

千葉県におけるレプトスピラ症の 血清疫学的研究 一第I報一

十川 知子¹⁾ 海保 郁男¹⁾ 酒井 利郎¹⁾ 春日 邦子¹⁾
時枝 正吉¹⁾ 太田原美作雄¹⁾ 森 守²⁾

Seroepidemiological Studies on Leptospirosis in Chiba prefecture I

Tomoko TOKAWA, Ikuo KAIHO, Toshirou SAKAI
Kuniko KASUGA, Masayoshi TOKIEDA
Misao OHTAWARA and Mamoru MORI

Summary

We carried out the investigation of Leptospira antibody using 443 farmers sera and 159 rodents sera, and tried to isolation of Leptospira used of rodents kidneys.

- 1) 50-59 age group and upper 60 age group have high percentage of positive sera, and high titer sera was contained within these groups.
- 2) Positive percentage of antibody to L.copenhageni M20 is higher than the other type of Leptospira in farmers sera which collected from Sawara and Noda city but in Chiba city positive rate to L.hebdomadis Akiyami B is higher than to M20 strain. Many rodents sera which have antibody to Leptospira reacted to Akiyami B strain.
- 3) The farmers sera collected from Sawara city, where have been Leptospira infected area in the past, have higher positive rate than the sera collected from others, and antibody positive sera were distributed widely among age bracket, in addition, there were some sera that were not reacted to L.copenhageni M20 but were reacted to the other sero-type.
- 4) We could not isolate the Leptospira from rodents kidney.

I はじめに

我が国におけるレプトスピラ症の患者発生数は、昭和23～25年、34～36年にそのピークを持ち、近年急激に減少してきている。¹⁾²⁾過去において、千葉県でも多くの患者および死亡者を出し、多発県の一つにかぞえられ、特に利根川流域は濃厚汚染地域とされていた。³⁾⁴⁾千葉県においても全国と同様の減少傾向を示し、当所における血清学的確認患者は昭和53年の1名⁵⁾を最後に現在に至るまで皆無である。

しかしながら、ネズミやイヌ、その他の野生動物にも感染が認められ、レプトスピラが尿とともに排泄され、水中や泥土で長時間生存し感染力を保持している報告⁶⁾

もあり、完全な制圧が困難であるのが現状である。したがって、全国的には散発的ながら毎年死亡例を含む症例が確認されている。さらに病勢が急性致死性であること、レプトスピラの伝播様式が他の感染症とは違い、感染動物の尿で汚染された水や泥土に接触し経皮感染するという特異性があるため、農業従事者や飲食店の従業員等の特定職業の者に罹患する等、注目すべき点が多々ある。

著者らはこれらの状況を鑑み、防疫上県下におけるレプトスピラの汚染状況を把握するため、ヒトおよびネズミの血清疫学的調査およびネズミの腎臓からのレプトスピラの分離を試み若干の知見を得たので報告する。

II 材料および方法

- 1) 千葉県衛生研究所
- 2) 国立予防衛生研究所
(1987年9月30日受理)

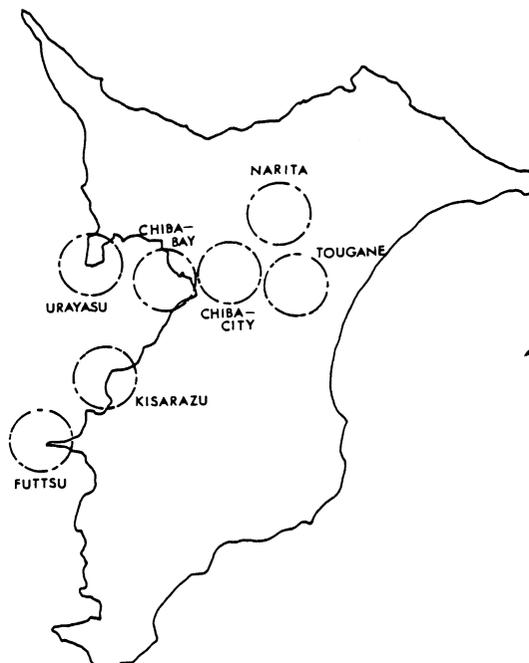
1. 検査材料
- 1) 抗原
国立予防衛生研究所より分与された、autumnalis秋

疫A, hebdomadis秋疫B, australis秋疫C, icterohaemorrhagie RGA, copenhagenie M20, canicola Hond UtrechtIV, さらに一部地域については, pyrogenes Salinemを加えた7血清型7株を用いた。これら

を30°C 4~7日, 家兎血清を10%の割合に加えたKorthof培地で培養し得られた生菌をpH7.7磷酸緩衝食塩水(以下PBSと略す)で約 1×10^8 /mlの濃度に調整し抗原とした。



図1 ヒト抗体調査地域



ネズミ抗体調査地域

2) 被検血清

調査地域は図1に示したとおりである。

i) ヒト血清

昭和60年, 農業従事者の健康診断の際に採取された血清443件を用いた。その内訳は, 佐原市291件, 野田市77件, 千葉市75件である。さらに佐原市については, 学童(5~15才)の血清37件も併せて用いた。

ii) ネズミ血清

昭和60年から61年までに捕獲された血清159件を用いた。その内訳は, 浦安市26件, 千葉港34件, 木更津市9件, 富津市68件, 成田市22件である。

3) 分離材料

昭和62年に捕獲されたネズミの腎臓43件を用いた。ネズミは主として県南部において捕獲されたものである。

2. 検査方法

1) 抗体価測定

Schüffner-Mochter法⁷⁾に準じ, 顕微鏡的凝集反応(Microscopic agglutination test MA法)により測定した。被検血清はマイクロプレートを用い, pH7.7PBSにて2倍階段希釈した。これに等量の抗原を添加し, 37°Cで2時間反応させ, それぞれをスライドグラスにマ

ウントし, 150倍の暗視野顕微鏡にて凝集像を観察した。判定は, 遊離の菌数が対照に比べて50%(50%凝集)か, それ以下に減少している像を示す最終希釈倍数をもって, その血清の抗体価とした。

2) 分離

ネズミの腎臓を可及的無菌的にとり, 細切して5-fluoruracilを100 μ g/mlの割合に加えたFletcher培地に接種し, 30°Cで2ヶ月間培養し, レプトスピラの増殖の有無を確認した。

III 成績

1. 抗体保有状況

1) ヒト血清については, 抗体価16倍以上を陽性とし, 地区別に年令別(表1), 抗体価別(表2)に抗体保有状況を示し, さらに地域による年令別抗原別抗体価別抗体保有状況を図2に, 交差反応例を図3に示した。

佐原市:

年令別に比較すると50~59才群, 60才以上群で抗体保有率が高かった。また学童(5~15才)群で抗体保有者は見られなかった。抗原別に比較すると, M20株に対す

図2 年齢別、抗原別、抗体価別、抗体保有状況

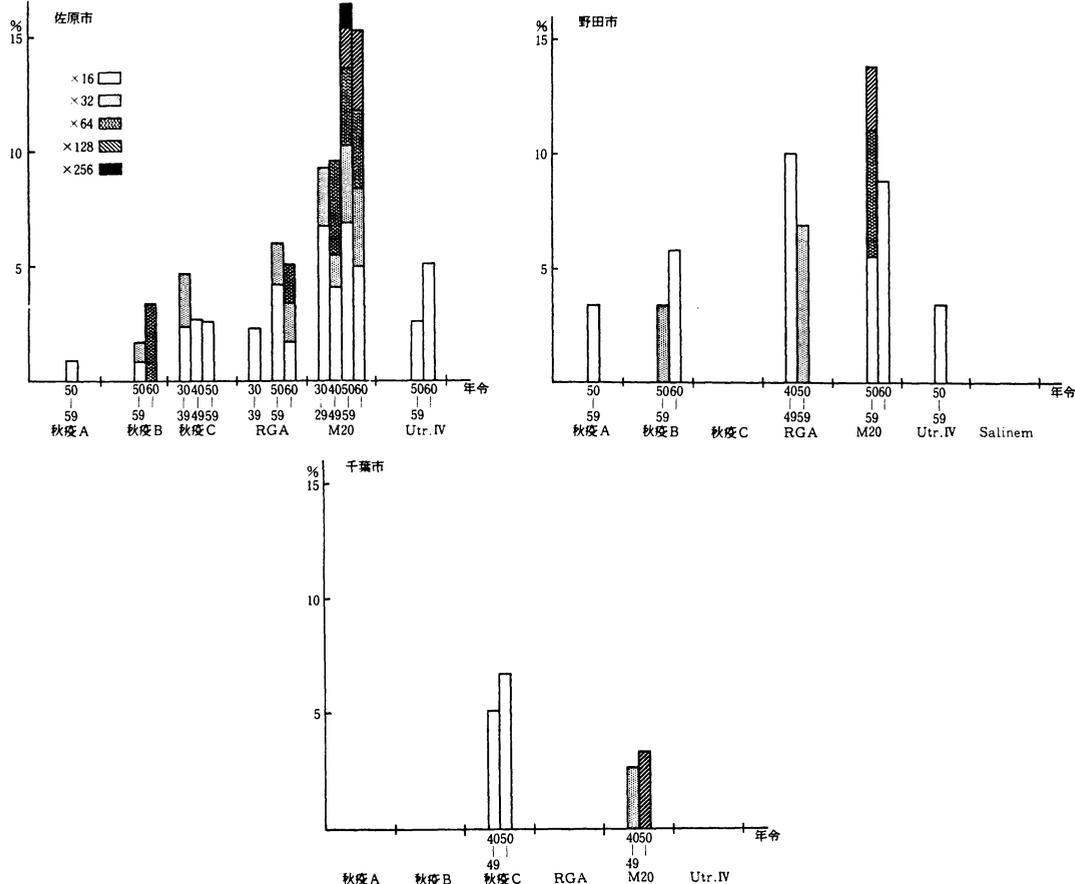


表1 年齢別抗体保有状況 ≥ 16

佐原市		() %						
年齢	検体数	Type Strain						
		秋疫A	秋疫B	秋疫C	RGA	M20	Utr.IV	
30~39	43	0	0	2 (4.7)	1 (2.3)	4 (9.3)	0	
40~49	73	0	0	2 (2.7)	0	7 (9.6)	0	
50~59	116	1 (0.9)	2 (1.7)	3 (2.6)	7 (6.0)	9 (16.4)	3 (2.6)	
60~	59	0	2 (3.4)	0	3 (5.1)	9 (15.3)	3 (5.1)	
total	291	1 (0.3)	4 (1.4)	7 (2.4)	11 (3.8)	39 (13.4)	6 (2.1)	

野田市		() %						
年齢	検体数	Type Strain						
		秋疫A	秋疫B	秋疫C	RGA	M20	Utr.IV	Salinam
30~39	4	0	0	0	0	0	0	
40~49	10	0	0	0	1 (10.0)	0	0	
50~59	29	1 (3.4)	1 (3.4)	0	2 (6.9)	4 (13.8)	1 (3.4)	
60~	34	0	2 (5.8)	0	0	3 (8.8)	0	
total	77	1 (1.3)	3 (3.9)	0	3 (3.8)	7 (9.1)	1 (1.3)	

千葉市		() %					
年齢	検体数	Type Strain					
		秋疫A	秋疫B	秋疫C	RGA	M20	Utr.IV
30~39	6	0	0	0	0	0	0
40~49	39	0	0	2 (5.1)	0	1 (2.6)	0
50~	30	0	0	2 (6.7)	0	1 (3.3)	0
total	75	0	0	4 (5.3)	0	2 (2.7)	0

表2 抗体価別保有状況

佐原市							n = 291
Titer	Type Strain						
	秋疫A	秋疫B	秋疫C	RGA	M20	Utr.IV	
1 6	1	1	6	7	1 7	6	
3 2	0	2	1	3	8	0	
6 4	0	1	0	1	9	0	
1 2 8	0	0	0	0	4	0	
≧ 2 5 6	0	0	0	0	1	0	

野田市								n = 77
Titer	Type Strain							
	秋疫A	秋疫B	秋疫C	RGA	M20	Utr.IV	Salinem	
1 6	1	2	0	1	4	1	0	
3 2	0	1	0	2	0	0	0	
6 4	0	0	0	0	2	0	0	
≧ 1 2 8	0	0	0	0	1	0	0	

千葉市							n = 75
Titer	Type Strain						
	秋疫A	秋疫B	秋疫C	RGA	M20	Utr.IV	
1 6	0	0	4	0	0	0	
3 2	0	0	0	0	0	0	
6 4	0	0	0	0	1	0	
≧ 1 2 8	0	0	0	0	1	0	

る抗体保有率が最も高く、次いでRGA株、秋疫C株の順であった。抗体価別に比較すると、128倍以上の高い抗体価を示した例は、128倍が50~59才群に2名、60才以上群で2名、256倍が50~59才群に見られ、それらはすべてM20株に対する抗体であった。さらに複数抗原に反応を示した例は14例であった。

野田市：

年齢別に比較すると50~59才群、60才以上群で抗体保有率が高かった。抗原別に比較するとM20株に対する抗

体保有率が最も高く、秋疫B株、RGA株の順であった。128倍以上の高い抗体価を示した例はM20株に1名であった。さらに複数抗原に反応を示した例は3例であった。

千葉市：

40~49才群、50才以上群で抗体保有者が見られた。抗原的には、秋疫C株、M20株のみに陽性が見られた。複数抗原に反応を示した例はなかった。

年齢別抗体保有状況は、各地域ともに50~59才群が最も高く、60才以上群、40~49才群、30~39才群の順であ

- ：2株同時に反応した例
- ：3株同時に反応した例

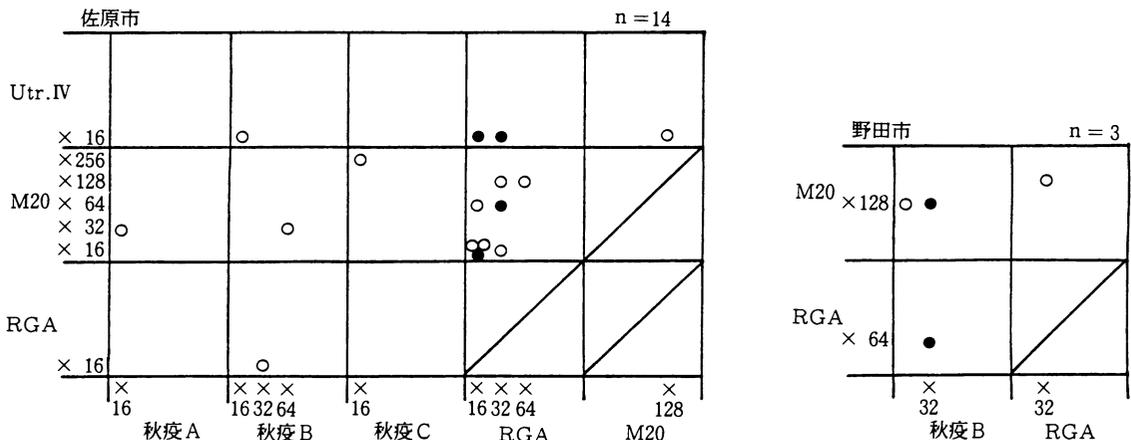


図3 複数抗原反応状況

た。また抗原的抗体保有状況は、M20株に対する抗体保有者がすべての地区に認められ、佐原市と野田市では他の抗原に対する抗体保有率より特に高かった。M20株以外の抗原については若干の差が見られたにすぎない。地域別抗体保有状況は、抗原6~7株のいずれかの抗体を保有している割合は、佐原市17.9%、野田市14.3%、千

表3 地域別抗体保有状況

	検体数	陽性数	
		A	B
佐原	291	52 (17.9)	14 (14.8)
野田	77	11 (14.3)	3 (3.9)
千葉	75	6 (8.0)	0
計	443	69 (15.6)	17 (3.8)

A: 6~7株のいずれかに抗体をもつもの
B: 2株以上に抗体をもつもの

葉市8.0%であった。(表3)複数に反応する例では、RGA株とM20株の両株に抗体をもつ例が17例中9例と半数以上を占めた。これらが類属反応によるものか、あるいは2~3株の重複感染によるものであるかは吸収試験を行ってないので明らかではない。しかし、一般に非特異反応の起こりやすい16倍未満の抗体保有例を除いていることや、交差2株間の抗体価が大きく異なっている例(秋疫C株16倍、M20株256倍)があることから、重複感染者が存在しているものと推定される。

2) ネズミ血清については、抗体価8倍以上を陽性とした。表4に示したとおり、秋疫A株、秋疫B株、M20株に抗体を保有するものが認められ、特に秋疫B株に対しては14.5%と高い保有率であった。なお地域別抗体保有状況は、各地域の調査数が少ないため、第II報に譲る。

2. 分離

接種後、一週間ごとに観察し、めくら継代を2回繰り返したが、増殖の認められたものはなかった。

表4 ネズミ抗体保有状況 ≥ 8

n = 159 () %

Titer	Type Strain					
	秋疫A	秋疫B	秋疫C	RGA	M20	Utr.IV
8	1 (0.6)	16 (10.1)	0	0	4 (2.5)	0
16	0	6 (3.8)	0	0	0	0
≥ 32	0	1 (0.6)	0	0	0	0
total	1 (0.6)	23 (14.5)	0	0	4 (2.5)	0

IV 考察

年令別抗体保有状況は30~50才の就農年令層に多く、小児と老令層には少ないとされてきた。都市部の例で大阪の報告⁹⁾では、陽性率は年令とともに増加し、40才代でピークとなり、次いで50才代、30才代、60才代とされている。さらに東京近郊もこれに類似するとの報告がある⁹⁾。本県においても、ほぼ同様の傾向が見られた。また大流行があった昭和34~36年の茨城県の報告¹⁰⁾では、30才代の抗体保有率が最も高く、20才代、40才代の順であるが、その後約25年の経過を考えあわせると、今回得られた本県の結果とかなり似た傾向にあると考えられる。このことは、利根川という共通の河川を有していることも考慮に入れると、本県にも同時期に流行があったことが推察される。しかし、抗体価を見ると、128倍、256倍と高値を示す例もあり、過去の感染による残存抗体ばかりとは一概に言いきれない。さらに、当時小児で感染を受けていないかもしくは受けたとしてもハイリスクとは

考えにくい30~39才群にも抗体保有者が存在していることを併せて考えると、過去の感染によるもののみとは断定しがたい。

地域別抗体保有状況は、濃厚汚染地域とされていた地域ほど保有率は高く、かつ年令範囲も広範囲であった。さらに抗原的にも同様で、重複感染例も見られ、感染機会がより多かったことが考えられよう。

抗原別抗体保有状況について言えば、M20株に対する抗体保有率が高く、直接の証明となるレプトスピラの分離はできなかったが、ライフサイクルの短いネズミにも抗体保有が認められたことは、現在でも、M20株を始めいくつかのレプトスピラが存在しているものと考えられる。

レプトスピラ症の患者発生数の著減は、農業の機械化、省力化、農業人口の減少、耕地整理等による洪水の減少、ネズミの一斉駆除による生息環境の変化など様々な要因が考えられる。今回の調査により、患者の発生は少なくなったものの、自然界には依然としてレプトスピラは存在し、感染機会はあると考えられる。

本県は農業県であり、水田は農地の50%を占め、水田作業者は農業人口の60%を越えている。また、都市部や都市近郊部では飲食店等も増え、隣接の東京都での飲食店等からの患者発生報告¹¹⁾¹²⁾など考えあわせると、注目しなければならない疾患と考える。

今後調査を進め、本県における汚染状況を把握していきたい。

V 要約

農業従事者の血清443件、ネズミ血清159件を対象に、レプトスピラ抗体保有調査、またネズミ腎臓43件を用いて分離試験を行った。

1) 年齢別抗体保有状況は、50～59才群、60才以上群で高く、抗体価の高い例もこの群にあった。

2) 抗原別抗体保有状況は、ヒトではM20株に対して高い抗体保有率であったが、地区により若干の差が見られた。ネズミでは秋疫B株に対して高い抗体保有率を示した。

3) 地域別抗体保有状況は、過去に汚染地域とされていた地域で高率であり、抗原的にも、年令的にも保有範囲が広がった。

4) 分離試験は、増殖が認められたものはなかった。

謝辞

本調査に御協力をいただいた予防衛生協会の関係各位に深謝します。

文献

- 1) 木根淵英雄, 小畑美知夫 (1969): 死亡統計からみた戦後のわが国のレプトスピラ症について, 日本公衛誌, 16, 669-673.
- 2) 森守 (1986): 文献に見る戦後のレプトスピラ発生状況, 第23回レプトスピラシンポジウム記録, 14.
- 3) ワイル氏病の予防撲滅と石灰窒素 (1959): 日本石灰窒素工業会, 石灰窒素普及会編.
- 4) 森守 (1985): レプトスピラ病分布地図について, 第22回レプトスピラシンポジウム記録, 追加.
- 5) 千葉県衛生研究所年報, 27 (1978): 千葉県衛生研究所編
- 6) S. FAINE 吉井善作監訳 (1986): レプトスピラ症防疫指針, 27-30.
- 7) Schüffer, W. and Mochtar, A (1927): Versuche zur Aufteilung von Leptospirenstämmen, mit einleitenden Bemerkungen über den Verlauf von Agglutination und Lysis. zbl. Bakteriol., 1. Orig., 101, 405-413.
- 8) 湯浅武之助, 三村康男, 法貴隆 (1973): 眼レプトスピラ症と血清反応, 眼科, 15, 278-283.
- 9) 長田富香, 小暮美津子, 小林伸太郎 (1975): 東京近郊住居者におけるレプトスピラ凝集価の分布について, 感染症学雑誌, 49, 288-294.
- 10) 茨城県のワイル病 (1969): 茨城県保健予防課編
- 11) 有光佳子, 小林信三 (1984): ワイル病は今でも狙っている, 日本医事新報, 3134, 29-30.
- 12) 伏見清秀, 吉村信行, 道川誠, 安藤亮一, 石田雄二, 松田治, 泉並木, 三宅祥三 (1987): 新宿の飲食店で発生したワイル病の1例, 第24回レプトスピラシンポジウム記録, 8.