

(8) 日常の診療の上で、貴方自身あるいはスタッフを人獣共通感染症から守るために、どのようなことを心がけておられますか？（自由回答）

上位5つの回答は下記の通りであった。（）内は件数。

- ①器具の消毒・衛生管理(142)
- ②手指の消毒、手洗い徹底(124)
- ③直接接触を避ける（マスク、手袋の使用、咬まれないための対策）(100)
- ④スタッフへの注意喚起、レクチャー、自身の勉強(31)
- ⑤糞尿処理や血液等の取扱いに注意(20)

その他の回答としては、下記のものがあった。

動物の隔離(13)、必要に応じて医師の診察を受ける(8)、空気清浄機を使用(8) 健康管理、予防接種(6)、検査を行う(6)、

(9) 人への感染を引き起こした疑いで、診療所・病院の医師から動物の診察を依頼された、あるいは、飼い主が診療所・病院の医師から動物の診察をすすめられたので来院したという経験はありますか？

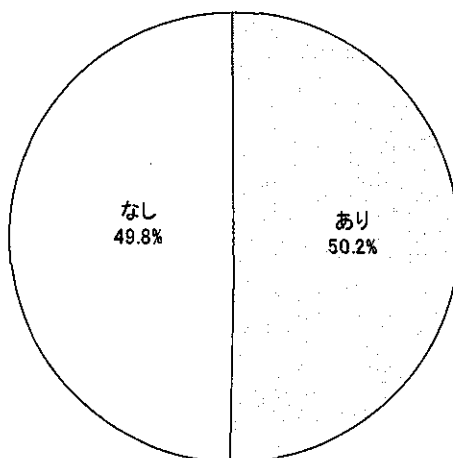


図6 人への感染を引き起こした疑いで、診察を依頼された、あるいは飼い主が動物の診察をすすめられて来院したという経験（有効回答数 247）

(10) 診療所・病院の医師から人獣共通感染症について相談を受けたことがありますか？人獣共通感染症について診療所・病院の医師に相談したことはありますか？

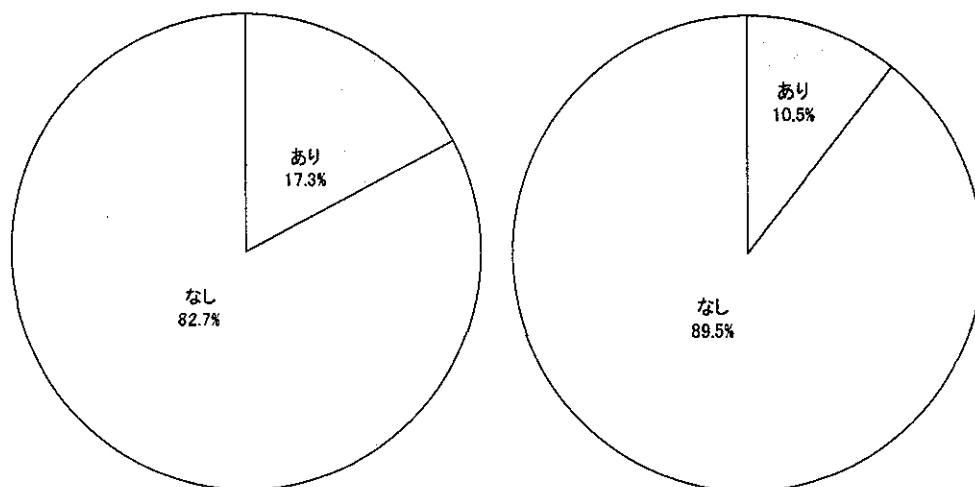


図7 左) 診療所・病院の医師から人獣共通感染症について相談を受けた経験
右) 診療所・病院の医師に人獣共通感染症について相談をした経験
(有効回答数 248)

(11) 人獣共通感染症に関して、獣医師と医師の連携の必要性等 についてご意見があれば書いてください(自由回答)。

上位5つの回答は下記の通りであった。()内は件数。

- ①医師の知識が少ない、安易に動物の殺処分を指示する等(58)
- ②医師・獣医師の合同勉強会、連絡会等の交流の場が必要(50)
- ③医師・獣医師の相互理解、連携、情報共有の仕組みが必要(49)
- ④自治体、省庁、保健所等に医師・獣医師連携の窓口になってもらいたい(20)
- ④人獣共通感染症に詳しい医師の連絡リスト、連絡マニュアルや書式が必要(20)

その他の回答としては、下記のものがあつた。

人の症例について獣医師の知識が少ない(16)、医師の側に壁がある(8)、地方における連携方法を考えることが重要(6)

(12) その他の意見（自由回答）

その他の意見としては、下記のようなものがあった。

- ①正確かつ最新の情報が知りたい
- ②医師・獣医師の連携で病気の侵入を防ぐべき
- ③歴史の浅いペットの動物飼育は危険
- ④動物の疾病検査をすることがなくて困っている
- ⑤一般への幅広い啓蒙活動が重要
- ⑤人獣共通感染症に関するパンフレットが必要

その他

ペットショップ・業界への指導必要、輸入検疫制度不十分、感染症について日頃から注意を払うべき

D. 考察

アンケートに回答した約 2 割の獣医師が、人獣共通感染症に関係すると思われる症例に週に 1 例以上遭遇しており、約半数の獣医師が、人への感染が疑われる症例に遭遇した経験があるとの結果が得られた。本調査では、アンケート回収数が少なかったことから、そもそも人獣共通感染症に関して意識の高い獣医師が積極的に回答を寄せているという可能性はもちろんあるが、その遭遇頻度は予想を上回るものであった。そして、各々の獣医師は日常の診療において、器具の消毒・衛生管理、手指の消毒、手洗い徹底、直接接触を避ける等の対策のほか、個別の症例に応じて診療担当者を制限したり、排泄物の処理を工夫したり、知識の共有をはかるなどの対応をとっている。

獣医師からみた飼い主像としては、平均的な飼い主の 9 割は人獣共通感染症に対する十分な認識がないとのことであった。約 95%の獣医師が、人獣共通感染症に関する何らかの相談を受けたことがあると回答しており、自由回答には、動物との過度の接触ばかりでなく、逆に過剰に心配しすぎる飼い主の例も挙げられていた。

一方で、医師から人獣共通感染症に関して相談を受けたことがある獣医師は 2 割弱、人獣共通感染症に関して医師に相談を行ったことがある獣医師は 1 割と非常に低く、人と動物それぞれの専門家である獣医師と医師の交流が極めて低いことが浮き彫りとなった。自由回答においても、人獣共通感染症に関する医師側の認識不足の指摘や両者の情報交換・交流システムの構築の必要性が多く寄せられた。具体的な要望として、国や地方公共団体等で枠組み作りを行うこと、非常時の連絡リストや対応マニュアルの整備等の提案もなされた。

個別に行ったヒアリングにより、徳島県において県主導による人獣共通感染症に関する対策検討会が発足し、獣医師会・医師会の代表者と人獣共通感染症の専門家を中心に、緊急時対策に関する議論や知識の啓発、情報収集等の活動への取り組みが進みつつあるとの情報を頂いた。多くの獣医師が、このような行政主導による協力体制づくりに期待を寄せており、徳島県の取り組みがモデルケースとして他県にも広がるこ

とが期待される。

過去の調査においては、現在の日本にはさまざまな動物がペットとして飼育されており、そのバリエーションについて、都市と地方に大きな差はないことが報告されている。また、イヌ・ネコ等のペットと一緒にとまれるホテル等も各地にあり¹、ペット自体の移動距離も以前に比べて大きくなっている。ペットと飼い主の物理的距離が次第に近くなっていることも、室内飼育の増加、ペット飼育可能マンションの増加から明らかである。

このように人獣共通感染症の発生リスクが高まっている中、ペットとその飼育者の両方を最初に観察するのは臨床の獣医師であろう。獣医師と行政及び医療機関の連携は、重篤な人獣共通感染症の早期発見・早期対応システムの構築に不可欠であるとともに、各々の獣医師が確信をもって警告を発するためにも、人獣共通感染症に関する安価かつ簡易な診断システムの実現が重要であると思われる。

現状の問題点として、人獣共通感染症に関する検査の費用が高いという指摘があった。現状では、検査費用は基本的に飼い主の負担となるため、獣医師自身も検査の実施を飼い主に薦めにくい状況にあるという。今後、家畜伝染病予防法で届け出対象となっているレプトスピラや感染症予防法の新4類となった疾病の発生動向等を正確に把握するためには、臨床獣医師が協力しやすい仕組みと対策が望まれるところである。

狂犬病対策については、イヌの実質的な予防接種率低下のみならず、獣医・医療関係者自身も狂犬病に対する問題意識が低下しているのではないかと、との意見もあった。

愛玩動物の衛生管理の現状に関する調査（２）

—ペット飼育に関する調査—

主任研究者 神山 恒夫 国立感染症研究所 獣医科学部 第一室長

研究要旨：愛玩動物を飼育する一般市民に対して、飼育するペットの種類、人獣共通感染症に対する認知等についてアンケート調査を行った。今回の調査では、人獣共通感染症に関する質問を行うことから、ペットとして魚類のみを飼育するという人は対象としていない。アンケート調査はインターネットを利用して行い、1294名の回答が得られた。飼育者のアンケート結果では、“ペット動物と人の間でうつる病気”があることについて、約2割が、よく知っている、あるいは自分が飼っている動物に関しては知っていると述べ、聞いたことがあるとの回答者まで含めると、4分の3程度にまでになった。しかし、実際には、手洗いを励行する意識をもつ人は6割程度であり、一部には一緒に入浴する飼育者もいることなど、愛玩動物の衛生管理が自分自身の健康管理に直結することについての認識が必ずしも高くはないことが示された。

協力：（株）東レリサーチセンター

A. 研究目的

昨年度の調査においては、我が国におけるペット飼育に関する全体動向を明らかにするため、各種の統計資料や調査資料等をもとにイヌの飼育数やペット飼育可能住宅の動向等についてまとめた。本年度は、我が国におけるペット飼育に関する実態と人獣共通感染症の認知状況等について、獣医師やペット飼育者に実施したアンケート結果をもとに解析することを目的とした。

B. 調査方法と調査期間

・インターネットを利用したアンケート調査：

対象者	20-29歳：285名	50-59歳：170名
	30-39歳：419名	60-69歳：28名
	40-49歳：388名	70歳以上：4名

調査期間 2004年11月～2月

C. 結果

アンケート単純集計結果

(1) あなたは現在、どんなペットを飼育していますか？いくつでもお選びください。

回 答	度数	%	単独 飼育者 数	単独 飼育者率
イヌ（主に室内）	487	37.6	319	65.5%
イヌ（主に室外）	238	18.4	125	52.5%
ネコ（主に室内）	438	33.8	276	63.0%
ネコ（主に室外）	47	3.6	13	27.7%
ハムスター	114	8.8	55	48.2%
プレーリードッグ	9	0.7	3	33.3%
フェレット	11	0.9	4	36.4%
リス	16	1.2	3	18.8%
その他の哺乳類	60	4.6	27	45.0%
鳥類	116	9	47	40.5%
爬虫類	84	6.5	31	36.9%
魚類	188	14.5		
サンプル数	1294	100	903	69.8%

その他の哺乳類としては、ウサギ（45）、モルモット（4）、チンチラ（3）、リスザル（2）等があった。爬虫類の9割はカメ類であった。

飼っているペットの種類が1種類のみの方は903人で約70%であった。

したがって約3割が複数種の動物を飼育している。

(2) あなたが飼っているペットとすることで、以下の1～7の中で該当するものをいくつでもお選びください。

回 答	度数	%
ケージなどから出して部屋の中で遊ぶ	799	61.7
外に散歩に行く	679	52.5
一緒の時間に食事をする	300	23.2
人間と同じ食器をつかって食事をする	32	2.5
家のお風呂で洗ったりする	547	42.3
自分も一緒にお風呂に入る	76	5.9
一緒に寝る	505	39
いずれも当てはまらない	118	9.1
サンプル数	1294	100

- (3) ペットを飼っている生活の中で、ペットが病気にならないように、または、ご自身の健康を守るために、特に気を配っていること該当するものがあれば、いくつかでもお選びください。

回 答	度数	%
自分の手を良く洗う	793	61.3
基本的にペットを室内に入れないようにしている	123	9.5
まめに換気をしたり、空気清浄機等を利用している	398	30.8
部屋の温度や湿度を一定にしている	224	17.3
ケージやペットのトイレ・寝床等をまめに掃除する	749	57.9
自分が病院に行ったとき、ペットを飼っていることを医師に伝える	89	6.9
多くの人が飼っている一般的なペットを選んで飼育している	230	17.8
定期的にペットの健康診断をしている	361	27.9
ペットにワクチンを接種している	678	52.4
ペットに駆虫薬などを投与している	381	29.4
ペットかかりつけの獣医師さんがいる	734	56.7
ペットの動物に関する本や雑誌をよく読んでいる	366	28.3
同じペットを飼っている人と情報交換をしている	230	17.8
いずれも当てはまらない	52	4
サンプル数	1294	100

- (4) あなたは、ご自身の病気（例えば風邪、インフルエンザ、皮膚のトラブル等）をペットにうつしてしまったことはありますか？（複数回答）

回 答	度数	%
ある（医師や獣医師が確認した）	2	0.2
多分ある （医師や獣医師から可能性を指摘された）	15	1.2
疑ったことはある	68	5.3
多分ない→（6）へ	552	42.7
全くない→（6）へ	657	50.8
合計	1294	100

本結果はあくまで本人の申告をもとにしたものであり、それが実際に感染症であったか、またそれが重篤なものであったかどうかは不明である。

- (5) その際に、あなたはうつってしまったペットに対しどうしましたか？
(複数回答)

回 答	度数	%
何もしていない	36	42.4
家庭にある薬（消毒薬、内服薬、軟膏等）を利用した	15	17.6
動物病院を受診した	41	48.2
サンプル数	85	100

- (6) ペットの病気等が、あなたにもうつってしまった、という経験はありますか？

回 答	度数	%
ある（医師や獣医師が確認した）	16	1.2
多分ある （医師や獣医師から可能性を指摘された）	11	0.9
疑ったことはある	42	3.2
多分ない →(8)へ	468	36.2
全くない →(8)へ	769	59.4
サンプル数	1294	100

本結果はあくまで本人の申告をもとにしたものであり、それが実際に感染症であったか、またそれが重篤なものであったかどうかは不明である。

- (7) その際に、あなたは自分自身に対しどうしましたか？（複数回答）

回 答	度数	%
何もしていない	11	16.2
家庭にある薬（消毒薬、内服薬、軟膏等）を利用した	27	39.7
病院を受診した	35	51.5
サンプル数	68	100

- (8) あなたは「人獣共通感染症」についてどの程度知っていますか？

回 答	度数	%
よく知っている	38	2.9
基本的なことは知っている	242	18.7
聞いたことがある	447	34.5
あまり知らない	366	28.3
全く知らない	201	15.5
合計	1294	100

(9) まずは下の文章をお読みになった上で、質問にお答えください。

動物から人間に、あるいは人間から動物にうつる病気を「人獣共通感染症」といいます。

あなたは、“ある病気が、家庭で飼育しているペット等の動物からうつったり、人間からペットにうつしてしまったりすることがある”ということを知っていますか？

回 答	度数	%
よく知っている	126	9.7
自分が飼っている動物に関しては知っている	127	9.8
聞いたことがある	711	54.9
あまり知らない →(11)へ	223	17.2
全く知らない →(11)へ	107	8.3
合計	1294	100

(10) あなたは「人獣共通感染症」について、具体的にどんな病気をご存じですか？
思いつくものを挙げてください。

回 答	度数	%
無回答、わからない、まちがった名称等の回答を含む	828	64
狂犬病	150	11.6
オウム病	133	10.3
トリインフルエンザ	128	9.9
トキソプラズマ	63	4.9
インフルエンザ	50	3.9
エキノコックス	45	3.5
ネコひっかき病	43	3.3
狂牛病	36	2.8
Q熱	27	2.1
パスツレラ病	17	1.3
合計	1294	100

(11)「人獣共通感染症」について、あなたはどの程度知っておきたいと思いますか？

回 答	度数	%
よく知っておきたい	379	29.3
ある程度知っておきたい	773	59.7
どちらともいえない	101	7.8
あまり知らなくてもよい	36	2.8
知る必要はない	5	0.4
合計	1294	100

D. 考察

(1) イヌ、ネコの飼育者

イヌ・ネコのどちらかを飼育している人は、回答者の81.3%で、イヌを飼育している人が53.9%、ネコを飼育している人は36.1%、イヌ・ネコの両方を飼育している人は、8.7%であった。

平成15年の内閣府の調査では、ペットを飼育する人のうち、イヌやネコを飼育している人はそれぞれ62.4%、29.2%という結果が得られている。この違いは、今回の調査では、魚類のみの飼育者を調査対象から除いていることやインターネットを利用した調査であることによる回答者の世代構成(30~40代の回答が多い)によるものとみられる。

(2) イヌやネコと同時に飼育している他の動物

イヌやネコの飼育者が、同時に飼育しているペットについて検討を行った。イヌやネコを飼育する人の約3割が、他の動物も飼育していることがわかった。イヌ(主に室内、室外)、ネコ(主に室内、室外)のそれぞれを飼育者別に、同時に飼育するペットの割合について集計した結果を図1に示す。

室内における「小動物」と「イヌ・ネコ」の同時飼育や、イヌ・ネコの両方を飼育するという例も比較的多くあることが、今回の調査においてはっきりした。

(3) イヌやネコと一緒にすること

イヌあるいはネコの飼育者で主に室内・室外のどちらか一方で飼育している人が、動物と一緒にすることについて検討を行った(図2)。「主に室外で飼育している」イヌ・ネコであっても、実際は家の中に入れて遊んだり、家のお風呂で洗ったりすることがわかった。

イヌを主に室内で飼育している人で、回答選択肢のいずれにもあてはまらないという回答者は一人もいなかった。

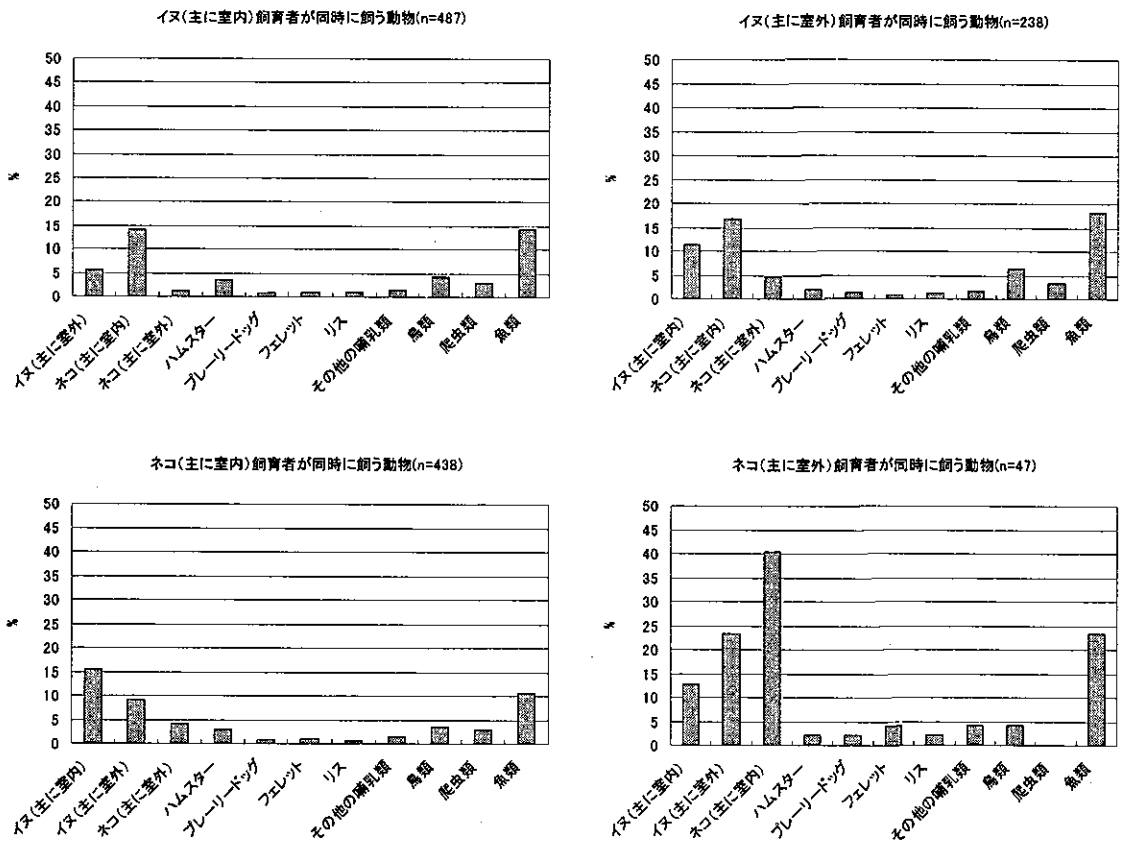


図1 イヌ・ネコ飼育者が同時に飼育する動物

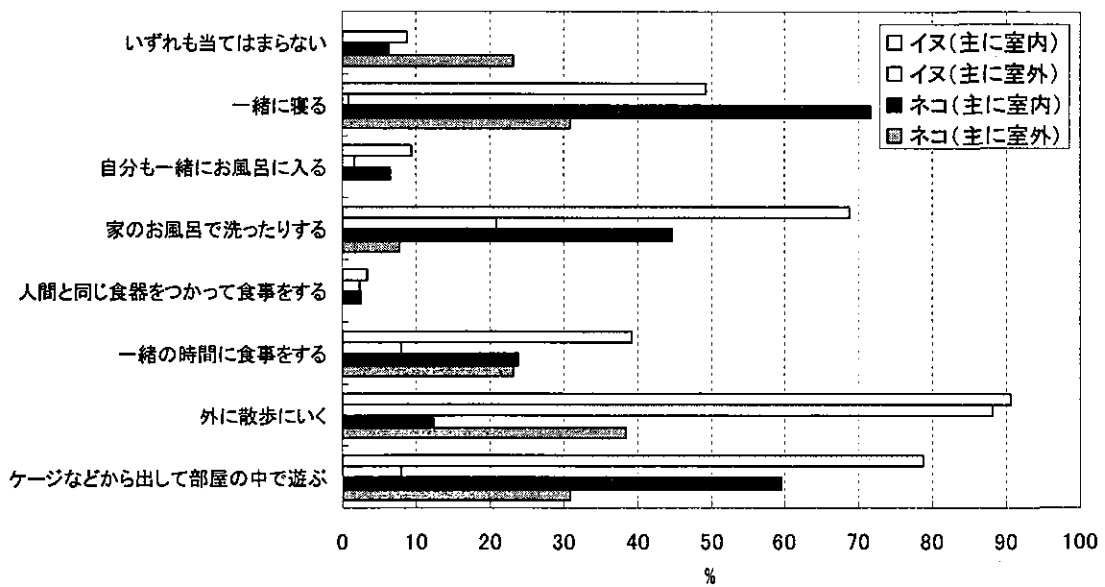


図2 イヌ・ネコ飼育者がペットとすること

(4) ペットと自分の健康を守るために実施していること

飼育動物種が1種である飼い主を対象に、飼育しているペットの種類とペットと自分自身の健康を守るために実施している項目について、飼育動物毎の選択率を表1に示す。

手洗いは、日頃の基本的な健康維持のためにも必要な習慣であるが、全体で6割程度と低かった。特にネコや鳥類の飼い主について手洗いの意識が低い結果となった。かかりつけの獣医師の存在は、イヌ（室内、室外）やネコ（室内）、プレーリードッグで比較的高いが、定期的な健康診断の実施については、最も選択率の高いイヌ（室内）であっても42.9%であった。

表1 飼育している動物と健康を留意した行動

飼育している動物 (1種のみ)	該当数	自分の手を良く洗う (%)	ペットかかりつけの獣医師さんがいる (%)	定期的なペットの健康診断をしている (%)	ペットにワクチン接種している (%)	ペットに駆虫薬などを投与している (%)	ペットの動物に関する本や雑誌をよく読んでいる (%)	同じペットを飼っている人と情報交換をしている (%)	自分が病院に行ったとき、ペットを飼っていることを医師に伝える (%)
イヌ（主に室内）	319	64.9	77.4	42.9	78.7	50.8	35.1	26.6	6.6
イヌ（主に室外）	125	68.8	56	23.2	65.6	42.4	9.6	9.6	3.2
ネコ（主に室内）	276	49.3	61.6	27.9	51.1	15.9	26.1	16.3	8.3
ネコ（主に室外）	13	38.5	30.8	7.7	7.7	23.1	23.1	23.1	15.4
ハムスター	55	83.6	10.9	1.8	0.0	0.0	29.1	12.7	7.3
プレーリードッグ	3	66.7	66.7	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0
フェレット	4	75.0	50	0.0	25.0	0.0	0.0	0.0	0
リス	3	66.7	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0
その他の哺乳類	27	66.7	25.9	7.4	0.0	0.0	40.7	14.8	0
鳥類	47	51.1	25.5	8.5	0.0	0.0	29.8	10.6	6.4
爬虫類	31	64.5	0	0.0	0.0	0.0	9.7	9.7	0

(5) 人獣共通感染症に関する知識

飼育動物種が1種である飼い主について、具体的な名称が挙げられていた人獣共通感染症名について、飼育しているペットの種類毎に記載率を表2に示す。

ネコを主に室外で飼育している飼育者や鳥類の飼育者は、無回答率が低かった。その他のペットの飼育者にはそれほど大きな差がみられなかった。

本調査では

①あなたは「人獣共通感染症」について知っているか

続いて

「人獣共通感染症は動物と人の間でうつることのある病気です」、との情報を提示

②ペットと人間の間でも感染が起こりうるということを知っているか

③自由欄に知っている病名を挙げて下さい

④「人獣共通感染症」についてどの程度知っておきたいか

という順に質問した。

表3に示したように、人獣共通感染症について知っているとは回答した人ほど、病名の記載率も高かったが、一方で「人獣共通感染症」を全く知らない、あるいはあまり知らないとは回答した人であっても「人と動物の間でうつる病気のことである」との説明を受けることにより、14.4%の人が具体的な病名を挙げていた。しかし、この層で最も多く挙げられていたのは、トリインフルエンザであり、動物を飼育しているという理由ではなく、マスメディアから得た一般的知識として認知している可能性が高いとみられた。

人獣共通感染症に関する知識の欲求度と現状の認知度の関係を図3に示した。多くの飼育者は知っておきたいと考えており、よく知っている飼育者ほど、よく知っておきたいと考えている傾向がみられた。

表2 人獣共通感染症名*の認知度（飼育動物種が1種である飼い主）

	該当者数 (人)	わからない、 あいまい、 無回答 (%)	狂病 (%)	オウム 病 (%)	トリフン エンザ (%)	トキソ プラマ (%)	インフル エンザ (%)	フエン ス (%)	エキソ ス (%)	ネコ つか 病 (%)	ひき 病 (%)	狂 病 (%)	Q熱 (%)	パ ス レ ラ 病 (%)
イヌ（主に室内）	319	72.4	13.2	7.2	4.4	2.5	2.8	6.9	1.9	1.9	2.5	3.8	1.6	
イヌ（主に室外）	125	69.6	9.6	4.8	13.6	1.6	2.4	0.8	1.6	1.6	3.2	1.6	0.8	
ネコ（主に室内）	276	62.7	7.2	8.7	6.5	9.8	3.3	2.2	8.7	7.7	1.8	1.8	2.2	
ネコ（主に室外）	13	46.2	15.4	15.4	15.4	0.0	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
その他哺乳類	65	62.0	14.1	10.9	9.8	1.1	7.6	1.1	0.0	0.0	1.1	0.0	1.1	
ハムスタ ー	55	63.6	16.4	10.9	5.5	1.8	7.3	1.8	0.0	0.0	1.8	0.0	1.8	
プレーリ ードッグ	3.0	0.0	33.3	0.0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
フェレッ ト	4.0	75.0	0.0	25.0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
リス	3.0	33.3	0.0	0.0	66.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
上記以外 の哺乳類	27	66.7	11.1	11.1	14.8	0.0	11.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
鳥類	47	44.7	6.4	29.8	29.8	0.0	4.3	2.1	0.0	0.0	2.1	0.0	0.0	
爬虫類	31	64.5	19.4	16.1	12.9	9.7	0.0	0.0	0.0	0.0	3.2	3.2	3.2	
全体	903	64	10.9	9.3	8.6	4.5	3.4	3.4	3.7	2.2	2.2	2.2	1.6	

* 回答者全体で回答数が多かった10の感染症

表3 人獣共通感染症の認知と具体的病名の認知

	回答数	病名記載率 (%)
よく知っている	38	73.7
基本的なことは知っている	242	58.7
聞いたことがある	447	37.1
あまり知らない	366	27.6
全く知らない	201	14.4

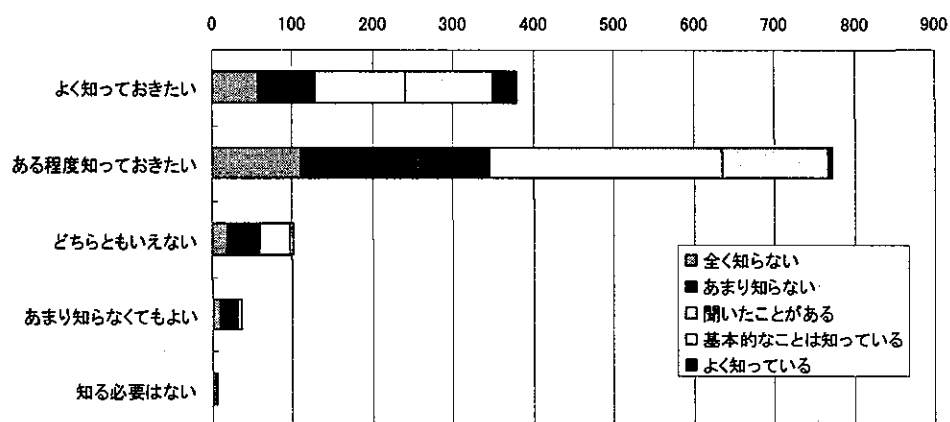


図3 人獣共通感染症の認知度と情報の欲求度

Ⅱ. 分担研究報告

イヌおよびネコによる咬傷とそれが原因となる感染症に関する研究

分担研究者 荒島 康友 日本大学医学部 臨床検査医学講座 助手

研究要旨：今回、イヌ咬傷の現状のアンケート調査、文献調査等の結果から、咬傷事故が減少しているとの広報とは逆に増加を示唆するデータ、および咬傷から感染症の症状に移行したと考えられたものが 119 例中 7 例 (5.9%) 確認された。また、新しい PCR 分析法のジェノパターン法の検討結果から、本法が *Pasteurella* 属菌の同定・疫学調査に有用であると考えられた。

A. 研究目的

イヌ、ネコ咬傷の現状把握のためのアンケート調査、および咬傷後の感染症の最も多い原因菌であるパスツレラ属菌の疫学調査方法としてのジェノパターン法の研究を行った。

B. 研究方法

アンケート調査は、インターネットにより調査を行い、データを集計し、解析を行った。また、新しい同定方法として、ジェノパターン法（(株) アドジーン社）と AP-PCR 法を用い、パスツレラ属菌の疫学調査を行った。

（倫理面への配慮）：個人データの管理をし、データの漏洩等に配慮を行った。

C. 研究結果

アンケート調査の結果、回答者数 875 人（男性 112 人：平均 42.51 才、女性 763

人：平均 35.74 才）であった。

イヌ咬傷事故の原因となったイヌの所有者は、他人が 199 人 (52.8%)、受傷者自身 162 人 (42.9%)、その他 17 人 (4.5%) であった。また、イヌ咬傷として役所に届け出をされた人数は、1. 病院、自分、家族による届け出が 11 人 (2.1%)、2. 無回答、不明が 19 人 (5.0%)、3. 届けでなかったが 347 人 (92.0%) であった。さらに、イヌ咬傷事故の原因となった要因は、1. イヌの性格が原因と考えられたものが 154 人 (38.7%)、2. 受傷者の知識不足が 189 人 (47.5%)、3. アクシデントによるものが 57 人 (14.1%) であった。

遺伝学的な疫学調査では、患者由来株とその原因と考えられた動物由来株と遺伝学的に一致したものは 9 例中 6 例であった。

1) イヌ・ネコ咬傷例 3 例

i) 9ヶ月令男児のイヌ咬傷例： 遺伝学的（ジェノパターン法、AP-PCR）に一致。

ii) 28歳女性（膠原病）のネコ咬傷例：

遺伝学的(ジェノパターン法、AP-PCR)に一致せず。

iii) 51 歳女性のネコ咬傷例： 遺伝学的(ジェノパターン法)に一致。

2) 非咬傷性蜂窩炎

29 歳女性、ネコ 3 頭飼育： 3 頭中から 1 頭の由来菌株が遺伝学的(ジェノパターン法)に一致。

3) 呼吸器系疾患

i) 血性痰による精査の 68 歳男性の喀痰由来株とネコ： 遺伝学的(ジェノパターン法、AP-PCR)に一致。

ii) 62 歳男性の気管支洗浄液由来株とネコ： 遺伝学的に一致せず。

iii) 咽喉頭違和感症の 59 歳女性とネコ： 遺伝学的(ジェノパターン法)に一致。

iv) 咽喉頭違和感症の 59 歳女性とネコ 8 頭： 遺伝学的に一致せず。

4) 眼科疾患

眼脂由来菌株とネコ 2 頭： 遺伝学的(ジェノパターン法、AP-PCR)に 1 頭の株と一致。

D. 考察

アンケート調査の結果から、イヌ咬傷事故の原因となったイヌの所有者は、他人が 52.8%、受傷者自身が 42.9%で、飼育犬によるものが当初の予定より多かった。

E. 結論

臨床分離 *P. multocida* 株の新しい疫学調査は、今回の検討結果より、ジェノパターン法を用いることで、従来の PCR 法と異なり発ガン物質を必要としないこと

から、ジェノパターン法は *Pasteurella* 属菌の菌種の疫学調査・研究に有効と思われた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表等

論文発表

1. 荒島康友. 【人と動物の共通感染症の最前線】1992-2001 の 10 年間の本邦における *Pasteurella* spp. の分離状況(解説/特集). 獣医畜産新報, 57(8):667-668, 2004. 8.

学会発表

1. 荒島康友. Genopattern 法による *Pasteurella* spp. の同定および疫学調査への応用. 臨床化学, 33(Suppl. 3):p204, 2004. 7.

ブルセラ属菌の菌種同定のための
特異的 Real-time PCR 法の開発に関する研究

分担研究者	今岡 浩一	国立感染症研究所	獣医科学部	主任研究官
協力研究者	鈴木 道雄	国立感染症研究所	獣医科学部	第1室研究員
協力研究者	木村 昌伸	国立感染症研究所	獣医科学部	第1室研究員

研究要旨：ブルセラ属菌 (*B. abortus* (以下 *BA*)、*B. melitensis* (*BM*)、*B. suis* (*BS*)、*B. canis* (*BC*)) の菌種を同定するための Light-Cycler (Roche 社) を用いた Real-time PCR 法を開発した。プライマーは、昨年度報告した細胞表面タンパク (BCSP31) および外膜タンパク (*BA* 型: OMP2ab、*BC* 型: OMP2ca、OMP31) 遺伝子領域に対する 4 セットを用い、その増幅領域内にハイブリダイゼーションプローブを作製した。*BA* は BCSP31、OMP2ab、*BM* は BCSP31、OMP2ab、OMP31、*BC* は BCSP31、OMP2ca、OMP31、*BS* はすべてと、菌種による反応性の違いが認められた。特異性も高く、感度は PCR の約 100 倍で、反応に要する時間も 40 分程度であった。ブルセラ属菌のうちヒトに感染しうる主要 4 菌種を迅速・高感度に同定することが可能となった。

A. 研究目的

感染症法で 4 類に指定されているブルセラ症 (Brucellosis) はブルセラ属菌 (genus *Brucella*) による動物由来感染症である。ヒトで主に感染報告があるのは *B. melitensis* (自然宿主: ヤギ、ヒツジ) (以下 *BM*)、*B. abortus* (ウシ) (*BA*)、*B. suis* (ブタ) (*BS*)、*B. canis* (イヌ) (*BC*)、*B. maris* (海洋動物) の 5 菌種で、感染家畜およびイヌなど愛玩動物との接触やその汚染製品の摂取により感染する。一般に動物では流産の原因となるが、ヒトでは、軽症の場合は風邪様であるが、特徴的な発熱 (間欠熱、波状熱)、長期にわたる全身倦怠感を示すことがある。

日本では、ヒトブルセラ症は *BM* と *BA* 感染

の散発例が過去に報告されている程度で、現在は両疾患については清浄化していると考えられるが、愛玩動物であるイヌからの感染によるヒトの *BC* 感染例が近頃報告された。*BC* については、1971 年に輸入ビーグル犬によると思われる、繁殖コロニーでの発生があり全国に波及し、現在でも国内のイヌの数% が感染していると考えられている。

また、現在の診断の中心は試験管内凝集反応による抗体検出や、菌分離、特異的遺伝子検出のための PCR であるが、現在広く用いられている PCR では、ブルセラ属菌の菌種を同定するには至っていない。そこで、昨年度、ブルセラ属菌 (*B. abortus* (以下 *BA*)、*B. melitensis* (*BM*)、*B. suis* (*BS*)、*B. canis* (*BC*)) の菌種を同定するための PCR 法を開発

し報告した。今年度は、さらに迅速・高感度な検出法として、Light-Cycler (Roche) を用いた Real-time PCR 法 (LC) の開発を行った。また、反応の際に、定量するために用いる陽性対照プラスミドの作製も行った。

B. 研究方法

供試菌株：ブルセラ属菌は、*BA* 544、*BA* Takanashi、*BM*16M、*BM*HagiwaraB1、*BS*1330、*BSS*-13、*BC*QE13 (動物衛生研究所より分与)、*BC*Shizuoka03 (新分離株) の8株を用いた。また、特異性の検討のために、*Brucella* 属以外の *Y. pestis* など16株を陰性対照として実験に用いた。

DNA の調整：各々の菌株をヒツジ血液寒天培地等で培養し、その培養コロニーから菌を集め、煮沸後、SepaGene (三光純薬) を用いてプロトコールに従いDNAを分離・精製した。

プライマーの設定：プライマーは、昨年度報告したものをを用いた。すなわち、細胞表面タンパク (BCSP31) に特異的な B4/B5 (Baily ら) (増幅長：224bp) を、また外膜タンパク (OMP) のうち、OMP2 領域で JPF (Leal-Klevezas ら) に対して *BA* に特異的な JPR2ab (同：186bp) と *BC* に特異的な JPR2ca (同：187bp) を新たに設定し、さらに OMP31 領域で 1S/1AS (同：249bp) を新たに設定した。

Real-time PCR (LC)：各々のプライマー増幅領域内に LC 用のハイブリダイゼーションプローブを作成し、Real-time PCR を検討した。これは、増幅領域内に、互いに近接して (1塩基の間隔をあけて) ハイブリダイズする2種の異なる蛍光プローブを用意し、この2種のプローブが近接してハイブリダイズしたときに発する蛍光をモニターすること

で、特異的 PCR 産物の検出を行う方法である。サンプルの DNA 量は 1ng を用い、反応条件は 95 °C, 10min— (95 °C, 10sec.—62 °C, 15sec.—72 °C, 8sec.) ×40 cycle で実施した。

陽性対照プラスミドの作製：各々の PCR 産物を pGEM-T Easy Vector (Promega) に、プロトコールに従い導入し、遺伝子導入プラスミドを作成した。これを精製し、PCR および LC での反応性と塩基配列の確認を行い、陽性対照プラスミドを得た。

C. 研究結果

1) 反応の特異性と各菌種における検出パターン：4種類のセットを用いて、ブルセラ属菌の反応パターンを検討した。B4/B5 はブルセラ属菌すべてで検出された (Fig 1)。JPF/JPR2ab では *BA*、*BM*、*BS* (Fig 2) が、JPF/JPR2ca では *BS*、*BC* (Fig 3) が検出された。1S/1AS では *BM*、*BS*、*BC* (Fig 4) が検出された。すなわち *BA* は BCSP31 と OMP2ab、*BM* は BCSP31、OMP2ab と OMP31、*BC* は BCSP31、OMP2ca と OMP31、*BS* はすべてと、菌種による反応性の違いが認められた。いずれの反応系でも *Brucella* 属以外の菌株とは反応を示さず、その特異性が示された (Figs 1-4)。反応に要する時間は 40 分程度であった。

2) 検出感度の検討：BCSP31、OMP2ab、OMP2ca、OMP31、それぞれの増幅領域を含むプラスミドを用いて、LC の検出感度の検討を行った。どの遺伝子においても 0.2fg まで十分に測定が可能であった。コピー数では、10~50 コピー程度であった (Fig 5)。

D. 考察

ブルセラ属菌の菌種を同定するための