

市販食肉からの *Listeria monocytogenes* の分離とその性状

高木 謙二, 岸田 一則, 小岩井健司
内村眞佐子, 鶴岡佳久

Isolation of *Listeria monocytogenes* from Commercial Meats

Kenji TAKAGI, Kazunori KISHIDA, Kenji KOIWAI
Masako UCHIMURA and Yoshihisa TSURUOKA

Summary

Isolation of *Listeria monocytogenes* was attempted from the meats bought at markets during the period from May to August 1989. It was isolated at such a high prevalence as 24 strains from 29 pork samples (82.8%), 12 strains from 17 beef samples (70.6%) and 18 strains from 23 chicken samples (78.3%).

In enrichment culture, isolation was more successful by incubation for 7 days than for 48 hours.

These 54 strains isolated were examined for their sensitivities to 7 drugs. They were inclined to be tolerant of nalidixic acid and sulfamethopiragin, and to be sensitive to the other drugs. And one strain was tolerant of tetracyclin, chloramphenicol and kanamycin.

I はじめに

リステリア属菌には、現在8菌種¹⁾が包含されている。このうちヒトに病原性を示す *Listeria monocytogenes* は、人畜共通感染症の起因菌として古くから知られており、その臨床像は多くの場合、ヒトでは髄膜炎^{2)~4)}、動物では脳炎、敗血症⁵⁾の型をとることが多い。わが国におけるヒトの感染例は、1958年の小児の髄膜炎が初発であり、以後漸次増加し、1988年末で629例を数えている。しかし、*L.monocytogenes*の疫学、特にヒトへの感染源、感染経路や食品の汚染状況については不明な点が多く、その調査はほとんど行なわれていない。

一方、乳、乳製品や野菜サラダ等の食品に起因したリステリア症の集団感染事例が、欧米で最近報告されたことを期に^{6)~8)}、本症を食品媒介感染症として位置づけるようになってきた。

そこで著者らは、本菌の食品、特に食肉での汚染実態を把握する目的で、市販食肉からの本菌の分離を試みた。また、分離菌の性状についても検討したところ若干の知見を得たので報告する。

II 材料及び方法

1. 材料

千葉市内の食肉小売り店舗で販売されている牛、豚、鶏の肉及び内臓とその加工品、計70検体である。

2. 調査期間

平成元年5月より8月までの4ヶ月間で、毎月10-20検体を調査した。

3. *L.monocytogenes*の分離及び同定

各検体25gを *Listeria* Enrichment Broth (MERCK) 225mlに入れ、25°C、48時間好気培養後、Oxford Agar (OXOID) に塗抹した。48時間好気培養後、エスクリン分解集落を釣菌し、以後常法どおり同定した。

4. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は日本化学療法学会標準法⁹⁾に準拠して行なった。薬剤はテトラサイクリン (TC)、アンピシリン (ABPC)、クロラムフェニコール (CP)、カナマイシン (KM)、ナリジクス酸 (NA)、セファロリジン (CER)、スルファメトピリジン (SA) の7剤を用いた。SAについては400 µg/ml以上、その他の薬剤は12.5 µg/ml以上を耐性とした。

III 結果

1. 食肉及び食肉製品からの*L.monocytogenes*の検出状況

各種食肉及び食肉製品からの*L.monocytogenes*の検出状況を表1-1, 表1-2, 表1-3に示した。

豚肉は11品目29検体中24検体 (82.8%), 牛肉は11品目17検体中刺身肉を含む12検体 (70.6%), 鶏肉では9品目23検体中18検体 (78.3%) からと非常に高率に本菌が分離された。なお, 馬刺身肉では1検体ではあるが分離されなかった。また, *L.monocytogenes*の月別検出状況は表2に示すごとくである。検出率は特に月別の大きな変動はみられず, いずれも70%以上の高い検出率であった。

表1-1 食肉及び食肉製品の品目別リステリア菌汚染状況 (豚肉)

品目	検体数	検出数
挽き肉	3	3
モモ肉	4	4
ばら肉	2	2
こま肉	4	4
肩肉	6	5
ヒレ肉	1	1
レバー	3	2
タシ	3	1
白モツ	1	1
豚足	1	0
ハンバーグ	1	1
合計 11品目	29	24

表1-2 食肉及び食肉製品の品目別リステリア菌検出状況 (牛肉)

品目	検体数	検出数
挽き肉	3	3
合い挽き肉	1	1
モモ肉	3	1
こま肉	2	0
肩肉	1	1
刺身肉	2	2
カルビ	1	1
サーロイン	1	0
ミノ	1	1
タシ	1	1
白モツ	1	1
合計 11品目	17	12

表1-3 食肉及び食肉製品の品目別リステリア菌検出状況 (鶏肉)

品目	検体数	検出数
挽き肉	1	1
モモ肉	1	1
ササミ	4	2
胸肉	5	4
こま肉	2	2
手羽肉	5	5
カラ揚げ肉	1	0
レバー	3	2
スナギモ	1	1
合計 9品目	23	18
馬刺身肉	1	0
計 1品目	1	0

表2 *Listeria monocytogenes*の月別検出状況

月	豚肉	牛肉	鶏肉	馬肉	計
5月	* 7/9 (77.7)	3/5 (60)	5/6 (83.3)		15/20 (75)
6月	6/8 (75)	4/4 (100)	4/8 (50)		14/20 (70)
7月	3/3 (100)	1/3 (33.3)	3/3 (100)	0/1 (-)	7/10 (70)
8月	8/9 (88.9)	4/5 (80)	6/6 (100)		18/20 (90)
合計	24/29 (82.8)	12/17 (70.6)	18/23 (78.3)	0/1 (-)	54/70 (77.1)

* 検出数/検体数 ()は%

2. 増菌培養時間による*L.monocytogenes*の検出状況

*L.monocytogenes*の増菌培養時間による検出状況を表3に示した。各検体とも48時間培養での検出率よりも, 7日間培養の方が検出率は増加した。また, その傾向は牛肉, 鶏肉で顕著であった。しかし, 14日間培養では本菌陽性の検体でも選択培地上に発育する集落数は減少する傾向であった。

3. 分離菌株の生物学性状と薬剤感受性

表4に分離54株の生物学的性状を示す。いずれも*L.monocytogenes*の生物学的性状と一致した。

なお, 分離株の各種薬剤に対する感受性は表5に示すごとくである。NAには全54株が, SAには34株 (63.0%) が耐性であった。また, TCに耐性のもの4株, TC, CP, KM3剤に耐性のもの1株が認められた。ABPC, CERに対しては全株とも感受性であった。

表3 増菌培養時間による*Listeria monocytogenes*の検出状況

種類	月	48時間	7日間	14日間
豚	5	4/9	NT	6/9
	6	6/8	6/8	6/8
	7	3/3	3/3	3/3
	8	6/9	7/9	8/9
牛	5	2/5	NT	3/5
	6	3/4	4/4	4/4
	7	1/3	1/3	1/3
	8	3/5	4/5	4/5
鶏	5	5/6	NT	4/6
	6	4/8	5/8	5/8
	7	2/3	3/3	3/3
	8	4/6	6/6	6/6

NT: Not Test

表4 *Listeria monocytogenes*の生物学的性状

形態	短小桿菌	Glucose	+ Gas -
大きさ (μm)	0.4~0.5×0.5~2.0	Trehalose	+
グラム染色性	陽性	Salicin	+
運動性	+	Levulose	+
寒天培地上集落		Maltose	+
円形小, 透明		Lactose	+
発育悪し		Dextrin	+
血液寒天β型溶血		Sucrose	+
ゼラチン液化	-	Rhamnose	+
インドール	-	Sorbit	+
硫化水素	-	Glycerol	+
硝酸塩還元	-	Mannose	+
カタラーゼ	+	Galactose	-
尿素分解能	-	Mannitol	-
クエン酸塩利用能	-	Dulcitol	-
V P	+	Inulin	-
抗酸性	-	Inositol	-
4℃で発育	可能	Sorbitol	-
6%以上食塩	耐性	Arabinose	-
		Xylose	-
		Ramnose	-
		Adonitol	-

表5 *Listeria monocytogenes*の薬剤感受性分布

		MIC (mcg力価/ml)							
供試薬剤		≤3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400≤
T	C	4	9		4	1			
AB	PC	5	4						
C	P	5	3		1				
K	M	5	3				1		
N	A				2		5	2	
C	E R	5	4						
S	A			8	7	2	2	1	3 4

IV 考察

今回、市販の食肉製品中の*L.monocytogenes*の汚染状況について調査したが、豚肉製品11品目29検体中24検体(82.8%)、牛肉製品11品目17検体中12検体(70.6%)、鶏肉製品9品目23検体中18検体(78.3%)等各種食肉製品から高率に本菌が検出された。

本邦ではいまだ検出報告はないが、諸外国の報告¹⁰⁾と比べて検出頻度は高い。この値がそのままフィールドの汚染状況を反映しているとは思えないが、市販される時点ではかなりの率で本菌の汚染をうけていると思われる。しかし、大部分の検体は生食するものではなく、例えば本菌を高率に保菌していたとしてもそのほとんどは調理時の加熱等により死滅していると思われる。

わが国の一般健康人の保菌率は0.34%~0.5%程度で

ある¹¹⁾¹²⁾といわれている。また、諸外国でも0.5%~91.6%¹³⁾と報告者により差があるが保菌者の存在が証明されている。さらに丸山¹⁴⁾は、最近開発された分離方法を使用すればこれ以上の保菌率になると推測している。一方、これらの報告では保菌の原因についてはふれていない。今回牛刺しから本菌が検出されたことは、本菌に汚染された刺身肉の摂取により保菌者となる可能性を示したものとしよう。この他本菌は比較的熱に抵抗性であることから、加熱不十分なものを摂取することによってもその可能性はある。

増菌培養時間による菌検出率では48時間培養より7日間培養の方が上回った。しかし、14日間培養では選択培地上に発育する*L.monocytogenes*の集落数は減少した。同様な成績は小寺¹⁵⁾も報告しているが、これは共存する他の細菌の増殖によるものと思われる。検出率を上げる意味では長期間培養は優れた方法であるが、食品の品質

検査等には不適である。より短時間で効率よく菌を検出するには、なお検討の余地があるように思える。

薬剤感受性試験ではこれまで寺尾¹⁶⁾はヒト由来株ではNA, SAを除いては他の薬剤に感受性であり、1958年からの国内分離株の感受性パターンは安定しているとしている。今回分離した菌の大部分も同様の傾向を示しており、食肉由来株もヒト由来株と大差なく安定に推移していると思われるが、TC, CP, KM 3 剤に耐性の株が1株あったことは興味深い。

今回分離に用いた方法は厚生省の示した方法を基本とし、使用する培地、時間等をかえた変法であり、この方法により高い検出率が得られた。しかし、この方法が最適かどうかは培地、温度、時間等さらに検討を加える必要がある。

謝辞

本文をまとめるに際し、種々御助言を頂いた新潟県衛生公害研究所寺尾博士に深謝致します。

V 文献

- 1) Seeliger, H.P.R. and Jones, D. (1986) : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.*, 2 : 1235.
- 2) 伊藤泰一, 佐久間友男, 内海治郎, 井畑祐治 (1959) : *Listeria monocytogenes*による髄膜炎の1例について—日本における最初の人体感染の報告例—, *新潟医学誌*, 73 : 872-876.
- 3) 永井龍夫, 山本 昭, 山岸高由 (1974) : リステリア菌 4 d 型菌による髄膜炎の1症例, *感染症誌*, 48 : 317-321.
- 4) 永井龍夫, 近藤裕之, 貫名正文 (1986) : リステリア菌 4 c 型菌による化膿性髄膜炎の1症例, *感染症誌*, 60 : 267-270.
- 5) 叶内恒雄, 小林正人, 鶴田 実, 蘇武秀名, 新関博夫, 早坂恭二 (1987) : 乳用牛のリステリア症の発生と給与中のサイレージからのリステリア菌の分離, *日獣会誌*, 40 : 850-853.
- 6) Schlech, W.F., III, Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A. J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S., and Broome, C.V. (1983) : Evidence for Transmission by Food. *New Engl. J. Med.*, 308 : 203-206.
- 7) Fleming, D.W., Cochi, S.L., MacDonald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V., and Reingold, A.L. (1985) Pasteurized Milk as a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis. *New Engl. J. Med.*, 312 : 404-407.
- 8) Centers for Disease Control. (1985) : Listeriosis Outbreak Associated with Mexican-Style Cheese. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 34 : 357-359.
- 9) MIC測定法改訂委員会, (1981) : *Chemotherapy*, 29 : 76-77.
- 10) Kwantes, W. and Isaac, M. (1975) : *Listeria* Infection in West Glamorgan. *Leicester Univ. Prese.* : 112-114.
- 11) 旭 興正, 椿 志郎, 諏佐信行, 宮野のり子, 青井義隆, 山分杜美子, 吉原丘二子 (1972) : リステリア病の疫学調査, I. 健康人糞便からのリステリア菌検出について, *北里メディカルニュース*, 218 : 9-17.
- 12) 永井龍夫 (1982) : わが国におけるヒトのリステリア症, *臨床病理*, XXX, 4 : 364-370.
- 13) Ralovich, B. (1984) : *Listeriosis Research*, Akademiai Kiado, Budapest.
- 14) 丸山 務 (1989) : 食品衛生におけるリステリア菌, *食品と微生物*, 6 : 3-15.
- 15) 小寺正樹 (1989) リステリア菌による食品の汚染に関する一考察, *食品衛生研究*, 39 : 47-54.
- 16) 寺尾通徳 (1986) : 細菌性呼吸器感染症等の流行予測監視に関する調査研究, *新潟衛研年報*, 2 : 55-56.
- 17) 厚生省乳肉衛生課 (1988) : 食品(チーズ)中のリステリア菌の検査法.