

牛と豚の腸内容物および枝肉からのListeria monocytogenesの分離

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	水谷, 浩志 飯田, 孝 丸山, 務
巻/号	43巻8号
掲載ページ	p. 602-605
発行年月	1990年8月

牛と豚の腸内容物および枝肉からの *Listeria monocytogenes* の分離

水谷浩志¹⁾ 飯田 孝²⁾ 丸山 務²⁾

(平成 2 年 7 月 20 日受付・平成 2 年 8 月 24 日受理)

Isolation of *Listeria monocytogenes* from Intestinal Contents
and Carcasses of Cows and Pigs in an Abattoir

HIROSHI MIZUTANI*, TAKASHI IIDA and TSUTOMU MARUYAMA (* The Tokyo Metropolitan
Shibaura Abattoir Sanitation Inspection Station, Minato-ku, Tokyo 108)

SUMMARY

With the view of clarifying sources and routes of contamination of foods with *L. monocytogenes*, an actual survey was made of cow and pig carriers brought to the Tokyo Metropolitan Shibaura Abattoir and of the contamination of carcasses in the course of the meat processing. The rate of detection of *L. monocytogenes* from bovine intestinal contents was 2.3% compared with 0% for pigs. The rate of contamination of carcasses with *L. monocytogenes* was 6.7~10.0% for cows and 1.7~30.0% for pigs, depending upon the stages of the processing; it was highest for swine carcasses brought in from other abattoirs. Meat processing utensils such as knives and chopping-boards as well as employee's fingers showed a rate of detection of 14.3~31.0%, suggesting their responsibilities for the contamination of the meat.

On the other hand, it was revealed that bovine carcasses stored at $-1\sim 0^{\circ}\text{C}$ for one day had more than a 50% reduction rate in the detection of *L. monocytogenes*.

In this survey, *L. monocytogenes* isolated from bovine intestinal contents and carcasses, swine carcasses and meat processing utensils was classified into 7 serotypes, including 4b and 1/2b, which have frequently been isolated from patients with listeriosis.—**Key Words** : *listeria monocytogenes*, animal carriers, contamination of carcasses, classified into serotypes.

—*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 43, 602~605 (1990)

要 約

L. monocytogenes の食品への汚染源および汚染経路を明らかにする目的で、東京都芝浦と畜場に搬入された牛および豚の保菌と枝肉および食肉処理過程での汚染実態調査を行った。牛腸内容物からの *L. monocytogenes* の検出率は 2.3% であったが、豚からは検出されなかった。しかし、枝肉における *L. monocytogenes* の汚染率は処理行程で異なり、牛で 6.7~10.0%、豚で 1.7~30.0% であり、他のと畜場でと殺後搬入された豚枝肉が最も高かった。ナイフ、まな板などの食肉処理器材および従業員の手指からも 14.3~31.0% の割合で検出され、これらが食肉への汚染源になる可能性が示唆された。

いっぽう、牛の枝肉を $-1\sim 0^{\circ}\text{C}$ で 1 日冷蔵保存することにより *L. monocytogenes* の検出率は半分以下に低下することが認められた。

今回、牛、豚の腸内容物およびこれらの枝肉と食肉処理器材から分離した *L. monocytogenes* の血清型は 7 種に分類され、リステリア症の患者から多く分類される 4b、1/2b も含まれていた。

¹⁾ 東京都芝浦食肉衛生検査所 (港区港南 2-7-19)

²⁾ 東京都立衛生研究所 (新宿区百人町 3-24-1)

Key Words : リステリアモノサイトジェーネス, 動物保菌, 枝肉汚染, 血清型別

リストア症は *Listeria monocytogenes* によって人や動物に髄膜炎、敗血症、脳炎、流産などを起こす人畜共通感染症であることが知られている^{9,10}。近年欧米諸国において、本菌による食品汚染が原因で人の集団感染が起こり^{1,5}、このことが契機となって、*L. monocytogenes* が食品衛生上の重要な問題として取りあげられている¹⁴。

いっぽう、諸外国では *L. monocytogenes* は自然界に広く分布し、また動物にも健康保菌のあつことが古くから知られ³、さらに、最近では動物性食品の多くが本菌によって汚染されていることも明らかにされてきた⁶。しかしながらわが国におけるリストア症の疫学については不明な点が多く、公衆衛生の立場からの検討がほとんど行われていない。最近著者らはわが国でも市販食肉が高率に *L. monocytogenes* で汚染されていることを報告した⁷。

そこで今回、その汚染源および経路を明らかにするために、まずわが国における牛、豚の保菌実態を把握し、さらにと畜場内での枝肉の汚染および枝肉のカット、加工を行う処理場での汚染実態調査を実施した。

材料および方法

検査材料

牛、豚の直腸内容物：1988年7月から1989年3月までの間に東京都芝浦と畜場の搬入された健康な牛130頭および豚90頭の直腸内容物（以下「腸内容物」と略す。）である。

枝肉の拭取り：1989年7月から同年12月までに東京都芝浦と畜場でと殺、解体された牛、豚の洗浄直後の枝肉（以下「洗浄後の枝肉」と略す。）各60頭ずつ計120頭と他のと畜場でと殺、解体され芝浦食肉市場に搬入された牛、豚の枝肉（以下「搬入枝肉」と略す。）40頭ずつ計80頭、総計200頭分を対象とした。さらに上記洗浄後の牛枝肉から無作為に40検体を選び、これを-1～0°Cの冷蔵庫に1日保存した冷蔵後の枝肉（以下「冷蔵枝肉」と略す。）を検体として加えた。

上記枝肉はすべて首の部分約100cm²を滅菌ガーゼタンポンで拭取り、これを検査材料とした。

食肉処理場の器材および従業員手指の拭取り：1989年7月11日と8月7日の2日間と畜場内の仲卸業者の店舗（以下「店舗」と略す。）20店を対照として、肉の解体に用いるナイフ、まな板、その他の器材62件および従業員の手指18件、計80件につき滅菌ガーゼタンポンによる拭取りを行いこれを検体とした。

菌の分離方

増菌培養：腸内容物は約10gを90mlの *Listeria* enrichment broth (Merck) に入れ、25°Cで48時間培養を行った。拭取り材料はガーゼタンポンをそのまま10mlの

Listeria enrichment broth (EB: Difco) を用いて30°C、7日間の培養を行った。

分離培養：増菌培養液の2～3白金耳を *Listeria* selective agar (Merck) およびOxford培地 (Oxoid) の2種の選択分離培地に塗抹して分離を行った。

分離株の同定と血清型別：選択分離培地上のリステリア属菌（以下「*Listeria* spp.」と略す。）が疑われた集落を1平板につき5個以上釣菌しBergey's manual of Systematic Bacteriology¹²に従って、*Listeria* spp. の種を決定した。

L. monocytogenes と同定された菌株は型別参考菌株を用いて自家作成した家兔免疫因子血清により血清型別を行った。

成 績

Listeria spp.および *L. monocytogenes* の分離成績

各種材料からの *Listeria* spp. および *L. monocytogenes* の分離成績を表1に示した。

Listeria spp. は牛では腸内容物から14.6%、洗浄後の枝肉から33.3%、冷蔵枝肉から15.0%、また搬入枝肉からは35.5%の陽性率であった。*L. monocytogenes* の陽性率はそれぞれ2.3%、6.7%、2.5%、10.0%であった。

いっぽう、豚では *Listeria* spp. は腸内容物からは検出されなかったが、洗浄後の枝肉で3.3%、搬入枝肉で

表1 牛、豚の腸内容物および枝肉ならびに器材等からのリステリア属菌の分離成績

検 体	検体数	陽 性 数 (%)	
		<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>
腸 内 容 物(牛)	130	19(14.6)	3(2.3)
(豚)	90	0	0
洗浄後の枝肉(牛)	60	20(33.3)	4(6.7)
(豚)	60	2(3.3)	1(1.7)
冷 蔵 枝 肉(牛)	40	6(15.0)	1(2.5)
搬 入 枝 肉(牛)	40	14(35.0)	4(10.0)
(豚)	40	16(40.0)	12(30.0)
器 材(ナイフ)	26	20(76.9)	7(26.9)
(まな板)	29	24(82.8)	9(31.0)
(その他の器材*)	7	4(57.1)	1(14.3)
手 指	18	13(72.2)	3(16.7)

* 冷蔵庫取っ手、ダンボール、肉かご、カッター、スライサー

表2 各種材料から分離された *L. monocytogenes* 以外のリステリア属菌

検 体	分離菌株数	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>
枝 肉(牛)	28	27	1	0
枝 肉(豚)	9	7	1	0
器 材	45	35	8	2
手 指	14	12	1	1

表3 洗浄直後と冷蔵後における牛枝肉からのリステリア属菌検出成績

調査年月	検体数	陽性数 (%)			
		<i>Listeria</i> spp.		<i>L. monocytogenes</i>	
		洗浄後	冷蔵後	洗浄後	冷蔵後
1988. 8	10	6	1	2	1
	10	1	0	0	0
	11	7	2	0	0
	12	1	3	0	0
計	40	15(37.5)	6(15.0)	2(5.0)	1(2.5)

表4 分離された *L. monocytogenes* の血清型

検体	血清型						
	1/2a	1/2b	1/2c	4b	4d	4e	4*
腸内容物(牛)	1	1	1				
洗浄後の枝肉(牛)		2		1		1	
(豚)			1				
冷蔵枝肉(牛)				1		1	
搬入枝肉(牛)			4				
(豚)	2		10				
器材, 手指	1		2	3	10	2	5
計	4	3	18	5	10	4	3

* 亜型不明

は40.0%であった。*L. monocytogenes* は洗浄後枝肉からは1.7%、搬入枝肉では30.0%であった。

また、器材拭取りからの *Listeria* spp. と *L. monocytogenes* のそれぞれの検出率はナイフで76.9%、26.9%、まな板では82.8%、31.7%であり、その他の器材では57.1%、14.3%、手指拭取りでは72.3%、16.7%であった。各種検体から検出された *L. monocytogenes* 以外の *Listeria* spp. はまとめて表2に示した。*L. innocua* が最も多く、牛の腸内容物から分離した16株すべてと牛枝肉28株中27株、および豚枝肉9株中7株であった。また、器材からは45株中35株、手指からは14株中12株であった。他に *L. welshimeri*, *L. seeligeri* が少数検出された。

牛の枝肉の冷蔵後における *Listeria* spp. の消長

洗浄後枝肉を-1~0℃で1日冷蔵し、*Listeria* spp. の消長をみた。1988年8月から12月までの4カ月間に計40検体の洗浄後と冷蔵後一検体で監査した成績を表3に示した。*Listeria* spp. と *L. monocytogenes* はいずれも陽性率が冷蔵によって約半分に減少した。すなわち洗浄後の枝肉の *Listeria* spp. および *L. monocytogenes* の陽性率が、それぞれ37.5%、5.0%であったものが、冷蔵後では15.0%と2.5%となった。ただし、12月に限っては10検体中1件であった陽性検体が冷蔵後3件に増加した。

分離した *L. monocytogenes* の血清型

L. monocytogenes と同定されたのは45検体(45/

540, 8.3%)であった。これら同一検体から血清型の異なる菌株が分離された検体が2例であったのでそれぞれの菌株を入れて合計47株の血清型別成績を表4に示した。47株のうち44株は6種類に分類された。最も多い血清型は1/2cで、特に搬入豚枝肉由来株では12株中10株であった。4bは牛枝肉および器材等から、また1/2bは牛腸内容物と牛枝肉から分離された。なお、47株中3株は4型に分類されたが亜型を決めることはできなかった。

考 察

家畜における *Listeria* spp. の保菌率は、検査法が一定でないことも原因しているが、報告者によって、また国によって差がある⁸⁾。わが国では、まだその報告例が少なく、家畜の保菌実態や分離菌の血清型について不明な点が多い¹⁰⁾。今回、われわれが行った調査では牛の腸内容物からは *Listeria* spp. が14.6%、*L. monocytogenes* は2.3%であった。いっぽう、豚からは *Listeria* spp. は1件も検出されなかった。この成績は諸外国の家畜における陽性率に比較して低いが⁸⁾、今回の調査はと畜場に搬入された限られた数について行ったもので、わが国における家畜の実態の一端を示したにすぎない。今後さらに例数を増やして調査する必要がある。また、検査法についても現時点においてそれぞれの検体で最も確実と思われる1種類の方法でのみ行ったが、最近新しい培地の開発もあり、さらに検討する必要がある。特に、豚については著者らがごく最近行った別の調査ではリン酸緩衝液の低温長期増菌法によっても本菌が検出されている⁴⁾ことから腸内容を対象とした増菌法についてはこれらの比較試験が必要である。

牛および豚の枝肉における *Listeria* spp. の汚染は、と畜場内で解体処理直後にはじまり、その汚染率は動物の保菌よりも高かった。特に腸内容物からは検出されなかった豚でも洗浄後の枝肉から *L. monocytogenes* が分離されたことは解体処理過程での環境からの汚染が多いことを意味している。

Listeria spp. の環境汚染は、と畜場内ばかりではなく食肉の処理工場内でも同様である。食肉の処理に使用するナイフ、まな板などの器材からの *Listeria* spp. の検出率は枝肉よりもはるかに高く77.4%であり、*L. monocytogenes* の分離率も27.4%と高率であった。

また、ここで作業をする従業員の手指もそれぞれ72.2%と16.6%であったことから、一度汚染されたこれら器材や手指が食肉を連続的に汚染する原因となっている事が推察された。GENIGORGIS²⁾も鶏肉の *L. monocytogenes* 汚染調査を行った際、従業員手指と手袋による交差汚染が問題であることを指摘している。

枝肉の汚染のなかでは搬入枝肉が牛、豚ともに高く、

特に豚搬入枝肉の成績は最近、小久保らが報告した市販食肉における汚染率に近かった⁷⁾。

以上、*Listeria* spp. は動物保菌から食肉処理行程、市販食肉へと通してみると、流通の末端へ行くほど汚染率が高くなる傾向がうかがわれる。市販食肉の高い汚染率は流通の各段階での環境からの汚染と菌の増殖によるものであろう。

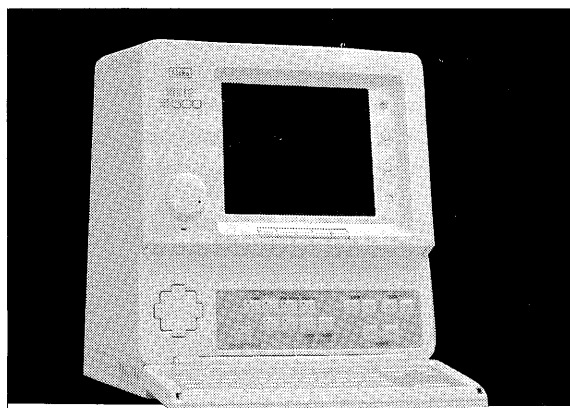
Listeria spp. の食肉への汚染はと畜場における解体時に始まり、枝肉表面での菌の増殖があるものと思われる。したがって汚染防止対策には、まずと畜場内における汚染と増殖の阻止ならびに食肉流通過程での衛生管理が重要である。*Listeria* spp. は低温でも増殖する菌として良く知られているが、今回、牛枝肉を-1~0℃で1日間保存したところ *L. monocytogenes* の検出率が低下することが認められた。このことは *L. monocytogenes* は少なくとも上記条件では発育が抑制されることを示している。すなわち、食肉における *L. monocytogenes* の制御方法はと殺解体した枝肉をできる限り迅速に低温に保存することが低温増殖菌といわれている本菌でも重要であることを示唆するものであろう。

分離された *L. monocytogenes* の血清型は6種以上と多岐にわたっていた。最も多い型は1/2cで、特に豚枝肉では12株中10株であった。患者から高い頻度で検出される4bは¹³⁾牛枝肉から2株、器材拭取りから3株、また1/2bは牛の腸内容物と枝肉から合計3株分離され、ヒトのリステリア症と深い関係にあるこれら血清型の菌が食肉および肉処理器材を汚染していることが証明された。

なお、*L. monocytogenes* 以外の菌種としてはいずれの材料からも *L. innocua* が最も多く検出され、本菌が自然界に広く分布していることが推察された。

引用文献

- 1) FLEMING, D. W., COCHI, S. L., McDONALD, K. L. et al.: *N. Engl. J. Med.*, 312, 404~407 (1985).
- 2) GENIGEORIGIS, C. A., DUTULESCU, D. and GARAYZABAL, J. F.: *J. Food Protect.*, 9, 618~624 (1989).
- 3) GRAY, M. L. and KILLINGER: *Bacteriol. Rev.* 309~382 (1966).
- 4) 飯田 孝, 神崎政子, 本田三緒子, ほか: 東京衛研年報, 41, 43~48 (1991).
- 5) JAMES, S. M., FANNI, S. L., AGREE, B. A. et al.: *Morbid. Mortal. Weekly Rep.*, 34, 357~359 (1985).
- 6) JONSON, J. L., DOYLE, P. and CASSENS, R. G. J.: *Food Protect.* 53, 81~91 (1990).
- 7) 小久保彌太郎, 飯田 孝, 金子誠二, ほか: 食衛誌, 31, 51~56 (1990).
- 8) 丸山 務: 感染症, 20, 36~40 (1990).
- 9) McLAUCHLIN, J.: *Epidemiol. Infect.*, 104, 181~189 (1990).
- 10) 大草 潔: 日本公衛誌, 31, 601~608 (1984).
- 11) SEELIGER, H. P. R.: *Listeriosis*, S. Karger, New York (1961).
- 12) SEELIGER, H. P. R. and JONES, D.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Krieg, N. R. (ed.), 2, 1235~1245, Williams and Wilkins, Baltimore (1984).
- 13) 寺尾通徳: 感染症, 20, 33~35 (1990).
- 14) WHO Working Group: *Bull. WHO.*, 66, 321~428 (1988).



高性能新世代 動物用電子走査超音波診断装置 スーパーアイSSD500

- ・高品位画像, 多彩な計測・計算・表示機能
- ・小型・軽量(約10kg)で移動, 設定が容易
- ・リニア走査, コンベックス走査・B, M, B/B, B/M4モード
- ・操作は見やすいキーボードで容易
- ・撮影装置を始めとする豊富なオプション類
- ・直検用専用探触子付

計 測 距離 面積・周囲長
消費電力 AC100V 約90VA
寸 法 290×250×320mm (W・D・H)

FHK 富士平工業株式会社 東京都文京区本郷6丁目11番6号 〒113
電話 東京(03)812-2271 ファクシミリ(03)812-3663