# 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2年度~令和4年度)

酒井 泰行<sup>a</sup>,鮫田 英治<sup>a</sup>,小林 甲斐<sup>b</sup>,久保田 寛顕<sup>b</sup>,森 功次<sup>b</sup>,村田 理恵<sup>b</sup>,神門 幸大<sup>b</sup>,上原 さとみ<sup>c</sup>,高橋 由美<sup>c</sup>,和田 紀乃<sup>c</sup>

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2年度から令和4年度までに都内ペットショップで販売されていた犬133頭及び猫101頭と、都内動物園等でふれあい展示されていた動物26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、ペットショップで販売されていた動物から、サルモネラ属菌(犬1検体)、病原大腸菌(犬22検体、猫2検体)、犬小回虫卵(犬1検体)、ジアルジア(犬32検体、猫9検体)、糞線虫(犬2検体)、皮膚糸状菌(犬12検体、猫14検体)が検出された。また、動物園等でふれあい展示されていた動物からは、病原大腸菌(山羊1頭、羊6頭)が検出された。このように、動物取扱業の取扱動物は動物由来感染症の病原体を保有している場合がある。施設管理者へは施設内で交差感染により感染が広がる可能性があることを啓発し、適正な衛生管理を引き続き指導するとともに、動物由来感染症について都民に対し普及啓発することが重要と考えられた。

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,病原大腸菌,犬小回虫,ジアルジア,糞線虫,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、都民が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、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2年度から令和4年度まで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.

## 実 験 方 法

# 1. 調査対象

令和2年度から令和4年度までに、都内のペットショップ

24軒と動物園等3か所(A, B及びC施設)で販売・展示されていた動物を対象に調査した. なお, A及びB施設は令和2年度及び令和3年度に, C施設は令和4年度に調査を行った. ペットショップでは, 販売されていた犬133頭(糞便129検体, 被毛125検体), 猫101頭(糞便99検体, 被毛98検体)から採取した検体を供試した. また, 動物園等ではふれあい展示に供されていた山羊17頭(糞便17検体), 羊9頭(糞便9検体)から採取した検体を供試した(表1,表2).

なお、寄生虫の検査は、犬3検体及び猫2検体が検体量不足のため、検体数は計223検体であり、糞線虫の検査は、 令和3年度から実施したため、検体数は151検体である.

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	133	129*1	125
猫	101	99*2	98

\*1: 寄生虫検査の検体数は126検体, 糞線虫検査の検体数は86検体.

\*2: 寄生虫検査の検体数は97検体, 糞線虫検査の検体数は65検体.

- a 東京都保健医療局健康安全部 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
- 。 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

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	
A	山羊	2	2	
(R2)	羊	2	2	
A	山羊	2	2	
(R3)	羊	2	2	
В	山羊	5	5	
(R2)	ш+	3	3	
В	山羊	5	5	
(R3)	ш+	3	3	
С	山羊	3	3	
	羊	5	5	
	計	26	26	

## 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,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(犬・猫回虫・犬小回虫),ジアルジア, 糞線虫,トキソプラズマ(猫のみ) ただし,糞線虫については,令和3年度から検査

真菌:皮膚糸状菌

項目に加えた.

# 2) 動物園等

細菌:サルモネラ属菌,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確認のための検査を 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)又は室温(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)により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と確定した場合、さらに、抗血清(デンカ生研)を用いた血清型別を行った。
- (2) 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<sup>1-3)</sup>. 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.

動物園等のふれあい動物から病原大腸菌が検出された場合には、エンロフロキサシン(5 mg/kg/day)の皮下注射による治療終了後、48時間以上経過した後に24時間以上の間隔を置いた連続2回の糞便の再検査を実施した。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, 回虫卵及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 DNA Mini Kit (QIAGEN) により核酸を抽出した。次いで,既報<sup>4)</sup>の方法によりジアルジアの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.

(3) **糞線虫** 母指頭大の糞便を普通寒天培地(栄研化学)の中心に置き37℃で24-48時間培養後,培地表面を実体顕微鏡で観察し虫体検出を行った.虫体が検出された場合には、QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN)を用いて虫体から核酸を抽出し、ミトコンドリアDNA coxIまたは18S rRNA遺伝子のPCRダイレクトシーケンス法で得られた塩基配列の解析により虫種同定を実施した5-7).

# 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7-14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8-11)により菌種同定を行った.

## 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228検体中1検体

(0.4%),病原大腸菌はETECが18検体(7.9%), EPECが6検体(2.6%)から検出され、EHECは検出されなかった.また,寄生虫検査では犬小回虫卵が1検体(0.4%),糞線虫が2検体(1.3%),ジアルジアが41検体(18.4%)から検出された.真菌検査では皮膚糸状菌が被毛223検体中26検体(11.7%)から検出された(表3).

一方,動物園等で採取した検体についてはEHECが山羊 17頭中1頭 (5.9%) , 羊9頭中6頭 (66.7%) から検出された (表4, 表5) .

#### 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 Livingstoneであった. さらに, ETECが犬17頭, 猫1頭及びEPECが犬5頭, 猫1頭から検出された.
- (2) **寄生虫** 犬小回虫卵が犬1頭から検出された. 糞線虫が犬2頭から検出され、すべて*Strongyloides stercoralis*であった. さらに、ジアルジアが犬32頭、猫9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10検体、Assemblage Dが22検体であり、猫ではAssemblage Aが3検体、Assemblage Bが1検体、Assemblage Fが5検体であった.

						検出	  検体数(9	%)			
				[病原大腸菌]			寄生虫*1				
検 体の 種類	検 体 数	サルモネラ属菌	ETEC	EPEC	ЕНЕС	回虫卵	ジアルジア	糞線虫	トキソプラズマ	皮膚糸状菌	
_1>	糞便	129	1 (0.8)	17 (13.2)	5 (3.9)	0	1*2 (0.8)	32 (25.4)	2 (2.3)	_	_
犬	被 毛	125	_	_	_	_	_	_	_	_	12 (9.6)
X <del>II.</del>	糞便	99	0	1 (1.0)	1 (1.0)	0	0	9 (9.3)	0	0	_
猫	被毛	98	_	_	_	_	_	_	_	_	14 (14.3)
合	糞便	228	1 (0.4)	18 (7.9)	6 (2.6)	0	1*2 (0.4)	41 (18.4)	2 (1.3)	0	_
合計	被毛	223	_	_	_	_	_	_	_	_	26 (11.7)

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

<sup>\*&</sup>lt;sup>1</sup>:寄生虫検査(糞線虫を除く)の検体数は、糞便223検体(犬126検体、猫97検体)、糞線虫検査の検体数は、糞便151検体 (犬86検体、猫65検体).

<sup>\*2:</sup> 犬小回虫卵

		供試頭数	検査項目検出検体数(%)				
施設名	動物の種類		サルモネラ	病原大腸菌			
			属菌	ETEC	EPEC	EHEC	
A	山羊	2	0	0	0	0	
(R2)	羊	2	0	0	0	2 (100)	
A	山羊	2	0	0	0	0	
(R3)	羊	2	0	0	0	0	
B (R2)	山羊	5	0	0	0	0	
B (R3)	山羊	5	0	0	0	0	
С	山羊	3	0	0	0	1 (33.3)	
	羊	5	0	0	0	4 (80.0)	
△⇒1.	山羊	17	0	0	0	1 (5.9)	
合計	羊	9	0	0	0	6 (66.7)	

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

表5. A, C展示施設における病原大腸菌EHECの検出状況と 治療後の検出状況

動物の	初回	VT 型	治療 -	再検査結果		
種類	検査結果	VI ±	111/5	1回目	2回目	
A 山羊 1	(-)		•	(-)	(-)	
A 山羊 2	(-)		•	(-)	(-)	
A 羊 1	(+)	VT1,2	•	(-)	(-)	
A 羊 2	(+)	VT1	•	(-)	(-)	
C 山羊 1	(+)	VT1	•	(-)	(-)	
C 山羊 2	(-)			(-)	(-)	
C 山羊 3	(-)			(-)	(-1)	
C 羊 1	(+)	VT1	•	(-)	(-)	
C 羊 2	(-)			(-)	(-)	
C 羊 3	(+)	VT2	•	(-)	(-)	
C 羊 4	(+)	VT2	•	(-)	(-)	
C 羊 5	(+)	VT2	•	(-)	(-1)	

●:治療実施(エンロフロキサシン5 mg/kg/day, 皮下注射)

(3) 真菌 皮膚糸状菌は犬12頭,猫14頭から検出され,すべてMicrosporum canisであった.24軒のペットショップのうち9軒から皮膚糸状菌が検出され,このうち,7軒のペットショップで複数頭からMicrosporum canis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) 動物園等でのEHEC検出状況

施設Aでは、羊2頭からEHECが検出され、施設Cでは山

羊1頭, 羊4頭からEHECが検出された.また,EHEC陽性結果を受け,施設A及びCではEHEC陽性個体に対して治療を実施した結果,すべての再検査(1回目及び2回目)でEHEC陰性であった(表5).なお,施設Aでは,同居個体の隔離が施設の構造上困難であったため,同居の陰性個体にも予防的に投与を行った.

調査対象となった動物園等では、日常的に動物とのふれ 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2年度から令和4年度までに、都内ペットショップで販売されていた動物234頭及び都内動物園等でふれあい展示されていた動物26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、ペットショップで販売されていた動物から、サルモネラ属菌、病原大腸菌(ETEC及びEPEC)、犬小回虫卵、ジアルジア、糞線虫、皮膚糸状菌が検出され、動物園等でふれあい展示されていた動物の糞便からは病原大腸菌(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た。そのため, 事業者に施設内の衛生管理及び来場者の動物とのふれあい の前後での手洗いの徹底を指導,啓発することが重要と考 えられた。また,調査結果をホームページで公表するほか, 動物由来感染症啓発資材を活用して,都民への一層の普及 啓発を行い,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

本調査の実施にあたり,助言いただいた東京都動物由来 感染症検討会委員の皆様に深謝いたします.

# 文 献

- 1) Karch, H, Meyer, T.: *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 2751–2757, 1989.
- 2) 伊藤文明:日本臨床, 50,343-347,1992.
- 3) Abe, A., Obata, H., Matsushita., et al.: Zentralbl. Bakteriol., 277, 170–178, 1992.
- 4) van der Giessen J.W., de Vries A., Roos M., *et al.*: *Int. J. Parasitol*, **36**, 849–858, 2006.
- 5) Hasegawa, H., Sato, H., Fujita, S., et al.: Parasitol. Int., **59**, 407–413, 2010.

- Holterman, M., van der Wurff, A., van den Elsen, S., et al.: Mol. Biol. Evol., 23, 1792–800, 2006.
- Ko, P.P., Suzuki, K., Canales-Ramos, M., et al.: Parasitol. Int., 78, 102151, 2020.
- 8) Makimura, K., Tamura, Y., Mochizuki, T., *et al.*: *J. Clin. Microbiol.*, **37**, 920–924, 1999.
- 9) Makimura, K., Tamura, Y., Murakami, A., et al.: Microbiol. Immunol. 45, 209–216, 2001.
- 10) 望月 隆, 杉田泰之, 槙村浩一, 他: 真菌誌, **42**, 81-86, 2001.
- 11) 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 (April 2020 – March 2023)

Yasuyuki SAKAI<sup>a</sup>, Eiji SAMEDA<sup>a</sup>, Kai KOBAYASHI<sup>b</sup>, Hiroaki KUBOTA<sup>b</sup>, Kohji MORI<sup>b</sup>, Rie MURATA<sup>b</sup>, Yukihiro KODO<sup>b</sup>, Satomi UEHARA<sup>b</sup>, Yumi TAKAHASHI<sup>b</sup>, and Kotono WADA<sup>b</sup>

The Tokyo Metropolitan Government has been conducting surveillance of zoonotic pathogens among pets or animals kept in petting zoos under an implementation guideline for preventing zoonotic diseases. Zoonotic pathogens carried by animals were found from April 2020 to March 2023 in pet shops, including 133 dogs (129 fecal specimens and 125 hair coat specimens) and 101 cats (99 fecal specimens and 98 hair coat specimens), and petting zoos, including 17 goats (27 fecal specimens) and 9 sheep (23 fecal specimens). We detected *Salmonella* sp. (from 1 dog fecal specimen), pathogenic *Escherichia coli* (from 22 dog and 2 cat fecal specimens), *Toxascaris leonina* eggs (from 1 dog fecal specimen), *Giardia intestinalis* (from 32 dog and 9 cat fecal specimens), *Strongyloides stercoralis* (from 2 dog fecal specimens), and dermatophytes (from 12 dog and 14 cat hair coat specimens) from the pet shop animals. We isolated pathogenic *E. coli* from 1 goat and 6 sheep specimens. Animals in pet shops or petting zoos sometimes carry zoonotic pathogens, as shown by our investigation. Thus, a continuous notification of the importance of appropriate hygiene control to their administrators is necessary to prevent the spread of pathogens through cross infections. In addition, raising public awareness about zoonotic diseases in Tokyo is important.

**Keywords**: zoonotic disease, animal handling business, pet shop, petting zoo, *Salmonella* sp., pathogenic *Escherichia coli*, *Toxascaris leonina*, *Giardia intestinalis*, *Strongyloides stercoralis*, dermatophyte

a Bureau of Public Health,

Tokyo Metropolitan Government 8-1 Nishi-Shinjuku 2-chome, Shinjuku-ku, Tokyo 163-8001, Japan

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