

都内動物取扱業（販売業及び展示業）における取扱動物の

動物由来感染症起因病原体保有実態調査（令和元年度）

姉川 啓文^a, 米山 智子^a, 小林 甲斐^b, 久保田 寛顕^b, 村田 理恵^b, 神門 幸大^b, 上原 さとみ^c, 高橋 由美^c

東京都では、都民の飼養する動物や不特定多数の都民がふれあう動物に由来する感染症について、その発生を未然に防止するため、都の動物由来感染症予防体制整備事業実施要綱に基づいた調査を実施している。今回、令和元年度に都内ペットショップで飼養されていた犬47頭及び猫27頭と、都内動物園等で飼養されていたふれあい動物13頭を対象に、各種の病原体保有状況を調査した。調査の結果、ペットショップで飼養されていた動物から、サルモネラ属菌（1検体）、*Yersinia enterocolitica*（1検体）、病原大腸菌（2検体）、ジアルジア（犬17検体、猫1検体）、皮膚糸状菌（犬3検体、猫9検体）が検出された。また、動物園等で飼養されていた動物からは、病原大腸菌（山羊3頭、羊4頭）が検出された。施設内に病原体が持ち込まれることを前提とした検疫体制の整備や、施設内での交差感染を防ぐための衛生管理、動物とふれあう前後の衛生指導が重要であると考えられた。

キーワード：動物由来感染症、動物取扱業、ペットショップ、ふれあい動物園、サルモネラ属菌、*Yersinia enterocolitica*、病原大腸菌、ジアルジア、皮膚糸状菌

は じ め に

ペットショップ等の販売業や動物園等の展示業等、動物の取扱業を営む場合、動物の愛護及び管理に関する法律の規定に基づく登録・届出が必要である。また、これらの施設では、不特定多数の都民と動物が日常的に接触しており、動物由来感染症に罹患する可能性が否定できない。

このような背景から、東京都では都の動物由来感染症予防体制整備事業実施要綱に基づき、動物取扱業における動物由来感染症発生の未然防止と、事業者の自主衛生管理体制導入推進を目的として、環境保健衛生課と健康安全研究センター、及び動物愛護相談センターが協力する形で取扱動物の病原体保有状況調査を実施している。

今回、令和元年度に都内ペットショップで販売されていた動物及び都内動物園等でふれあい展示されていた動物を対象に、各種の病原体保有調査を実施した。

調 査 方 法

1. 調査対象

令和元年度に、都内のペットショップ8軒と動物園等2か所（A及びB施設）で販売・展示されていた動物を対象に調査した。ペットショップでは、販売されていた犬47頭（糞便47検体、被毛47検体）、猫27頭（糞便27検体、被毛27検体）から採取した検体を供試した。また、都内動物園等ではふれあい展示に供されていた山羊9頭（糞便9検体、再検査時に糞便6検体）、羊4頭（糞便4検体、再検査時に糞便8検体）から採取した検体を供試した（表1、表2）。

表1. 販売業における検査対象動物と供試検体数

対象動物	頭数	糞便	被毛
犬	47	47	47
猫	27	27	27

表2. 展示業における検査対象動物と供試検体数

施設名	対象動物	頭数	糞便	
			初回検査	再検査
A	山羊	5	5	6
	羊	4	4	8
B	山羊	4	4	0
計		13	13	14

2. 検査項目

ペットショップ、及び動物園等のふれあい展示の調査について以下の細菌、寄生虫、真菌検査を実施した。

1) ペットショップ

細菌：サルモネラ属菌、*Campylobacter jejuni/coli*、黄色ブドウ球菌、*Yersinia enterocolitica*、病原大腸菌（腸管出血性大腸菌（EHEC）、腸管毒素原性大腸菌（ETEC）、腸管病原性大腸菌（EPEC））
寄生虫：回虫、ジアルジア、トキソプラズマ

^a 東京都福祉保健局健康安全部
163-8001 東京都新宿区西新宿2-8-1
^b 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1
^c 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科

真菌：皮膚糸状菌

2) 動物園等のふれあい展示

細菌：サルモネラ属菌，*C. jejuni/coli*，病原大腸菌
(病原大腸菌が検出された場合は抗菌薬を投与した後，再検査により治療効果の確認を実施)

3. 検体採取

各施設について，事前に採取方法の説明を受けた施設スタッフが以下の方法で検体を採取した．なお，各検体は採取後4℃(糞便検体)及び室温(被毛検体)で保存した．

1) ペットショップ

糞便検体：排便直後の糞便(母指頭大)をグリセリン保存液10 mL入り採便管(細菌検査用)と軟膏ビン(寄生虫検査用)に採取した．

被毛検体：検体回収日の7日前から当日にかけて行ったブラッシング時に抜けた被毛を静電気防止スプレー済みの50 mL遠心管に採取した．

2) 動物園等

検体回収日の前日，又は当日に検査対象動物の直腸からシードスワブにて採取した．

4. 試験方法

1) 細菌

採便管についてはグリセリン保存液，シードスワブについては滅菌生理食塩水5 mLに懸濁した試料を供試した．

(1) **サルモネラ属菌** サルモネラ・シゲラ(SS)寒天培地(栄研化学)を用いた分離培養(直接/増菌)を行った．直接分離では試料一滴をSS寒天培地に直接塗布する方法を用い，増菌法では試料0.5 mLを12 mLのRappaport-Vassiliadis(RV)培地(OXOID)で37℃で一晩増菌後，増菌液をSS寒天培地へ一滴塗布する方法を実施した．それぞれ，37℃で一晩培養した後，サルモネラ属菌が疑われるコロニーを釣菌し，生化学的性状試験を実施した．同試験によりサルモネラ属菌になった場合，さらに，抗血清(デンカ生研)を用いた血清型別を行った．

(2) ***C. jejuni/coli*** Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA) 培地(OXOID)を用い分離培養(直接/増菌)を行った．直接分離では，試料一滴をCCDA培地に直接塗布する方法を用いた．また，増菌法では試料0.5 mLをプレストン培地(0.1 mLのプレストンカンピロバクター選択サプリメント(OXOID)，0.5 mLの馬脱繊維血液(日本バイオ)を添加した10 mLの普通ブイヨン(ニッスイ))を使用し，微好気条件で37℃一晩培養後の培養液をCCDA培地へ一滴塗布する方法を用いた．それぞれの試料を塗布したCCDA培地は37℃で2日間の微好気培養を行い，*C. jejuni/coli* が疑われるコロニーを確認した．次いで，暗視野顕微鏡を用いて菌の形状と運動性の確認を行い，該当する菌株についてはさらに種特異的PCR法^{1) 2)}による同定を行った．ここで*C. jejuni/coli* と同定された菌株について，市販の免疫血清(デンカ生研)を用いた受身血

球凝集反応(PHA)法により血清型別を行った．

(3) **黄色ブドウ球菌** 卵黄加マンニット食塩(MSEY)寒天培地(栄研化学)により分離培養(直接/増菌)を行った．直接分離では試料一滴をMSEY寒天培地に直接塗布し，増菌法では試料0.5 mLを12 mLの7.5%食塩加普通ブイヨン(ニッスイ)により37℃で一晩増菌後，増菌液一滴をMSEY培地へ塗布する方法を用いた．それぞれの試料を接種したMSEY培地は2日間培養した後，卵黄反応陽性となったコロニーを釣菌し，生化学的性状試験により同定を行った．

(4) ***Y. enterocolitica*** 試料0.5 mLを12 mLの1/15 Mリン酸緩衝液に加え，4℃で21日間培養後，Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin(CIN)寒天培地(OXOID)に一滴塗布し，30℃で2日間培養することにより検出を行った(直接分離)．分離培養により*Y. enterocolitica* が疑われるコロニーを確認した場合，生化学的性状試験により同定を行った．ここで*Y. enterocolitica* であると同定された場合は，さらに市販の免疫血清(デンカ生研)を用いたスライド凝集法により血清群型別を行った．

(5) **病原大腸菌** 試料0.5 mLを12 mLの*Escherichia coli*(EC)培地(栄研化学)に加え，37℃で一晩増菌培養を行った．増菌液の一部からアルカリ・熱抽出法にてDNAを抽出し，PCR法を用いたETEC(LT, STh, STp遺伝子)，EPEC(*bfp*, *eae*)，及びEHEC(VT遺伝子)の確認(PCR法によるスクリーニング)を行った^{3) 5)}．PCRスクリーニングで遺伝子が陽性となった増菌液については，Deoxycholate-hydrogen sulfide-lactose(DHL)寒天培地(栄研化学)を用いたETEC，EPEC，EHECの分離培養を行った．37℃で一晩培養したDHL寒天培地上で大腸菌が疑われるコロニーを釣菌し，改めてPCR法による各種遺伝子の検出と，生化学的性状試験による同定を行った．ここで病原大腸菌と確定された菌株は，さらに抗血清(デンカ生研)を用いた血清型別を行うとともにEHECについては逆受身ラテックス凝集法(デンカ生研)によるVT1，VT2の産生性を確認した．

なお，動物園等における病原大腸菌の再検査では，PCRスクリーニングをもって病原体保有の有無を評価した．

2) 寄生虫

(1) **回虫及びトキソプラズマ** 糞便0.5 gを試験管に入れ，10%ホルマリン水7 mLを加えてかくはんした後，ガーゼでろ過した．次いで，エーテル3 mLを加えて振とうし，2,000 rpmで5分間遠心した後，得られた沈さを鏡検し，回虫卵およびトキソプラズマオーシストの有無を観察した．

(2) **ジアルジア** 回虫検査で得られた沈さについて，ジアルジア検出用標識試薬 Aqua-Glo G/C Direct FL reagent Kit (Waterborne)を用いて蛍光抗体染色し，ジアルジアシストの有無を観察した．シストが検出された場合は，ジアルジア分離濃縮用免疫磁気ビーズDynabeads® GC-Combo(ベリタス)により精製を行った後，QIAamp

表 3. 販売業における動物由来感染症起因病原体の検出状況

検体の種類		検出検体数（％）											
		検体数	サルモネラ属菌	カンピロバクター・黄色ブドウ球菌	カンピロバクター・ジエジュニ	エルシニアエンテロコリチカ	病原大腸菌			回虫	ジアルジア	トキソプラズマ	皮膚糸状菌
							ETEC	EPEC	EHEC				
犬	糞便	47	1 (2.1)	0	1 (2.1)	1 (2.1)	1 (2.1)	0	0	17 (36.2)	－	－	
	被毛	47	－	－	－	－	－	－	－	－	－	3 (6.4)	
猫	糞便	27	0	0	0	0	0	0	0	1 (3.7)	0	－	
	被毛	27	－	－	－	－	－	－	－	－	－	9 (33.3)	
合計	糞便	74	1 (1.4)	0	1 (1.4)	1 (1.4)	1 (1.4)	0	0	18 (24.3)	0	－	
	被毛	74	－	－	－	－	－	－	－	－	－	12 (16.2)	

表 4. 展示業における動物由来感染症起因病原体の検出状況

施設名	動物の種類	供試頭数	検査項目検出検体数 (%)					
			サルモネラ属菌	カンピロバクター・ジエジユニ	カンピロバクター・コリ	病原大腸菌		
						ETEC	EPEC	EHEC
A	山羊	5	0	0	0	0	0	3 (60)
	羊	4	0	0	0	0	0	4 (100)
B	山羊	4	0	0	0	0	0	0
合計	山羊	9	0	0	0	0	0	3 (33.3)
	羊	4	0	0	0	0	0	4 (100)

表5. A展示施設における病原大腸菌EHECの検出状況

動物の種類	血清型	VT 型
山羊 2	OUT:H2	VT1
山羊 3	OUT:NM	VT1,2
山羊 5	O91:NM	VT2
羊 1	OUT:NM	VT1
羊 2	OUT:NM	VT1
羊 3	OUT:NM	VT1
羊 4	OUT:NM	VT1,2

DNA Mini Kit (QIAGEN) により核酸を抽出した。次いで、PCR法によるジアルジアの18S rRNA遺伝子についてPCRダイレクトシーケンス法による塩基配列の解析を行い、遺伝子型を決定した⁶⁾。

3) 真菌 (皮膚糸状菌)

採取した被毛検体全量を滅菌生理食塩水で振り出し、振り出し液1 mLをクロラムフェニコール加ポテトデキストロース寒天培地 (栄研化学) 及びマイコセル寒天培地 (栄研化学) に塗布し、30°Cで7日間培養した。培養後、皮膚糸状菌が疑われたコロニーから観察用スライドを作成、光学顕微鏡による形状観察 (直接鏡検) を実施した。直接鏡検により皮膚糸状菌が疑われた菌株については、さらに

PCRダイレクトシーケンス法による塩基配列解析⁷⁻¹⁰⁾を実施した。

結果及び考察

1. 全体の病原体検出状況

調査の結果、都内ペットショップで採取した検体のうち、細菌検査ではサルモネラ属菌が糞便74検体中1検体（1.4%）、*Y. enterocolitica* が1検体（1.4%）、病原大腸菌はETECが1検体（1.4%）、EPECが1検体（1.4%）から検出され、*C. jejuni/coli* は検出されなかった。また、寄生虫検査ではジアルジアが18検体（24.3%）から検出され、真菌検査では皮膚糸状菌が被毛74検体中12検体（16.2%）から検出された（表3）。

一方、都内動物園等で採取した検体については病原大腸菌EHECが山羊9頭中3頭（33.3%）、羊4頭中4頭（100%）から検出された（表4、表5）。また、これら陽性検体は施設Aのみで認められ、施設Bでは検出されなかった。

2. 検出された病原体の詳細

1) 都内ペットショップでの検出状況

(1) 細菌 犬1頭から検出されたサルモネラ属菌は、血清型は*Salmonella* Bareillyであった。また、犬1頭から検出された*Y. enterocolitica* は血清型はO9群であった。さらに、ETEC及びEPECが犬1頭からそれぞれ検出され、血清型はO128:HUTとO115:HUTであった。

(2) 寄生虫 ジアルジアが犬17頭、猫1頭から検出され、すべて*Giardia intestinalis*であった。また、検出されたジアルジアの遺伝子型は犬においてAssemblage Cが3検体、Assemblage Dが15検体であり、猫ではAssemblage Fであった。なお、犬1検体については、Assemblage CとDが同時に検出された。

(3) 真菌 皮膚糸状菌は犬3頭、猫9頭から検出され、すべて*Microsporum* 属であった。このうち、同一のペットショップで犬2頭、猫4頭から*Microsporum* 属が検出された事例が認められ、出生地の異なる複数の動物で感染が判明した。この事例においては、ペットショップ内での交差感染の可能性が疑われ、従業員の手指やケージ等の設備を介した交差感染の防止等、飼育方法に関する注意喚起が改めて必要であると考えられた。あわせて、施設内に病原体が持ち込まれることを前提とした検疫体制の整備についても、継続して助言していくことが必要であると考えられた。

2) 都内動物園等でのEHEC検出状況

施設Aで検出されたEHECの血清型は、山羊ではOUT:H2、OUT:NM及びO91:NM、羊ではOUT:NMであり、O及びH抗原の血清が共に決定した株は認められなかった。また、EHEC陽性結果を受け、施設AではEHEC陽性個体に対して治療を実施し、除菌確認の再検査を実施した。その結果、羊2の再検査（前日便）でVT遺伝子が検出され、再検査（当日便）は陰性であった（表6）。

調査対象となった動物園等では、日常的に動物とのふれ

表 6. A 展示施設における病原大腸菌 EHEC の消長

動物の種類	初回検査結果	治療	再検査結果	
			前日便	当日便
山羊 1	(-)			
山羊 2	(+)	●	(-)	(-)
山羊 3	(+)	●	(-)	(-)
山羊 4	(-)			
山羊 5	(+)	●	(-)	(-)
羊 1	(+)	●	(-)	(-)
羊 2	(+)	●	遺伝子 (+)	(-)
羊 3	(+)	●	(-)	(-)
羊 4	(+)	●	(-)	(-)

●：治療実施（エンロフロキサシン 5 mg/kg/day、皮下注射）

あい活動が行われていた。このことから、動物の飼養環境整備のみならず、来場者に対する手洗いの徹底等、動物由来感染症の蔓延防止の観点から、より一層の衛生意識向上に資する普及啓発を実施するよう、施設管理者に対して指導、助言していくことが必要と考えられた。

ま と め

令和元年度に、都内ペットショップで販売されていた動物74頭及び都内動物園等でふれあい展示されていた動物13頭について、動物由来感染症の病原体保有状況調査を実施した。その結果、ペットショップで飼養されていた動物から、サルモネラ属菌、*Y. enterocolitica*、病原大腸菌（ETEC及びEPEC）、ジアルジア、皮膚糸状菌が検出され、動物園等で飼養されていた動物の糞便からはEHECが検出された。

検査結果及び各施設における飼養状況等から、人の手指や施設、環境などからの交差感染が考えられ、動物由来感染症の予防体制確立に向け、ホームページでの調査結果の公表や動物由来感染症予防関係資材の配布といった普及啓発が必要と考えられた。また、動物とのふれあいを行う前後に、施設管理者による来場者等への手洗いの徹底を行政が啓発することで、人と動物双方の感染予防に取り組むことが必要であると考えられた。

謝 辞

本調査は東京都動物由来感染症検討会の助言のもと実施した。委員である味澤篤氏（北療育医療センター院長）、今岡浩一氏（国立感染症研究所獣医科学部第一室長）、貞升健志氏（東京都健康安全研究センター微生物部長）、佐藤克氏（公益社団法人東京都獣医師会危機管理室感染症対策セッション長）、中村ふくみ氏（東京都立墨東病院感染症科部長）、源真希氏（東京都西多摩保健所保健対策課長）に深謝する。

文 献

- 1) Winters, D.K., Slavik, M.F.: *Mol. Cell Probe*, **9**, 307-310, 1995.
- 2) Linton, D., Lawon, A.D., Owen, R.J., *et al.*: *J. Clin. Microbiol.*, **35**, 2568-2572, 1997.
- 3) Karch, H, Meyer, T.: *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 2751-2757, 1989.
- 4) 伊藤文明：日本臨床, **50**, 343-347, 1992.
- 5) Abe, A., Obata, H., Matsushita., *et al.*: *Zentralbl. Bakteri.*, **277**, 170-178, 1992.
- 6) van der Giessen J.W., de Vries A., Roos M., *et al.*: *Int. J. Parasitol.*, **36**, 849-858, 2006.
- 7) Makimura, K., Tamura, Y., Mochizuki, T., *et al.*: *J. Clin. Microbiol.*, **37**, 920-924, 1999.
- 8) Makimura, K., Tamura, Y., Murakami, A., *et al.*: *Microbiol. Immunol.* **45**, 209-216, 2001.
- 9) 望月 隆, 杉田泰之, 榎村浩一, 他: 真菌誌, **42**, 81-86, 2001.
- 10) Glass, N.L., Donaldson, G.C.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 1323-1330, 1995.

Surveillance of Zoonotic Pathogens Carried by Animals in Petting Zoos and Pet Shops in Tokyo in FY2019

Takafumi ANEKAWA^a, Tomoko YONEYAMA^a, Kai KOBAYASHI^b, Hiroaki KUBOTA^b, Rie MURATA^b,
Yukihiro KODO^b, Satomi UEHARA^b and Yumi TAKAHASHI^b

For many years, the Tokyo Metropolitan Government has been conducting surveillance of zoonotic pathogens to prevent zoonotic diseases caused by close contact between people and pets, or animals kept in petting zoos. Here, we report the presence of zoonotic pathogens carried by animals in pet shops [47 dogs (47 fecal specimens and 47 hair coat specimens) and 27 cats (27 fecal specimens and 27 hair coat specimens)] and petting zoos [9 goats (15 fecal specimens), 4 sheep (12 fecal specimens)], investigated in FY2019. From the pet shop animals, we isolated *Salmonella* sp. (from 1 dog fecal specimen), *Yersinia enterocolitica* (from 1 dog fecal specimen), pathogenic *Escherichia coli* (from 2 dogs), *Giardia* (from 17 dog and 1 cat fecal specimens), and dermatophytes (from 3 dog and 9 cat hair coat specimens). From the petting zoo animals, we isolated pathogenic *Escherichia coli* from 3 goat and 4 sheep specimens. Our results demonstrate the potential risks of zoonotic pathogen infections via animals in pet shops and petting zoos, highlighting the importance of quarantine, hygiene management, and sanitation guidance for contact with animals in these facilities.

Keywords: zoonotic diseases, animal handling business, pet shops, petting zoos, *Salmonella* sp., *Yersinia enterocolitica*, pathogenic *Escherichia coli*, *Giardia*, dermatophytes

a Bureau of Social Welfare and Public Health,
Tokyo Metropolitan Government 8-1 Nishi-Shinjuku 2-chome, Tokyo 163-8001, Japan

b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan