低温保蔵食品の安全性

——特に最近注目されている低温増殖性の病原菌について——

丸 山 務*

Tsutomu MARUYAMA

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169

1. はじめに

人に対して病原性を発揮する菌は、われわれの体温である37℃前後を至適発育温度とするものがほとんどである。しかしながら病原菌の中には37℃でも増殖はするが、至適発育温度はこれよりも低く、しかも病原菌の多くが発育できない5℃以下でも増殖しうる菌、いわゆる低温細菌 (psychrotrophic bacteria) の範疇に入るものが少数存在する。その主なものは *Yersinia* 属, *Listeria* 属, *Erysipelothrix* 属, *Clostridium* 属, *Pseudomonas* 属などである (表1)。これらの中で最近食品衛生の関連で問題となっている菌種、すなわち、*Yersinia* 属の

Y. enterocolitica と *Listeria* 属の *L. monocytogenes* について概説する。

2. *Yersinia enterocolitica* について

Yersinia 属は現在12菌種を数えるが、この中で人に病原性のあるものは *Y. pestis* (ペスト菌), *Y. pseudotuberculosis* (仮性結核菌) と *Y. enterocolitica* の3菌種のみである。これら3菌種の中で食品衛生上問題となるのは後2菌種であり、特に *Y. enterocolitica* はその菌種名が「胃腸炎を起こす」ことを意味しているように、わが国では食中毒起因菌に指定されている。仮性結核菌も飲食物を介して人に感染し、胃腸炎症状ばかりでなく泉熱の原因となったり、川崎病様症状を呈するなど複雑な症候を発現させることが解っている。両菌種は病原学的にもまた疫学的背景もほぼ同じであるのでここではエルシニア菌と一括して表現し、述べることにする。

3. エルシニア菌の発育態度

Yersinia 属の中でも人に最も強力な病原性を発揮するペスト菌が10℃以下の低温でも発育することは古くから知られていた。その後エルシニア菌をはじめその他の菌種も同様であることが解り、4℃以下の低温で増殖することが *Yersinia* 属菌の特徴となっている。

図1は *Y. enterocolitica* と *Y. pseudotuberculosis* の両エルシニア菌の0, 6, 12, 20, 35, 45℃の各温度における発育態度を食中毒菌の代表ともいふべき *Salmonella typhimurium* のそれと比較して増殖曲線に表わしたものである¹⁾。すなわち、両エルシニア菌はサルモネラが増殖しない6℃でかなり良く発育し、0℃でも長時間かければ増殖してくることを示している。また、明ら

表1 低温増殖性病原菌の発育温度域と世代時間

菌 種	最低發育 溫度(℃)	最高發育 溫度(℃)	最短世代時間 (分, C)	
Yersinia 属				
<i>Y. pestis</i>	0	42	50	30 C
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	0	42	49	28
<i>Y. enterocolitica</i>	0	45	48	30
Listeria 属				
<i>L. monocytogenes</i>	0	45	32	35
Erysiperothrix 属				
<i>E. insidosa</i>	0	45	34	35
Clostridium 属				
<i>C. botulinum</i>	3.3	45	42	37
Pseudomonas 属				
<i>P. fluorescens</i>	0	40	43	30

<i>Staphylococcus aureus</i>	15	45	36	35
<i>Salmonella typhimurium</i>	7	49	25	42
<i>Shigella sonnei</i>	7	45	29	36
<i>Eschrichia coli</i>	7	49	27	42

* 東京都立衛生研究所 (〒169 東京都新宿区百人町3-24-1)

○—○ *Y. enterocolitica* ×····× *S. typhimurium* △—△ *Y. pseudotuberculosis*

図 1 各種温度におけるエルシニアとサルモネラの発育曲線

かに20℃以下ではエルシニア菌がサルモネラよりも発育の立ち上がりが早く、増殖曲線が最高値に達するのにも早い。一方、20℃以上ではサルモネラの発育が良く、45℃ではエルシニア菌は増殖できずに徐々に死滅する。

これらの成績からエルシニア菌の発育温度域は0～43℃の幅であり、至適発育温度は25～30℃であることが解る。また、15℃の低温域での活発な発育と4℃以下でも十分増殖可能であることは明らかである。ただし、至適発育条件をもってしても分裂時間は比較的長い。サルモ

ネラや大腸菌が1分裂に20分台であるのに対し、エルシニア菌は約その倍の40分台である。すなわち、エルシニア菌の増殖はかなりゆっくりであるといえる。

4. わが国におけるエルシニア症の発生状況

わが国の *Y. enterocolitica* 症は1971年に初めて明らかにされ²⁾、翌年の1972年には集団例が確認された。集団例は現在までに11例が記録されている。発生は全国にまたがり、すべて小・中学校および学童の施設で起きてい

表 2 わが国における *Y. enterocolitica* による集団発生例

No.	発生年月	発生場所	推定原因食	患者数	菌 型	
					生物型：血清型	
1	1972. 1	静岡県 小学校・幼稚園	不明（給食）	188	4：03	
2	1972. 7	静岡県 小学校	不明（給食）	544	4：03	
3	1972. 7	栃木県 中学校	不明（給食）	198	4：03	
4	1974. 4	京都府 小学校	不明（給食）	296	4：03	
5	1975. 6	宮城県 小学校	不明（給食）	168	4：03	
6	1978.10	宮城県 小学校	不明（給食）	264	4：03	
7	1979. 1	宮城県 養護施設	不明（給食）	6	4：03	
8	1979.11	広島県 小学校	不明（給食）	184	4：03	
9	1980. 4	沖縄県 小学校・中学校	加工乳	1,051	4：03	
10	1981. 5	岡山県 小学校・中学校	不明（給食）	641	4：03	
11	1984. 6	島根県 小学校	不明（給食）	102	4：03	

表 3 日本における *Y. pseudotuberculosis* による集団発生例

No.	発生年月	発 生 場 所	推定原因食	患者数	菌 型
1	1977. 4	広 島 県 中学校	不 明	57	5b
2	1977.10	岐 阜 県 幼稚園	水?	82	1b
3	1981. 2	岡 山 県 小学校	野菜ジュース	535	5a
4	1982. 1	岡 山 県 山間部 住民	谷川水	268	4b と 2c
5	1982. 2	岡 山 県 市街地 住民	サンドイッチ	61	5b
6	1984. 7	三 重 県 中学校生徒・先生	焼肉 (飲食店)	35	5a
7	1984. 7	三 重 県 家族・親戚	焼肉 (飲食店)	4	5a
8	1984.11	和歌山県 小学校・保育園	井戸水, 谷川水	63	3
9	1984.11	岡 山 県 山間部 住民	谷川水	11	4b
10	1985. 4	島 根 県 小学校・幼稚園	不 明	8	4b
11	1985. 4	新 潟 県 小学校	不 明	60	4b
12	1986. 3	千 葉 県 小学校	不 明	651	4b
13	1987. 5	広 岡 県 山間部 住民	井戸水	5	3
14	1988. 5	長 野 県 山間部 住民	湧 水	31	3

る。疫学調査の結果から学校給食を推定原因食とする食中毒様発生である。このうち1例は給食用の牛乳であることが確認されている (表2)。

Y. pseudotuberculosis による集団例は12例が明らかにされている。発生は学童の他にも地域住民の間でも起き、推定原因食の中には井戸水の関与のあることが特徴である (表3)。

エルシニア症は世界各国で発生がみられるが、集団例がいずれも10例以上確認されているのは我が国のみである。わが国ではもちろん、集団発生ばかりでなく散发例も多くみられる。病院の下痢患者から *Y. enterocolitica* が検出される割合は成人で0.5%, 小児で0.9% ぐらいで、*Y. pseudotuberculosis* は地域によって差が著しいが、成人で0.02~0.14%, 小児では0.04~6.4% である³⁾⁻⁵⁾。また、エルシニア菌は虫垂炎症状を起こすことが知られている。虫垂炎手術患者からの検出率は約6% である。したがって、わが国では下痢、腹痛などの食中毒様症状、あるいは虫垂炎様症状を呈する患者のかなりの割合がエルシニア菌の感染に起因していると推定される。

5. エルシニア菌の自然界の分布と食品汚染

Yersinia 属菌そのものは自然界にきわめて広く分布し、動物の腸管にも高率に保菌されている。人に起病性のある病原エルシニア菌の保菌動物の主なものには家畜では豚、愛玩動物では犬、猫、野生動物では鼠などのげっ歯類であることが解っている⁶⁾。これらの中で保菌率が最も高く、人への影響が最も重要な動物は豚である。1983年から1984年にかけて全国の食肉衛生検査所で約

9,000頭の豚を調べた成績では、健康な食用となる豚で約12%の陽性率であることが確かめられている。豚の腸管内に保菌されているエルシニア菌はと殺、解体、製肉への処理工程で食肉を汚染することが当然考えられる。

表4はわが国における市販食肉からの病原エルシニア菌の検出状況である。3種類の家畜の保菌状況を反映して牛肉および鶏肉からは検出されていない。特に鶏肉は他の食中毒起因菌であるサルモネラやカンピロドクターはかなり高率に検出されるが、エルシニア菌は全く検出されない。これに対してエルシニア菌の汚染がみられるのは豚肉のみである。ひき肉になった方が高率なのは、原料肉の品質に加えて汚染と増殖の機会がより多いためであろうと思われる。

エルシニア症が豚肉を食べて発症したという事を証明した事例は集団例も散发例もまだ無い。しかしながらこの菌の動物保菌を含めた自然界の分布と食品汚染実態から食肉特に豚肉を経由した経口感染が最も疑われる。焼肉を推定原因食とした集団例がすでにある。また、学校

表 4 市販食肉からの病原エルシニア菌の検出状況

肉 種	検査数	陽性数 (%)	
		Y.e*	Y.ptb
豚 肉	137	2 (1.5)	0
豚ひき肉	160	12 (7.5)	1 (0.6)
牛 肉	98	0	0
牛ひき肉	120	0	0
鶏 肉	66	0	0
鶏ひき肉	120	0	0

* Y.e: *Y. enterocolitica*, Y.ptb: *Y. pseudotuberculosis*

給食等の集団給食では食肉を扱う確立は高く、それらの汚染食品そのものばかりでなく、二次汚染が原因となっている事も考えられる。エルシニア菌が冷蔵庫内で十分増殖できることを忘れてはならない。

6. リステリア菌と食品衛生

リステリア菌は最近になって発見された病原菌ではない。かなり古くから鼠などのげっ歯類動物、羊などの家畜の病原菌として獣医学領域では重要視されていた。1930年頃には人にも感染性のある事が明らかになり、典型的な人畜共通感染症の起因菌として認識されている。

リステリア菌の感染による人と動物のリステリア症はともに爆発的な流行はないが、敗血症、髄膜炎、脳炎、流産などで死亡率の高いことから双方の臨床分野で注目されている疾病である。人への感染経路については母親からの垂直感染がある他は成人では不明の点が多く、疫学的説明が望まれていた。

ところが、1980年代に入って欧米諸国でキャベツサラダ、牛乳、チーズなどの食品が原因となった集団発生が相ついで確認された。この事は、それまでリステリア菌とその感染症がもっぱら医学および獣医学の臨床あるいは細菌学や免疫学の基礎研究の対象であったのが、にわかに食品衛生、公衆衛生の問題としてとらえる必要のあることを意味するものであった。すなわち、リステリア症が食物媒介感染症 (food borne disease) であることが証明され今世界中でこの面から関心がもたれている⁷⁾。

7. リステリア菌の低温増殖性

リステリア菌はグラム陽性の桿菌で、分類学的には *Listeria* 属に入る 8 菌種を指す。これらの中で人および

動物の双方に病原性のあるものは *L. monocytogenes* のみであると考えられている。一般にリステリア菌およびリステリア症という表現は本菌種とその感染症を指しているので本稿でも同様の表現とする。

リステリア菌の性状の中で他の多くの病原菌と異なる特徴は、エルシニア菌と同様 4℃ の低温でも発育可能である培養特性である。本菌は 25~40℃ ではきわめて良く発育し、この温度域では 24 時間培養で当初 10^3 個/ml の菌数が 10^9 個/ml の最高値に達する。ただし、35℃ 以上では 24 時間以降はすでに菌数の減少がみられ、40℃ でその傾向が著しい。45℃ では培養初期に一次菌数の減少がみられ、以後増殖はみられるが最高値に達することはない。

また、20℃ 以下では発育の速度は緩慢にはなるが、5℃ でも 7~10 日間で 10^9 /ml の最高値に達する。0℃ でも 7 日目からわずかに増殖がみられた。この低温域での増殖態度は菌株によって差が大きい。しかしいずれにしても 4℃ 以下の低温で発育することが実験的に確かめられている (図 2)⁸⁾。この低温域で発育できる性質は本菌が土壌などの自然界に広く分布していることと関係があり、一方では低温保存した食品に汚染があればその中で十分増殖できることを意味しており、食品衛生上の重要な問題を提起していることになる。また、本菌の分離に低温増殖法が有効であることは、この培養特性を逆に利用したものである。

8. わが国におけるリステリア症の発生状況

わが国における人のリステリア症は 1958 年山形県での小児髄膜炎と北海道での胎児敗血症性肉芽腫がそれぞれ独立に発見されたのが最初である^{9), 10)}。1970 年代のはじめまでは年間に数例という少ない数であり、発生地域も

図 2 *L. monocytogenes* の発育態度

表 5 わが国におけるリステリア症の年次別症例数

年 次	症例数	年 次	症例数
1958	2	1974	22
1959	0	1975	23
1960	3	1976	30
1961	3	1977	32
1962	4	1978	25
1963	2	1979	38
1964	3	1980	47
1965	4	1981	50
1966	6	1982	62
1967	7	1983	45
1968	6	1984	45
1969	4	1985	40
1970	3	1986	40
1971	4	1987	34
1972	12	1988	19
1973	10		

東北、北海道の寒冷地に偏在してみられたが、本菌感染症への関心が高まるにつれて症例報告数は多くなり、現在は年間40～50例、関東以西、沖縄県にまで全国的に発生がみられるようになった。1988年までの累計は625例に達している(表5)¹¹⁾。これらはすべて散発例で諸外国で最近みられるようになった集団発生は1例もない。

患者の性別ではやや男性に多い。年令別では新生児および5歳以下の小児が圧倒的多数を占め、次いで50～60歳代が多い。これらリステリア症の病型は髄膜炎が大部分で、これに敗血症を加えると全体の94%を超え、その他の症状はきわめて少ない。

リステリア症の致命率はきわめて高く、各国の統計で16～44%に達する。わが国では約30%である¹²⁾。これは胎盤感染による死産、成人では白血病などの重篤な基礎疾患をもつ患者での日和見的な感染が多いのでこのような結果になると思われるが、細菌感染症の中で致命率の高さは際立っている。

9. 世界における食品を介したリステリア症の集団感染例

人のリステリア症は現在先進諸国ではどの国でも発

生がみられる。その発生数は年によって大きな変動はあるが、増加傾向にあることは確かである。病原細菌による感染症が総体的には減少していく中で、リステリア症の増加は特異的である。

集団発生は、1981年カナダでコールスローと呼ばれるキャベツサラダを喫食した41名が発症、17名が死亡した事例が最初である¹³⁾。1983年には米国で牛乳¹⁴⁾、1985年には同じ米国で今度はチーズを原因食として集団発生が相つぎ^{15), 16)}、死亡者が多くでたことでも大きな話題を呼んだ。食品を原因とする集団発生は北米ばかりでなくヨーロッパでも起き、その多くはチーズなどの乳製品が主な原因食品であった事から食品衛生、公衆衛生分野ばかりの問題ではなく、産業、輸出、経済にも大きな衝激を与えている。

これまでに発生した集団例で原因食が明らかな4例を表6に示した。原因食品が乳、乳製品の多いことが注目される。なお、集団発生ではないが、チーズを喫食したことが明らかな散発例が英国で報告されている。わが国ではまだ食品が原因となったリステリア症は確認されていない。

10. リステリア菌の食品汚染

リステリア症の集団発生は、リステリア菌が食品を汚染していること、リステリア症が食品を介して発生していることを図らずも証明した。もともとリステリア菌は牛乳や卵から分離されることは古くから知られていた。しかし上記集団発生はリステリア菌の食品汚染をクローズアップさせ、各国でその調査が活発に行われるようになった。特に乳・乳製品による事故が多かったことからこれら食品での調査報告は多い(表7)。生牛乳では4～46%、チーズでは4～16%である。チーズでもソフトタイプのナチュラルチーズでの陽性率の高いことが指摘されている。

このように、乳・乳製品ではかなりの率で汚染がみられるのは確かであるが、家畜ではある程度の保菌のみられることからそれ以外の畜産食品での汚染も予想される、事実1975年には冷凍した鶏肉の57%から本菌が検出

表 6 食物媒介性リステリア症の集団発生例

	発 生 年	発生国	患者数	死者数	原 因 食	検出菌型
1.	1981	カナダ	41	17	コールスロー	4b
2.	1983	米 国	49	14	牛 乳	4b
3.	1985	米 国	86	29	ソフトチーズ	4b
4.	1983～87	スイス	22	不明	ソフトチーズ	4b

表 7 各種食品からの *L.monocytogenes* 検出状況

食 品	報告又は検査国	陽性率 (%)
生 乳	米国, スペイン, フランス	12, 46, 4
チーズ ソフト	フランス	14.0
半硬質	フランス	4.1
ソフト(輸入)	オランダ	10.0
ソフト(輸入, 国産)	ド イ ツ	11.3
半硬質	ド イ ツ	3.8
ソフト	イタリー	16.0
生ひき肉 (牛)	米国, デンマーク	21, 14
生鶏肉	英国, デンマーク	54, 47
野 菜	ド イ ツ	17.6

されるという報告がすでにあり¹⁷⁾, その他にも表7が示すようにさまざまな食肉, 食肉製品から本菌が分離され, その検出率も高い。最近のドイツにおける調査では生肉製品の80%が, *L.monocytogenes* に汚染されているという報告もある¹⁸⁾。

人のリステリア症には食物媒介によるものがあることを初めて証明した1981年のカナダで起きた集団例はキャベツサラダによるものであり, リアテリア菌が未開封の製品からも検出されている。また汚染経路は明らかではないが, 冷凍の海産品からも分離されている。したがってリステリア菌はきわめて広範な食品を汚染しているとみてよいだろう。わが国ではこれらの調査がまだ十分に行われていないが, 食肉での汚染はかなり高いという成績が集められつつある。

11. お わ り に

食品を低温に保存するという事は食品衛生の大原則である。この技術の進歩, 普及が食品の安全と経済に寄与した功績には計り知れないくらい大きなものがある。今後も食品冷蔵の需要は益々増大するであろう。しかしながら一方では食品製造加工技術の進歩で衛生状態の改善が著しく進み, また食料の有効利用の側面からも低温流通が普及するに従って食品の保存期間が長くなるとエルシニア菌やリステリア菌のような低温増殖性病原菌の危

険性が増大してくる。これまでの食品衛生における病原微生物の制御は主にサルモネラやブドウ球菌のような人間の体温でよく増殖し, 低温では発育できない, いわゆる中温菌を対象としたものであった。そしてその成果はかなり上ってきているとみてよいだろう。しかしこの中には4~10℃でも増殖しうる病原菌の配慮はあまり無かったのではないだろうか。最近になって低温増殖性の病原菌が問題となってきたのはこうした背景によるものと思われる。

エルシニア菌, リステリア菌は低温増殖性の菌であるが故に, また特にリステリア菌は食塩抵抗性も強いことから自然界には広く分布している。また, 動物保菌もかなりあり, あらゆる食品が汚染される危険性がある。今後は食品の安全性を考える際, こうした低温増殖性菌の存在を十分に考慮する必要があるだろう。

文 献

- 1) 丸山 務: 日細菌誌, **28**, 343 (1973).
- 2) ZEN-YOJI, H. and MARUYAMA, T.: *Japan. J. Microbiol.*, **16**, 493 (1972).
- 3) MARUYAMA, T.: *Contr. Microbiol., Immunol.*, **9**, 48, Karger, Basel (1987).
- 4) 坪倉 操: 感染症誌, **61**, 737 (1987).
- 5) 坪倉 操・丸山 務: 獣医学 (近代出版), p.105 (1988).
- 6) 丸山 務: 日獣会誌, **35**, 2 (1982).
- 7) Foodborne Listeriosis: WHO/EHE/FOS/88.5 (1988).
- 8) 丸山 務: 食品と微生物, **6**, 3 (1989).
- 9) 伊藤泰一ら: 新潟医誌, **73**, 872 (1959).
- 10) 植竹久雄ら: 日本医事新報, **1957**, 18 (1961).
- 11) 永井龍夫: 私信 (1989)
- 12) RALOVICH, B.: Listeriosis research, Akademic Kiado, Budapest (1984).
- 13) SCHLECH, W.F. et al.: *New Eng. J. Med.*, **308**, 203 (1983).
- 14) FLEMING, D.G. et al.: *New Eng. J. Med.*, **321**, 404 (1985).
- 15) ANON.: Communicable Disease Report, 85/26, Public Health Lab. Service (1985).
- 16) REED, P.: Uni. Wisconsin Food Res. Inst. Ann. Meeting (1986).
- 17) KWANTES, W. and ISAC, M.: Problem of Listeriosis, Leicester Uni. Press (1975).
- 18) SCHMIDT, U. et al.: *Fleischwirtsch.*, **68**, 131 (1988).