

176 レプトスピラ症（犬）〔一部届〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (死亡犬) → (3) 剖検 (血液、肝臓、腎臓、尿) (血清) (血液、尿)
病性鑑定施設	(7) P C R (4) 細菌培養試験 <分離培養> (5) 動物接種試験 (6) 病理組織検査 抗体検査 (+)(-) (+)(-) (+)(-) 血清型別 血清型別 血清型別
判定・結果	専門機関に相談 (+)(-) (+)(-) (+)(-)
最終判定	疫学調査、臨床検査の結果を基に、細菌培養試験、抗体検査、PCR、病理組織検査等の結果を併せて総合的に判断する。
その他	抗体検査や分離菌の血清型別が必要な場合は動物衛生研究所等の専門機関に相談する。

→類似疾病検査

- ① 犬バベシア病 ② 犬の腎盂腎炎

○ 病原体: *Leptospira interrogans* など

(1) 疫学調査

- ① ワクチン接種の有無
② 飼料、水等がネズミの糞・尿で汚染されている。
③ 本病に感染あるいは不顕性感染した動物の尿で汚染されている。

(2) 臨床検査

- ① *L. Canicola* 感染: 嘔吐、口腔粘膜の壊死脱落、腎炎症状
② *L. Icterohaemorrhagiae* 感染: 口腔粘膜などの出血性黄疸、重症例は致死的経過
③ その他の感染: 不顕性感染が多い。
④ 回復犬は長期間(数ヵ月～数年)にわたり尿中に排菌

(3) 剖 検

- ① 急性例では粘膜、胸腹膜の出血、肝臓および腎臓など諸臓器の出血
② 慢性例では間質性腎炎

(4) 細菌培養試験(分離培養)

検査材料を培養液に接種し本菌に特徴的な細菌の増殖を確認する。

(注)

抗生物質投与前の尿、血液等を、死亡例については腎臓、肝臓等も使用し、検体採取後速やかに培地に入れる。培地は EMJH またはコルトフ培地を使用し、接種後 $29 \pm 1^\circ\text{C}$ で少なくとも 16 週、可能であれば 26 週まで培養する。1～2 週ごとに暗視野顕微鏡で特徴的な形態と運動性を確認する(細菌分離はレプトスピラ血症期(感染後約 7 日)は可能であるがそれ以降では困難である。))。

(補足)

- ① 材料から速やかに培養できない場合、尿は pH7.0～7.4 に調整、血液はヘパリン採血を行い、常温で維持する。組織の場合、 4°C で維持する。

- ② EMJH 基礎培地あるいはコルトフ基礎培地に滅菌非働化したウサギ血清を最終濃度 0.4～1% になるよう添加すると分離率が向上する。また、基礎培地に 0.1～0.2% agar を加えて半流動培地として使用することもできる。
③ 尿からの菌分離で他の細菌の混入を防止したい場合、5-フルオウラシルを最終濃度 100 $\mu\text{g/ml}$ となるように加えることもある。

(5) 動物接種試験(実験動物を用いた菌分離)

実験動物を用いた菌分離は以下のように行う。若いモルモット(150～175g)やゴールデンハムスター(4～6 週齢)の腹腔に検体 0.5～1ml を接種する。接種後 3 日目に腹水を採取し、暗視野顕微鏡で菌の存在の有無を観察する。培養には血液、腎臓および肝臓などを用い、(4)と同様に行う。

(6) 病理組織検査

- ① 急性例: 肝臓では肝細胞の解離、変性または壊死。胆汁のうっ滞による胆汁栓の形成。腎臓では尿細管の変性、壊死、上皮の剥離。間質へのリンパ球などの浸潤
② 慢性例: 尿毒症の所見。尿細管の変性、壊死、上皮の剥離。間質へのリンパ球などの浸潤が顕著

Levaditi 法などの鍍銀染色で螺旋状のレプトスピラ菌体が検出される。

(7) PCR¹⁾

血液、尿、髄液および組織検体からレプトスピラ DNA を検出するのに用いられる。検体から DNA を抽出し、鋳型として使用する。死菌にも適応できるので抗生物質投与後の検体でも検査可能である。

その他:

(抗体検査)

通常、感染抗体はワクチン抗体よりも高い抗体価を示すが、両者の明確な区別はできない。最も信頼できる方法はペア血清を用いた顕微鏡凝集試験 (MAT) で抗体価の上昇を確認することであり、ペア血清で4倍以上の抗体価上昇が認められた場合陽性と判定されるが、標準菌株と暗視野顕微鏡が必要である。

(血清型別)

標準菌株を用いた MAT による血清抗体価の測定により原因菌の血清型を知ることが可能である。

菌が分離された場合は、MAT の他に交差凝集吸収試験やマウス単クローン抗体を使用した血清型別法があり、限られた専門機関で実施されている。

なお、届出伝染病に指定されている血清型は以下の7血清型である。

L. Pomona, *L. Canicola*, *L. Icterohaemorrhagiae*, *L. Grippotyphosa*, *L. Hardjo*, *L. Autumnalis* および *L. Australis*。

抗体検査や分離菌の血清型別は専門機関に依頼する。

(参考文献)

1) Kawabata, H., et al.: Microbiol. Immunol. 45, 491-496 (2001).