ヘリコバクターピロリ抗体測定用キットを用いた 犬のヘリコバクター感染状況調査

小川 高^{1)†} 天野 弘²⁾ 谷澤浩二³⁾ 大川哲司⁴⁾ 小山洋一⁵⁾

- 1) 静岡県 開業 (〒427-0043 島田市中溝4-12-3)
- 2) 静岡県農業水産部 (〒420-8601 静岡市追手町9-6)
- 3) 東京都 開業 (〒130-0003 墨田区横川4-7-10)
- 4) 宮城県 開業 (〒989-6224 古川市小泉13)
- 5) 熊本県 開業 (〒861-4106 熊本市南高江町828-1)

(2004年6月29日受付・2004年9月6日受理)

要 約

犬の*Helicobacter*感染症の疫学調査のため、市販の*Helicobacter pylori*抗体測定用キット(免疫クロマトグラフ法)を用いて、犬の血清中の*Helicobacter*抗体の検出を行った。その結果、来院した100例のうち79例が陽性であった。6カ月齢未満の若齢犬での陽性率は20%(10頭中2頭)と低く、6カ月齢以上1歳未満になると75%(8頭中6頭)となり、1歳以上では87%(82頭中71頭)とさらに高い陽性率であった。臨床症状や飼育および食餌環境などによる成績の違いはみられなかった。同じ検体を用いてラテックス凝集法で検査を行ったところ、陽性率は42%(100頭中42頭)と免疫クロマトグラフ法に比べ低かった。さらに国内3カ所で各20例の抗体検査を加えて全国的な傾向を調査をしたが、いずれも70%以上の高い陽性率であった。本キットの使用の是非については、その特異性や検出感度を検討する必要があるものと思われた。——キーワード：犬、ヘリコバクター抗体、ヘリコバクターピロリ。

----- 日獣会誌 58, 117~120 (2005)

*Helicobacter*属の細菌は、犬、猫、チータ、ピューマ、ブタ、フェレットなどの動物種において現在のところ26菌種が知られ、胃・腸・肝臓などの臓器に分布している[9, 11, 14-16]。*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)は1983年に分離培養されて以来、人で本菌と胃炎、消化性潰瘍、胃癌の関連性が注目されている[1, 4, 6]。そしてその診断法には内視鏡での生検材料を用いた侵襲的検査法と、内視鏡を用いない非侵襲的検査法がある。それぞれの検査法は感度や特異性の面から一長一短があるために、人の*H. pylori*の臨床診断では2種類以上の検査法が併用されている。非侵襲的検査のうち血清抗体測定法は*H. pylori*感染により惹起された胃粘膜局所の免疫反応に引き続き、血清中に産生された抗体を測定する方法で[8, 12]、現在さまざまな抗原を用いたキットが市販されている。これら市販キットの多くは90%以上の感度をもち、胃集団検診の一次スクリーニングとしても利用されている[12]。いっぽう、獣医学領域での感染診断として、石川ら[7]は本法を豚、犬、猫の*H. pylori*抗体検査に応用している。今回われわれは、免疫

クロマトグラフ法に基づく*H. pylori*抗体検査用キット(免疫クロマトグラフ法キット^{a)})を用いて、犬の*Helicobacter*感染状況についての広範囲の調査を行い、また同検査法の犬への応用の是非についても若干の考察を行ったので、その概要を報告する。

材 料 お よ び 方 法

検査対象：2003年6月から8月に静岡県小川動物病院に来院した症例のうち、抗生物質使用歴のないと思われる100例について、その血清を用いて検査を実施した。症例の内訳は年齢が2カ月齢から17歳齢(平均5.2歳)の健康犬37頭(雄18頭・雌19頭)、年齢が2カ月齢から13歳齢(平均5.5歳)で下痢・嘔吐などの消化器症状のみられた犬30頭(雄13頭・雌17頭)、さらに年齢が2カ月齢から16歳齢(平均6.3歳)で消化器以外の疾患で来院したもの33頭(雄18頭・雌15頭)の合計100頭である。100頭の犬のうち18頭は屋外のみで飼育

a) ミニットリードピロリ抗体, (株)ミズホメディー, 佐賀。

† 連絡責任者：小川 高(小川動物病院)

〒427-0043 島田市中溝4-12-3 ☎0547-37-3280 FAX 0547-37-0952

図1 免疫クロマトグラフ法キットでの判定. 左から (+++), (++), (+), (-) と判定された.

図2 ラテックス凝集キットでの判定. 上段左が凝集 (+) と判定された.

されていた. また15頭は食餌としてドッグフードのみを与えられており, 85頭はドッグフード以外にもいろいろな食物を与えられていた.

使用したキット: 免疫クロマトグラフ法に基づいて人の血清中の *H. pylori* 抗体を迅速測定するキットであり, ^{13}C -尿素呼吸試験法との相関で特異性は96.8%とされている [13]. 測定原理としては, 検体中に *H. pylori* 抗体が存在する場合, キットの *H. pylori* 抗原結合金コロイド粒子と反応して複合物を形成し, これがメンブレン上を移動し *H. pylori* 抗原に捕捉され複合体が形成される一連の反応を利用したものである. その結果メンブレン上の金コロイド粒子由来の赤紫色のラインが出現することで肉眼的な判定が可能となっている. 今回のキットの操作は添付の使用説明書に従って行い, 判定はデバイス反応膜上の検体ラインの発色の有無により肉眼的に陰性, 陽性 (+), 陽性 (++) , 陽性 (+++) に区分したが (図1), 最終的には (+) ~ (+++) のすべてを一括して陽性とした. また本キットの検査結果とその他の原

表1 臨床症状別の検査成績

	検査頭数	抗体陽性頭数 (%)
消化器症状を主徴とする	30	22 (73)
消化器症状以外を主徴とする	33	26 (79)
臨床症状なし	37	31 (84)
合 計	100	79 (79)

表2 年齢別の検査成績

年 齢	検査頭数	抗体陽性頭数 (%)
6カ月齢未満	10	2 (20)
6カ月齢以上~1歳未満	8	6 (75)
1歳以上~2歳未満	12	9 (75)
2歳以上~5歳未満	17	16 (94)
5歳以上~10歳未満	31	28 (90)
10歳以上	22	18 (82)
合 計	100	79 (79)

表3 飼育環境および食餌内容による検査成績

飼育状況	検査頭数	抗体陽性頭数 (%)
屋内飼育	82	65 (79)
屋外飼育	18	14 (78)
合 計	100	79 (79)
ドッグフードのみ	15	10 (67)
ドッグフード主体	85	69 (81)
合 計	100	79 (79)

理に基づく迅速簡易キットを比較する目的で, 対照としてラテックス凝集反応キット (ラテックス凝集キット^{b)}) を用いて同検体での結果の評価を行った (図2).

地域別の調査: 全国的な傾向を評価する目的で宮城県, 東京都, 熊本県の各地域での1歳以上の各20例について同様の検査キットを用いて検査を実施した. またそれぞれの症例の健康状態と検査結果の関係も同時に評価した.

結 果

まず健康状態による陽性率は, 健康犬84% (31/37), 消化器症状のみられた犬73% (22/30), ほかの疾患で来院した犬79% (26/33) で, 3者の間に大きな違いはみられなかった (表1). 年齢別の陽性率は6カ月齢未満が20% (2/10) と低く, それ以後の年齢層では6カ月齢以上1歳未満が75% (6/8), 1歳以上2歳未満が75% (9/12), 2歳以上5歳未満が94% (16/17), 5歳以上10歳未満が90% (28/31), そして10歳以上が82% (18/22) とすべてで75%以上であった (表2). 飼育環境別の陽性率は, 屋外飼育犬78% (14/18) と

b) ピロリセットドライ, 第一科学薬品㈱, 東京.

図3 各地区での1歳以上の犬の検査成績

屋内飼育犬79% (65/82) はほぼ同様で、また食餌内容別陽性率は、ドッグフードだけの犬67% (10/15)、ドッグフード以外にもいろいろ与えている犬81% (69/85) であった (表3)。次に検査キットによる検査結果の比較は、免疫クロマトグラフ法での全体の陽性率が79% (79/100) であったのに対して、同検体でのラテックス凝集法での陽性率は42% (42/100) と大きな違いがみられた (表4)。免疫クロマトグラフ法陽性例の49% (39/79) がラテックス凝集法では陰性であった。また免疫クロマトグラフ法陰性例の90% (19/21) はラテックス凝集法でも陰性であった (表5)。この結果から双方のキットの検査感度には大きな違いがみられることがわかった。地域別の調査結果での1歳以上の犬の陽性率は、宮城県80% (16/20)、東京都70% (14/20)、熊本県95% (19/20) であり、いずれの地域でも静岡県87% (71/82) と同様に高い陽性結果がえられた (図3)。また各地域ともに、消化器症状の有無による陽性率の明かな違いはみられなかった。

考 察

犬における *Helicobacter* 属の感染菌としては胃では *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, *H. heilmannii*, *Flexispira rappini*, *H. bilis* が [2, 3, 5, 8, 11], 腸では *H. fennelliae*, *H. cinaedi*, *H. canis*, *F. rappini* が [2, 5], さらに肝臓で *H. canis* がある [5]。各臓器での *Helicobacter* 感染率は報告により異なるものの、*Helicobacter* 自体は犬で広くみられるものであることが報告されている [2, 5, 9-11]。しかし、犬の胃に組織学的に *Helicobacter* 属のらせん状菌が確認されることはあ

表4 ICキットとLAキットによる検査成績の比較(1)

	ICキット	LAキット
陽 性	79%	42%
陰 性	21%	58%

ICキット (免疫クロマトグラフ法キット), LAキット (ラテックス凝集法キット)

表5 ICキットとLAキットによる検査成績の比較(2)

	LAキット 陽性頭数	LAキット 陰性頭数
ICキット陽性頭数	40	39
ICキット陰性頭数	2	19

っても、菌そのものが分離培養されることは少なく [17], このため実際の感染状況には不明な点が多い。最近ではPCR法を用いての犬の胃粘膜、糞便からの *Helicobacter* の検出も行われているが、迅速性や簡易性に欠く面がある [11]。血清中の *H. pylori* 抗体の簡易迅速診断法は人の *H. pylori* 感染のスクリーニング検査として普及しており、その簡便さは他の診断法と比較にならない。これを動物に適用した報告はあるが [7], 犬でのより広範囲な調査の報告はみられない。そこで今回まず静岡県内で100症例について、健康状態、年齢また飼育管理状況などの条件下での検査結果を得て、全体的な傾向を知り得た後、1歳齢以上の犬に限定した調査を全国3カ所で各20例について行った。この調査により生後6カ月齢を境にして陽性率には大きな違いがあること、つまり6カ月未満では20%と低率であるのに対して、1歳齢以上では各地域ともに70%以上と高い陽性率であることがわかった。このことから、多くの犬が、生後6カ月までの間に *H. pylori* 抗体と類似した抗体陽性結果を生じさせる何らかの微生物に感染していることが推測された。*Helicobacter* 属は抗原の類似性が高いことが知られており、特に *H. bizzozeronii*, *H. felis*, および *H. pylori* はいくつかの共通抗原をもっていることが報告されている [11, 12]。また犬の胃から検出される *Helicobacter* 属の菌は *H. bizzozeronii* が55.6%, *H. felis* が22.2%とこの2種類が多いことも報告されている [2]。こうした背景を考慮した場合、今回の検査キットでの陽性反応も、こうした *Helicobacter* 属に対するものと推測されるが、現段階で反応した菌種を特定することは困難であると思われる。したがって現時点でこのように非特異的反応のみられる可能性のある検査法を犬の *Helicobacter* 感染の診断に用いることは問題があるものと考えられた。

引 用 文 献

- [1] Blaser MJ: Sci Am, 274, 103-107 (1996)

- [2] Cattoli G, Vugt R, Zanoni RG : Vet Microbiol. 7, 239-250 (1999)
- [3] Cornetta A, Simpson KW, Strauss-Ayali D : Am J Vet Res, 59, 1364 (1998)
- [4] Covacci A, Telford JL, Del Giudice G : Science, 284, 1328-1333 (1999)
- [5] Fox JG, Lee A : Lab Anim Sci, 47, 222-255 (1997)
- [6] Graham DY, Evans DJ, Peacock J, Baker JT, Schrier WH : Am J Gastroenterol, 91, 942-948 (1996)
- [7] 石川 潤, 中辻幸信, 室谷直義 : 日獣会誌, 51, 746-751 (1988)
- [8] Jalava K, Kaatinen M, Utrianen M, Happonen I, Hanninen ML : Int J Syst Bacteriol, 47, 975-982 (1997)
- [9] Misawa N, Kawashima K, Kondo F, Kushima E, Kushima K, Vandamme P : Vet Microbiol, 87, 353-64 (2002)
- [10] Neiger R, Simpson KW : J Vet Intern Med, 14, 125-133 (2000)
- [11] Shinozaki JK, Sellon RK, Cantor GH, Besser TE, Mealey KL, Vaden SL : J Vet Intern Med, 16, 426-432 (2002)
- [12] Strauss-Ayali D, Simpson KW, Schein AH : J Clin Microbiol, 37, 1280-1287 (1999)
- [13] 末松悦子, 馬場 清 : 機器・試薬, 25, 51-56 (2002)
- [14] 宇根有美 : 獣医畜産新報, 53, 933-938 (2000)
- [15] Whary MT, Fox JG : Comp. Med, 54, 128-158 (2004)
- [16] Yamazaki Y, Aono I, Ooake T, Shibahara T, Kadota K : J Vet Med Sci, 64, 149-153 (2002)
- [17] Yamasaki K, Suematsu H, Takahashi T : J Am Vet Med Assoc, 212, 529-533 (1998)

The Prevalence of *Helicobacter* antibody in Dogs Using *Helicobacter pylori* Test Kits

Takashi OGAWA[†], Hiroshi AMANO, Koji TANIZAWA, Tetsuji OKAWA and Yoichi OYAMA

* Ogawa Animal Hospital, 4-12-3 Nakamizo, Shimada, 427-0043, Japan

SUMMARY

An immunochromatography test kit for detecting the *Helicobacter pylori* antibody was used to investigate the prevalence of *Helicobacter* infection in dogs. Of 100 dogs in Shizuoka area, 79 (79%) were seropositive. The prevalence in young dogs below 6 months, those between 6 months and 1 year, and those more than 1 year, were 20, 75 and 85%, respectively. Clinical and housing conditions were not related to the ratio of seropositive animals. The same samples were tested using a latex agglutination test and resulted in a lower ratio than the immunochromatography test. Samples from three other areas in Japan including Miyagi, Tokyo and Kumamoto revealed that more than 70% of dogs were seropositive.

— Key words : Dog, *Helicobacter* antibody, *Helicobacter pylori*.

[†] Correspondence to : Takashi OGAWA (Ogawa-Animal Hospital)

4-12-3 Nakamizo, Shimada, 427-0043, Japan TEL 0547-37-3280 FAX 0547-37-0952

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 58, 117 ~ 120 (2005)