

令和6年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

と畜・食鳥処理場における HACCP の検証

及び食肉・食鳥肉の衛生管理の向上に資するための研究

分担研究報告書

と畜場・食鳥処理場の環境モニタリング手法に関する研究

分担研究者	下島優香子	東洋大学食環境科学部
研究協力者	小田みどり	静岡県食肉衛生検査所
	中江優貴	静岡県食肉衛生検査所
	小野田伊佐子	静岡県食肉衛生検査所
	久永崇宏	静岡県食肉衛生検査所
	平野かおり	山形市食肉衛生検査所
	安藤知弘	山形市食肉衛生検査所
	茂木啓陽	四日市市保健所食品衛生検査所
	小野亜矢子	浜松市保健環境研究所食肉衛生検査所
	村上 拡	セッツ株式会社
	岡田由美子	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	森田幸雄	麻布大学獣医学部
	巻島太一, 茂垣翔大	東洋大学食環境科学部
	西宮市食肉衛生検査所	

研究要旨

と畜場および食鳥処理場における施設環境モニタリングとその手法を提案するために、実際にと畜場で微生物環境モニタリングを実施し、検討を試みた。と畜場等を対象として一般生菌数、腸内細菌科菌群の測定および *Listeria* spp. の分離を行った。衛生指標菌の測定では、環境の汚染状況が示された。*Listeria monocytogenes* を含む *Listeria* spp. が冷蔵庫取っ手、壁、床、処理室床等から分離された。*L. monocytogenes* を含む *Listeria* spp. は牛生体外皮や牛盲腸便からも分離され、牛の外皮や腸管に存在する *L. monocytogenes* が施設を汚染する可能性が示唆された。*L. monocytogenes* および *L. innocua* は MLST 解析により汚染経路推定等に活用できると考えられた。簡易代替試験法としてフィルム培地の使用が想定され、混釈法と比較した。一般生菌数は高い相関を示した。腸内細菌科菌群は中程度の相関を示したが、フィルム培地法ではオキシダーゼ陽性菌が定型集落を形成して腸内細菌科菌群として検出されてしまう可能性が考えられた。ふき取り資材の含浸液について、リン酸緩衝生理食塩水と、消毒薬を中和して損傷菌の発育を支持する中和バッファー等を比較したところ、中和バッファーの効果は限定的であることが示唆された。次年度は食鳥処理場や食肉処理場を対象に行う予定である。

A. 研究目的

国内のと畜場では HACCP に基づく衛生管理が義務化されている。食肉は細菌汚染を受けやすく、調理品のように加熱や消毒等の積極的な殺菌工程がない。そのため食肉の安全性確保には、適切な衛生管理とその検証が必要となる。

食品を扱う環境のモニタリングは、一般的衛生管理の確認および HACCP の検証として有用である。現在、食品製造施設においては、衛生指標菌や病原菌を対象とした環境モニタリングが行われている。病原菌の中でも *Listeria monocytogenes* は、低温で増殖すること、バイオ

フィルムを形成して食品製造環境に定着し、食品製品を汚染するリスクがあることから、Codex や USDA/FSIS, FDA では調理せずにそのまま喫食する食品を製造する施設において *L. monocytogenes* やその指標菌となる *Listeria* spp. の環境モニタリングを推奨している。

令和5年度、食肉衛生検査所を対象に国内のと畜場および食鳥処理場における環境モニタリング実施状況のアンケート調査を行った。その結果、国内の食肉衛生検査所は、と畜場および食鳥処理場の35%で環境モニタリングを実施していた。検査項目は一般生菌数、大腸菌群および腸内細菌科菌群が多く、食鳥処理場ではサルモネラ、カンピロバクター、黄色ブドウ球菌も対象としていた。しかし、*Listeria* を対象としていた施設は2施設のみであった。また、88施設中22施設ではフィルム培地を使用していた。

環境をサンプリングする際には、綿棒やスポンジ等のふき取り資材を湿らせて行うが、その含浸液は日本では一般的に生理食塩水やリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) が用いられている。しかし海外では、環境に残存する消毒薬を中和し、損傷菌の発育を支持する緩衝液が用いられている。

令和6年度は、環境モニタリングの有用性を検証するために、令和5年度に引き続き国内のと畜場等において環境微生物モニタリングを行った。その際に、ふき取り資材の含浸液の比較や、フィルム培地と混釈法の比較を行った。

B. 研究方法

1) 対象施設とふき取り検体

2023年および2024年に、食肉衛生検査所5施設 (A,B,D,E,F) が担当する、と畜場および食鳥処理場の牛と畜エリア4か所、豚と畜エリア3か所、牛豚と畜エリア2か所、食鳥処理場1エリアおよびジビエ解体処理施設1施設を対象とした (表5-1)。

各エリアにおいて環境を4~26検体サンプリングした (表5-1)。加えて、施設Aの牛エリアで4検体、豚エリアで1検体、施設Cのジビエエリアで4検体、生体の外皮やと体をサンプリングした。

2) 環境のサンプリング方法

PBS, 中和バッファー (NB) 各10 mLで湿らせたスポンジスティック (NEOGEN), ワイドスペクトラム中和バッファー (WSNB) 10 mLで湿らせたスクラブドット付スポンジスティック

(NEOGEN) のいずれかまたは複数の拭取り資材を用いて、または綿棒タイプのふき取り資材 (エルメックス) を用いて、約30×30 cmまたは約10×10 cmを拭取り、冷蔵にて保管および輸送し、18~48時間後に試験に供した (表5-1)。

3) 環境モニタリング試験方法

3-1) 衛生指標菌混釈法

含浸液1 mLをPBS 9 mLに分け取り10倍希釈液を作製し、適宜階段希釈を行って、一般生菌数および腸内細菌科菌群を測定した。一般生菌数は標準寒天培地 (栄研化学) を用いて混釈し、35°Cで48時間培養後に菌数を計測した。腸内細菌科菌群はVRBG寒天培地 (Oxoid) で混釈し、37°C, 24時間培養した。発育した定型集落を釣菌し、オキシダーゼ試験陰性およびブドウ糖発酵を確認して、菌数を算出した。

3-2) 衛生指標菌フィルム培地法

3-1)と同様に希釈液を作製し、一般生菌数はペトリフィルム 生菌数測定用プレート (ACプレート, NEOGEN) を用いて35°Cで48時間培養して菌数を計測した。腸内細菌科菌群はペトリフィルム 腸内細菌科菌群数測定用プレート (EBプレート, NEOGEN) を用いて37°C, 24時間培養して計測した。菌数の計測はペトリフィルム プレートリーダー アドバンス (NEOGEN) を用いて行った。EBプレートで陽性となった検体のうち一部のプレートについて、2日間冷凍保管後、2コロニーを釣菌してオキシダーゼ試験とブドウ糖発酵試験を行った。釣菌したコロニーが死滅していた場合は、冷蔵庫に保管していた含浸液の10倍希釈液を用いて再度EBプレートに接種し、再試験を行った。

3-3) リステリア試験法

衛生指標菌試験用に含浸液を分け取った残りの拭取り容器に、hFB培地 (Merck) 90 mLを入れて30°C, 25時間培養した。ただし綿棒タイプの拭取り容器には2倍濃度のhFB培地を9 mL入れて培養した。増菌培養液をFB培地 (Thermo Fisher Scientific) 10 mLに0.1 mL入れて37°C 24時間で培養した。それぞれの増菌培養液をクロモアガーリステリア (関東化学), PALCAM寒天培地 (Merck) に画線塗抹し、37°C48時間まで培養した。発育した定型集落を釣菌し、グラム染色後鏡検、カタラーゼ試験、溶血性試験、運動性試験、ラムノース, キシロース, マンニット, タガトースの炭水化物分解試験による生化学性状試験およびリステリア属菌に特異的な *prs* gene を

検出する PCR 法で菌種同定を行った。分離された *L. monocytogenes* は、型別用免疫血清（デンカ）を用いて血清型別を行った。

4) 牛盲腸内容物からのリステリア分離

施設 B で 2023 年 5 月～7 月に、56 農場の正常畜 102 頭を対象に盲腸内容物を採取した。試料を hFB 培地または UVM 培地を用いて 30℃ で 24 時間一次増菌、FB 培地を用いて 35℃ で 24～48 時間二次増菌培養し、クロモアガーリステリアに画線塗抹して 37℃ で 24～48 時間、Oxford 寒天培地、PALCAM 寒天培地に画線塗抹して 35℃ で 24～48 時間培養して分離を行った。得られた定型集落はグラム染色後鏡検、カタラーゼ試験、CAMP 試験、Api Listeria による同定を行った。

5) MLST 解析

分離された *L. monocytogenes* および *L. innocua* を対象に、パスツール研究所のプロトコールに準じて MLST 解析を行った (<https://bigsd.bpasteur.fr/listeria/>)。ただし *L. innocua* では、7 locus (*abcZ*, *bglA*, *cat*, *dapE*, *dat*, *ldh*, *lhkA*) のうち *lhkA* は令和 5 年度に本研究で作成したプライマーを用いて行った。

6) 統計解析

統計解析は EZR Ver. 1.68 を用いて行った。陽性率の比較にはフィッシャーの正確確率検定、2 者間の平均値の比較には t 検定、3 者間の平均値の比較には ANOVA と多重比較を行い、 $p < 0.05$ で有意差ありとした。

C. 研究結果

1) と畜場等の環境モニタリング

食肉衛生検査所 6 施設が担当すると畜場等の一般生菌数は $<1 \sim 9.1 \log \text{cfu/mL}$ に分布した (表 5-2)。7 $\log \text{cfu/mL}$ を超えたのは、A 牛エリアでは処理室床、排水溝、A 豚エリアでは背割機、洗浄機、E 牛エリアではロッキングペン扉、E 豚エリアでは作業台、コンベア、と体誘導バー、F 牛豚エリアでは処理室床、作業台であった。腸内細菌科菌群は $<1 \sim 5.1 \log \text{cfu/mL}$ に分布した (表 5-2)。3 $\log \text{cfu/mL}$ を超えたのは、A 牛エリアでは排水溝、A 豚エリアでは自動背割機および自動洗浄機、C ジビエエリアでは床、E 牛エリアでは作業台、処理室床、E 豚エリアでは作業台、コンベア、処理室床であった。

Listeria spp. が分離されたのは、A 牛エリアで 4 検体 (処理室床 2 検体、冷蔵庫壁 1 検体、排水溝 1 検体)、E 牛エリアで 4 検体 (処理室床 2 検

体、ロッキングペン扉 1 検体、作業台 1 検体)、E 豚エリアで 1 検体 (作業台)、F 牛豚エリアで 2 検体 (冷蔵庫床 1 検体、冷蔵庫取っ手 1 検体) であった。F 施設の冷蔵庫床からは *L. monocytogenes* 1/2c も分離された。そのため翌月、冷蔵庫周りを対象に追加モニタリングを行った。その結果 10 検体中 7 検体 (冷蔵庫取っ手 3 検体、冷蔵庫床 2 検体、冷蔵庫壁 1 検体、冷蔵庫通路床 1 検体) から *Listeria* spp. が分離された。なお追加モニタリングでは *L. monocytogenes* は分離されなかった。

また、A 牛エリアにおいて外皮 2 検体から *L. innocua* を含む *Listeria* spp. が分離された。

2) 環境由来株および牛外皮由来株の MLST 解析

F 施設から分離された *L. monocytogenes* 株は *lhkA* のアリル番号が決定せず、新規アリルおよびプロファイルを申請し、ST 3370 (CC9, Lineage II) と割り当てられた (表 5-3)。A 施設の *L. innocua* 2 株は昨年度報告したように、ST2364 であった。E 牛エリアから分離された *L. innocua* は ST1482, ST448 が認められた。内臓コンベアの床と内臓受け台から分離された *L. innocua* はいずれも ST448 であった。E 豚エリアから分離された株は 3 アリルが決定せずに UT となった。

3) 混釈法とフィルム培地の比較

D 豚エリア 10 か所 10 検体 (含浸液 NB) および F 牛豚エリア 21 か所 47 検体 (含浸液 NB : 21 検体、PBS : 13 検体、WSNB : 13 検体) を対象に、一般生菌数と腸内細菌科菌群を混釈法とフィルム培地法で比較した。一般生菌数は混釈法とフィルム培地法 ($R^2=0.977$) で強い相関を示した (図 5-1A)。腸内細菌科菌群 ($R^2=0.503$) は中程度の相関を示した (図 5-1B)。混釈法とペトリフィルム法で陽性となる検体は有意な関連があった。しかしペトリフィルム法で陽性、混釈法で陰性となった検体が 57 検体中 10 検体存在した。ペトリフィルム法で陽性となった 19 検体中 16 検体において、2 日間冷凍保存しておいたプレートから定型集落をそれぞれ 2 コロニー釣菌してオキシダーゼ陰性とブドウ糖発酵の確認を試みた。16 検体中 9 検体は 2 コロニーともオキシダーゼ陰性とブドウ糖発酵が確認された (表 5-4)。しかし、7 検体は定型集落を形成した菌は死滅していた。冷蔵保存していた 10 倍希釈液を用いて、EB プレートに接種したところ、5 検体からは再度定型集落が得られた (表 5-4, 図 5-2)。しかし 4 検体は 2 コロニーとも、1 検体は 2 コロニーのうち 1 コロニーがオキシダーゼ陽性となり、腸内細菌科菌群では

ないことが確認された。その7検体を除いた場合 ($R^2=0.636$) も中程度の相関を確認した (図 5-1C)。

4) 含浸液による検査結果の比較

含浸液 PBS, NB, WSNB の3種類を用いて実施した環境、生体および体の拭取り検体 52 検体 (施設 A 混釈法: 19 検体, 施設 E フィルム培地法: 20 検体, 施設 F 混釈法: 13 検体) を対象に、検査結果の比較を行った。一般生菌数は、含浸液 PBS 検体は $<1.9.1 \log \text{cfu/g}$, NB 検体は $1.9-8.8 \log \text{cfu/g}$, WSNB 検体は $1.7-8.8 \log \text{cfu/g}$ であった (表 5-5)。定量下限値以上の数値が得られた検体は、52 検体中 PBS, NB および WSNB それぞれ 51, 52, 52 検体であり、有意差は認められなかった (図 5-3A)。腸内細菌科菌群は、含浸液 PBS 検体は $<1.3.6 \log \text{cfu/g}$, NB 検体は $<1.5.1 \log \text{cfu/g}$, WSNB 検体は $<1.3.9 \log \text{cfu/g}$ であった (表 5-5)。定量下限値以上の数値が得られた検体は、52 検体中 PBS, NB および WSNB それぞれ 30, 32, 35 検体であり、有意差は認められなかった (図 5-3B)。

PBS, NB および WSNB の3種類とも定量下限値以上の数値が得られた検体において、PBS 検体に対する NB および WSNB 検体の比率を比較した (図 5-3)。一般生菌数では WSNB および PBS 検体が NB 検体と比較して有意に少なかった (図 5-3A)。腸内細菌科菌群では、有意差は認められなかった。

Listeria spp. は、PBS, NB および WSNB 検体のそれぞれ 11 検体, 10 検体, 9 検体から分離され、有意差は認められなかった (表 5-6)。なお、*L. monocytogenes* が分離されたのは含浸液 NB の検体であった。

5) 牛盲腸内容物からのリステリア分離

施設 B において 56 農場 102 頭中、5 農場 5 頭から *L. monocytogenes* が、1 農場 3 頭から *L. innocua* が分離された (表 5-7)。*L. monocytogenes* 5 株の血清型は 1/2a が 2 株, 1/2c が 2 株, 4b/4e が 1 株であり、ST 型は 1/2a 株が ST20 と ST29, 1/2c 株は 2 株とも ST9, 4b/4e 株は ST1 であった。*L. innocua* 3 株の ST 型は、ST2694 が 2 株, ST1087 が 1 株であった。

D. 考察

食肉衛生検査所 5 施設が担当すると畜場等 10 エリアおよびジビエ解体処理施設 1 施設で、環境検体 166 検体を対象に、一般生菌数、腸内細菌科

菌群および *Listeria* spp. の環境モニタリングを行った。*L. monocytogenes* は冷蔵庫床 1 検体から 1 株分離されたのみであったが、その指標菌と考えられる *Listeria* spp. は、冷蔵庫取っ手、冷蔵庫床、冷蔵庫壁、冷蔵庫通路床、処理室床、作業台、排水溝、ロッキングペン扉の計 18 検体から分離された。また、生体および体検体 9 検体中、生体外皮 2 検体から *Listeria* spp. が、牛盲腸内容物 102 検体中 5 検体から *L. monocytogenes* が、3 検体から *L. innocua* が分離された。牛の外皮や腸管に存在する *L. monocytogenes* が施設を汚染し、作業員の手指や機械器具、床や壁などの環境からの水の跳ね返り等で枝肉を汚染する可能性が指摘されている。今回、牛の外皮や腸管から *L. monocytogenes* を含む *Listeria* spp. が分離されたことから、施設を汚染する可能性が示唆された。また、2 施設において冷蔵庫から *Listeria* spp. が分離された。冷蔵庫はと体がむき出しになっているクリーンゾーンであり、汚染を受けやすい環境である。と畜場等の環境モニタリングを実施する際に対象とするとよいと考えられた。*L. monocytogenes* および *L. innocua* は MLST 型別が可能であり、継続してモニタリングを続けることで、環境における定着の可能性、汚染の拡大の推定や、衛生管理の妥当性確認に活用できると考えられた。

Listeria spp. は現在 27 菌種あるが、*Listeria sensu stricto* (狭義のリステリア) と *Listeria sensu lato* (広義のリステリア) に分類される。*Listeria sensu lato* には、4°C で発育しない等、*L. monocytogenes* の指標とは考えにくい菌種も含まれる。生化学性状で厳密に *Listeria sensu stricto* と *Listeria sensu lato* を区別することは困難であるが、運動性試験 (*ensu stricto* はほぼ陽性, *sensu lato* はほぼ陰性) や VP 試験 (*ensu stricto* はほぼ陽性, *sensu lato* はほぼ陰性) を参考に、*sensu stricto* と思われる菌種を対象にすることも検討の余地があると考えられた。なお、生化学性状で *L. innocua* と同定された株で、MLST 型別で 3 アリルが既報のアリルに該当しなかった株が 1 株存在した。この株は *L. innocua* 以外の *Listeria* spp. である可能性もあると考えられた。

一般生菌数と腸内細菌科菌群はと畜場および食鳥処理場において外部検証における微生物試験の検査対象項目になっている。一般生菌数は適用範囲が広く、食品製品の品質と潜在的な腐敗リスクに影響すると考えられており、環境中におい

て調査することは施設・設備の衛生管理の妥当性確認に有用だと考えられる。腸内細菌科菌群は環境汚染の指標となる。この両者は一般的に衛生指標菌として用いられており、と畜場や食肉衛生検査所が実施する環境モニタリングの対象として導入しやすいと考えられる。

衛生管理の妥当性確認としての細菌検査は、第三者認証を受けた代替法の活用も有用である。食肉衛生検査所においても、環境モニタリングにフィルム培地を使用しているとアンケートで回答した施設も認められたことから、混釈法とペトリフィルムを用いたフィルム培地法を同時に行い結果を比較した。と畜場等の拭取り検体において、一般生菌数は混釈法とフィルム培地法は同等の結果が得られると考えられた。一方、腸内細菌科菌群では、混釈法で陰性であってもフィルム培地法では陽性となった検体が複数認められた。そのため、フィルム培地の集落を釣菌して確認試験を行ったところ、フィルム培地で定型集落を形成して腸内細菌科菌群と判定されても、オキシダーゼ陽性を示す株が含まれることが明らかになった。これらの株は冷凍で容易に死滅したことからも *Aeromonas* spp. と推定される。よって、フィルム培地法は混釈法よりも広い範囲を検出してしまう可能性があるが、*Aeromonas* spp. もまた環境汚染の指標ととらえても差し支えないとも考えられた。

ふき取り資材の含浸液として PBS と環境中に残存する消毒薬を中和して損傷菌の回復を促す NB や WSNB を比較した。WSNB は強酸性の消毒薬等、NB よりもより広範囲の消毒薬を中和可能とされる。いずれもスポンジスティックを湿らせて用いるが、WSNB 含浸製品ではスポンジについているスクラブドットが環境中に形成されたバイオフィルムを破壊して効率的に細菌のサンプリングを可能にするものである。一般生菌数において、WSNB や PBS は NB よりも少なく測定された。WSNB 含浸スポンジスティックは表面のドットがバイオフィルム破壊には効果的である反面、ふき取り面に密着しにくく、菌数が少なくなる可能性が考えられた。*Listeria* spp. においてはいずれの含浸液も差は認められなかった。施設の種類や検体数を増やして検証を続ける必要はあるものの、現時点では含浸液に PBS を用いても十分に環境モニタリングは可能であると考えられた。

と畜場および食鳥処理場での衛生管理が不十

分で食肉や食鳥肉が食中毒細菌に汚染されると、加熱不十分な喫食で食中毒になるリスクが考えられる。また、それらを原料肉として加工、調理する食品製造環境の汚染にもつながる。食肉及び食鳥肉からの食中毒リスク低減のために風上での衛生管理が重要で、と畜場等の環境モニタリングは有用であると考えられる。次年度は、まだ実施の少ない食鳥処理場および次の段階となる食肉処理場のモニタリングを行う予定である。

E. 結論

と畜場等を対象に実施した環境モニタリングにおいて、一般生菌数および腸内細菌科菌群は導入がしやすく、衛生管理に有用であると考えられた。*L. monocytogenes* を含む *Listeria* spp. は冷蔵庫や処理室床等から分離された。*L. monocytogenes* および *L. innocua* は MLST 解析がモニタリング結果の活用により有用となると考えられた。フィルム培地は、一般生菌数は混釈法と非常に相関が高く、腸内細菌科菌群は中程度の相関であるが、広い範囲の菌種を検出すると考えられた。ふき取り資材の含浸液が検査結果に与える影響は限定的と考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

平野かおり、安藤知弘、下島優香子、岡田由美子：管内と畜場におけるリステリア属菌の汚染実態調査。令和7年度 食肉・食鳥肉衛生研究発表会。2025年1月23-24日、東京。（全国食肉衛生検査所協議会長賞受賞）

小野田伊佐子、筆谷麻未、久永崇宏、中江優貴、小田みどり、渡邊さつき、太田智恵子、下島優香子：と畜場の環境モニタリングとその活用について。第61回静岡県公衆衛生研究会。2025年2月7日、静岡。（優秀演題）

下島優香子。相模原市生活衛生課食品衛生班保健所職場研修：共同研究に関する研究報告及びリステリアの衛生管理について。2025年2月19日、ウェルネスさがみはら7階視聴覚室(相模原市)、合計約30人、講師。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表 5-1 と畜場等のモニタリング検体

A 環境検体

拭取り日	施設	種類	検体数	拭取り場所	含浸液	拭取り面積	指標菌検査法
2023年11月15日	A	牛	15	処理室床、冷蔵庫床、冷蔵庫壁、背割機、シンク、排水溝	PBS, NB, WSNB	30×30cm	混釈法
2023年11月1日	A	豚	19	コンベア、スキナー、自動背割機、自動洗浄機、冷蔵庫床、冷蔵庫壁	PBS, WSNB	30×30cm	混釈法
2024年4～7月	B	牛	15×3回	作業台、コンベア、排水溝、処理室床、台車等	WSNB	30×30cm	
2024年10月22日	C	ジビエ	26	床、壁、ナイフ、作業台、取っ手、コンベア、作業者靴底等	PBS (綿棒タイプ)	10×10cm	フィルム培地
2024年11月25日	D	牛	10	昇降台、作業台、鋸、冷蔵庫取っ手付近	NB	30×30cm	フィルム培地
2025年1月16日	D	豚	10	スキナー、鋸、リフト、消毒器、冷蔵庫取っ手付近	NB	30×30cm	混釈法、フィルム培地
2024年11月27日	E	牛	10	ロッキングベンチ、作業台、処理室床、昇降台、コンベア、内臓処理場まな板	PBS, NB, WSNB	30×30cm	フィルム培地
2024年11月27日	E	豚	10	作業台、コンベア、と体誘導バー、処理室壁	PBS, NB, WSNB	30×30cm	フィルム培地
2025年1月20日	F	牛豚	7	処理室床、作業台、排水溝、冷蔵庫取っ手、冷蔵庫床、冷蔵庫壁	NB, 一部PBS, WSNB	10×10cm	混釈法、フィルム培地
2025年1月20日	F	食鳥	4	作業台、シャックル、コンベア、冷蔵庫取っ手	NB, 一部PBS, WSNB	10×10cm	混釈法、フィルム培地
2025年2月17日	F	牛豚	10	冷蔵庫取っ手、冷蔵庫床、冷蔵庫壁、冷蔵庫通路床	NB, 一部PBS, WSNB	30×30cm	混釈法、フィルム培地

B 生体および体検体

拭取り日	施設	種類	検体数	拭取り場所	含浸液	拭取り面積	指標菌検査法
2023年11月15日	A	牛	4	生体外皮、枝肉	PBS, NB, WSNB	30×30cm	混釈法
2023年11月1日	A	豚	1	と体	PBS, WSNB	30×30cm	混釈法
2024年10月22日	C	ジビエ	4	枝肉	PBS (綿棒タイプ)	10×10cm	フィルム培地

表 5-2 と畜場等の環境モニタリング結果

施設	種類	検体数	一般生菌数 (log cfu/mL)	腸内細菌科菌群数 (log cfu/mL)	<i>Listeria</i> spp. 陽性検体数	<i>Listeria</i> spp. 陽性検体
A	牛	15	1.5-9.1	<1-4.3	4	処理室床2、冷蔵庫壁1、排水溝1
A	豚	19	<1-7.8	<1-4.3	0	
B	牛	15×3回			0	
C	ジビエ	26	<1-4.8	<1-3.4	0	
D	牛	10	3.6-6.8	<1-1	0	
D	豚	10	3.5-6.0	<1-2	0	
E	牛	10	4.0-7.3	<1-5.1	4	処理室床2、ノッキンググペン扉1、作業台1
E	豚	10	3.0-8.2	<1-3.7	1	作業台1
F	牛豚	7	2.6-7.4	<1-2.9	2 ^{a)}	冷蔵庫床1 ^{b)} 、冷蔵庫取っ手1
F	食鳥	4	<1-6.5	<1-2.9	0	
F	牛豚	10	2.0-6.3	<1-1.3	7	冷蔵庫取っ手3、冷蔵庫床2、冷蔵庫壁1、冷蔵庫通路床1

a) うち1検体から *L. monocytogenes* 分離

b) *L. monocytogenes* 陽性検体

表 5-3 環境由来株および牛外皮由来株の MLST 解析

菌種	施設	種類	検体	MLST		
				CC	ST	Lineage
<i>L. monocytogenes</i>	F	牛豚	冷蔵庫床	9	3370 ^{a)}	II
<i>L. innocua</i>	A	牛	外皮（処理序盤）		2364	<i>L. innocua</i>
	A	牛	外皮（処理中盤）		2364	<i>L. innocua</i>
	E	牛	処理室床（架台下）		1482	<i>L. innocua</i>
	E	牛	処理室床（内臓コンベア横）		448	<i>L. innocua</i>
	E	牛	作業台（内臓受け台） ^{b)}		448	<i>L. innocua</i>
	E	牛	作業台（内臓受け台） ^{b)}		448	<i>L. innocua</i>
	E	牛	作業台（内臓受け台） ^{b)}		448	<i>L. innocua</i>
	E	豚	作業台（内臓摘出台）		UT	

a)新規登録

b)同一検体の別含浸液による分離株

表 5-4 腸内細菌科菌群の混釈法とフィルム培地法の比較

腸内細菌科菌群 (log cfu/mL)	
混釈法	フィルム培地法
2.9	2.6
2.8	2.8
2.5	2.7
2.4	2.9
1.7	2.6
1.3	1.3
1.3	2.6
1.0	1.6
<1	2.4
<1	2.1
<1	1.3
<1	1.0
<1	1.0
<1	2.9
<1	1.9
<1	1.5
<1	1.0
<1	1.0

緑: 定型集落 2 コロニーともオキシダーゼ陰性, ブドウ糖発酵を確認

黄: 再検査後, 2 コロニーのうち 1 集落はオキシダーゼ陽性, 1 集落は腸内細菌科菌群確認

赤: 再検査後 2 コロニーともオキシダーゼ陽性

灰: 再検査で定型集落なし

表 5-5 含浸液ごとの衛生指標菌の比較

施設	試験法	検体数	一般生菌数 (log cfu/mL)			腸内細菌科菌群 (log cfu/mL)		
			PBS	NB	WSNB	PBS	NB	WSNB
A	混釈法	19	1.5-9.1	1.9-8.8	1.7-8.8	<1-3.4	<1-4.3	<1-3.9
E	フィルム培地法	20	3.9-7.9	4.3-8.1	3.0-7.2	<1-3.6	<1-5.1	<1-3.5
F	混釈法	13	<1-7.0	2.6-7.4	2.7-6.6	<1-2.5	<1-2.8	<1-2.9
計		52	<1-9.1	1.9-8.8	1.7-8.8	<1-3.6	<1-5.1	<1-3.9

表 5-6 含浸液ごとの *Listeria* spp.分離状況の比較

施設	検体数	<i>Listeria</i> spp.陽性検体数		
		PBS	NB	WSNB
A	19	3	3	3
E	20	4	1	2
F	13	4	6	4
計	52	11	10	9

表 5-7 施設 B で牛盲腸内容物から分離された *Listeria* spp.

菌種	農場	血清型	MLST		
			CC	ST	Lineage
<i>L. monocytogenes</i>	1	1/2c	9	9	II
	2	1/2a	20	20	II
	3	1/2c	9	9	II
	4	4b/4e	1	1	I
	5	1/2a	29	29	II
<i>L. innocua</i>	6			1087	<i>L. innocua</i>
	6			2694	<i>L. innocua</i>
	6			2694	<i>L. innocua</i>

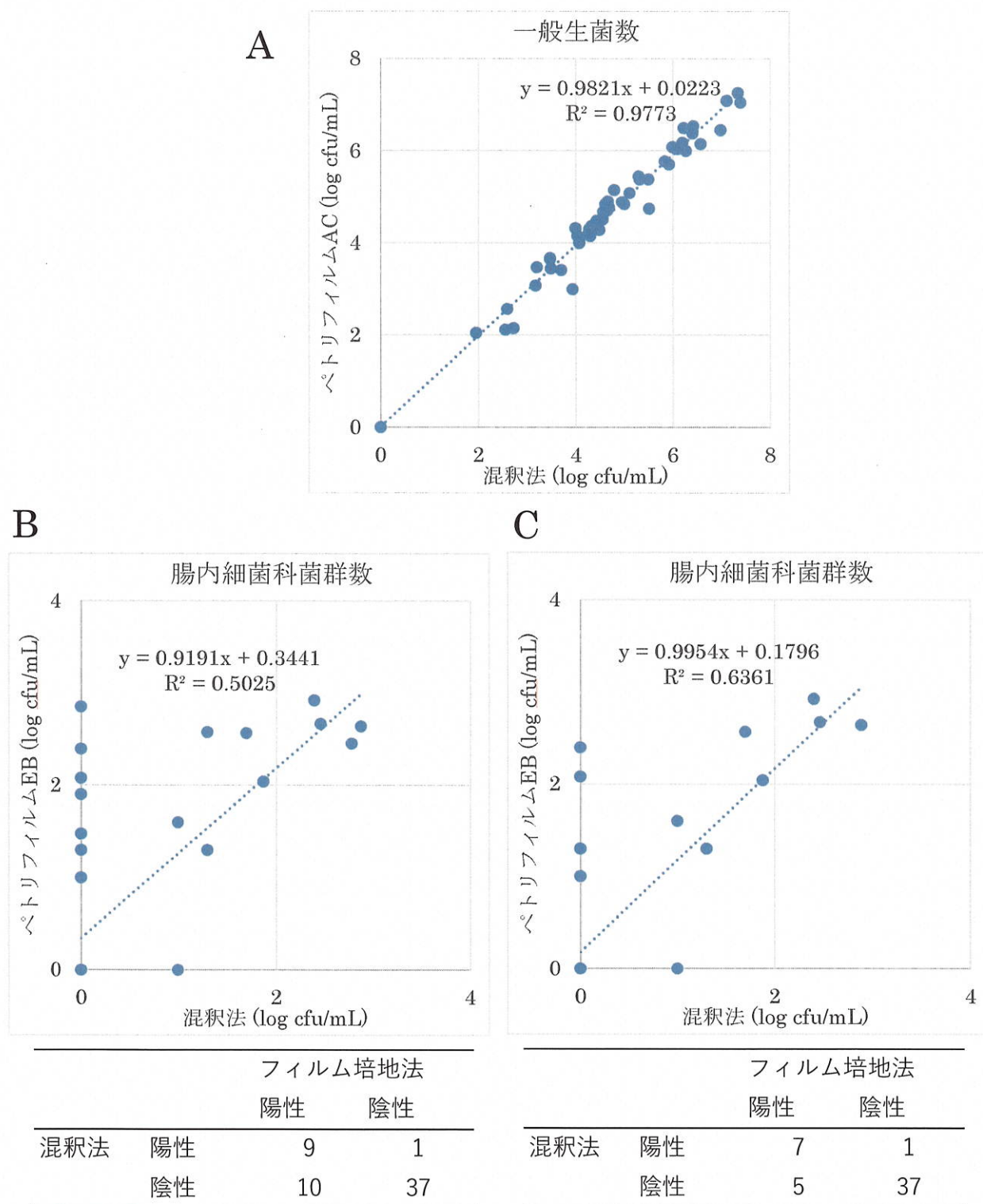


図 5-1 混釈法とフィルム培地法の比較

A 一般生菌数

B 腸内細菌科菌群

C 腸内細菌科菌群(フィルム培地で腸内細菌科菌群の確認ができなかった 7 検体を除く)

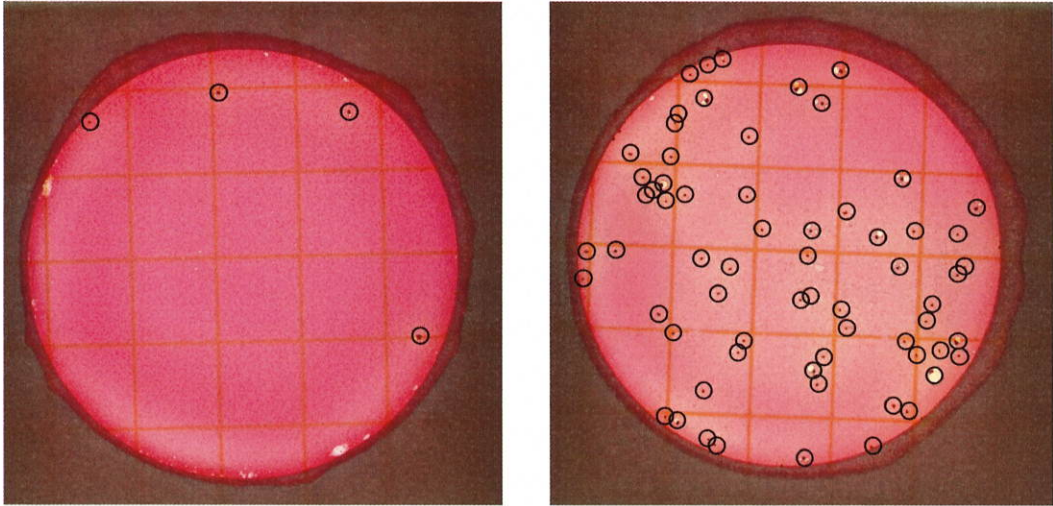
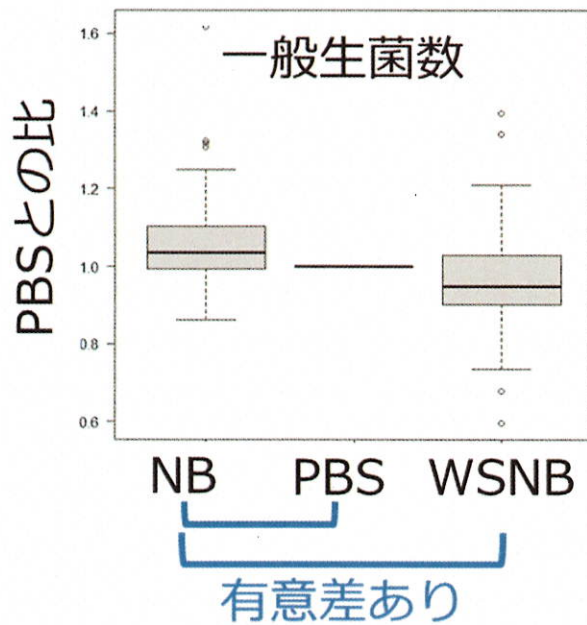


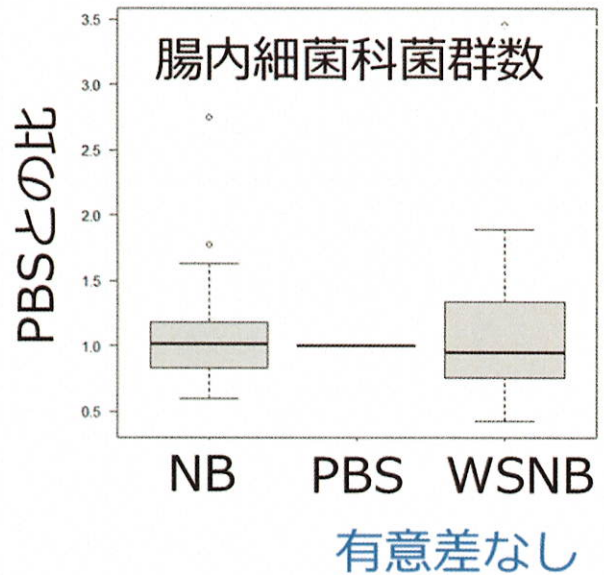
図 5-2 EB プレートで定型集落を形成するオキシダーゼ陽性菌

A



定量下限値を超えた検体
52/52 51/52 52/52

B



定量下限値を超えた検体
32/52 30/52 35/52

図 5-3 含浸液の比較

A 一般生菌数

B 腸内細菌科菌群

定量下限値を超えた値で比較を行った。