

平成26年度
動物由来感染症予防体制
整備事業報告書

平成27年2月

山口県環境生活部生活衛生課

目 次

I	事業の目的	1
II	事業の内容	1
III	平成 26 年度動物由来感染症病原体保有実態調査結果	6
1	エルシニア感染症	6
2	サルモネラ感染症	9
3	腸管出血性大腸菌感染症	13
4	クリプトスポリジウム感染症及びジアルジア感染症	17

I 事業の目的

「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」で規定される感染症の多くは動物由来感染症(人の感染症のうち、病原体が動物に由来する感染症)であり、ペット等私たちの身近な動物の病原体保有状況を把握することは、予防対策を講じる上で大変重要である。

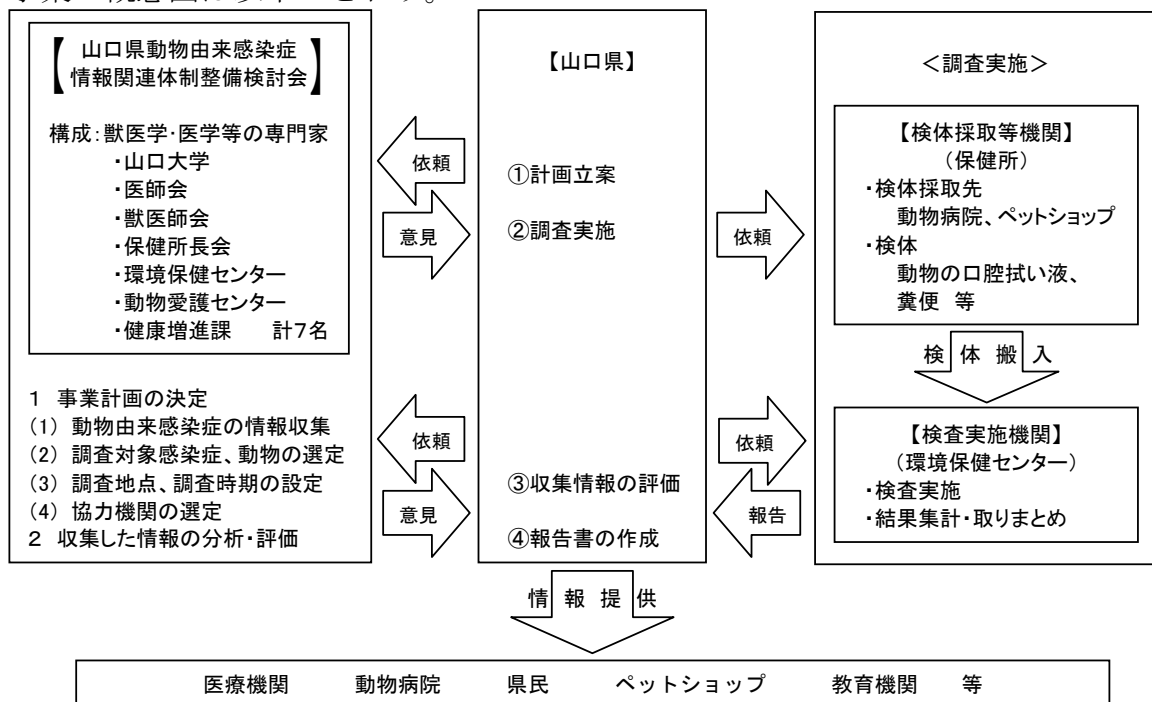
本事業は、事業名を「動物由来感染症予防体制整備事業」として、本県内の動物における動物由来感染症の病原体保有状況を調査するとともに、発生状況及び動向に関する情報収集を行い、これらを取りまとめて関係機関へ情報提供することにより動物由来感染症予防の推進を図るものである。

II 事業の内容

1 事業の概要

- (1) 獣医学、医学等の専門家及び関係行政機関の職員から構成される山口県動物由来感染症情報関連体制整備検討会(以下「検討会」という。)を設置し、調査の手段並びに調査結果等の分析・評価及び情報提供等に関する事業計画を決定する。
- (2) 動物の飼育、管理又は棲息状況等を勘案して、調査地点及び時期等を定め、獣医師会等の関係機関の協力のもと、発生状況及び動向等疫学情報を収集する。
- (3) 動物由来感染症による健康危害防止対策等を迅速かつ適切に講じることができるよう、検討会での分析・評価結果を踏まえ、収集情報を報告書として取りまとめ、これを医療機関及び獣医療機関等に提供する。
- (4) 保健所及び動物愛護センター等の関係行政機関を通じて、報告書を県民及び動物取扱業者等に提供する。

事業の概念図は以下のとおり。



2 平成26年度事業の実施状況

(1) 検討会の設置等

ア 検討会設置（平成26年7月14日）

検討委員名簿

所 属	職 名	氏 名
国立大学法人山口大学共同獣医学部	教授	前 田 健
一般社団法人山口県医師会	常任理事	今 村 孝 子
公益社団法人山口県獣医師会	公衆衛生部会長	山 縣 宏
山口県保健所長会	会長	西 田 秀 樹
山口県環境保健センター	所長	調 恒 明
山口県動物愛護センター	所長	中 野 壽美生
山口県健康福祉部健康増進課	課長	國 光 文 乃

イ 検討事項

(ア) 事業計画の検討

- a 調査対象感染症・動物等の選定
- b 調査地点、調査時期の設定
- c 協力機関の選定

(イ) 調査結果等の分析・評価

ウ 検討会会合の開催状況

(ア) 第1回

日時：平成26年8月1日

場所：県庁9階環境生活部1号会議室

議題：動物由来感染症予防体制整備事業の概要について
平成26年度事業計画案について

(イ) 第2回

日時：平成27年1月28日

場所：県政資料館第2会議室

議題：平成26年度調査結果について
平成26年度事業報告書について

(2) 事業計画の決定

ア 調査対象感染症、動物等の選定

(ア) 調査対象感染症

調査対象感染症	具体的な理由
<p>エルシニア感染症 H12～13年度:イヌ・ネコで実施 H24年度:げっ歯類等で実施 H25年度:げっ歯類等、鳥類で実施 H26年度:げっ歯類等で実施</p>	<p>○ ペットショップにおけるげっ歯類等の保菌状況調査 平成 24、25 年度には、ペットショップ等で販売されるげっ歯類等の保菌状況を調査したが、調査数が 100 検体であり、更なるデータの蓄積が必要であることから、引き続き調査を実施した。</p>
<p>腸管出血性大腸菌感染症 H12～13年度:イヌ・ネコで実施 H18～21年度:ウシで実施 H25～26年度:ふれあい動物で実施</p>	<p>○ ふれあい体験で使用される動物の保菌状況調査 平成 25 年度にふれあい体験で使用される動物の保菌状況を調査したが、調査数が 19 検体であり、更なるデータの蓄積が必要であることから、引き続き調査を実施した。</p>
<p>サルモネラ感染症 H12～13年度:イヌ・ネコで実施 H20～22年度:爬虫類で実施 H21～22年度:鳥類で実施 H25～26年度:げっ歯類等・ふれあい動物で実施</p>	<p>○ ペットショップにおけるげっ歯類等の保菌状況調査 平成 25 年度にペットショップで販売されているげっ歯類の保菌状況を調査したが、調査数が 20 検体であり、更なるデータの蓄積が必要であることから、引き続き調査を実施した。</p> <p>○ ふれあい体験で使用される動物の保菌状況調査 平成 25 年度に調査を実施したが、調査数が 19 検体であり、更なるデータの蓄積が必要であることから、引き続き調査を実施した。</p>
<p>クリプトスポリジウム感染症 平成 14～16 年度:イヌ・ネコで実施 平成 26 年度:ふれあい動物で実施</p>	<p>○ ふれあい体験で使用される動物の保有状況調査 ・平成 26 年 6 月に長野県のふれあい体験施設を訪問した小学生がクリプトスポリジウムに集団感染する事例が発生している。 ・ふれあい体験に使用する動物での保有状況に関する調査報告は確認できなかったため、調査を実施した。</p>
<p>ジアルジア感染症 平成 14～16 年度:イヌ・ネコで実施 平成 26 年度:ふれあい動物で実施</p>	<p>○ ふれあい体験で使用される動物の保有状況調査 ・「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」(厚生労働省作成)ではクリプトスポリジウムとジアルジアが対象である。 ・ふれあい体験に使用する動物での保有状況に関する調査報告は確認できなかったため、調査を実施した。</p>

(イ) 調査対象動物等

感染症	動物	検体	検査法	検体数
エルシニア感染症	げっ歯類等	糞便	・菌分離同定 ・血清型別検査 ・薬剤感受性試験 ・病原因子保有検査	51
腸管出血性大腸菌感染症	ふれあい動物	口腔拭い液	同上	20
		糞便		20
サルモネラ感染症	げっ歯類等	糞便	同上	30
	ふれあい動物	口腔拭い液	同上	20
		糞便		20
クリプトスポリジウム感染症	ふれあい動物	糞便	・蛍光観察 ・遺伝子検査	20
ジアルジア感染症	ふれあい動物	糞便	・蛍光観察 ・遺伝子検査	20

(合計 201)

※検査法の詳細は、Ⅲの1~4の(2)材料と方法に記載

イ 調査地点、調査時期の設定

(ア) 調査地点

県下 16 か所（検体採取施設は以下のとおり）

げっ歯類等はペットショップで、ふれあい動物の糞便及び口腔拭い液はふれあい体験を実施する動物展示施設等で採取

a ペットショップ（12 施設）

地 域	施設数
岩国環境保健所管内	1
柳井環境保健所管内	1
周南環境保健所管内	2
山口環境保健所管内	3
山口健康福祉センター防府支所管内	2
宇部環境保健所管内	3

b ふれあい体験実施施設（4 施設）

地 域	施設数
柳井環境保健所管内	1
周南環境保健所管内	1
山口環境保健所管内	1
宇部環境保健所管内	1

(イ) 調査時期

平成 26 年 9 月～12 月（検体搬入月日は以下のとおり）

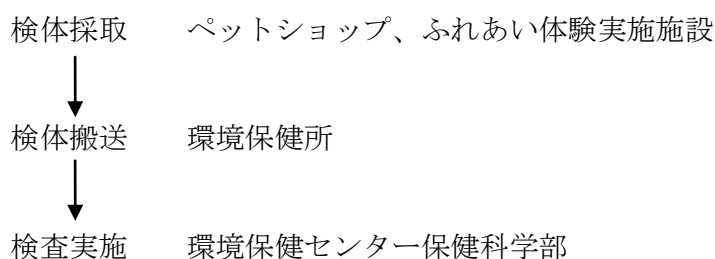
採取施設	採取期間	検体搬送日
ペットショップ	11月17日(月)～11月24日(月)	11月25日(火)
	12月8日(月)～12月15日(月)	12月16日(火)
ふれあい体験実施施設	9月25日(木)	9月25日(木)
	10月10日(金)	10月10日(金)

ウ 調査の役割分担

実施内容	実施施設等
検体採取	ペットショップ、ふれあい体験実施施設
飼育状況の聞き取り	環境保健所
検体搬送	環境保健所
検査実施	環境保健センター
調査結果の情報提供	環境保健所、動物愛護センター、医師会、獣医師会

(3) 調査の実施

ア 検査の実施



イ 飼育状況調査の実施

環境保健所が実施

(4) 調査結果の分析・評価

検討会で実施

(5) 情報提供

報告書を作成し、県医師会、県獣医師会等の関係機関に配布するとともに山口県ホームページに掲載

Ⅲ 平成 26 年度動物由来感染症病原体保有実態調査結果

1 エルシニア感染症

(1) 背景

エルシニア感染症の病原体であるエルシニア属菌は、ブタ、イヌ、ネコ及びネズミ等の多種類の動物の腸内に存在しており、主にそれらの動物の糞便に汚染された水や食品などを介してヒトに感染する。

主な症状は、発熱、下痢、腹痛等であるが、ときに重症化して敗血症や髄膜炎を起こし、死に至ることもある。

本県では、平成 12～13 年度に、イヌ及びネコの同菌の保有実態調査を実施しているが、いずれも保菌率は低かった。(イヌ 0.6% (2/353 頭)、ネコ 0% (0/154 匹))

近年、ハムスターやウサギなどの小型のげっ歯類等がペットとして販売及び飼育されている中で、野生動物については、同菌の保菌状況が報告されているが、ペットとして飼養されるげっ歯類等については、保菌状況は不明である。このことから、本県内のペットショップで販売されているげっ歯類等の糞便中のエルシニア属菌の保有状況を調査することとした。

(2) 材料と方法

ア 材料

本県内のペットショップで販売されているげっ歯類等(12施設)の糞便を材料とし、1施設当たり 1～20g の糞便 2～5 検体を採取し、搬入日まで冷蔵保存した。

検体採取対象としたげっ歯類等の種類は表 1 のとおりである。

対象動物の当該施設での飼養期間は、5 日～3 年であった。また、ケージ内に単独飼育されていたものは 27 検体、2 匹以上複数飼育されていたものが 24 検体であった。

表 1 げっ歯類等の種類と検体数 ()内は検体数

ネズミ目 5科35検体		ウサギ目 1科16検体
ネズミ科(13) ステップレミング(1) ハムスター(12)	テンジクネズミ科(6) モルモット(5) アビシニアンモルモット(1)	ウサギ科(16) ウサギ(4) ミニウサギ(3) ロップイヤー(4) ネザーランド(3) ライオンラビット(1) ドワーフホト(1)
デグー科(9) デグー(9)	リス科(2) フクロモモンガ(1) モモンガ(1)	
チンチラ科(5) チンチラ(5)		

イ 方法

(7) 増菌培養

検体を 1～4g ずつ 2 本の 50mL 遠沈管に採取し、それぞれに 9 倍量の OSSMER 培地(メルク)又は PBS を加え、30 秒間 vortex し、OSSMER 溶液は 32℃で 24 時間、PBS 溶液は約 4℃で 3 週間増菌培養した。

(イ) 選択分離培養

各増菌培養液及びアルカリ処理法※により得られた処理液の一金耳量をそれぞれ cefsulodin-irgasan-novobiocin (CIN) 寒天培地 (OXOID) 及びマッコンキー寒天培地 (日水製薬株) に塗抹し、CIN 寒天培地は 32°C で 18～24 時間、マッコンキー寒天培地は 25°C で 24～48 時間培養した。

〔※ アルカリ処理法：増菌培養液 0.5ml と 0.75%水酸化カリウム加 0.5%食塩液 0.5ml を混和し、20～30 秒間 vortex する方法〕

分離培養後、疑わしいコロニーを 1～8 個/平板釣菌し、5%羊血液加コロンビア寒天培地に純培養後、TSI 寒天培地、LIM 培地に接種し、37°C で 24 時間培養してスクリーニングした。エルシニア属菌が疑われた株については、ID テスト EB-20 (日水製薬) を用いて同定した。

(3) 結果

げっ歯類等からエルシニア属菌は分離されなかった。

(4) 考察

ア げっ歯類等におけるエルシニア属菌の保有状況について

国内に生息する野生げっ歯類等のエルシニア属菌の保菌率は、表 2 に示すとおり、*Y. enterocolitica* は 15～50%、*Y. pseudotuberculosis* は 0～3% 程度であり、野生ノウサギから *Y. pseudotuberculosis* が分離された報告もある。

また、東京都が行った調査では、ペットショップや家庭で飼育されるげっ歯類等 314 検体中 1 検体 (0.32%) から *Y. enterocolitica* が分離されている。

今年度の本県の調査では、げっ歯類等からエルシニア属菌は分離されなかったが、平成 24～25 年度の調査では、同一施設で飼養されているハムスターの糞便から 2 年連続で計 5 検体 (5.0% いずれも別個体) から病原性 *Y. enterocolitica* 血清群 O3：生物型 3 が分離されている。

当該施設に対して、管轄保健所から飼養施設の衛生管理の徹底、手洗いの徹底及び仕入れ業者への情報提供を指導したところ、今年度の調査ではエルシニア属菌は分離されなかった。

本県の 3 年間の調査結果から、ペットショップで販売されているげっ歯類のエルシニア属菌の保有率は、野生げっ歯類よりは低いものの、病原性のある *Y. enterocolitica* を保有しているものがあることが判明した。

こうした状況から、ペットとして飼養されるげっ歯類等から人がエルシニア感染症に感染する可能性があることが推察された。

表 2 国内に生息する野生げっ歯類等のエルシニア属菌保菌調査

動物	陽性数/検体数(%)	
	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>
野生げっ歯類(アカネズミ,ヒメネズミ,ミスネズミ)	761/1530 (49.7)	44/1530 (2.9)
野生げっ歯類(アカネズミ,ヒメネズミ,ヤチネズミ)	116/193 (32.1)	0/193 (0)
野生げっ歯類(クマネズミ,トブネズミ)	190/1196 (15.9)	0/1196 (0)
野生ウサギ(ノウサギ)	0/139 (0)	2/139 (1.4)

イ エルシニア感染症対策について

エルシニア感染症の感染源の多くは、エルシニア属菌に汚染された食品や水(水道水、井戸水、沢水)とされている。また、時に保菌動物との接触によっても感染が成立する。

ハムスター等のげっ歯類やウサギは、小型でおとなしく、扱いやすいという理由からペットとして飼養されるだけでなく、学校飼育動物として学校内で飼養されたり、動物園等でふれあい展示用の動物として利用されたりしている。

また、飼養されているげっ歯類等は、直接素手で触る機会が多いと考えられるが、今回の調査結果から、ペットとして飼養されるげっ歯類等においても、エルシニア属菌を保菌していることが判明したことから、これらの動物を扱う際には、触った後の手洗いを励行するなど、感染防止に十分に注意することが重要である。

2 サルモネラ感染症

(1) 背景

サルモネラ感染症の原因菌であるサルモネラ属菌は血清型により2,000種類以上に細分されており、その中にはチフス性疾患を起こすチフス菌及びパラチフス菌も含まれるが、多くは急性胃腸炎の原因となる。

サルモネラ属菌は健康な成人ではその症状が胃腸炎にとどまるが、小児や高齢者では菌血症、意識障害及び痙攣を起こすなど重症化することがある。

サルモネラ属菌は河川、下水、土壌など自然環境に広く分布しており、鳥類、爬虫類、両生類や家畜（ブタ、ニワトリ、ウシ）が保菌していることが知られている。

本県ではこれまでにイヌ、ネコ、爬虫類、鳥類についてサルモネラ属菌の保菌状況の調査を実施し、爬虫類が高率（50.4%（70/139 検体））に保菌しているという結果を得ている。

爬虫類については女兒がミドリガメからサルモネラ属菌の感染を受け重篤な症状を呈した事例も発生しており、厚生労働省から注意喚起の通知も発出されている。（「ミドリガメ等のハ虫類を原因とするサルモネラ症発生事例に係る注意喚起について」平成17年12月22日付け健感発第1222002号）

サルモネラ属菌を保菌する動物との接触に注意を要するため、小児のいる家庭や小学校などで飼育されることが多いハムスター、ウサギなどのげっ歯類等や、近年増加している動物とのふれあい体験に使用される動物のサルモネラ属菌保有状況を調査し、動物との接触による感染のリスクを評価した。

(2) 材料と方法

ア 材料

(7) げっ歯類等

本県内のペットショップ12施設で販売されているげっ歯類等の糞便30検体を材料とし、1施設当たり1～20gの糞便5検体を採取して滅菌容器に入れ、搬入日まで冷蔵保存した。

検体を採取したげっ歯類等の種類は表1のとおりである。

対象動物の当該施設での飼養期間は、1か月～3年であった。また、ケージ内に単独飼育されていたものは15検体、2匹以上複数飼育されていたものが15検体であった。

表1 げっ歯類等の種類と検体数（ ）内は検体数

ネズミ目 4科20検体		ウサギ目 1科10検体
ネズミ科(11) ハムスター(11)	チンチラ科(1) チンチラ(1)	ウサギ科(10) ウサギ(2) ミニウサギ(1) ネザーランド(1) ロップイヤー(4) ライオンラビット(1) ドワーフホト(1)
デグー科(5) デグー(5)	テンジクネズミ科(3) モルモット(3)	

(イ) ふれあい動物

県内の動物ふれあい体験を実施する 4 施設（動物展示施設、観光農園）で実際にふれあい体験に使用されている動物 5 種類 20 頭（表 2）の糞便及び口腔拭い液を材料とした。糞便は直接容器に採取し、口腔拭い液は、ふきとりエースL(栄研化学)を用いて口腔内をぬぐい、付属のPBSに懸濁した。採取した検体は検査開始まで冷蔵で保管した。

表 2 ふれあい動物の種類と検体数

種 類	ウシ	ヤギ	ヒツジ	ミニブタ	リヤマ
検体数	3	10	4	2	1

イ 方 法

(7) 増菌培養

a 前増菌培養

糞便約 10g を秤量し、ストマフィルターに入れ、90mL の緩衝ペプトン水 (OXOID) を加えて混和後、37°C、18～20 時間選択増菌培養を行った。口腔拭い液は、全量(約 20mL) をストマフィルターに入れ、180mL の緩衝ペプトン水 (OXOID) を加えて混和後、37°C、18～20 時間増菌培養を行った。

b 増菌培養

前増菌培養液 1 ml を 10ml のテトラチオネート培地 (Merck) に接種し、42°C で 18～20 時間培養した。

(イ) 分離培養

増菌培養液 1 白金耳量をノボビオシンを添加した DHL 寒天培地 (栄研化学) 及びクロモアガーサルモネラ (クロモアガー社) にそれぞれ画線塗抹し、37°C で一夜培養した。

(ウ) 同定方法

各選択分離培地においてサルモネラ属菌に特徴的なコロニーを 3～4 コ鈎菌し、ミュラーヒントン寒天培地 (OXOID) に塗まつし、37°C で一夜培養し純培養菌を得た後、TSI 寒天培地、SIM 確培地、LIM 培地に接種し、37°C で一夜培養し、生化学性状を確認した。生化学性状がサルモネラ属菌の性状に一致したものについては、ID テスト EB-20 (日水製薬) を用いて同定した。

(イ) 血清型別試験

サルモネラと同定された菌株について、ミュラーヒントン寒天培地上の純培養菌を用いて、O 群血清型別試験と H 血清型別試験を実施し、血清型を決定した。O 群血清型別試験には、サルモネラ免疫血清「生研」1 号セット (デンカ生研) を用いて、スライド凝集反応で行った。H 血清型別試験は、トリプトソーヤブイヨン (ベクトン・ディッキンソン) で 37°C、6～18 時間培養したものに、1%ホルマリン加生理食塩水を等量加えたものを抗原液とし、サルモネラ免疫血清「生研」2 号セット (デンカ生研) を用いて I 相を決定した後、I 相の型のサルモネラ相誘導用免疫血清 (デンカ生研) 0.1ml を用いて、クレイギー管法により II 相を誘導し、I 相と同様に血清型を決定した。

(オ) 薬剤感受性試験

サルモネラと同定された菌株について、センシ・ディスク (ベクトン・ディッキンソン) を用いた Kirby-Bauer 法で薬剤感受性試験を実施した。使用薬剤は、アンピシリン (ABPC)、セファロチン (CET)、セフォタキシム (CTX)、

ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、ナリジクス酸(NA)、シプロフロキサシン(CPFX)、トスフロキサシン(TFLX)及びスルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤(ST)の12薬剤を使用した。

培養後、ディスク周辺に形成された阻止円の直径を測定し、感受性判定表に従って、感受性の判定を感性(S)、中間(I)、耐性(R)とした。

(3) 結果

ア サルモネラ属菌の分離成績

げっ歯類等からはサルモネラ属菌は分離されなかった。

ふれあい動物については、表3に示すとおり、4施設のうち1施設のヤギ2検体及びヒツジ2検体の計4検体からサルモネラ属菌が分離された。

このうち、ヤギの1検体からは、口腔拭い液から分離され、糞便からは分離されなかった。別のヤギ1検体及びヒツジ2検体からは、糞便から分離され、口腔拭い液からは分離されなかった。

分離された株の血清型はいずれも *S. Bareilly* であった。

表3 ふれあい動物からのサルモネラ分離状況

動物の種類	検体の種類	分離されたサルモネラの血清型
ヤギ	口腔拭い液	<i>S. Bareilly</i>
ヤギ	糞便	<i>S. Bareilly</i>
ヒツジ(2)	糞便	<i>S. Bareilly</i>

イ 薬剤感受性試験の成績

分離されたサルモネラ属菌4株の薬剤感受性試験の成績は表4のとおりであり、試験した12薬剤に耐性を示した株はなく、すべて感性であった。

表4 薬剤感受性試験の成績 (S:感性 I:中間 R:耐性)

動物の種類	血清型	ABPC	CET	CTX	SM	KM	GM	TC	CP	NA	CPFX	TFLX	ST
ヤギ	<i>S. Bareilly</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ヤギ	<i>S. Bareilly</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ヒツジ	<i>S. Bareilly</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ヒツジ	<i>S. Bareilly</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

(4) 考察

サルモネラは自然界に広く生息し、爬虫類、鳥類及び種々の哺乳類から分離される。

過去に実施した本調査においても、ペット動物のうち、爬虫類が高率に保菌(50.4%)していることが判明したほか、イヌからも分離(0.3%)された。ペット動物の鳥類では保菌を認めなかったが、家禽のニワトリからサルモネラが高率に分離されることはよく知られている。

ア げっ歯類等のサルモネラ属菌の保有状況について

過去の食中毒事例において、サルモネラ属菌の媒介動物として、ネズミが問題とされたことがあったが、現在では、その保菌率は低率であるといわれている。

今回の調査では、ペットショップで販売されているげっ歯類等の糞便からサルモネラ属菌は分離されず、げっ歯類が爬虫類のように、常在菌としてサルモネラ属菌を保菌している可能性は低いと考えられた。

しかし、飼料などから感染し、保菌することなども考えられるため、感染防止上の注意は必要である。

イ ふれあい動物のサルモネラ属菌の保有状況について

今回の調査では、1施設のヤギとヒツジから同一の血清型の *S. Bareilly* が分離された。

この施設は、昨年度の調査においても *S. Bareilly* が分離されており、継続的な汚染があると考えられた。

検査材料についても、糞便のみならず口腔拭い液からも分離されており、これらの動物に接触した際に感染する可能性は高いと考えられた。

サルモネラ属菌は乾燥等に強く、環境中でも長期にわたって生存することが知られており、飼育施設の清掃・消毒を徹底するとともに、飼育者の健康管理にも留意する必要がある。

また、ふれあい動物に接触した後は、十分な手洗いを行うことを周知することも重要である。

ウ サルモネラ感染症対策について

今回の調査により、ふれあい体験に使用されている動物（ヤギ、ヒツジ）がサルモネラ属菌を保菌していることが判明したことから、これらの動物を扱う際には、触った後の手洗いを励行する、小児等は監督者の十分な監督のもとふれあいを行わせるなど、感染防止に十分に注意することが重要である。

3 腸管出血性大腸菌感染症

(1) 背景

腸管出血性大腸菌感染症はベロ毒素産生性の大腸菌に汚染された食物などを経口摂取すること等によって起こる。

その症状は軽度の下痢から激しい腹痛、水様便、著しい血便や溶血性尿毒症症候群、脳症などの重篤な合併症を起こして死に至るものまで様々である。

毎年、国内で3,000～4,000件の発生届出があり、2013年には4,046件の発生の届出があった。

腸管出血性大腸菌は、牛などの反芻動物が保菌していることが知られており、1996年～1998年に行われたと畜場搬入牛の糞便検査では、0157の保菌率は2.0%であり、2008年に本県の肉牛飼養施設における保有状況を調査したところ、50頭中11頭(22.0%)から腸管出血性大腸菌が分離された。

近年、動物との直接接触が原因と考えられる腸管出血性大腸菌感染症の報告が相次いでいる。

実際に本県では、2012年に飼育牛との濃厚接触が強く疑われた026感染事例が発生しており、他県においては、動物とのふれあい体験実施施設での本感染症が発生している。

このような状況の中、県内の動物飼養施設でふれあい体験に使用される動物についても、本菌の保菌状況を把握することは公衆衛生上重要である。

本調査では、動物との接触による感染のリスクを評価することを目的とし、ふれあい体験に使用される動物の腸管出血性大腸菌保有状況を調査することとした。

(2) 材料と方法

ア 材料

県内の動物ふれあい体験を実施する4施設(動物展示施設、観光農園)で実際にふれあい体験に使用されている動物5種類20頭(表1)の糞便及び口腔拭い液を材料とした。糞便は直接容器に採取し、口腔拭い液は、ふきとりエースL(栄研化学)を用いて口腔内をぬぐい、付属のPBSに懸濁した。採取した検体は検査開始まで冷蔵で保管した。

表1 ふれあい動物の種類と検体数

種類	ウシ	ヤギ	ヒツジ	ミニブタ	リヤマ
検体数	3	10	4	2	1

イ 方法

(7) 増菌培養

糞便約10gを秤量し、ストマフィルターに入れ、90mLのノボビオシン加mEC培地(日水製薬)を加えて混和後、42℃、18～20時間選択増菌培養を行った。口腔拭い液は、全量(約20mL)をストマフィルターに入れ、180mLの緩衝ペプトン水(OXOID)を加えて混和後、37℃、18～20時間増菌培養を行った。

(4) VT遺伝子のスクリーニング

培養液0.1mLをチューブに採取し、アルカリ熱抽出法によりDNAを抽出した。Cycleave PCR 0-157(VT gene) Screening Kit Ver. 2.0(タカラバイオ)を用いたリアルタイムPCR法により、VT遺伝子を検出した。サーマルサ

イクラーは StepOne Plus real-time PCR system (Life Technologies) を使用した。なお、VT 遺伝子が検出された検体についてのみ、以降の分離培養を行った。

(ウ) 分離、同定方法

血清群 0157、026 及び 0111 については、培養液 1.0mL をそれぞれの免疫磁気ビーズ(株ベリタス)を用いて濃縮し、その 25 μ L を CT 加マッコンキーソルビトール寒天培地(日水製薬株)、クロモアガー0157TAM(クロモアガー)及びクロモアガーSTEC (以上 0157 分離用)、CT 加 1%ラムノース加マッコンキー寒天培地、CT 加 Vi RX026(栄研化学株)及びクロモアガーSTEC (以上 026 分離用)、CT 加 1%ソルボース加マッコンキー寒天培地及びクロモアガーSTEC(以上 0111 分離用)に画線塗抹後、37 $^{\circ}$ C、18~20 時間培養した。またその他の O 血清群の大腸菌については、培養液 1 白金耳量を XM-G 寒天培地(日水製薬株)及びクロモアガーSTEC に画線塗抹後、37 $^{\circ}$ C、18-20 時間培養した。疑わしいコロニーを可能な限り多く釣菌し、ミュラーヒントン寒天培地(OXOID)上で純培養し、アルカリ熱抽出法により DNA を抽出後、O-157 PCR Typing Set Plus (タカラバイオ)を用いた PCR 法により VT1 及び VT2 遺伝子を検出した。VT 遺伝子が検出された菌株について、TSI 寒天培地、LIM 培地、SIM 培地及び CLIG 培地に接種して生化学性状を確認後、ID テスト EB-20(日水製薬株)により大腸菌であることを確認した。血清型は市販の免疫血清(デンカ生研株)を用い、O 群、H 抗原を決定した。

(エ) 薬剤感受性試験

センシディスク(日本ベクトン・ディッキンソン株)を用いた Kirby-Bauer 法により実施した。供試薬剤は、アンピシリン(ABPC)、セファロチン(CET)、セフトキシム(CTX)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、ナリジクス酸(NA)、シプロフロキサシン(CPFX)、トスフロキサシン(TFLX)及びホスホマイシン(FOM)の 12 種類を用いた。

(3) 結果

ア 腸管出血性大腸菌の分離成績

リアルタイムPCR法によるVT遺伝子のスクリーニングの結果、糞便9検体(ヤギ5検体、ウシ2検体、ヒツジ、ミニブタ各1検体)及び口腔ぬぐい液5検体(ヤギ4検体及びウシ1検体)からVT遺伝子が検出された。

VT遺伝子が検出された計14検体について、分離培養を実施した結果、表2に示すとおり、ウシ2検体、ヤギ3検体、ヒツジ1検体及びミニブタ1検体の糞便から腸管出血性大腸菌が分離された(陽性率35.0%)。口腔ぬぐい液からは分離されなかった。

腸管出血性大腸菌が分離された7検体のうち、3検体(ウシ、ヤギ、ヒツジ各1頭)からは2種類の、別のウシ1検体からは3種類の血清型が分離され、7検体から12株が得られた。

その血清型・毒素型の内訳は、0157:NM VT1 及びOUT:NM VT1+2 が各2株、01:H45 VT2、08:H28 VT2、0103:H2 VT1+2、0111:HUT VT1、OUT:H11 VT1、OUT:H11 VT1+2、OUT:H45 VT2 及びOUT:NM VT1 が各1株であった。

表2 ふれあい動物からの腸管出血性大腸菌分離状況(糞便)

動物の種類	分離株の血清型(毒素型)
ウシ	01:H45 (VT2) 0157:NM (VT1)
ウシ	0111:HUT (VT1) OUT:H11 (VT2) OUT:H45 (VT2)
ヤギ	OUT:NM (VT1)
ヤギ	08:H28 (VT2)
ヤギ	0103:H2 (VT1+2) OUT:NM (VT1+2)
ヒツジ	OUT:H11 (VT1+2) OUT:NM (VT1+2)
ミニブタ	0157:NM (VT1)

イ 薬剤感受性試験の成績

分離された腸管出血性大腸菌 12 株の薬剤感受性試験の成績は表 3 のとおりであり、3 株が供試した 1 剤以上に耐性を示した。

このうち、ヤギから分離された 08:H28 VT2 が TC に、別のヤギから分離された 0103:H2 VT1+2 が ABPC、SM、TC に、ウシから分離された 0111:HUT VT1 が ABPC、SM、KM、TC に耐性であった。

表3 薬剤感受性試験の成績 (S: 感性 I: 中間 R: 耐性)

動物の種類	血清型	ABPC	CET	CTX	SM	KM	GM	TC	CP	NA	CPFX	TFLX	FOM
ウシ	01:H45	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	0157:NM	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
ウシ	0111:HUT	R	I	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S
	OUT:H11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	OUT:H45	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ヤギ	08:H28	S	I	S	I	S	S	R	S	S	S	S	S
ヤギ	OUT:NM	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
ヤギ	0103:H2	R	I	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
	OUT:NM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ヒツジ	OUT:H11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	OUT:NM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ミニブタ	0157:NM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

(4) 考 察

ア ふれあい動物の腸管出血性大腸菌の保有状況について

今回の調査の結果、検体採取を行った 4 施設中 3 施設 (75.0%) で飼育されているふれあい動物計 7 頭の糞便 (35.0%) から腸管出血性大腸菌が分離された。

保菌が確認された動物種はウシ、ヒツジ、ヤギ及びミニブタであった。

国内での腸管出血性大腸菌の保有調査は、主に家畜あるいは野生動物を対象に実施されてきたが、本調査により、ふれあい体験に使用される各種動物も本菌を保菌していることが明らかとなった。

分離株は型別不能株を除き、5 種類の O 血清群に群別された。

このうち 0103、0111 及び 0157 は国内で人からの分離頻度の高い O 血清群 (0157、026、0111、0121、0103、0145、0165) に該当する。

ただし、分離された 0157 2 株の毒素型はいずれも VT1 単独であり、人由来 0157 においては稀なタイプであった。(2013 年人由来 0157 のうち、毒素型 VT1+2 は 63%、VT2 単独は 32%、VT1 単独は 5%)

同一施設で飼育されている複数の動物から腸管出血性大腸菌が分離された施設が2施設あったが、血清型が、OUT:NM VT1+2を除き、すべて異なっていたため、同一施設内での水平感染等の感染原因は不明であった。

今回の調査では、口腔内から腸管出血性大腸菌は分離されなかったが、平成19～21年度に本県が1畜産農家で飼育されているウシで調査を行った結果、12.0%のウシの口腔内から菌が分離されている。

ふれあい体験では動物の口周辺と直接手が接触する可能性があることから、今後も継続して調査を行い、ふれあい動物からの感染のリスクを評価する必要がある。

イ 腸管出血性大腸菌感染症対策について

近年、搾乳体験や給餌等のふれあい体験における動物からの腸管出血性大腸菌の感染は国内でも報告されている。

今回の調査で、ふれあい動物の糞便から腸管出血性大腸菌が分離されたことから、保菌動物と直接接触し、手指の洗浄等が不十分であった場合、感染する可能性は十分考えられる。

このため、動物とふれあった後の手洗いの励行等、感染防止に十分に注意することが重要である。

4 クリプトスポリジウム感染症及びジアルジア感染症

(1) 背景

クリプトスポリジウム感染症は、消化管寄生性原虫感染による疾患で、糞便中に排出される *Cryptosporidium* 属のオーシストを経口接種することにより感染する。

ヒトが感染すると、腹痛を伴う激しい水様性下痢が 3～7 日間程度続き、嘔吐や発熱を伴うこともある。特に免疫不全者では、重篤な下痢症を引き起こし、長期化すれば致死的となる。

ジアルジア症の病原体は *Giardia lamblia*(ランブル鞭毛虫)で、症状の多くは下痢で、無症状の者も多く存在し感染源として重要である。

クリプトスポリジウムは、哺乳類、鳥類及び爬虫類等、広い範囲の動物に寄生がみられ、塩素消毒に抵抗性で、汚染された水道水やプールなどでの感染事例が知られている。

また、体験学習などで、ウシなどの動物に接触することによる感染事例も報告されており、昨年6月にも、長野県のふれあい体験施設で搾乳体験等をした小学生がクリプトスポリジウムに集団感染する事例が発生している。

ジアルジアについても、水道水等による感染のほか、多くの動物に寄生することが報告されている。

本県におけるクリプトスポリジウム及びジアルジアの保有状況については、イヌ、ネコでは調査を実施しているものの、ウシ、ヤギ、ヒツジ等のふれあい動物については不明であることから、県内のふれあい体験施設で展示されている動物の糞便中のクリプトスポリジウム及びジアルジアの保有状況を調査した。

(2) 材料と方法

ア 材料

県内の動物ふれあい体験を実施する4施設(動物展示施設、観光農園)で実際にふれあい体験に使用されている動物5種類20頭(表1)の糞便を材料とした。

表1 ふれあい動物の種類と検体数

種類	ウシ	ヤギ	ヒツジ	ミニブタ	リヤマ
検体数	3	10	4	2	1

イ 方法

(7) 検査材料の前処理

糞便 1g を 15mL 遠心管に採取し、ホルマリン水で固定処理をした後、酢酸エチルを使用した遠心沈殿法(MGL法)により沈さを得た。さらに沈さを蒸留水で浮遊した後、シヨ糖液を使用した密度勾配遠心法を実施し、得られた沈さに 1mL の蒸留水を加え、試料液とした。

(イ) 直接蛍光抗体染色(湿式)によるオーシスト及びシストの検出

試料液 10 μ L について、Easy Stain C&G FITC(和光純薬)を用いて、直接蛍光抗体染色標本を作製し、蛍光顕微鏡 FSX-100(オリンパス)で全視野を観察し、クリプトスポリジウムのオーシスト及びジアルジアのシストを検索した。

(ウ) リアルタイム PCR 法による遺伝子の検出

試料液 20 μ L を使用し、SDS 法による核酸精製を行った。精製した核酸テンプレート 2 μ L について、クリプトスポリジウム属の 18SrRNA 遺伝子及びジアルジア属の 18SrRNA 遺伝子をターゲットにして、Cycleave RT-PCR *Cryptosporidium*(18SrRNA) Detection Kit (TaKaRa) 及び Cycleave RT-PCR *Giardia*(18SrRNA) Detection Kit (TaKaRa) を使用し、逆転写反応を行った後、サイクリングプローブ法による PCR をそれぞれ実施した。リアルタイム PCR 装置には、StepOne Plus real-time PCR system (Life Technologies) を使用した。

(3) 結果

ふれあい動物の糞便からクリプトスポリジウムのオーシスト及び遺伝子は検出されなかった。また、ジアルジアについても、シスト及び遺伝子は検出されなかった。

(4) 考察

クリプトスポリジウムのうち、ヒトに感染するものは、主に、ヒト型及びウシ型と呼ばれる *C. hominis*(*C. parvum* genotype I) 及び *C. parvum*(*C. parvum* genotype II) で、まれに *C. meleagridis*(トリ型)による感染報告もある。

クリプトスポリジウムの感染症発生動向調査における届出患者数は、2006 年～2013 年までに 100 例で、年間 10 例程度の報告がある。

感染要因としては、3 割程度がウシとの接触によるものであるとの調査結果があり、人獣共通感染症として重要である。

また、ジアルジア症は、*G. lamblia*, ランブル鞭毛虫(国際命名規約上は *G. intestinalis*)に起因する感染症で、8 つの遺伝子型(A～H)に分類され、ヒトからは A と B が検出されている。

2006 年～2013 年の届出数は 578 例とクリプトスポリジウムよりも多いが、感染要因の 4 割以上は不明であり、動物との接触が原因とされた事例はなかった。

動物からヒトへのジアルジア感染は、不明確とされているが、ジアルジアは多くの動物が保有していることが知られており、人獣共通感染症としても注意する必要がある。

今回の調査では、ふれあい動物として実際に触ることの出来るウシ、ヤギ、ヒツジ、ミニブタ及びリャマの保有状況を調べたが、クリプトスポリジウム及びジアルジアは検出されなかった。

しかし、前述したように、クリプトスポリジウムの患者の 3 割にウシとの接触があり、体験学習などでの集団感染事例では、接触したウシなどの動物が感染源と推察されていることから、ふれあい動物の保有状況を調査することは重要であると考えられる。