

名古屋市で飼育されているネコの *Pasteurella multocida* の保有状況調査

はじめに

イヌやネコに咬まれ、咬傷から侵入した病原体による感染症のなかで最も患者数が多いと考えられているのが、パスツレラ症である。*P. multocida* をはじめとする *Pasteurella* 属の菌は、約 75% のイヌおよびほぼ 100% のネコの口腔内、上気道、消化管に常在しており、ヒトへの咬・搔傷や口元をなめられるなどの接触により局所感染症、呼吸器感染症の他、敗血症、髄膜炎など全身感染症を引き起こす例も報告されている。

地方都市である名古屋市においても、イヌ・ネコの飼育の場が、屋外から室内へと身近になり、直接的接触が増加していると考えられ、本菌のイヌ・ネコにおける保有状況および飼育動物と飼育者との関係を把握することが求められている。

そこで今回は、特に保有率の高いネコについて、*P. multocida* の口腔内および爪の保菌状況、調査対象の環境調査を調査した。また、同じ *Pasteurella* 属に分類され、ネコの口腔内に保菌されている *P. dagmatis* についても同様に調査を行った。

調査材料および調査方法

1. 調査施設

名古屋市内に施設をもつ名古屋市獣医師会会員病院、16 施設に採材とアンケート調査（調査対象の環境調査）を依頼した。

2. 調査期間

調査期間は、平成 24 年 8 月 17 日から 9 月 21 日とした。

3. 調査材料

各調査施設に来院した飼猫の口腔内、前肢爪、後肢爪拭い液、各 80 検体を使用した。シードスワブにて採取し、4℃で検査施設まで送付した。

4. 調査方法

検査は日本獣医生命科学大学獣医微生物学教室（片岡康氏）に依頼した。

P. multocida の細菌学的検査

1) *P. multocida* または *P. dagmatis* の分離培養

P. multocida または *P. dagmatis* は、各材料スワブが常在菌により汚染している

ものと考え、*P. multocida*の選択培地を用いて、以下のようにして分離培養した。

① 選択培地は、Knightらが報告しているModified Knight mediumを用いた。

Modified Knight medium

heart infusion agar (BBL)
5% defibrinated horse blood
clindamycin 5.0mg/L
gentamicin 0.75mg/L
amphotericin B 5.0mg/L

② 各材料スワブを選択培地に塗抹し、37°C、24時間、好気培養した。

③ 培養後、*Pasteurella*属菌と疑われる集落を各検体3~5個滅菌楊子にて釣菌し、5%めん羊脱線維血液加寒天培地に純培養(37°C、24時間、好気培養)した。

④ 純培養後、培養菌を掻き取り、試験に供試するまで10%スキムミルクに浮遊し-80°Cで保存した。

2) *P. multocida* または *P. dagmatis* の菌種同定

以下の生化学的性状を検査し、*P. multocida* または *P. dagmatis* と同定した。

	<i>P. multocida</i>	<i>P. dagmatis</i>
① グラム染色	ともにグラム陰性小桿菌、両端染色性	
② カタラーゼ試験	ともに陽性	
③ オキシダーゼ試験	ともに陽性	
④ ウレアーゼテスト	陰性	陽性
⑤ インドール試験	ともに陽性	
⑥ 硝酸塩還元試験	ともに陽性	
⑦ オルニチン脱炭酸試験	陽性	陰性
⑧ 炭水化物分解能		
マルトース	陰性	陽性
マンニット	陽性	陰性
ラフィノース	陰性	陽性

3) *P. multocida* および *P. dagmatis* 検出用 Polymerase chain reaction (PCR)

PCR は、最初に口腔内、前肢爪および後肢爪のスワブから直接培養により行った。その手法は以下の通りである。

① 各スワブを Heart infusion broth (BD) 3.0mL に接種した。

② 37°C、18~24 時間、好気培養し、培養後菌液 1.0mL を E. tube に入れ、8,000 rpm×5 分遠心後、上清を捨て沈渣 200 μ l Tris-EDTA buffer (pH8.0) に浮遊した。

③ 100°C、15min 加熱し、菌体 DNA を抽出した。

④ 12,000rpm×5 分間遠心し、上清を template DNA とした。

⑤ PCR mixture の作成

tempelate DNA 10 μ l
Taq DNA polymerase (1U) 0.125 μ l
10 \times PCR buffer 2.5 μ l
dNTP mixture 2.0 μ l
25mM MgCl₂ 1.5 μ l
primer (F) 0.5 μ l
primer (R) 0.5 μ l
D.W. 7.875 μ l

検出用プライマーは、

P. multocida は、KMTJB-forward (5' -TGCCACTTGAAATGGGAAATG-3')、
KMTJB-reverse (5' -AATAACGTCCAATCAGTTGCG-3') を用い、
P. dagmatis は、Pdagmsod-forward (5' -TAACAACGCTAACGCAGCGT-3')、
Pdagmsod-reverse (5' -CACCTTGTAATGTTGTACCT-3') をそれぞれ用いた。

⑥ PCR スケジュールは以下の通りに行った。

95°C、5min
94°C、30sec
57°C、30sec
72°C、30sec
72°C、7min

} 35cycles

⑦ PCR 産物の検出は、アガロースゲル電気泳動を行い、*P. multocida* は 168bp、
P. dagmatis は 184bp のバンドが検出された場合を陽性と判定した。

調査対象の環境調査

1 飼育動物

- ① 品種 _____
- ② 性別 オス メス
- ③ 年齢 _____ 歳
- ④ 口腔疾患以外の既往歴 _____
- ⑤ ウイルス感染 FeLV FIV FIP 無 不明
- ⑥ 一ヶ月以内の抗生剤使用の有無 有 無 不明
- ⑦ 口腔検査での問題点
歯石沈着 口内炎 口臭 流涎 疼痛 その他 無
- ⑧ 歯石除去などの処置の有無 有 無

⑨ 爪切りなどの処置の有無 有 無

2 飼育状況

① 飼育場所

完全室内飼育 室内、屋外を出入り 完全屋外飼育 屋外（野良猫）

② 食餌内容

ドライフード 缶詰 人の食事 その他

③ 食餌の場所

室内 室内、屋外 屋外 屋外（野良猫）

④ トイレの場所

室内 室内、屋外 屋外 屋外（野良猫）

⑤ 爪とぎの場所

室内 室内、屋外 屋外 屋外（野良猫）

⑥ 飼主による口腔衛生管理 ブラッシング 歯石予防薬 その他 無

⑦ 飼主による爪切りの実施 有 無

⑧ 他の猫の飼育状況

・飼育場所 完全室内飼育（ ）頭

室内、屋外を出入り（ ）頭

完全屋外飼育（ ）頭

⑨ 他の動物の飼育状況

・動物種（ ）

・飼育場所 完全室内飼育（ ）頭

室内、屋外を出入り（ ）頭

完全屋外飼育（ ）頭

3 飼育者の住居

① 住居区（名古屋市_____区）

② 住居（一戸建 マンション・アパート その他）

4 飼育者と飼育動物との関係（これまで経験のあるものを回答）

①飼育動物に咬まれる

有（その後の対応：何もしない 水洗い 消毒 病院の受診 その他（ ）

無

②飼育動物に引っかかる

有（その後の対応：何もしない 水洗い 消毒 病院の受診 その他 ）
無

③飼育動物と同じ箸やスプーンを使って食事をする、キスをする

有（その後の対応：何もしない 手洗い・うがい 消毒 その他 ）
無

④飼育動物と同じ寝具で眠る

有（その後の対応：何もしない 手洗い・うがい 消毒 その他 ）
無

結果

1. *P. multocida* および *P. dagmatis* の分離培養

P. multocida は前肢爪 80 検体中 2 検体 (2.5%) から、後肢爪は 1 検体 (1.3%)、口腔内からは 80 検体中 58 検体 (72.5%) から分離された。また、*P. dagmatis* は前肢爪および後肢爪からは分離されず、口腔内のみから 80 検体中 20 検体 (25.0%) から分離された。(表 1、別表 1)

2. *P. multocida* および *P. dagmatis* 検出用 PCR

PCR による結果では、*P. multocida* は前肢爪 80 検体中 13 検体 (16.3%) から、後肢爪は 16 検体 (20.0%)、口腔内からは 80 検体中 71 検体 (88.8%) から特異的な PCR 産物が検出された。一方、*P. dagmatis* は前肢爪から 1 検体 (1.3%)、後肢爪から 1 検体 (1.3%)、口腔内からは 80 検体中 36 検体 (45.0%) から分離された。(表 1、別表 1)

調査対象の環境調査結果は別表 1 および別表 2 に示した。また、調査対象の環境調査結果と口腔内および爪の *P. multocida* 陽性率の関係を別表 3 および別表 4 に示した。

考察

過去の名古屋市内の猫の *P. multocida* 保菌実態調査においては、84.4%の陽性率が示されている。

今回の調査でも、*P. multocida* については、口腔内で培養検査 72.5%、PCR88.8%

と高い陽性率を示した。また、*P. dagmatis* についても、培養検査 25.0%、PCR45.0%の陽性率であった。このうち、*P. dagmatis*のみ陽性を示したものは1検体のみであり、他の*P. dagmatis*陽性の検体は、全て*P. multocida*も陽性であった。*P. multocida*、*P. dagmatis*、*P. canis*および*P. stomatis*の4菌種がイヌ・ネコに関するヒトの感染症の起原菌となると考えられているが、*P. multocida*はヒトのパスツレラ症の原因のほとんどを占めている。その理由として、*P. multocida*のネコの口腔内の保有率が高いことが、その一因と考えられる。

*P. multocida*の口腔内PCR陽性検体71検体中、口腔内のみ陽性だったのは53検体、口腔内と爪の両方が陽性だったのは18検体、爪のみ陽性だったのは0検体であった。*P. dagmatis*の口腔内PCR陽性検体36検体中、口腔内のみ陽性だったのは34検体、口腔内と爪の両方が陽性だったのは2検体、爪のみ陽性だったのは0検体であった。*P. multocida*、*P. dagmatis*のいずれも爪が陽性であれば、口腔内も陽性であり、爪のみ陽性の検体は存在しなかった。パスツレラ菌は上部気道、消化管の常在菌であるとされており、今回の結果も、爪から検出されたのは、口腔内のパスツレラ菌が爪に付着して検出されたものと考えられる。ネコの毛づくろいの行動などから、前肢爪のほうが後肢爪より陽性率が高くなるのではと予想していたが、明らかな差は見られなかった。

今回の結果において、菌の分離率とPCRの検出率との間に大きな差が認められたのは、寒天平板を用いた菌分離の検出限界値(10^4 個/g)とPCRによる検出限界値(10^2 個/g)が異なることから、各サンプルに含まれている細菌数により異なる結果が得られたものと考えられた。

次に、*P. multocida*の口腔内陽性率について、調査対象の環境調査との関連を検討した。

品種、ウイルス感染の有無による陽性率の差については、純血種と雑種の集団数、ウイルス陽性と陰性の集団数が大きく異なり、一概に比較することが困難であった。

性別による陽性率の差は見られなかった(オス88.6%メス90.7%)。過去の名古屋市獣医師会の調査では、オスのほうがやや高い傾向(オス91.0%去勢オス96.0%メス75.0%避妊メス82.0%)が見られたが、今回は特定の傾向が見られなかった。

今回調査対象となった名古屋市内の飼猫は、過去の名古屋市獣医師会の調査時より室内飼育の割合が増加しており(67.5%から74.7%)、飼育場所、食餌の場所、トイレの場所、爪とぎの場所や食餌内容についても、ほとんどが室内・ドライフード利用であり、それぞれの集団数が大きく異なり、一概に比較する

ことができなかつた。最も集団数の差が少なかつた飼育場所について、完全室内飼育とそれ以外で陽性率を比較した結果、88.1%と90.0%で差は見られなかつた。また、食餌内容についても、ドライフードのみとそれ以外で陽性率を比較したところ、87.8%と89.7%で差は見られなかつた。

年齢による陽性率の違いについては、過去の名古屋市獣医師会の調査では、高齢になるほど高くなる傾向があつたが、今回は特定の傾向が見られなかつた。

(1歳以下92.3%2~5歳94.4%6~9歳80.0%10~13歳100%14歳以上84.2%)

口腔疾患以外の既往歴の有無による陽性率の差は見られなかつた。(有89.7%無90.2%) また、口腔検査での問題点の有無による陽性率の差は見られなかつた(有87.9%無90.2%)。 *P. multocida* のような口腔内常在菌をネコの症状から判定することは困難と考えられる。

一ヶ月以内の抗生剤の使用や歯石除去の有無により、陽性率に差が見られた(抗生剤有76.2%無94.2%) (歯石除去有57.1%無93.0%)。 *P. multocida* は多くの種類の抗生剤が有効であり、また歯石に付着した菌の除去によって、今回一時的に陰性になっている検体が存在するものと考えられる。

飼主による口腔衛生管理(ブラッシングなど)の有無による陽性率の差は見られなかつた(有90.0%無89.4%)。さらに爪切り処置により、*P. multocida* の爪の陽性率が低下することもなかつた(処置有24.0~27.9%処置無17.1~20.7%)。 *P. multocida* のような口腔内常在菌は、飼主によるネコへの直接的な管理によって保菌率を下げることは難しいと考えられた。

他の猫の飼育状況については飼育の有無による陽性率の差は見られなかつたが(有91.8%無87.0%)、他の動物の飼育状況の有無による陽性率に差が見られた。(有100%無86.0%) この理由については不明であつた。

以上をふまえて、飼育者と飼育動物との関係の調査結果を参考に、今後の対応について検討した。

欧米ではヒトのパスツレラ症の原因として、咬・搔傷など外傷性55%、接触など非外傷性30%となっているが、国内では外傷性30%、非外傷性50%となっている。さらにヒトのパスツレラ症から分離される *P. multocida* は増加傾向にあり、その理由として、家族形態の変化による飼育方法の変化、室内飼育の増加や住宅の気密性の向上など、さまざまな要因からイヌ・ネコとの接触の機会が増加していることが考えられている。また、飼育者が持病により免疫力が低下していたり、免疫抑制剤を服用している場合などに、ヒトのパスツレラ症が重症化する傾向があるため、高齢化の進む国内では、より注意が必要と考えられている。

今回の飼育者と飼育動物との関係の調査からも、咬・搔傷時などでも飼育者

はその後の対応として、何もしない、水洗いのみにとどまる例が多く見られ、さらに寝具の共有など接触による感染の可能性については、ほとんどその後の対応はされておらず、あまり警戒していない様子が見られた。

イヌやネコの口腔内常在菌であるパストツレラ属菌は、今回の結果からもネコの口腔内において高い保菌率が示されている。爪についても、必ずしも保菌されているわけではないが、ネコのグルーミングなどの行動によって汚染されていることが示されている。

抗生剤などによる除菌は一時的なものであるため、ヒトへのパストツレラ属菌の感染を予防するためには、イヌやネコがヒトを咬んだり引っかいたりしないよう、穏やかな性質を保つようしつけることが大切であるが、飼育者がイヌやネコに顔をなめさせたりしないようにすることも大切である。就寝中に口元をなめられる可能性があるため、寝室を共有しないことも予防となる。さらに、接触後の手洗いや咬・搔傷時の消毒等の適切な対応も重要である。我々獣医師は、イヌやネコからのパストツレラ属菌の感染の危険性を十分認識し、イヌやネコとの接し方を、公衆衛生の観点から飼育者に啓蒙することが必要となるだろう。

参考文献

1. 原弘之、兼島孝：医師から見たズーノーシス, SA Medicine59, (47-53) (2009)
2. 厚生労働省：愛玩動物の衛生管理の徹底に関するガイドライン 2006
3. 名古屋市獣医師会：飼犬・猫のパストツレラ・ムルトシダ保菌実態調査 (1987・1988)
4. 名古屋市獣医師会：飼猫の口腔内細菌実態調査 (1995)
5. 名古屋市獣医師会：飼猫の爪部における人畜共通感染菌の保菌調査 (1998)
6. 荒島康友：新世紀の人獣共通感染症④パストツレラ症, 大塚薬報 12月号(2002)
7. 荒島康友：新世紀の人獣共通感染症⑤パストツレラ症, 大塚薬報 1月号(2002)

表1 ネコの口腔内、前肢及び後肢爪における*P. multocida*および*P. dagmatis*の陽性率

検体	<i>steurella multocida</i>		<i>Pasteurella dagmatis</i>	
	培養検査	PCR	培養検査	PCR
前肢爪	2/80 (2.5%)	13/80 (16.3%)	0/80	1/80 (1.3%)
後肢爪	1/80 (1.3%)	16/80 (20.0%)	0/80	1/80 (1.3%)
口腔内	58/80 (72.5%)	71/80 (88.8%)	20/80 (25.0%)	36/80 (45.0%)

別表2 調査対象の環境調査結果②

飼育者と飼育動物との関係(これまで経験のあるものを回答)

①飼育動物に咬まれる

	総数
無	47
有	32

その後の対応	総数
何もしない	3
水洗い	16
消毒	13
病院の受診	4
その他	0

②飼育動物に引っかかる

	総数
無	32
有	46

その後の対応	総数
何もしない	12
水洗い	20
消毒	18
病院の受診	5
その他	1

③飼育動物と同じ箸やスプーンを使って食事をする、キスをする

	総数
無	75
有	4

その後の対応	総数
何もしない	3
手洗い・うがい	0
消毒	0
その他	1

④飼育動物と同じ寝具で眠る

	総数
無	32
有	47

その後の対応	総数
何もしない	37
手洗い・うがい	2
消毒	0
その他	2

別表3 調査対象の環境調査結果と口腔内の*P.multocida*陽性率の関係

1.飼育動物

②性別

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
オス	35	31	4	88.6
メス	43	39	4	90.7

③年齢

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
～1歳	13	12	1	92.3
2～5歳	18	17	1	94.4
6～9歳	15	12	3	80.0
10～13歳	10	10	0	100
14歳～	19	16	3	84.2

④口腔疾患以外の既往歴

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
有	29	26	3	89.7
無	51	46	5	90.2

⑥一ヶ月以内の抗生剤使用の有無

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
有	21	16	5	76.2
無	52	49	3	94.2

⑦口腔検査での問題点(歯石沈着・口内炎・流涎・疼痛・その他)

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
有	33	29	4	87.9
無	41	37	4	90.2

⑧歯石除去などの処置の有無

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
有	7	4	3	57.1
無	71	66	5	93.0

2.飼育状況

①飼育場所

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
完全室内	59	52	7	88.1
その他	20	18	2	90.0

②食餌内容

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
ドライフードのみ	41	36	5	87.8
その他	39	35	4	89.7

⑥飼主による口腔衛生管理(ブラッシング・歯石予防薬・その他)

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
有	10	9	1	90.0
無	66	59	7	89.4

⑧他の猫の飼育状況

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
有	49	45	4	91.8
無	31	27	4	87.0

⑨他の動物の飼育状況

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
有	23	23	0	100.0
無	57	49	8	86.0

3.飼育者の住居

②住居

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
一戸建	43	41	2	95.3
マンション・アパート	37	30	7	81.1

別表4 調査対象の環境調査結果と爪の*P.multocida*陽性率の関係

1.飼育動物

⑨爪切りなどの処置の有無

	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
有	43	12	31	27.9
無	35	6	29	17.1

2.飼育状況

⑦飼主による爪切りの実施

飼主	総数	陽性	陰性	陽性率(%)
有	50	12	38	24.0
無	29	6	23	20.7