

大規模食鳥処理施設のリステリア及びサルモネラの汚染実態調査と
水洗浄及び次亜塩素酸ナトリウムによる屠体の洗浄消毒効果について

狩屋英明, 仲 克巳*, 大島律子, 中嶋 洋 (細菌科)

*くらしき作陽大学食文化学部栄養学科

【調査研究】

大規模食鳥処理施設のリステリア及びサルモネラの汚染実態調査と水洗浄及び次亜塩素酸ナトリウムによる屠体の洗浄消毒効果について

Survey of *Listeria* and *Salmonella* Contamination in Poultry Processing Plant and Effect of Washing and Disinfection of Their Carcasses by Dipping into Water and Sodium Hypochlorite Solution

狩屋英明, 仲 克巳*, 大島律子, 中嶋 洋 (細菌科)

Hideaki Kariya, Katsumi Naka, Ritsuko Ohata and Hiroshi Nakajima

*くらしき作陽大学食文化学部栄養学科

要 旨

大規模食鳥処理施設で採取した屠体・器具等の拭き取り検体からリステリア及びサルモネラの分離を試みたところ、水槽浸漬前の屠体、解体室の床及びまな板から *Listeria monocytogenes* を検出した。分離されたリステリアは全てが血清型 1/2a で、パルスフィールドゲル電気泳動による泳動パターンはよく似ており、屠体及び器具の相互汚染が推測された。サルモネラ汚染調査は、調査日ごとに変わる処理鶏群によって分離サルモネラの血清型は異なり、分離率が大幅に変動した。

[キーワード：リステリア, *L. monocytogenes*, サルモネラ, 食鳥処理場, 次亜塩素酸ナトリウム]

[Key words : *Listeria*, *L. monocytogenes*, *Salmonella*, poultry processing plant, sodium hypochlorite]

1 はじめに

リステリア症の主要症状は髄膜炎、死産、敗血症であり、重症化すると致死率の高い感染症である。また、主として反芻畜にも脳炎、死産等を引き起こす人畜共通感染症である。五十君^{1),2)}によると、日本における重症化したリステリア症は年間83人と推計され、症例数は少ないが、その発生頻度は欧米に比べても極端に低いものではないことが判ってきた。日本での調理用食肉からの *L. monocytogenes* 検出率は10~40%と高率で、特に鶏肉の汚染が高いと言われている。リステリア食中毒については日本ではナチュラルチーズによるものが1件ある³⁾。しかし、諸外国では食肉製品、チーズ、魚の冷燻製品を感染源とするものが多く発生している。近年では、2008年8月にカナダで加工肉食品が感染源と推測されたリステリア症が発生し、57人が感染し22人が死亡したと報告されている⁴⁾。

日本では食肉を感染源とするリステリア集団食中毒は発生していないが、市販肉の汚染度は欧米諸国と比較しても同程度である。当センターの調査でも市販食肉の

20%程度が汚染されており、鶏肉・豚肉は牛肉に比較して高い汚染率を示し、児童由来2株と鶏肉由来1株のパルスフィールドゲル電気泳動法(以下PFGE法)による泳動パターンが一致した⁵⁾。

また、サルモネラによる食中毒患者数も一時期に比べ近年は減少したものの、いまだに主要な食中毒菌であり、食肉のうち鶏肉の汚染率が高いことが分かっている^{6),7)}。そこで県内の外剥ぎ方式による大規模食鳥処理場で、屠体の汚染状況を工程を追って調査し、有効な屠体の洗浄消毒方法を検討したので報告する。

2 材料及び方法

2.1 屠体拭き取り及び検査方法

平成20年9, 10月に各1回, 11月に2回施設に立ち入りし、屠体の処理工程にしたがって肛門周囲の皮膚表面5×5cm²の拭き取り調査を行った(図1)。リステリアとサルモネラの分離は定法に従った^{8),9)}。すなわち、リステリアにはDifco™ UVM Modified *Listeria* Enrichment Brothで30℃2日間増菌後PALCAM-*Listeria*-Selective

●懸鳥→ 放血→ 浸漬→ 脱羽→ 残羽焼却→●→ 第一冷却槽→ → 第二冷却・消毒槽→●→

屠体水洗い●→ 次亜塩素酸ナトリウム 50～200ppm 消毒 ● 外はぎ・屠体細切

図1 食鳥処理工程中の拭き取り箇所 ●：屠体拭き取り箇所

agar (MERCK) 及び CHROMagar™ Listeria 寒天平板 (CHROMagar 社) に塗抹して、37℃ 48時間培養した。サルモネラは Buffered Peptone Water (OXOID) で 35℃、18～24時間一次増菌を行い、さらに、増菌と分離を同時に行うことのできる半流動寒天培地 Diagnostic Salmonella Semi-solid Rappaport Vassiliadis Medium (MERCK、以下 DIASALM) を使用し、42℃、18～24時間静置した。分離培養は、白糖加 SS 寒天培地 (日水)、CHROMagar™ Salmonella 寒天平板 (CHROMagar 社) に塗抹して、37℃、24時間培養した。

2.2 水槽通過後の屠体水洗及び次亜塩素酸ナトリウムによる消毒効果の検討

平成20年9月と10月の調査では、処理工程中水槽通過後の屠体について、水洗あるいは次亜塩素酸ナトリウム 50ppm～200ppm で処理した後、拭き取り調査を行った。拭き取り面積は全て屠体肛門周囲 5×5cm とした。

2.3 パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)

リステリアの PFGE は Graves ら¹⁰⁾ の方法に準じて行ったが、lysis buffer 処理は 52℃ で一晩とし、処理後のプラグ洗浄は、4mM Pefabloc SC (AEBSF) で行った。制限酵素処理は、Asc I (New England Biolabs) を使用し、1プラグあたり 25units で 37℃、3時間反応させた。電気泳動は CHEF-DR III (Bio-Rad) を使用し、1% SeaKem Gold agarose (CAMBREX) ゲルで行った。泳動の終わったゲルは、0.2～0.5μg/ml の Ethidium bromide

溶液で染色後脱色を行い、紫外線下で写真撮影して、Fingerprinting II (Bio-Rad) でバンドパターンを解析した。サルモネラの PFGE には制限酵素 *Bln I* (TaKaRa) を使用しリステリアと同様に実施した。

3 結果

3.1 拭き取り材料等からの菌検出状況

表1及び2に示すとおり、リステリアは平成20年10月17日の調査でのみ、残毛焼却後の屠体20検体中2検体とまな板1検体及び解体室床1検体からいずれも血清型1/2aが検出された。サルモネラは平成20年9月13日の調査で同一鶏群の複数の工程の屠体22検体から S.Havana 及び O4:d:- さらに S.Corrallis の3血清型が検出された。平成20年10月17日の調査では S.Corrallis が水洗屠体1検体から、平成20年11月14日の調査では床 (懸鳥場所) の拭き取りから S.Singapore を検出した。

表2 器具及び解体中の食肉の拭き取り結果

平成20.10.17	検体数	まな板	床	ステン台	解体中の食肉
		2	2	2	
陽性検体数	リステリア	1 ¹⁾	1 ¹⁾	0	
	サルモネラ	0	0	0	
平成20.11.14	検体数	2	3	2	
	陽性検体数	0	0	0	
平成20.11.26	検体数	3	2	4	
	陽性検体数	0	0	0	
平成21.3.13	検体数	3	1	2	4
	陽性検体数	NT	NT	NT	NT
		0	0	0	0

1) 血清型1/2a
2) S.Singapore
NT: not test

表1 各処理工程における屠体のリステリア及びサルモネラ汚染状況

	懸鳥	残羽焼却	第二冷却・消毒槽	屠体水洗	次亜塩素酸ナトリウム 消毒
平成20.9.13 検体数	20	20	20	20	20(200ppm 60s)
陽性検体数	リステリア	0	0	0	0
	サルモネラ	1 ¹⁾	8 ²⁾	9 ³⁾	4 ⁴⁾
平成20.10.17 検体数	20	20	20	24	24(50ppm 10s～200ppm 60s)
陽性検体数	リステリア	0	2 ⁶⁾	0	0
	サルモネラ	0	0	0	1 ⁵⁾

1) O4:d:-
2) S.Havana,O4:d:-,S.Corrallis
3),4) S.Havana,O4:d:-
5) S.Corrallis
6) 血清型1/2a

3.2 分離されたリステリア及びサルモネラのPFGEによる比較

分離されたリステリア4株のPFGEの結果は、図2に示した。どの株も類似したバンドパターンを示した。サルモネラについては平成20年9月13日に分離されたS.Havana及びO4:d:-の複数の菌株について、S.Havanaでは同一の、O4:d:-は近似したパターンを示した(図3、S.Corvallisについては未実施)。

3.3 屠体水洗と次亜塩素酸ナトリウムによる洗浄・消毒効果

平成20年9月13日及び10月17日の調査で44検体の水洗及び44検体の次亜塩素酸ナトリウムによる洗浄・消毒効果を調べた。リステリアは冷却槽通過後に菌が検出されなかったため、調査できなかった。サルモネラは9月13日の調査では冷却槽通過後に9検体が陽性であったが、水洗後には4検体に減少した。10月17日の調査では冷却槽通過後に菌は検出されなかったが、水洗後に1検体が陽性となり、次亜塩素酸ナトリウム消毒後に検出されなくなった(表1)。

4 考察

屠体から分離されたサルモネラの血清型は、同じ調査日の同一鶏群では同一であり、検査した同じ血清型株間

では、これらのPFGEによる泳動パターンは同一あるいは近似していた。S.Corvallisは9月及び10月に検出され、S.Singaporeは11月に検出されたことから鶏のサルモネラ保菌率は高く、施設の汚染が恒常化してその衛生管理が不十分な可能性が考えられる。サルモネラは9月13日の調査では、冷却槽通過後の9検体が陽性であったが、水洗後には4検体に減少しており、水洗の効果が見られた。10月17日の調査では冷却槽通過後に菌は検出されなかったが、水洗後の屠体1検体が陽性であった。器具からは全くサルモネラが検出されなかったことから、屠体皮膚の羽包を汚染していたサルモネラの析出等による水洗後の単発的汚染と推測された。

リステリアは計4回の調査のうち、平成20年10月17日に1回分離されたのみであったが、他施設では、6ヶ月に渡って継続的汚染が示されたこともあった¹¹⁾。また、外国ではアイスクリーム工場が、同じ遺伝子を持つリステリアに7年間継続汚染されていたという事例もある¹²⁾。しかし、今回の調査では処理施設の汚染は低かった。リステリアは株によってバイオフィーム産生能が異なることが示されている^{13), 14)}。継続的汚染を示した前報告のリステリアと、今回の単発的汚染を示したリステリアのバイオフィーム産生能が異なる可能性も考えられる。リステリアは同一鶏群を処理した日の残毛焼却屠体の拭き取

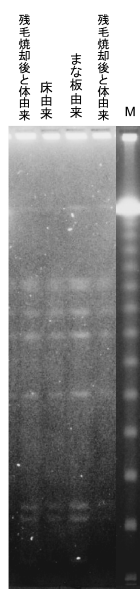


図2 分離された血清型1/2aのリステリアのPFGE像 (Asc I 使用)

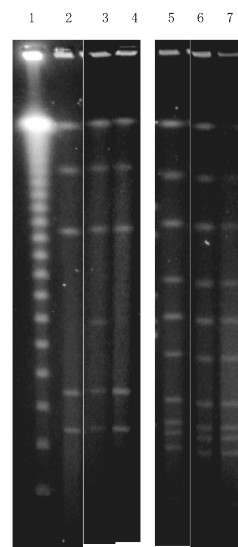


図3 分離されたサルモネラO4:d:-及びS.HavanaのPFGE像 (Bln I 使用)

- レーン1: M:分子量マーカー
- レーン2: 9月13日生鳥由来 (O4:d:-)
- レーン3: 9月13日残毛焼却後屠体由来 (O4:d:-)
- レーン4: 9月13日水槽通過後屠体由来 (O4:d:-)
- レーン5: 9月13日残毛焼却後屠体由来 (S.Havana)
- レーン6: 9月13日水槽通過後屠体由来 (S.Havana)
- レーン7: 9月13日水洗後屠体由来 (S.Havana)

り、まな板、解体室の床から分離されたが、それらの血清型は全て1/2aで、PFGEによる泳動パターンも似ていた。このことから、リステリア保菌鶏による同一菌の施設・器具への汚染が示され、処理後にこれらを十分消毒するなどの衛生対策が重要であると考えられる。以上のように、大規模食鳥処理場の屠体、器具等からリステリア、サルモネラが散発的に検出されたことは、より衛生的な食鳥処理の検討が必要であり、屠体の細菌汚染の減少に有効であった屠体の次亜塩素酸ナトリウムによる消毒設備又は水洗設備を設けるなど、今後、より衛生的な処理方法を検討する予定である。

謝 辞

検体採取にご協力いただいた岡山県食肉衛生検査所職員の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) 五十君静信：食品由来のリステリア菌による健康被害，食品衛生研究，53(4)，19-23，2003
- 2) 五十君静信：リステリア症の概況と対策，月刊フードケミカル，21(5)，32-37，2005
- 3) Makino,S.-I., Kawamoto,K., Takeshi,K., Okada,Y., Yamasaki,M., Yamamoto,S., Igimi,S. : An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan, during 2001, Int. J. Food Microbiol., 104, 189-196, 2005
- 4) Public Health Agency of Canada, *Listeria monocytogenes* outbreak, Final Update : April 17, 2009, http://www.phac-aspc.gc.ca/alert-alerte/listeria/listeria_2009-eng.php
- 5) 狩屋英明，大島律子，中嶋 洋，国富泰二：動物を含めた環境中及び調理用食肉のリステリア汚染状況，岡山県環境保健センター年報，28，73-77，2004
- 6) 国立感染症研究所 感染症情報センター(IDWR)：感染症の話，サルモネラ感染症，http://idsc.nih.gov.jp/idwr/kansen/k04/k04_05.html
- 7) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長：平成20年度食品の食中毒菌汚染実態調査の結果について，平成21年3月30日，食安監発第0330002号(2009)。
- 8) 仲真晶子，丸山 務：9 リステリア．食品衛生検査指針 微生物編，249-265．社団法人 日本食品衛生協会．東京．2004
- 9) 田村和満，仲西寿男：4 サルモネラ．食品衛生検査指針 微生物編，180-191．社団法人 日本食品衛生協会．東京．2004
- 10) Graves,L.M., Swaminathan,B. : PulseNet standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and pulsed-field gel electrophoresis, Int. J. Food. Microbiol., 65, 55-62, 2001
- 11) 狩屋英明，大島律子，中嶋 洋：食鳥処理施設材料から継続して分離されたリステリア及びそのパルスフィールドゲル電気泳動による型別，岡山県環境保健センター年報，30，93-97，2006
- 12) Mittinen,M.K., Bjorkroth,K.J., Korkeala,H. J. : Characterization of *Listeria monocytogenes* from an ice cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis, Int. J. Food. Microbiol., 46, 187-192, 1999
- 13) Borucki,M.K., Peppin,J.D., White,D., Loge,F., Call,D.R. : Variation in Biofilm Formation among Strains of *Listeria monocytogenes*, Appl. Environ. Microbiol., 69(12), 7336-7342, 2003
- 14) Folsom,J.P., Siragusa,G.R., Frank,J.F. : Formation of biofilm at different nutrient levels by various genotypes of *Listeria monocytogenes*, J. Food Prot., 69(4), 826-834, 2006