

令和5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)

「野生鳥獣由来食肉の食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究」
分担研究報告書

野生鳥獣由来食品の製造加工、調理段階における
衛生管理に関する研究

研究分担者	渡辺 麻衣子 (国立医薬品食品衛生研究所)
研究協力者	西角 光平 (国立医薬品食品衛生研究所)
	山口 剛士 (鳥取大学)
	森部 絢嗣 (岐阜大学)
	小林 由美 (北海道大学)

研究要旨：

国内では、カンピロバクター（主に *Campylobacter jejuni* または *C. coli*）による食中毒は近年増加傾向にあり、事例件数および患者数ともに最も多い食中毒の一つである。カンピロバクター食中毒の原因食品は鶏肉であることが広く知られる。一方で、近年は野生カモ肉が低温加熱調理法や生ハム製造に利用され、喫食される機会が多くなり、野生カモ類からのカンピロバクター定性試験の結果からは高頻度の分布が報告されることから、野生カモ肉でも鶏肉と同様に、カンピロバクター食中毒のリスクに留意する必要がある。カモでも、ブロイラーと同様に、盲腸内容物が精肉の最大の汚染源である可能性が高いと考えられるが、盲腸内容物におけるカンピロバクターの定量的データはほとんど無い。そこで今年度の検討では、野生カモにおけるカンピロバクターの分布実態の把握、特に定量解析結果の集積をはかることを目的として、国内捕獲の野生カモにおける分布実態調査を行った。さらに、低温加熱調理によるカンピロバクター汚染低減効果を評価する目的で、低温加熱調理温度帯におけるカモ肉での本菌の消長を実験的に検証した。その結果、野生カモの盲腸内容物における高頻度・高濃度のカンピロバクター保有を確認でき、腸管はカモ肉のカンピロバクターの汚染源として重要であることを示した。捕獲・解体時において、特に腸管（盲腸）内容物を精肉から隔離できる安全な取り扱いを行うことにより、カンピロバクター汚染リスクは軽減できると考えられる。また、野生カモ肉表皮表面に菌が付着、または肉内部に菌が混入しても、低温加熱調理条件（65°C/15分・63°C/30分）で確実に加熱することにより菌は死滅し、カンピロバクター食中毒リスクは軽減できることを確認した。

A. 研究目的

国内では、カンピロバクター（主に *Campylobacter jejuni* または *C. coli*）による食中毒は近年増加傾向にあり、事例件数および患者数ともに最も多い食中毒の一つである。カンピロバクター食中毒の原因食品は鶏肉であることが広く知られるが、ブロイラーでは、特に盲腸内容物中には 10^7 から 10^8 cfu/g

レベルの高濃度のカンピロバクターが分布しており、これが精肉の重要な汚染源となる。

一方で、近年は、野生カモ肉が低温加熱調理法や生ハム製造に利用され、喫食されることがポピュラーとなり、多くの製品が市販され、またそのケースは飲食店でも頻繁に見られるようになった。国内で過去に実施された野生カモにおけるカンピロバクターの定性的

調査においては、狩猟鳥やジビエ肉用市販野生カモ類の直腸スワブや野鳥糞から、数%から 65 %程度のカンピロバクターが分離されたとの報告が複数ある。野生カモ肉も、鶏肉と同様に、カンピロバクター食中毒のリスクに留意する必要がある。

ヒトがカンピロバクター症を発症するのに必要な菌数は 10^2 cfu 程度であるとされ、菌の汚染程度を定量的に評価する意義は大きい。カモでも、ブロイラーと同様に、盲腸内容物が精肉の最大の汚染源である可能性が高いと考えられるが、盲腸内容物におけるカンピロバクターの定量的データはほとんど無い。

そこで本研究では、野生カモにおけるカンピロバクターの分布実態の把握、特に定量解析結果の集積をはかることを目的として、国内捕獲の野生カモにおける分布実態調査を行った。さらに、 65°C より低い温度帯での低温加熱調理によるカンピロバクター汚染低減効果を評価する目的で、低温加熱調理温度帯におけるカモ肉での本菌の消長を実験的に検証した。

B. 研究方法

1. 野生カモにおけるカンピロバクターの分布実態の把握

今年度の検討では、国内で令和 5 年 11 月から令和 6 年 1 月にかけて、北海道、宮城県、岐阜県、鹿児島県で捕獲された野生のオナガガモ、カルガモ、コガモ、ヒドリガモ、マガモ、ヨシガモ計 66 個体の、ムネからモモにかけての表皮および腸管を検討対象として供試した。表皮では菌数が少ないと予想されたため、試料を前培養し試料中の菌の有無を定性的に評価することとした。腸管では、直腸スワブまたは盲腸内容物を供試し、盲腸内容物においては菌の定量的評価を行った。

1) 供試試料

野生カモは入手時の状況に応じて、以下の 3 種類の採取方法によるサンプルをカモと体から採取した。全ての採取作業はクリーンベンチ内で無菌的に実施した。供試した試料の内訳（採取部位・鳥種・捕獲地）は、表 1-3 に示した。

①野生カモ肉の販売業者から、腹側羽抜き処理済みの丸と体（図 1）を購入し、腸管の損傷を避けつつムネからモモにかけての表皮を 15-25 g 程度採取した。この際、できる限り筋は検体に入れず表皮によって構成されるように採取した。その後、滅菌綿棒で直腸スワブを採取、または開腹後に盲腸を切除し内容物を採取した。盲腸内容物は、この後の培養による定量的試験のため採取重量を測定した。

②銃で狩猟者が捕獲または罠で捕獲した野生カモ羽抜き未処理丸と体（図 2）を譲り受け、腸管の損傷を避けつつ、無菌的に羽抜き処理後、①と同様に表皮、直腸スワブまたは盲腸を採取した。盲腸の内容物も①と同様に処理した。なお、羽抜き処理後に、肉表面の洗浄等清浄操作は行わずに供試した。

③罠で捕獲したジビエ肉販売用の野生カモの腸管のみを譲り受け供試した。盲腸の内容物を①と同様に処理した。

2) 培養法によるカンピロバクターの定量的試験

1-1) で採取した盲腸内容物試料は、15ml 遠沈管に入れた PBS に懸濁した。この際、体格が小さく内容物が少量しか採取されないコガモ用には 4 mL、その他カモ種用には 9 mL の PBS を使用し、ボルテックスミキサーでよく混合し、これを 10^{-1} の希釈液とした。ここからさらに 10^{-3} までの段階希釈列を作製した。段階希釈液を CCDA 変法培地 (mCCDA 培地) {以下をメーカーが公開する処方に従って調合；カンピロバクター血液無添加選択寒天基礎培地 (OXOID)、CCDA サプリメント (OXOID)} 平板 2 枚に 100 μL ずつ塗抹し、 42°C で 48 ± 2 hr 微好気条件下で培養した。培養後、形成されたコロニー数を計測し、盲腸内容物 1 g あたりの菌数 (cfu/g) を算出した。またコロニーを目視観察し、コロニーの形態性状で判断した代表的コロニー 3 つをヒツジ血液寒天 (ニッスイ) に釣菌し分離培養した。分離株のコロニー PCR を行い、16S-rDNA V3-V4 領域の塩基配列を決定し、NCBI-BLAST での配列の相同性解析により同定した。

3) 培養法によるカンピロバクターの定性的試験

1-1)で採取した表皮試料はストマッカー袋に入れたプレストンカンピロバクター選択液体培地(プレストン液体培地){以下をメーカーが公開する処方に従って調合;ニュートリエントブイオンNo. 2(OXOID)、カンピロバクター発育サプリメント(OXOID)、プレストンカンピロバクター選択サプリメント(OXOID)}100 mLに加え、1分間ストマッキング処理した。直腸スワブはプレストン液体培地30 mLに懸濁した。盲腸内容物は1)で作製した 10^{-1} 懸濁液の100 μ Lを分取し、プレストン液体培地10 mLに懸濁した。これらを42°Cで 24 ± 2 hr、微好気条件下で前培養を行った。培養後、前培養液の10 μ Lまたは200 μ Lずつをそれぞれ1枚のmCCDA平板に塗抹し、42°Cで 48 ± 2 hr微好気条件下で培養した。培養後、形成されたコロニーは、2)と同様の方法で分離および同定した。

2. 低温加熱調理によるカンピロバクター汚染低減効果の評価

以下の手順によって実施した加熱およびこれと対照の非加熱肉試料を1セットとして、1加熱条件につき2または3回繰り返し試験を実施した。

1) 供試カモ肉

野生カモ丸と体から皮付きの状態で採取したムネ肉について、あらかじめカンピロバクターの自然汚染が無いことを培養法で確認した。ここから50-60 gを塊で採取し、1回の菌接種・加熱試験に供する肉試料とした。菌接種前に重量を計測した。加熱条件は $65 \pm 1^\circ\text{C}/15$ 分または $63 \pm 1^\circ\text{C}/30$ 分とした。

2) カンピロバクターの接種

接種菌液は、42°Cで 24 ± 2 hr微好気条件下で前培養したATCC33560 *Campylobacter jejuni*のヒツジ血液寒天平板培養物から、エーゼで菌体をかきとり、1 mLのPBSに懸濁して作製した。接種菌液の濃度は作製の都度、平板塗抹法にて培養し計測した。全ての試行では、接種菌数は肉試料1片あたり 8×10^6 cfu以上接種することとした。菌接種方法は、表皮表面に塗布する場合には、個々の肉試料の表皮表面上に接種菌液300 μ Lを滴下し、コンラ

ージ棒で塗布した。カモ肉の筋組織内部に接種菌液を注入する場合には、それぞれの肉試料内部の中央部に注射器で接種菌液300 μ Lを注入した。1回の加熱実験では、同時に肉試料を2片用意し両方に菌を接種後、1片はビニール袋内に真空パックして加熱実験に供した。もう1片は非加熱の対照試料とし、直ちにPBS450 mLに加えて1分間ストマッキング処理後、1-2)と同様の方法で段階希釈法による菌数測定を行った。

3) 低温調理条件での加熱

2-2)で用意した真空パック済み菌接種肉試料を、定温に設定済みのウォーターバスに正確な設定時間の間浸漬した。一定時間経過後、直ちに氷水に浸漬した。加熱時間の測定は、食品用高速応答デジタル中心温度計(TP-150VC、ThermoPORT)を使用し、菌液接種部位に温度センサープローブを設置し(肉試料表面に接して、または肉試料中心部に差し込み)測定した。25°C以下まで冷却後、2-2)と同様の方法で段階希釈列を作製し平板塗抹法による菌数測定を行った。

(倫理面への配慮)

本研究はこれに該当しない。

C. 研究結果

1. 野生カモにおけるカンピロバクターの分布実態の把握

野生カモ直腸スワブまたは盲腸内容物からのカンピロバクター定性的試験の結果、66個体中25個体(37.8%)で陽性となった。陽性検体率について、カモ種または岐阜県内の捕獲地で分類し、比較した(表4-1、4-2)。その結果、コガモでは27個体中5個体(18.5%)、マガモでは34個体中12個体(52.2%)がカンピロバクター陽性であった。岐阜県内の捕獲2地点では、地点1(捕獲日令和5年12月27日)で捕獲された21個体中10個体(47.6%)、地点1と同じ岐阜県内地点2(捕獲日令和6年1月6日)で捕獲された18個体中1個体(5.6%)で、それぞれカンピロバクターが検出された。カモ種または捕獲地、またはそれらの両方によって、カンピロバクター陽性率には差がある傾向が見られ、腸管内のカンピロバクター

分布頻度はこれらの要因から影響を受ける可能性が考えられた。同定されたカンピロバクターは全て *C. jejuni* であった。

野生カモ肉表皮からのカンピロバクター定性的試験の結果、36 個体中 6 個体 (16.7%) で陽性となったが、陽性試料は全て羽抜き未処理個体、すなわち供試前に実験室で腹側の羽抜き処理を実施した個体であった。陽性個体をカモ種で分類したところコガモ 2 検体・マガモ 2 検体となり、捕獲地 (県) で分類したところ北海道 3 検体・岐阜県 3 検体となり、カモ種または捕獲地による顕著な偏りは見られなかった。同定されたカンピロバクターは全て *C. jejuni* であった。

野生カモ盲腸内容物からのカンピロバクター定量的試験の結果を図 2 に示した。今回の調査では、50 個体中 17 個体 (34.0%) の試料から検出され、検出菌数の平均値は 1.5×10^5 cfu/g、中央値は 3.6×10^3 cfu/g、最高菌数は 1.6×10^6 cfu/g となった。同定されたカンピロバクターは全て *C. jejuni* であった。

2. 低温加熱調理によるカンピロバクター汚染低減効果の評価

野生カモのムネ肉の表皮表面に接種したカンピロバクターの生菌 (接種菌数: 平均 4.1×10^7 cfu/肉試料 1 片あたり) は、 $65 \pm 1^\circ\text{C}/15$ 分または $63 \pm 1^\circ\text{C}/30$ 分の両条件の加熱後、非検出 (< 50 cfu/肉試料 1 g) となった (図 3)。また $63 \pm 1^\circ\text{C}/30$ 分の加熱条件については、ムネ肉中心部に菌を接種しての調査も実施し、同様に加熱後には非検出となった (図 3)。これらの結果は 2 または 3 回繰り返し実験により再現性を確認できた。

D. 考察

野生カモの盲腸内容物における高頻度および高濃度のカンピロバクター保有を確認し、腸管はカモ肉のカンピロバクターの汚染源として重要であると言えた。捕獲・解体時において、特に腸管 (盲腸) 内容物を精肉から隔離できる安全な取り扱いを行うことにより、カンピロバクター汚染リスクは軽減できることが示唆された。また、今回の検討では、表皮からのカンピロバクター検出は、全て実験室での羽抜き処理個体からであったことから、解体

時の羽抜き処理方法および処理後の表皮表面の処理方法によっては、直腸内容物が精肉に付着したまま残存し検出される可能性が考えられた。事業者による販売以前の時点で羽抜き処理が行われた個体のムネ・モモ肉表皮試料からは、今回カンピロバクターは検出されなかった。今回販売事業者によって行われた羽抜き処理方法の詳細は不明だが、毛炙り処理は無かったことを確認した。今後、精肉へのカンピロバクター付着に関連性が深い解体工程等についての調査が必要であると考えられた。さらに、本研究によって明らかとなった菌の分布状況から、カモ種または捕獲地等のカモの生態に関わる要因が、腸管内でのカンピロバクター陽性率に影響する可能性が考えられた。しかしこのことに対する有意な結果を導くためには、今回調査した試料数は十分ではなく、今後検討数を増やし詳細な解析が必要である。

本研究の結果から、野生カモ肉表皮表面に菌が付着しても低温加熱調理条件 (一例として $65^\circ\text{C}/15$ 分・ $63^\circ\text{C}/30$ 分) で確実に加熱することにより菌は死滅し、カンピロバクター食中毒リスクは軽減できることが確認できた。

E. 結論

野生カモの盲腸内容物における高頻度・高濃度のカンピロバクター保有を確認したことから腸管はカモ肉のカンピロバクターの汚染源として重要である。捕獲・解体時において、特に腸管 (盲腸) 内容物を精肉から隔離できる安全な取り扱いを行うことにより、カンピロバクター汚染リスクは軽減できる。菌の分布状況は、カモの種や捕獲地によって菌の保有程度に差がある可能性が有る。今後検体数を増やし詳細な検討が必要であると考えられた。また、野生カモ肉表皮表面に菌が付着、または肉内部に菌が混入しても、低温加熱調理条件で確実に加熱することにより菌は死滅し、カンピロバクター食中毒リスクは軽減できることを確認した。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表
該当なし
2. 学会発表
該当なし
3. 講演会
該当なし

- H. 知的財産権の出願・登録状況
 1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
該当なし

表 1. 供試した表皮試料の内訳

鳥種	個体数	捕獲地	個体数
オナガガモ	6	北海道	8
カルガモ	2	鹿児島県	13
コガモ	6	岐阜県	9
ヒドリガモ	7	宮城県	6
マガモ	15		
計	36	計	36

表 2. カンピロバクター定性試験に供試した直腸スワブまたは盲腸内容物試料の内訳

鳥種	個体数	捕獲地	個体数
オナガガモ	6	北海道	8
カルガモ	2	鹿児島県	13
コガモ	27	岐阜県	39
ヒドリガモ	7	宮城県	6
マガモ	23	計	66
ヨシガモ	1		
計	66		

表 3. カンピロバクター定量試験に供試した盲腸内容物試料の内訳

鳥種	個体数	捕獲地	個体数
オナガガモ	3	北海道	2
カルガモ	2	鹿児島県	3
コガモ	26	岐阜県	39
マガモ	18	宮城県	6
ヨシガモ	1	計	50
計	50		

表 4-1. 野生カモ直腸スワブまたは盲腸内容物からのカンピロバクターの検出状況
(鳥種による検出率の比較)

鳥種	陽性数/試験数	陽性検体率 (%)
コガモ	5/27	18.5
マガモ	12/34	52.2

表 4-2. 野生カモ直腸スワブまたは盲腸内容物からのカンピロバクターの検出状況
(岐阜県内における鴨捕獲地における検出率の比較)

捕獲地	陽性数/試験数	陽性検体率(%)
岐阜県内 地点 1	10/21	47.6
岐阜県内 地点 2	1/18	5.6



マガモ
(メス・販売者による羽抜き処理済)



マガモ
(オス・販売者による羽抜き未処理)

図 1. 供試した野生カモ丸と体の例

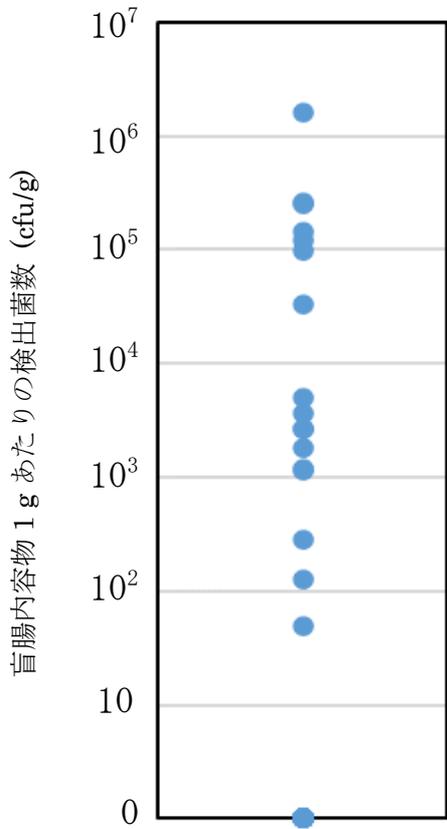


図 2. 野生カモ盲腸内容物中のカンピロバクター検出菌数

カモ種は、マガモ、コガモ、オナガガモ、カルガモ、ヨシガモを含む。盲腸内容物の平板塗抹法によって算出した菌数を、1 個体につき 1 ドットで示した。

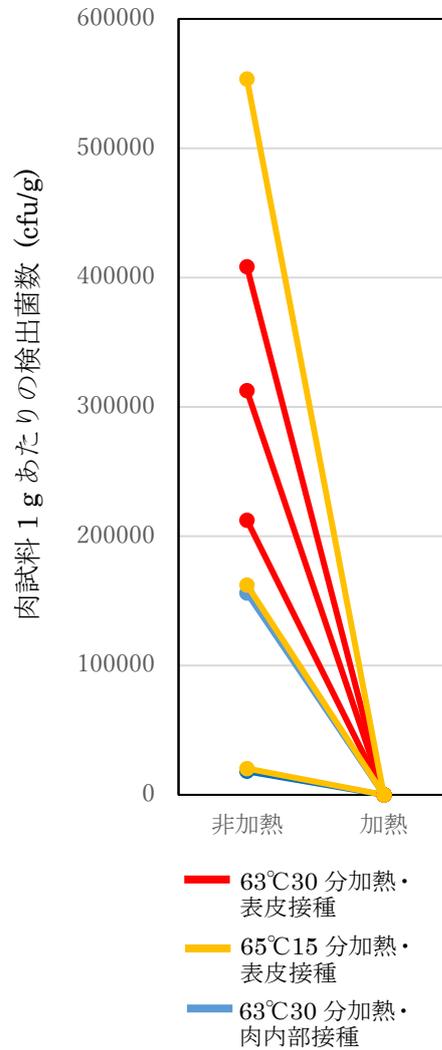


図 3. 野生カモ肉における低温加熱調理によるカンピロバクター菌数減衰効果

加熱およびこれと対照の非加熱肉試料を 1 セットとして、1 加熱条件につき 2 または 3 回繰り返し試験を実施した。1 回の加熱実験では、同時に肉試料を 2 片用意し両方に菌を接種後、1 片は加熱実験に供し、もう 1 片は非加熱の対照試料とし菌数測定を行った。これらの菌数を比較し加熱後の減衰効果を確認した。