＝原 著＝

わが国における Ready-to-Eat 水産食品の *Listeria monocytogenes* 汚染

原 やす子^{*1,†}・和泉澤真紀^{*2}・石井久美子^{*2}

阿部晃久^{*1}・大橋英治^{*1}・丸山 務^{*2}

(^{*1}日本水産(株)食品分析センター, ^{*2}麻布大学環境保健学部)

(受付 平成 14 年 12 月 19 日)

(受理 平成 15 年 5 月 9 日)

Contamination of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Seafoods in Japan

Yasuko HARA^{*1,†}, Maki IZUMISAWA^{*2}, Kumiko ISHII^{*2},
Akihisa ABE^{*1}, Eiji OHASHI^{*1} and Tsutomu MARUYAMA^{*2}

(^{*1}Nippon Suisan Kaisha, Ltd., 559-6 Kitano-machi, Hachioji-shi, Tokyo 192-0906)

(^{*2}Azabu University, 1-17-71 Fuchinobe, Sagamihara-shi, Kanagawa 229-8501; [†]Corresponding author)

A total of 394 samples of fresh seafoods and ready-to-eat seafoods were collected from supermarkets in Tokyo, Kanagawa and Chiba for the study of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* contamination. *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* were isolated from 10.2% and 5.8% samples, respectively. Most of the *L. monocytogenes* positive samples were ready-to-eat seafood, not fresh seafood. The contamination levels were lower than 0.7 cfu/g, except in smoked salmon (4.3 cfu/g) and boiled octopus (1.5 cfu/g). The predominant serotype of *L. monocytogenes* was 1/2a, followed by 3a and 4b.

Key words: *Listeria monocytogenes*, *Listeria* species, Ready-to-eat seafoods, Contamination

緒 言

リステリア症が食品を介して感染することが明らかにされて以来, さまざまな食品の汚染実態調査が各国で行われている¹²⁾. その報告の多くは, 原因食品として疑われる確立が高いチーズなどの乳製品や食肉製品などの畜産食品で, 鮮魚介類およびその製品に関しては欧米を中心にスモークサーモンの調査報告はあるものの^{1, 17)}, それ以外の水産食品についてはあまり調査が行われていない. 一方, わが国では諸外国に比べ鮮魚介類およびその製品に依存している部分が大いこともあり, これら食品に関する *Listeria monocytogenes* の汚染調査が行われている^{6, 7, 10, 14, 18, 20)}. しかしこれら報告の調査対象は主に鮮魚類で, 加工品についてはボイルなど加熱されたものがほとんどであり, 日本独特の魚介類加工品である

明太子やイクラの醤油漬けなど加熱せずそのまま食すいわゆる ready-to-eat 水産食品では報告例が少ない. そこでこれらの ready-to-eat 水産食品および鮮魚介類について, *Listeria* 属菌の汚染実態調査を実施した.

材料および方法

1. 調査検体

1999 年 3 月から 2001 年 11 月までに東京, 神奈川, 千葉の量販店および百貨店で購入した鮮魚・刺身・寿司ネタ(マグロ, トラウトなど) 16 品目 128 検体, 貝類(アサリ, ハマグリなど) 5 品目 21 検体および ready-to-eat 水産食品(スモークサーモン, ネギトロ, イクラなど) 14 品目 245 検体, 合計 35 品目 394 検体を調査した.

2. *Listeria* 属菌の分離, 同定および血清型別

検体 25 g を UVM 培地 225 ml で 30℃, 48 時間増菌培養後, PALCAM 寒天培地で 30℃, 24 時間および 48

† 連絡先

^{*1} ☎192-0906 八王子市北野町 559-6

^{*2} ☎229-8501 相模原市淵野辺 1-17-71

時間の分離培養を行った。培養後、寒天培地上のエスクリン分解陽性の *Listeria* を疑うコロニーを 10~20 株鉤菌し、発色酵素基質培地の BCM 培地 (Biosynth) または CHROM agar (関東化学) により *L. monocytogenes* の鑑別を行った後、馬血液寒天培地または β -リシンディスクによる β -溶血性の観察と、PCR 法 (プライマー; Mono A・B⁹⁾) で確認した。 *L. monocytogenes* と同定された菌株は、市販のリステリア型別用免疫血清 (デンカ生研) により血清型別を行った。

3. *L. monocytogenes* の汚染菌量測定

L. monocytogenes が検出された検体については、MPN 法により菌量測定を行った。方法は食品衛生検査指針の大腸菌群の MPN 法に準拠し¹⁶⁾、UVM 培地を用いて行った。検体 25 g を UVM 培地で 10 倍希釈したものを用いて、3 段階希釈 3 本法で 30°C、48 時間増菌培養した。増菌培養液を PALCAM および Oxford 寒天培地を用いて分離培養後、前項 2 の方法に従い *L. monocytogenes* の同定を行った。 *L. monocytogenes* の陽性管数を最確数表にあてはめ MPN を求め、この値からグラ

ム当たりの菌数を算出した。

結 果

1. 鮮魚介類および ready-to-eat 水産食品からの *Listeria* 属菌および *L. monocytogenes* の分離状況

供試した 35 品目 394 検体のうち 7 品目 40 検体 (10.2%) から *Listeria* 属菌が検出され、そのうち 6 品目 23 検体 (5.8%) から *L. monocytogenes* が検出された (Table 1)。

鮮魚・刺身・寿司ネタ 16 品目 128 検体ではマグロ 7 検体 (13.2%) とサンマ 1 検体 (33.3%) から *Listeria* 属菌が検出され、このうちマグロの 3 検体 (5.7%) が *L. monocytogenes* であった。この 3 検体はいずれも寿司ネタであった。貝類 5 品目 21 検体からは *L. monocytogenes* を含む *Listeria* 属菌は検出されなかった。ready-to-eat 水産食品 14 品目 245 検体では、ネギトロ (minced tuna) 16 検体 (21.9%)、スモークサーモン 5 検体 (8.8%)、スジコ (Sujiko) 4 検体 (17.4%)、明太子 (Mentaiko) 6 検体 (31.6%)、加熱済みタコ 1 検体 (6.3%) から

Table 1. Incidence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in raw seafoods and ready-to-eat seafoods

Samples	Number of samples	Number of positive samples (%)	
		<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>
Fish	128	8(6.3)	3(2.3)
Tuna*	53	7(13.2)	3(5.7)
Trout	24	0	0
Squid	23	0	0
Salmon	11	0	0
Crevalle	4	0	0
Pacific saury	3	1(33.3)	0
Boreal prawn*	1	0	0
Others	9	0	0
Shellfish	21	0	0
Scallop	13	0	0
Little clam	3	0	0
Hard clam	2	0	0
Ark shell	2	0	0
Hel clam*	1	0	0
Ready-to-eat seafood	245	32(13.1)	20(8.2)
Minced tuna	73	16(21.9)	10(13.7)
Smoked salmon	57	5(8.8)	2(3.5)
"Sujiko"	23	4(17.4)	2(8.7)
"Mentaiko"	19	6(31.6)	5(26.3)
"Tarako"	16	0	0
Octopus, boiled	16	1(6.3)	1(6.3)
Shrimp, boiled	14	0	0
Squid, "Shio-Kara"	5	0	0
"Shirasu", boiled	5	0	0
"Mozuku"	5	0	0
Scallop, boiled	5	0	0
"Kohada", pickled	4	0	0
Herring roe	2	0	0
"Tobiko"	1	0	0
Total	394	40(10.2)	23(5.8)

* Ready to eat as a raw flesh

Listeria 属菌が検出され、このうち *L. monocytogenes* がそれぞれ 10 検体 (13.7%), 2 検体 (3.5%), 2 検体 (8.7%), 5 検体 (26.3%), 1 検体 (6.3%) から検出された。

2. *L. monocytogenes* の汚染菌量

L. monocytogenes が検出された 23 検体のうち、17 検体について *L. monocytogenes* の汚染菌量を測定した。17 検体のうちスモークサーモン 1 検体 (S1) で 4.3 cfu/g、加熱済みタコ 1 検体 (O1) で 1.5 cfu/g の汚染菌量であった。それ以外の 15 検体は 0.3 cfu/g 以下から 0.7 cfu/g の少量であった (Table 2)。

Table 2. Contamination level (cfu/g) of *L. monocytogenes* in seafoods and ready-to-eat seafoods

No. of sample	Samples	MPN (cfu/g)
T1	Tuna*	<0.3
T2	Tuna*	<0.3
T3	Tuna*	<0.3
N1	Minced tuna	<0.3
N2	Minced tuna	<0.3
N3	Minced tuna	<0.3
N4	Minced tuna	<0.3
N5	Minced tuna	0.7
N6	Minced tuna	0.4
100	Minced tuna	<0.3
S1	Smoked salmon	4.3
S2	Smoked salmon	<0.3
81	"Sujiko"	0.4
K7	"Sujiko"	<0.3
G11	"Mentaiko"	<0.3
G15	"Mentaiko"	0.4
O1	Octopus, boiled	1.5

* Ready to eat as a raw flesh

3. 分離菌株の血清型

L. monocytogenes が検出されたもののうち、5 品目 16 検体から分離された菌株の血清型別を行った (Table 3)。16 検体から釣菌した全 104 株は 6 血清型に分類された。このうち 44 株 (42.3%) が 1/2a で最も多かった。次いで 4b の 36 株 (34.6%) で、それ以外の 4 血清型はいずれも 8 株以下であった。なお、2 検体から釣菌した 5 株は型別不能だった。

検体数別に見ても 1/2a が圧倒的に多く、5 品目 16 検体中 4 品目 12 検体から検出された。そのほかの血清型菌は 3a および 4b がいずれも 2 品目 3 検体、1/2b および型別不能 (UT) が 2 品目 2 検体、1/2c および 3b は 1 品目 1 検体であった。また 16 検体中 4 品目 5 検体からは複数の血清型菌が検出された。

考 察

わが国で市販されている鮮魚介類の *L. monocytogenes* による汚染は増田ら¹⁴⁾ の 1.8%、河崎ら¹⁰⁾ の 2.6% などすでにいくつかの報告^{6, 7, 18, 20)} により明らかにされている。今回の調査においても、寿司ネタのマグロ 3 検体から *L. monocytogenes* が検出された (Table 1)。増田ら¹⁴⁾ の調査でも生食用に加工されたものからの検出率が高かった。今回のマグロに関しても、原材料というよりは寿司ネタに加工される工程での 2 次汚染の可能性が高いと考えられた。しかし本菌が広く自然界に分布していることを考えると、自然環境と食品製造環境の両面での調査が今後も必要である。

これまでも ready-to-eat 水産食品についての調査は行われているが、サンプル数のまとまった調査は今回が初めてと思われる。今回 *L. monocytogenes* の汚染率が最も高かったのは明太子の 26.3% で、次いでネギト

Table 3. Serotypes of *L. monocytogenes* isolated from seafoods and ready-to-eat seafoods

No. of sample	Sample	Number of strains used	Serotype						
			1/2a	1/2b	1/2c	3a	3b	4b	UT
T1	Tuna*	5	5						
T2	Tuna*	5	2						3
T3	Tuna*	6	6						
N1	Minced tuna	4	4						
N2	Minced tuna	4	1		3				
N3	Minced tuna	5	5						
N4	Minced tuna	2	2						
N5	Minced tuna	5	5						
N6	Minced tuna	6	2				1	1	2
100	Minced tuna	7	7						
S1	Smoked salmon	3	1	1		1			
81	"Sujiko"	20	4					16	
K7	"Sujiko"	19						19	
M1	"Mentaiko"	7		7					
G11	"Mentaiko"	5				5			
G15	"Mentaiko"	1				1			
Total(%)		104	44(42.3)	8(7.7)	3(2.9)	7(6.7)	1(1.0)	36(34.6)	5(4.8)

* Ready to eat as a raw flesh

ロ (13.7%), スジコ (8.7%) であった。これら製品はいずれも加熱工程がなく、また加熱せずそのまま食す ready-to-eat 水産食品の中でも嗜好度が高い製品といえる。これらの汚染由来についてははっきりしたことは不明であるが、鮮魚と比較しても汚染が高率であることから原材料由来というよりも2次汚染の可能性が高い。明太子などは各製造会社により独自の加工が施されていることが考えられ、また今回調査したネギトロでは陽性だった10検体中7検体が同一販売店からの購入だったこと、さらに加熱済みのタコからも検出されていることから製造場所や販売所などの環境による汚染が推察された。

スモークサーモンは国外の報告ではかなり高い汚染率^{2-5, 8)}だが、今回の調査では57検体中2検体 (3.5%) からしか検出されなかった。これも製造場所による検出率の差がいわれており、また今回の調査品が国産品であるか輸入品であるか明確でないものもあるため、ほかの報告との検出率の違いについては不明である。しかし今回のデータからある一定の汚染があることは確かであろう。

L. monocytogenes の汚染菌量は6品目17検体中スモークサーモンが4.3 cfu/g、加熱済みタコが1.5 cfu/g であった以外はすべて0.7 cfu/g 以下で、このうち5品目11検体は検出限界 (0.3 cfu/g) 以下であった (Table 2)。過去の ready-to-eat 水産食品による集団事例では原因食品の汚染菌量が $10^6 \sim 10^7$ cfu/g という高い汚染菌量であり、また水産食品以外でもその汚染菌量は少なくとも 10^2 fu/g 以上であること¹¹⁾ から、今回の汚染菌量は非常に少ない結果といえる。またデンマークをはじめEU諸国を中心とした諸外国の規格・基準では100 cfu/g の汚染レベルを許容限度として認めていること¹⁵⁾ などから、今回の汚染菌量であれば健康成人が喫食してもリステリア症を引き起こす可能性は極めて低いと考えられる。しかし当然のことながらこれら ready-to-eat 水産食品はハイリスクグループの人も喫食することを考慮しなければならず、汚染頻度の高い明太子やネギトロなどの ready-to-eat 水産食品に関しては注意が必要である。今後食品保存中の *L. monocytogenes* の動態についても検討し、食品における本菌の許容される菌数などのリスク評価を行うことが重要であると思われる。

血清型別を行った104株は、2検体から分離された5株が型別不能だった以外は6血清型に分類された (Table 3)。このうち菌株数、検体数ともに最も多く分離されたのは1/2aであった。生食肉から多く分離される1/2cは今回の調査では1検体からしか分離されなかったことから鮮魚介類および ready-to-eat 水産食品と生食肉とは汚染由来が異なることが示唆された。菌株数では1/2aの次に4bが多かったが、これは各検体からの釣菌数が1~20株と差があり、特に釣菌数の多かったスジコからの分離株がほとんど4bであったためである。一方、スモークサーモンから分離された3株はすべ

て異なる血清型であったように、少数の分離株から複数の血清型が得られた検体もあり、*L. monocytogenes* による汚染は複雑かつ多様性があることが推測された。今回の調査では臨床由来株から高頻度に検出される4bや1/2b、食肉からの検出率が高い1/2c^{11, 14)} に比べ1/2aの検出率が圧倒的に多く、近年1/2aが増加傾向にあるという報告¹⁹⁾ から疫学的に注目すべき点である。今回は汚染検体数、汚染菌量ともに少ない結果であり水産食品がリステリア症の発症に大きく関与しているかははっきりしないが、臨床株と汚染源との関係や感染経路の解明など様々な食品で今後も調査を行う必要があろう。

要 約

国内で市販されている鮮魚介類およびそのまま食されるいわゆる ready-to-eat 水産食品における *Listeria* 属菌および *L. monocytogenes* の汚染実態調査を行い、以下の結論を得た。

1. 調査した35品目394検体中、*Listeria* 属菌は7品目40検体、*L. monocytogenes* は6品目23検体から検出され、ready-to-eat 水産食品からの検出率が高率だった。*L. monocytogenes* が検出された ready-to-eat 水産食品はネギトロ、スモークサーモン、スジコ、明太子、加熱済みタコであった。
2. *L. monocytogenes* の汚染菌量はスモークサーモン (1検体) の4.3 cfu/g と加熱済みタコの1.5 cfu/g 以外はすべて1.0 cfu/g 以下であった。
3. 分離された *L. monocytogenes* は6血清型に分類され、そのうち最も多かったのは1/2aであった。

文 献

- 1) Autio, T., Hielm, S., Miettinen, M., Sjöberg, A., Aarnisalo, K., Björkroth, J., Mattila-Sandholm, T. and Korkeala, H.: Sources of *Listeria monocytogenes* contamination in a cold-smoked rainbow trout processing plant detected by pulsed-field gel electrophoresis typing. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 150-155 (1999).
- 2) Ben Embarek, P. K.: Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods. *Int. J. Food Microbiol.*, **23**, 17-34 (1994).
- 3) Cordano, A. M. and Rocourt, J.: Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Chile. *Int. J. Food Microbiol.*, **70**, 175-178 (2001).
- 4) Cortesi, M. L., Sarli, T., Santoro, A., Murru, N. and Pepe, T.: Distribution and behavior of *Listeria monocytogenes* in three lots of naturally-contaminated vacuum-packed smoked salmon stored at 2 and 10°C. *Int. J. Food Microbiol.*, **37**, 209-214 (1997).
- 5) Dominguez, C., Gomez, I. and Zumalacarregui, J.: Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in smoked fish and pate sold in Spain. *J. Food Prot.*, **64**, 2075-2077 (2001).
- 6) Iida, T., Kanzaki, M., Nakama, A., Kokubo, Y., Maruyama, T. and Kaneuchi, C.: Detection of *Listeria mono-*

- cytogenes* in humans, animals and foods. J. Vet. Med. Sci., **60**, 1341-1343 (1998).
- 7) Inoue, S., Nakama, A., Arai, Y., Kokubo, Y., Maruyama, T., Saito, A., Yoshida, T., Terao, M., Yamamoto, S. and Kumagai, S.: Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan. Int. J. Food Microbiol., **59**, 73-77 (2000).
 - 8) Jorgensen, L. V. and Huss, H. H.: Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood. Int. J. Food Microbiol., **42**, 127-131 (1998).
 - 9) 片桐和弘, 下平大史, 上田成子, 仲真晶子, 池亀公和, 丸山 務: *Listeria monocytogenes* を検出するための PCR プライマーの検討. 日食微誌, **17**, 121-126 (2000).
 - 10) 河崎 孝, 秋山 陽, 宮尾陽子, 伊藤 武, 飯田 孝, 村山展通: 生鮮魚介類および魚介類加工品における *Listeria* 属菌の汚染実態調査. 食品と微生物, **9**, 165-170 (1992).
 - 11) 小久保彌太郎: 食品媒介リステリア症. けんさ, **29**(4), 20-29 (2000).
 - 12) 丸山 務, 小久保彌太郎: 11. *Listeria monocytogenes*. 新訂食水系感染症と細菌性食中毒. 坂崎利一編, p. 413-435, 中央法規出版, 東京 (2000).
 - 13) 丸山 務: 食品衛生研究, **44**(10), 67-83 (1994).
 - 14) 増田十茂子, 岩谷美枝, 三浦平吉, 小久保彌太郎, 丸山 務: 海産鮮魚介類における *Listeria* 属菌の汚染実態. 食衛誌, **33**, 599-602 (1992).
 - 15) 仲真晶子: 海外での食品媒介リステリア症とリステリア汚染防止対策の現状. 食衛誌, **41**(4), 271-276 (2000).
 - 16) 日本食品衛生協会: 食品衛生検査指針. p. 67-91, 日本食品衛生協会, 東京 (1990).
 - 17) Rorvik, L. M.: *Listeria monocytogenes* in the smoked salmon industry. Int. J. Food Microbiol., **62**, 183-190 (2000).
 - 18) Ryu, C-H., Igimi, S., Inoue, S. and Kumagai, S.: The incidence of *Listeria* species in retail foods in Japan. Int. J. Food Microbiol., **16**, 157-160 (1992).
 - 19) 寺尾通徳: わが国におけるリステリア症とリステリア菌. 月刊 HACCP, **2**, 52-57 (1996).
 - 20) Yamazaki, K., Tateyama, T., Kawai, Y. and Inoue, N.: Occurrence of *Listeria monocytogenes* in retail fish and processed seafood products in Japan. Fisheries Science, **66**, 1191-1193 (2000).