

牛乳中におけるリステリア菌の増殖及び耐熱性*

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テリア症が注目されている¹⁻³⁾。我々^{4,5)}は先にチーズ製造工場、牧場のリステ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槽水をリステ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テ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(加塩槽水)中で長期間生存することを報告し、これらがチーズのリステ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、リステ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、牛乳をリステリア菌で人為的に汚染し、牛乳中での本菌の動態並びに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テリア菌の動態
生乳及び市販乳を滅菌三角フラスコに1ℓずつとり、リステリア菌をそれぞれ 10^5 /ml, 10^3 /ml, 10^1 /mlの割に加え、おのおの5℃, 18℃に保存した。24時間毎にその一部をとり、リステリア菌数の変動を測定した。
- 2 牛乳中におけるリステリア菌の耐熱性
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工場で、原料乳の殺菌は銅ナベに乳を入れ攪拌しながら加熱、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考慮し、次のような方法で実施した。リステリア菌汚染乳は、生乳及び80℃で1分間加熱した殺菌乳にそれぞれ 10^5 /mlの割にリステリア菌を接種した。リステリア菌汚染乳を25×200mmの試験管に30mlずつ分注し、攪拌しながら湯浴中で加熱、50~70℃(2℃きざみ)で1分間加熱後、氷水中で急冷、リステ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、培地上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、半流動培地での傘状発育、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

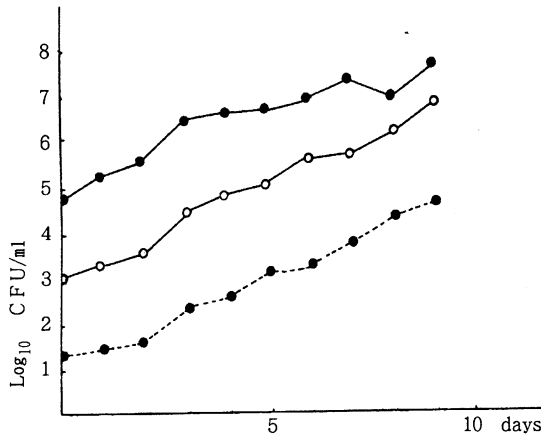


図1 牛乳でのリステリア菌の増殖状況(5℃保存)

- : リステリア菌を10⁵/mlの割合に接種
- : 10³/ml
- ⋯—⋯ : 10¹/ml

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。

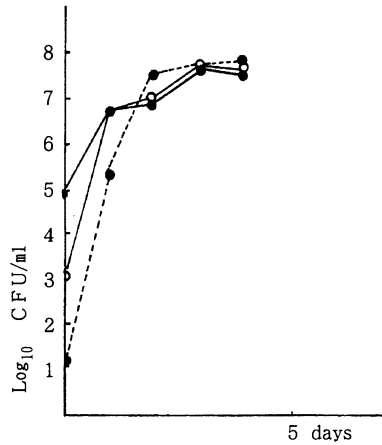


図2 牛乳でのリステリア菌の増殖状況(18℃保存)
記号は図1に同じ

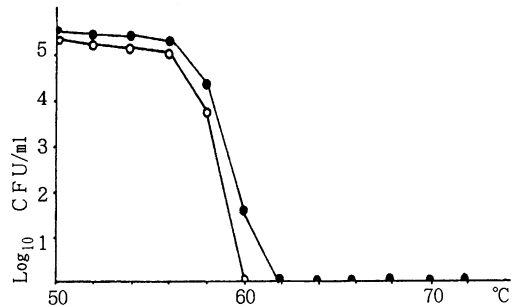


図3 牛乳中のリステリア菌の耐熱性

- : 生乳にリステリア菌を接種
- : 殺菌乳にリステリア菌を接種

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、加塩槽水の汚染、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、原料乳や加塩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、暫増しながら長期間存在した⁵⁾。また、牧場の調査⁴⁾や家畜の調査⁶⁾を行ったところ高率にリステリア菌を分離し

た。これらのことより、牛乳が本菌に汚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、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°C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方法の場合、取扱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、湯浴中で温度を上げ、その温度に達してからは1分間保持する方法では、56°Cまではリステリア菌は生残したが、殺菌乳で60°C、生乳で62°Cで死滅した。しかし、我々⁵⁾が18%食塩水中での生残状況を見たとき、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ブレインハートインフュ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。今回も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°Cと殺菌乳の60°Cより高かったことと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°Cで1分間加熱しているので、今回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、攪拌不十分や器具機材への付着などで、温度が上がら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, 10³/ml, 10¹/ml)を18°Cで保存した場合、速やかに増殖し、5°C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、殺菌乳中に接種した両者とも、56°C1分間の加熱では死滅せず、殺菌乳で60°C1分間、生乳では62°C1分間の加熱で死滅した。

文 献

- 1) 勝部泰次：モダンメディア. 34, 477~485 (1988)
- 2) 丸山 務：食品と微生物. 6, 3~15(1989)
- 3) 厚生省生活衛生局肉肉衛生課長通知：“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)
- 7) Doyle, M. P. et al: Appl. Environ. Microbiol. 53, 1433~1438(1987)
- 8) Northolt, M. D. et al: Neth. milk Dairy J. 42, 207~219(1988)
- 9) Bunning, V. K. et al: Appl. Environ. Microbiol. 54, 364~370(1988)