

表4-1 各検査方法によるレプトスピラ検査結果一覧

| No. | PCR | WS染色 | 免疫染色 | 菌分離 | 血清型 | 抗体価 | 組織病変 |
|-----|-----|------|------|------|------|------|------|
| 1 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 2 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 3 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 4 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 5 | + | + | + | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 6 | + | + | + | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 7 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 8 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 9 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 10 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 11 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 12 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 13 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 14 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 15 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 16 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 17 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 18 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 19 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 20 | + | + | + | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 21 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 22 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 23 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 24 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 25 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 26 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 27 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 28 | + | + | + | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 29 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 30 | - | + | + | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 31 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 32 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 33 | + | + | + | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 34 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 35 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 36 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 37 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 38 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 39 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 40 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 41 | + | + | + | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 42 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 43 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 44 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 45 | - | + | + | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 46 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 47 | - | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 48 | + | - | - | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 49 | + | + | + | n.e. | n.e. | n.e. | n.d. |
| 50 | - | - | - | - | - | + | - |

※No.1-49は冷凍保存後に剖検した材料であるため、菌分離、血清型の判定、抗体価測定は実施していない。また、固定状態が悪く、HE染色標本の組織病変の判定も行っていない。

表4-2 各検査方法によるレプトスピラ検査結果一覧

| No. | PCR | WS染色 | 免疫染色 | 菌分離 | 血清型 | 抗体価 | 組織病変 |
|-----|-----|------|------|-----|-------------|------|------|
| 51 | - | - | - | - | - | - | A,B |
| 52 | - | - | - | + | Hebdomadis | + | - |
| 53 | - | - | - | - | - | - | - |
| 54 | - | - | - | - | - | - | - |
| 55 | - | - | - | - | - | - | - |
| 56 | - | - | - | - | - | - | - |
| 57 | - | - | - | - | - | - | - |
| 58 | - | + | + | - | - | - | A |
| 59 | - | - | - | - | - | - | - |
| 60 | + | - | - | + | Hebdomadis | + | - |
| 61 | + | + | + | + | Hebdomadis | + | A |
| 62 | - | - | - | - | - | - | - |
| 63 | - | - | - | - | - | - | - |
| 64 | + | + | + | + | Javanica | + | - |
| 65 | - | - | - | - | - | - | - |
| 66 | - | - | - | - | - | - | - |
| 67 | - | - | - | - | - | - | - |
| 68 | - | - | - | - | - | + | - |
| 69 | - | - | - | - | - | - | - |
| 70 | + | + | + | + | Autumnalis群 | + | - |
| 71 | + | + | + | + | Autumnalis群 | - | - |
| 72 | - | - | - | + | Autumnalis群 | - | - |
| 73 | - | - | - | - | - | - | - |
| 74 | - | - | - | - | - | - | - |
| 75 | - | - | - | - | - | - | - |
| 76 | + | - | - | + | Hebdomadis | + | C |
| 77 | + | - | - | + | Hebdomadis | + | B |
| 78 | - | - | - | - | - | - | - |
| 79 | + | + | + | + | n.d. | + | - |
| 80 | - | - | - | - | - | - | - |
| 81 | - | - | - | - | - | - | - |
| 82 | - | - | - | - | - | - | - |
| 83 | - | - | - | - | - | - | - |
| 84 | + | + | + | + | Hebdomadis | + | A |
| 85 | - | - | - | - | - | - | - |
| 86 | - | - | - | - | - | - | - |
| 87 | - | - | - | - | - | - | - |
| 88 | + | + | + | - | - | + | B |
| 89 | + | + | + | + | Hebdomadis | + | - |
| 90 | - | - | - | + | Hebdomadis | n.e. | A,B |
| 91 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 92 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 93 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 94 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 95 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 96 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 97 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 98 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 99 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 100 | - | - | - | + | Autumnalis群 | n.e. | - |

表4-3 各検査方法によるレプトスピラ検査結果一覧

| No. | PCR | WS染色 | 免疫染色 | 菌分離 | 血清型 | 抗体価 | 組織病変 |
|-----|-----|------|------|-----|-------------|------|------|
| 101 | + | + | + | + | Autumnalis群 | n.e. | A,B |
| 102 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 103 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 104 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 105 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 106 | - | - | - | + | n.e. | n.e. | C |
| 107 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 108 | - | - | - | - | - | n.e. | B |
| 109 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 110 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 111 | + | - | - | + | Autumnalis群 | n.e. | A |
| 112 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 113 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 114 | - | - | - | + | n.e. | n.e. | - |
| 115 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 116 | - | - | - | - | - | n.e. | B |
| 117 | + | - | - | - | - | n.e. | - |
| 118 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 119 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 120 | - | - | - | + | Javanica | n.e. | - |
| 121 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 122 | - | - | - | - | - | n.e. | A |
| 123 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 124 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 125 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 126 | - | - | - | + | Javanica | n.e. | B,C |
| 127 | - | - | - | - | - | n.e. | A |
| 128 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 129 | - | - | - | - | - | n.e. | - |
| 130 | - | - | - | - | n.e. | n.e. | - |
| 131 | + | - | - | + | n.e. | n.e. | A |
| 132 | - | - | - | - | n.e. | n.e. | - |
| 133 | - | - | - | - | n.e. | n.e. | - |
| 134 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 135 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 136 | - | - | n.e. | + | n.e. | n.e. | A |
| 137 | - | - | n.e. | + | Javanica | n.e. | - |
| 138 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 139 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 140 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 141 | + | + | n.e. | + | n.e. | n.e. | - |
| 142 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 143 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 144 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 145 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 146 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 147 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | B |
| 148 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 149 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | - |
| 150 | - | - | n.e. | - | n.e. | n.e. | C |

表4-4 各検査方法によるレプトスピラ検査結果一覧

| No. | PCR | WS染色 | 免疫染色 | 菌分離 | 血清型 | 抗体価 | 組織病変 |
|-----|------|------|------|-----|------|------|------|
| 151 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 152 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 153 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 154 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 155 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 156 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 157 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 158 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 159 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 160 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 161 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 162 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 163 | — | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 164 | n.e. | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 165 | n.e. | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 166 | n.e. | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 167 | n.e. | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 168 | n.e. | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 169 | n.e. | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 170 | n.e. | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 171 | n.e. | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 172 | n.e. | — | n.e. | — | n.e. | n.e. | — |
| 173 | n.e. | — | n.e. | + | n.e. | n.e. | — |

n.e.=not examined n.d.=not determined

A=腎盂リンパ球集簇

B=間質リンパ球浸潤

C=その他

表5 flaB-PCRから得られた増幅産物よりおこなった シークエンス解析結果

| No. | 遺伝種 | No. | 遺伝種 |
|-----|-----------------------|-----|--------------------------|
| 5 | <i>L. interrogans</i> | 61 | <i>L. interrogans</i> |
| 6 | <i>L. interrogans</i> | 64 | <i>L. borgpetersenii</i> |
| 21 | <i>L. interrogans</i> | 70 | <i>L. interrogans</i> |
| 28 | <i>L. interrogans</i> | 72 | <i>L. interrogans</i> |
| 33 | <i>L. interrogans</i> | 76 | <i>L. interrogans</i> |
| 41 | <i>L. interrogans</i> | 77 | <i>L. interrogans</i> |
| 48 | <i>L. interrogans</i> | 79 | <i>L. interrogans</i> |
| 49 | <i>L. interrogans</i> | 101 | <i>L. interrogans</i> |
| 60 | <i>L. interrogans</i> | | |



図1 マングース防除実施計画実施地沖縄島北部地域の図

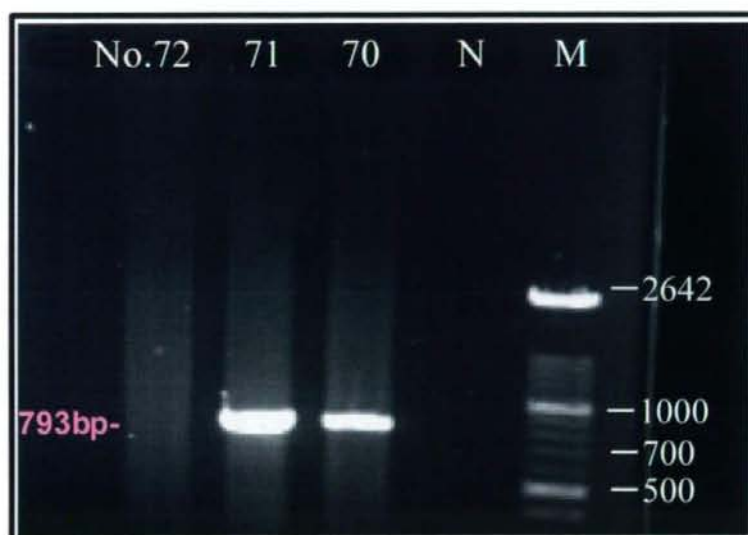


図2 PCR結果 マングースNo.70,71,73
No.70,71に793bpの増幅産物が観察された。
N =Negative control M =DNA分子量マーカー

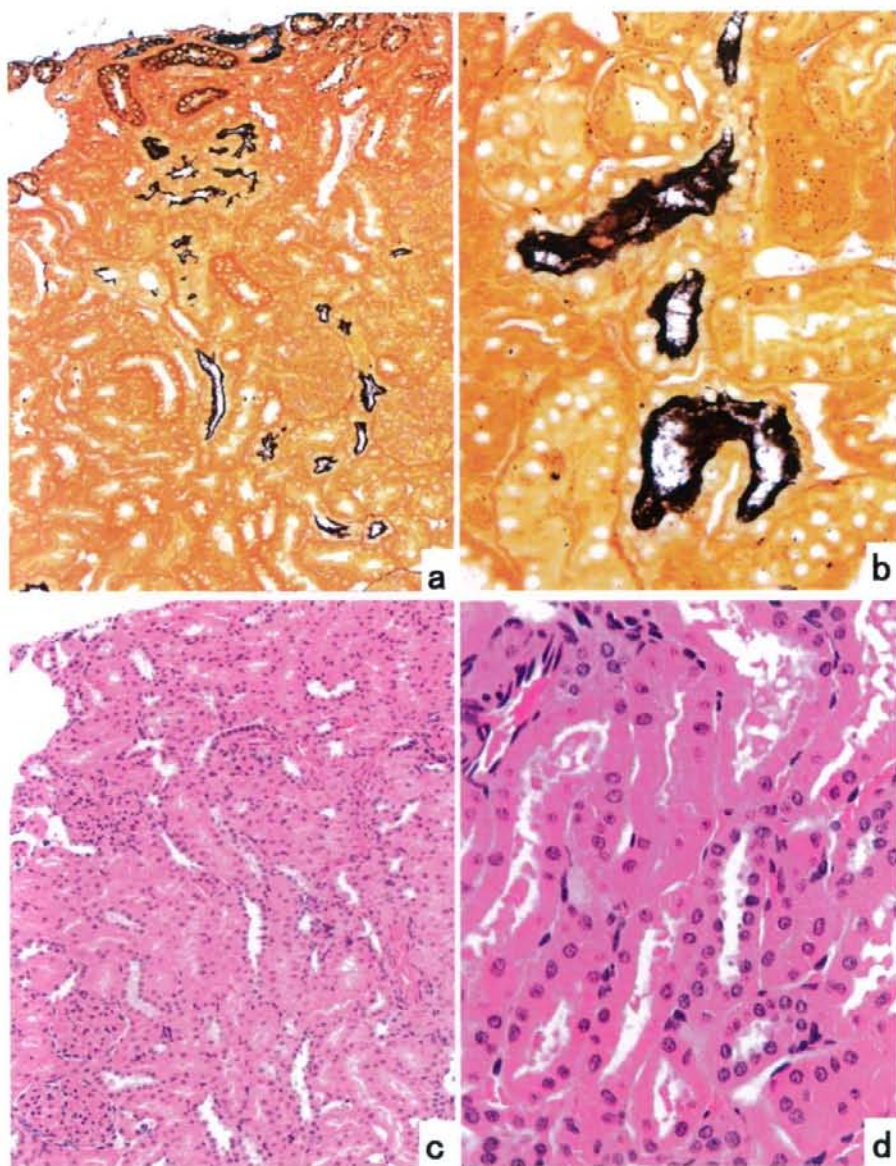


図3 マングースNo.79 レプトスピラ感染部位組織像
 (a)ワーシンスターリー染色弱拡像($\times 100$) (b)強拡像($\times 400$)
 (c)HE染色弱拡像($\times 100$) (d)強拡像($\times 400$)
 ワーシンスターリー染色により腎皮質近位及び遠位尿細管内に密集する菌体が観察され
 同部位のHE染色では組織の変性および壊死や炎症反応は認められなかった。

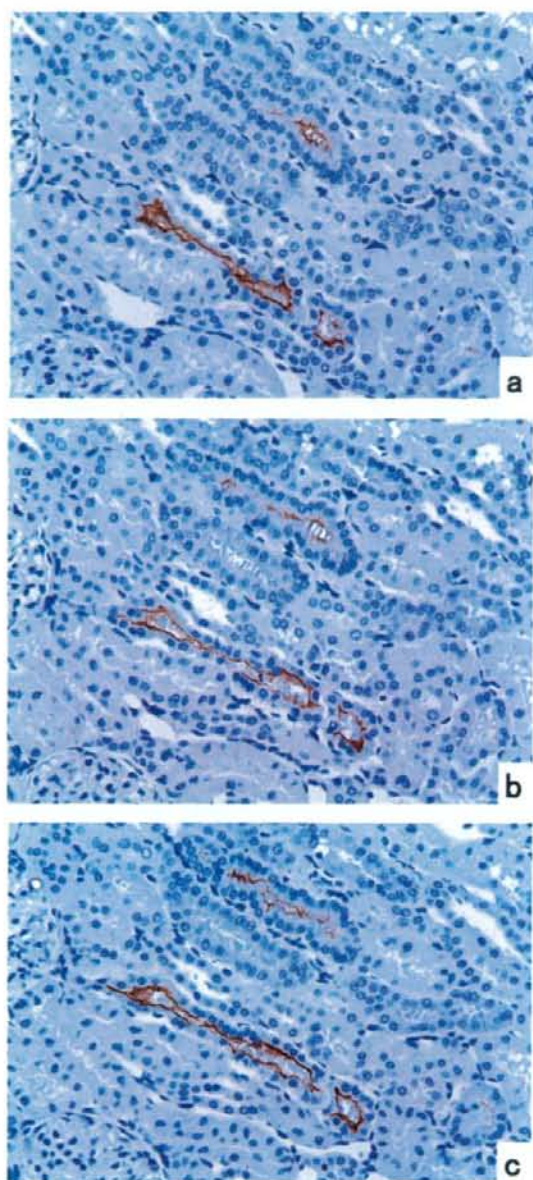


図4 マングースNo.131 抗レプトスピラ抗体免疫染色(×400)

(a) 抗 *L. interrogans* serovar Hebdomadis抗体

(b) 抗 *L. interrogans* serovar Autumnalis抗体

(c) 抗 *L. Borjetersenii* serovar Javanica抗体

検体、抗体によって染色性の差はあるものの、WS染色により確認された全ての菌体が3種類の血清型に対する抗体に反応した。

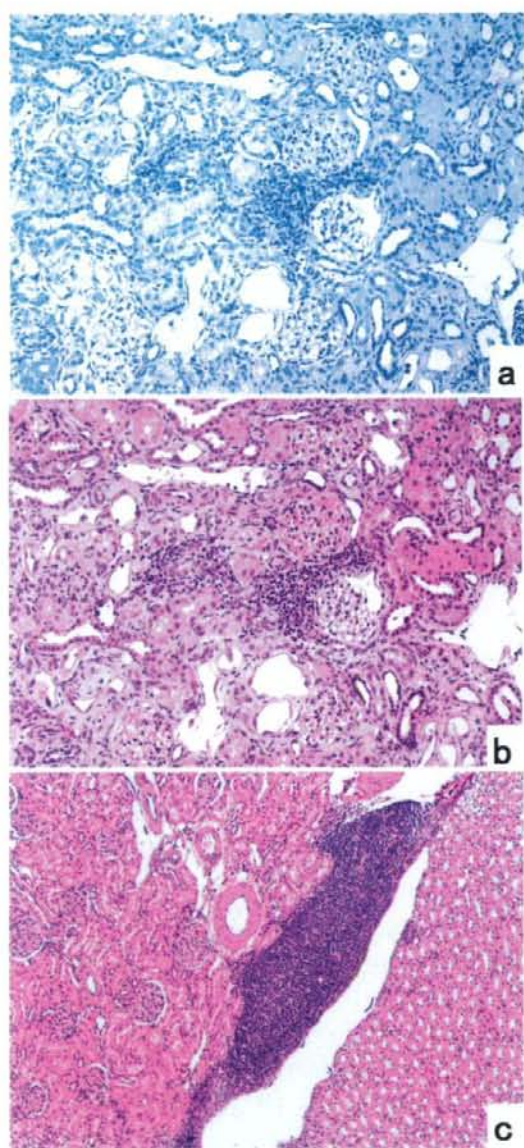


図5

(a) マングースNo.84(×100) 抗レプトスピラ抗体免疫染色

(b) HE染色

(c) マングースNo.126(×400)

間質性腎炎および腎盂のリンパ球集簇像。

炎症部位に菌体は観察されず、感染との関連は認められなかった。

3. 2. ジャンガリアンハムスター *Phodopus sungorus* における 致死性パスツレラ症の集団発生

研究分担者：宇根有美 麻布大学獣医学部病理学研究室
研究協力者：藤本奈央子 麻布大学獣医学部病理学研究室
：吉田裕一 麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室
：岡谷友三アレシヤンドレ
麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室

研究要旨：

台湾由来ジャンガリアンハムスター1,096匹(4週齢、約20ロット)のうち、1ロット50匹で、輸入3日後までに40匹が死亡した。生き残った10匹を別の2つのロットに各5匹ずつ加えたところ、輸入6日後までに、それぞれ25/55、9/10(うち5匹繁殖親)が死亡した。さらに、その生き残り31匹を同居させたところ、15匹が死亡した。死亡個体2匹と生き残った16匹を病理学および微生物学的に検索したところ、死亡個体に細菌塊をとまなう出血性壊死性肺炎がみられ、脾臓、肝臓にも、肺と同様に多数のグラム陰性桿菌が観察された。また、各臓器から純培養状に *Pasteurella multocida* が分離され、莢膜型 A に型別された。なお、生き残った個体から *P. multocida* は分離されなかった。

以上のことから、今回のハムスターの集団死は *P. multocida* により生じたものと推定した。*P. multocida* が経気道性に肺に侵入し、劇的に増殖し、産生された毒素により、甚急性の経過をとって死亡したものと考えた。

P. multocida は人獣共通感染症の原因菌であるが、日和見感染の要素が強い菌とされている。しかしながら、本事例では、短期間の集団発生に加え、致死性であったこと、さらにペットとして非常にポピュラーなハムスターでの流行であったことから動物衛生上はもとより、公衆衛生学上も注意が必要である。

A. 研究目的

パスツレラ症はパスツレラ属菌による日和見感染の要素の強い感染症で、その代表的菌種である *P. multocida* は牛の出血性敗血症や家禽コレラなどを引き起こす。また、犬や猫は *P. multocida* の健康保菌者である

ため、これらの動物の咬傷や引っ掻き傷はヒトにパスツレラ症を起こす。ハムスターは年間約35万頭輸入され(平成19年度)、輸入哺乳類の79%を占めている。現在のところ、ハムスターのパスツレラ症としては、シリアンハムスターから *P. pneumotropica*

が分離された報告があるのみで、*P. multocida* によるパスツレラ症の報告はなく、さらに分離されたこともない。今回、輸入直後のジャンガリアンハムスターの致死性パスツレラ症の集団発生に遭遇し、これらのハムスターから *P. multocida* が分離された。ペットとしてポピュラーなハムスターにおける致死性パスツレラ症の集団発生は公衆衛生上、注意喚起をすべき疾患と考え、情報発信を目的として、その概要を報告する。

B. 材料と方法 (臨床経過を含む)

2008年1月7日に某動物輸入会社が台湾よりジャンガリアンハムスター1,096匹(4週齢、約20ロット)を輸入したところ、1月10日までに、そのうちの1ロット(A箱)で50匹中40匹が死亡した。A箱の生き残り10匹を2つのロット(B箱(50匹)と繁殖ケージ(成体5匹、同施設内で繁殖用に飼育していた群))に、各5匹ずつ加えたところ、その翌日の1月11日にB箱55匹中25匹が死亡、繁殖ケージ10匹中9匹が死亡した。その後、2つの飼育箱の生き残り31匹を同居させたとところ、その翌日に31匹中14匹が死亡、さらに1月13日には1匹が死亡したが、これを最後に連続死は終息した。ほとんどの死亡個体はうずくまるように死亡しており、下痢はなく、呼吸器症状も明らかでなかった。なお、A箱のハムスターと接触し個体のうち、輸入後6日時点で生き残っていた個体は105匹中16匹(成体1匹、4週齢15匹)で、これらには臨床異常は確認されなかった。これらのうち、死亡個体2匹と生き残り16匹を病理学および微生物学的に検索した。

C. 研究結果

肉眼的に、肺は退縮不全で、水腫性、点状出血が密発していた。病理組織学的には、おびただしい数のグラム陰性桿菌が肺、脾臓と肝臓に観察された。肺は全葉にわたって肺胞内水腫と出血が高度であったが、炎症は軽度だった(図1)。赤脾髄は広範に壊死に陥り、肝臓では類洞が高度に拡張していた(図2)。また、死亡個体の肺、脾臓、肝臓から純培養状に *P. multocida* が分離され、荚膜型はAに型別された。なお、生き残った個体の臓器から *P. multocida* は分離されなかった。また、その他の病原体は検出されなかった。

D. 考察

上記の経過と検査所見から、ハムスターは経気道性に侵入した *P. multocida* の劇的な増殖とその産生毒素により甚急性の経過をとって死亡したものと考えられた。パスツレラ症の病態は血清型、特に荚膜型に関連するとされ、BとEによる草食獣の流行性の甚急性型(出血敗血症型)の報告があり、今回の事例も、おそらく、同様の病理発生で生じたものと考えた。今回、ハムスターから分離された荚膜型は、マウスで病原性が高いとされるA型で、同じげっ歯類のハムスターに対しても、高い病原性を示したものと思われた。

今までに、実験用ハムスター(シリアンハムスター *Mesocricetus auratus*)を含む一般的にハムスターといわれている動物において、*P. multocida* 感染症はもとより、*P. multocida* の分離例もなく、本事例は、国内外で初めて確認されたハムスターの致死性パスツレラ症と考えられた。

今回の集団発生は輸入後 1 週間以内に発生したことから、当初、輸出国である台湾で感染し、輸入ストレスなどで発症したものと考えた。しかしながら、1 回目の流行時の生き残りを他の 2 つのロット、すなわち、同じ輸入個体群と以前より飼育している繁殖親群に加えた翌日には死亡例がみられたこと、輸入ロット 20 のうち、1 ロットのみでの流行であったことから、感染時期および感染場所(国内外)は特定できなかった。なお、パスツレラ症の発症には、各種のストレスがトリガーとなるといわれている(日和見感染)。今回、初発の生き残りを、結果的に 3 つのロットに加えたことになり、それぞれで流行が起きていて、以前より飼育されているロットも死亡していることから、輸入ストレスがトリガーとは考えにくく、また、本菌自体が高い感染性および致死性を有している可能性もあり、どのような機序で発症に至ったか不明であった。なお、生き残りの個体および同時に輸入された他のロットの個体を微生物学的に検査したが、*P. multocida* は分離されなかった。このため、輸入ハムスターは *P. multocida* を保菌しておらず、さらに、感染個体と同居しても感染しない個体あるいは、感染耐過後も保菌しない個体がいるものと考えられた。

最後に、ペットとして輸入数の多いハムスターに *P. multocida* による致死性パスツレラ症が流行したことは、動物衛生上のみならず、公衆衛生上の十分な注意が必要であると考えた。

E. 参考文献

(1) 厚生労働省 我が国の動物の輸入状況

http://www.forth.go.jp/mhlw/animal/page_b/b03-8.html

- (2) Hayasimoto, N., Takakura, A., Itoh, T. 2005. Genetic diversity on 16S rDNA sequence and phylogenetic tree analysis in *Pasteurella pneumotropica* strains isolated from laboratory animals. Curr. Microbiol. 51(4):239-243.
- (3) Campos, A., Taylor, J. H., Campbell, M. 2000. Hamster bite peritonitis: *Pasteurella pneumotropica* peritonitis in a dialysis patient. Pediatr. Nephrol. 15(1-2):31-32.
- (4) Leshner, R. J., Jeszenka, E. V, Swan, M. E. 1985. Enteritis caused by *Pasteurella pneumotropica* infection in hamsters. J. Clin. Microbiol. 22(3):448.

G. 健康危機管理情報

なし

H. 研究発表等

学会発表

- 1) 藤本奈央子, 吉田裕一, 岡谷友三アレシヤンドレ, 宇根有美: ジャンガリアンハムスター *Phodopus sungorus* における致死性パスツレラ症の集団発生. 第 8 回人と動物の共通感染症研究会学術集会、北里大学薬学部コンベンションホール、2008 年 11 月 1 日。

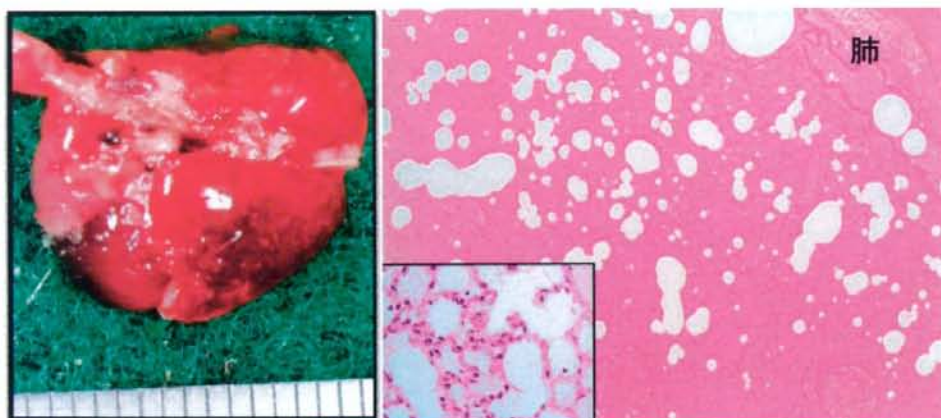


図1 左：肺 肺退縮不全、水腫と出血。
 右：肺 肺胞内水腫と出血、HE 染色。

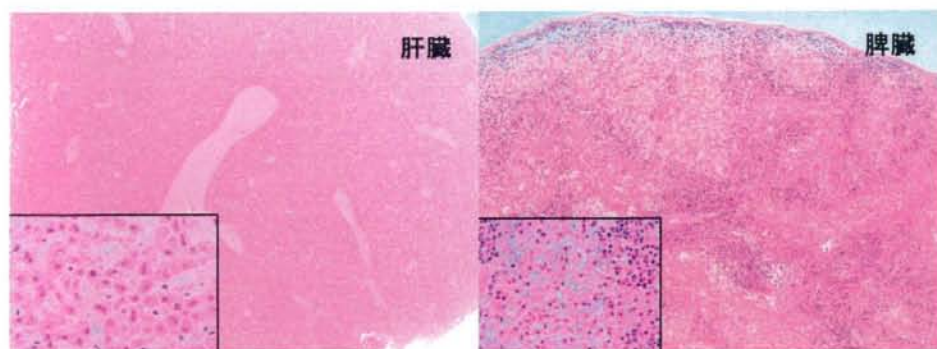


図2 肝臓：類洞の拡張と細菌塊、HE 染色。
 脾臓：赤脾髄の壊死と細菌塊、HE 染色。

平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

3. 3. ペット用カメの *Salmonella* 保有に関する研究

分担研究者 宇根有美 麻布大学獣医学部獣医病理学研究室

研究協力者

黒木俊郎 神奈川県衛生研究所微生物部

石原ともえ 神奈川県衛生研究所微生物部

伊東久美子 神奈川県衛生研究所微生物部

ペット用カメが関連する *Salmonella* 症、特に重篤化しやすい小児 *Salmonella* 症が発生していることが報告されており、公衆衛生上の問題となっている。平成 18 年度からカメにおける *Salmonella* 保有状況の調査を実施し、平成 19 年度は国内で養殖されているクサガメを中心に、各種ペット用カメ 9 種 2 亜種を対象として同様の調査を行った。平成 20 年度はミシシippia カミミガメの *Salmonella* 保有に関する調査をさらに行った。16 店舗の小売店から 105 匹の幼体を購入し、16 店舗の 89 匹 (84.8%) から *Salmonella* 属菌が検出された。このうち、ヒトに病原性を示す *Salmonella enterica* 亜種 I は 13 店舗の 48 匹 (45.7%) から検出された。以上の結果から、市販のミシシippia カミミガメは高率に *Salmonella* を保有していることが明らかになった。本調査において、国内で販売されているカメから *Salmonella* に感染するリスクの存在が明確になった。しかし、わが国ではカメ関連 *Salmonella* 症の散発的な報告があるのみで、カメ関連 *Salmonella* 症の発生の実態はほとんど明らかにされていない。今後、早期にその実態を明らかにし、その結果に基づいて輸入・販売の法的規制や啓発活動の強化といった効果的な対策を策定する必要がある。

A. 研究目的

爬虫類が *Salmonella* を保有していることはよく知られていることである。しかし、*Salmonella* 症の感染リスクの観点からすると、ミシシippia カミミガメが他の爬虫類あるいは同類のカメと比較してリスクが

高いと判断できる。この理由としては、まず、*Salmonella enterica* の亜種 I を高率に保有していることによる。さらに、カメあるいは爬虫類全体の中でも販売量が多いため、安価であるため、ペットとして購入される機会が最も多いことである。

ペットとしては、緑色の小さいカメとして販売されているため、注目されやすいことも重要である。これらの理由から、カメに由来する *Salmonella* 症発生の対策には、まずリスクの高いミシシippアカミミガメ対策から奨める必要があると考える。

本研究では、平成 18 年度はミシシippアカミミガメにおける *Salmonella* 保有状況を調査した。平成 19 年度は国内で生産されているクサガメを中心に、ペット用各種カメにおける *Salmonella* 保有を調査した。さらに、両年度の分離菌株については、その血清型と販売店舗の分布状況の解析、薬剤感受性試験を実施し、また、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による分子疫学的解析を試みた。

平成 20 年度は、小売店で販売されているミシシippアカミミガメの幼体に焦点を絞り、*Salmonella* 保有状況と分離菌の性状を精査した。

B. 材料と方法

1) カメ

ミシシippアカミミガメの幼体を小売店 16 店舗 (関東地域: 11 店舗、近畿地域: 2 店舗、九州地域: 3 店舗) から 37 回にわたり、1 回に 1~5 匹ずつ、合わせて 105 匹を購入した。16 店舗中 12 店舗では、平成 20 年 7 月から 10 月まで、月に 1 度ずつ、2~4 回購入した。カメは 1~3 匹ずつに分け、絶食した状態で滅菌容器に入れ、滅菌水を加えて数日間放置した。容器中の水は 1~2 日ごとに回収し、検体とした。その間、餌は与えなかった。解剖時に致死麻酔、放血後、腹腔内を 0.5ml 程度の滅菌生理食塩

水で洗浄し、洗浄液を回収して検体とした。その後、肝臓、卵囊および腸管を無菌的に取り出した。

2) *Salmonella* の分離

Salmonella の分離手順を図 1 に示した。各試料を 5ml の Buffered Peptone Water (BPW; Oxoid) に接種し、いずれも 36°C で 20~22 時間培養した。容器の水には 2 倍濃度の BPW を等量に加え、同様に 36°C で 20~22 時間前培養を行った。培養後、それぞれの試料の培養液 1ml をハーナ・テトラチオン酸塩培地 (栄研化学) 10ml に接種して、42°C で 18~20 時間選択増菌培養した。その培養液 1 白金耳を SS 寒天培地 (栄研化学) と ES サルモネラ培地 II (ESII; 栄研化学) に接種し、36°C で 20~22 時間分離培養した。培養後、*Salmonella* を疑う集落として SS 寒天培地では硫化水素産生性の黒色集落を、ESII ではやや乾燥した桃色集落を釣菌し、TSI 培地、SIM 培地、リシン脱炭酸試験用培地および VP 試験培地を用い従来法に準じて *Salmonella* の同定を実施した。

ついで、サルモネラ診断用免疫血清 (デシカ生研) により O 型別および H 型別を行い、血清型名を決定した。また、血清型別不能菌株は、従来法・ID テスト EB-20 (日水製薬) および API20E (ピオメリュー) を用いて亜種の鑑別を行った。

3) 薬剤感受性試験

HI 平板で培養した新鮮培養菌を綿棒でとり、Meuller Hinton Broth (MHB; BD) 3ml に MacFerland No. 0.5 の浮遊液を調製した。この菌液を綿棒にて Meuller

Hinton II Agar (MHA : BD) に塗抹し以下の 13 種類の薬剤についてディスク法を用いて CLSI 基準に準拠して 13 薬剤について感受性試験を実施した。薬剤としてはアミノペンシリン (ABPC)、セフトキシム (CTX)、クロラムフェニコール (CP)、ホスホマイシン (FOM)、ゲンタマイシン (GM)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、テトラサイクリン (TC)、ナリジクス酸 (NA)、ノルフロキサシン (NFLX)、オフロキサシン (OFLX)、シプロフロキサシン (CPFX) および ST 合剤 (ST) の 13 薬剤を供試した。

4) PFGE 法による菌株の分子疫学調査

同一の血清型について、同一起源か否かを調べることを目的として PFGE 解析を実施した。制限酵素は *Xba* I を用いて泳動温度 12°C、6 ボルト、2.2-54.2 秒、20 時間の条件で電気泳動を行い、エチジウムブロマイドで 30 分染色したのち、紫外線下で撮影して解析を実施した。分離株数の多かった *S. Montevideo* については *Xba* I 以外に *Bln* I 処理を行い 2.2-63.8 秒の条件¹²⁾で泳動を行い解析した。

5) ヒトの *Salmonella* 症との関連性の解析

厚生労働科学研究 (新興・再興感染症研究事業)「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」(研究代表者 国立感染症研究所 寺嶋淳) (パルスネット研究班) との共同研究として、ミシシippia カミミガメに由来する *Salmonella* のヒトの *Salmonella* 症との関連性を探る目的で、ミシシippia カミミガメ由来株とヒトの *Salmonella* 症に由来す

る *Salmonella* 菌株の PFGE パターンの比較を行った。

平成 18 年度と 19 年度の調査で分離されたミシシippia カミミガメに由来する 8 血清型 14 株の PFGE パターンの情報をパルスネット研究班に提供した (図 1)。パルスネット研究班の研究分担者を通じて研究協力者として参加している地方衛生研究所にパターンの情報が提供された。

C. 結果

1) *Salmonella* の保有状況

ミシシippia カミミガメの幼体は、小売店 16 店舗から 37 回、105 匹を購入した。店舗別の検出状況は、すべての店舗から *Salmonella* 属菌が検出された。購入別では 37 回のうち 35 回 (94.6%)、個体別では 89 匹 (84.8%) から検出された。亜種 I と確認された株が検出されたのは、16 店舗のうち 13 店舗 (81.3%)、37 回購入したうちの 30 回 (81.1%)、105 匹のうちの 48 匹 (45.7%) であった。

Salmonella enterica 亜種 I は 19 血清型が分離された (表 1)。

複数回購入した店舗について、表に検出された血清型を購入別に示した。各店舗で購入したカメから分離される *Salmonella* の血清型は購入の都度、概ね異なっていた。

2) 薬剤感受性試験

分離株から GM、SM および TC 耐性株が検出された (表 2)。

3) PFGE 法による菌株の分子疫学調査

今年度の分離株のうち、亜種 I が確定した菌株の PFGE パターンを解析した。*S. Newport* は 7 タイプ、*S. San Diego* と *S. Saintpaul* は 3 タイプ、*S. Litchfield* と *S. Muenchen* は 2 タイプがみられ、*S. Braenderup*、*S. Berta*、*S. Bareilly*、*S. Schwarzengrund*、*S. Paratyphi B*、*S. Anatum*、*S. Barranquilla*、*S. Cerro*、*S. Carrau/S. Madelia*、*S. Othmarchen*、*S. Oslo*、*S. Poona*、O4:I: はそれぞれ 1 タイプずつであった。

S. Newport の 7 タイプのうち 1 タイプは 7 店舗から、*S. Litchfield* の 3 タイプのうち 1 タイプは 2 店舗と平成 18 年度の調査での 1 店舗から、*S. San Diego* の 4 タイプのうち 1 タイプは 5 店舗と平成 18 年の調査での 1 店舗から、*S. Braenderup* は 5 店舗から、*S. Berta* は 3 店舗から、*S. Schwarzengrund* は 2 店舗からそれぞれ同一パターンを示す菌株が検出された。

4) ヒトの *Salmonella* 症との関連性の解析

PFGE パターンの情報を受けた地方衛生研究所から、*Salmonella* の保存株から同じ血清型の菌株 121 株 (*S. Litchfield* : 21 株、*S. Montevideo* : 44 株、*S. Newport* : 6 株、*S. Paratyphi B* : 8 株、*S. Poona* : 2 株、*S. Thompson* : 15 株、*S. Typhimurium* : 25 株) が国立感染症研究所に送付され、国立感染症研究所にて PFGE パターンの比較が行われた。近畿地域でヒトの *Salmonella* 症から分離された *S. Montevideo* 株とミシシippiaカミミガメ由来株の XbaI および BlnI による PFGE パターンが類似する株があった。カメの飼育状況等の詳細について、現在継続的に解析している。

D. 考察

ミシシippiaカミミガメは平成 18 年度の調査と同様に、高率に *Salmonella* を保有しており、これらの *Salmonella* はヒトに強い病原性を有する *S. enterica* 亜種 I が優勢であった。

S. enterica 亜種 I が検出されたのは、105 匹のうちの約半数の 48 匹であったが、店舗別および購入別にみると、16 店舗のうちの 13 店舗であり、37 回購入したうちの 30 回であった。このことは、販売されているすべてのミシシippiaカミミガメが *S. enterica* 亜種 I を保有しているのではないが、小売店別にみると亜種 I を保有しているカメを販売している率が高いことを示している。

PFGE 法による解析により、同一のパターンを示す菌株を保有するミシシippiaカミミガメが、異なる複数の店舗で販売されていたことが確認された。平成 18 年度の調査でも同様の結果が得られていた。さらに、平成 18 年度の調査での分離株と同一パターンを有する菌株も今年度の調査で検出された。このことは、*Salmonella* に汚染された特定の養殖場に由来する菌株を保有するミシシippiaカミミガメがわが国の広い地域で販売されていたことを示唆している。

ミシシippiaカミミガメはルイジアナ州を中心に、米国においてペット用として養殖が盛んに行われており、養殖場の池などの環境中に *Salmonella* が定着していることが報告されている。養殖場で生産されたミシシippiaカミミガメの孵化個体は米国の輸出業者を介して日本に輸出され、日本

では複数の輸入業者が小売店に出荷している。

この輸入販売経路は、同一の PFGE パターンの *Salmonella* を保有するミシシッピアカミミガメが国内の広い地域で販売されていることを裏付けている。さらにこのことは、由来を同じくする菌株による *Salmonella* 症が国内の広い地域で発生する可能性を示唆している。

平成 18 年の調査において、関東地域の小売店で販売されていたミシシッピアカミミガメから分離された *S. Poona* の株と同一の PFGE パターンを有する *S. Poona* による *Salmonella* 症が同年に山形県で発生していた。患者の家族は自宅にミシシッピアカミミガメを飼育しており、患者由来株と飼育カメ由来株の PFGE パターンも一致していた。このことは、*Salmonella* 症の原因となった *Salmonella* 株を保有するミシシッピアカミミガメが少なくとも関東地域と山形県において販売されていたことを示している。

さらに、「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」(パルスネット研究班)との共同研究での調査において、近畿地域で分離された *S. Montevideo* ヒト由来株が、平成 18 年度の調査でのミシシッピアカミミガメ分離株と PFGE パターンが類似していることが明らかになった。このパターンを示す *S. Montevideo* は東北、近畿および九州の店舗で販売されていたミシシッピアカミミガメから分離された。

米国では、2007 年から 2008 年にかけて 33 州で 167 人の患者を含む、同一の PFGE パターンを有する *S. Paratyphi B* によるカ

メ関連 *Salmonella* 症の集団感染事例が報告されている。この事例からわかるように、特定の *Salmonella* 株を有するカメが広い地域で販売されることは、同一株による感染事例が広い地域で発生する危険性をはらんでいる。

各店舗からのカメの購入は、16 店舗のうち 12 店舗ではおおよそ 1~2 ヶ月に 1 回の割合で複数回おこなった。複数回購入する場合、同じ店舗であってもカメから検出される血清型は概ね異なっていた。これは、小売店においてカメの入荷後 1 ヶ月間に入荷分をすべて販売してしまい、次に購入したときには新たに入荷した、異なった血清型の *Salmonella* に汚染されたカメが調査の対象になったことを示唆している。上述の販売経路から推測すると、複数の養殖場から出荷されたカメが輸出業者に集められ、日本に輸出されて小売店に出荷されるため、同じ養殖場のカメが同じ小売店に出荷されるわけではないことを示している。このことは、カメ関連 *Salmonella* 症が発生し、疫学調査のために飼育しているカメを購入した小売店で販売されているカメを検査しても、その後入荷されたカメであれば同一株を保有しているカメを見出すことは困難であることを示唆している。

わが国の *Salmonella* 症の発生の実態は、食中毒については法律が整備されており、原因食品の究明などが詳細に行われ、かなり解明されている。しかし、爬虫類が関連する *Salmonella* 症は、通常は散発性下痢症であることもあり、原因がほとんど不明のままにされてしまい、発生の実態はほとんど明らかにされていない。米国の疫学調査ではカメ 100 匹に対して患者 1 人の割合で

発生しているという試算もあり、これに日本でのミシシippアカミミガメの推定販売数の200,000匹を当てはめると、カメ関連 *Salmonella* 症は年間2,000人発生していると推定することができる。

前述のように、わが国では多数のミシシippアカミミガメが毎年輸入され、小売店で販売されている。これらのカメが高率に *Salmonella* を保有していることが明らかとなった。今後は、カメ関連 *Salmonella* 症の発生の実態を早期に明らかにし、その結果に基づいて、法律による輸入や販売の制限あるいは啓発活動の強化といった効果的な対策を策定することが急務であると考えられる。

E. 結語

今年度の調査でも、ミシシippアカミミガメが高率に *Salmonella*、特に *S. enterica* 亜種 I を保有していることが明らかとなった。さらに、由来が同じと推測される、同一の PFGE パターンを有する株を保有するカメが広い地域で販売されていたことが確認されたとともに、小売店での入荷のたびに異なる血清型を有するミシシippアカミミガメが販売されることが明らかとなった。

F. 健康危機管理情報

なし

G. 研究発表

1) 学会発表

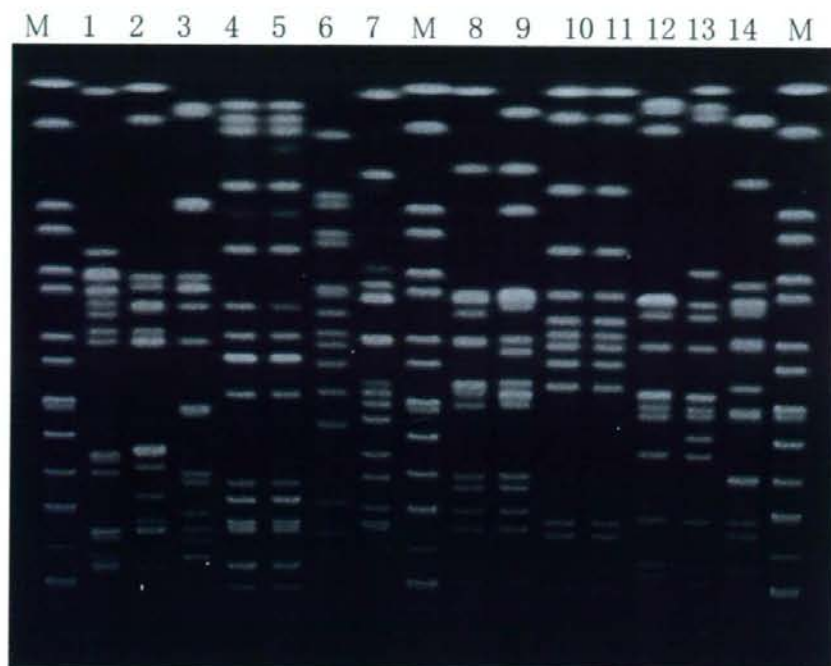
黒木俊郎、石原ともえ、伊東久美子：市販

のミシシippアカミミガメおよびクサガメの *Salmonella* 保有状況、第 82 回日本感染症学会総会、松江、2008.

2) 論文発表

なし

図2 ミシシippアカミミガメ由来 *Salmonella* 菌株の PFGE パターン



M : マーカー ; *S. Braenderup*

- 1 *S. Montevideo* : 関東地域
- 2 *S. Montevideo* : 東北、関東、近畿、九州地域
- 3 *S. Thompson* : 九州地域
- 4 *S. Typhimurium* : 近畿地域
- 5 *S. Typhimurium* : 近畿地域
- 6 *S. Sandiego* : 近畿地域
- 7 *S. Newport* : 九州地域
- 8 *S. Newport* : 九州地域
- 9 *S. Newport* : 関東地域
- 10 *S. Poona* : 関東地域
- 11 *S. Poona* : 関東地域
- 12 *S. Litchfield* : 関東地域
- 13 *S. Litchfield* : 九州地域
- 14 *S. Paratyphi-B* : 近畿地域

平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究
分担研究報告書

3. 4. 北海道のスズメ(*Passer montanus*)大量死事例より分離された *Salmonella*
Typhimurium DT40 の病原性と病理発生に関する検討

研究分担者：宇根有美 麻布大学獣医学部病理学研究室
研究協力者：添田琴恵 麻布大学獣医学部病理学研究室
：政岡智佳、仁和岳史、鈴木智、加藤行男
麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室
：石原ともえ 神奈川県衛生研究所微生物部

研究要旨：

我々は、2006 年北海道で起きたスズメ大量死の原因が *Salmonella* Typhimurium DT40 (ST40)であると特定した。本研究では大量死したスズメより分離された ST40 の病原性を検討し、スズメにおけるサルモネラ症の病理発生を明らかにすることを目的として、スズメと同じフィンチ類に属し、入手し易いブンチョウを用いて、2つの感染実験を行った。実験1：ブンチョウ(成鳥)14羽を4群に分け、1群(対照群、n=2)は生食を、2群(n=3)はST40を $3.11 \log_{10}$ CFU、3群(n=6)はST40を $5.11 \log_{10}$ CFU、4群(n=3)はST40を $7.11 \log_{10}$ CFU単回経口接種した。結果、1群と2群に死亡例はなく、3群は接種8～19日目までに全羽死亡、4群は接種10日目までに2羽死亡した。実験2：ST40とヒトの食中毒患者より分離された *Salmonella* Typhimurium(HST)を6羽ずつ(幼鳥2羽、成鳥4羽)に単回経口接種した。結果ST40($5.11 \log_{10}$ CFU)接種群では5羽が発症し、うち3羽が状態の悪化により安楽死、または死亡した。HST($4.71 \log_{10}$ CFU)接種群では成鳥1羽が発症したが死亡例はなかった。

以上の結果から、ST40はブンチョウに対し用量依存性に致死性に働くものと考えられたが、生残個体からST40が分離されず、少なくともブンチョウ体内では感染維持がなされないものと推察された。また、ST40は、鳥由来STの他報告との比較およびヒト由来STを用いた本実験の結果からも病原性が高いと判断された。ST40が自然界でどのように維持され、集団発生に結びつくのか、さらなる検討が必要と考える。

A. 研究目的

2005～2006年冬に北海道でスズメが大量死し、その数は1,500羽を越えた。我々はこの大量死の原因を究明するために、流行当時および2007年冬の小規模流行時の検体を入手、疫学的、病理学および微生物学的に検索し、今までヒトおよび動物を

含めて国内で検出されることがない *Salmonella* Typhimurium DT40 (以下ST40)が原因であると特定した。そこで、スズメ由来ST40の病原性を検討し、スズメにおけるサルモネラ症の病理発生を明らかにする