

令和3年度～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)
(分担)研究報告書

処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止に関する研究

研究分担者 壁谷英則(日本大学生物資源科学部獣医学科)
研究協力者 森田 聡志、山原 絹子、石井 香菜、鈴木 綾乃、田中 裕梨、
大津 千尋、鶴見柚葉、山崎晴香、郭佳茜、勝俣 綾
(日本大学生物資源科学部獣医学科)

研究要旨：

本研究では、野生鳥獣肉処理施設における一連の解体処理工程で起こりうる微生物汚染防止を目的として、①わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された鹿、ならびに猪枝肉の枝肉拭き取り調査、②野生鳥獣肉処理工程において想定される細菌汚染源の細菌叢解析、および③野生鳥獣熟成肉の衛生評価について実施した。

①については、施設毎に異なる手法を用いて解体処理を行うわが国の状況を鑑み、それぞれの処理方法で処理された枝肉の衛生指標細菌数を評価し、より衛生的な解体処理方法を考察した。鹿 30 施設、猪 20 施設でそれぞれ処理された洗浄前の鹿枝肉 249 検体、および猪枝肉計 129 検体について、それぞれ胸部、および肛門周囲部から拭き取りを実施し、一般細菌数、大腸菌群数、大腸菌数、および黄色ブドウ球菌数を計測した。その結果、1) 屋外施設、2) 「剥皮」→「内臓摘出」の作業順別で、3) ウィンチでの剥皮(鹿)、4) のせ台での剥皮(猪)、5) 食道結紮未実施、ビニル被せ、6) 肛門結紮未実施の各条件で処理された枝肉は、いずれも一般細菌が高度に検出される傾向が認められた。

②については、わが国の野生鳥獣肉処理施設 A、B で処理された鹿計 3 頭について、各処理工程における作業員、器具、と体等から拭き取りを行い、細菌叢解析を実施した。その結果、①枝肉の細菌叢と類似した特定の細菌叢はない検体や、内臓摘出後の作業員の手指やナイフから検出された細菌叢と類似する検体が認められた。②枝肉洗浄前後ではほとんど細菌叢に変化がないこと、③枝肉を汚染した細菌叢の多くは土壌に由来することが明らかとなった。

③については、1) 熟成肉では、一般細菌数が増加するものの、大腸菌群・大腸菌は低下する傾向があること、2) わが国でインターネットにて市販されている野生鹿肉のうち一部の施設で販売されていたものにおいて極めて高度に細菌汚染をしているものがあること、が確認された。わが国の野生鳥獣肉処理施設 A、B、C で処理された鹿各 10 頭、計 30 頭の熟成前後の枝肉について細菌叢解析を実施した。その結果、1) 熟成前に比べ、熟成後では細菌叢の多様性が低下した。2) 多くの熟成後の検体で *Pseudomonadaceae* が最優占菌種となった。3) 熟成後の検体の多くは、低温腐敗細菌の占有率が高くなることが確認された。

A. 研究目的

近年、わが国では鹿や猪などの野生鳥獣の生息数増加に伴い、農作物や自然植生への被害が深刻化している。これに対して、国は野生鹿や猪の捕獲を推進し、令和2年度の環境省の統計では、鹿 67.5 万頭、猪 67.9 万頭が狩猟、および有害鳥獣捕獲などその他で捕獲

されている。このような捕獲頭数は近年右肩上がりに上昇して推進している。これに伴い、令和4年度の農林水産省の報告によると、鹿や猪による被害額は、それぞれ 65.0 億円および 36.4 億円で、近年は特に猪において減少傾向にある。さらに捕獲された鹿や猪を食用に活用する試みが進められている

が、これら野生鳥獣肉を原因とする食中毒事例の発生が危惧される。厚生労働省は「野生鳥獣肉の衛生管理に関するガイドライン」を策定、令和2年5月には一部改正し、衛生管理の徹底を推進している。具体的な作業手順を示すための科学的データの蓄積が求められている。

これまでに我々は、平成30-令和2年度本研究事業「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理のための研究」において、1) 鹿、猪ともに「剥皮」→「内臓摘出」の順で処理された枝肉からは、「内臓摘出」→「剥皮」の順で処理された枝肉に比べ、一般細菌数が多く検出されたこと、2) 猪では、剥皮の際「のせ台」を用いた場合は、「懸吊」する場合に比べ、各種衛生指標細菌数が多く検出されたこと、3) 鹿、猪ともに、剥皮の際に「手剥ぎ」に比べ、「ウィンチ」を用いて行くと、細菌污染を受けやすいこと、4) 解体処理工程において、搬入前の表皮洗浄は極めて効果的に細菌数を減少させたこと、5) 解体処理工程における細菌污染源として、表皮、蹄、肛門周囲、胃内容物などが考えられたこと、6) 一連の工程の内、特に、「剥皮工程」、「内臓摘出工程」では、作業者の手指、およびナイフに高度に細菌污染されることを報告してきた。

厚生労働省はガイドラインの遵守状況について調査を行っており、令和3年度調査時におけるガイドラインの各項目の遵守率の平均値は92.7%であった。しかしながら「放血後の食道の結紮又は閉塞処理」、「肛門を合成樹脂製の袋で覆い、直腸を肛門の近くで結紮するとともに、肛門部による個体の污染を防ぐこと。」に関してはそれぞれ遵守率が81.4%と77.8%であり、ガイドラインに記載された項目の中でも特に低い実施状況であった。

野生鳥獣肉の多くは熟成させた後、冷凍条件下で流通する。熟成期間や条件は事業者ごとに異なる。野生鳥獣肉の場合、川下のニーズに従って、内臓摘出後、剥皮を行わずに熟成を行う施設すらある。熟成中に食中毒起因細菌や腐敗細菌が増殖するリスクがあるにも関わらず、それらの衛生学的な調査の報告はほとんどない。

以上のことから、本研究では、①継続調査として、当該研究事業期間を通して、わが国の野生鳥獣肉処理施設において処理された鹿肉や猪肉の拭き取り検体について、衛生指標細菌（一般細菌、大腸菌群、大腸菌、ならびに黄色ブドウ球菌）数を計測して衛生状態を評価することで、屋外で解体、剥皮、内臓摘出処理された枝肉や、処理場内で異なる条件で解体処理された枝肉の衛生状態に関わる要因を検討した。さらに、②捕獲から解体処理に至る一連の工程において拭き取りを行い、細菌叢解析を行うことにより、細菌污染の原因となる工程について検討した。③野生鳥獣処理施設にて処理された熟成前後の枝肉（鹿および猪）の安全性を検討するため、網羅的な細菌叢解析により、熟成による細菌叢の変化について検討した。熟成肉として市販されている鹿肉を購入し、衛生状況を検討した。さらに、熟成を行う鹿肉について、同一個体の熟成前後の検体を採取し、熟成に伴う衛生指標細菌の変化、ならびに細菌叢解析を実施した。

B. 研究方法

①わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の衛生評価

2018年10月～2024年2月の間に、わが国の野生鳥獣肉処理施設鹿30施設、猪24施設でそれぞれ処理された洗浄前の鹿枝肉249検体、および猪枝肉計129検体について、枝肉洗浄前において、それぞれ胸部、および肛門周囲部から拭き取りを実施した(表1)。各検体について、「枝肉の微生物検査実施要領(平成26年度)(厚生労働省)」に従い、各衛生指標細菌数を計測した。すなわち、各拭き取り材料から10倍階段希釈液を調整した。各検体の1ml量を、各条件につき2枚のペトリフィルム(ACプレート：一般細菌数用、ECプレート：大腸菌・大腸菌群数用、STXプレート：黄色ブドウ球菌用)にそれぞれ接種した。EC、およびSTX各プレートは35℃で24時間、ACプレートは35℃で48時間培養し、それぞれ形成されたコロニー数を計測した。

各衛生指標細菌数の比較には、Anderson-Darling検定による正規性の検定を行った後、Mann-WhitneyU検定により行った。

②処理工程における拭き取り検体を対象とした細菌叢解析

2020年10月～12月の間に、わが国の野生鳥獣肉処理施設A、Bに搬入された鹿計3頭について、止め刺し、表皮洗浄前、表皮洗浄後、剥皮後、内臓摘出後、枝肉洗浄前、枝肉洗浄後、において、周辺環境、作業者手指、ナイフ、と体蹄、表皮正中、肛門周囲部、からの拭き取り(100cm²)、ならびに直腸便を採取した。

各検体における細菌叢解析は、16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (イルミナ社)に従って行った。すなわち、各検体から、市販のDNA抽出キット(DNeasy PowerFood Microbial Kit; QIAGEN社)を用いてDNAを抽出し、Tks Gflex DNA Polymerase (TAKARA社)を用いて、細菌の16SrRNA(V3-V4)領域を標的としたPCRを行った。PCR産物を精製した後、Nextera XT Index Kitを用いてPCRを行った。さらにPCR産物を精製した後、MiSeq Reagent Nano Kit v2 (500 Cycles) (イルミナ社)を用いて、Miseqにより解析を行った。得られたfastqデータについて、Qiime2を用いてデータを解析した。対象としたデータベースには、Greengenes Databaseを用いて解析し、各検体における菌叢のうち、上位11属(および、その他)の割合(%)で表した。同一の個体の一連の作業工程から採取した各検体間における菌叢構造の類似度を検討するためにβ多様性解析を行った。検体間のUnifrac距離を基に主座標分析(PCoA)によって3次元で表現し、各検体間の菌叢構造の類似度を評価した。

③野生鳥獣熟成肉の衛生評価

2021年1月～2022年2月、わが国の野生鳥獣処理施設、3(熟成施設C～E)施設にて処理された鹿(各施設10頭、計30頭)を対象とした(表2)。各施設の採材期間、動物種、部位、熟成期間、熟成温度およびスターターの有無を表2に記した。同一個体から、熟成前後に肉検体およそ200g量を採取し、本研究に使用した。

2021年1月-5月にかけてインターネットを通じて購入した鹿熟成肉計25検体、及び

同非熟成肉65検体を対象とした。それぞれ鹿熟成肉を扱う施設は販売施設a-cの3施設、鹿肉を扱う販売施設はd-jの7施設であった。1検体につき重さ180-270gのブロック肉またはスライス肉を無菌的に採取した。滅菌したピンセットとはさみで1cm³程度の大きさに切断した肉試料180gに、PBS(リン酸緩衝液)180mlを加えて、フィルター付きストマッカー袋に入れ、パドル間距離5mm、speed3で1分間ストマック処理を行った。各検体における各種衛生指標細菌数を、①に示した方法と同様の方法で行った。さらに、各検体について、食中毒起因細菌として、腸管出血性大腸菌、同O157、サルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌、リステリア属菌の分離を「食品衛生検査指針(2018)」に従って行った。リステリア同定用システムのアピリスティア(シスメックス・バイオメリュー株、東京)に接種した後、24時間培養した後、判定、解析を行った。

さらに、②に示した方法に従って、細菌叢解析を行った。

(倫理面への配慮)

該当せず

C. 研究結果

①わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の衛生評価

A屋内、屋外施設別の比較では、鹿において屋外施設で処理された枝肉において有意に高度の一般細菌数が検出された。猪でも同様の傾向を示したが有意差は認められなかった(図1A)。

以降、屋内施設で処理されたもののみを対象として比較を行った。

B剥皮と内臓摘出の工程順別比較では、鹿、猪ともに剥皮を先に行う施設で処理された枝肉において高度の一般細菌数が検出された(図1B)。

C剥皮方法別比較では、鹿において、ウィンチを使用する施設では、手剥ぎで剥皮を行う施設に比べ、有意に高度の一般細菌数が検出された。猪では湯剥ぎが最も高く一般細菌が検出される傾向があったが有意差は認められなかった(図1C)。

D 剥皮施設別比較では、鹿、猪ともに懸吊に比べのせ台を使用する施設で生産された枝肉において高度の一般細菌数が検出され、特に猪では有意差が認められた (図 1D)。

E 鹿における食道結紮の方法別比較では、一般細菌数において結紮のみが、その他の方法に比べ、有意に低値を示した (図 1E)。

F 肛門結紮の方法別では、未実施施設に比べビニルを使用した結紮を行う施設において有意に低値を示した (図 1F)。

②処理工程における拭き取り検体を対象とした細菌叢解析

わが国の野生鳥獣肉処理施設 A、および B において、一連の処理工程において、作業員、器具、施設等、枝肉への細菌汚染源となる可能性のあるものから拭き取り検体を採取し、各拭き取り検体における細菌叢解析を行った。施設 A, B において、それぞれ 2, 1 回実施した (図 2~7)。

施設 A では、1, 2 回目ともに、最終的な洗浄後の枝肉には、① *Alcaligenaceae*、② *Pseudomonas*、③ *Stenotrophomonas* が占有率が高く検出された (図 2, 3, 表 3, 4)。さらに、主座標分析による菌叢構造比較解析を行ったところ、1 回目の実施では、洗浄前後の胸部と腹部においては近縁な菌叢構造を示していた (図 5, 6)。さらに、これらの菌叢構造は内臓摘出後における作業員の手指から検出されたものと類似していた。2 回目の実施においても、洗浄前後の胸部と腹部においては近縁な菌叢構造を示していたが、一連の処理工程において採材した検体から特に類似した構造を示すものはなかった。その他、胃内容物と施設から検出された菌叢は類似していた。

施設 B では、最終的な洗浄後の枝肉には、① *Stenotrophomonas*、② *Alcaligenaceae* (科)、③ *Sphingomonas*、④ *Rhodococcus* が占有率が高く検出された (図 4, 表 5)。さらに、主座標分析による菌叢構造比較解析では洗浄前後の胸部と腹部においては近縁な菌叢構造を示しており、一部、施設 (床) から検出された検体とも比較的類似した菌叢構造を示した (図 7)。

一方、洗浄後の枝肉から検出された病原性の可能性が含まれる細菌叢として、施設 A の 2 回目で処理された枝肉の肛門周囲部においてのみ、0.231% の *Escherichia/Shigella* が検出されたが (表 4)、その他の細菌は検出されなかった。しかしながら、作業工程途中では、*Escherichia/Shigella* が表皮洗浄前の肛門周囲部、剥皮前の蹄と肛門周囲部、剥皮後のナイフ、内臓摘出後の作業員手指とナイフ、枝肉洗浄前の壁、胸部 (施設 A、1 回目; 表 3)、剥皮前の肛門周囲部、枝肉洗浄前の胸部 (施設 A、2 回目; 表 4)、表皮洗浄前の肛門周囲部、剥皮前の腹側正中、肛門周囲部、枝肉洗浄前の肛門周囲部 (施設 B、1 回目; 表 5) からそれぞれ検出された。*Listeria* は、剥皮前の肛門周囲部 (施設 B、1 回目; 表 5) でのみ検出された。*Yersinia* は、枝肉洗浄前の床、壁 (施設 A、2 回目; 表 4)、枝肉洗浄後の胸部 (施設 B、1 回目; 表 5) からのみ検出された。さらに *Staphylococcus* は、表皮洗浄前の肛門周囲部、剥皮前の腹側正中、剥皮後のナイフ (施設 A、1 回目; 表 3)、表皮洗浄前の腹側正中、肛門周囲部、枝肉洗浄前の肛門周囲部、枝肉洗浄後の胸部 (施設 B、1 回目; 表 5) からのみ検出された。一方、*Salmonella* はいずれからも検出されなかった。

③野生鳥獣熟成肉の衛生評価

③-1 わが国の野生鳥獣処理施設で生産された鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

各施設で処理された枝肉の熟成前後における一般細菌数の中央値 (以下全て「熟成前」、「熟成後」の順で示す。単位は cfu/g) それぞれ、熟成施設 C で 3.3×10^2 、 1.7×10^3 、施設 D で 6.7×10^1 、 7.4×10^1 、施設 C で 3.8×10^3 、 8.3×10^6 であった。施設 C の熟成後の値は、施設 C, D の同値に比べ有意 ($p < 0.05$) に高値であった (図 8)。

大腸菌の中央値 (以下全て熟成前、熟成後で示す。単位は cfu/g) は、施設 C で 8.0×10^{-1} 、0、施設 D ではいずれも 0、施設 E で 1.5×10^0 、0 であった。施設 C, E の熟成後の値は、施設 D に比べ有意 ($p < 0.05$) に減少していた (図 9)。

黄色ブドウ球菌はいずれの検体からも検出されなかった(結果は示さず)。

施設Cで処理された熟成前1検体(9.1%)から *Listeria* spp. が3株分離された。3株の分離株はいずれも、*L. welshimeri* (65.7%) もしくは、*L. innocua* (34.1%) と同定された。その他いずれの検体からも、検討した食中毒起因細菌は分離されなかった(表6)。

③-2 わが国で市販されていた鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

一般細菌数(単位はcfu/g)は、鹿熟成肉では $0 < 2.5 \times 10^5$ 、鹿非熟成肉では、 $0 - 7.4 \times 10^5$ であり、鹿熟成肉と鹿非熟成肉の一般細菌数に有意差は認められなかった。鹿熟成肉では販売施設aの検体($5.2 \times 10^3 - 2.5 \times 10^5$)が販売施設b,cの検体($0 - 2.8 \times 10^2$)に比べ有意($p < 0.05$)に高値を示した。鹿非熟成肉では販売施設fの検体($7.4 \times 10^1 - 7.4 \times 10^5$)が販売施設d,e,g,h,i,jの検体($0 - 4.6 \times 10^3$)と比べ有意($p < 0.05$)に高値を示した(図10)。

大腸菌群数(単位はcfu/g)は鹿熟成肉では $0 - 3.5 \times 10^2$ 、鹿非熟成肉では、 $0 - 6.1 \times 10^4$ であり、鹿熟成肉と鹿非熟成肉の大腸菌群数に有意差は認められなかった。鹿熟成肉では販売施設aの検体($0 - 3.5 \times 10^2$)が販売施設b,cの検体(販売施設cの1検体からのみ 2.0×10^0 CFU/g)と比べ有意($p < 0.05$)に高値を示し、鹿非熟成肉では販売施設fの検体($0 - 6.1 \times 10^4$)が販売施設d,e,g,h,i,jの検体($0 - 3.4 \times 10^2$)と比べ有意($p < 0.05$)に高値を示した(図11)。

大腸菌数(単位はcfu/g)は鹿熟成肉では $0 - 1.5 \times 10^2$ 、鹿非熟成肉では、 $0 - 2.1 \times 10^4$ であり、鹿熟成肉と鹿非熟成肉の大腸菌数に有意差は認められなかった。鹿熟成肉では販売施設aの検体($0 - 1.5 \times 10^2$)のみから検出され、販売施設b,cの検体(すべて0)と比べ有意($p < 0.05$)に高値を示した。鹿非熟成肉では大腸菌は販売施設f,g,jから $0 - 2.1 \times 10^4$ 検出され、販売施設d,e,h,iからは検出されなかった。施設fの検体($0 - 2.1 \times 10^4$)が販売施設d,e,g,h,i,jの検体($0 - 6.0 \times 10^0$)と比べ有意($p < 0.05$)に高値を示した(図11)。

黄色ブドウ球菌はいずれの検体からも検出されなかった(結果は示さず)。

全ての熟鹿成肉検体において、検討したいずれの食中毒起因細菌も分離されなかった(結果は示さず)。

一方、鹿非熟成肉の3検体から non-0157STEC が3株分離された(表7)。これらの菌株について *stx* 遺伝子 (*stx1*, *stx2*) を標的としたPCRを実施したところ、1株から *stx1*, *stx2* 両遺伝子が検出されたのに対し、2株からは *stx2* 遺伝子のみが検出された。

13検体から *Listeria* 属菌が36株分離され、このうち4検体から分離された12株は *Listeria* spp.、9検体から分離された24株は *L. monocytogenes* と同定された。0157STEC、*S. aureus*、*Salmonella* 属菌は全ての検体において陰性だった(表7)。

③-3 熟成肉の細菌叢解析による衛生評価

計30頭分の熟成前後の肉検体のうち、40検体からPCR産物が得られ、細菌叢解析を実施した(図12)。

熟成前、および熟成後の枝肉からは、*Pseudomonanaceae*, *Prevotellaceae*, *Moraxellaceae*, *Microbacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Lachnospiraceae*, *Camobacteriaceae*, *Bacillaceae* などの細菌科が検出された。特に熟成後には、*Pseudomonanaceae*, *Moraxellaceae*, の割合が増加していた。

施設別では、施設Aで生産された枝肉では熟成後の枝肉の多くは、*Pseudomonanaceae*, *Moraxellaceae*、および *Bacillaceae* が優占種となっていた(図13)。一方、施設Cの検体では同様に *Pseudomonanaceae*, *Moraxellaceae* に加え、*Camobacteriaceae* を優占種とする検体も認められた(図14)。

D. 考察

①わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の衛生評価

全国的な野生鳥獣肉処理施設を対象とした検討により、衛生状態(特に一般細菌数の汚染)に影響を及ぼす因子として、1) 屋外施設、2) 工程順: 剥皮→内臓摘出の順、3) 剥皮方法: ウィンチ、4) 剥皮施設: のせ台、5) 食道結紮・肛門結紮: 未実施、において

それぞれ高度に一般細菌数の汚染が認められた(表8)。

工程順では、剥皮を先に行うことで、作業者が剥皮後の枝肉に、汚染した手指で直接、あるいは間接的に接触する機会が多くなった可能性が考えられた。

剥皮方法別では、ウィンチを用いた場合には、剥皮の際に、表皮に汚染した土壌や細菌が舞い散る可能性が考えられた。

剥皮施設別では、のせ台を使用して剥皮する施設では、懸吊して剥皮を行う場合に比べ、作業中に汚染した手指や表皮などを介してより高頻度に枝肉に細菌が汚染する可能性が考えられた。

食道結紮の方法別ではビニル袋で覆う方法では結紮のみと比べ、多くの一般細菌数が検出された。鹿では食道結紮後断端をビニル袋で覆うことがかえって汚染リスクとなる可能性が考えられた。ビニル袋を被せるために食道を切断する行為や、結紮をしないことで、内容物が露出することが汚染リスクとして考えられる。食道結紮は結紮のみに留めることがより衛生的な取り扱いであると考えられた。

一方、肛門結紮については、ビニル袋で覆うことで、結紮未実施の施設に比べ有意に一般細菌数の低下が認められた事から、肛門結紮の細菌汚染防止効果が確認された。

②処理工程における拭き取り検体を対象とした細菌叢解析

本研究により、最終的に枝肉に汚染する細菌叢は、施設毎に異なる一方、両施設で共通して、①*Alcaligenaceae* (科)、②*Stenotrophomonas*、は占有率が高く検出されることが明らかとなった。*Alcaligenaceae* 科の細菌は、土壌、水中、動物の腸内等に生息していることから、これらの環境から汚染したものと考えられた(表7, 8, 9)。さらに低温細菌である事から、汚染された場合には、冷蔵保存しても増殖してしまう可能性がある。*Stenotrophomonas* もまた、腸内、土壌、植物などから由来する。さらにこれらの細菌は一連の作業工程中からも検出されることから、一連の作業工程において、土壌、糞

便等による汚染は、一般的に起こるものと考えられた。

Pseudomonas は、特に施設Cの1回目において、高い(47.368%)占有率を占めていた。本菌もまた、土壌や水中、腸管等、様々な環境から由来すると考えられるが、特に、低温細菌であり、腐敗細菌として重要である。令和元年、および2年度の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安全性の確保とリスク管理のための研究」において、我々は、*Pseudomonas* が鹿枝肉から検出され、さらに熟成後に高度に検出されることを報告した。以上の成績から、野生鳥獣肉処理施設において、最も注意を要する危惧すべき細菌の一つであると考えられた。今後、さらに同菌による枝肉への影響やさらなる疫学的調査を継続する必要がある。

本研究では、全ての検討において、枝肉洗浄前後の胸部と肛門周囲部は類似した細菌叢であることが確認された。以上のことから、枝肉の洗浄では完全な細菌の除去は困難であることが改めて確認された。枝肉洗浄前にトリミングによって汚染した部分を切除することが重要であることが改めて支持された。

施設Cにおける1回目に実施した検体では、枝肉洗浄後の胸部、肛門周囲部の細菌叢は特に内臓摘出後の作業手指やナイフの細菌叢と比較的類似していることが明らかになったことから、内臓摘出時において、作業者の手指やナイフから枝肉を汚染した可能性が考えられた。一方その他の施設、回では、洗浄後の枝肉の細菌叢と特に類似した細菌叢を示すものはなかった。しかしながら、細菌叢を構成する細菌は一連の作業工程で採取された検体のほぼ全てから検出されていることから、改めて、各工程における様々な細菌汚染源からの汚染に留意する必要がある。令和2年度の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安全性の確保とリスク管理のための研究」において、我々は、一連の処理工程において、細菌汚染源と考えられるものとして、蹄、表皮、胃内要物、肛門周囲部は多くの一般細菌や大腸菌が検出されることを明らかにした。また、表皮洗浄前に比べ、表皮洗浄後では、

各箇所において、一般細菌数、大腸菌数の著しい減少が認められたことから、鹿や猪の解体処理施設への搬入前に、十分な洗浄を行うことの重要性が、改めて示された。各作業中の汚染ごとの温湯消毒、ならびに手指洗浄が重要であることが確認された。

本研究では、枝肉洗浄後の枝肉から病原性細菌を含む可能性のある細菌属として、一部の検体から、*Escherichia/Shigella*が検出されたが、その他は検出されなかった。しかしながら、一連の作業工程中の各種検体から、*Listeria*、*Yersinia*、および *Staphylococcus* が検出されている。我々は、これまでに *Listeria* は市販鹿肉からも検出されること（未発表データ）、*Yersinia* は鹿、猪の75%以上の糞便から分離されること（Takahashiら、2020）を報告している。さらに、わが国の野生鹿、猪には0157を含む腸管出血性大腸菌も高度に保菌されていることも報告（Moritaら、2021、Kabeyaら、2017）している。今後、鹿や猪の糞便には、これら病原細菌が汚染していることを理解し、一連の食肉処理工程における細菌汚染防止のため、衛生的な処理方法を啓蒙していく必要がある。

③野生鳥獣熟成肉の衛生評価

③-1 わが国の野生鳥獣処理施設で生産された鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

本研究で検討した鹿検体は、熟成により一般細菌は増加する傾向を示した。特に、施設Eでは熟成後、一般細菌数が有意 ($p<0.05$) に増加し、中央値はそれぞれ熟成前で 3.8×10^3 CFU/g、熟成後で 8.3×10^6 CFU/g と 10^3 倍以上増加した。本施設では、発酵菌 (*Thamnidium*) をあらかじめ枝肉に付着させた後、ドライエイジング法で熟成させていた。本法により、熟成に用いるカビを安定的に増殖させ、熟成期間やトリミングの手間を抑え、腐敗菌によるコンタミネーションのリスク防止や品質の変動の改善を目的としている。しかし、本研究は、特に施設Eで処理された枝肉は、熟成により一般細菌数が有意に増加したことから、不適切なエイジングシートの使用や保管管理によって、枝肉を細菌によって汚染するリスクがあると考えられた。

また、施設C、Dにおいても熟成後、一般細菌数が増加する傾向が認められた。本研究で対象とした施設では、いずれにおいても低温（1~3°C）で熟成処理をしていたことから、一般細菌数のうち、低温細菌が増殖していた可能性が考えられた。

本研究では、熟成により、大腸菌・大腸菌群数が低下する傾向が認められた。施設Dにおいては熟成前後共に全く検出されず、施設C、Eでは大腸菌数が有意 ($p<0.05$) に減少した。さらに、熟成後の検体からは、検討した全ての病原細菌は分離されなかった。特に施設Cでは、熟成前の検体から *L. welshimeri* もしくは *L. innocua* が分離されたものの、熟成後の同一検体では検出されなかった。Ryuramも同様に、12日、30日、70日、160日間それぞれドライエイジング法により熟成した牛肉から、いずれも *Bacillus cereus*、*S. aureus*、*L. monocytogenes*、*E. coli* などの食中毒起因細菌は検出されなかったことを報告している。他にも、ドライエイジングビーフを対象とした研究では、熟成は枝肉中の STEC 0157 および一般的な *E. coli* を低下させることが報告されている。一般的に、屠殺後の嫌気的条件下では解糖により乳酸を生成し、肉の pH は 5.5~5.0 にまで低下するが、その後熟成により pH は上昇し始める。*Salmonella*、STEC 0157、および *L. monocytogenes* の病原性株の混合物を牛肉の表面に接種し、42日間熟成させた研究では、*Salmonella* および STEC 0157 株の数は、大幅に減少（それぞれ -0.07~-0.14 log₁₀cfu/日および -0.09~-0.14 log₁₀cfu/日）したものの、*L. monocytogenes* は、*Salmonella* や STEC 0157 に比べてより遅く減少し、長期間生存することが報告されている。この報告では、熟成前は、8検体中7検体においては pH 5.34~5.68 であったものが、熟成42日後では pH 5.60~5.99 と上昇しており、*Salmonella* および STEC 0157 の減少と関与していると考えられている。本研究で対象としたいずれの施設においても、低温（1~3°C）でドライエイジングを実施していることから、熟成により pH の上昇、水分活性の低下、さらには乳酸菌の増殖による抗菌活性が産生されたことにより、混入した可能

性のある病原性細菌、および大腸菌群や大腸菌の増殖や生存を抑制したと考えられた。

熟成後の検体からは、検討した全ての病原細菌は分離されなかった。東京都健康安全研究センターが行った、「いわゆるドライエイジングビーフの衛生学的実態調査」では、都内の5施設で自家製造された熟成後のトリミング部位及びトリミング後表面の牛肉から *L. monocytogenes* や *S. aureus* 等の食中毒起因細菌が検出されている。今後、わが国において製造された熟成肉の衛生評価を継続して行う必要がある。

本研究では、検討した食中毒起因細菌のうち、施設Cの熟成前の検体から、*L. welshmeri* もしくは *L. innocua* が分離された。いずれの菌種も、食中毒起因細菌である *L. monocytogenes* と比べ肉類や乳製品だけでなく、野菜や果物などから幅広く分離されており、ヒトへの病原性はないものと考えられている。同菌は熟成前の検体から分離されたことから、熟成によって増殖したものではなく、食肉処理工程において、当該枝肉を汚染したものと考えられた。

③-2 わが国で市販されていた鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

本研究で検討した鹿熟成肉と鹿非熟成肉の衛生指標細菌数を比較した結果、一般細菌数は両者に有意差は認められなかった。しかしながら本研究では、鹿熟成肉を製造する販売施設 b, c において $0 \sim 2.8 \times 10^2$ CFU/g と一般細菌数が極めて低値を示したことから、熟成により必ずしも一般細菌数が増殖するわけではなく、熟成の条件や肉の取り扱いによって、検出される一般細菌数が左右される可能性が示唆された。

一方、大腸菌・大腸菌群数においてもまた、鹿熟成肉と鹿非熟成肉に有意差は認められなかったことから、今回対象とした施設において実施されている熟成方法は、特に糞便由来細菌を減少させる効果は限定的である可能性がある。2021年の韓国のドライエイジングビーフを対象とした研究では、真菌が熟成に重要な役割を果たし、熟成により大腸菌群の増殖を抑制すると報告されている。本研究では

特に、販売施設 b, c で製造された鹿熟成肉は大腸菌数・大腸菌群数ともにほとんど検出されなかったことから、当該施設で実施されている熟成法により大腸菌数・大腸菌群数が減少した可能性が考えられる。

熟成を行なっている施設では、販売施設 a で、熟成を行なっていない施設では、販売施設 f でそれぞれ販売された検体は、一般細菌数、ならびに大腸菌・大腸菌群数において、いずれもそれぞれ他の鹿熟成肉、および鹿非熟成肉を販売する施設に比べて、有意に高値を示したことから、特に販売施設 a および f においては、他の施設に比べ、高度に細菌汚染していることが示唆された。販売施設 a では熟成前に枝肉に種菌（菌種、菌量等は非公表）を塗布してから1~3ヶ月と長期間に亘って熟成を行っていることから、熟成期間中に種菌が増殖したことにより、一般細菌数が高値を示した可能性が考えられた。さらに、同施設で製造された鹿熟成肉は、大腸菌群・大腸菌数も高値を示したことから、当該施設における動物の捕獲、と殺、解体処理、食肉加工処理、もしくは枝肉の保存時において、枝肉への糞便汚染が発生したものと考えられた。さらに、これらの糞便汚染指標細菌は、熟成後の検体から検出されたことから、当該施設で実施している上記熟成方法では、腸内細菌の抑制効果は限定的である可能性が考えられた。腸内細菌には、大腸菌や *Salmonella* など、多くの食中毒起因細菌が含まれる可能性がある。今後、当該施設におけると殺、解体処理、食肉加工処理方法を検証し、衛生的な取扱いが実施されているかどうか、改めて検証する必要がある。一方、販売施設 F においては、熟成を行っていない施設であることから、当該施設における動物の捕獲、と殺、解体処理、食肉加工処理、もしくは、枝肉の保存などの一連の製造過程のいずれかにおいて、糞便や土壌などから細菌に汚染した可能性がある。

本研究では、食中毒起因細菌として、non-0157 STEC ならびに *L. monocytogenes* がいずれも鹿非熟成肉から分離された。non-0157 STEC は、2020年にわが国で捕獲された鹿の糞便の16.7%と、特に高率に分離されたことを報告している。本研究で non-0157 STEC が

分離された鹿非熟成肉の生産段階において、枝肉が non-0157 STEC を含む糞便に汚染された可能性がある。

本研究では、*L. monocytogenes* が 9 検体から最も多く分離された。特に、本菌は販売施設 g で販売された鹿非熟成肉の 60% から分離された。本菌は低温細菌であるため、本菌に汚染したのちに、冷蔵庫内で保存されている間に増殖した可能性が考えられた。今後、当該販売施設 g において、枝肉を保存している冷蔵庫内における本菌の汚染状況について検討する必要がある。また、*L. monocytogenes* は平成 29 年度の「いわゆるドライエイジングビーフの衛生学的実態調査」においてもドライエイジングビーフのトリミング部位及びトリミング後表面から検出したと報告されている。特に牛肉のドライエイジングにおいては、一定の条件下において *Salmonella* 属菌と大腸菌を減少させる一方、*L. monocytogenes* は増殖したと報告されている。また、フィンランドでは銃により狩猟されたオジロジカの 5% とヘラジカの 5% の枝肉表面から *L. monocytogenes* が検出されたと報告されている。以上のことから、鹿非熟成肉や、鹿熟成肉については、特に *L. monocytogenes* により汚染される可能性があること、さらに低温条件下で熟成する場合には、熟成中に低温細菌である同菌が増殖する可能性があることを、生産者や消費者に対して啓蒙する必要がある。また、本研究で分離した *L. monocytogenes* 株の病原性を評価し、潜在的なヒトへの感染源となる可能性を検討する必要がある。

一方、本研究で検討した鹿熟成肉からは、いずれの食中毒起因細菌も分離されなかった。熟成肉においては、*Lactobacillus* 属菌や *Enterococcus* 属菌の働きによって肉の pH が低下したことによって病原性細菌の増殖を抑制する効果があると報告されている。このことから、本研究で対象とした熟成肉においても、熟成期間中に混入した乳酸菌が増殖することによって肉の pH が低下し、食中毒起因細菌の増殖が抑制されている可能性がある。しかしながら前述の通り、施設 A のように、熟成をおこなっているにもかかわらず大腸菌数・大腸菌群数が多く検出された施設が

認められたため、熟成の条件によっては、その病原細菌に対する抑制効果は限定的となると考えられた。

③-3 熟成肉の細菌叢解析による衛生評価

熟成前の枝肉には、主に土壌由来と考えられる

Pseudomonanaceae, *Moraxellaceae*, *Microbacteriaceae*, *Bacillaceae* が多く検出されたことから、剥皮等の食肉処理工程において土壌由来の細菌に汚染されたことが考えられる。

一方、

Lactobacillaceae, *Lachnospiraceae*, *Camobacteriaceae* といった乳酸菌も検出されたことから、熟成によりこれらの乳酸菌の増殖が期待された。また、施設毎に熟成期間中に増殖した菌が異なっていた。施設 C では

Pseudomonanaceae, *Moraxellaceae* といった低温腐敗細菌が優占種となっていたことから、熟成期間中に腐敗が進んでいる可能性が示唆された。一方施設 E でも同様に、

Pseudomonanaceae, *Moraxellaceae* といった低温腐敗細菌が優占種となっていた枝肉に加え、一部には *Camobacteriaceae* を優占種とする検体も認められことから、乳酸菌が増殖していることが示唆され、枝肉毎に大きく異なる結果となった。今後、

Pseudomonanaceae, *Moraxellaceae* の増殖は抑え、各種乳酸菌の増殖を促進する熟成方法の確立が必要であると考えられた。

E. 結論

1) 屋外施設、工程順：剥皮→内臓摘出の順、剥皮方法：ウィンチ、剥皮施設：のせ台、食道結紮・肛門結紮：未実施、においてそれぞれ高度に一般細菌数の汚染が認められた。

2) 解体処理された直後の枝肉では土壌中、水中、動物の腸内に生息する *Alcaligenaceae* (科)、*Stenotrophomonas* が占有率が高く検出された。

3) 一部の検体では、枝肉の細菌叢と内臓摘出時における作業用手指、ナイフの細菌叢

が類似したことから、同工程における作業者手指、ナイフから枝肉への細菌汚染が発生した可能性が考えられた。

4) 一連の工程ならびに枝肉洗浄後の検体の一部から病原細菌として、*Escherichia/Shigella*、*Escherichia/Shigella*、*Listeria*、*Yersinia*、および *Staphylococcus* が、低温細菌、腐敗細菌である *Pseudomonas* がそれぞれ検出された。

5) 熟成肉では、一般細菌数が増加するものの、大腸菌群・大腸菌は低下する傾向がある。

6) 一部の施設では、熟成により *Pseudomonanaceae*、*Moraxellaceae* といった低温腐敗細菌が増殖している可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Satoshi Morita, Shingo Sato, Soichi Maruyama, Asuka Miyagawa, Kiriko Nakamura, Mizuki Nakamura, Hiroshi Asakura, Hiromu Sugiyama, Shinji Takai, Ken Maeda, Hidenori Kabeya, Prevalence and whole-genome sequence analysis of *Campylobacter* spp. strains isolated from wild deer and boar in Japan, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*;82:101766. doi: 10.1016/j.cimid.2022.101766. 2022
- 2) Kei Nabeshima, Shingo Sato, R Jory Brinkerhoff, Murasaki Amano, Hidenori Kabeya, Takuya Itou, Soichi Maruyama, Prevalence and Genetic Diversity of *Bartonella* Spp. in Northern Bats (*Eptesicus nilssonii*) and Their Blood-Sucking Ectoparasites in Hokkaido, Japan, *Microb Ecol*, doi: 10.1007/s00248-021-01935-0. 2022.
- 3) Satoshi Morita, Shingo Sato, Soichi Maruyama, Mariko Nagasaka, Kou Murakami, Kazuya Inada, Masako

Uchiumi, Eiji Yokoyama, Hiroshi Asakura, Hiromu Sugiyama, Shinji Takai, Ken Maeda, Hidenori Kabeya, Whole-genome sequence analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* 0157 strains isolated from wild deer and boar in Japan, *J Vet Med Sci.*;83(12):1860-1868. 2021.

- 4) 壁谷英則 野生鳥獣由来食肉の安全性確保に資する研究 獣医公衆衛生研究 26-2 (2024.3)、9-14

2. 学会発表

- 1) 森田 聡志、宮川 明日香、中村 きりこ、中村 水紀、佐藤 真伍、丸山 総一、壁谷 英則、わが国の鹿、猪における *Campylobacter* の保菌状況と分離株の全ゲノムシーケンスによる病原関連遺伝子の網羅的解析、第 164 回日本獣医学会学術集会 (酪農学園大学, web 開催) 2021
- 2) 石井 香菜、鈴木 綾乃、田中 裕梨、佐藤 真伍、丸山 総一、*壁谷 英則、野生鳥獣食肉処理工程における拭き取り検体を対象とした細菌叢解析、第 165 回日本獣医学会学術集会、令和 4 年 9 月 6~8 日、麻布大学 (Web 形式)
- 3) 佐藤真伍、西岡絵夢、壁谷英則、丸山総一、人およびサルから分離した塹壕熱原因菌 *Bartonella quintana* の完全長ゲノムの比較解析、第 40 回日本獣医師会獣医学術学会年次大会、令和 4 年 11 月 11 日~13 日、ヒルトン福岡シーホーク
- 4) 大津千尋、山原絹子、鶴見柚葉、山崎晴香、佐藤真伍、丸山総一、壁谷英則 わが国の野生鳥獣肉処理施設および屋外で処理された野生鳥獣肉の衛生評価、令和 5 年度関東・東京合同地区獣医師大会・三学会 (埼玉) 2023 年 9 月
- 5) 廣木勇太、有吉夏鈴、青山新、寺橋寛太、伊藤恭大、妻神理乃、佐藤真伍、丸山総一、壁谷英則 野生鹿・猪における *Campylobacter* 属菌および *Aliarcobacter* 属菌の保菌状況と分離株の病原関連遺伝子の保有状況、令和 5 年

度関東・東京合同地区獣医師大会・三学会（埼玉） 2023年9月

- 6) 廣木勇太、有吉夏鈴、青山新、寺橋寛太、森田聡志、宮川彩日香、中村きり子、中村水紀、佐藤真伍、丸山総一、壁谷英則 わが国の野生鹿・猪における *Campylobacter* の保菌状況と分離株の病原性解析 第23回人と動物の共通感染症研究会学術集会 2023年10月
- 7) 壁谷英則 野生動物におけるカンピロバクター保菌状況 第16回日本カンピロバクター研究会総会 2023年11月

G. 知的財産権の取得状況

- 1. 特許取得
なし
- 2. 実用新案登録
なし
- 3. その他

表1 本研究で検討した枝肉拭き取り検体の比較項目別検体数

| 比較項目 | | 鹿 | | 猪 | |
|------|---------|------|-----|------|-----|
| | | 施設数 | 検体数 | 施設数 | 検体数 |
| 工程順 | 剥皮→内臓摘出 | 16 | 96 | 12 | 62 |
| | 内臓摘出→剥皮 | 13 | 116 | 10 | 58 |
| 剥皮方法 | ウィンチ | 11 | 68 | 3 | 7 |
| | 手剥ぎ | 21 | 144 | 16 | 94 |
| | 湯剥ぎ | n.a. | | 6 | 22 |
| 剥皮施設 | 懸吊 | 25 | 190 | 10 | 48 |
| | のせ台 | 6 | 22 | 9 | 50 |
| | 湯剥ぎ | n.a. | | 6 | 22 |
| 食道結紮 | ビニル袋 | 10 | 38 | n.a. | |
| | 結紮のみ | 16 | 134 | | |
| | 未実施 | 4 | 40 | | |
| 肛門結紮 | ビニル袋 | 23 | 197 | n.a. | |
| | 結紮のみ | 1 | 3 | | |
| | 未実施 | 11 | 2 | | |

* 同じ施設でも採材の次期によりそれぞれの比較項目が異なる条件となる場合を含む。

表2 本研究で対象とした野生鳥獣処理施設における熟成処理の概要

| 施設 | 動物種 | 頭数 | 検体数 | 部位 | 熟成期間 | 熟成温度 | スターター |
|----|-----|----|-----|-----------------------|---------|------|------------|
| C | 鹿 | 10 | 20 | 首 | 鹿(7~9日) | 2℃ | なし |
| D | 鹿 | 10 | 20 | モモ芯玉 | 5~6日 | 1~3℃ | なし |
| E | 鹿 | 10 | 40 | 背ロース 内モモ (各1部位) | 5日 | 1~3℃ | Thamnidium |

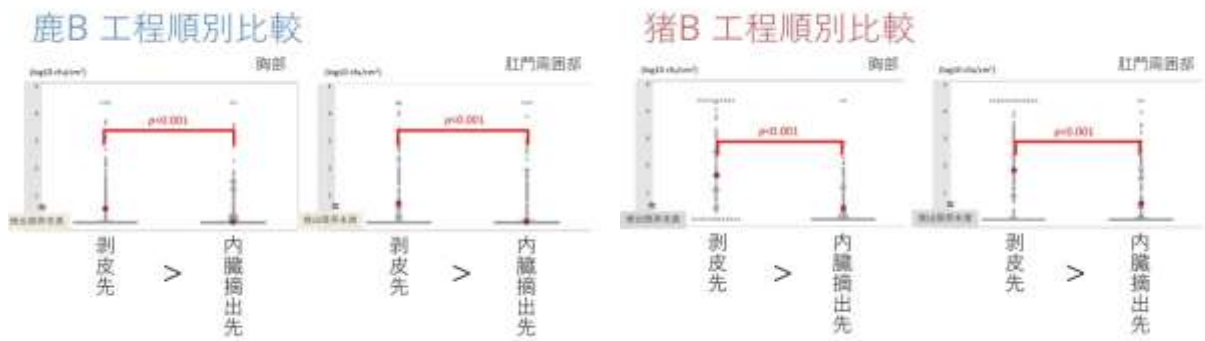
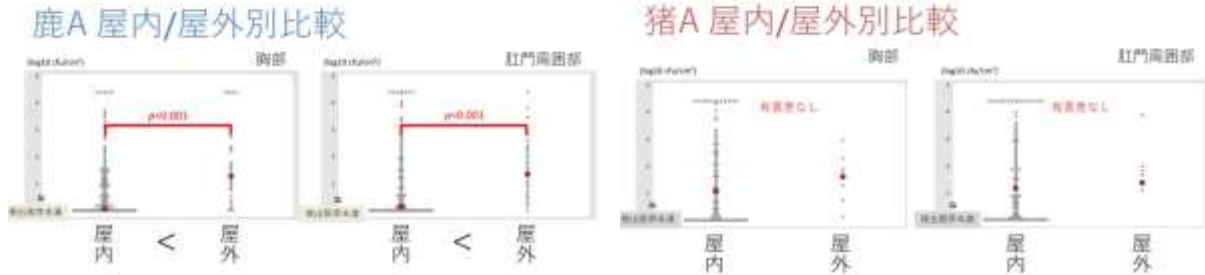


図1 わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の一般細菌数の各種項目別比較

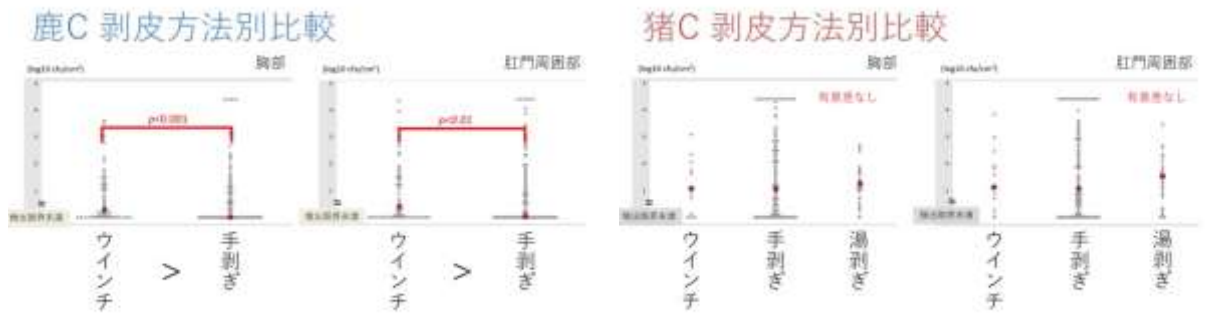


図1 わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の一般細菌数の各種項目別比較 (つづき)

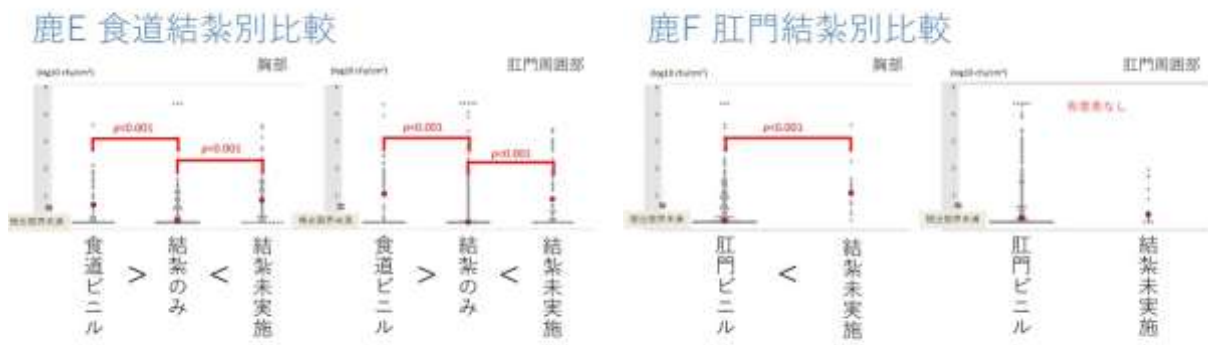


図1 わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の一般細菌数の各種項目別比較（つづき）



図2. 解体処理の各工程において採取した各検体における細菌叢解析（属レベル）（施設 A, 1 回目）

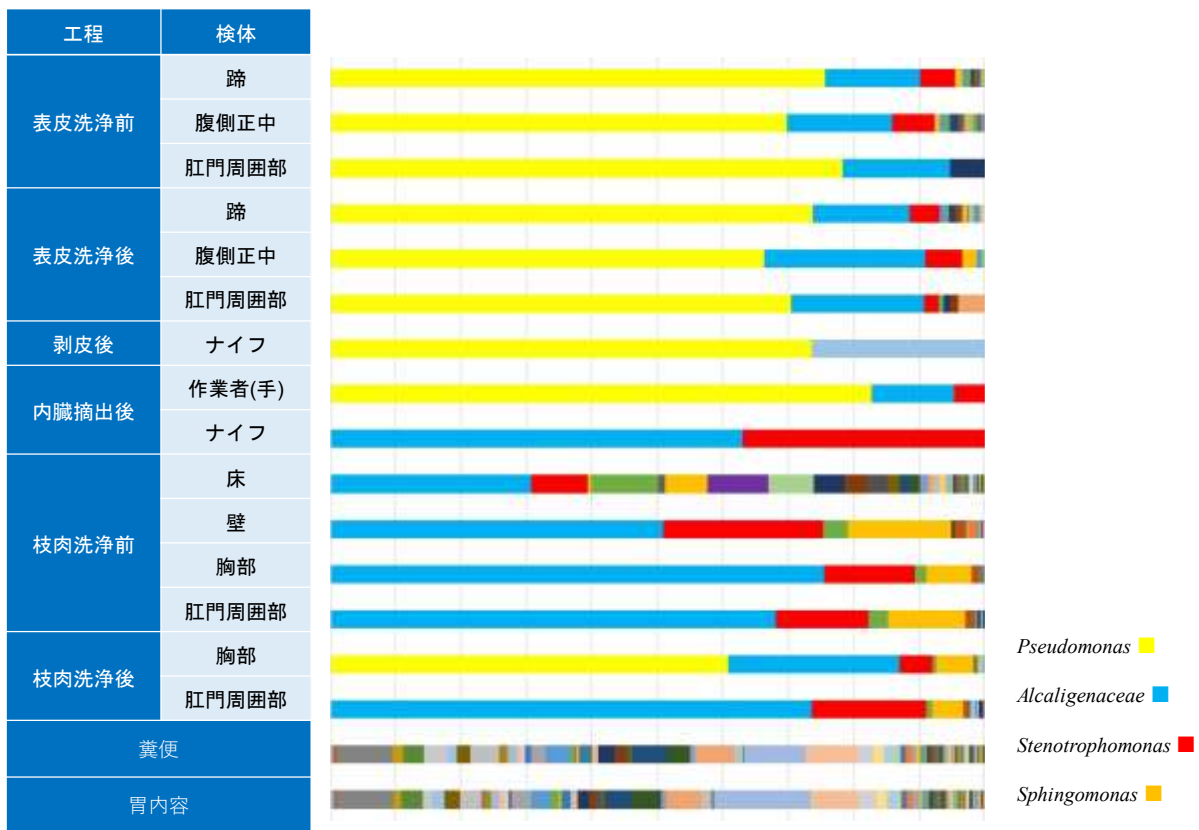


図3. 解体処理の各工程において採取した各検体における細菌叢解析（属レベル）（施設 A, 2 回目）

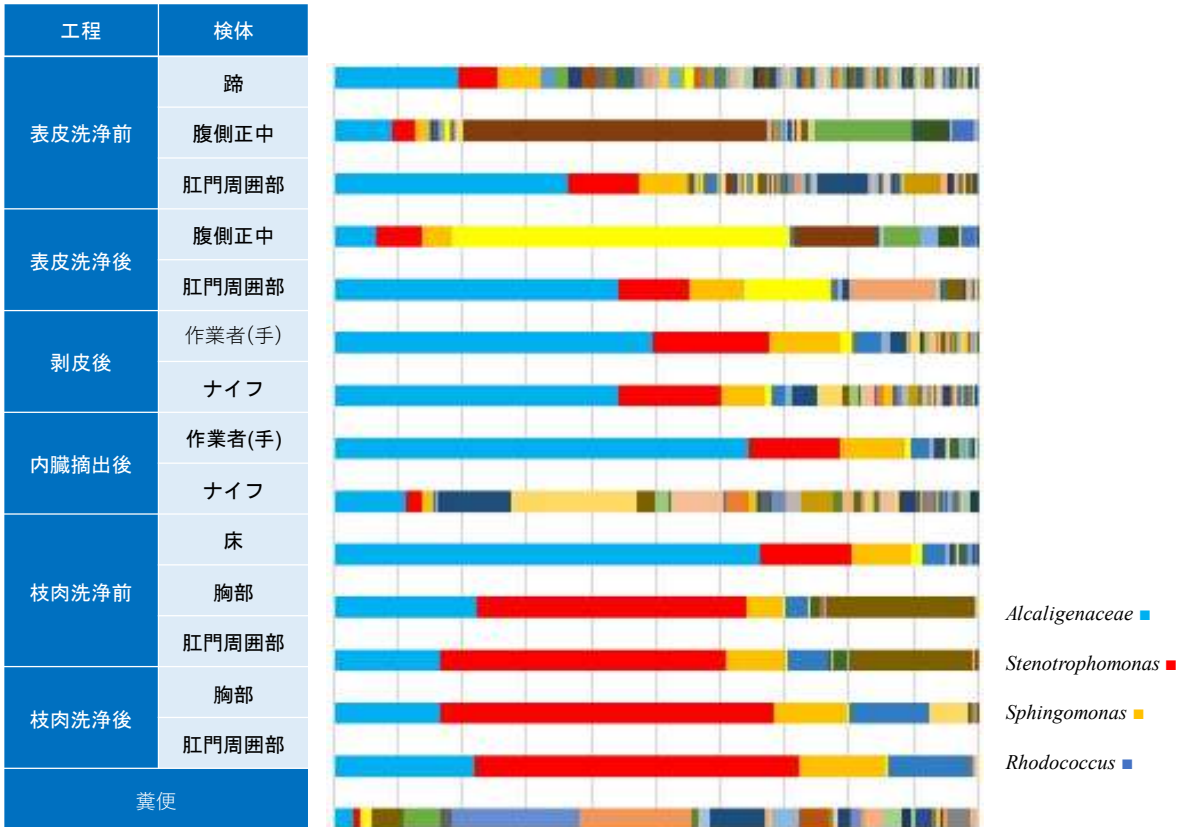


図4. 解体処理の各工程において採取した各検体における細菌叢解析（属レベル）（施設 B, 1 回目）

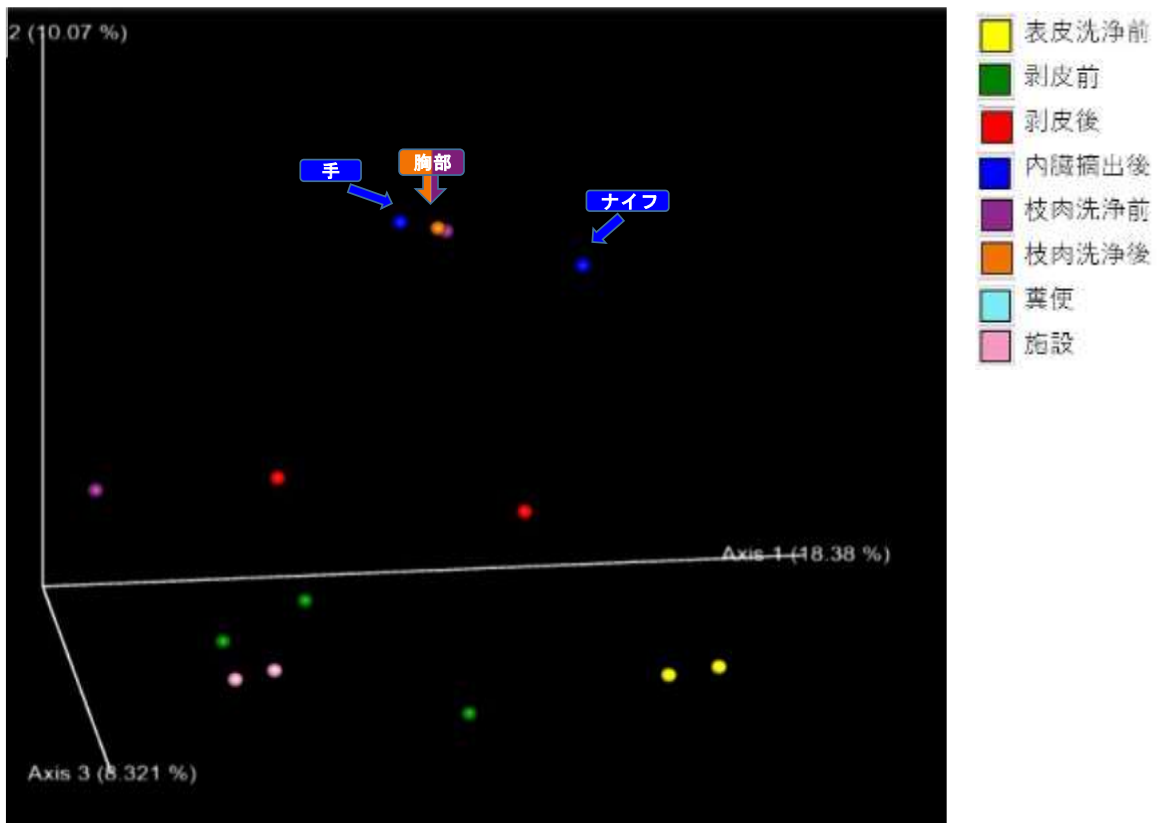


図5. 解体処理の各工程において採取した各検体における主座標分析による菌叢構造比較解析 (β 多様性解析) (施設A, 1回目)

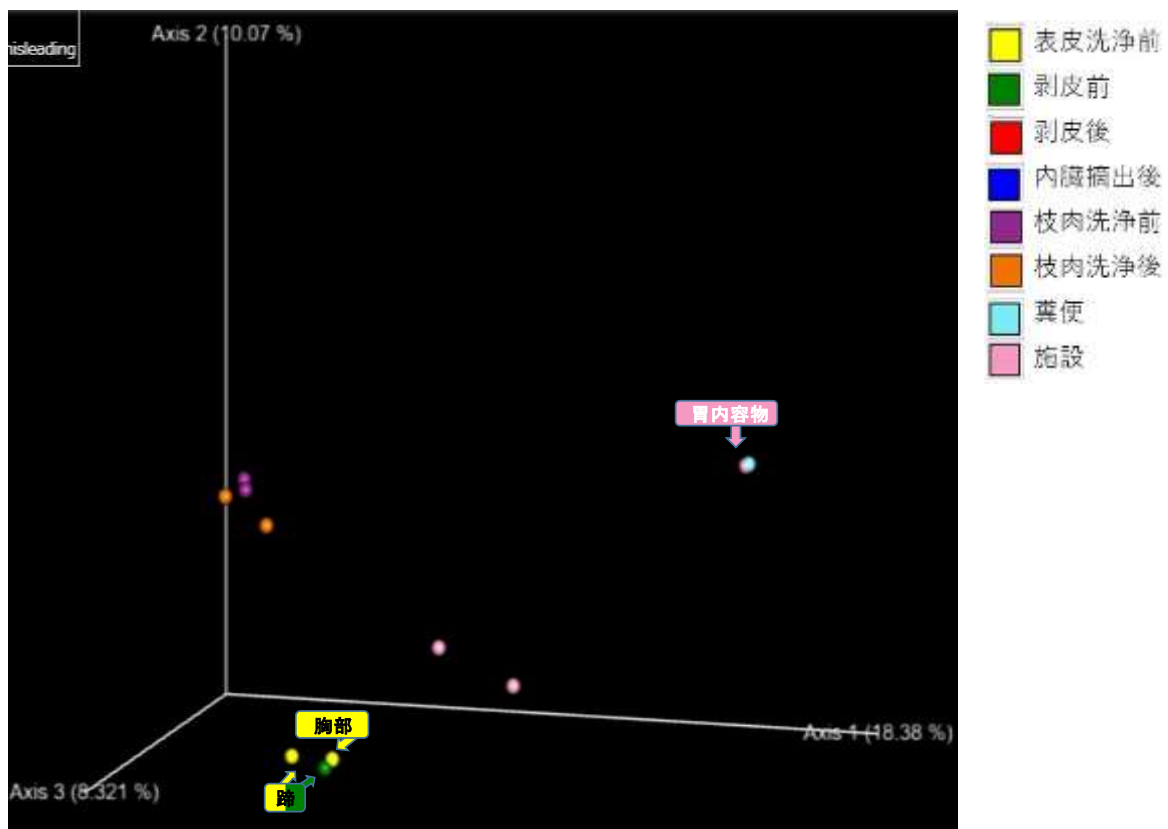


図6. 解体処理の各工程において採取した各検体における主座標分析による菌叢構造比較解析 (β 多様性解析) (施設A, 2回目)

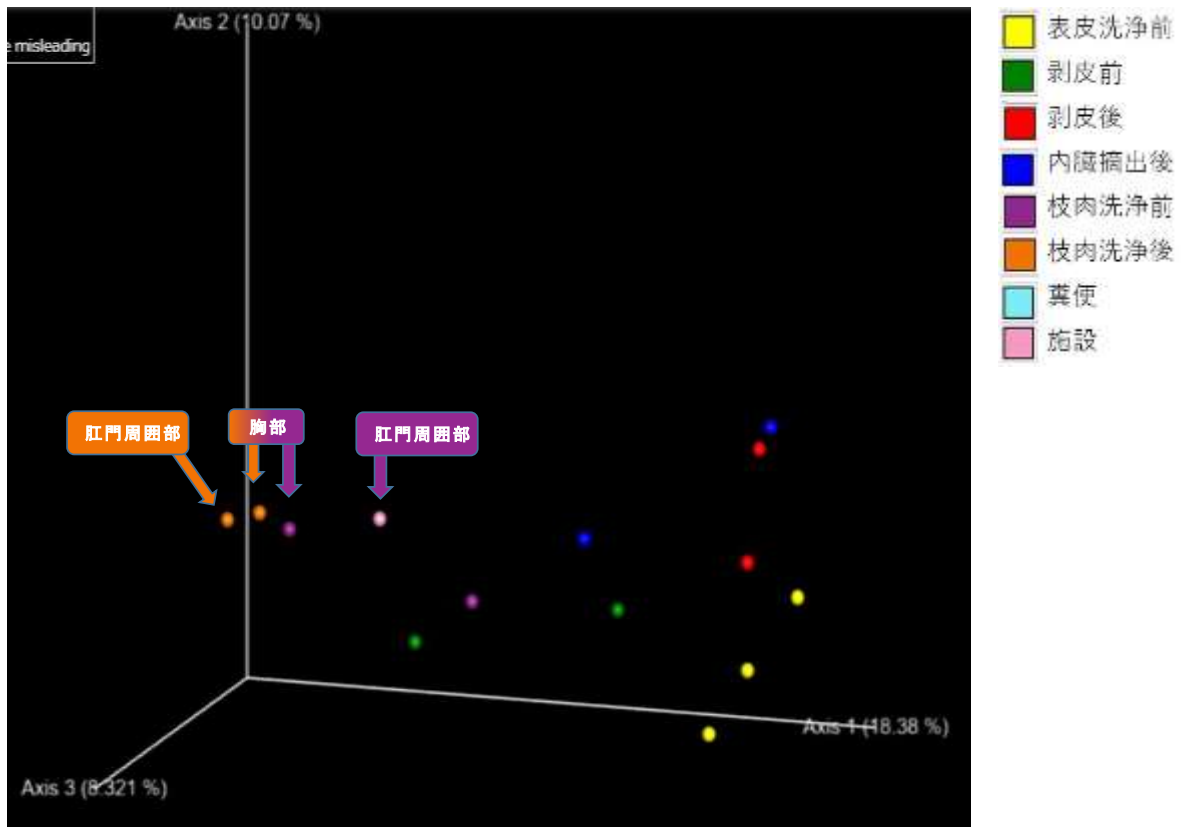


図7. 解体処理の各工程において採取した各検体における主座標分析による菌叢構造比較解析 (β 多様性解析) (施設B, 1回目)

表3. 解体処理の各工程において採取した各検体から検出された
 主な病原細菌、低温細菌、および腐敗細菌（施設A, 1回目）

| 細菌(属) | 止め刺し | | 表皮洗浄前 | | | | 剥皮前 | | | 剥皮後 | | 内臓摘出後 | | 枝肉洗浄前 | | | | 枝肉洗浄後 | | 自然界における生息地 | 低温細菌 | 腐敗細菌 |
|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------------|---|------------|------|------|
| | 周辺土壌 | 蹄 | 腹側正中 | 肛門周囲部 | 蹄 | 腹側正中 | 肛門周囲部 | 手 | ナイフ | 手 | ナイフ | 床 | 壁 | 胸部 | 肛門周囲部 | 胸部 | 肛門周囲部 | | | | | |
| <i>Escherichia/Shigella</i> | nd | nd | nd | 10.404 | 0.06 | nd | 2.422 | nd | sd | 0.086 | sd | nd | sd | sd | nd | nd | nd | 腸内 | | | | |
| <i>Listeria</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 土壌、水中、腸内 | ○ | | | |
| <i>Salmonella</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 腸内 | | | | |
| <i>Yersinia</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 腸内 | ○ | | | |
| <i>Staphylococcus</i> | nd | nd | nd | 3.359 | nd | sd | nd | nd | 0.166 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 粘膜、皮膚 | | | | |
| <i>Pseudomonas</i> | 4.085 | 4.688 | 2.864 | 8.132 | 21.955 | 18.467 | 16.048 | 17.118 | 15.82 | 34.08 | 38.791 | 5.559 | 34.941 | 33.704 | 22.578 | 20.274 | 47.368 | 土壌、水中、腸管 植物や動物の組織 | ○ | ○ | | |
| <i>Bacillus</i> | nd | 0.198 | 0.146 | 0.198 | nd | 0.098 | nd | 1.854 | nd | nd | 0.242 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 土壌、水圏 | ○ | ○ | | |
| <i>Alcaligenaceae (科)</i> | 6.712 | 8.041 | 6.29 | 15.572 | 40.129 | 48.168 | 55.782 | 28.54 | 42.672 | 22.977 | 26.204 | 12.488 | 38.028 | 37.097 | 44.625 | 45.047 | 52.632 | 土壌、水中、腸内 | ○ | | | |
| <i>Stenotrophomonas</i> | 2.491 | 6.257 | 4.437 | 11.718 | 15.774 | 16.355 | 14.138 | 12.368 | 21.164 | 15.926 | 12.011 | 7.56 | 15.591 | 16.622 | 20.587 | 20.195 | nd | 腸内、土壌、植物 | | | | |
| <i>Sphingomonas</i> | 4.844 | 2.663 | 1.831 | 2.826 | 0.257 | 0.089 | nd | 0.143 | 0.105 | nd | nd | 0.416 | nd | nd | nd | nd | nd | 水中、土壌 | | | | |
| <i>Rhodococcus</i> | 0.501 | 1.534 | 0.809 | 1.512 | 2.64 | 2.485 | 1.916 | 2.086 | 3.901 | 2.525 | 1.769 | 3.164 | 1.689 | 2.059 | 1.906 | 3.328 | nd | 水中、土壌 | | | | |

数字は構成割合（％）を示す。sd: 0.03% 未満。nd: 検出されず。

表3. 解体処理の各工程において採取した各検体から検出された
主な病原細菌、低温細菌、および腐敗細菌（施設A, 1回目）

| 細菌属) | 止め刺し | | 表皮洗浄前 | | | 剥皮前 | | | 剥皮後 | | 内臓摘出後 | | 枝肉洗浄前 | | | 枝肉洗浄後 | | 自然界における生態 | 低温細菌 | 腐敗細菌 | | | | | |
|-----------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|------------------|------|------|----|----------|----|-------|------------------|
| | 周辺土壌 | 蹄 | 腹側正中 | 肛門周囲部 | 蹄 | 腹側正中 | 肛門周囲部 | 手 | ナイフ | 手 | ナイフ | 床 | 壁 | 胸部 | 肛門周囲部 | 胸部 | 肛門周囲部 | | | | 腸内 | 土壌、水中、腸内 | 腸内 | 粘膜、皮膚 | 土壌、水中、腸管植物や動物の組織 |
| <i>Escherichia/Shigella</i> | nd | nd | nd | 10.404 | 0.06 | nd | 2.422 | nd | sd | 0.086 | sd | nd | sd | sd | nd | nd | nd | 腸内 | | | | | | | |
| <i>Listeria</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 土壌、水中、腸内 | ○ | | | | | | |
| <i>Salmonella</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 腸内 | | | | | | | |
| <i>Yersinia</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 腸内 | ○ | | | | | | |
| <i>Staphylococcus</i> | nd | nd | nd | 3.359 | nd | sd | nd | nd | 0.166 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 粘膜、皮膚 | | | | | | | |
| <i>Pseudomonas</i> | 4.085 | 4.688 | 2.864 | 8.132 | 21.955 | 18.467 | 16.048 | 17.118 | 15.82 | 34.08 | 38.791 | 5.559 | 34.941 | 33.704 | 22.578 | 20.274 | 47.368 | 土壌、水中、腸管植物や動物の組織 | ○ | ○ | | | | | |
| <i>Bacillus</i> | nd | 0.198 | 0.146 | 0.198 | nd | 0.098 | nd | 1.854 | nd | nd | 0.242 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 土壌、水圏 | ○ | ○ | | | | | |
| <i>Alcaligenaceae (科)</i> | 6.712 | 8.041 | 6.29 | 15.572 | 40.129 | 48.168 | 55.782 | 28.54 | 42.672 | 22.977 | 26.204 | 12.488 | 38.028 | 37.097 | 44.625 | 45.047 | 52.632 | 土壌、水中、腸内 | ○ | | | | | | |
| <i>Stenotrophomonas</i> | 2.491 | 6.257 | 4.437 | 11.718 | 15.774 | 16.355 | 14.138 | 12.368 | 21.164 | 15.926 | 12.011 | 7.56 | 15.591 | 16.622 | 20.587 | 20.195 | nd | 腸内、土壌、植物 | | | | | | | |
| <i>Sphingomonas</i> | 4.844 | 2.663 | 1.831 | 2.826 | 0.257 | 0.089 | nd | 0.143 | 0.105 | nd | nd | 0.416 | nd | nd | nd | nd | nd | 水中、土壌 | | | | | | | |
| <i>Rhodococcus</i> | 0.501 | 1.534 | 0.809 | 1.512 | 2.64 | 2.485 | 1.916 | 2.086 | 3.901 | 2.525 | 1.769 | 3.164 | 1.689 | 2.059 | 1.906 | 3.328 | nd | 水中、土壌 | | | | | | | |

数字は構成割合（％）を示す。sd: 0.03% 未満。nd：検出されず。

表5. 解体処理の各工程において採取した各検体から検出された
主な病原細菌、低温細菌、および腐敗細菌（施設B, 1回目）

| 細菌属) | 表皮洗浄前 | | | 剥皮前 | | 剥皮後 | | 内臓摘出後 | | 枝肉洗浄前 | | | 枝肉洗浄後 | | 糞便 | 自然界における生態 | 低温細菌 | 腐敗細菌 | | | | |
|-----------------------------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-----------|------|------|----|----------|----|-------|
| | 蹄 | 腹側正中 | 肛門周囲部 | 腹側正中 | 肛門周囲部 | 手 | ナイフ | 手 | ナイフ | 床 | 胸部 | 肛門周囲部 | 胸部 | 肛門周囲部 | | | | | 腸内 | 土壌、水中、腸内 | 腸内 | 粘膜、皮膚 |
| <i>Escherichia/Shigella</i> | nd | nd | 0.34 | sd | sd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | sd | nd | nd | 1.501 | 腸内 | | | | | | |
| <i>Listeria</i> | nd | nd | nd | nd | sd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 土壌、水中、腸内 | ○ | | | | | |
| <i>Salmonella</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 腸内 | | | | | | |
| <i>Yersinia</i> | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | sd | nd | nd | 腸内 | ○ | | | | | |
| <i>Staphylococcus</i> | nd | sd | 0.088 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | sd | sd | nd | nd | 粘膜、皮膚 | | | | | | |
| <i>Pseudomonas</i> | 0.907 | 0.502 | 0.605 | 52.453 | 13.692 | 1.76 | 1.067 | 1.156 | 0.095 | 1.762 | 0.280 | 0.312 | 0.396 | 0.185 | 1.220 | 土壌、水中、腸内 | ○ | ○ | | | | |
| <i>Bacillus</i> | nd | sd | 0.127 | sd | sd | nd | 0.102 | 0.102 | nd | nd | nd | sd | nd | nd | nd | 土壌、水圏 | ○ | ○ | | | | |
| <i>Alcaligenaceae (科)</i> | 15.738 | 8.596 | 34.283 | 6.476 | 44.074 | 49.192 | 43.839 | 64.369 | 11.117 | 65.921 | 21.986 | 16.44 | 16.442 | 21.798 | 2.908 | 土壌、水中、腸内 | ○ | | | | | |
| <i>Stenotrophomonas</i> | 4.787 | 3.306 | 10.571 | 7.284 | 10.807 | 17.785 | 15.679 | 13.966 | 2.252 | 14.255 | 41.96 | 44.059 | 51.618 | 50.457 | 1.032 | 腸内、土壌、植物 | | | | | | |
| <i>Sphingomonas</i> | 2.865 | 2.02 | 6.666 | 4.309 | 8.119 | 10.495 | 6.578 | 8.462 | 1.928 | 8.013 | 5.531 | 8.85 | 11.281 | 13.54 | nd | 水中、土壌 | | | | | | |
| <i>Rhodococcus</i> | 0.733 | 0.433 | 1.245 | 0.562 | 0.776 | 4.257 | 2.222 | 3.003 | 0.21 | 3.225 | 3.883 | 6.307 | 12.388 | 12.837 | nd | 水中、土壌 | | | | | | |

数字は構成割合（％）を示す。sd: 0.03% 未満。nd：検出されず。

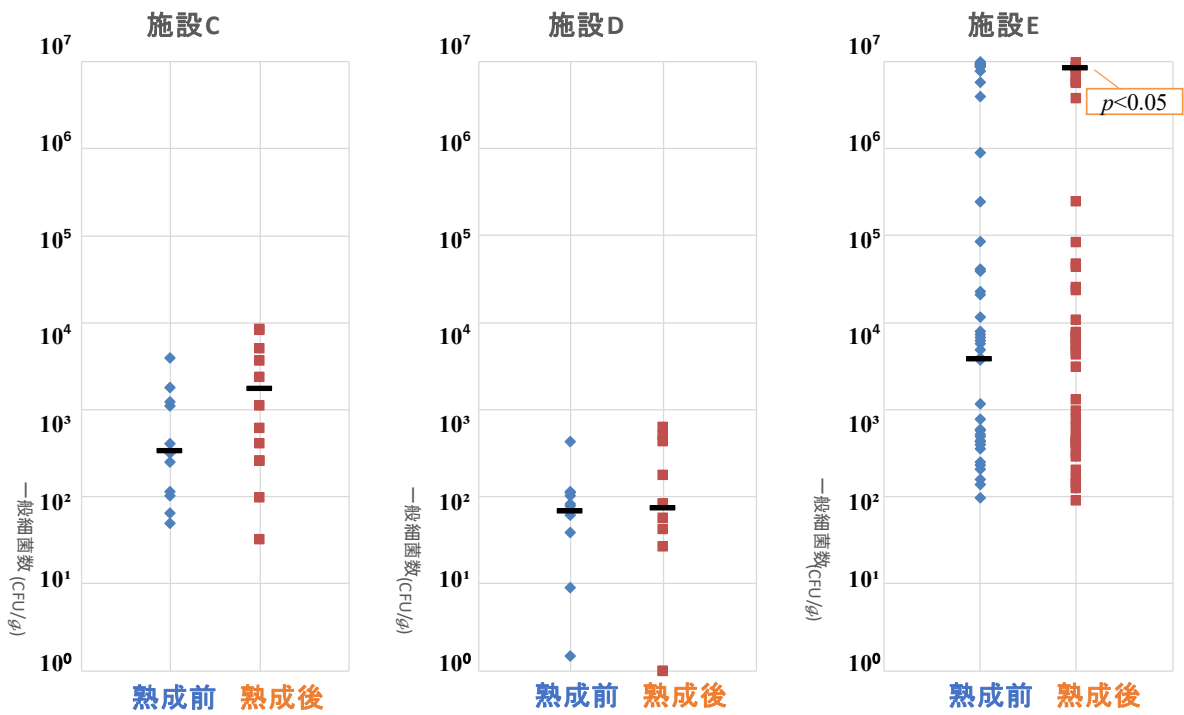


図8 施設C～Eで処理された鹿肉の熟成前後における一般細菌数

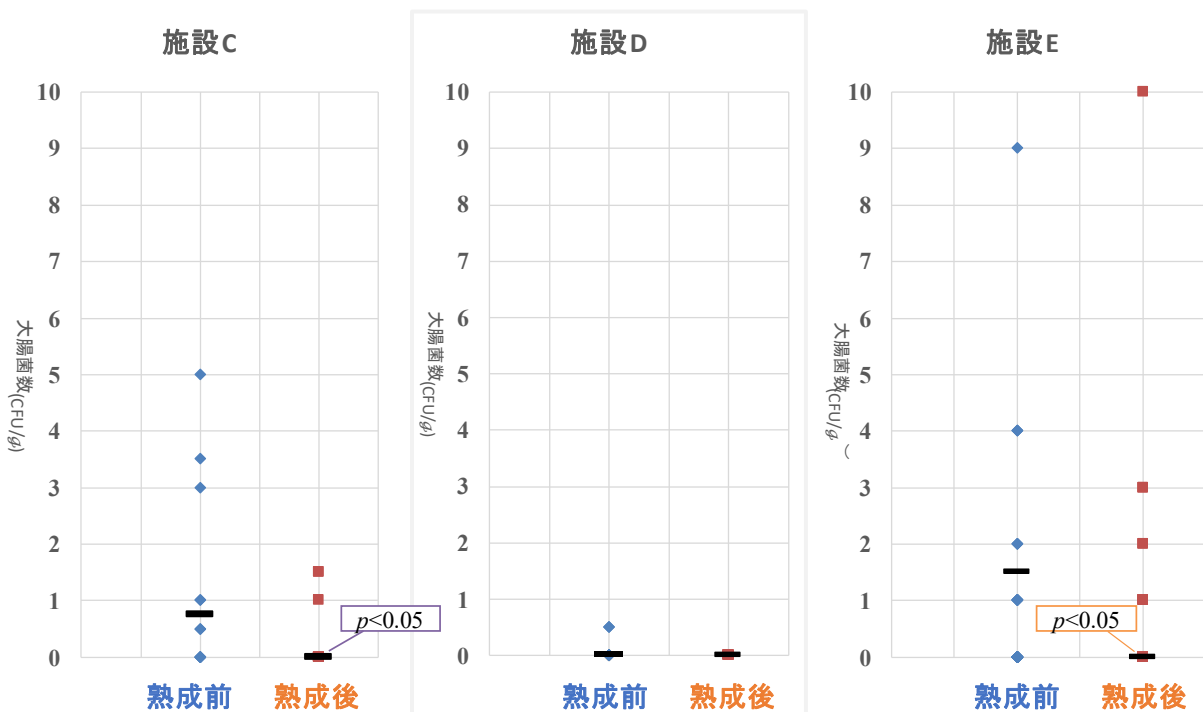


図9 施設C～Eで処理された鹿肉の熟成前後における大腸菌数

表6 施設C～Eで処理された鹿肉の熟成前後食中毒
起因細菌検出状況

| 施設 | 熟成 | 検体数 | 陽性数 (%) | | | | |
|----|----|-----|---------|------|-----------------|------------------|-------------------|
| | | | STEC | O157 | <i>Listeria</i> | <i>S. aureus</i> | <i>Salmonella</i> |
| C | 前 | 11 | 0 | 0 | 1 (9.1) | 0 | 0 |
| | 後 | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| D | 前 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 後 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| E | 前 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 後 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

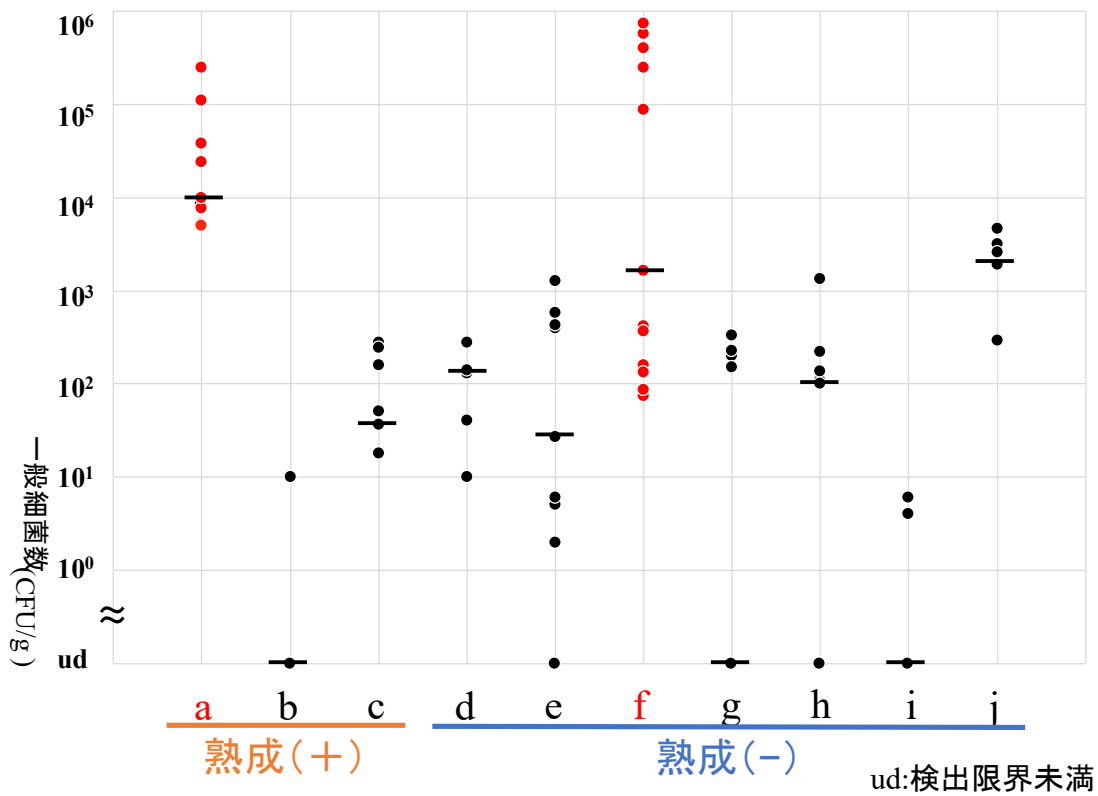


図10 熟成前後の市販鹿肉における一般細菌数の販売施設別比較

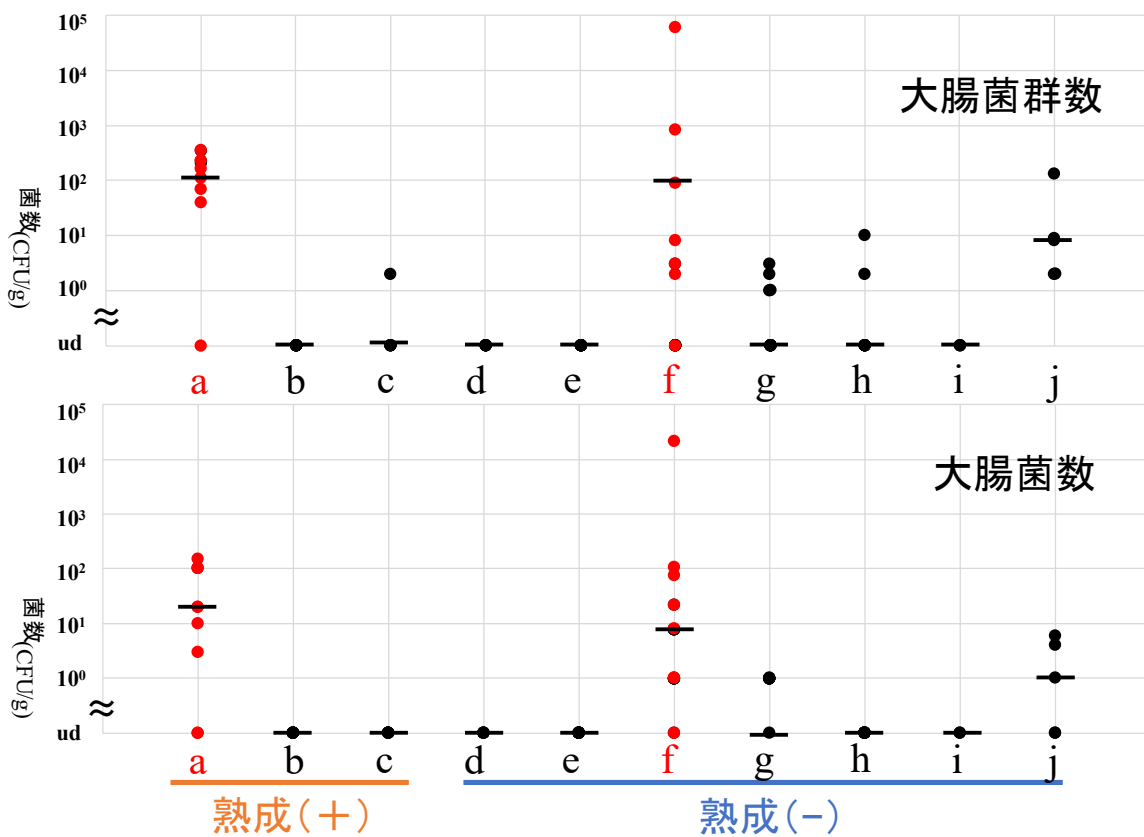


図11 熟成前後の市販鹿肉における大腸菌、大腸菌群数の販売施設別比較

表7 わが国で市販されていた鹿熟成肉及び鹿非熟成肉からの食中毒起因細菌の分離状況

| 熟成 | 施設名 | 検体数 | 陽性検体数 (%) | | | | |
|----|-----|-----|------------|------|-------------|-----------|------------|
| | | | STEC | O157 | Listeria | S. aureus | Salmonella |
| + | A | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | B | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | C | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 計 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| - | D | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | E | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | F | 15 | 2 (13%) *1 | 0 | 1 (6.7%) *1 | 0 | 0 |
| | G | 15 | 1 (6.7%) | 0 | 9 (60%)*2 | 0 | 0 |
| | H | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | I | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | J | 5 | 0 | 0 | 3 (60%) | 0 | 0 |
| | 計 | 65 | 3(0.5%) | 0 | 13 (20%) | 0 | 0 |

*1 同一の検体から分離 *2 *L. monocytogenes*

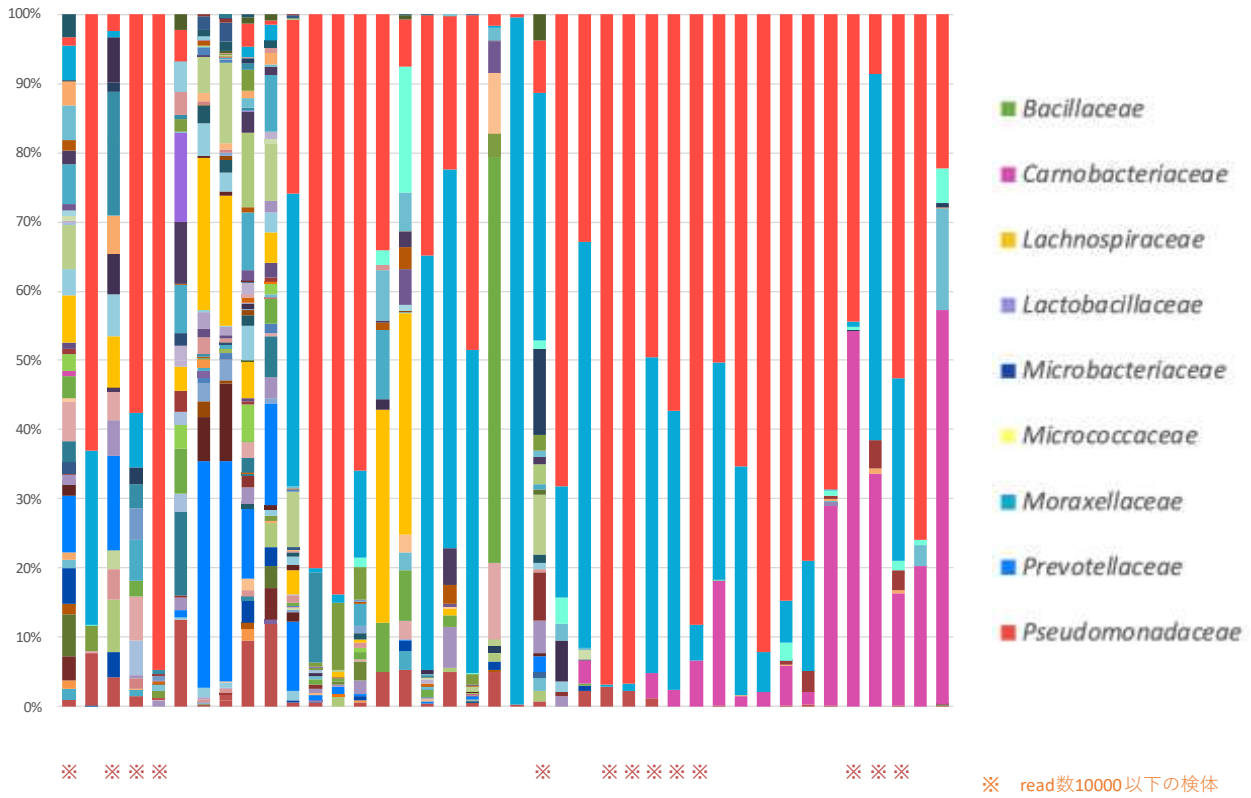


図12 熟成前後の枝肉の細菌叢解析（科）

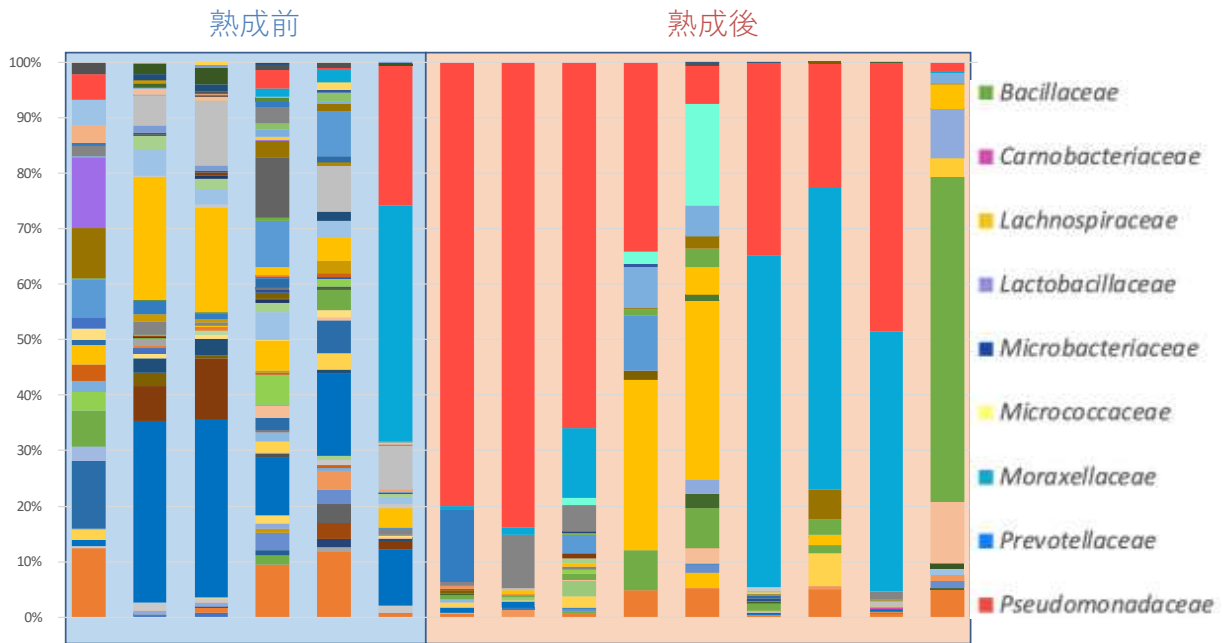


図13 熟成前後の枝肉の細菌叢解析（施設C）

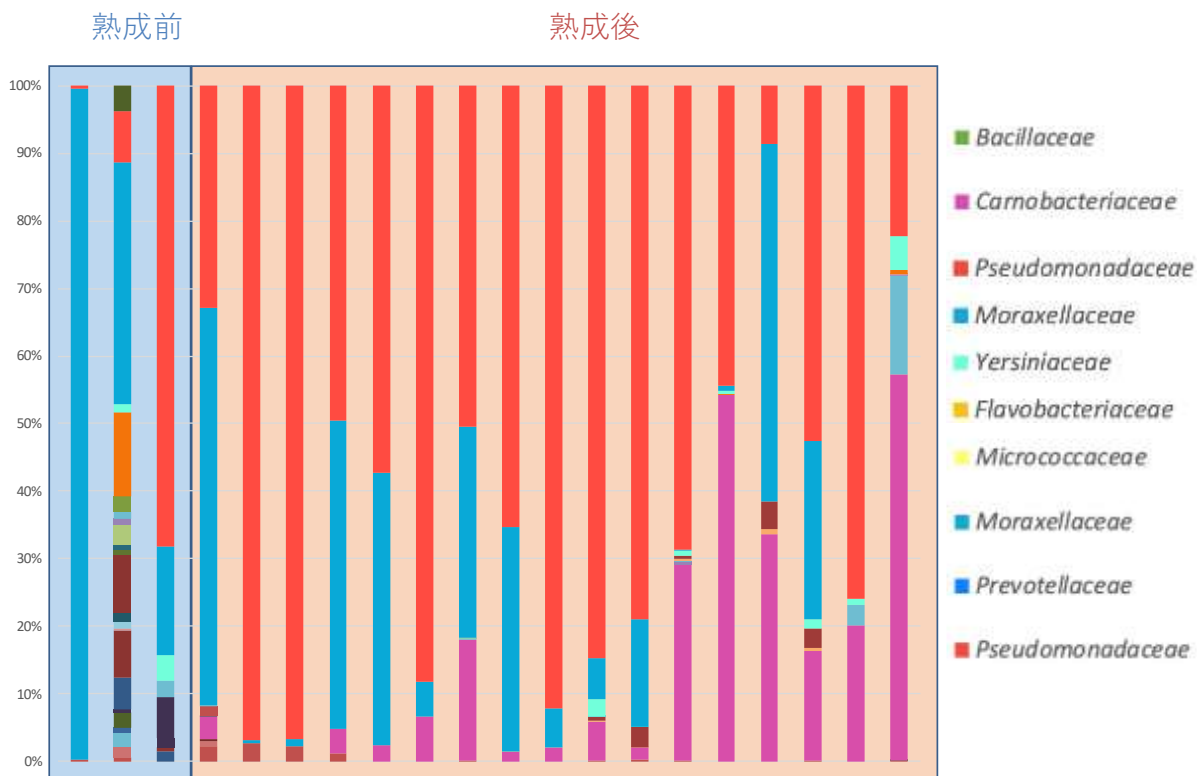


図14 熟成前後の枝肉の細菌叢解析（施設E）

表8 衛生状態に影響する項目検討

| 検討項目 | 高度な汚染 | 低度な汚染 | 動物種 |
|------|---------|---------|-------|
| 屋内外 | 屋外 | 屋内 | 鹿 |
| 工程順 | 剥皮→内臓摘出 | 内臓摘出→剥皮 | 鹿・猪 |
| 剥皮方法 | ウィンチ | 手剥ぎ | 鹿 |
| 剥皮施設 | のせ台 | 懸吊 | 猪 |
| 食道結紮 | ビニル、未実施 | 結紮のみ | 鹿 |
| 肛門結紮 | 未実施 | ビニル | 鹿(胸部) |