

平成28年度  
動物由来感染症予防  
体制整備事業報告書

平成29年2月

山口県環境生活部生活衛生課



はじめに

動物から人に感染する「動物由来感染症」については、人の感染症の半数以上を占めているとされます。

日本は温帯で島国であるという地理的要因及び家畜衛生対策等の徹底により、これまで動物由来感染症の発生が比較的少ない国でした。

しかし、海外では、狂犬病や中東呼吸器症候群（MERS）、ジカウイルス感染症等の動物由来感染症が流行しており、交通機関がめざましく発達し、短時間で膨大な人と物が行きかう中、海外の感染症が国内に侵入する危険性は高く、常に注意を払っておく必要があります。

こうした状況の中、昨年 11 月に、世界医師会と世界獣医師会が共同開催する「ワンヘルスに関する国際会議」がアジアで初めて北九州市で開催され、動物由来感染症や薬剤耐性等を議題とし、各分野の専門家による講演等が行われるなど関係機関が連携して様々な取組が進められているところです。

一方、本県においては、県民の皆様に動物由来感染症病原体の保有状況や動物との正しい接し方を理解していただくために、平成 12 年度からペット動物等の病原体や抗体等の保有状況を調査し、その結果をパンフレットやホームページ等で情報提供してきたところです。

今年度は、げっ歯類等のレプトスピラ、鳥類のカンピロバクター属菌、ふれあい動物の腸管出血性大腸菌、猫のジフテリア毒素産生コリネバクテリウム・ウルセランスの保有状況調査を実施しました。

その結果、愛玩用の鳥類の糞便からカンピロバクター属菌が、ふれあい動物のウシ、ヤギ等の糞便及びヤギの唾液から腸管出血性大腸菌が分離され、ふれあい体験施設などで動物に接した後の手洗いの徹底など、感染予防に十分注意することの重要性が示唆されました。

なお、本事業の実施に当たっては、環境保健センター保健科学部に検査の実施や報告書作成に多大な協力をいただきましたことを感謝申し上げます。

平成 29 年 2 月

山口県環境生活部生活衛生課長

酒井 理

## 目 次

I	事業の目的	1
II	事業の内容	1
III	平成 28 年度動物由来感染症病原体保有実態調査結果	7
1	レプトスピラ感染症	7
2	カンピロバクター感染症	10
3	腸管出血性大腸菌感染症	13
4	ジフテリア毒素産生コリネバクテリウム・ウルセランス感染症	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。

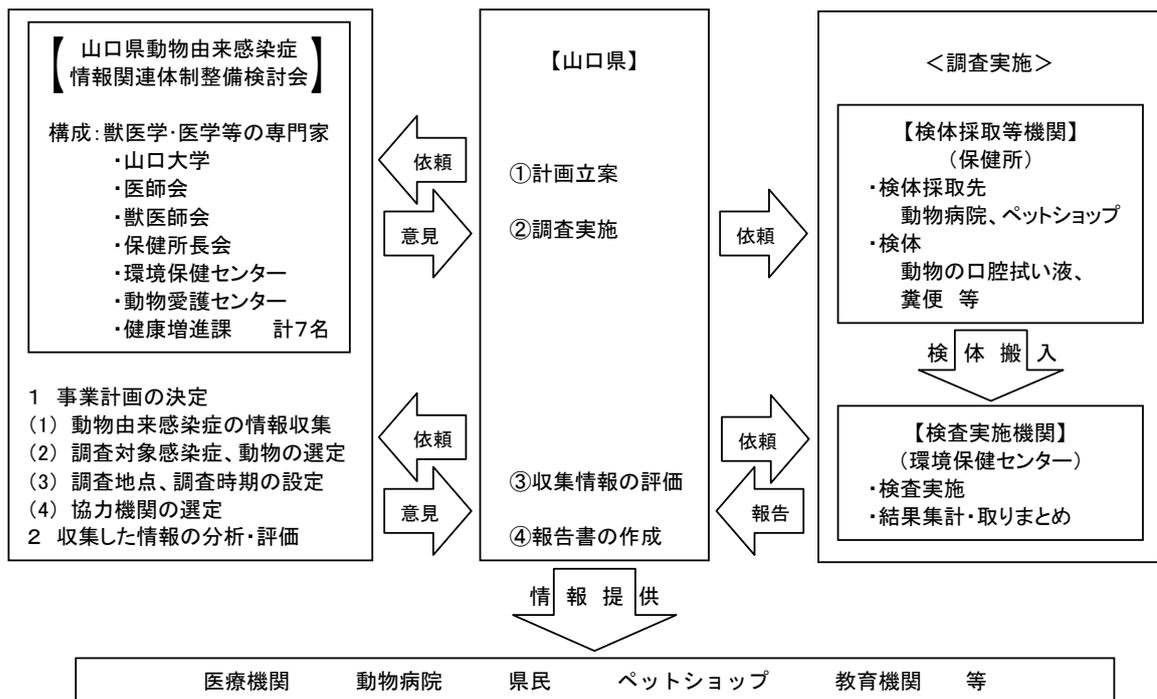
本事業は、事業名を「動物由来感染症予防体制整備事業」として、本県の動物における動物由来感染症病原体の保有状況等を調査するとともに、発生状況及び動向に関する情報を収集し、これらを取りまとめた関係機関へ情報を提供することにより動物由来感染症予防体制の整備を図るものである。

## II 事業の内容

### 1 事業の概要

- (1) 医学、獣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28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28年7月12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	喜 多 洋 輔

#### イ 検討事項

- ① 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
- ② 調査結果等の分析・評価

#### ウ 検討会会合の開催状況

- ① 第1回  
日時：平成28年7月28日  
場所：県庁12階環境生活部2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28年度事業計画案について
- ② 第2回  
日時：平成29年2月3日  
場所：県庁12階環境生活部2号会議室  
議題：平成28年度調査結果について  
平成28年度事業報告書について  
動物由来感染症予防啓発資料について

## (2) 事業計画の決定

### ア 調査対象感染症の選定方針

山口県動物由来感染症実態調査に係る調査対象感染症等の選定は以下の方針に基づき実施している。

- ① 本調査は、感染症法で規定する感染症であって、国内発生がある動物由来感染症を対象とする。
- ② 感染症発生動向調査等を参考に、継続的なサーベイランスを要する感染症又は国内発生が認められた等の理由により新たに調査が必要な感染症を選定する。

### イ 調査対象感染症の選定及び理由

#### ① 調査対象感染症

- 国の感染症発生動向調査で報告数の多い「腸管出血性大腸菌感染症」（全数把握による報告数が例年最多）、「感染性胃腸炎」（小児科での定点把握による報告数が例年最多）は、継続的なサーベイランスが必要な感染症であることから、昨年度と同様に調査対象とする。
- 「感染性胃腸炎」は、動物からヒトへの接触感染が懸念され、公衆衛生上重要とされている「カンピロバクター症」を昨年度と同様に調査対象とする。
- 「レプトスピラ症」は、代表的な動物由来感染症であり、感染症発生動向調査においても、毎年全国で一定数の発生報告のある疾患であることから昨年度と同様に調査対象とする。
- 「ジフテリア毒素産生コリネバクテリウム感染症」は、感染症法に基づく届出対象となっていないが、国内で散発的に発生しており、厚労省から本感染症の発生に係る情報提供の依頼があることから、今年度新たに調査対象とする。

#### ② 調査対象動物

- 「カンピロバクター症」は「ペットショップで販売される鳥類」を継続して実施する。
- 「レプトスピラ症」はげっ歯類等を対象とするが、「ペットショップで販売されるもの」の他に「ふれあい動物」を追加する。
- 「腸管出血性大腸菌」は「ふれあい動物」を継続して実施する。
- 「ジフテリア毒素産生性コリネバクテリウム・ウルセランス感染症」は野良猫が感染源と推察される症例もあることから、「県が引取り収容した猫」について実施する。

平成 28 年度の調査対象感染症とその選定の具体的な理由

調査対象感染症	具体的な理由
カンピロバクター症 H12～13 年度:イヌ・ネコで実施 H27 年度:鳥類で実施	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 「感染性胃腸炎」は感染症発生動向調査において報告数が多いことから持続的なサーベイランスが必要</li> <li>○ 「感染性胃腸炎」のうち、公衆衛生上重要な「カンピロバクター症」を対象</li> <li>○ 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 <ul style="list-style-type: none"> <li>・平成 12,13 年度、イヌ・ネコで調査を実施</li> <li>・昨年の調査で 12/52 検体が陽性</li> <li>・岐阜大学の調査では、インコの 69%が <i>C.jejuni</i> を保菌</li> </ul> </li> </ul>
レプトスピラ症 H12 年度:イヌで実施 H21～23 年度:イヌで実施 H27 年度:げっ歯類で実施	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 感染症発生動向調査において報告数が多いことから持続的なサーベイランスが必要</li> <li>○ 幼児・児童がふれあう機会の多いげっ歯類等の保有状況に関する調査報告は少ない</li> <li>○ ペットショップで販売されるげっ歯類等に加え、ふれあい動物を調査 <ul style="list-style-type: none"> <li>・平成 12 年度、平成 21～23 年度にイヌで調査を実施</li> <li>・昨年の調査ではペットショップのげっ歯類からレプトスピラ遺伝子は不検出</li> </ul> </li> </ul>
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 H25～27 年度:ふれあい動物で実施	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 感染症発生動向調査において報告数が多いことから持続的なサーベイランスが必要 <ul style="list-style-type: none"> <li>・全数把握による報告数、小児科での定点把握による報告数が例年最多</li> </ul> </li> <li>○ 継続的な調査が必要なことから、引き続き調査を実施</li> </ul>
ジフテリア毒素産生性コリネバクテリウム・ウルセランス感染症 H19～21 年度:イヌ・ネコで実施	<ul style="list-style-type: none"> <li>○コリネバクテリウム・ウルセランス感染症は、感染症法に基づく届出対象となっていないが、同属のジフテリアは二類感染症</li> <li>○厚労省が本感染症の発生に係る情報提供を依頼 <ul style="list-style-type: none"> <li>・本県では、平成 19～21 年度に動物病院を受診した犬猫において調査を実施したが、菌は不検出</li> <li>・国内では 2010 年までに 8 例の散発的な発生(県内の報告なし)</li> <li>・ノラネコからの感染が強く疑われる事例報告あり</li> </ul> </li> </ul>

検査対象感染症及び検査対象動物種等

対象感染症	動物種 (検体採取施設)	検体	検査法	検体数
カンピロバクター症	鳥類 (ペットショップ)	糞便	・菌分離同定 ・薬剤感受性試験	50
レプトスピラ症	げっ歯類等 (ペットショップ)	尿	鞭毛遺伝子 (flaB) の検出	20
	げっ歯類等 (ふれあい施設)			36
腸管出血性大腸菌 感染症	反芻動物等 (ふれあい施設)	糞便	・菌分離同定 ・血清型別検査	20
		口腔拭い液	・薬剤感受性試験 ・病原因子保有検査	20
ジフテリア毒素産生性コリネバクテリウム・ウルセランス感染症	猫 (動物愛護センター)	口腔拭い液	・菌分離同定 ・遺伝子検出	40

※検査法の詳細は、Ⅲの 1～5 の(2)材料と方法に記載

(合計 186)

ウ 調査地点、調査時期の設定

① 調査地点

県下 18 か所（検体採取施設は以下のとおり）

ペットショップにおいて、げっ歯類等の尿及び鳥類の糞便、ふれあい体験を実施する動物展示施設等において、げっ歯類等の尿、反芻動物の糞便及び口腔拭い液、県動物愛護センターにおいて、猫の口腔拭い液を採取

a ペットショップ（11 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	1
萩環境保健所管内	1

b ふれあい体験実施施設（6 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	1
山口環境保健所管内	1
宇部環境保健所管内	2

c 県動物愛護センター

② 調査時期

平成 28 年 9 月～11 月

採取施設	動物種	採取期間
ふれあい体験施設	反芻動物等	①9月20日(火) ②9月26日(月) ③9月27日(火)
	げっ歯類等	10月2日(日)～10月3日(月)
ペットショップ	鳥類	11月7日(月)
	猫	10月3日(月)～10月24日(月)

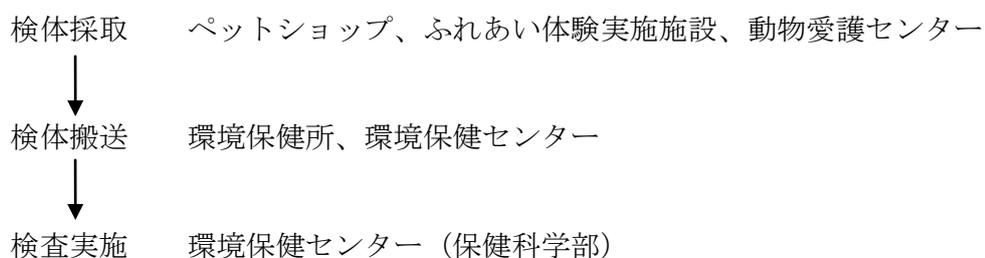
### エ 調査の役割分担

実施内容	実施機関等
飼育状況調査	環境保健所
検体採取	ペットショップ、ふれあい体験施設、動物愛護センター
検体搬送	環境保健所、環境保健センター
検査実施	環境保健センター

### (3) 調査の実施

ア 飼育状況調査の実施  
環境保健所が実施

### イ 検査の実施



(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 28 年度動物由来感染症病原体保有実態調査結果

#### 1 レプトスピラ症

##### (1) 背景

レプトスピラ症は、病原性レプトスピラによって引き起こされる急性熱性疾患であり、重要な人獣共通感染症のひとつとされている。病原性レプトスピラはげっ歯類を中心とした多くの哺乳動物の腎臓に定着し、尿中へと排泄される。ヒトは、この尿との直接的な接触あるいは尿に汚染された水や土壌との接触により感染する。臨床症状は、軽度のインフルエンザ様症状から、黄疸、腎不全、髄膜炎、呼吸不全を伴う肺出血など重篤な症状を引き起こすなど多様であり、ワイル病、秋やみ、七日熱等とも呼ばれている。人への感染は、保菌動物の尿との接触の機会が多い、農作業や下水道での作業など職業活動、レクリエーション活動（アウトドアスポーツ）など様々であるが、近年の事例ではレクリエーション活動を介しての感染について注意が喚起されている。

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、ふれあい体験に使用されたり、ペットとして飼育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、本県内のふれあい体験施設及びペットショップで販売されているげっ歯類等の尿中のレプトスピラの保有状況を調査することとした。

##### (2) 材料と方法

###### ア 材料

本県内のふれあい体験施設で飼育されているげっ歯類等（5施設）及びペットショップで販売されているげっ歯類等（4施設）の尿を材料とした。1施設当たり5～10検体とし、56検体について、尿をろ紙あるいはおがくずに浸み込ませ、搬入日まで常温で保存した。

検体採取対象としたげっ歯類等の種類はそれぞれ表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～4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29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 6科13種30検体		ウサギ目 1科4種26検体
<u>ネズミ科(7)</u> ジャンガリアンハムスター(2) ハムスター(1) ブルーサファイアハムスター(1) ゴールデンハムスター(1) パールホワイトジャンガリアン(1) プディングジャンガリアンハムスター(1)	<u>テンジクネズミ科(18)</u> モルモット(16) アビシニアンモルモット(1) 巻毛モルモット(1) <u>デグー科(2)</u> デグー(2) <u>リス科(1)</u> リチャードソンズリス(1)	<u>ウサギ科(26)</u> ウサギ(22) ロップイヤーラビット(2) ホーランドロップイヤー(1) ライオンラビット(1)
<u>ハリネズミ科(1)</u> ピグミーハリネズミ(1)	<u>チンチラ科(1)</u> チンチラ(1)	

## イ 方法

### ① DNA 抽出

検体をストマッカー袋に入れて秤量後、約 3 倍量のリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を加え、30 秒間ストマッカー処理を行った。室温で 2~3 時間静置後、再度混和し、PBS 懸濁液を 50mL 遠沈管に回収した。600rpm、5 分間遠心分離し、(浮遊物が多い場合はさらに 1,500rpm、5 分間遠心分離)、上清を別の遠沈管に回収した。上清 200  $\mu$ L を 1.5mL チューブに移し、DNA 抽出キット (DNeasy Blood&Tissue Kit, QIAGEN) を用いて DNA を抽出した (DNA 試料 1)。また、残りの上清を再度 3,500rpm、30 分間遠心分離後、上清を捨て、沈渣から DNA 抽出キットを用いて DNA を抽出した (DNA 試料 2)。

### ② Nested PCR 法

病原体検出マニュアル「レプトスピラ症」に基づき、レプトスピラ鞭毛遺伝子である *flaB* 遺伝子を標的とした nested-PCR 法を実施した。プライマーは、1st PCR には L-*flaB* F1/R1、2nd PCR には M-L-*flaB* F2/R2 を使用し、1st PCR では 790bp、2nd PCR では 732bp の遺伝子増幅産物が認められたものを陽性と判定した。なお、陽性コントロールとして、国立感染症研究所細菌第一部から分与された 1st PCR で 400bp、2nd PCR で 350bp の増幅産物が得られるプラスミド DNA を用いた。

## (3) 結果

げっ歯類等の尿 (56 検体) からレプトスピラ *flaB* 遺伝子は検出されなかった。

## (4) 考察

### ア げっ歯類等におけるレプトスピラの保有状況について

愛玩用に輸入される野生げっ歯類のレプトスピラの保有率は平均 7.5% であり、調査した 22 種類のうち 12 種類のげっ歯類がレプトスピラを保有しており、5 種類の菌種が分離された報告もある。

また、宮城県が行った調査では、野生げっ歯類のレプトスピラ保有率は、年度により変動はあるが、20%~80% であった。

本県の昨年度及び今年度の調査結果では、ペットショップで販売されているげっ歯類等の尿からレプトスピラ *flaB* 遺伝子は検出されなかった。

レプトスピラは、愛玩用げっ歯類で流行しておらず、野生動物との接触の機会がない環境で飼育されている愛玩用げっ歯類においては、感染の可能性は低いと推察された。

また、今年度、新たにふれあい体験施設で飼育されているげっ歯類等の尿を調査したが、レプトスピラ *flaB* 遺伝子は検出されなかった。

動物園等のふれあい体験施設においては、完全屋内で飼育されるペットショップに比べ、野生動物等保菌動物との接触の機会があると推察される。今回の調査では検出されなかったが、引き続き調査の必要があると考える。

## イ レプトスピラ症対策について

レプトスピラ症の感染源の多くは、レプトスピラ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。

今回の調査結果から、ペットショップで販売されるげっ歯類等においては、レプトスピラ症の感染は認められなかった。野生動物との接触など、げっ歯類にレプトスピラの感染の機会を与えないよう飼育環境に注意が必要である。

## 2 カンピロバクター感染症

### (1) 背景

カンピロバクター属菌(*Campylobacter* spp.)のなかで、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ (*Campylobacter jejuni/coli*) は公衆衛生上最も重要で、ヒトの散発性下痢症や集団食中毒の原因となる。

本菌は、動物や鳥類の腸管内に保菌されており、これらの保菌動物は一般的には無症状であるが、腸炎や肝炎を引き起こすこともある。ヒトは本菌に汚染された食品の喫食により感染する。また本菌を保有したイヌやネコとの接触による感染も報告されている。本県の過去の調査では、イヌの 0.7%(1/149)及びネコの 1.8%(1/57)がカンピロバクター属菌を保有していた(平成12~13年度)。

鳥類のうち、ニワトリ等の家きんはカンピロバクター属菌を高率に保有していることが知られている。しかし、インコ等愛玩用鳥類に関する調査報告は少ない。

カンピロバクターを保菌する動物との接触は、特に小児において注意を要するため、小児のいる家庭や小学校などで飼育されることが多いインコ等愛玩用鳥類のカンピロバクター保有状況を調査し、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9施設で販売されている鳥類の糞便 50 検体を材料とした。検体搬入当日あるいは前日に滅菌綿棒(キャリーブレア:栄研化学)を用いて糞便を採取し、搬入時まで冷蔵保管した。

検体を採取した鳥類の種類は表1のとおりである。

対象動物の当該施設での飼養期間は、2日~9年であった。また、ケージ内に単独飼育されていたものは23検体、2羽以上複数飼育されていたものが27検体であった。

表1 鳥類の種類と検体数 ( )内は検体数

オウム目 2科14種26検体	スズメ目 2科6種18検体	キジ目 1科3種4検体
<u>インコ科(22)</u> セキセイインコ (8) コザクラインコ(5) ジャンボセキセイインコ(1) ハゴロモセキセイインコ(1) コガネメキシコインコ(1) ワキコガネウロコインコ(1) ホオミドリアカウロコインコ(1) ホオミドリウロコインコ(1) ワカケホンセイインコ(1) ボタンインコ(1) サザナミインコ(1)	<u>カエデチョウ科(15)</u> ブンチョウ(5) ジュウシマツ(5) キンカチョウ(2) コキンチョウ(2) コウギョクチョウ(1)	<u>キジ科(4)</u> ウズラ(2) チャボ(1) ゴイシチャボ(1)
<u>オウム科(4)</u> オカメインコ(3) オキナインコ(1) ヨウム(1)	<u>アトリ科(3)</u> カナリア(3)	

## イ 方 法

### ① 増菌培養

綿棒を 2mL の滅菌生理食塩水に十分懸濁し、その 1mL を 9mL のプレストン培地 (OXOID) 及び 9mL のボルトン培地 (OXOID) にそれぞれ接種し、42°C、48 時間、微好気条件下で選択増菌培養した。微好気培養にはアネロパック・微好気 (三菱ガス化学株) を使用した。

### ② 分離培養

培養液 1~3 白金耳量を CCDA 寒天番地 (OXOID) 及びバツラー寒天培地 (OXOID) に塗抹し、42°C、24~48 時間、微好気条件下で培養した。

### ③ 同定方法

各選択分離培地においてカンピロバクターを疑うコロニーを 3~5 個釣菌し、5%羊血液加コロンビア寒天培地 (OXOID) に塗抹し、37°C、24~48 時間、微好気条件下で純培養した。カンピロバクター属菌の同定は、グラム染色性、形態、カタラーゼ反応、オキシダーゼ反応、好気条件下での発育、ラテックス凝集反応 (カンピロバクター LA 「生研」: デンカ生研) 及び 23S rRNA 遺伝子を標的とした PCR 法により実施した。カンピロバクター属菌と同定された株について、馬尿酸加水分解試験及び PCR 法により 5 菌種 (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. fetus*, *C. upsaliensis*) の鑑別を実施した。

### ④ 薬剤感受性試験

カンピロバクターと同定された菌株について、センシ・ディスク (日本ベクトン・ディッキンソン) を用いた Kirby-Bauer 法により実施した。寒天培地には 5%羊血液加コロンビア寒天培地を使用した。供試薬剤はナリジクス酸 (NA)、オフロキサシン (OFLX)、ノルフロキサシン (NFLX)、シプロフロキサシン (CPFX)、エリスロマイシン (EM) 及びテトラサイクリン (TC) の 6 薬剤を用いた。判定は 37°C、48 時間、微好気培養後に実施した。

## (3) 結 果

### ア カンピロバクター属菌の分離成績

表 2 に示すとおり、8 検体からカンピロバクター属菌が分離された。分離株は 1 株を除き *C. jejuni* であった。また、*C. jejuni* が検出された鳥類の飼養施設は 6 施設で、各施設の仕入れ先等は、A 県が 3 検体、B 県及び山口県が 2 検体、1 検体は複数の地域から仕入れたセキセイインコを同一ケージで飼養しており、特定できなかった。

表 2 鳥類からのカンピロバクター属菌分離状況

施設	動物の種類	仕入れ先等	菌種
A	セキセイインコ	特定できず	<i>C. jejuni</i>
B	セキセイインコ	A 県	<i>C. jejuni</i>
C	文鳥	A 県	<i>C. jejuni</i>
D	ゴインチャボ	B 県	<i>C. jejuni</i>
	セキセイインコ	B 県	<i>C. jejuni</i>
E	コキンチョウ	山口県	<i>C. jejuni</i>
	セキセイインコ	A 県	同定不能*
F	文鳥	山口県	<i>C. jejuni</i>

※23S rRNA の遺伝子を標的とした *Campylobacter* 属菌検出用 PCR は陽性であったが、検査を実施した 5 菌種 (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus*, *C. lari*, *C. upsaliensis*) の特異的遺伝子は陰性であった。なお、23S rRNA を標的とした PCR では、*Campylobacter* 属菌の他、*Acrobacter* 属菌や *Helicobacter pylori* も陽性となることから、*Campylobacter* 属菌以外の菌の可能性も否定できない。

## イ 薬剤感受性試験の成績

分離されたカンピロバクター属菌 8 株のうち、発育不良であった 1 株を除く 7 株について、薬剤感受性試験を実施した。成績は表 3 のとおりであり、3 株が供試した 6 薬剤すべてに感受性であり、4 株がテトラサイクリンに耐性であった。

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	菌種	NA	OFLX	NFLX	CPFX	EM	TC
セキセイインコ	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	S	S	R
セキセイインコ	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	S	S	R
文鳥	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	S	S	S
ゴイシチャボ	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	S	S	R
セキセイインコ	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	S	S	S
コキンチョウ	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	S	S	S
セキセイインコ	同定不能*	S	S	S	S	S	R

## (4) 考 察

### ア 鳥類のカンピロバクター属菌の保有状況について

今回、鳥類の糞便から検出された *C. jejuni* は、医療機関において急性胃腸炎の患者から頻繁に分離され、主に食中毒事件の原因となる菌である。また、カンピロバクター属菌検出用 PCR は陽性であったが同定不能となった 1 検体は、*Arcobacter* 属菌や *Helicobacter pylori* の可能性があり、前者は *C. jejuni* と同様、食中毒の原因となる可能性が示唆されており、後者は胃潰瘍等の症状を引き起こすなど、いずれもヒトへの病原性が確認されている。

本県における調査では、前年度の結果と併せ、102 検体中 18 検体 (陽性率 : 17.6%) が *C. jejuni* 陽性であった。既報では、愛玩用鳥類の *C. jejuni* の保菌率は、セキセイインコ 69.2% (18/26 : ペットショップ)、小鳥 21.9% (21/96 : ペットショップ)、小鳥 1.0% (1/105 : 家庭飼育) となっており、愛玩用の鳥類を介して、カンピロバクターに感染する可能性があるが示唆された。

なお、*C. jejuni* が検出された鳥類の仕入れ先に相関はなく、県内に流通する愛玩用鳥類に広く汚染があるものと推察される。

### イ カンピロバクター感染症対策について

今回及び前年の調査結果から、ペットショップ等で販売されている鳥類がカンピロバクター属菌を保菌していることが判明したことから、動物取扱業者や所有者に対し、飼養施設の清掃・消毒の徹底による汚染拡大防止、清掃作業後などの手洗いの励行による感染防止など、感染予防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 (EHEC) 感染症は血清群 O157、O26、O111 などを主とするベロ毒素 (VT) 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 (HUS)、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、2014 年には 4,153 件の発生の届出があった。

EHEC 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、O157 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 EHEC が分離された。また、2012 年には県内において飼養している牛との濃厚接触による感染を強く疑う O26 感染事例も発生しており、牛は EHEC 感染症の感染源として重視されている。

また、県外においては、近年、動物とのふれあい体験実施施設における動物との接触が原因と疑われる EHEC 感染事例が報告されるようになったことから、動物との接触による感染のリスクを評価するため、ふれあい体験に使用される動物の EHEC 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、牧場、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。

糞便は滅菌容器に採取し、口腔拭い液は、ふきとりエース L (栄研化学) を用いて口腔内を拭き取って採取し、付属のリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に懸濁後、冷蔵保管した。

表 1 ふれあい動物の種類と検体数

動物種	ウシ	ヤギ	ヒツジ	リヤマ	ムフロン
検体数	2	10	6	1	1

##### イ 方法

###### ① 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°C、22±2 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、22±2 時間増菌培養を行った。

###### ② VT 遺伝子のスクリーニング

糞便の培養液は DNeasy Blood&Tissue Kit (キアゲン) を使用し、口腔拭い液の培養液はアルカリ熱抽出法により、DNA を抽出した。Cycleave PCR O-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 (Applied Biosystems) を使用した。

### ③ 腸管出血性大腸菌の分離、同定

リアルタイム PCR 法で陽性であった検体について、血清群 O157、O26 及び O111 においては、これらの 3 種類の免疫磁気ビーズ法を実施し、その他の O 血清群については 3 種類の培地へ直接塗抹を行った。

培養液 1.0mL を免疫磁気ビーズ（ベリタス）を用いて濃縮し、その 25 $\mu$ L を CT 加マッコンキーソルビトール寒天培地（日水製薬）及びクロモアガー O157TAM（クロモアガー）（以上 O157 分離用）、CT 加 1%ラムノース加マッコンキー寒天培地及び CT 加 Vi RX026（栄研化学）（以上 O26 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（クロモアガー）（以上 O111 分離用）に画線塗抹後、37 $^{\circ}$ C、18～20 時間培養した。

直接塗抹は各培養液をクロモアガー STEC、XM-G 寒天培地（日水製薬）、DHL 寒天培地（栄研化学）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、トリプトソイ寒天培地（日水製薬）上で純培養した。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（極東製薬工業）、LIM 培地（極東製薬工業）、SIM 培地（栄研化学）及び CLIG 培地（極東製薬工業）に接種して生化学性状を確認後、ID テスト EB-20（日水製薬）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）を用い、O 群、H 抗原を決定した。

### ④ 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）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 ふれあい動物の EHEC の保有状況について

リアルタイム PCR 法で VT 遺伝子陽性の検体は糞便 20 検体及び口腔拭い液 3 検体であった。

そのうち、EHEC が分離された検体は、4 施設で飼養されているヤギ 6 検体、ヒツジ 5 検体、ウシ 2 検体、リヤマ 1 検体及びムフロン 1 検体の糞便（計 15 検体：陽性率 75%）並びにヤギ 1 検体の口腔拭い液（陽性率 5%）であり、口腔拭い液からは 2 種類の EHEC が検出された（表 2）。

糞便由来株の血清型は、O 群型別不能（OUT）：HNM が 10 株、O91：HNM が 2 株、OUT：HUT、O25：HNM、OUT：H21 が各 1 株であった。口腔拭い液由来株は、OUT：HNM、OUT：H2 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

施設	動物の種類	検体の種類	血清型	VT 型
				産生能／遺伝子
A	ウシ	糞便	OUT：H21	VT2／VT2
			OUT：HUT	VT2／VT2
	ヤギ	口腔拭い液	OUT：HNM	VT1／VT1
			OUT：H2	VT1／VT1

B	ヒツジ	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1+2
	リヤマ	糞便	025:HNM	VT1/VT1
	ヒツジ	糞便	091:HNM	VT1/VT1+2
	ヤギ	糞便	091:HNM	VT1/VT1+2
C	ヒツジ	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1
	ヒツジ	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1
	ヒツジ	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1
	ヤギ	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1
	ムフロン	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1
D	ヤギ	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1
	ヤギ	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1
	ヤギ	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1
	ヤギ	糞便	OUT:HNM	VT1/VT1

## イ 薬剤感受性試験の成績

分離された EHEC 17 株の薬剤感受性試験の成績は表 3 のとおりであり、すべての株が薬剤に感受性であった。

表 3 薬剤感受性試験の成績 (S: 感性 I: 中間 R: 耐性)

施設	動物の種類	検体の種類	血清型	ABPC	CET	CTX	SM	KM	GM	TC	CP	NA	CPFX	TFLX	FOM
A	ウシ	糞便	OUT:H21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	ウシ	糞便	OUT:HUT	S	I	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
	ヤギ	口腔拭い液	OUT:HNM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B	ヒツジ	糞便	OUT:H2	S	I	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
	ヒツジ	糞便	OUT:HNM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	リヤマ	糞便	025:HNM	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	ヒツジ	糞便	091:HNM	S	I	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
C	ヤギ	糞便	091:HNM	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
	ヒツジ	糞便	OUT:HNM	S	I	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
	ヒツジ	糞便	OUT:HNM	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	ヒツジ	糞便	OUT:HNM	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	ヤギ	糞便	OUT:HNM	S	I	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
D	ムフロン	糞便	OUT:HNM	S	I	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S
	ヤギ	糞便	OUT:HNM	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
	ヤギ	糞便	OUT:HNM	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
	ヤギ	糞便	OUT:HNM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	ヤギ	糞便	OUT:HNM	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S

## (4) 考察

### ア ふれあい動物の EHEC 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 (100.0%) で飼育されているふれあい動物 15 頭の糞便 (75.0%) 及び 1 頭の口腔拭い液 (5.0%) から EHEC が分離された。国内での EHEC の保菌調査は、主に家畜あるいは野生動物を対象に実施されてきたが、本県の 4 年間に亘る調査により、ふれあい体験に供される各種動物においても本菌を 35~75% 保有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、025 及び 091 の 2 種類に群別された。このうち 091 については無症状保菌者からの分離頻度が高いが、時に HUS 等を引き起こすこともあるため、注意が必要である。

### イ EHEC 対策について

ふれあい体験施設でのふれあい動物からの EHEC の感染は国内でも報告されている。

これまでの本県の調査により、ふれあい動物の糞便及び口腔拭い液から EHEC が分離されたことから、ふれあい施設においては、糞便の適切な処理、定期的

な動物の健康状態の確認による動物間の感染拡大防止と、動物とふれあった後の手洗いの励行や動物との過度な接触の防止等を観覧者に注意喚起することで、感染症の発生防止を注意することが重要である。

## 4 ジフテリア毒素産生コリネバクテリウム・ウルセランス感染症

### (1) 背景

コリネバクテリウム・ウルセランス(*Corynebacterium ulcerans*)は、主にウシなどの家畜に常在するグラム陽性短桿菌として知られており、ジフテリア菌の類縁菌である。コリネバクテリウム・ウルセランスは、通常ジフテリア毒素を産生しないが、ジフテリア毒素遺伝子を有するバクテリオファージによって、ジフテリア毒素産生株に変異することが知られており、ヒトがこれに感染するとジフテリア様症状(発熱、咽頭炎、偽膜形成など)を呈することがある。

海外では、特に欧州での報告例が多く、中でもイギリスでは22名の集団発生事例も報告されている。疫学的には生乳摂取や犬猫との関連が報告されており、動物との関連性が疑われる。

一方、国内では、2001年の初発以降現在まで14例の患者発生報告があり、そのほとんどでネコまたはイヌとの接触歴があり、実際に飼い猫から本菌が分離された事例もある。

これまで山口県内では本症例は確認されていないものの、本症例に罹患するリスクを評価することを目的とし、今年度はネコの保菌調査を実施することとした。

### (2) 材料と方法

#### ア 材料

県内の行政機関で引き取られ、動物愛護センターに搬入された猫40匹の口腔拭い液を材料とした(表1)。口腔拭い液は、シードスワブγ2号(栄研化学)を用いて口腔内を拭き取って採取し、付属のリン酸緩衝生理食塩水(PBS)に懸濁後、冷蔵保管した。1匹につきスワブを2本採取し、1本は菌分離用、もう1本は遺伝子検査用とした。

表1 猫の推定年齢と検体数

推定年齢	1か月齢未満	1~3か月齢	3~12か月齢	12か月齢以上
検体数	32	2	1	5

#### イ 方法

##### ① コリネバクテリウム・ウルセランスの分離

スワブを直接5%ヒツジ血液加コロンビア寒天培地(血液寒天培地)及び亜テールル酸カリウム添加活性炭末加ヒツジ血液寒天培地(勝川変法荒川培地)に塗抹し、前者は37℃で24~48時間、後者は37℃で24~96時間まで培養した。

疑わしいコロニーを可能な限り釣菌し、血液寒天培地上で純培養後、DSS培地による糖分解性状、カタラーゼ試験、グラム染色による形態及びウレアーゼ試験によるスクリーニング後、同定キット(Api coryne (シスメックス・バイオメリユール))を用いて同定した。

##### ② ジフテリア毒素遺伝子の検出

遺伝子検査用のスワブをDEPC水1mlに懸濁し、5分間ボルテックス処理後、12,000rpm、5分間遠心分離した。上清を除き、沈渣に5%キレックス加TE溶液200μl加え、99℃、5分間加熱後、12,000rpm、5分間遠心し、上清をテンプレートとした。

ジフテリア毒素遺伝子検出用プライマーを用いてPCR反応を行い、増幅産

物(248bp)が認められた検体を陽性とした。陽性コントロールとして、国立感染症研究所から分与された *Corynebacterium diphtheriae* PW8 株から抽出した DNA を用いた。

### (3) 結 果

ネコの口腔拭い液 40 検体からコリネバクテリウム・ウルセランス及びジフテリア毒素遺伝子は検出されなかった。

### (4) 考 察

他県等の調査によると、ネコのコリネバクテリウム・ウルセランス保菌率は 0～10%とされている。

本県では、平成 19 年度から 21 年度に動物病院に来院したイヌ・ネコを対象に保菌調査を実施したが、本菌は分離されなかった。また、今回は対象動物を県内の行政機関で引き取られたネコとして同様に調査を実施したが、本菌は分離されなかった。本菌の分布には地域性があり、県内では浸潤していない可能性が高いと推察されるが、検体数の不足による可能性も否定できないことから、今後も継続して調査する必要があると考える。