牛乳中におけるリストリア菌の増殖及耐熱性*

山口県衛生公害研究センター（所長：宮村恵宣）

松崎静枝・富田正章・片山淳

岡田雅裕・遠藤隆二

Behavior and Heat Resistance of *Listeria monocytogenes* in Milk during Storage and Pasteurization

Shizue MATSUSAKI, Masaaki TOMITA, Atsushi KATAYAMA
Masahiro OKADA, Ryuji ENDO

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

はじめに

近年、ナチュラルチーズをはじめとした乳及び乳製品の喫食によるリストリア症が注目されている1-3。我々4-5は先にチーズ製造場、牧場のリストリア菌による汚染状況を調査すると共に、カマンベールチーズ製造時に殺菌乳と加塩塩水をリストリア菌で人為的に汚染させて、中間製品及び製品中における本菌の消長をみた。その結果、どちらの場合もリストリア菌は製品に移行し、その汚染は長期間継続すること、また、18%食塩水（加塩塩水）中で長期間生存することを報告し、これがチーズのリストリア菌汚染源になる危険性を指摘した。

チーズを製造する場合、一般に原料乳の殺菌温度が低く、種類によっては生乳をそのまま使用するので、リストリア菌の汚染を受けた場合、製品に移行する可能性が高いと考えられる。そこで、この度、牛乳をリストリア菌で人為的に汚染し、牛乳中での本菌の動態及び耐熱性について検討した。

材料及び方法

1 牛乳中におけるリストリア菌の動態

生乳及び市販乳を滅菌三角フラスコに1ℓずつ取り、リストリア菌をそれぞれ10⁷/ml、10⁸/ml、10⁹/mlの割に加え、おのおのの5℃、18℃に保存した。24時間毎にその一部をとり、リストリア菌数の変動を測定した。

2 牛乳中におけるリストリア菌の耐熱性

チーズ製造に用いる原料乳の殺菌状況は、我々が参考にしたチーズ製造場で、原料乳の殺菌は銅ナベに乳を入れ摂拌しながら加熱、72℃で1分間保持した後急冷する方法をとっていたのでそれを見考慮し、次のような方法で実施した。リストリア菌汚染乳は、生乳及び80℃で1分間加熱した殺菌乳にそれぞれ10⁷/mlの割にリストリア菌を接種した。リストリア菌汚染乳を25×200mmの試験管に30mlずつ分注し、摂拌しながら湯浴中で加熱、50～70℃（2℃きざみ）で1分間加熱後、水水中で急冷、リストリア菌数を測定した。

3 使用菌株

国立予防衛生研究所の福井正信博士から分与さ

* 本論文の要旨の一部は日本食品衛生学会第58回学術講演会（1989年10月・山口市）において発表した。
れたListeria monocytogenes 4b株を用いた。

4 検査方法
試料（牛乳）を滅菌生理食塩水で10倍段階希釈したものを0.1mlを2枚のリステリア分離培地（メルク社製）に塗抹、35℃で48時間培養後、培養液に発育したリステリア菌の疑わしい集落を釣菌し、グラム陽性小桿菌、半流動培地での菌状発育、VP試験陽性、カタラーゼ陽性の性状を示すものをリステリア菌として算定した。

結果
1 牛乳中におけるリステリア菌の動態
リステリア菌で人為的に汚染した牛乳（市販乳）を5℃に保存した場合、本菌は図1に示すようにゆるやかに増加した。これに対して18℃保存の場合には、図2に示すように本菌は急速に増加し、3日目には全て10⁶/mlのレベルに達した。
一方、未殺菌の牛乳についても同様の測定を行ったが、他の菌の発育の為、追跡が難しく、算定できなかった。

2 牛乳中におけるリステリア菌の耐熱性
図3に示すように生乳及び殺菌乳に接種したリステリア菌は、両者とも56℃1分間の加熱では死滅せず、殺菌乳では60℃1分間、生乳では62℃1分間の加熱で死滅した。

考察
リステリア菌で人為的に汚染させた牛乳（市販乳）を18℃で保存した場合、添加菌量の多少に拘らず、速やかに増殖することが確認された。これに対し5℃保存の場合、緩やかに増殖した。チーズ製造時のリステリア菌汚染の原因として、搾乳時の牛や環境からの汚染も含めた原料乳、加熱槽水の汚染、使用器具などの汚染及び熟成中の汚染などが考えられる。そのうち、原料乳や加熱槽水を人為的に汚染させチーズ製造を行うと、リステリア菌は高濃度で製品に移行し、暫時しながら長期に存続した。また、牧場の調査や家畜の調査を行ったところ高率にリステリア菌を分離した。
た。これらのことより、牛乳が本菌に污染される危険性はかなりあると考えられるので、牛の健康や、搾乳時の衛生面に注意するとともに、搾乳後の取扱いに特に、低温保存の徹底に細心の注意を払うことが肝要である。いったん原料乳が汚染されると5℃でも発育がみられるので、特に、生乳を用いてチーズ製造を行う場合の、取扱いに関してはなお一層の注意が必要と思われる。

一方、牛乳中のリステリア菌の耐熱性については、チーズ製造時の殺菌方法に準じた、温浴中で温度を上げ、その温度に達してからは1分間保持する方法では、56℃ではリステリア菌は生存したが、殺菌乳で60℃、生乳で62℃で死滅した。しかし、我々(3)が18%食塩水中での生存状況を見たとき、選択性のあるリステリア分離培地では発育しないが選択性のないプレインバートインフェージョン培地では発育する現象を観察し、損傷菌の存在を考えた。今回このようなことが起こっている可能性は高いので、もう少し高い温度をかけないと完全死滅にはならないかもしれない。

殺菌温度に関してはDoyleら(7)，Northoltら(8)，Bunningら(9)が検討しているが、方法、時間など異なるためより比較は難しい。彼らがPhagocyte(食細胞)の中に取り込まれたリステリア菌は耐熱性が強いためと報告していることより、今回の我々の結果で、生乳中のリステリア菌の死滅温度が62℃と殺菌乳の60℃より高かったことに関連があるかもしれない。

我々が参考にした工場では、カマンベールチーズの製造に用いる原料乳は72℃で1分間加熱しているので、今回この結果からみると完全に殺菌され、全く問題はないと思われる。しかし、方法の項で述べたように牛乳を銅ナベに入れ、下から加熱するやり方であるから、原料乳がリステリア菌の汚染を受けた場合、摂拌不十分や器具機材への付着などで、温度が上がりず殺菌不十分になる危険性が残ると考えられる。したがって、搾乳時及びその後の牛乳の衛生管理や殺菌時の取扱方法の確立が重要であると思われる。

まとめ

リステリア菌で人為的に汚染した牛乳(10⁵/ml, 10⁶/ml, 10⁷/ml)を18℃で保存した場合、速やかに増殖し、5℃で保存した場合、緩やかに増殖することがわかった。また、牛乳中のリステリア菌は、生乳、殺菌乳中で接種した両者とも、56℃1分間の加熱では死滅せず、殺菌乳で60℃1分間、生乳では62℃1分間の加熱で死滅した。

文献
1) 勝部泰次：モダメンメディア. 34. 477〜485 (1988)
2) 丸山 務：食品と微生物. 6, 3〜15(1989)
3) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知：“ソフト及びセミソフト・タイプのナチュラルチーズのリステリア菌汚染防止について” 昭和63年2月2日、衛乳第3号(1988)
4) 片山 淳ほか：山口衛公研業報.(11).1〜11 (1990)
5) 松崎静枝ほか：食衛誌. 32, 498〜503(1991)
6) 片山 淳ほか：山口衛公研業報.(13), 1〜4 (1992)