症　例

第 93 回日本感染症学会学術講演会座長推薦論文

急性期の髄液 PCR が診断に有効であったレプトスピラ症の 1 例

[1] 京丹後市立久美浜病院内科，[2] 洛和会音羽病院感染症科
小　池　洋　平[1]　神　谷　　亨[2]

（令和元年 9 月 17 日受付）
（令和元年 11 月 21 日受理）

Key words：leptospirosis, cerebrospinal fluid, PCR

序　文

レプトスピラ症（leptospirosis）はスピロヘータ目レプトスピラ科レプトスピラ属の病原性レプトスピラにより発症する人獣共通感染症である．齧歯類や哺乳類などの保菌動物の尿で汚染された水や土壌から経皮的あるいは経口的に感染する[1]．本邦では 1970 年代前半までは年間 50〜250 例の死亡が報告されていた[2]が，衛生環境の改善に伴い，2003 年 11 月に全数把握対象の 4 類感染症に指定されて以降の近年では年間 15〜42 例の発生にとどまっている[3]．今回，非流行地域である京都府北部において急性期の髄液 PCR が診断に有効であったレプトスピラ症を経験したので報告する．

症　例

患者：37 歳，男性．

主訴：発熱，頭痛，筋肉痛

既往歴：特記事項なし

生活歴：喫煙；20 本/日×17 年．アルコール；機会飲酒．アレルギー；なし　職業；現場作業を主とした建築業

現病歴：2017 年 9 月 16 日に日本を横断する大型台風が発生した．京都府北部では床上浸水する家屋が多数出るほどの被害に見舞われた．患者は，9 月 23 日と 30 日に台風により浸水した地下室の清掃作業を行った．10 月 2 日頃より頭重感を自覚し（第 1 病日），その後，発熱，頭痛，筋肉痛を認めた．徐々に経口摂取量が低下し，筋肉痛，倦怠感が強く歩行できない状態まで悪化したため，10 月 7 日（第 6 病日）に当院救急外来を受診した．同日，精査加療目的のため入院となった．ペットとの接触や飼育歴，河川でのレクリエーション経験はなく，最近の海外渡航歴はなかった．

入院時現症：身長 174cm，体重 59kg，意識清明，体温 39.8℃，血圧 101/51mmHg，脈拍 81/分・整，呼吸数 20/分，SpO_2：99%（室内気）であり，比較的徐脈を認めた．Jolt accentuation of headache 陽性．項部硬直なし．両側眼球結膜の充血あり，黄染なし．肺音や心音，腹部に異常なし．皮膚に刺し口や紅斑なし．全身のリンパ節に腫大なし．

入院時検査所見（Table 1）：血液検査では軽度の腎機能障害を認めたが血清ビリルビンの上昇は認めなかった．髄液検査では軽度の単核球優位の細胞数増多を認めた．血清中の Epstein-Barr　Virus 抗体，Cytomegalovirus 抗体はいずれも IgG 抗体のみ陽性の既感染パターンを示し，HIV 抗体は陰性であった．ツツガムシ抗体の三型（Kato，Karp，Gilliam）の IgG，IgM は陰性であった．

臨床経過：台風後浸水被害の清掃作業による汚水曝露，結膜充血，肝機能障害・腎機能障害から，鑑別診断としてレプトスピラ症とリケッチア症が疑われ，ドキシサイクリン 100mg　1 回 1 錠 1 日 2 回による治療を開始した．入院日（第 6 病日）に採取した血液，髄液，尿検体を国立感染症研究所に提出した．その後，頭痛，筋肉痛などの臨床症状は速やかに改善し，解熱が得られた．抗菌薬投与後に Jarisch-Herxheimer 反応は認めなかった．経過良好であったことから第 12 病日に退院となり，合計 7 日間の抗菌薬投与で治療を終了した．第 24 病日の再診時には眼球結膜の充血は消失した．また，この際の血液検査，尿検査は全て正常範囲内であった．

入院日（第 6 病日）に提出した髄液の PCR 法によりレプトスピラ鞭毛遺伝子 *flaB* が検出された．さら

別刷請求先：（〒629-3403）京都府京丹後市久美浜町 161 番地
京丹後市立久美浜病院内科　　小池　洋平

令和 2 年 3 月20日

Table 1 Laboratory findings on admission

Blood Cell Count		Serum Chemistry		Cerebrospinal fluid examination	
WBC	12,900 /μL	TP	6.2 g/dL	WBC	27 /μL
•Neut	89.9 %	Alb	3.2 g/dL	Seg	26 %
•Lymph	2.3 %	T-Bil	0.7 mg/dL	Mono	74 %
•Mono	7.3 %	ALP	801 IU/L	Protein	42 mg/dL
•Eos	0.3 %	AST	72 IU/L	Glucose	72 mg/dL
•Baso	0.2 %	ALT	119 IU/1	Urine analysis	
RBC	451×10^4 /μL	LDH	178 IU/L	Specific gravity	1.025
Hb	13.0 g/dL	γ-GTP	179 IU/L	pH	5.5
Hct	39.4 %	CK	30 IU/L	Ptotein	(3+)
MCV	87 fL	BUN	29.6 mg/dL	Glucose	(2+)
MCH	28.8 pg	Cre	1.44 mg/dL	Occult blood	(−)
Plt	13.5×10^4 /μL	eGFR	46.2 mL/min		
Coagulation		Na	125 mEq/L		
APTT	24.6 sec	K	3.2 mEq/L		
PT	1.01 (INR)	Cl	88 mEq/L		
		CRP	14.67 mg/dL		

に回復期である第24病日に提出した血清の顕微鏡下凝集試験(Microscopic agglutination Test：MAT)で，*Leptospira interrogans* serovar Hebdomadis の血清希釈倍率3,200倍，*L. interrogans* serovar Kremastos の血清希釈倍率1,600倍，*Leptospira borgpetersenii* serovar Poi の血清希釈倍率400倍と3つの血清型において抗体価高値を示した（Tab.2）．以上からレプトスピラ症の確定診断に至った．血清，尿のPCR法ではレプトスピラ遺伝子は検出されなかった．なお，培養検査は本症例では行えていない．

考　察

レプトスピラ症は発熱，頭痛，筋肉痛，関節痛，下痢，嘔吐，咳など，ウイルス感染症に類似した非特異的症状を呈することが知られている[4]．特徴とされる結膜充血の発生頻度は28.5～99%，黄疸は1.5～95%に認められ，報告によりばらつきがある[5]．多くが軽症の経過を辿り，重症化率は10% 程度とされる[6]．重症化すると黄疸，出血傾向，腎障害の三徴を認め，黄疸出血性レプトスピラ症（ワイル病）と称され，その死亡率は5～15% とされる．また，出血傾向のうち肺胞出血は黄疸の有無にかかわらず合併することがあり（死亡率2.4%）[5]，重要な臨床症状として認識されつつある．いずれにしても汚染環境への曝露や身体所見をもとにレプトスピラ症を想起することが最も重要である．迅速診断としてのELISA法[7]やNGS（next-generation sequencing）法[8]は現時点では確立されたものではなく，確定診断に用いられるMAT法やPCR法も限られた施設でしか実施できない．治療は，本症例で使用したドキシサイクリン以外に，ペニシリン系，第三世代セファロスポリン系といった臨床的に使用頻度が高い抗菌薬がしばしば有効である[9]．

レプトスピラ症の確定診断は，CDCによるLeptospirosis 2013 Case Definition[10]では，①MAT法における抗体価が800倍以上，②MAT法の急性期と回復期で抗体価が4倍以上の上昇，③組織免疫蛍光染色による菌体の証明，④PCR法などによる病原性レプトスピラ遺伝子の検出，⑤臨床検体からの菌体の分離，以上のうち一つ以上を確認することとしている．国立感染症研究所によるレプトスピラ症病原体検査マニュアルでは，MAT法の判定を，ペア血清で4倍以上の抗体価上昇または単一血清で160倍以上を陽性としている[3]．MAT法では血清型間で交差反応が起こることが報告されている．そのため，原因でない血清型の抗体価が急性期に上昇することもあり（パラドキシカル反応），抗体価の高さが原因血清型を示すとは限らない．血清型の確定は菌体の分離により行われる[5]．本患者では菌体分離を行えておらず，血清型の同定はできていない．

レプトスピラは二相性の病相を辿り，発症から約7～10日間の急性期（菌血症期）とその後の回復期（免疫期）に分けられる[5]．菌の局在は病相により変化し，急性期初期には血液中に存在するが，抗体が出現する急性期末期から回復期には血液中から消失する．急性期中期から回復期初期には髄液中に，急性期末期から回復期にかけては尿中に菌が局在する[5]（Fig. 1）．そのため，検体の提出はこの病相に合わせて行うのが望ましい．本症例は第6病日の検体のうち，髄液PCR法のみ陽性であったことから急性期中期から回復期初期の病相であった可能性が考えられる．

レプトスピラ症の髄液一般検査の所見は乏しいとされ，髄液の細胞数や蛋白の上昇を認めないにもかかわらず髄液PCR法（第8病日）でレプトスピラ遺伝子が検出されたという報告もある[11]．本症例でも髄液一般検査では細胞数が，ごく軽度上昇した以外は異常を

Fig. 1　The clinical presentation of leptospirosis[4]

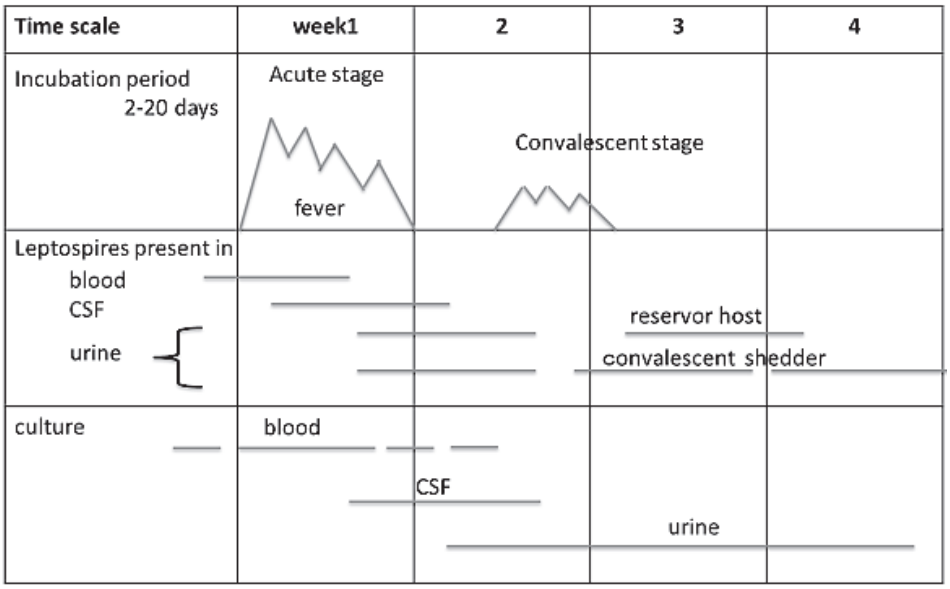

Table 2　Results of anti-*Leptospira* antibodies assessed with the Macroscopic Agglutination Test (MAT)
The first day the patient developed symptoms was denoted as day 1.

	GenomospeciesSerovar		Titer	
			Day 6	Day 24
Leptospirosis	*borgpetersenii*	Castellonis	＜50	＜50
	〃	Javanica	＜50	＜50
	〃	Poi	＜50	400
	interrogans	Australis	＜50	＜50
	〃	Autumnalis	＜50	＜50
	〃	Bataviae	＜50	＜50
	〃	Canicola	＜50	＜50
	〃	Copenhageni	＜50	＜50
	〃	Hebdomadis	50	3,200
	〃	Icterohaemorrhagiae	＜50	＜50
	〃	Kremastos	50	1,600
	〃	Pomona	＜50	＜50
	〃	Pyrogenes	＜50	＜50
	〃	Rachmati	＜50	＜50
	kirschneri	Grippotyphosa	＜50	＜50

認めなかった．髄液一般検査のみではレプトスピラ症の病勢や菌の存在を想定することは困難と考えられる．

検査方法により診断特性は異なり，血清 MAT 法が感度 49.8%，特異度 98.8%，血清 PCR 法が感度 52.7%，特異度 97.2%，免疫蛍光染色法が感度 45.5%，特異度 96.8% との報告がある[12]．さらに，血清 PCR 法においては 6 日以内が感度 86%，7 日以降が感度 34% と，急性期の方が感度が高いという報告もある[13]．また，髄液 PCR 法は感度が 89.5% と高く[14]，早期診断の手段として有用と考えられる[15]．血液培養の分離成功率は 5〜50% とされ検出率は低い[1]．尿，髄液培養の分離培養も同じく感度が低いとされている[14)16]．

本例の感染経路は台風被害を発端とした汚染水への曝露と考えられた．京都府北部でのレプトスピラ症は調査が開始となった 2003 年 11 月以降，本例が最初の報告となった．近隣の医療機関，保健所には洪水被害に関連したレプトスピラ症の注意喚起を行った．洪水被害がレプトスピラ症の発症に関与していることはこれまでにも報告されており[17]，国内では高知県での集団発生など台風や大雨災害後の報告が散見される[18)19]．レプトスピラ症の流行地でなくても，汚染水による曝

露という条件が整えば日本国内いずれの地域においてもレプトスピラ症は発症する可能性がある．しかし，レプトスピラ症は非特異的症状を呈することが多いため早期から鑑別に挙げることは難しい．実際の臨床現場において診断・治療に苦慮するのは，レプトスピラの菌体が血液から消失して髄液に局在する急性期中期から回復期初期の病相と想定される．

レプトスピラ症が疑われる際は，レプトスピラ症としての抗菌薬治療を開始するとともに，診断を確定するためにMAT法（急性期，回復期）の検査を提出し，病相が急性期中期から回復期初期であれば，髄膜炎を疑う所見の有無にかかわらず髄液PCR法を提出することが有用と考えられる．

謝辞：診断に際して重要な検査のご指導を頂きました国立感染症研究所細菌第一部の小泉信夫先生に深謝いたします．

本論文の要旨は，第93回日本感染症学会学術講演会（2019年，名古屋）で発表した．

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文　献

1) Hartskeerl RA, Collares-Pereira M, Ellis WA：Emergence, control and re-emerging leptospirosis : dynamics of infection in the changing world. Clin Microbiol Infect. 2011；17（4）：494–501.
2) 齋藤光正，Villanueva SYAM，増澤俊幸，柳原保武，吉田眞一：レプトスピラ感染症～ワイル病病原体発見から百年～．日細菌誌 2014；69（4）：589–600.
3) 病原微生物検出情報：レプトスピラ症2007年1月～2016年4月．IASR 2016；37（6）：103–4.
4) Katz AR, Ansdell VE, Effler PV, Middleton CR, Sasaki DM：Assessment of the clinical presentation and treatment of 353 cases of laboratory-confirmed leptospirosis in Hawaii, 1974-1998. Clin Infect Dis. 2001；33（11）：1834–41.
5) Levett PN：Leptospirosis. Clin Microbiol Rev. 2001；14（2）：296–326.
6) Guerra MA：Leptospirosis. J Am Vet Med Assoc. 2009；234（4）：472–8.
7) Gamage C, Sarathkumara Y, Weerakkodi V, Shiokawa K, Yoshimatsu K, Arikawa J：Development and evaluation of monoclonal antibody-based antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of acute leptospirosis in humans. J Immunol Methods. 2018；463：134–6.
8) Wilson MR, Naccache SN, Samayoa E, Biagtan M, Bashir H, Yu G, *et al.*：Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing. N Engl J Med. 2014；370（25）：2408–17.
9) Brett-Major DM, Coldren R：Antibiotics for leptospirosis.Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2012 Available from：https://doi.org/10.1002/14651858.CD008264.pub2..
10) Centers for Disease Control and Prevention：Leptospirosis(*Leptospira interrogans*)2013 Case Definition. NNDSS [Internet]. [cited 2019 Mar. 21]；Available from：https://wwwn.cdc.gov/nndss/conditions/leptospirosis/case-definition/2013.
11) 有田祐起，細田智弘，東野俊洋，田口博章，大曽根康夫，野崎博之，他：発症8日目の髄液PCR法のみで病原体が検出されたレプトスピラ症の1例．感染症誌 2016；90（3）：325–9.
12) Limmathurotsakul D, Turner EL, Wuthiekanun V, Thaipadungpanit J, Suputtamongkol Y, Chierakul W, *et al.*：Fool's gold：Why imperfect reference tests are undermining the evaluation of novel diagnostics：a reevaluation of 5 diagnostic tests for leptospirosis. Clin Infect Dis. 2012；55（3）：322–31.
13) Riediger IN, Stoddard RA, Ribeiro GS, Nakatani SM, Moreira SDR, Skraba I, *et al.*：Rapid, actionable diagnosis of urban epidemic leptospirosis using a pathogenic Leptospira lipL32-based real-time PCR assay. PLoS Negl Trop Dis. 2017；11（9）：e0005940.
14) Romero EC, Blanco RM, Yasuda PH：Aseptic meningitis caused by Leptospira spp diagnosed by polymerase chain reaction. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2010；105（8）：988–92.
15) 小泉信夫，渡辺治雄，梅澤和夫，飯塚朝明，猪口貞樹：PCRにより早期診断が行えたレプトスピラ病の1例．感染症誌 2003；77：627–30.
16) World Health Organization：In：Human leptospirosis：Guidance for diagnosis, Surveillance and control. WHO, Geneva, 2003；p. 109.
17) Frawley AA, Schafer IJ, Galloway R, Artus A, Ratard RC：Notes from the Field：Postflooding Leptospirosis ― Louisiana, 2016. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2017；66（42）：1158–9.
18) 病原微生物検出情報：〈速報〉集団発生したレプトスピラ症―高知県．IASR 2012；33：14–5.
19) 病原微生物検出情報：三重県内におけるレプトスピラ症患者の発生．IASR 2011；32：368–9.

Effective Use of PCR of Cerebrospinal Fluid for Diagnosis of Acute Phase Leptospirosis：A Case Report

Yohei KOIKE[1)] & Toru KAMIYA[2)]
[1)]Department of Internal Medicine, Kyotango, Kumihama Municipal Hospital, [2)]Department of Infectious Diseases, Rakuwakai Otowa Hospital

Leptospirosis is a zoonotic disease common in tropical and subtropical regions caused by pathogenic *Leptospira* species. Presented herein is a case of leptospirosis in a 37-year-old man which was effectively diagnosed in cerebrospinal fluid (CSF) with the polymerase chain reaction（PCR）technique. Fourteen days prior to admission, the patient had cleaned his basement which had been flooded out by a typhoon. Six days before admission, he developed a fever, headache, and myalgia. On admission day (6th day of illness), he presented to our hospital complaining of general malaise and myalgia that was so severe he was unable to walk by himself. A clinical diagnosis of leptospirosis was made based on his history of exposure to contaminated water and conjunctival suffusion on examination. After hospitalization, he was given a 7-day course of doxycycline with rapid improvement of his symptoms, and was discharged on the 12th day of illness. A *flaB* gene of Leptospira was detected in his CSF with PCR on the admission day. Antibody titers to *Leptospira interrogans* serovar Hebdomadis, *L. interrogans* serovar Kremastos, and *Leptospira borgpetersenii* serovar Poi were elevated in the microscopic agglutination test of the convalescent serum on the 24th day of illness. The clinical presentation of leptospirosis is biphasic with an acute phase and a convalescent phase. Localization of leptospiras changes depend upon the different phase of the illness. Leptospira is present in the blood from the early− to mid-acute phase, in the CSF from the mid-acute to convalescent phase, and in the urine from the late-acute to convalescent phase. Submitting specimens tailored by the clinical phase of leptospirosis may be useful for diagnosis.

〔J.J.A. Inf. D. 94：193～197, 2020〕

令和２年３月20日