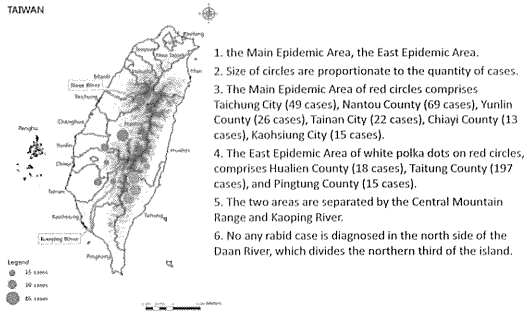


Two epidemic areas

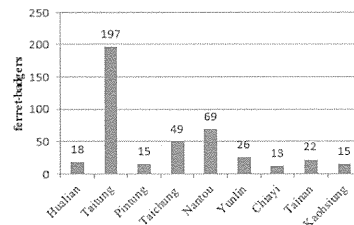


28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

19

Number of positive rabid Formosan Ferret Badgers in epizootic counties at Taiwan from July 2013 ~ Dec 2014



28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

20

Daan River



28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

21

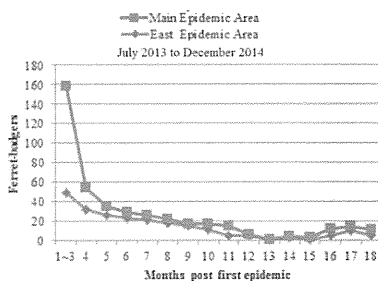
Kaoping River



28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

22



The temporal dynamics of rabid Taiwan ferret badgers at Taiwan, from July 2013 to December 2014, which suggests that the outbreak was not recognized until the peak of first epidemic, and epidemic appears to have subsided to enzootic levels.

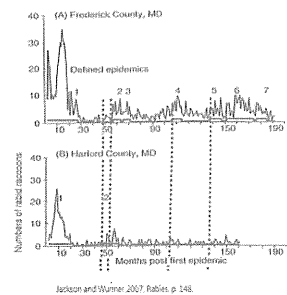
28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

23

Epidemiology

- Actual counts of rabid raccoons in initial epidemic of rabies in a new region. The prevalence is 3%~7% (Anderson et al. 1981 Nature 289:765) °
- It will take 30 months to finish the epidemic outbreaks.
- Around 40%~50% population will be cut in the first outbreak.
- Then a series of successively smaller epidemics may occur.



28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

24

TABLE 1. Number of confirmed rabies cases and number of tested animals by species: Taiwan, 1999 to 2014

Animals	Years	1999-2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total
Wild animals										
Not alert !!! ↓ ↓ ↓										
Ferret Badger	---	---	---	1/5	1/5	3/5	276/851	147/243	428/1087	
Bat	---	0/127	0/60	0/59	0/37	0/39	0/64	0/120	0/506	
Gem-faced civet	---	---	---	---	---	---	0/161	1/54	1/215	
Siberian Weasel	---	---	---	---	---	---	0/4	0/1	0/5	
Crab-eating mongoose	---	---	---	---	---	---	0/17	0/7	0/24	
Chinese civet	---	---	---	---	---	---	0/3	0/1	0/4	
House shrew	---	---	---	---	---	---	1/158	0/11	1/169	
Squirrel	---	---	---	---	---	---	0/81	0/8	0/89	
Domestic rat	---	---	---	---	---	---	0/77	0/7	0/84	
Polecat	---	---	---	---	---	---	0/6	0/2	0/8	
White-faced flying squirrel	---	---	---	---	---	---	0/1	---	0/1	
Ferromos macaque	---	---	---	---	---	---	0/5	0/1	0/6	
Pet animals										
Dog	---	0/693	0/1478	0/1480	0/1134	0/1156	0/860	1/1553	0/948	1/9342
Cat	---	---	---	0/5	---	---	0/112	0/12	0/129	
Ferret	---	---	---	---	---	---	0/3	---	0/3	
Total		0/693	0/1465	0/1545	1/1198	1/1236	3/902	278/3089	148/1418	431/11,678

The number of rabid animals and animals to be tested is recorded as "number positive/number tested"

28th January, 2015 Professor Fei: Rabies in Taiwan 25

Epidemic situations

1. Many sick or dead ferret badgers appearing at suburban foothills, roadsides, parks, or forests, neighboring human communities;
2. Sometimes rabid ferret badgers entered households, and bit people when contacted;
3. Totally three spillover infections until now;
4. Totally two people were bitten by rabid ferret badgers;
5. Two epidemic areas: the Main Epidemic Area, the East Epidemic Area;
6. Temporal epidemic appears to have subsided to enzootic levels

28th January, 2015 Professor Fei: Rabies in Taiwan 25

Actions taken

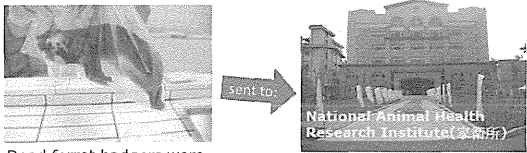
28th January, 2015 Professor Fei: Rabies in Taiwan 27

Contingency plan

- Stray animals control
- Vaccination of pets
- Strengthening border control
- Intensified surveillance on: dogs/bats/wildlife
- Safeguard of human: PEP treatment
- Public communication and awareness
- www.rabies.tw for social education
- Rabies facebook for social Q+A
<https://www.facebook.com/fe5221>

28th January, 2015 Professor Fei: Rabies in Taiwan 28

Dead ferret badgers were sent to National Animal Health Research Institute (AHRI) for diagnosis



Dead ferret badgers were sent to: National Animal Health Research Institute (AHRI)

National Animal Health Research Institute has facilities as well as techniques trained by US CDC.

28th January, 2015 Professor Fei: Rabies in Taiwan 29

Any wildlife was suspected as rabid, to be abandoned or tapped!



FTV NEWS 瀕死飛鼠白天現蹤 農民急通報村長

28th January, 2015 Professor Fei: Rabies in Taiwan 30

Increasing capturing stray dogs/cats



28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

31

Increasing shelter capacity 43%

No.	Cities/Countries	縣市	No. shelters	Capacity (pets)	Capacity*365 days	pets intake*12 days	% = B/A
1	New Taipei City	新北市	12	1,000	372,300	185,828	49.8%
2	Taipei City	臺北市	1	350	127,750	81,852	64.1%
3	Tainan City	臺南市	2	600	219,000	101,556	46.4%
4	Tainan City	臺南市	2	690	251,550	151,672	61.0%
5	Keelung City	基隆市	2	600	219,000	109,328	49.9%
6	Yilan County	宜蘭縣	1	240	87,600	51,588	58.9%
7	Taiyuan County	桃園縣	1	400	146,000	118,272	81.0%
8	Hsinchu County	新竹縣	1	70	25,550	29,052	113.7%
9	Miaoli County	苗栗縣	1	200	73,000	38,790	53.1%
10	Changhua County	彰化縣	1	240	87,600	65,880	75.2%
11	Nantou County	南投縣	1	250	91,250	74,052	81.3%
12	Juan County	雲林縣	1	150	54,750	32,220	58.9%
13	Chiayi County	嘉義縣	1	150	54,750	53,352	97.4%
14	Pingtung County	屏東縣	1	200	73,000	73,260	100.4%
15	Taitung County	臺東縣	1	150	54,750	41,112	75.1%
16	Hualien County	花蓮縣	1	120	43,800	39,360	89.9%
17	Penang County	澎湖縣	1	130	47,450	20,112	42.4%
18	Keelung County	基隆市	1	120	43,800	26,064	59.5%
19	Hsinchu City	新竹市	1	85	30,625	35,724	116.7%
20	Chiayi City	嘉義市	1	55	20,075	11,880	59.2%
21	Kinmen County	金門縣	1	120	43,800	21,744	49.6%
22	Lienciang County	連江縣	1	40	14,600	---	---
總	Total	計	36	5,980	2,182,700	1,344,612	61.6%

28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

32

Importing vaccines/immunoglobulins; Dogs vaccination >90%



Vaccines/Igs

Animal vaccines:
2,298,000 doses

Human vaccines:
82,500 doses

Immunoglobulins:
2,870 bottles

Horse serum:
2,000 bottles

epochtimes.com

28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

33

Mass dog vaccination campaign



28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

34

High risky people vaccinated



Colleagues of:
1. Rangers
2. Wildlife catchers
3. Wildlife caretakers
4. Animal inspectors
5. National park
6. Lab researchers
etc.

28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

35

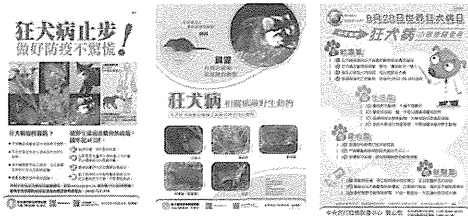
Public communication and awareness

28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

36

Posters in subway, metro, bus, train, station, plaza, square, etc.



28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

37

Poster in rural and towns



Dr. Masaru SATO, Chairman of Japan Society of Clinical Study for Rabies.

28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

38

Education at elementary schools



28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

39

Drawing competition for rabies prevention



28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

40

CDC: rabies hot line phone No.= 1922
BAPHIQ: toll-free 0800-761-590



28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

41

PREVENTION PLAN

- **Current plan:** to seal off rabies in the mountains, using mass vaccination of dogs/cats;
- **Future plan:** aerial oral vaccination, etc.

28th January, 2015

Professor Fel: Rabies in Taiwan

42

Historic studies of rabies

28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

43

Rabies happened at Taiwan long time ago

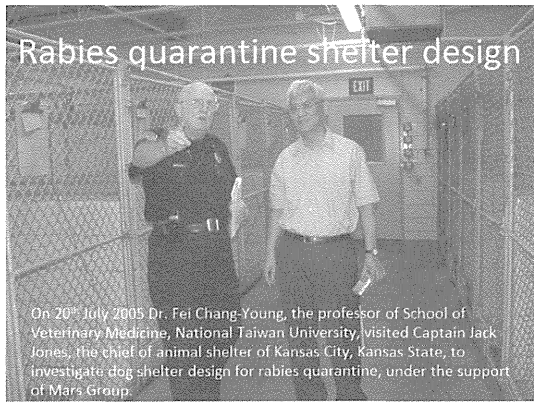
- Colonial period: 1895~1945
- Sato and Hung (1923) found that aboriginal Taiwanese would use the bile and poultice of mesentery of rabid dogs to treat the wound bitten by rabid dogs.
- They tested the neutralizing capability of bile of healthy pigs, buffalos, and rabid dogs, using rabbits inoculation as indicator. Results showed that those tested bile were able to neutralize the rabid virus.
- Conclusion: They predicted that rabies had been existing at Taiwan for a long time accordingly.
- 結論：佐藤新一、洪蘭(1923)認為狂犬病在台灣已經有非常長久之歷史 (p. 23-24)。

28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

44

Rabies quarantine shelter design



On 20th July 2005 Dr. Fei Chang-Young, the professor of School of Veterinary Medicine, National Taiwan University, visited Captain Jack Jones, the chief of animal shelter of Kansas City, Kansas State, to investigate dog shelter design for rabies quarantine, under the support of Mars Group.

28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

45

Conclusions

- The epidemics decreases after the outbreak. It is believed that it is resulted from the population of ferret badger decreased.
- There is only one virus strain at Taiwan: ferret badger strain.
- Spillover infection: very difficult, only 3 cases.
- Surveillance programs are continually conducted.
- Strengthening the control measures.
- Campaign canine/feline vaccination in the whole country, especially the epidemic mountain areas.
- Continuously conducting public education of prevention.

28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

46

Acknowledgements

- CDC, USA. (diagnostic center, people training, diagnostic Abs, policy guidance, 16th July 2013.)
- National Institute of Infectious Diseases (NIID), Japan.
- Japan Society of Clinical Study for Rabies (JSCSR).
- Funded by: Bureau of Animal and Plant Health for Inspection and Quarantine (BAPHIQ).

28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

47

Thank you for your attention

28th January, 2015

Professor Fei: Rabies in Taiwan

48

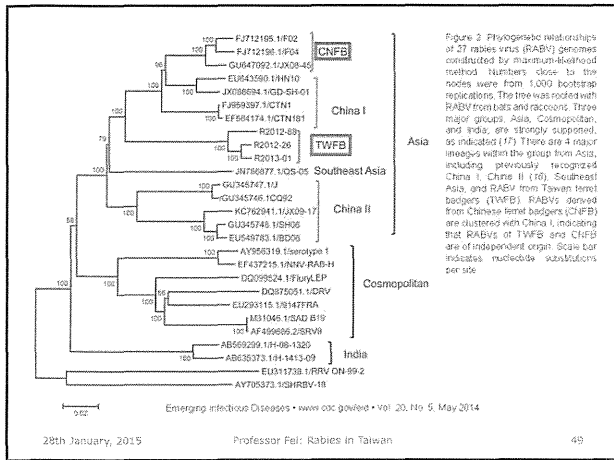


Figure 2. Phylogenetic relationships of 27 rabies virus (RABV) genomes constituted by maximum-likelihood method. Numbers close to the nodes were from 1,000 bootstrap replications. The tree was rooted with RABV from bats and raccoons. Three major groups, Asia, Cosmopolitan, and India, are strongly supported, as indicated (**). There are 4 major lineages within the group from Asia, including previously recognized China I, China II (II), Southeast Asia, and RABV from Taiwan ferret badgers (TWFB). RABVs derived from Chinese ferret badgers (CNFB) are clustered with China I, indicating that RABVs of II and CNFB are of independent origin. Scale bar indicates nucleotide substitutions per site.

Epidemiological status at China

Years	Epidemiological status
2002~2004	Many sick ferret badgers were seen at the bases of mountains, village roads, and within residential houses.
2005~2007	ferret badgers were no longer commonly seen in the fields.
2007~2008	Populations of ferret badgers in the same regions seemed to recover. Rabies infection in badgers began to increase.

From: Zhang (張) et al. 2009. Emerging Infectious Diseases 15(6): 946-949. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2727325/>

カプノサイトファーガを主とする伴侶動物等に
由来する感染症に関する研究

『カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症に関する研究』

『イヌのレストスピラ症に関する研究』

『心臓疾患を呈した犬における *Bartonella* 属菌の感染状況』

国立感染症研究所 今岡 浩一

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

カプノサイトファーガを主とする伴侶動物等に由来する感染症に関する研究

研究分担者	今岡 浩一	国立感染症研究所	獣医科学部	第一室長
研究協力者	鈴木 道雄	国立感染症研究所	獣医科学部	主任研究官
研究協力者	木村 昌伸	国立感染症研究所	獣医科学部	主任研究官
研究協力者	小泉 信夫	国立感染症研究所	細菌第一部	主任研究官
研究協力者	丸山 総一	日本大学	生物資源科学部	獣医公衆衛生学研究室 教授
研究協力者	蓮池 陽子	東京都動物愛護相談センター	城南島出張所	主事
研究協力者	岡島 淳悟	東京都動物愛護相談センター	城南島出張所	主事
研究協力者	葛西 秀美	東京都動物愛護相談センター	城南島出張所	主事

日本では、約 1,200 万頭のイヌと、約 1,000 万匹のネコが飼育されていると言われており、それぞれ愛玩動物として飼育されている動物種の 1, 2 位を占めている。これは、たとえばイヌでは、全世帯数の 20% 近くに当たる約 950 万世帯で飼育されていることになる。このように最も身近な愛玩動物であるイヌ・ネコに由来する感染症は数多く知られている（表 1）。一般的に、動物からヒトへの病原体の伝播は、その距離が近いほど容易になるが、近年の傾向として、感染抵抗性の減弱した免疫学的弱者と考えられる高齢者の世帯でイヌ・ネコ飼育率が高くなってきている。これらの事実は、今後の高齢化社会でイヌ・ネコ由来感染症がますます重要な問題となることを示している。

そこで我々はイヌ・ネコの口腔内常在菌であり、致死感染を起こすことが知られているカプノサイトファーガ・カニモルサスによる感染症を中心に、同じくイヌから感染するレプトスピラ、ネコ由来の代表的な感染症である猫引っ掻き病について、その感染源動物における疫学、患者発生の現状、感染リスクなどの検討を行った。

1) カプノサイトファーガ・カニモルサス (*Capnocytophaga canimorsus*) は、ヒトがイヌやネコに咬傷・搔傷（以下、咬搔傷）を受けた際に傷口から感染する。継続して実施している患者の発生状況調査では、これまでに国内で計 53 例（うち死亡 14 例）を把握し、昨年度までの傾向と同じく、(1) 患者は中高年齢者中心である、(2) 基礎疾患の有無によらない、(3) 国内ではネコ咬傷・搔傷を感染原因とする割合が海外より高い、ことが確認された。また、遺伝子配列比較による *C. canimorsus* の菌種同定の検討を行い、*gyrB* 遺伝子が有用であることを見いだした。さらに、イヌ・ネコ咬搔傷あるいは接触歴のある敗血症例 3 例から分離された菌株が、*Capnocytophaga* 属の新菌種と考えられることを明らかにした。また、東京都動物愛護相談センター引取りネコ計 112 匹の *C. canimorsus* 保菌率を検討し、全体では 41.1%、1 歳以上では 65.3%、1 歳未満では 22.2%と、保菌率に年齢差があ

ることを明らかにした。

2) レプトスピラ症は、病原性レプトスピラ (*Leptospira* spp.) の感染によっておこる人獣共通感染症である。イヌは、レプトスピラ感染後に病原体保有体となりヒトへの感染源となることが知られている。今年度は、12 都道府県 29 頭のレプトスピラ症疑いイヌの実験室診断を行い、7 府県 10 頭のレプトスピラ症が確定した。1 頭からレプトスピラが分離され、*L. interrogans* serogroup Hebdomadis と同定された。また、これまでに 69 頭のイヌから分離された 112 株の *L. interrogans* の血清学的解析と MLVA による分子タイピングを行ったところ、すべての血清群・MLVA タイプは統計的な有意差なくイヌに致死感染を引き起こしたが、血清群 Australis 感染では他の血清群よりも重篤な腎障害がみられた。また MLVA タイプにより病原性メカニズムや標的臓器が異なる可能性が示唆された。

3) 猫ひっかき病の原因菌である *Bartonella henselae* (Bh) と *B. clarridgeiae* (Bc) は猫を自然宿主とし、ネコノミによって伝播されるベクター媒介型の細菌である。しかし、近年、欧米では、Bh や Bc を原因とするイヌの細菌性心内膜炎が報告されている。したがって、未だ不明な国内のイヌの *Bartonella* 属菌の感染状況を調査することは、ヒトの公衆疫学的にも重要なことと考えられる。心臓疾患の犬 26 頭から *Bartonella* DNA の検出を試みた結果、1 頭 (3.8%) の心臓組織から Bh の DNA が検出された。一方、血液からは nested-PCR、分離培養法のいずれでも *Bartonella* 属菌は検出されなかった。Bh が検出された犬は、過去に猫と同居歴はなく、駆虫薬は投与されていたが、駆虫薬を投与される前にネコノミから Bh を伝播された可能性も否定はできない。米国では飼育イヌの 5.6%、心内膜炎罹患イヌの 27.8% から *Bartonella* DNA を検出したとの報告がある。今後、心臓疾患罹患イヌを中心に調査を継続する必要がある。

以下、それぞれ (カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症、レプトスピラ症、猫ひっかき病) の研究に関する詳細を順に示す。

表 1) 代表的なイヌ・ネコ由来感染症

細菌	バルトネラ、レプトスピラ、カプノサイトファーガ、パスツレラ、イヌブルセラ、ブドウ球菌、連鎖球菌、フソバクテリア、サルモネラ、エルシニア、破傷風菌
ウイルス	狂犬病 (日本にはない)
リケッチア	コクシエラ
原虫	トキソプラズマ、ジアルジア
寄生虫	(内部) エキノコックス、回虫、イヌ糸状虫、ウリザネ条虫、東洋眼虫 (外部) ノミ、ダニ
真菌	皮膚糸状菌

カブノサイトファーガ・カニモルサス感染症に関する研究

研究協力者	鈴木 道雄	国立感染症研究所	獣医科学部	主任研究官
研究分担者	今岡 浩一	国立感染症研究所	獣医科学部	第一室長
研究協力者	木村 昌伸	国立感染症研究所	獣医科学部	主任研究官
研究協力者	蓮池 陽子	東京都動物愛護相談センター	城南島出張所	主事
研究協力者	岡島 淳悟	東京都動物愛護相談センター	城南島出張所	主事
研究協力者	葛西 秀美	東京都動物愛護相談センター	城南島出張所	主事

研究要旨

カブノサイトファーガ属菌はイヌおよびネコの口腔内に常在するグラム陰性桿菌である。特に *Capnocytophaga canimorsus* が臨床的に重要で、ヒトがイヌやネコに咬傷・搔傷（以下、咬搔傷）を受けた際に傷口から感染する。本年度は、1) 医療機関等と連携した *C. canimorsus* 感染症患者発生状況の把握、2) *C. canimorsus* 国内臨床分離株の解析、3) 敗血症患者由来新規 *Capnocytophaga* 属菌の細菌学的解析、4) 東京都動物愛護相談センター引取りネコにおける *C. canimorsus* 保菌率調査の4点について研究を行った。1) では、新たに8例（うち死亡4例）の患者報告を把握した。このうちの2例（うち死亡1例）は新規 *Capnocytophaga* 属菌によるものであることが明らかになった。2) では、計8株の臨床分離株を解析し、菌種同定には *gyrB* 遺伝子の有用性が高いことが示された。3) では、イヌ・ネコ咬搔傷あるいは接触歴のある敗血症例3例から分離された菌株が、*Capnocytophaga* 属の新菌種と考えられることを明らかにした。4) では、東京都動物愛護相談センターに引取られたネコ計112匹の *C. canimorsus* 保菌率を検討し、全体では41.1%、1歳以上では65.3%、1歳未満では22.2%と、保菌率に年齢差があることを明らかにした。

A. 研究目的

カブノサイトファーガ属菌 (*Capnocytophaga* spp.) はヒトや動物の口腔内に常在するグラム陰性桿菌である。イヌ・ネコは *C. canimorsus* (カニモルサス)、*C. cynodegmi* (サイノデグミ) の2種を保菌しており、公衆衛生の観点からは *C. canimorsus* が重要である。ヒトがイヌやネコに咬傷・搔傷（以下、咬搔傷）を受けた際に感染するほか、傷口をなめられるなど非咬搔傷性の接触感染もある。発熱のほか、敗血症、多臓器不全、髄膜炎や播種性血管内凝固症候群 (DIC) など、局所症状がみ

られないまま、急激に強い全身症状が現れることが多いのが特徴である。世界で300例ほどの患者が報告されている稀な疾患であるが、敗血症を発症したときの致死率は約30%と、非常に危険な感染症である。

我々は、国内のイヌ・ネコにおける *Capnocytophaga* spp. の保菌状況を調査し、高率に保菌（国内のイヌの74%、ネコの57%が *C. canimorsus* を保菌）していることを示した。また、同じく不明であった国内の患者発生状況についても、その発生状況を明らかにしてきた。

現在も患者発生状況についての情報収集、診断系の適宜の改良、菌株の遺伝子解析を

継続的に実施している。本研究を通じて、既に 50 例を超える *C. canimorsus* 感染症例を把握してきた。

今年度は、以下の 4 点について研究を進めた。

- 1) 医療機関等と連携した *C. canimorsus* 感染症患者発生状況の把握
- 2) *C. canimorsus* 国内臨床分離株の解析
- 3) 敗血症患者由来新規 *Capnocytophaga* 属菌の細菌学的解析
- 4) 東京都動物愛護相談センター引取りネコにおける *C. canimorsus* 保菌率調査

B. 研究方法

1. 医療機関等と連携した *C. canimorsus* 感染症患者発生状況の把握：医療機関からの検査依頼および情報提供のあった症例を整理するとともに、その他の国内症例報告を医中誌、各種学会抄録集、ウェブサイトを検索して集めた。

2. *C. canimorsus* 国内臨床分離株の解析：本年度新たに *C. canimorsus* 感染疑いの国内患者から分離された計 8 菌株について、菌を同定するとともに、生化学的性状解析、遺伝子シーケンス解析を実施した。

3. 敗血症患者由来新規 *Capnocytophaga* 属菌の細菌学的解析：国内の *C. canimorsus* 感染疑いの敗血症例から、2011 年に 1 株、2014 に 2 株分離された、*C. canimorsus* とは遺伝子的に異なる特徴を有した分離株について、生理・生化学的性状解析、遺伝子シーケンス解析を実施した。新菌種の可能性が示唆されたことから、菌体脂肪酸組成分析、キノン類分析および DNA 塩基組成 (G+C 含量) 測定などさらに詳細な細菌学的解析を行った。

4. 東京都動物愛護相談センター引取りネコにおける *C. canimorsus* 保菌率調査：東京都動物愛護相談センターに引取られたネコの口腔内スワブ計 112 検体について、*C. canimorsus* 特異的 PCR 法を用いた保菌率調査を行った。

C. 研究結果

1. 医療機関等と連携した *C. canimorsus* 感染症患者発生状況の把握：本年度は検査依頼のあったもの、症例情報が寄せられたもの、症例報告の検索によるものを合わせて、8 例を新たに把握した。後述するように、このうち 2 例は詳細な解析の結果、新規 *Capnocytophaga* 属菌が原因菌であることが明らかとなった。

1993 年に最初の患者が報告されて以来、2014 年末までに、53 例(イヌ咬搔傷 29 例、ネコ咬搔傷 12 例、動物との接触歴のみ 11 例、不明 1 例)を把握し、うち 14 例が死亡症例(イヌ咬傷 7 例、イヌ搔傷 1 例、ネコ搔傷 4 例、動物との接触歴のみ 1 例、不明 1 例)であった(致死率 26%) (表 1-1, -2)。患者の年齢は 20~90 代で、40 代以上が 94%を占め、平均年齢は 62 歳であった。また、性別は男性 38 例、女性 15 例で男性が 72%を占めた(表 1-3)。症状は敗血症が 46 例と 90%近くを占め、報告されている患者のほとんどが重症例であった(表 1-4)。一般的に基礎疾患のある人の方が、種々の感染症に対して感染・発症リスクは高くなると言われるが、本疾患では基礎疾患を有していた患者は 24/48 例と、半数に止まった(表 1-5)。

2. *C. canimorsus* 国内臨床分離株の解析：本年度新たに分離された国内臨床分離株の 16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析の結果、*C. canimorsus* の基準株 ATCC35979 株とこれら 8 株の相同値は 96.94~98.89%であり、

98.7%以上の相同値を示したのは 8 株中 4 株であった(表 2)。同様に、*C. cynodegmi* の基準株 ATCC49044 株との相同値は 96.74 ~ 97.71% であった。8 株中 6 株 (#6,13,14,15,18,24) は、データベースに登録されている各菌種の基準株の中で ATCC35979 株との相同値が最も高かったが、#18 と 24 は、同一菌種であると判定するのに他の方法での確認も必要とされる 97.0~98.7% の範囲内の相同値を示していた。これら 6 株の基準株との相同値の平均は 98.65% であった。一方、8 株中 2 株 (#30,31) は ATCC35979 株との相同値が 97.0% を下回る 96.94% であり、この 2 株は *C. cynodegmi* 基準株 ATCC49044 株とも同じく 96.94% の相同値であった。

gyrB 遺伝子のシーケンス解析の結果、16S rRNA の相同値が ATCC35979 株と 98% 以上あった 6 株は 99.37~99.72% であり、全ての株が 99% 以上と高い相同値を示した。相同値の平均は 99.57% であった。上記の結果は表 2 に、昨年度以前に解析したものと合わせて掲載した。一方、ATCC35979 株の 16S rRNA との相同値が 96.94% であった 2 株は、*C. canimorsus* および *C. cynodegmi* に対しても 77.6~77.9% と低い値を示した。

3. 敗血症患者由来新規 *Capnocytophaga* 属菌の細菌学的解析：本年度、*C. canimorsus* 感染疑いの敗血症例 2 例 (うち死亡 1 例) から分離された 2 株 (HP20001、HP33001) に加え、2011 年のネコ搔傷敗血症例から分離された株 (HP40001) の計 3 株が、*C. canimorsus* 基準株に対して 16S rRNA で 96.9~97.0%、*gyrB* 遺伝子で 75.5~75.6% と低い相同値を示し、さらにはデータベース上には *C. canimorsus* および *C. cynodegmi* よりも類似した配列が存在しないことから、この 3 菌株は *Capnocytophaga*

属の新菌種である可能性が高いと判断された (表 3-1, 2)。3 症例の感染経路はネコ咬搔傷が 2 例、イヌのとの接触が 1 例であった。分離株の詳細な解析を行った結果、この 3 株同士は 16S rRNA および *gyrB* 遺伝子ともに塩基配列の相同値が 99% 以上であり、各々の遺伝子における系統樹解析でも 3 株は同一菌種であると考えられた。生理・生化学的性状試験ではオキシダーゼおよびカタラーゼが陽性で *C. canimorsus* および *C. cynodegmi* と同様の性質を示し、糖の発酵能に乏しい点で *C. canimorsus* に類似していた。キノン類分析では MK-6 が主要キノンであり、これは *Capnocytophaga* 属が含まれる *Flavobacterium* 科の定義に一致した (表 3-3)。脂肪酸組成分析では、細部に違いはあるものの、*C. canimorsus*、*C. cynodegmi* と同じく、iso-C15:0 が最も多くなっていた (表 3-4)。DNA 塩基測定では G+C 含量が、約 35% であり、これも *Capnocytophaga* 属の特徴 (34~44%) と一致した (表 3-3)。一方、菌種の分類において最も決定的な指標となる DNA-DNA ハイブリダイゼーションの結果は、同一菌種の基準となる相同値 70% 以上に対して、対 *C. canimorsus* 基準株で相同値 12~15%、対 *C. cynodegmi* 基準株で相同値 12~13% という結果であり、これら 3 株は新菌種であると判断された。

4. 東京都動物愛護相談センター引取りネコにおける *C. canimorsus* 保菌率調査：引取りネコ 112 匹より口腔スワブを採取し、*C. canimorsus* 特異的 PCR を用いた遺伝子検出によって保菌率を調査した。

全 112 頭中 46 頭が陽性を示し、保菌率は 41.1% であった。次に、1 歳以上と 1 歳未満で区別した場合の保菌率は、1 歳以上では 32/49 (保菌率: 65.3%)、1 歳未満では 14/63 (22.2%) であった。歯の萌出の有無で区別した場合は、歯有りが 40/83 (48.2%)、

歯無しが 6/29 (20.7%) であった (表 4)。

D. 考察

本年度は新たに患者 8 症例を把握し、その分離株計 8 株を解析した。

計 8 症例中 4 例と、死亡例が半数を占めた。患者報告が増え、医療現場の認知度も徐々に高まっているものの、依然として救命の難しい感染症であることが示唆された。なお、このうちの 2 症例 (死亡 1 例含む) は新菌種の *Capnocytophaga* 属菌を原因とするものであった。

16S rRNA のシーケンス解析において、一般に基準株と 98.7%以上の相同値であれば (かつ同程度の相同値である菌種が他になければ) 同一菌種の可能性が高いが、昨年度以前から解析したものと合わせて、相同値がそれを下回る株が 28 株中 11 株あった。一方で、*gyrB* 遺伝子の解析では 28 株全てが相同値 98%以上で、相同値の平均値は 99.5%であり、最も近縁な種である *C. cynodegmi* 基準株の *C. canimorsus* 基準株との相同値が 73.4%であることから、菌種内での保存性が高い遺伝子であることが示された。16S rRNA 遺伝子は菌種の分類・同定の指標として使われることが多いが、昨年度以前から継続している解析においては、*C. cynodegmi* 基準株の *C. canimorsus* 基準株との相同値 98.59%を下回る株が 8/28 株あり、*C. canimorsus* においては、16S rRNA 遺伝子のみでは菌種の分類・同定に用いることは難しい一方で、*gyrB* 遺伝子は菌種同定に有用と考えられた。しかしながら *gyrB* 遺伝子は未だデータベース上に存在するデータが少なく、データ量の豊富な 16S rRNA 遺伝子の解析との併用が必要であると考えられた。

一方、本年度の 2 症例から分離された菌株 (HP20001、HP33001) は既知の

Capnocytophaga のいずれの菌種とも異なる性状を有することが明らかとなった。これら 2 株は、2011 年の症例から分離された HP40001 株とも 16S rRNA および *gyrB* 遺伝子の配列がともに 99%以上一致しており、これら 3 株は同一菌種かつ新菌種であると考えられた。いずれもネコ咬搔傷歴やイヌとの接触歴があり、直接的証拠はないが、イヌ・ネコの保菌している菌に感染したものと推測された。分類学上の新菌種を提唱するためには、一定のルールに基づいた性状解析が必要であるため、各種の詳細な解析を実施した。その結果、新菌種としての正式な提唱に十分なデータが得られた。

これら疫学解析データや新菌種の発見に関して、本報告書には間に合わなかったが、近々、論文投稿予定である。

また、東京都との共同研究によるネコの保菌率調査では、全体としては 41.1%の保菌率であったが、1 歳以上では約 65%、1 歳未満では 22.2%と年齢による保菌率の差が認められた。この差には歯の萌出の有無や他のネコとの接触機会の多寡も関係していることが考えられた。

C. canimorsus 感染症は、世界で 300 例ほどの患者報告と、稀な感染症ではあるが、これまでの報告例において、敗血症や心内膜炎を発症したときの致死率は約 30%に達している。しかしながら、これらの数字は、原因が特定されて学会等で報告された、重症例が大半を占める症例群についてのものであって、軽症例や原因の特定に至らなかった症例を含めた本感染症の全体像は明らかとなっていない。

国内では、我々が文献的に調査をした範囲では、1993 年のイヌ咬傷から感染した敗血症例を最初として、これまでに 53 例を把握している。その約 2/3 の 34 例が 2010 年以降の 5 年間の症例であり、これは臨床の現場で認知度が向上し、検査によって同定

される件数が増加してきていることを示唆していると思われる。我々の研究成果の雑誌、新聞への掲載あるいは研究所一般公開等での広報活動、また、厚生労働省からの情報提供などが、認知度向上の一助となったと考えられる。今後も、臨床疫学的解析や基礎科学的研究と同様に、本疾患に関する広報活動・情報提供を継続していくことが重要である。

E. 結論

国内でも *C. canimorsus* の感染・発症例が一定数存在することが明らかになってきた。死亡例では医療機関を受診してから死亡までの時間が極めて短いケースがある一方、原因菌の同定には時間を要し、患者の容態はそれを待つに十分な時間がない。そのため医療機関では、敗血症に対して原因が特定されない状況で迅速かつ的確な救命医療を行う必要がある、そのため医療従事者はイヌ・ネコ咬搔傷感染症に関する十分な知識を得ておく必要がある。

さらには、本研究を通じて、*Capnocytophaga* 属の新菌種による敗血症例3例が把握された。これは世界初報告となる症例であり、いずれも重症で、死亡例も含まれており、新しい致死性敗血症の、また動物由来感染症の病原体として、今後、保菌動物と推測されるイヌ・ネコの保菌率調査を含めて、その実態を明らかにしていく必要がある。

これまで継続的に研究対象としてきた *C. canimorsus* 感染症に加えて、新菌種による症例も見出された。いずれも重篤な症状を呈することが多い公衆衛生上重要な感染症であり、医療関係者をはじめ、一般市民や動物と接する機会の多い獣医療やペット関連業に従事する人々に対して、それぞれの立場に応じた、咬搔傷を受けた際のリ

スクについての啓発活動を広く継続的に実施していくことが大切である。

我々の研究による、本感染症に関する科学的知見の集積は、これらの啓発活動における重要な基盤となるものであり、今後も継続して症例の情報収集に努め、薬剤感受性や本症例に特徴的な所見などの情報を蓄積していくことが大切であると考えられる。

また、本感染症の発症メカニズムの解明のため、宿主の感染防御機構と *Capnocytophaga* 属菌の有する病原因子の関係についての基礎的研究を進めることも公衆疫学的に重要な課題である。

F. 健康危険情報

本感染症は、患者の平均年齢が高く、中高年齢者がハイリスクグループである。今後の高齢化社会を見込むと、今後、ますます注意が必要な感染症である。また、疾患に対する認知度は少しずつ上がってはきているものの、未だ十分であるとは言えない。さらには、イヌ・ネコ由来と考えられる新規 *Capnocytophaga* 属菌が見出されたことから、その最新情報も含めて、今後、医療関係者や日常動物と接する飼い主、獣医療関係者、ペット動物関連業の従事者を中心に、咬搔傷事故に伴う感染症のリスクについて、幅広く啓発していく必要があると考えられる。

G. 研究発表等

1. 論文発表等

(1) 亀山光博, 富永潔, 矢端順子, 野村恭晴, 鈴木道雄, 今岡浩一. 種特異的PCR法と分離培養法を用いた山口県内の犬・猫における *Capnocytophaga* 属菌の検出状況. 日本獣医師会雑誌, 67(12): 929-933, 2014

2. 学会発表等

(1) 今岡浩一. 動物由来感染症について. 平成26年度全国動物関係事業所協議会関東甲信越静岡ブロック会研修会, 千葉, 2014年7月

(2) 亀山光博, 富永潔, 矢端順子, 野村恭晴, 鈴木道雄, 今岡浩一. 種特異的PCR法と分離培養法を併用した山口県内の犬・猫における *Capnocytophaga* 属菌の保有状況調査. 第52回(平成26年度)山口県獣医学会, 山口, 2014年8月

(3) 義間大也, 早川佳奈, 早川隆洋, 中野好夫, 藤本特三, 田村志宣, 鈴木道雄, 今岡浩一. 関節リウマチ治療中に発症した *Capnocytophaga canimorsus* 感染症の1例. 第205回日本内科学会近畿地方会例会 大阪 2014年9月

(4) 亀山光博, 富永潔, 矢端順子, 野村恭晴, 鈴木道雄, 今岡浩一. 種特異的PCR法と分離培養法を併用した山口県内の犬・猫における *Capnocytophaga* 属菌の保有状況調

査. 平成26年度獣医学術中国地区学会, 島根, 2014年10月 (平成26年度獣医学術中国地区学会会長賞受賞)

(5) 今岡浩一. 身近な愛玩動物から感染する動物由来感染症について. 平成26年度動物由来感染症研修会(栃木県), 宇都宮, 2014年10月

(6) 入江由美, 山磨達郎, 須賀原亮, 鈴木道雄, 今岡浩一. 新菌種と思われる *Capnocytophaga* 属による敗血症の一例. 第26回日本臨床微生物学会総会, 東京, 2015年1月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表 1) 国内患者の状況 (新規 *Capnocytophaga* 属菌による 3 例を除く)

1-1) 発生状況		1-2) 感染経路		1-3) 年齢構成				
発生年	人数 (死亡数)	感染経路	人数 (死亡数)	年齢	男	女	全体	%
1993	1	イヌ咬傷	28 (7)	0	0	0	0	0.0
2002	1 (1)	イヌ搔傷	1 (1)	10	0	0	0	0.0
2004	3 (1)	ネコ咬傷	5	20	1	0	1	1.9
2006	2 (1)	ネコ搔傷	7 (4)	30	1	1	2	3.8
2007	3 (1)	動物との接触	11 (1)	40	4	1	5	9.4
2008	7 (2)	不明	1 (1)	50	9	4	13	24.5
2009	2			60	16	2	18	34.0
2010	5 (1)			70	5	4	9	17.0
2011	8 (2)			80	2	2	4	7.5
2012	5 (1)			90	0	1	1	1.9
2013	9 (1)			計	38	15	53	100.0
2014	7 (3)							
53 (14)		1-4) 主症状						
		主症状	人数 (死亡数)					
		敗血症	46 (13)					
		髄膜炎	1 (1)					
		意識障害	1					
		頭痛・発熱	2					
		創部膿瘍・腫脹	3					
1-5) 基礎疾患の有無								
基礎疾患	人数 (死亡数)							
あり	24 (7)							
なし	24 (5)							

表 2) *C. canimorsus* および新規 *Capnocytophaga* 属菌国内臨床分離株の 16S rRNA および *gyrB* 遺伝子シーケンスの基準株との相同値

		ATCC35979株との相同値(%)	
		16S rRNA	<i>gyrB</i>
<i>C. canimorsus</i>	ATCC35979	100.00	100.00
	患者分離株		
	1	99.01	99.29
	2	98.94	99.33
	3	98.94	99.16
	4	98.89	100.00
	5	98.89	99.58
	6	98.89	99.37 *2014
	7	98.89	98.24
	8	98.87	99.66
	9	98.87	99.57
	10	98.82	99.59
	11	98.82	99.33
	12	98.79	99.50
	13	98.75	99.65 *2014
	14	98.75	99.58 *2014
	15	98.75	99.51 *2014
	16	98.75	99.42
	17	98.72	99.64
	18	98.68	99.72 *2014
	19	98.68	99.64
	20	98.68	99.13
	21	98.58	99.86
	22	98.16	99.50
	23	98.09	99.50
	24	98.06	99.58 *2014
	25	98.02	99.25
	26	97.85	99.37
27	97.11	99.50	
28	97.01	99.67	
新規 <i>Capnocytophaga</i>	29	97.01	75.59
	30	96.94	75.54 *2014
	31	96.94	75.52 *2014
<i>C. cynodegmi</i>	ATCC49044	98.58	73.41

表 3) 新規カプトサイトファーガ属菌の解析

3-1) 新規 *Capnocytophaga* 属菌感染症例のプロファイル

	発生年	年齢	性別	感染経路	主症状	転帰
症例1	2011年	40代	男性	ネコ搔傷	敗血症	回復
症例2	2014年	60代	女性	ネコ咬傷	敗血症	回復
症例3	2014年	80代	女性	イヌとの接触	敗血症	死亡

3-2) 新規 *Capnocytophaga* 属菌 3 株の *C. canimorsus* および *C. cynodegmi* に対する 16S rRNA および *gyrB* 遺伝子シーケンスの相同値

<i>C. canimorsus</i> 基準株		<i>C. cynodegmi</i> 基準株	
16S rRNA	<i>gyrB</i>	16S rRNA	<i>gyrB</i>
96.94 ~	75.52 ~	96.94 ~	77.57 ~
97.01%	75.59%	97.01%	77.89%

3-3) 新規 *Capnocytophaga* 属菌と *Capnocytophaga* 属既知種の生理・生化学的性状および化学的性状比較

	<i>Capnocytophaga</i> sp. Nov.			<i>C. canimorsus</i>	<i>C. cynodegmi</i>
	HP40001	HP20001	HP33001		
好気条件下での生育	-	-	-	-	-
溶血性	-	-	-	-	-
エスクリン加水分解	-	-	-	d	+
硝酸塩還元	-	-	-	-	d
オキシダーゼ反応	+	+	+	+	+
カタラーゼ反応	+	+	+	+	+
酸産生					
フルクトース	-	-	-	d	+
グリコーゲン	-	-	-	d	+
イヌリン	-	-	-	-	d
メリビオース	-	-	-	-	+
ラフィノース	-	-	-	-	d
サッカロース	-	-	-	-	d
DNA G+C含量	35.3	34.9	35.3	36-38	34-36
主要キノン組成	MK-6	MK-6	MK-6	ND	ND

3-4) 新規 *Capnocytophaga* 属菌と *Capnocytophaga* 属既知種との菌体脂肪酸組成比較

	<i>Capnocytophaga</i> sp. Nov.			<i>C. canimorsus</i>	<i>C. cynodegmi</i>	
	HP40001	HP33001	HP20001			
脂肪酸						
C14:0	0.89	0.72	0.54	0.87	0.95	
C15:0	0.11	0.17	0.20	0.13	0.10	
C16:0	3.27	3.11	5.27	1.31	1.95	
C18:0	1.42	0.54	1.56	0.19	0.69	
C16:1 ω7c	0.11	0.18	0.17	0.10	0.16	
C18:1 ω9c	1.64	1.32	2.42	0.72	1.22	
C20:1 ω10c	-	-	-	-	0.26	
C18:2 ω6,9c	1.81	1.40	2.26	0.53	1.71	
C16:0 3-OH	-	-	-	-	0.29	
iso-C11:0	-	-	-	-	0.26	
iso-C12:0	-	-	-	-	0.17	※Summed Feature1:
iso-C13:0	0.92	0.80	0.56	1.45	0.90	C13:1 at 12-13、
iso-C14:0	0.67	0.75	-	-	-	C14:0 aldehydeおよび
iso-C15:0	67.13	69.44	63.60	79.58	68.35	C11:1 2OH
iso-C16:0	0.36	0.49	0.53	0.11	0.09	Summed Feature3:
iso-C17:0	1.30	1.23	2.45	0.17	0.70	C15:0 iso aldehydeお
iso-C15:0 DMA	-	-	-	0.15	-	よびunknown 13.570
iso-C15:0 3-OH	-	-	-	-	0.57	Summed Feature9:
iso-C17:0 3-OH	-	-	-	-	-	C16:0 iso 3OHおよび
anteiso-C13:0	0.06	-	-	-	-	unknown 17.157 DMA
anteiso-C15:0	5.05	7.06	2.87	1.68	1.83	Summed Feature11:
Summed Feature1	2.05	2.45	2.23	3.04	2.61	C17:0 iso 3OHおよび
Summed Feature3	9.78	9.73	11.02	9.58	13.00	C18:2 DMA
Summed Feature9	3.43	0.60	4.31	0.33	3.35	
Summed Feature11	-	-	-	0.07	1.07	

表 4. 東京都動物愛護相談センターに引取られたネコの *C. canimorsus* 保菌率

	検体数	PCR陽性数	保菌率(%)
全体	112	46	41.1
1歳以上	49	32	65.3
1歳未満	63	14	22.2
歯あり	83	40	48.2
歯なし	29	6	20.7

イヌのレプトスピラ症に関する研究

研究協力者 小泉信夫 国立感染症研究所 細菌第一部 主任研究官

研究要旨

- 1) 12 都道府県 29 頭のレプトスピラ症疑いイヌの実験室診断を行い、7 府県 10 頭のレプトスピラ症が確定した。1 頭からレプトスピラが分離され、*L. interrogans* 血清群 Hebdomadis と同定された。
- 2) イヌから分離された *L. interrogans* の血清学的解析と multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) による分子タイピングを行うとともに、血清群あるいは MLVA タイプと感染イヌの臨床所見の関連性を調査した。その結果、すべての血清群・MLVA タイプは統計的有意差なく致死感染を引き起こしたが、血清群 Australis 感染では他の血清群よりも重篤な腎障害がみられた。また MLVA タイプにより病原性メカニズムや標的臓器が異なる可能性が示唆された。

A. 研究目的

レプトスピラ症は、病原性レプトスピラ (*Leptospira* spp.) の感染によっておこる人獣共通感染症である。イヌは感染急性期だけでなく、治療が行われない場合には保有体となり長期にわたってレプトスピラを尿中に排菌し、ヒトへの感染源となる可能性がある。そこでイヌのレプトスピラ症の発生実態の解明およびヒトへのレプトスピラ感染のリスク評価を目的に、レプトスピラ症疑いイヌの実験室診断を行うとともに、イヌから分離された *L. interrogans* の血清学的解析と multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) による分子タイピングを行い、血清群あるいは MLVA タイプによる感染イヌの臨床所見の比較を行った。

B. 研究方法

1. レプトスピラ疑いイヌの実験室診断：レプトスピラ症実験室診断は、コルトフ培地および EMJH 培地を用いた血液培養、

flaB-nested PCR による血液・尿からの DNA 検出、レプトスピラ 15 血清型を抗原とした顕微鏡下凝集試験 (MAT) による抗体検出 (ペア血清で 4 倍以上の抗体価上昇あるいは急性期抗体価 800 倍以上) により行った。レプトスピラ分離株の種同定は *flaB* 遺伝子の部分塩基配列の決定により行った。また血清群の同定は、レプトスピラ標準抗血清を用いた MAT により行った (参考文献 1)。

2. *L. interrogans* イヌ分離株の血清群・分子タイプによる感染イヌ臨床所見の比較：
1) レプトスピラ分離株：2007 年 8 月から 2013 年 3 月の間に 69 頭のイヌから分離された 112 株の *L. interrogans* について解析を行った。分離株の血清群は上述の方法で同定した。

2) MLVA：参考文献 2~4 にある 11 種類の VNTR について PCR を行った。PCR 産物のアガロースゲル電気泳動および DNA シーケンシングにより、各 VNTR のリピート数の算定を行った。各分離株のクラスター解析は、各 VNTR のリピート数を

もとに Bionumerics を用いて行い、系統樹は UPGMA 法により作成した。

3) 統計解析：雌雄間の死亡率、死亡／生存イヌ間のワクチン接種率の比較は Chi-square test あるいは Fisher's exact test で行った。血清群あるいは MLVA タイプ間の臨床所見あるいは血液データの多群間比較は Kruskal-Wallis test で行い、2 群間の事後検定は Wilcoxon rank-sum test で行った。p 値 < 0.05 を有意差ありと判定し、Bonferroni 補正を行った。

*参考文献

1. Koizumi N et al., J Med Microbiol. 62:630, 2013.
2. Majed Z et al., J Clin Microbiol. 43:539, 2005.
3. Slack A et al., J Med Microbiol. 55:1549, 2006.
4. Zuerner RL & Alt DP. J Clin Microbiol. 47:1202, 2009.

C. 研究結果と考察

1. レプトスピラ感染疑いイヌの実験室診断：イヌは、ヒトと同様にレプトスピラ感染により急性発症する一方で、感染後にレプトスピラ保有動物となりヒトへの感染源となる可能性がある。またイヌのレプトスピラ症は、ヒトに比べて容易に診断されることから、当該地域のヒトのレプトスピラ感染リスクを評価するための歩哨動物となることが期待できる。そこで本研究では、レプトスピラ感染が疑われたイヌの実験室診断を行った。

本年度は表 1 にある 12 都道府県 29 頭の実験室診断を行い、7 府県 10 頭のレプトスピラ症が確定した。我々の調査では、初めて愛知県と大阪府から陽性例が見出された。

また鹿児島県の 1 頭からレプトスピラが分離された。分離株は *flaB* 部分塩基配列と標準抗血清との反応性から *L. interrogans* 血清群 Hebdomadis と同定された。抗体が検出された血清群は、Australis および Hebdomadis であった (表 1)。

本調査のイヌのレプトスピラ急性感染が確認された 7 府県のうち茨城、愛知、広島各県では、感染症法施行後ヒト症例の報告はない。しかしながら、ペットのレプトスピラ感染が起きていることから、これらの県でもヒトの生活圏に感染リスクが存在すること、またこれら地域でヒト患者が見逃されている可能性が示唆された。今後当該地域の医師のレプトスピラ症に対する認識を向上させ、ヒトの感染実態の把握へとつなげていきたい。

イヌのレプトスピラ感染予防としてワクチンが存在する。しかしながら、現行のワクチンは血清型に特異的な効果しかないとされている。実際、本調査でレプトスピラ症が確定したイヌの 50% はワクチンの接種歴があった。感染レプトスピラは現行ワクチンの多くに含まれていない血清群 Australis あるいは Hebdomadis であり、感染血清型に関わらず広範囲のレプトスピラ感染に有効で、長期に効果が持続する新たなワクチンの開発が急務である。

2. *L. interrogans* イヌ分離株の血清群・分子タイプによる感染イヌ臨床所見の比較：イヌのレプトスピラ症は全世界で発生のみられる疾患であるが、レプトスピラの血清型や遺伝子型による病原性の違いはほとんど明らかになっていない。またレプトスピラ分離株のタイピングは、疫学研究や維持宿主動物の同定とそれに基づく感染予防策の策定に必須である。本研究では 69 頭のイヌから分離された *L. interrogans* 血清群 Australis, Autumnalis, Hebdomadis 112

株の血清学的解析と MLVA を用いた分子タイピングを行い、分離株の血清群・分子タイプによる感染イヌ臨床所見の比較を行った。MLVA の結果に基づくクラスター解析の結果、12 クラスター (11 VNTR のうち少なくとも 4 つのリピート数が一致したものを同じクラスター (CL) とした)、48 の MLVA タイプが得られた (図 1)。血清群 Australis は 2 クラスター、Autumnalis は 3 クラスター、Hebdomadis は 5 クラスターに分類された。以前行った MLST では同じシークエンスタイプが異なる血清群でみられたが (参考文献 1)、MLVA では異なる血清群の株は異なるクラスターに分類できることが明らかとなり、MLVA は MLST より解像度が高く、分子タイピングに有用であることが明らかとなった。

分離株が得られたイヌの死亡率は 77% と非常に高かったが、雌雄で統計的有意差はみられなかった。また感染後死亡した個体と生存した個体のワクチン接種率にも有意差はみられなかった。

3 血清群すべて (Australis; 83.3%, Autumnalis; 100%, Hebdomadis; 69.4%) あるいはすべての CL (57.1%–100%) で致死感染がみられたが、血清群あるいは MLVA タイプで有意差はみられなかった (表 1)。表 1 にある 4 つの臨床症状のうち、血清群 Australis と Autumnalis の間で粘膜の充出血に有意差がみられた ($p=0.03$)。9 CL 間の多重解析では粘膜の充出血で有意差がみられた ($p=0.002$)。Australis CL2 感染では粘膜の充出血はみられなかったが、Australis CL1, Autumnalis CL3, Hebdomadis CL1 および CL3 は有意に充出血がみられた ($p < 0.05$)。しかしながらこれらの有意差は Bonferroni 補正によりみられなくなった。

血液データ (表 2) では、クレアチニン (Cre) 値で Australis と Hebdomadis の間に有意差がみられた ($p=0.02$)。また血中尿素

窒素 (BUN) 値は Australis と Hebdomadis ($p=0.004$)、Australis と Autumnalis ($p=0.02$) で有意に異なっていた。9 CL 間の多重比較では Cre 値で有意差がみられた ($p=0.05$)。2 群比較では Australis CL1 と Hebdomadis CL3 ($p=0.03$)、Australis CL1 と Hebdomadis CL4 ($p=0.003$)、Australis CL2 と Hebdomadis CL4 ($p=0.04$)、Hebdomadis CL1 と CL4 ($p=0.002$) で有意差がみられたが、Bonferroni 補正を行った後では Hebdomadis CL1 と CL4 間でのみ有意差が残った。

以上の結果から、血清群 Australis は他の血清群よりも重篤な腎障害を引き起こすことが明らかとなった。また異なる CL 株の感染で粘膜の充出血や Cre 値で有意な差異がみられることから、遺伝子型 (MLVA タイプ) により病原性メカニズムや標的臓器が異なる可能性が示唆された。

*MLVA および統計解析を行うにあたってご協力いただいた泉谷秀昌博士 (国立感染症研究所)、鈴木基博士 (長崎大学) に深謝いたします。

D. 研究発表等

1. 論文発表等

(1) Koizumi N, Mizutani Muto M, Izumiya H, Suzuki M, Ohnishi M. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis and clinical characterization of *Leptospira interrogans* canine isolates. J Med Microbiol. (in press)

2. 学会発表等

(1) 水谷麻紀, 小泉信夫, 泉谷秀昌, 川原一芳, 大西真. MLVA genotyping and clinical characterization of *Leptospira interrogans* canine isolates. 第88回日本細菌学会総会,