

家畜におけるリステリア菌の保菌実態調査*

山口県衛生公害研究センター (所長: 宮村恵宣)

片山 淳・松崎静枝・富田正章
遠藤隆二

Isolation of *Listeria monocytogenes* from Domestic Animals

Atsushi KATAYAMA, Shizue MATSUSAKI, Masaaki TOMITA
Ryuji ENDO

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Shigenori MIYAMURA)

はじめに

リステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) は、ヒト、動物に髄膜炎、脳炎、敗血症などの疾病を起こす人畜共通感染症の起因菌である。我が国における家畜のリステリア症は1948年～1990年までに牛84, 緬羊135, 山羊50, 豚9及び馬1例の発生が報告¹⁾されている。一方、ヒトのリステリア症は1958年～1991年までに700例が報告²⁾されており、患者は新生児及び5歳以下の乳幼児並びに免疫抑制剤の使用などによって感染防御力の低下した成人に多発している。その感染源、感染経路は母親から胎児に感染した場合を除き今まで不明の点が多かった。しかしながら、1980年代に欧米で本菌に汚染された野菜サラダ、牛乳、ソフトチーズの喫食による集団感染事例が報告³⁾され食品媒介感染症として注目を集めるようになってきた。

そこで、ヒトにおけるリステリア症の感染源及び感染経路を明らかにする目的の一環としてウシ、ブタの腸内容物中のリステリア菌保有状況と、と畜場排水処理施設の汚泥の汚染状況並びに検査法

の検討を行った。

材料及び方法

1 調査時期

調査は1990年4月から12月まで実施した。

2 調査材料

周東町食肉センター、周南地区食肉センター、防府市と畜場、山口市と畜場、宇部市食肉センター及び下関市食肉センターに搬入されたウシ258, ブタ167頭の腸内容物(直腸又は盲腸内容物)及び各と畜場付属の排水処理施設5基の汚泥延21検体について調査した。

3 使用培地

一次増菌培地としてEBブロス(Difco)とPBS(pH7.4)、二次増菌培地として自家製培地(Nutrient Broth No.2(Oxoid)25g, エスクリン1g, クエン酸鉄アンモニウム0.5g, 塩化リチウム5g, 寒天1g, ナリジック・アシド40mg, シクロヘキシミド50mg, アクリフラビン15mg, 水1000ml)を用い、選択分離培地にはパルカム寒天培地(パルカム Merck)を使用した。

* 本報告の要旨は第39回山口県公衆衛生学会(1992年6月11日・防府市)において発表した。

4 増菌培養法

同一の検体を一次増菌培養のみと、一次増菌培養後更に二次増菌培地で増菌する2法を用いた。検査は検体10gをそれぞれの一次増菌培地90mlに接種し、EBブ罗斯は30℃48時間、PBSは5℃3～4週間培養した。二次増菌培養には一次増菌培養後、その0.2mlを二次増菌培地10mlに接種し、30℃48時間培養した。

5 分離培養法

増菌培養液をパルカムに接種し、30℃48時間培養後に判定した。

6 リステリア菌の同定法

パルカムに発育し、リステリア菌と思われる集落について染色性、溶血性、運動性、VP反応、カタラーゼ、硝酸塩還元、糖分解能(マンニト、 α メチルDマンノシッド、ラムノース、キシロース)の生物学的試験を行った。

7 血清型別検査

リステリア菌と同定された菌株の血清型別検査は全国食肉衛生検査所協議会に依頼した。

結果及び考察

1 リステリア菌の検出状況

リステリア菌は表1に示すようにウシの腸内容物から9.3%(24/258)、ブタの腸内容物から4.8%(8/167)、と畜場の排水処理施設の汚泥から23.8%(5/21)検出された。なお、季節による検出率の差は認められなかった。

と畜場に搬入されたウシ、ブタの腸内容物について調査した水谷ら⁴⁾の保菌率は、ウシ2.3%(3/130)、ブタ0%(0/90)、飯田ら⁵⁾はウシ1.2%(2/162)、ブタ0.5%(1/193)の成績を得ている。

我々がヒト糞便中の保有状況を調査⁶⁾したところ保菌率は1.07%(20/1862)であった。ヒトにおける感染経路及び感染源の一つとして、本菌を保有する家畜の糞便 → 枝肉 → 食肉 → ヒトが考えられる。我々がと畜場で採取した枝肉及び食肉販売店で採取した食肉のリステリア菌汚染実態調査⁷⁾をしたところ保菌率は牛枝肉5%(2/40)、豚枝肉31%(10/32)、牛肉25%(10/40)、豚肉33%(13/40)

であった。また、水谷ら⁴⁾は食肉処理器材のナイフから26.9%(7/26)、まな板から31.0%(9/29)、従業員の手指から16.7%(3/18)本菌を検出している。これらのことからと畜の解体処理工程における汚染の拡大が考えられ、食肉の取り扱いには十分注意しなければならない。

なお、食肉等の冷蔵保存は4～10℃で、5日間以上置かないこと。調理する時は少なくとも70℃(62.5℃以上)の加熱をすることを英国のThe Social Services Committeeは感染防止のために勧めている⁸⁾。

と畜場で家畜が解体処理される場合、リステリア菌に汚染された腸内容物(固形物を除く)は、と畜場の排水処理施設に流入するので、排水処理施設内の汚泥を調査することにより間接的にリステリア菌保有家畜の存在の有無を把握することができると思われる。しかしながら、今回の調査でリステリア菌を検出したのは5基の施設の内2基のみであった。この2基のリステリア菌検出状況を調査回数でみると9回と3回で、その陽性回数は3回と2回であった。検出率を上げるには検査法の改良、検討が必要であることが分かった。

表1 ウシ、ブタの腸内容物及び排水処理施設汚泥のリステリア菌検出状況

月	検 体		
	ウ シ	ブ タ	汚 泥
4	0/ 6	1/ 5	1/ 1
5	1/ 10	0/ 5	0/ 1
6	1/ 8	0/ 5	1/ 1
7	2/ 70	2/ 42	0/ 5
8	5/ 38	2/ 33	1/ 3
9	6/ 27	1/ 45	1/ 3
10	3/ 39	0/ 12	0/ 3
11	3/ 50	1/ 15	0/ 3
12	3/ 10	1/ 5	1/ 1
計	24/258	8/167	5/21
%	9.3	4.8	23.8

注：陽性数/検体数

2 検査方法による検出状況

4種類の検査法で最も検出率の高いのは表2に示すように、EBブロス → 二次増菌 → パルカムの方法であり、その検出率は5.8%(26/446)であった。

次いでEBブロス → パルカムが4.5%(20/446)、PBS → 二次増菌 → パルカムが4.0%(18/446)、PBS → パルカムが1.3%(6/446)であった。従来から行われているPBS等の4℃で培養する低温増菌は優れた方法といわれているが数週間から数か月間の長期間培養しなければならず事故の原因追求に時間がかかる欠点がある。最近、30～37℃、24～48時間の増菌培養で検査できる各種の培地が開発⁹⁾されている。当初生乳を対象に開発され、その後食品全般に適用できることが認められた30℃48時間培養のEBブロスを用いてウシ、ブタの腸内容物及び排水処理施設の汚泥を対象として検査したところPBS法よりも検出率は高かった。しかしながら、EBブロス法陰性でもPBS法で陽性のケースが分離株37株中10株認められた。その内訳はウシが24株中5株、ブタが8株中3株、排水処理施設の汚泥が5株中2株であった。この10株で検出率は2%(10/446)上昇し、分離株の27%(10/

37)を占めることからPBSによる検査法も無視できなかった。なお、PBSを用いて検査した場合は二次増菌培地の有用性が認められた ($\chi^2 = 6.16$ 5%危険率で有意)。

3 分離菌株の生物学的性状

グラム陽性の桿菌で溶血性、運動性、VP反応、カタラーゼ、 α メチルDマンノシッド、ラムノースは陽性、硝酸塩還元、マンニット、キシロースは陰性の性状を示した分離株をリステリア菌とした。なお、溶血反応のみが陰性で他の生物学的性状がリステリア菌と同じで病原性がないといわれている*L.innocua*がウシで4.6%(12/258)、ブタで22.8%(38/167)、排水処理施設の汚泥で28.6%(6/21)分離され、病原性のないリステリア菌属が自然界に広く分布していることが明らかになった。

4 分離したリステリア菌の血清型

分離株の血清型は表3に示すようにウシからは24株中1/2c型が最も多く21株、次いで1/2b型が2株、4c型が1株であった。ブタからは8株中6a型が3株、1/2bと1/2c型がそれぞれ2株、1/2a

表2 検査方法別リステリア菌検出状況

	検出パターン				検出数			計
	A	B	C	D	ウシ	ブタ	汚泥	
1	+	+	+	+	2	1		3
2	+	+	-	+	4	1		5
3	+	+	-	-	7	2	2	11
4	-	-	+	+	2			2
5	-	+	-	+	1			1
6	-	+	-	-	4	1	1	6
7	-	-	-	+	3	3	1	7
8	+	-	-	-	1			1
9	-	-	+	-			1	1
計	20/446	26/446	6/446	18/446	24/258	8/167	5/21	37/446
%	4.5	5.8	1.3	4.0	9.3	4.8	23.8	8.3

A: EBブロス+パルカム寒天培地(パルカム)

B: EBブロス+二次増菌+パルカム

C: PBS+パルカム

D: PBS+二次増菌+パルカム

表3 分離菌株の血清型

検体	件数	血清型				
		1/2a	1/2b	1/2c	4c	6a
ウシ	24		2	21	1	
ブタ	8	1	2	2		3
排水処理施設の汚泥	5		2	3		
計	37	1	6	26	1	3

型が1株であった。排水処理施設の汚泥からは5株中1/2c型が3株、1/2b型が2株であった。我が国で患者、患畜から分離される主要血清型は4b型と報告⁹⁾されているが今回の調査では4b型は1株も検出されなかった。例数を増やせば4b型も検出されるものと思われる。

まとめ

ヒトにおけるリステリア症の感染源や感染経路を明らかにする目的でと畜場に搬入されたウシ、ブタの腸内容物及びと畜場付属の排水処理施設の

汚泥について汚染状況を調査した。

1. リステリア菌はウシから9.3%(24/258), ブタから4.8%(8/167), 汚泥から23.8%(5/21)検出された。

2. 分離菌株の血清型は5菌型に分類され, その内1/2c型が最も多く分離された。

3. リステリア菌の検出率は各種の検査法を組み合わせることによって高まった。

本調査は環境保健部生活衛生課, 玖珂保健所, 徳山, 防府, 山口, 宇部の各環境保健所及び下関市保健所との共同調査として実施した。

文 献

1) 勝部泰次ほか : 日獣会誌. 44, 681~689 (1991)

2) 寺尾道徳ほか : 感染症誌. 66, 181(1992)

3) 丸山 務 : 食品と微生物. 6, 3~15(1989)

4) 水谷浩志ほか : 日獣会誌. 43, 602~605 (1990)

5) 飯田 孝ほか : 東京衛研年報. (41), 22~27 (1990)

6) 片山 淳ほか : 山口県衛公研年報. (32), 42 (1989)

7) 片山 淳ほか : 山口県衛公研年報. (34), 48~49(1992)

8) The Social Services Committee : Food Poisoning ; Listeria and Listeriosis. London (1989)

9) 小久保彌太郎 : 食品と微生物. 8, 1~11 (1991)