

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33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）
（令和4年度食肉及び食鳥肉衛生研究発表会）

余吾 希望

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

愛媛県食肉衛生検査センター ○余吾希望、井上有希、大西利恵
二宮美穂、堀江陽二、毛利靖
得居格

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しているが、ヒトへの感染は食品を介することが多く、乳製品や食肉加工製品、野菜等を原因とする食中毒事例が報告されている〔1〕。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が、-0.4℃という低温環境でも増殖可能であることから、加熱工程のない食肉の場合、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。

そこで、令和2年度に当所管内Aと畜場における *L. monocytogenes* の汚染状況を把握するため、牛及び豚の枝肉の拭き取り調査を実施したところ、本菌は検出されなかった。しかし、食肉の場合は加工工程が進むに従って汚染率が増加する傾向にあるとの報告もある〔1〕ことから、Aと畜場に併設された食肉処理施設（以下、A食肉処理施設）においてカットされた牛ブロック肉の汚染状況を調査するとともに、同一個体の盲腸内容物及び施設内の機械器具等についても調査を実施した。

材料及び方法

(1) 検査材料

令和4年1月から5月に、①管内Aと畜場に搬入された牛（20農場由来 102頭）の盲腸内容物 102検体、②①の牛のうち無作為に選定した19頭の枝肉から、A食肉処理施設においてカットされたブロック肉（包装前）100検体、③A食肉処理施設の牛カット用機械器具等71検体について検査を実施した。

①については内臓検査時に約1gを採取し、②及び③については滅菌蒸留水に浸したガーゼタンポンで表面10cm×10cm（面積の小さい器具等については表面全体）を拭き取り、それぞれ検査材料とした。

(2) 検査方法

増菌及び分離方法については、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。

1) 増菌及び分離方法

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℃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。

2) 同定方法

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 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 | CCT AAG ACG CCA ATC GAA | <i>hlyA</i> |
| LM2 | AAG CGC TTG CAA CTG CTC | |

成績

牛ブロック肉 100 検体中 6 検体 (6.0%)、牛カット用機械器具等 71 検体中 12 検体 (16.9%) (検出状況の詳細は表 2 のとおり) から *L. monocytogenes* が検出された。一方、盲腸内容物 102 検体から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* 検出状況

| 検体 | | 検体数 | 陽性検体数 (%) |
|---------------|-------|-----|-----------|
| ナイフ・棒やすり・電動鋸 | 作業開始前 | 18 | 0 (0) |
| | 作業中 | 4 | 1 (25.0) |
| まな板 | 作業開始前 | 14 | 0 (0) |
| | 作業中 | 16 | 5 (31.3) |
| 脱骨補助設備 | 作業開始前 | 4 | 1 (25.0) |
| | 作業中 | — | — |
| 包装コンベア | 作業開始前 | 1 | 0 (0) |
| | 作業中 | 4 | 2 (50.0) |
| カットコンベア | 作業開始前 | 3 | 1 (33.3) |
| | 作業中 | 3 | 0 (0) |
| その他 (スイッチカバー) | 作業開始前 | 2 | 1 (50.0) |
| | 作業中 | 2 | 1 (50.0) |
| | 作業開始前 | 42 | 3 (7.1) |
| | 作業中 | 29 | 9 (31.0) |
| 合計 | | 71 | 12 (16.9) |

考察及びまとめ

本調査において、牛ブロック肉の 6.0%から *L. monocytogenes* が検出されたが、同一個体の盲腸内容物からは検出されなかった。一方、作業開始前の機械器具等の 7.1%から検出されており、作業中の機械器具等からも 31.0%と高率に検出されていること、令和 2 年度の当所の調査において冷蔵庫搬入前の枝肉表面からは検出されていないことから、牛ブロック肉はカット工程において機械器具等から汚染された可能性が示唆された。また、今回、作業開始前に *L. monocytogenes* が検出されたのは、脱骨補助設備（バックサポート）、カットコンベアのローラー部分、合成樹脂製スイッチカバーの 3カ所であり、構造上、洗浄消毒が不十分と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〕。A食肉処理施設においても、過去に持ち込まれた *L. monocytogenes* が機械器具等に付着したまま除去されず、食肉を汚染し続けている可能性が考えられた。A食肉処理施設に対しては、*L. monocytogenes* の危害について認識させるとともに、機械器具等の洗浄消毒の徹底及び必要に応じた交換等の対応を指導しているところである。牛について引き続き調査するとともに、A食肉処理施設では別室において豚のカット処理も行っていることから、今後、豚についても同様に調査して実態を把握し、施設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。

〔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（2020）

〔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）