

## 県内捕獲イノシシのカンピロバクター属菌および寄生虫卵の検出状況

南総食肉衛生検査所

○仁和 岳史、大森 英明、林 亨、安田 宏、工藤 博史

### I. はじめに

イノシシ(学名 *Sus scrofa*)はブタの野性祖先種であり、生物学的にはブタと同じとされている。我々は昨年度にと畜場に搬入される健康肥育豚におけるカンピロバクター属菌の保菌状況を調査したが、直腸内拭取り検体では食中毒起因菌である *Campylobacter jejuni*、*Campylobacter coli*(以下、*C. jejuni* / *C. coli*)を検出するイムノクロマトキットが100%陽性であった。そこでブタと同一種であるイノシシにおけるカンピロバクター属菌の保菌状況を把握し、野生獣肉処理施設における衛生指導の一助とするため調査を実施した。また、ブタのと畜検査時に内臓所見として多く見られる寄生虫性肝炎の原因である豚回虫の感染状況についても併せて調査を実施した。

### II. 材料及び方法

#### ・供試検体

平成28年11月から平成29年1月末までに県内の野生獣肉処理施設に持ち込まれたイノシシ12頭を対象に、直腸内拭取り検体および糞便検体を採取した。拭取り検体はシードスワブ $\beta$ 3号(栄研化学)を直接肛門に差し込み採取した。その後、直腸内の糞便を薬匙にて密閉容器に採取し、糞便検体とした。

#### ・試験方法

##### カンピロバクター検査

直腸内拭取り検体の綿棒部分を切除して、無菌的に増菌培地(「プチットカンピロ」(日研生物医学研究所))に加え、増菌培養(37℃もしくは42℃、2日間、微好気)を実施した。増菌培養後の培養液を1ml分取し、5~10分間の煮沸滅菌後に室温まで冷まし、イムノクロマトキット(「NHイムノクロマトカンピロバクター」(日本ハム中央研究所))を用いて *C. jejuni* および *C. coli* の有無について判定を行った。陽性となった検体の培養液は、CCDA培地による分離培養(42℃、2日間、微好気)を行った。CCDA培地にコロニーが確認されたものは5%羊血液寒天培地による純培養(37℃もしくは42℃、2日間、微好気)を実施し、グラム染色、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験を行った後、保存を行った。

##### 寄生虫卵検査

##### 浮遊集卵法

糞便0.5gを15ml容チューブに量り取り、5mlの飽和食塩水を加えて十分に混和後、飽和食塩水をチューブ口に盛り上がるまで加え、30分以上静置した。カバーガラスをチューブ口に付け、浮遊物を分取し、スライドグラスに乗せて鏡検した。

## 直接法

糞便をつまようじの先程度分取し、生理食塩水 1～2 適に混和し、これにカバーガラスをかけて鏡検した。

## Ⅲ. 結果

### カンピロバクター検査

イムノクロマトキット(以下 IC)での判定結果を表 1 に示した。直腸内拭取り検体は 12 検体中 3 検体(25%)が陽性となった。

表 1 IC 判定結果

| 検体番号 | 検体    | 性別 | 体重(kg) | 捕獲地  | イムノクロマト |
|------|-------|----|--------|------|---------|
| 1    | 直腸内拭取 | オス | 50     | 大多喜町 | +w      |
| 2    | 直腸内拭取 | オス | 100    | 市原市  | -       |
| 3    | 直腸内拭取 | メス | 50     | 大多喜町 | -       |
| 4    | 直腸内拭取 | メス | 40     | 大多喜町 | -       |
| 5    | 直腸内拭取 | オス | 35     | 茂原市  | -       |
| 6    | 直腸内拭取 | オス | 40     | 大多喜町 | -       |
| 7    | 直腸内拭取 | オス | 35     | 君津市  | -       |
| 8    | 直腸内拭取 | オス | 58     | 市原市  | +       |
| 9    | 直腸内拭取 | オス | 53     | 大多喜町 | -       |
| 10   | 直腸内拭取 | メス | 55     | 大多喜町 | +       |
| 11   | 直腸内拭取 | メス | 43     | 大多喜町 | -       |
| 12   | 直腸内拭取 | オス | 77     | 茂原市  | -       |

陽性を示した検体のうち、十分な菌量を得られた検体番号 1 由来株、検体番号 10 由来株の 2 株について実施した同定検査の結果を表 2 に示した。2 株は共にグラム陰性小桿菌でオキシダーゼ試験、カタラーゼ試験共に陽性を示したが、検体番号 1 由来株は一致するカンピロバクター属菌が見つからず、検体番号 10 由来株は *Campylobacter fetus*(以下 *C. fetus*)であった。※

表 2 グラム染色およびオキシダーゼ・カタラーゼ試験結果

| 検体番号 | 検体    | 捕獲地  | グラム染色 | オキシダーゼ | カタラーゼ | アピヘリコ           |
|------|-------|------|-------|--------|-------|-----------------|
|      |       |      |       |        |       | 同定菌種            |
| 1    | 直腸内拭取 | 大多喜町 | G-小桿菌 | +      | +     | 同定不能            |
| 10   | 直腸内拭取 | 大多喜町 | G-小桿菌 | +      | +     | <i>C. fetus</i> |

### 寄生虫卵検査

直接法、浮遊集卵法のそれぞれの検査結果を表 3 に示した。

表 3 寄生虫卵検査結果

| 検体番号 | 検体 | 捕獲地  | 性別 | 体重(kg) | 推定年齢 | 肝臓所見 | 検査法 |     | 検出虫卵             |
|------|----|------|----|--------|------|------|-----|-----|------------------|
|      |    |      |    |        |      |      | 直接法 | 集卵法 |                  |
| 1    | 糞便 | 大多喜町 | オス | 50     | 1~2歳 | 白斑あり | -   | +   | 毛様線虫or腸結節虫       |
| 2    | 糞便 | 市原市  | オス | 100    | 3歳以上 | 良好   | -   | -   |                  |
| 3    | 糞便 | 大多喜町 | メス | 50     | 1~2歳 | 良好   | -   | -   |                  |
| 4    | 糞便 | 大多喜町 | メス | 40     | 1~2歳 | 良好   | +   | +   | 類円豚胃虫            |
| 5    | 糞便 | 茂原市  | オス | 35     | 1~2歳 | 白斑あり | +   | +   | 回虫、豚糞線虫、類円豚胃虫    |
| 6    | 糞便 | 大多喜町 | オス | 40     | 1~2歳 | 肝炎様  | -   | +   | 回虫、類円豚胃虫         |
| 7    | 糞便 | 君津市  | オス | 35     | 1~2歳 | 白斑あり | -   | +   | 類円豚胃虫            |
| 8    | 糞便 | 市原市  | オス | 58     | 1~2歳 | 白斑あり | +   | +   | 類円豚胃虫、毛様線虫or腸結節虫 |
| 9    | 糞便 | 大多喜町 | オス | 53     | 1~2歳 | 肝炎様  | +   | +   | 回虫、類円豚胃虫         |
| 10   | 糞便 | 大多喜町 | メス | 55     | 1~2歳 | 良好   | -   | +   | 類円豚胃虫            |
| 11   | 糞便 | 大多喜町 | メス | 43     | 1~2歳 | 肝炎様  | -   | -   |                  |
| 12   | 糞便 | 茂原市  | オス | 77     | 2~3歳 | 白斑あり | -   | -   |                  |

感染の既往があったと推察される肝臓に白斑を認める個体と現在回虫に感染していると考えられる虫卵を検出した個体は 12 頭中 7 頭(58.3%)であった。ヒトへの感染源となる回虫卵を検出した個体は 12 頭中 3 頭(25%)で、体重が 35~53 kg の推定年齢 1~2 歳の若齢のイノシシであった。さらに肝臓で白斑が認められ、糞便からも回虫卵が確認されたのは 1 検体(8.3%)のみであった。

#### IV. 考察

昨年度実施したと畜場に搬入された肥育豚のカンピロバクター属菌の保菌状況調査ではIC陽性率は100%で、分離5株中4株が*C. coli*、1株が*C. jejuni*に近似した株と同定された。同一種であるイノシシにおいても高率に*C. jejuni* / *C. coli*を保有する可能性を想定していたが、イノシシの直腸内拭取り12検体中3検体(25%)でIC陽性が確認されたものの、同定検査において*C. jejuni* / *C. coli*は検出されず、ヒトの髄膜炎起因菌とされる*C. fetus*が分離された。<sup>\*</sup>ICの陽性率が異なった原因については、同じ生物でも野生動物と家畜では生活形態・環境が異なるため、定着しやすい微生物は同じでも暴露される微生物種の異なることに加え、イノシシの生態として人為的に集団形成をして飼育しているブタに比べ、形成する群れの規模が小さく、水平伝播する機会も少ないことも陽性率の違いに影響すると考えられた。また、IC陽性検体から*C. fetus*やカンピロバクター属菌以外の菌が分離された<sup>\*</sup>ことについては、同一個体の中に複数種のカンピロバクター属菌とカンピロバクター属菌を分離するための系でも生育可能な別の菌を保有していた可能性が考えられたことから、*C. jejuni* / *C. coli*による食中毒発生リスクは否定できないと考えられた。そのため、IC陽性検体については、分離培地上に単離されたコロニーを網羅的に釣菌して純培養を行う必要に加え、遺伝子検査等の生化学性状試験以外の同定検査を行う必要があると考えられた。また、*C. fetus*は髄膜炎起因菌であることから、そのリスク啓発も必要と考えられた。

寄生虫卵検査では回虫感染の既往があったと推察される肝臓に白斑を認める個体と現在回虫に感染していると考えられる虫卵を検出した個体は12頭中7頭(58.3%)であった。回虫卵を検出した個体は12頭中3頭(25%)で体重が35~53kgの推定年齢1~2歳の若齢のイノシシであった。このことから、イノシシの約6割に回虫感染歴があり、特に体重若齢のイノシシについては腸管内に回虫卵を保有する可能性があることが示唆された。

豚回虫は虫卵の経口摂取により感染し、虫卵は胃や腸で孵化して幼虫となり、幼虫が肝臓を経由して肺に到達し、再び食道を介して小腸内へ戻り産卵を行うという生活環を持つ。肝臓で認められる白斑は幼虫が肝臓を通過する際に移動した部分で免疫反応が起こるため形成される。豚回虫はブタにおいて、主に4カ月齢以下の個体の小腸に寄生するとされており、今回、若齢のイノシシにおいて回虫卵が認められたことは、この知見に合致していた。肝臓所見で白斑が認められたものの糞便から虫卵が認められなかった個体については、過去に豚回虫の感染があり、その際に形成された白斑が残存していたと考えられた。また、肝臓に白斑が認められず糞便から虫卵が認められたものは、肝炎を呈していたことから、豚回虫の感染初期で幼虫の肝臓移行は起こっていたが免疫反応がまだ生じていなかったため、白斑形成に至らなかったと考えられた。

## V. まとめ

他自治体の調査<sup>1)</sup>ではイノシシからのカンピロバクター属菌の分離率は50%と報告し、平成25年に厚生労働省が行った調査<sup>2)</sup>ではイノシシからカンピロバクター属菌は分離されなかったと報告していることから、イノシシのカンピロバクター属菌の保菌率は高くない傾向にあると考えられる。今回の調査結果ではカンピロバクター属菌による食中毒のリスクに加え、C. fetusによる感染症のリスクも認められたため、<sup>\*</sup>野生獣肉処理施設に対する衛生指導時に注意喚起を行いたい。また、さらに菌株の同定検査法に遺伝子検査などの手法を加えるほか、捕獲地域ごとの検体数を増やし、その地域差なども加味してカンピロバクター属菌の浸潤状況や解析を行いたい。

寄生虫卵検査では回虫卵が検出された。豚の糞尿を利用したたい肥を未処理のまま使用して栽培された野菜類を介してヒトに豚回虫が感染する事例が報告されている<sup>5)</sup>。今回、若齢のイノシシの糞便から回虫卵を認めたことから、その処理時の糞便汚染は豚回虫感染症のリスクであることを啓発したい。今後は遺伝子検査の導入を検討し、虫卵の詳細な同定を行いたい。また、回虫以外の寄生虫を疑わせる虫卵も確認したことから、イノシシ処理時の糞便汚染はこうした寄生虫性疾患のリスクも存在することも啓発したい。

※ 後日実施したPCRによる*C. jejuni*、*C. coli*、*C. lari*、*C. upsaliensis*、*C. fetus*、*C. hyointestinalis*の鑑別において、*C. fetus*陽性検体から*C. fetus*遺伝子は検出されず、*C. jejuni*および*C. hyointestinalis*遺伝子が陽性となったことから、非定型的な生化学性状を有する*C. jejuni*および*C. hyointestinalis*を保有していた可能性が示された。

## 参考文献

- 1) 平成26年度 広島県食肉衛生検査所 野生獣畜食肉処理施設における細菌学的汚染実態調査
- 2) 平成25年度 厚生労働科学研究 野生鳥獣食肉の安全性確保に関する報告書
- 3) モダンメディア 54 巻5 号 2008 カンピロバクター
- 4) モダンメディア 51 巻3 号 2005 カンピロバクター感染症
- 5) 感染症学雑誌 第78巻 第12号 ブタ回虫幼虫移行症による好酸球性肺炎の1例