

平成29年度 第2回徳島県動物由来感染症対策検討会 次 第

と き 平成30年3月14日（水）
午後2時から

ところ 徳島県庁804会議室
徳島市万代町1丁目1番地

1 開 会

2 危機管理部消費者くらし安全局長 あいさつ

3 委員長 あいさつ

4 議題

（1）平成29年度事業報告について

- ・高病原性鳥インフルエンザ関係
- ・モニタリング調査結果等

（2）平成30年度事業計画について

（3）その他

- ・徳島県感染症予防計画（最終案）について

5 健康増進課 感染症・疾病対策室長 あいさつ

6 閉 会

平成29年度 第2回 徳島県動物由来感染症対策検討会 配席図

県庁8階 804会議室

スクリーン

委員長 馬原委員		顧問 井上顧問 藤田顧問	
岡部委員 藤野委員			藤井委員 畑田委員

窓

事務局		安全衛生課		消費者くらし安全局		感染症・疾病対策室	
○	○	○	○	○	○	○	○
織田	矢野	課長	局長	室長	補佐		
発表者				畜産振興課		消費者くらし政策課	
○	○	○	○	○	○	○	○
動物愛護管理センター		食肉衛生検査所		保環センター		保健所	
○	○	○	○	○	○	○	○

報道	報道
----	----

平成２９年度第２回徳島県動物由来感染症対策検討会 委員等名簿

委 員	区 分	氏 名	勤 務 先
	学識経験者	馬原 文彦	馬原医院
	(一社)徳島県医師会	岡部 達彦	岡部内科クリニック
	〃	藤野 佳世	ふじのクリニック
	(公社)徳島県獣医師会	藤井 啓	ＯＡＴアグリオ（株）
	〃	畑田 麻美	ふたば動物病院
顧 問	区 分	氏 名	勤 務 先
	学識経験者	井上 智	国立感染症研究所
	〃	藤田 博己	馬原アカリ医学研究所

部会員

各保健所担当

食肉衛生検査所担当

動物愛護管理センター担当

保健製薬環境センター担当

健康増進課感染症・疾病対策室担当

畜産振興課担当

消費者くらし政策課担当

動物由来感染症講演会

日時：平成30年3月2日（金曜日）19:00～21:00

会場：徳島大学 大塚講堂 大ホール

司会：徳島県医師会常任理事

徳島県医師会感染症対策委員会副委員長

岡 部 達 彦

1. あいさつ（19:00～19:15）

徳島県政策監 福 井 廣 祐

徳島県医師会長 齋 藤 義 郎

徳島県獣医師会長 塩 本 泰 久

2. 講演 1（19:15～19:55）

座長：徳島県医師会常任理事

徳島県医師会感染症対策委員長 田 山 正 伸

演 題：動物由来感染症 ～医師の立場から～

講 師：馬原医院長・徳島県動物由来感染症対策検討委員長

馬 原 文 彦 先生

3. 講演 2（19:55～20:10）

座長：徳島県獣医師会長 塩 本 泰 久

演 題：犬のSF T S発症例について

講 師：おおしま動物病院長

大 島 寛 彰 先生

4. 講演 3（20:10～20:55）

座長：徳島県獣医師会長 塩 本 泰 久

演 題：動物のSF T S：発症した動物からの感染リスクはあるのか？

講 師：国立感染症研究所 獣医科学部長

森 川 茂 先生

5. 閉 会（20:55～21:00）

徳島県医師会副会長 大 塚 明 廣

●日本医師会生涯教育講座2単位

カリキュラムコード：8（感染対策）11（予防と保健）26（発疹）28（発熱）

●専門医【必須共通講習②感染症対策】1単位

香川県で発生した高病原性鳥インフルエンザの対応について

1 香川県の発生事案概要

(1) 発生農場

所在地：香川県さぬき市

飼育状況：肉用鶏、約 5.1 万羽（関連農場の飼育状況：肉用鶏 約 4 万羽）

(2) 発生経緯及び香川県等（鳥インフルエンザ対策本部設置）の対応

- 1 月 10 日（水） 農場管理者から香川県家畜保健衛生所に連絡あり
簡易検査結果「陽性」、遺伝子検査結果判定保留
- 1 月 11 日（木） 遺伝子検査の結果、H5 亜型、疑似患畜を確認
殺処分の開始、移動制限区域（半径 3km 以内）、搬出制限区域（半径 3 ～ 10km）の設定、農場周辺の消毒開始、主要道に消毒ポイントの設置等
- 1 月 12 日（金） 殺処分、死骸の処理が終了（約 9.1 万羽）
- 1 月 14 日（日） 汚染物品の処理、鶏舎の消毒（1 回目）が終了
→「防疫措置を完了」
- 1 月 15 日（月） 殺処分した鶏の焼却作業開始
～ 22 日（月） 焼却作業完了
- 1 月 25 日（木） 香川県の発生場所周辺農場で清浄性確認検査を開始
- 1 月 30 日（水） 清浄性検査で陰性を確認
→「搬出制限区域の解除」決定
- 2 月 5 日（月） 移動制限区域を解除

(3) 徳島県の対応

※一部搬出制限区域にかかる

- ・危機管理会議の開催、全庁的な警戒体制、連絡調整会議の開催
- ・県内 5 カ所の消毒ポイントにて関係車両の消毒を実施（24 時間体制）
1 月 12 日～ 30 日まで 19 日間 延べ 998 名動員、延べ 1,038 台消毒
- ・県内養鶏場、食鳥処理場において鳥インフルエンザが疑われる鶏の確認
- ・重点監視区域内及びその周辺において、死亡野鳥の重点監視を実施
異常野鳥なし
- ・県民の不安払拭、風評被害防止のための積極的な情報提供

平成 30 年 3 月 5 日

「阿波地美栄処理施設衛生管理認証制度」確立事業に係る
病原体保有状況調査について

1 調査期間 平成 29 年 4 月～平成 30 年 2 月

2 検体数及び主な捕獲場所

- ・三好市 シカ 9、イノシシ 1 ・美馬市 シカ 3
- ・阿波市 イノシシ 3 ・鳴門市 イノシシ 11
- ・名西郡 シカ 1 ・吉野川市 シカ 1、イノシシ 1
- ・名東郡 シカ 1、イノシシ 1 ・徳島市 イノシシ 3
- ・小松島市 シカ 1 ・阿南市 シカ 1、イノシシ 3
- ・那賀郡 シカ 7、イノシシ 2 ・勝浦郡 シカ 1
- ・海部郡 シカ 4、イノシシ 1

合計 シカ 29頭、イノシシ 26頭 (55頭)

3 検査結果

(1) E 型肝炎ウイルス(HEV)・血清・肝臓から HEV 遺伝子を検出

シカ 0/27(0%) イノシシ 0/26(0%)

(2) リケッチア等・抗体検査(IP 法: ×40 以上を陽性)

	シカ	イノシシ
日本紅斑熱	1/23(4%)	3/21(14%)
ツツガムシ病	3/23(13%)	2/21(10%)
SFTSV	5/23(22%)	7/21(33%)

(3) 細菌・糞便中の保菌状況

	シカ	イノシシ
腸管出血性大腸菌	0/28(0%)	0/24(0%)
サルモネラ、赤痢菌	0/28(0%)	0/24(0%)
カンピロバクター	2/28(7%)	4/24(17%)
エルシニア属菌	0/28(0%)	2/24(8%)

野兎病菌

・微量凝集反応法による抗体検査 シカ4/21(19%)、イノシシ1/28(4%)

・ダニからの野兎病菌 DNA 検査 シカ0/15(0%)、イノシシ0/19(0%)

レプトスピラ・腎臓よりレプトスピラ遺伝子を検出

シカ1/26(4%)、イノシシ5/25(20%)

(4) 寄生虫	シカ	イノシシ
トリヒナ: 筋肉からPCR法により検出	1/25(4%)	1/26(4%)
槍形吸虫: 肝臓の細切により検出	4/27(15%)	—

(5) 有害残留物質	シカ	イノシシ
筋肉中の放射性物質検査	0/18	0/16
筋肉中の残留農薬検査	0/3	0/4

(6) 採取されたダニ(下線は特に多くみられた種類)

ダニから抽出した遺伝子検査では、SFTSV・野兎病菌遺伝子は検出されなかった

○イノシシから採取(約165匹)

若ダニ

- ・オオトゲチマダニ ・フタトゲチマダニ
- ・ヤマトチマダニ ・キチマダニ
- ・タカサゴキラマダニ ・フタトゲチマダニ
- ・台湾ンカクマダニ ・ツノチマダニ
- ・ヤマアラシチマダニ ・タカサゴチマダニ
- ・ヒゲナガチマダニ

成ダニ

- ・タカサゴキラマダニ ・キチマダニ
- ・ヒゲナガチマダニ ・オオトゲチマダニ
- ・タカサゴチマダニ
- ・ツノチマダニ

○シカから採取(約120匹)

若ダニ

- ・オオトゲチマダニ ・ヤマトチマダニ
- ・キチマダニ ・フタトゲチマダニ
- ・ヒゲナガチマダニ ・タカサゴチマダニ

成ダニ

- ・オオトゲチマダニ ・キチマダニ
- ・ヒゲナガチマダニ ・フタトゲチマダニ
- ・タカサゴキラマダニ ・台湾ンカクマダニ
- ・ヤマアラシチマダニ ・ヤマトチマダニ

ジビエにおける病原体保有状況調査

H29.3.5

徳島県食肉衛生検査所

1 調査期間 平成23～平成30年2月

2 検体数及び捕獲場所

表)年度別の検体数

年度	シカ	イノシシ	計
H23	5	—	5
H24	54	—	54
H25	6	13	19
H26	78	133	211
H27	20	52	72
H28	24	30	54
H29	29	26	55
計	216	254	470

H29年度 地域別の検体数 ((内はH28年度)

	シカ	イノシシ	計
西部(三好市、美馬市)	12(7)	1(4)	13(11)
中部北(阿波市、鳴門市)	0(7)	14(15)	14(22)
中部南(吉野川市、名西郡、名東郡)	3(2)	2(1)	5(3)
徳島(徳島市、小松島市)	1(0)	3(8)	4(8)
南部(阿南市、勝浦郡、那賀郡、海部郡)	12(8)	3(2)	15(10)

合計 55

頭

3 結果

E型肝炎ウイルス(HEV)

1 方法 シカ、イノシシ血清及び肝臓からRT-PCR法によりHEV遺伝子の検出。

2 結果

	シカ	陽性	イノシシ	陽性
H23	5	0		
H24	54	0		
H25	6	0	13	0
H26	62	0	124	1
H27	20	0	52	1
H28	21	1	26	0
H29	27	0	26	0

○シカ、イノシシともに陽性率は低いもののHEV遺伝子が検出されている

リケッチア症及びSFTS抗体検査

1 方法 シカ、イノシシ血清における抗体を、日本紅斑熱 (*Rickettsia japonica*), 発疹熱 (*R. typhi*), ツツガムシ病 (*Orientia tsutsugamushi*) の血清型6種 (Gilliam, Karp, Kato, Irie, Hirano, Shimokoshi) 及び重症熱性血小板減少症候群 (SFTSV) について、間接免疫ペルオキシターゼ反応 (IP法) により調査。

※シカ・イノシシの検体数のうち、それぞれの陽性数 (抗体価40倍以上を陽性) を計上。

※ツツガムシ病については、いずれかの抗体が陽性となったものを換算して計上。

2 結果

シカ	検体数	日本紅斑熱	(%)	ツツガムシ病	(%)	SFTS	(%)
H23	5	1	(20%)	0	(0%)	0	(0%)
H24	54	3	(6%)	8	(15%)	0	(0%)
H25	6	1	(17%)	3	(50%)	0	(0%)
H26	59	30	(51%)	30	(51%)	8	(14%)
H27	19	6	(32%)	4	(21%)	1	(5%)
H28	21	8	(38%)	9	(43%)	1	(5%)
H29	23	1	(4%)	3	(13%)	5	(22%)

【シカ】日本紅斑熱及びツツガムシ病は年度により陽性率に差があるが、常に陽性。
SFTSはH26年から陽性個体が見られる。今年度はSFTSが最も高い結果となった。

イノシシ	検体数	日本紅斑熱	(%)	ツツガムシ病	(%)	SFTS	(%)
H23	—						
H24	—						
H25	13	9	(69%)	5	(38%)	5	(38%)
H26	119	80	(67%)	60	(50%)	29	(24%)
H27	50	5	(10%)	13	(26%)	16	(32%)
H28	28	14	(50%)	11	(39%)	4	(14%)
H29	21	3	(14%)	2	(10%)	7	(33%)

【イノシシ】シカと同様に日本紅斑熱およびツツガムシ病、SFTSすべて陽性。
今年度はシカ同様、SFTSが最も高い結果となった。

食中毒細菌

1 方法

直腸便から、細菌培養及び遺伝子検査により、O157などの病原性大腸菌、カンピロバクター、サルモネラ、エルシニア属菌の検査を行った。

今年度は項目を腸管出血性大腸菌、サルモネラ、赤痢菌に変更した。

2 結果

シカ	病原性大腸菌	カンピロバクター	サルモネラ、赤痢菌	エルシニア
H26	3(O103) / 66	11 / 73	0 / 73	5 / 73
H27	0 / 15	0 / 15		1 / 15
H28	0 / 23	2 / 23		0 / 23
H29	0 / 28	2 / 28	0 / 28	0 / 28

○今年度はカンピロバクター・ハイオインテスティナリスが2検体検出された。

イノシシ	病原性大腸菌	カンピロバクター	サルモネラ、赤痢菌	エルシニア
H26	13 / 108	90 / 123	2 / 124	3 / 124
H27	1(O143) / 31	17 / 31		5 / 31
H28	0 / 25	6 / 25		0 / 25
H29	0 / 24	4 / 24	0 / 24	2 / 24

○今年度はカンピロバクター・リガ1検体、カンピロバクター・ハイオインテスティナリスが1検体、その他カンピロバクター属菌が2検体検出された。

○エルシニア・エンテロリチカが2検体検出された。

野兎病 抗体検査

1 方法

シカ、イノシシ血清における抗体価を微量凝集反応法により調査。抗体価80倍以上を陽性とした。(抗原液Ft38株は、アカリ研究所より分与いただきました。)

2 結果

		検体数	× 40	× 80	× 160	× 320
シカ	H26	30	9	7	1	1
	H27	18	5	5		
	H28	21	4	6		
	H29	21	4	5		
イノシシ	H26	90	32	10	1	
	H27	49	13	6		
	H28	28	5	4		
	H29	28	11			

○今年度はイノシシでは陽性検体は検出されなかった。

寄生虫検査

1 住肉孢子虫・・・筋肉からPCR法により検査を行った。

	シカ	陽性数	(陽性率)	イノシシ	陽性数	(陽性率)
H26	70	61	(87%)	126	89	(71%)
H27	15	14	(93%)	31	22	(71%)
H28	23	20	(87%)	28	24	(86%)

2 ヘパトゾーン・・・住肉孢子虫検査で使用した検体からPCR法により検査を行った。

	シカ	陽性数	(陽性率)	イノシシ	陽性数	(陽性率)
H26・27	85	0	(0%)	157	79	(50%)
H28	23	0	(0%)	28	23	(82%)

※今回検出されたヘパトゾーンはイノシシに特有のものと考えられた。

3 槍形吸虫・・・シカの肝臓を細切することにより検査を行った。

	シカ	陽性数	(陽性率)
H26	43	9	(21%)
H28	11	2	(18%)
H29	27	4	(15%)

4 旋毛虫(トリヒナ)・・・筋肉からPCR法にて検査を行った。

	シカ	陽性数	(陽性率)	イノシシ	陽性数	(陽性率)
H29	25	1	(4%)	28	1	(4%)

レプトスピラ

1 方法

平成28年度は血清、今年度は腎臓からDNAを抽出し、PCR法にて検査を行った。

2 結果

	シカ	陽性数	(陽性率)	イノシシ	陽性数	(陽性率)
H28(血清)	21	1	(4%)	26	0	(0%)
H29(腎)	26	1	(4%)	25	5	(20%)

○一部検体のシーケンス結果は、レプトスピラ・インテロガンスだった。

ダニ抽出遺伝子検査

1 SFTS遺伝子検査

① 方法・・・ダニから抽出したRNAを用いてRT-PCR法にて検査を行った。

② 結果

	シカ	陽性数	(陽性率)	イノシシ	陽性数	(陽性率)
H29	15頭 120匹	0	(0%)	20頭 165匹	0	(0%)

2 野兔病菌遺伝子検査

① 方法・・・ダニから抽出したDNAを用いてPCR法にて検査を行った。

② 結果

	シカ	陽性数	(陽性率)	イノシシ	陽性数	(陽性率)
H29	15頭 120匹	0	(0%)	20頭 165匹	0	(0%)

残留有害物質検査

1 放射性物質検査

① 方法・・・ゲルマニウム半導体検出器により、筋肉中の放射性セシウム(Cs-134,137)の検査を行った。

② 結果

	検体数 シカ	放射性 Cs-134	セシウ ム Cs-137	検体数 イノシシ	Cs-134	Cs-137
H26	51	検出せず		120	検出せず	
H27	7	検出せず		8	検出せず	
H28	14	検出せず		9	検出せず	1(基準値未満)※
H29	18	検出せず		16	検出せず	

※食品の基準値100ベクレル/kgに対し3ベクレル/kgと微量な値であり、人の健康への影響はありません。

2 残留有害物質検査

① 方法・・・ガスクロマトグラフィーにより、筋肉中の残留農薬検査等を行った。

② 結果

	シカ	農薬	イノシシ	農薬
H26	シカ・イノシシ	26	検出せず	
H27	8	検出せず	10	検出せず
H28	9	検出せず	4	検出せず
H29	3	検出せず	4	検出せず

徳島県において検出された E 型肝炎ウイルス (HEV) の遺伝子解析

徳島県食肉衛生検査所 ○山本 瑞希、魚住 佳世、赤松 茂

徳島県三好保健所 佐藤 豪、飛梅 三喜

徳島県動物愛護管理センター 坂東 英明

1 はじめに

E 型肝炎ウイルス(HEV)は、日本において食品媒介の人獣共通感染症である E 型肝炎の原因となる病原体である。HEV には 4 種類の遺伝子型が存在し、1 型、2 型が海外で流行しているのに対し、3 型、4 型は日本国内で感染が確認されている。わが国では 2003 年にニホンジカの生食による感染事例が発生し、以降食品媒介性感染症として知られるようになった^[1]。また、シカやイノシシ等のジビエや市販されているブタの生レバーにおいて HEV 遺伝子が検出されており^[2,3]、これらの生食による感染が問題となっている。そこで徳島県における HEV の浸潤状況を検討するため、平成 26～28 年度にかけて徳島県内で捕獲されたシカ、イノシシおよび県内と畜場に搬入されたブタについて、HEV 遺伝子および HEV に対する抗体の検出を試みた。また、遺伝子陽性の検体については塩基配列の決定および系統解析を行い、若干の知見を得たのでこれを報告する。

2 材料および方法

HEV 遺伝子の検出には、平成 26 年 5 月～29 年 2 月に捕獲されたシカ 100 頭、イノシシ 206 頭の血清または肝臓および平成 27 年 10 月～29 年 2 月に県内と畜場に搬入されたブタのうち 230 頭 (14 農家) の血清を検体として用いた。血清は、いずれも放血時に採取した血液を 3,000 rpm で 10 分間遠心して得られた。ブタは 1 農家につき 1 回あたり 4 頭以上採血を行った。血清または肝臓より total RNA を抽出し、HEV-F1 (5'-TAYCGHAAAYCAAGGHTGGCG-3') および HEV-R2 (5'-TGYTGGTTTRTCRTARTCCTG-3') を用いて RT-PCR を行った。得られた産物と HEV-F2 (5'-GGBGTBGCNGAGGAGGAGGC-3') および HEV-R1 (5'-CGACGAAATYAATTCTGTCG-3') を用いて nested PCR を行い、HEV 遺伝子の検出を試みた^[4]。特異バンドが見られた検体についてはオートシーケンサーにより塩基配列を決定し、近隣結合法による系統解析を行った。

抗 HEV 抗体の検出には、イノシシ 206 頭およびブタ 230 頭の血清を検体として用いた。EIA 法による抗体検出は、IgG/IgM anti-HEV EIA (特殊免疫研究所、東京都、日本) および HRP-conjugate 抗ブタ IgG 抗体を用いて行った。

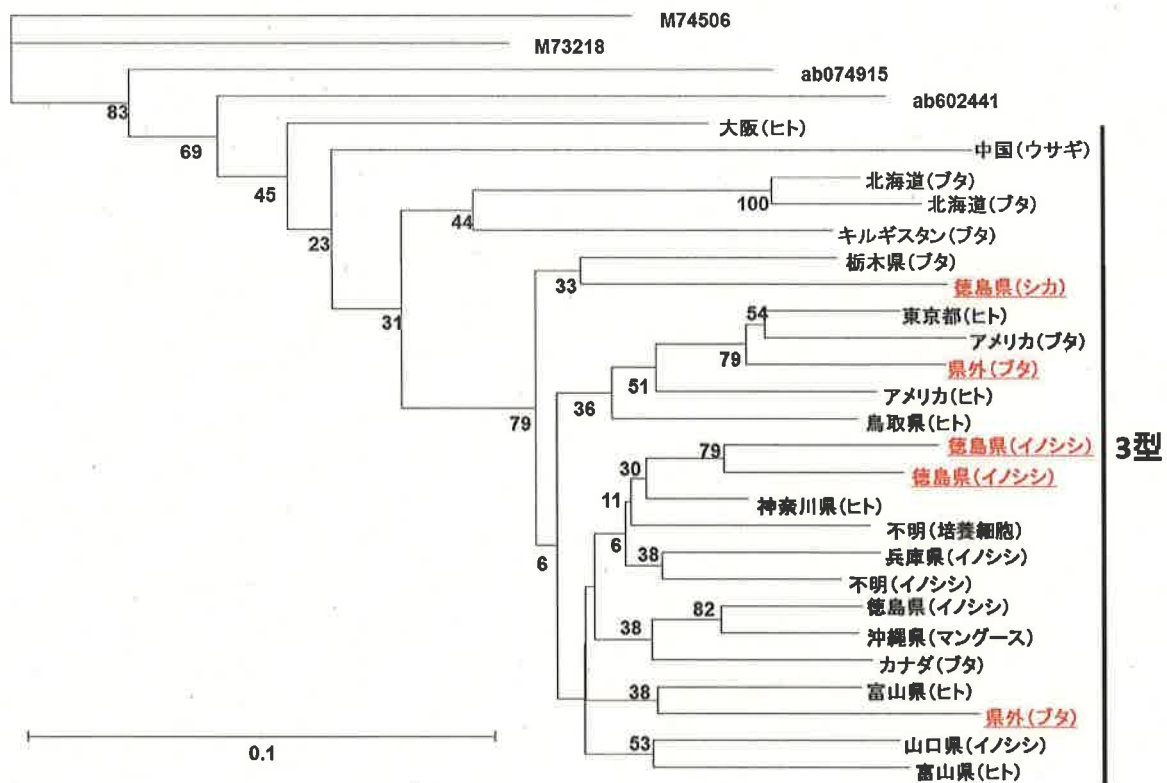
3 結果

イノシシ 2 検体、ブタ 2 検体およびシカ 1 検体より HEV 遺伝子が検出された。系統解析により、得られた HEV 遺伝子は全て遺伝子型 3 であり、日本で検出されている HEV と近縁である事が確認された (第 1 図下線)。

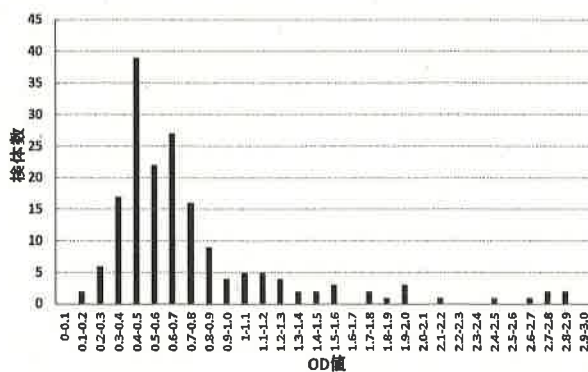
イノシシについて HEV 抗体検査を行ったところ、吸光度の中央値 0.62 に対し、ウイルス遺伝子陽性を

示す検体の吸光度は 1.96 および 2.88 であった（第 2 図）。抗体価を月別に見ると、9 月～12 月において 1 月～8 月と比べて有意に上昇した（第 3 図）。地域別に見ると、徳島県北部では 9 月～12 月にかけて抗体価の有意な上昇が見られたが、他の地域では年間を通じて低い値を保っていた（第 4 図）。また、成獣の抗体価は幼獣・若齢および高齢・壮齢と比べて有意に高かった（第 5 図）。性別による差は見られなかった（第 6 図）。

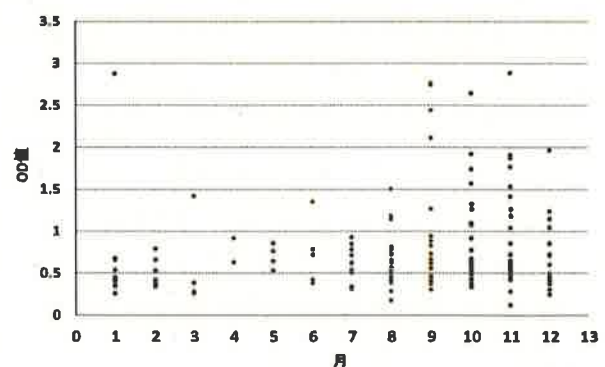
一方、ブタについて抗体検査を行ったところ、吸光度の中央値は 1.29 であり、ウイルス陽性検体は 2.84 だった（第 7 図）。また、イノシシで見られた季節性や地域性は見られず、全体的に抗体価は検体採取期間を通して上昇傾向にあった（第 8 図）。



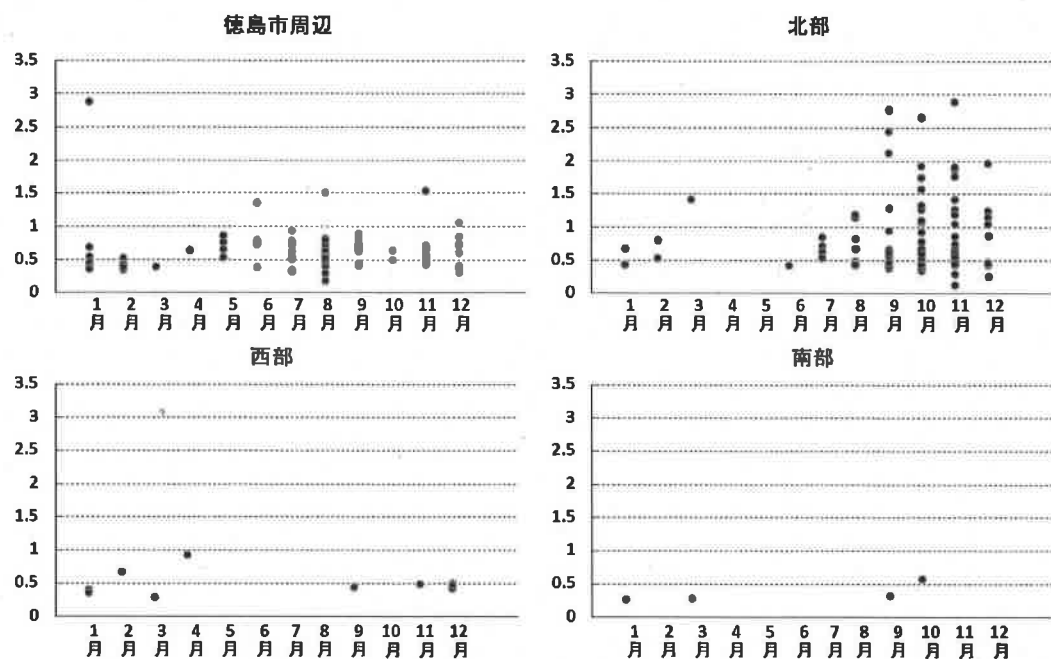
第 1 図 検出された遺伝子の系統解析



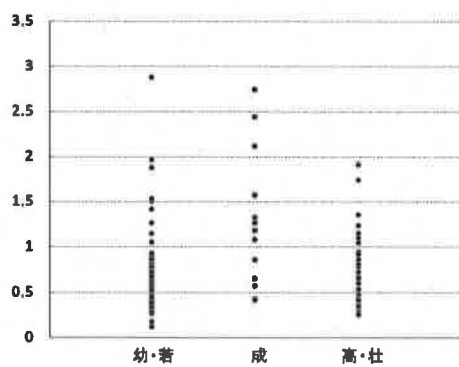
第 2 図 イノシシ抗体価測定



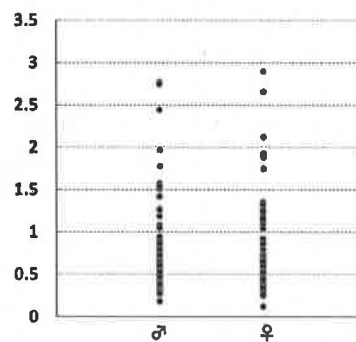
第 3 図 イノシシ抗体価 (月別)



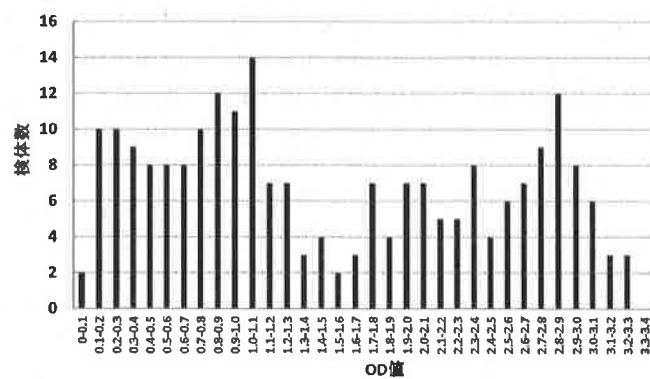
第4図 イノシン抗体価 (地域別)



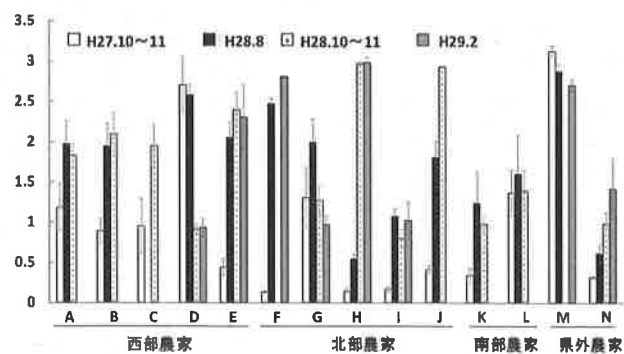
第5図 イノシン抗体価 (年齢別)



第6図 イノシン抗体価 (性別)



第7図 豚における抗体価測定



第8図 プタ抗体価 (農家別)

4 考察

今回の調査により、徳島県下におけるシカ、イノシシおよび県内のと畜場に搬入されたブタから低率ながらも HEV 遺伝子が検出され、生食あるいは加熱不十分な状態でこれらを喫食することにより HEV に感染する可能性が示された。また、検出された HEV 遺伝子が既存の日本国内で検出されたものと近縁であったことから、徳島県においても遺伝子型 3 型の HEV が広く蔓延していることが示唆された。

抗体検査の結果、イノシシでは 9 月～12 月で有意に抗体価が高くなり、全体的に 9 月を境に抗体が陽転する個体が多くなるという以前の報告と一致した^[3]。また地域性が見られ、高い抗体価を示す個体は北部に集中した。

一方、ブタでは季節性・地域性ともに見られず、抗体価は採取期間を通して上昇傾向を示した。また、ウイルス遺伝子陽性であった検体と同程度かそれ以上の抗体価を示す検体が多数存在した。HEV は糞口感染が主な伝播経路とされている。個体同士の接触が濃密である豚舎内では、感染個体から速やかに他の個体へ伝播し続け、一個体が繰り返し感染することから季節性が見られず、抗体価の上昇が引き起こされたと推察される。以上のことから、濃厚感染した汚染群に人が出入りした後適切な処置をとらなければ、未感染群に伝播する他、と畜場から農場にウイルスを持ち帰る可能性もあると考えられる。

また、イノシシ・ブタともにウイルス陽性を示す個体の抗体価がいずれも高かったことから、これらの個体は持続感染していることが示唆された。

今後はさらなる試料の収集を継続して進めるとともに、これらの食品について HEV による人の健康被害防止のため、加工の各行程における衛生的な処理の必要性和適切な喫食方法の普及啓発に努めたい。

5 参考文献

- [1] S. Tei, N. Kitajima *et al.* *Lancet* (2003), 362, 371-373.
- [2] Y. Yazaki, H. Mizuo *et al.* *Journal of General Virology* (2003), 84, 2351-2357.
- [3] 高井伸二ら：「野生鳥獣由来肉の安全性確保に関する研究」平成 27 年度研究報告
- [4] T. Li *et al.* *Emerging Infectious Diseases* (2005), 11, 1958-1960.

徳島県において検出された E型肝炎ウイルス(HEV)の遺伝子解析

徳島県食肉衛生検査所 ○山本 瑞希、魚住 佳世、赤松 茂
徳島県三好保健所 佐藤 豪、飛梅 三喜
徳島県動物愛護管理センター 坂東 英明

E型肝炎ウイルス(HEV)

＞食品媒介性の人獣共通感染症である
E型肝炎の原因。

＞ジビエや市販のブタ生レバーから
HEV遺伝子が検出されており、これらの
生食による感染が問題となっている。

＞ブタやイノシシでは無症状である。



E型肝炎ウイルス
(国立感染症研究所感染症発生動向
調査週報2004年第13週号より)

- ➡
- ・ 感染状況の把握が困難である。
 - ・ 健康な個体として食用に供される。

材料と方法

材料

- ・ 平成26年5月～29年2月に捕獲されたシカ100頭、イノシシ206頭の血清または肝臓
- ・ 平成27年10月～29年2月に県内と畜場に搬入されたブタ血清(14農家、230頭)

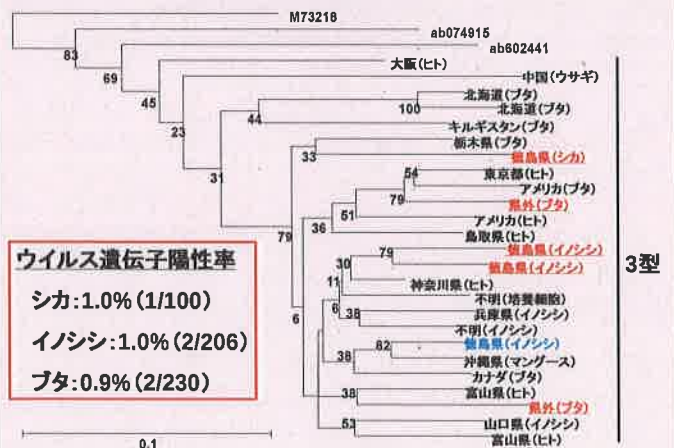
HEV遺伝子の検出

- ・ 血清および肝臓からtotal RNAを抽出し、nested-PCRを行った。
- ・ PCR陽性検体については系統解析を行った。

抗HEV抗体の検出(イノシシおよびブタのみ)

- ・ IgG/IgM anti-HEV EIA(特殊免疫研究所)を用いて行った。

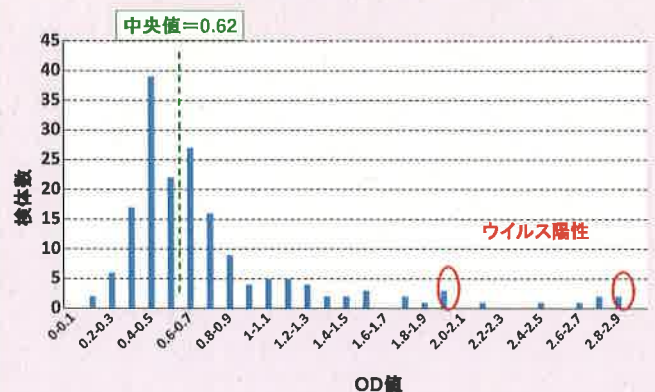
系統解析(遺伝子型3)



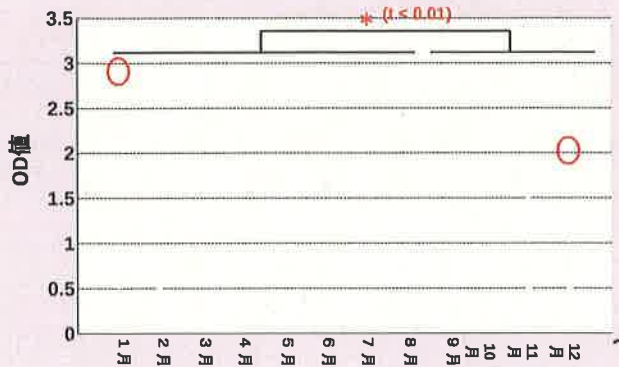
目的

徳島県内で捕獲されたシカ、イノシシおよび県内と畜場に搬入されたブタについてHEVの浸潤状況を検討する。

イノシシにおける抗HEV抗体価



イノシシにおける抗HEV抗体価(月別)



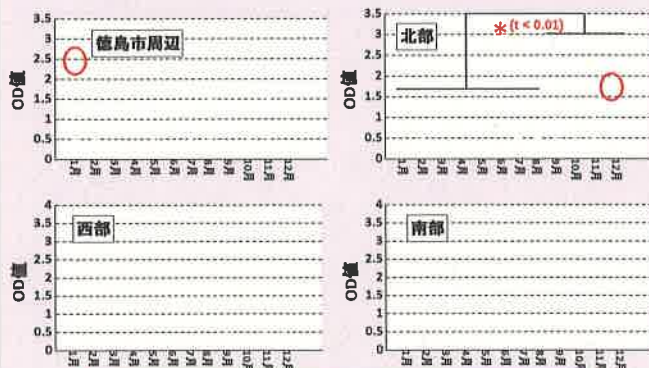
9～12月で有意に抗体価が上昇した。

ブタにおける抗HEV抗体価



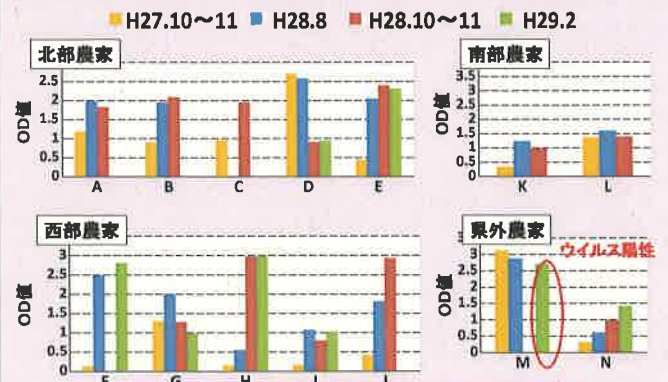
陽性検体と同程度の抗体価を示す個体が多数あった。

イノシシにおける抗HEV抗体価(地域別)



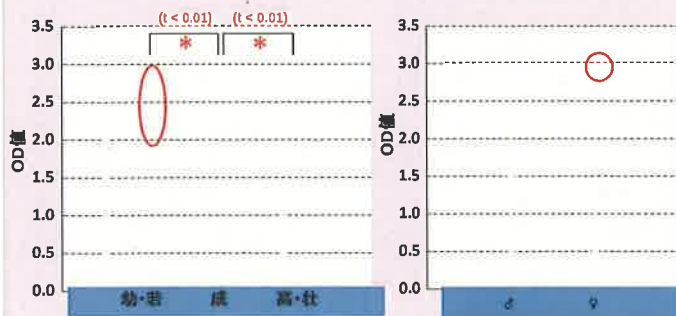
抗体価の高い個体は北部に集中した。

ブタにおける抗HEV抗体価(月・農家別)



季節、地域による差は見られなかった。

イノシシにおける抗HEV抗体価(年齢・性別)



成獣の抗体価は有意に高かった。

まとめ

＞ 徳島県下におけるシカ、イノシシおよび畜場に搬入されたブタからHEV遺伝子が検出された。

➡ 生食あるいは加熱不十分な状態でこれらを喫食することにより、HEVに感染する可能性がある。

＞ ブタではほとんどの農家で高い抗体価を示した。

➡ 県内全域に蔓延していることが明らかになった。

抗体価まとめ

	イノシシ	ブタ
季節	＋ (9～12月)	－ (上昇傾向)
地域	＋ (北部)	－ (農家による差)
年齢	＋ (成獣)	ND
性別	－	ND

＋:差あり ー:差なし ND:no data

HEVによる食中毒を防ぐために

★適切な喫食方法と衛生的な処理の普及啓発

- リーフレット等の配布
- 衛生的なシカ・イノシシの解体方法の講習会

★モニタリングの継続

- 医学部と連携し、実習に用いられるブタも検査



抗体価まとめ

	イノシシ	ブタ
季節	＋ (9～12月)	－ (上昇傾向)
地域	＋ (北部)	－ (農家による差)
年齢	＋ (成獣)	ND
性別	－	ND

＋:差あり ー:差なし ND:no data

HEVは糞口感染が主な伝播経路である。

- 豚舎内では、感染個体から速やかに他の個体へ伝播し続け、繰り返し感染することで抗体価が上昇する。

抗体価まとめ

	イノシシ	ブタ
季節	＋ (9～12月)	－ (上昇傾向)
地域	＋ (北部)	－ (農家による差)
年齢	＋ (成獣)	ND
性別	－	ND

＋:差あり ー:差なし ND:no data

イノシシとブタでは感染経路が異なる可能性がある。

徳島県における動物由来感染症対策の現状

魚住佳世, 矢野さやか¹⁾, 井上圭子, 山本瑞希, 藪内園子, 赤松茂
徳島県食肉衛生検査所, ¹⁾徳島県危機管理消費者くらし安全局安全衛生課

1. はじめに

徳島県では、平成16年に動物由来感染症対策検討会を設置し、医師、獣医師を交えて感染症に関する情報提供や研修会などを年に数回開催し、実質的な「One Health」の構築を目指している。今回、この1例として野生鳥獣肉の継続的な検査を行い、その経過と結果について知見を得たので報告する。この背景として、有害鳥獣の被害防止対策によるこれらの捕獲および利活用するため「阿波地味菜（あわじみえ）」として消費拡大を推進するにあたり、病原体の保有とその予防対策を検討する必要があったためである。

2. 方法

各検体数および検査項目

	直腸便	血清	肝臓	筋肉
シカ	111	168	54	108
イノシシ	180	215	125	185

検査項目	病原性大腸菌、サルモネラ、エルシニア、カンピロバクター	E型肝炎ウイルス、野兔病、リッパ症、SFTSウイルス、トキソプラズマ症	E型肝炎ウイルス、楕形吸虫	住肉胞子虫
------	-----------------------------	-------------------------------------	---------------	-------

平成23年から28年までに実際に捕獲された野生鳥獣のうち、シカ187頭、イノシシ228頭に対して、外部寄生虫由来を含む動物由来感染症の蔓延状況や安全な食肉の観点から食中毒原因菌や内部寄生虫について調査した。
検体は平成23年～25年は血清のみ、26年～28年は血液、筋肉、肝臓、糞便を利用した。各個体で検体が揃っていないため検体数は各々異なる。



3. 結果

各病原微生物の保有状況

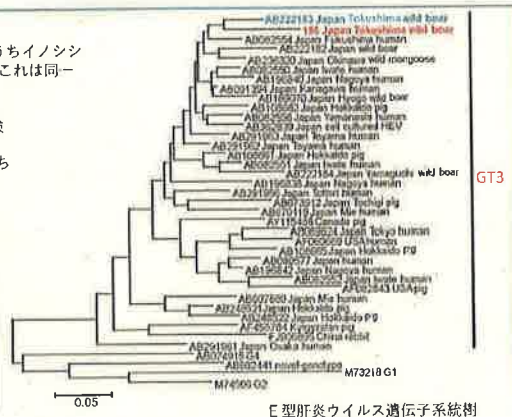
		シカ	イノシシ
細菌	Gilliam	7%	8%
	Karp	23%	20%
	Kato	6%	6%
	Irie	5%	15%
	Hirano	25%	29%
ウイルス	Shimokoshi	11%	10%
	R.japonica	29%	51%
	R.typhi	2%	8%
	SFTSウイルス	6%	25%
	E型肝炎ウイルス※1	1%	1%
寄生虫	野兔病	24%	13%
	病原性大腸菌※2	4%	10%
	サルモネラ属※3	-	2%
	エルシニア属※4	5%	4%
	カンピロバクター属※5	12%	63%
原虫	楕形吸虫	20%	-
	住肉胞子虫※6	88%	73%
	トキソプラズマ症	17%	23%

※1E型肝炎ウイルス
イノシシ2検体シカ1検体より検出。イノシシ2検体についての系統樹を作成した。これは同一個体の血清と肝臓より検出された。
※2病原性大腸菌
シカよりVT陽性が検出され、うち1検体よりO-103が分離された。
イノシシよりLT陽性が検出され、うち1検体よりO-143が分離された。
※3サルモネラ属菌
イノシシの陽性検体の血清型はO7群であった。



楕形吸虫

※4エルシニア属菌
Y. enterocoliticaがシカで6検体、イノシシで5検体陽性であった。
Y. pseudotuberculosisがイノシシで3検体陽性であった。
(そのうち、シカ1検体、イノシシ1検体は病原性Y. enterocoliticaであった。)
※5カンピロバクター属菌
C.jejuniがシカで4検体、イノシシで3検体、C.coliがイノシシで10検体、C.hydrolyticusがシカ、イノシシで最も高い検出率となった。
※6住肉胞子虫
一部検体での同定の結果、シカ S.hortii、イノシシ S.miescherianaであった。



E型肝炎ウイルス遺伝子系統樹



シカ筋肉内の住肉胞子虫 (HE染色)

4. まとめ

今回の検査結果から、シカやイノシシをはじめとするジビエは様々な病原体や寄生虫を保有しており、生食や加熱不十分状態で喫食することによる食中毒の危険性が改めて示された。今後の課題として、①検査方法、②結果の還元方法があげられる。
(1)として、他の新興感染症に対する検査方法について専門知識/技術を有する大学や研究所とのさらなる連携、県内の他の既存検査施設の有効活用による利便性、時間および経費の削減が可能であると考えられる。
(2)として、検討会での結果報告や検体の提供に対して結果を報告するとともに、医師会や獣医師会と連携した講演会等を通じた周知、県民向けリーフレットの作成、「阿波地味菜」の処理等関係者を対象とした衛生講習会への活用、ジビエの衛生管理ガイドラインの改定を経て、今後は「阿波地味菜」のブランド確立の支援が可能と考えられる。
これらのことから、今後もモニタリングまたはスクリーニング検査として行う調査や情報提供は継続して必要であると考えられる。さらにこのような取り組みとして、現在は徳島県では図1に示すような徳島県動物由来感染症対策検討会を中心とした医師会、獣医師会や大学をはじめとした研究、検査機関等と連携活動を行っているが、今後は図2に示すようにさらに広範囲で様々な検査機関の協力や連携を促進し、情報提供を繰り返すことで更なる「One Health」の実践的な活動を行ってきたい。



図1 現在の動物由来感染症に備えた連携



図2 今後の動物由来感染症に備えた連携



Hepatozoon apri n. sp. (Adeleorina: Hepatozoidae) from the Japanese wild boar *Sus scrofa leucomystax* (Mammalia: Cetartiodactyla)

Mizuki Yamamoto^{a,1}, Toshihiro Tokiwa^{b,*}, Miki Tobiume^a, Shigeru Akamatsu^a, Kayoko Matsuo^{c,d}, Junji Moribe^e, Kazunori Ike^b

^a Tokushima Prefectural Meat Inspection Center, 2-140-3 Fudohoncho, Tokushima, Tokushima, Japan

^b Laboratory of Veterinary Parasitology, School of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Nippon Veterinary and Life Science University, 1-7-1 Kyonancho, Musashino, Tokyo, Japan

^c Hida Regional Livestock Hygiene Service Center, 7-468 Kamiokamotomachi, Takayama, Gifu 506-8688, Japan

^d Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

^e Research Center for Wildlife Management, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

ARTICLE INFO

Keywords:

Sus scrofa leucomystax
Hepatozoonosis
Wild boar
Hepatozoon apri n. sp.
18S rRNA gene
Japan

ABSTRACT

Hepatozoon apri n. sp. is described from Japanese wild boars *Sus scrofa leucomystax* in Japan. The gamonts in the peripheral blood leukocytes were $11.6 \pm 1.4 \times 6.7 \pm 1.3 \mu\text{m}$ in size. The meronts in the muscle tissues were $35.0\text{--}47.5 \mu\text{m}$ in length and $26.5\text{--}30 \mu\text{m}$ in width. A high rate (53.0%) of infection was found by nested PCR using muscle specimens from 181 wild boars captured in Tokushima, Japan. A phylogenetic analysis based on 18S rRNA gene sequences revealed that *H. apri* n. sp. detected in wild boars is closely related to *Hepatozoon* spp. isolated from carnivores. This is the first description of a species belonging to the genus *Hepatozoon* detected in ungulates.

1. Introduction

Species of the genus *Hepatozoon* Miller, 1908 are apicomplexan parasites that infect terrestrial vertebrates as intermediate hosts and hematophagous arthropods as final hosts. Among mammalian hosts, *Hepatozoon* infections have mainly been reported in rodents, lagomorphs, insectivores, marsupials, and carnivores, and have rarely been reported in ungulates (Clark et al., 1973; McCully et al., 1975; Smith, 1996; Graig, 2001). However, *Hepatozoon* sp. have recently been detected in muscle tissues of the Japanese wild boar *Sus scrofa leucomystax* (Mammalia: Cetartiodactyla) in Gifu Prefecture, Japan (Matsuo et al., 2016) and *Hepatozoon* DNA has been detected in wood ticks in the genus *Dermacentor* (Arthropoda: Ixodidae) collected from wild boars in Thailand (Sumrandee et al., 2015). These reports suggest that unknown *Hepatozoon* species are found in wild boars in Asia.

Population sizes of ungulates, such as wild boars and the sika deer *Cervus nippon*, have increased dramatically throughout Japan in recent decades, resulting in significant agricultural damage (Honda and Sugita, 2007; Honda et al., 2010). These animals play an important ecological role in the dispersal of zoonotic parasites, including *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Paragonimus*, *Onchocerca*, and *Gnathostoma*

(Takaoka et al., 2004; Meng et al., 2009; Sugiyama et al., 2015). Further, the risk of diseases caused by these parasites is an increasing concern owing to the frequent contact between humans and domestic animals. In the present study, we detected *Hepatozoon* species in a survey of zoonotic parasites in Japanese wild boars caught in the mountain area of Tokushima Prefecture located on Shikoku Island, Japan. The aims of this study were to determine the morphological and molecular characteristics of *Hepatozoon* species in wild boars, and to evaluate the prevalence of the species in wild populations in Tokushima, Japan.

2. Materials and methods

2.1. Sample collection

Between May 2014 and January 2017, 181 Japanese wild boars (93 males and 88 females), including 11 juveniles (with body striping) and 170 young or older individuals, and 113 sika deer (*Cervus nippon centralis*) were legally hunted by licensed hunters in Tokushima, Japan in accordance with the Protection and Control of Wild Birds and Mammals and Hunting Management Law. This study did not require approval by

* Corresponding author.

E-mail address: tokiwa@nvl.ac.jp (T. Tokiwa).

¹ These authors contributed equally.

an animal ethics committee, since animals were not killed specifically for the study. Muscle tissue samples were obtained from all individuals. Heart, liver, kidney, and spleen tissues and EDTA-anticoagulated blood were obtained from five boars (sample IDs: 28-3, 28-11, 28-12, 28-18, and 28-26) caught between September 2016 and January 2017.

2.2. Hematological and histopathological examinations

Thin blood or buffy coat smears were prepared, air-dried, fixed, and stained using the Diff-Quik Staining Kit (Sysmex, Hyogo, Japan). Parasitemia was estimated by counting parasitized leukocytes among 3000–3100 leukocytes in these smears. Gamonts and meronts were measured using the cellSense software (Olympus, Tokyo, Japan). For histopathological examinations, the muscle, heart, liver, kidney, and spleen tissues from five boars were fixed in 10% formalin. These specimens were processed routinely, embedded in paraffin, and stained with hematoxylin and eosin (H&E).

In a previous study, *Hepatozoon* sp. was found in muscle tissues from a Japanese wild boar (ID: IB20) captured in Gifu prefecture, Japan (Matsuo et al., 2016). Sequence analyses revealed that *Hepatozoon* sp. from wild boar (ID: IB20) was identical to the *Hepatozoon* species found in the wild boars in the present study. To identify developmental stages of *Hepatozoon* sp. parasitizing wild boar, formalin-fixed paraffin-embedded myocardium and skeletal muscle tissues from IB20 were newly sectioned, stained with H&E, and examined microscopically.

2.3. DNA extraction, DNA amplification, and sequencing

Muscle, heart, liver, kidney, and spleen tissue samples (500 mg) were homogenized separately, supplemented with 700 µL of TE buffer (Nippon Gene, Toyama, Japan), and mixed vigorously for 30 s. After centrifugation at 6000 × g, genomic DNA was extracted from 200 µL of supernatants using the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). For blood specimens, DNA was extracted from buffy coat samples using the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) according to the manufacturer's instructions.

PCR was performed to amplify the partial 18S rRNA gene (18S) from five blood specimens using the primer set 18S1F/18S11R to detect apicomplexan parasites (Pritt et al., 2008). Nested PCR of the same region was performed using the blood and tissues of the heart, liver, kidney, and spleen from five boars and muscle samples from all 181 boars and 113 deer. For nested-PCR, the primers Hap1F, designed based on the 18S sequence of *Hepatozoon* species from wild boars in this study, and 18S11R were used. Expected amplicon size for 1st and 2nd PCR was 1108 bp and 557 bp, respectively. Detailed primer information is provided in Table 1.

The PCR mixture contained 2.5 µL of 10 × Ex Taq buffer (Takara Bio Inc., Otsu, Japan), 0.2 mM dNTP (Takara), 0.2 µM each primer, 1 U of Ex Taq polymerase (Takara) and 1 µL of DNA extract or 1st PCR products in a total volume of 20 µL. PCR conditions consisted of initial denaturation at 94 °C for 5 min, followed by 40 (1st PCR) or 25 cycles (2nd PCR) at 94 °C for 30 s, 60 (1st PCR) or 52.5 °C (2nd PCR) for 1 min, and 72 °C for 1 min, and then a final extension step at 72 °C for 5 min. All amplifications were performed using the Gene Atlas thermal cycler (Astec, Chattanooga, TN, USA). The amplified DNA was applied to 2%

agarose gels, electrophoresed, and visualized under an LED transilluminator. PCR products were directly sequenced in both directions with the primers used for the 1st or 2nd PCR using the GenomeLab Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit (Beckman, Brea, CA, USA) and CEQ8000 (Beckman).

2.4. DNA sequence analyses

The 18S sequences were used to establish the phylogenetic position of the present *Hepatozoon* species. Sequence similarity was determined using a BLASTN search against the National Center for Biotechnology Information database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

The obtained sequence and 18S sequences of *Hepatozoon* spp. and related genera (*Hemolivia*, *Haemogregarina*, *Dactylosoma*, and *Adelina*) available in the DDBJ/EMBL/GenBank databases were aligned using a web-based version of a multiple alignment program (MAFFT, version 7) (Katoh and Standley, 2013) with the Q-INS-i setting, followed by a manual check. Uncorrected *p*-distances between all sequence pairs were calculated using MEGA version 7.0 (Kumar et al., 2016). A phylogenetic analysis was performed using neighbor-joining (NJ) and maximum likelihood (ML) methods implemented in MEGA. All positions containing gaps and missing data were eliminated and both trees were constructed using the Tamura–Nei model and gamma-distributed rates (AICc score, 4313.7). A bootstrap analysis was performed using 1000 replicates.

3. Results

3.1. General findings

All blood smears from five different boar specimens had gamonts in leukocytes (Fig. 1a–d). The average parasitemia of *Hepatozoon* was 0.20%, ranging from 0.03% (ID: 28-12, 1/3060 leukocytes) to 0.39% (ID: 28-11, 12/3081 leukocytes). Evident anemia and leukocytosis were not observed in these specimens. Histological examinations demonstrated that there were a few focal lesions in the skeletal muscle tissues of the boar (ID: 28-11). A lesion was comparable to a ruptured meront, characterized by an accumulation of phagocytes, neutrophils, and merozoites- or gamont-like cells (Fig. 2). We did not detect histologic lesions in any of the other tissues of wild boars captured in Tokushima, Japan. On the other hand, histological examinations of the myocardium and skeletal muscles of Japanese wild boar from Gifu prefecture (IB20) demonstrated the presence of trophozoite (Fig. 3a), immature (Fig. 3b and c) and mature meronts (Fig. 3d). These were located in the center of parasitophorous vacuoles and no inflammatory response was found in the surrounding region (Fig. 3a–d).

In a PCR assay of five blood specimens with intraleukocytic parasites, the primer set 18S1F/18S11R yielded positive results, and the PCR products were approximately 1100 bp for all specimens. Partial 18S sequences (1007 bp) of 5 specimens were 100% identical. BLASTN analyses of partial 18S sequences obtained in this study and the top three hits in a search against the GenBank/DDBJ/EMBL databases indicated an identity of 100% (query cover: 100%) with *Hepatozoon* sp. (accession no. LC062147) from a Japanese wild boar (ID: IB20) in Gifu, Japan, 97.6% (query cover: 99.4%) with *Hepatozoon felis* (accession nos. AY620232, AY628688, and KX017290) from the domestic cat *Felis catus*, and 97.5% (query cover 100%) with *Hepatozoon* sp. (accession no. EF222257) from the European pine marten *Martes martes*. Based on the genetic similarities between the present species and *Hepatozoon* sp. from Japanese wild boar (ID: IB20), both were considered to be the same new species, and are described as follows.

3.2. Description

Phylum Apicomplexa Levine, 1970
Family Hepatozoidae Wenyon, 1926

Table 1
Primers used in this study.

Name	Direction	Sequence	Reference
18S1F	F	5'-GGATAACCGTGGTAATTCTATG-3'	Pritt et al., 2008
18S11R	R	5'-TCCTATGTCTGGACCTGGTGAG-3'	Pritt et al., 2008
Hap1F	F	5'-GCTTTTAATAAAAGTAGTATCTTGG-3'	Present study

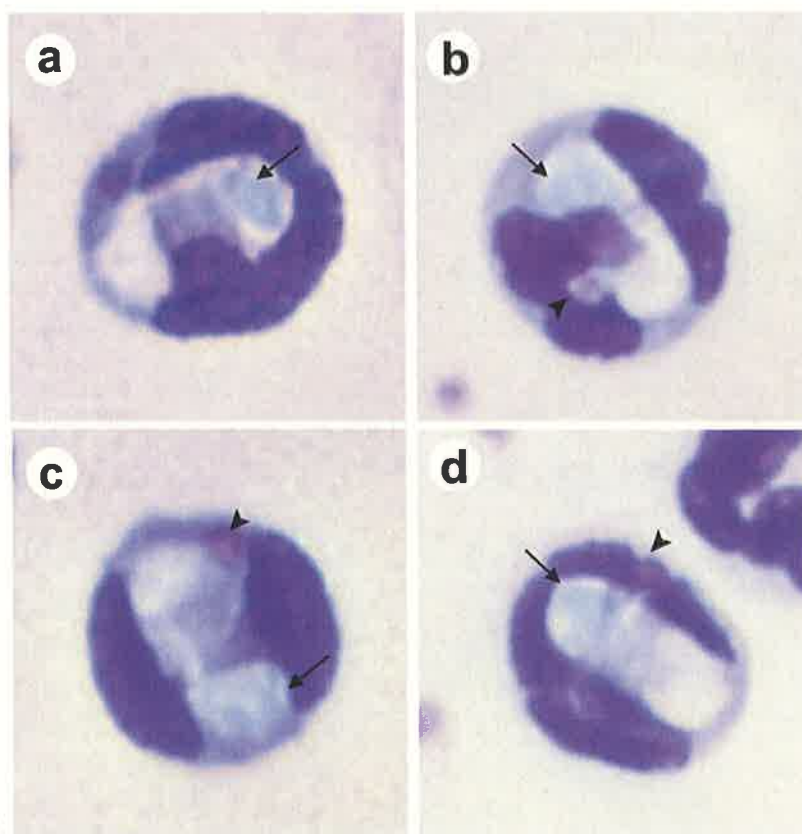


Fig. 1. a–b) Gamonts of *Hepatozoon apri* n. sp. in the cytoplasm of neutrophils detected in the blood smear of a boar (ID: 28-11), showing acentric and rounded nuclei (arrows) and a small protrusion containing eosinophilic granules (arrowheads).

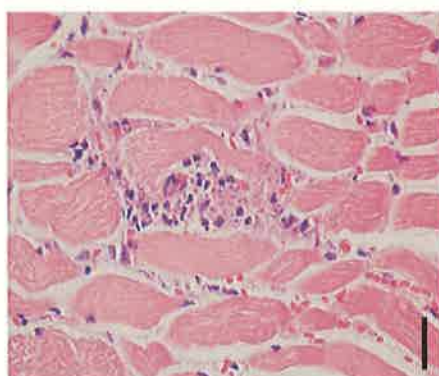


Fig. 2. Inflammatory lesion with released merozoites or gamonts in the femoral muscle of Japanese wild boar.

Genus *Hepatozoon* Miller, 1908
Hepatozoon apri n. sp.

3.2.1. Gamont (Fig. 1a–d)

The gamont was ellipse-shaped, occupied the longitudinal length of the infected leukocytes, and possessed an acentric nucleus (Fig. 1a–d) and one small protrusion containing eosinophilic granules (Fig. 1b–d). The sizes were 11.59 ± 1.4 (9.08–16.52) μm in length and 6.67 ± 1.3 (4.28–11.52) μm in width. Based on morphological appearance, infected leukocytes resembled neutrophils.

3.2.2. Trophozoite and meront (Fig. 3a–d)

Trophozoites were found in the parasitophorous vacuoles of the host

cells with foamy cytoplasm (Fig. 3a). Two types of developing meronts were observed in the tissues of myocardium muscles. These immature meronts were located in the center of enlarged vacuoles (Fig. 3b and c). One immature meront was wheel spoke-shaped and $45.0 \times 27.5 \mu\text{m}$ in size, with approximately 30 peripherally arranged merozoites as palisades inside a membrane, and foamy cytoplasm (Fig. 3b). The other immature meront was ovoidal, $35.0 \times 26.5 \mu\text{m}$ in size, and with a lumen loosely filled with approximately 50 merozoites with rounded large nuclei (Fig. 3c). One mature meront found in the skeletal muscle tissue was $47.5 \times 30.0 \mu\text{m}$ in size, with a lumen densely filled with numerous small nucleated merozoites (Fig. 3d).

3.3. Taxonomic summary

3.3.1. Type host (intermediate host)

Japanese wild boar *Sus scrofa leucomystax*.

3.3.2. Location in type host

Gamonts were found in leukocytes in the peripheral blood. Trophozoites and meronts were found in the myocardium and skeletal muscle tissues.

3.3.3. Prevalence of infection in type hosts

Nested PCR using a specific primer set showed positive results in blood specimens and muscle, heart, liver and spleen tissues from five wild boars (Table 2) whose blood smears were microscopically positive for *Hepatozoon* parasites in leukocytes. Therefore, muscle samples were used to examine the prevalence of *Hepatozoon* infections among 181 Japanese wild boars hunted in Tokushima, Japan. A total of 96 (53.0%) were positive based on nested PCR (Table 3). Twenty positive samples were sequenced; these sequences were 100% identical to each other

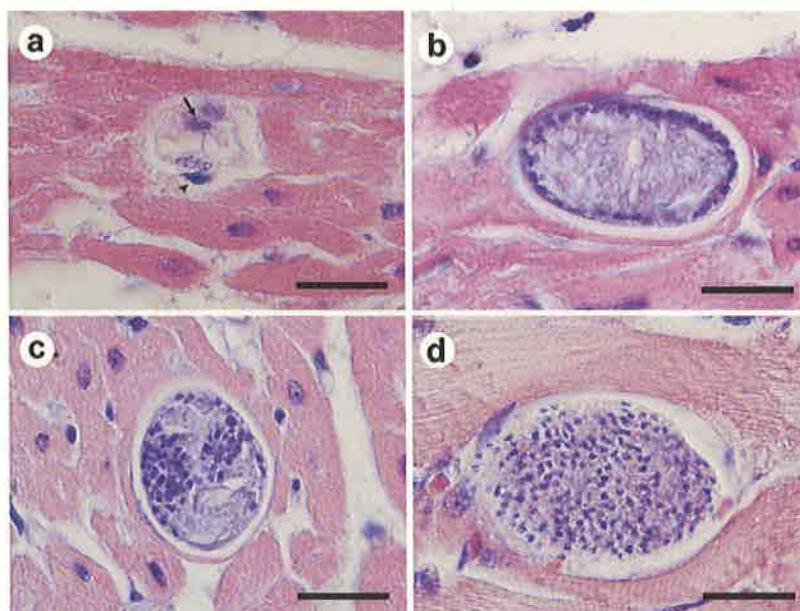


Fig. 3. a–d) Various developmental stages of *Hepatozoon apri* n. sp. detected in the muscles. a) A trophozoite (arrow) in the femoral muscles. The outer layer contains a fibroblast-like nucleus (arrowhead). b–c) Immature meronts found in the heart. d) Mature meront in the femoral muscles. H&E stain. Bar = 20 µm.

Table 2

Results of nested PCR for detection of *Hepatozoon* 18S in five Japanese wild boars, whose blood smears showed *Hepatozoon* parasites in leukocytes.

Sample IDs	Blood	Muscle	Heart	Liver	Kidney	Spleen
28–3	+	+	ND	ND	ND	ND
28–11	+	+	+	+	–	+
28–12	+	+	–	–	–	–
28–18	+	+	+	–	–	–
28–26	+	+	ND	ND	ND	ND

+, PCR amplicon with nested PCR.

–, no amplicon.

ND, not done.

Table 3

Prevalence of *Hepatozoon* infection in muscle specimens of 181 Japanese wild boars and 113 sika deer hunted in Tokushima, Japan.

	Japanese boars (n = 181)				Sika deer (n = 113)
	Juvenile		Young or older		
	Male	Female	Male	Female	
Positive	0 (0%)	1 (0.6%)	49 (27.1%)	46 (25.4%)	0 (0%)
Negative	8 (4.4%)	2 (1.1%)	36 (19.9%)	39 (21.5%)	113 (100%)
Total	8	3	85	85	113

and were identified as *H. apri* n. sp.

3.3.4. Vector (final host)

Unknown.

3.3.5. Other host

Unknown. All muscle specimens collected from 113 sika deer hunted in Tokushima, Japan were negative in a nested PCR analysis (Table 3).

3.3.6. Locality

Tokushima and Gifu prefectures, Japan. Based on the high infection

rate, it is likely present in other areas of Japan.

3.3.7. Type specimens

A buffy coat smear from a Japanese wild boar (ID: 28-11) stained using the Diff-Quik Staining Kit containing intraerythrocytic gamonts and muscle tissue slides from a Japanese wild boar (ID: 20B) stained by H&E containing mature and immature meronts were deposited at the Meguro Parasitological Museum, Meguro, Tokyo, Japan under accession numbers MPM Col. No. 21398, MPM Col. No. 21399, and MPM Col. No. 21340, respectively.

3.3.8. ZooBank LSID

The ZooBank LSID is urn:lsid:zoobank.org:act:pub:CE832E19-BF49-4A76-AA35-8C205573F308.

3.3.9. Representative DNA

One sequence representing a 1007 bp fragment of 18S rRNA has been deposited at DNA Data Bank of Japan (DDBJ) under accession no. LC314791.

3.3.10. Etymology

The specific epithet, *apri*, is derived from the genitive of the Latin noun *aper*, meaning a wild boar, the type host for the new species.

3.4. Phylogenetic analyses

A 522-bp nucleotide sequence alignment of the short 18S was generated for 41 sequences of *Hepatozoon* species and 4 sequences of other hemogregarines. Phylogenetic analyses using NJ and ML methods generated a similar tree topology with minor variation in bootstrap values. For brevity, we present only the ML tree with bootstrap values obtained from both ML and NJ trees (Fig. 4). *Hepatozoon apri* n. sp. belonged to a clade that contained sequences of *Hepatozoon* sp. detected in wild boar (ID: IB20) in Gifu, Japan (accession no. LC062147) and *Dermacentor* ticks collected from *S. scrofa* in Thailand (accession nos. KF318170 and KF318171). This clade was within a major clade containing *Hepatozoon* isolates from carnivores (dogs, cats, wild cat, bears, and martens). The uncorrected *p*-distances of 18S within the first clade containing *Hepatozoon* from wild boars and from *Dermacentor* ticks was

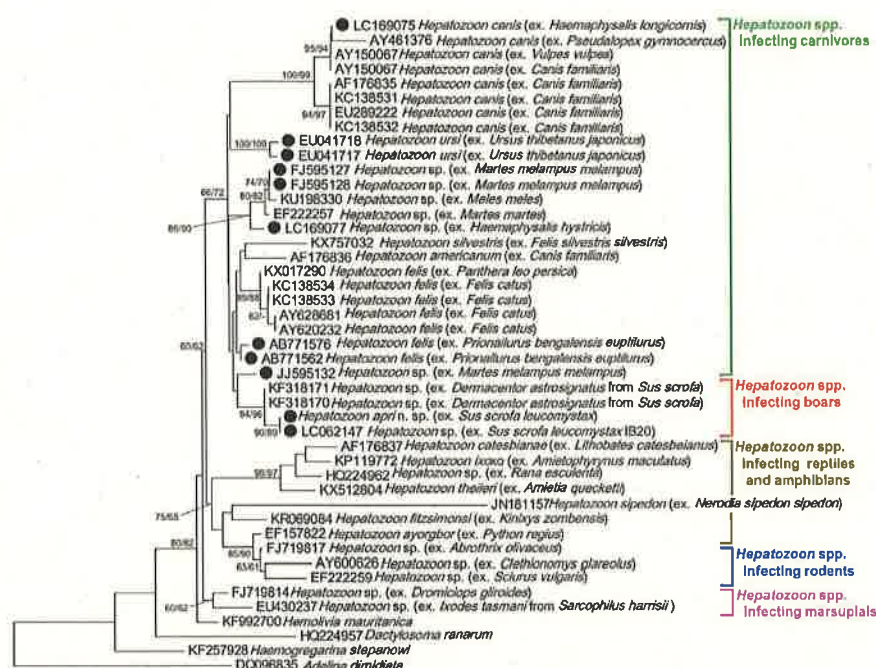


Fig. 4. Phylogenetic analysis of *Hepatozoon apri* n. sp. based on 18S rDNA sequences (522-bp). *Adelina dimidiata* (accession no. DQ096835) was chosen as the outgroup to root the phylogeny. Neighbor-joining (NJ) and maximum likelihood (ML) analysis showing the phylogenetic relationships among boar isolates and two *Hepatozoon* spp. (KF318170, KF318171) detected in *Dermacentor* ticks collected from wild boar in Thailand. Sequences included in the comparison were downloaded from the DDBJ/EMBL/GenBank databases. Filled circles indicate *Hepatozoon* species reported from Japan. Nodal support values based on 1000 bootstrap replicates (NJ/ML) are represented on the ML tree. Scale bar represents 0.01 nucleotide substitutions per site.

0.04; between *H. apri* n. sp. and the clade containing *Hepatozoon* species infecting carnivores was 0.032 ± 0.01 and ranged from 0.013 (*H. felis* found in the Iriomote cat *Prionailurus bengalensis iriomotensis*) to 0.055 (*H. canis* found in the dog and pampas fox *Lycalopex gymnocercus*); between *H. apri* n. sp. and other *Hepatozoon* species was 0.048 ± 0.02 and ranged from 0.029 (*Hepatozoon* sp. found in the Chielo opossum *Dromiciops gliroides*) to 0.101 (*Hepatozoon* sp. found in the Northern water snake *Nerodia sipedon sipedon*). The uncorrected *p*-distances between species in the genus *Hepatozoon* and *Hemolivia mauritanica*, *Haemogregarina stepanowi*, and *Dactylosoma ranarum* were 0.034 ± 0.01 (0.013–0.088), 0.068 ± 0.01 (0.047–0.112), and 0.078 ± 0.01 (0.059–0.118), respectively.

3.5. Remarks

Based on morphological characteristics of developmental stages, histological findings, and molecular and phylogenetic analyses, *Hepatozoon* species reported in the present study represent a new species, herein described as *H. apri* n. sp. No *Hepatozoon* species have been described in other ungulates, including those in the family Suidae. *Hepatozoon apri* n. sp. is closely related to *Hepatozoon* spp. isolated from carnivores, but the following features can be used to distinguish these species. (1) Gamonts of *H. apri* n. sp. ($11.6 \pm 1.4 \times 6.7 \pm 1.3 \mu\text{m}$) were wider than *H. ursi* gamonts ($10.9 \pm 0.3 \times 3.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$) (Kubo et al., 2008), *H. canis* gamonts from the domestic dog *Canis lupus familiaris* ($9.7 \pm 1.4 \times 5.4 \pm 0.9 \mu\text{m}$) (Baneth et al., 2007), *H. americanum* gamonts from the domestic dog ($8.8 \pm 0.6 \times 3.9 \pm 0.5 \mu\text{m}$) (Vincent-Johnson et al., 1997), *H. felis* gamonts from the domestic cat *Felis catus* ($10.5 \pm 0.6 \times 4.7 \pm 0.8 \mu\text{m}$) (Baneth et al., 2013), and *H. procyonis* from the raccoon *Procyon lotor* ($7.5 \pm 0.5 \times 3.9 \pm 0.4 \mu\text{m}$) (Clark et al., 1973). (2) Mature meronts of *H. apri* n. sp. ($47.5 \times 30.0 \mu\text{m}$) are markedly smaller in size than *H. americanum* meronts ($85 \pm 7 \times 79 \pm 13 \mu\text{m}$) (Vincent-Johnson et al., 1997). (3) Wheel spoke-shaped meronts of *H. apri* n. sp. contain around 30

merozoites, whereas *H. felis* from domestic cat and *H. silvestris* from European wild cat *Felis silvestris silvestris* contain 20–30 and 10–15 merozoites, respectively (Hodžić et al., 2016).

4. Discussion

Members of the genus *Hepatozoon* have been recorded from a wide variety of vertebrate hosts, and reptiles are the most commonly infected (Smith, 1996). However, in ungulates, *Hepatozoon* infections are apparently rare and there are no described species. Basson et al. (1967) found organisms in mononuclear leukocytes of the liver tissues of the impala *Aepyceros melampus* presumed to be *H. canis* gamonts on the basis of morphology, including the typical banana shape and slight curvature. These characteristics clearly differ from those of the gamont of *H. apri* n. sp., which have are ellipsoid. Interleukocytic parasites, probably *Hepatozoon* gamonts, were found in the blood smear of the reedbuck *Redunca arundinum* and the giraffe *Giraffa camelopardalis* in Barotseland, located in western Zambia (Fantham, 1922; 1921). Presumed *Hepatozoon* spp. were also observed in the mononuclear leukocytes of tissues of the nyalas *Tragelaphus angasi* and bushbuck *T. scriptus* in South Africa (Basson et al., 1971). Clark et al. (1973) detected *Hepatozoon* gamonts and meronts in the myocardial tissues of a white-tailed deer *Odocoileus virginianus* from Liano country, Texas. Unfortunately, we could not compare *H. apri* n. sp. gamonts and *Hepatozoon*-like organisms detected in other ungulates owing to the paucity of morphological descriptions. Further investigations of the morphological and phylogenetical characteristics of *Hepatozoon* spp. detected in ungulates are needed in the future.

There are few reports of *Hepatozoon* isolates from wild mammals in Japan. *Hepatozoon ursi* has been reported in the Japanese black bear *Ursus thibetanus japonicus* (Uni et al., 2003; Kubo et al., 2008), *H. felis* in the Iriomote cat *Prionailurus bengalensis iriomotensis* (Sakuma et al., 2011), and unidentified *Hepatozoon* spp. in the Hokkaido brown bear *Ursus arctos yezoensis* (Kubo et al., 2010), the Ezo red fox *Vulpes vulpes*

schrencki (Maeda et al., 1982), the Tsushima leopard cat *Felis bengalensis euphilura* (Kubo et al., 2006), the Northern red-backed vole *Myodes rutilus* and the large Japanese field mouse *Apodemus speciosus* (Moustafa et al., 2017), the Japanese marten *Martes melampus* (Yanai et al., 1995), and the Iriomote cat (Kubo et al., 2006). Among these species, morphological properties of immature and mature meronts of *H. apri* n. sp. are similar to those of undescribed *Hepatozoon* species found in the heart muscle of the Japanese marten, showing ellipsoidal and ovoidal shapes and sizes of approximately 25–40 µm (Yanai et al., 1995).

The majority of descriptions of *Hepatozoon* species are based mainly on the morphology of the gamont in hematocytes and systematic relationships among host species from which they are isolated. According to Smith (1996), species of *Hepatozoon* that parasitize vertebrate hosts display low host specificity to both their final and intermediate hosts; accordingly, descriptions of new *Hepatozoon* species based merely on new host records should be avoided. However, host specificity of *Hepatozoon* species found in carnivores has been poorly investigated, and each family or suborder level of carnivores has been assigned their own *Hepatozoon* species; *H. canis*, *H. americanum*, and *H. procyonis* found in canids, *H. felis* and *H. silvestris* in felids, *H. ursi* in ursids (Vincent-Johnson et al., 1997; Ewing and Panciera, 2003; Kubo et al., 2008; Baneth et al., 2013; Hodžić et al., 2016). Although canine *Hepatozoon*-like species were also reported from domestic cats (Jittapalpong et al., 2006; Allen et al., 2011), some researchers speculate that these are opportunists that take advantage of immunocompromised states that are otherwise resistant to infection (Baneth et al., 2007; Allen et al., 2011). Our findings showing high infection rates in Japanese wild boars indicate that the *Hepatozoon* species parasitizing wild boars is a new, dominant, and adapted species.

Sequence analyses using 18S rRNA are used to identify poorly described, rarely isolated, or phenotypically aberrant species, and are routinely used for the identification of *Hepatozoon* species (Criado-Fornelio et al., 2006; Kubo et al., 2008; Panciera et al., 2011; Baneth et al., 2013; Najm et al., 2014; Cook et al., 2016; Hodžić et al., 2016). In the present study, phylogenetic analyses using the same region support the conclusion that *H. apri* n. sp. is a novel species related to carnivore-related *Hepatozoon* species. Further, the genetic distance between the partial 18S sequence of *H. apri* n. sp. of boar isolates and *Hepatozoon* sp. detected in *Dermacentor* ticks from *Sus scrofa* in Thailand is apparently lower than inter-specific distances. This indicates that *H. apri* n. sp. or closely related *Hepatozoon* species are present in wild boars in Asia.

The diagnosis of *Hepatozoon* infection is usually performed by blood cytology, buffy coat smears, and/or PCR methods (Otranto et al., 2011); however, obtaining blood specimens from shot animals is difficult because they are sensitive to handling. Tissue samples are easy to collect in large quantities in the butchering process and can also be used for the direct detection of bacteria, viruses, and parasites. Although we did not find developmental stages of *Hepatozoon* in muscle specimens from four boars via histopathological observations, using nested PCR for the detection of *H. apri* n. sp., we amplified *Hepatozoon* DNA from all muscle specimens from infected boars. Results obtained using other tissues are not consistent with the smear test results, implying the organ specificity of *H. apri* n. sp. in boars. Nested PCR analysis using muscle specimens is useful to investigate the prevalence of *H. apri* n. sp. among a large number of wild boars. The prevalence of *H. apri* n. sp. in wild boars (53.0%) suggests that it is a widely distributed parasite in populations of Japanese wild boars.

In the life cycle of the genus *Hepatozoon*, merogony development takes place in vertebrate hosts, i.e., the intermediate host (Smith, 1996; Graig, 2001). Sporozoites in arthropods, the final host for *Hepatozoon*, are released into the intestinal tract and penetrate the gut wall to enter the circulation, and meronts that form merozoites occur in various internal organs, such as the intestinal wall, liver, lungs, spleen, bone marrow, and muscles. For mammalian *Hepatozoon* species, the free merozoites from mature meronts may enter other endothelial cells or penetrate mononuclear leukocytes and become gamonts in most

species. After blood sucking by arthropods, both gametogony and sporogony take place in their bodies. The transmission of *Hepatozoon* to vertebrates occurs by ingestion by the final host, which contains the sporulated oocyst. Species of *Hepatozoon* isolated from the dog have been transmitted to uninfected rats and rabbits by the ingestion of *H. americanum* sporozoites and developed to a persistent cystozoite stage. Moreover, tissues containing those cystozoites are infectious in dogs, indicating that small animals could act as a natural reservoir for *Hepatozoon* species and that predator-prey cycles can occur in the life cycle of *Hepatozoon* (Johnson et al., 2008, 2009). Furthermore, vertical transmission of *H. canis* in puppies has been reported (Murata et al., 1993). The final host for *H. apri* n. sp. is unknown, but molecular evidence indicates that *Dermacentor* ticks are potential vectors for the present species. The pathogenicity of *H. apri* n. sp. is unknown; however, the high prevalence in wild boars in the present study is evidence that the virulence of this parasite might be low and exposure is frequent in the wild populations, as observed in Japanese black bears (Kubo et al., 2008) and Japanese marten (Yanai et al., 1995) in Japan.

In conclusion, the newly described *Hepatozoon* species is widely distributed in wild boars. Future research should focus on the parasitological features, such as the developmental process, host specificity, transmission route, and pathogenicity, as well as the risk of *H. apri* n. sp. infection in domestic pig *Sus scrofa domestica* and other mammals.

Conflicts of interest

None.

Acknowledgments

We are deeply grateful to Drs. Hideaki Bando and Go Sato (Tokushima Prefectural Meat Inspection Center) and Satoshi Inoue (National Institute of Infectious Diseases) for their invaluable help on our research project. We also thank the anonymous reviewers for their helpful and constructive comments that greatly contributed to improving the paper. This work was supported by the Research Program on Emerging/Re-emerging Infectious Diseases from Japan Agency for Medical Research and Development, AMED [grant number 16fk0108215h0002].

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijppaw.2017.11.001>.

References

- Allen, K.E., Yabsley, M.J., Johnson, E.M., Reichard, M.V., Panciera, R.J., Ewing, S.A., Little, S.E., 2011. Novel *Hepatozoon* in vertebrates from the southern United States. *J. Parasitol.* 97, 648–653.
- Baneth, G., Samish, M., Shkap, V., 2007. Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). *J. Parasitol.* 93, 283–299.
- Baneth, G., Sheiner, A., Eyal, O., Hahn, S., Beauvais, J.P., Anug, Y., Talmi-Frank, D., 2013. Redescription of *Hepatozoon felis* (Apicomplexa: Hepatozoidae) based on phylogenetic analysis, tissue and blood form morphology, and possible transplacental transmission. *Parasit. Vectors* 6, 102.
- Basson, P.A., McCully, R.M., Bigalke, R.D., van Niekerk, J.W., 1967. Observations on a *Hepatozoon*-like parasite in the impala. *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.* 38, 12–14.
- Basson, P.A., McCully, R.M., Kruger, S.P., van Niekerk, J.W., Young, E., de Vos, V., Keep, M.E., Ebedes, H., 1971. Disease conditions of game in Southern Africa: recent miscellaneous findings. *Vet. Med. Rev.* 2, 313–340.
- Clark, K.A., Robinson, R.M., Weishuhn, L.L., 1973. *Hepatozoon procyonis* infection in Texas. *J. Wildl. Dis.* 9, 182–193.
- Cook, C.A., Netherlands, E.C., Smit, N.J., 2016. Redescription, molecular characterization and taxonomic re-evaluation of unique African monitor lizard haemogregarine *Karyolysus paradoxa* (Dias, 1954) n. comb. (Karyolysidae). *Parasit. Vectors* 9, 374.
- Criado-Fornelio, A., Ruas, J.L., Casado, N., Farias, N.A., Soares, M.P., Müller, G., Brum, J.G., Berne, M.E., Buling-Saraña, A., Barba-Carretero, J.C., 2006. New molecular data on mammalian *Hepatozoon* species (Apicomplexa: Adeleorina) from Brazil and Spain. *J. Parasitol.* 92, 93–99.

- Ewing, S.A., Panciera, R.J., 2003. American canine hepatozoonosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 688–697.
- Fantham, H.B., 1921. Some parasitic protozoa found in South Africa: III. *S. Afr. J. Sci.* 17, 131–135.
- Fantham, H.B., 1922. Some parasitic protozoa found in South Africa: IV. *S. Afr. J. Sci.* 18, 164–170.
- Graig, T.M., 2001. Tissue-inhabiting Protozoans: Hepatozoon spp. and hepatozoonosis. In: Samuel, W.M., Pybus, M.J., Kocan, A.A. (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Mammals*, second ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, pp. 462–468.
- Hodžić, A., Alić, A., Prašović, S., Otranto, D., Baneth, G., Düscher, G.G., 2016. *Hepatozoon silvestris* sp. nov.: morphological and molecular characterization of a new species of *Hepatozoon* (Adeleorina: Hepatozoidae) from the European wild cat (*Felis silvestris silvestris*). *Parasitology* 144, 650–661.
- Honda, T., Sugita, M., 2007. Environmental factors affecting damage by wild boars (*Sus scrofa*) to rice fields in Yamanashi prefecture, central Japan. *Mammal. Study* 32, 173–176.
- Honda, T., Miyagawa, Y., Suzuki, Y., Yamasaki, S., 2010. Possibility of agronomical techniques for reducing crop damage by sika deer. *Mammal. Study* 35, 11–124.
- Jittapalpong, S., Rungphisutthipongse, O., Maruyama, S., Schaefer, J.J., Stich, R.W., 2006. Detection of *Hepatozoon canis* in stray dogs and cats in Bangkok. *Thail. Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1081, 479–488.
- Johnson, E.M., Allen, K.E., Breshears, M.A., Panciera, R.J., Little, S.E., Ewing, S.A., 2008. Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* to rodents. *Vet. Parasitol.* 151, 164–169.
- Johnson, E.M., Allen, K.E., Panciera, R.J., Ewing, S.A., Little, S.E., 2009. Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* to New Zealand white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and infectivity of cystozoites for a dog. *Vet. Parasitol.* 164, 162–166.
- Katoh, K., Standley, D.M., 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.* 30, 772–780.
- Kubo, M., Miyoshi, N., Yasuda, N., 2006. Hepatozoonosis in two species of Japanese wild cat. *J. Vet. Med. Sci.* 68, 833–837.
- Kubo, M., Umi, S., Agatsuma, T., Nagataki, M., Panciera, R.J., Tsubota, T., Nakamura, S., Sakai, H., Masegi, T., Yanai, T., 2008. *Hepatozoon ursi* n. sp. (Apicomplexa: Hepatoidae) in Japanese black bear (*Ursus thibetanus japonicus*). *Parasitol. Int.* 57, 287–294.
- Kubo, M., Chiba, E., Iibuchi, R., Tsubota, T., Sasaki, M., Sakai, H., Yanai, T., 2010. *Hepatozoon* sp. infection in Hokkaido brown bears (*Ursus arctos yesoensis*). *Jpn. J. Zoo. Wildl. Med.* 15, 111–113 (Article in Japanese).
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33, 1870–1874.
- Maeda, Y., Ohsugi, T., Ohotaishi, N., 1982. *Hepatozoon* infection in a wild fox (*Vulpes vulpes schrenckii* Kishida) in Japan. *Jpn. J. Vet. Sci.* 44, 137–139.
- Matsuo, K., Uetsu, H., Takashima, Y., Abe, N., 2016. High occurrence of *Sarcocystis* infection in sika deer *Cervus nippon centralis* and Japanese wild boar *Sus scrofa leucomystax* and molecular characterization of *Sarcocystis* and *Hepatozoon* isolates from muscles. *Jpn. J. Zoo. Wildl. Med.* 21, 35–40 (Article in Japanese).
- McCully, R.M., Basson, P.A., Bigalke, R.D., de Vos, V., Young, E., 1975. Observation on naturally acquired Hepatozoonosis of wild carnivores and dogs in the republic of South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 42, 117–134.
- Meng, X.J., Lindsay, D.S., Sriranganathan, N., 2009. Wild boars as source for infectious diseases in livestock and humans. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 364, 2697–2707.
- Moustafa, M.A.M., Shimoizuru, M., Mohamed, W., Taylor, T.R., Nakao, R., Sashika, M., Tsubo, T., 2017. First molecular detection and characterization on *Hepatozoon* and *Sarcocystis* spp. in field mice and voles from Japan. *Parasitol. Res.* 116, 2321–2325.
- Murata, T., Inoue, M., Tateyama, S., Taura, Y., Nakama, S., 1993. Vertical transmission of *Hepatozoon canis* in dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 55, 867–868.
- Najm, N.A., Meyer-Kayser, E., Hoffmann, L., Pfister, K., Silaghi, C., 2014. *Hepatozoon canis* in German red foxes (*Vulpes vulpes*) and their ticks: molecular characterization and the phylogenetic relationship to other *Hepatozoon* spp. *Parasitol. Res.* 113, 2679–2685.
- Otranto, D., Dantas-Torres, F., Weigl, S., Latrofa, M.S., Stanneck, D., Decapariis, D., Capelli, G., Baneth, G., 2011. Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and PCR. *Parasit. Vectors* 4, 55.
- Panciera, J., Sidney, J., Ewing, A., Little, S.E., 2011. Novel *Hepatozoon* in vertebrates from the southern United States. *J. Parasitol.* 97, 645–653.
- Pritt, B., Trainer, T., Simmons-Arnold, L., Evans, M., Dunams, D., Rosenthal, B.M., 2008. Detection of *Sarcocystis* parasites in retail beef: a regional survey combining histological and genetic detection methods. *J. Food Prot.* 71, 2144–2147.
- Sakuma, M., Nishio, T., Nakanishi, N., Izawa, M., Asari, Y., Okamura, M., Shimokawa-Miyata, T., Setoguchi, A., Endo, Y., 2011. A case of Iriomote cat (*Prionailurus bengalensis iriomotensis*) with *Hepatozoon felis* parasitemia. *J. Vet. Med. Sci.* 73, 1381–1384.
- Smith, T.G., 1996. The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adelenia). *J. Parasitol.* 82, 565–585.
- Sugiyama, H., Shibata, K., Kawakami, Y., Arakawa, K., Morishima, Y., Yamasaki, H., Goguden, M., Iwakiri, T., Fukumori, J., 2015. Paragonimiasis due to the consumption of wild boar meat in Japan: contamination levels of lung fluke larvae in muscle samples of wild boars caught in Kagoshima prefecture. *Jpn. J. Infect. Dis.* 68, 536–537.
- Sumrandee, C., Baimai, V., Trinachartvanit, W., Ahantarig, A., 2015. *Hepatozoon* and *Theileria* species detected in ticks collected from mammals and snakes in Thailand. *Ticks Tick. Borne Dis.* 6, 309–315.
- Takaoka, H., Bain, O., Korenaga, M., Kozek, W.J., Shirasaka, C., Aoki, C., Otsuka, Y., Fukuda, Y., Eshita, Y., Daa, T., 2004. Zoonotic onchocerciasis caused by a parasite from wild boar in Oita, Japan. *Parasite* 11, 285–292.
- Umi, S., Matsubayashi, M., Ikeda, E., Suzuki, Y., 2003. Characteristics of a *Hepatozoon* infection in lungs of Japanese black bears (*Ursus thibetanus japonicus*). *J. Vet. Med. Sci.* 65, 385–388.
- Vincent-Johnson, N.A., Macintyre, D.K., Lindsay, D.S., Lenz, S.D., Baneth, G., Shkap, V., Blagburn, B.L., 1997. A new *Hepatozoon* species from dogs: description of the causative agent of canine hepatozoonosis in north America. *J. Parasitol.* 83, 1165–1172.
- Yanai, T., Tomita, A., Masegi, T., Ishikawa, K., Iwasaki, T., Yamazoe, K., Ueda, K., 1995. Histopathologic features of naturally occurring hepatozoonosis in wild martens (*Martes melampus*) in Japan. *J. Wildl. Dis.* 31, 233–237.

動物愛護管理センターにおける 動物由来感染症に係る調査・研究

動物愛護管理センター
主任 早川 直輝

狂犬病モニタリング調査の進捗

● 平成29年度実績(2月末現在)

- 犬3頭 野生動物(タヌキ3頭)
- 犬3頭、タヌキ2頭は全て陰性
(タヌキ1頭は未確定)

● 採材の簡便化

- DRIT法
 - 簡易な設備での、迅速診断の可能性
- ヒゲ(口唇皮膚の採取)
 - 北里大学獣医病理学研究室 朴先生と協力
 - 開頭作業の短縮が可能か？



モニタリング検査実習

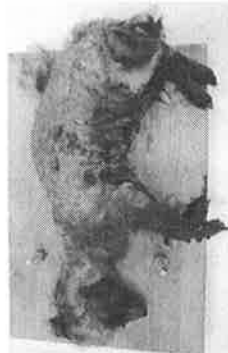
- 島根県職員が来県、検査を見学・実習

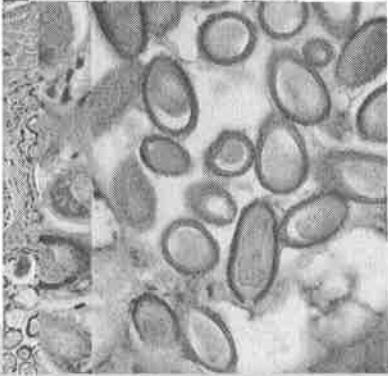


「狂犬病」のモニタリングのほずが...

- ヒゲの調査による副次的発見
- 毛包内に線虫の寄生！

- 皮膚状態は不良
- 複数の検体から確認





- 毛包内に線虫の虫体を確認
- 同時に、毛包内に虫卵も存在

感染症データベース

(常広畜産大学 門平先生)

- 全国の犬猫の感染症についてデータベース化



登録QR

• 飼育者のQRコード入りのラベルを貼り付け
• 照会案件に受け入れデータを入力



検査

• QRコードでの記録の受け渡し
• QRコードと照会データで検査結果を入力



登録

• 検査の結果や履歴がわかるQRコードの設置



照会

• QRコードで個体番号を照会するがリスト
の取り違えミスの防止
• 引き渡し者への履歴の照会を可能に

内部寄生虫検査の実績

(日本獣医畜産大学 常盤先生)

検査総数	120	(平成28年度 41 平成29年度 79)
イヌ	79	ネコ 41
陽性率	60.0%	回虫 35
		コクシジウム 47
		鉤虫 7
		マンソン裂頭条虫 2
		べん虫 3
		つば型吸虫 1 (重複感染あり)

譲渡交流拠点施設完成



- 譲渡犬・猫の飼育とマツチング
 - 飼い主をさがす会
- 動物愛護のボランティア活動
 - ボランティア活動室
- 子ども達の情操教育
 - 展示ふれあい室
- 災害時の動物救護
 - 動物救護シェルター

- 3月17日オープニングセレモニーを開催

平成30年度 動物由来感染症検討会・部会事業計画

	検 討 会	部 会
平成30年		・関係機関の連携整備計画案 ・モニタリング検査実施計画 ・狂犬病モニタリング計画 ・診断・研修に係るネットワーク構築計画（案）
7月～	第1回検討会（9月） ・事業実施進捗状況報告 ・本年度目標・事業計画の検討 ・情報収集手段・情報分析・提供計画の検討 ・関係機関の連携整備計画案検討 ・動物由来感染症発生時における危機管理体制の検討 ・動物由来感染症に関する研修会あり方検討（医療、獣医療及び行政関係者）	・狂犬病モニタリング調査（免疫染色） ・ジビエモニタリング調査（イノシシ・シカ対象） ・譲渡動物寄生虫検査に関する検討 ・ダニ媒介感染症対策への検討 ・合同部会及び技術研修会の開催 ・情報収集手段・情報分析・提供計画案 ・関係機関・地域連携の推進 ・動物由来感染症に関する研修会
10月 31		・モニタリングの実施及び結果分析 ・動物由来感染症に関する研修会（動物取扱業者、市町村等関係職員） ・関係機関・地域連携対策の推進
平成 29 年 2月	第2回検討会（2月） ・関係機関の連携整備計画修正案の検討・決定 ・情報収集手段・情報分析・提供計画の検討・決定 ・本年度事業結果の検証 ・次年度目標の検討・決定	・今年度実施事業まとめ ・次年度目標案 ・関係機関の連携整備計画修正案 ・情報収集手段・情報分析・提供計画の見直し検討 ・次年度目標・事業計画案提出
3月		今年度成果、整理報告書案作成

動物由来感染症対策～One Healthのための連携(案)

課題

- 「One Health」への取組として、動物由来感染症対策の重要性が高まる中、感染源となる動物の検査診断体制が全国的に整っていない。
- 病原体の特定ができなかった場合は、対策が遅れ、人への感染拡大を免れない場合も想定される。
- 医療機関と獣医療機関の情報伝達、共有が十分とはいえない。

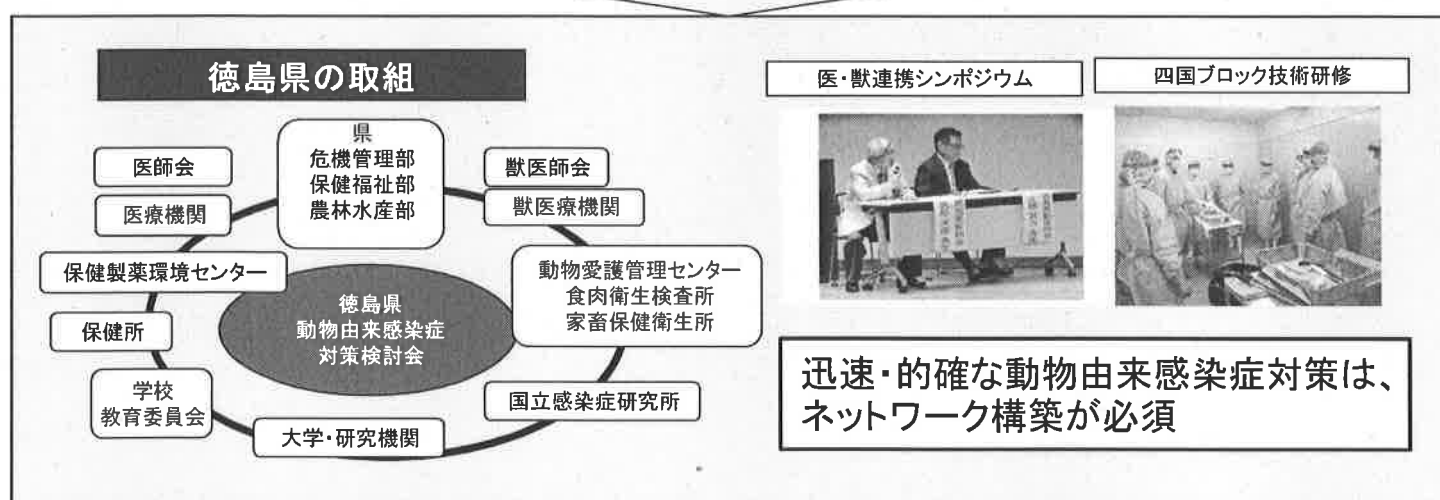
感染源動物の法的位置づけ

- 動物由来感染症
狂犬病, SFTS, E型肝炎, 鳥インフルエンザ等
200種類以上
- 医師、獣医師の責務
・感染症の予防, 診断, 届出



患者(ヒト)対策は検査, 措置等が法により規定される

動物の病原体検査は、多くが法による規定がなく、調査研究に頼るところが大きいことから、検査可能な機関が限られる



今後取り組むべき課題

- 検査・診断のための広域的な連携体制の構築
- 医療・獣医療機関の間の迅速な情報伝達方法の模索
- 検査・診断体制の機能強化

One Healthへの取組
～人と動物の健康は一つ～