

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食中毒発生防止と衛生管理ガイドライン
の改良に資する研究に関する研究

令和3年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 前田 健

令和4年（2022）年 5月

目 次

I. 総括研究報告

- 野生鳥獣由来食肉の食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する
研究に関する研究 1
前田 健

II. 分担研究報告

1. 研究総括及び野生鳥獣が保有する病原微生物の汚染状況に関する研究 11
前田 健
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 31
杉山 広
3. 野生鳥獣が保有する食中毒細菌の汚染状況と薬剤耐性に関する研究 32
鈴木 康則
4. 野生鳥獣由来食品の製造加工、調理段階における衛生管理に関する研究
アナグマ等の小型野生鳥獣由来食肉製品の衛生実態
猪食肉における真菌汚染探知に関する研究 44
朝倉 宏
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 54
壁谷 英則
6. 野生鳥獣の疾病・病変カラーアトラスの作成と病理学的解析 70
宇根 有美

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

別添3

令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究」
総括研究報告書

野生鳥獣が保有する病原微生物の汚染状況に関する研究-1
(E 型肝炎ウイルス)

研究代表者	前田 健	(国立感染症研究所獣医科学部)
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)
研究分担者	宇根 有美	(岡山理科大学)
研究分担者	壁谷 英則	(日本大学生物資源科学部)
研究分担者	杉山 広	(国立感染症研究所寄生動物部)
研究分担者	鈴木 康規	(北里大学獣医学部)
研究協力者	高井 伸二	(北里大学獣医学部)
研究協力者	安藤 匡子	(鹿児島大学共同獣医学部)
研究協力者	奥谷 晶子	(国立感染症研究所獣医科学部)
研究協力者	山崎 朗子	(岩手大学農学部)

1. 研究目的

ニホンジカとイノシシの生息数が過去 30 年間にそれぞれ 9 倍、3.5 倍と急速に増加し、被害額として数字に表れる以上に農山漁村に深刻な影響を及ぼしている。わが国では捕獲鳥獣の利活用の推進を図るため、鳥獣被害防止特措法の改正(H28 年)、食品衛生法の一部改正(H30 年)を行ったほか、R2 年には「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針」を一部改正し、一般衛生管理措置に加え、1) 解体処理施設等での HACCP の考え方を取り入れた衛生管理、2) 取扱者の体調管理と野生鳥獣由来感染症対策、3) 屋外で内臓摘出する場合の衛生管理措置、4) 野生鳥獣肉の消費時における衛生的取扱等を明示し、これ迄以上に、捕獲・処理・加工・調理・消費の各段階で科学的根拠に基づいた狩猟/捕獲者・処理者・調理従事者・消費者の安全性確保（人獣共通感染症/食中毒のリスク）と衛生管理に関する知見の一層の蓄積が求められている。捕獲頭数増加に伴い H29 年から H30 年には全国の野生

鳥獣肉処理施設が 630 から 682 施設に増える中、実態に即した適切な衛生管理の普及と処理技術を有する狩猟者及び関連施設事業者の養成と平準化は喫緊の課題である。本研究では、1) 野生鳥獣が保有する食中毒の病因物質並びに血液等を介する病原体の汚染状況と異常個体・臓器の病理学的検索に関する研究、2) HACCP の考え方を取り入れた衛生管理の確立に向け、処理施設での工程毎に健康被害に繋がる恐れのある原因調査と汚染防止・低減に関する研究、3) 食品製造や調理段階での食品リスク軽減に関する研究を実施する。本研究班は細菌・ウイルス・寄生虫感染症と病理学、公衆衛生学、食中毒の専門家から構成され、全国の関係自治体・団体を含めた研究協力者の支援を得て、3 年間で、1) イノシシとシカにおける病原体汚染状況、並びに抗体保有状況調査、2) 狩猟・捕獲・解体の際に発生する様々な食中毒・人獣共通感染症（主に寄生虫）並びに異常個体の探知に資するカラーアトラスの作成、3)

解体処理施設の衛生実態調査並びに衛生管理手法の平準化に必要な事項の整理と改善策の検証、4) 食品製造加工・調理段階での衛生管理実態の把握並びに危害工程の抽出と多彩な調理法に伴う微生物消長を定量的に検証する。本研究成果は野生鳥獣由来食肉における病原体汚染の実態調査等を通じ、その危害防止のための知見を収集し、HACCP 制度化に対応した衛生管理手法の確立に資する情報を提供する。

2. 研究方法

本研究班は、これまでに3期9年間に構築した全国各地の狩猟・処理加工・自治体関係者からなる研究協力体制を維持・拡充し、前田を代表として、新たに病理学(宇根)と食中毒(鈴木)の専門家を分担者として加えた6つの研究グループ(前田・杉山・壁谷・朝倉・宇根・鈴木)に、研究協力者として若手研究者(安藤:細菌学、山崎:寄生虫学、入江:寄生虫学、岡林・嘉手苅:病理学)と女性研究者(宇根/安藤/山崎/岡林)、並びに、これまで代表を務めた高井を加えた研究体制を整え、以下の研究計画を令和3～5年度の3年間に遂行する。

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【分担:前田 健、研究協力者:安藤 匡子 他】

1) 野外調査計画:令和3～5年度(ウイルス:前田 健 他)

E型肝炎に関しては、東日本で陽性率が高いこと、子イノシシで感染リスクが高いこと、多くの地域ではイノシシにおける感染状況は安定していることを明らかにしてきた。本申請研究では、各地域に蔓延しているウイルスの遺伝子配列を明らかにして、各地域のイノシシで流行しているHEV

を特定する。これにより、全国規模で有効する豚由来HEVと地域性のあるイノシシ由来HEVの判別が不可能であったが、イノシシ肉に由来するHEV感染患者を推定することが可能になる。

令和3年度はHEVの血清疫学調査を実施するとともに、糞便を利用したHEV遺伝子の検出と遺伝子解析を試みた。

血清疫学調査に関しては、多くの地域ではHEV抗体陽性率が安定している傾向があるものの、一部地域において拡大傾向が推測されている。拡大傾向が認められる地域でHEVの蔓延状況を精査する。それにより、その地域へのHEV感染リスクを明らかにできる。

令和3年度は感染拡大の傾向が認められる和歌山県でのイノシシとシカの血清疫学調査を実施した。

2) E型肝炎ウイルスの実験室内解析法の確立:令和3～5年度(前田 健 他)

E型肝炎ウイルスの特徴は、培養細胞での増殖が遅く、実験動物での増殖も遅いため、生きたウイルスの評価が難しい点にある。これまで、我々は、2年間にわたりHEVの培養細胞での継代を繰り返すことにより、一週間で上清中にウイルスの検出が可能な培養細胞馴化HEVの作出に成功した。更なる馴化を目指して細胞での継代を継続する。また、これまで得られた34代継代による馴化ウイルスを用いてウイルス中和試験の確立を目指す。更には、馴化ウイルスを用いてウイルスの不活化条件の検討を行う。

令和3年度はウイルス中和試験の方法を確立すべく試行錯誤を繰り返した。

3) 狩猟者および鳥獣肉を取扱者の感染症対策：令和3～5年度（前田 健、研究協力者：安藤 匡子他）

狩猟者および鳥獣肉取扱者は動物の血液と接触し感染するリスクが高い。狩猟獣の血液中に存在するE型肝炎ウイルス、SFTSウイルス、リケッチア等の病原体保有状況を明らかにすることにより、狩猟者および取扱者への注意喚起のための資料を作成する。つい最近、COVID-19の感染実験によりオジロジカが感受性動物であることが報告された。採取したシカ血清を用いCOVID-19に対する中和試験を実施する。

令和3年度は狩猟獣のSFTSとCOVID-19の抗体保有状況を調査した。

②野生鳥獣が保有する食中毒細菌の汚染状況と薬剤耐性に関する研究【分担：鈴木康規、研究協力者：安藤 匡子、高井 伸二】

野生鳥獣由来食肉による食中毒発生を防止するためには、食中毒細菌の野生鳥獣における汚染、及び処理・加工段階での汚染、それぞれの過程における状況の汚染状況の把握が重要である。本研究では代表的な食中毒細菌である黄色ブドウ球菌及び腸管出血性大腸菌、サルモネラ属菌等を対象として、野生獣解体処理施設及び加工肉製品における汚染状況を令和3～5年度の3年間に調査する。

ブドウ球菌食中毒の原因菌である黄色ブドウ球菌は温血動物の常在菌として知られており、野生鳥獣由来食肉においても例外ではない。しかし、野生鳥獣をはじめとした環境中における本菌の分布や疫学的情報は非常に限られている。また近年、グラム陰性菌による感染症の治療において重要なカルバペネム系抗菌薬を分解する

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）が国際的に警戒されている。本耐性遺伝子は水平伝達され易く、多くのvariantが存在し薬剤感受性が異なる表現型を有するものが存在する。CRE感染症患者からの臨床分離株の疫学的及び遺伝学的解析は数多く報告され、その特徴が把握されつつある。しかし、本耐性遺伝子の由来や野生鳥獣を含む環境中に存在する腸内細菌科細菌の汚染状況に関する報告は少ない。本申請研究では、野生鳥獣の糞便や市場流通後の野生鳥獣由来食肉から黄色ブドウ球菌並びにCREの分離を行う。また、それら分離菌株の分子疫学・ゲノム構造解析を実施し、野生鳥獣で流行する遺伝子型・毒素型を特定するとともに、新規毒素・耐性因子の同定や機能解析及びその検出系の確立を試みる。

腸管出血性大腸菌とサルモネラ属菌に関しては、野生獣生体、加工環境、肉製品における汚染実態の把握と分離された株の血清型別、遺伝子型別及びゲノム型別と株間での比較を行い、各段階における汚染リスクを評価する。

令和3年度は、10道府県で採取したイノシシ及びシカの糞便から黄色ブドウ球菌及びCREを含めたβラクタム系抗生物質耐性腸内細菌科細菌の分離を試み、分離菌株のゲノム解析から毒素遺伝子、耐性遺伝子の保有調査を実施した。

③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【分担：杉山 広研究協力者：入江 隆夫、山崎 朗子】
イノシシとシカ、さらにクマを対象に、特に旋毛虫や住肉孢子虫に注目して、その汚染状況に関する実態調査を、自治体の協力を得て令和3～5年度の3年間継続する。

従来の方法で同定困難な検体が得られた場合は、種や遺伝子型を確実に同定する新たな手技の構築に努める。

各種の寄生虫（特に可視的な多細胞の蠕虫）がジビエに感染することは周知されており、研究協力者の入江・山崎とともに食中毒の予防を踏まえて寄生虫種と病害との関連付けを行い、カラーアトラスの充実にも協力する（令和3-5年度）。

さらに、寄生虫による集団食中毒の原因となった旋毛虫に関しては、虫体の温度耐性を詳細に検討し、調理条件設定に必要な基礎的データを提供。分担研究者（朝倉）とも協働して、実用的な調理方法を踏まえたリスク低減法の検討に取り組む（令和3-5年度）。

令和3年度は、旋毛虫に関しては、調査地域を拡大して多数の検体を獲得し、野生獣における汚染実態をより詳細に解析する。住肉胞子虫については、これまで情報が欠損している九州を重点地域に選び、キュウシュウジカなどの筋肉内に検出される寄生種の同定および保有率の検討に取り組む。

④異常個体の病理組織学的検索とカラーアトラスの充実（宇根有美、研究協力者：岡林佐知、嘉手苅将）

令和3-5年度の3年間の研究期間で、野生鳥獣にみられる異常個体（疾病）・病変を病理学的（肉眼的および組織学的）に検索して、その疾病・病変の特徴を明らかにした上で、疾病・病変それぞれの公衆衛生上のリスク評価を行い、これらを適切な方法で、的確に排除するための資料（カラーアトラス、手引書）を作成する。具体的には、高リスク群（全廃棄）：人獣共通感染症、と殺、解体、加工処理の過程でも感染する可能性

がある、あるいは喫食することで感染する可能性がある。中リスク群（部分廃棄）：生体に生じた病変で、直接的健康被害はないものの食用として不適切なもの 低／無リスク群：と殺、不適切な加工処理中に生じた人工的な変化として、疾病や病変に対して十分な知識を有さない狩猟者、処理加工者に、理解しやすい内容とする。なお、資料の補足として、野生鳥獣の運搬、移動が、家畜衛生上リスクが高いと判断されるもの（豚熱、アフリカ豚熱、口蹄疫、豚水疱病、水疱性口炎、オーエスキー病など）を入れる。

更に、食用には適さない可食部分の廃棄目安（基準）の手引書の作成（カラーアトラス作成）も3年間で検討する。

令和3年度は、イノシシおよびシカの病変カラーアトラス用の検体提供元を増やし、9つの協力機関（北海道3カ所、関東1カ所、四国中国4カ所、九州1カ所）から、病変を有する新鮮臓器そのもの85検体（イノシシ36頭、病変43検体以上、シカ7頭、病変36検体以上）を収集し、肉眼写真の充実とリスト化、病理組織学的検索を79検体で終了した。検査結果（情報）のフィードバックを迅速に行い、病変に関する問い合わせへの対応や相談を受け、その際に病変の見方を説明した。また、人獣感染症や食品衛生上問題となる疾患に関しては、と畜（牛、豚）の病変の写真を用いることとして、72病変（敗血症、豚赤痢、豚増殖性出血性腸炎など）を愛媛県食肉衛生検査所の協力を得て、収集、併せて病理組織学的解析も実施してカラーアトラスの充実化を図った。なお、今年度の検索によって、エゾシカの脂肪壊死症やイノシシの肥大心の散発性発生を確認した。

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 他】

本研究では以下に示す一連の研究により、HACCP に基づく衛生管理手法の確立に貢献する科学的根拠の収集を目指す。

令和 3 年度：わが国の野生鳥獣処理施設のうち、年間処理頭数を指標に、小規模および大規模施設をそれぞれ設定し、各規模の施設ごとに解体処理工程の実施実態を整理する。各施設で生産された枝肉について、と畜場で用いられる「HACCP 妥当性検証プロトコール」に従って衛生状況を評価する。さらに「野外における内臓摘出」の枝肉の衛生状況への影響を評価するため、野外にて内臓摘出した個体を利用する施設に対して集中的に検体を収集する。対象施設は、これまでに構築した研究協力体制を活用するとともに、全国の野生鳥獣肉の利活用の推進を行ってきた日本ジビエ振興協会と連携したさらに強固となった研究協力体制が確立されている。（資料添付）

令和 4 年度：野生鳥獣処理施設で行われる解体処理工程について重要管理点となる候補を設定し、重要管理点候補別に見た枝肉の衛生状況を評価する。現在一部の野生鳥獣処理施設において重要管理点として設定されている金属探知機の有用性を評価するため、金属汚染等の実態調査を行う。

令和 5 年度：野生鳥獣処理施設における様々な環境から拭き取り検体を収集し、細菌叢解析を行うことにより、一連の処理工程の環境中に潜在する微生物汚染の原因、由来に関するデータを収集する。

令和 3 年度は、野外で内臓摘出された枝肉の衛生評価を行うことを目的とした。さらに、一部の野生鳥獣処理施設において、

一連の処理工程における細菌叢解析を実施した。

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 他】

令和 3-5 年度の 3 年間の研究期間で、自治体や関連事業者の協力を得て、生ハム等の野生鳥獣由来食肉の製造加工段階における微生物挙動に関する検討を行い、微生物増殖制御に資する工程管理の在り方を例示する。また、調理段階でのリスク管理の向上を図るため、原料肉の冷蔵保存やマリネ等の前処理工程における微生物低減効果を定量的に評価する。更に、イノシシやシカ以外の野生鳥獣由来食肉として流通する製品における微生物汚染実態に関する評価を行う。これらの科学的知見の集積を通じ、野生鳥獣由来食肉の製造加工及び調理段階における微生物リスク管理の在り方を提言する。

令和 3 年度は、まず先行研究では未実施であり、情報に乏しい小型ジビエ食肉製品における微生物汚染実態を明らかにするため、これらの製品について衛生指標菌の定量試験、主要病原細菌の定性試験、並びに菌叢解析を行った。また、HACCP 導入にあわせ、調理機器等の更新を行う予定のジビエ加工食品を製造加工施設の協力を得て、比較検証データの取得を開始した。

3. 進捗状況及び見込まれる研究成果

- 1) 本年度から回収が容易な糞便中に含まれる HEV 遺伝子の検出を開始し、3 検体の陽性糞便を検出した。
- 2) 細胞馴化した HEV を用いて中和試験法の開発を試みている。

- 3) SFTSV のシカでの調査により、2017 年の千葉県での人での発生を予測できていることが判明した。
- 4) COVID-19 に対するシカの抗体保有を検査した結果、6 県 296 頭の 2020 年に捕獲されたシカはすべて抗体陰性であった。
- 5) 「野外における内臓摘出」を実施する施設として、大日本猟友会による紹介（岩手県猟友会、岡山県猟友会、宮崎県猟友会）、「令和 2 年度野生鳥獣肉の衛生管理等に関する実態調査」の回答に基づく施設を新たな研究対象として検討中。
- 6) 解体処理工程における各種拭き取り検体の細菌叢解析を実施した。
- 7) 旋毛虫 T9 が寄生した実験感染マウスの筋肉を、ローストビーフの低温調理を模した加熱方法（75℃，1 分）で処理したところ、旋毛虫 T9 の感染性は消失することを確認した。
- 8) 北海道のヒグマと北東北（岩手県）のツキノワグマに、旋毛虫 T9 の寄生を確認した。
- 9) アナグマ中抜きと体の複数箇所を切除法により採材し、衛生指標菌定量試験に供した。
- 10) 野生カモ盲腸内容からのカンピロバクター検出試験を行った。
- 11) HACCP 導入に伴い機器導入を行う予定のジビエ食肉加工施設の協力を得て、加熱調理条件等に関する検討を開始した。
- 12) HACCP 導入に伴い設備更新した加工施設での衛生モニタリングを開始した。
- 13) イノシシおよびシカの病変カラーアトラス作成を目的として、8 つの協力機関から、病変を有する新鮮臓器そのも

の 81 検体の提供を受けて(12 月現在)、マクロ写真の収集も進んでいる。また、病理組織学的解析も実施して、協力者に病変情報を提供しており、多くの質問も寄せられて情報交換も順調にできている。

- 14) イノシシにおける肥大心好発地域や、エゾシカにおける脂肪壊死症好発地域などが見出された。
- 15) 糞便 189 サンプルから、黄色ブドウ球菌 8 株、ESBL 疑いの CTX 耐性菌 20 株分離した。CRE は全検体で分離されなかった。また、ゲノム解析を行った 3 株のブドウ球菌は、他の家畜とは異なるクローンであり、既報の SE 遺伝子を保有しないことが明らかとなった。
- 16) 糞便 189 サンプルから、黄色ブドウ球菌 8 株、ESBL 疑いの CTX 耐性菌 20 株分離した。CRE は全検体で分離されなかった。ゲノム解析を行った 7 株の黄色ブドウ球菌は、他の家畜が保有するクローンとは異なり、また、主要な食中毒原因毒素である古典的 SE（SEA-SEE）遺伝子を保有しないことが明らかとなった。

4. 研究成果の政策等への活用又は実用化に向けた取組

野生鳥獣肉の食品としての利活用推進の一環として R2 年には「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針」の一部が改正され、これ迄以上に、捕獲・処理・加工・調理・消費の各段階で科学的根拠に基づいた狩猟/捕獲者・処理者・調理従事者・消費者の安全性確保（人獣共通感染症/食中毒のリスク）と衛生管理に関する知見の一層の蓄積が求められている。本研究班は細菌・ウイルス・寄生虫感染症と病理学、公衆衛生学、

食中毒の専門家から構成され、全国の関係自治体・団体を含めた研究協力者の支援を得て、3年間で、1) 野生鳥獣が保有する食中毒の病因物質並びに血液等を介する人獣共通感染症病原体の汚染状況、並びに抗体保有状況調査、2) 狩猟・捕獲・解体の際に発生する様々な食中毒・人獣共通感染症の病原体（主に寄生虫）及び異常個体の探知に資するカラーアトラスの作成、3) HACCP の考え方を取り入れた衛生管理の確立に向け、解体処理施設の衛生実態調査並びに衛生管理手法の平準化に必要な事項の整理と改善策の検証、4) 食品製造加工並びに調理段階での衛生管理実態の把握並びに危害工程の抽出と多彩な調理法に伴う微生物消長を定量的に検証し、衛生管理ガイドライン改良のための根拠の提供を可能とする。更に、本研究成果は野生鳥獣由来食肉における病原体汚染の実態調査等を通じ、その危害防止のための知見を収集することで、HACCP 制度化のための衛生管理手法の確立に資する情報を提供することを可能とする。

その中で、本年度は下記の提案が挙げられた。

- 1) 捕獲シカの新たな活用として、血液を採集し、SFTS を含む感染症のリスク分析に用いることを提案したい。
- 2) 国内のシカでの SARS-CoV-2 感染は認められなかったが、米国の報告を考慮すると定期的な調査が重要である。
- 3) アナグマ食肉製品の衛生指標菌数分布並びに菌叢構成は事業者間で有意な差異を認め、当該獣肉の取り扱いにあたっての衛生管理状況の把握と改善に向けた検討が今後必要と考えられた。
- 4) 衛生状況が良好であった施設の視察及び情報交換を行い、HACCP に沿った衛生管

理を図る上では、捕獲後速やかな解体加工処理を実施することが必要な事項として抽出された。実際に捕獲後一定期間保管されたアナグマ屠体では捕獲後速やかに処理・加工されたものに比べて、細菌数は高く、サルモネラ属菌も検出された。但し、短期間保管された屠体からも開腹部位周辺からは大腸菌が検出され、小型野生獣の解体処理に係るマニュアル作成も今後検討が必要な事項と思料された。

5) 同一ロットのアナグマ食肉製品を10℃以下で保管した際には糞便汚染指標菌の経時的な増殖が確認され、加工直後から冷凍保管・流通させることが加工流通段階での対策として有効と考えられた。

健康危機情報

本研究班で実施してきた過去シカでの陽性率が上昇しており、警告していた地域ですでに患者発生していたことが判明した。和歌山県のアライグマでも同様のことを見出しており、野生動物の調査は、人のリスクを考えるうえで非常に有用であることが証明された。

狩猟者および猟犬のダニ対策の重要性が示された。

国内の野生動物の間で SARS-CoV-2 が人を持っている可能性は低いが、更なる調査が必要である。

6. 研究発表（原著論文によるものに限る。）

（1）国内合計 3件

- 1) 山本詩織、秋元真一郎、迫井千晶、山田 研、壁谷英則、杉山 広、高井伸二、前田 健、朝倉 宏．低温調理による野生鹿肉及び猪肉での中心温度挙動と細菌不活化効果に関する検討．日本食品微生物学会雑誌．

- 2) 高井伸二、斑目広郎、佐々木由香子、鈴木康規、角田 勤 家畜・伴侶動物・野生動物のロドコッカス・エクイ感染症 日獣会誌 74:695-706, 2021
 - 3) 高井伸二 わが国における野生動物と家畜伝染病 家畜衛生学雑誌 47: 53-62 2021
- (2) 海外合計 6 件 (発表済み 6 件)
- 1) Tran NTB, Shimoda H, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Supriyono, Kuroda Y, Tatemoto K, Mendoza MV, Kuwata R, Takano A, Muto M, Sawabe K, Isawa H, Hayasaka D, Maeda K. Zoonotic infection with Oz virus, a novel thogotovirus. Emerging Infectious Diseases. (In Press)
 - 2) Tran NTB, Shimoda H, Mizuno J, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Supriyono, Kuroda Y, Tatemoto K, Mendoza MV, Takano A, Muto M, Isawa H, Sawabe K, Hayasaka D, Maeda K. Epidemiological study of Kabuto Mountain virus, a novel uukuvirus, in Japan. J Vet Med Sci. 2022 Jan 7;84(1):82-89.
 - 3) Morita S, Sato S, Maruyama S, Nagasaka M, Murakami K, Inada K, Uchiumi M, Yokoyama E, Asakura H, Sugiyama H, Takai S, Maeda K, Kabeya H. Whole-genome sequence analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 strains isolated from wild deer and boar in Japan. J Vet Med Sci. 2021 Dec 2;83(12):1860-1868.
 - 4) Mendoza MV, Yonemitsu K, Ishijima K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Kuroda Y, Tatemoto K, Inoue Y, Okada A, Shimoda H, Kuwata R, Takano A, Abe S, Okabe K, Ami Y, Zhang W, Li TC, Maeda K. Characterization of rabbit hepatitis E virus isolated from a feral rabbit. Vet Microbiol. 2021 Dec;263:109275.
 - 5) Rosyadi I, Setsuda A, Eliakunda M, Takano A, Maeda K, Saito-Ito A, Suzuki K, Sato H. Genetic diversity of cervid *Trypanosoma theileri* in Honshu sika deer (*Cervus nippon*) in Japan. Parasitology. 2021 Jul 27;1-12.
 - 6) Morikawa M, Mitarai S, Kojima I, Okajima M, Hatai H, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Matsuu A, Yoshida A, Hayashi K, Ozawa M, Masatani T. Detection and molecular characterization of *Babesia* sp. in wild boar (*Sus scrofa*) from western Japan. Ticks Tick Borne Dis. 2021 Jul;12(4):101695.
7. その他の実績 (予定を含む)
- ・学会発表、説明会等 合計 26 件 :
学会発表 合計 4 件
- 1) 森田 聡志、宮川 明日香、中村 きりこ、中村 水紀、佐藤 真伍、丸山 総一、壁谷 英則、わが国の鹿、猪における *Campylobacter* の保菌状況と分離株の全ゲノムシーケンスによる病原関連遺伝子の網羅的解析、第 164 回日本獣医学会学術集会 (酪農学園大学, web 開催) 2021
 - 2) 立本完吾, 石嶋慧多, 朴ウンシル, 黒田雄大, Milagros Virhuez Mendoza,

原田倫子, 井上雄介, Ngo thuy bao tran, 鵜田龍星, 高野 愛, 下田 宙, 前田 健「野生動物における SFTS の血清疫学調査: ウイルス中和試験の重要性」第 73 回日本衛生動物学会

- 3) Virhuez Mendoza Milagros、米満健三、石嶋慧多、立本完吾、黒田雄大、Tran Ngo Thuy Bao、井上 雄介、原田倫子、鵜田龍星、下田 宙、李 天成、前田 健「In vitro adaptation of hepatitis E virus genotype 3」第 164 回日本獣医学会学術集会
- 4) Ngo Tran, 下田 宙, 水野純子, 石嶋慧多, 米満研三, 南 昌平, Supriyono, 黒田雄大, 立本完吾, Milagros Mendoza, 鵜田龍星, 朴ウンシル, 高野 愛, 武藤正彦, 伊澤晴彦, 沢辺京子, 早坂大輔, 前田 健)「ダニ保有ウイルスの野生動物、ヒトへの感染」第 68 回日本ウイルス学会

シンポジウム 合計 4 件

- 1) 前田 健「環境変化による感染症発生」<第 2 回生科連 生物多様性シンポジウム>「気候変動が生物多様性に与える脅威—地球はどのくらい危機的状況か—」2021 年 12 月 18 日 (土) 13 時～17 時頃, オンライン
- 2) Ken Maeda “One health approach to reduce the risks by zoonoses.” NARO International Symposium 2021 “Outbreak and control strategy for transboundary animal and zoonotic diseases in Asia” 2021/11/5 (Fri) 13:30-17:30
- 3) 前田 健「動物由来感染症を知る: SFTS から COVID-19 まで」Infection and Immunity Research Symposium XII 令和 3 年 10 月 8 日 (金) 18:50-20:20 (ホテルオークラ福岡)

- 4) 前田 健「動物から学ぶ感染症」One Health Research Center キックオフシンポジウム基調講演、令和 3 年 5 月 29 日 (土) 13:45-14:15 (Webex)

講演会・セミナー 合計 12 件

- 1) 前田 健「未知を既知へ」ライフサイエンス技術部会 反応分科会 勉強会「感染症に挑む」2022 年 1 月 17 日 (月) 14:00～14:50
- 2) 前田 健「動物由来感染症: 発生予測できる日を目指して!」日本大学動物医科学研究センターセミナー令和 4 年 1 月 11 日 (火) 18:00～19:30 (質疑応答含む) 日本大学生物資源科学部 121 講義室 (1 号館 2 階)
- 3) 前田 健「人獣共通感染症について」福岡県講習会 令和 3 年 11 月 24 日 14-17-25 日 9-12 (福岡県福岡市)
- 4) 前田 健「人獣共通感染症の最新情報」【麻布大学大学院】特別講義 令和 3 年 11 月 10 日 17:00-18:30 麻布大学獣医学部棟 7 階 701・702 会議室
- 5) 前田 健「動物が教えてくれる SFTS のリスク」名古屋市獣医師会 人獣共通感染症調査のセミナー令和 3 年 10 月 19 日 13:30～15:00 (WEBEX)
- 6) 前田 健「最近話題の動物由来感染症」2021 年度 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラム 2021 年 10 月 14 日 (木) 11:00-11:55 対象者: 卒後 2 年目研修医
- 7) 前田 健「ダニ媒介性感染症 & SFTS」令和 3 年度 動物由来感染症レファレンスセンター「近年、国内で患者が報告されている動物由来感染症について」

令和3年9月6日(月) 13:30-14:10
(WEB ミーティング)

- 8) 前田 健「新型コロナだけではない！
人獣共通感染症」動物と安心して暮ら
せる長野県研修会第2弾令和3年5月
14日(金)13時30分-15時30分(WEB
開催)
- 9) 前田 健「動物由来感染症」実地疫学
専門家養成コース (Field
Epidemiology Training Program:
FETP) 初期導入コース令和3年4月20
日(水)11:00-11:50
- 10) 高井伸二「野生鳥獣肉由来食肉の安全
性の確保とリスク管理」野生鳥獣処理
活用技術者研修会 令和3年9月13
日(月)10:00-16:30 岩手県盛岡市研修
会 マリオス盛岡地域交流センター
- 11) 高井伸二「野生鳥獣肉由来食肉の安全
性の確保とリスク管理」野生鳥獣処理
活用技術者研修会 令和3年10月27
日(水)13:00-17:00 島根県浜田市研修
会 浜田ニューキャッスルホテル
- 12) 高井伸二「野生鳥獣肉由来食肉の安全
性の確保とリスク管理」野生鳥獣処理
活用技術者研修会 令和4年1月22
日(土)13:00-17:00 兵庫県南あわじ市
(Web開催)

著書 合計6件

- 1) 前田 健「マダニ媒介性ウイルス」耳
鼻咽喉科 2022. 1(1): 89-96
- 2) 前田 健「E型肝炎ウイルス」『生食の
はなし』川本伸一、朝倉宏、稲津康弘、
畑江敬子、山崎浩司編集(朝倉書店)

- 3) 高野 愛、前田 健「増加するダニ媒
介性感染症」ペストコントロール 195
号(2021年7月号)27-33
- 4) 石嶋慧多、前田 健「重症熱性血小板減
少症候群の国内の発生現状、小動物領
域における課題と展望について」東獣
ジャーナル 2021. 60010-15
- 5) 前田 健「マダニが運ぶ怖い病気」森
林科学 2021. 92:16-21
- 6) 鈴木康規「ブドウ球菌食中毒に関する
最近の動向とその検査法」臨床検査
2022. 66:64-72

・研究班会議の実績

全体会議：合計 3回

- 1) (第1回 野生鳥獣由来食肉の食中毒
発生防止と衛生管理ガイドラインの改
良に資する研究班全体研究会議、2021
年4月6日(火)、Zoom オンライン、16
名、行政担当者参加 有り、研究班全
体の今年度の方針確認)
- 2) (第2回 野生鳥獣由来食肉の食中毒
発生防止と衛生管理ガイドラインの改
良に資する研究班全体研究会議、2021
年8月27日(火)、Zoom オンライン、
16名、行政担当者参加 有り、研究班
全体の進捗の確認)
- 3) (第3回 野生鳥獣由来食肉の食中毒
発生防止と衛生管理ガイドラインの改
良に資する研究班全体研究会議、2021
年11月15日(月)、Zoom オンライン、
14名、行政担当者参加 有り、研究班
全体の進捗の確認)

別添4

令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究」
分担研究報告書

野生鳥獣が保有する病原微生物の汚染状況に関する研究-1
(E 型肝炎ウイルス)

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 ミラグロス・ビルヘスメンドーサ（山口大学大学院獣医学研究科）

研究要旨 E 型肝炎ウイルス (HEV) のイノシシ・シカでの感染状況を実施した。結果をまとめると、1) イノシシにおいて陽性率が高い地域が存在する。2) シカにはほとんど HEV が感染していない。3) 子イノシシで遺伝子検出率が高い。4) 年ごとの陽性率に大きな変動は認められない。5) 糞便からも効率よく遺伝子検出ができた。6) イノシシに感染する HEV に関しては地域性が確認された。これまでの解析と大きな違いが認められないが、糞便での解析も十分利用可能であることから、サンプル数を増やすためにもイノシシの糞便の回収を視野に入れるべきと考えている。

A. 研究目的

はじめに

E 型肝炎ウイルス (HEV, Hepatitis E virus; ヘペウイルス科) は、ヒトに急性肝炎を引き起こすウイルスである。かつては開発途上国において水系感染により感染するウイルスであると考えられており、日本の患者は流行国への海外旅行等で感染するとされた。しかし、2003 年 4 月に兵庫県でシカ肉を食べたことによる E 型肝炎の集団発生が起これ、患者から検出されたウイルスとシカ肉から検出されたウイルスが同一であったことから、E 型肝炎は食品由来の感染症でもあることが認識され、国内でも感染症法の 4 類感染症に指定された。E 型肝炎は感染してから発症までに平均 6 週間かかるため原因食品の解明が難しい。更に、最初の食品由来感染の報告がシカ肉由来であったことから、シカ肉が感染源として注目されていたが、現在では、シカ以外のブタやイノシシが主たる感染源であるといわれている。

今回、HEV のレゼルボアであると考えられ

るイノシシ、シカにおける抗 HEV 抗体検出および HEV 遺伝子検出を実施し、野生動物における HEV 感染状況を調査した。

B. 研究方法

HEV カプシドタンパクの発現：

下関で HEV 患者から得られた遺伝子 (JTF-Yamagui1 株) の ORF2 蛋白発現プラスミドを 293T 細胞にポリエチレンイミンを用いてトランスフェクションした。発現の確認は抗 His-Tag 抗体で行った。トランスフェクション細胞は RIPA buffer によって 4℃1 時間処理した後、15000 回転 4℃30 分間遠心して上清を回収して、ELISA 抗原として用いた (Yonemitsu K et al., J Vet Med Sci. 2019. 81(1):155-159., Yonemitsu K et al., J Virol Methods 2016. 238: 56-61., Hara Y et al., J Wildl Dis. 2014;50(2):378-383.)。

HEV 抗体の検出：トランスフェクション細胞の抽出抗原を 5 μ g/ml に希釈した後、100 μ l を各ウェルに接種して ELISA を行った。ブ

ロッキング液および抗原希釈液にはブロックエースを用いた。血清は1:100に希釈し、二次抗体にはペルオキシダーゼ標識 ProteinA/G を1:20000 希釈して用いた。発色には SeraCare Life Science のペルオキシダーゼ基質キットを用いた (Yonemitsu K et al., J Vet Med Sci. 2019. 81(1):155-159., Yonemitsu K et al., J Virol Methods 2016. 238: 56-61.)。

HEV 遺伝子検出: 血清から QIAamp Viral RNA Mini Kit を用いて RNA を抽出し、HEV-F1 プライマーと HEV-R2 プライマーを用いて RT-PCR を実施、更に RT-PCR 産物を、HEV-F2 プライマーと HEV-R1 プライマーを用いて Nested PCR を行い、遺伝子の検出を試みた (Yonemitsu K et al., J Virol Methods 2016. 238: 56-61., Hara Y et al., J Wildl Dis. 2014;50(2):378-383.)。

C. 研究結果

1) イノシシにおける抗体保有状況

日本のイノシシ 2363 頭中 360 頭が抗 HEV 抗体陽性となり陽性率は 15.2%であった。イノシシにおいては、東北 A と九州 E を除いてすべての都道府県で陽性の個体が見つかった。多くの県が数%から 20%前後の抗体陽性率であるのに対して、関東 A、関東 B のイノシシは約半数が感染している状況であった。

2) シカにおける抗体保有状況

シカからの抗体検出は、2016 年度に四国 B で陽性個体が見つかった。しかし、全体では 2302 頭中 1 頭(0.04%)しか抗体陽性のシカは見つからない。また、遺伝子検出もこれまで 1709 頭調べたが 1 頭(0.1%)からしか検出されていない。イノシシの陽性率と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。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。

3) イノシシにおける血清からの HEV 遺伝子検出

HEV 遺伝子は 26 頭のイノシシから検出され、陽性率は 1.4%であった。今回、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。

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 70 頭に 1 頭は捕獲時にウイルスを保有しているので注意が必要である。

4) シカからの遺伝子検出

遺伝子検出もこれまで 1709 頭調べたが 1 頭(0.1%)からしか検出されていない。イノシシの陽性率と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。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。

5) 糞便からの遺伝子検出

9 県のイノシシの糞便サンプル 76 検体から 3 検体 (3.9%) の HEV 遺伝子が検出された。12 道府県のシカの糞便サンプル 174 検体からすべて陰性であった (0%)。陽性例 3 例の遺伝子解析をした結果、との地域で 2019 年にイノシシから検出された遺伝子と近縁で遺伝子型 3 に属していた。

D. 考察

1) イノシシにおける抗体保有状況

イノシシにおいては、東北 A と九州 E を除いてすべての都道府県で陽性の個体が見つかった。多くの県が数%から 20%前後の抗体陽性率であるのに対して、関東 A、関東 B のイノシシは約半数が感染している状況であった。

2) シカにおける抗体保有状況

シカからの抗体検出は、2016 年度に四国 B で陽性個体が見つかった。しかし、全体では 2302 頭中 1 頭(0.04%)しか抗体陽性のシカは見つかっていない。シカは HEV に対して低感受性である。

3) イノシシにおける血清からの HEV 遺伝子検出

HEV 遺伝子は 26 頭のイノシシから検出され、陽性率は 1.4%であった。今回、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。

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 70 頭に 1 頭は捕獲時にウイルスを保有しているので注意が必要である。

4) シカからの遺伝子検出

遺伝子検出もこれまで 1709 頭調べたが 1 頭(0.1%)からしか検出されていない。イノシシの陽性率と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。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。

5) 糞便からの遺伝子検出

9 県のイノシシの糞便サンプル 76 検体から 3 検体 (3.9%) の HEV 遺伝子が検出された。糞便からもかなり高率よく遺伝子が検出できた。陽性例 3 例の遺伝子解析をした結果、この地域で 2019 年にイノシシから検出された遺伝子と近縁で遺伝子型 3 に属していた。イノシシの HEV に関しては地域性が改めて確認された。

E. 結論

1) イノシシにおいて陽性率が高い地域が

存在する。

- 2) シカにはほとんど HEV が感染していない。
- 3) 子イノシシで遺伝子検出率が高い。
- 4) 年ごとの陽性率に大きな変動は認められない。
- 5) 糞便からも効率よく遺伝子検出ができた
- 6) イノシシに感染する HEV に関しては地域性が確認された。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Mendoza MV, Yonemitsu K, Ishijima K, Kuroda Y, Tatemoto K, Inoue Y, Shimoda H, Kuwata R, Takano A, Suzuki K, Maeda K. Nationwide survey of hepatitis E virus infection among wildlife in Japan. J Vet Med Sci (In press)
- 2) Mendoza MV, Yonemitsu K, Ishijima K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Kuroda Y, Tatemoto K, Inoue Y, Okada A, Shimoda H, Kuwata R, Takano A, Abe S, Okabe K, Ami Y, Zhang W, Li TC, Maeda K. Characterization of rabbit hepatitis E virus isolated from a feral rabbit. Vet Microbiol. 2021 Dec;263:109275.
- 3) 前田 健「E 型肝炎ウイルス」『生食のななし』川本伸一、朝倉宏、稲津康弘、畑江敬子、山崎浩司編集（朝倉書店）

2. 学会発表

シンポジウム

- 1) 前田 健「動物由来感染症をもっと知ってください」第 21 回分子予防環境医学研究会大会特別シンポジウム「人獣共通感染症」2022 年 2 月 8 日
- 2) Ken Maeda “One health approach to reduce the risks by zoonoses.” NARO

International Symposium 2021
“Outbreak and control strategy for
transboundary animal and zoonotic
diseases in Asia” 2021/11/5

- 3) 前田 健「動物から学ぶ感染症」One
Health Research Center キックオフシ
ンポジウム基調講演、令和 3 年 5 月 29
日

講演会

1. 前田 健「動物由来感染症：発生予測で
きる日を目指して！」日本大学動物医科
学研究センターセミナー令和 4 年 1 月
11 日
2. 前田 健「人獣共通感染症について」福
岡県講習会 令和 3 年 11 月 24 日-25 日
3. 前田 健「人獣共通感染症の最新情報」
【麻布大学大学院】特別講義 令和 3 年

11 月 10 日

4. 前田 健「最近話題の動物由来感染症」
2021 年度 国立感染症研究所・医師卒
後臨床研修プログラム 2021 年 10 月 14
日(木)11:00-11:55 対象者：卒後 2 年目
研修医「動物由来感染症」実地疫学専門
家養成コース (Field Epidemiology
Training Program: FETP) 初期導入コー
ス令和 3 年 4 月 20 日 (水) 11:00-11:50

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

全国イノシン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(%)
東北A	6	0	0		6	0	0
関東A	91	45	49		91	5	5
関東B	48	20	42		48	1	2
関東C	220	12	5.5		0	0	0
中部A	144	8	5.6		140	0	0
中部B	183	18	9.8		183	0	0
近畿A	111	23	20.7		77	2	3
近畿B	545	42	7.7		354	0	0
中国A	812	174	21.4		703	15	2
四国A	311	27	8.7		115	0	0
四国B	116	22	19		116	1	1
九州A	92	17	18		68	2	3
九州B	5	1	20		0	0	0
九州C	182	6	3		0	0	0
九州E	97	0	0		0	0	0
計	2963	415	14.0		1901	26	1.4

表 2

全国イノシンHEV抗体検出、遺伝子検出

抗体検出(ELISA)								
	♂	♀	記録なし	≤30	30-50	≥50	記録なし	計
検査頭数	1317	1256	390	772	866	673	652	2963
陽性頭数	178	205	32	49	147	149	70	415
陽性率(%)	13.5	16.3	8.2	6.3	17.0	22.1	10.7	14.0

遺伝子検出(RT-PCR)								
	♂	♀	記録なし	≤30	30-50	≥50	記録なし	計
検査頭数	920	899	82	487	655	566	193	1901
陽性頭数	18	8	0	13	8	2	3	26
陽性率(%)	2.0	0.9	0.0	2.7	1.2	0.4	1.6	1.4

表 3

全国シカ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	0	0	0
東北A	39	0	0	39	0	0
関東A	108	0	0	108	0	0
関東B	106	0	0	106	0	0
中部A	344	0	0	344	0	0
中部C	47	0	0	0	0	0
中部D	65	0	0	0	0	0
近畿A	0	0	0	0	0	0
近畿B	347	0	0	0	0	0
中国A	1016	0	0	1002	1	0.1
四国A	45	0	0	45	0	0
四国B	65	1	1.5	65	0	0
九州A	12	0	0	0	0	0
九州B	29	0	0	0	0	0
計	2302	1	0.04	1709	1	0.1

表 4

全国シカHEV抗体検出、遺伝子検出

抗体検出(ELISA)								
	♂	♀	記録なし	≤20	20-30	≥30	記録なし	計
検査頭数	1270	866	166	96	397	1390	419	2302
陽性頭数	1	0	0	0	0	1	0	1
陽性率(%)	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.04

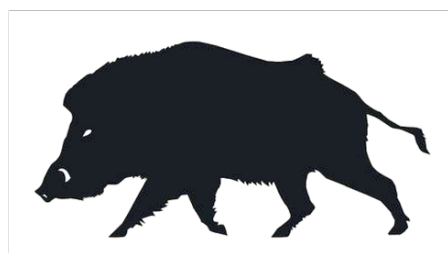
遺伝子検出(RT-PCR)								
	♂	♀	記録なし	≤20	20-30	≥30	記録なし	計
検査頭数	1014	650	45	71	271	1147	220	1709
陽性頭数	0	1	0	0	0	1	0	1
陽性率(%)	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1

表 5

イノシシの糞便からの遺伝子検出

全国イノシシ遺伝子検出

遺伝子検出(RT-PCR)			
	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)
鳥取	1	0	0
静岡	1	0	0
大分	35	3	9
奈良	4	0	0
山形	6	0	0
熊本	4	0	0
宮崎	10	0	0
愛媛	12	0	0
岡山	3	0	0
計	76	3	3.9



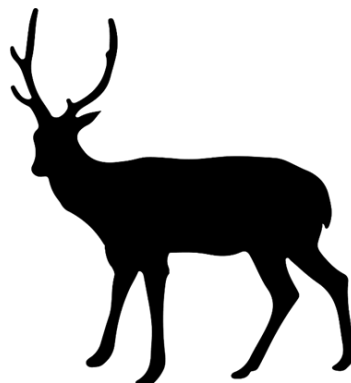
イノシシ				
	♂	♀	N/A	計
検査頭数	31	33	12	76
陽性頭数	2	1	0	3
陽性率(%)	6.5	3.0	0.0	3.9

表 6

シカの糞便からの遺伝子検出

全国シカHEV遺伝子検出

	遺伝子検出(RT-PCR)		
	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)
鳥取	26	0	0
北海道	2	0	0
静岡	39	0	0
大分	23	0	0
群馬	7	0	0
奈良	24	0	0
大阪	12	0	0
宮崎	26	0	0
青森	2	0	0
愛知	7	0	0
岩手	4	0	0
京都	2	0	0
計	174	0	0.0



	シカ			
	♂	♀	N/A	計
検査頭数	92	78	4	174
陽性頭数	0	0	0	0
陽性率(%)	0	0	0	0

図1 得られた遺伝子の系統解析（赤字が本年度、緑は過去の本事業の結果）

Phylogenetic analysis (ORF2 338 bp)

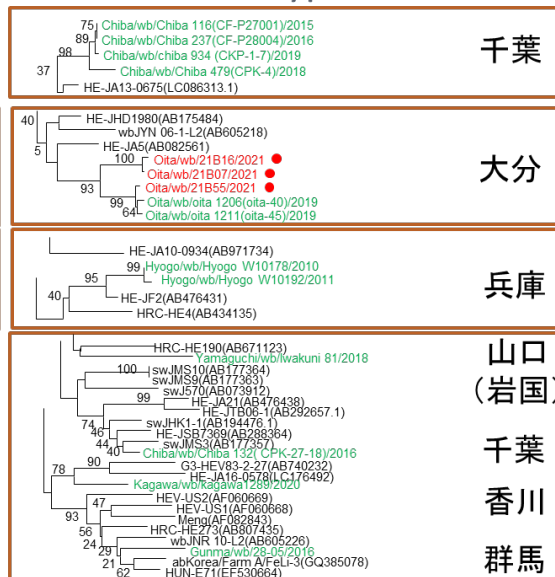
● Positive samples until 2020

● 2021 positive samples

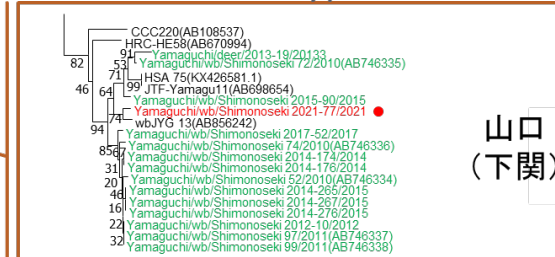
neighbor-joining method
1000 bootstrap



Genotype 3



Genotype 4



令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究」
分担研究報告書

野生鳥獣が保有する病原微生物の汚染状況に関する研究-2
(SFTS ウイルス)

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 （山口大学大学院共同獣医学研究科）

SFTS ウイルスの狩猟者や猟犬へのリスクを知るために SFTS ウイルスの抗体保有状況調査と遺伝子検出の実施した。以下のような成果が得られた。1) シカの抗体保有率は全国で 24.9% と非常に高い。2) イノシシの抗体保有率は全国で 33.3% と非常に高い。3) 九州・中国地方で陽性率が高い。4) 遺伝子検出率は食肉類と比較して低い。以上より、患者発生地域の野生獣での SFTS 感染は多く、ウイルス保有マダニの多さを意味しており、狩猟者、猟犬へのマダニ対策の必要性が改めて示された。しかし、予想に反してイノシシとシカにおいてはウイルス血症はあまり高くないようである。

A. 研究目的

重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスは 2011 年に初めて報告された新興感染症を引き起こす。ヒトに約 27% の致死を引き起こす危険な感染症として認識されている。マダニと野生動物の間でウイルスは維持されており、ウイルス保有マダニにヒトや動物が刺咬されることにより感染する。SFTS ウイルス感染のリスクは、その地域の動物への感染状況を知ることにより予測できる (図)。なお、野生獣に関わる関係者は SFTS ウイルスに感染するリスクが特に高いため、本事業の関係者を含め地域の SFTS ウイルスの感染状況を把握しておくことが必要である。本研究の目的は、野生動物であるシカやイノシシにおける SFTS ウイルスの感染状況を調査することにより、SFTS ウイルスのリスクを把握することである。

B. 研究方法

ELISA (プロトコールを添付)

抗原: SFTSV HB29 感染 HuH-7 細胞 溶解
抗原

2 次抗体: Pierce™ Recombinant

Protein A/G, Peroxidase Conjugated
(Thermo Fisher Scientific)

発色: ABTS Microwell Peroxidase
Substrate (2-Component System)
(SeraCare Life Sciences)

RT-PCR (プロトコールを添付)

血清からの RNA 抽出: QIAamp Viral RNA
Mini Kit (QIAGEN)

RT-PCR 反応: QIAGEN OneStep RT-PCR Kit
(QIAGEN)

プライマー: S 分節 S 領域特異的 RT-PCR
用プライマー (感染症研究所の研究グル
ープにより設計)

C. 研究結果

1) イノシシ・シカにおける抗体保有状況

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。シカ・イノシシにおける ELISA 法について、ウイルス中和試験との比較により、カットオフ値をシカでは OD 値: 0.390、イノシシでは OD 値: 0.160 と求めた。これまでの集計結果では、シカ 3762 頭中 935 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性

率は 24.9%であった。イノシシにおいては 2600 頭中 867 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 33.3%であった。

2) イノシシ・シカからの遺伝子検出

イノシシからの遺伝子検出は、1088 頭中 3 頭 (0.3%) であった。シカからの 1128 頭中 1 頭 (0.1%) であった。

D. 考察

- 1) ヒトや動物での SFTS 発症例が数多く報告されている関西・中国・四国・九州ではシカ、イノシシ共に抗体陽性率が高い。それに対し、症例報告がない関東以北においては陽性率が低く示された。
- 2) 一般的にシカの方が陽性率が高い傾向があるが、九州 D のように約 7 割のイノシシが感染している地域もある。九州 D の調査地域は、ヒトの患者やネコでの発症例が多く、シカが分布していないことから、イノシシが感染環の中で重要な役割を担っていると考えられる。
- 3) イノシシとシカの両方を総合すると、主に西日本中心に高い抗体陽性率が認められるが、東北や関東、中部の一部地域においても低いながらも抗体陽性率を示しており、SFTS ウイルスが関東、東北、中部にも分布していることがわかる。陽性率の低い地域においては、ELISA における非特異反応である可能性もある為、ウイルス中和試験を実施し、結果を精査していく必要がある。
- 4) 動物の抗体保有率は高いところで 70% に及んでいる。地域に SFTS ウイルス保有マダニが数多くいることを意味しているため、陽性率の高い地域は特に注意する必要がある。現在、抗体陽性率が低くても、和歌山県のアライグマで示されるように、条件さえ整えば急激に蔓延する可能性があるため、継続的な調査により、地域の SFTS ウイルス感染状況を把握することは重要である。

E. 結論

- 1) シカの抗体保有率は全国で 24.9%と非常に高い。
- 2) イノシシの抗体保有率は全国で 33.3%と非常に高い。
- 3) 九州・中国地方で陽性率が高い。
- 4) 遺伝子検出率は食肉類と比較して低い。

F. 健康危機情報

本研究班で実施してきた過去シカでの陽性率が上昇しており、警告していた地域ですでに患者発生していたことが判明した。和歌山県のアライグマでも同様のことを見出しており、野生動物の調査は、人のリスクを考えるうえで非常に有用であることが証明された。

狩猟者および猟犬のダニ対策の重要性が示された。

G. 研究発表

論文発表

- 1) Tatemoto K, Ishijima K, Kuroda Y, Mendoza MV, Inoue Y, Park E, Shimoda H, Sato Y, Suzuki T, Suzuki K, Morikawa S, Maeda K. Roles of raccoons in the transmission cycle of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. J Vet Med Sci (In press)
- 2) Kuba Y, Kyan H, Azama Y, Fukuchi Y, Park ES, Kakita T, Oyama M, Maeshiro N, Miyahira M, Nidaira M, Maeda K, Morikawa S, Taniguchi K. Seroepidemiological study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in animals and humans in Okinawa, Japan. Ticks Tick Borne Dis. 2021 Nov;12(6):101821.

書籍

- 1) 前田 健「マダニ媒介性ウイルス」耳鼻咽喉科 2022. 1(1): 89-96
- 2) 高野 愛、前田 健「増加するダニ媒介性感染症」ペストコントロール 195 号 (2021 年 7 月号)27-33

- 3) 石嶋慧多、前田 健「重症熱性血小板減少症候群の国内の発生現状、小動物領域における課題と展望について」東獣ジャーナル 2021. 60010-15
- 4) 前田 健「マダニが運ぶ怖い病気」森林科学 2021. 92:16-21
- 2) 前田 健「SFTS から One Health について考える」令和 3 年度高知県公衆衛生獣医師協議会研修会、総合あんしんセンター 2 回保健所大会議室、令和 4 年 4 月 16 日
- 3) Ken Maeda “Current Situation of Tick-Borne Diseases in Japan” PET FAIR SOUTH-EAST ASIA, 17th February, 2022.

学会発表

シンポジウム

- 1) 前田 健「動物由来感染症をもっと知ってください」第 21 回分子予防環境医学研究会大会特別シンポジウム「人獣共通感染症」2022 年 2 月 8 日
- 2) 前田 健「環境変化による感染症発生」＜第 2 回生科連 生物多様性シンポジウム＞「気候変動が生物多様性に与える脅威—地球はどのくらい危機的状況か—」2021 年 12 月 18 日
- 3) Ken Maeda “One health approach to reduce the risks by zoonoses.” NARO International Symposium 2021 “Outbreak and control strategy for transboundary animal and zoonotic diseases in Asia” 2021/11/5
- 4) 前田 健「動物由来感染症を知る：SFTS から COVID-19 まで」Infection and Immunity Research Symposium XII 令和 3 年 10 月 8 日
- 5) 前田 健「SFTS：犬猫と獣医師の病気」令和 3 年度獣医学術九州地区学会 宮崎県獣医師会企画・三学会共催シンポジウム 令和 3 年 10 月
- 6) 前田 健「適度な距離を！—ペットを守り、自分を守るために—」2021 年動物愛護週間中央行事 2021 どうぶつ愛護オンラインシンポジウム令和 3 年 9 月 25 日
- 7) 前田 健「動物から学ぶ感染症」One Health Research Center キックオフシンポジウム基調講演、令和 3 年 5 月 29 日
- 4) 前田 健「未知を既知へ」新化学技術推進協会ライフサイエンス技術部会 反応分科会 勉強会「感染症に挑む」2022 年 1 月 17 日
- 5) 前田 健「動物由来感染症：発生予測できる日を目指して！」日本大学動物医科学研究センターセミナー令和 4 年 1 月 11 日
- 6) 前田 健「人獣共通感染症について」福岡県講習会 令和 3 年 11 月 24 日-25 日
- 7) 前田 健「人獣共通感染症の最新情報」【麻布大学大学院】特別講義 令和 3 年 11 月 10 日
- 8) 前田 健「動物が教えてくれる SFTS のリスク」名古屋市獣医師会 人獣共通感染症調査のセミナー令和 3 年 10 月 19 日
- 9) 前田 健「最近話題の動物由来感染症」2021 年度 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラム 2021 年 10 月 14 日
- 10) 前田 健「ダニ媒介性感染症 & SFTS」令和 3 年度 動物由来感染症レファレンスセンター「近年、国内で患者が報告されている動物由来感染症について」令和 3 年 9 月 6 日
- 11) 前田 健「新型コロナだけではない！人獣共通感染症」動物と安心して暮らせる長野県研修会第 2 弾令和 3 年 5 月 14 日
- 12) 「動物由来感染症」実地疫学専門家養成コース (Field Epidemiology Training Program: FETP) 初期導入コース令和 3 年 4 月 20 日

講演会

- 1) 前田 健「人獣共通感染症」FETP Introductory Course 2022 2022/04/26
- 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

全国シカSFTSV抗体検出、遺伝子検出

抗体検出(ELISA) Cut-off値=0.390				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	25	0	0	-	-	-
東北 A	40	1	3	39	0	0
B	66	0	0	-	-	-
C	135	21	15.6	-	-	-
D	4	0	0	-	-	-
関東 A	81	0	0	-	-	-
B	179	0	0	98	0	0
C	107	24	22.4	73	0	0
D	37	2	5	-	-	-
中部 A	171	15	8.8	-	-	-
B	200	4	2.0	-	-	-
C	452	7	1.5	255	0	0
D	138	15	10.9	-	-	-
近畿 A	104	13	12.5	-	-	-
B	141	17	12.1	-	-	-
C	96	18	19	-	-	-
D	155	40	25.8	-	-	-
E	380	152	40.0	330	0	0
中国 A	42	6	14	-	-	-
B	75	47	62	-	-	-
C	37	24	65	-	-	-
D	793	466	58.8	229	1	0.4
四国 A	65	1	2	62	0	0
B	73	18	25	42	0	0
C	36	8	22	-	-	-
九州 A	36	3	8	-	-	-
B	30	22	73	-	-	-
C	64	11	17	-	-	-
計	3762	935	24.9	1128	1	0.1

表 2

全国イノシシSFTSV抗体検出、遺伝子検出

	抗体検出(ELISA) Cut-off値=0.160				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(%)
東北A	6	0	0		6	0	0
関東A	170	2	1.2		—	—	—
B	46	0	0		46	0	0
C	75	5	7		75	0	0
中部C	144	4	2.8		68	0	0
E	163	13	8.0		80	0	0
近畿C	2	0	0		—	—	—
E	527	247	46.9		420	1	0.2
中国D	710	290	40.8		116	0	0
四国A	116	43	37		116	1	0.9
B	311	111	35.7		115	1	0.9
九州A	46	14	30		46	0	0
C	5	3	60		—	—	—
D	182	130	71.4		—	—	—
E	97	5	10		—	—	—
計	2600	867	33.3		1088	3	0.3

表 3

全国イノシシSFTSV抗体検出、遺伝子検出

抗体検出(ELISA)								
	性別			体重 (kg)				計
	♂	♀	記録なし	<30	30-50	>50	記録なし	
検査頭数	1155	1160	285	795	689	785	331	2600
陽性頭数	407	396	64	268	240	283	76	867
陽性率(%)	35.2	34.1	22.5	33.7	34.8	36.1	23.0	33.3
遺伝子検出(RT-PCR)								
	性別			体重(kg)				計
	♂	♀	記録なし	<30	30-50	>50	記録なし	
検査頭数	504	499	85	262	405	300	121	1088
陽性頭数	1	2	0	1	1	1	0	3
陽性率(%)	0.2	0.4	0	0.4	0.2	0.3	0	0.3

令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究」
分担研究報告書

野生鳥獣が保有する病原微生物の汚染状況に関する研究-3
(SARS-CoV-2)

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 黒田雄大 （国立感染症研究所獣医科学部）
山本つかさ （国立感染症研究所獣医科学部）

SARS-CoV-2 のオジロジカでの感染が注目を浴びている。そこで国内の野生動物における SARS-CoV-2 の感染状況の調査を実施した。2020 年に捕獲されたシカ、ハクビシン、タヌキにおける SARS-CoV-2 の感染状況をウイルス中和試験により実施した。しかし、すべての野生動物で中和抗体は認められなかった。継続した調査が必要であると考えている。

A. 研究目的

重症急性呼吸器症候群コロナウイルス-2 (SARS-CoV-2) は多くの動物種に感染することがわかってきた。しかし、大半は患者からペット、動物園動物などへの直接感染で、動物間で広がることは少ない。しかし、欧米でミンク農場での流行とミンクから人への感染、香港でのペット用ハムスターから人への感染が発生している。しかし、これまでは人が管理できる範囲での感染であった。しかし、北米でのオジロジカでの流行と、シカから人への感染が疑われる例が明らかになってきた。そこで、野生動物での SARS-CoV-2 の感染を国内でも監視するために、SARS-CoV-2 の感染状況を調査した。

B. 研究方法

中和試験

SARS-CoV-2 WK-521 株を TMPRSS2 を発現する Vero 細胞 Vero/TMPRSS2 細胞で増殖させ、力価測定を行ってウイルス液を準備した。2000TCID₅₀/ml のウイルス液と 5 倍に希釈した血清を等量混同し、37 度で 1 時間静置後、96well プレートにまいた Vero/TMPRSS2 細胞に 1 ウェル当たり 100 μ l 接種した。1 サンプル当たり 2 ウェルで行

った。37 度で 4 日間培養後、CPE を観察し、2 ウェルとも CPE が観察されないものを養成と判断した。

C. 研究結果

1) シカ・ハクビシン・タヌキにおける抗体保有状況

2020 年に国内で捕獲されたシカ 296 頭、ハクビシン 64 頭、タヌキ 36 頭の血清を用いて中和試験を実施した。すべての検体が中和抗体 10 倍未満であった。

D. 考察

SARS-CoV-2 の感染が疑われるシカ、SARS-CoV の中間宿主といわれるハクビシンとタヌキはすべて中和抗体を保有していなかった。2020 年にはまだ野生動物で SARS-CoV-2 の感染は広がっていないと考えられる。

E. 結論

国内の野生動物で 2020 年は SARS-CoV-2 は広がっていない可能性が示唆されたが、日本全国を網羅したわけではないので、更なる調査が必要であると考えている。

F. 健康危機情報

国内の野生動物の間で SARS-CoV-2 が人がある可能性は低い、更なる調査が必要である。

G. 研究発表

論文発表

- 1) 山田恭嗣、黒田雄大、山本つかさ、西尾悠誠、山田チズ子、小林満利子、森嶋康之、前田 健「重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 感染により呼吸器症状を呈した飼い猫の 1 例」日本獣医師会雑誌 (印刷中)

書籍

- 1) 前田 健「犬や猫での新型コロナウイルス感染症」SA Medicine 2022. 24(1)56-58
- 2) Koopmans M, Daszak P, Dedkov VG, Dwyer DE, Farag E, Fischer TK, Hayman DTS, Leendertz F, Maeda K, Nguyen-Viet H, Watson J. Origins of SARS-CoV-2: window is closing for key scientific studies. Nature. 2021 Aug;596(7873):482-485.
- 3) 黒田雄大、朴ウンシル、前田 健「獣医師が知っておくべき新型コロナウイルス感染症」NJK 2021. 242: 24-33
- 4) 朴ウンシル、黒田雄大、前田 健「動物のコロナウイルス感染症」モダンメディア 2021. 67 (9) : 368-375

学会発表

シンポジウム

- 1) 前田 健「動物由来感染症をもっと知ってください」第 21 回分子予防環境医学研究会大会特別シンポジウム「人獣共通感染症」2022 年 2 月 8 日
- 2) 前田 健「コロナウイルスの起源を考える」第 5 回鹿児島大学感染症制御のためのシンポジウム 令和 4 年 1 月 28 日
- 3) 前田 健「新型コロナウイルスの reverse zoonosis と伴侶動物のコロナウイルス」令和 3 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会シンポジウム「人と動

物のコロナウイルス感染症」〔企画：公益社団法人日本獣医学会 微生物分科会〕

- 4) 前田 健「環境変化による感染症発生」＜第 2 回生科連 生物多様性シンポジウム＞「気候変動が生物多様性に与える脅威—地球はどのくらい危機的状況か—」2021 年 12 月 18 日
- 5) 前田 健「SARS-CoV-2 の起源を考える」第 20 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会シンポジウム I 「COVID-19 のウイルスの起源、ワクチンとバイオセーフティ」2021 年 11 月 22 日-12 月 10 日
- 6) 前田 健「人獣共通感染症としての新型コロナウイルス感染症」岡山理科大学第 4 回国際シンポジウム「新型コロナウイルス感染症の現状と対策」2021 年 11 月 22 日-12 月 10 日
- 7) Ken Maeda “One health approach to reduce the risks by zoonoses.” NARO International Symposium 2021 “Outbreak and control strategy for transboundary animal and zoonotic diseases in Asia” 2021/11/5
- 8) 前田 健「動物由来感染症を知る：SFTS から COVID-19 まで」Infection and Immunity Research Symposium XII 令和 3 年 10 月 8 日
- 9) 前田 健「適度な距離を！—ペットを守り、自分を守るために—」2021 年動物愛護週間中央行事 2021 どうぶつ愛護オンラインシンポジウム令和 3 年 9 月 25 日
- 10) 前田 健「動物から学ぶ感染症」One Health Research Center キックオフシンポジウム基調講演、令和 3 年 5 月 29 日
- 11) 前田 健、朴ウンシル、黒田雄大、山本つかさ、宇田晶彦「SARS-CoV-2 自然感染並びに致死感染モデル」第 68 回日本実験動物学会総会感染症対策委員会及び教育研修委員会共催シンポジウム「コロナウイルス感染症の実験モデルと選択」5 月 21 日

講演会

- 1) 前田健「One Health の時代:基礎研究の蓄積と多分野連携へ」第9回筑波大学・東京理科大学合同リトリート 2022 年 5 月 29 日
- 2) 前田 健「人獣共通感染症」FETP Introductory Course 2022 2022/04/26
- 3) 前田 健「動物での新型コロナウイルス感染症の現状」第18回日本獣医内科学アカデミー学術大会(JCVIM2022)2022年2月18日-3月21日
- 4) Ken Maeda “Origin of SARS-CoV-2” The 4th BMSA Open Seminar “COVID-19 – Past, Present and Future” January 18, 2022,
- 5) 前田 健「未知を既知へ」新化学技術推進協会ライフサイエンス技術部会 反応分科会 勉強会「感染症に挑む」2022 年 1 月 17 日 (月)
- 6) 前田 健「動物から発生した SARS-CoV-2」札幌市保健所セミナー令和4年1月14日
- 7) 前田 健「動物由来感染症:発生予測できる日を目指して!」日本大学動物医科学研究センターセミナー令和4年1月11日
- 8) 前田 健「人獣共通感染症について」福岡県講習会 令和3年11月24日-25日
- 9) 前田 健「人獣共通感染症の最新情報」

【麻布大学大学院】特別講義 令和3年11月10日

- 10) 前田 健「動物の新型コロナウイルス感染症の最新の状況について」令和3年度動物由来感染症対策技術研修会オンライン開催
- 11) 前田 健「最近話題の動物由来感染症」2021 年度 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラム 2021 年 10 月 14 日
- 12) 前田 健「新型コロナウイルス感染症について考える」うめきた2期「参加型ヘルスケア」令和3年8月26日
- 13) 前田 健「新型コロナだけではない!人獣共通感染症」動物と安心して暮らせる長野県研修会第2弾令和3年5月14日
- 14) 前田 健「動物由来感染症」実地疫学専門家養成コース(Field Epidemiology Training Program: FETP) 初期導入コース令和3年4月20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

2020年に捕獲された国内のシカ・ハクビシン・タヌキの
抗体保有状況の調査

動物種	都道府県	検査数	陽性数	陽性率(%)
シカ <i>Cervus nippon</i>	青森	12	0	0
	群馬	20	0	0
	岐阜	61	0	0
	和歌山	102	0	0
	山口	91	0	0
	香川	10	0	0
	計	296	0	0
ハクビシン <i>Paguma larvata</i>	埼玉	16	0	0
	和歌山	48	0	0
	計	64	0	0
タヌキ <i>Nyctereutes procyonoides</i>	山口	6	0	0
	和歌山	23	0	0
	神奈川	7	0	0
	計	36	0	0

令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究」
分担研究報告書

野生鳥獣が保有する病原体の汚染状況に関する研究

分担研究者 杉山 宏 （国立感染症研究所 寄生動物部 客員研究員）
研究協力者

研究要旨 ジビエを対象に汚染状況の実態調査を行うと共に、旋毛虫食中毒発生予防の筋肉加熱温度を検証する。

A. 研究目的

イノシシ、シカ、クマを主な対象に、旋毛虫中や住肉胞子虫に注目して、汚染状況に関する実態を調査する。同定は困難な検体が得られた場合は、新たな手法の開発・構築に努める。

厚労省のガイドラインに示された旋毛虫食中毒発生予防の過熱条件が、調理の現場に則しても有効であるかを調べる。

B. 研究方法

豚肉の塊に旋毛虫感染マウスの筋肉を挟み込んで、厚労省のガイドライン記載の加熱を施し（中心温度が 75℃で 1 分間）、この加熱筋肉を用いた感染試験を行った。自治体からクマの舌を譲り受け検査を実施した。

C. 研究結果

加熱処理を施した群からは、陽性マウスは検出されなかった。未処理群では、総てのマウスから幼虫が回収された。自治体から提供されたクマの舌より、旋毛虫を検出した。

D. 考察

中心温度が 75℃で 1 分間の加熱を調理の現場に則した方法で野生獣の肉に施せば、旋毛虫の感染性が消失することが実験の結果、示された。クマには旋毛虫の寄生があると分かった。

E. 結論

クマは旋毛虫に感染しており、調理にあたっては、厚労省のガイドラインで示す加熱が必要であると啓発する必要がある。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表：該当なし
2. 学会発表：該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：該当なし
2. 実用新案登録：該当なし
3. その他：該当なし

令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究」
分担研究報告書

野生鳥獣が保有する食中毒細菌の汚染状況と薬剤耐性に関する研究

分担研究者 鈴木康規 （北里大学獣医学部）
研究協力者 高井伸二 （北里大学獣医学部）
安藤匡子 （鹿児島大学共同獣医学部）

研究要旨 代表的な食中毒起因菌の一つである黄色ブドウ球菌並びに国際的にその発生が警戒されているカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）を含めた β ラクタム系抗生物質耐性腸内細菌科細菌の野生鳥獣における保有状況の調査を行う目的で、シカおよびイノシシの糞便からの分離を実施した。これまでに 18 道府県で採取したシカ糞便 237 検体とイノシシ糞便 72 検体を調査した。シカ糞便 11 検体（4.6%）、イノシシ糞便 1 検体（1.4%）から黄色ブドウ球菌が分離された。これら 12 株の内 2 株が、食中毒の原因毒素であるエンテロトキシン遺伝子を複数種類保有していたが、いずれも、新型エンテロトキシンに分類されるもので、一般的に菌からの産生量が少ないタイプであり、本菌株を原因とする食中毒のリスクは低いと推測された。また、全 309 検体において CRE は検出されなかったが、セフトキシムに耐性を示す株が、シカ糞便 7 検体（3.0%）、イノシシ糞便 15 検体（21.0%）からそれぞれ分離された。これらの菌株はペニシリン系薬剤に耐性、カルバペネム系薬剤に感受性を示した。さらに大半の株が、セフェム系、モノバクタム系薬剤に対しても耐性を示した。いずれの菌株も少なくとも 1 種類の β ラクターゼ遺伝子を保有し、その多くが *bla*_{CTX-M-15}（45.5%）もしくは *bla*_{CTX-M-55}（36.4%）のどちらかを保有していた。これらの遺伝子は、海外の野生鳥獣からの分離例が報告されており、環境中に広く拡散しているタイプと考えられ、シカおよびイノシシが保有する株を原因とする薬剤耐性菌感染症の発生リスクは低いと予測される。これらの病原菌が、いつ、どこで、どの程度野生動物環境中に拡散するか、今後も継続的なモニタリングが必要である。

A. 研究目的

野生鳥獣由来食肉による食中毒発生を防止するためには、食中毒細菌の野生鳥獣における汚染、及び処理・加工段階での汚染、それぞれの過程における状況の汚染状況の把握が重要である。ブドウ球菌食中毒の主な原因菌である黄色ブドウ球菌は温血動物の常在菌として知られており、野生鳥獣由来食肉においても例外ではない。しかし、野生鳥獣をはじめとした環境中における本菌の分布や疫学的情報は非常に限られている。

また近年、グラム陰性菌による感染症の治療において重要なカルバペネム系抗菌薬

を分解するカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）が国際的に警戒されている。本耐性遺伝子は水平伝達され易く、多くの variant が存在し薬剤感受性が異なる表現型を有するものが存在する。CRE 感染症患者からの臨床分離株の疫学的及び遺伝学的解析は数多く報告され、その特徴が把握されつつある。しかし、本耐性遺伝子の由来や野生鳥獣を含む環境中に存在する腸内細菌科細菌の汚染状況に関する報告は少ない。

本年度は、シカおよびイノシシの糞便試料からの黄色ブドウ球菌並びに β ラクタム

系抗生物質耐性腸内細菌科細菌 (CRE を含む) の分離並びに各種遺伝子型の調査を実施し、これら野生獣における汚染状況をするを目的とした。

B. 研究方法

1) 糞便試料

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獣 (シカ及びイノシシ) から糞便を回収した。なお、本工程は、同事業の分担研究者である日本大学生物資源科学部 壁谷英則教授並びに研究協力者である宮崎大学農学部 入江隆夫准教授のご協力を頂いた。また、市街地で交通事故死し、動物火葬場に運び込まれたシカから採取した糞便も調査の対象とした。

2) 糞便試料からの黄色ブドウ球菌の分離

図 1 に示すフローチャートに従って行った。なお、本法は一般的な食中毒検査におけるヒトの糞便からの黄色ブドウ球菌の分離法に準拠した方法である (鈴木, 臨床検査. 66 : 64-72, 2022.)。

3) 糞便試料からの薬剤耐性菌の分離

図 2 に示すフローチャートに従って行った。なお、本法は我々が報告した下水からの薬剤耐性菌の分離法に準拠した方法である (Suzuki et al., mSphere. 4:e00391-19, 2019.)。

4) 薬剤感受性試験 (ディスク拡散法)

BD センシ・ディスク (Becton Dickinson) を用い、添付マニュアルに従って実施した。

5) 分離菌株の全ゲノム解析

分離菌株を BHI 液体培地で一晩培養し、DNeasy Blood & Tissue Kits (QIAGEN) を用いてゲノム DNA (gDNA) を抽出した。それぞれの gDNA について、Nextera XT DNA Library Prep Kit (Illumina) を用いてシークエンス用ライブラリを作製した。MiSeq もしくは iSeq (Illumina) シークエンスシステムを用

いて、ショートリードの全ゲノムデータを取得した。

6) *In silico* 解析

得られたペアエンドのリードデータを CLC Genomics Workbench (QIAGEN)、PubMLST (<https://pubmlst.org/>) 並びに Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.cbs.dtu.dk/services>) にインポートし、各菌株の Multilocus sequence typing (MLST) 法に沿った ST 型の決定、k-mer 系統樹解析、毒素遺伝子、薬剤耐性遺伝子の探索を行った。

C. 研究結果

1) 野生獣糞便検体からの黄色ブドウ球菌の分離率 (表 1)

日本全国 18 道府県のシカ糞便 237 検体中 11 検体から黄色ブドウ球菌が分離され陽性率は 4.6%であった。イノシシ糞便においては、72 検体中 1 検体のみ (1.4%) から黄色ブドウ球菌が分離された。本年度の興味深い結果として、①黄色ブドウ球菌はイノシシ糞便よりシカ糞便から高率に分離されること、②青森県の市街地で交通事故死したシカから高率に (3 検体/5 検体 : 60%) 分離されることがあげられた (表 1)。

2) 野生獣糞便検体からの β ラクタム系抗生物質耐性腸内細菌科細菌の分離率 (表 2)

上記と同一の糞便検体を用いて β ラクタム系抗生物質耐性腸内細菌科細菌の分離を行った。全 309 検体において CRE は検出されなかった。一方で、セフトキシムに耐性を示し基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (Extended spectrum beta-lactamase: ESBL) 産生菌だと疑われる株が、シカ糞便 237 検体中 7 検体 (3.0%) から、イノシシ糞便においては、72 検体中 15 検体 (21.0%) からそれぞれ分離された。本年度の興味深い結果として、①耐性菌はシカ糞便よりイノシシ糞便から高率に分離されることがあげられた (表 2)。

3) 分離した薬剤耐性腸内細菌科細菌の薬剤感受性試験 (表 3)

2) で分離された 24 菌株の内、22 菌株について 14 種類の β ラクタム系抗生物質の薬剤感受性試験を行った。全ての株においてペニシリン系薬剤 (ペニシリン、アンピシリン、アモキシシリン、オキサシリン) に対して耐性を示し、カルバペネム系薬剤 (イミペネム、メロメネム、ドリペネム) に対して感受性を示した。また、セフェム系のセフトジジム及びモノバクタム系のアズトレオナムについては一部の株で感受性を示す株が存在したが、多くの株はこれらの薬剤を含むセフェム系、モノバクタム系薬剤に対して耐性を示した (表 3)。

4) 分離した黄色ブドウ球菌の遺伝学的特性 (表 4)

分離した 11 菌株の全ゲノム解析を行い、各菌株の ST 型の決定、毒素遺伝子、薬剤耐性遺伝子の探索を行った結果を表 4 に示す。それぞれの分離菌株の ST 型は ST1250 が 3 株、ST133 及び ST188 が各 1 株、残り 7 株は既報の ST 型に分類されない未報告の ST 型であった。これらについて最も近縁な ST 型を表 4 に示したが、SA21D62 株は既報の ST 型とは 3 遺伝子座 (/7 遺伝子座) だけが重複し、他の座位は異なることが明らかとなった。食中毒の原因毒素であるエンテロトキシン遺伝子は、SA21D82 株 (*sei*, *sem*, *sen*, *seo*, *selu*) 及び SA22D23 株 (*sem*, *sen*, *seo*) のみ保有していたが、古典的 SE 遺伝子 (*sea-see*) を保有する株は存在しなかった。また、今回の分離菌株は、多くの黄色ブドウ球菌クローンが保有する hemolysin (*hlgA*, *hlgB*, *hlgC*) や leukocidin (*lukD*, *lukE*) を除いて、他の毒素遺伝子に関してもその保有が認められなかった。

SA21D82 株はアミノグリコシド耐性遺伝子の一つである *aph(3')-Ia* を保有していたが、その他の株では既報の薬剤耐性遺伝子を保有しなかった。また、全ての株でメチシリン耐性に関与する遺伝子 *mecA* を持つ

SCCmec は存在せず、MRSA は分離されなかったと考えられる。

5) 分離した薬剤耐性腸内細菌科細菌の遺伝学的特性 (図 3)

3) で使用した 22 菌株の全ゲノム解析を行い、各菌株の ST 型、cgST 型の決定、k-mer 系統樹解析、薬剤耐性遺伝子の探索を行った結果を図 3 に示す。K-mer 頻度 (K=16 mer) を用いて作成した系統樹では、分離菌株はそれぞれ ST212、ST10、ST38 を中心とする 3 つのクラスターに分類された。また、薬剤耐性遺伝子は計 31 種類検出され、2 種類の耐性遺伝子しか持たない株から 22 種類の耐性遺伝子を持つ株まで様々であった。いずれの菌株も少なくとも 1 種類の β ラクタマーゼ遺伝子を保有し、*bla_{CTX-M-15}* 保有株が 10 株 (うち 7 株は *bla_{TEM-1B}* も併せて保有)、*bla_{CTX-M-55}* 保有株が 8 株 (うち 1 株は *bla_{TEM-1A}* も併せて保有) 存在した。しかし、genotype と薬剤耐性遺伝子の保有に明確な関連性は見出されなかった。

D. 考察

1) 黄色ブドウ球菌によるリスクについて

黄色ブドウ球菌はイノシシ糞便よりシカ糞便から高率に分離された。これは、イノシシとシカの食性の違いにより、常在細菌叢への影響が原因と考えられる。

市街地のシカ糞便からは高率に分離されることが示唆された。ST 型を比較すると、市街地で死亡したシカ糞便由来株の ST 型はネコなど他の動物からの分離例がある ST1250 が分離されていたが、狩猟等で捕獲されたシカ糞便由来株の多くは、これまでに報告のない ST 型であった。すなわち、市街地に生息するシカは他の温血動物に由来する株を保菌する可能性がある一方で、山野に生息する個体にはその動物種独自の黄色ブドウ球菌クローンが存在する可能性が考えられる。

食中毒の原因毒素であるエンテロトキシン遺伝子を保有する株が 2 株分離された。いずれも、新型エンテロトキシンに分類さ

れるもので、一般的に菌からの産生量が少ないタイプであり、食中毒事例の原因毒素となることが古典的エンテロトキシンと比較して少ないことが知られている。すなわち、今回の分離菌株においては食中毒のリスクは低いと推測される。

薬剤耐性遺伝子は、ほぼ検出されなかった。これは、ヒトの臨床現場で大きな問題になっている MRSA 等の薬剤耐性黄色ブドウ球菌が野生鳥獣の環境にはまだ拡散していないことを示唆している。

2) 薬剤耐性菌によるリスクについて

CRE は分離されなかった。ヒトの臨床現場で大きな問題になっている CRE が野生鳥獣の環境にはまだ拡散していないことを示唆している。

CTX 耐性の腸内細菌科細菌が 7%程分離され、シカ糞便よりイノシシ糞便から高率に分離された。これは、雑食性のイノシシの方が薬剤耐性腸内細菌科細菌を接種する機会が多いためであると考えられる。

いずれの菌株も少なくとも 1 種類の β ラクタマーゼ遺伝子を保有し、*bla*_{CTX-M-15}、*bla*_{CTX-M-55} が多数を占めた。これら 2 つの遺伝子は、中国やヨーロッパにおいて野生鳥獣からの分離例が報告されており、世界中に広く拡散しているタイプの耐性遺伝子であることが考えられる。

genotype と薬剤耐性遺伝子の保有、あるいは分離地域の間には明確な関連性は見出されなかった。

E. 結論

1) 野生獣糞便から黄色ブドウ球菌の分離を行なった。糞便中に黄色ブドウ球菌が存在するということは、解体作業中に食肉も汚染される可能性があると考えられるので、食中毒の危険を予測する上で非常に有用であると考えられる。

2) 特に市街地のシカにおいて高率に分離されることが示唆された。市街地に生息するシカは他の温血動物に由来する株を保菌す

る可能性があり、これが食中毒原性の高い株の場合のことを考えて食中毒リスクを考慮する必要である。

3) 狩猟等で捕獲されたシカ糞便由来株の ST 型の多くが未報告であったことから、山野に生息する個体にはその動物種独自の黄色ブドウ球菌クローンが存在する可能性が考えられる。一方で、市街地に生息するシカは他の温血動物に由来する株を保菌する可能性がある。

4) エンテロトキシン遺伝子保有状況に着目すると現時点での分離菌株における食中毒発生のリスクは低いと推測されるが、継続的なモニタリングが必要である。

5) CRE は分離されなかったことから、野生鳥獣の環境にはまだ拡散していないことが示唆された。また、セフェム系薬剤耐性腸内細菌科細菌の β ラクタマーゼ遺伝子の保有状況に着目すると環境中に広く分布している *bla* のみ検出された。以上より、現時点では、野生獣が保有する株を原因とする薬剤耐性菌感染症の発生リスクは低いと予測されるが、いつ、どの程度拡散するか分からないため、継続的なモニタリングが必要である。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Morita S, Sato S, Maruyama S, Nagasaka M, Murakami K, Inada K, Uchiumi M, Yokoyama E, Asakura H, Sugiyama H, **Takai S**, Maeda K, Kabeya H. Whole-genome sequence analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 strains isolated from wild deer and boar in Japan. *J Vet Med Sci*. 2021. 83:1860-1868.

2) Morita S, Sato S, Maruyama S, Miyagawa A, Nakamura K, Nakamura M, Asakura H, Sugiyama H, Takai S, Maeda K, Kabeya H. Prevalence and whole-genome sequence analysis of *Campylobacter* spp. strains isolated from wild deer and boar in Japan. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2022. 82:101766.

17 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) 高井伸二, 斑目広郎, 佐々木由香子, 鈴木康規, 角田 勤. 家畜・伴侶動物・野生動物のロドコッカス・エクイ感染症. *日獣会誌*. 2021. 74:695-706.

4) 高井伸二. わが国における野生動物と家畜伝染病, *家畜衛生学雑誌*. 2021. 47:53-62.

5) 鈴木康規. ブドウ球菌食中毒に関する最近の動向とその検査法. *臨床検査*. 2022. 66:64-72.

2. 学会発表

講演会

高井 伸二 「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理」野生鳥獣処理活用技術者研修会 農林水産省令和 3 年度利活用技術育成研修事業 岩手県盛岡市 2021 年 9 月 13 日

高井 伸二 「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理」野生鳥獣処理活用技術者研修会 農林水産省令和 3 年度利活用技術育成研修事業 島根県浜田市 2021 年 10 月 27 日

高井 伸二 「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理」野生鳥獣処理活用技術者研修会 農林水産省令和 3 年度利活用技術育成研修事業 Web 開催 2022 年 1 月 22 日

高井 伸二 「ジビエと家畜伝染病 ～野生鳥獣を取り巻く 30 年～」令和 3 年度食品安全に係る科学セミナー（第 5 回）農林水産省消費・安全局 2022 年 2 月

表1 野生獣糞便からの黄色ブドウ球菌の分離結果

動物種	陽性数 (%)	内訳 都道府県 (検体数：由来)	菌株名
シカ	11/237(4.6%)	青森 (3検体：交通事故死)	SA21S1, SA21S2, SA21S5
		岩手 (1検体：猟友会)	SA22D4
		群馬 (1検体：猟友会)	SA21D62
		静岡 (1検体：畜産協会)	SA22D23
		奈良 (3検体：畜産協会)	SA21D57, SA21D63, SA21D82
		宮崎 (2検体：畜産協会、猟友会)	SA21D112, SA22D43
イノシシ	1/72(1.4%)	岡山 (1検体：猟友会)	SA22B2

表2 野生獣糞便からのセフトキシム耐性腸内細菌科細菌の分離結果

動物種	陽性数 (%)	内訳 都道府県 (検体数: 由来)	菌株名
シカ	7/237(3.0%)	青森 (1検体: 畜産協会)	EC21D158
		大阪 (4検体: 畜産協会, うち1検体から2種類の耐性菌を分離)	EC21D90, EC21D93, EC21D96, EC21D103①②
		大分 (2検体: 畜産協会)	EC21D54, EC21D79
イノシシ	15/72(21.0%)	山形 (1検体: 畜産協会)	EC21B27
		奈良 (2検体: 畜産協会)	EC21B23, EC21B46
		岡山 (1検体: 猟友会)	EC22B2
		大分 (10検体: 畜産協会, うち1検体から2種類の耐性菌を分離)	EC21B12①②, EC21B18, EC21B19, EC21B22, EC21B28, EC21B29, EC21B32, EC21B39, EC21B42, EC21B44
		熊本 (1検体)	EC21B33

表3 分離菌株の薬剤感受性試験

分離地域	ペニシリン系				セフェム系						カルバペネム系			モノバクタム系
	P10	AM10	AMX25	OX1	CZ30	CTX30	CF30	CAZ30	CRO30	CPD10	IPM10	MEM10	DRI10	ATM30
EC21B12B	大分	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21B12P	大分	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21B18	大分	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	S	I
EC21B19	大分	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	S	R
EC21B22	大分	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	S	R
EC21B23	奈良	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21B27	山形	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21B28	大分	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	S	R
EC21B29	大分	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	S	R
EC21B32	大分	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	S	R
EC21B33	熊本	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21B39	大分	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R
EC21B42	大分	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	S	S
EC21B44	大分	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	I
EC21B46	奈良	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21D54	大分	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21D79	大分	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	S	R
EC21D90	大阪	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21D93	大阪	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21D96	大阪	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
EC21D103B	大阪	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	S	S	I
EC21D103P	大阪	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R

R : 耐性、I : 中間、S : 感受性

表4 分離した黄色ブドウ球菌の遺伝学的特性

菌株名	分離地域	MLST	Enterotoxin gene	Other virulence gene	Resistance gene	Sccmec
SA21S1	青森	Unreported (Nearest ST2963)	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No
SA21S2	青森	ST1250	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No
SA21S5	青森	ST1250	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No
SA21D57	奈良	ST188	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No
SA21D62	群馬	Unreported	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No
SA21D63	奈良	Unreported (Nearest ST1359)	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No
SA21D82	奈良	Unreported (Nearest ST350)	<i>sei, sem, sen, seo, selu</i>	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	aph(3')-la (aminoglycoside)	No
SA21D112	奈良	ST1250	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No
SA22D4	岩手	Unreported (Nearest ST1359)	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No
SA22D23	静岡	Unreported (Nearest ST6238)	<i>sem, sen, seo</i>	<i>hlgA, hlgB, hlgC</i>	No	No
SA22D43	宮崎	Unreported (Nearest ST482)	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No
SA22B2	岡山	ST133	No	<i>hlgA, hlgB, hlgC, lukD, lukeE</i>	No	No

図1 黄色ブドウ球菌の分離方法

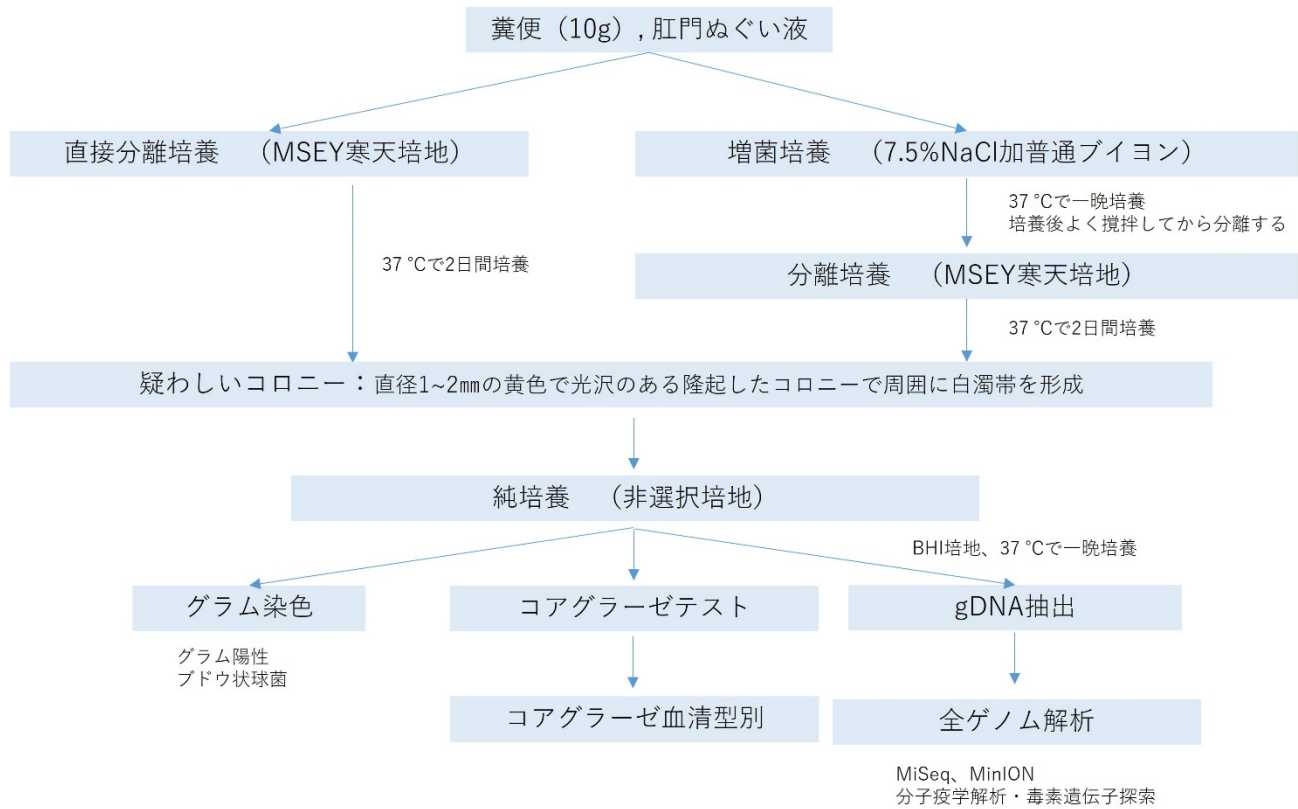


図2 薬剤耐性菌の分離方法

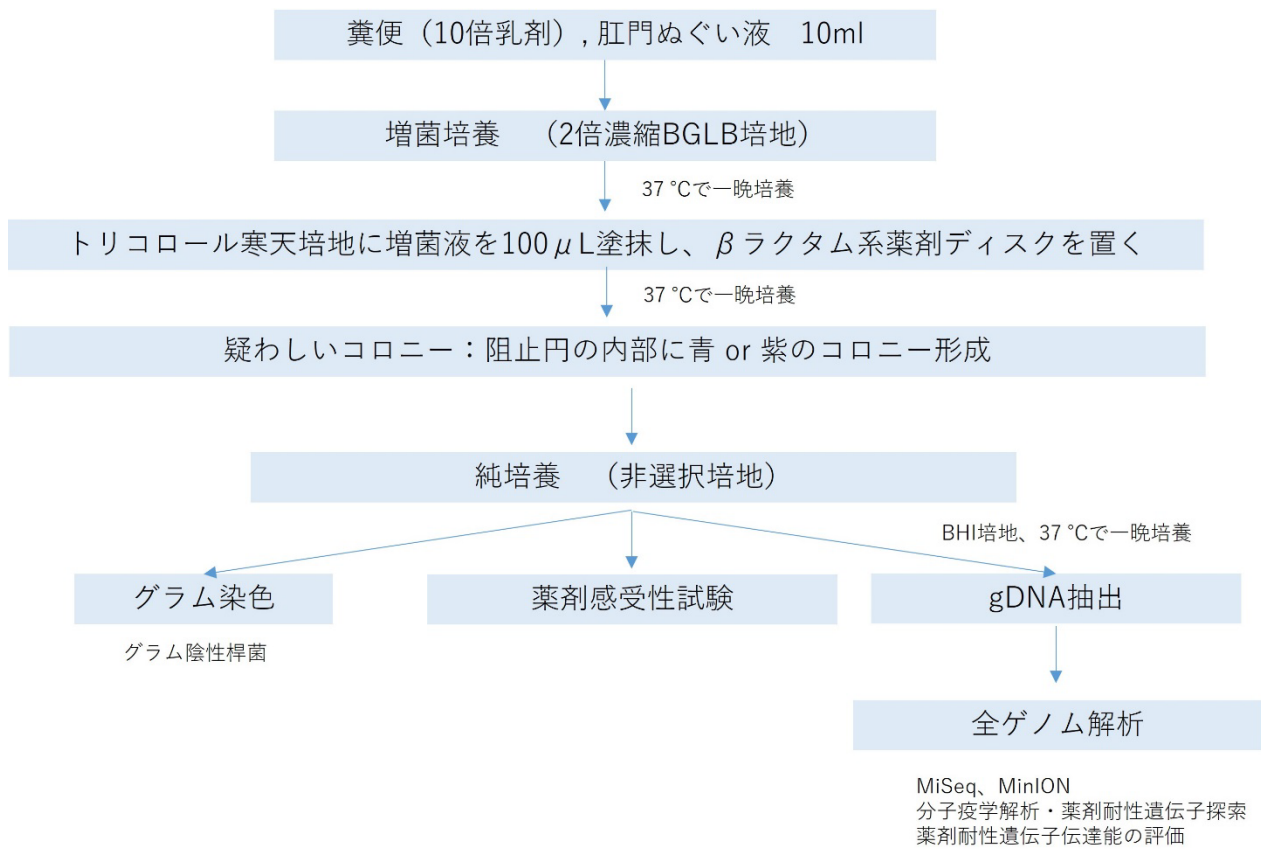
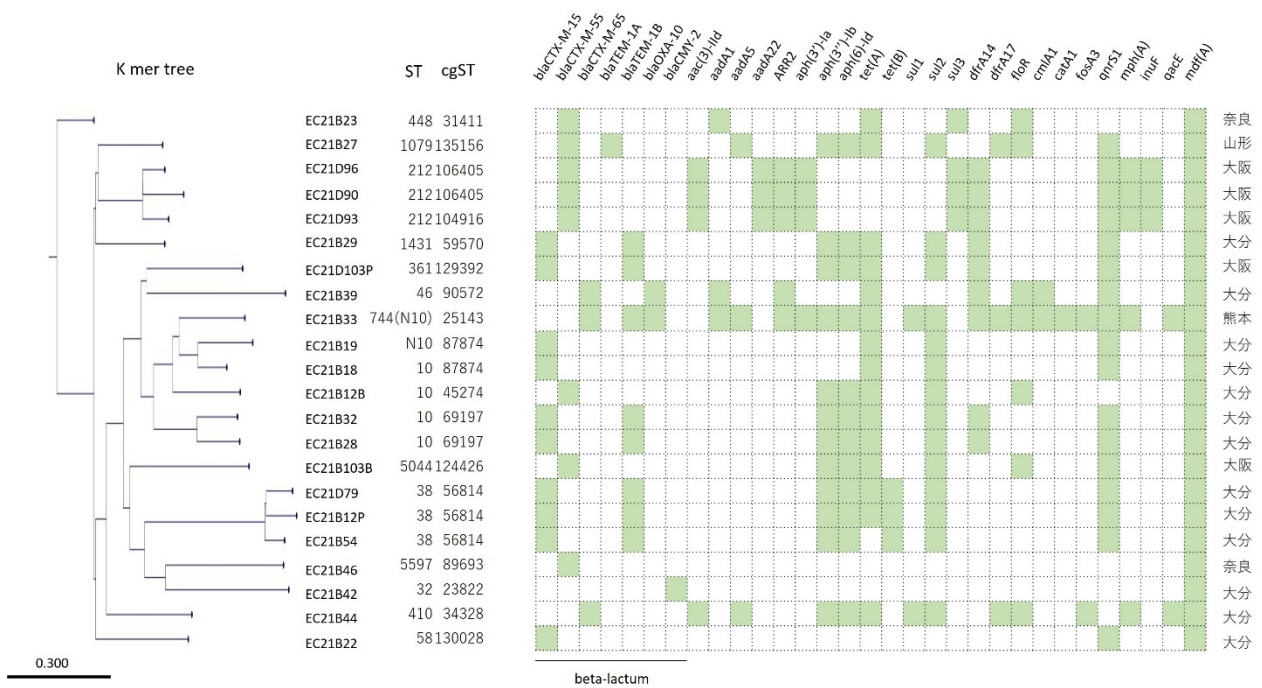


図3 薬剤耐性菌の遺伝学的特性



緑：保有している薬剤耐性遺伝子

令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する
研究」
分担研究報告書

野生鳥獣由来食品の製造加工、調理段階における衛生管理に関する研究
～アナグマ等の小型野生鳥獣由来食肉製品の衛生実態～

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
	平井和也	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	有田佳子	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	山田 研	辻調理師専門学校
	迫井 千晶	エコール辻東京
	秋元真一郎	エコール辻東京

研究要旨：これまで流通量の多いシカ肉及びイノシシ肉における衛生管理の向上に向けたデータは集積されてきたが、国内で捕獲、解体処理、加工を受けて食用に提供される野生鳥獣由来食肉には小型獣肉も含まれることを踏まえ、本年度はアナグマ食肉製品を対象とした衛生実態の調査を開始した。アナグマ食肉製品計 63 検体を対象とした調査の結果、製造加工施設間で糞便汚染指標菌の菌数分布に大きな多様性が認められたほか、同指標菌が多く検出された施設由来検体の多くからは腸管病原性大腸菌（EPEC）由来遺伝子である *eae* が高頻度に検出され、同遺伝子陽性大腸菌が分離された。菌叢解析を通じ、高い糞便汚染指標菌数を示す検体の多くは低温細菌の占有率が高い状況にあった。最も衛生状況の良好な施設の視察を通じ、同施設では捕獲から出荷時までがトレースできる衛生管理体制が整えられ、加工後には速やかに急速凍結処理を行い、冷凍で流通させている実態が確認された。衛生状況の良好な施設で加工された同一ロットのアナグマ食肉検体を急速冷凍、或いは冷蔵状態で 2 日間または 5 日間保存させた後、衛生状況を比較したところ、5 日間冷蔵保存させた検体では *Pseudomonas* spp. 等の低温細菌の占有率が有意に上昇する事象が確認され、処理加工工程での衛生管理に加え、加工後は急速冷凍させるか、冷蔵温度帯で保管流通する場合には期限に留意する必要性が提起された。また、市販されるアナグマ枝肉 2 頭を対象に、各部位の微生物検出状況を確認したところ、開復部周囲では背部等に比べて糞便汚染指標菌数が相対的に高い状況が確認されたほか、上述の食肉製品と同様に *eae* 陽性大腸菌並びにサルモネラ属菌が分離された。次年度にはこれらの病原性が疑われる分離菌株の特性解析、並びにアナグマ糞便検体からの病原菌検出試験を行う等して、アナグマ食肉の衛生確保に際し留意すべき危害要因の特定にあたりたい。また、衛生管理実態を更に精査することで、衛生管理ガイドラインの改良に向けて必要となる事項の抽出を行う予定である。

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ないため、自然保有する病原体の種類や分布等に

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てきた。一方で、野生鳥獣由来食肉として国内に流通する食肉製品には鹿肉や猪肉以外の小型野生鳥獣由来食肉も多数含まれている。これらの加工調理段階における生物的危害要因の管理にあたっては、まず当該食肉に潜在的に含まれる危害要因を把握することが必要との観点から、本分担研究では当該食肉製品を対象に微生物学的検出状況を把握することを目的として検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. 野生鳥獣由来食肉検体

本研究では、国内で捕獲、解体処理、加工された小型野生鳥獣由来食肉製品のうち、特に情報が乏しいアナグマ食肉製品を対象とした。アナグマについては、食肉製品に加え、枝肉を入手し、以下の微生物試験等に供した。いずれも入手時には冷凍状態であり、冷蔵温度帯で自然解凍させた後に、試験に供した。

2. 検体調整及び衛生指標菌定量検出試験

検体 25g を採材し、225 mL の緩衝ペプトン水 (ISO 処方) に加え、1 分間ストマッキング処理を行った。その後、同懸濁液及び 10 倍乳剤各 1mL を標準

寒天培地、VRBG 寒天培地、TBX 寒天培地及びBaired-Parker 寒天培地に混釈法により接種し、ISO 法で規定される各条件に従い、培養並びに必要な応じ確認試験を行い、検体 1g あたりの各衛生指標菌数を求めた。

また、アナグマ枝肉については、厚生労働省通知「と畜検査員及び食鳥検査員による HACCP 外部検証の実施について」(生食発 0528 第 1 号、令和 2 年 5 月 28 日付) 別添において示される切除法を用いて、枝肉につき 9 部位をそれぞれ 25cm² ずつ採取し、上述の食肉製品と同様の項目からなる微生物試験に供することで切除部位 1cm² あたりの検出成績を求めた。

いずれも不検出となった検体の成績には、1/2 LOD を採用した。

3. 病原細菌のスクリーニング試験

3.1. STEC 及びサルモネラ属菌

上記 2. で調整した検体懸濁液を 37°C にて 20 時間培養後、同培養液を鋳型として、病原菌自動検出システム (MDS) (3M) を用いて、志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 由来の *stx*、*eae* 両遺伝子及びサルモネラ属菌由来遺伝子の検出を行った。サルモネラ属菌由来遺伝子陽性検体については培養液を CHROMagar Salmonella (CHROMagar) 上に塗抹・培養し、発育した定型集落を確認試験に供することで標的菌を分離した。

3.2. リステリア・モノサイトゲネス

各検体 25 g をデミフレーザー培地 225mL に懸濁し、1 分間ストマッキング処理を行った後、37°C にて 24 時間培養を行った。同培養液を鋳型として、病原菌自動検出システム (MDS) を用いてリステリア・モノサイトゲネス由来遺伝子の検出を行った。

4. DNA 抽出

上項 2 で調整した検体懸濁液 1mL より Maxwell RSC DNA blood kit (Promega)を用いて、DNA 抽出を行った。

5. 菌叢解析

上項 4 で調整した DNA を鋳型として、バーコード配列を含むプライマーセットを用いて 16S rRNA V6-V7 領域遺伝子を増幅させた。精製・定量後、これらを等量混合し、Ion Torrent PGM システムに供し、amplicon 配列を取得した。得られた配列データより、プライマー配列を含む不要配列を除去した後、DADA2 を用いて、1 検体あたり 50,000 reads となるよう、平衡化を行い、taxonomical classification を行った。

6. 保存試験

微生物検出成績が最も良好であったアナグマ食肉検体を加工していた施設の協力を得て、当該施設で加工直後の同一ロットのアナグマ食肉製品を①急速冷凍処理、②2 日間冷蔵保存処理、③5 日間冷蔵保存処理を行い、処理後はいずれも急速冷凍させ、冷凍温度帯のまま当所へ輸送した。これらを上項 2 及び 3 で示す微生物試験及び上項 5 に示す菌叢解析にそれぞれ供した。

C. 結果

1. アナグマ食肉製品における衛生指標菌の検出状況 (図 1)

本研究では 4 施設 (A~D) で製造加工されたアナグマ食肉製品 63 検体を対象として、衛生指標菌定量検出試験を行った。試験項目別の結果を以下に記す。

(i) 一般生菌数

アナグマ食肉製品検体全体の一般

生菌数平均±SD 値は $3.79 \pm 1.86 \log \text{CFU/g}$ であった。施設別では、施設 A 由来 30 検体の平均±SD 値は $2.64 \pm 1.11 \log \text{CFU/g}$ 、施設 B 由来 6 検体の平均±SD 値は $5.17 \pm 0.72 \log \text{CFU/g}$ 、施設 C 由来 18 検体の平均±SD 値は $3.69 \pm 1.46 \log \text{CFU/g}$ 、施設 D 由来 9 検体の平均±SD 値は $6.89 \pm 0.57 \log \text{CFU/g}$ となり、施設 A 由来検体の菌数は施設 B 及び D 由来検体のそれに比べて、有意に低く、施設 C 由来検体の菌数は施設 D 由来検体のそれに比べて有意に低い状況であった。

(ii) 腸内細菌科菌群

アナグマ食肉製品検体全体の腸内細菌科菌群平均±SD 値は、 $1.53 \pm 1.55 \log \text{CFU/g}$ であった。腸内細菌科菌群の平均±SD 値を施設別に確認したところ、施設 A 由来検体では、30 検体中 8 検体抛り当該指標菌が検出され、平均±SD 値は $0.68 \pm 0.69 \log \text{CFU/g}$ であった。また、施設 B 由来検体では、6 検体全てが陽性となり、平均±SD 値は $3.42 \pm 1.74 \log \text{CFU/g}$ であった。施設 C 由来検体では、18 検体中 10 検体が陽性となり、平均±SD 値は $2.19 \pm 1.86 \log \text{CFU/g}$ であった。施設 D 由来検体では、9 検体中 7 検体が陽性となり、平均±SD 値は $1.77 \pm 1.13 \log \text{CFU/g}$ であった。本指標菌の菌数分布は、施設 A 由来検体が施設 B 及び C 由来検体に比べ、有意に低い値を示した。

(iii) 大腸菌

アナグマ食肉製品検体全体の大腸菌数平均±SD 値は、 $0.99 \pm 1.33 \log \text{CFU/g}$ であった。施設別では、施設 A 及び D 由来のすべての検体は大腸菌不検出であった一方、施設 B、C 由来検体では、それぞれ 6 検体中 4 検体、18

検体中 9 検体が陽性を示し、それぞれの最大菌数は、施設 B 由来検体では $4.69 \log \text{CFU/g}$ 、施設 C 由来検体では $4.72 \log \text{CFU/g}$ であった。施設間での菌数分布は、施設 A 及び D 由来検体が施設 B 及び C 由来検体に比べ、有意に低い状況であった。

(iii) 黄色ブドウ球菌

アナグマ食肉製品検体全体での黄色ブドウ球菌の平均±SD 値は $1.07 \pm 1.10 \log \text{FU/g}$ であった。施設別では、施設 A 由来検体では 30 検体中 11 検体が陽性を示し、平均±SD 値は $0.92 \pm 0.82 \log \text{CFU/g}$ であった。施設 B 由来検体は 6 検体中 3 検体で陽性を示し、平均±SD 値は $1.10 \pm 0.91 \log \text{CFU/g}$ であった。施設 C 由来検体は 18 検体中 8 検体が陽性を示し、平均±SD 値は $1.61 \pm 1.57 \log \text{CFU/g}$ であった。施設 D 由来検体は 9 検体中 3 検体が陽性を示し、平均±SD 値は $0.50 \pm 0.24 \log \text{CFU/g}$ であった。施設ごとの最大菌数を確認したところ、施設 A 由来検体では $2.40 \log \text{CFU/g}$ 、施設 B 由来検体では $2.32 \log \text{CFU/g}$ 、施設 C 由来検体では $3.94 \log \text{CFU/g}$ 、施設 D 由来検体では $1.00 \log \text{CFU/g}$ であった。黄色ブドウ球菌の菌数分布については施設間で有意差は認められなかった。

2. 病原細菌の検出状況

アナグマ食肉製品計 63 検体は、志賀毒素産生性大腸菌 (STEC)、サルモネラ属菌、及びリステリア・モノサイトゲネスのいずれも陰性を示した。一方、STEC スクリーニングにおいて用いた *eae* 遺伝子は施設 B 由来の 6 検体中 5 検体、施設 C 由来の 18 検体中 9 検体の計 14 検体より検出され、最終的に施設 B 由来 3 検体と施設 C 由来の 2 検体より *eae* 陽性大腸菌が検出された。

以上の結果より、高菌数の大腸菌汚染を受けたアナグマ食肉製品検体では *eae* 陽性大腸菌が検出される状況が確認された。

3. アナグマ食肉における菌叢比較解析

アナグマ食肉検体については衛生指標菌数分布が施設間で顕著な差異を示したことを受け、計 54 検体より DNA を抽出し、菌叢比較解析を行った。結果として、施設 A 由来検体の構成菌叢は他施設由来検体に比べ、相対的に多様性に富む状況が確認された (図 2)。施設 B—D 由来検体における優勢菌群としては、*Enterobacteriaceae* のほか、*Pseudomonadaceae* であることが確認されたほか、特に施設 B 由来検体では *Enterobacteriaceae* の占有率が高い状況にあることが確認された (図 2)。

以上の結果より、衛生指標菌定量検出試験において高菌数の糞便汚染指標菌を認めた施設 B 及び C 由来検体では、最も衛生的な結果を認めた施設 A 由来検体に比べ、*Enterobacteriaceae* 並びに *Enterobacteriaceae* の占有率が極めて高い状況にあることが確認された。

4. アナグマ食肉の保存過程における微生物挙動の解析

衛生指標菌定量検出試験及び菌叢解析の結果に基づき、糞便汚染指標菌が多く検出された施設由来検体では、菌叢の単純化が生じていることが確認されたが、このことは、アナグマ食肉のフードチェーンのいずれかの工程での保存温度管理等に何らかの支障が生じていることが推察された。

そこで、最も衛生状況が良好と判断された施設 A 由来のアナグマ食肉製

品を製造加工する施設の協力を得て、同一ロットのアナグマ食肉製品検体を加工後、2日間または5日間冷蔵保存した際の微生物挙動を微生物試験及び菌叢解析を通じて解析した。比較対照には、同施設が通常行っている加工直後に急速冷凍を行った製品検体を置いた。

これらの検体を微生物試験に供した結果、全ての検体で病原細菌は不検出であったが、5日間冷蔵保存した検体は、冷凍或いは2日間冷蔵保存した検体に比べ、生菌数及び黄色ブドウ球菌数の有意な増加を認めた（図 3A）。菌叢解析の結果、冷蔵保存検体は、冷凍保存検体に比べ、低温細菌の占有率が高い状況が確認された（図 3B）。

以上より、アナグマ食肉製品を加工後に冷蔵温度帯で保存・輸送を行う場合には期限設定に注意を要することが確認された。

5. アナグマ枝肉における病原微生物等の検出状況.

アナグマ食肉については、ある施設では枝肉形態でのみ販売が行われていたことから、同2枝肉を対象として、HACCP 外部検証について、厚生労働省通知「と畜検査員及び食鳥検査員による HACCP 外部検証の実施について」(生食発 0528 第1号、令和2年5月28日付) 別添において示される切除法を用いて、枝肉あたり9部位を採材し、微生物試験に供した。表1に示した通り、捕獲以降の保存期間の長いとたいでは、大腸菌はほぼ検出されない状況であったが、もう一方の保存期間の短いとたいでは9部位中6部位から大腸菌が検出され、特に臀部や腹部で相対的に高菌数を示した。

病原細菌のうち、リステリア・モノ

サイトゲネス及び STEC は検出されなかったが、捕獲後保存期間の短いとたいの腹部や胸部からは *eae* 遺伝子が検出され、最終的に2株の *eae* 陽性大腸菌が分離された。また、捕獲後保存期間の長かったとたいの胸部及び臀部からはサルモネラ属菌が検出された。

D. 考察

本研究では、国内で製造加工される小型野生鳥獣由来食肉として、アナグマ食肉製品を対象とした微生物試験を実施し、糞便汚染指標菌の定量的汚染状況は施設間で大きく異なる実態を見出した。

同製品検体は、構成菌叢も施設間で大きく異なり、菌数分布と一定の関連性を認めた。特に、糞便汚染指標菌数が高い施設 B 由来検体では低温細菌を含む *Pseudomonadaceae* の占有率が極めて高い状況が確認されたが、このことは、これらの製造加工施設における衛生管理の不備に加え、製造加工後の製品或いはそれ以前の工程で保存された際の温度条件に課題があったものと推察される。

4 施設のうち、最も衛生状況が良好であった施設 A で同一ロットのアナグマ食肉製品検体を5日間冷蔵保存することで、生菌数は有意な増加を認め、*Pseudomonas* 属菌や *Camobacterium* 属菌等の占有率が増加した事象は、冷蔵保存の過程で、これらが増殖した可能性を示唆していると言える。

また、黄色ブドウ球菌についても、5日間冷蔵保存で菌数の増加を認めたことを踏まえると、衛生的な施設であっても、製造加工されたアナグマ食肉製品の冷蔵保存期限は、より短い日数の設定が妥当と考えられる。なお、施設 A では原則として、製造

加工後の製品は全て急速凍結させ、冷凍温度帯で出荷していた。また、顧客の要望に応じて、冷蔵出荷する場合にも適切な期限を設定していた。

一般的に、家畜由来食肉における低温細菌の存在は、腐敗変敗につながるおそれから、制御には関心が高い事業者が多いと思われるが、野生鳥獣由来食肉における低温細菌の特性については不明な点が多い。これらの特性解析は従ってアナグマ等の小型野生鳥獣由来食肉の衛生管理並びに製品の品質保持の両面に波及される効果が期待される。

なお、アナグマ食肉検体及び同枝肉検体より、*eae* 遺伝子陽性大腸菌株が複数検出分離されたが、仮にこれらが病原性を有するとすれば、アナグマ食肉における危害要因の一つとして、サルモネラ属菌とともに今後リスク管理を行っていくべき対象となるものと想定される。その判断根拠の創出に向け、次年度には分離株の特性解析を進める予定である。

E. 結論

本研究では、アナグマ食肉製品 63 検体を対象とした微生物試験及び菌叢解析を行い、当該小型野生鳥獣由来食肉の衛生状況は製造加工施設間で大きく異なる実態を把握した。また、同食肉製品の潜在的危害要因としては、腸管病原性大腸菌及びサルモネラ属菌を含める必要性が示唆された。保存試験成績から、アナグマ食肉は、加工後速やかに冷凍温度帯で保存・流通させることが安全性確保の観点から有用であることが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

山本詩織、秋元真一郎、迫井千晶、山田研、杉山広、壁谷英則、高井伸二、前田健、朝倉宏. 低温調理による野生鹿肉及び猪肉での中心温度挙動と微生物不活化効果に関する検討. 日本食品微生物学会雑誌. 印刷中.

2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

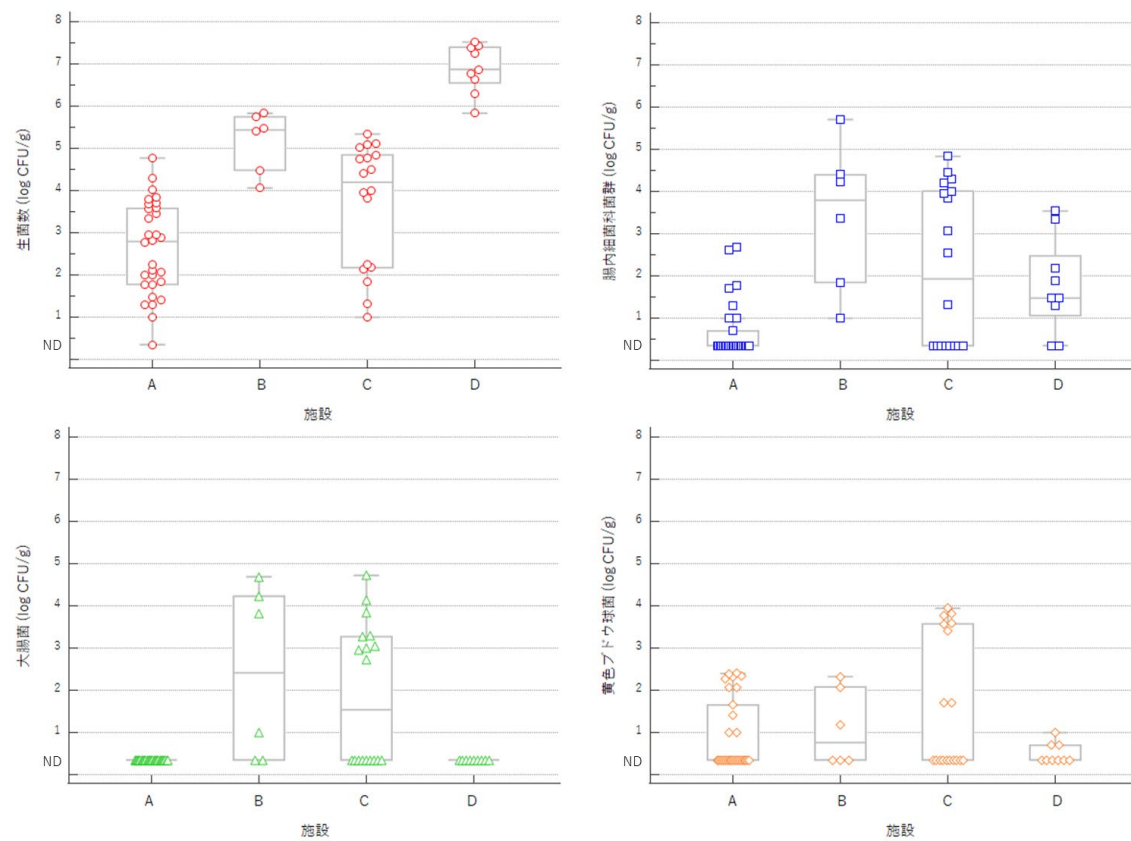


図1. アナグマ食肉製品検体における衛生指標菌分布.

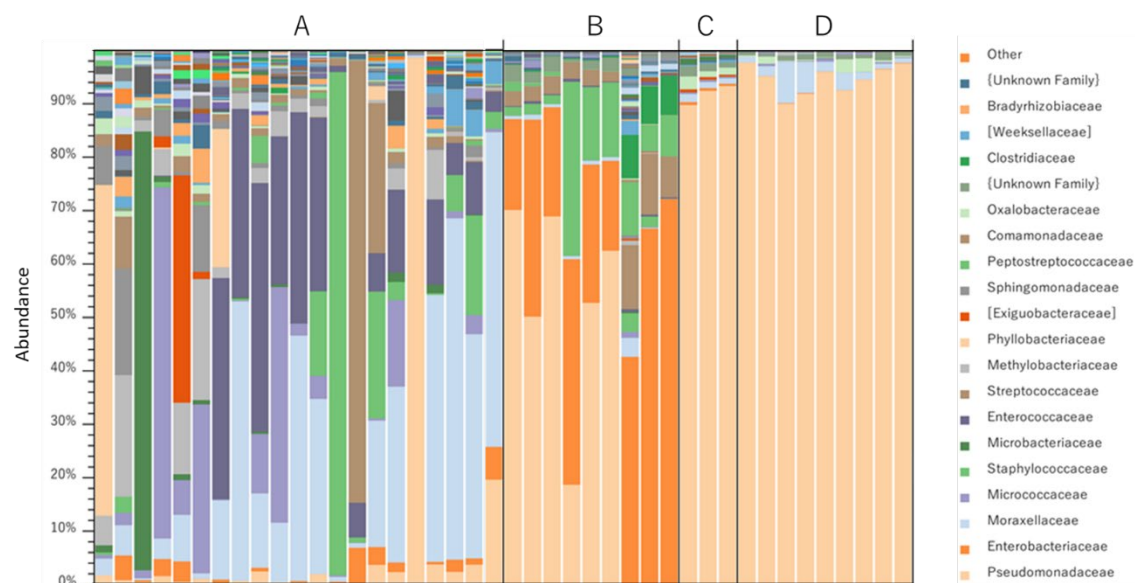
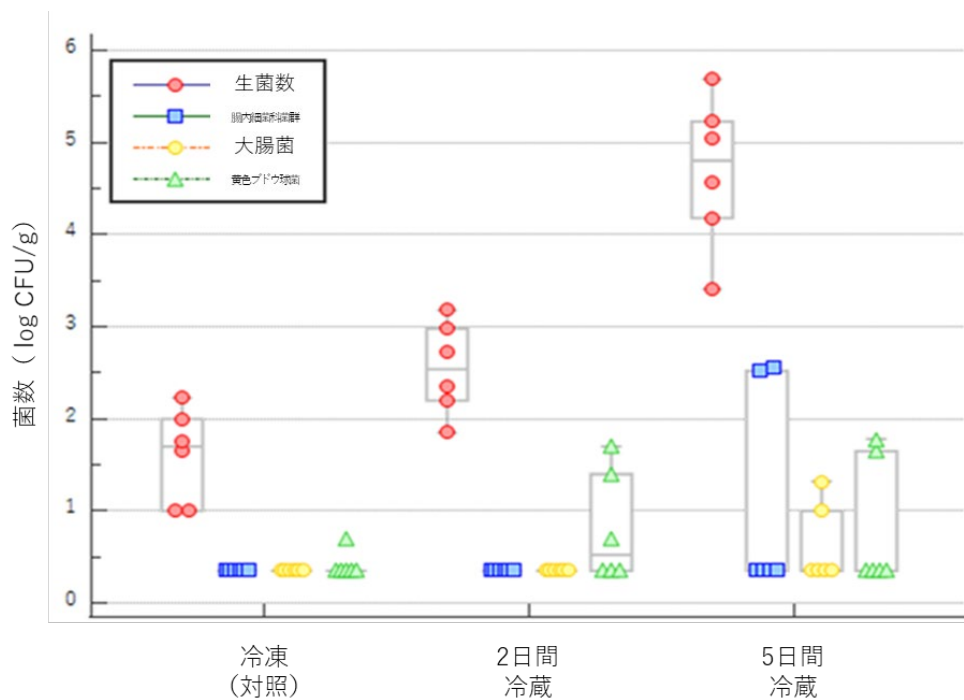


図 2. アナグマ食肉検体における構成菌叢解析結果 (Phylum 階層バーチャート図).

A



B

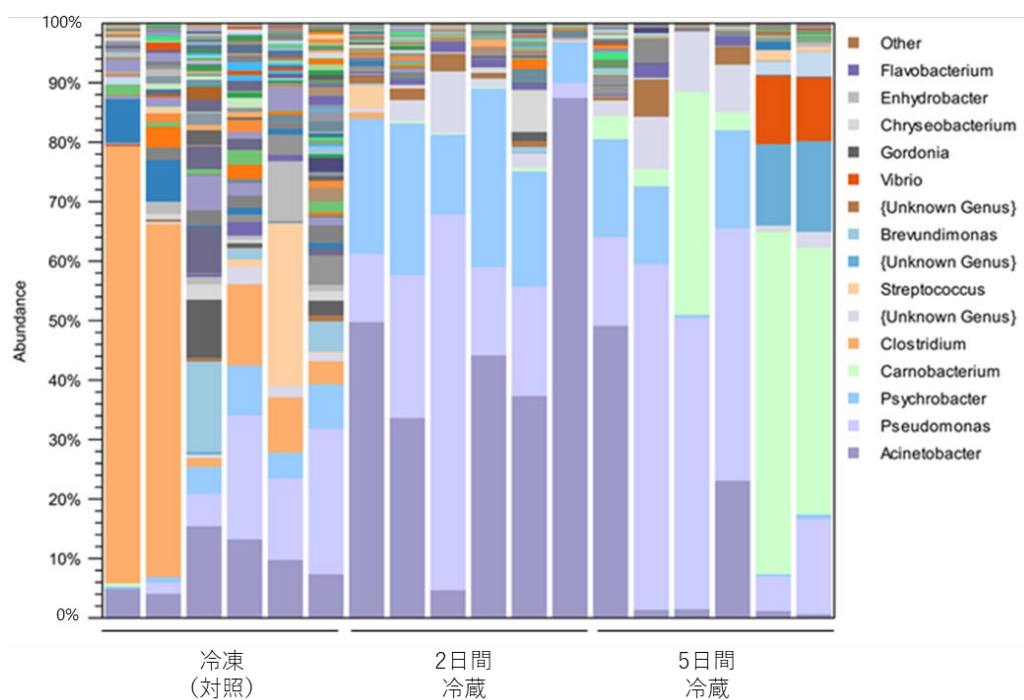


図 3. 加工後の保存条件の違いによる、アナグマ食肉製品検体の微生物学的品質比較.

表 1. アナグマとたい（枝肉）における部位毎の衛生指標菌及び病原細菌検出成績概要.

と た い No.	部位	衛生指標菌数 (log CFU/cm ²)				病原細菌検出成績			
		生菌数	腸内細菌科菌群	大腸菌	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	リステリア・モノサイトゲネス	STEC	
								<i>stx</i>	<i>eae</i>
1	①右胸部	5.0	0.6	0.6	0.6	－	－	－	＋
	②左胸部	5.2	0.6	0.6	1.6	－	－	－	－
	③右腹部	5.6	2.7	0.9	0.6	－	－	－	＋
	④左腹部	5.8	2.6	1.5	1.1	－	－	－	－
	⑤臀部	5.2	2.4	2.6	ND	－	－	－	＋
	⑥右背肩部	3.6	ND	ND	ND	－	－	－	－
	⑦左背肩部	5.2	2.3	0.9	ND	－	－	－	－
	⑧右背腰部	3.5	1.1	ND	ND	－	－	－	－
	⑨左背腰部	3.6	1.2	ND	ND	－	－	－	－
2	①右胸部	5.7	1.2	ND	2.0	＋	－	－	－
	②左胸部	6.3	3.0	ND	2.5	＋	－	－	－
	③右腹部	5.9	1.6	ND	2.8	－	－	－	－
	④左腹部	5.9	2.0	ND	2.8	－	－	－	－
	⑤臀部	5.0	0.6	ND	2.2	＋	－	－	－
	⑥右背肩部	5.3	0.6	ND	2.4	－	－	－	－
	⑦左背肩部	6.2	1.8	ND	2.4	－	－	－	－
	⑧右背腰部	5.0	ND	ND	2.5	－	－	－	－
	⑨左背腰部	5.6	1.3	0.9	2.5	－	－	－	－

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

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

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、山原 絹子、石井 香菜、鈴木 綾乃、田
中 裕梨、大津 千尋（日本大学生物資源科学部獣医学科）

研究要旨

令和 3 年度は、①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、②野生鳥獣肉処理工程において想定される細菌汚染源の細菌叢解析を実施した。

①については、わが国における野生鳥獣処理施設からの継続的な採材に加え、特に「屋外での内臓摘出した検体」からの採材を行い、それぞれの野生鳥獣肉の衛生状態への影響を検討した。本研究事業初年度であることから、検体数が十分ではないため、前事業において実施した全ての拭き取り検査材料の成績を集計し、枝肉の衛生状態に影響を与える処理工程における要因を検討した。わが国の野生鳥獣肉処理施設のうち、鹿 19 施設（本年度 8 施設、内猟師による実施 2 施設）、猪 17 施設（本年度 6 施設、内猟師による実施 2 施設）でそれぞれ処理された洗浄前の鹿枝肉 110 検体（本年度 30 検体、内猟師による実施 15 検体）、および猪枝肉計 68 検体（本年度 22 検体、内猟師による実施 8 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。その結果、1)「剥皮」と「内臓摘出」の作業順別では鹿において、「屋外」で処理されたものは、高度に一般細菌が検出される傾向があること、2) 鹿、猪ともに、剥皮時に「のせ台」を用いた場合には、懸吊する場合に比べ、全ての指標細菌が多く検出された。

②については、わが国の野生鳥獣肉処理施設 A、B で処理された鹿計 3 頭について、各処理工程における作業者、器具、と体等から拭き取りを行い、細菌叢解析を実施した。その結果、①枝肉の細菌叢と類似した特定の細菌叢はない検体や、内臓摘出後の作業者の手指やナイフから犬種写された細菌叢と類似する検体が認められた。②枝肉洗浄前後ではほとんど細菌叢に変化がないこと、③枝肉を汚染した細菌叢の多くは土壌に由来する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。これに対して、国は野生鹿や猪の捕獲を推進し、令和 2 年度の環境省の統計では、鹿 67.5 万頭、猪 67.9 万頭が狩猟、および有害鳥獣捕獲などその他で捕

獲されている。このような捕獲頭数は近年右肩上がりに上昇して推進している。これに伴い、令和 2 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 56.4 億円および 45.5 億円で、近年は減少傾向にある。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、令和2年5月には一部改正し、衛生管理の徹底を推進している。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30-令和2年度本研究事業「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」において、1) 鹿、猪ともに「剥皮」→「内臓摘出」の順で処理された枝肉からは、「内臓摘出」→「剥皮」の順で処理された枝肉に比べ、一般細菌数が多く検出されたこと、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、各種衛生指標細菌数が多く検出されたこと、3) 鹿、猪ともに、剥皮の際に「手剥ぎ」に比べ、「ウィンチ」を用いて行くと、細菌汚染を受けやすいこと、4) 解体処理工程において、搬入前の表皮洗浄は極めて効果的に細菌数を減少させたこと、5) 解体処理工程における細菌汚染源として、表皮、蹄、肛門周囲、胃内容物などが考えられたこと、6) 一連の工程の内、特に、「剥皮工程」、「内臓摘出工程」では、作業者の手指、およびナイフに高度に細菌汚染されることを報告してきた。

上記の通り、一連の作業工程の内、内臓摘出工程は、枝肉への細菌汚染の可能性がたかまり、衛生管理場の重要な工程である。「野生鳥獣肉の衛生管理に関するガイドライン」では、毎年厚生労働省が実施する「野生鳥獣肉の衛生管理等に関する実態調査」の令和2年度の調査では、調査した37自治体のうち、27自治体において、内臓摘出を原則として処理場で行うものの、条件によって屋外で行うことを認めて

いることが報告されている。このように屋外で処理された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、令和3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に加え、屋外で解体処理された枝肉を用いて、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することで、屋外で解体、剥皮、内臓摘出処理された枝肉や、処理場内で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、捕獲から解体処理に至る一連の工程において拭き取りを行い、細菌叢解析を行うことにより、細菌汚染の原因となる工程について検討した。

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

2021年9月～2022年2月の間に、わが国の野生鳥獣肉処理施設鹿19施設（本年度8施設、内猟師による実施2施設）、猪17施設（本年度6施設、内猟師による実施2施設）でそれぞれ処理された洗浄前の鹿枝肉110検体（本年度30検体、内猟師による実施15検体）、および猪枝肉計68検体（本年度22検体、内猟師による実施8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。

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) 処理工程における拭き取り検体を対象とした細菌叢解析

2020 年 10 月～12 月の間に、わが国の野生鳥獣肉処理施設 A、B に搬入された鹿計 3 頭について、止め刺し、表皮洗浄前、表示洗浄後、剥皮後、内臓摘出後、枝肉洗浄前、枝肉洗浄後、において、周辺環境、作業者手指、ナイフ、と体蹄、表皮正中、肛門周囲部、からの拭き取り (100cm²)、ならびに直腸便を採取した。

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。同一の個体の一連の作業工程から採取した各検体間における菌叢構造の類似度を検討するために β 多様性解析を行った。検体間の Unifrac 距離を基に主座標分析 (PCoA) によって 3 次元で表現し、各検体間の菌叢構造の類似度を評価した。

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

剥皮と内臓摘出の作業工程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 (表 1)。その結果、一般細菌数 (胸部: 肛門周囲部, 単位は cfu/cm²) において、「剥皮」→「内臓摘出」では 1.6×10^0 : 1.2×10^0 、「内臓摘出」→「剥皮」では 1.0×10^{-1} : 3.6×10^0 、「屋外」は、 1.1×10^1 : 1.2×10^1 であった。胸部においては、「屋外」は「剥皮」→「内臓摘出」、内臓摘出→「剥皮」に比べ、有意 (それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$) に高値を示した。肛門周囲部でも、「屋外」は「剥皮」→「内臓摘出」に比べ、有意 ($p < 0.01$) に高値を示した。また、その他の指標細菌 (大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌)、では、いずれも有意差は認められなかった。一方、猪では、「剥皮」→「内臓摘出」 (7.1×10^1)、「屋外」 (5.2×10^1) で高値を示す傾向にあったが、有意差は認められなかった (表 2)。その他の衛生指標細菌では、胸部の黄色ブドウ球菌において、「内臓摘出」→「剥皮」 (1.0×10^{-1}) は、「剥皮」→「内臓摘出」 (0.0×10^0) に比べ、有意 ($p < 0.01$) に高値となった。

剥皮施設別では、と体を「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、各衛生指標細菌数の中央値を比較した（表 3、4）。その結果、鹿胸部の一般細菌数（cfu/cm²）において、「のせ台」（ 1.1×10^1 ）と、「屋外」（ 1.1×10^1 ）は、懸吊（ 4.0×10^{-1} ）に比べ、いずれも有意（それぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ ）に高値を示した（表 3）。肛門周囲部のいても、「屋外」（ 1.2×10^1 ）は、「懸吊」（ 1.0×10^0 ）に比べ、有意（ $p < 0.05$ ）に高値を示した。その他の衛生指標細菌では、肛門周囲部の大腸菌、大腸菌群において、「のせ台」（それぞれ 2.0×10^{-1} 、 1.0×10^{-1} ）は、「懸吊」（いずれも 0）に比べ、有意（いずれも $p < 0.05$ ）に高値であった。一方、猪では、胸部の一般細菌数（cfu/cm²）において、「のせ台」（ 1.3×10^2 ）と、「屋外」（ 5.2×10^1 ）は、懸吊（ 2.0×10^{-1} ）に比べ、いずれも有意（いずれも $p < 0.01$ ）に高値を示した（表 4）。肛門周囲部においても、「のせ台」（ 2.3×10^2 ）は、懸吊（ 2.8×10^0 ）に比べ、有意（ $p < 0.01$ ）に高値を示した。その他の衛生指標細菌では、一部（胸部、大腸菌）を除き、胸部、肛門周囲部ともに、「のせ台」（ $2.0 \sim 4.0 \times 10^{-1}$ ）は、懸吊（すべて 0）に比べ、有意（すべて $p < 0.01$ ）に高値を示した。

剥皮方法別では、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各衛生指標細菌数の中央値を比較した（表 5、6）。その結果、鹿胸部の一般細菌数（cfu/cm²）において、「ウィンチ」（ 1.6×10^0 ）と、「屋外」（ 1.1×10^1 ）は、「手剥ぎ」（ 3.0×10^{-1} ）に比べ、有意（それぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ ）に高値を示した（表 5）。さらに、「屋外」（ 1.1×10^1 ）は、「手剥ぎ」（ 3.0×10^{-1} ）に比べ、有意（ $p < 0.05$ ）に高値を示した。その他の衛生指標細菌は全て 0

であり、いずれも有意差は認められなかった。一方、猪では、いずれの剥皮方法においても、全ての衛生指標細菌において、有意差は認められなかった（表 6）。

2) 処理工程における拭き取り検体を対象とした細菌叢解析

わが国の野生鳥獣肉処理施設 A、および B において、一連の処理工程において、作業者、器具、施設等、枝肉への細菌汚染源となる可能性のあるものから拭き取り検体を採取し、各拭き取り検体における細菌叢解析を行った。施設 A、B において、それぞれ 2、1 回実施した（図 1～3）。

施設 A では、1、2 回目ともに、最終的な洗浄後の枝肉には、① *Alcaligenaceae*、② *Pseudomonas*、③ *Stenotrophomonas* が占有率が高く検出された（図 1、2、表 7、8）。さらに、主座標分析による菌叢構造比較解析を行ったところ、1 回目の実施では、洗浄前後の胸部と腹部においては近縁な菌叢構造を示していた。さらに、これらの菌叢構造は内臓摘出後における作業者の手指から検出されたものと類似していた。2 回目の実施においても、洗浄前後の胸部と腹部においては近縁な菌叢構造を示していたが、一連の処理工程において採材した検体から特に類似した構造を示すものはなかった。その他、胃内容物と施設から検出された菌叢は類似していた。

施設 B では、最終的な洗浄後の枝肉には、① *Stenotrophomonas*、② *Alcaligenaceae*（科）、③ *Sphingomonas*、④ *Rhodococcus* が占有率が高く検出された（図 3、表 9）。さらに、主座標分析による菌叢構造比較解析では洗浄前後の胸部と腹部においては近縁な菌叢構造を示してお

り、一部、施設(床)から検出された検体とも比較的類似した菌叢構造を示した。

一方、洗浄後の枝肉から検出された病原性の可能性が含まれる細菌叢として、施設 A の 2 回目で処理された枝肉の肛門周囲部においてのみ、0.231%の *Escherichia/Shigella* が検出されたが、その他の細菌は検出されなかった。しかしながら、作業工程途中では、*Escherichia/Shigella* が表皮洗浄前の肛門周囲部、剥皮前の蹄と肛門周囲部、剥皮後のナイフ、内臓摘出後の作業手指とナイフ、枝肉洗浄前の壁、胸部(施設 A、1 回目)、剥皮前の肛門周囲部、枝肉洗浄前の胸部(施設 A、2 回目)、表皮洗浄前の肛門周囲部、剥皮前の腹側正中、肛門周囲部、枝肉洗浄前の肛門周囲部(施設 B、1 回目) からそれぞれ検出された。*Listeria* は、剥皮前の肛門周囲部(施設 B、1 回目)でのみ検出された。*Yersinia* は、枝肉洗浄前の床、壁(施設 A、2 回目)、枝肉洗浄後の胸部(施設 B、1 回目)からのみ検出された。さらに *Staphylococcus* は、表皮洗浄前の肛門周囲部、剥皮前の腹側正中、剥皮後のナイフ(施設 A、1 回目)、表皮洗浄前の腹側正中、肛門周囲部、枝肉洗浄前の肛門周囲部、枝肉洗浄後の胸部(施設 B、1 回目)からのみ検出された。一方、*Salmonella* はいずれからも検出されなかった。

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、手剥ぎ、猪では湯漬け)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。これに加え、本年度は特に、屋外で処理することについて、その枝肉の衛生状態に与える影響を検討するため、一連の作業工程を屋外で実施した検体から拭き取り検査を行い、各種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。その結果、本研究では、鹿では「剥皮」→「内臓摘出」の順で処理された枝肉からは、「内臓摘出」→「剥皮」の順で処理された枝肉に比べ、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、作業者が剥皮後の枝肉に、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と考えられた。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。さらに、屋外で処理された検体もまた、「内臓摘出」→「剥皮」の順で処理された枝肉に比べ、有意に高い一般細菌数の値を示した。「屋外」で処理することで、外部環境からの細菌汚染が容易に起こるものと考えられた。

剥皮時の設備については、鹿、猪ともに「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、検討した全ての衛生指標細菌において、一部(胸部の大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌)を除いて、全て多く検出された。また、「屋外」で処理した鹿、猪両検体は、「懸吊」施設を備えた施設で剥皮したものと比べ、高度に一般細菌数の汚染が確認されたが、「のせ台」を使用した

施設に比べて、同等、もしくは「のせ台」を使用した施設の方が高度に一般細菌数が検出される傾向があった。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。懸吊装置の導入を推進する必要がある。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。

剥皮法別の比較では、鹿では、「ウィンチ」を用いて剥皮する方法で剥皮した枝肉は、「手剥ぎ」で剥皮したものに比べ、やや高度に一般細菌に汚染していた。「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、表皮や土壌由来の細菌に汚染した可能性が考えられる。特に「ウィンチ」を用いた剥皮の際には、慎重に行い、周辺環境を汚染させないようにすることが重要であると考えられた。また、「屋外」で「手剥ぎ」で処理された検体は、施設内で「ウィンチ」や「手剥ぎ」で処理された検体より、より多くの一般細菌に汚染されていた。

本年度は、「屋外」で処理した検体について検討を始めたものの、十分な検体数に達していない。今後、同条件で処理された枝肉の拭き取り検体を引き続き収集し、改めて比較検討する必要がある。

本研究により、最終的に枝肉に汚染する細菌叢は、施設毎に異なる一方、両施設で共通して、① *Alcaligenaceae* (科)、② *Stenotrophomonas* は占有率が高く検出されることが明らかとなった。*Alcaligenaceae* 科の細菌は、土壌、水

中、動物の腸内等に生息していることから、これらの環境から汚染したものと考えられた(表7, 8, 9)。さらに低温細菌であることから、汚染された場合には、冷蔵保存しても増殖してしまう可能性がある。*Stenotrophomonas* もまた、腸内、土壌、植物などから由来する。さらにこれらの細菌は一連の作業工程中からも検出されることから、一連の作業工程において、土壌、糞便等による汚染は、一般的に起こるものと考えられた。

Pseudomonas は、特に施設 A の 1 回目において、高い(47.368%) 占有率を占めていた。本菌もまた、土壌や水中、腸管等、様々な環境から由来すると考えられるが、特に、低温細菌であり、腐敗細菌として重要である。令和元年、および2年度の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の確保とリスク管理のための研究」において、我々は、*Pseudomonas* が鹿枝肉から検出され、さらに熟成後に高度に検出されることを報告した。以上の成績から、野生鳥獣肉処理施設において、最も注意を要する危惧すべき細菌の一つであると考えられた。今後、さらに同菌による枝肉への影響やさらなる疫学的調査を継続する必要がある。

本研究では、全ての検討において、枝肉洗浄前後の胸部と肛門周囲部は類似した細菌叢であることが確認された。以上のことから、枝肉の洗浄では完全な細菌の除去は困難であることが改めて確認された。枝肉洗浄前にトリミングによって汚染した部分を切除することが重要であることが改めて支持された。

施設 A における 1 回目に実施した検体では、枝肉洗浄後の胸部、肛門周囲部の細菌叢は特に内臓摘出後の作業

者手指やナイフの細菌叢と比較的類似していることが明らかになったことから、内臓摘出時において、作業者の手指やナイフから枝肉を汚染したかのうせいが考えられた。一方その他の施設、回では、洗浄後の枝肉の細菌叢と特に類似した細菌叢を示すものはなかった。しかしながら、細菌叢を構成する細菌は一連の作業工程で採取された検体のほぼ全てから検出されていることから、改めて、各工程における様々な細菌汚染源からの汚染に留意する必要がある。令和2年度の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の確保とリスク管理のための研究」において、我々は、一連の処理工程において、細菌汚染源と考えられるものとして、蹄、表皮、胃内要物、肛門周囲部は多くの一般細菌や大腸菌が検出されることを明らかにした。また、表皮洗浄前に比べ、表皮洗浄後では、各箇所において、一般細菌数、大腸菌数の著しい減少が認められたことから、鹿や猪の解体処理施設への搬入前に、十分な洗浄を行うことの重要性が、改めて示された。各作業中の汚染ごとの温湯消毒、ならびに手指洗浄が重要であることが確認された。

本研究では、枝肉洗浄後の枝肉から病原性細菌を含む可能性のある細菌属として、一部の検体から、*Escherichia/Shigella* が検出されたが、その他は検出されなかった。しかしながら、一連の作業工程中の各種検体から、*Listeria*、*Yersinia*、および *Staphylococcus* が検出されている。我々は、これまでに *Listeria* は市販鹿肉からも検出されること（未発表データ）、*Yersinia* は鹿、猪の75%以上の糞便から分離されること

（Takahashi ら、2020）を報告している。さらに、わが国の野生鹿、猪には0157を含む腸管出血性大腸菌も高度に保菌されていることも報告（Morita ら、2021、Kabeya ら、2017）している。今後、鹿や猪の糞便には、これら病原細菌が汚染していることを理解し、一連の食肉処理工程における細菌汚染防止のため、衛生的な処理方法を啓蒙していく必要がある。

E. 結論

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

2) 鹿、猪ともに、剥皮の際「のせ台」を用いた場合は、「懸吊」する場合に比べ、各種衛生指標細菌数が多く検出された。

3) 「屋外」で処理された枝肉は、比較的高度に一般細菌に汚染されていたが、施設内で「のせ台」で剥皮した検体よりも細菌汚染は低値であった。

4) 鹿では、剥皮の際に「手剥ぎ」に比べ、「ウィンチ」を用いて行くと、細菌汚染を受けやすいことが明らかとなった。

5) 解体処理された直後の枝肉では土壤中、水中、動物の腸内に生息する *Alcaligenaceae*（科）、*Stenotrophomonas* が占有率が高く検出された。

6) 一部の検体では、枝肉の細菌叢と内臓摘出時における作業者手指、ナイフの細菌叢が類似したことから、同工程における作業者手指、ナイフから枝肉への細菌汚染が発生した可能性が考えられた。

7) 枝肉洗浄後の検体の一部から *Escherichia/Shigella* が検出された。

8) 一連の工程から

Escherichia/Shigella、*Listeria*、*Yersinia*、および *Staphylococcus* が検出された。

9) 特に低温細菌、腐敗細菌である *Pseudomonas* が検出された。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Satoshi Morita, Shingo Sato, Soichi Maruyama, Asuka Miyagawa, Kiriko Nakamura, Mizuki Nakamura, Hiroshi Asakura, Hiromu Sugiyama, Shinji Takai, Ken Maeda, Hidenori Kabeya, Prevalence and whole-genome sequence analysis of *Campylobacter* spp. strains isolated from wild deer and boar in Japan, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*;82:101766. doi: 10.1016/j.cimid.2022.101766. 2022
- 2) Kei Nabeshima, Shingo Sato, R Jory Brinkerhoff, Murasaki Amano, Hidenori Kabeya, Takuya Itou, Soichi Maruyama, Prevalence and Genetic Diversity of *Bartonella* Spp. in Northern Bats (*Eptesicus nilssonii*) and Their Blood-Sucking Ectoparasites in Hokkaido, Japan, *Microb Ecol*, doi: 10.1007/s00248-021-01935-

0. 2022.

- 3) Satoshi Morita, Shingo Sato, Soichi Maruyama, Mariko Nagasaka, Kou Murakami, Kazuya Inada, Masako Uchiumi, Eiji Yokoyama, Hiroshi Asakura, Hiromu Sugiyama, Shinji Takai, Ken Maeda, Hidenori Kabeya, Whole-genome sequence analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 strains isolated from wild deer and boar in Japan, *J Vet Med Sci*;83(12):1860-1868. 2021.

2. 学会発表

- 1) 森田 聡志、宮川 明日香、中村 きりこ、中村 水紀、佐藤 真伍、丸山 総一、壁谷 英則、わが国の鹿、猪における *Campylobacter* の保菌状況と分離株の全ゲノムシーケンスによる病原関連遺伝子の網羅的解析、第 164 回日本獣医学会学術集会(酪農学園大学, web 開催) 2021

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(書籍)
なし

表1. わが国の野生鳥獣処理施設で処理された鹿肉の衛生指標細菌数（工程順比較）

作業順	値	胸部						紅門肉用部					
		検体数	検体数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	検体数	検体数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌
剥皮→内臓残出	最小値			0	0	0	0			0	0	0	0
	最大値			25000000<	1700.0	3715.0	0.2			25000000<	560.0	700.0	0.3
	平均値	56(10)	13(4)	446083.3	31.1	70.0	0.0	51(10)	12(4)	490340.1	23.2	30.8	0.0
	中央値			1.0 ^{*1}	0	0	0			1.2 ^{*2}	0	0	0
内臓残出→剥皮	最小値			0	0	0	0			0	0	0	0
	最大値			25000000<	875.0	875.0	5.2			25000000<	25000000<	25000000<	0.2
	平均値	39(5)	4(2)	641192.5	22.9	22.9	0.1	12(5)	4(2)	4168091.9	2083337.0	2083337.1	0.0
	中央値			0.1 ^{*1}	0	0	0			35.9	0	0	0
屋外	最小値			0.3	0	0	0			0.6	0	0	0
	最大値			25000000<	34.0	31.5	0			25000000<	161.5	270.5	0
	平均値	15(15)	2(2)	1666703.3	2.3	2.8	0.0	15(15)	2(2)	1667127.3	12.9	20.4	0.0
	中央値			11.1 ^{*1,2}	0	0	0			12.0 ^{*3}	0	0	0

*1: $p<0.01$, *2: $p<0.05$, *3: $p<0.01$

() 本年度実施分

表2. わが国の野生鳥獣処理施設で処理された猪肉の衛生指標細菌数（工程順比較）

作業順	値	胸部						紅門肉用部					
		検体数	検体数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	検体数	検体数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌
剥皮→内臓残出	最小値			5.5	0.0	0.0	0.0			4.5	0	0	0
	最大値			25000000<	174.0	177.5	2.4			25000000<	4.0	4.0	1.8
	平均値	18(4)	8(3)	2778303.5	9.9	10.0	0.1	15(4)	8(3)	3334266.0	0.4	0.4	0.2
	中央値			70.8	0.0	0.0	0.0 ^{*1}			435.0	0	0	0
内臓残出→剥皮	最小値			0.0	0.0	0.0	0.0			0.0	0.0	0.0	0.0
	最大値			25000000<	255.0	255.0	6.9			25000000<	25000000<	25000000<	25000000<
	平均値	42(10)	7(2)	1785812.4	15.5	11.8	0.7	43(10)	7(2)	3488723.1	1162897.7	1163010.7	1162793.9
	中央値			14.2	0.0	0.0	0.1 ^{*1}			15.9	0.0	0.0	0.1
屋外	最小値			1.3	0	0	0			12.4	0	0	0
	最大値			901.5	12.9	13.3	0			7500.0	27.5	29.2	0
	平均値	8(8)	2(2)	105.4	1.6	1.9	0	8(8)	2(2)	973.6	3.5	4.8	0
	中央値			52.3	0	0	0			34.3	0	0	0

*1: $p<0.01$

() 本年度実施分

表3. わが国の野生鳥獣処理施設で処理された鹿肉の衛生指標細菌数（剥皮施設別比較）

剥皮施設	値	胸部						紅門周辺部					
		検体数	施設数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	検体数	施設数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌
のせ台	最小値	7(7)	1(1)	0.3	0	0	0	7(7)	1(1)	0.4	0	0	0
	最大値			30.3	41.0	186.5	0			1195.0	15.0	26.4	0
	平均値			11.9	5.9	26.7	0			204.6	4.0	5.0	0
	中央値			10.5 ^{*1}	0	0	0			34.3	0.2 ^{*2}	0.1 ^{*3}	0
懸吊	最小値	88(8)	16(5)	0	0	0	0	56(8)	15(5)	0	0	0	0
	最大値			25000000<	1700.0	3715.0	5.2			25000000<	25000000<	25000000<	0.3
	平均値			506303.3	29.5	52.6	0.1			1339096.7	446450.0	446456.7	0.0
	中央値			0.4 ^{*1,2}	0	0	0			1.0 ^{*3}	0 ^{*4}	0 ^{*4}	0
屋外	最小値	15(15)	2(2)	0.3	0	0	0	15(15)	2(2)	0.6	0	0	0
	最大値			25000000<	34.0	31.5	0			25000000<	161.5	270.5	0
	平均値			1666703.3	2.3	2.8	0			1667127.3	12.9	20.4	0
	中央値			11.1 ^{*2}	0	0	0			12.0 ^{*3}	0	0	0

*1: $p<0.05$, *2: $p<0.01$, *3: $p<0.05$, *4: $p<0.05$

() 本年度実施分

表4. わが国の野生鳥獣処理施設で処理された猪肉の衛生指標細菌数（剥皮施設別比較）

剥皮施設	値	胸部						紅門周辺部					
		検体数	施設数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	検体数	施設数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌
のせ台	最小値	24(0)	3(0)	0.6	0.0	0.0	0.0	33(1)	6(1)	0.0	0.0	0.0	0.0
	最大値			25000000<	255.0	255.0	6.9			25000000<	25000000<	25000000<	25000000<
	平均値			3125156.0	27.1	20.6	1.2			4546018.6	1515290.9	1515438.2	1515155.7
	中央値			127.0 ^{*1}	0.1	0.2 ^{*3}	0.4 ^{*3}			227.0 ^{*2}	0.2 ^{*3}	0.2 ^{*3}	0.3 ^{*2}
懸吊	最小値	18(10)	4(2)	0.0	0.0	0.0	0.0	29(13)	9(4)	0.0	0.0	0.0	0.0
	最大値			197.5	0.0	0.1	2.1			25000000<	4.0	4.0	1.8
	平均値			20.8	0.0	0.0	0.1			1724516.8	0.2	0.2	0.1
	中央値			0.2 ^{*1,2}	0.0	0.0 ^{*3}	0.0 ^{*3}			2.6 ^{*2}	0.0 ^{*4}	0.0 ^{*4}	0.0 ^{*4}
屋外	最小値	8(8)	2(2)	1.3	0	0	0	8(8)	2(2)	12.4	0	0	0
	最大値			901.5	12.9	13.3	0			7500	27.5	29.2	0
	平均値			165.4	1.6	1.9	0			973.6	3.5	4.8	0
	中央値			52.3 ^{*2}	0	0	0			34.3	0	0	0

*1: $p<0.01$, *2: $p<0.01$, *3: $p<0.01$, *4: $p<0.01$

() 本年度実施分

表5. わが国の野生鳥獣処理施設で処理された鹿肉の衛生指標細菌数（剥皮法別比較）

剥皮法	値	胸部						肛門周囲部					
		検体数	施設数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	検体数	施設数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌
ウィンチ	最小値	46(2)	8(2)	0	0	0	0	40(2)	7(2)	0	0	0	0
	最大値			25000000<	19.7	18.1	0.2			25000000<	327.0	200.0	0.3
	平均値			543023.8	0.4	0.7	0.0			1250359.9	11.4	8.4	0.0
	中央値			1.0 ^{*1}	0	0	0			1.6	0	0	0
手剥ぎ	最小値	49(13)	9(4)	0	0	0	0	23(13)	9(4)	0	0	0	0
	最大値			25000000<	1700.0	3715.0	5.2			25000000<	25000000<	25000000<	0.3
	平均値			510377.0	53.4	97.5	0.1			1087393.6	1086990.1	1087012.1	0.0
	中央値			0.3 ^{*2}	0	0	0			1.5	0	0	0
手剥ぎ (屋外)	最小値	15(15)	2(2)	0.3	0	0	0	15(15)	2(2)	0.6	0	0	0
	最大値			25000000<	34.0	31.5	0			25000000<	161.5	270.5	0
	平均値			1666703.3	2.3	2.8	0.0			1667127.3	12.9	20.4	0.0
	中央値			11.1 ^{*3}	0	0	0			12.0	0.0	0.0	0.0

*1: $p<0.05$, *2: $p<0.05$, *3: $p<0.01$

() 本年度実施分

表6. わが国の野生鳥獣処理施設で処理された猪肉の衛生指標細菌数（剥皮法別比較）

剥皮法	値	胸部						肛門周囲部					
		検体数	施設数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	検体数	施設数	一般細菌	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌
ウィンチ	最小値	1(1)	1(1)	0	0	0	0	6(1)	2(1)	0.8	0.0	0.0	0.0
	最大値			0	0	0	0			6750.0	0.0	0.0	1.8
	平均値			0	0	0	0			1339.9	0.0	0.0	0.3
	中央値			0	0	0	0			103.0	0.0	0.0	0.0
手剥ぎ	最小値	41(9)	6(1)	0.0	0.0	0.0	0.0	56(13)	13(4)	0.0	0.0	0.0	0.0
	最大値			25000000<	255.0	255.0	6.9			25000000<	25000000<	25000000<	25000000<
	平均値			1829368.7	15.9	12.1	0.8			3571813.6	892939.4	893026.2	892809.6
	中央値			15.0	0.0	0.0	0.1			31.3	0.0	0.0	0.0
手剥ぎ (屋外)	最小値	8(8)	2(2)	1.3	0	0	0	8(8)	2(2)	12.4	0	0	0
	最大値			901.5	12.9	13.3	0			7500.0	27.5	29.2	0
	平均値			165.4	1.6	1.9	0.0			973.6	3.5	4.8	0.0
	中央値			52.3	0	0	0			34.3	0	0	0

() 本年度実施分

図1. 解体処理の各工程において採取した各検体における細菌叢解析（属レベル）（施設A, 1回目）



図2. 解体処理の各工程において採取した各検体における細菌叢解析（属レベル）（施設A, 2回目）

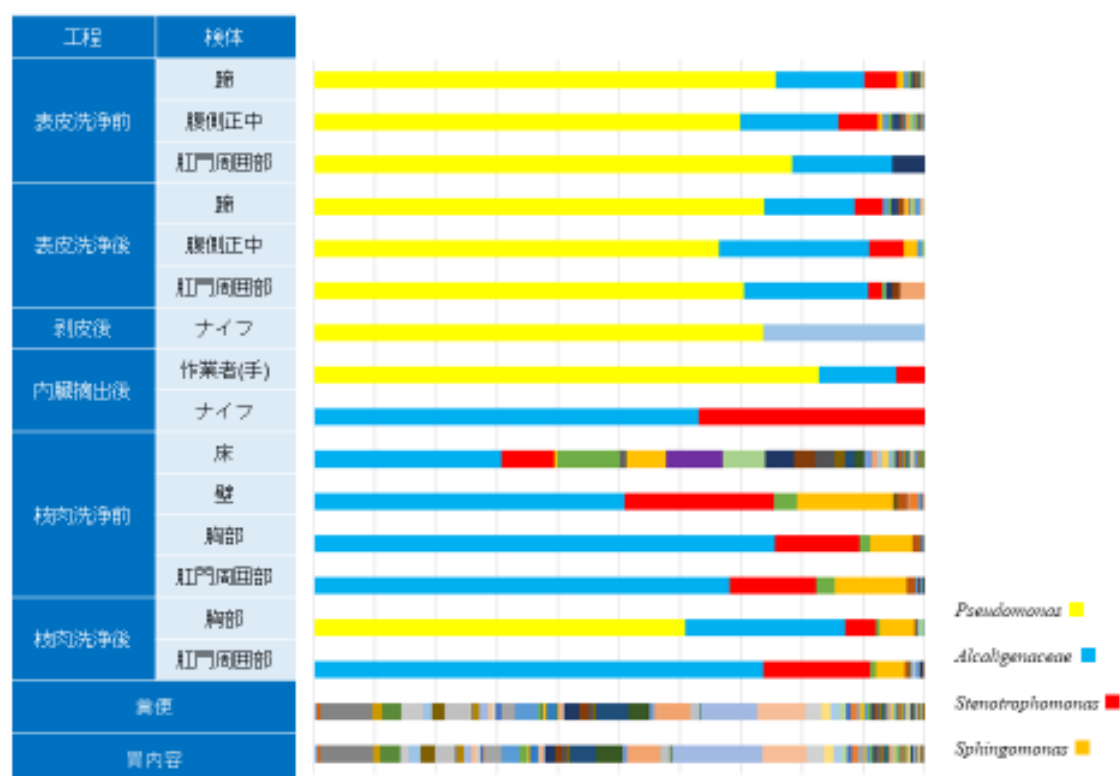


図3. 解体処理の各工程において採取した各検体における細菌叢解析（属レベル）（施設B, 1回目）



図4. 解体処理の各工程において採取した各検体における主座標分析による菌叢構造比較解析（ β 多様性解析）（施設A, 1回目）

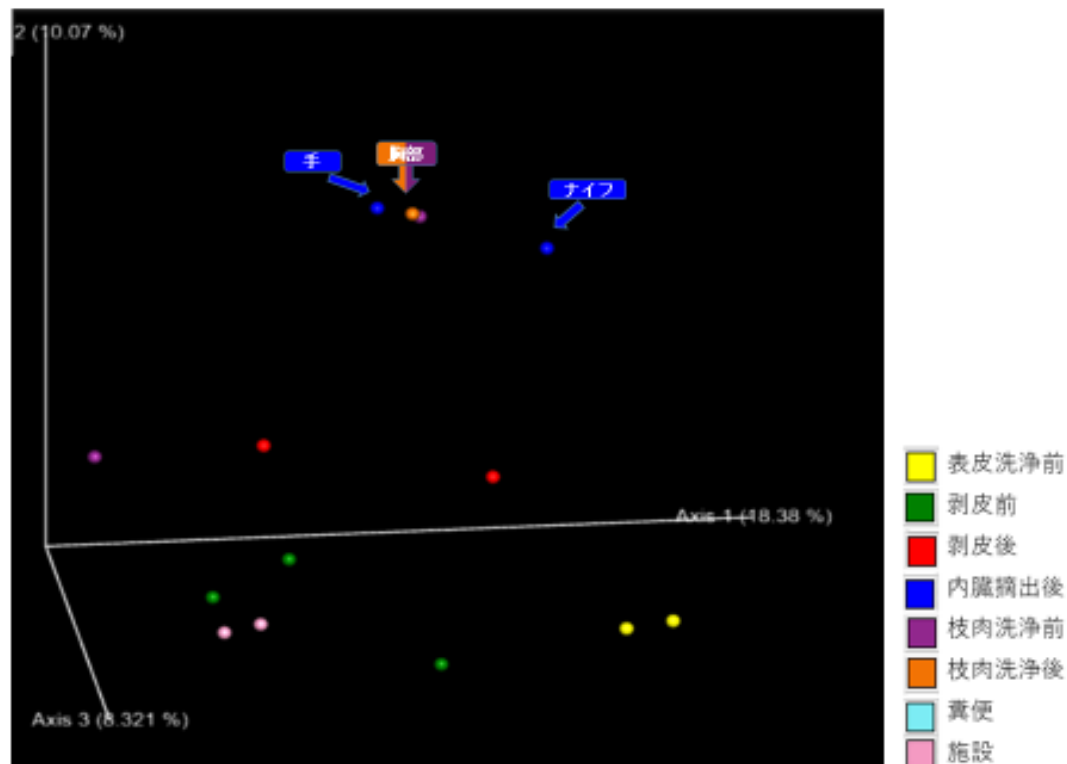


図5. 解体処理の各工程において採取した各検体における主座標分析による菌叢構造比較解析
(β 多様性解析) (施設A, 2回目)

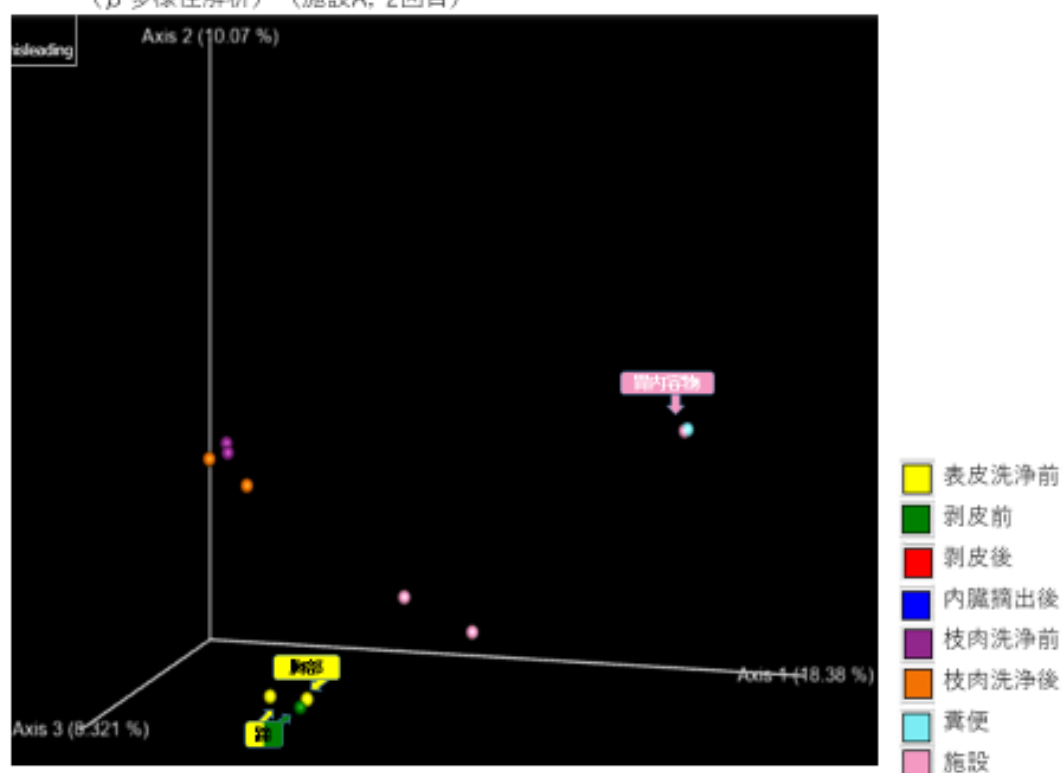


図6. 解体処理の各工程において採取した各検体における主座標分析による菌叢構造比較解析
(β 多様性解析) (施設B, 1回目)

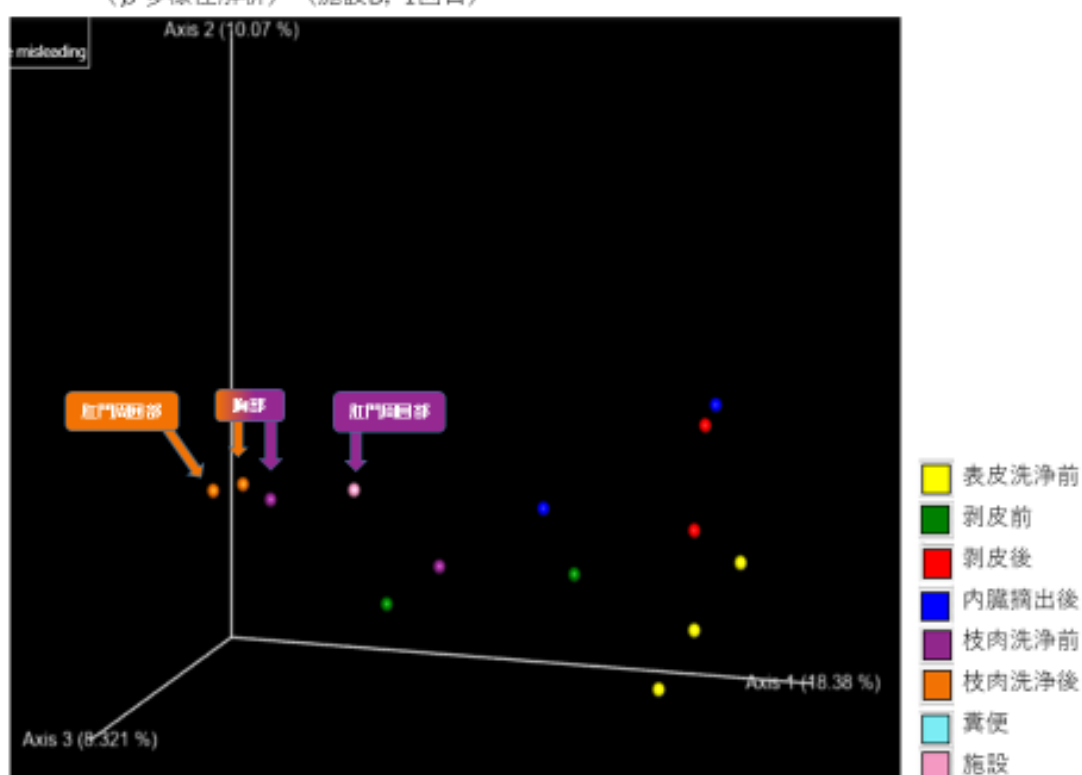


表7. 解体処理の各工程において採取した各検体から検出された
主な病原細菌、低温細菌、および腐敗細菌（施設A, 1回目）

細菌(属)	止め刺し		表洗浄前			剥皮前			剥皮後		内臓取出後		解体洗浄前				解体洗浄後		自然界における生息地	低温 細菌	腐敗 細菌
	取込土壌	鶏	屠前 正中	和門 肩胛部	鶏	屠前 正中	和門 肩胛部	手	ナイフ	手	ナイフ	床	壁	鶏舎	和門 肩胛部	鶏舎	和門 肩胛部	鶏舎			
<i>Escherichia/Shigella</i>	nd	nd	nd	20.404	0.06	nd	2.422	nd	sd	0.084	sd	nd	sd	sd	nd	nd	nd	nd	鶏肉		
<i>Listeria</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	土壌、水中、鶏肉	○	
<i>Salmonella</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	鶏肉		
<i>Yersinia</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	鶏肉	○	
<i>Staphylococcus</i>	nd	nd	nd	3.359	nd	sd	nd	nd	0.166	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	鶏糞、夜尿		
<i>Pseudomonas</i>	4.085	4.6802	8.64	0.122	11.955	10.467	16.040	17.118	15.82	24.08	30.791	5.559	34.941	23.704	22.578	30.274	47.260	nd	土壌、水中、鶏糞、 植物や動物の排泄物	○	○
<i>Bacillus</i>	nd	0.1980	0.146	0.198	nd	0.098	nd	1.054	nd	nd	0.142	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	土壌、水圏	○	○
<i>Alcaligenaceae (H)</i>	6.712	8.041	6.129	15.572	40.129	48.168	55.782	28.54	42.872	22.977	28.204	32.488	38.028	37.097	44.825	45.047	52.652	nd	土壌、水中、鶏肉	○	
<i>Stenotrophomonas</i>	2.491	6.2574	4.437	11.719	15.774	16.265	14.120	12.368	21.164	15.926	12.011	7.56	15.591	16.622	20.587	30.195	nd	nd	鶏肉、土壌、植物		
<i>Sphingomonas</i>	4.844	3.6621	8.21	2.826	0.157	0.089	nd	0.142	0.105	nd	nd	0.416	nd	nd	nd	nd	nd	nd	水中、土壌		
<i>Rhodococcus</i>	0.901	1.5340	8.809	1.532	2.84	2.485	1.918	2.086	3.901	2.525	1.789	3.184	1.889	2.089	1.906	3.328	nd	nd	水中、土壌		

数字は構成割合（％）を示す。sd:0.03%未満。nd：検出されず。

表8. 解体処理の各工程において採取した各検体から検出された
主な病原細菌、低温細菌、および腐敗細菌（施設A, 2回目）

細菌(属)	表洗浄前			剥皮前			剥皮後	内臓取出後		解体洗浄前				解体洗浄後		鶏糞	鶏肉	自然界における生息地	低温 細菌	腐敗 細菌
	鶏	屠前 正中	和門 肩胛部	鶏	屠前 正中	和門 肩胛部		手	ナイフ	床	壁	鶏舎	和門 肩胛部	鶏舎	和門 肩胛部					
<i>Escherichia/Shigella</i>	nd	nd	nd	nd	nd	1.197	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.221	1.555	1.123	nd	鶏肉		
<i>Listeria</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	土壌、水中、鶏肉	○	
<i>Salmonella</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	鶏肉		
<i>Yersinia</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	sd	sd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	鶏肉	○	
<i>Staphylococcus</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	鶏糞、夜尿		
<i>Pseudomonas</i>	75.576	69.525	78.240	72.52	66.24	70.323	72.597	83.675	nd	nd	0.035	nd	nd	60.868	nd	nd	nd	土壌、水中、鶏肉	○	○
<i>Bacillus</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.72	0.803	土壌、水圏	○	○
<i>Alcaligenaceae (H)</i>	14.58	15.982	16.45	14.826	24.542	20.208	*	12.7	63.019	30.622	50.82	75.461	67.885	26.073	72.544	sd	sd	土壌、水中、鶏肉	○	
<i>Stenotrophomonas</i>	5.284	6.87	nd	4.46	5.766	3.224	nd	4.636	26.981	0.578	24.41	13.882	14.349	5.121	17.54	nd	nd	鶏肉、土壌、植物		
<i>Sphingomonas</i>	0.078	0.409	nd	0.326	nd	nd	nd	nd	nd	6.407	15.606	6.931	11.783	5.622	4.817	nd	nd	水中、土壌		
<i>Rhodococcus</i>	0.805	0.717	nd	0.427	nd	0.555	nd	nd	nd	10.29	3.85	1.733	2.949	0.582	0.83	nd	nd	水中、土壌		

数字は構成割合（％）を示す。sd:0.03%未満。nd：検出されず。*：Castellaniella属26.403

表9. 解体処理の各工程において採取した各検体から検出された
主な病原細菌、低温細菌、および腐敗細菌（施設B, 1回目）

細菌(属)	表処理前			焼却前		焼却後		戸間処理後		物処理前			物処理後			糞便	自然界における生息域	低温細菌	腐敗細菌
	糞	糞 正中	和門 真経部	糞 正中	和門 真経部	手	ナイフ	手	ナイフ	床	和門 真経部	和門 真経部	和門 真経部	和門 真経部	和門 真経部				
<i>Escherichia/Shigella</i>	nd	nd	0.34	sd	sd	sd	nd	nd	nd	nd	nd	sd	nd	nd	nd	1501	胃内		
<i>Listeria</i>	nd	nd	nd	nd	sd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	土壌、水中、胃内	○	
<i>Salmonella</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	胃内		
<i>Yersinia</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	sd	nd	nd	nd	胃内	○	
<i>Staphylococcus</i>	nd	sd	0.088	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	sd	sd	nd	nd	nd	糞、皮膚		
<i>Pseudomonas</i>	0.907	0.502	0.805	52.453	15.892	1.78	1.087	1.156	0.095	1.762	0.280	0.512	0.396	0.185	1.220	1.220	土壌、水中、胃内	○	○
<i>Bacillus</i>	nd	sd	0.127	sd	sd	nd	0.102	0.102	nd	nd	nd	sd	nd	nd	nd	nd	土壌、水圏	○	○
<i>Alcaligenaceae (科)</i>	15.738	0.586	24.282	6.476	44.074	49.192	42.829	64.369	11.117	65.921	21.886	16.44	16.442	21.790	2.908	2.908	土壌、水中、胃内	○	
<i>Streptococcaceae</i>	4.787	5.308	10.571	7.204	10.807	17.785	15.879	15.988	2.252	14.255	41.56	44.059	51.838	50.457	1.052	1.052	胃内、土壌、植物		
<i>Spingoviruses</i>	2.895	2.02	6.888	4.309	8.119	10.495	8.576	8.462	1.928	8.015	5.531	8.05	11.282	15.54	nd	nd	水中、土壌		
<i>Rhodococcus</i>	0.722	0.422	1.145	0.562	0.776	4.257	2.222	2.002	0.21	2.225	2.892	6.207	12.288	12.927	nd	nd	水中、土壌		

数字は構成割合（％）を示す。sd:0.03%未満。nd：検出されず。

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

野生鳥獣の疾病・病変カラーアトラスの作成と病理学的解析

研究分担者 宇根 有美 （岡山理科大学獣医学部獣医学科）

研究協力者 嘉手苅 将 （岡山理科大学獣医学部獣医学科）

研究要旨

本研究は、狩猟者、処理・加工者などの従事者が的確に「異常」を見出し、確実に排除し、安全性の高い、高品質の野生鳥獣関連生産物を流通できるようにする教材（カラーアトラス）の作成を目的とする。その準備状況を報告する。令和3年度は全国8カ所のイノシシ、シカ処理施設から、イノシシ37頭59臓器、シカ15頭118臓器、合計52頭177臓器の提供を受け、病理学的に解析して画像コンテンツを作成した。病変としてはイノシシでは肝臓病変と漿膜炎が多く、肉眼的に確認可能な代表的な寄生虫の画像は整備された。シカにおいても肝臓病変の提供が多く肝蛭、色調異常や漿膜炎がみられた。また、画像コンテンツ充実のために収集したと畜検査疾病・病変は72病変（敗血症；疣贅性心内膜炎、豚赤痢、豚増殖性出血性腸炎、抗酸菌症を含む）であった。

特徴的な病変として、特定地域に限定されたイノシシの肥大心やシカの脂肪壊死症が見出され、疫学および病理学的検索を実施している。なお、シカに関しては、解体時所見から家畜伝染病予防法や感染症法に掲載される疾患を疑うような症例も確認されたことから、解体、処理過程における家畜衛生上、公衆衛生上のリスク回避のための情報の提供も必要と考えた。

A. 研究目的

本研究は、疾病・病変に関して専門的な知識を有していない従事者（狩猟者、処理・加工者など）が的確に「異常」を見出し、確実に排除し、安全性の高い、高品質の生産物を流通できるように、教材を作成し、その普及と利用促進を目的とする。

教材としては、見やすい、わかりやすい「カラーアトラス」を作成するとともに、疾病・病変の公衆衛生上のリスクを評価した上で、リスクに応じた対応ができるような手引書を作成する。なお、カラーアトラス作成にあたっては、掲載画像コンテンツは、可能な限りオリジナリティの高いものとして、かつ病理組織学的に確定診断された検体を多用することで、教材としての質を保证する。

B. 研究方法

令和3～5年度の3年間の研究期間で、野生鳥獣にみられる疾病（異常個体）・病変を病理学的（肉眼的および病理組織学的）に検索して、その疾病・病変の特徴を明らかにした上で、そ

れぞれの公衆衛生上のリスク評価を行い、これらを適切な方法で、的確に排除するための教材（カラーアトラス、手引書）を作成する。

具体的には、疾病に関して専門的な知識を有していない従事者（狩猟者、処理・加工者など）にもわかりやすいカラーアトラスを作成する。画像コンテンツの収集については、野生動物はもとより野生動物と産業動物共通の重要疾患（人獣共通感染症）は、産業動物の画像コンテンツを採用することで充実させる。

また、疾患・病変をリスク分類し、それぞれのリスクにあった対処法（廃棄、消毒法、処理法など）を掲載する。リスク分類は以下のとおり。①高リスク群（全廃棄）：人獣共通感染症、と殺、解体、加工処理の過程でも感染する可能性がある、あるいは喫食することで感染する可能性があるもの。②中リスク群（部分廃棄）：生体に生じた病変で、直接的な健康被害はないものの食用として不適切なもの。③低／無リスク群：と殺、不適切な加工処理中に生じた人工的な変化に群分けする。

そして、資料の補足として、野生鳥獣の運搬、

移動そのものが、家畜衛生上リスクが高いと判断されるもの(豚熱、アフリカ豚熱、口蹄疫、豚水疱病、水疱性口内炎、オーエスキー病、ヨーネ病など)および処理・加工施設の公衆衛生上の汚染を引き起こす疾患(クリプトスポリジウム症、抗酸菌症など)を含める。

さらに、3年間で食用には適さない可食部分の廃棄目安(基準)の手引書の作成(カラーアトラス作成)も検討する。そして、これらの資料の活用促進の方法を検討する(情報の形態; 小冊子、デジタルデータ、ホームページや情報の発信方法など)。また、必要に応じて関係機関・施設での講習会、演習、実習などを企画する。

令和3年度は、野生動物処理施設および研究者から病変を有する臓器を提供してもらい、病理学的に解析して(肉眼的観察、病理組織学的検索)画像コンテンツを作成する。食肉衛生検査所(と畜検査)で摘発された疾病・病変を収集して、上述の方法で画像コンテンツの充実を図り、見やすい理解しやすいカラーアトラスの構成を検討する。

実際の方法として、検体提供者より疾病・病変発見の連絡を受けて、梱包および発送方法を伝えて、病変を有する臓器全体を冷蔵状態で送付してもらう。到着後、写真撮影、組織検査用採材を行い、定法に従いパラフィン切片を作成して病理診断をして、その結果を提供者に報告する。併せて、カラーアトラスの画像コンテンツとしての適切性を担保する。

C. 研究結果

1) 検体の収集・処理状況

8箇所の提供元からイノシシ37頭59臓器、シカ15頭118臓器、合計52頭177臓器の提供を受け、259ブロックを作製して病理組織学的検索を実施した。

その内訳として、イノシシでは、肝臓21個(他に全臓器2件)、心臓11個(他に全臓器2件)、胃2個(他に全臓器2件)など。シカでは、全臓器9件、肝臓6個、肺3個、筋肉・脾臓各3個、腎臓3個などであった。

2) 病変

イノシシにおいて、肝臓で、最も多く観察された病変は、肝間質炎(いわゆるミルクスポット、白色小結節)と包膜炎で、肝臓の変色があ

った。全臓器が送付される場合は汎漿膜炎を原因とするもので、高度の癒着、漿膜肥厚、粗造化があった。血液吸入肺は病変が華々しく、目立つため、収集当初、多く提供された。寄生虫性疾患として、胃には高率にドロレス顎口虫の寄生がみられた。豚肺虫症と腎虫症も観察された。

シカにおいて、肝蛭症が高率に観察された。漿膜炎や肝臓などの諸臓器の出血(と殺の影響を疑う)があった。消瘦、被毛の粗剛、貧毛など全身状態不良な個体の全身諸臓器が提供された。そのような症例では、腹腔内脂肪の枯渇、漿膜の水腫などが目立った。心嚢水腫がみられた症例もあった。

3) 注目すべき症例

栃木県で捕獲されるイノシシにおいて、軽重の心肥大が確認され、その数は9個に達した。他地域で捕獲されたイノシシでは確認されていない。病理組織学的には、心筋線維の肥大と心筋線維の変性、壊死や線維化が観察された。シカでは、脂肪壊死症が高度例2例(1例は写真のみ)、2例の軽症例が確認された。そのため、エンドファイト中毒を疑い、シカが生息している地域4カ所の雑草(ウシノゲサ)を検索したところ、3カ所で採取した雑草の葉内に真菌感染を観察した。現在、真菌同定作業を実施している。同じエリアで、消瘦し、広範に後躯の被毛が水様下痢便で汚染された症例1頭が捕獲された。シカにおいて発生報告のあるヨーネ病やクリプトスポリジウム症を疑い検索したが、両病原体の関与は肉眼的および病理組織学的に証明できなかった。

4) 食肉衛生検査所における検体の収集

公衆衛生上重要な疾患の画像を入手するために、愛媛県食肉衛生検査所における食肉衛生検査の過程で摘発廃棄される疾病・病変の提供を依頼した。その結果、72病変(敗血症; 疣贅性心内膜炎、豚赤痢、豚増殖性出血性腸炎、抗酸菌症を含む)を得た。

5) カラーアトラス試案の作成

カラーアトラスを簡易版(初級レベル)、中級レベル、上級レベル(詳細版)と3つの仕様を計画し、令和3年度は中級レベルの試作を作成した。

D. 考察

北海道から九州まで8カ所の検体提供元よ

リイノシシ、シカの各種病変、臓器 合計 52 頭 177 臓器の提供を受けることで、イノシシおよびシカで、しばしば観察される病変の質の高い画像を収集することができた。しかし、公衆衛生上、食品衛生上好ましくない疾患・病変の画像は得られなかった。その理由として、見かけ上健康で、かつ食用に供するために捕獲される野生動物のみを対象としていることが考えられた。そこで、と殺数が圧倒的に多く、近縁の動物の典型病変の画像を用いることとして、食肉衛生検査所の協力を得たところ、豚においていくつかの全廃棄対象疾患の画像を入手することができた。また、3つの仕様のカラーアトラスを考案し、中級コースの試作を作成した。令和4年度は、中級コースの内容を充実させ、初級コースを作る予定である。

なお、野生鳥獣の検体提供者との検体送付や結果報告の際に、情報が少ないために、病変の識別、廃棄に際して、処理者が不安を感じながら作業していることが判明したことから、引き続き、野生鳥獣の疾病・病変収集を通して、アドバイスすることとした。併せて、技術講習会やセミナーなどによる知識・情報の普及が必要であると感じた。

野生鳥獣の疾病・病変の解析により、特定地域のイノシシに高率に心筋肥大があり、強心配糖体などを多く含む植物の摂取が疑われたが、豚熱流行により、イノシシの捕獲、移動が困難となり、その後の採取や検索ができない状況にある。

また、エゾシカにおいても脂肪壊死症が観察され、シカ生息地の雑草に内生菌の感染を

確認し、エンドファイト中毒を疑う環境を確認したが、原因解明には、脂肪壊死部に蓄積する物質の解析と、エンドファイト中毒と診断するためのいくつかの病変（末端壊死症、皮膚潰瘍など）の確認が必要となる。しかしながら、国内には現在中毒物質を解析する機関、検査センターがないことが判明し、分析できない状況にある。

今回の調査期間に、高度削瘦、重篤な下痢を呈するシカが捕獲され、通報があった。このような病態からヨーネ病やクリプトスポリジウム症を疑った。2つの感染症に関しては、2021年国内飼育下ヤクシカでヨーネ病の発生がある。また、2015年国内野生シカ糞便からクリプトスポリジウムの検出報告がある。前者は家畜伝染病予防法対象疾患である。また、後者は感染症法届け出感染症に指定され、暴露量が少なくてもヒトに感染し、環境を汚染することから、特段の注意が必要な疾患である。よって、作業には、周囲を汚染しないように細心の注意を払って処理にあたるよう進言した。なお、寄生虫学的検査および病理学的検査により、両感染症は否定されたが、下痢の原因は不明であった。

E. 結論

安全で、高品質な生産物を供給するために、野生鳥獣を処理する際に、適切、的確な判断が欠かせない。そのための教材、資料の作成、普及と利用促進は必要で、カラーアトラスは重要なツールとなる。

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト（参考）

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型肝炎ウイルス	川本伸一、朝倉宏、稲津康弘、畑江敬子、山崎浩司編集	生食のはなし	朝倉書店	印刷中	印刷中	印刷中

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
山本詩織, 秋元真一郎, 迫井千晶, 山田研, 壁谷英則, 杉山広, 高井伸二, 前田健, 朝倉宏	低温調理による野生鹿肉及び猪肉での中心温度挙動と細菌不活化効果に関する検討	日本食品微生物学会雑誌	39 (2)	印刷中	2022
Mendoza MV, Yonemitsu K, Ishijima K, Kuroda Y, Tatemoto K, Inoue Y, Shimoda H, Kuwata R, Takano A, Suzuki K, Maeda K.	Nationwide survey of hepatitis E virus infection among wildlife in Japan.	J Vet Med Sci	印刷中	印刷中	2022
Mendoza MV, Yonemitsu K, Ishijima K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Kuroda Y, Tatemoto K, Inoue Y, Okada A, Shimoda H, Kuwata R, Takano A, Abe S, Okabe K, Ami Y, Zhang W, Li TC, Maeda K.	Characterization of rabbit hepatitis E virus isolated from a feral rabbit.	Vet Microbiol.	263	109275	2021

Tatemoto K, Ishijima K, Kuroda Y, Mendoza MV, Inoue Y, Park E, Shimoda H, Sato Y, Suzuki T, Suzuki K, Morikawa S, Maeda K	Roles of raccoons in the transmission cycle of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus.	J Vet Med Sci	印刷中	印刷中	2022
Kuba Y, Kyan H, Azama Y, Fukuchi Y, Park ES, Kakita T, Oyama M, Maeshiro N, Miyahira M, Nidaira M, Maeda K, Morikawa S, Taniguchi K.	Seroepidemiological study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in animals and humans in Okinawa, Japan.	Ticks Tick Borne Dis.	12(6)	101821	2021
前田 健	マダニ媒介性ウイルス	耳鼻咽喉科	1(1)	89-96	2022
高野 愛、前田 健	増加するダニ媒介性感染症	ペストコントロール	195号	27-33	2021
石嶋慧多、前田 健	重症熱性血小板減少症候群の国内の発生現状、小動物領域における課題と展望について	東獣ジャーナル	600	10-15	2021.
前田 健	マダニが運ぶ怖い病気	森林科学	92:	16-21	2021.
山田恭嗣、黒田雄大、山本つかさ、西尾悠誠、山田チズ子、小林満利子、森嶋康之、前田 健	重症急性呼吸器症候群、コロナウイルス2感染により呼吸器症状を呈した飼い猫の1例	日本獣医師会雑誌	75(4)	e62-e68	2022
前田 健	犬や猫での新型コロナウイルス感染症	SA Medicine	24(1)	56-58	2022.
黒田雄大、朴ウンシル、前田 健	獣医師が知っておくべき新型コロナウイルス感染症	NJK	242:	24-33	2021.
朴ウンシル、黒田雄大、前田 健	動物のコロナウイルス感染症	モダンメディア	67 (9) :	368-375	2021.
Morita S, Sato S, Maruyama S, Nagasaka M, Murakami K, Inada K, Uchiumi M, Yokoyama E, Asakura H, Sugiyama H, Takai S , Maeda K, Kabeya H.	Whole-genome sequence analysis of Shiga toxin-producing Escherichia coli O157 strains isolated from wild deer and boar in Japan.	J Vet Med Sci.	83:	1860-1868.	2021.

Morita S, Sato S, Maruyama S, Miyagawa A, Nakamura K, Nakamura M, Asakura H, Sugiyama H, Takai S , Maeda K, Kabeya H.	Prevalence and whole-genome sequence analysis of <i>Campylobacter</i> spp. strains isolated from wild deer and boar in Japan.	Comp Immunol Microbiol Infect Dis.	82:	101766.	2022.
高井伸二 , 斑目広郎, 佐々木由香子, 鈴木康規 , 角田 勤.	家畜・伴侶動物・野生動物のロドコッカス・エライ感染症.	日獣会誌.	74:	695-706.	2021.
高井伸二 .	わが国における野生動物と家畜伝染病,	家畜衛生学雑誌	47:	53-62.	2021.
鈴木康規 .	ブドウ球菌食中毒に関する最近の動向とその検査法.	臨床検査.	66:	64-72.	2022.

令和4年4月1日

厚生労働大臣 殿

機関名 岡山理科大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 平野 博之

次の職員の令和3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 厚生労働科学研究費 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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 獣医学部・教授
- (氏名・フリガナ) 宇根 有美・ウネ ユミ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	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) 未審査に場合は、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。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 寄生動物部・主任研究官
- (氏名・フリガナ) 杉山 広・スギヤマ ヒロム

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)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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:)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※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) 未審査に場合は、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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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。

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 獣医科学部・部長
(氏名・フリガナ) 前田健 ・マエダ ケン

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)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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：)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※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) 未審査に場合は、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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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。

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広

次の職員の令和3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 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
2. 研究課題名 野生鳥獣由来食肉の食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究 (21KA1003)
3. 研究者名 (所属部署・職名) 食品衛生管理部・部長
(氏名・フリガナ) 朝倉 宏 ・ アサクラ ヒロシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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) 未審査に場合は、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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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。

令和4年 4月 7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 日本大学生物資源科学部
所属研究機関長 職 名 学部長
氏 名 丸 山 総 一



次の職員の令和3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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 生物資源科学部獣医学科・教授
(氏名・フリガナ) 壁谷 英則・カベヤ ヒデノリ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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) 未審査に場合は、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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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。

2022年 3月 19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 北里大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 島袋 香子



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食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 獣医学部獣医学科獣医衛生学研究室・講師

(氏名・フリガナ) 鈴木 康規 (スズキ ヤスノリ)

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)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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:)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※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) 未審査に場合は、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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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。