

氏 名 (本籍)	中 臺 文 (神奈川県)
学 位 の 種 類	博士 (獣医)
学 位 記 番 号	獣医博甲第 2 2 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 1 9 年 3 月 1 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 3 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	東京農工大学
学 位 論 文 題 目	爬虫類における <i>Salmonella</i> 保有に関する研究
審 査 委 員	主査 東京農工大学 教授 小 原 嘉 明 副査 帯広畜産大学 教授 武 士 甲 一 副査 岩 手 大 学 教 授 品 川 邦 汎 副査 東京農工大学 教授 廣 田 好 和 副査 岐 阜 大 学 教 授 杉 山 誠

論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、欧米諸国では、爬虫類のペットとしての人気が高まる一方、これら爬虫類に起因する人のサルモネラ症が数多く報告されるようになった。わが国においても、欧米諸国と同様に、さまざまな爬虫類がペットとして飼育されるようになっており、これら爬虫類が人のサルモネラ症の感染源となる可能性が危惧されるが、わが国で飼育される爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有実態については依然不明のままである。

本研究ではペットとして飼育される爬虫類から人への *Salmonella* 属菌の感染予防対策を図るため、わが国でペットとして飼育される爬虫類、わが国に輸入された直後の爬虫類および日本とベトナムに生息する野生の爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有実態を明らかにするとともに、これら爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有のメカニズムを解明するための調査・研究を行い、以下の成績を得た。

1. わが国でペットとして飼育される爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有状況

2000 年 11 月～2002 年 7 月の間にわが国のペットショップで販売されていた爬虫類 49 種 100 検体および 2001 年 5 月～2002 年 7 月ならびに 2005 年 6 月～2006 年 7 月の間に一般家庭で飼育されていた爬虫類 31 種 127 検体の計 227 検体における *Salmonella* 属菌の保有状況を検討した。その結果、ペットショップ検体の 80.0%ならびに家庭飼育検体の 31.5%から本属菌が分離された。分離された 161 株の生物群は、人や家畜から分離されることの多い I 群が 57.1%で最も多く、型別された 33 血清型には、爬虫類に起因する人のサルモネラ症の原因菌として報告のある血清型や、わが国の胃腸炎患者からの分離頻度の高い血清

型が含まれていた。これらのことから、わが国でペットとして飼育される爬虫類は人のサルモネラ症と関連の深い生物群や血清型の *Salmonella* 属菌を高率に保有していることが明らかとなった。

2. わが国にペットとして輸入された爬虫類の輸入直後における *Salmonella* 属菌の保有状況

2001 年および 2004 年にわが国に輸入された爬虫類 28 種 91 検体の輸入直後における *Salmonella* 属菌の保有状況を検討した。その結果、調査検体の 56.0% から本属菌が分離された。分離された 66 株の生物群は I 群が 59.1% で最も多く、その生物群の分布についてはペットショップ検体および家庭飼育検体から分離されたものと類似していた。型別された 18 血清型には、ペットショップ検体および家庭飼育検体由来株の血清型と共通のものも含まれていた。これらのことから、わが国にペットとして輸入される爬虫類は、輸入される以前からすでに *Salmonella* 属菌を高率に保有していることが明らかとなった。

3. 日本およびベトナムの野生爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有状況

2001 年 4 月～2006 年 7 月の間に日本で捕獲した 14 種 754 検体、および 2003 年 9 月ならびに 2004 年 4 月にベトナム・メコンデルタ地域で捕獲した 8 種 487 検体の計 1,241 検体の野生爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有状況を検討した。その結果、それぞれ調査検体の 25.3% および 38.2% から本属菌が分離された。分離株の生物群は、日本産爬虫類由来の 222 株では IIIb 群が 59.9% で最も多かったのに対し、ベトナム産爬虫類由来の 221 株では I 群が 79.2% で最も多く、その分布の姿は日本とベトナムでは異なっていた。また、日本産爬虫類由来株は 11 種類、ベトナム産爬虫類由来株は 13 種類の血清型に型別され、ベトナム産爬虫類由来株の血清型には、ベトナム・メコンデルタ地域の家畜、食品および環境からの分離報告がある血清型も多く含まれていた。これらのことから、爬虫類は野生の状態ですでに *Salmonella* 属菌を高率に保有していることが明らかとなり、その保有については生息する環境からの影響を受けている可能性が示唆された。

4. 爬虫類から分離された *Salmonella* 属菌の薬剤感受性

日本およびベトナム・メコンデルタ地域の野生爬虫類ならびにベトナム・メコンデルタ地域の環境水から分離された *Salmonella* 属菌について薬剤感受性試験を行った。その結果、環境水由来の 25 株はその 8.0% がアンピシリン、ストレプトマイシン、カナマイシン、オキシテトラサイクリン、クロラムフェニコールおよびナリジクス酸のいずれかに耐性を示したのに対し、日本産およびベトナム産爬虫類由来株からは、耐性菌は全く検出されなかった。ベトナム・メコンデルタ地域の食品、家畜および下痢患者由来株からは 6.9%～26.8% の割合で耐性菌が検出されていることから、野生爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有は、必ずしも環境からの影響によるものだけとはいえず、爬虫類の個体間での水平感染や垂直感染などによっても起こる可能性があると考えられた。また、ペットショップおよび家庭の爬虫類由来株ならびに輸入直後の爬虫類由来株の薬剤感受性についても検討したところ、それぞれ 2.5% と 7.6% の割合で薬剤耐性菌が検出された。人や家畜からの検出頻度の低い生物群 II や IIIb の耐性菌も検出されたことから、繁殖農場やペットショップなどにおいて抗生物質が使用されたことにより、爬虫類が保有していた *Salmonella* 属菌が耐性を獲得した可能性があると思われた。

5. 野生ヘビ類における *Salmonella* 属菌の保有のメカニズム

卵を保有していた野生のシマヘビ 10 検体とこれらの母ヘビから得られた 57 個の卵から自然孵化した子ヘビについて、本属菌の保有状況と分離された *Salmonella* 属菌の遺伝学的関連性を検討した。その結果、*Salmonella* 属菌陽性であった母ヘビ由来の子ヘビはいずれも 50～100% が本属菌を保有しており、母子の分離株の RAPD 法による分子遺伝学的解析で、その 50% において同一のパターンが認められた。しかし、*Salmonella* 属菌陰性であった母ヘビ由来の子ヘビからは本属菌は分離されなかった。一方、産卵直前の母ヘビ 3 検体の卵管内から摘出した卵 8 個からは、母ヘビが *Salmonella* 属菌を排菌していたにもかかわらず、本属菌は分離されなかった。また、孵化後の子ヘビ 25 検体は、そのほとんどが生後 310 日以上にわたり $10^4 \sim 10^9$ CFU/g と多量の菌を排菌していた。これらのことから、ヘビ類では母子間での垂直感染が成立しており、さらに子ヘビは孵化後、長期間にわたり多量の *Salmonella* 属菌を排菌していたことから、爬虫類にとって本属菌は腸管内の常在菌となっている可能性が示唆された。

以上のように、本研究は爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有状況とその特徴を明らかにするとともに、爬虫類が本属菌を保有するメカニズムについて実験的に追究したものである。今後、ペットとして飼育される爬虫類から人への *Salmonella* 属菌の感染を予防することは公衆衛生上の重要な課題の一つであり、本研究で得られた成績は、その予防対策を図る上で貴重な知見を提供し得るものであると考える。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究はペットとして飼育される爬虫類から人への *Salmonella* 属菌の感染予防対策を図るため、わが国にペットとして流通する爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有状況を明らかにし、さらにこれら爬虫類が本属菌を保有するメカニズムについて検討したものである。

申請者はまず、わが国のペットショップおよび一般家庭で飼育されている爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有状況を調査した。その結果、これら爬虫類の 52.9% (120/227) から *Salmonella* 属菌が分離され、これらの爬虫類が *Salmonella* 属菌を高率に保有していることを明らかにした。

次に、ペットとして飼育される爬虫類への *Salmonella* 属菌の感染源および感染経路を明らかにする目的で、わが国に輸入された爬虫類の輸入直後における *Salmonella* 属菌の保有状況を調査した。その結果、輸入直後の爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有率は 56.0% (51/91) であり、これらの爬虫類は、わが国に輸入される以前からすでに *Salmonella* 属菌を高率に保有している可能性が高いことを指摘した。

次いで、野生爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有状況を明らかにする目的で、ベトナムおよび日本に生息する野生爬虫類を捕獲し、*Salmonella* 属菌の保有状況を調査した。その結果、ベトナムおよび日本の野生爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有率は、それぞれ 38.2% (186/487) および 25.3% (191/754) で、爬虫類は野生の状態ですでに *Salmonella* 属菌を高率に保有している

ことを明らかにした。

さらに、日本およびベトナムの野生爬虫類から分離された *Salmonella* 属菌について薬剤感受性試験を行い、薬剤耐性パターンを疫学マーカーとして、野生爬虫類の保有する *Salmonella* 属菌の感染源を検討した。その結果、日本およびベトナムの野生爬虫類由来株からは耐性菌は全く検出されなかった。しかし、野生爬虫類を取り巻く環境から分離される *Salmonella* 属菌には比較的高い割合で耐性菌が検出されることが報告されていることから、野生爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有は、環境からの影響によるものだけでなく、爬虫類の個体間での水平感染や垂直感染などによっても起こる可能性を指摘した。

最後に、爬虫類における *Salmonella* 属菌の伝播様式を明らかにするため、野生のヘビ類を用いて孵化直後の子ヘビにおける *Salmonella* 属菌の保有状況および排菌期間、ならびに母子の保有する菌株の遺伝学的関連性について検討した。その結果、*Salmonella* 属菌陽性の母ヘビから生まれた子ヘビではその 50～100% が孵化直後においてすでに本属菌を保有していたが、*Salmonella* 属菌陰性であった母ヘビから生まれた子ヘビからは本属菌が分離されなかったこと、また、母ヘビおよびその子ヘビの分離菌株の遺伝子型は多くの場合で一致していたことから、ヘビ類においては母子間で本属菌の垂直感染が成立している可能性が高いことを明らかにした。また、孵化後の子ヘビは多量の *Salmonella* 属菌を長期間にわたり排菌していたことから、*Salmonella* 属菌は爬虫類の腸管内の常在菌となっていることを指摘した。

以上のように、申請者はわが国でペットとして飼育される爬虫類における *Salmonella* 属菌の保有状況とその特徴を明らかにするとともに、爬虫類が *Salmonella* 属菌を保有するメカニズムについて実験的に追究した。本研究で得られた成績は、ペットとして飼育される爬虫類から人への *Salmonella* 属菌の感染予防対策を図る上で、貴重な知見を提供し得るものであると考えられる。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目：Prevalence of *Salmonella* spp. in pet reptiles in Japan

著 者 名：Nakadai, A., Kuroki, T., Kato, Y., Suzuki, R., Yamai, S., Yaginuma, C.,
Shiotani, R., Yamanouchi, A. and Hayashidani, H.

学術雑誌名：The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年：67(1)：97 - 101, 2005

- 2) 題 目：わが国に輸入されたカメおよびトカゲ類における *Salmonella* の保有状況

著 者 名：中臺 文，加藤行男，黒木俊郎，宇根有美，岩田剛敏，堀坂知子，中野康子，
名塚岳宏，小原嘉明，林谷秀樹

学術雑誌名：日本獣医師会雑誌

巻・号・頁・発行年：58(11)：768 - 772, 2005

既発表学術論文

- 1) 題 目：Sensitive and specific detection of *Yersinia pseudotuberculosis* by loop-mediated isothermal amplification

著 者 名：Horisaka, T., Fujita, K., Iwata, T., Nakadai, A., Okatani, A.T., Horikita, T., Taniguchi, T., Honda, E., Yokomizo, Y. and Hayashidani, H.

学術雑誌名：Journal of Clinical Microbiology

巻・号・頁・発行年：42(11)：5349 - 5352, 2004

- 2) 題 目：Yersinia enterocolitica serovar O:8 infection in breeding monkeys in Japan

著 者 名：Iwata, T., Une, Y., Okatani, A.T., Kaneko, S., Namai, S., Yoshida, S., Horisaka, T., Horikita, T., Nakadai, A. and Hayashidani, H.

学術雑誌名：Microbiology and Immunology

巻・号・頁・発行年：49(1)：1 - 7, 2005

- 3) 題 目：Prevalence of *Salmonella* spp. in rice-field rats in the Mekong Delta, Vietnam

著 者 名：Tran, T.P., Nguyen, T.T., Ly, T.L.K., Ogasawara, N., Nakadai, A., Iwata, T., Kamada, T. and Hayashidani, H.

学術雑誌名：The Journal of Veterinary Epidemiology

巻・号・頁・発行年：9(2)：85 - 88, 2005