

名古屋市で飼育されている犬・猫の

Capnocytophaga canimorsus、*C. cynodegmi*の保有状況調査

はじめに

ヒトにおける*Capnocytophaga canimorsus* 感染症は、犬・猫からの咬傷や搔傷からヒトへ感染が起り、発症した場合急性敗血症が起り致死率の高い疾病であることが報告されている。原因菌である*C. canimorsus* は、犬や猫の口腔内に高率に保菌されていることが報告されており、ズーノーシス予防のための観点から名古屋市における本菌の犬猫における保菌状況を把握することが求められている。そこで、犬猫の口腔内に保菌されているとされる*C. canimorsus* および*C. cynodegmi* の保菌状況を調査した。

表1 *Capnocytophaga* 属菌の自然宿主、性状、病原性

菌種名	常在する宿主	カタラーゼ	オキシダーゼ	病原性
<i>C. ochracea</i> <i>C. gingivalis</i> <i>C. sputigena</i> <i>C. haemolytica</i> <i>C. granulosa</i>	ヒト	陰性	陰性	歯周病、時に心内膜炎など
<i>C. canimorsus</i> <i>C. cynodegmi</i>	イヌ・ネコ	陽性	陽性	敗血症、DIC、発症は稀だが重篤度高い 稀に局所感染、全身感染の報告例はごくわずか

(参考資料:Suzuki, M., 2010)

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持つ名古屋市獣医師会会員病院、18施設に採材を依頼した。

2 調査期間

調査期間は、平成23年8月22日から平成23年9月27日とした。

3 調査材料

各調査施設に来院した飼犬及び飼猫の口腔ぬぐい液、犬猫各48検体。

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。

1) 細菌学的検査

- ① 口腔ぬぐい液を5%馬脱線維血液加ハートインフュージョン寒天培地に塗抹し、37℃、5%CO₂で48時間培養した。
- ② 培養後、*Capnocytophaga* に類似した集落を滅菌楊子にて釣菌し、5%馬脱線維血液加ハートインフュージョン寒天培地に純培養した。培養は37℃、5%CO₂で48時間行った。
- ③ 各検体より純培養された分離株について、グラム染色性、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験を行い、*Capnocytophaga* と考えられる菌株(グラム陰性桿菌、カタラーゼ陽性、オキシダーゼ陽性)をスクリーニングした。

- ④ 各検体より純培養され、*Capnocytophaga* と考えられる菌株について、硝酸塩還元試験、インドール産生、アルギニン加水分解、運動性、各種糖分解を調べた。
- ⑤ 分離株は、最終的に PCR により菌種同定した。

2) PCR

- ① 口腔ぬぐい液をハートインフュージョンブロス 3.0 mL に接種し、37 °C、5%CO₂、24 時間培養した。
- ② 培養後、菌液 1.0 mL をエッペンチューブに入れ、8,000rpm、5min 遠心し集菌した。
- ③ 遠心上清を捨て、沈渣に 200 μl Tris-EDTA buffer (pH8.0) を加え、95 °C、15min 加熱処理をしテンプレート DNA を抽出した。
- ④ 12,000rpm、5min 遠心し、上清をテンプレート DNA とした。
- ⑤ PCR

template DNA 10 μl
 Taq DNA polymerase 0.125 μl
 10 × PCR buffer 2.5 μl
 dNTP mixture 2.0 μl
 25mM MgCl₂ 1.5 μl
 primer-F 0.5 μl
 primer-R 0.5 μl
 D.W. 7.875 μl

Capnocytophaga 属の同定および菌種同定に使用したプライマー

Table 2
 Primers used in this study.

Primer name	Sense or antisense	Sequence	Target length	Location at L14637 or L14638 ^a
CaL2	Sense (20 bp)	5'-GTAGAGTGCTTCGGCACTTG-3'		71-90 (L14637)
AS1	Antisense (22 bp)	5'-GTGATGCCACCAACAATACTA-3'	124 bp	194-173 (L14637)
CaR ^b	Antisense (19 bp)	5'-GCCGATGCTTATTCATACA-3'	427 bp	497-479 (L14637)
CyR ^b	Antisense (19 bp)	5'-GCCGATGCTTATTCGTATG-3'	427 bp	495-477 (L14638)

^a GenBank accession numbers of 16S rRNA gene of *C. canimorsus* (L14637) and *C. cynodegmi* (L14638).

^b Prepared according to Kikuchi et al. (2005).

(参考文献 : Suzuki, M. et al., 2010)

- ⑥ PCR スケジュールは以下の通りとした。

95 °C、5 min
 95 °C、30 s
 58 °C、1 min
 72 °C 1 min
 72 °C、7 min

} 35 cycles

- ⑦ PCR 産物をアガロース電気泳動により確認した。

1) 3% NuSieve 3:1 Agarose を 0.5 × TBE に溶解した。

- 2) 10mg/mL エチジウムブロマイドを1/10,000 添加し、100V で電気泳動した。
- 3) 紫外線下で写真撮影した。

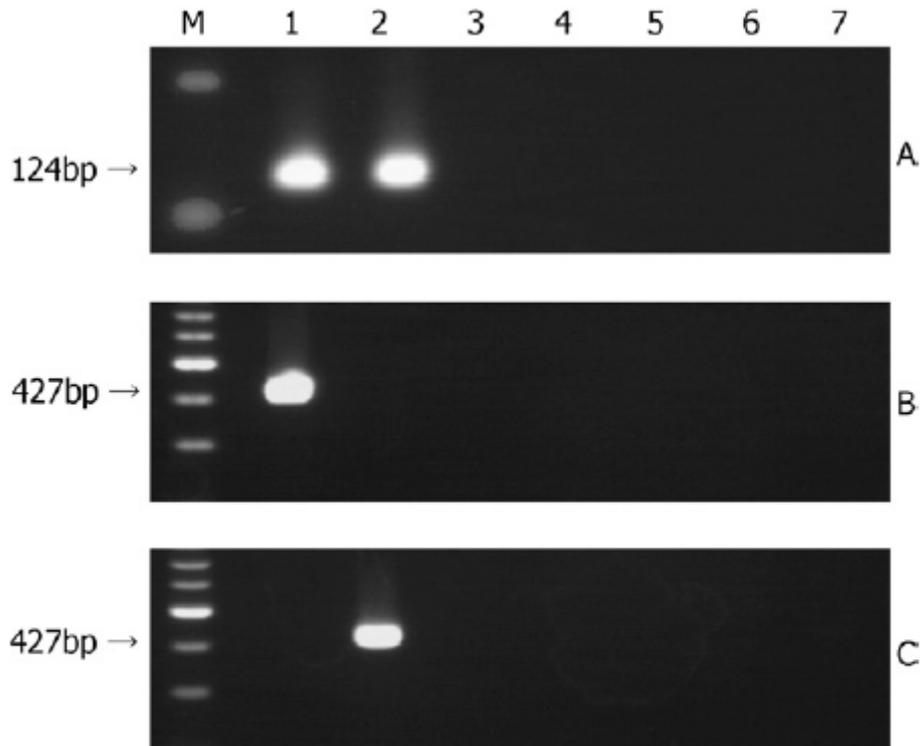


Fig. 1. Specific detection of the 16S rRNA gene of *Capnocytophaga* spp. by PCR using primer sets; CaL2-AS1 (A), CaL2-CaR (B), CaL2-CyR (C). Lane 1: *C. canimorsus*, Lane 2: *C. cynodegmi*, Lane 3: *C. gingivalis*, Lane 4: *C. ochracea*, Lane 5: *C. sputigena*, Lane 6: *C. granulosa*, and Lane 7: *C. haemolytica*.

(参考文献：Suzuki, M. *et al.*, 2010)

調査対象件の環境調査

1 飼育動物

- ① 品種 _____
- ② 性別 オス メス
- ③ 年齢 _____歳
- ④ 健康状態

2 飼育状況

- ① 飼育場所 室内 屋外 自由
- ② 他の動物の飼育状況

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）

結果

1. 細菌学的検査成績

直接分離培養し純培養した菌株（計297 株）および増菌培養後分離培養した菌株（計122 株）は生化学的性状検査ならびにPCR 検査により、すべて*Capnocytophaga* 属の菌ではなかった。

2. PCR

口腔ぬぐい液培養液より*Capnocytophaga* 属を同定するPCR を行ったところ、48検体中犬で33 検体（68.8%）猫で39検体（81.3%）より*Capnocytophaga* 属特異的遺伝子断片（124bp）が検出された。

Capnocytophaga 属が同定された計72 検体について、*C. canimorsus* および*C. cynodemi* 同定用PCR を行ったところ、*C. canimorsus* は犬で13 検体（27.1%）、猫で16 検体（33.3%）より分離された。

また、*C. cynodemi* は犬で26検体（54.2%）、猫で32 検体（66.7%）から分離された。

検体結果と飼育状況および環境に関する調査結果は別表に示した。

考察

カプトサイトファーガ属菌は表1のように現在7種が知られており、そのうち犬や猫の口腔内の常在菌とされているのが今回調査した2菌種である。この2菌種は遺伝学的にも近い関係にあり、正常も類似しているが、ヒトにおける重症例や死亡例の大半は*C. canimorsus* 感染が原因で発生している。

現在わが国で報告されている*C. canimorsus* の感染症例は、6例の死亡例を含む18症例が報告されている。患者の年齢は40～90歳代の中高齢が多く、ほとんどで自らが家庭で飼育する犬・猫からの感染である。

発症例は極めてまれであるが、その一方で発症した患者の致死率が比較的高いこの感染症の原因菌が、一般家庭で多く飼育されている犬・猫の常在菌であることは非常に重要な点である。

2004年～2007年の4年間に鈴木らが行った調査の結果では、*C. canimorsus* は犬で74%、ネコで57%が保有し、また*C. cynodemi* は犬で86%、猫で84%が保有していると報告されている。また、山口県の調査では*C. canimorsus* は犬で78.4%、猫で45.8%が保有し、また*C. cynodemi* は犬で86.3%、猫で68.8%が保有していると報告されている。

そこで今回、名古屋市内の動物病院において同様な調査を行い、*C. canimorsus* は犬で27.1%、猫で33.3%が保有し、また*C. cynodemi* は犬で54.2%、猫で66.7%が保有し

ているという結果となった。

今回の調査結果は、鈴木らが行った調査や山口県の調査結果と大きく異なり、*C. canimorsus*、*C. cynodemi*ともに保菌率が低率であった。この理由として、第一に検体を採取してから検査を行うまでに要した時間が影響していることが考えられた。今回の調査では、各調査施設で採取された検体を一度、一施設に集め、検査依頼書等の確認を行った後に日本生命科学大学へ宅配便で送付するという方式で行った為、検体採取から検査までに最長で3日を擁している。保存用培地を使用し菌数の減少をできるだけ少なくするよう努めたが、この送付時間の長さが検査結果に影響を与えた要因として考えられた。第二に、口腔ぬぐい液には多量の唾液成分が付着をしている。唾液成分中には種々の酵素類が含まれており、これらの酵素が採取した検体に影響を与えた可能性もあると考えられた。

また、培養検査がすべて陰性結果であった理由として、口腔内常在菌の増殖速度が大きく影響し、発育速度の遅い*C. canimorsus*、*C. cynodemi*の集落を覆い隠してしまうことが大きく影響をしていた。今後、*C. canimorsus*、*C. cynodemi*のみを選択分離できる選択培地が開発されたならば、培養検査結果も保菌率と相関するのではないかと考えられた。

今回我々は菌の保有状況と同時に飼育環境の調査も行ったが、犬猫各48頭中犬では47頭(約98%)、猫においても43頭(約90%)が室内飼育であった。このことが保菌率の低値と直接関係があるかどうかは室外飼育の頭数が極端に少ないので比較はできないが、近年、犬や猫などのペットと我々との関係は以前に比べより親密になり、家族同様に扱われることによりペットの衛生管理、さらには歯磨きなどの口腔衛生管理が行われるようになったことが関係しているかもしれない。

また、約半数の家庭で複数の動物を飼育していたが、これと今回の結果との関係性は見いだせなかった。その他、年齢や性別等についても同様であった。

犬や猫は我々の最も身近な動物であり、舐められたり咬まれたりすることも珍しいことではない。今回の調査から、保菌率は調査前の予想よりも低かったが、それでも*Capnocytophaga*属菌としての保菌率はイヌで約70%、猫で約80%という結果であり、我々は身近なペットが感染源になるという危険性を認識し、飼い主には犬や猫と触れ合った後の手洗い等の衛生管理や咬傷時の消毒などを指導していく必要があると感じた。

参考資料

1. Michio Suzuki, Masanobu Kimura, Koichi Imaoka, Akio Yamada. 2010. Prevalence of *Capnocytophaga canimorsus* and *Capnocytophaga cynodegmi* in dogs and cats determined by using a newly established species-specific PCR. *Veterinary Microbiology*,
2. DON J. BRENNER, DANNIE G. HOLLIS, G. RICHARD FANNING AND ROBERT E. WEAVER. 1989. *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. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 27:231-235.

3. 鈴木道雄. 2010. イヌ・ネコ咬傷・搔傷*Capnocytophaga canimorsus* 感染症. モダンメ
ディア, 56:71-77.

飼育状況ならびに環境に関する調査一覧（犬）

	飼育犬							飼育者		結果 (C. Canimorsus/cynodemi)			
	種類	性別	年齢	健康状態	基礎疾患	飼育場所	他の動物	住居区	住居	分離培養	PCR		
1	T・ブードル	オス	9か月	良	なし	室内	なし	千種	一戸建	陰性			
2	ポストンテリア	オス	3歳	良	なし	室内	なし	千種	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
3	パピヨン	オス	7歳	良	アレルギー性皮膚炎	室内	犬1	千種	一戸建	陰性	陽性	陽性	
4	マルチーズ	メス	11歳	良	なし	室内	犬1	東	一戸建	陰性	陽性	陽性	
5	チワワ	メス	8歳	良	なし	室内	犬1	東	一戸建	陰性	陽性	陽性	
6	雑種	メス	10歳	良	副腎皮質機能亢進症	室内	なし	東	一戸建	陰性	陰性	陽性	
7	M・ダックス	オス	10歳	良	なし	室内	フェレット1 インコ1	東	一戸建	陰性			
8	チワワ	メス	1歳	良	なし	室内	なし	北	アパート・マンション	陰性			
9	パグ	オス	11歳	良	なし	室内	なし	北	一戸建	陰性	陰性	陽性	
10	バーニーズ	オス	4歳	良	なし	室外	犬1 猫2	西	一戸建	陰性	陰性	陽性	
11	T・ブードル	メス	5歳	良	なし	室内	猫4	西	一戸建	陰性	陰性	陽性	
12	シーズー	オス	10歳	良	乾性角結膜炎	室内	なし	西	一戸建	陰性			
13	M・ダックス	メス	12歳	良	副腎皮質機能亢進症	室内	なし	西	一戸建	陰性	陰性	陰性	
14	M・ダックス	メス	1歳	良	妊娠中	室内	なし	中村	一戸建	陰性	陽性	陽性	
15	ボメラニアン	メス	14歳	良	僧帽弁閉鎖不全症	室内	犬1	中	一戸建	陰性	陰性	陽性	
16	フレンチブルドッグ	オス	11歳	良	なし	室内	なし	中	アパート・マンション	陰性			
17	パグ	オス	7ヶ月	良	アレルギー性皮膚炎	室内	なし	中	一戸建	陰性	陰性	陽性	
18	T・ブードル	オス	1歳	良	なし	室内	なし	中	アパート・マンション	陰性	陽性	陽性	
19	雑種	オス	10歳	良	なし	室内	なし	昭和	一戸建	陰性	陰性	陽性	
20	チワワ	オス	7歳	良	なし	室内	なし	昭和	アパート・マンション	陰性	陰性	陰性	
21	M・ダックス	オス	9歳	良	なし	室内	なし	瑞穂	一戸建	陰性	陽性	陽性	
22	雑種	メス	16歳	不良	なし	室内	猫4	瑞穂	一戸建	陰性	陽性	陰性	
23	M・ダックス	オス	11歳	良	なし	室内	犬1	瑞穂	一戸建	陰性	陰性	陰性	
24	柴	オス	2歳	良	なし	自由	猫2 犬1	瑞穂	一戸建	陰性	陽性	陰性	
25	M・ダックス	オス	6ヶ月	良	なし	室内	猫1	熱田	一戸建	陰性			
26	シーズー	オス	4歳	良	なし	室内	犬3	熱田	一戸建	陰性	陰性	陽性	
27	チワワ	オス	1歳	良	なし	室内	猫1	熱田	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
28	M・ピンシャー	オス	3歳	良	なし	室内	犬3	中川	アパート・マンション	陰性	陽性	陽性	
29	雑種	メス	13歳	良	なし	室内	犬2	中川	一戸建	陰性			
30	T・ブードル	オス	11歳	良	甲状腺機能低下症	室内	なし	中川	アパート・マンション	陰性	陽性	陽性	
31	マルチーズ	メス	16歳	良	僧帽弁閉鎖不全症	室内	なし	中川	アパート・マンション	陰性			
32	T・ブードル	オス	1歳	良	なし	室内	なし	港	一戸建	陰性			
33	チワワ	メス	1歳	良	なし	室内	猫6	南	一戸建	陰性	陰性	陽性	
34	M・ダックス	メス	2歳	良	なし	室内	なし	南	アパート・マンション	陰性			
35	パグ	メス	2歳	良	なし	室内	犬1	南	一戸建	陰性	陰性	陽性	
36	パグ	メス	2歳	良	なし	室内	犬1	南	一戸建	陰性			
37	M・ダックス	オス	8歳	良	なし	室内	なし	守山	一戸建	陰性	陽性	陽性	
38	W・コーギー	メス	8歳	良	なし	室内	なし	守山	一戸建	陰性	陰性	陰性	
39	M・ダックス	メス	8歳	良	なし	室内	なし	守山	一戸建	陰性	陰性	陽性	
40	マルチーズ	オス	10歳	良	なし	室内	なし	守山	一戸建	陰性			
41	M・シュナウザー	オス	14歳	良	高脂血症	室内	犬1	守山	一戸建	陰性			
42	ダックス	オス	13歳	不良	なし	室内	なし	緑	一戸建	陰性	陰性	陰性	
43	M・ダックス	メス	13歳	良	なし	室内	犬5	緑	一戸建	陰性	陰性	陽性	
44	柴	オス	7歳	良	なし	室内	なし	名東	一戸建	陰性	陽性	陽性	
45	チワワ	オス	4歳	良	肝臓疾患	室内	なし	名東	アパート・マンション	陰性			
46	シェルティー	オス	5歳	良	なし	室内	なし	天白	一戸建	陰性	陽性	陽性	
47	M・ダックス	オス	9歳	良	なし	室内	猫1	天白	一戸建	陰性			
48	M・ダックス	メス	8歳	良	なし	室内	なし	天白	一戸建	陰性	陰性	陽性	
										陽性数	0	13	26
										陽性率	0%	27.1%	54.2%

(空白はCapnocytophaga属菌陰性)

飼育状況ならびに環境に関する調査一覧（猫）

	飼育猫							飼育者		結果(C. Canimorsus/cynodemi)			
	種類	性別	年齢	健康状態	基礎疾患	飼育場所	他の動物	住居区	住居	分離培養	PCR		
1	雑種	オス	3ヶ月	良	なし	室内	猫4	千種	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
2	雑種	メス	4歳	良	なし	室内	犬4	千種	一戸建	陰性	陽性	陽性	
3	アメリカンショートヘア	オス	7歳	良	なし	室内	なし	千種	アパート・マンション	陰性			
4	雑種	メス	1ヶ月	良	なし	室内	なし	東	一戸建	陰性	陰性	陰性	
5	雑種	メス	4ヶ月	良	なし	自由	なし	東	一戸建	陰性			
6	ベルシヤ	メス	11歳	良	なし	室内	なし	東	一戸建	陰性	陰性	陽性	
7	雑種	メス	10歳	不良	なし	室外	猫1	北	アパート・マンション	陰性	陽性	陽性	
8	スコティッシュフォールド	メス	6歳	良	なし	室内	猫5	北	一戸建	陰性	陽性	陽性	
9	雑種	メス	2ヶ月	良	なし	室内	なし	北	一戸建	陰性	陽性	陽性	
10	雑種	メス	6歳	良	なし	室内	なし	西	一戸建	陰性	陽性	陽性	
11	雑種	オス	12歳	良	なし	室内	なし	西	一戸建	陰性	陰性	陽性	
12	雑種	メス	1歳	良	なし	室内	なし	西	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
13	雑種	オス	1歳	良	なし	室内	猫1 犬2	中村	一戸建	陰性	陰性	陽性	
14	雑種	オス	16歳	良	甲状腺機能亢進症	室内	猫20	中村	一戸建	陰性	陰性	陽性	
15	雑種	オス	18歳	良	慢性腎不全	室内	猫20	中村	一戸建	陰性	陰性	陽性	
16	雑種	メス	1歳	良	なし	室内	なし	中	一戸建	陰性			
17	雑種	メス	20歳	良	慢性腎不全	室内	なし	昭和	アパート・マンション	陰性			
18	雑種	メス	10歳	良	なし	室内	なし	昭和	一戸建	陰性	陰性	陽性	
19	雑種	オス	5歳	良	なし	室内	犬5	昭和	一戸建	陰性	陽性	陰性	
20	スコティッシュフォールド	オス	14歳	良	なし	室内	猫10	瑞穂	アパート・マンション	陰性			
21	アメリカンショートヘア	メス	4歳	良	なし	室内	猫10	瑞穂	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
22	雑種	メス	8歳	良	なし	室内	なし	瑞穂	アパート・マンション	陰性	陰性	陰性	
23	雑種	オス	7歳	良	なし	室内	なし	瑞穂	アパート・マンション	陰性	陰性	陰性	
24	雑種	オス	13歳	良	なし	自由	猫2 犬1	瑞穂	一戸建	陰性	陰性	陰性	
25	スフィンクス	オス	7歳	不良	糖尿病	室内	猫2	熱田	アパート・マンション	陰性	陽性	陽性	
26	雑種	オス	14歳	良	なし	室内	犬1	熱田	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
27	雑種	メス	5歳	良	なし	室内	猫1	熱田	一戸建	陰性	陰性	陰性	
28	雑種	メス	3ヶ月	良	なし	室内	猫5	熱田	一戸建	陰性			
29	ソマリ	オス	6ヶ月	良	なし	室内	なし	熱田	アパート・マンション	陰性	陰性	陰性	
30	雑種	メス	10歳	良	なし	室内	なし	中川	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
31	雑種	メス	10歳	良	なし	室内	猫2	中川	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
32	雑種	オス	5ヶ月	良	なし	室内	なし	中川	アパート・マンション	陰性	陽性	陽性	
33	雑種	メス	5歳	良	なし	室内	犬1	中川	一戸建	陰性	陽性	陽性	
34	雑種	メス	5歳	良	なし	室内	なし	港	一戸建	陰性	陰性	陽性	
35	雑種	オス	4歳	良	なし	室内	なし	港	一戸建	陰性			
36	雑種	オス	3歳	良	なし	室内	なし	南	アパート・マンション	陰性	陽性	陽性	
37	雑種	メス	9歳	良	なし	自由	犬猫多数	守山	一戸建	陰性	陽性	陽性	
38	雑種	メス	5歳	良	なし	室内	猫2	守山	一戸建	陰性	陽性	陽性	
39	ソマリ	メス	10歳	良	なし	室内	なし	守山	一戸建	陰性	陽性	陽性	
40	雑種	オス	13歳	良	なし	室内	なし	守山	アパート・マンション	陰性	陽性	陽性	
41	雑種	オス	20歳	良	なし	室内	猫5	守山	一戸建	陰性			
42	雑種	メス	8歳	良	なし	自由	なし	緑	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
43	雑種	オス	4歳	良	なし	室内	猫1	緑	アパート・マンション	陰性			
44	ベルシヤ	オス	6歳	良	なし	室内	猫2	緑	一戸建	陰性	陽性	陽性	
45	雑種	メス	9歳	良	なし	室内	なし	名東	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
46	雑種	オス	2歳	良	なし	室内	なし	天白	アパート・マンション	陰性	陽性	陽性	
47	雑種	メス	2歳	良	なし	室内	なし	天白	一戸建	陰性	陰性	陽性	
48	雑種	メス	10歳	良	なし	室内	なし	天白	アパート・マンション	陰性	陰性	陽性	
										陽性数	0	16	32
										陽性率	0%	33.3%	66.7%

(空白はCapnocytophaga属菌陰性)