埼玉県下の犬における *Borrelia burgdorferi* 抗体調査

荒島康友¹⁾ 河野均也¹⁾ 池田忠生¹⁾ 最上義仁²⁾ 浅野隆司²⁾

保刈成男²⁾ 高岡正敏³⁾ 中澤清明³⁾ 方波見重衛³⁾

1) 日本大学医学部 (東京都板橋区大谷口上町 30-1 〒173)

2) 日本大学農獣医学部 (藤沢市亀井野 1866 〒252)

3) 埼玉県衛生研究所 (浦和市大字上大久保 639-1 〒338)

(平成 4 年 1 月 14 日受付・平成 4 年 5 月 22 日受理)

Anti-*Borrelia burgdorferi* Antibodies in Dogs in Saitama Prefecture

YASUTOMO ARASHIMA, KINYA KAWANO, TADAO IKEDA, YOSHIHITO MOGAMI, RYUJI ASANO,

SHIGEO HOKARI, MASATOSHI TAKAOKA, KIYOAKI NAKAZAWA, JUUBEI KATABAMI

1) Nihon University School of Medicine, Itabashi-ku, Tokyo 173

2) College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, Fujisawa-shi, Kanagawa 252

3) Institute of public Health, Saitama Prefecture, Urawa-shi, Saitama-ken 338

SUMMARY

To obtain epidemiological data on Lyme disease (LD) in Saitama Prefecture, anti-*Borrelia burgdorferi* (*Borrelia*) antibody was measured in the sera from 175 dogs and 30 negative control dogs using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The anti-*Borrelia* antibody titer was high in 22 (12.57%) of the 175 dogs. The different results from those of our previous report might have resulted from samples which were collected mainly from veterinary clinics. In districts where the antibody titer was significantly higher than that of the control dogs, the samples were obtained from the clinics in the northern and southern areas of Saitama Prefecture. and from the Division of Environmental Biology of Chichibu and Kawagoe areas. The data suggested that the exposure to ticks caused a higher incidence. The antibody titers significantly differed between the groups with and without tick bites but not between males and females the groups vaccinated and non-vaccinated with leptospirases or hounds and the other dogs.

The data suggested that there might be dogs infected with *Borrelia burgdorferi* in Saitama Prefecture. The dogs may be a possible reservoir host. Particular attention should be given to such conditions as zoonoses, especially a correlation study regarding ticks and dogs in Saitama Prefecture.

—Key Words: *Borrelia burgdorferi*, dogs, lyme disease, zoonosis.

-----J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 45, 694~697 (1992)

要 約

埼玉県におけるライム病 Lyme disease (LD) の伝搬動態を知る目的で、県内の犬 (175 頭) の *Borrelia burgdorferi* ボレリア抗体価を ELISA 法により測定した。その結果、カットオフ値を越えるものが 175 頭中 22 頭 (12.57%) に認められた。地区別では県北部と県南部の検体が陰性対照群に比し有意に高値を示した。これらの地区は森林が多いことから、マダニによる暴露の可能性が高いためと思われる。雌雄別、ワクチン接種の有無、猟犬と他の犬についての間には抗体価に有意差は認められなかった。マダニ咬傷歴のある犬とない例とには有意差が認められた。

以上のことから、埼玉県下の犬にもボレリアが感染していることが示唆された。また、犬が保菌宿主としての可能性が高いことから、今後ともマダニの分布状況、ボレリア保菌率等について調査を行うことも必要と考える。

—キーワード: ボレリア・ブルグドルフェリー, 犬, 疫学, 人畜共通感染症。

-----日獣会誌 45, 694~697 (1992)

ライム病 (Lyme disease, LD) はスピロヘータ科ボレリア属の *Borrelia burgdorferi* (ボレリア) による慢性

遊走性紅斑、関節炎等の症状を呈する感染症であり¹²⁾、欧米では人畜共通感染症として注目されている^{5, 10)}。ま

た、犬が保菌宿主となる可能性のあること^{1,5)}、米国における人のLDの流行地での犬の血清ボレリア抗体価が有意に高値であったことから、地域の犬の血清抗体価の動向が人のLDの疫学的資料として有用であるとする報告もある^{6,11)}。以前の報告で埼玉県下の犬の抗ボレリア抗体価が有意に高値を示した²⁾ことから、埼玉県下における犬の血清抗体価を検討することは本邦のLDに疫学的資料として有用と思われる。

今回、埼玉県下のLD伝搬動態を知る目的で、ボレリアに対する血清抗体価をマダニに暴露されていない犬(陰性対照群)およびマダニに暴露される可能性のあった犬(陽性対照群)について測定し、性別、レプトスピラワクチン接種、地区別等について検討した。

材料および方法

材 料

対照群として、1991年3月から同年6月までの4カ月間に埼玉県内の5カ所の開業獣医科病院(川本市、秩父市、東松山市、富士見市、与野市)の受診犬118頭(雄48頭、雌45頭、不明25頭、年齢は1歳から16歳、平均5.0歳)、1982年3月から4月までの1カ月間に犬の飼育をあきらめた飼育主により埼玉県衛生研究所に持ち込まれた引き取り犬57頭(浦和地区7頭、秩父地区14頭、川越地区15頭、春日部21頭)計175頭の血清を用いた。各獣医師を受診した犬については、性別、レプトスピラワクチンの接種の有無、マダニ咬傷の有無、飼育目的、地区別についても調査した。

陰性対照群として、日本大学の共同研究施設、民間研究施設から入手したマダニに暴露されていない犬30頭(雄17頭、雌13頭、年齢6カ月齢から13歳、平均3.0歳)の血清を用いた。

陽性対照としては、ビーグル犬にボレリア(B-31株)を免疫して得た抗血清および免疫ビーグル犬の血清の1600倍希釈と同程度の抗体価を示す犬の血清2検体を用いた。検体は血清に分離した後、測定時まで-20℃に凍結保存した。

方 法

抗ボレリア抗体測定：平底のポリスチレン製マイクロタイタープレート上に精製水で溶菌したB-31株500 μg/mlを3%BSA加PBSにて10倍希釈した後、この溶液50 μlを各ウェルに添加し、4℃1夜静置保存し固相化した。これと被検血清を室温で40分間反応させた後、洗浄し未反応の血清を除去した。次いでホースラディッシュペルオキシダーゼ(POX)を標識したプロテイン-A(1mg/ml)を3%BSA加PBSにて500倍希釈液とし、各ウェルに50 μl添加し室温にて40分間反応させた。再度洗浄して未反応のプロテイン-Aを除去し、残ったPOXをオルトフェニレンジアミンにて発色し、比色定

量することにより抗ボレリア抗体を測定(ELISA法)²⁾した。

抗体価の表現方法：抗ボレリア抗体の抗体価は、ボレリアでビーグル犬を免疫して作製した抗体の1600倍希釈の本法に従い測定した吸光度の値を暫定的に100アルビタリーユニット(AU)とし、これと被検血清の本法に従い測定した吸光度の値を対比してAU値を算出した。2群の差の検定について、抗体価の平均値の差についてはt検定を、マダニ咬傷の検討についてはFISHERの直接確立計算を、その他の陽性率の差については χ^2 検定を行い統計的に解析した。

成 績

抗ボレリア抗体価

陽性対照群と陰性対照群との抗体価の比較(図1)。陰性対照群について測定した抗ボレリア抗体価は35.11~153.11AUで、平均73.63AU(SD=44.28)であった。今回は平均値+2SD(162.18AU)を暫定的にカットオフ値とした。陰性対照群においてカットオフ値を越えるものは1例認められた。対照群のボレリア抗体価は1.3~482.04AUで平均99.73AU(SD=49.09AU)であり、カットオフ値を越えるものが175頭中22頭(12.57%)に認められ、陰性対照群に比較し平均抗体価、抗体陽性率ともに有意差は認められなかった。しかし、開業獣医師を受診した犬と保健所の引き取り犬について陰性対照群と比較すると、受診犬とは平均抗体価、抗体陽性率ともに有意差は認められなかったものの、引き取り犬とは平均抗体価に有意差が認められた。また、受診犬と引き取り犬とは平均抗体価、抗体陽性率ともに有意差は認められなかった。ボレリア抗体価が高値を示した22頭のうち関節炎症状を伴うものは全く認められなかった。

図1 施設別による犬の抗*B. burgdorferi*抗体価の比較
n.c.; 陰性対照群, A-E; 開業獣医科病院, F; 埼玉県衛生研究所

表1 マダニ咬傷の有無による犬の抗 *B. burgdorferi* 抗体陽性率の比較

		抗 <i>B. burgdorferi</i> 抗体			
		陽性数	陰性数	陽性率(%)	
マダニ咬傷	有	8	41	16.33	} $P < 0.05^*$
	無	1	35	2.78	

* Fisherの直接確立計算

 図2 地区別による犬の抗 *B. burgdorferi* 抗体価の比較
n.c.; 陰性対照群

雌雄別抗体価

受診犬の雌雄の抗体価の平均値はそれぞれ 64.61 AU, 67.61 AU であり、雌雄間での抗体価の平均値に有意な差は認められなかった。また、レプトスピラワクチンを接種した犬と未接種の犬ではそれぞれ 65.10 AU, 70.79 AU, 45 頭中 6 頭 (13.33%), 36 頭中 4 頭 (11.11%) であり、平均抗体価、抗体陽性率ともに有意差を認めなかった。陰性対照群の犬においても同様に有意差を認めなかった。

マダニの咬傷例と咬傷のない例の陽性の出現率は咬傷例 49 例中 8 例 (16.33%) とない例 36 例中 1 例 (2.78%) であり、FISHER の直接確立計算を用いた結果、 $p = 0.044$ で有意差が認められた (表 1)。

猟犬と猟犬以外の目的で飼育されている犬とでは抗体価の平均抗体価はそれぞれ 68.92 AU, 69.02 AU で、陽性率は 32 頭中 2 頭 (6.25%), 62 頭中 8 頭 (12.90%) であった。平均抗体価、抗体陽性率ともに有意差は認められなかった。

地区別で比較してみると、陰性対照群に比較し平均抗体価に有意差の認められた地区は受診犬のうちの川本町、与野市 (図 2)、および引き取り犬の秩父地区、川越地区であった。受診犬のうちには 450 AU を越える異常高値を示す例が認められた。また、引き取り犬の平均抗体価では川越市は、浦和市、春日部市との間に有意差が認められた ($p < 0.05$)。

考 察

人の LD は 1975 年に米国のコネチカット州ライム地方で確認されたマダニをベクターとするボレリアによる全身性の感染症である¹²⁾。本疾患は米国をはじめヨーロッパ、オーストラリア、中国等で広範囲に認められており、本邦においても 1987 年 KAWABATA が初症例を報告⁸⁾して以来、報告の数は増加の傾向にある^{3,7)}。しかし、本邦のマダニの種類、保菌率、媒介動物、分布については宮本らの報告¹³⁾がある程度で、著者らは埼玉県民の疫学的データが明らかでないこと、以前に行った埼玉県下の犬の抗体価調査で陽性率が高かったことから、LD の研究に役立てる目的で埼玉県下の犬における血清ボレリア抗体価を測定した。

今回の結果では、一般的な飼育状況にある受診犬 175 頭の陽性率は 12.57% であった。MAGNARELLI¹¹⁾、ENG⁵⁾ および KORNBLATT⁹⁾ による流行地の犬ではそれぞれ 28.6% (Indirect Fluorescent Antibody Technique; IFA 法)、74% (Enzyme Linked Immunosorbent Assay; ELISA 法)、42% (Immunoperoxidase test; IP 法) と報告⁷⁾されており、流行地での陽性率は今回の値より高い値を示している。また、流行地を特定せずに行ったデンマークの IFA 法による報告では陽性率は 16.1% で今回の著者らのデータはそれに近い値であった。陽性率の相違は流行地のボレリアの存在の程度の差、マダニの発生率の差、抗体の検出方法の相違、検出系に用いる抗原の違い、抗体価を求める基準となるボレリア抗体の相違、諸外国との飼育状況の相違等によると推察された。特に今回、以前の著者らの報告²⁾の埼玉県の陽性率 28.9% より低値であった理由としては、今回の検討に使用した犬が獣医療病院の受診犬 118 頭 (67.43%)、埼玉県衛生研究所の引き取り犬 57 頭 (32.57%) であり、引き取り犬が主であった以前のわれわれの報告²⁾と検査対象に差があったためと思われた。性別に関しては以前の著者らの報告²⁾および HANSEN の報告⁶⁾と同様、雌雄間に抗体価の有意差を認めなかった。

細菌学的に近縁のレプトスピラとの交差反応の程度については、BURGESS の報告⁴⁾と同様陽性対照群と陰性対照群のワクチンを接種した犬と未接種の犬との間に有意差は認められなかった。なお、接種された陰性対照群の犬のレプトスピラ血清反応は陽性であった。これらのことから、今回の反応系ではレプトスピラとの交差反応の可能性はほとんどないと思われた。

地区別では陰性コントロール群に比較して受診犬の川本町、与野市、引き取り犬の秩父市、川越市が高かったこと、および受診犬のうち有意差のない地区である秩父市、東松山市で抗体価の異常高値の犬が認められたことの理由の 1 つとして、地区内または近隣に荒川、入間川

があり、そこに草木、ネズミが存在し、マダニが多く存在する可能性が高い地区であったためと考えられた。また、今回の地区別での陽性率の相違についてその原因を明確にするため、マダニの調査が必要であると思われた。マダニが県内全域に分布すること、猟犬とその他の犬との間に有意差が認められなかったこと、地区別においても特にマダニが多く存在すると考えられる草木の多く認められる地区に有意差が認められたこと、最近、宮本らが埼玉県のマダニからボレリアを分離した¹⁴⁾こと、マダニ咬傷歴のある犬の抗体価が有意に高かったことなどは一般の犬もボレリアの感染を受けていることを示唆する所見と思われた。

今回の調査で症状を伴うものはなかったが、抗体価が高値を示した犬が認められた。また、埼玉県下における抗体価の陽性率は低かったものの埼玉県衛生研究所の由来検体が比較的高値であったこと、また、マダニ咬傷の確認された犬が有意に高値であったことから、今後も埼玉県下におけるマダニの実際の分布状況、ボレリア保菌率等、犬と関係した調査を行う必要があると思われる。

本研究の全般にわたりご協力をいただいた当教室川端真人講師ならびに埼玉県開業の浅見 寿、笠井出美、小久保佐孝、手塚理雄、最上義典先生の方々に深謝いたします。本研究の一部は平成2年度日本大学学術研究助成金(奨励:A90-043)によった。

引用文献

- 1) ABELE D C, ANDERS K H, GEORGIA A: J Am Acad Dermatol, 23, 167~186 (1990)
- 2) 荒島康友: 臨床病理, 39, 869~874 (1991)
- 3) 馬場俊一, 羽尾貴子, 藤田日出雄ほか: 臨床皮膚科, 44, 483~486 (1990)
- 4) BURGESS E C, SCHNEIDER E, BASLER E: J Am Vet Med Assoc, 195, 844~846 (1989)
- 5) ENG T R, WILSON M L, SPIELMAN A et al.: J Inf Dis, 158, 1410~1411 (1988)
- 6) Hansen K, Dietz H H: APMIS 97, 281~285 (1989)
- 7) 井口和幸, 川端真人, 荒島康友ほか: 感染症誌, 65, 527~530 (1991)
- 8) KAWABATA M, BABA S, LGUCHI K et al.: J Infect Dis, 156, 854 (1987)
- 9) KORNBLATT A N, URBAND P H, STEERE A C: J Am Vet Med Assoc, 186, 960~964 (1985)
- 10) LISSMAN B A, BOSLER E M, CAMAY H et al.: J Am Vet Med Assoc, 185, 219~220 (1984)
- 11) MAGNARELLY L A, ANDERSON J F, KAUFMANN A F et al.: J Am Vet Med Assoc, 186, 955~959 (1985)
- 12) STEERE A C, MALAWISTA S E, SNYDMAN D R et al.: Arthritis Rheum, 20, 7~17 (1977)
- 13) MIYAMOTO K, NAKAO M, SATO N et al.: ACTA Tropica, 49, 65~68 (1991)
- 14) 宮本健二, 中尾 稔: 旭川医科大学寄生虫学教室, 私信 (1991)

高性能新世代

スーパーアイSSD500

- ・高品位画像, 多彩な計測・計算・表示機能
- ・小型・軽量(約10kg)で移動, 設定が容易
- ・リニア走査, コンベックス走査 ・B, M, B/B, B/M4モード
- ・操作は見やすいキーボードで容易
- ・撮影装置を始めとする豊富なオプション類
- ・直検用専用探触子付

計 測 距離 面積・周囲長

消費電力 AC100V 約90VA

寸 法 290×250×320mm (W・D・H)

FHK 富士平工業株式会社

東京都文京区本郷6丁目11番6号 〒113
電話 東京(03)3812-2271 ファクシミリ(03)3812-3663