

令和元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）
「野生鳥獣由来食肉の安全性確保とリスク管理のための研究」
分担研究報告書

北海道のヒグマにおける旋毛虫の感染状況（予備調査）

研究担当者 杉山 広 （国立感染症研究所寄生動物部）
研究協力者 森嶋康之 （国立感染症研究所寄生動物部）
研究協力者 村上正樹 （国立感染症研究所寄生動物部）
研究協力者 常盤俊大 （日本獣医生命科学大学獣医学部）

研究要旨

北海道で捕獲されたヒグマの舌を用いて旋毛虫の寄生状況を検査した。2019 年度に 19 個体を調べたが、旋毛虫幼虫が陽性の個体は検出されなかった。

A. 研究目的

最近、わが国ではクマ肉の喫食を原因とする旋毛虫食中毒の集団事例が、短期間のうちに 3 度発生した（2016 年 12 月（茨城県）2018 年 5 月および 2019 年 11 月（北海道））。これらの集団食中毒事例では、いずれも北海道のヒグマの肉が原因食品になっていた。北海道に生息するヒグマの汚染状況が、旋毛虫食中毒の発生と直結する危険性が高いと考え、道内のクマにおける旋毛虫の汚染状況を地域別に知るため、旋毛虫の好寄生部位である舌を対象に、旋毛虫の検査を実施した。この過程で、市販の旋毛虫検査キットの性能評価も行い、より簡便に旋毛虫が検出できるかを検討した。

B. 研究方法

1) 北海道のヒグマにおける旋毛虫感染状況

北海道立総合研究機構の環境・地質研究本部環境科学研究センターに協力を要請し、同センターが保管するヒグマの舌 19 個体

分（2019 年 4 月から 11 月に北海道内各地で捕獲されたヒグマの舌、いずれも - 80 にて冷凍保存）を用いて人工消化を行い、筋肉中の旋毛虫幼虫の検出を試みた。検査にあたっては、各個体の舌根部を対象として、まずその 20g を切り出し、これをフードプロセッサーでミンチ状にした。次に市販の旋毛虫検査キット（PrioCHECK Trichinella AAD, Thermo Fisher Scientific, マサチューセッツ, 米国）を用いて、添付されたマニュアルに従い、消化液を調製して、人工消化を行った。すなわち、キットに付属する 3 種類の溶液（Component 1、20 ミリリットル；Component 2、0.1 ミリリットル；Component 3、10 ミリリットル（図 1））と 380 ミリリットルの精製水を 500 ミリリットルのプラスチック容器で混和し、ミンチ状にした 20g の舌を加えた。この容器にスターラーを入れ、60 の恒温機に収納したスターラーを用いて、20 分間、750rpm で攪拌消化した。消化された筋肉は目開きが 300 マイクロメ

ートルの金属メッシュで濾過し、濾液をガラス製の円錐型液量計に移して、1 リットルの生食水を加えて、30 分間静置した。この操作を上清が清澄となるまで 4 回繰り返した。その後、上清を吸引し、沈殿物をプラスチックシャーレ（径 9cm）に移し、実体顕微鏡下に観察して、旋毛虫幼虫の有無を調べた。なおメッシュで濾過されなかった未消化物（主に結合織）は、2 枚のガラス板（6 x 10 cm）で挟み、実体顕微鏡下に観察して、虫体の残存が無いことを確認した。

2) 市販のトリヒナ検査キットの性能評価

上述したキットを用いた人工消化法（以下、キット法）の旋毛虫幼虫検出における性能が、1%ペプシン塩酸液を用いた人工消化法（以下、従来法）と遜色がないかを確認した。確認検査の供試筋肉としては、2016 年に茨城県で集団食中毒事例を引き起こした北海道日高産ヒグマ肉（腰筋および大腿筋、-30 で冷凍保存）を用いた。この筋肉をフードプロセッサでミンチ状にし、20g の検体を 8 個準備した。これを 4 個ずつ 2 群に分け、従来法およびキット法により、4 検体ずつ人工消化を行った。従来法は本報告書の「わが国に分布する旋毛虫 *Trichinella* T9 の殺滅に有効な加熱条件の予備的検討」で詳述したが、筋肉の消化にあたっては、20 倍量のペプシン塩酸液を用いて 37 で 60 分間、振盪消化した。キット法では 60 で 20 分間、攪拌消化した。筋肉消化後の沈査からの虫体検出と計数は、キット法でも従来法と同様の方法で実施した。両者の性能比較にあたっては、筋肉 1g 当たりの幼虫数 (LPG) を比較の指標とした。

C. 研究結果

1) 北海道に生息するヒグマにおける旋毛虫感染状況

今回検査した 19 頭のヒグマの舌検体からは、旋毛虫幼虫を検出することができなかった。なお検査した 19 頭のヒグマの捕獲地を図 2 に、また個体属性を表 1 に示した。

2) 従来法とキット法との性能比較

従来法を用いた場合の平均 LPG は 167 であったのに対し、キット法を用いた場合の平均 LPG は 146 であった。各検体において算出された平均 LPG について t 検定を行ったところ、 $p > 0.05$ となり、有意差を認めなかった。したがってキット法であっても、従来法と同様の結果が得られることが分かった（表 2）。

D. 考察

今回北海道で捕獲されたヒグマの舌からは、旋毛虫幼虫が検出されなかった。2007 年の Kanai らによる調査では、ヒグマ 126 頭中 4 頭が陽性（3.2%；うち 3 頭は道央の赤平市、1 頭は道南の熊石町（現八雲町））であったが、ヒグマの旋毛虫感染率は決して高くない。しかし北海道のヒグマの肉が、旋毛虫食中毒の原因食品であることは明らかなので、今後も検体数を増やして検査を継続し、現時点におけるヒグマの寄生状況を明らかにしたいと考えている。

また、今回検査したヒグマ 19 個体のうち 11 個体（58%）が、道南地区で捕獲されていた（図 2）。旋毛虫に感染したヒグマが、北海道のどの地区で捕獲されたのか、2018 年と 2019 年の食中毒事例では明らかでない。そこで全道を対象として検体を集め、ヒグマにおける旋毛虫の寄生状況を、地区

別に明らかにする必要がある。

今回は、筋肉から旋毛虫幼虫を検出するための人工消化法として、従来法とキット法を比較した。その結果、平均 LPG 値には、有意差を認めなかった。一方、消化の所要時間は、従来法の 60 分に比べ、キット法では 20 分に短縮された。キット法を用いることで、検出感度は保ったまま、旋毛虫の検出作業を効率化できると考えられた。

E. 結論

北海道で捕獲されたヒグマの舌を用いて旋毛虫の寄生状況を検査した。2019 年度に 19

検体を調べたが、旋毛虫幼虫が陽性の個体は検出されなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表；2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

1. 特許取得；2. 実用新案登録 　なし

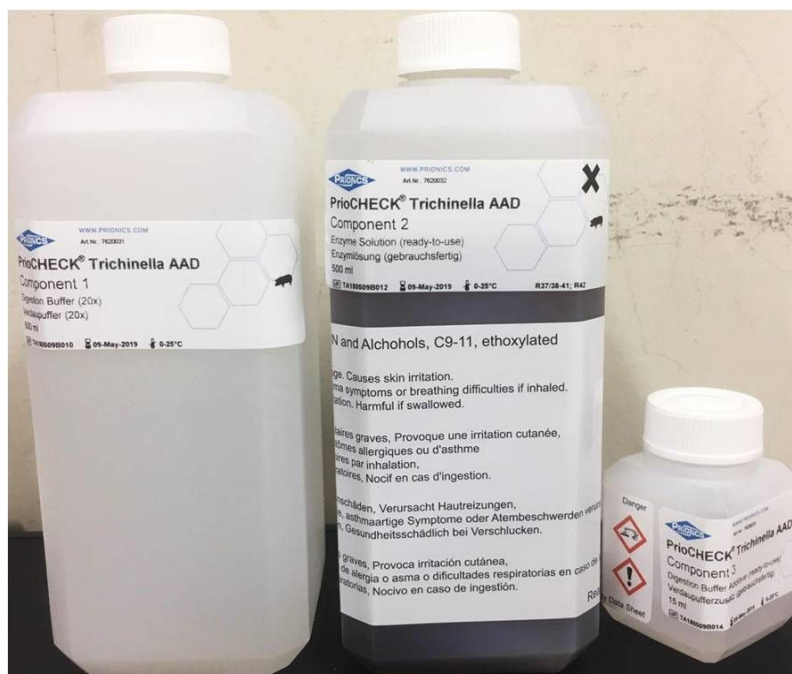


図 1 市販の旋毛虫検査キット (PrioCHECK Trichinella AAD) 左から順に Component 1、Component 2、Component 3

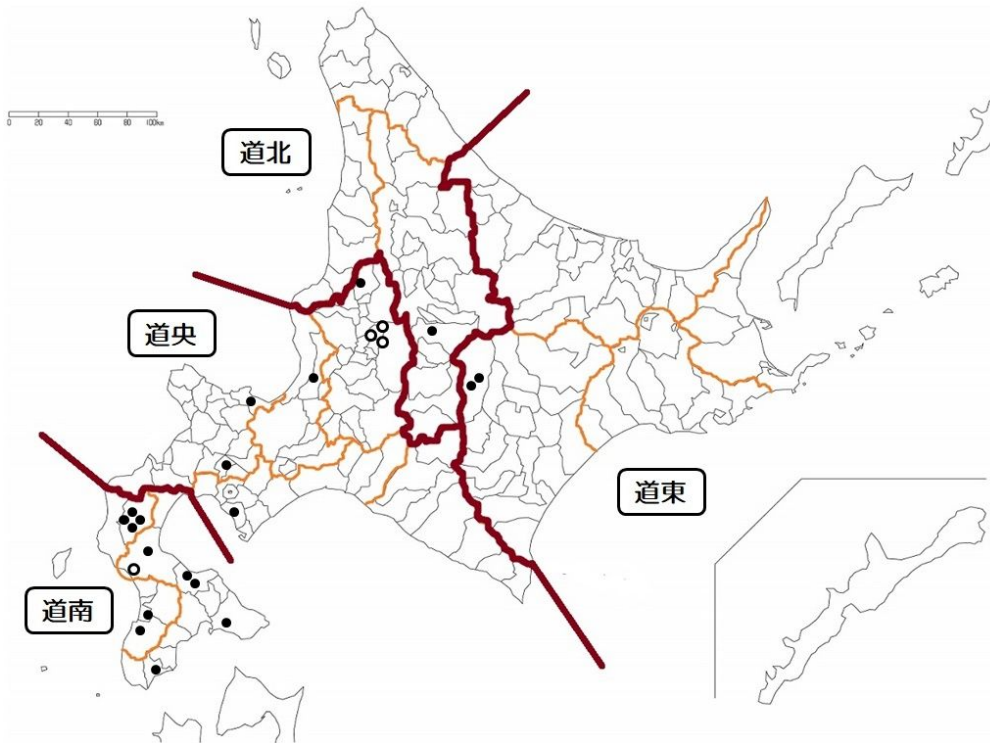


図 2 ヒグマ検体採取地の地理的分布、黒丸は本調査におけるヒグマの捕獲地点、白丸は Kanai ら (2007) によって旋毛虫陽性のヒグマが捕獲された 4 地点

表 1 検査したヒグマ舌の個体属性

地域	捕獲地		個体番号	捕獲日	性別	推定年齢	検査結果
	振興局名	市町村名					
道北	上川	美瑛町	19119	2019/7/8	メス	3	陰性
道東	十勝	新得町	19364	2019/10/17	不明	2	陰性
	十勝	新得町	19387	2019/11/12	オス	2	陰性
道央	空知	沼田町	19376	2019/10/21	メス	1	陰性
	石狩	当別町	19007	2019/4/17	オス	4~5	陰性
	後志	真狩村	19219	2019/8/21	オス	3	陰性
	後志	小樽市	19390	2019/10/16	メス	4	陰性
	胆振	伊達市	19374	2019/10/29	オス	8	陰性
	檜山	今金町	19202	2019/8/19	メス	4	陰性
道南	檜山	今金町	19203	2019/8/19	メス	0	陰性
	檜山	今金町	19221	2019/8/22	メス	4	陰性
	檜山	今金町	19239	2019/8/29	オス	2	陰性
	檜山	上ノ国町	19361	2019/10/24	メス	4	陰性
	檜山	江差町	19371	2019/10/31	オス	1	陰性
	渡島	八雲町	19083	2019/6/29	オス	0	陰性
	渡島	福島町	19268	2019/9/3	メス	0	陰性
	渡島	森町	19352	2019/10/16	メス	10	陰性
	渡島	函館市	19375	2019/11/2	メス	10	陰性
渡島	森町	19389	2019/11/14	オス	15	陰性	

表2 従来法とキット法の比較

消化方法		筋肉1gあたりの平均虫体数 (LPG)				平均 ± 標準偏差
		検体1	検体2	検体3	検体4	
群1 従来法	ペプシン塩酸液 1% Pepsin, 1% HCl 消化条件: 37 , 60分	193	189	158	128	167 ± 26.0
群2 キット法	市販の旋毛虫検査キット PrioCHECK Trichinella AAD 消化条件: 60 , 20分	168	172	102	140	146 ± 27.7