

コリネバクテリウム・ウルセランスの保菌状況調査

コリネバクテリウム・ウルセランス（以下 *C. ulcerans*）はジフテリア毒素を産生する人獣共通感染症を起こす細菌であり、ジフテリアと類似の臨床所見を示す。英国をはじめとした欧州諸国では以前から問題になっていたが、国内でも 2001 年に初めて報告されてから 2017 年 11 月末までに 25 例の人での感染が報告されている [1]。

C. ulcerans は自然界に常在しており、ウシの乳房炎をはじめ多くの動物に化膿性炎症を引き起こす菌と知られている。感染動物は、くしゃみや鼻汁などの風邪に似た症状や皮膚病を示すことがあり、動物間で感染が拡大することも報告されている。また、人への感染源の 1 つとして我々の身近な動物である犬や猫が挙げられており、本邦では犬や猫からの感染が疑われるような報告が多い [2~7]。したがって、*C. ulcerans* に感染した動物と接する場合には注意が必要であり、飼育動物の *C. ulcerans* 保有状況の実態を把握しておくことは重要である。今回、名古屋市内の飼育犬の保有状況を調査したのでその概要を報告する。

材料と方法

1 検体

平成 30 年 10 月 1 日~11 月 2 日までの期間に、名古屋市内の動物病院に来院した飼育犬の咽頭ぬぐい液 128 検体（各区 8 検体）を供試した。検査は *C. ulcerans* の分離培養を富士フイルム モノリス株式会社、毒素原性試験を国立感染症研究所細菌第二部に委託した。

2 *C. ulcerans* の分離培養

採取検体は輸送培地の COPAN で冷蔵にて保存輸送した。トリプチケースソイ II 5% 羊血液寒天培地、BY チョコレート寒天培地およびドリガルスキー寒天培地に、検体を塗布し、白金耳で分離した。5% CO₂、35°C の環境下で 24~48 時間培養し、トリプチケースソイ II 5% 羊血液寒天培地および BY チョコレート寒天培地上の白色集落を純培養した。発育した集落をグラム染色した結果、グラム陽性桿菌を認めた。形状から *Corynebacterium* 属菌と同定し、国立感染症研究所へ分離株を送付し解析を行った。

3 *C. ulcerans* の同定とジフテリア毒素原性試験

I. *Corynebacterium* 属菌の同定方法

Corynebacterium 属菌の種類は、RNA polymerase β -subunit 領域 (rpoB) の DNA シーケンスを実施し、その塩基配列より菌を同定した。

II. ジフテリア毒素遺伝子の検出方法

ジフテリア毒素遺伝子をターゲットにした PCR 法を用いて、今回採材されたコリネバクテリウム属に毒性があるのかを、ジフテリア毒素 A 陽性株の塩基配列と比較し判定した。

Ⅲ. ジフテリア抗毒素を検出方法

検体を2倍階段希釈し、Vero細胞の懸濁液に加えて96穴マルチウェルプレートで5%炭酸ガス存在下、加湿しながら37℃で4日培養後、細胞の形態を指標に細胞の生死を判定した（非中和群）。細胞毒性がジフテリア毒素あるいは類似の毒素によるものであることを確認するために、2倍階段希釈した検体に0.01IU/mLのジフテリア抗毒素を加えて（中和群）同様の処理を行ない、非中和群と比較して細胞毒性の特異性を判定した。

3. 結果

3.1. 犬における *C. ulcerans* の保有状況

今回調査で名古屋市各区8検体ずつの合計128検体を検体として調査を行った。3例の犬から *Corynebacterium* 属菌が検出された。それぞれ *C. confusum*、*C. mustelae*、および *C. auriscanis* だった。いずれもジフテリア毒素を産生していなかった。今回調査目的のジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* は1例も検出されなかった。

3.2. 調査票の集計

(1) 飼育動物

①犬種：ミニチュア・ダックスフンドが20頭、トイ・プードルが19頭、雑種が18頭、チワワが11頭、シーザー、ミニチュア・シュナウザーが各6頭、柴が5頭、パピヨン、マルチーズ、ヨークシャー・テリアが各4頭、キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル、パグ、ポメラニアンが各3頭、ウェルッシュ・コーギー、ジャック・ラッセル・テリア、バーニーズ・マウンテン・ドッグ、ビーグル、ラブラドル・レトリバーが各2頭、アメリカン・コッカー・スパニエル、アメリカン・ピット・ブル・テリア、ゴールデン・レトリバー、グレート・ピレニーズ、シェットランド・シープドッグ、シベリアン・ハスキー、スキッパーキ、チャイニーズ・クレステッド・ドッグ、ビション・フリーゼ、ボストン・テリア、フレンチ・ブルドッグ、ミニチュア・ピンシャーが各1頭であった。

②性別：雄45頭（35.2%）、雌17頭（13.3%）、去勢雄29頭（23.4%）、避妊雌37頭（28.9%）であった。

③年齢：中央値6.9歳（範囲0.2～16.9歳）であった。

④マイクロチップ：装着33頭（25.8%）、装着無し92頭（71.9%）、不明3頭（2.3%）であった。

⑤混合ワクチン接種歴：3年以内の接種115頭（89.8%）でこのうち1年以内が108頭（84.4%）、未接種7頭（5.5%）、不明6頭（4.7%）であった。

⑥消化器疾患以外の既往歴：有46頭（33.9%）で、内訳は皮膚・耳疾患が16頭、泌尿器疾患が8頭、生殖器疾患が6頭、呼吸器疾患が5頭、口腔・歯疾患、腫瘍が各4頭、循環器疾患、整形疾患が各3頭、眼疾患が2頭、神経疾患、腎臓疾患、内分泌疾患が各1頭で

あった。

⑦抗生物質の投与歴：有 62 頭 (48.4%)、無 63 頭 (49.2%)、不明 3 頭 (2.3%) であった。

⑧現在の食欲：食欲あり 126 頭 (98.4%)、食欲なし 2 頭 (1.6%) であった。

⑨眼脂の有無：眼脂有 24 頭 (18.8%)、眼脂無し 98 頭 (76.5%)、不明 6 頭 (4.7%)

⑩鼻汁の有無：鼻汁あり 7 頭 (5.5%)、鼻汁無し 116 頭 (90.6%)、不明 5 頭 (3.9%)

(2) 飼育状況

①飼育場所：完全室内飼育 87 頭 (68.0%)、室内と屋外を出入り 37 頭 (28.9%)、完全屋外飼育 4 頭 (3.1%) であった。

②同居の動物：犬 44 頭 (34.3%)、猫 7 頭 (5.5%)、犬と猫 7 頭 (5.5%)、その他 6 頭 (4.7%)、無頭 64 頭 (50.0%) であった。

(3) 飼育者の住居

①住居区：各区 8 頭であった。

②住居：一戸建 85 頭 (66.4%)、マンション・アパート 43 頭 (33.6%) であった。

(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 29 頭 (22.7%)、無 99 頭 (77.3%) であった。

②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 24 頭 (18.8%)、無 104 頭 (81.2%) であった。

③飼育動物と同じ寝具で眠る：有 48 頭 (37.5%)、無 80 頭 (62.5%) であった。

4. 考察

今回調査をした名古屋市内の動物病院に来院した飼育犬 128 頭からは *C. ulcerans* は検出されなかった。過去の国内での犬の調査では、*C. ulcerans* の保有率は 0~7.5% であるが、対象を家庭飼育犬に限定すると 0~1.5% とさらに少ない [2, 3, 4, 5]。これまで保菌が確認された動物は、動物愛護施設に収容された犬、猟犬、ホームレスの飼育犬など一般的な家庭犬と異なる飼育環境の犬がほとんどである。このうち動物愛護施設では、犬と犬の間で *C. ulcerans* の水平伝播が確認されており [5]、猫においては動物病院を対象とした調査で *C. ulcerans* が検出されていることから [3]、動物病院を含む動物が集まる施設では十分な対策を講じる必要性が示唆される。また、複数の手法を用いた分子タイピングにより、猟犬、ホームレスの飼育犬では人、猫、飼育犬および収容犬とは異なる *C. ulcerans* 菌株が主に分離されることが明らかになっている [6]。病原性など菌株による相違点は不明であるが、犬の生活圏によって異なる保有パターンを示す可能性がある。したがって、本調査のように室外飼育が少なく、またそのほかの動物との接触の少ない都市型の飼育環境においては、家庭での飼育犬が *C. ulcerans* に感染し保有するリスクは極めて低いと考えられる。

国内における人の *C. ulcerans* 感染事例は、2001 年から 2017 年 12 月までに 25 例の報告がある [1]。 *C. ulcerans* の人への感染源は主に動物であると考えられており特に人の愛

玩動物として飼育されている猫と犬での報告が多い。これまでの国内における人の感染症例でも、発生状況の記載がある 19 例のうち 13 例は猫、4 例は犬からの感染が疑われており (2 件は不明)、うち 1 例は死亡している [7]。本調査から、都市型の飼育犬では *C. ulcerans* の保有率は極めて低いものの、東京をはじめ大都市圏でも人の感染は報告されている。また、飼育者と飼育動物との関係の調査項目はいずれも高い割合で過度な接触を示すものであったことから、*C. ulcerans* だけでなく様々な人獣共通感染症の感染リスクを低減させる家庭内での対策を飼育者に啓蒙する必要がある。対策としては日々の家庭内での衛生管理、および飼育動物と同じ箸やスプーンを使っての食事や同じ寝具で眠るなど動物との過度な接触を避けることが重要である。

以上より、名古屋市内の飼育犬では *C. ulcerans* の保有率はきわめて低いと考えられるが、人の *C. ulcerans* 感染症の感染源になり得るため、対策として適切な飼育管理が必要であることが示唆される。

- [1] 厚生労働省 (2018) コリネバクテリウム・ウルセランスに関する Q & A.
https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou18/corynebacterium_02.html
- [2] 梅田 薫、畠山 理沙、阿部 拓人、高倉 耕一、小宮 貴子、岩城 正昭、山本 明彦、真田 秀一 (2015) 大阪市の犬・猫・ネズミにおけるジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* の保有状況と分離株の性状. 日獣会誌. 68: 765-769.
- [3] 高橋 元秀 (2010) ジフテリア毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* の感染症 Infectious diseases caused by Toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. 日獣会誌. 63: 813-818.
- [4] Katsukawa C, Kawahara R, Inoue K, Ishii A, Yamagishi H, Kida K, Nishino S, Nagahama S, Komiya T, Iwaki M, Takahashi M (2009) Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* isolated from the domestic dog for the first time in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 62: 171-2.
- [5] Katsukawa C, Komiya T, Yamagishi H, Ishii A, Nishino S, Nagahama S, Iwaki M, Yamamoto A, Takahashi M (2012) Prevalence of *Corynebacterium ulcerans* in dogs in Osaka, Japan. *J Med Microbiol.* 61: 266-73.
- [6] Katsukawa C, Komiya T, Umeda K, Goto M, Yanai T, Takahashi M, Yamamoto A, Iwaki M (2016) Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* isolated from a hunting dog and its diphtheria toxin antibody titer. *Microbiol Immunol.* 60: 177-86.
- [7] 岩城 正昭 (2018) コリネバクテリウム・ウルセランス感染症. 日獣会誌. 71: 542-546.