

令和 6 年度食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）  
分担研究報告書

市販浅漬け類における *Listeria monocytogenes* 汚染状況に関する研究

研究分担者 岡田由美子 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部  
研究協力者 都丸亜希子 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部  
西田智子 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部  
山本詩織 鎌倉女子大学家政学部

研究要旨

現在、国内で食品に設定されている微生物規格基準の多くは、昭和 34 年に制定された厚生省告示第 370 号「食品、添加物等の規格基準」に基づいている。令和 3 年に HACCP が完全制度化されてから食品と製造工程における衛生管理を取り巻く状況は大きく変化していることから、告示第 370 号が今日においても科学的に妥当か否かの検証が求められている。本研究では、現在微生物規格基準を有しない食品群について、衛生を管理するための微生物規格基準設定の必要性を検討するための基礎知見の集積を図ることを目的として、令和 4 年度及び 5 年度に日本国内におけるサラダ、漬物等を含む生鮮野菜及び海藻類を原因とする食中毒発生状況や、食中毒汚染実態についての文献調査を行った。また、ナチュラルチーズ及び非加熱食肉製品試験の公定法として定められているリステリア・モノサイトゲネスの試験法が野菜浅漬け類においても適用可能か否かの添加回収試験を行い、問題がないことを確認した。今年度は、市販の野菜浅漬け類 88 製品におけるリステリア・モノサイトゲネスの汚染実態調査を実施した。その結果、茄子の浅漬け 20 検体中 1 検体（陽性率 5.0%）及び白菜の浅漬け 13 検体中 1 検体（同 7.7%）からリステリア・モノサイトゲネスが分離された。汚染菌量はいずれも定量下限値（10 cfu/g）未満であった。ミックス漬け 21 検体、蕪及び大根の浅漬け 10 検体、キャベツ浅漬け 10 検体及びキュウリの浅漬け 14 検体からは、リステリア・モノサイトゲネスは分離されなかった。リステリア・モノサイトゲネス以外のリステリア属菌は茄子 1 検体、ミックス漬け 2 検体及びキャベツ 1 検体から分離され、リステリア属菌全体の陽性率は 6.8%（6/88 検体）であった。得られたリステリア・モノサイトゲネス 2 菌株の分子遺伝学的解析を行ったところ、茄子由来株は CC6/ST6 に、白菜由来株は CC5/ST5 に属していた。陽性検体の汚染菌量が低かったことから、浅漬け類による健康成人におけるリステリア症感染リスクは、他の食品と比較して高くはないと推察されたが、よりリスクを低減するために製造工程の衛生管理の向上等によって本菌の汚染率を下げることを望ましいと考えられた。

A. 研究目的

食品に含まれる食中毒菌や衛生指標菌等の微生物について、一定の試験法（公定法）を用いた場合の基準値（規格基準）を定めて、その安全性や衛生を担保することは、我が国を含む多くの国や地域で行われている。規格基準に設定される食中毒菌としては、これまでに食中毒事例が発生した食品との組み合わせや、微生物汚染実態から食中毒の発生リスクが高いと想定されるものが設定される。製造工程における衛生管理には、一般生菌数や大腸菌群、腸内細菌科菌群のように食品や製造環境にある程度存在し、衛生的な取り扱い等の指標となる項目が用いられている。日本国内での食品中微生物規格基準は主に、昭和 34 年に制定された厚生省告示第 370 号「食品、添加物等の規格基準」に基づいており、現在でもその多くが変わらず用いられている。一方、国内の食品製造における衛生管理の状況は令和 3 年の HACCP 完全制度化を持って大きく変化した。また、食品の輸入のみならず輸出も拡大している。国際的にも、食中毒の原因食品として従来の乳や肉等の動物性食品に加え、サラダや丸ごとの果物等の青果物による大規模事例の増加が問題となっている。また、分子遺伝学の発展による食中毒発生時及び食品汚染微生物の解析技術の飛躍的向上により集団事例の同定が容易となっており、過去に発生が見られなかった様々な食品による食中毒事例が報告されている。そのため、国内においても従来微生物規格基準が必要とされていなかった食品群と微生物の組み合わせについて、その設定が必要とされるか否かを考慮するための基礎的資料とする目的で、令和 4 年度及び 5 年度に日本国内におけるサラダ、漬物等を

含む生鮮野菜及び海藻類を原因とする食中毒発生状況や、食中毒汚染実態についての文献調査を行った。その結果、市販の野菜浅漬け類におけるリステリア・モノサイトゲネスの分離報告が 2000 年から 2016 年の調査報告で 2.1%から 42.9%の陽性率を示していたことから、現在での当該食品の汚染実態の把握が必要と考えられた。そこで今年度の本分担研究では、市販浅漬け類におけるリステリア・モノサイトゲネスについて、定性試験と定量試験による汚染実態調査を行い、分離菌株の分子疫学的解析を行ったので報告する。

## B. 研究方法

### 1) 国内で市販されている野菜浅漬け類におけるリステリア・モノサイトゲネス汚染実態調査

一般に販売されている野菜浅漬け製品におけるリステリア・モノサイトゲネスの汚染実態調査は、ナチュラルチーズ（ソフト及びセミソフトタイプ）と非加熱食肉製品の公定法が準拠している NIHSJ-08:2020 及び NIHSJ-09:2020 を用いて実施した。野菜浅漬け類 88 製品は、2024 年 9 月から 2025 年 3 月に神奈川県内及び東京都のスーパーマーケット及びデパート等で購入し、7℃以下の冷蔵条件下で実験室に搬入・保管し、消費期限内に試験に供した。検体 25g を試験品の 3 箇所以上から無菌的に採取し、half Fraser ブロス（メルク）225 mL に懸濁して 10 倍乳剤を作成し、その 1 mL を 3 枚の ALOA 培地（メルク）に塗布した（定量試験）。寒天平板は 37℃で 48 時間以上培養し、定型集落の発育が見られた場合は Trypticase Soy agar（Beckton, Dickenson and Company）を用いて

純培養後にグラム染色、カタラーゼ試験、羊血液寒天（栄研）を用いた溶血性試験及び糖分解性試験（ラムノース及びキシロース）を実施してリステリア・モノサイトゲネスであることを確認した。リステリア属菌の確認試験には、VP 試験と半流動培地を用いた傘状発育の確認を行った。定性試験で用いた 10 倍乳剤の残りは 30℃で 25 時間±1 時間培養したのち、1 白金耳を ALOA 培地及び PALCAM 培地（Oxoid）に塗抹して 37℃で 48 時間以上培養すると共に、0.1 mL を Fraser 培地 10 mL に接種して 37℃で 24 時間±2 時間、2 次増菌培養を行った（定性試験）。培養後の菌液 1 白金耳を ALOA 培地及び PALCAM 培地（Oxoid）に塗抹して 37℃で 24 時間培養した。培養時間終了後、それぞれの寒天平板に定型集落の発育が見られた場合は、純培養後に定量試験と同様の確認試験を実施した。

## 2) 分離菌株の分子遺伝学的解析

分離されたリステリア・モノサイトゲネス菌株は、純培養後に TSA 培地に塗抹し、37℃で一晩培養した集落を滅菌綿棒で掻き取って、Maxwell RSC Blood DNA キット（プロメガ）を用いて全 DNA を抽出した。抽出した DNA の純度及び濃度は TapeStation（Agilent）を用いて確認した。その後、TruSeq DNA PCR-free Library（イルミナ）を用いてライブラリーを作製し、NovaSeq X Plus（イルミナ）による Paired End 法でドラフトゲノム解析を行った。得られたデータは、CLC genomics Workbench ソフトウェア ver 24.0（フィルジェン）を用いて不要配列のトリミングとリードのアセンブリを行った後、パスツール研究所の Pub MLST による

Multi Locus Sequence Typing (MLST)等の解析を実施した。

## C. 研究結果

### 1) 国内で市販されている野菜浅漬け類におけるリステリア・モノサイトゲネス汚染実態調査

今回調査した市販の野菜浅漬け類 88 検体のうち、2 検体（茄子浅漬け及び白菜浅漬け、陽性率 2.3%）からリステリア・モノサイトゲネスが分離された（表 1）。カテゴリーごとの陽性率は、茄子の浅漬けで 5.0%（20 検体中 1 検体）、白菜の浅漬けで 7.7%（13 検体中 1 検体）であった。陽性検体における汚染菌量はいずれも定量下限値（10 cfu/g）未満であった。ミックス漬け 21 検体、蕪及び大根の浅漬け 10 検体、キャベツ浅漬け 10 検体及びキュウリの浅漬け 14 検体からは、本菌は分離されなかった。リステリア・モノサイトゲネスを除くリステリア属菌は、野菜浅漬け 88 検体中 4 検体（茄子 1 検体、ミックス 2 検体及びキャベツ 1 検体）から分離された（陽性率 5.7%）。蕪及び大根の浅漬け 10 検体及びキュウリの浅漬け 14 検体からは、リステリア・モノサイトゲネスを除くリステリア属菌は分離されなかった。リステリア属菌全体の陽性率は、6.8%（6/88 検体）であった。

### 2) 分離菌株の分子遺伝学的解析

市販浅漬け検体から分離された *Listeria monocytogenes*2 菌株について、MLST 解析を行った。その結果、茄子浅漬け由来株は CC6/ST6 株、白菜浅漬け由来株は CC5/ST5 株であった。得られた全ゲノム塩基配列を用いた cgMLST 型は、茄子浅漬け由来株で

11685、白菜浅漬け由来株では 6363 であった。

#### D. 考察

本研究での調査により、市販野菜浅漬け類におけるリステリア・モノサイトゲネスの汚染率は全体で 2.3% (2/88 検体)、カテゴリーごとでは茄子浅漬けで 5.0% (20 検体中 1 検体)、白菜の浅漬けで 7.7% (13 検体中 1 検体) であることが示された。それぞれの検体における汚染菌量は、定量法の定量下限値未満であり、ある程度の汚染頻度はあるものの、汚染レベルは高くはなかった。一方、リステリア属菌全体の陽性率は 6.8% (6/88 検体) となり、カテゴリーごとでは茄子浅漬けで 10%、白菜浅漬けで 7.7%、ミックス漬けで 9.5%、キャベツ浅漬けで 10% を示しており、国内流通浅漬け類のいくつかのカテゴリーでは 10% 前後の陽性率であることが明らかとなった。蕪及び大根の浅漬けときゅうりの浅漬けからはリステリア・モノサイトゲネスを含むリステリア属菌が分離されず、原材料によって汚染率が異なる可能性が示唆された。分離菌株の分子疫学的解析の結果、野菜浅漬け由来株は北米、ヨーロッパ及びアジア等国際的に広く分離される遺伝子型に分類された。パスツール研究所の PubMLST サイトに登録されている CC5/ST5 株は臨床検体、食品及び製造環境から、CC6/ST6 株は臨床検体及び食品から多く分離されている。一方、今回リステリア・モノサイトゲネスが分離された浅漬け検体における汚染菌量は低く、定量試験法の定量下限値未満であったことから、これらの食品による健康成人におけるリステリア症感染リスクは、他の食品と比較して高くはないと推察された。しかしながら、ハイリ

スクグループを含めた消費者全体でのリスクをより一層低減するためには、浅漬け類の製造工程の衛生管理等の向上により本菌の汚染率を下げる事が望ましいと考えられた。

#### E. 結論

本研究での調査により、市販野菜浅漬け類におけるリステリア属菌汚染率は 6.8% (6/88 検体) であり、リステリア・モノサイトゲネスに限定した汚染率は 2.3% (2/88 検体) であった。リステリア・モノサイトゲネスは茄子浅漬けと白菜浅漬けから分離され、その他のリステリア属菌は茄子浅漬け 1 検体、ミックス漬け 2 検体及びキャベツ 1 検体の合計 4 検体から分離された。今回の調査により、国内で市販されている野菜浅漬け類はある程度リステリアに汚染されていることが示された。一方、今回調査した検体はいずれも、汚染菌量は試験法の定量下限値 (10 CFU/g) 未満であり、リステリア・モノサイトゲネスの成分規格が定められているナチュラルチーズ (ソフト及びセミソフトタイプ) と非加熱食肉製品の基準値を超えるものは見られなかった。そのため、当該食品による健康成人におけるリステリア症感染リスクは、他の食品と比較して高くはないと推察されたが、よりリスクを低減するために製造工程の衛生管理向上等によって本菌の汚染率を下げる事が望ましいと考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表：

Yumiko Okada. *Listeria monocytogenes* and its testing method in Japan. 13<sup>th</sup> UJNR International Symposium on Toxic Microorganisms (2024.9.18. 東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 野菜浅漬けにおけるリステリア陽性率 (%)

| 陽性率                | 食品カテゴリー (検体数) |            |              |               |              |              |
|--------------------|---------------|------------|--------------|---------------|--------------|--------------|
|                    | 茄子<br>(20)    | 白菜<br>(13) | ミックス<br>(21) | カブ・大根<br>(10) | キャベツ<br>(10) | きゅうり<br>(14) |
| リステリア・<br>モノサイトゲネス | 5.0           | 7.7        | 0            | 0             | 0            | 0            |
| その他の<br>リステリア属菌    | 5.0           | 0          | 9.5          | 0             | 10.0         | 0            |