

厚生労働科学研究費補助金(食の安全確保推進研究事業)
総括研究報告書

水産物におけるリステリアのリスク評価及び防除に関する研究

研究代表者 中村 綾花 東京海洋大学食品生産科学部門 助教

研究要旨: 本研究課題では、非加熱喫食 (Ready-to-eat: RTE) 水産加工食品における *Listeria monocytogenes* のリスク評価及び防除に資する基礎的知見の集積を目的とした。令和 5 年度には国内流通 RTE 水産加工食品 500 検体を対象に汚染実態を調査し、たらこ、明太子、いくら及びすじこ、まぐろのたたき、スモークサーモンから *L. monocytogenes* を検出した。令和 6 年度には分離株 40 株の全ゲノム解析を行い、cgMLST 解析により、同一又は近縁の遺伝型の株が同一製造者又は関連する製造者の複数製品から検出される事例を確認し、製造環境等における長期残存又は反復汚染の可能性を示した。令和 7 年度は、これらの知見に基づき、食品製造現場における防除方策の検討として、RTE 水産加工食品由来 *L. monocytogenes* 22 株を用い、塩化ベンザルコニウム、次亜塩素酸ナトリウム系洗浄剤、過酢酸系洗浄剤及びアルキルアミン系洗浄剤に対する感受性を評価した。MIC 及び MBC 測定の結果、十分な殺菌効果を得るための濃度は洗浄剤及び菌株により異なり、特に次亜塩素酸ナトリウム系洗浄剤では株間差が大きかった。また、塩化ベンザルコニウム耐性関連遺伝子又は Tn6188 を保有する株では、塩化ベンザルコニウムに対する MIC 又は MBC が高い傾向を示し、ゲノム情報と表現型の関連が示唆された。以上より、RTE 水産加工食品における *L. monocytogenes* のリスク低減には、食品製造環境における洗浄剤の適切な選択、濃度管理及び有効成分の異なる洗浄剤の組合せ運用が重要であることが示された。

研究分担者

東京海洋大学食品生産科学部門

高橋 肇 教授

A. 研究目的

Listeria monocytogenes は、ヒトのリステリア症の原因菌であり、特に高齢者、妊婦、乳幼児、免疫不全者等の高リスク群において敗血症や髄膜炎等の重篤な症状を引き起こす重要な食品媒介病原菌である。本菌は低温環境下でも増殖可能であり、加熱工程を経ずに喫食される RTE 食品では、製造・流通過程における汚染及び増殖の制御が食品衛生上の重要課題である。

本研究課題では、国内に流通する RTE 水産加工食品を対象に、*L. monocytogenes* の汚染実態、分離株の遺伝学的特徴及び防除方法に関する知見を得ることを目的として研究を進めてきた。令和 5 年度には RTE 水産加工食品 500 検体の分布調査により、まぐろのたたき等の一部食品群で比較的高い陽性率が認めら

れることを示した。令和 6 年度には分離株 40 株の全ゲノム解析を実施し、世界各地の食品又は臨床由来株と近縁な遺伝型を含むこと、同一又は関連する製造者の製品から同一遺伝型の株が検出されること、並びに一部の株が消毒剤耐性関連遺伝子を保有することを明らかにした。

これらの結果から、RTE 水産加工食品における *L. monocytogenes* 汚染は、原料由来の汚染に加えて、食品製造環境又は小売段階での二次汚染、さらには製造環境内での長期残存に起因する可能性が考えられた。そこで最終年度である令和 7 年度は、製造現場で使用される主要な洗浄剤に対する分離株の感受性を評価し、ゲノム情報と表現型との関連を検証することで、食品製造現場における適切な防除方法に資する基礎的知見を得ることを目的とした。

B. 研究方法

1. 洗浄剤に対する感受性評価

令和 5 年度に RTE 水産加工食品から分離し、令和

6 年度に全ゲノム解析を実施した *L. monocytogenes* のうち、22 株を供試菌株とした。供試菌株は、まぐろのたたき、たらこ、明太子、いくら、すじこ及びスモークサーモン等に由来する株で構成した。

洗浄剤は、食品製造現場で使用される有効成分の異なる 4 種類、すなわち塩化ベンザルコニウム (BAC)、サニプラン フォーミング洗浄剤 LA (SAN、次亜塩素酸ナトリウム系)、Aqua des Foam PAA (ADF、過酢酸系) 及び Aqua San AM Plus (AQS、アルキルアミン系) を用いた。96 ウェルマイクロプレートを用いて各洗浄剤を 2 倍段階希釈し、菌液を接種後 37℃で 24 時間培養した。培養後、マイクロプレートリーダーにより OD650 を測定し、増殖抑制効果から最小発育阻止濃度 (MIC) を算出した。

さらに、MIC 測定後の各ウェルについて段階希釈及び BHI 寒天培地上での生菌数測定を行い、平均生菌数が検出限界未満となる最も低い濃度を最小殺菌濃度 (MBC) とした。測定は各菌株につき 3 反復で実施し、必要に応じて Tukey 検定により統計解析を行った。令和 6 年度の全ゲノム解析データを用いて、bcrABC 及び Tn6188 等の塩化ベンザルコニウム耐性関連遺伝子又はトランスポゾンの保有状況を確認し、感受性試験の結果と比較した。

(倫理面への配慮)

本研究は市販食品から分離した細菌株及び食品試料を対象とする研究であり、人を対象とする生命科学・医学系研究及び動物実験には該当しない。病原細菌の取扱いに際しては、所属機関の安全管理規程に従い、適切な封じ込め、個人防護具の使用、廃棄物の滅菌処理等を行った。

C. 研究結果

1. 洗浄剤による増殖抑制及び殺菌効果

4 種類の洗浄剤はいずれも濃度依存的に *L. monocytogenes* の増殖を抑制したが、効果の程度及び株間のばらつきは洗浄剤により異なった。BAC では低濃度から増殖抑制効果が認められた一方、一部の株では十分な殺菌効果を得るために相対的に高い濃

度を要した。SAN では株間差が大きく、殺菌効果を得るために高濃度を必要とする株が認められた。ADF 及び AQS では、比較的安定した増殖抑制又は殺菌効果が示された。

MIC 値の平均は、BAC、SAN、ADF、AQS の順に 0.00027%、0.045%、0.13%、0.012%であり、MBC 値はそれぞれ 0.00079%、0.58%、0.18%、0.017%であった。研究成果概要及び令和 7 年度研究報告書の記載に基づく実用的な殺菌濃度としては、十分な殺菌効果を得るために、BAC では 0.00129%、SAN では 2%、ADF では 0.25%、AQS では 0.025%以上が必要であることが示された。

MBC/MIC 比の検討では、SAN は比が大きく、増殖抑制濃度と殺菌濃度の差が大きいことから、静菌的な性質が強い可能性が示唆された。一方、BAC、ADF 及び AQS では MBC/MIC 比が比較的小さく、殺菌的效果が得られやすいと考えられた。また、推奨使用濃度と MBC の差を比較した結果、SAN 及び ADF では安全域が相対的に小さく、実際の食品製造現場では有機物残渣や接触時間等の条件を考慮し、適切な濃度管理及び洗浄手順の遵守が重要であると考えられた。

2. 耐性関連遺伝子と表現型の関連

全ゲノム解析データとの照合により、N22、N26 及び N33 の 3 株で塩化ベンザルコニウム耐性関連遺伝子 bcrABC の保有が確認された。また、N32 では Tn6188 関連遺伝子の保有が確認された。これらの 4 株は、耐性関連遺伝子又はトランスポゾンを保有しない株に比べて BAC に対する MIC 又は MBC が高い傾向を示した。

この結果は、令和 6 年度に得られたゲノム情報が洗浄剤に対する表現型の予測又はリスク評価に有用である可能性を示すものである。食品製造環境で QAC 系洗浄剤が長期間使用される場合、感受性の低下した株又は耐性関連遺伝子を保有する株が選択される可能性があるため、単一の洗浄剤に依存するのではなく、有効成分の異なる洗浄剤を適切に組み合わせる運用が望ましいと考えられた。

D. 考察

本研究により、RTE 水産加工食品由来 *L. monocytogenes* は、洗浄剤に対する感受性が一様ではなく、菌株の遺伝学的背景により感受性が異なる可能性が示された。特に BAC 耐性関連遺伝子又は Tn6188 を保有する株で BAC に対する感受性低下傾向が認められたことは、食品製造環境における衛生管理において、分離株のゲノム情報を活用したリスク評価が有用であることを示している。

SAN では株間差が大きく、MBC/MIC 比も高かったことから、洗浄剤の「増殖抑制」と「殺菌」を区別して評価する必要がある。食品製造現場では、有機物の存在、表面材質、バイオフィルム形成、接触時間、温度及び pH 等が洗浄剤の有効性に影響するため、実験室条件で得られた濃度をそのまま現場に適用するのではなく、現場条件を反映した濃度管理と洗浄手順の検証が必要である。

本研究成果は、国内における RTE 水産加工食品由来 *L. monocytogenes* の汚染実態、遺伝学的特徴及び防除方法を一連の研究として結び付けるものであり、今後、食品製造事業者が洗浄剤の選択、ローテーション及び濃度管理を検討する際の基礎資料として活用されることが期待される。また、食品衛生行政における RTE 水産加工食品のリステリアリスク評価及び管理措置の検討に資する知見となる。

E. 結論

令和 7 年度は、RTE 水産加工食品由来 *L. monocytogenes* 分離株を対象として、食品製造現場で使用される 4 種類の洗浄剤に対する感受性を評価した。その結果、十分な殺菌効果を得るために必要な濃度は洗浄剤及び菌株により異なり、特に次亜塩素酸ナトリウム系洗浄剤では株間差が大きいことが明らかとなった。

塩化ベンザルコニウム耐性関連遺伝子又は Tn6188 を保有する株では、BAC に対する MIC 又は MBC が高い傾向を示し、全ゲノム解析に基づく遺伝

子情報と洗浄剤感受性の表現型との関連が示唆された。これにより、食品製造環境におけるリステリア防除では、単一の洗浄剤の長期使用を避け、有効成分の異なる洗浄剤を組み合わせた衛生管理が重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Kaori Komori, Yuna Kono, Ayaka Nakamura, Takashi Kuda, Hajime Takahashi. Evaluation of selective enrichment media for accurate most probable number enumeration of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat seafood products. *Journal of Microbiological Methods*, 107527, 2026
- Thorben Ogihara Reiche, Ayaka Nakamura, Inga Folkedal, Kaori Komori, Yuna Kono, Mare Marie Sisjord Nyvoll, Sunniva Hoel, Hajime Takahashi, Anita Nordeng Jakobsen. *Listeria monocytogenes* from salmon processing and ready-to-eat seafood: Antibiotic susceptibility and disinfectant tolerance. *Food Control*, 112090, 2026
- Ayaka Nakamura, Kaori Komori, Yuna Kono, Takashi Kuda, Hajime Takahashi. Distribution rate of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat processed seafood products in Japan and a potential risk assessment. *International Journal of Food Microbiology* (投稿中)

2. 学会発表

- 中村綾花「RTE 水産加工食品における *Listeria monocytogenes* のリスクに関する研究」食源性病原菌に関する日中交流学術会議、2025 年 7 月、中国・上海
- 小森香莉、河野由奈、中村綾花、久田孝、高橋肇「MPN 法を用いた *Listeria monocytogenes* の定量における選択増菌培地の比較検討」第 46 回日本食品微生物

学会学術総会、2025 年 9 月、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし