

令和 6 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)
(総括) 研究報告書

野生鳥獣の食肉利用に関わるリスク分析に資する研究

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	鈴木 康規	(東京農工大学・大学院農学研究院)
研究分担者	入江 隆夫	(宮崎大学・農学部)

研究要旨：

イノシシ・シカを中心とした野生鳥獣の食肉利用に関する総合的なリスク分析を行い、野生鳥獣由来食肉の衛生管理の向上に資する対策を確立することを目標とする。本年度は、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 (SFTS)」、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 (HEV)」、3)「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ける健康被害の軽減に関する研究」、4)「食中毒や健康被害の発生防止対策のための科学的な根拠の提供に関する研究—野生カモおよびその捕獲・解体環境におけるカンピロバクター分布調査—」、5)「現場の実態に対応した HACCP に沿った衛生管理手法の確立に関する研究」、6)「野生鳥獣における食中毒細菌等の病原細菌の汚染状況の把握と病原因子の機能解析に関する研究」、7)「野生動物の保有する寄生虫に関する研究」、8)「イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭の集団遺伝構造の解析」の課題について研究を実施した。

A. 研究目的

近年の野生動物の分布域の拡大・生息数の増加が問題となっており、結果として農業被害等の様々な経済損失が生じている。そのため、野生鳥獣の有害動物としての適正管理が実施され、多くの野生鳥獣が捕獲されている。一方、世界的な人口増加による食資源不足、家畜飼料の価格高騰、高病原性家畜伝染病の流行などにより、国内外の畜産物の安定供給に関しても様々な問題が生じている。そのため、国内で捕獲される野生鳥獣を食肉(有効)利用することは、これら問題解決のための方策の一つとして重要である。しかし、野生動物は生産動物における飼養管理基準のような適正な管理方法が存在せず、自然環境下で生息していることから、動物の育成過程における管理は困難である。そのため、捕獲以降で

の運搬、処理、加工、調理、販売、消費での衛生管理の徹底が重要である。本研究班は、これまで研究成果の蓄積により、国内の野生動物が保有する病原体、その分布などを明らかにし、そのリスク分析を行ってきた。それらの成果は平成 26 年に策定され、その後改定を続けている「野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針(ガイドライン)」としてまとめるに至っている。そのガイドラインに基づいて、平成 30 年食肉処理施設の国産ジビエ認証制度、令和 5 年ジビエハンター育成研修制度が農林水産省より制定され、更には令和元年日本ジビエ振興協会より「小規模なジビエ処理施設向け HACCP の考え方を取り入れた衛生管理のための手引書」が出版された。ガイドライン制定から 10 年が経過するにあたりガイドラインにおける問題点・改善点を再確認する必要がある

ある。更に、野生鳥獣肉の利用範囲は多角化しており、ペットフードや展示動物への“屠体給餌”に利用されている。しかし、高病原性鳥インフルエンザの韓国における猫用ペットフードを介したネコの感染、アジアにおけるトラの感染などが報告されている。餌として与えられた動物が感染することによる飼い主や飼育者への感染も危惧されている。野生鳥獣肉の利用に関する様々なヒトへのリスクを更に総合的に評価する必要がある。

狩猟者は野生動物における異常の発見の最前線に立っている。食肉と直接関連はしていないがイノシシにおける2018年の豚熱の発生、野鳥における高病原性鳥インフルエンザの発生などは、捕獲に関わる狩猟者が一番発見する可能性が高い。動物由来感染症を迅速にかつ正確に把握するために狩猟者に野生動物の異常に関する情報を提供し、情報収集するシステムの必要性がある。また、狩猟者は、野生動物から動物由来感染症に感染するリスクが高く、令和4年度はマダニ感染症で少なくとも3名が死亡している。狩猟者を守るための情報提供も重要である。また、消費者に対して野生鳥獣肉由来の感染症の存在を周知し、加熱や調理順序等の重要性を伝え、消費者自身による対応の重要性を情報提供する必要がある。

本研究班は、これらの課題についてイノシシ・シカを中心とした野生鳥獣の食肉利用に関する総合的なリスク分析を行い、野生鳥獣由来食肉の衛生管理の向上に資する対策を確立することを目標とする。

B. 研究方法

「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)」

2024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。さらに、一部の中部地方のイノシシについて

は、人獣共通感染症である日本脳炎ウイルス及びオーエスキー病ウイルスの抗体調査をそれぞれ中和試験と ELISA 法で実施した。

「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 (HEV)」

1) 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°C1 時間処理した後、15000 回転 4°C30 分間遠心して上清を回収して、ELISA 抗原として用いた。

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

3) HEV 遺伝子検出：血清と糞便の懸濁液から QIAamp Viral RNA Mini Kit か MagMAX ウイルス 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。

「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ける健康被害の軽減に関する研究」

研究期間中一貫して、検体の収集および病変の病理検査を実施して、オリジナリティーのある、質の高い、かつ確定診断された画像を準備する。重要疾患に関しては家畜の疾患写真を用いる。情報提供の媒体としてはカラーアトラスを用いる。カラーアトラスの内容としては、疾病に関する知識が少ない一般人（狩猟者、解体・加工者）

でも理解できるように簡易な表現にして、危険な疾病を認識して的確に排除できるようにする。また、従事者自身が有効な感染症防御対策が取れるようにする。

セミナーや講習会を開催して、アトラスの使い方を説明するとともに、アンケート調査を行い、その結果を解析して、改訂内容に反映させる。

「食中毒や健康被害の発生防止対策のための科学的な根拠の提供に関する研究—野生カモおよびその捕獲・解体環境におけるカンピロバクター分布調査—」

1. 野生カモにおけるカンピロバクターの分布実態の把握

1) 供試検体：国内で令和6年12月から令和7年3月にかけて、北海道および岐阜県（各務ヶ原市地点A、関市地点Bおよび岐阜市地点C）で捕獲された野生のカモ、コガモおよびマガモ計104個体の、盲腸内容物を検討対象として供試した。個体ごとに記録されるカモ種・性別・捕獲地の情報を記録し、表1に集計した。北海道の個体は銃で捕獲、岐阜県の個体は投網で捕獲された。羽抜き未処理の丸と体、カモ解体作業員によって食肉部位のみを採取された頭部や全ての内臓・骨格が傷なく残された体、および研究協力者によって解剖され直腸から盲腸にかけて部分的に採取された腸管の一部、これらの状態のサンプルを譲り受け、4℃で国立衛研実験室に運搬した。丸と体については実験室で羽抜き処理後、直腸から盲腸にかけての腸管の一部を採取した。全てのサンプルは、2本の盲腸のみ切り離し、盲腸の内容物を採取し重量を計測した。全てのサンプルの盲腸内容物採取は安全キャビネット内で無菌的に行われた。

本研究でカモを捕獲した岐阜県内3地点の河川の水中のカンピロバクターの定性的試験を行った。試験した河川の詳細を表2に示した。各地点の河川水を滅菌プラスチックボトルに約1Lずつ採取し、4℃で実験室に運搬した。オートクレーブ滅菌処理したろ過装置を用いて、ポアサイズ22 μLメンブランフィルター1枚につき250 mLの水

を吸引ろ過した。河川1地点につき2枚のろ過フィルターを作製した。

本研究で供試したカモを解体し食肉部位を採取した解体場1施設にて、羽抜き処理済丸と体の洗浄や解体作業に近接した地点の室内壁2カ所・解体に使用したナイフ2カ所・まな板2カ所・解体者の使用したゴム手袋の付着物を採取し、そこでのカンピロバクターの定性的試験を行った。解体場環境の拭き取りは、市販のふき取りキット（ドライスポンジスティック；3M）を用いて10~100 cm²程度の面積を付属のスポンジで拭き、回収袋に入れたプレストンカンピロバクター選択液体培地（プレストン液体培地）{以下をメーカーが公開する処方に従って調合；ニュートリエントブイヨン No. 2 (OXOID)、カンピロバクター発育サプリメント (OXOID)、プレストンカンピロバクター選択サプリメント (OXOID)} 10 mL中にスポンジごと回収した。ゴム手袋は解体作業直後のものをチャック付きビニール袋に入れた。これらの環境サンプルを4℃で実験室に運搬した。拭き取りサンプルは、拭き取られた環境表面付着物を指でプレストン液体培地中によく揉みこみ懸濁し、これを試験液とした。ゴム手袋両手分をストマッカー袋に入れ、プレストン液体培地250 mLを加え、1分間ストマッカー処理し、これを試験液とした。

2) 培養法によるカンピロバクターの定量的試験：1-1)で採取した盲腸内容物試料は、15ml遠沈管に入れたPBSに懸濁した。この際、体格が小さく内容物が少量しか採取されないコガモ用には4 mL、その他カモ種用には9 mLのPBSを使用し、ボルテックスミキサーでよく混合し、これを試験原液とした。これから10⁻²までの段階希釈列を作製した。段階希釈液をCCDA変法培地（mCCDA培地）{以下をメーカーが公開する処方に従って調合；カンピロバクター血液無添加選択寒天基礎培地 (OXOID)、CCDAサプリメント (OXOID)} 平板2枚に100 μLずつ塗抹し、42℃で48±2 hr 微好気条件下で培養した。培養後、形成されたコロニー数を計測し、盲腸内容物1 gあたりの菌数 (cfu/g) を算出した。またコロニーを目視観察し、

コロニーの形態性状で判断した代表的コロニー2つずつ以上をヒツジ血液寒天（ニッスイ）に釣菌し分離培養した。分離株のDNAをアルカリ熱抽出法で粗抽出し、これをテンプレートとして *C. jejuni*、*C. coli* または *C. fetus* 特異的増幅のマルチプレックスPCRを行い、カンピロバクターの種の同定を行った。

3) 培養法によるカンピロバクターの定性的試験：1-2)の方法で菌が非検出となった盲腸内容物サンプルについては、プレストン液体培地 10 mL に、1-2)で作製した試験原液を 100 μ L 加え懸濁後、42°Cで 24 \pm 2 hr、微好気条件下で前培養した。培養後、前培養液の 100 または 500 μ L ずつをそれぞれ 1 枚の mCCDA 平板に塗抹し、42°Cで 48 \pm 2 hr 微好気条件下で培養した。培養後、形成されたコロニーは、2)と同様の方法で分離・同定した。

河川水のろ過によって得られた 1 カ所の河川につき 2 枚のメンブランフィルターは、50mL 遠沈管に入れたプレストン液体培地 10 mL に加えた。カモ解体場で採取したふき取りサンプルおよび解体者使用ゴム手袋の試験液 100 μ L は、50mL 遠沈管に入れたプレストン液体培地 10 mL に加えた。これらは上述の盲腸内容物試験原液と同様の方法で培養し、形成されたコロニーを分離・同定した。

4) カンピロバクター検出陽性率および検出菌数に関する統計解析：IBM SPSS Statistics 27.1 を用いた。カンピロバクター検出陽性/陰性および検出菌数を従属変数とし、カモ種・カモ捕獲地の別・カモ性別を説明変数とした、多項ロジスティック回帰分析または重回帰分析を行った。

5) 分離したカンピロバクター株の薬剤感受性試験：カモ由来株の性質について、カモ捕獲地の環境要因からの影響を検討するため、本研究において分離された菌株に対して薬剤感受性試験を実施した。カモ盲腸由来株はカモ 1 個体あたり 1 株、環境由来株は全分離株を試験に供した。薬剤感受性試験は、供試薬剤を充填した 96 穴プレート（栄研化学）を用いて CLSI 法に準拠した微量液体希釈法にて最小発育阻止濃度（MIC）

を決定した。対象とする薬剤は、過去に食品由来株を対象とした研究で使用されていた薬剤を参照し選定した。アンピシリン（ABPC）、イミペネム（IPM）、ストレプトマイシン（SM）、カナマイシン（KM）、ゲンタマイシン（GM）、エリスロマイシン（EM）、クリンダマイシン（CLDM）、クロラムフェニコール（CP）、テトラサイクリン（TC）、ドキシサイクリン（DOXY）、ナリジクス酸（NA）、シプロフロキサシン（CPFX）の 12 剤を供試し、精度管理株として *C. jejuni* ATCC 33560 株を用いた。

「現場の実態に対応した HACCP に沿った衛生管理手法の確立に関する研究」

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（継続調査）：2018 年 10 月～2025 年 3 月の間に、わが国の野生鳥獣肉処理施設シカ 34 施設（本年度 14 施設、うち本年度新規に 1 施設）、イノシシ 26 施設（本年度 7 施設）でそれぞれ処理された洗浄前のシカ枝肉 282 検体（本年度 39 検体）、およびイノシシ枝肉計 143 検体（本年度 14 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）にそれぞれ接種した。AC プレートは 35°Cで 48 時間、EC プレートは 35°Cで 24 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 特徴的な解体処理方法の衛生評価（外皮付き熟成の衛生評価のための基礎的研究）：昨年度に引き続き、本目的達成のため、小目的として、1) 外皮洗浄方法の比較、2) 外皮付き熟成期間中における枝肉の衛生評価、3) 外皮熟成期間中の周辺環境の

衛生評価を実施した。本年度は、内臓摘出後、剥皮を行わずに熟成を行う施設 A に加え、新たに比較対象として通常の工程（「剥皮」→「内臓摘出」→「熟成」）にて熟成を行う施設 B についても検討した。

1) 外皮洗浄方法の検討：わが国の野生鳥獣処理施設、(A、B) にて外皮洗浄の実施前後における各衛生指標細菌数を①と同様の方法で計測した。なお、次亜塩素酸 (pH9.3 (25°C)、有効塩素 925ppm) にて外皮洗浄を行う施設 A については、同洗浄後の拭き取り液に、チオ硫酸ナトリウムを添加 (終濃度 0.1%) して、残存する次亜塩素酸を中和した。

2) 外皮付き熟成期間中における枝肉の衛生評価、及び 3) 外皮熟成期間中の周辺環境の衛生評価：

施設 A では、外皮洗浄 (水道水による予備洗浄、高圧洗浄、次亜塩素酸消毒) 後、内臓摘出を行い、剥皮をせずに外皮を付けたまま 0~0.7°C、湿度 82.9%~91.7% の条件下で 6 日間熟成させた。施設 B では、外皮洗浄 (水道水による高圧洗浄) 後、剥皮を行い、内臓摘出後に、1.7~2.0°C、湿度 55.1%~56.0% の条件下で 6 日間熟成させた。熟成前後において、熟成庫内環境

(壁、床、空気) ならびに外皮 (施設 A)、体腔内側、ならびに剥皮後のそれぞれ胸部、並びに肛門周囲部から拭き取りを行い、①と同様の方法で各種衛生指標細菌数を計測した。

なお、熟成庫内空気については、エアースンプラーにより 1000L 収集し、標準寒天培地を用いて一般細菌数のみを検討した。

③ 細菌叢解析を応用した屋外解体処理時の枝肉の細菌汚染源の推定：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 C に搬入された鹿 1 頭、および猪 1 頭について、止め刺し、外皮洗浄前、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 (100 cm²)、ならびに直腸便を採取した。

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

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

④ 「HACCP の考え方を取り入れた衛生管理方法」導入施設における内部検証法の確立のためのアンケート調査：わが国の野生鳥獣処理施設 11 施設を対象として、HACCP の考え方を取り入れた衛生管理方法」導入施設における内部検証法の確立のためのアンケート調査を GoogleForm を用いて実施した。

「野生鳥獣における食中毒細菌等の病原細菌の汚染状況の把握と病原因子の機能解析に関する研究」

1) 糞便試料：日本各地より狩猟および有害鳥獣として捕獲された野生獣 (シカ及びイノシシ) から糞便を回収し、4°C 保存の状態で当研究室まで搬入した。

2) 糞便試料・ふき取り検体からの黄色ブドウ球菌の分離：一般的な食中毒検査におけるヒト糞便・ふき取り検体からの黄色ブドウ球菌の分離法に準拠した方法に従って行った。

3) 糞便試料・ふき取り検体からの薬剤耐性菌の分離：我々が以前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に従って行った。

4) 糞便試料からのカンピロバクターの分離：一般的な食中毒検査におけるヒト糞便からのカンピロバクターの分離法に準拠した方法に従って行った。

5) 糞便試料からの非結核性抗酸菌の分離：以前報告された非結核性抗酸菌の分離法を

一部改変して行った (Odoi et al., J Wildl Dis. 2020. 56:851-862.)。

6) 分離菌株の全ゲノム解析：分離菌株を BHI 液体培地で一晚培養し、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) を用いてシーケンス用ライブラリを作製した。MiSeq もしくは iSeq (Illumina) シーケ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、Multilocus sequence typing (MLST) 法に沿った ST 型の決定、毒素遺伝子、薬剤耐性遺伝子の探索を行った。また、新規 β ラクターマーゼと既報の β ラクターマーゼのアミノ酸配列アライメント解析は Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/msa/clustalo>) を使用した。

「野生動物の保有する寄生虫に関する研究」

寄生虫の探索を目的に、イノシシの心臓を宮崎県で 41 検体、福岡県で 50 検体、愛媛県で 20 検体、新潟県で 31 検体、千葉県で 17 検体、山形県で 8 検体収集した。またアナグマについて、福岡県で全身検体として 10 頭、および筋肉 7 検体、宮崎県で筋肉 2 検体を入手した。

有鉤囊虫の検査としてイノシシ心臓の外貌を肉眼的に検査したのち、細切しながら内部を検査した。旋毛虫およびトキソプラズマの検査として HE 染色した病理組織学的標本を作製した。また旋毛虫検査として人工胃液による消化法による検査も実施した。アナグマの住肉胞子虫の検査として、筋肉を実態顕微鏡下で観察し、シストを探索、摘出した。検出されたシストは、18S

rRNA 遺伝子領域および Cytochrome *c* oxidase subunit 1 遺伝子領域の塩基配列を解読し、分子学的同定を試みた。

シカに寄生する住肉胞子虫の病原性解析を目的に、キュウシュウジカ由来の *Sarcocystis japonica* のブラディゾイトを精製し、マウス腸管ループ試験により下痢原性を評価した。

シカの肝臓門脈にみられる糸状虫を同定するため、奈良県、三重県、岐阜県および京都府で捕獲されたホンシュウジカ 7 頭から合計 25 隻の虫体を採集し、形態学的、分子学的に解析した。

野生食肉目 (ホンドギツネ、ハクビシン、ツキノワグマ、ニホンアナグマ、アライグマ、ホンダタヌキ) の眼球表面にみられた線虫を採取し、同定を行った。

「イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭の集団遺伝構造の解析」

2023 年 5 月から 2024 年 10 月に採取された大分県のイノシシ由来肝蛭 7 隻、シカ由来肝蛭 3 隻、宮崎県のウシ由来肝蛭 9 隻、佐賀県の牛由来肝蛭 1 隻を使用した。

まず既報に基づき、核 DNA である Internal Transcribed Spacer 1 (*ITS1*) 領域およびミトコンドリア (mt) DNA である NADH dehydrogenase subunit 1 (*nad1*) 領域の塩基配列の違いによる肝蛭の分類を行った。

次に、*nad1* 領域のハプロタイプを参考に選出した一部虫体について、次世代シーケンス解析により mt ゲノム全長配列を解読し、祖先種である Fh、Fg を含めた系統解析を行った。また、mt ゲノムの特徴を反映する解析指標の候補として、Cytochrome *c* oxidase subunit 3 (*cox3*) 領域の有用性を評価した。

(倫理面への配慮)

「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)」

野生動物の血清は、狩猟や有害鳥獣捕獲の際に回収された血液を利用しており、本研究のために動物を捕獲はしていない。

「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 (HEV)」

野生動物の血清は、狩猟や有害鳥獣捕獲の際に回収された血液を利用しており、本研究のために動物を捕獲はしていない。

「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ける健康被害の軽減に関する研究」

セミナーおよび講習会で実施するアンケート調査に際して、個人情報取り扱いには特段の配慮をする。

「食中毒や健康被害の発生防止対策のための科学的な根拠の提供に関する研究 —野生カモおよびその捕獲・解体環境におけるカンピロバクター分布調査—」

該当せず

「現場の実態に対応した HACCP に沿った衛生管理手法の確立に関する研究」

該当せず

「野生鳥獣における食中毒細菌等の病原細菌の汚染状況の把握と病原因子の機能解析に関する研究」

該当せず

「野生動物の保有する寄生虫に関する研究」

該当なし

「イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭の集団遺伝構造の解析」

該当なし

C. 研究結果

「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)」

今年度を含めたこれまでの集計結果では、シカ 4741 検体中 1200 検体 (25.3%)、イノシシ 3430 検体中 1334 検体 (38.9%) が抗体陽性となった。その一方で、遺伝子陽性はシカ (1483 検体中 1 検体)、イノシシ (1540 検体中 3 検体) とともに非常に低い陽性率にとどまっている。

2024 年度においては、シカ 120 検体及びイノシシ 157 検体について SFTSV の遺伝子検査及び抗体検査を実施した。イノシシ・シカいずれにおいても抗体陽性検体は中部地方・近畿地方で認められ、シカにおいてもイノシシにおいても遺伝子陽性検体は認められなかった。過去の検体について、RT-PCR 法で遺伝子陽性となった検体について定量を試みているが、いずれもリアルタイム RT-PCR 法では検出限界以下となっている。

中部地方で捕獲されたイノシシについて、SFTS と同じく人獣共通感染症の病原ウイルスであるオーエスキー病ウイルスと日本脳炎ウイルスの抗体調査も実施した。結果は日本脳炎ウイルスで 30% (93 検体中 28 検体)、オーエスキー病ウイルスで 0% (72 検体中 0 検体) の抗体陽性率となった。

「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 (HEV)」

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。2024 年度、5 県のイノシシ 202 検体について抗 HEV 抗体の有無を調べた結果、陽性率は 3.5% (7/202) であった。シカの 100 検体はすべて ELISA で陰性であった。これまでに 17 県のイノシシ 3928 頭と 15 道県のシカ 3222 頭を調査した。その結果、イノシシにおいては 468 頭 (11.9%) が抗体陽性であった。一方、シカにおいては 1 頭 (0.03%) が陽性であった。遺伝子検出に関しては、イノシシ 2617 頭中 30 頭 (1.1%)、シカ 2015 頭中 1 頭 (0.05%) が陽性であった。イノシシにおける抗体陽性率に関しては、性別における違いは認められなかったが、体重が 30 kg 以下の個体は有意に陽性率が低かった。一方、遺伝子検出率は 30 kg 以下の個体が有意に高かった。このことは、30 kg 以下の個体が E 型肝炎ウイルスに感染していること、すなわち、幼齢のイノシシが HEV を保有しているリスクが高いことが示された。

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。今年、遺伝子検出調査に 9 県が加わった。今年には 118 のイノシシの糞便検体を検査した。HEV ゲノム陽性は 5 検体 (4.2%) であった。HEV ゲノムは、青森県、大分県、千葉県のサンプルから検出された。これらの陽性検体はいずれも遺伝子型 3 に属していた。イノシシのオスとメスの間に有意な差は見られなかった。これまでに 15 県のイノシシ 306 頭を調査した。その結果、イノシシ 12 頭 (3.9%) が陽性であった。HEV ゲノムは九州の 3 県 (大分、福岡、宮崎) および本州 (千葉、青森) で検出された。

「ジビエ生産物の狩猟者、解体・加工者及び消費者に至る流過程における健康被害の軽減に関する研究」

1) カラーアトラスの作成：野生鳥獣の狩猟者および解体・加工施設の協力を得て、病変のある臓器・組織の提供を受けて、写真撮影と病理検査を実施した検体数は 100 以上に達した。また、牛、豚の疾病写真に関しては全国食肉衛生検査所協議会編カラーアトラス掲載の写真転載の許可を得て用いて作成した。アンケート調査の結果や研究班班員からのコメントも参考に、改訂を実施して約 70 ページのカラーアトラス「ジビエのカラーアトラス あぶない異常・気をつける異常」を作成した。工夫した点としては、疾病・病変の重要度を信号機で表現し、識別するためのポイントを簡潔にした。また、関連する情報を、別項目として、病変の見方、野生動物によくみられる病変、引用文献を掲載した。

2) 普及活動：ジビエハンター研修会、セミナーなどでの講義の際に、試作版を配布、説明しアンケート調査を行った。その意見を改訂に反映した。

3) 厚労省 HP 掲載のカラーアトラス改訂支援：写真の提供およびアドバイスをを行った。

4) その他：研究期間中に病変・疾病に関する問い合わせに対応した。具体的には送

付画像へのコメント、送付組織の病理学的検査など

「食中毒や健康被害の発生防止対策のための科学的な根拠の提供に関する研究—野生カモおよびその捕獲・解体環境におけるカンピロバクター分布調査—」

1. 野生カモにおけるカンピロバクターの分布実態の把握

野生カモ盲腸内容物からのカンピロバクター定性的試験の結果、104 個体中 38 個体 (36.5%) でカンピロバクター陽性となった。カモのカンピロバクター検出状況について、カモ種・岐阜県内のカモ捕獲地の 2 種類の情報にしたがって集計し、比較した (表 2)。その結果、コガモでは 38 個体中 12 個体 (31.6%)、マガモでは 61 個体中 26 個体 (42.6%) がカンピロバクター陽性であった。岐阜県内の捕獲地 3 地点では、各務ヶ原市内地点 A で捕獲された 43 個体中 22 個体 (51.2%)、関市内地点 B で捕獲された 18 個体中 7 個体 (38.9%) で、岐阜市内地点 C で捕獲された 39 個体中 9 個体 (23.1%) で、それぞれカンピロバクターが検出され、地点間でカンピロバクター陽性となる比率は異なる傾向が見られた。陽性個体中のマガモの比率を 3 地点で比較すると、地点 A、B および C でそれぞれ 0.86、0.29 および 0.56 となり地点間で大きく異なったことから、マガモとコガモの間でカンピロバクター陽性となる比率には傾向が無いと考えられた。さらに、従属変数をカンピロバクター陽性/陰性、独立変数をカモ種、カモ雌雄またはカモ捕獲地として多項ロジスティック回帰分析を実施したところ、カンピロバクター陽性/陰性はカモ捕獲地と有意な関連性が有り、捕獲地が地点 A は地点 C に比べてオッズ比が 0.267 (95%信頼区間：0.101-0.705)、有意確率 0.008 であった (表 3)。検出されたカンピロバクターはそのほとんどが *C. jejuni* であり、カモ 1 個体のみから *C. coli* および *C. fetus* が検出された。

野生カモ盲腸内容物からのカンピロバクター定量的調査の結果をカモ種ごとまたはカモ捕獲地ごとに比較した結果を図 1 に示

した。今回の調査では、カンピロバクターが検出された 38 個体中、プレストン液体培地による増菌培養からのみ菌が検出された

(定量下限値以下の菌数での検出) 3 個体を除いた 36 個体での検出菌数の平均値は 1.2×10^6 cfu/g、中央値は 1.8×10^4 cfu/g、最高菌数は 2.8×10^7 cfu/g となった。従属変数をカンピロバクター検出菌数、独立変数をカモ種、カモ雌雄またはカモ捕獲地として重回帰分析を実施したところ、検出菌数に対してカモ種・カモ捕獲地・カモ性別による有意な関連性は今回のデータセットでは確認されなかった。

2. 環境サンプルにおけるカンピロバクターの分布実態の把握

カモ捕獲地の地点 A、B および C の河川水のカンピロバクター定性的調査の結果、地点 B の水からカンピロバクター生菌が検出された。検出されたカンピロバクターは全株が *C. jejuni* であった。また、1 カ所のカモ解体場の室内壁・食肉に触れる解体道具・作業者の使用した手袋の計 8 地点全てにおいて、今回はカンピロバクター生菌は非検出であった。

3. 分離カンピロバクター株の薬剤感受性

カモ 1 個体につき 1 株のカモ盲腸からの分離株を供試した。カモ捕獲地の地点 A のカモ由来株は 13 株、地点 B のカモ由来株は 5 株、地点 C のカモ由来株は 1 株、地点 B の河川水由来株は 2 株、計 19 株を試験した。12 剤の薬剤感受性試験の結果を表 4 に示した。地点 A および C で捕獲されたカモ由来の全ての菌株は、今回供試した全薬剤に対して感受性を示した。一方で、地点 B で捕獲されたカモ由来および河川水由来の菌株は、7 株中 5 株で 8 種の薬剤・計 4 パターンの薬剤耐性パターンであることを確認した。河川水由来 2 株はいずれも NA および CPFY 耐性を示した。以上のことから、今回分離したカンピロバクター菌株の薬剤感受性パターンは、地点 A/C および地点 B の間で明確に異なる傾向にあることが確認され、地点 B の分離株においては、薬剤耐性パターンはカモ由来株と河川水由来株との間で、類似する傾向にあることが示された。

「現場の実態に対応した HACCP に沿った衛生管理手法の確立に関する研究」

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 (継続調査)

1) 屋内外施設別の比較では、鹿において屋外施設で処理された枝肉において有意に高度の一般細菌数が検出された。猪でも同様の傾向を示したが有意差は認められなかった。

以降、屋内施設で処理されたもののみを対象として比較を行った。

2) 剥皮と内臓摘出の工程順別比較では、シカ、イノシシともに剥皮を先に行う施設で処理された枝肉において高度の一般細菌数が検出された。さらにシカについては、内臓摘出を屋外で実施する施設において最も高度に一般細菌数が検出された。

3) 剥皮方法別比較では、シカでは有意差は認められなかった。イノシシの湯剥ぎは手剥ぎに比べ有意に高度の一般細菌数が検出された。

4) 剥皮施設別比較では、シカでは有意差は認められなかった。イノシシでは懸吊に比べのせ台を使用する施設で生産された枝肉において高度の一般細菌数が検出された。

5) シカにおける食道結紮の方法別比較では、一般細菌数において結紮のみが、結紮未実施に比べ、有意に低値を示した。

F 肛門結紮の方法別では、未実施施設に比べビニルを使用した結紮を行う施設において、胸部で有意に低値を示した。

②特徴的な解体処理方法の衛生評価(外皮付き熟成の衛生評価のための基礎的研究)

1) 外皮の衛生指標細菌数の推移:

高压洗浄後に次亜塩素酸水を使用して洗浄する施設 A では、一般細菌数(胸部、肛門周囲部)において予備洗浄前で $757.5 \sim 3172.5$ 、 $197.5 \sim 1332.5$ CFU/cm²であったが、予備洗浄後、 $14.0 \sim 94.5$ 、 $0 \sim 122.0$ CFU/cm²、高压洗浄後 $3.7 \sim 104.3$ 、 $22.6 \sim 2,112.5$ CFU/cm²あったのに対し、次亜塩素酸洗浄後 $0 \sim 7.8$ 、 $0.2 \sim 1.3$ CFU/cm²であった。さらに 6 日間の熟成後では、 $14.3 \sim$

25.0、2.3~51.2 CFU/cm²であった。なお、大腸菌群は2.3 CFU/cm²以下、大腸菌は0.3 CFU/cm²以下であった。

水道水を用いて外皮洗浄を実施する施設 B では、一般細菌数（胸部、肛門周囲部）において洗浄前で1,800~48,000 CFU/cm²（n=1）であったが、洗浄後、29~1,657.5、65.8~26,200 CFU/cm²（n=2）であった。

大腸菌群数（胸部、肛門周囲部）は、洗浄前で5.0、15.5 CFU/cm²（n=1）であったが、洗浄後、0~0.7、0.4~18.2 CFU/cm²（n=2）、大腸菌数（胸部、肛門周囲部）は、洗浄前で2.0、7.4 CFU/cm²（n=1）であったが、洗浄後、0~0.4、0~9.5 CFU/cm²（n=2）であった。

2) 作業者手指、器具（ナイフ）の衛生指標細菌数の推移：

手指：施設 A では、一般細菌数において外皮洗浄前で0.8~12.0 CFU/手指であったが、洗浄後、155.8~149.0 CFU/手指であった。内臓摘出前で0.3~1.6 CFU/手指であったが、内臓摘出後、0.4~181.5 CFU/手指であった。熟成後剥皮前で0.1~14.8 CFU/手指であったが、熟成後剥皮後で、16.6~172.0 CFU/手指であった。なお大腸菌群、大腸菌はいずれの検体からも検出されなかった。施設 B では、一般細菌数において外皮洗浄前で1.0 CFU/手指（n=1）であったが、洗浄後、129.5 CFU/手指であった。剥皮前で6.8~52.8 CFU/手指（n=2）であったが、剥皮後で、347.5~2,672.5 CFU/手指（n=2）であった。内臓摘出前で0.5~6.7 CFU/手指（n=2）であったが、内臓摘出後、0.7~19.5 CFU/手指（n=2）であった。なお、大腸菌群は外皮洗浄前で0 CFU/手指（n=1）であったが、洗浄後、7.7 CFU/手指であった。剥皮前で0~0.3 CFU/手指（n=2）であったが、剥皮後で、0.5~17.2 CFU/手指（n=2）であった。内臓摘出前で0 CFU/手指（n=2）であったが、内臓摘出後、0~0.2 CFU/手指（n=2）であった。大腸菌は、外皮洗浄前で0 CFU/手指（n=1）であったが、洗浄後、2.2 CFU/手指であった。剥皮前で0~0.2 CFU/手指（n=2）であったが、剥皮後で、0.2~6.5 CFU/手指（n=2）であった。内臓摘出前で0

CFU/手指（n=2）であったが、内臓摘出後、0~0.1 CFU/手指（n=2）であった。であった。

ナイフ：施設 A では、一般細菌数において、剥皮前、剥皮前でそれぞれ0~0.1 CFU/ナイフであったが、内臓摘出後、剥皮後には、0~10.3 CFU/ナイフであった。なお大腸菌群、大腸菌はいずれの検体からも検出されなかった。施設 B では、一般細菌数において剥皮前で0.2~0.3 CFU/ナイフであったが、剥皮後、5.2~1,555.0 CFU/ナイフであった。内臓摘出前で0 CFU/ナイフであったが、内臓摘出後、0.2~6.3 CFU/ナイフであった。なお、剥皮前、内臓摘出前は、いずれも大腸菌、大腸菌群はいずれも検出されなかったが、剥皮後に大腸菌群は0~5.2 CFU/cm²、大腸菌は0~1.1 CFU/cm²、内臓摘出後に大腸菌群が0~0.3 CFU/cm²検出された。

3) 枝肉の衛生指標細菌数の推移：

施設 A における一般細菌数（胸部、肛門周囲部）は、熟成前の体腔内で0~0.3、0 CFU/cm²、熟成後の体腔内で0~0.1、0.5~2.4、熟成後の枝肉で0.3~0.6、0~1.6 CFU/cm²であった。熟成前体腔内の肛門周囲部で大腸菌群、大腸菌がいずれも0~0.1 CFU/cm²検出されたが、熟成前の胸部を含め、熟成後の体腔内、同枝肉では、いずれも検出されなかった。施設 B における一般細菌数（胸部、肛門周囲部）は、熟成前の体腔内で0~1.0、0~0.1 CFU/cm²、熟成後の体腔内で6.8~176.3、0~0.2 CFU/cm²、熟成後の枝肉で0.1~0.3、0.1 CFU/cm²であった。なお、大腸菌群、大腸菌、は熟成期間中を通して、全ての検体で検出されなかった。

4) 熟成期間中の周辺環境の衛生指標細菌数の推移：

熟成庫内の壁における一般細菌、大腸菌群、大腸菌は、熟成期間中を通して両施設で検出されなかった。床の一般細菌数は、施設 A では熟成前で7.1 CFU/cm²、熟成後で15.5 CFU/cm²であった。施設 B では、熟成前で13.6 CFU/cm²、熟成後で47.0 CFU/cm²であった。大腸菌群、大腸菌は熟成期間中を通して、全ての検体で0.5 CFU/cm²以下であった。熟成庫内の浮遊一般細菌数を検討した

ところ、施設 A の熟成前で 12.0 CFU/1,000L、熟成後で 75.0 CFU/cm²であった。

③細菌叢解析を応用した屋外解体処理時の枝肉の細菌汚染源の推定

得られたリード数はトリミング後、一検体あたり 77~45,755 リードであった。各工程のと体から最も多く検出された細菌目は *Pseudomonadales* (0.477~98.008%)、*Rhizobiales* (0~61.2%)、*Bacteroidales* (0~31.5%)、*Lactobacillales* (0~19.9%)、*Lachnospirales* (0~15.4%)、*Veillonellales-Selenomonadales* (0~24.2%)、*Burkholderiales* (0~19.2%)、*Oscillospirales* (0~13.8%)、*Sphingomonadales* (0~7.4%)、*Enterobacteriales* (0~17.3%) であった。最終的な鹿の枝肉では *Pseudomonadales* が 80.7%、*Burkholderiales* が 19.2%、イノシシの枝肉では *Rhizobiales* が 61.2%、*Enterobacteriales* が 17.3% であった。各処理工程ごとの、と体、作業員手指、ナイフ、設備等の細菌叢解析では、シカにおいて、最終的な枝肉を含め、ほとんどの検体で *Pseudomonadales* が高率 (0~100%) に検出された。また剥皮後の作業員の左手、と体の止め刺し口で細菌叢が変化し、土壌や腸管内などに存在する *Bacteroidales*、*Veillonellales-Selenomonadales*、*Lachnospirales* の占有率が高く (それぞれ 17.971~31.555%、23.541~24.225%、11.313~15.417%) になった。最終的な枝肉で *Bacteroidales* は 0.6~5.6%、*Veillonellales-Selenomonadales* は 0.1%、*Lachnospirales* は 0.3~3.6% と、と体で検出された。イノシシは剥皮後までの検体で *Pseudomonadales* が高率 (0~100%) に検出されたが、内蔵摘出前の作業員の左手、枝肉用ナイフで細菌叢が変化し、*Rhizobiales*、*Enterobacteriales* が高率 (それぞれ 53.278~73.386%、25.937~43.231%) に検出され、以降の工程で主要な細菌となった。最終的な枝肉と類似する細菌叢は、シカでは剥皮後の止め刺し口と解

体前の作業員の手指であった。猪では内蔵摘出後のナイフであった。

シカの処理において *Pseudomonas* はすべての検体で 0.819~39.700% 検出された。*Bacillus* は低頻度ながらほとんどの検体 0~0.767% 検出された。*Escherichia / Shigella*、*Staphylococcus* は一部と体、作業員手指で検出され、それぞれ、0~0.048%、0~2.551% 検出された。*Listeria*、*Salmonella*、*Yersinia* は検出されなかった。

イノシシの処理では、*Pseudomonas* は工程前半で 1.3~55.704% 検出された。*Bacillus*、*Escherichia / Shigella*、*Staphylococcus* は最終的な枝肉からは検出されなかったが、低頻度ながら工程前半で、それぞれ 0~0.236%、0~0.511%、0~1.487% 検出された。*Listeria*、*Salmonella*、*Yersinia* は検出されなかった。

④「HACCP の考え方を取り入れた衛生管理方法」導入施設における内部検証法の確立のためのアンケート調査

1) 対象動物 :

シカとイノシシ : 7 施設、シカのみ : 3 施設、シカとイノシシとキョンなど : 1 施設

2) 令和 5 年度年間処理頭数 (シカ) :

101 頭~500 頭 : 7 施設、501 頭~1000 頭 : 2 施設、51 頭~100 頭 : 1 施設、1001 頭以上 : 1 施設

令和 5 年度年間処理頭数 (イノシシ) :

101 頭~500 頭 : 5 施設、1001 頭以上 : 2 施設、50 頭以下 : 1 施設、51 頭~100 頭 : 1 施設、501 頭~1000 頭 : 1 施設

計 11 施設、いずれも現時点で自社製品の細菌検査を実施中との回答であった。

3) 現在実施中の「製品の微生物学的検査」の項目 :

一般細菌数、大腸菌群数 : 以上 9 施設、大腸菌数 : 10 施設、黄色ブドウ球菌数 : 1 施設

4) 製品の微生物学的検査の実施頻度

1 回以上/1 ヶ月 : 8 施設、1 回/6 ヶ月程度 : 1 施設、1 回/1 年程度 : 1 施設、その他 (100 頭につき 1 頭) : 1 施設

5) 製品の微生物検査の必要性の認識 :

必要 であり 実施したい：8 施設、必要
と思うができれば実施したくない：2 施
設、必要 と思うが 実施したくない：1 施
設

6) 「製品の微生物検査」を実施する上での現在の問題点

コストが掛かる：7 施設、結果の解釈場
難しい：6 施設、検体採取が面倒：4 施設、
自社内で結果を出すことができない：3 施
設

7) 「製品の微生物学的検査」を自社内で
実施する場合に、望ましいと思う項目：

コストが掛からない：8 施設、検体採取
が容易：4 施設、特別な機器を必要としない：4 移設、容易であること：4 施設、短期
間で結果を得られる：3 施設、自社内で検
査をすることは考えていない（時間と人手
がない）：1 施設

8) 「製品の微生物学的検査」の実施間隔
として許容できる期間：

1 回以上/1 ヶ月：4 施設、1 回/3 ヶ月 程
度：2 施設、1 回/6 ヶ月 程度：1 施設、ど
のような間隔であっても指定された頻度で
実施する：3 施設

9) その他コメント：

- 自社の製品の衛生状況を知るためにも、社会的信頼のためにも必要と考える。
- 無菌操作は負担が大き過ぎる為実施は困難
- 無菌操作は理解が困難。簡単な方法であれば対応可能。
- 簡単で手間が掛からない方法がよい。
- 簡易性を求める。
- 検査と結果から改善点を学ぶ機会がほしい。
- 検査結果をもとに自社でどう判断したらいいかわからない場合がある。
- 例えば一般生菌数がどこまでだったらどの水準をみたしているのか？などが簡単で分かりやすく判断できるような指針が欲しいです。
- 簡易に安価なものを推奨されたものを導入しやすい。

- 検査結果の解釈や改善方法に関する
専門家のフォローが必要と思われる

「野生鳥獣における食中毒細菌等の病原細菌の汚染状況の把握と病原因子の機能解析に関する研究」

1) 野生獣糞便からの黄色ブドウ球菌の分離率

日本全国 15 都道府県で採取したシカ糞便 185 検体中 17 検体から黄色ブドウ球菌が分離され、陽性率は 9.2%であった（2024 年 2 月から 2025 年 3 月までの搬入分）。また、日本全国 8 都道府県で採取したイノシシ糞便 117 検体全てで黄色ブドウ球菌は分離されなかった。本年度も前課題時と同様、黄色ブドウ球菌はイノシシ糞便よりシカ糞便から高率に分離された。

2) 野生獣糞便からのβラクタム系抗生物質耐性腸内細菌目細菌の分離率

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。前課題時の結果と同様、2024 年 2 月から 2025 年 3 月までの搬入分の全 302 検体において CRE は検出されなかった。セフトキシムに耐性を示し基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（Extended spectrum beta-lactamase: ESBL）産生菌だと疑われる株が、シカ糞便 185 検体中 1 検体（0.5%）、イノシシ糞便 117 検体中 2 検体（1.7%）から分離された。本年度は過去三年間の調査に比べ特にイノシシ糞便からの分離率が少ない傾向であった。

3) 解体作業者の手指ふき取り検体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目細菌の分離

東広島ジビエセンター株式会社で通例通り解体作業した、1) 表皮洗浄前後、2) 剥皮前後、3) 内臓摘出前後の解体作業者の手指のふき取りをゴム手袋の上から実施し、分離を試みたが、全 8 検体において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目細菌は検出されなかった。

4) 野生鳥獣糞便からのカンピロバクターの分離率

日本全国 14 府県で採取したシカ糞便 179 検体中 4 検体からカンピロバクターが分離

され、陽性率は2.2%であった。また、日本全国9府県で採取したイノシシ糞便118検体中16検体からカンピロバクターが分離され、陽性率は13.6%であった(2024年4月から2025年3月までの搬入分)。分離率は、イノシシがシカに比べて有意($p < 0.001$)に高値を示した。

5) 分離した黄色ブドウ球菌の遺伝学的特性

2023年1月以降分離された黄色ブドウ球菌18菌株(シカ糞便由来6株、イノシシ糞便由来1株、シカ肉由来11株)は、1株を除く17株が前課題時に新たに見出した「野生鳥獣特有クローン」に属し、その内2株がST6238に近縁の新規STであることが明らかとなった。

6) 分離した薬剤耐性腸内細菌目細菌の特性

CTX耐性菌14株全てで少なくとも一つの bla 遺伝子を保有する多剤耐性菌であり、過去三年間の調査と同様、多くが $bla_{CTX-M-15}$ (6株:42.9%)か $bla_{CTX-M-55}$ (6株:42.9%)を保有していた。14株中13株の菌種は*Escherichia coli*であったが、1株が*Enterobacter hormaechei*であり、AmpC型 β ラクタマーゼである bla_{ACT16} に類似した遺伝子(3か所の点変異、1か所のアミノ酸置換)を保有していた。

7) 分離したカンピロバクターの菌種

分離株は、いずれも*C. hyointestinalis*であった。

8) 野生鳥獣糞便からの非結核性抗酸菌の分離方法の検討

非結核性抗酸菌の分離は既報の方法を一部改変して実施し、除菌処理にはNALC/NaOHを、培養は小川培地法と酸素感受性蛍光センサー法(MGIT)を併用した。シカ糞便10検体、イノシシ糞便10検体を対象に分離を試みた結果、培養1週間程度で、シカ糞便24D109やイノシシ糞便24B64から抗酸菌様のコロニー・反応が検出できた。

「野生動物の保有する寄生虫に関する研究」

6県由来のイノシシの心臓167検体について、有鉤囊虫はすべて陰性であった。

旋毛虫およびトキソプラズマの検査を目的とした病理切片は現在作成中である。優先的に消化法により検査した山形県のイノシシ4頭について旋毛虫は陰性であった。

アナグマについては、現時点までに全身検体1頭の各種筋肉(咬筋、心臓、横隔膜、肩、大腿)の住肉胞子虫を検査したが陰性であった。また筋肉のみ提供された7検体について検査し、うち2件についてサルコシストを検出した。分子学的解析により、*Sarcocystis lutrae*もしくは*S. arctica*に近縁な種であると推定された。

キュウシュウジカ由来の*S. japonica*のブラディゾイト投与によりマウス腸管内に有意な液体貯留を認めた。ただし、腸管内出血の有無や液体貯留を起こす最小投与量等について、ウマに寄生する*S. fayeri*を用いた同試験との違いがみられた。

ホンシュウジカの肝臓門脈から得た糸状虫のうち、19隻について核リボソーム18S rRNA遺伝子の部分配列(840 bp)を解読した結果、地域によらず配列は相同であり、オンコセルカ科*Elaeophora*属の登録配列と完全に一致した。

各種野生食肉目の眼球表面から検出した線虫をいずれも東洋眼虫と同定した。

「イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭の集団遺伝構造の解析」

野生動物および牛の肝蛭について、既報に基づく*ITS1*領域および*nad1*領域を指標とした肝蛭の分類法では、地域や宿主動物種の違いによる明確な特徴は見いだせなかった。ミトコンドリアゲノムの全長解析および*cox3*遺伝子領域の解析を行ったところ、日本の肝蛭(単為生殖型肝蛭)はFgを母系とする集団とFhを母系とする集団とに大きく分類され、さらに後者の中で2つに分かれていた。一方はイノシシ由来肝蛭が位置する集団(Fh-1集団)であり、もう一方は他動物種(シカ、牛)由来肝蛭が位置する集団(Fh-2集団)であった。

Fh-1集団とFh-2集団のmtゲノム全長配列間の変異率は0.14~0.15%であり、中でも*cox3*領域で最も高い0.62%の変異が見られた。この*cox3*領域では、4つの塩基変

異とそれに伴う1つのアミノ酸変異が認められた。そこで、*cox3*領域の配列のみに基づく肝蛭集団の系統解析を行った結果、mtゲノム全長を用いた系統樹に近いトポロジーを示した。これまでシカと牛とで肝蛭が相互伝播してきた可能性について報告がされており、本研究によって分類されたFh-2集団もそれを支持するものであった。一方で、イノシシの肝蛭および同地域のシカ由来の肝蛭はそれらとは異なる集団（Fh-1集団）を構成し、地域に特異な集団であることが示唆された。

また *cox3* 領域を用いて描いたハプロタイプネットワーク解析でも、単為生殖型肝蛭に3つのハプロタイプが見いだされ、1つは起源となったFgに近く、残りの2つはFhに近しかった。特に後者について、イノシシから採取された単為生殖型肝蛭が有するハプロタイプと、牛およびシカから採取された単為生殖型肝蛭が有するハプロタイプの間、オーストラリアの牛から採取された単為生殖型肝蛭の祖先である *F. hepatica* が存在していた。

D. 考察

「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）」

野生動物における疫学調査の本年度の結果を見ると、中部地方（中部E）と近畿地方（近畿E）での抗体陽性検体が確認され、これは過去の調査においても陽性検体が確認された地域である。これまでの結果の累計では、東北地方や関東地方の一部において抗体陽性検体が確認されている。その一方で、本年度実施した検体の中では、遺伝子陽性検体は確認されず、累計での遺伝子陽性率もシカで0.1%、イノシシで0.3%きわめて低い水準である。

伴侶動物に比較して、野生動物においては抗体陽性率が高い傾向にあるが、その一方で我々はイノシシ・シカにおける高力価のウイルス遺伝子が確認された例を確認できていない。この傾向については、偶蹄類におけるウイルスの感受性が関与していると考えられるが、現時点で正確な知見は得られていない。

オーエスキー病ウイルスと日本脳炎ウイルスの抗体調査の結果は、当該地域の過去の調査とほぼ同様の結果であった。

「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（HEV）」

HEV 疫学調査は、ジカの HEV 感染が非常にまれな出来事であることを示した。イノシシ、特に幼齢のイノシシは 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。

我々のゲノム検出解析から、HEV はイノシシの血清中に存在し、イノシシの糞中にも排泄されることが確認された。これまでの遺伝子解析により、国内のイノシシの間で遺伝子型 3b、3a、3k、4a、4g の株が確認され、特に 3b が最も多いことが明らかとなった。4g は 12 年以上にわたり山口県にのみ存在していた。

「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ける健康被害の軽減に関する研究」

各種セミナー、講演会での説明、配布およびアンケート結果は、大変好評であった。今後の検討事項としては、カラーアトラスの普及方法があり、併せて可食部分「肉」の生食の危険性をわかりやすく伝えることが必要と考えた。

「食中毒や健康被害の発生防止対策のための科学的な根拠の提供に関する研究 —野生カモおよびその捕獲・解体環境におけるカンピロバクター分布調査—」

昨年度調査に引き続き、今年度の結果からも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たことから、カモ盲腸には少なくとも経年的にカンピロバクターが分布していたことから、盲腸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。

さらに、今年度の結果から、菌の分布頻

度とカモ捕獲地の有意な関連性が認められたこと、同地点に生息するカモ盲腸と河川水との間に、分離されたカンピロバクター菌株の薬剤耐性プロファイルにおいて、他地点と比較しての類似性が確認されたことから、カモ盲腸内に分布するカンピロバクターは国内に渡ってきた後の環境に影響される可能性があることが示唆された。したがって、カモ捕獲地によってもカンピロバクター食中毒リスクの大きさは左右される可能性が考えられた。なお、地点Bの周辺には、下水処理施設および畜場があり、これら施設からの処理水が排出されていた。このことが、この地点由来の菌株だけで薬剤耐性が確認されたことと関連がある可能性があり、今後環境調査を継続する必要性があると考えられた。

今回、天然カモにおける盲腸内のカンピロバクター保有リスクを高める要因の一部を示すことができた。今後は、捕獲～解体にかけての流通過程における環境汚染の実態と、二次汚染の可能性の可視化、解体工程（内臓摘出、皮剥ぎ、洗浄など）における菌が検出されやすい箇所やタイミングの把握について、検討を進め、明らかにする必要があると考えられた。

「現場の実態に対応した HACCP に沿った衛生管理手法の確立に関する研究」

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（継続調査）

これまでの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：剥皮→内臓摘出の順、3) 剥皮方法：ウィンチ、4) 剥皮施設：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ことを報告してきた。これらの成績に対して、本年度の検討においてもほぼ同様の結論となったが、一部それぞれの比較において有意差が認められなくなった等、一部の結論に微細な変更が認められた。

工程順では、従来通り、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。さらには屋外で内臓摘出することにより、その後の運搬時には外皮がついたままの状態であることから、体腔側には特に細菌汚染が広がる可能性が考えられた。

剥皮方法別では、シカでは有意差が認められなかったが、イノシシでは、湯剥ぎの検体で多くの細菌が検出された。厳密には外皮上の細菌数となるのに対して、比較対象は剥皮後の枝肉表面であることから直接比較はできない。また、高温条件下で被毛を剥ぐ作業においては、外皮が残ることから、微細な毛穴等に細菌が生残する可能性が考えられる。

剥皮施設別では、懸吊に比べ、のせ台では、イノシシで高度に細菌汚染することが改めて再確認された。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外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シカでは結紮するだけにするだけでより汚染を防ぐことができる事が示された。肛門結紮についても同様に、細菌汚染防止効果が改めて確認された。

②特徴的な解体処理方法の衛生評価（外皮付き熟成の衛生評価のための基礎的研究）

1) 外皮の指標細菌数の推移：

高压洗浄後、次亜塩素酸水で洗浄を行う施設 A、および水道水で外皮洗浄を行う施設 B を対象とし、それぞれの手法で外皮洗浄を行った際の外皮上に残存する各種衛生指標細菌数を比較検討した。施設 A で実施する予備洗浄ならびに高压洗浄まででは、比較的多くの一般細菌が残存する一方で、次亜塩素酸水の洗浄により、極めて効果的に一般細菌数が減少することが確認された。ただし、洗浄水量、水圧、洗浄時間等、厳密に揃えた比較はできていない。また、本研究では、次亜塩素酸洗浄後の検体については、その残存により、輸送や細菌培養までの期間で菌数が減少することによ

り検体採取時の菌数を過小評価する可能性がある。このため、本研究では、拭き取り液に残存する事前に次亜塩素酸を定量したところ、外皮で遊離塩素 0.1~0.2ppm、体腔内でほぼ 0ppm であったことから、ほぼ影響はないものと考えられた。さらに本研究では、わずかに残存する遊離塩素を中和するため、チオ硫酸ナトリウム（終濃度 0.1%）をあらかじめ添加ことから、次亜塩素酸の残存による影響はなく、検体採取直後の細菌数を検討できたものと考えられる。以上のことから、次亜塩素酸による枝肉洗浄は、一般細菌ならびに大腸菌、大腸菌群数の低減に極めて効果的であることが確認された。

2) 作業手指、器具（ナイフ）の衛生指標細菌数の推移：

外皮洗浄、剥皮、内臓摘出、の各作業により、手指、ナイフに細菌汚染が認められることが改めて確認された。各作業後の手指、ナイフの洗浄、消毒の重要性が改めて示された。

3) 枝肉の指標細菌数の推移：

施設 A、B ともに、それぞれで処理された枝肉の細菌汚染は、いずれも極めて低値であったことから、いずれも衛生的な処理が実施されたことが確認された。

外皮付き熟成を行う施設 A では、熟成期間中に、体腔内の肉表面に細菌汚染が広まることが予想されたが、実際に検討したところ、一般細菌が極めて低値を示し、大腸菌、大腸菌群はいずれも検出されなかった。以上のことから、本研究で検討した条件、ならびにと体においては、外皮付き熟成により細菌汚染が広まることは確認されなかった。これは、外皮洗浄で確認された次亜塩素酸による殺菌処理が効果的であったものと考えられた。実際に、次亜塩素酸処理を行わない施設 B では熟成後の体腔内で、一部一般細菌の増殖がわずかに確認された（大腸菌、大腸菌群は検出されなかった）。以上のことから、熟成前に行う次亜塩素酸消毒は細菌増殖を阻止する目的において効果的であることが確認された。一方、熟成においては、自然に定着する真菌に加え、乳酸菌等の細菌による効果を期待して

行うことが一般的である。次亜塩素酸による殺菌効果が、熟成効果に影響を及ぼす可能性が考えられ、今後検討していく必要がある。

4) 熟成期間中の周辺環境の指標細菌数の推移：

熟成条件下における周辺環境について細菌汚染状況を検討した。その結果、昨年度の検討と同様に、壁はほとんど一般細菌が検出されないことが確認された。浮遊細菌についてもごくわずかに検出され、熟成期間を通して特段増殖していないことが確認された。一方、床については比較的高度に一般細菌に汚染していることが確認された。熟成庫内の作業時に、特に枝肉と床との接触に注意することが示唆された。

外皮がついたままの熟成庫内では、外皮由来の細菌が庫内に浮遊し、熟成中の枝肉、特に内臓摘出後の肉面が暴露された体腔内部への汚染が危惧されたことから、浮遊細菌を検討したところ、熟成期間中をほとんど浮遊細菌の増加は認められなかった。実際に熟成庫は日常的にドアの開閉が行われており、適度に換気が行われるものと考えられた。実際に熟成後の枝肉における細菌汚染も認められなかったことから、本研究で実施した条件ならびにと体では、表皮の洗浄、消毒が適切に実施され、外皮からの細菌汚染が抑制されたものと考えられた。一方、浮遊微生物には真菌が含まれると考えられる。今後、検出された細菌に加え、真菌を含めて残存する浮遊細菌、ならびに真菌叢を解析する必要がある。

③細菌叢解析を応用した屋外解体処理時の枝肉の細菌汚染源の推定

各処理工程で採取した各検体における細菌叢のタクソノミー解析により、土壌や消化管に由来する *Pseudomonadales*、*Rhizobiales*、*Enterobacterales* の占有率が高く、枝肉の細菌叢でも多く検出されることが明らかとなった。*Pseudomonadales* は、土壌や水など環境中に広く存在し、緑膿菌が含まれ、日和見感染で重篤な感染症を引き起こす。*Rhizobiales* は、植物や動物に感染し、根粒菌やブルセラ属、バルトネラ属が含まれる。*Enterobacterales*

は、腸管内に存在し、大腸菌や赤痢菌などの腸内細菌科が含まれる。比率は低いものの、一部に病原細菌も含まれていた。以上のことから、各処理工程では、特に土壌および腸管内由来の細菌に汚染されていることが示唆され、土壌や腸管内容物による汚染についても注意する必要がある。

各処理工程で採取した各検体における細菌叢のβ多様性解析により、枝肉の細菌叢は、剥皮後の止め刺し口と解体前の作業者の手指、内蔵摘出後のナイフの細菌叢と最も類似していたことから、本研究で検討した野生鳥獣処理施設における処理では、枝肉への細菌汚染源は、解体や内臓摘出時の作業員やナイフ、外皮である可能性が示唆された。これらによる細菌汚染を防ぐため、野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針(ガイドライン)では、作業員の手指やナイフが外皮と接触しないよう注意するとともに、それらが汚染された場合および一頭処理するごとに消毒・洗浄を行うほか、枝肉が消化管内容物などで汚染された場合は汚染部位を完全にトリミングするように示されている。

本研究では、一連の作業工程から、食中毒起因細菌である *Escherichia/Shigella* が <0.03~0.511% と低い割合ながら、剥皮前後の作業員の手指やナイフ、解体前のと体などから検出された。*Escherichia/Shigella* には、感染すると激しい腹痛や血性下痢などを引き起こす腸管出血性大腸菌や赤痢菌が属する。*Staphylococcus* は枝肉からも低率 (<0.03%) ながら検出された。

Staphylococcus には悪心や嘔吐を引き起こす黄色ブドウ球菌が属する。以上のことから、これらの食中毒起因細菌が検出された検体によって枝肉が汚染された場合には、当該鹿肉の喫食により食中毒を引き起こす可能性が考えられた。また、*Pseudomonas* が一連の作業工程で採取した各検体から、高頻度かつ高い割合で検出された。

Pseudomonas は食肉において重要な腐敗細菌であることが報告されている。さらに低温細菌であることから、一度食肉を汚染すると、冷蔵で保管されている間でも増殖

し、食肉の腐敗を引き起こす可能性があると考えられた。

④「HACCPの考え方を取り入れた衛生管理方法」導入施設における内部検証法の確立のためのアンケート調査

HACCPの考え方を取り入れた衛生管理手法の導入により、その効果を確認することに加え、事業者にとっては、HACCPの考え方を取り入れた衛生管理の遂行する上でのインセンティブになると考えられる。様々な副次効果も期待されることから、これらの施設を対象とした検証方法の確立は必要と考えられる。

本年度は、実際の検証方法の確立の前段階として、実施する作業員本人の意識、認識、希望について検討するため、アンケート調査を実施した。本研究で対象とした施設を含め、野生鳥獣処理施設は年間処理頭数が数百程度と小規模の施設がほとんどである。このような小規模の施設に適した、実効性、実用性のある検証法の確立が求められる。本アンケート調査により、具体的には、①コストを低くすること、②作業が簡便であること、に加え、とくに③結果の解釈がわかりやすいこと、が求められていることが確認された。特に、③から、作業員自身の意識として、衛生管理を重要視する真摯な姿勢が確認された。今後、これらの点を含め実際の検証方法の確立を目指したいと考えている。

本研究で対象とした施設は、現時点ですでに製品の細菌検査を実施しており、検査の実施において実際にイメージできる状態にあるものと考えられる。細菌検査の重要性については、ほとんどの施設でその重要性、必要性を理解されているものと考えられた。さらに対象を広げた調査により、わが国の野生鳥獣処理施設全体における検査の重要性、必要性の認識度を検証し、必要に応じてそれらの啓蒙を図る必要がある。

「野生鳥獣における食中毒細菌等の病原細菌の汚染状況の把握と病原因子の機能解析に関する研究」

1) 野生鳥獣が保有する病原菌のリスクについて

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前研究課題期間の過去3年間と同様の傾向であった。これは、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おり、この疫学特性が強固に維持されていること示している。前研究課題で実施した分離菌株のゲノム解析により、野生獣には、CC121から分岐した独自の黄色ブドウ球菌クローンが定着していることを明らかにした。本年度のゲノム解析の結果も同様で、解析した18株中17株が分離地域に偏ることなく同クローンに属したことにより、本クローンが野生鳥獣特有であるという疫学的特性を強く支持する結果となった。

前研究課題時から継続してCREの分離を試みたが、本年度もCREは分離されなかった。4年間の継続した検査において1株も分離されていないことは、ヒトの臨床現場で大きな問題になっているCREが現時点では野生鳥獣の環境には拡散していないことを示唆しているが、今後も継続的なモニタリングが必要であると考えられる。

本年は3株のCTX耐性の腸内細菌目細菌が分離された。前研究課題時と比較して特にイノシシ糞便から少ない分離率であった。本年度はサンプリングの季節的・地域的な偏りは例年通りであり、この原因は不明であるが、分離率の年次推移を把握するためにも来年度以降のモニタリングも必要であると考えられる。

2023年1月以降に分離されたCTX耐性菌は、13株が*Escherichia coli*で1株が*Enterobacter hormaechei* (EH24M26株)であった。全14株で少なくとも一つの bla 遺伝子を保有する多剤耐性菌であり、多くが $bla_{CTX-M-15}$ (6株:42.9%)か $bla_{CTX-M-55}$ (6株:42.9%)を保有していた。いずれの耐性遺伝子も過去三年間の調査で同程度分離されている。また国内外において動物・環境からの分離例が報告されていることから、本耐性遺伝子が世界中の環境中に広く分布しており、野生獣が保有する腸内細菌目細菌にも例外なく分布しているものと考えられる。また、*Enterobacter hormaechei*

が保有する bla 遺伝子AmpC型 β ラクタマーゼである bla_{ACT16} に類似した遺伝子であり、3か所の塩基置換と1か所のアミノ酸置換が存在した。1アミノ酸置換の β ラクタマーゼであり、機能的には bla_{ACT16} と同等であることが予測されるが、機能面については今後の検討が必要である。

野生獣糞便からのカンピロバクターの分離率は、イノシシがシカに比べて有意($p < 0.001$)に高値を示し、分離株はいずれも*C. hyointestinalis*であった。これは食性が関与している可能性がある。雑食性のイノシシは、草食性の鹿よりも*C. hyointestinalis*に汚染された感染源に暴露される機会が多い可能性が考えられた。さらに、野生イノシシは、体表に付着しているダニなどの外部寄生虫を落とすため、湖沼付近にぬた場を形成し、泥を浴びる習性がある。ぬた場を介した泥浴びの習性により、シカに比べてイノシシは、*C.*

*hyointestinalis*を保有した他のイノシシの糞便に暴露される機会が多かった可能性が考えられた。近年、下痢を呈した患者から本菌が分離されることが明らかとなっている。今後野生鳥獣を原因とした本菌による食中毒のリスクを評価する必要がある。

2) 野生獣糞便からの非結核性抗酸菌の分離方法の検討について

非結核性抗酸菌の分離は既報の方法を一部改変して実施し、培養1週間程度で一部のシカ・イノシシ糞便から抗酸菌様のコロニー・反応が検出できたことから、本法は非結核性抗酸菌の分離に適応できると考えられる。次年度以降、糞便サンプルからの非結核抗酸菌の分離を追加し、菌種を決定した後、収集できた分離菌株の病原性試験を行うためにレポーター遺伝子導入株の作出を開始する予定である。

「野生動物の保有する寄生虫に関する研究」

イノシシを介した人体寄生虫として特に重要である有鉤囊虫について、現時点までの結果では各地に浸淫している状況があるとは言えず、2023年に検出例が報告された長野県に限局的である可能性が見られた。

ただし、もし人が感染した場合には全身性の有鉤囊虫症を引き起こすことがあるため、今後さらに調査地域を増やし、流行状況について全国を網羅的に精査していく必要がある。特に検出例のある長野県およびその周辺地域での検体収集について、現在関係者と調整中である。

旋毛虫については、先行研究において関東以南で約 5,000 ものイノシシが調査されており、陽性例は報告されていない。しかしながら、そもそも旋毛虫の流行は東北地方以北でのみ知られている。近年、イノシシが東北地方にまで分布を拡大したことから同地域を重点とし、青森県および山形県のイノシシの検体収取の交渉が完了し、今後調査に着手する。あわせて、より高感度な検査とするため消化法による精査も行う予定である。

これらイノシシの筋肉（つまり可食部）に寄生し、人の寄生虫症をおこし得る有鉤囊虫および旋毛虫の 2 種については、豚においては屠畜場法において全廃棄となる極めて重要な寄生虫である。そのため、野生獣肉の加工処理時の簡易検査も想定した分子学的検査手法について検討している。現在、検出標的とする塩基配列の *in silico* 検討と、リアルタイム PCR 法での評価を進めており、最終目標としてはモバイルリアルタイム PCR 法の適用を考えている。これにより、食肉処理現場において全廃棄とすべき寄生虫感染のある肉の流通防止に貢献すると期待される。

シカに寄生する住肉胞子虫の一種である *S. japonica* について、下痢原性を明らかにした。このことから、馬肉において食中毒病因物質に指定されている *S. fayeri* と同じく、シカに寄生する住肉胞子虫もヒトに消化器症状を引き起こす可能性が示唆され、既報の鹿肉喫食による有症事例および事例品からの *Sarcocysts* 検出の因果関係を支持した。ただし、*Sarcocystis* 種間で腸管内出血の有無や液体貯留を起こす最小投与量等に違いがみられることから、住肉胞子虫による病原性発揮のメカニズムは種によって相違があることが考えられた。今

後、毒性因子の再検証および発症の機序に関する精査を進める予定である。

アナグマの住肉胞子虫については、過去の数例のみ、病理学的検査に際して検出された事例が報告されているが、本研究でも 2 例についてサルコシストが検出された。現在の流行がどの程度であるのか、また馬やシカの住肉胞子虫と同様にヒトに消化器症状を起こし得るかについて評価予定である。高級ジビエとして取引されるアナグマ肉であるが、特に九州地域での解体数が全国の 7 割を占めることから（農林水産省野生鳥獣資源利用実態調査 令和 3 年度 食肉処理施設での解体数：全国 752 頭、うち九州 532 頭）、同地域については特に精査を行う予定である。また地域性を評価する目的で、千葉県からも全身として 10 頭を目途に収集できるよう交渉が完了した。

ホンシュウジカにみられたオンコセルカ科 *Elaeophora* 属のマイクロフィラリアは血液あるいは組織中に出現する可能性があることから、食肉の検査中に検出されることも想定されるため、予めこの寄生虫について情報を整理し、鑑別のための備えが必要であると考えられる。今後、本属の既知種との比較を行い種同定と生活環の解明を行う。

東洋眼虫は食肉と直接関連はしないが、野生動物の眼に寄生することから狩猟者が異常に気付く場合がある。また、森林部に生息するメマトイにより媒介されることから、狩猟者に感染のリスクがあるため、本種の流行について情報発信が必要であると考えられた。

「イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭の集団遺伝構造の解析」

イノシシで成熟できる肝蛭は特定の遺伝学的集団である可能性が考えられた。また、*cox3* 領域はイノシシで成熟できる肝蛭の属する遺伝学的集団を把握するための解析指標として、mt ゲノム全長を用いて行った遺伝学的集団分類と同程度の有効性を持つ可能性が示唆された。

また *cox3* 領域のハプロタイプネットワーク解析も、系統解析の結果を支持するもの

であると考えられた。加えて、本研究で検出された Fh に近い 2 つのハプロタイプは、単為生殖型肝蛭が国内に流入してきた以前に海外で分岐し、別々に日本に侵入してきた可能性が示唆された。つまり、イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭は大分県や山口県で最近になって突発的に発生したのではなく、国内に侵入してきて以降、流行の主流とはなっていないが、継続して分布していた可能性が考えられた。

今回の調査地域とした大分県、および同様にイノシシにおいて肝蛭成虫の寄生報告がある山口県は、ヒトの肝蛭症も多い傾向がある地域とされている。現在、ヒトの患者由来の肝蛭を収集しており、ヒトの肝蛭感染がどの集団に由来するものであるかを明らかにすることで、野生動物からの肝蛭症のリスクについて検討していく予定である。

E. 結論

「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)」

SFTSV の浸潤地域の拡大は、伴侶動物及び人において確認されている。これらの拡大は野生動物における浸潤地域と一致していると考えられ、SFTSV の正確な分布域の把握には、今後も継続的な全国規模の疫学調査が必要である。

加えて、抗体調査において、陽性となるような人獣共通感染症の病原体については、SFTSV と同様、狩猟及び解体業の関係者の感染リスクについて検討する必要がある。

「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 (HEV)」

イノシシの集団が野生動物の中で HEV の主要な保有動物であることが明らかになった。子イノシシは HEV に感染する可能性が高く、子イノシシからの HEV 感染リスクが高いことが示唆された。シカは HEV に感染することは稀であり、ヒトへの HEV の原因となる可能性は低い。イノシシの糞便から HEV が排出されていることが確認された。

「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ける健康被害の軽減に関する研究」

カラーアトラスはジビエ生産物流通過程に生じる公衆衛生上のリスク軽減に貢献する。

「食中毒や健康被害の発生防止対策のための科学的な根拠の提供に関する研究 —野生カモおよびその捕獲・解体環境におけるカンピロバクター分布調査—」

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経年的に確認したことから、カモ盲腸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。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。菌の分布状況は、カモ捕獲地の環境によって影響を受けることが示唆された。今後検体数を増やし詳細な環境調査が必要であると考えられた。今後は、捕獲～解体にかけての各工程の環境汚染の実態と、二次汚染の可視化、解体工程（内臓摘出、皮剥ぎ、洗浄など）における菌が検出されやすい箇所やタイミングの把握について明らかにするため、環境調査を継続する必要があると考えられた。

「現場の実態に対応した HACCP に沿った衛生管理手法の確立に関する研究」

1) ①屋外施設、②工程順：屋外での内臓摘出、剥皮→内臓摘出の順、③剥皮方法：湯剥ぎ、④剥皮施設：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。

2) 表皮洗浄において、次亜塩素酸水による消毒は効果的に一般細菌数を減少させることが確認された。

3) 一連の解体工程の拭き取り検体における細菌叢の比較解析から、①「剥皮後の止め刺し口」、②「解体前の作業者の手指」、③「内臓摘出後のナイフ」を汚染源として枝肉が汚染したと考えられた。

4) 一連の解体工程の拭き取り検体から、低温腐敗細菌である *Pseudomonas* が高頻度かつ高い割合で検出された。

5) 熟成期間中とくに熟成庫内の床において一般細菌数の増殖が認められた。

「野生鳥獣における食中毒細菌等の病原細菌の汚染状況の把握と病原因子の機能解析に関する研究」

1) 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) 前課題研究時と同様、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、本年度は3株（シカ糞便：1株、イノシシ糞便：2株）の CTX 耐性の腸内細菌目細菌が分離された。前課題時には、イノシシ糞便からの方が高率に分離される傾向があったが、本年度は過去三年間の調査に比べ若干少ない分離率であった。

3) 作業者手指のふき取り検体からは、今回対象とする病原体は分離されなかった。本年度は1か所8検体の検査のみであるが、来年度以降も継続的に実施することで解体作業時における野生鳥獣から人への汚染を評価し、健康被害のリスクとなり得るのか検討を続ける。

4) 分離菌株のゲノム解析の結果、多くの黄色ブドウ球菌・CTX 耐性菌ともに例年と同様のゲノム構造、耐性遺伝子を持つことが判明した。これまで明らかにしてきた野生鳥獣特有の分子疫学的特性を強く支持する結果である。

5) ゲノム解析を行った *Enterobacter hormaechei* EH24M26 株が保有する *bla* 遺伝子 AmpC 型 β ラクタマーゼである *bla*_{ACT16} に類似した遺伝子であり、3か所の塩基置換と1か所のアミノ酸置換が存在した。1アミノ酸置換の β ラクタマーゼであり、機能的には *bla*_{ACT16} と同等であることが予測されるが、今後の検討が必要である。

5) 本年度開始したカンピロバクターの保菌調査では、シカ、イノシシともに、食中毒の原因となる *C. hyointestinalis* を高率に

保菌していることが明らかとなった。鹿に比べて特に猪において優位に高率に保菌していた。

6) 野生鳥獣糞便からの非結核性抗酸菌の分離は既報の方法を一部改変すること抗酸菌様のコロニー・反応が検出できたことから、本法が応用できると考えられた。

「野生動物の保有する寄生虫に関する研究」

公衆衛生上重要であるイノシシの可食部の寄生虫について、有鉤囊虫は現時点では国内に高度蔓延はしていないであろうことが示唆された。引き続き調査地、検体数を増やし、流行状況について精査していく。同様に、旋毛虫およびトキソプラズマについても現状の把握に努める。

住肉胞子虫については、高級ジビエであるアナグマにおいて現在でも感染が起りうることを確認され、今後浸淫の程度や食中毒原性について評価していく。また、シカの住肉胞子虫の下痢原性について明らかとなったことから、さらに発症の機序について精査していく。各種の病原性およびその強さなど食中毒因子の解析が進めば、ジビエ喫食を原因とする他種の住肉胞子虫による健康被害も法律上の食中毒として扱えるようになると期待される。その結果、事例が食中毒統計に収載されるようになり、行政対応（記録・処分・対策強化）が円滑に行えると考えられる。

野生動物の保有する寄生虫による人への危害として、獣肉の喫食に起因する感染症等だけでなく、寄生虫の生活環に特に狩猟者や加工者などが立ち入ってしまうことで、野生動物によって維持される動物由来寄生虫に感染することが危惧される。そのため、食肉目にみられた東洋眼虫（人への感染性あり）やシカの *Elaeophora* 属糸状虫（現時点では人への感染性不明）など、狩猟者を守るための情報提供も重要である。

「イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭の集団遺伝構造の解析」

日本国内の肝蛭の構成としては、*F. hepatica* を母系に持つ肝蛭と *F. gigantica*

を母系に持つ肝蛭が同程度国内で分散しているとされている。本研究により、イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭は *F. hepatica* を母系に持つ集団の中でもさらに特異な遺伝学的集団を構成しており、大分県内ではシカとも相互伝播している可能性が考えられた。イノシシからの伝播による肝蛭症の再興リスクを適正に評価するため、イノシシで成熟できる肝蛭の分布を把握することで、公衆衛生上ならびに産業動物防疫上、肝蛭への対策の重要地域などの評価につながると期待している。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ahmed A, Shimizu T, Shimoda H, Hosoi E, Uda A, Hotta A, Watarai M, Maeda K, Takano A. Molecular and serological investigation of *Francisella tularensis* among wild animals in Yamaguchi prefecture. *Vet Res Commun.* 2024 Oct;48(5):3397-3402.
2. Matsuu A, Tatemoto K, Ishijima K, Nishino A, Inoue Y, Park E, Tamatani H, Seto J, Higashi H, Fukui Y, Noma T, Doi K, Nakashita R, Isawa H, Kasai S, Maeda K. Oz Virus Infection in 6 Animal Species, Including Macaques, Bears, and Companion Animals, Japan. *Emerg Infect Dis.* 2025 Apr;31(4):720-727.
3. Nishino A, Tatemoto K, Ishijima K, Inoue Y, Park ES, Yamamoto T, Taira M, Kuroda Y, Virhuez-Mendoza M, Harada M, Nakamura N, Morimoto G, Yamaguchi H, Ariizumi T, Takano A, Shimoda H, Matsuno K, Maeda K*. Transboundary Movement of Yezo Virus via Ticks on Migratory Birds, Japan, 2020-2021. *Emerg Infect Dis.* 2024 Dec;30(12):2674-2678.
4. Takeishi M, Morikawa S, Kuwata R, Kawaminami M, Shimoda H, Isawa H, Maeda K, Yoshikawa Y. Characterization and arbovirus susceptibility of cultured CERNI cells derived from sika deer (*Cervus nippon*). *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2024 Sep;60(8):935-948.
5. Chang YC, Shimoda H, Jiang MC, Hsu YH, Maeda K, Yamada Y, Hsu WL. Gn protein expressed in plants for diagnosis of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2024 Apr 19;108(1):303.
6. Virhuez-Mendoza M, Ishijima K, Tatemoto K, Kuroda Y, Inoue Y, Nishino A, Yamamoto T, Uda A, Hotta A, Kabeya H, Shimoda H, Suzuki K, Komiya T, Seto J, Iwashina Y, Hirano D, Sawada M, Yamaguchi S, Hosaka F, Maeda K. Recent Hepatitis E Virus Infection in Wild Boars and Other Ungulates in Japan. *Viruses.* 2025 Apr 4;17(4):524.
7. Sato S, Nishioka E, Kabeya H, Maruyama S. Genomic properties of a *Bartonella quintana* strain from Japanese macaque (*Macaca fuscata*) revealed by genome comparison with human and rhesus macaque strains. *Sci Rep.* 2024;14(1):10941.
8. Possibility of vertical transmission of *Sarcocystis* spp. in sika deer in Japan. Yamazaki A, Yamaguchi Y, Hiroshima T, Urushibara Y, Shirafuji Y, Fukumoto S, Kamata Y. *Foodborne Pathog. Dis.* 2024 Nov 11 (Online ahead of print).
9. Meningoencephalitis with malacia caused by *Sarcocystis calchasi* in a rock pigeon in Japan. Kobayashi M, Takesue K, Kigata T, Kobayashi N, Iwaide S, Murakami T, Harima H, Yamazaki A, Azakami D, Shibutani M,

- Yoshida T. J. Vet. Med. Sci. 2024 86: 906-910.
10. New host record of *Thelazia callipaeda* (Nematoda: Spirurida) with a notably wide host range and shared zoonotic lineage in Japan. Kitajima A, Tokiwa T, Doi K, Kotani K, Otsubo H, Kamei C, Hitani H, Yamamoto T, Kato T. Parasitol. Int. 2024 102: 102913.
2. 学会発表
1. Ken Maeda “Epidemiology and surveillance of SFTS in animals in Japan” 長崎大学—ロンドン大学衛生熱帯医学大学院合同 SFTS シンポジウム 『Joint Symposium on SFTS: One Health multi-sectoral multi-country approach』 令和 7 年 3 月 20 日
 2. 前田 健「動物由来感染症」衛生微生物技術協議会第 44 回研究会シンポジウムⅢ「オズ、リケッチア、ダニ媒介性感染症」2024 年 7 月 10 日タワーホール船橋
 3. 前田 健「One Health アプローチの重要性：感染症の時代を生きるために」Bioeconomy Hub Japan 2024「プラネタリーヘルス」2024 年 4 月 19 日グランフロント大阪
 4. 武石 真音、佐々木 旭美、楢田 龍星、小川 寛人、下田 宙、石嶋 慧多、黒木 俊郎、宇根 有美、森川 茂、伊澤 晴彦、前田 健、吉川 泰弘「数種の野生動物培養細胞におけるウイルス感受性の比較」第 167 回日本獣医学会学術集会、帯広畜産大学、2024 年 9 月 10 日
 5. 及能 和輝、後出 航汰、井上 和、光永 早紀、胡 蔚殷、繁永 智里、西里 美優香、篠原 真依、下手 誠也、高野 愛、前田 健、小泉 信夫、下田 宙、早坂 大輔「野生哺乳動物が保有する病原体レプトスピラの分子疫学調査」第 167 回日本獣医学会学術集会、帯広畜産大学、2024 年 9 月 10 日
 6. Virhuez-Mendoza, Milagros. “感染症と新興病原体”. 第 VII 回ペルー研究者会議 (VII encuentro de investigadores peruanos en Japón) . 2025 年 3 月 28 日。ペルー共和国大使館 (東京)。
 7. GFP 発現 *B. quintana* の作製と株化細胞に対する感染性の検討 (第 167 回 日本獣医学会学術集会、令和 6 年 9 月 10～13 日、帯広畜産大学
 8. 野生鹿、猪に分布する *Campylobacter* および腸管出血性大腸菌 (第 26 回 腸管出血性大腸菌感染症研究会/第 17 回 日本カンピロバクター研究会 合同開催、令和 6 年 11 月 18-19 日、文部科学省 研究交流センター
 9. 鈴木康規、小野久弥. シンポジウムⅡ 「微生物毒素と食中毒研究の最前線：新型ブドウ球菌エンテロトキシンの発見と食中毒リスク」 第 45 回日本食品微生物学会学術総会 (青森) 2024 年 9 月 5 日-6 日. (招待シンポジウム)
 10. 鈴木康規、小野久弥、胡 東良. 「ブドウ球菌の分子疫学 解析法の進展と日本・世界の現状：新型ブドウ球菌エンテロトキシンの発見と食中毒リスク」 第 68 回日本ブドウ球菌研究会 (Web 開催) 2024 年 9 月 7 日.
 11. 東洋眼虫の新しい宿主と遺伝的多様性. 北島彩夏, 土井寛大, 加藤卓也, 常盤俊大. 第 83 回日本寄生虫学会東日本支部大会・第 75 回日本衛生動物学会東日本支部大会合同大会 2024 年 10 月、文京区.
 12. *Toxoplasma gondii* による食肉汚染検出を目的としたリアルタイム PCR 法による on-site 検査の開発. 鈴木こころ、Ho Hung Wui、入江隆夫、三谷康正、西澤尚文、吉田彩子. 第 94 回日本寄生虫学会大会 2025 年 3 月、大阪.
 13. New host identifications of Oriental eyeworm (*Thelazia callipaeda*). Doi K, Tokiwa T, Kitajima A, Kato T. 日本生態学会第 72 回全国大会 シンポジウム 2025 年 3 月、札幌

14. イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭の集団遺伝構造の解析. 水野雄介、入江隆夫、水村匡伸、吉田彩子. 第76回日本寄生虫学会 南日本支部大会 第73回 日本衛生動物学会 南日本支部大会 合同大会. 2024年10月、大分.
 15. イノシシで成熟できる単為生殖型肝蛭のミトコンドリアゲノム配列による集団遺伝学的解析. 水野雄介、入江隆夫、水村匡伸、吉田彩子. 第94回日本寄生虫学会大会. 2025年3月、大阪.
3. 講演会
1. Ken Maeda “Tick-borne viral zoonoses in Japan” Seminar on Drug Discovery Project. 2025/3/7 NRCPD PK Hall
 2. 前田 健「One Health アプローチ：狂犬病、SFTS 対策を中心に」第61回静岡県公衆衛生研究会 2025/02/07 グランシップ（静岡）
 3. 前田 健「動物由来感染症」令和6年度 東京 iCDC 座談会(ワンヘルス)2025/02/02 都庁第一本庁舎5階大会議場
 4. 前田 健「One Health アプローチで動物由来感染症対策（大阪府）！」大阪府動物由来感染症研修会 2024/1/21 大阪府動物愛護管理センター（大阪府羽曳野市）
 5. 前田 健「One Health アプローチで動物由来感染症対策（愛媛県）！」愛媛県動物由来感染症研修会 2024/1/15 愛媛県中予地方局総合庁舎
 6. 前田 健「One Health アプローチで動物由来感染症対策（島根県）！」島根県動物由来感染症研修会 2025/1/14 島根県保険環境科学研究所
 7. 前田 健「One Health アプローチで動物由来感染症対策（東京都）！」東京都動物由来感染症研修会 2024/12/24 東京都庁
 8. 前田 健「国内の野生鳥獣に係る感染症の紹介」神奈川県衛生監視員協議会 研修会 2024年12月21日 藤沢市保健所 3階大会議室
 9. 前田 健「One Health アプローチで動物由来感染症対策（大分県）！」大分県動物由来感染症研修会 2024/12/17 大分県庁
 10. 前田 健「動物由来感染症について」2024年度 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラム 11月7日（木）
 11. 前田健「SFTS を振り返る」日本獣医史学会第96回研究発表会、2024/10/26、日本獣医生命科学大学
 12. 石嶋慧多, 平良雅克, 井上雄介, 西野綾乃, 前田 健「ダニ媒介性ウイルス感染症の疫学調査」第70回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会 2024/9/25 道新ホール大会議室
 13. Ken Maeda “Zoonotic and human related diseases and their control” WOA Regional Workshop on Vector borne diseases in Asia and the Pacific. Tokyo, Japan, 19 - 20 September 2024
 14. 海老原秀喜、鈴木忠樹、前田健、深澤征義、伊澤晴彦、福士秀悦、伊藤睦代、忽那賢志、松野啓太、今中恭子 「新興ダニ媒介性ウイルス感染症に対する総合的な対策スキームの構築」第6回 SFTS 研究会・学術集会、北海道大学 獣医学部講堂、2024年9月15日
 15. 前田 健「ワンヘルスアプローチの実践と展望：伴侶動物の感染症から」日本環境感染症学会教育講演5 2024年7月26日 国立京都国際会館
 16. 前田 健「One Health の実践」2024年度短期研修食肉衛生検査研修国立保健医療科学院 2024年6月12日
 17. 前田 健「One Health approach」JICA インドネシア EWARS 強化プロジェクトへ本邦研修 2024年6月7日 国立感染症研究所
 18. 前田 健「動物由来感染症」2024年度 FETP 初期導入コース 飯田橋庁舎 2024年5月13日
 19. 前田 健「One Health アプローチの推進へ向けて：沖縄県と一緒に考える」沖縄県衛生環境研究所講演会 2024年5月9日

20. 宇根有美、ジビエ基礎セミナー 野生鳥獣（狩猟前・解体時）の異常の見分け方とリスク対応 大阪 2024年10月16日
21. 宇根有美、令和5年度 ジビエハンター育成研修 島根 2024年3月17日
22. 宇根有美、伯方島ジビエセミナー 伯方島 2024年11月16日
23. 野生鳥獣の食用利用における衛生管理、2024年10月16日（水）、大阪合同庁舎第1別館、(株)一成
24. イノシシ・シカの捕獲から解体処理における衛生管理方法、2024年10月3日（木）、埼玉会館、日本ジビエ振興協会
25. ジビエハンター研修（異常の確認、衛生管理及び疾病）、2024年10月6日（日）、2025年、1月12日（日）、株式会社 tracks 糸島ジビエ
26. イノシシ・シカの捕獲から解体処理における衛生管理方法、2024年11月14日（木）、マリオス（岩手県・盛岡市）
27. イノシシ・シカの捕獲から解体処理における衛生管理方法、2024年12月20日（金）、グランメッセ熊本
28. イノシシ・シカの捕獲から解体処理における衛生管理方法、2025年1月17日（金）、和歌山城ホール
29. 野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針(ガイドライン)に基づくイノシシ及びシカの適切なたさつ又は解体について、小田原合同庁舎、神奈川県小田原保健福祉事務所
30. 高井伸二、ジビエハンター研修会 2024年10月9日（オンライン） 50名「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）。
31. 高井伸二、ジビエハンター研修会 2024年10月24日（オンライン） 40名「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）。
32. 高井伸二、ジビエハンター研修会 2024年11月9日（オンライン） 40名「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）。
33. 高井伸二、ジビエハンター研修会 2024年11月19日（オンライン） 40名「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）。
- 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
行政関係者向け説明会
1. ジビエ処理施設における解体処理工程での微生物汚染防止について、令和7年1月23日（木）、東京証券会館ホール、厚生労働省