

令和 2 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犬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 (*Cryptosporidium spp.*) 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、幼児や免疫不全患者では重症化することもあるが、有効な治療法がないとされている[1,2,4]。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* の感染が主であり、日本では牛との接触や、発展途上国等への旅行者下痢症として、毎年少数の患者が発生している。このように、国内での発生例は少ないものの、本原虫のオーシストが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集団感染を引き起こした事例が報告されており公衆衛生上注目されている [1,2,5-7]。

犬で一般的な *C.canis* は人獣共通感染症ではあるが、宿主特異性が比較的高いため人への感染はかなりまれであり、犬から人への伝播リスクは非常に低い。しかし、ごくまれに犬の *C.canis* や猫の *C.felis* が人に感染した例も報告されている[8-12]。

ペットの犬からクリプトスポリジウムが人へ伝播される可能性は低いものの、室内飼育犬の増加や高齢化社会の加速により、犬が高齢者や免疫不全患者と接触する機会は増えていと考えられる。今回、名古屋市の飼育犬を対象として、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) の飼育犬 128 頭 (各区につき 8 頭)

(2) 調査期間

令和 2 年 11 月 1 日～11 月 30 日

(3) 検査材料

糞便 1 g 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®Fast DNA Stool 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' -CCCATTTCCTTCGAAACAGGA-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℃で 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。

(6) 調査対象犬の環境調査

調査対象となる犬について、以下の項目の調査を実施した。

1) 飼育動物 (犬)

① 品種 _____

② 性別 ☐オス ☐メス ☐去勢オス ☐避妊メス

③ 年齢 _____歳 _____ヵ月

④ 入手先

☐ブリーダーより購入 ☐ペットショップより購入

☐一般家庭で繁殖した個体を譲り受け ☐保護犬シェルター、愛護センターより譲渡

☐不明

⑤ 駆虫薬の投与 ☐有 ☐無 ☐不明

⑥ 便の状態 ☐良便 ☐下痢便

⑦ 来院理由

()

⑧ その他の既往歴

☐なし ☐あり ()

2) 飼育状況

① 飼育場所

☐完全室内飼育 ☐室内、屋外（散歩など）を出入り ☐完全屋外飼育

② 食餌内容

☐ドライフード ☐缶詰・パウチ ☐ドライフードと缶詰・パウチ ☐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

③ 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 0 頭 (0%) であった。

(2) 調査票の集計結果

ア 品種

ミニチュア・ダックスフンド 21 頭、トイ・プードル 17 頭、雑種 17 頭、チワワ 13 頭、柴 10 頭、ゴールデン・レトリバー 5 頭、ポメラニアン 5 頭、パピヨン 4 頭、ヨークシャー・テリア 4 頭、ミニチュア・シュナウザー 4 頭、キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル 4 頭、マルチーズ 3 頭、フレンチ・ブルドッグ 2 頭、シーズー 2 頭、ウェルシュ・コーギー 2 頭、ジャック・ラッセル・テリア 2 頭、ビーグル 2 頭、ビション・フリーゼ 2 頭、アメリカン・コッカー・スパニエル 1 頭、バーニーズ・マウンテン・ドッグ 1 頭、ラブラドル・レトリバー 1 頭、ドーベルマン 1 頭、シェットランド・シープドッグ 1 頭、ブルドッグ 1 頭、プチ・バセット・グリフォン・バンデーン 1 頭、コーイケルホンディエ 1 頭、スタッフォードシャー・ブル・テリア 1 頭（計 128 頭）であった。

イ 性別

雄 26 頭、雌 24 頭、去勢雄 33 頭、避妊雌 45 頭であった。

ウ 年齢

0～18 歳 （平均 8.6 歳、中央値 10 歳）

0 歳 10 頭、1～3 歳 19 頭、4～10 歳 42 頭、11～18 歳 57 頭であった。

エ 入手先

ペットショップより購入 76 頭、ブリーダーより購入 21 頭、一般家庭で繁殖した個体を譲り受け 15 頭、保護犬シェルター・愛護センターより譲渡 11 頭、不明 5 頭であった。

オ 駆虫薬の投与

有 91 頭、無 33 頭、不明 4 頭であった。

カ 便の状態

良便 120 頭、下痢便 8 頭であった。

キ 飼育場所

完全室内飼育 66 頭、室内・屋外（散歩など）を出入り 56 頭、完全屋外飼育 6 頭であった。

ク 食餌内容

ドライフード 89 頭、ドライと缶詰・パウチ 31 頭、缶詰・パウチ 2 頭、その他 6 頭であった。

ケ トイレの場所

室内 53 頭、室内と屋外 46 頭、屋外 29 頭であった。

コ 同居の動物

犬 40 頭、犬と猫 9 頭、猫 6 頭、その他 4 頭、なし 69 頭であった。

サ 飼育動物に咬まれる

有 29 頭、無 55 頭であった。

シ 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 頭であった。

ス 飼育動物と同じ寝具で寝る

有 47 頭、無 81 頭であった。

4. 考察

これまで、日本国内の犬のクリプトスポリジウムの感染状況に関しては、大阪市の一般家庭で飼育されている犬を対象とした PCR 法を用いた調査で、検出率が 3.9% (3/77) であり、すべて *C.canis* であったことが報告されている[13]。また、大阪市の不要イヌを対象とした PCR 法を用いた調査では、9.3% (13/140) の検出率であり、すべて *C.canis* であったと報告されている[14]。また、別の調査では、一般家庭で飼育されている犬を対象とした ELISA 法による抗原検査において検出率が 6.3% (12/190) であったとされている[15]。

今回、名古屋市の一般家庭で飼育されている犬を対象として PCR 法を用いた調査を行ったところ、128 頭中全ての犬において検出されず (<0.78%, 0/128)、上記の調査と比べてかなり低い結果となった。この結果は、東京・神奈川での集オーシスト法を用いた調査での検出率 0.3% (1/295) [16]や、埼玉での集オーシスト法を用いた調査での検出率 0.9% (8/906) [17]に近いものであった。

犬のクリプトスポリジウム検出率は、若齢の犬や繁殖施設の犬で高いことが指摘され、オーシストが消毒薬に耐性であることから、ペットショップでの検出率が高くなることが考えられる[8,15,18,19]。ペットショップで飼育されている 3 カ月齢以下の子犬に限った調査では、31.6% (149/471) と高い確率で検出されている[19]。このことから、いずれ犬の成長とともに免疫的に排除されるか、オーシストの排出が抑えられている可能性が考えられる。

今回、検出率が非常に低くなった要因としては、調査対象となった犬が、1 才以上が 92.2% (118/128) と成犬を中心に行われたこと、95.3% (122/128) が主に室内で飼育されている犬であったこと、また、調査の地域格差などが考えられる。

平成 27 年に実施された、名古屋市の一般家庭で飼育されている猫におけるクリプトスポリジウム調査では、検出率は 0.8% (1/128) で *C.felis* であった。今回の調査と合わせて、名古屋市の一般家庭で飼育されている犬猫において、クリプトスポリジウムの保有率は非常に低いものであると分かった。

最近の分子疫学的研究によって、犬および猫が感染するのは、それぞれ *C.canis* と *C.felis* であり、一方、人に感染するのは *C.hominis* や *C.parvum* がほとんどであることが明らかにされている[8-11]。今回と平成 27 年の調査において、名古屋市の一般家庭で飼育される犬および猫のクリプトスポリジウムの検出率が非常に低かったことを合わせて検討すると、人のクリプトスポリジウム感染において、一般家庭のペットの犬猫が与える影響は極めて

少ないものと考えられる。

しかしながら、地域によっては大阪市と名古屋市といった同じ都市部においてもクリプトスポリジウムの保有率の差がみられている点は興味深い。一部のペットショップや繁殖施設など、限られた環境の中で感染が蔓延し、子犬やトリミングなどで来店する犬への感染源となっている可能性があることが推察できる。それは、オーシストが消毒薬に耐性であるために、施設の衛生管理状況によっては感染が蔓延する場合もあれば、その一方で、今回の名古屋市の結果のように、十分に低いレベルに感染を制御できている場合もあることを示唆している。今後さらなる疫学的調査と、クリプトスポリジウム感染の蔓延を防ぐための適切な管理方法の指標が示されていくことが期待される。

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] 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*. 174: 313-316, 2010.
- [14] Abe, N., Sawano, Y., Yamada, K., et al. *Cryptosporidium* infection in dogs in Osaka, Japan. *Vet. Parasitol*. 108: 185-193, 2002.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [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] 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.
- [19] 伊藤 直之. ペットショップの子イヌにおけるクリプトスポリジウム感染の実態調査. 公益社団法人日本愛玩動物協会 家庭動物の適正飼養管理に関する調査研究助成. 2012.