

## 口腔トリコモナス原虫が確認された犬と猫の歯周炎に 対するメトロニダゾールの効果

坂田好美<sup>1)†</sup> 王宝禮<sup>2)</sup>

1) 福岡県 開業 (坂田犬猫病院: 〒838-0068 朝倉市甘木1368-12)

2) 大阪歯科大学細菌学講座 (〒573-1121 枚方市楠葉花園町8-1)

(2016年7月25日受付・2016年11月28日受理)

### 要 約

本研究は、犬及び猫の歯垢を、位相差顕微鏡を用いて口腔トリコモナス原虫の存在の有無を調査し、メトロニダゾールの投与の効果を検討したものである。調査対象は犬65頭、平均年齢は7.8歳、そして猫38頭、平均年齢7歳の歯垢とした。本邦での犬及び猫の口腔トリコモナス原虫の調査は初めてであり、犬27.7%、猫10.5%に確認できた。口腔トリコモナス原虫が観察された犬と猫には、抗原虫薬メトロニダゾールを投与した。その結果、口腔トリコモナス原虫は本実験系では検出されなくなり、投薬前と比べて歯肉炎や口臭の改善が認められた。以上から、口腔トリコモナス原虫の寄生が認められた歯周炎に対しては、メトロニダゾールの投与が有効であると考えられた。

—キーワード: メトロニダゾール, 歯周病, 口腔トリコモナス。

-----日獣会誌 70, 229~234 (2017)

口腔トリコモナス原虫は、鞭毛を有した運動性の真核単細胞生物である。人では、口腔トリコモナス原虫 (*Trichomonas tenax*) の検出率は歯周疾患の進展に伴って高くなるのが経験的に知られていたが、培養などの難しさから、歯周病との関連性やその病原性についての知見がきわめて少なかった。しかし近年、*T. tenax* の純培養が可能になったことにより生態、病原因子のいくつかが明らかになり、臨床報告や感染による生体への影響が報告されはじめている [1-3]。

*T. tenax* は、水分を含んだ環境中に生息し、環境が悪化すると胞嚢化することや、水の中では数時間~数日間生存すること [4]、異物貪食作用があり、口腔内では随伴細菌が貪食され、虫体内で完全に消化されることなどが報告されている [5]。また、*T. tenax* の病原因子としては、組織細胞を破壊する因子である溶血活性を保有することや、歯周ポケットや唾液中に存在する各クラスの免疫グロブリンを分解できることが報告されている [1, 3]。

人では顕著な骨吸収を伴う難治性の歯周病や、通常の歯周炎では一般的に認められない歯肉の潰瘍や肉芽腫

瘍を形成し悪性腫瘍を疑わせる症例、通常の局所洗浄や抗菌剤投与でも症状の改善がみられない症例の中には口腔トリコモナス原虫が観察され口腔トリコモナス症であったという報告がある [2]。一方、犬の症例では、下顎腺から *T. tenax* が検出された報告があった [6]。この報告では、数年間慢性歯周炎により抗生物質の治療や超音波スケーラー、歯肉縁下搔爬処置を数回受けていたにもかかわらず、口腔粘膜にも多数の病変がある重度の歯周病が確認されていた。重度の歯周病罹患犬において、口腔トリコモナス原虫が口腔、唾液腺の感染症の潜在的な病原因子になっている可能性を想定する必要がある [6] ことが示唆された。

位相差顕微鏡は、微生物を生きたまま無染色でその活動性や微生物同士の活動性を観察することができる。トリコモナス原虫をはじめ、細菌や真菌菌糸、また白血球も染色せずに核の形態まで観察できる [7, 8] ため、歯垢中の細菌叢の観察と口腔内の炎症性反応の観察に有用である。そこで本研究では、犬及び猫の歯垢を、位相差顕微鏡を用いて口腔トリコモナス原虫の存在を調査し、メトロニダゾール投与の効果も検討した。

† 連絡責任者: 坂田好美 (坂田犬猫病院)

〒838-0068 朝倉市甘木1368-12

☎0946-23-0221 FAX 0946-21-1203

E-mail: sakatadogcat@yahoo.co.jp

表1 歯肉炎の判定基準

指数	判定基準
0: 正常	炎症はなく健康な歯肉
1: 軽度の炎症	色の軽度の変化や腫脹
2: 中等度の炎症	発赤・腫脹・潰瘍があるもの
3: 高度の炎症	著しい炎症・腫脹・潰瘍があるもの

\* 無麻酔下の肉眼的口腔内診査で最も重症の部位を基準とした。

\* 引用文献 [9] より引用し一部改変。

表2 口臭官能検査の判定基準

スコア	判定基準
0: 臭いなし	臭覚閾値以上の臭いを感知しない。
1: 非常に軽度	臭覚閾値以上の臭いを感知するが、悪臭と認識できない。
2: 軽度	辛うじて悪臭と認識できる。
3: 中等度	悪臭と容易に判定できる。
4: 強度	我慢できない強い悪臭。
5: 非常に強い	我慢できない強烈な悪臭。

\* 引用文献 [10] より引用。

## 材料及び方法

**供試検体**：2015年9月～2016年7月の間に、当院に来院し口腔内の観察ができた犬65頭と猫38頭を用いた。全検体に位相差顕微鏡による歯垢観察並びに歯肉炎指数、口臭検査を実施した。位相差顕微鏡による口腔トリコモナス原虫を確認した群に食器共用と唾液を介する接触状況を調査し、飼い主から投薬の同意が得られた犬及び猫に対してメトロニダゾールの投与を行った。

**位相差顕微鏡による確認**：本試験に用いた犬猫すべてに対して位相差顕微鏡を用いて歯垢を観察した。歯垢採取は、検体を1本のマイクロブラシで、左右一方の上顎の犬歯と第4前臼歯から各2回往復し採取した。位相差顕微鏡によるトリコモナス原虫の確認は、スライドガラスに歯垢スワブを塗抹しプレパラートを作成した。位相差顕微鏡（オリンパス BX51・UPC-D2・U-CT30-2・UPLFLN40XPH・U-ECA, オリンパス(株), 東京）を用いた。歯垢の細菌叢は400倍、800倍で位相差観察を行い、形態的にトリコモナス原虫の有無を確認した。位相差顕微鏡観察像は静止画、動画として、歯科用画像管理・治療コンサルティングソフトウェア（ピコラル, メディア(株), 東京）で保存した。

**歯肉炎指数試験**：無麻酔下で歯肉の炎症の程度確認として歯肉炎指数 [9] を測定した (表1)。

**口臭検査試験**：口臭の官能検査は、診断基準 [10] に基づき実施した (表2)。

**唾液を介する接触状況調査**：食器の共用、飼い主や犬及び猫との唾液を介する接触状況を調査した (表3, 4)。

表3 犬口腔トリコモナス確認群と非確認群の食器・食餌・水の共用と飼い主との唾液を介する接触状況

犬	頭数	接触*	共用**
確認群	18	83.3% (15/18)	54.5% (6/11)
非確認群	47	29.8% (14/47)	58.3% (14/24)

\*：犬と飼い主が唾液を介する接触があるもの。

\*\*：多頭飼育の犬で食器と食餌、水の共用があるもの。

表4 猫口腔トリコモナス確認群と非確認群の食器の共用と他動物との唾液を介する接触状況

猫	頭数	1) 室内飼育		2) 室内外飼育	
		共用： +*	共用： -*	共用： +*	共用： -*
確認群	4	8% (2/25)	0% (0/25)	15% (2/13)	0% (0/13)
非確認群	34	28% (7/25)	64% (16/25)	38.4% (5/13)	46% (6/13)

\*：多頭飼育で食器と食餌・水の共用があるものとないもので「共用：+」、「共用：-」とした。

1) 室内飼育頭数は25/38頭。

2) 室内外飼育頭数は13/38頭。

**メトロニダゾール投薬**：抗原虫薬メトロニダゾール（フラジール内服錠250mg, 塩野義製薬(株), 大阪）を、50mg/kg 7日間連続で1日1回飼い主により投与された。投薬終了後1～8日後に位相差顕微鏡にて歯垢を再検査した。

**統計学的評価**：歯肉炎指数と口臭検査の結果に対して、統計解析アドインソフト（エクセル統計 BellCurve, (株)社会情報サービス, 東京）を用い、マン・ホイットニーのU検定を行った。P<0.05で統計学的に有意差ありとした。

## 結果

歯垢に口腔トリコモナス原虫が確認されたものを「確認群」、確認されなかったものを「非確認群」とした。また確認群中、飼い主からの同意が得られた犬14頭、猫3頭に対してメトロニダゾールの投与を行った。

**位相差顕微鏡による観察**：口腔トリコモナス原虫は犬27.7% (18/65), 猫10.5% (4/38) に認められた (図1, 2)。

**歯肉炎指数**：犬確認群の歯肉炎指数は2～3 (平均2.7), 犬非確認群の歯肉炎指数は0～3 (平均2) であった。犬確認群と犬非確認群とでは、歯肉炎指数に有意差が認められた (P<0.01) (図3A)。猫確認群の歯肉炎指数は2～3 (平均2.5), 猫非確認群は0～3 (平均1.9) であった。猫確認群と猫非確認群の歯肉炎指数に有意差は認められなかった (図3B)。

**口臭検査**：犬確認群の口臭スコアは3～5 (平均3.7),

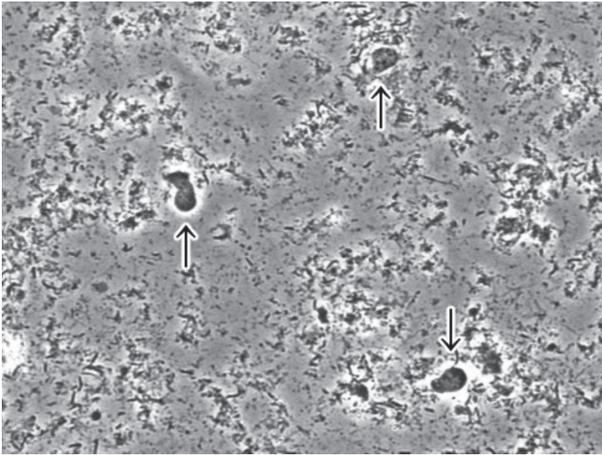


図1 口腔トリコモナス原虫 (位相差顕微鏡 ×400)

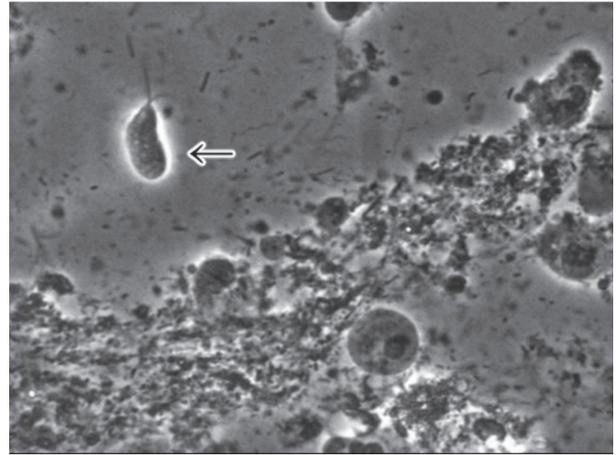


図2 口腔トリコモナス原虫 (位相差顕微鏡 ×800)

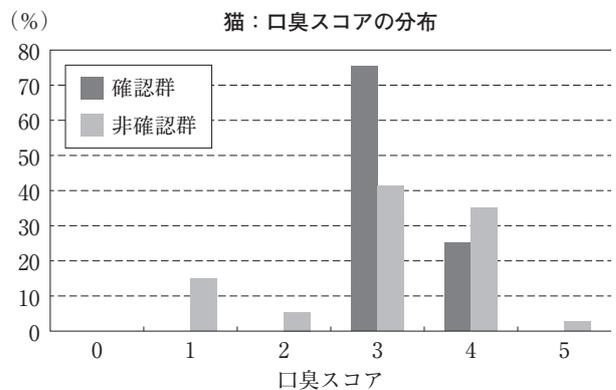
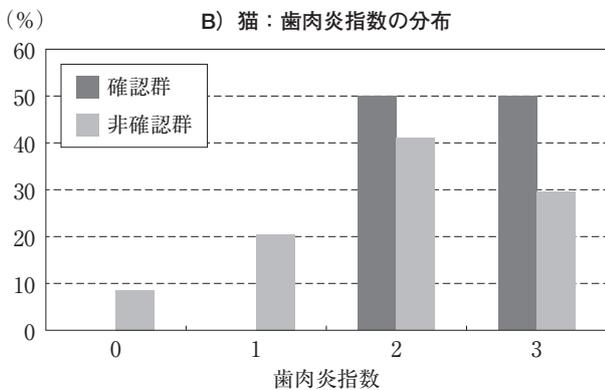
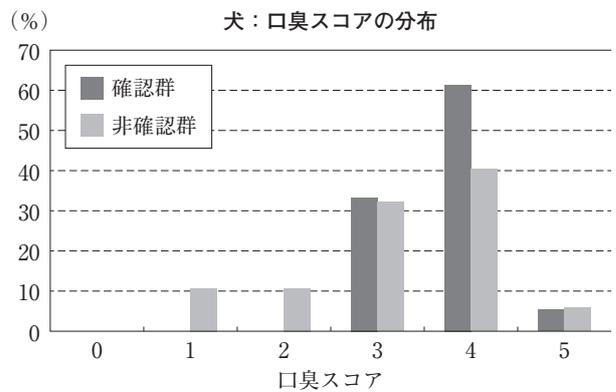
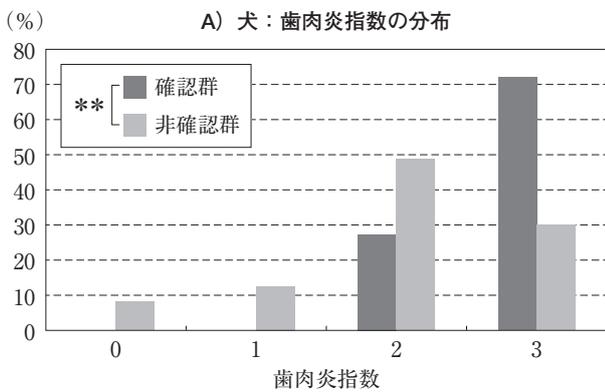


図3 口腔トリコモナス確認群と非確認群の歯肉炎指数の分布

A), B) : マン・ホイットニーのU検定を行った。

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ とした。

犬非確認群の口臭スコアは1~5 (平均3.2)であった。猫確認群の口臭スコアは3~4 (平均3.3)であるのに対し、猫非確認群は1~4 (平均3.1)であった。犬及び猫の口臭スコアは確認群と非確認群に有意差は認められなかった (図4)。

**唾液を介する接触状況確認試験**：犬において、口腔トリコモナス原虫が確認された18頭中15頭は、飼い主が口にしたものを食べるなどの、唾液を介する接触が認

図4 口腔トリコモナス確認群と非確認群の口臭スコアの分布

められ、うち3頭には犬同士の食器共用も確認された。ほか3頭については食器の共用のみ認められた。犬確認群は犬非確認群より、唾液を介する接触率が約2.8倍であった (表3)。猫においては、確認群は室内飼育猫の8%、室内外飼育猫の15%に確認された。猫確認群では4頭すべてに、食器共用が認められた。室内・室内外飼育はそれぞれ2頭ずつであった。猫において室内飼育、室内外飼育ともに、非確認群は食器共用がない率が高かった (表4)。

**メトロニダゾール投薬**：歯肉炎指数は、犬の投薬前が

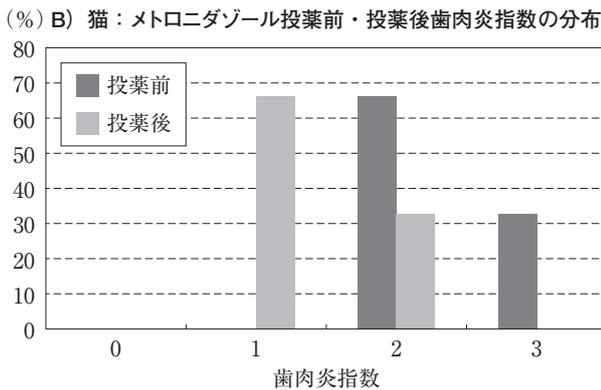
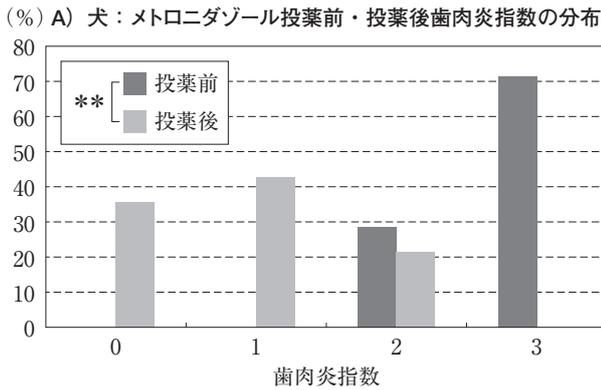


図5 メトロニダゾール投薬前・投薬後の歯肉炎指数の分布  
A), B)：マン・ホイットニーのU検定を行った。  
\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ とした。

2~3 (平均2.7), 投薬後では0~2 (平均0.9)であった。投薬前と投薬後とでは犬の歯肉炎指数に有意差が認められた ( $P<0.01$ ) (図5A)。猫の投薬前は2~3 (平均2.3), 投薬後は1~2 (平均1.3)であった。投薬前と投薬後とでは猫の歯肉炎指数に有意差は認められなかった (図5B)。口臭検査は、犬投薬前が3~5 (平均3.7), 投薬後は0~2 (平均1)であった。猫投薬前は3~4 (平均3.3), 投薬後は0~1 (平均0.7)であった。投薬前と投薬後の口臭スコアは犬と猫で有意差が認められた (犬： $P<0.01$ , 猫： $P<0.05$ ) (図6)。投薬した犬14頭, 猫3頭のすべてに、口腔トリコモナス原虫が確認されず, 犬猫ともに100%の有効率であった。なお, 今回の薬物療法による有害事象は認められなかった。

### 考 察

口腔トリコモナス原虫の感染率は、犬が15~25% [6], 猫が19% [11]であったとのヨーロッパでの報告がある。現在まで本邦における犬及び猫の口腔トリコモナス原虫の感染率を調べた報告はなかった。今回、本研究での確認調査において、口腔トリコモナス原虫は犬27.7%, 猫10.5%に確認された。検出方法が異なるので単純な比較はできないが、犬で報告 [6] とほぼ同様の感染率であった。猫ではやや低い結果であった。約

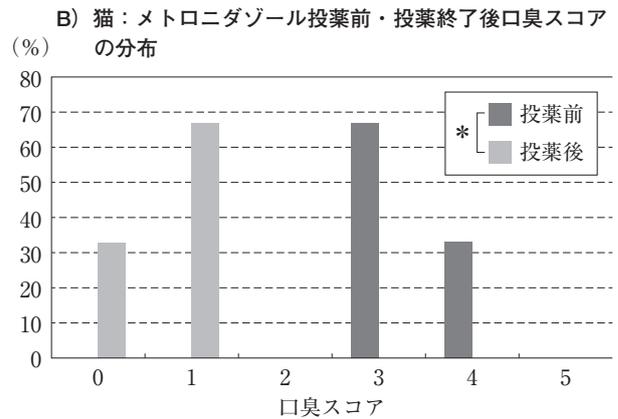
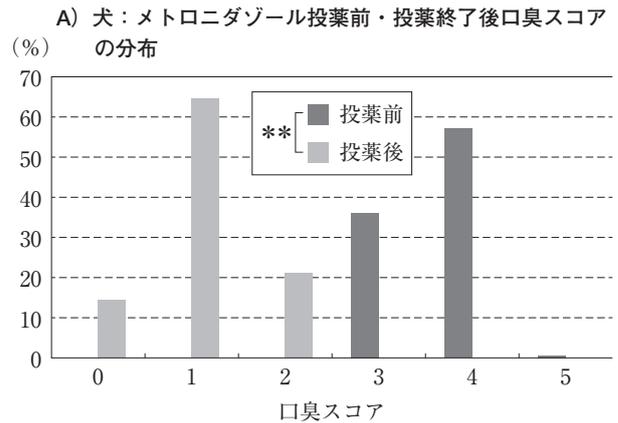


図6 メトロニダゾール投薬前と投薬後の口臭スコアの分布  
A), B)：マン・ホイットニーのU検定を行った。  
\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ とした。

66% (25/38) が完全室内飼育で、ほかの猫と接触がないことや飼い主が口にしたものを食べたり、人の口を舐めたりする行動が猫では少ないことなどが、他哺乳動物からの感染を受けなかった理由の一つと推定した。

口腔トリコモナス原虫の病原因子は免疫グロブリン分解能と溶血活性である。免疫グロブリン分解能により生体防御反応を消失させ、歯周炎の誘発及び進行に関与している。また溶血活性により、上皮細胞に付着侵入し、組織を障害し破壊する。赤血球も溶血活性により分解され、結果的に鉄イオンが産生され *Porphyromonas gingivalis* などの歯周病原細菌の増殖を助けることとなる。歯周疾患においては、口腔トリコモナス原虫が存在すると、さらに組織破壊が進行すると考えられている [1]。今回、確認群と非確認群の歯肉炎指数と口臭スコアの比較から、犬及び猫においても、口腔トリコモナス原虫確認群は歯肉炎指数と口臭スコアの平均値が高く、確認群は歯肉炎と口臭がより重症になることが示唆された。人でも歯肉の炎症の程度と *T. tenax* の検出率の間に関連性がみられ、炎症の程度が強いほど検出率も高い [8] との報告があった。

本研究において、口腔トリコモナス原虫確認群にメト

ロニダゾールを投薬した結果、歯肉炎指数と口臭スコアがともに顕著に改善した。犬では投薬前・後の歯肉炎指数と口臭スコアはともに有意差が認められた。猫でも投薬前・後の口臭スコアは有意差が認められた。佐藤らは、歯周治療による *T. tenax* の消長と臨床所見の変化を検討し、*T. tenax* が検出されなくなった部位では臨床所見の改善が比較的著明であるのに対し、引き続き *T. tenax* が検出される部位では臨床所見にもまた大きな改善が認められない [8] と報告した。犬の症例報告 [6] から、*T. tenax* は口腔内だけでなく下顎腺にも感染している可能性がある。このことから、局所的な歯周治療だけでなく口腔トリコモナス原虫が確認された場合は抗原虫薬による全身療法もあわせて行う必要があると考えられた。口腔トリコモナス原虫の除去目的で使用したメトロニダゾールは、嫌気性菌にも効果がある。今回の歯肉炎指数と口臭スコアの改善には、口腔トリコモナス原虫の除去のみの効果だけでなく嫌気性菌の総菌数も減少したために、歯肉炎と口臭の改善がみられたと推測された。以上から、口腔トリコモナス原虫が寄生した歯周炎に対しては、抗原虫薬メトロニダゾールが駆虫に有効であり、このことは歯周炎の改善に有効であると考えられた。

人の膺の分泌物に対する位相差顕微鏡による細胞診と H-E 塗抹標本とで微生物の同定を比較した報告 [7] では、同定結果は同様であり、位相差顕微鏡での細胞診のおもな利点は、正確さ、スピード、包括的な情報の信頼度であると記されている。本研究でも、位相差観察を行ったことにより、口腔トリコモナス原虫が歯垢中を動き回る様子や鞭毛を使い、他の細菌を虫体内に取り込む様子などがみられ、検出が非常に容易であった。歯垢材料から歯周組織環境の変化、あるいはそこに生息する細菌叢を簡易的にモニターしていく可能性も示唆 [8] されている。位相差顕微鏡は光学顕微鏡に位相差コンデンサーと位相差対物レンズなどを取り付けたもので、研究用の光学機器としては安価であり、個人病院でも臨床検査に導入が可能であった。位相差顕微鏡による歯垢検査は以上のことから有用であると考えられた。

犬と猫にみられる口腔トリコモナス原虫は形態的に人の口腔トリコモナス原虫 (*T. tenax*) に類似していたが、人と同じ口腔トリコモナス原虫かは確認されていなかった。しかし近年、家庭内の犬と猫の口腔から分離された株から、PCR 法にて *T. tenax* を確認したと Cielecka ら [12] が初の報告をした。人では唾液の中の *T. tenax* は、飛沫感染や唾液が付着した皿、手などを介して直接感染するといわれている [4]。本研究からも、口腔トリコモナス原虫が認められた犬 18 頭中 15 頭に、飼い主と唾液を介する接触が日常的にあったことが分かった。その他、口腔トリコモナス原虫が確認された犬 3 頭は同居犬

で食器の共用が認められた。猫の確認群も、4 頭すべてで食器の共用が認められた。この中の 2 頭は完全室内飼育の純血種で同居猫であった。これらの猫は、日常的に多数の犬と食器を共用し飲食や、プールをともにしていた 2 頭の犬と食器や食餌を共用していた。しかし 2 頭同居犬の歯垢検査実施が不可能だったため、口腔トリコモナス原虫の有無は確認できなかった。ほか 2 頭の猫はそれぞれ室内外飼育で野外の猫とも多く接触があるとのことであった。以上から、食器の共用をはじめ唾液を介する接触は口腔トリコモナス原虫の感染に関係があるのではと推測された。人獣共通感染症の可能性に関する情報は限られているが、人、犬及び猫間での相互感染に注意が必要と考えられた。

今回の試験結果から、人に最も身近な動物である犬及び猫の口腔内に生息する微生物を知ることは、歯周疾患の診断と治療のためだけでなく、人獣共通感染症にも深くかかわっている可能性が示唆された。口腔内の診療において注意が必要であると考えられた。結論として、本試験から歯周炎に罹患している犬及び猫の歯垢から口腔トリコモナス原虫を確認し、抗原虫薬メトロニダゾールを投薬した結果、歯肉炎、口臭が改善した。また、口腔トリコモナス原虫の寄生した歯周病において人獣共通感染症の可能性を示唆した。

最後に、日本獣医生命科学大学獣医学部 神谷新司教授、福岡県福岡市香椎御開業 しのぎ歯科医院院長 歯学博士 篠崎英一先生、坂田犬猫病院院長 坂田雷太先生に深謝する。

## 引用文献

- [1] 山本綾子, 永尾悦子, 浅賀恵美子, 五十嵐 武, 佐々龍二, 後藤延一: 口腔トリコモナス (*Trichomonas tenax*) によるヒト免疫グロブリンの分解, 昭歯誌, 21, 413-420 (2001)
- [2] 山 満, 和光 衛, 佐野 司, 柿澤 卓, 松井 隆, 才藤純一: 上顎歯肉に発生した口腔トリコモナス症の一例 —とくに画像所見を対象として, 歯科学報, 110, 141-146 (2010)
- [3] Nagao E, Yamamoto A, Igarashi T, Goto N, Sasa R: Two distinct hemolysins in *Trichomonas tenax* ATCC 30207, Oral Microbiol Immunol, 15, 355-359 (2000)
- [4] Hersh SM: Pulmonary *Trichomoniasis* and *Trichomonas Tenax*, J Med Microbiol, 20, 1-10 (1985)
- [5] 浅井昭士郎, 中村義則, 中谷至宏, 佐藤 勝, 並河 勇: 口腔トリコモナスの生物学的性状 —異物貪食作用, 低級脂肪酸産生および EB ウイルス抗原誘導能—, 歯基礎誌, 33, 354-364 (1991)
- [6] Szczepaniak K, Lojszczyk-Szczepaniak A, Tomczuk K, Skrzypek T, Lisiak B, Abd-Al-Hammza Abbass Z: Canine *Trichomonas tenax* mandibular gland infestation, Acta Vet Scand, 58, 15 (2016)
- [7] Basta A, Glab G, Strama M, Przeszlakowski D: The role of phase contrast microscopy in the evaluation of cervix neck and vaginal biocenosis, Przegł Lek,

- 56, 26-29 (1999)
- [8] 佐藤 勝, 林 敦子, 加登基弘, 新田 裕, 並河 勇, 白木雅文, 勝谷芳文, 岩山幸雄, 平田健一, 木村健一: 歯肉縁下歯垢における口腔トリコモナス (*Trichomonas tenax*) の検出について, 日歯周誌, 27, 407-415 (1985)
- [9] 山根義久: 小動物最新外科学大系 6 消化器系 1, 田川政弘編, 第1版, 94, インターズー, 東京 (2008)
- [10] 宮崎秀夫, 荒尾宗孝, 岡村和彦, 川口陽子, 豊福 明, 星 佳芳, 八重垣 健: 口臭症分類の試みとその治療必要性, 新潟歯誌, 29, 11-15 (1999)
- [11] Gothe R, Beelitz P, Schoel H, Beer B: Trichomonad infections of the oral cavity in cats in south Germany, Tierarztl Prax, 20, 195-198 (1992)
- [12] Cielecka D, Borsuk P, Grytner-Ziecina B, Turkowicz M: First detection of *Trichomonas tenax* in dog and cat by PCR-RFLP, Acta Parasitologica, 45, 350-352 (2000)

---

Effect of Metronidazole Treatment on Periodontitis Caused by *Trichomonas tenax* in Dogs and Cats

Yoshimi SAKATA<sup>1)†</sup> and Pao-Li Wang<sup>2)</sup>

1) Sakata Dog and Cat Hospital, 1368-12 Amagi, Asakura, 838-0068, Japan

2) Dept. of Bacteriology, Osaka Dental University, 8-1 Kusuhanazono, Hirakata, 573-1121, Japan

SUMMARY

In this study, we investigated the presence of oral *Trichomonas* in the dental plaque of dogs and cats using phase contrast microscopy, and examined the effect of metronidazole treatment in the positive cases. Dental plaque obtained from 65 dogs (average age 7.8 years) and 38 cats (average age 7 years) was examined. *T. tenax* infection was confirmed in 27.7% of the dogs and 10.5% of the cats. This study is the first to report on oral *Trichomonas* infection in Japanese dogs and cats. Treatment with metronidazole, an antiprotozoal agent, eliminated oral *Trichomonas* in these dogs and cats and resulted in a marked improvement in gingivitis and halitosis. These results suggest that periodontitis caused by *Trichomonas* can be effectively treated with metronidazole. — Key words: metronidazole, periodontal disease, *Trichomonas tenax*.

† Correspondence to: Yoshimi SAKATA (Sakata Dog and Cat Hospital)

1368-12 Amagi, Asakura, 838-0068, Japan TEL 0946-23-0221 FAX 0946-21-1203

E-mail: sakatadogcat@yahoo.co.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 70, 229~234 (2017)