

# レプトスピラ症依頼検査について

## The Results of Examination of Leptospirosis

沖村 容子 庄司 美加 佐藤千鶴子  
佐藤 由紀 植木 洋 上村 弘  
齋藤 紀行

Yoko OKIMURA, Mika SHOJI, Chizuko SATO  
Yuki SATO, Yo UEKI, Hiroshi UEMURA  
Noriyuki SAITO

平成 14 年から 18 年度の 5 年間に県外 5 件を含む 23 件のレプトスピラ症検査依頼があり、黄疸出血性レプトスピラ症（ワイル病）2 事例と秋季レプトスピラ症（秋やみ C）1 事例の感染をしめす検査結果を得た。レプトスピラ症は患者発生が希な感染症となったが、県内の野ネズミのレプトスピラ保菌率は患者発生数と相関せず、平成 12～15 年の調査でも 20～40% であり感染の危険はある。4 類感染症となり患者報告が義務づけられた平成 15 年 11 月以降の集計によれば、推定原因では従来からの農作業、土木工事での感染に加えて、レジャー（海外旅行、川遊び、輸入ペットの飼育等）での感染も報告され、感染の機会は増えている。

キーワード：レプトスピラ症；人獣共通感染症；レプトスピラ保菌率

**Key words** : Leptospirosis ; Zoonosis ; infectious rate of *Leptospira*

### 1 はじめに

レプトスピラ症は、主にネズミ等のげっ歯類の腎臓に保菌され尿に排泄される病原性レプトスピラ (*Leptospira interrogans*) が皮膚の傷口や汚染された飲食物の摂取により感染する人獣共通感染症である。3～14 日の潜伏期を経て、発熱、黄疸、全身倦怠感、筋肉痛、結膜充血等の多彩な臨床症状を起こす。感染早期には多くの抗生物質が効果的であるが、治療が遅れれば死亡することもある。

レプトスピラはスピロヘータ目レプトスピラ科レプトスピラ属のグラム陰性好気性菌で、菌体は細長いラセン状（直径 0.1 $\mu$ m 長さ 6～20 $\mu$ m）を呈し、両先端に各 1 本の鞭毛を持つが、その鞭毛で活発、独特なラセン運動を示す。外皮の免疫的性状により、現在、30 余りの血清群 (serogroup)、230 以上の血清型 (serovar) に分類されており<sup>1)</sup>、血清型によって重症型の黄疸出血性レプトスピラ症（ワイル病）と軽症型の秋季レプトスピラ症（秋やみ A、B、C）、イヌ型レプトスピラ症及びその他に分けられる。近年、遺伝子による分類もなされているが、病原性との関連より従来からの血清型も用いられている。

本疾患は、過去において秋疫、七日熱などと呼ばれ、農作業や土木作業者に多く発生する風土病と考えられていた。宮城県においても昭和 34 年に患者 882 名（死亡者 35 名）におよぶ大流行を記録し<sup>2)</sup>、全国有数の多発地域であった。しかし、農作業の機械化、土地改良事業による乾田化の推進及びワクチン接種を含む予防対策により、昭和 51 年以降は患者数が激減し、現在では発生が希な感染症となった。当センターはレプトスピラの標

準血清型 13 株を継代し、生菌による抗体検査が可能な全国でも数少ない検査機関である。平成 14 年から 18 年度の過去 5 年間に県内外の医療機関等から依頼のあった検体から、3 例のレプトスピラ症感染を示す結果が得られたので報告する。なお、県内の野ネズミのレプトスピラ保有状況と全国のレプトスピラ症発生状況についても併せて考察する。

### 2 検査材料および方法

#### 2.1 レプトスピラ症の抗原および抗体検査

検査材料は、発熱直後の急性期および 10～14 日経過後の回復期の血清、血液を用いた。抗原検査は、発症直後の血液、血清を検体とし、暗視野顕微鏡下（倍率 100 倍）でのレプトスピラ菌体の検索を行った。病原体分離は、血液 50 $\mu$ l 程度をコルトフ培地に接種後、30 $^{\circ}$ C で培養し、7 日おきに 3 ヶ月まで継代した。継代する際には、暗視野顕微鏡下で菌体の検索を行った。PCR 検査は、血液またはバフィーコート等を検体とし、High Pure<sup>TM</sup> PCR Template preparation kit (Roche Diagnostics) を用いて DNA を抽出した。ついで鞭毛遺伝子の一つ *flaB* を対象としたプライマー L-*fla*BF1 と L-*fla*BR1 により増幅し、790bp のバンドを確認した。バンドが確認された場合は、BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit v1.0 (Applied Biosystems) により反応液を調整し、シーケンサー PRISM310 (Applied Biosystems) を用いてダイレクトシーケンスを行い同定した。

抗体検査は、急性期と回復期のペア血清を検体とし、顕微鏡下凝集試験 (Microscopic Agglutination Test) を行った。血清は滅菌 PBS で 10 倍に希釈後、96 穴マ

マイクロプレートを使って2倍連続希釈した。抗原として当センターで保有している各血清型の生菌10～13株を植え継ぎ、4～5日間、30℃で培養したものを使用した。希釈血清に抗原を同量あわせ攪拌後、37℃、3時間反応させた。反応液をスライドグラスに取り、暗視野顕微鏡下(倍率100倍)で観察し、陰性コントロールと比較して、凝集していない菌が50%以下となった場合を陽性とし、その血清希釈倍数の逆数を抗体価とした。いずれの方法も病原体検出マニュアル<sup>3)</sup>に準じた。

2.2 陽性事例の臨床症状等の情報

各医療機関から検査依頼の際に添付された調査票、臨床症状や治療経過等の資料をもとに作成した。

2.3 野ネズミのレプトスピラ保有状況

県内の山林、港湾他に捕そ器を設置し、野ネズミ(アカネズミ、クマネズミ、ドブネズミ他)を捕獲した。ネズミの腎臓抽出液、血液および血清を検体として抗原・抗体検査を行った。

2.4 全国の発生状況

国立感染症研究所・厚生労働省健康局が編集する「病原微生物検出情報」等の文献を参考とした。

3 結果

3.1 検査依頼数

平成14年度から18年度までの検査依頼数を県内、県外別に表1に示した。23件(検体数45件)の検査依頼があり、その内訳は県内からの依頼が18件、県外からが5件であった。また、21件が直接、医療機関から依頼されており、2件が地方衛生研究所を通しての依頼であった。

表1 検査依頼数

年度	件数	県内	県外
平成14年度		4 (13)	3 (5)
平成15年度		2 (2)	
平成16年度		2 (3)	1 (3)
平成17年度		1 (2)	
平成18年度		9 (15)	1 (2)
合計		18 (35)	5 (10)

( ) 内は検体数

3.2 検査成績

23件について抗原または抗体検査を行い3件よりレプトスピラ症の感染を示す結果を得た。内訳は平成14年度にワイル病1事例、平成16年度は秋季レプトスピラ症(秋やみC)1事例、平成18年度はワイル病1事例であった(表2)。

表2 検査成績

年度	依頼件数	陽性数*
平成14年度	7	1 (ワイル病)
平成15年度	2	
平成16年度	3	1 (秋季レプトスピラ症)
平成17年度	1	
平成18年度	10	1 (ワイル病)
合計	23	3

\* 抗体検査で判定

レプトスピラ症陽性の3事例について経過とその症状等を表3に、抗体検査の結果を表4に、また、その概要を以下に示した。

[事例1] 青森県在住の67才女性で感染原因は不明、狭心症で通院中の平成14年8月20日、腰痛、腹痛、全身倦怠感でかかりつけ医を受診し、ウイルス感染と診断された。症状が軽快せず別の医療機関を受診したが、8月23日には下肢の痛み(腓腹筋痛)が強くなり歩行困難となり8月25日、公立病院に入院した。同日、けいれん発作が数回有り、一時、人工呼吸となった。ステロイド剤、抗生物質投与により徐々に回復したが、各種検査にもかかわらず原因病原体が不明であったため平成15年1月に検査依頼があった。検体は8月26日と退院時の11月8日に採血したペア血清で、抗体検査の結果、ワイル病の病原体である *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae に1,280倍、serovar Copenhageni に2,560倍の抗体価上昇を認めた。

[事例2] 愛媛県在住の63才男性で、平成16年8月30日に通過した台風16号によって河川が氾濫し、その水害の後片づけをしていて感染したと推定された。9月6日に発病、9月8日に市立病院を受診した際に、黄疸、出血傾向、腎機能障害等の症状がありワイル病が疑われた。検査の相談を受けた地方衛生研究所より検査依頼があった。9月8日急性期に採血した血清にPCR検査を試みたが陰性であった。そこで9月10日採血の血清と併せて抗体検査を行った結果、秋季レプトスピラ症の病原体である serovar Australis (秋疫C) に640倍の抗体価を示し、秋季レプトスピラ症に感染したと考えられた。しかし、初発症状が重篤のためワイル病感染も考慮して、回復期に再度、採血するように求めた。9月22日採血の回復期血清では1,280倍の抗体価上昇を認め、秋季レプトスピラ症(秋やみC)の感染が確認された。入院後、一時、腎不全となり透析を行ったが、抗生物質投与により治癒した。

[事例3] 県内の67才男性で推定感染日は平成18年11月下旬、海釣りのため立ち寄った倉庫にネズミが出没し、その尿より感染したと推定された。発熱、黄疸症状が続いたため12月4日に公立病院を受診した。下肢の筋肉痛、結膜充血、肝機能障害、腎機能障害等の症状よりワイル病が疑われ、直ちに入院しストレプトマイシン等の抗生剤投与、

腎透析を行い回復した。抗生剤投与前の12月4日と、12月11日に採血した血液について検査依頼があった。12月4日採血検体のバフィーコートにレプトスピラ様物質を認めしたが、PCR検査は陰性であった。そこで、12月4日採血の急性期血清と11日採血の血清について抗体検査を行ったところワイル病の病原体である serovar Copenhageni,

serovar Icterohaemorrhagiae, に各々 640 倍、秋季レプトスピラ症(秋やみB)の病原体 serovar Hebdomadis にも 40 倍の抗体価を示した。血清型を決定するため、再度、採血を依頼し、12月25日の回復期血清では serovar Copenhageni, serovar Icterohaemorrhagiae, に 2,560 倍の抗体価を認めた。

表 3 経過および症状

事例	1	2	3
患者	67才女性 青森県在住	63才男性 愛媛県在住	67才男性 宮城県在住
発病年月日	平成14年8月17日	平成16年9月6日	平成18年11月下旬
自覚症状	腰、腹の痛み、倦怠感 倦怠感	黄疸	発熱 黄疸
受診経過	8月20日内科受診	9月8日市立病院受診	
入院等	8月25日公立病院入院		12月4日公立病院入院
入院時症状			
発熱	38℃代	37.5℃	最高39℃
四肢筋肉痛	有り 全(腓腹筋痛)	有り	有り 下肢
黄疸	有り	有り	有り
結膜充血	不明	有り	有り
出血傾向	有り	有り	血小板減少
肝機能障害	有り	有り	有り ビリルビン上昇著明
腎機能障害	有り	有り 透析中	有り
その他	けいれん発作		
治療開始	8月25日		12月4日
投与抗生物等	カルバペナム系 ステロイド投与	ストレプトマイシン	ストレプトマイシン 腎不全のため透析

表 4 3事例の抗体検査結果

抗原(血清型)	事例1		事例2			事例3		
	急性期	回復期	急性期	回復期	回復期	急性期	回復期	回復期
	8月26日	11月8日	9月8日	9月10日	9月22日	12月4日	12月11日	12月25日
黄疸出血性レプトスピラ症(重症型ワイル病)								
<i>L.interrogans</i> serovar Icterohaemorrhagiae	<10	1,280	<10	<10	<10	<10	640	2,560
<i>L.interrogans</i> serovar Copenhageni	<10	2,560	<10	<10	<10	<10	640	2,560
秋季レプトスピラ症(軽症型)								
<i>L.interrogans</i> serovar Autumnalis	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L.interrogans</i> serovar Hebdomadis	<10	<10	<10	<10	<10	20	40	40
<i>L.interrogans</i> serovar Australis	<10	10	<10	640	1,280	<10	<10	<10
イヌ型レプトスピラ症								
<i>L.interrogans</i> serovar Canicola	<10	40	<10	<10	<10	<10	<10	<10
その他のレプトスピラ症								
<i>L.interrogans</i> serovar Kremastos						<10	<10	<10
<i>L.interrogans</i> serovar Pomona			<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L.interrogans</i> serovar Pyregenes						<10	<10	<10
<i>L.interrogans</i> serovar Rachmati						<10	<10	<10
<i>L.kirschneri</i> serovar Grippotyphosa			<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L.borgpetersenii</i> serovar Javanica			<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L.borgpetersenii</i> serovar Poi						<10	<10	<10

3.3 県内の患者数とネズミのレプトスピラ保菌率

当センターで実施してきた調査を基に、県内の患者報告数<sup>2)</sup>と野ネズミのレプトスピラ保菌率<sup>2)</sup>を図1に示

した。県内の患者報告は昭和34年の882名を最大として減少し、昭和51年から62年までは10名以下の報告が続いた。昭和63年からは11年間報告がなかったが、

平成11年にワイル病による1名の死亡例<sup>4)</sup>があり、平成13年にも1例<sup>5)</sup>が報告されている。また、野ネズミの捕獲調査は昭和34年からワイル病特別対策事業等で実施されていたが、患者報告数も激減したことから平成6年に中止していた。この間、年度によって幅はあるが野ネズミの保菌率は20～80%であった。また、平成12～15年に調査を再開し、平成13年は40.0% (8/20)<sup>6)</sup>、平成15年は21.9% (9/41)<sup>7)</sup>との結果を得た。

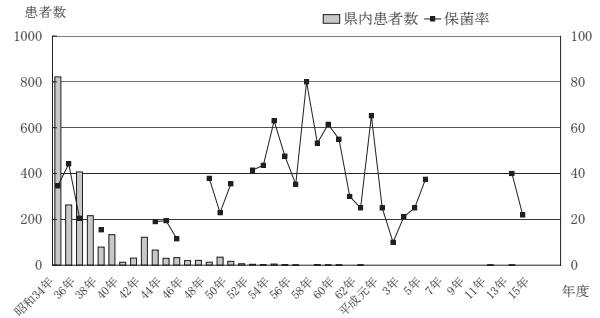


図1 県内の患者数と野ネズミのレプトスピラ保菌率

表5 全国の発生状況

年度	患者数	推定感染原因	推定感染地	血清型
平成15	1	水田農作業	徳島	Hebdomadis
平成16	4	水田農作業	千葉 長崎	Icterohaemorrhagiae Copenhageni
			徳島	Autumnalis Hebdomadis Canicola
	1	下水道工事	東京都	Icterohaemorrhagiae Copenhageni
	1	清掃作業	神奈川県	Canicola
	4	ヘドロ除去	沖縄	Autumnalis Hebdomadis Rachima
	1	台風後の水中作業	愛媛	Australis
	3	山、川での活動	沖縄 九州	Hebdomads
	2	イヌ、ヤギとの接触	沖縄 千葉	Javanica 型不明
	1	海外旅行中	バリ島	Sejroe
	1	海外旅行中	タイ	Australis
平成17	2	ネズミ (尿, 咬傷)	沖縄	Javanica Pyrogenes
	2	アメリカモモンガ飼育	静岡	Grippotyphosa
	1	耐久レース川下り	ボルネオ	Hebdomadis Poi Pyrogenes

### 3.4 全国の発生状況

レプトスピラ症は届出対象となっていなかったため、正確な発生状況は把握されていなかった。しかし、平成15年11月以降、届出が必要な4類感染症に指定されてからは、徐々に報告が増え発生状況が明らかとなってきた。表5にレプトスピラ症として報告された患者数、推定感染原因、推定感染地、感染血清型について示した<sup>8)~10)</sup>。平成15年度は1例のみの報告であったが、平成16年度は18例、平成17年度は5例となっている。推定感染原因で最も多いのが水田等農作業の5例で、ついで水源地のヘドロ除去4例であるが、これは集団感染とされている。川に関連したレジャーで4例が報告され、ネズミを含む動物から直接感染したと考えられる例も6例あった。推定感染地では、西日本とくに沖縄県での感染が大半をしめ、東南アジアで感染したと推測される例も3例報告されている。血清型はワイル病の病原体である serovar Icterohaemorrhagiae や Copenhageni, 秋季レプトスピラ症の serovar Autumnalis, Hebdomadis, Australis, イヌ型レプトスピラ症の serovar Canicola に加えて serovar Pyrogenes, servbar Javanica, 海外での流行血清型とされている serovar Sejroe, serovar Grippotyphosa も確認されている。

### 4 考察

レプトスピラ症、とくにワイル病は症状が重篤で死亡することもあり、また、患者も多発したため宮城県においては昭和40年代、法定伝染病に準じる届出伝染病の扱いであった。環境の変化や積極的な予防対策により患者数は激減し、全国的にも発生が希な感染症となったため、検査に対応できる検査機関は少ない。しかし、当センターでは過去に患者が多発したことや平成11年、13年にもワイル病患者が発生したことから、常にレプトスピラ症の検査体制を確保してきた。平成14年から18年度の5年間に他県からの依頼を含めて23件の検査依頼があり、23件中3件でレプトスピラ症の感染が確認された。3事例は発病時に発熱、黄疸、倦怠感等が有り、入院時には、四肢筋肉痛、黄疸、結膜充血や出血傾向が認められ、典型的なワイル病の症状であった。事例2では軽症型の秋季レプトスピラ症(秋やみC)に感染したにもかかわらず、患者が比較的高齢のため肝機能、腎機能障害も認められ、腎透析を必要とした。また、事例1では既往歴があったこともあるが意識障害で人工呼吸となる等、症状の重篤化が目立った。

検査は抗原検査と抗体検査を実施したが、3事例すべてが抗体検査で有意な抗体価の上昇が認められ、感染が



確認された。一般的にレプトスピラ症に感染すると、血液中にレプトスピラが確認されるのは、発症直後の4～5日間で、抗生物質投与により速やかに死滅するため、菌体検索やPCR検査に適した検体は採取時期が限られる。急性期血清が入手できた事例2、3について抗原検査を実施したが陰性となった。これに対して、抗体検査は回復期の血清を必要とするため、確認までに日数がかかるが、重症型か軽症型かの判別が可能となる。事例2、3は臨床症状から担当医師がレプトスピラ症を疑い、抗生物質投与等の処置後、直ちに検査依頼があったため、検査と治療は併行して進み、検果報告の時点で患者は治癒していた。しかし、事例1は2医療機関を受診し、また、公立病院入院時には意識障害もあり長期入院となった。治癒後も特にレプトスピラ症を疑ったわけではなく、原因病原体検索の一環として検査依頼があったため、医療機関受診から感染が確認されるまでに約5ヶ月を要した。このように、典型的な症状があっても既往歴等からレプトスピラ症が疑われないこともあり、早期診断、早期治療が行えるように医療関係者への情報提供が必要である。

ワイル病病原体の地域分布は血清型が serovar Copenhageni のみの地域と、serovar Icterohaemorrhagiae のみの地域、その両方が確認される地域に分かれている<sup>1)</sup>。県内で平成11年、13年に発生したワイル病事例の血清型や平成9年、10年に新潟県、山形県で発生した事例の血清型も Copenhageni であり、東北地方には、Copenhageni による汚染が広範囲に及んでいると推測されている。事例3では回復期血清で Icterohaemorrhagiae が Copenhageni と同等の抗体価であり、また、serovar Hebdomadis にも抗体価の上昇が認められた。*L.interrogans* の各血清型には交叉性があり、2,560倍という高い抗体であったことから、Icterphaemorrhagiae、Hebdomadis も上昇したと推測された。これらのことから、県内では、ワイル病の病原体としては Copenhageni が主流であると考えられる。一方、県内の野ネズミ調査で分離された株の血清型<sup>6)</sup>は13件中9件が serogroup Icterhaemorrhagiae、2件が serogroup Autumnalis と従来からの血清群であるが、いままで日本で報告のない血清群の株も1件分離されている。今後、抗体検査に際しては、従来と異なった血清型を考慮することが必要と考える。

レプトスピラ症が4類感染症に指定され届出が必要となった平成15年以降、全国の発生状況では推定感染原因として、従来からの農作業や土木工事とともに、レジャー、とくに河川に関係した例が増えてきている。また、主な保菌動物であるネズミ以外のイヌ、ヤギとの接触やアメリカモモンガ等の輸入ペットによる新たな感染原因も報告されており、感染の機会は多種となっている。推定感染地は、西日本とくに沖縄や東南アジアの亜熱帯地域での感染が多く、沖縄では平成11年に八重山諸島で、15年には北部地域河川に関連した集団発生が報告されている。報告例の大半が亜熱帯地域で感染し

ていることや、発生が希な感染症であることから、県内での感染の危険は少ないと思われるが、平成12～15年の調査で野ネズミの保菌率が20～40%と過去にワイル病が多発した時代と同様であることが明らかとなった。このことから県内での感染の危険はいまだに存在し、加えて、輸入ペット飼育や海外旅行等の、従来とは異なる感染原因も加わり、以前より、感染の機会は増加していると考えられる。当センターとしては、検査体制の保持と充実を図っていくとともに、得られた情報を医療機関や一般住民に提供し、レプトスピラ症に対する注意を喚起していくことが必要であろう。

## 5 まとめ

- 1) 平成14年度から18年度に県外の医療機関からの5件を含む23件のレプトスピラ症検査依頼があった。
- 2) 3件が抗体検査によりレプトスピラ症に感染したと確認され、その内訳は、黄疸出血型レプトスピラ症（ワイル病）2事例と秋季レプトスピラ症（秋やみC）1事例であった。
- 3) 野ネズミのレプトスピラ保菌率は、平成12～15年の調査でも20～40%で、患者が多発した時代と同様であった。
- 4) 全国の発生状況から、新たに動物との接触、輸入ペットの飼育、海外旅行等が推定感染原因として挙げられ、感染の機会は多種となってきている。

## 謝 辞

本研究を行うにあたり、臨床所見等の情報を提供いただいた医療機関の方々、ならびに調査にご協力いただいた厚生労働省科学研究・新興再興感染症研究事業班の方々に感謝いたします。

## 参考文献

- 1) 国立感染症研究所：“レプトスピラ感染症パンフレット”（2002）
- 2) 秋山和夫、植木 洋、佐久間隆、新妻澤夫、菱沼早樹子、御代田恭子、山本 仁、佐々木智司：“宮城県におけるワイル病”4（1993）
- 3) 地方衛生研究所全国協議会、国立感染症研究所：“病原体検出マニュアル”，レプトスピラ病（2003）
- 4) 国立感染症研究所・厚生労働省健康局：病原微生物検出情報，21,2（2002）
- 5) 佐藤千鶴子、後藤郁男、植木洋、渡邊節、沖村容子、秋山和夫、白石廣行、林千恵：宮城県保健環境センター年報，20,51（2002）
- 6) 増澤俊幸：“帰帰熱、レプトスピラ等の希少輸入細菌感染症の実態調査及び迅速診断法の確立に関する研究・平成12～14年度総合研究報告書”，10（2003）
- 7) 沖村容子、佐藤千鶴子：“平成15年度調査研究終了報告書”（2004）

- 8) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局:IDWR 速報, 7, 13 (2005)
- 9) 国立感染症研究所・厚生労働省健康局: 病原微生物 検出情報, 26, 10 (2005)
- 10) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局: 病原微生物 検出情報, 26, 58 (2005)
- 11) 森守: 第18回レプトスピラシンポジウム抄録 (1987)