

エラ(Q熱)、バルトネラ、野兎病菌、レプトスピラ、ブルセラ菌は否定的であったが、オウム病 CF の軽度～中等度上昇(16～256 倍)が5名全員に認められ、クラミジア感染が疑われた。このため、仔ヘラジカの肺と胎盤について、感染研にてクラミジアの検索を行ったところ、PCR で *C. psittaci* 遺伝子が陽性で、胎盤羊膜のスメアのクラミジア FA 染色も陽性であった。胎盤は病理所見では羊膜炎を呈し、直接蛍光抗体法、免疫組織染色でいずれもクラミジアが羊膜表面で陽性、また電顕でもクラミジアの基本小体が確認された。分離培養されたクラミジアは特異染色で MicroTrak(*C. trachomatis* 特異的)陰性、IMAGEN(*C. pneumoniae* 特異的)陰性、クラミジア FA(クラミジア属特異的)陽性、PCR (*C. psittaci* 特異プライマー)陽性であったため、*C. psittaci* と同定した。この株を用いた micro-IF で、患者血清は同株に対する抗体が全員有意に上昇していた。なお、仔ヘラジカおよび胎盤の細菌学的検索では有意な細菌感染は認められなかった。以上から、本集団発生はヘラジカ出産介助時に、ヘラジカの *C. psittaci* 株を吸引、あるいは経口感染しておこったものと推測された。

ヘラジカ由来 *C. psittaci* の遺伝子学的解析とその感染源に関する調査:胎盤から分離されたクラミジアの遺伝学的性状を解析した。また、この分離株の由来について、性感染症としてヘラジカの間で維持されていた可能性、また

周辺環境に生息している鳥から感染した可能性の2つに注目して解析を進めた。ヘラジカ分離株の遺伝学性状の解析は、外膜タンパク質(*ompA*)の塩基配列を決定し、既報の株と比較し行った。また、精製菌から抽出したゲノム DNA の *Alu1* 制限酵素による切断パターンを、他のクラミジアの株と比較した。次に、この動物公園内で飼育されているヘラジカの血清(当該メスジカの他、オス1、メス1)の分離株に対する抗体価を測定して、ヘラジカ間での流行の可能性を調査した。また、有害駆除された動物公園周辺のカラスおよびドバトの糞便、脾臓、肝臓から PCR による遺伝子検出および塩基配列の決定を行い、ヘラジカ分離株との比較解析を行った。ヘラジカ分離株の *ompA* の塩基配列は、既報のトリ由来 *C. psittaci* に高い相同性を示した。特に、既報の鳩由来株に相同性が高かった。また、PCR により選択的に増幅された微量の集団を解析している危険性を排除するため、*Alu1* 消化によるゲノムパターンの解析を行った結果、*C. psittaci* と同じパターンを示したため、分離された株では *C. psittaci* が主要な population であるか、単独の感染であることが明らかになった。次に、ヘラジカの血清抗体価 Ig(whole)は当該メス感染時1024 倍、感染後9ヶ月で64 倍に減少し、他のメスジカは感染後8ヶ月で64 倍、オスジカは8 倍であり、他のメスが過去に感染していた可能性は残ったが、オスジカが感染していた可能性はきわめて低かった。従って、オスから

交尾によって感染した可能性はきわめて低くなった。さらに、周辺のカラス4羽およびドバト12羽の糞便、肝臓、脾臓から、PCRによる検出を行った結果、ドバト2羽の糞便、うち1羽の肝臓および脾臓も陽性となった。陽性検体の *ompA* 塩基配列は、ヘラジカ分離株とアミノ酸配列で99.8%、塩基配列で99.9%一致していた。従って、今回のアウトブレイクは動物公園の周囲にいたドバトから、何らかの原因でヘラジカに感染し、胎盤で爆発的に増殖したクラミジアがヒトのアウトブレイクの原因となった可能性がきわめて強くなった。このようなケースは世界的にも珍しく、今後もこういったケースが他にもあるのか、広く調査解析を進めていく必要があると思われる。

2) 事例 2.鳥展示施設に関連したオウム病集団発生事例－島根県松江市

2001年12月、島根県内の鳥展示施設において職員と来園者計17名のオウム病集団発生があり、事例の原因究明並びに予防対策の検討のため、トリのオウム病検査、環境の調査、職員の調査等を行うとともに、分離株の解析、検査法並びに治療法も検討した。

事例の発生と探知:2001年12月28日、市内医療機関から島根県松江健康福祉センターに「松江市内の鳥展示施設の実習生がオウム病疑いである」との一報があり、12月31日、同症例はオウ

ム病と確定診断され、患者として同センターへ届けられた。さらに、2002年1月7日～2月15日にかけて同施設職員4例、また5月24日までに同施設の来園者12例(島根県6例、広島県4例、大阪府2例)のオウム病発生届け出がなされた(患者は合計17例)。島根県はオウム病疑いの一報後、直ちに当該鳥展示施設へ立ち入り調査を開始した。その後、医療機関および一般住民へ情報提供するとともに、国立感染症研究所(感染研)実地疫学専門家養成コース(FETP)、リケッチア・クラミジア室等の協力を得、本事例における原因究明のための実地疫学調査を行った。また、当該施設を所管する松江市も住民への情報提供を行い、一般相談窓口を開設するとともに、オウム病の専門家10名で構成するオウム病調査委員会〔委員長:松本 明(岡山大学)〕を設置し、原因究明にかかわる調査を開始した。

疫学調査:当該鳥展示施設は2001年7月23日に島根県松江市内に同市が開設し、鳥約1,300羽を飼育・展示していた。開園以来の入場者数は2002年1月16日(施設一部閉鎖)までに一日平均約1,600人、合計約28.5万人であった。当該鳥展示施設には温帯鳥の温室(W室)と熱帯鳥の温室(T室とP室)があり、W室は鳥が自由に移動しているところを来園者が通過する形態の展示方法で、T室はガラスケージ内での展示の他、オウム類の繋留展示や水鳥の人工池での展示が行われていた。P

室は来園者が手乗りで鳥へ給餌が行える展示形態であった。また、BY室およびS室(2階建て)等施設職員のみが出入りする施設もあり、BY室は展示の待機鳥を飼育し、P室と金網のみで仕切られている一体空間の施設であった。S室は2階が職員の控え室、1階が鳥の餌を作る施設であったが、当該鳥展示施設内には鳥の診療施設が無かったため病鳥の治療および飼育を主に1階で行っていた。また、開園以降も外部施設から鳥を搬入していたが、鳥の適切な検疫は実施されていなかった。さらに、施設鳥の健康管理および病鳥の治療を担当する獣医師が常駐していなかった。施設職員患者の発症日は2001年12月8日～20日であったが、来園者患者の発症日は2001年11月16日～2002年1月9日にわたっていた。来園者患者直近の来園日は2001年11月4日～12月15日、特に12月14日に2例、15日に6例が来園していた。来園者患者の特徴として、12例中10例が午前中に入園していた。これに関して、11月下旬頃からBY室で高圧洗浄機を用いた清掃が午前中いっぱいかけてほぼ毎日行われており、清掃により*C. psittaci*の感染が成立しやすい状況となった可能性もあるが、詳細な検討はできなかった。また、12例すべてが全展示室を見学していたが、そのうち5例は鳥を全く触っていなかった。

施設職員患者の特徴として、患者はすべて鳥の飼育・管理等を担当するスタッフであった。また、施設職員で協力

が得られた93名についてオウム病クラミジア micro-IF 抗体検査を実施した結果、届け出症例以外に8名の血清学的急性感染者(うち6名は無症状、2名はインフルエンザ様の自覚症状があった)が判明した。併せて、職員の勤務場所等にかかわるアンケート調査を実施し、後ろ向きコホート研究を行ったところ、*C. psittaci* 感染リスクはS室1階への立ち入りのみが統計学的に有意であった(RR:3.49、95%信頼区間:1.02～11.93)。

病原体検査:次に、病原体の感染源調査のため2002年1月下旬～2月上旬にかけて当該施設内の落下糞便、施設鳥の総排泄腔スワブ、土や水等の環境検体のサンプリングを行い、県保健環境科学研究所および岐阜大学、ならびに国立感染症研究所においてPCR-RFLP法にて*C. psittaci* 遺伝子の検出を試みた。その結果、落下糞便125検体中T室から8検体、BY室から3検体*C. psittaci* 遺伝子を検出した。*C. psittaci* 遺伝子が検出された検体には、開園当初からいた鳥のケージ内や他施設から移入した鳥のケージ内の落下糞便もあった。また、総排泄腔スワブ252検体中10検体の鳥から*C. psittaci* 遺伝子が検出された。土や水等の環境検体31検体からは*C. psittaci* 遺伝子不検出であった。

トリへの治療効果の検討:なお、検体サンプリング後に当該施設の屋内鳥すべてにテトラサイクリン系抗菌薬の投薬を実施し、投薬前に*C. psittaci* 遺

伝子が検出された鳥については、投薬終了後約3週間の時点での、陰性化と6ヶ月後の陰性の維持を確認した。

今回のオウム病集団発生事例から再発防止策を検討すると、まず施設に展示する鳥は健康体であることが必須であり、また病鳥への即時対応と病気の蔓延防止が求められる。しかし、一部無症状の鳥も *C. psittaci* を保有し、時に排菌することから、鳥からの *C. psittaci* の感染リスクをすべて無くすことはできない。そこで、上述の発生要因等を排除する種々の対策は無論、施設全職員へのオウム病の知識と防疫対策の教育や、さらには来園者についても、オウム病に関する啓発を行う必要がある。さらに、今後集団発生を早期に探知し、適切な対応を取るために施設職員や来園者、施設鳥の情報を集約した形でのサーベイランスの実施が必要と考える。

検出クラミジアの分子生物学的検討:

原因究明のため、飼育鳥のオウム病検査、ならびに患者血清についての検討を行った。A施設での患者発生は2001年10月30日に千葉県B鳥展示施設等から21羽の鳥を移入した後に見られたため、当初これらの移入鳥が感染源として疑われた。そこで感染源を究明するため、同じB施設から鳥を移入した国内C鳥展示施設の協力を得て、C施設の鳥から *C. psittaci* の検出を実施し、A施設で得られた病原体と国内分離株を含めて分子生物学的に比較検討した。

鳥の総排泄腔スワブのPCR検査でクラミジア遺伝子陽性であった18検体(A施設9検体、C施設9検体)のPCR産物、および同材料から分離したクラミジア7株(A施設6株、C施設1株)について、主要外膜蛋白(MOMP)遺伝子配列を決定し比較した。また、AおよびC施設からの分離株の基本小体(EB)を精製し、SDS-PAGEによる泳動パターンを比較すると同時に、鳥由来標準株6BCや、従来の国内発症オウム病症例の鳥分離株とも比較した。

AおよびC施設の鳥から得られたPCR産物や、分離株のMOMP遺伝子の塩基配列およびアミノ酸配列は、それぞれの施設内ではすべて一致していた。一方、C施設株の遺伝子配列が鳥由来標準株6BCならびに、従来の国内発症オウム病症例のインコ分離株と2~0塩基対の相違で、同じく国内発症オウム病症例ハト分離株と4~5塩基対の相違のみで非常に類似していたのに対し、A施設株の遺伝子配列はこれらと14~18塩基対の相違があり、大きく異なっていた。また、EB蛋白質のSDS-PAGE泳動パターンを比較した結果、A施設株のMOMP分子量は約42kDa、一方、C施設株および国内標準株Budgerigar No.1のMOMP分子量は40kDaで、これらの株間で差が見られた。

分離株と患者血清との免疫学的反応性についての検討:そこでさらにA施設で感染した患者の血清(micro-IF-IgG 1:8,192)を用いて、2施設由来株の精製EB蛋白との反応性

についてウエスタンブロッティング法(WB)にて比較解析した。A 施設で感染し発症した患者血清の MOMP に対する反応性は、17 例中 3 例で A 施設由来株に対しては特徴的に反応するバンドが認められたが、C 施設由来株および Budgerigar No.1 では 1 例も認められなかった。一方、過去に国内で発生したオウム病患者血清の MOMP に対する反応性は、C 施設由来株および Budgerigar No.1 に対しては特徴的な反応バンドが認められ、A 施設由来株に対しては認められなかった。以上のことから、今回 A 施設で分離されたクラミジア株が集団発生の原因菌のひとつである可能性は高いと考えられたが、他の株による可能性も否定できないため、さらに検討する必要がある。

病原体検出法の比較検討並びに治療法の検討:オウム病クラミジアの検査には、遺伝子検査は PCR 法で、抗原検査はヒト用クラミジア抗原検出キット「クリアビュー」および「イデア PCE」で行った。また、クラミジアの治療効果を検討するため、約 3 週間の TC 系抗菌薬（クロールオキシテトラサイクリン）を投与し、その治療前後のトリ由来検体で PCR および抗原検査結果を比較した。

①検査法について

オウム病クラミジアの検査法の検討について、ヒト用抗原検出キットのクリアビューおよびイデア PCE は、PCR 法より検出率が低く、

検出した陽性検体も PCR 検査の陽性検体との一致率は低かった。これらのキットは現状の使用法では、トリ検体には適用が困難と考えられた。

②トリの治療効果について

治療前に総排泄腔スワブを採材し、そのトリに 3 週間の TC 系抗菌薬を投与した。治療後、3 週間以上経過した時点で再度検体採取を行った。治療後にはいずれの検体でも PCR 法でクラミジアを検出されなかったことから、治療によるクラミジアの排泄陰性化は十分可能であると思われた。その後半年後の再検査でも陰性が確認された。さらに長期に陰性化が持続するかどうかについて経過観察を行っている。

D 考察

1)事例 1:ヘラジカについてはこれまでオウム病の感染率等についての情報は皆無であり、また緊急の出産という事態ではあったが、動物由来感染症を再認識した職員教育、感染防御対策の実施、健康管理の見直しが必要と考えられた。

今後は動物由来感染症に関して、検査体制（人と動物）、専門家リスト、サーベイランスの整備が必要と考えられた。

2)事例 2:今回の当該施設でのオウム病集団発生にはいくつかの要因が考えられた。まず、当該鳥展示施設には常駐する獣医師がいなかったことに加え、施設全鳥の個体識別や健康管理等の個体管理が不十分であった。特に、外部施設から搬入された鳥の検疫や病鳥の治療、隔離が適切に実施されておらず、*C.psittaci* を蔓延させる原因になった

と考えられた。それに加えて気温の低下に伴う施設の閉鎖系の傾向、さらに、清掃や室内循環型空調および大型除湿機使用等の要因も相乗し、施設空間内へ *C.psittaci* が拡散・滞留し、感染源となったことが推測された。

E 結論

まず動物園のヘラジカからのオウム病を発症事例では、トリ-ヘラジカ-ヒトの感染経路が推測されたことから、今後人獣共通感染症としてのクラミジア感染の広がりを考慮する必要性と予防対策の課題が示された。また鳥展示施設でのオウム病集団発生事例からは、人獣共通感染症発生時の対応や、原因究明並びに予防対策としての検疫体制、サーベイランスにおける課題等が示された。本研究班と動物水族館協会にて全国の鳥獣飼育施設における人獣共通感染症予防対策における実用的なガイドライン作成がすすめられたが、オウム病については、上記の2事例から得られた知見をもとにした提言を盛り込むことができた。

今後は動物由来感染症に関して、職員教育、感染防御対策の実施、健康管理の見直しをすると共に、検査体制(人と動物)、専門家リスト、サーベイランスの整備が必要と考えられた。さらに一般の飼育者や業者、医師に対しても本症に対する啓発を活発に行うことが望まれる。

F 健康危険情報

特筆することはない。

G 研究発表

1. 発表論文

1) 田原研司, 板垣朝夫, 新田則之, 村下伯, 足立 行, 道越小雪, 福士秀人, 中島一敏, 松井珠乃, 大山卓昭, 岡部信彦, 小川基彦, 岸本寿男, 松本 明: 鳥展示施設に関連したオウム病集団発生事例- 島根県松江市. 病原微生物検出情報 (IASR) Vol.23, No.10, 2002

2) 蔡 燕, 小川基彦, 志賀定詞, アグス・セティヨノ, 岸本寿男, 倉根一郎, 新田則之, 田原研司, 板垣朝夫, 道越小雪, 福士秀人: オウム病集団発生事例に関連した病原体の分子生物学的検討. 病原微生物検出情報 (IASR) Vol.23, No.10, 2002

3) 小川基彦, 蔡 燕, 志賀定詞, アグス・セティヨノ, 岸本寿男, 倉根一郎: 鳥からのクラミジア検出法についての検討. 病原微生物検出情報 (IASR) Vol.23, No.10, 2002

4) 多田有希, 谷口晃子, 倉 雅彦, 藤原末男, 坂元 昇, 舟生秀一, 吉田 学, 雨宮文明, 吉川 徹, 中島一敏, 藤井逸人, 新井 智, 大山卓昭, 岡部信彦, 佐藤由子, 佐多徹太郎, 小川基彦, 志賀定詞, 岸本寿男, 福士秀人: シベリアヘラジカから感染した動物公園職員のオウム病集団感染事例- 川崎市. 病原微生物検出情報 (IASR) Vol.23, No.10, 2002

5) 岸本寿男, 蔡 燕, 小川基彦: 動物・ヒト共通感染症の実際 2) オウム病. 感染と抗菌薬, ヴァンメディカル 5:357-361, 2002

6) 岸本寿男, 小川基彦, 志賀定詞: 特集 人畜共通感染症 オウム病. 呼吸 22:38-44, 2003

7) Toshio Kishimoto, M. Ogawa, S. Shiga, I. Kurane, Y. Tada, T. Yoshikawa, I. Fujii, K. Nakashima, T. Arai, T. Oyama, N. Okabe, H. Fukushi: An outbreak of *Chlamydia psittaci* infection in zoo staff members involved in delivery assistance to a siberian elk. Chlamydial Infections Proceedings of the tenth international symposium on human chlamydial infections edited by Schachter, J et al: 2002 131-134

8) Yan Cai, Motohiko Ogawa, Sadashi Shiga, Agus Setiyono, Masanari Ikedo, Toshio Kishimoto, Ichiro Kurane : Application of a one-step polymerase chain reaction to detect psittacosis. Journal of Clinical Microbiologyに投稿中

9) Yan Cai , Motohiko Ogawa, Sadashi Shiga, Agus Setiyono, Toshio Kishimoto, Hideto Fukushi, Koyuki Michigoe, Kenji Tabara An investigation in in detection of *Chlamydoiphila psittaci* in birds' specimens. Veterinary Microbiology に投稿中

10) 厚生労働省結核感染症課事務連絡「小鳥のオウム病の検査方法等ガイドライン」2002年1月

11) 岸本寿男,岩上泰雄,大友良光,竹部久勝,長 則夫「オウム病検査マニュアル」2003年3月

12) 松江フォーゲルパークオウム病調査委員会:松江フォーゲルパークで発生したオウム病調査報告書. 2003年12月

13) 動物展示施設における人と動物の共通感染症対策ガイドライン作成ワーキンググループ 2003. 動物展示施設における人と動物の共通感染症対策ガイドライン2003 (平成15年 厚生科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「動物由来感染症対策としての新しいサーベイランスシステムの開発に関する研究」)

2. 学会発表

1) 岸本寿男:オウム病の臨床疫学的検討ー集団発生2事例から.第20回日本クラミジア研究会シンポジウム1,2002,9.21 岐阜

2) 小川基彦,蔡 燕,志賀定詞,アグス・セティヨノ,岸本寿男,倉根一郎,田原研司,板垣朝夫,福士秀人:鳥獣施設におけるオウム病集団発生時の病原診断と病原体解析について. 第20回日本クラミジア研究会シンポジウム1,2002,9.21 岐阜

3) 蔡 燕,小川基彦,志賀定詞,アグス・セティヨノ,岸本寿男,倉根一郎,田原研司,板垣朝夫,福士秀人: オウム病集団発生事例に関連した病原体の分子生物学的検討,第20回日本クラミジア研究会,2002,9.21 岐阜

4) 岸本寿男: オウム病 シンポジウム「動物由来感染症の疫学、診療、予防」第51回日本感染症学会東日本地方会,2002,10,31 仙台

4) 小川基彦,岸本寿男,志賀定詞,倉根一郎,佐多徹太郎,吉川 徹,多田有希,福士秀人,中島一敏,新井 智,大山卓昭,

岡部信彦:ヘラジカの出産介助に起因する動物園職員のオウム病クラミジア感染症集団発生-第一報 原因クラミジアの同定-第51回日本感染症学会東日本地方会, 2002, 10, 31 仙台

5) 多田有希, 吉川 徹, 中島一敏, 新井智, 大山卓昭, 岡部信彦, 岸本寿男, 小川基彦, 志賀定詞, 倉根一郎:ヘラジカの出産介助に起因する動物園職員のオウム病クラミジア感染症集団発生第二報-5症例の臨床像-51回日本感染症学会東日本地方会, 2002, 10, 31 仙台

6) 岸本寿男, 小川基彦, 蔡 燕, アグスセティヨノ, 志賀定詞, 倉根一郎, 新田則之, 田原研司, 板垣朝夫, 福士秀人, 松本明, 松井珠乃, 中島一敏, 岡部信彦: 島根県の鳥展示施設に関連したオウム病集団発生事例-第一報-臨床疫学的検. 51回日本感染症学会東日本地方会, 2002, 10, 31 仙台

7) 蔡 燕, 小川基彦, 志賀定詞, アグスセティヨノ, 岸本寿男, 倉根一郎, 新田則之, 田原研司, 板垣朝夫, 福士秀人, 松本明, 松井珠乃, 中島一敏, 岡部信彦: 島根県の鳥展示施設に関連したオウム病集団発生事例-第二報-感染源の調査, 検査法, 治療及び病原体の検討. 51回日本感染症学会東日本地方会, 2002, 10, 31 仙台

8) Toshio Kishimoto, Yan Cai,, Motohiko Ogawa,, adashi Shiga, Agus Setiyono, Tamao Matsui, Noriyuki Nitta,, Kenji Tabara, Asao Itagaki,, Hideto Fukushi, Akira Matsumoto: Psittacosis outbreak related to a bird park in Japan. The

third Symposium on Chlamydial infections 2002, 9.23 Seattle

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

厚生労働科学研究費補助金(新興再興感染症研究事業)
動物由来感染症対策としての新しいサーベイランスシステムの開発に関する研究
分担研究報告書

分担研究者 岡部信彦 国立感染症研究所感染症情報センター長

研究協力者	新井 智	国立感染症研究所 感染症情報センター
	新井 智子	国立感染症研究所 感染症情報センター
	大山卓昭	国立感染症研究所 感染症情報センター
	小坂 健	国立感染症研究所 感染症情報センター
	島田 靖	国立感染症研究所 実地疫学専門家養成コース
	成島 悦雄	東京都恩賜上野動物園(日本動物園水族館協会感染症対策委員会)
	中島 一敏	大分医科大学感染分子病態制御研究室
	福本 幸夫	広島市安佐動物公園(日本動物園水族館協会感染症対策委員会)

研究要旨

動物展示施設のヒトと動物の感染リスクの評価と現状の把握の目的から動物展示施設に対するアンケート調査を実施した。また感染症発生動向調査で実施されている患者サーベイランス(感染症サーベイランス)で得られた情報を基に現行サーベイランスの評価を進めた。いくつかの疾患については、サーベイランスの評価と潜在的感染リスクの評価を行った。

アンケート調査から動物展示施設における「動物とのふれあい」時の感染リスク低減のためのガイドラインの必要性が明らかになった。感染症サーベイランスの評価からは、現行サーベイランスで得られている情報では疫学情報が不十分な疾患があることが明らかになり、今後報告される疫学情報の項目について検討される必要が示唆された。

A. 研究目的

動物展示施設は、動物とヒトが常時接触する機会の存在する施設で、展示動物の中にはもともと野生動物であった動物も僅かではあるが飼育されている。これまでに我々は、「動物展示施設における人と動物の共通感染症ガイドライン」を作成し、動物展示施設における、ヒトと動物の両者の健康と安全を目指しガイドラインの作成を進めてきた。昨年度作成したガイドラインは、展示施設全般についての総論部分と疾病ごとの各論部分に分かれて記載されている。ガイドラインは、現時点の情報を基に作成したものであるが、まだ、完全とは言えず、展示施設の実情を調査しながら必要な項目について補完していく必要がある。そこで今回は、施設における感染症の発生状況や、施設での対策について調査し、今後のガイドラインの作成や zoonosis 発生リスクの評価の基礎データとすることを目的としてアンケート調査を行った。

また、現在行われている、感染症発生動向調査で実施されている患者サーベイランス(感染症サーベイランス)における zoonosis の発生状況やサーベイランスの評価を目指し、いくつかの感染症について基礎研究を進めた。

B. 研究方法

1. アンケート調査による動物展示施設のリスク評価

- 1) 日本動物園水族館協会に加入している動物展示施設、162 施設に対して資料1に示すアンケート調査を実施した。アンケート内容は、施設

における感染リスクに関連した項目に限定し調査した。調査用紙は、郵送で送付し、郵送で返信してもらう方法を用いた。調査用紙の記入は、施設の実態を把握している関係者に無記名で記入してもらう方法をとった。

- 2) アンケートの集計は、Mail Maker と MS Excel を用いて入力し、集計した。

2. 感染症発生動向調査事業で実施されている動物由来感染症のサーベイランスの評価

- 1) 感染症発生動向調査で実施されている動物由来感染症の報告患者数を集計し、患者発生状況やシステムの問題点について検討した。さらに、エキノコックス症についてはサーベイランスの届け出基準についての評価を実施し、日本脳炎については、ブタやニワトリの日本脳炎ウイルス保有状況や感染リスクの評価を進めた。

3. 倫理面への配慮

- 1) 動物展示施設におけるアンケートは、施設ごとの対策と現状を把握する目的で実施した。アンケートは、無記名で実施した。また、アンケートはあくまでそれぞれの施設の現状を把握することに努め、個人のプライバシーに踏み込ま

ない形式で進めた。

- 2) 既存のサーベイランスについては、感染症発生動向調査で得られた個人を特定できない情報のみを用いて調査した。
- 3) 動物からの検体の採取は、動物愛護に最大限配慮して動物の拘束時間を最小限に抑えながら実施した。

C. 研究結果

1. 動物展示施設におけるアンケート調査

- 1) アンケートの回答率は、89% (144/162)であった。アンケートに答えた施設のうち、獣医師が常駐又は、派遣・契約で存在しているのは80.5% (116/144施設)、不在又は不明の施設が19.4% (28/144施設)であった。
- 2) ふれあい動物園については、全体の78.4% (113/144)が実施していた。ふれあい動物園に使用している動物の選定は、肉眼的に健康な動物を選定している施設が55.7% (98/176複数選択あり)、常に同じ動物を使用している施設が20.5% (36/176複数選択あり)であった。
- 3) 移動動物園などの園外活動を実施している動物展示施設は、34% (49/144)あり、その動物の選定には、肉眼的に健康な動物69.1% (49/68複数回答あり)や、血清抗体価や生化学的検査によって選定している施設8.8% (6/68複数回答あり)、常に同じ動物を選定している施設8.8% (6/68複数回答あり)が確認された。
- 4) Zoonosisの発生については、昨年一年間ヒトにおいて発生が無かったが、動物においては8施設で発生が確認されていた。その内容は、伝染性膿疱性皮膚炎、ウサギのエンセファリトゾーン、MRSA、サルモネラ症、カンピロバクター症、エルシニア症、抗酸菌症、病原性大腸菌症、アスペルギルス症、アメーバ赤痢(複数回答可)であった。
- 5) 何らかの検疫を実施している施設は、57.6% (83/144)で、何らかの検疫施設を保有している施設は、26% (38/144)であった。

2. サーベイランスの評価

- 1) 感染症発生動向調査事業で実施している感染症サーベイランスで報告されたヒトの症例数は表1の様になった。データは、修正報告されることがあるため、現時点の暫定データを用いた。
- 2) エキノコックス症については、発生動向調査で収集される疫学データを基に、感染リスクの評価を試みたところ、現行サーベイランスで報告対象となっていない国内における居住地および居住歴、動物の飼育歴(特こイヌ)、職業歴なども必要であると考えられた。
- 3) 日本脳炎については、ブタやニワトリの日本脳炎ウイルス感染状況を把握する目的から、7月から9月の期間、静岡県内のブタ血清とニワトリ血

清を採取し、血清からウイルスRNAを抽出して日本脳炎ウイルスのE領域の末端部分と3'非翻訳領域をRT-PCRで増幅を試みた。その結果、3'末端非翻訳領域のみ同一施設で飼育されているブタ(6/41)とニワトリ(4/70)に増幅が確認された。

D. 考察

1. アンケート調査による動物展示施設のリスク評価

- ① 動物展示施設では、「野外動物園」などの園外活動や「ふれあい動物園」などを実施しているにもかかわらず、動物選定の統一的な基準がない点や、ふれあうヒト側の十分な理解も必要であると考えられるため、今後ヒトと動物のふれあい活動におけるガイドラインが必要と考えられた。
- ② 動物展示施設では、ヒトと接触する動物の選定は、ふれあう来園者に対して危害を与えないような動物でしかも気性の穏やかな動物が望まれるため、同一の動物を使用している場合が多いようである。健康な動物の選定については、肉眼的に健康な動物を選択している施設が多いことが示唆された。
- ③ 調査期間におけるヒトのzoonosisの発生は確認されなかった。また動物における感染症の発生把握も行われ、対策が十分検討されていることが示唆された。しかし極めて少数の発生ではあるが動物においてzoonosisの発生が確認されているため、今後とも継続的な感染症対策が必要と考えられた。

2. 感染症発生動向調査事業で実施されている動物由来感染症のサーベイランスの評価

- ① 感染症サーベイランスで確認されているzoonosisの発生は、いくつかのzoonosisを除き、患者発生は極めて少ないか、全く確認されていない。しかし、今回の我々のブタ血清やニワトリ血清を対象とした日本脳炎ウイルスRNAの検索でさえも、日本脳炎ウイルスが環境中に存在している事実を示唆していた。患者発生が極めて少ない感染症や報告のない感染症についても潜在的な感染リスクが存在している可能性があり、患者発生時の対策を検討する必要性が示唆された。継続した基礎研究が必要である。
- ② エキノコックス症を用いて現行サーベイランスの評価を行ったところ、感染症サーベイランスで得られている疫学情報だけでは十分な解析が行えず、個人のプライバシーに十分配慮されながら更に詳しい疫学情報が得られるよう今後検討される必要性が示唆された。

E. 結論

1. 動物展示施設におけるアンケート調査について

- ① ふれあい動物園や移動動物園などヒトと接触する可能性のある展示方法を実施しているため、動物の選定やふれあい時におけるリスク低減に対するガイドライン作成が必要であると考えられた。

2. 感染症発生動向調査で実施されている動物由来感染症のサーベイランスについて

- ① 患者発生が非常に少ない疾患や感染報告のない感染症についても潜在的な感染リスクが存在している可能性があり、患者発生を想定したサーベイランスが必要と考えられた。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 新井 智、中島一敏、大山卓昭、多田有希、藤井速人、成島悦雄、福本幸夫、安藤正樹、吉川徹、岸本寿男、川中正憲、中嶋健介、山田章雄、岡部信彦、動物展示施設における人と動物の共通感染症対策ガイドラインについて、第136回日本獣医学会学術集会、青森県青森市、2003年10月。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
なし

表 1 感染症発生動向調査での患者報告状況(Zoonosis のみ)

分類	疾患名	1999	2000	2001	2002	2003
一類感染症	エボラ出血熱	0	0	0	0	0
	クリミア・コンゴ出血熱	0	0	0	0	0
	ペスト	0	0	0	0	0
	マールブルグ病	0	0	0	0	0
	ラッサ熱	0	0	0	0	0
二類感染症	細菌性赤痢	620	843	844	699	461
三類感染症	腸管出血性大腸菌症	3117	3642	4435	3183	2653
四類感染症	アメーバ赤痢	276	378	429	465	508
	ウエストナイル熱	-	-	-	0	0
	エキノコックス症	7	22	15	10	18
	黄熱	0	0	0	0	0
	オウム病	23	18	35	54	45
	回帰熱	0	0	0	0	0
	Q 熱	12	24	42	47	9
	狂犬病	0	0	0	0	0
	クリプトスポリディウム	4	3	11	109	9
	CJD	92	108	133	147	115
	ジアルジア症	42	98	137	113	87
	腎症候性出血熱	0	0	0	0	0
	炭疽	0	0	0	0	0
	ツツガムシ病	556	791	491	338	0
	デング熱	9	18	50	52	33
	日本紅斑熱	39	38	40	36	51
	日本脳炎	5	7	5	8	1
	破傷風	66	91	80	106	71
	ハンタウイルス肺症候群	0	0	0	0	0
	B ウイルス	0	0	0	0	0
	ブルセラ症	0	0	0	1	0
	発疹チフス	0	0	0	0	0
	マラリア	112	154	109	83	78
	ライム病	14	12	15	15	5

2003 年の改訂前の分類を採用した。

1999～2002 年は 2003 年 3 月現在の確定データである。2003 年は暫定データである。今後、修正報告等で訂正される可能性がある。

広義の意味で Zoonosis である疾患も含む。

資料1 動物展示施設を対象に実施したアンケート内容(アンケート用紙)

○施設を十分理解されている方がご記入ください。

施設の概要

1) 施設の種類(○をつけてください)

公立 私立 第三セクター その他
人、不在)

2) 獣医師の有無(○をつけてください)

(常駐 人、派遣・契約

3) 動物の飼育に従事している人の総数 (役職者、獣医師を含む)

(名)

4) 移動動物園などの園外活動の有無(○をつけてください)

実施している
実施しない

5) 園外活動に使用する動物の選定について(○をつけてください複数選択可)

肉眼的に健康な動物を選択
血清抗体価や生化学的検査結果を基に選定している
常に同じ動物を使用している。
その他

(詳:

6) ふれあい動物園など、来園者と動物(生き物)のふれあいについて(○をつけてください)

実施している
実施しない

7) ふれあい動物園に使用する動物(生き物)の選定について(○をつけてください、複数選択可)

肉眼的に健康な動物を選択
血清抗体価や生化学的検査結果を基に選定している
常に同じ動物を使用している。
その他 (詳

細:

8) 過去1年間(2003年1月~12月)の動物の異動(記入してください)

出産数	点				
死亡数	点				
転入数	点	(国内から	点	国外から	点)
転出数	点	(国内から	点	国外から	点)

9) 斃死動物の取り扱いについて(○をつけてください)

解剖を必ず行っている
半分以上行っている
まれに行っている
殆ど行わない

10) 必ず行っていない施設では解剖を行う基準(理由)を教えてください

(

11) 解剖は主にどこで行っているか(○をつけてください。複数選択可)

自施設の解剖専用室 自施設の代用室(具体的に記述ください)
大学に依頼 その他の施設に依頼

12) 動物の死体の主な扱いについて(○をつけてください。複数選択可)

特定の業者に依頼して焼却している (死亡、解剖ごとに即日 冷凍保管後まとめて)

複数の業者に依頼して焼却している (死亡、解剖ごとに即日 冷凍保管後まとめて)

自施設で焼却している (死亡、解剖ごとに即日 焼却炉内に入れておいてまとめて 冷凍保管後まとめて)

自施設で焼却以外の方法で処理している (埋却 その他)

13) 動物の世話をを行った後の手洗い設備について(○をつけてください)

施設ごとに手洗い場がある

中央施設にある

手洗い施設はない

14) 動物舎ごとに消毒設備(踏み込み消毒槽等)を設置しているか(○をつけてください)

設置している 設置していない

15) 作業用衣類の消毒を実施しているか(○をつけてください) → 実施していると答えた施設

実施している 実施していない

使用後は毎

回消毒する

数日間使用

してから消毒する

16) 作業用衣類の洗浄、洗濯の実施場所はどこか

勤務施設

専門業者

個人個人の自宅で (職場に洗濯施設がない)

17) 鼠や吸血昆虫対策を行っているか(○をつけてください) → 行っていると答えた施設

行っている 行っていない

実施内容 ()

18) 検疫専用施設はあるか(○をつけてください)

ある

ない

19) 新規動物を搬入する場合、検疫を実施しているか(○をつけてください)

実施している

実施していない

→実施していると答えた施設(○をつけてください。複数選択可)=小動物は検疫室、大動物は飼育施設などと言う例が多い

専用室で実施

代用室(病室等)で実施

動物舎で実施

→ 実施していると答えた施設(○をつけてください)

搬入時に実施

搬出時に実施

搬入時と搬出時の両方で実施

実施内容 ()

26) 過去3年以内に従業員が特定の疾患で集団で休んだことがあるか(○をつけてください)
ある ない → あると答えた施設 回/3年間

どのような事例であったか

名～ 名休んだなど

27) 従業員に対しての衛生管理(感染症対策)教育について技術講習会実施の有無(○をつけてください)

講習会を実施している 講習会を実施していない

→実施している都答えた施設

園内のみで実施している 園外でのみ実施している 園内と園外の両方で実施している

どのような講習会を実施しているか(1年間)

対象() 回数(回)
内容; ()

→実施していないと答えた施設

理由を教えてください
()

ご協力ありがとうございました。
結果は、集計でき次第ご報告致します。
その他ご意見がございましたら下記にご記入ください。

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

レプトスピラ病の迅速診断法の確立とサーベイランスへの応用

分担研究者 北海道大学大学院獣医学研究科 動物疾病制御学講座 教授 喜田 宏

研究要旨：

近年、東南アジア、中国、インドなどでレプトスピラ病が流行し、深刻な社会問題を引き起こしている。本病の診断は感染動物の血液や尿または臓器からレプトスピラを分離することによって確定される。レプトスピラの分離培養には少なくとも数日間を要するので、抗生物質による適切な治療がされずに手遅れになる例が多い。従って早期迅速診断法が開発されれば、多くの人命が救われる。そこで、有熱期の患者の血液や尿または臓器中のレプトスピラ抗原を検出する方法を開発することとした。さらにレプトスピラ病の浸潤度を把握するための抗体検出技術の開発を試みた。

レプトスピラ菌体に対するモノクローン抗体を137クローン作出した。そのうち*Leptospira interrogans*種の共通抗原を認識するモノクローン抗体が4クローン得られた。これらはいずれもリポ蛋白質LipL32を認識していた。このモノクローン抗体を用いて*L. interrogans*種レプトスピラに共通の抗原を検出するELISA系を確立した。また、LipL32遺伝子をクローニングし、大腸菌発現系を用いて組換えLipL32を発現させた。次に、組換えLipL32を抗原として抗体を検出するELISA系を確立した。本ELISAは競合法であり、ヒトや様々な動物の抗体サーベイランスに利用できる。

A. 研究目的

レプトスピラ病の診断は感染動物の血液や尿または臓器からレプトスピラを分離することによって確定される。レプトスピラの分離培養には数日間を要するので、抗生物質による治療が手遅れになることが多い。従って、レプトスピラ病を早期に診断するための抗原検出法を開発することが課題である。

*L. interrogans*には250のserovarが存在するので、*L. interrogans*種の共通抗原を検出する方法により診断が確定すれば、直ちに抗生物質による治療を開始できる。そこで、レプトスピラ共通抗原を標的とした抗原検出系、および共通抗原に対する抗体を検出するELISA系を確立することとした。抗体検出系はモノクローン抗体を用いた競合法とすることにより、ヒトや様々な動物に利用できるように計画した。

B. 研究方法

L. interrogans australis Akiyami C株に対するモノクローン抗体を137クローン作出した。これらのクローンから*L. interrogans*種の共通抗原を認識するクローンを選抜した。選抜されたモノクローン抗体が認識する菌体構

成蛋白をウェスタンブロット法と免疫電子顕微鏡法で同定した。このモノクローン抗体を利用した抗原検出ELISA（サンドイッチ法）を確立した。さらに、レプトスピラ培養液を用いてこのELISAの検出感度を求めた。

本モノクローン抗体が認識するリポ蛋白質LipL32を大腸菌発現系を利用して発現し、精製した。LipL32に対するモノクローン抗体を標識競合抗体とし、精製した組換えLipL32蛋白を抗原とした抗体検出用競合ELISAを確立した。このELISAの検出感度は、実験感染マウス血清を用いて評価した。さらに野外豚血清を用いて、本ELISAの抗体スクリーニング法としての有用性を検討した。

なお、すべての動物実験は「北海道大学大学院獣医学研究科・獣医学部において行う動物実験に関するガイドライン」に準拠して行った。

C. 研究結果

作出したモノクローン抗体は137クローンであり、その中の4クローン（D14/2、Y22/1、D58/3、D62-1）は*L. interrogans*の共通抗原を認識していることがわかった。これらのモノクローン抗体は、分子量32～35kdの蛋白を認

識していること、ならびに当該蛋白はエンベロープに存在することがわかった。これらの結果から、モノクローン抗体が認識している蛋白はリポ蛋白LipL32であると同定された。

このLipL32に対するモノクローン抗体を用いて、*L. interrogans*種の共通抗原を検出するELISAを確立した。このELISAによる抗原の検出限界は、現在 $10^{4.8}$ 個/50 μ lである。

LipL32の遺伝子をクローニングし、大腸菌発現系を用いて組換えLipL32を発現させた。本組換え蛋白は、Trx蛋白(15kd)との融合蛋白(47kd)としてニッケルアフィニティーカラムで精製した。精製したLipL32を抗原として、さらにペルオキシダーゼ標識したモノクローン抗体D14/2を競合抗体として用いることにより、抗レプトスピラ抗体を検出する競合ELISA法を確立した。本ELISAの検出感度は顕微鏡下凝集反応(MAT)と同等であった。また、本ELISAを用いて野外豚血清のスクリーニングを実施し、抗体陽性血清を抽出した。これらの血清中の抗レプトスピラ抗体をMATにより確認したところ、血清型icterohaemorrhagiaeとcanicolaに対する抗体であることを確認した。なお、これらの抗体陽性母豚は過去にレプトスピラ感染による流産の経験があることがわかった。

D. 考察

レプトスピラ病の病原診断法は、臨床材料からのレプトスピラの分離である。しかし、レプトスピラの分離培養には5日から数週間を要する。さらに顕微鏡下凝集試験で同定するには、200以上の血清型のレプトスピラ抗血清を用意しておかねばならない。今回開発したLipL32に対するモノクローン抗体を用いた抗原検出ELISAは、*L. interrogans*に属するレプトスピラ感染の特異・早期・迅速診断法として有用である。現在、検出感度を向上させる方法を検討している。

組換えLipL32を抗原とするELISAがレプトスピラ病の抗体スクリーニング法として有用であることが明らかになった。本ELISAは競合法であり、ヒトを含めた様々な動物の抗体サーベイランスに応用可能である。

E. 結論

リポ蛋白LipL32に対するモノクローン抗体を用いて、*L. interrogans*種の共通抗原を検出

するELISAを確立した。また組換えLipL32を抗原とした抗体検出ELISA(競合法)を確立した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Development of sandwich-ELISA with monoclonal antibodies for the detection of LipL32, common envelope antigen of *Leptospira interrogans*. Mutsumi Ito, Yoshihiro Sakoda, Michiko Ushioda, Yuki Ito and Hiroshi Kida 投稿準備中。

(2) Development of competitive ELISA for the detection of antibodies to LipL32, common antigen in *Leptospira interrogans* species. Michiko Ushioda, Yoshihiro Sakoda, Mutsumi Ito, Yuki Ito and Hiroshi Kida 投稿中。

2. 学会発表

(1) 「*Leptospira interrogans*共通抗原に対するモノクローン抗体を用いた抗原検出法の確立」伊藤睦美、迫田義博、潮田道子、井藤勇輝、喜田宏 第135回日本獣医学会学術集会(2003年、東京)講演要旨集 p.114

(2) 「*Leptospira interrogans*共通抗原LipL32に対する抗体検出ELISAの確立」潮田道子、迫田義博、伊藤睦美、井藤勇輝、喜田宏 第135回日本獣医学会学術集会(2003年、東京)講演要旨集 p.114

(3) 「*Leptospira interrogans*共通抗原LipL32に対する抗体を検出する競合ELISAの開発」井藤勇輝、潮田道子、伊藤睦美、迫田義博、喜田宏 第136回日本獣医学会学術集会(2003年、青森)講演要旨集 p.147

(4) 「*Leptospira interrogans*外膜リポ蛋白LipL32に対する抗体を検出する競合ELISAの開発と野外豚血清を用いた評価試験」迫田義博、井藤勇輝、潮田道子、伊藤睦美、小林一彦、喜田宏 第41回レプトスピラシンポジウム(2004年、大阪)4月に発表予定。

H. 知的財産の出願、登録状況

予定なし。

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

野生動物におけるレプトスピラ保有状況調査

分担研究者 渡辺治雄 国立感染症研究所 細菌第一部 部長
協力研究者 小泉信夫 国立感染症研究所 細菌第一部 研究員
研究協力者 谷川力 イカリ消毒技術研究所 所長
研究協力者 林栄治 東京医科歯科大学大学院 助手
研究協力者 牧野敬 神奈川県自然環境保全センター 主査

研究要旨

1. 新たに東京都内5ヶ所で捕獲したドブネズミ 30頭中4頭からレプトスピラが分離された。また分離はできなかったものの、腎臓培養液のPCRにより、これまで本邦では報告のなかった遺伝種 *noguchii* と相同性のある遺伝子断片が検出された。
2. 都内のドブネズミから分離されたレプトスピラ 13 株は、*flaB* 遺伝子の部分塩基配列、制限酵素 *Not I* によるパルスフィールド電気泳動切断パターンおよび抗血清に対する反応性がすべて同一であり、*Leptospira interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae* と同定された。
3. 神奈川県および長崎県のアライグマから分離されたレプトスピラ 3 株について、1 株は *Leptospira interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae* と同定できたが、残り2株については、抗血清の反応性からは serovar *Hedomadis* であることが示唆されたが、*flaB* 遺伝子の部分塩基配列、制限酵素 *Not I* によるパルスフィールド電気泳動切断パターンが *Hedomadis* 標準株とは異なっており、*Hedomadis* に類似するがこれまで国内では未報告の serovar の可能性が示唆された。

研究目的

レプトスピラ症は、スピロヘータの一種である病原性レプトスピラ(*Leptospira*)の感染により起こる人獣共通感染症である。自然界では、げっ歯類を中心として多くの

野生動物が、レプトスピラの保菌動物となっている。レプトスピラは保菌動物の腎臓に定着し、尿中に排出される。ヒトは、この尿との直接的な接触、あるいは尿により汚染された水や土壌との接触により感染す

る。このため、レプトスピラ症のサーベイランスには、レプトスピラの保菌動物を明らかにすることが非常に重要である。本年度も昨年度に引き続き、レプトスピラの重要な保菌動物であるドブネズミを東京都内で捕獲し、レプトスピラの保有状況を調査した。また、ドブネズミから分離されたレプトスピラと神奈川県および長崎県のアライグマから分離されたレプトスピラの性状を、鞭毛の構成遺伝子のひとつである *flaB* の部分塩基配列、制限酵素 *Not I* によるパルスフィールド電気泳動、抗血清との反応性(顕微鏡下凝集試験)により解析した。

方法

1. レプトスピラの分離、培養法

ドブネズミ、アライグマ共に腎臓から、コルトフ培地を用いて分離、培養を行った。培養は、30℃で3ヶ月間行い、一週間ごとに暗視野顕微鏡下でレプトスピラの増殖の有無を観察した。

2. レプトスピラ *flaB* 遺伝子配列解析

分離したレプトスピラより染色体 DNA を抽出し、これを鋳型として *flaB* 特異的プライマーを用いて遺伝子の増幅を行い、その塩基配列の決定を行った。また培養開始24時間後の培養上清1 ml を遠心分離にかけて沈殿を回収し、同様に DNA 抽出、*flaB*-PCR を行った。

3. 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

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、制限酵素 *Not I* で処理し、このブロックを6V/cm、パルスタイム10-60秒、5℃で20時間泳動を行った。

4. 顕微鏡下凝集試験(MAT)

96穴マイクロタイタープレートに、PBSで2段階希釈したレプトスピラ感染アライグマ血清あるいは抗レプトスピラウサギ血清と被検レプトスピラ培養液をそれぞれ25 µl ずつ加え、37℃、3時間インキュベートした後、暗視野顕微鏡下で観察を行った。

結果

1. 東京都内のドブネズミの捕獲状況

本年度は都内5ヶ所でドブネズミの捕獲を行った。

- a) 渋谷区道玄坂周辺 8頭
- b) 台東区不忍池周辺 1頭
- c) 西東京市千川河川敷 2頭
- d) 新宿区新宿3丁目周辺 6頭
- e) 豊島区千川駅周辺 13頭

2. ドブネズミからのレプトスピラ分離状況

渋谷で捕獲された8頭および不忍池周辺の1頭、西東京市の2頭からは、レプトスピラは分離されなかった。一方、新宿3丁目で捕獲されたドブネズミ6頭のうち3頭から、また千川駅周辺で捕獲した1頭から