

201522050A

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

国内野生ジカにおける病原性寄生虫の疫学的研究

平成27年度 総括研究報告書

研究代表者 山崎 朗子

岩手大学 農学部

平成28(2016)年 5月

## 目 次

I.	総括研究報告	
	国内野生ジカにおける病原性寄生虫の疫学的研究-----	3
	山崎朗子 (岩手大学 農学部共同獣医学科)	
II.	研究報告	
1.	各地自治体からの野生ニホンジカ採取試料分類-----	14
	山崎朗子 (岩手大学 農学部共同獣医学科)	
2.	野生ニホンジカにおけるクリプトスポリジウムの疫学調査-----	39
	山崎朗子 (岩手大学 農学部共同獣医学科)	
3.	野生ニホンジカにおける住肉胞子虫の疫学調査： 18SrRNAを標的にした定量的リアルタイムPCR法の確立 -----	52
	山崎朗子 (岩手大学 農学部共同獣医学科)	
4.	野生ニホンジカにおける住肉胞子虫の疫学調査： 北海道エゾシカでの実地調査 -----	73
	山崎朗子 (岩手大学 農学部共同獣医学科)	

## 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)

#### 代表研究報告書

#### 国内野生シカにおける病原性寄生虫の疫学的研究

代表研究者 山崎朗子 (岩手大学 農学部獣医公衆衛生学研究室)

#### 要旨

昨今、害畜駆除目的で捕獲された野生動物の肉を食用活用する動きが盛んに行われている。しかし、衛生管理下で肥育されている家畜に比して、衛生環境が大きく異なる野生動物は、家畜が感染する食中毒病原微生物以外にも食中毒の危害物質となりうる有害細菌や、ウイルス、寄生虫など多くの有害微生物が含まれている可能性が高い。事実、野生獣肉喫食による事例が報告されているが、家畜と異なり、寄生虫での危害が目立つ。これは、他の動物とも接触する可能性が大きい自然環境での生育に大きく寄与するものと考えられ、野生動物の大きな特徴である。野生動物はその広い生息環境により各家畜では特異性のある寄生虫が一個体に多重感染している可能性があり、喫食時の危害ばかりでなく、放牧場への侵入等により家畜への感染源となる可能性も考えられるが、これまでに行われた疫学研究は調査地域にはばらつきがあり、地域差も鑑みると十分とは言えない。

本研究では国内各所の野生シカを対象にして、クリプトスポリジウム、住肉胞子虫等の保有率、寄生虫密度を遺伝子検出にて算出した。住肉胞子虫についてはこれまでニホンジカに適応した定量試験法がなかったことを受け、リアルタイムPCR法にて定量する試験法を新規に確立した。これらの手法を用い、全国各地の自治体の協力を得て採集した資料を地域、性別、年齢、季節などの各分類において陽性率、寄生虫密度を遺伝子コピー数として比較検討した。その結果、国内野生ニホンジカにクリプトスポリジウム、および住肉胞子虫が感染していることが明らかになった。さらに住肉胞子虫については、前述の定量的試験法にて寄生虫密度を算出した結果、地域要因による密度の差が認められた。

本研究の成果は、新たな情報として消費者のための食肉汚染回避だけでなく解体、加工従事者の感染防止に関する注意喚起をも観点に入れ、更に安全なガイドラインへ改定する際に大きく貢献でき、また、放牧等の家畜肥育において、家畜の感染防御策のための基盤情報として利用が期待できる。

用いられる実験手法は、既に国立感染症研究所等から通知されている各種病原体検出方法と同様であるため、将来的には各自治体管轄内の病原性寄生虫検出を各自で行うことが可能であると考えられる。また、本研究で新たに確立された定量的試験法についても、原理はリアルタイムPCR法であるため、汎用性があることから、これまでの衛生検査同様に各自治体の検査機関で行うことが出来る。得られた結果については、学術発表やシンポジウムでの発表、論文投稿により国内だけでなく海外へも情報を発信し、周知と活発な情報交換による深い相互理解を期待する。

## A. 研究目的

近年、多くの地域で野生鳥獣が個体数調整されており、これらの肉を有効活用する地域振興事業が行われている。野生鳥獣はと畜場法の対象外であることから、個々に作成したガイドラインに従って検査されてきたが、衛生環境管理下にある家畜に比べ、野生鳥獣は衛生面で大きく異なるため、家畜では見られない病原微生物や有害物質に暴露される可能性が大きい。国内ではこれまでも野生獣肉の喫食による食中毒例が既に報告されており、その病原体も、細菌、ウイルス、寄生虫と広範囲にわたっている。これらの事例を基とした野生鳥獣の病原体保有状況の報告から、家畜とは異なる病原微生物保有が認められた。また、馬肉で事例を出した住肉胞子虫も、ニホンジカでの保有が報告されている。本研究代表者はこれまで野生ジカにおけるクリプトスポリジウムの調査を行っており、国

内の数カ所で 0%~18%という陽性率を確認している。このように、家畜では特異性のある寄生虫が野生動物では多重感染している可能性があり、喫食時の危害に加え、家畜への感染源となる可能性も考えられる。しかしこれまでに行われた疫学研究は、調査地域のばらつき、検体数の数などの点からも十分でない。そこで本研究では、更に広い範囲での野生ジカにおける病原寄生虫の保有率を明らかにすることを目的とした。本研究代表者は、これまでの調査でシカ試料採取ネットワークが既に構築されているため、効率的な進行が見込めることから本研究の発案に至った。

まず、本研究においては、野生シカが保有している感染性有害性寄生虫の保有状況を調査する。地域差や家畜との感染伝播等についても調査を進め、二四季を通して調査を行うことにより、季節性の有無や妊娠個体や幼獣も対象

として垂直感染動態や若齢による感染性の相違を確認する。

・本研究の特色・独創的な点

食肉の危害性微生物というと細菌とウイルスに注目しがちだが、野生動物では寄生虫での危害が目立つ。これは、他の動物と接触する自然環境での生育によるものと考えられ、大きな特徴である。その広域な生息行動は、一方の家畜施設で発生した病原微生物を他方へと伝播する可能性も孕む。危害性微生物の中でも寄生虫に焦点を当てた本研究は、野生動物の特徴を捉えており、ジビエの安全性確保には不可欠な情報となる点でも非常に重要である。

・期待される成果

本研究の成果は、これまでに各所で作成されたガイドラインに新たな情報として組み込み、消費者のための食肉汚染回避だけでなく解体、加工従事者の感染防止に関する注意喚起をも観点に入れ、更に安全なガイドラインへ改

定する際に大きく貢献できると考えられる。また、今後のさらなる安全な野生獣肉の食肉利用とその拡大に寄与し、地域産業の振興を促すことで農林被害の補填となるだけでなく各自治体の新たな財源ともなりうる。家畜動物への病原体伝播に関して野生動物が感染源もしくはベクターとして関与する可能性が明らかになれば、放牧等の家畜肥育において、家畜の感染防御策のための基盤情報として利用が期待できる。

本研究で用いられる実験手法は、各自治体で行っている既存の各種病原体検出方法と同様であり、既に国立感染症研究所等から通知されているため、将来的には各自治体管轄内で捕獲された野生動物の病原性寄生虫検出を各自で行うことが出来、より早く情報を得ることが出来ると考えられる。本研究で得られた結果については、学術発表やシンポジウムで発表の機会を持ち、直接の周知と注意喚起に努め、また、

論文投稿により海外へも情報を発信することで、より広く貢献出来るものと考えられる。

## B. 研究方法

野生動物として本研究ではシカを用いる。

研究試料は、糞便、横隔膜、季節によっては妊娠個体の胎盤、胎仔を採取する。試料採取は各県の処理施設や猟師の協力のもと行う。

### 1. 試料採取地域の決定

#### 1) 場所

調査場所は、積極的に野生ジカの駆除と食肉利用を行っている地域にサンプリング協力を依頼する。保有個体の統計的比較解析に用いるため、一地域あたり 40~50 頭分の試料を採取し、雌雄の偏りが無いよう配慮する。また、これまでに調査を行ってきた地域については、更に細かい地域での比較の為、

サンプリングを続ける。

#### 2) 季節

調査地域の決定と共に、各地において年間を通して試料を採集し、季節変動を確認する。とくに、雌個体については、住肉胞子虫の垂直感染の確認の為、繁殖期の妊娠個体は胎盤および胎仔も採集する。また、クリプトスポリジウムについても、感染感受性または抵抗性の確認の為、5~7 月の幼獣期の試料採集を配慮する。

### 2. 遺伝子検出法と種同定

#### 1) クリプトスポリジウムの検出法

国立感染症研究所による「クリプトスポリジウム症・ジアルジア症等の原虫性下痢症」に準拠して糞便中のクリプトスポリジウム原虫を濃縮する。濃縮原虫から QIAGEN mini stool kit を用いて核酸を抽出し、18S リボソーム RNA を標的とした市販のクリプトスポリジウム検出キット（例

Cycleave®RT-PCR Cryptosporidium (18S rRNA)Detection kit)に従い、RNA 逆転写の後リアルタイム PCR を行う。Ct 値から、検量線を基にオーシスト数を算出する。陽性検体については、18S リボソーム RNA の塩基配列から、BLAST を用いて相同性検索を行い、種同定を行う。また、免疫染色した後、顕微鏡検査によって虫体を確認する。

## 2) 住肉胞子虫の検出法

厚生労働省暫定法：生食用馬肉中の *Sarcocystis fayeri* 検査法に準拠し、陽性検体を検出する。種同定については、18S リボソーム RNA の塩基配列を解析し、BLAST による相同性検索により決定する。また、18S リボソーム RNA を標的とした定量的 PCR 法によって検量線をもとにブラディゾイド数を測定する。顕微鏡検査によりシストとブラディゾイドを確認する。

家畜動物を自然宿主に持つ種が検出された場合、可能であれば生息域近隣の

家畜施設の調査を検討し、野生ジカが病原性寄生虫の感染源およびベクターとなる可能性を検討する。

全ての危害性評価に関する実験は申請者の所属機関である国立医薬品食品衛生研究所内で行い、実験で使用した消耗品や廃棄物はオートクレーブにて滅菌消毒の後に廃棄する。申請者の所属部署である衛生微生物部は特定病原微生物取り扱い区域および P 2 実験室を備え、原虫をはじめとする各種病原微生物の遺伝子検出設備、培養設備、また、分子生物学的・形態学的手法において必要な実験器具・機器等を備えている。

## 3. 統計的解析による比較検討

上記の調査結果から、全国に分布するニホンジカでのクリプトスポリジウム、住肉胞子虫の保有率、特に人や家畜に対して毒性の強い種に関する比較解析を行う。主には、地域差、雌雄差、シ

カの種別（エゾシカ、ニホンジカ等）、季節差について、各群の陽性率平均値を fisher の正確確立検定によって検討する。寄生密度については各分類での中央値を用い、雌雄差などは Mann-Whitney の U 検定を、三群以上の比較では Kruskal-Wallis 検定により有意差を検討することで、各群での寄生虫保有率・寄生濃度の傾向を明らかにする。

#### 4. 垂直感染についての調査

繁殖期の妊娠個体について、胎盤からの住肉胞子虫の検出を試みる。個体間での感染虫密度の確認の為、検量線からブラディゾイド数を同様に算出する。また胎盤での寄生を確認する為、蛍光抗体で免疫染色し、蛍光顕微鏡下で鏡検し、住肉胞子虫の垂直感染の有無を確認する。

以上の結果を全て統合し、寄生虫について、安全なジビエの供給に寄与するとともに、野生ジカの生息域に重複

する家畜施設については、家畜に対する感染症伝播の防疫策を考える。

#### C. 研究結果

##### 1. これまでの調査地域の整理と新たな試料採取地域の決定

###### 1) 場所

上記については、害獣対策を精力的に行っている地方自治体に研究協力を申し出た結果、千葉県、静岡県、山梨県、三重県、滋賀県、京都府、長崎県、熊本県、宮崎県と北海道の計 10 道府県から試料提供を受けられた。

###### 2) 季節

上記については、基本的には通年の依頼を行ったが、実際には猟期の関係や、通年狩猟許可の有無、季節柄の気候による狩猟の困難さ等の諸条件により、各県でばらつきが出た。

本年度の結果としては、千葉県 13 頭、静岡県 45 頭、山梨県 42 頭、三重県 25 頭、滋賀県 23 頭、京都府 29 頭、長崎



県 51 頭、熊本県 19 頭、宮崎県 5 頭、北海道 89 頭分の試料を採取できた。現段階で計 341 頭分である。雌雄差は全体で雌 181 頭、雄 156 頭、不明 4 頭であり、おおむね偏りのない比率といえる。

糞便試料としては、北海道を除く本州および九州の 232 頭分、横隔膜・筋肉試料は千葉県、山梨県、三重県および奈良県、長崎県、北海道からの 161 頭分が得られた。

## 2. 遺伝子検出と種同定

### (1) クリプトスポリジウムの検出

上記については、研究計画書のとおり実験を行い、問題なく糞便中のクリプトスポリジウム原虫の濃縮、核酸抽出、18S リボソーム RNA を標的としたクリプトスポリジウム属原虫の検出ができた。その結果、千葉県 9.1 % (1/11)、静岡県 15.6 % (7/45)、山梨県 2.4 % (1/42)、京都府 17.2 % (5/29)、三重

県 0 %、滋賀県 0 %、宮崎県 20.0 %

(1/5) という陽性率が確認された。雌雄間では雄 8.9 % (11/123)、雌 4.1 % (5/122) であった。これらの陽性検体について塩基配列を解析したところ、*Cryptosporidium* sp. deer genotype、*C. ryanae*、*C. bovis* であり、シカ固有種に加え、ウシ由来の種が感染していることが分かった。

これらのことは、野生ニホンジカが家畜であるウシと同種の寄生虫に感染すること、ひいては、家畜に有害な病原体の運び屋になる可能性を示唆する。

以後、残りの試料についても同様に解析を進め、統計解析を行う予定である。

### (2) 住肉胞子虫の検出

上記についても、研究計画書のとおり実験を行い、住肉胞子虫の核酸抽出および住肉胞子虫由来の 18S リボソーム RNA を検出、および定量することができた。その結果、北海道の検体で

100 % (89/89) の陽性率が確認された。

### (3) 住肉胞子虫の定量法の確立

ニホンジカの住肉胞子虫の検査法については、これまでウマに寄生する *Sarcocystis fayeri* の検査法を転用するにとどまり、適応した定量的試験法は確立されていなかった。そこで本研究では、*Sarcocystis fayeri* の検査法にてニホンジカ試料中の住肉胞子虫 18SrRNA を増幅し、その配列を解析した後に標的領域を特異的に増幅できる定量的検査法を確立した。試料は北海道由来のエゾシカ試料を用い、住肉胞子虫 18SrRNA 領域の塩基配列を解析したところ、1 個体由来の試料から、6 種の住肉胞子虫が検出された。この 6 種に共通して存在する配列を探索したところ、399 bp の共通配列が見つかった。この中で、リアルタイム PCR 法による増幅に適する 100 bp 程度の配列を特異的に増幅できるプライマーを設計

したところ、71 bp の配列を標的とするプライマーペアが設計された。この配列の長さでプライマーペアの GC 含有率を考慮して、伸長反応時間、アニーリング温度を決定した。陽性対象については、住肉胞子虫 18SrRNA 全長をライゲートしたプラスミドを用いた。制限酵素で切断した後、リアルタイム PCR 法にて試験し、検量線を作成し、決定係数  $R^2$  値を確認した。試験法の安定性と感度を確認するため、濃度の異なる試料を試験し、融解曲線がシングルピークであることと、計測された Ct 値と試料濃度が高い相関性を示すことを確認した。

### (4) 住肉胞子虫の定量法を用いた実地疫学

前述で確立した野生ニホンジカに適応した定量的リアルタイム PCR 法を用いて、北海道由来の試料の疫学解析を行った。その結果、北海道由来の 89 検

体は全て陽性であった。定量的試験法で定量した結果、少ないものは  $1 \times 10^5$  /g、多いものは  $1000 \times 10^5$  /g と 1000 倍の差が認められた。これらの数値を、地域、性別、年齢でそれぞれ群に分けて解析したところ、地域間でのシカ肉中の遺伝子コピー数（ブラディオイド定量値）を比較した結果、道北ではほとんどの個体が  $10 \times 10^5$  /g であったのに対し、道東では 10 倍量の  $100 \times 10^5$  /g であり、一方道南ではそのどちらでもなく  $1 \times 10^5$  /g から  $1000 \times 10^5$  /g と幅広いことが確認された。雌雄別に比較すると、性別の二群における数値の分布に相違は認められなかった。年齢別での比較は、幼齢から年を経るごとに寄生虫密度は上昇する傾向が認められた。

#### D. 考察

本研究成果から、国内で野生ニホンジカにおける様々な食中毒危害性寄生虫の疫学情報が得られた。我が国では

害獣対策の一環として、野生獣肉を食肉利用するというジビエ産業は歴史上初の試みであるため、解決すべき種々の課題は山のように残されている現状であるが、なにより、流通に不可欠な衛生管理という点は課題の中でも最も大きいものの一つであり、解決無しにはジビエ産業そのものが成立しない。

これまでの食中毒事例にもあるとおり、野生動物には家畜よりも多数の病原微生物が存在する事は事実であるが、その事実を踏まえ、家畜の衛生管理法をむりに転用するのではなく、野生動物に適応した規制を新たに定めるのが肝要かつ、将来的にも安定した産業の振興をもたらすと考えられる。

本研究では、野生動物に特徴的な病原性寄生虫の疫学調査、ならびに検出法の確立を示した。日本人の考え方として、「自然の物はきれい」という固定観念もあり、自然界で活着している野生動物の衛生面を警戒しない風潮がある。

本研究は、そのような観念を改め、「野生鳥獣肉には衛生面で注意する必要がある。しかし、それは普段食している家畜肉と同様に、解体、調理の段階で危害性をなくす事が出来る食材である」という事を社会一般に示すことを最終的な目標としている。これまで、食用に供す野生鳥獣の衛生管理に焦点を絞った疫学研究は無に等しかった。我が国のジビエ産業が害獣対策の一環として始まったことをうけて、社会にひろく流通させるためには安定した衛生管理規制が何よりも重要である。本研究はそのような規制を構築するに貢献し得る情報の提供を目的とした。

本研究の結果から、国内野生ジカから初めてクリプトスポリジウムが検出された。これは、水源汚染を含めたヒトへの危害性の可能性を示すだけでなく、家畜での流行を引き起こす感染源としての可能性も同時に示唆する。また、生食用馬肉で食中毒を起こした住

肉胞子虫については、これまでになかった野生ニホンジカに適応した定量法を確立した。これまでの検査では、生食用馬肉を対象とした *Sarcocystis fayeri* 検査法を転用する他なかったが、本研究で明らかにされたとおり、ニホンジカに *S. fayeri* は感染しておらず、代わりに別の種が 6 種混合感染していた。そのことを考慮すると、*Sarcocystis fayeri* 検査法でシカ肉の検査を行った場合、多量の取りこぼしによる偽陰性を大量に産出する恐れがある。本研究で確立した定量法により、北海道エゾシカ 89 検体の疫学調査を行ったところ、陽性率は 100 % と、食用ウマを遥かに越える感染率で、今後一層の食肉利用に対する調理法の指導が必要である事がわかった。また、1 個体あたりの寄生虫数を遺伝子コピー数の定量で解析した結果、性別による寄生虫数の影響はないが、地域、年齢については様々な影響があることが分かった。住肉胞子

虫は草食動物を中間宿主とし、肉食動物を主な終宿主とするため、地域に生息する固有な動物によっても大きな影響を受ける事が考えられる。本研究では北海道由来のエゾシカのみを対象にした疫学調査であった。以後、本州および九州のニホンジカ試料についても同様に研究を進め、北海道のエゾシカ

と同様の研究を行い、結果について比較検討することで、今後我が国のジビエ産業で主要な食肉となり得るニホンジカの危害性についてより詳細な情報を得、近い将来に確立されるジビエの衛生管理関連法規に大きく貢献する事を目指す。

## 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)

#### 研究報告書

##### 各地自治体からの野生ニホンジカ採取試料分類

代表研究者 山崎朗子 (岩手大学 農学部獣医公衆衛生学研究室)

#### 要旨

近年、増え続ける野生鳥獣による獣害対策として捕獲された野生動物を新たな資源として活用し、地方財源となり得る郷土色豊かな資源、ひいては6次産業化を念頭に国産ジビエ産業が始まろうとしている。特に獣害被害を多大に受けている地方自治体では、個体数管理が活発に行われているため、同時に資源活用に対しても非常に積極的であるが、野生動物は家畜動物と異なり、肥育を衛生管理されていないため、数々の病原性微生物を含む環境由来生物に暴露されている可能性が高い。ところが、法律が定めるところの家畜でない野生動物は、と畜場法の対象外であるためと畜場法に沿った衛生検査が行われないため、食肉としての安全性を保障するには至っていない。

本研究ではこのような現状を受け、今後のジビエ衛生管理関連法規の制定に貢献すべく、野生ニホンジカの疫学調査を行うため、国内各所のジビエ産業に積極的な自治体からの試料提供協力を募った。これにより、北海道から宮崎県までの計10都道府県、6地方から、エゾシカ、ホンシュウジカ、キュウシュウジカの3種類の試料が採集された。試料分類は、クリプトスポリジウム、ジアルジア調査に用いる直腸内容便、住肉胞子虫調査に用いる横隔膜または骨格筋の3種類であった。

我が国のジビエ産業は、獣害被害が増えるにつれ、ますます振興が望まれる方向にあるが、実際に全国的な流通を可能にするために衛生管理の段階になると様々な法規の関係で、生産自治体の中には検査に二の足を踏む自治体も存在していた。また、行政と現場である捕獲狩猟者、解体施設管理者、加工業者との連携や、信頼関係が薄弱である自治体では、経済的問題や狩猟者の年齢をはじめ、様々な要因において温度差が生じ、いかに行政がジビエ産業に積極的でも、現場の協力が得られず、産業として成立するのが困難であることが分かった。

家畜のように生産段階での規定、衛生管理法が確立されているものについては、衛生検査の結果から風評被害を受けることは少ないが、生産、解体、加工の段階で全ての規定が定められていない野生獣肉は、衛生面についての情報が一般社会に深く浸透していない事もあり、小さな情報が大きな風評被害を呼ぶ可能性が拭いきれない。このような不安を取り除くためにも、本研究の成果は、これからの我が国のジビエ産業振興のために不可欠である数々のジビエ衛生管理関連法規の制定に関して非常に重要な情報となり得る物である。

## A. 研究目的

近年、増え続ける野生鳥獣による獣害への対策として我が国の各地方自治体では個体数管理を目的とした狩猟や捕獲が行われている。このように捕獲された野生動物を新たな資源として活用し、地方財源となり得る郷土色豊かな資源、ひいては6次産業化を念頭に国産ジビエ産業が始まろうとしている。特に獣害被害を多大に受けている地方自治体では、個体数管理が活発に行われているため、同時に資源活用に対しても非常に積極的であるが、野生動物は家畜動物と異なり、肥育を衛生管理されていないため、数々の病原性微生物を含む環境由来生物に暴露されている可能性が高い。ところが、法律が定めるところの家畜でない野生動物は、と畜場法の対象外であるためと畜場法に沿った衛生検査が行われない。さらに、と畜場での解体も許可されていない。前述のとおり、野生動物は自然環境で成育するため、家畜動物より多くの細菌、

ウイルス、寄生虫といった微生物に感染し、中には病原性を保有する微生物も含まれている可能性が高いにも関わらず、法的規制によって家畜と同様の検査を受けないため、食肉としての安全性を保障するには至っていない。本研究の成果は、これからの我が国のジビエ産業振興のために不可欠である数々のジビエ衛生管理関連法規の制定に関して非常に重要な情報となり得る物である。我が国のジビエ産業は、鳥獣被害対策の一環である面が強いと、本研究成果も多少なり関連する衛生管理法規に及ぼされる影響は、現在鳥獣被害を多く受け、その害獣を資源活用化することを強く望む各自治体にこそ大きく現れる。そこで、本研究ではこれまでに鳥獣被害を多大に受け、未来のジビエ産業に積極的に取り組んでいる各自治体から試料提供を募り、国内の広い地域から野生ニホンジカの試料を得た。

## B. 研究方法

## 1. 試料提供自治体の選出

試料採取提供は主にこれまで野生鳥獣被害を多く受けている自治体を選出した。我が国では全国的にニホンジカによる獣害被害を受けているが、その被害は森林、および農地に分けられる。森林での被害は主に日本アルプスをはじめ全国の山地に起こっており、食害による自然景観破壊、植林被害が多くを占めるが、そのようなケースは、森の深い場所に少数の群れで生息するため、狩猟自体が困難であり、一度の捕獲では確保できる数が限られる。そのため、本研究の試料採取では、遊牧地や牧草地、田畑など、狩猟のしやすさと、群れの個体数が大きい地域・自治体での試料採取を行った。試料採集協力については、各自治体行政、猟友会に依頼し、試料提供、及び採取協力を得た。

## 2. 採取方法

研究代表者が各自治体行政機関と猟友会を訪れ、研究内容を説明すると共に試

料採取協力を得た。次に、研究で使用する試料の部位、その目的、採取方法を説明した。各自治体について、提供可能試料を詳細に決定し、試料採取が出来てから48時間以内に岩手大学農学部へ冷蔵での送付を依頼した。個体識別については、各自治体ともに、捕獲日、捕獲場所、性別、年齢、体長、体重を出来る限り記載した。採取は主に狩猟者が狩猟をした際の解体時に行う。随時の試料採取および送付が困難な自治体では、全国一斉捕獲の際、研究代表者が捕獲に参加させて頂き、現場での試料採取を行った。その試料についても、捕獲日に冷蔵で岩手大学農学部へ送付した。

## 3. 採取試料部位

本研究で用いた試料は研究対象に合わせて3種類を採取した。クリプトスポリジウム、ジアルジア等水系感染性原虫の調査試料は直腸内容物として糞便、住肉胞子虫の調査試料には横隔膜または骨格筋



を採取した。糞便試料については外環境由来のコンタミネーションを防ぐため、20 cm程度の長さを直腸ごと採取した。直腸の両端は結紮することで完全に外気から遮断した。横隔膜については、腹腔内臓器を摘出した際に露出した部分を15 cm<sup>2</sup>程度採取した。横隔膜の採取が困難であった場合は、大腿部の骨格筋を100 g程度採取した。

## C. 研究結果

### 1. 試料提供自治体

本研究の依頼により、北海道、千葉県、静岡県、山梨県、三重県、滋賀県、京都府、長崎県、熊本県、宮崎県の計10都道府県から試料提供を頂けた。地方としては、北海道、関東、東海、甲信越、近畿、九州の6地方である。(図1.)

### 2. 採取試料数

平成27年度に本研究で採取できた試料数は北海道から89検体、千葉県から13

検体、静岡県から45検体、三重県から25検体、山梨県から42検体、滋賀県から23検体、京都府から29検体、長崎県から51検体、熊本県から19検体、宮崎県から5検体の計341検体である。地方別の検体数は、北海道89検体、関東地方13検体、東海地方70検体、甲信越地方42検体、近畿地方52検体、九州地方75検体であった(表1)。

### 3. 採取試料分類

本研究で採取した試料は、季節、性別、採取時期等がそれぞれ異なっている。採取時期が判明しているものについては、主には狩猟期である11月から3月に採取したものが多く確認される(表2)が、千葉県では6月から11月、静岡県では5月、10月、12月の一斉捕獲時期、山梨県では7、8月を除く全ての月、三重県では3月、10月の一斉捕獲期、滋賀県では3月、10月、11月、12月、京都府では1月と12月、長崎県では5月を除くほぼ年間、熊本県は

11月から3月、宮崎県は12月と各自治体によって異なっている。また、夏季の狩猟については、FSTSV等を含むダニ刺咬の問題もあり、狩猟を控える狩猟者が多く、試料採取の頻度が低下している。北海道については、狩猟のみでなく、養鹿場での肥育の後のと殺解体の際の試料も多く含まれるため、生息環境が大きく変化しないことを考慮すると、試料採取時期の影響は大きくないと推察されたことから、試料採取時期の明記を不要とした。

また、試料を採取した個体の雌雄差については各自治体で異なるが、北海道で雄：雌32：57、千葉県では9：4、静岡県では26：19、三重県では4：21、山梨県では14：24、京都府では18：11、滋賀県では15：8、宮崎県では1：4、長崎県では27：24、熊本県では10：9（図2）であった。雌雄の偏りについては、各自治体が個体数管理の手段として捕獲を推奨しているため、より効率的な管理のため、

積極的に雌個体の捕獲を推奨していることが原因の一つと考えられる。

#### 4. 部位別採取試料

本研究で使用する試料の部位は、標的病原微生物により異なっている。クリプトスポリジウムおよびジアルジア等水系感染性原虫の疫学調査については、直腸内容中の糞便を試料とした。また、住肉胞子虫の試料としては、筋肉組織を用いた。住肉胞子虫については、寄生分布に偏りがあるとの報告がある。光学顕微鏡での組織切片検査によると、舌での寄生が最も多く、次いで横隔膜および骨格筋、最後に心筋組織の順でシスト数が減少することが確認されているが、本研究では、人への危害性を考慮し、主要な可食部位を試料とすることを決定し、横隔膜または骨格筋の筋肉組織を採取した。

その結果、糞便試料は千葉県から11検体、静岡県天城地域から39検体、同じく静岡県富士宮地域から6検体、山梨県から

42検体、滋賀県から23検体、京都府から29検体、三重県から25検体、熊本県から19検体、宮崎県から5検体、長崎県から51検体、合計250検体が採取された。また、横隔膜または骨格筋試料は、北海道から89検体、千葉県から11検体、三重県から25検体、長崎県から51検体の合計176検体が採取された。以上に述べた各自治体からの採取試料および個体情報については北海道・道東（表3）、北海道道北（表4）、北海道道南（表5）、千葉県（表6）、静岡県（表7）、山梨県（表8）、三重県（表9）、滋賀県（表10）、京都府（表11）、長崎県（表12）、熊本県（表13）、宮崎県（表14）、に示す。

#### D. 考察

本研究では、合計述べ数341検体の試料を採取することが出来た。北海道、本州、九州の3つの島から採取できたことから、それぞれの島を生息域とするエゾシカ、ホンシュウジカ、キュウシュウジカの三

種の鹿からの試料を得られたということになる。採取分布としては図1に示したとおり、全国のなかでも被害を大きく受けている地方自治体から積極的な試料提供を得られた。しかし、今回の研究協力が得られた背景には、自治体行政と猟友会の密な信頼関係が強く反映されていることが分かった。自治体行政が害獣対策に頭を悩ませ、ジビエ産業に踏み切る意欲はあるものの、現場が整わない自治体が数多くある。家畜用のと殺施設が使用できないため、野生動物の解体には独立した施設を利用する必要があるが、この施設の建設費用は全てが自治体行政で賄われるわけではない。また、関係省庁からの費用も補助にとどまり、大部分は事業者の負担となるため、よほどの経済的余裕のある自治体でなければ十分な数の施設を建設することが出来ない現状であった。特にジビエ産業が害獣被害対策の一つであることから推測すれば、現在この問題に直面している自治体は害獣被害

により多大な経済的損害を被っているため、野生動物を多く捕獲できる自治体がジビエ産業で経済利益を上げるという結果には安易に至らないため、現在でも野生動物の捕獲後は廃棄というケースが非常に多くを占めている。このような現状においても自治体行政と狩猟者の関わりが非常に密であり、相互に良い関係を保っている自治体のみで、今回のような研究協力が達成された。自治体を通じての依頼が猟友会等の狩猟者へと届けられるため、猟友会と自治体行政の関係がうまく成立していない自治体では、たとえ自治体行政が非常に協力的かつ研究結果を求めているも、猟友会の同意が得られず協力を得られなかった自治体も数多かった。また、野生動物からの病原微生物の検出に付随するジビエの風評被害を恐れ、調査協力を拒否する自治体もまた少なくなかった。結果的に協力が得られた自治体は、既にある程度のジビエ産業を進めており、加えて、行政の取り組み、狩猟

者との協力体制がうまく連携されているところばかりであった。また、狩猟者の年齢が大きく影響しており、高齢化の進行している猟友会では協力を得られなかった。このような背景から、我が国におけるジビエ産業の振興については経済的な問題が想定するより大きな課題であることが分かった。

今回の試料は全ての自治体について、48時間以内の冷蔵での送付を徹底したこともあり、状態は良いものだった。研究対象がウイルスや細菌である場合は、輸送時間での増殖・減少・死滅などが大きく影響し、結果の信頼性が低下する恐れがあるが、寄生虫を対象とする本研究では、他の微生物に比べて安定性が高いため、信頼性のある結果が得られる試料であった。自治体によっては採集試料の雌雄比が大きく違っているところもあった。これについては、猟銃による捕獲、罠猟、どちらの場合においても雌雄を選んで捕獲することは難しいことと、全国的に個