



牛と畜処理工程別の リステリア属菌の汚染実態について

食肉衛生検査所

○中江優貴 久永崇宏 筆谷麻未 國井菜那子 松橋平太 寺井克哉 大畑克彦

国立医薬品食品衛生研究所

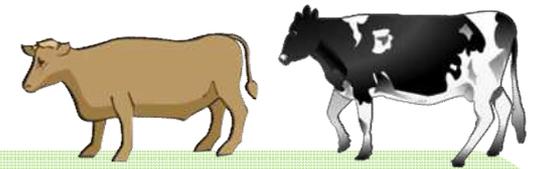
朝倉宏



リステリア属菌について

〈現状〉

- 欧米ではと畜場での工程管理指標とされることも多い。
- 国内のと畜場における環境汚染調査等の報告は少なく、当所でも調査していない。



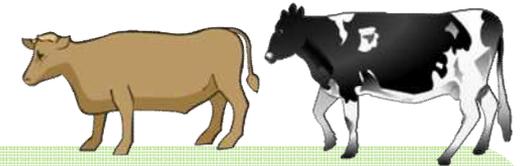
〈課題〉

当と畜場では、HACCPに基づく衛生管理において冷蔵庫の温度管理をCCPとしているため、低温細菌であるリステリア属菌の汚染状況把握は重要である。

調査内容

〈目的〉

牛と畜処理工程中の環境試料を拭き取り、リステリア属菌の汚染実態並びに菌叢変動を把握する。



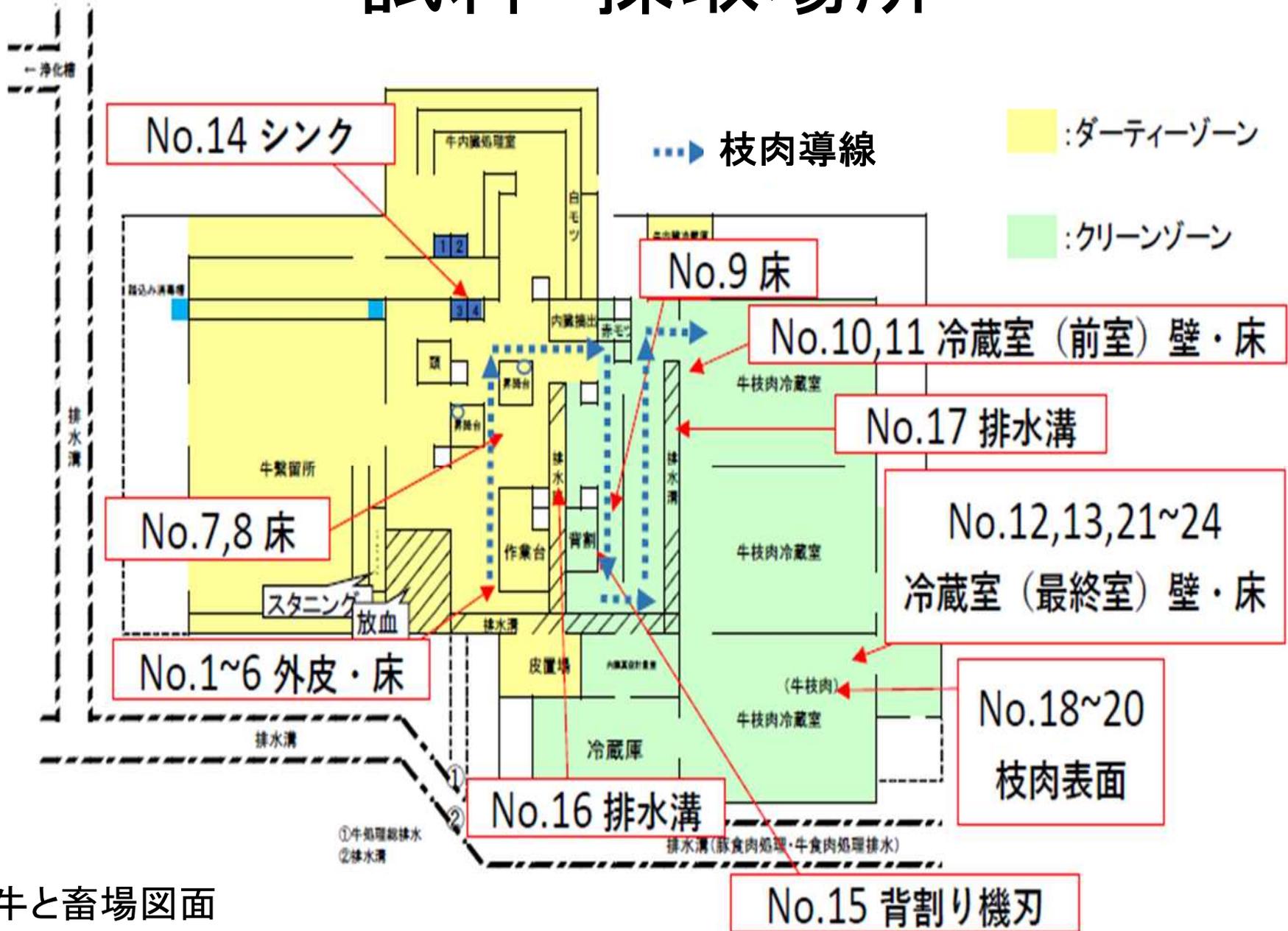
〈調査試験〉

- 1 リステリア定性・定量試験
- 2 拭き取り検体の構成菌叢解析

〈採取期間〉

6月～9月	20検体/月	(No.1～20)	
10月、11月	24検体/月	(No.1～24)	合計128検体

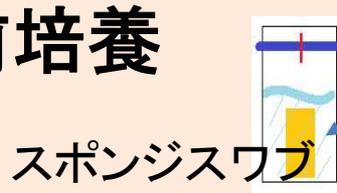
試料採取場所



牛と畜場図面

【定性及び定量試験】方法

前培養



100mL

half-fraser
broth

→ ストマッキング処理
2min.

37±1°C

→ 24-30時間前培養

リステリア モノサイトゲネス の検出

MDS2 Listeria
monocytogenes (3M)
を使用



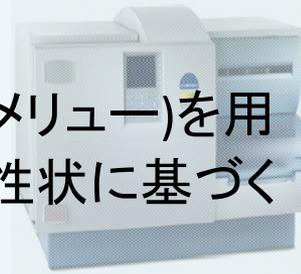
3MTM 病原菌検出アッセイ2
リステリア・モノサイトゲネス用

その他菌種の検出

前培養の培養液を
クロモアガー・リステリア
に塗抹、37±1°Cで培養

↓
ハローの有無に関係なく
青色を呈した集落を無作為に釣菌

↓
VITEK2(ビオメリュー)を用
いて生化学性状に基づく
菌種同定



ビオメリュー VITEK® 2
Microbiology with Confidence

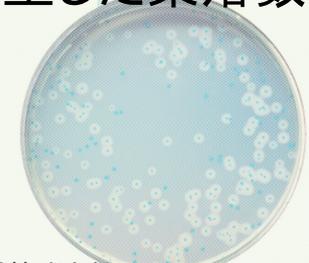
リステリア定量試験

※推定リステリア属菌数

前培養の培養液を10倍階
段希釈

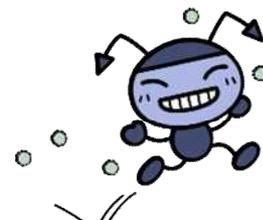
↓
クロモアガー・リステリアに
塗抹し、37±1°Cで培養

↓
青色を呈した集落数計測



関東化学株式会社CHROMagar™ Listeria

【定性及び定量試験】結果



● リステリア属菌の検出

検出されたリステリア属菌	採取場所	検体No.	採材月
<i>L.welshimeri</i>	枝肉冷蔵室(最終室)床	12	7月
<i>L.ivanovii</i>	枝肉冷蔵室(最終室)床	12	8月
<i>L.fleischmannii</i>	外皮	3	9月
<i>L.grayi</i>	枝肉冷蔵室(最終室)床	12	9月

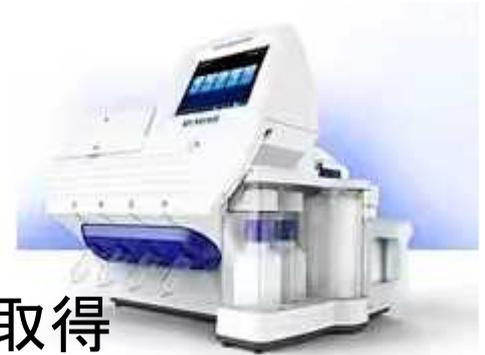
- 外皮、枝肉冷蔵室等からはリステリア属菌以外の菌種も検出された。
- 外皮(No.1,3,5)、前後肢落とし工程の床(No.2,4,6)、シンク(No.14)、排水溝(No.17)から多くの菌数が検出された。

【構成菌叢解析】

〈方法〉

9月に採材した検体(計20検体)

- 1 DNAを抽出
- 2 16SrRNA配列をPCR増幅
- 3 次世代シーケンサー(Ion PGM):塩基配列を取得
- 4 RDP Classifier:階層毎に構成菌叢を解析

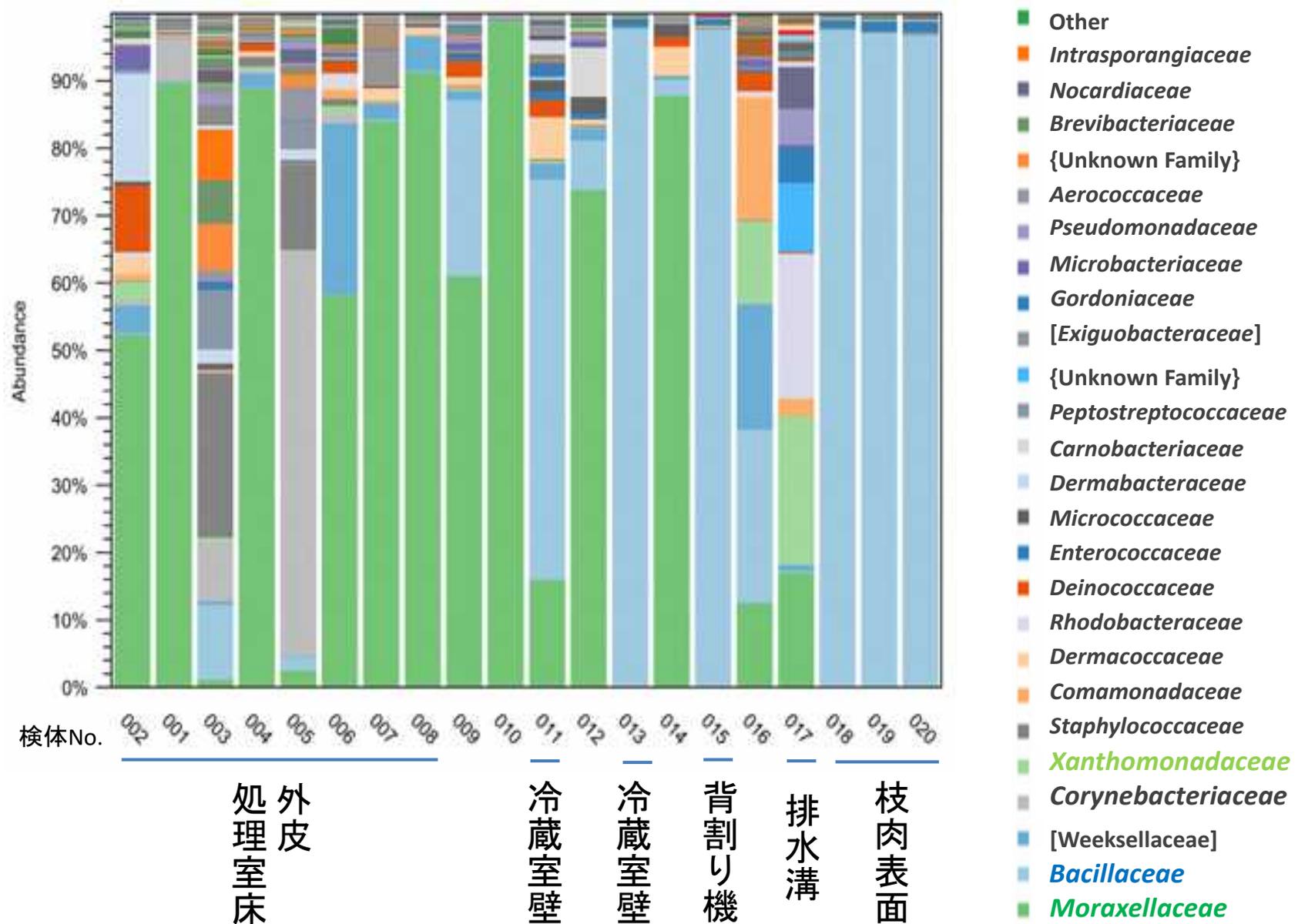


Thermo Fisher HPより

〈結果〉

- 外皮や解体処理周辺環境(No.1~8)ではモラクセラ属菌が最も優勢となっていた。
- 一部の外皮(No.5)ではコリネバクテリウム属菌も優勢であった。
- 枝肉洗浄下にある排水溝(No.17)はキサントモナス属菌等、他検体と異なる構成が認められ、腸内細菌科菌群も多く検出された。
- 枝肉冷蔵室では壁(No.11,13)、枝肉表面(No.18~20)においてバシラス属菌が最も優勢となっていた。

【構成菌叢解析】菌科ごとの占有率



考察 1

- リステリア・モノサイトゲネスの検出なし。
- 解体処理工程の環境試料からリステリア属菌は検出なし。
- 処理工程が前肢落し→友バラ皮剥ぎ→背割りと進むに従い、推定リステリア属菌数が減少していた。

GOOD

枝肉洗浄までの工程で、外皮由来の生物的危害減少
熱水を用いた作業後の施設設備環境洗浄が効果あり

- 冷蔵室床、シンク、排水溝で菌数増加していた。
・・・人が頻繁に通る場所、水が常にたまった状態

CHECK

長靴等を介した交差汚染の可能性もあり
一般衛生管理を点検する必要性



考察 2

- 冷蔵室壁、背割り機、枝肉表面ではバシラス属菌が優位であった。
- 枝肉洗浄下の排水溝から腸内細菌科菌群が多く検出された。

CHECK

バシラス属菌の汚染経路の確認

洗浄方法を含む管理の在り方を検討する必要性



枝肉のリステリア汚染要因としては、腸管破損による内容物の汚染、機材や人の手を介した2次汚染、洗浄水の跳ね上げによる汚染の可能性が示唆されている。

今後の課題

- 推定リステリア属菌が多く検出されたことから、シンクの消毒や、冷蔵庫での人や長靴等を介した交差汚染を防止するための一般衛生管理がなされているか、点検する必要がある。
- バシラス属菌や腸内細菌科菌群が検出されたことから、背割り機や排水溝からの2次汚染を防ぐための、洗浄方法の検討が必要である。

THANK YOU

