

## 短 報

## 大阪府内で発生した犬レプトスピラ症集団発生事例

佐 伯 潤<sup>1),2),3)†</sup> 北 原 千 春<sup>1),4)</sup>

- 1) (公社)大阪府獣医師会 (〒541-0046 大阪市中央区平野町1-8-8 平野町安井ビル3階)
- 2) 大阪府 開業 (くずのは動物病院: 〒594-0006 和泉市尾井町1-1-31)
- 3) 大阪府立大学獣医内科学研究グループ (〒598-8531 泉佐野市りんくう往来北1-58)
- 4) 大阪府 開業 (アルプス動物病院: 〒563-0023 池田市井口堂1-12-10)

(2018年3月22日受付・2018年8月23日受理)

## 要 約

大阪府内で、平成29年10～11月に、合計11頭の犬レプトスピラ症を疑う症例の届出があり、そのうち9頭が死亡した。疫学調査の結果から、8頭が同じ河川敷を散歩コースとしており、4頭の飼い主は同じ町内に居住していた。顕微鏡下凝集試験では、2頭が血清型 Australis に対し、それぞれ2,560倍及び10,240倍の抗体価を示した。また、このうちの1頭の血液及び血清型を特定できなかった他の1頭の尿から、PCR法によってレプトスピラDNAが検出された。これらのことから、今回の流行事例は、同じ病原菌あるいは感染源から感染した可能性が考えられた。

——キーワード：犬レプトスピラ症，集団発生，血清型 Australis.

-----日獣会誌 72, 167～171 (2019)

レプトスピラ症は、*Leptospira interrogans* を原因とする人と動物の共通感染症で、24血清群、250種以上の血清型が知られている [1-4]。動物は感染すると黄疸、出血及び腎不全等の症状を伴って急性経過を示す例と、感染してもほとんど症状を示さずに菌を排出し続ける例がある。また、数週間～数年にわたって尿中に菌を排出する例もみられる [2-4]。人や犬は、野生げっ歯類等の保菌動物の尿によって汚染された水や土壌との直接的、間接的な接触により感染する [2-4]。人が本菌に感染した場合、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律では4類感染症として扱われる。家畜伝染病予防法では、犬が血清型 Pomona (L. p), Canicola (L. c), Icterohaemorrhagiae (L. i), Grippotyphosa (L. g), Hardjo (L. ha), Autumnalis (L. at), Australis (L. as) に感染した場合、レプトスピラ症患者として届出義務がある。疑似患者も届出の対象となるが、顕微鏡下凝集試験 (microscopic agglutination test: MAT) による検査で該当の血清型が検出された場合にレプトスピラ症患者として扱われる。

平成29年10～11月にかけて、大阪府家畜保健衛生所管内において、犬レプトスピラ症を疑う症例の届出が

相次いだ。Social Networking Service 等を通じて運動公園等の施設がある河川敷が感染源ではないかとの情報が拡散し、人や他の犬への感染を危惧する市民からの行政機関への問い合わせが増加した。そのため、人の感染症を所管する大阪府の健康医療部と動物の感染症を所管する農林水産部動物愛護畜産課及び(公社)大阪府獣医師会が情報を共有し、連携しながら対応することとなった。大阪府健康医療部では、保健医療室医療対策課が医師会等関係医療団体への情報提供と近隣自治体感染症担当課との情報共有及び報道対応、保健所地域保健課が、市民からの健康相談の対応を担当した。動物愛護畜産課は、動物取扱業者への情報提供、家畜保健衛生所が疫学調査、大阪府獣医師会は会員獣医師への情報提供と polymerase chain reaction (PCR) 法による検査、IgM抗体検査及びMATによる血清型別検査をそれぞれ担当した。

## 材 料 及 び 方 法

**疫学調査：**レプトスピラ症を疑う犬の届出を行った獣医師に対し、電話で聞き取り調査を実施した。調査項目は、犬種、性別・年齢、飼い主の住所、発症日、症状、

† 連絡責任者：佐伯 潤 (くずのは動物病院)

〒594-0006 和泉市尾井町1-1-31

☎ 0725-44-0209 FAX 0725-44-0283

E-mail: jun-vet@mxv.mesh.ne.jp

診断根拠、予後、ワクチン接種歴、犬の散歩コース及び外出歴とした。

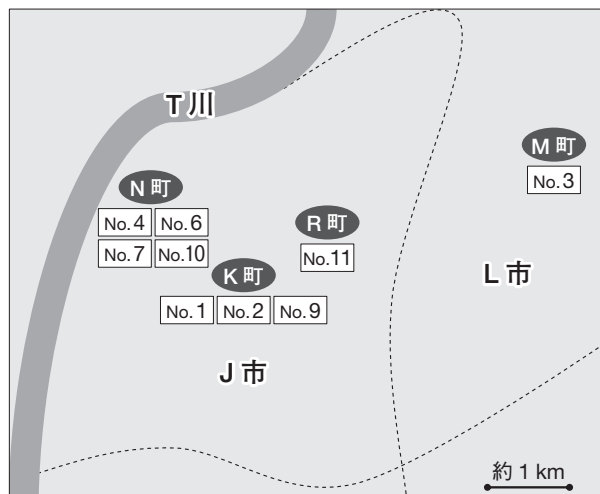
**PCR法**：7頭の犬の尿及び血液から、QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Germantown, MD, U.S.A.) を用いてDNAを抽出した。PCR法による測定は、G1/G2プライマーペアとL-flaB-F1/L-flab-R1プライマーペアの2種類を用い、民間の検査機関(マルピー・ライフテック株, 大阪)に委託して実施した [5, 6]。

**IgM抗体検査**：6頭の犬の血清あるいは血漿を検査材料とし、イムノクマト法検査キット(MegaFLUO® LEPTOSPIRA, MEGACOR Diagnostik GmbH, Hörbranz, Austria)を用いて実施した。測定は、民間の臨床検査機関(富士フィルム モノリス株, 東京)に委託した。

**MAT**：6頭の犬の血清を検査材料とし、抗原は、L. c, L. at, L. as, L. i, Hebdomadis (L. h) の5菌種を用い、世界保健機構(World Health Organization: WHO)の方法(Terpstra WJ ed.: Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control, WHO, Geneva, 69-73 (2003))に従って実施した。すなわち、被験血清をリン酸緩衝生理食塩水で2倍連続希釈し、レプトスピラ生菌を加えて室温2時間静置した後に、暗視野顕微鏡下で凝集像を判定した。単一血清を用いたMATの陽性判定基準は、臨床症状とともに抗体価800倍以上とすることが推奨されていることから [2-4]、今回この基準を適用した。

## 成 績

平成29年10～11月に8名の獣医師から犬レプトスピラ症を疑う11症例の届出があった。犬の年齢は3～13歳で、雄5頭、雌6頭であった。全頭が黄疸、肝不全、腎不全等の症状を呈し、回復した個体は2頭のみで、9頭が治療に反応せず死亡した。11頭のうち、臨床症状や臨床経過からレプトスピラ症と診断されたのは5頭、IgM抗体陽性個体が4頭、PCR法で血液及び尿からレプトスピラDNAが検出された個体がそれぞれ1頭であった。IgM抗体陽性個体のうち2頭で実施された尿のPCRは陰性であった。平成28年あるいは平成29年に2種または3種のレプトスピラ抗原を含む混合ワクチンの接種を受けていた個体4頭は、すべて死亡した。2頭の回復例は、いずれもレプトスピラ抗原を含むワクチン接種は受けていなかった(表1)。発症個体は、8頭が同じ市内で飼育されており、そのうち4頭は同じ町内の半径100mの範囲内で飼育されていた。また、他の1頭は隣接する市で飼育されていた。外出歴等では、8頭が同じ河川敷を散歩コースとしていた(図)。なお、市町村名、河川名については、個人情報保護の点から表示していない。



※P市, R市はJ市と隣接していないため示していない。

図 今回、届け出られた犬レプトスピラ症を疑う症例の発生地とT川河川敷との位置関係

## 考 察

MATによる血清型検査を実施した6頭のうち、5頭でいずれかの抗原に対する抗体が検出されたが、1頭(No. 10)からは、いずれの血清型に対する抗体も検出されなかった(表2)。No. 6は、臨床症状として黄疸と肝不全が認められ、抗L. as抗体価は10,240倍を示した。またNo. 11は、黄疸と腎不全が認められ、抗L. as抗体価は2,560倍を示した。以上の結果から、2頭(No. 6及びNo. 11)をL. asによるレプトスピラ症患者、残りの9頭をレプトスピラ症疑似患者と判定した。

MATによる各血清型に対する抗体価並びに臨床症状から11頭中2頭をL. asによるレプトスピラ症患者、9頭を疑似患者と判定した。MATでは、発症直後と発症10～14日後のペア血清を用い、4倍以上の抗体価上昇が認められた場合に当該血清型の感染と診断する [2-4]。しかし、今回は急性経過をたどった症例が多く、ペア血清の採取は困難であったため、単一血清により診断した。レプトスピラが犬に感染すると、感染から4日程度で菌血症を起こし、7日程度で種々の臨床症状を示すようになる。さらに、感染から10日程度経過すると、抗体の上昇が認められるようになり、2週間程度すると尿中へ排菌されるようになる [4]。その経過は個体の抗体保有状況によっても異なるため [4]、臨床例における診断は、ワクチン接種の有無や検査の実施時期を考慮し、適切な検査方法を選択するとともに、臨床症状により総合的に評価する必要がある [2-4]。日本では、L. as抗原が含まれている犬用ワクチンは、現在、販売、使用されていないため、No. 6とNo. 11におけるL. asの高い抗体価は、本血清型の感染を示していると思われる。今回、血清型の特定ができなかった個体は疑似患者

表1 平成29年10～11月にかけて大阪府家畜保健衛生所管内で発生した犬レプトスピラ症を疑う症例<sup>1)</sup>

No. <sup>2)</sup>	届出日	犬種	年齢・性別	住所	発症日	症状	診断根拠	予後	ワクチン接種歴 (接種年月) <sup>3)</sup>	外出歴等
1	10月16日	ボーダコリー	3歳・雌	J市 K町1	9月末	黄疸, DIC	IgM(-), 尿PCR(+)	死亡	8種混合 (平成28年)	T川 河川敷
2	10月16日	ボーダコリー	10歳・雄	J市 K町1	9月末	黄疸, DIC	IgM(-), 尿PCR(-)	死亡	8種混合 (平成28年)	T川 河川敷
3	10月18日	G.シェパード	5歳・雄	L市 M町5	10月2日	黄疸, 肝不全, 腎不全	臨床症状, 尿PCR(-)	回復	6種混合 (平成29年5月)	T川 河川敷
4	10月15日	不明	4歳・雌	J市 N町1	10月8日	重症, 受診当日死亡	IgM(+)	死亡	なし	T川 河川敷
5	10月18日	ブルドッグ	6歳・雌	P市 Q町2	10月8日	肝機能異常	IgM(+), 尿PCR(-)	死亡	平成23年以降 なし	野外に 行かず
6	10月12日	雑種	5歳・雌	J市 N町1	10月9日	黄疸, 肝不全	IgM(+), 尿PCR(-)	回復	5種混合 (平成28年9月)	T川 河川敷
7	10月19日	雑種	13歳・雌	J市 N町1	10月10日	発熱, 黄疸, 腎不全	IgM(+)	死亡	9種混合 (平成27年12月)	T川 河川敷
8	11月10日	M. シュナウザー	8歳・雄	R市 T区 S町2	10月15日	重症, 受診当日死亡	臨床経過	死亡	8種混合 (平成28年7月)	—
9	10月29日	トイプードル	10歳・雄	J市 K町1	10月18日	黄疸, 腎不全	臨床症状, 尿・血液 PCR(-)	死亡	9種混合 (平成27年5月)	T川 河川敷
10	10月26日	M. シュナウザー	8歳・雄	J市 N町1	10月22日	肝不全, 腎不全, 血小板減少	臨床症状	死亡	なし	—
11	11月9日	ミックス	11歳・雌	J市 R町1	11月1日	黄疸, 腎不全	尿PCR(-), 血液PCR(+)	死亡	9種混合 (平成28年9月)	T川 河川敷

1) 市区町名, 河川名は個人情報保護のため表示していない

2) 番号は発症日の順, No. 1とNo. 2は同一飼い主

3) 5種混合, 6種混合: レプトスピラ抗原を含まず

8種混合: 血清型 icterohaemorrhagiae 抗原, 血清型 canicola 抗原を含む

9種混合: 血清型 copenhageni 抗原, 血清型 canicola 抗原, 血清型 hebdomadis 抗原を含む

No. 1とNo. 2の接種月については不明

表2 6頭の犬におけるレプトスピラ抗原5種に対する抗体価

個体No.	レプトスピラ抗原				
	L. c	L. i	L. h	L. at	L. as
6	<10	160	<10	<10	10,240
7	<10	40	<10	<10	<10
8	<10	320	<10	<10	<10
9	<10	40	<10	20	20
10	<10	<10	<10	<10	<10
11	<10	80	20	80	2,560

L. c: Canicola

L. i: Icterohaemorrhagiae

L. h: Hebdomadis

L. at: Autumnalis

L. as: Australis

としたが, 個体No. 1の尿からレプトスピラDNAが検出され, No. 4, No. 5, No. 6及びNo. 7はIgM抗体陽性を示した. これらの個体は, 1年以内にワクチン接種は受けておらず, レプトスピラ症に特徴的な臨床症状も伴っていたことから, 本症の感染が強く疑われた. PCR法は, 血液, 尿, 組織から微量な菌の存在を証明

できる有用な検査法であるが, 血清型の判定はできない. したがって, 血清型の確定診断にはMATの実施が必要となる [2-4]. L. cを感染させた実験例では, 感染4日目にPCR法により血液からレプトスピラDNAが検出されたが, それ以後は検出されず, 尿からは8日以降に検出されたと報告されている [7]. また, 抗菌剤で治療した後に陰性となる場合もある [4]. そのため, PCR法による検査では, 検査の実施時期と検査材料及び治療経過とを考慮する必要がある. IgM抗体検査は, L. c, L. at, L. as, L. i, L. hに対する抗体を検出できるが, 血清型の特定はできない. IgM抗体は, 感染後3~7日程度で上昇し, その後低下するため, 感染初期の検査として適している [2-4]. 今回, IgM抗体が陽性であった4個体のうちNo. 4, No. 6, No. 7は飼育場所が同じ町内で, 10月8~10日の3日間に発症していることから, ほぼ同時期に同じ感染源から, 5種類の血清型のいずれかに感染した可能性が示唆された.

大阪府家畜保健衛生所によると, 大阪府における犬レプトスピラ症の届出は, 平成26年度は5頭(疑似患畜



2頭, 患畜3頭), 平成27年度は5頭(疑似患畜2頭, 患畜3頭), 平成28年度は疑似患畜1頭であった。今回の事例は, 平成29年10月12日~11月10日のわずか1カ月程度で11頭(疑似患畜9頭, 患畜2頭)と, 例年のほぼ2倍の届出数となった。届出のあった11頭中, 患畜2頭を含む9頭が同じ市内と隣接する市で飼育されていた。さらに, この9頭のうち8頭が同じ河川敷を散歩コースとしていたことから, 同じ病原菌あるいは感染源から感染した可能性が考えられた。人のレプトスピラ症は, 台風等に伴う水害時に発生の増加があるとされている [8]。国土交通省による水位記録 (<http://www.river.go.jp>) では, 当該の河川敷が浸水するような水位の上昇は確認できなかったが, 疫学調査の結果から, 8頭は同一の河川敷で感染した可能性が考えられた。また, 同じ町内で飼育されている犬が複数頭発症したことから, 河川敷以外にも, 犬から犬への感染あるいは他の感染源が存在した可能性も示唆された。

家畜伝染病予防法の届出対象以外の血清型による犬レプトスピラ症の発生数は, L. h が53.3%と最も多かったことが報告されている [9]。また, 犬の甚急性レプトスピラ症例では, IgG抗体が上昇する以前の発症後2~4日で死亡する症例も多いことから [2-4], 原因血清型の特定と発生状況の把握には限界がある。犬のレプトスピラ症の発症と重症化予防には, ワクチン接種は有効であるが, 現在, 日本で使用可能な犬用のレプトスピラワクチンに含まれる抗原血清型は, L. c, L. i, L. h, L. g 及び L. p のみで, 今回検出された L. as に対する抗原は含まれていない。大阪府を含め, 検出される血清型には地域差があり [3, 9-11], また, ワクチンの効果は血清型に特異的とされている [12]。幸い, 今回は人への感染報告はなかったが, 犬及び人における本症の予防には, 地域での発生状況や流行している血清型の情報を蓄積することが重要と思われる。そのためには, 小動物臨床獣医師が家畜伝染病予防法による本症の届出義務を積極的に果たすとともに, 行政とも連携して犬レプトスピラ症の発生状況を正しく把握する必要がある。また, 今回発生した L. as は, 国内の犬では, L. h に次いで高頻度 (20.3%) に検出されていることから [9], 本血清型を含むワクチンの開発も必要であると考えられる。

資料を提供いただいた大阪府環境農林部動物愛護畜産課及び大阪府家畜保健衛生所, 検査にご協力いただいた(株)微生物科学研究所, 疫学調査にご協力いただいた先生方, ご指導いただいた大阪府立大学 笹井和美教授に深謝する。

## 引用文献

- [1] Levett PN : Leptospirosis, Clin Microbiol Rev, 14, 296-326 (2011)
- [2] Sykes JE, Hatmann K, Lunn KF, Moore GE, Stoddard RA, Goldstein RE : 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention, J Vet Intern Med, 25, 1-13 (2011)
- [3] Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally JE, Sykes J : European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats, J Small Anim Pract, 56, 159-179 (2015)
- [4] Green CE, Skyes JE, Moore GE, Goldstein RE, Schultz RD : Leptospirosis, Infectious Diseases of the Dog and Cat, Greene CE ed., 4th ed., 431-447, Elsevier, Canada (2012)
- [5] Gravekamp C, Van de Kemp H, Franzen M, Carrinton D, Scoone GJ, Van Eys GJJM, Everard COR, Hartskeerl RA, Terpstr WJ : Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers, J Gen Microbiol, 139, 1691-1700 (1993)
- [6] Kawabata H, Dancel LA, Villanueva SYAM, Yanagihara Y, Koizumi N, Watanabe H : *flaB*-polymerase chain reaction (*flaB*-PCR) and its restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis are an efficient tool for detection and identification of *Leptospira* spp., Microbiol Immunol, 45, 491-496 (2001)
- [7] Branger C, Blanchard B, Fillonneau C, Suard I, Aviat F, Chevallier B, André-Fontaine G : Polymerase chain reaction assay specific for pathogenic *Leptospira* based on the gene *hap1* encoding the hemolysis-associated protein-1, FEMS Microbiol Lett, 243, 437-445 (2005)
- [8] 笠井雅子, 近藤優美, 継仁, 額賀俊介, 松平慶, 米田哲, 橋本浩一, 小田慈 : 災害と感染症, 小児感染免疫, 25, 501-505 (2013)
- [9] Koizumi N, Mizutani M, Akachi S, Okano S, Yamamoto S, Horikawa K, Harada S, Funatsumaru S, Ohnishi M : Molecular and serological investigation of *Leptospira* and leptospirosis in dogs in Japan, J Med Microbiol, 62, 630-636 (2013)
- [10] 阿久沢正夫, 大石明広, 富宿誠吾, 出口栄三郎, 三角一浩, 坂本紘, 安田宣紘, 岡本嘉六, 杉村崇明 : わが国の6地域における飼育犬のレプトスピラ抗体保有状況, 日獣会誌, 52, 780-783 (1999)
- [11] 武田雅人, 小西修宏, 塩野将巳, 飯田芳人, 永田秀明, 桂誠一, 勝井一恵, 堀越敬之, 齋藤浩一 : 大阪府域における浮浪犬のレプトスピラ抗体の保有に関する調査, 日獣会誌, 57, 809-812 (2004)
- [12] Koizumi N, Watanabe H : Leptospirosis vaccines: past, present, and future, J Postgrad Med, 51, 210-214 (2005)

## Canine Leptospirosis Outbreak in Osaka

Jun SAEKI<sup>1), 2), 3)†</sup> and Chiharu KITAHARA<sup>1), 4)</sup>

- 1) *Osaka Prefectural Veterinary Medical Association, Hiranomachi Yasui Building 3F, 1-8-8 Hiranomachi, Chuo-ku, Osaka, 541-0046, Japan*
- 2) *Kuzunoha Animal Hospital, 1-1-31 Onoicho, Izumi-shi, 594-0006, Japan*
- 3) *Osaka Prefecture University, 1-58 Rinku-oraikita, Izumisano-shi, 598-8531, Japan*
- 4) *Alps Animal Hospital, 1-12-10 Iguchido, Ikeda-shi, 563-0023, Japan*

### SUMMARY

In Osaka Prefecture, a group case of leptospirosis in 11 dogs, including 9 deaths, occurred from October to November 2017. Epidemiological studies revealed that 9 of the dogs had walked along the same trail in the riverbed, and 4 dog owners lived in same town. In two cases, the anti-*Leptospira interrogans* serovar Australis antibody was detected using the microscopic agglutination test at 2,560 and 10,240 titers, respectively. In addition, leptospiral DNA was also detected in 1 blood sample and 1 urine sample from dogs in which the serotype could not be identified. According to the results, the current outbreak is suspected to have come from the same pathogenic foci or source of infection. — Key words : canine leptospirosis, outbreak, serovar Australis.

† Correspondence to : Jun SAEKI (*Kuzunoha Animal Hospital*)

*1-1-31 Onoicho, Izumi-shi, 594-0006, Japan*

*TEL 0725-44-0209 FAX 0725-44-0283 E-mail : jun-vet@mxv.mesh.ne.jp*

*J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 72, 167 ~ 171 (2019)*