

長崎県における野生動物の保有する病原体調査(2004-2016)

吉川 亮、齋藤 佳子、島崎 裕子*、石原 雅行、山下 綾香

(*:長崎市保健環境試験所)

Research of Zoonosis in Wild Animals in Nagasaki Prefecture (2004-2016)

Akira YOSHIKAWA, Yoshiko SAITO, Yuko SHIMASAKI, Masayuki ISHIHARA
and Ayaka YAMASHITA

Key words : Zoonosis, Wild Animals, Wild Boars, Hepatitis E Virus (HEV), Japanese Encephalitis Virus (JEV), Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus (SFTSV), Enterohemorrhagic *Escherichia Coli* (EHEC), *Salmonella*, *Campylobacter*, *Paragonimus*
キーワード : ズーノーシス、野生動物、イノシシ、E型肝炎ウイルス(HEV)、日本脳炎ウイルス(JEV)、重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)、腸管出血性大腸菌(EHEC)、サルモネラ、カンピロバクター、肺吸虫

はじめに

野生動物はどのような病原体を保有、媒介し、ヒトに対してどのような影響を及ぼすのか、いまだ明らかになっていないことが多い。

近年、里山の崩壊など生態系の変化により、ヒトと野生動物の生活圏が非常に近い、もしくは重複している環境となっている。また、アライグマなど外来生物の定着など新たな問題も起きている。そのようななか、野生動物(主にイノシシやシカなど)を駆除するだけでなく、利活用する取り組みが全国的に行われ、地域振興の一端を担っている。

2003年8月、本県では、11名にも及ぶE型肝炎患者の集団発生が報告された。その原因と推定されたのがイノシシ肉の喫食とされたことから、筆者らは独立行政法人国立病院機構長崎医療センターと共同研究を結び、2004年から患者発生周辺の地域で捕獲されたイノシシのE型肝炎ウイルス(HEV)の調査を開始した。

2007年からは当センターの経常研究「野生動物の病原体保有状況に関する研究(2007~2009)」を開始した。当研究では、調査地域を県下全域に拡大し、調査病原体をHEVに加え、日本脳炎ウイルス(JEV)、腸管出血性大腸菌(EHEC)、サルモネラ、カンピロバクターおよび肺吸虫とした。これに伴い、効率的な調査研究の推進のため、長崎医療センターに加えて、長崎大学熱帯医学研究所、国立感染症研究所および長崎市保健環境試験所と共同研究を実施し、サンプリングに

ついては、県内の食肉(イノシシ)処理施設や市町、有害鳥獣の捕獲従事者などの協力を得て行った。

その結果、HEVをはじめEHEC、サルモネラ、カンピロバクターおよび肺吸虫の本県における浸淫状況の一端を把握することができ、野生動物(イノシシ)肉を喫食する際は、十分に留意する必要があることを再確認できた。また、JEVについては、イノシシとの関連性を示唆する知見も得られた。

このことから、2010年からは当センターの経常研究「ブタ、イノシシに由来する日本脳炎ウイルスの分子性状に関する研究(2010~2012)」、「長崎県における日本脳炎発症患者由来日本脳炎ウイルスの性状解析(2013~2015)」において、イノシシ等のJEV感染状況などの調査を実施した。また、これに併せてHEVや細菌(カンピロバクター)についても継続的に調査を行い、2013年からは重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)についても調査を実施した。

今回、2004~2016年にかけて実施してきた野生動物における病原体保有状況をはじめとした調査研究について、その概要をまとめたので報告する。

調査方法

1 材料

(1) 調査対象および被検動物数

本県で有害鳥獣として最も捕獲されるイノシシを主として、有害鳥獣として捕獲されたシカ、タヌキ、

テン、アナグマおよびアライグマとした。被検動物数は、イノシシ 792 頭、シカ 4 頭、タヌキ 6 頭、テン 7

頭、アナグマ 6 頭およびアライグマ 1 頭の計 816 頭であった。各年の被検動物数の詳細は表 1 に示す。

表 1 調査動物の内訳および被検(捕獲)動物数(2004～2016年)

動物種	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
イノシシ	24	43	64	170	149	123	38	29	16	33	37	16	50	792
タヌキ										1	3	1	1	6
テン										2	5			7
アナグマ											2		4	6
アライグマ											1			1
シカ				3									1	4
Total	24	43	64	173	149	123	38	29	16	36	48	17	56	816

(2) 調査病原体および被検動物数

調査病原体は、食品媒介性感染症が考えられる HEV、EHEC、サルモネラ、カンピロバクターおよび肺吸虫に加え、イノシシをウイルス増幅動物とする可能性がある JEV および SFTSV とした。

被検動物数は、HEV 722 頭、JEV 533 頭、SFTSV 157 頭、EHEC およびサルモネラ 168 頭、カンピロバクター 263 頭および肺吸虫 196 頭の延べ 2,207 頭であった。

各年の被検動物数の詳細は表 2 に示す。

表 2 調査病原体の内訳および推移 (2004～2016年)

病原体	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
HEV	24	43	53	121	119	122	38	29	16	36	48	17	56	722
JEV			11	88	83	111	38	29	16	36	48	17	56	533
SFTSV										36	48	17	56	157
EHEC				24	47	97								168
Salmonella				24	47	97								168
Campylobacter				24	47	97	25	26	15	29				263
肺吸虫				39	46	111								196
Total	24	43	64	320	389	635	101	84	47	137	144	51	168	2,207

(3) 調査地域および病原体ごとの被検動物数

調査地域は、イノシシの食肉処理施設が設置してある長崎市、松浦市、江迎町(現、佐世保市)、新上五島町および対馬市に加え、当センターがある大村市とした。

病原体ごとの被検動物数を表 3 に示す。

(4) サンプルング

調査研究に使用したサンプル(血液、肝臓、糞便、筋肉等)の採取、保管および輸送(冷蔵もしくは冷凍)は、イノシシ処理施設の従事者もしくは自治体職員により行われた。実施にあたっては、関係者と事前にリスクを含めた協議を行い、サンプルとして最

適な条件になるよう採取、保管および輸送の徹底を図った。

また、当センター周辺で捕獲されたイノシシについては、有害鳥獣の捕獲従事者の協力のもと、当センター職員でサンプル採取を行った。

採取されたサンプルは、冷蔵もしくは冷凍状態で保管、輸送された後、当センターで血清分離および乳剤作製(肝臓および筋肉 30~40%、糞便 10%)を行った。調査に供したサンプルの残りは、小分けして凍結(-80°C)保存した。

表 3 調査地域ごとの各病原体の調査頭数 (2004~2016 年)

	HEV		JEV		肺吸虫	EHEC, Salmonella	Campylo bacter	SFTSV	
	イノシシ	イノシシ以外	イノシシ	イノシシ以外				イノシシ	イノシシ以外
長崎市	163		163		95	82	82		
大村市	45	21	45	21			15	41	21
松浦市	50		50		33	33	48	3	
江迎町・県北	242		53		13	2	2		
新上五島町	169	3	169	3	39	40	104	73	
対馬市	32		32		12	11	12	19	
Total	701	24	512	24	192	168	263	136	21

2 HEV

(1) 被検材料

イノシシ処理施設および有害鳥獣の捕獲従事者の協力により得られた血液、肝臓、糞便および筋肉とした。

(2) 調査方法

血清および乳剤(肝臓 30~40%、糞便 10%)より QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA 抽出し、Takahashi らの報告²⁾に基づき HEV 遺伝子の検索を行った。HEV 遺伝子を検出した場合、Takahashi らの報告³⁾を参考に ORF1 領域による系統樹解析を行った。

3 JEV

(1) 被検材料

イノシシ処理施設および有害鳥獣の捕獲従事者の協力により得られた血液および肝臓とした。

(2) 調査方法

血清および乳剤(肝臓 30~40%)より QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA 抽出し、既報⁴⁾に基づき、JEV 遺伝子の検索を行った。

また、併せて抗 JEV-IgM capture ELISA および抗 JEV-IgG indirect ELISA によりイノシシ血清中の抗 JEV-IgM 抗体および抗 JEV-IgG 抗体を測定した。抗 JEV-IgM capture ELISA の条件は既報⁴⁾に基づき、抗 JEV-IgG indirect ELISA の条件等は図 1 に示す。

4 SFTS

(1) 被検材料

イノシシ処理施設および有害鳥獣の捕獲従事者の協力により得られた血液、肝臓および糞便とした。

(2) 調査方法

血清および乳剤(肝臓 30~40%、糞便 10%)より QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA 抽出し、国立感染症研究所ウイルス第一部の SFTS ウイルス検査マニュアルに準じて SFTSV 遺伝子の検索を行った。

また、併せて長崎大学熱帯医学研究所の開発した抗 SFTSV-IgG indirect ELISA¹⁾ によりイノシシ血清中の抗 SFTSV-IgG 抗体を測定した。

5 EHEC、サルモネラおよびカンピロバクター

(1) 被検材料

イノシシ処理施設および有害鳥獣の捕獲従事者の協力により得られた糞便とした。

(2) 調査方法

EHEC は、ブイオンでの増菌培養に併せて VT 遺伝子の検索を行いつつ分離培養を行った。サルモネラおよびカンピロバクターは、ブイオンでの増菌培養後、分離培養を行った。

EHEC、サルモネラおよびカンピロバクター分離培養の条件等を表 9 に示す。

6 肺吸虫

(1) 被検材料

イノシシ処理施設および有害鳥獣の捕獲従事者の協力により得られた血清とした。

国立感染症研究所寄生動物部にて ELISA によりイノシシ血清中の肺吸虫に対する抗体を測定した。

(2) 調査方法

< anti JEV-IgG indirect ELISA >

- 1) Dilute JEV inactivated antigen to 1:30 in coating buffer
- 2) Add 100 μ L of diluted JEV inactivated antigen to each well
- 3) Incubate overnight at 4°C
- 4) Wash wells 3 times with PBS-T
- 5) Add 100 μ L of Blockace to each well
- 6) Incubate at 37°C for 2 hrs
- 7) Wash wells 3 times with PBS-T
- 8) Dilute positive control sera, negative control sera and samples to 1:100 in PBS-T-10% Blockace
- 9) Add 100 μ L of diluted sera to each well
- 10) Incubate at 37°C for 1 hr
- 11) Wash wells 3 times with PBS-T
- 12) Add 100 μ L of detecting antibody (Anti-IgG(H+L), Swine, Goat-Poly, HRP) to each well
- 13) Incubate at 37°C for 1 hr
- 14) Wash wells 3 times with PBS-T
- 15) Add 100 μ L of substrate (OPD) to each well
- 16) Incubate at RT for 20 min under dark condition
- 17) Add 100 μ L of stop solution (1N H₂SO₄) to each well
- 18) Read OD 450 nm and calculate

サンプルの抗 JEV-IgG 抗体価は陽性コントロールの希釈系列より得られる検量線より陰性コントロールの抗体価を 100 倍として算出する
算出されたサンプルの抗 JEV-IgG 抗体価が 300 倍以上となった場合を陽性とした

図 1 抗 JEV-IgG 抗体測定条件

調査結果及び考察

1 HEV

HEV の地域ごとのイノシシ調査頭数および HEV 遺伝子検出状況を表 4 に示す。

県下で捕獲されたイノシシ 701 頭中 46 頭(6.6%)から HEV 遺伝子を検出した。

HEV 遺伝子が検出されたイノシシ 46 頭中 20 頭(43.5%)が体重 30 kg 以下の幼若な個体であったことから、HEV 未感染個体が多い幼弱個体は、HEV を保有している可能性が高いことが示唆された。幸い体重 30 kg 以下の幼若な個体は、食用になることがないため、喫食による HEV 感染は少ないと考えられる。

しかしながら、2003 年以降、本県では HEV 患者が発生していることから、体重 30 kg を超える HEV 感染個体を加熱不十分、もしくは不適切な処理により HEV 汚染されたイノシシ肉を喫食したことが原因と考えられる。

当該調査を継続する一方で、イノシシ処理施設や自治体の関係者への結果のフィードバック、関係者を含めた一般の方々への情報提供を行ってきたことで、HEV に対する認知度が高くなり、最近では、本県の HEV 患者報告は、ほとんどみられなくなった。

さらに HEV 遺伝子を検出した個体について、系統樹解析を行った結果、捕獲地域ごとにクラスターが形成されたことから、何らかの形で地域ごとに HEV 遺伝子が維持されていることが示唆された。

また、2003 年 8 月の E 型肝炎患者の集団発生事例の患者から検出された HEV 遺伝子とその近傍で捕獲されたイノシシから検出された HEV 遺伝子が同一のクラスターに分布したことから、2003 年の集団感染の原因は、イノシシ肉の喫食による可能性が高いことが示唆された。

イノシシ以外の野生動物 24 頭からは HEV 遺伝子は

表 4 地域ごとのイノシシ調査頭数および HEV 遺伝子検出状況 (2004～2016)

HEV	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
長崎市 調査数				45	44	74								163
PCR(+)					1	5								6
大村市 調査数							3	1		14	7	7	13	45
PCR(+)										1		1	3	5
松浦市 調査数					13	20	12	1	1	1	2			50
PCR(+)					3	7								10
江迎町 調査数	24	43	53	68	32	10	12							242
PCR(+)	1	5	4	11		1								22
新上五島町 調査数				8	23	13	11	26	15	18	28	9	18	169
PCR(+)					1			1						2
対馬市 調査数					7	5		1					19	32
PCR(+)					1									1
Total 調査数	24	43	53	121	119	122	38	29	16	33	37	16	50	701
PCR(+)	1	5	4	11	6	13	0	1	0	1	0	1	3	46

検出されなかった。

2 JEV

JEV の地域ごとの調査頭数を表 5、JEV 遺伝子検索結果および抗体 (IgM、IgG) 保有状況を表 6 に示す。

調査したイノシシ 387 頭中 18 頭 (4.7%) から抗 JEV-IgM 抗体が検出された。抗 JEV-IgM 抗体の検出率の低さは、捕獲された時期の多くが 12 月～3 月の冬場であり、媒介蚊の活動期から外れていることが要因として考えられる。

調査したイノシシ 420 頭中 253 頭 (60.2%) から抗 JEV-IgG 抗体が検出された。また、JEV の増幅動物として知られる豚の捕獲地域における飼養状況を考慮して、豚飼養地域である長崎市、大村市、松浦市及び江迎町の 273 頭と非豚飼育地域である上五島町及び対馬市の 147 頭についての抗 JEV-IgG 抗体保有状況を比較した (表 6)。豚飼養地域は 172 頭 (63.0%)、豚非飼養地域は 81 頭 (55.1%) であり、前者が後者の感染率が若干高い結果であったものの、両地域ともに 50% を超える感染率であった。よって、豚の飼養状況にかかわらず、JEV への一定の感染状況を示したことから、豚を介さない感染環が存在する可能性が示唆された。

以上のことは、イノシシが JEV の新たなウイルス増幅動物としての可能性を示唆するものであり、豚が飼養されていない地域 (離島を含め) においても JEV への感染

が危惧され、患者発生の予防対策が必要であると考えられる。

調査したイノシシ 413 頭から JEV 遺伝子は検出されなかった。これは、捕獲された時期の多くが 12 月～3 月の冬場であり、媒介蚊の活動期から外れていることと、JEV に対する抗体を 50% 以上の個体が保有していることが要因として考えられる。

今回の調査では、イノシシから JEV を得ることができず、イノシシ内に浸淫している JEV を明らかにできなかったため、今後も患者発生防止のため継続的な調査が必要である。

3 SFTSV

SFTSV の地域ごとの野生動物 (イノシシ、イノシシ以外) 調査頭数を表 7 に示す。

調査したイノシシ 136 頭、イノシシ以外の野生動物 21 頭の計 157 頭から SFTSV 遺伝子は検出されなかった。

今回の調査では SFTSV の県内捕獲野生動物への感染は確認されなかったが、早坂らの報告¹⁾によると、イノシシの SFTSV への感染は、190 頭中 36 頭 (18.9%) であった。また、長崎市では他の地域と比べ、53 頭中 27 頭 (50.9%) と高い感染率を示すことが知られている¹⁾。

表 5 JEV の地域ごとのイノシシ調査頭数(2006～2016)

JEV	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
長崎市		63	27	73								163
大村市					3	1		14	7	7	13	45
松浦市			13	20	12	1	1	1	2			50
江迎町	11	17	13		12							53
新上五島町		8	23	13	11	26	15	18	28	9	18	169
対馬市			7	5		1					19	32
Total	11	88	83	111	38	29	16	33	37	16	50	512

表 6 JEV の地域ごとの JEV 遺伝子検索結果および抗体(IgM、IgG)保有状況(2006～2016)

JEV	IgM		IgG		PCR	
	調査頭数	陽性頭数 (%)	調査頭数	陽性頭数 (%)	調査頭数	陽性頭数
長崎市	100	9 (9.0)	163	106 (65.0)	88	0
大村市	37	0 (0.0)	9	3 (33.3)	45	0
松浦市	30	1 (3.3)	48	34 (70.8)	50	0
江迎町	41	8 (19.5)	53	29 (54.7)	29	0
豚飼養地域	208	18 (8.7)	273	172 (63.0)	212	0
新上五島町	152	0 (0.0)	115	66 (57.4)	169	0
対馬市	27	0 (0.0)	32	15 (46.9)	32	0
非豚飼養地域	179	0 (0.0)	147	81 (55.1)	201	0
Total	387	18 (4.7)	420	253 (60.2)	413	0

表 7 SFTSV の地域ごとの野生動物(イノシシ、イノシシ以外)調査頭数(2013～2016)

SFTS	2013		2014		2015		2016		Total	
	イノシシ	イノシシ以外	イノシシ	イノシシ以外	イノシシ	イノシシ以外	イノシシ	イノシシ以外	イノシシ	イノシシ以外
長崎市									0	0
大村市	14	3	7	11	7	1	13	6	41	21
松浦市	1		2						3	0
江迎町									0	0
新上五島町	18		28		9		18		73	0
対馬市							19		19	0
Total	33	3	37	11	16	1	50	6	136	21

4 EHEC、サルモネラおよびカンピロバクター

EHEC、サルモネラおよびカンピロバクターの地域ごとのイノシシ調査頭数を表 8 に示す。なお、EHEC およびサルモネラは 2007～2009 年の間で調査を行い、その後は、カンピロバクターのみ調査を行った。

EHEC およびサルモネラは、調査したイノシシ 168 頭から分離されなかった。

カンピロバクターは、調査したイノシシ 263 頭中 4 頭 (1.5%) から分離された。分離された 4 株は、

いずれも *Campylobacter coli* であった。また、この 4 株はいずれも松浦市で捕獲されたイノシシであった。

近年、イノシシ等の野生動物について調査が行われており、多くの知見が集積されているところだが、本県もイノシシ肉等野生動物の利活用(ジビエ料理等)が盛んに行われていることから、今後、改めて調査を行うことが必要と思われる。

表 8 EHEC、サルモネラおよびカンピロバクターの地域ごとのイノシシ調査頭数(2007～2013)

細菌	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	Total
長崎市	15	7	60					82
大村市				3			12	15
松浦市		13	20	12	1	1	1	48
江迎町	1	1						2
新上五島町	8	20	12	10	24	14	16	104
対馬市		6	5		1			12
Total	24	47	97	25	26	15	29	263

5 肺吸虫

肺吸虫の地域ごとのイノシシ調査頭数を表 9 に示す。調査したイノシシ 196 頭中 79 頭 (40.3%) から肺吸虫に特異的な抗体が検出された。

このことから県内のイノシシには、肺吸虫に感染している個体がいることが明らかになった。特に県北地域(松浦市、旧江迎町)では、高い感染率を示していることから、イノシシの生息環境中に肺吸虫が維持されていることが示唆された。

肺吸虫は、清流に生息していることが知られ、淡水産のカニに寄生していることから、これらを捕食した結果、イノシシが感染したと考えられる。このことから、イノシシの喫食のみならず、淡水産のカニの喫食についても十分な加熱調理が必要であることが示唆された。

まとめ

- 1 県下で捕獲されたイノシシ 701 頭中 46 頭 (6.6%) から HEV 遺伝子を検出した。
- 2 HEV 遺伝子が検出されたイノシシ 46 頭中 20 頭 (43.5%) が体重 30 kg 以下の幼若な個体であった。

3 イノシシの捕獲地域ごとに HEV 遺伝子が維持されていることが示唆された。

4 2003 年の HEV 集団感染は、イノシシ肉の喫食による可能性が高いことが示唆された。

5 豚を介さない JEV の感染環が存在する可能性が示唆された。

6 イノシシが JEV の新たなウイルス増幅動物となりうる可能性が示唆された。

7 イノシシ 136 頭、イノシシ以外の野生動物 21 頭の計 157 頭から SFTSV 遺伝子は検出されなかった。

8 野生動物における本県の SFTSV の浸淫状況の一端が明らかとなった。

9 EHEC およびサルモネラは、調査したイノシシ 168 頭から分離されなかった。

10 カンピロバクターは、調査したイノシシ 263 頭中 4 頭 (1.5%) から *Campylobacter coli* が分離された。

11 調査したイノシシ 196 頭中 79 頭 (40.3%) から肺吸虫に特異的な抗体が検出され、県内のイノシシが肺吸虫に感染していることが明らかとなった。

12 これらの成果は、これまで学会・研究会等での発表、厚生労働省科学研究費研究班への参加、新聞等への寄稿、県内研修会での講演などにより県内外への公表、周知を図ってきた(表 10)。

表 9 肺吸虫の地域ごとのイノシシ調査頭数(2007～2009)

肺吸虫	2007		2008		2009		Total	
	調査頭数	陽性頭数(%)	調査頭数	陽性頭数(%)	調査頭数	陽性頭数(%)	調査頭数	陽性頭数(%)
長崎市	16	1 (6.3)	7	0 (0.0)	72	30 (41.7)	95	31 (32.6)
大村市							0	0
松浦市			13	6 (46.2)	20	16 (80.0)	33	22 (66.7)
江迎町	15	11 (73.3)	1	1 (100)	1	1 (100)	17	13 (76.5)
新上五島町	8	0 (0.0)	18	5 (27.8)	13	5 (38.5)	39	10 (25.6)
対馬市			7	3 (42.9)	5	0 (0.0)	12	3 (25.0)
Total	39	12 (30.8)	46	15 (32.6)	111	52 (46.8)	196	79 (40.3)

謝 辞

本調査のサンプリングに協力いただいた長崎市、松浦市、旧江迎町、新上五島町、対馬市の職員の皆様、イノシシ処理施設の従業員の皆様に深謝します。

また、本調査に協力いただいた独立行政法人国立病院機構長崎医療センターの(故)矢野公士博士および玉田陽子博士、長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野の森田公一教授および井上真吾准教授、国立感染症研究所寄生動物部の杉山広室長、ならびに各関係機関の職員の皆様に深謝します。

参 考 文 献

1) Hayasaka D, *et al*: Seroepidemiological evidence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus

infections in wild boars in Nagasaki, Japan. *Tropical Medicine and Health*, 44, 6 (2016)

2) Takahashi K, *et al*: Full-Length Sequences of Six Hepatitis E Virus Isolates of Genotypes III and IV from Patients with Sporadic Acute or Fulminant Hepatitis in Japan. *Intervirology*, 46, 308–318 (2003)

3) Takahashi K, *et al*: Genetic Heterogeneity of Hepatitis E Virus Recovered from Japanese Patients with Acute Sporadic Hepatitis. *The Journal of Infectious Diseases*, 185, 1342–5 (2002)

4) 吉川 亮、三浦 佳奈、松本 文昭、田栗 利紹:長崎県環境保健研究センター所報 61、125-130 (2015)

表 9 サルモネラ、カンピロバクターおよび EHEC の培養条件等

	<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>	EHEC
Day 1	①糞便(直腸便など) ↓ ②緩衝ペプトン水(OXOID) 10 mL に糞便 1 白金耳 ↓ ③35°C, 18 時間培養	①糞便(直腸便など) ↓ ②プレストン培地(OXOID) 10 mL に糞便 1 白金耳 ↓ ③42°C, 18 時間微好気培養	②糞便(直腸便など) ↓ ②m-EC ブイヨン(OXOID) 10 mL に糞便 1 白金耳 ↓ ③35°C, 18 時間培養
Day 2	①ラパポート・バシリアデイス(RV) ブイヨン 10 mL に緩衝ペプトン 水培養液 0.5 mL 接種 ↓ ②42°C, 18 時間培養	①CCDA 培地(OXOID) にプレス トン培地培養液 1 白金耳を塗 抹 ↓ ②42°C, 48 時間微好気培養	①PCR(VT gene)スクリーニング ↓ ②CT-SMAC 培地(OXOID)、マ ッコンキー寒天培地(栄研)に m-EC ブイヨン培養液 1 白金耳 を塗抹 ↓ ③35°C, 18 時間培養
Day 3	①DHL 寒天培地(日水)、クロモ アガー・サルモネラ(関東化学) に RV ブイヨンの培養液 1 白金 耳を塗抹 ↓ ②35°C, 18 時間培養		①純培養(定型的集落を 5 個以 上釣菌し、TSA 培地に画線塗 抹) ↓ ②35°C, 18 時間培養
Day 4	①判定(DHL: 中心部は黒色で 半透明湿潤な集落、CS: 直径 1~2 mm の藤紫色) ↓ ②鑑別試験(TSI・LIM・VP 半流 動) ↓ ④35°C, 18~24 時間培養	①判定(直径 1~3 mm の乳白 色・水滴状の半透明の S 型集 落) ↓ ②PCR スクリーニング試験 ↓ ②純培養(血液寒天培地) ↓ ③42°C, 48 時間(37°C, 72 時 間)微好気培養	①VT 遺伝子検索 ↓ ②鑑別試験(CLIG・TSI・LIM・ SC) ↓ ③35°C, 18~24 時間培養
Day 5	①血清学的検査 (O 抗原群別および H 抗原)		①血清学的検査(O 抗原) ②ベロ毒素産生試験(RPLA)
以降		①鑑別試験 ②追加試験 ③血清学的検査	

表 10 調査研究成果の公表等

<p>【学会】</p> <p>1. 長崎県におけるイノシシの日本脳炎ウイルス感染状況 ○吉川亮、井上真吾、吾郷昌信、森田公一 第 57 回 日本ウイルス学会学術集会 2009.10.25～27 東京都 都市センターホテル</p>
<p>【研究会等】</p> <p>1. 長崎県におけるイノシシの日本脳炎抗体保有率調査(1) ○吉川亮、井上真吾、吾郷昌信、森田公一 第 43 回 日本脳炎ウイルス生態学研究会 2008.5.30 香川県観音寺</p> <p>2. 長崎県におけるイノシシの病原体保有状況調査 ○吉川亮、島崎裕子、飯田國洋、吾郷昌信 第 34 回 九州衛生環境技術協議会 ウイルス分科会 2008.10.9 セントヒル長崎</p> <p>3. 長崎県におけるイノシシの日本脳炎抗体保有率調査(第 2 報) ○吉川亮、井上真吾、吾郷昌信、森田公一 第 44 回 日本脳炎ウイルス生態学研究会 2009.6.20 北海道 支笏湖</p> <p>4. 長崎県におけるイノシシの日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況 ○吉川亮、井上真吾、山口顕徳、平野学、吾郷昌信、森田公一 第 35 回 九州衛生環境技術協議会 ウイルス分科会 2009.10.8 大分県 大分市コンパルホール</p> <p>5. 長崎県下のブタ、イノシシにおける日本脳炎ウイルスの侵淫状況 ○吉川亮、井上真吾、岡本健太、鍋島武、比嘉由紀子、前川芳秀、森田 公一、吾郷 昌信 第 46 回 日本脳炎ウイルス生態学研究会 2011.5.20-21 金沢白鳥路ホテル</p>
<p>【厚生労働省科学研究費研究班】</p> <p>1. 長崎県北の猪、豚における HEV 解析 ○吉川亮、玉田陽、吾郷昌信、矢野公士 厚生労働省科学研究費「E 型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・治療に関する研究」 平成 20 年度 第 1 回班会議 2008.7.25 (独法)長崎医療センター 平成 20 年度 合同班会議 2009.1.29 KKR ホテル東京</p> <p>2. 長崎県下における日本脳炎ウイルスの動向調査 ○吉川亮、井上真吾、鍋島武、吾郷昌信、森田公一 日本脳炎ウイルスの疫学に関する研究 ○吉川亮、井上真吾、鍋島武、吾郷昌信、森田 公一 長崎県における日本脳炎ウイルスの活動調査 ○吉川亮、鍋島武、井上真吾、吾郷昌信、森田公一 日本脳炎ウイルスの疫学に関する研究 ○吉川亮、鍋島武、井上真吾、吾郷昌信、森田公一 厚生労働省科学研究費「我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究」 平成 20 年度 第 2 回班会議 2009.3.13 国立感染症研究所 平成 21 年度 第 1 回班会議 2009.8.4 第 2 回班会議 2010.2.8 国立感染症研究所 平成 22 年度 第 1 回班会議 2010.2.8 第 2 回班会議 2011.2.18 国立感染症研究所</p>
<p>【新聞】</p> <p>1. 長崎新聞「研究所から」 2010.7.18 掲載「人獣共通感染症」</p> <p>2. 長崎新聞「研究所から」 2012.7.15 掲載「日本脳炎の脅威を忘れていませんか？」</p>
<p>【研修会等】</p> <p>1. 食肉由来の E 型肝炎の報告事例と現状について ○吉川亮 平成 18 年度 長崎県食品衛生監視員研修会 2007.2.2 出島交流会館</p> <p>2. 長崎県におけるイノシシの病原体保有状況 ○吉川亮 平成 21 年度 長崎県食品衛生監視員研修会 2010.2.2 長崎タクシー会館</p> <p>3. 日本脳炎は再び流行するのか？ —再興感染症としての日本脳炎に関する研究— ○吉川亮、山口顕徳、平野学、吾郷昌信 平成 21 年度 環境保健研究センター研究発表会 2010.2.5 出島交流会館</p> <p>4. 食肉処理施設を活用した日本脳炎ウイルスをはじめとする感染症サーベイランス ○吉川亮、石原雅行、吾郷昌信 平成 24 年度 食肉衛生技術研修会および衛生発表会 2013.2.2 諫早商工会議所</p> <p>5. 感染症に関わる野生動物 —特にイノシシと日本脳炎ウイルスおよび E 型肝炎ウイルスに関する解析を中心にして— ○吉川亮、石原雅行、吾郷昌信 平成 24 年度 環境保健研究センター研究発表会 2013.3.13 環境保健研究センター</p> <p>6. ウイルス感染症との闘い ○吉川亮 出前講座(壱岐出前講座) 2014.9.5、壱岐市小学校</p> <p>7. ウイルス感染症との闘い ○吉川亮 出前講座(佐賀県伊西地区高等学校保健会) 2015.10.15 環境保健研究センター</p> <p>8. 日本脳炎ウイルスの生態について ～対馬の患者 4 名発生を考える～ ○吉川亮 平成 28 年度 県職員臨床検査技師研修会 2017.1.20 日本生命ビル</p>