

# 管内Aと畜場における *Listeria monocytogenes* の汚染状況調査

愛媛県食肉衛生検査センター ○井上有希 大西利恵 二宮美穂  
河瀬智子 毛利靖 木村俊也

## 1 はじめに

*Listeria monocytogenes* (以下、*L. monocytogenes*) は動物の腸管内や土壌等の環境中に広く存在する人獣共通感染症の原因菌である。ヒトが感染すると軽度の場合は胃腸炎症状等を呈したのち治癒するが、高齢者や妊婦、基礎疾患のあるヒト等が感染すると髄膜炎や敗血症、流産等の重篤な症状を呈し高い致死率を示す。食品を介してヒトに感染することが多く、乳製品やハムなどの食肉加工製品、野菜等の喫食を原因とする食中毒事例が報告されている<sup>[1]</sup>。国内で流通している食品における *L. monocytogenes* の汚染状況の調査では食肉からの検出割合が最も高く 16.9%となっており、重要な感染源の一つである<sup>[1]</sup>。

*L. monocytogenes* の汚染率は牛や豚の腸内容物、枝肉、そして流通している食肉の順に高くなるとの報告がされている<sup>[1]</sup>。本菌は熱に弱く 70℃ 1 分の加熱で容易に死滅するが、増殖可能な温度は-0.4~45℃と低温環境に強い。また、水谷らによると畜場の機材や設備等の *L. monocytogenes* 汚染率調査では、作業前の軍手や背割り機、床などの作業環境から検出されており、家畜自身が保有する *L. monocytogenes* が直接枝肉を汚染するだけでなく、処理工程においてこれらの器具等が汚染源となるとの報告がある<sup>[2]</sup>。作業中に本菌が枝肉に付着すると除去が困難である。また、と畜場における枝肉の冷却工程は微生物制御のための重要な工程の一つですが、*L. monocytogenes* は冷蔵庫内でも増殖が可能であることから、枝肉を汚染させないことがもっとも重要である。

そこで、管内Aと畜場（2018年3月 IS022000 取得）に搬入された牛及び豚の枝肉表面における汚染状況について調査を行ったので概要を報告する。

## 2 材料及び方法

### (1) 検査対象

令和2年10月から令和3年2月に管内Aと畜場に搬入された牛（27農場由来）及び豚（8農場由来）各100頭

### (2) 検査材料

枝肉検査場所（背割り直後、トリミング前）において枝肉の肛門周囲部 10×10cm を滅菌蒸留水に浸したガーゼタンポンで拭き取り検査材料とした。

### (3) 検査方法

増菌及び分離方法については、平成26年度厚生労働省通知「リステリア・モノサイトゲネスの検査について」に準じて実施した。

#### 1) 増菌及び分離方法

##### a) 一次増菌培養による分離

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する。ALOA 培地に一次増菌培養液を 1 白金耳画線塗抹して 37℃24 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する。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 時間純培養する。

b) 二次増菌培養による分離

a) で作成した一次増菌培養液 0.1mL を Fraser 液体培地に接種し、37℃48 時間増菌培養したものを二次増菌培養液とする。ALOA 培地に二次増菌培養液を 1 白金耳画線塗抹して 37℃24 時間分離培養し、定型集落の有無を確認する。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 時間純培養する。

2) 同定方法

1) で純培養した菌の性状確認を行い、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 PCR 法によりリステリア特異遺伝子 (*hlyA* 遺伝子 : 276bp) 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下表のものを使用し、反応条件は 95℃ 1 分、50℃ 2 分、72℃ 1 分を 30 サイクルした後 72℃ 8 分の最終伸長を行った<sup>[3]</sup>。

表 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	

3 結果

枝肉から採取したいずれの検体からも、*L. monocytogenes* は検出されなかった。

4 考察及びまとめ

2004 年に国内で報告された *L. monocytogenes* 汚染率調査では、牛の枝肉表面から 4.9%、豚の枝肉表面から 7.4% が検出されている。と畜場における枝肉の汚染経路としては、剥皮時の被毛と枝肉との接触や内臓摘出時に損傷した腸管からの内容物の付着のほか、洗浄消毒が不十分な施設設備や器具等を介して枝肉に菌が付着することがある<sup>[3]</sup>。

今回調査した枝肉から採取したいずれの検体からも *L. monocytogenes* は検出されなかったが、検体採取時 (背割り直後、トリミング前) の枝肉には被毛の付着や消化管内容物の付着を確認した。食肉を原因とするリステリア症の発生を予防するためには、と畜場の施設設備の適切な衛生管理や作業従事者の衛生意識を高く保つことが必要不可欠である。今後も引き続き調査を行い、衛生的な枝肉の取り扱いを指導していきたい。また、*L.*

*monocytogenes* は枝肉に比べミンチ肉やスライス肉等の加工された食肉でより高い汚染率を示す傾向があることから、今後は管内Aと畜場に併設する食肉処理施設において加工された食肉や施設、機材等の拭き取り検査を実施し、次の作業工程における *L. monocytogenes* の汚染の有無や汚染経路を調査したい。

## 5 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（2020）
- [2] 水谷浩志：枝肉における *Listeria monocytogenes* の汚染実態とその汚染源，日獣会誌 46, 343～346(1993)
- [3] 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 Jpn. J. Food Microbiol., 17(2), 121-126, 2000
- [4] 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，日本食品微生物学雑誌 Jpn. J. Food Microbiol., 32(1), 1-11, 2015