

の点で他の3菌種と区別が可能となった。また、*BS*はJPR2abおよびJPR2ca両方で反応が認められたが、OMP2にはその配列が正反対になっている領域があり(OMP2bとOMP2a)、設定したプライマーはOMP2aを反映している。すなわち設定した Sense プライマーがOMP2b領域の Antisense として働き、Antisense プライマーが Sense として働くという関係にある。BAおよびBMでは、OMP2aもOMP2bもJPF/JPR2abの組み合わせで増幅され、BCではJPF/JPR2caの組み合わせで増幅される。しかし、BSではOMP2bはBAと等しく、OMP2aはBCと等しいという特徴を持つため、JPF/JPR2ab、JPF/JPR2ca両方で増幅されるという結果を示した。そのため、他の3種のプライマーセットでは、区別できないBMもしくはBCとの区別が可能となった。

このように、4種のプライマーセットを用いることにより、その反応性の違いをもとにブルセラ属菌のうちヒトに感染しうる主要4菌種を同定することが可能となった。

E. 結論

今回設定した4種のプライマーセットを用いることにより、ブルセラ属菌のうちヒトに感染しうる主要4菌種を簡便に特異性も高く同定することが可能となった。動物ブルセラ病、ヒトブルセラ症の診断に有用である。

F. 健康危害情報

国内においては、特に*B. canis*感染に対する対応が必要であると考えられる。*B. melitensis*、*B. abortus*、*B. suis*の国内での感染は懸念する必要はないと考えられる。しかしながら海外での発生状況を考えると、海外からのブルセラ症の侵入(輸入動物由来、輸入食品、海外での感染者の入国等)が懸念される。また、渡航者に対する注意喚起も必要である。

G. 研究発表等

1. 今岡浩一. ブルセラ症. in: 動物由来感染症—その診断と対策—(神山恒夫、山田章雄編), 真興交易医書出版部, pp.199-203, 2003
2. 今岡浩一, 井上智, 棚林清, 山田章雄. 動物由来感染症. Infection and Technology, 11:2-13, 2003
3. 今岡浩一. 動物由来感染症の最近の話題. Modern Media, 49(12):337-346, 2003
4. 今岡浩一. ブルセラ症. 平成15年度希少感染症診断技術研修会, 東京, 2004年2月
5. 今岡浩一. 愛玩動物由来感染症とは. 平成15年度第3回国立感染症研究所学友会公開シンポジウム「愛玩動物由来感染症」, 東京, 2004年3月
6. 今岡浩一, 木村昌伸, 神山恒夫, 山田章雄. ブルセラ属菌の菌種同定のための特異的PCR法の開発. 第137回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2004年4月(予定)
7. 木村昌伸, 今岡浩一, 山田章雄, 神山恒夫. イヌの*Brucella canis*に対する抗体保有状況の調査. 第137回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2004年4月(予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Fig. 1 ブルセラ PCR用プライマーデザイン

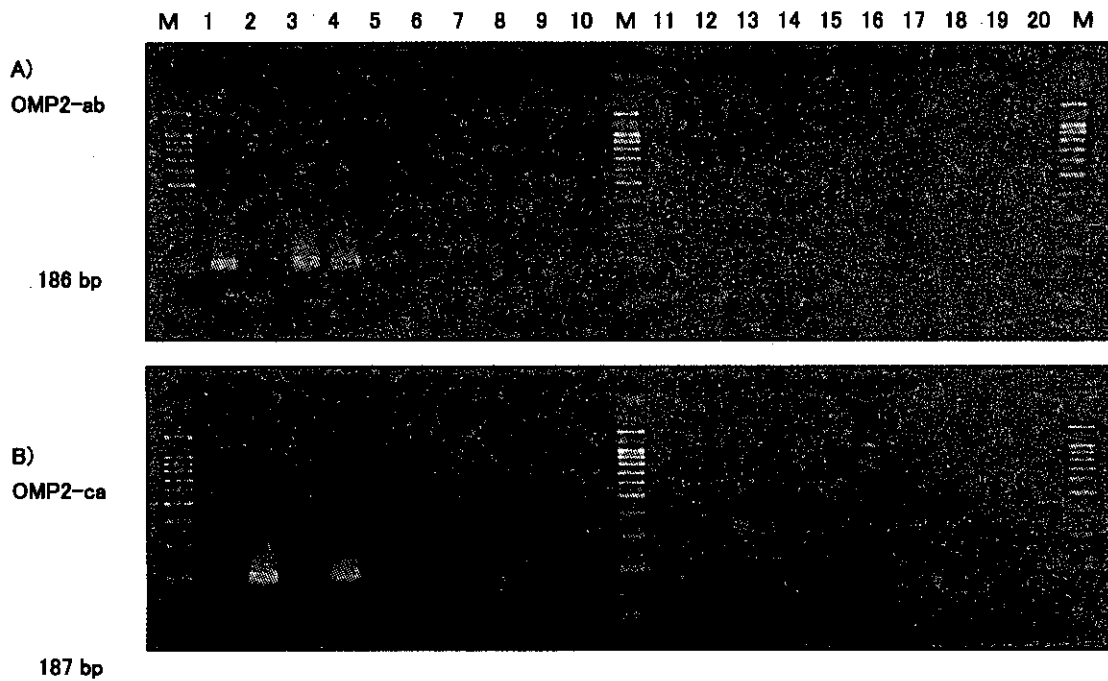
Target Gene	Primer Name	Sequence	Target Length	Genbank Accession	Location
BCSP31	B4 (S)	5'-T _{gg} CTC <u>gg</u> T T _g C CAA TAT CAA	224 bp	M20404	789-809
	B5 (AS)	5'-C _g C <u>g</u> CT T _g C CTT TCA <u>gg</u> T CT _g			1012-982
OMP2	JPF (S)	5'- <u>g</u> C _g CTC A _{gg} CT _g C _g AC _g CAA	192 bp	U26438	2110-2130
	JPR2 (AS)	5'-CAT T _g C <u>gg</u> T C _{gg} TAC C _{gg} Ag	186 bp		2295-2276
	JPR2ca (AS)	5'-CCT TTA C _g A TCC <u>g</u> A _g C _g gTA	187 bp	U26439	2296-2276
OMP31	1S (S)	5'- <u>g</u> TT C _g C TC _g AC _g TAA CA _g CT _g	249 bp	AF386073	218-238
	1AS (AS)	5'- <u>g</u> AC C _g C C _{gg} TAC CAT AAA CCA			448-486

Fig. 2 ブルセラ PCR用反応条件

PCR beads	1 beads
DEPC-H ₂ O	20.5 ul
Sence Primer (10uM)	1 ul (final 0.4uM)
AntiSence Primer (10uM)	1 ul (final 0.4uM)
Sample	2.5 ul
Total Volume	25 ul

1) 1サイクル	熱変成	94°C、4分
2) 35サイクル	熱変成	94°C、1分
	アニーリング	65°C、1分
	伸長	72°C、1分
3) 1サイクル	伸長	72°C、5分

Fig. 3 プルセラ PCRの検出の特異性



M. Size Marker

1. *B. abortus* 1 544
2. *B. canis* QE13
3. *B. melitensis* 1 16M
4. *B. suis* 1 1330
5. *Y. pestis* Yreka
6. *Y. enterocolitica* Pe177

7. *Y. pseudotuberculosis* 319

8. *B. anthracis* PAII
9. *B. cereus*
10. *B. subtilis* 3
11. *F. tularensis* LVS
12. *C. burnetii* Nine Mile
13. *E. coli* DH5 alpha

14. *H. influenzae* TypeB

15. *K. pneumoniae* spp pneumoniae
16. *L. monocytogenes*
17. *M. tuberculosis*
18. *P. aerogenes*
19. *S. aureus* spp aureus
20. *O. anthropi*

Fig. 4 ブルセラ PCRの検出感度

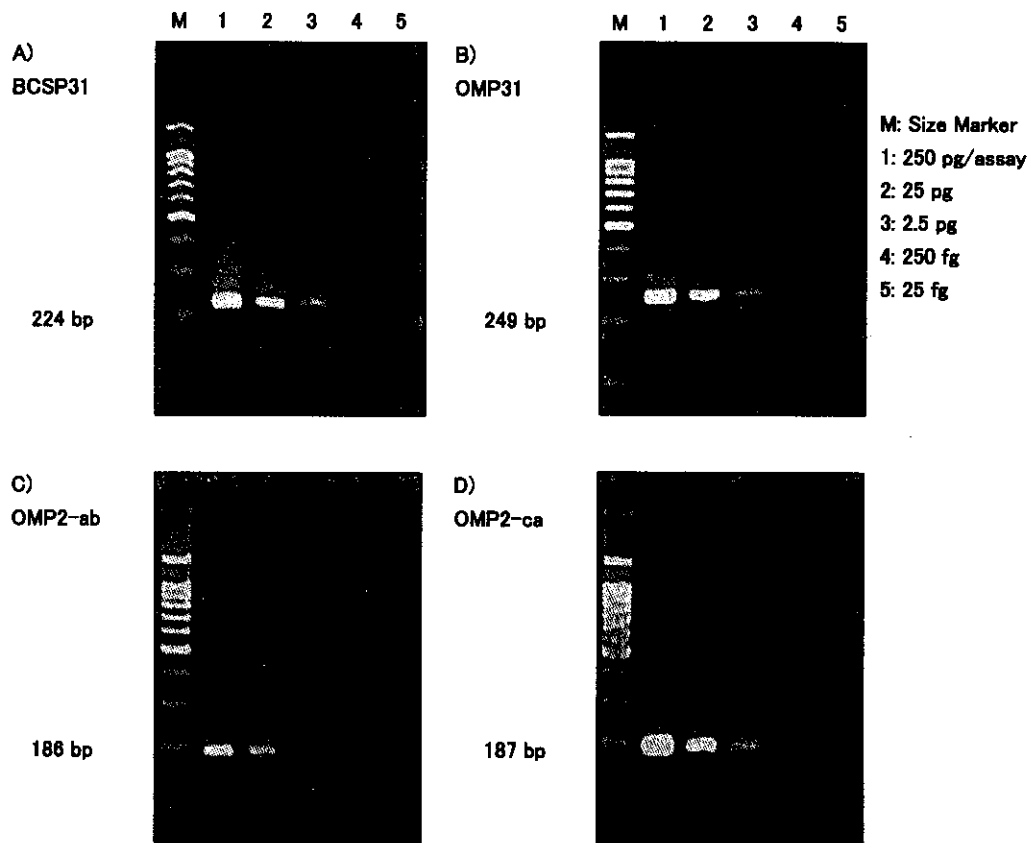
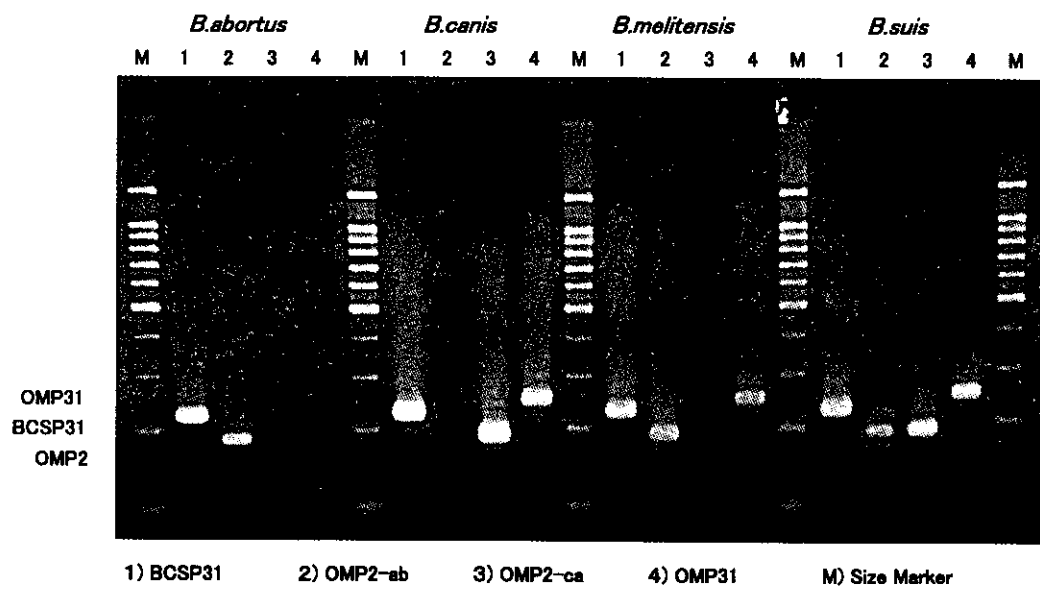


Fig. 5 ブルセラ PCRの検出パターン



イヌブルセラ病の疫学的調査・研究
某イヌ繁殖施設におけるイヌブルセラ病の集団発生に関する研究

分担研究者	今岡 浩一	国立感染症研究所	獣医科学部	主任研究官
協力研究者	神山 恒夫	国立感染症研究所	獣医科学部	第一室長
協力研究者	木村 昌伸	国立感染症研究所	獣医科学部	第一室研究員
協力研究者	朴 天鎬	国立感染症研究所	獣医科学部	第一室研究員
協力研究者	望月 正昭	伊東動物愛護病院	院長	

研究要旨：静岡県内A市Bイヌ繁殖施設（百数十頭飼育）において流産が多発し、ブルセラ病の疑いもあるため検査協力を求める旨、B施設で診察を行っているA市C動物病院より依頼があった。C病院を介して提供を受けた飼育犬血液114検体のうち51検体で*B. canis*特異的抗体が陽性であり（陽性率45%）、27検体から*B. canis*特異的遺伝子が検出され、B施設におけるイヌブルセラ病の集団発生が確認された。また1頭だけ提供を受けた流産胎仔から*B. canis*も分離・同定された。A市D病院で採血したB施設従業員およびC病院職員の血液の検査を行ったが、*B. canis*特異的抗体ならびに遺伝子は検出されず、その時点では、ヒトへの感染は起こっていないことが確認された。

A. 研究目的

感染症法で4類に指定されているブルセラ症（Brucellosis）はブルセラ属菌（genus *Brucella*）による動物由来感染症で、ヒトで感染報告があるのは*B. melitensis*（自然宿主：ヤギ、ヒツジ）、*B. abortus*（ウシ）、*B. suis*（ブタ）、*B. canis*（イヌ）、*B. maris*（海洋動物）の5菌種で、ほかに*B. ovis*（ヒツジ）、*B. neotomae*（齧歯類）があり、一般に動物では流産の原因となる。

イヌブルセラ病は*B. canis*に経口もしくは交尾により精液、尿、流産胎仔、悪露、子宮分泌物を介して感染することで起こり、感染犬の症状は精巣炎（雄イヌ）や胎盤炎と妊娠

後期（45～55日）の流産（雌イヌ）である。日本においては、1971年に輸入ビーグル犬によると思われる、繁殖コロニーでの発生があり全国に波及し、現在でも飼育犬の1～6%が感染歴を持つとされるが実態は必ずしも明らかではない。世界的には北米、ヨーロッパ、南米、東南アジアなどで認められる。その治療には、テトラサイクリンの長期投与が有効とされているが、中止後再び菌血症があらわれ、再発するケースが多いとされる。さらに、ワクチンは実用化されていないため、集団飼育施設では抗体陽性犬を隔離、淘汰することが有効だと考えられている。

また、ヒトへの*B. canis*感染は、おもにイヌの流産胎仔や悪露等との接触が原因で感

染するとされ、職業上これらに関わるヒトで感染の危険が大きい。しかしながら、ヒトに対して感染性を有するブルセラ属菌のなかでは病原性は最も弱く、重篤な例はまれであるため、感染に気づかない例や、他の疾患と誤認されている例があると考えられ、実際の患者数は定かではない。最近では2002年に東京都で発生した症例（感染症発生動向調査）や慢性疲労症候群の原因と考えられた症例（感染症学会東日本大会、2003年）の報告がある。

今回、百数十頭を飼育する静岡県内A市Bイヌ繁殖施設（以下、B施設）において流産が多発し、ブルセラ病の疑いもあるため検査協力を求める旨、B施設で診察を行っているA市C動物病院（以下、C病院）より依頼があったことから、イヌにおける感染の有無ならびにその実態の調査研究を行った。さらに、B施設従業員およびC病院職員についても検査協力の依頼があり、ヒトにおける感染の有無の検討を行った。

B. 研究方法

1) イヌにおける調査研究

1-1) イヌ血液検体：B施設におけるイヌ血液114頭分がC病院より送付されてきた。

1-2) *B. canis* 特異的抗体の検出：血清中の特異的抗体を *B. canis* 凝集反応用菌液（北里研究所）を用い、プロトコールに従い試験管内凝集反応を実施した。すなわち血清を20倍から2倍段階希釈し、凝集反応用菌液を加え、50°Cで24時間感作後、凝集反応を判定した。血清の最終希釈倍数160倍以上で50%以上の凝集を示すものを陽性と判定した。

1-3) *B. canis* 特異的遺伝子の検出：我々の開発したブルセラ属菌特異的PCR（本報告書別項で記載・報告）による遺伝子検出を行った。すなわち、ブルセラ属菌特異的細胞表面タンパク（BCSP31）および外膜タンパク（OMP）のうち、

OMP2ならびにOMP31を標的として、特異的プライマーを作成しPCRを実施した。被験DNAは血液および血清から、FlexiGene DNA Kit（Qiagen）およびSepaGene（三光純薬）を用いてそれぞれ分離した。

1-4) 菌の分離：イヌ血液サンプルからの菌分離は、血液サンプル量が少ないため、血液寒天培地（SBA）への直接培養により実施した。

2) 流産胎仔における調査研究

2-1) 流産胎仔：血液と同様に流産胎仔1頭がC動物病院より送付されてきた。

2-2) 菌分離：無菌的に血液および組織（肝臓、脾臓、腎臓、肺、胃、骨髄、脳）を分離し、組織は乳鉢で乳剤にしたのち、SBAへの直接培養および増菌培養を行った。各々を20ml（乳剤の10-20倍量）のブレインハートインフュージョンブロスに加え、35°Cで3-4週間、増菌培養を行った。培養4-7日目ごとにSBAに移植し3-6日間培養し菌分離を試みた。

2-3) *B. canis* 特異的遺伝子の検出：乳剤の一部よりDNAを分離し、1-3)と同様にPCRを行った。また、増菌培養により分離されたコロニーは、Tris-EDTA Bufferに希釈し、煮沸後、遠心分離した上清ならびにSepaGeneにより抽出したDNAをサンプルとしてPCRを行った。

2-4) 病理学的検討：上述した組織について、病理組織学的検討を行った。

3) ヒトにおける調査研究

3-1) ヒト血液検体：C病院に対してイヌにおける調査研究結果を報告したことを受けて、B施設従業員（5名）およびC病院職員（6名）よりA市D病院において採血したものが送付されてきた（10/13, 20採血分）。その後、イヌの調査研究報告を受けた健康危機情報（参考1, 2）に対応する形で、静岡県より行政検査（参考3）として上記ヒトの再検査の依頼があり、血液が送付されてきた（12/01, 9採血分）。

3-2) *B. canis* 特異的抗体の検出：血清中の特異的抗体を *B. canis* 凝集反応用菌液（北

里研究所) を用い1-2) と同様に実施した。

3-2) *B. canis* 特異的遺伝子の検出: DNA を血液および血清から分離し1-3) と同様に実施した。

3-3) 菌の分離: 菌分離は SBA への直接培養および増菌培養を行った。血液 3.5ml を 20ml のブレインハートインフュージョンブロス及びチオグリコレートブロスに加え、2-2) の通り菌分離を試みた。

C. 研究結果

1) イヌ血液サンプルの検討: *B. canis* 特異的抗体を凝集反応により検討したところ、114 検体のうち 51 検体 (45%) で保有が確認された。中でもメスにおいては、86 頭中、過半数の 44 頭 (51%) が抗体を保有し、抗体価も 1280 倍を越える高値を示すものが 16 頭も認められた。オスでは 27 頭中 7 頭が陽性を示した (Table 1)。抗体保有状況と年齢の関係を検討したが、1 才における陽性率が高い傾向があったが、性差などこれといった特徴は認められなかった (Table 2)。

PCR による特異的遺伝子検出を行った結果、2 種類以上の遺伝子が検出されたものは全体の 27 頭 (24%) であった。また、全体に占める陽性率はメスの方が高かった。しかし、オス、メスともに各々の中での陽性率に違いはなかった (Table 3)。

PCR による遺伝子検出と凝集抗体保有との関係を見ると、PCR 2 種類以上陽性で抗体も陽性は 10 頭、PCR 2 種類以上陽性で抗体陰性は 17 頭、PCR 陰性で抗体陽性は 21 頭、PCR も抗体も陰性は 17 頭であった (Table 4)。抗体価と PCR との間には明らかな関係は認められなかった (Table 5)。

2) 流産胎子における検討と菌の分離: 組織乳剤の直接培養では菌は分離されなかった。しかしながら、増菌培養を開始して 3 日後に SBA へ分離培養したところ、肝臓より菌が分離され

た。また、10 日後に SBA へ分離培養したところ、肝臓、脾臓、血液より菌が分離された。その後、3 週間培養を続けたが、それ以外の組織からは菌は分離されなかった。これらの菌は、いずれもグラム陰性、微小球桿菌で、運動性はなく、カタラーゼ、硝酸塩還元および尿素水解が陽性であった (Fig. 1)。また、PCR による遺伝子増幅パターンは、*B. canis* のパターンを示した (Fig. 2)。これらのことから、分離された菌は、*B. canis* と同定された。本菌株を *B. canis* Shizuoka03 とした。

病理組織学的には、定法どおり H-E 染色またはグラム染色を実施した標本を検討したが、顕著な病変は認められなかった。

3) ヒト血液サンプルにおける検討: 凝集反応により *B. canis* 特異的抗体の検出、PCR による特異的遺伝子の検出および血液培養による菌分離を試みたが、すべてのサンプルにおいて、いずれも陰性であった (Tables 6&7)。行政検査分に関しては、書式に乗っ取り、報告・処理した。

D. 考察

流産が多発しているイヌ繁殖施設の飼育犬血液 114 検体のうち 51 検体で *B. canis* 特異的抗体が陽性であり、27 検体から *B. canis* 特異的遺伝子が検出された。また、流産胎子から *B. canis* が分離されたことから、B 施設内で *B. canis* の集団発生が起こっていると考えられた。また、PCR と抗体との関係を見ると次の 4 つの群に分類できた。すなわち、PCR も抗体も陽性、PCR は陽性で抗体は陰性、PCR は陰性で抗体は陽性、PCR も抗体も陰性の群である。これらはそのまま感染のステージ、つまり、PCR は陽性で抗体は陰性というのは感染して未だ間がない、いわゆる感染初期のもの、PCR も抗体も陽性は感染極期 (中期) のもの、PCR は陰性で抗体陽性は感染後期もしくは感染後治癒したものの PCR も抗体も陰性は感染前のもの

を表すと考えられる。以上のように、B施設ではすべてのステージのものが認められることから、現在も活発に感染が施設内で広がっていると考えられる。

*B. canis*は症状は軽度ではあるが、ヒトに感染することがあり、事実、感染例が過去に報告されている。そこで、B施設および感染イヌと接触のあったと思われるC病院のスタッフで*B. canis*感染状況の検討を実施したが、感染の証拠は認められなかった。しかし、今後、このような事例があるときにもヒトへの感染の危険がないという保証はなく、十分に注意が必要であると考えられた。

E. 結論

流産が多発しているイヌ繁殖施設の飼育犬血液114検体のうち51検体で*B. canis*特異的抗体が陽性であり、27検体から*B. canis*特異的遺伝子が検出された。施設におけるイヌブルセラ病の集団発生が確認された。また、1頭だけ提供を受けた流産胎仔から*B. canis*も分離された。同施設従業員および関連動物病院職員の血液検査を行ったが、*B. canis*特異的抗体ならびに遺伝子は検出されず、また、菌も分離されなかった。検査した時点では、ヒトへの感染は起こっていないことが確認された。

F. 健康危害情報

*B. canis*は症状は軽度ではあるが、ヒトに感染することがあり、事実、感染例が過去に報告されている。今回、1イヌ繁殖施設において飼育犬の間にイヌブルセラ病の流行がみられた。流産組織や汚染環境との接触等によるヒトへの伝播の危険性は否定できず、感染犬も多数飼育されていることから、従業員等、ヒトへの感染が懸念されたが、現在までのと

ころヒトへの感染は見あたらなかった。しかし、今後、このような事例があるときにも感染の危険がないという保証はなく、十分に注意が必要であると考えられた。

参考までに、今回の事例に対する行政的対応に関する資料を添付する（参考1～3）。

G. 研究発表等

1. 今岡浩一. ブルセラ症. in: 動物由来感染症—その診断と対策— (神山恒夫、山田章雄編), 真興交易医書出版部, pp.199-203, 2003
2. 今岡浩一, 井上智, 棚林清, 山田章雄. 動物由来感染症. *Infection and Technology*, 11:2-13, 2003
3. 今岡浩一. 動物由来感染症の最近の話題. *Modern Media*, 49(12):337-346, 2003
4. 今岡浩一. ブルセラ症. 平成15年度希少感染症診断技術研修会, 東京, 2004年2月
5. 今岡浩一. 愛玩動物由来感染症とは. 平成15年度第3回国立感染症研究所学友会公開シンポジウム「愛玩動物由来感染症」, 東京, 2004年3月
6. 今岡浩一, 木村昌伸, 神山恒夫, 山田章雄. ブルセラ属菌の菌種同定のための特異的PCR法の開発. 第137回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2004年4月(予定)
7. 木村昌伸, 今岡浩一, 山田章雄, 神山恒夫. イヌの *Brucella canis* に対する抗体保有状況の調査. 第137回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2004年4月(予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1) 凝集抗体の保有状況

凝集抗体価	オス (27)	メス (86)	検体数 (114)*
<1:160 (陰性)	20 (74%)	42 (49%)	63 (55%)*
1:160≤ (陽性)	7 (26%)	44 (51%)	51 (45%)
1:160	1	14	15
1:320	2	4	6
1:640	3	10	13
1:1280	0	3	3
1:2560	0	10	10
1:5120	1	3	4

* 性別不明個体1を含む。

Table 2) 抗体保有状況と年齢

	抗体(+)	抗体(-)	小計
1才未満	0	7	7
1才	9	3	12
2才	12	15	27
3才	6	12	18
4才	8	9	17
5才	8	7	15
6才	5	5	10
7才	3	4	7
8才	0	1	1

Table 3) PCRと性別

PCR	オス	メス	合計
2種類以上	6 (22%)	21 (25%)	27 (24%)*
1種類	10 (37%)	39 (45%)	49 (43%)
(-)	11 (41%)	26 (30%)	38 (33%)*
合計	27	86	114*

* 性別不明個体1を含む。

Table 4) プルセラカニス特異的PCR

	P		C		R		All-	合計	
	BCSP31+ OMP2ca+ OMP31+	BCSP31+ OMP2ca+	BCSP31+ のみ	OMP2ca+ のみ	BCSP31+ OMP31+	OMP2ca+ OMP31+			
凝集 反 応	抗体+	6	4	13	7	0	0	21	51
抗体-	9	4	22	7	2	2	17	63	
合計	15	8	35	14	2	2	38	114	

Table 5) 抗体価と PCRの関係

	P	C	R
	2種類以上	1種類	(-)
<1:160 (陰性)	17	29	17
1:160 ≤ (陽性)	10	20	21
凝集抗体価			
1:160	4	5	6
1:320	1	3	2
1:640	2	5	6
1:1280	0	0	3
1:2560	2	4	4
1:5120	1	3	0

Table 6) B繁殖施設スタッフにおける抗体および遺伝子の検出

サンプル番号	性別	凝集抗体価		PCR*		菌分離	
		10/20**	12/01***	10/20	12/01	10/20	12/01
HJ1	F	(-)#	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
HJ2	F	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
HJ3	F	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
HJ4	M	(-)	n.t.##	(-)	n.t.	(-)	n.t.
HJ5	M	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

* BCSP31, OMP31, OMP2ab, OMP2ca。

** 採血日。

*** 12/01分は、行政検査依頼による。

各々、検査結果陰性。

サンプルなし。

Table 7) C動物病院スタッフにおける抗体および遺伝子の検出

サンプル番号	性別	凝集抗体価		PCR*		菌分離	
		10/13**	12/01, 9***	10/13**	12/01, 9	10/13**	12/01, 9
H1	M	(-)#	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
H2	M	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
H3	F	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
H4	F	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
H5	F	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
H6	F	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

* BCSP31, OMP31, OMP2ab, OMP2ca。

** 採血日。

*** 12/01, 9分は、行政検査依頼による。H1のみ12/09採血。

各々、検査結果陰性。

Fig. 1) 分離菌のグラム染色

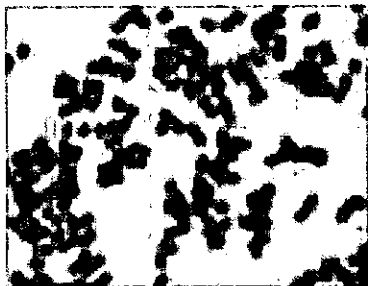
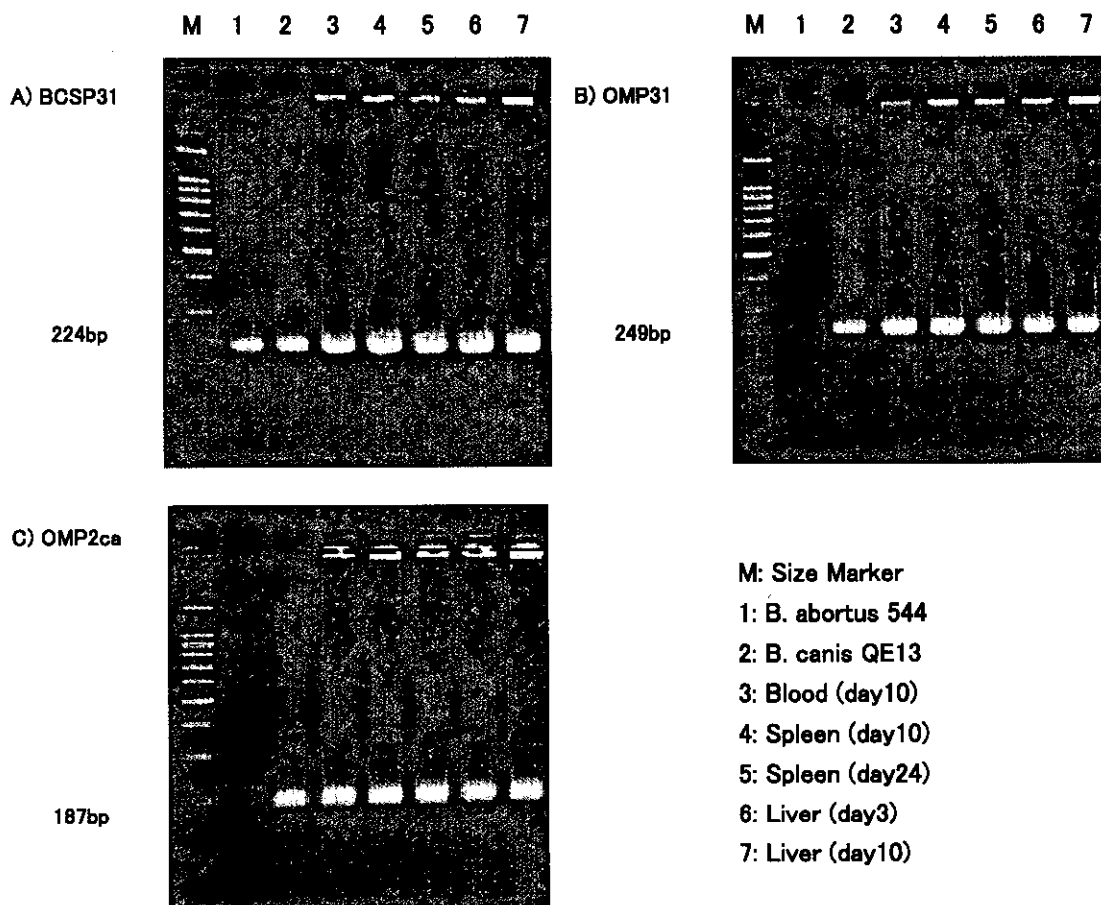


Fig. 2) 分離菌のPCRパターン



参考1-1

事務連絡
平成15年11月27日

(社)日本獣医師会 御中

厚生労働省健康局
結核感染症課獣医衛生係

静岡県内の犬繁殖施設におけるイヌブルセラ症の流行について

平素より動物由来感染症対策にご協力頂きありがとうございます。今般、欄記事例について、別添のとおり静岡県衛生主管部あてに通知いたしましたので、参考までにお知らせいたします。

今後ともなお一層の動物由来感染症対策へのご協力方よろしく申し上げます。

担当：
TEL：03-5253-1111（内2376、2384）
03-3595-2263（夜間直通）
FAX：03-3581-6251
E-mail：

(別 添)



健感発第 1127001 号
平成 15 年 11 月 27 日

静岡県健康福祉部長 殿

厚生労働省健康局結核感染症課長

静岡県内の犬繁殖施設におけるイヌブルセラ症の流行について

貴職におかれては、平素より動物由来感染症対策にご協力頂いているところですが、今般、厚生科学研究班（「愛玩動物の衛生管理の徹底に関する研究」班長：国立感染症研究所獣医衛生科学部 神山恒夫）より当省あてに、欄記事例について、別紙のとおり健康危険情報の提供がありましたのでお知らせします。

情報によると、現在までのところヒトへの感染は確認されていないが、ヒトへの感染源となり得る感染犬が多数飼育されていることから、感染防止対策等の必要な対応方よろしく願います。

また、当該事例への対応と併せて、犬の飼育者への啓発、医師会、獣医師会への周知等、なお一層の動物由来感染症対策の推進をよろしく願います。

(別紙)

健康危機情報

静岡県内のイヌ繁殖施設におけるイヌブルセラ症の流行について

「愛玩動物の衛生管理の徹底に関する研究 (H15-新興-19)」

国立感染症研究所獣医学部 神山 恒夫

静岡県内の一イヌ繁殖施設において飼育犬の間にブルセラ症の流行がみられた。現在までのところ従業員等、ヒトへの感染は確認されていないが流産組織や飼育環境との接触等によるヒトへの伝播の危険性は否定できない。同繁殖施設では感染犬が多数飼育されていることから、施設に関わる従業員等の健康危機管理対策の徹底をはかる必要があると考えられるので、情報を提供する。

概要

静岡県内イヌ繁殖施設(百数十頭飼育)において流産が多発し、ブルセラ症の疑いもあるため検査協力を求める旨、同繁殖施設で診察を行っているA市B動物病院より依頼があった。参考資料に示すように、イヌブルセラ症は感染性は弱いもののヒトに対しても病原性を持つとされているため、上記動物病院を介して提供を受けた飼育犬検体とA市C病院で採血した従業員等の血液の検査を行い、成績はB動物病院ならびにC病院迄通知した。

検査結果

同繁殖施設飼育中のイヌ血液114検体、流産胎子1体、繁殖施設従業員5名と上記動物病院職員6名の血液を入手し、国立感染症研究所獣医学部において試験管凝集反応、PCRによる遺伝子検出、細菌培養試験、および流産胎子の病理組織検索を実施した。いずれの血液試料も入手は一度のみでペア血液は入手できなかった。

イヌ血清の凝集試験の結果、114検体中51検体が抗体陽性であった。血液からDNAを抽出し、ブルセラ特異的BCSP31、OMP2およびOMP31プライマーを用いてPCRを行った結果、114検体中27検体が2種以上のプライマーで陽性反応を示した。少量の検体を用いた培養試験ではこれらの検体から細菌は分離されなかった。

流産胎子検体に対して、各臓器の病理組織学的検索、乳剤のPCR、ならびに培養試験を実施した。その結果、病理組織学的検索では明らかな変化は認められなかった。臓器乳剤のPCRでは陽性反応は認められなかった。細菌培養試験の結果、血液、肝臓、および脾臓からグラム陰性小桿菌が分離され、PCRならびに生化学性状検査によって*Brucella canis*であることが確認された。

繁殖施設従業員、動物病院職員から得られた血液検体は、凝集反応、PCR、培養試験で陰性であった。

考察

以上の成績ならびに当該繁殖施設において流産が多発している状況から、飼育されているイヌの間に*Brucella canis*による汚染が広がっていると判断される。検査試料が採取された時点では当該繁殖施設の感染動物または流産胎仔等と接触した施設職員および動物病院職員に血清反応陽性者は確認されていない。しかしヒト検体、動物検体とも追跡調査のための試料提供に同意が得られなかったため調査は中断した。汚染が施設内飼育犬の過半数におよんでいること、およびそれによる流産が多発していることから従業員等への健康危害の発生が危惧される。

当該繁殖施設と上記動物病院では、投薬等による治療によって飼育犬の清浄化をはかり繁殖業務を統括する等の自主的な対応を検討中である旨、連絡してきた。

なお、当該繁殖施設にイヌブルセラ症の流行があること、本感染症が人獣共通感染症であること、従業員への感染の有無の調査が不十分であることに関し、所轄の保健所等が承知しているかどうかは不明である。

以上

(参考)

(1) イヌブルセラ症の原因菌

*Brucella canis*は*Brucella*属菌の一菌種で、自然界の宿主はイヌである。

(2) ヒトの*Brucella canis*感染

ヒトへの伝播はおもに流産胎児や悪露等との接触が原因とされ、これらに関わる職業上の感染機会が多い。

ヒトに対して感染性を有する*Brucella*属菌のなかでは病原性は最も弱く、波状熱のような重篤な例はまれである。

わが国におけるヒトの*Brucella canis*感染の報告はきわめて希である。これは症状が軽い、もしくは他の疾患と誤認されているためと考えられる。

最近では2002年に東京都で発生した症例（感染症発生動向調査）や慢性疲労症候群の原因と考えられた症例（感染症学会東日本大会、2003年）がある。

(3) イヌの*Brucella canis*感染

イヌからイヌへの伝播は経口と交尾（精液、尿、流産胎仔、悪露、子宮分泌物）が感染源となる。

感染犬の症状は生殖器病変（雄イヌ）や胎盤炎と流産（雌イヌ）である。

血清学的な調査では、わが国では飼い犬の1.6%が感染歴を持つとされるが実態は必ずしも明らかではない。世界的には北米、ヨーロッパ、南米、東南アジアなどから報告されている。

テトラサイクリンの長期投与が有効とされているが、中止後再び菌血症があらわれ、再発するケースが多いとされる。

ワクチンは実用化されていない。集団飼育施設では抗体陽性犬を隔離、淘汰することが有効とされる。

参考資料

Young, EJ : An overview of human brucellosis. *Clin. Infect. Dis.*, 1995, 21:283

上田雄幹：犬のブルセラ症（獣医伝染病類、清水ほか編）、近代出版、1999年、p 252

Chomel, BB : Dogs and bacterial zoonoses (Dogs, zoonoses and public health, Macpherson, CNLほか編)、CABI Publishing、2000年、p 99

今岡浩一：ブルセラ症（動物由来感染症、神山・山田編）、真興交易出版、2003年、p 199

参考2-1

事務連絡
平成16年1月16日

(社) 日本獣医師会 御中

厚生労働省健康局
結核感染症課獣医衛生係

静岡県内の犬繁殖施設におけるイヌブルセラ症の流行について

平素より動物由来感染症対策にご協力頂きありがとうございます。

標記事例については、平成15年11月27日付事務連絡にて情報提供した
ところです。

今般、静岡県衛生主管部（局）より、別紙の通り、感染拡大防止と人への健康被害防止のため、管轄保健所による当該施設等の調査指導が実施されたこと、また、新たな罹患犬の発生や人への感染は確認されていないことについて報告がありましたので、参考としてお知らせいたします。

今後ともなお一層の動物由来感染症対策へのご協力方よろしく申し上げます。

担当：

TEL：03-5253-1111（内 2376, 2384）

03-3595-2263（夜間直通）

FAX：03-3581-6251

E-mail：



衛生第246号
平成16年1月14日

厚生労働省健康局結核感染症課長 様

静岡県健康福祉部長

イヌブルセラ症の発生に関する対応について

このことについて、別添のとおり報告します。

担当 生活衛生室動物愛護係
電話 054-221-2347

イヌブルセラ症の発生に関する対応について

静岡県

1 概要

平成15年10月6日、A市のB動物病院から、犬繁殖施設において6月頃から流産が多発したため、検査したところ、犬6頭中5頭がブルセラ抗体陽性であった旨、当該施設を管轄する保健所に連絡が入った。そのため、保健所はブルセラ症の拡大防止と人への感染を防止するため、当該施設等の調査指導を実施した。なお、保健所での発生探知後、新たな罹患犬の発生や人への感染は確認されていない。

2 経緯及び保健所の対応等

10月7日、当該施設を立入調査し、以下のとおり指示した。

- (1) 施設の消毒を徹底し、廃棄物を適正に処理して環境への汚染防止をすること。
- (2) 飼育犬及び従事者の検査を行うこと。
- (3) 罹患犬は治療を継続し、感染の可能性のある犬は販売しないこと。
- (4) 従事者への感染防止のため長靴・手袋・マスクを着用すること。

10月20日、B動物病院から、国立感染症研究所の検査結果について以下のとおり保健所あて連絡があった。

- (1) 当該施設の犬114頭は、51頭が抗体陽性、27頭が遺伝子検査(PCR)陽性であった。
- (2) B動物病院従事者6人については、陰性であった。

10月29日、B動物病院に対し以下について確認した。

- (1) 当該施設従事者5人は、国立感染症研究所の検査結果は陰性であった。
- (2) 抗体陽性の犬は治療を行うこととした。

10月31日、当該施設を立入調査し、以下について確認した。

- (1) 保健所の指示したとおり施設の消毒等を実施している。
- (2) 10月以降、犬は出荷していない。
- (3) 6月以降の出荷は139頭あり、出荷後に疾病等の苦情を受けていない。
- (4) 当該施設の犬は、平成14年以降外部から導入していない。

11月28日、B動物病院に以下について確認と指示を行った。

- (1) 麻布大学に依頼した抗体陽性犬の胎盤とその子犬5頭の血液の菌培養検査は、陰性であった。
- (2) 当該施設・動物病院従事者に体調の異常を訴えるものは出ていない。
- (3) 従事者に対して、再度感染の有無を確認するための検査を行うこと。

12月1日、当該施設を立入調査し、施設の管理状況と人への感染防止対策について確認した。

1月7日、当該施設を立入調査し、以下のとおり指示した。

- (1)再発防止のため犬の健康管理を十分に行うこと。
- (2)環境汚染及び人への感染防止の対策は継続すること。

1月9日、本県から国立感染症研究所に依頼した2回目の従事者の検査結果は、陰性である旨の回答が当該研究所からあった。

担当 生活衛生室動物愛護係
電話 054-221-2347