

令和 5-7 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)

総括分担研究報告書

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

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, 中江優貴, 久永崇宏, 藤川達也, 杉山英視, 小野田伊佐子, 長谷川久, 渡邊さつき, 太田智恵子, 静岡県食肉衛生検査所 平野かおり, 大竹令倭, 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 土屋響己, 東洋大学大学院食環境科学研究科 秋田悠花, 小原結衣, 仲川龍雅, 五明 開, 宮島 樹, 巻島太一, 茂垣翔大 東洋大学食環境科学部 上原さとみ, 東京都健康安全研究センター微生物部 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 西宮市食肉衛生検査所	

研究要旨

国内食肉衛生検査所を対象に微生物環境モニタリングに関するアンケート調査を行った。過去に環境モニタリングを実施したことのある施設は 34.5%であった。検査項目は、一般生菌数、大腸菌群、腸内細菌科菌群の順であった。食鳥処理場ではサルモネラ、カンピロバクターおよび黄色ブドウ球菌を実施している施設もあった。

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. が冷蔵庫エリアや副産物処理エリア等から分離された。*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である *Aeromonas* spp. 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等を比較したところ、中和バッファの効果は限定的であることが示唆された。

以上より、と畜場・食肉処理施設における環境モニタリングは、施設内汚染の可視化や衛生指導に有用であると考えられた。

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。

本研究では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の導入状況を把握し、実際に国内のと畜場、食鳥処理場、食肉処理施設で環境モニタリングを行い、有用性を確認するとともに、効果的な環境モニタリング方法を提案することを目的とした。

B. 研究方法

1) 環境モニタリングに関するアンケート調査

全国食肉衛生検査所協議会の協力を得て、令和5年12月28日～令和6年1月31日に加入検査所111機関を対象に、メールでアンケート「と畜場・食鳥処理場の環境モニタリングの実態調査」を行った。

2) 対象施設と拭き取り検体

2023年～2025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5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、食肉処理施設の牛肉処理処理場1か所、豚肉処理場1か所およびジビエ解体処理施設1施設(C)を対象とした(表1)。

各エリアにおいて環境を4～146検体サンプリングした(表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Bの牛エリアで18検体、施設Cのジビエエリアで4検体、生体の外皮やと畜体をサンプリングした。

3) 環境のサンプリング方法

PBS10 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)のいずれかの拭き取り資材を用いて約30×30 cmを拭き取り、冷蔵にて保管および輸送し、25時間以内に試験に供した。

4) 環境モニタリング試験方法

4-1) 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℃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℃、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。

4-2) 衛生指標菌フィルム培地法

4-1)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℃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℃、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。一部のEBプレートは測定後、または測定後に冷凍保存後、ガスおよび／あるいは黄色の酸性域に囲まれた赤色の定型集落を釣菌してブドウ糖発酵およびオキシダーゼ陰性の確認を行った。

4-3) 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き取り容器に、hFB培地(Merck) 90 mLを入れて30℃、25時間培養した。増菌培養液をFB培地(Thermo Fisher Scientific) 10 mLに0.1 mL入れて37℃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℃48時間まで培養した。発育した定型集落を釣菌し、同定試験を行った。同定試験は、グラム染色後鏡検、カタラーゼ試験、溶血性試験、CAMP試験、運動性試験、ラムノース、キシロース、マンニト、タガトースの炭水化物分解試験による生化学性状試験、API LISTERIA(バイオメリュール)およびリステリア属菌に特異的な *prs* geneを検出するPCR法を組み合わせる菌種同定を行った。分離された *L. monocytogenes* は型別用免疫血清

(デンカ)を用いた血清型別または PCR 血清群別を行った。

5) 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。

6) MLST 解析

分離された *L. monocytogenes* 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://bigsdbs.pasteur.fr/listeria/>)。

7) MALDI-TOF MS による菌種同定

昨年度、EB プレートで定型集落を形成したもののおキシダーゼ試験で陽性となった 9 株を対象に、MALDI-TOF MS (Bruker) で同定を行った。スコアが 2.0 以上で、最も高かった菌種を第一候補、次に高かった菌種を第二候補とした。

8) 統計解析

統計解析は EZR Ver. 1.70 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) 環境モニタリングに関するアンケート調査

全国食肉衛生検査所協議会加入機関 111 機関のうち、99 機関から回答を得た (回答率 89.2%)。99 機関の担当すると畜場および食鳥処理場施設数は 255 施設であり、そのうち過去に環境モニタリングを実施したことのある施設数は 42 機関 88 施設 (34.5%) であった。88 施設の取扱い動物種は、牛 9 施設、豚 12 施設、牛・豚 33 施設、鶏 32 施設、牛・豚・鶏 2 施設であった。

88 施設中 38 施設 (43.2%) はガイドライン、標準作業所、手順書等を作成していた。初めて環境モニタリングを実施した時期は、2 年以上前が 78 施設、2 年以内が 10 施設であった。環境モニタリングを定期的に行っているかどうかでは、定期的が 33 施設 (37.5%) で、そのうち年 1 回実施は 4 施設、年 2 回以上実施は 29 施設であった。

定期的に行っていないと回答した施設は 55 施設 (62.5%) で、過去実施回数は 1 回が 8 施設、2～3 回が 10 施設、4 回以上が 37 施設であった。

始業前、作業中、終業後のどのタイミングで実施しているかという質問には、始業前と作業中が 27/88 施設 (30.7%) と最も多く、次いで作業中 21/88 施設 (23.9%)、始業前 14/88 施設 (15.9%) の順であった。1 回の環境モニタリングにおけるサンプリング数は、1～100 検体に分布し、最も多いのは 10～14 検体で、全体の平均は 14.7 サンプルであった。モニタリング検査項目は、微生物では一般生菌数が 72 施設 (81.8%) と最も多く、ついで大腸菌群 46 施設 (52.3%)、腸内細菌科菌群 38 施設 (43.2%)、大腸菌 31 施設 (35.2%)、サルモネラ 31 施設 (35.2%)、カンピロバクター 23 施設 (26.1%)、黄色ブドウ球菌 16 施設 (18.2%)、腸管出血性大腸菌 4 施設 (血清群 O157 のみを含む、4.5%)、リステリア・モノサイトゲネスおよびリステリア属菌 2 施設 (2.3%) であり、設問項目に設定したクロノバクターおよび真菌は 0 施設であった。カンピロバクターを実施した 23 施設は全て、サルモネラを実施した 31 施設のうち 23 施設、黄色ブドウ球菌を実施した 16 施設のうち 14 施設は、鶏を扱う施設であった。22 施設ではフィルム培地が使用されていた。また、ATP を実施している施設は 36 施設 (40.9%) であった。

結果について、85/88 施設 (96.6%) が活用できていると回答した。と畜場へのフィードバック方法は、書面連絡、講習会や研修会、口頭連絡のほか、ポスターや掲示物を作成したり、HACCP チーム会議や外部検証連絡会議で報告したりという方法で行われた。

2) 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 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 牛エリアではノッキングペン扉、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 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、A 牛肉処理場ではカット室コンベア (処理用)、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、冷蔵庫壁、排水溝）、A 牛肉エリアで 6 検体（床、コンベア、壁）、A 豚肉エリアで 9 検体（コンベア、床、製品冷蔵庫床、サニタリー床）、B 牛等エリアで 35 検体（内臓摘出作業台周辺、枝肉冷蔵庫、内臓冷蔵庫、内臓処理室等）、E 牛エリアで 4 検体（処理室床、ロッキングペン扉、作業台）、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、冷蔵庫取っ手）であった。B 施設では *L. monocytogenes* IIc 等、F 施設の冷蔵庫床からは *L. monocytogenes* 1/2c も分離された（表 3）。F 施設では翌月、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、冷蔵庫床、冷蔵庫壁、冷蔵庫通路床）から *Listeria* spp.が分離された。

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.、B 牛エリアにおいて外皮 4 検体から *L. monocytogenes* を含む *Listeria* spp.が分離された。

3) 環境由来株および牛外皮由来株の MLST 解析

B 施設で分離された *L. monocytogenes* 17 株の血清群と MLST 型は、生体由来 2 株は IVb/ ST6 および IIa/ ST19、と畜工程由来 6 株は IIc/型別不能 (UT)、副産物処理工程由来 9 株は IIc/UT が 7 株、IIc/ST9 および IVb/ST2 が 1 株ずつであった。IIc/UT 13 株の MLST はいずれも *abcZ* のアレル番号が決定されず、その他 6 ローカスは ST9 と同一で、CC9 であった（表 3）。IIc/UT 13 株は、と畜工程ではクリーンゾーンの内臓摘出作業台、台車、床および内臓コンベアから、副産物処理工程では、内臓処理室床、内臓冷蔵庫の床および台車から異なる日に分離された。と畜工程のクリーンゾーン、副産物処理工程の内臓処理室を通過する内臓冷蔵庫、通路を通過する冷蔵庫は台車が共有されていた。

F 施設から分離された *L. monocytogenes* 株は *lhkA* のアレル番号が決定せず、新規アレ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 3）。A 施設の *L. innocua* 2 株は 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。内臓コンベア横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 アレルが決定せずに UT となった。

4) 混釈法とフィルム培地の比較

A 牛肉処理場 10 か所 26 検体（含浸液 PBS）、A 豚肉処理場 9 か所 24 検体（含浸液 PBS）、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 ($R^2=0.973$) で強い相関を示した（図 1A）。腸内細菌科菌群 ($R^2=0.687$) は中程度の相関を示した（図 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 107 検体中 13 検体存在した。EB プレートから定型集落を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。冷凍したプレートでは菌が死滅していたり、オキシダーゼ陽性で腸内細菌科菌群ではないことが確認された集落が存在した。オキシダーゼ陽性の 9 株を MALDI-TOF MS で同定するといずれも *Aeromonas* spp.が第一候補となった。

5) 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（令和 6 年度報告書表 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（令和 6 年度報告書図 3）。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（令和 6 年度報告書表 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（令和 6 年度報告書図 3）。

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（令和 6 年度報告書図 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（令和 6 年度報告書図 3）。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 (令和 6 年度報告書表 6). なお, *L. monocytogenes* が分離されたのは含浸液 NB の検体であった.

6) 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. *L. monocytogenes* 5 株の血清型は 1/2c/ST9 が 2 株, 1/2a/ST20, 1/2a/ST29, 4b/4e/ST1 がそれぞれ 1 株であった. *L. innocua* 3 株の ST 型は, ST2694 が 2 株, ST1087 が 1 株であった.

D. 考察

食肉衛生検査所が担当すると畜場, 食肉処理施設等の環境検体を対象に, 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. その結果, *L. monocytogenes* を含む *Listeria spp.* が冷蔵庫周辺や副産物処理エリア等から分離された. 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. 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. *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℃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 (*sensu stricto* はほぼ陽性, *sensu lato* はほぼ陰性) や VP 試験 (*sensu 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, MALDI-TOF MS で *Aeromonas spp.* と同定された. 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。

本研究で複数のと畜場等で一般生菌数、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。その結果、各施設で洗浄・消毒方法や動線の課題が浮き彫りになった。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。食肉および食鳥肉からの食中毒リスク低減のために上流での衛生管理が重要である。と畜場等の環境モニタリングは施設の衛生状態を把握し可視化することが可能であり、衛生管理指導における具体的な改善策の提案に活用でき、有用であると考えられた。

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外部検証で枝肉表面の微生物検査の項目にもなっていることから導入や比較がしやすいと考えられた。*L. monocytogenes* を含む *Listeria* spp.はと畜場および食肉処理施設等から分離されることが明らかになった。*L. monocytogenes* の遺伝子型別は、施設内での汚染拡大の把握に活用できると考えられた。フィルム培地は、一般生菌数、腸内細菌科菌群と混釈法と相関が高かった。しかし腸内細菌科菌群は混釈法による公定法よりも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。と畜場等の環境モニタリングは施設の衛生状態を把握し可視化することが可能であり、衛生管理指導における具体的な改善策の提案に活用でき、有用であると考えられた。

G. 研究発表

1. 学会発表

1) 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. 食肉・食鳥肉衛生研究発表会, 2025 年 1 月 23~24 日, 東京.

2) 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.

3) 下島 優香子, 小田 みどり, 中江 優貴, 小野田 伊佐子, 久永 崇宏, 茂木 啓陽, 小野 亜矢子, 土屋 響己, 上原 さとみ, 岡田 由美子, 森田 幸雄. と畜場・食鳥処理場の環境モニタリングアンケート調査とフィルム培地妥当性確認. 第 168 回日本獣医学会学術集会, 2025 年 9 月 4 日, フェニックス・シーガイア・コンベンションセンター, 宮崎.

4) 平野 かおり, 大竹 令倭, 安藤 知弘, 下島 優香子, 岡田 由美子. 管内と畜場の *Listeria* spp.環境モニタリングの有用性. 令和 7 年度獣医学術東北地区学会, 2025 年 10 月 9 日, 秋田キャッスルホテル, 秋田.

5) 藤川 達也, 杉山 英視, 小野田 伊佐子, 長谷川 久, 渡邊 さつき, 太田 智恵子, 下島 優香子. 食肉処理施設の衛生状態の調査について. 第 62 回静岡県公衆衛生研究会, 2026 年 2 月 10 日, 静岡県コンベンションアーツセンター「グランシップ」, 静岡.

2. 市民向け説明会

1) 下島 優香子. 食中毒を引き起こす細菌とその予防法. 三鷹市市民大学事業一般教養コース「むらさき学苑」, 2025 年 11 月 4 日, 三鷹市生涯学習センターホール, 約 130 名.

3. 業界関係者向け説明会

1) 下島 優香子. 大量調理施設衛生管理マニュアルの正しい理解と活用. 新宿区保健所特定給食施設等オンライン管理講習会, 2024 年 11 月, オンライン, 約 300 名.

2) 下島 優香子. 給食施設における衛生管理と食中毒予防. 北区保健所特定給食施設栄養管理講習会, 2026 年 3 月 5 日, 約 60 名.

4. その他

1) 下島 優香子. 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. 相模原市生活衛生課食品衛生班保健所職場研修, 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, 約 30 名.

2) 下島 優香子. 「食中毒」. 中学／高校保健ニュース 2025 年 6 月 18 日号, 少年写真新聞社, 2025 年 6 月 18 日, 監修.

3) 下島 優香子. 「食中毒の予防と対処」. 中学

／高校保健ニュース 2025 年 6 月 18 日号付録「ほ
けん通信」, 少年写真新聞社, 2025 年 6 月 18 日,
監修.

4) 下島 優香子. 「食中毒の予防や対処について」.
中学／高校保健ニュース 2025 年 6 月 18 日号解
説付録, 少年写真新聞社, 2025 年 6 月 18 日, 執
筆.

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
2025年8月22日	A	牛肉	26	食肉処理施設：壁、床、コンベア、まな板、包丁、副産物コンテナ、製品冷蔵庫床、サニタリー床、サニタリードア取っ手	PBS	30×30cm	混釈法、フィルム培地
2025年8月22日	A	豚肉	24	食肉処理施設：壁、床、コンベア、まな板、包丁、製品冷蔵庫床、サニタリー床、サニタリードア取っ手	PBS	30×30cm	混釈法、フィルム培地
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	
2025年5～6月	B	牛等	146	と畜（牛）：床、壁、コンベア、グレーチング等、枝肉保管：床、壁等、枝肉加工：床、壁、コンベア等、副産物処理：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	ノッキングベン扉、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
2025年5～6月	B	牛	18	生体外皮	WSNB	30×30cm	
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 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	
A	牛肉	26	<1-5.9	<1-3.4	6	床3、コンベア2、壁1
A	豚肉	24	<1-5.9	<1-3.0	9	コンベア5、床2、製品冷蔵庫床1、サニタリー床1
B	牛	15×3回	NT ^{a)}	NT	0	
B	牛等	146	NT	NT	35 ^{b)}	と畜：クリーンゾーン内臓摘出作業台周辺・床・台車・内臓コンベア6 ^{c)} 、懸肉室1 枝肉保管：豚枝肉冷蔵庫3、冷蔵庫内通路2、枝肉出荷口2 副産物処理：内臓冷蔵庫16 ^{c)} 、内臓処理室3 ^{c)} 、豚頭冷蔵庫1 その他：長靴置場
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 ^{c)}	冷蔵庫床1 ^{d)} 、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)NT: 検査せず

b)うち15検体から *L. monocytogenes* 分離

c)うち1検体から *L. monocytogenes* 分離

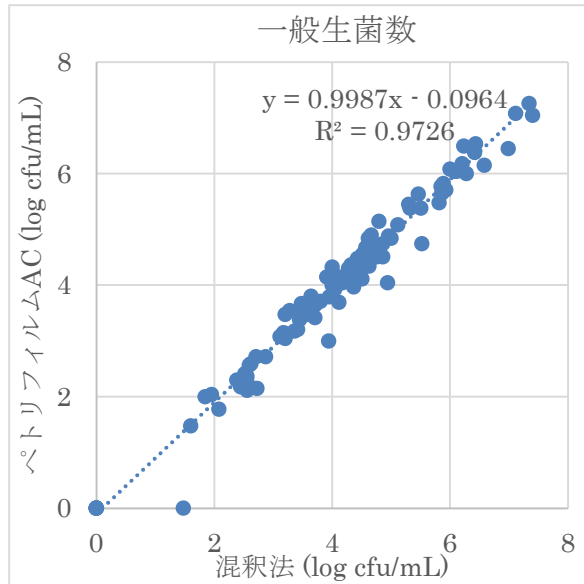
d) *L. monocytogenes* 陽性検体を含む

表 3 環境由来株および牛外皮由来株の MLST 解析

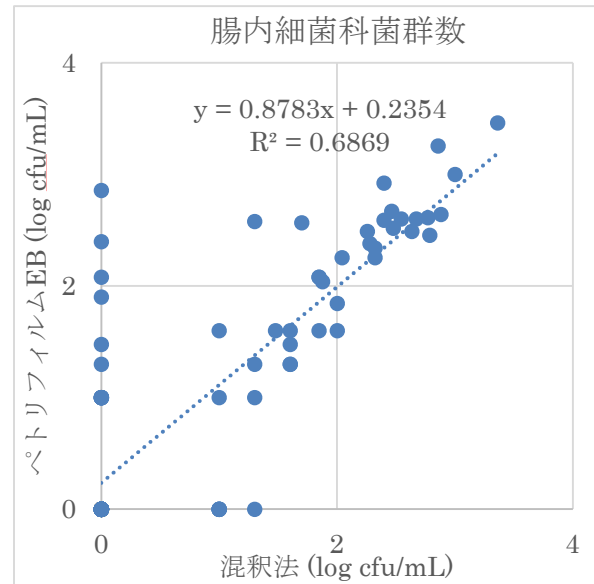
菌種	施設	種類	検体	菌株数	MLST		血清型	血清群
					CC	ST		
<i>L. monocytogenes</i>	B	牛豚	副産物処理、内臓摘出作業台周辺	13	9	未決	II	IIc
	B	牛豚	副産物処理	1	9	9	II	IIc
	B	牛豚	副産物処理	1	2	2	I	IVb
	B	牛	外皮	1	6	6	I	IVb
	B	牛	外皮	1	19	19	II	IIa
	F	牛豚	冷蔵庫床	1	9	3370 ^{a)}	II	1/2c
<i>L. innocua</i>	A	牛	外皮 (処理序盤)、(処理中盤)	2	2364	<i>L. innocua</i>		
	E	牛	処理室床 (架台下)	1	1482	<i>L. innocua</i>		
	E	牛	処理室床 (内臓コンベア横)、作業台 (内臓受け台)	4	448	<i>L. innocua</i>		
	E	豚	作業台 (内臓摘出台)	1	UT			

a) 新規登録

A



B



		フィルム培地法	
		陽性	陰性
混釈法	陽性	35	6
	陰性	13	53

図 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