

犬と猫から分離されたMicrosporium canisの薬剤感受性

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	岡本, 嘉六 吉森, 清史 阿久沢, 正夫 中馬, 猛久 柚木, 弘之 池田, 耕夫
巻/号	47巻2号
掲載ページ	p. 118-122
発行年月	1994年2月

犬と猫から分離された *Microsporium canis* の薬剤感受性

岡本嘉六¹⁾

吉森清史¹⁾

阿久沢正夫¹⁾

中馬猛久¹⁾

柚木弘之¹⁾

池田耕夫²⁾

1) 鹿児島大学農学部 (〒890 鹿児島市郡元 1-21-24)

2) 池田愛犬病院 (〒890 鹿児島市新照院 28-7)

(平成5年5月17日受付・平成5年11月12日受理)

要 約

皮膚糸状菌症が疑われた鹿児島県内の犬 50 頭中 6 頭 (12%)、猫 75 頭中 33 頭 (44%) の被毛から *Microsporium canis* が分離され、犬 3 頭からは *M. gypsum* が分離された。1 歳未満の子犬と子猫からの分離頻度は 36% と 59% であった。*M. canis* 39 分離菌株について薬剤感受性を調べたところ、クロトリマゾール (最小発育阻止濃度: 0.1 μ g/ml)、クロコナゾール (0.39 μ g/ml)、ミコナゾール、イトラコナゾール、グリゼオフルビン (各 0.78 μ g/ml)、ピフオナゾール (3.13 μ g/ml) に感受性で、いずれも単峰性の感受性分布を示した。

——キーワード: 抗真菌剤感受性, 猫, 犬, *Microsporium canis*.

日獣会誌 47, 118~122 (1994)

近年の伴侶動物の増加に伴い動物に起因する人の皮膚糸状菌症、とりわけ *Microsporium* に属による症例が増加していることが報告されている^{3, 7, 8, 11, 12, 16, 20-22, 25, 26}。このため、日本獣医師会では 1984 年に実施した「人畜共通伝染病感染動物の実態に関する調査研究」⁶⁾ でもこの問題を取りあげているが、九州管内では福岡、熊本、大分からの少数例の調査にとどまっている。本研究では鹿児島県内における *M. canis* などの皮膚糸状菌の蔓延状況を調査するとともに、分離菌株の薬剤感受性を調べた。

材料および方法

市内を中心とした鹿児島県内の動物病院および当大学付属家畜病院に協力を依頼し、皮膚疾患のある犬と猫の被毛について糸状菌感染の有無を直接鏡検と培養検査により調べた。鏡検法では検体をスライドガラスに載せ、20% 苛性ソーダ液にジメチルスルホキシドを 25% の割合で加えた混液を 1 滴垂らしてカバーガラスをかけて数分放置し、透明化したうえで観察した。培養検査ではサブロー寒天培地に被毛を載せて 25°C で培養し、1~2 週間の観察により有意な集落を鈎菌し、さらに巨大培養法およびスライドガラス培養法によって同定した。

分離した *Microsporium* 属については 6 薬剤に対する感受性試験を実施した。最少発育阻止濃度 (MIC) の測定には桶ら¹³⁾のマイクロプレート法に準拠し、ホモジナイザーで細切した菌体を所定の薬剤濃度に調整したサブロー液体培地に接種して 4 日間培養し、発育の有無を肉眼的に観察した (表 1, 図 1)。

成 績

糸状菌症が疑われた 125 例中 57 例から病原糸状菌が分離され、その内訳は *M. canis* が 39 例と大半を占め、*M. gypsum* 3 例と *Trichophyton* 属 2 例であった。また、*Aspergillus* 属が 8 例から、*Scopulariopsis* 属が 2 例から、*Alternaria* 属が 3 例から分離され、*Microsporium* 属の分離頻度は、犬 18%、猫 44% で、後者が有意に高く、また、*M. gypsum* が分離された 3 例はいずれも犬であった (表 2)。*Microsporium* 属の分離頻度を要因別に検討すると年齢と飼育場所によって明らかな違いが認められ、性別とは関わりがなかった。すなわち、1 歳以下の幼獣の陽性率は成獣より有意に高く、自宅外環境との接触頻度の高いものに感染例が多かった。

複数の動物を飼っている家庭について患畜以外の動物の被毛を採材してもらったところ、患畜が罹患していた 10 家庭中 9 家庭 (90%)、非罹患例の 9 家庭中 2 家庭 (22%) の同居動物からも菌が分離され、前者が有意に高率であった。さらに、畜主の稟告では罹患例 23 家庭中 8 家庭 (35%) については家族にも何らかの皮膚病があり、非罹患例 32 家庭中 4 家庭 (13%) と比べて高率であった。

患者の症状と *Microsporium* 属の分離頻度との関係を見ると、脱毛例では 114 例中 36%、非脱毛例 12 例中 8% がそれぞれ培養陽性であり、有意な相関が認められた。他方、落屑例 31 例中 45%、非落屑例 95 例中 29%、痒感例 30 例中 30%、非痒感例 96 例中 34% が、それぞれ培養陽性であり、分離頻度に差がなかった。

表1 糸状菌についての薬剤感受性試験法

菌液の調整
1. サブロー寒天培地に被検菌を接種し1週間前培養.
2. サブロー液体培地 15ml を入れた 50ml ねじ口遠心管に新鮮培養菌を接種.
3. 1日1回振盪しながら, 31°Cで1週間培養.
4. 培養液をホモジナイザー (24000rpm, 5分) で細切.
5. 生理食塩液により遠心 (4000rpm, 10分)・洗浄を2回繰り返す.
6. 波長 460nm における吸光度が 0.6 になるよう調整したものを接種原液とする. この時の培養による生菌数は, 約 10 ⁴ と確認された.

薬剤濃度の調整

- 各薬剤を約 100mg 計り取り, 下記の有機溶媒で 10mg/ml の原液を調整.
 クロトリマゾール: 酢酸
 ミコナゾール: ジメチルスルホキシド, イトラコナゾール: N,N-ジメチルホルムアミド, クロコナゾール: N,N-ジメチルホルムアミド, ビフォナゾール: 酢酸, グリセオフルビン: N,N-ジメチルホルムアミド
- 原液 1ml に蒸留水 9ml を加え, さらにサブロー液体培地で 10 倍希釈して 100μg/ml の濃度とする.
- サブロー液体培地を用いて 2 倍希釈系列を作り, 接種原液とする.

マイクロプレート法

- 各ウェルに, 接種菌原液 10μl と希釈薬剤原液 500μl を加える. 各濃度につき, 2 ウェルを用いる.
- マイクロプレートをビニールテープで密封.
- 31°Cで4日間培養.
- 肉眼的に発育のみられなかった最小濃度を MIC と判定.

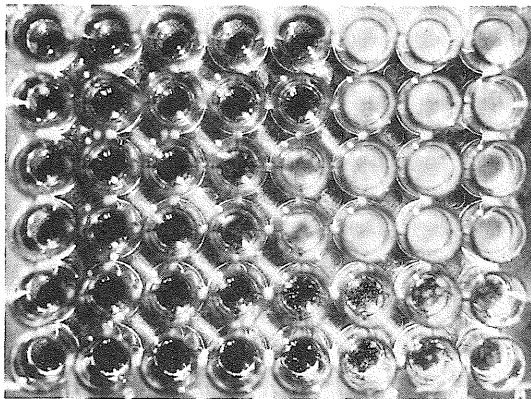


図1 マイクロプレート法における *M. canis* の発育状況上から2行ずつ3剤の薬剤希釈系列をつかって切断菌糸液を接種し, 4日間培養したものである. 薬剤ごとにもみると, 両行の発育阻止濃度は一致している.

臨床検査法と培養結果との関連をみると, ウッドライト陽性の 33 例中 82%, 陰性の 66 例中 12%, 直接鏡検査陽性の 34 例中 68%, 陰性の 65 例中 18% が, それぞれ, 培養陽性であった. 両検査法の少なくとも一方に陽

表2 皮膚疾患患畜の被毛からの *Microsporum* 属の分離状況

	犬	猫	計
<i>M. canis</i>	6/50(12)	33/75(44)	39/125(31)
<i>M. gypsum</i>	3/50(6)	0/75(0)	3/125(2)
年齢 ≤1 歳	5/14(36)	19/32(59)*	24/46(52)*
>1 歳	3/35(9)	12/40(30)	15/75(20)
性別 雄	7/28(25)	15/38(39)	22/66(33)
雌	1/21(5)	16/34(47)	17/55(31)
飼育 屋内	3/19(16)	3/15(20)*	6/34(18)*
場所 屋外	5/27(19)	25/55(45)	30/82(37)

陽性数/検体数 (%)

*: 各要因について有意に (p<0.05) 異なる.

性の 50 例中 64%, 両検査法とも陰性の 49 例中 2% が培養陽性であり, 両検査法を併用した場合の精度は 97%, 特異度は 75% となった.

M. canis に対する MIC の幾何平均値はクロトリマゾール*, クロコナゾール*, ミコナゾール*, グリセオフルビン*, イトラコナゾール*, ビフォナゾール*の順に, それぞれ, 0.53, 0.60, 1.20, 1.50, 1.67, 2.30μg/ml であり, 最頻値の順も同様であった (図 2). MIC 分布範囲を尖度を指標としてみると, ビフォナゾールが 3.64 と最も狭く, ミコナゾール, イトラコナゾールはそれぞれ 2.48, 2.52 と比較的広がった. また, 歪度を指標として分布の偏りを比較すると, クロトリマゾールは -0.92 と最も小さく, MIC が低濃度側に偏って分布しており, 逆にビフォナゾールは 1.12 と最も大きく, 高濃度側に偏った分布を示した. クロトリマゾールの MIC は二峰性ともみられる分布を示したが, その他の薬剤については単峰性であった.

考 察

M. canis は昭和初期に北海道で分離され, その後動物の外国からの輸入や国内での移動などにより東京など全国各地に蔓延したとされている⁵⁾, 伴侶動物への浸淫状況は 1980 年頃の調査²³⁾で皮膚糸状菌症と診断された犬の 52%, 1985 年頃の全国調査⁵⁾では動物病院に来院した犬の 16%, 猫の 38% から, それぞれ *Microsporum* 属が分離されたと報告されている. 本調査により, 鹿児島県内においては伴侶動物における *M. canis* の流行が依然として続いていることが判明した. このことは, 県内離島の白癬症患者の原因菌の 7% を *M. canis* が占め, 頭部白癬症に限れば 83% に達するとの報告²⁴⁾と符合した.

* クロトリマゾール: バイエル薬品㈱
 * クロコナゾール: 塩野義製薬㈱
 * ミコナゾール: 持田製薬㈱
 * グリセオフルビン: 塩野義製薬㈱
 * イトラコナゾール: ヤンセン協和㈱
 * ビフォナゾール: バイエル薬品㈱

Microsporium canis の薬剤感受性

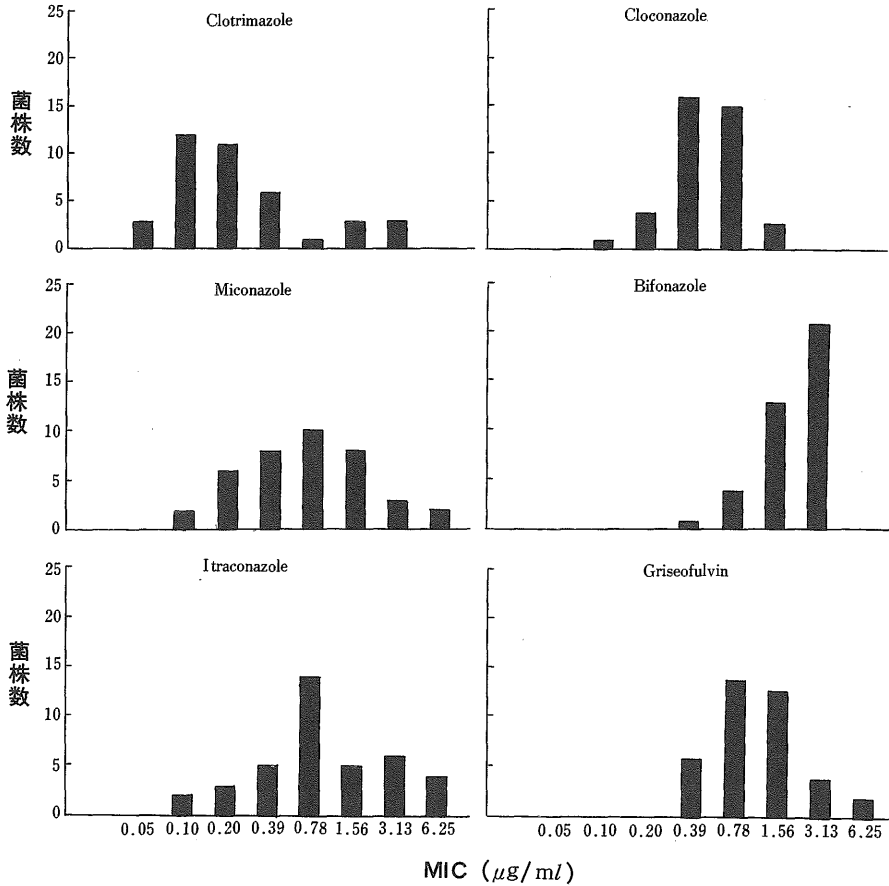


図2 *M. canis* に対する抗真菌剤の最小発育阻止濃度 (MIC) の分布

M. canis の分離頻度は1歳未満の幼獣が成獣よりも有意に高率であり、従来の報告^{1,6)}と一致した。飼育環境との関連では、*M. canis* は屋内飼育例で、*M. gypseum* は屋外飼育例でより高率であったとする報告^{6,23)}と、猫では屋外飼育例の分離頻度は屋内例の2倍であったとする報告¹⁰⁾があるが、本調査では後者と同様の傾向がみられ、野良猫が重要な感染源になっていると思われる。

複数の動物を飼っている例では患畜以外の同居動物の被毛からも菌が分離され、さらに畜主家族の皮膚病罹患率は35%と培養陰性例の約3倍になることが稟告により明らかになった。被毛を侵した *M. canis* は半年間は十分に生残し¹⁷⁾、さらに家庭内塵埃から高率に *M. canis* が分離され感染源になっていると警告されている^{6,10,20,28)}。医学文献をみると、*M. canis* の家族内感染例が近年増加しており^{3,12,22)}、特に小児の症例が多い^{8,16,29)}とされている。さらに、感染源として猫が特定され^{8,11,16,20,28)}、畜主に猫の処分を指示している例もあ

る^{7,21)}。これらのことから、伴侶動物における *M. canis* の蔓延防止に努めることはもとより、畜主に対しては家族の治療と家屋内の十分な清掃を忠告する必要がある。蔓延防止にはより早期の診断と治療が望ましい。*M. canis* 感染ではウッドライト法と直接鏡検法の併用により97%の精度で臨床診断が可能であり、各検査法単独での精度を大きく上回り、見逃しが少なくなると考えられた。また、両検査法の併用による特異度は75%と低かったが、脱毛などの症状を加味することで、実際の偽陽性率ももっと小さくなるものと思われる。

細菌の薬剤感受性の検査には日本化学療法学会により最小発育阻止濃度法が定められているが、皮膚糸状菌については統一された方法はまだ確立されていない。糸状菌は栄養菌糸、大分子、小分子などからなり、接種材料を均一にすることが困難である。今回用いた検査法は液体培地による前培養により分子の生成を少なくし、菌糸体をホモジナイザーで細切して接種材料とするもので、これによって接種菌数を一定にすることができ

表3 *Microsporium canis* の薬剤感受性の報告例

薬剤名	菌株数	MICの範囲	方法	報告者
クロマトリゾール	5	0.0156-0.125	マイクロプレート	楠 ¹⁴⁾
	44	<0.1	菌塊/液体培地	Plempel ¹⁹⁾
ミコナゾール	5	0.25-2.0	マイクロプレート	楠 ¹⁴⁾
	20	0.12-1.0	マイクロプレート	Tullio ²⁵⁾
	2	1.25-2.5	孢子/液体培地	江川 ²⁾
	2	2.5-2.5	孢子/寒天平板	江川 ²⁾
イトラコナゾール	43	0.01-0.1	菌塊/液体培地	Van Cutsem ²⁶⁾
ビフォナゾール	9	<1.0-2.0	菌塊/液体培地	Plempel ¹⁸⁾
グリゼオフルビン	4	0.5-1.5	マイクロプレート	楠 ¹⁵⁾
ケトコナゾール	5	1.0-5.0	マイクロプレート	楠 ¹⁵⁾

る^{4, 13, 25)}。培養期間については、従来の報告^{4, 25)}では4日と6日の差異が小さいことから楠¹³⁾に準じて4日としたが、図1に示したように発育阻止濃度の境界が肉眼的に明瞭であった。この方法の問題点としては薬剤が切断面から浸透し得るため、薬剤の膜透過性が十分に評価できない危険性が残されている。

M. canis についての薬剤感受性試験成績はクロトリマゾールとイトラコナゾールを除いてまとまった報告がみあたらず、両者では10倍希釈系列の薬剤を用いており方法も異なっている。今回の野外から分離した39菌株については近年普及しつつあるマイクロプレート法を用い、細菌の場合と同様に2倍希釈系列によって検討した。MICの分布域はいずれの薬剤についても従来の報告(表3)と比べてやや高濃度側にあり、特にイトラコナゾールについては10倍以上の開きがあった。この薬剤とミコナゾール、グリゼオフルビンは水に難溶性であり、有機溶媒に溶かした上で希釈して培地に添加したが後二者のMICの最頻値と幾何平均値は従来の報告の範囲内にあり、イトラコナゾールについてはなお溶解度の問題がある可能性も残されている。クロトリマゾールのMICは最頻値、幾何平均値および歪度が最も小さく、他の薬剤と比べて低濃度側に偏って分布していた。また、クロコナゾールとビフォナゾールの尖度は大きく、分布域が狭かった。いずれの薬剤についても一峰性に分布し、MICの幾何平均値は0.53~2.30 μ g/mlの範囲にあり耐性株はみられなかった。

引用文献

1) Aho R : Acta Path Microbiol Scand Sect B, 88, 79-83 (1980)
 2) 江川朝生, 山口英世, 岩田和夫 : Jpn J Med Mycol, 19, 303-315 (1978)
 3) 藤井 理, 久保 等, 芝木秀臣 : Jpn J Med Mycol, 34, 57-66 (1993)
 4) Granade TC, Artis WM : Antimicrob Ag Chemother, 17, 725-729 (1980)
 5) 長谷川篤彦 : Jpn J Med Mycol, 17, 51-57 (1976)

6) 長谷川篤彦, 久山登美雄, 橋口 衛 : 小動物皮膚科臨床, 10, 55-58 (1986)
 7) 比留間政太郎, 志水達也, 木村康隆ほか : 皮膚臨床, 29, 1313-1318 (1987)
 8) Hiruma M, Kukita A : Dermatologia, 176, 130-132 (1988)
 9) 本間喜蔵, 西本勝太郎 : Jpn J Med Mycol, 22, 322-325 (1981)
 10) 池庄司 剛, 高橋峰雄, 居神憲男ほか : 日獣会誌, 45, 430-431 (1992)
 11) 加藤卓朗, 佐野隆夫, 香川三郎 : Jpn J Med Mycol, 31, 369-375 (1990)
 12) 笠井達也 : Jpn J Med Mycol, 26, 168-175 (1985)
 13) 楠 俊雄, 原田誠一 : 日皮会誌, 91, 1093-1094 (1981)
 14) 楠 俊雄, 原田誠一 : 日皮会誌, 92, 671-675 (1982)
 15) 楠 俊雄 : Jpn J Med Mycol, 24, 222-229 (1983)
 16) 水元俊裕, 高島 巖, 三浦裕晶 : Jpn J Med Mycol, 14, 85-90 (1973)
 17) 大越 伸, 長谷川篤彦 : Jpn J Med Mycol, 9, 233-240 (1968)
 18) Plempel M, Regel E, Büchel KH : Arzneim Forsch, 33, 517-524 (1983)
 19) Plempel M, Bartmann K : Arzneim Forsch, 22, 1280-1289 (1972)
 20) 佐野隆夫, 森田恭一, 加藤卓郎ほか : 皮膚臨床, 32, 605-608 (1990)
 21) 志水達也, 比留間政太郎, 久木田 淳 : 臨床皮膚科, 42, 483-488 (1988)
 22) 高橋伸也 : 日獨医報, 30, 349-363 (1985)
 23) 高鳥浩介, 草間邦夫, 道下嘉熙ほか : 獣医畜産新報, 758, 562-565 (1984)
 24) Takizawa H, Miyagi S, Hisa T et al : Jpn J Med Mycol, 34, 67-71 (1993)
 25) Tullio V, Cuffini M, Carlone NA : Mycoses, 33, 257-263 (1990)
 26) Van Cutsem J, Van Gerven F, Janssen PAJ : Rev Infec Diseases, 9, S15-S32 (1987)
 27) Wright AI : J Small Animal Practice, 30, 242-249 (1989)
 28) 山本 泉 : 日皮会誌, 95, 1447-1459 (1985)
 29) 張 豁达, 加藤卓郎, 大滝倫子 : 西日皮膚, 51, 898-901 (1989)

Drug Sensitivity of *Microsporium Canis* Isolates from Dogs and Cats
in Kagoshima Prefecture

Karoku OKAMOTO¹⁾, Kiyofumi YOSHIMORI¹⁾, Masao AKUZAWA¹⁾, Takehisa CHUMA¹⁾,
Hiroyuki YUKI¹⁾ and Akio IKEDA²⁾

1) Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Koorimoto, Kagoshima 890, Japan

2) Ikeda Animal Hospital, 28-7 Shinshoin, Kagoshima 890, Japan

SUMMARY

Dogs and cats clinically suspected of dermatophytosis in Kagoshima Prefecture were mycologically examined. *M. canis* was isolated from 6 (12%) canine and 33 (44%) feline cases, while *M. gypseum* from 3 canine cases. The incidences in puppies and kittens aged one year or less were 36% and 59%, respectively. Thirty-nine *M. canis* isolates were sensitive to clotrimazole (minimum inhibition concentration : 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$), cloconazole (0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$), miconazole (0.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$), itraconazole (0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$), griseofulvin (0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$), and bifonazole (3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$), showing a single peak of sensitivity distribution.

—Key words : antifungal drug, cat, dog, *Microsporium canis*.

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 47, 118~122 (1994)

Flumoxal[®]

豚・馬・牛・犬の消化管内線虫
肺虫駆除に!!

広範囲駆虫剤〈フルベンダゾール製剤〉

フルモキサル[®]散 5%

フルモキサル[®]散 50%

フルモキサル[®]錠

特長 ● 広範囲で優れた駆虫効果。● 作用は殺虫的。
● 安全性が高く、嗜好性が良い。



藤沢薬品工業株式会社
特薬事業部

東京都中央区日本橋本町3-4-6 ニューカワイビル 〒103
TEL(03)3279-0649 (ダイヤルイン)
大阪市中央区道修町3-4-7 〒541
TEL(06)201-4613 (ダイヤルイン)