

201522033A

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確保に関する研究」

平成27年度 研究報告書

研究代表者 高 井 伸 二
北里大学獣医学部獣医学科

目 次

I. 総括研究報告		
野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究に関する研究	高井 伸二…	1
「研究の総括・講習会として必要なカリキュラム、テキストの作成」		
II. 分担研究報告		
1. 野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究	前田 健…	13
2. 野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究	安藤 匡子…	40
「野生シカ・イノシシにおける細菌汚染の実態調査」		
3. 狩猟時及び食肉処理場における異常の有無を確認する方法の検証	壁谷 英則…	46
「拭き取り検体を用いた野生鳥獣枝肉の衛生評価に関する研究」		
4. 狩猟時及び食肉処理場における異常の有無を確認する方法の検証	岡林 佐知…	52
5. 解体処理方法に関する研究	杉山 広…	57
「野生鳥獣由来食肉の解体処理段階での衛生管理実態に関する研究」		
「野生獣解体処理施設におけると体枝肉の衛生実態に関する研究」		
「シカ肉の生食が原因と推定される肺吸虫症に関する寄生虫学的研究」		
資料1. イノシシ解体処理における衛生対策ポイント（島根県）		
資料2. 山梨県ジビエの安全確保に向けた取り組み		
資料3. 愛知県内の一野生鳥獣肉処理施設における調査と改善の取り組み		
資料4. 野生鳥獣肉の衛生管理に関する千葉県の取り組みについて		
資料5. と体の拭き取り検体の細菌検査（日本食品衛生協会）		
6. 調理方法等に関する研究	朝倉 宏…	91
「野生鳥獣由来食肉加工・販売・調理段階での衛生管理実態に関する研究」		
「鹿・猪肉の加工・販売・調理段階における衛生実態に関する研究」		
「シカ肉に寄生するサルコシステイス属寄生虫の調理過程における 死滅条件に関する研究」		
III. その他		
研究班会議資料	……………	135

I. 総括研究報告

「研究の総括・講習会として必要なカリキュラム、テキストの作成」

北里大学：高井 伸二

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)

平成 27 年度 総括研究報告書

野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究

研究代表者

高井 伸二 (北里大学獣医学部)

研究要旨

平成 27 年度は実態調査を主目的として、7つの項目について事業を展開し、以下の成果を得た。「1. 野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究 (前田 健)」では、すべての哺乳類に適応可能で、安価で、特異的な ELISA 系の作製に成功し、それを用いた国内各地におけるイノシシとシカを中心とした E 型肝炎ウイルス (HEV) の感染状況の調査を実施した。その結果、イノシシが自然界における主な HEV 保有宿主であること、抗体保有率を月別に比較した結果、9 月前後に抗体が陽転する個体が有意に多いこと、9 月以前に自然界では HEV が活性化すること等が明らかとなった。HEV 遺伝子検出により 2.4%のイノシシが血清中にウイルスを保有していることが示され、イノシシの食肉の際は特に注意を要することが明らかとなった。更に、HEV 遺伝子保有動物を比較した結果、体重 30 kg 以下の個体に HEV 遺伝子が検出されることが多く、子供のイノシシは特にリスクが高いことが確認された。自然界において蔓延している HEV は地域ごとに差があり、ヒトへの感染源を特定する際には、その地域で蔓延しているイノシシの HEV 遺伝子を特定しておくことが、HEV 感染源の解明に役立つことが示された。これらの抗体検出系および遺伝子検出系に関してはマニュアル化した。

「2. 野生シカ・イノシシにおける細菌汚染の実態調査 (安藤匡子)」 狩猟肉による細菌性食中毒の予防対策が必要であり、基礎的データの収集として、狩猟捕獲された野生シカおよびイノシシにおける食中毒菌の保有状況を通年で調査した。シカ 155 頭およびイノシシ 138 頭の糞便から、志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) (シカ 15.5%、イノシシ 2.2%)、カンピロバクター (シカ 3.2%、イノシシ 14.5%)、黄色ブドウ球菌 (シカ 9.0%、イノシシ 1.4%) が分離されたが、サルモネラは分離されなかった。STEC には、血清型 O157 もあった。狩猟動物を食用とする際には、可食部位の腸管内容物による汚染を防ぐことが重要であることが示された。捕獲動物を狩猟肉とする際に、食品衛生的に安全に取り扱う方法を啓発する必要がある。

「3. 拭き取り検体を用いた野生鳥獣枝肉の衛生評価に関する研究 (壁谷 英則)」では、平成 27 年度は、わが国の野生鳥獣肉処理施設 A において処理された野生鳥獣枝肉を対象として、拭き取り調査を実施し、当該施設において年間を通して処理される野生鳥獣枝肉の衛生状態を評価した。その結果、一般細菌数が全国の牛枝肉における中央値よりも低い値となったものは、鹿胸部で 80.8% (42/52)、鹿肛門周囲部で 82.7% (43/52)、猪腹部で 88.9% (8/9) であった。一方で、一般細菌数が、10,000 個/cm² 以上となった検体も鹿胸部で 19.2% (10/52)、鹿肛門周囲部で 11.5% (6/52)、猪腹部で 11.1% (1/9) 認められた。枝肉洗浄前に一般細菌数が、10,000 個/cm² 以上となった検体の出現率が高まる要因を検討したところ、季節別の比較において、夏の検体で有意に汚染検体の検出率が高くなることが明らかとなった。

「4. 狩猟時及び食肉処理場における異常の有無を確認する方法の検証 (岡林 佐知)」では、イノシシとシカを中心とした野生動物における狩猟時と食肉処理の際に認められる異常例を収集し、異常の有無を病理組織学的検索により実施した。その結果、シカではいずれの地域におい

ても、骨格筋・横隔膜・心筋・舌等の筋組織には住肉包子虫のシストが高率に検出され、特に、舌で住肉包子虫のシストがより多数確認された。イノシシの肺には肺虫の寄生が高率に認められ、それに付随してリンパ濾胞の過形成も観察された。シカでは両地域ともに一部の個体で重度の慢性胆管肝炎が認められ、肝蛭等の寄生虫感染が疑われた。他、イノシシで好酸球性の肝膿瘍の形成、舌では毛細線虫の寄生、シカでは尿細管由来と思われる単純性嚢胞の形成が認められた。

「5. 解体処理方法に関する研究(杉山 広)」では、野生鳥獣解体処理施設の衛生管理状況の現状を確認するため、全国の10自治体に依頼して、野生鳥獣の解体処理施設を対象としたアンケート調査を実施した。アンケートは合計71の施設から回収された。解析の結果、一昨年に国が制定したガイドラインに準拠して、衛生管理を十分に実施する施設は少数に留まった。アンケート調査に協力されたいくつかの解体処理施設に依頼して、イノシシとシカの解体処理施設で枝肉のふき取り検査を実施した。と畜場で実施されるウシやブタの枝肉の微生物検査実施要領に準拠した術式で調べたが、検査成績は相互に大差がない結果であった。さらに動物由来寄生虫症として重要な肺吸虫に関して、本症の流行地である鹿児島県でシカ肉の検査を実施したところ、筋肉からウェステルマン肺吸虫の幼若虫が初めて検出された。シカも本症の感染源となることが証明されたことから、本症の感染予防に関する啓発活動を展開する必要がある。

「6. 野生鳥獣由来食肉の加工・販売・調理段階での衛生管理実態に関する研究(朝倉 宏)」では、野生鳥獣由来食肉の加工・販売・調理段階における衛生管理実態の把握を目的として、全国の10自治体に研究協力を求め、各施設を対象とするアンケート調査を実施した。3自治体の協力を得て、各管轄下にある鹿肉または猪肉の加工・販売・流通施設での衛生管理実態の把握のため、各過程での衛生管理実態を調査した。本研究ではシカ肉の、鹿肉中の *Sarcocystis* 属に注目して、保蔵・加熱、冷蔵、冷凍、塩蔵、酸・アルカリ処理における死滅条件を検討した。

尚、研究成果の詳細は、それぞれの担当者の研究報告書(後出)に譲る。

研究組織

研究代表者	高井 伸二	北里大学
研究分担者	前田 健	山口大学
	安藤 匡子	鹿児島大学
	壁谷 英則	日本大学
	岡林 佐知	予防衛生協会
	杉山 広	国立感染症研究所
	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者

米満 研三	山口大学共同獣医学部獣医微生物学教室
高橋 和志	北海道保健福祉部健康安全局食品衛生課
坂倉 佳佑	千葉県健康福祉部衛生指導課
清水 秀樹	山梨県峡南保健福祉事務所衛生課
小平 満	長野県健康福祉部食品・生活衛生課
水野 浩子	愛知県健康福祉部保健医療局生活衛生課
近藤 寿代	鳥取県生活環境部くらしの安心局くらしの安心推進課
田原 研司	島根県食肉衛生検査所
亢山 直人	徳島県危機管理部県民くらし安全局安全衛生課
金城 巳代志	大分県生活環境部食品安全・衛生課
吉島 尚志	熊本県県南広域本部球磨地域振興局保健福祉環境部

御供田 睦代	鹿児島県環境保健センター
川上 泰	麻布大学生命・環境科学部
森嶋 康之	国立感染症研究所寄生動物部
荒川 京子	国立感染症研究所寄生動物部
柴田 勝優	国立感染症研究所寄生動物部
品川 邦汎	岩手大学農学部
鎌田 洋一	岩手大学農学部共同獣医学科
山崎 朗子	岩手大学農学部共同獣医学科
高橋 和志	北海道保健福祉部健康安全局食品衛生課
水田 勲	千葉県健康福祉部衛生指導課
梶田 和彌	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
橘 理人	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
森 篤志	日本冷凍食品検査協会横浜センター
安河内 彩	日本冷凍食品検査協会関西事業所
梶田 和彌	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
倉園 久生	国立大学法人帯広畜産大学 畜産学部
五十君 静信	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
小西 良子	麻布大学 生命・環境科学部
本田 三緒子	ヤマザキ学園大学 動物看護学部

A. 研究の目的

野生鳥獣肉の衛生管理に関して、国は2014年秋にガイドラインを策定し、狩猟者・食肉処理業者・飲食店・販売店が守るべき衛生措置を明らかにした。これに沿った管理体制の整備の為に、1)野生鳥獣における病原体の保有状況の全国的な把握、狩猟された野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究、2)ジビエの衛生管理ガイドラインに基づく衛生的な処理方法の検証、3)ジビエ肉の交差汚染防止のための取扱方法、調理時の加熱条件設定等、狩猟現場から食卓に至るまでの野生鳥獣肉の安全性を担保する衛生管理の知識と技術の理解醸成が必須である。これまで申請者らは野生鳥獣の処理量やその肉の消費量が多い地方自治体の「ジビエ衛生管理ガイドライン・衛生マニュアル」の調査、病原体保有状況の調査、疫学的背景に基づく科学的な野生動物由来肉のリスク評価を行い、「野生鳥獣食肉の安全性確保に関する報告書（平成26年3月）」を取り纏めたが、狩猟者・処理業者が解剖・解体の仕方から正常臓器所見を参考に病変部の異常を確認する際に利用できるカラーアトラスの症例数は圧倒的に不足している。更に、野生鳥獣肉処理施設における衛生・品質管理に関する研究は始まったばかりで、家畜とは

違った観点からの汚染指標の新たな設定が必要である。また、牛・豚の食肉とは違った観点から野生鳥獣肉の安全な加工・調理方法など基礎情報も不足している。このような背景から、我が国として野生鳥獣肉に関する一定の衛生管理レベル・安全性・品質を十分に確保できない現況である事と危惧され、科学的根拠に基づいた狩猟・処理・調理現場でのカラーアトラス・マニュアル等に沿った適切な処理方法の確立が望まれる。本研究班では、1)野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究班に地域と共同研究を実施している感染症並びに病理学の専門家を配置し、2)解体処理方法に関する研究では感染症・公衆衛生の専門家をチームとし、国として実施すべき科学的根拠に基づく支援策をモデルとして提示する。我が国には生食嗜好など独自の食習慣があり、これを踏まえた我が国独自の食の安全性確保対策を確立することを目指す本研究は、欧米の先進国にもない独創的なものと考えられる。また、野生鳥獣肉の処理に、HACCPを用いた衛生管理を導入する為、関連法規を参照して検討を進める。

平成27年度における、それぞれのチームの研究目的の概要は以下の通りである。

1. E型肝炎は、野生動物肉の喫食により引き起こされることが知られているが、E型肝炎ウイルス(HEV)の自然界における感染環に関しては不明な点が多い。我々が開発したすべての哺乳動物からの抗HEV抗体検出系(図1)を利用して、自然界におけるHEV感染環を明らかにすることを目的とする。同時に、HEV抗体検出系および遺伝子検出系のマニュアル化、並びに、イノシシおよびシカの内臓の異常所見について狩猟時に収集を実施する。

2. 近年、様々な要因により野生動物の生息数や行動が変化している。これに伴い、農林畜産業被害の増大が報告されており、人獣共通感染症への影響も懸念されている。農畜産業や生活環境保護対策として、個体数の調整が推進され、野生鳥獣の捕獲数は年々増加している。狩猟動物を資源として有効利用するため、狩猟肉を一般に喫食する機会が増加している。主にシカおよびイノシシが食用とされている。

一般的な食肉は、管理飼育された家畜が法令に則り衛生的に加工されている。しかし、狩猟肉は、野生鳥獣の健康状態が不明であり加工方法も様々で公的な検査は受けていない。狩猟肉に由来する食中毒は、国内外で報告されており、細菌性食中毒も含まれている。このため、狩猟肉の安全対策の確立に向けた基礎的データの充実が必要である。そこで、狩猟肉として消費量の多い野生シカ、イノシシを対象に、細菌性食中毒の原因菌として重要な志賀毒素産生性大腸菌(STEC)、サルモネラ、カンピロバクター、黄色ブドウ球菌の保有状況を調査した。

3. 鹿や猪をジビエとして積極的に活用する動きが各地で起きているが、鹿や猪はと畜場法の定める獣畜に含まれていないため、衛生的に処理するための手順等が整備されていない。解体後の鹿肉や猪肉を安全かつ衛生的に取り扱うためのマニュアルの作成は急務の課題となっている。わが国の野生鳥獣の処理施設は、その処理方法、設備、器具、作業従事者の経験などにおいて非常に多岐に富んでいる。また、野生鳥獣肉の処理と家畜の処理において、

大きく異なる点として、処理施設に搬入されるまでの動物の衛生管理、飼養管理、健康管理の有無が挙げられる。以上のことから、平成27年度は、様々な条件下で不特定数の猟師により野生鳥獣が搬入されるわが国の1処理施設において、年間を通して処理される鹿、および猪の枝肉を対象としたふき取り調査を実施し、一般細菌数、大腸菌群数ならびにブドウ球菌数による衛生指標細菌数を計測して衛生状態を評価した。これにより、特に処理施設搬入前の野生鳥獣の各種条件が、最終的な枝肉の衛生状態にどのような影響を与えるのかを検討した。

4. 国内の解体処理施設で得られたシカやイノシシの各諸臓器の病理検査を行い、異常の有無を確認すると共に、地域による病原体保有状況の比較を行う。これらの疫学的根拠に基づく、狩猟者や解体処理業者向けの分かり易いカラーアトラスの充実を図る。

5-1. 野生獣肉の解体処理施設におけると体の細菌検査については、これまで余り実施されておらず、汚染実態は不明ない点も多い。そこで本研究班の協力研究者が所属する自治体に協力を要請し、解体処理施設でイノシシおよびシカのと体枝肉等のふき取り検査を実施した。と体のふき取り部位およびふき取り術式等については、厚労省の「枝肉の微生物検査実施要領」に準拠し、各都道府県のと畜場を対象として実施される検査結果との比較もできるようにした。

6-1. 野生鳥獣由来食肉のとさつ、解体、加工、販売等においては、一般家畜とは異なる法制度の下で運用されているところであり、それらの安全性確保にあたっては、各工程における衛生管理実態の把握ならびにその改善指導が求められている。

6-2. 複数の自治体の協力の下で、鹿肉及び猪肉の加工・販売・調理を行う各施設を対象とした衛生管理実態に関するアンケートを行った。

6-3. シカ肉への高い感染率を示すサルモネラ属寄生虫に着目し、冷蔵冷凍耐性、熱耐性、塩耐性、酸アルカリ耐性について詳

細に検討し、科学的根拠に基づく適切なガイドラインの作成に資することを目的とした。

B. 研究方法

1. 血清資料：日本各地より狩猟および有害鳥獣として捕獲された野生獣から血清を回収した。山口県の狩猟者からは山口大学の倫理委員会に承認を得た後に、血清を回収し、実験に供試した。抗 HEV 抗体の検出をマニュアルに詳細を記載した。血清からの HEV 遺伝子検出をマニュアルに詳細を記載した。

野生獣における異常所見の収集：山口県で捕獲されるイノシシおよびシカに関して、解体の際に異常所見が認められた場合、写真撮影を行った。その一部は、予防衛生協会にて病理所見を見ていただいた。

2. 2014年6月～2015年5月に鹿児島県および山口県で狩猟捕獲され野生シカ 155頭、イノシシ 138頭、合計 293頭の直腸便を採集した。

細菌分離には、各種選択培地を用い、菌種の同定は質量分析法(MALDI TOF-MS)または生化学性状検査により行った。STEC 分離には、クロモアガーSTEC 寒天培地を用いた。PCR による志賀毒素遺伝子(stx1、stx2)の検出により STEC と判定した。サルモネラ分離には、ハーナーテトラチオン培地で 42℃一晩増菌培養後、または直接ランバック寒天培地にて選択培養した。カンピロバクター分離には、プレストン培地にて増菌後バツラー寒天培地を用い、それぞれ 42℃二晩の微好気培養を行い、好熱性菌を選択分離した。黄色ブドウ球菌は、7%NaCl 加ミューラーヒントン培地で増菌培養後、卵黄加食塩マンニット寒天培地にて選択分離した。STEC は、抗血清凝集反応による O 抗原血清型(O26、O103、O104、O111、O121、O145、O157)決定を行った。黄色ブドウ球菌は、逆受け身ラテックス凝集法によりエンテロトキシン A、B、C、D の産生を調べた。

(倫理面への配慮) 全ての実験は、鹿児島大学病原体等安全管理規則に則り実施した。

3. 2015年2～8月の間に、わが国で捕獲され、処理施設 A にて解体処理された、鹿 52頭、および猪 9頭を用いた。衛生評価の方法は「枝

肉の微生物検査実施要領(平成 25 年)」(厚生労働省)に従った。すなわち、各動物を解体、洗浄した後の枝肉の胸部、肛門周囲部(以上鹿)、あるいは腹部(猪) 100cm² から拭き取り材料を採取し、10ml の滅菌生理食塩水に回収した。各拭き取り検体の 1ml 量を 3 種類のペトリフィルム(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。

4. 鹿児島県のシカ 5頭、山口県のシカ 6頭及びイノシシ 6頭の計 17頭の骨格筋・横隔膜・心臓・肺・肝臓・腎臓・舌・その他のホルマリン固定材料を病理組織学的に検索した。なお、病理検査に用いる材料は解体後、各処理施設における衛生的処理方法に従い、可食部分を採取した後の内臓等より速やかに採取された。ホルマリン固定された各諸臓器は所定の方法でパラフィン包埋し薄切、HE 染色後に鏡検し、病理組織学的検索を実施した。倫理面については、病理組織学的に病原体が認められた場合にも、情報漏えい等による処理業者への風評被害が出ないよう配慮された。

5-1. ふき取り検体：ふき取り検体の採取を行った自治体と獣種、検体数(受領日)は、以下の通りである。すなわち(1)千葉県：イノシシ 4 検体(10/20/2015)、(2)愛知県：イノシシ 12 検体(11/9/2015)、(3)愛知県：イノシシ 4 検体(12/17/2015)、(4)山梨県：シカ 4 検体(1/18/2016)、(5)愛知県：イノシシ 8 検体(1/20/2016)で、合計 32 検体(8頭)であった。

ふき取り検体の採材方法及び輸送：ふき取り部位は、各と体につき枝肉の左右胸部および左右肛門周囲部の計 4箇所とし(図 1)、10cm x 10cm のふき取り枠(ニッスイ)をあて、ふき取り検査キット(アズワン)を用いて、枝肉の微生物検査実施要領に従ってふき取り操作を行なった。ふき取り検体は、実施施設から冷蔵(10度以下)で輸送し、検査実施機関は受領当日に試験を開始した。

細菌試験法：細菌検査の項目は、生菌数、大腸菌・大腸菌群数、黄色ブドウ球菌数とし、使用培地は各々3M ペトリフィルム、ACプレート（6400AC）、ECプレート（6404EC）、STXプレート（6490STX）とした。試験実施時、ふき取り検体は速やかに転倒混和（20回/1分間）し、9mLの滅菌生理食塩水を用いて、4段階の10倍を行って10,000倍までの希釈溶液を調製し、原液を含め5段階の希釈液の各1mLを各培地に滴下して、均一に広げたのち培養を開始した。培養温度および培養時間は、生菌数は35±1℃で48±3時間、大腸菌・大腸菌群数は35±1℃で24±2時間、黄色ブドウ球菌数は35±1℃で24±2時間とした。培養後、規定の有効コロニー数（適正測定範囲）が得られた希釈段階のプレートについてのみコロニー数を計測し、生菌数は1cm²あたり、その他は100cm²あたりの菌数を算出した。尚、各希釈倍率のプレートに出現したコロニーについて、ACプレートに出現したコロニーは全て、ECプレートにおいては赤色集落を大腸菌群、気泡を伴う青色集落を大腸菌とし、STXプレートにおいては赤紫色集落を黄色ブドウ球菌として計数した。STXプレートにおいて赤紫色以外の集落が認められた場合は、さらに35℃±1℃で1～3時間培養し、ピンクゾーンを伴う集落となったものを黄色ブドウ球菌とした。尚、千葉から提供を受けた4検体については、資材の準備状況との関係から、3Mペトリフィルムを使用せずに、以下の方法で検査を行った。すなわち生菌数は希釈液1mLに対して標準寒天培地を15～20mL混和し、35℃±1℃で48時間±3時間培養、大腸菌・大腸菌群数についてはXM-G寒天培地を用い希釈液1mLに対して15～20mLを混和して35℃±1℃で24時間±2時間培養後、赤色集落を大腸菌群、青色集落を大腸菌として測定した。黄色ブドウ球菌については、希釈液0.1mLを卵黄加マンニット食塩培地平板に塗抹し35℃±1℃で48時間±3時間培養後、卵黄反応およびマンニット分解能を示す集落を黄色ブドウ球菌として計測した。

6-1. 自治体への協力依頼：平成27年7月29

日に国立医薬品食品衛生研究所において、自治体担当者を中心とする研究協力者に参集いただき、研究協力を依頼すると共に、一部自治体での取り組み状況等について、概説いただいた。

アンケート内容：加工・販売・調理施設に対して、それぞれ12、12、18の設問を作成し、各自治体担当者を通じて、各施設からの回答を得ることとした。

アンケート結果の集計：各設問に対する回答結果については自治体・施設の別を問わず、集計した。

6-2. 加工・販売・調理施設の視察および検体入手・輸送方法：平成27年11月上旬に、A自治体管轄下にある、猪肉加工施設（販売施設も併設）を視察し、同施設の拭取り及び猪肉製品を入手した。また、同加工施設由来猪肉を取り扱う販売施設及び調理施設を別途訪問し、施設拭き取りを行った。何れの検体についても、採取翌日に当研究所宛に届くよう冷蔵配達した。

6-3. シカ肉（ロースおよび横隔膜）は、平成27年9月7日～平成28年1月22日の期間中、（株）YAMATO（山梨）より購入した。狩猟解体後ブロック肉として、冷凍せずに4℃にて冷蔵したものを2日以内にクール宅急便で送付されたものを用いた。筋肉小片をスライドガラスで圧片し顕微鏡で観察する簡易検査法でサルコシスティス属寄生虫のシストを確認したものを実験に供した。実験方法の詳細は講述の担当者報告書に記載した。

倫理面への配慮

イノシシ・シカに関しては、狩猟期に捕獲あるいは有害鳥獣として捕獲されたものについて調べた。

検出された微生物の中には、野生動物が自然感染しており、ヒトへの病原性が認められる可能性がある場合があるが、その微生物の最終同定を行い、その不活化方法もしくは安全な可食部分の採取方法について適切なマニュアルを確立するまでは、情報の取扱いに留意し、協力機関において、風評被害等の影響

が出ないように配慮した。

C. 研究成果

1. 野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究

1.1 国内8県より回収されたイノシシの血清の抗体保有率は15.8%であった。

1.2 国内6県のシカの血清を抗HEV抗体保有率は0.1%であった。シカにはほとんどHEV感染が起こっていないことが明らかとなった。

1.3 山口県の狩猟者の抗HEV抗体保有率は38%と高い傾向にあった。

1.4 イノシシでHEV感染が証明されている山口県と兵庫県の野生獣での抗HEV抗体保有率を比較した結果、狩猟者以外ほとんどの動物での感染が認められなかった。

1.5 全国から回収されるイノシシ、シカ以外の動物の抗HEV抗体保有率を調査した結果、ペット様のフェレットと野生サルへの感染が証明された。それ以外の食肉目には感染が認められなかった。フェレットはフェレットHEV感染が証明されているため、交差反応と考えられた。

1.6 イノシシ及びシカの血清よりHEV遺伝子の検出を試みた結果、イノシシからは2.4%、シカからは0.2%の検出率であった。

1.7 血清中の遺伝子陽性固体の情報を詳細に解析すると、イノシシにおいては体重30kg以下の子イノシシにHEV保有が多く認められた。更に、抗体価の高い動物であっても遺伝子が検出されており、HEVのイノシシでの持続感染が証明された。

1.8 検出されたHEV遺伝子の塩基配列を決定し、系統樹を作成した結果、山口県ではイノシシ、シカ、ヒトが一つのクラスターを形成することが明らかとなった。千賀から検出されたウイルスも一つのクラスターを形成していた。

1.9 山口県のイノシシの抗HEV抗体保有率を月別に比較した結果、4月から9月にかけて抗体保有率が低い傾向にあった。特に8-10月は11-1月、6-9月は10-1月、4-9月は10-1月と比較して、有意に抗体価が低いことが

明らかとなった。全体的に9月を境に抗体が陽転する個体が多いことが明らかとなった。

1.10 山口県で狩猟されたイノシシ及びシカの内臓における異常所見の収集を行った。

2. 野生シカ・イノシシにおける細菌汚染の実態調査 STECはシカ24頭(保菌率15.5%)から28株、イノシシ3頭(2.2%)から4株分離され、合計27頭(9.2%)から32株分離された。分離されたSTECは、全ての株がstx2を保有し、そのうち6株がstx1を保有していた。0抗原血清型別では、シカ1頭およびイノシシ1頭からそれぞれ分離された3株が0157であった。他の分離株は、今回検査した食中毒の原因となる主要な血清型ではなかった。

好熱性カンピロバクターは、シカ5頭から5株(3.2%)、イノシシ20頭から20株(14.5%)分離された。シカ由来株は全て*Campylobacter hyointestinalis*であり、イノシシ由来株は、*C. jejuni* 1株(0.7%)、*C. coli* 2株(1.4%)、*C. hyointestinalis* 14株(10.1%)、*C. lanienae* 3株(20.2%)であった。

黄色ブドウ球菌はシカ14頭から14株(9.0%)、イノシシ2頭から2株(1.4%)分離された。エンテロトキシンA、B、C、Dを産生する分離株は認められなかった。サルモネラは分離されなかった。

月別分離率は、黄色ブドウ球菌は8月にピークを示したが、他の菌種ではそのような傾向は認められなかった。

3. 拭き取り検体を用いた野生鳥獣枝肉の衛生評価に関する研究

鹿および猪の枝肉では、電解水による洗浄後の一般細菌数、大腸菌群数、黄色ブドウ球菌数が検出限界未満(10個/cm²、3個/cm²、3個/cm²)となった検体は、鹿胸部で、それぞれ35(67.3%)、46(88.5%)、48(92.3%)検体、鹿肛門周囲部で、それぞれ37(71.2%)、49(94.2%)、48(92.3%)検体、猪腹部で、それぞれ6(66.6%)、9(100%)、9(100%)検体であった。一般細菌数が平成25年度全国の牛枝肉における中央値(胸部:108.1個/cm²、肛門周囲部:83.6個/cm²)よりも低い値となったものは、鹿胸部で80.8%(42/52)、鹿肛

門周囲部で 82.7% (43/52), 猪腹部で 88.9% (8/9) であった。一方, 一般細菌数が, 10,000 個/cm² 以上となった検体も鹿胸部で 19.2% (10/52), 鹿肛門周囲部で 11.5% (6/52), 猪腹部で 11.1% (1/9) 認められた。これらの枝肉に高度の汚染が認められた原因を検討するため, 枝肉洗浄前に一般細菌数が, 10,000 個/cm² 以上となった検体を汚染検体とし, 性別, 地域別, 季節別, ならびに施設内気温別に, 汚染検体の出現率を比較したところ, 性別, 季節別では有意差は認められなかったが, 季節別では, 鹿肛門周囲部で, 春 0% (0/7), 夏 44.1% (15*/34), 冬 27.3% (3/11), 鹿胸部で, 春 0% (0/7), 夏 61.8% (21**/34), 冬 18.2% (2/11) となり, 夏の検体で有意 (*p<0.05, **p<0.001) に高い値を示した。さらに施設内気温別では, 鹿肛門周囲部で, 20℃未満で 33.3% (3/9), 20℃以上で 51.7% (15/29), 鹿胸部で 20℃未満は 33.3% (3/9), 20℃以上で 62.1% (18/29) となり, いずれも 20℃以上において高く認められる傾向を示した。

4. 狩猟時及び食肉処理場における異常の有無を確認する方法の検証 病理組織学的検索結果を纏めた。すでに過去に報告があるように, シカではいずれの地域においても, 骨格筋・横隔膜・心筋・舌等の筋組織には住肉包子虫のシストが高率に検出された。また, これらの筋系組織を部位別に比較すると, 舌で住肉包子虫のシストがより多数確認された。イノシシの肺には肺虫の寄生が高率に認められ, それに付随する病変としてリンパ濾胞の過形成も観察された。また, シカでは両地域ともに一部の個体で重度の慢性胆管肝炎が認められ, 病態としては肝蛭等の寄生虫感染が疑われた。イノシシでも好酸球性の肝膿瘍の形成が 1 頭で認められ, 同じく寄生虫感染が疑われた。イノシシの舌では毛細線虫と思われる寄生虫が観察された。山口県のシカでは 1 頭において尿管由来と思われる単純性嚢胞の形成が認められた。

5. 解体処理方法に関する研究

生菌数とは体によって 10³ から 10⁸ までの幅があり, 生菌数の多いと体からは大腸菌群および大腸菌も高い数値が得られる傾向にあった。しかし, 黄色ブドウ球菌は生菌数の少ないと体からも検出される傾向にあった。

6-1. 計 13 の加工施設より, 12 の設問に対す

る回答を得た。

6-2. 計 3 自治体下の加工・販売・調理施設への視察を行い, 施設拭き取り調査と製品検査を通じ, 汚染実態の把握を行うと共に, 1 加工施設では汚染箇所の特定制を行った。

6-3. 本研究の結果, シカ肉に寄生するサルコシスティス属は, 氷温以上では 7 日間は生存していることが明らかになった。

研究結果の詳細は, 後述の報告書に記載した。

D. 考察

1. 調査した全国のイノシシより抗 HEV 抗体の保有が確認され, HEV は全国のイノシシで蔓延していることが明らかとなった。我々の調査した限りにおいて, イノシシ以外のシカを含む野生動物はほとんど HEV に感染していないことが明らかとなった。しかし, シカにもまれではあるが遺伝子検出されており, 注意が必要である。狩猟者は一般の高齢者に比べて抗 HEV 抗体保有率が高い傾向にあった。HEV は一部のイノシシにおいて持続感染していることが明らかとなった。野生動物間で蔓延している HEV は地域で維持されていることが明らかになり, HEV 患者の原因究明においては, その地域で蔓延している HEV の遺伝子と比較することにより推定することができると思われた。30 kg 以下の子イノシシは HEV 遺伝子を持っているリスクが高いことが判明した。8-9 月頃に抗体保有率が上昇することから, 7-8 月頃に HEV が自然界では蔓延していることが明らかとなった。野生の食肉獣で HEV 感染が認められないのに対して野生のサルへの感染が認められた。サルへの感染経路は今後の研究課題であると考えられた。

2-1. 野生シカ, イノシシの糞便中に STEC や *C. jejuni*, *C. coli* などの食中毒菌が生存していることが明らかになった。動物種により保菌率に偏りがあり, STEC および黄色ブドウ球菌はシカからの分離が多く, カンピロバクターはイノシシからの分離が多かった。

今回の調査では, STEC 0157 がシカとイノシシの両方から分離された。国内の野生動物からの STEC 0157 分離は, シカで報告があるが, イノシシでは初めてである。この結果から,

どちらの動物においても0157感染の危険性が明らかになった。食中毒の原因となる他の主要な血清型はなく、野生動物が保有する株は多様であることが示唆された。今回決定できなかった血清型や毒素のタイピングなどについて、更なる解析が必要である。

人のカンピロバクター食中毒の原因として最も多い *C. jejuni* および *C. coli* が分離されたことから、イノシシ肉は食中毒の原因となる可能性が示された。*C. lanienae* および *C. hyointestinalis* は海外において人への感染が報告されており、日本においてもこれらの菌種がヒトへの被害を起こす可能性が考えられた。*C. lanienae* は、海外で動物の解体処理従事者から分離されており、経口以外にも人への感染ルートがあると考えられ、解体者の安全確保のために解体時には注意が必要である。

分離されたブドウ球菌は検出可能な毒素を産生しておらず、食中毒を起こす可能性は示されなかったが、今後、他の毒素についても検討する必要がある。サルモネラは分離されなかったが、野生シカおよびイノシシが保菌していないと結論するには継続した調査が必要と考えられる。

3. 野生鳥獣肉の処理については、全国で多種多様な方法で実施されているため、それぞれの条件毎に最適な食肉処理の方法を検討する必要がある。本研究では、処理場に搬入される前の条件を検討するため、一つの処理施設 A に年間を通して、搬入される検体を対象とした。処理施設 A は、作業者が固定されていること、ならびに多様な背景を持った鹿や猪が搬入されることから、検討対象とした。本研究の成績から、処理施設 A で処理された枝肉は、非常に衛生的な取り扱いがされているものと考えられた。一方、高度に汚染されたものは、夏において多く発生することが明らかとなった。夏において、作業員、作業工程、作業時間など、他と比べて特に変更は無いことから、枝肉を汚染する頻度は季節毎に変わりなく、一定の頻度でおこるものと考えられる。このことから、夏の気温が高い時期

には、枝肉を汚染する汚染源において、細菌が増殖しており、枝肉の高度汚染が認められるようになるものと考えられた。以上のことから、枝肉の高度汚染を防ぐには、夏の細菌の増殖が起きやすい時期には、トメ刺しから処理場へ搬入し、解体するまでの時間をより短くすること、あるいは低温を保つこと、など汚染源となる細菌の増殖を阻止することが重要であるものと考えられた。今後、枝肉の衛生管理上重要となる処理工程のポイントについて検討する必要がある。

4-1. 今年度は鹿児島県と山口県の 2 か所からの採材・検索が主体であったが、得られた主病変としては、①シカでの住肉包子虫寄生②イノシシでの肺虫寄生③シカの慢性胆管炎やイノシシでの好酸球性膿瘍、の 3 種類であった。また、筋系組織の比較により、シカの舌でより住肉包子虫のシスト数が多いことが明らかとなり、イノシシの舌では新たに毛細線虫様の寄生虫が確認された。骨格筋だけでなく舌も、一部の利用者にとっては可食部に相当するため、やはり寄生虫の同定と病原性について明らかにするとともに、適切な食肉処理や調理方法による寄生虫の不活化方法について、処理業者や利用者にきちんと啓発・普及していく必要性が感じられた。また収集先が偏ってしまうという問題点も挙げられたため、検体の収集範囲を広げ、地域差についても検討していくためには、地方自治体も含めた幅広い材料提供ネットワークの構築が必須と考えられた。

5-1. 腸管出血性大腸菌による食中毒事例の発生以降、各地のと畜場では、継時的に枝肉のふき取り検査を実施し、その結果を公表しているが、結果を見ると、生菌数はおおむね 102 から 103 CFU/cm² で推移する傾向にある。今回実施したイノシシおよびシカの枝肉のふき取り検査結果は、これらと畜場におけるデータと大きな差異はなかった。国あるいは自治体が制定した野生鳥獣肉の衛生管理に関するガイドラインに基づいて解体作業を行っていることの効果が出ているものと推測された。野生獣肉のと畜場について、と畜場と同様にふ

き取り検査を実施することは、衛生管理の手法として適用可能であると共に、野生鳥獣肉の安全性確保を推進する上でも、極めて有効な方法であると考えられた。今年度は、ふき取り検体が予定通りに集まらなかったが、次年度以降も同様の方法による検体のふき取り検査を継続し、所見を蓄積する予定としている。

6-1 自治体間では、鹿肉・猪肉の取り扱い量にも大きな差異が認められ、地域の特色が顕れる結果となった。一方、安定的な加工・販売・調理を行うにあたっては、鹿肉・猪肉の別を問わず、冷凍での保存・流通を行っている施設が多い実態が把握することができた。

6-2. 鹿肉及び猪肉の加工・販売・調理施設への視察を通じて、各施設での工程は多様であり、一部では大腸菌汚染も見いだされたが、改善のための情報フィードバック及び衛生指導を通じて、製品の陰性化を行うことができた。

6-3. サルコシステイス属寄生虫の死滅のための条件を検討した。4℃および0℃（氷温）では、7日間以上の生存が認められた。-20℃、-30℃、-80℃の冷凍保存においては、2時間以内に死滅が確認された。加温条件下設定の実験では60℃で3分以上、70℃で1分以上処理することで100%が死滅した。更にハム・ソーセージ等の前処理における塩蔵処理では、死滅することが明らかになった。酸アルカリ処理では強酸およびアルカリでは死滅させる効果があった。

E. 結論

1. 野生獣におけるHEV検査マニュアルを作成した。自然界においてはイノシシがHEV保有動物であることが確認された。全国のイノシシでHEV感染が存在することが確認された。子イノシシおよび7-8月ごろがHEV感染のリスクが高いことが判明した。狩猟者はHEV感染のリスクが高いことが判明した。自然界で蔓延しているHEVは地域毎で同じであることから、HE患者の感染源の解明の際には、地域のイノシシで蔓延しているHEV遺伝子を調べることにより、野生獣肉からの感染の可能性を評価できる。野生ザルの抗HEV抗体保有の感染経路究明が求められる。

2. 野生シカおよびイノシシの糞便中から食

中毒菌が分離されたことから、狩猟動物の解体の際には、可食部位の腸管内容物による汚染防止が重要であることが示された。狩猟肉による食中毒予防のために、食肉として扱う衛生的な方法、すなわち適切な解体場所の確保と解体方法の啓発が必要である。また、解体者の感染症に対する安全対策、畑や牧草地など農畜産業用地の汚染防止の必要性も考えられた。

3. 処理施設Aにて処理された鹿、猪の枝肉は牛と比べても比較的衛生的に処理が行われていると考えられたが、一部の枝肉では高度に汚染されていた。

枝肉の高度細菌汚染は、夏に多く認められたことから、夏には、特に、汚染源となる細菌が増殖する危険性があることを認識し、細菌汚染防止について、特に注意を要するものと考えられた。

今後、わが国で実施されている様々な処理方法、器具、処理工程を精査し、それぞれの方法毎に、枝肉の衛生管理上重要となる点を検討する必要がある。

4-1. 解体処理業者・利用者向けのカラーアトラスとは、肉眼でどのような変化があれば異常であり、食用に供してはならないというマクロの判断基準を提示するべきものであるが、その一方、肉眼で異常が認められない場合であっても、その組織は病原体を保有しており、適切な処理・調理方法で不活化されないと、人体にとって有害であるということを啓発するための目的も有している。次年度は調査地域を広げ、さらなる病理検索情報の蓄積を図り、病原体の保有状況の調査を継続すると共に、利用者の食の安全を守り、解体処理・加工業者への風評被害にならないような、配慮の行き届いたカラーアトラスやリーフレットを作成し、講習会等での啓発・普及に利用していきたい。

5. イノシシとシカの解体処理施設において、と畜場で実施される枝肉の微生物検査実施要領に準拠したふき取り検査を実施し、と畜場における牛や豚の成績と大差がない結果を得た。

6. 野生鳥獣由来食肉の加工・販売・調理施設における衛生管理実態を収集するため、計10自治体の協力を得て、アンケート調査を実施した。本アンケート回答の集計を通じ、各施設における衛生管理実態として複数の課題点が見出された。研究協力へ前向きな回答を示した施設を対象として、次年度以降、衛生改善を目的として、更なる検討を行いたい。

市販製品を対象とした指標菌及びSTEC汚染分布に関する知見の収集を行ったが、各施設間で想定される工程管理の多様性から、当該施設では HACCP 導入型管理運営基準の運用が望ましいと考えられる。

シカ肉に寄生するサルコシスティス属は、冷蔵耐性には強いが冷凍耐性には弱いことから、一般冷凍庫における冷凍でも効果があるといえる。

F. 健康危険情報

- 1) 野生獣肉の喫食による HEV 感染は、イノシシが最もリスクが高く、特に子イノシシに注意すべきである。
- 2) 7-8 月頃に HEV 感染が自然界で蔓延していることから、この時期の野生獣肉には特に注意を要する。
- 3) 野生ザルが HEV に感染している。
- 4) サルコシスティス属寄生虫の死滅のための条件を検討した。4℃および0℃(氷温)では、7日間以上の生存が認められた。
- 5) サルコシスティス属寄生虫は、-20℃、-30℃、-80℃の冷凍保存においては、2時間以内に死滅が確認された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Sakai K, Hagiwara K, Omatsu T, Hamasaki C, Kuwata R, Shimoda H, Suzuki K, Endoh D, Nagata N, Nagai M, Katayama Y, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Mizutani T*, Maeda K*. Isolation and characterization of a novel rhabdovirus from a wild boar (*Sus scrofa*) in Japan. Vet Microbiol 2015.

179(3-4):197-203.

2) Li TC, Yonemitsu K, Terada Y, Takeda N, Wakita T, Maeda K. Ferret hepatitis E virus infection in Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases 68(1):60-62

2. 学会発表

1) 前田 健、浜崎千奈美、鋤田龍星、米満研三、南 昌平、下田宙、高野愛、鈴木和男、白永伸行、森川茂「動物における SFTS ウイルス感染状況の調査 (2014)」第 63 回日本ウイルス学会学術集会 2015. 11. 22-24 福岡国際会議場 (福岡)

2) 米満研三、鋤田龍星、下田 宙、武藤正彦、鈴木和男、前田 健「野生動物および狩猟者の E 型肝炎ウイルスの血清調査」第 63 回日本ウイルス学会学術集会 2015. 11. 22-24 福岡国際会議場 (福岡)

3) 下田 宙、水野純子、米満研三、南 昌平、鋤田龍星、好井健太郎、早坂大輔、前田 健「ダニ媒介性脳炎ウイルス様ウイルスの西日本のイノシシでの感染」第 22 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会、平成 27 年 11 月 21 日、福岡国際会議場 (福岡)

4) 浜崎千奈美、米満研三、鋤田龍星、下田 宙、高野 愛、鈴木和男、前田 健「イノシシから分離されたニシムロラブドウイルスの疫学調査」第 158 回日本獣医学会学術集会、北里大学 (十和田) 平成 27 年 9 月 7-9 日

5) 米満研三、Dung Nguyen、鋤田龍星、高野 愛、下田 宙、武藤正彦、鈴木和男、前田 健「野生動物、狩猟者の E 型肝炎ウイルス感染状況調査」第 158 回日本獣医学会学術集会、北里大学 (十和田) 平成 27 年 9 月 7-9 日

6) 米満研三、高野 愛、下田 宙、Dung Nguyen、武藤正彦、鈴木一男、Worawut Rerkamnuaychoke、前田 健「野生動物、狩猟者の E 型肝炎ウイルス感染状況調査」第 30 回中四国ウイルス研究会、岡山県倉敷市、くらしき山陽ハイツ 2015 年 6 月 27 日

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

II. 分担研究報告

「野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究」

山口大学：前田 健

野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究

分担研究者 前田 健 （山口大学共同獣医学部獣医微生物学教室）
研究協力者 米満健三 （山口大学共同獣医学部獣医微生物学教室）

研究要旨

これまでにすべての哺乳類に適応可能で、安価で、特異的な ELISA 系の作製に成功してきた。それを用いて国内各地におけるイノシシとシカを中心とした E 型肝炎ウイルス（HEV）の感染状況の調査を行ってきた。その結果、イノシシが自然界における主な HEV 保有宿主であることが判明した。更に、抗体保有率を月別に比較した結果、9 月前後に抗体が陽転する個体が有意に多いことが判明し、9 月以前に自然界では HEV が活性化することが明らかとなった。HEV 遺伝子検出により 2.4% のイノシシが血清中にウイルスを保有していることが示され、イノシシの食肉の際は特に注意を要することが明らかとなった。更に、HEV 遺伝子保有動物を比較した結果、体重 30 kg 以下の個体に HEV 遺伝子が検出されることが多く、子供のイノシシは特にリスクが高いことが確認された。なお、自然界において蔓延している HEV は地域ごとに差があり、ヒトへの感染源を特定する際には、その地域で蔓延しているイノシシの HEV 遺伝子を特定しておくことが、HEV 感染源の解明に役立つことが示された。これらの抗体検出系および遺伝子検出系に関してはマニュアル化した。更に、イノシシおよびシカの臓器の異常所見について収集を行った。

A. 研究目的

E 型肝炎は、野生動物肉の喫食により引き起こされることが知られているが、E 型肝炎ウイルス（HEV）の自然界における感染環に関しては不明な点が多い。我々が開発したすべての哺乳動物からの抗 HEV 抗体検出系（図 1）を利用して、自然界における HEV 感染環を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1) 血清資料

日本各地より狩猟および有害鳥獣として捕獲された野生獣から血清を回収した。山口県の狩猟者からは山口大学の倫理委員会に承認を得た後に、血清を回収し、実験に供試した。

2) 抗 HEV 抗体の検出

マニュアルに詳細を記載した。

3) 血清からの HEV 遺伝子検出

マニュアルに詳細を記載した。

4) 野生獣における異常所見の収集

山口県で捕獲されるイノシシおよびシカに関して、解体の際に異常所見が認められた場合、写真

撮影を行った。その一部は、予防衛生協会にて病理所見を見ていただいた。

C. 研究結果

1) 国内 8 県より回収されたイノシシの血清の抗体保有率は 15.8% であった（表 1）。

2) 国内 6 県のシカの血清を抗 HEV 抗体保有率は 0.1% であった。シカにはほとんど HEV 感染が起こっていないことが明らかとなった（表 2）。

3) 山口県の狩猟者の抗 HEV 抗体保有率は 38% と高い傾向にあった（図 3）。

4) イノシシで HEV 感染が証明されている山口県と兵庫県の野生獣での抗 HEV 抗体保有率を比較した結果、狩猟者以外ほとんどの動物での感染が認められなかった（表 3）。

5) 全国から回収されるイノシシ、シカ以外の動物の抗 HEV 抗体保有率を調査した結果、ペット様のフェレットと野生サルへの感染が証明された。それ以外の食肉目には感染が認められなかった（表

- 4). フェレットはフェレット HEV 感染が証明されているため、交差反応と考えられた。
- 6) イノシシ及びシカの血清より HEV 遺伝子の検出を試みた結果、イノシシからは 2.4%、シカからは 0.2%の検出率であった(表 5)。
- 7) 血清中の遺伝子陽性固体の情報を詳細に解析すると、イノシシにおいては体重 30 kg 以下の子イノシシに HEV 保有が多く認められた(表 6)。更に、抗体価の高い動物であっても遺伝子が検出されており、HEV のイノシシでの持続感染が証明された。
- 8) 検出された HEV 遺伝子の塩基配列を決定し、系統樹を作成した結果、山口県ではイノシシ、シカ、ヒトが一つのクラスターを形成することが明らかとなった(図 2)。千賀から検出されたウイルスも一つのクラスターを形成していた。
- 9) 山口県のイノシシの抗 HEV 抗体保有率を月別に比較した結果、4 月から 9 月にかけて抗体保有率が低い傾向にあった(表 7)。特に 8-10 月は 11-1 月、6-9 月は 10-1 月、4-9 月は 10-1 月と比較して、有意に抗体価が低いことが明らかとなった。全体的に 9 月を境に抗体が陽転する個体が多いことが明らかとなった(図 3)。
- 10) 山口県で狩猟されたイノシシ及びシカの肉臓における異常所見の収集を行った(末尾に掲載)。

D. 考察

- 1) 調査した全国のイノシシより抗 HEV 抗体の保有が確認され、HEV は全国のイノシシで蔓延していることが明らかとなった。
- 2) 我々の調査した限りにおいて、イノシシ以外のシカを含む野生動物はほとんど HEV に感染していないことが明らかとなった。しかし、シカにもまれではあるが遺伝子検出されており、注意が必要である。
- 3) 狩猟者は一般の高齢者に比べて抗 HEV 抗体保有率が高い傾向にあった。
- 4) HEV は一部のイノシシにおいて持続感染していることが明らかとなった。
- 5) 野生動物間で蔓延している HEV は地域で維持されていることが明らかになり、HEV 患者の原因究明においては、その地域で蔓延している HEV の遺伝子と比較することにより推定することができると思われた。
- 6) 30 kg 以下の子イノシシは HEV 遺伝子を持っているリスクが高いことが判明した。
- 7) 8-9 月頃に抗体保有率が上昇することから、7-8 月頃に HEV が自然界では蔓延していることが明らかとなった。
- 8) 野生の食肉獣で HEV 感染が認められないのに対して野生のサルへの感染が認められた。サルへの感染経路は今後の研究課題であると考えられた。

E. 結論

- 1) 野生獣における HEV 検査マニュアルを作成した。
- 2) 自然界においてはイノシシが HEV 保有動物であることが確認された。
- 3) 全国のイノシシで HEV 感染が存在することが確認された。
- 3) 子イノシシおよび 7-8 月ごろが HEV 感染のリスクが高いことが判明した。
- 4) 狩猟者は HEV 感染のリスクが高いことが判明した。
- 5) 自然界で蔓延している HEV は地域毎で同じであることから、HE 患者の感染源の解明の際には、地域のイノシシで蔓延している HEV 遺伝子を調べることにより、野生獣肉からの感染の可能性を評価できる。
- 6) 野生ザルの抗 HEV 抗体保有の感染経路究明が求められる。

F. 健康危機情報

- 1) 野生獣肉の喫食による HEV 感染は、イノシシが最もリスクが高く、特に子イノシシに注意すべきである。
- 2) 7-8 月頃に HEV 感染が自然界で蔓延していることから、この時期の野生獣肉には特に注意を要する。
- 3) 野生ザルが HEV に感染している。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sakai K, Hagiwara K, Omatsu T, Hamasaki C, Kuwata R, Shimoda H, Suzuki K, Endoh D, Nagata N, Nagai M, Katayama Y, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Mizutani T*, Maeda K*. Isolation and characterization of a novel rhabdovirus from a wild boar (*Sus scrofa*) in Japan. *Vet Microbiol* 2015. 179(3-4):197-203.
 - 2) Li TC, Yonemitsu K, Terada Y, Takeda N, Wakita T, Maeda K. Ferret hepatitis E virus infection in Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 68(1):60-62
2. 学会発表
- 1) 前田 健、浜崎千奈美、鋏田龍星、米満研三、南 昌平、下田宙、高野愛、鈴木和男、白永伸行、森川茂「動物における SFTS ウイルス感染状況の調査 (2014)」第 63 回日本ウイルス学会学術集会 2015. 11. 22-24 福岡国際会議場 (福岡)
 - 2) 米満研三、鋏田龍星、下田 宙、武藤正彦、鈴木和男、前田 健「野生動物および狩猟者の E 型肝炎ウイルスの血清調査」第 63 回日本ウイルス学会学術集会 2015. 11. 22-24 福岡国際会議場 (福岡)
 - 3) 下田 宙、水野純子、米満研三、南 昌平、鋏田龍星、好井健太郎、早坂大輔、前田 健「ダニ媒介性脳炎ウイルス様ウイルスの西日本のイノシシでの感染」第 22 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会、平成 27 年 11 月 21 日、福岡国際会議場 (福岡)
 - 4) 浜崎千奈美、米満研三、鋏田龍星、下田 宙、高野 愛、鈴木和男、前田 健「イノシシから分離されたニシムロラブドウイルスの疫学調査」第 158 回日本獣医学会学術集会、北里大学 (十和田) 平成 27 年 9 月 7-9 日
 - 5) 米満研三、Dung Nguyen、鋏田龍星、高野 愛、下田 宙、武藤正彦、鈴木和男、前田 健「野生動物、狩猟者の E 型肝炎ウイルス感染状況調査」第 158 回日本獣医学会学術集会、北里大学 (十和田) 平成 27 年 9 月 7-9 日
 - 6) 米満研三、高野 愛、下田 宙、Dung Nguyen、武藤正彦、鈴木一男、Worawut Rerkamnuaychoke、前田 健「野生動物、狩猟者の E 型肝炎ウイルス感染状況調査」第 30 回中四国ウイルス研究会、岡山県倉敷市、くらしき山陽ハイツ 2015 年 6 月 27 日
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし