

犬の *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* 感染*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* infection of dogs

B. vinsonii subspecies *berkhoffii* が犬に対し病原性があるという説は現在否定的である。犬がしばしば *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* に曝露されているという明白な証拠があるにもかかわらず、この菌種によって顕著な症状を示したという報告はいまだない。米国における最近の調査では、使役犬 1,872 頭中 162 頭 (9%) が *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* 抗体陽性であったが、臨床例の報告は 10 例以下にすぎない。さらに、この菌種は明らかに健康な犬の血液中に無症状のまま 16 カ月にわたって存在し続けることが示されている。

最近、*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* の主な病原巣はコヨーテ (*Canis latrans*) であることが示され、米国における本菌種の自然感染環がある程度明らかになりつつある。

犬の *B. henselae*, *B. clarridgeiae* および *B. elizabethae* 感染*B. henselae*, *B. clarridgeiae* and *B. elizabethae* infection of dogs

世界各国において、犬は猫と同様にネコノミの寄生を受けるが、顕性、不顕性にしろ犬の *B. henselae* 感染はまれであることは驚くべきことである。英国の培養に基づく調査では、250 頭以上の犬からは、いかなる菌種のバルトネラも分離されなかった。バルトネラ感染の指標として血清学的方法を用いた場合、それが正確に種特異的な感染を示すかについてはまだ議論の余地があるが、血清学的調査では明らかに健康な犬に何らかの感染があったことが示された。しかしながら、興味深いことに、慢性疾患の 3 頭の犬の末梢血から *B. henselae* が予期せず検出されたことから、犬もこの菌種の病原巣となる可能性が示唆された。先の一連の研究の中で、*Bartonella elizabethae* (げっ歯類が病原巣) 由来の遺伝子が 4 頭目の犬の末梢血から検出され、この菌種が犬の病原体として関与していることが初めて示されたことは興味深い。

犬が *B. henselae* と *B. clarridgeiae* を伝播しうる状況証拠もある。日本とイスラエルでは、犬との接触により *B. henselae* に感染したかもしれないヒトの事例が報告されている。この事例では、おそらく犬は感染ノミにとって単なる移動手段であったと思われる。

猫と犬が関与するバルトネラ菌種の分子疫学

Molecular epidemiology of *Bartonella* species associated with cats and dogs

16S rRNA の遺伝子配列の差異に基づき、*B. henselae* を 2 種の遺伝子型、すなわちタイプ I とタイプ II に分類するのが長い間一般的とされてきた。しかし、分離株のこれら 2 つの型別と *B. henselae* 株の分子疫学指標のひとつである多遺伝子配列解析による分類 (MLST: multilocus sequence typing) が完全に一致しないことが明らかになった。したがって、単に株をタイプ I とタイプ II に分類することは、この菌種を細分化する指標としては感度が低いということが判明した。MLST による分類は、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE: pulsed field gel electrophoresis) などの株間の遺伝子関連性を評価するその他の手法とも一致する。

分子疫学の観点から、16S/23S rRNA 遺伝子間領域、*groEL*、および *pap31* などいくつかの高い遺伝子可変領域が同定された。PFGE (■図 116) は、増幅断片長多型解析、腸内細菌繰返遺伝子間コンセンサス (ERIC: enterobacterial repetitive intergenic consensus) -PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) や任意配列プライマー PCR などのような他の広範なゲノム解析法と組み合わせて *B. henselae* の分類に用いられてきた。これらの研究のほとんどは、分離株の小さなパネル上で行われてきたが、近年の PFGE に基づいた調査では、米国と日本の分離株は異なるクラスターを形成することから、株の遺伝子型と地理的由来には高い相関性があることが示されている。

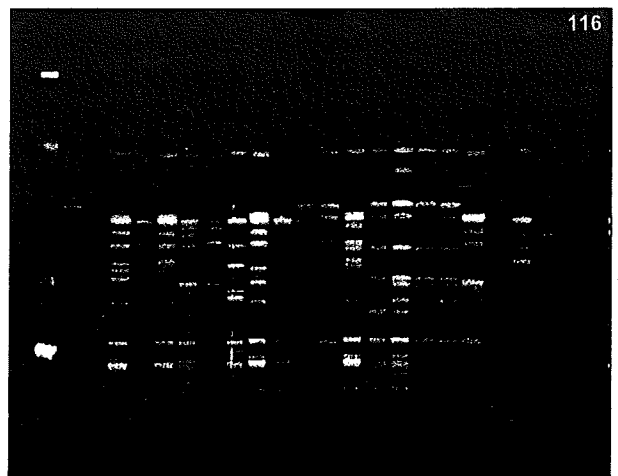


図 116 *Sma*I 消化ゲノム DNA の PFGE 像による *B. henselae* 分離株のマクロ制限 (macrorestriction) 解析。

レーン 1 はサイズマーカー、レーン 2~29 は英国の猫から得られた *B. henselae* 28 株の DNA 解析像。さまざまな泳動パターンから菌種内に遺伝的多様性があることがわかる (写真はドイツ、ロストック大学の Dr M Arvand の厚意による)。

病原性 PATHOGENESIS

猫の *B. henselae* 感染 *B. henselae* infection in cats

感染実験では猫は少なくとも 8 週間は持続性の菌血症を示し、その間菌は赤血球に付着し、(おそらく) 侵入している。菌投与後、血液中の菌濃度は急激に上昇し、1 週間以内にピークに達し、その後は徐々に低下する。ほとんどの実験で、菌投与後約 3 カ月で菌血症は終息するが、さらに持続する例もあり、また、回帰性菌血症を呈する例もみられる (■ 図 117)。

猫は投与されたバルトネラに対して強い液性免疫反応を引き起こす。高力価の IgG と IgM が投与後 2 週以内に検出され、抗体は数カ月間持続する。しかしながら、抗体力価の上昇には個体差がある (■ 図 118)。実験的に感染させた猫では感染中の抗体の動態は各個体によりさまざまであるが、ウエスタンブロット解析では少なくとも 24 個のバルトネラ特異的抗原が確認されている。自然感染猫を対象とした大規模な調査では、*B. henselae* の免疫原となる抗原

は各個体でさまざまであることが示されたが、実験的感染猫では一群の抗原が常に検出される。

B. henselae の菌血症の終息に関して、液性免疫の果たす役割については一致した見解が得られていない。B 細胞欠損マウスへの感染実験では、*Bartonella grahamii* (野鼠が保有している菌種) の免疫血清の投与により持続性菌血症が一過性へと変化したので、菌血症の終息は抗体介在性であることが証明された。しかしながら、感染猫では *B. henselae* に対する IgG の有無にかかわらず同時に血液培養陰性になることがある。このことは、IgG が菌血症の排除に必要なことを示唆している。感染猫の体内に *B. henselae* の抗体が存在するにもかかわらず、回帰性菌血症を起こすことは確かである。しかしながら、まだこの現象を説明できるような抗原変異株が出現している証拠はなく、また赤血球以外の細胞内でバルトネラが生存するかどうかについてはまだ十分研究されていない。

バルトネラに特異的な細胞性免疫に関する研究は非常に少ない。*B. henselae* の生菌を投与し、感作された猫で、皮膚の遅延型過敏反応が報告されている。しかし、猫ひっかき病 (CSD: cat scratch disease) 患者のリンパ節由来の加熱処理した膿で作製した CSD 抗原を実験感染猫に皮内投与しても、同様の反応はみられなかった。*in vitro* のバルトネラ特異的なリンパ球増殖反応も研究されている。

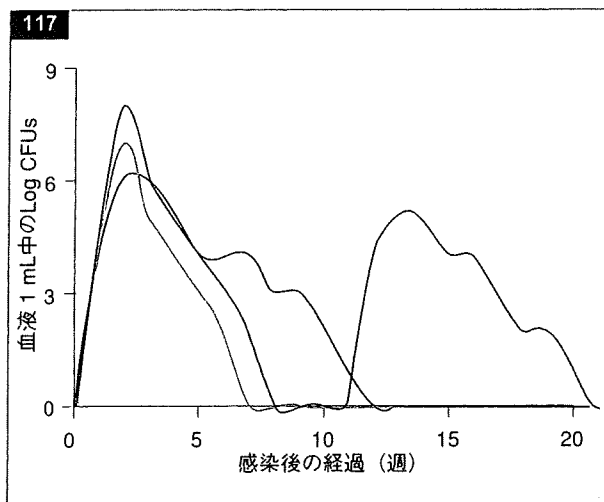


図 117 *B. henselae* に実験感染させた猫でみられた異なるタイプの菌血症の例。

緑の曲線は最短の感染のパターンで最も一般的なもの、青の曲線はさらに持続感染するパターン、赤の曲線は回帰性菌血症になったパターンを示している。

CFUs (colony forming units: コロニー形成ユニット)

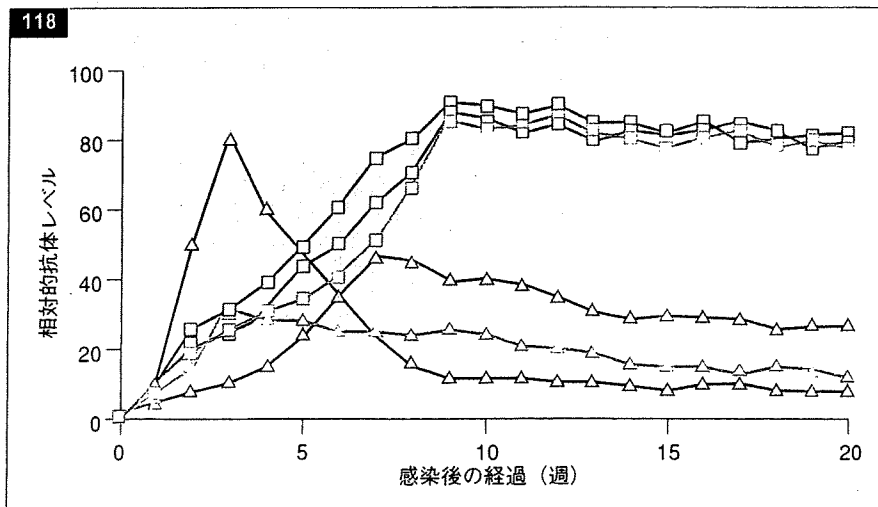


図 118 *B. henselae* に実験的に感染させた猫における異なる抗体動態を示したタイプの例。

IgM (Δ) と IgG (\square) の相対的抗体レベルを示す。タイプ 1 (青の曲線) は、急性で強いが短い IgM のピークに続き、強い持続性の IgG 反応がみられる。タイプ 2 (赤の曲線) は、弱い遅延型の IgM 反応と、その直後の強い持続性の IgG 反応がみられる。タイプ 3 (緑の曲線) は、急速だがかなり弱い IgM 反応に続き、強い持続性の IgG 反応がみられる。

猫の *B. clarridgeiae* および *B. koehlerae* 感染*B. clarridgeiae* and *B. koehlerae* infection in cats

SPF 猫を用いた *B. clarridgeiae* と *B. koehlerae* の感染実験では、*B. henselae* と同様の無症状で慢性的な菌血症がみられた。感染の動態を比較すると、*B. koehlerae* を投与された猫では、*B. clarridgeiae* を投与された猫よりも短期間の菌血症で、回帰性菌血症は起こさなかった。すべての感染猫で、投与菌に対する液性免疫反応が上昇した。*B. henselae* と *B. clarridgeiae* に共感染した血液と、*B. henselae* だけに感染した血液をそれぞれ投与した猫の間の感染経過に明確な差はみられなかった。

犬の *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* 感染*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* infection in dogs

現在、犬の *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* の病原性に関する知見は非常に少ない。しかし、近年この菌種を実験感染させた犬における免疫病理学的研究から、十分量的の特異抗体が産生されているのにもかかわらず、*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* は犬に慢性感染を起こすことが明らかとなった。これは単球の貪食欠損と、細胞表面の形質の変化を伴う末梢血中の CD8 陽性 T リンパ球の減少と、末梢リンパ節における CD4 陽性リンパ球の増加に特徴づけられる免疫抑制に起因するものであった。

自然感染した犬の心臓組織における組織病変から、*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* の病原性を推測することができる。心筋症と心内膜炎の複数の病巣が観察されていることから、バルトネラは過去に損傷を受けた組織に選択的に定着し、一度定着するとその組織に進行性の炎症性変化を起こすことが示唆されている。

猫バルトネラ症の臨床病理学所見

CLINICOPATHOLOGICAL SIGNS OF FELINE BARTONELLOSIS

一般的に、猫に対する *B. henselae* 感染の影響はほとんどないと考えられている。しかし、ある *B. henselae* の株は、明らかに猫に臨床症状を惹起すること、またバルトネラの慢性感染は有害であるという報告がある。

B. henselae の実験感染 Experimental infection with *B. henselae*

実験感染させた猫の臨床的・病理学的評価はさまざまである。これは各研究における実験方法の違いを反映しているのかもしれない。ほとんどの猫で臨床症状はなく、顕著な肉眼解剖所見もなかったが、組織病理所見としては腎臓、心臓、肝臓、脾臓、末梢リンパ節の炎症像がみられた。まれにはあるが、発熱、沈うつ、一過性貧血、リンパ節腫大、神経機能障害などの臨床症状も報告されている。*B. henselae* を実験感染させたある猫では受胎遅延、不受胎、胎子の萎縮、吸収が認められた。

1つの研究グループのみであるが、猫の実験感染の結果、接種部位の反応の後、発熱と沈うつといった臨床疾患が報告されている。この非定型的な臨床所見を示した *B. henselae* の分離株は、より「病原性」の強い株であり、猫

における *B. henselae* の病原性は株によって異なることが唱えられている。この仮説はまだ検証されていない。

B. henselae に自然感染した猫と疾病の関係Disease association in natural feline *B. henselae* infection

B. henselae の自然感染と疾病の関連性を決定することは、無症状の猫が多いので難しい。リンパ節腫大と歯肉炎の病歴を有する猫で *B. henselae* 抗体陽性と猫免疫不全ウイルス抗体陽性が有意に関係していたということが、日本での調査で実証された。同様に、米国とカリブ海域の猫の調査では、原因不明の発熱、歯肉炎、口内炎、リンパ節腫大、ブドウ膜炎と抗体陽性率の関連性があることが判明した(■図 119)。さらに、米国の調査では、ブドウ膜炎の猫の 14% の眼房水に抗 *B. henselae* 抗体が確認され、この所見を支持するように健康な猫からはまったく検出されなかったことが示されている。スイスの 700 頭以上の猫の調査では、高い *B. henselae* 抗体価と腎臓や尿路系の異常との間に有意な相関性が認められた。さらに、この調査では 7 歳以上のすべての疾病猫は抗体陽性であった。

これらの関係を支持する症例報告はまだほとんどない。ある前部ブドウ膜炎の猫で、*B. henselae* が病原因子であるという説を裏づけるように、*B. henselae* 特異的抗体が眼で産生されることが実証された。確かではないが、*B. henselae* は 2 頭の猫で原因不明の増殖性心内膜炎にも関係していた。



図 119 同腹の 1 歳のベルシャ猫。

1 頭は化膿性肉芽腫性リンパ節腫大をともなう発熱症候群に罹患。その猫の血液は PCR で *B. henselae* 陽性であった。この猫のリンパ節のバイオプシーの組織病理学的所見を(■図 122)と(■図 123)に示す。

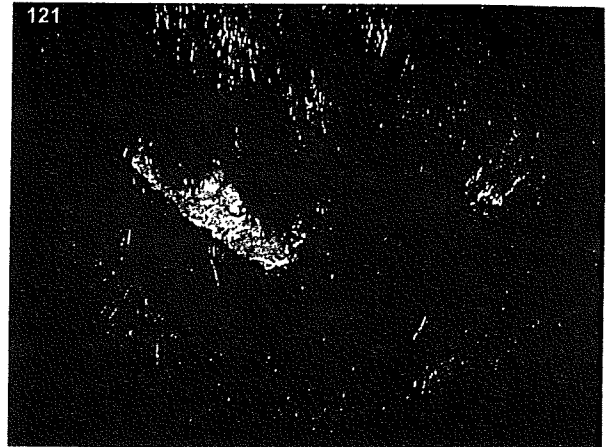
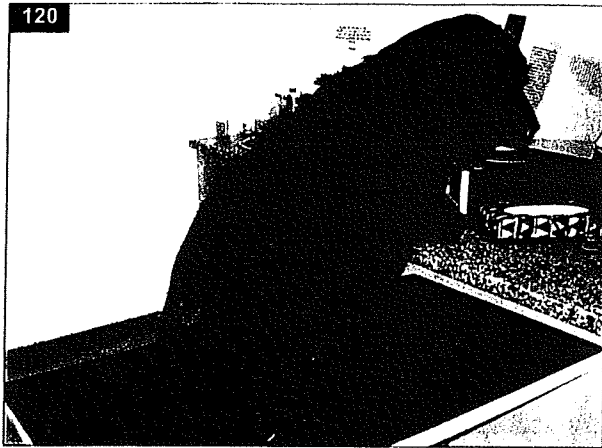


図 120, 図 121 10歳, 避妊済みのラブラドル雑種犬, 雌。一般的なリンパ節腫大, 発熱, 沈うつ, グレード III の心雑音および臀部の限局性潰瘍がみられた。組織病理学的には化膿性肉芽腫性皮膚炎と壊死性リンパ節腫大が観察され, リン

パ節の Warthin-Starry 染色ではバルトネラ菌と一致する菌が認められた。この犬の血液は PCR でバルトネラ属菌が陽性であった。この犬は, 過去に多発性関節炎に対するグルココルチコイドによる治療を受けていた。

犬バルトネラ症の臨床病理学所見

CLINICOPATHOLOGICAL SIGNS OF CANINE BARTONELLOSIS

犬のバルトネラ関連疾患のほとんどは *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* の感染が原因である。しかし, ごく少数例が報告されているだけであり, 犬におけるバルトネラ感染症の臨床症状は実際のところ不明と考えなければならない。確認された 8 例の *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* 感染のうち, 2 例は無症状, 4 例は心内膜炎, 2 例は肉芽腫性疾患であった (■図 120, 図 121)。*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* とエーリキア菌種 (*Ehrlichia* species) との混合感染と思われる例も多数報告されている。

B. clarridgeiae と *B. henselae* は両菌種とも犬の臨床疾患とはほとんど関連性がない。*B. clarridgeiae* が心内膜炎で死亡した 1 頭の犬の血液から分離された。さらに, *B. clarridgeiae* の DNA が変形性大動脈弁の症例から検出され, その犬は抗バルトネラ属菌抗体が陽性でもあった。肝臓の組織病変より *B. henselae* の DNA が検出されたことから, 本菌は犬の肝紫斑病の原因として関与していることが示唆されている。ごく最近, *B. henselae* は 3 頭の犬の慢性疾患と関連していることが示された。それぞれの犬は, 多様な臨床症状を示したが, 重度の体重減少, 長期の沈うつ, 食欲不振が 3 頭に共通してみられた。3 頭すべてが, 好酸球増加症, 単球増加症, 血小板数の変化, 血清アミラーゼ値の上昇といった血液学的・生化学的異常を示した。*B. henselae* の DNA が末梢血から検出されたことから, 本菌はこの病原性に関与していることが示された。症例数が少ないので, 微生物学的な知見と臨床的な関連性を臨床的・血液学的・生化学的異常から推測するのは難しい。さらに, このうち 2 頭は他の疾病にも罹患していたが, いくつかの特徴が共通してみられたことと, 適切な抗生物質治療に良好に反応した (1 例はグルココルチコイドとともに処方)

という事実は, *B. henselae* の病原的役割を支持するものかもしれない。

診断 DIAGNOSIS

とくに猫では血液培養陽性と血清学的陽性の意味を解釈するのが難しいため, 複数の診断法を併用する必要がある。あるバルトネラ菌種が非病原巣 (non-reservoir host) の動物の血液培養で分離されれば (例えば, 病気の犬からの *B. henselae* や *B. clarridgeiae*), それが病原体であることが支持されるが, バルトネラ症の診断は組織学的・免疫組織学的もしくは分子生物学的な手法を用いて感染組織中のバルトネラを検出することが最も確実な方法である (■図 122, ■図 123)。

組織学と免疫組織化学 Histology and immunohistochemistry

自然発生のバルトネラ感染の診断における組織病理学の価値は, 犬で検討されただけである。*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* の感染による心内膜炎と心筋炎の組織病理学的所見は, 極めて特徴的である。*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* による 2 例の犬の肉芽腫性疾患のうち, 1 例では組織切片の Warthin-Starry (WS) 銀染色で細胞内・細胞間の桿菌状の細菌を証明した。しかし, 2 例めの染色では, いかなる細菌も確認できなかった。同様な矛盾が *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* による心内膜炎の診断の際に確認されている。最初の事例では, 感染した弁の周囲に WS 染色およびグラム染色により多数の細菌塊が確認されたが, 他の 1 例ではいかなる細菌も検出されていない。透過型電子顕微鏡も組織切片中のグラム陰性菌の存在を証明するのに使用された (■図 124)。



図 122 バルトネラ症の猫のリンパ節の切片。
 髄質内に多数の単核球の細胞浸潤をともなう壊死病巣がみられる。

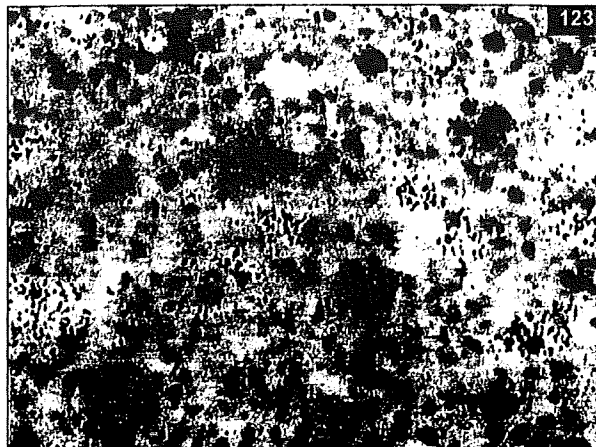


図 123 Warthin-Starry 法で染色したバルトネラ症の猫のリンパ節の切片。
 黒く染色された集塊はバルトネラのコロニーであると思われる。

図 124 *Bartonella henselae* の透過型電子顕微鏡写真。

菌の外膜表面には線毛がみられる (×146,000) (写真はオーストラリア、シドニー大学の Dr J Iredell の厚意による)。

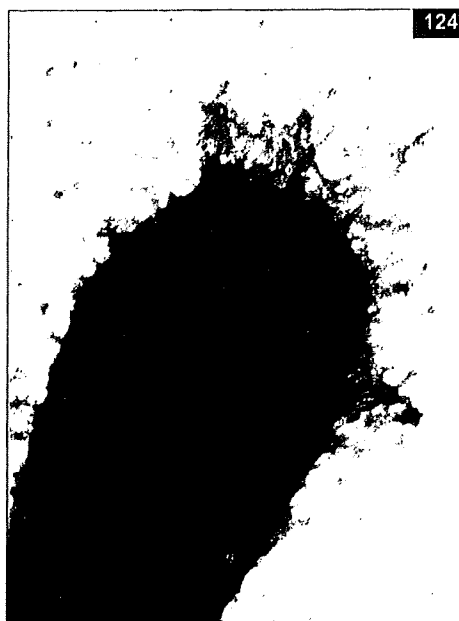


図 125 感染猫の血液を血液寒天培地に接種後 8 日目に観察された *B. henselae* のコロニー。

培地は 35℃、5% CO₂ の気相で培養された。



バルトネラ属菌の分離 Isolation of *Bartonella* species

自然病原巣 (naturally infected reservoirs) の血液から、バルトネラを分離することは比較的容易であるが、非病原巣 (偶発宿主) からの分離は極めて難しい。したがって、抗生物質治療を受けていない猫の血液からの *B. henselae* と *B. clarridgeiae* 培養は比較的簡単である。ただし、血液寒天培地に接種して加湿下で 35~37℃、5% CO₂ の気相で、長期間培養する必要がある。バルトネラのコロニーは、培養 5~15 日で目視できるようになる。通常は小型のカリフラワー状で、乾燥した灰白色となるが (■図 125)、平滑で光沢のある「湿潤」型のコロニーの場合もある。血液サン

ブルの扱い方が、培養の成否に影響するような成績も示されている。感染猫の血液から *B. henselae* の分離を高める 2 つの方法は、(1) 検査前にサンプルを -80℃ で 24 時間凍結すること、(2) EDTA 管よりむしろ細菌分離用溶血管を用いて血液を採取することである。

コヨーテからの *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* の分離は、上記の猫からの *B. henselae* の分離と同様の方法で成功しているが、これらの方法を用いても、感染犬の組織から菌を分離することは極めて難しい。

Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat

血清学的方法 Serological methods

血液中の抗バルトネラ属菌抗体の検出には IFAT (indirect fluorescent antibody test: 間接蛍光抗体法), ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay: 酵素免疫測定吸着法), ウエスタンブロット (western blotting) などいくつかの異なる方法が用いられてきた。これらの検査に使用する抗原は、通常寒天培地上あるいは真核細胞と共培養された全菌体である。血液学的検査は一般的に血清もしくは血漿を用いて行われるが、眼房水などほとんどの体液が使用できる。

猫では、血清中の IgG は非常に持続的であるので、高い抗体価を進行中の感染の指標とするには限界がある。米国における約 200 頭の猫を用いた感染状況と抗体陽性の関係を調べた研究から、菌血症の猫は非菌血症の猫よりも抗体価が高く、また若齢で *B. henselae* 抗体陽性であることは菌血症と有意に関連性があることが判明した。しかし、予測どおり、菌血症の指標として抗体陽性の推定予測値は 50% 以下であったことから、この検査法の限界が明らかとなった。

これまで報告されている血清学的データが利用可能な犬の例では、顕著に高い抗体レベルが検出されている。しかし、いくつかの調査では明らかに健康な犬にも高い抗体価が検出されているので、*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* による臨床疾患を診断するうえで血清学的な予測値には限界があるようだ。

バルトネラの血清診断を解釈するうえで、交差反応が障害となっていた。確かに、バルトネラ菌種の間には顕著な交差反応があるが、バルトネラと近縁の細菌 (犬流産菌: *Brucella canis*, 犬エーリキア症: *Ehrlichia canis*, ロッキー山紅斑熱リケッチア: *Rickettsia rickettsii*) 由来の抗原との間には交差反応はみられない。しかし、バルトネラ抗原とバルトネラ以外の α サブグループのプロテオバクテリア (Proteobacteria) の感染が分子生物学的に証明された犬の血清との間で交差反応があることが報告されている。

分子生物学的手法 Molecular methods

ヒトのバルトネラ症の診断法として多くの分子生物学的手法が開発されており、いくつかは獣医学領域でも十分応用されている。一部の DNA 断片領域を標的とする PCR 法に基づく方法が報告されている。しかし、感染血液中のバルトネラ DNA を検出するこれらの方法の感度には限界があり、いくつかの比較実験では、培養法と同等の成績は得られなかった。とはいえ、疾病動物の組織からバルトネラの DNA を検出する方法として、PCR 法は組織学・血清学的方法とともに有用であることが判明している。PCR 法の標的遺伝子は 16S rRNA 遺伝子、16S/23S 遺伝子間領域、クエン酸合成酵素遺伝子 (*gltA*) の断片などである (■図 126)。

治療と管理 TREATMENT AND CONTROL

抗生物質による治療 Antibiotic therapy

猫の *B. henselae* 菌血症の治療には問題がある。ドキシサイクリン、アモキシシリンもしくはアモキシシリン-クラバン酸合剤を推奨量以上の高濃度で投与した場合、実験感染では菌血症を抑制したことが報告されている。しかし、さらに詳細な研究では、エンロフロキサシンがドキシサイクリンよりも *B. henselae* と *B. clarridgeiae* 感染に有効であるが、いずれの薬剤を 4 週間投与しても完全に菌を排除できなかったことが示されている。自然感染した動物の治療に関するデータはほとんどない。しかし、菌血症を完全になくすことが難しいので、抗生物質による治療はバルトネラが原因の疾病であることが明らかな猫、もしくは免疫抑制状態の飼い主と接触する猫に対してのみ推奨される。

B. vinsonii subspecies *berkhoffii* による犬の心内膜炎の治療もまた難しい。アモキシシリン、エンロフロキサシン、セファレキシン、ドキシサイクリン、アミカシンおよび利尿薬や各種心臓血管系薬剤との併用治療も無効であった。*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* による肉芽腫性疾患をもった 2 頭の犬が抗生物質によく反応した: 1 例はエンロフロキサシン (12.5 mg/kg 12 時間毎) の 3 週間投与、他の例はドキシサイクリン (5.4 mg/kg 12 時間毎) の 30 日間の投与であった。

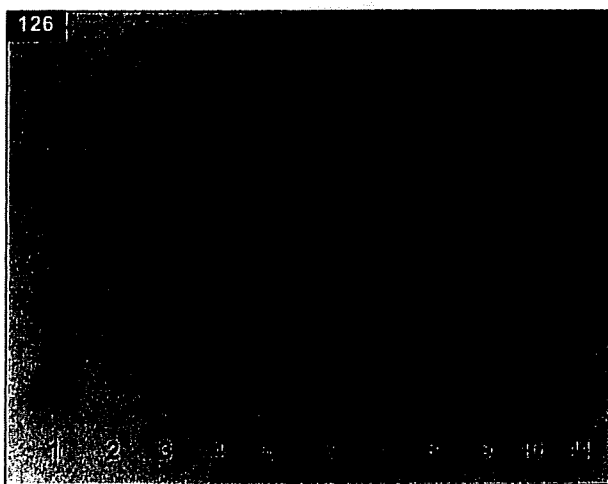


図 126 バルトネラ属菌の 16S/23S rRNA 遺伝子間領域を標的とした PCR 増幅産物。

3%アガロースゲルによる泳動により、各バルトネラ菌種はそれぞれ異なるサイズを示す。レーン 3 と 8 はマーカーである。

外部寄生虫対策 Ectoparasite control

外部寄生虫の対策は、猫から猫への *B. henselae* と *B. clarridgeiae* の伝播を予防するうえで極めて有効な方法である。しかし、有効なノミの成虫駆除剤が広く用いられているにもかかわらず、バルトネラ感染はヨーロッパや北米など先進国の家猫の間ですら一般的にみられる。*B. henselae* の伝播阻止における各種外部寄生虫駆除剤の有効性の違いはまだ検討されていない。証明されるまでは、外部寄生虫の処置を施された動物に寄生したノミが、駆除剤の影響を受ける前に感染を伝播させることもありうることである。

人獣共通感染症／公衆衛生上の重要性

ZOO NOTIC POTENTIAL/PUBLIC HEALTH SIGNIFICANCE

B. henselae の人獣共通感染症としての意義は大きい。例えば、英国では450万戸（4家庭のうち1家庭以上）の家庭に750万頭以上の猫がいて、その約10%が *B. henselae* の菌血症である。この病原菌の潜在的脅威は、ヒトが *B. henselae* 感染症の最も一般的症状であるCSD (cat scratch disease: 猫ひっかき病) に罹る頻度を反映している。米国では、約24,000件のCSDが毎年発生しており、そのうち約2,000人が入院している。幸いにも、この症候群は通常良性で、症状は限局性のリンパ節腫脹を示す自己限定性の

疾患であり、主に子どもと若者が罹患する（■図127）。しかし、全身性の合併症がさらに深刻な症状を惹起することがある。膿瘍、リンパ腫、抗酸菌感染症、トキソプラズマ症、川崎病など他の重篤なリンパ節腫大の原因と鑑別することが必要であるように、CSDの正確な診断が重要である。

1980年代後半に *B. henselae* が最初に見つかったとき、この菌はとくにAIDS (acquired immune deficiency syndrome: 後天性免疫不全症候群) 患者の日和見感染の原因と思われていた。AIDS患者への有効な予防的治療の出現により米国やヨーロッパではこれらの感染症の罹患率は減少したが、治療が簡単に受けられないアフリカや他の発展途上国ではまだ深刻である。しかし、免疫健全者が遭遇する症候群の範囲がまだ増加しているので、人獣共通のバルトネラに対する医学的関心は今日も続いている。おそらく、近年最も注目されているのは、*B. henselae* がブドウ膜炎や視神経網膜炎などのような眼科疾患の病原体になることがわかってきたことであろう。

B. clarridgeiae もまたCSDの病原体として関与している。また、*B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* はときどき心内膜炎の病原体として検出されることがある。

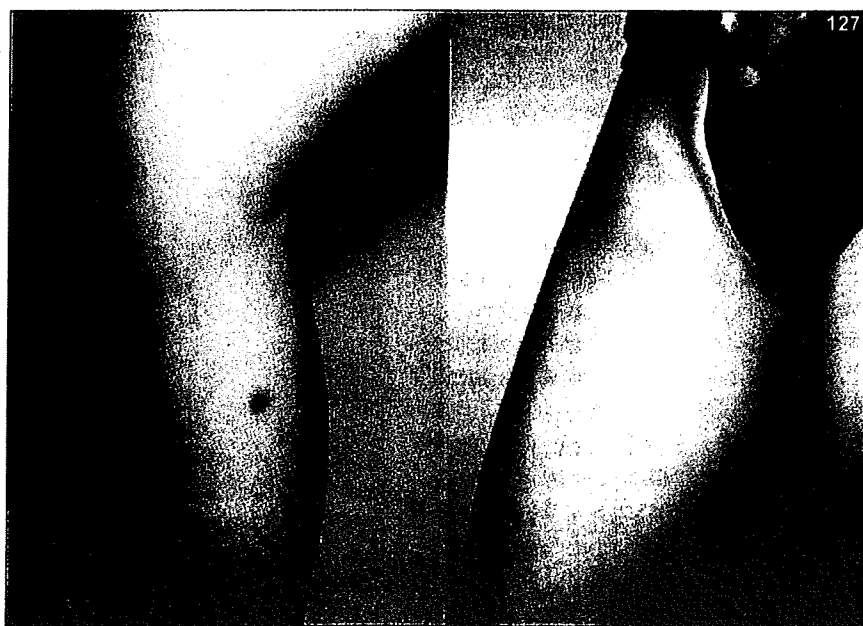


図127 猫に右足をひっかかれた男児の皮膚病変（左）と鎖径部リンパ節腫大（右）
（写真は英国、ノッティンガム公衆衛生研究所、Dr C Wilkinsonの厚意による）。

症 例

Capnocytophaga canimorsus による敗血症の1剖検例¹⁾新潟県立中央病院内科, ²⁾国立感染症研究所獣医科学部太田 求磨¹⁾ 加澤 敏広¹⁾ 津畑千佳子¹⁾鈴木 道雄²⁾ 今岡 浩一²⁾

(平成21年6月2日受付)

(平成21年7月28日受理)

Key words: *Capnocytophaga canimorsus*, dog bite, sepsis

序 文

近年のペット愛好者は増加してきており、またその嗜好も生活に密に接触する機会が多くなっている。*Capnocytophaga* はイヌ、ネコの口腔内常在菌であるが、稀にヒトに敗血症を発症した症例が報告されはじめた。今回我々は、飼犬に咬まれた後に、*Capnocytophaga canimorsus* による敗血症の状態で当院の救急外来に搬送され、急激な転帰をたどり、死亡に至った症例を経験したので、剖検所見を含めて報告する。

症 例

症例：60歳、男性。

主訴：下肢痛、痺れ。

既往歴：特になし。

家族歴：特になし。

生活歴：ビール大瓶2本/日、秋田犬を飼育（予防接種済）

現病歴：2008年5月1日に自宅の飼い犬に両側の母指を咬まれたが、放置していた。5月6日朝から四肢のしびれがあり、同日の夜に疼痛が出現した。未明には、症状が悪化し、自力移動できなくなり、救急搬送された。

受診時現症：意識レベルII-20、体温37.5℃、血圧112/84mmHg、脈拍120/分、呼吸数22/分。四肢冷汗著明。眼球結膜黄疸あり。皮膚黄疸あり。体幹四肢に網状紫斑あり。両側大腿遠位、両側前腕に自発痛、把握あり。髄膜刺激兆候なし。胸部に心雑音なし。ラ音なし。腹部に異常なし。右側の母指MP関節部に1箇所数ミリの咬傷あり、同傷には腫脹・発赤・疼痛なし。

受診時検査所見 (Table 1)：末梢血では、白血球は10,200/ μ L、血小板18,000/ μ Lで、生化学検査では、高度の腎障害、肝障害を認めた。血清学的検査では

Table 1 Laboratory findings on admission

Hematology		Biochemistry	
WBC	10,200 / μ L	BUN	37.2 mg/dL
Meta	13.0 %	Cre	3.8 mg/dL
Stab	36.0 %	UA	7.7 mg/dL
Seg	45.0 %	Na	133 mEq/L
Lym	5.0 %	K	3.9 mEq/L
Mono	1.0 %	Cl	94 mEq/L
RBC	455 \times 10 ⁴ / μ L	Ca	6.0 mg/dL
Hb	15.1 g/dL	iP	10.0 mg/dL
Ht	44.0 %	AST	465 IU/L
Plt	1.2 \times 10 ⁴ / μ L	ALT	154 IU/L
		LDH	1,164 IU/L
		ALP	313 IU/L
		γ -GTP	172 IU/L
		T-bil	4.9 mg/dL
		D-bil	2.6 mg/dL
		TP	5.5 g/dL
		A/G	1.4
		ABG (room air)	
		pH	7.305
		PaCO ₂	18.1 Torr
		PaO ₂	100.0 Torr
		HCO ₃ ⁻	8.7 mEq/L
		BE	-15.8 mEq/L

CRP 33.7mg/dLと著明な炎症反応を示し、凝固系ではフィブリノゲンの低下、FDP、D-dimerの上昇を認めた。

入院後経過：Severe sepsis及びDICであると診断し、ceftriaxone, heparin, アンチトロンピンIII製剤の投与を開始した。入院6時間後から、急激に意識状態が悪化し、循環不全、ショックとなり、心静止、呼吸停止に至り、蘇生術を行ったが回復せず死亡された。遺族の同意を得て、病理解剖を行った。

剖検所見：全身臓器にうっ血、出血傾向、微小血栓を認め、DICを基礎とする循環障害を示唆する所見であった。腎臓は広範な皮質壊死の状態にあり (Fig.

別刷請求先：(〒943-0192)新潟県上越市新南町205

新潟県立中央病院内科

太田 求磨

平成21年11月20日

Fig. 1 Autopsy and histologic findings: renal cortical necrosis with fresh fibrin thrombi stained by hematoxylin-eosin.



1), 急速に進行した急性腎不全の状態が示唆された。アルコール摂取による肝実質の変化は乏しく、肝硬変、糖尿病、脾臓の形態異常、血液疾患など重症敗血症のリスクとなりうる病変は認められなかった。当院搬送時の末梢血液塗抹で、白血球中に菌体の存在が観察された (Fig. 2)。

細菌学的検査: 入院時に血液培養が採取された。自動血液培養装置 BACT/ALERT 3D (シスメックス・biomereu) にて実施した。培養3日目に嫌気ボトルが陽性を示したため、グラム染色を行ったところグラム陽性球菌、グラム陰性桿菌を認めた。サブカルチャー実施2日目に嫌気培養プルセラ BHK 培地に、グラム陽性球菌、グラム陽性桿菌を認め、分離培養後、Rapid ANA II (アムコ) にて、同定を行い、*Peptostreptococcus micros*, *Eubacterium aerofaciens* と同定した。また、サブカルチャー培養5日目炭酸ガス培養中のチョコレート寒天培地上に微小集落の発育を認め、グラム染色で細長いグラム陰性桿菌であることが確認された。カタラーゼ陽性、オキシダーゼ判定不能で、同定キット ID テスト HN-20 ラピッド (日水製薬) で、*Capnocytophaga sp.* と判定された。イヌの咬傷後の敗血症であることから、*C.canimorsus* を疑い、菌種同定を国立感染症研究所へ依頼した。*Capnocytophaga* 属菌の 16 SrRNA 遺伝子特異的 PCR を実施した結果、*C.canimorsus* 特異的遺伝子が検出され、最終的に 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析によって *C.canimorsus* の既知の配列と 99.6% の一致を確認した。また、生化学的分析でもイヌ由来の *Capnocytophaga* 属菌であることが確認された。同菌の薬剤感受性は、amoxicillin, ampicillin, cefotaxime, ceftriaxone, imipenem, erythromycin, ofloxacin, clindamycin, minocycline に感受性

Fig. 2 Peripheral blood smear: Neutrophils of intracytoplasmic rod shaped origin, stained by Wright-Giemsa. The microorganism was identified as *Capnocytophaga canimorsus*.



あり、gentamicin, streptomycin に耐性であった。

血液培養で他に2種の菌が検出されており、混合感染であった可能性があるが、犬咬傷の既往とその数日の経過で DIC を伴った敗血症で発症してきることや、末梢血の白血球中にみられた短桿菌の存在から、主たる病態は *C.canimorsus* によるものと最終的に診断した。

考 察

C.canimorsus は、グラム陰性桿菌でイヌの口腔内在菌のひとつである。ヒトには、イヌ、ネコに咬まれた際に傷口から感染すると考えられている。本邦では、報告が少なく、いわゆる人獣共通感染症として、認識されていない。敗血症で発症し、急速な転帰をとることが多く、致死率は 30~36% と高い¹⁾。遅発性菌のために²⁾、血液培養で検出される機会を逸している症例もあるかもしれないし、多くの抗菌薬に感受性を有するので、抗菌薬投与の影響で、検出されていないことも推測される。また、ヒトの口腔外科・歯科領域の検体から検出される菌であるが、生化学的性状がヒトとイヌ・ネコでは異なる事、培養された場合のコロニーがヒトとイヌ・ネコでは全く違う事から、菌属の診断に検査技師の判断が困難であることなども推測される。本症例でも細菌学的診断に至るまでに、培養3日目で陽性となり、サブカルチャー5日目と時間を要した。

病理解剖では、全身臓器に激しい DIC の所見を認めており、従来の報告^{3,4)}と同様であった。また、入院時の末梢血の塗抹標本において、好中球の細胞質内に桿菌と思われるものが認められているが、これは貪食された菌体であると推測される。同様の所見が報告されており^{5,6)}、本疾患の診断の際に有用であると思われる

る。本症例では、救急外来での自動測定器での結果であり、目視で塗沫を確認できたのは、翌日であった。改めて基本的検査の重要性が認識される。

本症例は、当院に搬送後数時間での死亡という激しい経過であった。*C.canimorsus* は、近年米国でもその報告の増加が指摘されており⁷⁾、敗血症で発症することが最も多く、本疾患のリスク因子として、脾摘・アルコール大量飲酒者・ステロイド治療などの免疫機能が低下している状態があげられている⁸⁾が、一方で、基礎疾患のない患者でも発症しうる⁹⁾¹⁰⁾。我々が医中誌で検索した限りでは、本邦で本症例を含めて10例が報告されている^{11)~16)}が、免疫機能の維持されたヒトであっても、初診時すでに敗血症の状態であることが多く、急速な経過をたどることがあり、注意を要する。本症例もアルコール摂取歴があったが、病理所見ではアルコール性肝障害の所見はなく、うっ血肝の所見のみであった。本邦の報告では、血液浄化療法などの集学的治療で救命された症例もあれば、抗菌療法のみで治癒した症例、本症例のように急激な経過をたどる症例もあり、いかに早期に抗菌療法が行われるかが救命に重要と思われる。

敗血症と診断され、その菌の細菌学的診断検体は、Janda JM らの報告では⁷⁾、血液で88%、髄液で7%、血液と髄液両方が4%であった。本症例では、髄液の検査を行っていないが、血液から証明され、それ以外からは検出されなかった。急激な経過をたどること、基礎疾患のない症例が菌血症になる機序についての理由は不明である。Shin H らが¹⁷⁾、*C.canimorsus* のもつ特徴的な lipopolysaccharide によって、炎症性サイトカインを誘導しないために貪食細胞から逃れて独特の感染をしていると推測しており、興味深い。

最後に、現代社会では、年齢に関係なく、ペットを飼う習慣が多くなっており、イヌ、ネコが日常生活に密に接触が行われている。動物咬傷の約1%程度が救急外来に受診しているのではないかとされているが¹⁸⁾、本菌の存在とその病態を地域住民、一般医家、獣医師などへ啓発し、犬咬傷の際の局所消毒の必要性、amoxicillin/clavulanate 内服投与といった適切な処置¹⁹⁾が推奨される。

本症例の診断、治療にご尽力いただきました新潟県立中央病院 石田卓士先生、小林理先生、尾矢剛志先生、酒井剛先生、関谷政雄先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Pers C, Gahrn-Hansen B, Frederiksen W : *Capnocytophaga canimorsus* septicemia in Denmark, 1982-1995: review of 39 cases. *Clin Infect Dis*. 1996 ; 23 : 71-5.
- 2) Brenner DJ, Hollis DG, Fanning GR, Weaver RE : *Capnocytophaga canimorsus* sp.nov. (formerly

- CDC group DF-2), a cause of septicemia following dog bite, and *C. cynodegmi* sp.nov., a cause of localized wound infection following dog bite. *J Clin Microbiol*. 1989 ; 27 : 231-5. *J Clin Microbiol*. 1989 ; 27 (2) : 231-5.
- 3) Mirza I, Wolk J, Toth L, Rostenberg P, Kranwinkel R, Sieber SC : Waterhouse-Friderichsen syndrome secondary to *Capnocytophaga canimorsus* septicemia and demonstration of bacteremia by peripheral blood smear. *Arch Pathol Lab Med*. 2000 ; 124 : 859-63.
- 4) Deshmukh PM, Camp CJ, Rose FB, Narayanan S : *Capnocytophaga canimorsus* sepsis with purpura fulminans and symmetrical gangrene following a dog bite in a shelter employee. *Am J Med Sci* 2004 ; 327 : 369-72.
- 5) Alberio L, Lämmle B : Images in clinical medicine. *Capnocytophaga canimorsus* sepsis. *N Engl J Med*. 1998 ; 339 : 1827.
- 6) Wald K, Martinez A, Moll S : *Capnocytophaga canimorsus* infection with fulminant sepsis in an asplenic patient: diagnosis by review of peripheral blood smear. *Am J Hematol* 2008 ; 83 : 879.
- 7) Janda JM, Graves MH, Lindquist D, Probert WS : Diagnosing *Capnocytophaga canimorsus* infections. *Emerg Infect Dis* 2006 ; 12 : 340-2.
- 8) Lion C, Escande F, Burdin JC : *Capnocytophaga canimorsus* infections in human: review of the literature and cases report. *Eur J Epidemiol* 1996 ; 12 : 521-33.
- 9) Le Moal G, Landron C, Grollier G, Robert R, Burucoa C : Meningitis due to *Capnocytophaga canimorsus* after receipt of a dog bite: case report and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2003 ; 36 : e42-6.
- 10) Parenti DM, Snyderman DR : *Capnocytophaga* species: infections in nonimmunocompromised and immunocompromised hosts. *J Infect Dis* 1985 ; 151 : 140-7.
- 11) 関井 肇, 清田和也, 清水敬樹, 田口茂正, 鈴木里和 : グラム陰性桿菌 (*Capnocytophaga canimorsus*) による電撃性紫斑の一例. *日集中治療医誌* 2009 ; 16 : 290.
- 12) 竹川啓史, 江藤正明, 三木寛二, 大楠清文 : *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症4例の検討. *日臨微生物誌* 2008 ; 18 : 148.
- 13) 山内悠子, 竹下 望, 上原由紀, 古川恵一, 杉浦秀子 : *Capnocytophaga canimorsus* による髄膜炎, 敗血症の1例. *感染症誌* 2008 ; 82 : 742-3.
- 14) 井上孝隆, 宮内 洋, 後藤英昭, 山口芳裕 : *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症性ショックの一例. *日救急医誌* 2007 ; 18 : 554.
- 15) 菊池一美, 江原和志, 宮坂淳子, 小山 忍, 矢口勇治, 玉井清子, 他 : *Capnocytophaga canimorsus* による菌血症の1症例. *日臨微生物誌* 2005 ; 15 : 9-14.

- 16) 川端邦裕, 志水英明, 高橋 亮, 赤澤知行, 加藤 剛, 細川武彦, 他: 劇症的に経過した *Capnocytophaga canimorsus* 感染症の一例. 日内誌 2005 ; 94 : 263.
- 17) Shin H, Mally M, Kuhn M, Paroz C, Cornelis GR : Escape from immune surveillance by *Capnocytophaga canimorsus*. J Infect Dis 2007 ; 195 : 375—86.
- 18) Sacks JJ, Kresnow M, Houston B : Dog bites : how big a problem? Inj Prev 1996 ; 2 : 52—4.
- 19) John RP : Prevention and treatment of dog bites. Am Fam Physician 2001 ; 63 : 1567—72.

An Autopsy Case Involving Severe Sepsis Due to *Capnocytophaga canimorsus* Infection

Kyuma OTA¹⁾, Toshihiro KAZAWA¹⁾, Chikako TSUBATA¹⁾, Michio SUZUKI²⁾ & Koichi IMAOKA²⁾

¹⁾Division of Internal Medicine, Niigata Prefectural Central Hospital,

²⁾Division of Veterinary Science, National Institute of Infectious Disease

Capnocytophaga canimorsus, a commensal bacterium from the canine mouth, causes septicemia in human beings through bites or scratches. We report a case of a 60-year-old man contracting septicemia due to *C. canimorsus* infection after a dog bite who died less than 12 hours after admission. We observed neutrophils with intracytoplasmic bacilli in the peripheral blood smear. We discuss clinical presentation and autopsy findings.

[J.J.A. Inf. D. 83 : 661~664, 2009]

Prevalence of *Capnocytophaga canimorsus* and *Capnocytophaga cynodegmi* in
dogs and cats determined by using a newly established species-specific PCR

Authors: Michio SUZUKI*, Masanobu KIMURA, Koichi IMAOKA and Akio
YAMADA

Department of Veterinary Science, National Institute of Infectious Diseases,
1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, JAPAN

*Corresponding author: Department of Veterinary Science, National Institute of
Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, JAPAN

Tel: +81-3-5285-1111

Fax: +81-3-5285-1179

E-mail: michios@nih.go.jp

Abstract

Capnocytophaga canimorsus and *Capnocytophaga cynodegmi*, fastidious gram-negative rods, are commensal microbes thriving in the oral cavities of dogs and cats. *C. canimorsus* can sometimes cause fatal systemic infections in humans. In the present study, we established a specific PCR which could identify and distinguish *C. canimorsus* from *C. cynodegmi*. The prevalence of *Capnocytophaga* spp. in dogs and cats was determined using this method. *C. canimorsus* was detected in 74% of dogs and 57% of cats. *C. cynodegmi* was detected in 86% of dogs and 84% of cats. The prevalence of *Capnocytophaga* spp. obtained in this study is somewhat higher than those reported previously where bacterial isolation method was used for identification. This is probably due to the fact that the PCR detection is more sensitive compared to bacterial isolation. Our findings suggest the importance of informing people who belong to high-risk groups as well as health care workers on *C. canimorsus* infection and its potential risk to people particularly to those who are immunocompromised.

Keywords: *Capnocytophaga canimorsus*, *C. cynodegmi*, PCR, oral cavity

1. Introduction

The bacteria of the genus *Capnocytophaga* are capnophilic, fastidious, thin, and facultative anaerobic gram-negative rods displaying gliding motility (Brenner *et al.*, 1989). *Capnocytophaga* spp. are indigenous to the oral cavities of humans, dogs, and cats. Dogs and cats have two species; *C. canimorsus* and *C. cynodegmi*. *C. canimorsus* sometimes causes wound and systemic infections in humans after dog or cats bites (Brenner *et al.*, 1989). *C. cynodegmi* also causes local wound infection, but systemic infection is very rare (Khawari *et al.*, 2005; Sarma *et al.*, 2001). Detection and identification of *C. canimorsus* has been hampered because of the lack of simple detection systems. Genetic and biochemical similarities between *C. canimorsus* and *C. cynodegmi* make it further difficult to identify these species. Even when highly sensitive molecular methods were applied, sequencing of the product is often required for distinguishing between *C. canimorsus* and *C. cynodegmi* (Gottwein *et al.*, 2006; Janda *et al.*, 2006). In addition, Mally *et al.* (2009) reported the presence of *C. canimorsus* strains that are hardly distinguished from *C. cynodegmi* by the comparison of the 16S rRNA sequences. Therefore, there is a need for the development of more convenient and specific PCR systems to identify the *Capnocytophaga* spp. (Gaastra *et al.*, 2009). In the present study, a new PCR based detection system is described which discriminates between *C. canimorsus* and *C. cynodegmi*. Using this method the prevalence of both bacteria was determined in the dogs and cats in Japan.

2. Materials and methods

2-1. Bacterial strain

The bacterial strains used in the present study are listed in Table 1. Seven reference strains of *Capnocytophaga* spp. were purchased from the American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA) or the RIKEN BioResource Center (Wako, Saitama, Japan). Bacterial species involved in bite infections (*Pasteurella* spp. and *Fusobacterium* spp.) and commensal species of the oral cavity of humans and animals were also obtained from the ATCC and the RIKEN. Other bacterial strains used in a previous study were also included (Kimura *et al.*, 2008). DNA was extracted from bacterial cells by the guanidine thiocyanate lysis and isopropanol precipitation method (SepaGene; Sanko Junyaku, Tokyo, Japan) according to the manufacturer's protocol. Briefly, 100 μ l of guanidine thiocyanate solution was added to 100 μ l of the specimen, and the phases were then separated by adding 400 μ l of sodium acetate and 700 μ l of chloroform-agglutination solution, followed by centrifugation at 12000 x g for 15min. The DNA was precipitated from the upper phase with isopropanol and was resuspended in 27 μ l of Tris-HCl buffer (PH8.0). The concentration of DNA solution was determined by spectrophotometer (NanoDrop 1000, Thermo Fisher Scientific, MA, USA). For the examination of assay sensitivity of specific PCR,

the extracted DNA of *C. canimorsus* ATCC35979 or *C. cynodegmi* ATCC49044 were 10-fold serially diluted and used as templates.

2-2. Primers and PCR

As shown in Table 2, two primers, CaL2 and AS2, were newly designed in this study, and used in combination with CaR and CyR primers reported by Kikuchi *et al.* (2005). PCR detection was performed using puReTaq Ready-To-Go PCR beads (GE Healthcare Bioscience Corp., NJ, USA) under the following conditions: an initial denaturation at 95 °C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation at 95 °C for 30 s, annealing at 58 °C for 1 min, extension at 72 °C for 1 min, and a final extension at 72 °C for 7 min.

2-3. Specimens from dogs and cats

Oral swabs taken from 325 dogs (during 2004 to 2006) and 115 cats (in 2007) at an animal shelter in Kanagawa Prefecture using sterile cotton-tipped applicators (BD BBL Culture Swab Plus; Nippon Becton Dickinson, Tokyo, Japan) were suspended in heart infusion broth (BD Bioscience, CA, USA) and cultured for 24 h at 35 °C in an aerobic atmosphere of 5% CO₂. Bacterial cells were collected from the culture broth by centrifugation and then resuspended in 200 µl of distilled water followed by heating at 95 °C for 15 min. After centrifuging at

x14,000 g for 5 min, the supernatants containing bacterial DNA were collected and used for PCR amplification.

3. Results

3-1. Specificity and sensitivity of PCR

We determined the specificity and sensitivity of the PCR performed with different combinations of primers for discriminatory amplification of the 16S rRNA gene of *C. canimorsus* and *C. cynodegmi*. The CaL2-AS1 primer pair could amplify the target sequences from the DNA derived from both *C. canimorsus* and *C. cynodegmi*. Specific amplification of *C. canimorsus* DNA but not *C. cynodegmi* DNA was achieved by the CaL2-CaR, whereas the DNA fragment of *C. cynodegmi* alone was amplified by the PCR using the CaL2-CyR primer pair (Fig. 1 and Table 1). Amplification of other bacterial DNA, including five species of the genus *Capnocytophaga* isolated from human oral cavity was not observed using the CaL2 forward primer in combination with three reverse primers (Fig. 1 and Table 1). When the CaL2-AS1 primer pair was used for amplification, *Leptotrichia buccalis* gave an unexpected product (Table 1); however, the size of the product was totally different from that of the specific amplicons.

The sensitivity of the PCR with three different pairs of primers was then determined using known amounts of DNA purified from *C. canimorsus* or *C.*

cynodegmi culture. It was shown that the sensitivities ranged from 100 fg to 1 pg depending on the primer pair (Table 3).

3-2. Prevalence of *Capnocytophaga* spp. in dogs and cats

The findings mentioned above indicated that the PCR using the CaL2 primer together with CaR or CyR allowed us specific amplification of respective species of the genus *Capnocytophaga*. The samples of the dogs and cats were, therefore, examined by PCR with these primers for the presence of specific sequence of *C. canimorsus* and *C. cynodegmi*. As shown in Fig. 2, 240 of 325 (74%) dogs and 66 of 115 (57%) cats tested positive for *C. canimorsus*, while *C. cynodegmi* was detected in 279 of 325 (86%) dogs and 97 of 115 (84%) cats. Both of species were detected in 219/325 (67%) of dogs and 64/115 (56%) of cats (Fig. 2A and B).

4. Discussion

Capnocytophaga infection is uncommon zoonosis after dog and cat bites. About 200 cases have been reported in the world since 1976 (Gaastra *et al.*, 2009 and Macrea *et al.*, 2008). The majority of the disease is caused by *C. canimorsus*. Immunocompromised persons are most vulnerable to the *C. canimorsus* infection. Asplenic, alcoholic, or aged individuals, as well as those who are suffering from chronic diseases, such as diabetes, are considered to be at high-risk (Janda *et al.*,

2006; Lion *et al.*, 1996). The clinical features of *C. canimorsus* infection include sepsis, meningitis, renal insufficiency, and disseminated intravascular coagulation (Lion *et al.*, 1996; Moal *et al.*, 2003). The case fatality rate may exceed 30% (Lion *et al.*, 1996). In Japan, 13 cases of human *C. canimorsus* infection have been reported (Imaoka, 2009; Kikuchi *et al.*, 2005; Ota *et al.*, 2009; Takahashi *et al.*, 2009).

Diagnosis of *C. canimorsus* infection is usually done by isolation of the bacteria followed by biochemical characterization. PCR is also available for identification of *Capnocytophaga* spp.. Kikuchi *et al.* (2005) reported that *C. canimorsus* and *C. cynodegmi* could be differentiated by PCR directed to 16S rRNA gene, whereas in the most recent literature van Dam *et al.* (2009) reported species-specific real-time PCR. Since we noticed that the primers designed by Kikuchi *et al.* (2005) amplified the target sequences not only from *C. canimorsus* and *C. cynodegmi* but also from *Capnocytophaga* spp. isolated from human oral cavities, we attempted to improve the original method in this study. By precisely examining the nucleotide sequences deposited in the GenBank, we eventually succeeded to design species-specific primers. Recently the presence of *C. canimorsus* strains which could not be distinguished from *C. cynodegmi* by the sequence analysis of 16S rRNA gene alone was reported by Mally *et al.* (2009). Since the nucleotide sequence of the CaR primer is shared by the strains identified as *C. canimorsus* by Mally *et al.* using a phylogenic analysis, the primer designed here for *C. canimorsus* is expected to unambiguously amplify *C.*

canimorsus strains.

Because the PCR method established here is rapid and sufficiently sensitive, the method can be applied to identify and distinguish *C. canimorsus* from *C. cynodegmi*. The prevalence of *Capnocytophaga* spp. in dogs and cats was determined using the PCR method. The 16S rRNA gene of *C. canimorsus* and/or *C. cynodegmi* was detected in 92% of dogs and 86% of cats. The prevalence of *C. canimorsus* was higher in dogs compared with that in cats, but *C. cynodegmi* was detected in a similar proportion in both animals. In previous reports, the prevalence of *Capnocytophaga* spp. determined by bacterial isolation was shown to be 36–60% for dogs and 24% for cats (Westwell *et al.*, 1989; Mally *et al.*, 2009). The prevalence determined in this study was higher than that of previous reports, probably because the PCR detection is more sensitive than bacterial isolation.

Although the number of human infections with *C. canimorsus* in Japan remained quite small so far, most septic patients had received intensive care and the mortality rate was around 30% (Imaoka, 2009). Taking into account the fact that around 13 million dogs and 14 million cats are kept as companion animals, and that more than one fifth of 120 million Japanese populations are people over 65 years of ages, the chances of serious infections by *C. canimorsus* are high. It is therefore prudent to disseminate information on possibility of *C. canimorsus* infection through companion animals to people who are at highest risk.