

#### IV 動物由来感染症発生時の家畜保健所の協力

1. 川崎市事例に関わった際に気づいた獣医学的知見からみた今回の一連の対応にみられた問題点、家畜伝染病予防法(以下家伝法)を動物園動物に適応する際の問題点

- (1) 人にのみズーノシスの疑いがあり、当該動物には臨床的に伝染性疾病が疑われない場合の届出をどうするのか。(家伝法第4条伝染性疾病についての届出義務、同第4条の二新疾病についての届出義務)
- (2) 動物園動物に対する規制法律は動物愛護及び管理に関する法律のみか。
- (3) 川崎市の事例は、ヘラジカを介して人へのブルセラ(Br)感染が疑われた。家伝法に規定されるBr症の対象家畜は牛・羊・山羊・豚・水牛・しか・いのししとなっている。動物園動物であるヘラジカをシカとして取り扱うのか。対象家畜の解釈が問題となった。
- (4) 動物園動物が仮に監視伝染病になった場合に対象動物が絶滅種・天然記念物、あるいは友好等により寄贈された動物が患畜とされた場合に殺処分が可能か。(参考:ヘラジカがBr患畜となった場合、時価評価額は370万円、家伝法に規定する手当金は、シカの場合最高限度額は27万円である)
- (5) (家伝法第17条殺処分、同第18条と殺の届出(自衛殺)、同第58条手当金)
- (6) 通報・連絡伝達が通常のルートと異なった。家畜に関しては原則として別紙のとおりルートで届出、検診ないしは立入が行われる。家保で対応できない検査、事例の場合家畜病性鑑定所(病鑑)に依頼、病鑑で対応不可の場合(独)動物衛生研究所に依頼するルートはできている。
- (7) 検査材料採取に当たり、日常保定・捕獲等の不慣れに慣れていない動物園動物(大型動物、群を作る動物、肉食獣等)から人・動物ともに危険の無いような不慣れ方法の検討が必要。経自的な採材を行う場合に群をつくる動物の個体識別が容易にできるか(個体識別管理システムが確立されてい

るか)、また複数回の採材が可能か。

- (8) Br検査結果のうち急速凝集反応結果のみが先行報道された。人にBr感染が疑われたのに、Br症の検査結果が人、動物とも陰性であった時点で発表すべきではなかったのか。(政治的判断?) また報道発表にあたり発表内容については事前に連絡調整のうえ発表となっていたが連絡無く新聞報道に至った経緯がある。情報提供のあり方、正しい情報提供をどの時点で行うのか。

#### 2 動物園動物に対する対応可能事項

- (1) 動物園動物が家伝法対象動物に指定されていないとも家畜に重大な影響、あるいはまん延する恐れがある場合には家伝法対応となる。
- (2) 上記のおそれなく、人にも影響ない場合、県段階で対応可能な検査であれば依頼検査(有料)として対応可能。
- (3) 今回の川崎市事例のような場合は、動物園に現地対策本部を設置して各機関の役割分担のうえ家伝法対応と協力は可能。

## V 動物園における動物由来感染症発生対策

1. 動物園での経験をもとに、動物園内で従業員等に川崎市と同様の不明な疾患が発生する可能性があるかどうかを検討。

- (1) 野生動物を飼育展示する動物園において、川崎市と同様の不明疾患が発生する可能性は大きい。
- (2) 動物の検疫が家畜の防疫に重点が置かれている現在、ほとんどの野生動物は検疫フリーで入国している。動物園によっては自主検疫をおこなっている施設もあるが、疾病情報の収集、検疫設備、検疫個体から検査材料採取、検査体制等が不満足な状態にある。自主検疫をおこなわず、輸入個体そのまま展示される場合も多い。
- (3) このような状況を考えると、動物園動物が原因で人獣共通感染症が発生する可能性は大きいと考えられる。

2. 動物園の雇用、業務形態の実体をふまえ、川崎市と同様の不明疾患が発生した場合の動物園の対応の整理。適切な対応ができない要因や推測される対応点、およびその改善方法。

- (1) 体調のすぐれない動物園関係者が、動物に咬まれた、排泄物を浴びたなど病原体に被曝したことで自分の体調を結びつける意識があるかどうかの問題となる。体調を崩した場合、現状では、医者にかかり、人獣共通感染症に感染したと判明するのがほとんどであると言える。
- (2) 人獣共通感染症に感染した場合、職場への報告体制を確立する。
- (3) 産業医などをとおして、日頃から、人獣共通感染症にたいする職員の意識啓発を行う。
- (4) 管理職のほうで、人獣共通感染症の目を養っておくことも必要。
- (5) 職員数の多い動物園では、職員が数名同時に病気で休んだことから人獣共通感染症を想起することは困難である。
- (6) 改善方法について、岡部ヘラジカ事例研究

班で検討のうえ提言として出していただくと幸いである。

3. これまで全国の動物園で経験した川崎市と同種の事例について情報・資料を収集。

- (1) 動物園動物における人獣共通感染症に分類される疾病の発生状況は、日本動物園水族館協会により平成13年11月にアンケート調査結果がまとめられている。(非公開内部資料)
- (2) 動物園勤務職員についての全国調査は、なされていない。
- (3) 調査することは可能であるが、日本動物園水族館協会感染症対策委員会に諮らなければならない。知り得た範囲では、動物園職員が人獣共通感染症に感染して休んだ事例はない。

4. 動物園動物と人と共通する感染症対策で、動物園の公共性、営利法人であるという性格上、留意すべき点

- (1) 動物園職員に対して：人獣共通感染症はおそろしいと、いたづらに動物園職員に思いこませない。しかし、十分に留意すべきことは強調する。
- (2) 特に、霊長類を飼育している担当者。(Bウイルス等)
- (3) 動物園利用者に対して：動物園利用者に誤解をさせない。必要な注意を促す。
- (4) 動物園で人獣共通感染症の発生が認められた場合、正確な情報を適時に広報する。
- (5) 発生状況によっては、臨時閉園も選択枝の一つ。

## 考察

### ・ 動物園職員の健康管理について

動物園は、日本に生息しない動物を含め、通常ヒトと接触の少ない動物とヒトとが濃厚に接触をする場である。しかも、分娩介助のような動物の体液との接触もあり、動物由来感染症の発生の可能性が高い。この様な動物との接触は本来の生態系から離れており、新たな新興感染症発生の可能性もある。

以上より、動物由来感染症発生の高リスク環境としての認識、不明病原体による感染症発生の可能性の認識を持って、動物園職員における感染症発生の動向を監視し健康管理を行う必要があると考える。具体的には、職員の感染症発生の動向監視と動物由来感染症の検出、職員の健康管理(専門家へのコンサルテーション)が必要であろう。

### ・ 行政機関への報告

感染症法届け出疾患が疑われる時だけでなく、動物由来感染症が疑われる不明熱発生の時に、迅速な調査が行いうる報告制度の導入が望ましい。

検査結果に基づく確定疾患の報告では、不明感染症がみつからない、報告までに時間がかかるなどの欠点がある。症状に基づいた「症候群サーベイランス」や、実行、維持可能な制度の導入が必要である。

集団発生後の確定検査を行うために、職員の健康診断等を利用し、前血清の採取と保存の検討が必要。発症後は必要に応じて(患者治療、集団発生対策)、速やかに検査を行う。検査内容、検査施設などは、今後の検討課題である。

動物の感染症監視として、不特定の感染症発生の可能性を考慮し、基本的な指標のサーベイランスを行う必要がある。例えば、飼育動物数、獣医による診察受診動物数、死亡数、出生一年以内の死亡数、出生数、流産・死産数などを行う必要がある。

### ・ 検査について

#### ◇ ヒトの検査

地衛研や感染研などにおける、スムーズな検

体搬送と関係部署の協力体制の推進が必要である。通常の感染症同様、(嘱託)医師や行政機関が主体となりうるであろう。保険外検査であるが公衆衛生上重要な検査の費用負担などについては検討が必要であると思われる

#### ◇ 動物の検査

病原体毎の検査可能施設や専門家の所在の把握が必要。獣医師、施設長、行政機関などが主体となりうると思われるが、検査の目的(患者の治療、動物における感染拡大防止、届け出疾患確定、人獣共通感染症対策目的など)に応じた費用負担、検査施設の選択などの制度整備が必要で有るとと思われる。

### ・ 集団発生事例調査

調査の第一歩は、集団発生の検出である。そのためには、サーベイランスは有力な情報源であるが、現在はその制度がないため、ヒトの疫学、動物の疾患の疫学、環境調査、媒介昆虫の調査等、複数の分野における専門家の協力が必要不可欠である。今回の疫学調査では、獣医師が加わっていたため、疫学調査がスムーズに行われた。獣医師の参加なくしては、動物由来感染症の疫学調査は不可能であると考ええる。また、サーベイランスに於いても、ヒトの健康と動物の健康の両面からの監視が必要であり、専門家の養成と配置が必要であると考ええる。

調査当初、ブルセラ症(4類感染症)疑い事例として調査を開始した。感染症法における指定感染症や新感染症に該当しない不明感染症の際に、行政機関による調査、対策を行うためにはどうしたらよいか法的な裏づけも含めて今後検討する必要がある。

### ・ 対策

以上の点を考慮すると、労働衛生の改善として、動物園における動物由来感染症対策目的での「標準的予防策」の導入、手袋・手洗い・マスクなどの適正使用のガイドライン作成、職員に対する衛生、医学教育の充実が必要である。

また、動物由来感染症の危機管理や、発生時の疫学調査のために、動物園における記録の組織化・充実化が望まれる。その中には、職員の

勤務記録、動物の健康状態の記録が含まれる。  
中でも、動物病院棟の記録(入退院日、診断名、経過、検査、処置等)の記録は適正な保管が求められる。

- ・ 動物園以外の動物由来感染症に関して  
ペットショップの従業員や、獣医師なども、不特定多数の動物と接触する機会があり、人獣共通感染症罹患の可能性が高い職業であると考えられる。同感染症による健康被害に関する知見の集積と対策の検討が早期に望まれる。

分担研究報告書

クラミジア及びリケッチアによる動物由来感染症に関する研究

分担研究者：倉根一郎（国立感染症研究所 ウイルス第1部）

協力研究者：岸本寿男（国立感染症研究所 ウイルス第1部）

志賀定嗣（国立感染症研究所 ウイルス第1部）

小川基彦（国立感染症研究所 ウイルス第1部）

研究要旨：クラミジア及びリケッチアによる人獣共通感染症の予防と対策を行なうために、これらの病原体による人と動物の疾患の現状を調査した。本年度は、1）鳥根県内の動植物展示施設におけるオウム病集団感染事例を受け小鳥のオウム病検査、治療、環境の調査、2）ヘラジカの出産介助に起因する動物園職員への *C. psittaci* 感染症集団発生の検討、3）海外の農場視察旅行中に同時感染したQ熱患者3例の検討、を行った。これらの事例検討から、クラミジア及びリケッチアによる感染症に対する診断体制とより広範なサーベイランス体制の確立の必要性が明らかとなった。

A. 研究目的

人獣共通感染症の予防と対策を行なうために、クラミジア及びリケッチアによる人と動物の疾患の現状を調査して把握し、診断、治療についての問題点を明らかにする。

B. 研究方法

以下の事例に関連して調査、並びに診断、治療の検討を行なった。

1. 小鳥のオウム病対策についての検討：  
2001年12月に発生した鳥根県内の動植物展示施設におけるオウム病集団感染事

例を受けて、その原因究明並びに予防対策としてどのような方法が適切かを検討するため、小鳥のオウム病検査、治療、環境の調査等を行った。

・小鳥のオウム病検査法についての検討  
迅速にトリのオウム病クラミジア (*C. psittaci*) の試験室内検査を実施するために必要な、検体採取方法及び検査方法を検討し、併せてトリの治療方法について検討を行った。感染源となったと思われる当該鳥におけるオウム病クラミジア (*C. psittaci*) の感染状況の確認とともに、他の協力施設でも検体採取を行い、

市販抗原検出キットと PCR、分離培養法で比較検討した。

・症例のオウム病確定のための検討

今回の施設に関連して発症したオウム病症例については、確定診断として種特異抗体の測定が必要と考えられたため micro-IF 法を用いて検討した。

2. ヘラジカの出産介助に起因する動物園職員の *C. psittaci* 感染症集団発生の検討：

2001 年 6 月、神奈川県川崎市の動物園で飼育しているシベリアヘラジカの出産介助をした 5 名の職員がインフルエンザ様症状を伴う疾患を発症し、何らかの病原体による集団発生が疑われたため、原因検索のため疫学調査及び関連検査を実施した。方法は原因病原体の検索については、患者血清を用いて種々の病原体に対する抗体を測定した。

3. 海外の農場視察旅行中に同時感染した Q 熱患者 3 例の検討：

今回、オーストラリアおよびニュージーランドの農場視察に参加した畜産関係者 3 名が現地で Q 熱に感染し、帰国後発症した症例を経験し、3 名の患者の症状、PCR 法による遺伝子検出の結果、血清抗体価について検討した。

(倫理面への配慮)

患者血清採取、測定については本人からの書面での承諾を得ており、倫理面での配慮を行った。

C. 研究結果

1. 小鳥のオウム病対策についての検討：

まず当該施設以外の協力施設で飼育しているインコを中心に検体採取を行なったところ、健康なトリの総排泄腔からのスワブで約 14-30%と高率にクラミジア遺伝子が認められた。さらに病鳥では 50%とより高率であった。当該施設での検討は現在進行中である。これまでに得た成績では市販の 2 キットでは感度、特異性ともに PCR と比較して低く、スクリーニングとしての実用は困難と思われた。現在テトラサイクリンの治療後の検体採取を行い、治療効果についても検討中である。症例については 16 例が血清学的に確定診断された。

2. ヘラジカの出産介助に起因する動物園職員の *C. psittaci* 感染症集団発生の検討：

胎盤における PCR 並びにクラミジア DFA 陽性で *C. psittaci* と病原体は同定された。患者はこの *C. psittaci* 株を抗原として用いた micro-IF で、同株に対する抗体が全員で有意に上昇していた。今回の集団発生はヘラジカ出産介助時に、胎盤感染していた *C. psittaci* 株を吸引あるいは経口感染しておこったものと推測された。

3. 海外の農場視察旅行中に同時感染した Q 熱患者 3 例の検討：

全ての患者においてペア血清で H 相菌に対する有意な抗体価上昇がみられたこと、さらに患者 A の血中から本菌の遺伝子が検出されたことから、Q 熱と確定診

断された。

#### D. 考察

1. 小鳥のオウム病対策についての検討：  
オウム病集団発生例は本邦でははじめてであるが、国内の同様な施設における飼育鳥の、オウム病クラミジア感染状況の把握をする必要がある。その対策、管理

についての基礎的検討が望まれる。また人のオウム病集団発生の再発防止には、より実効性の高い、例えば安全対策のための飼育管理基準の作成等が必要と考えられる。

2. ヘラジカの出産介助に起因する動物園職員の *C. psittaci* 感染症集団発生の検討：

今回の事例は今後の動物園での職員の感染症予防についての対策を考える上でも示唆に富むものと思われた。ヘラジカへの感染経路は不明であり、今後さらに分離株の生物学的特徴の詳細について検討して感染ルートの解明を試みたい。

3. 海外の農場視察旅行中に同時感染した Q 熱患者 3 例の検討：

今回の Q 熱症例は輸入症例であったが、これまでわが国で報告されている症例とは臨床像が異なり、その原因は不明であ

る。今後さらに、症状および検査所見などの詳細な調査、他の遺伝子を標的とした PCR 法による遺伝子検出、1 相菌に対する抗体価の測定、抗体価の長期フォローアップなどを行い、今後の臨床診断および実験室診断に役立てたい。

#### E. 結論

リケッチア並びにクラミジアの関連する人と動物の疾患の現状は、予想以上に広がりがある可能性が示唆されたが、診断については検討が少なく治療を含めてさらに問題点を明らかにする必要がある。

#### F. 健康危機情報

リケッチア並びにクラミジアによる感染症は、今後も十分に注意すべき感染症である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 河本知秀ほか. IASR 23, No. 263, 2002
- 2) Kishimoto T et al. Chlamydial Infections: Vol. 10, 2002 (In press)

#### H. 知的財産権の出願・登録

なし

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

ペットにおけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に関する研究  
分担研究者 辻本 元 東京大学大学院農学生命科学研究科・教授

研究要旨：近年日本国内においてもペット（コンパニオン・アニマル）の飼育頭数および室内飼いの傾向が増えたことから、人間とコンパニオン・アニマルとの人畜共通伝染病の存在がクローズアップされている。今回平成13年度に東京大学動物医療センターに来院した犬および猫からメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の分離を試みると同時に飼い主ならびに病院スタッフの鼻腔内からもMRSAの検出を試みた。その結果平成13年度には犬4頭・猫5頭からMRSAが分離されそのほとんどが抗癌剤あるいは免疫抑制剤を投与されているか、基礎疾患のために免疫抑制状態になっている動物であった。今回飼い主の鼻腔サンプルがほとんど採取できなかったが、2名の病院スタッフの鼻腔内からMRSAが分離され、うち1名はMRSAが感染した動物の担当獣医師であった。病院内の汚染状況についても検査をおこなったが、MRSAは検出されなかった。

A. 研究目的

日本国内では近年のいわゆるペットブームによってペット（コンパニオン・アニマル）の飼育頭数が飛躍的に増えると同時に、住宅環境の制限によって室内飼いの傾向が増えたことから、コンパニオン・アニマルと人間との接触が密になるケースが増えてきている。一方で獣医領域でも医療技術の進歩によって癌や自己免疫疾患などの診断が可能となっているが、抗癌剤や免疫抑制剤使用時における感染症や、抗生剤の乱用による多剤耐性菌の出現が問題となってきている。そこで今年度は多数の重症動物を扱う東京大学動物医療センターに来院する犬および猫から黄色ブドウ球菌（MRSA）の分離検出を試みると同時に、飼い主ならびに動物病院スタッフの鼻腔内のMRSA定着の有無、院内汚染状況についても検討を行った。また結核菌（*Mycobacterium tuberculosis*）感染者の飼育する動物について結核菌感染・保有について検討を行うための準備を行った。

A. 研究方法

平成13年度に東京大学動物医療センター

内科を受診した犬および猫において、感染症の疑いのある場合に、その感染部位（鼻汁、涙液、口腔、皮膚、尿、血液など）由来の検体を（株）江東微生物研究所に送付して分離同定を行った。検体採取に際しては、血液は嫌気用・好気用レズンFボトル（ベクトンディッキンソン社製）、その他の検体についてはシードスワブ2号（栄研化学株式会社製）を用いて行った。ヒトの鼻腔検体に関しては、被験者の同意を得たうえで当人に採取を依頼して行った。また院内の汚染状況については病院内の10箇所（待合室、診察室、処置室、入院室、感染入院室）でぬぐい取り検査を行い、検体を培養同定検査に提出した。

結核菌患者の飼育する犬における結核菌感染の有無は、皮内反応によってスクリーニングを行うこととし、精製ツベルクリン：PPD（日本BCG社製）を犬の耳介に250TU接種して48-72時間後に判定を行うものとした。

B. 研究結果

MRSA感染状況：平成13年度（平成14年3月10日現在）に東京大学動物医療センタ



一に来院した 1384 頭（犬 1080 頭，猫 297 頭）のうち，細菌培養同定検査をおこなった症例が 144 頭，そのうち MRSA が分離された動物は 9 例（犬 4 例，猫 5 例）であった。陽性症例 9 例の疾患の内訳は腫瘍 3 例，アレルギー疾患 2 例，糖尿病 1 例，肝不全 1 例，猫免疫不全ウイルス感染症 1 例，慢性膀胱炎 1 例であり，9 例中 6 例において抗癌剤あるいはステロイドの投与が行われており，9 例中 8 例では長期にわたる抗生物質投与が行われていた。

今年度は飼い主および病院スタッフの鼻腔内検体数が非常に少なかったが，検査した MRSA 陽性動物の飼い主 2 人では MRSA は分離されなかった。病院スタッフ（約 40 名）についてもまだ全員に検査が実施されていないが，現在のところ 2 名の鼻腔内から MRSA が分離されており，うち 1 名は陽性症例の担当獣医師であることが判明した。

院内の汚染状況については今年度に 1 回行ったが，院内 10 箇所について MRSA は検出されなかった。

結核菌感染状況：今年度は結核菌感染者（ヒト）の飼育する動物が来院しなかったため，検査は行えなかった。

#### C. 考察

今年度の研究では，癌や免疫介在性疾患などの難治性疾患に罹患した犬および猫から MRSA が分離される場合があり，その動物の治療に携わるヒトに感染する可能性があることが示唆された。今回飼い主および病院スタッフの検体が少なく，またヒトと動物の MRSA の株について同定をおこなっていないので，ヒトと動物の間で実際に相互感染がおこっているかは不明であるが，今後検体数を増やすことで動物からヒトまたはヒトから動物への MRSA 感染状況が明らかになるものと思われた。

来年度は MRSA だけでなく，他の多剤耐性菌についても検討を行うと同時に，今年度は準備段階にとどまった結核菌患者の飼育する犬における結核菌感染状況についても検討を行う予定である。

#### D. 結論

免疫抑制状態にあつて抗生剤長期投与を受けている疾患犬および猫では，MRSA が分離される場合があり，感染動物と密に接する飼い主あるいは医療関係者に感染が伝播する可能性が示唆された。

#### E. 健康危険情報

特になし

#### F. 研究発表

未発表

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

予定なし

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

健康なイヌにおける MRSA 定着に関する調査研究  
分担研究者 高山直秀 東京都立駒込病院小児科医長

研究要旨：近年犬猫などの動物の飼育形態が変化し、飼い主と飼育動物の接触度が密になっており、これに伴って飼い主と飼育動物との間での病原体伝播頻度が増大することが危惧された。一般の犬飼育者と飼育されている犬との間に起こる病原体伝播のモデルとして鼻腔内への多剤耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）定着を取り上げ、定着率を検討した。飼育犬と飼い主 56 組において、飼い主の同意を得て鼻腔の MRSA 検出を行った。56 人の飼い主および 56 頭の飼育犬で MRSA は陰性であった。したがって、飼い主と飼育犬との間での MRSA の伝播の有無は明らかにできなかったが、健康な飼い主ならびに健康な飼育犬での MRSA 定着率はきわめて低いと推定された。

A. 研究目的

近年犬や猫の飼育形態が変化し、以前のように犬は番犬、猫はねずみ取りのために飼うのではなく、愛玩動物として吾が子のように寝食を共にする人々が増加している。これに伴い、飼い主と飼育動物との間で病原体の伝播頻度が増大することが危惧される。今年度は、一般の犬飼育者と飼育されている犬との間に起こる病原体伝播のモデルとして鼻腔内への多剤耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）定着を取り上げ、定着率を検討した。

B. 研究方法

東京都内 3 カ所、千葉県 2 カ所、埼玉県、静岡県各 1 カ所の開業獣医師の協力を得て、ワクチン接種などの目的で獣医科医院を受診した犬およびその飼い主 56 組において鼻腔内 MRSA 定着状況を調査した。鼻腔からの MRSA 検体採取は犬では栄研化学株式会社製シードスワブ 2 号を、飼い主では同社製シードスワブ 1 号を用いて行

った。MRSA の検査は、OPA ブドウ球菌寒天培地を用いて分離培養を行い、36 °C で 48 時間培養後マンニット陽性かつ卵黄反応陽性の集落が認められた場合に MRSA 確認検査を行う方式をとった。

（倫理面への配慮）

検査にあたっては飼い主に検査目的を説明した後に同意を得てから実施し、結果は飼い主の個人情報を入れずに集計しているので、特段の倫理的問題はない。

C. 研究結果

飼い主の背景：

飼い主 56 名の年齢分布は 20 歳代が 12 名、30 歳代が 14 名、40 歳代が 10 名、50 歳代が 13 名、60 歳代が 4 名、70 歳代が 2 名、年齢不詳が 1 名であった。

性別では男性 16 名、女性 38 名、不明 2 名であった。

飼い主の住居環境は、一戸建て住宅に住む飼い主が 38 名、集合住宅に住む飼い主が 18 名であった。

健康状態調査では、基礎疾患のない飼い主が 48 名、何らかの基礎疾患がある飼い主が 8 名で、疾患の内訳は気管支喘息が 3 名、甲状腺疾患が 2 名、腎疾患、高血圧、うつ病が各 1 名であった。何らかの薬剤を常用している飼い主が 6 名おり、他の 50 名に常用薬はなかった。

検査時に抗生剤を服用していた飼い主は 2 名、検査の 1 週間前以内に抗生剤を服用したことがある飼い主が 3 名いたが、他の 51 名は少なくとも検査前の 1 週間に抗生剤を服用していなかった。

飼育犬の背景：

犬種では、雑種犬が 10 頭、チワワが 5 頭、コーギー、シーズ、ラブラドル、柴犬が各 4 頭、パピヨンが 3 頭、キャバリアスピニエル、ピアデットコリー、マルチーズ、ヨークシャテリアが各 2 頭、その他が 14 頭であった。

飼育犬の年齢は、0 歳が 5 頭、1 歳が 8 頭、2 歳が 9 頭、3 歳が 2 頭、4 歳が 8 頭、5 歳が 7 頭、6-7 歳が 8 頭、8-10 歳が 4 頭、11-14 歳が 5 頭であった。

獣医科医院受診理由はワクチン接種のためが 23 例、健診目的が 13 例、去勢手術などが 3 例、何らかの治療が 6 例、詳細不明が 7 例であった。

飼育環境は、室内のみの飼育が 38 例、室内および戸外が 14 例、戸外のみが 4 例であった。

飼育環境では、単一飼育例が 39 例、多頭飼育が 17 例であり、当該犬の他に 1 頭飼育が 7 例、他に 2 頭が 6 例、3 頭以上が 4 例であった。犬以外の動物を飼育している

例は、猫 8 例、ウサギ、リスが各 1 例、不明が 1 例あり、残る 45 例は犬以外の動物を飼育していなかった。

抗生剤の服用では、検査時に抗生剤を服用していた犬は 2 頭、直近 1 週以内に抗生剤を服用した犬は 2 頭であり、残る 52 頭は少なくとも検査前の 1 週間は抗生剤を服用していなかった。

MRSA 検査結果：

鼻腔内から MRSA が検出された飼い主はいなかった。また飼育犬でも MRSA が検出された例はなかった。

#### D. 考察

今回の調査では飼い主の間にも、飼育犬の間にも MRSA が定着している例がなかったため、MRSA が飼い主と飼育犬の間で伝播されるか否かを明らかにすることはできなかった。しかし、少なくとも健康な飼い主ならびに健康な飼育犬での MRSA 定着率はきわめて低いと推定された。

#### E. 結論

一般の飼育犬とその飼い主の調査で、鼻腔内に MRSA が定着していた例はなかった。一般に MRSA の鼻腔定着率はきわめて低いものと推定された。

#### G. 研究発表

未発表。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

予定なし

レプトスピラ病の迅速診断法の確立とサーベイランスへの応用

分担研究者 北海道大学大学院獣医学研究科 動物疾病制御学講座 教授 喜田 宏

研究要旨： 近年、東南アジア、中国、インドなどでレプトスピラ病が流行し、深刻な社会問題を引き起こしている。本病の診断は感染動物の血液や尿または臓器からレプトスピラを分離することによって確定される。レプトスピラの分離培養には数日間を要するので、早期迅速診断法の開発が切望されている。そこで、有熱期の患者の血液や尿または臓器中のレプトスピラ抗原を検出する方法を開発することとした。

レプトスピラ菌体から粗精製した軸糸画分に対するモノクローン抗体を137クローン得た。これらのモノクローン抗体は、異なる血清型のレプトスピラに対する反応性から、7群に分類された。このうち1群のモノクローン抗体は、調べた5血清型のレプトスピラ全てと反応した。これらのモノクローン抗体が*Leptospira interrogans* に属するレプトスピラの共通エピトープを認識することが確認されれば、これらのモノクローン抗体を用いた早期迅速診断法を確立し、臨床とサーベイランスに応用する予定である。

A. 研究目的

レプトスピラ病の診断は感染動物の血液や尿または臓器からレプトスピラを分離することによって確定される。レプトスピラの分離培養には数日間を要するので、抗生物質による治療が手遅れになることが多い。従って、レプトスピラ病の早期の抗原検出による診断法が開発が切望されている。*L. interrogans* には250のserovarが存在するので、*L. interrogans* 共通抗原を検出する方法により診断が確定すれば、直ちに抗生物質による治療を開始できる。

レプトスピラ属の共通抗原決定基は軸糸に存在すると考えられる (Mendoza & Prescott, 1992) ので、まず軸糸画分を精製する。次に、これに対するモノクローナル抗体を作出し、

その中で*L. interrogans* 共通抗原を認識するクローンを選抜する。そしてこのモノクローナル抗体を用いて、レプトスピラ感染動物個体の血液、尿および組織中のレプトスピラ抗原を検出する方法を確立する。また、今回同定する*L. interrogans* 共通抗原を利用することにより、抗体検出ELISAを確立し、レプトスピラ病の浸潤度の把握に供する。

B. 研究方法

*L. interrogans* serovar icterohaemorrhagiaeのRGA株、serovar canicolaのHond Utrecht IV株、serovar autumnalisのAkiyami A株、serovar hebdomadisのAkiyami B株、serovar australisのAkiyami C株の合計5株を実験に供した。これらのレプトスピラ

は、Kida & Yanagawa (1970) の方法により Shenberg (1967) の合成培地で培養した。

*L. interrogans australis* Akiyami C株の軸糸画分を粗精製した。これを免疫原としてモノクローン抗体を作出した。得られたモノクローン抗体はELISAにより上記5株との反応性を確認した。

#### C. 研究結果

Shenbergの合成培地で培養した *L. interrogans australis* Akiyami C株 から、界面活性剤処理と遠心により軸糸画分を調整した。この画分には、軸糸が多く含まれていることを電子顕微鏡により確認した。

この軸糸画分を免疫原としてモノクローン抗体の作出を試み、合計137クローンを得た。これらのモノクローン抗体は、5つの血清型の異なるレプトスピラとの反応性から、免疫原としたAkiyami C株の軸糸にのみ反応するA群から、調べたレプトスピラ5株全てと反応するG群まで分類された。

#### D. 考察

5つの血清型のレプトスピラ全てと反応したG群のモノクローン抗体は、*L. interrogans* 共通抗原を認識しているものと考えられる。このモノクローン抗体の、*L. biflexa* に属するレプトスピラとの反応性を確認する必要がある。さらに、今回作出された*L. interrogans* 共通抗原を認識するモノクローン抗体を用いて、抗原検出ELISAを確立する。これにより、有熱期の感染動物の血液や尿あるいは臓器を用いて本病の早期迅速診断が可能となる。

また、多検体処理可能な抗体検査法の確立を目的として、抗体検出ELISAを開発する。抗原としては、レプトスピラ全菌を可溶化したものと、同定された*L. interrogans* 特異抗原

の遺伝子をクローニングして組換え蛋白として発現させたものをそれぞれ用い、有用性を比較する。これにより、レプトスピラ病の浸潤度を把握するための抗体検査を迅速簡便化し、ヒトおよび動物の抗体サーベイランスを効率よく行える。

血清添加培地で培養したレプトスピラには血清成分などの不純物が付着、混入している (Kida et al., 1977)。今回、合成培地で培養したレプトスピラから軸糸画分を調整した。これには血清などの不純物の混入がないので、モノクローン抗体作成用の免疫原として最適であったと考えられる。また、本合成培地により培養されたレプトスピラは、安全な全菌ワクチンの製造にも応用可能である。さらに、レプトスピラ菌体の細胞壁には毒性成分が存在するので、免疫原として重要なエンベロープのみを成分とする新しいワクチンの開発が必要であり (Kida et al., 1976)、その際にも合成培地を用いた培養法は有用となる。

#### E. 結論

レプトスピラ病の迅速診断法を確立するためにモノクローン抗体を作成し、*L. interrogans* 共通抗原に反応すると思われるクローンを選抜した。今後、このモノクローン抗体を用いて抗原検出ELISAを確立する。さらに、この共通抗原を利用して抗体検出ELISAを確立し、野外サーベイランスへ応用する。

#### G. 研究発表

未発表。

#### H. 知的財産の出願、登録状況

予定なし。

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium に関する研究

分担研究者 渡辺治雄 国立感染症研究所 細菌部長  
協力研究者 泉谷秀昌 国立感染症研究所 細菌部外来性細菌室

研究要旨：本研究班では、ヒトの健康への脅威となる動物由来感染症に関して、その発生動向を把握するための監視体制を整備することを目的とする。本分担研究においては、特に、動物の汚染を介した細菌感染症に着目して発生動向の解析を行う。サルモネラ感染症は代表的な食中毒起因菌であるが、同時に人畜共通感染症としても重要な位置を占めている。本年は多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium DT104 について、ヒトと牛由来の株を解析した。

A. 研究目的

動物がヒトの感染症の原因となる経路としては様々な場合が考えられる。直接接触することによって感染が成立する場合もあれば、動物から製造される食品などの製品を通じて感染する場合もある。サルモネラは細菌性食中毒において常に上位を占めている菌種であり、後者の動物由来食品による感染症の代表的な存在である。同時にサルモネラは自然界において様々な動物を宿主として広く分布し、人畜共通感染症としての問題を抱えている。サルモネラ感染症において近年問題となっているのが多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium (ST) である。とりわけ、アンピシリン、クロラムフェニコール、ストレプトマイシン、サルファ剤およびテトラサイクリンの5剤に耐性 (R-ACSSuT) で、ファージ型が DT104 であるものが欧米を中心に蔓延している。このタイプの菌は1984年に英国で報告されたのが最初である。現在、英国ではヒトから分離される ST の大半がこのタイプに

よって占められている。

一方、ST の動物側のリザーバーとして代表的なのがウシである。英国ではウシの多剤耐性菌のサーベイランスが1970年より実施されており、ウシにおいても多剤耐性 ST DT104 が広く分布している状況が示されている。

そこで、本研究では我が国における多剤耐性 ST 症例、および ST DT104 の分布状況をヒトおよびウシ由来株について調査した。

(倫理面への配慮)

材料はサーベイランスの一環で採取されたものである。結果については個人情報等は入っていないので、特段の倫理問題はないと考えられる。

B. 研究方法

1. 供試菌株：全国の地方衛生研究所等および動物衛生研究所等の協力により得られた多剤耐性 ST を使用した。

2. ファージ型別：英国 PHLS より分与された型別用ファージを使用して標準法に従って型別を行った。

3. 薬剤感受性試験：BBL 社のセンシディスクを用いて、NCCLS に準拠した方法により試験し耐性を決定した。

4. クラス 1 インテグロン PCR：クラス 1 インテグロンに共通の配列をプライマー

int1-F:

5'-GGCATCCAAGCAGCAAGC-3'

int1-R:

5'-AAGCAGACTTGACCTGAT-3'

として使用した。鋳型として滅菌水に懸濁した菌液を煮沸処理したものを使用した。反応サイクルは 95°C 3 分の変性工程の後、93°C 20 秒、55°C 20 秒、72°C 1 分を 35 回行った。

5. パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE): Izumiya らの方法(J. Clin. Microbiol. 35, 1675-1680, 1997) にしたがって実施した。泳動条件は 6V, 4°C, ランプ時間 5-50 秒で 21-22 時間泳動した。

6. 塩基配列解析：ABI シークエンサー 310 を使用した。鋳型は対象菌株より以下のプライマーで各遺伝子を増幅後、一方のプライマーを使用して塩基配列を解析した。

gyrA1:

5'-TGTC CGAGATGGCCTGAAGC-3'

gyrA2:

5'-CGTTGATGACTTCCGTCAG-3'

parC1:

5'-ATGAGCGATATGGCAGAGCG-3'

parC2:

5'-TGACCGAGTTCGCTTAACAG-3'

### C. 研究結果

1. ニューキノロン耐性遺伝子の解析：ある国内散発事例より分離されたニューキノロン耐性分離株について解析を行った。キノロン耐性株は

一般的に DNA ジャイレースをコードする *gyrA* 遺伝子もしくはトポイソメラーゼをコードする *parC* 遺伝子に点変異を持つことが多い。そこでこれら遺伝子の、キノロン耐性領域と呼ばれる部分の配列を解析したところ、*gyrA* に 2 箇所、*parC* に 1 箇所、計 3 箇所の変異が見いだされた(図 1)。通常、*gyrA* の 2 箇所のいずれか若しくは両方に変異が見つかることが多いのだが、さらに *parC* にも 1 箇所変異を有しているのは珍しいといえる。

2. 多剤耐性 ST DT104 の分布。

ヒトにおける多剤耐性 ST DT104 の分離状況を図 2 に示す。日本においてはヒト由来株からは 1986 年から分離されており、その後も増加傾向にあることが明らかとなった。

これらヒト由来株の大半は海外で報告されている多剤耐性 ST DT104 と同様の耐性パターン (R-ACSSuT) を示した(図 3)。また、この耐性は染色体上にある、クラス 1 インテグロンを二つ含む遺伝子クラスターによるものであるが、PCR によるクラス 1 インテグロンの解析から国内分離株も同様のインテグロン構造を有していることが示唆された(データは示さない)。さらに、PFGE 解析から国内の多剤耐性 ST の中でも DT104 は特異なパターンを示し、これはやはり海外のものと同様であった(図 4)。

一方、ウシ由来株についての解析結果を図 5 に示す。ウシ由来株では今回調べた範囲では 1992 年から多剤耐性 ST DT104 が分離されており、ヒトにおける状況と同様に増加傾向にあると考えられた。なお、データは示さないが、ウシ由来株の大半もヒト由来株と同様に、海外で報告さ

れているものと同様の特徴を有していた。

#### D. 考察

今回の調査の結果から、ST の耐性化が国内でも深刻な問題と成りうる可能性を秘めていることがうかがえる。例えば、ニューキノロン耐性株はその代表的な例と言える。今回キノロン耐性決定領域と言われる遺伝子の部分に計 3 箇所の変異を持つ株が見いだされた。これは ST においては非常に珍しいものである。また、多剤耐性 ST DT104 はヒトだけでなくウシにおいても国内で分離されており、分離頻度は増加傾向にある。耐性パターンや遺伝子解析から、それらが海外で報告されているものと同様のものであり国際的にクローナルな菌の伝搬が示唆された。こうした状況はサルモネラ感染症が人畜共通であることを考えると、多剤耐性 ST による汚染が様々な宿主において広がっていることを示唆するものであり、今後も人畜共通感染症の面からのサーベイランスを行うことが重要と考えられる。

#### E. 結論

細菌感染症において菌の耐性化は、非常に重要な問題である。サルモネラ感染症は人畜感染症の代表的なものであるが、今回ヒトおよびウシから欧米で蔓延している多剤耐性 ST DT104 が侵入していることが示唆されるなどの結果が得られ、ヒトへのサルモネラ感染の制御には、より広い宿主に対してサーベイランスを行うことが重要であることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

ST の多剤耐性化は年々進んでいることが明らかとなってきた。今後も、その動向に注意が必要である。

#### G. 研究発表等

- 1) T. Sameshima, M. Akiba, H. Izumiya, J. Terajima, K. Tamura, H. Watanabe, and M. Nakazawa : *Salmonella* Typhimurium DT104 from livestock in Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 53, 15-16, 2000.
- 2) H. Izumiya, J. Terajima, S. Matsushita, K. Tamura, and H. Watanabe : Characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated in Japan. J. Clin. Microbiol. 39, 2700-2703, 2001.
- 3) 泉谷秀昌、渡辺治雄：食中毒細菌のファージ型別による疫学調査。月刊 HACCP 第 7 巻、第 9 号、50-53、2001。
- 4) 中矢秀雄、安原昭博、吉村健、忍穂井幸夫、泉谷秀昌、渡辺治雄：乳児下痢症の便から検出したフルオロキノロン耐性 *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium definitive phage type 12。感染症学雑誌、第 75 巻、815-818、2001。
- 5) 泉谷秀昌：食中毒細菌のファージ型別による疫学調査。獣医畜産新報 JVM、第 54 巻、945、2001。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

※解析に使用した菌株を提供していただいた全国の地方衛生研究所、動物衛生研究所等の諸先生方に深謝いたします。





図2. 日本におけるヒト由来多剤耐性ST DT104の分離状況

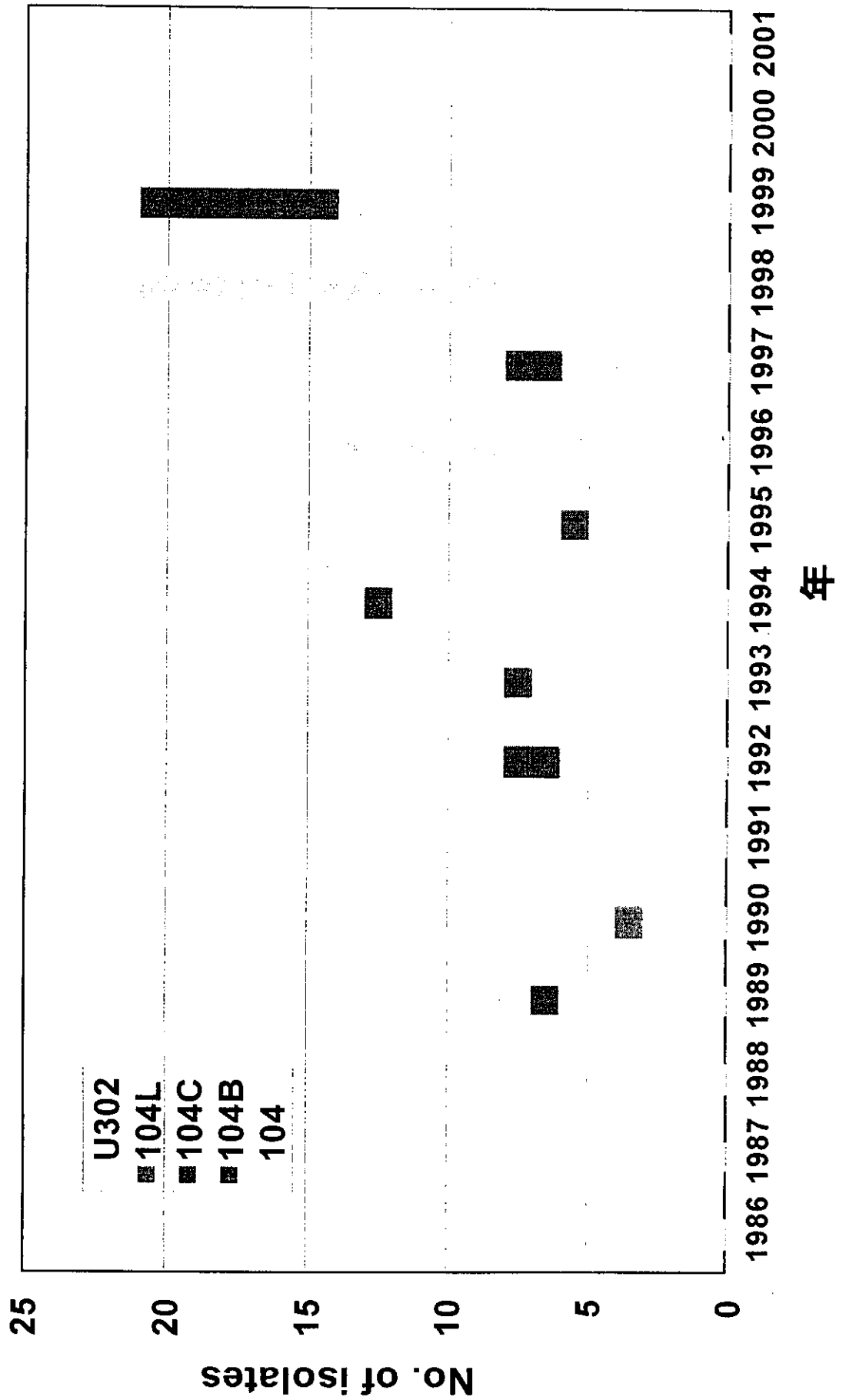


図3. 多剤耐性ST DT104の耐性パターン

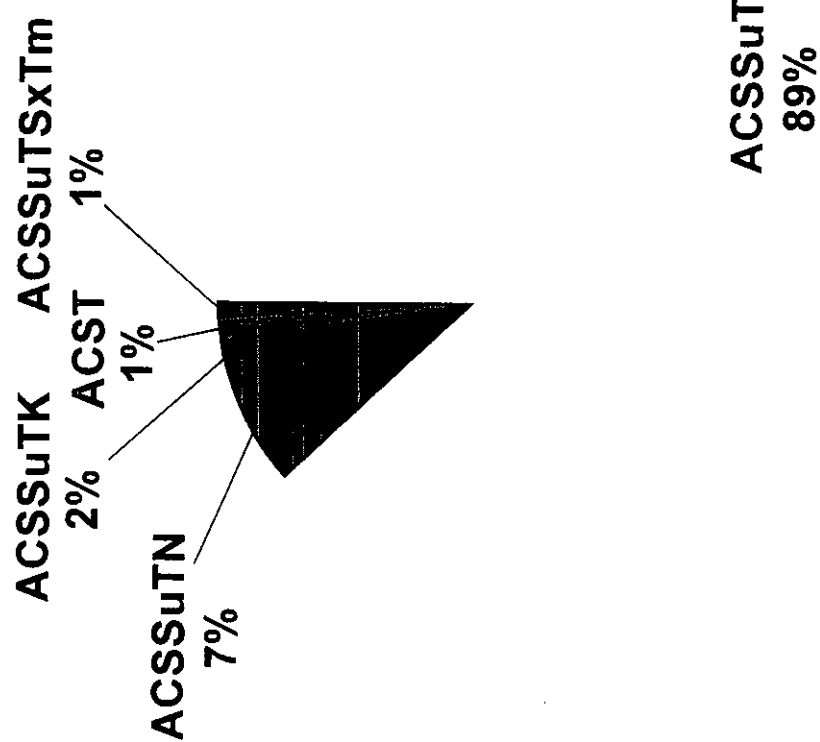
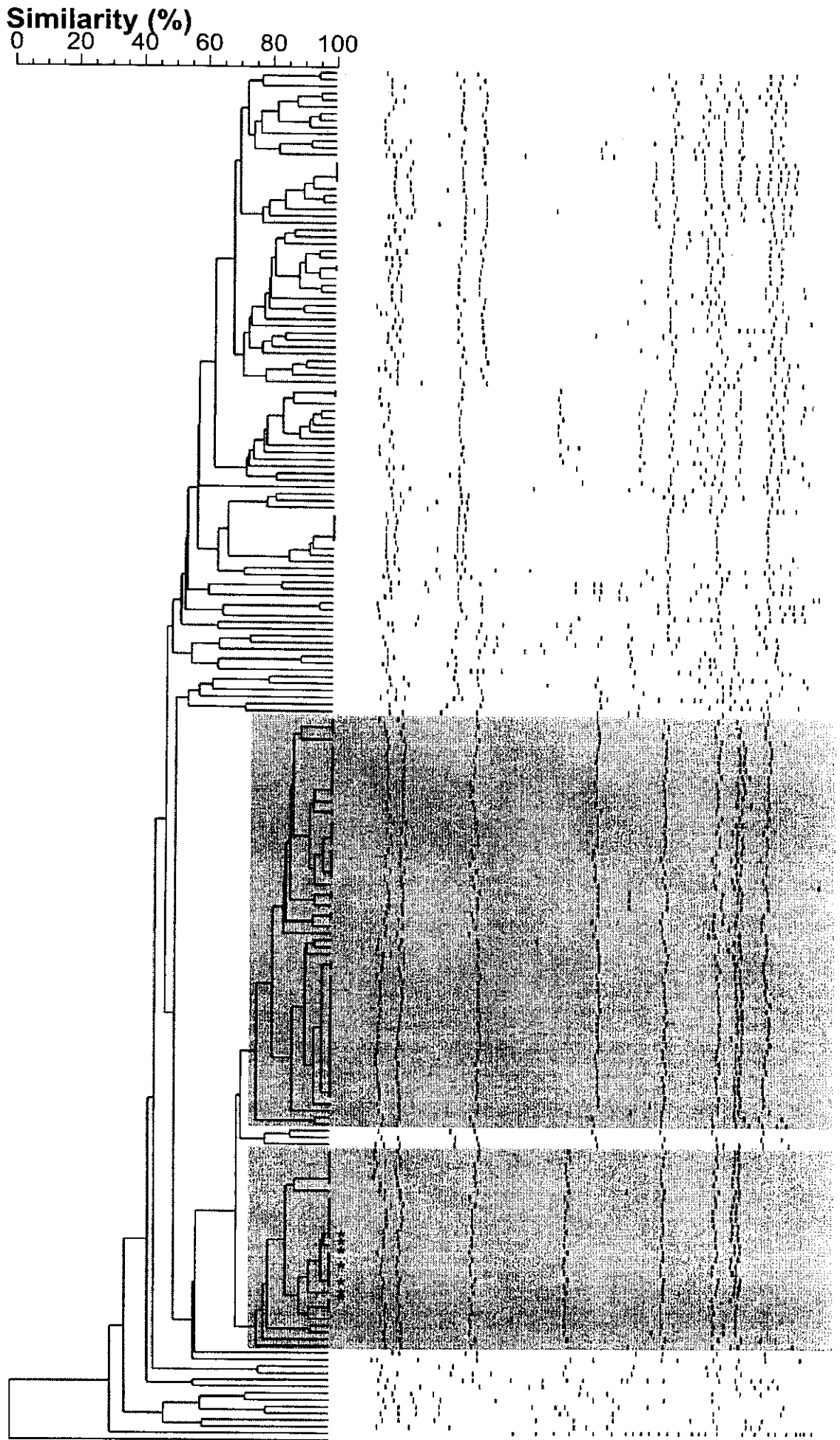


図4. 多剤耐性ST DT104のPFGEパターンのクラスター解析



DT104クラスター

\*: US株