

管内Aと畜場に併設する食肉処理施設における
Listeria monocytogenes の汚染状況調査（第3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⁾、金子俊朗³⁾

1)愛媛県業務衛生課 2)愛媛県八幡浜保健所 3)愛媛県西条保健所

1 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。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が困難であり、加工工程における汚染防止が重要となる。

当所管内Aと畜場における *L.monocytogenes* の汚染状況調査として、令和元年10月から12月に牛体表及び糞便、令和2年10月から令和3年2月に枝肉肛門周囲部、令和4年1月から5月に盲腸内容物を検査したが、*L.monocytogenes* は検出されなかった（表1）。

一方で、令和4年1月から5月に、Aと畜場に併設するB食肉処理施設（牛カット室）の汚染状況調査を行ったところ、作業開始前及び作業中の機械器具に加え、カットされた包装前のブロック肉からも *L.monocytogenes* が検出された。このことから、従事者の手指や機械器具等を介した交差汚染により、加工工程の中で *L.monocytogenes* が、食肉及び食肉処理施設内を汚染している可能性が示唆された（表2）。

表1 これまでの検査結果（Aと畜場：牛）

検体	体表	直腸便	枝肉 (肛門周囲部)	
			盲腸内容物	
検体数	30	30	100	102
陽性数	0	0	0	0

表2 これまでの検査結果（B食肉処理施設：牛）

検体	機械器具		牛肉（カット後）
	作業前	作業中	
検体数	42	29	100
性数(陽性率)	3 (7.1%)	9 (31.0%)	6 (6.0%)※

※当該牛の盲腸内容物からは検出無し

この結果を受け、施設管理者等に対し、*L. monocytogenes* の危害及び機械器具等の洗浄消毒の徹底等を指導し、その後の施設汚染状況について調査を行った。令和5年10月の検査では、最初の脱骨補助機のみ *L. monocytogenes* が検出されたが、再指導を行った結果、翌月11月の検査では *L. monocytogenes* は検出されなかった。しかし、令和6年7月に再度拭き取り検査を行ったところ、作業前半の脱骨補助機3機及びスイッチカバー1か所、カット肉が集約される中央コンベア及び排出ローラーから *L. monocytogenes* が検出され、施設内に広く残存していたことが確認された。

これらは、比較的高所にあるものや、裏面の低い位置にコンベアローラーがあるなど、構造上、洗浄消毒が困難なものであった。接触面を全て拭き取りしている脱骨補助機からも再検出されており、と畜工程において枝肉に付着したものや、機械器具等に残存してい

たものが、施設内で蔓延している可能性が示唆された（表3）。

表3 清掃指導後の検査結果（B食肉処理施設：牛）

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	陽性数	検体数	陽性数	検体数	陽性数
	脱骨補助設備	4	1	5	0	5
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

また、*L. monocytogenes* 非検出であるが、外見上の汚れが確認された場所もあったため、令和5年11月以降の検査では、衛生管理指標の一つとして、拭き取り検査に併せて、フードスタンプ（島津ダイアグノスティクス㈱：一般生菌、大腸菌群）を用いた施設清潔度の評価も並行して実施した。これらの結果を踏まえ、令和6年8月に牛カット処理の従事者及び責任者を対象とした衛生講習会を実施し、B食肉処理施設（牛カット）における清掃の重要ポイントや、PDCAサイクルを意識した施設の衛生管理について指導した。

今回、講習会実施後の施設の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。

2 材料及び方法

(1) *L. monocytogenes* 検査

ア) 検査材料

令和6年9月（講習会后）に24検体、令和7年5月（継続調査）に25検体、B食肉処理施設の牛カット用機械器具等について、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。

イ) 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）に準じて実施することとした。

① 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 9 mL を加えて 360 秒ストマッカー処理し、30°C24 時間培養したものを一次増菌培養液とした。また、一次増菌培養液 0.1mL を Fraser 液体培地に接種し、37°C24 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 白金耳面線塗抹して、37°C24～48 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、ヒツジ血液寒天培地に塗抹して、37°C18～24 時間純培養した。

② *L.monocytogenes* の確認試験

①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 4 のものを使用し、PCR 反応時間は 98°C10 秒、55°C 15 秒、72°C60 秒を 30 サイクルとした。

表 4 プライマー

プライマー名	塩基配列 (5'→3')	検出遺伝子
LM1	CCT AAG ACG CCA ATC GAA	<i>hlyA</i>
LM2	AAG CGC TTG CAA CTG CTC	

(2) 施設内清潔度の評価

(1)と併せて、フードスタンプ (島津ダイアグノスティクス株) を用いた清潔度評価を行った。採材箇所は、(1)の拭き取り箇所の近くとし、一般生菌用及び大腸菌群用の 2 種類を軽く押し付け、37°C24～48 時間培養を行った。一般生菌数の評価は、島津ダイアグノスティクス株ホームページに記載の判定表を参考に、集落数が 0～9 個を「◎：ごくわずか」、10～29 個を「○：軽度」、30～99 個を「△：中等度」、100 個以上を「×：重度」として 4 段階で評価した。

(3) 衛生講習会の実施

施設内清掃等、衛生管理の意識を高めるために、令和 7 年 7 月に、食肉処理施設全体の従業員及び管理者等を対象とした、衛生講習会を実施した。

3 結果

表 5 及び表 6 のとおり、*L.monocytogenes* 及び大腸菌群は検出されなかった。一般生菌数は、講習会で指摘していた中央コンベア及び黒色汚れのある裏面ローラーの清掃により、令和 6 年 9 月の検査では菌数の改善が見られた。一方で、外見上は特に汚れが見られなかった包装コンベアなど作業後半で菌数が多く確認されたため、施設管理者及び品質管理者に対し、当該箇所の清掃強化を指導したところ、令和 7 年 5 月の検査では、指摘範囲以外の清掃も行き届いており、菌数も施設全体で良好な結果となった。これらの結果を踏まえ、7 月の衛生講習会において、清掃管理の重要性を従業員及び管理者等へ再度周知した。

表5 検査結果（令和6年9月）

採材場所	リステリア	フードスタンプ	
		一般生菌	大腸菌群
受話器	—	◎	◎
P・1	—	◎	◎
P・1（スイッチカバー）	—	◎	◎
P・2	—	◎	◎
P・3	—	◎	◎
P・4（内側：黒い部分）	—	◎	◎
作業台（金属）	—	◎	◎
中央コンベア	—	○	◎
中央コンベア	—	◎	◎
中央コンベア	—	◎	◎
中央コンベア裏（ローラー）	—	◎	◎
中央コンベア裏（ローラー）	—	◎	◎
中央コンベア裏（ローラー）	—	◎	◎
中央コンベア裏（バー）	—	◎	◎
ローラー（金属部分）	—	◎	◎
ローラー（板部分）	—	◎	◎
包装コンベア①（手前）	—	×	◎
包装コンベア①（手前）	—	×	◎
包装コンベア②（奥）	—	◎	◎
作業台（袋置き場周囲）	—	◎	◎
包丁保管扉（右）	—	○	◎
包丁保管扉（左）	—	△	◎
真空包装前作業台（手前）	—	△	◎
真空包装前作業台（奥）	—	○	◎

※◎で色付きは、1~9個のコロニー確認箇所

表6 検査結果（令和7年5月）

採材場所	リステリア	フードスタンプ	
		一般生菌	大腸菌群
受話器	—	◎	◎
P・1	—	◎	◎
P・1（スイッチカバー）	—	◎	◎
P・2	—	◎	◎
P・3	—	◎	◎
P・4（内側：黒い部分）	—	◎	◎
作業台（金属）	—	◎	◎
中央コンベア	—	◎	◎
中央コンベア	—	◎	◎
中央コンベア裏（ローラー）	—	◎	◎
中央コンベア裏（ローラー）	—	◎	◎
中央コンベア裏（ローラー）	—	◎	◎
中央コンベア裏（バー）	—	◎	◎
ローラー（金属部分）	—	◎	◎
ローラー（板部分）	—	◎	◎
まな板	—	◎	◎
包装コンベア①（手前）	—	◎	◎
包装コンベア①（手前）	—	◎	◎
包装コンベア②（奥）	—	◎	◎
ターンテーブル（包装コンベア後）	—	◎	◎
作業台（袋置き場周囲）	—	◎	◎
包丁保管扉（右）	—	◎	◎
包丁保管扉（左）	—	◎	◎
真空包装前作業台（手前）	—	◎	◎
真空包装前作業台（奥）	—	◎	◎

4 考察及びまとめ

L.monocytogenes については、同一施設で製造された製品及び製造環境から、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。B 食肉処理施設においても、繰り返し *L.monocytogenes* が検出されてきたが、*L.monocytogenes* 検査や、フードスタンプを用いた衛生指標菌の検査結果をもとにした講習会の実施により、施設清潔度の見える化、清掃管理に関する問題点を明確化することができた。その結果、従業員における清掃意識が強化され、後の検査においては、*L.monocytogenes* の新たな検出もなく、フードスタンプ結果も改善され、施設内が衛生的に管理されるようになった。この施設では、牛カットを担当する従業員数も少なく、処理作業から清掃作業まで一貫して従業員が実施しているため、対象を絞った講習会及び検証の実施が効果的であり、衛生管理が改善した要因の一つであると考えられる。

今後も定期的な施設監視により施設の衛生状態を確認し、担当する従業員を対象にした衛生講習会を実施し、従業員の清掃意識及び施設全体の清掃管理の更なる向上に繋げていきたい。今回、並行して実施したフードスタンプは、作業手順、評価、共有ともに容易で従業員にも分かりやすく、事業者の自主管理においても、施設清潔度の評価方法として導入を検討できるものと考えられた。これらにより、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の維持及び向上が図られるよう、継続的な指導をしていきたい。