

平成 27 年度人獣共通感染症調査報告書

名古屋市で飼育されている猫における糞便中のクリプトスポリジウムの保有状況調査

1. はじめに

クリプトスポリジウムはアピコンプレックスに属する原虫で、人をはじめとして伴侶動物である犬や猫、家畜動物などあらゆる動物種の主に消化管に寄生する[1-3]。人のクリプトスポリジウム感染症は下痢を引き起こし、免疫不全者では重症化することもあるが有効な治療法がない[1,2,4]。また、国内での発生例は少ないものの、本原虫のオーシストは塩素耐性を示すために、汚染された水道水やプール水からの集団感染を引き起こす事例は報告されており公衆衛生上注目されている [1,2,5-7]。人では、*C.hominis* や主に牛から感染する人獣共通感染症である *C.parvum* が一般的に知られているが、ごくわずかに犬の *C.canis* や猫の *C.felis* が人に感染することもある[8-12]。

国内では猫の室内飼育が推奨されているが、屋外へ移動する個体も多いため人獣共通感染症の保有状況を把握する必要性は高い。しかしながら、猫に関する国内でのクリプトスポリジウム保有状況の調査は飼育猫を対象としたものは少ない [13-18]。今回、名古屋市の飼育猫を対象として、飼養実態とともにクリプトスポリジウムの保有状況を調査した。

2. 材料と方法

(1) 調査対象

名古屋市内（16 区）の飼育猫 128 頭（各区につき 8 頭）

(2) 調査期間

平成 27 年 10 月 26 日～11 月 20 日

(3) 検査材料

糞便 1g 以上

(4) 検査委託先

北里大学獣医学部獣医学科小動物第 1 内科学研究室

(5) 検査方法

1) クリプトスポリジウムオーシストの回収と DNA 抽出

冷蔵保存した糞便約 1g を用い、比重 1.26 のショ糖液を用いた遠心浮遊法でクリプトスポリジウムのオーシストを回収し、市販のキット（QIAamp® DNA Mini Kit: Qiagen, Hilden, Germany）を用いて DNA を抽出した。DNA サンプルは、分析まで－20℃で保存

した。

2) クリプトスポリジウム遺伝子の検出

クリプトスポリジウムの遺伝子検出は、抽出した DNA サンプルをテンプレートとして 18S rRNA 遺伝子を増幅する特異的なプライマーセットを用いた nested PCR 法で実施した。ファースト PCR は、forward プライマー (5' -TTCTAGAGCTAATACATGCG-3') と reverse プライマー (5' -CCCATTTTCCTTCGAAACAGGA-3') を用いて 約 1325-bp の遺伝子断片を増幅した。セカンド PCR は、ファースト PCR の増幅産物をテンプレートとして forward プライマー (5' -GGAAGGGTTGTATTTATTAGATAAAG-3') と reverse プライマー (5' -AAGGAGTAAGGAACAACCTCCA-3') を用いて約 826-bp の遺伝子断片を増幅した。ファースト PCR の反応は、1 × PCR バッファー、1.5 mM MgCl₂、200 μM dNTP、0.5 μM の各プライマー、1.25 U の Taq polymerase、3.0 μl のテンプレートを用い、最終反応液量が 25 μl になるよう調整した。セカンド PCR の反応は、ファースト PCR の増幅産物をテンプレートとして使用した以外は、ファースト PCR の反応と同様である。PCR の条件は、ファースト PCR は初期熱変性 95℃3 分の後、熱変性、アニーリングおよび伸長反応をそれぞれ 95℃で 45 秒、59℃で 45 秒、72℃で 1 分を 1 セットとして 35 サイクル行い、最終伸張は 72℃で 5 分実施した。セカンド PCR は、初期熱変性 95℃3 分の後、熱変性、アニーリングおよび伸長反応をそれぞれ 95℃で 30 秒、58℃で 1 分、72℃で 1 分を 1 セットとして 35 サイクル行い、最終伸張は 72℃で 5 分実施した。全てのセカンド PCR 産物は、エチジウム・ブロマイドを添加した 1.5%アガロースゲルで電気泳動を行い、UV トランスイルミネーターを用いて目的とする遺伝子断片約 826-bp の増幅が確認されたものを陽性と判定した。

3) クリプトスポリジウムの種の決定

陽性のセカンド PCR サンプルは、QIAquick Gel Extraction kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) を用いて DNA を生成した後、セカンド PCR のプライマーセットとともにシーケンス解析に供した。シーケンス解析は、タカラバイオ株式会社に依頼し、その結果から MEGA 6.06 (www.megasoftware.net) プログラムを用いて DNA 配列のアライメント処理と編集を行い、DNA 配列を完成させた。クリプトスポリジウムの種の決定は、BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) によって、サンプルの DNA 配列を GenBank データベースに登録されているクリプトスポリジウムの DNA 配列と相同性を比較することで実施した。

(6) 調査対象猫の環境調査

調査対象となる猫について、以下の項目の調査を実施した。

1) 飼育動物

① 品種 _____

② 性別 _____

- ☐雄 ☐雌 ☐去勢雄 ☐避妊雌
- ③ 年齢 _____歳
- ④ 消化器疾患以外の既往歴 _____
- ⑤ ウイルス感染
- ☐FeLV（猫白血病ウイルス） ☐FIV（猫免疫不全ウイルス）
- ☐FIP（猫伝染性腹膜炎） ☐無 ☐不明
- ⑥ 駆虫薬の投与
- ☐有 ☐無 ☐不明
- ⑦ 現在の病状（食欲）
- ☐食欲あり ☐食欲なし
- ⑧ 便の状態
- ☐良便 ☐下痢便

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
- ② 食餌内容
- ☐ドライフード ☐缶詰 ☐ドライフードと缶詰 ☐その他
- ③ トイレの場所
- ☐室内 ☐屋外 ☐室内と屋外
- ④ 同居の動物
- ☐犬 ☐猫 ☐犬と猫 ☐その他

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 ☐無
- ② 飼育動物に引っ掻かれる
- ☐有 ☐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 ☐無
- ④ 飼育動物と同じ寝具で眠る
- ☐有 ☐無

3. 結果

(1) 陽性結果

全 128 頭中のうち陽性は 1 頭 (0.8%) で、陽性例は *C.felis* であった。

(2) 調査票の集計結果

ア 品種

雑種 121 頭、純血種 7 頭 (ブリティッシュショートヘア、アメリカンショートヘア、ノルウェージャンフォレストキャット、ベンガル、アビシニアン、メインクーン、シンガプーラが各 1 頭) であり、陽性例は雑種であった。

イ 性別

雄 28 頭、雌 13 頭、去勢雄 48 頭、避妊雌 39 頭であり、陽性例は雌であった。

ウ 年齢

平均 5.5 歳、中央値 4 歳 (0~19 歳) であり、陽性例は 0 歳 (5 ヶ月齢) であった。

エ 消化器疾患以外の既往歴

有 28 頭 (ウイルス性鼻気管炎 6 頭、皮膚疾患 3 頭、真菌症、てんかん、糖尿病、尿道閉塞、腎臓病、膀胱炎、結膜炎が各 2 頭、膿胸、原因不明の血尿、交通事故、口内炎、鼠径ヘルニア、腸閉塞、発作、ノミ寄生による貧血、脊髄損傷が各 1 頭)、無 76 頭、不明 24 頭であり、陽性例は有 (ウイルス性鼻気管炎) であった。

オ ウイルス感染

有 7 頭 (猫白血病ウイルス 5 頭、猫免疫不全ウイルス 2 頭)、無 74 頭、不明 47 頭であり、陽性例は無であった。

カ 駆虫薬の投与

有 45 頭、無 56 頭、不明 27 頭であり、陽性例は有であった。

キ 現在の病状 (食欲)

食欲あり 126 頭、食欲なし 2 頭であり、陽性例は食欲ありであった。

ク 便の状態

良便 120 頭、下痢便 8 頭であり、陽性例は良好であった。

ケ 飼育場所

完全室内飼育 119 頭、室内・屋外を出入り 7 頭、完全屋外飼育 2 頭であり、陽性例は完全室内飼育であった。

コ 食餌内容

ドライフード 71 頭、ドライと缶詰 50 頭、その他 7 頭であり、陽性例はドライフードであった。

サ トイレの場所

室内 123 頭、屋外 2 頭、室内と屋外 3 頭であり、陽性例は室内であった。

シ 同居の動物

犬 9 頭、猫 60 頭、犬と猫 27 頭、その他 16 頭、無 16 頭であり、陽性例は猫であった。

ス 飼育者の住居

一戸建 71 頭、マンション・アパート 55 頭、その他 2 頭であり、陽性例は一戸建であった。

セ 飼育動物に咬まれる

有 43 頭、無 85 頭であり、陽性例は有であった。

ソ 飼育動物に引っかかる

有 60 頭、無 68 頭であり、陽性例は有であった。

タ 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、無 104 頭であり、陽性例は有であった。

チ 飼育動物と同じ寝具で寝る

有 59 頭、無 69 頭であり、陽性例は有であった。

4. 考察

人のクリプトスポリジウム感染症は消化管に寄生し下痢を引き起こす水系感染症である[1,2]。免疫不全者においては致死性の下痢症を引き起こすこともあるが、有効な治療法はない[1,2,4]。国内での散発例は少ないものの、本原虫のオーシストは塩素耐性を示すため、汚染された水道水やプール水からの集団感染を引き起こす事例が報告されている[1,2,5-7]。このため感染症法で第 5 類感染症に指定され、医師は届出が必要で全数把握が義務づけられていることに加え、厚生労働省が水道水の危機管理対策としてクリプトスポリジウム等対策指針を示すなど、公衆衛生学的に重要な疾患である。

国内において猫のクリプトスポリジウム保有状況に関する疫学的な調査は少ないが、いずれも *C.felis* が検出されている[17,18]。名古屋市では初めての調査であったが、飼育猫 128 頭のうち 1 頭 (0.8%) で *C.felis* を認めた。これまでの国内における他の報告では、検出率は 2.8~12.7% であるが、これらと比べて今回の調査は低い検出率であった[13-18]。今回の検査では顕微検査による浮遊法のオーシスト検出ではなく、感度が高く、かつ種を特定できる利点のある PCR 検査を実施したことから、検査結果を過小評価することは難しい。これまでの報告は室外の捕獲猫を対象とした調査が多い[13-15,16]。一方、今回の調査対象は陽性例の 1 例を含め 93.0% (119/128 頭) が感染症の伝搬にくい完全室内飼育であったことが、検出率の低かった原因かもしれない。環境の違いによる保有率を調査した海外の報告では、飼育猫が 7.1% と捕獲猫は 13.4% と比べて低かった[19]。しかしながら、国内の飼育猫の調査では保有率は 10.1% [16] と 12.7% [18] であり、捕獲猫の保有率が 2.8~3.9% [13-15,17] であったことと比べ、同一条件の調査ではないがむしろ低い傾向を示して

いる。このことから、飼育環境よりも地域差が保有率に影響を及ぼす可能性が大きいことが示唆される。今後、各地域での情報集積が望まれる。

猫が *C.felis* に感染すると、小腸性下痢を引き起こすこともあるが、多くは症状を示さない不顕性感染である[14,16,20]。免疫が低下している個体や、トリコモナス、ジアルジアあるいは猫白血病ウイルスの重複感染により消化器症状が出やすいとも言われている[20]。今回の陽性例は、5ヶ月齢で、他の寄生虫やウイルス感染を認めず消化器症状もなかった。クリプトスポリジウムに対する治療は確立しておらず有効なものはないが、猫自体はオーシストの排泄数が少ない不顕性感染であるため、あまり問題とならない [13,20,21]。しかしながら、排出期間が2年以上持続した報告もある[12]。このように、飼育者は猫の感染に気づかずに、動物と接触することが多いと考えられるため、糞便の適切な処理や動物との接触後の手洗いの徹底が日頃から重要である。

人に感染するのは *C.hominis* や *C.parvum* が一般的に知られているが、*C.parvum* は牛などの家畜を介して感染する人獣共通感染症である[9-11]。また、少数ではあるが犬の *C.canis* や猫の *C.felis* が人に感染することもある [8,12]。人の *C.felis* 感染は国外では少数報告され、主に免疫不全者に感染することが明らかになっている[8,22]。これらの多くは感染源が不明であり、一般的には動物から人への感染ではないと考えられているが[10,23]、猫の関与を強く疑う報告もある[12]。猫から人への感染のリスクは比較的低いと考えられるが、過度な接触は感染のリスクを上げる可能性がある。今回の調査で、飼育動物と同じ箸やスプーンを使って食事をする飼育者が18.8%(24/128例)、同じ寝具で寝る飼育者が46.0%(59/128例)であった。オーシストの感染は経口的に摂取することで成立する[1]。また、猫から人へ感染したケースでは、同じ寝具で寝ていたことが感染する機会を高めたと考えられている[12]。人と接触機会が多い飼育猫でも無症状ながらクリプトスポリジウムを保有していることもあり、動物との過度な接触（箸や口移しで食べ物を与えるなど）や同じ寝具で寝ることは避けるべきである。

今回、名古屋市で飼育されている猫のクリプトスポリジウムの保有状況調査をはじめて行い、保有率は0.8%と他地域の報告と比べて低く、人へ感染する可能性の低い *C.felis* であることが判明した。この結果から、健康な人への影響は極めて低いと考えられるが、猫のクリプトスポリジウムについては不明な点も多く、飼育者に対して適正飼養を啓発することが重要である。

5.参考文献

- [1] 黒木 俊郎, 泉山 信司, 遠藤 卓郎. クリプトスポリジウムの最近の知見. モダンメディア. 51: 75-80, 2005.
- [2] 野崎 智義. II 人獣共通感染症 3.クリプトスポリジウム症. 日本内科学雑誌. 96: 2413-2417, 2007.

- [3] Scorza V, Willmott A, Gunn-Moore D, Lappin MR. *Cryptosporidium felis* in faeces from cats in the UK. *Vet Rec.* 14: 609, 2014.
- [4] Guerrant RL. Cryptosporidiosis: an emerging, highly infectious threat. *Emerg Infect Dis.* 3: 51-57, 1997.
- [5] 岸田 直裕, 原本 英司, 今野 祥顕, 泉山 信司, 浅見 真理, 秋葉 道宏. 水中のクリプトスポリジウム・ジアルジア検査における遺伝子検査法の実用性に関する検討. 土木学会論文集 G (環境) . 69: III_631-III_637, 2013.
- [6] Yamamoto N, Urabe K, Takaoka M, Nakazawa K, Gotoh A, Haga M, Fuchigami H, Kimata I, Iseki M. Outbreak of cryptosporidiosis after contamination of the public water supply in Saitama Prefecture, Japan, in 1996. *Kansenshogaku Zasshi.* 74: 518-526, 2000.
- [7] 高木 正明, 鳥海 宏, 遠藤 卓郎, 山本 徳栄, 黒木 俊郎. プール水を介したクリプトスポリジウム症集団発生事例. *感染症雑誌.* 82: 14-19, 2008.
- [8] Lucio-Forster, Griffiths JK, Cama VA, Xiao L, Bowman DD. Minimal zoonotic risk of cryptosporidiosis from pet dogs and cats. *Trends Parasitol.* 26: 174-179, 2010.
- [9] Xiao L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Exp Parasitol.* 124: 89-89, 2010.
- [10] Chalmers RM. Waterborne outbreaks of cryptosporidiosis. *Ann Ist Super Sanita.* 48: 429-446, 2012.
- [11] Ryan U, Fayer R, Xiao L. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology.* 141: 1667-1685, 2014.
- [12] Beser J, Toresson L, Eitrem R, Troell K, Winiecka-Krusnell J, Lebbad M. Possible zoonotic transmission of *Cryptosporidium felis* in a household. *Infect Ecol Epidemiol.* 5: 28463, 2015.
- [13] Uga S, Matsumura T, Ishibashi K, Yoda Y, Yatomi K, Kataoka N. Cryptosporidiosis in dogs and cats in Hyogo Prefecture, Japan. *Jpn J Parasitol.* 38: 139-143, 1989.
- [14] Arai H, Fukuda Y, Hara T, Funakoshi Y, Kaneko S, Yoshida T, Asohi H, Kumada M, Kato K, Koyama T. Prevalence *Cryptosporidium* infection among domestic cats in the Tokyo metropolitan district, Japan. *Jpn J Med Sci Biol.* 43: 7-14, 1990.
- [15] 浅野 隆司, 保刈 成男, 村杉 栄治, 清水 弘美, 桑原 繁, 荒島 康友, 河野 均也. 動物およびヒトからの *Cryptosporidium* の検出状況. *日獣会誌.* 43: 285-288, 1990.
- [16] 伊藤 直之, 村岡 登, 金井 一享, 中尾 るり子, 堀 泰智, 星 史雄, 樋口 誠一. 家庭飼育犬および猫におけるクリプトスポリジウム抗原の検出. *動物臨床医学.* 17: 19-23, 2008.
- [17] 山本 徳栄, 近真 理奈, 斉藤 利和, 前野 直弘, 小山 雅也, 砂押 克彦, 山口 正則, 森嶋 康之, 川中 正憲. 埼玉県内のイヌおよびネコにおける腸管寄生虫類の保有状況. *感染症学雑誌.* 83: 223-228, 2009.

- [18] Yoshiuchi R, Matsubayashi M, Kimata I, Furuya M, Tani H, Sasai K.. Survey and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in owned companion animal, dogs and cats, in Japan. *Vet Parasitol.* 74: 313-316, 2010.
- [19] Yang R, Ying JL, Monis P, Ryan U. Molecular characterisation of *Cryptosporidium* and *Giardia* in cats (*Felis catus*) in Western Australia. *Exp Parasitol.* 155: 13-18, 2015.
- [20] Scorza V, Tangtrongsup S. Update on the Diagnosis and Management of *Cryptosporidium* spp Infections in Dogs and Cats. *Top Companion Anim Med.* 25: 163-169, 2010.
- [21] Shahiduzzaman M, Dauschies A. Therapy and prevention of cryptosporidiosis in animals. *Vet Parasitol.* 188: 203-214, 2012.
- [22] Elwin K, Hadfield SJ, Robinson G, Chalmers RM. The epidemiology of sporadic human infections with unusual cryptosporidia detected during routine typing in England and Wales, 2000-2008. *Epidemiol Infect.* 140: 673-683, 2012.
- [23] Cama V, Gilman RH, Vivar A, Ticona E, Ortega Y, Bern C, Xiao L. Mixed *Cryptosporidium* infections and HIV. *Emerg Infect Dis.* 12: 1025-1028, 2006.