

17. イノシシにおける食中毒起因菌保有実態の解明

○森主 博貴 (静岡県環境衛生科学研究所)
松橋 平太 (静岡県環境衛生科学研究所)

【研究目的】

最近、野生動物の生息数が各地で急増し、自治体と猟友会が協力して個体数削減のための捕獲が積極的に行われている。捕獲動物の有効利用として食肉としての利用が注目されているが、家畜と異なり食肉検査員による検査を受けることもなく食されているのが現状である。特にイノシシは食肉として利用される頻度が高く、その衛生管理は重要であるが、食中毒起因菌の汚染状況については不明な点が多い。また、イノシシは人里近くに出没することが多く、排泄物中の病原細菌が環境を汚染し飼育豚などに伝播する危険性もある。

これらのことから、イノシシにおける食の安全確保を目的に食中毒起因菌保有実態を調査した。

【研究方法】

2013年8月から2015年12月の間に静岡県内で県内猟友会員により捕獲されたイノシシ371頭中、糞便を採取できた361頭を検査対象とした。イノシシの捕獲地域については、静岡県鳥獣保護区等位置図に記載されたメッシュより、狩猟実績または有害実績がある地点を100箇所選出した(図1)。解体した部位は静岡県環境衛生科学研究所に冷蔵郵送し、4℃で保管した便からDNAを抽出し試験に供した。その後、分離培養するまでは-20℃で冷凍保存した。

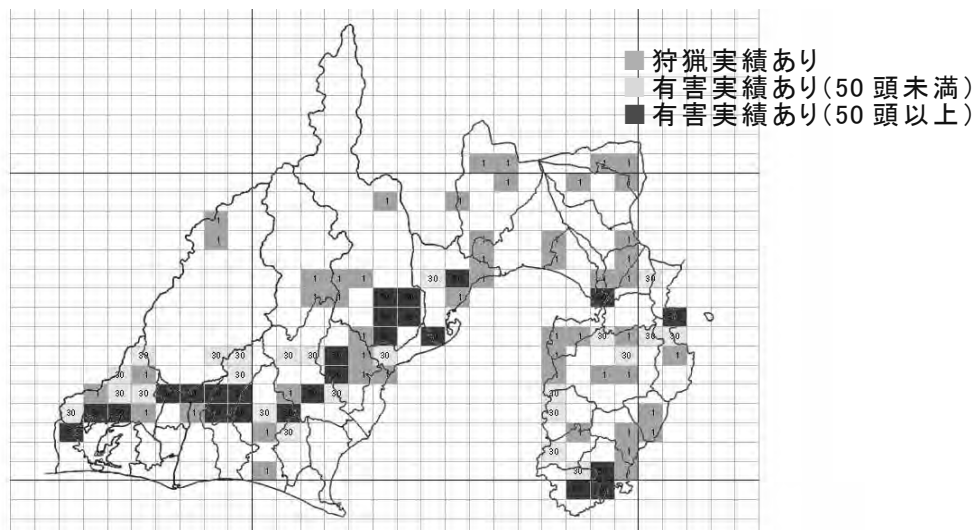


図1 捕獲地域

(1) イノシシにおける食中毒起因菌遺伝子の保有状況

遺伝子抽出はFast DNA SPIN Kit for Soil(MP Biomedicals)を用いリアルタイムPCRにおける鋳型とし、飯田ら¹⁾のリアルタイムPCR法を実施した。なお、反応系Eのプラ

イマーセットのみ耐熱性溶血毒産生腸炎ビブリオ（標的遺伝子 *tdh*）に代えて福島ら²⁾の *Campylobacter. coli*（標的遺伝子 *ceuE*）を使用した。装置は Applied Biosystems 7500 RealTime PCR system(ABI7500)を使用した。

(2) 糞便からの食中毒起因菌検出状況

食中毒起因菌の分離同定は静岡県の食中毒起因菌検査マニュアル³⁾に従い実施した(図 2)。腸管出血性大腸菌はノボビオシン加 m-EC 培地（栄研）に糞便 1 白金耳を加え 42℃で 24 時間培養した後、DHL 寒天培地（日水）およびクロモアガーSTEC 培地（関東化学）にそれぞれ塗抹し、37℃で 24 時間好気培養した。定型的集落について各種生化学的性状試験を実施し同定した。サルモネラ属菌はシスチン加セレナイト培地（日水）で 37℃18 時間培養した後、DHL 寒天培地（日水）、SSB 寒天培地（日水）およびクロモアガーサルモネラ培地（関東化学）に塗抹し、37℃で 24 時間好気培養した。カンピロバクターは Preston 培地（関東化学）にて 42℃で 24 時間微好気培養した後、CCDA 培地（関東化学）に塗抹し 42℃48 時間微好気培養した。カンピロバクターが疑われる集落は、グラム染色、オキシダーゼ試験、カタラーゼ試験、馬尿酸分解試験を行い、菌種同定を行った。



図 2 検査方法

【結果】

(1) イノシシにおける食中毒起因菌遺伝子の保有状況

食中毒起因菌遺伝子検出状況を表 1 に示した。361 検体中サルモネラ属菌が 3 検体（0.8%）、腸管出血性大腸菌（EHEC）が 8 検体（2.2%）、カンピロバクター・ジェジュニが 23 検体（6.4%）から検出された。腸管凝集性病原大腸菌（EAEC）、腸管病原性大腸菌（EPEC）または毒素原性大腸菌（ETEC）のいずれかが検出された検体は 223 検体（61.8%）であった。

イノシシの性別・年齢別における食中毒起因菌遺伝子保有率を表 2 に、食中毒起因菌遺伝子検出箇所を図 3 に示した。本研究では約 70%の糞便から何らかの食中毒起因菌遺伝子が検出されたが、性別・年齢・捕獲地域や捕獲時期の偏りなど明確な傾向は認められなかった。

表 1 イノシシにおける食中毒起因菌遺伝子保有率

食中毒起因菌	標的遺伝子	成績 (陽性/検査数)	陽性率
サルモネラ属菌	<i>invA</i>	3 / 361	0.8%
腸管出血性大腸菌(VT1)	<i>stx1</i>	2 / 361	0.6%
腸管出血性大腸菌(VT2)	<i>stx2</i>	6 / 361	1.7%
カンピロバクター・ジェジュニ	specific DNA	23 / 361	6.4%
カンピロバクター・コリ	<i>ceuE</i>	0 / 361	0.0%
腸管出血性大腸菌、病原性大腸菌	<i>eaeA</i>	127 / 361	35.2%
赤痢菌、細胞侵入性大腸菌	<i>virA</i>	13 / 361	3.6%
腸管凝集接着性大腸菌	<i>astA</i>	172 / 361	47.6%
毒素産生大腸菌	<i>lt</i>	43 / 361	11.9%
毒素産生大腸菌	<i>STp</i>	35 / 361	9.7%
黄色ブドウ球菌	<i>femB</i>	5 / 361	1.4%
ウェルシュ菌	<i>cpe</i>	0 / 361	0.0%
嘔吐毒産生セレウス菌	<i>ces</i>	0 / 361	0.0%
下痢毒産生セレウス菌	<i>nheB</i>	106 / 361	29.4%
リステリア菌	<i>hly</i>	0 / 361	0.0%
エルシニア菌	<i>yadA</i>	5 / 361	1.4%

表 2 性別・年齢における食中毒起因菌遺伝子保有率

	成獣	幼獣	不明	計
雄	88/120 (73.3%)	41/63 (65.1%)	8/13 (61.5%)	137/196 (69.9%)
雌	73/104 (70.2%)	31/41 (75.6%)	5/12 (41.7%)	109/157 (69.4%)
不明	3/4 (75.0%)	1/1 (100.0%)	2/3 (66.7%)	6/8 (75.0%)
計	164/228 (71.9%)	73/105 (69.5%)	15/28 (53.6%)	252/361 (69.8%)

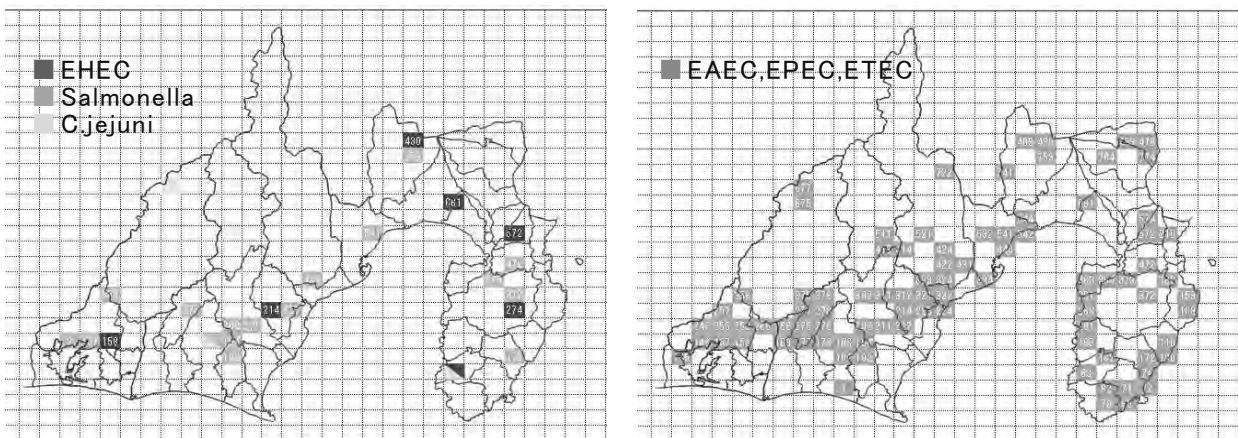


図 3 イノシシにおける食中毒起因菌遺伝子検出箇所

(2) 糞便からの食中毒起因菌検出状況

食中毒起因菌遺伝子が検出された検体からサルモネラ属菌および腸管出血性大腸菌は分離されなかった。またカンピロバクターの定型的なコロニー像と生化学的性状を示す株が1検体から分離されたが、遺伝子検査の結果、カンピロバクターは否定された。

【考察と今後の課題】

平成23～25年度厚生労働科学研究「野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究」において高井ら⁴⁾は、イノシシおよびシカ計295検体の糞便から、サルモネラ2例、VT遺伝子陽性の病原大腸菌を10例検出している。食中毒起因菌遺伝子に関しては県内のイノシシからの検出率は、これまでの調査結果とほぼ同様の傾向であった。

今回、遺伝子は検出されたものの食中毒起因菌は分離できなかった。これは使用した糞便を長期間冷凍保存していたこと、および凍結融解に伴う菌損傷が原因であると思われる。しかし、約70%のイノシシが何らかの食中毒起因菌遺伝子を保有していたことを考慮すると、イノシシの喫食によりヒトに健康被害が発生する危険性は否定できない。近年、ジビエの流行もあり、野生のイノシシを捕獲・解体し、調理・喫食をする機会は増加傾向にあるため、今後は猟師および解体者に対して野生動物解体時における安全な取り扱い方法について指導し、広く注意喚起を行っていく必要があると考えられる。

【参考文献】

- 1) Natsuko Iida *et al.*: Development of duplex SYBR Green real-time PCR for rapid and simultaneous detection of 16 specific genes of 16 major foodborne bacteria. 日本食品微生物学会雑誌. 30. 160-164 (2014)
- 2) 福島博: 食中毒菌の24標的遺伝子を一斉検出するための Multiplex リアルタイム SYBR Green PCR, 島根県保健環境科学研究所報告, 50, 41-51 (2008)
- 3) 静岡県健康福祉部: 食中毒起因菌等の検査マニュアル (第二版), 平成19年1月
- 4) 高井伸二: 「野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究」平成23-25年度研究報告書, 厚生労働省科学研究費補助金・食品の安全確保推進研究事業

【経費使途明細】

遺伝子検出用試薬 (リアルタイムPCR試薬)	118,118円
食中毒起因菌分離用培地・試薬 (クロモアガーSTEC、クロモアガーサルモネラ、DHL寒天培地、 アネロパック微好気、病原大腸菌免疫血清、CCDAサプリメント)	301,533円
分離培養用消耗器材 (滅菌シャーレ、セラムチューブ、キャリプレートループ)	75,168円
その他(筆記用具)	5,208円
合計	500,027円
大同生命厚生事業団助成金	500,000円