

東京都における犬の抗 *Brucella canis* 抗体保有状況

水谷浩志^{1)†} 久保田菜美¹⁾ 宗村佳子¹⁾ 松村 藍¹⁾
 山本智美¹⁾ 木村昌伸²⁾ 今岡浩一²⁾

1) 東京都動物愛護相談センター (〒156-0056 世田谷区八幡山2-9-11)

2) 国立感染症研究所 (〒162-8640 新宿区戸山1-23-1)

(2013年7月25日受付・2013年11月20日受理)

要 約

2007年から2013年にかけて、東京都内の犬の抗 *Brucella canis* 抗体保有状況をマイクロプレート凝集反応試験で調査するとともに、飼い主に対するアンケート調査を行った。その結果527頭中44頭(8.3%)が抗体陽性であった。陽性率は全国平均値(3.0%)よりも高かったが、年度が新しくなるにつれ低下する傾向がみられた。性別、品種別、収容地区別、年齢層別、体重別の抗体陽性率に有意差は認められなかった($P \geq 0.05$)。アンケート結果から、飼育犬は感染犬との交尾よりも、感染犬との接触あるいは本菌に汚染された屋外環境から感染している可能性が示唆された。

——キーワード：マイクロプレート凝集反応試験、抗 *Brucella canis* 抗体、感染経路。

----- 日獣会誌 67, 204~207 (2014)

犬ブルセラ症はグラム陰性桿菌の *Brucella canis* による人と動物の共通感染症で、米国でビーグルを主とする犬の繁殖コロニーで流産が多発し、1966年に最初に報告された。その後、アメリカ、中南米、アジア、ヨーロッパなど世界中で発生がみられている [1]。

わが国では、1971年にはじめて、本菌による実験動物用ビーグル繁殖所での犬の流産の集団発生が報告された [2, 3]。それ以降、国内の犬繁殖施設や犬取扱施設において多くの犬ブルセラ症の集団発生が起こっており、飼育者の感染事例も発生している [1]。

犬ブルセラ症は、雌犬の妊娠後期の死流産が最も特徴的で、雄では精巣上体炎を起こすが、臨床症状を示すことは少なく、不顕性感染していることも多い [1] ため、他の犬に感染を広げてしまう事例が多いと考えられる。

われわれは、都内の飼育犬の *B. canis* の感染状況を明らかにするために、動物愛護相談センターに収容された犬について、マイクロプレート凝集反応試験 (Microplate Agglutination Test, 以下 MAT) による抗 *B. canis* 抗体保有状況の調査を行った。さらに、犬間の感染要因を探るため、飼い主からの引取り犬について、他の犬との接触状況などについて、聞き取りによるアンケート調査を行い、抗体検査結果とともに分析した。

材料及び方法

動物及び血清：2007年4月から2013年3月までの間に、東京都動物愛護相談センターに収容された犬から無作為に抽出した527頭を調査対象とした。内訳は、飼育放棄した飼い主から引取った犬(引取り犬)299頭、並びに、飼い主不明で収容された犬(収容犬)228頭である。個体別に性別、不妊手術の有無、品種、体重、収容場所及び年齢を記録した。引取り犬の年齢は、引取り時に飼い主から聴取し、その他の個体では、歯牙の磨滅、体躯等の状態から推定した。

動物の殺処分直後に心臓採血を行い血清を分離し、抗体検査まで、 -40°C で冷凍保存した。

MATによる検査：犬から採取した血清はMATにより抗体価を測定した。検査はブルセラ診断用菌液(ブルセラ・カニス凝集反応用菌液、北里研究所、埼玉)を抗原として用い、Kimuraら [4] の方法に準拠した。すなわち、96穴のU底マイクロプレートを使用し、試験血清をリン酸緩衝液で2倍段階希釈をした。次いで、等量(25 μl)のブルセラ・カニス凝集反応用菌液(0.005% サフラニン加)を各穴に加え、蓋をしたマイクロプレートを20秒間静かに攪拌し、湿潤箱に入れ50 $^{\circ}\text{C}$ で24時

† 連絡責任者(現所属)：水谷浩志 (東京都動物愛護相談センター城南島出張所)

〒143-0002 大田区城南島3-2-1

☎03-3790-0861 FAX 03-3790-8218

E-mail : Hiroshi_Mizutani@member.metro.tokyo.jp

表1 検査年度別犬の抗 *B.canis* 抗体保有状況

年 度	検査頭数	陽性数 (%)
2007	50	5 (10.0)
2008	89	12 (13.5)
2009	106	9 (8.5)
2010	70	6 (8.6)
2011	125	7 (5.6)
2012	87	5 (5.7)
合 計	527	44 (8.3)

表2 犬の抗 *B. canis* 抗体の抗体価分布 (n=527)

抗体価	頭 数
≤ ×80	483
×160	30
×320	7
×640	4
≥ ×1280	3

表3 犬の由来・属性別の抗 *B. canis* 抗体保有状況 (n=527)

収容由来・属性	検査頭数	陽性数 (陽性率: %)
由 来	引取り犬	299 28 (9.4)
	収容犬	228 16 (7.0)
性 別	雄 (去勢含)	341 23 (6.7)
	雌 (避妊含)	186 21 (11.3)
品 種	雑 種	238 24 (10.1)
	純血種 ²⁾	289 20 (6.9)
収容地区	23区	246 27 (11.0)
	多摩地区	281 17 (6.0)
年 齢 ¹⁾	<1	4 0
	1~5	107 6 (5.6)
	6~10	225 22 (9.8)
	11~15	154 14 (9.1)
	16~20	37 2 (5.4)
体 重 (kg)	<5.0	54 5 (0.9)
	5.1~10.0	213 12 (5.6)
	10.1~15.0	176 18 (10.2)
	15.1~20.0	54 4 (7.4)
	20.1<	30 5 (16.7)

1) 推定含む

2) 38犬種中11犬種陽性

収容由来・属性別による陽性率の有意差なし ($P \geq 0.05$)

間反応させた。血清希釈160倍以上で凝集像を示したものを陽性とした。なお、抗原がプレートへ吸着することによる非特異反応を避けるために、あらかじめマイクロプレートを、ブロッキング剤 (Blocking One, ナカライテスク株, 京都) を用い室温で1時間ブロッキングした。

犬のアンケート調査: 2011年5月から2013年3月

表4 飼い主へのアンケート結果と抗体保有状況 (n=93)

アンケート項目	回 答	検査頭数	陽性数 (陽性率: %)
散歩の頻度	散歩しない	14	0
	1回/日以下	31	0
	2回/日以上	48	5 (10.4)
散歩中他の犬との接触の有無	接触あり	49	4 (8.2)
	接触なし	43	1 (2.3)
	不 明	1	0
ドッグランの利用	利用あり	17	1 (5.9)
	利用なし	73	4 (5.4)
	不 明	3	0
繁殖経験	経験あり	8	0
	経験なし	84	5 (6.0)
	不 明	1	0

他犬との接触, ドッグラン利用の有無による陽性率の有意差なし ($P \geq 0.05$)

表5 他犬との接触並びにドッグラン利用の有無と抗体保有状況 (n=93)

接触/ドッグラン利用	検査頭数	陽性数(陽性率: %)
双方あるいはどちらかあり	51	4 (7.8)
どちらもなし	39	1 (2.6)
不明	3	0

他犬との接触, ドッグラン利用の有無での有意差なし ($P \geq 0.05$)

に, 引取り犬93頭を対象に, 犬の散歩の頻度, 散歩中の他の犬との接触状況, ドッグランの利用状況, 繁殖経験について択一選択形式により飼い主から聴取した。記憶が確かな項目のみ記入し, アンケート内容の正確を期した。

過去の抗体陽性率との比較, 並びに属性別 (品種, 性別等), アンケート結果別の陽性率の比較には, フィッシャーの正確確率検定を用いた。

成 績

MATによる検査の結果, 527頭中44頭 (8.3%) が抗 *B. canis* 抗体陽性を示した。2007年から2012年までの年度別陽性率は, 13.5~5.7%と年々低下傾向がみられた (表1)。

抗体陽性犬の血清抗体価は, 160倍30検体, 320倍7検体, 640倍4検体, 1,280倍以上3検体であった (表2)。

由来 (引取り犬・収容犬), 性, 品種, 収容地区, 年齢層, 体重の違いによる抗体陽性率 (表3) に有意差は認められなかった ($P \geq 0.05$)。

飼い主からアンケートを聴取した犬93頭のうち, 5頭 (5.4%) が抗 *B. canis* 抗体陽性であった。陽性個体は,

すべて散歩の頻度が1日2回以上の犬であった。散歩中の他の犬との接触の有無やドッグランの使用の有無による有意差はなかった ($P \geq 0.05$)。繁殖経験がある犬は93頭中8頭と少なく、抗体陽性の個体もみられなかった(表4)。

他犬との接触とドッグランの利用の双方、あるいは、いずれかがある犬と、どちらもない犬ともに陽性個体がみられた(表5)が、陽性率には有意差はなかった ($P \geq 0.05$)。

考 察

東京都内では、いわゆる野犬はほぼ存在しないことから、今回の調査対象犬の多くは、飼い主が不明で当センターに収容された犬や、収容後、高齢、性格等の理由により新たな飼い主に譲渡できず殺処分対象となった飼育個体である。当所の犬の収容数は雄が6割強で、また、新たな飼い主への譲渡率も雄では低いため、調査対象犬は雄が多かったが、抗体陽性率は性別による有意差はなかった。由来、品種、収容地区、年齢層、体重による違いも認められなかった。過去の調査においても、1歳以下とそれ以外の年齢による陽性率に差はみられていない[5]。したがって、今回の成績は、東京都における犬の抗*B. canis*抗体保有状況を反映していると考えられる。

近年の犬ブルセラ症の抗体調査は、橘らが2005～2006年に行った北海道から沖縄までの30都道府県の動物病院に来院した犬の抗体調査の報告[6]がある(抗体陽性率、平均3.0%)。また、Kimuraら[4]が2003～2006年度に神奈川県で実施した調査では、抗体陽性率が2.5%と報告されている。これらの成績と比較すると、今回の陽性率(8.3%)は有意に高かった ($P < 0.05$)。感染犬との交尾以外の感染経路を考えた場合、犬の飼育密度が高い地域ほど接触感染の機会が多いことが考えられる。平成23年度の犬の登録頭数に基づく全国の犬の飼育密度は18.1頭/km²であるのに対し、東京都では231.8頭/km²と、全国平均の13倍近い飼育密度が陽性率が高かった原因の一つであると考えられる。

過去の東京都における犬の抗*B. canis*抗体保有率は、1974～1977年の報告では2.9% (一部千葉、神奈川県を含む)[7]、1974～1976年の報告では2.3% [5]と、いずれも今回の成績よりも有意に低かった ($P < 0.05$)。2005～2006年の調査[6]では7.7%と、今回の成績とほぼ同等であり、都内の犬の抗体陽性率はこの間に増加したものと思われる。

一方、本研究の調査期間内(2007年～)の抗体陽性率は年々低下する傾向がみられた。この理由は明らかではないが、2006年頃頃から、犬のブルセラ症や繁殖施設での集団発生がマスコミ等にも取り上げられ、本症が広く認知されるようになったため、予防措置(繁殖施設で

の検疫、繁殖に供する動物の事前検査など)が講じられ、感染犬の数が減少してきたことも考えられる。

*B. canis*は、感染犬の死産仔・汚物、陰分泌物、乳汁、精液、尿中に排泄され、経口・経鼻、エアロゾルの吸入、交尾等により直接・間接に他の犬に感染すると考えられている [1]。

飼い主に行ったアンケートでは、繁殖経験のある犬は8頭と少なく、この中には抗体陽性個体も存在しなかった。また、都内では一般の飼い主が犬を繁殖させる事例は少ないと考えられることから、都内のペットの犬では交尾感染よりも他の原因で感染した可能性が高いと思われる。

散歩の頻度が1日2回以上の犬に陽性個体が多い傾向が認められたことから、屋外の散歩中に感染した可能性が考えられた。さらに、統計的な有意差は認められなかったが、他犬との接触やドッグランの利用がある犬の方が、どちらもない犬よりも陽性率が高い傾向がみられたことから、本症の感染経路として、犬同士の接触が重要な経路の一つであると推測された。一方、他犬との接触やドッグラン利用のない犬でも陽性個体が見られ、犬同士の直接接触以外の感染経路の存在も推察された。

実験的には、感染雄の尿中には感染6～14週後から最高10⁴～10⁶/mlの多量の菌が排出され [8]、3カ月は継続する [9] こと、雌犬でも尿中への排菌がみられる [9, 10] こと、感染雄犬との同居感染が成立する [9] ことから、感染犬の尿を介した直接、間接的な感染の可能性も考えられる。抗体価160倍以上を示した犬の膀胱尿から*B. canis*が分離されたという報告がある [11]。また、ブルセラ菌は細胞内寄生性であることから、抗体の存在は本菌の排除には有効でない。したがって、抗体陽性犬が体内に*B. canis*を保持した状態で、尿中に排菌し、感染源となっている可能性がある。

家畜ブルセラ菌 (*B. melitensis*, *B. abortus*) は10～100個で感染し、また、糞尿中でも3～5カ月生残する [12] が、*B. canis*の犬への感染菌量、環境中の耐性については知られていない。今後、都内の犬の自然感染例での*B. canis*の尿中への排菌の実態、環境中での耐性などについて検証していく必要があると考える。

引用文献

- [1] 今岡浩一：犬ブルセラ症の現状と課題，日獣会誌，62，5-12 (2009)
- [2] 東 量三，伊佐山康郎：犬のブルセラ病，日獣会誌，26，111-119 (1973)
- [3] 山内忠平，鈴木達雄，野村達治，久木田禱一，岩城隆昌，数野勇造，合田 朗：ビーグルの繁殖コロニーに発生したイヌブルセラ症について，日獣会誌，36，175-192 (1974)
- [4] Kimura M, Imaoka K, Suzuki M, Kamiyama T, Yama-

- da A : Evaluation of a Microplate Agglutination Test (MAT) for Serological Diagnosis of Canine Brucellosis, *J Vet Med Sci*, 70, 707-709 (2008)
- [5] 梅木富太郎, 田中豊隆, 早野 剛, 木村久一郎, 金子誠二, 西尾秀規, 村田光明, 高島利幸, 秋山 陽, 和田信省, 奥沢康司, 三木 博: 東京都の野犬およびヒトの抗*Brucella canis*抗体保有状況, 東京獣医畜産学雑誌, 23, 80-83 (1976)
- [6] 橋 理人, 小林菜苗, 猪熊 壽, 鈴木宏志, 度会雅久: 犬の*Brucella canis*感染に関する全国的疫学調査, 日獣会誌, 64, 559-561 (2011)
- [7] Saegusa J, Ueda K, Goto Y, Fujiwara K : A Survey of *Brucella canis* Infection in Dogs from Tokyo Area, *J vet Sci*, 40, 75-80 (1978)
- [8] Serikawa T, Muraguchi T, Yamada H : Long-term observation of canine brucellosis, *Exp Anim*, 30, 7-14 (1981)
- [9] Greene CE, Carmichael LE : Canine brucellosis, *Infectious diseases of the dog and cat*, Greene CE, ed (4rd ed), Elsevier Inc, Canada, 398-411 (2012)
- [10] 福井正信, 友田 勇, 上田雄幹: イヌブルセラ病, 病理, 疫学および診断と防除, 実験用ビーグルの研究, 301-326, ソフトサイエンス社 (1976)
- [11] Serikawa T, Muraguchi T, Nakao N : Significance of Urine-Culture Detecting Infection with *Brucella canis* in Dogs, *J vet Sci*, 40, 353-355 (1978)
- [12] 今岡浩一: ブルセラ症の最近の話題, モダンメディア, 55, 18-27 (2009)

Prevalence of Anti-*Brucella canis* Antibodies among Dogs in Tokyo

Hiroshi MIZUTANI^{1)†}, Nami KUBOTA¹⁾, Yoshiko SOUMURA¹⁾, Ai MATSUMURA¹⁾,
Tomomi YAMAMOTO¹⁾, Masanobu KIMURA²⁾ and Koichi IMAOKA²⁾

1) *Tokyo Metropolitan Animal Care and Consultation Center, 2-9-11 Hachimanyama, Setagaya-ku, 156-0056, Japan*

2) *National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, 162-8640, Japan*

SUMMARY

The prevalence of anti-*Brucella canis* antibodies among dogs in Tokyo was investigated between 2007 and 2013 using a microplate agglutination test and questionnaire survey for dog owners. According to the results, 44 out of 527 dogs (8.3%) were found to be positive for the antibodies. This prevalence was higher than the national average (3.0%), but showed a tendency to decline each year. No significant differences were seen in the prevalence based on sex, breed, locality, age or body weight ($P \geq 0.05$). Questionnaires collected from dog owners suggested that *B. canis* infection may occur directly through contact with infected dogs or indirectly through a contaminated outdoor environment rather than through copulation with infected dogs.

—Key words : anti-*Brucella canis* antibodies, microplate agglutination test, route of infection.

† *Correspondence to (Present address) : Hiroshi MIZUTANI (Tokyo Metropolitan Animal Care and Consultation Center Jounanjima Branch Office)*

3-2-1 Jounanjima, Ota-ku, 143-0002, Japan

TEL 03-3790-0861 FAX 03-3790-8218

E-mail : Hiroshi_Mizutani@member.metro.tokyo.jp

—*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 67, 204 ~ 207 (2014)