

令和 7 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)
(分担) 研究報告書

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

研究分担者 鈴木 康規 (東京農工大学)
研究協力者 高井 伸二 (北里大学)
小野 久弥 (北里大学)

研究要旨：前課題からの継続研究として、野生獣糞便からの黄色ブドウ球菌の分離および食中毒起因性の評価、ならびに CRE を含む薬剤耐性菌の分離と耐性遺伝子の探索を行い、あわせて非結核性抗酸菌の分離・菌種同定を実施し、野生獣由来の健康被害リスクについて検討した。黄色ブドウ球菌については、シカ由来糞便からの分離率がイノシシ由来より高く、この傾向は過去 4 年間の結果とも一致していた。さらにゲノム解析の結果、野生動物に特有の CC121 由来クローンが優占的に検出され、地域差を超えて安定的に維持されている可能性が示された。一方で、本年度初めてウシ関連クローン CC97 (ST352) が宮崎県で採取したシカ糞便から検出され、農場由来菌が環境経路を介して間接的に伝播した可能性が示唆された。CRE については 5 年間の調査において一貫して検出されず、現時点では野生鳥獣環境への拡散は限定的と考えられたが、今後の侵入リスクを踏まえ継続的な監視が必要である。CTX 耐性腸内細菌目細菌はすべてイノシシ由来で検出され、イノシシの人為環境への接触頻度の高さが耐性菌保有に寄与していると考えられた。検出された *Escherichia coli* はすべて *bla*_{CTX-M-15} または *bla*_{CTX-M-55} を保有する多剤耐性菌であり、これらの遺伝子は環境中に広く分布し、野生鳥獣にも普遍的に存在することが示唆された。非結核性抗酸菌の分離において、7H11-C 培地上で得られたコロニーについて PCR およびゲノム解析を行った結果、*Mycobacterium fortuitum* が同定された。本菌は環境常在菌であり通常は低病原性であるが、日和見感染症の起因菌となり得ることから、環境由来菌としての意義に加え、人獣共通感染症の潜在的リスク評価対象として重要であると考えられた。以上より、野生鳥獣は病原菌、薬剤耐性菌、環境由来菌のいずれにおいても重要な環境リザーバーまたは指標となり得ることが明らかとなり、継続的な疫学的監視の重要性が示された。

A. 研究目的

野生鳥獣由来食肉による食中毒の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状況に加え、解体・処理・加工といった各工程における二次汚染の実態を含め、リスクが生じる各段階での汚染状況を把握することが重要である。ブドウ球菌食中毒の主な原因菌である黄色ブドウ球菌は、温血動物の皮膚や粘膜に広く存在する常在菌として知られており、野生鳥獣由来食肉においてもその存在は例外ではな

い。一方で、野生鳥獣をはじめとする自然環境中における本菌の分布や遺伝学的特徴、ならびに食品衛生上のリスク評価に関する疫学的情報は依然として限られている。そのため、野生鳥獣から食肉に至る一連の過程を対象とした包括的な実態把握が求められている。

近年、グラム陰性菌による感染症治療においては、「最後の切り札」とされるイミペネムやメロペネムなどのカルバペネム系抗菌薬を分解するカルバペネマーゼ産生菌を

含むカルバペネム耐性腸内細菌目細菌

(CRE) が国際的に大きな問題となっている。日本においても、2014 年 9 月から本菌による感染症は感染症法に基づく 5 類全数把握対象疾患に指定され、発生状況の監視が継続されている。本耐性遺伝子の特徴としては、プラスミドなどを介した水平伝播により菌種を超えて拡散しやすい点、ならびに多様な variant が存在し、それぞれが異なる基質特異性を示す場合がある点が挙げられる。臨床現場における CRE 感染症患者由来株については、疫学のおよび遺伝学的解析が数多く行われており、地域ごとの流行クローンの特徴も徐々に明らかになってきている。一方で、これらの耐性遺伝子がどのように成立・拡散してきたのかという起源や、野生鳥獣を含む環境中における腸内細菌目細菌の保有状況については、依然として報告が限られており、不明な点が多く残されている。

非結核性抗酸菌 (NTM) は、結核菌およびらい菌以外の抗酸菌の総称であり、現在 200 菌種以上が含まれている。これらは自然環境中の水系や土壌に広く分布しているほか、家畜などの動物体内、水道や貯水槽といった給水システムにも存在することが知られている。NTM は主に吸入によって呼吸器系疾患を引き起こすが、水や食品を介して消化器系疾患を生じる場合や、創傷感染の原因となることもある。NTM 症は近年増加傾向にあり、今後は食餌性を含めた感染リスクの評価が重要であると考えられる。

本年度は前課題の継続研究として、野生鳥獣糞便からの黄色ブドウ球菌の分離と食中毒起病性の評価、ならびに CRE などの薬剤耐性菌の分離と耐性遺伝子の探索を実施し、野生鳥獣から人への汚染実態を評価するとともに、健康被害のリスクとなり得るかを検討する。また、前年度に検討した分離方法を用いて、野生鳥獣における非結核性抗酸菌の汚染調査を実施する。さらに、全ゲノム解析により新たな病原性候補遺伝子が見出された場合には、その機能解析を行うことを目的とした。

B. 研究方法

1) 糞便試料

2025 年 1 月から 12 月にかけて、日本各地で狩猟および有害鳥獣として捕獲されたシカおよびイノシシから糞便を採取し、4℃で保存した状態で当研究室へ搬入した。

2) 糞便試料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 (鈴木, 臨床検査. 2022. 66 : 64-72.)。

3) 糞便試料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 (Suzuki et al., mSphere. 2019. 4:e00391-19.)。

4) 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実施した (Odoi et al., J Wildl Dis. 2020. 56:851-862)。なお、前年度の検討結果より、糞便乳剤を NALC-NaOH 試薬で一晩前処理した後、小川培地に直接塗抹し、発育したコロニーを 7H11-C 寒天培地に画線培養する方法が最も効率的な分離法であることが示された。そのため、本研究では MGIT 法は用いず、当該方法のみを採用した。

5) 分離菌株の全ゲノム解析

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

6) in silico 解析

得られたペアエンドのリードデータを Type (Strain) Genome Server (<https://tygs.dsmz.de/>)、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、各菌株の菌種同定、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。

(倫理面への配慮)
特になし

C. 研究結果

1) 野生獣糞便からの黄色ブドウ球菌の分離率 (表 1)

2025 年 1 月から 12 月に日本全国で採取したシカ糞便 177 検体中 10 検体から黄色ブドウ球菌が分離され、陽性率は 5.6%であった。また、同時期に採取したイノシシ糞便 95 検体中 3 検体から黄色ブドウ球菌が分離され、陽性率は 3.1%であった。本年度も前年度までと同様、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 (表 2)

上記と同一の糞便検体を用いて、 β ラクタム系抗菌薬耐性腸内細菌科細菌の分離を実施した。前課題の結果と同様に、2025 年 1 月から 12 月までに搬入された全 272 検体から CRE は分離されなかった。一方、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 β -lactamase: ESBL) 産生菌が疑われる株は、イノシシ糞便 95 検体中 11 検体

(11.6%) から分離されたが、シカ糞便からは検出されなかった。本年度の結果も過去 4 年間の調査と同様に、イノシシ由来検体において分離率が高い傾向を示した。

3) 分離した黄色ブドウ球菌の遺伝学的特性 (図 1)

本年度分離された黄色ブドウ球菌 10 菌株 (シカ糞便由来 7 株、イノシシ糞便由来 3

株) は、8 株が前課題時に新たに見出した「野生鳥獣特有クローン: CC121」に属し、それぞれ ST6238 (*sei*, *sem*, *sen*, *seo*, *selu* 保有株) がシカ由来 2 株、イノシシ由来 1 株、ST8077 (エンテロトキシン遺伝子非保有株) がシカ由来 1 株、イノシシ由来 2 株、ST8084 (エンテロトキシン遺伝子非保有株) がシカ由来 1 株、ST1250 (エンテロトキシン遺伝子非保有株) がシカ由来 1 株であった。一方、残り 2 株はウシ関連クローン CC97 に属する ST352 であり、いずれも宮崎県で採取されたシカ糞便由来株であった。

4) 分離した薬剤耐性腸内細菌目細菌の特性 (表 3)

2025 年に分離された CTX 耐性菌 9 株を解析した結果、全ての菌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、過去 4 年間の調査と同様、多くが *bla*_{CTX-M-15} (5 株: 33.3%) か *bla*_{CTX-M-55} (6 株: 66.7%) を保有していた。また、解析対象となった 9 株はいずれも *Escherichia coli* であった。

5) 非結核性抗酸菌の分離結果と菌種同定 (図 2)

7H11-C 寒天培地上に発育したコロニーについて、*rpoB* および *hsp65* を標的としたコロニー-PCR を実施した。その結果、シカ糞便 177 検体中 2 検体から両遺伝子のバンドが検出され、陽性率は 1.1%であった。一方、同時期に採取したイノシシ糞便 95 検体中 4 検体で両遺伝子のバンドが検出され、陽性率は 4.2%であった。

さらに、ゲノムシーケンス解析に向けて DNA 抽出を行ったところ、定法であるカラム精製の前にリゾチーム処理を 3 時間以上実施することで、約 100 ng のゲノム DNA を取得することが可能であった。このうち MY25B31 株、MY25B46 株および MY25D127 株について MiSeq によるリードデータを取得し、Type (Strain) Genome Server による菌種同定を行った結果、いずれの株も迅速発育菌群に属する非結核性抗酸菌であり、*Mycobacterium fortuitum* と同定された。

D. 考察

1) 野生鳥獣が保有する病原菌のリスクについて

シカ由来の糞便からの黄色ブドウ球菌分離率は、イノシシ由来のものと比較して高い水準を示し、この傾向は前研究課題期間の過去4年間とも一致していた。これらの結果は、イノシシに比べてシカの方が本菌の保菌率が高い可能性を強く示唆しており、本年度のデータからも、この疫学的特徴が継続的かつ安定して存在していることが裏付けられた。さらに、前研究課題において実施した分離株のゲノム解析では、野生動物に特有のクローンとして、CC121から分岐した独自系統の黄色ブドウ球菌が定着していることが明らかとなっている。本年度の解析結果においても同様の傾向が確認され、解析対象10株のうち8株が地域的な偏在を示すことなく同一クローンに分類された。このことは、当該クローンが野生鳥獣に特異的に分布するという疫学的特性を強く支持するものである。

本年度の解析では新たな知見として、ウシ関連クローンであるCC97に属するST352型株が2株検出された。いずれも宮崎県で採取されたシカ糞便由来であり、採取地点とウシ農場との地理的關係は現時点で明らかではない。しかしながら、農場由来の黄色ブドウ球菌が水系・土壌・媒介生物などの環境経路を介して、シカへ間接的に伝播・定着した可能性が考えられる。これらの結果を踏まえ、家畜との接触や交差汚染の可能性については、他の家畜伝染病の拡散防止の観点からも、今後慎重に検討・監視していく必要がある。

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は検出されなかった。5年間の継続調査において1株も分離されていないことから、ヒトの臨床現場で問題となっているCREは、現時点では野生鳥獣の生息環境には広く拡散していない可能性が示唆される。ただし、今後の侵入・定着リスクを考慮すると、継続的なモニタリングの重要性は高い。

本年度はCTX耐性の腸内細菌目細菌が11株分離され、いずれもイノシシ糞便由来で

あった。この結果は過去の傾向と一致しており、イノシシにおける分離率の高さは、生態および行動様式の違いに起因すると考えられる。すなわち、イノシシは雑食性であり、農地や家畜飼養環境、廃棄物周辺など人為環境に頻繁に出入りするため、抗菌薬に曝露された細菌や耐性菌と接触する機会が多い。一方、シカは主に森林環境に依存する草食動物であり、人為的汚染源との接触機会が比較的限定的である。このような曝露機会の差が、イノシシにおける薬剤耐性菌の保有率の高さに寄与していると考えられる。

本年度に分離されたCTX耐性菌のうち、9株は*Escherichia coli*であり、すべての株が少なくとも1つの*bla*遺伝子を保有する多剤耐性菌であった。これらの株はいずれも*bla*_{CTX-M-15}または*bla*_{CTX-M-55}を有しており、これらの耐性遺伝子は過去4年間の調査においても同程度に検出されている。また、これらの遺伝子は国内外で動物および環境由来株からの分離例が多数報告されていることから、環境中に広く分布していることが示唆される。したがって、野生鳥獣が保有する腸内細菌目細菌においても、これらの耐性遺伝子が普遍的に存在している可能性が高いと考えられる。特に、CTX-M系遺伝子は「高い可動性」「広い宿主域」「低い維持コスト」という特徴を持ち、特定宿主に依存せず環境中で広く維持・拡散し得ると考えられ、その結果として野生鳥獣においても普遍的に検出されることが示唆される。

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

7H11-C寒天培地上に発育したコロニーについて、*rpoB*および*hsp65*を標的としたコロニーPCRを実施した。その結果、シカ糞便177検体中2検体(1.1%)、イノシシ糞便95検体中4検体(4.2%)で両遺伝子のバンドが検出された。

さらに、ゲノム解析用DNA抽出では、カラム精製前にリゾチーム処理を3時間以上行うことで約100 ngのゲノムDNA取得が可能

であった。MY25B31 株、MY25B46 株および MY25D127 株について MiSeq 解析を実施し、菌種同定を行った結果、いずれも迅速発育菌群に属する非結核性抗酸菌であり、*Mycolicibacterium fortuitum* と同定された。本菌は自然環境（土壌・水系）に広く分布する環境常在菌であり、一般的にヒトに対する病原性は低いものの、創傷感染や術後感染などの日和見感染症の起因菌として知られている。さらに、免疫不全宿主においては肺感染症を含む慢性・難治性感染を引き起こすことも報告されている。本研究で本菌が検出されたことから、野生鳥獣の腸内への一過的な取り込み、あるいは水系・土壌を介した広域な環境分布の反映である可能性が考えられる。これらのことから、野生動物は非結核性抗酸菌の環境リザーバーまたは指標となり得るとともに、状況によっては人獣共通感染症としての潜在的风险評価の対象となる可能性が示唆される。

E. 結論

1) シカ糞便における黄色ブドウ球菌分離率はイノシシより高く、過去 4 年間と同様に CC121 由来の独自クローンが優占的に定着している可能性が示唆された

2) ウシ関連クローン (CC97 : ST352) がシカから検出され、家畜由来菌の環境經由伝播の可能性が示された。

3) CRE は 5 年間を通じて検出されず、現時点では野生鳥獣環境への拡散は限定的と考えられた。ただし CRE の侵入リスクを考慮すると継続的監視の必要性は高い。

4) CTX 耐性腸内細菌目細菌はすべてイノシシ由来であり、宿主間で明確な差が認められた。イノシシにおける耐性菌保有は、人為環境への接触頻度の高さが主因と考えられた。

5) *bla*_{CTX-M-15} および *bla*_{CTX-M-55} は広く環境中に分布し、野生鳥獣にも普遍的に存在する可能性が示唆された。

6) 非結核性抗酸菌 (*Mycolicibacterium fortuitum*) は低頻度ながら検出され、環境由来菌の取り込みが示唆された。本菌は日和見感染菌であることが知られており、状況によっては人獣共通感染症としての潜在的风险評価の対象となる可能性が示唆された。

7) 野生鳥獣は病原菌・薬剤耐性菌・環境菌のいずれにおいても環境リザーバーまたは指標となり得る存在であると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 鈴木康規、小野久弥. 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. 日本食品微生物学会雑誌. 2026 年 43 巻 1 号 p. 15-19.

2. 学会発表

なし

3. 講演会

1. 高井伸二. 令和 7 年度ジビエハンター育成研修会《農林水産省/利活用技術者育成研修事業》 2025 年 9 月 26 日、10 月 16 日、11 月 6 日と 26 日の 4 回 (オンライン) 各 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)。概要 野生動物の捕獲従事者等を対象とした食肉利用に適した捕獲および異常の確認、および衛生管理等に関する研修会を実施する。研修終了後、受講者に対して、研修カリキュラムの理解度を確認し、研修修了証を受講者に授与した。
2. 高井伸二 令和 7 年度ジビエまるわかりセミナー《農林水産省/利活用技術者育成研修事業》 10 月 15-16 日北海道大学、10 月 20-21 日農水省、11 月 20-21 日大阪合同庁舎、12 月 22-23 日岡山合同庁舎で開催。合計 200 人以上の狩猟・ジビエ施

設・行政担当者等が参加。概要 研修会
では関係法規、狩猟方法、捕獲から搬入
まで衛生管理、経営管理に至るジビエ全
般の知識・技術を研修した。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

図表

表 1. 2025 年 1 月～12 月に採取した野生獣糞便からの黄色ブドウ球菌の分離結果

検体	陽性率	都道府県	菌株名
シカ糞便	10/177 (5.6%)	静岡	SA25D54
		山口	SA25D85、SA25D88
		鹿児島	SA25D102
		宮崎	SA25D111、SA25D115、SA25D116、SA25D120
		青森	SA25D139
		大分	SA25D141
イノシシ糞便	3/95 (3.1%)	千葉	SA25B26
		鹿児島	SA25B34、SA25B39

表 2. 2025 年 1 月～12 月に採取した野生獣糞便からの薬剤耐性腸内細菌目細菌の分離結果

検体	陽性率	都道府県	菌株名
カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE)			
シカ糞便	0/177 (0%)		
イノシシ糞便	0/95 (0%)		
セフトキシム耐性腸内細菌目細菌 (ESBL)			
シカ糞便	0/177 (0%)		
イノシシ糞便	11/95 (11.6%)	青森	EC25B28、EC25B50
		鹿児島	EC25B35
		大分	EC25B37、EC25B42、EC25B44、EC25B51、EC25B52
		千葉	EC25B53
		山形	EC25B75、EC25B92

表 3. 2025 年 1 月～12 月に分離された CTX 耐性菌 9 株が保有する薬剤耐性遺伝子の一覧

菌株	ST(大腸菌)	βラクタム系薬剤耐性遺伝子	その他の耐性遺伝子
イノシシ糞便由来			
EC25B28	224	<i>bla</i> _{CTX-M-55}	aadA5, aph(6)-1d, aph(3'')-1b, floR, sul2, tet(A), dfrA17
EC25B35	5044	<i>bla</i> _{CTX-M-55}	aph(6)-1d, aph(3'')-1b, floR, qnrS4, sul2, tet(A)
EC25B37	224	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	aph(6)-1d, aph(3'')-1b, aadA1, aadA2, cmlA1, floR, sul2, sul3, tet(A), dfrA1, dfrA12
EC25B42	224	<i>bla</i> _{CTX-M-55}	aadA5, aph(6)-1d, aph(3'')-1b, floR, sul2, tet(A), dfrA17
EC25B44	224	<i>bla</i> _{CTX-M-55}	aadA5, aph(6)-1d, aph(3'')-1b, floR, sul2, tet(A), dfrA17
EC25B50	202	<i>bla</i> _{CTX-M-55} , <i>bla</i> _{TEM-1B}	aph(6)-1d, aph(3'')-1b, qnrS1, sul2, tet(A), dfrA14
EC25B51	New	<i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{TEM-176}	aph(3'')-1a, floR, qnrS1, tet(A), dfrA14
EC25B52	361	<i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{TEM-1B}	aph(6)-1d, aph(3'')-1b, floR, qnrS2, qnrS1, sul2, tet(A), dfrA12
EC25B53	New	<i>bla</i> _{CTX-M-55}	aph(6)-1d, aph(3'')-1b, qnrS1, sul2, tet(A), dfrA14

図 1. 2025 年 1 月～12 月に分離された黄色ブドウ球菌 10 株の MLST 解析

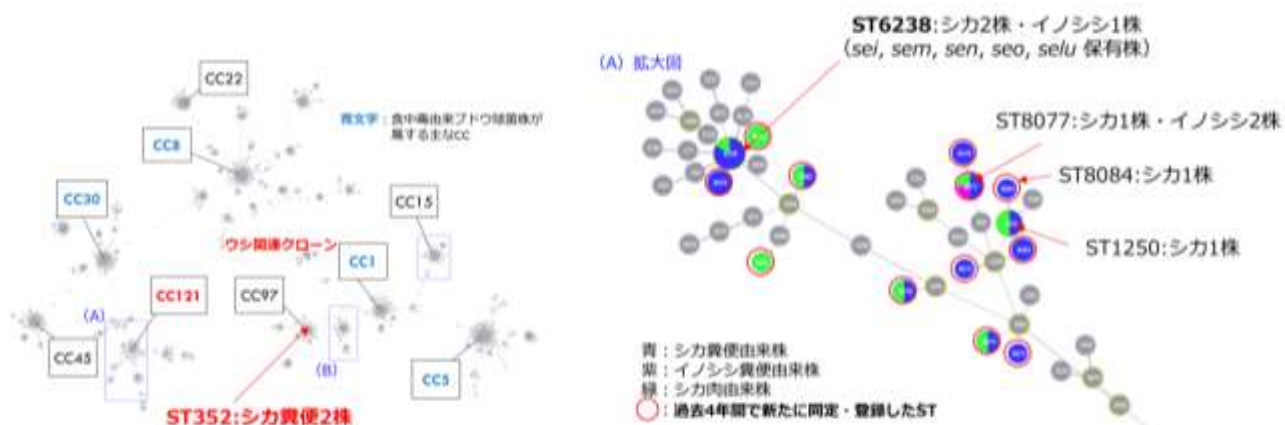


図 2. 非結核性抗酸菌の分離と NGS を用いた菌種同定

