

20050066/A・B

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

愛玩動物の衛生管理の徹底に関する研究
(H15-新興-19)

平成 15-17 年度 総合研究報告書

主任研究者 神山 恒夫

平成 18(2006) 年 3 月

目 次

	ページ
I. 総合研究報告	1
1. 平成15年度～平成17年度 総合研究報告書	2
神山 恒夫	
II. 平成17年度研究報告	12
1. 総括研究報告	13
愛玩動物の衛生管理の徹底に関する研究（三年計画の第三年目）	
神山 恒夫	
2. 全国大学付属動物病院における	
愛玩動物由来感染症診療実態に関する調査	16
神山 恒夫	
3. 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	19
荒島 康友	
4. イヌブルセラ病の疫学的調査・研究	21
今岡 浩一	
5. カプノサイトファーガ属菌に関する疫学的調査・研究	26
今岡 浩一	
6. エキゾチックペット由来感染症の発生状況の	
調査と予防・診断法の開発（病性鑑定による愛玩動物の疾病把握）	32
宇根 有美	

7. エキゾチックペット由来感染症の発生状況の 調査と予防・診断法の開発 (法定検疫後のコモンリスザルの病原体保有調査)	36
宇根 有美	
8. エキゾチックペット由来感染症の発生状況の 調査と予防・診断法の開発 (輸入野生動物、主として齧歯類の病原体保有調査 - 寄生虫、細菌、真菌の保有調査 -)	44
宇根 有美	
9. 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	54
佐野 文子	
10. 猫ひっかき病の発生状況と愛玩動物のバルトネラ感染症の 調査ならびに予防・診断法の開発	75
丸山 総一	
資料	84

Ⅱ. 平成17年度 研究報告

愛玩動物の衛生管理の徹底に関する研究（三年計画の第三年目）

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：本研究では、おもな愛玩動物の飼育状況および愛玩動物由来感染症の発生状況の調査と予防診断法の開発を行い愛玩動物の衛生管理に関する理解を広めることを目的としている。

研究三年計画の最終年に当たる本年度は、前年に引き続き、おもな愛玩動物由来感染症の診断法の開発とそれを用いた発生状況等の調査、全国獣医科大学付属動物病院を対象とした動物由来感染症発生状況と動物由来感染症に関する意識等の調査、および、三年間の成績をまとめたガイドラインの発行を行った。

主任研究者：

神山恒夫（感染研獣医科学部）

分担研究者：

荒島康友（日本大学医学部）

今岡浩一（感染研獣医科学部）

宇根有美（麻布大学獣医学部）

岸本寿男（感染研ウイルス第1部）

佐野文子（千葉大学医学真菌研究センター）

丸山総一（日本大学生物資源学部）

A. 研究目的

本研究では、今後わが国でも公衆衛生問題となることが危惧される愛玩動物由来感染症の調査研究を進め、飼育状況と発生状況の調査、死んだ貝法の開発等を行うと共に、これらの成績を公開して教育・啓発活動を進め、愛玩動物の衛生管理の徹底を図ることを目的とする。

B. 研究方法

全国獣医科大学付属動物病院を対象とした動物由来感染症発生状況と動物由来感染症に関

する意識等の調査、おもな愛玩動物由来感染症の診断法の開発とそれを用いた発生状況等の調査、および、三年間の成績をまとめたガイドラインの発行を行った。

C. 研究成績

1. 大学付属動物病院における愛玩動物由来感染症診療実態等に関する調査（分担：神山恒夫）
全国の大学動物病院において、飼い主の動物由来感染症に関する認識度を調査した。その結果、感染の予防や衛生的な飼育管理の徹底と、動物由来感染症に関する教育・啓発の必要性があることが指摘された。今後、動物由来感染症対策を効果的に進めるために、国、地方自治体、各動物病院等、獣医師、病院、医師などの連携と、広報、啓発、教育活動を行う必要性、および検査体制を充実させる必要性がある。

2. 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：荒島康友）

咬傷感染の原因となるパストレラ菌の分析におけるジェノパターン法と PFGE 法の有効性が確認された。また、一般検査センターにおける

金の分離状況から、パスツレラ症が増加傾向にあることが示唆された。

3. イヌブルセラ病の疫学的調査・研究 (分担：今岡浩一)

愛玩飼育されているイヌおよび動物愛護センター収容犬におけるイヌブルセラ症感染歴を血清学的に調査し、イヌブルセラ症は現在も国内のイヌに常在していることが確認された。

4. カプノサイトファーガ属菌および；パスツレラ菌に関する疫学的調査・研究 (分担：今岡浩一)

咬傷感染原因菌であるカプノサイトファーガ属菌の保有状況を遺伝子診断によって調査したところ、動物愛護センター収容犬の約 95%が同菌を保有していることが示唆された。一方、パスツレラ菌の保有率は約 25%であった。

5. エキゾチックペット由来感染症の病性鑑定 (分担：宇根有美)

大学附属動物病院でのエキゾチックペットの病性鑑定により、公衆衛生上注意が必要な疾患として、エルシニア症 (サル類、リスおよび鳥類)、トキソプラズマ症 (リスザル) の発生等を検証した。

6. エキゾチックペット (コモンリスザル) 由来感染症の発生状況の調査 (分担：宇根有美)

検疫直後の愛玩用サル類を対象として病原体保有状況を調査した。その結果、蠕虫 11 種および原虫 3 種が検出された。これらの中にはヒトへの感染性が確認されている寄生虫・原虫類が確認された。

7. エキゾチックペット (齧歯類等の輸入野生動物) の病原体保有調査 (分担：宇根有美)

輸入野生齧歯類等 (27 種 522 匹) の病原体保有状況を調査し、豚丹毒菌 (1/49)、各種サルモネラ菌、黄色ブドウ球菌等による汚染が明らかとなった。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。

8. 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 (分担：佐野文子)

PCR および LAMP 法等の診断法を開発し、イヌのヒストプラズマ症の分子疫学調査、イヌおよびネコの口腔内真菌叢調査、展示動物における皮膚糸状菌症診断、等を行ない、国内のヒストプラズマ症原因菌の分子系統樹上の位置、国内の新興動物由来感染症原因菌の性状、環境中の動物由来感染症原因真菌の性状、展示動物の皮膚真菌症の疫学などが明らかになった。また、環境中の新興真菌症原因菌がイヌの骨髄炎、皮膚感染の起原因菌となることが明らかになった。今後、ヒトへの伝播に注意が必要である。

9. 愛玩動物におけるバルトネラ感染症 (猫ひっかき病) の発生状況ならびに予防・診断法の開発 (分担：丸山総一)

国内の愛玩用ネコにおけるバルトネラ属菌感染率を細菌学のおよび血清学的に調査した。原因の熱ショック蛋白質の組換え蛋白質を抗原として用いた血清診断の有効性が示唆された。

10. オウム病に関する調査研究 (分担：岸本寿男)

前年に引き続き、市販の愛玩鳥および取扱業者におけるオウム病の実態の調査研究を行った。

11. 「愛玩動物の衛生管理の徹底を呼びかけるためのガイドラインの発行に関する研究 (分担：神山恒夫)

研究班 3 年間の成果をまとめて「愛玩動物の衛生管理の徹底に関するガイドライン 2006 - 愛玩動物由来感染症予防のために -」を編集、発行した。

D&E. 考察と結論

近年愛玩動物飼育状況は大きく変化した。その結果、本研究班の調査によって示されたよう

に、愛玩動物は動物由来感染症予防の目的で日常生活において最も注意を払うべき動物と理解される。

本研究班によって開発された、おもな愛玩動物由来感染症の診断技術は、今後の調査、予防対策の策定等に有効な実験室技術となると考えられる。

最終年度にまとめられた「愛玩動物の衛生管理の徹底に関するガイドライン 2006 -愛玩動物由来感染症予防のために-」は、今後、愛玩動物由来感染症対策を実行するに際して重要な役割を果たす者と考えられる。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

総合報告書参照

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

2.
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

全国大学付属動物病院における愛玩動物由来感染症診療実態に関する調査

主任研究者 神山 恒夫 国立感染症研究所 獣医科学部 室長

研究要旨：

全国の大学動物病院 16 カ所に調査票を送付し、愛玩動物由来感染症に関してアンケート調査を行った。このうち7カ所から回答が得られた。

飼い主の動物由来感染症に関する認識度をたずねた調査では、愛玩動物からの感染を予防すべく心がけている飼い主（15-20%）に比べ、関心が低い飼い主の割合が高いこと（20-30%）、また動物由来感染症に関して全く関心を示さない飼い主もある（5-10%）ことから、教育・啓発の必要性が指摘された。

今後、動物由来感染症対策を効果的に進めるために、専門機関（国、地方自治体、各動物病院等、獣医師、病院、医師など）の連携を保ち、広報、啓発、教育活動を行う必要性、および検査体制を充実させる必要性が指摘された。

A. 調査目的

愛玩動物由来感染症の実態を調査するため、臨床獣医師を対象とした調査の必要性があった。この目的で全国の大学動物病院を対象として調査を行った。

B. 調査方法

1. 全国の大学動物病院 16 カ所に調査票を送付し、愛玩動物由来感染症に関してアンケート調査を行った。7大学動物病院から回答が得られた。

2. この調査では下記の動物を調査対象とした。産業動物は調査対象としなかった。

- (1) イヌ：家庭飼育犬、放浪犬
- (2) ネコ：家庭飼育ネコ、地域ネコ・放浪ネコ
- (3) 鳥類：愛玩用小鳥類、インコ・オウム類、愛玩用のニワトリやチャボ等

(4) エキゾチックペット：

- ハムスター・モルモット・リスその他の齧歯類、ウサギ類、イヌ・ネコ以外の愛玩用食肉動物、サル類

C. 調査結果

調査結果は次のようにまとめられた。

1. 診察数

年間の愛玩動物診察数に関しては、各施設あたりの概数の平均は次のようであった。

(1) イヌ

- 家庭飼育犬：約 4800 頭
- 放浪犬：2 頭

(2) ネコ

- 家庭飼育ネコ：約 740 頭
- 地域ネコ・放浪ネコ：2 頭

(3) 鳥類

愛玩用小鳥類：約 15 羽

インコ・オウム類：2 羽

愛玩用のニワトリやチャボ等：1 羽

(4) エキゾチックペット

ハムスター・モルモット・

リスその他の齧歯類：約 25 頭

ウサギ類：約 5 頭

イヌ・ネコ以外の愛玩用食肉動物：0 頭

サル類：0 頭

2. 動物由来感染症例数

診察動物のうち、動物由来感染症に罹患している可能性があると思われる症例数（年間）の平均として、イヌ 10 数例程度、ネコ 10 例程度、鳥類数例程度、エキゾチックペットはまれに経験する程度であった。

診察動物が飼い主や周辺の人への感染を引き起こしたと思われる症例として、皮膚糸状菌症など、イヌやネコからの感染例を指摘する回答が得られた。症例数は少数であった。

3. 飼い主の意識

大学動物病院の獣医師から見て、飼い主の動物由来感染症に関する認識度は次のようであった。

愛玩動物由来感染症に関する認識があり、

予防を心がけている・・・ 15-20%

愛玩動物由来感染症に関する認識はあるが、

予防には関心が低い・・・ 20-30%

愛玩動物由来感染症に関する認識は低いが、

飼育は衛生的・・・ 35-40%

愛玩動物由来感染症に関する認識が低く、

予防にも関心が低い・・・ 10-15%

愛玩動物由来感染症に関する認識や

関心がない・・・ 5-10%

4. 大学動物病院の対応

大学動物病院の獣医師が飼い主から動物由来感染症に関する質問や相談を受ける機会は、平

均、週に 1 件〜2-3 ヶ月に 1 件とする回答が多かった。

大学動物病院の獣医師が動物由来感染症の疑いのある動物を診察した場合、飼い主に対して疑われる疾病に関する情報、リスクを伝え、動物との接し方、手洗いや消毒等の使用について指導し、場合によって、動物との接触を避けるよう指導するなどの対応をとっていることが多いことが明らかとなった。

免疫不全の飼い主に対する対応として、飼い主が免疫不全状態にあることを告げられ経験はほとんどなく、対応基準も準備していない動物病院が多いことが明らかとなった。

5. 各専門分野の連携の必要性

多くの動物病院では、ヒトへの感染を引き起こした疑いのある動物を、病院からの紹介や依頼を受けて診察を行った経験を有していなかった。また、診療所・病院や医師から動物由来感染症について相談を受ける機会は多くはないこと、逆に獣医師が診療所・病院や医師に対しては動物由来感染症について相談する機会も少ないことが明らかとなった。

このため、動物由来感染症の情報や検査・診断等に関して、獣医師と医師の連携を深める必要性が指摘された。連携を深めるため、動物由来感染症に関する最新の情報提供の場として獣医師・医師の合同勉強会、連絡会、情報共有の仕組みの必要性があげられた。

6. 動物由来感染症対策の促進

動物由来感染症対策を効果的に進めるために、専門機関（各動物病院等、獣医師、病院、医師、自治体等の担当部局、国の担当部局）は、それぞれの連携を保つことの重要性、および一般市民や飼育者への情報提供、啓発、教育活動の必要性が指摘された。

D. 考察

全国の獣医系大学の付属動物病院は、診察動物数も多く、地域の動物医療の中心となってい

ると考えられることから、大学付属動物病院における愛玩動物由来感染症の診療及び飼い主の意識等に関する調査を行った。前年度までの、開業臨床獣医師を対象として行った調査、および愛玩動物飼育者を対象として行った調査と合わせて、国内の愛玩動物由来感染症の実態が明らかになると期待された。

愛玩動物飼育者の動物由来感染症認識度に関する調査から、飼い主のおよそ半数は衛生的な飼育を心がけていることが伺われた。しかし残りの約半数は動物由来感染症に関する認識程度にかかわらず、飼育の衛生状態は必ずしも十分ではないことが示された。これらの飼育者に対しては、ガイドラインをはじめとした種々の広報活動や資料の提供によって衛生管理の徹底を呼びかけ、動物由来感染症の発生を予防する取り組みが必要となると考えられた。

動物由来感染症の情報や検査・診断等に関して、獣医師と医師の連携を深める必要性が指摘されている。これに関し、連携を深めるための提言として、動物由来感染症に関する最新の情報提供の場として獣医師・医師の合同勉強会、連絡会、情報共有の仕組みの必要性があげられ

た。また一般市民や飼育者への幅広い啓発・教育活動の必要性も指摘された。

同時に、動物由来感染症対策を効果的に進めるために、国、自治体、各専門機関（動物病院等、病院等、獣医師、医師）が連携を保ち、情報の提供、広報、啓発、教育活動を行う必要性が指摘された。

以上から、愛玩動物の衛生管理の徹底を呼びかけ、動物由来感染症の発生を予防するためのガイドラインの発行の必要性が指摘された。

E. 結論

動物由来感染症対策を効果的に進めるために、国、自治体、各専門機関（動物病院等、病院等、獣医師、医師）が連携を保ち、診断体制の確立等を行う必要がある。

愛玩動物の衛生管理の徹底を呼びかけ、動物由来感染症の発生を予防するためのガイドラインを発行して、教育・啓発を行う必要がある。

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：臨床分離 *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) 株の新しい疫学調査法は、今回、ジェノパターン法と同時に、PFGE 法についても検討した結果、両方法ともにイヌ、ネコによる咬傷をはじめとした症例への臨床応用が可能と思われた。さらに、ジェノパターン法を用いることで、PFGE 法と異なり、その操作中に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・研究により有効と思われた。また、4か所の一般検査センターの2002-2004 までの総検体数が2,000,000 から2,300,000 であるのに対し *Pasteurella* 属菌の分離状況は0.020 ±0.002%の検出率であり、パストレラ症自体増加傾向を継続していると思われた。

A. 研究目的

咬傷後の感染症の最も多い原因菌である *Pasteurella* 属菌の疫学調査方法としてのジェノパターン法の有用性についての研究を行った。また、PFGE 法についても同時に検討を行った。

一般検査センターにおける *Pasteurella* 属菌の分離状況を調査した。

B. 研究方法

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PFGE法を用い、*Pasteurella* 属菌の疫学調査を行った。

一般検査センターに *Pasteurella* 属菌の分離状況を直接聞き取りで調査を行った。

(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

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で遺伝学的に一致したものは12例中6例であり、ジェノパターン法およびPFGE法の結果も同一であった。

1. 飼育環境中(空气中)から分離された *Pasteurella dagmatis* と飼育イヌの口腔内から分離された同菌の疫学的調査の結果は、PFGE法で泳動バンド数、泳動位置ともに全て一致した。また、ジェノパターン法の一致率は96%と高い一致率であった。

2. 呼吸器系疾患

(1) 咽喉頭異常感症の59歳女性Aとネコ：遺伝学的(ジェノパターン法)な一致を、経時的に、2003年8月から2005年の9月までの期間に18回分離を試み、5回(2003年8月、12月、2004年1月、4月、10月、2005年7月)、*P. multocida* が分離され、そのすべてが、飼育している2匹のネコのうちの1頭のネコから

分離された *P. multocida* と一致した。また、PFGE 法も同様に一致した。

(2) 咽喉頭異常感症の 59 歳女性 B を 2003 年 12 月から 2005 年 7 月までの期間に 15 回口腔から分離を試みたところ、3 回 (2003 年 12 月、2005 年 4 月、8 月) *P. multocida* が分離され、全ての株がジェノパターン法で 88%以上を示し一致した。また、PFGE 法も同様に一致し、一致率も 100%を示した。

3. 一般検査センターにおけるパスツレラ属菌の分離状況

今回は 4 か所の検査センターの 2002-2004 までの総検体数が 2,000,000 から 2,300,000 に対し 0.020±0.002%の検出率であった。

D. 考察

臨床分離 *P. multocida* 株の新しい疫学調査法は、今回、ジェノパターン法と同時に、PFGE 法の *P. multocida* 用の泳動条件についても検討した結果、両方法ともにイヌ、ネコによる咬傷をはじめとした症例への臨床応用が可能と思われた。さらに、今回の検討結果より、ジェノパターン法を用いることで、PFGE 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、より有効と思われた。また、ジェノパターン法の一致率が 88%以上の場合、その測定時に標準菌株とした菌株と“一致”と判断できると考えられた。

一般検査センターからのパスツレラ症の分離状況は、調査年度が異なるが、以前の我々の調査結果を上回る分離状況であると考えられ、パスツレラ症自体増加傾向を継続していると思われた。

E. 結論

一般検査センターからのパスツレラ症の分離

状況結果から、パスツレラ症自体増加傾向を継続していると思われた。そして、今回、臨床分離 *P. multocida* 株の新しい疫学調査法の検討の結果、ジェノパターン法、PFGE 法ともに *P. multocida* 用の疫学調査に十分臨床応用が可能と思われた。

また、PFGE 法との検討により、ジェノパターン法の一致率が 88%以上の場合、測定時に標準菌株とした菌株と一致していると考えられると判断できると考えられた。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

イヌブルセラ病の疫学的調査・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	木村 昌伸	国立感染症研究所	獣医科学部	第1室研究員
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

研究要旨： *Brucella canis* はイヌを自然宿主とし、流産や不妊等の原因となることが知られているが、まれにヒトにも感染することがある。そこで現在のイヌの感染状況を知るために *B. canis* に対する抗体検査をおこなった。イヌ血液は K 市動物愛護センターより入手した。また、17 年度は、民間の動物病院からイヌ血液を入手し検査した。K 市では、平成 15 年度は 102 頭中 3 頭（2.9%）、16 年度は 139 頭中 6 頭（4.3%）、17 年度は 158 頭中 2 頭（1.3%）が陽性であった。動物病院の 104 頭は全て陰性であった。今回の K 市の陽性例、2 頭はペットとして飼育されていたと考えられる。現在も *B. canis* 感染が、国内のイヌに常在していることが確認された。

A. 研究目的

ブルセラ属菌感染症は世界では恒常的に発生している人獣共通感染症であり、そのうち *Brucella canis* はイヌを自然宿主とし、イヌにおける流産や不妊等の原因となることが知られている。また、まれにヒトにも感染することがあり、近年、日本でも数例の報告があるが、その症状は比較的軽症であることから感染に気づかない場合もあり、実際の感染者数は定かでない。日本では、ブルセラ症（Brucellosis）は感染症法で 4 類に指定されている。また、家畜におけるブルセラ病は、家畜伝染病予防法に基づき検査が行われているが、イヌは対象外であり、したがって *B. canis* 感染についての対策

はほとんど講じられていない。国内におけるイヌの感染例および感染実態の調査結果については 1970 年代に複数の報告があるものの近年はほとんど実施されていない。

そこで、現在のイヌにおける *B. canis* 感染状況を把握するため、イヌ血液を K 市動物愛護センターおよび民間の動物病院より入手し、*B. canis* の検査を実施した。

B. 研究方法

1. イヌ血液サンプル：平成 15、16、17 年度に K 市動物愛護センターより、同施設に収容されたイヌの血液サンプルの提供を受けた。平成 15 年度は 105 検体、

16年度は139検体、17年度は158検体(平成18年1月31日まで)であった。また、民間の5つの動物病院よりペットとして飼育中のイヌの血液、104検体の提供を受けた(平成17年度)。

2. *B. canis* 特異的抗体の検出：血清中の特異的抗体を *B. canis* 凝集反应用菌液(北里研究所)を用いプロトコールに従い試験管内凝集反応を実施した。すなわち血清を20倍から2倍段階希釈し、凝集反应用菌液を加え、50℃で24時間感作後、凝集反応を判定した。血清の最終希釈倍数160倍以上で50%以上の凝集を示すものを陽性と判定した。

3. *B. canis* 特異的遺伝子の検出：FlexiGene DNA Kit (Qiagen)を用いて血液よりDNAを分離した。ブルセラ属菌特異的細胞表面タンパク(BCSP31)および外膜タンパク(OMP)のうち、OMP2ならびにOMP31を標的として、特異的プライマーを作成し、一昨年度に報告したPCRによる *B. canis* 特異的遺伝子の検出を実施した。

4. *B. canis* の分離：血液サンプルをブレインハートインフュージョンブロスをを用いて35℃で好気培養し、随時、羊血液寒天培地を用いて、菌の分離を試みた。

C. 研究結果

1. サンプルプロファイル：血液を入手したイヌのプロファイルを表1(K市)、表2(動物病院)に示した。K市では、性別は、平成15年度はオス76、メス28、不明1、16年度はオス91、メス47、不明1、17年度はオス93、メス63、不明2であった。年令は、どの年度とも

に5-10才および10才以上が多くなっていた。イヌの体重は、平成15、16年度は10-20kgが、17年度は10kg未満のイヌがそれぞれ多くなっていた。K市動物愛護センターは、イヌを何らかの事情で手放すための持ち込みへの対応および路上などでの保護・収容を行っているが、持ち込みが約60-70%を占めていた。動物病院の104検体は、ペットとして飼育中のイヌから採取されたものである。

2. *B. canis* 特異的抗体の保有状況：*B. canis* 特異的抗体を試験管内凝集反応により検討したところ、K市の検体では、平成15年度は3頭、16年度は6頭、17年度は2頭から抗体が検出され、その陽性率は、それぞれ2.9%、4.3%、1.3%であった(表3)。抗体陽性イヌにおける抗体価は、1:160が7頭、1:320が4頭であった。また、そのプロファイルは、持ち込みが6頭、保護・収容が5頭であり、オス8頭、メス3頭となっていた(表3)。動物病院の検体104頭は、すべて陰性であった(表2)。

3. *B. canis* 特異的遺伝子の検出および菌の分離：*B. canis* の分離および *B. canis* 特異的遺伝子検出を実施したが、いずれの検体からも分離や検出はされなかった。

D. 考察

国内でも平成14年に東京で、イヌからによると思われるヒトの *B. canis* 感染が報告された。ブルセラ属菌は非常に感染しやすく、10-100個の菌数で感染しうるため、今後、輸入・在来両方のイヌもしくは野生動物を感染源としたヒトの *B. canis* 感染が起こりうると考えられる。

また、潜在的感染者の存在も疑われる。事実、今回の検討では、1970年代にイヌの *B. canis* 感染が問題になった当時の抗体保有率（平均8%）より若干低い値を示したものの、依然、イヌの間に感染が認められることが明らかとなった。さらに、一昨年度に報告したようにイヌの繁殖施設における *B. canis* の大規模な感染流行も発生していた。幸いこの事例では、関係した人での感染は認められなかったが、ブリーダーにおける感染流行は、小規模なものも含めて、いくつか報告されている。そのため、潜在的感染流行を含めて、新たな感染イヌの市場への供給も懸念される。3年間で陽性を示したイヌ11頭のうち6頭は一般家庭で飼育されていたものであった。残りの5頭も保護・収容ではあるが、K市の地理的要因から、いわゆる本当の野良イヌ（自然繁殖しているもの）とは考え難く、これらもかつて飼育されていた可能性が強い。*B. canis* 感染のヒトでの症状は通常、比較的軽症とされ、感染に気づかない飼育者の存在も疑われる。ヒトの *B. canis* 感染は、感染イヌの血液、精液、胎盤との接触によるとされるが、ヒトへの感染源として尿から高率に菌分離が可能とする報告もある。昨今、生活習慣の変化から、イヌの多くが室内で飼育され、ヒトとの接触密度が増している状況で、いわゆる高齢者や免疫抑制状態にある者での感染・発症も懸念される。そこで、イヌでの検討のみならず、イヌ飼育者を含む一般人、またハイリスクグループとして動

物病院勤務者について検討し、潜在的感染者を把握する必要があるのではないかと思われた。

また、今回、試験管内凝集反応で特異的抗体検索を実施したが、凝集反応はその感度、検出までの時間、煩雑さなどに問題があると考えられるので、より簡便で高感度なELISA法を開発する必要があると考えられた。

E. 結論

イヌにおけるブルセラ感染が継続していることが示された。ヒトでの病原性は低いものの、感染例も報告されていることから、今後もイヌの調査は必要であると思われる。

F. 健康危害情報

なし。

G. 研究発表等

1. 今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、神山恒夫、山田章雄. 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. 第141回日本獣医学会学術集会, つくば, 2006年3月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

Table 1) 検体のプロフィール (K市動物愛護センター)

a) 性別

性別	頭数			合計
	H15年度	H16年度	H17年度	
雄	76	91	93	260
雌	28	47	63	138
不明	1	1	2	4
合計	105	139	158	402

b) 年齢

年齢	頭数			合計
	H15年度	H16年度	H17年度	
0-2	8	11	8(0-1)	27
2-5	22	31	32(1-5)	85
5-10	40	43	53	136
10以上	35	53	62	150
不明	0	1	3	4
合計	105	139	158	402

c) 体重

体重	頭数			合計
	H15年度	H16年度	H17年度	
10kg未満	25	44	82	151
10-20kg	60	82	58	200
20kg以上	19	13	13	45
不明	1	0	5	6
合計	105	139	158	402

d) 来所履歴

方法	頭数			合計
	H15年度	H16年度	H17年度	
持ち込み	67	77	110	254
保護・収容	36	62	46	144
不明	2	0	2	4
合計	105	139	158	402

Table 2) 検体のプロフィール (動物病院)

動物病院	年齢	検体数	陽性数
T	0-14	90	0
A	3-13	15	0
B	0-16	30	0
C	0-12	20	0
D	0-13	19	0
E	0-11	20	0
合計		194	0

Table 3) 陽性検体のプロフィール (陽性率 : 2.7%, 11/402)

a) 平成15年度(陽性率:2.9%, 3/105)

犬種	抗体価	性別	年齢	健康状態	履歴
秋田	1:160	雌	5-10	良	持ち込み
パピオン	1:160	雄	5-10	不良	持ち込み
柴	1:320	雄	1-5	良	持ち込み

b) 平成16年度(陽性率:5.4%, 6/139)

犬種	抗体価	性別	年齢	健康状態	履歴
雑種	1:160	雄	5-10	不良	保護・収容
雑種	1:160	雄	10<	良	保護・収容
オールドイングリッシュ	1:320	雌	2-5	良	持ち込み
雑種	1:160	雄	2-5	良	保護・収容
シーズー	1:320	雄	2-5	不良	持ち込み
雑種	1:160	雄	5-10	良	保護・収容

c) 平成17年度(陽性率:1.3%, 2/158)

犬種	抗体価	性別	年齢	健康状態	履歴
雑種	1:160	雄	1-5	良	保護・収容
マルチーズ	1:320	雌	1-5	良	持ち込み

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

カプノサイトファーガ属菌に関する疫学的調査・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	第一室研究員
協力研究者	木村 昌伸	国立感染症研究所	獣医科学部	第一室研究員

研究要旨： カプノサイトファーガ属菌はイヌの口腔内に常在するグラム陰性桿菌であり、ヒトがイヌに咬まれた際に傷口から感染することなどによって種々の症状を呈し、発症した場合の死亡率は 30%程度と比較的高い。日本国内におけるカプノサイトファーガ属菌のイヌでの保有状況について調査するため、K市動物愛護センターより口腔内拭い液を入手し、遺伝子検査および菌分離を行った。平成 17 年 12 月までの調査の結果、215 検体中 205 検体（約 95%）が遺伝子検査陽性であり、国内のイヌは同菌を高率に保有していた。このうち 51 検体から同菌を分離し、性状解析を行った。併せて、同様にイヌ咬傷による感染の原因となる *Pasteurella multocida* の遺伝子検査も実施した結果、215 検体中 54 検体が陽性であり、保有率は約 25%であった。

A. 研究目的

カプノサイトファーガ属菌 (*Capnocytophaga* spp.) はヒトや動物の口腔内に常在するグラム陰性桿菌で、現在 9 種（2005 年に新たに 2 種増）が知られている。ヒトの口腔内細菌としては *C. ochracea* を始めとする 7 種があり、歯周病に関係するほか、時に日和見的に全身感染して心内膜炎、敗血症などを起こすことがある。一方、イヌは *C. canimorsus*, *C. cynodegmi* の 2 種を保有しており、ヒトがイヌに咬傷を受けた際に受傷部位から感染するほか、非咬傷性の接触感染もある。症状としては発熱のほか、敗血症、腎不全、髄膜炎や播種性血管内凝固症候

群 (DIC) などを起こし死に至る例もある。これまで世界的に患者の報告は多くないが、重篤な転帰を辿ることが比較的多く、発症した場合の死亡率は約 30%とされている。

Capnocytophaga spp. の細菌学的特徴の一つが好二酸化炭素性であり、増殖には 5%以上の CO₂ が必要である。また、*C. canimorsus* は細胞毒性物質を産生することが知られている。

海外においてもイヌの保有状況に関する報告は少ないが、16~24%のイヌが保有しているという報告がある。日本においては、イヌにおける保有率調査やヒトでの臨床症例報告がほとんどなかったが、本研究班の昨年度の報告書において、国

内のイヌが同菌を高率に保有していることを報告した。

さらに、同じくイヌ咬傷の原因菌の一つである *Pasteurella multocida* についても、併せてイヌでの保有状況を調査することとし、本年度も引き続きイヌ口腔内スワブ（拭い液）を K 市動物愛護センターより入手し、検査を実施した。

B. 研究方法

1. 研究サンプル： K 市動物愛護センターより同施設に収容されたイヌの口腔内スワブサンプルの提供を受けた。平成 16 年 10 月から平成 17 年 12 月までに提供された計 215 検体について下記の検査を行った。

2. *Capnocytophaga* spp. 特異的遺伝子の検出： 口腔内スワブをハートインフュージョン液体培地で 24 時間培養し、遠心後に沈渣を蒸留水で溶解し、熱変成させて DNA を抽出した。*C. canimorsus*、*C. cynodegmi* の 16S rRNA 遺伝子に対する特異的プライマーを用いて、PCR 法による遺伝子検出を行った。

3. *Pasteurella multocida* 特異的遺伝子の検出： 上記の抽出 DNA を検体として、*P. multocida* の KMT1 遺伝子に対する特異的プライマーを作成し、PCR 法による遺伝子検出を行った。

4. *Capnocytophaga* spp. の分離： 口腔内スワブサンプルをハートインフュージョン液体培地に溶出させた後、5%ウサギ脱繊維血液加ハートインフュージョン寒天培地で嫌氣的に培養し（35℃、5～6 日間）、菌の分離を行った。

分離菌株は PCR 法を用いて

Capnocytophaga spp. であることを確認した。PCR 法による確認では 16S rRNA 遺伝子の検出に加えて、*C. canimorsus* の *gyrB* 遺伝子特異的プライマーを用いた同遺伝子の検出を適宜行った。さらに一部の株については 16S rRNA の PCR 増幅産物について、制限酵素（*Bsi*W I、*Hha* I）による切断パターンの違いによる菌種の確認を行った。本法は *C. canimorsus* 由来の増幅産物は *Hha* I によって切断されるが *Bsi*W I では切断されず、*C. cynodegmi* 由来の増幅産物はその逆のパターンを示すことを利用して菌種を鑑別する方法である。また、シーケンサーを用いた塩基配列の解析を行った。さらに生化学的性状について市販の検査キットを用いて調べた。

C. 研究結果

1. *Capnocytophaga* spp. 特異的遺伝子の検出率： PCR 検査に供した計 215 検体のうち 205 検体で *C. canimorsus*、*C. cynodegmi* 特異的遺伝子が検出され、検出率は約 95%であった（Table 1-1）。

2. *Pasteurella multocida* 特異的遺伝子の検出率： PCR 検査に供した計 215 検体のうち 54 検体で *P. multocida* 特異的遺伝子が検出され、検出率は約 25%であった（Table 1-2）。

3. *Capnocytophaga* spp. の分離： 計 51 検体から *Capnocytophaga* spp. 計 63 株を分離した。16S rRNA 遺伝子の PCR 産物のシーケンス解析、制限酵素による切断パターン分類、*gyrB* 遺伝子の PCR 検査および生化学的性状検査の結果から、*C. canimorsus* 1 株、*C. cynodegmi* 8 株を同定した。その他シーケンス解析結果が

C. canimorsus、*C. cynodegmi* のいずれとも若干異なる、バリエーション株が 7 株あった。バリエーション株のうち 4 株は GenBank に登録されている *Capnocytophaga* sp. cp05.19 と塩基配列がほぼ一致した (Table 2)。分離株の系統樹を NJ 法を用いて作成した (Figure 1)。

残りの株についても今後解析を進める予定である。

生化学的性状では、*C. cynodegmi* と同定した 8 検体においてラフィノースとスクロースの陽性率は 63%であった (Table 3)。

D. 考察

Capnocytophaga spp. はイヌの口腔内常在菌であり、ヒトがイヌに咬まれた際に傷口から侵入し、局所感染あるいは全身感染を引き起こす、いわゆるイヌ咬傷関連菌として位置づけられる。

ヒトにおける症例の報告は多くないが、慢性疾患に罹患している人、脾臓摘出手術を受けた人など、免疫力が低下している人の症例が多く、これらのいわゆる易感染性の人々がイヌと接する際には注意が必要であると考えられる。

また、臨床現場での認知度の低さや菌の増殖が遅いことによる同定の困難さなどの要因から、確定診断に至っていない症例が存在することも考えられ、実際の症例数は現状把握されているよりも多い可能性がある。

昨年度の調査に引き続き、イヌの口腔内には *Capnocytophaga* spp. が高率に存在することを明らかにし、また菌の分離についても手法の改良により約 30%の検体から菌株を分離することができた。

Capnocytophaga spp. の診断法については、*C. canimorsus*、*C. cynodegmi* は 16S

rRNA 遺伝子の相同性が高いことに加えて、生化学的性状でも検査キットの項目では明確な区別ができず、両種の判別が困難であったが、*gyrB* 遺伝子に対する PCR 法を診断に用いることによって両種の判別が可能となった。一方で、この 2 菌種と極めて近いが 16S rRNA 遺伝子の塩基配列の若干異なる株も分離されており、イヌの保有する *Capnocytophaga* spp. に関して、分離菌株について病原性を含めた解析を進めてその分類を明確にし、鑑別診断の精度を高めていくことが今後の課題となる。

また、現在までにカブノサイトファーガ症で最も重要視される *C. canimorsus* が 1 株しか分離されておらず分離法についてはまだ検討の余地があること、口腔スワブサンプルから得た抽出 DNA を用いた PCR 検査において *C. canimorsus* や *C. cynodegmi* などを鑑別するための検査法の改良が疫学調査を行う上で重要である。

Pasteurella multocida に関しても今回、イヌでの保有率を調査した結果、約 25%のイヌが同菌を保有していた。パストレラ症についても、イヌ咬傷による日和見的細菌感染症を総合的に検討するために今後も調査を継続したい。

E. 結論

イヌの口腔内には、*Capnocytophaga* spp. が高率に存在しており、日本国内においてもイヌ咬傷による感染の潜在的リスクがあることが確認された。これまでヒトの症例の報告は多くないものの、発症した場合の死亡率は比較的高く、また症例について十分な把握ができていないことも考えられることから、今後、菌種レベルでの解析を進め、その実態をより