



図-11 右肺。様々な大きさの白色結節が多数存在。右肺気管分岐部のリンパ節は高度に腫大し、硬固。

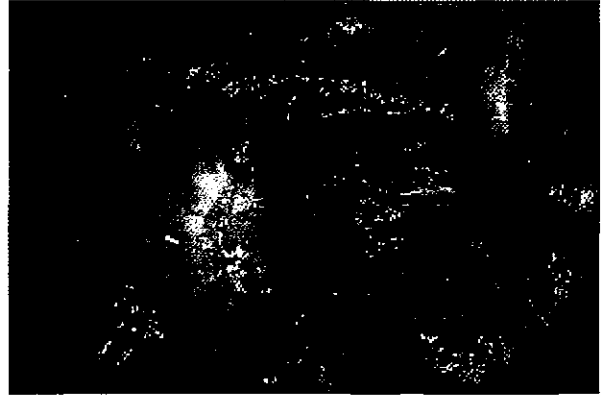


図-12 肺リンパ節。肉腫様を呈するリンパ節。右下は肺内結節の剖面。



図-13 肝臓表面に米粒大から粟粒大の白色結節が散在し、内側右葉剖面には示指大の硬固感ある白色結節が存在。右下はその剖面。



図-14 漿膜結核(胸膜)。巨細胞はほとんど観察されない。右下は強拡大。

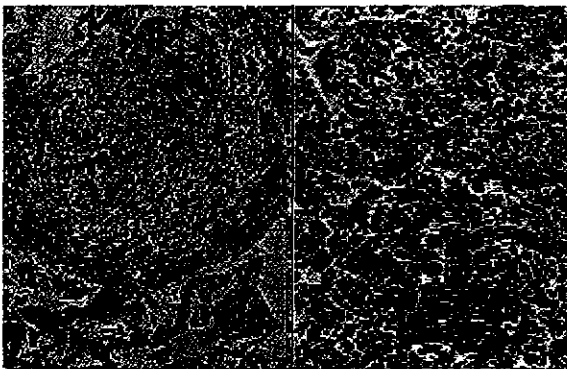


図-15 肺。壊死巣のみられない結節や、マクロファージを主体とした好中球の浸潤を伴う炎症巣が観察された。

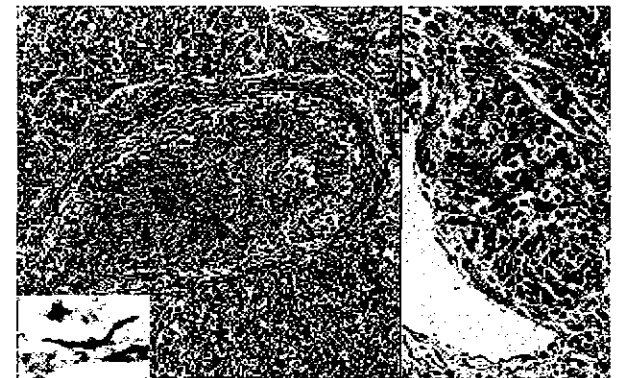


図-16 肝臓。大小の肉芽腫が多数観察され、一部では血管の内側に隆起するように病変を形成(右図)。また、好酸菌染色に陽性を示す菌体も僅かに認められた(左下)。

輸入野生齧歯類の病原体保有調査
（寄生虫、細菌、真菌の保有調査）

分担研究者	宇根 有美	麻布大学獣医学部 病理学研究室 助教授
研究協力者	吉川 泰弘	東京大学大学院農学生命科学研究科 実験動物学研究室
	太田 周司	東京検疫所川崎支所
	佐藤 宏	弘前大学医学部 寄生虫学研究室
	加藤 行男	麻布大学獣医学部 公衆衛生学第二研究室
	オカタニ・アレシャンドレ・トモミツ	麻布大学獣医学部 公衆衛生学第二研究室
	黒木 俊郎	神奈川県衛生研究所
	林谷 秀樹	東京農工大学農獣医学部 家畜衛生学研究室
	小菅 旬子	宮崎大学獣医学部 微生物学研究室
	丸山 総一	日本大学生物資源科学部 獣医公衆衛生学研究室

研究要旨：愛玩用に輸入された野生齧歯類 12 種 176 匹の病原体保有状況調査を行った。病原性エルシニア属細菌、キャンピロバクターおよびサルモネラは検出されなかったが、シマリスから豚丹毒菌（1/19）、消化管よりジアルジア、クリプトスポリジウムが高率に検出された。また、リチャードソンジリスを除く全ての齧歯類の皮膚から黄色ブドウ球菌、白癬菌あるいは *Aspergillus flavus* などの病原体が様々な割合で分離された。以上の結果から愛玩用として輸入される野生齧歯類は、数多くの微生物、寄生虫を保有していることが明らかになり、これらの動物の取り扱いについては十分注意する必要がある。なお、同じ材料を用いて危険度の高いあるいは日本への侵入が危惧される病原体の保有状況調査を他研究班で実施した。

A. 研究の目的

近年、愛玩動物への嗜好の変化から、エキゾチックアニマルの輸入数および飼育数が増加している。これらの動物の中には、野生捕獲種も含まれているが、検

疫は受けておらず、この種の動物が様々な寄生生物や病原体を保有していることが危惧されている。しかし、店頭に並ぶ前の輸入間もない動物を対象として、網羅的に調査されたことはほとんどない。そこで、本研究では、これらの野生齧歯

類の衛生管理の徹底に寄与するための病原体保有状況調査を実施した。

B. 研究方法 (材料と方法)

対象とした動物： 当初、愛玩用として輸入数が多く、ポピュラーで、かつ人獣共通伝染病発生のリスクの高い国から輸入される野生捕獲齧歯類をノミネートして (エリアは北米、南米、中国、ロシア、アフガニスタン/パキスタン、アフリカ)、全種類各 (1群) 10匹以上として2つの輸入業者に発注した。その結果、予定調査期間内に12種類 (アフリカチビネズミ、ヒメミユビトビネズミ、オオミユビトビネズミ、シナイスナネズミ、カイロトゲネズミ、ピグミージェルボア、バナナリス、シマリス、リチャードソンジリス、コロンビアジリス、アメリカアカリス、デグー) 計176匹の動物を購入することができ、これらを検査対象とした。

対象とした寄生虫と微生物の種類と担当者：

【 寄生虫 】

- ・消化管内寄生虫 (蠕虫及び原虫)、血液原虫 (リーシュマニア)、筋肉内寄生虫 (旋毛虫)：弘前大学医学部寄生虫学研究室 佐藤宏
- ・消化管内寄生虫 (クリプトスポリジウム)：神奈川県衛生研究所 黒木俊郎

【 細菌と真菌 】

<消化管>

- ・サルモネラ：麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室 加藤行男
- ・豚丹毒：麻布大学獣医学部公衆衛生学第

二研究室 オカタニ・アレシヤンドレ・トモミツ

- ・エルシニア属細菌、キャンピロバクター：東京農工大学家畜衛生学研究室 林谷秀樹
- ・ヘリコバクター属細菌：麻布大学獣医学部病理学研究室 宇根有美

<皮膚>

- ・真菌、黄色ブドウ球菌：宮崎大学獣医学部微生物学研究室 小菅旬子

<血液>

- ・バルトネラ：日本大学生物資源科学部 獣医公衆衛生学研究室 丸山総一

C&D. 研究結果と考察

表1：今回、対象とした動物は、いずれも愛玩用目的で輸入され、国内での係留期間が短い (輸入直後) 動物で、調査時に外景的に何ら異常を認めていない。

1) 【 寄生虫 】： 2003年と同様に蠕虫の検出率は低率であったが、原虫の検出率が高かった。特にヒトへの感染が危惧されるジアルジアが0-100%、53匹30.8%で検出された。ジアルジアの感染率が100%であったデグーは南米産の齧歯類で、繁殖個体も販売されており、新 (次) 世代の愛玩用齧歯類として北米で注目・紹介されている種類である。このため、今後、輸入数の増加も予想され、注意すべき動物と考えられる。また、クリプトスポリジウムは、2003年度はリチャードソンジリスからのみ検出された。しかし、2004年は6種類、48/170、28.8%の割合で検出された。ヒトへの感染について検討する必要がある、現在、同定中であるが、昨年、確認した北米産リチャ

ードソングリスのクリプトスポリジウムは、*Cryptosporidium parvum ferret type*であった。なお、リーシュマニアは検出されなかった。

2) 【 細菌と真菌 】:

i) 黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* が、7種類 計 48 匹、27.2%の頻度で皮膚から検出された。2003 年度はピグミージェルボアから、21/39 (53.8%) と高率に分離されたが、2004 年は 1 匹も検出されなかった。しかしながら、アフリカ産カイロトゲネズミからは 98.9%

(19/20) と、かつてないほど非常に高率に分離された。*S. aureus* はヒトの鼻腔からしばしば分離される菌であるが、実際には健康な人の皮膚にはあまり存在しない。動物由来の菌が大量にヒトの皮膚に付着した場合、どのような病原性を発揮するのか不明であるが、食中毒の原因やアトピーの憎悪因子としての側面から見ても *S. aureus* を大量に保菌した動物を愛玩用として飼育することには、好ましくない。

ii) サルモネラとキャンピロバクターは、検出されなかった。

iii) 豚丹毒菌が、シマリスの口腔スワブと腸内容から培養された。愛玩用野生齧歯類としては、非常にポピュラーなシマリスから低率ではあるが、この種の菌が分離されたことは、注目すべきことである。

iv) バルトネラ : 3 種類の齧歯類の培養が終了し、その結果、アメリカアカリスから 3/19、15.8%の割合で検出された。分離バルトネラの種の同定はまだなされていないが、国内飼育下の犬のバルトネ

ラ抗体保有率は、健康犬で 1.9-2.0%、心疾患犬で 6.3%であり、これと比較すると保有率が高い。また、特に問題なのは、今回、バルトネラを保有していたアカリスは運動能力が高く、機敏で、目が良い動物である上に、性格が非常に凶暴で、意識してヒトを咬む(攻撃性が強い)動物であるということである。このようなペットとして、不適切と思われる動物が輸入されてきていることも問題である。なお、他 5 種類の齧歯類についても検索を続行している。

v) 皮膚糸状菌が 4 種類 14 匹 (7.9%) の齧歯類の皮膚から分離された。分子生物学的検索の結果、コロンビアジリス (2003 年分)、コロンビアジリス (2004 年分)、デグー、カイロトゲネズミから分離された真菌は *Arthroderma vanbreuseghemii* で、ピグミージェルボアから分離された真菌は *Arthroderma benhamiae* であった。

近年、犬や猫から *Trichophyton mentagrophytes* はほとんど分離されなくなっている。一方で、新興ペットであるヨツユビハリネズミの針毛から高率に分離されたり、1980 年以前には本邦には分布していないとされていた *Arthroderma benhamiae* が、ウサギやモルモットからヒトへ感染した事例の報告がある。このことから、日本に輸入される動物が、輸入真菌の保菌者、感染源と考えられていた。今回の分離成績はそれを裏付けるもので、人獣共通真菌症の感染源として、今後も注目し、かつ取り扱いには十分注意する必要がある。

vi) コウジカビ : アフリカ産齧歯類の全ての種類から 10% - 100% の割合で *Aspergillus flavus* が分離され、4 種類の齧歯類から分離された *Aspergillus*

*flavus*にはアフラトキシン産生株が含まれていた。ヒトと同じ居住空間を有する動物の皮膚に定着するカビが、環境を汚染する可能性があり、ヒトへの健康被害が危惧される。

E. 結論

以上の結果から、愛玩用として輸入される野生齧歯類には、数多くの微生物、寄生虫などの寄生生物が感染していることが明らかになった。今回、分離・検出された微生物、寄生虫のヒトへの病原性については、今後検索を進めて、評価する必要があるが、明らかに病原性があるものも多く含まれており、これらの動物の取り扱いについては十分注意する必要がある。

2005年9月より動物の輸入に関する法律が変わり、以前ほど、容易に、大量に生きた動物が輸入されることはなくなると考えられるが、動物を飼育する、あるいは取り扱いをする人々に、動物が様々な形で、種々の寄生体、病原体を保有していることを認識させることが重要で、併せて、情報の提供方法や適切な衛生管理法などを検討していくことが必要である。

*参考：

同じ齧歯類を用いて、感染症法、感染症類型1から5類に含まれる病原体について他の研究班で調査を行った。調査項目は、1類感染症ペスト、新4類感染症腎症候性出血熱、ハンタウイルス肺症候群、ライム病、レプトスピラ、野兔病、その他、リンパ球性脈絡髄膜炎である。その結果、上述の病原体のうち、レプトスピラが膀胱尿よりPCR法を用いて、8種類18匹(10.2%)、アフリカチビネズ

ミの40%(8/20)～シマリス5%(1/19)確認され、ライム病の病原体であるボレリアが6種類23匹、13%から検出された。レプトスピラはアフリカ産齧歯類全てで確認され、アフリカ産齧歯類の危険性が明らかになった。また、ボレリアは北南米産齧歯類全てでみられており、病原体の汚染状況に地域性があった。

F. 健康危害情報

愛玩用として輸入される野生齧歯類には、数多くの微生物、寄生虫などの寄生生物が感染しており、明らかに病原性があるものも多く含まれていたため、これらの動物の取り扱いについては十分注意する必要がある。

G. 研究発表等

(1) 論文発表

1. 宇根有美、太田周司、吉川泰弘. 愛玩用野生齧歯類の輸入状況と病原体保有状況. 日本獣医師会雑誌. 57(11):727-735. 2004.
2. 宇根有美. 輸入ペットからの病原体. Medical Technology. 32(12): 1217-1218. 2004.
3. 宇根有美(分担執筆). 子どもにうつる動物の病気. 真興交易株式会社医書出版. 2005.
4. 宇根有美. エキゾチックアニマルとズーノーシス. 獣医公衆衛生研究. 2005.
5. 宇根有美. 愛玩用げっ歯類の輸入状況と病原体保有の現状. 獣医疫学雑誌. 2005.

(2) 学会発表

1. 宇根有美、太田周司、吉川泰弘. 愛玩

用輸入齧歯類の病原体保有状況. 第4回
人と動物の共通感染症研究学会学術集会.
東京大学. 2004年7月.

表1 野生齧歯類の衛生管理に関連する病原体の保有状況 (2004年版 12種類176匹)

地域	アフリカ・中近東						アジア				北・南米				合計
	アフリカチビネズミ	ヒメミビトビネズミ	オオミビトビネズミ	シナイネズミ	カイロチゲネズミ	ビグミエラ	バナナリス	シマリス	リチャードソンズリス	コロムビア	アメリカ	チゲ	合計		
動物名	アフリカチビネズミ	ヒメミビトビネズミ	オオミビトビネズミ	シナイネズミ	カイロチゲネズミ	ビグミエラ	バナナリス	シマリス	リチャードソンズリス	コロムビア	アメリカ	チゲ	合計		
生息地	アフリカ	サハラ砂漠	リビア、エジプト、中近東	シナイ半島、小アジア、イラン北西部	アフリカ、中近東	パキスタン	タイ、マレー半島、スマトラ、ジャワ、ボルネオ	ロシア、ヨーロッパ北部、中国、朝鮮	北米	北米	北米、カナダ	チリ			
業者	C	C	C	C	C	B(2004)	B(2004)	B(2004)	B(2004)	B(2004)	B(2004)	B(2004)			
検査頭数	20	8	16	4	20	10	20	19	10	10	19	20	176		
ID番号	AC1~20	HT1~8	OM1~16	HR1~4	KT1~20	PJ41~50	BR1~20	SR21~39	RJ21~30	GJ11~20	AA1~19	DG1~20			
体重(平均)	4.70g	50.38g	118.79g	80.10g	32.02g	3.54g	120.40g	62.97g	260.98g	180.40g	202.25g	88.11g			
<i>Trichostrongyloides robustus</i> and/or <i>Heligmosomoides polygyrus</i> sonas <i>wenrichi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	腸内容検査		
<i>Giardia</i> sp.	-	-	3	-	7	ND	-	-/15	5	9 (シスト4)	13 (シスト4)	18/18(シスト17)	腸内容検査		
<i>Coccidium</i>	-	-	18.8%	-	35.9%	-	-	-	50%	90%	68.4%	100%	53匹、30.8%		
<i>Trypanosoma</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Coccidium</i> 9	<i>Eimeria</i> 3種 混合 17	-	腸内容検査		
<i>Cryptosporidium</i> sp.	-	-	-	-	5	ND	10	12/15	-	6	11	4/18	48/170、28.2% 腸内容検査		
<i>Erysipelothrix</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	口腔swab腸内容検査		
<i>S. aureus</i>	6	-	-	3	19	-	4	1	-	-	4	11	皮膚培養、48/176、27.2%		
<i>Trichobryton mentagrophytes</i>	-	-	-	-	1	4	-	-	-	8	-	1	皮膚培養 14 7.9%		
<i>A. flavus</i>	2 (1)	8 (1)	9 (2)	4	9 (8)	1	-	-	-	-	-	-	(-)アフラトキシン 産生株数 皮膚培養 33 18.8%		
	10%	100%	56.2%	100%	47.8%	10%									



図-1 オオミユビトビネズミ



図-2 シナイスナネズミ



図-3 ヒメミユビトビネズミ



図-4 カイトゲネズミ



図-5 アフリカチビネズミ



図-6 リチャードソングリス



図-7 アメリカアカリス

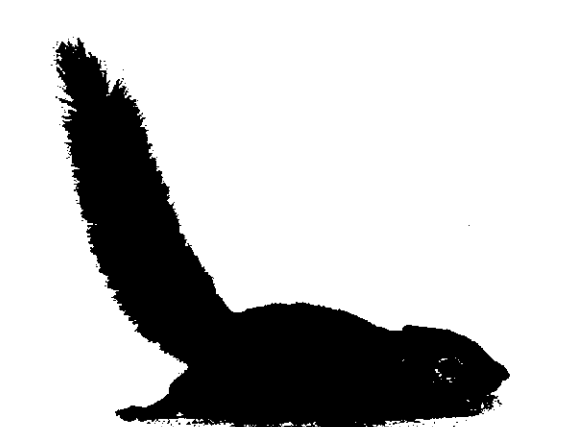


図-8 パナナリス

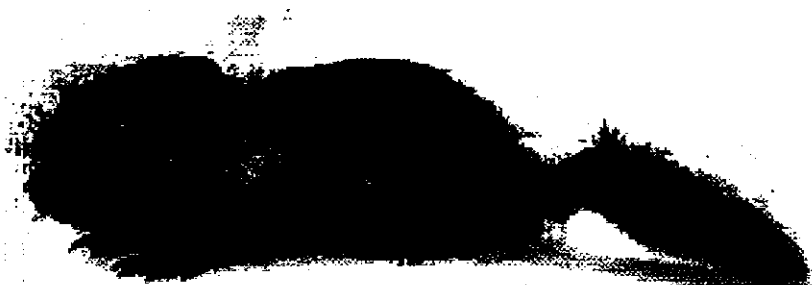


図-9 コロンビアジリス



図-10 デグー

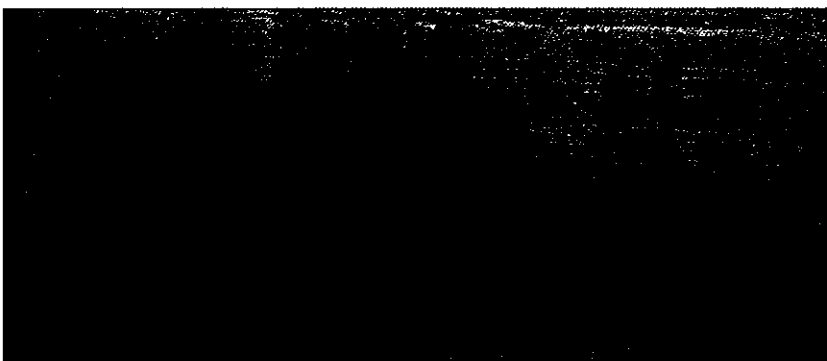


図-11 シマリス



図-12 ピグミージェルボア

オウム病クラミジア感染のペットにおける実態把握と
人のオウム病診断法の開発に関する研究

分担研究者	岸本 寿男	国立感染症研究所	ウイルス第一部	第5室長
研究協力者	柳 陳堅	国立感染症研究所	ウイルス第一部	流動研究員
	安藤 秀二	国立感染症研究所	ウイルス第一部	主任研究官
	小川 基彦	国立感染症研究所	ウイルス第一部	主任研究官
	宇根 有美	麻布大学獣医学部	病理学研究室	助教授
	真田 靖幸	小鳥の病院 BIRD HOUSE	CBL	
	福士 秀人	岐阜大学農学部獣医学科	獣医微生物学講座	教授

研究要旨:本邦におけるオウム病クラミジア (*C. psittaci*) の感染実態を解明するため、動物展示施設、動物病院およびペット業者等における疫学調査を実施した。一部の動物病院やペット業者では比較的高い陽性率を認めたが、動物展示施設での陽性率は初年度より低値であった。検出された *C. psittaci* 遺伝子の解析では標準株2株といずれも99%以上の相同率を示し、外国鳥と国内鳥由来の検体間でも、塩基配列に特に大きな相違はなかった。新たに設計した Real-time PCR 系では、*C. psittaci* とともに動物由来の *C. caviae* および *C. pecorum* が検出可能であり、動物由来のクラミジアに特化した検出法としての有用性が示唆された。今後さらに他の動物由来クラミジアやその他の病原体についても特異性ならびに感度の検討を行い、実用的な検出法としての確立を目指す。

A. 研究目的

1999年4月より感染症法にて第4類感染症に指定され、人の発生状況がかなり把握できるようになったが、感染源となる鳥類に関するデータは乏しく、また報告される症例の診断が必ずしも確実でないことなど多くの課題が残されている。そこで本研究では、特に愛玩鳥における実態把握と、人のオウム病の特異的な診断法の確立を主な目的とし、1年目に引き続き以下の検討を

行った。

1. 動物展示施設、動物病院およびペット業者における疫学調査を実施し、日本における *C. psittaci* の感染実態を解明すること。
2. 遺伝子解析により国内および外国鳥由来株の相違の有無について検討を行うこと。
3. 動物由来クラミジア感染症の特異的な検出法の開発。
4. 新たな人のオウム病血清診断法の開発。
5. 陽性鳥の治療法の検討。

である。本年度新たに検討を開始したものとして、動物由来クラミジア感染症の特異的な検出法の開発の中で、1年目に作成した one step PCR 法に加えて、人獣共通感染症として関る可能性のある動物由来クラミジアのすべてを検出することを目的に、新たに TaqMan probe を用いた Real-time PCR 法の開発を目指した。

B. 研究方法

愛玩鳥における *C. psittaci* 感染状況のサーベイランス： 動物病院、動物園およびペット業者の協力を得て、国立感染症研究所ならびに岐阜大学に送付された鳥類由来検体から PCR を用い、*C. psittaci* の検出を行った。

検出遺伝子の解析： 解析に用いた *C. psittaci* 遺伝子は、2002年2月から2003年6月の1年5ヵ月間に全国各地の39動物病院からクラミジア症診断を目的に真田らに送付された糞便またはクロアカスワブから抽出された遺伝子13検体。それに加えて、感染研でペット業者の鳥の糞便から検出された遺伝子1検体を用いた。これらを標準株(MN株と6BC株)と遺伝子の比較解析を行い、また国内および外国鳥由来検体(各7検体)での違いを調べた。

動物由来クラミジア感染症の病原体検出法の開発： TaqMan probe 法を用いた Real-time PCR により、迅速、感度、特異性に優れた動物由来クラミジア感染症の病原体検出法の開発および実用化を検討した。

新たな人のオウム病血清診断法の開発： ELISA 法を用いたオウム病に特異的な血清診断法の開発。

鳥の治療法の検討： PCR 陽性の鳥について治療経過に伴う除菌効果の検討を行った。

C. 研究結果

1) 愛玩鳥における *C. psittaci* 感染状況のサーベイランス：

i) 感染研における検討

本年度は、2004年4月から2005年1月にかけて、輸入卸売り業者、小売業者、動物病院および動物展示施設から感染研に送付された検体、計371検体を検査材料とし、*C. psittaci* の感染状況の調査を実施した。生鳥は糞便あるいはクロアカスワブを検査材料とし、死亡鳥は腸管を検査材料とした。これらの検体の10%乳剤を調整した後、DNA抽出を行い、クラミジア外膜蛋白をターゲットとする領域のPCRを実施した(平成15年度に報告した one-step PCR)。陽性は小売業者由来の2検体(50検体中)のみで、他の検体では全て陰性であった(表1)。今回の陽性率は全体としては0.5%であり、昨年度の4.7%に比べ、かなり低率であった。その原因として、主に今回用いた検体は本来陽性率が低いと思われる野生のスズメや遺棄されたウコッケイなどが大半を占めており、その影響が大きいと思われる。

ii) 岐阜大学における検討

福士らによる2004年のオウム病サーベイランス結果は表2のとおりであった。動物病院および動物展示施設から岐阜大学に依頼された検体について *C. psittaci* の検出を行った。2004年は動物販売店からの依頼はなかった。これは検査せずに搬入後直ちに抗生物質の投与を行うことにしたためである。動物病院からは6動物病院83件の依頼があった。健康診断が47件、感染症疑いが36件であ

った。*C. psittaci*が感染症疑いの4件から検出された。全体では4/83(4.8%)、感染症疑い例では4/36(11.1%)であった。動物展示施設では2施設から依頼があり、それぞれ157件および15件であり、*C. psittaci*は1施設から1検体検出された。陽性率は動物展示施設全体で1/172(0.5%)であった。現在検出されたクラミジア遺伝子の塩基配列解読を進めている。

2) 検出された *C. psittaci* 遺伝子の解析：感染研での検出遺伝子と、真田から提供された抽出遺伝子を用いて遺伝子解析を行った。検体はペット業者、動物病院由来の *C. psittaci* PCR 陽性検体、計14検体(外国鳥由来7検体と国内鳥由来7検体)で、主要外膜蛋白(MOMP)の塩基配列は、いずれも、標準株である *C. psittaci* MN株および *C. psittaci* 6BC株とそれぞれ2塩基、5塩基の違いのみで、99%の相同率を示し、外国由来鳥と国内由来鳥とで、塩基配列の特に大きな相違は見出せなかった(表3)。

3) 新たな人のオウム病血清診断法の開発：精製 *C. psittaci* 基本小体から作製した複合外膜蛋白抗原を用いた、*C. psittaci* 特異的なELISA法の開発をめざし、各クラミジアの増殖精製を進めた。

4) 動物由来クラミジア感染症の病原体検出法の開発：*C. psittaci*の16s rRNAの領域においてprobeおよびprimerを設計し、Real-time PCRを実施した。新たに設計したReal-time PCR系では、*C. psittaci*とともに動物由来の *C. caviae* および *C. pecorum* が検出可能であったのに対し、*C. trachomatis* および *C. pneumoniae* は検出されなかったことから、動物由来のクラミジアに特化した検出法としての有用性が示

唆された。

5) 鳥の治療法の検討：*C. psittaci* 陽性と判定された外国由来のオキナインコー羽に対し、2週間のドキシサイクリンによる治療を実施した。治療終了10日後および1ヶ月後に、排菌の有無を検討したところ、いずれも糞便のPCR陰性化は見られたが、クロアカスワブでは陽性であった。さらに2週間の追加投与を行ったが、その後の検査でも同様にスワブでは陽性であった。予防投与として2週間のドキシサイクリンは必ずしも十分といえない可能性があり、現在再治療中であるが、今後、投与方法、治療期間や投与薬剤の再検討を行う予定である。

以上、これらを3年目に継続してさらに検討を進める予定である。

D. 考察

本年度の検討では、一部のペット業者や動物病院では初年度同様に比較的高い陽性率を認めたが、動物展示施設等での陽性率は低値であった。その原因として、鳥種の差、施設のオウム病に対する認識の向上と衛生管理の改善等による排菌の低下、予防投与の影響等が考えられるが、詳細は不明である。今後これらを考慮しつつ *C. psittaci* の感染状況の調査を引き続き行う必要がある。検出された *C. psittaci* 遺伝子の解析では、すべて標準株(MN, 6BC)株と99%の相同率を示し、国内鳥と外国鳥由来株の間でも塩基配列に特に大きな相違は見出せなかった。今後さらに数を増やして検討を行う必要がある。新たに設計したReal-time PCR系では、動物由来のクラミジアに特化した検出法としての有用性が示唆されたが、今後、さらに感度、特異性、

反応条件についての検討を重ね、実用化を目指す予定である。ELISA 法による人の特異的な血清診断法を確立するため、本年度増殖、精製した各クラミジア抗原を用いて、今後、兎で免疫血清を作成し、本 ELISA 法の特異性について検討する予定である。

E. 結論

サーベイランスでの展示施設における陽性率は低下傾向が見られたが、一部のペット業者や動物病院では高い陽性率が認められた。低下の原因についての検討も含め、引き続き実態調査を続ける必要がある。鳥と人のオウム病診断法の確立についても、遺伝子検出法、血清診断法等、さらに検討を進める。

F. 健康危機情報

特になし。

G. 研究発表等

論文発表

1. Toyokawa M, Kishimoto T, Cai Y, Ogawa M, Shiga S, Nishi I, Hosotsubo H, Horikawa M, Asari S: Severe *Chlamydia psittaci* pneumonia rapidly diagnosed by detection of antigen in sputum with immunochromatography assay. *Jinfect Chemother*; 10: 245-249, 2004.
2. 蔡 燕, 小川基彦, アグス・スティヨノ, 福士秀人, 田原健司, 安藤秀二, 岸本寿男: 鳥由来検体からのオウム病クラミジアの遺伝子抽出法の検討. *感染症誌*. 2: 153-154, 2005.
3. 岸本寿男: クラミジア感染症の内科領域における最近の動向. *化学療法の領域*. 20: 413-417, 2004.

4. 岸本寿男: クラミジア呼吸器感染症 p1144-1147, 黒川, 寺元(編) *EBM 内科処方指針*, 中外医学社, 東京, 2004.
5. 岸本寿男, 小川基彦, 安藤秀二: 非定型病原体検査 p71-77, 砂川, 尾内(編) *小児の肺炎*, 医薬ジャーナル社. 東京, 2004.
6. 岸本寿男, 安藤秀二, 小川基彦: 非定型病原体の現状 感染と抗菌薬. 7: 258-263, 2004.
7. 岸本寿男: オウム病 p1085-1086 高久他監修 *家庭医学大全科*, 法研. 2004.
8. 岸本寿男: オウム病 p114-115 感染症の診断・治療ガイドライン 2004 日本医師会, 2004.
9. 岸本寿男: オウム病 p109-113 感染症予防必携 第2版. 日本公衆衛生協会, 2004.
10. 岸本寿男, 安藤秀二: クラミジア呼吸器感染症の治療ポイントと薬剤処方例 p66 齋藤 (編) *感染症診療のコツと落とし穴*. 中山書店, 東京, 2004.
11. 岸本寿男: オウム病 p37-39 感染症の事典 国立感染症研究所学友会(編), 朝倉書店, 2004.
12. 福士秀人: オウム病の最近の動向. *化学療法の領域*. 20: 380-387, 2004.
13. 福士秀人. オウム病. p269-280, 木村, 喜田 (編) *人獣共通感染症*, 医薬ジャーナル社, 東京, 2004.
14. 福士秀人. 封入体結膜炎 (猫クラミジア性結膜炎) p 281-285, 木村, 喜田 (編) *人獣共通感染症*, 医薬ジャーナル社, 2004.

学会発表

1. 蔡 燕, 小川基彦, 佐藤 梢, 志賀定嗣, アグス・スティヨノ, 岸本寿男 オウム病の病原診断における新しい PCR 法の検討. 第78回日本感染症学会総会, 東京, 2004.
2. 小川基彦, 岸本寿男, 佐藤 梢, 蔡 燕, 志賀定嗣, アグス・スティヨノ, 多田有希: オウム病集団発生の原因となったヘラジカ

由来 *C. psittaci* の遺伝子学的解析とその感染源に関する調査. 第78回日本感染症学会総会, 東京, 2004.

3. Chahota, R., H. Ogawa, T. Yamaguchi, H. Fukushi. Genetic Diversity of *Chlamydophila* species prevalent among the captive and feral avian species based on VD2 region of ompA gene. 第22回日本クラミジア研究会・第11回リケッチア研究会合同学術集会, 倉敷, 2004.

4. 高原 悠, 黒田悦子, 子安沙織, 蔡 燕, 宮下修行, 山口剛士, 福士秀人. ネコクラミジア抗原発現遺伝子の同定および性状解析. 第22回日本クラミジア研究会・第11回リケッチア研究会合同学術集会, 倉敷, 2004.

5. 岸本寿男. 感染症予防法の改正について オウム病 日本小動物獣医師会2004年年次大会(愛知) 名古屋, 2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表1) オウム病クラミジア遺伝子の検出結果

検体グループ	2004年度		2003年度	
	検体数	陽性数 (率)	検体数	陽性数 (率)
M群	—	—	40	5 (12.5%)
Con0群	53	0	—	—
ConUe群	69	2 (2.9%)	126	1 (0.8%)
KH群	45	0	14	0
TH群	135	0	74	2 (2.7%)
TH-S群	69	0	18	0
BP群	—	—	51	9 (17.6%)
CD群	—	—	19	0
ConNa群	—	—	72	8 (11.1%)
FF群	—	—	22	0
FU群	—	—	34	1 (3.0%)
KI群	—	—	35	0
KO群	—	—	24	0
N群	—	—	73	1 (1.4%)
NS群	—	—	5	0
ST群	—	—	18	0
FK群	—	—	8	3 (37.5%)
合計	371	2 (0.5%)	633	30 (4.7%)

表 2) 岐阜大学におけるオウム病クラミジアの検出結果 (2004 年)

施設	検体数	陽性数	陽性率 (%)
	(健康診断, 感染症疑い)	(健康診断, 感染症疑い)	(健康診断, 感染症疑い)
A 動物病院	11 (7, 4)	0	0
B 動物病院	3 (0, 3)	0	0
C 動物病院	3 (2, 1)	1 (0, 1)	33 (0, 100)
D 動物病院	6 (3, 3)	0	0
E 動物病院	1 (0, 1)	0	0
F 動物病院	56 (35, 21)	3 (0, 3)	5.3 (0, 14)
動物病院 計	80 (47, 33)	4 (0, 4)	5 (0, 12)
G 動物施設	157 (157, 0)	1 (1, 0)	0.6 (0.6, 0)
H 動物施設	15 (15, 0)	0	0
動物施設 計	172 (172, 0)	1 (1, 0)	0.5 (0.5, 0)
計	252 (219, 33)	5 (1, 4)	1.9 (0.4, 12)

表 3) *C. psittaci* 遺伝子の解析結果

検 体	由 来	MN株と異なる塩基数*1	6BC株と異なる塩基数*2
ConUe68	外 国	2bp	5bp
Sanada282	外 国	2bp	5bp
Sanada338	国 産	2bp	5bp
Sanada473	国 産	2bp	5bp
Sanada648	外 国	2bp	5bp
Sanada807	外 国	2bp	5bp
Sanada1234	国 産	2bp	5bp
Sanada1235	国 産	2bp	5bp
Sanada1334	国 産	2bp	5bp
Sanada1335	国 産	2bp	5bp
Sanada1569	外 国	2bp	5bp
Sanada1650	外 国	2bp	5bp
Sanada1673	外 国	2bp	5bp
Sanada1697	国 産	2bp	5bp
相同率		99%	99%

*1: MN株のMOMPにおける塩基配列の比較範囲 262-1482, 1221bp

*2: 6BC株のMOMPにおける塩基配列の比較範囲 397-1617, 1221bp

ヒトおよび愛玩動物における真菌症の発生状況の調査と
予防・診断法の開発に関する研究

分担研究者 佐野 文子 千葉大学 真菌医学研究センター 助教授

研究要旨：

1) 家庭内で飼育されているイヌ (329 頭), ネコ (95 頭) の口腔内真菌叢

家庭内で飼育されているイヌ, ネコを調査したところ, 約 30%の個体が何らかの病原真菌を保有しており, その中には易感染宿主のヒトで, 全身感染を起こし死に至らしめることのある菌種が含まれていた. 現在までに咬傷事故による真菌感染症およびその死亡事故は発生していないが, 飼い主と愛玩動物の飼育形態が屋内で密接な関係にある現状を考えると, 病原真菌による感染事故も未然に防ぐよう, 注意を喚起することが必要である.

2) 病理組織からの真菌遺伝子検出による遺伝子診断

真菌症はその原因菌を臨床材料から分離・同定することにより確定診断することが出来る. しかしながら, 培養の機会を逸し, 病理組織から診断しなければならない事態がしばしば発生している. 病理組織から真菌症であることは診断できてもその原因菌種を特定することは難しい. そこで病理組織から真菌遺伝子を検出し, その配列を決定することにより原因菌種を特定することが試みられてきた. それらの結果を応用した事例を紹介する.

i) ヒストプラズマ症の分子疫学的解析への応用

ヒストプラズマ症は我が国に存在するもっとも危険度レベルの高い (レベル

3) 病原真菌 *Histoplasma capsulatum* によって起こる真菌症である. 原因菌の分離による確定診断は難しいため, 病理組織などから抽出されたリボソーム RNA 遺伝子の internal transcribed spacer (ITS) 領域の部分塩基配列の相同性により診断してきた. 現在までに我が国で発症したイヌのヒストプラズマ症 7 例のうち, 6 例は遺伝子解析により診断されているが, これら症例の遺伝子解析結果を再検討し, より長い塩基配列を求めるとともに, 最近, 国内で分離されたヒト症例由来の菌株より得られた配列を加え, 樹形図解析を行った. 我が国のヒト症例 2 例およびイヌ症例 6 例より得られた遺伝子型は, ウマの仮性皮疽より分離された *H. capsulatum* var. *farcinosum* に近縁であったことから, 我が国に土着のヒストプラズマ症はウマの仮性皮疽の異種感染である可能性が高い.

ii) 病理組織標本からの接合菌症原因菌遺伝子の検出

病理組織標本から抽出された DNA より nested-PCR により接合菌種の LSUrRNA 遺伝子を検出する方法をヒト症例, 動物症例に応用できた.

3) 人獣共通真菌症原因菌の1菌種 *Microsporum canis* によるヒト感染の現状と問題点について

最近、本菌種による感染は皮膚科領域では減少しているといわれており、飼育者も医師もほとんど無関心である。そのため、飼育者（子ども）が激しいケルルス禿創に至ってから、診断、治療、感染源の特定が行われた症例が確認されている。一方、菌学的研究から本菌種を分離しても形態学的に同定の難しい株があり、遺伝子解析を含む同定診断が必要であることもわかった。

4) その他

i) *Candida tropicalis* によるネコの膀胱炎の1例

最近、耐性菌になりやすい病原性酵母によるネコの膀胱炎を経験したが、この症例よりネコのトイレの清掃時には手袋を着用する等の対策の必要性が示唆された。

ii) 動物園のヤマアラシから分離された *Arthroderma benhamiae*

動物園で飼育されている生後5ヶ月のヤマアラシより *A. benhamiae* が分離された。同居している母個体からも同菌種が分離され、飼育環境内での蔓延が示唆された。最終年度、同動物園で持っているふれあい動物コーナーのげっ歯類および食虫目動物について、皮膚糸状菌保有状況を調査し、その結果をもとに、ふれあい動物コーナーをもつ全国の動物園、学校飼育動物関係者に情報を発信する予定である。

1) 家庭内で飼育されているイヌ (329 頭)、
ネコ (95 頭) の口腔内真菌叢

A. 研究目的

最近の家庭内で飼育されているイヌおよびネコの飼育形態は、医師や獣医師等が指導しても、動物に対する溺愛による顔なめや口移しの給餌をはじめ、濃厚接触をしているのが現状である。そのため人獣共通感染症が懸念されているが、病原微生物の細菌についてはパスツレラ症、バルトネラ症などで詳細に疫学調査、研究がなされており、飼育関係者への指導もいきわたるようになってきている (1, 2)。真菌症に関しては、ヒトでは学童児童をはじめ、各種年齢層においてその口腔内真菌叢が調べられており、病原性酵母の保有率は HIV 感染やその他の免疫不全基礎疾患により保有する菌種も異なることが知

られている (3, 4)。また、ヒトの場合、家族内で同一の遺伝子型を持つ病原性酵母が分離されていることから、濃厚、密接な接触により病原真菌が拡散していると考えられている (5)。しかしながら、人獣共通真菌症に関しては、皮膚糸状菌および限られた菌種による感染の危険性が指摘されているにすぎず (6-8)、家庭内で飼育されているイヌ、ネコの口腔内病原真菌については何ら調査されたことが無い。そこで家庭内で飼育されているイヌ、ネコの口腔内真菌叢を調査し、保菌率、保菌病原真菌の種類を明らかにし、咬傷事故や接触事故などが問題となる前に、易感染宿主による飼育の危険性を啓蒙することを目的とした。

B. 研究方法

2004 年 4 月 - 6 月に千葉県東南部の農

業地域と宅地地域の混在する地方都市に来院したイヌおよびネコイヌ329頭（平均6.53歳，雄：雌=1：0.86），ネコ95頭（平均6.03歳，雄：雌=0.9：1）の計424頭（平均6.42歳，雄：雌=1：1）を対象とした。また，対象となった個体の背景（動物種，年齢，性別，基礎疾患，歯石の有無など）と病原真菌保有率との関係をカイ二乗検定により解析した。

検体採集は，口腔内を滅菌綿棒で拭い，抗生物質を添加したポテト・デキストロース寒天（PDA；potato dextrose agar，Difco，MO，USA）平板培地に塗抹し，35℃で4～7日間培養し，集落を釣菌し，集落の形態，スライドカルチャー法による顕微鏡的観察，クロモアガーカンジダ（関東化学，東京），クロモアガーカンジダマラセチア（関東化学）およびAPI ID32C（BioMerieux，France）による生理生化学的性状，および Large subunit ribosomal RNA（LSUrRNA）遺伝子のD1/D2領域の解析による同定を行った。

C. 研究結果

口腔内の病原真菌保有率は全体 30.4%，イヌ 33.7%，ネコ 18.9%であった。病原真菌保有個体と陰性個体での動物種，年齢，性別では有為差は認められなかった。イヌの歯石（ $P < 0.01$ ）および基礎疾患ではアトピー（ $P < 0.05$ ）を持つ個体で，病原真菌保有率は優位に増加していた。ネコでも腫瘍および免疫介在性疾患を持つ個体で保有率が優位に増加していた（ $P < 0.01$ ）（表1）。

全分離菌株数は168株で，酵母として105株，糸状菌として63株が分離された。酵母の内訳は *Candida albicans* および *Candida* spp.，*Cryptococcus neoformans* および *Cryptococcus* spp.，*Rhodotorula* spp.，*Trichosporon inkin* および *Trichosporon ovoides* など未同定株1株を含む33株，および *Malassezia pachydermatis* 72株であ

った。なお，*M. pachydermatis* は1株を除き，イヌ由来であった。糸状菌の内訳は *Alternaria alternata*，*Arthrrium phaeospermum*，*Aspergillus sydowi*，*Aspergillus versicolor*，*Bipolaris* sp.，*Chaetomium sphaerale*，*Curvularia* sp.，*Fusarium chlamydosporum*，*Fusarium solani*，*Fusarium* sp.，*Mucor racemosus*，*Mucor* sp.，*Penicillium* spp.，*Phoma* sp.，*Schizophyllum commune* および *Trametes versicolor* などが分離され，6株は同定中である。なお，そのうち1株は形態，LSUrRNA 遺伝子の配列などから，ヒトに脳炎をおこす新興真菌症原因菌の *Arthrographis karlae* と推測され，同定が確定すれば本邦初分離となる（表2）。

D. 考察

イヌ，ネコともに基礎疾患を持つ個体や歯石のある個体では口腔内病原真菌保有率が高い傾向を認めた。また，イヌおよびネコの口腔内病原真菌叢もヒトと同様に病原性酵母の *Candida* 属菌が多数分離されると予想していたが，両動物種ともに少なかった。イヌで *M. pachydermatis* が高率に分離されたこと，イヌ，ネコともに病原性糸状菌が高率に分離されたことがヒトと異なる点であった。これは，舐毛行動により皮膚に付着もしくは常在する真菌叢が口腔内に反映されていると考えた。

今回分離された酵母種は易感染性宿主で全身感染を起こすことが知られている菌種も含まれていた。最も多く分離された *M. pachydermatis* は新生児で治療に当たった看護師を通じてカテーテルから全身感染が集団発生したことが記録されている(9)。また本菌種は株によりクロモアガーカンジダ（関東化学、東京）平板培地上での発色が異なるので（写真1），遺伝子や，抗真菌剤に対する感受性などを解析する必要があると

考えている。

今回分離された *Candida* 属菌種のなかでも non-*albicans Candida* 種が含まれていた。*C. albicans* の病原性はよく知られていることであるが、non-*albicans Candida* 種による全身感染もエイズ患者、臓器移植患者などで報告されているうえ、薬剤耐性菌である場合が多い菌種である (10)。

一方、分離された糸状菌種も、皮膚感染、角膜感染など表在性真菌症原因菌のみならず、エイズ患者、臓器移植患者、重度の火傷、悪性腫瘍の全身転移などをもつ易感染性宿主では全身感染を引き起こす原因菌と知られている菌種 *Bipolaris* sp., *Fusarium solani*, *Mucor racemosus*, *Mucor* sp., *Schizophyllum commune* などが含まれていた。特にこれらの菌種は、non-*albicans Candida* 種と同様に新興真菌症原因菌としてヒトの臨床領域でも分離、同定、診断が難しい真菌症として知られているばかりではなく、薬剤耐性菌が多いため、一旦感染すると治療が難しいことが問題となっている (11-13)。また、病原性の知られていない担子菌の *Trametes versicolor* は 37°C でも発育できたことから、今後、病原性担子菌として、ヒトおよび動物から分離されることが予想される。

E. 結論

現在までにイヌやネコの咬傷事故による真菌感染症は報告されていないが、高齢者、免疫不全の基礎疾患をもつなど易感染性の飼い主を中心に病原真菌保有個体の飼育管理上の注意を呼びかけて行きたい。

2) 病理組織からの真菌遺伝子検出による遺伝子診断

真菌症はその原因菌を臨床材料から分

離・同定することにより確定診断することが出来る。しかしながら、培養の機会を逸し、病理組織から診断しなければならない事態がしばしば発生している。病理組織から真菌症であることは診断できてもその原因菌種を特定することは難しい。そこで病理組織から真菌遺伝子を検出し、その配列を決定することにより原因菌種を特定することが試みられてきた。それらの結果を応用した事例を紹介する。

i) ヒストプラズマ症の分子疫学的解析への応用

A. 研究目的

ヒストプラズマ症は我が国に存在するもっとも危険度レベルの高い(レベル 3)病原真菌 *Histoplasma capsulatum* によって起こる真菌症である。原因菌の分離による確定診断は難しいため、病理組織などから抽出されたりボソーム RNA 遺伝子の internal transcribed spacer (ITS) 領域の部分塩基配列の相同性により診断してきた。現在までに我が国で発症したイヌのヒストプラズマ症 7 例すべては皮膚症状を主徴とし、免疫状態の低下が示唆された癌の基礎疾患が合った場合は、全身播種性の症例も記録された。このうち 6 例は遺伝子解析により診断されているが、ヒト臨床分離株から得られた同領域の配列と比較・検討するには不十分であった (表 3)。そこでこれら症例の遺伝子解析結果を再検討し、最近、国内で分離されたヒト症例由来の菌株より得られた配列を加え、樹形図解析を行い、我が国のイヌのヒストプラズマ症について分子疫学的解析を行うことを目的とした。

B. 研究方法