

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

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）（令和5年度）
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：

食品製造や調理段階での食品リスク軽減に資するデータ集積のため、製造加工、調理段階における微生物挙動に関する知見の収集、国内で捕獲された野生カモ等におけるカンピロバクター等の病原細菌の分布実態調査、および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を行った。その結果、ジビエ関連食品の製造加工、調理段階における微生物挙動に関する知見を収集した。また、野生カモ等の盲腸内容物、直腸スワブ、可食部表皮等を用いての培養試験によって、カンピロバクター等病原細菌の分布状況を定性的・定量的に把握し、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。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、カンピロバクター等病原細菌の汚染リスクは軽減できると考えられる。さらに、野生カモ肉に接種したカンピロバクターは、低温加熱調理条件（65℃/15分・63℃/30分）での加熱後、非検出となったことを確認し、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。

A. 研究目的

野生鳥獣は飼養管理がなされていないため、自然保有する病原体の種類や分布等については不明な点が多い。野生鳥獣を食用に供する上で、衛生管理の向上に資する科学的知見の集積が求められている。これらの加工調理段階における生物的危害要因の管理にあたっては、まず当該食肉に潜在的に含まれる危害要因を把握することが必要との観点から、本研究では、食品製造や調理段階での食品リスク軽減に資するデータ集積のため、製造加工、調理段階における微生物挙動に関する知見の収集、国内で捕獲された野生カモ等における病原細菌の分布実態調査、および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を行った。

B. 研究方法

1. 製造加工、調理段階における微生物挙動に関する知見の収集

ジビエ肉を原料とした生ハム等製造加工、調理段階における微生物挙動に関する知見を収集した。

2. 野生カモにおけるカンピロバクターの分布実態の把握

国内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。①野生カモ肉の販売業者から、羽抜き処理済みの丸と体を購入し、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。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、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。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。これら①～③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。

2) 培養法によるカンピロバクターの定量的試験

2-1)で採取した盲腸内容物試料は、PBSに懸濁し段階希釈液を作製した。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)}平板に塗抹し、42°Cで48±2hr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1g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

2-1)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

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)}100mLに加え、1分間ストマッキング処理した。直腸スワブおよび盲腸内容物はそれぞれプレストン液体培地に懸濁した。これらを42°Cで24±2hr、微好気条件下で前培養を行った。培養後、前培養液をmCCDA平板に塗抹し、42°Cで48±2hr微好気条件下で培養した。培養後、形成されたコロニーは、2-2)と同様の方法で分離および同定した。

3. 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は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供試した。加熱条件は65±1°C/15分または63±1°C/30分とした。

2) カンピロバクターの接種

接種菌液は、前培養したATCC33560 *Campylobacter jejuni*のヒツジ血液寒天平板培養物からPBSに懸濁し作製した。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8×10⁶cfu以上接種することとした。菌接種方法は、表皮表面に塗布、またはカモ肉の筋組織中央部に注射器で接種菌液を注入した。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菌数測定を行った。

3) 低温調理条件での加熱

3-2)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。冷却後、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. 製造加工、調理段階における微生物挙動に関する知見の収集

ジビエ肉を原料とした生ハム等製造加工、調理段階における微生物挙動に関する知見を収集した。

2. 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 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 18.5%、マガモでは 34 個体中 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 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 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、腸管内のカンピロバクター分布頻度は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 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。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 1 に示した。今回の調査では、50 個体中 34.0% の試料から検出さ

れ、検出された最高菌数は 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。

3. 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 2)。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)。

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が数試料から確認されたことから、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、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

野生カモ等の盲腸内容物、直腸スワブ、可食部表皮等を用いての培養試験によって、カンピロバクター等病原細菌の分布状況を定性的・定量的に把握し、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。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、カンピロバクター等病原細菌の汚染リスクは軽減できると考えられる。さらに、野生カモ肉に接種したカンピロバクターは、低温加熱調理条件（65°C/15分・63°C/30分）での加熱後、非検出となったことを確認し、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

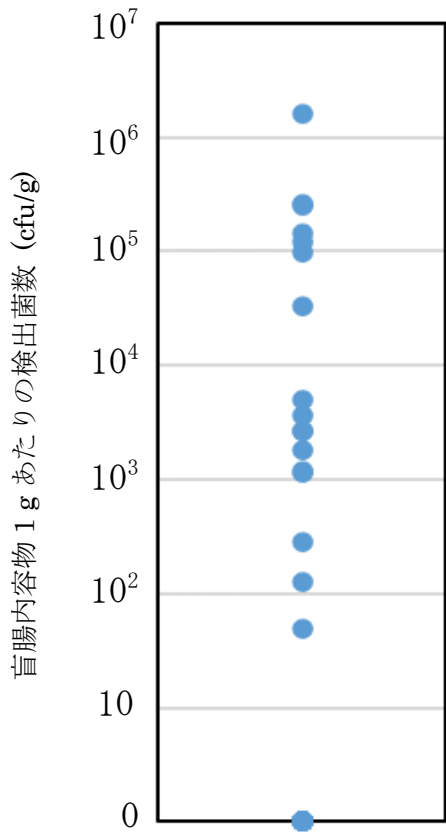


図 1. 野生カモ盲腸内容物中のカンピロバクター検出菌数

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。

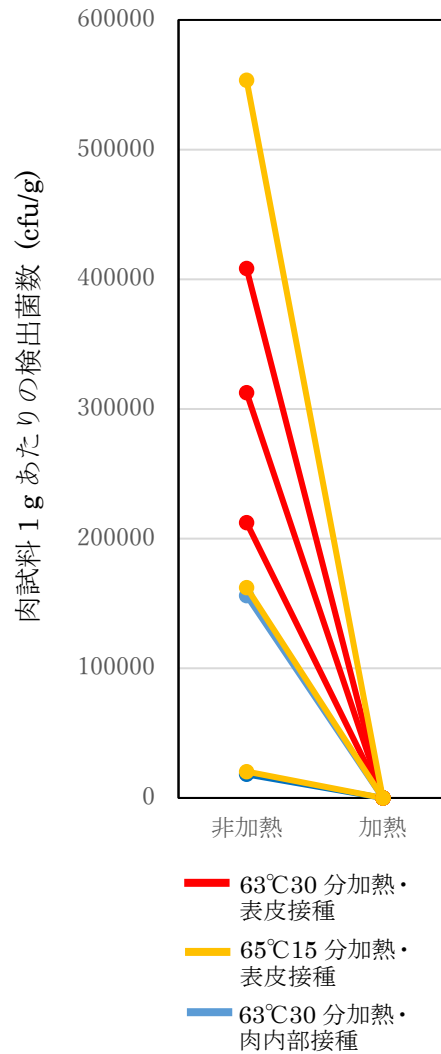


図 2. 野生カモ肉における低温加熱調理によるカンピロバクター菌数減衰効果

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。