

「野生シカ・イノシシにおける細菌汚染の
実態調査」

鹿児島大学：安藤 匡子

野生シカ・イノシシにおける細菌汚染の実態調査

分担研究者 安藤 匡子（鹿児島大学共同獣医学部獣医公衆衛生学研究室）

研究要旨

狩猟肉による細菌性食中毒対策の基礎資料として、野生シカ・イノシシにおける食中毒菌の保有状況を調査した。二年間にわたり通年採材し、各種病原細菌の分離を試みた。志賀毒素産生大腸菌はシカ 19.9%、イノシシ 1.9%が保有し、ヒトにおいて重篤な疾患の原因となる O157 および O26 も認められた。STEC の薬剤耐性は 1 株で認められ、ストレプトマイシン/テトラサイクリン耐性であった。黄色ブドウ球菌は 18.6%、シカ 1.4%が保有したが、毒素産生およびメチシリン耐性は認められなかった。好熱性カンピロバクターはシカ 5.2%、イノシシ 14.2%が保有し、人での食中毒起因菌として最も重要な *C. jejuni* は認められなかった。サルモネラはいずれの動物からも分離されなかった。狩猟肉から人への危害防止のため、糞便汚染防止策を初めとした衛生管理の普及が必要である。

A. 研究目的

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。一方狩猟肉は、生存中の健康状態が不明であり加工方法も様々である。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。狩猟肉の微生物学的安全対策を確立するための基礎資料として、野生シカ・イノシシにおける食中毒細菌の保有状況を 2 年間にわたり通年調査した。分離株の性状は、病原因子および世界的な問題となっている薬剤耐性を解析した。

B. 研究方法

2014 年 6 月～2016 年 5 月の二年間、鹿児島県および山口県で狩猟捕獲された野生シカ 306 頭、イノシシ 211 頭の新鮮直腸便を採集した。大腸菌、黄色ブドウ球菌、カンピロバクター、サルモネラ分離は、各種増菌および選択培地を用い、菌種の同定は質量分析法および生化学性状により行った。

志賀毒素産生大腸菌（STEC）は、Stx1 および Stx2 遺伝子を PCR により検出し判定、Stx 型別は遺伝子解読により行った。接着因子の保有は eaeA 遺伝子を PCR により検出し判定した。O 血清型は遺伝子型特異的 PCR により決定した。薬剤感受性試験は、農林水産省のウシ・ブタのモニタリングに用いられている薬剤の中からアンピシリン、セファゾリン、セフォタキシム、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、

オキシテトラサイクリン、コリスチン、ナリジクス酸、シプロフロキサシンを対象に寒天平板希釈法により行った。

黄色ブドウ球菌は、エンテロトキシン産生を逆受け身ラテックスにより確認し、メチシリン耐性をディスク拡散法（セフォキシチンおよびオキサシリンに対する感受性試験）により確認した。

C. 研究結果

前年度の通年採材において検体を得られなかった時期があったため、同地域において再度通年採材を行い、各地域の通年調査を完了した。

STEC は、シカ 50 頭（保有率 16.3%）およびイノシシ 3 頭（保有率 1.4%）から合計 64 株分離された。性状の異なる複数の株を保有する個体もあった。各動物における月別保有率を表 1 および 2 に示した。分離株の性状を表 3 に示した。0 抗原型は、O11、O26、O54、O84、O113、O128、O146、O156、O157 の 9 血清遺伝子型に型別された。O146 が最も多く、51.6%を占めた。O84 を除く全ての株が Stx2 を保有していた。O26、O157 の Stx 型はそれぞれ Stx2a、および Stx2b または Stx2c であり、これらの株は eaeA を保有していた。

STEC の薬剤耐性は、ストレプトマイシンおよびテトラサイクリンへの耐性が 1 株で認められた。耐性株の MIC ($\mu\text{g/mL}$) はストレプトマイシン（耐性限界値：32 $\mu\text{g/mL}$ ）で 32 ($\mu\text{g/mL}$)、オキシテトラサイクリン（耐性限界値：16 $\mu\text{g/mL}$ ）で 128

($\mu\text{g/mL}$) であり、耐性率は両薬剤ともに 1.5%であった。耐性株は、シカ由来の血清型 O113 であり、病原因子 *stx1*、*stx2*、*eaeA* を保有していた。

黄色ブドウ球菌は、シカ 57 頭(保有率 18.5%)、イノシシ 3 頭 (保有率 1.4%) 分離された。各動物における月別保有率を表 4 および 5 に示した。薬剤感受性試験を行った 2014 年 6 月～2015 年 5 月に分離された 49 株は全て、メチシリン耐性の指標となるオキサシリンおよびセフォキシチンに対して感受性であった。

カンピロバクターは、シカ 16 頭 (5.2%)、イノシシ 30 頭 (14.2%) から分離された。各動物における月別保有率を表 6 および 7 に示した。イノシシからは *C. coli*、*C. hyointestinalis*、*C. lanienae* が分離され、シカからは *C. hyointestinalis* のみ分離された。

サルモネラはいずれの動物からも分離されなかった。

D. 考察

狩猟肉として加工される野生シカ・イノシシが年間を通じて腸管内に食中毒細菌 (STEC、黄色ブドウ球菌、カンピロバクター) を保有した。STEC の O 抗原型は、市販抗血清を用いた凝集反応では判定が困難であったが、遺伝子型別 PCR により判定することができた。O146 が多くを占め、人への危害が報告される多様な血清型が含まれた。O84 を除く全ての株が *Stx2* を保有しており、人の重症感染例が報告される O157 および O26 を含む株が接着因子を保有していた。薬剤耐性株は少数であったが、存在することが確認された。人および家畜・家禽への影響を考慮し、継続した調査により大型野生動物が保有する株の耐性遺伝子および獲得機序を明らかにする必要がある。

野生動物におけるブドウ球菌の保有調査は、鳥類および齧歯類が多く、大型野生動物については報告が少ない。海外では、野生シカおよびイノシシは黄色ブドウ球菌の保有率は高いが、耐性菌の保有率は極めて低いことが報告されている。本研究においてもメチシリン耐性株は認められなかった。

カンピロバクターによる食中毒において最も多く検出される *C. jejuni* は分離されなかったが、*C. coli* および人への感染が報告されている種が分離された。人への主要な汚染源となる家禽・家畜のカンピロバクター保有は、環境や野生動物に由来することが示唆されており、本研究の分離株はカンピロバクター伝播経路の推定に有用かもしれない。

本研究ではサルモネラは分離されなかったが、国内外の様々な野生動物がサルモネラを保有することが知られており、シカ・イノシシにおいても検出報告がある。分離されなかった理由として、動物の生息地や分離試験方法の影響も考えられ、野生シカ・イノシシがサルモネラを保菌しないと結論できない。野生動物が保有する病原体の継続したモニタリングは、狩猟肉の消費拡大に伴う危害対策として有用と考えられる。

E. 結論

野生シカ・イノシシから狩猟時期にかかわらず、STEC、黄色ブドウ球菌、カンピロバクターが分離された。STEC においては、人への重大な危害が予想される性状の分離株も認められた。少数であるが薬剤耐性株が確認され、耐性遺伝子の保有を含めた調査の継続が重要である。これら細菌による人への危害防止のため、糞便汚染防止策を初めとした衛生管理の普及が必要である。本研究では経口感染する食中毒細菌を調査したが、他の病原体の存在も当然考えられ、狩猟肉を喫食する消費者とともに加工に関わる人々の安全確保が必要である。

F. 健康危機情報

- 1) 糞便汚染防止策を初めとした衛生管理の普及が必要である

G. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Suzuki J, Hashino M, Matsumoto S, Takano A, Kawabata H, Takada N, Andoh M, Oikawa Y, Kajita H, Uda A, Watanabe K, Shimizu T, Watarai M. Detection of *Francisella tularensis* and analysis of bacterial growth in ticks in Japan. Lett Appl Microbiol. 63(4):240-6. 2016.
 - 2) Ishihara K, Chuma T, Andoh M, Yamashita M, Asakura H, Yamamoto S. Effect of climatic elements on *Campylobacter* colonization in broiler flocks reared in southern Japan from 2008 to 2012. Poult Sci. pii: pew354. 2016.
 - 3) Masatani T, Yoshihara S, Matsubara A, Gotoh T, Takahashi H, Tanaka T, Andoh M, Endo Y, Matsuo T. Dynamics of *Theileria orientalis* genotype population in cattle in a year-round grazing system. Acta Parasitologica 61(2): 419-424, 2016.
2. 学会発表
 - 1) 富野由通、堀内雄太、申ジエ、米満研三、高野愛、安藤匡子、中馬猛久：ジビエとなるシカ、イノシシからの志賀毒素産生性大腸菌の

分離および分離株の性状解析. 平成 28 年度
獣医学術九州地区学会, 北九州 (千草ホテル),
2016 年 10 月 16 日

- 2) 富野由通、堀内雄太、申ジエ、米満研三、高
野愛、安藤匡子、中馬猛久: ジビエとなるシ
カ、イノシシからの志賀毒素産生性大腸菌の
分離および分離株の性状解析. 第 159 回獣医
学会, 神奈川 (日本大学生物資源科学部),
2016 年 9 月 6-8 日

**H. 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

表 1. 野生シカの志賀毒素産生大腸菌 (STEC) 保有率

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
山口 1st	0.0	0.0	5.3	33.3	10.0	42.9	30.8	7.7	25.0	50.0	0.0	0.0
山口 2nd	-	0.0	16.7	50.0	33.3	0.0	0.0	16.7	0.0	0.0	0.0	-
山口 合計	0.0	0.0	8.0	40.0	15.4	16.7	21.1	10.5	18.2	33.3	0.0	0.0
鹿児島 1st	33.3	0.0	50.0	25.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	20.0
鹿児島 2nd	11.1	14.3	-	66.7	25.0	11.1	12.5	50.0	0.0	27.3	25.0	14.8
鹿児島 合計	20.0	6.3	50.0	33.3	11.8	11.1	11.1	33.3	0.0	33.3	20.0	15.6

-: 披検サンプルなし

表 2. 野生イノシシの志賀毒素産生大腸菌 (STEC) 保有率

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
山口 1st	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	14.3	100.0	0.0	0.0	0.0
山口 2nd	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	-	0.0	0.0	-
山口 合計	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	11.1	100.0	0.0	0.0	0.0
鹿児島 1st	0.0	0.0	20.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
鹿児島 2nd	0.0	0.0	-	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0
鹿児島 合計	0.0	0.0	20.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

-: 披検サンプルなし

表3 志賀毒素産生大腸菌 (STEC) 分離株の性状

O 抗原遺伝子型	stx1 型	stx2 型	eaeA 保有	動物	場所	株数
O11	—	b	—	シカ	鹿児島	11
O26	—	a	+	シカ	山口	1
O54	—	a/b	—	シカ	鹿児島	9
O84	a	—	+	シカ	鹿児島	3
O113	c	d	—	シカ	鹿児島	1
O128	—	b	—	シカ	山口	1
O146	—/c	b/c	—	シカ、イノシシ	山口、鹿児島	33
O156	不明	不明	+	シカ	鹿児島	1
O157	—	b/c	+	シカ、イノシシ	山口、鹿児島	4

—: なし

表4 野生シカにおける黄色ブドウ球菌の保有率

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
山口 1st	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	14.3	30.8	15.4	37.5	0.0	0.0	0.0
山口 2nd	-	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	16.7	33.3	100.0	0.0	0.0	-
山口 合計	0.0	0.0	8.0	0.0	0.0	5.6	26.3	21.1	54.5	0.0	0.0	0.0
鹿児島 1st	0.0	0.0	25.0	16.7	44.4	-	0.0	0.0	20.0	0.0	0.0	0.0
鹿児島 2nd	0.0	28.6	-	33.3	62.5	55.6	50.0	50.0	33.3	27.3	12.5	22.2
鹿児島 合計	0.0	12.5	25.0	20.0	52.9	55.6	44.4	33.3	25.0	25.0	10.0	18.8

-: 披検サンプルなし

表5 野生イノシシにおける黄色ブドウ球菌の保有率

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
山口 1st	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	14.3	0.0	0.0	0.0	0.0
山口 2nd	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	-	0.0	0.0	-
山口 合計	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	11.1	0.0	0.0	0.0	0.0
鹿児島 1st	5.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
鹿児島 2nd	0.0	0.0	-	-	0.0	0.0	20.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0
鹿児島 合計	3.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	20.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

-: 披検サンプルなし

表6 野生シカにおけるカンピロバクター保有率

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
山口 1st	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
山口 2nd	-	0.0	0.0	0.0	0.0	9.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
山口 合計	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
鹿児島 1st	33.3	0.0	12.5	16.7	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
鹿児島 2nd	0.0	0.0	-	0.0	12.5	11.1	0.0	0.0	33.3	0.0	18.8	18.5
鹿児島 合計	13.3	0.0	12.5	13.3	5.9	11.1	0.0	0.0	12.5	0.0	15.0	15.6

-: 披検サンプルなし

表7 野生イノシシにおけるカンピロバクター保有率

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
山口 1st	55.6	0.0	25.0	0.0	0.0	-	25.0	0.0	100.0	0.0	0.0	25.0
山口 2nd	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	-	11.1	0.0	-
山口 合計	55.6	0.0	14.3	0.0	0.0	0.0	25.0	0.0	100.0	7.7	0.0	25.0
鹿児島 1st	5.6	21.4	0.0	20.0	0.0	50.0	-	0.0	33.3	0.0	0.0	18.2
鹿児島 2nd	0.0	0.0	-	-	100.0	62.5	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0
鹿児島 合計	3.6	15.8	0.0	20.0	50.0	60.0	0.0	0.0	20.0	0.0	0.0	12.5

-: 披検サンプルなし