

第 5 調査研究

- 1 「管内A食肉処理施設における *Listeria monocytogenes* の汚染状況調査（第2報）」
（第35回全国食肉衛生検査所協議会中国・四国ブロック技術研修会）

山本 達哉

管内A食肉処理施設における *Listeria monocytogenes* の汚染状況調査（第2報）

愛媛県食肉衛生検査センター ○山本達哉、井上有希¹⁾、余吾希望²⁾、
尾崎和子、中村栄久

1) 現 愛媛県庁業務衛生課 2) 現 愛媛県八幡浜保健所

はじめに

Listeria monocytogenes（以下、*L. monocytogenes*）は、ヒトに胃腸炎や髄膜炎、敗血症等を引き起こす人獣共通感染症の原因菌である。動物の腸管内や土壌等の環境中に広く分布するが、ヒトへの感染は食品を介することが多く、乳製品や非加熱食肉加工製品、野菜等を原因とする食中毒事例が報告されている^{〔1〕}。また、国内流通食品における汚染状況調査では、食肉からの検出率が最も高く、重要な感染源の一つである^{〔1〕}。本菌は、熱に弱く70℃1分の加熱で容易に死滅する一方、-0.4℃という低温環境でも増殖可能である。このため、加熱工程のない食肉処理において、冷却による危害の制御は困難であり、加工工程における汚染を防ぐことが重要である。

これまで、当所管内Aと畜場における *L. monocytogenes* の汚染状況調査を行ったところ、牛枝肉及び牛盲腸内容物から、本菌は検出されなかった。しかし、併設するA食肉処理施設（牛カット室）において、令和4年1月から5月に実施した拭き取り検査で、包装前の牛ブロック肉の6.0%、作業開始前の機械器具等の7.1%、作業中の機械器具等の31.0%で、*L. monocytogenes* が検出された。このことから、過去にA食肉処理施設に持ち込まれた *L. monocytogenes* が、従事者の手指と機械器具等の間の交差汚染により、完全に除去されず、加工工程の中で、食肉及び食肉処理施設内を汚染し続けている可能性が考えられた。

今回、*L. monocytogenes* の危害及び機械器具等の洗浄消毒の徹底等の指導を行ったあとの、施設内汚染状況について調査を行ったので、その概要を報告する。

材料及び方法

（1）検査材料

令和5年10月、11月、令和6年7月に、A食肉処理施設の牛カット用機械器具等計50検体について、作業開始前の拭き取り検査を実施した。滅菌蒸留水に浸した拭き取り用成型ガーゼを用いて、表面10cm×10cm（表面積の小さい器具等については表面全体）を拭き取り、検査材料とした。

（2）検査方法

平成26年11月28日付け厚生労働省通知「リステリア・モノサイトゲネスの検査について」（最終改正：令和3年3月30日）に準じて実施した。

i) 増菌培養及び分離培養

滅菌ストマッカー袋に検査材料を入れ、half-Fraser 液体培地9mLを加えて360

秒ストマッカー処理し、30℃24 時間培養したものを一次増菌培養液とした。一次増菌培養液 0.1mL を Fraser 液体培地に接種し、37℃24 時間増菌培養したものを二次増菌培養液とした。一次増菌培養液及び二次増菌培養液を ALOA 培地に 1 白金耳画線塗抹して、37℃24～48 時間分離培養し、乳白色のハローを伴った青緑色の定型集落の有無を確認した。定型集落が見られた場合、その中から最大 3 つを選び、TSA 培地に塗抹して、37℃18～24 時間純培養した。

ii) *L. monocytogenes* の確認試験

i) で純培養した菌の形態観察及び性状確認を行い、グラム陽性短桿菌及びカタラーゼ試験陽性を示すものについて、熱抽出法により DNA を抽出し、PrimeSTAR® HS(Premix) (Takara) を用いて PCR を実施し、*L. monocytogenes* 特異遺伝子である *hlyA* 遺伝子の保有の有無を確認した。なお、プライマーは *L. monocytogenes* を検出するために構築された表 1 のものを使用し^[2]、PCR 反応時間は 98℃10 秒、55℃15 秒、72℃60 秒を 30 サイクルとした。

表 1 プライマー

プライマー名	塩基配列 (5' → 3')	検出遺伝子
LM1	C C T A A G A C G C C A A T C G A A	<i>hlyA</i>
LM2	A A G C G C T T G C A A C T G C T C	

成績

表 2 のとおり、令和 5 年 10 月に 12 検体中 1 検体、令和 6 年 7 月に 20 検体中 6 検体から、*L. monocytogenes* が検出された。一方、令和 5 年 11 月の 18 検体からは、*L. monocytogenes* は検出されなかった。

表 2 牛カット用機械器具等からの *L. monocytogenes* 検出結果

検体	令和 5 年 10 月 (抜き打ち検査)		令和 5 年 11 月 (指導後検査)		令和 6 年 7 月 (抜き打ち検査)	
	検体数	陽性検体	検体数	陽性検体	検体数	陽性検体
脱骨補助設備	4	1	5	0	5	3
カバー	2	0	2	0	2	1
カット作業台・まな板	2	0	1	0	2	0
中央コンベア	1	0	3	0	2	1
ローラー (板含む)	2	0	2	0	2	1
包装コンベア	1	0	3	0	2	0
包丁保管庫	—	—	2	0	2	0
真空包装前作業台	—	—	—	—	3	0
合計	12	1	18	0	20	6

考察

令和 5 年 10 月に、1 つ目の脱骨補助機から *L. monocytogenes* が検出されたが、再指導から 1 か月後の検査では検出されなかった。しかし、令和 6 年 7 月に、作業前半の脱骨補助機 3 機及びスイッチカバー 1 か所、部位ごとにカットされた肉が集約される中央コンベア

及び排出ローラーから検出された。これらは、比較的高所にあるものや、裏面のコンベアローラーなど、構造上、洗浄消毒が不十分になり易いものであった。

L. monocytogenes については、同一施設で製造された製品及びその製造環境から異なる日に同一のサブタイプを示す菌が繰り返し検出される施設定着株の存在が指摘されている^{〔3〕}。当所のこれまでの検査では、牛個体（枝肉及び盲腸内容物）から *L. monocytogenes* は検出されなかったが、A食肉処理施設内に侵入し、加工作業工程の中で、特に作業前半の脱骨補助機を中心に、蔓延、残存を繰り返していることが改めて示唆された。

令和5年10月において、*L. monocytogenes* は1か所のみの検出であった。しかし、見た目の汚れが目立つ箇所も確認されたため、次の検査では、汚れの目立つ箇所等も調査し、さらに、フードスタンプ（一般生菌、大腸菌群）を用いた施設汚染度の見える化を図った。施設の清浄化維持のためには、従業員の衛生管理の意識向上が必須である。これらの結果を受けて、令和6年8月に、牛カット工程の従事者及び責任者に対し衛生講習会を実施し、検査結果を踏まえた清掃の重要性や、PDCAサイクルを意識した施設の衛生管理について、改めて指導した。

今後、*L. monocytogenes* が検出された場所及び清掃が困難になりがちな場所を中心に、継続的にふき取り検査を実施し、A食肉処理施設内の食品衛生向上に寄与したい。また、A食肉処理施設では、別室で豚枝肉のカット処理も行っているため、今後、豚についても同様に、*L. monocytogenes* の調査により実態を把握し、施設全体の設備の衛生管理の徹底及び衛生的な食肉の取り扱いについて、継続的な指導をしていきたい。

参考文献

- 〔1〕 食品安全委員会：食品健康影響評価のためのリスクプロファイル（2021）
- 〔2〕 片桐和弘：*Listeria monocytogenes* を検出するための PCR プライマーの検討，日本食品微生物学会雑誌，17(2)，121-126（2000）
- 〔3〕 中村寛海：食品媒介リステリア症と食品製造施設のリステリア汚染ーリステリアの施設定着株を取り巻く話題ー，日本食品微生物学会雑誌，32(1)，1-11（2015）