

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

令和元年度 総括研究報告書

研究代表者 高 井 伸 二
北里大学獣医学部

令和2(2020)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（寄生虫）の汚染状況に関する研究 「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」 「北海道のヒグマにおける旋毛虫の感染状況（予備調査）」 「北海道で続発したクマ肉喫食が原因の旋毛虫集団食中毒事例」	杉山 広
-----	28
3 . 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	壁谷 英則
-----	43
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 「猪肉解体加工調理施設における微生物動態に関する研究」 「低温加熱調理を通じた猪肉における E 型肝炎ウイルスの不活化に関する研究」	朝倉 宏
-----	55

令和元年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
令和元年度 総括研究報告書

「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、令和元年度は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2040頭と12道県のシカ1518頭を調査した。その結果、イノシシにおいては330頭（16.2%）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1355頭中24頭（1.8%）、シカ1278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30kg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30kg以下の個体が有意に高かった。このことは、30kg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、ウサギHEVの全塩基配列の同定と実験感染モデルの構築に成功した。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、14県のイノシシ1783頭中10県の226頭（12.7%）、12県のシカ1383頭中8県の398頭（28.8%）から抗SFTSウイルス抗体が検出された。狩猟者はHEVのみならずSFTSVに関しても注意が必要である。更にイノシシとシカの内臓の異常所見を回収するとともに、重要な肉眼所見の提供を依頼した。

「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）」

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、本虫の感染性を消失させる加熱条件を、マウスモデルを用いた感染試験で検討した。厚労省が野生鳥獣の加熱に求める条件（75 で1分以上）ならびに、それと同等とされる70 で3分、65 で15分、さらに厚労省の条件を上回る75 で2分との4条件で旋毛虫T9の幼虫を処理した。その結果、70 で3分および65 で15分の加熱で、本虫のマウスへの感染性が消失した。一方、75 で1分（および2分）の加熱では、本虫のマウスへの感染性が完全には消失しなかった。旋毛虫食中毒の予防に関する加熱条件のさらなる検討が必要と 思われた。

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

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感染事例が、2019年12月に発生した。2グループの合計10名が、同年11月に札幌市のイタリア料理店でクマ肉を喫食し、このうちの8名が発症した。患者が喫食したクマ肉は4年前に北海道で狩猟されたクマに由来し、4年間冷凍保存され（冷凍条件の詳細は不明）患者に提供される直前に、当該料理店に委譲されていた。しかし残品は保管されておらず、旋毛虫食中毒との判定は、血

清学的検査の結果に基づいて行われた。クマ肉の喫食による旋毛虫を原因とした集団食中毒事例は、2016年12月に茨城県で、また2018年に北海道で発生しており、本食中毒の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31年度は、過年度から引き続き、わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された鹿、ならびに猪枝肉の枝肉拭き取り調査を実施した。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のうち、鹿11施設、猪8施設でそれぞれ処理された洗浄前の鹿枝肉71検体、および猪枝肉計36検体について、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、大腸菌群数、大腸菌数、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、剥皮時の設備（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)「剥皮」と「内臓摘出」の作業順別では鹿において、「剥皮」「内臓摘出」の順で処理されたものは、「内臓摘出」「剥皮」の順に処理されたものに比べ有意に高度に一般細菌が検出されたこと、2)猪では、剥皮時に「のせ台」を用いた場合には、懸吊する場合に比べ、一般細菌が多く検出されたことを明らかとした。わが国の野生鳥獣肉処理施設Aで処理された猪枝肉5検体について、熟成前、熟成後のトリミング片およびトリミング後の食肉について、各種病原細菌の検出状況、衛生指標細菌数、ならびに細菌叢解析を行った。その結果、熟成後の検体から、病原細菌は全く検出されなかった。一般細菌と腸内細菌科菌群は、熟成後のトリミング片に高度に検出された。細菌叢解析の結果、熟成後に増殖した細菌のほとんどは *Pseudomonas* 属菌であったことが明らかとなった。

「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）」

食肉を含む食品や食品加工・製造環境には真菌・酵母が多く存在するとされ、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・酵母の分布はこれまで検討がされていない。衛生管理上の要点を真菌分布実態の観点から抽出し、改善策に係る知見を集積する必要があると考えられたことから、昨年度は猪解体・加工施設での真菌・酵母汚染実態調査を実施した。対象施設のうち、1施設では細菌汚染は制御できていると判断された一方、真菌・酵母は解体室、と体冷蔵室、加工室等に広域かつ高菌数の汚染を示したことから、本年度は同施設の継続的な協力を得て、汚染除去対策を講じた上で、酵母・真菌の汚染実態を改めて調査した。結果として、同施設室内環境で見られる酵母はと体由来と思われたほか、*Cladosporium* 属菌汚染は結露等を原因とした高湿度環境に因ると推察される結果を得た。更に、解体室等での菌数は昨年度が 1.3×10^4 CFU/m¹ であったのに対し、本年度は 2.3×10^2 CFU/m¹ となるなど顕著な低減を認められたほか、構成菌叢にも変化が認められ、効果的な室内洗浄・湿度管理等の衛生管理の徹底が真菌・酵母の汚染低減に寄与する実例を示すことができた。今後はこれらの要因と効果を個別に紐づけるための検証が必要と思われる。

猪生体は豚と同様、E型肝炎ウイルスに対する抗体保有率を示すことが本研究班の活動を通じて明らかにされてきた。厚生労働省では、猪肉の喫食に際し、十分な加熱調理を行う必要性について、消費者及び飲食店事業者等に向けた普及啓発を行っている。一方、猪肉をはじめとする野生鳥獣由来食肉は特性上、高温加熱調理により硬化しやすく、75℃を下回る温度帯での加熱調理が常態的に行われている。本研究では、猪肉をスチームコンベクションオーブンを用いて

低温加熱調理に供した場合の E 型肝炎ウイルスの不活化を遺伝学的に評価することとした。加熱条件には、75 1 分のほか、60 90 分、63 30 分、65 1 分、65 15 分、68 1 分、68 5 分、68 15 分を採用した。E 型肝炎ウイルスを検体中心部に添加後、回収した非加熱群では最大 8.96×10^6 コピー数の同ウイルスが回収されたほか、60 90 分加熱群、63 30 分加熱群、65 1 分加熱群、65 15 分加熱群、68 1 分加熱群からは、RNase 処理後であっても、それぞれ最大で 1.44×10^3 コピー、 1.43×10^3 コピー、 2.76×10^3 コピー、 2.12×10^3 コピー、 4.51×10^5 コピーの同ウイルスが回収された。一方、68 5 分加熱群、68 15 分加熱群、75 1 分加熱群については、RNase 処理後には同ウイルスの回収は認められず、これらの加熱条件は概ね 104 コピー数の低減効果を示すと想定された。今後、同食肉の前処理等で汎用される塩蔵やマリネ等の処理による同ウイルスの不活化効果についても評価を行うことで、調理段階での同ウイルス制御に資する科学的知見の総合的集積にあたりたい。

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

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

安藤 匡子 鹿児島大学

岡林 佐知 新薬リサーチセンター(株)

宇根 有美 岡山理科大学獣医学部

立本完吾 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

横山真弓 兵庫県立大学自然・環境科学研究所)

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

森嶋 康之 国立感染症研究所寄生動物部

村上 正樹 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

児玉 文宏 札幌市立札幌病院感染症内科

品川 邦汎 岩手大学農学部

小西 良子 麻布大学生命・環境科学部

小林 直樹 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

米満 研三 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

上間 匡 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

秋元 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

三浦 拓真 学校法人辻料理学館辻調理師専門学校

野中 覚 学校法人辻料理学館辻調理師専門学校

山本 彩乃 学校法人辻料理学館辻調理師専門学校

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

令和元年度の研究方法の概要は以下の通りである。

1)平成30-令和2年度の3年間は過去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。令和元年度は、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。ウサギ由来HEVの遺伝子解析と同時にウサギ実験モデルを検討した（前田）。

2)野生獣における異常所見の収集を処理施設に依頼し、イノシシおよびシカの解体の際に異常所見が認められた場合、写真撮影と材料採取をお願いし、病理組織学的検索も実施した（前田、安藤、岡林、宇根）。

3)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、本虫の感染性を消失させる加熱条件を、マウスモデルを用いた感染試験で検討した。北海道で捕獲されたヒグマの舌を用いて旋毛虫の寄生状況を検査した。2019年12月に北海道でヒグマの肉の喫食を原因とした集団事例が発生し、患者血清を検査材料として、市販のイムノプロット法による検査キットを用いた旋毛虫に対する抗体応答の検索を感染研で実施し、原因物質を診断した（杉山）。

4)わが国の野生鳥獣肉処理施設において処理された鹿肉や猪肉の拭き取り検体を用いて、衛生指標細菌（一般細菌、大腸菌群、大腸菌、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檢

討した。さらには、わが国の野生鳥獣肉処理施設 A で熟成処理された猪肉を用いて、熟成前後における衛生状況を検討した（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が、令和元年度は汚染除去対策を講じた上で、酵母・真菌の汚染実態を改めて調査した。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、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のうち、特に E 型肝炎ウイルスの不活化効果に着目した上で、調理専門家を含めた体制で検討を行った（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 29 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）」

1) イノシシにおける抗 HEV 抗体保有率: 日本全国 14 都道府県のイノシシ 2040 頭中 330 頭が抗 HEV 抗体陽性となり陽性率は 16.2%であった。2 県を除いて陽性の個体が見つかった。HEV に対する抗体保有率を性別で比較した結果、雄 16.0%、雌 20.2%の陽性率で雌雄差は認められなかった。一方、体重別で比較

した結果、30 kg 以下の個体では陽性率が 7.4%であったのに対して 30 kg 以上の個体では 23.6%と 3 倍以上の陽性率であった。イノシシの血清から HEV 遺伝子の検出を試みた結果、1355 頭中 24 頭の 1.8%から HEV 遺伝子が検出された。性別では雄の方が 2.5%と雌の陽性率の 1.2%より 2 倍ほど陽性率が高かった。また、体重別では 30kg 以下で 3.7%、30-50kg で 1.7%、50kg 以上で 0.6%と体重が増加するにつれて陽性率が減少した。一方、シカにおける抗 HEV 抗体と HEV 遺伝子検出: 1518 頭中 3 頭(0.2%)のシカが抗体陽性であったが、遺伝子検出は 1278 頭中 1 頭(0.1%)であった。2) イノシシ由来 HEV 遺伝子の塩基配列から系統樹解析を実施した。千葉県・山口県ではほぼ毎年同じクラスターを形成するウイルスが検出されおり、野外で維持されており、県単位ではなく、地域単位で流行しているウイルスが異なることが判明した。

3) ウサギにおける HEV 感染状況: 野生化ウサギ血清中抗 HEV 抗体保有率は 60 羽中 20 羽(33%)であり、58 羽中 1 羽(2%)から HEV 遺伝子が検出された。その遺伝子陽性の糞便乳剤を実験用ウサギに静脈内接種し、直腸スワブからの遺伝子検出を試みた結果、1 か月後にウイルスの増殖が観察され、3 か月後に抗体の上昇が認められ、ウサギ HEV の分離に成功した。

4) シカ・イノシシにおける抗 SFTSV 抗体ならびに遺伝子の検出: 日本のシカ 1383 頭中 398 頭(28.8%)が抗 SFTSV 抗体陽性となり、イノシシにおいては 1783 頭中 226 頭(12.7%)が抗 SFTSV 抗体陽性となった。西日本中心ではあるが 17 県中 12 県に SFTS ウイルスが侵入していることが判明した。検査した約半数のイノシシが感染している地域ではヒト患者やネコでの発症例が多く、シカが存在していないことから、イノシシが重要な SFTSV 保有動物と考えられる。

5) イノシシとシカにおける異常所見の収集: 2019 年 7 月に兵庫県立大学の横山先生よ

り、シカ肉加工所で寄生虫の写真を入手。検査材料は杉山先生に解析依頼。解析結果、サルコシステイスのマクロシストと報告を受けた。また、異常個体については病変部を病理組織学的に検索した(前田、安藤、岡林、宇根：別添)。

「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)」では、

1) 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：75 で1分の加熱を行った幼虫を投与したマウス4頭中1頭から幼虫が検出され、感染性が完全に失われていないことがわかった。75 で2分の加熱でも同様であった。しかし70 で3分および65 で15分の加熱を施した場合、マウスへの感染性は完全に消失し、虫体陽性のマウスは全く認められなかった。なお未処理群では投与したマウスすべてから幼虫が回収された。

2) 北海道に生息するヒグマにおける旋毛虫感染状況：19頭のヒグマの舌検体からは、旋毛虫幼虫を検出することができなかった。

3) 北海道で続発したクマ肉喫食が原因の旋毛虫集団食中毒事例：2019年11月10日にジビエ肉のローストを喫食した8名のうち、1名の血清が同年12月10日の抗体検査で陽性反応を示し、残り5名も抗体陽性者と類似の臨床症状を呈し、旋毛虫による6名の集団食中毒事例と判断された。同店でクマ肉を喫食した10名の抗体検査では、8名が抗体陽性となり、クマ肉喫食者10名、発症者8名の旋毛虫による集団食中毒事例と判断した。

「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)」1)

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：本研究で対象とした施設(鹿8施設、猪11施設)では、それぞれ「剥皮」と「内臓摘出」の順番が異なるものであった。鹿では、11施設中9施設で、「剥皮」「内

臓摘出」の順で作業していたが、2施設は「内臓摘出」「剥皮」の順であった。これに対して、猪の処理では、8施設中5施設で、「剥皮」「内臓摘出」の順、3施設は「内臓摘出」「剥皮」の順であった。剥皮時のと体は、鹿は全て懸吊していたが、猪では、のせ台を使用する施設と懸吊している施設がそれぞれ4施設であった。また、剥皮方法は、鹿では、ウィンチによる牽引が5施設、手剥ぎが6施設であったが、猪では、1施設を除き、全て手剥ぎであった。鹿の剥皮と内臓摘出の作業順別に枝肉洗浄前の胸部、肛門周囲部における各衛生指標細菌数の中央値を比較した結果、一般細菌数、大腸菌群数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数の中央値はいずれも検出限界未満であったが、胸部の一般細菌数において、「剥皮」「内臓摘出」では、「内臓摘出」「剥皮」に比べ、有意($p<0.05$)に高値であった。一方、猪では、「内臓摘出」「剥皮」では、胸部;同肛門周囲部における一般細菌数の中央値は、「剥皮」「内臓摘出」より低かったが、大腸菌群数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数の中央値はいずれも検出限界未満であった。いずれの衛生指標細菌においても、「剥皮」と「内臓摘出」の作業順別において有意差は認められなかった。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、猪枝肉の洗浄前の胸部;肛門周囲部における一般細菌数の中央値を比較した結果、「のせ台」で処理した枝肉の胸部は、「懸吊」のそれに比べ、有意($p<0.05$)に高値であった。大腸菌群、大腸菌、黄色ブドウ球菌の中央値は、いずれも検出限界未満で、有意差も認められなかった。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、鹿枝肉の洗浄前の胸部;肛門周囲部における各衛生指標細菌数の中央値を比較したところ、いずれも検出限界未満で有意差は認められなかった。

一方、猪では、胸部;肛門周囲部における一般細菌数の中央値は、「ウィンチ」と「手剥ぎ」で、有意差は認められなかった。大腸菌群、大腸菌、黄色ブドウ球菌の中央値は、いずれも検出限界未満で、有意差も認められなかった。

2)わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された猪熟成肉の衛生評価と細菌叢解析:5頭の枝肉由来 14 検体について各種病原細菌の分離培養を行ったところ、全ての検体から、検討した病原細菌は検出されなかった。16SrRNA (V3-V4)領域を標的としたPCRを行ったところ、9 検体から PCR 産物が得られた。このうち、熟成前は、1 検体のみ、熟成後(トリミング片)では、3 検体、熟成後(トリミング後の食肉)は 5 検体であった。検出された細菌属の上位 11 属は、*Pseudomonas*, *Janthinobacterium*, *Flavobacterium*, *Chryseobacterium*, *Pedobacter*, *Rahnella*, *Acinetobacter*, *Brochothrix*, *Arthrobacter*, *Psychrobacter*, *Mycoplasma* であった。熟成前では、*Pseudomonas* が最も多く 45.1%、次いで *Janthinobacterium* が 25.9 %、*Flavobacterium* が 10.2 % と続き、以降 *Chryseobacterium* が 7.2%、*Pedobacter* が 2.9%、*Rahnella* が 2.4%、*Acinetobacter* が 1.5%であった。これに対して、熟成後のトリミング片およびトリミング後の食肉の検体では、ほとんど(86.1~99.8%)が、*Pseudomonas* で、その他はいずれも 9.0%以下であった。

「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、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:令和元年度は衛生状況の更なる改善に向けた取り組みとして、解体室の床改修、一次加工室での使用後設備消毒方法の変更(大量の水洗浄方式から、必要量の水洗浄及び電解水噴霧による洗浄消毒への変更) 換気扇の使用頻度の変更(使用後一夜かけての換気扇使用から、数時間経過後に換

気扇使用を停止する形態への変更)を取った。同施設の空中浮遊菌数は、解体室では真菌がやや多い状況ではあったが、それ以外の室内環境では上記推奨値以下であることが確認された。また、菌叢としては、全体を通じて *Cladosporium* 属菌の占める割合は外気と同等に高い一方、酵母、*Aspergillus* 属菌、*Penicillium* 属菌の汚染は少ない状況であることが確認された。施設環境拭き取り検体中の総菌数については、作業台下角の最も清掃がし難い場所と目された、一次加工室床の菌数は、他の調査地点と比べて高い傾向であったが、それ以外では総じて低い菌数にとどまっており、特に解体室床、と体冷蔵庫壁及びの総真菌数はふき取り懸濁液 1 ml あたり 5 CFU 以下と極めて少ない状況であった。

前年度成績と比較して、空中浮遊菌に関しては、全ての調査地点の中で最も高濃度に真菌浮遊があるのは解体室であったことは共通していたが、令和元年度は *Penicillium* 属菌等の検出率が著減し、*Cladosporium* 属菌がやや増加した傾向であった。ふき取り検体に関しては、検出菌数が 5 CFU/ml 以下と少なかったとたい冷却保管庫を除き、平成 30 年度は酵母の占有率が高かったが、令和元年度には *Cladosporium* 属菌の検出頻度が高い状況へと変化する等、調査間で、解体室(平成 30 年度: 1.3×10^4 CFU/ml、令和元年度: 2.3×10^2 CFU/ml)及び加工室の壁・床に付着する真菌・酵母菌数及び同菌叢が変化したことが明らかとなった。

と体冷蔵室及び一次加工室における室内温度、相対湿度、及び露点温度データは、期間中、計 3,024 回の記録回数であった。一次加工室内では、真菌が生育しやすい条件とされる相対湿度 70%を超えた測定時間が全 3,024 回中 1,889 回(62.4%)を数え、かつ室内温度の中央値及び平均値は約 20 と、多くの真菌種の生育可能温度帯と重なっていた。従って、一次加工室は、長時間に亘り、外気の流入、または食肉に付着して外部から室内に入

った真菌が異常発育し易い環境であることが示された。これに対し、と体冷蔵保管庫内は、相対湿度 70%を超えた時間帯も全 3,024 回中 1,100 回 (36.4%) と相対的に短く、室内温度も十分に低かったため、真菌の異常発育は成立し難い状況に保たれていることが示された。このほか、露点温度については、一次加工室では夏季と冬季で傾向に差があり、冬季では室内露点温度と外気温が近接傾向のため、冬季には壁・床の結露が多い状態になり易いことを裏付ける結果が示されたといえる。

「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) 猪肉検体における衛生指標菌検出状況及び加熱殺菌量の評価：猪肉供試検体について、非加熱群における衛生指標菌検出状況の平均値は、一般細菌数が 1.3×10^6 CFU/g、腸内細菌科菌群が 2.9×10^3 CFU/g、大腸菌が 4.6×10^1 CFU/g であった。各条件の加熱処理群からは、腸内細菌科菌群及び大腸菌は検出されなかったほか、一般細菌数も最大で 4.8×10^0 CFU/g であった。

2) 低温加熱調理を通じた、猪肉検体における E 型肝炎ウイルスの消長：60、63、65、68、75 を設定温度とする低温加熱を通じた猪肉検体中心部の温度挙動をモニタリングし、加熱殺菌価を求めたところ、「63 30分」と同等またはそれ以上と見做される加熱条件としては、「60 90分」、「65 15分」が挙げられたほか、「75 1分」と同等またはそれ以上の加熱殺菌価を示す加熱条件としては、「68 15分」が挙げられた。この成績を踏まえて、各加熱条件の低温加熱調理をスチコンを用いて行い、E 型肝炎ウイルスの消長を評価することとした。評価にあたっては、回収した試験原液を RNase 処理した場合と処理しない場合それぞれを対象に含めた。「75 1分」加熱群では、RNase 処理の有無によらず何れも不検出となったが、RNase 未処理で評価した場合には、その他の加熱処理群は何れも数

値の幅はあるものの E 型肝炎ウイルス遺伝子の検出を認めた。一方、より生存性評価を厳密に行うべく置いた RNase 処理を行った場合、「68 5分」及び「68 15分」加熱群は「75 1分」加熱群と同様、不検出の結果を示した。

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、HEV の自然宿主はイノシシであり、子供のイノシシが高い傾向にあり、平均 1.8% がウイルスを保有していた。これは 60 頭に 1 頭(高い地域では 20 頭に 1 頭)が捕獲時・解体時にウイルスを保有していることから、狩猟者・処理者は注意すべきである。

SFTS 抗体陽性率は検査した 17 県中 12 県が陽性で、シカがイノシシよりも高かった。血液中の SFTSV 遺伝子の検出は 1 頭のみと低かったが、狩猟者・解体者は血液からの感染のリスクがあることを周知すべきである。

ウサギ HEV はイノシシとヒトの間で蔓延している遺伝子型 III に非常に近縁であった。今回、ウサギを用いたウサギ HEV の in vivo の感染実験系の樹立に成功した。

「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)」今年度の研究結果から、旋毛虫 *Trichinella* T9 の幼虫を 70 で 3 分および 65 で 15 分加熱すれば、マウスへの感染性は消失することが分かった。しかしながら、75 での加熱では、1 分だけでなく、その 2 倍の 2 分の加熱でも、マウスへの感染性は完全に消失しなかったことから、高温であっても処理時間が短いと、感染性が残存すると想像された。また、処理温度が低くても(例えば 65 未満) 処理時間が長ければ、感染性は消失すると想像され、その検証が必要と思われた。このような検討を通じて、旋毛虫食中毒の予防に有効な加熱条件について、知見を集積したいと考えている。

北海道のヒグマ肉が旋毛虫食中毒の原因食品であるが、今回、北海道で捕獲されたヒグマの舌からは、旋毛虫幼虫が検出されなかった。2007 年の Kanai らによる調査では、ヒグ

マ 126 頭中 4 頭が陽性 (3.2% ; うち 3 頭は道央の赤平市、1 頭は道南の熊石町(現八雲町)) であったが、ヒグマの旋毛虫感染率は決して高くない。今後も検体数を増やして検査を継続し、現時点におけるヒグマの寄生状況を明らかにしたいと考えている。筋肉から旋毛虫幼虫を検出するための人工消化法として、従来法とキット法を比較したところ、消化の所要時間は従来法の 60 分に比べキット法では 20 分に短縮された。キット法を用いることで、検出感度は保ったまま、旋毛虫の検出作業を効率化できると考えられた。

今回の事例では残品はなく、原因となった旋毛虫の虫種を決定することはできなかった。本事例も含め旋毛虫食中毒の 3 事例では、いずれも臨床症状として発疹が特徴的であり、原因が明らかでない発疹 (あるいは中毒疹) の患者を診断した場合、クマ肉を含めたジビエ肉の喫食歴を問診し、抗体応答を確認して、確定診断に結びつける必要があると考えられた。

「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)」 本研究で対象とした施設で実施されている処理方法は多様性を示した。「剥皮」と「内臓摘出」の作業順、剥皮時の設備 (のせ台、あるいは懸吊) ならびに剥皮方法 (ウィンチ、あるいは手剥ぎ) の違いに着目し、鹿、および猪枝肉の汚染指標細菌数を比較することにより、各工程の作業順や方法が枝肉の衛生状況に与える影響について検討した。

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。「剥皮」「内臓摘出」の順で処理された鹿枝肉からは、「内臓摘出」「剥皮」の順で処理された鹿枝肉に比べ、胸部において有意に高い一般細菌数の値を示した。これは、剥皮を先に行うことで、剥皮後の枝肉に汚染した手指で直接、あるいは間接的に接触する機会が多くなったためである可能性がある。剥皮後に枝肉と接触することにより

細菌に汚染する可能性について、改めて作業者に啓蒙する必要がある。

猪では、「のせ台」を用いて剥皮を行った施設で処理された枝肉は、「懸吊」して剥皮した枝肉に比べ、胸部において一般細菌数が多く検出された。以上のことから、「のせ台」を使用して剥皮する場合には、「懸吊」して剥皮を行う場合に比べ、より高頻度に作業中に汚染した手指や表皮などを介して枝肉に細菌が汚染する可能性が考えられた。懸吊装置の導入の推進、あるいは、「のせ台」で剥皮をする際には、より一層細菌汚染を回避するように意識して作業するよう、指導する必要があると考えられた。

「ウィンチ」と「手剥ぎ」を用いて剥皮する方法では、鹿、猪供に両者の剥皮方法の違いにより枝肉の細菌汚染状況に有意差は認められなかった。「ウィンチ」を用いた場合には、剥皮の際に、表皮に汚染した土壌や細菌が舞い散る可能性が考えられる。一方、「手剥ぎ」の場合には、より多く作業者の手指や剥がされた表皮によって枝肉が汚染される機会があると考えられる。両者の注意点を意識することでより高度に衛生状態を確保することを啓蒙する必要がある。

本研究で対象とした施設では、4 でおおよそ 2 週間静置するにより熟成を行っている。本研究で検討した猪肉はいずれも熟成前から一般細菌が検出され、熟成後には同菌数の上昇が確認された。一方、一部から大腸菌群や黄色ブドウ球菌が検出されたものの、大腸菌は全く検出されなかった。さらに、検討したその他の病原細菌についても、全て検出されなかった。本研究においては、リステリアを含む検討した全ての病原細菌は、検出されなかったが、多くの一般細菌、ならびに黄色ブドウ球菌が検出された検体も認められたことから、熟成後には十分トリミングを行う必要がある。

「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)」 肉解体加工調理施設における微生物動態に関する研究の本年度調査結果では、前年度と比較して、

と体由来と考えられる酵母等の汚染頻度及び菌数は低下した。この間、対象施設では複数の衛生対策を講じており、それらの複合的な効果による改善効果として顕れたものと推察された。

Cladosporium 属菌は、外環境より室内に流入後、結露等で水分量が常に高い場所で異常発育し易く、高湿度室内環境の汚染指標菌とされる。温湿度実測データ(表1)より、一次加工室内の相対湿度は比較的高い状態が維持されていた。但し、占有率データについては、母集団である総菌数が同等であった場合のみ、純粋な比較解析が可能である。すなわち、本年度の総菌数は前年度に比べ、減少がみられたことを踏まえると、*Cladosporium* 属菌の占有率上昇は同菌の増殖を意味するよりも、他菌の減少によるものと想定される。

他菌のうち、酵母等については前年度解体室で特に多く認められたが、本年度は顕著な低減を示した。その要因としては、解体室の床改修、並びに使用後の器具等の洗浄消毒にあたり必要以上量の水を使用しないよう、体制を変更した点等が功を奏したものと想定される。

前年度の結果を踏まえて実施した本年度の真菌・酵母分布調査を通じ、当該施設環境における菌数分布及び菌叢の経年変動を把握することができた。すなわち、野生鳥獣食肉の解体加工施設における衛生管理確保を図る上では、複数回の調査が有用と言えよう。

本年度成果からは、換気方法のほか、建物の断熱施工といった物理的な改良を実施することによって、冬季の建物内の結露の防止を行うことの重要性が今後の課題として示唆された。また、電解水等を用いた器具・機器の洗浄消毒による *Cladosporium* 属菌の不活化効果を評価することも、野生鳥獣を取り扱う解体加工施設での取るべき衛生対策を例示する上で、今後検討すべき課題と思われる。更に、効果的な室内環境の衛生管理方法を示す上では、年間を通じた室内環境調査を継続し、外環境を踏まえた対策を示す必要がある。

「5. 野生鳥獣由来食肉の加熱調理条件に関

する研究(朝倉 宏)」低温加熱調理を通じた猪肉における E 型肝炎ウイルスの不活化に関する研究では、猪肉における E 型肝炎ウイルスの汚染可能性は数多くの同動物生体における侵淫状況から示唆されており、その結果を踏まえ、猪肉の喫食にあたっては十分な加熱調理が求められている。一方、同食肉の調理においては、低温度帯での加熱調理が汎用されている実態を鑑み、本研究では猪肉を低温加熱調理した場合の E 型肝炎ウイルスの消長を検討すべく、添加回収試験を行い、「68 5分」または「68 15分」の加熱条件が、E 型肝炎ウイルスの低減に資する可能性を示す知見を得た。

E 型肝炎ウイルスの耐熱性については、過去に少数ながら検討が行われているが、その多くは *in vitro* での評価にとどまっており、本研究で実施した、猪肉を食品マトリックスとして設定した上で、低温加熱調理機を用いた評価はこれまで行われていない。

その意味において、本研究は新たな科学的根拠の一つとしての活用が期待され、68・5分以上の加熱条件(中心部)を満たすことが一つの目安となるものと思われる。但し、本年度の成績ではバラツキも複数認められたことから、その精査は引き続き行うべきと考えられる。

また、猪肉の調理にあたっては、塩蔵やマリネ等といった前処理を経た後に、加熱調理されることも多い。従って、猪肉の加熱調理を通じた E 型肝炎ウイルスの不活化に資する例示を総合的に行うためには、こうした前処理が E 型肝炎ウイルスの消長にもたらす効果についてもあわせて評価していくべきと考えられる。

E . 結論

1 . 体重 30 kg前後のイノシシに感染することから 30 kg以下のウリ坊の解体並びに食用は特に注意する必要がある。SFTS の野生動物における分布は 17 県中 12 県が陽性となったが西日本中心ではあり、中国・四国・九州では陽性率が高かった。シカがイノシシに比

べて SFTS 感染率が高い傾向があるが、シカが存在していない地域ではイノシシが SFTSV のレゼルボアと考えられ、何れの解体時にも狩猟関係者が感染するリスクがある。

ウサギ HEV を用いた HEV 感染モデルが作出できた。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。

2. 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、本虫の感染性を消失させる加熱条件を、マウスモデルを用いた感染試験で検討した。その結果、70 で 3 分および 65 で 15 分の加熱で、マウスへの感染性が消失した。一方、75 で 1 分（および 2 分）の加熱では、マウスへの感染性が完全には消失しなかった。

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

4. 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感染例が、2019 年 12 月に発生した（10 名が喫食し、8 名が発症）。患者が喫食したクマ肉は残されておらず、旋毛虫食中毒との判定は、血清学的検査の結果に基づいた。旋毛虫による集団食中毒事例は、2016 年末に茨城県で、また 2018 年には北海道でも発生しており、いずれもクマ肉の喫食に起因する。本症の発生予防に関する適切な啓発活動を、今後継続的に展開する必要があると考えられた。

5. 鹿では「剥皮」「内臓摘出」の順で処理された枝肉（胸部）からは、「内臓摘出」

「剥皮」の順で処理された枝肉（胸部）に比べ、一般細菌数が多く検出された。猪では、剥皮の際「のせ台」を用いた場合は、「懸吊」する場合に比べ、一般細菌数が多く検出された。細菌叢解析により、枝肉は土壌由来細菌に汚染され、熟成により低温細菌が増殖していた。

6. 本年度も広域かつ高濃度の真菌・酵母汚染を認めた猪肉解体加工施設を対象として、複数の衛生対策を講じた上で再評価を行い、と体由来の酵母を低減できたほか、総菌数としても複数箇所での低減が図られた。一方、結露等を原因とする *Cladosporium* 属菌汚染は継続しており、外環境を踏まえた効果的な室内洗浄消毒の継続的な実施により、真菌・酵母汚染を低減させうる可能性が示唆された。今後は、効果的な衛生管理方法の検討を行い、例示した上で、年間を通じた室内環境調査を継続する必要があると思われる。本年度は、低温加熱調理を通じた、猪肉中での E 型肝炎ウイルスの消長を検討した。加熱殺菌量を踏まえて設定した加熱条件のうち、「75 1 分」のほか、「68 5 分」または「68 15 分」の加熱条件によっても E 型肝炎は検出されない状況となりうるが見出された。今後、調理工程で用いられる前処理方法等による同ウイルスの不活化効果についても評価を行い、調理段階での同ウイルスの低減の在り方を総合的に検討する上での基礎資料の創出につとめたい。

F, 健康危険情報
「なし」

G. 研究発表

1. Irie T., Uraguchi K., Ito T., Yamazaki A., Takai S., Yagi K. First report of *Sarcocystis pilosa* sporocysts in feces from red fox, *Vulpes vulpes schrencki*, in Hokkaido, Japan IJP: Parasites and Wildlife 11 (2020) 29-31

2. Irie T, Ichii O, Nakamura T, Ikeda T, Ito T, Yamazaki A, Takai S, Yagi K. Molecular characterization of three *Sarcocystis* spp. from wild sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in Hokkaido, Japan. Vet. Parasitol.: Regional Studies and Reports 2019 Dec;18:100327. doi: 10.1016/j.vprsr.2019.100327

3. Kadohira M, Phiri BJ, Hill G, Yoshizaki R, Takai S. Game Meat Consumption and Foodborne Illness in Japan: A Web-Based Questionnaire Survey. 2019 J Food Prot. 24:1224-1232.
4. 高井伸二 野生動物の疾病とジビエ(野生獣肉)の安全確保対策 公衆衛生 2019年1月号(83号)40-45.
5. Lin TL, Ou SC, Maeda K, Shimoda H, Chan JP, Tu WC, Hsu WL, Chou CC. The First Discovery of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus in Taiwan. Emerg Microbes Infect. 2020 Dec;9(1):148-151.
6. Kida K, Matsuoka Y, Shimoda T, Matsuoka H, Yamada H, Saito T, Imataki O, Kadowaki N, Noguchi K, Maeda K, Mochizuki Y, Kishimoto T. A case report of cat-to-human transmission of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. Japanese Journal of Infectious diseases. 2019 Sep 19;72(5):356-358.
7. Matsuu A, Momoi Y, Nishiguchi A, Noguchi K, Yabuki M, Hamakubo E, Take M, Maeda K. Natural severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in domestic cats in Japan. Vet Microbiol. 2019 Sep;236:108346. doi: 10.1016/j.vetmic.2019.06.019. Epub 2019 Jul 20.
8. Park E, Shimojima M, Nagata N, Ami Y, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Watanabe S, Kurosu T, Kataoka M, Okutani A, Kimura M, Imaoka K, Hanaki K, Suzuki T, Hasegawa H, Saijo M, Maeda K, Morikawa S. Severe fever with thrombocytopenia syndrome phlebovirus causes lethal viral hemorrhagic fever in cats. Sci Rep. 2019 Aug 19;9(1):11990.
9. Ogawa H, Hirayama H, Tanaka S, Yata N, Namba H, Yamashita N, Yonemitsu K, Maeda K, Mominoki K, Yamada M. Risk assessment for hepatitis E virus infection from domestic pigs introduced into an experimental animal facility in a medical school. J Vet Med Sci. 2019 Aug 24;81(8):1191-1196.
10. 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. 2019 Jun;10(4):742-748.
11. 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 Med Sci. 2019 Jan 25;81(1):155-159.
12. 前田 健「人獣共通感染症: One Healthの時代」臨床とウイルス. 2019. 47(4):218-229.
13. 前田 健、野口慧多、立本完吾「国内に蔓延するダニ媒介感染症の脅威」生活と環境(日本環境衛生センター) 2019. 64(6) 11-17.
14. 前田 健、野口慧多、立本完吾「SFTSに関する最近の知見」動薬研究(バイエル薬品株式会社). 2019. 74:1-12.
15. 前田 健、野口慧多、立本完吾「SFTSの病態と現状」infoVets(アニマル・メディア社) 2019.199:7-13.
16. 前田 健「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」p460-461 SA Medicine BOOKS[®]検査・手技ガイド(インターズー、東京)2019.
17. 岡部貴美子、巨 悠哉、矢野泰弘、前田 健、五箇公一「マダニが媒介する動物由来新興感染症対策を視野に入れた野生動物管理」日本生態学会保全誌 Japanese Journal of Conservation Ecology 2019. 24: 109-124.
18. 前田 健「E型肝炎」p171「重症熱性血小板減少症候群(人獣)」p234-5 動物の感染症近代出版。2019
19. 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
20. Takahashi T, Kabeya H, Sato S, Yamazaki A, Kamata Y, Taira K, Asakura H,

Sugiyama H, Takai S, Maruyama S. Prevalence of *Yersinia* Among Wild Sika Deer (*Cervus nippon*) and Boars (*Sus scrofa*) in Japan. *J Wildl Dis.* 2019 Dec 13. doi: 10.7589/2019-04-094. [Epub ahead of print]

26. Sugita-Konishi Y, Kobayashi N, Takasaki K, Kanno T, Itoh M, Riztyan, Futo S, Asakura H, Taira K, Kawakami Y. Detection of *Sarcocystis* spp. and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Japanese sika deer meat using a loop-mediated isothermal amplification-lateral flow strip. *J Vet Med Sci.* 2019; 81(4):586-592.

2. 学会発表

1) 立本完吾、石嶋慧多、黒田雄大、Virhuez Mandoza Milagros、木村昌伸、Eunsil Park、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ウイルスの疫学調査 2019」令和元年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会、2020/2/7-8、東京国際フォーラム（東京）

2) 竹下奈知子、徳吉美国、鈴木和男、仁田義弘、高野 愛、下田 宙、前田 健、中馬猛久、宮下 直、関崎 勉「カンピロバクター汚染に関わる鶏舎外環境試料および野生動物調査」第 39 回日本細菌学会総会（ウインクあいち、名古屋）2020/02/19-21

3) 前田 健、下田 宙、高野 愛、立本完吾、野口慧多、南 昌平「野生動物と伴侶動物が運ぶウイルス感染症」2019/9/10-12 第 162 回日本獣医学会学術集会（つくば国際会議場、茨城）

4) 高井伸二、前田 健、安藤匡子、岡林佐知、壁谷英則、杉山 広、朝倉 宏「野生鳥獣由来食肉（ジビエ）の安全性確保に関する研究」2019/9/10-12 第 162 回日本獣医学会学術集会（つくば国際会議場、茨城）

5) Milagros Virhuez Mendoza、鎌田龍星、石嶋慧多、米満研三、南 昌平、黒田雄大、立本完吾、下田 宙、前田 健 “Hepatitis E

virus infection among wild rabbits in Japan” 2019/9/10-12 第 162 回日本獣医学会学術集会（つくば国際会議場、茨城）

6) 森田聡志、宮川明日香、佐藤真伍、丸山総一、奈良崎孝一郎、奈良崎和孝、壁谷英則．わが国の鹿・猪における *Campylobacter* および *Arcobacter* の保菌状況と分離株の病原性解析 第 162 回日本獣医学会学術集会（茨城県、2019 年 9 月 10 日）

7) 壁谷英則．野生動物が原因となる細菌性人獣共通感染症 日本防菌防黴学会 第 46 回年次大会 シンポジウム 8(食品衛生)ジビエと食品衛生（大阪府、2019 年 9 月 26 日）

8) 壁谷英則．野生動物の有効利用と注意すべき感染症 - 細菌性感染症 - 令和元年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会 日本獣医公衆衛生学会シンポジウム（東京都、2020 年 2 月 9 日）

9) 森田聡志、宮川明日香、佐藤真伍、丸山総一、奈良崎孝一郎、奈良崎和孝、壁谷英則．わが国の鹿・猪における *Campylobacter* および *Arcobacter* の保菌状況と分離株の病原性 令和元年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会（東京都、2020 年 2 月 8 日）

10) 朝倉宏、伊澤和輝、山本詩織、川瀬遵、清水秀樹、青木佳代、杉山広、壁谷英則、小西良子、高井伸二．シカ腸内細菌叢は亜種間で異なるか？第 40 回日本食品微生物学会学術総会．2019 年 11 月．東京．

講演会

1) 前田 健「ウイルス感染症」日本獣医師会獣医学術学会年次大会「シンポジウム野生動物の有効利用と注意すべき感染症」2020 年 2 月 9 日（日）9:00-12:00（東京国際フォーラム第 7 会場、東京）

2) 前田 健「国内で脅威となるダニ媒介性ウイルス感染症:SFTS とダニ媒介脳炎国際シンポジウム「今注目される新興ダニ媒介人獣共通感染症」2019 年 11 月 2 日(土)13:00-17:00（岡山理科大学今治キャンパス大講義棟）

3) Ken Maeda “SFTS virus infection in

- wild and companion animals 2019 GFID International Symposium Seoul (Sheraton Seoul Palace Gangnam Hotel, Seoul, Korea) 2019/10/17
- 4) 前田 健「野生動物由来ウイルス感染症の脅威と現状」名古屋大学市民公開シンポジウム「野生動物由来ウイルス感染症を考える」(名古屋大学、名古屋) 2019/9/29
- 5) 前田 健、米満研三「野生動物におけるウイルス感染症」第46回日本防菌防黴学会年次大会シンポジウム「野生動物における感染性病原体紹介とその食中毒危害性」(千里ライフサイエンスセンター大阪) 2019/9/26
- 6) 前田 健、下田 宙、高野 愛、立本完吾、野口慧多、南 昌平「野生動物と伴侶動物が運ぶウイルス感染症」シンポジウム「感染症のリスク因子としての野生動物」第162回日本獣医学会学術集会(つくば国際会議場、つくば) 2019/9/12
- 7) 前田 健、立本完吾、野口慧多、下田 宙「野生動物による SFTS ウイルスの移動」第25回日本野生動物医学会大会(山口大学、山口) 2019/8/31
- 8) 前田 健「愛玩動物及び野生動物における SFTS」衛生微生物協議会 第40回研究会シンポジウム V「SFTS」(熊本市民会館、熊本) 2019/7/10
- 8) 前田 健「人獣共通感染症：One Health の時代」第60回日本臨床ウイルス学会シンポジウム(ウインクあいち、名古屋) 2019/5/25
- 9) 前田 健「最近の SFTS の動向について」令和元年度(第41回)全国環境衛生職員団体協議会関東ブロック会研究発表会特別講演 2020年2月7日(金) 11:20-12:20 新潟市民プラザ
- 10) 前田 健「迅速診断の重要性：One Health の立場より」第12回 LAMP 研究会 2020年1月18日(土) 13:30-17:30(丸ビル&コンファレンススクエア 7F)
- 11) 前田 健「野外に潜むマダニ媒介感染症の脅威～SFTS(重症熱性血小板減少症候群)とは?～」第2回鳥獣対策・ジビエ利活用展セミナー2019年11月21日(水) 15:00-16:00 東京ビッグサイト「セミナー会場 C」(有明・東京国際展示場)
- 12) 前田 健「野外に蔓延する SFTS ウイルスについて考える」第19回 日本バイオセーフティ学会総会・学術集会教育講演 2019年11月20日(水) 10:00-10:20 戸山サンライズ(東京都新宿区)
- 13) 前田 健「人獣共通感染症におけるワンヘルスについて」全国動物管理関係事業所協議会 2019年11月12日(火) 13:40-14:30(徳島グランヴィリオホテル、徳島)
- 14) 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」香川県野生獣衛生体制整備推進確立対策事業(香川県獣医師会、香川) 2019/10/2
- 15) 前田 健「動物由来感染症」群馬県鳥獣害対策担当者研修会(群馬県産業技術センター、群馬県) 2019/10/01
- 16) 前田 健「野生動物の感染症ウイルスの保有状況」日本哺乳類学会 2019年度大会(東京大会)自由集会「マダニが媒介する人獣共通感染対策」(中央大学、東京) 2019/09/16
- 17) 前田 健「豚コレラ&アフリカ豚コレラ&オーエスキー病」2019年度クラブ獵友会狩猟事故防止懇談会 2019/9/7(相間川温泉ふれあい館、群馬県)
- 18) 前田 健「SFTS の感染環：動物からヒトへの感染も！」広島県医師会・広島県獣医師会共催 One health 講演会(広島県医師会館、広島) 2019/7/18
- 19) 下田 宙、前田 健「国内におけるマダニ媒介性ウイルスの実態」第71回日本衛生動物学会市民公開講座(山口大学) 2019/4/21
前田 健『動物における重症熱性血小板減少症候群』ワンヘルス講習会(鳥取県獣医師会) 2019/04/14
- 20) 壁谷英則 野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究 令和元年度 野生獣衛生体制整備推進確立対策事業(岐阜県獣医師会)講習会(岐阜県、2019年7月25日)
- 21) 壁谷英則 野生鳥獣肉の安全性確保に関する研究 令和元年度 野生獣衛生体制整備推進確立対策事業(大分県畜産協会)講習会

(大分県、2019年12月18日)

22) 壁谷英則 ジビエにおける細菌・ウイルス感染リスクと対処法 第6回日本ジビエサミット in 東京(東京都、2019年11月22日)

23) 高井伸二「厚生労働省 科学研究班 野生鳥獣肉由来食肉の安全性確保に関する研究成果」第6回 日本ジビエサミット in 東京

2019年11月21日(水)11:30-12:30 東京ビッグサイト「レセプションホールA」(有明・東京国際展示場)

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 （国立感染症研究所獣医科学部）
研究協力者 立本完吾 （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）
横山真弓 （兵庫県立大学自然・環境科学研究所）

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 2040 頭と 12 道県のシカ 1518 頭を調査した。その結果、イノシシにおいては 330 頭（16.2%）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 1355 頭中 24 頭（1.8%）、シカ 1278 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、ウサギ HEV の全塩基配列の同定と実験感染モデルの構築に成功した。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、14 県のイノシシ 1783 頭中 10 県の 226 頭（12.7%）、12 県のシカ 1383 頭中 8 県の 398 頭（28.8%）から抗 SFTS ウイルス抗体が検出された。狩猟者は HEV のみならず SFTSV についても注意が必要である。更にイノシシとシカの内臓の異常所見を回収するとともに、重要な肉眼所見の提供を依頼した。

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。

2018 年に作成したマニュアルに従った。

5) 野生鳥獣における異常所見の収集

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、写真撮影を行い、情報提供していただいた。一部の寄生虫に関しては杉山先生に解析していただいた。更に、論文で報告されている写真に関しても、著者に条件付きで写真の使用許可をいただいた。

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。

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) 血清から抗 SFTS ウイルス抗体の検出

6) ウサギ HEV の解析

ウサギ HEV は遺伝子型 III の国内で主要な HEV の近縁であり、人獣共通感染症でもある。重要な点は、実験動物であるウサギにも感染するため、実験モデルとしても期待される。国内の HEV の全塩基配列を決定するとともに、ウサギに接種して観察を行った。

C. 研究結果

1) イノシシにおける抗 HEV 抗体保有率（表 1）

我々の研究室では、これまでイノシシ及びシカ

の HEV 感染状況を継続的に調査してきた。日本全国 14 都道府県のイノシシ 2040 頭中 330 頭が抗 HEV 抗体陽性となり陽性率は 16.2%であった。イノシシにおいては、2 県を除いてすべての都道府県で陽性の個体が見つかった。陰性の 1 県では小さな島から回収したイノシシであるため特殊な環境のイノシシと考えていい。多くの県が 20%前後の抗体陽性率であるのに対して、関東地方の 2 県のイノシシは 42%、49%と抗体陽性率が高い。

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)

HEV に対する抗体保有率を性別で比較した結果、雄 16.0%、雌 20.2%の陽性率で雌雄差は認められなかった。一方、体重別で比較した結果、30 kg 以下の個体では陽性率が 7.4%であったのに対して 30 kg 以上の個体では 23.6%と 3 倍以上の陽性率であった。体重 30 kg 前後のイノシシが HEV に感染していると考えられる。

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、1355 頭中 24 頭の 1.8%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、中程度の抗体保有率であった兵庫県、山口県大分県で遺伝子が検出された。それ以外の抗体保有率が低程度から中程度の岐阜県、富山県、愛媛県、香川県からは 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)

性別では雄の方が 2.5%と雌の陽性率の 1.2%より 2 倍ほど陽性率が高かった。また、体重別では 30kg 以下で 3.7%、30-50kg で 1.7%、50kg 以上で 0.6%と体重が増加するにつれて陽性率が減少した。

5) シカにおける抗 HEV 抗体と HEV 遺伝子検出(表 4)

シカからの抗体検出の結果、全体では 1518 頭中 3 頭(0.2%)抗体のシカが抗体陽性であることが判明した。遺伝子検出もこれまで 1278 頭調べたが 1 頭(0.1%)からしか検出されていない。イノシシの陽性率に比べると依然として低いものの、シカも HEV の感受性動物であることが確認される。実際、E 型肝炎食中毒の原因食品としてシカ肉は多数報告されている。

6) 動物から検出される HEV 遺伝子の系統解析(図 1)

検出された HEV 遺伝子の塩基配列を決定し、系統樹を作製した。その結果、千葉県・山口県でほぼ毎年同じクラスターを形成するウイルスが検出されていることがわかる。これらは、HEV が野外では維持されていることを示している。また、山口県においては、下関市では遺伝子型 4 が流行しているにもかかわらず、岩国では遺伝子型 3 のウイルスが検出されている。県単位ではなく、地域単位で流行しているウイルスが異なることが判明した。

7) ウサギにおける HEV 感染状況(表 5、図 2, 3)

野生化したウサギの血清における抗 HEV 抗体の保有状況が、60 羽中 20 羽(33%)であり、抗体は 58 羽中 1 羽(2%)から HEV 遺伝子が検出された。その遺伝子陽性の糞便乳剤を実験用ウサギに静脈内接種し、直腸スワブからの遺伝子検出を試みた結果、1 か月後にウイルスの増殖が観察され、3 か月後に抗体の上昇が認められた。ウサギ HEV の分離に成功した。

8) シカ・イノシシにおける抗 SFTSV 抗体ならびに遺伝子の検出(表 6, 7)

これまでイノシシ及びシカの SFTSV 感染状況を継続的に調査してきた。日本のシカ 1383 頭中 398 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 28.8%であった。イノシシにおいては 1783 頭中 226 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 12.7%であった。

イノシシとシカの両方を総合すると、西日本中心ではあるが 17 県中 12 県に SFTS ウイルスが侵入していることが判明した。ヒトや動物での SFTS 発症が数多く報告されている中国・四国・九州では陽性率が高かった。シカの方がイノシシに比べて SFTS 感染率が高い傾向があるが、約半数のイノシシが感染している地域もある。この地域は、ヒトの患者やネコでの発症例が多く、シカが存在していないことから、イノシシが重要な SFTSV 保有ウイルスと考えられている。

SFTSV 遺伝子の検出率は低い。シカは 374 頭中 0 頭(0%)、イノシシ 470 頭中 1 頭(0.2%)から遺伝子が検出されているのみである。遺伝子検出率は低い、血液中にウイルスを保有している動物がいることは、この動物の血液により、解体者などが感染するリスクがあることを周知徹底すべきである。

11) イノシシとシカにおける異常所見の収集 シカのサルコシスティス(写真 1, 2, 3)

2019年7月に兵庫県立大学の横山先生より、シカ肉加工所で寄生虫の写真入手。検査材料は杉山先生に解析依頼。解析結果、サルコシスティスのマクロシストと報告を受けた。

イノシシの消化管病変(写真4,5)

2020年1月に兵庫県立大学の横山先生より、下記の情報と写真をいただいた。

2019年11月から12月にかけて野生獣肉処理施設へ搬送されたおそらく異なった場所で捕獲された生後9ヶ月齢ぐらいのイノシシ複数頭(2~3頭)に見られた症例。

食中毒事例のシカの *Sarcosystis truncata* の写真使用許可(写真6,7)

日本獣医師会雑誌に和歌山県田辺市の山本先生方がシカ肉の喫食による食中毒の原因として、*Sarcocystis truncata* を報告した。我々は、山本先生に連絡しカラーアトラスへの使用許可をいただいた。

ブタの ASF と CSF の写真提供依頼

国内のイノシシの間で蔓延している CSF, 国内のイノシシでの発生が危惧されているアフリカ豚熱 (ASF) の病変部をカラーアトラスに掲載することを目的として、動物衛生研究所から岡山理科大学の宇根先生のご指導のもと、ブタでの病変部の提供をいただいた。

D. 考察

- 1) HEV のリスクについて
 - ・ HEV の自然宿主はイノシシである。
 - ・ イノシシの 1.8% が捕獲時にウイルスを保有している。
 - ・ 子供のイノシシがウイルスを保有している可能性が高い。
 - ・ 地域において長年同じウイルスが保持されている。
 - ・ 関東の方が HEV の感染率が高い。
- 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。
 - ・ 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。
- 3) ウサギ HEV について
 - ウサギ HEV はウサギに高率に感染し、イノシシとヒトの間で蔓延している遺伝子型 III に非常に

近縁である。今回、ウサギ HEV の全塩基配列の決定、ウサギへの実験感染に成功した。ウサギを用いたウサギ HEV の in vivo の実験系の樹立に成功した。

E. 結論

1) HEV 遺伝子検出は血清から行なった。血清中にウイルスの遺伝子が存在するということは、血管の分布する食肉も汚染されていると考えられるので、食中毒の危険を予測する上で血清から遺伝子検出することは非常に有用であると考えられる。

2) イノシシにおいては体重 30 kg 前後の子供のころに感染することが示唆された。30 kg 以下のウリ坊の解体並びに食用は特に注意する必要がある。なお、全体でも 60 頭に 1 頭は捕獲時にウイルスを保有しているので狩猟者並びに解体者並びに消費者においては注意が必要である。

3) イノシシとシカの両方を総合すると、西日本中心ではあるが 17 県中 12 県に SFTS ウイルスが侵入していることが判明した。中国・四国・九州では陽性率が高かった。シカの方がイノシシに比べて SFTS 感染率が高い傾向があるが、約半数のイノシシが感染している地域もある。この地域は、ヒトの患者やネコでの発症例が多く、シカが存在していないことから、イノシシが重要な SFTSV 保有ウイルスと考えられている。

4) SFTSV 遺伝子の検出率は低い。シカは 374 頭中 0 頭(0%)、イノシシ 470 頭中 1 頭(0.2%)から遺伝子が検出されているのみである。遺伝子検出率は低いですが、血液中にウイルスを保有している動物がいることは、この動物の血液により、解体者などが感染するリスクがあることを周知徹底すべきである。

5) ウサギ HEV を用いた HEV 感染モデルが作出できた。今後のウイルス不活化試験などに有用となることが期待される。

6) 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

Ogawa H, Hirayama H, Tanaka S, Yata N, Namba H, Yamashita N, Yonemitsu K, Maeda K, Mominoki K, Yamada M. Risk assessment for hepatitis E virus infection from domestic pigs introduced into an experimental animal facility in a medical school. *J Vet Med Sci*. 2019. 81(8):1191-1196. doi: 10.1292/jvms.19-0086.

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*. 2019. 10(4):742-748. doi: 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. *J Vet Med Sci*. 2019. 81(1):155-159. doi: 10.1292/jvms.18-0576.

岡部貴美子、亘 悠哉、矢野泰弘、前田 健、五箇公一「マダニが媒介する動物由来新興感染症対策を視野に入れた野生動物管理」*日本生態学会保全誌 Japanese Journal of Conservation Ecology* 2019. 24: 109-124.

2. 学会発表

立本完吾、石嶋慧多、黒田雄大、Virhuez Mandoza Milagros、木村昌伸、Eunsil Park、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ウイルスの疫学調査 2019」令和元年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会、2020/2/7-8、東京国際フォーラム（東京）

竹下奈知子、徳吉美国、鈴木和男、仁田義弘、高野 愛、下田 宙、前田 健、中馬猛久、宮下直、関崎 勉「カンピロバクター汚染に関わる鶏舎外環境試料および野生動物調査」第 39 回日本細菌学会総会（ウインクあいち、名古屋）2020/02/19-21

前田 健、下田 宙、高野 愛、立本完吾、野口慧多、南 昌平「野生動物と伴侶動物が運ぶウイルス感染症」2019/9/10-12 第 162 回日本獣医学会学術集会（つくば国際会議場、茨城）

高井伸二、前田 健、安藤匡子、岡林佐知、壁谷英則、杉山 広、朝倉 宏「野生鳥獣由来食肉（ジビエ）の安全性確保に関する研究」2019/9/10-12 第 162 回日本獣医学会学術集会（つくば国際会議場、茨城）

Milagros Virhuez Mendoza、前田 健、石嶋慧多、米満研三、南 昌平、黒田雄大、立本完吾、

下田 宙、前田 健 “Hepatitis E virus infection among wild rabbits in Japan” 2019/9/10-12 第 162 回日本獣医学会学術集会（つくば国際会議場、茨城）

講演会

前田 健「ウイルス感染症」日本獣医師会獣医学術学会年次大会「シンポジウム野生動物の有効利用と注意すべき感染症」2020年2月9日(日) 9:00-12:00（東京国際フォーラム第7会場、東京）

前田 健「国内で脅威となるダニ媒介性ウイルス感染症:SFTS とダニ媒介脳炎国際シンポジウム「今注目される新興ダニ媒介人獣共通感染症」2019年11月2日(土)13:00-17:00(岡山理科大学今治キャンパス大講義棟)

Ken Maeda “SFTS virus infection in wild and companion animals” 2019 GFID International Symposium Seoul (Sheraton Seoul Palace Gangnam Hotel, Seoul, Korea) 2019/10/17

前田 健「野生動物由来ウイルス感染症の脅威と現状」名古屋大学市民公開シンポジウム「野生動物由来ウイルス感染症を考える」(名古屋大学、名古屋) 2019/9/29

前田 健、米満研三「野生動物におけるウイルス感染症」第 46 回日本防菌防黴学会年次大会シンポジウム「野生動物における感染性病原体紹介とその食中毒危害性」(千里ライフサイエンスセンター大阪) 2019/9/26

前田 健、下田 宙、高野 愛、立本完吾、野口慧多、南 昌平「野生動物と伴侶動物が運ぶウイルス感染症」シンポジウム「感染症のリスク因子としての野生動物」第 162 回日本獣医学会学術集会（つくば国際会議場、つくば）2019/9/12

前田 健、立本完吾、野口慧多、下田 宙「野生動物による SFTS ウイルスの移動」第 25 回日本野生動物医学会大会（山口大学、山口）2019/8/31

前田 健「愛玩動物及び野生動物における SFTS」衛生微生物協議会 第 40 回研究会シンポジウム V 「SFTS」(熊本市市民会館、熊本) 2019/7/10

前田 健「人獣共通感染症：One Health の時代」第 60 回日本臨床ウイルス学会シンポジウム(ウインクあいち、名古屋) 2019/5/25

前田 健「最近の SFTS の動向について」令和元年度(第 41 回)全国環境衛生職員団体協議会関東ブロック会研究発表会特別講演 2020年2月7日(金)11:20-12:20 新潟市民プラザ

前田 健「迅速診断の重要性：One Health の立場より」第 12 回 LAMP 研究会 2020年1月18日(土)

13:30-17:30 (丸ビル&コンファレンススクエア7F)

前田 健「野外に潜むマダニ媒介感染症の脅威～SFTS(重症熱性血小板減少症候群)とは?～」第2回鳥獣対策・ジビエ利活用展セミナー2019年11月21日(水)15:00-16:00 東京ビッグサイト「セミナー会場C(有明・東京国際展示場)」

前田 健「野外に蔓延するSFTSウイルスについて考える」第19回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会教育講演2019年11月20日(水)10:00-10:20 戸山サンライズ(東京都新宿区)

前田 健「人獣共通感染症におけるワンヘルスについて」全国動物管理関係事業所協議会2019年11月12日(火)13:40-14:30(徳島グランヴィリオホテル、徳島)

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」香川県野生獣衛生体制整備推進確立対策事業(香川県獣医師会、香川)2019/10/2

前田 健「動物由来感染症」群馬県鳥獣害対策担当者研修会(群馬県産業技術センター、群馬県)2019/10/01

前田 健「野生動物の感染症ウイルスの保有状況」日本哺乳類学会2019年度大会(東京大会)自由集会「マダニが媒介する人獣共通感染症対策」(中央大学、東京)2019/09/16

前田 健「豚コレラ&アフリカ豚コレラ&オーエスキー病」2019年度クラブ猟友会 狩猟事故防止懇談会2019/9/7(相間川温泉ふれあい館、群馬県)

前田 健「SFTSの感染環:動物からヒトへの感染も!」広島県医師会・広島県獣医師会共催 One health 講演会(広島県医師会館、広島)2019/7/18

下田 宙、前田 健「国内におけるマダニ媒介性ウイルスの実態」第71回日本衛生動物学会市民公開講座(山口大学)2019/4/21

前田 健『動物における重症熱性血小板減少症候群』ワンヘルス講習会(鳥取県獣医師会)2019/04/14

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	E 型肝炎		動物の感染症	近代出版		2019	p171
前田 健	人獣共通感染症: One Health の時代		臨床とウイルス	日本臨床ウイルス学会		2019	47(4):218-229.
前田 健、 野口慧多、 立本完吾	国内に蔓延するダニ媒介感染症の脅威		生活と環境	日本環境衛生センター		2019	64(6)、11-17
前田 健	動物由来ウイルス感染症としての SFTS	西條政幸 編集	グローバル時代のウイルス感染症	日本医事新報社		2019	p123-128

表 1

イノシシにおける抗HEV抗体並びにHEV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	91	45	49	91	5	5.5
群馬	48	20	42	48	1	2.1
栃木	220	12	5.5	-	-	-
岐阜	144	8	5.6	140	0	0.0
富山	147	14	9.5	147	0	0.0
兵庫	111	23	20.7	111	2	1.8
和歌山	95	0	0	-	-	-
山口	657	142	21.6	581	14	2.4
愛媛	122	25	20.5	115	0	0.0
香川	76	17	22	76	0	0.0
大分	92	17	18	46	2	4.3
鹿児島	5	1	20	-	-	-
熊本	182	6	3.3	-	-	-
沖縄	50	0	0	-	-	-
計	2040	330	16.2	1355	24	1.8%

表 2

性別および体重別の抗HEV抗体陽性率の比較(イノシシ)

	性別			体重(kg)				計
	♂	♀	記録なし	≤30	30-50	≥50	記録なし	
検査頭数	861	810	369	570	390	608	472	2040
陽性頭数	138	164	28	42	86	150	52	330
陽性率(%)	16.0	20.2	7.6	7.4	22.1	24.7	11.0	16.2

表 3

性別および体重別のHEV遺伝子陽性率の比較(イノシシ)

	性別			体重(kg)				計
	♂	♀	記録なし	≤30	30-50	≥50	記録なし	
検査頭数	636	590	24	351	289	497	218	1355
陽性頭数	16	7	1	13	5	3	3	24
陽性率(%)	2.5	1.2	4	3.7%	1.7%	0.6%	1.4%	1.8%

表 4

シカにおける抗HEV抗体並びにHEV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	9	0	0	9	0	0
千葉	108	0	0	108	0	0
群馬	66	0	0	66	0	0
岐阜	233	0	0	233	0	0
長野	47	0	0	-	-	-
山梨	65	0	0	-	-	-
山口	780	2	0.3	772	1	0.1
愛媛	45	0	0	45	0	0
香川	45	1	2	45	0	0
大分	12	0	0	-	-	-
鹿児島	29	0	0	-	-	-
計	1518	3	0.2	1278	1	0.1

図 1

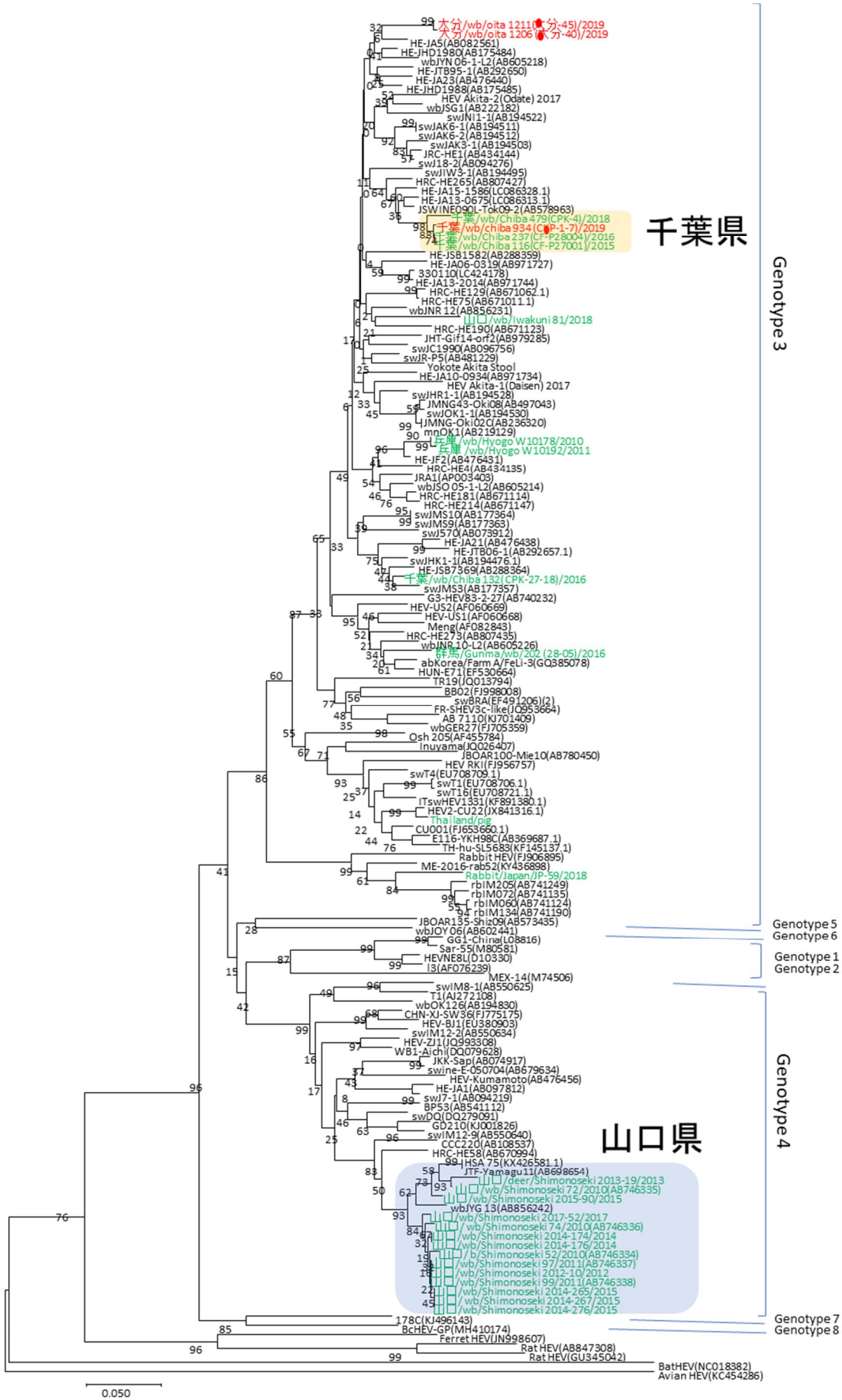


表 5

ウサギにおけるE型肝炎ウイルスの感染状況

	性別			計
	雄	雌	不明	
検査数	30	28	2	60
陽性数	9	9	2	20
陽性数(%)	30.0	32.1	100	33.3

図2 ウサギ HEV 全ゲノム配列をもとに作成した系統解析

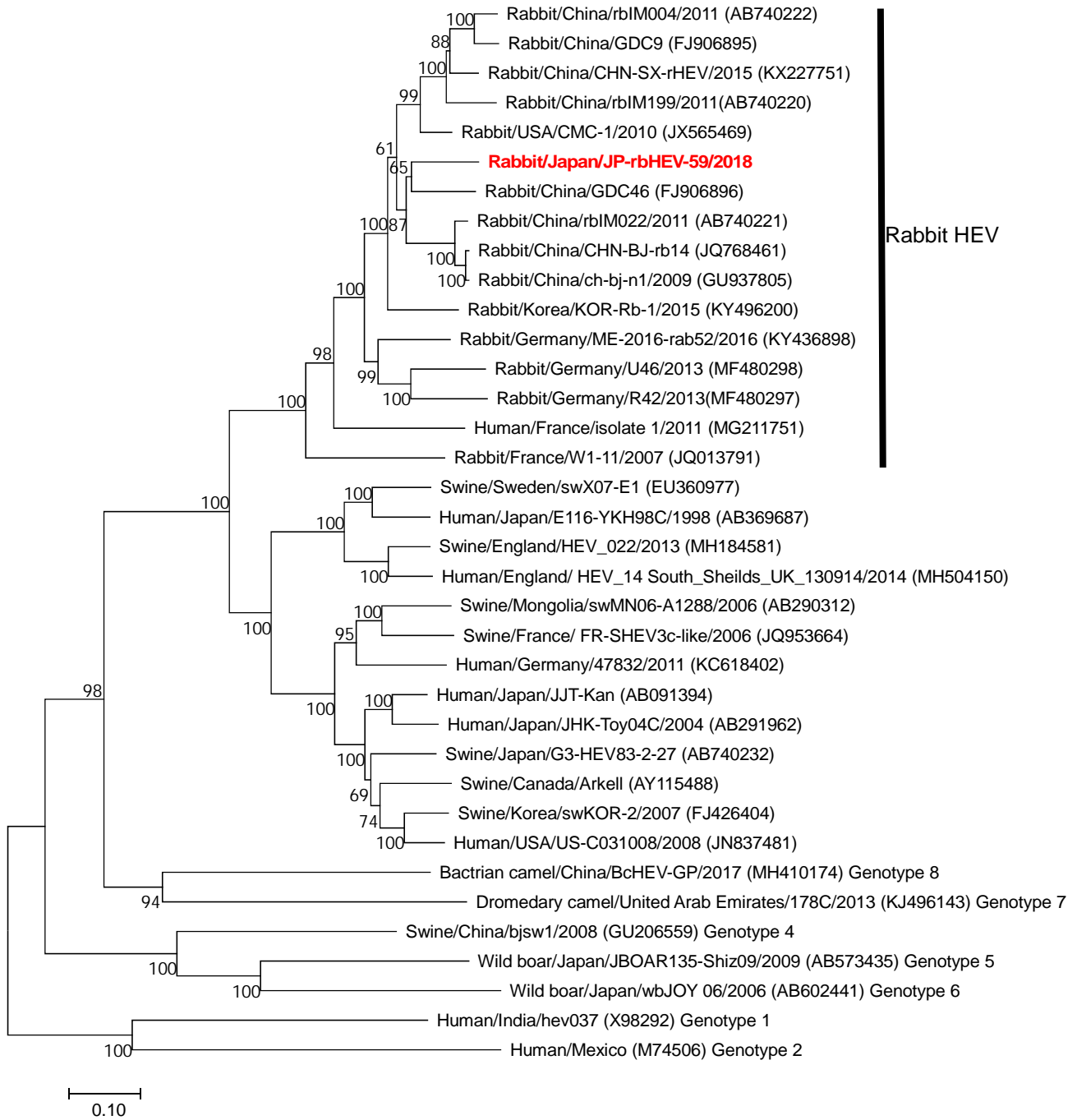


図3 ウサギ HEV の実験感染

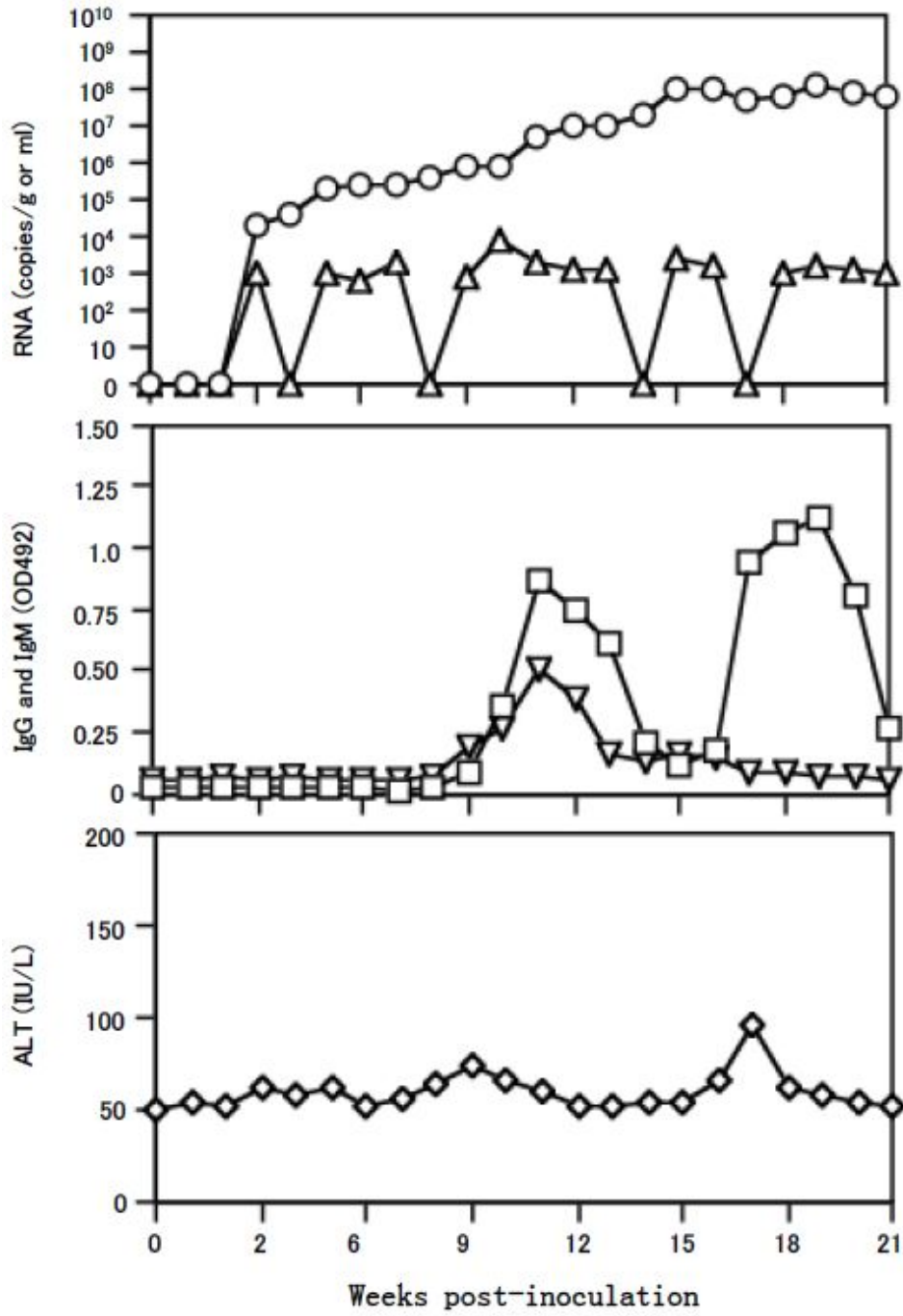


表 6

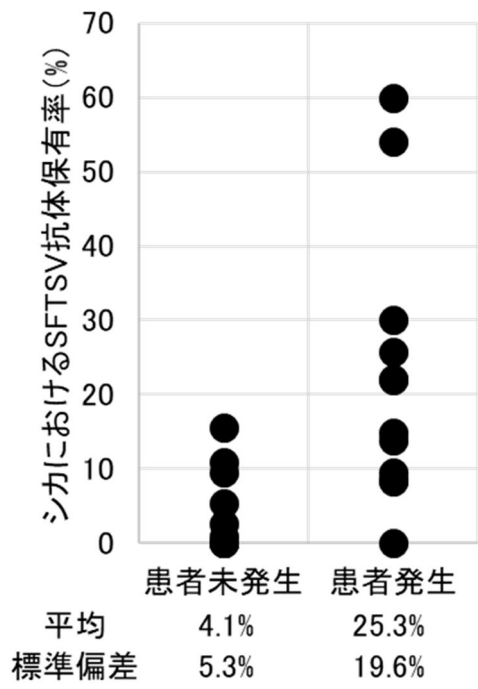
シカにおける抗SFTSV抗体並びにSFTSV遺伝子検出

	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(%)
青森	9	0	0	9	0	0
千葉	107	20	18.7	83	0	0
群馬	64	0	0	54	0	0
岐阜	232	4	1.7	140	0	0
長野	47	0	0	-	-	-
山梨	62	12	19	-	-	-
兵庫	2	1	50	-	-	-
和歌山	15	5	33	-	-	-
山口	728	341	46.8	-	-	-
愛媛	43	14	33	43	0	0
香川	45	0	0	45	0	0
鹿児島	29	1	3.4	-	-	-
計	1383	398	28.8	374	0	0

表7

	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	75	3	4	75	0	0
群馬	46	0	0	46	0	0
栃木	152	0	0	-	-	-
岐阜	144	1	0.7	68	0	0
富山	127	3	2.4	44	0	0
兵庫	69	0	0	-	-	-
和歌山	91	3	3	-	-	-
山口	593	92	15.5	-	-	-
愛媛	127	14	11.0	115	1	0.9
香川	76	17	22	76	0	0
大分	46	7	15	46	0	0
鹿児島	5	1	20	-	-	-
熊本	182	85	46.7	-	-	-
沖縄	50	0	0	-	-	-
計	1783	226	12.7	470	1	0.2

図 4



令和元年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「野生鳥獣由来食肉の安全性確保とリスク管理のための研究」
分担研究報告書

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

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

研究要旨

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、本虫の感染性を消失させる加熱条件を、マウスモデルを用いた感染試験で検討した。厚労省が野生鳥獣の加熱に求める条件（75 で1分以上）ならびに、それと同等とされる70 で3分、65 で15分、さらに厚労省の条件を上回る75 で2分との4条件で旋毛虫 T9 の幼虫を処理した。その結果、70 で3分および65 で15分の加熱で、本虫のマウスへの感染性が消失した。一方、75 で1分（および2分）の加熱では、本虫のマウスへの感染性が完全には消失しなかった。旋毛虫食中毒の予防に関する加熱条件のさらなる検討が必要と思われる。

A. 研究目的

野生鳥獣肉の喫食を原因とする食中毒の発生を予防するために、厚労省では「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針（ガイドライン）について」（食安発1114第1号・2014年11月14日）を作成公開した。この中で野生鳥獣肉を喫食する際には、中心部の温度を75以上にして、1分以上加熱するように、またはこれと同等以上の効力を有する条件で加熱するように、指導している。

最近、わが国ではクマ肉を原因とする旋毛虫食中毒の集団事例が、短期間のうちに3度発生した（2016年12月（茨城県）2018年5月および2019年11月（北海道））。これらの集団食中毒事例では、いずれも喫食前のクマ肉に加熱が施

されていた。この事実から、旋毛虫は加熱に対してある程度の耐性を有するのではないかと考えられた。そこで本研究では、厚労省のガイドラインに則した加熱条件での実験をマウスモデルで実施し、旋毛虫による食中毒の発生予防に有効な加熱条件を改めて検討した。

B. 研究方法

当研究室において、マウス（ddy系，雄）で実験室内継代している旋毛虫 *Trichinella* T9 を用いて、検討を進めた（1974年の集団人体感染事例の原因クマ肉に由来する虫体）。まず実験室で継代している感染マウス5匹を剖検し、その筋肉をペプシン塩酸液（ペプシン、半井化学、1:10,000が1%、および塩酸が1%）

で人工消化して、本虫の幼虫を回収した。得られた幼虫は約 400 隻ずつ PCR 用のプラスチックチューブ (Thin-wall、0.6ml ; 以下、チューブ) 20 本に分配し、さらに各チューブに生理食塩水 (以下、生食水) を加えて、チューブ内の液量を 0.4ml にそろえた。その上で、計 20 本のチューブを 4 本ずつ、以下の 5 群に分け、処理を施した。

群 1、75 で 2 分

群 2、75 で 1 分

群 3、70 で 3 分

群 4、65 で 15 分

群 5、未処理

各群の加熱処理条件の設定に当たっては、「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針 (ガイドライン) について」(厚労省、2014) を参照した。本ガイドラインでは、野生鳥獣肉の喫食による食中毒の発生を防止するため、肉の加熱が有効と記載されており、その条件として、肉の中心温度が 75 以上で 1 分以上と特定されていた。また、「食品の安全管理における Q&A」(厚労省) では、この 75 で 1 分と同等の加熱条件として、70 で 3 分、69 で 4 分、68 で 5 分、67 で 8 分、66 で 11 分、65 で 15 分が例示されていた。本実験の群 3 (70 で 3 分) および群 4 (65 で 15 分) では、この代替条件で加熱処理した。また群 1 では、上記ガイドラインで示されている 75 で 1 分 (群 2) との加熱時間を、2 倍の 2 分に延長することで、旋毛虫 T9 幼虫の確実な殺滅を期待した。また未処理の群を陽性対照として設定した (群 5)。

このような加熱条件等で処理したチューブは、処理後に速やかにクラッシュアイズを入れた容器に移した。そして幼虫を含む懸濁液を、先端部にシリコンチューブを装着させたパストゥールピペットを用いて、各マウスの胃噴門部に注入した (マウス 1 頭当たりの投与数は約 400 隻、上述)。投与マウスは経口投与後 65 ~ 73 日に剖検し、全身の骨格筋 (横隔膜および舌を含む) の分離に努めた後、筋肉 (一部は骨格に付着したまま) を個別別一括してプラスチック容器 (500 ミリリットル) に入れ、20 倍量のペプシン塩酸液にて、37 で 60 分間、振盪消化した。消化された筋肉は、目開きが 300 マイクロメートルの金属メッシュで濾過して骨片などの残渣を取り除き、濾液をガラス製の円錐型液量計 (1.5 リットル) に移し、1 リットルの生食水を加えて、30 分間静置した。この上清を吸引除去し、除去と同量の生食水を加える洗浄操作を、上清が清澄となるまで 4 回繰り返した。そして、沈査をプラスチックシャーレ (径 9 cm) に移し、実体顕微鏡下に観察して、幼虫をパストゥールピペットで回収した。

回収された幼虫は、全数を 500 ミリリットルの容器 (プラスチック製、蓋付き) に移し、生食水を加えて液量を 200 ミリリットルとした。これをよく攪拌した後、2 ミリリットルをシャーレに移し、実体顕微鏡下に全幼虫を計数した。この作業を 4 回繰り返した (2 ミリリットルの幼虫含有液を別途に 4 個調製して、各溶液を計数)。そして、得られた各数値を 100 倍することで、各マウス個体に寄生する全虫体数 (平均および標準偏差) を

算出した。

上述の人工消化と幼虫回収に関しては、食品衛生検査指針（日本食品衛生協会、2018）を主な参考資料とした。また加熱のための具体的な手法に関しては、指定温度に至るまでの加熱時間を可能な限り短縮するため、100 に予め設定したヒートブロック（ヒートブロック1）で、チューブを先に指定温度まで予備加熱し、その後、予め指定温度となるように設定した別のヒートブロック（ヒートブロック2）にチューブを速やかに移して、高温耐性試験が実施できる実験系を構築した（補遺参照）。

C. 研究結果

各群の陽性マウスの数および陽性マウスからの検出虫体数は、表1および図1に示した。

まず、75 で1分の加熱を行った場合（群2）実験に用いたマウス4頭のうち1頭から幼虫が検出された。マウスへの感染性が完全に失われていないことがわかった。ただし、この陽性個体からの幼虫検出数は、未処理マウス（群5）からの幼虫検出数の4割以下にとどまった。75 で2分の加熱（群1）を行ったマウス4頭でも、1頭から幼虫が検出された。ただし、この陽性個体の幼虫検出数は、75 で1分処理のマウス（群2の陽性マウス、1頭）からの幼虫検出数より少なかった。

しかし70 で3分（群3）および65 で15分（群4）の加熱を施した場合、マウスへの感染性は完全に消失し、虫体陽性のマウスは全く認められなかった。

なお未処理群（群5）では、実験に用

いたマウス4頭のすべてから幼虫が回収され、幼虫検出数はマウス1頭当たり、平均9,680隻（最小5,394隻、最大16,663隻）となった。

D. 考察

厚労省は「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針（ガイドライン）について」（食安発1114第1号・2014年11月14日）を発出し、野生鳥獣肉を喫食する場合は、75 で1分以上、またはこれと同等以上の効力を有する手法によって、十分加熱するよう指導している。しかし、2016年には茨城県で、2018年と2019年には北海道で、クマ肉の喫食による旋毛虫感染の人体集団事例が発生した。これらの事例の発生を受け、厚労省は旋毛虫食中毒の発生予防を徹底するため、2016年には「クマ肉による旋毛虫（トリヒナ）食中毒事案について」（生食監発1223第1号・2016年12月23日）を、また2019年には「野生鳥獣肉による食中毒防止の徹底について」（薬生食監発1220第2号・2019年12月20日）を発出した。これらの通知においても、2014年に発出されたガイドラインと同様に、75 で1分以上、もしくは同等の効力を有する手法での加熱を行うように指導している。

上述の集団感染事例においては、クマ肉はいずれも加熱処理されていたことが、その後の聞き取り調査で明らかとなった。例えば2016年の事例では、オープンにてクマ肉の表面を220~250 で2~3分加熱し、さらにアルミホイルに包んで5~10分蒸らしていた。2018年の事例では、クマ肉をローストし、あるいは揚げ物（カツ）にしてから喫食していた。さら

に2019年の事例でも、ローストしてから喫食していた。これらの事実から、旋毛虫は高温処理に対して（ある程度の）耐性を持つと考えられた。

今回の実験の結果、旋毛虫 *Trichinella* T9 の幼虫を70 で3分および65 で15分加熱すれば、マウスへの感染性は消失することが分かった。しかしながら、75 での加熱では、1分だけでなく、その2倍の2分の加熱でも、マウスへの感染性は完全に消失しなかった。旋毛虫 *Trichinella* T9 の感染性を完全に失活させる加熱条件に関しては、さらなる検討が必要と考えられた。

旋毛虫の生活環を鑑みて、この結果をさらに考察したい。今回は400隻の幼虫を各1匹ずつのマウスに経口投与した。投与した旋毛虫の雌・雄が同数と仮定すれば、腸管に定着した最大400隻の幼虫は、200隻ずつの雄成虫および雌成虫に発育したと考えられる。さらに、雌成虫が雄成虫と交接し、その結果として、1隻の雌成虫が生涯に1,000隻の幼虫を産出したと仮定すれば、今回の実験系では、計算上、 $200 \times 1,000 = 200,000$ （20万）隻の幼虫が筋肉に移行したことになる。実際の回収幼虫数は、群5（陽性対照）の結果から、平均9,680隻であり、計算上の数値の約5%となった。

一方、筋肉からの幼虫回収が陰性となった群3、群4では、投与した幼虫が腸管内に定着できなかった、成虫に発育できなかった、成虫に発育したが交接しなかった、成虫に発育して交接したが産子しなかった、などの可能性（およびその組み合わせ）が想定され、その結果として筋肉からの幼虫回収が陰性になったと

考えられた。逆に言えば、群1（75 で1分）および群2（75 で2分）では、加熱処理後に投与した幼虫のうち、生存して腸管に定着したものが含まれ、その結果、筋肉に移行する幼虫が産出されたと考えられた。この筋肉内の幼虫は、旋毛虫食中毒の原因となり得る発育状態と同等とされた。

今回の実験結果から、高温であっても処理時間が短いと、感染性が残存すると想像された。今後は、1分あるいはそれ以下の短時間の処理でも、感染性が完全に消失する温度条件を検討したいと考えている。また、処理温度が低くても（例えば65未満）、処理時間が長ければ、感染性は消失すると想像され、その検証が必要と思われた。このような検討を通じて、旋毛虫食中毒の予防に有効な加熱条件について、知見を集積したいと考えている。

補遺）旋毛虫の高温耐性試験を実施するための温度設定条件の予備的検討

1. 方法

旋毛虫 *Trichinella* T9 における高温耐性の評価を行うにあたり、指定温度に至るまでの加熱時間を可能な限り短くするため、100 に設定したヒートブロック（ヒートブロック1）でチューブを指定温度まで予備加熱した後、予め指定温度となるように設定した別のヒートブロック（ヒートブロック2）にチューブを速やかに移して高温耐性試験を実施する実験系を構築した。まず、ヒートブロック1を100 に設定し、指定温度の65、70、75 に達するまでの時間を調べた。

次に、ヒートブロック 2 を指定温度に保つための設定温度を検討した。ヒートブロック 1 には Takara DNA Thermal Cycler 480 (Takara Bio, Shiga, Japan) を、ヒートブロック 2 には Nissin Thermo Block ND-M01 (Nissin-rika, Saitama, Japan) を用い、温度の測定と記録は、Thermo Recorder TR-52i および TR-50U2 (T&D, Nagano, Japan) を用いた。旋毛虫 *Trichinella* T9 の加熱試験では、生食水 0.4ml に旋毛虫幼虫 400 隻を懸濁したチューブを加熱することから、これらの予備実験では、同様のチューブに 0.4 ミリリットルの生食水を入れて検討した。

2. 結果

(1) ヒートブロック 1 を 100 に設定した場合の温度上昇実験

ヒートブロック 1 を 100 に設定した場合、チューブ内の生食水が 65、70、75 に到達する平均時間は、それぞれ 21 秒、24 秒、28 秒であった。6 次式近似曲線によって作成した温度上昇曲線を図 2 に示す。

(2) 3 種類の指定温度に保つためのヒートブロック 2 の設定温度の検討

ヒートブロック 2 の温度を 65、70、75 に保つために必要な設定温度は、本機ではそれぞれ 65.5、71.1、76.0 であることがわかった。

ヒートブロック 2 だけを用いてチューブ内の生食水を加熱した場合、液温が 75 に到達するまでに、3 分以上の時間を要した (図 3)。上述のように、ヒートブロック 1 を用いた予備加熱を行うこと

で、75 に到達するまでの時間は 28 秒に短縮され、75 に達するまでの温度帯での加熱の影響を、より少なくできたと考えている。

従って、例えば今回の本実験 (群 1) では、旋毛虫 *Trichinella* T9 の幼虫 400 隻を生食水 (0.4 ミリリットル) に懸濁させたチューブを、まずヒートブロック 1 で 28 秒予備加熱して液温を 75 に到達させた。その直後にヒートブロック 2 (75) に移して 1 分間処理するという方法を用いることで、75 で 1 分の加熱という条件にした。

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、本虫の感染性を消失させる加熱条件を、マウスモデルを用いた感染試験で検討した。その結果、70 で 3 分および 65 で 15 分の加熱で、マウスへの感染性が消失した。一方、75 で 1 分 (および 2 分) の加熱では、マウスへの感染性が完全には消失しなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表; 2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む)

1. 特許取得; 2. 実用新案登録

なし

表 1 旋毛虫 *Trichinella* T9 の高温耐性試験の結果

群	幼虫処理		動物数		感染の 期間(日)	検出虫体数 (陽性個体の1頭平均 ± sd)
	温度()	時間(分)	投与	陽性		
1	75	2	4	1	73	1738 ± 114
2	75	1	4	1	66	2013 ± 353
3	70	3	4	0	73	0
4	65	15	4(3)*	0	65	0
5	無処理	無処理	4	4	72	9680 ± 4331

* : 4頭に投与したが、飼育途中で1頭が食殺され、剖検時には3頭となった。

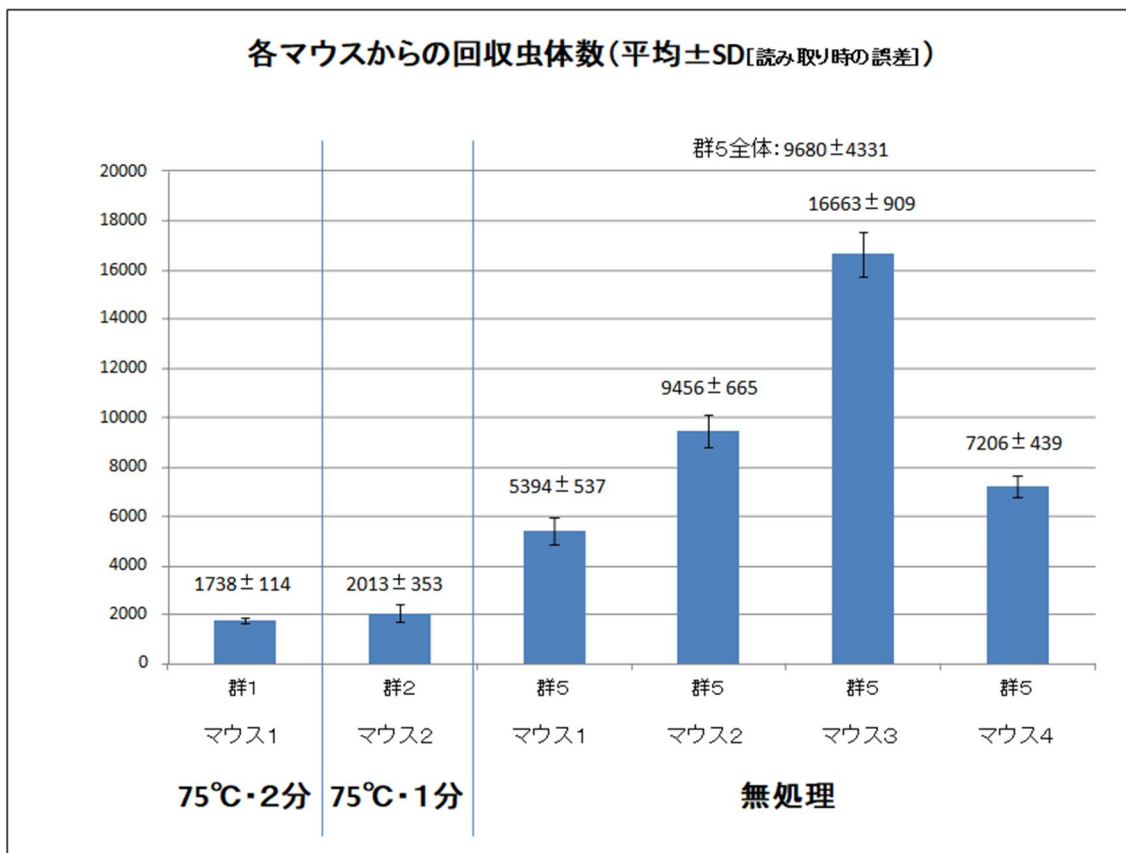


図 1 旋毛虫 *Trichinella* T9 の高温耐性試験の結果

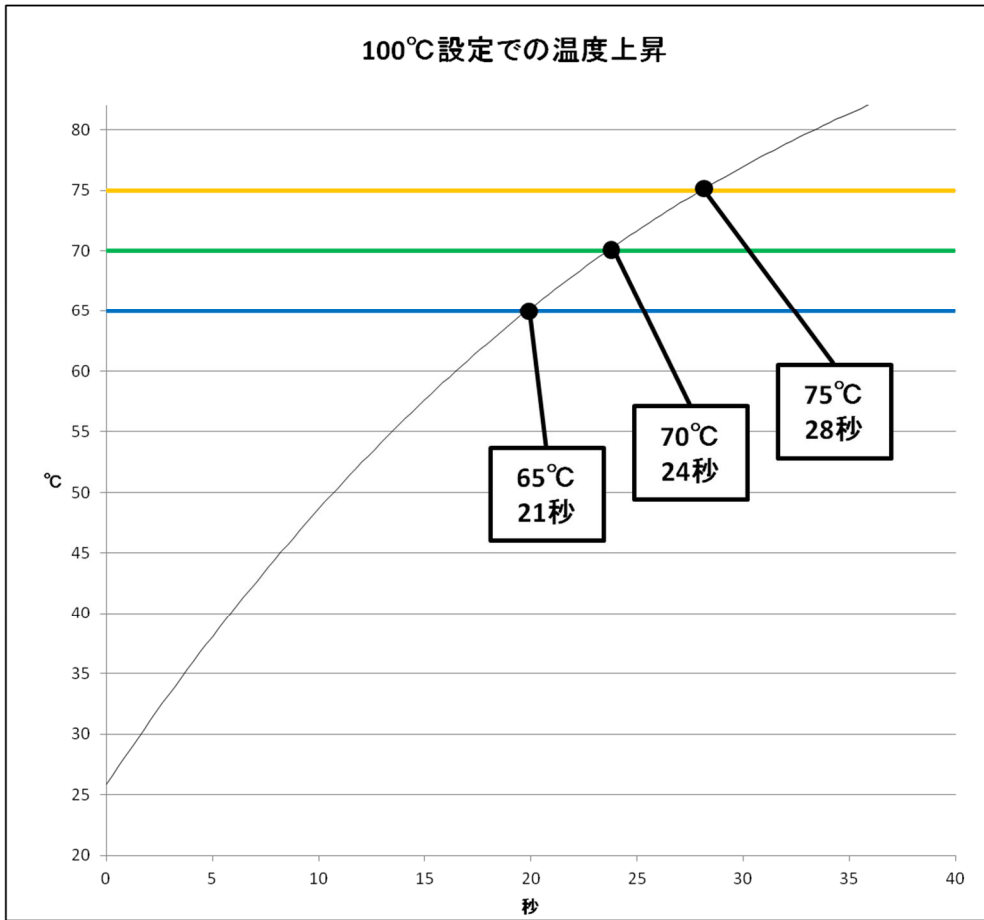


図2 100 設定での温度上昇曲線 (6次式近似曲線により作成)

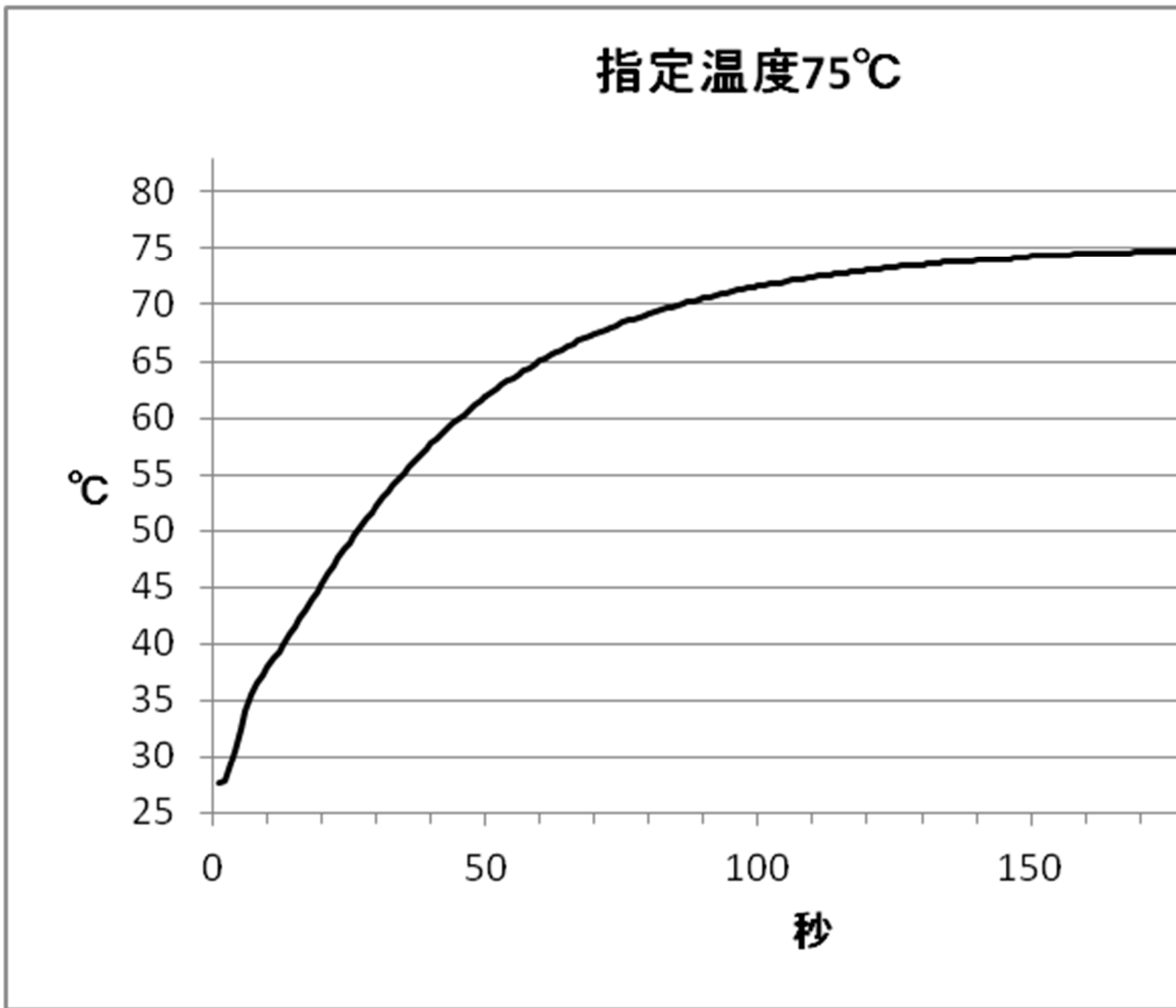


図3 指定温度75 とした場合の温度上昇曲線

令和元年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「野生鳥獣由来食肉の安全性確保とリスク管理のための研究」
分担研究報告書

北海道のヒグマにおける旋毛虫の感染状況（予備調査）

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

研究要旨

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

A. 研究目的

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

B. 研究方法

1) 北海道のヒグマにおける旋毛虫感染状況

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

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

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

2) 市販のトリヒナ検査キットの性能評価

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

C. 研究結果

1) 北海道に生息するヒグマにおける旋毛虫感染状況

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

2) 従来法とキット法との性能比較

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

D. 考察

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

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

別に明らかにする必要がある。

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

E. 結論

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

検体を調べたが、旋毛虫幼虫が陽性の個体は検出されなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表；2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

1. 特許取得；2. 実用新案登録
なし

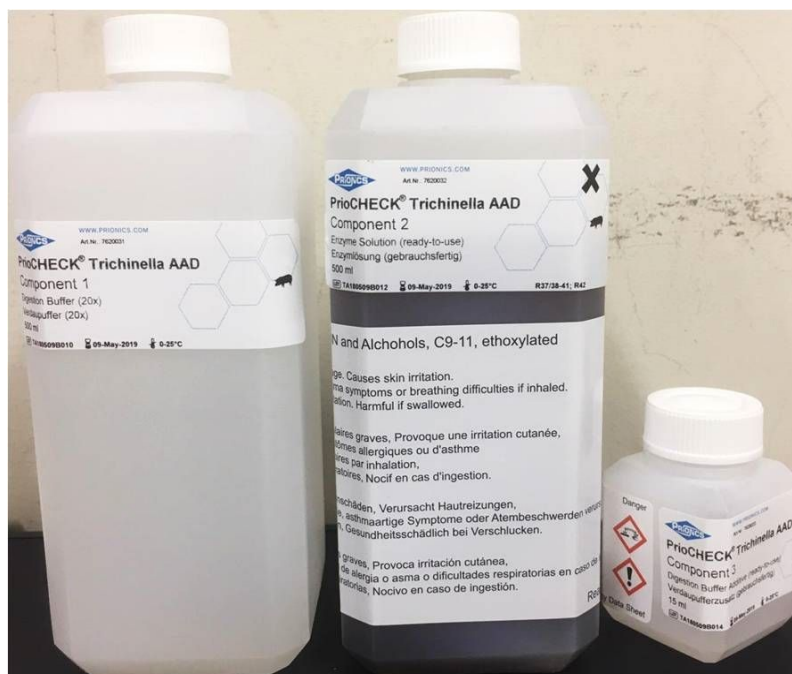


図 1 市販の旋毛虫検査キット (PrioCHECK Trichinella AAD) 左から順に Component 1、Component 2、Component 3

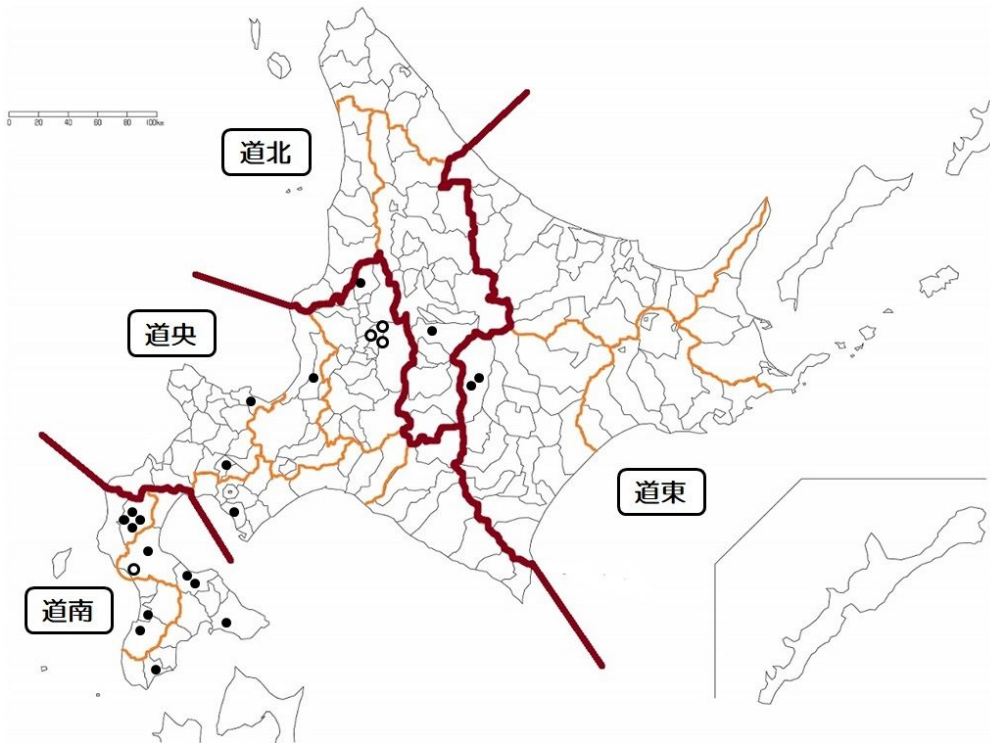


図 2 ヒグマ検体採取地の地理的分布、黒丸は本調査におけるヒグマの捕獲地点、白丸は Kanai ら (2007) によって旋毛虫陽性のヒグマが捕獲された 4 地点

表 1 検査したヒグマ舌の個体属性

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

表2 従来法とキット法の比較

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

令和元年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「野生鳥獣由来食肉の安全性確保とリスク管理のための研究」
分担研究報告書

北海道で続発したクマ肉喫食が原因の旋毛虫集団食中毒事例

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）
研究協力者 児玉文宏 （札幌市立札幌病院感染症内科）

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感染事例が、2019年12月に発生した。2グループの合計10名が、同年11月に札幌市のイタリア料理店でクマ肉を喫食し、このうちの8名が発症した。患者が喫食したクマ肉は4年前に北海道で狩猟されたクマに由来し、4年間冷凍保存され（冷凍条件の詳細は不明）、患者に提供される直前に、当該料理店に委譲されていた。しかし残品は保管されておらず、旋毛虫食中毒との判定は、血清学的検査の結果に基づいて行われた。クマ肉の喫食による旋毛虫を原因とした集団食中毒事例は、2016年12月に茨城県で、また2018年に北海道で発生しており、本食中毒の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

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。これは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からである。しかし本邦では、屠畜場法に則して全頭検査される豚あるいは馬の肉を喫食し、旋毛虫に感染した確実な事例は報告がない。これに代えて、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。このようなクマ肉を原因食品とする旋毛虫食中毒は、最近になって連続して発生し、2016年12月に茨城県水戸市で（摂食者31名、発

症者21名）さらに新たに2018年5月に北海道で（摂食者4名、発症者3名）報告されている。

本項では、2019年12月に北海道（札幌市）で発生した旋毛虫食中毒事例について記述する。本事例では、患者が喫食したクマ肉の残品は保存がなかった。そこで旋毛虫に対する抗体応答の検索を、国立感染症研究所寄生動物部で実施した。その結果、旋毛虫による集団食中毒事例と確認された。

B. 研究方法

2019年12月に北海道でヒグマの肉の喫食を原因とした集団事例が発生した。症状は多彩であったが、発疹、発熱、筋肉痛が多くの人に共通する主な症状であった。特

に発疹に関しては、2016年に発生した旋毛虫食中毒症例の紹介記事に掲載された写真とよく一致することに、患者の1名が気づき、研究協力者の診療科を受診したことが事例探査の契機になった。患者が喫食した肉の残品は見付からず、患者血清を検査材料として、市販のイムノプロット法による検査キット（TRICHINELLA E/S Western Blot IgG、LDBIO Diagnostic社、リヨン、フランス）を用いた旋毛虫に対する抗体応答の検索を感染研で実施し、原因物質を診断した。

C. 研究結果

当該料理店で2019年11月10日にジビエ肉のローストを喫食した8名のうち、1名の血清が同年12月10日の抗体検査で陽性反応を示し、残り5名も抗体陽性者と類似の臨床症状を呈した。この結果を受けて、旋毛虫による6名の集団食中毒事例と判断された。同様の抗体検査は、継時的採血で得た血清を用いて継続された。

さらに11月9日に当該料理店でジビエのロースト肉（クマ肉を含む）を喫食した2名の血清も、検査用に提供された。

この結果、2020年3月1日の段階では、上述の計10名のうち、8名が抗体陽性となった。最終的に、クマ肉喫食者10名、発症者8名の旋毛虫による集団食中毒事例と判断されるに至った。

D. 考察

最近、わが国で発生したクマ肉を原因食品とした旋毛虫による集団食中毒の2事例では（2016年12月に茨城県、および2018年5月に北海道）残品のクマ肉から旋毛虫 *Trichinella* T9 が検出され、食中毒の原因

物質が同定されている。一方で、今回の事例では残品はなく、原因となった旋毛虫の虫種を決定することはできなかった。しかし原因食品の肉は、4年前に捕獲されたクマに由来し、4年間にわたり冷凍保存された後、2019年11月にイタリア料理店の営業者に譲渡されたものであることが、自治体の聞き取り調査で判明した。このような長期間の冷凍保存により、旋毛虫 *Trichinella* T9 は感染性を消失すると考えられた。一方、わが国に分布するもう1種類の旋毛虫である *Trichinella nativa* は、長期間の冷凍に耐性を持つことが知られている。おそらく今回の食中毒事例は、この旋毛虫種により引き起こされたと考えられた。

本事例も含め、最近発生した旋毛虫食中毒の3事例では、原因となる虫種を問わず、いずれも臨床症状として、発疹が特徴とされる。原因が明らかでない発疹（あるいは中毒疹）の患者を診断した場合、クマ肉を含めたジビエ肉の喫食歴を問診し、抗体応答を確認して、確定診断に結びつける必要があると考えられた。

今回の事例でも、クマ肉を加熱後に喫食していた。しかし旋毛虫を完全に殺滅するため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、自然治癒した症例も含まれる。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、原因食品となるジビエ（クマ肉）の筋肉における幼虫数が多い場合、あるいは喫食量が多い場合は、多数の旋毛虫幼虫を摂取して、重症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、十分な加熱が必要である。これを周知するような適切な発生予防の啓発活動を、今後継続する必要があると考えられた。

E. 結論

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感染例が、2019年12月に発生した(10名が喫食し、8名が発症)。患者が喫食したクマ肉は残されておらず、旋毛虫食中毒との判定は、血清学的検査の結果に基づいた。旋毛虫による集団食中毒事例は、2016年末に茨城県で、また2018年には北海道でも発生しており、いずれもクマ肉の喫食に起因する。

本症の発生予防に関する適切な啓発活動を、今後継続的に展開する必要があると考えられた。

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

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 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 31 年度は、過年度から引き続き、わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された鹿、ならびに猪枝肉の枝肉拭き取り調査を実施した。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のうち、鹿 11 施設、猪 8 施設でそれぞれ処理された洗浄前の鹿枝肉 71 検体、および猪枝肉計 36 検体について、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、大腸菌群数、大腸菌数、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、剥皮時の設備(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)「剥皮」と「内臓摘出」の作業順別では鹿において、「剥皮」→「内臓摘出」の順で処理されたものは、「内臓摘出」→「剥皮」の順に処理されたものに比べ有意に高度に一般細菌が検出されたこと、2)猪では、剥皮時に「のせ台」を用いた場合には、懸吊する場合に比べ、一般細菌が多く検出されたことを明らかとした。わが国の野生鳥獣肉処理施設 A で処理された猪枝肉 5 検体について、熟成前、熟成後のトリミング片およびトリミング後の食肉について、各種病原細菌の検出状況、衛生指標細菌数、ならびに細菌叢解析を行った。その結果、熟成後の検体から、病原細菌は全く検出されなかった。一般細菌と腸内細菌科菌群は、熟成後のトリミング片に高度に検出された。細菌叢解析の結果、熟成後に増殖した細菌のほとんどは *Pseudomonas* 属菌であったことが明らかとなった。

A. 研究目的

近年、わが国では鹿や猪などの野生鳥獣の生息数増加に伴い、農作物や自然植生への被害が深刻化している。2019 年度の農林水産省の報告によると、鹿や猪による被害額は、それぞれ 54 億円および 47 億円に達している。その被害を軽減する目的で、各地で鹿や猪の管理捕獲や有害鳥獣捕獲が行われており、2019 年度の環境省の統計では、鹿と猪の捕獲頭数はそれぞれ 56 万頭および 60 万頭とな

っている。さらに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が、これら野生鳥獣肉を原因とする食中毒事例の発生が危惧される。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科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)、ならびに平成 30 年度同事業において、鹿枝肉の一般細菌数の平均値は、「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に比べ、高い値となったこと、猪枝肉は、家畜(豚)と比べても同程度の衛生状態であったが、高度に汚染された枝肉も散見されたこと、

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等を明らかとしている。

わが国の一部の野生鳥獣の処理施設では、野生鳥獣肉を用いて熟成を行う試みがある。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、熟成肉の衛生状態に関わる検討は全くされていない。

以上のことから、平成 31 年度は、引き続き、わが国の野生鳥獣肉処理施設において処理された鹿肉や猪肉の拭き取り検体を用いて、衛生指標細菌(一般細菌、大腸菌群、大腸菌、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。さらには、わが国の野生鳥獣肉処理施設 A で熟成処理された猪肉を用いて、熟成前後における衛生状況を検討した。

B. 研究方法

1) 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

2019 年 6 月～2020 年 3 月の間に、わが国の野生鳥獣肉処理施設(鹿 8 施設(表 1)、猪 11 施設(表 2))で処理された鹿枝肉 71 検体、猪枝肉計 36 検体について、枝肉洗浄前において、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、剥皮時の設備、剥皮方法、食道結紮/肛門結紮の有無、表皮洗浄方法、枝肉洗浄方法について、表 1,2 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。

2) わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された猪熟成肉の衛生評価と細菌叢解析

2019 年 1 月～2020 年 2 月の間に、わが国の野生鳥獣肉処理施設 A で処理された猪肉計 5 検体について、熟成前、熟成後(トリミング片)、熟成後(トリミング後の食肉)の 3 検体を採取した。なお、検体番号 3 の熟成後(トリミング片)は採取できなかった。

各検体について、病原細菌の検索として、腸管出血性大腸菌、同 O157、リステリア属菌、黄色ブドウ球菌、およびサルモネラ属菌の分離を行った。さらに、B-1)に示す方法により、各種衛生指標細菌数を測定した。

各検体における細菌叢解析は、16S Metagenomic Sequencing Library Preparation

(イルミナ社)に従って行った。すなわち、各検体から、市販の DNA 抽出キット (DNeasy PowerFood Microbial Kit; QIAGEN 社)を用いて DNA を抽出し、Tks Gflex DNA Polymerase (TAKARA 社)を用いて、細菌の 16SrRNA (V3-V4)領域を標的とした PCR を行った。PCR 産物を精製した後、Nextera XT Index Kit を用いて PCR を行った。さらに PCR 産物を精製した後、MiSeq Reagent Nano Kit v2 (500 Cycles)(イルミナ社)を用いて、MiSeq により解析を行った。得られた fastq データについて、Qiime2を用いてデータを解析した。対象としたデータベースには、Greengenes Database を用いて解析し、各検体における菌叢のうち、上位 11 属(および、その他)の割合(%)で表した。

C. 研究結果

1) 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

本研究で対象とした施設(鹿 8 施設、猪 11 施設)では、それぞれ「剥皮」と「内臓摘出」の順番が異なるものであった(表 1、2)。鹿では、11 施設中 9 施設で、「剥皮」→「内臓摘出」の順で作業していたが、2 施設は「内臓摘出」→「剥皮」の順であった。これに対して、猪の処理では、8 施設中 5 施設で、「剥皮」→「内臓摘出」の順、3 施設は「内臓摘出」→「剥皮」の順であった。

剥皮時のと体は、鹿は全て懸吊していたが、猪では、のせ台を使用する施設と懸吊している施設がそれぞれ 4 施設であった。また、剥皮方法は、鹿では、ウィンチによる牽引が 5 施設、手剥ぎが 6 施設であったが、猪では、1 施設を除き、全て手剥ぎであった。

洗浄前において、鹿枝肉胸部;同肛門周囲部における一般細菌数の平均値(cfu/cm²)は、

5.1x10²; 9.9x10² であった。大腸菌群数(cfu/cm²)の平均値は 6.5x10; 5.2x10、大腸菌数(cfu/cm²)は、3.6x10;4.4x10 であった。黄色ブドウ球菌数(cfu/cm²)は、1.0x10⁻¹; 0.0 であった。一方、各菌数の中央値は、検討した全ての指標細菌において、いずれも検出限界未満(ud)であった。

猪枝肉胸部;同肛門周囲部における一般細菌数の平均値(cfu/cm²)は、3.6x10³; 6.2x10³ であった。大腸菌群数(cfu/cm²)の平均値は 2.3x10; 2.9x10²、大腸菌数(cfu/cm²)の平均値は 1.8x10;1.6x10² であった。黄色ブドウ球菌数(cfu/cm²)は、4.0x10⁻¹; 8.5x10⁰ であった。一方、一般細菌数の中央値(cfu/cm²)は、4.2x10; 1.2x10² であった。大腸菌群数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数の中央値は、いずれも ud であった。

本研究で算出された一般細菌数は、Anderson-Darling 検定により、正規分布しないことが確認されたことから、以降の解析では、いずれも Mann-Whitney U 検定により行った。

剥皮と内臓摘出の作業順別に枝肉洗浄前の鹿胸部、肛門周囲部における各衛生指標細菌数の中央値を比較した結果、一般細菌数、大腸菌群数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数の中央値はいずれも ud であったが、胸部の一般細菌数において、「剥皮」「内臓摘出」では、「内臓摘出」「剥皮」に比べ、有意($p<0.05$)に高値であった(表 3)。一方、猪では、「内臓摘出」「剥皮」では、胸部;同肛門周囲部における一般細菌数の中央値(cfu/cm²)は、2.6x10¹; 1.1x10² であったのに対し、「剥皮」「内臓摘出」では、5.4x10¹; 2.4x10² であった(表 4)。大腸菌群数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数の中央値はいずれも ud であった。いずれの衛生指標細菌においても、「剥皮」と

「内臓摘出」の作業順別において有意差は認められなかった。

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、猪枝肉の洗浄前の胸部;肛門周囲部における一般細菌数の中央値(cfu/cm²)を比較した結果、「のせ台」では、 7.1×10^1 ; 3.4×10^2 、「懸吊」では、 3.7×10^0 ; ud で、「のせ台」で処理した枝肉の胸部は、「懸吊」のそれに比べ、有意 ($p < 0.05$) に高値であった(表 5)。大腸菌群、大腸菌、黄色ブドウ球菌の中央値は、いずれも ud で、有意差も認められなかった。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、鹿枝肉の洗浄前の胸部;肛門周囲部における各衛生指標細菌数の中央値(cfu/cm²)を比較したところ、いずれも ud で有意差は認められなかった(表 6)。一方、猪では、胸部;肛門周囲部における一般細菌数の中央値(cfu/cm²)は、「ウィンチ」では、 9.2×10^0 ; 3.4×10^3 、「手剥ぎ」では、 4.8×10^1 ; 1.1×10^2 で、有意差は認められなかった(表 7)。大腸菌群、大腸菌、黄色ブドウ球菌の中央値は、いずれも ud で、有意差も認められなかった。

2) わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された猪熟成肉の衛生評価と細菌叢解析

5頭の枝肉由来14検体について各種病原細菌の分離培養を行ったところ、全ての検体から、検討した病原細菌は検出されなかった。

一般細菌数では、熟成前は、ud~ 1.9×10^4 cfu/g であったのに対し、熟成後(トリミング片)では、 $6.6 \times 10^1 \sim 2.5 \times 10^5 < \text{cfu/g}$ 、熟成後(ト

リミング後の食肉)では、 $1.9 \times 10^2 \sim 1.6 \times 10^4$ cfu/g であった(表 8)。

大腸菌群、および大腸菌では、熟成前は、すべて ud であったのに対し、熟成後(トリミング片)では、1 検体から大腸菌群が 3.6×10^1 cfu/g 検出されたが、熟成後(トリミング後の食肉)では、すべて ud であった(表 8)。

黄色ブドウ球菌では、熟成前は、ud~ 6.2×10^3 cfu/g であったのに対し、熟成後(トリミング片)では、ud~ $1.0 \times 10^4 < \text{cfu/g}$ 、熟成後(トリミング後の食肉)では、ud~ 6.3×10^1 cfu/g であった(表 8)。

16SrRNA (V3-V4)領域を標的とした PCR を行ったところ、9 検体から PCR 産物が得られた。このうち、熟成前は、1 検体のみ、熟成後(トリミング片)では、3 検体、熟成後(トリミング後の食肉)は 5 検体であった。検出された細菌属の上位 11 属は、*Pseudomonas*, *Janthinobacterium*, *Flavobacterium*, *Chryseobacterium*, *Pedobacter*, *Rahnella*, *Acinetobacter*, *Brochothrix*, *Arthrobacter*, *Psychrobacter*, *Mycoplasma* であった(表 9)。熟成前では、*Pseudomonas* が最も多く 45.1%、次いで *Janthinobacterium* が 25.9%、*Flavobacterium* が 10.2%と続き、以降 *Chryseobacterium* が 7.2%、*Pedobacter* が 2.9%、*Rahnella* が 2.4%、*Acinetobacter* が 1.5%であった。これに対して、熟成後のトリミング片およびトリミング後の食肉の検体では、ほとんど(86.1 ~ 99.8%)が、*Pseudomonas* で、その他はいずれも 9.0%以下であった。

D. 考察

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、2 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、剥皮時の設備(のせ台、あるいは懸吊)、ならびに剥皮方法(ウィンチ、あるいは手剥ぎ)の違いに着目し、鹿、および猪枝肉の汚染指標細菌数を比較することにより、各工程の作業順や方法が枝肉の衛生状況に与える影響について検討した。

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。その結果、本研究では、鹿では、中央値はいずれも 10^4 であったものの、「剥皮」→「内臓摘出」の順で処理された鹿枝肉からは、「内臓摘出」→「剥皮」の順で処理された鹿枝肉に比べ、胸部において有意に高い一般細菌数の値を示した。これは、剥皮を先に行うことで、剥皮後の枝肉に汚染した手指で直接、あるいは間接的に接触する機会が多くなったためである可能性がある。剥皮後に枝肉と接触することにより細菌に汚染する可能性について、改めて作業者に啓蒙する必要がある。一方、本研究で対象とした鹿 11 施設のうち、9 施設はガイドラインに従う手順、すなわち「剥皮」→「内臓摘出」の順に作業を進めていたが、2 施設のみが「内臓摘出」→「剥皮」の順で実施していた(表 1)。このことから、「内臓摘出」→「剥皮」の順で実施していた 2 施設においては、他の要因により一般細菌数の検出状況が低値を示した可能性も考えられる。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。

剥皮時の設備については、本研究で対象とした鹿の施設では全てにおいて「懸吊」を行っていたために、比較検討は行わなかった。一方、猪では、「のせ台」を用いて剥皮を行った施設で処理された枝肉は、「懸吊」して剥皮した枝肉に比べ、胸部において一般細菌数が

多く検出された。以上のことから、「のせ台」を使用して剥皮する場合には、「懸吊」して剥皮を行う場合に比べ、より高頻度に作業中に汚染した手指や表皮などを介して枝肉に細菌が汚染する可能性が考えられた。懸吊装置の導入の推進、あるいは、「のせ台」で剥皮をする際には、より一層細菌汚染を回避するように意識して作業するよう、指導する必要があると考えられた。

鹿では、「ウィンチ」を用いて剥皮する方法と、「手剥ぎ」で実施する施設は、ほぼ同数であったのに対し、猪では、1 施設のみで「ウィンチ」が使用されていた。また、鹿、猪共に両者の剥皮方法の違いにより枝肉の細菌汚染状況に有意差は認められなかった。「ウィンチ」を用いた場合には、剥皮の際に、表皮に汚染した土壌や細菌が舞い散る可能性が考えられる。一方、「手剥ぎ」の場合には、より多く作業者の手指や剥がされた表皮によって枝肉が汚染される機会があると考えられる。両者の注意点を意識することでより高度に衛生状態を確保することを啓蒙する必要がある。

今後、本研究で得られた枝肉のデータを従来蓄積してきた鹿、および猪枝肉のデータに加え、改めて、鹿および猪の解体処理工程における枝肉の衛生状態に関わる要因についての解析を行う予定である。

本研究で対象とした施設では、4 でおおよそ 2 週間静置するにより熟成を行っている。本研究で検討した猪肉はいずれも熟成前から一般細菌が検出され、熟成後には同菌数の上昇が確認された。一方、一部から大腸菌群や黄色ブドウ球菌が検出されたものの、大腸菌は全く検出されなかった。さらに、検討したその他の病原細菌についても、全て検出されなかった。以上のことから、当該施設で実施している熟成

工程において、病原細菌の増殖は起こっていないものと考えられた。一般に、熟成により、食肉に含まれる自身の消化酵素により、蛋白質などの分解がおこり、うま味や風味が高まることが期待される。一方で、牛肉の熟成肉の表面から、リステリアなどの低温細菌が検出された事例が報告されており、十分なトリミングが必須である。本研究においては、リステリアを含む検討した全ての病原細菌は、検出されなかったが、多くの一般細菌、ならびに黄色ブドウ球菌が検出された検体も認められたことから、熟成後には十分トリミングを行う必要がある。

本研究では、熟成前の検体については、1検体についてのみ、細菌叢解析を行うことができた。その結果、多様な細菌が検出された。最も高率に検出された *Pseudomonas*、次いで多く検出された *Janthinobacterium*、さらに *Flavobacterium*、*Chryseobacterium*、*Pedobacter*、*Rahnella*、*Acinetobacter* は、いずれも土壌から検出されることが知られていることから、枝肉の土壌による汚染があった可能性が考えられた。

一方、熟成後の検体では、全ての検体において、ほとんどが *Pseudomonas* であった。*Pseudomonas*、*Janthinobacterium*、*Arthrobacter*、*Flavobacterium*、*Rahnella*、*Acinetobacter* は、低温細菌であることから、ドライエイジングの過程においても増殖すると考えられる。実際に、熟成後には、ほとんどが *Pseudomonas* となった。さらに、その他の低温細菌も 0.1~9.0% 検出された。熟成後の細菌叢のうち、大部分を占めた *Pseudomonas* には、低温腐敗細菌である *P. fragi* が含まれる可能性がある。当該菌は肉類の腐敗の原因となることが報告されていることから、今後菌種同定を行う必要がある。

E. 結論

1) 鹿では「剥皮」「内臓摘出」の順で処理された枝肉(胸部)からは、「内臓摘出」「剥皮」の順で処理された枝肉(胸部)に比べ、一般細菌数が多く検出された。

2) 猪では、剥皮の際「のせ台」を用いた場合は、「懸吊」する場合に比べ、一般細菌数が多く検出された。

3) 細菌叢解析により、枝肉は土壌由来細菌に汚染され、熟成により低温細菌が増殖していた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 森田聡志、宮川明日香、佐藤真伍、丸山総一、奈良崎孝一郎、奈良崎和孝、壁谷英則．わが国の鹿・猪における *Campylobacter* および *Arcobacter* の保菌状況と分離株の病原性解析 第 162 回日本獣医学会学術集会(茨城県, 2019 年 9 月 10 日)
- 2) 壁谷英則．野生動物が原因となる細菌性人獣共通感染症 日本防菌防黴学会 第 46 回年次大会 シンポジウム 8 (食品衛生)ジビエと食品衛生(大阪府, 2019 年 9 月 26 日)
- 3) 壁谷英則．野生動物の有効利用と注意すべき感染症 - 細菌性感染症 - 令和元年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会 日本獣医公衆衛生学会シンポジウム(東京都, 2020 年 2 月 9 日)
- 4) 森田聡志、宮川明日香、佐藤真伍、丸

山総一、奈良崎孝一郎、奈良崎和孝、
壁谷英則、わが国の鹿・猪における
Campylobacter および *Arcobacter* の保
菌状況と分離株の病原性 令和元年度
日本獣医師会獣医学術学会年次大会
(東京都, 2020年2月8日)

(啓蒙活動など)

- 1) 壁谷英則 野生鳥獣由来食肉の安全性
確保に関する研究 令和元年度 野生獣
衛生体制整備推進確立対策事業(岐阜
県獣医師会)講習会(岐阜県、2019年7
月25日)
- 2) 壁谷英則 野生鳥獣肉の安全性確保に
関する研究 令和元年度 野生獣衛生体
制整備推進確立対策事業(大分県畜産

協会)講習会(大分県、2019年12月18
日)

- 3) 壁谷英則 ジビエにおける細菌・ウイルス
感染リスクと対処法 第6回日本ジビエサ
ミットin東京(東京都、2019年11月22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鹿処理施設における処理方法等の概要

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
内臓/剥皮の順	内臓/剥皮	内臓/剥皮	剥皮/内臓	剥皮/内臓	剥皮/内臓	剥皮/内臓	剥皮/内臓	剥皮/内臓	剥皮/内臓	剥皮/内臓	剥皮/内臓
懸吊/のせ台	懸吊	懸吊	懸吊	懸吊	懸吊	懸吊	懸吊	懸吊	懸吊	懸吊	懸吊
剥皮法	手剥ぎ	ウィンチ	手剥ぎ	手剥ぎ	ウィンチ	手剥ぎ	ウィンチ	手剥ぎ	ウィンチ	手剥ぎ	ウィンチ
肛門結紮	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
食道結紮	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○	○
表皮洗浄方法	毛掃き・水道水	水道水	水道水	水道水	電解水	水道水	水道水	水道水	水道水	水道水	水道水
筋肉洗浄方法	トリミング・バーナー、アルコール	次亜塩	水道水	水道水	電解水	電解水	電解水	電解水	オゾン水	電解水	オゾン水

表2 本研究で対象とした猪処理施設における処理方法等の概要

	A	B	C	D	E	F	G	H
内臓/剥皮の順	剥皮/内臓	内臓/剥皮	剥皮/内臓	剥皮/内臓	剥皮/内臓	内臓/剥皮	剥皮/内臓	内臓/剥皮
懸吊/のせ台	懸吊	のせ台	のせ台	のせ台	懸吊	のせ台	懸吊	懸吊
剥皮法	ウィンチ	手剥ぎ	手剥ぎ	手剥ぎ	手剥ぎ	手剥ぎ	手剥ぎ	手剥ぎ
肛門結紮	○	○	○	○	○	×	○	○
食道結紮	○	○	○	○	○	×	○	○
表皮洗浄方法	水道水	水道水	電解水	水道水	水道水	毛掃き・水道水	水道水	毛掃き・水道水
筋肉洗浄方法	次亜塩	電解水	電解水	電解水	電解水	エタノール、水道水	電解水	トリミング・バーナー、アルコール

表3 鹿枝肉の拭き取り検体における衛生指標細菌数（内臓摘出/剥皮 作業順別）

作業順	値	検体数 (頭)	胸部				肛門周囲部			
			一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)	一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)
内臓摘出 剥皮	最小値	30	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	最大値		1.3×10 ³	8.8×10 ²	8.8×10 ²	5.2×10 ⁰	8.6×10 ³	1.5×10 ³ <	1.5×10 ³ <	2.0×10 ⁻¹
	平均値		7.7×10 ¹	2.9×10 ¹	2.9×10 ¹	2.0×10 ⁻¹	5.4×10 ²	5.0×10 ¹	5.0×10 ¹	ud
	中央値		ud ^{*1}	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
剥皮 内臓摘出	最小値	41	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	最大値		2.5×10 ⁴ <	3.7×10 ³	1.7×10 ³	2.0×10 ⁻¹	2.5×10 ⁴ <	9.7×10 ²	5.0×10 ³	3.0×10 ⁻¹
	平均値		8.2×10 ²	9.1×10 ¹	4.2×10 ¹	ud	1.3×10 ³	5.4×10 ¹	4.0×10 ¹	ud
	中央値		ud ^{*1}	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud

*1 : p,0.05

表4 猪枝肉の拭き取り検体における衛生指標細菌数（内臓摘出/剥皮 作業順別）

作業順	値	検体数 (頭)	胸部				肛門周囲部			
			一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)	一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)
内臓摘出 剥皮	最小値	24	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	最大値		2.5×10 ⁴ <	2.6×10 ²	2.6×10 ²	4.0×10 ⁰	2.5×10 ⁴ <	7.4×10 ³	2.6×10 ³	1.5×10 ²
	平均値		3.2×10 ³	2.6×10 ¹	2.0×10 ¹	5.0×10 ⁻¹	6.7×10 ³	4.4×10 ²	2.4×10 ²	1.3×10 ¹
	中央値		2.6×10 ¹	ud	ud	ud	1.1×10 ²	ud	ud	ud
剥皮 内臓摘出	最小値	12	5.5×10 ⁰	ud	ud	ud	4.5×10 ⁰	ud	ud	ud
	最大値		2.5×10 ⁴ <	1.8×10 ²	1.7×10 ²	2.4×10 ⁰	2.5×10 ⁴ <	ud	ud	3.0×10 ⁻¹
	平均値		4.4×10 ³	1.5×10 ¹	1.5×10 ¹	2.0×10 ⁻¹	5.0×10 ³	ud	ud	1.0×10 ⁻¹
	中央値		5.4×10 ¹	ud	ud	ud	2.4×10 ²	ud	ud	ud

表5 猪枝肉の拭き取り検体における衛生指標細菌数（剥皮設備別）

剥皮設備	値	検体数 (頭)	胸部				肛門周囲部			
			一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)	一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)
のせ台	最小値	26	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	最大値		2.5x10 ⁴ <	2.6x10 ²	2.6x10 ²	4.0x10 ⁰	2.5x10 ⁴ <	7.4x10 ⁴	2.6x10 ³	1.5x10 ²
	平均値		3.1x10 ³	3.1x10 ¹	2.5x10 ¹	6.0x10 ⁻¹	6.3x10 ³	4.1x10 ²	2.2x10 ²	1.2x10 ¹
	中央値		7.1x10 ¹ *1	ud	ud	ud	3.4x10 ²	ud	ud	ud
懸吊	最小値	10	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	最大値		2.5x10 ⁴ <	ud	ud	ud	2.5x10 ⁴ <	ud	ud	ud
	平均値		5.0x10 ³	ud	ud	ud	5.7x10 ³	ud	ud	ud
	中央値		3.7x10 ⁰ *1	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud

*1 : p,0.05

表6 鹿枝肉の拭き取り検体における衛生指標細菌数（剥皮法別）

剥皮法	値	検体数 (頭)	胸部				肛門周囲部			
			一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)	一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)
ウィンチ	最小値	28	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	最大値		1.0x10 ³	ud	ud	2.0x10 ⁻¹	2.5x10 ⁴ <	9.7x10 ²	9.1x10 ²	3.0x10 ⁻¹
	平均値		5.8x10 ¹	ud	ud	ud	1.2x10 ³	3.5x10 ¹	3.2x10 ¹	ud
	中央値		ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
手剥ぎ	最小値	43	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	最大値		2.5x10 ⁴ <	3.7x10 ³	1.7x10 ³	5.2x10 ⁰	2.5x10 ⁴ <	1.5x10 ³ <	1.5x10 ³ <	3.0x10 ⁻¹
	平均値		8.0x10 ²	1.1x10 ²	6.0x10 ¹	1.0x10 ⁻¹	8.5x10 ²	6.4x10 ¹	5.2x10 ¹	ud
	中央値		ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud

*1 : p,0.05

表7 猪枝肉の拭き取り検体における衛生指標細菌数（剥皮法別）

剥皮法	値	検体数 (頭)	胸部				肛門周囲部			
			一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)	一般細菌 (cfu/cm ²)	大腸菌群 (cfu/cm ²)	大腸菌 (cfu/cm ²)	黄色 ブドウ球菌 (cfu/cm ²)
ウィンチ	最小値	2	7.4×10 ⁰	ud	ud	ud	3.8×10 ¹	ud	ud	ud
	最大値		1.1×10 ¹	ud	ud	ud	6.8×10 ³	ud	ud	ud
	平均値		9.2×10 ⁰	ud	ud	ud	3.4×10 ³	ud	ud	ud
	中央値		9.2×10 ⁰	ud	ud	ud	3.4×10 ³	ud	ud	ud
子剃ぎ	最小値	34	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud	ud
	最大値		2.5×10 ⁴ <	2.6×10 ²	2.6×10 ²	4.0×10 ⁰	2.5×10 ⁴ <	7.4×10 ³	2.6×10 ³	1.5×10 ²
	平均値		3.8×10 ³	2.4×10 ¹	1.9×10 ¹	4.0×10 ⁻¹	6.3×10 ³	3.1×10 ²	1.7×10 ²	9.0×10 ⁰
	中央値		4.8×10 ¹	ud	ud	ud	1.1×10 ²	ud	ud	ud

表8 猪肉の熟成前後における衛生指標細菌数

検体名	検体番号	熟成	検体	一般細菌 (cfu/g)	大腸菌群 (cfu/g)	大腸菌 (cfu/g)	黄色ブドウ球菌 (cfu/g)
1B-pr B	1	前	煮肉	ud	ud	ud	ud
1B-po P		後	トリミング片	2.5×10 ³	ud	ud	ud
1B-po B		後	煮肉	6.5×10 ²	ud	ud	ud
2B-pr B	2	前	煮肉	1.9×10 ⁴	ud	ud	6.2×10 ³
2B-po P		後	トリミング片	2.5×10 ⁵ <	3.6×10 ¹	ud	1.0×10 ⁴ <
2B-po B		後	煮肉	1.7×10 ³	ud	ud	ud
3B-pr B	3	前	煮肉	1.6×10 ²	ud	ud	5.9×10 ¹
3B-po B		後	煮肉	2.6×10 ³	ud	ud	ud
4B-pr B	4	前	煮肉	9.0×10 ¹	ud	ud	ud
4B-po P		後	トリミング片	6.6×10 ¹	ud	ud	2.0×10 ¹
4B-po B		後	煮肉	1.9×10 ²	ud	ud	ud
5B-pr B	5	前	煮肉	3.5×10 ³	ud	ud	2.5×10 ²
5B-po P		後	トリミング片	2.5×10 ⁵ <	ud	ud	1.0×10 ⁴ <
5B-po B		後	煮肉	1.6×10 ⁴	ud	ud	6.3×10 ¹

表9 猪肉の熟成前後における細菌叢解析

検体名	構成比 (%)											
	<i>Parabacteroides</i>	<i>Akkermansia</i>	<i>Ferroglobulus</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Peptococcus</i>	<i>Blautia</i>	<i>Acetivibrio</i>	<i>Brachyspira</i>	<i>Artibeobacter</i>	<i>Psychrobacter</i>	<i>Moryella</i>	その他
1B-pa B	99.5	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0
2B-pf B	45.1	25.9	10.2	7.2	2.9	2.4	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	4.8
2B-pa P	98.9	0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0
2B-pa B	97.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	0.1	0.0	0.0	0.0
3B-pa B	86.1	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	9.0	1.8	0.8	0.0
4B-pa P	99.5	0.1	0.1	0.0	0.0	0.2	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
4B-pa B	99.3	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5B-pa P	98.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.8	0.0	0.0	0.0	0.0
5B-pa B	99.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0

猪肉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	伊澤和輝	東京工業大学大学院
研究協力者	小林直樹	麻布大学生命・環境科学部
研究協力者	小西良子	麻布大学生命・環境科学部

研究要旨

食肉を含む食品や食品加工・製造環境には真菌・酵母が多く存在するとされ、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・酵母の分布はこれまで検討がされていない。衛生管理上の要点を真菌分布実態の観点から抽出し、改善策に係る知見を集積する必要があると考えられたことから、昨年度は猪解体・加工施設での真菌・酵母汚染実態調査を実施した。対象施設のうち、1施設では細菌汚染は制御できていると判断された一方、真菌・酵母は解体室、と体冷蔵室、加工室等に広域かつ高菌数の汚染を示したことから、本年度は同施設の継続的な協力を得て、汚染除去対策を講じた上で、酵母・真菌の汚染実態を改めて調査した。結果として、同施設室内環境で見られる酵母はとたい由来と思われたほか、*Cladosporium* 属菌汚染は結露等を原因とした高湿度環境に因ると推察される結果を得た。更に、解体室等での菌数は昨年度が 1.3×10^4 CFU/m¹ であったのに対し、本年度は 2.3×10^2 CFU/m¹ となるなど顕著な低減を認めたほか、構成菌叢にも変化が認められ、効果的な室内洗浄・湿度管理等の衛生管理の徹底が真菌・酵母の汚染低減に寄与する実例を示すことができた。今後はこれらの要因と効果を個別に紐づけるための検証が必要と思われる。

A. 研究目的

食肉を含む食品や食品加工・製造環境には真菌・酵母が多く存在するとされ、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。野生鳥獣由来食肉の解体加工、調理環境における真菌・酵母の汚染分布については、これまで全く検討がなされておらず、衛生管理上の危害要因分析を行えない状況にある。昨年度の検討において、複数の猪解体・加工施設を対象として、真菌・

酵母の環境汚染実態を調査したところ、ある施設では細菌汚染は十分に制御できている

と判断されたものの、真菌・酵母菌数が総じて高い状況にあることが見出された。同施設では、解体工程でいわゆる湯剥きがなされており、高湿環境を維持し易い施設環境と見受けられた。しかしながら、これを示し得る科学的根拠はなく、実態把握には環境条件についても併せて精査する必要性が考えられた。

こうした背景を受けて、本年度は、同施設の協力を再び得た上で、衛生管理対策として、解体室床の改修、換気頻度の変更、並びに加工室での洗浄・消毒方法の変更等を行うと共に、同施設内における温湿度変動をモニタリングすることとした。一定期間経過後、改めて真菌・酵母の汚染状況に関する調査を行っ

たので、報告する。

B. 研究方法

1. 猪肉解体加工施設での酵母・真菌汚染実態調査

昨年度調査を実施した猪解体加工施設の協力を得て、真菌・酵母の汚染分布を調査した。同施設では、室内・室外空気及び壁床等の付着物を採取した。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・ピオメリュウ)を用いて 100L 容量を採取し、DRBC 寒天培地 (Oxoid) 上に捕捉した。室内 5 地点および室外 1 地点において、それぞれ 2 枚ずつの平板に捕捉した。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、空気と同様の DRBC 寒天培地に同液 200 μ 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た。また、空中浮遊菌については空気 1 m³ あたり、環境ふき取り検体については懸濁液 1 ml あたりの総菌数を算出した。さらに、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、及び酵母類それぞれの菌数を計測し、総菌数に対する占有率を求めた。

以上の調査結果について、平成 30 年度の結果との間で比較を行った。

2. 施設内における温湿度モニタリング

令和元年 8 月 10 日から 12 月 7 日までの間、温湿度データロガーおんどとり (株式会社ティアンドデイ) をとたい冷蔵室および一次加工室に設置し、1 時間ごとの室内温度および相対湿度を自動記録した。これらの測定値から露点温度を算出した。また、日本気象協会アメダスから、同施設に最も近い測定地の外気温データを抽出し、比較に用いた。

C. 研究結果

1. 猪肉解体加工施設における衛生管理に係る変更点の確認

対象施設では解体処理工程で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・成型する製造工程体制をとっていた。

前年度の結果を協力施設に還元した上で、本年度は衛生状況の更なる改善に向けた取り組みとして、解体室の床改修、一次加工室での使用後設備消毒方法の変更(大量の水洗浄方式から、必要量の水洗浄及び電解水噴霧による洗浄消毒への変更)、換気扇の使用頻度の変更(使用後一夜かけての換気扇使用から、数時間経過後に換気扇使用を停止する形態への変更)、を取る事となった。

2. 猪解体加工施設における真菌・酵母汚染実態調査

同施設の空中浮遊菌数及び菌叢を図 1 に示した。総真菌数としては、と畜場を含め食用動物の解体処理施設室内での酵母・真菌数に関する法的規制値は存在しないため、日本建築学会が発表した「室内環境の維持管理基準推奨値 1,000 CFU/m³」と比較して評価した。その結果、解体室では真菌がやや多い状況ではあったが、それ以外の室内環境では上記推奨値以下であることが確認された。また、菌叢としては、全体を通じて *Cladosporium* 属菌の占める割合は外気と同等に高い一方、酵母、*Aspergillus* 属菌、*Penicillium* 属菌の汚染は少ない状況であることが確認された。

施設環境拭き取り検体中の真菌叢を図 2 に示した。総菌数については、作業台下角の最も清掃がし難い場所と目された、一次加工室床 の菌数は、他の調査地点と比べて高い傾向であったが、それ以外では総じて低い菌数にとどまっており、特に解体室床、とたい冷蔵庫壁 及び の総真菌数はふき取り懸濁液 1 ml あたり 5 CFU 以下と極めて少ない

状況であった。

総真菌数に占める各分類群の占有率成績のうち、少菌数検体の占有率成績は参考とはならないと解釈されたが、全体を通じ *Cladosporium* 属菌の検出頻度が最も高い状況であることは室内空気成績と同様であった。

3. 前年度成績との比較解析

前年度成績との比較として、空中浮遊菌の比較結果は図3に、ふき取り検体から検出菌の比較結果は図4にそれぞれ示した。

空中浮遊菌に関しては、全ての調査地点の中で最も高濃度に真菌浮遊があるのは解体室であったことは共通していたが、令和元年度は *Penicillium* 属菌等の検出率が著減し、*Cladosporium* 属菌がやや増加した傾向であった。ふき取り検体に関しては、検出菌数が5 CFU/ml以下と少なかったとたい冷却保管庫を除き、平成30年度は酵母の占有率が高かったが、令和元年度には *Cladosporium* 属菌の検出頻度が高い状況へと変化する等、調査間で、解体室（平成30年度： 1.3×10^4 CFU/ml、令和元年度： 2.3×10^2 CFU/ml）及び加工室の壁・床に付着する真菌・酵母菌数及び同菌叢が変化することが明らかとなった。このことは、解体室および加工室床のふき取り検体のDRBC寒天平板培養像からも示された（図5）。

とたい冷蔵室及び一次加工室における室内温度、相対湿度、及び露点温度データは、期間中、計3,024回の記録回数であった。記録データを解析し、結果概要を表1に、継続的挙動を図6に示した。一次加工室内では、真菌が発育しやすい条件とされる相対湿度70%を超えた測定時間が全3,024回中1,889回（62.4%）を数え、かつ室内温度の中央値及び平均値は約20と、多くの真菌種の発育可能温度帯と重なっていた。従って、一次加工室は、長時間に亘り、外気の流入、また

は食肉に付着して外部から室内に入った真菌が異常発育し易い環境であることが示された。これに対し、とたい冷蔵保管庫内は、相対湿度70%を超えた時間帯も全3,024回中1,100回（36.4%）と相対的に短く、室内温度も十分に低かったため、真菌の異常発育は成立し難い状況に保たれていることが示された。このほか、露点温度については、一次加工室では夏季と冬季で傾向に差があり、冬季では室内露点温度と外気温が近接傾向にあった。今回の対象施設を含め、野生鳥獣食肉処理施設の断熱施工は一般的な住宅に比べ、不十分な場合が多く、施設の壁表面温度は外気温に近いと、冬季には壁・床の結露が多い状態になり易いことを裏付ける結果が示されたといえる。

D. 考察

本年度の調査結果では、前年度と比較して、とたい由来と考えられる酵母等の汚染頻度及び菌数は低下した。この間、対象施設では複数の衛生対策を講じており、それらの複合的な効果による改善効果として顕れたものと推察された。

Cladosporium 属菌は、外環境より室内に流入後、結露等で水分量が常に高い場所で異常発育し易く、高湿度室内環境の汚染指標菌とされる。温湿度実測データ（表1）より、一次加工室内の相対湿度は比較的高い状態が維持されていた。但し、占有率データについては、母集団である総菌数が同等であった場合にのみ、純粋な比較解析が可能である。すなわち、本年度の総菌数は前年度に比べ、減少がみられたことを踏まえると、*Cladosporium* 属菌の占有率上昇は同菌の増殖を意味するよりも、他菌の減少によるものと想定される。

他菌のうち、酵母等については前年度解体室で特に多く認められたが、本年度は顕著な低減を示した。その要因としては、解体室の

床改修、並びに使用後の器具等の洗浄消毒にあたり必要以上量の水を使用しないよう、体制を変更した点等が功を奏したものと想定される。

前年度の結果を踏まえて実施した本年度の真菌・酵母分布調査を通じ、当該施設環境における菌数分布及び菌叢の経年変動を把握することができた。すなわち、野生鳥獣食肉の解体加工施設における衛生管理確保を図る上では、複数回の調査が有用と言えよう。

本年度成果からは、換気方法のほか、建物の断熱施工といった物理的な改良を実施することによって、冬季の建物内の結露の防止を行うことの重要性が今後の課題として示唆された。また、電解水等を用いた器具・機器の洗浄消毒による *Cladosporium* 属菌の不活化効果を評価することも、野生鳥獣を取り扱う解体加工施設での取るべき衛生対策を例示する上で、今後検討すべき課題と思われる。更に、効果的な室内環境の衛生管理方法を示す上では、年間を通じた室内環境調査を継続し、外環境を踏まえた対策を示す必要がある。

E . 結論

昨年度広域かつ高濃度の真菌・酵母汚染を認めた猪肉解体加工施設を対象として、本年度は同施設で、複数の衛生対策を講じた上で再評価を行い、とたい由来の酵母を低減でき

たほか、総菌数としても複数箇所での低減が図られた。一方、結露等を原因とする *Cladosporium* 属菌汚染は継続しており、外環境を踏まえた効果的な室内洗浄消毒の継続的な実施により、真菌・酵母汚染を低減させる可能性が示唆された。今後は、効果的な衛生管理方法の検討を行い、例示した上で、年間を通じた室内環境調査を継続する必要があると思われる。

F . 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

・朝倉宏、伊澤和輝、山本詩織、川瀬遵、清水秀樹、青木佳代、杉山広、壁谷英則、小西良子、高井伸二 . シカ腸内細菌叢は亜種間で異なるか？第 40 回日本食品微生物学会学術総会 . 2019 年 11 月 . 東京 .

G . 知的財産権の出願・登録状況

なし

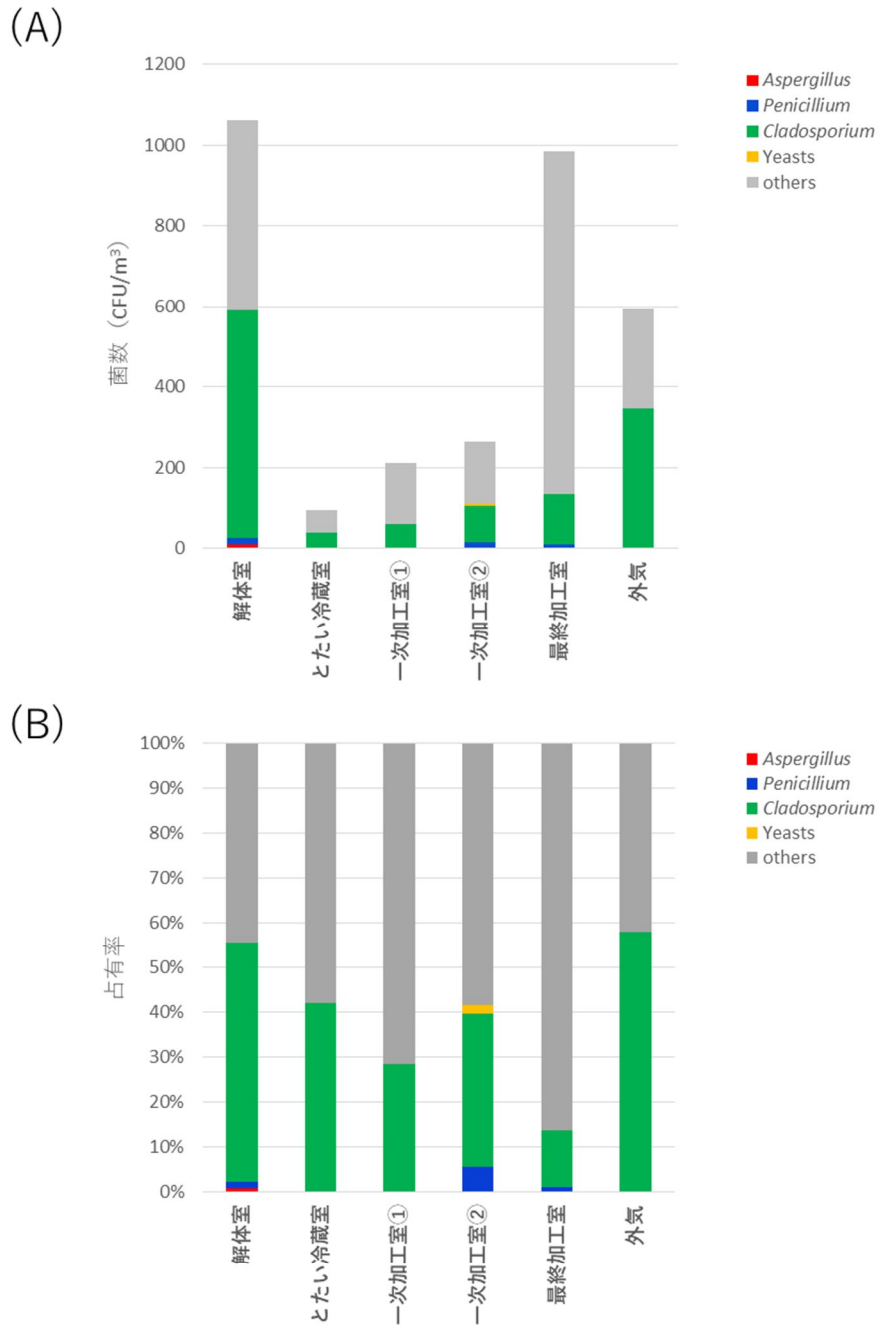


図1. 施設環境における空中浮遊真菌数及びその構成
 (令和元年度調査)
 (A) 空中浮遊菌数、(B) 空中浮遊菌の構成 (占有率)

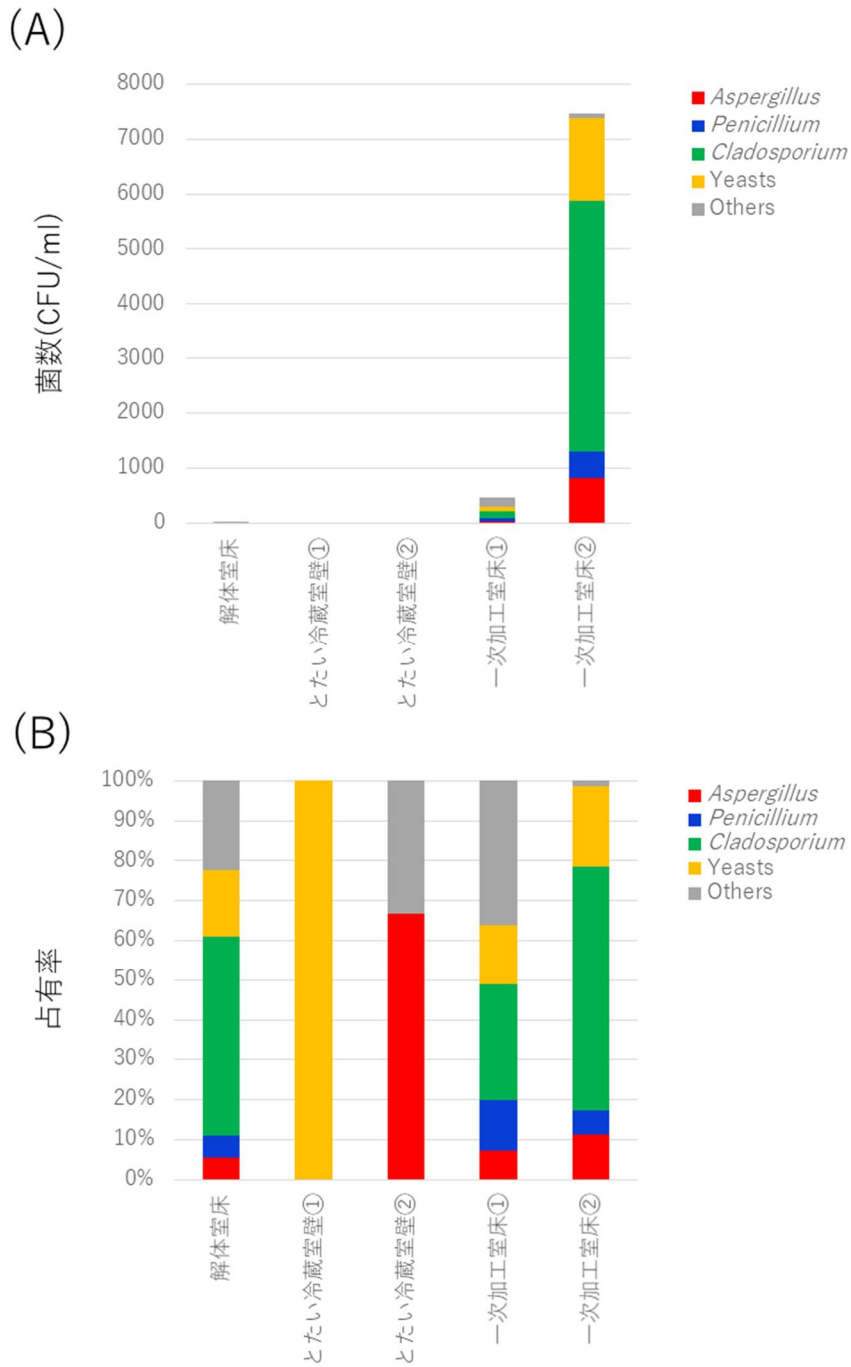


図2. 施設環境拭き取り検体から検出された真菌数及び構成
(令和元年度調査)

(A) 空中浮遊真菌数、(B) 空中浮遊真菌の構成

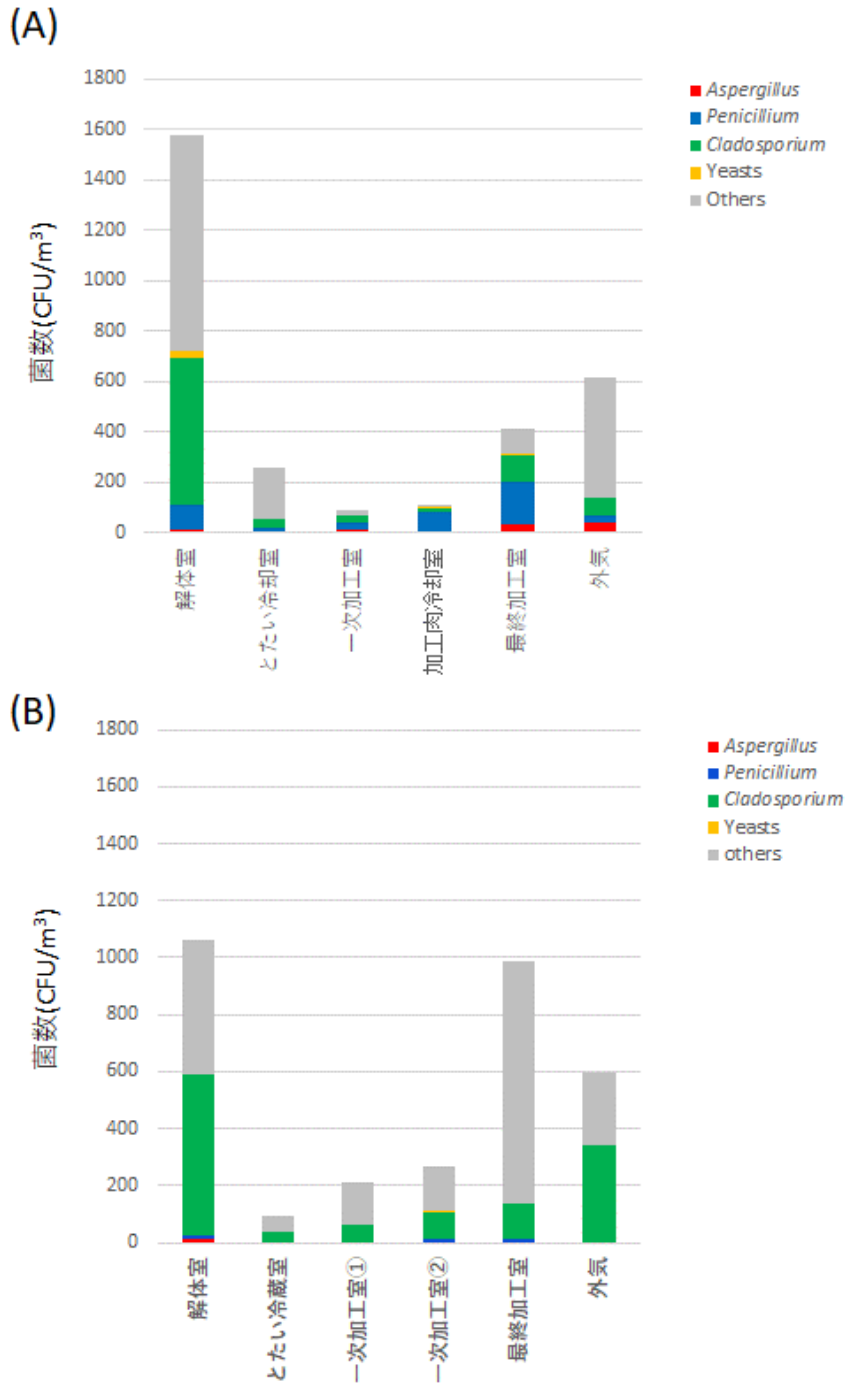


図3. 施設における空中浮遊菌数及びその構成の経年比較
 (A) 平成30年度調査結果、(B) 令和元年度調査結果

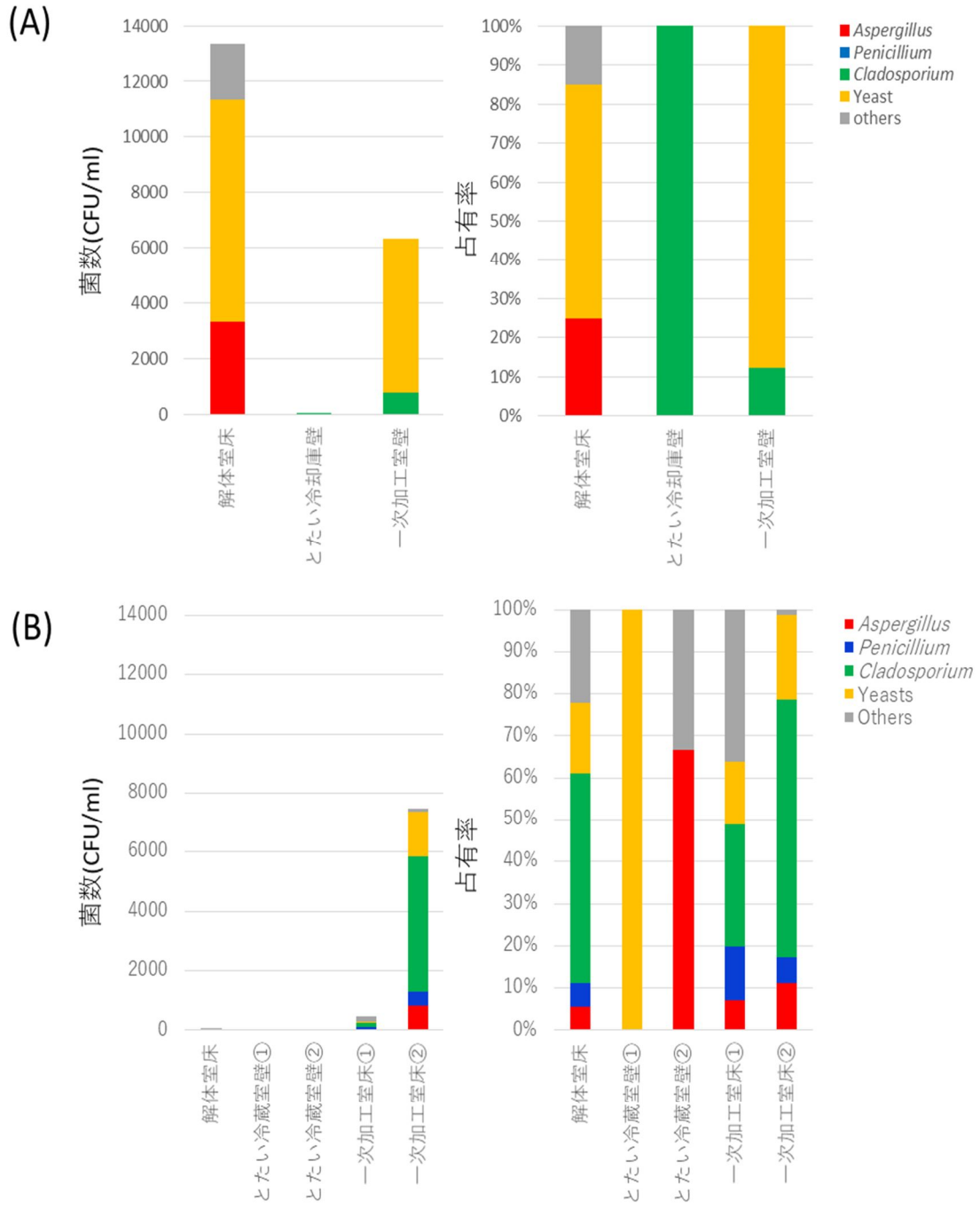


図4. 施設環境拭取り検体から検出された真菌・酵母数及びその構成の経年比較
 (A) 平成30年度調査結果、(B) 令和元年度調査結果

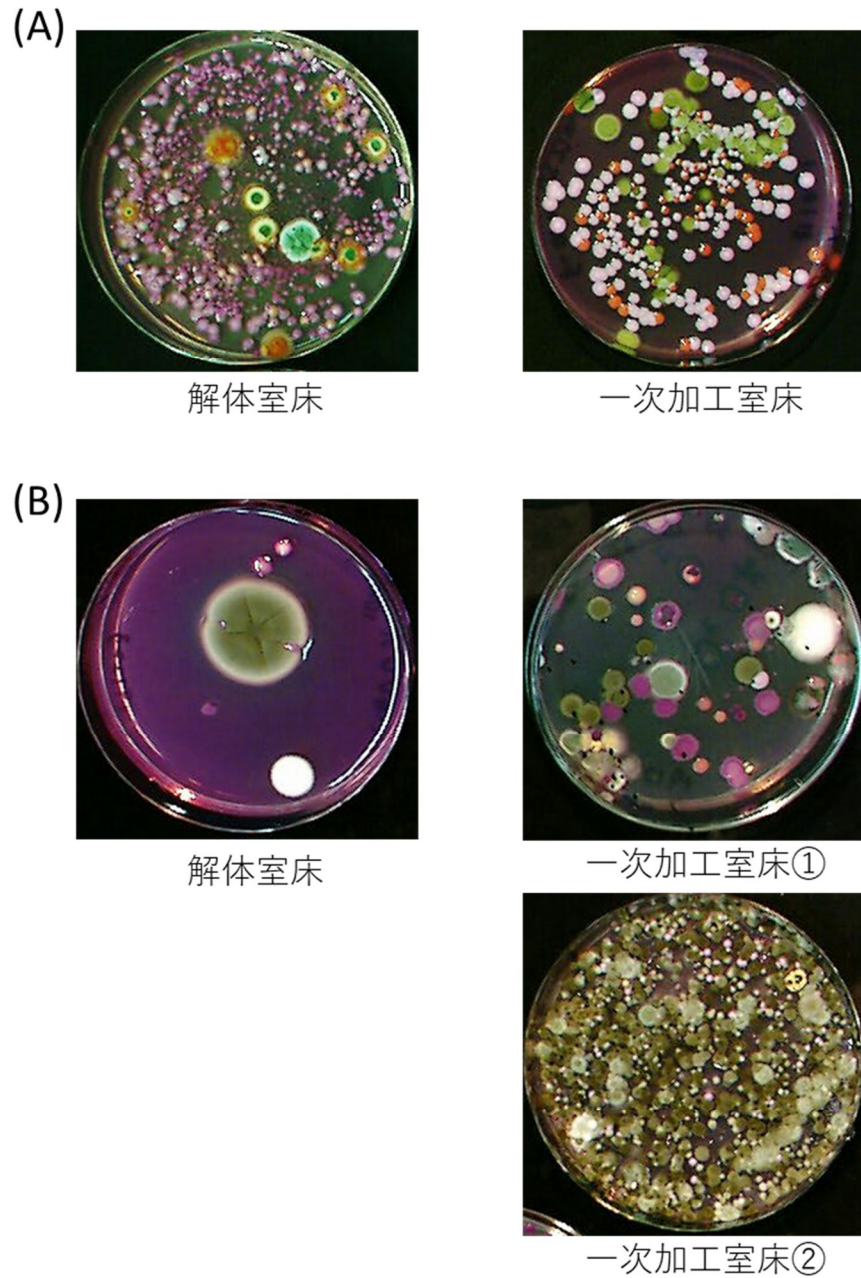


図5. 施設環境拭き取り検体から検出されたDRBC寒天培地集落発育像の代表例
 (A) 平成30年度調査結果、(B)令和元年度調査結果

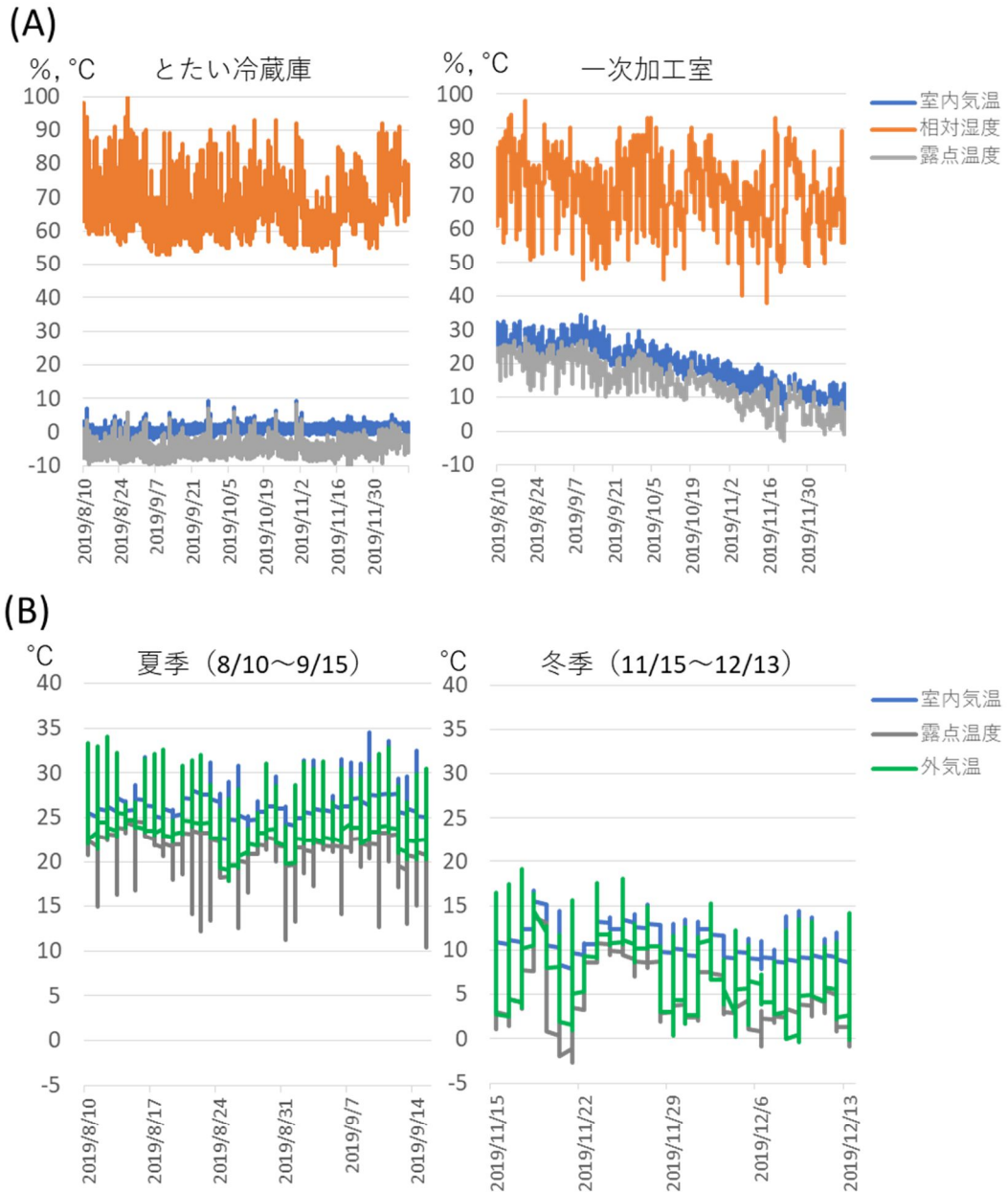


図6. 対象施設における室内温度、露点温度及び外気温の挙動
 (A)記録期間を通じた相対湿度・室内気温・露点温度の比較
 (B)一次加工室内の季節ごとの露点温度および外気温の比較

表 1 . 対象施設の室内温湿度

	相対湿度					室内温度				露点温度			
	中央値	平均値	最大値	最小値	70%以上 (回)	中央値	平均値	最大値	最小値	中央値	平均値	最大値	最小値
とたい 冷蔵庫	67.0	67.9	100.0	50.0	1100.0	1.1	1.0	9.4	-5.9	-4.1	-4.3	8.2	-11.0
一次 加工室	73.0	72.4	98.0	38.0	1889.0	20.3	19.7	34.5	5.1	15.0	14.5	27.6	-2.7

令和元年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

「野生鳥獣由来食肉の安全性確保とリスク管理のための研究」

分担研究報告書

低温加熱調理を通じた猪肉におけるE型肝炎ウイルスの不活化に関する研究

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	米満研三	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	上間 匡	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	前田 健	国立感染症研究所獣医科学部
研究協力者	山田 研	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校
研究協力者	秋元真一郎	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校
研究協力者	迫井千晶	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校
研究協力者	三浦拓真	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校
研究協力者	野中 覚	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校
研究協力者	山本彩乃	学校法人辻料理学館辻調理師専門学校

研究要旨

猪生体は豚と同様、E型肝炎ウイルスに対する抗体保有率を示すことが本研究班の活動を通じて明らかにされてきた。厚生労働省では、猪肉の喫食に際し、十分な加熱調理を行う必要性について、消費者及び飲食店事業者等に向けた普及啓発を行っている。一方、猪肉をはじめとする野生鳥獣由来食肉は特性上、高温加熱調理により硬化しやすく、75℃を下回る温度帯での加熱調理が常態的に行われている。本研究では、猪肉をスチームコンベクションオーブンをを用いて低温加熱調理に供した場合のE型肝炎ウイルスの不活化を遺伝学的に評価することとした。加熱条件には、75℃1分のほか、60℃90分、63℃30分、65℃1分、65℃15分、68℃1分、68℃5分、68℃15分を採用した。E型肝炎ウイルスを検体中心部に添加後、回収した非加熱群では最大 8.96×10^6 コピー数の同ウイルスが回収されたほか、60℃90分加熱群、63℃30分加熱群、65℃1分加熱群、65℃15分加熱群、68℃1分加熱群からは、RNase処理後であっても、それぞれ最大で 1.44×10^3 コピー、 1.43×10^3 コピー、 2.76×10^3 コピー、 2.12×10^3 コピー、 4.51×10^5 コピーの同ウイルスが回収された。一方、68℃5分加熱群、68℃15分加熱群、75℃1分加熱群については、RNase処理後には同ウイルスの回収は認められず、これらの加熱条件は概ね 10^4 コピー数の低減効果を示す想定された。今後、同食肉の前処理等で汎用される塩蔵やマリネ等の処理による同ウイルスの不活化効果についても評価を行うことで、調理段階での同ウイルス制御に資する科学的知見の総合的集積にあたりたい。

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。食品としての安全確保に向けて、厚生労働省では平成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周知したほか、本年度は日本ジビエ振興協会により、HACCP手引書が作成されたところである。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取扱い方法について、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、野生鳥獣肉の調理段階における衛生管理の在り方を示す一例として、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のうち、特に E 型肝炎ウイルスの不活化効果に着目した上で、調理専門家を含めた体制で検討を行ったので報告する。

B. 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、猪モモ肉を供試対象とした。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、1 ブロックあたり約 80 ~ 100g となるよう、カットと真空包装を行ったものとした。加熱条件は以下のとおりである（図 1）。

猪肉ブロック検体を、検体中心温度がそれぞれ「60 90 分」、「63 30 分」、「65 1 分」、「65 15 分」、「68 1 分」、「68 5 分」、「68 15 分」、「75 1 分」となるよう、予熱したスチームコンベクションオーブン（ホシザキ MIC-5TB3、以下スチコン）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、上記加熱条件を満たすまで加熱調理を行い、終了した時点で取り出し氷冷した。

2. 殺菌加熱量の算出

項 1. の加熱調理を行った際の検体中心部における温度推移については、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。

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

（ $L_i + L_{i-1}$: 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. E 型肝炎ウイルス添加回収試験

E 型肝炎ウイルス懸濁液を調整後、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、上項 1. 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。これらを試験原液として、下項 4. のリアルタイム PCR 試験に供した。なお、非接種群についても、同様の方法で試験原液を調整し、対照群として用いた。

4. リアルタイム PCR

各試験原液の RNase 処理及びウイルス RNA の精製は以下の方法によった。RNase 処理は、各試験原液に終濃度 20 μ g/ml となるように RNase A（ニッポンジーン）を添加し、37 °C、1 時間処理した。その後、High Pure Viral RNA Kit（Roche）を用いてウイルス RNA を抽出し、これを鋳型として High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit（Thermo Fisher Scientific）を用いて cDNA を合成した。THUNDERBIRD Probe qPCR Mix（TOYOBO）を用いてリアルタイム PCR を行った。条件は以下のとおりである。プライマーセット及び蛍光標識プローブとしては、JVHEV-F（5'-GGTGGTTTCTGG GGTGAC-3'）、JVHEV-R（5'-AGGGGT TGGTTGGATGAA-3'）、JVHEV-P（5'-FAM-TGATTCTCAGCCCTTCGC-BHQ-3'）を使用した。PCR 条件は初期変性を 95 °C、60 秒、サイクリングは変性を 95 °C、15 秒、伸長を 60 °C、30 秒として 40 サイクルとした。

5. 衛生指標菌検出試験

上項 3. で調整した試験原液 100 μ L を標準寒天培地、Violet Red Bile Glucose (VRBG) 寒天培地、TBX 寒天培地各 2 枚 (1 検体あたり) に接種し、ISO 法で示される各条件に従い、培養及び判定を行った。

C. 研究結果

1. 猪肉検体における衛生指標菌検出状況及び加熱殺菌量の評価

猪肉供試検体について、非加熱群における衛生指標菌検出状況の平均値は、一般細菌数が 1.3×10^6 CFU/g、腸内細菌科菌群が 2.9×10^3 CFU/g、大腸菌が 4.6×10^1 CFU/g であった (表 1)。各条件の加熱処理群からは、腸内細菌科菌群及び大腸菌は検出されなかったほか、一般細菌数も最大で 4.8×10^0 CFU/g であった (表 1)。

厚生労働省「食肉の加熱条件に関する Q&A」 (<https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/000365043.pdf>) では、「75 1 分」と同等な加熱殺菌の条件として、「70 3 分」、「69 4 分」、「68 5 分」、「67 8 分」、「66 11 分」、「65 15 分」が例示されている。

上記を指標としつつ、60、63、65、68、75 を設定温度とする低温加熱を通じた猪肉検体中心部の温度挙動をモニタリングし、加熱殺菌価を求めたところ、「63 30 分」と同等またはそれ以上と見做される加熱条件としては、「60 90 分」、「65 15 分」が挙げられたほか、「75 1 分」と同等またはそれ以上の加熱殺菌価を示す加熱条件としては、「68 15 分」が挙げられた (表 2)。

2. 低温加熱調理を通じた、猪肉検体における E 型肝炎ウイルスの消長

上項の成績を踏まえて、各加熱条件の低温加熱調理をスチコンを用いて行い、E 型肝炎ウイルスの消長を評価することとした。

評価にあたっては、回収した試験原液を RNase 処理した場合と処理しない場合それぞれを対象に含めた。接種ウイルス液中の遺伝子コピー数は RNase 未処理で 4.35×10^6 、RNase 処理を行った場合では 1.29×10^5 となった (図 1)。

非加熱群における回収ウイルスコピー数は、RNase 未処理/RNase 処理それぞれで、 $6.79 \times 10^6 / 2.99 \times 10^6$ コピーであった (図 1)。また、「75 1 分」加熱群では、RNase 処理の有無によらず何れも不検出となったが、RNase 未処理で評価した場合には、その他の加熱処理群は何れも数値の幅はあるものの E 型肝炎ウイルス遺伝子の検出を認めた (図 1)。一方、より生存性評価を厳密に行うべく置いた RNase 処理を行った場合、「68 5 分」及び「68 15 分」加熱群は「75 1 分」加熱群と同様、不検出の結果を示した (図 1)。

D. 考察

猪肉における E 型肝炎ウイルスの汚染可能性は数多くの同動物生体における侵淫状況から示唆されており、その結果を踏まえ、猪肉の喫食にあたっては十分な加熱調理が求められている。一方、同食肉の調理においては、低温度帯での加熱調理が汎用されている実態を鑑み、本研究では猪肉を低温加熱調理した場合の E 型肝炎ウイルスの消長を検討すべく、添加回収試験を行い、「68 5 分」または「68 15 分」の加熱条件が、E 型肝炎ウイルスの低減に資する可能性を示す知見を得た。

E 型肝炎ウイルスの耐熱性については、過去に少数ながら検討が行われているが、その多くは *in vitro* での評価にとどまっており、

本研究で実施した、猪肉を食品マトリックスとして設定した上で、低温加熱調理機を用いた評価はこれまで行われていない。

その意味において、本研究は新たな科学的根拠の一つとしての活用が期待され、68・5分以上の加熱条件（中心部）を満たすことが一つの目安となるものと思われる。但し、本年度の成績ではバラツキも複数認められたことから、その精査は引き続き行うべきと考えられる。

また、猪肉の調理にあたっては、塩蔵やマリネ等といった前処理を経た後に、加熱調理されることも多い。従って、猪肉の加熱調理を通じた E 型肝炎ウイルスの不活化に資する例示を総合的に行うためには、こうした前処理が E 型肝炎ウイルスの消長にもたらす効果についてもあわせて評価していくべきと考えられる。

E . 結論

本年度は、低温加熱調理を通じた、猪肉中での E 型肝炎ウイルスの消長を検討した。加熱殺菌量を踏まえて設定した加熱条件のうち、「75 1分」のほか、「68 5分」または「68 15分」の加熱条件によっても E 型肝炎は検出されない状況となりうることが見出された。今後、調理工程で用いられる前処理方法等による同ウイルスの不活化効果についても評価を行い、調理段階での同ウイルスの低減の在り方を総合的に検討する上での基礎資料の創出につとめたい。

F . 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 . 猪肉検体における衛生指標菌検出状況 .

群	一般細菌数 (CFU/g)		腸内細菌科菌群 (CFU/g)		大腸菌 (CFU/g)	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD
非加熱	1.30E+06	4.64E+05	2.94E+03	1.07E+03	4.64E+01	1.49E+01
60 90分	2.00E+00	8.94E-01	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-
63 30分	4.00E-01	4.00E-01	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-
65 1分	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-
65 15分	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-
68 1分	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-
68 5分	4.80E+00	1.47E+00	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-
68 15分	2.40E+00	1.47E+00	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-
75 1分	4.00E+00	8.94E-01	<2.0.E+00	-	<2.0.E+00	-

表2 . 猪肉検体中心温度推移データに基づく、加熱殺菌量の算定結果概要 .

中心加熱温度 ()	加熱時間 (分) *1	殺菌加熱量*1	殺菌加熱量*2
60	90	46.45	49.94
63	30	32.11	49.47
65	15	28.16	54.61
	1	2.24	20.47
68	15	87.90	187.40
	5	25.12	130.02
	1	10.25	69.66
75	1	80.59	688.92

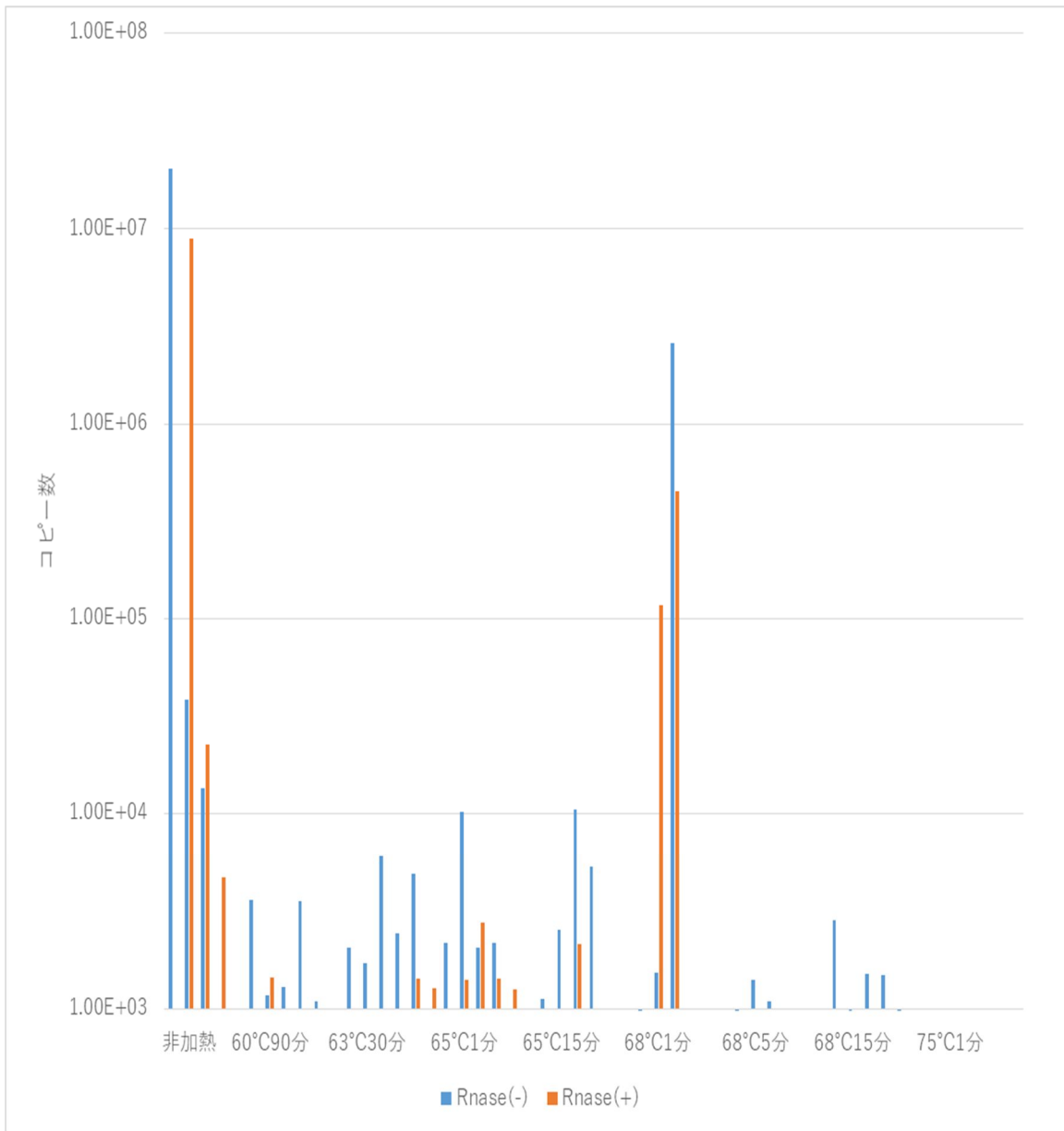


図1 . 低温加熱調理を通じた猪肉からの E 型肝炎ウイルスの検出結果概要 .

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	「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」	辻本元	SA Medicine BOOKS 『検査・手技ガイド』	インターズ	東京	2019	460-461
前田 健	「重症熱性血小板減少症候群（人獣）」	明石 博臣、他	動物の感染症	近代出版	東京	2019	234-235
前田 健	「E型肝炎」	明石 博臣、他	動物の感染症	近代出版	東京	2019	171

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
Irie T, Ichii O, Nakamura T, Ikeda T, Ito T, Yamazaki A, Takai S, Yagi K.	Molecular characterization of three <i>Sarcocystis</i> spp. from wild sika deer (<i>Cervus nippon yezoensis</i>) in Hokkaido, Japan.	Vet. Parasitol.: Regional Studies and Reports	Dec;18:	100327.	2019
Kadohira M, Phiri BJ, Hill G, Yoshizaki R, Takai S.	Game Meat Consumption and Food borne Illness in Japan: A Web-Based Questionnaire Survey.	J Food Prot.	24	1224-1232.	2019
高井伸二	野生動物の疾病とジビエ（野生獣肉）の安全確保対策	公衆衛生	83 (1)	40-45.	2019.
Kida K, Matsuoka Y, Shimoda T, Matsuoka H, Yamada H, Saito T, Imataki O, Kadowaki N, Noguchi K, Maeda K, Mochizuki Y, Kishimoto T.	A case report of cat-to-human transmission of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus.	Japanese Journal of Infectious diseases.	72(5)	356-358.	2019
Matsuu A, Momoi Y, Nishibuchi A, Noguchi K, Yabuki M, Hamakubo E, Take M, Maeda K.	Natural severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in domestic cats in Japan.	Vet Microbiol.	236	108346	2019
Park E, Shimojima M, Nagata N, Ami Y, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Watanabe S, Kurosu T, Kataoka M, Okutani A, Kimura M, Imaoka K, Hanaaki K, Suzuki T, Hasegawa H, Saijo M, Maeda K, Morikawa S.	Severe fever with thrombocytopenia syndrome phlebovirus causes lethal viral hemorrhagic fever in cats.	Sci Rep	9(1)	11990	2019
Ogawa H, Hirayama H, Tanaka S, Yata N, Namba H, Yamashita N, Yonemitsu K, Maeda K, Mominoki K, Yamada M.	Risk assessment for hepatitis E virus infection from domestic pigs introduced into an experimental animal facility in a medical school.	J Vet Med Sci.	81(8)	1191-1196.	2019

Shimoda H, Hayasaka D, Yoshi 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.	10(4)	742-748.	2019
前田 健	「人獣共通感染症: One Healthの時代」	臨床とウイルス.	47(4)	218-229.	2019
前田 健、野口慧多、立本完吾	「国内に蔓延するダニ媒介感染症の脅威」	生活と環境 (日本環境衛生センター)	64 (6)	11-17.	2019
前田 健、野口慧多、立本完吾	「SFTSに関する最近の知見」	動薬研究 (パイエル薬品株式会社)	74:1-12.	74:1-12.	2019.
Sugita-Konishi Y, Kobayashi N, Takasaki K, Kanno T, Itoh M, Riztyan, Futo S, Asakura H, Taira K, Kawakami Y.	Detection of <i>Sarcocystis</i> spp. and Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> in Japanese sika deer meat using a loop-mediated isothermal amplification- lateral flow strip.	J Vet Med Sci.	81(4)	586-592.	2019
Irie T., Uruguchi K., Ito T., Yamazaki A., Takai S., Yagi K.	First report of <i>Sarcocystis pilosa</i> sporocysts in feces from red fox, <i>Vulpes vulpes schrencki</i> , in Hokkaido, Japan	Parasites and Wildlife	11	29-31	2020
Lin TL, Ou SC, Maeda K, Shimoda H, Chan JP, Tu WC, Hsu WL, Chou CC.	The First Discovery of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus in Taiwan.	Emerg Microbes Infect.	9(1)	148-151.	2020
Takahashi T, Kabeya H, Sato S, Yamazaki A, Kamata Y, Taira K, Asakura H, Sugiyama H, Takai S, Maruyama S.	Prevalence of <i>Yersinia</i> Among Wild Sika Deer (<i>Cervus nippon</i>) and Boars (<i>Sus scrofa</i>) in Japan.	J Wildl Dis.	56(2)	270-277.	2020

「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)

令和元年 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。