令和3年度~令和5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)

(総合) 研究報告書

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

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 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 渡辺 麻衣子(国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部)

研究分担者 宇根 有美 (岡山理科大学獣医学部)

研究分担者 鈴木 康規 (北里大学獣医学部)

研究要旨:

本研究では、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として、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、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、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、④異常個体の病理組織学的検索とカラーアトラスの充実、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・低減に関する研究として、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、食品製造や調理段階での食品リスク軽減に関する研究として、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を実施し、それぞれ成果を得た。また、得られた成果を、カラーアトラス、感染症対策資料としてまとめ、関係者に情報提供するとともに、シンポジウム・講演会・研修会等で情報提供とともに対策の重要性を伝えた。

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設定を担びある。本研究では、1)野生鳥獣が保有する段中毒の表別では、1)野生鳥獣が保有する食中毒の病では、1)野生鳥獣が保有する食中毒のでは、1)野生鳥獣が保有する食中毒が保育する食いと異常個体・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)本申請研究では、各地域に蔓延しているウイルスの遺伝子配列を明らかにして、各地域のイノシシで流行しているHEVを特定する。これにより、全国規模で有効する豚由来HEVと地域性のあるイノシシ由来HEVの判別が不可能であったが、イノシシ肉に由来するHEV感染患者を推定することが可能になる。

血清疫学調査に関しては、多くの地域では HEV 抗体陽性率が安定している傾向があるも のの、一部地域において拡大傾向が推測され ている。拡大傾向が認められる地域で HEV の 蔓延状況を精査する。

2) 狩猟者および鳥獣肉を取扱者の感染症対策:

狩猟者および鳥獣肉取扱者は動物の血液と接触し感染するリスクが高い。狩猟獣の血液中に存在するE型肝炎ウイルス、SFTSウイルス、リケッチア等の病原体保有状況を明らかにすることにより、狩猟者および取扱者への

注意喚起のための資料を作成する。つい最近、COVID-19の感染実験によりオジロジカが感受性動物であることが報告された。採取したシカ血清を用い COVID-19 に対する中和試験を実施する。

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。本申請研究では、野生鳥獣の糞便や市場流通後の野生鳥獣由来食肉から黄色ブドウ球菌並びにCREの分離を行う。また、それら分離菌株の分子疫学・ゲノム構造解析を実施し、野生鳥獣で流行する遺伝子型・毒素型を特定するとともに、新規毒素・耐性因子の同定や機能解析及びその検出系の確立を試みる。

また、狩猟・運搬・処理・解体の際に、野生鳥獣の血液や外部寄生虫(特にマダニ)を介する感染症予防のため、コクシエラ、リケッチア、アナプラズマなどの人獣共通細菌の保有調査を行う。血液・臓器および付着マダニから、病原体遺伝子の検出により保有率および保有菌種を調査する。海外では、野生のシカ科動物からコクシエラやアナプラズマが検出され、ヒトへの感染源・感染経路として注視されている。国内では近年の情報が更新されておらず新たな調査が必要である。これらの細菌は編性細胞内寄生性であり宿主特異性が高いことから分離が困難であるが、本研究では実験動物を用いた分離試験を試みる。

検出された細菌種について、種の特定と病原性に関する検討を行う。動物種の壁を超えて感染が成立するならば人獣共通感染症となる可能性が示唆されるため、分離培養試験も兼ねた実験動物への感染試験を行う。これらの結果から、野生動物から検出された細菌が動物の感染症であるのか、人獣共通感染症であるのか明らかにする。国内の野生動物におけるコクシエラ、リケッチア、アナプラズマ保有状況について情報をアップデートし、これらの感染症の啓発に役立てる。

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

レセプトデータの検索により、我々が原因 種の特定に関与したクマ肉喫食による旋毛虫 食中毒事例(集団感染を起こした3事例)が 漏れなく収載されており、それ以外の旋毛虫 食中毒事例は確認されないことが分かった。 従ってレセプトデータの検索は、ジビエ喫食 に関連する寄生虫感染の探索にも有用と考察 された。肺吸虫症もレセプトデータに収載さ れていたことから、改めて文献検索を実施 し、イノシシ肉の喫食による症例を抽出し て、喫食に至る状況など感染予防に直結する 啓発情報を特定する。同時に、患者の食歴情 報に基づいて、イノシシ肉の検索よりも容易 で確実な中間宿主サワガニの汚染を調査す る。イノシシ肉はマンソン孤虫症(マンソン 裂頭条虫の幼虫の感染)の感染源でもある。 日本のマンソン裂頭条虫は、実は2種類の条 虫が混在していたにもかかわらず、単一種で あると誤認されてきた。この2種類の形態と 分子系統を解析し、更にいずれの種が、人体 感染の原因となるかを特定する。

住肉胞子虫では、食中毒の事例検体を用い、 病因種の遺伝子コピー数と病態との関連を明 らかにする。

④異常個体の病理組織学的検索とカラーアト ラスの充実

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

本研究では令和3~5年度の研究期間で、 以下に示す一連の研究により、HACCPに基づ く衛生管理手法の確立に貢献する科学的根拠 の収集を目指す。

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(令和3~5年)

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、これを でに構築した研究協力体制を活用するととれて を国の野生鳥獣肉の利活用の推進を行い できた日本ジビエ振興協会と連携したさい 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 (令和3~5年)

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 (令和3~5年)

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

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

(倫理面への配慮) 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

E型肝炎ウイルスのイノシシでの抗体保有率 は3746頭中461頭が陽性であり、12.3%で あった。東日本で高い傾向があるが、西日本 でも比較的高い陽性率であった。体重別で は、30 kg以下の個体が 5.7%であるのに対し て、30 - 50 kgの個体は13.4%、50 kg以上の 個体では20.5%の抗体保有率であり、大型= 高齢の個体が陽性率が高いことが示された。 イノシシでの遺伝子検出率は2348頭中28頭 が陽性であり、1.2%の感染率となった。体 重別では、30 kg以下の個体が 2.6%であるの に対して、30 - 50 kgの個体は 0.9%、50 kg以 上の個体では 0.3%の抗体保有率であり、幼 獣のほうが陽性率が高いことが示された。採 集をしやすい糞便を用いてE型肝炎ウイルス の遺伝子検出を行った。全国の野生動物のE 型肝炎ライブラリーを作成することによっ て、E型肝炎発生時に感染源の究明につなが ると考えている。日本全国のシカの SFTS ウ イルスに対する抗体保有状況の調査を行った

結果、西日本のシカでの抗体保有状況は非常 に高い。遺伝子検出に関しては、1363頭実施 したが1頭(0.1%)からしか検出できてい ない。イノシシの抗体保有状況を調査した結 果、遺伝子検出では1383頭調べたが3頭 (0.2%) しか陽性の個体が認められなかっ た。死亡したアナグマから非常に高いウイル ス血症 1.4x10⁷copy/ml が観察され、口腔や 直腸スワブからも多くのウイルス遺伝子が検 出された。以上より、本アナグマは SFTS ウ イルス感染により死亡したものと推測され た。北米のオジロジカで SARS-CoV-2 の感染 が報告されており、ヒトからシカへ、シカか らヒトへの感染も疑われている。そこで、国 内の野生動物における SARS-CoV-2 に対する 抗体保有状況を調査した。2020年のシカ296 頭、ハクビシン64頭、タヌキ36頭の血清、 2021年のシカ392頭、イノシシ333頭の血 清、2022 年の二ホンジカ 376 頭の血清を用い て中和試験を実施した結果、2頭和歌山県の シカが中和抗体を有していた。「狩猟者や野 生獣肉関係者への E 型肝炎対策のすすめ」 「狩猟者や野生獣肉関係者への SFTS 対策の すすめ」を作成し、情報提供を行う予定であ る。また、シンポジウム、講演会、研修会を 通じて野生鳥獣肉に関わる正しい知識の普及 に努めた。

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

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目細 菌 (CRE) を含めた β ラクタム系抗菌薬に耐 性を示す腸内細菌目細菌の野生鳥獣における 保有状況を調査するため、シカおよびイノシ シの糞便並びに市場流通後のシカ肉からの上 記菌株の分離並びに特性解析を実施し、野生 鳥獣を由来とする分離菌株が健康リスクとな り得るのか評価した。2021年から2023年の 間に、シカ糞便 535 検体、イノシシ糞便 178 検体及びシカ肉 117 検体を調査した。黄色ブ ドウ球菌は、シカ糞便35 検体(6.5%)、イ ノシシ糞便3検体(1.7%)、シカ肉35検体 (29.9%) から分離された。このことは、イ ノシシよりシカの方が、黄色ブドウ球菌の保 菌率が高いことを示唆している。また、これ

らの分離菌株の多くは、Clonal Complex 121 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 Sequence Type が複数分離されたことか ら、処理工程における流通シカ肉への糞便汚 染が疑われた。一部の黄色ブドウ球菌株にお いてエンテロトキシン (SE) 遺伝子保有株が 存在し、その多くは egc 関連の新型 SE 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てい 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。また、上記3年間において CRE は分離されなかったことから、野生鳥獣 が生息する環境には CRE が拡散していないこ とが示唆された。一方、セフォタキシム (CTX) に耐性を示す株が、シカ糞便 14 検体 (2.6%)、イノシシ糞便23検体(12.9%)、シ カ肉 1 検体(0.9%)から分離された。分離年 において多少の増減はあるが、イノシシ糞便 から高率に分離された。これは、イノシシと シカの食性の違いが影響したものと考えられ る。ゲノム解析の結果、CTX 耐性菌の多くは 大腸菌であり、SNPs 系統樹解析並びに MLST から大きく3つのクラスターに分類された。 また、これら全ての菌株は少なくとも1種類 の β ラクタマーゼ遺伝子を保有し、その多 くが bla_{CTX-M-15} もしくは bla_{CTX-M-55} を保有し た。最も分離率の高い blactx-M-15 は3 種類の遺 伝子カセット内に存在し、染色体・プラスミ ドどちらにも挿入され得ることが明らかとな った。また、blactx-M-15保有プラスミドはいず れも大腸菌 J53 株に対して接合伝達を起こさ なかった。すなわち本プラスミドを介した blacty-M-15 遺伝子の伝播は起こりづらいと考え られる。しかし一方で、blactx-M-15遺伝子はす でに国内外の環境中に広く分布し、可動性の 遺伝子カセット内に存在することからも、本 プラスミドを介さない伝播様式により広域に 拡散している耐性遺伝子であると推測され た。このように本研究期間においては、主に 環境中に広く分布している bla が高率に検出 されており、現時点では、野生獣が保有する

株を原因とする薬剤耐性菌感染症の発生リスクは低いと予測される。しかし、カルバペネムの効きづらい AmpC 過剰産生株(bIa_{ACT-16} 保有株)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ため、今後も継続的なモニタリングが必要である。さらに、 $Citrobacter\ braakii\ CB21D158$ 株が新規 β ラクタマーゼ遺伝子を保有することを明らかにした。本遺伝子の機能解析の結果、

 $b1a_{\text{new}}$ を大腸菌に形質転換した株のイミペネム、メロペネム、アモキシシリン、セフタジジムの MIC はすべて上昇した。しかし、これらの MIC は既報の β ラクタマーゼ $b1a_{\text{CMY70}}$ 形質転換体の MIC より低値であった。CB21D158株が持つ新規 β ラクタマーゼと既報の

 $b1a_{\text{CMY-70}}$ では基質となる β ラクタム抗菌薬に違いがある可能性、または、本遺伝子の上流配列のプロモーター活性の違いにより差が生じた可能性が考えられた。

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。野生動物をジビエとし て処理・加工する際には動物の内臓や血液に 直接触れる可能性があり、吸着しているマダ ニと接触する可能性もある。人への感染対策 のために、野生動物におけるこれら細菌の保 有状況を調査した。内臓(脾臓)、血液、吸 着マダニから遺伝子検出を行い配列解析を行 った。アナプラズマ科細菌が特定の地域のシ カから高率に研究されたが、同地域のマダニ から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、継続した保有状況調査は重要である。野 生動物の取り扱いの際には、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を徹底する必要が 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

旋毛虫食中毒の原因である Trichinella T9 の幼虫を実験的に感染させたマウスから筋肉を分離して、豚肉ブロックの内部に挿入し、

75℃・1分間の加熱(厚生労働省が野生鳥獣肉の安全な喫食に求める加熱条件)を施した。マウスの筋肉を豚肉ブロックの中から取り出し、新たなマウスに経口投与したところ、まったく感染しなかった。一方、T9に実験感染させたマウスの筋肉を、そのまま非加熱で新たなマウスに経口投与したところ、総てが感染した。調理の現場を想定した今回の実験系により、75℃・1分間の加熱という厚生労働省の指針で旋毛虫T9は感染性を消失し、その結果として食中毒は予防できることが明らかとなった。

北海道および北東北3県で捕獲されたクマ353頭の舌検体を検査した結果、北海道の6頭(ヒグマ)および岩手県の1頭(ツキノワグマ)から旋毛虫 Trichinella T9の幼虫が検出された。秋田県のイノシシも調べたが、総て陰性であった。

旋毛虫症、肺吸虫症、マンソン孤虫症という3種類の寄生虫性食中毒を例として取り上げ、その発生状況に関して、食中毒統計に収載されている事例数とレセプト解析に基づく事例数を比較した。特に肺吸虫食中毒では毎年事例が検出されたが、食中毒統計への収載はなかった。希少疾患であるジビエ喫食に起因した寄生虫性食中毒の発生実態を詳らかにするには、レセプトデータの解析も一つの手段として有効であると考えられた。

わが国で孤虫症を引き起こす条虫は、 Spirometra erinaceieuropaeiであるという 従来の学説は誤りであり、原因種は Spirometra mansoniと Spirometra asiana (新種)の2種であることが明らかにされた。しかもイノシシ肉の喫食で両種による孤虫症が発生している。本研究では両種の地理的分布の特徴を明らかにすべく、終宿主である肉食獣を対象とした調査を実施した。その結果、ネコ(北海道、福井県、島根県、愛媛県、鹿児島県に生息)、キタキツネ(北海道)およびイヌ(島根県)から S. mansoniの成虫が検出された。また島根県のイヌからは S. asiana の成虫が検出された。

④異常個体の病理組織学的検索とカラーアト ラスの充実

ジビエ生産物の狩猟者、解体・加工者及び消 費者に至る流通過程において、生じるヒトへ の健康被害を阻止し、かつこれらの作業活動 に関連する動物衛生上のリスクをなくすこと を目的として、狩猟者、解体・加工者が危険 な疾病を認識して的確に排除できるように、 理解しやすいカラーアトラスを作成する。カ ラーアトラスのコンセプトは、1)対象は野 生鳥獣の解体、処理にあたる一般人で、2) 平易な表現を用い、シンプルな構成にして、 理解しやすい形式にする。特に、全廃対象お よびヒトに健康被害を及ぼすような疾患、病 変を的確に排除できるようにした。アトラス に掲載する図は、新規に収集して、病理診断 された症例(図)を優先的に用い、典型的病 変に関しては豚や牛の図を用いて質の高いも のにした。表題「ジビエのカラーアトラスあ ぶない異常・気をつける異常」、A4サイズ、 両面印刷、約60ページの小冊子を作製し た。農水省企画のジビエハンター養成講習会 で配布、解説、意見を聴取し、高評価を受け

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

本研究では、野生鳥獣肉処理施設における一連の解体処理工程で起こりうる微生物汚染防止を目的として、①わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された鹿、ならびに猪枝肉の枝肉拭き取り調査、②野生鳥獣肉処理工程において想定される細菌汚染源の細菌叢解析、および③野生鳥獣熟成肉の衛生評価について実施した。

①については、施設毎に異なる手法を用いて解体処理を行うわが国の状況を鑑み、それぞれの処理方法で処理された枝肉の衛生指標細菌数を評価し、より衛生的な解体処理方法を考察した。鹿30施設、猪20施設でそれぞれ処理された洗浄前の鹿枝肉249検体、おび猪枝肉計129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)屋外施設、2)「剥皮」→「内臓摘出」の作業順別で、3)ウィンチでの剝皮(鹿)、4)のせ台での剝皮(猪)、5)食道結紮未実

施、ビニル被せ、6) 肛門結紮未実施の各条件で処理された枝肉は、いずれも一般細菌が高度に検出される傾向が認められた。

②については、わが国の野生鳥獣肉処理施設 A、Bで処理された鹿計 3 頭について、各処理工程における作業者、器具、と体等から拭き取りを行い、細菌叢解析を実施した。その結果、①枝肉の細菌叢と類似した特定の細菌叢はない検体や、内臓摘出後の作業者の手指やナイフから検出された細菌叢と類似する検体が認められた。②枝肉洗浄前後ではほとんど細菌叢に変化がないこと、③枝肉を汚染した細菌叢の多くは土壌に由来することが明らかとなった。

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ものにおい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。わが国の野生鳥獣肉処理施設 A、B、Cで処理された鹿各 10 頭、計 30 頭の熟成前後の枝肉について細菌叢解析を実施した。その結果、1) 熟成前に比べ、熟成後では細菌叢の多様性が低下した。2) 多くの熟成後の検体で Pseudomonadaceae が最優占菌種となった。3) 熟成後の検体の多くは、低温腐敗細菌の占有率が高くなることが確認された。

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

野生カモ等の盲腸内容物、直腸スワブ、可食部表皮等を用いての培養試験によって、カンピロバクター等病原細菌の分布状況を定性的・定量的に把握し、野生カモの盲腸内容やにおける高頻度・高濃度のカンピロバクター保有を確認した。捕獲・解体時において、特に腸管(盲腸)内容物を精肉から隔離できると全な取り扱いを行うことにより、カンピロバクター等病原細菌の汚染リスクは軽減できると考えられる。さらに、野生カモ肉に接種したカンピロバクターは、低温加熱調理条件(65°C/15分・63°C/30分)での加熱後、非検出となったことを確認し、野生カモ肉表皮表面に菌が付着、または肉内部に菌が混入し

ても、低温加熱調理条件で確実に加熱することにより菌は死滅し、カンピロバクター食中 毒リスクは軽減できることを確認した。

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) 国内の野生動物が保有するE型肝炎ウイルスの遺伝子ライブラリーが充実してきた。まだまだ不完全ではあるが、遺伝子ライブラリーを充実させることにより、野生動物由来E型肝炎の発生の原因究明の際に有用なツールとなることが期待される
- 2) SFTS ウイルスはイノシシやシカではあまりウイルス血症になっていない可能性がある。解体・調理の際に野生鳥獣の血液を介した SFTS ウイルス感染のリスクは低いのかもしれない。しかし、他の病原体の感染リスクはあるので依然として注意が必要である。
- 3) SARS-CoV-2 は国内の野生動物ではあまり 感染していないようである。現在のとこ ろ、SARS-CoV-2 の野生動物への感染のリ スクは低いと考えてよい。
- 4) E型肝炎と SFTS に感染するリスクが高い 狩猟者や野生獣肉関係者にむけて簡単な Fact Sheet と対策をまとめた。機会があ るたびに紹介していきたい。
- 5) 本研究班の成果を、様々な人を対象に、 シンポジウム・講演会・研修会を通じて 紹介した。

②野生鳥獣が保有する食中毒細菌の汚染状況 と薬剤耐性に関する研究

1) 黄色ブドウ球菌によるリスクについて

分離を実施した3年間を通して、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った(表1)。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。また、市街地のシカ糞便からは高率に分離されることが示唆された。狩猟等で捕獲されたシカ糞便由来株の多くは、後述の通りこれまでに報告のないST型であった。すなわち、市街地に生息するシカは他の温血動物に由来する株を

保菌する可能性がある。

2022 年までの分離菌株 53 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。すなわち、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 (図3)。このことは、本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を示してい る。また、この優占クローン属する ST1250、 ST6238, ST8074, ST8077, ST8078, ST8080 Ø 黄色ブドウ球菌株はシカ糞便及びシカ肉検体 の両者から分離された(図3)。これは、処理 工程における流通食肉への糞便汚染を示唆す る結果である。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並びに施設Fにおいて特に高い分離率 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 りかつ大腸菌も検出された。このような衛生 指標細菌の汚染率が黄色ブドウ球菌の分離率 と高い相関性があったこと、また、異なる時 期にサンプリングしたシカ肉において高率に 分離される傾向にあったことなどから、本施 設では、処理工程における継続的な糞便汚染 が生じていることを強く支持している。この ような施設では、解体・加工処理工程を見直 す必要があると考えられる。

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53株中17株分離され た (表 4)。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 SEs 遺伝子 (sei, sem, sen, seo, selu) のみを保有し 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、古典的 SEs (SEA~SEE) と比 較して食中毒の原因毒素として報告されるこ とが少ない。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 (遺伝子 型: 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、それぞれ 4.97 ± 0.68 μ g/ml 及び 180.27 ± 14.98 ng/ml であり(図 3B)、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った(Suzuki et al., J appl Microbiol. 118:1507-1520, 2015.; Sato' o et al. Appl Environ Microbiol. 81:7782-7790, 2015.)。以上のことから、この菌株による食中毒リスクは存在すると考えられる。

黄色ブドウ球菌が保有す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')-laを同定した(表 4)。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られるため、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、本研究期間を通して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メチシリン(バンコマイシン)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

3年間を通してCREの分離を試みたが、1 株も分離されなかった。このことは、ヒトの 臨床現場で大きな問題になっているCREが野 生鳥獣の環境には拡散していないことを強く 示唆している。

一方で、表2に示す通り、セフォタキシム (CTX) に耐性を示し基質特異性拡張型 β -ラ クタマーゼ (ESBL) 産生菌だと疑われる株 が、3年間の合計で、シカ糞便535検体中14 検体から分離され、陽性率は2.6%であった (なお、各年の陽性率は順に3.8%、2.6%、 1.2%であった)。また、同期間に日本各地で 採取したイノシシ糞便178検体中23検体か ら CTX 耐性腸内細菌目細菌が分離され、陽性 率は12.9%であった(なお、各年の陽性率は 順に20.0%、4.3%、13.1%であった)。さら に、シカ肉検体 42 検体中 1 検体から分離さ れ、陽性率は2.4%であった。検査した年度に より、イノシシ糞便をサンプリングした地域 に偏りが生じたため、分離率に多少の増減が あったが、3年間を通してシカ糞便よりイノ シシ糞便から高率に分離された。これは、雑

食性のイノシシの方が薬剤耐性腸内細菌科細菌を食餌性に接種する機会が多いためであると考えられる。また、全ての分離菌株がセフタジジム及びカルバペネム系薬剤以外のβラクタム剤に耐性を示し、その内3株

(CB21D158、EH22D99 及び et23DM26) 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(表 3)。

ゲノム解析の結果、2022年までに分離され た CTX 耐性腸内細菌目細菌 28 株中 26 株の菌 種が Escherichia coli であり、上記の CB21D158 は Citrobacter braakii、EH22D99 は Enterobacter hormaechei であった。CTX 耐性 E. coli 株は分子系統樹解析並びに MLST から大きく3つのクラスターに分類された。 また、これらは少なくとも1種類の β ラク タマーゼ遺伝子を保有し、その多くが blactx-M-15 (46.2%) もしくは bla_{CTX-M-55} (34.6%) を保 有した(図4)。しかし、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。一方で Enterobacter hormaechei であった EH22D99 株は AmpC 型 β ラクタマーゼである $b1a_{ACT-16}$ 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(図4)。

最も分離率の高かった blactx-M-15 は3種類の 遺伝子カセット内に存在し、染色体・プラス ミドどちらにも挿入され得ることが明らかと なった(図5、表6)。いずれのカセットも動 物・環境からの分離例が報告されており、世 界中に広く分布していると考えられる。ま た、今回解析した blactx-M-15 保有プラスミドは いずれも E. coli J53 株に対して接合伝達を 起こさなかった(表 6)。このことは国内野生 動物由来の *b1a*ctx-M-15 保有プラスミドを介した 本遺伝子の伝播は起こりづらいことを示唆し ている。しかし、blactx-M-15はすでに環境中に 広く分布している耐性遺伝子であり、可動性 の遺伝子カセット内に存在することからも、 本プラスミドを介さない伝播様式(例えば、 別のプラスミドあるいは別の可動性遺伝因 子) により広域に拡散している耐性遺伝子で あると推測された。

3) 新規 β ラクタマーゼの機能について

C. braakii CB21D158 株は新規の β ラクタ マーゼ遺伝子を保有していた(図4)。この新 規 β ラクタマーゼは、EC21B42 株が保有する 既報の bla_{CMY-70} と比較して 18 ヵ所のアミノ酸 置換を生じていた (図 6)。本新規 β ラクタ マーゼ遺伝子について形質転換体を用いた機 能解析を行った。pHSG398 空ベクターの形質 転換体と比較して、pHSG398::blanew 形質転 換体のイミペネム、メロペネム、アモキシシ リン、セフタジジムの MIC はすべて上昇して いた。しかし、pHSG398::blanew 形質転換体 はいずれの薬剤に対する MIC も既報の βラ クタマーゼ pHSG398::bla_{cw70} 形質転換体より 低値であった(表7)。このことから、 CB21D158 株が持つ新規 β ラクタマーゼと既 報の blacw-70 では活性が異なり、基質となる β ラクタム薬に違いがある可能性が考えられ た。また、今回はそれぞれの株が保有する上 流配列(すなわち予測プロモーター配列)を 活かした形で、本実験を行った。すなわち、 今回の活性の違いが、上流配列のプロモータ 一活性の違いにより生じた可能性も考えられ 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

旋毛虫食中毒の原因となったクマ肉の喫食前における調理条件と同等となるような条件下で、筋肉(ブタ)に封じた試験感染マウスの筋肉(1g)中の旋毛虫幼虫(Trichinella T9)を75℃・1分間加熱し、本虫の加熱耐性を検討した。温度条件が守られているかは、中心温度を測定して確認した。その結果、加熱処理された旋毛虫幼虫は、マウスへの感染能力を完全に消失していた。調理の現場を想定すれば、「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」という条件で、旋毛虫による食中毒を完全に予防できると考えられた。

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。従って、最近4年間に

2007) より低かった。従って、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ではな く、クマ肉喫食の機会が増加したからと推定 された。

今回の調査では、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。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。

食品衛生法施行規則の一部が2012年12月28日に改正された。その結果、寄生虫も食中毒の病因物質の種別として、食中毒事件票に新たに追加された。寄生虫性食中毒患者の発生状況を的確に把握し、系統的な調査を行い、食品衛生対策のための基礎資料を得ることが目的とされた。しかし、肺吸虫食中毒のように、レセプト解析により患者発生が確認されたのに、食中毒統計には、その患者が収載されていない例も多い。患者を診断した医師が食品衛生法・第58条を順守せず、保健所に「食中毒患者等届出票」を提出していなかったことになる。

事例が見付かれば積極的に届け出て、食中毒統計に収載する必要がある。それと並行してレセプトデータの抽出を継続し、食中毒事例の存在を明らかにすることも必要であろう。ジビエ生食に起因する寄生虫感染のリスク低減に繋がる有効な手段になろうと考えられるからである。

4)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、紅斑熱群リケッチアでは抗体が交叉反応するため野生動物の保有種の特定は困難である。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が明らかになっていることから野生動物の単回検査からないることから野生動物の単回検査がでは菌種や株により抗原性に大きな差があることから抗体検査そのものが国内では普及してはから抗体検査その感染症においてはPCR検査が一般に普及し、現在では人での急性期にお

ける診断にも用いられている。本研究で行った野生動物やマダニにおけるこれら細菌遺伝子の検出率をみると、野生動物を扱う人々の作業にはは大きな危険が伴っ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、低病原性あるいは非病原性の近縁種が多く存在し、これらが同時に検出されていることを理解する必要があることが示された。

アナプラズマについては、ヤクシカが高率に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。過去に当研究室で同じ方法で調査した九州・中国地方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。ヤクシカから検出されたアナプラ ズマの特徴は、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。また、いず れの配列も日本、中国、韓国で検出された配 列と相同性が高く、この地域に固有の種であ る可能性が考えられた。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、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の検出報告があった が病原性は不明瞭であった。しかし、マダニ 媒介性感染症症が疑われつつ確定診断に至ら なかった症例からレトロスペクティヴに A. capra が検出され、人に病原性を示すことが 報告された。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。

本研究では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。日本紅斑熱とつつが虫病の患者報告が多い地域で採材していることから、興味深い結果である。

アナグマの血液からマダニ共生菌と考えられる配列が検出されたが、同一個体の脾臓からは検出されなかった。リケッチアは経験的に血液よりも脾臓からの検出率が高いことが知られており、アナプラズマも同様に考えている。本研究ではアナグマ個体に吸着してい

たマダニは調べることができなかったが、体内に注入されたマダニ共生菌が殺菌・排除される過程に一時的に血液中に存在したのかもしれない。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。人でもマダニ刺咬と基礎疾患など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。マダニ共生菌である *Coxiella* spp. は比較的新しく存在が認められ、その抗原性は *C. burnetii* と交叉する可能性が高く、Q 熱の疫学情報を難しくしていると考えている。

④異常個体の病理組織学的検索とカラーアト ラスの充実

検体提供者や、講習会参加者と、病変に関する意見交換を行ったところ、日常的に作業の現場で、動物や内臓に違和感を感じる機会が多々あるが、判断できず、そのまま廃棄した、あるいは、問い合わせ先(相談窓口)があったら良いと思うことがあるなどとの意見を聞いた。今回のカラーアトラスは、そのようなときに利用できると好評であった。

⑤処理施設における解体処理工程での微生物 汚染防止に関する研究

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

全国的な野生鳥獣肉処理施設を対象とした検討により、衛生状態(特に一般細菌数の汚染)に影響を及ぼす因子として、1)屋外施設、2)工程順:剝皮→内臓摘出の順、3)剝皮方法:ウィンチ、4)剝皮施設:のせ台、5)食道結紮・肛門結紮:未実施、においてそれぞれ高度に一般細菌数の汚染が認められた(表8)。

工程順では、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可能性が考えられた。

剥皮方法別では、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た。

剝皮施設別では、のせ台を使用して剥皮する施設では、懸吊して剥皮を行う場合に比べ、作業中に汚染した手指や表皮などを介してより高頻度に枝肉に細菌が汚染する可能性が考えられた。

食道結紮の方法別ではビニル袋で覆う方法では結紮のみと比べ、多くの一般細菌数が検出された。鹿では食道結紮後断端をビニル袋で覆うことがかえって汚染リスクとなる可能性が考えられた。ビニル袋を被せるために食道を切断する行為や、結紮をしないことで、内容物が露出することが汚染リスクとして考えられる。食道結紮は結紮のみに留めることがより衛生的な取り扱いであると考えられた。

一方、肛門結紮については、ビニル袋で覆うことで、結紮未実施の施設に比べ有意に一般細菌数の低下が認められた事から、肛門結紮の細菌汚染防止効果が確認された。

本研究により、最終的に枝肉に汚染する細 菌叢は、施設毎に異なる一方、両施設で共通 して、① Alcaligenaceae (科)、② Stenotrophomonas、は占有率が高く検出され ることが明らかとなった。Alcaligenaceae科 の細菌は、土壌、水中、動物の腸内等に生息 していることから、これらの環境から汚染し たものと考えられた(表7,8,9)。さらに低 温細菌である事から、汚染された場合には、 冷蔵保存しても増殖してしまう可能性があ る。Stenotrophomonasもまた、腸内、土壌、 植物などから由来する。さらにこれらの細菌 は一連の作業工程中からも検出されることか ら、一連の作業工程において、土壌、糞便等 による汚染は、一般的に起こるものと考えら れた。

Pseudomonas は、特に施設 C の 1 回目において、高い(47.368%)占有率を占めていた。本菌もまた、土壌や水中、腸管等、様々な環境から由来すると考えられるが、特に、低温細菌であり、腐敗細菌として重要である。令

和元年、および2年度の厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理のための研究」において、我々は、

Pseudomonas が鹿枝肉から検出され、さらに熟成後に高度に検出されることを報告した。以上の成績から、野生鳥獣肉処理施設において、最も注意を要する危惧すべき細菌の一つであると考えられた。今後、さらに同菌による枝肉への影響やさらなる疫学的調査を継続する必要がある。

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

施設 C における 1 回目に実施した検体で は、枝肉洗浄後の胸部、肛門周囲部の細菌叢 は特に内臓摘出後の作業者手指やナイフの細 菌叢と比較的類似していることが明らかにな ったことから、内臓摘出時において、作業者 の手指やナイフから枝肉を汚染した可能性が 考えられた。一方その他の施設、回では、洗 浄後の枝肉の細菌叢と特に類似した細菌叢を 示すものはなかった。しかしながら、細菌叢 を構成する細菌は一連の作業工程で採取され た検体のほぼ全てから検出されていることか ら、改めて、各工程における様々な細菌汚染 源からの汚染に留意する必要がある。令和2 年度の厚生労働科学研究費補助金(食品の安 全確保推進研究事業)「野生鳥獣由来食肉の 安全性の確保とリスク管理のための研究」に おいて、我々は、一連の処理工程において、 細菌汚染源と考えられるものとして、蹄、表 皮、胃内要物、肛門周囲部は多くの一般細菌 や大腸菌が検出されることを明らかにした。 また、表皮洗浄前に比べ、表皮洗浄後では、 各箇所において、一般細菌数、大腸菌数の著 しい減少が認められたことから、鹿や猪の解 体処理施設への搬入前に、十分な洗浄を行う ことの重要性が、改めて示された。各作業中 の汚染ごとの温湯消毒、ならびに手指洗浄が 重要であることが確認された。

本研究では、枝肉洗浄後の枝肉から病原性 細菌を含む可能性のある細菌属として、一部 の検体から、Escherichia/Shige11aが検出さ れたが、その他は検出されなかった。しかし ながら、一連の作業工程中の各種検体から、 Listeria、Yersinia、および Staphylococcus が検出されている。我々は、これまでに Listeria は市販鹿肉からも検出されること (未発表データ)、Yersinia は鹿、猪の75% 以上の糞便から分離されること(Takahashi ら、2020)を報告している。さらに、わが国 の野生鹿、猪には0157を含む腸管出血性大 腸菌も高度に保菌されていることも報告 (Moritaら、2021、Kabeyaら、2017) して いる。今後、鹿や猪の糞便には、これら病原 細菌が汚染していることを理解し、一連の食 肉処理工程における細菌汚染防止のため、衛 生的な処理方法を啓蒙していく必要がある。

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 E 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°CFU/g、熟成後で 8.3×10°CFU/g と 103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 E 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 C、D 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 $(1\sim3$ °C) 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 D に おいては熟成前後共に全く検出されず、施設 C、E では大腸菌数が有意(x0.05)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 C 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 🏗 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 0157 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 0157、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 0157 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 0157 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 0157 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 $(1\sim3^{\circ})$ 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 C 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販売施設 b,cにおいて 0~2.8x10² 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、販売施設 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、販売施設 a で、熟成を行なっていない施設では、販売施 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、特に販売施設 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。販売施 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、販売 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、本菌は販

売施設 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、当該販売施設 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。

③-3 熟成肉の細菌叢解析による衛生評価

熟成前の枝肉には、主に土壌由来と考えられる Pseudomonanaceae, Moraxellaceae, Microbacteriaceae、 Bacillaceae が多く検出されたことから、剝皮等の食肉処理工程において土壌由来の細菌に汚染されたことが考えられる。一方、Lactobacillaceae,

Lachnospiraceae, Camobacteriaceae といった乳酸菌も検出されたことから、熟成によりこれらの乳酸菌の増殖が期待された。また、施設毎に熟成期間中に増殖した菌が異なっていた。施設 C では Pseudomonanaceae、

Moraxellaceae といった低温腐敗細菌が優占種となっていたことから、熟成期間中に腐敗が進んでいる可能性が示唆された。一方施設Eでも同様に、Pseudomonanaceae、

Moraxellaceae といった低温腐敗細菌が優占種となっていた枝肉に加え、一部には Camobacteriaceae を優占種とする検体も認められことから、乳酸菌が増殖していることが示唆され、枝肉毎に大きく異なる結果となった。今後、Pseudomonanaceae、

Moraxellaceae の増殖は抑え、各種乳酸菌の増殖を促進する熟成方法の確立が必要であると考えられた。

⑥食品製造や調理段階における食品リスクの 軽減に関する研究

野生カモの盲腸内容物における高頻度およ び高濃度のカンピロバクター保有を確認し、 腸管はカモ肉のカンピロバクターの汚染源と して重要であると言えた。捕獲・解体時にお いて、特に腸管(盲腸)内容物を精肉から隔 離できる安全な取り扱いを行うことにより、 カンピロバクター汚染リスクは軽減できるこ とが示唆された。また、今回の検討では、表 皮からのカンピロバクター検出が数試料から 確認されたことから、今後、精肉へのカンピ ロバクター付着に関連性が深い解体工程等に ついての調査が必要であると考えられた。さ らに、本研究によって明らかとなった菌の分 布状況から、カモ種または捕獲地等のカモの 生態に関わる要因が、腸管内でのカンピロバ クター陽性率に影響する可能性が考えられ、 今後検討数を増やし詳細な解析が必要であ る。

本研究の結果から、野生カモ肉表皮表面に 菌が付着しても低温加熱調理条件で確実に加 熱することにより菌は死滅し、カンピロバク ター食中毒リスクは軽減できることが確認で きた。

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

E型肝炎による食中毒事例は潜伏期が長いため原因究明が難しい。また、豚肉による感染も多く、野生鳥獣肉から感染したかどうか区別が難しい。そこで、野生獣が保有するE型肝炎ウイルスの遺伝子ライブラリーを作成し、地域の野生動物由来かどうかを遺伝子解析から推測できることを目標にして、今後も遺伝子ライブラリーの構築を目指す必要がある。

イノシシが保有するE型肝炎ウイルスのリスクを明らかにすることができた。幼獣のイノシシがリスクが特に高いことを明らかにしてきた。一方、シカはほとんどリスクがないことも明らかとなった。SFTSに関してはイノシシやシカに高率に感染していることが明らかとなったが、血液にウイルスがほとんど存在していないことから食用される筋肉から感染するリスクは低いのかもしれない。

一方、E型肝炎に関しては解体時に感染する可能性、SFTFに関しては狩猟時や解体時にマダニから感染する可能性が高い。安全な狩猟や解体を行うために狩猟者及び野生獣肉取扱者に十分な対策が必要である。

感染するリスクが高い狩猟者や野生獣肉関係 者向けの感染対策のための資料を作成した。 今後はこれを普及していきたい。

ジビエ振興が進んでいるが、安全に消費する ためにも、狩猟段階からきちんと対策をとる 必要がある。そのために、講演や研修会等で 情報提供を行った。今後も継続する必要があ 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) 黄色ブドウ球菌の分離は、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 率が高いことが示唆された。

- 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シカ肉への糞便汚染が疑われた。また、シカ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っており、顕著に分離率の高い施設が複数存在した。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いることから、糞便汚染を強く支持していると考えられる。
- 4) 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、現時点での分離黄色ブド ウ球菌株の多くは、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。しかし分離菌株の中には、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 する株も存在したため、継続的なモニタリン グが必要である。
- 5) 3年間の研究機関を通して CRE は分離されなかったことから、野生鳥獣が生息する環境には CRE が拡散していないことが示唆された。また、CTX 耐性腸内細菌目細菌は分離率に多少の増減があったが、3年間を通してシカ糞便よりイノシシ糞便から高率に分離された。これは、雑食性のイノシシの方が薬剤耐性腸内細菌科細菌を食餌性に接種する機会が多いためであると考えられる。
- 6) CTX 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、主に環境中に広く分布している bIa 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。
- 7) CTX 耐性菌が保有する β ラクタマーゼ遺伝 子のうち、最も分離率の高かった blactx-M-15 は 3種類の遺伝子カセット内に存在し、染色 体・プラスミドどちらにも挿入され得ること が明らかとなった。いずれのカセットも動 物・環境からの分離例が報告されており、世 界中に広く分布していると考えられる。ま た、今回解析した blactx-M-15 保有プラスミドは いずれも E. coli J53 株に対して接合伝達を 起こさなかった。すなわち本プラスミドを介 した blactx-M-15 遺伝子の伝播は起こりづらいと 考えられるが、*bla*_{CIX-M-15}遺伝子はすでに国内 外の環境中に広く分布しており、可動性の遺 伝子カセット内に存在することからも、本プ ラスミドを介さない伝播様式により広域に拡 散している耐性遺伝子であると推測された。 8) ゲノム解析により、新規βラクタマーゼ 遺伝子を同定した。pHSG398::b1anew 形質転換 体のイミペネム、メロペネム、アモキシシリ ン、セフタジジムに対する MIC はすべて上昇 していた。しかし、これらのMICは、既報の β ラクタマーゼ pHSG398:: b1a_{CM70} 形質転換体 より低値であった。このことから、新規βラ クタマーゼと既報の bla_{CMY-70} では基質となる βラクタム薬に違いがある可能性が考えられ た。また、今回はそれぞれの株が保有する上 流配列(すなわち予測プロモーター配列)を 活かした実験系であったことから、上流配列 のプロモーター活性の違いにより生じた可能 性も考えられたため、今後さらなる検証が必 要である。
- 9) 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、日常的に基本的な感染対策を徹底する必要がある。

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。

本研究で高率に検出された A. capra と考えられるアナプラズマ科細菌を含めて、病原性を含む性状解析を行うために分離株を得る必要がある。

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

調理の現場を想定した実験系を構築して筋肉内の旋毛虫(Trichinella T9)を 75 \mathbb{C} ・1 分間加熱したところ、マウスへの感染性が完全に消失した。

北海道および北東北3県で捕獲されたクマ 353頭の舌検体を検査した結果、北海道の6 頭および岩手県の1頭から旋毛虫

Trichinella T9 の幼虫が検出された。秋田県のイノシシも調べたが陰性であった。

旋毛虫症、肺吸虫症、マンソン孤虫症という3種類の寄生虫性食中毒を例として取り上げ、その発生状況について、2016年以降の食中毒統計に収載されている事例数とレセプト解析に基づく事例数を調べて比較した。特に肺吸虫食中毒では、レセプトデータベース検索で毎年事例が検出されたが、食中毒統計への収載がなかった。ジビエ喫食による寄生虫性食中毒は希少疾患であり、発生実態の解明にはレセプトデータベースの活用も、一つの手段として有効であると考えられた。

④異常個体の病理組織学的検索とカラーアト ラスの充実

作業に当たるヒトおよび、ジビエ製品を消費 するヒトに健康被害がないように、的確にリ スクを排除する必要があり、カラーアトラス のさらなる充実が望まれ、普及に力を注ぐべ きである。

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. 屋外施設、工程順:剝皮→内臓摘出の順、 剝皮方法:ウィンチ、剝皮施設:のせ台、 食道結紮・肛門結紮:未実施、においてそ れぞれ高度に一般細菌数の汚染が認められ た。
- 2. 2) 解体処理された直後の枝肉では土壌中、水中、動物の腸内に生息する Alcaligenaceae (科)、Stenotrophomonas が占有率が高く検出された。
- 3. 一部の検体では、枝肉の細菌叢と内臓摘出 時における作業者手指、ナイフの細菌叢が 類似したことから、同工程における作業者

- 手指、ナイフから枝肉への細菌汚染が発生 した可能性が考えられた。
- 4. 一連の工程ならびに枝肉洗浄後の検体の一部から病原細菌として、
 Escherichia/Shigella、
 Escherichia/Shigella、Listeria、
 Yersinia、および Staphylococcus が、低温細菌、腐敗細菌である Pseudomonas がそれぞれ検出された。
- 5. 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。
- 6. 一部の施設では、熟成により
 Pseudomonanaceae、Moraxellaceae といっ
 た低温腐敗細菌が増殖している可能性が示
 唆された。

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

野生カモ等の盲腸内容物、直腸スワブ、可 食部表皮等を用いての培養試験によって、カ ンピロバクター等病原細菌の分布状況を定性 的・定量的に把握し、野生カモの盲腸内容物 における高頻度・高濃度のカンピロバクター 保有を確認した。捕獲・解体時において、特 に腸管(盲腸)内容物を精肉から隔離できる 安全な取り扱いを行うことにより、カンピロ バクター等病原細菌の汚染リスクは軽減でき ると考えられる。さらに、野生カモ肉に接種 したカンピロバクターは、低温加熱調理条件 (65℃/15分・63℃/30分)での加熱後、非 検出となったことを確認し、野生カモ肉表皮 表面に菌が付着、または肉内部に菌が混入し ても、低温加熱調理条件で確実に加熱するこ とにより菌は死滅し、カンピロバクター食中 毒リスクは軽減できることを確認した。

- F. 研究発表
- 1. 論文発表
- 1. Kobayashi D, Inoue Y, Suzuki R,
 Matsuda M, Shimoda H, Faizah AN,
 Kaku Y, Ishijima K, Kuroda Y,
 Tatemoto K, Virhuez-Mendoza M,
 Harada M, Nishino A, Inumaru M,
 Yonemitsu K, Kuwata R, Takano A,
 Watanabe M, Higa Y, Sawabe K, Maeda

- K, Isawa H. Identification and epidemiological study of an uncultured flavivirus from ticks using viral metagenomics and pseudoinfectious viral particles. Proc Natl Acad Sci U S A. 2024 May 7;121(19):e2319400121.
- 2. Zhang W, Mendoza MV, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Maeda K, Li T. Low Replication Efficiency of a Japanese Rabbit Hepatitis E Virus Strain in the Human Hepatocarcinoma Cell Line PLC/PRF/5. Viruses. 2023 Jun 5;15(6):1322.
- 3. 髙井伸二、鈴木康規、壁谷英則、安藤匡子、入江隆夫、山崎朗子、宇根有美、杉山広、朝倉宏、前田 健「我が国における野生獣肉のペットフード利活用の現状と課題」(総説)日獣会誌 76 e213~e225 (2023)
- 4. 高野 愛、前田 健「感染を媒介する代表的な節足動物―ダニ」日本医師会雑誌 2023年7月号原稿152(4):375-378
- 5. 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
- 6. 前田 健「SFTS」月刊「CAP」2023 年 4 月号特集企画書 38 巻第 4 号 p28-p33
- 7. 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
- 8. Satoshi Morita, Shingo Sato, Soichi Maruyama, Asuka Miyagawa, Kiriko Nakamura, Mizuki Nakamura, Hiroshi Asakura, Hiromu Sugiyama, Shinji Takai, Ken Maeda, Hidenori Kabeya, Prevalence and whole-genome sequence analysis of *Campylobacter* spp. strains isolated from wild deer and boar in Japan, Comp Immunol Microbiol Infect Dis;82:101766. doi: 10.1016/j.cimid.2022.101766. 2022

- 9. Kei Nabeshima, Shingo Sato, R Jory Brinkerhoff, Murasaki Amano, Hidenori Kabeya, Takuya Itou, Soichi Maruyama, Prevalence and Genetic Diversity of *Bartonella* Spp. in Northern Bats (*Eptesicus nilssonii*) and Their Blood-Sucking Ectoparasites in Hokkaido, Japan, Microb Ecol, doi: 10.1007/s00248-021-01935-0. 2022.
- 10. Satoshi Morita, Shingo Sato, Soichi Maruyama, Mariko Nagasaka, Kou Murakami, Kazuya Inada, Masako Uchiumi, Eiji Yokoyama, Hiroshi Asakura, Hiromu Sugiyama, Shinji Takai, Ken Maeda, Hidenori Kabeya, Whole-genome sequence analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* 0157 strains isolated from wild deer and boar in Japan, J Vet Med Sci.;83(12):1860-1868. 2021.
- 11. 壁谷英則 野生鳥獣由来食肉の安全性確 保に資する研究 獣医公衆衛生研究 26-2 (2024.3)、9-14
- 12. <u>杉山</u> <u>広</u>, 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.
- 13. Murakami M, Tokiwa T, Sugiyama H, Shiroyama M, Morishima M, Watanabe S, Sasamori T, Kondo M, Mano T, Tsuruga H. *Trichinella* T9 in wild bears in Japan: Prevalence, species/genotype identification, and public health implications. Inter J Parasitol: Parasites Wildl 21, 264-268. 2023
- 14. Morita S, Sato S, Maruyama S,
 Nagasaka M, Murakami K, Inada K,
 Uchiumi M, Yokoyama E, Asakura H,
 Sugiyama H, <u>Takai S</u>, Maeda K, Kabeya
 H. (2021). Whole-genome sequence
 analysis of Shiga toxin-producing
 Escherichia coli 0157 strains
 isolated from wild deer and boar in
 Japan. J Vet Med Sci. 83:1860-1868.
- 15. Morita S, Sato S, Maruyama S,

- Miyagawa A, Nakamura K, Nakamura M, Asakura H, Sugiyama H, <u>Takai S</u>, Maeda K, Kabeya H. (2022). 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.
- 16. <u>高井伸二</u>, 斑目広郎, 佐々木由香子, <u>鈴</u>木康規, 角田 勤. (2021). 家畜・伴侶動物・野生動物のロドコッカス・エクイ感染症. 日獣会誌. 74:695-706.
- 17. <u>高井伸二</u>. (2021). わが国における野生動物と家畜伝染病,家畜衛生学雑誌. 47:53-62.
- 18. <u>鈴木康規</u>. (2022). ブドウ球菌食中毒に 関する最近の動向とその検査法. 臨床検 査. 66:64-72.
- 19. <u>Takai S</u>. (2022). Guidelines on the hygienic management of wild meat in Japan. Meat Sci. 191:108864.
- 20. Suzuki, Y., Ishitsuka, T., Takagi, M., Sasaki, Y., Kakuda, T., Kobayashi, K., Kubota, H., Ono, H.K., Kabeya, H., Irie, T., Andoh, M., Asakura, H., and Takai, S. (2024). Isolation and genetic characterization of Staphylococcus aureus from wild animal feces and game meats. Folia Microbiol. 69:347-360.
- 21. Galay R, Llaneta CR, Faye Monreal MK, Armero A, Baluyut AB, Regino CM, Sandalo KA, Vidina B, Talactac M, Tapawan L, Mojares MC, Alvarez C, Mago E, Encarnacion N, Andoh M, Tanaka T. Molecular prevalence of Anaplasma marginale and Ehrlichia in domestic large ruminants and Rhipicephalus (Boophilus) microplus ticks from southern Luzon, Philippines. Front Vet Sci.8: 746705, 2021
- 22. 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.
- 23. Gotoh Y, Takano A, Andoh M, Kasama K, Nakamura K, Ando S, Hayashi T. Phylogenic position and low genomic diversity of "Candidatus Rickettsia kotlanii" inferred by complete genome sequences of two Japanese isolates. Microbiol Immunol. 67(6): 275-280, 2023
- 24. Suzuki Y, Ishitsuka T, Takagi M, Sasaki Y, Kakuda T, Kobayashi K, Kubota H, Ono HK, Kabeya H, Irie T, Andoh M, Asakura H, Takai S. Isolation and genetic characterization of *Staphylococcus aureus* from wild animal feces and game meats. *Folia Microbiol*. 69(2):347-360, 2024.

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

- 前田 健「新興感染症のワンヘルスアプローチ」第113回日本病理学会総会 シンポジウム1「新興感染症」名古屋国際会議場第一会場 3月28日8:40-10:40
- 前田 健「動物由来感染症の現状」ペストコントロールフォーラム千葉大会 特別講演開催日時:2024 年2月8日
- 3. 前田 健「人獣共通感染症:ワンヘルス の視点から」令和5年度第41回日本獣 医師会獣医学術学会年次大会ーシンポジ ウム「ワンヘルスの架け橋:日本とアジ アにおける人獣共通感染症と教育の展 望」2023年12月3日
- 4. 前田 健「野生動物が媒介する人獣共通 感染症」日本学術会議公開シンポジウム 「One Health 野生動物にかかわる諸問 題と獣医学」令和5年7月29日
- 5. 前田 健「動物由来感染症と One Health アプローチ」第 32 回感染研シンポジウム「One Health アプローチ始動中→連携 強化に向けてー」 2023 年 5 月 22 日

- 6. 前田 健「日本国内のマダニから検出されるウイルス」第97回日本感染症学会学術講演会 シンポジウム7「ダニ媒介感染症の最近の話題」2023年4月28日
- 7. 松鵜 彩、立本完吾、石嶋慧多、西野綾 乃、前田 健「動物における 0z ウイル スに対する抗体保有状況についての調 査」第 23 回人と動物の共通感染症研究 会学術集会 2023 年 10 月 28 日
- 8. 立本 完吾、石嶋 慧多、朴 ウンシル、 平良 雅克、松鵜 彩、黒田 雄大、 Milagros Virhuez Mendoza、井上 雄 介、原田 倫子、西野 綾乃、山本 つか さ、土井 寛大、森嶋 佳織、小峰 浩 隆、亘 悠哉、島田 卓哉、鈴木 和男、 前田 健「野生動物の重症熱性血小板減 少症候群ウイルスの感染状況:動物種間 比較」第70回日本ウイルス学会学術集 会、2023年9月26日
- 9. 松鵜彩、立本完吾、石嶋慧多、西野綾 乃、前田健「動物における 0z ウイルス の感染状況調査」第 5 回 SFTS 研究会・ 学術集会、宮崎大学、2023 年 9 月 2 日
- 10. 武石 真音、鍬田 龍星、下田 宙、伊澤 晴彦、前田 健、森川 茂、吉川 泰弘 「ニホンジカ Cervus nippon 由来培養細 胞の樹立と性状解析」第 5 回 SFTS 研究 会・学術集会、宮崎大学、2023 年 9 月 2 日
- 11. 武石真音、鍬田龍星、下田宙、伊澤晴 彦、前田健、森川茂、吉川泰弘「ニホン ジカ Cervus nippon 由来培養細胞の樹立 と性状解析」日本獣医学会学術集会 WEB
- 12. 井上雄介、小林大介、田島茂、松田麻 未、石嶋慧多、黒田雄大、立本完吾、 Milagros Virhuez Mendoza、原田倫子、 西野綾乃、山本つかさ、東英生、瀬戸順 次、下田宙、林昌宏、鈴木亮介、伊澤晴 彦、葛西真治、海老原秀喜、前田健「フ ラビウイルスの血清学的調査に関する再 考」第57回 日本脳炎ウイルス生態学研 究会2023年6月30日 ~ 7月1日,国 内
- 13. 森田 聡志、宮川 明日香、中村 きり こ、中村 水紀、佐藤 真伍、丸山 総 一、壁谷 英則、わが国の鹿、猪におけ

- る Campy lobacter の保菌状況と分離株の 全ゲノムシーケンスによる病原関連遺伝 子の網羅的解析、第 164 回日本獣医学会 学術集会(酪農学園大学, web 開催) 2021
- 14. 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)
- 15. 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
- 16. 大津千尋、山原絹子、鶴見柚葉、山崎晴香、佐藤真伍、丸山総一、壁谷英則 わが国の野生鳥獣肉処理施設および屋外で処理された野生鳥獣肉の衛生評価、令和5年度関東・東京合同地区獣医師大会・三学会(埼玉)2023年9月
- 17. 廣木勇太、有吉夏鈴、青山新、寺橋寛 太、伊藤恭大、妻神理乃、佐藤真伍、丸 山総一、壁谷英則 野生鹿・猪における Campylobacter 属菌および Aliarcobacter 属菌の保菌状況と分離株 の病原関連遺伝子の保有状況、令和5年 度関東・東京合同地区獣医師大会・三学 会(埼玉) 2023年9月
- 18. 廣木勇太、有吉夏鈴、青山新、寺橋寛 太、森田聡志、宮川彩日香、中村きり 子、中村水紀、佐藤真伍、丸山総一、壁 谷英則 わが国の野生鹿・猪における Campylobacterの保菌状況と分離株の病 原性解析 第23回人と動物の共通感染 症研究会学術集会 2023年10月
- 19. 壁谷英則 野生動物におけるカンピロバ クター保菌状況 第 16 回日本カンピロ バクター研究会総会 2023 年 11 月
- 20. 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)
- 21. 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
- 22. <u>鈴木康規、髙井伸二</u>、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(東京)、2022年9月29-30日、講演要旨集ρ72.
- 23. <u>鈴木康規</u>、石塚桃子、高木美羽、久保田寛顕、小林甲斐、壁谷英則、佐々木由香子、角田 勤、<u>高井伸二</u>. 野生獣糞便並びに市場流通シカ肉からのβ ラクタム系抗菌薬耐性腸内細菌目細菌の分離とその特性. 第44回日本食品微生物学会学術総会(大阪) 2023年9月21日-22日、講演要旨集p 26.
- 24. 石塚桃子、<u>鈴木康規</u>、高木美羽、久保田 寛顕、小林甲斐、壁谷英則、小野久弥、 佐々木由香子、角田 勤、<u>高井伸二</u>. 野 生獣糞便並びに市場流通シカ肉からの黄 色ブドウ球菌の分離と分離菌株の特性. 第44回日本食品微生物学会学術総会 (大阪) 2023 年 9 月 21 日-22 日、 講演 要旨集 p 26.
- 25. 安藤匡子, Kwon MyoungHyun, 明石尚美, 本田俊郎. 甑島列島におけるリケッチア感染症のベクター調査. 第73回日本衛生動物学会大会, オンラインライブ開催(鹿児島大学), 2021年4月16~18月
- 26. 池田智行, Kwon MyoungHyun, 明石尚 美,安藤匡子. ヤクシカの大腸菌:食中 毒起因因子と薬剤耐性について. 第9回 屋久島学ソサエティ,オンライン開催, 2021年12月4-5日
- 27. 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、オンラインライブ開催 (麻布大学), 2022 年 9 月 6 日
- 28. 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、 オンラインライブ開催 (麻布大学), 2022 年 9 月 7 日
- 29. 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 LiSE 川崎生命科学・環境研究センター, 2022 年10月14日
- 30. 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,産業医科大学(福岡県北九州市),2022年10月29-30日
- 31. 安藤匡子. 人の感染症大流行(コロナ 禍)とダニ媒介性人獣共通感染症(リケッチア症). 第 13 回日本リケッチア症臨床研究会(特別講演、依頼), 滋賀県立県民交流センター・ピア座淡海, 2023 年 2 月 4-5 日
- 32. 安藤匡子. Q 熱とその起因菌 Coxiella burnetii. 第 97 回日本感染症学会総会・学術講演会・第 71 回日本化学療法学会学術集会合同学会,日本熱帯医学会ジョイントシンポジウム「人獣共通感染症研究の魅力と今後の展望」,パシフォコ横浜(神奈川県),2023 年 4 月 28-30日
- G. 知的財産権の取得状況
- 1. 特許取得なし
- 2. 実用新案登録なし
- 3. その他
- 1. 前田 健「ダニ媒介人獣共通感染症」第 35回日本臨床微生物学会総会・学術集会

- 教育講演 2024年2月9日
- 2. 前田 健「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)の現状等」令和5年度神奈川県 衛生獣医師会研修会,令和6年1月20 日
- 3. 前田 健「SFTS の東京での X デーに備える!」第1回フロンティアワンヘルスネクサスセミナー農工大・東京都獣医師会共同主催「獣医療従事者が知っておくべき SFTS」2023 年12月12日
- 前田 健「One Health アプローチ:動物から学ぶ新興感染症」第2回ワンヘルスネットワークフォーラムセミナー2023年12月2日
- 5. 前田 健「動物由来感染症;ワンヘルス アプローチの重要性」令和5年度地方保 健総合推進事業 地方衛生研究所東海・ 北陸ブロック地域リファレンスセンター 連絡会議 2023年11月21日
- 6. 前田 健「国内発生から10年:明らかになったこと」第44回動物臨床医学会年次大会パネルディスカッション「犬猫のSFTSに立ち向かうための最新情報」場所:大阪国際会議場(グランキューブ大阪)日時:令和5年11月18日
- 7. 前田 健「SFTS 等の最新の動物由来感 染症の発生状況について」令和5年度動 物由来感染症対策技術研修会について令 和5年11月9日 WEB 配信
- 8. 前田 健「ポストコロナのズーノーシス 対策: One Health アプローチ」第 23 回 人と動物の共通感染症研究会 学術集 会 教育講演 2023 年 10 月 28 日
- 9. 前田 健「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)の現状と診断の留意点」令和 5 年度感染症医療従事者研修会相模原協同 病院 2 階多目的ホール令和 5 年 10 月 23 日
- 10. 前田 健「One Health アプローチ―動 物由来感染症を知る―」第 26 回アルボ ースセミナー 2023 年 10 月 19 日
- 11. 前田 健「SFTS 等の最新の動物由来感染症の発生状況について」令和 5 年度動物由来感染症対策技術研修会 HP 掲載 +YouTube 動画配信
- 12. 前田 健「近年話題のマダニ媒介感染症

- ーSFTS、エゾウイルス感染症、オズウイルス感染症等ー」令和5年度「地域保健総合推進事業」全国疫学情報ネットワーク構築会議プログラム令和5年9月25日から10月31日配信
- 13. 前田 健「SFTS の自然宿主の探索」宮崎 県医師獣医師連携セミナー 宮崎県医師 会会館令和5年9月1日
- 14. 前田 健「One Health: SFTS・Mpox な ど」日本ペストコントロール協会 感染 症対策講習会 2023 年 WEB 配信
- 15. 前田 健「SFTS (重症熱性血小板減少症 候群)の脅威とその対策」日本小動物獣 医師会オンラインセミナー令和5年8月 2日
- 16. 前田 健「茨城県にて死亡者から検出されたオズウイルスについて」第4回愛媛 ワンヘルス研究会、2023 年7月1日
- 17. 前田 健「One Health の実践」2023 年 度 短期研修 食肉衛生検査研修 2023 年 6 月 22 日
- 18. 前田 健「マダニが媒介する SFTS について」感染症にかかわる特別講習会、神奈川県ペストコントロール協会、令和 5 年 6 月 13 日
- 19. 宇根 有美 各種の普及方法を検討して、2024年3月農水省企画ジビエハンター養成講習会で配布及び解説して、利用者の意見を聴取した。
- 20. <u>高井伸二</u>「野生鳥獣由来食肉の安全性の 確保とリスク管理」野生鳥獣処理活用技 術者研修会 農林水産省令和3年度利活 用技術育成研修事業 岩手県盛岡市 2021年9月13日.
- 21. <u>高井伸二</u>「野生鳥獣由来食肉の安全性の 確保とリスク管理」野生鳥獣処理活用技 術者研修会 農林水産省令和3年度利活 用技術育成研修事業 島根県浜田市 2021年10月27日.
- 22. <u>高井伸二</u>「野生鳥獣由来食肉の安全性の 確保とリスク管理」野生鳥獣処理活用技 術者研修会 農林水産省令和3年度利活 用技術育成研修事業 Web 開催 2022年 1月22日.
- 23. <u>高井伸二</u>「ジビエと家畜伝染病 ~野生 鳥獣を取り巻く30年~」令和3年度食

- 品安全に係る科学セミナー(第5回)農 林水産省消費・安全局 2022年2月17 日.
- 24. <u>高井伸二</u>「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、広島県安芸高田市、2022 年 9月13日.
- 25. <u>高井伸二</u>「野生鳥獣由来食肉の安全性の 確保とリスク管理」野生鳥獣処理活用技 術者研修会、北海道新冠町、2022 年 10 月 17 日.
- 26. <u>高井伸二</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、宮崎県西米良村、 2022 年 11 月 7 日.
- 27. <u>高井伸二</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、長野県長野市、2022 年 12 月 8 日.
- 28. <u>高井伸二</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)、オンライン、2022年10月3日、10月8日、11月19日、2023年2月18日(計4回)
- 29. <u>高井伸二</u>「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一」特別セミナー伯方島 2023、オンライン、2023年2月19日.
- 30. <u>高井伸二</u>.「ジビエ基礎セミナー」 農 林水産省補助事業 鳥獣被害対策基盤支 援事業(株式会社一成)野生鳥獣処理活 用技術者研修会、兵庫県神戸市、2023 年 8月30日.
- 31. <u>高井伸二</u>. 「野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理:何が重要か」 農

- 林水産省補助事業 鳥獣被害対策基盤支援事業(株式会社一成)野生鳥獣処理活用技術者研修会、京都府京丹波町、2023年9月12-13日.
- 32. <u>高井伸二</u>. 野生鳥獣由来食肉の安全性の確保とリスク管理:何が重要か」 農林水産省補助事業 鳥獣被害対策基盤支援事業(株式会社一成)野生鳥獣処理活用技術者研修会、鹿児島県阿久根市、2023年11月8-9日.
- 33. <u>高井伸二</u> ジビエハンター研修会「衛生管理・疾病」農林水産省補助事業 鳥獣被害対策基盤支援事業 利活用技術者育成研修事業(株式会社一成)、オンライン、2023 年 10 月 20 日.
- 34. <u>高井伸二</u> ジビエハンター研修会「衛生管理・疾病」農林水産省補助事業 鳥獣被害対策基盤支援事業 利活用技術者育成研修事業 (株式会社一成)、オンライン、2023 年 12 月 5 日.
- 35. <u>高井伸二.</u> ジビエハンター研修会「衛生管理・疾病」農林水産省補助事業 鳥獣被害対策基盤支援事業 利活用技術者育成研修事業 (株式会社一成)、オンライン、2024年1月18日.
- 36. <u>高井伸二</u> ジビエハンター研修会「衛生管理・疾病」農林水産省補助事業 鳥獣被害対策基盤支援事業 利活用技術者育成研修事業 (株式会社一成)、オンライン、2024年2月1日.
- 37. 安藤匡子. マダニが関連する人獣共通感 染症. 第 67 回兵庫県公衆衛生獣医師総 会・第 48 回研修会, 兵庫県中央労働センター, 2023 年 10 月 28 日