

【研究紹介】

カラス群におけるサルモネラ感染のモニタリング

山口 英美

(地独)道総研畜産試験場 (〒081-0038 北海道上川郡新得町字新得西5線39-1)

*現所属：(国研)農研機構動物衛生研究部門 ウイルス・疫学研究領域疫学ユニット

要 約

ハシブトガラスおよびハシボソガラス(カラス)は、日本の畜産農場に侵入する代表的な鳥種で、サルモネラをはじめとする病原体の農場間伝播への関与が懸念されている。本研究では、北海道東部においてカラス群におけるサルモネラ感染動態を把握するために2018年4月～2019年3月までの間、カラスが利用するねぐら、就峙前集合場所における落下糞およびペリットを用いて、サルモネラ感染状況と食性の季節変化を調査した。落下糞1,158検体を用いた培養検査により、25検体(2.2%)からサルモネラが検出され、血清型はTyphimurium、Kentucky、Derby、O4:i:-、Muenster、AgonaおよびBraenderupであった。ねぐらにおけるサルモネラ検出率は、4～6月(0/246、0.0%)より9～11月(8/300、2.7%)に高く、カラスにおけるサルモネラ保有状況に季節変化があることが示唆され、サルモネラの伝播リスクも季節によって様ではないと考えられた。ペリットを用いた食性解析の結果、全ての季節で家畜飼料の摂食が認められたことから、年間を通じてカラスが畜産環境に侵入し、畜産農場間のサルモネラ伝播に関与しうることが示唆された。

キーワード：カラス、サルモネラ、ねぐら、モニタリング

-----北獣会誌 64, 144～148 (2020)

畜産農場には野生動物の餌となる飼料や巣材に適した敷料が年間を通じて備蓄されており、これらを求めて侵入した野生動物と家畜との間で病原体が相互に伝播することが懸念されている^[1,2]。野生動物は家畜にも感染する様々な病原体を保有していることから^[3]、野生動物における感染症の動態を踏まえた防疫戦略を策定することが強く望まれる。しかし、野生動物を対象とした疫学調査では、個体の捕獲など検査材料採取に要するエフォートが大きく、計画的な材料収集が困難なため、感染動態が把握されているケースはまれである。

ハシブトガラス *Corvus macrorhynchos* およびハシボソガラス *C. corone* (以下カラスと総称する) は、畜産農場に侵入する代表的な鳥類である^[4,5]。カラスはサルモネラ *Salmonella enterica* をはじめとする家畜に感染する病原体を保有していることから、畜産農場間の病原体伝播に関与することが懸念されている^[6-8]。これまで畜産研究者によって国内のカラスがサルモネラを家畜へ伝

播する可能性が指摘されるとともに^[6]、畜産現場からもカラスによるサルモネラ伝播を危険視する声が寄せられている。しかし、カラスによる牛サルモネラ症発生への関与や、群レベルでのカラスにおけるサルモネラ感染の実態についても未だ不明な点が多い。カラスにおけるサルモネラの感染実態が経時的にモニタリングされ、伝播に関与しうるカラス群全体の感染動態が把握できれば、対象地域における牛サルモネラ症発生との関連を検討する際の有用な知見となるとともに、畜産農場での効果的な伝播防止への寄与が期待される。

そこで、道総研畜産試験場では、ある特定地域のカラスにおける群レベルでのサルモネラ感染動態を解明することを目的とし、後述の野外調査および細菌検査を1年間に亘り実施した。感染状況を群レベルで評価するために、調査地域におけるカラスの厩(ねぐら)、もしくは就峙前集合場所の落下糞を検査材料とした。カラスは、夕方に就峙前集合場所を経由し、ねぐらに集合するた

連絡責任者：山口 英美 農研機構動物衛生研究部門 ウイルス・疫学研究領域疫学ユニット
〒305-0856 茨城県つくば市観音台3-1-5
TEL：029-838-7769 E-mail: yamaguchi24@affrc.go.jp

め^[9]、これらの直下では容易に大量の落下糞を収集することができる。さらに、地域内のカラスが集合するねぐらでは、地域のカラス群の感染状況を代表するような標本が得られ、より正確な群レベルでの感染状況の評価が期待できる。筆者が本調査地域において捕獲罠による駆除個体の年齢構成を調査したところ、約200羽の捕獲個体のうち幼鳥が99%を占め、駆除個体調査では成鳥の感染状況がほとんど反映されないことが判明している。春から夏にかけ、繁殖個体はねぐらを利用せず始終なわばり内に留まるため、これらの個体が農場のサルモネラ伝播に参与する可能性は低いと考え、本研究における調査対象から除外した。

また、ねぐらおよび就峙前集合場所で、落下糞とともに未消化吐き出し物であるペリットも採集した。このペリットに含まれる餌内容を分析して、サルモネラ感染源を検討する上で重要なカラスの食性を解析した^[10]。

ねぐらモニタリングの方法

1. 材料収集

2018年4月～2019年3月に、北海道東部に位置する北海道十勝総合振興局管内の一地域において、カラスのねぐらを調査対象とした。本調査地は農畜産業が盛んな地域で、周囲を山間部に囲まれた農業用地が広がっている。月に1回、夕方に調査地域を巡回してカラスの飛行を追跡し、ねぐらおよび就峙前集合場所の位置を特定して、両種を合わせたカラス群としてねぐらの利用個体数を目算した。翌日の早朝、ねぐらもしくは就峙前集合場所を踏査し、100個程度の落下糞を滅菌綿棒で拭い、遠沈管に収集した。冬季(12～2月)の糞便は低温のため凍結していた。これと並行して1～15個のペリットも採集した。ただし、4月および6月に形成されたねぐらでは、下層植生が繁茂していたため、ペリットの識別が困難で採集できなかった。7～8月には、立ち入ることが難しい民有地にねぐらが形成されたことから、7～8月の検体採集は就峙前集合場所のみで行った。9月のねぐらと就峙前集合場所はいずれも検体採集可能な場所であったため、双方で採集を行い、サルモネラ検出率を比較した。

2. サルモネラ検査

実験室に持ち帰った落下糞を用いて、既報^[5]に準じ、サルモネラの分離培養を行い、サルモネラと同定された菌株が分離された場合は、定法に従って血清型を分類した。分離された菌株は全てについて、調査地域の畜産農場において実際に使用されている以下の13薬剤について

薬剤感受性試験(ディスク法)を行った:アンピシリン、アモキシシリン、セファゾリン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン、オキシテトラサイクリン、ナリジクス酸、ST合剤、ホスホマイシン(センシ・ディスク:日本BD、東京)、エンロフロキサシン、セフトオフル(VKBディスク:栄研化学、東京)およびマルボフロキサシン(Marbofloxacin disc:Vetoquinol、フランス)。同一血清型の菌株が多数検出された場合、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)解析を実施し、株間の遺伝的相同性を検討した。

3. 食性分析

収集したペリットを1mmメッシュの篩上でほぐしながら水洗した後、肉眼で選り分けた。季節毎に各分類目の出現頻度(各項目の食物を含むペリット数/分析したペリット数)を算出した。分類はまず人工物、動物質、植物質に分画した後、各分画を細分類した。サイレージなどの家畜飼料は、人為的な環境である畜産農場に由来することから、人工物に分類した。

モニタリング結果

落下糞1,158検体中、25検体からサルモネラが検出された(表1、検出率 2.2%)。検出されたサルモネラの血清型はTyphimurium(3株)、Kentucky(3株)、Derby(2株)、O4:i:-(1株)、Muenster(1株)、Agona(13株)およびBraenderup(2株)の7種類に分類された。ねぐら利用個体数は、調査地域で巣立ちが始まる6月の翌月である7月以降に増加したことから(表1)、この頃から当歳個体とその親鳥がねぐらに参加し始めたと推定された。サルモネラは凍結融解により生残性が低下するため、糞便が凍結していた12～2月の結果は参考値とした。

サルモネラの検出率は月によって0.0～9.0%と幅があり、8月に最も高率となった(表1、図1)。ねぐらと就峙前集合場所の両所で落下糞便を採集した9月のサルモネラ検出率は、ねぐら(2.0%、2/100)に対して就峙前集合場所(18.2%、6/33)の方が高率であった(表1、 $p<0.05$ 、Fisherの正確確率検定)。検出されたサルモネラの血清型の構成は季節によって異なり、8月に検出された9株は5種の血清型(Typhimurium、Kentucky、Derby、O4:i:-およびMuenster)から構成されたのに対し、9月に検出された8株はすべて単一の血清型(Agona)であった(図1)。Agona13株のPFGEパターンは全て同一であった。Kentucky3株が9剤(アンピシリン、アモキシシリン、ゲンタマイシン、ストレプト

表 1. カラス類のねぐら、就寝前集合場所における落下糞からのサルモネラ検出の結果

月	総計		ねぐら		就寝前集合場所		ねぐら 利用個体数
	陽性数/ 検査数	検出率 (%)	陽性数/ 検査数	検出率 (%)	陽性数/ 検査数	検出率 (%)	
4	0/100	0.0	0/100	0.0	-	-	200-300
5	0/100	0.0	0/100	0.0	-	-	100
6	0/46	0.0	0/46	0.0	-	-	100
7	1/81	1.2	-	-	1/81	1.2	300-400
8	9/100	9.0	-	-	9/100	9.0	500
9	8/133	6.0	2/100	2.0	6/33	18.2	500-600
10	2/100	2.0	2/100	2.0	-	-	600-700
11	4/100	4.0	4/100	4.0	-	-	300-400
12*	1/100	1.0	1/100	1.0	-	-	800
1*	0/99	0.0	0/99	0.0	-	-	800
2*	0/99	0.0	0/99	0.0	-	-	700
3	0/100	0.0	0/100	0.0	-	-	600-700

* 低温のため糞便凍結

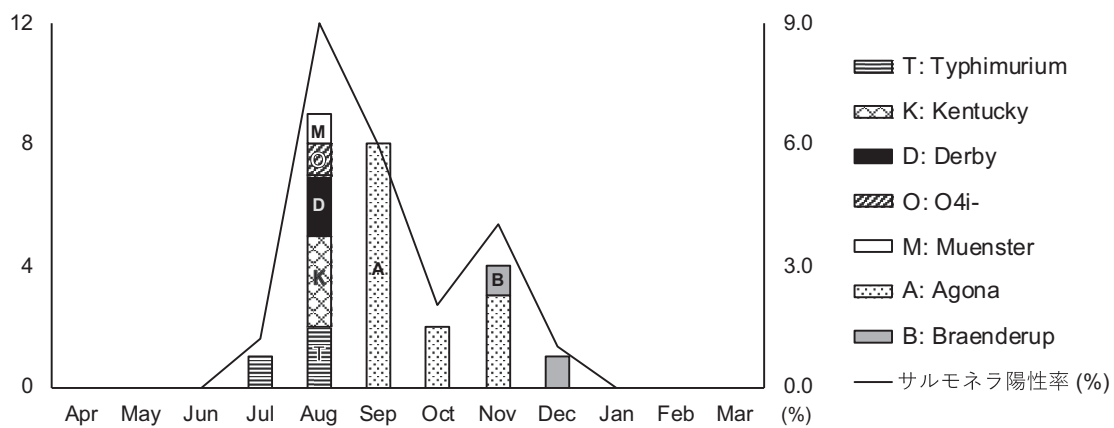


図 1. カラス類の糞便におけるサルモネラ陽性率（右軸）と血清型毎の分離株数（左軸）の月変化

表 2. カラス類のペリットに含まれた餌資源の食物分類毎の出現頻度 (%)

食物分類	春	夏	秋	冬
	n=11	n=27	n=13	n=13
人工物 計	45.5	40.7	30.8	46.2
サイレージ	45.5	40.7	23.1	46.2
紙、布	0.0	3.7	7.7	0.0
金属、プラスチック	0.0	0.0	0.0	7.7
動物質 計	36.4	74.1	7.7	15.4
昆虫類	9.1	70.4	0.0	0.0
哺乳類	36.4	0.0	0.0	7.7
鳥類	0.0	7.4	0.0	7.7
軟体動物	0.0	0.0	7.7	0.0
植物質 計	81.8	92.6	100.0	84.6
果実、種子	63.6	74.1	100.0	84.6
麦類	0.0	11.1	0.0	0.0
葉、茎	54.5	59.3	100.0	61.5

春：2018年4～5月、2019年3月、夏：2018年6～8月、秋：2018年9～11月
冬：2018年12月～2019年2月

マイシン、オキシテトラサイクリン、ナリジクス酸、ST合剤、エンロフロキサシン、マルボフロキサシン)、O4:i:-1株が4剤(アンピシリン、アモキシシリン、ストレプトマイシン、オキシテトラサイクリン)に耐性を示し、その他21株はすべての抗生物質に対して感受性を示

した。

ペリットから、夏に昆虫、秋に果実・種子が頻繁に検出された(表2)。秋以外の季節で、40%以上のペリットから、細断された黄褐色の単子葉植物やトウモロコシが検出され、甘酸臭のするものが多く見られたため、コー

ンサイレージであると思われた (表 2)。

考 察

本研究では、ねぐらを利用するカラス群におけるサルモネラの感染状況と食性の季節変化を明らかにした。この結果はカラス群におけるサルモネラ感染のハイリスク期の推定につながる知見となるだろう。

就峙前集合場所でのみ採集を行った8月のサルモネラ検出率は年間で最も高かったものの、9月の検出率はねぐらより就峙前集合場所有意に高かったことから、採取場所の違いが検出率に影響したことが考えられた。ねぐらでのサルモネラ検出率を季節毎に比較したところ、9~11月 (8/300, 2.7%) において4~6月 (0/246, 0.0%) より有意に高く (表 1、 $p < 0.05$)、カラスのサルモネラ感染に季節性があることが示唆された。これは、免疫機能が幼弱でサルモネラ易感染性と思われる当歳個体が、夏以降にねぐらへ参加し始めたことが影響したと考えられる。牛サルモネラ症の発生も同様に夏~秋に多いことから^[11]、今後は分離株の分子生物学的性状の比較も含めた更なる調査を実施し、カラスと牛サルモネラ症の関連性について検討していく必要がある。

8月および9月に就峙前集合場所の落下糞から検出されたサルモネラの血清型の構成は、それぞれ5種9株、1種 (Agona) 6株と大きく異なっており (図 1)、AgonaのPFGEパターンはすべて同一であった。8月に多種の血清型が検出されたことは、初夏に巣立った易感染性と思われる当歳個体が、様々な感染源に初めて暴露され、各種血清型のサルモネラがカラス群に侵入したことによるものと推測される。一方で、9月に多数検出された血清型 Agona は鶏のパラチフス症原因菌であるとともに、鶏肉からの検出が報告されていることから^[12]、鳥類への親和性の高い本血清型がカラス群内で感染を拡大させたことが考えられる。ただし、カラスの感染源となりうる利用環境や餌動物におけるサルモネラ汚染、感染状況やカラス自身の食性の季節変化が影響したことも考えられるため、カラスの利用環境や餌動物についても調査していく必要がある。

食性解析の結果、カラスが季節を通じて畜産農場を利用しており、家畜由来のサルモネラに感染する機会があることが示唆された。また、夏に昆虫、秋に果物・種子など様々な餌を利用しているため、カラスが畜産農場だけでなく、様々な自然環境を利用していることが推測された。これらのことから、カラスは様々な環境に由来するサルモネラに暴露されている可能性があり、それぞれ

の環境における摂食・排泄行動を通じて、畜産農場間の伝播だけでなく、畜産環境と自然環境間を結ぶ伝播動物となりうることを示唆された。検出されたサルモネラの由来は不明であるものの、抗生物質使用環境下で生じやすい多剤耐性菌が認められたことから、畜産農場などの人為的環境に由来するサルモネラが、カラスによってねぐら形成場所である山林に運搬された可能性が考えられる。今後、ベレットから検出された動植物を種同定することによって、カラスが暴露されているサルモネラ感染源、および伝播しうる可能性のある環境の特徴について推定していくことが期待される。

今回得られた知見は調査地域の畜産農場において、サルモネラの侵入防止対策を講じる上で有用な情報となることが期待できる。ただし、この結果はあくまでも今回の調査地域におけるカラス群の特徴であることに留意する必要がある。カラス群の生息環境におけるサルモネラ汚染度の違いによって、サルモネラ感染動態にも地域差が生じることが考えられるため、気掛かりな地域がある場合は、当該地域群のねぐらを踏査するなどして確認されたい。本研究がカラスによる畜産環境へのサルモネラ伝播リスク低減に少しでも寄与できれば幸いである。

なお、本研究の内容は日本野生動物医学学会誌、25(1)、1-7 (2020) に原著論文として掲載されているので、詳しい手法等についてはこちらを参照されたい。

引用文献

- [1] Daniels MJ, Hutchings MR, Greig A: The risk of disease transmission to livestock posed by contamination of farm stored feed by wildlife excreta, *Epidemiol Infect*, 130, 561-568 (2003)
- [2] Tsukada H, Takeuchi M, Fukasawa M, Shimizu N: Depredation of concentrated feed by wild mammals at a stock farm in Japan, *Mamm Study*, 35, 281-287(2010)
- [3] Miller RS, Farnsworth ML, Malmberg JL: Diseases at the livestock-wildlife interface; Status, challenges and opportunities in the United States, *Prev Vet Med*, 110, 119-132(2013)
- [4] 吉田志保子: カラスの生態と牛舎における被害、*臨床獣医*, 32, 12-14 (2014)
- [5] 竹田 努, 杉田昭栄, 青山真人: ハシブトガラス *Corvus macrorhynchos* の移動距離と家畜農場への飛来季節変動、*日畜会報*, 86, 191-199 (2015)
- [6] 藤井 啓, 尾上貞雄, 佐鹿万里子, 小林恒平, 今井

- 邦俊、山口英美：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、日獣会誌、65、118-121 (2012)
- [7] Janecko N, Čížek A, Halová D, Karpíšková R, Myšková P, Literák I: Prevalence, characterization and antibiotic resistance of *Salmonella* isolates in large corvid species of Europe and North America between 2010 and 2013, *Zoonoses Public Health*, **62**, 292-300 (2014)
- [8] Okamura M, Kaneko M, Ojima S, Sano H, Shindo J, Shirafuji H, Yamamoto S, Tanabe T, Yoshikawa Y, Hu DL: Differential distribution of *Salmonella* serovars and *Campylobacter* spp. isolates in free-living crows and broiler chickens in Aomori, Japan, *Microbes Environ*, **33**, 77-82 (2018)
- [9] 中村純夫：集団ねぐらから見たカラス社会の二重構造、カラスの自然史－系統から遊び行動まで、樋口広芳 他編、161-184、北海道大学出版、札幌 (2010)
- [10] Kurosawa R, Kono R, Kondo T, Kanai Y: Diet of jungle crows in an urban landscape, *Glob Environ Res*, **7**, 193-198(2003)
- [11] 中岡祐司：北海道における牛サルモネラ症の現状と対策、臨床獣医、18、36-45 (2000)
- [12] 加藤 玲、松下 秀、下島優香子、石塚理恵、貞升健志、甲斐明美：国内産鶏肉から検出されたサルモネラ属菌の血清型と薬剤耐性 (1992～2012 年)、感染症雑誌、89、46-52 (2015)