別添1

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（21KA1003）

令和４年度　総括研究報告書

研究代表者　前田　健
（国立感染症研究所）

令和５（２０２３）年　５月

別添２

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　1
前田　健

II．分担研究報告
１－１．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（E 型肝炎）　22
前田　健

１－２．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（SFTS）　28
前田　健

１－３．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（SARS-CoV-2）　31
前田　健

２－１．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検討　37
杉山　広

２－２．北海道および北東北 3 県のクマにおける旋毛虫の寄生状況調査　39
杉山　広

３．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　43
朝倉　宏

４．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　46
壁谷　英則

５．野生鳥獣の異常個体・病変の病理学的研究並びにカラーアトラスの作成　67
宇根　有美

簡易版カラーアトラス

６―１．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　71
鈴木　康規

６－２．野生動物のコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の保有状況に関する研究　89
鈴木　康規

III．研究成果の刊行に関する一覧表

別添３

令和４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

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・獣医学部）
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　Milagros Virherz Mendoza（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　立本　完吾　（国立感染症研究所・獣医科学部）
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　松鵜　彩　（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　石嶋　慧多　（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　平良　雅克　（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　山本　つかさ（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）
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）
研究協力者　石井　香菜　（日本大学生物・資源科学部）
研究協力者　鈴木　綾乃　（日本大学生物・資源科学部）
研究協力者　田中　裕梨　（日本大学生物・資源科学部）
研究協力者　大津　千尋　（日本大学生物・資源科学部）
研究協力者　鶴見　柚葉　（日本大学生物・資源科学部）
研究協力者　山崎　晴香　（日本大学生物・資源科学部）
研究協力者　嘉手苅　将　（岡山理科大学・獣医学部）
研究協力者　髙井伸二　（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）

研究要旨：
1）E 型肝炎ウイルス、SFTS ウイルス、SARS-CoV-2 ウイルスのイノシシとシカにおける感染状況を調査し、食肉からの感染、捕獲時・解体時における感染リスクが明らかになりつつある。2）シカ糞便 18 検体（12.9%）、イノシシ糞便 1 検体（2.3%）、食肉 21 検体（28.0%）から黄色ブドウ球菌が分離された。処理工程における流通食肉への糞便汚染が疑われた。全 257 検体において CRE は分離されなかった。セフォタキシムに耐性を示す株が、シカ糞便 5 検体（3.6%）から分離されたが、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。3）アナプラズマ科細菌がヤクシカから高率に検出されたが、マダニからは検出されなかった。マダニからはマダニ共生菌と考えられるリケッチア科およびコクシエラ科細菌が検出された。アナグマからは、マダニ共生菌が血液からのみ検出され、脾臓からは検出されず、病原性のないリケッチアが一時的に血液中に存在する可能性が示された。ニホンザルからは特定できる細菌は検出されなかった。4）わが国で発生した旋毛虫食中毒の原因 *Trichinella* T9 の幼虫に対し、65℃で 15 分間の加熱を施し、マウスに経口摂食させたところ、感染性は消失した。北海道で捕獲された 236 頭のヒグマのうち 6 頭から、また北東北で捕獲された 117 頭のツキノワグマのうち 1 頭（岩手県）から、旋毛虫の幼虫が検出され、検出虫体は総て日本固有種の *Trichinella* T9 と同定された。秋田県で捕獲されたイノシシ 10 頭についても、舌を対象に同様の検査を実施したが、旋毛虫は総て陰性であった。5）カラーアトラスの素材としてイノシシ、シカの臓器・組織のみならず、食肉衛生検査で摘発される豚、牛の共通疾患・病変をも採用してビジュアル的に理解しやすいようにした。今までに収集した検体数はイノシシおよびシカ延べ 105 件、2022 年単年度で牛、豚および羊約 300 病変を収集・検査してカラーアトラス素材とした。これらの素材を用いて、カラーアトラス詳細版のサンプルを作成するとともに、簡易版カラーアトラスを作成した。なお、以上の活動過程で見出した特徴的病変の病理発生の解明の作業を継続した。6）「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、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、一般細菌が多く検出されること、「ウィンチ」と「手剥ぎ」では同程度の細菌汚染があること、が示された。野生鳥獣肉処理施設で処理された鹿、猪各 1 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結果、剥皮後、内臓摘出後、解体後などの作業者の手指やナイフから高度な細菌汚染が認められた。また、表皮洗浄による細菌減少効果は限定的であること、などが明らかとなった。熟成肉では、一般細菌数が増加するものの、大腸菌群・大腸菌は低下する傾向があること、わが国でインターネットにて市販されている野生鹿肉のうち一部の施設で販売されていたものにおいて極めて高度に細菌汚染をしているものがあること、が確認された。7）1 施設由来のアナグマ食肉製品からサルモネラが検出されたほか、高い腸内細菌科菌群数が検出されたアナグマ食肉製品では phylogroup B2 に属する非定型腸管病原性大腸菌（aEPEC）の汚染を受けている実態を把握した。また、ジビエ生ハム製造に関する調査を開始し、塩蔵工程では温度及び塩分濃度の管理等が微生物制御に重要であることを示す知見を得た。このほか、カモ盲腸便からカンピロバクター及び aEPEC が検出され、同食肉製品における当該病原細菌探索を開始した。

A．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。

Ｂ．研究方法

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

1） 野外調査計画：

本年度も継続して野生動物の E 型肝炎の調査を実施中である。本年度は猪に関しては青森 3 頭、富山 19 頭､和歌山 205 頭､香川 20 棟､長崎 42 頭、シカは青森 13 頭、群馬 10 頭、岐阜 61 頭、和歌山 178 頭、香川 10 頭、長崎 137 頭の血清を回収している。

糞便における E 型肝炎ウイルスの検出のため、イノシシ 40 頭･シカ 114 頭の糞便から遺伝子検出を行った。また、得られた遺伝子を解析し、遺伝子ライブラリーに加えた。

2） E 型肝炎ウイルスの実験室内解析法の確立：

ウイルスを用いた中和試験あるいは IFA による抗体評価系を確立し、ELISA による抗体測定の特異性を解析するために、E 型肝炎ウイルスの遺伝子型 I、III、IV のウイルスを用いて培養細胞における感染性の検討を行っている。

3） 狩猟者および鳥獣肉を取扱者の感染症対策：

イノシシおよびシカの血清および糞便におけるウイルス遺伝子の検出を継続して行っている。血清中にウイルス遺伝子が検出される場合は、血液により全身の筋肉にウイルスが存在していることを意味している。糞便中から遺伝子が検出される場合は、解体時における腸内容物の汚染への注意事項となる。

SFTSV に関しては、シカやイノシシの抗体陽性率を調査することにより、地域のリスクを明らかにすることができる。一方、血液からの遺伝子解析は、解体時の血液を関した感染および食肉を介した感染のリスクを明らかにできる。

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

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 CRE を含めたβラクタム系抗菌薬耐性腸内細菌目細菌を研究対象として、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分子疫学的な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。そこで本申請研究では、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 を含めたβラクタム系抗菌薬耐性腸内細菌目細菌の分離を行う。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。

令和 4 年度は、前年度から継続して１４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の分離と食中毒起病性の評価並びに薬剤耐性菌の分離と耐性遺伝子探索を実施した。また、調査対象を市場流通時の野生鳥獣由来食肉（6 カ所の処理施設並びにネット販売品購入）へと広げ、上記対象菌の分離を試み、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。

野生鳥獣を食肉利用するためには、狩猟・運搬・処理・解体等の工程があり、野生鳥獣の血液や外部寄生虫（特にマダニ）を介する人獣共通感染症の病原体に暴露される可能性がある。感染防止対

策のために病原体の存在を把握する必要がある。そこで、Q 熱を起こすコクシエラ、日本紅斑熱やつつが虫病を起こすリケッチア、アナプラズマ症を起こすアナプラズマの保有状況を調査する。これらの細菌はマダニが保有する場合もあるため、捕獲した野生動物個体に寄生していたマダニおよび捕獲地域の植生から採集したマダニも調査する。

コクシエラは宿主域が広く、海外では野生動物からの検出も報告されている。国内の野生動物における保有調査は古く、新しい情報が必要である。リケッチアは、日本紅斑熱患者の報告数の増加がシカやイノシシの生息域・個体数増加に関連するという地域が報告されており、注意が必要である。アナプラズマは、国内に様々な種が存在することは確認されているが、人や動物への病原性など明らかではないことが多い。

令和 4 年度は、前年度から継続して、ジビエ利用される動物を含む野生動物からコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌遺伝子検出を行う。過去の報告では動物 1 個体から 1 サンプルを検査することがほとんどであったが、本研究では同一個体から複数サンプル（脾臓と血液、脾臓と吸着マダニなど）を採集できるように調整し、調査した。

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

1) 調理の条件下で T9 幼虫を加熱した場合、厚生省の示す「食肉を安全に喫食する加熱条件（75℃、1 分）」と同等条件とされる 65℃、15 分の処理で、感染性を失うか、マウスを用いた感染試験で検証した。

2) 北海道のヒグマおよび岩手県のツキノワグマから旋毛虫 T9 の幼虫が検出されたことから、近接する秋田県のツキノワグマおよびイノシシの検査（旋毛虫の好寄生部位である舌を対象）した。北海道のヒグマから検出されていた旋毛虫について、分子同定をし、検出虫体の分子系統の解析を試みた。

3) 野生ニホンジカの横隔膜または骨格筋を各自治体の猟友会の協力を得て採取した。採取場所と検体数は以下のとおりである。北海道:167、岩手県：2、千葉県：179、長野県：9、三重県：56、和歌山県：3、京都府：2、兵庫県：1、長崎県：148（合計 567 検体）

肉サンプルは捕獲後 48 時間以内の冷蔵または冷凍で岩手大学に郵送された。各検体から 10g を量り取り、ホモジネーションの後に核酸抽出を行った。得られた核酸試料を用いて、*Sarcocystis* 属 18S rRNA 遺伝子を対象とした定量的リアルタイム PCR を行った。プロトコルは既報に従った (Yamazaki et. al. 2020)。

各検体 1g あたりの遺伝子コピー数を用いて、統計的解析を行った。変数は採材地域、年齢、性別とし、それぞれ Kruskal-Wallis 検定、Steel-Dwass の多重検定、一元配置分散分析、相関係数解析、student の t 検定を行った。

また、食中毒事例を起こした馬肉 1g あたりの S. fayeri 遺伝子コピー数および、有症事例品のシカ肉 1g あたりの *Sarcocystis* sp. 遺伝子コピー数との比較解析を行った。また、九州地方で捕獲され食用に供される野生獣肉における流行種の解明を目的に、宮崎県内の処理施設からシカ 100 頭およびイノシシ 11 頭、宮崎市周辺でロードキルにより回収されたアナグマ 7 匹から、横隔膜を採取した。まず実体顕微鏡下でサルコシストを検査し、各動物種での保有率を算出した。次に、組織学的にサルコシスト横断面、特に壁構造を観察し、形態学的に鑑別を試みた。さらに、単離したシストから DNA を抽出し、その後、ミトコンドリア DNA シトクロム *c* オキシダーゼサブユニット 1 遺伝子領域の塩基配列を解析し、種を同定した。

④ 異常個体の病理学的検索とカラーアトラスの充実

作業者および消費者に健康被害が生じないように、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）並びに異常個体を排除および適切に取り扱いするため、的確に探知する方法としてカラーアトラスを作成する。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、豚水胞病、水胞性口炎、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）も検討する。

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

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指標細菌数の測定

わが国の野生鳥獣処理施設のうち、各施設で生産された枝肉について、衛生状況を評価する。特に「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。さらに大日本猟友会の協力を得て、2 箇所の猟友会から協力をいただき、枝肉の拭き取り検査を実施する。

2） 解体処理工程における細菌汚染源の探索

野生鳥獣処理施設における解体作業に同行し、各工程毎に、作業者、器具、と体（枝肉）などから拭き取りを実施し、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。

3） 熟成肉の衛生評価

熟成を行って出荷する野生鳥獣処理施設から協力を得て、熟成前後の肉を採材し、衛生指標細菌数の計測、食中毒起因細菌の検索、細菌叢解析を実施し、わが国で生産された野生鳥獣由来熟成肉の衛生状況を評価する。加えて、インターネット上で市販されている野生鳥獣肉、および、熟成肉として市販されているものを購入し、上記と同様の検討を行い、衛生状況を評価する。

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

昨年度アナグマ食肉より検出された非定型腸管病原性大腸菌（aEPEC）の特性探知のためにゲノム解析等に供したほか、新たな施設由来アナグマ食肉製品からの食中毒菌探索を行った。また、ジビエ生ハム製造関連事業者との意見交換を行い、製造工程での衛生管理に係る調査を開始した。このほか、カモ盲腸便からの主要食中毒菌保菌状況を調査した。

（倫理面への配慮）

特になし

C．研究結果

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

1）野外調査計画：

本年度も継続して野生動物の E 型肝炎の調査を実施中である。新規採材地としては長崎県などのサンプルを得ることができた。順調に解析中である。

本年度はイノシシ 116 頭・シカ 288 頭の糞便から遺伝子検出を実施した結果、イノシシ 6 頭（5.2%）からウイルス遺伝子が検出された。シカからは検出されなかった。遺伝子解析の結果、山口県以外で初めて遺伝子型 IV のウイルスが検出された。野生における各地の E 型肝炎ウイルスの遺伝子系統が明らかになりつつある。

2）E 型肝炎ウイルスの実験室内解析法の確立：

ウイルスの増殖が悪く試行錯誤を繰り返しているが、温度が重要との指摘を受け検討を行っている。本課題期間中に、ウイルスを用いた中和試験あるいは IFA による抗体評価系を確立して、ELISA による抗体測定の特異性を解析することを目標にしている。

3）SFTS に対する抗体保有および遺伝子検出状況

今年度を含めたこれまでの集計結果では、日本のシカ 4399 頭中 1073 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 24.4%であった。イノシシにおいては 3062 頭中 1117 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 36.5%であった。遺伝子陽性率はシカ 1294 頭中 1 頭（0.1%）、イノシシ 1350 頭中 3 頭（0.2%）となった。

2022 年度に新たに解析に用いたイノシシの抗体検査結果は青森 8 頭中 0 頭(0%)、富山 19 頭中 3 頭(13%)、和歌山 220 頭中 159 頭(72%)、香川 20 頭中 9 頭(45%)、長崎 47 頭中 2 頭(4%)、シカでは青森 13 頭中 0 頭(0%)、群馬 10 頭中 0 頭(0%)、岐阜 61 頭中 0 頭(0%)、和歌山 218 頭中 88 頭(40%)、香川 10 頭中 0 頭(0%)、長崎 156 頭中 7 頭(4%)であった。遺伝子検査ではいずれの検体においてもウイルス遺伝子は検出されなかった。

4）SARS-CoV-2 に対する抗体保有状況

2020 年採取ニホンジカ青森県 12 頭、群馬県 20 頭、岐阜県 61 頭、和歌山県 102 頭、山口県 91 頭、香川県 10 頭計 296 頭、ハクビシン埼玉件 16 頭、和歌山県 48 頭計 64 頭、タヌキ神奈川県 7 頭、和歌山県 23 頭、山口県 6 頭計 36 頭、2021 年採取ニホンジカ青森県 18 頭、群馬県 20 頭、岐阜県 51 頭、和歌山県 240 頭、山口県 53 頭、香川県 10 頭計 392 頭、イノシシ青森県 1 頭、富山県 15 頭、和歌山県 253 頭、香川県 20 頭、山口県 44 頭計 333 頭の血清に対して、56℃30 分の非働化処理後 2021 年採取検体では WK-521 株、2021 年採取検体には WK-521 株、2021 年流行したデルタ株 TY26-419 株を用いて中和試験を行った。

結果は2020年度採取検体ではすべてが抗体価5倍未満で陰性であった。2021年採取検体では和歌山県のシカで一検体抗体価 5 倍以下のものがあり 4 倍で再度中和試験を行い抗体価 4 倍となった。陽性率は2021年シカ採取検体392頭中1頭で0.26%と非常に低い陽性率であった。

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

1) 13道府県から採取したシカ糞便139検体中18検体から黄色ブドウ球菌が分離され、陽性率は12.9%であった。4県から採取したイノシシ糞便43検体中1検体から黄色ブドウ球菌が分離され、陽性率は2.3%であった。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。昨年度同様全257検体においてCREは検出されなかった。一方で、セフォタ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139検体中5検体（3.6%）から分離されたが、イノシシ糞便においては、全43検体で分離されなかった（0%）。また、解体後・加工後市場流通シカ肉においても全75検体で分離されなかった（0%）。分離菌株53株（昨年度分離菌株も含む）の全ゲノム解析を行い、各菌株のANI value、ST型の決定、毒素遺伝子、薬剤耐性遺伝子の探索を行った。黄色ブドウ球菌の標準株（S. aureus NCTC8325: NC_007795）に対するANI valueは全ての分離菌株で95%以上であり、ゲノム構造においても全ての分離菌株が黄色ブドウ球菌であることが確認された。53株中30株が既報のST型に分類され、ST6238が12株、ST4278が9株、ST1250が4株、ST20、ST133、ST188、ST398及びST2449が各1株であった。一方で残りの23株は既報のST型に分類されない未報告のST型であった。すなわち、本研究において 7 つの新規allele（gmk-630、pta-963、tpi-888、tpi-889、tpi-890、yqil-1059、yqil-1060）と 12 の新規 ST 型（ST8073-8084）を同定し、これらについてPubMLSTデータベースに登録した。ST型に基づく最小スパニングツリー法による系統解析の結果、53株中39株がClonal complex（CC）121から分岐した新たな集団に含まれることが明らかとなった。すなわちこの優占クローンには ST1250、ST6238及び新規12種類のSTが含まれていた。一方で、ST4278（n=9）はこの優占クローンには含まれず、既報のCC15に属した。なお、ST4278に属する9株は全て同一の施設（施設E）で処理された食肉検体由来であった。食中毒の原因毒素であるエンテロトキシン遺伝子は、上記の優占クローンに属するST6238（n=12）とST8076（n=3）の全ての株において、必ずegc関連SE遺伝子（sei, sem, sen, seo, selu）を保有したが、古典的SE遺伝子（sea-see）を保有する株は存在しなかった。一方で、上記の集団には属さないST2449（SA22D108株）1株のみ、egc関連SE遺伝子に加えて古典的SEである SEC 及び SEH 遺伝子を保有していた（SE genotype; sec, seh, sei, sel, sem, sen, seo, selu）。また本菌株の培養液中のSEC産生量は4.97±0.68 μg/ml、SEH 産生量は 180.27±14.98 ng/mlであった。上述のSA22D108株はβラクタム系薬剤耐性遺伝子である blaZ 並びにアミノグリコシド耐性遺伝子である aph(3')-Ia を保有していた。ST4278に属する全ての株（n=9）は、blaZ単独もしくはblaZとaph(3')-Iaの両者を保有していた。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53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。分離された5菌株の全ゲノム解析を行い、各菌株のST型、薬剤耐性遺伝子の探索を行った。分離菌株の内4株（EC22D69、EC22D92、EC22D94、EC22D116株）は *Escherichia coli* であり、それぞれST38、ST540、ST746、ST4450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、昨年度の分離菌株でも多く検出された $bla_{CTX-M-15}$ 保有株が 2 株（EC22D69、EC22D92）あり、EC22D92株は bla_{TEM-1B} も併せて保有していた。EC22D116株は $bla_{CTX-M-55}$ と bla_{TEM-1B} を保有しており、EC22D94株は昨年度分離されなかった $bla_{CTX-M-32}$ を保有していた。残りの1株（CL22D99株）は *Enterobacter cloacae* であり、bla_{ACT-16} を保有していた。しかし、昨年度同様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。続けて、5 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）において阻止円は観察されなかった。また、CL22D99株を除く4株は、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一方で、CL22D99 株はイミペネムの阻止円径が耐性と感受性の中間を示した。また、セフェム系のセフタ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中間を示す株が存在したが、多く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。6 施設から輸送したシカ肉及びインターネットで購入したシカ肉58検体中19検体から黄色ブドウ球菌が分離され、陽性率は 32.8%であった。一方で、全58検体からCREを含むβラクタム系抗菌薬耐性腸内細菌目細菌は分離されなかった。一般的な汚染指標項目（生菌数・大腸菌

群数・大腸菌）の結果と黄色ブドウ球菌の分離結果は関連性が高く、前者が高い検体は高確率で黄色ブドウ球菌が分離された。また、上記項目や黄色ブドウ球菌の分離率は処理施設の違いに依存していた。すなわち、汚染度が高いシカ肉を加工している施設からは高確率で黄色ブドウ球菌が分離された。ゲノム解析を行ったシカ由来 8 株の黄色ブドウ球菌の MLST 型は、シカ及びイノシシ糞便からの分離菌株の主要な ST 型である ST6238（及びその近縁型）が 3 株、ST482（及びその近縁型）が 1 株、ST1639（及びその近縁型）が 2 株分離されており、糞便等シカ自身が保有する黄色ブドウ球菌が加工・解体時に肉を汚染したことが疑われた。

2） 鹿児島県で捕獲した野生動物から検体を採集した。令和４年度はシカ（ヤクシカ）の脾臓 19 検体および血液 9 検体、アナグマの脾臓 1 検体および血液 8 検体、ニホンザルの脾臓 30 検体採集した。また捕獲動物由来とヤクシカ生息地域の植生由来のマダニ 125 個体を採集した。対象細菌の保有状況は、コクシエラ科細菌はニホンザルの脾臓１（33.3%）、マダニ 11（8.8%）であった。リケッチア科細菌はアナグマの血液 2(25.0%)、マダニ 9（7.2%）であり、これはリケッチア属細菌遺伝子のみで、オリエンチア属細菌遺伝子は含まれていない。アナプラズマ科細菌はヤクシカの脾臓 17（89.5%)と血液 7(77.8%)、アナグマの脾臓 1(100%)と血液 4（50.0%）であった。検出したコクシエラ科とリケッチア科細菌の遺伝子配列の解析から、これらは全てマダニ共生菌の遺伝子と考えられた。検出したアナプラズマ科細菌の遺伝子配列の解析では、様々な未同定の種が検出されていることが明らかになった。ヤクシカの脾臓および血液からは同一の配列が多く、これらは *Anaplasma capra* であると考えられた。ヤクシカが高率にアナプラズマを保有していることが明らかになったが、ヤクシカに吸着していたマダニとヤクシカ生息地域の植生から採集したマダニからはアナプラズマは検出されなかった。

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

1） 調理の条件下で T9 幼虫を 65℃、15 分間加熱処理したところ、マウスを用いた感染試験では感染個体が検出されず、この加熱条件で旋毛虫 T9 は感染性を失うことが証明された。

2） 北海道で捕獲された 236 頭のクマ（ヒグマ）のうち 6 頭から、また北東北（青森県、秋田県及び岩手県）で捕獲された 117 頭のクマ（ツキノワグマ）のうち 1 頭（岩手県）から、旋毛虫の幼虫が検出され、検出虫体は総て日本固有種の Trichinella T9 と同定された。検査したクマ検体の総数は 353 頭で、このうちの 7 頭が旋毛虫 T9 の幼虫陽性であった（陽性率：2.0%)。なおこの間に秋田県で捕獲されたイノシシ 10 頭についても、舌を対象に同様の検査を実施したが、旋毛虫は総て陰性であった。

④ 異常個体の病理学的検索とカラーアトラスの充実

1） イノシシおよびシカの病変カラーアトラス作成のため、病変 102 検体（2023 年 1 月現在）を収集し、マクロ写真撮影、病理組織学的検査を行った。検体提供者に検査結果をフィードバックして、情報交換、および口頭で病変説明も行った。

2）イノシシ・豚、シカ・牛共通の重要疾患に関しては豚および牛の病変で代用するため、食肉衛生検査摘発材料を収集し、肉眼写真および組織写真の充実を図った。

3） カラーアトラスとして、簡易版（現場作業用）と詳細版作成を計画し、簡易版の作成はほぼ終了し、引用写真に関して引用の許諾を得るための作業を行っている。

4） 以上の作業で見出された疾患:イノシシの肥大心やエゾシカの脂肪壊死症について、病因解明のための作業を行った。

⑤ 処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止に関する研究

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指標細菌数の測定

「野外における内臓摘出」を行う施設として、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

鹿：

剥皮と内臓摘出の作業工程順別：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。その結果、一般細菌数（胸部：肛門周囲部，単位は log10cfu/cm^2 ）において、「剥皮」→「内臓摘出」では 0.1:1.0、「屋外内臓摘出」→「剥皮」では 1.4: 検出限界未満（ud)、「屋内内臓摘出」→「剥皮」は、ud:ud、「猟友会」では 1.3:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm^2 であった。

剥皮施設別：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。その結果、一般細菌数（胸部：肛門周囲部， 単位は lig10 cfu/cm^2 ）において、「のせ台」は 1.0:1.5、「懸吊」は ud:ud、「猟友会」は、1.3:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm^2 であった。

剥皮方法別：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。その結果、一般細菌数（胸部：肛門周囲部，単位は cfu/cm^2 ）において、「ウィンチ」は、ud:ud、「手剥ぎ」は ud:0.6、「猟友会」は 1.3:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm^2 であった。

猪：

剥皮と内臓摘出の作業工程順別：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。その結果、一般細菌数（胸部：肛門周囲部，単位は log10 cfu/cm^2 ）において、「剥皮」→「内臓摘出」では 1.9:2.2、「屋内内臓摘出」→「剥皮」は、0.5:0.6、「猟友会」では 1.6:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm^2 であった。

剥皮施設別：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。その結果、一般細菌数（胸部：肛門周囲部，単位は log10 cfu/cm^2 ）において、「のせ台」は 1.7:2.2、「懸吊」は ud:ud、「猟友会」は、1.6:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm^2 であった。

剥皮方法別：剥皮時に「ウィンチ」を使用する施設、「手剥ぎ」により実施する施設、さらに「湯剥ぎ」を行う施設に分け各衛生指標細菌数の中央値を比較した。その結果、一般細菌数（胸部：肛門周囲部，単位は cfu/cm^2 ）において、「ウィンチ」は、1.0：2.2、「手剥ぎ」は 1.2:1.4、「猟友会」は 1.6:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm^2 であった。

2）屋外で実施された解体処理工程で採取した拭き取り検体の衛生指標細菌数

わが国の屋外で解体処理を行う野生鳥獣肉処理施設 X、および Y 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衛生指標細菌数を計測した。施設 X,Y において、それぞれ鹿 1 回、猪 1 回実施した。

施設 X（鹿）

と体・枝肉：と体洗浄前で一般細菌数（cfu/cm^2）が $8.4x10^1$～$1.5x10^2$ と高度に検出され、洗浄後には、$1.9x10^1$～$1.1x10^2$ と残存した。以降、ほとんどいずれも胸部は低値（0～$3.5x10^0$）であったが、肛門周囲部は、比較的高度（$2.3x10^1$～$4.0x10^1$）に検出されなかった。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）について特に肛門周囲部でわずか（0～$2.8x10^0$）に検出された。

ブロック肉：一般細菌数（cfu/cm^2）が $1.0x10^1$～$2.0x10^1$ 検出されたが、その他はいずれも検出されなかった。

作業者手指：一般細菌数（cfu/片手）が 0～$9.6x10^3$ と高度に検出され、特に枝肉洗浄後に多く検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/片手）はわずか（0～$2.5x10^1$）に検出されたが黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

ナイフ：一般細菌数（cfu/ナイフ）が 0～$8.1x10^4$ と高度に検出され、特に枝肉洗浄後に多く検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/ナイフ）は 0～$3.9x10^3$ 検出された。特に剥皮後において高度に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

後蹄：一般細菌数（cfu/蹄）が $2.2x10^4$～$3.4\ x10^4$ と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌（0～$5x10^0$ cfu/蹄）、黄色ブドウ球菌（（0～$1x10^0$cfu/蹄）はわずかに検出された。

銃創・止め刺し口：一般細菌数（cfu/cm^2）が $2.1x10^1$～$3.6x10^3$ と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）についてもわずか（0～$8.5x10^0$）に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

糞便汚染箇所：一般細菌数（cfu/cm^2）が $1.3x10^0$～$2.4x10^1$ 検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）についてもわずか（0～$2.2x10^0$）に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

床：一般細菌数（cfu/cm^2）が $1.7x10^2$～$3.6x10^2$ 検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）についてもわずか（$5.0x10^{-2}$～$2.1x10^0$）に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

枝肉洗浄ブラシ：一般細菌数が $6.3x10^2$cfu/cm^2 検出されたがその他の指標細菌は検出されなかった。

枝肉洗浄水（湧き水）：使用前においても、一般細菌数が $3.2x10^2$cfu/ml 検出されたが、その他の指標細菌は検出されなかった。使用後では、一般細菌数が $7.2x10^4$cfu/ml と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌については、使用前には検出されなかったが、使用後、大腸菌が $2.5x10^0$ cfu/ml、大腸菌群が $5.4x10^2$ と高度に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

施設 Y（猪）

と体・枝肉：と体洗浄前で一般細菌数（cfu/cm^2）が $2.6x10^2$～$1.8x10^4$ と高度に検出された。剥皮以降も、$3.7x10^0$～$8.0x10^2$ と比較的高度に検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）もわずか（0～$2.4x10^1$）に検出された。黄色ブドウ球菌（cfu/cm^2）も、わずか（0～$1.6x10^2$）に検出された。

作業者手指：一般細菌数（cfu/片手）が $1.9x10^3$～$2.0x10^5$ と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌は 0～$2.0x10^4$ cfu/片手検出され、特に解体後にお

いて高度に検出された。黄色ブドウ球菌は 5.0x10[1]～9.3 x10[4] cfu/片手検出された。

後蹄：一般細菌数が 4.4 x10[5] cfu/蹄と高度に検出された。大腸菌群は 4.7x10[2]cfu/蹄、大腸菌は 3.9x10[2] cfu/蹄)、黄色ブドウ球菌は 1.8x10[5]cfu/蹄検出された。

銃創：洗浄前では、一般細菌数が 1.1x10[3] cfu/cm[2]～3.6x10[3]、大腸菌群・大腸菌についてもわずか(それぞれ 2.0x10[1]、8.5x10[-1]cfu/cm[2]) に検出された。黄色ブドウ球菌は 7.4x10[1]cfu/cm[2] 検出された。剥皮後は、いずれも大きく低減したが、一般細菌数が 1.0x10[1] cfu/cm[2]～3.6x10[3]、大腸菌群・大腸菌はいずれも 3.5x10-[1]cfu/cm[2] に検出された。黄色ブドウ球菌は 4.0x10[-1]cfu/cm[2] 検出された。

床・作業台：一般細菌数 (cfu/cm[2]) が 3.3x10[0]～58.7x10[1] 検出された。大腸菌群・大腸菌 (cfu/cm[2]) についてもわずか (0～2.5x10[-1]) に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

枝肉洗浄水：使用前においても、一般細菌数が 6.5x10[1]cfu/ml 検出されたが、その他の指標細菌は検出されなかった。使用後では、一般細菌数が 3.6x10[6]cfu/ml と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌については、大腸菌が 1.6x10[3] cfu/ml、大腸菌群が 2.2x10[3] と高度に検出された。黄色ブドウ球菌も 1.3x10[2] cfu/ml 検出された。

3) 野生鳥獣熟成肉の衛生評価

3)-1 わが国の野生鳥獣処理施設で生産された鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

各施設で処理された枝肉の熟成前後における一般細菌数の中央値(以下全て「熟成前」、「熟成後」の順で示す。単位は cfu/g) それぞれ、施設 a で 3.3×10[2]、1.7×10[3]、施設 b で 6.7×10[1]、7.4×10[1]、施設 C で 3.8×10[3]、8.3×10[6] であった。施設 C の熟成後の値は、施設 a、b の同値に比べ有意 (p<0.05) に高値であった。

大腸菌群の中央値は (以下全て熟成前、熟成後の順で示す。単位は cfu/g) は、施設 a で 1.0×10[0]、3.0×10[-1]、施設 b でいずれも 0、施設 c で 1.8×10[1]、1.8×10[0] であった。

大腸菌の中央値 (以下全て熟成前、熟成後で示す。単位は cfu/g) は、施設 a で 8.0×10[-1]、0、施設 B ではいずれも 0、施設 c で 1.5×10[0]、0 であった。施設 a、c の熟成後の値は、施設 b に比べ有意 (p<0.05) に減少していた。

黄色ブドウ球菌はいずれの検体からも検出されなかった。

施設 a で処理された熟成前 1 検体(9.1%)から *Listeria* spp. が 3 株分離された。3 株の分離株はいずれも、*L. welshimeri* (65.7%) もしくは *L. innocua* (34.1%) と同定された。その他いずれの検体からも、検討した食中毒起因細菌は分離されなかった。

3)-2 わが国で市販されていた鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

一般細菌数(単位は cfu/g)は、鹿熟成肉では 0～<2.5x10[5]、鹿非熟成肉では、0 ～7.4x10[5] であり、鹿熟成肉と鹿非熟成肉の一般細菌数に有意差は認められなかった。鹿熟成肉では施設 A の検体 (5.2x10[3]~<2.5x10[5]) が施設 B ,C の検体(0~2.8x10[2]) に比べ有意 (p<0.05) に高値を示した。鹿非熟成肉では施設 F の検体 (7.4x10[1]~7.4x10[5]) が施設 D ,E ,G ,H ,I ,J の検体 (0~4.6x10[3]) と比べ有意 (p<0.05) に高値を示した。

大腸菌群数(単位は cfu/g)は鹿熟成肉では 0 ～3.5x10[2]、鹿非熟成肉では、0 ～6.1x10[4] であり、鹿熟成肉と鹿非熟成肉の大腸菌群数に有意差は認められなかった。鹿熟成肉では施設 A の検体 (0~3.5x10[2]) が施設 B ,C の検体 (施設 C の 1 検体からのみ 2.0*10[0] CFU/g) と比べ有意 (p<0.05) に高値を示し、鹿非熟成肉では施設 F の検体 (0～6.1x10[4]) が施設 D ,E ,G ,H ,I ,J の検体 (0~3.4x10[2]) と比べ有意 (p<0.05) に高値を示した。

大腸菌数(単位は cfu/g)は鹿熟成肉では 0 ～1.5x10[2]、鹿非熟成肉では、0 ～2.1x10[4] であり、鹿熟成肉と鹿非熟成肉の大腸菌数に有意差は認められなかった。鹿熟成肉では施設 A の検体 (0~1.5x10[2]) のみから検出され、施設 B ,C の検体 (すべて 0) と比べ有意 (p<0.05) に高値を示した。鹿非熟成肉では大腸菌は施設 F ,G ,J から 0~2.1x10[4] 検出され、施設 D ,E ,H ,I からは検出されなかった。施設 F の検体 (0~2.1x10[4]) が施設 D ,E ,G ,H ,I ,J の検体 (0~6.0x10[0]) と比べ有意 (p<0.05) に高値を示した。

黄色ブドウ球菌はいずれの検体からも検出されなかった。

全ての熟鹿成肉検体において、検討したいずれの食中毒起因細菌も分離されなかった。

一方、鹿非熟成肉の 3 検体から non-0157 STEC が 3 株分離された。これらの菌株について *stx* 遺伝子 (*stx1*、*stx2*) を標的とした PCR を実施したところ、1 株から *stx1*、*stx2* 両遺伝子が検出されたのに対し、2 株からは *stx2* 遺伝子のみが検出された。

13 検体から *Listeria* 属菌 が 36 株 分離され、このうち 4 検体から分離された 12 株は *Listeria* spp.、9 検体から分離された 24 株は *L. monocytogenes* と同定された。

0157 STEC、*S. aureus*、*Salmonella* 属菌は全ての検体において陰性だった。

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

1 施設由来のアナグマ食肉製品からサルモネラが検出されたほか、高い腸内細菌科菌群数が検出されたアナグマ食肉製品では phylogroup B2 に属する非定型腸管病原性大腸菌（aEPEC）の汚染を受けている実態を把握した。また、ジビエ生ハム製造に関する調査を開始し、塩蔵工程では温度及び塩分濃度の管理等が微生物制御に重要であることを示す知見を得た。このほか、カモ盲腸便からカンピロバクター及び aEPEC が検出され、同食肉製品における当該病原細菌探索を開始した。

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

1）野外調査：

イノシシの血清中から数%の確率でウイルス遺伝子が検出されている。血液にウイルスが存在しており、血液により全身の筋肉にウイルスが存在していることを意味している。狩猟者および取扱者は血液および筋肉の取り扱いの際に注意することが必要である。

糞便中からも E 型肝炎ウイルスが 5%程度検出されていることから、解体時における腸内容物の汚染も注意すべきことが明らかとなってきた。

2）SFTSV に関しては、対馬と千葉県で感染率が上がっていることを明らかにすることができた。これらの地域では SFTS のリスクが高まっていると考えている。抗体保有率に比べて、これまでイノシシ・シカ 1000 頭近くの血清からウイルス遺伝子の解析を行ったが、イノシシ・シカともに非常に遺伝子保有率が低いことが明らかとなった。イノシシ・シカの血液を関した感染および食肉を介した感染のリスクは低い可能性が示されている。しかし、糞便からのウイルスの汚染には注意する必要がある。

3）今回の結果では日本国内での野生動物で SARS-CoV-2 の感染は 2021 年採取シカ 1 頭（0.26%）のみで感染が広がってはいなかった。しかし調査地域が限定的であったこと、またヒトとの接触率がわからないことからヒトとの接触がある地域について調査が必要であると考えられる。

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

1）黄色ブドウ球菌によるリスクについて

黄色ブドウ球菌の分離率がイノシシ糞便よりシカ糞便から高率であることは昨年度と同様の傾向であった。この結果は、イノシシよりシカの方が、黄色ブドウ球菌の保菌率が高いことを強く示唆している。昨年度の分離菌株の遺伝子型の傾向から、他の家畜同様、野生獣には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た。本年度の分離菌株を加えた 53 株の ST 型に基づく最小スパニングツリー法による系統解析の結果、53 株中 39 株（73.6%）が CC121 から分岐した新たな集団に含まれることが明らかとなった。すなわち、本研究により、この集団に属する黄色ブドウ球菌がシカやイノシシなどの野生鳥獣における優占クローンであることが明らかとなった。また、この優占クローン属する ST1250、ST6238、ST8074、ST8077、ST8078、ST8080 の黄色ブドウ球菌株はシカ糞便及び食肉検体の両者から分離された。このことから、処理工程における流通食肉への糞便汚染が疑われた。表 1 に示す通り、処理施設ごとに黄色ブドウ球菌の分離率が異なり、特に施設 E では特に高い分離率であった。これらの施設で処理された食肉における一般細菌数及び大腸菌群数は高値であり、また大腸菌も検出されており、高い分離率との相関性も糞便汚染を強く支持していると考えられる。

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は 17 株分離された。その内の 16 株は *egc* 関連の新型エンテロトキシンに分類される SE 遺伝子のみ（*sei*, *sem*, *sen*, *seo*, *selu*）を保有していた。これら *egc* 関連の SE は一般的に菌からの産生量が少なく、また嘔吐活性も弱いとされており、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、これらの分離菌株を原因とするに食中毒発生のリスクは低いと推測される。しかし、1 株のみ（SA22D108 株）*egc* 関連 SE 遺伝子に加えて古典的 SE である SEC 及び SEH 遺伝子を保有していた（*sec, seh, sei, sel, sem, sen, seo, selu*）。本菌株の培養上清中における SEC 及び SEH 産生量は、過去に報告された食中毒事例由来株の産生量と同程度であり（Suzuki et al., J appl Microbiol. 118:1507-1520, 2015.; Sato'o et al. Appl Environ Microbiol. 81:7782-7790, 2015.）、この菌株による食中毒リスクは存在すると考えられる。

薬剤耐性遺伝子は、SA22D108 株並びに ST4278 に属する全 9 株において、*blaZ* 単独もしくは *blaZ* と *aph(3')-Ia* を検出した。ST4278 に属する 9 株は、同一の施設（施設 E）で処理された食肉検体由来であったことから、施設内汚染の可能性が考えれるため、薬剤耐性黄色ブドウ球菌が野生鳥獣の環境に拡散しているとは言い難い。また、昨年度

から継続して MRSA は一株も分離されなかったことからも、ヒトの臨床現場で大きな問題になっている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

昨年度から継続して CRE の分離を試みたが、本年度も 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。

5 株の CTX 耐性の腸内細菌目細菌がシカ糞便から分離された。昨年度はシカ糞便よりイノシシ糞便から高率に分離されたが、本年度はイノシシ糞便全 43 検体から分離されなかった。本年度分離を試みたイノシシ糞便は大分・宮崎の 2 県のみから採取したものであり、地域性に偏りが生じたため分離されなかった可能性があると考えられる。

分離菌株の内 4 株は *Escherichia coli*、1 株は *Enterobacter cloacae* 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、*Escherichia coli* では昨年度の分離菌株でも多く検出された $bla_{CTX\text{-}M\text{-}15}$、$bla_{CTX\text{-}M\text{-}55}$ は本年度の分離菌株も保有していた。これら 2 つの遺伝子は、世界各地の様々な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。一方、*Enterobacter cloacae* であった CL22D99 株は AmpC 型βラクタマーゼである $bla_{ACT\text{-}16}$ を保有していた。AmpC 過剰産生菌はカルバペネムの MIC を上昇することが知られており、薬剤感受性試験においてイミペネムに中間を示した結果と一致すると考えられる。また、本年度も genotype と薬剤耐性遺伝子の保有、あるいは分離地域の間に明確な関連性は見出されなかった。

3) 野生動物のコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の保有状況に関する研究

本研究の対象細菌は、培養が困難であるために分離試験がほとんど行われていない細菌である。リケッチア症の診断には抗体検査が行われるが、コクシエラは感染の有無にかかわらず抗体保有者がいること、アナプラズマは菌種や株により抗原性に大きな差があることから普及していない。PCR 検査が一般に普及したため、現在では急性期の材料からの遺伝子検出が診断にも用いられている。野生動物やマダニにおけるこれら細菌遺伝子の検出状況だけに注目すると、これらの動物を扱う人々は大きな危険を伴って作業しているように考えられる。しかし、実際には病原性細菌の他に、病原性の低いあるいは無い近縁種が多く存在し、これらが同時に検出されることを理解する必要があることが示された。

ヤクシカが高率にアナプラズマを保有していることが明らかになった。これは他の地域のシカと比較しても高い結果である。過去に本研究室で同じ方法で調査した九州・四国地域のシカでは陽性率は 27.9%（12/43 頭）であり、他の報告と大きな差はなかった。また、ヤクシカが保有するアナプラズマは同一の遺伝子配列が多く、１菌種または１株がヤクシカ（屋久島）において伝播していることが推測される。病理組織学的には共通する所見はなかったため、ヤクシカに対する病原性は低く、不顕性に感染が維持されているのかもしれない。しかし、この *Anaplasma capra* の病原性については明確に示されていないため、今後、人と動物の両方への影響を明らかにする必要がある。海外では家畜や野生動物だけでなく人からも検出されているが、病因となっているか不明瞭である。屋久島は世界遺産登録されており、ヤクシカは保護区域と人居住地を行き来していることから、環境保全と人への健康危害対策の両方から重要な課題である。

ニホンザルからは、対象細菌はほとんど検出されなかった。ニホンザルを採材した地域は、日本紅斑熱とつつが虫病の患者報告が多い地域であることから、興味深い結果である。

血液からマダニ共生菌と 100%一致する配列が検出されたアナグマは、脾臓からは細菌遺伝子は検出されなかった。これらのアナグマ個体に吸着していたマダニを得られなかったため確認できなかったが、吸血中のマダニから注入されたマダニ共生菌が一時的に血液中に存在したと考えた。人においても診断目的の PCR で非病原性リケッチアが検出され、検査精度が問題視されたり、新興感染症と捉えられたりすることがある。人でマダニ刺咬と身体状態が悪いことが重なった場合に日和見感染のようにマダニ共生菌が一時的に体内に存在する状態になる可能性を示唆する結果である。コクシエラ科細菌は病原性のある *C. burnetii* は検出されなかったが、技術的な問題ではないと考えている。今回用いた PCR は、*C. burnetii* の *com1* と 16S rRNA 遺伝子の両方が増幅できることを複数の株を用いて確認している。*com1* は検出されず 16S rRNA 遺伝子のみ検出されるという海外の野外調査もあることから、おそらく本研究と同様にマダニ共生 *Coxiella* spp. の存在が Q 熱の分布疫学を難しくしていると考えている。

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

１)「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）において指示された「中心部の温度を 75℃以上で 1 分間以上加熱する」という条件で、旋毛虫による食中毒を予防できるかを、昨年度に実験して証明した。ただし 75℃で 1 分間の加熱を施すと、豚肉ブロックの中心部分が、65℃（以上）の温度で 20 分間、加熱されることが分かった。このため、65℃で 15 分間の加熱は、75℃で 1 分間の加熱と同等に、旋毛虫の殺滅に有効と規定されているが、実際に 65℃で 15 分間だけの加熱で、旋毛虫の幼虫が完全に殺滅されるのかは、改めて検証する必要があるとの考えに至った。これが今回の検討を行った理由である。

そこで調理の現場を想定した実験系を用いて、肉の中心温度を 65℃で 15 分間加熱した。その結果、筋肉内の旋毛虫 T9 の幼虫は殺滅され、この条件での加熱により、感染予防できると確認された。

本検討の結果、「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）で指導する「中心部の温度を 75℃以上で 1 分間以上加熱する」という条件だけでなく、同等の加熱条件でも、旋毛虫による食中毒の予防は確実になることが示された。

２）今回の検討の結果、北海道のヒグマにおける旋毛虫の寄生率は決して高くなかった（236 頭のうち 6 頭が感染、寄生率は 2.5%）。しかも 2000 年～2006 年に北海道のヒグマが調査された時の寄生率である 3.2%（126 頭のうち 4 頭が感染、Kanai ら、2007）より低かった。北海道での旋毛虫の生活環維持には、共食い（死体腐肉の摂食）習慣があるエゾアカギツネが、最も貢献すると想定されるが、その寄生率は 13.8%で（319 匹のうち 44 匹が陽性、Kanai ら、2007）、今回はこの値より相当低い値に留まった。この結果から、最近 4 年間にヒグマの肉喫食が原因と確定、あるいは推定された 3 件の集団感染事例が発生した理由として、ヒグマにおける旋毛虫寄生率が上昇からと言えないと考えられた。むしろクマ肉喫食の機会が増加していることが集団事例発生の主因と推定された。

今回の調査では、北海道だけでなく、岩手県のツキノワグマからも旋毛虫の幼虫が検出された。従って行政としては、クマ肉喫食による旋毛虫感染の危険性を、より積極的に啓発する必要があると思われた。

なお集団感染事例は、いずれも食中毒として行政が把握し、その内容が食中毒統計に収載されていた。潜在的な感染事例（食中毒として届出がない感染事例）の有無をレセプト解析により検索した。しかしレセプト解析で検出された事例は、何れも食中毒統計に収載されていた。旋毛虫食中毒は集団感染となることから、食中毒として確実に届出されるものと思われた。

クマに加えて、秋田県ではイノシシ 10 頭の舌も検索対象として提供された。同様の方法で旋毛虫感染の有無を検索したが、イノシシはいずれも陰性であった（秋田県はツキノワグマも総て陰性）。

④異常個体の病理学的検索とカラーアトラスの充実

複数の野生鳥獣関連機関に提供を依頼したが、提供される疾患・病変の種類は限られており、公衆衛生上、特に注意すべき危険な疾患検体は入手できなかった。しかしながら、遭遇する頻度は低いものの、取り扱いに十分注意すべき、公衆衛生上リスクの高い疾患はカラーアトラスに掲載されるべきで、識別・摘発できるようにしておく必要がある。そこで、今回、牛や豚の病変（写真）を代用した。

安心・安全で高品質の野生鳥獣由来食肉の生産には、的確に危害因子を排除する知識と技術が必要で、そのポイントを確実に習得できるようにと、カラーアトラスを作成した。今後は、使用者からの意見を聴取しながら、改良して、より使いやすく、理解しやすいアトラス作成を目指す。

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

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、ならびに大日本猟友会から協力を頂き、同会会員が解体処理した枝肉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。

作業順別：

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。

鹿：「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。さらに屋外で内臓摘出した検体は、屋内

で内臓摘出した検体（胸部）に比べ有意に高値を示した。

猪：「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。

以上のことから、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。また、屋外での内臓摘出は汚染する作業工程において機会が多いものと考えられた。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。

剥皮施設別：

鹿：「猟友会」、「のせ台」、「懸吊」の順に中央値が高い値を示した。

猪：「のせ台」、「猟友会」、「懸吊」の順に中央値が高い値を示した。

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。

剥皮方法別：

鹿：「猟友会」が高値を示し、「ウィンチ」「手剥ぎ」間に有意差は認められなかった。

猪：いずれも有意差は認められなかった。

特に鹿では、「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。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ことから、剥皮は屋内で実施すべきであることが確認された。

2）屋外で実施された解体処理工程で採取した拭き取り検体の衛生指標細菌数

施設 X、鹿：

表皮のついたと体を洗浄することにより、一般細菌が減少することが確認されたが、一般細菌数の減少は特に肛門周囲部において限定的であることが確認された。また、枝肉、ブロック肉における各種衛生指標細菌数は、およそ家畜（牛、豚）の全国中央値とほぼ同様の値となり、特別問題のある作業ではないものと考えられた。

細菌汚染源となる可能性のあるものとして、作業者手指、ナイフ、蹄について検討した。いずれもと体洗浄、剥皮、内臓摘出、枝肉洗浄等の作業により、一般細菌数のみならず、大腸菌・大腸菌群・大腸菌の汚染も確認され、各作業工程間の洗浄、消毒の重要性が確認された。

銃創、止め刺し口についても、特に一般細菌が検出され、開放創からの細菌汚染に注意を払う必要がある。

今回の作業において、腸内容物による枝肉の汚染が確認されたことから、当該箇所の拭き取りを実施したところ、一般細菌数、大腸菌群・大腸菌がわずかながら検出された。腸内容の漏出を防ぐため、結紮、ビニル袋をかぶせる、等対策する必要がある。

当該施設では、湧き水を使って枝肉を洗浄していた。当該水からは、一般細菌数が検出された。当該水は解体後のブロック肉を冷却するために使用されたが、その使用後では多くの一般細菌数、大腸菌群数、大腸菌数が検出され、交差汚染の可能性が考えられる。ブロック肉の扱いにおいて、交差汚染を避けるため、一つの桶等にブロック肉を保管することは避けるべきであると考えられた。

施設 Y、猪：

施設 X の鹿と同様に、表皮のついたと体は高度に細菌に汚染されているものの、その洗浄により一般細菌は減少するものの、依然として多くの一般細菌が検出された。一方、最終的な枝肉は家畜（牛、豚）の全国中央値とほぼ同様の値となった。しかしながら、大腸菌群・大腸菌が低値ながら検出されたことから、特に糞便汚染が生じたものと考えられた。

細菌汚染源となる可能性があるものとして作業者手指が特に問題であった。内臓摘出後において、一般細菌数、大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌が高度に検出された。また、同施設では懸吊せず、のせ台を使って剥皮をしていたことから、作業中に、作業者手指から肉を汚染している可能性が考えられた。一方、本件対では、銃創は湯剥ぎ後において、各種衛生指標細菌の減少は顕著であった。

3）野生鳥獣熟成肉の衛生評価

3)-1 わが国の野生鳥獣処理施設で生産された鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

本研究で検討した鹿検体は、熟成により一般細菌は増加する傾向を示した。特に、施設 c では熟

成後、一般細菌数が有意（$p<0.05$）に増加し、中央値はそれぞれ熟成前で 3.8×10^3CFU/g、熟成後で 8.3×10^6CFU/g と 10^3倍以上増加した。本施設では、発酵菌（*Thamnidium*）をあらかじめ枝肉に付着させた後、ドライエイジング法で熟成させていた。本法により、熟成に用いるカビを安定的に増殖させ、熟成期間やトリミングの手間を抑え、腐敗菌によるコンタミネーションのリスク防止や品質の変動の改善を目的としている。しかし、本研究は、特に施設 c で処理された枝肉は、熟成により一般細菌数が有意に増加したことから、不適切なエイジングシートの使用や保管管理によって、枝肉を細菌によって汚染するリスクがあると考えられた。また、施設 a、b においても熟成後、一般細菌数が増加する傾向が認められた。本研究で対象とした施設では、いずれにおいても低温（1～3℃）で熟成処理をしていたことから、一般細菌数のうち、低温細菌が増殖していた可能性が考えられた。

本研究では、熟成により、大腸菌・大腸菌群数が低下する傾向が認められた。施設 b においては熟成前後共に全く検出されず、施設 a、c では大腸菌数が有意（$p<0.05$）に減少した。さらに、熟成後の検体からは、検討した全ての病原細菌は分離されなかった。特に施設 a では、熟成前の検体から *L. welshimeri* もしくは *L. innocua* が分離されたものの、熟成後の同一検体では検出されなかった。Ryu らも同様に、12 日、30 日、70 日、160 日間それぞれドライエイジング法により熟成した牛肉から、いずれも *Bacillus cereus*、*S. aureus*、*L. monocytogenes*、*E. coli* などの食中毒起因細菌は検出されなかったことを報告している。他にも、ドライエイジングビーフを対象とした研究では、熟成は枝肉中の STEC O157 および一般的な *E. coli* を低下させることが報告されている。一般的に、屠殺後の嫌気的条件では解糖により乳酸を生成し、肉の pH は 5.5~5.0 にまで低下するが、その後熟成により pH は上昇し始める。*Salmonella*、STEC O157、および *L. monocytogenes* の病原性株の混合物を牛肉の表面に接種し、42 日間熟成させた研究では、*Salmonella* および STEC O157 株の数は、大幅に減少（それぞれ-0.07～-0.14 log 10 cfu/日および-0.09～-0.14 log 10 cfu/日）したものの、*L. monocytogenes* は、*Salmonella* や STEC O157 に比べてより遅く減少し、長期間生存することが報告されている。この報告では、熟成前は、8 検体中 7 検体においては pH 5.34～5.68 であったものが、熟成 42 日後では pH 5.60～5.99 と上昇しており、*Salmonella* および STEC O157 の減少と関与していると考えられている。本研究で対象としたいずれの施設においても、低温（1～3℃）でドライエイジングを実施していることから、熟成により pH の上昇、水分活性の低下、さらには乳酸菌の増殖による抗菌活性が産生されたことにより、混入した可能性のある病原性細菌、および大腸菌群や大腸菌の増殖や生存を抑制したと考えられた。

熟成後の検体からは、検討した全ての病原細菌は分離されなかった。東京都健康安全研究センターが行った、「いわゆるドライエイジングビーフの衛生学的実態調査」では、都内の 5 施設で自家製造された熟成後のトリミング部位及びトリミング後表面の牛肉から *L. monocytogenes* や *S. aureus* 等の食中毒起因細菌が検出されている。今後、わが国において製造された熟成肉の衛生評価を継続して行う必要がある。

本研究では、検討した食中毒起因細菌のうち、施設 A の熟成前の検体から、*L. welshmeri* もしくは *L. innocua* が分離された。いずれの菌種も、食中毒起因細菌である *L. monocytogenes* と比べ肉類や乳製品だけでなく、野菜や果物などから幅広く分離されており、ヒトへの病原性はないものと考えられている。同菌は熟成前の検体から分離されたことから、熟成によって増殖したものではなく、食肉処理工程において、当該枝肉を汚染したものと考えられた。

3)-2 わが国で市販されていた鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

本研究で検討した鹿熟成肉と鹿非熟成肉の衛生指標細菌数を比較した結果、一般細菌数は両者に有意差は認められなかった。しかしながら本研究では、鹿熟成肉を製造する施設 B ,C において $0\sim2.8\text{x}10^2$ CFU/g と一般細菌数が極めて低値を示したことから、熟成により必ずしも一般細菌数が増殖するわけではなく、熟成の条件や肉の取り扱いによって、検出される一般細菌数が左右される可能性が示唆された。

一方、大腸菌・大腸菌群数においてもまた、鹿熟成肉と鹿非熟成肉に有意差は認められなかったことから、今回対象とした施設において実施されている熟成方法は、特に糞便由来細菌を減少させる効果は限定的である可能性がある。2021 年の韓国のドライエイジングビーフを対象とした研究では、真菌が熟成に重要な役割を果たし、熟成により大腸菌群の増殖を抑制すると報告されている。本研究では特に、施設 B ,C で製造された鹿熟成肉は大腸菌数・大腸菌群数ともにほとんど検出されなかったことから、当該施設で実施されている熟成法により大腸菌数・大腸菌群が減少した可能性が考えられる。

熟成を行なっている施設では、施設 A で、熟成を行なっていない施設では、施設 F でそれぞれ販

売された検体は、一般細菌数、ならびに大腸菌・大腸菌群数において、いずれもそれぞれ他の鹿熟成肉、および鹿非熟成肉を販売する施設に比べて、有意に高値を示したことから、特に施設 A および F においては、他の施設に比べ、高度に細菌汚染していることが示唆された。施設 A では熟成前に枝肉に種菌（菌種、菌量等は非公表）を塗布してから 1～3 ヶ月と長期間に亘って熟成を行っていることから、熟成期間中に種菌が増殖したことにより、一般細菌数が高値を示した可能性が考えられた。さらに、同施設で製造された鹿熟成肉は、大腸菌群・大腸菌数も高値を示したことから、当該施設における動物の捕獲、と殺、解体処理、食肉加工処理、もしくは枝肉の保存時において、枝肉への糞便汚染が発生したものと考えられた。さらに、これらの糞便汚染指標細菌は、熟成後の検体から検出されたことから、当該施設で実施している上記熟成方法では、腸内細菌の抑制効果は限定的である可能性が考えられた。腸内細菌には、大腸菌や *Salmonella* など、多くの食中毒起因細菌が含まれる可能性がある。今後、当該施設におけると殺、解体処理、食肉加工処理方法を検証し、衛生的な取扱が実施されているかどうか、改めて検証する必要がある。一方、施設 F においては、熟成を行っていない施設であることから、当該施設における動物の捕獲、と殺、解体処理、食肉加工処理、もしくは、枝肉の保存などの一連の製造過程のいずれかにおいて、糞便や土壌などから細菌に汚染した可能性がある。

本研究では、食中毒起因細菌として、non-O157 STEC ならびに *L. monocytogenes* がいずれも鹿非熟成肉から分離された。non-O157 STEC は、2020 年にわが国で捕獲された鹿の糞便の 16.7%と、特に高率に分離されたことを報告している。本研究で non-O157 STEC が分離された鹿非熟成肉の生産段階において、枝肉が non-O157 STEC を含む糞便に汚染された可能性がある。

本研究では、*L. monocytogenes* が 9 検体からと最も多く分離された。特に、本菌は施設 G で販売された鹿非熟成肉の 60%から分離された。本菌は低温細菌であるため、本菌に汚染したのちに、冷蔵庫内で保存されている間に増殖した可能性が考えられた。今後、当該施設 G において、枝肉を保存している冷蔵庫内における本菌の汚染状況について検討する必要がある。また、*L. monocytogenes* は平成 29 年度の「いわゆるドライエイジングビーフの衛生学的実態調査」においてもドライエイジングビーフのトリミング部位及びトリミング後表面から検出したと報告されている。特に牛肉のドライエイジングにおいては、一定の条件下において *Salmonella* 属菌と大腸菌を減少させる一方、*L. monocytogenes* は増殖したと報告されている。また、フィンランドでは銃により狩猟されたオジロジカの 5%とヘラジカの 5%の枝肉表面から *L. monocytogenes* が検出されたと報告されている。以上のことから、鹿非熟成肉や、鹿熟成肉については、特に *L. monocytogenes* により汚染される可能性があること、さらに低温条件下で熟成する場合には、熟成中に低温細菌である同菌が増殖する可能性があることを、生産者や消費者に対して啓蒙する必要がある。また、本研究で分離した *L. monocytogenes* 株の病原性を評価し、潜在的なヒトへの感染源となる可能性を検討する必要がある。

一方、本研究で検討した鹿熟成肉からは、いずれの食中毒起因細菌も分離されなかった。熟成肉においては、*Lactobacillus* 属菌や *Enterococcus* 属菌の働きによって肉の pH が低下したことによって病原性細菌の増殖を抑制する効果があると報告されている。このことから、本研究で対象とした熟成肉においても、熟成期間中に混入した乳酸菌が増殖することによって肉の pH が低下し、食中毒起因細菌の増殖が抑制されている可能性がある。しかしながら前述の通り、施設 A のように、熟成をおこなっているにもかかわらず大腸菌群数・大腸菌が多く検出された施設が認められたため、熟成の条件によっては、その病原細菌に対する抑制効果は限定的となると考えられた。

⑥食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究

アナグマ食肉の危害要因として aEPEC 及びサルモネラ属菌が新たに見出されたことは、腸内細菌科菌群検査が当該食肉の加工調理段階等での微生物リスク管理に有用な検証手法であることを提起するものであり、衛生管理のための手引書等へ活用することにより、事業者への普及啓発に資すると考えられる。また、ジビエ生ハム製造工程における微生物挙動に関する知見は、加工工程において留意すべき管理要件の例示へと繋がることが期待される。

Ｅ．結論

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

1）HEV 疫学調査は、シカの HEV 感染が非常にまれな出来事であることが再確認された。イノシシ、特に子豚は HEV 感染のリスクが高いが、他の野生動物は HEV 感染のリスクが低いことが示唆された。

2）野生獣の解体の際に、血液からの感染のリスクはかなり低いと考えられた。しかし、SFTSV は静岡県や千葉県といった新たな流行地域が報告され、流行地域の拡大が問題視されている。日本国内における SFTSV の正確な分布域を把握には今後も継続的な全国規模の疫学調査が必要である。
3）国外で野生動物でのヒトから SARS-CoV-2 の感染が報告されたが、日本国内の 2020 年 2021 年に採取された野生動物の血清学調査では SARS-CoV-2 の抗体陽性はほぼ０％であった。しかし多くの動物で SARS-CoV-2 の感染報告があり、国内でもヒトと近い地域に生息する野生動物のいることから引き続き調査を行いたい。

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
1）昨年度同様、黄色ブドウ球菌の分離率がイノシシ糞便よりシカ糞便から高率であることから、イノシシよりシカの方が、黄色ブドウ球菌の保菌率が高いことを強く示唆している。
2）本研究により、CC121 から分岐した新たなクローン集団に属する黄色ブドウ球菌がシカやイノシシなどの野生鳥獣における優占クローンであることが明らかとなった。
3） 上記の野生動物優占クローンに属する黄色ブドウ球菌株は糞便及び食肉検体の両者から分離されたことから、処理工程における流通食肉への糞便汚染が疑われた。
4）食肉検体由来の分離菌株について、処理施設ごとに分離率が異なり、特に施設 E では特に高い分離率であった。これらの施設で処理された食肉における一般細菌数及び大腸菌群数は高値であり、また大腸菌も検出されており、高い分離率との相関性も糞便汚染を強く支持していると考えられる。
5） 分離菌株の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の多くは、egc 関連の新型エンテロトキシンのみ保有しており、このような菌株による食中毒発生のリスクは低いと推測される。しかし本年度は、過去に報告された食中毒事例由来株と同程度の SEC を産生する株も分離されたため、継続的なモニタリングが必要である。
6)本年度も 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目細菌のβラクタマーゼ遺伝子の保有状況に着目すると、昨年度同様、主に環境中に広く分布している bla が検出された。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、カルバペネムの効きづらい AmpC 過剰産生菌が 1 株分離されるなど、野生鳥獣環境でも徐々に耐性化の進行や広域スペクトルの耐性遺伝子の広がりが懸念される結果と考えられるため、今後も継続的なモニタリングが必要である。

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
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物質 *Trichinella* T9 を、調理の現場を想定した実験系を用いて 65℃で 15 分間加熱したところ、マウスへの感染性が完全に消失することが検証された。
令和 2 年度から、北海道および北東北の 3 県（青森県、秋田県及び岩手県）で捕獲されたクマの舌検体を検査し、旋毛虫幼虫の寄生状況を 4 年間、継続して調査した。その結果、北海道で捕獲された 236 頭のクマ（ヒグマ）のうち 6 頭から、また北東北で捕獲された 117 頭のクマ（ツキノワグマ）のうち 1 頭（岩手県）から、旋毛虫の幼虫が検出された。いずれも遺伝子検査の結果から、日本固有種の *Trichinella* T9 と同定された。秋田県で捕獲されたイノシシ 10 頭は、いずれも旋毛虫陰性であった。
なお遺伝子検査は、冷凍保存した検体を用いて概ね一括して実施したことから、令和 4 年度の成績だけでなく、4 年間の成績を総括して、ここに報告した。

④異常個体の病理学的検索とカラーアトラスの充実
安心・安全なジビエ肉の流通を目指してカラーアトラスを作成した。

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
1）屋外で剥皮、内臓摘出を行った枝肉では、比較的高度に一般細菌数が検出された。
2）「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。
3）「のせ台」は、「懸吊」より高度に一般細菌数が検出された。
4）「ウィンチ」「手剥ぎ」間に有意差は認められなかった。
5）作業工程中のナイフ、作業者手指は枝肉への汚染源となる可能性が確認された。
6）熟成肉では、一般細菌数が増加するものの、大腸菌群・大腸菌は低下する傾向がある。

7）わが国でインターネットにて市販されている野生鹿肉は、概ね細菌汚染は低値であったが、一部の施設で販売されていたものにおいて、極めて高度に細菌汚染をしているものも確認された。

⑥食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究

1） アナグマ食肉製品では phylogroup B2 に属する非定型腸管病原性大腸菌（aEPEC）の汚染を受けている実態を把握した。

2） ジビエ生ハム製造の塩蔵工程では温度及び塩分濃度の管理等が微生物制御に重要であることを示す知見を得た。

3） カモ盲腸便からカンピロバクター及び aEPEC された。

F．健康危機情報

なし

G．研究発表

1．論文発表

1. Ohnishi T, Banzai A, Hara-Kudo Y, Sugiyama H. Prevalence and abundance of Anisakis larvae in ready-to-eat mackerel products in Japan. Int J Food Microbiol. 2023 Jun 16;395:110181. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110181. Epub 2023 Mar 23. PMID: 37001481.
2. Makino T, Sugiyama H, Oshima M, Mizawa M, Shimizu T. Cutaneous gnathostomiasis caused by Gnathostoma spinigerum. Br J Dermatol. 2022 May;186(5):e198-e199. doi: 10.1111/bjd.21007. Epub 2022 Apr 15. PMID: 35428971.
3. Fredes F, Mercado R, Salas IP, Sugiyama H, Kobayashi H, Yamasaki H. Morphological observation and molecular phylogeny of Spirometra decipiens complex 1 (Cestoda: Diphyllobothriidae) found in cat from Chile. Parasitol Int. 2022 Apr;87:102493. doi: 10.1016/j.parint.2021.102493. Epub 2021 Nov 1. PMID: 34737073.
4. Calvopiña M, Bastidas-Caldes C, Romero F, Villacrés-Granda I, Pointier JP, Takagi H, Sugiyama H. Molecular Identification of the Human Pathogen Amphimerus sp. in the Freshwater Snail Aroapyrgus sp. in Ecuador. Am J Trop Med Hyg. 2021 Oct 25;106(1):222-228. doi: 10.4269/ajtmh.21-0697. PMID: 34695797; PMCID: PMC8733541.
5. Sugiyama H, Shiroyama M, Yamamoto I, Ishikawa T, Morishima Y. Anisakiasis Annual Incidence and Causative Species, Japan, 2018-2019. Emerg Infect Dis. 2022 Oct;28(10):2105-2108. doi: 10.3201/eid2810.220627. PMID: 36148963; PMCID: PMC9514333.
6. Asai T, Usui M, Sugiyama M, Andoh M. A survey of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* prevalence in wild mammals in Japan using antimivrobial-containing media. J Vet Med Sci. 84(12): 1645-1652, 2022
7. Takai S. Guidelines on the hygienic management of wild meat in Japan. Meat Sci. 2022. 191:108864.
8. Matsuu A, Doi K, Ishijima K, Tatemoto K, Koshida Y, Yoshida A, Kiname K, Iwashita A, Hayama S-i, Maeda K. Increased Risk of Infection with Severe Fever with Thrombocytopenia Virus among Animal Populations on Tsushima Island, Japan, Including an Endangered Species, Tsushima Leopard Cats. Viruses. 2022; 14(12):2631. https://doi.org/10.3390/v14122631
9. Takeishi M, Kuwata R, Ono T, Sasaki A, Ogata M, Iwata E, Taji S, Koike M, Nemoto M, Bannai H, Isawa H, Maeda K, Morikawa S, Kitagawa H, Yoshikawa Y. Seroconversion of anti-Getah virus antibody among Japanese native Noma horses around 2012. J Vet Med Sci. 2022 Nov 18;84(12):1605-1609. doi: 10.1292/jvms.22-0306. Epub 2022 Oct 28. PMID: 36310045.
10. 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. 2022 Jul 10;84(7):992-1000. doi: 10.1292/jvms.22-0237. Epub 2022 Jun 7. PMID: 35675975; PMCID: PMC9353082.
11. 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. 2022 Jul 10;84(7):982-991. doi:

10.1292/jvms.22-0236. Epub 2022 May 31. PMID: 35650167; PMCID: PMC9353098.
12. Rattanatumhi K, Prasertsincharoen N, Naimon N, Kuwata R, Shimoda H, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Kuroda Y, Tatemoto K, Virhuez Mendoza M, Hondo E, Rerkamnuaychoke W, Maeda K, Phichitraslip T. A serological survey and characterization of Getah virus in domestic pigs in Thailand, 2017-2018. Transbound Emerg Dis. 2022 Mar;69(2):913-918. doi: 10.1111/tbed.14042. Epub 2021 Apr 27. PMID: 33617130.
13. 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 Feb 12;82:101766. doi: 10.1016/j.cimid.2022.101766. Epub ahead of print. PMID: 35176619.
14. Nabeshima K, Sato S, Brinkerhoff RJ, Amano M, Kabeya H, Itou T, Maruyama S., Prevalence and Genetic Diversity of *Bartonella* Spp. in Northern Bats (*Eptesicus nilssonii*) and Their Blood-Sucking Ectoparasites in Hokkaido, Japan, Microb Ecol. 2022 doi: 10.1007/s00248-021-01935-0
15. 杉山　広，野生鳥獣が保有する病原寄生虫の汚染に関する研究，食品衛生研究，2022, 72(9), 21-28.
16. 山本詩織、秋元真一郎，迫井千晶，山田 研，壁谷英則，杉山 広，髙井伸二，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．Jpn.J. Food. Microbiol. 2022. 39(2): 77-82
17. 前田　健「野生獣におけるＥ型肝炎、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)等の浸潤状況」令和 4年度野生獣衛生推進体制促進事業に係る普及啓発資料「野生獣と家畜の伝染病伝播防止に向けて」2023 年 5 月　p66-p71
18. 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、山﨑浩司編集（朝倉書店）2023 年 4 月 p74-75
19. 前田　健「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」日本の感染症：明らかにされたこと　残されたこと(菅又昌美編集)（南山堂)2022.10. P237-246
20. 前田　健「新型コロナウイルスはヒト以外の動物にも感染するのでしょうか。」インフルエンザ[その他の呼吸器感染症]（メディカルレビュー社）2022.23(3)38
21. 前田　健「過去最悪！マダニに注意」NHK 出版「今日の健康」2022.10　p64-67
22. 前田　健「野生鳥獣における病原ウイルスの保有状況に関する研究」食品衛生研究 2022.9. 72 (9) 11-20
23. 倉井華子、田向健一、前田　健「動物と人のSFTS」第 3 回動物から学ぶ人の医療　J-IDEO 2022. 6(4):571-575
24. 前田　健「SARS-CoV-2 の起源について考える」クリーンテクノロジー　2022. 32(10):21-25
25. 前田　健「One Health： 動物の感染症から考える」特集―ワンヘルスの実践と今後の可能性 ～動物・人・自然環境（Ⅰ）―日獣会誌　75 242～245 (2022)

２．学会発表

1. 後藤真優，浅井隆之，安藤匡子．鹿児島県の野生動物におけるアナプラズマ症，リケッチア症，Q 熱起因菌細菌の遺伝子保有状況．第 165 回日本獣医学会学術集会．Web 開催．2022 年 9 月 6 日
2. 浅井隆之，Kwon MyoungHyun，明石尚美，後藤真優，安藤匡子．鹿児島県の野生ニホンザルにおける薬剤耐性大腸菌の保有状況．第 165 回日本獣医学会学術集会．Web 開催．2022 年 9 月 7 日．
3. 浅井鉄夫，臼井優，杉山美千代，安藤匡子．抗菌剤含有培地を用いた野生哺乳動物における薬剤耐性大腸菌の分布．第 24 回腸管出血性大腸菌感染症研究会．神奈川県川崎市．2022 年 10 月 14 日
4. 後藤真優，安藤匡子．屋久島のマダニとそのコクシエラ，リケッチア，アナプラズマ保有状況．第 74 回日本寄生虫学会南日本支部大会第 71 回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会．福岡県北九州市．2022 年 10 月 30 日．
5. Shinji Takai ”Guidelines on the Hygienic Management of Wild Meat in Japan” 68th International Congress of Meat Science and Technology, August 25, 2022, Kobe, Japan
6. 鈴木 康規、髙井 伸二、久保田 寛顕、長谷川 乃映瑠、小林 甲斐、壁谷 英則、入江 隆夫、佐々木 由香子、角田 勤　「野生鳥獣糞便か

らの黄色ブドウ球菌及びβラクタム系抗菌薬耐性腸内細菌目細菌の分離とゲノム解析」第43回日本食品微生物学会学術総会、2022年9月29-30日、タワーホール船堀（東京）

7. 村上正樹，杉山　広，森嶋康之，常盤俊大，北海道および東北地方北部のクマ類およびイノシシにおける旋毛虫（*Trichinella*）の感染状況調査，第28回日本野生動物医学会（2022年9月22-24日，つくば）
8. 石井 香菜、鈴木　綾乃、田中 裕梨、佐藤 真伍、丸山 総一、*壁谷 英則、野生鳥獣食肉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、第165回日本獣医学会学術集会、令和4年9月6〜8日、麻布大学（Web形式）
9. 佐藤真伍、西岡絵夢、壁谷英則、丸山総一、人およびサルから分離した塹壕熱原因菌*Bartonella quintana*の完全長ゲノムの比較解析、第40回日本獣医師会獣医学術学会年次大会、令和4年11月11日〜13日、ヒルトン福岡シーホーク
10. 立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、平良雅克、黒田雄大、Milagros Virhuez Mendoza、原田倫子、井上雄介、Ngo Thuy Bao Tran、西野綾乃、下田 宙、鈴木和男、森川 茂、前田 健「国内の野生動物におけるSFTSVの疫学研究2021」第74回日本衛生動物学会大会、2022年4月8-10（Web）
11. 平良雅克、立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、前田 健「千葉県内の野生動物における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）血清疫学調査」第74回日本衛生動物学会大会、2022年4月8-10（Web）
12. 井上雄介、小林大介、鈴木亮介、松田麻未、加来義浩、石嶋慧多、黒田雄大、立本完吾、Milagros Virhuez Mendoza、原田倫子、西野綾乃、下田 宙、伊澤晴彦、前田 健「SRIPを用いた新規フラビウイルスの血清学的調査」第56回日本脳炎ウイルス生態学研究会、神奈川県足柄下郡湯河原町、2022年6月10日〜11日
13. 武石真音、尾形萌音、佐々木旭美、井上有希、木村俊也、鍬田龍星、下田 宙 、伊澤晴彦、前田 健、吉川泰弘「春採血の肥育ブタ血清から検出された日本脳炎ウイルスおよびゲタウイルス抗体」第56回日本脳炎ウイルス生態学研究会、神奈川県足柄下郡湯河原町、2022年6月10日〜11日
14. 朝倉 宏、山本詩織、壁谷英則、杉山 広、髙井伸二、前田 健「アナグマ食肉における衛生実態の探索」第165回日本獣医学会学術集会、神奈川県相模原市・麻布大学、2022年9月6日〜8日
15. 平良雅克、石嶋慧太、立本完吾、朴ウンシル、西嶋陽奈、太田茉里、佐藤重紀、高松由基、吉河智城、黒須 剛、下島 昌幸、西條政幸、前田 健「千葉県の不明熱患者における重症熱性血小板減少症候群遡及調査とシカでの血清疫学調査」第165回日本獣医学会学術集会、神奈川県相模原市・麻布大学、2022年9月6日〜8日
16. 立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、平良雅克、黒田雄大、ビルヘスメンドーサ ミラグロス、井上雄介、原田倫子、西野綾乃、山本つかさ、鈴木和男、森川 茂、前田 健「野生動物種における重症熱性血小板減少症候群ウイルスの感染状況の比較」第165回日本獣医学会学術集会、神奈川県相模原市・麻布大学、2022年9月6日〜8日
17. 松鵜 彩、越田雄史、石嶋慧多、平良雅克、立本完吾、前田 健「対馬における動物の重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルス特異的抗体保有状況の調査」第165回日本獣医学会学術集会、神奈川県相模原市・麻布大学、2022年9月6日〜8日
18. 井上雄介、小林大介、松田麻未、加来義浩、石嶋慧多、黒田雄大、立本完吾、Milagros Virhuez Mendoza、原田倫子、西野綾乃、下田宙、伊澤晴彦、鈴木亮介、前田 健「新規フラビウイルスの遺伝子検出及び血清学的調査」第165回日本獣医学会学術集会、神奈川県相模原市・麻布大学、2022年9月6日〜8日
19. 平良雅克、石嶋慧多、立本完吾、朴ウンシル、西嶋陽奈、太田茉里、佐藤重紀、髙松由基、吉河智城、黒須 剛、下島昌幸、西條政幸、前田健「千葉県の不明熱患者における重症熱性血小板減少症候群遡及調査とシカでの血清疫学調査」第4回SFTS研究会、山口大学及びWeb、2022年9月10日
20. 立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、平良雅克、黒田雄大、ミラグロスビルベスメンドーサ、井上雄介、原田倫子、西野綾乃、山本つかさ、鈴木和男、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感染状況の動物種間比較」第4回SFTS研究会、山口大学及びWeb、2022年9月10日
21. 松鵜 彩、土井寛大、越田雄史、石嶋慧多、立本完吾、吉田彩子、羽山伸一、前田 健「対馬の動物における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルス特異的抗体保有状況調査」
22. 井上雄介、小林大介、松田麻未、加来義浩、石嶋慧多、黒田雄大、立本完吾、Milagros

Virhuez Mendoza、原田倫子、西野綾乃、下田宙、伊澤晴彦、鈴木亮介、前田 健「単回感染性粒子を用いた新規フラビウイルスの血清学的調査への試み」第 22 回 人と動物の共通感染症研究会学術集会、オンライン、2022 年 10 月 29 日

３．講演会

1. 髙井　伸二「野生鳥獣肉の衛生管理：食中毒を予防するには」野生鳥獣処理活用技術者研修会（広島県会場）2022 年 9 月 13 日、向原生涯学習センターみらい（広島）
2. 髙井　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（北海道会場）2022 年 10 月 17 日、新冠町レ・コード館シアタールーム（北海道）
3. 髙井　伸二「野生鳥獣の感染症：狩猟者・処理者・消費者の感染防止」野生鳥獣処理活用技術者研修会（宮崎県会場）2022 年 11 月 7 日、上米良公民館（宮崎）
4. 髙井　伸二「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理止」野生鳥獣処理活用技術者研修会（長野県会場）2022 年 12 月 8 日、長野市生涯学習センター（長野）
5. 髙井　伸二「衛生管理及び疾病」令和４年度ジビエハンター研修会（試行）2022 年 10 月 3 日、10 月 8 日、11 月 19 日、2023 年 2 月 18 日（計 4 回）オンライン開催
6. 髙井　伸二「安全安心にお肉を堪能するために 一畜産物とジビエの違いー」特別セミナー伯方島 2023　2023 年 2 月 19 日、オンライン開催壁谷英則、野生獣肉利用における衛生管理の留意点、令和 4 年 11 月 17 日（木）、奈良県橿原市・大和平野土地改良区、約 50 名、奈良県畜産協会
7. 壁谷英則、「ジビエにおける食品衛生上の問題点－寄生虫汚染を中心にー」野生鳥獣における病原細菌保有状況、令和５年２月４日(土)、東京大学・弥生講堂、日本獣医学会・市民公開講座
8. Ken Maeda “Coronavirus infection in animals” The 3rd Joint Meeting of Veterinary Science in East Asia, May 2nd, 2023 13:45-14:15 in National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan
9. Ken Maeda”Recent Occurrence of Zoonosis in Japan” Joint symposium: Infectious Disease Control and One Health Approach. The 16th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention (WEB) December 8, 2022 9:20-18:00
10. 前田　健「マダニが媒介する重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」日本医師会・日本獣医師会・厚生労働省による連携シンポジウム「COVID-19 時代をペットとともに乗り切る－COVID-19 だけじゃない人と動物の感染症－」令和 4 年 11 月 13 日 13:00-15:30
11. 前田　健「Emerging Tick-Borne Viral Infectious Diseases In Asia」Special symposium Part II “One Health Approach from Asia <Zoonosis and One Health>” November 11, 2022
12. 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（金） 13：00～17:00（オンライン開催）
13. 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（金）16：00～18:00（Zoom 開催）
14. 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〕
15. 前田　健「動物由来感染症を考える：One Health アプローチの重要性」東京理科大学-国立感染症研究所第 4 回感染症勉強会 2023 年 3 月 8 日 18:00-　Zoom
16. 前田　健「動物由来感染症の蔓延:One Health アプローチの重要性」第 6 回獣医微生物学フォーラム特別講演 2023 年 3 月 4 日東京大学中島薫一郎記念ホール
17. 前田　健「マダニ媒介感染症:東北でも注意！」山形県公衆衛生学会特別講演　令和 5 年 3 月 1 日（金）13:10-14:30　山形県立保健医療大学
18. 前田　健「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の現状について」滋賀県獣医師会令和 4 年度人獣共通感染症研修会令和５年２月１日(水) 14:10-15:00　ボストンプラザ草津　6 階
19. 前田　健「マダニ媒介感染症 SFTS の感染拡大」神戸大学大学院医学研究科メディカルトランスフォーメーション研究セ ンター令和５年２月 10 日（金）10:25-11:55 淡路夢舞台国際会議場
20. 前田　健「動物と楽しく暮らすために知っておきたい動物由来感染症」感染症市民公開講

座　知らなかった感染症の「へぇー、そうなんだ！」2023/1/10（火）18:30～20:00　Zoom Webinar によるオンライン

21. 前田　健「新型コロナウイルスの変異と病原性」日本バイオセーフティ学会 第 21 回総会・学術集会特別講演 1　我が国における新型コロナ感染症対策 I 戸山サンライズ（東京都新宿区）令和 4 年 12 月 6 日 15:15～16:00
22. 前田　健「感染症対策における One Health アプローチの重要性」第 69 回日本ウイルス学会学術集会教育セミナー2（共催：アドテック株式会社）令和 4 年 11 月 14 日 12:40-13:40
23. 前田　健「動物由来感染症の情報と気を付けるべき対応」ペストコントロールフォーラム東京都ペストコントロール協会と武蔵野市の共同開催　2022 年 9 月 WEB 開催
24. 前田　健「新興感染症の現状とその発生要因: One Health approach の重要性」日本バイオセーフティ学会 設立 20 周年記念講演 令和 4 年 9 月 9 日（金）11 時から 14 時ホテル プリンセスガーデン
25. 前田　健「人と動物の共通感染症」ワンヘルス　サマーセミナー飯田高原ボスコ: 2022 年 8 月 27 日（土）15～16 時
26. Ken Maeda “One Health Approach” The 4th international summer course on sustainability of tropical animal production. 8th July, 2022 11:00-12:00(JP) (WEB)
27. 前田　健「SFTS の発生から 10 年と今後の課題」衛生微生物技術協議会第 42 回研究会　令和 4 年 6 月 30 日（木）15:10-16:10（質疑応答含む）
28. 前田　健「日本・アジアにおける動物由来感染症の広がり（経緯や現状の概観）とワンヘルスの観点からの対策・研究にあたっての課題や留意点」第 3 回 IDE ワンヘルス研究会 2022 年 6 月 17 日（金）15～18 時アジア経済研究所 C21 会議室＋Zoom オンライン
29. 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(日) 13：00～18:00　東京理科大学 生命医科学研究所 2 階大講義室ハイブリッド開催（オンライン開催）
30. Ken Maeda “Back to its roots: JEV in people and animals in Japan” Japanese Encephalitis Virus - International One Health perspectives - 21 April, 3:00-4:30 pm AEDT, 2022
31. 前田　健「人獣共通感染症」FETP Introductory Course 2022 2022/04/26 会場 感染研(飯田橋オフィス)
32. 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（土）14：00～16：30（質疑応答含む）

H．知的財産権の出願・登録状況

１．特許取得

なし

２．実用新案登録

なし

３．その他

なし

別添４

令和４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（E 型肝炎）

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　Milagros Virherz Mendoza（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　立本　完吾　（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　奥谷　晶子　（国立感染症研究所・獣医科学部）

研究要旨：
E 型肝炎ウイルスは、ヒトに急性肝炎を引き起こすウイルスである。日本では感染した肉の摂取により HEV の人獣共通感染症報告が増えている。　今回、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。さらにイノシシとシカの糞便から遺伝子を検出した。その結果、全国のイノシシにおける抗 HEV 抗体の陽性率は 13.3％で、小型個体（30kg 未満、5.8％）よりも大型イノシシ（50kg 以上、21.1％）で陽性率が高いことが確認された。さらに、HEV RNA は高齢のイノシシよりも子豚でより頻繁に検出された。イノシシの血清および糞便から HEV 遺伝子型 3（2 株）および 4（3 株）を検出した。一方、シカの HEV 感染が非常にまれなであることが再確認された。人への感染の際に感染源を明らかとするためにも、全国の野生イノシシの保有する HEV 遺伝子のライブラリー化を進める必要がある。

Ａ．研究目的

本研究では、野生動物の人獣共通感染症である HEV の感染リスクを評価するために、全国調査を実施した。とともに、日本における HEV 株の遺伝子型の特徴を明らかにしました。

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-Yamagu11 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., 2016）

HEV 抗体の検出：トランスフェクション細胞の抽出抗原を 5μg/mℓに希釈した後、100μℓ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., 2016）.

HEV 遺伝子検出：血清と糞便の懸濁液から 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., 2016）（Li TC., 2005）

（倫理面への配慮）
該当なし

Ｃ．研究結果

1. 野生動物の血清からの HEV 疫学調査

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 16 県のイノシシ 3370 頭と 14 道県のシカ 2158 頭を調査した。その結果、イノシシにおいては 448 頭（13.3％）が抗体陽性であった。一方、シカにおいては 1 頭（0.04％）が陽性であった。遺伝子検出に関しては、イノシシ 2158 頭中 28 頭（1.3％）、シカ 1349 頭中 1 頭（0.1％）が陽性で

あった。また、本年度はイノシシの血清検体からHEV遺伝子型4株を2株検出した。
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。(図1, 図2、図4)

2. 野生動物の糞便試料からのHEVゲノム検出
イノシシとシカの糞便サンプルからHEVゲノム検出を行った。これまでに10県のイノシシ116頭と17道県のシカ288頭を調査した。その結果、イノシシ6頭（5.2%）が陽性であった。鹿の糞便サンプルはすべてHEVゲノムに陰性であった。(図3)
イノシシの糞便からHEV遺伝子型3（2株)、遺伝子型4（1株）を検出した。
また、イノシシの糞からHEVジェノタイプ3ウイルスを分離することができました。

D．考察
HEV疫学調査は、シカのHEV感染が非常にまれな出来事であることを示唆しました。イノシシ、特に子豚はHEV感染のリスクが高いが、他の野生動物はHEV感染のリスクが低いことが示唆された。

E．結論
この研究により、イノシシの集団が野生動物の中でHEVの主要な保菌者であることが明らかになりました。また、若いイノシシはHEVに感染する頻度が高く、子豚からのHEV感染リスクが高いことが示唆された。ジカがHEVに感染することは稀であり、HEVの感染リスクは低いがゼロではない。

F．健康危機情報
該当なし

G．研究発表
1．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. 2022 Jul 10;84(7):992-1000.
2. 前田　健「野生獣におけるＥ型肝炎、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)等の浸潤状況」令和4年度野生獣衛生推進体制促進事業に係る普及啓発資料「野生獣と家畜の伝染病伝播防止に向けて」2023年5月　p66-p71
3. 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、山﨑浩司編集（朝倉書店）2023年4月 p74-75
4. 前田　健「野生鳥獣における病原ウイルスの保有状況に関する研究」食品衛生研究 2022.9. 72（9）11-20
5. 前田　健「One Health： 動物の感染症から考える」特集―ワンヘルスの実践と今後の可能性 ～動物・人・自然環境（Ⅰ）―日獣会誌　75 242～245（2022）

2．学会発表
なし

3．講演会
1. Ken Maeda”Recent Occurrence of Zoonosis in Japan” Joint symposium: Infectious Disease Control and One Health Approach. The 16th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention (WEB) December 8, 2022 9:20-18:00
2. 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（金） 13：00～17:00（オンライン開催）
3. 前田　健「動物由来感染症を考える：One Health アプローチの重要性」東京理科大学-国立感染症研究所第4回感染症勉強会2023年3月8日18:00- Zoom
4. 前田　健「動物由来感染症の蔓延:One Healthアプローチの重要性」第6回獣医微生物学フォーラム特別講演 2023年3月4日東京大学中島薫一郎記念ホール
5. 前田　健「感染症対策におけるOne Healthアプローチの重要性」第69回日本ウイルス学会学術集会教育セミナー2（共催：アドテック株式会社）令和4年11月14日12:40-13:40
6. 前田　健「動物由来感染症の情報と気を付けるべき対応」ペストコントロールフォーラム東京都ペストコントロール協会と武蔵野市の共同開催　2022年9月WEB開催
7. 前田　健「新興感染症の現状とその発生要因:One Health approachの重要性」日本バイオセーフティ学会 設立20周年記念講演 令和4年9月9日（金）11時から14時ホテル プリンセスガーデン

8. 前田　健「人と動物の共通感染症」ワンヘルス　サマーセミナー飯田高原ボスコ: 2022 年 8 月 27 日（土）15～16 時
9. Ken Maeda “One Health Approach” The 4th international summer course on sustainability of tropical animal production. 8th July, 2022 11:00-12:00(JP) (WEB)
10. 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(日) 13：00～18:00　東京理科大学 生命医科学研究所 2 階大講義室ハイブリッド開催（オンライン開催）
11. 前田　健「人獣共通感染症」FETP Introductory Course 2022 2022/04/26 会場 感染研(飯田橋オフィス)

H．知的財産権の出願・登録状況

１．特許取得
なし

２．実用新案登録
なし

３．その他
なし

図表

（図 1）

全国イノシシ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	8	0	0.0	8	0	0
関東A	91	45	49.5	91	5	5
関東B	48	20	41.7	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	202	20	9.9	202	0	0
近畿A	111	23	20.7	77	2	3
近畿B	838	56	6.7	544	0	0
中国A	838	180	21.5	729	17	2
四国A	311	27	8.7	115	0	0
四国B	136	27	19.9	136	1	1
九州A	92	17	18.5	68	2	3
九州B	5	1	20.0	0	0	0
九州C	182	6	3.3	0	0	0
九州D	47	6	12.8	0	0	0
九州E	97	0	0.0	0	0	0
計	3370	448	13.3	2158	28	1.3

（図 2）

全国イノシシ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	1587	1507	276	895	1109	811	555	3370
陽性頭数	203	226	19	52	164	171	61	448
陽性率(%)	12.8	15.0	6.9	5.8	14.8	21.1	11.0	13.3

遺伝子検出(RT-PCR)

	♂	♀	記録なし	≦30	30-50	≧50	記録なし	計
検査頭数	1061	1009	88	531	781	634	212	2158
陽性頭数	18	9	1	14	8	2	4	28
陽性率(%)	1.7	0.9	1.1	2.6	1.0	0.3	1.9	1.3

（図３）

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	62	5	8
奈良	4	0	0
山形	6	0	0
熊本	5	0	0
宮崎	18	1	6
愛媛	12	0	0
岡山	3	0	0
福岡	3	0	0
N/A	1	0	0
計	116	6	5

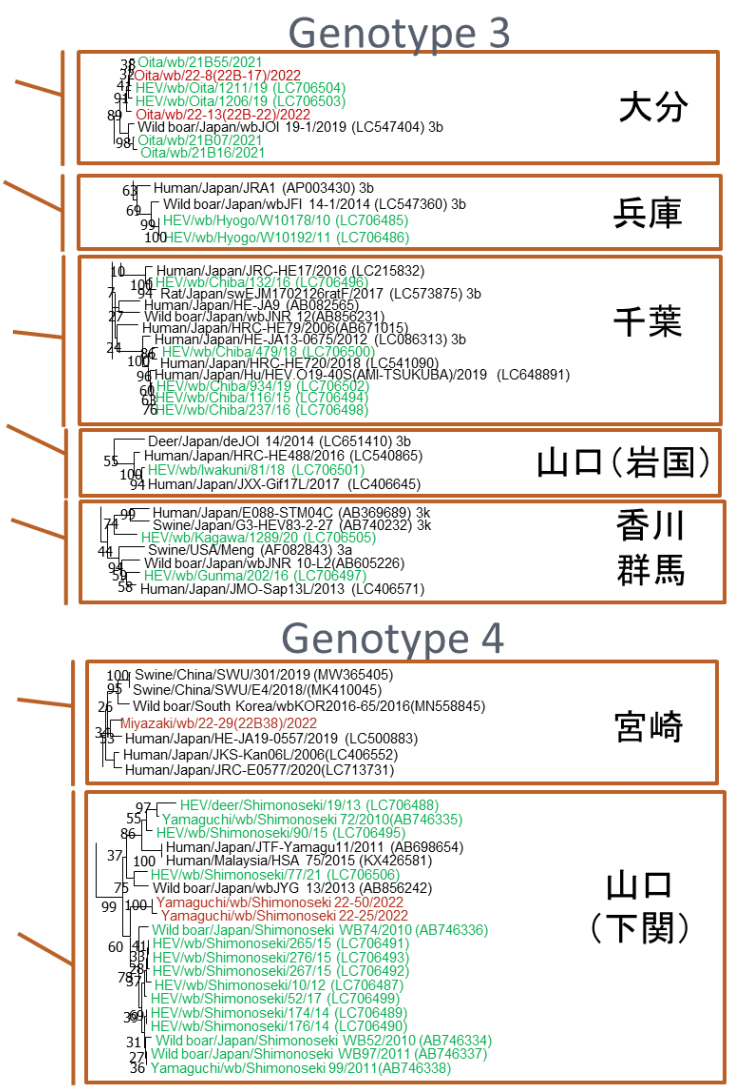
全国シカHEV遺伝子検出

	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	9	0	0
静岡	39	0	0
大分	33	0	0
群馬	7	0	0
奈良	51	0	0
大阪	29	0	0
宮崎	54	0	0
青森	9	0	0
愛知	7	0	0
岩手	4	0	0
京都	6	0	0
神奈川	1	0	0
兵庫	7	0	0
福岡	1	0	0
山梨	3	0	0
山形	1	0	0
N/A	1	0	0
計	288	0	0

（図 4）

Phylogenetic analysis (ORF2 338 bp)

- 2022 samples



令和４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（SFTS）

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　（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　松鵜　彩　（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　石嶋　慧多　（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　平良　雅克　（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　Milagros Virherz Mendoza（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　奥谷　晶子　（国立感染症研究所・獣医科学部）

研究要旨：
重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)の狩猟者および解体者への感染リスクを検討するため、全国のシカ及びイノシシより採取した血清を用いて抗SFTSV抗体の検出及び遺伝子検出を実施した。ヒトや伴侶動物における SFTS 症例が報告される西日本のシカ及びイノシシで高い抗体陽性率が検出され、関東、東北の一部においても抗体陽性個体を認めた。遺伝子検出率はシカ、イノシシともに低い陽性率を示した。狩猟者は陽性地域ではマダニ対策が重要であること、解体時に血液からの感染のリスクはそれほど高くないことが明らかとなった。今後も調査を継続する必要があると考えている。

Ａ．研究目的

重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）はマダニ媒介される人獣共通感染症である。SFTSV はマダニ―マダニ間および動物―マダニ間でウイルスが維持されている。その為、SFTSV 流行地では野生動物における SFTSV の感染疫学調査を行うことで、SFTSV 感染リスクを評価することができる。本研究は全国のシカ及びイノシシへの感染状況を調査し、その地域における感染リスクの増減を評価するものである。

Ｂ．研究方法

2022 年度に日本国内で捕獲されたイノシシ及びシカの血清を用いて SFTSV に関する抗体検査及び遺伝子検出を実施した。

抗体調査には SFTSV 感染 HuH-7 細胞溶解液を抗原とした間接 ELISA を用いた。遺伝子検出には SFTSV の S 分節特異的プライマーを用いた RT-PCR を実施した。

（倫理面への配慮）
特になし

Ｃ．研究結果

今年度を含めたこれまでの集計結果では、日本のシカ 4399 頭中 1073 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 24.4％であった。イノシシにおいては 3062 頭中 1117 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 36.5％であった。遺伝子陽性率はシカ 1294 頭中 1 頭（0.1%）、イノシシ 1350 頭中 3 頭（0.2%）となった。

2022 年度に新たに解析に用いたイノシシの抗体検査結果は青森 8 頭中 0 頭(0%)、富山 19 頭中 3 頭(13%)、和歌山 220 頭中 159 頭(72%)、香川 20 頭中 9 頭(45%)、長崎 47 頭中 2 頭(4%)、シカでは青森 13 頭中 0 頭(0%)、群馬 10 頭中 0 頭(0%)、岐阜 61 頭中 0 頭(0%)、和歌山 218 頭中 88 頭(40%)、香川 10 頭中 0 頭(0%)、長崎 156 頭中 7 頭(4%)であった。遺伝子検査ではいずれの検体においてもウイルス遺伝子は検出されなかった。

Ｄ．考察

ヒトや動物の SFTS 症例が多く報告される西日本ではシカ、イノシシ共に高い抗体陽性率を示した。シカではヒト患者が報告されていない東北や関東の一部においても抗体陽性が示されている。それに対し、遺伝子陽性率はシカ、イノシシ共に 0.1%、0.2%と共に極めて低い陽性率であった。この低い遺伝子検出率は動物におけるウイルスの感染性の低さが関与している可能性が考えられる。

Ｅ．結論

近年、SFTSV は静岡県や千葉県といった新たな流行地域が報告され、流行地域の拡大が問題視されている。日本国内における SFTSV の正確な分布域を把握には今後も継続的な全国規模の疫学調査が必要である。

Ｆ．健康危機情報
なし

Ｇ．研究発表
１．論文発表
26. Matsuu A, Doi K, Ishijima K, Tatemoto K, Koshida Y, Yoshida A, Kiname K, Iwashita A, Hayama S-i, Maeda K. Increased Risk of Infection with Severe Fever with Thrombocytopenia Virus among Animal Populations on Tsushima Island, Japan, Including an Endangered Species, Tsushima Leopard Cats. Viruses. 2022; 14(12):2631. https://doi.org/10.3390/v14122631
27. 前田　健「野生獣におけるＥ型肝炎、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)等の浸潤状況」令和 4年度野生獣衛生推進体制促進事業に係る普及啓発資料「野生獣と家畜の伝染病伝播防止に向けて」2023 年 5 月　p66-p71
28. 前田　健「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」日本の感染症：明らかにされたこと　残されたこと(菅又昌美編集)（南山堂)2022.10. P237-246
29. 前田　健「過去最悪！マダニに注意」NHK 出版「今日の健康」2022.10　p64-67
30. 前田　健「野生鳥獣における病原ウイルスの保有状況に関する研究」食品衛生研究 2022.9. 72 (9) 11-20
31. 前田　健「One Health： 動物の感染症から考える」特集―ワンヘルスの実践と今後の可能性 ～動物・人・自然環境（Ⅰ）―日獣会誌　75 242～245 (2022)

２．学会発表
立本完吾, 石嶋慧多, 朴ウンシル, 平良雅克, 黒田雄大, Milagros Virhuez Mendoza, 原田倫子, 井上雄介, Ngo Thuy Bao Tran, 西野綾乃, 下田宙, 鈴木和男, 森川 茂, 前田 健. 国内の野生動物における SFTSV の疫学研究 2021 第７４回日本衛生動物学会大会, 京都産業大学(Web 開催). 2022 年 4 月 8 日

立本完吾,石嶋慧多,朴ウンシル,平良雅克,黒田雄大,ミラグロスビルベスメンドーサ,井上雄介,原田倫子,西野綾乃,山本つかさ,鈴木和男,森川茂,前田健. 野生動物種における重症熱性血小板減少症候群ウイルスの感染状況の比較第 165 回獣医学会学術集会, 麻布大学. 2022 年 9 月 6 - 8 日

３．講演会
なし

Ｈ．知的財産権の出願・登録状況
１．特許取得
なし

２．実用新案登録
なし

３．その他
なし

全国　イノシシ　抗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	8	0	0	8	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	182	16	8.8	99	0	0
近畿C	2	0	0	–	–	–
E	824	459	55.7	615	1	0.2
中国D	787	313	39.8	142	0	0
四国A	136	52	38.2	136	1	0.7
B	311	111	35.7	115	1	0.9
九州A	46	14	30	46	0	0
C	47	3	6	–	–	–
D	5	3	60	–	–	–
E	182	130	71.4	–	–	–
F	97	5	5	–	–	–
計	3062	1117	36.5	1350	3	0.2

全国　シカ　抗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	53	1	2	52	0	0
	B	66	0	0	–	–	–
	C	135	21	15.6	–	–	–
	D	4	0	0	–	–	–
関東	A	81	0	0	–	–	–
	B	189	0	0	114	0	0
	C	107	24	22.4	83	0	0
	D	37	2	5	–	–	–
中部	A	171	15	8.8	–	–	–
	B	200	4	2.0	–	–	–
	C	513	7	1.4	313	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	668	261	39.1	330	0	0
中国	A	42	6	14	–	–	–
	B	75	47	63	–	–	–
	C	37	24	65	–	–	–
	D	892	488	54.7	284	1	0.4
四国	A	75	1	1	75	0	0
	B	73	18	25	43	0	0
	C	36	8	22	–	–	–
九州	A	36	3	8	–	–	–
	B	30	22	73	–	–	–
	C	156	7	4.5	–	–	–
	D	64	11	17	–	–	–
計		4399	1073	24.4	1294	1	0.1

令和 4 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（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　山本　つかさ（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）
研究協力者　立本　完吾　（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　Milagros Virherz Mendoza（国立感染症研究所・獣医科学部）
研究協力者　奥谷　晶子　（国立感染症研究所・獣医科学部）

研究要旨：アメリカでは野生のオジロジカの新型コロナウイルス感染症（SARS-CoV-2）に対する血清学調査で 2020-2021 年採取検体の中和試験により 385 頭中 152 頭（40%）で陽性を示したと報告されている。今回日本国内での野生動物の SARS-CoV-2 感染状況を調査する為、シカ、および他の SARS-CoV-2 に感受性が高いと考えられている野生動物について抗体保有状況の調査を行った。2020 年ニホンジカ計 296 頭、ハクビシン計 64 頭、タヌキ計 36 頭、2021 年ニホンジカ計 392 頭、イノシシ計 333 頭の血清に対して 2021 年採取検体では WK-521 株、2021 年採取検体には WK-521 株と 2021 年流行したデルタ株 TY26-419 株を用いて中和試験を実施した。結果は 2020 年度採取検体ではすべてが中和抗体価 5 倍未満で陰性であった。2021 年採取検体では和歌山県のシカ 1 頭で抗体価 4 倍となった。陽性率は 2021 年シカ採取検体 392 頭中 1 頭で 0.26%と非常に低い陽性率であった。国内の野生動物での SARS-CoV-2 の流行のリスクは現状は低いが、今後も監視は必要であると考えている。

A．研究目的

新型コロナウイルス感染症（SARS-CoV-2）は 2019 年に中国武漢市で発見されて以来世界中で感染者が見られ、多くの死者を出している。

またヒトだけでなくネコ、イヌ、ミンク、カワウソ、フェレット、ライオン、トラといった動物で感染が認められている。

今回 2021 年にアメリカで野生オジロジカでの SARS-CoV-2 に対する血清学調査により SARS-CoV-2 に対する抗体を 40%と非常に多く保有していることが報告され、ヒトからの感染によりオジロジカ内での感染拡大を示唆されたことから、日本国内の野生動物において SARS-CoV-2 に対する抗体保有状況を調査した。

B．研究方法

2020 年採取ニホンジカ青森県 12 頭、群馬県 20 頭、岐阜県 61 頭、和歌山県 102 頭、山口県 91 頭、香川県 10 頭計 296 頭、ハクビシン埼玉件 16 頭、和歌山県 48 頭計 64 頭、タヌキ神奈川県 7 頭、和歌山県 23 頭、山口県 6 頭計 36 頭、2021 年採取ニホンジカ青森県 18 頭、群馬県 20 頭、岐阜県 51 頭、和歌山県 240 頭、山口県 53 頭、香川県 10 頭計 392 頭、イノシシ青森県 1 頭、富山県 15 頭、和歌山県 253 頭、香川県 20 頭、山口県 44 頭計 333 頭の血清に対して、56℃30 分の非働化処理後 2021 年採取検体では WK-521 株、2021 年採取検体には WK-521 株、2021 年流行したデルタ株 TY26-419 株を用いて中和試験を行った。

（倫理面への配慮）

該当なし

C．研究結果

結果は 2020 年度採取検体ではすべてが抗体価 5 倍未満で陰性であった。2021 年採取検体では和歌山県のシカで一検体抗体価 5 倍以下のものがあり 4 倍で再度中和試験を行い抗体価 4 倍となった。陽性率は 2021 年シカ採取検体 392 頭中 1 頭で 0.26%と非常に低い陽性率であった。(図 1,2,3)

D．考察

今回の結果では日本国内での野生動物で SARS-CoV-2 の感染は 2021 年採取シカ 1 頭（0.26%）のみで感染が広がってはいなかった。しかし調査地域が限定的であったこと、またヒトとの接触率がわからないことからヒトと

の接触がある地域について調査が必要であると考えられる。

Ｅ．結論

国外で野生動物でのヒトから SARS-CoV-2 の感染が報告されたが、日本国内の 2020 年 2021 年に採取された野生動物の血清学調査では SARS-CoV-2 の抗体陽性はほぼ０％であった。しかし多くの動物で SARS-CoV-2 の感染報告があり、国内でもヒトと近い地域に生息する野生動物のいることから引き続き調査を行いたい。

Ｆ．健康危機情報

該当なし

Ｇ．研究発表

１．論文発表

1. 前田　健「新型コロナウイルスはヒト以外の動物にも感染するのでしょうか。」インフルエンザ[その他の呼吸器感染症](メディカルレビュー社) 2022.23(3)38
2. 前田　健「SARS-CoV-2 の起源について考える」クリーンテクノロジー　2022. 32(10):21-25
3. 前田　健「One Health： 動物の感染症から考える」特集―ワンヘルスの実践と今後の可能性 ～動物・人・自然環境（Ｉ）―日獣会誌　75　242～245 (2022)

２．学会発表

なし

３．講演会

1. Ken Maeda “Coronavirus infection in animals” The 3rd Joint Meeting of Veterinary Science in East Asia, May 2nd, 2023 13:45-14:15 in National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan
2. Ken Maeda”Recent Occurrence of Zoonosis in Japan” Joint symposium: Infectious Disease Control and One Health Approach. The 16th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention (WEB) December 8, 2022 9:20-18:00
3. 前田　健「マダニが媒介する重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」日本医師会・日本獣医師会・厚生労働省による連携シンポジウム「COVID-19 時代をペットとともに乗り切る－COVID-19 だけじゃない人と動物の感染症－」令和 4 年 11 月 13 日 13:00-15:30
4. 前田　健「Emerging Tick-Borne Viral Infectious Diseases In Asia」Special symposium Part II “One Health Approach from Asia <Zoonosis and One Health>” November 11, 2022
5. 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（金） 13：00～17:00（オンライン開催）
6. 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（金）16：00～18:00（Zoom 開催）
7. 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〕
8. 前田　健「動物由来感染症を考える：One Health アプローチの重要性」東京理科大学-国立感染症研究所第 4 回感染症勉強会 2023 年 3 月 8 日 18:00-　Zoom
9. 前田　健「動物由来感染症の蔓延：One Health アプローチの重要性」第 6 回獣医微生物学フォーラム特別講演 2023 年 3 月 4 日 東京大学中島薫一郎記念ホール
10. 前田　健「動物と楽しく暮らすために知っておきたい動物由来感染症」感染症市民公開講座　知らなかった感染症の「へぇー、そうなんだ！」2023/1/10 (火) 18:30～20:00　Zoom Webinar によるオンライン
11. 前田　健「新型コロナウイルスの変異と病原性」日本バイオセーフティ学会 第 21 回総会・学術集会特別講演 1　我が国における新型コロナ感染症対策Ⅰ戸山サンライズ(東京都新宿区) 令和 4 年 12 月 6 日 15:15～16:00
12. 前田　健「感染症対策における One Health アプローチの重要性」第 69 回日本ウイルス学会学術集会教育セミナー2（共催：アドテック株式会社）令和 4 年 11 月 14 日 12:40-13:40
13. 前田　健「動物由来感染症の情報と気を付けるべき対応」ペストコントロールフォーラム東京都ペストコントロール協会と武蔵野市の共同開催　2022 年 9 月 WEB 開催
14. 前田　健「新興感染症の現状とその発生要因：One Health approach の重要性」日本バ

イオセーフティ学会 設立 20 周年記念講演 令和 4 年 9 月 9 日（金）11 時から 14 時ホテル プリンセスガーデン

15. 前田　健「人と動物の共通感染症」ワンヘルス　サマーセミナー飯田高原ボスコ: 2022 年 8 月 27 日（土）15～16 時
16. Ken Maeda“One Health Approach” The 4th international summer course on sustainability of tropical animal production. 8th July, 2022 11:00-12:00(JP) (WEB)
17. 前田　健「日本・アジアにおける動物由来感染症の広がり（経緯や現状の概観）とワンヘルスの観点からの対策・研究にあたっての課題や留意点」第 3 回 IDE ワンヘルス研究会 2022 年 6 月 17 日（金）15～18 時アジア経済研究所 C21 会議室＋Zoom オンライン
18. 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（日） 13：00～18:00　東京理科大学 生命医科学研究所 2 階大講義室ハイブリッド開催（オンライン開催）
19. 前田　健「人獣共通感染症」FETP Introductory Course 2022 2022/04/26 会場 感染研(飯田橋オフィス)

H．知的財産権の出願・登録状況

１．特許取得

なし

２．実用新案登録

なし

３．その他

なし

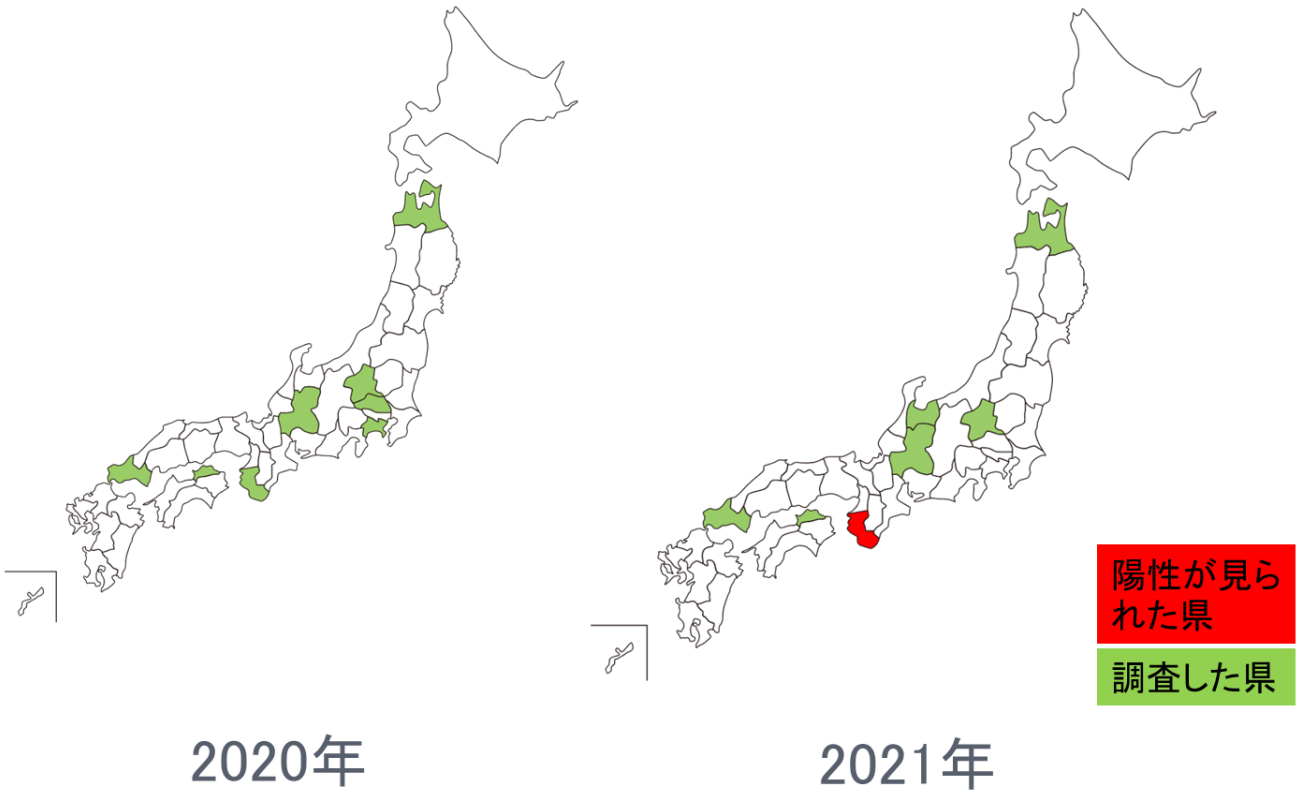
（図1）2020年に捕獲された野生動物におけるSARS-CoV-2のウイルス中和試験結果

動物種	場所	検査数	陽性数	陽性率（%）
ニホンジカ	青森	12	0	0
Cervus nippon	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
	合計	296	0	0
ハクビシン	埼玉	16	0	0
Paguma larvata	和歌山	48	0	0
	合計	64	0	0
タヌキ	山口	6	0	0
Nyctereutes procyonoides	和歌山	23	0	0
	神奈川	7	0	0
	合計	36	0	0

（図2）2021年に捕獲された野生動物におけるSARS-CoV-2のウイルス中和試験結果

動物種	場所	検査数	陽性数	陽性率（%）
ニホンジカ	青森	18	0	0
Cervus nippon	群馬	20	0	0
	岐阜	51	0	0
	和歌山	240	1	0.42
	山口	53	0	0
	香川	10	0	0
	合計	392	1	0.26
イノシシ	青森	1	0	0
Sus scrofa	富山	15	0	0
	香川	20	0	0
	山口	44	0	0
	和歌山	253	0	0
	合計	333	0	0

(図 3)



令和 4 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

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：わが国で発生した旋毛虫食中毒の原因物質である *Trichinella* T9 の幼虫に対し、調理の現場を想定した実験系を設定して、65℃で 15 分間の加熱（厚労省が野生鳥獣の安全な喫食に求める条件）を施し、好適終宿主のマウスに経口摂食させたところ、感染性は消失したことが確認された。

A. 研究目的

クマ肉を原因とする旋毛虫食中毒の集団事例が、わが国で最近、短期間のうちに 3 件発生した（2016 年 12 月に茨城県、2018 年 5 月および 2019 年 11 月に北海道）。これらの集団食中毒事例で、原因食品のクマ肉はすべて加熱された後に喫食されていた。この事実から、本邦に分布する旋毛虫は、加熱に対してある程度の耐性を有すると推定された。野生鳥獣肉の安全な喫食に資する加熱の条件に関し、厚生労働省は「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）において、中心部の温度を 75℃以上で 1 分間以上加熱（あるいはそれと同等の条件、例えば中心部の温度を 65℃で 15 分間加熱）するように指導している。既に本研究班で我々は、75℃で 1 分間（および 2 分間）の加熱を、旋毛虫 *Trichinella* T9（本邦に分布する日本固有の旋毛虫）の幼虫に直接的に加えた場合、マウスへの感染性が完全には消失しないこともあると明らかにした。しかしながら、従来の我々の実験のように、虫体に直接的に加熱するのではなく、調理の実態に即して筋肉中の虫体に 75℃で 1 分間の加熱を施し、その条件で加熱に対する本虫の耐性を確認する必要があるとも考えられた。この検討を昨年度に実施したところ、マウスへの感染性が完全には消失することが確認された。そこで今期は、調理の現場を想定した同様の実験系で、65℃・15 分間の加熱により、*Trichinella* T9 のマウスへの感染性が完全には消失するかを検討した。

B. 研究方法

感染材料には、マウス（ddY 系，雄）を宿主に当研究室で実験室内継代している旋毛虫 *Trichinella* T9 を用いた（1974 年に青森県で発生した本邦初の集団人体感染事例に由来する虫体）。まず T9 感染マウス 3 匹を剖検し、体幹部と四肢の筋肉を屠体から分離した（筋肉内に旋毛虫幼虫の多数寄生を確認）。そして市販の豚肉（大腿部筋肉）を長さ約 8cm、幅約 5cm、高さ約 2cm、重さ約 80g のブロックに成形し、その内部に T9 感染マウスの体幹部（腰部から臀部）の筋肉約 1g 挟み込んだ。マウス筋肉に接触するように豚肉ブロックに温度計測定部を挿入した後、豚肉ブロックを「たこ糸」で縛り、料理用のビニルのラップでくるんだ。このブロックを約 28℃の水道水（約 3L）が入ったウオーターバスに浸漬して、ヒーターを 65℃に設定して加熱を開始し、中心温度が 65℃に達した後、さらに 15 分間加熱した。加熱処理した豚肉ブロックは、処理後に速やかにクラッシュアイスを入れた容器に移して冷却した。そして豚肉ブロックの内部から、感染マウスの筋肉を取り出し、その筋肉を直接実験マウスに経口摂食させた（実験群）。さらに非加熱の T9 感染マウスの体幹部筋肉も、別の実験マウスに経口摂食させた（陽性対象群）。投与マウスは経口投与後 69 日（実験群）および 70 日（陽性対象群）に剖検し、全身の骨格筋（横隔膜および舌を含む）を個体別に細切後（一部は骨格に付着したまま）、プラスティック容器（500 ミリリットル）に入れた。これにペプシン塩酸液（ペプシン、半井化学、1:10,000 が 1%、および塩酸が 0.7%、約 200 ミリリットル）を加え、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いた。濾液はガラス製の円錐型液量計（1.5 リットル）に集め、1 リットルの生食水を加えて、30 分間静置した。上清を吸引除去し、除去した液量と同量の生食水を加える洗浄操作を 4 回繰り返した（上清は清澄となった）。そして、沈査をプラスティックシャーレ（径 9 ㎝）に移し、実体顕微鏡下に観察して、総ての幼虫をパスツ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（プラスティック製、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。これをよく撹拌した後、2 ミリリットルをシャーレに移し、実体顕微鏡下にマウスの個体別に、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、各検体の虫体を計数した）。この結果で得られた平均値を 100 倍して、マウス 1 匹に寄生する全虫体数を算出した。なお上述の人工消化と幼虫回収の術式は、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、本研究班の令和元年度報告書に記載の方法を踏襲した。

C. 研究結果

(1) 加熱処理群（群 1：豚肉ブロックに T9 感染マウス筋肉を挟み、65℃で 15 分間の加熱）

加熱筋肉を投与したマウス 4 匹のいずれからも旋毛虫幼虫は検出されなかった（表）。

表. 調理の条件下で加熱処理したT9幼虫の感染試験成績

群[a]	肉の処理		動物数		感染期間（日）	検出虫体数[b]（陽性個体の1頭・平均±SD）
	温度	時間（分）	投与	感染		
1	65	15	4	0	69	0
2	NH（非加熱）		4	4	70	4,450 ± 2295（参考値）

[a] 各群のマウスは4頭（ddY系・雄・5週齢），*Trichinella* T9幼虫感染マウスの筋肉を調理の条件下で加熱し、あるいは加熱せずに、各群4頭の新たなマウスに経口摂食させた.

[b] 投与後約70日に剖検、全身をペプシン塩酸液で人工消化し虫体検出

(2) 非加熱処理群（群 2：陽性対照群）

旋毛虫幼虫が検出された。検出虫体数は 1 匹平均にすると 4,450 隻であった（表）。

D. 考察

「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）において指示された「中心部の温度を 75℃以上で 1 分間以上加熱する」という条件で、旋毛虫による食中毒を予防できるかを、昨年度に実験して証明した。ただし 75℃で 1 分間の加熱を施すと、豚肉ブロックの中心部分が、65℃（以上）の温度で 20 分間、加熱されることが分かった。このため、65℃で 15 分間の加熱は、75℃で 1 分間の加熱と同等に、旋毛虫の殺滅に有効と規定されているが、実際に 65℃で 15 分間だけの加熱で、旋毛虫の幼虫が完全に殺滅されるのかは、改めて検証する必要があるとの考えに至った。これが今回の検討を行った理由である。

そこで調理の現場を想定した実験系を用いて、肉の中心温度を 65℃で 15 分間加熱した。その結果、筋肉内の旋毛虫 T9 の幼虫は殺滅され、この条件での加熱により、感染予防できると確認された。

本検討の結果、「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）で指導する「中心部の温度を 75℃以上で 1 分間以上加熱する」という条件だけでなく、同等の加熱条件でも、旋毛虫による食中毒の予防は確実になることが示された。

E. 結論

わが国で発生したクマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因物質 *Trichinella* T9 を、調理の現場を想定した実験系を用いて 65℃で 15 分間加熱したところ、マウスへの感染性が完全に消失することが検証された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

令和 4 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

北海道および北東北 3 県のクマにおける旋毛虫の寄生状況調査

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

令和 2 年度から、北海道および北東北 3 県（青森・岩手および秋田の各県）で捕獲されたクマの舌検体を検査し、旋毛虫の幼虫検出に努めてきた。令和 4 年度は北東北（秋田県）で捕獲されたクマの検査を続けると共に、従来検出された旋毛虫の分子同定を行い、種を確定した。結果をまとめると、北海道で捕獲された 236 頭のクマ（ヒグマ）のうち 6 頭から、また北東北（青森県、秋田県及び岩手県）で捕獲された 117 頭のクマ（ツキノワグマ）のうち 1 頭（岩手県）から、旋毛虫の幼虫が検出され、検出虫体は総て日本固有種の *Trichinella* T9 と同定された。検査したクマ検体の総数は 353 頭で、このうちの 7 頭が旋毛虫 T9 の幼虫陽性であった（陽性率：2.0%）。なおこの間に秋田県で捕獲されたイノシシ 10 頭についても、舌を対象に同様の検査を実施したが、旋毛虫は総て陰性であった。

A. 研究目的

クマ肉の喫食を原因とする旋毛虫食中毒の集団事例が、わが国で最近連続して 3 件発生した（2016 年 12 月に茨城県、2018 年 5 月および 2019 年 11 月に北海道）。これらの事例では、いずれもクマ（ヒグマ）の肉が原因食品であった。一方、わが国で初めて発生した旋毛虫食中毒も、クマ（ツキノワグマ）の肉を原因食品とする患者数 15 名の集団事例であり、1974 年に青森県から報告された。北東北からはその後の調査で、2003 年と 2006 年に岩手県で捕獲されたクマから旋毛虫の幼虫が検出されている。したがって北東北に生息するクマも、北海道のクマと同様に、旋毛虫食中毒の原因となる危険性がある。そこで、北海道のヒグマおよび北東北 3 県のツキノワグマを対象に、旋毛虫の寄生状況を地域別に調べた。検査材料には旋毛虫の好寄生部位である舌を用いた。また秋田県から提供されたイノシシの舌についても、同様の検査を実施した。

B. 研究方法

1） 北海道のヒグマにおける旋毛虫幼虫の寄生状況調査

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の協力で、令和 2 年度からの 4 年間に、236 頭分のヒグマの舌の提供を受け、既報（本研究班・令和元年度の報告）に則して、旋毛虫幼虫の寄生状況を検索した。旋毛虫の幼虫が検出された場合は、由来するクマ個体別に、虫体を 1,5 mL のプラスティックチューブに入れ、分子同定に供するまで冷凍保存した。

2） 北東北 3 県のツキノワグマにおける旋毛虫の幼虫寄生状況調査

青森県では深浦町農林水産課に要請し，また秋田県では地域振興局に要請して、令和 2 年度からの 4 年間に、合計 125 頭分（青森県 15 頭および秋田県 100 頭）のツキノワグマの舌の提供を受け、旋毛虫

幼虫の寄生状況を検索した。また岩手県では、猟友会所属の協力者から 2 頭のツキノワグマの舌を提供してもらい、検査した。旋毛虫の幼虫が検出された場合は、北海道の検体と同様に、分子同定に供するまで、冷凍保存した。

3) 検出虫体の分子同定

クマから検出された旋毛虫の幼虫から、キアゲンの DNeasy キットを用いて DNA を調製した。この DNA を用い、Kanai ら(2006)の報告に則して、リボソーム DNA の ITS2 領域、およびミトコンドリア DNA の cox1 遺伝子の一部を PCR 増幅し、増幅に用いたプライマーで各領域の遺伝子配列を解読した。さらに解読した遺伝子配列を用いて、BLASTN プログラムで相同性解析を行い、虫種を分子同定した。

C. 研究結果

1) 北海道のヒグマにおける寄生状況

令和 2 年度からの 4 年間に提供を受けた 236 頭分のヒグマのうち、6 頭から旋毛虫幼虫が検出された（表、空知、後志および檜山の各振興局内で各 2 頭ずつ)。幼虫は分子同定の結果、いずれも *Trichinella* T9 と判定された。なお解読した ITS2 領域および cox1 遺伝子の塩基配列は、6 頭分すべて同一であった。

2) 北東北 3 県のツキノワグマにおける寄生状況調査

青森県及び秋田県から提供を受けた 115 頭分の検体は、何れも旋毛虫陰性であった。一方、岩手県で捕獲された 2 頭のツキノワグマのうち、1 頭から旋毛虫幼虫が検出された（表)。分子同定の結果、岩手県の虫体は *Trichinella* T9 と判定された。なお解読した ITS2 領域および cox1 遺伝子の塩基配列は、北海道のヒグマ 6 頭由来の旋毛虫の配列と、すべて同一であった。

D. 考察

今回の検討の結果、北海道のヒグマにおける旋毛虫の寄生率は決して高くなかった（236 頭のうち 6 頭が感染、寄生率は 2.5%)。しかも 2000 年～2006 年に北海道のヒグマが調査された時の寄生率である 3.2%(126 頭のうち 4 頭が感染、Kanai ら、2007) より低かった。北海道での旋毛虫の生活環維持には、共食い（死体腐肉の摂食）習慣があるエゾアカギツネが、最も貢献すると想定されるが、その寄生率は 13.8%で（319 匹のうち 44 匹が陽性、Kanai ら、2007)、今回はこの値より相当低い値に留まった。この結果から、最近 4 年間にヒグマの肉喫食が原因と確定、あるいは推定された 3 件の集団感染事例が発生した理由として、ヒグマにおける旋毛虫寄生率が上昇からと言えないと考えられた。むしろクマ肉喫食の機会が増加していることが集団事例発生の主因と推定された。

今回の調査では、北海道だけでなく、岩手県のツキノワグマからも旋毛虫の幼虫が検出された。従って行政としては、クマ肉喫食による旋毛虫感染の危険性を、より積極的に啓発する必要があると思われた。

なお集団感染事例は、いずれも食中毒として行政が把握し、その内容が食中毒統計に収載されていた。潜在的な感染事例（食中毒として届出がない感染事例）の有無をレセプト解析により検索した。しかしレセプト解析で検出された事例は、何れも食中毒統計に収載されていた。旋毛虫食中毒は集団感染となることから、食中毒として確実に届出されるものと思われた。

クマに加えて、秋田県ではイノシシ 10 頭の舌も検索対象として提供された。同様の方法で旋毛虫感染の有無を検索したが、イノシシはいずれも陰性であった（秋田県はツキノワグマも総て陰性)。

E. 結論

令和 2 年度から、北海道および北東北の 3 県（青森県、秋田県及び岩手県）で捕獲されたクマの舌検体を検査し、旋毛虫幼虫の寄生状況を 4 年間、継続して調査した。その結果、北海道で捕獲された 236 頭のクマ（ヒグマ）のうち 6 頭から、また北東北で捕獲された 117 頭のクマ（ツキ

ノワグマ）のうち1頭（岩手県）から、旋毛虫の幼虫が検出された。いずれも遺伝子検査の結果から、日本固有種の*Trichinella* T9と同定された。秋田県で捕獲されたイノシシ10頭は、いずれも旋毛虫陰性であった。

なお遺伝子検査は、冷凍保存した検体を用いて概ね一括して実施したことから、令和4年度の成績だけでなく、4年間の成績を総括して、ここに報告した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

杉山　広，野生鳥獣が保有する病原寄生虫の汚染に関する研究，食品衛生研究，2022，72(9)，21-28.

2. 学会発表

村上正樹，杉山　広，森嶋康之，常盤俊大，北海道および東北地方北部のクマ類およびイノシシにおける旋毛虫（*Trichinella*）の感染状況調査，第28回日本野生動物医学会（2022年9月22-24日，つくば）

H. 知的財産権出願・登録状況（予定含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表．旋毛虫検査のために収集したクマ検体数

	2019		2020		2021		2022		計	
	検体	陽性	検体	陽性	検体	陽性	検体	陽性	検体	陽性
北海道	19	0	95	3	122	3	0	0	236	6
青森県	0	0	4	0	11	0	0	0	15	0
秋田県	0	0	16	0	55	0	29	0	100	0
岩手県	0	0	2	1	0	0	0	0	2	1
計	19	0	117	4	188	3	29	0	353	7

北海道はヒグマ、東北3県（青森県、秋田県、岩手県）はツキノワグマの舌を検査対象とした．検出虫体は総て日本固有種の *Trichinella* T9 であった。遺伝子検査は冷凍保存した検体を用いて概ね一斉に実施したことから、この表では令和4年度の成績だけでなく、過去4年間の成績を各年度の検体数と陽性数で総括表示した．

令和 4 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

分担研究者　　朝倉　宏（国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部）

研究要旨：
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おこなった。その結果、ジビエ生ハム製造に関する調査を開始し、塩蔵工程では温度及び塩分濃度の管理等が微生物制御に重要であることを示す知見を得た。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った、1 施設由来のアナグマ食肉製品からサルモネラが検出されたほか、高い腸内細菌科菌群数が検出された。アナグマ食肉製品では phylogroup B2 に属する非定型腸管病原性大腸菌（aEPEC）の汚染を受けている実態を把握した。このことことは、腸内細菌科菌群検査が当該食肉の加工調理段階等での微生物リスク管理に有用な検証手法であることを提起する。更に、カモ盲腸便からカンピロバクター及び aEPEC が検出され、同食肉製品における当該病原細菌探索を開始した。

A．研究目的

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。

B．研究方法

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した。

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おこなた。

（倫理面への配慮）
なし

C．研究結果

1 施設由来のアナグマ食肉製品からサルモネラが検出されたほか、高い腸内細菌科菌群数が検出された。

アナグマ食肉製品では phylogroup B2 に属する非定型腸管病原性大腸菌（aEPEC）の汚染を受けている実態を把握した。

ジビエ生ハム製造に関する調査を開始し、塩蔵工程では温度及び塩分濃度の管理等が微生物制御に重要であることを示す知見を得た。

カモ盲腸便からカンピロバクター及び aEPEC が検出され、同食肉製品における当該病原細菌探索を開始した。

D．考察

アナグマ食肉の危害要因として aEPEC 及びサルモネラ属菌が新たに見出されたことは、腸内細菌科菌群検査が当該食肉の加工調理段階等での微生物リスク管理に有用な検証手法であることを提起する。

衛生管理のための手引書等へ活用することにより、事業者への普及啓発に資すると考えられる。

ジビエ生ハム製造工程における微生物挙動に関する知見は、加工工程において留意すべき管理要件の例示へと繋がることが期待される。

E．結論

アナグマ食肉の危害要因として aEPEC 及びサルモネラ属菌が新たに見出された。

ジビエ生ハム製造に関する調査を開始し、塩蔵工程では温度及び塩分濃度の管理等が微生物制御に重要である。

F．健康危機情報

なし

G．研究発表

１．論文発表

1. 山本詩織、秋元真一郎，迫井千晶，山田研，壁谷英則，杉山 広，髙井伸二，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．Jpn.J. Food. Microbiol. 2022. 39(2)：77-82
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 Feb 12;82:101766. doi: 10.1016/j.cimid.2022.101766. Epub ahead of print. PMID: 35176619.

２．学会発表

1. 朝倉 宏、山本詩織、壁谷英則、杉山 広、髙井伸二、前田 健「アナグマ食肉における衛生実態の探索」第 165 回日本獣医学会学術集会、神奈川県相模原市・麻布大学、2022 年 9 月 6 日～8 日

３．講演会

なし

H．知的財産権の出願・登録状況

１．特許取得

なし

２．実用新案登録

なし

３．その他

なし

アナグマ食肉における生物的危害要因の探索及び特性解析

国衛研・朝倉宏

【背景】野生鳥獣由来食肉のうち，アナグマ食肉の需要供給量は近年増加傾向にあるが，同食品の衛生実態や危害要因は不明

【方法】4施設で製造加工されたアナグマ食肉製品における食中毒菌汚染状況を調査

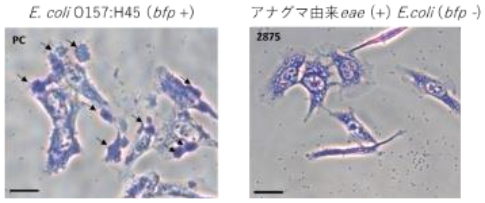
- STEC及び*L. monocytogenes*は全てのアナグマ食肉製品検体で不検出
- STECスクリーニング検査に用いた*eae*遺伝子は、施設B・C由来検体より高頻度に検出（14/24検体）
- 最終的に5株の**_eae_陽性大腸菌**が分離
- 1施設由来のアナグマ食肉製品検体からは**サルモネラ属菌**（O7群）を検出（3/12検体）

高い腸内細菌科菌群数

【アナグマ食肉由来*eae*陽性大腸菌株の特性解析

- 表現形質解析

1. Plasmid profile：pEAFは保有せず
2. 細胞付着性試験：定型EPECが示す凝集像（下左図 矢印）は認めず



アナグマ食肉由来の*eae*陽性大腸菌株は、いずれも非定型EPEC（atypical EPEC；aEPEC）

- WGS解析

菌株名	血清型	ST	Phylogroup	*fimH*	*eae*	*bfp*
2875	O2:H49	2088	B2	1501	ι	−
2943	O1:H−	6564		−	γ	−
2944	O81:H6	300		90	β	−
2962	O45:H51	5342		57	γ	−
2967	O78:H14	11275		677	ι	−

・腸管内で定着し易い
・小児腸炎との臨床疫学的関連性
等が報告されている

aEPECをアナグマ食肉の生物的危害要因と設定する意

アナグマ食肉の衛生管理には腸内細菌科菌群検査が有用

令和 4 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

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

分担研究者　壁谷　英則（日本大学生物資源科学部）
研究協力者　石井　香菜（日本大学生物資源科学部）
研究協力者　鈴木　綾乃（日本大学生物資源科学部）
研究協力者　田中　裕梨（日本大学生物資源科学部）
研究協力者　大津　千尋（日本大学生物資源科学部）
研究協力者　鶴見　柚葉（日本大学生物資源科学部）
研究協力者　山崎　晴香（日本大学生物資源科学部）

研究要旨：

令和 4 年度は、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、②屋外で実施された解体処理工程で採取した拭き取り検体の衛生指標細菌数、および野生鳥獣熟成肉の衛生評価を実施した。

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。前事業で実施したものから、本年度実施したものを加え、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 24 施設（内猟師による実施 2 施設）、猪 21 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 217 検体（本年度 42 検体、内猟師による実施 15 検体）、および猪枝肉計 108 検体（本年度 5 検体、内猟師による実施 1 検体）、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、一般細菌が多く検出されること、3）「ウィンチ」と「手剥ぎ」では同程度の細菌汚染があること、がそれぞれ示された。

②については、わが国の野生鳥獣肉処理施設 X,Y で処理された鹿、猪各 1 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）剥皮後、内臓摘出後、解体後などの作業者の手指やナイフから高度な細菌汚染が認められた。2）表皮洗浄による細菌減少効果は限定的であること、などが明らかとなった。

③については、1）熟成肉では、一般細菌数が増加するものの、大腸菌群・大腸菌は低下する傾向があること、2）わが国でインターネットにて市販されている野生鹿肉のうち一部の施設で販売されていたものにおいて極めて高度に細菌汚染をしているものがあること、が確認された。

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 3 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 61.0 億円および 39.1 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」を用いて行うと、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、衛生管理上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 4 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、屋外で解体処理するケースとして、大日本猟友会から協力をいただき、屋外で実施した解体処理に至る一連の工程において拭き取りを行い、衛生指標細菌数を計測し、細菌汚染の原因となる工程について検討した。近年野生鳥獣肉についても熟成を実施する施設が多くあることから、熟成肉として市販されている鹿肉を購入し、衛生状況を検討した。さらに、熟成を行う鹿肉について、同一個体の熟成前後の検体を採取し、熟成に伴う衛生指標細菌の変化を検討した。

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

2018 年 10 月～2023 年 3 月の間に，わが国の野生鳥獣肉処理施設鹿 24 施設（内猟師による実施 2 施設)、猪 21 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 217 検体（本年度 42 検体、内猟師による実施 15 検体)、および猪枝肉計 108 検体（本年度 5 検体、内猟師による実施 1 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)屋外で実施された解体処理工程で採取した拭き取り検体の衛生指標細菌数

2022 年 12 月、および 2023 年 1 月に，わが国の野生鳥獣肉処理施設 X に搬入された鹿 1 頭、および同施設 Y に搬入された鹿 1 頭、猪 1 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（100cm^2)、ならびに直腸便を採取した。各施設における処理方法の特徴として、施設 X では、①枝肉洗浄をブラシで行い、枝肉洗浄に湧き水を使用していた。施設 Y では湯剥ぎを行っていた。(表 1)

各検体における各種衛生指標細菌数を、1）に示した方法と同様の方法で行った。

3）野生鳥獣熟成肉の衛生評価

2021 年 1 月～2022 年 2 月、わが国の野生鳥獣処理施設、3（a～c）施設にて処理された鹿（各施設 10 頭、計 30 頭）を対象とした(表 2)。各施設の採材期間、動物種、部位、熟成期間、熟成温度およびスターターの有無を表 2 に記した。同一個体から、熟成前後に肉検体およそ 200g 量を採取し、本研究に使用した。

2021 年 1 月～5 月にかけてインターネットを通じて購入した鹿熟成肉計 25 検体、及び同非熟成肉 65 検体を対象とした。それぞれ鹿熟成肉を

扱う施設は施設 A～C の 3 施設、鹿肉を扱う施設は D~J の 7 施設であった。　1 検体につき重さ 180～270g のブロック肉またはスライス肉を無菌的に採取した。

滅菌したピンセットとはさみで 1 ㎝³程度の大きさに切断した肉試料 180g に、PBS（リン酸緩衝液）180ml を加えて、フィルター付きストマッカー袋に入れ、パドル間距離 5 ㎜、speed3 で 1 分間ストマック処理を行った。

各検体における各種衛生指標細菌数を、1）に示した方法と同様の方法で行った。

さらに、各検体について、食中毒起因細菌として、腸管出血性大腸菌、同 O157、サルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌、リステリア属菌の分離を「食品衛生検査指針（2018）」に従って行った。リステリア同定用システムのアピリステリア（シスメックス・ビオメリュー㈱, 東京）に接種した後、24 時間培養した後、判定、解析を行った。

（倫理面への配慮）
該当せず

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

鹿：

剥皮と内臓摘出の作業工程順別：

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（表 3）。その結果、一般細菌数（胸部：肛門周囲部, 単位は log10cfu/cm² ）において、「剥皮」→「内臓摘出」では 0.1:1.0、「屋外内臓摘出」→「剥皮」では 1.4:検出限界未満（ud）、「屋内内臓摘出」→「剥皮」は、ud:ud、「猟友会」では 1.3:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm² であった。

剥皮施設別：

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 4）。その結果、一般細菌数（胸部:肛門周囲部, 単位は lig10 cfu/cm² ）において、「のせ台」は 1.0:1.5、「懸吊」は ud:ud、「猟友会」は、1.3:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm² であった。

剥皮方法別：

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）。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、「ウィンチ」は、ud：ud、「手剥ぎ」は ud:0.6、「猟友会」は 1.3:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm² であった。

なお、有意差の認められた比較は、各表外に記した。

猪：

剥皮と内臓摘出の作業工程順別：

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（表 6）。その結果、一般細菌数（胸部：肛門周囲部, 単位は log10 cfu/cm² ）において、「剥皮」→「内臓摘出」では 1.9:2.2、「屋内内臓摘出」→「剥皮」は、0.5:0.6、「猟友会」では 1.6:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm² であった。

剥皮施設別：

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 7）。その結果、一般細菌数(胸部:肛門周囲部, 単位は log10 cfu/cm² ）において、「のせ台」は 1.7:2.2、「懸吊」は ud:ud、「猟友会」は、1.6:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm² であった。

剥皮方法別：

剥皮時に「ウィンチ」を使用する施設、「手剥ぎ」により実施する施設、さらに「湯剥ぎ」を行う施設に分け各衛生指標細菌数の中央値を比較した（表 8）。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、「ウィンチ」は、1.0:2.2、「手剥ぎ」は 1.2:1.4、「猟友会」は 1.6:1.4 であった。その他の衛生指標細菌の中央値はいずれも ud cfu/cm² であった。

なお、有意差の認められた比較は、各表外に記した。

2）屋外で実施された解体処理工程で採取した拭き取り検体の衛生指標細菌数

わが国の屋外で解体処理を行う野生鳥獣肉処理施設 X、および Y 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衛生指標細菌数を計測した。施設 X,Y において、それぞれ鹿 1 回、猪 1 回実施した。

施設 X（鹿）（図 1）

と体・枝肉：と体洗浄前で一般細菌数（cfu/cm²）が $8.4x10^1$～$1.5x10^2$ と高度に検出され、洗浄後には、$1.9x10^1$～$1.1x10^2$ と残存した。以降、ほとんどいずれも胸部は低値（0～$3.5x10^0$）であったが、肛門周囲部は、比較的高度（$2.3x10^1$～$4.0x10^1$）に検出されなかった。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm²）について特に肛門周囲部でわずか（0～$2.8x10^0$）に検出された。

ブロック肉：一般細菌数（cfu/cm^2）が 1.0x10^1～2.0x10^1 検出されたが、その他はいずれも検出されなかった。

作業者手指：一般細菌数(cfu/片手)が 0～9.6x10^3 と高度に検出され、特に枝肉洗浄後に多く検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/片手）はわずか（0～2.5x10^1）に検出されたが黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

ナイフ：一般細菌数（cfu/ナイフ）が 0～8.1x10^4 と高度に検出され、特に枝肉洗浄後に多く検出された。大腸菌群・大腸菌(cfu/ナイフ)は 0～3.9x10^3 検出された。特に剥皮後において高度に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

後蹄：一般細菌数（cfu/蹄）が 2.2x10^4～3.4 x10^4 と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌（0～5x10^0 cfu/蹄)、黄色ブドウ球菌（(0～1x10^{0}cfu/蹄）はわずかに検出された。

銃創・止め刺し口：一般細菌数（cfu/cm^2）が 2.1x10^1～3.6x10^3 と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）についてもわずか（0～8.5x10^0）に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

糞便汚染箇所：一般細菌数（cfu/cm^2）が 1.3x10^0～2.4x10^1 検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）についてもわずか（0～2.2x10^0）に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

床：一般細菌数（cfu/cm^2）が 1.7x10^2～3.6x10^2 検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）についてもわずか（5.0x10^{-2}～2.1x10^0）に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

枝肉洗浄ブラシ：一般細菌数が 6.3x10^{2}cfu/cm^2 検出されたがその他の指標細菌は検出されなかった。

枝肉洗浄水（湧き水）：使用前においても、一般細菌数が 3.2x10^{2}cfu/ml 検出されたが、その他の指標細菌は検出されなかった。使用後では、一般細菌数が 7.2x10^{4}cfu/ml と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌については、使用前には検出されなかったが、使用後、大腸菌が 2.5x10^0 cfu/ml、大腸菌群が 5.4x10^2 と高度に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

施設 Y（猪）（図 2）

と体・枝肉：と体洗浄前で一般細菌数（cfu/cm^2）が 2.6x10^2～1.8x10^4 と高度に検出された。剥皮以降も、3.7x10^0～8.0x10^2 と比較的高度に検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）もわずか（0～2.4x10^1)に検出された。黄色ブドウ球菌(cfu/cm^2)も、わずか（0～1.6x10^2）に検出された。

作業者手指：一般細菌数（cfu/片手）が 1.9x10^3～2.0x10^5 と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌は 0～2.0x10^4 cfu/片手検出され、特に解体後において高度に検出された。黄色ブドウ球菌は 5.0x10^1～9.3 x10^4 cfu/片手検出された。

後蹄：一般細菌数が 4.4 x10^5 cfu/蹄と高度に検出された。大腸菌群は 4.7x10^{2}cfu/蹄、大腸菌は 3.9x10^2 cfu/蹄)、黄色ブドウ球菌は 1.8x10^{5}cfu/蹄検出された。

銃創：洗浄前では、一般細菌数が 1.1x10^3 cfu/cm^2～3.6x10^3、大腸菌群・大腸菌についてもわずか（それぞれ 2.0x10^1、8.5x10^{-1}cfu/cm^2）に検出された。黄色ブドウ球菌は 7.4x10^{1}cfu/cm^2 検出された。剥皮後は、いずれも大きく低減したが、一般細菌数が 1.0x10^1 cfu/cm^2～3.6x10^3、大腸菌群・大腸菌はいずれも 3.5x10^{-1}cfu/cm^2 に検出された。黄色ブドウ球菌は 4.0x10^{-1}cfu/cm^2 検出された。

床・作業台：一般細菌数（cfu/cm^2）が 3.3x10^0～58.7x10^1 検出された。大腸菌群・大腸菌（cfu/cm^2）についてもわずか（0～2.5x10^{-1}）に検出された。黄色ブドウ球菌は検出されなかった。

枝肉洗浄水：使用前においても、一般細菌数が 6.5x10^{1}cfu/ml 検出されたが、その他の指標細菌は検出されなかった。使用後では、一般細菌数が 3.6x10^{6}cfu/ml と高度に検出された。大腸菌群・大腸菌については、大腸菌が 1.6x10^3 cfu/ml、大腸菌群が 2.2x10^3 と高度に検出された。黄色ブドウ球菌も 1.3x10^2 cfu/ml 検出された。

3）野生鳥獣熟成肉の衛生評価

3)-1 わが国の野生鳥獣処理施設で生産された鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

各施設で処理された枝肉の熟成前後における一般細菌数の中央値(以下全て「熟成前」、「熟成後」の順で示す。単位は cfu/g) それぞれ、施設 a で 3.3×10^2、1.7×10^3、施設 b で 6.7×10^1、7.4×10^1、施設 C で 3.8×10^3、8.3×10^6 であった。施設 C の熟成後の値は、施設 a、b の同値に比べ有意（p<0.05）に高値であった(図 3)。

大腸菌群の中央値は（以下全て熟成前、熟成後の順で示す。単位は cfu/g）は、施設 a で 1.0×10^0、3.0×10^{-1}、施設 b でいずれも 0、施設 c で 1.8×10^1、1.8×10^0 であった（図 4)。

大腸菌の中央値（以下全て熟成前、熟成後で示す。単位は cfu/g）は、施設 a で 8.0×10^{-1}、0、施設 B ではいずれも 0、施設 c で 1.5×10^0、0 であった。施設 a、c の熟成後の値は、施設 b に比べ有意（p<0.05）に減少していた(図 5)。

黄色ブドウ球菌はいずれの検体からも検出されなかった。

施設 a で処理された熟成前 1 検体(9.1%)から *Listeria* spp.が 3 株分離された。3 株の分離株はいずれも、*L. welshimeri*（65.7%）もしくは

L. innocua (34.1%) と同定された。その他いずれの検体からも、検討した食中毒起因細菌は分離されなかった。

3)-2 わが国で市販されていた鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

一般細菌数(単位は cfu/g)は、鹿熟成肉では 0～<$2.5x10^5$、鹿非熟成肉では、0 ～$7.4x10^5$ であり、鹿熟成肉と鹿非熟成肉の一般細菌数に有意差は認められなかった。鹿熟成肉では施設 A の検体 ($5.2x10^3$~<$2.5x10^5$)が施設 B ,C の検体(0~$2.8x10^2$)に比べ有意(p<0.05) に高値を示した。鹿非熟成肉では施設 F の検体 ($7.4x10^1$~$7.4x10^5$) が施設 D ,E ,G ,H ,I ,J の検体 (0~$4.6x10^3$) と比べ有意(p<0.05) に高値を示した (図 6)。

大腸菌群数(単位は cfu/g)は鹿熟成肉では 0 ～$3.5x10^2$、鹿非熟成肉では、0 ～$6.1x10^4$ であり、鹿熟成肉と鹿非熟成肉の大腸菌群数に有意差は認められなかった。鹿熟成肉では施設 A の検体 (0~$3.5x10^2$) が施設 B ,C の検体 (施設 C の 1 検体からのみ $2.0*10^0$ CFU/g) と比べ有意 (p<0.05) に高値を示し、鹿非熟成肉では施設 F の検体 (0～$6.1x10^4$) が施設 D ,E ,G ,H ,I ,J の検体 (0~$3.4x10^2$) と比べ有意 (p<0.05) に高値を示した (図 7)。

大腸菌数(単位は cfu/g)は鹿熟成肉では 0 ～$1.5x10^2$、鹿非熟成肉では、0 ～$2.1x10^4$ であり、鹿熟成肉と鹿非熟成肉の大腸菌数に有意差は認められなかった。鹿熟成肉では施設 A の検体 (0~$1.5x10^2$) のみから検出され、施設 B ,C の検体 (すべて 0) と比べ有意 (p<0.05) に高値を示した。鹿非熟成肉では大腸菌は施設 F ,G ,J から 0~$2.1x10^4$ 検出され、施設 D ,E ,H ,I からは検出されなかった。施設 F の検体 (0~$2.1x10^4$) が施設 D ,E ,G ,H ,I ,J の検体 (0~$6.0x10^0$) と比べ有意(p<0.05) に高値を示した (図 7)。

黄色ブドウ球菌はいずれの検体からも検出されなかった。

全ての熟鹿成肉検体において、検討したいずれの食中毒起因細菌も分離されなかった。

一方、鹿非熟成肉の 3 検体から non-0157 STEC が 3 株分離された (表 9)。これらの菌株について *stx* 遺伝子 (*stx1*、*stx2*) を標的とした PCR を実施したところ、1 株から *stx1*、*stx2* 両遺伝子が検出されたのに対し、2 株からは *stx2* 遺伝子のみが検出された。

13 検体から *Listeria* 属菌 が 36 株 分離され、このうち 4 検体から分離された 12 株は *Listeria* spp.、9 検体から分離された 24 株は *L. monocytogenes* と同定された。

0157 STEC、*S. aureus*、*Salmonella* 属菌は全ての検体において陰性だった (表 9)。

D．考察

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、ならびに大日本猟友会から協力を頂き、同会会員が解体処理した枝肉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。

作業順別：

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。

鹿：「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。さらに屋外で内臓摘出した検体は、屋内で内臓摘出した検体 (胸部) に比べ有意に高値を示した。

猪：「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。

以上のことから、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。また、屋外での内臓摘出は汚染する作業工程において機会が多いものと考えられた。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。

剥皮施設別：

鹿：「猟友会」、「のせ台」、「懸吊」の順に中央値が高い値を示した。

猪：「のせ台」、「猟友会」、「懸吊」の順に中央値が高い値を示した。

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。

剥皮方法別：

鹿：「猟友会」が高値を示し、「ウィンチ」「手剥ぎ」間に有意差は認められなかった。

猪：いずれも有意差は認められなかった。

特に鹿では、「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。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ことから、剥皮は屋内で実施すべきであることが確認された。

2）屋外で実施された解体処理工程で採取した拭き取り検体の衛生指標細菌数

施設 X、鹿：

表皮のついたと体を洗浄することにより、一般細菌が減少することが確認されたが、一般細菌数の減少は特に肛門周囲部において限定的であることが確認された。また、枝肉、ブロック肉における各種衛生指標細菌数は、およそ家畜（牛、豚）の全国中央値とほぼ同様の値となり、特別問題のある作業ではないものと考えられた。

細菌汚染源となる可能性のあるものとして、作業者手指、ナイフ、蹄について検討した。いずれもと体洗浄、剥皮、内臓摘出、枝肉洗浄等の作業により、一般細菌数のみならず、大腸菌・大腸菌群・大腸菌の汚染も確認され、各作業工程間の洗浄、消毒の重要性が確認された。

銃創、止め刺し口についても、特に一般細菌が検出され、開放創からの細菌汚染に注意を払う必要がある。

今回の作業において、腸内容物による枝肉の汚染が確認されたことから、当該箇所の拭き取りを実施したところ、一般細菌数、大腸菌群・大腸菌がわずかながら検出された。腸内容の漏出を防ぐため、結紮、ビニル袋をかぶせる、等対策する必要がある。

当該施設では、湧き水を使って枝肉を洗浄していた。当該水からは、一般細菌数が検出された。当該水は解体後のブロック肉を冷却するために使用されたが、その使用後では多くの一般細菌数、大腸菌群数、大腸菌数が検出され、交差汚染の可能性が考えられる。ブロック肉の扱いにおいて、交差汚染を避けるため、一つの桶等にブロック肉を保管することは避けるべきであると考えられた。

施設 Y、猪：

施設 X の鹿と同様に、表皮のついたと体は高度に細菌に汚染されているものの、その洗浄により一般細菌は減少するものの、依然として多くの一般細菌が検出された。一方、最終的な枝肉は家畜（牛、豚）の全国中央値とほぼ同様の値となった。しかしながら、大腸菌群・大腸菌が低値ながら検出されたことから、特に糞便汚染が生じたものと考えられた。

細菌汚染源となる可能性があるものとして作業者手指が特に問題であった。内臓摘出後において、一般細菌数、大腸菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌が高度に検出された。また、同施設では懸吊せず、のせ台を使って剥皮をしていたことから、作業中に、作業者手指から肉を汚染している可能性が考えられた。一方、本件対では、銃創は湯剥ぎ後において、各種衛生指標細菌の減少は顕著であった。

3）野生鳥獣熟成肉の衛生評価

3)-1 わが国の野生鳥獣処理施設で生産された鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

本研究で検討した鹿検体は、熟成により一般細菌は増加する傾向を示した。特に、施設 c では熟成後、一般細菌数が有意（$p<0.05$）に増加し、中央値はそれぞれ熟成前で 3.8×10^3CFU/g、熟成後で 8.3×10^6CFU/g と 10^3倍以上増加した。本施設では、発酵菌（*Thamnidium*）をあらかじめ枝肉に付着させた後、ドライエイジング法で熟成させていた。本法により、熟成に用いるカビを安定的に増殖させ、熟成期間やトリミングの手間を抑え、腐敗菌によるコンタミネーションのリスク防止や品質の変動の改善を目的としている。しかし、本研究は、特に施設 c で処理された枝肉は、熟成により一般細菌数が有意に増加したことから、不適切なエイジングシートの使用や保管管理によって、枝肉を細菌によって汚染するリスクがあると考えられた。また、施設 a、b においても熟成後、一般細菌数が増加する傾向が認められた。本研究で対象とした施設では、いずれにおいても低温（1～3℃）で熟成処理をしていたことから、一般細菌数のうち、低温細菌が増殖していた可能性が考えられた。

本研究では、熟成により、大腸菌・大腸菌群数が低下する傾向が認められた。施設 b においては熟成前後共に全く検出されず、施設 a、c では大腸菌数が有意（$p<0.05$）に減少した。さらに、熟成後の検体からは、検討した全ての病原細菌は分離

されなかった。特に施設 a では、熟成前の検体から *L. welshimeri* もしくは *L. innocua* が分離されたものの、熟成後の同一検体では検出されなかった。Ryu らも同様に、12 日、30 日、70 日、160 日間それぞれドライエイジング法により熟成した牛肉から、いずれも *Bacillus cereus*、*S. aureus*、*L. monocytogenes*、*E. coli* などの食中毒起因細菌は検出されなかったことを報告している。他にも、ドライエイジングビーフを対象とした研究では、熟成は枝肉中の STEC O157 および一般的な *E. coli* を低下させることが報告されている。一般的に、屠殺後の嫌気的条件では解糖により乳酸を生成し、肉の pH は 5.5~5.0 にまで低下するが、その後熟成により pH は上昇し始める。*Salmonella*、STEC O157、および *L. monocytogenes* の病原性株の混合物を牛肉の表面に接種し、42 日間熟成させた研究では、*Salmonella* および STEC O157 株の数は、大幅に減少（それぞれ-0.07～-0.14 log 10 cfu/日および-0.09～-0.14 log 10 cfu/日）したものの、*L. monocytogenes* は、*Salmonella* や STEC O157 に比べてより遅く減少し、長期間生存することが報告されている。この報告では、熟成前は、8 検体中 7 検体においては pH 5.34～5.68 であったものが、熟成 42 日後では pH 5.60～5.99 と上昇しており、*Salmonella* および STEC O157 の減少と関与していると考えられている。本研究で対象としたいずれの施設においても、低温（1～3℃）でドライエイジングを実施していることから、熟成により pH の上昇、水分活性の低下、さらには乳酸菌の増殖による抗菌活性が産生されたことにより、混入した可能性のある病原性細菌、および大腸菌群や大腸菌の増殖や生存を抑制したと考えられた。

熟成後の検体からは、検討した全ての病原細菌は分離されなかった。東京都健康安全研究センターが行った、「いわゆるドライエイジングビーフの衛生学的実態調査」では、都内の 5 施設で自家製造された熟成後のトリミング部位及びトリミング後表面の牛肉から *L. monocytogenes* や *S. aureus* 等の食中毒起因細菌が検出されている。今後、わが国において製造された熟成肉の衛生評価を継続して行う必要がある。

本研究では、検討した食中毒起因細菌のうち、施設 A の熟成前の検体から、*L. welshmeri* もしくは *L. innocua* が分離された。いずれの菌種も、食中毒起因細菌である *L. monocytogenes* と比べ肉類や乳製品だけでなく、野菜や果物などから幅広く分離されており、ヒトへの病原性はないものと考えられている。同菌は熟成前の検体から分離されたことから、熟成によって増殖したものではなく、食肉処理工程において、当該枝肉を汚染したものと考えられた。

3)-2 わが国で市販されていた鹿熟成肉及び鹿非熟成肉における衛生指標細菌数の計測と食中毒起因細菌の分離状況

本研究で検討した鹿熟成肉と鹿非熟成肉の衛生指標細菌数を比較した結果、一般細菌数は両者に有意差は認められなかった。しかしながら本研究では、鹿熟成肉を製造する施設 B ,C において $0^{\sim}2.8x10^2$ CFU/g と一般細菌数が極めて低値を示したことから、熟成により必ずしも一般細菌数が増殖するわけではなく、熟成の条件や肉の取り扱いによって、検出される一般細菌数が左右される可能性が示唆された。

一方、大腸菌・大腸菌群数においてもまた、鹿熟成肉と鹿非熟成肉に有意差は認められなかったことから、今回対象とした施設において実施されている熟成方法は、特に糞便由来細菌を減少させる効果は限定的である可能性がある。2021 年の韓国のドライエイジングビーフを対象とした研究では、真菌が熟成に重要な役割を果たし、熟成により大腸菌群の増殖を抑制すると報告されている。本研究では特に、施設 B ,C で製造された鹿熟成肉は大腸菌数・大腸菌群数ともにほとんど検出されなかったことから、当該施設で実施されている熟成法により大腸菌数・大腸菌群が減少した可能性が考えられる。

熟成を行なっている施設では、施設 A で、熟成を行なっていない施設では、施設 F でそれぞれ販売された検体は、一般細菌数、ならびに大腸菌・大腸菌群数において、いずれもそれぞれ他の鹿熟成肉、および鹿非熟成肉を販売する施設に比べて、有意に高値を示したことから、特に施設 A および F においては、他の施設に比べ、高度に細菌汚染していることが示唆された。施設 A では熟成前に枝肉に種菌（菌種、菌量等は非公表）を塗布してから 1～3 ヶ月と長期間に亘って熟成を行っていることから、熟成期間中に種菌が増殖したことにより、一般細菌数が高値を示した可能性が考えられた。さらに、同施設で製造された鹿熟成肉は、大腸菌群・大腸菌数も高値を示したことから、当該施設における動物の捕獲、と殺、解体処理、食肉加工処理、もしくは枝肉の保存時において、枝肉への糞便汚染が発生したものと考えられた。さらに、これらの糞便汚染指標細菌は、熟成後の検体から検出されたことから、当該施設で実施している上記熟成方法では、腸内細菌の抑制効果は限定的である可能性が考えられた。腸内細菌には、大腸菌や *Salmonella* など、多くの食中毒起因細菌が含まれる可能性がある。今後、当該施設におけると殺、解体処理、食肉加工処理方法を検証し、衛生的な取扱が実施されているかどう

か、改めて検証する必要がある。一方、施設Fにおいては、熟成を行っていない施設であることから、当該施設における動物の捕獲、と殺、解体処理、食肉加工処理、もしくは、枝肉の保存などの一連の製造過程のいずれかにおいて、糞便や土壌などから細菌に汚染した可能性がある。

本研究では、食中毒起因細菌として、non-0157 STEC ならびに *L. monocytogenes* がいずれも鹿非熟成肉から分離された。non-0157 STEC は、2020 年にわが国で捕獲された鹿の糞便の 16.7%と、特に高率に分離されたことを報告している。本研究で non-0157 STEC が分離された鹿非熟成肉の生産段階において、枝肉が non-0157 STEC を含む糞便に汚染された可能性がある。

本研究では、*L. monocytogenes* が 9 検体からと最も多く分離された。特に、本菌は施設 G で販売された鹿非熟成肉の 60%から分離された。本菌は低温細菌であるため、本菌に汚染したのちに、冷蔵庫内で保存されている間に増殖した可能性が考えられた。今後、当該施設 G において、枝肉を保存している冷蔵庫内における本菌の汚染状況について検討する必要がある。また、*L. monocytogenes* は平成 29 年度の「いわゆるドライエイジングビーフの衛生学的実態調査」においてもドライエイジングビーフのトリミング部位及びトリミング後表面から検出したと報告されている。特に牛肉のドライエイジングにおいては、一定の条件下において *Salmonella* 属菌と大腸菌を減少させる一方、*L. monocytogenes* は増殖したと報告されている。また、フィンランドでは銃により狩猟されたオジロジカの 5%とヘラジカの 5%の枝肉表面から *L. monocytogenes* が検出されたと報告されている。以上のことから、鹿非熟成肉や、鹿熟成肉については、特に *L. monocytogenes* により汚染される可能性があること、さらに低温条件下で熟成する場合には、熟成中に低温細菌である同菌が増殖する可能性があることを、生産者や消費者に対して啓蒙する必要がある。また、本研究で分離した *L. monocytogenes* 株の病原性を評価し、潜在的なヒトへの感染源となる可能性を検討する必要がある。

一方、本研究で検討した鹿熟成肉からは、いずれの食中毒起因細菌も分離されなかった。熟成肉においては、*Lactobacillus* 属菌や *Enterococcus* 属菌の働きによって肉の pH が低下したことによって病原性細菌の増殖を抑制する効果があると報告されている。このことから、本研究で対象とした熟成肉においても、熟成期間中に混入した乳酸菌が増殖することによって肉の pH が低下し、食中毒起因細菌の増殖が抑制されている可能性がある。しかしながら前述の通り、施設 A のように、熟成をおこなっているにもかかわらず大腸菌群数・大腸菌が多く検出された施設が認められたため、熟成の条件によっては、その病原細菌に対する抑制効果は限定的となると考えられた。

Ｅ．結論

1）屋外で剥皮、内臓摘出を行った枝肉では、比較的高度に一般細菌数が検出された。

2）「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。

3）「のせ台」は、「懸吊」より高度に一般細菌数が検出された。

4）「ウィンチ」「手剥ぎ」間に有意差は認められなかった。

5）作業工程中のナイフ、作業者手指は枝肉への汚染源となる可能性が確認された。

6）熟成肉では、一般細菌数が増加するものの、大腸菌群・大腸菌は低下する傾向がある。

7）わが国でインターネットにて市販されている野生鹿肉は、概ね細菌汚染は低値であったが、一部の施設で販売されていたものにおいて、極めて高度に細菌汚染をしているものも確認された。

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, 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 doi: 10.1016/j.cimid.2022.101766.

2) Nabeshima K, Sato S, Brinkerhoff RJ, Amano M, Kabeya H, Itou T, Maruyama S., Prevalence and Genetic Diversity of *Bartonella* Spp. in Northern Bats

(*Eptesicus nilssonii*) and Their Blood-Sucking Ectoparasites in Hokkaido, Japan, Microb Ecol. 2022 doi: 10.1007/s00248-021-01935-0

２．学会発表

1) 石井 香菜、鈴木　綾乃、田中 裕梨、佐藤 真伍、丸山 総一、*壁谷 英則、野生鳥獣食肉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、第165回日本獣医学会学術集会、令和4年9月6～8日、麻布大学（Web形式）
2) 佐藤真伍、西岡絵夢、壁谷英則、丸山総一、人およびサルから分離した塹壕熱原因菌 *Bartonella quintana* の完全長ゲノムの比較解析、第40回日本獣医師会獣医学術学会年次大会、令和4年11月11日～13日、ヒルトン福岡シーホーク

３．講演会

1) 壁谷英則、野生獣肉利用における衛生管理の留意点、令和4年11月17日（木）、奈良県橿原市・大和平野土地改良区、約50名、奈良県畜産協会

2) 壁谷英則、「ジビエにおける食品衛生上の問題点－寄生虫汚染を中心に－」野生鳥獣における病原細菌保有状況、令和5年2月4日（土）、東京大学・弥生講堂、日本獣医学会・市民公開講座

Ｈ．知的財産権の出願・登録状況

１．特許取得

なし

２．実用新案登録

なし

３．その他

なし

表1　本研究で対象とした屋外で実施された解体処理の概要

施設	A	B
処理日時	令和4年12月10日 11：40	令和5年1月28日 12：40
動物種	鹿	猪
気温	16.7℃	13.9℃
湿度	42.60%	28.6%
体重	51.7kg	51.7kg
性別	雌	雄
推定年齢	2歳	不明
捕獲方法	銃	銃
食道・肛門結紮	なし	なし
腸内容漏出	あり	あり
枝肉洗浄方法	ブラシ、湧き水	洗浄無し

表2　本研究で対象とした野生鳥獣処理施設における熟成処理の概要

施設	動物種	頭数	検体数	部位	熟成期間	熟成温度	スターター
a	鹿	10	20	首	鹿(7～9日)	2℃	なし
b	鹿	10	20	モモ芯玉	5～6日	1～3℃	なし
c	鹿	10	40	背ロース 内モモ (各1部位)	5日	1～3℃	*Thamnidium*

表3　鹿枝肉における各種衛生指標細菌数（作業順別比較）

( ): 本年度実施分
ud:検出限界未満

作業順	胸部　(log10 cfu/cm²)							肛門周囲部　(log10 cfu/cm²)						
	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)
剥皮→内臓摘出	94(7)	16(1)	最小値	ud	ud	ud	ud	94(7)	16(1)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	3.7	3.2	3.6	ud			最大値	4.4	3.0	3.0	1.8
			平均値	2.0	1.3	1.6	ud			平均値	2.7	1.3	1.4	ud
			中央値	0.1	ud	ud	ud			中央値	1.0	ud	ud	ud
屋外内臓摘出→剥皮	8(4)	1(0)	最小値	0.6	ud	ud	ud	8(4)	1(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	3.6	1.1	0.3	ud			最大値	1.7	0.3	ud	ud
			平均値	2.7	0.3	ud	ud			平均値	0.9	ud	ud	ud
			中央値	1.4	ud	ud	ud			中央値	ud	ud	ud	ud
屋内内臓摘出→剥皮	85(16)	5(1)	最小値	ud	ud	ud	ud	85(16)	5(1)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	3.6	2.9	2.9	0.7			最大値	3.9	3.2	3.2	ud
			平均値	2.1	1.0	1.0	ud			平均値	2.4	1.3	1.3	ud
			中央値	ud	ud	ud	ud			中央値	ud	ud	ud	ud
猟友会	30(15)	2(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	36(21)	2(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	4.4	1.5	1.5	ud			最大値	4.4	2.2	2.4	0.7
			平均値	3.4	0.1	0.4	ud			平均値	3.0	0.8	1.0	ud
			中央値	1.3	ud	ud	ud			中央値	1.4	ud	ud	ud

AC猟友会と剥皮先、猟友会と屋内内摘先、剥皮先と屋外内摘先、剥皮先と屋内内摘先と屋外内摘先と屋内内摘先
EC猟友会と屋内内摘先、剥皮先と屋外内摘先、屋外内摘先と屋内内摘先EC群猟友会と剥皮先、猟友会と屋内内摘先、屋外内摘先と屋内摘先（以上$p<0.01$）
EC猟友会と剥皮先、EC群剥皮先と屋外内摘先（以上$p<0.05$）

AC猟友会と屋外内摘先、猟友会と屋内内摘先、剥皮先と屋内内摘先EC猟友会と屋内内摘先、剥皮先と屋内内摘先
EC群猟友会と屋内内摘先、剥皮先と屋内内摘先STX猟友会と屋内内摘先(以上$p<0.01$)
AC猟友会と剥皮先
EC群屋内内摘先と屋外内摘先（以上$p<0.05$）

表4　鹿枝肉における各種衛生指標細菌数（剥皮施設別比較）

( ): 本年度実施分
ud:検出限界未満

剥皮施設	胸部　(log10 cfu/cm²)							肛門周囲部　(log10 cfu/cm²)						
	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)
のせ台	7(0)	1(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	7(0)	1(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	1.5	1.6	2.3	ud			最大値	3.1	1.2	1.4	ud
			平均値	1.1	0.8	1.4	ud			平均値	2.3	0.6	0.7	ud
			中央値	1.0	ud	ud	ud			中央値	1.5	ud	ud	ud
懸吊	180(27)	20(2)	最小値	ud	ud	ud	ud	180(27)	20(2)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	3.7	3.2	3.6	0.7			最大値	4.4	3.2	3.2	1.8
			平均値	2.1	1.2	1.4	ud			平均値	2.6	1.3	1.3	ud
			中央値	ud	ud	ud	ud			中央値	ud	ud	ud	ud
猟友会	30(15)	2(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	36(21)	2(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	4.4	1.5	1.5	ud			最大値	4.4	2.2	2.4	0.7
			平均値	3.4	0.1	0.4	ud			平均値	3.0	0.8	1.0	ud
			中央値	1.3	ud	ud	ud			中央値	1.4	ud	ud	ud

AC猟友会と懸吊、EC群猟友会と懸吊（以上$p<0.01$）
ACのせ台と懸吊、EC猟友会と懸吊（以上$p<0.05$）

AC猟友会と懸吊、EC猟友会と懸吊、のせ台と懸吊、EC群猟友会と懸吊、のせ台と懸吊、STX猟友会と懸吊(以上$p<0.01$)
ACのせ台と懸吊、（以上$p<0.05$）

表5　鹿枝肉における各種衛生指標細菌数（剥皮方法別比較）

( ): 本年度実施分
ud:検出限界未満

剥皮方法	胸部　(log10 cfu/cm²)							肛門周囲部　(log10 cfu/cm²)						
	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)
ウィンチ	7(0)	1(0)	最小値	3.7	3.2	3.6	0.7	7(0)	1(0)	最小値	4.4	3.2	3.2	1.8
			最大値	2.1	1.3	1.5	ud			最大値	2.6	1.4	1.4	ud
			平均値	ud	ud	ud	ud			平均値	ud	ud	ud	ud
			中央値	ud	ud	ud	ud			中央値	ud	ud	ud	ud
手剥ぎ	180(27)	20(2)	最小値	3.6	1.6	2.3	ud	180(27)	20(2)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	2.0	ud	0.6	ud			最大値	4.4	3.2	3.2	1.8
			平均値	ud	ud	ud	ud			平均値	2.6	1.3	1.3	ud
			中央値	3.7	3.2	3.6	0.7			中央値	ud	ud	ud	ud
猟友会	30(15)	2(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	36(21)	2(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	4.4	1.5	1.5	ud			最大値	4.4	2.2	2.4	0.7
			平均値	3.4	0.1	0.4	ud			平均値	3.0	0.8	1.0	ud
			中央値	1.3	ud	ud	ud			中央値	1.4	ud	ud	ud

AC猟友会と手剥ぎ、猟友会とウインチ,EC群猟友会と手剥ぎ、猟友会とウインチ（以上$p<0.01$）
EC猟友会と手剥ぎ、猟友会とウインチ（以上$p<0.05$）

AC猟友会と手剥ぎ、猟友会とウインチ,EC猟友会とウインチ、EC群猟友会と手剥ぎ、猟友会とウインチ(以上$p<0.01$)
STX猟友会と手剥ぎ、猟友会とウインチ(以上$p<0.05$)

表6　猪枝肉における各種衛生指標細菌数（作業順別比較）

( ): 本年度実施分
ud:検出限界未満

作業順	胸部　(log10 cfu/cm²)							肛門周囲部　(log10 cfu/cm²)						
	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)
剥皮→内臓摘出	54(0)	10(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	54(0)	10(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	4.4	2.4	2.4	1.7			最大値	4.4	3.4	3.9	2.2
			平均値	3.2	1.2	1.1	0.2			平均値	3.5	2.0	2.3	0.8
			中央値	1.9	ud	ud	ud			中央値	2.2	ud	ud	ud
屋内内臓摘出→剥皮	45(4)	9(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	45(4)	9(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	4.4	1.2	1.2	1.1			最大値	4.4	3.3	3.3	2.2
			平均値	2.8	ud	ud	ud			平均値	2.9	1.7	1.7	0.8
			中央値	0.5	ud	ud	ud			中央値	0.6	ud	ud	ud
猟友会	9(1)	2(0)	最小値	0.1	ud	ud	ud	9(1)	2(0)	最小値	1.1	ud	ud	ud
			最大値	3.0	1.1	1.5	0.5			最大値	3.9	1.4	1.6	0.6
			平均値	2.2	0.3	0.7	ud			平均値	2.9	0.8	0.9	ud
			中央値	1.6	ud	ud	ud			中央値	1.4	ud	ud	ud

AC猟友会と屋内内摘先、剥皮先と屋内内摘先（以上$p<0.01$）
EC群剥皮先と屋内内摘先（以上$p<0.05$）

AC剥皮先と屋内内摘先、(以上$p<0.01$)

表7　猪枝肉における各種衛生指標細菌数（剥皮施設別比較）

( ): 本年度実施分
ud:検出限界未満

剥皮施設	胸部　(log10 cfu/cm²)							肛門周囲部　(log10 cfu/cm²)						
	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)
のせ台	58(0)	11(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	58(0)	11(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	4.4	2.4	2.4	1.7			最大値	4.4	3.4	3.9	2.2
			平均値	3.3	1.2	1.1	0.2			平均値	3.5	2.1	2.3	0.9
			中央値	1.7	ud	ud	ud			中央値	2.2	ud	ud	ud
懸吊	37(2)	7(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	37(2)	7(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	3.8	0.7	0.7	1.2			最大値	4.0	2.1	2.6	2.2
			平均値	2.3	ud	ud	ud			平均値	2.7	0.6	1.1	0.7
			中央値	ud	ud	ud	ud			中央値	ud	ud	ud	ud
猟友会	9(1)	2(0)	最小値	0.1	ud	ud	ud	9(1)	2(0)	最小値	1.1	ud	ud	ud
			最大値	3.0	1.1	1.5	0.5			最大値	3.9	1.4	1.6	0.6
			平均値	2.2	0.3	0.7	ud			平均値	2.9	0.8	0.9	ud
			中央値	1.6	ud	ud	ud			中央値	1.4	ud	ud	ud

ACのせ台と懸吊、STXのせ台と懸吊（以上$p<0.01$）
AC猟友会と懸吊、STX猟友会とのせ台（以上$p<0.05$）

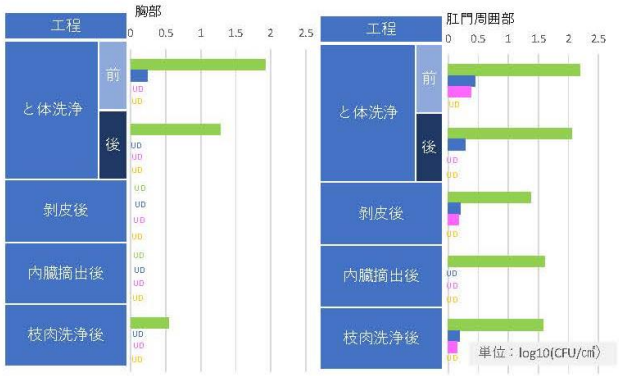
ACのせ台と懸吊(以上$p<0.01$)
AC猟友会と懸吊、STX猟友会とのせ台、のせ台と懸吊(以上$p<0.05$)

表8　猪枝肉における各種衛生指標細菌数（剥皮方法別比較）

( ): 本年度実施分
ud:検出限界未満

剥皮方法	胸部　(log10 cfu/cm²)							肛門周囲部　(log10 cfu/cm²)						
	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)	検体数	施設数	値	一般細菌数(AC)	大腸菌(EC)	大腸菌群(EC群)	黄色ブドウ球菌(STX)
ウィンチ	6(0)	2(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	6(0)	2(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	2.0	ud	ud	ud			最大値	3.8	ud	ud	0.3
			平均値	1.5	ud	ud	ud			平均値	3.1	ud	ud	ud
			中央値	1.1	ud	ud	ud			中央値	2.2	ud	ud	ud
手剥ぎ	86(2)	15(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	86(2)	15(0)	最小値	ud	ud	ud	ud
			最大値	4.4	2.4	2.4	1.7			最大値	4.4	3.4	3.9	2.2
			平均値	3.1	1.0	0.9	0.2			平均値	3.4	2.0	2.2	0.9
			中央値	1.2	ud	ud	ud			中央値	1.4	ud	ud	ud
湯剥ぎ	7(2)	2(0)	最小値	ud	ud	ud	ud	7(2)	2(0)	最小値	0.8	ud	ud	ud
			最大値	2.4	0.8	1.0	ud			最大値	2.6	0.4	0.6	ud
			平均値	1.8	0.2	0.2	ud			平均値	1.9	ud	ud	ud
			中央値	1.6	ud	ud	ud			中央値	1.5	ud	ud	ud
猟友会	9(1)	2(0)	最小値	0.1	ud	ud	ud	9(1)	2(0)	最小値	1.1	ud	ud	ud
			最大値	3.0	1.1	1.5	0.5			最大値	3.9	1.4	1.6	0.6
			平均値	2.2	0.3	0.7	ud			平均値	2.9	0.8	0.9	ud
			中央値	1.6	ud	ud	ud			中央値	1.4	ud	ud	ud

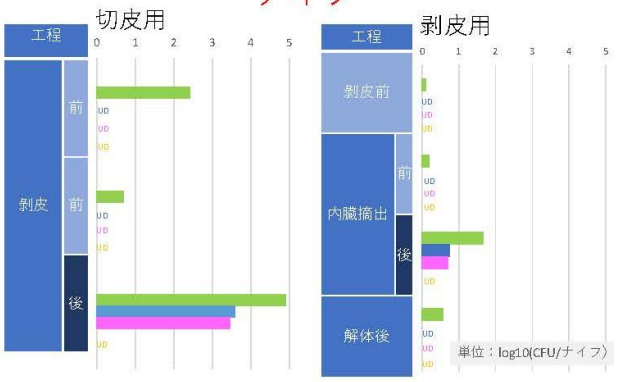
と体・枝肉



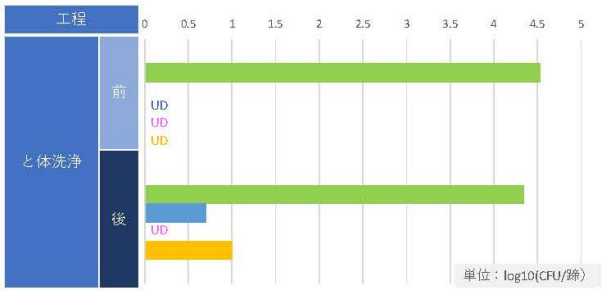
加工後ブロック肉

作業者手指

ナイフ



後蹄



銃創

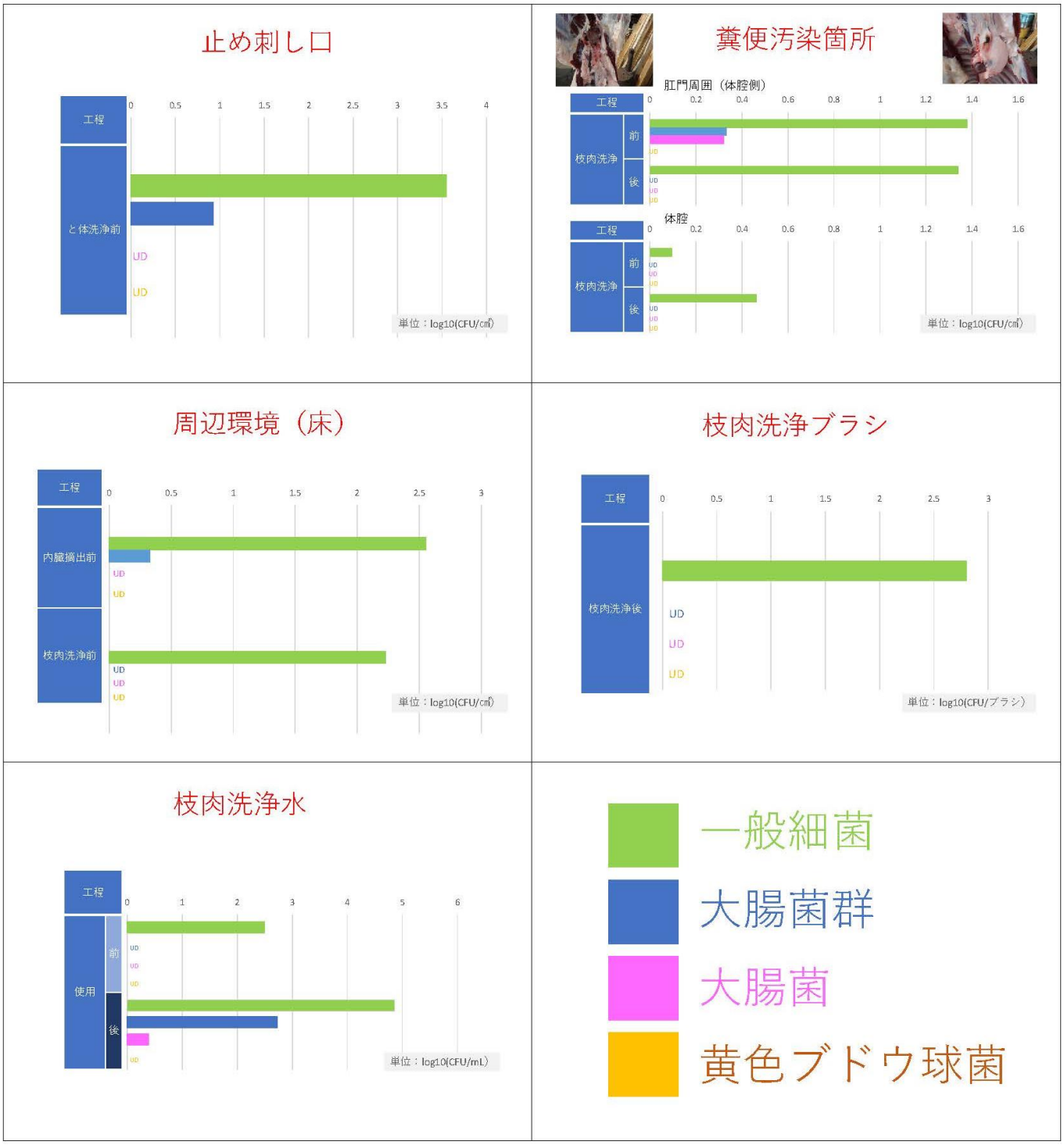
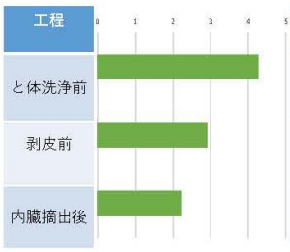


図 1. 施設 X で処理された解体処理工程で採取した拭き取り検体等の衛生指標細菌

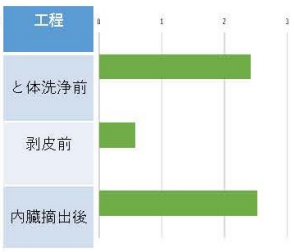
施設 X で処理されたと体・枝肉、後蹄、ナイフ、作業者手指、周辺環境（床）、銃創、糞便汚染箇所、止め刺し口、枝肉洗浄ブラシ、枝肉洗浄水、および加工後ブロック肉における一般細菌数（緑）、大腸菌群数（青）、大腸菌数（ピンク）、および黄色ブドウ球菌数（黄）をペトリフィルム法により計測した。

と体・枝肉

胸部



肛門周囲部



一般細菌　単位：log10(CFU/cm²)

作業者手指

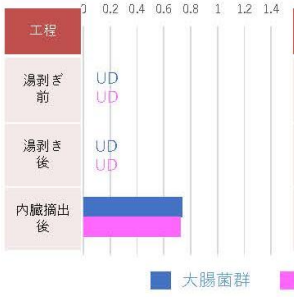
右手

左手

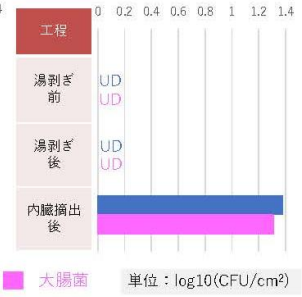
一般細菌　単位：log10(CFU/cm²)

と体・枝肉

胸部



肛門周囲部



大腸菌群　大腸菌　単位：log10(CFU/cm²)

作業者手指

右手

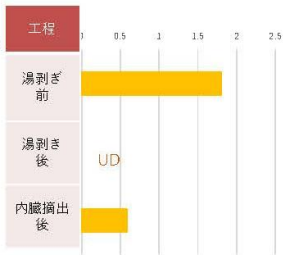
左手

大腸菌群　大腸菌　単位：log10(CFU/手)

と体・枝肉

胸部

肛門周囲部



黄色ブドウ球菌　単位：log10(CFU/cm²)

作業者手指

右手

左手

黄色ブドウ球菌　単位：log10(CFU/cm²)

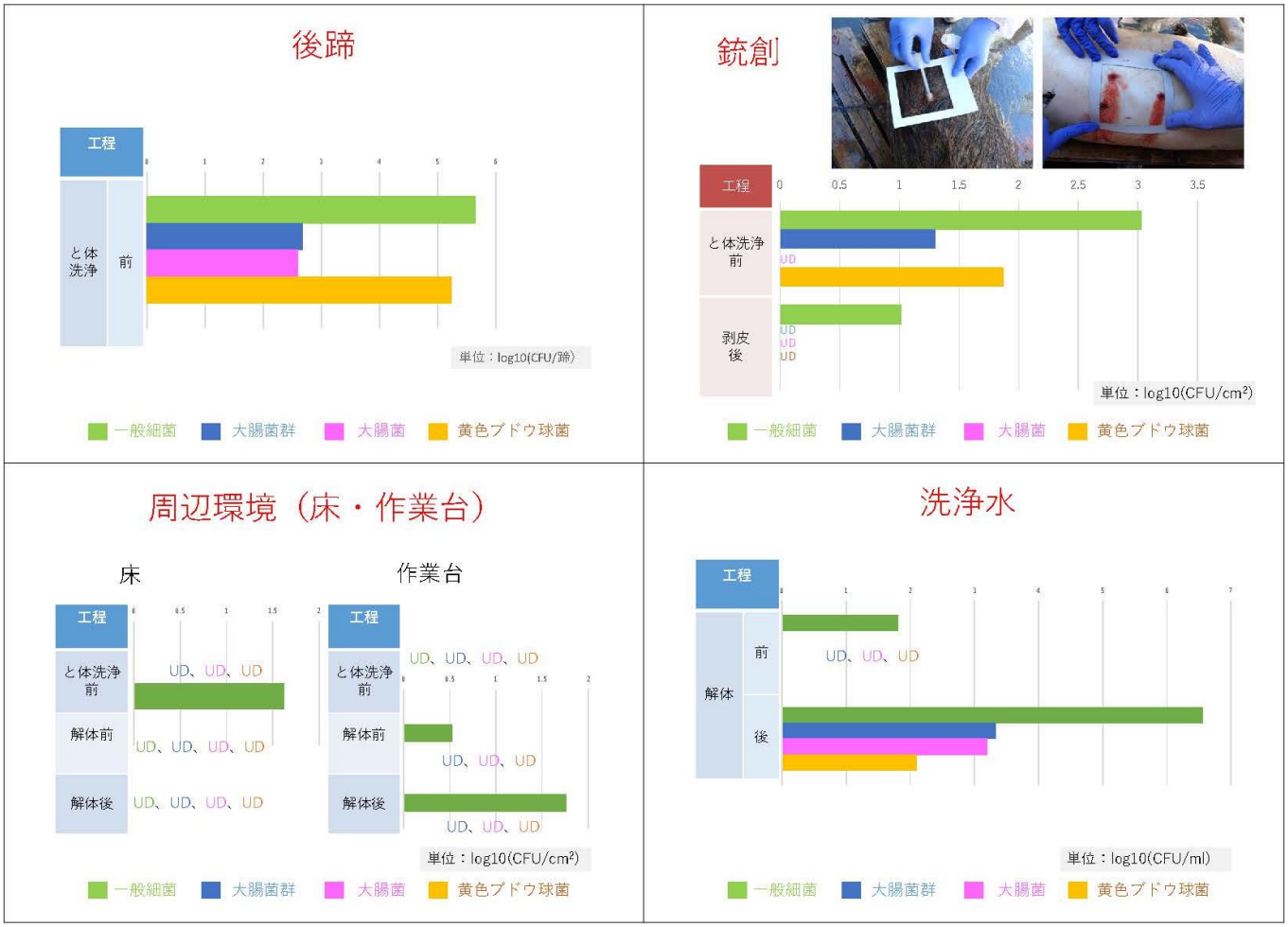


図 2. 施設 Y で処理された解体処理工程で採取した拭き取り検体等の衛生指標細菌

施設 Y で処理されたと体・枝肉、作業者手指、後蹄、銃創、周辺環境（床・作業台）、および洗浄水における一般細菌数（緑）、大腸菌群数（青）、大腸菌数（ピンク）、および黄色ブドウ球菌数（黄）をペトリフィルム法により計測した。

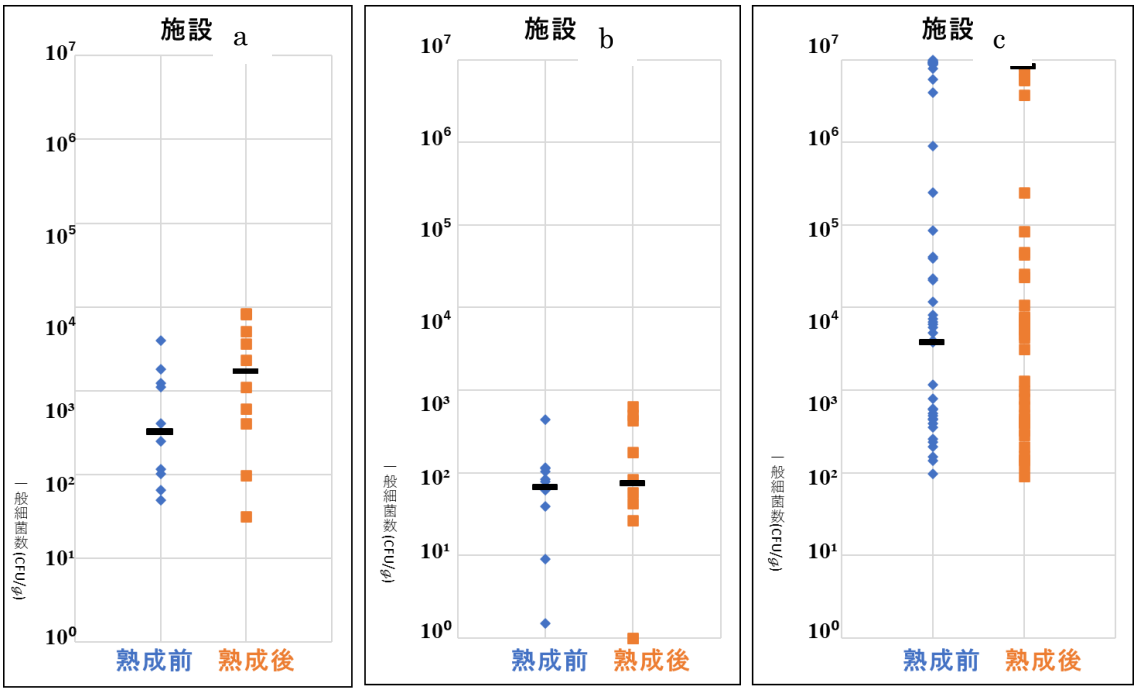


図 3. 施設 a～c で処理された鹿枝肉の熟成前後における一般細菌数

施設 a～c で処理された鹿枝肉の熟成前（♦）、熟成後（■）における一般細菌数（CFU/g）を対数表記で示す。また、各群における中央値を黒バーで示した。

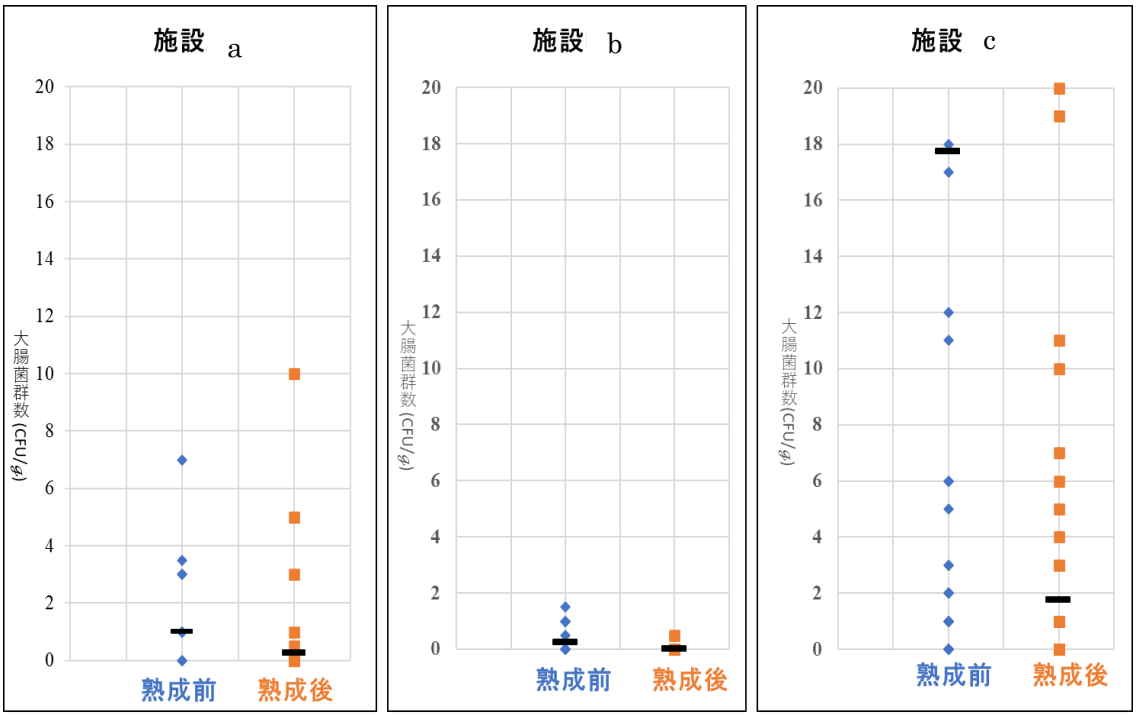


図 4. 施設 a～c で処理された鹿枝肉の熟成前後における大腸菌群数

施設 a～c で処理された鹿枝肉の熟成前（♦）、熟成後（■）における大腸菌群数（CFU/g）を対数表記で示す。また、各群における中央値を黒バーで示した。

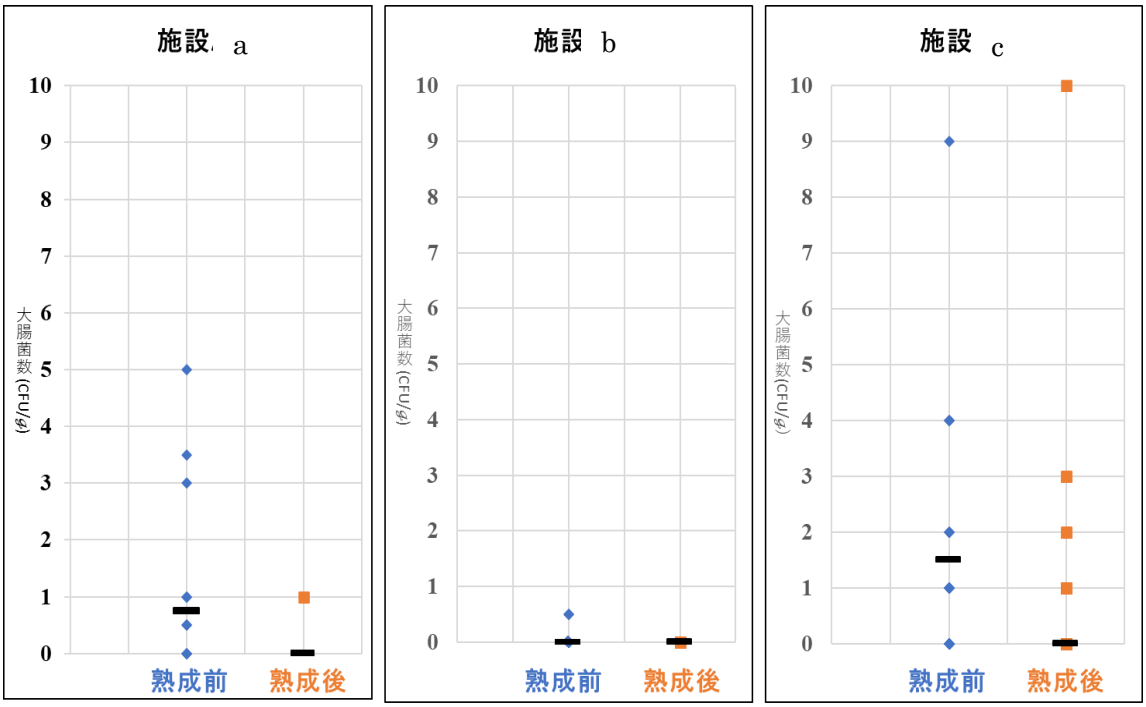


図 5. 施設 a～c で処理された鹿枝肉の熟成前後における大腸菌数

施設 a～c で処理された鹿枝肉の熟成前（♦）、熟成後（■）における大腸菌数（CFU/g）を対数表記で示す。また、各群における中央値を黒バーで示した。

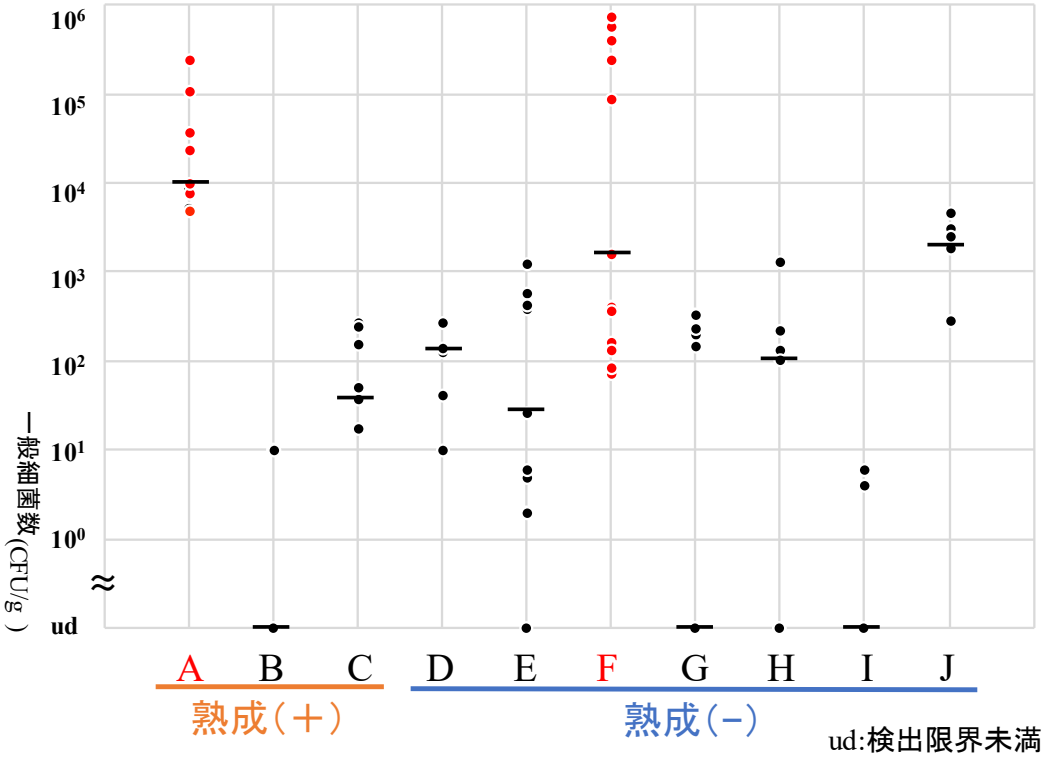


図 6. わが国で市販されていた鹿熟成肉、鹿非熟成肉（施設 D～J）における一般細菌数

わが国で市販されていた鹿熟成肉（施設 A～C）、鹿非熟成肉（施設 D～J）における一般細菌数（CFU/g）を対数表記で示す。各群における中央値を黒バーで示した。鹿熟成肉では、施設 A の検体が施設 B ,C に比べ、鹿非熟成肉では施設 F の検体が施設 D ,E ,G ,H ,I ,J に比べ、それぞれ有意（$p<0.05$）に高値を示した。

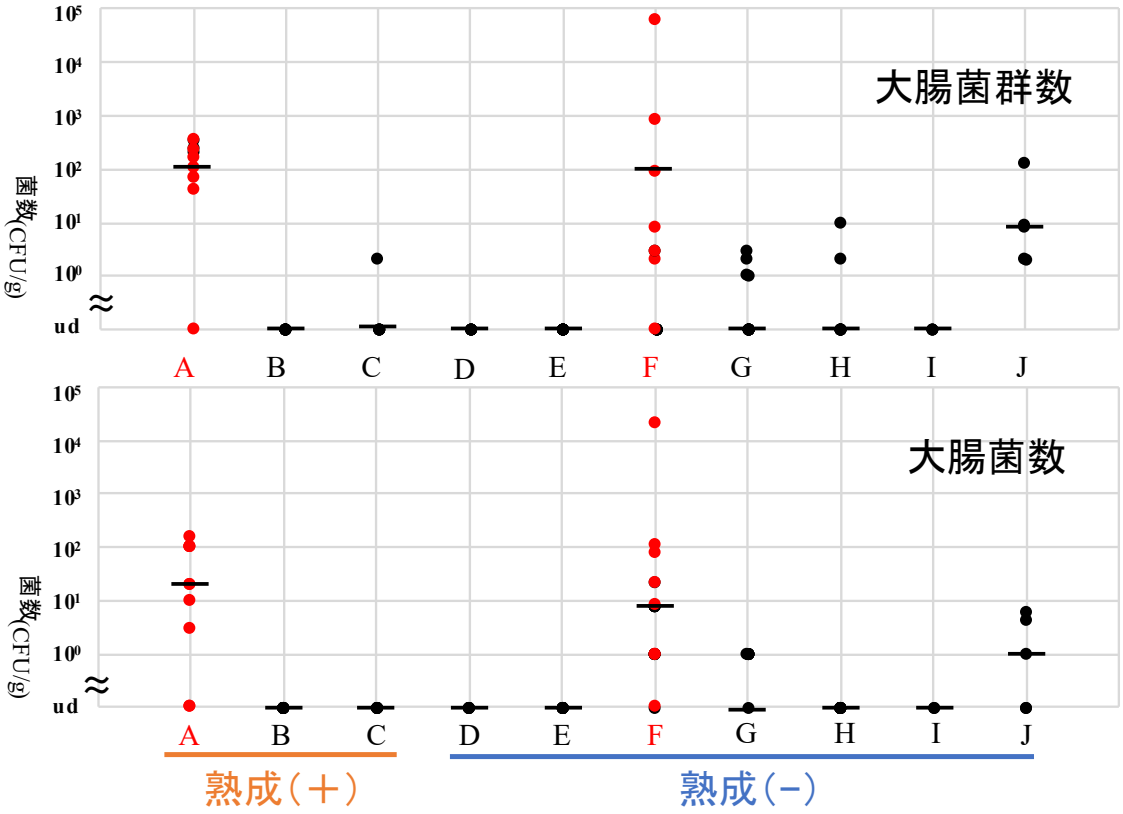


図 7. わが国で市販されていた鹿熟成肉、鹿非熟成肉（施設 D～J）における大腸菌群・大腸菌数

わが国で市販されていた鹿熟成肉（施設 A～C）、鹿非熟成肉（施設 D～J）における大腸菌群数、および大腸菌数（CFU/g）を対数表記で示す。各群における中央値を黒バーで示した。鹿熟成肉では、施設 A の検体が施設 B ,C に比べ、鹿非熟成肉では施設 F の検体が施設 D ,E ,G ,H ,I ,J に比べ、それぞれ有意（$p<0.05$）に高値を示した。

表9　わが国で市販されていた鹿熟成肉及び鹿非熟成肉からの
食中毒起因細菌の分離状況

熟成	施設名	検体数	陽性検体数 (%)				
			STEC	O157	*Listeria*	*S. aureus*	*Salmonella*
＋	A	10	0	0	0	0	0
	B	10	0	0	0	0	0
	C	5	0	0	0	0	0
	計	25	0	0	0	0	0
－	D	7	0	0	0	0	0
	E	10	0	0	0	0	0
	F	15	2 (13%) *1	0	1 (6.7％) *1	0	0
	G	15	1 (6.7%)	0	9 (60%)*2	0	0
	H	10	0	0	0	0	0
	I	3	0	0	0	0	0
	J	5	0	0	3 (60％)	0	0
	計	65	3(0.5%)	0	13 （20%）	0	0

*1 同一の検体から分離　*2 *L. monocytogenes*

令和 4 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　髙井伸二　（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　過年度から引き続き、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目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。また、市場流通後の野生鳥獣由来食肉における汚染調査へと対象を広げ、野生分離株が処理過程を経て市場流通後も存在しリスクとなり得るのか評価した。本年度はシカ糞便 139 検体、イノシシ糞便 43 検体及び食肉検体（シカ肉）75 検体を調査した。シカ糞便 18 検体（12.9%）、イノシシ糞便 1 検体（2.3%）、食肉 21 検体（28.0%）から黄色ブドウ球菌が分離された。また、これらの分離菌株の 73.4%は、CC121 から分岐した新たなクローン集団に属し、野生鳥獣において優占クローンが存在することが明らかとなった。さらに、糞便及び食肉検体の両者からこの優占クローンに属する同一の ST が複数株分離されたことから、処理工程における流通食肉への糞便汚染が疑われた。一部の黄色ブドウ球菌分離菌株に SE 遺伝子陽性株が存在し、その多くは *egc* 関連の新型エンテロトキシンのみを保有していた。このような菌株を原因とする食中毒発生のリスクは低いと推測されるが、それとは別に過去の食中毒事例由来株と同程度の SEC を産生する株が 1 株分離されたため、食中毒リスク管理の観点から注視する必要がある。一方、本年度も 全 257 検体において CRE は分離されなかったことから、野生鳥獣の環境には CRE がまだ拡散していないことが示唆された。セフォタキシムに耐性を示す株が、シカ糞便 5 検体（3.6%）から分離された。これらの菌株が保有するβラクタマーゼ遺伝子は、昨年度同様、主に環境中に広く分布している *bla* であった。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、カルバペネムの効きづらい AmpC 過剰産生菌が 1 株分離されるなど、野生鳥獣環境でも徐々に耐性化の進行や広域スペクトルの耐性遺伝子の広がりが懸念される結果と考えられるため、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、過年度から引き続き、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に関する分子疫学データを蓄積することを目的とした。また、市場流通後の野生鳥獣由来食肉においても同様の調査を行い、処理過程を経た食肉における当該菌種によるリスクを評価した。

B. 研究方法

1) 糞便試料

本工程は、昨年度に引き続き同事業の分担研究者である日本大学生物資源科学部　壁谷英則教授のご協力を頂いた。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。

2) 野生鳥獣由来食肉試料

本工程は株式会社一成　迫田華絵様のご協力を頂いた。国産ジビエ認証制度取得施設を含む6施設（北海道・静岡県・徳島県・宮崎県・鹿児島県）で解体されたシカの生肉並びにインターネットで販売されているシカ肉（ジャーキーなどの加工品を含む）を使用した。なお、本食肉試料に関しては、後述の黄色ブドウ球菌及び薬剤耐性菌の分離に加えて、衛生学的な評価を行う目的で一般的な食品における一般細菌数・大腸菌群・大腸菌・サルモネラの検査も併せて実施した。

3) 糞便・食肉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糞便・原因食品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.）。

4) 糞便・食肉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.）。

5) 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。

6) 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。

7) *in silico* 解析

得られたペアエンドのリードデータを ANI Calculator（https://www.ezbiocloud.net/tools/ani）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 ANI value、Mutilocus 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。また、昨年度分離された黄色ブドウ球菌株を含めて ST 型に基づく最小スパニングツリー法による系統解析をPhyloviz 2.0を用いて行った。

8) Sandwich ELISA

SEC、SHE 遺伝子保有株である SA22D108 株の培養上清中の SEC 及び SEH 産生量について既報の Sandwich ELISA を用いて定量した（Suzuki et al., J appl Microbiol. 118:1507-1520, 2015.）。すなわち、分離した黄色ブドウ球菌株を1% yeast extract 添加 BHI 液体培地で48時間培養し、上清を回収した。50%の正常ウサギ血清と一晩反応させProtein A を除去した後、PBS で 10-1000 倍に希釈してサンプルとした。Capture 抗体として8 μg/ml anti-SEC 抗体もしくは2 μg/ml anti-SEH 抗体を固相化し、HRP 標識 anti-SEC 抗体もしくは HRP 標識 anti-SEH 抗体をLabelled抗体として使用した（いずれも自作抗体）。OPD substrate（Sigma-Aldrich）を発色基質として使用し、Multiskan SkyHigh（Thermo Fisher Scientific）を用いて吸光度を測定した。それぞれの組換えタンパク質（rSEC及びrSEH；いずれも自作）を希釈後、検量線を作成してSEの濃度を算出した。

C. 研究結果

1) **野生獣糞便及び食肉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 139 検体中 18 検体から黄色ブドウ球菌が分離され陽性率は

12.9%であった。イノシシ糞便においては、43 検体中 1 検体のみ（2.3%）から黄色ブドウ球菌が分離された。また、解体後・加工後市場流通シカ肉 75 検体中 21 検体から分離され、陽性率は 28.0%であった。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この傾向は昨年度と同様であること、②シカ肉からの黄色ブドウ球菌の分離率は各処理施設ごとに依存し、一般細菌数・大腸菌群・大腸菌等の細菌検査の結果と相関したことがあげられた。

2）野生獣糞便及び食肉検体からの β ラクタム系抗生物質耐性腸内細菌目細菌の分離率（表

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。昨年度同様全 257 検体において CRE は検出されなかった。一方で、セフォタ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 139 検体中 5 検体(3.6%)から分離されたが、イノシシ糞便においては、全 43 検体で分離されなかった（0%)。また、解体後・加工後市場流通シカ肉においても全 75 検体で分離されなかった（0%)。本年度の興味深い結果として、①シカ糞便からは昨年度と同程度の分離率であったが、イノシシ糞便からは昨年度とは異なり耐性菌が分離されなかったことがあげられた。

3）分離した黄色ブドウ球菌の遺伝学的特性（表 3、表 4、図 3）

分離菌株 53 株（昨年度分離菌株も含む）の全ゲノム解析を行い、各菌株の ANI value、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 3 に示す。黄色ブドウ球菌の標準株（*S. aureus* NCTC8325: NC_007795）に対する ANI value は全ての分離菌株で 95%以上であり、ゲノム構造においても全ての分離菌株が黄色ブドウ球菌であることが確認された。53 株中 30 株が既報の ST 型に分類され、ST6238 が 12 株、ST4278 が 9 株、ST1250 が 4 株、ST20、ST133、ST188、ST398 及び ST2449 が各 1 株であった。一方で残りの 23 株は既報の ST 型に分類されない未報告の ST 型であった。すなわち、本研究において 7 つの新規 allele（gmk-630、pta-963、tpi-888、tpi-889、tpi-890、yqil-1059、yqil-1060）と 12 の新規 ST 型（ST8073-8084）を同定し、これらについて PubMLST データベースに登録した（表 4)。ST 型に基づく最小スパニングツリー法による系統解析の結果、53 株中 39 株が Clonal complex（CC）121 から分岐した新たな集団に含まれることが明らかとなった（図 3)。すなわちこの優占クローンには ST1250、ST6238 及び新規 12 種類の ST が含まれていた。一方で、ST4278(n=9)はこの優占クローンには含まれず、既報の CC15 に属した。なお、ST4278 に属する 9 株は全て同一の施設（施設 E）で処理された食肉検体由来であった。

食中毒の原因毒素であるエンテロトキシン遺伝子は、上記の優占クローンに属する ST6238（n=12）と ST8076（n=3）の全ての株において、必ず *egc* 関連 SE 遺伝子（*sei*, *sem*, *sen*, *seo*, *selu*)を保有したが、古典的 SE 遺伝子(*sea-see*)を保有する株は存在しなかった。一方で、上記の集団には属さない ST2449（SA22D108 株）1 株のみ、*egc* 関連 SE 遺伝子に加えて古典的 SE である SEC 及び SEH 遺伝子を保有していた（SE genotype; *sec, seh, sei, sel, sem, sen, seo, selu*)。また本菌株の培養液中の SEC 産生量は 4.97±0.68 μg/ml、SEH 産生量は 180.27±14.98 ng/ml であった。

上述の SA22D108 株はβラクタム系薬剤耐性遺伝子である *blaZ* 並びにアミノグリコシド耐性遺伝子である *aph(3')-Ia* を保有していた。ST4278 に属する全ての株（n=9）は、*blaZ* 単独もしくは *blaZ* と *aph(3')-Ia* の両者を保有していた。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 53 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。

4） 分離した薬剤耐性腸内細菌目細菌の薬剤感受性試験と遺伝学的特性（表 5、表 6）

2)で分離された 5 菌株の全ゲノム解析を行い、各菌株の ST 型、薬剤耐性遺伝子の探索を行った。分離菌株の内 4 株(EC22D69、EC22D92、EC22D94、EC22D116 株）は *Escherichia coli* であり、それぞれ ST38、ST540、ST746、ST4450 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、昨年度の分離菌株でも多く検出された $bla_{CTX-M-15}$ 保有株が 2 株(EC22D69、EC22D92）あり、EC22D92 株は bla_{TEM-1B} も併せて保有していた。EC22D116 株は $bla_{CTX-M-55}$ と bla_{TEM-1B} を保有しており、EC22D94 株は昨年度分離されなかった $bla_{CTX-M-32}$ を保有していた。残りの 1 株

(CL22D99 株)は *Enterobacter cloacae* であり、bla_{ACT-16} を保有していた（表 5)。しかし、昨年度同様 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。続けて、5 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）において阻止円は観察されなかった。また、CL22D99 株を除く 4 株は、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一方で、CL22D99 株はイミペネムの阻止円径が耐性と感受性の中間を示した。また、セフェム系のセフタ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中間を示す株が存在したが、多く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 6)。

D. 考察

1) 黄色ブドウ球菌によるリスクについて

黄色ブドウ球菌の分離率がイノシシ糞便よりシカ糞便から高率であることは昨年度と同様の傾向であった。この結果は、イノシシよりシカの方が、黄色ブドウ球菌の保菌率が高いことを強く示唆している。昨年度の分離菌株の遺伝子型の傾向から、他の家畜同様、野生獣には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た。本年度の分離菌株を加えた 53 株の ST 型に基づく最小スパニングツリー法による系統解析の結果、53 株中 39 株（73.6%）が CC121 から分岐した新たな集団に含まれることが明らかとなった。すなわち、本研究により、この集団に属する黄色ブドウ球菌がシカやイノシシなどの野生鳥獣における優占クローンであることが明らかとなった。また、この優占クローン属する ST1250、ST6238、ST8074、ST8077、ST8078、ST8080 の黄色ブドウ球菌株はシカ糞便及び食肉検体の両者から分離された（図 3)。このことから、処理工程における流通食肉への糞便汚染が疑われた。表 1 に示す通り、処理施設ごとに黄色ブドウ球菌の分離率が異なり、特に施設 E では特に高い分離率であった。これらの施設で処理された食肉における一般細菌数及び大腸菌群数は高値であり、また大腸菌も検出されており、高い分離率との相関性も糞便汚染を強く支持していると考えられる。

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は 17 株分離された。その内の 16 株は *egc* 関連の新型エンテロトキシンに分類される SE 遺伝子のみ（*sei*, *sem*, *sen*, *seo*, *selu*）を保有していた。これら *egc* 関連の SE は一般的に菌からの産生量が少なく、また嘔吐活性も弱いとされており、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、これらの分離菌株を原因とするに食中毒発生のリスクは低いと推測される。しかし、1 株のみ（SA22D108 株）*egc* 関連 SE 遺伝子に加えて古典的 SE である SEC 及び SEH 遺伝子を保有していた（*sec, seh, sei, sel, sem, sen, seo, selu*)。本菌株の培養上清中における SEC 及び SEH 産生量は、過去に報告された食中毒事例由来株の産生量と同程度であり（Suzuki et al., J appl Microbiol. 118:1507-1520, 2015.; Sato'o et al. Appl Environ Microbiol. 81:7782-7790, 2015.)、この菌株による食中毒リスクは存在すると考えられる。

薬剤耐性遺伝子は、SA22D108 株並びに ST4278 に属する全 9 株において、*blaZ* 単独もしくは *blaZ* と *aph(3')-Ia* を検出した。ST4278 に属する 9 株は、同一の施設（施設 E）で処理された食肉検体由来であったことから、施設内汚染の可能性が考えれるため、薬剤耐性黄色ブドウ球菌が野生鳥獣の環境に拡散しているとは言い難い。また、昨年度から継続して MRSA は一株も分離されなかったことからも、ヒトの臨床現場で大きな問題になっている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。

3) 薬剤耐性菌によるリスクについて

昨年度から継続して CRE の分離を試みたが、本年度も 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。

5 株の CTX 耐性の腸内細菌目細菌がシカ糞便から分離された。昨年度はシカ糞便よりイノシシ糞便から高率に分離されたが、本年度はイノシシ糞便全 43 検体から分離されなかった。本年度分離を試みたイノシシ糞便は大分・宮崎の 2 県のみから採取したものであり、地域性に偏りが生じたため分離されなかった可能性があると考えられる。

分離菌株の内 4 株は *Escherichia coli*、1 株

は *Enterobacter cloacae* 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、*Escherichia coli* では昨年度の分離菌株でも多く検出された $bla_{CTX-M-15}$、$bla_{CTX-M-55}$ は本年度の分離菌株も保有していた。これら 2 つの遺伝子は、世界各地の様々な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。一方、*Enterobacter cloacae* であった CL22D99 株は AmpC 型βラクタマーゼである bla_{ACT-16} を保有していた。AmpC 過剰産生菌はカルバペネムの MIC を上昇することが知られており、薬剤感受性試験においてイミペネムに中間を示した結果と一致すると考えられる。また、本年度も genotype と薬剤耐性遺伝子の保有、あるいは分離地域の間に明確な関連性は見出されなかった。

E. 結論

1) 昨年度同様、黄色ブドウ球菌の分離率がイノシシ糞便よりシカ糞便から高率であることから、イノシシよりシカの方が、黄色ブドウ球菌の保菌率が高いことを強く示唆している。

2) 本研究により、CC121 から分岐した新たなクローン集団に属する黄色ブドウ球菌がシカやイノシシなどの野生鳥獣における優占クローンであることが明らかとなった。

3) 上記の野生動物優占クローンに属する黄色ブドウ球菌株は糞便及び食肉検体の両者から分離されたことから、処理工程における流通食肉への糞便汚染が疑われた。

4) 食肉検体由来の分離菌株について、処理施設ごとに分離率が異なり、特に施設 E では特に高い分離率であった。これらの施設で処理された食肉における一般細菌数及び大腸菌群数は高値であり、また大腸菌も検出されており、高い分離率との相関性も糞便汚染を強く支持していると考えられる。

5) 分離菌株の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の多くは、*egc* 関連の新型エンテロトキシンのみ保有しており、このような菌株による食中毒発生のリスクは低いと推測される。しかし本年度は、過去に報告された食中毒事例由来株と同程度の SEC を産生する株も分離されたため、継続的なモニタリングが必要である。

5)本年度も 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目細菌の β ラクタマーゼ遺伝子の保有状況に着目すると、昨年度同様、主に環境中に広く分布している *bla* が検出された。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、カルバペネムの効きづらい AmpC 過剰産生菌が 1 株分離されるなど、野生鳥獣環境でも徐々に耐性化の進行や広域スペクトルの耐性遺伝子の広がりが懸念される結果と考えられるため、今後も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) Takai S. Guidelines on the hygienic management of wild meat in Japan. Meat Sci. 2022. 191:108864.

2. 学会発表

1) Shinji Takai ”Guidelines on the Hygienic Management of Wild Meat in Japan” 68th International Congress of Meat Science and Technology, August 25, 2022, Kobe, Japan

2) 鈴木 康規、髙井 伸二、久保田 寛顕、長谷川 乃映瑠、小林 甲斐、壁谷 英則、入江 隆夫、佐々木 由香子、角田 勤 「野生鳥獣糞便からの黄色ブドウ球菌及びβラクタム系抗菌薬耐性腸内細菌目細菌の分離とゲノム解析」第 43 回日本食品微生物学会学術総会、2022 年 9 月 29-30 日、タワーホール船堀（東京）

講演会

髙井 伸二「野生鳥獣肉の衛生管理：食中毒を予防するには」野生鳥獣処理活用技術者研修会（広島県会場）2022 年 9 月 13 日、向原生涯学習センターみらい（広島）

髙井 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（北海道会場）2022 年 10 月 17 日、新冠町レ・コード館シアタールーム（北海道）

<u>髙井　伸二</u>「野生鳥獣の感染症：狩猟者・処理者・消費者の感染防止」野生鳥獣処理活用技術者研修会（宮崎県会場）2022 年 11 月 7 日、上米良公民館（宮崎）

<u>髙井　伸二</u>「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理止」野生鳥獣処理活用技術者研修会（長野県会場）2022 年 12 月 8 日、長野市生涯学習センター（長野）

<u>髙井　伸二</u>「衛生管理及び疾病」令和４年度ジビエハンター研修会（試行）2022 年 10 月 3 日、10 月 8 日、11 月 19 日、2023 年 2 月 18 日（計 4 回）オンライン開催

<u>髙井　伸二</u>「安全安心にお肉を堪能するために ー畜産物とジビエの違いー」特別セミナー伯方島 2023　2023 年 2 月 19 日、オンライン開催

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表1　野生獣糞便及び食品検体からの黄色ブドウ球菌の分離結果（昨年度検体も含む）

検体	分離年度	陽性数（%）	内訳 都道府県（検体数：由来）	菌株名
シカ糞便	2021	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
	2022	18/139(12.9%)	大分（3検体：畜産協会）	SA22D82, SA22D108, SA22D140
			奈良（3検体：畜産協会）	SA22D93, SA22D114, SA22D162
			北海道（1検体：民間）	SA22D97
			京都（1検体：民間）	SA22D98
			大阪（5検体：畜産会）	SA22D101, SA22D116, SA22D127, SA22D163, SA22D164
			神奈川（1検体：民間）	SA22D109
			宮崎（2検体：畜産協会）	SA22D144, SA22D146
			青森（2検体：畜産協会）	SA22D149, SA22D195
			静岡（1検体：畜産協会）	SA23D5
イノシシ糞便	2021	1/72(1.4%)	岡山（1検体：猟友会）	SA22B2
	2022	1/43(2.3%)	宮崎（1検体：畜産協会）	SA22B25
食肉（シカ肉）	2022	21/75(28.0%)	静岡（1検体/12検体：処理施設A）	SA22DM15
			静岡（2検体/6検体：処理施設B）	SA22DM20, SA22DM21
			宮崎（3検体/9検体：処理施設C）	SA22DM30, SA22DM31, SA22DM33
			徳島（2検体/5検体：処理施設D）	SA22DM37, SA22DM39
			鹿児島（11検体/13検体：処理施設E）	SA22DM40, SA22DM41, SA22DM42, SA22DM43, SA22DM46, SA22DM47, SA22DM48, SA22DM49, SA22DM50, SA22DM51, SA22DM52
			インターネット購入	SA22DM69, SA22DM71

表2　野生獣糞便及び食肉検体からの薬剤耐性腸内細菌目細菌の分離結果（昨年度検体も含む）

動物種	分離年度	陽性数（%）	内訳 都道府県（検体数：由来）	菌株名
カルバペネム耐性腸内細菌目細菌（CRE）				
シカ糞便	2021	0/237(0%)		
	2022	0/139(0%)		
イノシシ糞便	2021	0/72(0%)		
	2022	0/43(0%)		
食肉（シカ肉）	2022	0/75(0%)		
セフォタキシム耐性腸内細菌目細菌				
シカ糞便	2021	7/237(3.0%)	青森 （1検体：畜産協会）	EC21D158
			大阪 （4検体：畜産会, 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
	2022	5/139(3.6%)	奈良 （2検体：畜産会）	EC22D69, EC22D94
			北海道（1検体：民間）	EC22D92
			大阪 （1検体：畜産会）	EC22D116
			京都 （1検体：民間）	CL22D99
イノシシ糞便	2021	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
	2022	0/43(0%)		
食肉（シカ肉）	2022	0/75(0%)		

表３　分離した黄色ブドウ球菌の遺伝学的特性（昨年度分離菌株も含む）

Strain name	Prefecture	ANI value	Sequence type	Enterotoxin gene *	Resistance gene	Sccmec
SA21S1	Aomori	97.95	8073	No	No	No
SA21S2	Aomori	97.84	1250	No	No	No
SA21S5	Aomori	97.83	1250	No	No	No
SA21D57	Nara	98.66	188	No	No	No
SA21D62	Gunma	97.94	8074	No	No	No
SA21D63	Nara	97.83	8075	No	No	No
SA21D82	Nara	97.89	8076	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA21D112	Miyazaki	97.78	8084	No	No	No
SA22D4	Iwate	97.90	8083	No	No	No
SA22D23	Shizuoka	97.92	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D43	Miyazaki	97.81	8077	No	No	No
SA22D82	Oita	97.83	8077	No	No	No
SA22D93	Nara	97.93	8076	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D97	Hokkaido	97.83	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D98	Kyoto	97.84	8078	No	No	No
SA22D101	Osaka	97.95	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D108	Oita	98.49	2449	*sec, seh, sei, sel, sem, sen, seo, selu*	*blaZ* (β-lactam) *aph(2'')-Ia* (aminoglycoside)	No
SA22D109	Kanagawa	97.91	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D114	Nara	97.85	8083	No	No	No
SA22D116	Osaka	97.86	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D127	Osaka	97.80	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D140	Oita	97.92	8079	No	No	No
SA22D144	Miyazaki	97.81	8079	No	No	No
SA22D146	Miyazaki	97.76	8080	No	No	No
SA22D149	Aomori	97.93	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D162	Nara	97.82	8076	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D163	Osaka	97.82	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D164	Osaka	97.88	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22D195	Aomori	97.67	398	No	$bla_{TEM-116}$	No

					(β-lactam) *erm*(T) (Erythromycin)	
SA23D5	Shizuoka	97.78	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	$bla_{TEM-116}$ (β-lactam)	No
SA22B2	Okayama	97.91	133	No	No	No
SA22B25	MIyazaki	97.86	8077	No	No	No
SA22DM15	Shizuoka	97.80	8078	No	No	No
SA22DM20	Shizuoka	97.88	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	No	No
SA22DM21	Shizuoka	97.78	8074	No	No	No
SA22DM30	Miyazaki	97.82	8077	No	No	No
SA22DM31	Miyazaki	98.01	8081	No	No	No
SA22DM33	Miyazaki	97.79	8080	No	No	No
SA22DM37	Tokushima	98.04	8082	No	No	No
SA22DM39	Tokushima	97.90	8082	No	No	No
SA22DM40	Kagoshima	97.80	1250	No	No	No
SA22DM41	Kagoshima	97.82	1250	No	No	No
SA22DM42	Kagoshima	99.03	4278	No	*blaZ* (β-lactam)	No
SA22DM43	Kagoshima	99.01	4278	No	*blaZ* (β-lactam)	No
SA22DM46	Kagoshima	99.02	4278	No	*blaZ* (β-lactam)	No
SA22DM47	Kagoshima	98.99	4278	No	*blaZ* (β-lactam) *aph(2'')-Ia* (aminoglycoside)	No
SA22DM48	Kagoshima	99.00	4278	No	*blaZ* (β-lactam)	No

SA22DM49	Kagoshima	99.03	4278	No	*blaZ* (β-lactam) *aph(2'')-Ia* (aminoglycoside)	No
SA22DM50	Kagoshima	99.00	4278	No	*blaZ* (β-lactam) *aph(2'')-Ia* (aminoglycoside)	No
SA22DM51	Kagoshima	99.02	4278	No	*blaZ* (β-lactam)	No
SA22DM52	Kagoshima	99.00	4278	No	*blaZ* (β-lactam) *aph(2'')-Ia* (aminoglycoside)	No
SA22DM69	—	97.84	6238	*sei, sem, sen, seo, selu*	$bla_{TEM-116}$ (β-lactam)	No
SA22DM71	—	99.03	20	*seg, sem, sen, seo, selu*	*blaZ*, $bla_{TEM-116}$ (β-lactam)	No

* Enterotoxin genes はCenter for Genomic Epidemiology (https://genomicepidemiology.org/)のデータベース上に登録されている遺伝子配列と相同性のあったものを抽出しており、変異が存在するもの（完全に配列が一致しないもの）も含む

表 4 本研究で新たに報告した Sequence type と allele

Strain	Assigned sequence type	Allele						
		arcC	*aroE*	*glpF*	*gmk*	*pta*	*tpi*	*yqiL*
21S1	8073	6	79	113	2	13	50	152
22D98, 22DM15	8078	6	79	113	47	**963**	**889**	172
22D146, 22DM33	8080	6	79	113	47	10	70	102
21D82, 22D93, 22D162	8076	6	79	496	47	7	70	61
21D62, 22DM21	8074	14	380	12	2	13	70	172
22B25, 22D43, 22D82, 22DM30	8077	57	79	6	2	62	110	**1059**
22D140, 22D144	8079	57	79	6	2	62	**890**	**1059**
22DM37, 22DM39	8082	57	79	6	18	149	70	139
22DM31	8081	57	79	6	47	**963**	50	**1060**
21D63	8075	57	79	12	2	13	76	171
22D4, 22D114	8083	57	79	12	2	13	**888**	152
21D112	8084	154	79	12	**630**	149	114	102

太字は新たに報告した Allele 番号を示す

表5　分離した薬剤耐性腸内細菌目細菌のSequence typeと保有する薬剤耐性遺伝子

菌株名	都道府県	菌種	ST	薬剤耐性遺伝子	
EC22D69	奈良	*Escherichia coli*	4450	*bla*$_{CTX-M-15}$	(Bata-lactum)
				qnrS1	(Quinolones)
				bla$_{CTX-M-15}$, *bla*$_{TEM-1B}$	(Bata-lactum)
EC22D92	北海道	*Escherichia coli*	38	*qnrS1*	(Quinolones)
				tet(B)	(Tetracycline)
				sul2	(Folate pathway antagonist)
				aph(6)-Id	(Aminoglycoside)
EC22D94	奈良	*Escherichia coli*	540	*bla*$_{CTX-M-32}$	(Bata-lactum)
EC22D116	大阪	*Escherichia coli*	746	*bla*$_{CTX-M-55}$, *bla*$_{TEM-1B}$	(Bata-lactum)
CL22D99	京都	*Enterobacter cloacae*	182	*bla*$_{ACT-16}$	(Bata-lactum)
				fosA	(Fosfomycin)

表 6　分離した薬剤耐性腸内細菌目細菌の薬剤感受性試験

菌株名	菌種	Bラクタム系耐性遺伝子	阻止円直径(mm)													
			P10	AM10	AMX25	OX1	CZ30	CTX30	CF30	CAZ30	CRO30	CPD10	IPM10	MEM10	DOR10	ATM30
EC22D69	*Escherichia coli*	*bla*$_{CTX-M-15}$	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	27	25	24	17
EC22D92	*Escherichia coli*	*bla*$_{CTX-M-15}$ *bla*$_{TEM-1B}$	0	0	0	0	0	11	0	19	10	0	28	29	28	17
EC22D94	*Escherichia coli*	*bla*$_{CTX-M-32}$	0	0	0	0	0	13	0	20	13	0	26	29	30	21
EC22D116	*Escherichia coli*	*bla*$_{CTX-M-55}$ *bla*$_{TEM-1B}$	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	28	25	21	25
CL22D99	*Enterobacter cloacae*	*bla*$_{ACT-16}$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	23	29	10

赤字：耐性、緑字：中間、黒字：感受性、青字：腸内細菌目で判定の定義なし

図1　黄色ブドウ球菌の分離方法

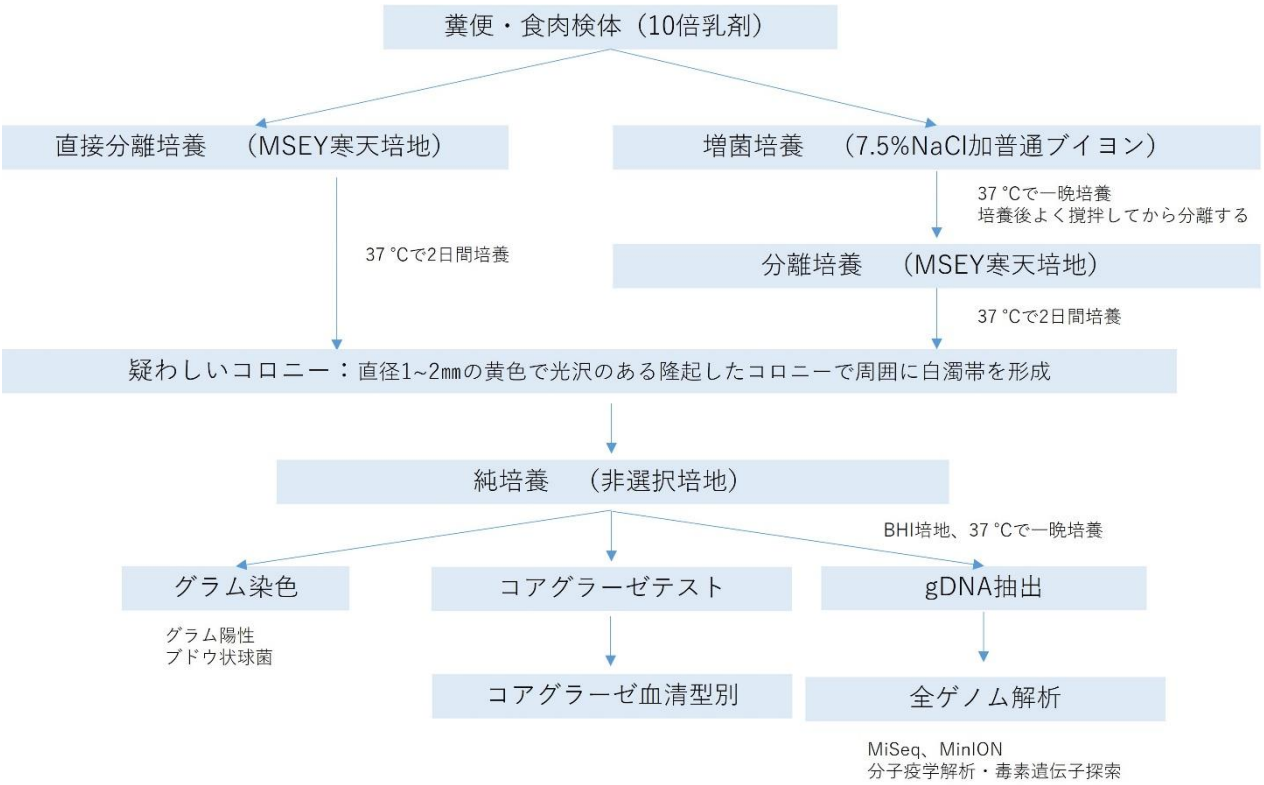


図2　薬剤耐性菌の分離方法

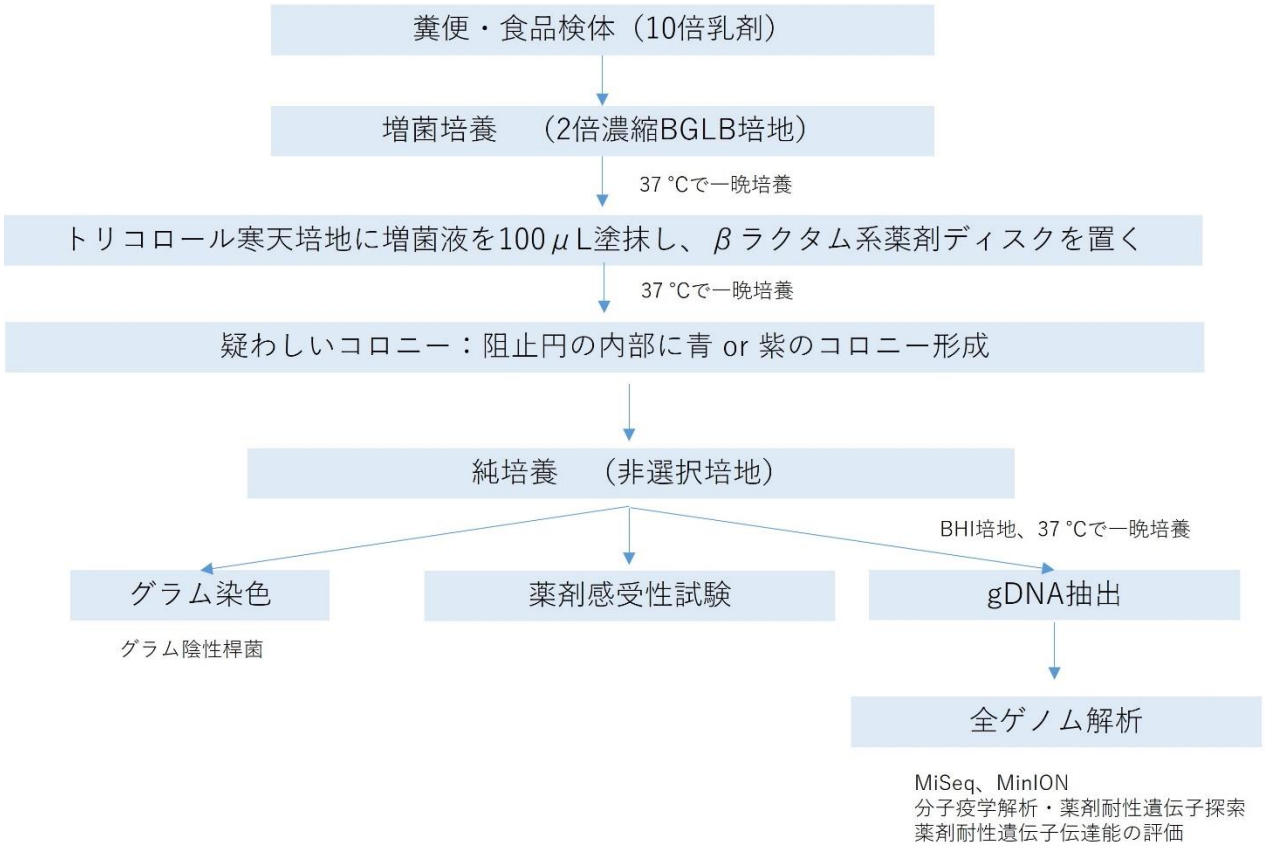


図3　黄色ブドウ球菌のST型に基づく最小スパニングツリー法による系統解析

（A）全 ST を対象にした系統樹　青色；シカ糞便由来株の ST、赤色；イノシシ糞便由来株の ST、緑色；食品検体（シカ肉）由来株の ST をそれぞれ示す。色がついた円の大きさは本研究で分離された株数と対応し、灰色の円は今回分離されなかった ST のため 1 株の円の大きさとしている。

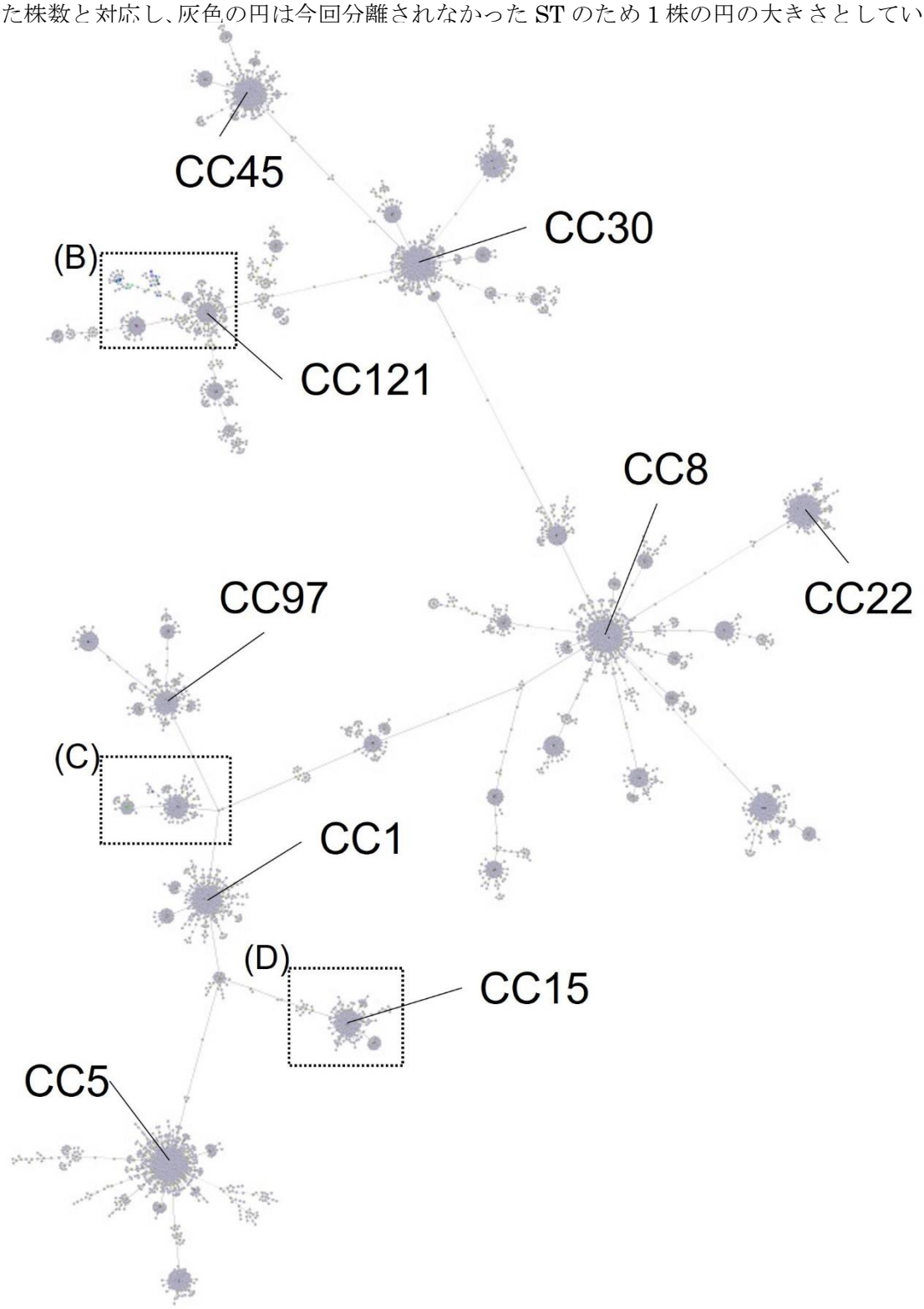
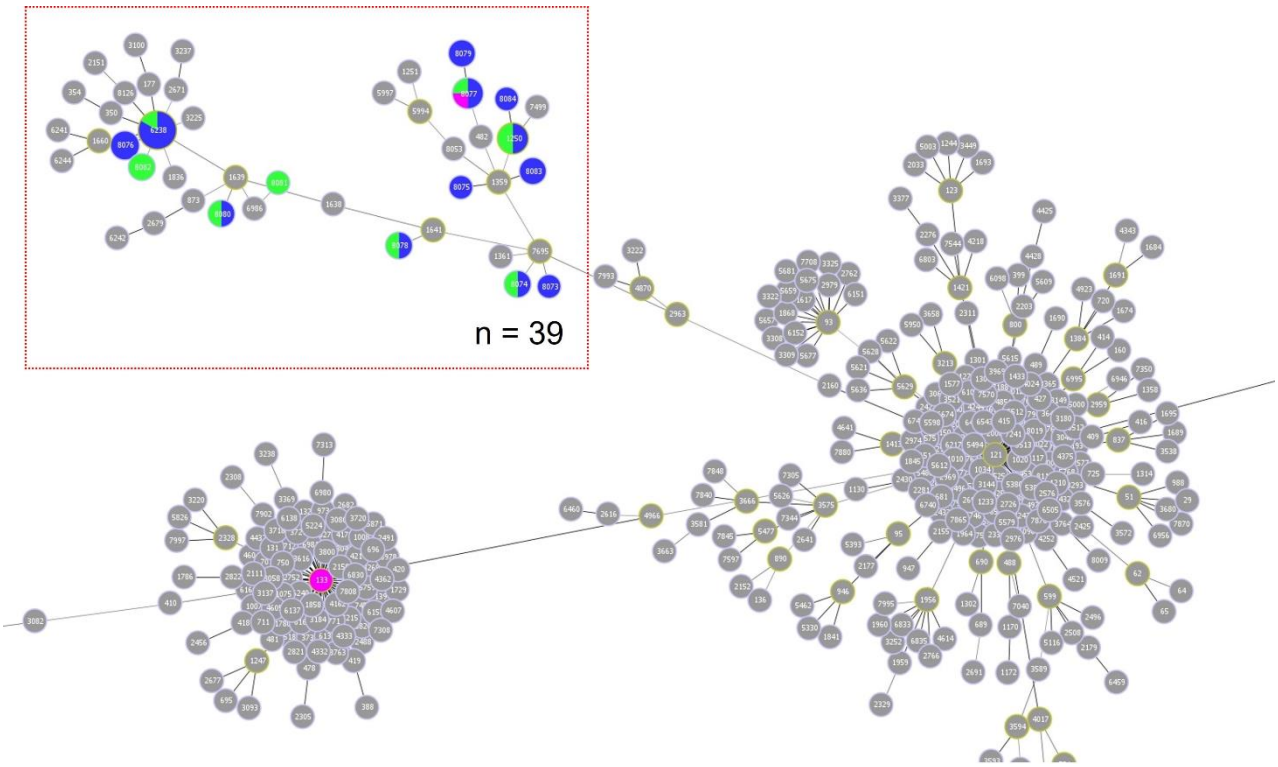


図3　黄色ブドウ球菌のST型に基づく最小スパニングツリー法による系統解析

（B）図 3A 中の（B）の拡大図



（C）図 3A 中の（C）の拡大図

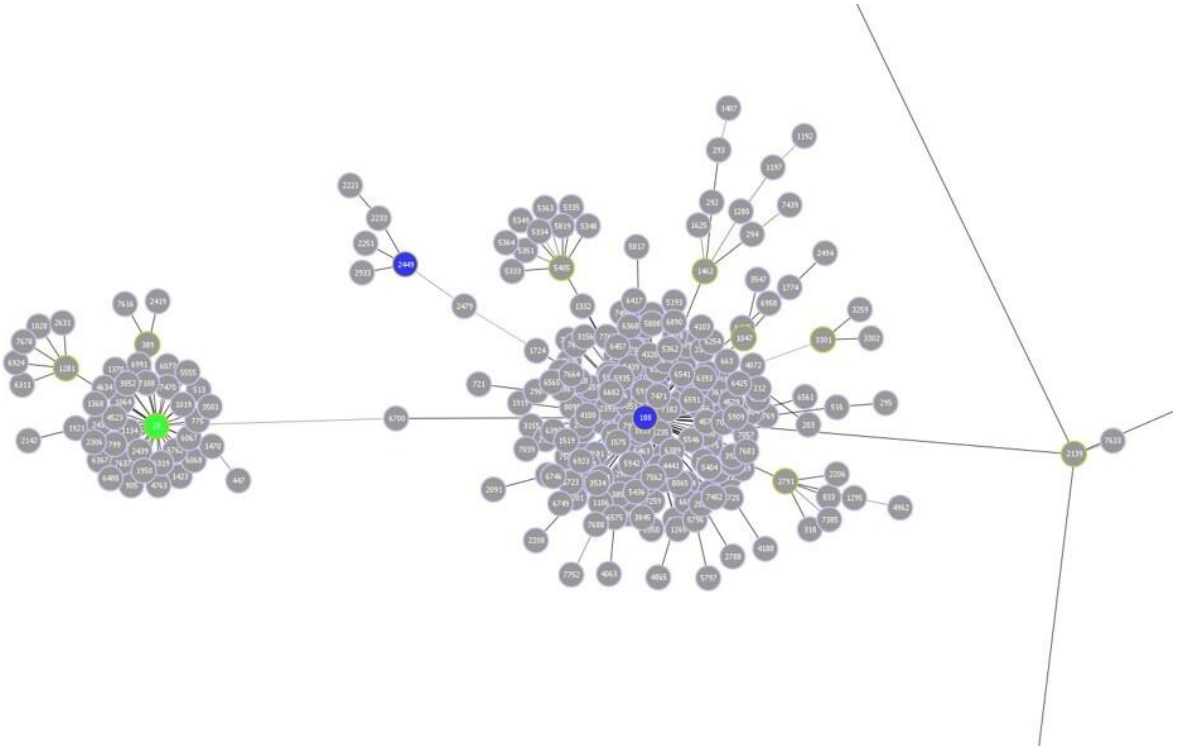
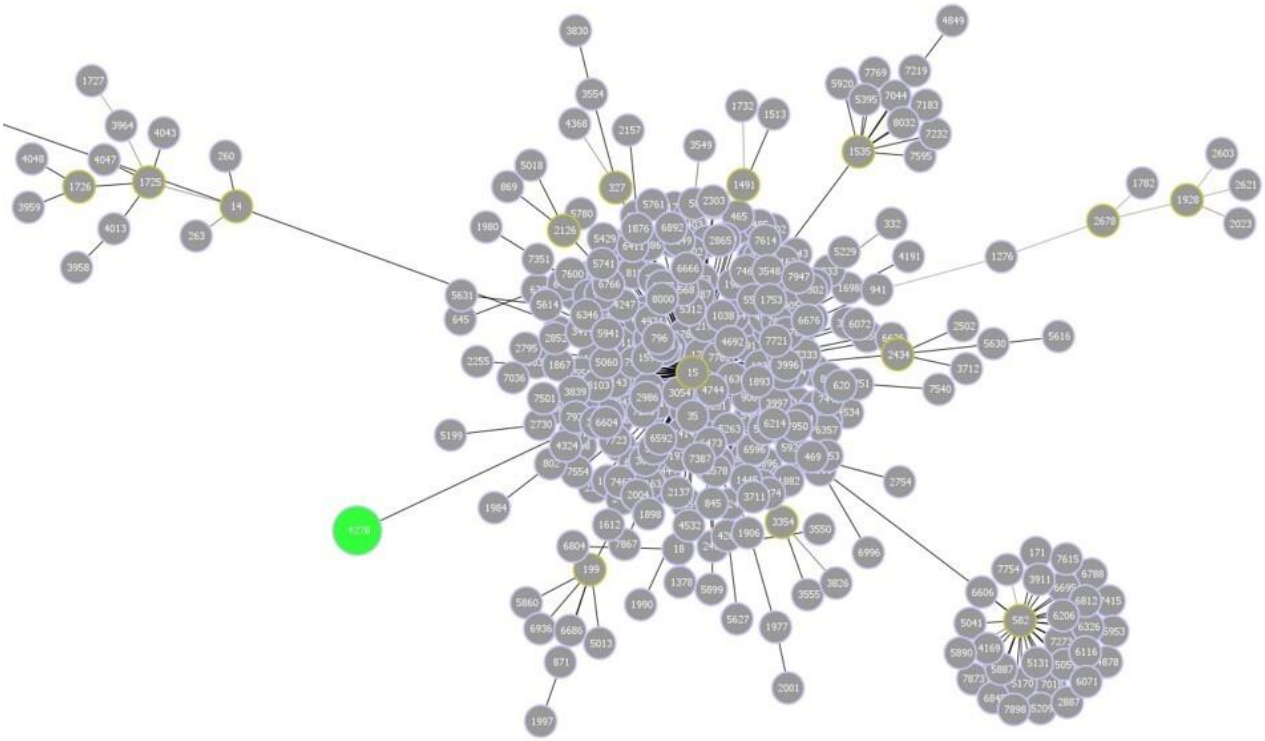


図3　黄色ブドウ球菌のST型に基づく最小スパニングツリー法による系統解析

（D）図 3A 中の（D）の拡大図



令和 4 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

野生動物のコクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の保有状況に関する研究

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

研究要旨　コクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌は、全身感染を起こす人獣共通感染症の起因病原体である。マダニがベクターとなる感染症も含まれる。野生動物をジビエに利用する際に、処理・加工に携わる人が動物に吸着しているマダニや内臓および血液に接触することは避けられない。人への感染対策を考えるために、野生動物におけるこれら細菌の保有状況を調査した。今回の研究では、内臓（脾臓）50 サンプル、血液 16 サンプル、マダニ 125 サンプルを用いて、遺伝子検出と配列解析を行った。アナプラズマ科細菌がヤクシカから高率に検出されたが、マダニからは検出されなかった。マダニからはマダニ共生菌と考えられるリケッチア科およびコクシエラ科細菌が検出された。アナグマからは、マダニ共生菌が血液からのみ検出され、脾臓からは検出されず、病原性のないリケッチアが一時的に血液中に存在する可能性が示された。ニホンザルからは特定できる細菌は検出されなかった。コクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌には多くの菌種が存在し、病原性が不明なものも多いため、保有状況調査の継続が必要である。野生動物の取り扱いでは、通常の生活では存在しない病原体に暴露される可能性があり、基本的な感染防御対策が重要である。

A. 研究目的

野生鳥獣を食肉利用するためには、狩猟・運搬・処理・解体等の工程があり、野生鳥獣の血液や外部寄生虫（特にマダニ）を介する人獣共通感染症の病原体に暴露される可能性がある。感染防止対策のためには病原体の存在を把握する必要がある。そこで、Q 熱を起こすコクシエラ科、日本紅斑熱やつつが虫病を起こすリケッチア科、アナプラズマ症を起こすアナプラズマ科細菌の保有状況を調査する。これらの細菌はマダニが保有する場合もあるため、捕獲した野生動物個体に寄生していたマダニ、野生動物の捕獲地域の植生から採集したマダニも調査した。

コクシエラは宿主域が広く、海外では野生動物からの検出も報告されている。国内の野生動物における保有調査は古く、新しい情報が必要である。リケッチアは、日本紅斑熱患者の報告数の増加がシカやイノシシの生息域・個体数増加に関連するという地域が報告されており、注意が必要である。アナプラズマは、国内に様々な種が存在することは確認されているが、人や動物への病原性など明らかではないことが多い。

本年度は、屋久島のヤクシカと鹿児島県のニホンザルを主な調査対象として研究を行った。

B. 研究方法

1）野生動物の脾臓および血液

鹿児島県において狩猟または有害鳥獣として捕獲された野生動物（シカ、ニホンザル、アナグマ）から採集した。シカはヤクニク屋（鹿児島県屋久島町宮浦）、アナグマはいかくら阿久根（鹿児島県阿久根市）にて食用に解体される時に、脾臓および血液を採材した。ニホンザルは研究協力者である南日本野生動物保護管理センター・浅井隆之獣医師が捕獲した際に採材した。脾臓は 50 サンプル（シカ 19、ニホンザル 30、アナグマ 1）、血液は 16 サンプル（シカ 9、アナグマ 8）採集できた。

2）マダニ

マダニは、ヤクニク屋に搬入されたシカに吸着／付着していた個体を採集した。また、屋久島においてシカの生息行動範囲内（世界遺産登録地、国立公園地域、原生自然環境保全地域を除く）で旗振り法にて植生上のマダニを採集した。マダニ種は形態学的に同定した。125 サンプル（動物由来 81、植生 41）採集できた。マダニの種およびステージを表 1 に示す。

3）DNA 抽出

脾臓は SPG 液にて乳剤を作成し、その一部から DNA を抽出した。脾臓乳剤と血液は High pure PCR template kit (Roche) を用いた。マダニは外皮を消毒後に破砕し、アルカリ法にて抽出した。

4）コクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の遺伝子検出

コクシエラは、*com1* および 16S rRNA 遺伝子をターゲットにした。リケッチアは、リケッチア科リケッチア属 *gltA* および 17kDa 外膜タンパク質遺伝子を、リケッチア科オリエンチア属は 47kDa 外膜タンパク質遺伝子をターゲットにした。アナプラズマは、*groEL* および 16S rRNA 遺伝子をターゲットにした。全て既報の PCR プライマーを用いた（表 2）。

5）塩基配列解析

得られた増幅産物は精製し、ダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定した。NCBI の web ツールにより blast 検索を行った。MEGA X を用いて Neighbor-joining 法で系統樹解析を行った。

C. 研究結果

1）野生動物およびマダニにおける細菌遺伝子保有状況

動物からアナプラズマ科細菌遺伝子が検出され、特にヤクシカ（脾臓 89.5%、血液 77.8%）とアナグマ（脾臓 100%、血液 50.0%）において高率であった（表 3）。リケッチア科細菌はアナグマ（血液 25.0%）、コクシエラ科細菌はニホンザル（血液 33.3%）であった。

マダニからは、リケッチア科リケッチア属細菌（7.2%）とコクシエラ科細菌（8.8%）が検出されたが、アナプラズマ科は検出されなかった。

オリエンチア属細菌はいずれのサンプルからも検出されなかった。

2）野生動物が保有する細菌遺伝子の塩基配列決定および解析

増幅された PCR 産物はダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定した。得られた配列を blast 検索し、最も相同性の高い配列を表に示した（表 4〜7）。ニホンザルから検出したコクシエラ科細菌 *com1* 遺伝子のように、PCR 産物の中には増幅量が少ないために塩基配列が決定できないものもあった。

3）コクシエラ科細菌遺伝子

コクシエラ科細菌については、16S rRNA 遺伝子のみ塩基配列が決定された。Q 熱の診断に用いられる外膜タンパク質 *com1* 遺伝子は、いくつかのサンプルで増幅されたが、増幅量が少なく配列は決定できなかった。Blast 検索では、動物および植生から採集したマダニからの配列全てがマダニ共生菌として登録されている配列と相同性が高く、100%一致する配列もあった（表 4）。系統樹においても、人や動物に病原性を示す *Coxiella burnetii* とは異なることが明らかになった（図 1）。

4）リケッチア科細菌遺伝子

動物（アナグマ、血液）から検出されたリケッチア科細菌の配列は、マダニ共生菌と考えられる配列と 100%一致した（表 5）。マダニから検出された配列も、マダニ共生菌と 99%以上の相同性であった（表 6）。

系統樹からは、紅斑熱群に属すると考えられた。しかし、紅斑熱群リケッチアにも病原性がないことが明らかな種が含まれているため、病原性リケッチアであるかは不明である（図 2）。

5）アナプラズマ科細菌遺伝子

今回の調査では、アナプラズマ科細菌が動物サンプルから最も多く検出された。相同性検索と系統樹から、国内外で動物が保有する種と近縁であることが明らかになった（表 7）。人に顆粒球アナプラズマ症を起こす *Anaplasma phagocytophylum* とは異なった。ヤクシカが高率に保有するアナプラズマは *Anaplasma capra* であると考えられる（図 3）。

6) アナプラズマ保有ヤクシカ個体の臓器における病理組織学的検索

ヤクシカ個体については以前の研究班において主要臓器の病理組織標本が作成されていた。そこで、研究協力者の岡林佐知博士に依頼し、アナプラズマ保有個体に共通する病変など再度確認した。アナプラズマ菌体やその感染を疑う所見は認められなかった。

D. 考察

本研究の対象細菌は、培養が困難であるために分離試験がほとんど行われていない細菌である。リケッチア症の診断には抗体検査が行われるが、コクシエラは感染の有無にかかわらず抗体保有者がいること、アナプラズマは菌種や株により抗原性に大きな差があることから普及していない。PCR 検査が一般に普及したため、現在では急性期の材料からの遺伝子検出が診断にも用いられている。野生動物やマダニにおけるこれら細菌遺伝子の検出状況だけに注目すると、これらの動物を扱う人々は大きな危険を伴って作業しているように考えられる。しかし、実際には病原性細菌の他に、病原性の低いあるいは無い近縁種が多く存在し、これらが同時に検出されることを理解する必要があることが示された。

ヤクシカが高率にアナプラズマを保有していることが明らかになった。これは他の地域のシカと比較しても高い結果である。過去に本研究室で同じ方法で調査した九州・四国地域のシカでは陽性率は 27.9%（12/43 頭）であり、他の報告と大きな差はなかった。また、ヤクシカが保有するアナプラズマは同一の遺伝子配列が多く、１菌種または１株がヤクシカ（屋久島）において伝播していることが推測される。病理組織学的には共通する所見はなかったため、ヤクシカに対する病原性は低く、不顕性に感染が維持されているのかもしれない。しかし、この *Anaplasma capra* の病原性については明確に示されていないため、今後、人と動物の両方への影響を明らかにする必要がある。海外では家畜や野生動物だけでなく人からも検出されているが、病因となっているか不明瞭である。屋久島は世界遺産登録されており、ヤクシカは保護区域と人居住地を行き来していることから、環境保全と人への健康危害対策の両方から重要な課題である。

ニホンザルからは、対象細菌はほとんど検出されなかった。ニホンザルを採材した地域は、日本紅斑熱とつつが虫病の患者報告が多い地域であることから、興味深い結果である。

血液からマダニ共生菌と 100%一致する配列が検出されたアナグマは、脾臓からは細菌遺伝子は検出されなかった。これらのアナグマ個体に吸着していたマダニを得られなかったため確認できなかったが、吸血中のマダニから注入されたマダニ共生菌が一時的に血液中に存在したと考えた。人においても診断目的の PCR で非病原性リケッチアが検出され、検査精度が問題視されたり、新興感染症と捉えられたりすることがある。人でマダニ刺咬と身体状態が悪いことが重なった場合に日和見感染のようにマダニ共生菌が一時的に体内に存在する状態になる可能性を示唆する結果である。

コクシエラ科細菌は病原性のある *C. burnetii* は検出されなかったが、技術的な問題ではないと考えている。今回用いた PCR は、*C. burnetii* の *com1* と 16S rRNA 遺伝子の両方が増幅できることを複数の株を用いて確認している。*com1* は検出されず 16S rRNA 遺伝子のみ検出されるという海外の野外調査もあることから、おそらく本研究と同様にマダニ共生 *Coxiella* spp. の存在が Q 熱の分布疫学を難しくしていると考えている。

E. 結論

ジビエとして利用される動物も含めて野生動物はリケッチア科、アナプラズマ科細菌を保有している。保有菌種の病原性については明らかではないが、内臓だけでなく血液にも存在することから、基本的な感染防御は必須である。

動物種、地域により保有率に差があることが明らかになったため、保有状況の調査は継続するべきである。特に動物の移動が制限されていたり、出入が著しい地域は注意が必要である。

Anaplasma capra は特に注視するべきである。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Asai T, Usui M, Sugiyama M, Andoh M. A survey of antimicrobial-resistant

Escherichia coli prevalence in wild mammals in Japan using antimivrobial-containing media. J Vet Med Sci. 84(12): 1645-1652, 2022

2. 学会発表
1) 後藤真優, 浅井隆之, 安藤匡子. 鹿児島県の野生動物におけるアナプラズマ症, リケッチア症, Q 熱起因菌細菌の遺伝子保有状況. 第 165 回日本獣医学会学術集会. Web 開催. 2022 年 9 月 6 日
2) 浅井隆之, Kwon MyoungHyun, 明石尚美, 後藤真優, 安藤匡子. 鹿児島県の野生ニホンザルにおける薬剤耐性大腸菌の保有状況. 第 165 回日本獣医学会学術集会. Web 開催. 2022 年 9 月 7 日.
3) 浅井鉄夫, 臼井優, 杉山美千代, 安藤匡子. 抗菌剤含有培地を用いた野生哺乳動物における薬剤耐性大腸菌の分布. 第 24 回腸管出血性大腸菌感染症研究会.神奈川県川崎市. 2022 年 10 月 14 日
4) 後藤真優, 安藤匡子. 屋久島のマダニとそのコクシエラ, リケッチア, アナプラズマ保有状況. 第 74 回日本寄生虫学会南日本支部大会 第 71 回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会. 福岡県北九州市. 2022 年 10 月 30 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．採集したマダニの種とステージ

種	Male	Female	Nymph	Larva	Total
I. ovatus	0	3	0	0	3
I. turdus	0	0	0	1	1
*H. cornigera**	0	1	0	0	1
H. flava	1	7	13	4	25
H. formosensis	4	0	2	0	6
H. hystricis	0	1	0	0	1
H. kitaokai	1	1	0	5	7
H. megaspinosa	1	1	1	5	8
H. yeni	15	12	12	33	72
Total	22	26	28	48	124*

＊ *H. cornigera* 雌が産卵した卵も 1 サンプルとして使用したため、サンプル総数は 125 である。

表 2. 調査した細菌の標的遺伝子および PCR プライマー

	標的遺伝子	プライマー	増幅産物サイズ	引用文献
コクシエラ科	*com1*	com1 com2	501 bp	J Clinical Microbiol, 36(1), 77-80, 1998
		com3 com4	325 bp	
	16S rRNA	F1 R2	1231-1416 bp	Frontier cell Infect Microbiol, 7:25, 2017
		F2 R2	624-625 bp	
リケッチア科 リケッチア属	*gltA*	Cs2d CsEndR	1200 bp	EID, 10(5), 810-817, 2004
		RpCS.877p RpCS.1258n	381 bp	Microbiol Immunol, 47(11), 823-832, 2003
	17kDa	R1 R2	533-539 bp	感染症学雑誌, 70(6), 561-568, 1996
		Rr17.61p Rr17.492n	434 bp	J Clinical Microbiol, 30(7), 1758-1762, 1992
リケッチア科 オリエンチア属	47kDa	OtsuFP555 OtsuRP771	238 bp	J Clinical Microbiol, 607-614, 2011
		OtsuFP630 OtsuRP747	118 bp	
	56kDa	34 55	1000-1020 bp	J Clinical Microbiol, 31(6), 1637-1640, 1993
		10 11	480-500 bp	
アナプラズマ科	*groEL*	gro607F gro1294R	687 bp	Microbiol Immunolo, 51(4), 359-367, 2007
		gro677F gro1121R	444 bp	
	16S rRNA	Ehr521 Ehr747	247 bp	J Infect Dis, 172(4), 1007-1012, 1995

表 3. 野生動物およびマダニにおける細菌遺伝子保有状況

動物		サンプル数	遺伝子保有数（保有率）			
			コクシエラ科	リケッチア属	オリエンチア属	アナプラズマ科
ヤクシカ	脾臓	19	0（0.0%）	0（0.0%）	0（0.0%）	**17（89.5%）**
	血液	9	0（0.0%）	0（0.0%）	0（0.0%）	**7（77.8%）**
ニホンザル	脾臓	30	**1（33.3%）**	0（0.0%）	0（0.0%）	0（0.0%）
アナグマ	脾臓	1	0（0.0%）	0（0.0%）	0（0.0%）	**1（100.0%）**
	血液	8	0（0.0%）	**2（25.0%）**	0（0.0%）	**4（50.0%）**
マダニ	全組織	125	**11（8.8%）**	**9（7.2%）**	ND	0（0.0%）

表 4. 増幅されたコクシエラ科細菌遺伝子の相同性検索結果

サンプル番号	マダニ種	由来	PCR	塩基数(bp)	BLAST検索結果 最も相同性の高い配列(相同率)	Accession number	国	分離材料	採集年
MT1320	H. yeni	ヤクシカ789	Coxiella 16S rRNA	410	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年
MT1340	H. megaspinosa	ヤクシカ791	Coxiella 16S rRNA	369	Uncultured bacterium clone HLC26 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(100.0%)	JN866567.1	China	Haemaphysalis longicornis	2011年
MT1341	H. flava	ヤクシカ792	Coxiella 16S rRNA	391	Coxiella sp. (in: Bacteria) isolate XinXian-HL9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(100.0%) Uncultured Coxiella sp. clone XCP-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(100.0%)	MG906671.1 KC776319.1	China –	Haemaphysalis longicornis Haemaphysalis longicornis	2013年 2014年
MT1347	H. yeni	ヤクシカ793	Coxiella 16S rRNA	406	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年
MT1348			Coxiella 16S rRNA	415	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年
MT1349	H. flava	ヤクシカ795	Coxiella 16S rRNA	395	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年
MT1501-L3	H. kitaokai	ヤクシカ833	Coxiella 16S rRNA	405	Ornithodoros moubata symbiont A gene for 16S rRNA, partial sequence(98.0%)	AB001521.1	–	Ornithodoros moubata	2008年
MT1509	H. yeni	ヤクシカ836	Coxiella 16S rRNA	398	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年
MT1510-egg	H. cornigera	ヤクシカ865	Coxiella 16S rRNA	402	Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis shimoga isolate TSD35 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(99.8%) Bacterium symbiont of Haemaphysalis shimoga clone HSKY-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(99.8%)	KC170760.1 HQ287535.1	Thailand	Haemaphysalis shimoga Haemaphysalis shimoga	2015年 2011年
MT1512	H. yeni	ヤクシカ866	Coxiella 16S rRNA	348	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.0%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.0%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年
MT1466	H. yeni	屋久島・植生	Coxiella 16S rRNA	391	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年

表 5. 動物サンプルから増幅されたリケッチア科細菌遺伝子の相同性検索結果

サンプル番号	材料	PCR	塩基数 (bp)	BLAST 検索結果				
				最も相同性の高い配列（相同率）	Accession number	国	分離材料	採集年
アナグマ 667	血液	Rickettsia 17kDa	296	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%) Uncultured Rickettsia sp. Hj_01 htrA gene for 17-kDa outer membrane antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1 LC656410.1	Japan:Wakayama Japan:Gifu	*Haemaphysalis megaspinosa* *Haemaphysalis japonica*	2015 2021
アナグマ 670	血液	Rickettsia 17kDa	323	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-159 17kDa antigen gene, partial cds (100.0%) Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-156 17kDa antigen gene, partial cds (100.0%)	MN431839.1 MN431838.1	Australia: WA Australia: WA	*Amblyomma albolimbatum* *Amblyomma albolimbatum*	2020 2020

表６．マダニから増幅されたリケッチア科細菌遺伝子の相同性検索結果

サンプル番号	マダニ種	由来	PCR	塩基数(bp)	BLAST検索結果		
					最も相同性の高い配列(相同率)	Accession number	国
MT1220	H. formosensis	アナグマ704	Rickettsia gltA	364	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-149 citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%) Rickettsia sp. MT55-R gltA gene for citrate synthase, partial cds(99.7%)	MN431834.1 LC456206.1	Australia: WA Japan:kagoshima, Kamou
			Rickettsia 17kDa	400	Uncultured Rickettsia sp. Hhy_2024 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%) Rickettsia sp. 315 17kDa gene, partial cds (100.0%)	LC379445.1 KT753267.1	Japan:Wakayama Laos
MT1231	H. flava	アナグマ705	Rickettsia gltA	361	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-159 citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%) Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-156 citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%)	MN431836.1 MN431835.1	Australia: WA Australia: WA
			Rickettsia 17kDa	412	Uncultured Rickettsia sp. Hhy_2024 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379445.1	Japan:Wakayama
MT1234	H. formosensis		Rickettsia gltA	359	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-149 citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%) Rickettsia raoultii isolate N21 citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%)	MN431834.1 MN550895.1	Australia: WA China: Yunnan
			Rickettsia 17kDa	411	Uncultured Rickettsia sp. Hhy_2024 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%) Rickettsia sp. 315 17kDa gene, partial cds (100.0%)	LC379445.1 KT753267.1	Japan:Wakayama Laos
MT1235			Rickettsia gltA	348	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-159 citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%) Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-156 citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%)	MN431836.1 MN431835.1	Australia: WA Australia: WA
			Rickettsia 17kDa	409	Uncultured Rickettsia sp. Hhy_2024 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%) Rickettsia sp. 315 17kDa gene, partial cds (100.0%)	LC379445.1 KT753267.1	Japan:Wakayama Laos
MT1340	H. megaspinosa	ヤクシカ791	Rickettsia 17kDa	407	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1	Japan:Wakayama
MT1428	H. megaspinosa	屋久島・植生	Rickettsia gltA	442	Rickettsia sp. Mie201 isolate Tick-201-Mie-Hfla citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.8%) Candidatus Rickettsia principis from Haemaphysalis japonica douglasi 054 citrate-synthase (gltA) gene, partial cds(99.8%)	JQ697957.1 AY578114.1	Japan –
			Rickettsia 17kDa	482	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1	Japan:Wakayama
MT1429	H. megaspinosa	屋久島・植生	Rickettsia gltA	357	Rickettsia sp. Mie201 isolate Tick-201-Mie-Hfla citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%) Candidatus Rickettsia principis from Haemaphysalis japonica douglasi 054 citrate-synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%)	JQ697957.1 AY578114.1	Japan –
			Rickettsia 17kDa	425	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1	Japan:Wakayama
MT1430	H. megaspinosa	屋久島・植生	Rickettsia gltA	360	Rickettsia sp. Mie201 isolate Tick-201-Mie-Hfla citrate synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%) Candidatus Rickettsia principis from Haemaphysalis japonica douglasi 054 citrate-synthase (gltA) gene, partial cds(99.7%)	JQ697957.1 AY578114.1	Japan –
			Rickettsia 17kDa	419	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1	Japan:Wakayama

表 7. 動物サンプルから増幅されたアナプラズマ科細菌遺伝子の相同性検索結果

サンプル番号	材料	PCR	塩基数(bp)	BLAST検索結果				
				最も相同性の高い配列 (相同率)	Accession number	国	分離材料	採集年
アナグマ796	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma phagocytophilum strain HB-M6 16Sribosomal RNAgene, partialsequence (100.0%)	KF569916.1	China	goat	2013年
		groEL	339	Anaplasmaphagocytophilumisolate 21F-2 GroES(groES) and GroEL(groEL) genes,partial cds (96.1%)	MT018452.1	China	Marmota himalayana	2019年
ヤクシカ721	血液	16S rRNA nested PCR	793	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
ヤクシカ822	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma capra KWD-35 gene for16S ribosomal RNA,partial sequence (99.6%) Anaplasma capra KWD-34 gene for16S ribosomal RNA,partial sequence (99.6%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
		groEL	344	Ehrlichia sp. TC251-2 GroEL (groEL)gene, partial cds (97.7%) Ehrlichia sp. TC249-2 GroEL (groEL)gene, partial cds (97.7%) Ehrlichia sp. TC248-16 GroEL (groEL)gene, partial cds (97.7%)	KJ410296.1 KJ410295.1 KJ410294.1	China: Xjinjiang China: Xjinjiang China: Xjinjiang	tick tick tick	2014年 2014年 2014年
ヤクシカ823	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma phagocytophilum isolate C210 16Sribosomal RNAgene, partialsequence (100.0%) Anaplasma phagocytophilum isolate C55 16Sribosomal RNAgene, partialsequence (100.0%)	MF787270.1 MF787269.1	South Korea South Korea	Bos taurus Bos taurus	2017年 2017年
		groEL	353	Ehrlichia sp. NS101GroEL gene for heatshock protein, partialcds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ824	脾臓	groEL	337	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ825	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ828	脾臓	groEL	343	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ829	脾臓	groEL	353	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ830	脾臓	groEL	330	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ832	脾臓	groEL	276	Ehrlichia sp. TC251-2 GroEL (groEL) gene, partial cds (97.5%) Ehrlichia sp. TC249-2 GroEL (groEL) gene, partial cds (97.5%) Ehrlichia sp. TC248-16 GroEL (groEL) gene, partial cds (97.5%)	KJ410296.1 KJ410295.1 KJ410294.1	China: Xjinjiang China: Xjinjiang China: Xjinjiang	tick tick tick	2014年 2014年 2014年
ヤクシカ833	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma capra KWD-35 gene for16S ribosomal RNA,partial sequence (99.6%) Anaplasma capra KWD-34 gene for16S ribosomal RNA,partial sequence (99.6%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
		groEL	325	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
	血液	16S rRNA nested PCR	789	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
		groEL	310	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ834	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
	血液	groEL	330	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
		16S rRNA nested PCR	771	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
		16S rRNA conventional PCR	227	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1	South Korea	Hydropotes inermis argyropus	2019年
ヤクシカ835	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ836	脾臓	groEL	343	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
	血液	groEL	330	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ865	脾臓	groEL	345	Ehrlichia sp. HI9 groEL gene for heat shock protein, partial cds (98.0%) Uncultured Ehrlichia sp. clone Daishan GroEL (groEL) gene, partial cds (98.0%)	LC385854.1 KT886408.1	Japan: Chiba China	unknown Haemaphysalis longicornis	2013年 2015年
ヤクシカ866	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. MieHfN113 GroEL gene, partial cds (99.7%)	MT268167.1	Japan	Haemaphysalis flava	2021年
	血液	groEL	270	Uncultured Anaplasma sp. clone 499 heat shock operon gene, partial cds (97.0%)	JN588562.1	Japan: Hokkaido	Procyon lotor	2016年
ヤクシカ967	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ1094	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma phagocytophilum isolate C210 16Sribosomal RNAgene, partialsequence (100.0%) Anaplasma phagocytophilum isolate C55 16Sribosomal RNAgene, partialsequence (100.0%)	MF787270.1 MF787269.1	South Korea South Korea	Bos taurus Bos taurus	2017年 2017年
	脾臓	groEL	335	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
	血液	16S rRNA nested PCR	737	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
	血液	groEL	327	Uncultured Anaplasma sp. clone Zhengxiaocun-goat-47 heat shock protein GroEL (GroEL) gene, partial cds (100.0%)	MG869412.1	China: Shaanxi	goat	2017年
ヤクシカ1123	脾臓	16S rRNA conventional PCR	236	Anaplasma phagocytophilum isolate C210 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (99.6%) Anaplasma phagocytophilum isolate C55 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (99.6%)	MF787270.1 MF787269.1	South Korea South Korea	Bos taurus Bos taurus	2017年 2017年
	脾臓	groEL	253	Uncultured Anaplasma sp. clone 499 heat shock operon gene, partial cds (96.8%)	JN588562.1	Japan: Hokkaido	Procyon lotor	2016年

図１．本研究で検出したコクシエラ科16S rRNA遺伝子の系統樹

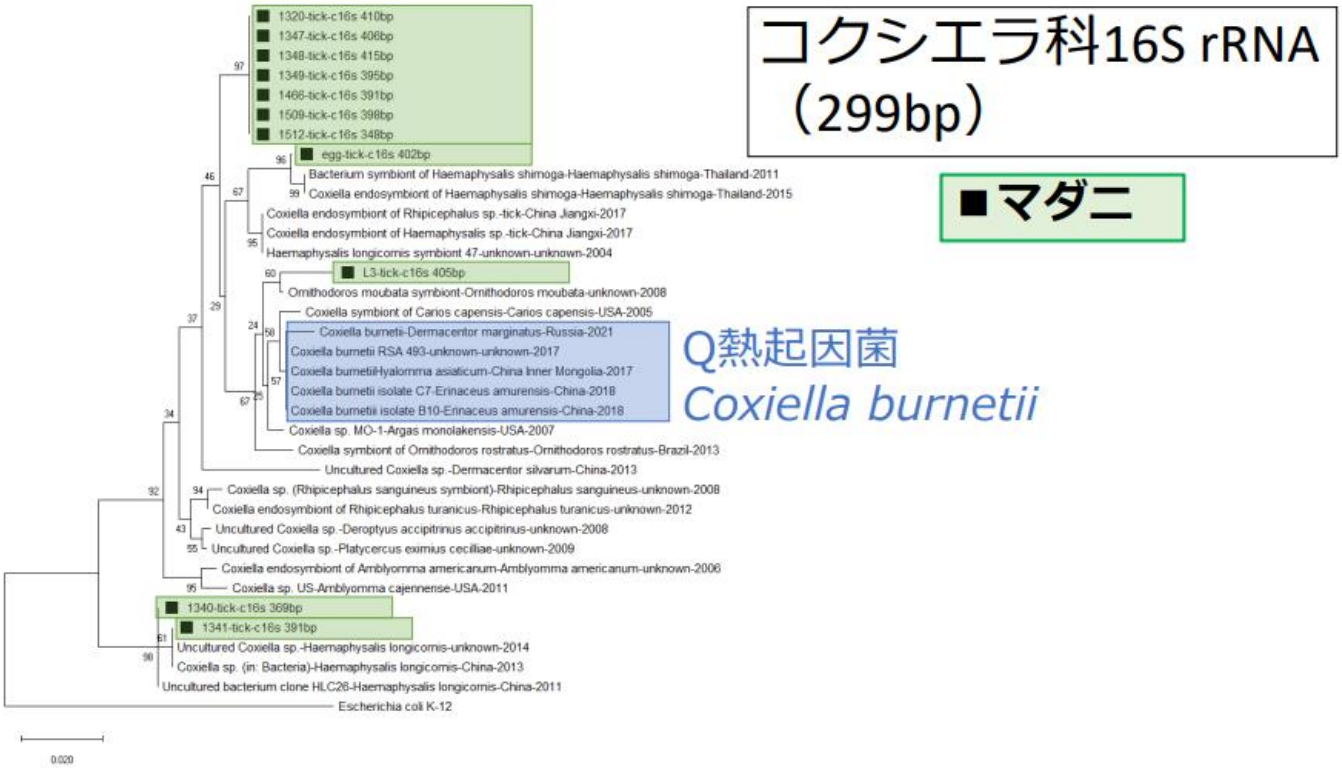


図２．本研究で検出したリケッチア科17kDa遺伝子の系統樹

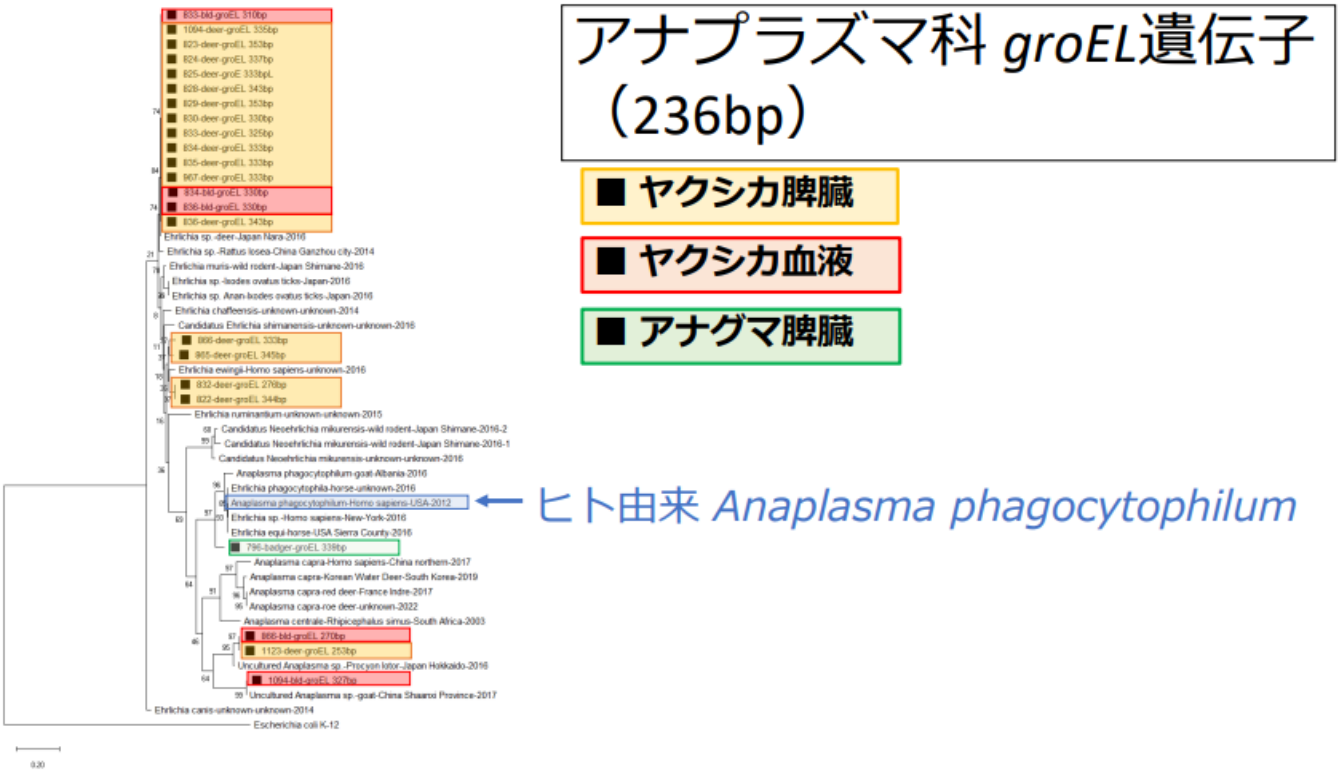
リケッチア科リケッチア属
17kDa外膜蛋白質遺伝子
（225bp）

■アナグマ血液

■マダニ

日本紅斑熱起因菌 *Rickettsia japonica*

図3．本研究で検出したアナプラズマ科*groEL*遺伝子の系統樹



別添５

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
杉山　広	肉類の寄生虫	川本伸一	生食のはなし	朝倉書店	東京	2023	75
杉山　広	アニサキス食中毒完全回避マニュアル	松崎　匠	2023年の論点100	文藝春秋	東京	2022	178-179
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、山﨑浩司	生食のはなし	朝倉書店	東京	2023	74-75
前田　健	重症熱性血小板減少症候群（SFTS）	菅又昌美		南山堂	東京	2022	237-246
前田　健	過去最悪！マダニに注意		今日の健康	NHK出版	東京	2022	64-67

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
Ohnishi T, Banzai A, Hara-Kudo Y, **Sugiyama H**	Prevalence and abundance of *Anisakis* larvae in ready-to-eat mackerel products in Japan.	Int J Food Micro.	395	110181	2023
Makino T, **Sugiyama H**, Oshima M, Mizawa M, Shimizu T	Cutaneous gnathostomiasis caused by *Gnathostoma spinigerum.*	Br J Dermatol.	186(5)	e198-e199. PMID: 35428971	2022
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	82	101766, PMID: 35176619	2022
Fredes F, Mercado R, Salas IP, **Sugiyama H**, Kobayashi H, Yamasaki H	Morphological observation and molecular phylogeny of *Spirometra decipiens* complex 1 (Cestoda: Diphyllobothriidae) found in cat from Chile.	Parasitol Int.	87	102493, PMID: 34737073	2022

Calvopiña M, Bastidas-Caldes C, Romero F, Villacrés-Granda I, Pointier JP, Takagi H, Sugiyama H	Molecular Identification of the human pathogen *Amphimerus* sp. in the freshwater snail *Aroapyrgus* sp. in Ecuador.	Am J Trop Med Hyg.	106(1)	222-228	2022
Sugiyama H, Shiroyama M, Yamamoto I , Ishikawa T, Morishima Y	*Anisakiasis* annual incidence and causative species, Japan, 2018-2019.	Emer Infect Dis	28(10)	2105-2108	2022
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)	77-82	2022
杉山　広	野生鳥獣が保有する病原寄生虫の汚染に関する研究	食品衛生研究	72(9)	21-28	2022
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	82	101766 doi: 10.1016/j.cimid.2022.101766.	2022
Nabeshima K, Sato S, Brinkerhoff RJ, Amano M, Kabeya H, Itou T, Maruyama S.	Prevalence and Genetic Diversity of *Bartonella* Spp. in Northern Bats (*Eptesicus nilssonii*) and Their Blood-Sucking Ectoparasites in Hokkaido, Japan	Microb Ecol.	85 (1)	298－306	2023
Takai S	Guidelines on the hygienic management of wild meat in Japan.	Meat Sci.	191	108864	2022
Matsuu A, Doi K, Ishijima K, Tatemoto K, Koshida Y, Yoshida A, Kiname K, Iwashita A, Hayama S-i, Maeda K	Increased Risk of Infection with Severe Fever with Thrombocytopenia Virus among Animal Populations on Tsushima Island, Japan, Including an Endangered Species, Tsushima Leopard Cats.	Viruses	14(12)	2631	2022
Takeishi M, Kuwata R, Ono T, Sasaki A, Ogata M, Iwata E, Taji S, Koike M, Nemoto M, Bannai H, Isawa H, Maeda K, Morikawa S, Kitagawa H, Yoshikawa Y.	Seroconversion of anti-Getah virus antibody among Japanese native Noma horses around 2012.	J Vet Med Sci.	84(12)	1605-1609	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.	84(7)	992-1000	2022
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.	84(7)	982-991.	2022
Rattanatumhi K, Prasertsincharoen N, Naimon N, Kuwata R, Shimoda H, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Kuroda Y, Tatemoto K, Virhuez Mendoza M, Hondo E, Rerkamnuaychoke W, Maeda K, Phichitraslip T.	A serological survey and characterization of Getah virus in domestic pigs in Thailand, 2017-2018.	Transbound Emerg Dis.	69(2)	913-918	2022
前田　健	野生獣におけるＥ型肝炎、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)等の浸潤状況	令和 4年度野生獣衛生推進体制促進事業に係る普及啓発資料		66-71	2023
前田　健	新型コロナウイルスはヒト以外の動物にも感染するのでしょうか。	インフルエンザ[その他の呼吸器感染症]	23(3)	38	2022
前田　健	野生鳥獣における病原ウイルスの保有状況に関する研究	食品衛生研究	72 (9)	11-20	2022
倉井華子、田向健一、前田健	動物と人のSFTS	J-IDEO	6(4)	571-575	2022
前田　健	「SARS-CoV-2の起源について考える	クリーンテクノロジー	32(10)	21-25	2022
前田　健	One Health： 動物の感染症から考える	日獣会誌	75	242～245	2022

作成上の留意事項

１．「Ａ．研究目的」について

・厚生労働行政の課題との関連性を含めて記入すること。

２．「Ｂ．研究方法」について

(1) 実施経過が分かるように具体的に記入すること。

(2) 「（倫理面への配慮）」には、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と同意（インフォームド・コンセント）に関わる状況、実験に動物対する動物愛護上の配慮など、当該研究を行った際に実施した倫理面への配慮の内容及び方法について、具体的に記入すること。倫理面の問題がないと判断した場合には、その旨を記入するとともに必ず理由を明記すること。

なお、人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（令和３年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第１号）、遺伝子治療等臨床研究に関する指針（平成３１年厚生労働省告示第４８号）、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（平成１８年６月１日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知）及び申請者が所属する研究機関で定めた倫理規定等を遵守するとともに、あらかじめ当該研究機関の長等の承認、届出、確認等が必要な研究については、研究開始前に所定の手続を行うこと。

３．「Ｃ．研究結果」について

・当該年度の研究成果が明らかになるように具体的に記入すること。

４．「Ｆ．健康危険情報」について

・研究分担者や研究協力者の把握した情報・意見等についても研究代表者がとりまとめて総括研究報告書に記入すること。

５．その他

(1) 日本産業規格Ａ列４番の用紙を用いること。

(2) 文字の大きさは、１０～１２ポイント程度とする。

令和５年４月３日

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４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	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５年４月３日

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４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・客員研究員

（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	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５年　４月　１日

厚生労働大臣　殿

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４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。

２０２３年　３月　３１日

厚生労働大臣　殿

機関名　北里大学

所属研究機関長　職　名　学長

氏　名　島袋　香子

次の職員の令和４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・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	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５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４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・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）
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。