

レプトスピラ感染症に関する受付窓口

レプトスピラ感染症に関する問合せ、および情報の受付窓口は以下の機関になっております。

- ・国立感染症研究所 細菌部

〒162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1

TEL 03-5285-1111 内線 2224 FAX03-5285-1163

- ・静岡県立大学 薬学部 微生物学教室

〒422-8526 静岡県静岡市谷田 52 番 1 号

TEL 054-264-5710 FAX054-264-5715

研究協力機関としては

- ・名古屋検疫所 衛生・食品監視課

〒455-0045 愛知県名古屋市港区築地町 11 番地の 1

TEL 052-661-4132 FAX052-661-4136

- ・沖縄県衛生環境研究所 微生物室

〒901-1202 沖縄県島尻郡大里村大里 2085 番地

TEL 098-945-0785 FAX098-945-9366

- ・宮城県保健環境センター 微生物部

〒983-0836 宮城県仙台市宮城野区幸町 4 丁目 7-2

TEL 022-257-7228 FAX022-256-3362

- ・愛知医科大学 角坂照貴 (医学部 寄生虫学教室)

〒480-1195 愛知県愛知郡長久手町

TEL 0561-62-3311 FAX0561-63-3645

本パンフレットを作成するにあたり、ご助言を賜わりました小林譲博士(愛媛大学・名誉教授)、柳原保武博士(静岡県立大学・名誉教授)に深謝致します。

厚生科学研究費補助金（新興再興感染症研究事業）
分担研究報告書

ペストの分子・血清疫学と監視体制の確立

分担研究者：神山 恒夫 国立感染症研究所獣医学部

研究要旨 本研究事業では、ペスト発生国から輸入されるプレーリードッグなどの野生げっ歯類について輸出国における感染の実態の把握と安全対策等の調査を行い、輸入時のノミ等の外部寄生虫ならびにペストの抗体価調査を行うとともに、国内での飼育の実態調査を実施し、これらの動物によるわが国へのペストの侵入のリスクを疫学的に分析するとともに、リスクに応じた侵入防止対策を検討することを目的としている。

本分担研究ではこれらの点に関して以下のように調査研究を進行中である。

- 1) 海外のペスト情報の入手：アメリカ合衆国におけるペストの疫学的情報を CDC 媒介動物疾病部およびカリフォルニア州衛生部から情報を入手して分析した。
- 2) 海外からのペスト侵入に対する監視：感染源動物に寄生しているノミの体内のペスト菌 DNA を検出するための準備を行っている。
- 3) 侵入したペストの封じ込め：血清学的方法によって感染動物を摘発するため用いる参考血清を作成した。

人獣共通感染症としてのペスト

ペストはグラム陰性小桿菌であるペスト菌 (*Yersinia pestis*) の感染による急性熱性感染症である。ペストは法律によっていわゆる 1 類感染症の一つに指定され、危険度の高い感染症として警戒が必要である。

本来、ペストは野生げっ歯類を保菌・増幅動物とする人獣共通感染症である。しかしペスト菌は各種の哺乳類動物に対して感染力を有し、宿主の感受性は動物種によって大きく異なる。感受性の低い宿主では症状は軽く、このため菌は長期間自然界に存在することができる。一部のげっ歯類は感受性が高く感染したペスト菌は大量に増殖する。このためそれらの動物はペスト菌の増幅動物としての役割を有している。

ペスト菌は感染して菌血症にある動物を吸血したノミによってヒトへ伝播する。動物からヒトへの伝播の多くはノミを介して行われるが、最近では感染源としてのネコの役割も注目されている。ペスト菌に感染

したネコは口腔内に膿瘍を形成して、咬傷、唾液、および咳等によってヒトへの感染源となり得る。

世界のペスト発生状況

世界的にはペストの患者数は徐々に増加しつつあり、流行地域も南アフリカ・マダガスカル、インド、東南アジア、中国、北米、南米と広範囲にわたっている。

WHO に報告のあった 1997 年のヒトペスト発生数は 14ヶ国から合計 5419 例で、そのうち 274 例が死亡患者であった。この発生数は 1996 年の 3017 例に比較して著しい増加を示し、1987 年-1996 年の発生状況(1 年あたり平均 1920 例の発生と 168 例の死亡例)と比較しても著しい増加といえる。過去 10 年間では世界全体の発生症例の 71.8% および死亡例の 78.5% がアフリカからの報告であった。

1997 年の世界全体でのペスト発症者の致命率は 5.1% であった。致命率は 1996

年には7%、1987年-1996年の平均は8.8%であった。1995年および1996年と同様に、ペスト患者数の最も多かったのはマダガスカル（世界全体の52.8%）であった。

1983年から1997年までの15年間に24ヶ国で合計28570例の患者の発生が記録され、そのうち2331例が死亡例であった。この期間内では1993年-1997年の患者数が最も多く、逆に最も少なかったのは1985年の522例であった。ペストにより死亡したとして報告された患者数は1990年代の初期から確実に増加し続けており、この傾向は特にアフリカで際だっている。この原因としてあげられるのは、流行地において実際に動物からのペスト感染が増加していること、およびWHOへの報告状況が改善されてきたことがあげられる。

わが国におけるペストの発生と防疫

わが国におけるもっとも新しい患者発生は1926年に横浜で発生した8名である。また、動物におけるペストの発生も報告されていない。

この75年間のペストに関する清浄状態は防疫対策が功を奏していることの証であることは改めて強調する必要のない明らかな事実である。しかしその反面、一般の国民はもとより、医師、獣医師、および公衆衛生従事者の間においてもペストに関する注意や知識はきわめて乏しくなった。

わが国はペスト常駐地域との物資の交流が盛んであり、輸入貨物とともにペスト菌保菌動物、特にげっ歯類の侵入が危惧される。また、ペスト常駐地で捕獲された野生げっ歯類がペットとして多数輸入されている。また、わが国では野生げっ歯類など、ペスト菌を保有している可能性がある動物に対して検疫や輸入規制は行われていない。

このように、ペストに対する警戒心が薄れる状況下で、ペスト常駐地などから輸入されるげっ歯類等を介してペストが侵入する危険性は必ずしも小さいものとは言えない。このためいったんわが国にペストが再侵入した場合には、臨床的・公衆衛生的な対応の遅れのみならず社会的パニックの発生も懸念される。

ヒトは野生動物、特にげっ歯類と寄生ノミによって形成されている感染サイクルに偶然に暴露されることによってペストに感染する。すなわち、ペストは最も典型的な人獣共通感染症の一つである。したがって、ヒトのペストの予防には感染源である野生動物とそれに寄生するノミに対する対策が最も効果的と考えられる。

わが国におけるペストの防疫には次の3点が重要である。

- 1) 海外におけるヒトおよび動物のペスト情報の入手
- 2) 海外からのペスト侵入に対する監視
- 3) 侵入したペストの封じ込め

そのため、国内外のペストの実態を調査し、海外からの持ち込みに対する監視体制を確立する必要がある。

本研究では

- 1) ペスト常駐地における感染源動物に関する調査と情報収集、
 - 2) わが国における野生由来げっ歯類の輸入と飼育状況の調査、
 - 3) 輸入動物および野生動物、ならびにそれらに寄生するノミを対象としたペスト菌DNAの検出と抗体検査
- を行い、監視体制を確立することを目的とする。

研究方法と研究結果

わが国に対して多くの野生げっ歯類を輸出している米国における野生げっ歯類の健康状況および輸出入の実態に関しては、すでに米国疾病管理センター(CDC)および関連の米国連邦政府および州政府機関等から入手していた情報の解析と調査を行った。その結果米国の野生げっ歯類にはわが国と異なる多種類の人獣共通感染症が保有されていることが明らかとなった。それら人獣共通感染症の人への感染のリスクが高いことから、CDC等では感染予防に大きな努力をはらっていることが明らかとなった。特にげっ歯類の一一種であり、わが国ではペットとして多数輸入しているプレーリードッグのペスト罹患状況は警戒を要し、ヒト

への感染源として最も重要な動物であることが判明した。米国からわが国へ輸出される野生げっ歯類等に関しては法令等による規制は行われていないことが明らかとなつた。

現在のところ世界のペスト発生地域の重要な地域として重要なマダガスカルおよびインドからの小動物輸入の統計はない。また、日本へペット用として多数のげっ歯類を輸出している中国におけるペスト流行状況も実態の把握が行われていない。

感染源となる動物からヒトへのペスト菌の伝播は一部の例外を除いてノミが媒介動物となる。PCR 法によってノミ体内のペスト菌 DNA を迅速に高い感度で検出することができる事が報告されているので次の Yp1 および Yp2 プライマーを用いてペスト菌 DNA を検出する準備を進めている。

Yp1: 5'-ATCTTACTTCCGTGAGAA-3'
Yp2: 5'-CTTGGATGTTGAGCTTCCTA-3'

現在上記のプライマーを用いた PCR を行うため、野生動物に寄生しているノミを採取して検査を行うため標本の採集を行っている。

標本の採取地として成田空港周辺のほか、西表島および奈良県山間部を予定している。このうち成田空港は海外から航空機経由でネズミ類およびノミが侵入する可能性のある地点である。また、西表島は国内ではもっともペスト常所在地に近く位置し、船舶経由および渡りコウモリによって感染動物やノミが侵入する可能性を想定している。

動物に対するペストの PCR 診断の対象としては①感染が疑われる動物の組織（血液、脾臓、リンパ節、口腔内膿瘍など）、および②外部寄生動物（ノミ、ダニなど）が重要である。

動物種によってはペスト菌の感染に対して比較抵抗性を示すものがある。輸入動物が致死的/典型的なペスト症状を示していない場合には血清学的な診断が有効である。

血清診断を行うためには標準参考血清とペスト菌 F-I 抗原感作血球を用いた間接血球凝集反応とその阻止反応が WHO/CDC の標準法となっているため、その方法に準拠するために本年度は標準血清の作成を行った。

感染動物の血清学的検査に用いる標準となる抗血清を作成する目的で、ペスト死菌ワクチン (2×10^8 個死菌/ml、感染研細菌部塚野氏から分与) をニュージーランドホワイトウサギに免疫し、抗血清を得た。免疫は Albizo & Surgalla (Applied Microbiol., 16:649-655, 1968) の方法に準じて行い、採血時期の異なる計 10 匹のウサギに対して行った。この血清は CDC および WHO の標準的な方法による抗体価測定での参考血清として用いる予定である。

参考資料： わが国ではプレーリードッグその他の齧歯類をペットとして多数輸入していることが成田空港から提供された資料によって明らかになった。

平成 10 年輸入齧歯類数（成田空港）

月	輸入匹数	種類別輸入匹数			
		マウス	ラット	リス	プレーリードッグ
4	44,324		2,027	13,360	2,908
5	19,041		1,315	8,414	325
6	16,713		1,844	3,480	200
7	9,037		1,849	1,801	240
8	13,988		1,762	0	200
9	57,711		726	0	90
10	19,827		999	1,814	0
11	25,228		1,582	696	262
12	24,597		83	100	0
計	230,484		12,187	29,671	4,225
	100%		5.3%	12.9%	1.8%
					80.0%

厚生科学研究費補助金（新興再興感染症研究事業）

分担研究報告書

病原体レプトスピラ感染種の簡易同定法の確立と輸入レプトスピラ感染例の検出、及び回帰熱属ボレリア媒介ダニ刺咬症例に関する疫学的調査研究

分担研究者 川端寛樹 国立感染症研究所 細菌部 研究員

協力研究者 小泉信夫 国立感染症研究所 細菌部 研究員

研究要旨

- 1) レプトスピラ症の迅速診断法の確立を目的として、レプトスピラの鞭毛遺伝子 (*flaB*) を特異的に増幅するプライマーを用い、その感度・特異性から、病原性レプトスピラの遺伝子検出に有用であることを明らかにした。またレプトスピラ感染の起因種の同定法として、*flaB*-PCR-RFLP 法が有用であることも明らかにした。
- 2) マレーシアで行われたトライアスロン競技中にレプトスピラに感染、帰国後に発症した患者一例を報告した。これに付随して、レプトスピラ感染に関する情報を国立感染症研究所ホームページ（感染症発生動向調査週報および病原微生物検出情報）を通じて報告し、医療関係者を中心に注意を促した。（共同研究者：横浜市民病院・相楽裕子、坂本光男）
- 3) 回帰熱型ボレリア感染が疑われた患者一例を見出し、その血清反応性から鳥型回帰熱群ボレリア、若しくは牛型回帰熱ボレリアに近縁のボレリア感染が起った可能性を明らかにした。またこのボレリアを媒介したと考えられたオルニソドロス属ダニを感染推定地にて捕獲、この軟ダニの形態から種の同定を行った。（共同研究者：都立駒込病院・増田剛太、山階鳥類研究所・佐藤文男、鶴見みや古、福山大学・福長将仁、旭川医科大学・宮本健司）

○鞭毛遺伝子プライマーを用いたレプトスピラの検出、及び感染種同定法の開発研究目的>

レプトスピラ症は急性の熱性疾患であり、他の疾患との臨床診断による鑑別が難しいこと、また抗体価上昇以前の感染初期若しくは診断抗原が感染血清型と合致していない場合、高頻度で診断に偽陰性が生じることが広く知られている。この問題を解決する目的で、鞭毛遺伝子を標的とした PCR 法を開発、その感度および特異性を調べた。さらに増幅 DNA の制限酵素断片長多型性 (RFLP) 解析を行い何らかの情報が得られるか否かを検討した。

<研究方法>

病原性若くは非病原性レプトスピラ株 41 株、レプトネーマ 1 株、近縁スピロヘータ属細菌としてボレリア 4 種を実験に用いた。

<研究結果>

レプトスピラ症の感染種同定法の開発を目的として、*flaB* 遺伝子の一部を標的とした PCR-RFLP 法を確立した。*flaB* 遺伝子の一部断片を PCR 法にて増幅後、制限酵素 *Hae* III 若しくは *Hind* III で消化することでその多型性からレプトスピラ菌種の同定が可能になった。この結果はレプトスピラ症病原体 *Leptospira interrogans*, *L.borgpetersenii*, *L.kirschneri*, など計 36 株の *flaB* 遺伝子

の塩基配列を決定することで裏付けされた。また増幅産物が確認できた 36 株はいずれも病原性株として分離された株であることから（増幅産物が確認されなかつた 5 株は非病原性株に分類されている）*flaB*-PCR は病原性株特異的である可能性も示唆された。このことは PCR のデメリットである非病原性株による汚染を排除できる可能性を示している。このほか *IS1500* 配列を標的とした PCR で *flaB* 遺伝子を標的とした PCR とほぼ同程度の検出特異性が得られることも明らかにした。

＜考察＞レプトスピラ感染症においては、疫学解析・ワクチン開発の情報源となる感染血清型の同定が重要であるとともに、感染種の同定が極めて重要である。これはワイル病（黄疸出血性レプトスピラ感染症）など重篤な症状を示す感染病態がほとんどの場合には *L. interrogans* に起因するからである。通常、感染種の同定には、16S rDNA の塩基配列決定、若くは DNA similarity の測定が用いられるが、同定法としては迅速性に欠けることは明白である。本方法では、PCR 産物を 2 種の制限酵素で消化するのみで種の同定が簡便かつ迅速に行えることから、上記方法に代る迅速同定法として用いることが可能となった。

本方法のもう一点のメリットは、*flaB* 遺伝子の塩基配列をカタログとして参照することで分離株の血清型推定がある程度可能になった点である。分離株の血清型同定には、分離株と多くの標準抗血清の反応性、および分離株を用いて作成した抗血清と数多くの標準株との反応性が試験されなければならない。数多くの標準血清および標準株を維持すること、およびこれを用いた血清型同定作業は困難を極める。従って、*flaB* 遺伝子の塩基配列から、分離株の血清型をある程度絞り込めることは、同定作業の迅速化に極めて有益である。

＜結論＞

flaB-PCR は種同定ツールとして有効である。今後は生体試料への適用を視野にいれた *flaB*-PCR 法による迅速診断法を確立する。

○マレーシア・ボルネオ島でトライアスロン競技中に感染した輸入レプトスピラ症について

＜症例＞

25 歳、男性。主訴は発熱、頭痛。2000 年 8 月 16 日より 9 月 4 日までマレーシア・ボルネオ島サバ州にて仲間 3 人とともに耐久レースに参加した。9 月 7 日より悪寒とともに 38~39°C 台の発熱が出現した。同行者が発熱にて同 8 日に横浜市民病院に入院したため、同 9 日同院受診・入院となった。破傷風、狂犬病、ジフテリア、HA ワクチン接種すみ。マラリア予防内服せず。入院時体温 37.9°C、脈拍 90、整。眼球結膜に貧血・黄染はないが、充血を認めた。表在リンパ節触知せず。胸・腹部異常所見なし。皮膚発疹なし。神経学的に異常所見なし。検査所見では WBC 13,100/μl (好中球 91%)、Hb 14.8g/dl、Plt 19 万/μl、T. Bil 0.5mg/dl、GOT 63 IU/l、GPT 66 IU/l、LDH 420 IU/l、BUN 12.5 mg/dl、Cr 0.9mg/dl、CRP 17.8mg/dl であった。末梢血塗抹標本上マラリア原虫陰性、血液、糞便培養で有意菌は検出されなかつた。海外において耐久レース参加者がレプトスピラ症を発症したとの情報が得られたため、感染症研究所細菌部にて 9 月 11 日に採取した検体を用いてレプトスピラの検査をしたが、抗原、抗体とも陰性であった。39°C 台の発熱が持続するため、レプトスピラ症の臨床診断で 12 日より MINO 200mg/日の点滴静注を開始したところ 14 日以降解熱した。MINO は 1 週間継続し退院、その後 DOXY 200mg/日を 2 週間経口投与した。9 月 28 日に再検、*Leptospira interrogans serover hebdomadis* に対する抗体が 160 倍と陽性となり、レプトス

ピラ症と確定した。

<考察>

マレーシア・ボルネオ島で感染したと考えられるレプトスピラ症の1例を報告した。患者、WHOからの情報によりレプトスピラ症を疑い、初回の検査では陰性であったが、ペア血清により抗体価の上昇を確認した。感染症が国際化している現在、その診断においては発生状況などに関する迅速な情報収集が重要であると考えられた。

<結論>

- 旅行者数が大幅に増加している東南アジアにて、近年レプトスピラ症の流行が続いている。これらの地域でレプトスピラに感染する危険度は年々増加していることから、これら地域からの輸入例を特に警戒すべきである。
- 流行地域への渡航者への警告を十分に行うべきである。
- 輸入例に対する血清診断の精度向上のために、これら地域での流行血清型に関する情報および診断抗原の収集が極めて重要である。

○鳥島調査員に見い出された回帰熱ボレリア感染疑いの1例

<症例>

25歳、男性。主訴は発熱、倦怠感。1999年5月15日より5月29日まで鳥島でアホウドリの観測・調査に参加。5月22日および5月24日に鳥島燕崎にてダニ刺咬を受けた。5月24日より発熱、その後2ないし3日間熱感が続いた。鳥島より帰還後の5月31日、都立駒込病院・感染症科にて受診。ボレリア培地での培養、末梢血スメア鏡検、血清診断を国立感染症研究所・細菌部にて開始した。また6月15日再度採血し、血清診断結果を5月31日採血分と比較した。

<結果>

ボレリア培養陰性、末梢血鏡検陰性、および末梢血 16S rDNA-PCR 陰性。しかし

ながら一方で6月15日採血分の血清診断で、有意の抗体上昇がみられた。抗体上昇が見られたのは、*Borrelia anserina* および *B. coriaceae* の2種であった。またこれにともない、刺咬ダニの同定を行い、このダニが回帰熱を媒介するとされる *Ornithodoros* 属のダニの一一種、*Ornithodoros capensis* であると同定された。

<考察>

鳥島で感染したと考えられる回帰熱群ボレリア感染症疑いの患者1例を報告した。抗体上昇が見い出された、*B. anserina* および *B. coriaceae* は回帰熱群ボレリアには属するものの、所謂ヒト型回帰熱病原体とは異なり、主に鳥や牛に病気を引き起こすとされている。我々は、鳥島のダニ *O. capensis* 刺咬を介してこれら鳥型若くは牛型の回帰熱群ボレリア感染があったものと推測している。

本邦には、回帰熱群ボレリアを媒介するとされるダニとして、*O. capensis* および *O. sawaii* が見い出されている。これらダニは限られた地域でのみ生息しており、即座に回帰熱群ボレリアの本邦への spreading が起こる可能性は極めて低い。一方でこれらダニ刺咬を受けた場合に、どのような病原体に感染する危険性があるのかはまったく不明である。今後は、*O. capensis* および *O. sawaii* が生息する地域でダニ捕獲調査を行い、回帰熱もしくはこれに類するボレリアの保有調査を行う必要があると考える。

<健康危険情報>

- 病原微生物検出情報. 22(1), 2001, 22(1), p5.
- 感染症発生動向調査週報. 2000年第47週, p7.
- 感染症発生動向調査週報. 2000年第47週, p10-12.
- 感染症発生動向調査週報. 2000年第36週, p14.

<研究発表>

(下線は分担研究者もしくは協力研究者を示す)

論文発表

1. Kawabata H, Dancel LA, Villanueva SYAM, Yanagihara Y, Koizumi N, Watanabe H.: *flaB*-polymerase chain reaction (*flaB*-PCR) and its restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis are efficient tool for detection and identification of *Leptospira* spp. *Microbiology and Immunology*. 45(6), 2001. (in press)
2. Furuta Y, Kawabata H, Ohtani F, Watanabe H.: Western blot analysis of anti-*Borrelia* antibodies in patients with acute peripheral facial palsy in Hokkaido Island, Japan. *Laryngoscope*. 111, 2001. (in press)
3. 増澤俊幸、中村正治、川端寛樹、小泉信夫、今井康之. 沖縄におけるライム病関連ボレリア種 *Borrelia valaisiana* の発見. 日本細菌学会総会. (2001年3月)
4. 柳原保武、Sharon Y.A.M. Villanueva, Louella A. Dancel、増澤俊幸、鈴木克枝、川端寛樹、小泉信夫、渡辺治雄. フィリピンのレプトスピラ症の調査研究. 第38回レプトスピラシンポジウム. (2001年3月)
5. 坂本光男、相楽裕子、小泉信夫、渡辺治雄. マレーシア・ボルネオ島で感染したレプトスピラ症の1例. 日本感染症学会総会. (2001年3月)
6. 鈴木克枝、増澤俊幸、川端寛樹、柳原保武、今井康之、渡辺治雄: フィリピン患者由来レプトスピラの血清学的、遺伝学的同定. 第83回日本細菌学会関東支部総会. (2000年11月)
7. 川端寛樹、渡辺治雄: 創症型A群レンサ球菌感染症のM3型臨床分離株と標準株の間で見出されたDNA断片長多型の解析. 第73回日本細菌学会総会. (2000年5月)
8. 川端寛樹、渡辺治雄: レプトスピラ症の現状. 第37回レプトスピラシンポジウム. (2000年5月)
9. 増澤俊幸、川端寛樹、柳原保武、Louella A. Dancel、今井康之、渡辺治雄: フィリピン患者由来レプトスピラの血清学的、遺伝学的同定. 第37回レプトスピラシンポジウム. (2000年5月)
10. 柳原保武、Louella A. Dancel, Sharon Y.A.M. Villanueva, 増澤俊幸、川端寛樹、渡辺治雄: マニラ首都圏のレプトスピラ症の血清疫学. 第37回レプトスピラシンポジウム. (2000年5月)

キダニ (*Ornithodoros capensis*) の生息状況について. 第9回日本ダニ学会. 2000年10月)

6. 川端寛樹、渡辺治雄: ライム病ボレリア Vls 抗原は宿主免疫からの逃避機構に関与するか? 第73回日本細菌学会総会. (2000年5月)
7. 稲垣善茂、川端寛樹、山井志郎、渡辺治雄: 創症型A群レンサ球菌感染症のM3型臨床分離株と標準株の間で見出されたDNA断片長多型の解析. 第73回日本細菌学会総会. (2000年5月)
8. 川端寛樹、渡辺治雄: レプトスピラ症の現状. 第37回レプトスピラシンポジウム. (2000年5月)
9. 増澤俊幸、川端寛樹、柳原保武、Louella A. Dancel、今井康之、渡辺治雄: フィリピン患者由来レプトスピラの血清学的、遺伝学的同定. 第37回レプトスピラシンポジウム. (2000年5月)
10. 柳原保武、Louella A. Dancel, Sharon Y.A.M. Villanueva, 増澤俊幸、川端寛樹、渡辺治雄: マニラ首都圏のレプトスピラ症の血清疫学. 第37回レプトスピラシンポジウム. (2000年5月)

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症）
分担研究報告書

沖縄の患者、野鼠由来レプトスピラの血清学的、遺伝学的研究

研究分担者 角坂照貴 愛知医科大学・助手
主任研究者 増澤俊幸 静岡県立大学・薬学部・助教授
研究分担者 川端寛樹 国立感染症研究所・細菌部・研究員
研究協力者 小泉信夫 国立感染症研究所・細菌部・研究員
研究協力者 中村正治、平良勝也 沖縄県衛生研究所

研究要旨

1980 年代以降、国内のレプトスピラ罹患者は徐々に減少しているが、今日でもなお全国で散発的な発生をみている。亜熱帯地域に属する沖縄県では 1999 年夏期に集中発生が見られたため、患者からのレプトスピラの分離と、県内で捕獲された野鼠からの病原体の分離を行った。

患者の血液から分離された 9 株のレプトスピラは、FlaB 遺伝子解析および顕微鏡凝集試験により、4 株は *Leptospira interrogans* (血清型 hebdomadis)、3 株は *Leptospira interrogans* (血清型 grippotyphosa)、1 株は *Leptospira interrogans* (血清型 pyogenes)、1 株は *Leptospira kirschneri* (血清型 grippotyphosa) と同定された。

野鼠から分離された 3 株のレプトスピラは、FlaB 遺伝子解析および顕微鏡凝集試験により、2 株は *Leptospira interrogans* (血清型 javanica)、1 株は *Leptospira interrogans* (血清型 未同定) と同定された。

A. 研究目的

日本では 1970 年代まで年間数十名のレプトスピラ感染による死亡例が報告されてきたが、近年では生活様式の変化等により患者数、死亡例数は減少している。しかし、沖縄は亜熱帯気候に属し、これまでに本土には見られない血清型のレプトスピラが確認され、現在も散発的な患者発生が続いている。1999 年 9 月には沖縄県八重山諸島において、十数人がレプトスピラに感染した。沖縄県では 1997 ~ 1999 年度にわたり、血清型 pyogenes、血清型 autumnalis、血清型 australis、血清型 hebdomadis、血清型 icterohaemorrhagiae に属する株を抗原として住民に対するレプトスピラの血清学的調査が行われた。抗体保有率は地域によってばらつきがあるが 8.6~68.2%

と高いこと、沖縄県内でも地域によって血清型の分布に違いが見られること、そして本土でも見られる血清型 icterohaemorrhagiae、血清型 autumnalis、血清型 australis、血清型 hebdomadis の他に、本土ではあまり見られない血清型 pyogenes が特に多く存在する可能性が示されている。

今回、著者らはこうした本土とは異なる血清型が見られる沖縄のレプトスピラの分布実態を調査するため、保有体動物である野鼠を捕獲し、レプトスピラの分離を試みた。捕獲野鼠 67 匹中 3 匹よりレプトスピラを分離し、これらについて 1999 年八重山諸島で発症したレプトスピラ症患者より分離された 9 株とあわせて血清学的、遺伝学的解析を行った。

B. 材料・方法

1. レプトスピラの分離方法と培養法

患者血液からは FMJH 培地、野鼠の腎臓、血液からは Korthof 培地で分離・培養した。

2. 使用菌株

沖縄県八重山地域（石垣島、西表島）で感染した患者からの 9 分離株、沖縄県野鼠 3 分離株を使用した。

3. レプトスピラ抗血清の作製法

Salinem 株（血清型 pyrogenes）、Moskva V 株（血清型 grippotyphosa）、沖縄由来株 OP77 株、OP81 株、OP83 株、OS39 株、OR36 株に対するウサギ抗血清を作製した。レプトスピラ培養液を 56°C、30 分不活性化し抗原液とした。これをウサギ（日本白色家兎）静脈内に 5 日間隔で 3 回接種、免疫した。

4. FlaB および 16S rRNA 遺伝子配列解析

レプトスピラ抽出 DNA を鋳型として、特異的プライマーを用い、それぞれの遺伝子の PCR 反応を行った。PCR で増幅した増幅産物を鋳型として、直接サイクルシークエンス反応を行い、塩基配列を決定した。

5. 顕微鏡凝集試験(MAT)

96 穴丸底プレートに PBS で倍々希釈

Table 1 沖縄患者分離株と同定結果

分離株名	発生地	年齢/性別	職業・感染原因	分離臓器・培地	種	血清型
OP75	竹富町 西表島	61/男性	農業・水田で農作業	血液・EMJH	<i>L. interrogans</i>	pyrogenes
OP76	竹富町 西表島	13/男性	中学生・川遊び	血液・EMJH	<i>L. interrogans</i>	grippotyphosa
OP77	竹富町 西表島	28/男性	シーカヤックインストラクター・川	血液・EMJH	<i>L. interrogans</i>	grippotyphosa
OP79	竹富町 西表島	48/男性	シーカヤックインストラクター・川	血液・EMJH	<i>L. interrogans</i>	hebdomadis
OP81	竹富町 西表島	54/男性	カヌーガイド・川	血液・EMJH	<i>L. interrogans</i>	hebdomadis
OP82	竹富町 西表島	26/男性	シーカヤックインストラクター・川	血液・EMJH	<i>L. interrogans</i>	hebdomadis
OP83	竹富町 西表島	22/男性	観光ガイド・川	血液・EMJH	<i>L. interrogans</i>	hebdomadis
OP84	石垣市 石垣島	25/女性	旅行会社勤務・川	血液・EMJH	<i>L. interrogans</i>	grippotyphosa
OP86	石垣市 石垣島	60/女性	農業・水田で農作業	血液・EMJH	<i>L. kirschneri</i>	grippotyphosa

Table 2 沖縄野鼠分離株と同定結果

分離株名	捕獲地	種類	分離臓器・培地	種	血清型
OR36	名護漁港 本島	<i>Rattus norvegicus</i>	腎臓・Korthof	<i>L. interrogans</i>	未同定血清型E
OS39	源河サトウキビ畑 本島	<i>Suncus murinus</i>	腎臓・Korthof	<i>L. borgpetersenii</i>	javanica
OR63	那覇市沿岸漁港 本島	<i>Rattus norvegicus</i>	腎臓・Korthof	<i>L. borgpetersenii</i>	javanica

したウサギ抗血清と被検レプトスピラ培養液を加え 37°C、2 時間インキュベートした後、暗視野顕微鏡にて観察し、菌体の 50%以上の凝集を示す最大希釈倍率を力価とした。

6. パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)による制限酵素長鎖断片のパターン解析 (large restriction fragment pattern, LRFP)

対数増殖期のレプトスピラ菌体を低融点アガロースに封入し、ゲルブロックとした。ゲルブロックをリゾチーム、Proteinase K 处理後、制限酵素 Not I で 37°C、1 晚消化した。このゲルを 200V、パルスタイム 10 秒 5 時間、30 秒 12 時間、60 秒 7 時間の計 24 時間、または 200V、パルスタイム 5 から 100 秒へのランプで 30 時間の条件下でパルスフィールドゲル電気泳動した。

C. 結果

1. 患者、野鼠からのレプトスピラ分離状況

1999 年のレプトスピラ患者多発時に石垣島と西表島で感染したと考えられる患者血液より 9 株のレプトスピラが分離された (Table 1)。また、2000 年 10 月、沖縄本島、石垣島、西表島の漁港、豚舎、サトウキビ畑などにて野鼠の捕獲調査を行った。石垣島、西表島の八重山地区では 7 匹、本島では 60 匹が捕獲され、このうち本島で

捕獲された野鼠 3 匹(*Rattus norvegicus*, *Suncus murinus*) の腎臓より 3 株のレプトスピラが分離された (Table 2)。

2. FlaB 遺伝子配列に基づく種の同定

FlaB-PCR によりすべての分離株から約 790bp の増幅産物が確認された。増幅産物の塩基配列に基づく系統樹を Fig. 1 に示した。患者分離株のうち OP75 株他 7 株は *L.interrogans* に属する株群とクラスタ

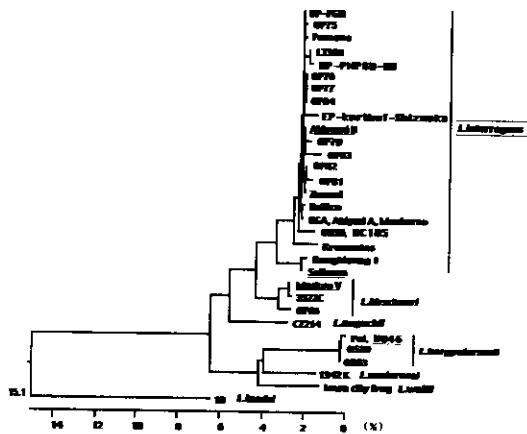


Fig. 1 沖縄分離株の FlaB 遺伝子配列に基づく系統樹

を形成し、*L.interrogans* と同定され、OP86 株は *L.kirschneri* に属する Moasva V 株の近傍に配置され、*L.kirschneri* と同定された。また、野鼠分離株のうち OS39 株と OR63 株は *L.borgpetersenii* に属する Poi 株、Veldrat Bataviae 46 (VB46) 株とクラスターを形成し、*L.borgpetersenii* と同定された。OR36 株は名古屋で *Rattus norvegicus* から分離された AC105 株と同

一の FlaB 遺伝子塩基配列を示し、*L.interrogans* に属する株群のクラスタ内に配置され、*L.interrogans* と同定された。

3. MAT に基づく血清型の同定

Table 3 に示したように、患者由来株の OP75 株は α -Saline (*L.interrogans* 血清型 pyrogenes) と強い反応を示した。OP76 株、OP77 株、OP84 株、OP86 株は α -Moskva V (*L.kirschneri* 血清型 grippotyphosa) と強い反応を示した。OP79 株、OP81 株、OP82 株、並びに OP83 株は α -Akiyami B (*L.interrogans* 血清型 hebdomadis) との強い反応を示した。

同じ血清型と同定された株が、FlaB 遺伝子配列解析でそれぞれ別々の種に分類されることがあった。異種、異血清型レプトスピラとの交差反応の可能性が疑われたので、 α -OP77、 α -OP81、 α -OP83、並びに α -OP86 を作製し、再度 MAT を試みた。その結果、各抗血清は同定された血清型の参考株、及び分離株と特異的に反応した。

野鼠分離株 OS39 に対する α -OS39 は、FlaB 遺伝子解析にて近傍でクラスターを形成していた *L.borgpetersenii* に属する VB 46 株 (血清型 javanica)、並びに野鼠由来株 OR63 株と反応したことから、OS39 株、並びに OR63 株は血清型

Table 3 沖縄分離株の抗血清に対する凝集力値

serovar strain		抗血清									
		pyrogenes		grippotyphosa		hebdomadis		javanica		未同定血清型	
		α -Saline	α -Moskva V	α -OP77	α -OP86	α -Akiyami B	α -OP81	α -OP83	α -OS39	α -OR63	
pyrogenes	Salinem	12800	<400	<400	<400	<400	<400	<400	<400	<400	
	OP75	25600	<400	<400	<400	<400	<400	<400	<400	<400	
grippotyphosa	Moskva V	<400	25600	12800	12800	<400	<400	<400	<400	<400	
	OP76	<400	25600	25600	25600	<400	<400	<400	<400	<400	
	OP77	<400	25600	12800	6400	<400	<400	<400	<400	<400	
	OP84	<400	25600	12800	12800	<400	<400	<400	<400	<400	
	OP86	<400	25600	12800	12800	<400	<400	<400	<400	<400	
hebdomadis	Akiyami B	<400	<400	<400	<400	6400	12800	12800	<400	<400	
	OP79	<400	<400	<400	<400	3200	25600	12800	<400	<400	
	OP81	<400	<400	<400	<400	12800	25600	12800	<400	<400	
	OP82	<400	<400	<400	<400	6400	25600	12800	<400	<400	
	OP83	<400	<400	<400	<400	6400	25600	12800	<400	<400	
javanica	VB46	<400	<400	<400	<400	<400	<400	<400	12800	<400	
	OS39	<400	<400	<400	<400	<400	<400	<400	12800	<400	
	OR63	<400	<400	<400	<400	<400	<400	<400	12800	<400	
	OR36	<400	<400	<400	<400	<400	<400	<400	<400	6400	

javanica と同定された。一方、OR36 株は試験した何れの抗血清型とも反応せず、また α -OR36 は試験した何れの株も凝集させず、血清型は同定できなかった。

4. LRFP 解析による血清型の確認

MAT の結果を基に、血清型の同定された分離株とその血清型の基準株を並べて泳動した (Fig. 2)。血清型 hebdomadis と同定された OP79 株、並びに OP83 株は Akiyami B 株 (血清型 hebdomadis) と類似したパターンを示したが、一方、同じく血清型 hebdomadis と同定された OP81 株はそれらと異なるパターンを示した。血清型 grippotyphosa と同定された OP76 株と OP77 株はほぼ同一のパターンを示したが、Moskva V 株 (血清型 grippotyphosa) の LRFP とは異なるパターンを示した。一方、同じく血清型 grippotyphosa と同定された OP86 株は

Moskva V 株と類似した LRFP を示した。

血清型 pyrogenes と同定された OP75 株は血清型 pyrogenes 参考株 Salinem 株の PFGE サンプル作製が成功に至らなかった。そこで、Baranton らの Salinem 株の LRFP データと比較した結果、約 300 kbp 以下のパターンで類似していることが明らかになった。

D. 考察

沖縄患者分離株、並びに野鼠分離株は、FlaB 遺伝子解析により *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii* と同定された。また、MAT の結果より、患者分離株は血清型 pyrogenes, 血清型 grippotyphosa, 血清型 hebdomadis と同定された。野鼠分離株は 2 株が血清型 javanica と同定されたが、OR36 株の血清型同定には至らなかった (血清型未同定)。野鼠分離 OR36 株は名古屋で分離された AC105 株と FlaB 遺伝子配列が同一であり、また α -OR36 は AC105 株と反応を示したことから、今後、 α -AC105 を作製し、MAT さらに交差吸収試験、並びに LRFP 解析による両株の比較、血清型の解析が必要である。

沖縄患者分離株は FlaB 遺伝子解析による分類結果と MAT による血清型分類が一致しない株が見られた。血清型 grippotyphosa と同定された株のうち、FlaB 遺伝子解析で Moskva V 株 (血清型 grippotyphosa) 及び OP86 株は *L. kirschneri* と、一方 OP76 株 OP77 株、並びに OP84 株は *L. interrogans* と同定され、異なる種に分類されている。LRFP 解析結果でも OP76 株、OP77 株は同一のパターンを示したが Moskva V 株とは異なるパターンを示した。一方、OP86 株と Moskva V 株は類似したパターンを示した。血清型 hebdomadis と同定された株群については FlaB 遺伝子解析と

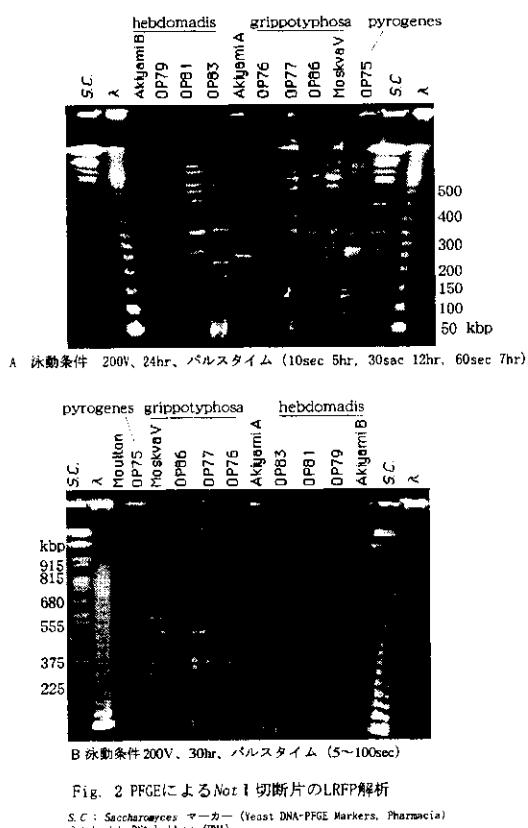


Fig. 2 PFGEによるNot I 切断片のLRFP解析
S.C.: Saccharomyces マーカー (Yeast DNA-PFGE Markers, Pharmacia)
λ: Lambda DNA ladders (BMA)

MAT の結果はよく一致したが、一方 LRFP 解析では株間で違いが見られた。

今回、著者らの LRFP を Baranton らのデータと比較解析を試みたが、同一株でも本実験で得られたパターンと違いが見られた。これは、PFGE の泳動条件、すなわち電圧、電流、泳動時間、変動的なパルス時間、使用するアガロースや泳動装置の違い等で誤差が発生してしまうこと、また、同一株でもプラスミドの有無によりパターンが変わる可能性等が理由として考えられる。これを考慮した上で、MAT にて血清型 *pyrogenes* に対する抗血清との反応を示したが Flab 遺伝子解析では *Salinem* 株（血清型 *pyrogenes*）と大きく離れて位置した OP75 株の LRFP を Baranton らの *Salinem* 株データと比較して、類似していることを確認した。今後は *Salinem* 株の PFGE-LRFP を行い比較を行したい。

今回、患者の多くが血清型 *hebdomadis*、血清型 *grippotyphosa* に感染していることが明らかになった。沖縄県環境衛生研究所の調査によると、沖縄本島の抗体保有者は血清型 *pyrogenes* に集中し、石垣市では血清型 *australis*、血清型 *icterohaemorrhagiae* が多いことが報告されているが、今回患者より分離された血清型 *grippotyphosa*、野鼠より分離された血清型 *javanica* については検討されておらず、その実態は不明である。

また、現在日本で使用されている血清診断試薬 MCAT には *hebdomadis*、*icterohaemorrhagiae*、*autumalis*、*australis*、*canicola*、*pyrogenes* の 6 血清型が抗原として使用されている。しかし、今回分離された血清型 *grippotyphosa*、並びに血清型 *javanica* には全く対応がなされていない。今後はこれら血清型に対する対策も視野に入れ、MAT の他に血清型特異的ではない検査法によるレプトスピラ抗体保有状況の調査も必要である。

F. 研究発表

1. 発表論文
 1. Masuzawa, T., Pan, M.J., Kadosaka, T., Kudeken, M., Takada, N., Yano, Y., Imai, Y., Yanagihara, Y.: Characterization and identification of *Borrelia* isolates as *Borrelia valaisiana* in Taiwan and Kinmen islands. *Microbiol. Immunol.*, 44, 1003–1009 (2000)
 2. Hasegawa, M., Harada, T., Kojima, Y., Nakamura, A., Yamada, Y., Kadosaka, T., Shinonaga, S., Numata, T. An imported case of furuncular myiasis due to cordylobia anthropophaga which emerged in japan. *Br. J. Dermatol.* 143, 912–914 (2000)
 3. Seishima, M., Izumi, T., Oyama, Z., Kadosaka, T. Tick bite by *Haemaphysalis megaspinosa* – first case. *Eur. J. Dermatol.*, 10, 389–391 (2000)
 4. Tamura, A., Makisaka, Y., Kadosaka, T., Enatsu, T., Okubo, K., Koyama, S., Yu, Q., Urakami, H. Isolation of *Orientia tsutsugamushi* from *Leptotrombidium fuji* and its characterization. *Microbiol Immunol.*, 44, 201–204 (2000)
2. 学会発表
 1. 角坂照貴、増澤俊幸、Ming-Jeng Pan、柳原保武：台湾(台中・金門島)の野鼠より得られたツツガムシ。第 52 回日本衛生動物学会(沖縄) 2000 年 4 月 2 日

2. 角坂照貴:アカツツガムシの走査電子鏡写真. 第8回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー(角館) 2000年7月8日
3. 増澤俊幸、鈴木克枝、今井康之、川端寛樹、小泉信夫、角坂照貴、後藤郁夫、中村正治、平良勝也、Sharon Y. A. M. Villanueva、渡邊治雄、柳原保武: 日本を含む東アジアにおけるワイル病病原体レプトスピラの血清学的、遺伝学的同定. 第38回レプトスピラシンポジウム (岡山) 2001年4月1日 (発表予定)
4. 余勤、潘銘正、角坂照貴、川端寛樹、小泉信夫、中村正治、平良勝也、今井康之、増澤俊幸 台湾、並びに沖縄由来野鼠血清のライム病ボレリアの抗体価の検討. 第38回レプトスピラシンポジウム (岡山) 2001年4月1日 (発表予定)

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

名古屋市周辺で捕獲した野鼠のレプトスピラ保有状況と分離株の性状解析

分担研究者 後藤郁夫 名古屋検疫所・検疫専門官
研究協力者 蔦宗俊明 名古屋検疫所・所長
研究協力者 品川道夫 名古屋検疫所・衛生・食品監視課長
研究協力者 加藤千晴 名古屋検疫所・衛生調査係長

研究要旨

名古屋港の港湾政令区域で野鼠の捕獲を実施し、捕獲した野鼠の保有レプトスピラ調査を行うとともに、外部寄生虫および内部寄生虫の保有状況調査を行った。現在までにドブネズミ 43 頭およびハツカネズミ 11 頭の計 54 頭が四季を通じて捕獲されたが、レプトスピラは分離されなかった。また、ペストおよび回帰熱を媒介するベクターは見出されなかつたが、ネズミトゲダニなどダニ類が 8 頭から 3 種、ヨーロッパネズミノミが 8 頭から見出された。同時に実施した内部寄生虫検索では 15 頭から広東住血線虫をはじめとして線虫類 3 種、条虫類 1 種を確認した。港湾地区ではレプトスピラを保有する野鼠は捕獲されなかつたが、名古屋市の港湾地域に隣接する地区でレプトスピラが野鼠から分離されていることから、港湾地域でもレプトスピラの浸淫が予想される。また、海外からレプトスピラ等の病原体を保有する野鼠が船舶を介して侵入する可能性も危惧される。このため、今後は海外からの侵入監視を含めた定期的な野鼠の生息状況調査を行うとともに病原体保有の実態を明らかにする必要がある。また、検疫所は、定期的に港湾地域の野鼠の生息実態調査および病原体保有調査を実施していることから野鼠により媒介される感染症の実態調査を全国的に行う上で、不可欠な機関であり、全国の検疫所の協力による調査区域の拡大が必要である。

A. 研究目的

レプトスピラは九州大学の稻田、井戸により 1915 年に世界に先駆けて日本で初めて患者より発見され、純培養された。このように、古くから日本ではレプトスピラ症は秋疫、用水病などの名で呼ばれる風土病として恐れられていた。1970 年代まで年間数十人の死亡例が報告されていたが、近年では農業の機械化により素足で長時間で泥土などの触れることが少なくなるなどの生活様式の変化に伴い急激に減少した。しかし、その一方で 1999 年に沖縄県八重山諸島で十数名が川などで感染した事例や 1998 年にアメリカで大雨後の増水した湖で行われたトライアスロン大会、および 2000 年にマレーシアで開催された耐久レースに参加した日本人を含む多くの選手が感染した事例もあり、水辺でのレジャーやスポー

ツ時の感染が懸念されている。また、世界規模の交通網の拡大により、保有動物を介して海外からの未知血清型レプトスピラが侵入することも危惧されている。

現在、日本で用いられているレプトスピラ血清診断試薬（MCAT）は血清型 *icterohaemorrhagia*、*autumnalis*、*hebdomadis*、*australis*、*pyrogenes*、*canicola* の 6 種を抗原として、ワクチンもこれらに準ずる血清型の不活化菌体を含むものが使用されている。血清診断やワクチンは血清型特異的であることから、これ以外の血清型レプトスピラには対応できない。現在、1960 年代になされた調査に基づき流行血清型が定義されているが、現在の状況については全く不明である。そこで日本に分布するレプトスピラ血清型を明らかにするために、名古屋港の港湾地域で野鼠を捕獲し、レプ

トスピラの分離を行った。あわせて、これら野鼠の軟ダニにより媒介される回帰熱ボレリア媒介ベクターの有無を調べた。

B. 研究方法

1. 調査地. 名古屋港の港湾政令区域内の調査地を A 地区 (2, 4 号地)、B 地区 (6, 7 号地)、C 地区 (8, 9 号地)、D 地区 (10 号地) および E 地区 (11 号地) に分け、地区ごとに埠頭および倉庫周辺に捕そ器 40~50 個を設置して、連続する 4 日間、毎月定期的に野鼠の捕獲を実施した。

2. レプトスピラ、回帰熱ボレリアの分離培養法. レプトスピラの分離には、野鼠の腎臓乳剤、または血液をそれぞれ EMJH 培地もしくは Korthof 培地に接種し、30℃にて 3 ヶ月間培養した。この間 1 ヶ月ごとに暗視野顕微鏡でレプトスピラ増殖の有無を調べた。

3. ウサギ抗血清の作製法. レプトスピラ培養液を 56℃、30 分間不活化し抗原液とした。これをウサギ(日本白色家兎)静脈内に 5 日間隔で 3 回接種免疫した。

4. FlaB および 16S rRNA 遺伝子配列解析. レプトスピラ抽出 DNA を鋳型として、特異的プライマーを用いて、それぞれの遺伝子の PCR 反応を行った。PCR で増幅した遺伝子産物を鋳型として、直接サイクルシークエンス反応を行い、塩基配列を決定した。

5. 顕微鏡凝集試験 (MAT). 96 穴丸底プレートに PBS で倍々希釈したウサギ抗血清と被検レプトスピラ培養液を加え 37℃、2 時間インキュベートした後、暗視野顕微鏡にて観察し、菌体の 50% 以上の凝集を示す最大希釈倍率を力価とした。

6. パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による制限酵素長鎖断片のパターン解析 (large restriction fragment

pattern, LRFP). 対数増殖期のレプトスピラ菌体を低融点アガロースに封入し、ゲルブロックとした。ゲルブロックをリゾチーム、Proteinase K 処理後、制限酵素 *Not I* で 37℃、1 晚消化した。このゲルを 200V、パルスタイム 10 秒 5 時間、30 秒 12 時間、60 秒 7 時間の計 24 時間、または 200V、パルスタイム 5 ~100 秒へのランプで 30 時間パルスフィールドゲル電気泳動した。

C. 研究結果

1. レプトスピラの保有状況. 港湾区域で捕獲した野鼠からは、レプトスピラは分離されなかった。

2. 野鼠の捕獲状況. 調査期間中に捕獲した野鼠は、ドブネズミ (*Rattus norvegicus*) 43 頭、ハツカネズミ (*Mus musculus*) 11 頭の合計 54 頭であった。地区別では、A 地区 5 頭、B 地区 2 頭、C 地区 12 頭、D 地区 18 頭、E 地区 17 頭で四季を通じて野鼠を捕獲した。D 地区および E 地区で捕そ率が高かった。

3. 外部寄生虫及び内部寄生虫検出状況. 外部寄生虫はヨーロッパネズミノミ (*Nosopsylla fasciatus*) がドブネズミ 8 頭に認められ、ダニ類はドブネズミ 7 頭から 2 種、ハツカネズミ 1 頭から 1 種見出されたが、ペスト、回帰熱を媒介するノミ、ダニ類は検出されなかった。ネズミトゲダニ (*Laelaps echidninus*) が 6 頭から、ヒメトゲダニ (*Laelaps muttalli*) が 2 頭のドブネズミから見出された。ハツカネズミトゲダニ (*Laelaps algericus*) がハツカネズミ 1 頭から見出された。内部寄生虫は線虫類の広東住血線虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) が 12 頭、肝毛頭虫 (*Capillana hepatica*) が 1 頭、*Trichosomoides crassicauda* が 1 頭に認められ、条虫類の肥頸条虫の帶状囊虫 (*Strobilocercus fasciolaris*) が 4 頭に認められた。全てドブネズミからの検出であった。

D. 考察

今回、名古屋港の港湾区域で捕獲した野鼠からレプトスピラは分離できなかつた。しかし、名古屋市の港湾地域に隣接する地区でレプトスピラが野鼠から分離されていることから、港湾地域でもレプトスピラの浸淫が予想される。また、港湾地域内の倉庫事業所等から、倉庫内にはかなりの数のねずみ族が生息している報告も毎年ある。さらに、海外からレプトスピラ等の病原体を保有する野鼠が船舶を介して侵入する可能性および港湾地域から全国へ拡大する可能性も危惧される。このため、今後は海外からの侵入監視を含め、調査地域の拡大とともに定期的な野鼠の生息状況調査を行い病原体保有の実態を明らかにする必要がある。また、全国の港湾地域で定期的に野鼠を捕獲し、生息状況および病原体保有などの調査を実施している機関は、検疫所だけである。レプトスピラ、ペスト、回帰熱など野鼠により媒介される感染症の実態調査を全国的に行う上で、検疫所は不可欠な機関であり、全ての検疫所の協力による調査は全国的にみた疫学調査にとっては大きな意味を持つことになる。

F. 研究発表

1. 増澤俊幸、鈴木克枝、今井康之、川端寛樹、小泉信夫、角坂照貴、後藤郁夫、中村正治、平良勝也、Sharon Y. A. M. Villanueva、渡邊治雄、柳原保武：日本を含む東アジアにおけるワイルド病原体レプトスピラの血清学的、遺伝学的同定。第38回レプトスピラシンポジウム（岡山）2001年4月1日（発表予定）