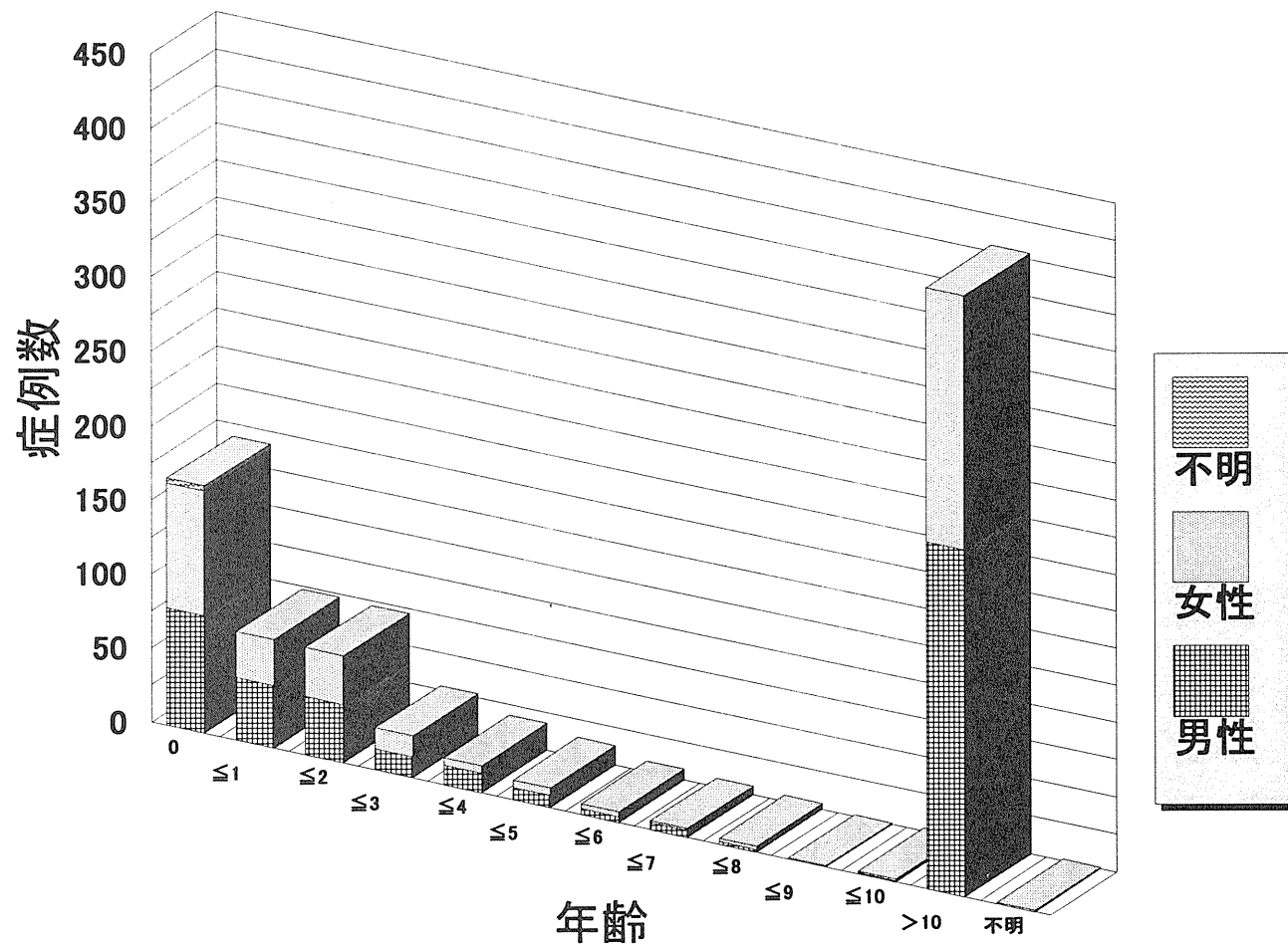


図5 年齢別リステリア症症例数(1958-2001)

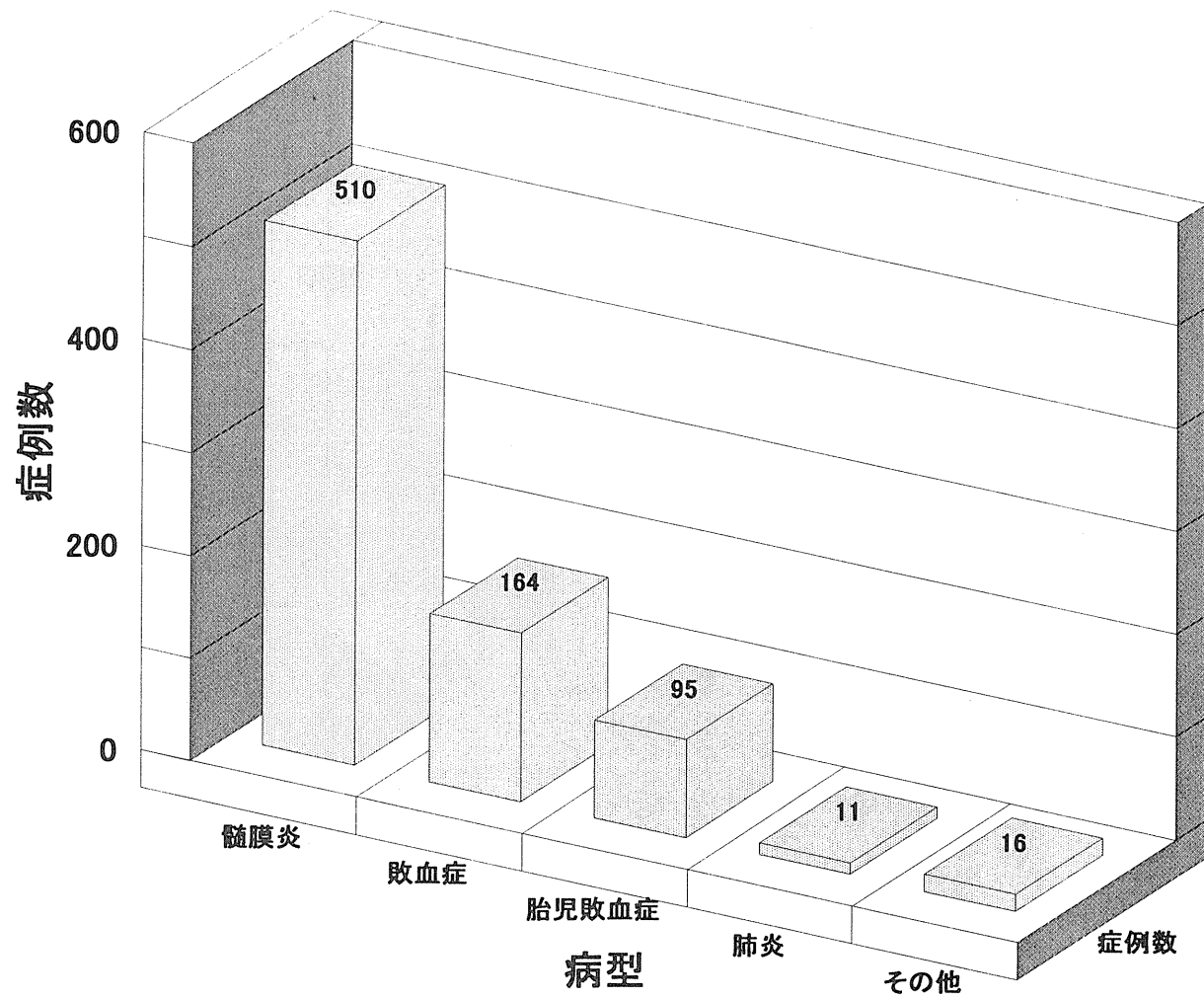


図6 リステリア症の病型診断 (1958-2001)

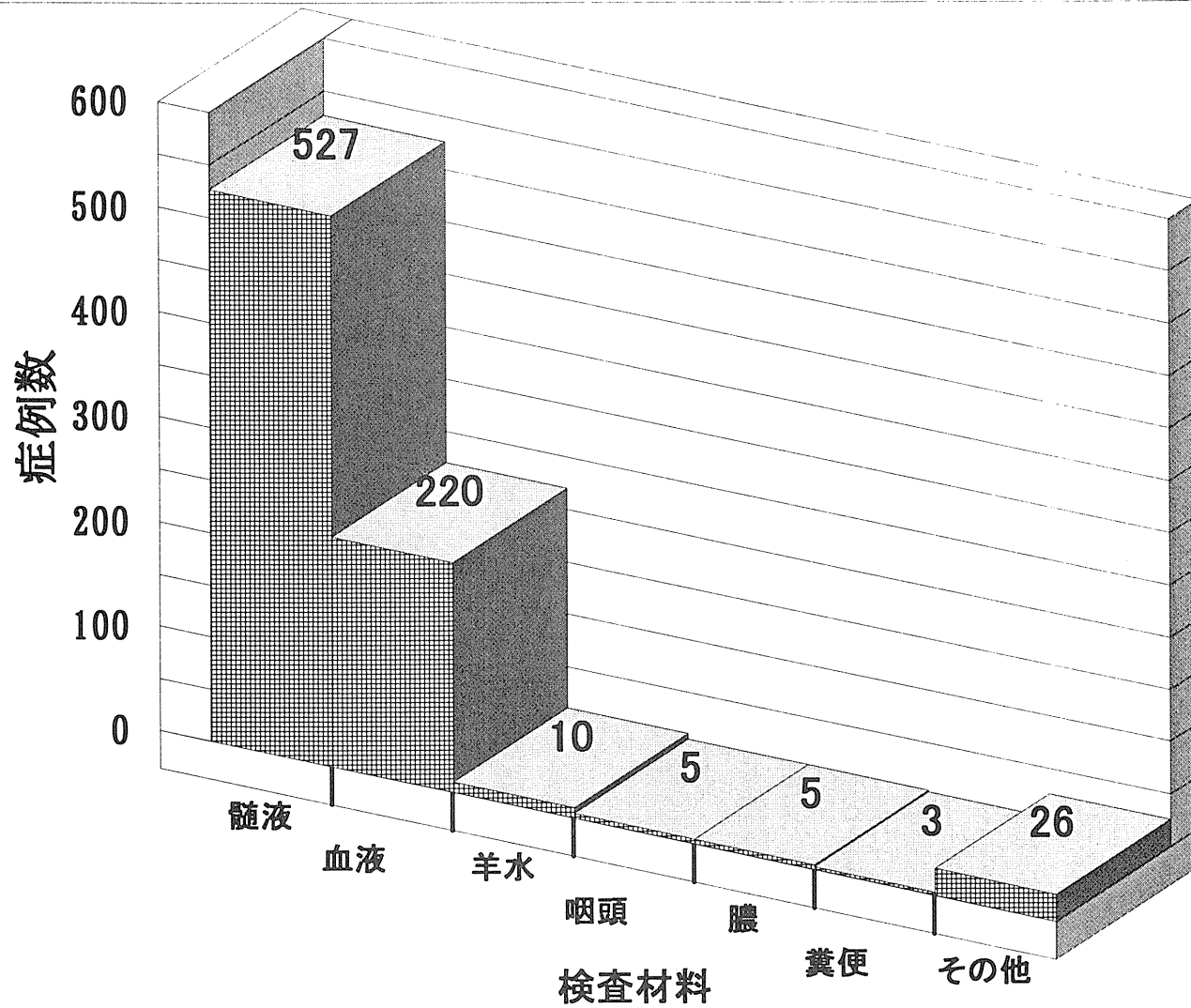


図7 検査材料別リステリア症症例数(1958-2001)

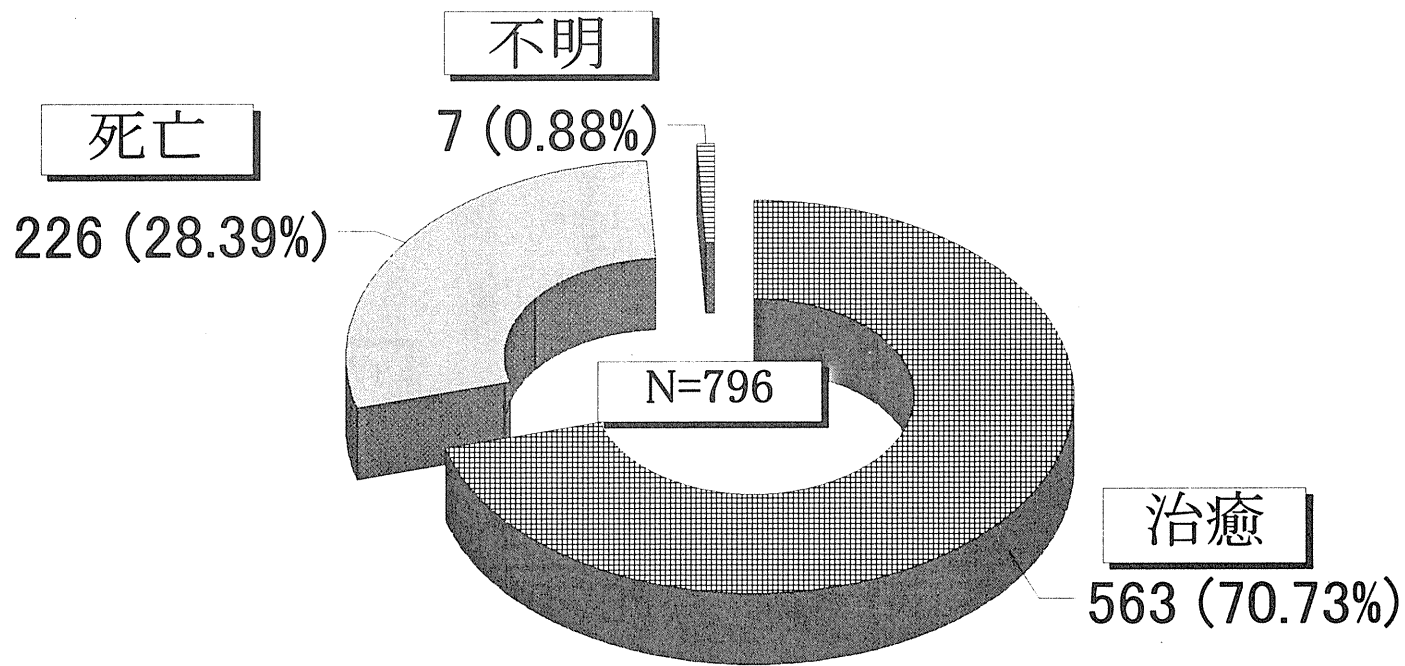
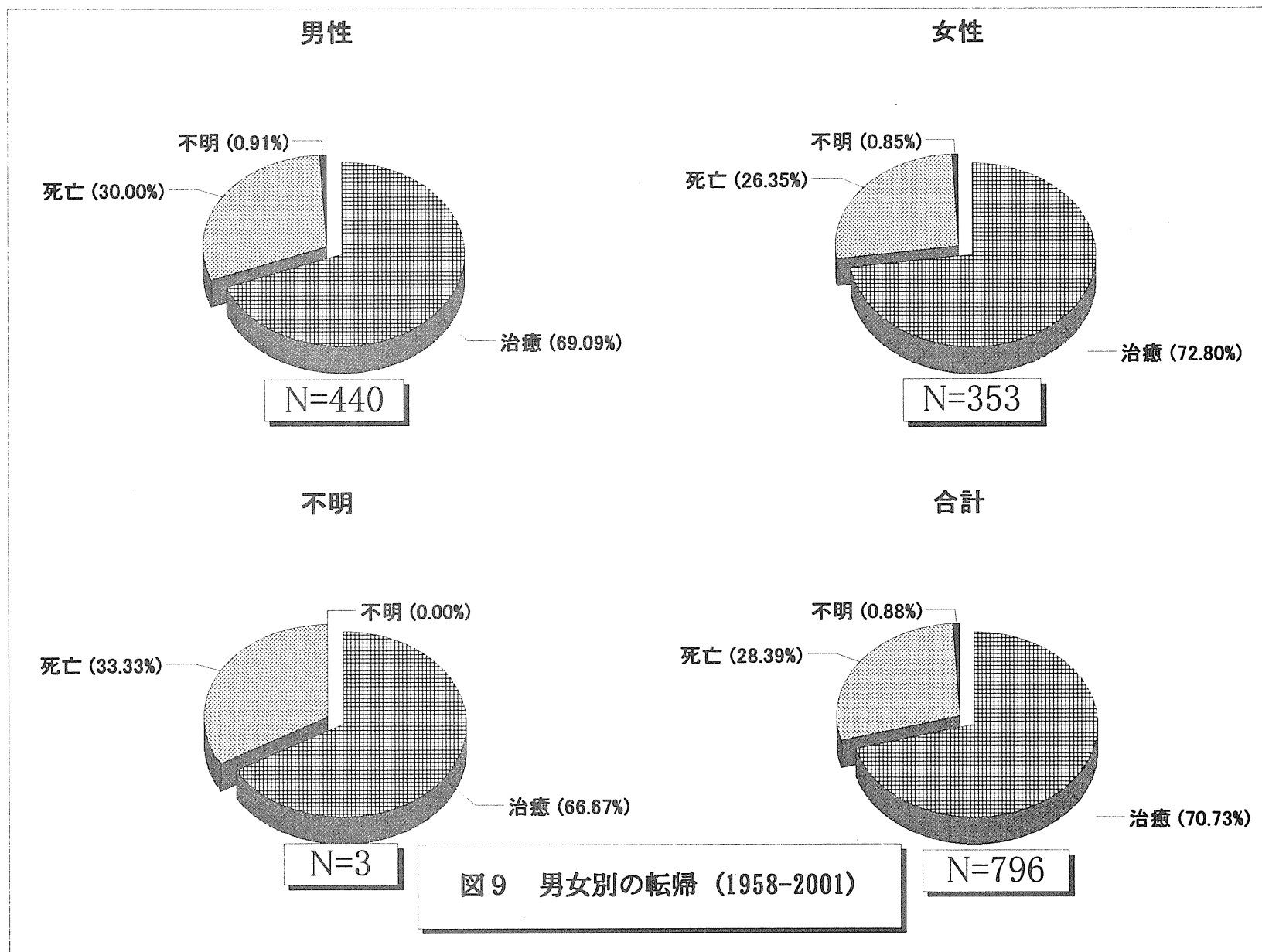


図8 リステリア全症例の転帰(1958-2001)



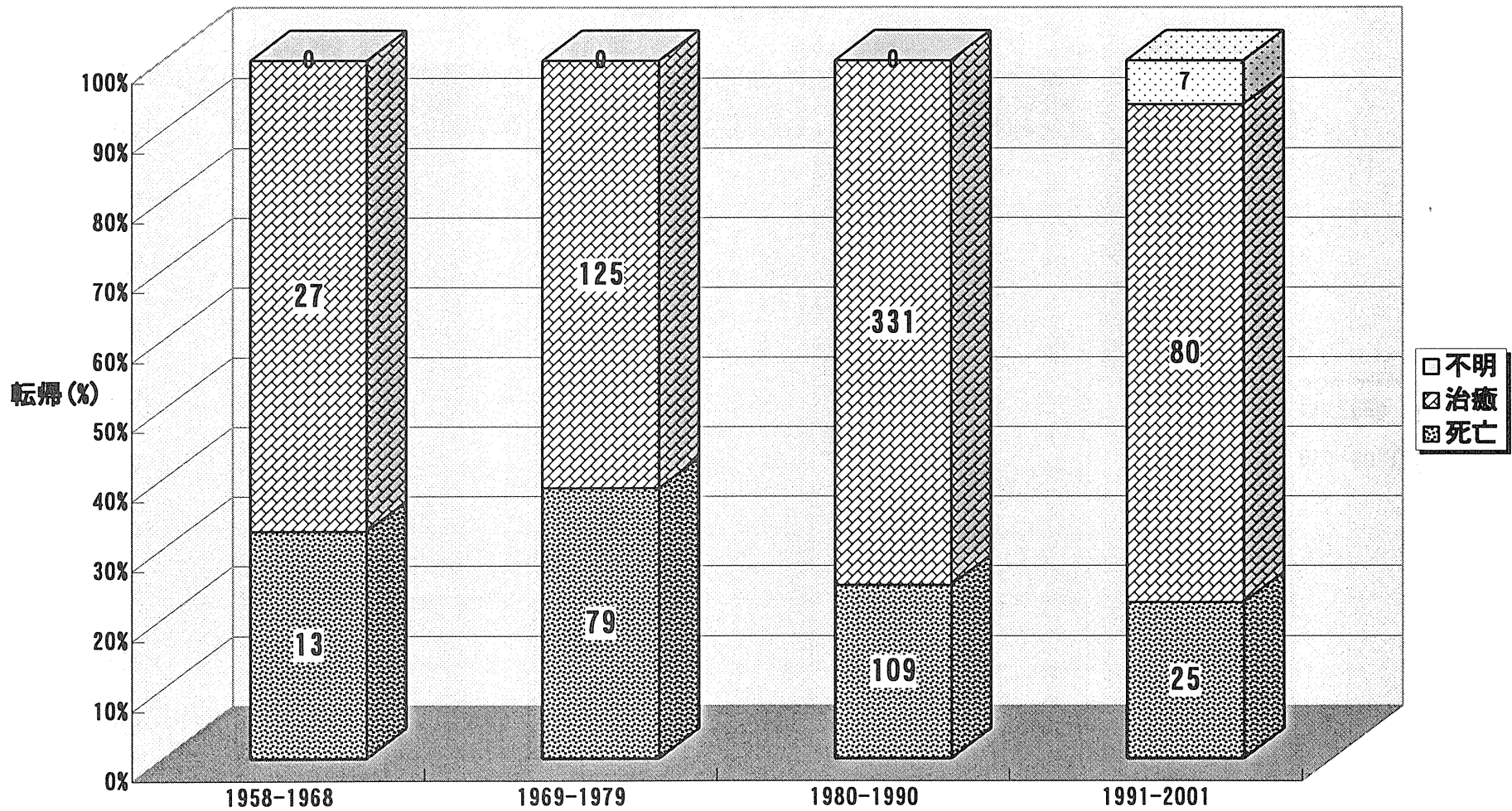
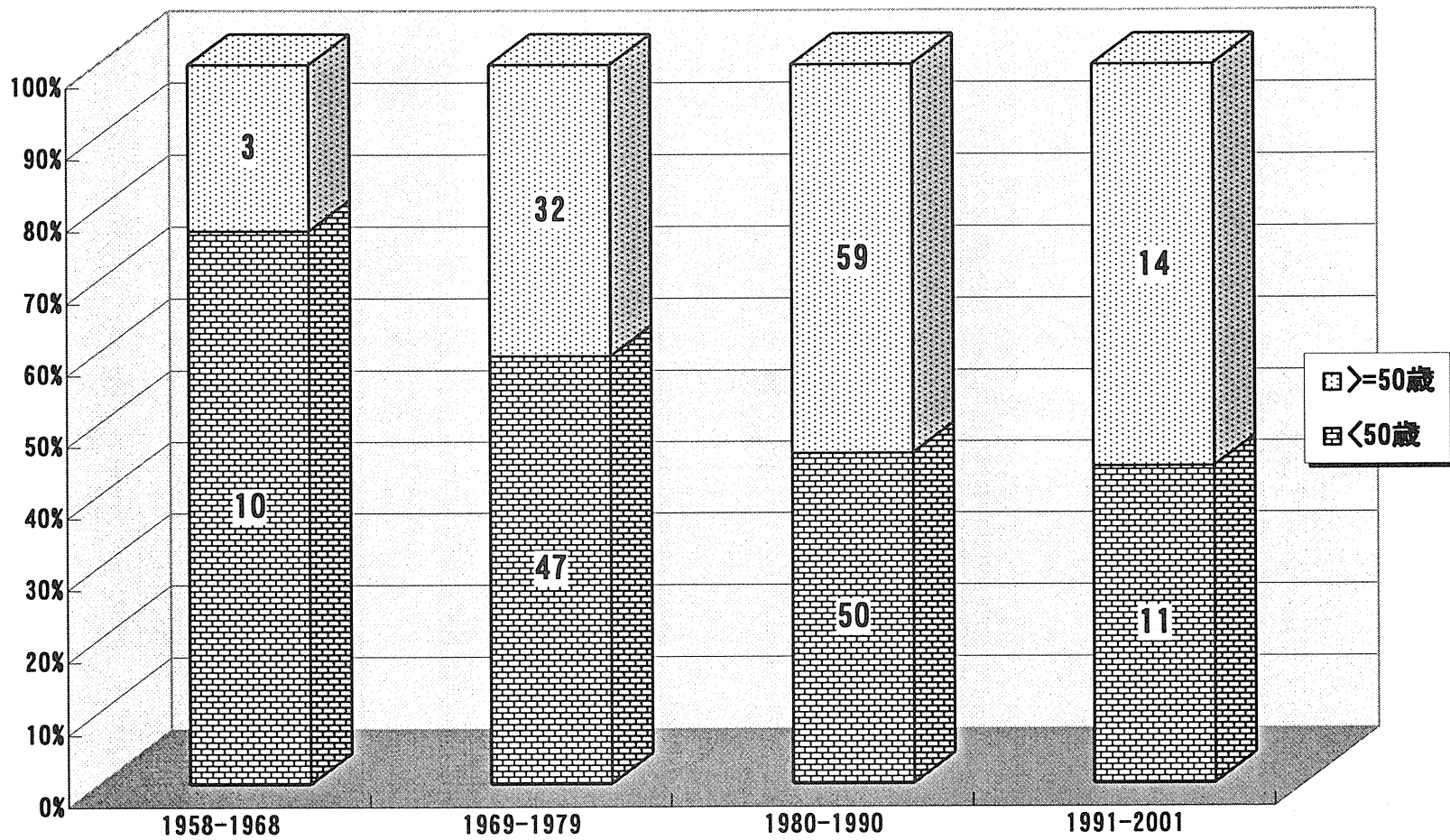


図 1 0 年次区分別リステリア症患者の致命率 (1958-2001)



年次別区分
図 1 1 年次区分別リステリア症患者の致命率 (1958-2001)

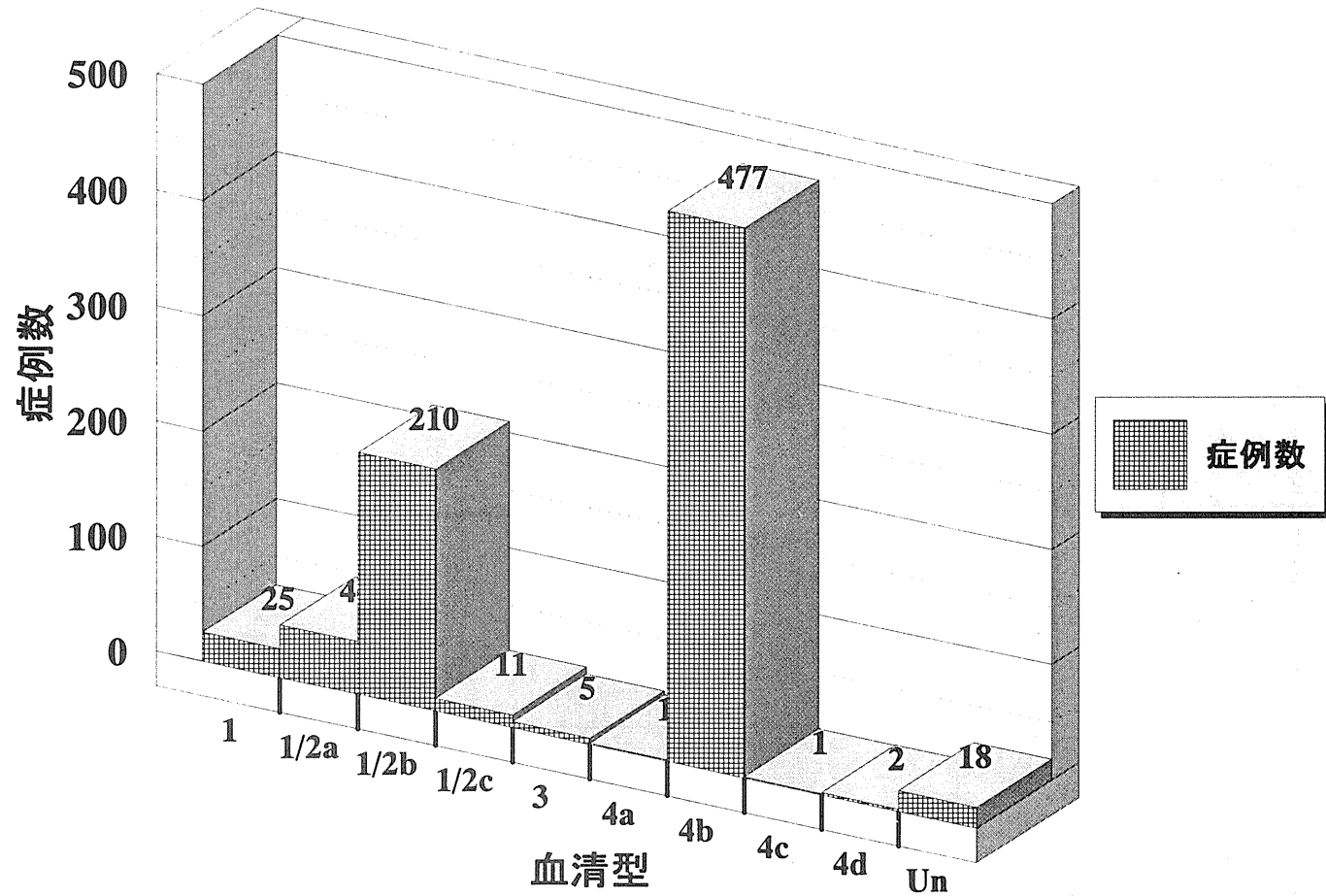


図12 リステリア症患者由来 *L. monocytogenes* 株の型別分布(1958-2001)

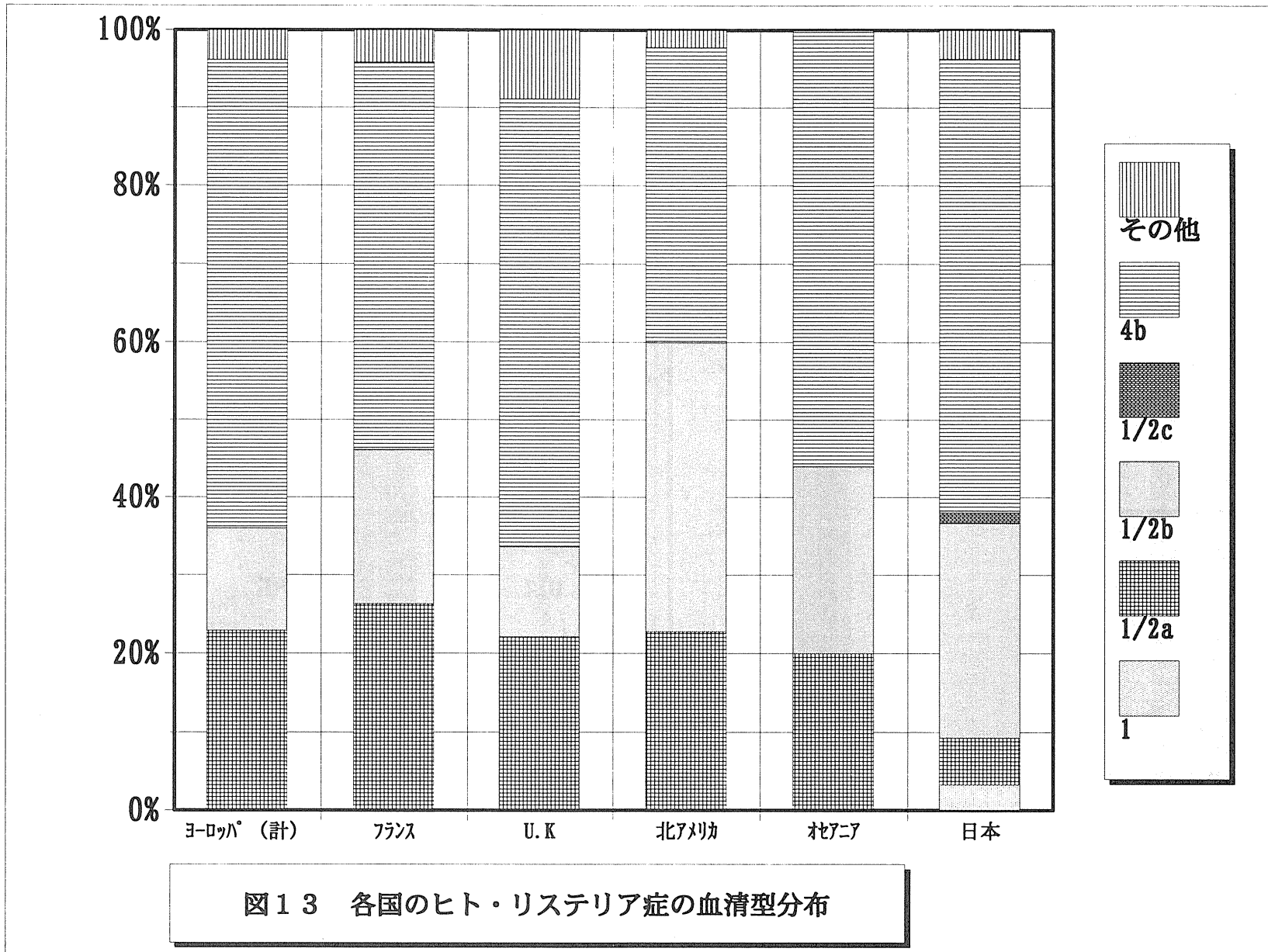


図13 各国のヒト・リステリア症の血清型分布

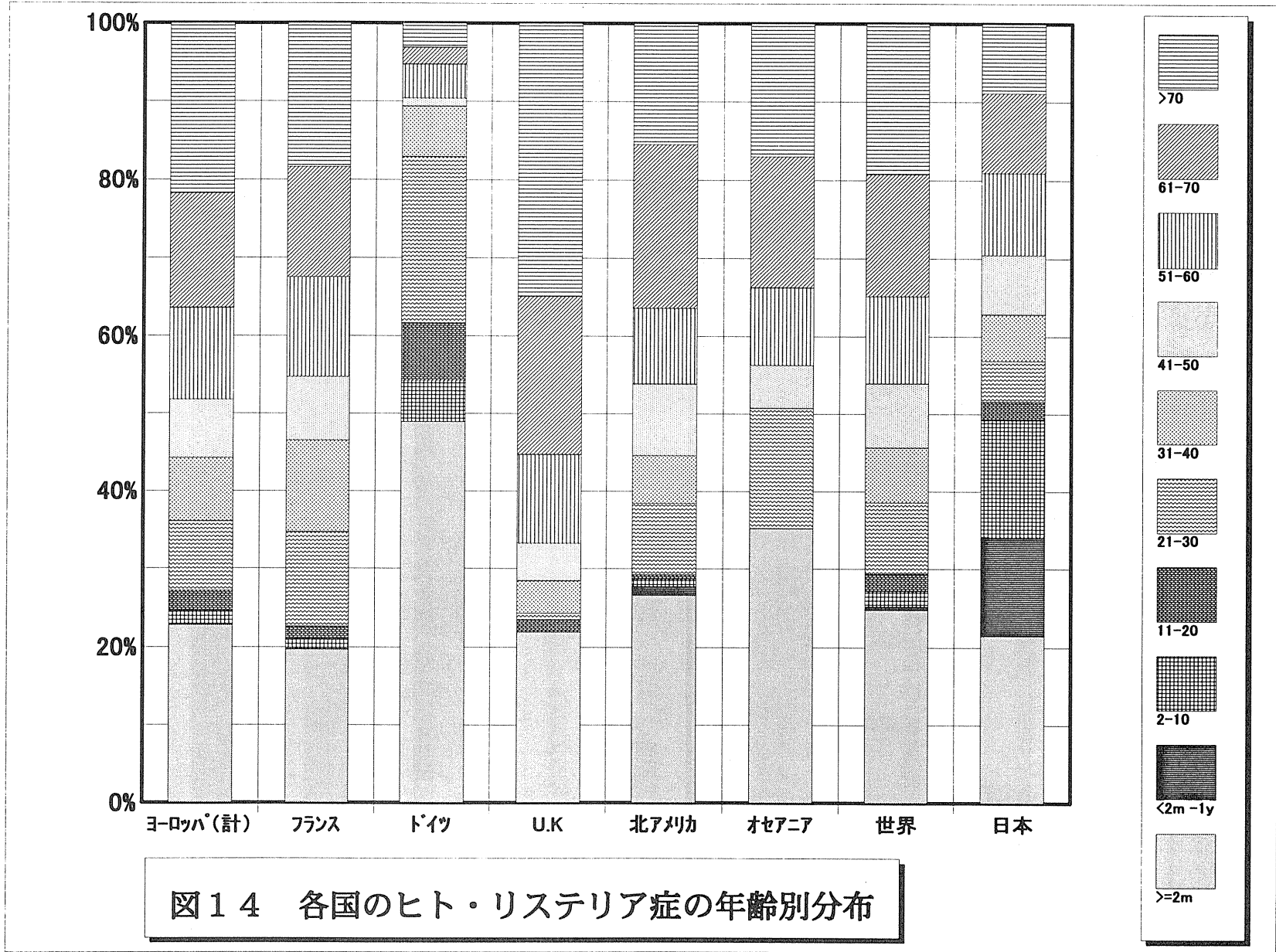


図14 各国のヒト・リステリア症の年齢別分布

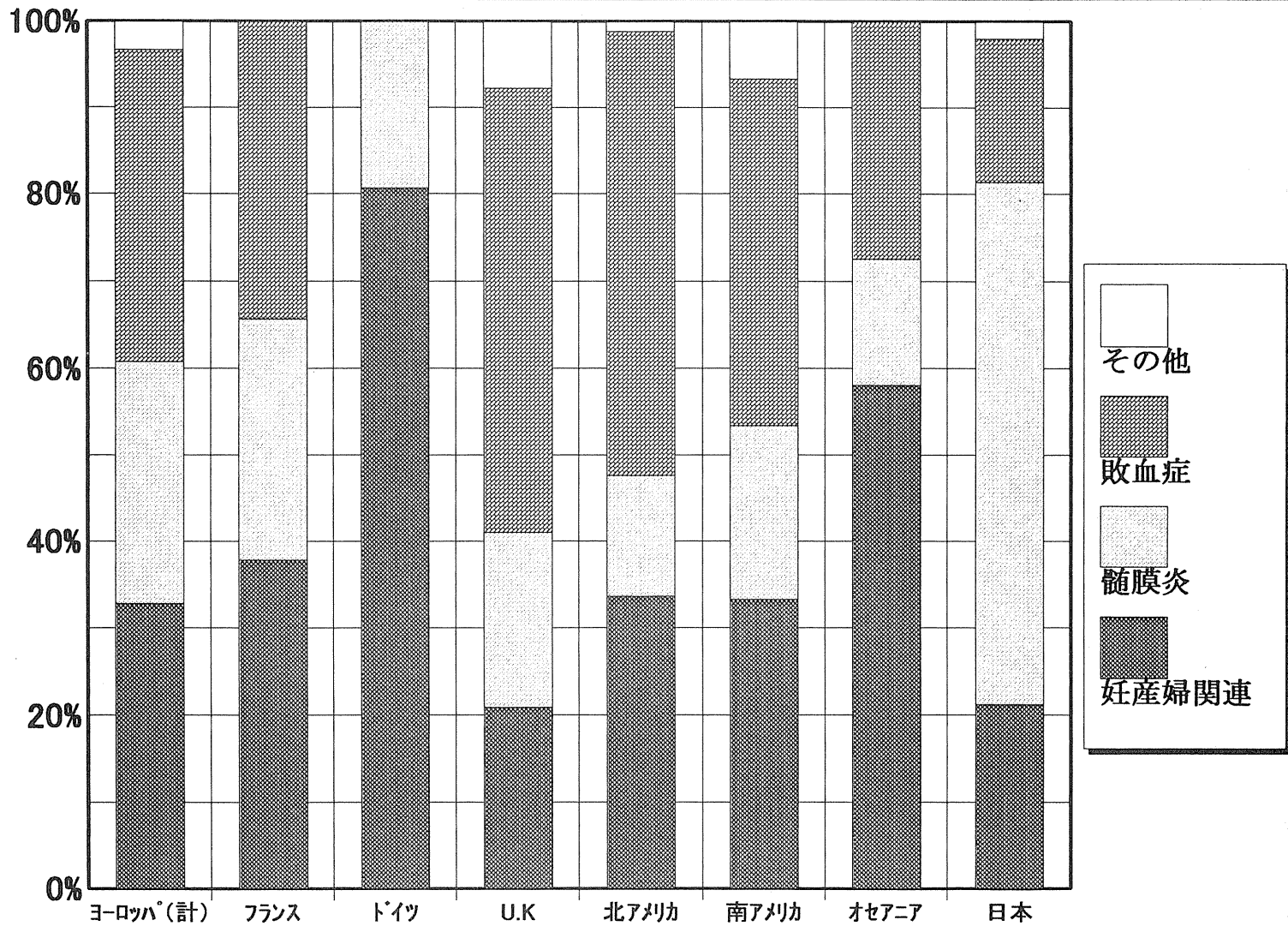


図15 各国のヒト・リステリア症の病型

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

Ready-to-eat 食品の *Listeria* 属菌汚染実態調査およびヒト糞便からの *Listeria* 属菌の検出

平成 13、14 年度

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

平成 15 年度

分担研究者 仲真晶子 東京都健康安全研究センター（旧東京都立衛生研究所）
食品微生物研究科 主任研究員

研究要旨

2000 年～2002 年に首都圏で市販された食品を対象に *Listeria* 属菌の汚染実態を調査した。生食用食肉および食肉製品 240 検体中 20 検体 (8.3%) から *Listeria* 属菌が検出された。*L. monocytogenes* が検出されたものは 9 検体 (3.8%) で、すべて非加熱食肉製品（生ハム・生ベーコン）であった。魚介類加工品（乾製品・珍味・練り製品）は 121 検体を検査し、15 検体 (12.4%) から *Listeria* 属菌が検出された。*L. monocytogenes* が検出されたものは 4 検体 (3.3%) で、3 検体は魚介類乾製品、1 検体は魚介類珍味であった。また、漬物 103 検体中 1 検体 (1.0%) から *L. monocytogenes* が検出された。これら *L. monocytogenes* が検出された 14 検体の汚染菌量はすべて 1/g 未満と少なかった。分離株の主な血清型は 1/2a、1/2b、4b であり、臨床由来株の主要な血清型と一致していた。

2003 年 8～12 月に東京都健康安全研究センターに搬入された食中毒事例関連糞便 2472 検体を対象とし *Listeria* 属菌の検出を試みた。2472 検体中 16 検体 (0.65%) から *Listeria* 属菌が検出された。*L. monocytogenes* は 9 検体 (0.36%) から検出され、4 検体が発症者、1 検体が非発症者、4 検体が調理従事者の糞便であった。分離された菌株の血清型は 1/2a、1/2b、1/2b、4b であった。

A. 研究目的

欧米においては、食品媒介リステリア症の原因食品として食肉製品の占める割合が大きい。しかし、わが国では食肉（調理用食肉）の *Listeria* 属菌汚染の報告はあるが、食肉製品に関するものはほとんどみられない。さらに、わが国で消費される ready-to-eat の魚介類加工品のなかで、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。本研究では生食用食肉、食肉製品、魚介類乾製品、珍味類および農産物加工品として消費の多い漬物について

Listeria 属菌の汚染実態を把握することを目的とした。*L. monocytogenes* についてはリスクを判断するうえで重要な汚染菌量および血清型を含めて調査した。

また、ヒト糞便中の *Listeria* 属菌に関するわが国での調査報告は少なく、健常人についての報告が数例あるに過ぎない。胃腸炎症状を伴い食中毒が疑われた事例についての報告は見られない。最近、胃腸炎を主症状とするリステリア症も報告されていることから、食中毒関連糞便からの本菌の検出状況を把握する目的で調査を実施した。

B. 研究方法

1. Ready-to-eat 食品の *Listeria* 属菌汚染実態調査

2000年～2001年に首都圏で市販された生食用食肉（牛たたき、馬刺等）22検体、乾燥食肉製品（サラミ、ビーフジャーキー等）16検体、非加熱食肉製品（生ハム、生ベーコン）41検体、特定加熱食肉製品（ローストビーフ）16検体、加熱後包装食肉製品等（ハム、ソーセージ、焼き豚等）145検体、合計240検体を対象とした。魚介類加工品は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、漬け物類は、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）。

また、各種食品の*L.monocytogenes* 検出法として用いられているISO11290-1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それぞれについて行った。すなわち、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、リステリア型別用免疫血清（デンカ生研）を用いて血清型別を実施した。

2. ヒト糞便からの *Listeria* 属菌の検出

2003年8～12月に東京都健康安全研究センターに搬入された食中毒事例関連糞便2472検体（発症者：1153名、非発症者：295名、調理従事者：1024名）を対象とした。輸送培地に入った糞便を採便管から直接PALCAM寒天培地に塗抹する方法（直接法）とUVM培地に接種し30℃48時間増菌培養後PALCAM寒天培地に塗抹する方法（増菌培養法）を併用した（図3）。*Listeria* 属菌の同定、菌種の鑑別、血清型別は前項に準じた。

C. 研究結果

1. Ready-to-eat 食品の *Listeria* 属菌汚染実態調査

生食用食肉では22検体中1検体（4.5%）、食肉製品では218検体中19検体（8.7%）に*Listeria*属菌汚染が認められた（表1）。

L. monocytogenes は生食用食肉からは検出されず、食肉製品218検体中9検体（4.1%）から検出され、これらはすべて非

加熱食肉製品の生ハムと生ベーコンであった。このうちの1検体は *L. monocytogenes* とともに *L. innocua* が検出された。汚染菌量は、90/100g が1検体、40/100g が1検体、その他の7検体は30/100g未満であった。血清型別では1/2a菌が6検体、1/2b菌が3検体、4b菌が3検体、1/2c菌が1検体、3b菌が1検体から検出された。4検体からはそれぞれ複数の血清型が検出された(表2)。

L. monocytogenes 以外では、*L. innocua* が生ハム4検体、ソーセージ2検体、ベーコン1検体、牛タタキ1検体、計8検体から検出された。また、*L. welshimeri* がソーセージ、焼き豚、生ハム、ローストビーフ各1検体、計4検体から検出された(表3)。

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

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5)。

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6)。

漬物類では103検体中1検体(1.0%)、ぬか漬けから *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7~9)。

2. ヒト糞便からの *Listeria* 属菌の検出

2472検体中16検体(0.65%)から *Listeria* 属菌が検出された(表10)。*L. monocytogenes* は9検体(0.36%)から検出され、4検体が発症者、1検体が非発症者、4検体が調理従事者の糞便であった(表11)。発症者、非発症者、調理従事者で検出率の差は認められなかった。

9検体中6検体は増菌培養によってのみ検出され、2検体は直接および増菌培養どちらからも検出された。1検体は直接塗抹でのみ検出された(表12)。

血清型別では1/2a菌が5検体、1/2c菌が2検体、1/2b菌、4b菌がそれぞれ1検体から分離された(表13)。

L. monocytogenes 以外では *L. innocua* が6検体、*L. grayi* が1検体から検出された(表13)。

D. 考察

1. Ready-to-eat 食品の *Listeria* 属菌汚染実態調査

生食用食肉から *L. monocytogenes* は検出されなかった。調理用食肉の *L. monocytogenes* 検出率が10~40%であるのに比べ、生食用食肉は衛生管理に配慮がなされていると考えられた。食肉製品全体での *L. monocytogenes* 検出率は4.1%であり、非加熱食肉製品のみでは22.2%であった。諸外国での食肉製品からの本菌の検出率は数%~30%程度であり、今回の調査もこれらと同等であった。汚染菌量はすべて

1g 当たり 1 個未満と少なかった。*L. monocytogenes* が検出された 9 検体中 7 検体から臨床由来株に多い 3 血清型 (1/2a、1/2b、4b) 菌が検出され、食肉では 1/2c 菌の割合が多いことと異なっていた。*L. innoua*、*L. welshimeri* が加熱後包装食肉製品から検出されたが、これらは加熱後に二次汚染があったものと考えられる。これらの菌が検出されたことは生息環境が類似している *L. monocytogenes* の汚染の可能性も否定できない。米国では食肉製品製造工場のモニタリングで *Listeria* 属菌を *L. monocytogenes* の指標菌として扱っている。今後も引き続き食肉製品の *Listeria* 属菌汚染に注意する必要がある。

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、4 検体すべて 1/g 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、最近では 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 1/g 未満と少なかったが、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。

2. ヒト糞便からの *Listeria* 属菌の検出

今回の調査で 2472 検体中 0.36% から *L. monocytogenes* が検出され、発症者、非発症者、調理従事者で検出率に差がなかった。この検出率はわが国での健康人 (1.28%)、食品関係従事者 (1.07%) の報告と比較してやや低かった。その原因は明らかではないが、これら 2 報告は 1988 ~ 1989 年に実施されたものであり、この後、食品の本菌汚染防止策が講じられ、食品汚染が軽減したため検出率が低くなったことも考えられる。また、本調査が晩夏 ~ 冬季に実施されたものであり、ノロウイルスの事例の占める割合が多く、一般的な健康人の保菌状況と異なる結果となったことも考えられる。

諸外国では、糞便からの検出率は 0.2 ~ 10% と幅があり、チーズ製造工場の従業員で 10% と報告されている。今回の調査で焼き肉店の従業員 2 名から *L. monocytogenes* 1/2c 菌が検出されたが、食肉の本菌汚染率が高いこと考慮すると、職業環境が保菌の要因になっている可能性が考えられた。

胃腸炎症状発症者 4 名から *L. monocytogenes* が検出されたが 1 名は同じ糞便から直接法で腸炎ピブリオが検出され、他 3 名はノロウイルスが原因と推定され、