

また一部の野生鳥類には本病原体が保有されていることが示された。この結果は研究対象であるボレリアのみならず、ウエストナイルウイルスやダニ脳炎ウイルス、紅斑熱リケッチア症、アナプラズマ感染症など他病原体についても同様に、“野生鳥類を介した病原体拡散リスクの評価”に応用できると考えられる。

2. STARI 型ボレリア感染が疑われる症例を見いだした。今後、抗体検査などの病原体診断法の確立が必要である。

### 【謝辞】

マダニ採取にご協力頂きました。全国の鳥類標識調査協力員の皆様に心より御礼申し上げます。

## F. 健康危機情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Hanaoka N, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T, Ando S. Development of a pUC19-based recombinant plasmid to serve as a positive control in PCR for *Orientia tsutsugamushi*. **Microbiology Immunology**. (Accepted)
- Takada N, Fujita H, Kawabata H, Ando S, Sakata A, Takano A, Chaitong U. *Rickettsia japonica* in Thailand. **Emerging Infectious Diseases**. (Accepted)
- Takano A, Ando S, Kishimoto T, Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Kawabata H, Watanabe H. Novel *Ehrlichia* sp. found in *Ixodes granulatus* infested to

rodents in Okinawa, Japan. **Microbiology and Immunology**. (In press)

- Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Ando S, Takano A, Watanabe H, Kawabata H. Isolation of *Rickettsia* sp. from *Ixodes granulatus*, Japan. **Emerging Infectious Diseases** 14: 1963-1965, 2008.

### 2. 学会発表

- 高野 愛, 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 渡邊治雄. 野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討. 第 82 回日本細菌学会総会. 2009 年 3 月. 愛知.
- 大橋典男, 鳥日図, 高蛙, 川森文彦, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男. 国内初の新興感染症「アナプラズマ症」について. 第 82 回日本細菌学会総会. 2009 年 3 月. 愛知.
- 井上 快, 壁谷英則, 川端寛樹, 宇根有美, 吉川泰弘, 丸山総一. 小型哺乳類を自然宿主とする病原性 *Bartonella* 属菌の生態に関する研究. 第 147 回日本獣医学会学術集会. 2009 年 3 月. 栃木.
- 岡田玲奈, 木花いづみ, 武藤麻紀, 高野愛, 川端寛樹, 渡邊治雄. ライム病の一例. 第 823 回日本皮膚科学会東京地方会. 2009 年 1 月. 神奈川.
- 川端寛樹, 高野 愛, 渡邊治雄. 実験室内に病原体の姿を探る. 第 63 回日本衛生動物学会西日本支部大会(教育講演). 2008 年 11 月. 神戸.
- 大橋典男, 高蛙, 鳥日図, 川森文彦, 千屋誠造, 安藤秀二, 川端寛樹, 岸本壽男. 新興感染症「アナプラズマ症」患者の発見. 第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研

- 究会合同学術集会, 2008年11月, 岐阜.
- 安藤秀二, 坂田明子, 宇根有美, 五箇公一, 藤田博己, 花岡希, 高野愛, 川端寛樹, 岸本寿男. 輸入爬虫類が病原体を持ち込むリスクに関する考察. 第26回日本クラミジア研究会・第15回リケッチア研究会合同学術集会, 2008年11月, 岐阜.
  - 岸本寿男, 安藤秀二, 猪熊壽, 岩崎博道, 大橋典男, 岡部信彦, 川端寛樹, 倉田毅, 高田伸弘, 堤寛, 田原研司, 藤田博己, 古屋由美子, 山本正吾. リケッチア感染症の早期警鐘システム構築-国内実態調査及び早期診断体制の確立に向けた現状と課題. 第26回日本クラミジア研究会・第15回リケッチア研究会合同学術集会, 2008年11月, 岐阜.
  - 安藤秀二, 坂田明子, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 花岡希, 高野愛, 川端寛樹, 渡邊治雄, 岸本寿男. 鳥類に関連するマダニ類からのリケッチアの検出. 第146回日本獣医学会学術集会, 2008年9月, 宮崎.
  - 高野愛, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 渡邊治雄. 野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討. 第146回日本獣医学会学術集会, 2008年9月, 宮崎.
  - 森 亜紀奈, 今内 覚, 山田慎二, 今村彩貴, 伊東拓也, 川端寛樹, 小沼 操, 大橋 和彦. シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 唾液腺由来免疫抑制因子の同定および発現解析. 第146回日本獣医学会学術集会, 2008年9月, 宮崎.
  - 下長根藍, 井上 快, 壁谷英則, 川端寛樹, 高田伸弘, 林谷秀樹, 丸山総一, わが国の野鼠における *Yersinia enterocolitica* の保有状況と分離株の *gyrB* 遺伝子系統解析. 第146回日本獣医学会学術集会, 2008年9月, 宮崎.
  - 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 坂田明子, 武藤麻紀, 高野愛, 山内健生, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男. 鳥類外部寄生虫からの病原体の検出—鳥類標識調査を主とした外部寄生虫採集—. 日本鳥学会2008年度大会, 2008年9月, 東京.
  - 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 坂田明子, 高野愛. 福島県のハシブトマダニとタネガタマダニからのリケッチア分離例. 第60回日本衛生動物学会大会, 2008年4月, 栃木.
  - 本田俊郎, 藤田博己, 藏元強, 御供田睦代, 角坂照貴, 高田伸弘, 矢野泰弘, 川端寛樹, 高野愛, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎. 鹿児島県トカラ列島のマダニ相とマダニ保有病原体の調査. 第60回日本衛生動物学会大会, 2008年4月, 栃木.
  - 本田俊郎, 角坂照貴, 川端寛樹, 高野愛, 藤田博己, 藏元強, 御供田睦代, 高田伸弘, 矢野泰弘, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎. 鹿児島県トカラ列島の野鼠類と野鼠保有病原体の調査. 第60回日本衛生動物学会大会, 2008年4月, 栃木.
  - 川端寛樹, 坂田明子, 安藤秀二, 高野愛, 渡邊治雄, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己. 国内生態系における *Borrelia* 属細菌の拡散に関与する宿主鳥類と媒介マダニ. 第60回日本衛生動物学会大会, 2008年4月, 栃木.
  - 川端寛樹, 高野愛, 安藤秀二, 花岡希, 坂田明子, 藤田博己, 河村好章, 清島真理子, 角坂

照貴, 渡辺治雄. マダニ刺咬例調査によって  
見いだされた新しいボレリア感染症. 第 82 回  
日本感染症学会総会 2008 年 4 月. 島根

- 田原研司, 藤田博己, 新井 智, 矢野泰弘,  
高田伸弘, 片山 丘, 川端寛樹. 島根県にお  
けるダニ媒介性感染症の実態と病原体の浸  
透状況. 第 82 回日本感染症学会総会 2008  
年 4 月. 島根.

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予 定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

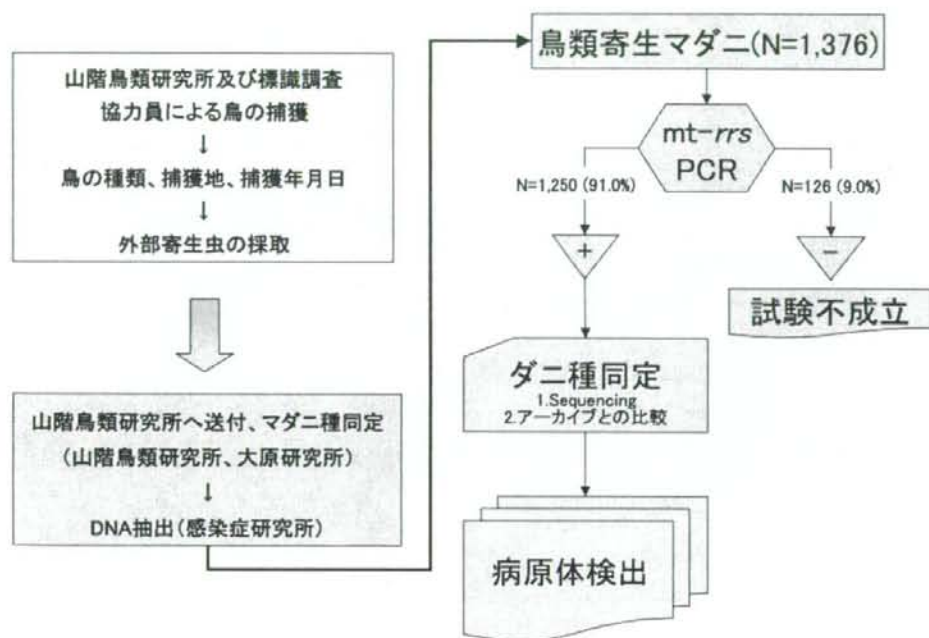


図 1. 病原体検索の流れ図

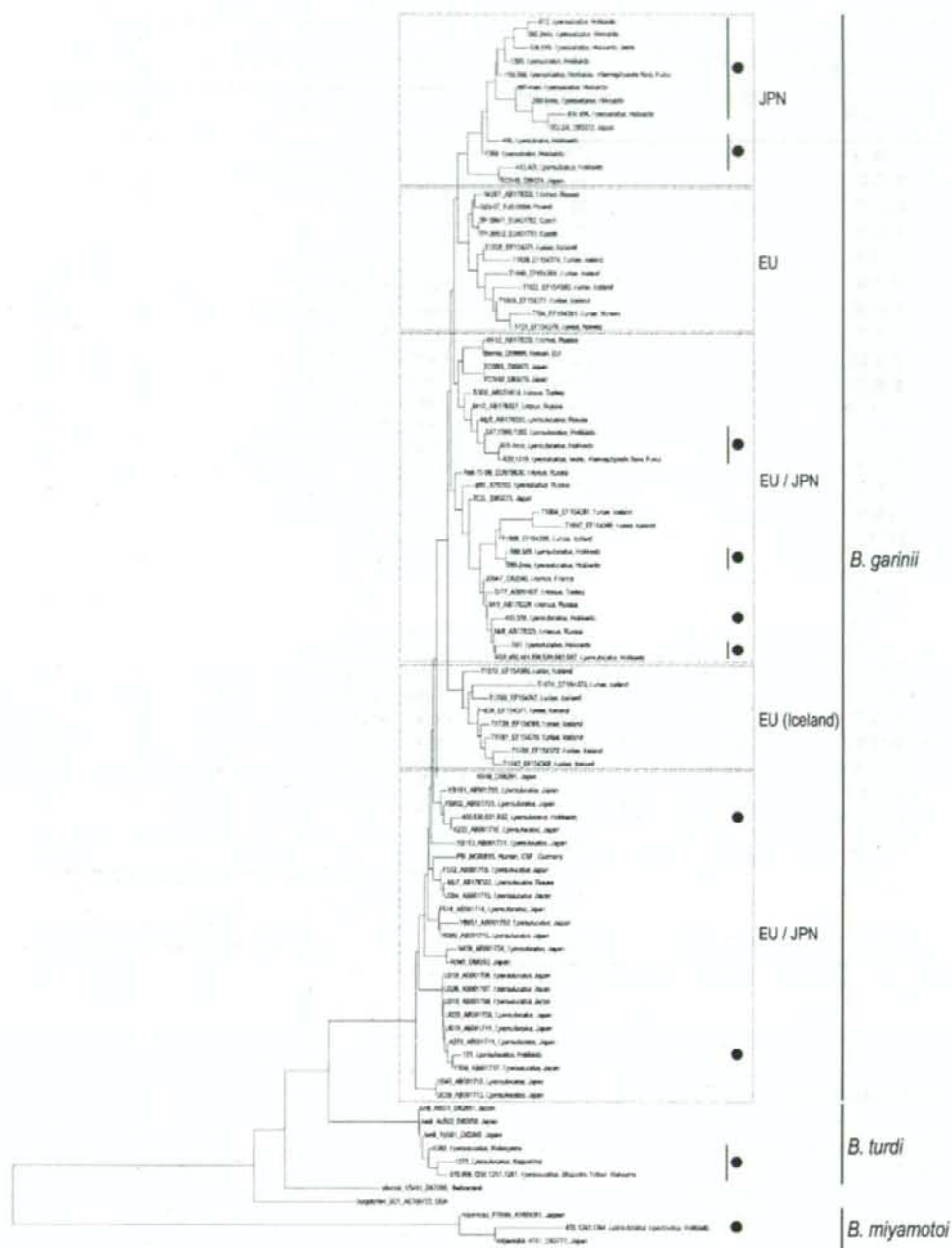


図2 野生鳥類寄生幼虫マダニより検出されたボレリアとその鞭毛抗原遺伝子(*flaB*)による系統解析  
 ●は本研究で見いだされたボレリアを示す。EU: Russia (極東地域を含む), Poland, Czech, Iceland, Norway, Turkey, Germany, France を含むヨーロッパ諸国で検出されるボレリアを示した。EU(Iceland):Iceland 以外の欧州諸国では報告の無いボレリアを示した。JPN: Japan 国内でこれまで報告があるボレリアを示した。



表 1. 野生鳥類寄生マダニの採取地と捕獲マダニ数、および病原体検索に用いたマダニ数

| 都道府県 | 捕獲マダニ数 | 病原体検索に用いたマダニ数*1 |
|------|--------|-----------------|
| 北海道  | 385    | 377             |
| 青森県  | 29     | 29              |
| 岩手県  | 58     | 39              |
| 宮城県  | 7      | 7               |
| 秋田県  | 3      | 3               |
| 福島県  | 3      | 3               |
| 茨城県  | 9      | 5               |
| 栃木県  | 4      | 4               |
| 千葉県  | 52     | 24              |
| 東京都  | 7      | 4               |
| 神奈川県 | 23     | 17              |
| 新潟県  | 17     | 17              |
| 石川県  | 1      | 1               |
| 福井県  | 244    | 241             |
| 山梨県  | 43     | 32              |
| 静岡県  | 5      | 5               |
| 愛知県  | 14     | 14              |
| 三重県  | 14     | 1               |
| 京都府  | 3      | 3               |
| 大阪府  | 10     | 9               |
| 兵庫県  | 10     | 10              |
| 和歌山県 | 111    | 111             |
| 鳥取県  | 54     | 54              |
| 島根県  | 54     | 52              |
| 広島県  | 3      | 3               |
| 愛媛県  | 55     | 53              |
| 福岡県  | 3      | 3               |
| 長崎県  | 52     | 49              |
| 宮崎県  | 5      | 5               |
| 鹿児島県 | 33     | 32              |
| 沖縄県  | 65     | 43              |
| 計    | 1,376  | 1,250           |

\*1: Tick mt-rrs 陽性の 1250 個体を病原体検索に用いた

表 2. 本研究で採取した野生鳥類寄生マダニおよび植生上から採取したマダニ種一覧

| ダニ種                                 | 鳥寄生<br>*1 | 植生上<br>*2 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|
| <i>Amblyomma geoemydae</i>          | 2         | 4         |
| <i>Amblyomma testudinarium</i>      | 3         | 1         |
| <i>Argas japonicus</i>              | 43        | 0         |
| <i>Argas sp.</i>                    | 1         | 0         |
| <i>Carios sp.</i>                   | 7         | 0         |
| <i>Haemaphysalis cornigera</i>      | 0         | 2         |
| <i>Haemaphysalis flava</i>          | 414       | 12        |
| <i>Haemaphysalis formosensis</i>    | 51        | 13        |
| <i>Haemaphysalis fujisana</i>       | 1         | 0         |
| <i>Haemaphysalis hystricis</i>      | 30        | 23        |
| <i>Haemaphysalis kitaokai</i>       | 0         | 8         |
| <i>Haemaphysalis japonica</i>       | 1         | 12        |
| <i>Haemaphysalis longicornis</i>    | 6         | 28        |
| <i>Haemaphysalis megaspinoza</i>    | 36        | 9         |
| <i>Haemaphysalis mageshimaensis</i> | 0         | 4         |
| <i>Haemaphysalis phasiana</i>       | 1         | 0         |
| <i>Haemaphysalis wellingtoni</i>    | 2         | 0         |
| <i>Haemaphysalis yeni</i>           | 1         | 2         |
| <i>Haemaphysalis sp.</i>            | 54        | 0         |
| <i>Ixodes asanumai</i>              | 4         | 0         |
| <i>Ixodes acutitarsus</i>           | 0         | 2         |
| <i>Ixodes columnae</i>              | 2         | 0         |
| <i>Ixodes monospinosus</i>          | 3         | 0         |
| <i>Ixodes nipponensis</i>           | 7         | 0         |
| <i>Ixodes pavlovskyi</i>            | 15        | 1         |
| <i>Ixodes persulcatus</i>           | 387       | 46        |
| <i>Ixodes philipi</i>               | 2         | 2         |
| <i>Ixodes signatus</i>              | 1         | 0         |
| <i>Ixodes turdus</i>                | 238       | 0         |
| <i>Ixodes ovatus</i>                | 0         | 149       |
| <i>Ixodes sp.</i>                   | 64        | 0         |
| 計                                   | 1,376     | 318       |

\*1: 野生鳥類寄生マダニとして採取された数(本研究)

\*2: 植生上から採取されたマダニ数. Takano A et al. Novel *Ehrlichia* sp. found in *Ixodes granulatus* infested to rodents in Okinawa, Japan. *Microbiology and Immunology*. 2009. (In press) より改変

表 3. 本研究で見出されたボレリア種

| Group/species                    | PCR 陽性数 |
|----------------------------------|---------|
| Lyme group                       |         |
| <i>B. afzelii</i>                | 1       |
| <i>B. garinii</i>                | 52      |
| <i>B. turdi</i>                  | 28      |
| STARI group                      |         |
| <i>B. miyamotoi</i>              | 4       |
| <i>Borrelia lonestari</i> - like | 2       |
| 合計                               | 87      |

## コリネバクテリウムに関する研究

分担研究者 高橋元秀 (国立感染症研究所 細菌第二部)

### 研究協力者

小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、見理 剛 (国立感染症研究所)  
勝川千尋、河原隆二、井上 清 (大阪府立公衆衛生研究所)  
山岸寛明、太田優、西野俊治 (大阪府犬管理指導所)  
中嶋 洋、狩屋英明 (岡山県環境保健センター)  
安井正広、難波泰治、片山真琴、井戸 司 (岡山県食肉衛生検査所)  
小林知也、東 正秋、橋本英典、藤原慎一 (岡山県動物愛護センター)  
畠山 敬、渡邊 節 (宮城県保健環境センター)、  
吉岡幸信 (宮城県食肉衛生検査所)  
森田幸雄、小澤邦寿 (群馬県衛生環境研究所)  
松本寿男 (群馬県中央食肉衛生検査所)

### 研究要旨

1. 大阪府の犬管理指導所において 2006 年 12 月～2008 年 12 月の間に合計 648 頭を検査した結果、昨年 7 月に国内で初めてジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* を分離し、その後、本年度は 399 等の調査で 40 頭が菌分離が陽性であった。菌の解析結果と収容所の管理状況調査により、犬から犬への伝播は容易であることが明らかとなった。犬から分離した菌株は過去にジフテリア様症状の人から分離された株との遺伝子学的解析では、相同性において類似性が確認された。
2. 宮城県では調査対象の犬猫 (84 頭)、牛 (20 頭) は PCR および菌分離いずれも陰性であった。検査した豚 103 頭のうち 7 頭に疑わしい遺伝子が確認され、シーケンスでの配列を検討中である。
3. 群馬県では、34 頭の牛病畜 (主に乳房炎、関節炎) の調査結果、陰性であった。について検査を実施した結果、PCR および菌分離いずれも陰性であった。また、末期がん患者の気道偽膜から *C. jeikeium* を分離したが、PCR 法によるジフテリア毒素遺伝子は陰性であることを確認した。
4. 岡山県の調査は、10 頭の牛病畜 (乳房炎、関節炎)、10 頭の健康牛および 14 頭のイヌを実施したが、菌分離および PCR による毒素遺伝子いずれも陰性であった。

### A. 研究目的

ジフテリアは *C. diphtheriae* に起因する急性呼吸器疾患である。2001 年千葉県で、ジフテリア様患者からジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* が分離され、結核感染症課から本菌が分離された場合は報告する旨の通知がされた。その後、3 例の患者からの菌分離事例では当局への報告が遅れたこと、*C. ulcerans* 感染に関して感染症法での位置づけがないた

めに行政を中心とした疫学・環境調査ができていない。

ジフテリア毒素産生 *C. ulcerans* 感染はジフテリアに極めて類似する病態を呈し、動物から感染する可能性が国内外の感染報告から指摘されているが、その実態は不明な点が多く、その自然界における実態を把握する必要がある。過去に実施したイエネコでの限られた調査では明確な結論が得られなかったため、

調査対象を更に拡大し、生態系でどのように維持されているか、菌の分布、疫学等の調査により明らかにする。

## B. 研究方法

### 1. 調査対象地区と動物

(1)大阪府では昨年と同様に行政が収容した犬の調査を2008年4月から12月にかけて実施した。

(2)岡山県では行政が収容した犬およびと畜場の牛について2008年7月から10月の期間で菌分離調査を実施した。

(3)宮城県では行政が収容した犬猫およびと畜場の牛と豚について2008年7月から11月の期間で菌分離調査を実施した。

(4)群馬県ではと畜場の牛について2008年7月から11月の期間で菌分離調査を実施した。

### 2. 検体の採取、培養検査、同定

犬および猫からの採材は安楽殺処分直後、咽頭ぬぐい液をシードスワブγ3号(栄研化学)で採取、培養検査開始まで4℃で保存した。検体は採取当日に分離培養を開始したが、週末を挟む場合は翌月曜日まで3日間4℃で保存、その後分離培養を開始した。

と畜での採材はと殺後すみやかに咽頭、外耳および肛門周囲をシードスワブγ3号(栄研化学)で採取、培養検査開始まで4℃で保存した。また、乳房炎、関節炎、皮膚炎等の患部は切開後、同様にぬぐい液を採取した。

### 3. 培地および培養方法

培養は検体をヒツジ血液寒天培地および亜テルル酸カリウム・活性炭末加ヒツジ血液寒天培地(以下、K培地)に塗抹、血液寒天培地は18~24時間後、K培地は24、48、72時間後に疑われる集落について性状を検査した。同定はDSS培地による糖分解性状のスクリーニング、カタラーゼ試験、ウレアーゼ試験を実施した後、api Coryne(bioMerieux)を用いて確定した。また必要に応じて、毒素産生性は毒素遺伝子のAサブユニットを特異的に増幅するプライマーを用いたPCR、Elek法およ

び培養細胞法で確認した。PCRで増幅が認められない場合は、Bサブユニットを特異的に増幅するプライマーおよび毒素遺伝子の全領域を増幅するプライマーを用いてPCRを実施した。

### 4. 分離菌株の解析

Pulsed-field gel electrophoresis(PFGE) PFGEは制限酵素:Sfi I、泳動装置:CHEF-DR II(BioRad)、1.5%ゲル、泳動条件は14℃、6V/cm、5-20sec 18hrs、1-5sec 14hrsで行った。結果はUPGAMA法で解析した。

ジフテリア毒素遺伝子の解析: PCR、Elek法および培養細胞法で毒素産生が確認できた菌株について、その毒素遺伝子の全領域を増幅するプライマーを用いPCRを実施、増幅産物の塩基配列を決定した。

### (倫理面への配慮)

動物実験は国立感染症研究所動物実験委員会の審査許可を受けて行われた。また、獣医師会を通じた調査では患犬の飼い主へインフォームドコンセントをおこない、同意書への署名を記録として残した。

## C. 研究結果

本年度に実施した対象県と対象動物についての菌分離の結果を表1に示し、各県の成績は以下に示す。

### (1)大阪府の調査

4月から12月にかけて大阪府が収容した犬684頭中399頭から採材した。収容数に対する採材数の割合、約58%、一ヶ月の最低採材頭数、32頭、最大採材頭数、56頭、月平均、約44頭であった。培養検査の結果40頭から*C. ulcerans*が検出され、37頭からはジフテリア毒素産生性*C. ulcerans*、2頭からはジフテリア毒素非産生ジフテリア毒素産生*C. ulcerans*、1頭からはジフテリア毒素産生性*C. ulcerans*およびジフテリア毒素非産生*C. ulcerans*が同時に検出された。*C. ulcerans*が検出された犬40頭は外観上すべて感染を示す兆候を認めなかった。



ジフテリア毒素非産生株はAサブユニットを特異的に増幅するプライマー、Bサブユニットを特異的に増幅するプライマーおよび毒素遺伝子の全領域を増幅するプライマーを用いたPCRで増幅が認められず、Elek法でも陰性であった。検出菌株数の時系列推移を図1に示した。C. ulcerans 検出陽性例は4月4日から6月3日、7月15日から25日、9月16日から10月7日にかけての3期間に集中して認められた。

分離されたC. ulcerans 41菌株の培養結果、性状および解析結果をまとめて表2に示した。培養検査においてK培地では41菌株すべてを分離できたが、血液寒天培地で分離できたのは3株のみであった。apiプロファイルはすべて一致。PFGEでも4月から9月15日までの分離株はすべて100%一致した。毒素遺伝子も4月から10月の分離株はすべて一致し、この型をtox0804型とした。11月の分離株はtox0804型とは異なり、2007年8月分離株と一致するtox0708型であった。

(2)岡山県では行政が収容した14匹の犬(雄8頭、雌6頭)について検査した結果、菌分離およびPCRともに陰性であった。と畜場に搬入された健康牛20頭の外耳および肛門周囲のふき取り検体の試験では菌培養とPCR試験結果は陰性であった。なお、コリネ属菌としては、5株のC. glucuronolyticum、1株のC. urealyticum および1株のC. argentoratenseが分離された。病畜牛として診断された関節炎(ダウナー症候群、周囲炎を含む)の10頭の関節液および3頭の乳房炎の乳房組織および3頭の乳汁の検査結果は、すべて陰性であった。

(3)宮城県では行政(7管内)が収容した55匹の犬と29匹の猫(それぞれ仙南管内は8と1、塩釜管内は16と9、大崎管内は5と5、登米管内は9と1、石巻管内は5と5、栗原管内は7と3、気仙沼管内は5と5)の咽頭拭い液について調査した結果、菌分離およびPCRいずれも陰性であった。と畜場の20頭の牛

(産地は白石市は5、北海道は15)および豚(産地は登米市35、栗原市25、大崎市20、加美町10、石巻市5、福島市5および不明3頭)についての結果は菌分離はすべて陰性であった。豚についてはPCRの結果が同一農場から出荷された豚から採取した検体について擬陽性と判定された

(4)群馬県ではと畜場の病畜牛(乳房炎、関節炎、皮膚炎)34頭について調査した。34頭のうち22頭から分離された84集落(DSS培地の高層部が青色を呈した集落)についてジフテリア毒素遺伝子を検出するPCR法を試みたが、すべて陰性であった。

#### D. 考察

大阪府での調査:2007年8月に犬からの国内初のジフテリア毒素産生性C. ulceransの分離を受けて、その検出状況の季節変動を調査するため1年間を通じて犬の保菌検査を実施した(調査開始2007年11月27日、調査終了2008年12月26日)。平成19年度の調査(2007年11月27日から2008年3月31日)では検査総数176頭であり、3月に採取した4検体よりジフテリア毒素産生性C. ulceransを分離した。菌が分離された4頭の飼い主はすべて同一であり4菌株(0803グループ)はPFGEパターンが100%一致、毒素遺伝子の塩基配列も100%一致したことから、飼育集団内の菌の伝播が明らかとなった。本年度の調査においては検査総数399頭のうち40頭からC. ulceransを検出したが、11月の1頭の検出事例を除いてその検出状況は3つのピークを示した。個別のピークを詳細に検討すると、大阪府の収容する犬は府下全域(大阪市、堺市、東大阪市を除く)から集まっており、菌が検出された犬は特定の地域由来ではなかった。さらにPFGEパターンが一致、毒素遺伝子の塩基配列が一致することから、それぞれのピークは収容所内での感染が連続的に起こったことが原因ではないかと疑われた。またC. ulceransが検出された犬はすべて外観上異常を認めなかった。犬の感染につ

いては口腔潰瘍の部位での *C. ulcerans* の増殖、飼い主への感染といった報告があるが、本事例では犬の犬歯が口腔を傷つけその部分で *C. ulcerans* が増殖している。これを創傷部への日和見感染として考えると、今回調査した犬では他の感染症例もほとんどないことから *C. ulcerans* の犬への病原性は非常に低いと考えられる。従って、密集した状況下で管理されている犬では無症状のうちに容易に犬から犬へと *C. ulcerans* が伝播されることが明らかとなった。

菌の検出時期は3月から11月であり、12月から2月の冬季には分離されなかった。分離されない時期が存在することは犬が *C. ulcerans* を恒常的に保有しているのではないことを示す。自然界では犬以外の動物間で *C. ulcerans* が維持されていることも考えられ、動物の野外での活動が活発になる時期、犬への伝播が起こることも考えられる。

分離菌の PFGE 解析では4月から9月15日までの分離株34株(0804グループ)はすべて100%一致した。犬から分離した菌では2007年7月の分離株(0708)は大分県で人から分離された菌株(0510)と100%一致していた。人の分離株との関連性を明らかにするため3月の犬由来0803グループ株とともに解析を行った結果(図2)、本年度の犬由来0804グループ株は岡山県で人から分離された菌株(0609)と100%一致した。その結果、千葉県人由来株(0102および0210)、神奈川県人由来株(0607)、岡山県人由来株(0509)および犬由来0804グループ株はほぼ同一グループであると判定された。これに対して犬由来0803グループ株は千葉グループとは若干異なっている。データでは示していないが本グループは和歌山でシャチから分離された菌株と近いパターンである。大分県人由来株(0510)および犬由来0708株は千葉グループおよび犬由来0803グループ株とは異なるPFGEパターンを示し、明らかに別系統であることが判明した。以上から、わが国の現在までに分離された株は3系統の *C. ulcerans* が存在することを確認した。

分離された *C. ulcerans* の毒素の遺伝子の塩基配列およびアミノ酸配列を比較した結果(表3)、大阪の犬由来株は2007年7月および2008年11月分離の tox0708 型、2008年3月に分離された4株の tox0803 型、本年度の調査で4月から10月に分離された tox0804 型の3型に分類された。それぞれのアミノ酸は最大1.07%の相違しか認められなかったのに対して、*Corynebacterium diphtheriae* に対しては5%前後の相違が認められた。この様に *C. ulcerans* の毒素遺伝子は1つのクラスターを形成することから、*C. diphtheriae* の毒素遺伝子とは異なった独自の進化を遂げてきたことが推測される。また、ジフテリア毒素産生遺伝子はファージによって伝達されることが報告されているが、今回の結果は種を超えての伝達は起こっていないことが明らかとなった。犬由来 tox0708 型菌は大分県人由来菌(0510)と犬由来 tox0804 型菌は人由来菌(0102、0210、0509、0607)と毒素遺伝子が100%一致しており、系統樹解析では PFGE とほぼ一致した傾向を示した(図3)。

調査対象が限られており、分離菌株数も少なく、多型性の程度も不明ではあるが、PFGE および毒素遺伝子の解析結果で人分離株と犬分離株が一致した事実は人への感染に犬が介在する可能性を示すものである。

なお、限局して少数の猫、牛、豚についても同様に調査実施したが、現在のところ菌分離は確認していない。

## E. 結論

(1) 昨年度、国内で初めて大阪府の野外収容犬からジフテリア毒素原性 *C. ulcerans* を分離、同定した。

(2) 大阪府の追跡調査では、菌は調査地域内において継続的に複数の場所から収集した外見上は異常は認められなかったイヌから分離された。

(3) 菌の分離時期は冬場は検出されず、3-7月が中心であった。

(4) 分離した菌は分子生物学的、遺伝学的解析



で3グループに分類された。

(5) 解析結果と収容所内での管理状況調査により、イヌからイヌへの伝播は容易であることが明らかとなった。

(6) 過去にジフテリア様症状の人から分離された株の比較では、相同性において類似性も確認された。

(7) 3県で実施した畜産動物(牛:700頭、豚:100頭)の調査では、本菌は検出していない。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) Seto Y, Komiya T, Iwaki M, Kohda T, Mukamoto M, Takahashi M, and Kozaki S.: Properties of corynephage attachment site and molecular epidemiology of *Corynebacterium ulcerans* isolated from humans and animals in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 61(2):116-22. 2008
- (2) 勝川千尋、河原隆二、井上 清、石井篤嗣、山岸寛明、木田一裕、西野俊治、長浜伸也、小宮貴子、岩城正昭、高橋本邦で初めてイヌから分離されたジフテリア

毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 病原微生物検出情報 29.2.2008

##### 2. 学会発表

- (1) 勝川千尋、小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀: 本邦で初めてイヌから分離されたジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 第81回日本細菌学会総会 平成20年3月 京都
- (2) Takako Komiya, Shin-ichi Nureki, Shoji Asakura, Masaaki Iwaki, Yoshichika Arakawa and Motohide Takahashi. Recent *Corynebacterium ulcerans* cases in Japan. Ninth ELWGD & Diphtheria Surveillance Network (DIPNET), October 2008, Athens (Greece).
- (3) 小宮貴子、岩城正昭、荒川宜親、高橋元秀、畑中 章生、角田篤信: 参考症例 *Corynebacterium ulcerans* 感染症、第19回日本臨床微生物学会総会 2008

#### 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

表1. 本年度のコリネバクテリウム属菌の分布調査実施状況

| 都道府県 | 対象動物     | 材料採取部位   | 調査数 | 陽性数  |      | 調査期間         |
|------|----------|----------|-----|------|------|--------------|
|      |          |          |     | 試験法  |      |              |
|      |          |          |     | 菌分離  | PCR  |              |
| 大阪府  | 犬:愛護センター | 咽頭拭い液    | 399 | 40*1 | —*2  | 20年4月～20年12月 |
|      | 犬:愛護センター | 咽頭拭い液    | 14  | 0    | 0    |              |
| 岡山県  | 牛:と畜場 健康 | 外耳、肛門拭い液 | 20  | 0    | 0    | 20年7月～10月    |
|      | 牛:と畜場 病畜 | 患部拭い液    | 16  | 0    | 0    |              |
| 宮城県  | 犬:愛護センター | 咽頭拭い液    | 55  | 0    | 0    | 20年7月～11月    |
|      | 猫:愛護センター | 咽頭拭い液    | 29  | 0    | 0    |              |
|      | 牛:と畜場    | 咽頭拭い液    | 20  | 0    | 0    |              |
|      | 豚:と畜場    | 咽頭拭い液    | 103 | 0    | 7 擬陽 |              |
| 群馬県  | 牛:と畜場 病畜 | 患部拭い液    | 34  | 0    | 0    | 20年7月～11月    |

\*1: 毒素産生菌は37匹、毒素非産生菌は2匹、産生・非産生の両菌が1匹

\*2: 実施せず



表2. 分離された *C. ulcerans* 41菌株の培養結果、性状および解析結果

| 採材日 | イヌ個体番号 | 分離培地 |     | api Coryne | toxPCR | Elek | PFGE | st遺伝子       |      |
|-----|--------|------|-----|------------|--------|------|------|-------------|------|
|     |        | BA   | K培地 |            |        |      |      |             |      |
| 1   | 4/4    | 2008 | -   | 129        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 2   | 4/11   | 2008 | -   | 138        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 3   | 4/15   | 2008 | -   | 139        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 4   | 4/15   | 2008 | -   | 142        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 5   | 4/15   | 2008 | -   | 145        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 6   | 4/15   | 2008 | -   | 146        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 7   | 4/22   | 2008 | -   | 148        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 8   | 4/22   | 2008 | -   | 152        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 9   | 4/22   | 2008 | -   | 154        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 10  | 5/2    | 2008 | -   | 165        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 11  | 5/2    | 2008 | -   | 166        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 12  | 5/2    | 2008 | -   | 170        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 13  | 5/9    | 2008 | -   | 171        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 14  | 5/9    | 2008 | -   | 172        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 15  | 5/9    | 2008 | -   | 175        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 16  | 5/13   | 2008 | -   | 176        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 17  | 5/13   | 2008 | -   | 177        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 18  | 5/13   | 2008 | -   | 178        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 19  | 5/13   | 2008 | -   | 179        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 20  | 5/13   | 2008 | -   | 180        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 21  | 5/13   | 2008 | -   | 181        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 22  | 5/13   | 2008 | -   | 182        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 23  | 5/13   | 2008 | -   | 183        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 24  | 5/20   | 2008 | -   | 190        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 25  | 6/3    | 2008 | -   | 219        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 26  | 6/3    | 2008 | -   | 221        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 27  | 6/3    | 2008 | -   | 224        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 28  | 7/15   | 2008 | -   | 274        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 29  | 7/18   | 2008 | -   | 277        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 30  | 7/22   | 2008 | -   | 278        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 31  | 7/25   | 2008 | -   | 280        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 32  | 7/25   | 2008 | -   | 283        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 33  | 7/25   | 2008 | -   | 285        | —      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 34  | 9/16   | 2008 | -   | 347        | ○      | ○    | ○    | Okuyama0607 | 0804 |
| 35  | 9/26   | 2008 | -   | 358        | —      | ○    | ○    | 未実施         | 0804 |
| 36  | 9/26   | 2008 | -   | 358        | —      | ○    | ○    | 未実施         | —    |
| 37  | 9/26   | 2008 | -   | 359        | —      | ○    | ○    | 未実施         | —    |
| 38  | 9/26   | 2008 | -   | 360        | —      | ○    | ○    | 未実施         | —    |
| 39  | 9/26   | 2008 | -   | 361        | ○      | ○    | ○    | 未実施         | 0804 |
| 40  | 10/7   | 2008 | -   | 381        | —      | ○    | ○    | 未実施         | 0804 |
| 41  | 11/25  | 2008 | -   | 471        | ○      | ○    | ○    | 未実施         | 0708 |

表3. 分離した *C. ulcerans* の毒素の遺伝子の塩基配列およびアミノ酸配列の比較

|           | <i>C. ulcerans</i> |       |       | <i>C. diphtheriae</i> |
|-----------|--------------------|-------|-------|-----------------------|
|           | 0708               | 0803  | 0804  | NCTC13129             |
| 0708      |                    | 98.93 | 99.11 | 94.82                 |
| 0803      | 98.51              |       | 99.82 | 94.82                 |
| 0804      | 98.57              | 99.70 |       | 95.00                 |
| NCTC13129 | 95.13              | 95.19 | 95.25 |                       |

イタリック: アミノ酸の相同性

ローマン: 塩基の相同性

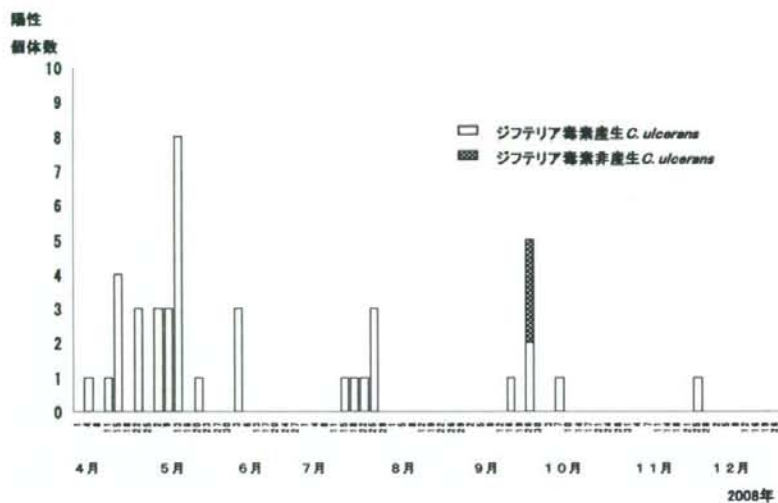


図1. 大阪府の犬検査における月別の菌分離陽性数

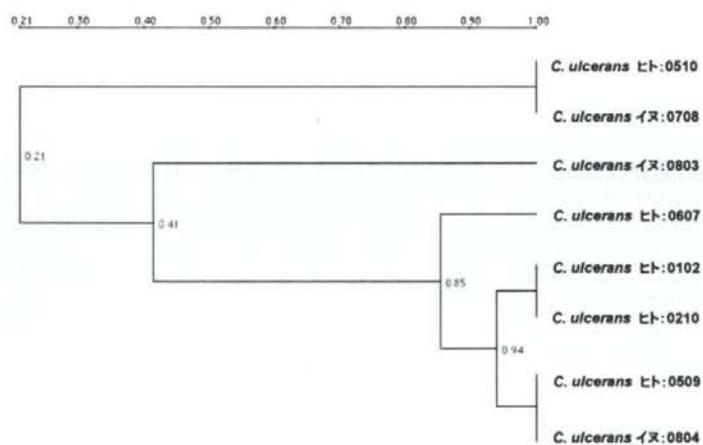


図2. 分離菌株のPFGE解析結果 (UPGAMA法)

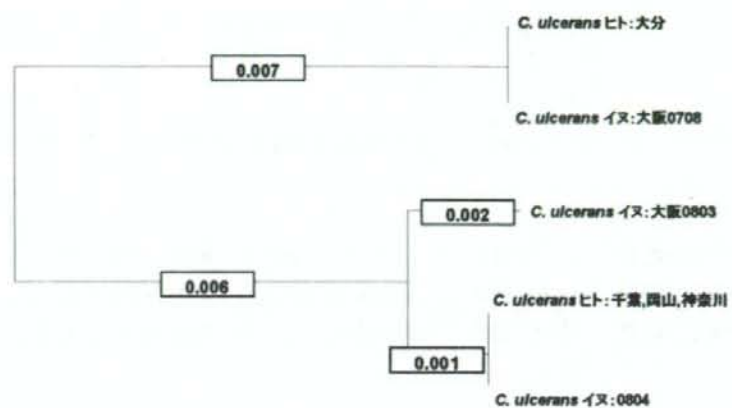


図3. 分離菌株のジフテリア毒素遺伝子系統樹解析

国内野生イノシシ・シカにおける抗 *Brucella* 抗体の保有状況に関する研究

研究分担者 今岡 浩一 国立感染症研究所 獣医科学部 第1室長  
研究分担者 木村 昌伸 国立感染症研究所 獣医科学部 研究員  
研究分担者 鈴木 道雄 国立感染症研究所 獣医科学部 研究員

研究要旨： ブルセラ症 (brucellosis) はブルセラ属菌 (Genus *Brucella*) による人獣共通感染症である。昨年度に続き、国内の野生イノシシおよびシカの血液サンプルを入手し、ブルセラ属菌に対する抗体の保有状況を検討した。家畜ブルセラ菌に対する抗体は昨年度と同様検出されなかった。しかしながら、イヌブルセラ菌に対する抗体を検討したところ、溶血の影響を除外しても、2008-9年シーズンのサンプルで4/77のイノシシ及び1/52のシカで凝集が認められた。国内の2-5%のイヌは抗体を保有しており、イヌブルセラ菌は国内に定着している。今回、イノシシ及びシカで陽性反応を示す物が見られたことについては、非特異的反応や他の細菌との交差反応の可能性など、さらに詳細に検討していく必要がある。

#### A. 研究目的

ブルセラ症 (brucellosis) は世界中で発生しており、特に家畜での対策が不十分な地域では、年間数百～数千症例のヒト患者が報告されている、重要な人獣共通感染症である。

近年、国内では、2001年に福島、2002年に千葉、2007年に広島、2008年に福井でウシブルセラ病とされたウシが報告されているが、ほとんど発生していない。国内では感染家畜の摘発・淘汰が功を奏し、清浄化していると考えられているが、上記のようにまれにブルセラ病とされるウシが報告される。仮に、家畜ブルセラ菌が国内に、依然、存在していると考え、家畜間での感染のやりとりは認められないことから、野生動物が維持している可能性も考えられる。

日本国内では、感染症法による患者の届出が始まって依頼、現在までに13例の報告がある(表1)。このうち家畜ブルセラ菌に感染した4例は、すべて輸入感染例と考えられており、国内での家畜からの感染例は報告されていない。そこで、今年度も、ブルセラ属菌の宿主となりうる、国内の野生イノシシおよびシカの血液サンプルを入手し、家畜ブルセラ菌に対する抗体の保有状況を検討した。

#### B. 研究方法

1. 血液サンプルの採取： 大日本猟友会の協力の下、イノシシもしくはシカの血液サンプルを採取してもらった。サンプルの採取と回収の方法は昨年度の報告に準じた。保冷して輸送・回収した血液は当室にて血清を分離し、測定ま



で-40°Cに保管した。

2. マイクロプレート凝集反応 (MAT) による抗ブルセラ抗体の検出: 家畜ブルセラ菌 (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*) については、試験管内凝集反応 (TAT) に用いられるブルセラ病診断用菌液 (*B. abortus* 99 もしくは 125 株の加熱死菌液、農業・生物系特定産業技術研究機構) を、イヌブルセラ菌については、ブルセラ病診断用菌液 (*B. canis* 死菌液、北里研究所) を用いて、0.005% サフラニン加 10 倍希釈菌液を調整した。イノシシおよびシカサンプル血清 (液量 25  $\mu$ l) を 96 穴 U 底マイクロプレート上で 10 倍から 2 倍段階希釈し、これに調整した菌液を同量加え、20 秒程度緩やかに振盪する。家畜ブルセラ菌に対しては、保湿環境で 37°C、18~24 時間反応させた後に、40 倍希釈以上で凝集像の確認された物を陽性と判定した。イヌブルセラ菌に対しては、50°C、24 時間反応させた後に、160 倍希釈以上で凝集像の確認された物を陽性と判定した。また、抗原濃度を OD600 = 2.5 (家畜ブルセラ菌検査と同条件) としたときの反応も同様に検討した。この場合は 40 倍以上で凝集像の確認された物が陽性となる。

### C. 研究結果

1. サンプルの採取状況: 表2にサンプル・プロファイルを示した。イノシシは15県から2005-6年シーズン98頭、2007-8年68頭、2008-9年77頭 (1/19現在) の合計243頭、シカは13県から2007-8年38頭、2008-9年52頭 (1/19現在) の合計90頭であった。

2. MAT による検査結果 (家畜ブルセラ菌): 昨年度と同様に、検査したイノシシおよびシカのサンプルはすべて 1:10 以下であり、ブルセラ属菌に対する抗体は確認されなかった (表2)。

3. MAT による検査結果 (イヌブルセラ菌):

検査したイノシシ 243 頭のうち 44 頭、シカ 90 頭のうち 2 頭で凝集像を示す物が認められた (表2)。溶血しているサンプルが、非特異的に凝集像を示すことが知られているので、肉眼的に溶血の見られるサンプルを除外しても、イノシシ 243 頭のうち 18 頭、シカ 90 頭のうち 1 頭が残った。さらに、2008-9 年シーズンのサンプルについて、溶血の影響を減弱させるため、抗原濃度を OD550=1.0 から OD550=2.5 に上げて検討したところ、イノシシ 9 頭、シカ 1 頭で、凝集像が認められた (表3)。この中で、肉眼的に溶血が認められる物を判定から除外してみたが、依然、イノシシ 4 頭 (凝集抗体価: 1:40~160, No.21, 28, 31, 70)、シカ 1 頭 (1:1280、No.50) が陽性を示した (表3、図1)。

### D. 考察

今回の検討では、野生イノシシやシカにおいて家畜ブルセラ菌に対する抗体の保有は確認されなかった物の、イヌブルセラ菌に対して陽性反応を示す物が見つかった。イヌブルセラ菌の凝集反応では溶血サンプルのヘモグロビンが擬陽性をもたらすことが知られている。そこで、肉眼的に溶血しているサンプルの除外や、抗原濃度を上げることにより溶血の影響を減弱させてみたが、依然、陽性と判定される物が残った (表3)。国内ではイヌブルセラ菌の存在は、イヌ繁殖施設でのブルセラ病の流行や抗体検査などにより確認されており、国内感染による患者も報告されている (表1)。ブタは抵抗性であるとされているが、イヌブルセラ菌に対する抗体を持つ可能性は否定できない。今回は MAT により抗体測定を実施したが、その他の方法 (Western-blotting, IFA, ELISA など) も用いて、今回の結果を検証することが必要であると考えられる。また、より特異的な検査法の開発も必要であり、現在、ブルセラ特異的抗原の組み替えタンパクを作成中で、今後は、組換えタンパクを用いた検証や、菌分離、遺伝子

検出なども行う予定である。

## E. 結論

野生イノシシやシカにおいて家畜ブルセラ菌に対する抗体の保有は確認されなかったが、イヌブルセラ菌と凝集反応で陽性を示す物が見られた。その反応が特異的な物かどうかについては、さらに詳細な検討が必要である。

## F. 健康危害情報

なし。

## G. 研究発表等

### 1. 論文発表等

(1) Kimura, M., Imaoka, K., Suzuki, M., Kamiyama, T. and Yamada, A. Evaluation of a Microplate Agglutination Test (MAT) for Serological Diagnosis of Canine Brucellosis. *J. Vet. Med. Sci.*, 70:707-709, 2008

(2) 今岡浩一. 人獣共通感染症としてのブルセラ症. in : *Info Vets*, アニマルメディア社, 11(8): 12-16, 2008

(3) 今岡浩一. ブルセラ症の治療選択における重要な指針. in : *MMJ*, 毎日新聞社, 4(9): 774-775, 2008

(4) 今岡浩一. ブルセラ病とその検査. in : *感染症検査実習マニュアル*, 日本獣医師会, 95-108, 2008

(5) 今岡浩一. ブルセラ. in : *バイオセーフティの事典 (バイオメディカルサイエンス研究会編)*, みみずく舎 / 医学評論社, 169-171, 2008

### 2. 学会発表・講演等

(1) 奥谷晶子, 井上智, 今岡浩一, 山田章雄. *Pyrosequencing* による炭疽菌, ペスト菌およびブルセラ属菌の迅速同定法の確立. 第146回日本獣医学会学術集会, 宮崎, 2008年9月

(2) 内田幸憲, 鎌倉和政, 後藤郁夫, 杉本昌生, 福士秀人, 丸山総一, 岸本壽男, 今岡浩一, 吉川泰弘. 動物病院勤務者の人獣共通感染症にかかわる健康調査. 第8回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 2008年11月

(3) 今岡浩一. ブルセラ症とは?—ヒト・家畜・イヌ—. 教育講演. 第8回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 2008年11月

(4) 今岡浩一. ブルセラ症とその対応: 特別講演. 横浜市獣医師会研修会, 横浜, 2008年12月

(5) 今岡浩一. 家畜伝染病等の食品媒介感染症—ブルセラ症の公衆疫学的側面を例として—: シンポジウム「食品の家畜伝染病起因菌等汚染と検査の問題」. 平成20年度日本獣医師会年次大会, 盛岡, 2009年1月

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表1) ブルセラ症の国内事例 (感染症法指定後、1999.4.1~2008.12.31)

| 診断年月    | 報告都道府県   | 推定感染地 | 推定感染経路       | 症状                    | 血清抗体検査         |              | 菌分離                |
|---------|----------|-------|--------------|-----------------------|----------------|--------------|--------------------|
|         |          |       |              |                       | <i>abortus</i> | <i>canis</i> |                    |
| 2002.1  | 東京都      | 不明    | ペットの犬        | 発熱、食欲不振               | —              | 陽性           | ( - )              |
| 2005.6  | 東京都      | シリア   | 経口<br>(羊肉)   | 発熱、皮疹、脾腫、腹部リンパ節腫大、関節痛 | 陽性             | 陽性           | <i>melitensis</i>  |
| 2005.12 | 長野県      | 国内    | 不明           | 発熱、筋肉痛、腹痛             | —              | 陽性           | ( - )              |
| 2006.2  | 東京都      | エジプト  | 不明<br>(吸入疑い) | 発熱、頭痛、肝脾腫             | 陽性             | —            | <i>melitensis</i>  |
| 2006.6  | 長野県      | イタリア  | 不明           | 発熱、筋肉痛                | —              | 陽性           | ( - )              |
| 2006.7  | 北海道(外国人) | エジプト  | 経口<br>(ミルク)  | 発熱、頭痛                 | 陽性             | —            | ( <i>abortus</i> ) |
| 2006.9  | 長野県      | 長野県   | 不明           | 発熱、脾腫                 | —              | 陽性           | ( - )              |
| 2006.10 | 宮城県      | 宮城県   | 不明           | 発熱、中枢神経症状             | —              | 陽性           | ( - )              |
| 2007.4  | 大阪府      | 大阪府   | イヌ           | リンパ節腫脹、倦怠感            | —              | 陽性           | ( - )              |
| 2008.6  | 埼玉県      | 埼玉県   | 飼い犬          | 発熱、関節炎、筋炎             | —              | 陽性           | ( - )              |
| 2008.7  | 静岡県(外国人) | ペルー   | 経口感染         | 発熱                    | 陽性             | —            | ( <i>abortus</i> ) |
| 2008.8  | 愛知県      | 愛知県   | 繁殖犬          | 発熱、脾腫、肝腫大             | —              | 陽性           | <i>canis</i>       |
| 2008.8  | 愛知県      | 愛知県   | 繁殖犬          | 発熱                    | —              | 陽性           | <i>canis</i>       |

表2) サンプルプロファイルと抗体陽性数

イノシシ

| 地域  | 頭数  | 検査抗原                       |                            |
|-----|-----|----------------------------|----------------------------|
|     |     | <i>B. abortus</i><br>(40S) | <i>B. canis</i><br>(160S)* |
| 千葉  | 26  | 0                          | 2                          |
| 長野  | 3   | 0                          | 1 (1)                      |
| 静岡  | 51  | 0                          | 8 (4)                      |
| 三重  | 6   | 0                          | 0                          |
| 兵庫  | 9   | 0                          | 0                          |
| 島根  | 16  | 0                          | 2                          |
| 広島  | 22  | 0                          | 2 (1)                      |
| 徳島  | 7   | 0                          | 5 (3)                      |
| 香川  | 11  | 0                          | 1                          |
| 愛媛  | 24  | 0                          | 8 (4)                      |
| 高知  | 19  | 0                          | 5 (2)                      |
| 熊本  | 28  | 0                          | 5 (1)                      |
| 大分  | 9   | 0                          | 1                          |
| 宮崎  | 4   | 0                          | 1                          |
| 鹿児島 | 8   | 0                          | 3 (2)                      |
| 合計  | 243 | 0                          | 44 (18)                    |

シカ

| 地域  | 頭数 | 検査抗原                       |                            |
|-----|----|----------------------------|----------------------------|
|     |    | <i>B. abortus</i><br>(40S) | <i>B. canis</i><br>(160S)* |
| 北海道 | 18 | 0                          | 0                          |
| 岩手  | 11 | 0                          | 0                          |
| 栃木  | 11 | 0                          | 1                          |
| 千葉  | 5  | 0                          | 0                          |
| 静岡  | 2  | 0                          | 0                          |
| 長野  | 14 | 0                          | 0                          |
| 兵庫  | 1  | 0                          | 0                          |
| 広島  | 5  | 0                          | 0                          |
| 徳島  | 5  | 0                          | 0                          |
| 熊本  | 3  | 0                          | 0                          |
| 大分  | 3  | 0                          | 0                          |
| 宮崎  | 9  | 0                          | 1 (1)                      |
| 鹿児島 | 3  | 0                          | 0                          |
| 合計  | 90 | 0                          | 2 (1)                      |

\*: ( ) は肉眼的に溶血の見られないサンプル



表3) *B. canis* の抗原濃度と抗体陽性数 (2008-9年シーズン、2008-2009.1.19採取分)

イノシシ

| 地域  | 頭数 | <i>B. canis</i>  |                  |
|-----|----|------------------|------------------|
|     |    | OD=1.0<br>(1605) | OD=2.5<br>(405)* |
| 千葉  | 5  | 0                | —                |
| 長野  | 1  | 1                | 1 (1)            |
| 静岡  | 11 | 3                | 3 (1)            |
| 三重  | 4  | 0                | —                |
| 兵庫  | 3  | 0                | —                |
| 島根  | 8  | 1                | —                |
| 広島  | 5  | 0                | —                |
| 徳島  | 4  | 3                | 2 (2)            |
| 香川  | 6  | 1                | —                |
| 愛媛  | 13 | 3                | 2                |
| 高知  | 2  | 1                | 1                |
| 熊本  | 7  | 2                | —                |
| 大分  | 2  | 0                | —                |
| 宮崎  | 1  | 1                | —                |
| 鹿児島 | 5  | 1                | —                |
| 合計  | 77 | 17               | 9 (4)            |

シカ

| 地域  | 頭数 | <i>B. canis</i>  |                  |
|-----|----|------------------|------------------|
|     |    | OD=1.0<br>(1605) | OD=2.5<br>(405)* |
| 北海道 | 12 | 0                | —                |
| 岩手  | 8  | 0                | —                |
| 栃木  | 5  | 0                | —                |
| 千葉  | 3  | 0                | —                |
| 長野  | 9  | 0                | —                |
| 兵庫  | 1  | 0                | —                |
| 広島  | 3  | 0                | —                |
| 徳島  | 2  | 0                | —                |
| 熊本  | 3  | 0                | —                |
| 大分  | 2  | 0                | —                |
| 宮崎  | 4  | 1                | 1 (1)            |
| 合計  | 52 | 1                | 1 (1)            |

\*: ( ) は肉眼的に溶血の見られないサンプル

図1) MATによる *Brucella canis* に対する抗体検出 (Ag: OD<sub>600</sub>=2.5)

