

北海道の牛飼養農場及び周辺に生息する 野生動物のサルモネラ保菌状況

藤井 啓^{1)†} 尾上貞雄¹⁾ 佐鹿万里子²⁾ 小林恒平²⁾
今井邦俊³⁾ 山口英美³⁾ 仙名和浩¹⁾

1) 地方独立行政法人 北海道立総合研究機構 畜産試験場 (〒081-0038 上川郡新得町字
新得西5線39-1)

2) 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 (〒501-1193 岐阜市柳戸1-1)

3) 帯広畜産大学 (〒080-8555 帯広市稲田町西2線11)

(2011年3月10日受付・2011年10月5日受理)

要 約

北海道の牛飼養農場及びその周辺に生息するネズミ類267頭、アライグマ208頭、キタキツネ9頭、カラス類208羽、スズメ9羽、ドバト5羽のサルモネラ保菌状況を調査した。培養法によって、腸内容物及び脚表面からサルモネラの検出を行ったところ、カラス類14羽(6.7%)及びアライグマ11頭(5.2%)からサルモネラが分離された。分離株の血清型は、*Infantis* (カラス類), *Thompson*, *Agona*, *O4:i:-* (アライグマ), *Braenderup*, *Typhimurium* (両種)であった。これらの結果から、野生動物が牛におけるサルモネラの感染源になり得ることが示唆された。

—キーワード: 牛, カラス, 疫学, アライグマ, サルモネラ。

----- 日獣会誌 65, 118~121 (2012)

牛のサルモネラ (*Salmonella enterica*) 症は発熱、腸炎、敗血症、肺炎、脳炎、流産、乳房炎などの症状を呈し [1]、血清型 *Dublin*, *Enteritidis* 及び *Typhimurium* によるものは届出伝染病に指定されている。サルモネラは人の食中毒菌としても知られ、家畜の保菌は公衆衛生上、重要な問題となる [2]。牛でサルモネラ症が発生すると、発症牛の治療、保菌牛の隔離と除菌、牛舎環境の清掃・消毒、除菌困難な保菌牛の淘汰などの対応がとられ、農家の経済的損害及び精神的苦痛は大きい。国内の牛サルモネラ症の発生頭数は毎年400頭を超えており [3]、北海道においても、年間100~350頭程度の発生が認められる [4]。

サルモネラは宿主域が広く、これまでの調査においてさまざまな野生動物からサルモネラが分離されている [5-11]。牛舎にはさまざまな野生動物の侵入が日常的にみられ、野生動物は牛へのサルモネラの感染源の一つと考えられている [2] が、牛飼養農場やその周辺を調査地とした報告は限られており、牛への感染源としての野生動物の実態は明らかではない。そのため牛サルモネラ

症の効果的な予防対策を図る上で、野生動物のサルモネラ保菌状況を把握することは重要である。そこで、北海道の酪農及び肉牛農場とその周辺に出没する野生動物についてサルモネラ保菌状況を調査したので報告する。

材料及び方法

材料: 2008年6月から2010年11月の間に牛飼養農場及びその周辺で収集した野生動物の腸内容物及び脚表面を材料とした。なお、調査期間中に、材料収集を行った地域で牛サルモネラ症の発生は認められなかった。

ネズミ類 (ドブネズミ (*Rattus norvegicus*) 20頭、クマネズミ (*R. rattus*) 13頭、ハツカネズミ (*Mus musculus*) 126頭、エゾアカネズミ (*Apodemus speciosus ainu*) 32頭、ヒメネズミ (*A. argenteus*) 12頭、エゾヤチネズミ (*Clethrionomys rufocanus bedfordiae*) 64頭) は、十勝総合振興局管内 (十勝地域) 9市町村の15戸の酪農場と1戸の肉牛農場において捕獲した。捕獲したネズミ類は密閉容器を用いたクロロホルム過麻酔により安楽殺した。十勝地域の5市町村の牛飼養農場及び

† 連絡責任者: 藤井 啓 (地方独立行政法人 北海道立総合研究機構 畜産試験場)

〒081-0038 上川郡新得町字新得西5線39-1 ☎0156-64-0614 FAX 0155-64-6151
E-mail: fujii-kei@hro.or.jp

表1 牛飼養農場及びその周辺で採取された野生動物のサルモネラ保菌率

動物	収集地域	腸内容		脚表面		総計*		保菌率 (%)
		材料数	陽性数	材料数	陽性数	材料数	陽性数	
ドブネズミ	十勝	20	0	20	0	20	0	0
クマネズミ	十勝	13	0	13	0	13	0	0
ハツカネズミ	十勝	126	0	126	0	126	0	0
エゾアカネズミ	十勝	32	0	32	0	32	0	0
ヒメネズミ	十勝	12	0	12	0	12	0	0
エゾヤチネズミ	十勝	64	0	64	0	64	0	0
キタキツネ	十勝	9	0	9	0	9	0	0
アライグマ	十勝	53	7	53	1	53	7	13.2
アライグマ	道央	155	4	0	0	155	4	2.6
ハシボソガラス	十勝	134	4	134	3	134	6	4.5
ハシブトガラス	十勝	74	7	74	4	74	8	10.8
ドバト	十勝	5	0	5	0	5	0	0
スズメ	十勝	9	0	9	0	9	0	0

*腸内容, 脚表面の片方もしくは両者から菌の検出された材料を陽性とした

その周辺において駆除されたキタキツネ (*Vulpes vulpes schrencki*) 9頭, アライグマ (*Procyon lotor*) 53頭, カラス類 (ハシボソガラス (*Corvus corone*) 134羽, ハシブトガラス (*C. macrorhynchos*) 74羽, ドバト (*Columba livia*) 5羽の死体の提供を受けた。スズメ (*Passer montanus*) は十勝地域の牛飼養農場内で新鮮死体9羽を拾得した。さらに, 石狩振興局及び胆振総合振興局管内 (道央地域) 5市町村の牛飼養農場及びその周辺で駆除されたアライグマ155頭の提供も受けた。

腸内容材料として, ネズミ類及びスズメでは無菌的に摘出・細断した大腸1g (内容物を含む) 及びキタキツネ・アライグマ・カラス類・ドバトでは肛門もしくは総排泄口から滅菌綿棒で採取した直腸スワブを用いた。脚表面材料として, ネズミ類・カラス類・ドバト・スズメでは切断した脚を, キタキツネ・アライグマでは乾燥した滅菌綿棒で脚の裏の接地面及び趾間を拭ったスワブを用いた。

十勝地域で採取された材料の大半は4℃で保存し, 当日のうちに培養検査を開始した。道央地域の材料と十勝地域の材料の一部は, 検査されるまでの間-20℃で冷凍保存した。冷凍期間は5日から159日であった。

培養検査: 2008年に得られた材料は, 緩衝ペプトン水 (OXOID, 英国) 10mlで前増菌培養 (37℃, 18~24時間) した後, 前増菌した培養液1mlをテトラチオネート液体培地 (栄研化学株, 東京) 10mlに接種して選択増菌培養 (42℃, 18~24時間) した。その後, 培養液1白金耳を, ノボビオシン (シグマ アルドリッチ ジャパン株, 東京) 20µg/mlを加えたDHL寒天培地 (栄研化学株, 東京) 及びESサルモネラ寒天培地II (栄研化学株, 東京) に画線接種し, 分離培養 (37℃, 24

表2 野生動物から分離されたサルモネラの血清型

動物	収集地域	血清型	陽性数		
			腸内容	脚表面	総計*
アライグマ	十勝	Braenderup	2	1	2
		Thompson	3	0	3
		Typhimurium	2	0	2
アライグマ	道央	Agona	1	0	1
		O4:i:-	1	0	1
		不明	2	0	2
ハシボソガラス	十勝	Braenderup	0	1	1
		Infantis	4	2	5
ハシブトガラス	十勝	Infantis	7	3	7
		Typhimurium	0	1	1

*腸内容, 脚表面の片方もしくは両者から菌の検出された動物の個体数

~48時間) した。2009年以後は, 選択増菌にラポポートバシリアデイス培地 (栄研化学株, 東京もしくは株) アテクト, 大阪) を用いた。脚表面材料はEEM プイヨン培地 (栄研化学株) 10mlを用い, また冷凍保存を経た腸内容・脚表面材料は緩衝ペプトン水10mlを用いて前増菌を行った。その後, 前増菌した培養液0.1mlを選択増菌培地へ接種した。新鮮な腸内容材料は, 選択増菌培地へ直接接種した。

サルモネラを疑うコロニーが認められた場合, 各材料から3コロニーを純培養し, サルモネラ免疫多価血清 (デンカ生研株, 新潟) を用いてO抗原及びPCRにより *invA* 遺伝子 (タカラバイオ株, 滋賀) を検出し, 両方で陽性であった菌株を, サルモネラと同定した [12]。ただし, 血清型別ができなかった菌株 (後述) については, *invA* 遺伝子の検出に加え, TSI培地 (学研化学株, 東京) 及びLIM培地 (学研化学株, 東京) によって, 典型的なサルモネラの生化学性状を持つことを確認した。

血清型同定: 分離された菌株の血清型は, サルモネラ免疫血清及びサルモネラ相誘導用培地 (デンカ生研株, 新潟) を用いて同定した。

成 績

保菌率: サルモネラは, ハシボソガラス6羽 (4.5%), ハシブトガラス8羽 (10.8%), 十勝地域のアライグマ7頭 (13.2%), 道央地域のアライグマ4頭 (2.6%) から分離された (表1)。アライグマでは, 十勝で捕獲した1頭で腸内容と脚表面の両方から, その他は腸内容からのみサルモネラが分離された。カラス類では, 3羽は脚表面からのみ, 4羽は腸内容と脚表面の両方から, その他は腸内容からのみ分離された。

血清型: 分離された菌株の血清型は, Infantis (カラス類), Thompson, Agona, O4:i:- (アライグマ), Braenderup, Typhimurium (両種) の6種類であった

(表2). 道央地域のアライグマから分離された2株は市販血清で血清型別できなかった. 同一個体から複数の血清型のサルモネラは分離されなかった.

考 察

北海道の牛飼養農場及びその周辺に生息するカラス類とアライグマからサルモネラが分離された. 分離されたサルモネラは, 過去に牛から分離された報告のある血清型で [4], 牛へ感染し得ると考えられる. これらの野生動物の糞便中への排菌量や脚表面での運搬菌量は不明であるが, サルモネラは牛用飼料中で容易に増殖することが知られており [12], 牛舎へ日常的に侵入しているこれらの野生動物は, 牛にとってサルモネラの感染源となり得ると考えられる.

保菌が確認されたカラス類の21.4%で, 脚表面からのみ菌が検出された. これは, 動物が感染まで起こさずとも, サルモネラを体の表面に付着させ機械的に運搬し得ることを示唆している. 家畜への感染予防を考える際には, 糞便による飼料等の汚染だけでなく, 羽毛の混入や動物の踏み込みによる汚染も考慮する必要がある.

北海道のアライグマにおけるサルモネラ保菌が, 初めて確認された. 道央地域のアライグマの保菌率は十勝地域のそれより有意に低かった (χ^2 検定, $P < 0.05$). ただし, 道央地域の材料はすべて冷凍保存を経ており, 検出率が低下している可能性を考慮しておく必要がある. なお, 十勝の材料においても冷凍保存された6個体分はすべて陰性であった. 十勝地域におけるアライグマの保菌率 (13.2%) は, 関東での報告 (5.7%) [8] より高いが, 米国ではさらに高い保菌率 (31.1%) [13] が報告されている. 生息環境のサルモネラ汚染状況等によっては現在より高い保菌率にもなり得ると考えられる.

ハシボソガラスとハシブトガラスの保菌率の違いは有意ではなかった (χ^2 検定, $P > 0.05$). この両種は同所的に生息しており, 行動も似ている [14]. カラス類全体の保菌率は6.7%であり, 過去の北海道内(小樽)での報告 (6.7%) [9] と同程度であったが, 東京湾での報告 (0%) [11] より高かった.

ネズミ類は, サルモネラの感染源として重要視されている [5]. しかし, 本調査においては, ネズミ類からサルモネラは検出されなかった. 加藤ら [5] は, ネズミ類の保菌率が加齢に伴い増加しないことから, ネズミ類の保菌状況はその時の生息環境の汚染状況を反映することを示唆している.

本調査を行った期間, 当該農場や近隣農場でサルモネラ症は発生しておらず, 農場内やその周辺の環境におけるサルモネラ汚染は無かったか低かったと推察される. しかしながらカラス類やアライグマにおいて, サルモネラを保菌することが明らかとなった. 一方, ネズミ類以

外にも, キタキツネ, スズメ, ドバトからはサルモネラが分離されなかった. しかし, いずれの種も北海道内外でサルモネラが分離されていることから [5-7], 野生動物のサルモネラ保菌状況は, 継続的に監視を続け, 防疫に役立てていく必要がある.

稿を終えるにあたり, ネズミ類の捕獲に関するご指導をいただいた柳川 久教授 (帯広畜産大学), 敷地内での学術捕獲にご協力いただいた農家, 駆除個体を提供していただいた市町村及び十勝総合振興局, 道央圏のアライグマ材料の収集にご協力いただいた瀬戸静恵氏 (助自然公園財団) に深謝する. 本研究の大部分は, 科研費 (20880033) の助成を受けて実施した.

引用文献

- [1] 坪倉 操: 牛のサルモネラ症, 獣医伝染病学, 清水悠紀臣他編, 第5版, 122-123, 近代出版, 東京 (1999)
- [2] 佐藤静夫: 総論・サルモネラ症, 臨床獣医, 7, 23-28 (1989)
- [3] 矢田谷 健: 牛のサルモネラ症とその対策, 家畜衛生学雑誌, 35, 101-103 (2009)
- [4] 中岡祐司, 立花 智: 北海道における牛サルモネラ症の現状と対策, 家畜診療, 57, 279-285 (2010)
- [5] 加藤行男, 中井康博, 松下真紀, 高木敬彦, 光崎研一, 金内長司: ビル内飲食店と魚市場のネズミにおける *Salmonella* および *Campylobacter* 保菌状況, 日獣会誌, 52, 194-197 (1999)
- [6] Nagaya H, Shimizu K: *Salmonella* types in animals in Sapporo II, Jap J Vet Res, 4, 75-80 (1956)
- [7] 仁和岳史, 鈴木 智, 黒沢令子, 阿部 永, 三部あすか, 宇根有美, 泉谷秀昌, 渡辺治雄, 岡谷友三アレシャンドレ, 加藤行男: 北海道のスズメおよびその生息環境における *Salmonella* Typhimurium の汚染状況, 獣畜新報, 61, 213-214 (2008)
- [8] 李 謙一, 岩田剛敏, 中臺 文, 加藤卓也, 羽山伸一, 廣田好和, 林谷秀樹: アライグマおよびハクビシンにおける人獣共通感染症原因菌の保有状況, 獣畜新報, 61, 215-216 (2008)
- [9] Asagi M, Oka C, Sato G: Isolation of *Salmonella* Typhimurium var. copenhagen from crows in the city of Otaru, Jap J Vet Sci, 38, 521-522 (1976)
- [10] Tanaka C, Miyazawa T, Watarai M, Ishiguro N: Bacteriological survey of feces from feral pigeons in Japan, J Vet Med Sci, 67, 951-953 (2005)
- [11] Kobayashi H, Kanazaki M, Shimizu Y, Nakajima H, Khatun MM, Hata E, Kubo M: *Salmonella* isolates from cloacal swabs and footpads of wild birds in the immediate environment of Tokyo Bay, J Vet Med Sci, 69, 309-311 (2007)
- [12] 東郷真子, 寺田 修, 高久英徳: 根室管内における牛サルモネラ症対策と発生, 臨床獣医, 11, 21-26 (1993)
- [13] Morse EV, Midla DA, Kazacos KR: Raccoons (*Procyon lotor*) as carriers of *Salmonella*, J Environ Sci Health, A18, 541-560 (1983)
- [14] 北崎紀子, 谷田 創: 農場におけるハシボソガラスおよびハシブトガラスの盗食行動に関する研究—濃厚飼料に対するカラスの盗食—, 日本家畜管理学会誌, 32, 14-15 (1996)

Survey of *Salmonella enterica* in Wildlife in and around Cattle Farms
in Hokkaido, Japan

Kei FUJII ^{*†}, Sadao ONOE, Mariko SASHIKA, Kohei KOBAYASHI, Kunitoshi IMAI,
Hidemi YAMAGUCHI and Kazuhiro SENNA

** Animal Research Center, Hokkaido Research Organization 39, Nishi 5 Sen, Aza-Shintoku,
Shintoku-cho, Kamikawa-gun, 081-0038 Japan*

SUMMARY

We investigated the prevalence of *Salmonella enterica* in 267 rodents, 208 raccoons, 9 red foxes, 208 crows, 9 sparrows, and 5 feral pigeons in and around cattle farms in Hokkaido. Their intestine contents and foot surfaces were tested using culture method. *Salmonella* was isolated from 14 crows (6.7%) and 11 raccoons (5.2%). The isolates were serotyped into Infantis (crows), Thompson, Agona, O4 : i : - (raccoons), Braenderup, and Typhimurium (crows and raccoons). These results suggested that wildlife is capable of being a source of *Salmonella* infection in cattle. — Key words : Cattle, Crow, Epidemiology, Raccoon, *Salmonella*.

† Correspondence to : Kei FUJII (Animal Research Center, Hokkaido Research Organization)

39, Nishi 5 Sen, Aza-Shintoku, Shintoku-cho, Kamikawa-gun, 081-0038 Japan

TEL 0156-64-0614 FAX 0155-64-6151 E-mail : fujii-kei@hro.or.jp

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 65, 118 ~ 121 (2012)