

厚生労働科学研究費補助金  
食品の安全性確保推進研究事業

野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理のための研究

平成 30 年度 総括研究報告書

研究代表者 高 井 伸 二  
北里大学獣医学部

平成 31 ( 2019 ) 年 3 月

## 目 次

### I . 総括研究報告

野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理のための研究 「研究の総括」	高井 伸二
-----	1

### II . 分担者・協力者の研究報告

1 . 野生鳥獣が保有する病原体（ウイルスを中心として）の汚染状況に関する研究	前田 健
-----	17

2 . 野生鳥獣が保有する病原体（細菌）の汚染状況に関する研究	安藤 匡子
-----	47

3 . 野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究	岡林 佐知
-----	53

4 . 野生鳥獣が保有する病原体（寄生虫）の汚染状況に関する研究 「サルコシスティスとの鑑別が必要なヘパトゾーン属原虫の研究」 「わが国に分布する旋毛虫 <i>Trichinella</i> T9 の殺滅に有効な加熱条件の予備的検討」 「北海道で発生したクマ肉喫食が原因の旋毛虫食中毒に関する寄生虫学的研究」	杉山 広
-----	61

5 . 処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止に関する研究	壁谷 英則
-----	73

6 . 食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究 「猪解体・加工調理施設における微生物動態に関する研究」 「野生鳥獣由来食肉の加熱調理条件に関する研究」	朝倉 宏
-----	85

「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理のための研究」

研究代表者 高井 伸二（北里大学獣医学部 学部長）

研究要旨 野生鳥獣が保有する病原体の汚染状況、処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止、食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究を目的として、平成 30 年度は 6 つの研究事業を展開し、以下の成果を得た。

「1. 野生鳥獣が保有する病原体の汚染状況に関する研究（前田 健・安藤匡子・岡林佐知）」では、E 型肝炎ウイルスに対する抗体保有状況および E 型肝炎ウイルス感染状況の調査をイノシシおよびシカにおいて実施した。これまでに 14 県のイノシシ 1809 頭と 13 道県のシカ 1418 頭を調査した。その結果、イノシシにおいては 299 頭（16.5%）が抗体陽性であった。一方、シカにおいては 3 頭（0.2%）が陽性であった。遺伝子検出に関しては、イノシシ 1241 頭中 20 頭（1.6%）、シカ 1118 頭中 1 頭（0.1%）が陽性であった。イノシシにおける抗体陽性率に関しては、性別における違いは認められなかったが、体重が 30 kg 以下の個体は有意に陽性率が低かった。一方、遺伝子検出率は 30 kg 以下の個体が有意に高かった。このことは、30 kg 以下の個体が E 型肝炎ウイルスに感染していること、すなわち、子豚が HEV を保有しているリスクが高いことが示された。また、東北地方のクマ、中国地方のウサギにおける E 型肝炎ウイルスの感染状況を調査した結果、ウサギにおける E 型肝炎ウイルスの感染（60 羽中 20 羽が抗 HEV 抗体陽性）を発見した。ウサギの鼻腔における細菌感染を調査した結果、人獣共通感染症の原因菌と考えられる細菌として *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, *Klebsiella pneumoniae* が分離された。マダニ媒介性感染症で致死率が極めて高い重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスのイノシシとシカにおける感染リスクを調査した結果、7 県のイノシシ 510 頭中 6 県の 26 頭（5.1%）、7 県のシカ 389 頭中 4 県の 27 頭（6.1%）から抗 SFTS ウイルス抗体が検出された。山口県のイノシシとシカを中心に内臓の異常所見・組織検査を実施した。

狩猟される野性シカ、イノシシにはマダニなど吸血性の外部寄生虫が認められ、マダニはヒトに病原性を示すコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌を含む多数の病原体を保有する。そこで、シカ、イノシシにおけるこれら細菌の保有状況を調査した。コクシエラ科およびリケッチア科細菌は検出されなかった。アナプラズマ科細菌は、シカ 12 頭およびイノシシ 6 頭から検出された。検出されたアナプラズマ科細菌遺伝子は、ヒトや家畜の病原アナプラズマに近縁のものがあり、国内では未報告の種もあった。

鹿児島県のヤクシカ 7 例、アナグマ 1 例のホルマリン固定材料を病理組織学的に検索した。ヤクシカでも筋系組織に住肉包子虫のシストを認め、アナグマ 1 例の横隔膜にも住肉包子虫のシストが観察された。肝臓や肺での炎症病変は好酸球浸潤や多核巨細胞を伴っていることが多く、一部では虫体も認めたことから、寄生虫感染による結果と推察された。肝臓や筋肉では解剖時に出血斑や血腫を伴っていたが、いずれも組織学的な炎症性変化を欠き、死戦期の循環障害等による影響と考えられた。

## 「2. 野生鳥獣が保有する病原体（寄生虫）の汚染状況に関する研究（杉山広）」

ニホンイノシシに寄生するヘパトゾーン属原虫に関する調査を実施した。白血球内にガメトサイトを、また筋肉内にメロントを見出し、後者について病理組織標本上におけるサルコシスト（サルコシスティスのシスト）との形態学的相違点を明らかにした。徳島県のイノシシでは181頭中96頭（53%）から原虫遺伝子が検出された。原虫遺伝子が検出された個体は若獣以降（95頭）であり、胎盤感染ではなく、出生後の発育途中に感染したものと示唆された。原虫遺伝子陽性個体（n=5）の白血球寄生率は0.2%であった。ベクターとしてマダニ類が疑われたが、特定には至らなかった。

わが国で発生したクマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因 *Trichinella* T9 を用いて、本虫の高温耐性を予備的に検討した。食中毒の発生防止のために、厚生省が野生鳥獣肉の加熱に求める条件（75 で1分以上）と同等とされる65・15分で旋毛虫幼虫を処理したところ、マウスへの感染性が完全に消失した

北海道において、クマ肉の喫食を契機に発疹や筋肉痛等の症状が発現した集団事例が、2018年5月に発生した（喫食者4名、患者3名）。患者が喫食したクマ肉の一部を検査したところ、旋毛虫の *Trichinella* T9 が検出され、原因が明らかとなった。クマ肉の喫食による旋毛虫による集団食中毒事例は、2016年末にも茨城県で発生しており、発生予防に関する啓発活動を継続的に展開する必要がある。

## 「3. 処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止に関する研究（壁谷英則）」

平成30年度は、わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された猪枝肉の枝肉拭き取り調査を実施した。併せて、検体採取において同時に得られた鹿枝肉についても検討した。さらに、枝肉の衛生状態に影響を与える特徴的な処理工程における要因について検討した。わが国の野生鳥獣肉処理施設7施設で処理された、猪枝肉計36検体、鹿枝肉9検体について、洗浄前、および洗浄後において、それぞれ胸部、および肛門周囲部から拭き取りを実施し、一般細菌数、大腸菌数、大腸菌群数、および黄色ブドウ球菌数を計測した。さらに、各施設で実施している解体処理工程のうち、剥皮と内臓摘出の作業順、剥皮時のと体の配置（のせ台、あるいは懸吊）、ならびに剥皮方法（ウィンチの使用、あるいは手剥ぎ）の違いに着目し、各枝肉の汚染指標細菌数を比較した。その結果、1) 本研究で対象とした野生鳥獣肉処理施設で処理された猪枝肉は、家畜（豚）と比べても同程度の衛生状態であること、2) 「剥皮」と「内臓摘出」の作業順別、あるいは剥皮時に「ウィンチ」を用いる場合と、「手剥ぎ」による場合では、枝肉の衛生状況に大きな差は認められなかったこと、3) 猪を剥皮する際に、「のせ台」を用いた場合には、懸吊する場合に比べ、糞便汚染指標細菌や黄色ブドウ球菌が多く検出される傾向にあったこと、を明らかにした。

「4. 食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究（朝倉 宏）」では、猪肉の加工調理工程における細菌動態を検討するため、施設Aで製造加工される猪肉缶詰製品の原材料及び中間・最終製品を衛生試験に供した。結果として、原料肉の衛生状況は高く、腸内細菌科菌群は12検体中2検体で50 CFU/gが検出されたが、大腸菌（群）は全て陰性であり、一般細菌数は12検体中10検体から50～5100 CFU/gであった。中間・最終製品は、全ての指標菌が不検出であった。一方、近郊の別施設Bで一次加工された猪原料肉12検体を同様の試験に供したところ、4検体から腸内細菌科菌群、7検体から大腸菌群が検出され、猪肉を用いた食品の製造加工にあたっては、適切な原料の選択と確保が重要であること、また缶詰製品の製造加工にあたっては、食品衛生法の製造基準を遵守することで安全性を確保できることが示された。

次に、猪原料肉の衛生確保に向けた活動のうち、猪解体施設の施設環境調査については細菌を指標としたもののみが実施されてきた状況を鑑み、本研究では、真菌の分布調査による各施設の施設環境に関する調査をはじめで行うこととした。施設 A に原料を提供する猪解体処理施設 C では、解体室を汚染区として、一次加工室等と明確な区分化を図っていた。同施設での真菌汚染調査を通じ、解体室床の付着真菌数や隣接するとたい冷蔵庫内の空気浮遊真菌数が高い傾向にあった。一方、一次加工室からは少数が検出されるに留まり、区分化による猪肉の衛生確保がなされていると判断された。猪解体処理施設における真菌分布の普遍性を評価するため、異なる地域の施設 D で同様の調査を行ったところ、施設 D でも解体室床の付着真菌数は他区域に比べて高い傾向が同様に観察されたほか、衛生指標菌検出状況は極めて良好と考えられたが、同施設では高温環境を好む *Cladosporium* 属菌が特に解体室、とたい冷却室、一次加工室等で多く検出されたため、室内の湿度管理が同施設での今後の衛生管理向上に資する課題として抽出された。以上より、猪肉缶詰製造加工施設での衛生管理の向上には、原料肉の適切な選定と確保のほか、食品衛生法の製造基準に従った加圧加熱殺菌工程を行うことで微生物危害を十分に低減し、安全性を確保できることが実証された。また、真菌分布の探知は施設の衛生管理実態の指標として有効であり、本年度の研究対象施設では、施設の区分化及び湿度管理の徹底が、猪肉の腐敗要因ともなりうる真菌の制御を講じる上で重要な対策として挙げられた。熟成肉が嗜好されつつある昨今の状況は、野生鳥獣由来食肉における真菌汚染実態の把握も新たな課題を提唱していると考えられる

野生鳥獣由来食肉の加熱調理にあたっては、近年低温加熱調理が多用される傾向にある。一方で、同加熱条件の妥当性に関する知見は十分に得られていない。本研究では、鹿肉及び猪肉を対象として、スチームコンベクションオーブンをを用いた低温加熱調理による病原微生物汚染低減効果を検討した。芯温測定記録を基に加熱殺菌量を求め、63・30分との同等性を評価したところ、約 80g のブロック肉検体の芯温が 65 ~ 75 となった場合の加熱時間は 65 で 19 分、68 で 12 分、70 で x x 分、75 で 1 分と厚生労働省 Q&A で示される条件とほぼ同等であった。腸管出血性大腸菌 O157:H7 (NIHS208 株, NIHS470 株)、サルモネラ属菌 (*S. Enteritidis* NIHS562, *S. Typhimurium* LT2)、及びコクサッキー B5 ウイルス (CB5 株, ノロウイルスの近縁で同等の耐熱性を有するウイルス) について、添加回収試験を通じた汚染低減効果を検証したところ、2 種の細菌については 106 オーダー以上、ウイルスについては 104 オーダー以上の低減を認め、十分な加熱殺菌効果を有する条件であることが実証された。また、猪肉をフライパンでポワレ調理し中心部を 75 で 1 分間加熱した際にも同等以上の加熱殺菌効果が得られ、その適切性が示された。以上の成績は、微生物危害低減をはかるための加熱調理条件例として、今後調理施設で各自が検証により条件を設定する際に活用されることが期待される。

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  
岡林 佐知 新薬リサーチセンター（株）  
壁谷 英則 日本大学  
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  
Milagros Virhuez Mendoza 山口大学共同獣医学部獣医微生物学教室  
松田一哉 酪農学園大学 獣医学群獣医学類 獣医病理学ユニット  
河副 基彦 岡山県美作市経済部森林政策課）  
長尾 義之 鳥取県生活環境部くらしの安心局くらしの安心推進課  
門木 淳子 鳥取県中部総合事務所 生活環境局生活安全課  
蔵原 正秀 大分県農林水産部森との共生推進室  
伊藤 絵里子 大分県農林水産部森との共生推進室）  
森田 聡志 日本大学生物資源科学部  
加藤 愛理 日本大学生物資源科学部  
山原 絹子 日本大学生物資源科学部  
川瀬 遵 島根県食肉衛生検査所  
森嶋 康之 国立感染症研究所寄生動物部  
常盤 俊大 日本獣医生命科学大学獣医学部獣医寄生虫学研究室  
品川 邦汎 岩手大学農学部  
山本 詩織 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  
伊澤 和輝 東京工業大学大学院  
八木 欣平 北海道立衛生研究所  
池田 徹也 北海道立衛生研究所  
入江 隆夫 北海道立衛生研究所

## A．研究の目的

近年、ニホンジカやイノシシなど野生動物の生息数が急速に増加したことから、自然生態系・農林水産業・生活環境への被害が深刻となっている。一方で捕獲鳥獣のジビエ利用は大きな可能性を秘めており、外食や小売等を始め利活用が拡大している。野生鳥獣肉の衛生管理は食品衛生法に基づき、条例に則した自治体の「ジビエ衛生管理ガイドライン・衛生マニュアル」によって指導されてきたが、国は野生鳥獣肉に関する一定の衛生管理レベルの確保を目的に、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示した。しかし、捕獲（供給現場）から処理・加工・調理・需要（消費）の各段階において、科学的根拠に基づいた捕獲者・処理者・消費者の安全性（人獣共通感染症のリスク）とジビエの食としての衛生管理技術に関する情報・知見の蓄積は十分ではない。適切な処理技術を有する狩猟者・処理施設従事者・事業者の養成、流通・消費段階における食肉としてのジビエの基礎知識の普及などが喫緊の課題である。

本研究では、1)野生鳥獣が保有する病原体の汚染状況に関する研究、2)処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止に関する研究、3)食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究を、それぞれ細菌・ウイルス・寄生虫感染症と病理学の専門家、公衆衛生学の専門家、食中毒の専門家から構成される3つの研究班が、全国の協力研究者の支援を得て、3年の研究期間に、1)全国で捕獲されたイノシシとシカにおける病原体汚染状況調査、2)狩猟・捕獲・解体の際に発生する様々な人獣共通感染症の病原体（細菌・ウイルス・寄生虫）ならびに抗体保有状況の調査、3)異なる処理方法を実施する施設で処理された枝肉の衛生状態の調査、4)食品製造や調理段階における衛生管理実態の把握並びに危害工程の抽出と多彩な加熱調理法に伴う微生物消長の定量的検証を行う。その成果として、1)全国規模の病原体保有状況の把握、2)狩猟者、解体処理者のバイオセ

キュリティ、3)カラーアトラスの充実、4)処理施設の衛生管理指針の充実、5)ジビエ肉の加工調理ガイドライン等の提供が可能となる。

## B．研究方法

平成30年度の研究方法の概要は以下の通りである。

1)30-32年度は過去6年間の情報収集を補完する形で全国調査を展開する。特に野生動物の死因に関する情報は少なく、診断ネットワークを構築した。さらに、野ウサギ、アナグマ、クマ、野鳥等、食用の可能性が高い動物における感染症調査も開始した。平成30年度は、血清試料として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回収した。その血清サンプルから抗HEV抗体とHEV遺伝子並びに抗SFTSウイルス抗体検出を行った。さらに、ウサギの鼻腔スワブから細菌分離し、同定した。同時に、野生獣における異常所見の収集し、その一部は、酪農学園大学において病理組織所見を観察した（前田）。

2)狩猟者および鳥獣肉を取扱者の感染症対策として、野生鳥獣の血液および寄生マダニ中のヒト病原性リケッチア・コクシエラの保有状況・遺伝子検出および抗体検出を実施した（安藤）。

3)野生獣における異常所見の収集として、鹿児島県で捕獲されるシカ、アナグマに関して、解体の際に異常所見が認められた場合、写真撮影を行い、病理検索を実施した（岡林）。

4)野生鳥獣が保有する寄生虫（旋毛虫や住肉胞子虫）の汚染状況について、特に、イノシシとクマにおける感染状況を調査した。わが国に分布する旋毛虫について実験室内継代している *Trichinella* T9 を用いて、殺滅に有効な加熱条件の予備的検討を実施した。北海道で発生したクマ肉喫食が原因の旋毛虫食中毒に関する寄生虫学的研究を実施した（杉山）。

5)処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止に関する研究として、平成30年度は、これまでに拭き取り検査を実施した検体

数が少ない猪を中心に採材を行い、わが国の野生鳥獣肉処理施設において処理された猪肉や鹿肉の拭き取り検体を用いて、衛生指標細菌（一般細菌、大腸菌、大腸菌群、ならびに黄色ブドウ球菌）数を計測して衛生状態を評価した。さらに、異なる条件で解体処理された枝肉の衛生状態に関わる要因を検討した（壁谷）。

6) 食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究として、平成30年度は猪肉加工施設における衛生管理実態に関する知見の集積を図るとともに、猪解体処理施設等における真菌分布調査を実施した。更に、野生鳥獣肉の加工調理段階における衛生管理の在り方を示す一例として、鹿肉及び猪肉を対象とした場合の、低温加熱調理を通じた微生物汚染挙動について、調理専門家を含めた形で検討を行った（朝倉）。

#### 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

研究は4名の分担研究者と23名の研究協力者並びにそれぞれの所属機関のご厚意によって実施された。

「1.野生鳥獣が保有する病原体（ウイルス）の汚染状況に関する研究（前田 健）」では、1)13県のイノシシにおける抗HEV抗体保有率は1809頭を調査し、299頭の16.5%であった。性別の比較では、有意差はなかった。体重別の比較では、30kg以下で8.9%であるのに対して、30-50kgでは24.0%、50kg以上で

は28.0%と有意に陽性率が高かった。2)イノシシの血清からHEV遺伝子の検出を試みた結果、1241頭中20頭の1.6%からHEV遺伝子が検出された。性別の比較では、オスが2.4%、メスが1.2%と2倍、体重別の比較では30kg以下が3.3%、30-50kgが1.5%、50kg以上が0.5%と体重が増加すると、HEV検出率が有意に減少していた。3)シカにおける抗HEV抗体とHEV遺伝子検出では、シカ1421頭中3頭(0.21%)のシカから抗HEV抗体、1121頭中1頭(0.09%)のシカからHEV遺伝子が検出された。4)東北地方のクマ13頭はすべてが抗HEV抗体陰性であった。中国地方の野生化したウサギの血清60羽中20羽(33%)がHEV抗体陽性で、直腸スワブからの遺伝子検出を試みた結果、58羽中1羽(2%)からHEV遺伝子が検出された。検出された遺伝子の系統解析を実施した結果、中国・フランス・アメリカ・韓国・ドイツのウサギ、並びにフランスのヒトから検出されたHEVと同じクラスターを形成した。国内における初めてのウサギのHEV感染となった。5)前述したウサギ60羽の鼻腔スワブから好気性細菌の分離を試みた結果、1羽に*Bacillus cereus*、13羽から*Staphylococcus aureus*、17羽から*Bordetella bronchiseptica*、9羽から*Pasteurella multocida*、1羽から*Klebsiella pneumoniae*の人獣共通感染症となる細菌が分離された。6)イノシシとシカにおける抗SFTSV抗体の検出を7県のイノシシ、7県のシカで調査した。その結果、イノシシにおいて7県中6県、シカにおいて7県中4県、合計8県中6県において抗HEV抗体の保有が確認された。7)カラーアトラスの充実のために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い、一部は酪農学園大学にて詳細に解析を行った(別添)。

「2.野生鳥獣が保有する病原体（細菌）の汚染状況に関する研究（安藤匡子）」では、コクシエラ科およびリケッチア科細菌は検出され

なかった。アナプラズマ科細菌は、シカ 12 頭 (27.9%)、イノシシ 6 頭(12.5%)、アナグマ 10 頭(28.6%)から遺伝子が検出された。検出した *groEL* 遺伝子の BLAST 検索結果、2 株が病原性が明らかな菌種と高い相同性を示した。イノシシ由来 1 株が *Ehrlichia ruminantium* と 95%、アナグマ由来 1 株が *Anaplasma phagocytophilum* と 96%の相同性であった。病原性は不明であるが、シカ由来 1 株が *Candidatus Ehrlichia shimanensis* と 100%、アナグマ由来株が *Candidatus Ehrlichia khabarensis* と 94%の相同性であった。アナプラズマ科細菌代表株との系統解析(*groEL* 遺伝子、230bp)の結果、7つのクレードに分かれた。国内で検出報告のないクレードに含まれる株、マダニからのみ検出されヒト・動物への感染性が不明なクレードに含まれる株があった。

「3. 野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究(岡林佐知)」では、鹿児島県屋久島(鹿児島県熊毛郡屋久町)のヤクシカ 7 頭、鹿児島県阿久根市のアナグマ 1 頭の計 8 頭の横隔膜・心臓・肺・肝臓・腎臓・脾臓・骨格筋のホルマリン固定材料を病理組織学的に検索した。詳細は別添。

「4. 野生鳥獣が保有する病原体(寄生虫)の汚染状況に関する研究(杉山広)」では、ジビエとして流通するイノシシ肉におけるサルコシステイス属原虫調査の過程で、新規のヘパトゾーン属原虫を認め、偶蹄類寄生種として *Hepatozoon apri* を新種記載した。今回、本種の形態的特徴や生物学的特徴を詳細に知ることがを目的に、研究調査を行った。イノシシ体内での寄生様式についてガメトサイト(ガモント)を白血球、メロント(シゾン)およびメロゾイトを筋肉内に認めた。系統解析からタイのイノシシ寄生カクダニ属由来の未記載種とともに単系統群を形成し、食肉動物よりなるクレード内に位置した。感染状況

はイノシシでは 181 頭中 96 頭(53%)が陽性で、感染率は若獣(推定 6 か月齢未満、1/11 頭、9.1%)と比べ若獣以降(95/170 頭、55.9%)で優位に高かった( $P<0.05$ )。ニホンジカは 113 頭全て陰性であった。マダニ類の調査では、イノシシ 6 頭に由来するマダニ類 1,027 匹を分離・同定し、93 匹を検索したところ、オオトゲチマダニ(雌、飽血)の血体腔からオーシスト様構造物が検出された。当該 DNA を抽出後、特異的 semi nested PCR 法を行ったが、遺伝子増幅は認められなかった。

マウス筋肉内で継代した旋毛虫幼虫をペプシン消化で回収し、加熱処理(65℃、15 分間)と未処理の用いた感染試験も併せて実施し、加熱による感染予防の効果を検証しところ、加熱処理群では虫体は全く検出されなかったが、非加熱処理群(陽性対照群)では旋毛虫幼虫は総てのマウス(4 頭)から検出された。

2018 年 5 月に北海道で狩猟されたヒグマ 1 頭に由来する肉の喫食を原因とした集団事例があり、患者が喫食したクマ肉の保存材料を用いて旋毛虫幼虫の検出を試みたところ、クマの筋肉から虫体が検出され、旋毛虫と判定した。遺伝子配列の解読結果も旋毛虫を裏付け、虫種はその中の *Trichinella* T9 と同定された。

「5. 処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止に関する研究(壁谷英則)」では、2018 年 10 月~2019 年 2 月の間に、わが国の野生鳥獣肉処理施設(猪 6 施設、鹿 4 施設)で処理された、猪枝肉計 36 検体、鹿枝肉 9 検体について、枝肉の洗浄前後において、それぞれ胸部、および肛門周囲部(洗浄前後で左右別に採取)から拭き取りを実施した。対象とした施設における、「剥皮」と「内臓摘出」の作業順、剥皮方法、食道結紮/肛門結紮の有無、皮膚洗浄方法、枝肉洗浄方法について比較した。猪では、6 施設中 5 施設で、「内臓摘出」「剥皮」の順で作業していたが、1 施設は「剥皮」「内臓摘出」の順であった。こ

れに対して、鹿の処理では、それぞれの順番で実施している施設が 2 施設ずつであった。全体として、洗浄前 洗浄後の順に、猪枝肉胸部;同肛門周囲部における一般細菌数の中央値は、 $1.7 \times 10^5$  cfu/cm<sup>2</sup>  $6.8 \times 10^4$  cfu/cm<sup>2</sup>;  $5.1 \times 10^4$  cfu/cm<sup>2</sup>  $7.7 \times 10^4$  cfu/cm<sup>2</sup> であった。大腸菌数、大腸菌群数いずれも検出限界未満 (ud) であった。黄色ブドウ球菌数は、 $2.0 \times 10^{-1}$  cfu/cm<sup>2</sup> ud ;  $3.0 \times 10^{-1}$  cfu/cm<sup>2</sup>  $1.0 \times 10^{-1}$  cfu/cm<sup>2</sup> であった。鹿枝肉では、洗浄前 洗浄後の順に、胸部;同肛門周囲部における一般細菌数の中央値は、 $4.3 \times 10^5$  cfu/cm<sup>2</sup>  $3.6 \times 10^5$  cfu /cm<sup>2</sup>;  $5.7 \times 10^5$  cfu /cm<sup>2</sup>  $1.2 \times 10^6$  cfu /cm<sup>2</sup> であった。大腸菌数、大腸菌群数、黄色ブドウ球菌数いずれも検出限界未満 (ud) であった。詳細は別添。

「6. 食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究(朝倉 宏)」では、1. 猪解体・加工調理施設における微生物動態に関する研究：1. 猪肉缶詰製品の製造加工工程を通じた微生物挙動を調査するために、施設 A で製造加工されるビール煮及びポトフ煮製品を対象として、原料肉、中間製品(加圧加熱殺菌前)、最終製品(加圧加熱殺菌後)中の指標菌及び病原細菌の検出状況を確認した(詳細は別添)。

一方、近隣に所在する別の猪解体処理施設 B にて一次加工された原料肉 12 検体を同様に衛生試験を実施した(詳細は別添)。

## 2. 猪解体処理施設における真菌汚染実態

### (1) 施設 C 及び A

施設 A で使用される原料肉を解体・一次加工して提供する施設 C では、生体受入後に、施設敷地内でとさつすることで、とたいと同時に内臓の異常確認を行う体制としていた。解体室内には、内臓摘出を行う前に一時的に保管するための剥皮前用冷蔵庫と内臓摘出及び剥皮後のとたいを一次加工に進める前に一時的に保管するための剥皮後冷蔵庫がそれぞれ

設置されていた。なお、作業動線や作業衣等の面で、解体室と一次加工室は明確に区分化されていた。採材は表 2 に示す箇所を対象として作業中に実施し、真菌及び衛生試験に供した。

### (2) 施設 D

施設 D は、施設 C とは異なる地域の猪解体処理・加工施設である。当該施設の協力を得て、上述の施設 C と同様に真菌分布調査を行った。なお、当該施設では解体処理工程で剥皮は行わず、湯剥きにより外毛を除去後、内臓摘出及び頭部・脚部を除去したとたいを一次加工室で脱骨・成型していた(詳細は別添)。

### (3) 施設 C, A, D における衛生試験成績

真菌分布調査対象としたふき取り懸濁液を用いて、衛生指標菌の検出状況を確認した(詳細は別添)。

「7. 野生鳥獣由来食肉の加熱調理条件に関する研究(朝倉 宏)」では、1. 加熱調理を通じた検体芯温挙動を、63 30 分間加熱により得られる加熱殺菌価 L は 30.0 と試算され、これを指標として、鹿ロース肉、猪ロース肉、猪外モモ肉の加熱調理を通じた加熱殺菌価を求めた(詳細は別添)。

2. 添加回収試験による各加熱調理条件の検証では、各加熱調理を通じた微生物汚染低減効果を評価するため、腸管出血性大腸菌 O157、サルモネラ属菌、及びコクサッキーウイルス B 型 5 群混合懸濁液を検体中心部に接種し、項 1-1)~3)に示す加熱調理を通じた微生物挙動を定量的に求めた。併せて、自然汚染を顕す一般細菌数及び腸内細菌科菌群数についても同時に求めた(詳細は別添)。

## D. 考察

「1. 野生鳥獣が保有する病原体(ウイルス)の汚染状況に関する研究(前田 健)」では、イノシシの HEV 感染は日本全国で認められ、特に関東の 2 県が特に陽性率が高く、西日本は全域にわたり HEV の感染率は中程度であ

った。イノシシの 60 頭に 1 頭は捕獲時にウイルスを保有しており、30 kg 以下の子イノシシがウイルスに感染している状況が明らかとなった。一方、シカは陽性率が低い。

今回、野生化したウサギにおける HEV 感染が国内初報告となった。西日本の野生化したウサギの鼻腔から多くの人獣共通感染症を引き起こす細菌が分離された。SFTS 抗体保有状況は、西日本と同様に患者の発生していない関東でも陽性率が高く、中部地方でも SFTS ウイルス陽性動物がいることが明らかとなった。

「2. 野生鳥獣が保有する病原体（細菌）の汚染状況に関する研究（安藤匡子）」では、シカ 12 頭（27.9%）、イノシシ 6 頭（12.5%）、アナグマ 10 頭（28.6%）から遺伝子が検出されたが、*A. phagocytophylum* と最も高い相同性であった株から得られた遺伝子配列は短かく（230bp）、アナプラズマ科細菌は、菌種間の相同性が高いことが知られていることから、今回の株を *A. phagocytophylum* と判断するにはさらなる検証が必要である。日本国内では未検出のアナプラズマ科細菌が検出され、多様なアナプラズマ科細菌が潜在することが示され、マダニからのみ検出されていたアナプラズマ科細菌が動物からの検出が明らかとなり、それらは哺乳動物への感染性を持つことが示唆された。

「3. 野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究（岡林佐知）」では、ヤクシカ 7 頭、アナグマ 1 頭の筋肉・臓器について病理検索を行った結果、ヤクシカ 7 頭中 5 頭とアナグマの筋肉に住肉胞子虫のシストが観察され、これまでに報告したニホンジカやアナグマでの成績と同様に汚染されていることが明らかとなった。また、臓器や筋肉での出血斑については、狩猟時や死戦期に生じること多いため、感染症での出血傾向との鑑別について今後検討していく必要がある。

「4. 野生鳥獣が保有する病原体（寄生虫）の汚染状況に関する研究（杉山 広）」では、

*Hepatozoon apri* は、徳島県のイノシシに広く感染しており、他の地域においても、イノシシにおいて高い感染率を持つ可能性がある。分子系統解析の結果から、本種はイノシシ固有種である可能性が示唆された。最も近縁なタイのイノシシ由来虫体との間で、遺伝子配列において若干の変異が見られた。このことから、食肉動物寄生の種を起源とし、イノシシの祖先動物に寄生した種が、わが国で独自に分化を遂げたのかもしれない。

旋毛虫の実験室継代株 *Trichinella* T9 を用いて、本虫の高温耐性を検討した。調理の現場で好まれる「長時間だがより低い温度」の条件である 65、15 分を選び、その加熱条件が殺滅に有効か否か、予備的に検討した。その結果、65、15 分の加熱で旋毛虫は感染性を完全に消失し、試験マウスからの虫体回収は全く認められなかった。今後は厚労省が示した上述の各温度条件と処理時間で、旋毛虫の感染性が確実に死滅するのか、検討を加えたいと考えている。

2018 年 5 月に北海道で狩猟されたヒグマ 1 頭に由来する肉の喫食を原因とした集団事例があり、そのクマ肉を用いて検討した結果、本事例は、2016 年 12 月に茨城県で発生したクマ肉の喫食による集団食中毒事例と同じく、原因が旋毛虫であると明らかになり、虫種はその中の *Trichinella* T9 であった。

「5. 処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止に関する研究（壁谷英則）」では、本年度は、処理方法の異なる処理施設を対象に、特に猪枝肉の衛生状況について、各種衛生指標細菌を用いて検討したところ、対象とした野生鳥獣肉処理施設では、おおむね家畜（豚）と比べても衛生的な処理が行われていると考えられたが、一部、高度に汚染している枝肉も散見されることが明らかとなった。本研究において、特に、高度に汚染が認められた場合には、「野生鳥獣肉の衛生管理に関するガイドライン」（ガイドライン）に従った処理の徹底等のアドバイスを行ったところ、多くの施設では、以降の衛生指標細菌数の値が低減されたことが認められたことから、野生

鳥獣肉処理施設の現場における衛生指導は、重要であることが確認された。なお、当該施設にいて処理された猪枝肉の一部からは、大腸菌群、大腸菌、および黄色ブドウ球菌が検出される検体もあったことから、それぞれ糞便汚染、および手指等からの汚染が考えられる。糞便汚染、および手指等からの汚染を防ぐための手段について、作業員に対して指導する必要がある。

本研究では、特に、剥皮と内臓摘出の作業順、剥皮時のと体の配置（のせ台、あるいは懸吊）ならびに剥皮方法（ウィンチの使用、あるいは手剥ぎ）の違いに着目し、特に猪枝肉の汚染指標細菌数を比較したところ、中央値による比較において、大きな違いは認められなかった。

本研究で対象とした施設では、作業順として、「内臓摘出 剥皮」の施設は、全て剥皮を「手剥ぎ」によって実施しており、黄色ブドウ球菌数において、施設 A-E において、有意に高値を示したことから、手剥ぎによって手指からの黄色ブドウ球菌の汚染が生じた可能性が考えられた。

剥皮時のと体の配置（のせ台、あるいは懸吊）別の比較において、のせ台を用いて剥皮を行った施設で処理された枝肉は、と体を懸吊して剥皮した枝肉に比べ、特に糞便汚染指標細菌（大腸菌、大腸菌群）数、ならびに黄色ブドウ球菌数が多く検出される傾向であった。のせ台を使用して剥皮する場合には、特に糞便汚染をしないように努めるよう、指導する必要があると考えられた。

「6. 食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究（朝倉 宏）」では、猪肉製造加工施設で用いられる原料肉を対象とした、衛生試験並びに菌叢解析を通じた検討を通じ、猪原料肉の微生物学的品質は、解体・一次加工処理工程を通じた衛生管理の差異によるものと目され、原料肉の衛生状況を見極めた上で、適正な原料肉を確保することが、猪肉加工食品の安全性を確保する上で重要な管理項目であることが示された。また、施設

A で製造される猪肉缶詰製品の製造加工にあたっては、封缶後に 120 30 分間の加圧加熱殺菌を施していた。缶詰製品等の容器包装詰加圧加熱殺菌食品に対して、食品衛生法では、中心部が 120 4 分以上の加熱を製造基準として設定しているが、今回調査対象とした施設 A ではより厳しい加熱殺菌条件を設定し、発育しうる微生物が陰性となるよう対策を講じていた。

原料肉の衛生管理を行う上では、と体由来の病原微生物の制御に加え、施設環境の衛生状況の確保も重要な項目と考えられる。これを評価する一つの指標として本研究では、真菌汚染分布に関する検討を行った。検討を通じ、2 対象施設では酵母が多く認められた。酵母は物性として空気中に浮遊するよりも壁や床等に付着する性質が強いことから、猪解体処理施設等での衛生状況確認を目的とした真菌調査には、ふき取り法が空気浮遊法よりも適していると考えられた。

各施設のサンプルから検出された主な真菌の種類は、食肉から検出されることが多いとされる *Mucor* 属菌、*Geotrichum* 属菌、*Penicillium* 属菌など、および野生動物を含む動物由来であり皮膚感染性がある *Trichosporon* 属菌が検出された一方、表中のその他の属の菌は、土壌や空中など環境から普遍的に検出される種類であったことから、各施設室内の真菌叢は、屠体および外環境の影響を大きく受けていることが確認された。

「7. 野生鳥獣由来食肉の加熱調理条件に関する研究（朝倉 宏）」では、加熱処理工程における殺菌効果を比較評価するための指標の一つとして、検体芯温推移に基づく殺菌加熱量の考え方を採用し、野生鳥獣由来食肉の代表的な加熱調理法を実施した際の同値を求めることで、63 30 分加熱と同等以上の加熱殺菌量が、厚生労働省が Q&A として提示する、65 15 分、68 5 分、75 1 分が妥当であることを検証した。加熱殺菌の妥当性評価には他の推定手法も存在するため、今回求めた温度推移データを用いた評価も継続して実施す

る必要があると思われる。

本研究で対象とした検体はあくまでも例示であり、野生鳥獣由来食肉のフードチェーン実態を踏まえると、例えば真空包装された当該食肉を直接加熱調理に供した際の微生物挙動に関する知見等は今後検討が必要な事項と考えられる。また、現在は家庭用調理器具としても、低温加熱調理法は広がりを見せているため、より幅広い調理手法を視野に入れた適切な調理法についても今後検討を進めることは、野生鳥獣由来食肉の加工調理段階における安全性確保の推進に寄与すると思われる。

本研究で示した殺菌加熱量に基づく加熱調理条件の妥当性推定法は今後、野生鳥獣由来食肉を取り扱う加工調理施設等において加熱調理条件を設定する際の有効な補助的ツールとなるものと期待される。一方で、使用する調理器具・機器の性質や検体の種別・大きさ、更には温度測定機器の精度・管理等によっても差異が生じる可能性があることに十分な留意が必要であることも併せて周知することが必要であろう。

## E．結論

1．E型肝炎ウイルスは国内のイノシシに感染しているが、特に、関東近辺では抗体陽性率が高く、30kg以下の子イノシシが高い抗体陽性率であることが再確認された。SFTSウイルス抗体陽性のイノシシやシカは西日本だけでなく、患者の発生していない中部地方や関東地方にも存在し、特に、関東A地域ではリスクが高く、狩猟者はHEVやSFTSウイルスだけでなく、多くの狩猟動物が人獣共通感染症を引き起こす病原体を保有していることから解体時は手袋の着用は必須である。

2．シカ、イノシシ、アナグマがアナプラズマ科細菌を保有することが示され、ヒトに病原性がある*A. phagocytophylum*に近縁の株がアナグマから検出された。ヒトがマダニ媒介感染症の起因細菌にベクターを介さずに感染するか不明であるが、野生動物が病原体を保有することが明らかになったことから取り扱い際には注意が必要である。

3．屋久島でのヤクシカの病原体汚染について調査を行った。ニホンジカと同様に住肉包子虫の感染が確認されたが、検体数としてはまだ少ないため、継続調査が必要である。

4．*Hepatozoon apri* は本邦の多くのイノシシに感染している可能性がある。可食部の筋肉にも寄生することから、簡易的なメロントおよびメロゾイトの検出法や、サルコシステイスとの正確な鑑別法の確立が急務である。

クマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因*Trichinella* T9実験室継代株を用いて、本虫の高温耐性を検討ところ、厚労省が野生鳥獣肉の加熱に求める75℃で1分以上と同等とされる65℃・15分で旋毛虫幼虫はマウスへの感染性が完全に消失した。

2018年5月に北海道で発生したクマ肉喫食による集団食中毒事例について、患者が喫食した肉の一部を検査し、原因を旋毛虫*Trichinella spiralis*の近縁種*Trichinella* T9であると明らかにした。

5．対象とした野生鳥獣肉処理施設で処理された猪枝肉は、家畜（豚）と比べても同程度の衛生状態であった。一方で高度に汚染された枝肉も散見された。「剥皮」と「内臓摘出」の作業順別、あるいは剥皮時に「ウインチ」を用いる場合と、「手剥ぎ」による場合では、枝肉の衛生状況に大きな差は認められなかった。猪を剥皮する際に、「のせ台」を用いた場合には、懸吊する場合に比べ、糞便汚染指標細菌や黄色ブドウ球菌が多く検出される傾向にあった。

6．猪肉缶詰製品の製造加工工程を通じた微生物動態を検証し、衛生的な原料肉を確保する重要性と、十分な加熱殺菌工程を経ることで、安全性を確保しうることを示した。また、原料肉を製造する猪解体処理施設での衛生試験並びに真菌汚染調査を通じ、猪生体に由来する真菌の汚染が解体室等で生じやすい一方、区分化を図ることで一次加工室の真菌汚染を

制御しうることを実証した。また、高湿環境により真菌の異常増殖を示した可能性を探知し、その制御に向けた対応として湿度管理が有効である可能性を提示した。

通じた検証を行い、具体的な条件を例示した。本研究の成績は関連事業者が衛生確保に向けた取り組みを行う上での参考知見として活用されることが期待される。

野生鳥獣由来食肉の適切な加熱調理条件の例示を目的として、加熱調理条件の妥当性推定法を示すと共に、添加回収試験を通じた検証を行い、具体的な条件を例示した。本研究の成績は、HACCP 手引書等を作成する上での関連事業者の参考知見として活用されることが期待される。

F , 健康危険情報  
「なし」

#### G . 研究発表

1. Shimoda H, Hayasaka D, Yoshii K, Yokoyama M, Suzuki K, Kodera Y, Takeda T, Mizuno J, Noguchi K, Yonemitsu K, Minami S, Kuwata R, Takano A, Maeda K. Detection of a novel tick-borne flavivirus and its serological surveillance. *Ticks Tick Borne Dis.* (In press) <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.006>
2. Yonemitsu K, Minami S, Noguchi K, Kuwata R, Shimoda H, Maeda K\*. Detection of anti-viral antibodies from meat juice of wild boars. *J. Vet. Sci.* 2019 Jan 25;81(1):155-159. doi: 10.1292/jvms. 18-0576.
3. Kuwata R, Shimoda H, Phichitraslip T, Prasertsincharoen N, Noguchi K, Yonemitsu K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Takano A, Suzuki K, Nemoto M, Bannai H, Yokoyama M, Takeda T, Jittapalapong S, Rerkamnuaychoke W, Maeda K\* Getah virus epizootic among wild boars in Japan around 2012. *Archives of Virology.* 2018 Oct;163(10):2817-2821. doi: 10.1007/s00705-018-3897-4.
4. Kamimura K, Yonemitsu K, Maeda K, Sakaguchi S, Setsuda A, Varcasia A, Sato H. An unexpected case of a Japanese wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) infected with the giant thorny-headed worm (*Macracanthorhynchus hirudinaceus*) on the mainland of Japan (Honshu). *Parasitol Research.* 2018. 117(7):2315-2322.
5. Matsuno K, Nonoue N, Noda A, Kasajima N, Noguchi K, Takano A, Shimoda H, Orba Y, Muramatsu M, Sakoda Y, Takada A, Minami S, Une Y, Morikawa S, Maeda K. Fatal cases of endemic tick-borne phlebovirus infection in captive cheetahs 3 (*Acinonyx jubatus*). *Emer. Infect. Dis.* 2018. 24(9) 1726-1729.
6. Kobayashi T, Murakami S, Yamamoto T, Mineshita K, Sakuyama M, Sasaki R, Maeda K, Horimoto T. Detection of bat hepatitis E virus RNA in microbats in Japan. *Virus Genes.* 2018. 54(4):599-602.
7. 前田 健「動物由来ウイルス感染症としての SFTS」2019 . グローバル時代のウイルス感染症 (西條政幸編集)(日本医事新報社) 2019/1/25 p123-128
8. 森川 茂、前田 健「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)」2018.日本獣医師会誌 71:474-477
9. 前田 健「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)」獣疫学雑誌 2018 第 22 巻第 1 号 51-52
10. 高野 愛、前田 健「動物における重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスの検出とマダニ対策について」日本鹿研究 2018 9号 31-34

11. 前田 健「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ~ 感染経路はマダニからだけではない~」*Infection Front* 2018. 43:7-10
12. 高野 愛、前田 健「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) について」*獣医公衆衛生研究 VOL20-2* 33-38
13. 前田 健「獣医師が知らなければいけない重症熱性血小板減少症候群」*NJK* 2018. Vol.199 : 15-20
14. 前田 健「SFTS ウイルスに関する最近の知見」*獣医アトピー・アレルギー・免疫学雑誌* 2018 . Mar 7(2): 4-9.
15. Sato H, Murai H, Ishida S, Fujita H, Andoh M, Ando S. Three human cases of tick bite associated with spotted fever group *Rickettsia* in Akita Prefecture, the northern part of Honshu, Japan. *Med Entomol Zool.* 69(2):49-54. 2018.
16. Yada Y, Talactac RM, Kusakisako K, Hernandez PE, Galay LR, Andoh M, Fujisaki K, Tanaka T. *Hemolymph defensin* from the hard tick *Haemaphysalis longicornis* attacks Gram-positive bacteria. *J Invertebrate Pathology.* 156:14-18. 2018
17. Kubota R, Matsubara K, Tamukai K, Ike K, Tokiwa T. Molecular and histopathological features of *Cryptosporidium ubiquitum* infection in imported chinchillas in Japan. *Parasitol. International.* 2019. 68: 9-13.
18. Tokiwa T, Ohnuki A, Kubota R, Tamukai K, Ike K. Morphological and molecular characterization of *Cystoisospora* from Asian small-clawed otters. *International Journal for Parasitology PAW.* 2018. 7: 268-273.
19. Ito A, Eckardt W, Stoinski TS, Gillespie TR, Tokiwa T. Three new *Troglodytella* and a new *Goriloflasca ciliates* from mountain gorillas in Rwanda. *European Journal of Protistology.* 2018. 65: 42-56.
20. Taira K, Nakamura S, Tokiwa T, Une Y. Larva migrans of *Baylisascaris potosis* in experimental animals. *Journal of Parasitology.* 2018. 104: 424-428.
21. Ito A, Tokiwa T. Infraciliature of *Opisthotrichum janus*, *Epidinium ecaudatum*, and *Ophryoscolex purkynjei*. *European Journal of Protistology.* 2018. 62: 1-10.
22. Tokiwa T, Kobayashi T, Ike K, Morishima Y, Sugiyama H. Detection of anisakid larvae in marinated mackerel sushi in Tokyo, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases.* 2018. 71: 88-89.
23. 猪又明日香、村越稔泰、齊藤健、上杉晶、大関桂子、阿部久司、町田章生、村中幹宏、常盤俊大、井上智. 新潟県における動物由来感染症サーベイランス体制の整備に向けた取り組み. *獣医畜産新報.* 2018. 71: 270-272.
24. 井上智、常盤俊大、森嶋康之. 動物由来感染症 (知っておきたい感染動物等への侵淫と医療と協働した健康危害防止). 2018. 2061: 17-21.
25. Yamazaki A, Honda M, Kobayashi N, Ishizaki N, Asakura H, Sugita-Konishi Y. The sensitivity of commercial kits in detecting the genes of pathogenic bacteria in venison. *J Vet Med Sci.* 2018. 80(4):706-709.
26. Honda M, Sawaya M, Taira K, Yamazaki A, Kamata Y, Shimizu H, Kobayashi N, Sakata R, Asakura H, Sugita-Konishi Y. Effects of temperature, pH and curing on the viability of *Sarcocystis*, a Japanese sika deer (*Cervus Nippon centralis*) parasite, and the inactivation of their diarrheal toxin. *J Vet Med Sci.* 2018. 80(8): 1337-1344.

## 2. 学会発表

1) Milagros Virhuez Mendoza, Ryusei Kuwata, Keita Noguchi, Kenzo Yonemitsu, Shohei Minami, Supriyono, Ngo Thuy Bao Tran, Yudai Kuroda, Tatemoto Kango, Hiroshi Shimoda, Ken Maeda. SEROSURVEILLANCE OF HEPATITIS E VIRUS INFECTION AMONG ANIMALS. THE 3RD INTERNATIONAL SYMPOSIUM IN VETERINARY SCIENCE. (AIRLANGGA UNIVERSITY, SURABAYA, INDONESIA) 2019/2/8

2) 坂井祐介、桑原祐子、鍵本沙也、立本完吾、野口慧多、米満研三、南 昌平、鎌田龍星、下田 宙、櫻井 優、前田 健、森本将弘「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)発症ネコ 6 例の剖検例の病理組織学的検索」獣医病理学専門家協会学術集会 2019 年 3 月 28・29 日ルミエール府中コンベンションホール飛鳥 (東京、府中)

3) Kango Tatemoto, Keita Noguchi, Shohei Minami, Kenzo Yonemitsu, Supriyono, Tran Thuy Bao Ngo, Junko Mizuno, Ryusei Kuwata, Ai Takano, Hiroshi Shimoda, Masami Suenaga, Kazuo Suzuki, Shigeru Morikawa, Ken Maeda. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) infection among wild animals in Japan (2018). The 66th Annual Meeting of the JSV. (Kyoto) 2018/10/28-30

4) Keita Noguchi, Kango Tatemoto, Shohei Minami, Kenzo Yonemitsu, Supriyono, Tran Thuy Bao Ngo, Junko Mizuno, Ryusei Kuwata, Ai Takano, Hiroshi Shimoda, Takehisa Soma, Shigeru Morikawa, Ken Maeda. Occurrence situations of SFTS among cats and dogs in Japan (2017) The 66th Annual Meeting of the JSV. (Kyoto) 2018/10/28-30

5) 立本完吾、野口慧多、南 昌平、米満研三、Supriyono、Ngo Thuy Bao Tran、水野純子、鎌田龍星、高野 愛、下田 宙、末永昌美、鈴木和男、森川 茂、前田 健「野生動物

物における重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス感染状況 2018」第 161 回日本獣医学会学術集会 2018.9.11-13 つくば国際会議場 (茨城県)

7) 米満研三、Virhuez Milagros、李 天成、黒田雄大、立本完吾、Supriyono Supriyono、南 昌平、鎌田龍星、高野 愛、下田 宙、Phichitraslip Thanmaporn、Rerkamnuaychoke Worawut、鈴木和男、前田 健「野生動物、伴侶動物、産業動物における E 型肝炎ウイルス感染状況調査」第 161 回日本獣医学会学術集会 2018.9.11-13 つくば国際会議場 (茨城県)

8) 野口慧多、立本完吾、南 昌平、米満研三、Supriyono、Ngo Thuy Bao Tran、水野純子、鎌田龍星、高野 愛、下田 宙、相馬武久、森川 茂、前田 健「伴侶動物における重症熱性血小板減少症候群 (2017)」第 161 回日本獣医学会学術集会 2018.9.11-13 つくば国際会議場 (茨城県)

9) 小川寛人、平山晴子、田中爽暉、矢田範夫、難波ひかる、山下信子、米満研三、前田健、樫木勝巳、山田雅夫「養豚農場から大学動物実験施設に搬入される家畜ブタの E 型肝炎ウイルス感染状況について」第 161 回日本獣医学会学術集会 2018.9.11-13 つくば国際会議場 (茨城県)

10) 野口慧多、立本完吾、南 昌平、米満研三、Supriyono、Ngo Thi Bao Tran、水野純子、鎌田龍星、高野 愛、下田 宙、森川 茂、前田 健「国内の伴侶動物における重症熱性血小板減少症候群の発生状況」第 33 回中国四国ウイルス研究会(岡山大学) 2018/6/23 - 24

11) 立本完吾、野口慧多、南 昌平、米満研三、Supriyono、Ngo Thi Bao Tran、水野純子、鎌田龍星、高野 愛、下田 宙、末永昌美、鈴木和男、森川 茂、前田 健「野生動物における重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス感染状況 2018」第 33 回中国四国ウイルス研究会(岡山大学) 2018/6/23 - 24

12) 下田 宙、水野純子、南 昌平、青木 栞、鎌田龍星、高野 愛、松野啓太、海老原秀樹、前田 健「国内におけるマダニ媒介性フレボ

ウイルスの網羅的調査」第 70 回 日本衛生動物学会大会(帯広大学)2018/05/12

13) 中村昂紀、安藤匡子「野生動物からのコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の遺伝子検出」第 25 回リケッチア研究会(東京:国立感染症研),2018 年 12 月 14 日.

14) 池田 智行、中村 昂紀、安藤 匡子「*Candidatus Neoehrlichia mikurensis* 分離の試み」第 25 回リケッチア研究会(東京:国立感染症研究所),2018 年 12 月 14 日.

15) 田中温奈,池田 碧,佐藤真伍,丸山総一,朝倉 宏,杉山 広,高井伸二,壁谷英則. わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の衛生評価. 第 161 回日本獣医学会学術集会(茨城県,2018 年 9 月 11 - 13 日)

16) 内海優子,藤本 翼,佐藤真伍,丸山総一,奈良崎孝一郎,奈良崎和孝,鶴田 忠,横山栄二,朝倉 宏,杉山 広,高井伸二,壁谷英則. わが国の鹿・猪における志賀毒素産生大腸菌の保菌状況および O157 分離株の全ゲノム解析. 第 161 回日本獣医学会学術集会(茨城県,2018 年 9 月 11 - 13 日)

17) 井口純,壁谷英則,ほか 野生シカとヒトから分離される腸管出血性大腸菌 O146 の関係 第 39 回日本食品微生物学会(大阪市立大学杉本キャンパス 2018 年 9 月 27-28 日)

18) 森田聡志,内海優子,藤本 翼,佐藤真伍,丸山総一,奈良崎孝一郎,奈良崎和孝,鶴田忠,高井伸二,壁谷英則. わが国の鹿・猪における志賀毒素産生大腸菌 O157 の保菌状況と分離株の全ゲノム解析.平成 30 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会(神奈川県,2019 年 2 月 8 - 10 日)

19) 常盤俊大,山本瑞希,飛梅三喜,赤松茂,松尾加代子,森部絢嗣,池和憲.ニホンイノシシに寄生する住血原虫の 1 新種 *Hepatozoon apri*(*Apicomplexa: Adeleorina*). 第 87 回 日本寄生虫学会.2018 年.

20) 山本詩織、関 享子、朝倉 宏:低温加熱調理を通じた鶏肉における微生物汚染低減効果及び検体中心温度推移に関する検討.日本食品衛生学会第 114 回学術講演会、広島、2018 年 11 月 15 日.

21) 永田文宏、上間 匡:低温加熱によるシカ肉中のウイルス感染価の変化.日本食品衛生学会第 114 回学術講演会、広島、2018 年 11 月 15 日.

22)山本詩織、川瀬 遵、池田徹也、上間 匡、迫井千晶、秋元健一郎、山田 研、朝倉 宏:野生鳥獣由来食肉の微生物学的品質と志賀毒素産生性大腸菌の汚染実態に関する検討.第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018 年 11 月 8 日.

講演会

1) 前田 健「SFTS:身近な致死性感染症」日本獣医師会シンポジウム(新横浜プリンスホテル、神奈川)2018/2/10

2)前田 健「SFTS in companion animals」First collaborative research symposium on infectious diseases among NIID, China CDC and Korea CDC -One health symposium on SFTS - (Sunshine City Conference Room (Room6,7,8,9) in Tokyo)2018/12/04

3) 前田 健「越境性感染症の疫学調査」シンポジウム「One Health の実践に向けて-次世代研究者と国際協力による感染症制御への挑戦 -」日本大学(東京)2018/11/30

4) Ken Maeda「Viruses from ticks, mosquitoes, animals and human」Neo-virology: The diversity of viruses on the earth. The 66th Annual Meeting of the JSV. (Kyoto) 2018/10/28

5) 前田 健「獣医師が気をつけるべき伴侶動物由来人獣共通感染症-SFTSを中心に-」獣医臨床感染症研究会主催獣医感染症シンポジウム「犬と猫の感染症をめぐる最新知見」東京大学弥生講堂 2018 年 8 月 5 日(日)

6) 前田 健「動物における SFTS ウイルス感染症の実態とヒトへの感染リスク」第 92 回日本感染症学会学術講演会シンポジウム(岡山)2018/5/31

7)前田 健「野生動物における SFTSV 感染症の現状と飼育動物への拡大について」平成 29 年度千葉県獣医師会獣医学術年次大会市民公開講座(千葉、TKP ガーデンシティ千葉

- (カンデオホテルズ内) 2018/3/11
- 8) 前田 健「動物における SFTS ウイルス感染症の実態とヒトへの感染リスク」第 92 回日本感染症学会学術講会シンポジウム One Health と人獣共通感染症 ～臨床医と獣医の連携 「新興ウイルス感染症ならびに薬剤耐性菌感染症」2018/5/31 (岡山)
- 9) 前田 健「動物における感染症に注目！」東京大学医科学研究所学友会セミナー (東京大学、東京) 2019/2/22
- 10) 前田 健「SFTS の病態と現状」日本獣医内科学アカデミー (パシフィコ横浜、神奈川県) 2018/2/16
- 11) 前田 健「SFTS について」鹿児島小動物臨床フォーラム (鹿児島大学、鹿児島) 2018/2/3
- 12) 前田 健「ペットが死ぬ病気、ペットから感染して死ぬ病気: マダニ媒介の SFTS」野生動物でのジステンパーの蔓延」高知県獣医師会 (あんしんセンター高知) 2019/1/27
- 13) 前田 健「ペットと飼い主さんのための SFTS(マダニからヒトへの感染症)」(公社)北九州市獣医師会 (北九州市) 2018/12/9
- 14) Ken Maeda 「 Surveillance of mosquitoes-borne infectious diseases in Asian countries」the Final Joint Seminar of CCP (The University Hall, Yamaguchi University, Japan) 2018/12/3
- 15) 前田 健「動物における SFTS の病態とヒトへの感染リスク」宮崎県で考える”ペット由来感染症”としての SFTS (宮崎都城) 2018/11/8 (宮崎市) 2018/11/22
- 16) 前田 健「E 型肝炎、重症熱性血小板減少症候群、インフルエンザ」平成 30 年度野生鳥獣肉の衛生管理に係る専門講習会 (山口県庁) 2018/11/6
- 17) 前田 健「動物における SFTS」平成 30 年度動物由来感染症対策技術研修会 (星稜会館、東京) 2018/10/30
- 18) 前田 健「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) などの最近の知見」平成 30 年度公衆衛生推進事業講習会 (日本獣医師会獣医公衆衛生講習会 (東北地区))(ホテル福島グリーンパレス)(福島) 2018/10/23
- 19) 前田 健「E 型肝炎、SFTS、オーエスキー、鳥インフルエンザ」平成 30 年度野生動物衛生体制整備推進確立対策事業第 2 回地域衛生技術連絡協議会(東京第一ホテル松山)(愛媛、松山) 2018/10/12
- 20) 前田 健「野生動物と家畜の共通感染症及び人畜共通感染症について」平成 30 年度野生動物衛生体制整備推進確立対策事業 (香川県獣医師会館)(香川、坂出) 2018/10/2
- 21) 前田 健「迫り来る危険! 節足動物が媒介する人畜共通伝染病」平成 30 年度野生動物衛生体制整備推進確立対策事業 (群馬県公社総合ビル) 2018/9/9
- 22) 前田 健「SFTS(マダニ媒介感染症)について」ペットクリニックハレルヤ (福岡県福岡市) 2018/08/08
- 23) 前田 健「野生動物と家畜共通感染症及び人畜共通感染症～基礎と最新の情報～」野生動物の防疫・衛生対策推進講習会 (青森県八戸市きざん八戸) 2018/7/27
- 24) 前田 健「ダニが媒介する人畜共通感染症～重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の実態と対策～」静岡県獣医師会・医師会連携講座 (静岡市・もくせい会館) 2018/6/17
- 25) 安藤匡子「食べた～い! ～食欲が起こす人畜共通感染症～」平成 30 年度岡山県獣医師会公衆衛生講習会,(岡山:ピュアリティまきび),平成 31 年 2 月 1 日.
- 26) 安藤匡子「マダニ媒介性ズーノーシス」鹿児島小動物臨床フォーラム 2019 年大会,鹿児島(鹿児島大学),平成 31 年 2 月 3 日.
- 27) 壁谷英則 身近な人畜共通感染症～ペットから野生動物まで～平成 30 年度横須賀市動物取扱責任者研修(横須賀市、2018 年 11 月 8 日)
- 28) 壁谷英則 野生鳥獣を原因とする人畜共通感染症のリスクとその対処法 第 5 回日本ジビエサミット in 徳島 (徳島県、2019 年 1 月 24 - 26 日)
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



野生鳥獣が保有する病原体の汚染状況に関する研究

「ウイルスを中心として」

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）  
Milagros Virhuez Mendoza（山口大学共同獣医学部獣医微生物学教室）  
松田一哉（酪農学園大学 獣医学群獣医学類 獣医病理学ユニット）

**研究要旨** E 型肝炎ウイルスに対する抗体保有状況および E 型肝炎ウイルス感染状況の調査をイノシシおよびシカにおいて実施した。これまでに 14 県のイノシシ 1809 頭と 13 道県のシカ 1418 頭を調査した。その結果、イノシシにおいては 299 頭（16.5%）が抗体陽性であった。一方、シカにおいては 3 頭（0.2%）が陽性であった。遺伝子検出に関しては、イノシシ 1241 頭中 20 頭（1.6%）、シカ 1118 頭中 1 頭（0.1%）が陽性であった。イノシシにおける抗体陽性率に関しては、性別における違いは認められなかったが、体重が 30 kg 以下の個体は有意に陽性率が低かった。一方、遺伝子検出率は 30 kg 以下の個体が有意に高かった。このことは、30 kg 以下の個体が E 型肝炎ウイルスに感染していること、すなわち、子豚が HEV を保有しているリスクが高いことが示された。また、東北地方のクマ、中国地方のウサギにおける E 型肝炎ウイルスの感染状況を調査した結果、ウサギにおける E 型肝炎ウイルスの感染（60 羽中 20 羽が抗 HEV 抗体陽性）を発見した。ウサギの鼻腔における細菌感染を調査した結果、人獣共通感染症の原因菌と考えられる細菌として *Bacillus cereus*、*Staphylococcus aureus*、*Bordetella bronchiseptica*、*Pasteurella multocida*、*Klebsiella pneumoniae* が分離された。マダニ媒介性感染症で致死率が極めて高い重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスのイノシシとシカにおける感染リスクを調査した結果、7 県のイノシシ 510 頭中 6 県の 26 頭（5.1%）、7 県のシカ 389 頭中 4 県の 27 頭（6.1%）から抗 SFTS ウイルス抗体が検出された。山口県のイノシシとシカを中心に内臓の異常所見・組織検査を実施した。

## A. 研究目的

リスク評価及びリスク管理に活用可能な国内のシカ、イノシシ等の野生鳥獣が保有するヒトへの病原体（ウイルスを中心として）の汚染状況データを継続して蓄積する。国内の野生鳥獣由来感染症を把握することにより感染リスク分析が可能となり、野生鳥獣肉の消費者のみならず、狩猟・捕獲・解体に携わる人々への対策および提言へと結びつく。

## B. 研究方法

### 1) 血清試料

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鳥獣から血清を回収した。また、ウサギに関しては、エキゾチックアニマル専門の獣医師により採血を実施し、血清を回収した。

### 2) 抗 HEV 抗体の検出

2015 年に作成したマニュアルに従った。

### 3) 血清からの HEV 遺伝子検出

2015 年に作成したマニュアルに従った。

### 4) ウサギの鼻腔スワブから細菌分離

中国地方の野生化したウサギの鼻腔から滅菌綿棒により採材後、5%馬脱線血加 Brain-Heart Infusion 培地および Brain-Heart Infusion 培地に塗布後、37 好気的条件下により 1-2 日培養した。純培養後、16S リボゾーム RNA 遺伝子を増幅し、塩基配列を決定し、種あるいは属名を同定した。

### 5) 血清から抗 SFTS ウイルス抗体の検出

添付のプロトコールによる ELISA を実施した。抗原として感染研から分与していただいた SFTSV HB29 感染 HuH-7 細胞溶解抗原、1 次抗体は 1:100 希釈血清、2 次抗体には Pierce<sup>TM</sup> Recombinant Protein A/G, Peroxidase Conjugated (Thermo

Fisher Scientific)、発色には HRP Substrate Kit (Bio-Bad)を用いた。

#### 6)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、酪農学園大学において病理組織所見を観察した。

### C.研究結果

#### 1)イノシシにおける抗 HEV 抗体保有率 (県別の比較、表 1)

本年度は熊本県が増えた。13 県のこれまで合計は 1809 頭を調査し、299 頭の 16.5%が抗 HEV 抗体陽性であった。6 頭に 1 頭は感染既応があることを示している。

全国で陽性が認められるが、関東の 2 地域、千葉県 (49%)と群馬県 (44%)は他地域に比べて陽性率が高い。西日本は概ね 20%前後の陽性率であった。中部地方の岐阜県 (5.4%)や富山県 (8.3%)、熊本県 (3.3%)、栃木県 (5.4%)では陽性率が低かった。和歌山県では陽性個体は見つからなかった。

#### 2)イノシシにおける抗 HEV 抗体保有率(性別および体重別の比較、表 2)

抗 HEV 抗体保有率の雌雄による性別の比較では、有意差はなかった。体重別の比較では、30 kg以下で 8.9%であるのに対して、30-50 kgでは 24.0%、50 kg以上では 28.0%と有意に陽性率が高かった。

#### 3)イノシシにおける HEV 遺伝子検出 (県別の比較表 1)

イノシシの血清から HEV 遺伝子の検出を試みた結果、1241 頭中 20 頭の 1.6%から HEV 遺伝子が検出された。特に、抗体陽性率が高い千葉県と群馬県での検出率が高く、中程度の抗体保有率であった兵庫県と山口県がそれに続いた。それ以外の抗体保有率が低程度から中程度の青森県、栃木県、岐阜県、富山県、愛媛県、香川県、大分県からは HEV 遺伝子は検出されなかった

#### 4)イノシシにおける HEV 遺伝子検出 (性別と体重別の比較、表 3)

性別の比較では、オスが 2.4%、メスが 1.2%と 2 倍の遺伝子検出率であった。体重別の比較では 30 kg以下が 3.3%、30-50 kgが 1.5%、50 kg以上が 0.5%と体重が増加すると、HEV 検出率が有意に減少していた。

#### 5)シカにおける抗 HEV 抗体と HEV 遺伝子検出 (表 4)

本年度は青森県が増えた。シカ 1421 頭中 3 頭 (0.21%)のシカから抗 HEV 抗体、1121 頭中 1 頭 (0.09%)のシカから HEV 遺伝子が検出された。遺伝子並びに抗体が検出されたのは 700 頭以上を調べた山口県だけであった。

#### 6)全国のイノシシにおける HEV 感染状況の比較 (表 5)

過去の論文と我々の研究成果をまとめた。本年度は、熊本県を追加することができた。黄色の部分が、イノシシの検査がまだ行われていない部分である。秋田県と沖縄県には今後の採材の協力を依頼した。

#### 7)クマにおける HEV 感染状況 (表 6)

東北地方のクマの血清を調べさせていただく機会を得た。13 頭すべてが抗 HEV 抗体陰性であった。クマが HEV 感受性が低いのか、この地域に HEV 感染が見られないのかは今後の調査が必要である。

#### 8)ウサギにおける HEV 感染状況 (表 7、図 1)

中国地方の野生化したウサギの血清における抗 HEV 抗体の保有状況を調査した。その結果、60 羽中 20 羽 (33%)が HEV に対する抗体を保有していた。更に、直腸スワブからの遺伝子検出を試みた結果、58 羽中 1 羽 (2%)から HEV 遺伝子が検出された。検出された遺伝子の系統解析を実施した結果、中国・フランス・アメリカ・韓国・ドイツのウサギ、並びにフランスのヒトから検出された HEV と同じクラスターを形成した。国内における初めてのウサギの HEV 感染となった (図 1)。

#### 9)ウサギから分離された細菌 (表 8)

前述したウサギ 60 羽の鼻腔スワブから好気性細菌の分離を試みた結果、1 羽に *Bacillus cereus*、13 羽から *Staphylococcus aureus*、17 羽から *Bordetella bronchiseptica*、9 羽から *Pasteurella multocida*、1 羽から *Klebsiella pneumoniae* の人獣共通感染症となる細菌が分離された。

#### 10)イノシシとシカにおける抗 SFTSV 抗体の検出 (表 9)

致死性の高い人獣共通感染症である SFTS ウイルスのリスクを知ることはそれらを捕獲している猟師や取扱者にとって重要である。そこで、7 県のイノシシ、7 県のシカにおける抗 SFTSV 抗体保有状況を調査した。その結果、イノシシにおい

て7県中6県、シカにおいて7県中4県、合計8県中6県において抗SFTSV抗体の保有が確認された。イノシシにおいては四国・九州地方の抗体保有率が高かった。一方、シカにおいては、ヒトでの患者の発生していない関東Aにおいて16%の陽性率が確認された。中部Aと中部Bでは陽性率は低く、東北Aと関東Bでは陽性個体が今のところ検出されていない。

#### 11) イノシシとシカにおける異常所見の収集

カラーアトラスの充実のために山口県で狩猟されたイノシシ及びシカの臓器における異常所見の収集を行い、一部は酪農学園大学にて詳細に解析を行った。

- 下関イノシシ 17-141 肝臓に出血斑
- 下関イノシシ 17-142 肝臓に白斑
- 下関イノシシ 17-143 肝臓に白斑
- 下関イノシシ 18-63 肝蛭寄生、肝臓に白斑、結節（酪農学園大学にて病理解析）
- 下関イノシシ 18-74 腹腔内に多数の線虫寄生、肝臓に白色結節（酪農学園大学にて病理解析）
- 下関イノシシ 18-86 異形成腎、食堂に線虫（酪農学園大学にて病理解析）
- 下関イノシシ 18-97 肝臓に白斑（酪農学園大学にて病理解析）
- 下関シカ 17-154 肝臓に白色病変
- 下関シカ 18-6 腎臓に多発性嚢胞
- 下関シカ 18-38 腎嚢胞、副腎腫瘍（？）
- 下関シカ 18-40 肝臓に白色病変
- 下関シカ 18-54 肝臓に白色病変
- 下関シカ 18-59 酪農学園大学にて病理解析
- 下関シカ 18-91 酪農学園大学にて病理解析
- 下関シカ 18-99 酪農学園大学にて病理解析
- 下関シカ 18-108 肝臓に白色病変
- 下関シカ 18-117 肝臓に嚢胞、肝蛭寄生

#### D. 考察

- 1) HEV のリスクについて
  - ・ イノシシの HEV 感染は日本全国で認められる
  - ・ 関東の2県が特に陽性率が高い
  - ・ 西日本は全域にわたり HEV の感染率は中程度
  - ・ 中部地方は比較的リスクが低い
  - ・ イノシシの60頭に1頭は捕獲時にウイルスを保有
  - ・ 30 kg以下の子イノシシがウイルスに感染
  - ・ シカは陽性率が低い
  - ・ 野生化したウサギにおける HEV 感染（国内初報告）
- 2) 狩猟者への人獣共通感染症のリスク

- ・ イノシシの60頭に1頭（高い地域では20頭に1頭）が捕獲時・解体時に HEV ウイルスを保有している
- ・ 西日本の野生化したウサギの鼻腔から多くの人獣共通感染症を引き起こす細菌が分離された
- ・ SFTS のリスクは西日本で高い
- ・ 患者の発生していない関東でも陽性率が高い
- ・ 中部地方でも SFTS ウイルス陽性動物がいる

#### E. 結論

- 1) 国内の多くの県で E 型肝炎ウイルスはイノシシに感染している。特に、関東近辺ではイノシシの抗体陽性率が高いことが確認された。しかし、検査空白県もあるので協力者を拡大する必要がある。
- 2) 30kg 以下の子イノシシが HEV に感染しているリスクが高いことが再確認された。
- 3) SFTS ウイルスのリスクは西日本だけでなく、患者の発生していない中部地方や関東地方にも存在することが確認された。特に、関東 A 地域では陽性率が高いことが確認された。
- 4) 狩猟者は HEV や SFTS ウイルスだけでなく、多くの狩猟動物が人獣共通感染症を引き起こす病原体を保有していることを認識する必要がある。解体時は手袋の着用は必須である。
- 5) 一部の地域における異常動物の写真は充実してきたが、更なるカラーアトラスの充実をすべく、協力者の拡大に努めている。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Shimoda H, Hayasaka D, Yoshii K, Yokoyama M, Suzuki K, Kodera Y, Takeda T, Mizuno J, Noguchi K, Yonemitsu K, Minami S, Kuwata R, Takano A, Maeda K. Detection of a novel tick-borne flavivirus and its serological surveillance. *Ticks and Tick-Borne Diseases* (In press)  
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.006>

Yonemitsu K, Minami S, Noguchi K, Kuwata R, Shimoda H, Maeda K\*. Detection of anti-viral antibodies from meat juice of wild boars.

- Journal of Veterinary Science. 2019 Jan 25;81(1):155-159. doi: 10.1292/jvms.18-0576. Epub 2018 Nov 23.
- Kuwata R, Shimoda H, Phichitraslip T, Prasertsincharoen N, Noguchi K, Yonemitsu K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Takano A, Suzuki K, Nemoto M, Bannai H, Yokoyama M, Takeda T, Jittapalapong S, Rerkamnuaychoke W, Maeda K\* Getah virus epizootic among wild boars in Japan around 2012. *Archives of Virology*. 2018 Oct;163(10):2817-2821. doi: 10.1007/s00705-018-3897-4.
- Kamimura K, Yonemitsu K, Maeda K, Sakaguchi S, Setsuda A, Varcasia A, Sato H. An unexpected case of a Japanese wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) infected with the giant thorny-headed worm (*Macracanthorhynchus hirudinaceus*) on the mainland of Japan (Honshu). *Parasitol Research*. 2018. 117(7):2315-2322.
- Matsuno K, Nonoue N, Noda A, Kasajima N, Noguchi K, Takano A, Shimoda H, Orba Y, Muramatsu M, Sakoda Y, Takada A, Minami S, Une Y, Morikawa S, Maeda K. Fatal cases of endemic tick-borne phlebovirus infection in captive cheetahs 3 (*Acinonyx jubatus*). *Emerging Infectious Diseases*. 2018. 24(9) 1726-1729.
- Kobayashi T, Murakami S, Yamamoto T, Mineshita K, Sakuyama M, Sasaki R, Maeda K, Horimoto T. Detection of bat hepatitis E virus RNA in microbats in Japan. *Virus Genes*. 2018. 54(4):599-602.
- 前田 健「動物由来ウイルス感染症としての SFTS」2019. グローバル時代のウイルス感染症(西條政幸編集)(日本医事新報社)2019/1/25 p123-128
- 森川 茂、前田 健「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」2018. 日本獣医師会誌 71:474-477
- 前田 健「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」獣医学雑誌 2018 第22巻第1号 51-52
- 高野 愛、前田 健「動物における重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスの検出とマダニ対策について」日本鹿研究 2018 9号 31-34
- 前田 健「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)～感染経路はマダニからだけではない～」Infection Front 2018. 43:7-10
- 高野 愛、前田 健「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)について」獣医公衆衛生研究 VOL20-2 33-38
- 前田 健「獣医師が知らなければいけない重症熱性血小板減少症候群」NJK 2018. Vol.199:15-20
- 前田 健「SFTS ウイルスに関する最近の知見」獣医アトピー・アレルギー・免疫学雑誌 2018. Mar 7(2):4-9.

## 2. 学会発表

- Milagros Virhuez Mendoza, Ryusei Kuwata, Keita Noguchi, Kenzo Yonemitsu, Shohei Minami, Supriyono, Ngo Thuy Bao Tran, Yudai Kuroda, Tatemoto Kango, Hiroshi Shimoda, Ken Maeda. SEROSURVEILLANCE OF HEPATITIS E VIRUS INFECTION AMONG ANIMALS. THE 3RD INTERNATIONAL SYMPOSIUM IN VETERINARY SCIENCE. (AIRLANGGA UNIVERSITY, SURABAYA, INDONESIA) 2019/2/8
- 坂井祐介、桑原祐子、鍵本沙也、立本完吾、野口慧多、米満研三、南 昌平、鎌田龍星、下田 宙、櫻井 優、前田 健、森本将弘「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)発症ネコ6例の剖検例の病理組織学的検索」獣医病理学専門家協会学術集会 2019年3月28・29日ルミエール府中コンベンションホール飛鳥(東京、府中)
- Kango Tatemoto, Keita Noguchi, Shohei Minami, Kenzo Yonemitsu, Supriyono, Tran Thuy Bao Ngo, Junko Mizuno, Ryusei Kuwata, Ai Takano, Hiroshi Shimoda, Masami Suenaga, Kazuo Suzuki, Shigeru Morikawa, Ken Maeda. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) infection among wild animals in Japan (2018). The 66th Annual Meeting of the JSV. (Kyoto) 2018/10/28-30
- Keita Noguchi, Kango Tatemoto, Shohei Minami, Kenzo Yonemitsu, Supriyono, Tran Thuy Bao Ngo, Junko Mizuno, Ryusei Kuwata, Ai Takano, Hiroshi Shimoda, Takehisa Soma, Shigeru Morikawa, Ken Maeda. Occurrence situations of SFTS among cats and dogs in Japan (2017) The 66th Annual Meeting of the JSV. (Kyoto) 2018/10/28-30
- 立本完吾、野口慧多、南 昌平、米満研三、Supriyono、Ngo Thuy Bao Tran、水野純子、鎌田龍星、高野 愛、下田 宙、末永昌美、鈴木和男、森川 茂、前田 健「野生動物における重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス感染状況 2018」第161回日本獣医学会学術集会 2018.9.11-13 つくば国際会議場(茨城県)
- 米満研三、Virhuez Milagros、李 天成、黒田雄大、立本完吾、Supriyono Supriyono、南 昌平、鎌田龍星、高野 愛、下田 宙、Phichitraslip Thanmaporn、Rerkamnuaychoke Worawut、鈴木和男、前田 健「野生動物、伴侶動物、産業動物におけるE型肝炎ウイルス感

- 染状況調査」第 161 回日本獣医学会学術集会  
2018.9.11-13 つくば国際会議場（茨城県）
- 野口慧多、立本完吾、南 昌平、米満研三、  
Supriyono、Ngo Thuy Bao Tran、水野純子、鎌  
田龍星、高野 愛、下田 宙、相馬武久、森川  
茂、前田 健「伴侶動物における重症熱性血小  
板減少症候群（2017）」第 161 回日本獣医学会  
学術集会 2018.9.11-13 つくば国際会議場（茨  
城県）
- 小川寛人、平山晴子、田中爽暉、矢田範夫、難波  
ひかる、山下信子、米満研三、前田 健、樫木  
勝巳、山田雅夫「養豚農場から大学動物実験施  
設に搬入される家畜ブタの E 型肝炎ウイルス感  
染状況について」第 161 回日本獣医学会学術集  
会 2018.9.11-13 つくば国際会議場（茨城県）
- 野口慧多、立本完吾、南 昌平、米満研三、  
Supriyono、Ngo Thi Bao Tran、水野純子、鎌  
田龍星、高野 愛、下田 宙、森川 茂、前田  
健「国内の伴侶動物における重症熱性血小板減  
少症候群の発生状況」第 33 回中国四国ウイル  
ス研究会(岡山大学) 2018/6/23 - 24
- 立本完吾、野口慧多、南 昌平、米満研三、  
Supriyono、Ngo Thi Bao Tran、水野純子、鎌  
田龍星、高野 愛、下田 宙、末永昌美、鈴木  
和男、森川 茂、前田 健「野生動物における重  
症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス感染  
状況 2018」第 33 回中国四国ウイルス研究会  
(岡山大学) 2018/6/23 - 24
- 下田 宙、水野純子、南 昌平、青木 菜、鎌田  
龍星、高野 愛、松野啓太、海老原秀樹、前  
田 健「国内におけるマダニ媒介性フレボウイル  
スの網羅的調査」第 70 回 日本衛生動物  
学会大会(帯広大学)2018/05/12
- 講演会
- 前田 健「SFTS:身近な致死性感染症」日本獣医師  
会シンポジウム(新横浜プリンスホテル、神奈  
川) 2018/2/10
- 前田 健「SFTS in companion animals」First  
collaborative research symposium on  
infectious diseases among NIID, China CDC  
and Korea CDC -One health symposium on SFTS-  
(Sunshine City Conference Room  
(Room6,7,8,9) in Tokyo)2018/12/04
- 前田 健「越境性感染症の疫学調査」シンポジウ  
ム「One Health の実践に向けて-次世代研究者  
と国際協力による感染症制御への挑戦 - 」日本  
大学(東京) 2018/11/30
- Ken Maeda「Viruses from ticks, mosquitoes,  
animals and human」Neo-virology: The  
diversity of viruses on the earth. The 66th  
Annual Meeting of the JSV. (Kyoto)  
2018/10/28
- 前田 健「獣医師が気をつけるべき伴侶動物由来  
人獣共通感染症-SFTS を中心に-」獣医臨床感  
染症研究会主催獣医感染症シンポジウム「犬と猫  
の感染症をめぐる最新知見」東京大学弥生講堂  
2018年8月5日(日)
- 前田 健「動物における SFTS ウイルス感染症の実  
態とヒトへの感染リスク」第 92 回日本感染症  
学会学術講演会シンポジウム(岡山)2018/5/31
- 前田 健「野生動物における SFTSV 感染症の現状  
と飼育動物への拡大について」平成 29 年度千  
葉県獣医師会獣医学術年次大会市民公開講座  
(千葉、T K P ガーデンシティ千葉(カンデオ  
ホテルズ内) 2018/3/11
- 前田 健「動物における SFTS ウイルス感染症の実  
態とヒトへの感染リスク」第 92 回日本感染症  
学会学術講演会シンポジウム One Health と人獣  
共通感染症 ~臨床医と獣医の連携 「新興ウ  
イルス感染症ならびに薬剤耐性菌感染症」  
2018/5/31(岡山)
- 前田 健「動物における感染症に注目！」東京大  
学医科学研究所学友会セミナー(東京大学、東  
京) 2019/2/22
- 前田 健「SFTS の病態と現状」日本獣医内科学ア  
カデミー(パシフィコ横浜、神奈川)2018/2/16
- 前田 健「SFTS について」鹿児島小動物臨床フォ  
ーラム(鹿児島大学、鹿児島) 2018/2/3
- 前田 健「ペットが死ぬ病気、ペットから感染し  
て死ぬ病気: マダニ媒介の SFTS」「野生動物で  
のジステンパーの蔓延」高知県獣医師会(あ  
んしんセンター高知) 2019/1/27
- 前田 健「ペットと飼い主さんのための SFTS(マ  
ダニからヒトへの感染症)」(公社)北九州市獣  
医師会(北九州市) 2018/12/9
- Ken Maeda「Surveillance of mosquitoes-borne  
infectious diseases in Asian countries」the  
Final Joint Seminar of CCP (The University  
Hall, Yamaguchi University, Japan)2018/12/3
- 前田 健「動物における SFTS の病態とヒトへの感  
染リスク」宮崎県で考える”ペット由来感染症  
“としての SFTS(宮崎都城) 2018/11/8(宮崎  
市) 2018/11/22
- 前田 健「E 型肝炎、重症熱性血小板減少症候群、  
インフルエンザ」平成 30 年度野生鳥獣肉の衛  
生管理に係る専門講習会(山口県庁)2018/11/6
- 前田 健「動物における SFTS」平成 30 年度動物  
由来感染症対策技術研修会(星稜会館、東京)  
2018/10/30
- 前田 健「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)など  
の最近の知見」平成 30 年度公衆衛生推進事業

講習会(日本獣医師会獣医公衆衛生講習会(東北地区))Xホテル福島グリーンパレスX(福島)  
2018/10/23

前田 健「E型肝炎、SFTS、オーエスキー、鳥インフルエンザ」平成30年度野生獣衛生体制整備推進確立対策事業第2回地域衛生技術連絡協議会(東京第一ホテル松山)(愛媛、松山)  
2018/10/12

前田 健「野生動物と家畜の共通感染症及び人畜共通感染症について」平成30年度野生獣衛生体制整備推進確立対策事業(香川県獣医師会館)(香川、坂出)2018/10/2

前田 健「迫り来る危険!節足動物が媒介する人畜共通伝染病」平成30年度野生獣衛生体制整備推進確立対策事業(群馬県公社総合ビル)  
2018/9/9

前田 健「SFTS(マダニ媒介感染症)について」ペットクリニックハレルヤ(福岡県福岡市)  
2018/08/08

前田 健「野生動物と家畜共通感染症及び人獣共通感染症~基礎と最新の情報~」野生獣の防疫・衛生対策推進講習会(青森県八戸市きざん八戸)2018/7/27

前田 健「ダニが媒介する人獣共通感染症~重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の実態と対策~」静岡県獣医師会・医師会連携講座(静岡市・もくせい会館)2018/6/17

#### 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

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
前田 健	ヘパウイルス科	監修 中込治	標準微生物学第13版	医学書院		2018	431-433
岡部信彦、壁人を取り巻く環境と人と動物の共通感染症の変化について 谷英則、沢辺京子、前田健		丸山総一監修	モダンメディア別冊			2019	65(1):1-17
前田 健	地球温暖化・環境の変化がもたらす病気の拡大		環境報告書	山口大学		2018	23
前田 健	重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の最新知見	石田卓夫監修	伴侶動物の治療指針	緑書房		2018	9:48-58
前田 健	重症熱性血小板減少症候群(SFTS)のわが国における発生状況と予防対策		公益社団法人山口県ひとづくり財団支援員だより			2018	29:2-3

表1 イノシシにおけるHEV抗体検出、遺伝子検出

	抗体検出(ELISA)			遺伝子検出(RT-PCR)		
	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)
千葉	79	39	49	79	4	5
群馬	34	15	44	34	1	3
栃木	220	12	5.4	88	0	0
岐阜	144	8	5.6	140	0	0
富山	132	11	8.3	132	0	0
兵庫	111	23	20.7	77	2	2.6
和歌山	95	0	0	-	-	-
山口	620	144	23.2	528	13	2.5
愛媛	85	19	22	85	0	0
香川	56	12	21	56	0	0
大分	46	9	20	22	0	0
熊本	182	6	3.3	-	-	-
鹿児島	5	1	20	-	-	-
計	1809	299	16.5%	1241	20	1.6%

表2 イノシシからの抗HEV抗体検出(ELISA)

	♂	♀	記録なし	≤30	30-50	≥50	記録なし	計
検査頭数	614	660	535	447	300	490	572	1809
陽性頭数	110	149	40	40	72	137	50	299
陽性率	17.9	22.6	7.5	8.9	24.0	28.0	8.7	16.5

表3 イノシシからのHEV遺伝子検出(RT-PCR)

	♂	♀	記録なし	≤30	30-50	≥50	記録なし	計
検査頭数	532	580	129	349	267	457	168	1241
陽性頭数	13	7	0	13	4	3	0	20
陽性率	2.4	1.2	0	3.3	1.5	0.6	0	1.6

表4 シカにおけるHEV抗体検出、遺伝子検出

	抗体検出(ELISA)			遺伝子検出(RT-PCR)		
	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)
北海道	79	0	0	-	-	-
青森	3	0	0	3	0	0
千葉	80	0	0	80	0	0
青森	3	0	0	3	0	0
群馬	49	0	0	49	0	0
栃木	24	0	0	-	-	-
岐阜	162	0	0	163	0	0
長野	47	0	0	-	-	-
山梨	66	0	0	25	0	0
山口	797	2	0.3	728	1	0.1
愛媛	35	0	0	35	0	0
香川	35	1	3	35	0	0
大分	12	0	0	-	-	-
鹿児島	29	0	0	-	-	-
計	1421	3	0.21%	1121	1	0.09%

表5 本研究班における成果と過去の報告のイノシシにおけるHEV感染

	血清						肝臓			文献
	抗体			遺伝子			遺伝子			
	検査頭数	陽性頭数	陽性率	検査頭数	陽性頭数	陽性率	検査頭数	陽性頭数	陽性率	
北海道										
青森										
岩手										
宮城										
秋田										
山形										
福島										
茨城	89	2	2%	89	2	2%	91	0	0%	1
	68	28	41%	68	6	9%	68	7	10%	4
栃木	20	0	0%	20	0	0%	23	0	0%	1
	<b>220</b>	<b>12</b>	<b>5%</b>	<b>88</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>				山口大
群馬	89	4	4%	89	1	1%				5
	87	3	3%				140	3	2%	11
	<b>34</b>	<b>15</b>	<b>44%</b>	<b>34</b>	<b>1</b>	<b>3%</b>				山口大
埼玉	12	0	0%	12	0	0%	13	0	0%	1
千葉	<b>79</b>	<b>39</b>	<b>49%</b>	<b>79</b>	<b>4</b>	<b>5%</b>				山口大
東京										
神奈川	9	0	0%	9	0	0%	9	0	0%	1
新潟										
富山	15	0	0%	15	0	0%	17	0	0%	1
	<b>132</b>	<b>11</b>	<b>8%</b>	<b>132</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>				山口大
石川	7	0	0%	7	0	0%	7	0	0%	1
福井	24	3	13%	24	2	8%	24	2	8%	1
山梨							8	2	25%	1
長野	33	2	6%	33	1	3%	48	1	2%	1
	2	0	0%	2	0	0%	2	0	0%	11
岐阜	99	8	8%	99	4	4%	98	4	4%	1
	<b>220</b>	<b>12</b>	<b>5%</b>	<b>140</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>				山口大
静岡	2	2	100%	2	0	0%	8	2	25%	1
	367	86	23%	367	23	6%	359	15	4%	9
	107	53	50%	112	4	4%	116	3	3%	10
愛知				439	49	11%				17
	91	25	27%	91	11	12%				18
三重	39	2	5%	31	1	3%				12
滋賀	4	3	75%	4	0	0%	5	1	20%	1
京都	2	0	0%	2	0	0%	4	0	0%	1
大阪	150	12	8%							8
兵庫	<b>111</b>	<b>23</b>	<b>21%</b>	<b>77</b>	<b>2</b>	<b>3%</b>				山口大
奈良	8	4	50%	8	1	13%	8	1	13%	1
和歌山	2	0	0%	2	0	0%	2	0	0%	1
	<b>95</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>							山口大
鳥取	16	0	0%	16	0	0%	6	0	0%	1
	13	0	0%	33	0	0%				13

島根	102	16	16%	102	0	0%				14
岡山	57	7	12%	57	1	2%	65	3	5%	1
広島										
山口	2	0	0%	2	0	0%	19	1	5%	1
	<b>620</b>	<b>144</b>	<b>23%</b>	<b>528</b>	<b>13</b>	<b>3%</b>				山口大
徳島	26	1	4%	26	1	4%	19	1	5%	1
				206	2	1%				19
香川	39	5	13%	39	0	0%	39	0	0%	1
	<b>56</b>	<b>12</b>	<b>21%</b>	<b>56</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>				山口大
愛媛	392	100	26%	392	12	3%				3
	<b>85</b>	<b>19</b>	<b>22%</b>	<b>85</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>				山口大
高知										
福岡				125	16	13%				15
佐賀	2	0	0%	2	1	50%	2	1	50%	1
長崎	11	3	27%	11	0	0%	11	0	0%	1
				701	46	7%				7
熊本	6	0	0%	6	0	0%	4	0	0%	1
				65	4	6%	153	12	8%	16
	<b>182</b>	<b>6</b>	<b>3%</b>							山口大
大分	14	0	0%	14	0	0%	14	0	0%	1
	<b>48</b>	<b>9</b>	<b>20%</b>	<b>22</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>				山口大
宮崎	8	1	13%	8	0	0%	8	0	0%	1
鹿児島	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>20%</b>							山口大
沖縄				20	0	0%				6

## 文献

1. Sato Y, Sato H, Naka K, Furuya S, Tsukiji H, Kitagawa K, Sonoda Y, Usui T, Sakamoto H, Yoshino S, Shimizu Y, Takahashi M, Nagashima S, Jirintai, Nishizawa T, Okamoto H. 2011. A nationwide survey of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars in Japan: identification of boar HEV strains of genotypes 3 and 4 and unrecognized genotypes. Arch Virol. 156: 1345-1358.
3. Michitaka K, Takahashi K, Furukawa S, Inoue G, Hiasa Y, Horiike N, Onji M, Abe N, Mishiro S. 2007. Prevalence of hepatitis E virus among wild boar in the Ehime area of western Japan. Hepatol Res. 37: 214-220.
4. Motoya T, Nagata N, Komori H, Doi I, Kurosawa M, Keta T, Sasaki N, Ishii K. 2016. The high prevalence of hepatitis E virus infection in wild boars in Ibaraki Prefecture, Japan. J Vet Med Sci. 77: 1705-1709.
5. Sakano C, Morita Y, Shiono M, Yokota Y, Mokudai T, Sato-Motoi Y, Noda A, Nobusawa T, Sakaniwa H, Nagai A, Kabeya H, Maruyama S, Yamamoto S, Sato H, Kimura H. 2009. Prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars (*Sus scrofa leucomystax*) and pigs in Gunma Prefecture, Japan. J Vet Med Sci. 2009. 71: 21-25.
6. 仁平稔, 中村正治, 平良勝也, 岡野祥, 富永正哉, 平良雅克, 糸数清正, 久高潤, 高橋和明, 三代俊治. 2009. 沖縄県のブタ、イノシシおよびマンゲースからの E 型肝炎ウイルス遺伝子の検出とその系統解析. 沖縄県衛生環境研究所報 43: 107-110.
7. 吉川亮, 斎藤佳子, 島崎裕子, 石原雅行, 山下綾香. 2016. 長崎県における野生動物の保有する病原体調査 (2004-2016). 長崎県環境保健研究センター所報 62: 177-186.
8. 大阪府. 2017. 大阪府イノシシ第二種鳥獣管理計画 (第3期). (<http://www.pref.osaka.lg.jp/doubutu/yaseidoubutu/inosisi.html>)
9. 原稔美, 荒畑沙織, 酒井悠希子, 池ヶ谷朝香, 佐原啓二. 2016. 静岡県内の野生イノシシにおける E 型肝炎ウイルス保有状況. 第52回静岡県公衆衛生研究会.
10. 小柳純子, 池ヶ谷朝香, 山田俊博, 川森文彦. 2012. 静岡県における野生動物の E 型肝炎ウイルス汚染実

- 態に関する研究. 大同生命厚生事業「地域保健福祉研究助成」. 90-94.
11. 石岡大成, 坂野智恵子, 空代俊枝, 横田陽子, 坂庭浩之, 森田幸雄, 長井 章, 星野利得. 2011. 2006年3月~2008年3月に群馬県で捕獲された野生イノシシのE型肝炎ウイルス保有状況. 日本獣医公衆衛生学会誌. 64: 67-70.
  12. 中野達徳, 高橋和明, 松本美富士, 三代俊治. 2009. 三重県の野生イノシシ、シカのE型肝炎ウイルス感染状況. 肝臓. 50: A543.
  13. 川本歩, 田中真弓, 黒川ちひろ, 金田聡子, 奥田浩, 岡本宏明. 2005. ヒト、ブタ、イノシシにおけるE型肝炎ウイルスの感染状況. 鳥取県衛生環境研究所報. 45: 1-3.
  14. 保科健, 飯塚節子, 田原研司, 小村珠喜, 糸川浩司. 2008. 野生動物等のE型肝炎ウイルスの保有状況. 島根県保健環境科学研究所報. 50: 70-73.
  15. 石橋哲也, 中山志幸, 江藤良樹, 世良暢之, 千々和勝己. 2008. 福岡県に生息する野生動物におけるE型肝炎ウイルスの侵淫状況調査. 福岡県保健環境研究所年報. 35: 90-92.
  16. 原田誠也, 田中智之, 西村浩一, 大迫英夫, 吉岡健太, 石井孝司, 李天成. 2012. 熊本県におけるイノシシ, シカ及びブタのE型肝炎ウイルス汚染実態調査(平成22~24年度). 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究. 総合研究報告. 255-262.
  17. 中根邦彦, 伊藤寛将, 磯谷健治, 板倉裕子, 糟谷慶一, 小林慎一. 2015. 2010年4月から2014年11月の岡崎市におけるジビエ(イノシシおよびシカ)のE型肝炎ウイルス感染状況調査. 食品衛生学雑誌. 56: 252-255.
  18. 伊藤雅, 小林慎一, 山下照夫, 長谷川晶子, 榮賢司. 2006. 野生動物からのE型肝炎ウイルス(HEV)とHEV抗体の検出および猟師らのHEV抗体保有状況. 肝臓. 47: 316-318.
  19. 山本瑞希, 魚住佳世, 赤松茂, 佐藤豪, 飛梅三喜, 坂東英明. 2016. 徳島県において検出されたE型肝炎ウイルス(HEV)の遺伝子解析. 日本獣医公衆衛生学会(四国地区).

表6 東北地方のクマのHEV感染状況

推定 月齢	性別	推定 体重	HEV抗体 (0.437以上)	HEV 遺伝子	SFTSV抗体 (0.5以上)	SFTSV 遺伝子
成獣	♂	-	0.02	-	-0.02	-
成獣	♂	-	0.06	-	-0.01	-
成獣	♂	-	0.01	-	-0.01	-
成獣	♀	-	0.01	-	-0.04	-
成獣(若)	♀	-	0.01	-	-0.01	-
成獣	♂	-	0.06	-	-0.02	-
成獣	♀	-	0.03	-	0.00	-
成獣	♂	-	0.02	-	-0.01	-
成獣	♂	-	-0.01	-	0.03	-
成獣(5-6才)	♀	-	0.01	ND	0.02	ND
成獣(4-6才)	♀	-	0.03	-	0.01	-
成獣	♀	-	0.03	-	0.01	-
成獣	♀	-	0.02	-	-0.05	-

表7 中国地方の野生化したウサギのHEV感染状況

	抗HEV抗体検出(血清、ELISA)	HEV遺伝子検出(直腸スワブ、RT-PCR)
検査頭数	60	58
陽性頭数	20	1
陽性率(%)	33%	2%

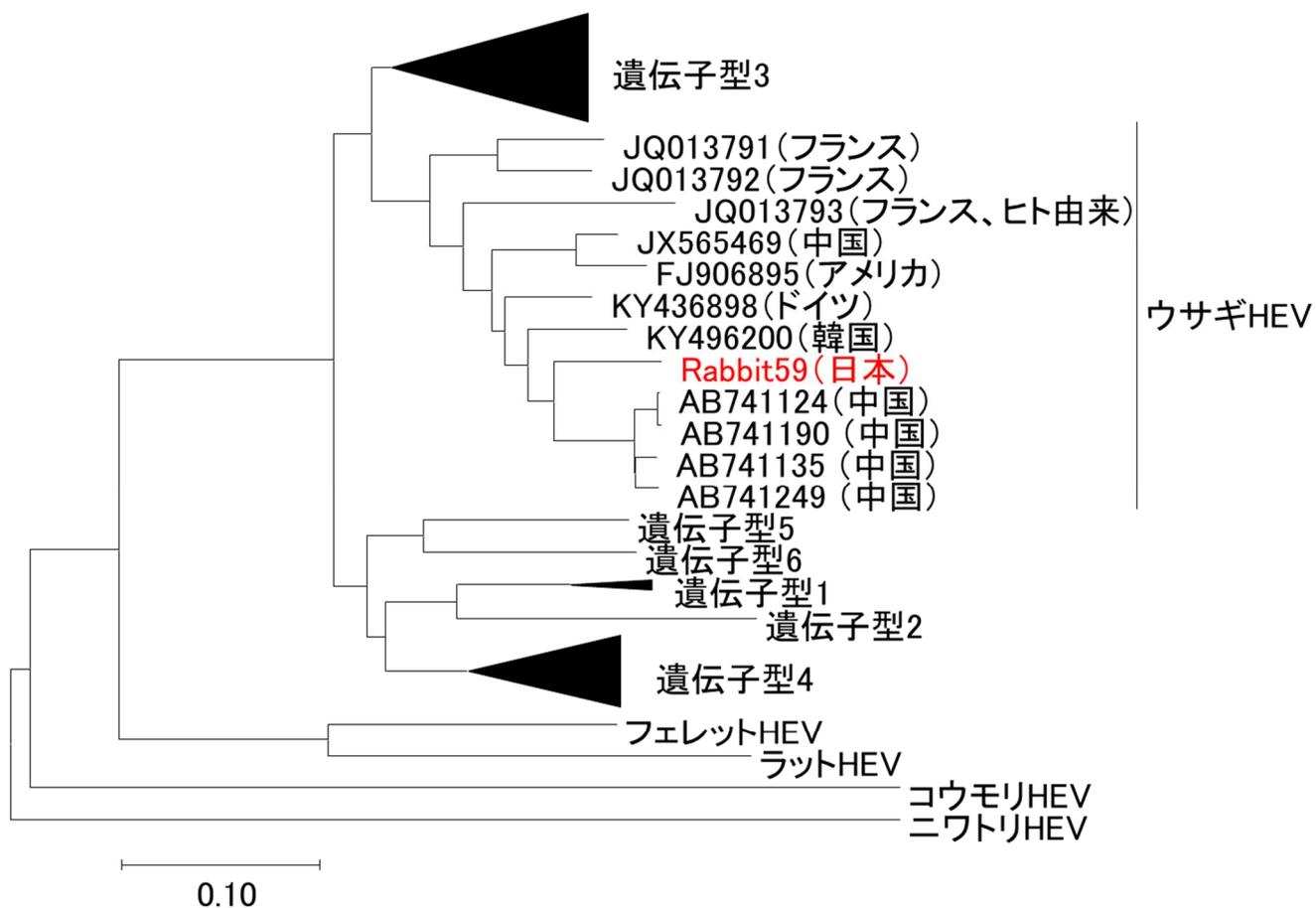


図1 国内のウサギから検出されたHEVの系統樹解析

表8 国内の野生化したウサギの鼻腔から分離された細菌

ID.	分離細菌					
1	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>			
2	<i>Mannheimia glucosida</i>					
3	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>				
4	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
5	<i>Staphylococcus aureus</i>					
6	<i>Proteus mirabilis</i>					
7	<i>Proteus mirabilis</i>					
8	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>			
9	<i>Mannheimia glucosida</i>					
10	<i>Proteus mirabilis</i>					
11	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>			
12	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>				
13	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Bacillus sp.</i>				
14	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		<i>Staphylococcus sp.</i>
15	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>		
16	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Leclercia sp.</i>	<i>Neisseria sp.</i>		<i>Pasteurella multocida</i>	
17	<i>Cedecea sp.</i>	<i>Kocuria sp.</i>				
18	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Cedecea sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>		<i>Stenotrophomonas sp.</i>	
19	<i>Cedecea sp.</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>			
20	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>				
21	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>				
23	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Kocuria sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus sp.</i>
24	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>		<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>
25	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>				
26	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
27	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Moraxella cuniculi</i>		<i>Staphylococcus sp.</i>	
28	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Pantoea sp.</i>	<i>Pseudomonas putida</i>		<i>Staphylococcus sp.</i>
29	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Serratia sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>			
30	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Pseudomonas putida</i>			
31	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bordetella hinzii</i>				
32	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Pasteurella multocida</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
33	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Moraxella cuniculi</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i>			
34	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>			
35	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Serratia sp.</i>			
36	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>			

37	<i>Moraxella cuniculi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>
38	<i>Lelliottia sp</i>	<i>Moraxella cuniculi</i>	
39	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
40	<i>Moraxella cuniculi</i>		
41	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Enterobacter sp.</i>
42	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
43	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Mannheimia glucosida</i> <i>Rothia sp.</i>
44	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Stenotrophomonas sp.</i>	
45	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Rothia sp.</i>	
46	<i>Moraxella cuniculi</i>		
47	<i>Rothia nasimurium</i>		
48	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Moraxella cuniculi</i>	<i>Rothia sp.</i>
49	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
50	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
51	<i>Bergeyella sp.</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Mannheimia glucosida</i> <i>Staphylococcus sp.</i>
52	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Staphylococcus sp</i>
54	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Pasteurella multocida</i> <i>Staphylococcus sp</i>
55	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Rothia sp.</i>	<i>Staphylococcus sp</i>
56	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Staphylococcus sp</i>	
57	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	
58	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
59	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus sciuri</i>
60	<i>Mannheimia glucosida</i>	<i>Moraxella cuniculi</i>	<i>Rothia sp.</i>
61	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Pantoea sp.</i> <i>Staphylococcus sciuri</i>
62	<i>Bacillus mobilis</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Mannheimia glucosida</i> <i>Pasteurella multocida</i>

表9 全国のイノシシとシカにおけるSFTSV感染状況の調査

	イノシシ			シカ		
	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)
東北A				3	0	0
関東A	64	2	3	79	13	16
関東B	32	0	0	47	0	0
中部A	144	1	0.7	163	4	2.4
中部B	112	2	1.8			
四国A	97	10	10	33	9	27
四国B	56	10	17	35	0	0
九州A	5	1	20	29	1	3.4

## 下関イノシシ 17-141

ID	動物種	捕獲地		捕獲日	性別	体重	体長
17-141	イノシシ	豊田町	稲見	2018/3/17	♀	50	126

肝臓に出血斑



## 下関イノシシ 17-142

ID	動物種	捕獲地		捕獲日	性別	体重	体長
17-142	イノシシ	豊田町	稲見	2018/3/17	♀	40	119

肝臓に白斑



## 下関イノシシ 17-143

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
17-143	イノシシ	豊田町 稲見	2018/3/17	♂	30	112

肝臓に白斑



## 下関イノシシ 18-63

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-63	イノシシ	豊北町 滝部寺畑	2018/10/13	♂	92.5	139

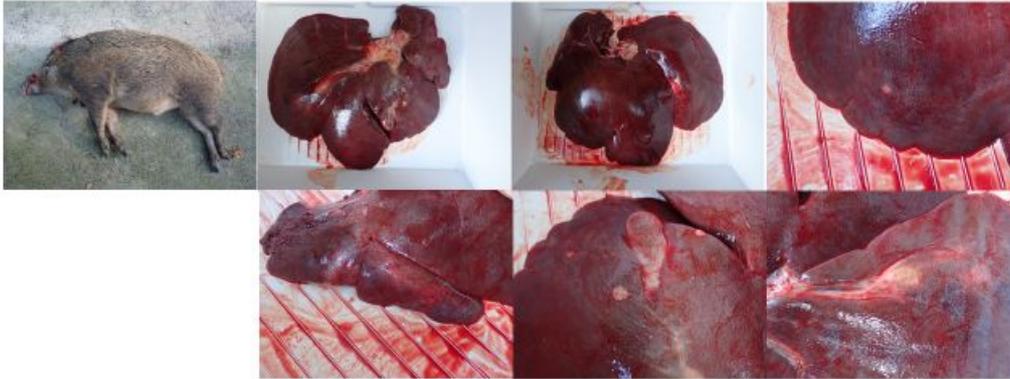
肝臓に白斑、結節、肝蛭の寄生



# イノシシ18-63

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-63	イノシシ	下関市	2018/10/13	♂	92.5	139

臓器	肉眼所見	組織所見	備考・概要	寄生虫の同定
肝臓	1.外側左葉における肝表面への限局性露出(2.5x2cm)を伴う多房状結節(9x7.5x3cm)(断面:黒色胆砂を含む粘 稠性胆汁の蓄積貯留、胆管の拡張(最大φ3cm)、壁の 肥厚(5mm)、吸虫の寄生) 2.尾状葉から外側にかけての多房状軟結節(胆管の拡張、5x4x2cm) 3.被膜下実質における白色巣(断面:内側右葉:φ7mm、φ5mm、方形葉:4x3x3mm)	【胆管壁肥厚部】慢性好酸球性胆管炎・胆管上皮過形成、壊死、好酸球集積・胆管上皮層から胆管壁にかけての好酸球、リンパ球、形質細胞浸潤および肉芽組織-線維性結合組織の増生・胆管周囲実質三つ組周囲における好酸球、リンパ球、形質細胞浸潤およびリンパ濾胞形成 【胆管壁非肥厚部】慢性好酸球性胆管炎・胆管壁におけるリンパ球、形質細胞、好酸球、ヘモシジリン貪食マクロファージの浸潤、線維化・胆管周囲実質におけるリンパ球、形質細胞、好酸球、ヘモシジリン貪食マクロファージの浸潤、細胞脈増生、線 維化 【白色巣】リンパ葉萎縮形成(一部で内部に寄生虫残渣)	肝臓寄生による胆管炎	肝臓



# 下関イノシシ 18-74

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-74	イノシシ	-	2018/11/3	♂	15	80

腹腔内に多数の線虫寄生、肝臓に白色結節



## イノシシ18-74

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-74	イノシシ	下関市	2018/11/3	♂	15	80

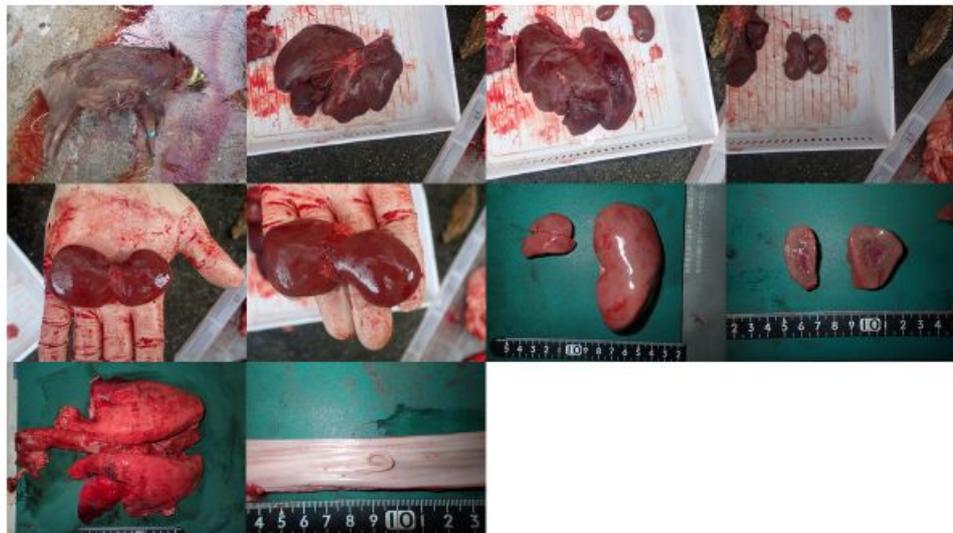
臓器	肉眼所見	組織所見	備考・概要	寄生虫の同定
肝臓	1.外側左葉における肝表面への限局性露出(2.5x1.3cm)を伴う結節(2.5x2.5x1.5cm)(剖面:胆管の拡張(最大φ1.5cm)、壁の肥厚(3mm)、吸血の寄生)、外側右葉における肝表面への限局性露出(2x1.8cm)を伴う結節(2x1.5x1.5cm)(剖面:胆管の拡張(最大φ1.3cm)、壁の肥厚(3mm)、吸血の寄生) 2.外側左葉における軟結節(1x1x1cm) 3.管内大型胆管から総胆管にかけての壁の肥厚(最厚7mm)、左肝管における線虫の充満 4.外側右葉辺縁における限局性な被膜の肥厚(5x5x4mm、φ3mm)	肝臓寄生を伴う慢性好酸球性胆管炎(肝管炎)・胆管上皮の過形成、壊死、胆管上皮から胆管腔における好酸球、リンパ球、形質細胞浸潤、肉芽組織~線維性結合組織の増生・肝実質におけるグリソン鞘の線維性肥厚、限局性好酸球性膿瘍、リンパ装置造形成	肝管内の線虫(胃虫)はホルマリン固定により肝管内から遠い出してきた。	胆管から出てきた線虫:胃虫(Ascarops dentata、雌2、おそらく雄1(破損))



## 下関イノシシ 18-86

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-86	イノシシ	豊北町 神田上	2018/12/1	♀	38	104

異形成腎、食道に線虫の寄生



# イノシシ18-86

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-86	イノシシ	下関市	2018/12/1	♀	38	104

臓器	肉眼所見	組織所見	備考・概要	寄生虫の同定
肺、腎臓	<ol style="list-style-type: none"> <li>左肺前葉前部辺縁における軟結節(φ3mm、断面:結節部から周囲に広がる白色化(6x5mm))、左肺後葉気管支における線虫の寄生</li> <li>片側腎の低形成を疑う(大きい方9.2x5x2.4cm, 59g;小さい方3.8x3x1.4cm, 10gただし腎は切断されていたため正確な比較は不可)</li> <li>食道粘膜面における線虫の寄生</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>気管支/細気管支内肺虫寄生とその付近における細気管支平滑筋の過形成</li> <li>多発巣性程度的好酸球性気管支肺炎</li> <li>限局性の胸腺肥厚と胸腺下実質における間質性肺炎</li> <li>限局性リンパ装置過形成</li> <li>左右腎臓における限局性軽度の非化膿性間質性腎炎</li> <li>横隔膜における住肉胞子虫の寄生</li> </ol>	<p>肺虫の寄生 小さい方の腎臓に組織構造上の異常は認められず、腎低形成が疑われる。</p>	<p>肺:豚肺吸虫類<i>Metastrongylus</i>属(雌2, 内1つは破損) 食道:胃虫類<i>Ascarops</i>属(雌4, 内1つが大きい)一大きい方<i>dentata</i>、小さい方<i>strongylina</i>であろう</p>



# 下関イノシシ 18-97

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長	
18-97	イノシシ	豊北町	神田上	2018/12/15	♂	25	91

## 肝臓に白斑



## イノシシ18-97

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-97	イノシシ	下関市	2018/12/15	♂	25	91

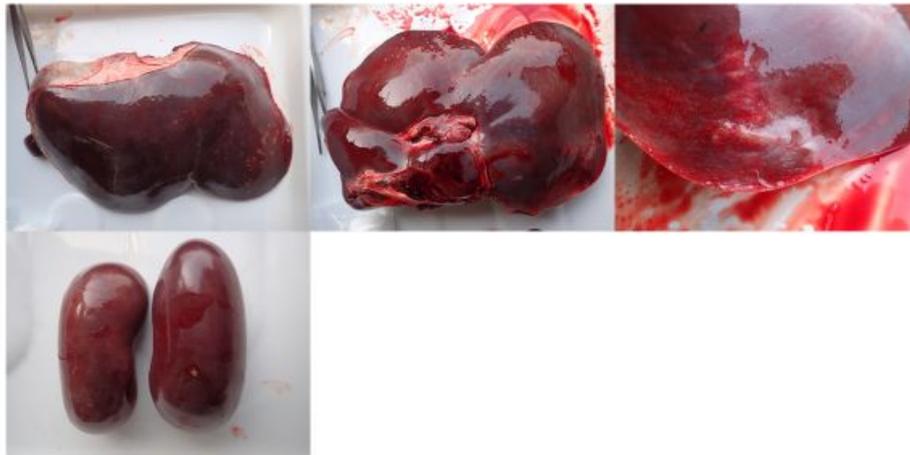
臓器	肉眼所見	組織所見	備考・概要	寄生虫の同定
肝臓	1.後大静脈例を中心とする表面および割面における局所的広範な、境界不明瞭な白斑の多発 2.胆管壁の肥厚と肝経の寄生	肝経寄生を伴う慢性胆管炎・胆管上皮の過形成、リンパ過形成、胆管壁(胆原線 絨毛)の肥厚・実質内におけるリンパ装置過形成・限局性微小好酸球集簇・小葉辺縁性軽度の肝細胞の水腫変性	肝経寄生による胆管炎	-



## 下関シカ 17-154

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
17-154	シカ	-	2018/3/31	♂	50	-

### 肝臓に白色病変



## 下関シカ 18-6

ID	動物種	捕獲地		捕獲日	性別	体重	体長
18-6	シカ	豊北町	田耕	2018/4/21	♀	70	127

腎臓に多発性嚢胞



## 下関シカ 18-38

ID	動物種	捕獲地		捕獲日	性別	体重	体長
18-38	シカ	豊北町	特牛	2018/7/14	♀	30	130

腎嚢胞、副腎腫瘍(?)



## 下関シカ 18-40

ID	動物種	捕獲地		捕獲日	性別	体重	体長
18-40	シカ	豊北町	特牛	2018/7/14	♂	40	140

肝臓に白色病変



## 下関シカ 18-54

ID	動物種	捕獲地		捕獲日	性別	体重	体長
18-54	シカ	豊北町	阿川大浦	2018/9/15	♂	-	131

肝臓に白色病変



## シカ18-59

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-59	シカ	下関市	2018/9/22	♀	40	118

臓器	肉眼所見	組織所見	備考・概要	寄生虫の同定
肺	右肺後葉における歌結節(φ5mm)	・内部に石灰沈着、好酸球、マクロファージ、多核巨細胞の集簇を伴うリンパ装置の過形成、間質および細気管支周囲におけるリンパ球、好酸球浸潤	データシート記載の所見に該当する 病的変化は認められず、死戦期のうっ血や気腫と恐われる。歌結節は寄生虫性病変と考えられる。	-



## シカ18-91

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-91	シカ	下関市	2018/12/1	♀	56.4	121

臓器	肉眼所見	組織所見	備考・概要	寄生虫の同定
肺	左肺後葉門部付近における結節(10x7x5mm)、後葉辺縁における結節2個(1x1x1cm, 7x5x4mm)	限局性好酸球性肺炎・肺胞内における好酸性漿液~線維素凝集物貯留、マクロファージ、好酸球浸潤、間質における線維芽細胞増殖、線維増生、リンパ球、好酸球浸潤・結節部外における多病巣性間質性リンパ球、好酸球浸潤、リンパ濾胞形成	寄生虫性病変と考えられる。	-



# シカ18-99

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-99	シカ	下関市	2018/12/15	♂	50	123

臓器	肉眼所見	組織所見	備考・概要	寄生虫の同定
肝臓	左葉における胆管壁の肥厚および胆管の嚢胞状拡張(肝表面への多病巣性露出、最大2.5x1.8cm)、肝経の寄生	肝経寄生を伴う慢性好酸球性胆管炎・胆管上皮過形成、リンパ濾胞過形成および肉芽組織-線維性結合組織の増生・実質における多病巣性壊死-好酸球、リンパ球浸潤(虫道病変を疑う)	肝経寄生による胆管炎	-



## 下関シカ 18-108

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-108	シカ	-	2018/12/22	♀	-	130

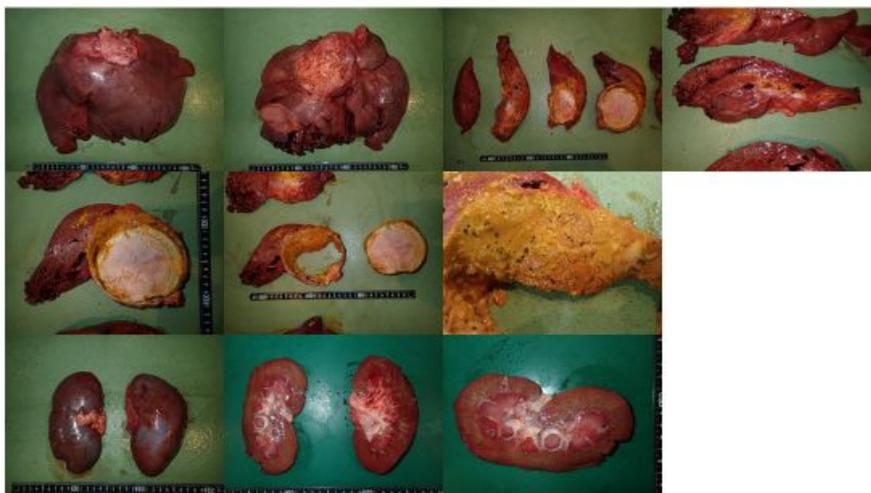
肝臓に白色病変



## 下関シカ 18-117

ID	動物種	捕獲地	捕獲日	性別	体重	体長
18-117	イノシシ	-	2019/2/2	♂	90	146

肝管肝門部の嚢胞状拡張(白桃色乾酪物質の貯留)  
肝蛭の寄生



## 添付資料

### SFTS ELISA プロトコール

<使用する既製品の材料、キット、装置等>

#### [1] ブロッキング剤

- ブロックエース粉末 (DS ファーマバイオメディカル)

上記粉末を 4g/ 100ml で milli-Q 水に溶解する。これを以下ブロックエースと呼称

#### [2] 発色液

- HRP Substrate Kit (Biorad #1721064)

上記の製品を製品付属のプロトコールに従って使用

#### [3] 吸光プレートリーダー

- iMark™ マイクロプレートリーダー (Biorad)

#### [4] 二次抗体として使用する抗体及びそれに類する材料

- Pierce™ Recombinant Protein A/G, Peroxidase Conjugated (Thermo Fisher Scientific 32490)

<使用する Buffer>

#### [1] ELISA Coating Buffer

1. 以下の組成で試薬を混合

NaHCO<sub>3</sub> 2.856 g

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1.696 g

Milli-Q500 ml

2. 121 ℃、15 分でオートクレーブ
3. 4 ℃ で保存

#### [2] ELISA Blocking buffer

1. 等倍の PBS- を作製、121 ℃、15 分でオートクレーブ
2. 1. で作製した溶液に 1/3 量のブロックエースを添加、混合

#### [3] ELISA Washing buffer

以下の組成で試薬を混合

10xPBS- 100 ml

Milli-Q 900 ml

Tween-20 0.5 ml

#### [4] ELISA Dilution buffer

1. 等倍の PBS- を作製、121 ℃、15 分でオートクレーブ
2. 1. で作製した PBS- に 1/2000 量の Tween-20 を添加、混合
3. 2. で作製した溶液に 1/9 量のブロックエースを添加、混合

#### [5] 発色停止液

- 2% シュウ酸溶液を作製、121 ℃、15 分でオートクレーブ

<手順>

[1] 抗原のコーティング

1. 抗原は感染研から分与して頂きました SFTSV HB29 感染 HuH-7 細胞 溶解抗原を使用 mock 対照として HuH-7 細胞溶解抗原を使用
2. Coating Buffer で抗原を 5  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  に希釈し、100  $\mu\text{l}/\text{well}$  でプレートにアプライ
3. プレートをシールした後、37 $^{\circ}\text{C}$ 、2 時間インキュベート
4. 4 $^{\circ}\text{C}$  に保存

[2] ブロッキング

1. 抗原希釈液を除去
2. 200  $\mu\text{l}/\text{well}$  で Blocking buffer を添加
3. 37 $^{\circ}\text{C}$ 、30 分インキュベート

[3] 一次抗体の添加

1. Blocking buffer を除去、Washing buffer で 3 回 well を洗淨
2. 血清、血漿材料を Dilution buffer を希釈 (通常の SFTS 検査では 100 倍希釈)
3. 2. で作製した希釈液を 100  $\mu\text{l}/\text{well}$  でアプライ
4. 37 $^{\circ}\text{C}$ 、30 分インキュベート

[4] 二次抗体の添加

1. 血清・血漿希釈液を除去、Washing buffer で 3 回 well を洗淨
2. 二次抗体を希釈 (使用する抗体については材料において記載)
3. 2. で作製した希釈液を 100  $\mu\text{l}/\text{well}$  でアプライ
4. 37 $^{\circ}\text{C}$ 、30 分インキュベート

[5] 発色

1. 二次抗体希釈液を除去、Washing buffer で 3 回 well を洗淨
2. HRP Substrate Kit A 液と B 液を 9:1 の割合で混合
3. 2. で作製した混合液を 100  $\mu\text{l}/\text{well}$  でアプライ
4. マイクロプレートミキサーで攪拌しながら室温で 30 分インキュベート

[6] 発色の停止、測定

1. 発色停止液を 100  $\mu\text{l}/\text{well}$  で添加、数十秒攪拌
2. 415nm の波長で吸光度を測定
3. 感染細胞抗原の吸光度から mock 対照の吸光度を引いた値が 0.5 を上回ったとき、陽性と判定する

平成 30 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

野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究

「細菌汚染の実態調査」

研究協力者 安藤匡子（鹿児島大学共同獣医学部病態予防獣医学講座）

**研究要旨** 狩猟される野性シカ、イノシシにはマダニなど吸血性の外部寄生虫が認められ、マダニはヒトに病原性を示すコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌を含む多数の病原体を保有する。マダニに刺咬された動物はヒト病原体のレゼルボアとなる可能性がある。そこで、シカ、イノシシにおけるこれら細菌の保有状況を調査した。コクシエラ科およびリケッチア科細菌は検出されなかった。アナプラズマ科細菌は、シカ 12 頭およびイノシシ 6 頭から検出された。検出されたアナプラズマ科細菌遺伝子は、ヒトや家畜の病原アナプラズマに近縁のものがあり、国内では未報告の種もあった。更に、イノシシ及びシカにおける異常所見に関するデータも収集した。

#### A. 研究目的

コクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌は、マダニおよび野生動物が保有することが知られているが、国内の大型動物についての情報は少ない。ヒトが野生動物肉の喫食による可能性は不明である。しかし、狩猟動物の取り扱い過程において動物に付着していたマダニに吸着されたり、解体時に血液などと接触することにより暴露する可能性が考えられる。そこで、マダニが保有するコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌がシカ、イノシシに感染しているからかにかすることを目的とした。

#### B. 研究方法

##### 1) 検査臓器資料

山口県および鹿児島県より狩猟および有害鳥獣として捕獲されたシカ 43 頭、イノシシ 40 頭、アナグマ 35 頭から脾臓を回収した。脾臓は Sucrose-phosphate-glutamate 液で乳剤化し、一部から DNA を抽出した。

##### 2) コクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の遺伝子検出と種の同定

種特異的遺伝子を標的としたプライマーを用い、リアルタイム PCR でスクリーニング検出し、nested PCR にて検出確認した。PCR 産物はダイレクタシーケンスにより塩基配列を決定し、BLAST 検索、各細菌種の代表株との系統解析を行った。

##### 4) 野生獣における異常所見の収集

鹿児島県で捕獲されるシカ、アナグマに関して、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、岡林先生に病理所見を見ていただいた。

#### C. 研究結果

1) コクシエラ科およびリケッチア科細菌は検出されなかった（表 1）。

2) アナプラズマ科細菌は、シカ 12 頭（27.9%）、イノシシ 6 頭（12.5%）、アナグマ 10 頭（28.6%）から遺伝子が検出された（表 1）。

3) 得られた PCR 産物から、シカ由来 6 株、イノシシ由来 5 株、アナグマ由来 9 株の塩基配列が得られた。イノシシ由来 2 株、シカ・イノシシ・アナグマ由来各 1 株、アナグマ由来 6 株は、塩基配列がそれぞれ 100% 一致した。

4) 検出した *groEL* 遺伝子の BLAST 検索結果（表 2）。2 株が病原性が明らかな菌種と高い相同性を示した。イノシシ由来 1 株が *Ehrlichia ruminantium* と 95%、アナグマ由来 1 株が *Anaplasma phagocytophilum* と 96% の相同性であった。病原性は不明であるが、シカ由来 1 株が *Candidatus Ehrlichia shimanensis* と 100%、アナグマ由来 1 株が *Candidatus Ehrlichia khabarensis* と 94% の相同性であった。

5) アナプラズマ科細菌代表株との系統解析(groEL 遺伝子、230bp)の結果(図1)、7つのクレードに分かれた。国内で検出報告のないクレードに含まれる株、マダニからのみ検出されヒト・動物への感染性が不明なクレードに含まれる株があった。

#### D. 考察

1) *Anaplasma phagocytophilum* は、ヒト顆粒球性アナプラズマ症の起原菌であり、国内でも患者が報告されており、国内野生動物(シカ、イノシシ)からの遺伝子検出報告がある。海外では主にシカがレズルボアであるとされているが、日本ではシカ以外の動物もレズルボアになっている可能性が示された。

2) しかし、*A. phagocytophilum* と最も高い相同性であった株から得られた遺伝子配列は短かった(230bp)。アナプラズマ科細菌は、菌種間の相同性が高いことが知られており、今回得られた株を *A. phagocytophilum* と判断するにはさらなる検証が必要である。

3) 日本国内では未検出のアナプラズマ科細菌が検出され、多様なアナプラズマ科細菌が潜在することが示された。

4) マダニからのみ検出されていたアナプラズマ科細菌が動物から検出され、それらは哺乳動物への感染性を持つことが示唆された。

5) 検出されたアナプラズマ科細菌について、種を決定するために、他の遺伝子を確認する必要がある。

#### E. 結論

1) シカ、イノシシ、アナグマがアナプラズマ科細菌を保有することが示された。

2) ヒトに病原性がある *A. phagocytophilum* に近縁の株がアナグマから検出された。

3) ヒトがマダニ媒介感染症の起原細菌にベクターを介さずに感染するか不明であるが、野生動物が病原体を保有することが明らかになったことから取り扱う際には注意が必要である。

4) 遺伝子検出されたアナプラズマ科細菌が、哺乳動物に感染し病原性を有するか、検討する必要がある。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Sato H, Murai H, Ishida S, Fujita H, Andoh M, Ando S. Three human cases of tick bite associated with spotted fever group *Rickettsia* in Akita Prefecture, the northern part of Honshu, Japan. *Med Entomol Zool.* 69(2):49-54. 2018.

2) Yada Y, Talactac RM, Kusakisako K, Hernandez PE, Galay LR, Andoh M, Fujisaki K, Tanaka T. Hemolymph defensin from the hard tick *Haemaphysalis longicornis* attacks Gram-positive bacteria. *J Invertebrate Pathology.* 156:14-18. 2018

##### 2. 学会発表

1) 中村昂紀、米満研三、高野愛、前田健、安藤匡子「野生動物におけるコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の検出」第161回日本獣医学会学術集会(茨城:つくば国際会議場)2018年9月11日.

2) 中村昂紀、安藤匡子「野生動物からのコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の遺伝子検出」第25回リケッチア研究会(東京:国立感染症研究所), 2018年12月14日.

3) 池田智行、中村昂紀、安藤匡子「*Candidatus Neorhlichia mikurensis* 分離の試み」第25回リケッチア研究会(東京:国立感染症研究所), 2018年12月14日.

##### 3. 講演会

1) 安藤匡子「食べた〜い!〜食欲が起こす人獣共通感染症〜」平成30年度岡山県獣医師会公衆衛生講習会,(岡山:ピュアリティまきび),平成31年2月1日.

2) 安藤匡子「マダニ媒介性ズーノーシス」鹿児島小動物臨床フォーラム 2019年大会,鹿児島(鹿児島大学),平成31年2月3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

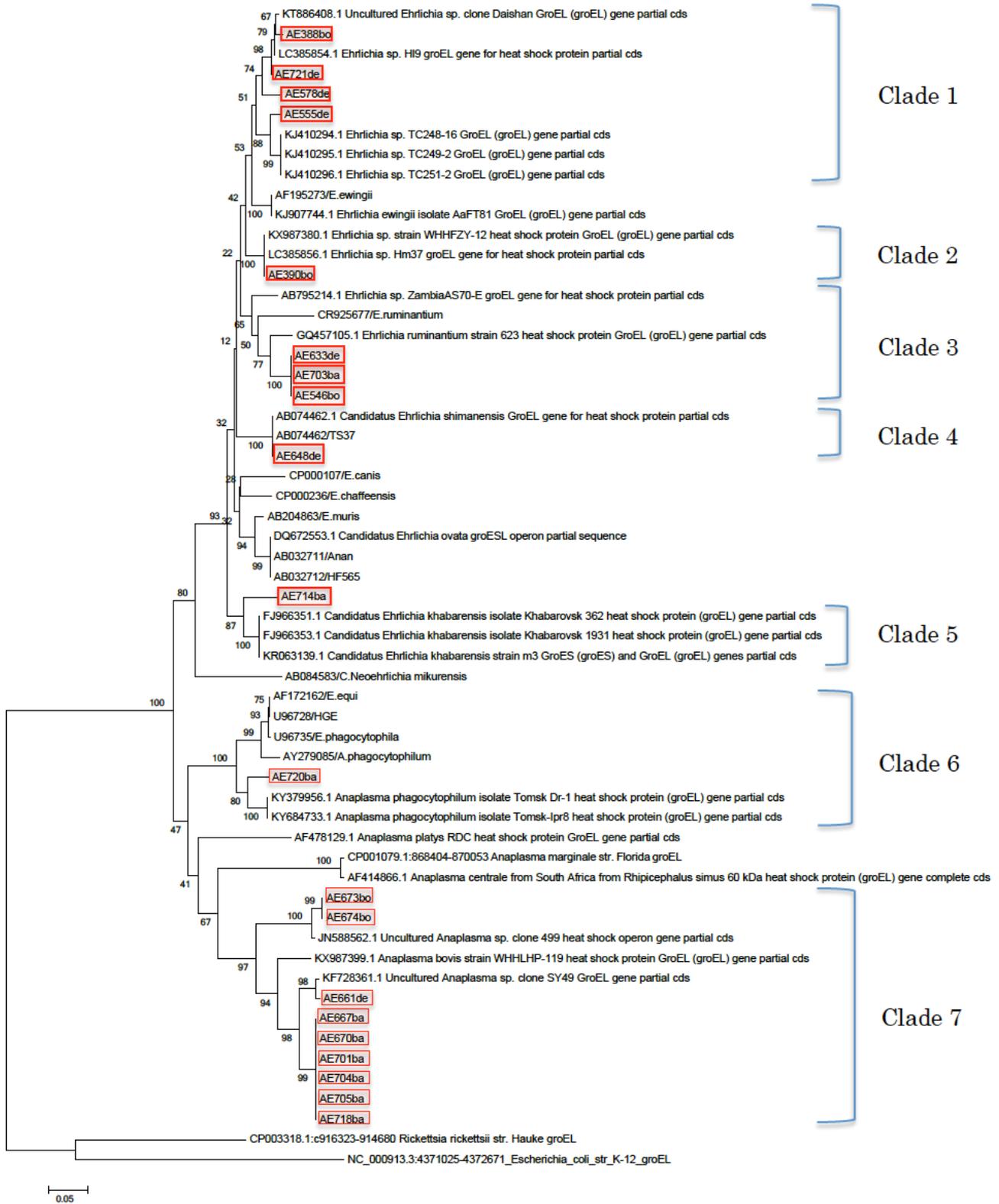
表 1 . 野生動物からのマダニ媒介性感染症起因細菌の遺伝子検出。

科	コクシエラ科	アナプラズマ科	リケッチア科	
種	<i>C. burnetii</i>	<i>Anaplasma</i> 属/ <i>Ehrlichia</i> 属	<i>Rickettsia</i> 属	<i>O. tsutsugamushi</i>
遺伝子	<i>com1</i>	<i>groEL</i>	<i>gltA</i>	47kDa
シカ	0	12/43 (27.9%)	0	0
イノシシ	0	6/40 (12.5%)	0	0
アナグマ	0	10/35 (28.6%)	0	0
合計	0	28/118 (23.7%)	0	0

表 2 . 検出した *groEL* 遺伝子の BLAST 検索結果。

	株数	各株の相同性の最も高い配列	相同率 (%)
シカ	1	<i>Candidatus Ehrlichia shimanensis</i>	100%
	1	<i>Anaplasma</i> sp.	99%
	4	<i>Ehrlichia</i> sp.	94 ~ 99%
		病原性不明	
イノシシ	1	<i>Ehrlichia ruminantium</i>	95%
	2	<i>Anaplasma</i> sp.	99%
	2	<i>Ehrlichia</i> sp.	99 ~ 100%
		牛の水心嚢	
		ヒト・動物のアナプラズマ症	
アナグマ	1	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	95%
	1	<i>Candidatus Ehrlichia khabarensis</i>	95%
	6	<i>Anaplasma</i> sp.	96%
	1	<i>Ehrlichia</i> sp.	94%
		病原性不明	

図1.シカ、イノシシ、アナグマ由来アナプラズマ科細菌 *groEL* 遺伝子 (230bp) 系統樹。





平成 30 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

野生鳥獣の異常の確認方法等に関する研究

研究協力者 岡林佐知（株式会社新薬リサーチセンター）

### 研究要旨

鹿児島大学安藤匡子先生より提供して頂いた鹿児島県のヤクシカ 7 例、アナグマ 1 例のホルマリン固定材料を病理組織学的に検索した。ヤクシカでも筋系組織に住肉包子虫のシストを認め、アナグマ 1 例の横隔膜にも住肉包子虫のシストが観察された。肝臓や肺での炎症病巣は好酸球浸潤や多核巨細胞を伴っていることが多く、一部では虫体も認めたことから、寄生虫感染による結果と推察された。肝臓や筋肉では解剖時に出血斑や血腫を伴っていたが、いずれも組織学的な炎症性変化を欠き、死戦期の循環障害等による影響と考えられた。

### A. 研究目的

国内解体処理施設で得られたシカやイノシシ、その他食用に供される野生動物（アナグマ等）の各諸臓器について病理検査を行い、異常の有無および病原体保有状況の確認を行う。これらの疫学的根拠に基づき、狩猟者や解体処理業者向けの分かりやすいカラーアトラスの充実を図る。

### B. 研究方法

鹿児島県屋久島（鹿児島県熊毛郡屋久町）のヤクシカ 7 頭、鹿児島県阿久根市のアナグマ 1 頭の計 8 頭の横隔膜・心臓・肺・肝臓・腎臓・脾臓・骨格筋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。

### C. 研究結果

組織検索したサンプルの肉眼所見及び主訴を Table1 に、病理組織検査結果を Table2 に示した。採材側の肉眼所見・主訴としては、肝臓や脾臓、

肺での白斑や結節などが多く、肝臓での出血斑という所見も多く認められた。これらを病理組織学的に検索した際の組織画像を、肉眼所見と照らし合わせながら、Figure1～10 にまとめた。

アナグマは 1 例だけであったが、肝臓に寄生虫の子虫と思われる虫体を含む、好酸球性の膿瘍が観察され、肺ではマクロファージの小集簇巣が散見されたが、明らかな病原体は確認されなかった。横隔膜では住肉包子虫のシストが 10 か所で観察された。

シカでは 5 例中 2 例の横隔膜、1 例中 1 例の心筋、1 例中 1 例の下肢筋肉、1 例中 1 例の胸骨筋肉に住肉包子虫のシストが確認されたが、精肉時に採取された腓腹筋と大腿筋各 1 例ずつに、住肉包子虫のシストは観察されなかった。また、腓腹筋と大腿筋に観察された小血腫は、筋層間質へと広がる急性の出血巣であり、病巣は認められなかった。4 例中 2 例の肺に好酸球浸潤を伴った肺炎病巣が限局性に認められた。肝臓で確認された白斑の一部は脂肪組織の過形成であった。出血斑を認めた 4 例の肝臓は、いずれも急性の出血巣であり、死戦期の循環障害による影響と考えられた。脾臓では 4 例中 2 例で白色結節が認められ、白脾髄側から被膜側へ波及した炎症巣が慢性化したこ

とによる線維化病変であった。

#### **D. 考察**

ヤクシカ7頭、アナグマ1頭の筋肉・臓器について病理検索を行った結果、ヤクシカ7頭中5頭とアナグマの筋肉に住肉胞子虫のシストが観察され、これまでに報告したニホンジカやアナグマでの成績と同様に汚染されていることが明らかとなった。また、臓器や筋肉での出血斑については、狩猟時や死戦期に生じることも多いため、感染症での出血傾向との鑑別について今後検討していく必要がある。

#### **E. 結論**

今年度は屋久島でのヤクシカの病原体汚染について調査を行った。ニホンジカと同様に住肉胞子虫の感染が確認されたが、検体数としてはまだ少ないため、引き続き調査を継続できればと思う。病理用サンプルや病態写真については、日本全国の処理業者に引き続き協力を仰ぎ、解体処理業者・利用者向けのカラーアトラス作成のため、様々な写真を収集していく予定である。

#### **F. 健康危機情報**

なし

#### **G. 研究発表**

なし

#### **H. 知的財産権の出願・登録状況**

##### **1. 特許取得**

なし

##### **2. 実用新案登録**

なし

【Table.1: 肉眼所見および主訴】

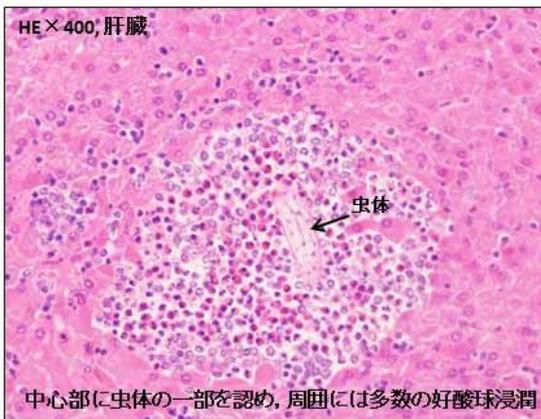
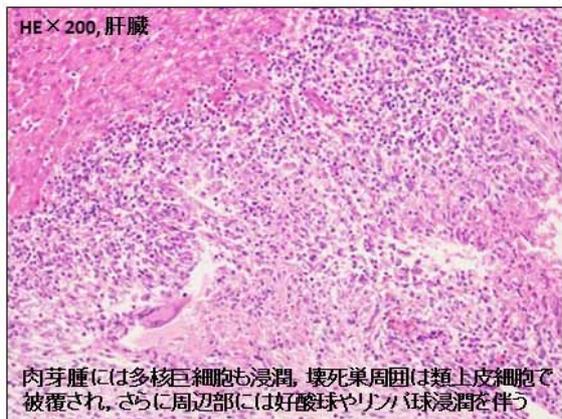
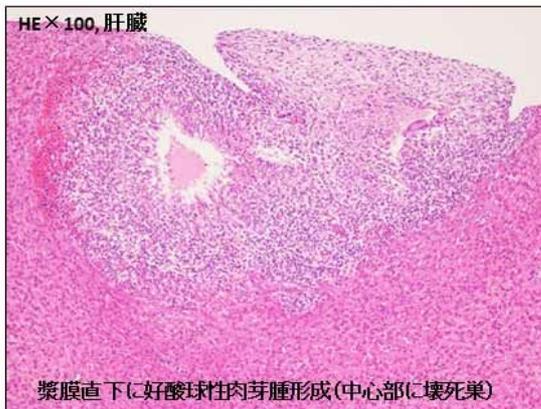
個体番号	採材日	動物種	性別	肉眼所見および主訴
#792	2017/12/15	ヤクシカ	メス	所見無し
#796	2018/7/20	アナグマ	オス	肝臓に白斑散在
#829	2018/12/14	ヤクシカ	メス	肝臓辺縁部に白色部あり
#833	2019/1/17	ヤクシカ	オス	肝臓に点状出血あり, 脾臓漿膜面に白色斑あり, 肺気腫病変あり
#834	2019/1/18	ヤクシカ	オス	肝臓に点状出血あり, 肺に気腫や結節?
#835	2019/1/18	ヤクシカ	メス	肝臓に出血斑散在, 脾臓漿膜面に白色斑散在
#836	2019/1/18	ヤクシカ	メス	肉眼所見無し
#837	2019/1/18	ヤクシカ	不明	精肉時に小血腫が散見されたため採材

【Table.2: 病理組織所見】

個体番号	採材日	動物種	性別	病理組織所見																
				横隔膜	心	肺	肝臓	脾臓	腎臓	下肢筋	胸背の筋	腓腹筋	大腿筋							
#792	2017/12/15	ヤクシカ	メス	著変無し																
#796	2018/7/20	アナグマ	オス	住肉包虫のシストを10か所で見	左心室筋層の心血管周囲に限局的リンパ球浸潤あり	小血管壁や周囲にマクロファージやリンパ球浸潤を伴った肉芽組織が増生, 小結節状を呈して散見され, 一部に切灰沈着も認め	漿膜直下の肝実質に好酸球性肉芽腫形成(中心部に壊死巣を認め, 多核巨細胞浸潤, 周囲は類上皮細胞で被覆され, さらに周辺部には好酸球やリンパ球浸潤を伴う). 好酸球性膿瘍の中心部に虫体の一部を認める. 一部のグリソン鞘には軽度のリンパ球浸潤.	著変無し	著変無し	著変無し										
#829	2018/12/14	ヤクシカ	メス				組織片先端部の漿膜面に脂肪組織の結節性過形成を認める													
#833	2019/1/17	ヤクシカ	オス	著変無し		著変無し	漿膜下に急性の出血巣が散在	被膜の限局的線維性肥厚あり.			住肉包虫のシスト1カ所									
#834	2019/1/18	ヤクシカ	オス	著変無し		一部の漿膜下に限局して, 肺胞内には好酸球とマクロファージが多数浸潤し, 多核巨細胞も観察され, 肺胞腔内には好酸性水腫液の貯留や出血を伴い, 肺胞壁の破壊を軽度で認める. 正常部との境界にはリンパ球や好酸球浸潤巣が広がる.	漿膜下に急性の出血巣が散在	著変無し			住肉包虫のシスト3カ所									
#835	2019/1/18	ヤクシカ	メス	住肉包虫のシスト2カ所	住肉包虫のシスト11カ所	著変無し	漿膜下に急性の出血巣が散在	白脾髄から被膜側へ炎症が波及し, リンパ球やマクロファージ浸潤を伴った結合組織の増生により結節状に被膜側へ隆起, 一部に褐色異物を貪食する多核巨細胞も観察される. 所々に線維性結合組織による被膜肥厚部が散見される.												
#836	2019/1/18	ヤクシカ	メス	住肉包虫のシスト2カ所		好酸性水腫液の貯留や出血を伴った限局的炎症病変形成. 特に正常部との境界を中心にリンパ球と好酸球浸潤が著しい.	漿膜下に急性の出血巣が散在	著変無し												
#837	2019/1/18	ヤクシカ	不明															筋層間質に急性出血巣	筋層間質に急性出血巣	

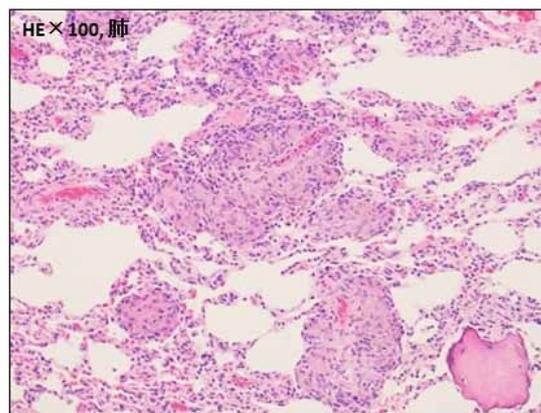
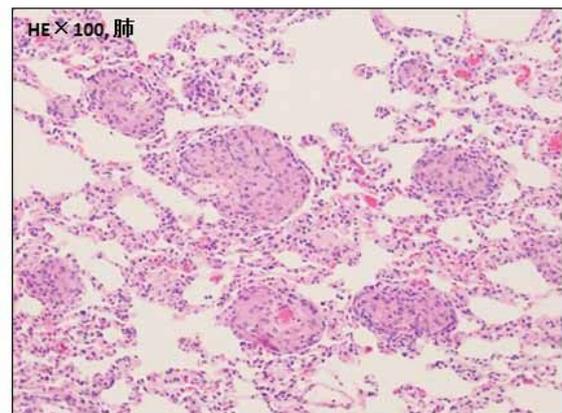
【Figure 1】

#796 アナグマ, オス

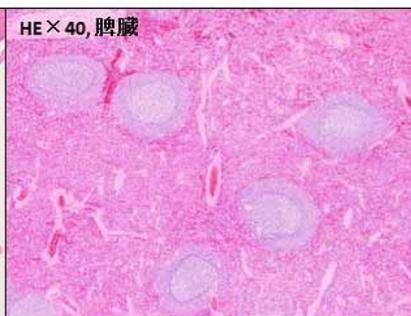
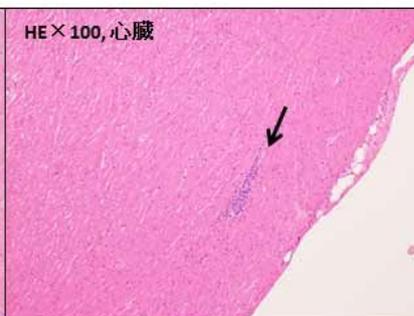


【Figure 2】

#796 アナグマ, オス



小血管壁や周囲にマクロファージやリンパ球浸潤を伴った肉芽組織が増生, 結節状を呈し散見され, 一部に切灰沈着も認める



住肉包子虫のシストを10か所で散見

左心室筋層の小血管周囲にリンパ球浸潤巣

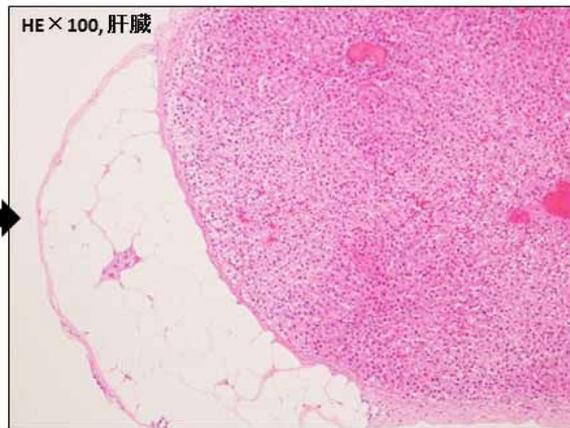
異常所見無し

【Figure 3】

#829 ヤクシカ, メス, 肝臓



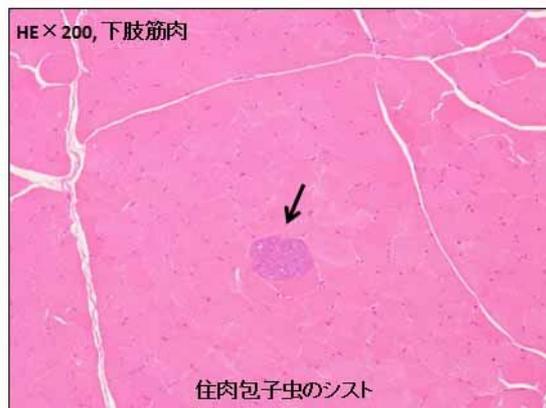
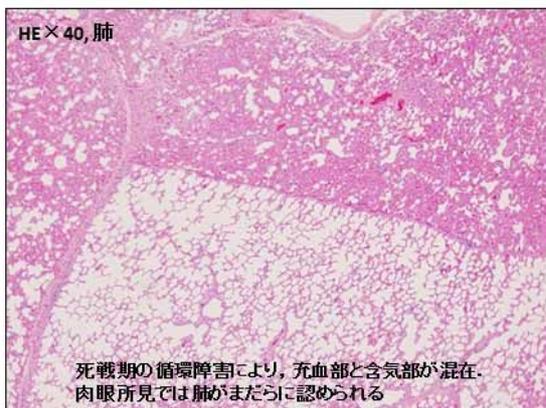
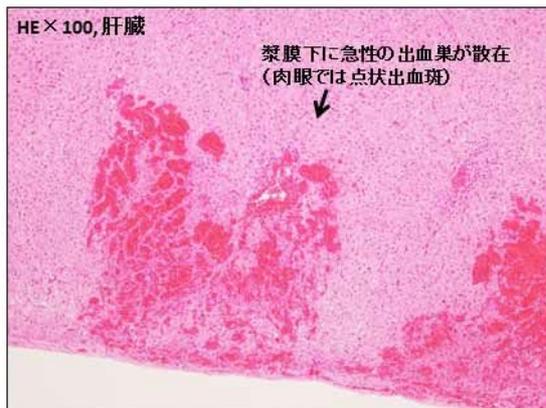
肝臓辺縁部に白色病巣あり



組織片先端部の漿膜面に脂肪組織の結節状過形成

【Figure 4】

#833 ヤクシカ, オス

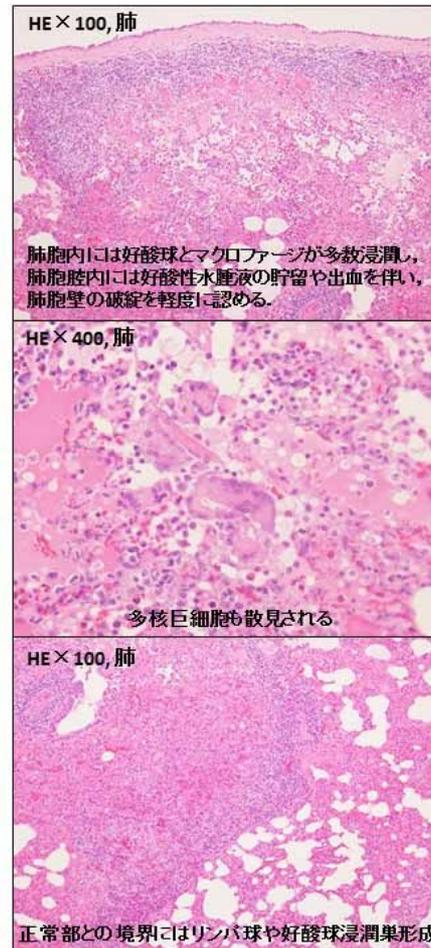


【Figure 5】

#834 ヤクシカ, オス, 肺



肺の所々に小結節散在, 葉辺縁部に気腫

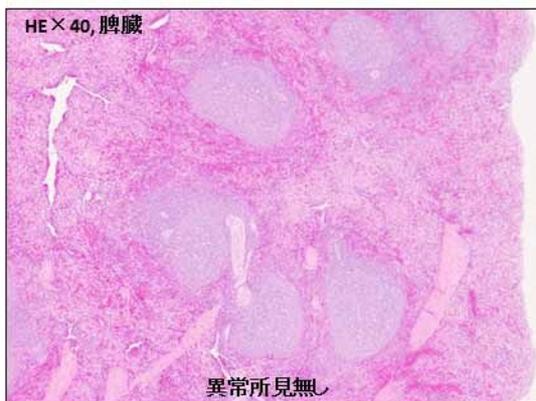
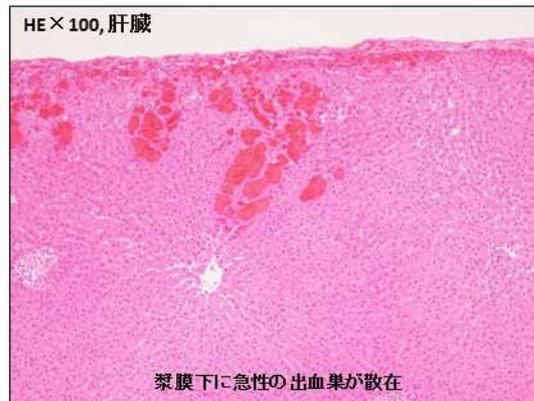


【Figure 6】

#834 ヤクシカ, オス

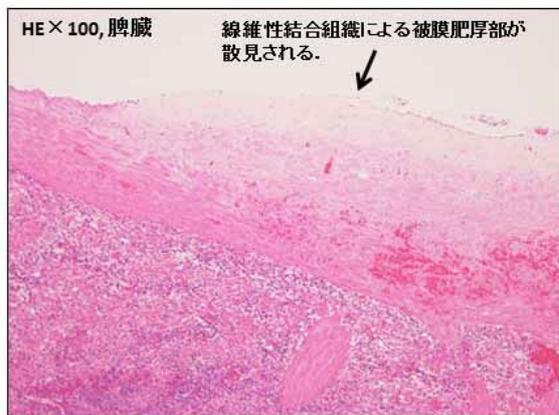
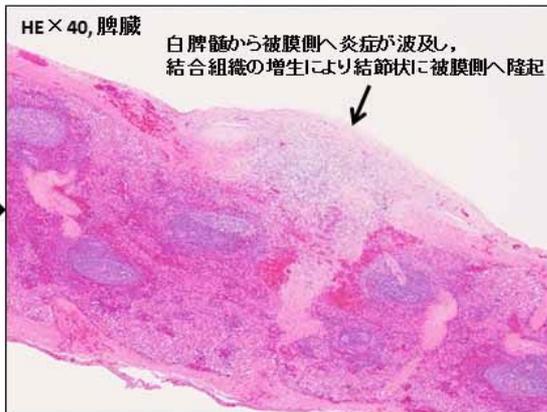
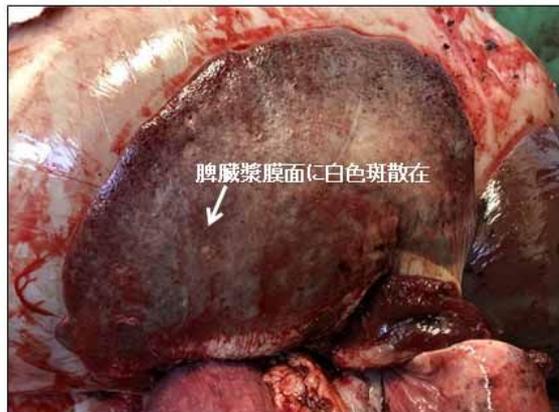


肝臓に点状出血あり



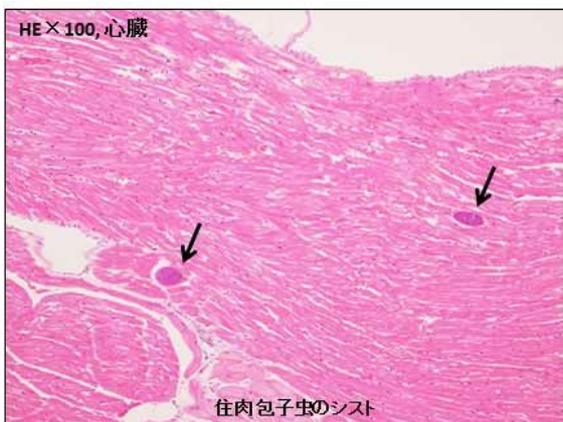
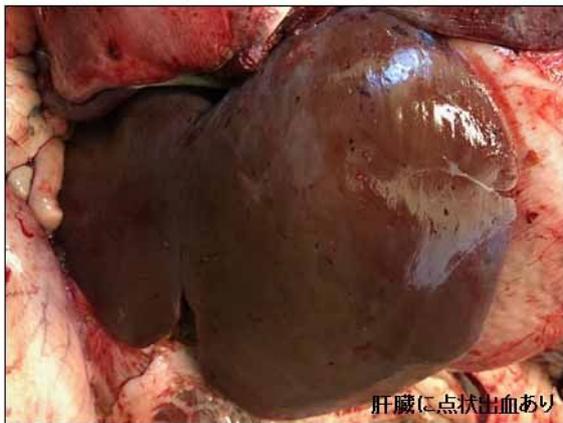
【Figure 7】

#835 ヤクシカ, オス



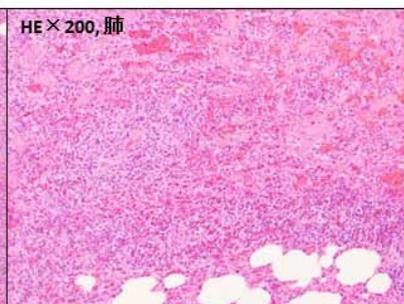
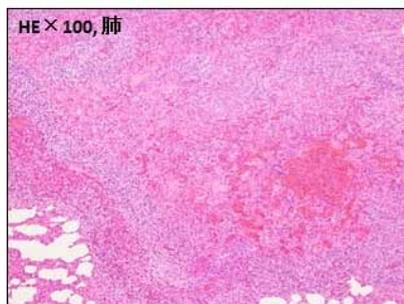
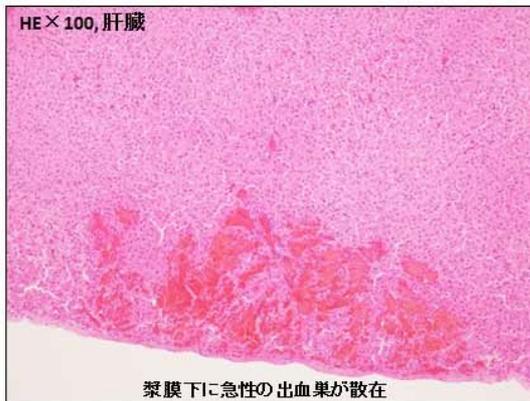
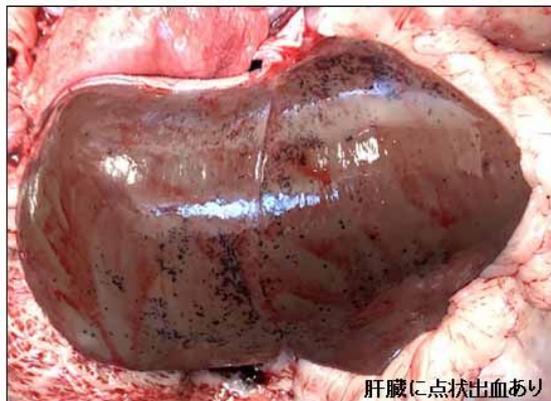
【Figure 8】

#835 ヤクシカ, オス



【Figure 9】

#836 ヤクシカ, オス



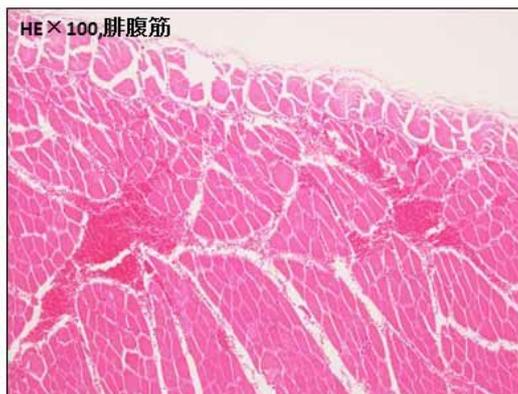
好酸性水腫液の貯留や出血を伴った限局性の炎症病変形成。

正常部との境界を中心にリンパ球と好酸球浸潤が著しい。

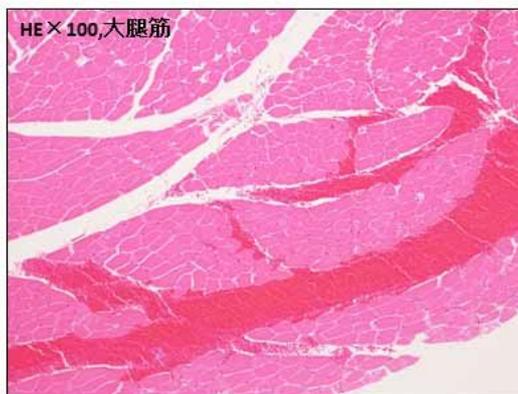
住肉包虫のシスト

【Figure 10】

#837 ヤクシカ, 精肉時に小血腫



筋層間質に急性出血巣が広がる



筋層間質に急性出血巣が広がる

平成 30 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

サルコシスティスとの鑑別が必要なヘパトゾーン属原虫の研究

分担研究者 杉山 広（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獣医寄生虫学研究室）

**研究要旨** ニホンイノシシに寄生するヘパトゾーン属原虫に関する調査を実施した。白血球内にガメトサイトを、また筋肉内にメロントを見出し、後者について病理組織標本上におけるサルコシスト（サルコシスティスのシスト）との形態学的相違点を明らかにした。徳島県のイノシシでは 181 頭中 96 頭（53%）から原虫遺伝子が検出された。原虫遺伝子が検出された個体は若獣以降（95 頭）であり、胎盤感染ではなく、出生後の発育途中に感染したものと示唆された。原虫遺伝子陽性個体（n=5）の白血球寄生率は 0.2%であった。ベクターとしてマダニ類が疑われたが、特定には至らなかった。

## A. 研究目的

ヘパトゾーン属原虫はアピコンプレックス門コクシジウム亜綱アデリア目に属する原虫である。マダニ類がベクターとなり、哺乳類では主に食肉目動物の血液や組織から検出されるが、偶蹄類に寄生する種の記載はなかった。我々はジビエとして流通するイノシシ肉におけるサルコシスティス属原虫調査の過程で、新規のヘパトゾーン属原虫を認め、偶蹄類寄生種として *Hepatozoon apri* Yamamoto & Tokiwa *et al.*, 2017 を新種記載した。今回、本種の形態的特徴や生物学的特徴を詳細に知ることを目的に、研究調査を行った。

## B. 研究方法

### 1) 野生動物検体

徳島食検の協力を得て、県内で狩猟および有害鳥獣として捕獲されたイノシシ由来の筋肉、血液、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、およびニホンジカ筋肉を用いた。病理組織観察として、同上の筋肉および岐阜県のイノシシの筋肉パラフィンブロック標本を用いた。

### 3) 系統解析

18S rDNA (18S) の部分配列 1007 bp を解読し、系統解析に用いた。

### 2) 感染状況調査

本種を特異的に検出する semi nested PCR 法を開発し、筋肉を検体として感染状況を調べた。

### 3) マダニ類における感染調査

岐阜県で捕獲イノシシに付着していたマダニを回収した。形態学観察により種および発育段階を同定後、生理食塩水中で解剖し、実態顕微鏡下で血体腔内のオーシストおよびザイゴートの検出を試みた。

## C. 研究結果

### 1) イノシシ体内での寄生様式の解明

ガメトサイト（ガモント）（表 1）

血液内では白血球に寄生するガメトサイトが観察された。ガメトサイトは楕円形、大きさ約 11.6 x 6.7  $\mu\text{m}$ 、細胞質は無色、類円形の核が偏在し、雌雄の鑑別はできなかった。寄生白血球は好中球と思われた。バフフィーコート塗抹染色標本における顆粒球寄生率は 0.2%であった。

メロント（シゾント）およびメロゾイト（図 2）

病理組織観察では、筋肉内にメロントを認めた。メロントは寄生体胞様の内部に位置し、辺縁は不明瞭で、類円形から楕円形（直径 26.5 ~ 37.5  $\mu\text{m}$ ）泡状の細胞質を備えていた。メロゾイトの配置や染色性に差があり、濃染して偏在するもの（図

2b、c) と、小形で寄生細胞全体に分布するもの (図 2d) が観察された。

## 2) 系統解析 (図 3)

タイのイノシシ寄生カクダニ属 (*Dermacentor astrosignatus*) 由来の未記載種とともに単系統群を形成し、食肉動物よりなるクレード内に位置した。

## 3) イノシシおよびニホンジカにおける感染状況 (表 2)

イノシシでは 181 頭中 96 頭 (53%) が陽性で、感染率は若獣 推定 6 か月齢未満、1/11 頭、9.1%) と比べ若獣以降 (95/170 頭、55.9%) で優位に高かった ( $P < 0.05$ )。ニホンジカは 113 頭全て陰性であった。

## 4) マダニ類の調査 (表 3)

イノシシ 6 頭に由来するマダニ類 1,027 匹を分離・同定し、93 匹を検索したところ、オオトゲチマダニ (雌、飽血) の血体腔からオーシスト様構造物が検出された。当該 DNA を抽出後、特異的 semi nested PCR 法を行ったが、遺伝子増幅は認められなかった。

## D. 考察

今回の調査で *Hepatozoon apri* は、徳島県のイノシシに広く感染していた。他の地域においても、イノシシにおいて高い感染率を持つ可能性がある。分子系統解析の結果から、本種はイノシシ固有種である可能性が示唆された。最も近縁なタイのイノシシ由来虫体との間で、遺伝子配列において若干の変異が見られた。このことから、食肉動物寄生の種を起源とし、イノシシの祖先動物に寄生した種が、わが国で独自に分化を遂げたのかも知れない。

本虫は、若獣以降の個体において、寄生率がより高かった。このような結果から、本種は垂直感染しないか、垂直感染してもその頻度は低いと考えられた。なお、犬寄生種 *H. canis* では、垂直感染の発生が知られている。

今回、食肉部に観察されたメロントは、病理組織標本においても壁が薄く、内部のメロゾイトなどの形態学特徴からも、サルコシストと区別ができた。しかしながら、メロントには多型性があり、肉眼所見や発育段階の詳細は不明であることから、サルコシストとの鑑別には注意を要すると考えられた。

近縁種の *H. americanum* では、感染マダニ体内のオーシストを経口的に摂取したウサギやげっ歯類を待機宿主とし、病変を形成することが知ら

れている。ヒトがマダニ類を経口摂取する機会は少ないことから、本種オーシストによるヒトへの感染リスクは、あまり高くないと想定される。しかし可食部のメロントおよびメロゾイトのヒトへの感染性は不明であり、今後注意が必要である。

ベクター特定の試みとして、マダニからの原虫検出を試みたが、オーシストの検出は容易でなく、従ってベクターの同定には至っていない。本虫の生活環の全容を明らかにすることも、今後の重要な検討課題である。

## E. 結論

*Hepatozoon apri* は本邦の多くのイノシシに感染している可能性がある。可食部の筋肉にも寄生することから、簡易的なメロントおよびメロゾイトの検出法や、サルコシスティスとの正確な鑑別法の確立が急務である。

## F. 健康危機情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kubota R, Matsubara K, Tamukai K, Ike K, Tokiwa T. Molecular and histopathological features of *Cryptosporidium ubiquitum* infection in imported chinchillas in Japan. *Parasitology International*. 2019. 68: 9-13.
2. Tokiwa T, Ohnuki A, Kubota R, Tamukai K, Ike K. Morphological and molecular characterization of *Cystoisospora* from Asian small-clawed otters. *International Journal for Parasitology PAW*. 2018. 7: 268-273.
3. Ito A, Eckardt W, Stoinski TS, Gillespie TR, Tokiwa T. Three new *Troglodytella* and a new *Goriloflasca* ciliates from mountain gorillas in Rwanda. *European Journal of Protistology*. 2018. 65: 42-56.
4. Taira K, Nakamura S, Tokiwa T, Une Y. Larva migrans of *Baylisascaris potosis* in experimental animals. *Journal of Parasitology*. 2018. 104: 424-428.
5. Ito A, Tokiwa T. Infraciliature of *Opisthotrichum janus*, *Epidinium ecaudatum*, and *Ophryoscolex purkynjei*. *European Journal of Protistology*. 2018. 62: 1-10.
6. Tokiwa T, Kobayashi T, Ike K, Morishima Y, Sugiyama H. Detection of anisakid larvae in marinated mackerel sushi in Tokyo, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2018. 71: 88-89.

7. 猪又明日香、村越稔泰、齊藤健、上杉晶、大関桂子、阿部久司、町田章生、村中幹宏、常盤俊大、井上智. 新潟県における動物由来感染症サーベイランス体制の整備に向けた取り組み. 獣医畜産新報. 2018. 71: 270-272.
8. 井上智、常盤俊大、森嶋康之. 動物由来感染症(知っておきたい感染動物等への侵淫と医療と協働した健康危害防止). 2018. 2061: 17-21.

## 2. 学会発表

1. 常盤俊大、山本瑞希、飛梅三喜、赤松茂、松尾加代子、森部絢嗣、池和憲. ニホンイノシシに寄生する住血原虫の1新種 *Hepatozoon apri* (Apicomplexa: Adeleorina). 第87回日本寄生虫学会. 2018年.

## 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

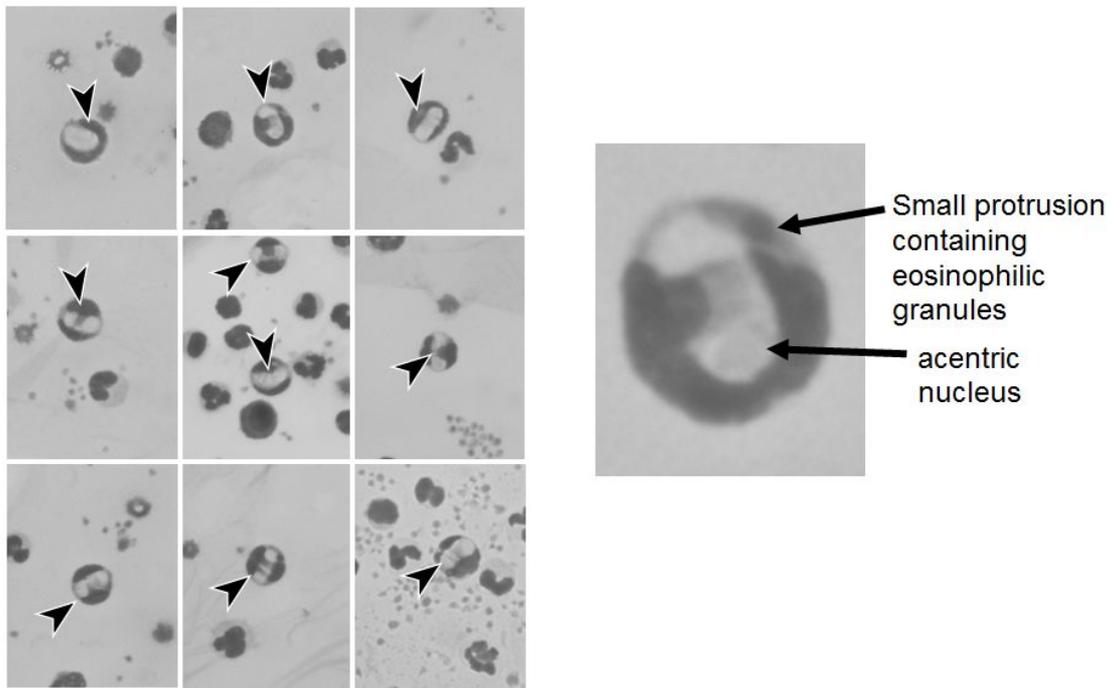


図 1. 血液塗抹標本上に観察されたガメトサイト (矢頭). ディフクイック染色

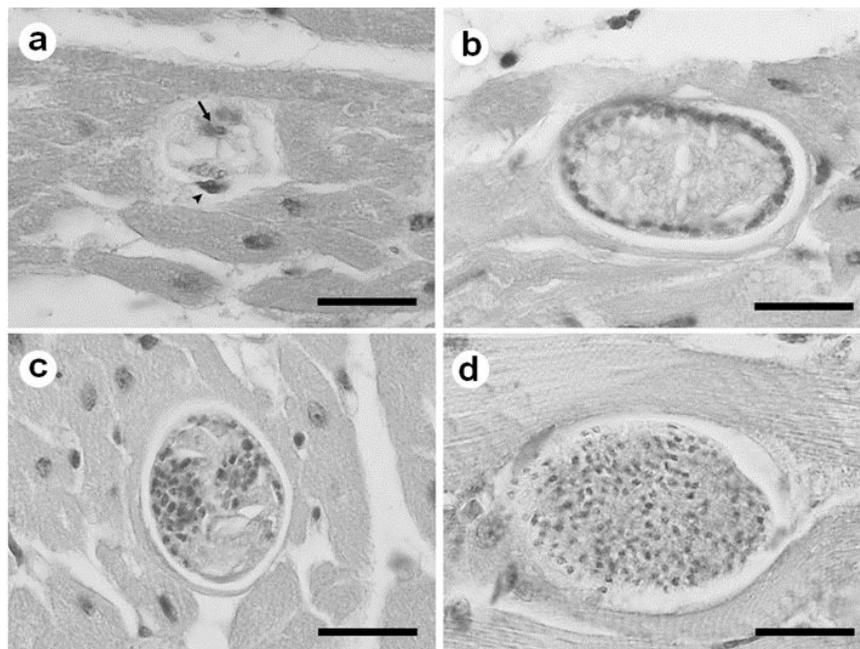


図 2. 筋肉病理組織標本 (HE 染色). (a) 栄養型と思われる虫体 . (b) メロント。寄生体内部にあり、細胞膜は不明瞭で、辺縁に多数の濃染されたメロゾイトが観察される。(c) メロント。内部は泡沫状で、大型のメロゾイトが偏在する。(d) メロント。小型のメロゾイトがメロント内部に広く分布する。

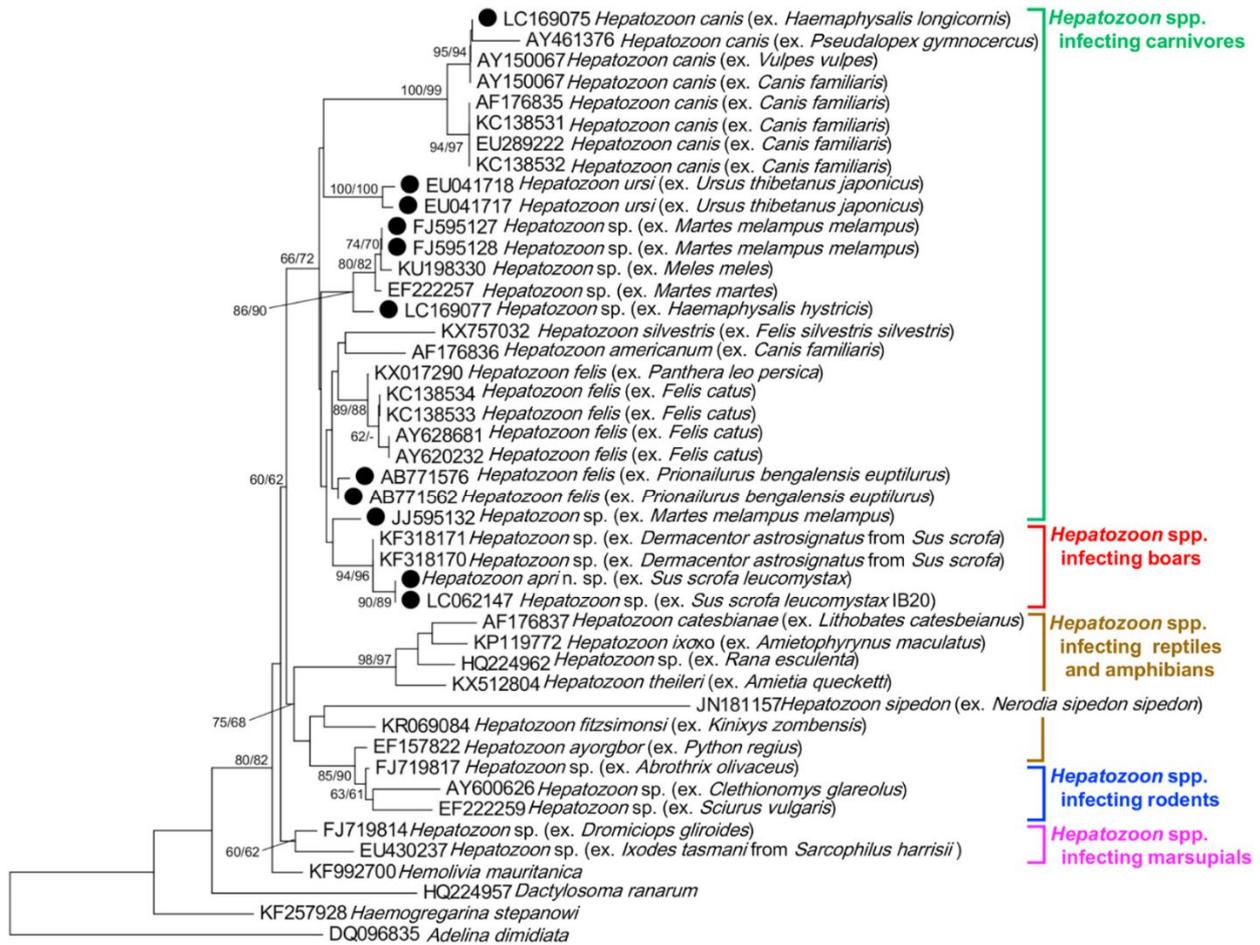


図 3. *Hepatozoon apri* および近縁種の 18S 配列に基づく遺伝子系統樹。

徳島および岐阜 (LC062147) のイノシシ由来配列は同一で、タイのマダニ由来配列 (KF318170、KF318171) とともに食肉動物由来 *Hepatozoon* 種からなるクレード内に位置した。

表 1. ガメトサイトの血球寄生率

宿主番号	寄生数 / 顆粒球数	寄生率 (%)
1	7 / 3,003	0.23
2	12 / 3,081	0.39
3	1 / 3,060	0.03
4	4 / 3,092	0.13
平均		0.20

表 2. ニホンイノシシおよびニホンジカの大腿部筋肉を用いた *H. apri* 遺伝子検出

	Japanese boars (n=181)				Sika deer (n=113)
	Juvenile		Young or older		
	Male	Female	Male	Female	
Positive	0 (0%)	1 (0.6%)	49 (27.1%)	46 (25.4%)	0 (0%)
Negative	8 (4.4%)	2 (1.1%)	36 (19.9%)	39 (21.5%)	113 (100%)
Total	8	3	85	85	113

表 3. ニホンイノシシおよびニホンジカの大腿部筋肉に寄生するダニからの *H. apri* 遺伝子の検出

検索した ダニの種類	発育期 (性)	宿主番号						計
		1	2	3	4	5	6	
タイワンカクマダニ	成 ( )	0	0	0	0	1 (1*)	0	1
オオトゲチマダニ	成 ( )	40 (26)	41 (13)	31 (3)	2	6 (3)	4 (4)	124
	成 ( )	79 (20)	39 (3)	115 (2)	5	18	10 (7)	266
	若	136 (1)	113	121 (2)	6	2	2	380
	幼	0	7	1	0	0	0	8
キチマダニ	成 ( )	28 (5)	7	12	6	3	0	56
	成 ( )	47 (3)	16	44	8	1	0	116
	若	37	13	11	5	0	0	66
	幼	8	2	0	0	0	0	10
計		375 (55)	238 (16)	335 (7)	32	31 (4)	16 (11)	1027 (93)

括弧：解剖後に実体顕微鏡観察済みの個体

アスタリスク：オーシスト様構造物が検出された個体

平成 30 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）

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

研究分担者 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

**研究要旨：**わが国で発生したクマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因 *Trichinella* T9 を用いて、本虫の高温耐性を予備的に検討した。食中毒の発生防止のために、厚労省が野生鳥獣肉の加熱に求める条件（75℃で1分以上）と同等とされる65℃・15分で旋毛虫幼虫を処理したところ、マウスへの感染性が完全に消失した。

**A. 研究目的**

クマ肉を原因食品とする旋毛虫の集団食中毒事例が2016年末に発生した直後、厚労省は全国の自治体に速やかに事務連絡を發出し、野生鳥獣肉の提供・喫食に当たっては十分な加熱を行うように指導した（中心温度75℃で1分以上の加熱など、生食監発1223第1号・2016年12月23日）。しかし2018年5月に北海道において、同じくクマ肉の喫食を原因とした旋毛虫食中毒の集団事例が発生した。この二つの集団食中毒事例では、喫食前のクマ肉に加熱が施されていた。たとえば2016年の事例では、オープンでクマ肉（表面）を220～250℃・2～3分間加熱し、さらにアルミホイルに包んで5～10分蒸らしたが、この加熱後のクマ肉喫食者の中からも、患者が発生した。そこで本研究では、旋毛虫による食中毒の発生防止に有効な加熱条件を予備的に検討した。

**B. 研究方法**

当研究室では旋毛虫 *Trichinella* T9 をマウス(ddY系 雄)で実験室内継体している。本検討では、感染後約1年を経過したマウスを剖検し、その筋肉をペプシン塩酸液で人工消化して、本虫の幼虫を回収した。得られた幼虫は500隻ずつ生食水(0.5 mL)と共に、PCR用のチューブ(Thin-wall, 0.6 mL)に入れ、ウォーターバスに浸漬して加熱処理した(65℃、15分間)。加熱処理後のチューブは氷水(0℃)に浸漬して急速に冷却し、マウス(ddY系, 雄, 4頭)へ経口投与した。マウスは投与後64日に剖検し、全身の骨格筋・横隔膜・舌を一括して、ペプシン塩酸液で人工消化し、虫体回収を試み

た。加熱処理を行わない未処理の旋毛虫幼虫を用いた感染試験も併せて実施し、加熱による感染予防の効果を検証した。

**C. 研究結果**

(1) 加熱処理群(65℃、15分間)  
 虫体は全く検出されなかった(表1)。

(2) 非加熱処理群(陽性対照群)  
 旋毛虫幼虫は総てのマウス(4頭)から検出され、検出虫体数は1頭あたり平均12,050 ± 4,234隻であった(表1)。

表1. 加熱処理した旋毛虫 *Trichinella* T9 のマウスにおける感染性

群 <sup>a</sup>	幼虫処理		検出虫体数 <sup>b</sup> (1頭平均 ± SD)
	温度 (℃)	時間 (分)	
1	65	15	0
2	NH <sup>c</sup>		12,050 ± 4,234

a 各群のマウスは4頭(ddY系・雄・5週齢)  
 b 投与後64日に剖検し、全身の骨格筋等をペプシン塩酸液で人工消化して虫体検出  
 c NH (not heated):非加熱

**D. 考察**

野生鳥獣肉の提供・喫食にあたっては、中心部の温度が75℃で1分以上、十分に加熱して喫食することと「野生鳥獣肉の生成管理に関する指針(ガイドライン、厚労省)」に記述されている。クマ肉を原因食品とする旋毛虫の集団食中毒事例(2016年末)の

発生直後に、厚労省から全国の自治体に発信された事務連絡でも、この加熱条件またはこれと同等以上の効力を有する方法により、野生鳥獣肉は十分加熱して喫食すること、指示されている（生食監発 1223 第 1 号・2016 年 12 月 23 日）。さらに厚労省の「食肉の加熱条件に関する Q & A」で、<https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/000365043.pdf>

すなわち「75、1 分」と同等な加熱殺菌の条件としては、「70、3 分」、「69、4 分」、「68、5 分」、「67、8 分」、「66、11 分」、「65、15 分」が妥当とされている。その上で、調理の現場においては、中心温度計の適切な使用により、食肉の中心部の温度が目標とする温度を下回らないことを確認し、確実な加熱殺菌が行われるようにする必要があると注記されている。

今回は、これらの情報を参考として、調理の現場で好まれる「長時間だがより低い温度」の条件である 65、15 分を選び、その加熱条件が、わが国固有種の旋毛虫 *Trichinella* T9 の殺滅に有効か否か、予備的に検討した。その結果、65、15 分の加熱で旋毛虫は感染性を完全に消失し、試験マウスからの虫体回収は全く認められなかった。今後は厚労省が示した上述の各温度条件と処理時間で、旋毛虫の感染性が確実に死滅するのか、検討を加えたいと考えている。

旋毛虫は一般的に低温耐性が高いことが

知られており、種別表徴（表現型）として分類や同定にも活用されてきた。一方、高温耐性に関しては、逆に知見に乏しいように思われる。特に各幼虫に及ぶ加熱の温度と時間を定めた検討、あるいは中心温度を確実に測定する実験系での検討が乏しい。最近発生した旋毛虫食中毒の 2 事例では、喫食前のクマ肉に加熱が施されていたが、患者の発生を認めた。わが国固有の旋毛虫 T9 による食中毒が今後発生せぬように、感染の防止に資する加熱条件を、詳細に検討する必要があると考えられた。

#### E. 結論

わが国で発生したクマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因 *Trichinella* T9 を用いて、本虫の高温耐性を検討した。厚労省が野生鳥獣肉の加熱に求める 75 で 1 分以上と同等とされる 65・15 分で旋毛虫幼虫を処理したところ、マウスへの感染性が完全に消失した。

#### 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

## 北海道で発生したクマ肉喫食が原因の旋毛虫食中毒に関する寄生虫学的研究

研究分担者 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

**研究要旨：**北海道において、クマ肉の喫食を契機に発疹や筋肉痛等の症状が発現した集団事例が、2018年5月に発生した（喫食者4名、患者3名）。患者が喫食したクマ肉の一部を検査したところ、旋毛虫の *Trichinella* T9 が検出され、原因が明らかとなった。クマ肉の喫食による旋毛虫による集団食中毒事例は、2016年末にも茨城県で発生しており、発生予防に関する啓発活動を継続的に展開する必要がある。

### A. 研究目的

旋毛虫 *Trichinella spiralis* およびその近縁種（以下、まとめて旋毛虫とする）は、極めて重要な人獣共通の食品媒介寄生蠕虫であると、欧米各国において認識されている。特に豚肉あるいは馬肉の喫食を原因とした人体症例が、欧米では数多く報告されてきた。しかし本邦では、屠畜検査が必須の豚あるいは馬の肉を喫食して発症した確実な旋毛虫感染の事例は、報告がない。これに替えてクマ肉を介した集団感染事例が、1974年から1981年にかけて合計3度、発生している。さらに2016年12月にも、同じくクマ肉を原因食品とする旋毛虫の集団食中毒事例が発生した（摂食者は31名、発症者は21名）。2016年末の事例発生を受けて厚労省は、全国の自治体に速やかに事務連絡を発出し、関係事業者・消費者に対して、野生鳥獣肉の提供・喫食に当たっては十分な加熱を行うように指導した（生食監発1223第1号・2016年12月23日）。しかし、2018年5月に北海道において、またもやクマ肉の喫食を契機とした旋毛虫食中毒の集団事例が発生した。患者が喫食したクマ肉の一部が冷凍保存されており、その一部が国立感染症研究所寄生動物部に提供された。集団事例の原因究明の一環として、このクマ肉を検査し、寄生虫学的検討を加えた。

### B. 研究方法

2018年5月に北海道で狩猟されたヒグマ1頭に由来する肉の喫食を原因とした集団

事例があり、患者が喫食したクマ肉の一部（約0.5kg、家庭用冷凍庫にて保存）が、主治医を介して、寄生虫学的な確定検査を目的に、国立感染症研究所寄生動物部に提供された（事例発生から約2か月後）。この肉を細切した後、ペプシン塩酸液で短時間、人工消化して、顕微鏡下に旋毛虫幼虫の検出を試みた。得られた虫体は常法によりDNAを調製した後、リボソームDNA・ITS領域を標的としたユニバーサルプライマー（NC5およびNC2）でPCR増幅し、増幅産物を用いたシーケンシングを行って種同定した。

### C. 研究結果

検査したクマ肉の筋肉から旋毛虫の幼虫が検出された。虫体は筋肉内に被囊し、一部あるいは全部が脱囊していた（図1および2）。脱囊して検出された虫体の体長は平均約1mmで、頭部側・食道部には、中央部に核を持つ極めて横長の方形の細胞（ステイコサイト）が、縦列して連続配置するステイコソームという構造が認められた。このような検出虫体の形態学的特徴と虫体の寄生部位（クマの筋肉）から、検出虫体を旋毛虫と判定した。遺伝子配列の解読結果も旋毛虫を裏付け、虫種はその中の *Trichinella* T9 と同定された。

### D. 考察

今回の検討の結果、本事例（2018年5月発生）は、2016年12月に茨城県で発生したクマ肉の喫食による集団食中毒事例と同じく、原因が旋毛虫であると明らかになり、

虫種はその中の *Trichinella* T9 であった。旋毛虫は一般的に低温耐性が高く、例えば *Trichinella native* は、-18℃ の冷凍で5年間も感染性を保って生存することが知られている。このような虫種と比較すると、今回の事例の原因となった *Trichinella* T9 は冷凍耐性がやや低く、-18℃ の冷凍で感染性が維持されるのは約1か月と報告されている(それ以降は死滅する)。今回我々がクマ肉から検出した虫体も、検査に供するまでの2か月弱の期間、家庭用冷凍庫で保存されていた。この間の冷凍により、虫体は運動性も消失して、死滅したものと考えられた。その結果、検出虫体を用いた動物感染試験などは実施できなかった。

本事例の患者のうち、2名(第1例および第2例)は同居しており、ハンターから譲渡されたクマ肉を1週間程度冷蔵保存した後、自宅にてローストして喫食、約3週後に発症した。主な症状は発熱に続く全身の発疹、そして発咳・筋肉痛で、対症療法を施されていたが、好酸球増多をきっかけに寄生蠕虫感染を疑った主治医が食歴を問い、クマ肉の喫食歴が判明、抗体検査の結果から旋毛虫感染と診断された。駆虫剤としてアルベンダゾールが投与され、いずれも完治に至った。また第3例(第2例の母)は、同一のクマ肉を揚げてカツにして喫食し、同様の症状を発現したが、数日で症状が消失したことから、駆虫剤投与は受けていない。第4例(第3例の夫)も同一のクマ肉をカツで喫食したが、症状発現もなく、受診していない。このように本食中毒事例は、親族4名が同じクマ肉を喫食し、その内の3名が発症したという集団事例であった。

今回の事例では、いずれもクマ肉を加熱後に喫食している。しかし旋毛虫を完全に

殺滅する条件の加熱が不足していたと思われる。患者の中には、発症しながら駆虫剤投与を受けず、自然治癒した症例が含まれる。従って、クマ肉の喫食による旋毛虫の感染でも、旋毛虫幼虫の摂取数により、軽症に留まる事例の存在が示唆された。一方で、クマの筋肉における幼虫数が多い場合、あるいはクマ肉の喫食量が多い場合は、多数の旋毛虫幼虫を摂取して、重症例となる危険性がある。加熱が旋毛虫食中毒の確実な予防法であることから、クマ肉を含む野生鳥獣肉を喫食する場合は、十分な加熱(75℃で1分以上)が必要である。これを周知するような発生予防の啓発活動を、継続する必要があると考えられた。

#### E. 結論

2018年5月に北海道で発生したクマ肉喫食による集団食中毒事例について、患者が喫食した肉の一部を検査し、原因を旋毛虫 *Trichinella spiralis* の近縁種 *Trichinella* T9 であると明らかにした。クマ肉を喫食する場合は、十分に加熱することを内容に含めた発生予防の啓発活動に、継続的に取り組む必要がある。

#### 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

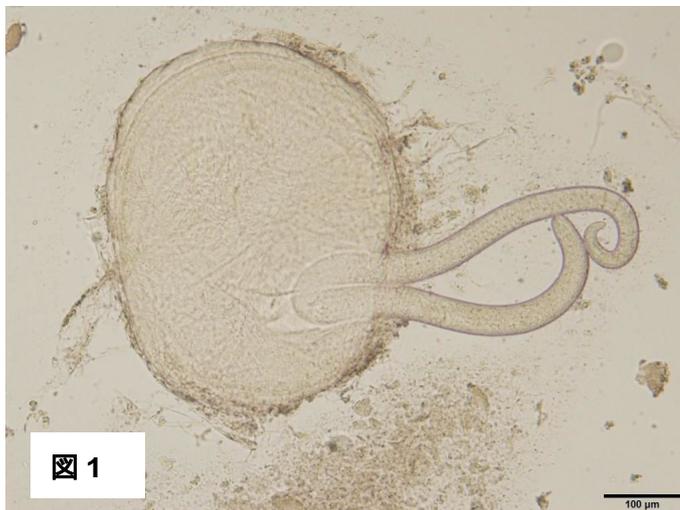
#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

1. 特許取得; 2. 実用新案登録
- なし

図1．筋肉内の被囊から脱出しつつある旋毛虫幼虫

図2．脱囊した旋毛虫幼虫

検体を人工消化法により検査したところ、筋肉内の嚢胞から脱出しつつある旋毛虫幼虫（図1）および筋肉から脱囊した旋毛虫幼虫（図2）が回収された。虫体の頭部側・食道部には、中央部に核を持つ極めて横長の方形の細胞（スティコサイト、矢印）が、縦列して連続配置するスティコソームという構造が認められた。





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

わが国の野生鳥獣肉処理施設における微生物汚染防止に関する研究

研究分担者	壁谷 英則 (日本大学生物資源科学部獣医学科)
研究協力者	河副 基彦 (岡山県美作市経済部森林政策課)
研究協力者	坂口 貴志 (鳥取県生活環境部くらしの安心局くらしの安心推進課)
研究協力者	門木 淳子 (鳥取県中部総合事務所 生活環境局生活安全課)
研究協力者	蔵原 正秀、伊藤 絵里子 (大分県農林水産部森との共生推進室)
研究協力者	森田 聡志、加藤 愛理、山原 絹子 (日本大学生物資源科学部 獣医学科)

研究要旨

平成 30 年度は、わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された猪枝肉の枝肉拭き取り調査を実施した。併せて、検体採取において同時に得られた鹿枝肉についても検討した。さらに、枝肉の衛生状態に影響を与える特徴的な処理工程における要因について検討した。わが国の野生鳥獣肉処理施設 7 施設で処理された、猪枝肉計 36 検体、鹿枝肉 9 検体について、洗浄前、および洗浄後において、それぞれ胸部、および肛門周囲部から拭き取りを実施し、一般細菌数、大腸菌数、大腸菌群数、および黄色ブドウ球菌数を計測した。さらに、各施設で実施している解体処理工程のうち、剥皮と内臓摘出の作業順、剥皮時のと体の配置(のせ台、あるいは懸吊)、ならびに剥皮方法(ウインチの使用、あるいは手剥ぎ)の違いに着目し、各枝肉の汚染指標細菌数を比較した。その結果、1) 本研究で対象とした野生鳥獣肉処理施設で処理された猪枝肉は、家畜(豚)と比べても同程度の衛生状態であること、2) 「剥皮」と「内臓摘出」の作業順別、あるいは剥皮時に「ウインチ」を用いる場合と、「手剥ぎ」による場合では、枝肉の衛生状況に大きな差は認められなかったこと、3) 猪を剥皮する際に、「のせ台」を用いた場合には、懸吊する場合に比べ、糞便汚染指標細菌や黄色ブドウ球菌が多く検出される傾向にあったこと、を明らかとした。

A. 研究目的

近年、わが国では鹿や猪の個体数増加や分布域拡大への対策から、鹿や猪の捕獲が推進されている。近年、捕獲された鹿や猪を食用に活用する試みが進められている。厚生労働省は「野生鳥獣肉の衛生管理に関するガイドライン」を策定し、衛生管理の徹底を務めることを推進している。具体的な作業手順を示すた

めの化学的データの蓄積が求められている。

これまでに我々は、平成 27 - 29 年度本研究事業(野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究)において、主に鹿枝肉検体について検討を進め、鹿枝肉の一般細菌数の平均値は、胸部で  $3.0 \times 10^2$  個/cm<sup>2</sup>、肛門周囲部で  $4.0 \times 10^2$  個/cm<sup>2</sup> であり、いずれも、「平成 25 年度と畜場における枝肉の微生物汚染実態

調査(厚生労働省)」における牛の平均値;胸部で $2.8 \times 10^2$ 個/cm<sup>2</sup>、肛門周囲部で $1.6 \times 10^2$ 個/cm<sup>2</sup>と比べ、高い値となったこと、剥皮と内臓摘出の工程順別に洗浄前の一般細菌数を比較した結果、鹿枝肉では大きな差は認められなかったこと、等を明らかとしている。

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様であるが、それぞれの処理施設で処理された枝肉について、比較検討する研究はほとんど行われておらず、各処理施設で実施されている諸条件が枝肉の衛生状態に関わる要因についての解析が必要である。

以上のことから、平成30年度は、これまでに拭き取り検査を実施した検体数が少ない猪を中心に採材を行い、わが国の野生鳥獣肉処理施設において処理された猪肉や鹿肉の拭き取り検体を用いて、衛生指標細菌(一般細菌、大腸菌、大腸菌群、ならびに黄色ブドウ球菌)数を計測して衛生状態を評価した。さらに、異なる条件で解体処理された枝肉の衛生状態に関わる要因を検討した。

## B. 研究方法

2018年10月～2019年2月の間に、わが国の野生鳥獣肉処理施設(猪6施設、鹿4施設)で処理された、猪枝肉計36検体、鹿枝肉9検体について、枝肉の洗浄前後において、それぞれ胸部、および肛門周囲部(洗浄前後で左右別に採取)から拭き取りを実施した。対象とした施設における、「剥皮」と「内臓摘出」の作業順、剥皮方法、食道結紮/肛門結紮の有無、皮膚洗浄方法、枝肉洗浄方法について、表1に示す。

各検体について、「枝肉の微生物検査実施

要領(平成26年度)」(厚生労働省)に従い、各衛生指標細菌数を計測した。すなわち、各拭き取り材料から10倍階段希釈液を調整した。各検体の1ml量を、各条件につき2枚のペトリフィルム(ACプレート:一般細菌数用, ECプレート:大腸菌・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。

各衛生指標細菌数の比較には、Anderson-Darling検定による正規性の検定を行った後、Mann-Whitney U検定により行った。

## C. 研究結果

本研究で対象とした施設(猪6施設、鹿4施設)では、それぞれ内臓摘出と剥皮の順番が異なるものであった(表1)。猪では、6施設中5施設で、「内臓摘出」→「剥皮」の順で作業していたが、1施設は「剥皮」→「内臓摘出」の順であった。これに対して、鹿の処理では、それぞれの順番で実施している施設が2施設ずつであった。

猪では、剥皮時のと体は、のせ台を使用する施設(2施設)と懸吊している施設(4施設)があったが、鹿は全て懸吊していた。また、剥皮方法は、鹿では、ウィンチによる牽引と手剥ぎが同数(各2施設)であったが、猪施設では、1施設を除き、全て手剥ぎであった。

全体として、洗浄前→洗浄後の順に、猪枝肉胸部;同肛門周囲部における一般細菌数の中央値は、 $1.7 \times 10^0$ cfu/cm<sup>2</sup> -  $6.8 \times 10^0$ cfu/cm<sup>2</sup>;  $5.1 \times 10^0$ cfu/cm<sup>2</sup> -  $7.7 \times 10^0$ cfu/cm<sup>2</sup>であった(表2, 3)。大腸菌数、大腸菌群数いずれも検出限界未満(ud)であった。黄色ブドウ球菌数は、

$2.0 \times 10^{-1} \text{cfu/cm}^2$  ud ;  $3.0 \times 10^{-1} \text{cfu/cm}^2$   
 $1.0 \times 10^{-1} \text{cfu/cm}^2$ であった。鹿枝肉では、洗浄前→洗浄後の順に、胸部;同肛門周囲部における一般細菌数の中央値は、 $4.3 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$   
 $3.6 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$ ;  $5.7 \times 10^2 \text{cfu/cm}^2$   $1.2 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$ であった(表4,5)。大腸菌数、大腸菌群数、黄色ブドウ球菌数いずれも検出限界未満(ud)であった。

一般細菌数の中央値を処理施設別に比較したところ、猪の処理では、施設Dにおいては、胸部 ( $2.5 \times 10^2 \text{cfu/cm}^2$ )、肛門周囲部 ( $4.2 \times 10^2 \text{cfu/cm}^2$ )と、いずれも他の施設に比べ、有意( $p < 0.01$ )に高値となった(表6)。一方、施設Eで処理された枝肉の肛門周囲部(ud)は、他の施設に比べ、有意( $p < 0.01$ )に低値となった。一方、鹿の処理では、各施設間に有意な差は認められなかった。

剥皮と内臓摘出の作業順別に枝肉洗浄前の各衛生指標細菌数の胸部、肛門周囲部の値を含めた中央値を比較した結果、一般細菌数、大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌の順に、

「剥皮 内臓摘出」では、それぞれ  $7.1 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$ , ud, ud, udであった(表7)。「内臓摘出 剥皮」では、それぞれ  $2.4 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$ , ud, ud,  $3.0 \times 10^{-1} \text{cfu/cm}^2$ であった。黄色ブドウ球菌数は、「剥皮 内臓摘出」に比べ、「内臓摘出 剥皮」において、有意( $p < 0.05$ )に高値を示した。一方、鹿では、「剥皮 内臓摘出」では、全ての衛生指標細菌において udであったのに対し、「内臓摘出 剥皮」では、それぞれ  $2.6 \times 10^3 \text{cfu/cm}^2$ , ud, ud, udであった(表7)。一般細菌数は、「剥皮 内臓摘出」に比べ、「内臓摘出 剥皮」において、有意( $p < 0.05$ )に高値を示した。

剥皮時に、枝肉を「のせ台」に乗せて剥皮する施設と、「懸吊」して剥皮する施設に分けて、

猪枝肉の洗浄前の各衛生指標細菌数の胸部、肛門周囲部の値を含めた中央値を比較した結果、一般細菌数、大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌の順に、「のせ台」では、それぞれ  $1.7 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$ , ud, ud,  $1.2 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$ であった(表8)。「懸吊」では、それぞれ  $4.2 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$ , ud, ud, udであった。大腸菌群数( $p < 0.05$ )、および黄色ブドウ球菌数( $p < 0.01$ )は、「のせ台」に比べ、「懸吊」において、有意( $p < 0.01$ )に低値を示した。一方、鹿では、検討した全ての施設において、「懸吊」により剥皮を行っていたため、比較はできなかった。

剥皮時に、「ウィンチ」を使用する施設と、「手剥ぎ」により実施する施設に分け(図1)、猪枝肉の洗浄前の各衛生指標細菌数の胸部、肛門周囲部の値を含めた中央値を比較した結果、一般細菌数、大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌の順に、「ウィンチ」では、それぞれ  $7.1 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$ , ud, ud, udであった(表9)。「手剥ぎ」では、それぞれ  $2.4 \times 10^0 \text{cfu/cm}^2$ , ud, ud,  $3.0 \times 10^{-1} \text{cfu/cm}^2$ であった。黄色ブドウ球菌数は、「ウィンチ」に比べ、「手剥ぎ」において、有意( $p < 0.05$ )に高値を示した。一方、鹿枝肉では、「ウィンチ」では、それぞれ  $2.6 \times 10^3 \text{cfu/cm}^2$ , ud, ud, udであったのに対し、「手剥ぎ」では、全ての衛生指標細菌において udであった(表7)。一般細菌数は、「ウィンチ」は、「手剥ぎ」に比べ、有意( $p < 0.05$ )に高値を示した。

#### D. 考察

本年度は、処理方法の異なる処理施設を対象に、特に猪枝肉の衛生状況について、各種衛生指標細菌を用いて検討した。

枝肉洗浄後の一般細菌数の汚染は、猪枝

肉の中央値は胸部  $6.8 \times 10^0$  cfu/cm<sup>2</sup>、肛門周囲部 7.7 cfu/cm<sup>2</sup>と、「平成 25 年度と畜場における枝肉の微生物汚染実態調査等結果」における豚の中央値(施設ごとの平均値として胸部 97.7 cfu /cm<sup>2</sup>、肛門周囲部 45.8 cfu /cm<sup>2</sup>)と比べ、低値であった。一方で、豚では認められない施設別平均値として、 $1.0 \times 10^4$ cfu/cm<sup>2</sup> 以上となった枝肉が認められた(表 2)。以上の成績から、本研究で対象とした野生鳥獣肉処理施設では、おおむね家畜(豚)と比べても衛生的な処理が行われていると考えられたが、一部、高度に汚染している枝肉も散見されることが明らかとなった。本研究においては、データを得たのち、検体を供与いただいた施設に対してデータをフィードバックし、特に、高度に汚染が認められた場合には、「野生鳥獣肉の衛生管理に関するガイドライン」(ガイドライン)に従った処理の徹底等のアドバイスをを行った。これにより、多くの施設では、以降の衛生指標細菌数の値が低減されたことが認められたことから、野生鳥獣肉処理施設の現場における衛生指導は、重要であることが確認された。

施設別で比較すると、特に、施設 D において処理された枝肉は特に多くの一般細菌が検出された。施設 D における作業において細菌汚染を生じる原因があるものと考えられた。施設 D において猪を処理する場合、「内臓摘出」→「剥皮」の順に作業し、と体を懸吊して手剥ぎにより剥皮を行っている。さらに肛門、ならびに食道結紮を実施して、枝肉の洗浄には、酸性水を用いている(表 1)。なお、当該施設において処理された猪枝肉の一部からは、大腸菌群、大腸菌、および黄色ブドウ球菌が検出される検体もあったことから、それぞれ糞便汚染、および手指等からの汚染が考えられる。糞便汚染、および手指等からの汚染を防ぐため

の手段について、作業者に対して指導する必要がある。今後、当該施設において実施されている処理方法の詳細を検証し、改めて、細菌汚染の原因を検討する必要がある。

本研究で対象とした施設で実施されている処理方法は、表 1 に示すとおり多様性を示した。本研究では、特に、剥皮と内臓摘出の作業順、剥皮時のと体の配置(のせ台、あるいは懸吊)、ならびに剥皮方法(ウィンチの使用、あるいは手剥ぎ)の違いに着目し、特に猪枝肉の汚染指標細菌数を比較した。

剥皮と内臓摘出の作業順では、ガイドラインで指示されている「剥皮→内臓摘出」の順番と、「内臓摘出→剥皮」の順番でそれぞれ処理された枝肉について、細菌汚染状況を比較したが、本研究では、中央値による比較において、大きな違いは認められなかった。黄色ブドウ球菌において、ガイドラインに従う手順、すなわち「剥皮→内臓摘出」において低値となった。しかしながら、実際には、「剥皮→内臓摘出」の順で実施している施設は少なく、本研究でも検討した検体数は 6 検体とわずかであった(表 1)。今後、より多くの検体を検討し、改めて検討する必要がある。

本研究で対象とした施設では、作業順として、「内臓摘出→剥皮」の施設は、全て剥皮を「手剥ぎ」によって実施しており、「剥皮→内臓摘出」として実施する施設 F のみが、「ウィンチ」を使用していた(表 1)。以上のことから、施設 A から E で処理された枝肉と、施設 F で処理された枝肉の比較において、作業順、あるいは剥皮方法のいずれの要因によるものか、判別は不可能である。しかしながら、黄色ブドウ球菌数において、施設 A-E において、有意に高値を示したことから、手剥ぎによって手指からの黄色ブドウ球菌の汚染が生じた可能性が

考えられた。

剥皮時のと体の配置(のせ台、あるいは懸吊)別の比較において、のせ台を用いて剥皮を行った施設で処理された枝肉は、と体を懸吊して剥皮した枝肉に比べ、特に糞便汚染指標細菌(大腸菌、大腸菌群)数、ならびに黄色ブドウ球菌数が多く検出される傾向であった。以上のことから、のせ台を使用し剥皮する場合には、特に糞便汚染をしないように努めるよう、指導する必要があると考えられた。

本研究では、主に猪枝肉を対象とし、鹿枝肉は、わずか9頭分であった。我々は、平成27-29年度本研究事業(野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究)において鹿肉を中心に検討してきた。今後、本研究で得られた鹿枝肉のデータを従来蓄積してきた鹿枝肉のデータに加え、改めて、鹿枝肉の衛生状態に関わる要因についての解析が必要である。

## E. 結論

1) 本研究で対象としたわが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された猪枝肉は、家畜(豚)と比べても同程度の衛生状態であった。一方で高度に汚染された枝肉も散見された。

2) 「剥皮」と「内臓摘出」の作業順別、あるいは剥皮時に「ウィンチ」を用いる場合と、「手剥ぎ」による場合では、枝肉の衛生状況に大きな差は認められなかった。

3) 猪を剥皮する際に、「のせ台」を用いた場合には、懸吊する場合に比べ、糞便汚染指標細菌や黄色ブドウ球菌が多く検出される傾向にあった。

## F. 健康危険情報

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

(その他の印刷物など)

1) 壁谷英則 2018 そのジビエは安全か? Imidas 時事オピニオン (2018/01/26)

2) 壁谷英則. 2018 と畜場への HACCP 導入の現状とこれからの課題、モダンメディア:64(4)、71-78

3) 岡部信彦、壁谷英則、沢辺京子、前田健、丸山総一 2019 人を取り巻く環境と人と動物の共通感染症の変化について(新春放談) モダンメディア:65(1)、1-17

#### 2. 学会発表

1) 田中温奈, 池田 碧, 佐藤真伍, 丸山総一, 朝倉 宏, 杉山 広, 高井伸二, 壁谷英則. わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の衛生評価. 第161回日本獣医学会学術集会(茨城県, 2018年9月11-13日)

2) 内海優子, 藤本 翼, 佐藤真伍, 丸山総一, 奈良崎孝一郎, 奈良崎和孝, 鶴田 忠, 横山栄二, 朝倉 宏, 杉山 広, 高井伸二, 壁谷英則. わが国の鹿・猪における志賀毒素産生大腸菌の保菌状況およびO157分離株の全ゲノム解析. 第161回日本獣医学会学術集会(茨城県, 2018年9月11-13日)

3) 井口純, 壁谷英則, ほか 野生シカとヒトから分離される腸管出血性大腸菌O146の関係 第39回日本食品微生物学会(大阪市立大学杉本キャンパス 2018年9月27-28日)

4) 森田聡志, 内海優子, 藤本 翼, 佐藤真伍, 丸山総一, 奈良崎孝一郎, 奈良崎和孝, 鶴田 忠, 高井伸二, 壁谷英則.

わが国の鹿・猪における志賀毒素産生大腸菌 O157 の保菌状況と分離株の全ゲノム解析. 平成 30 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会 (神奈川県, 2019 年 2 月 8 - 10 日)

(啓蒙活動など)

1) 壁谷英則 身近な人獣共通感染症～ペットから野生動物まで～ 平成 30 年度横須賀市動物取扱責任者研修 (横須賀市, 2018 年 11 月 8 日)

2) 壁谷英則 野生鳥獣を原因とする人獣共通

感染症のリスクとその対処法 第 5 回日本ジビエサミット in 徳島 (徳島県, 2019 年 1 月 24 - 26 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
3. その他  
なし

表1 本研究で対象とした野生鳥獣肉処理施設における処理方法等の概要

対象	猪						鹿			
	A	B	C	D	E	F	A	B	F	G
施設	A	B	C	D	E	F	A	B	F	G
内臓/剥皮の順	内臓/剥皮	内臓/剥皮	内臓/剥皮	内臓/剥皮	内臓/剥皮	剥皮/内臓	内臓/剥皮	剥皮/内臓	内臓/剥皮	剥皮/内臓
懸吊/のせ台	のせ台	のせ台	懸吊							
剥皮法	手剥ぎ	手剥ぎ	手剥ぎ	手剥ぎ	手剥ぎ	ウィンチ	ウィンチ	手剥ぎ	ウィンチ	手剥ぎ
江戸絶肉	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
食道絶肉	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×
皮膚洗浄水	水道水									
内臓洗浄水	酸性水	次亜塩	×	酸性水	水道水	次亜塩	酸性水	次亜塩	次亜塩	水道水
千枚30年度 検体数	12	1	2	10	8	3	2	1	2	4

表2 洗浄前後の猪枝肉の拭き取り検体における衛生指標細菌数（処理施設別比較）

施設	一般細菌数				大腸菌				大腸菌群				黄色ブドウ球菌			
	胸部		紅門両基部		胸部		紅門両基部		胸部		紅門両基部		胸部		紅門両基部	
	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後
A	ud	6.5	15.9	3.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.1	0.7	4.2	9.3
	2.9	ud	ud	4.3	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.9	ud	0.3	1.6
	4.3	ud	6.8	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	1.9	0.2	2.6	0.2
	4.9	22.1	4.0	5.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	1.3	7.0	1.6	2.0
	8.0	ud	73.5	7.7	ud	ud	26.0	2.0	ud	ud	26.0	2.0	0.9	ud	2.2	0.2
	10.3	ud	32.5	ud	ud	ud	2.9	ud	ud	ud	2.9	0.0	0.3	ud	0.6	ud
	17.0	ud	17.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.0	0.0	0.0	0.2	1.1	0.4
	17.2	7.0	330.0	97.5	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.0	0.0	0.8	1.8	91.0	43.0
	126.5	29.3	3050.0	1645.0	ud	ud	1815.0	695.0	ud	ud	1815.0	695.0	0.1	0.1	3.3	0.9
	127.5	129.0	227.0	680.0	14.3	62.0	27.5	22.2	14.3	69.5	32.2	32.8	2.5	4.6	14.9	14.3
665.0	7.6	68.5	3.5	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.4	0.6	6.3	0.9	
665.0	11.3	175.0	4.1	ud	ud	10.7	ud	ud	ud	11.1	ud	6.9	3.1	5.5	1.0	
B	12.8	ud	459.0	7.1	ud	ud	ud	ud	2.3	ud	ud	ud	0.6	ud	0.6	0.1
C	ud	na	ud	na	ud	na	ud	na	ud	na	ud	na	ud	na	0.1	na
	ud	na	6.8	na	ud	na	ud	na	ud	na	ud	na	ud	na	0.1	na
D	6.9	114.0	200.7	6.8	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.9	0.6	3.2	ud
	44.5	19000.0	314.0	25000.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	45.5	2.8	12.4	0.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.8	ud	0.4	ud
	110.5	2.7	1245.0	32.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.1	ud	1.3	0.1
	188.0	298.5	122.0	1080.0	1.3	ud	0.7	2.2	4.6	ud	4.1	5.6	1.6	13.9	8.2	87.5
	315.0	ud	1780.0	64.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.9	0.0	2.8	ud
	420.0	19.2	515.0	175.3	ud	ud	1.9	1.4	3.4	ud	7.3	4.9	0.7	0.0	0.3	0.3
	995.0	5.2	30.3	0.2	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	54.5	0.4	0.2	ud
	2150.0	166.0	1605.0	3823.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.2	0.1	1.5
	25000.0	1050.0	720.0	2550.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.1	ud
E	ud	2.6	ud	7.7	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.2	1.0	ud	2.2
	ud	5.7	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.0	ud	ud	ud
	5.6	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	2.1	ud	ud	ud
	6.7	ud	3260.0	266.0	ud	ud	5.8	ud	ud	6.1	0.3	0.1	ud	ud	ud	0.1
	10.2	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	13.4	40.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	112.0	225.5	ud	1800.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.1	ud	ud	ud
	197.5	69.0	11.5	201.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.1
	12.0	214.0	7.7	13.5	ud	3.6	ud	ud	ud	3.7	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	40.0	56.0	288.0	63.5	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
F	101.0	5.1	925.0	10.6	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	1.8

ud: 検出限界未満, na: 該当検体なし, 単位: cfu/cm<sup>2</sup>

表3 洗浄前後の猪枝肉の拭き取り検体における衛生指標細菌数（まとめ）

採材	検体数	値	胸部				肛門周囲部			
			一般細菌数	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	一般細菌数	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌
洗浄前	n=36	最小値	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
		最大値	25000.0	14.3	14.3	54.5	3260.0	1815.0	1815.0	91.0
		平均値	873.2	0.5	0.7	2.2	431.3	52.4	52.7	4.2
		中央値	17.1	ud	ud	0.2	50.5	ud	ud	0.3
洗浄後	n=34	最小値	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
		最大値	19000.0	62.0	65.5	13.9	25000.0	695.0	695.0	87.5
		平均値	632.0	1.9	2.0	1.0	1104.4	21.4	22.0	4.9
		中央値	6.8	ud	ud	ud	7.7	ud	ud	0.1

単位：cfu/cm<sup>2</sup>

表4 洗浄前後の鹿枝肉の拭き取り検体における衛生指標細菌数（処理施設別比較）

施設	一般細菌数				大腸菌				大腸菌群				黄色ブドウ球菌			
	胸部		肛門周囲部		胸部		肛門周囲部		胸部		肛門周囲部		胸部		肛門周囲部	
	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後
A	25000.0	25000.0	25000.0	2310.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	26.5	ud	ud
	4.3	ud	25000.0	25000.0	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
B	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.1	ud	ud
F	4150.0	128.5	980.0	11.9	19.7	ud	43.5	ud	18.1	ud	45.0	ud	ud	ud	ud	ud
	23.5	ud	56.5	75.5	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
G	ud	ud	ud	6.6	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	ud	3.6	570.0	4.1	ud	ud	85.5	ud	ud	ud	89.0	ud	0.2	ud	ud	0.1
	ud	12.8	1130.0	3.6	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	0.3
	44.0	20.6	89.0	2737.5	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud

ud: 検出限界未満。単位：cfu/cm<sup>2</sup>

表5 洗浄前後の鹿枝肉の拭き取り検体における衛生指標細菌数（まとめ）

採材	検体数	値	胸部				肛門周囲部			
			一般細菌数	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	一般細菌数	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌
洗浄前	n=9	最小値	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
		最大値	25000.0	18.1	19.7	0.2	25000.0	85.5	89.0	ud
		平均値	3246.9	2.0	2.2	0.0	5869.5	14.3	14.9	ud
		中央値	4.3	ud	ud	ud	570.0	ud	ud	ud
洗浄後	n=9	最小値	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
		最大値	25000.0	ud	ud	26.5	25000.0	ud	ud	0.3
		平均値	2796.2	ud	ud	2.9	3349.9	ud	ud	ud
		中央値	3.6	ud	ud	ud	11.9	ud	ud	ud

単位：cfu/cm<sup>2</sup>

表6 洗浄前の猪・鹿枝肉の拭き取り検体における一般細菌数の中央値（処理施設別比較）

施設	猪			鹿		
	検体数	一般細菌数(cfu/cm <sup>2</sup> )		検体数	一般細菌数(cfu/cm <sup>2</sup> )	
		胸部	肛門周囲部		胸部	肛門周囲部
A	12	13.7	50.5	2	12502.2	25000.0
B	1	12.8	455.0	1	ud	ud
C	2	ud	3.4	0	na	na
D	10	251.5*	414.5*	0	na	na
E	8	8.4	ud*	0	na	na
F	3	40.0	288	2	2086.8	518.3
G	0	na	na	4	ud	329.5
計	36	17.1	50.5	9	2.2	570

\* $p < 0.01$  (Mann-Whitney  $U$  test)

ud:検出限界未満, na:該当検体なし

表7 洗浄前の猪・鹿枝肉の拭き取り検体(胸/肛門)における衛生指標細菌数(内臓摘出/剥皮 順別)

作業順	値	猪					鹿				
		検体数	一般細菌数	大腸菌	大腸菌数	黄色ブドウ球菌	検体数	一般細菌数	大腸菌	大腸菌数	黄色ブドウ球菌
剥皮↓内臓摘出	最小値	6	7.7	ud	ud	ud	10	ud	ud	ud	ud
	最大値		955.0	ud	ud	1.8		1130.0	85.5	89.0	0.2
	平均値		233.9	ud	ud	0.3		183.3	8.6	8.9	0.0
	中央値		70.5	ud	ud	ud*		ud*	ud	ud	ud
内臓摘出↓剥皮	最小値	66	ud	ud	ud	ud	8	4.3	ud	ud	ud
	最大値		25000.0	1815.0	1815.0	91.0		25000.0	43.5	45	ud
	平均値		690.3	28.8	29.1	3.5		10026.8	7.9	7.9	ud
	中央値		23.8	ud	ud	0.3*		2565.0*	ud	ud	ud

\* $p < 0.05$  (Mann-Whitney  $U$  test) 単位:  $\text{cfu}/\text{cm}^2$

表8 洗浄前の猪・鹿枝肉の拭き取り検体(胸/肛門)における衛生指標細菌数(のせ台/懸吊 別)

作業順	値	猪					鹿				
		検体数	一般細菌数	大腸菌	大腸菌数	黄色ブドウ球菌	検体数	一般細菌数	大腸菌	大腸菌数	黄色ブドウ球菌
のせ台	最小値	26	ud	ud	ud	ud	0	na			
	最大値		3050.0	1815.0	1815.0	91.0					
	平均値		235.2	72.9	73.2	5.8					
	中央値		17.1	ud	ud <sup>1)</sup>	1.2 <sup>2)</sup>					
懸吊	最小値	46	ud	ud	ud	ud	18	ud	ud	ud	ud
	最大値		25000.0	1.9	7.3	54.5		25000.0	85.5	89.0	0.2
	平均値		888.0	0.1	0.4	1.7		4558.2	8.3	8.5	0.0
	中央値		42.3	ud	ud <sup>1)</sup>	ud <sup>2)</sup>		50.3	ud	ud	ud

\*1:  $p < 0.05$ , \*2:  $p < 0.01$  (Mann-Whitney  $U$  test) 単位:  $\text{cfu}/\text{cm}^2$



図1 鹿の剥皮の様子 (A:ウィンチを用いた方法 と B:手剥ぎによる方法)

表9 洗浄前の猪・鹿枝肉の拭き取り検体(胸/肛門)における衛生指標細菌数(剥皮方法別)

剥皮法	値	猪					鹿				
		検体数	一般細菌数	大腸菌	大腸菌数	黄色ブドウ球菌	検体数	一般細菌数	大腸菌	大腸菌数	黄色ブドウ球菌
ウィンチ	最小値	6	7.7	ud	ud	ud	8	4.3	ud	ud	ud
	最大値		955.0	ud	ud	1.8		25000.0	43.5	45.0	ud
	平均値		233.9	ud	ud	0.3		10026.8	7.9	7.9	ud
	中央値		70.5	ud	ud	ud*		2565.0*	ud	ud	ud
手剥ぎ	最小値	66	ud	ud	ud	ud	10	ud	ud	ud	ud
	最大値		25000.0	1815.0	1815.0	91.0		1130.0	85.5	89.0	0.2
	平均値		690.3	28.8	29.1	3.5		183.3	8.6	8.9	0.0
	中央値		23.8	ud	ud	0.3*		ud*	ud	ud	ud

\* $p < 0.05$  (Mann-Whitney  $U$  test)

単位:  $\text{cfu}/\text{cm}^2$



### 猪解体・加工調理施設における微生物動態に関する研究

研究分担者	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	池田徹也	北海道立衛生研究所
研究協力者	川瀬 遵	島根県保健環境科学研究所
研究協力者	伊澤和輝	東京工業大学大学院
研究協力者	小西良子	麻布大学 生命・環境科学部

#### 研究要旨

猪肉の加工調理工程における細菌動態を検討するため、施設 A で製造加工される猪肉缶詰製品の原材料及び中間・最終製品を衛生試験に供した。結果として、原料肉の衛生状況は高く、腸内細菌科菌群は 12 検体中 2 検体で 50 CFU/g が検出されたが、大腸菌（群）は全て陰性であり、一般細菌数は 12 検体中 10 検体から 50～5100CFU/g であった。中間・最終製品は、全ての指標菌が不検出であった。一方、近郊の別施設 B で一次加工された猪原料肉 12 検体を同様の試験に供したところ、4 検体から腸内細菌科菌群、7 検体から大腸菌群が検出され、猪肉を用いた食品の製造加工にあたっては、適切な原料の選択と確保が重要であること、また缶詰製品の製造加工にあたっては、食品衛生法の製造基準を遵守することで安全性を確保できることが示された。

次に、猪原料肉の衛生確保に向けた活動のうち、猪解体施設の施設環境調査については細菌を指標としたもののみが実施されてきた状況を鑑み、本研究では、真菌の分布調査による各施設の施設環境に関する調査をはじめて行うこととした。施設 A に原料を提供する猪解体処理施設 C では、解体室を汚染区として、一次加工室等と明確な区分化を図っていた。同施設での真菌汚染調査を通じ、解体室床の付着真菌数や隣接するとたい冷蔵庫内の空気浮遊真菌数が高い傾向にあった。一方、一次加工室からは少数が検出されるに留まり、区分化による猪肉の衛生確保がなされていると判断された。猪解体処理施設における真菌分布の普遍性を評価するため、異なる地域の施設 D で同様の調査を行ったところ、施設 D でも解体室床の付着真菌数は他区域に比べて高い傾向が同様に観察されたほか、衛生指標菌検出状況は極めて良好と考えられたが、同施設では高温環境を好む *Cladosporium* 属菌が特に解体室、とたい冷却室、一次加工室等で多く検出されたため、室内の湿度管理が同施設での今後の衛生管理向上に資する課題として抽出された。以上より、猪肉缶詰製造加工施設での衛生管理の向上には、原料肉の適切な選定と確保のほか、食品衛生法の製造基準に従った加圧加熱殺菌工程を行うことで微生物危害を十分に低減し、安全性を確保できることが実証された。また、真菌分布の探知は施設の衛生管理実態の指標として有効であり、本年度の研究対象施設では、施設の区分化及び湿度管理の徹底が猪肉の腐敗要因ともなりうる真菌の汚染制御を講じる上での対策として挙げられた。熟成肉が嗜好されつつある昨今、野生鳥獣由来食肉の真菌汚染実態についても今後把握する必要があると思われる。

#### A. 研究目的

野生鳥獣の利活用に向け、厚生労働省では 2013年に野生鳥獣肉の衛生管理に関するガイドラインを定め、食用としての適正な利活用を図るべく普及活動を行っている。家畜・家禽とは異なり、野生鳥獣は飼養管理がなされてい

いため、自然保有する病原体の種類や分布等については徐々に明らかにされつつあるものの、依然として不明な点も多い。従って、野生鳥獣を食用に供する上で、更なる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。

先行研究では、鹿肉及び猪肉の加工調理段階

における衛生管理要点を科学的な観点から収集・検証し、特に鹿肉の調理加工工程での衛生管理に必要と思われる項目を国内の実態を踏まえた上で提案した。しかしながら、猪肉の加工調理に関しては十分な知見が集積されておらず、本研究では、猪肉の加工調理工程における実態把握並びに衛生管理向上に資する科学的知見の集積を図ることを目的とした。

加えて、食肉を含む食品や食品加工・製造環境には真菌が多く存在し、異常増殖を呈した場合には、異味・異臭等を伴う腐敗を齎すことが知られるが、野生鳥獣由来食肉の製造加工環境における真菌分布についてはこれまで検討がされておらず、衛生管理上の要点を真菌分布実態から抽出することについても、併せて研究目的とした。

以上の背景を踏まえ、本年度の分担研究においては、猪肉を用いた製造加工施設における微生物動態を検証すると共に、猪解体施設における真菌分布に関する調査を行ったので報告する。

## B. 研究方法

### 1. 猪肉缶詰製造施設における採材及び衛生試験

猪缶詰製品製造施設Aの協力を得て、主原料である猪肉(モモスライス肉、ローススライス肉)、並びに中間製品(加圧加熱殺菌前)及び最終製品(加圧加熱殺菌後)の3点を対象として採材を行った。なお、対象製品はビール煮及びポトフ煮とした。また、施設Aの近郊に所在する、別施設(施設B)からも原料肉(猪モモスライス肉、猪カタ・スライス肉)を別途入手し、以下の衛生試験に供した。

衛生(細菌)試験のうち、衛生指標菌の定量検出試験については、1検体につき25gをサンプリングし、225mLの緩衝ペプトン水(BPW, Oxoid)を用いて懸濁液を調整した(試験原液)。

同試験原液及び同10倍階段希釈列を100µlづつ、標準寒天培地、VRBG寒天培地、VRBL寒天培地、TBX寒天培地、ペアード・パーカー寒天培地に塗布し、ISO法に準じた条件で培養を行い、確認試験を経て、一般細菌数、腸内細菌科菌群数、大腸菌群数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数を求めた。各培地は1検体につき、2枚以上使用した。

腸管出血性大腸菌及びサルモネラ属菌については、公定法により定性検出試験を行い、それらの有無を確認した。

### 2. 菌叢解析

項1.にて得られた試験原液10mlを遠心分離し、得られた沈査より、MaxWell DNA prep kit (Promega)を用いてDNAを抽出した。これを鋳型として、16S rRNA V5-V6領域をPCR増幅し、得られたアンプリコンの等量混合溶液をライブラリーとした。

シーケンシング解析には、Ion CHEF/PGMシステム(Thermo Fisher Scientific)を用い、400base-read データを取得した。得られた配列情報は、CLC Genomic Workbench (Qiagen-CLC)によりTrimming及びQuality checkを、RDP Classifier (<https://rdp.cme.msu.edu/classifier/classifier.jsp>)により階層分類を行った。

### 3. 猪解体処理施設等における真菌分布調査

猪解体処理施設C(施設Aに原料を提供する施設)、施設A、並びに異なる地域に所在する猪解体処理施設Dの協力を得て、真菌の汚染分布を調査した。

各施設では、室内・室外空気及び壁床等の付着物を採取した(表1)。空気の採材には、エアサンプラー エア-イデアル 3P(シスメックス・ピオメリユー)を用いて100L容量を

採取し、DRBC 寒天培地 (Oxoid) 上に捕捉した。環境ふき取り検体の採取には、ふき取り用スポンジスティック (3M) を用い、10ml の BPW を用いて懸濁液を調整した後、空気浮遊真菌と同様、DRBC 寒天培地に同液 100 $\mu$ L を接種した。各培地は接種後、25℃ で 7 日間培養し、得られた発育集落数を計測し、総真菌数を求めると共に、目視及び実体顕微鏡下での集落性状観察を通じ、*Aspergillus* 属菌、*Penicillium* 属菌、*Cladosporium* 属菌、及び酵母類の総真菌数に対する占有率を求めた。各環境での優占菌種の同定は、ポテト・デキストロース寒天平板培地 (PDA, 栄研化学) 上で 10~14 日間 25℃ で分離培養を行い、目視及び顕微鏡観察を通じた形態学的同定により行った。

また、ふき取り懸濁液残液は、項 1 で示す衛生試験にも併せて供した。

## C. 研究結果

### 1. 猪肉缶詰製品の製造加工工程を通じた微生物挙動

施設 A で製造加工されるビール煮及びポトフ煮製品を対象として、原料肉、中間製品 (加圧加熱殺菌前)、最終製品 (加圧加熱殺菌後) 中の指標菌及び病原細菌の検出状況を確認した。

施設 A では、原料肉は、猪解体処理施設 C (後述) で一次加工された後、冷凍保存輸送されたものを受入れ、一晚冷蔵温度帯で自然解凍させて製造加工に供していた。衛生試験の結果、ローススライス 6 検体のうち、2 検体からは 50 CFU/g と少数の腸内細菌科菌群を認めただけ、一般細菌数は 5 検体より 50~5100CFU/g が検出されるに留まった (表 1)。他の指標菌及び病原細菌は全て不検出であった。また、モモスライス肉 6 検体では、一般細菌数が 4 検体から 50~550CFU/g の範

囲で検出されたものの、他の指標菌及び病原細菌は検出されなかった (表 1)。

原料肉を用いた猪肉缶詰製品の製造加工は以下の工程に沿って実施されていた。

・ポトフ煮：原料肉を細切した野菜と混合後、調味料を加えて、約 1 時間釜で煮込み、肉と抽出汁のみを封缶したものを、120℃ 30 分の殺菌処理を行い、製品としていた。

・ビール煮：ポトフ煮と同様、細切した野菜と原料肉に調味料を加えた後、釜で約 1 時間加熱調理し、肉と抽出汁のみを封缶したものを、120℃ 30 分の殺菌処理を行い、製品としていた。

・上記の加圧加熱殺菌条件の確認には、オートクレーブ缶内にロガーを設置し、使用時毎に温度を記録確認していた。

上記の条件を踏まえ、1 時間加熱調理後の中間製品及び最終製品について衛生試験を実施したが、全検体から何れの指標菌及び病原細菌は検出されなかった (表 1)。

一方、近隣に所在する別の猪解体処理施設 B にて一次加工された原料肉 12 検体を同様に衛生試験に供したところ、一般細菌数は計 12 検体全てより  $1.4 \times 10^3$  ~  $2.0 \times 10^6$  CFU/g の範囲で検出されたほか、腸内細菌科菌群は 4 検体より  $3.0 \times 10^2$  ~  $2.9 \times 10^4$  CFU/g、大腸菌群は 7 検体より  $1.0 \times 10^2$  ~  $2.3 \times 10^3$  CFU/g、黄色ブドウ球菌は 8 検体より  $5.0 \times 10^0$  ~  $3.1 \times 10^2$  CFU/g の検出を認めた。大腸菌は全て陰性 (<5CFU/g) であった (表 1)。

施設 B 由来原料肉検体のうち、 $2.9 \times 10^4$  CFU/g の腸内細菌科菌群を認めた検体 # 15 (表 1) の構成菌叢を 16S rRNA 菌叢解析により求めたところ、腸内細菌科に属する細菌属の多くは *Serratia* 属菌であった (図 1)。

次に、施設 A で用いる原料肉及び施設 B で一次加工された原料肉各 3 検体を無作為に抽出し、構成菌叢を比較したところ、施設 B 由

来の原料肉は検体間で構成菌叢が大きく異なっていたが、施設 A 由来の原料肉は検体間での差異が極めて少ない状況にあった(図 2)。

以上の結果より、当該製品の製造加工にあっては適切な原料の選択と確保が重要であること、並びに猪肉を原料とした場合にも適切な加圧加熱殺菌処理は確実な微生物汚染低減を果たすことが示された。

## 2. 猪解体処理施設における真菌汚染実態

### (1) 施設 C 及び A

施設 A で使用される原料肉を解体・一次加工して提供する施設 C では、生体受入後に、施設敷地内でとさつすることで、とたいと同時に内臓の異常確認を行う体制としていた。解体室内には、内臓摘出を行う前に一時的に保管するための剥皮前用冷蔵庫と内臓摘出及び剥皮後のとたいを一次加工に進める前に一時的に保管するための剥皮後冷蔵庫がそれぞれ設置されていた。なお、作業動線や作業衣等の面で、解体室と一次加工室は明確に区分化されていた。採材は表 2 に示す箇所を対象として作業中に実施し、真菌及び衛生試験に供した。

DRBC 寒天平板培養上の代表的な発育真菌像を図 3 に、空中浮遊真菌数及びその構成に関する成績を図 4 に示した。冷蔵庫を除く全ての採材箇所において、空中浮遊真菌数は通常の室内と同等の菌数であった(通常の室内環境として、ここでは、日本建築学会が発表した室内環境の維持管理規準値推奨値 1,000 CFU/m<sup>3</sup>を指標とした)。各室内採材箇所における真菌の構成は外気と同様の特徴を示し、施設 C 内では真菌の異常増殖は概ねないと判断された。

拭取り検体を用いて各採材箇所の付着真菌数を求めたところ、一次加工室のほか、施設 A の調理室では、施設 C の解体室、並びに同室

内に配置された冷蔵庫及び外毛に比べ、総真菌数が少なかった(一次加工室壁からの検出菌数は、 $2.0 \times 10^2$  CFU/ml; 図 5A)。解体室床では相対的に真菌付着数が多く、 $1.26 \times 10^5$  CFU/ml であった(図 5A)。また、剥皮前冷蔵庫壁からは  $6.9 \times 10^3$  CFU/ml、床からは  $6.4 \times 10^3$  CFU/ml と同じく高菌数が検出された(図 5A)。

真菌構成比較を通じ、解体室等では酵母の付着割合が共通して多い状況であったのに対し、一次加工室では酵母の割合は比較的 low、通常の室内環境に近い状況であることが明らかとなった(図 5B)。また、確認試験を通じて、*Mucor* 属菌、*Aspergillus* 属菌、*Penicillium* 属菌等、採材箇所別の分布状況が明らかとなった(表 3)。

以上の結果より、施設 C においては解体室及びこれに付随するとたいを取り扱う汚染区と一次加工室との間で真菌分布は大きく異なっていることが示された。

### (2) 施設 D

施設 D は、施設 C とは異なる地域の猪解体処理・加工施設である。当該施設の協力を得て、上述の施設 C と同様に真菌分布調査を行った。なお、当該施設では解体処理工程で剥皮は行わず、湯剥きにより外毛を除去後、内臓摘出及び頭部・脚部を除去したとたいを一次加工室で脱骨・成型していた。

DRBC 寒天平板培養上の代表的な発育真菌像を図 6 に、空中浮遊真菌数及びその構成に関する成績を図 7 に示した。

空中浮遊真菌数は一次加工室を除く全ての採材箇所通常室内と同等であった(図 7)。真菌構成からも、施設 D の空気浮遊真菌は概ね通常外気と同様の特徴を示し施設内での真菌異常増殖はなかったと評価できた(図 7)。なお、一次加工室では 2 枚の平板間で大きな

差異も認められたが、その要因としては作業中に採材を行ったためと考えられた。

拭取り検体を用いて各採材箇所の付着真菌数を求めたところ、解体室床からは  $1.3 \times 10^4$  CFU/ml の真菌が検出され、施設 C と同様、真菌数が最も高い箇所であることが裏付けられた。また、その構成は酵母が  $8.0 \times 10^3$  CFU/ml、*Aspergillus* 属菌が  $3.3 \times 10^3$  CFU/ml、その他が  $2.0 \times 10^3$  CFU/ml であった(図 8A)。猪外毛からはクロラムフェニコール耐性を示す細菌のみが検出された(図 8A)。内臓摘出後に一次保管されるとたい冷蔵庫の壁から検出された真菌数は少数であったが、ほぼ全てが *Cladosporium* 属菌により占有されていた(図 8B)。同様に *Cladosporium* 属菌の高い占有率は解体室の壁でも認められたほか、とたい冷蔵庫に隣接する一次加工室の壁でも一定の割合で認められた(図 8B)。なお、一次加工室壁の構成真菌叢は、外気と類似していた(図 8B)。

確認試験を通じ、施設 D で検出される真菌の採材箇所別分布状況を把握することができた(表 3)。

以上の結果より、施設 D では、施設 C と同様に、汚染区での真菌数が高い傾向を示したが、構成真菌の識別化を図ることで、とたい由来ではなく、解体室及び隣接する箇所で *Cladosporium* 属菌が占有している状況が確認された。

### (3) 施設 C, A, D における衛生試験成績

真菌分布調査対象としたふき取り懸濁液を用いて、衛生指標菌の検出状況を確認したところ、施設 C では、解体室の床、壁、猪外毛のほか、剥皮前冷蔵室の壁、床、剥皮後冷蔵室の床から、 $2.6 \times 10^2$  ~  $3.1 \times 10^6$  CFU/100cm<sup>2</sup> の範囲で腸内細菌科菌群が検出された(図 9A)。

また、大腸菌は猪外毛、解体室の床、剥皮前

冷蔵室の床等から、 $1.3 \times 10^2$  ~  $9.8 \times 10^3$  CFU/100cm<sup>2</sup> の範囲で検出された(図 9A)。

一方、これらの糞便汚染指標は、一次加工室及び施設 A の調理室からは検出されなかった(図 9A)。

施設 D では真菌検出状況と同様に、解体室床及び外毛から  $1.0 \times 10^3$  ~  $2.65 \times 10^4$  CFU/100cm<sup>2</sup> の範囲で腸内細菌科菌群が検出された(図 9B)ほか、大腸菌は解体室床のみから、 $9.5 \times 10^3$  ~  $3.8 \times 10^4$  CFU/100cm<sup>2</sup> の範囲で検出された(図 9B)。内臓摘出後のとたい冷蔵室以降の箇所からは腸内細菌科菌群及び大腸菌は検出されなかった(図 9B)。

以上の結果より、施設 C, D においては解体室及びこれに類する汚染区での糞便汚染指標が検出されたものの、一次加工以降の工程箇所からは不検出であることが示され、両施設の糞便汚染対策のための衛生管理は適正に行われているものと判断された。

## D. 考察

本研究では、猪肉製造加工施設で用いられる原料肉を対象とした、衛生試験並びに菌叢解析を通じた検討を通じ、猪原料肉の微生物学的品質は、解体・一次加工処理工程を通じた衛生管理の差異によるものと目され、原料肉の衛生状況を見極めた上で、適正な原料肉を確保することが、猪肉加工食品の安全性を確保する上で重要な管理項目であることが示された。また、施設 A で製造される猪肉缶詰製品の製造加工にあたっては、封缶後に 120 分間の加圧加熱殺菌を施していた。缶詰製品等の容器包装詰加圧加熱殺菌食品に対して、食品衛生法では、中心部が 120 分以上の加熱を製造基準として設定しているが、今回調査対象とした施設 A ではより厳しい加熱殺菌条件を設定し、発育しうる微生物が陰性となるよう対策を講じていた。

原料肉の衛生管理を行う上では、とたい由来の病原微生物の制御に加え、施設環境の衛生状況の確保も重要な項目と考えられる。これを評価する一つの指標として本研究では、真菌汚染分布に関する検討を行った。検討を通じ、2 対象施設では酵母が多く認められた。酵母は物性として空気中に浮遊するよりも壁や床等に付着する性質が強いことから、猪解体処理施設等での衛生状況確認を目的とした真菌調査には、ふき取り法が空気浮遊法よりも適していると考えられた。

施設内の真菌数に関する法的規制値は存在しないが、日本建築学会が発表する室内環境の維持管理規準値推奨値（1,000 CFU/m<sup>3</sup>）と比較した結果、2 対象施設のうち、施設 C については真菌の異常発育はないと判断されたが、解体室、冷蔵庫、外毛等では酵母が比較的高い占有率を示した。これらとはたい由来の真菌が伝播した可能性が考えられた一方、一次加工室では酵母の割合は低かったことを踏まえると、一次加工室で検出された真菌は外環境や室内のハウスダスト等の影響によるものと推察される。

施設 D では、施設 C に比べ、真菌叢の多様性が小さい状況にあった。このことは、当該施設は人為的影響を受けた微生物環境にあると想定される。このうち、*Cladosporium* 属菌は解体室やとたい冷蔵庫、一次加工室等で高い割合で分布していた。聞き取り調査を通じ、当該施設では、殺菌剤を用いた洗浄消毒を励行しており、実際に糞便汚染指標菌の分布は解体室に限定されていたこと、汚染菌数も施設 C に比べて低いこと等から、生体由来の病原菌排除の観点では十分に機能していると考えられたが、その一方で当該施設は湯剥きで外毛除去を行っているため、周辺を含めた室内環境が高湿となっていた可能性が考えられた。*Cladosporium* 属菌はその生育に高湿を好

むことを鑑みて、施設 D における真菌の異常増殖を防止する上では湿度管理を図ることが有効な対策と考えられる。

表 2 に、各施設のサンプルから検出された主な真菌の種類一覧を示した。食肉から検出されることが多いとされる *Mucor* 属菌、*Geotrichum* 属菌、*Penicillium* 属菌など、および野生動物を含む動物由来であり皮膚感染性がある *Trichosporon* 属菌が検出された一方、表中のその他の属の菌は、土壌や空中など環境から普遍的に検出される種類であったことから、各施設室内の真菌叢は、屠体および外環境の影響を大きく受けていることが確認された。

## E. 結論

本研究では、猪肉缶詰製品の製造加工工程を通じた微生物動態を検証し、衛生的な原料肉を確保する重要性と、十分な加熱殺菌工程を経ることで、安全性を確保しうること示した。また、原料肉を製造する猪解体処理施設での衛生試験並びに真菌汚染調査を通じ、猪生体に由来する真菌の汚染が解体室等で生じやすい一方、区分化を図ることで一次加工室の真菌汚染を制御しうることを実証した。また、高湿環境により真菌の異常増殖を示した可能性を探知し、その制御に向けた対応として湿度管理が有効である可能性を提示した。通じた検証を行い、具体的な条件を例示した。本研究の成績は関連事業者が衛生確保に向けた取り組みを行う上での参考知見として活用されることが期待される。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yamazaki A, Honda M, Kobayashi N, Ishizaki N, Asakura H, Sugita-Konishi Y.

The sensitivity of commercial kits in detecting the genes of pathogenic bacteria in venison. J Vet Med Sci. 2018.

80(4):706-709.

- 2) Honda M, Sawaya M, Taira K, Yamazaki A, Kamata Y, Shimizu H, Kobayashi N, Sakata R, Asakura H, Sugita-Konishi Y. Effects of temperature, pH and curing on the viability of *Sarcocystis*, a Japanese sika deer (*Cervus Nippon centralis*) parasite, and the inactivation of their diarrheal toxin. J Vet Med Sci. 2018. 80(8): 1337-1344.

2. 学会発表

なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

なし

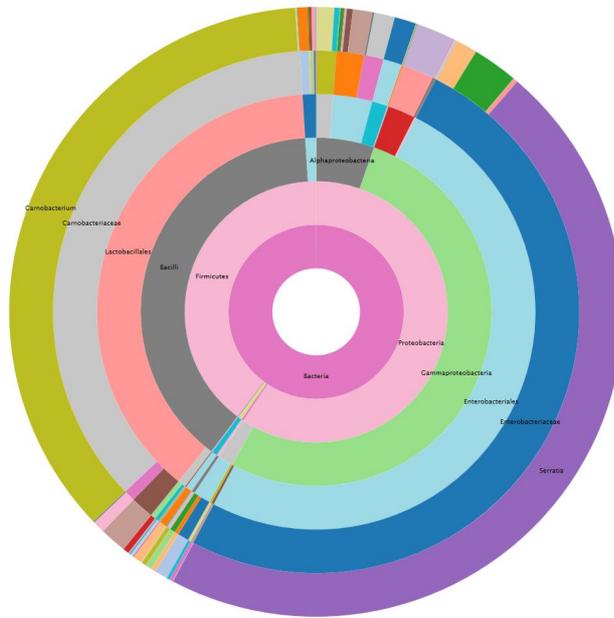


図 1 . 施設 B 由来の猪原料肉検体 15 の構成細菌叢に関するサンバーストチャート

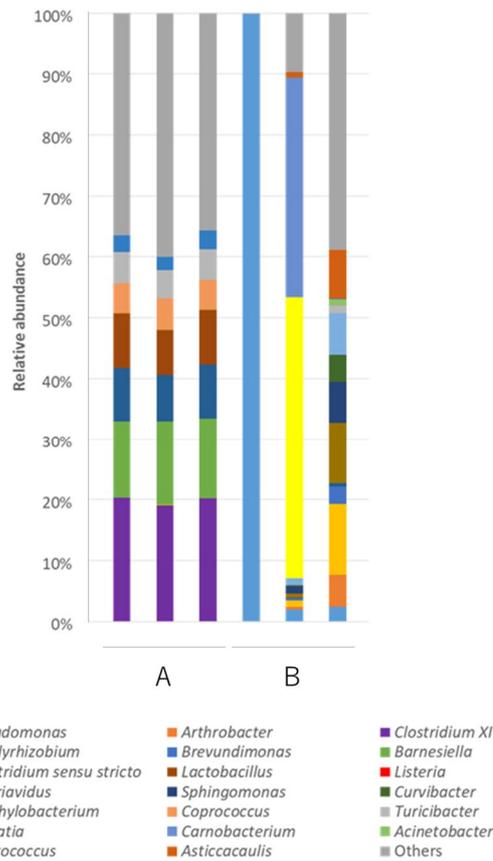


図 2 . 施設 B 由来猪原料肉代表検体 (モモ) の構成菌叢比較

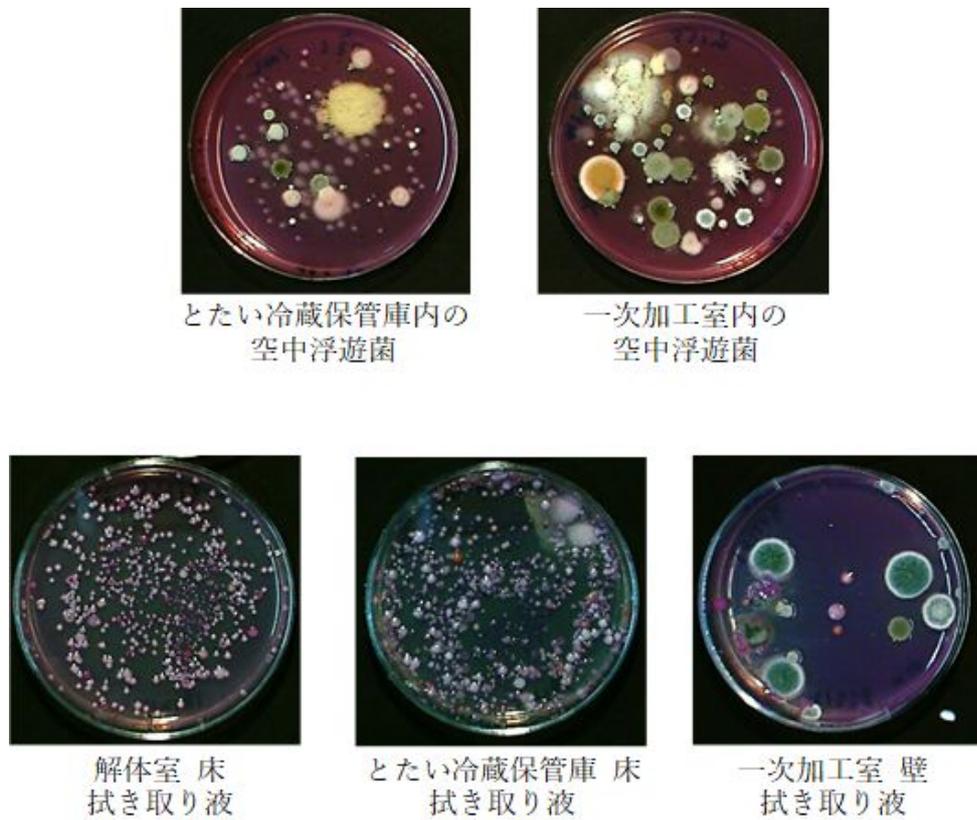


図 3 . 猪解体処理施設 C 由来代表検体の DRBC 寒天平板上での真菌発育像

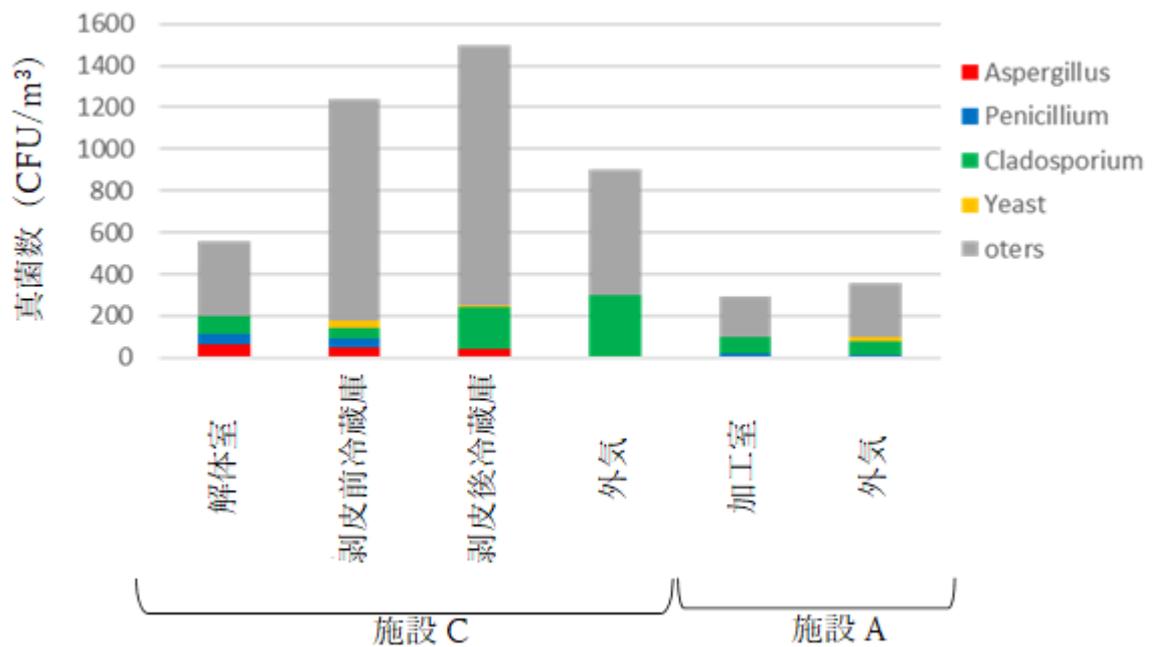
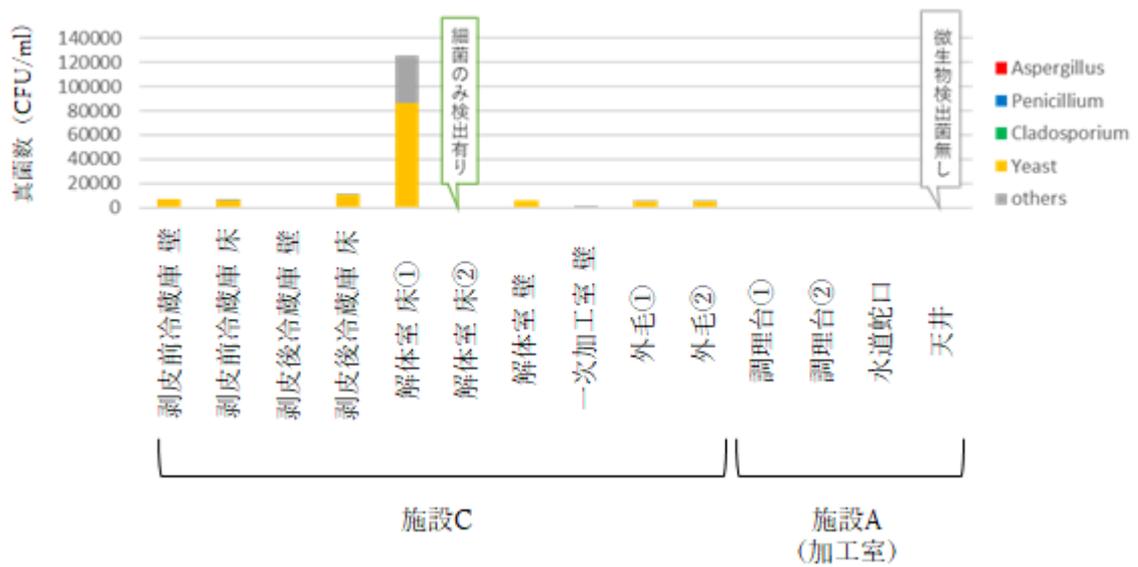


図 4 . 施設 C および施設 A における空中浮遊真菌数と真菌叢の比較

(A)



(B)

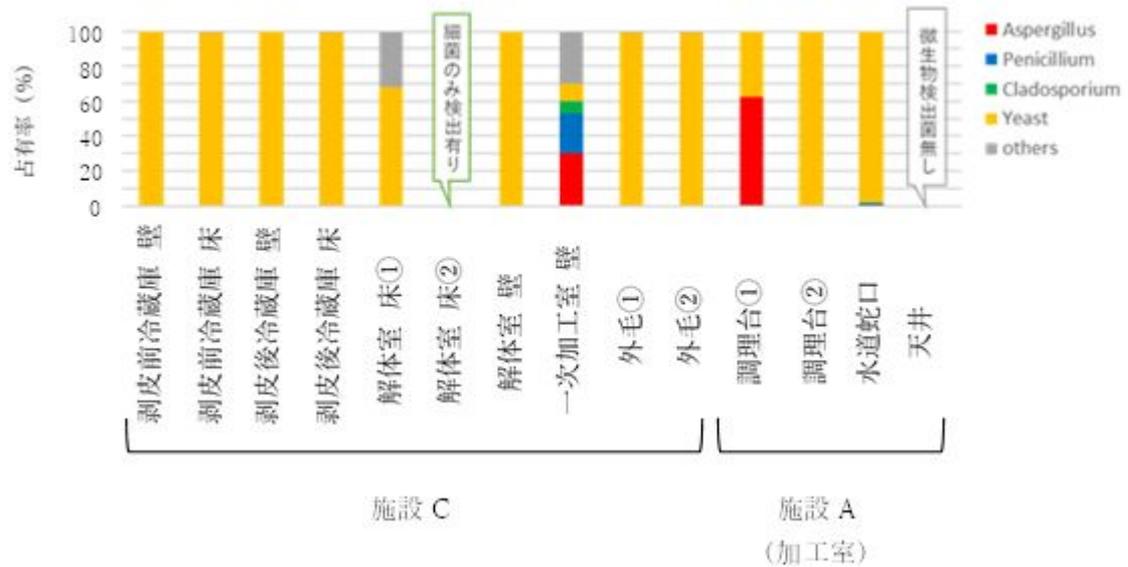


図5. 施設C及び施設Aの拭き取り検体から検出された真菌数及びその構成



解体室 床  
拭き取り液



解体室 壁  
拭き取り液



冷却保管室 壁  
拭き取り液



一次加工室  
空中浮遊菌



外気

図6. 猪解体処理施設 D 由来代表検体の DRBC 寒天平板上での真菌発育像

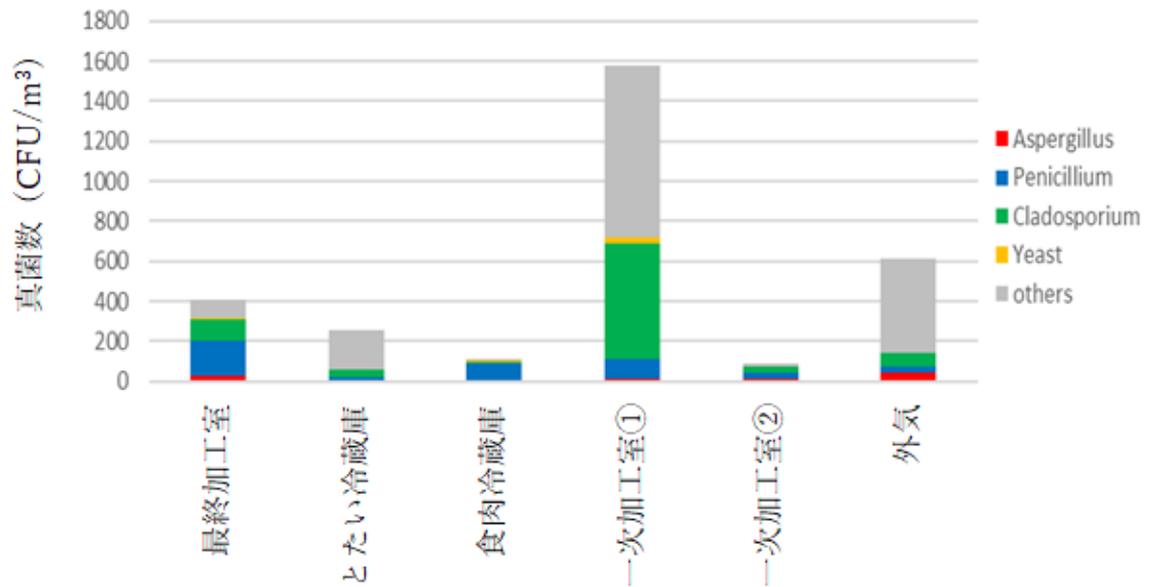
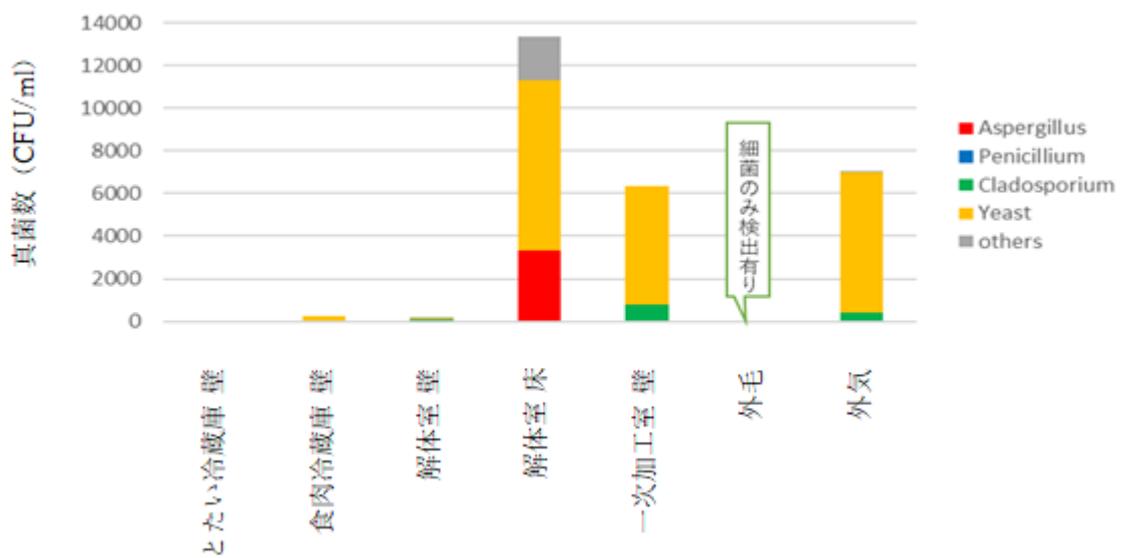


図7. 猪解体処理施設 D における空中浮遊真菌数と真菌叢の比較

(A)



(B)

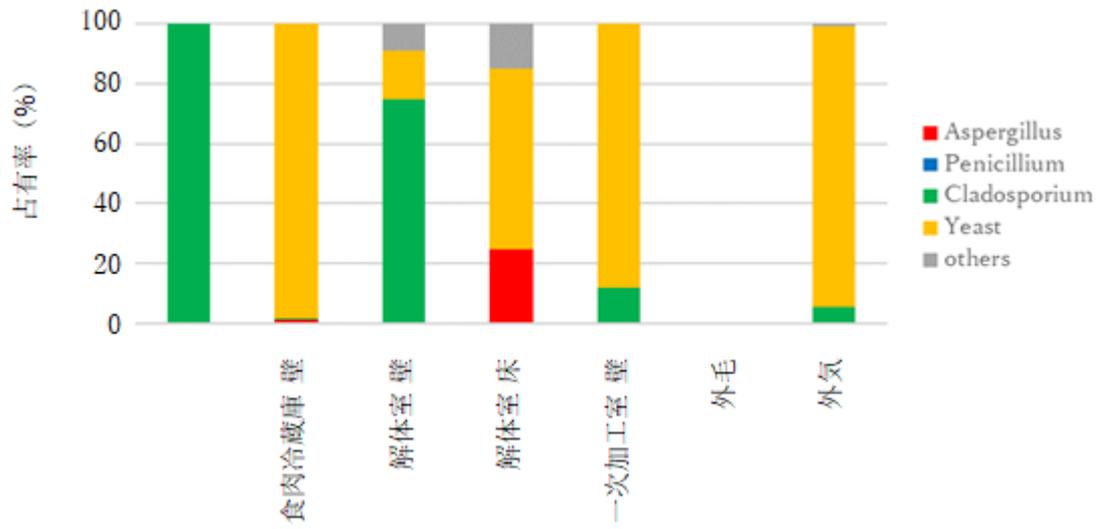
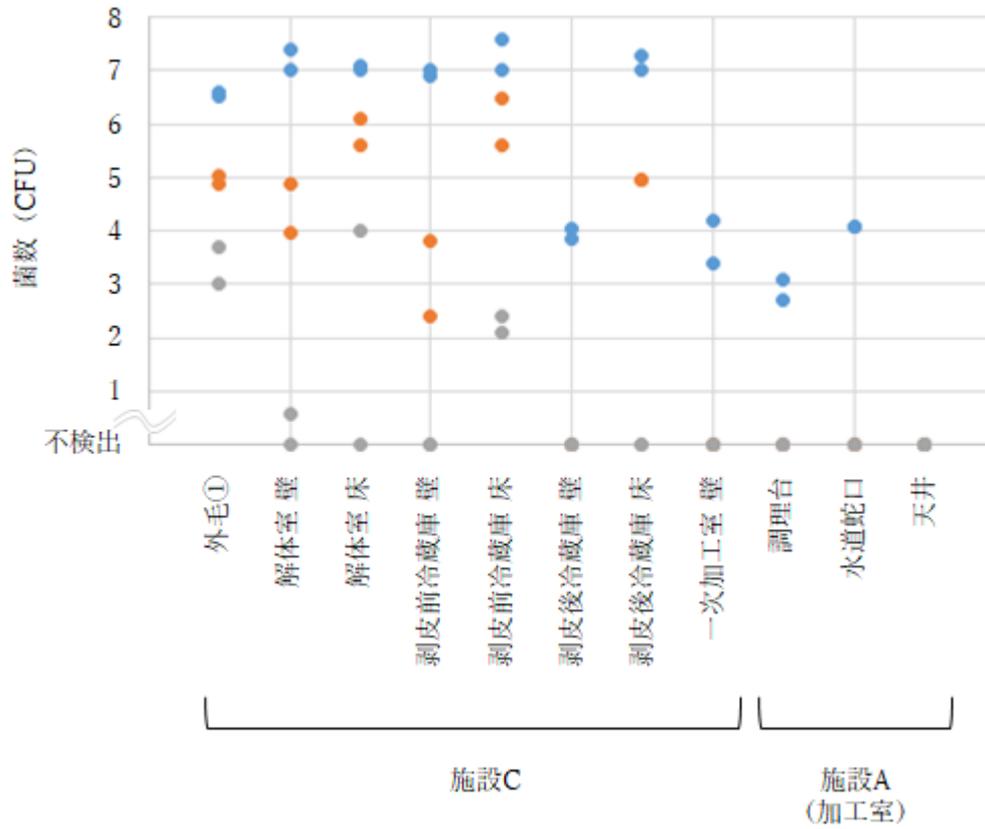


図 8 . 施設 D の拭き取り検体から検出された真菌数及びその構成

(A)



(B)

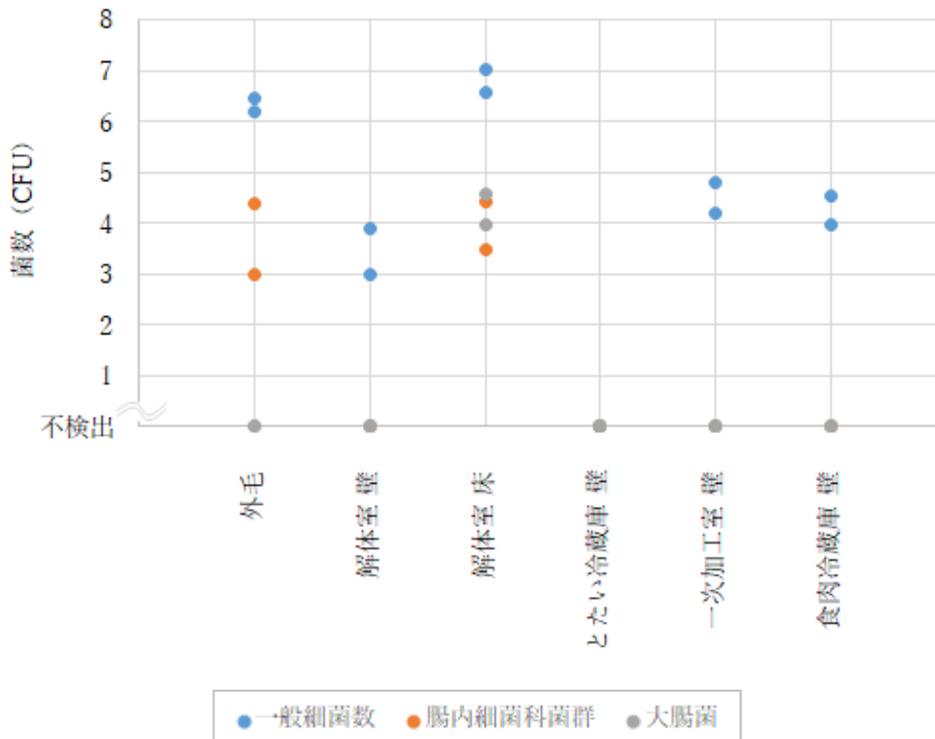


図9. 施設 C, D, A 由来拭き取り検体からの衛生指標菌検出状況  
(A) 施設 C 及び A、(B) 施設 D 由来検体を示す。

表 1. 猪缶詰製造工程を通じた細菌動態に関する検討成績概要

検体種別	検体番号	検体画像	施設	部位・品名	衛生指標菌 (CFU/g)					サルモネラ属菌	腸管出血性大腸菌
					一般細菌数	腸内細菌科菌群	大腸菌群	大腸菌	黄色ブドウ球菌		
原料肉	1		A	モモスライス	5.0.E+01	<5	<5	<5	<5	-	-
	2				0.0.E+00	<5	<5	<5	<5	-	-
	3				1.0.E+02	<5	<5	<5	<5	-	-
	4				0.0.E+00	<5	<5	<5	<5	-	-
	5				5.5.E+02	<5	<5	<5	<5	-	-
	6				2.0.E+02	<5	<5	<5	<5	-	-
	7			ローズスライス	2.6.E+03	5.0E+01	<5	<5	5.0.E+00	-	-
	8				5.1.E+03	5.0E+01	<5	<5	<5	-	-
	9				5.0.E+01	<5	<5	<5	<5	-	-
	10				5.0.E+01	<5	<5	<5	<5	-	-
	11				1.0.E+02	<5	<5	<5	<5	-	-
	12				0.0.E+00	<5	<5	<5	<5	-	-
	13		B	モモスライス	1.2.E+06	<5	1.5.E+03	<5	5.0.E+00	-	-
	14				5.2.E+05	<5	1.6.E+03	<5	<5	-	-
	15				5.4.E+05	2.9.E+04	4.5.E+02	<5	3.1.E+02	-	-
	16				3.7.E+05	2.3.E+04	1.0.E+02	<5	2.1.E+02	-	-
	17				1.4.E+03	<5	<5	<5	<5	-	-
	18				1.4.E+03	<5	<5	<5	<5	-	-
	19			カタスライス	2.0.E+06	<5	2.3.E+03	<5	5.0.E+00	-	-
	20				1.6.E+06	<5	9.5.E+02	<5	<5	-	-
	21				2.9.E+04	3.0.E+02	<5	<5	1.6.E+02	-	-
	22				2.4.E+04	5.0.E+02	1.0.E+02	<5	3.5.E+01	-	-
	23				5.4.E+03	<5	<5	<5	7.5.E+01	-	-
	24				8.4.E+03	<5	<5	<5	8.0.E+01	-	-
中間製品	25		A	ポトフ煮	<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	26				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	27				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	28				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	29				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	30				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	31				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	32				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	33				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	34				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	35			ビール煮	<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	36				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	37				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	38				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	39				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	40				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	41				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	42				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	43				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	44				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
最終製品 (加圧加熱殺菌後)	45		A	ポトフ煮	<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	46				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	47				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	48				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	49				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	50				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	51				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	52				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	53				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	54				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	55			ビール煮	<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	56				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	57				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	58				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	59				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	60				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	61				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	62				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	63				<5	<5	<5	<5	<5	-	-
	64				<5	<5	<5	<5	<5	-	-

表 2 . 真菌分布調査に供した検体一覧

施設	検体種類	採取場所
施設C	空気	外気
		剥皮前とたい冷蔵庫
		剥皮後とたい冷蔵庫
		一次加工室
	拭取り	猪外毛
		解体室の壁・床
		剥皮前とたい冷蔵庫の壁・床
		剥皮後とたい冷蔵庫の壁・床
一次加工室壁		
施設A	空気	外気
		加工室
	拭取り	調理台表面
		水道管蛇口
		天井板
施設D	空気	外気
		解体室
		とたい冷蔵庫
		一次加工室
		食肉冷蔵庫
		最終加工室
	拭取り	猪外毛
		解体室の壁・床
		とたい冷蔵庫の壁
		一次加工室の壁
		食肉冷蔵庫の壁
		加工肉の冷却保管庫壁

表3. 主な真菌属の施設・採材箇所別検出状況

真菌属	施設					
	施設C		施設A		施設D	
	空気浮遊	拭取り	空気浮遊	拭取り	空気浮遊	拭取り
<i>Acromonium</i>			加工室			
<i>Alternaria</i>					外気	解体室床
<i>Arthrospium</i>			外気			
<i>Aspergillus</i>		外毛、剥皮前とたい冷蔵庫床、剥皮後とたい冷蔵庫壁		調理台	外気、解体室、一次加工室、食肉冷蔵庫、最終加工室	解体室床、とたい冷蔵庫壁
<i>Aureobasidium</i>		剥皮前冷却保管庫床壁	外気		とたい冷蔵庫、食肉冷蔵庫	解体室床、とたい冷蔵庫壁
<i>Cladosporium</i>	剥皮前とたい冷蔵庫	剥皮前とたい冷蔵庫壁・床、剥皮後とたい冷蔵庫壁	加工室空気、外気		外気、解体室、とたい冷蔵庫、一次加工室、食肉冷蔵庫、最終加工室	外毛、解体室壁・床、とたい冷蔵庫壁、一次加工室壁
<i>Geotrichum</i>		外毛、剥皮前とたい冷蔵庫床、剥皮後とたい冷蔵庫床	加工室空気			
<i>Fusarium</i>					外気	
<i>Mucor</i>	剥皮前とたい冷蔵庫	外毛、剥皮前とたい冷却保管庫床	加工室空気			
<i>Peecilomyces</i>		剥皮後とたい冷蔵庫				
<i>Penicillium</i>	剥皮前とたい冷蔵庫、剥皮後とたい冷蔵庫	外毛、剥皮前とたい冷蔵庫床・壁、剥皮後とたい冷蔵庫壁	加工室	調理台	外気、解体室、とたい冷蔵庫、一次加工室、食肉冷蔵庫、最終加工室	
<i>Phoma</i>	剥皮後とたい冷蔵庫				外気	解体室床
<i>Trichoderma</i>			加工室空気			
<i>Trichosporon</i>		解体室壁、剥皮後とたい冷蔵庫床・壁				
<i>Ulocladium</i>	剥皮後とたい冷蔵庫	外毛				

平成 30 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

### 野生鳥獣由来食肉の加熱調理条件に関する研究

研究分担者	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	上間 匡	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	永田文宏	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	山田 研	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校
	秋本真一郎	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校
	迫井千晶	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校
	小山瑞季	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校
	五領田小百合	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校

#### 研究要旨

野生鳥獣由来食肉の加熱調理にあたっては、近年低温加熱調理が多用される傾向にある。一方で、同加熱条件の妥当性に関する知見は十分に得られていない。本研究では、鹿肉及び猪肉を対象として、スチームコンベクションオーブを用いた低温加熱調理による病原微生物汚染低減効果を検討した。芯温測定記録を基に加熱殺菌量を求め、63℃・30分との同等性を評価したところ、約 80g のブロック肉検体の芯温が 65℃～75℃ となった場合の加熱時間は 65℃ で 19 分、68℃ で 12 分、70℃ で x x 分、75℃ で 1 分と厚生労働省 Q&A で示される条件とほぼ同等であった。腸管出血性大腸菌 0157:H7 (NIHS208 株, NIHS470 株)、サルモネラ属菌 (*S. Enteritidis* NIHS562, *S. Typhimurium* LT2)、及びコクサッキー B5 ウイルス (CB5 株, ノロウイルスの近縁で同等の耐熱性を有するウイルス) について、添加回収試験を通じた汚染低減効果を検証したところ、2 種の細菌については 10<sup>6</sup> オーダー以上、ウイルスについては 10<sup>4</sup> オーダー以上の低減を認め、十分な加熱殺菌効果を有する条件であることが実証された。また、猪肉をフライパンでポワレ調理し中心部を 75℃ で 1 分間加熱した際にも同等以上の加熱殺菌効果が得られ、その適切性が示された。以上の成績は、微生物危害低減をはかるための加熱調理条件例として、今後調理施設で各自が検証により条件を設定する際に活用されることが期待される。

#### A. 研究目的

近年の農林水産業をめぐる鳥獣被害の増加

を受けて、野生鳥獣の食用としての利活用に

よる鳥獣被害対策や地域活性化への取り組み

が薦められている。農林水産省では、本年度に国産ジビエ認証制度を設け、ジビエの衛生的な利活用を推進している。食品の衛生管理確保については、厚生労働省が平成26年11月に野生鳥獣肉の衛生管理に関するガイドラインを策定し、とちく場

に倣った衛生的な取り扱いを定め、周知したほか、本年度に入り、ジビエ振興協会により、HACCP手引書の作成も検討されている<sup>1)</sup>。一方、野生鳥獣肉の衛生管理に関するガイドラインでは、解体から調理に至るフードチェーン全体での衛生的な取り扱い方法について、詳細に例示されてはならず、各事業者が衛生的な取り扱いを行う上では、科学的根拠に基づく実態の把握並びに衛生確保に資する情報の提供が求められている。

こうした背景を踏まえ、本分担研究では、野生鳥獣肉の加工調理段階における衛生管理の在り方を示す一例として、鹿肉及び猪肉を対象とした場合の、低温加熱調理を通じた微生物汚染挙動について、調理専門家を含めた形で検討を行ったので報告する。

## F. 研究方法

### 1. 食品検体及び加熱調理条件

#### (i) 無包装状態での検証

本研究では、鹿ロース肉、猪ロース肉、猪外モモ肉を供試した。同検体は、解体加工後、冷凍保存・輸送されたものを、4 下で一晩自然解凍させた後、試験に供した。検体の別による、加熱条件は以下のとおりである(図2)。

1) 鹿ロース肉：45 g～63 g重量に整形した鹿ブロック肉を、65、68、75 (設定温度)に予熱したスチコンベクションオープン(ホシザキ MIC-5TB3、以下スチコンと記載)内での加熱調理に供した。検体芯温が各設定温度に達した時点より、65 では15分、68 では5分、75 では1分を経過した時点で氷冷

した。

2) 猪ロース肉(ロースト調理)：約230 g-290 g重量に整形した猪ロースブロック肉をスチコンに入れ、160 設定温度で加熱した。検体芯温が60 に達した時点で取り出し、アルミホイルで包み、スチコン上部に静置し余熱で加温し、検体芯温が68 で5分間を満たした時点で氷冷した。

3) 猪外モモ肉(ポワレ調理)：約73 g - 93 g重量に整形した猪外モモブロック肉をIH用フライパン上で加熱調理に供した。強火で加熱を開始し、検体表面に焼き色がついてきた時点で中火に調整した。検体芯温が75 1分を満たした時点で氷冷した。

### 2. 殺菌加熱量の算出

項1-1)~3)の加熱調理を行った際の検体中心部における温度推移をHiTemp140-PT(Madge Tech社)を用いて1分毎に測定記録した。測定記録値を下式にインプットし、部分的殺菌価[L]及び全体殺菌価 [L]を求めた<sup>2)</sup>。

$$[L] = (L_i + L_{i-1}) / 2 \times t_i$$

( $L_i + L_{i-1}$ ：連続したL値の合計(L値は各時間での加熱殺菌価、 $t_i$ は測定時間間隔(分)を示す)

### 3. 病原性微生物を用いた添加回収試験(図1)

腸管出血性大腸菌 0157:H7 2 株(266 株及び470 株)、サルモネラ属菌 2 株(*S. Typhimurium* NIHS553 株及び *S. Enteritidis* NIHS562 株)及びコクサッキーウイルス B 型 5 群(CB5 株)の混合微生物懸濁液を調整後、26G ニードル及びゴムシールを用いて各検体の中心部に接種した。同検体は、上記 1. 1) - 3)に示した各条件に従って加熱調理後、滅菌ストマッカー袋(セントラル科学貿易)内で氷冷させた。滅菌袋で検体全量を細切した後、検体の 3 倍重量の緩衝ペプトン水(BPW、Oxoid)を加え、1

分間ストマッキング処理を行った。これを試験原液として、以下の衛生指標菌及び添加病原細菌の定量試験、ウイルス力価測定試験に供した。

(i) 衛生指標菌、STEC 0157、及びサルモネラ属菌定量試験

上記 3. で調整した懸濁溶液 100 $\mu$ L を、標準寒天培地、Violet Red Bile Glucose (VRBG) 寒天培地、クロモアガーSTEC、クロモアガーサルモネラ各 2 枚 (検体あたり) に接種し、各培地の条件に従って (衛生指標菌については ISO 法が定める条件に従って) 培養を行い、それぞれの対象菌を定量検出した。

(ii) ウイルス力価測定

上記 3. で調整した懸濁溶液を遠心分離し、上清 2 ml を 0.45  $\mu$ m フィルターろ過した。同ろ液を用いて、50%感染終末点法による感染価の測定に供した。

## G. 研究結果

### 1. 加熱調理を通じた検体芯温挙動

63 30 分間加熱により得られる加熱殺菌価  $L$  は 30.0 と試算された。これを指標として、鹿ロース肉、猪ロース肉、猪外モモ肉の加熱調理を通じた加熱殺菌価を求めた。各条件下での温度変化及び検体剖面像は図 3 に示した通りであり、設定温度が高いほど、検体芯温は速やかに上昇する傾向が認められた。

#### 1) 鹿ロース肉 (図 4)

スチコンを用いた加熱調理を通じて得られた殺菌加熱量は中心温度 65 15 分加熱で  $91.0 \pm 19.2$ 、68 5 分で  $154.1 \pm 6.5$ 、75 1 分で  $5410.4 \pm 310.0$  と試算され、63 30 分間の加熱と同等以上であった。

#### 2) 猪肉 (図 4)

猪ロース肉をスチコンで芯温が 60 に到達した後、余熱調理により芯温が 68 5 分間となるよう、保持した際の殺菌加熱量は 4939.1

であった。また、猪外モモ肉をポワレ調理により、芯温 75 で 1 分間保持した際の加熱殺菌量は  $10196.1 \pm 8900.0$  となり、63 30 分間の加熱条件と同等以上と試算された。

### 2. 添加回収試験による各加熱調理条件の検証

各加熱調理を通じた微生物汚染低減効果を評価するため、腸管出血性大腸菌 0157、サルモネラ属菌、及びコクサッキーウイルス B 型 5 群混合懸濁液を検体中心部に接種し、項 1-1)~3) に示す加熱調理を通じた微生物挙動を定量的に求めた。併せて、自然汚染を顕す一般細菌数及び腸内細菌科菌群数についても同時に求めた (図 5)。

#### 1) 鹿ロース肉

加熱前検体 (無加熱群) における一般細菌数、腸内細菌科菌群、腸管出血性大腸菌 0157、サルモネラ属菌数、ウイルス感染価の平均 (接種) 値はそれぞれ  $8.2 \times 10^7$  CFU/g、 $6.8 \times 10^7$  CFU/g、 $2.4 \times 10^6$  CFU/g、 $2.1 \times 10^7$  CFU/g、 $7.1 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml であった。65 15 分及び 68 5 分加熱後の一般細菌数平均値はそれぞれ  $4.8 \times 10^3$  CFU/g 及び  $4.5 \times 10^3$  CFU/g であったが、両条件の加熱調理後には、他の微生物はいずれも検出されなかった。また、75 1 分間加熱群では、一般細菌数を含む全ての対象微生物が不検出であった。

#### 2) 猪肉

$1.6 \sim 9.9 \times 10^6$  CFU/g の腸管出血性大腸菌 0157、及び  $1.7 \sim 6.1 \times 10^6$  CFU/g のサルモネラ属菌を実験的に中心部に接種した猪肉検体について、項 1-2) ~ 3) に示す条件で加熱調理を行ったところ、すべての対象微生物は不検出であった。

## H. 考察

本研究では、加熱処理工程における殺菌効

果を比較評価するための指標の一つとして、検体芯温推移に基づく殺菌加熱量の考え方を採用し、野生鳥獣由来食肉の代表的な加熱調理法を実施した際の同値を求めることで、63 30分加熱と同等以上の加熱殺菌量が、厚生労働省がQ&Aとして提示する、65 15分、68 5分、75 1分が妥当であることを検証した。加熱殺菌の妥当性評価には他の推定手法も存在するため、今回求めた温度推移データを用いた評価も継続して実施する必要があると思われる。

微生物汚染低減効果が期待できるとした複数の加熱調理条件の適切性は、添加回収試験により実証された。微生物汚染実態として、先行研究において、我々は鹿肉製品 120 検体のうち、1 検体で腸管出血性大腸菌を検出したことを報告している<sup>4)</sup>。当該病原菌の汚染菌数については明確ではないものの、直接培養では検出されないことを踏まえると、1g 当たりの汚染菌数は 10CFU 未満と推察され、本研究で示した汚染低減効果により十分な安全性確保が図られると推察される。一方で、本研究で対象とした検体はあくまでも例示であり、野生鳥獣由来食肉のフードチェーン実態を踏まえると、例えば真空包装された当該食肉を直接加熱調理に供した際の微生物挙動に関する知見等は今後検討が必要な事項と考えられる。また、現在は家庭用調理器具としても、低温加熱調理法は広がりを見せているため、より幅広い調理手法を視野に入れた適切な調理法についても今後検討を進めることは、野生鳥獣由来食肉の加工調理段階における安全性確保の推進に寄与すると思われる。

本研究で示した殺菌加熱量に基づく加熱調理条件の妥当性推定法は今後、野生鳥獣由来食肉を取り扱う加工調理施設等において加熱調理条件を設定する際の有効な補助的ツールとなるものと期待される。一方で、使用する

調理器具・機器の性質や検体の種別・大きさ、更には温度測定機器の精度・管理等によっても差異が生じる可能性があることに十分な留意が必要であることも併せて周知することが必要であろう。

## I. 結論

本研究では、野生鳥獣由来食肉の適切な加熱調理条件の例示を目的として、加熱調理条件の妥当性推定法を示すと共に、添加回収試験を通じた検証を行い、具体的な条件を例示した。本研究の成績は、HACCP 手引書等を作成する上での関連事業者の参考知見として活用されることが期待される。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 山本詩織、関 享子、朝倉 宏：低温加熱調理を通じた鶏肉における微生物汚染低減効果及び検体中心温度推移に関する検討 . 日本食品衛生学会第 114 回学術講演会、広島、2018 年 11 月 15 日.
- 2) 永田文宏、上間 匡：低温加熱によるシカ肉中のウイルス感染価の変化 . 日本食品衛生学会第 114 回学術講演会、広島、2018 年 11 月 15 日.
- 3) 山本詩織、川瀬 遵、池田徹也、上間 匡、迫井千晶、秋元健一郎、山田 研、朝倉 宏：野生鳥獣由来食肉の微生物学的品質と志賀毒素産生性大腸菌の汚染実態に関する検討 . 第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018 年 11 月 8 日.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

- 1) 一般社団法人日本ジビエ振興協会、  
http://www.gibier.or.jp/damage/
- 2) 芝崎 勲、新・食品殺菌工学、1998

- 3) Fidel Toldrá、Safety of Meat and Processed Meat, Springer, 2009

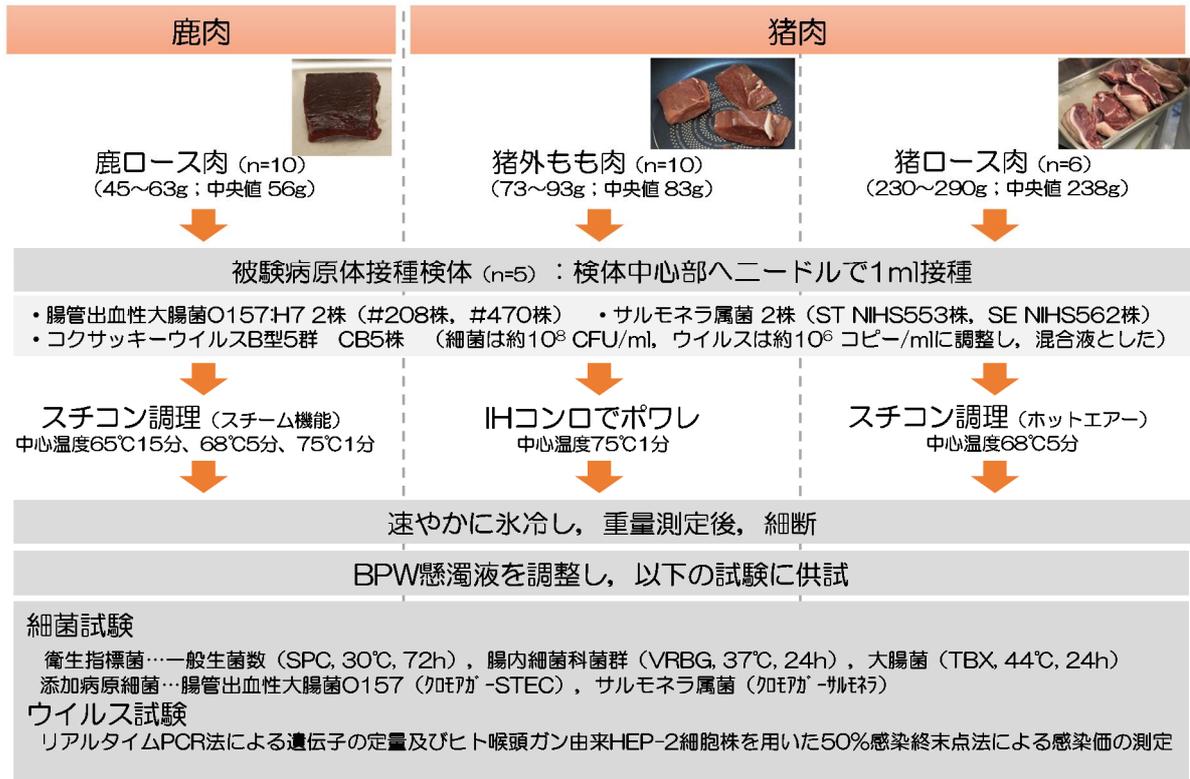


図1. 加熱調理を通じた微生物汚染低減効果検証フロー

### 〔ポワレ〕

- 温度ロガーを検体中心部に穿孔
- フライパンに猪外もも肉、バターを入れ、加熱開始



- 強火で焼き、焼き色がついてきた段階で中火に調整



- 検体中心が75℃1分加熱した時点で加熱終了
- 温度記録を回収及び微生物試験を実施

### 〔ロースト〕

- 160℃でスチコンを予熱
- 猪ロース肉を庫内に入れ、加熱開始



- 検体中心温度が60℃に達した段階で取り出し
- アルミホイルで包み、スチコンの上で余熱加温



- 検体中心温度が68℃で5分間加熱を満した段階で終了
- 温度記録を回収及び微生物試験を実施

図2. 猪肉検体の加熱調理概要

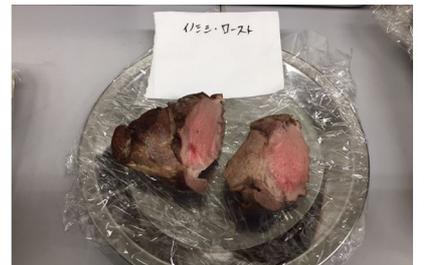
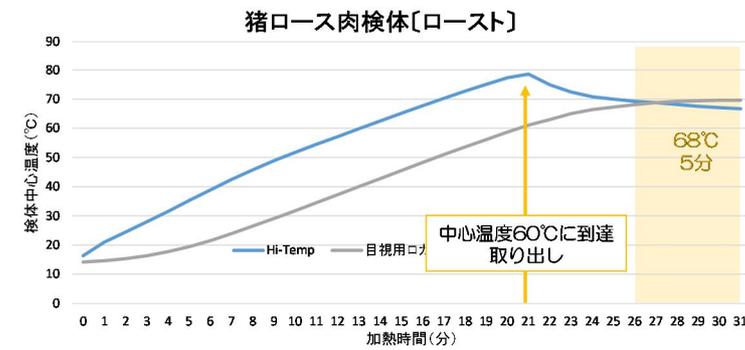
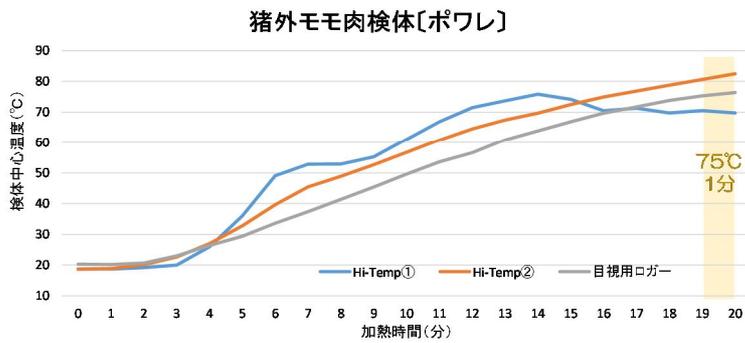
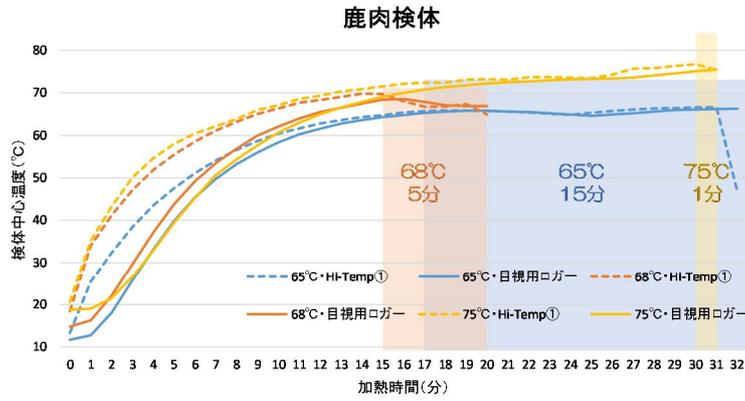


図3. 検体中心部位における温度推移と断面所見

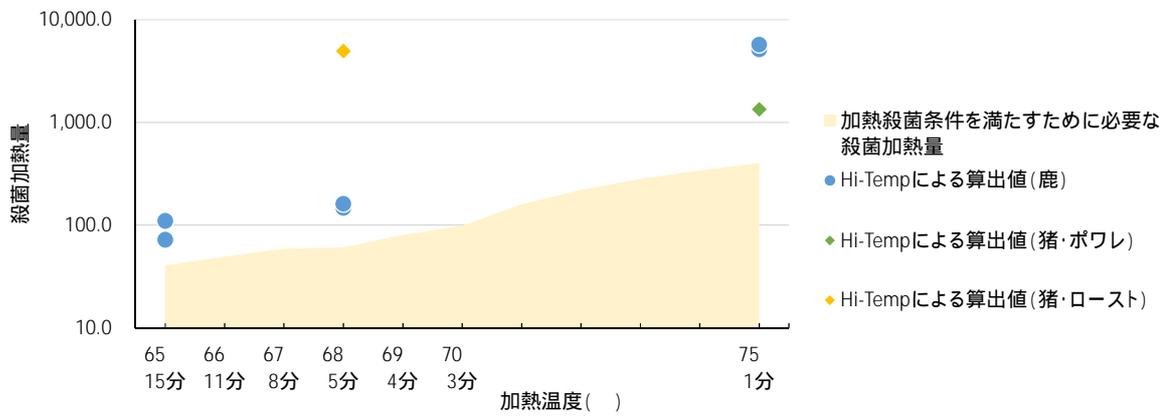
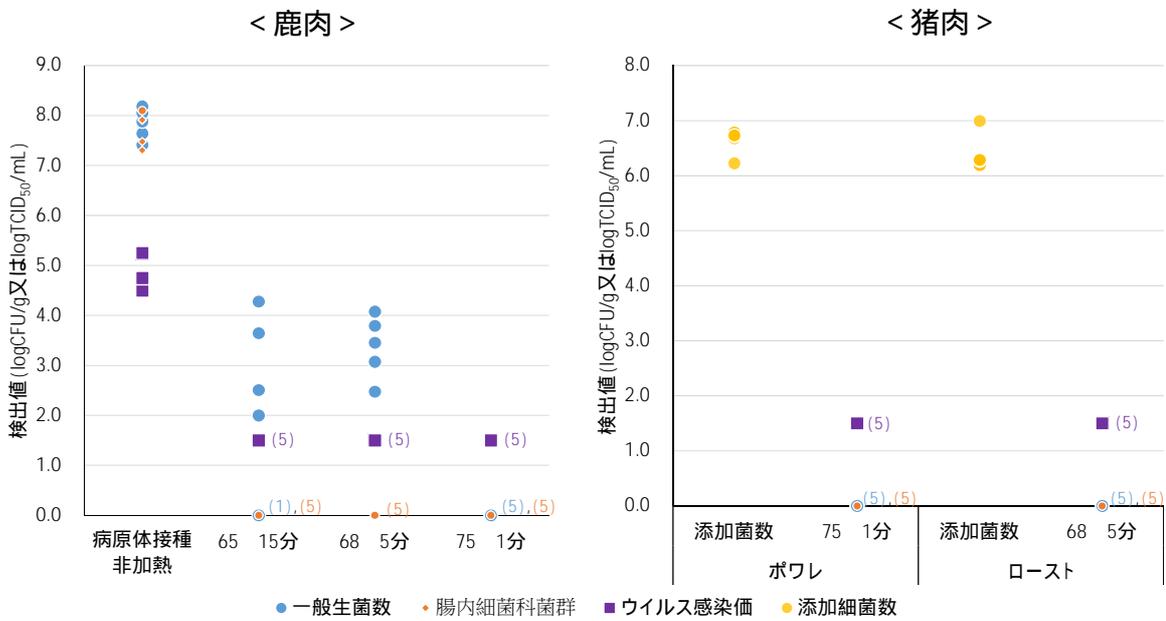


図4. 各加熱調理条件を通じて得られた殺菌加熱量



ウイルス感染価は、1.5 logTCID<sub>50</sub>/mLで検出限界以下である。

図5. 鹿肉、猪肉の加熱調理工程を通じた微生物汚染低減効果の検証（添加回収試験）

研究成果の刊行に関する一覧表：  
書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
前田 健	「動物由来ウイルス感染症としてのSFTS」	西條政幸	グローバル時代のウイルス感染症	日本医事新報社	東京	2019/1/25	123-128

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年	
Shimoda H, Hayasaka D, Yoshii K, Yokoyama M, Suzuki K, Koderu Y, Takeda T, Mizuno J, Noguchi K, Yonemitsu K, Minami S, Kuwata R, Takano A, Maeda K.	Detection of a novel tick-borne flavivirus and its serological surveillance.	Ticks and Tick-Borne Diseases		<a href="https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.006">https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.006</a>		2019
Yonemitsu K, Minami S, Noguchi K, Kuwata R, Shimoda H, Maeda K	Detection of anti-viral antibodies from meat juice of wild boars.	Journal of Veterinary Science.	81(1)	155-159.	2019	
Kuwata R, Shimoda H, Phichitrakulchai T, Prasertsincharoen N, Noguchi K, Yonemitsu K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Takano A, Suzuki K, Nemoto M, Bannai H, Yokoyama M, Takeda T, Jittapalapong S, Rerkamnuaychoke W, Maeda K	Getah virus epizootic among wild boars in Japan around 2012.	Archives of Virology.	163(10)	2817-2821.	2018	
Kamimura K, Yonemitsu K, Maeda K, Sakaguchi S, Settsuda A, Varcasia A, Sato H.	An unexpected case of a Japanese wild boar ( <i>Sus scrofa leucomystax</i> ) infected with the giant thorny-headed worm ( <i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> ) on the mainland of Japan (Honshu).	Parasitol Research.	117(7)	2315-2322.	2018.	
Matsuno K, Nonoue N, Noda A, Kasajima N, Noguchi K, Takano A, Shimoda H, Orba Y, Muramatsu M, Sakoda Y, Takada A, Minami S, Ueno Y, Morikawa S, Maeda K.	Fatal cases of endemic tick-borne phlebovirus infection in captive cheetahs 3 ( <i>Acinonyx jubatus</i> ).	Emerging Infectious Diseases.	24(9)	1726-1729.	2018	
Kobayashi T, Murakami S, Yamamoto T, Mineshita K, Sakuyama M, Sasaki R, Maeda K, Horimoto T.	Detection of bat hepatitis E virus RNA in microbats in Japan.	Virus Genes.	54(4)	599-602.	2018	
森川 茂、前田 健	重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)	日本獣医師会誌	71	474-477	2018.	
前田 健	重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)	獣医学雑誌	第22巻 第1号	51-52	2018	

高野 愛、前田 健	動物における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスの検出とマダニ対策について	日本鹿研究	9号	31-34	2018
前田 健	重症熱性血小板減少症候群(SFTS) ~ 感染経路はマダニからだけではない~	Infection Front	43	7-10	2018
高野 愛、前田 健	重症熱性血小板減少症候群（SFTS）について	獣医公衆衛生研究	20-2	33-38	2018
前田 健	獣医師が知らなければいけない重症熱性血小板減少症候群	NJK	199	15-20	2018
前田 健	SFTSウイルスに関する最近の知見	獣医アトピー・アレルギー・免疫学雑誌	2	4-9.	2018
Sato H, Murai H, Ishida S, Fujita H, Andoh M, Ando S.	Three human cases of tick bite associated with spotted fever group <i>Rickettsia</i> in Akita Prefecture, the northern part of Honshu, Japan.	Med Entomol Zool.	69(2)	49-54	2018.
Yada Y, Talactac RM, Kusakisako K, Hernandez PE, Galay LR, Andoh M, Fujisaki K, Tanaka T.	Hemolymph defensin from the hard tick <i>Haemaphysalis longicornis</i> attacks Gram-positive bacteria.	J Invertebrate Pathology	156	14-18	2018
Kubota R, Matsubara K, Tamukai K, Ike K, Tokiwa T.	Molecular and histopathological features of <i>Cryptosporidium ubiquitum</i> infection in imported chinchillas in Japan.	Parasitology International.	68	9-13.	2019
Tokiwa T, Ohnuki A, Kubota R, Tamukai K, Ike K.	Morphological and molecular characterization of <i>Cystoisospora</i> from Asian small-clawed otters.	International Journal for Parasitology PAW.	7	268-273.	2018
Ito A, Eckardt W, Stoinski TS, Gillespie TR, Tokiwa T.	Three new <i>Troglodytella</i> and a new <i>Goriloflasca ciliates</i> from mountain gorillas in Rwanda.	European Journal of Protistology.	65	42-56.	2018
Taira K, Nakamura S, Tokiwa T, Une Y.	Larva migrans of <i>Baylisascaris potosius</i> in experimental animals.	Journal of Parasitology.	104	424-428.	2018
Taira K, Nakamura S, Tokiwa T, Une Y.	Larva migrans of <i>Baylisascaris potosius</i> in experimental animals.	Journal of Parasitology.	104	424-428	2018.
Ito A, Tokiwa T	Infraciliature of <i>Opisthotrichum janus</i> , <i>Epidinium ecaudatum</i> , and <i>Ophryoscolex purkynjei</i> .	European Journal of Protistology.	62	1-10.	2018.
Tokiwa T, Kobayashi T, Ike K, Morishima Y, Sugiyama H.	Detection of anisakid larvae in marinated mackerel sushi in Tokyo, Japan.	Japanese Journal of Infectious Diseases.	71:	88-89.	2018.

猪又明日香、村越稔泰、齊藤健、上杉晶、大関桂子、阿部久司、町田章生、村中幹宏、常盤俊大、井上智.	新潟県における動物由来感染症サーベイランス体制の整備に向けた取り組み.	獣医畜産新報.	71	270-272.	2018.
井上智、常盤俊大、森嶋康之	知っておきたい感染動物等への侵淫と医療と協働した健康危害防止	動物由来感染症	2061	17-21.	2018
Yamazaki A, Honda M, Kobayashi N, Ishizaki N, Asakura H, Sugita-Konishi Y.	The sensitivity of commercial kits in detecting the genes of pathogenic bacteria in venison.	J Vet Med Sci.	80(4)	706-709.	2018
Honda M, Sawaya M, Taira K, Yamazaki A, Kamata Y, Shimizu H, Kobayashi N, Sakata R, Asakura H, Sugita-Konishi Y.	Effects of temperature, pH and curing on the viability of <i>Sarcocystis</i> , a Japanese sika deer ( <i>Cervus Nippon centralis</i> ) parasite, and the inactivation of their diarrheal toxin.	J Vet Med Sci.	80(8)	1337-1344.	2018

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について  
(平成26年4月14日科発0414第5号)」の別紙に定める様式(参考)

令和年 5月 30日

厚生労働大臣  
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿  
(国立保健医療科学院長)

機関名 学校法人北里研究所

所属研究機関長 職名 理事長

氏名 小林 弘祐 印

次の職員の(元号) 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理のための研究

3. 研究者名 (所属部局・職名) 獣医学部・教授

(氏名・フリガナ) 高井 伸二 (タカイ シンジ)

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入(1)		
		審査済み	審査した機関	未審査(2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針				
遺伝子治療等臨床研究に関する指針				
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(3)				
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針				
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )				

(1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講	未受講

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有	無 (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有	無 (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有	無 (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有	無 (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。