

「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理のための研究」

研究代表者 高井 伸二（北里大学獣医学部 教授）

**研究要旨** 野生鳥獣が保有する病原体の汚染状況、処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止、食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究を目的として、令和2年度は4つの研究事業を展開し、以下の成果を得た。

「1. 野生鳥獣が保有する病原体の汚染状況に関する研究（前田 健）」では、E型肝炎ウイルスに対する抗体保有状況およびE型肝炎ウイルス感染状況の調査をイノシシおよびシカにおいて実施した。これまでに15県のイノシシ2,363頭と13道県のシカ1,822頭を調査した。その結果、イノシシにおいては360頭（15.2%）が抗体陽性であった。一方、シカにおいては1頭（0.1%）が陽性であった。遺伝子検出に関しては、イノシシ1,471頭中25頭（1.7%）、シカ1,380頭中1頭（0.1%）が陽性であった。イノシシにおける抗体陽性率に関しては、性別における違いは認められなかったが、体重が30kg以下の個体は有意に陽性率が低かった。一方、遺伝子検出率は30kg以下の個体が有意に高かった。このことは、30kg以下の個体がE型肝炎ウイルスに感染していること、すなわち、子猪がHEVを保有しているリスクが高いことが示された。また、培養細胞に馴化した増殖性の速いHEV株の作出にも成功した。マダニ媒介性感染症で致死率が極めて高い重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスのイノシシとシカにおける感染リスクを調査した結果、15府県のイノシシ2,110頭中12県の626頭（29.7%）、28道府県のシカ3,443頭中23府県の864頭（25.1%）から抗SFTSウイルス抗体が検出された。狩猟者はHEVのみならずSFTSVに関しても注意が必要である。

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

わが国で発生した旋毛虫食中毒の原因物質である *Trichinella* T9 の幼虫に対して、75℃で1分間以上の加熱（厚労省が野生鳥獣の安全な喫食に求める条件）を直接的に加えた上で、好適終宿主のマウスに経口投与したところ、一部の幼虫はマウスに感染するとの結果が得られたことから、この成績を追試験した。その結果、同様の実験系では同じく本虫のマウスへの感染性が完全には消失しないことが追認された。本虫の幼虫に対して直接的に加熱するのではなく、肉の調理法と同様の条件で虫体に熱を加えて耐性を検討し、野生鳥獣の喫食による旋毛虫食中毒の予防法を確認する必要があることが示された。

北東北3県で捕獲されたツキノワグマ22頭について旋毛虫の寄生状況を調べたところ、岩手県で2020年12月に捕獲されたツキノワグマ1頭の舌から、旋毛虫 *Trichinella* T9 の幼虫が検出された。その他の検体は旋毛虫陰性であった。また秋田県から提供を受けたイノシシの検体・5件も同様に検査したが、旋毛虫陰性であった。

肺吸虫症は現在も症例報告が続く重要な寄生虫症で、淡水産のカニやイノシシ肉が感染源となる。今回の調査検討により、鹿児島県産だけでなく大分県産のイノシシの筋肉からも、ウエステルマン肺吸虫の幼虫が検出された。鹿児島県では、陽性イノシシが生息する地区の河川から、本虫のメタセルカリア陽性のサワガニとモクズガニが採集され、イノシシへの感染源にな

っていると考えられた。

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

令和2年度は、過年度から引き続き、わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された鹿、ならびに猪枝肉の枝肉拭き取り調査を実施した。さらに、本研究事業最終年度であることから、本研究期間中に実施した全ての拭き取り検査材料の成績を集計し、枝肉の衛生状態に影響を与える処理工程における要因を検討した。わが国の野生鳥獣肉処理施設のうち、鹿5施設（新規2施設）、猪3施設でそれぞれ処理された洗浄前の鹿枝肉59検体、および猪枝肉計9検体について、それぞれ胸部、および肛門周囲部から拭き取りを実施し、一般細菌数、大腸菌群数、大腸菌数、および黄色ブドウ球菌数を計測した。

その結果、1)「剥皮」と「内臓摘出」の作業順別では、鹿および猪において、「剥皮」→「内臓摘出」の順で処理されたものは、「内臓摘出」→「剥皮」の順に処理されたものに比べ有意に高度に一般細菌が検出された。2)猪では、剥皮時に「のせ台」を用いた場合には、懸吊する場合に比べ、全ての指標細菌が多く検出された。わが国の野生鳥獣肉処理施設A、Bで処理された鹿計5頭について、各処理工程における作業員、器具、と体等から拭き取りを行い、衛生指標細菌数を計測した。その結果、①主要な細菌汚染源は、蹄、肛門周囲、胃内要物、剥皮・内臓摘出時の手指、ナイフであること、②表皮洗浄は菌数減少に効果的であること、③大腸菌は肛門周囲の他、蹄からも検出されることが明らかとなった。

わが国の野生鳥獣肉処理施設Aで処理され、熟成した鹿枝肉について、熟成前後の衛生指標細菌数の計測と、病原細菌の検出を行ったところ、熟成により一般細菌数は増加したが、有意差は認められなかった。検討した全ての病原細菌は分離されなかった。以上のことから、本研究で対象とした施設Aにおいては、衛生的な解体処理、ならびに熟成処理が行われているものと考えられた。

### 「4. 食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究（朝倉 宏）」

食肉を含む食品や食品加工・製造環境には真菌が多く存在し、異常増殖を呈した場合には、異味・異臭等を伴う腐敗を齎すことが知られる。特に熟成工程では真菌・酵母の増殖は不可避であり、そのリスク管理の在り方を検討する上では汚染実態の把握は欠かせない。利活用が推進されるジビエ食肉での真菌酵母汚染実態の多くは不明であることから、今後の効率的な真菌調査の実施に向けて、本年度は猪肉製品におけるハイスループットな真菌叢解析手法の確立に関する検討を行った。猪肉製品計25検体を対象として、従来手法である培養法、及び次世代シーケンス手法（NGS法）による真菌叢解析を実施し、両者の成績を比較した。その結果、従来の培養法に比べ、NGS法は簡便かつ難培養性の菌種であっても検出される効果的な手法であることが示されたほか、供試検体では酵母の占有率が極めて高く、*Malassezia*属菌等の医真菌学上必要な真菌種も高率に分布する特徴が明らかとなった。今後、本手法の活用により、真菌酵母汚染に関する実態把握をジビエ食肉の種別毎に把握することで、危害要因分析の充実に資するほか、リスク管理方法の妥当性評価、並びにジビエ食肉加工従事者の健康被害防止等に波及することが期待される。

昨年度より、猪肉製品を用いた添加回収試験により、E型肝炎ウイルスの不活化に関する検討を開始した。本年度は、昨年度未検討の低温加熱条件によるE型肝炎ウイルスの不活化効果を検討すると共に、「厚生労働省 食肉の加熱条件に関するQ&A」で示される低温加熱処理を通じたE型肝炎ウイルスの感染力価を求めることで、供試した低温加熱条件の妥当性を評価することとした。まず、スチームコンベクションオーブンをを用いて猪肉を低温加熱調理（70℃3分、69℃4分、67℃8分、66℃11分）に供した際のE型肝炎ウイルスの不活化をリアルタイムPCR法により評価したところ、陽性対照（非加熱群）では平均 $2.68 \times 10^6$ コピー数の同ウイルス遺伝

子が検出されたのに対し、供試した全ての低温加熱群では RNase 処理後には同ウイルス遺伝子は検出されず、これらの加熱条件は概ね  $10^4$  コピー以上の同ウイルス不活化効果を示したことが想定された。また、低温加熱処理後の E 型肝炎ウイルス懸濁液を Alexander 細胞に接種し、4 週間培養したところ、全ての加熱処理群から同ウイルス遺伝子は検出されず、また、蛍光免疫染色によってもウイルス抗原が検出されなかったことから、供試した低温加熱処理により E 型肝炎ウイルスは生残性を喪失したと考えられた。猪肉における E 型肝炎ウイルスのように、病原微生物汚染実態については定量性をはじめ、依然として不明な点が多いため、定性・定量の両面から汚染実態に係る更なる情報の蓄積が必要と考えられる。また、野生鳥獣肉の加工・調理にあたっては、一定時間から成る塩蔵やマリネ等の前処理が行われる場合もあることから、こうした加工調理工程を通じた微生物の挙動についても安全性確保の観点から更に検討を進める必要がある。

尚、研究成果の詳細は、それぞれの担当者の研究報告書（後出）に譲る。

## 研究組織

### 研究代表者

高井 伸二 北里大学獣医学部

### 研究分担者

前田 健 国立感染症研究所  
壁谷 英則 日本大学生物資源科学部  
杉山 広 国立感染症研究所  
朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所

### 研究協力者

安藤 匡子 鹿児島大学獣医学部  
岡林 佐知 新薬リサーチセンター (株)  
宇根 有美 岡山理科大学獣医学部  
立本 完吾 山口大学共同獣医学部獣医微生物学教室  
Milagros Virhuez Mendoza 山口大学共同獣医学部獣医微生物学教室  
森田 聡志 日本大学生物資源科学部  
山原 絹子 日本大学生物資源科学部  
石井 香菜 日本大学生物資源科学部  
鈴木 綾乃 日本大学生物資源科学部  
田中 裕梨 日本大学生物資源科学部  
森嶋 康之 国立感染症研究所寄生動物部  
村上 正樹 国立感染症研究所寄生動物部  
常盤 俊大 日本獣医生命科学大学獣医学部獣医寄生虫学研究室  
笹森 公人 青森県深浦町農林水産課  
金萬 誠志 秋田県生活環境部自然保護課  
山口 なつみ 秋田県山本地域振興局農林部  
小林 勝 秋田県雄勝地域振興局農林部  
小林 直樹 麻布大学生命・環境科学部  
伊澤 和輝 東京工業大学大学院  
八木 欣平 北海道立衛生研究所  
池田 徹也 北海道立衛生研究所  
入江 隆夫 宮崎大学農学部  
米満 研三 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部  
平井 和也 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部  
山田 研 学校法人辻料理学館辻調理師専門学校  
秋元 真一郎 学校法人辻料理学館辻調理師専門学校  
迫井 千晶 学校法人辻料理学館辻調理師専門学校

## A. 研究の目的

近年、ニホンジカやイノシシなど野生動物の生息数が急速に増加したことから、自然生態系・農林水産業・生活環境への被害が深刻となっている。一方で捕獲鳥獣のジビエ利用は大きな可能性を秘めており、外食や小売等を始め利活用が拡大している。野生鳥獣肉の衛生管理は食品衛生法に基づき、条例に則した自治体の「ジビエ衛生管理ガイドライン・衛生マニュアル」によって指導されてきたが、国は野生鳥獣肉に関する一定の衛生管理レベルの確保を目的に、2014年秋にガイドラインを策定し、狩猟者・食肉処理業者・飲食店・販売店が守るべき衛生措置を明示した。しかし、捕獲（供給現場）から処理・加工・調理・需要（消費）の各段階において、科学的根拠に基づいた捕獲者・処理者・消費者の安全性（人獣共通感染症のリスク）とジビエの食としての衛生管理技術に関する情報・知見の蓄積は十分ではない。適切な処理技術を有する狩猟者・処理施設従事者・事業者の養成、流通・消費段階における食肉としてのジビエの基礎知識の普及などが喫緊の課題である。

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

況の把握、2) 狩猟者、解体処理者のバイオセキュリティ、3) カラーアトラスの充実、4) 処理施設の衛生管理指針の充実、5) ジビエ肉の加工調理ガイドライン等の提供が可能となる。

## B. 研究方法

令和2年度の研究方法の概要は以下の通りである。

1) 平成30-令和2年度の3年間は過去6年間の情報収集を補完する形で全国調査を展開する。特に野生動物の死因に関する情報は少なく、診断ネットワークを構築した。さらに、野ウサギ、アナグマ、クマ、野鳥等、食用の可能性が高い動物における感染症調査も開始した。令和2年度は、血清試料として日本各地より狩猟および有害鳥獣として捕獲された野生獣から回収した。その血清サンプルから抗HEV抗体とHEV遺伝子並びに抗SFTSウイルス抗体検出を行った（前田）。

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

3) HEVの細胞馴化：遺伝子型3の13代継代したG3-HEV83-2-27株をヒト肝がん由来培養細胞Alexander細胞（PLC/PRF/5細胞）へ感染させ、2%FCS加培地を1週間に2回培地の半分を交換しながら感染細胞を維持した。2年半かけて、合計20代の継代に成功し、P34ウイルスとした。

4) わが国で発生したクマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因 *Trichinella* T9 を用いて、本虫の感染性を消失させる加熱条件（75℃で1分間）を、マウスモデルを用いた感染試験で検討した。北東北3県で捕獲されたツキノワグマ22頭の舌について旋毛虫の寄生状況を旋毛虫検査キット（PrioCHECK *Trichinella* AAD, Thermo Fisher Scientific, マサチューセッツ, 米国）を用いて検索した。線虫の幼虫が検出された場合は、幼虫の形態学的特徴の詳細、特に食道における食道腺細胞（ステイ

コサイト)の有無を確認した。形態観察のあと、幼虫からDNAを調製し、リボソームDNAのITS2領域を対象とする既報のプライマーペア(Kanai et al, 2006)でPCR増幅した。鹿児島県と大分県で捕獲されたイノシシ(それぞれ24頭と6頭)から肺吸虫幼虫の検出を試みた。鹿児島県阿久根市で、イノシシへの肺吸虫の感染源となる淡水産カニを採集し、肺吸虫メタセルカリアの寄生状況を調べた(杉山)。

5) わが国の野生鳥獣肉処理施設において処理された鹿肉や猪肉の拭き取り検体を用いて、衛生指標細菌(一般細菌、大腸菌群、大腸菌、ならびに黄色ブドウ球菌)数を計測して衛生状態を評価した。さらに、異なる条件で解体処理された枝肉の衛生状態に関わる要因を検討した。さらには、わが国の野生鳥獣肉処理施設Aで熟成処理された猪肉を用いて、熟成前後における衛生状況を検討した。令和2年度は2019年6月~2021年2月の間に、鹿20施設、猪20施設で処理された鹿枝肉224検体、猪枝肉計99検体について実施した。(壁谷)。

6) 真菌酵母による汚染が食品を介したヒトへの健康被害リスクとなりうる可能性を探索するための手法構築を目的として、一般流通する猪肉製品25製品を購入収集し、次世代シーケンシング法(以下、NGS法)による真菌叢解析を実施した。更に、低温加熱調理を通じた、猪肉におけるE型肝炎ウイルスの生残性について検討した。本年度は、昨年度未検討であった加熱条件(70°C3分、69°C4分、67°C8分、66°C11分)についての同ウイルスに対する不活化効果を評価した(朝倉)。

#### 倫理面への配慮

イノシシ・シカに関しては、狩猟期に捕獲あるいは有害鳥獣として捕獲されたものについて調べた。

検出された微生物の中には、野生動物が自然感染しており、ヒトへの病原性が認められる可能性がある場合があるが、その微生物の最終同定を行い、その不活化方法もしくは安全な可食部分の採取方法について適切なマニ

ュアルを確立するまでは、情報の取扱いに留意し、協力機関において、風評被害等の影響が出ないように配慮した。

#### C. 研究成果

研究は4名の分担研究者と27名の研究協力者並びにそれぞれの所属機関のご厚意によって実施された。

#### 「1.野生鳥獣が保有する病原体の汚染状況に関する研究(前田 健)」

##### 1)イノシシにおける抗HEV抗体保有率

日本全国15県のイノシシ2363頭中360頭が抗HEV抗体陽性となり陽性率は15.2%であった。2020年度は1県検査地域が増えた。イノシシにおいては、検査数が少ない沖縄県と青森県を除いてすべての都道府県で陽性の個体が見つかった。多くの県が20%前後の抗体陽性率であるのに対して、関東地方の千葉と群馬のイノシシは49%、42%と抗体陽性率が高かった。

##### 2)イノシシにおける抗HEV抗体保有率

HEVに対する抗体保有率を性別で比較した結果、雄15.2%、雌19.3%の陽性率で雌雄差は認められなかった。一方、体重別で比較した結果、30kg以下の個体では陽性率が5.8%であったのに対して30kg以上50kg以下の個体では19.0%、50kgより大きな個体では24.1%であった。体重30kg前後のイノシシがHEVに感染し、抗体が陽転していた。

##### 3)イノシシにおけるHEV遺伝子検出

イノシシの血清からHEV遺伝子の検出を試みた結果、1,471頭中25頭の1.7%からHEV遺伝子が検出された。特に、抗体陽性率が高い千葉県と群馬県、中程度の抗体保有率であった兵庫県、山口県、香川県、大分県で遺伝子が検出された。それ以外の抗体保有率が低程度から中程度の岐阜県、富山県、愛媛県からはHEV遺伝子は検出されなかった

##### 4)イノシシにおけるHEV遺伝子検出

性別では雄の方が2.4%と雌の陽性率の1.2%より2倍ほど陽性率が高かった。また、

体重別では 30kg 未満で 3.6%、30-50kg で 1.5%、50kg より大きい個体で 0.4%と体重が増加するにつれて陽性率が減少した。

5) シカにおける抗 HEV 抗体と HEV 遺伝子検出 :シカからの抗体検出の結果、全体では 1,822頭中 1頭(0.1%)抗体のシカが抗体陽性であることが判明した。遺伝子検出もこれまで 1,380頭調べたが 1頭(0.1%)からしか検出されていない。イノシシの陽性率に比べると依然として低いものの、シカも HEV の感受性動物であることが確認された。実際、E 型肝炎食中毒の原因食品としてシカ肉は多数報告されている。

6) 動物から検出された HEV 遺伝子の系統解析 :2020 年度は香川県のイノシシから新たに遺伝子型 3 型の HEV 遺伝子が検出された。千葉県・山口県ではほぼ毎年同じクラスターを形成するウイルスが検出された。これらは HEV が野外では維持されていることを示している。また、山口県においては下関市では遺伝子型 4 が、岩国では遺伝子型 3 のウイルスが検出され、県単位ではなく地域単位で流行しているウイルスが異なることが判明した。

#### 7) 迅速診断のための HEV の細胞馴化

分与ウイルスは Alexander 細胞で 13 代継代したものであったが、感染後 28 日目ようやく 25 サイクルの PCR でバンドが検出された。Real-time PCR でも感染後 21 日目に検出されるのみであった。最初の頃は 6 週間に 1 回の継代などを繰り返し、2 年半で 20 回の継代に成功した。その過程で、P13 から P17 のウイルスは 25 サイクルの RT-PCR で検出されるのは、感染後 28 日であったが、P18-P30 は感染後 21 日、P31-34 は感染後 14 日目に検出されるようになった。感染後 7 日目に検出されるウイルス株樹立を理想としたが、これ以上は難しいと判断し、20 代継代を加えた P34 で解析を進めることとした。P34 と P15 の Alexander 細胞での増殖性を定量 RT-PCR で比較した結果、P34 では 7 日目より  $10^4$  コピー/mL のウイルスが検出された。一方、P15

では 14 日目までウイルスは検出されなかった。馴化によるウイルスへの影響を比較した結果、カプシド蛋白の P ドメインに集中的に変異が観察された。この領域が培養細胞での増殖に重要である可能性が示唆された。

8) シカ・イノシシにおける抗重症熱性血小板減少症候ウイルス (SFTSV) 抗体保有率の再評価:イノシシ及びシカの SFTSV 感染状況を ELISA により継続調査してきたが、ウイルス中和試験と ELISA との比較により、ELISA 試験にはかなり非特異反応が認められることが確認された。より詳細な解析により、これまで 0.5 と設定していた Cut-off 値をシカで OD 0.390、イノシシで OD 0.160 と設定することが最適であることが示された。これまでの検査結果を全て評価し直した。その結果、流行地と考えられていた山口県でも徐々に陽性率が上昇していることが認められた。そして、山口県の 2015 年以降の陽性率は 80%となり、ほぼすべてのシカが感染していることが明らかとなった。イノシシもシカに比べれば陽性率は低い、シカと同様に陽性率の上昇が観察された。山口県で 2012 年に国内初の SFTS 患者が報告されたが、陽性率が上昇し始めた時期と一致しており、SFTS のヒトでの発生は、野生動物で流行し始める時期と一致していることが明らかとなり、野生動物での調査がヒトへのリスクを知る上で極めて重要であることが明らかとなった。

#### 9) シカにおける抗 SFTSV 抗体保有率

28 道府県のシカ 3,443 頭の抗 SFTSV 抗体保有率の調査で、23 府県のシカ 864 頭に陽性が認められ、全体では 25.1%のシカが陽性であった。一方、北海道、岩手、福島、栃木、群馬は陰性であった。宮崎、山口、広島、島根、和歌山県では 50%以上のシカに陽性が認められた。また、千葉、兵庫、愛媛、高知では 20%以上の陽性個体が見られ、西日本で陽性率が高いこと、東日本にも陽性率が高い地域が存在することが明らかとなった。

陽性率において、雌雄差 (雄 26.7%、雌

23.3%) は認められなかったものの、体重が重い 30kg 以上の個体で高い陽性率 (25.3%) が認められている。関東で陽性率が高い千葉県での推移を比較した結果、2016 年以降約 20%、2018 年以降 30%以上の陽性率となり、シカでの感染率が上昇していることが明らかとなっている。

#### 10) シカにおける SFTSV 遺伝子検出

これまで 6 県 470 頭のシカから SFTSV の遺伝子検出を試みたが、陽性個体は認められていない。

#### 11) イノシシにおける抗 SFTSV 抗体保有率

15 府県のイノシシ 2,110 頭の血清から抗 SFTSV 抗体の検出を試みたところ、12 県の 626 頭(29.7%)から抗 SFTSV 抗体陽性が認められた。10 頭以上の検査が実施された県では、熊本県で 71.4%、山口、和歌山、香川、大分、愛媛で 20%以上の陽性率となっている。一方、栃木、千葉、岐阜、富山では低い陽性率となった。イノシシにおける性別 (雄 31.3%、雌 31.25%)、体重別 (30kg 未満 31.1%、30-50 kg 30.4%、50kg より大きい個体 32.5%) で有意な差は認められなかった。

#### 12) イノシシにおける SFTSV 遺伝子検出

これまで 9 県 615 頭から SFTSV 遺伝子の検出を試みたところ、香川県と愛媛県のイノシシから SFTSV 遺伝子が検出された。全体の陽性率は 0.3%と非常に低く、愛媛県や香川県でも 1%であり、イノシシでの陽性率は低い。

13) イノシシとシカにおける異常所見の収集：異常個体について研究協力者から継続的に収集し、カラーアトラスの内容の充実に努めた。また、新たな構成でのアトラス構成についても検討した(前田、安藤、岡林、宇根：別添)。

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

1) わが国に分布する旋毛虫 *Trichinella* T9 の殺滅に有効な加熱条件の検討：(1) 加熱処理群 (群 1：75℃で 1 分間の加熱) で旋毛虫

幼虫が検出された。検出虫体数は 1 頭平均にすると 176 隻であった。(2) 非加熱処理群 (群 2：陽性対照) においても旋毛虫幼虫が検出された。検出虫体数は 1 頭平均にすると 9,640 隻であった。

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：岩手県紫波郡紫波町で 2020 年 12 月に捕獲されたツキノワグマ(雌、年齢不詳) の舌から旋毛虫幼虫が検出された (写真 1)。検出された虫体には、いずれも食道腺細胞 (スティコサイト) が縦列して連続するステイコゾーム構造が明らかであった。検出虫体を用いた分子同定の結果、この幼虫はわが国固有の旋毛虫種である *Trichinella* T9 と同定された。一方、青森県の 4 検体および秋田県の 16 検体、さらに岩手県の残りの 1 検体は、旋毛虫の幼虫陰性であった。秋田県のイノシシからの旋毛虫幼虫検出の試みたところ、今回検査した 5 頭のイノシシの舌検体は、旋毛虫の幼虫陰性であった。

#### 3) イノシシからの肺吸虫幼虫の検出

鹿児島県では検査した 24 検体のうち 6 検体から、肺吸虫の幼虫が計 11 隻検出された。大分県では検査した 6 検体のうち 3 検体から、肺吸虫の幼虫が計 6 隻検出された。虫体はいずれも体長が 1~2mm で、検出時には生理食塩水中で伸縮しながら活発に運動した。これらの虫体は ITS2 領域のシーケンシングの結果、すべてウェステルマン肺吸虫と同定された。さらにミトコンドリア DNA・16S リボソーム DNA のシーケンシング結果から、鹿児島県から検出されたウェステルマン肺吸虫はすべて 3 倍体型で、大分県から検出されたウェステルマン肺吸虫はすべて 2 倍体型であることが明らかになった。

淡水産カニからの肺吸虫メタセルカリアの検出を試みたところ、鹿児島県阿久根市で採集されたサワガニは 941 匹で、15 匹 (寄生率 1.6%) から合計 24 個の肺吸虫メタセルカリアが検出された。モクズガニは 95 匹が採取され、21 匹 (22%) から合計 84 個のメタセルカリア



アが検出された。これらのメタセルカリアは、すべてウェステルマン肺吸虫の3倍体型と分子同定された。

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

1) わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の拭き取り調査：本研究で対象とした施設（鹿 21 施設、猪 20 施設）では、それぞれ「剥皮」と「内臓摘出」の順番が異なるものであった。鹿では、21 施設中 16 施設で、「剥皮」→「内臓摘出」の順で作業していたが、5 施設は「内臓摘出」→「剥皮」の順であった。これに対して、猪の処理では、20 施設中 12 施設で、「剥皮」→「内臓摘出」の順、8 施設は「内臓摘出」→「剥皮」の順であった。

剥皮時のと体は、鹿は全て懸吊していたが、猪では、のせ台、懸吊、および湯剥ぎの施設がそれぞれ 4 施設であった。また、剥皮方法は、鹿では、ウィンチによる牽引が 5 施設、手剥ぎが 6 施設であったが、猪では、1 施設を除き、全て手剥ぎであった。

洗浄前において、鹿と猪の枝肉胸部・同肛門周囲部、における一般細菌数、大腸菌群数、黄色ブドウ球菌数について Mann-Whitney U 検定した。剥皮と内臓摘出の作業順別に枝肉洗浄前の鹿胸部、肛門周囲部における各衛生指標細菌数の中央値を比較した結果、肛門周囲部の一般細菌数において、「剥皮」→「内臓摘出」では、「内臓摘出」→「剥皮」に比べ、有意 ( $p<0.01$ ) に高値であった。一方、猪でも「剥皮」→「内臓摘出」は胸部、肛門周囲部において有意 ( $p<0.01$ ) に高い値となった。黄色ブドウ球菌数はいずれの作業順においても有意差は認められなかった。

剥皮時に、枝肉を「のせ台」に乗せて剥皮する施設と、「懸吊」して剥皮する施設に分けて、猪枝肉の洗浄前の胸部;肛門周囲部における一般細菌数・黄色ブドウ球菌の中央値を比較した結果、「のせ台」で処理した枝肉の肛門周囲部は、「懸吊」のそれに比べ、有意 ( $p<0.01$ )

に高値であった。一方、鹿では、検討した全ての施設において、「懸吊」により剥皮を行っていたため、比較はできなかった。

剥皮時に、「ウィンチ」を使用する施設と、「手剥ぎ」により実施する施設に分け、鹿枝肉の洗浄前の胸部；肛門周囲部における一般細菌数・大腸菌群、大腸菌、黄色ブドウ球菌の中央値を比較したところ、「ウィンチ」に対し、「手剥ぎ」では有意 ( $p<0.01$ ) に低値を示した。一方、猪では、胸部;肛門周囲部における一般細菌数の中央値は、「ウィンチ」「湯剥ぎ」に比べ、「手剥ぎ」は有意 ( $p<0.05$ ) に低値を示した。「湯剥ぎ」の大腸菌群は他に比べ有意 ( $p<0.05$ ) に高い値を示した。

2) 処理工程における拭き取り検体を対象とした衛生指標細菌数

「止め刺し現場」、施設 B で拭き取り検査を実施した。「表皮洗浄前・後」の「蹄」、「腹側正中」、「肛門周囲部」・「胃内容物」の一般細菌数・大腸菌数を比較した。

「剥皮後」と「内臓摘出後」の「作業者の手指」と「ナイフ」の一般細菌数・大腸菌数を比較した。「枝肉洗浄前・後」の「床」「壁」「胸部」「肛門周囲部」の一般細菌数・大腸菌数を比較した。詳細は各論に記載する。

3) 野生鳥獣由来熟成肉の衛生評価

「熟成前・後」の一般細菌数・大腸菌数を比較したところ有意差は認められなかった。また、検討した全ての検体から病原細菌は分離されなかった。

### 「4. 食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究（朝倉 宏）」

では、1) 培養法による真菌分布実態解析

猪肉製品供試検体を培養法で真菌酵母分布状況検討したところ、全検体で酵母が総真菌数に対して、大きな比率を占め (73.6-100%)、総真菌数が多い検体ほどこの傾向は顕著であった。産地や部位、形状による菌数分布傾向に差異は認められなかったものの、同一事業

者由来の製品検体間では菌数分布は概ね一致を示した。真菌が非検出の検体または非常に少ない (<10 cfu/g) の検体は全体の 44% を占めた。高い菌数分布を示した検体は冷凍前段階で高い汚染菌数であった可能性が考えられた。

## 2) NGS 法による真菌酵母菌叢解析結果

計 25 検体の DNA 抽出物を鋳型として、ITS 領域を増幅するための PCR 反応に供した結果、7 検体からのみ約 100-800 bp の増幅産物が得られた。PCR 増幅が認められなかった検体の多くは付着真菌酵母数が元来少なかったためと想定された。

次に NGS 法により得られた真菌酵母菌属の存在比率を比較したところ、加工施設環境或いは同環境での作業工程が真菌叢を決定づける一因である可能性が示唆された。全検体で酵母が占める割合は 58.4-97.6% と非常に高かった。この傾向は培養法の結果と概ね一致し、従来手法である培養法との間での相関性を裏付ける結果と捉えられた。

検出された真菌属のうち、酵母類としては、*Naganishia* 属菌、*Kurtzmonia* 属菌及び *Debaryomyces* 属菌等環境に広域に分布し、水、土壌、植物、魚肉、家畜肉等からの検出報告のある酵母菌属が高い占有率をもって検出された。また、*Malassezia* 属菌、*Candida* 属菌、*Cryptococcus* 属および *Trichosporon* 属菌といったアレルギーや感染症を引き起こす医真菌学上重要な酵母も 50-100% と高頻度に検出され、中でも *Malassezia* 属菌および *Candida* 属菌は占有率が高い傾向にあることが確認された。真菌については、*Aspergillus* 属および *Penicillium* 属といった通常環境に多く分布する真菌や、昨年度までの調査結果において猪肉解体加工施設環境から多く検出された *Cladosporium* 属菌は、37.5-62.5% の頻度で検出されたが、菌叢全体に占める占有率は低い状況にあったため、これらの真菌が猪肉表面において異常発育した可能性は低いと考えられた。

3) 低温加熱調理を通じた E 型肝炎ウイルスの生残性に関する遺伝学的評価

「厚生労働省 野生鳥獣肉に関する Q&A」で示される低温加熱調理条件のうち、昨年度未検討であった条件 (70°C3 分、69°C4 分、67°C8 分、66°C11 分) による E 型肝炎ウイルスの消長を評価した。RNase 処理後の陽性対照 (非加熱群) における E 型肝炎ウイルスの遺伝子コピー数は  $2.68 \times 10^6$  であったのに対し、上記の 4 条件で低温加熱調理を行った検体では、何れも同ウイルス遺伝子が検出されなかった。

4) 低温加熱調理を通じた E 型肝炎ウイルスの生残性に関する生物学的評価

上述の加熱条件に加え、「厚生労働省 野生鳥獣肉に関する Q&A」で示される低温加熱調理条件で処理を行った検体懸濁液を Alexander 細胞に接種し、28 日間培養を行った。その後、培養上清及び細胞中の RNA 抽出し、リアルタイム PCR 法に供したところ、陽性対象 (非加熱群) は上清・細胞中よりそれぞれ  $2.4 \times 10^4$  コピー/反応、 $1.8 \times 10^6$  コピー/反応として検出されたが、低温加熱処理検体を接種した群はいずれも同ウイルス遺伝子不検出を示した。加えて、培養 14 及び 28 日後に免疫蛍光染色法によるウイルス抗原の検出を試みたところ、全ての低温加熱処理検体はリアルタイム PCR 法と同様にウイルス抗原は不検出となったが、陽性対象は培養 14 日後の段階であっても検出され、同法による感染力価測定が培養時間の短縮に有用となる可能性が示された。

## D. 考察

### 「1. 野生鳥獣が保有する病原体の汚染状況に関する研究 (前田 健)」

これまでの結果から、我が国における HEV の自然宿主はイノシシであり、1.7% が捕獲時にウイルスを保有しており、特に子猪が保有している可能性が高い。同じ地域において長年同じウイルスが保持されており、関東に生

息するイノシシの感染率が高い傾向にある。

SFTSVは西日本の多くのイノシシ・シカが感染しており、感染率が上昇している地域があった。東日本でも低いながらも野生動物で感染している。また、陽性率は低いながらも捕獲時に血液中にウイルスを保有しているイノシシも存在した。従って、狩猟者はイノシシの60頭に1頭(高い地域では20頭に1頭)が捕獲時・解体時にHEVウイルスを保有していること、SFTSのリスクは西日本で高いこと、患者の発生していない関東でもSFTS陽性率が高い地域が存在することなどを理解しておくべきである。

HEVは非常に培養細胞での増殖が遅く、非常に解析が困難であったが、増殖が速いHEV株の作製に成功し、後の、HEV研究に大きく貢献すると期待される。

「2.野生鳥獣が保有する病原体(寄生虫)の汚染状況に関する研究(杉山 広)」今年度の研究結果から、今回の検討の結果、わが国で旋毛虫食中毒の原因物質となった*Trichinella T9*の幼虫に75℃で1分間の加熱を直接的に加えた場合、一部の幼虫はマウスに感染し、その腸管内で雄成虫あるいは雌成虫に発育、そして雌成虫は雄成虫と交接して幼虫を産出し、その幼虫が筋肉から検出されるとの結果が追認された。今後の課題として、虫体に直接的に加熱するのではなく、喫食前の調理条件と同じように、筋肉中の虫体に例えば75℃で1分間の加熱を施し、その条件が守られているかを中心温度で確認しつつ、加熱に対する本虫の耐性を改めて検討する必要がある。旋毛虫食中毒の予防に必要な加熱の条件を、調理の現場を想定して確認する必要があると示唆されたことから、現在、その検討に向けての準備を進めている。

北東北3県で捕獲されたツキノワグマ22頭のうち、岩手県で2020年12月に捕獲されたツキノワグマ1頭の舌から、旋毛虫*Trichinella T9*の幼虫が検出された。岩手県のツキノワグマに旋毛虫*Trichinella T9*の幼虫が寄生することは、2003年および2006年に捕獲されたクマ試料の検査で既に明らかにさ

れていたが、同県のクマには現在も本虫の寄生が継続していることが明らかとなった。しかもクマから検出された旋毛虫の種類は*Trichinella T9*の幼虫であり、加熱に対してある程度の耐性を有する。クマ肉の喫食にあたっては十分加熱するように啓発を強化する必要がある。

わが国の野生動物からの旋毛虫検出に関しては、クマ(ツキノワグマおよびヒグマ)以外からも報告がある。動物種および検出された地域は、キツネ(北海道)、タヌキ(北海道、山形県)、アライグマ(北海道)である。山形県に隣接する秋田県では、クマに加えて、イノシシの試料提供も受け、旋毛虫の検査を試みた。しかし検体数が5件に留まったこともあり、検査結果は総て陰性であった。イノシシとシカは東北地方でも、野生鳥獣として肉の積極的な利用が図られている。今後も検査材料の提供を要請し、旋毛虫の寄生状況についての検査を継続する予定である。

今回の肺吸虫の検討により、鹿児島県(3倍体型)と大分県(2倍体型)には異なる染色体型のウェステルマン肺吸虫が分布して、イノシシに感染していることが分かった。鹿児島県産だけではなく大分県産のイノシシの肉喫食によっても、ウェステルマン肺吸虫感染の危険性はある。ただし症状はイノシシの捕獲地(染色体型)により異なるので、このような詳細な情報を医療関係者に提供する必要性が示唆された。

今回の調査により、イノシシから3倍体型のウェステルマン肺吸虫が検出された鹿児島県阿久根市の流行地で、モクズガニおよびサワガニから本虫のメタセルカリアが検出された。淡水産カニを対象に、肺吸虫メタセルカリアの寄生状況を調べる検査は容易であり、ジビエの安全性を保証する有用で簡便な代替法にならないか、今後は大分県のイノシシの捕獲地などでも検討したいと考えている。

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

本研究では、特に、「剥皮」と「内臓摘出」の作業順、剥皮時の設備(のせ台、あるいは

懸吊)、ならびに剥皮方法(ウィンチ、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。

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比較した結果、本研究では、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、一部(鹿の胸部)を除き、有意に高い一般細菌数の値を示した。これは、剥皮を先に行うことで、作業者が剥皮後の枝肉に、汚染した手指で直接、あるいは間接的に接触する機会が多くなったためである可能性がある。剥皮後に枝肉と接触することにより細菌に汚染する可能性について、改めて作業者に啓蒙する必要がある。

「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とともに、「のせ台」で剥皮をする際には、より一層細菌汚染を回避するように意識して作業するよう、指導する必要があると考えられた。

剥皮法別の比較では、鹿、猪ともに、「ウィンチ」を用いて剥皮する方法で剥皮した枝肉は、「手剥ぎ」で剥皮したものに比べ、高度に汚染していた。「ウィンチ」を用いた場合には、剥皮の際に、表皮に汚染した土壌や細菌が舞い散る可能性が考えられ、土壌由来の細菌や、表皮に由来する黄色ブドウ球菌がより高度に汚染した可能性が考えられる。また、猪を処理する一部の施設では、「湯剥ぎ」が行われている。厳密には、「湯剥ぎ」では、剥皮されておらず、表皮は残存しており、表皮表面の被毛が取り除かれるものの、残存する表皮表面の毛穴や皮膚の小さな溝などに、細菌が残存する可能性がある。このため、「湯剥ぎ」した枝肉では、高度に一般細菌数が検出されたも

のと考えられた。

本研究により、一連の処理工程における細菌汚染源として、蹄、表皮、胃内要物、肛門周囲部が明らかとなった。また、表皮洗浄前に比べ、表皮洗浄後では、各箇所において、一般細菌数、大腸菌数の著しい減少が認められたことから、鹿や猪の解体処理施設への搬入前に、十分な洗浄を行うことの重要性が、改めて示された。また、肛門周囲部には多くの細菌が残存することを考慮しながら剥皮を行うことが重要である。さらに、剥皮作業中、ならびに内臓摘出作業中では、各作業により作業者の手指、ならびに使用したナイフ表面に多くの細菌が汚染することも確認され、各作業中の汚染ごとの温湯消毒、ならびに手指洗浄が重要であることが確認された。

糞便汚染の指標となる大腸菌については、特に肛門周囲部から多く検出されることが改めて確認された。特に蹄からも多く検出されたことから、剥皮作業前には、蹄を除去することが重要であると思われた。

本研究で対象とした施設では、4℃でおよそ2週間静置するにより熟成を行っている。熟成前後には大腸菌・病原細菌全て検出されなかったから熟成工程において病原細菌の増殖は起こっていないものと考えられた。しかし、多くの一般細菌、ならびに黄色ブドウ球菌が検出された検体も認められたことから、熟成後には十分トリミングを行う必要がある。

当該施設における熟成の条件は2℃で7~9日間処理であるが、2℃条件下でも、低温細菌の一部は増殖している可能性があり、今後、熟成前に検出された細菌叢を解析し、汚染の由来を検討する必要がある。特に食肉の腐敗に関与する *Pseudomonas* 属菌は低温細菌であり、昨年度の本研究において、今回の対象とは異なる施設で処理された枝肉から検出されている。今後、このような腐敗細菌の汚染状況について検討する必要がある。

**「4. 食品製造や調理段階における食品リスクの軽減に関する研究(朝倉 宏)」**  
本分担研究では、猪肉製品における真菌酵母汚染実態を調査するための手法として、NGS

法の正確性を従来の培養法と比較検討したところ同一事業者由来の製品検体間では菌数分布は概ね一致し、本解析手法が猪肉製品表面に付着する真菌酵母菌叢探知手法として安定性を示すものと考えられた。

一方、今回供試した猪肉製品における真菌叢全体の傾向として、*Cladosporium* 属菌や *Aspergillus* 属菌などの解体・加工環境で高頻度に検出される真菌の占有率は低く、猪肉表面で異常増殖した可能性は低いと考えられた。今後は、チルド状態、特に熟成工程を経て二次加工・出荷される猪肉加工製品を対象とした検証を行う必要がある。また、検出真菌の一部には、作業従事者の健康被害を招き得ると想定される *Malassezia* 属菌等も含まれていた。この他、*Trichosporon* 属をはじめとして、感染性やアレルギー性のある真菌属も今回の NGS 法により高頻度に検出される実態が初めて確認された。酵母は培養法による簡易同定が概して困難であり、本研究で構築した NGS 法を、ジビエ食肉及び同施設環境における真菌・酵母の汚染実態調査へと活用することは、危害要因分析の対象として検討を進め、更に加工従事者及び消費者の健康被害予防に向けて取るべきリスク管理策の構築へと波及すると期待される。

猪肉における E 型肝炎ウイルスの汚染可能性は数多くの同動物生体における侵淫状況から示唆されている。こうした背景から、猪肉の喫食にあたっては十分な加熱調理が求められている。一方、野生鳥獣肉の調理に際しては、低温度帯での加熱調理が汎用されている実態を鑑み、本研究では猪肉を低温加熱調理した場合の E 型肝炎ウイルスの消長を評価し、結果として「厚生労働省野生鳥獣肉に関する Q&A」で示される低温加熱条件は何れも E 型肝炎ウイルスの不活化に一定の有効性を示すことが明らかとなった。

過去の文献情報では用いるウイルス株により耐熱性には差異があることも想定されるため、異なるウイルス株を用いた同様の評価を行うことも今後必要と思われる。こうした評価にあたって、最終的には生物活性である感

染力価の評価は必須と考えられるが、その評価には感染時間が長い本ウイルスの性質を考慮すると、より増殖能の高いウイルス株の調整や、高感度な評価方法の設定等が今後検討すべき事項と思われる。その意味において、本研究で見出された、免疫蛍光染色法の有用性は後者の事項に寄与するものと考えられる。

また、野生鳥獣肉の加工調理にあたっては、塩蔵やマリネ等といった前処理が行われることも多い。従って、こうした前処理過程を通じた病原微生物の動態についても今後精査することが、総合的な生物的危害要因の制御にあたって求められる科学的知見になるものと考えられる。

## E. 結論

1. ①15 県のイノシシ、13 道県のシカの E 型肝炎ウイルス抗体並びにウイルス遺伝子調査から、体重 30 kg 以下のイノシシのウイルス保有率が高く、狩猟・解体時の血液の飛散に注意する必要がある。②SFTS の野生動物における分布は 15 県中 12 県が陽性となったが西日本中心ではあり、中国・四国・九州では陽性率が高かったが、関東地方でも陽性率が上昇している地域が明らかとなり、狩猟・解体時の血液の飛散に注意する必要がある。③培養細胞に馴化した HEV の作製に成功した。④カラーアトラスの充実をすべく、協力者の拡大に努めている。

2. わが国で発生したクマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因物質 *Trichinella* T9 を用いて、本虫の感染性を消失させる加熱条件を、マウスを用いた感染試験で再検討した。その結果、幼虫を直接的に 75℃ で 1 分間加熱する条件では、マウスへの感染性が完全には消失しないことが追認された。

3. 北東北 3 県で捕獲されたツキノワグマ 22 頭について旋毛虫の寄生状況を調べたところ、岩手県で 2020 年 12 月に捕獲されたツキノワグマ 1 頭の舌から、旋毛虫 *Trichinella* T9 の幼虫が検出された。しかし青森県と秋田県の

クマ検体は、いずれも旋毛虫陰性であった。また秋田県ではイノシシの試料・5検体も提供を受けたので検査したが、いずれも陰性であった。

4. 大分県のイノシシの筋肉を調べたところ、ウェステルマン肺吸虫 2 倍体型の幼虫が検出された。鹿児島県で陽性イノシシが生息する地区のサワガニおよびモクズガニから、ウェステルマン肺吸虫 3 倍体型メタセルカリアが検出されたことから、これらのカニがイノシシへの感染源になっていると考えられた。

5. 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。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。③鹿、猪ともに、剥皮の際に「手剥ぎ」に比べ、「ウインチ」を用いて行くと、細菌汚染を受けやすいことが明らかとなった。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。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。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が確認された。

6. ①猪精肉の真菌叢の調査手法として、NGS法を構築し、簡便かつ難培養性の菌種も確実に検出できる効果的な手法であることを示した。本分担研究で供試対象とした猪肉製品では全体に占める酵母の割合は総じて高く、また *Malassezia* 属菌等の医学上重要な真菌も高頻度に分布する実態をはじめて把握できた。今後は、NGS法を用いたジビエ食肉における真菌叢の網羅的な把握に資する研究を通じ、衛生管理上、真菌・酵母に由来する健康リスクを把握し、その管理に努めることが必要と思われる。②低温加熱調理を通じた猪肉中での E 型肝炎ウイルスの消長を検討し、「厚生労

働省野生鳥獣肉に関する Q&A」で示される低温加熱条件は何れも E 型肝炎ウイルスの不活化に一定の有効性を示すことが明らかとなった。また、同ウイルスの感染力価を評価するための手法として蛍光免疫染色法の有用性を示唆する知見を得た。今後は合理的なウイルス評価系の設定に係る検討を進めると共に、加工調理工程での病原微生物の動態把握のための検討を進めることで、野生鳥獣肉の安全性確保に向けた総合的な科学的知見の集積にあたりたい。

#### F. 健康危険情報

「なし」

#### G. 研究発表

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

2) Suzuki Y. Hisaya K. Ono Y. Shimojim. H. Kubot, R. Kato, T. Kakuda, S. Hirose, Dong-Liang. Hu, A. Nakane, S. Takai, K. Sadamasu A novel staphylococcal enterotoxin SE02 involved in a staphylococcal food poisoning outbreak that occurred in Tokyo in 2004. Food Microbiol. 92 December 2020, 103588.

3) Suzuki Y, K. Takahashi, F. Takase, N. Sawada, S. Nakao, A. Toda, Y. Sasaki, T. Kakuda and S. Takai Serological epidemiological surveillance for vapN-harboring *Rhodococcus equi* infection in goats in Okinawa, Japan CIMID 73 (2020) 101540

4) Takai, S., N. Sawada, Y. Nakayama, S. Ishizuka, R. Nakagawa, G. Kawashima, N. Sangkanjanavanich, Y. Sasaki, T. Kakuda, and Y. Suzuki Reinvestigation of the virulence of *Rhodococcus equi* isolates from patients with and without AIDS. Lett Appl

- Microbiol. 2020 Dec;71(6):679-683. doi: 10.1111/lam.13386.
- 5) Kawase J, Hirai S, Yokoyama E, Hayashi F, Kurosaki M, Kawakami Y, Fukuma A, Sakai T, Kotani M, Asakura H. Phylogeny, prevalence, and Shiga toxin (Stx) production of clinical *Escherichia coli* O157 clade 2 strains isolated in Shimane prefecture, Japan. 2021. Curr Microbiol. 78 : 265–273.
  - 6) 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. 2021 Feb 22. doi: 10.1111/tbed.14042. Epub ahead of print. PMID: 33617130.
  - 7) Kirino Y, Ishijima K, Miura M, Nomachi T, Mazimpaka E, Sudaryatma PE, Yamanaka A, Maeda K, Sugimoto T, Saito A, Mekata H, Okabayashi T. Seroprevalence of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus in Small-Animal Veterinarians and Nurses in the Japanese Prefecture with the Highest Case Load. Viruses. 2021 Feb 2;13(2):229. doi: 10.3390/v13020229. PMID: 33540629; PMCID: PMC7912989.
  - 8) Tsuru M, Suzuki T, Murakami T, Matsui K, Maeda Y, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Shimada T, Hasegawa H, Maeda K, Morikawa S, Saijo M. Pathological Characteristics of a Patient with Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) Infected with SFTS Virus through a Sick Cat's Bite. Viruses. 2021 Jan 29;13(2):204. doi: 10.3390/v13020204. PMID: 33572914; PMCID: PMC7912689.
  - 9) Morikawa M, Mitarai S, Kojima I, Okajima M, Hatai H, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Matsuu A, Yoshida A, Hayashi K, Ozawa M, Masatani T. Detection and molecular characterization of *Babesia* sp. in wild boar (*Sus scrofa*) from western Japan. Ticks Tick Borne Dis. 2021 Feb 27;12(4):101695. doi: 10.1016/j.ttbdis.2021.101695. Epub ahead of print. PMID: 33677233.
  - 10) Sakai Y, Kuwabara Y, Ishijima K, Kagimoto S, Mura S, Tatemoto K, Kuwata R, Yonemitsu K, Minami S, Kuroda Y, Baba K, Okuda M, Shimoda H, Sakurai M, Morimoto M, Maeda K. Histopathological Characterization of Cases of Spontaneous Fatal Feline Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome, Japan. Emerg Infect Dis. 2021 Apr;27(4):1068-1076. doi: 10.3201/eid2704.204148.
  - 11) Park ES, Fujita O, Kimura M, Hotta A, Imaoka K, Shimojima M, Saijo M, Maeda K, Morikawa S. Diagnostic system for the detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus RNA from suspected infected animals. PLoS One. 2021 Jan 28;16(1):e0238671. doi: 10.1371/journal.pone.0238671. PMID: 33507990; PMCID: PMC7842937.
  - 12) Tomino Y, Andoh M, Horiuchi Y, Shin J, Ai R, Nakamura T, Toda M, Yonemitsu K, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Kodera Y, Oshima I, Takayama K, Inadome T, Shioya K, Fukazawa M, Ishihara K, Chuma T. Surveillance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Campylobacter* spp. in wild Japanese deer (*Cervus nippon*) and boar (*Sus scrofa*). J Vet Med Sci. 2020 Sep 24;82(9):1287-1294. doi: 10.1292/jvms. 19-0265. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32655094; PMCID: PMC7538328.
  - 13) Masatani T, Hayashi K, Morikawa M, Ozawa M, Kojima I, Okajima M, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Matsuu A, Yoshida A.

- Molecular detection of tick-borne protozoan parasites in sika deer (*Cervus nippon*) from western regions of Japan. *Parasitol Int.* 2020 Dec;79:102161. doi: 10.1016/j.parint.2020.102161. Epub 2020 Jun 19. PMID: 32569748.
- 14) Ishida-Kuroki K, Takeshita N, Nitta Y, Chuma T, Maeda K, Shimoda H, Takano A, Sekizaki T. 16S rRNA Gene Amplicon Sequence Data from Feces of Five Species of Wild Animals in Japan. *Microbiol Resour Announc.* 2020 May 28;9(22):e00368-20. doi: 10.1128/MRA.00368-20. PMID: 32467273; PMCID: PMC7256260.
- 15) Ishida-Kuroki K, Takeshita N, Nitta Y, Chuma T, Maeda K, Shimoda H, Takano A, Sekizaki T. 16S rRNA Gene Amplicon Sequence Data from Feces of Wild Deer (*Cervus nippon*) in Japan. *Microbiol Resour Announc.* 2020 May 28;9(22):e00346-20. doi: 10.1128/MRA.00346-20. PMID: 32467271; PMCID: PMC7256258.
- 16) Lin TL, Ou SC, Maeda K, Shimoda H, Chan JP, Tu WC, Hsu WL, Chou CC. The first discovery of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in Taiwan. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Jan 10;9(1):148-151. doi: 10.1080/22221751.2019.1710436. PMID: 31918622; PMCID: PMC6968498.
- 17) 前田健「Globalization と人獣共通感染症」*日本臨牀* 2021. 79 巻 2 号 124-132
- 18) 前田健「人獣共通感染症：動物から学ぶ」*実験医学*(羊土社)2021. 39 (2) 56-64
- 19) 前田健「ペットと野生動物における COVID-19」*動物用ワクチンニュースレター*-2020. 12.24 No.22 P32-39
- 20) 石嶋慧多、朴ウンシル、松鶴 彩、早坂大輔、桐野有美、岡林環樹、森川 茂、水谷哲也、松野啓太、前田 健「国内ではこれまで経験のない脅威：SFTS」ヒトと動物の共通感染症研究会ニュースレターNo.19、2020 年 8 月 p15-17
- 21) 前田健「4.7 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)」『*犬の内科診療 Part 2*』(石田卓夫総監修) 緑書房 2020 年 7 月 30 日
- 22) 前田健「1-6 ブルーノース (人獣共通感染症)」『*衛生動物の事典*』pp12-13 (朝倉書店、東京) 2020 年 5 月
- 23) Takahashi,T. Kabeya, H., Sato, S., Yamazaki, A., Kamata, Y., Taira, K., Asakura, H., Sugiyama, H., Takai, S., Maruyama, S. Prevalence of *Yersinia* among wild sika deer (*Cervus nippon*) and boars (*Sus scrofa*) in Japan. *J. Wildl. Dis.* 56(2):270-277, 2020.
- 24) Mizukami M, Sato S, Nabeshima K, Kabeya H, Ueda D, Suzuki K, Maruyama S. Molecular survey of *Bartonella rochalimae* in Japanese racoon dogs (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*). *J Wildl Dis.* 56(3):560-567, 2020
- 25) Nabeshima K, Sato S, Kabeya H, Kato C, Suzuki K, Maruyama S., Isolation and genetic properties of *Bartonella* in eastern bent-wing bats (*Miniopterus fuliginosus*) in Japan. *Infect Genet Evol* 83:104354. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104354. Epub 2020 May 5
- 26) Nabeshima K, Sato S, Kabeya H, Komine N, Nanashima R, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Suzuki K, Maruyama S. Detection and phylogenetic analysis of *Bartonella* species from bat flies on eastern bent-wing bats (*Miniopterus fuliginosus*) in Japan. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 73:101570. doi: 10.1016/j.cimid.2020.101570. Epub 2020 Oct 25.
- 27) Sato S, Kabeya H, Ishiguro S, Shibasaki Y, Maruyama S. Lipoptena fortisetosa as a vector of *Bartonella* bacteria in Japanese sika deer (*Cervus nippon*). *Parasitol Vectors.*:14(1):73. doi: 10.1186/s13071-021-04585-w. , 2021.
- 28) 杉山 広、森嶋康之、児玉文宏、北海道札幌市において 2019 年に発生した旋毛虫集



団食中毒事例、Clin Parasitol 2020. 31: 49-51.

29) Banzai A, Sugiyama H, Hasegawa M, Morishima Y, Kawakami Y. *Paragonimus westermani metacercariae* in two freshwater crab species in Kagoshima Prefecture, Japan, as a possible source of infection in wild boars and sika deer. J Vet Med Sci, 83(3): 412-418, 2021. doi: 10.1292/jvms.20-0576

## 2. 学会発表

1) 前田健「SFTS について考える」第 20 回人と動物の共通感染症研究会・学術集会令和 2 年 10 月 24 日 (金) 14:20-14:40 (WEB 開催)

2) 前田健「身の回りで何が起きているのか～犬猫、魚から環境まで～(オーバービュー)」第 69 回日本感染症学会東日本地方学術集会シンポジウム 13 身の回りに潜む耐性菌～犬猫、魚から環境まで～令和 2 年 10 月 22 日 16:40-18:10 (WEB 開催)

3) 前田健「伴侶動物と楽しく暮らしながら乗り越えよう」オンライン日本臨床獣医学フォーラム新興感染症シンポジウム令和 2 年 9 月 (LIVE 配信)

4) 前田健「SFTS の病態：マダニ以外の感染経路」第 94 回日本感染症学会学術集会講演会

シンポジウム 24 「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) -明らかになった事実, 残された疑問-」2020 年 8 月 20 日 (木) 10:20-12:00 (グランドニッコー東京 台場)

5) 鍋島 圭、佐藤 真伍、壁谷 英則、丸山 総一 高速シーケンサーを用いたコウモリ由来 *Bartonella* の病原関連遺伝子の探索 第 163 回日本獣医学会学術集会 (山口大学 (web 開催)、2020 年 9 月 8～10 日)

6) 坂西梓里、杉山 広、森嶋康之、川上 泰. 鹿児島県阿久根市の淡水産カニにおける肺吸虫幼虫の寄生状況調査と試験感染ネコから得た成虫の形態, 第 89 回日本寄生虫学会大会, 2020/05/30 (とかちプラザ, 帯広, 誌上報告)

## 講演会

1) 前田健「野生動物を介したマダニ媒介感染症の拡大」福岡県” One Health” 国際フォーラム 2021. 2021 年 1 月 30 日 (土) 18:00 から配信開始

2) 前田健「動物由来感染症について」日本ペストコントロール協会 令和 2 年度防除技術研修会・感染症対策講習会 2020/12/03-13

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし