

ホルスタイン牛と子牛のレプトスピラ抗体保有状況調査

阿久沢正夫・岡元智文・松尾直子・山内聡子・森園 充・柳田宏一*

(獣医学科家畜内科学研究室・*入来牧場)

平成3年8月7日 受理

A Survey of the Incidence of *Leptospira* Antibody in Holstein Cattle and Calves

Masao AKUZAWA, Tomohumi OKAMOTO, Naoko MATSUO,
Satoko YAMAUCHI, Mitsuru MORIZONO and Koichi YANAGITA*
(Laboratory of Veterinary Medicine and
*Iriki Livestock Farm)

緒 言

レプトスピラは人畜共通伝染病であり、過去にはわが国もレプトスピラが家畜の疾患として発生が多かったが、届出伝染病ではないため、現在は発症が減少したためあまり注目されず、保菌状況の実態は明らかではない。しかし外国では未だに発生が少なくなく、重要な家畜の疾患である^{3,5,9,10,11,12}。1986年に入来牧場で黒毛和種牛の子牛が死亡し、レプトスピラ症と診断された⁸。当研究室ではその後も同牧場の牛について血清のレプトスピラ抗体を検索を継続しているが¹¹、本研究もその一環である。レプトスピラの主な伝播者はネズミといわれる^{6,7}が、本研究では牛が伝播者になっていると思われる例について報告する。

材料と方法

1. 動物:

(1) 牛: 入来牧場のホルスタイン系成牛25頭および子牛はホルスタイン系3頭およびF1牛(ホルスタインと黒毛和種牛の交雑種)19頭を用いた。子牛は出生後数日間は初乳摂取のために、親牛と共に分娩室内で、さらにその後は子牛だけ集めて飼育した。1989年12月から1990年8月までの間に成牛は1回だけ、子牛は出生後月1回の割合で続けて採血し、レプトスピラ血清抗体価測定と血液検査を行った。

(2) ネズミ: 入来牧場の牧草地に棲息する野ネズミ(カヤネズミ)10匹を捕獲して、血清抗体を測定した。

2. 使用抗原

内科学研究室で保存している *L. autumnalis*, *L.*

hebdomadis, *L. australis*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola*, *L. pyrogenes*, *L. pomona*, *L. hardjo* を用いた。

3. 抗体価測定

マイクロタイタープレートの各well(孔)にKorthof液を50 μ lずつ注入する。次に被験血清10 μ lを第1列のwellに注入混和し、以後順次10 μ lを隣のwellに注入して、最後のwellでは10 μ lを捨てる。さらに菌培養液50 μ lを各wellに加える。被験血清を加えずKorthof液50 μ lと菌培養液10 μ lを混合したwellを対照とした。プレートは蒸発防止のため蓋をのせ、37°Cで3時間反応させた。判定は各wellから1滴取り、暗視野顕微鏡により100倍で鏡検し、菌凝集あるいは対照well内容液よりも菌数が著しく減少している場合を陽性とし、陽性を示した最終希釈倍率を抗体価とした。

4. 血液検査項目および方法

赤血球数(RBC)、白血球(WBC)、ヘモグロビン量(Hb)はMicrocell counter Sysmex、ヘマトクリット(PCV)は毛細管法により、血清はアルカリフォスファターゼ(ALP)、GOT、尿素窒素(BUN)はEktachem DT60 Analyzer Kodacにより、総蛋白量はアタゴ屈折計、蛋白電気泳動はセルローズアセテート法により測定した。

5. 培養、接種、組織学検査

尿と汚水は1,000rpmで遠沈後鏡検して菌体の有無を観察した。血液、尿、牛舎内の汚水、飲料水の培養は、血清加Korthof培地10mlに雑菌抑制のため5FU(5-fluorouracil)2mgを加えた試験管に、各液を1-2滴ずつ加え、37°Cで1ヵ月間培養した。培養液中にレプトスピラ様の菌を認めたときは、5

FU添加培地で3回継代後、既知抗体を含む血清と交差試験を行った。さらに、菌液を幼弱のゴールデンハムスターの腹腔内に1ml注入し、3日、7日、30日目にエーテル麻酔下で放血死させて剖検した。黄疸、出血の観察、血液検査、血清抗体価測定、血液、尿、腎臓片の培養、腎臓、肝臓のWarthin-Starry染色により菌体の有無について観察した。

結 果

1. 症 状

本研究の期間中に当牧場では牛の流死産、死亡、血尿排出の症例は認められず、また健康状態の変調を訴える飼育担当者も無かった。

2. 抗体検査

(1) ホルスタイン系成牛

25頭中24頭(96.0%)において、*L. pomona* および *L. hardjo* を除く6種類の血清型の抗体が検出された。血清型では *L. autumnalis* が25頭中21頭(84.0%)から検出されて最も多く、*L. canicola* (48.0%)、*L. pyrogenes* (36.0%)、*L. icterohaemorrhagiae* (32.0%) はほぼ等しく、*L. australis* (16.0%) と *L. hebdomadis* (12.0%) は少なかった。抗体価は12倍から2,592倍の範囲内にあり、12倍と72倍の例が最も多かった(Table 1)。血清中に含まれる抗体は、血清型が単独と2種類(ともに28.0%)の例に比べて、4種類(24.0%)と3種類(16.0%)の例はやや少なかったが、単独および混合感染のいずれにおいても、*L. autumnalis* が最も多く検出された。

(2) 子 牛

月1回の連続した検査により、子牛は全例から抗体が検出され、抗体価は12倍から2,592倍の範囲内にあった。親牛の抗体と、子牛で検査期間中最初に検

出された抗体を比較すると、血清型の種類は親牛と同様に6種類で、*L. autumnalis* の検出が最も多かった(Table 2)。ほとんどの親子が *L. autumnalis* に対する抗体を持っていたが、他の血清型の抗体は親と子で異なる例が多かった。抗体陽性の親から生まれた子が初め陰性でその後陽転したものが5例あり、また、陰性の親から生まれた陰性の子でその後陽転したものが1例あった。

検査を実施した1989年12月から1990年8月において各月を比較すると、1990年5月以降各血清型とも抗体の検出率が著しく増加し、成牛と同程度の検出率を示すようになった(Table 3)。

子牛の抗体の6種類の血清型のうちで、検出率の最も高かった *L. autumnalis* に対する抗体に注目すると、加齢と共に抗体の検出率は高まり、同時に抗体価も増加する傾向がみられた。また、210日齢(7ヵ月)を過ぎると、成牛の抗体価とほぼ同程度あるいはそれ以上になった(Table 4)。

3. 血液および生化学検査

成牛および子牛とも各項目に異常値はみられず、また抗体の変動に伴う著しい変化も認められなかった。また抗体検出率が著しく増加した1990年5月においても、各項目に異常な値はみられなかった(Table 5)。

4. 尿

成牛23頭中15頭(65.2%)の尿中にラセン状の菌がみられた。5FU添加培地で増殖後、*L. autumnalis* および *L. icterohaemorrhagiae* の抗体を含む血清と混合すると、この菌は凝集を示した。また、菌を接種した幼弱ゴールデンハムスターの血清で上記の菌は凝集した。菌を排出した成牛の血液および接種したゴールデンハムスターの血液からは、菌は

Table 1. Incidence of serogroups of leptospira antibodies detected in 25 Holstein dams

	Positive dams		Combination of serogroups
	No.	Ratio	
Not detected	1/25	4.0%	
Single serogroup	7/25	28.0%	A(5*), Pyr(2)
Two serogroups	7/25	28.0%	A+Can(3), A+C(2), A+Pyr(2)
Three serogroups	4/25	16.0%	A+Can+B(1), A+Can+Ict(1), A+Can+Pyr(1), B+Can+Ict(1)
Four serogroups	6/25	24.0%	A+Can+Ict+Pyr(3), A+Can+Ict+C(2), A+B+Ict+Pyr(1)

*; Animal numbers in which the serogroups were detected.

A; *L. autumnalis*, B; *L. hebdomadis*, C; *L. australis*,

Ict; *L. icterohaemorrhagiae*, Can; *L. canicola*,

Pyr; *L. pyrogenes*

培養されなかった。また、ゴールデンハムスターの肝臓、腎臓、脾臓の組織には、菌は観察されなかった。

5. 汚水

育成舎の床にたまっている汚水を培養したところ、暗視野顕微鏡下でラセン状の菌がみられ、尿と同様の操作により *L. autumnalis* および *L.*

canicola の血清で反応が認められた。

6. ネズミ

1989年11月から1990年3月の間に、当牧場内で捕獲した10匹のネズミ（カヤネズミ）の血液、尿、肝臓、腎臓は、培養後の暗視野顕微鏡観察では菌はみられなかった。また、その血清中に抗体は検出されなかった。

Table 2. Serum leptospira antibody in dams and their calves

Animal No.		Age (Days)	Titers of leptospira serogroups							
Dams	Calves		A	B	C	Ict	Can	Pyr	Pom	Har
D1	C1	10*	432	-	-	-	-	-	-	-
		128	-	-	-	-	-	12	-	-
D2	C2	0*	432	-	-	-	-	12	-	-
		67	-	72	-	-	-	-	-	-
D3	C3	50*	72	-	-	-	-	12	72	-
		78	72	-	-	-	-	-	-	-
D4	C4	10	12	-	72	-	-	-	-	-
			12	-	-	-	-	-	-	-
D5	C5	113	72	-	-	-	-	-	-	-
			432	-	-	-	-	-	-	-
D6	C6	74	72	-	-	-	-	72	-	-
			12	-	-	-	-	-	-	-
D7	C7	74	72	-	-	-	-	-	-	-
			12	-	-	-	-	-	-	-
D8	C8	40	-	-	-	-	-	12	-	-
			12	-	-	-	-	-	-	-
D9	C9	8*	-	-	-	-	-	-	-	-
		50	12	-	-	-	-	-	-	-
D10	C11	29*	72	-	72	12	12	-	-	-
		163	12	-	-	-	-	-	-	-
D12	C12	30	72	12	-	-	-	72	-	-
			-	-	-	72	-	-	-	-
D13	C13	7	72	-	-	-	-	-	-	-
			12	-	-	-	-	-	-	-
D14	C14	7*	72	-	-	-	-	-	-	-
		35	12	-	-	-	-	-	-	-
D15	C15	40	72	12	-	12	-	72	-	-
			72	-	-	-	-	-	-	-
D16	C16	34	72	-	-	-	12	-	-	-
			-	-	-	12	-	-	-	-
D17	C17	11	72	-	-	12	12	12	-	-
			72	12	-	12	-	-	-	-

Age; antibody detected first in calves. *; antibody not detected.

Pom; *L. pomona*, Har; *L. hardjo*

Table 3. Antibody positive cattle numbers and the incidence in the respective serogroups during December 1989 to August 1990

Cows		Animal No	Serum leptospira antibody titer							
			A	B	C	Ict	Can	Pyr	Pom	Har
	Posi No		21	2	4	7	11	9	0	0
Dec./89	Incidence(%)	24	87.5	8.3	16.7	29.2	45.8	37.5	0.0	0.0
Calves										
	Posi No		8	0	0	0	0	0	0	0
Dec./89	Incidence(%)	10	80.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Posi No		8	0	0	1	0	0	0	0
Jan./90	Incidence(%)	11	72.7	0.0	0.0	9.1	0.0	0.0	0.0	0.0
	Posi No		3	3	1	5	1	0	0	0
Feb.	Incidence(%)	16	18.8	18.8	6.3	31.3	6.3	0.0	0.0	0.0
	Posi No		3	1	0	3	0	1	0	0
March	Incidence(%)	16	18.8	6.3	0.0	18.8	0.0	6.3	0.0	0.0
	Posi No		7	0	0	2	1	0	0	0
April	Incidence(%)	18	38.9	0.0	0.0	11.1	5.6	0.0	0.0	0.0
	Posi No		10	0	1	9	0	0	0	0
May	Incidence(%)	17	58.8	0.0	5.9	52.9	0.0	0.0	0.0	0.0
	Posi No		16	10	4	10	2	7	0	0
June	Incidence(%)	18	88.9	55.6	22.2	55.6	11.1	38.9	0.0	0.0
	Posi No		14	0	3	8	2	3	0	0
July	Incidence(%)	16	87.5	0.0	18.8	50.0	12.5	18.8	0.0	0.0
	Posi No		13	1	0	8	2	11	0	0
August	Incidence(%)	16	81.3	6.3	0.0	50.0	12.5	68.8	0.0	0.0

Animal No; Tested samples during the month. Posi No; Positive numbers in the tested samples.
Incidence; Positive numbers/Animal numbers.

Table 4. Serum-antibody titer to *L. autumnalis* in cows and calves with age related change

Age (Days)	Animal No	Posi No	Incidence %	Antibody titer	
				Mean	±SD
Cows	26	21	80.8	101.3	6.8
Calves					
0-30	12	4	33.3	18.8	4.9
31-60	14	8	57.1	18.8	4.6
61-90	13	5	38.5	17.2	4.5
91-120	17	6	35.3	39.6	8.6
121-150	20	7	35.0	20.0	4.8
151-180	12	9	75.0	48.4	8.9
181-210	16	12	75.0	151.9	8.3
211-240	15	13	86.7	62.7	9.4
241-270	8	8	100.0	141.0	10.3
271-300	8	7	87.5	72.0	12.0
301-363	3	3	100.0	237.7	5.6

Posi No; Positive animal numbers in tested cattle.

Table 5. Hematological and biological data in cows and calves tested at monthly interval

	RBC ×10 ⁶	PCV %	Hb g/dl	WBC ×10 ³	GOT KU	ALP KAU	BUN mg/dl	TP g/dl	Alb	α %	β	γ	A/G
Cows													
Dec. 1989	6.00* ±0.78	31.4 ±3.7	11.0 ±1.5	12.2 ±1.8	12.7 ±3.3	2.9 ±1.7	15.3 ±4.2	7.3 ±0.7	41.8 ±6.0	11.6 ±1.6	17.4 ±6.7	29.2 ±7.3	0.74 ±0.19
Calves													
Dec. 1989	9.33 ±1.70	34.0 ±5.0	12.6 ±1.6	9.6 ±2.5	9.1 ±4.0	8.6 ±1.3	7.5 ±7.4	5.6 ±0.9	46.4 ±9.4	14.2 ±2.8	15.1 ±2.0	24.2 ±11.0	0.91 ±0.29
Jan. 1990	9.99 ±1.28	37.1 ±4.4	12.7 ±1.6	9.5 ±2.1	36.7 ±10.8	7.1 ±3.7	10.5 ±2.3	6.2 ±0.5	45.7 ±6.4	15.4 ±2.3	13.7 ±3.5	24.7 ±8.3	0.88 ±0.22
Feb.	9.67 ±1.97	36.1 ±6.0	12.9 ±1.9	9.9 ±3.7	34.5 ±11.6	8.9 ±3.8	7.6 ±6.9	6.7 ±0.7	48.6 ±6.0	16.5 ±1.3	14.2 ±2.7	20.7 ±7.7	0.97 ±0.22
March	9.28 ±1.89	33.3 ±4.8	— —	10.9 ±3.4	46.1 ±30.8	8.2 ±2.7	6.3 ±3.4	5.9 ±0.4	48.3 ±4.8	16.0 ±2.6	15.7 ±3.8	19.9 ±5.8	0.95 ±0.19
April	5.97 ±1.22	28.3 ±6.3	— —	12.6 ±3.6	34.6 ±6.7	6.8 ±2.2	13.2 ±3.1	6.4 ±0.4	48.3 ±5.2	13.9 ±3.8	14.9 ±5.0	22.9 ±3.8	0.95 ±0.18
May	7.70 ±1.57	29.0 ±4.1	11.3 ±1.6	10.7 ±1.9	31.9 ±11.5	5.8 ±1.0	9.4 ±5.2	6.5 ±0.5	51.0 ±3.7	10.3 ±2.6	18.7 ±4.8	19.4 ±3.3	1.06 ±0.14
June	8.18 ±1.73	32.3 ±4.9	12.9 ±3.2	11.3 ±1.7	29.6 ±6.4	5.1 ±1.2	10.9 ±5.4	6.1 ±0.5	51.0 ±3.7	10.9 ±2.7	19.7 ±5.0	19.0 ±4.9	1.04 ±0.17
July	7.48 ±1.99	30.2 ±5.2	10.6 ±2.0	10.9 ±2.4	29.5 ±4.9	4.6 ±1.1	16.3 ±10.3	6.8 ±0.5	52.5 ±4.9	9.0 ±2.3	21.0 ±2.5	17.5 ±3.4	1.13 ±0.22
August	8.53 ±1.64	33.6 ±5.1	11.9 ±1.6	11.2 ±2.5	32.4 ±7.7	5.1 ±2.1	7.6 ±3.8	6.3 ±0.5	49.0 ±6.4	11.5 ±2.3	22.9 ±5.5	16.6 ±4.2	0.98 ±0.20

* : Mean and \pm standard deviation.

考 察

1984年5月から1987年3月の間の鹿児島県の保健所の引き取り犬に関する調査では、*L. icterohaemorrhagiae* と *L. hebdomadis* の検出率が高かった²⁾。一方、同じく入来牧場で1985年4月から1986年9月の間に行った黒毛和種牛に関する調査では、*L. autumnalis* だけが高率に検出された¹⁾。本研究でもこの血清型の検出率が著しく高く、他の血清型の抗体価は比較的低かった。このことから、当牧場のレプトスピラコロニーは現状では外部から新しい侵入はなく、閉鎖的であると考えられた。

子牛の抗体は、初め全く検出されない例があり、また初めて検出されたときの血清型が、親と異なる例がみられた。子牛は初乳によって親牛の抗体を得る¹⁾。当牧場では出生後初乳を飲ませるために数日間親と同居させるが、子牛は親から十分にレプトスピラの抗体を得られず、さらに多数の成牛の尿からレプトスピラ状の菌が培養されたことから、主として他の牛からの感染により血清抗体価が増加したと推測された。

子牛の抗体検出が1990年5月以降に著しく高くな

ったが、同時期に子牛用育成舎が完成して子牛をまとめて舎飼するようになり、子牛の育成方法の変化が、抗体検出率の著しい増加に関係があると考えられた。このため、本研究では当牧場の牧野で捕獲したネズミについて、レプトスピラ菌分離と抗体検査を行ったが、いずれも検出されず、ネズミとレプトスピラ感染との因果関係は証明できなかった。しかし、牛舎の尿の混入した汚水と成牛の尿からレプトスピラと形態の似た菌が分離され、また尿を接種したハムスターに血清抗体が検出されたことから、成牛からの感染が示唆された。

当牧場ではレプトスピラ感染によると思われる牛の流産など⁴⁾の症例はなく、飼育担当者の健康にも異常は認められなかった。このため、牛はレプトスピラに対する抗体を持っているが菌を尿中に排泄し、これが子牛の感染源になっているが、これらの菌の病原性が低いため、発症例がないものと推測された。また、本研究から牛もレプトスピラ症の感染源として、無視できないことが確認された。

要 約

入来牧場のホルスタイン系成牛および子牛について、血清のレプトスピラ抗体価を測定した。成牛は96.0%が抗体陽性で、血清型では *L. autumnalis* (84.0%) の検出が最も多く、*L. canicola* (48.0%)、*L. pyrogenes* (36.0%)、*L. icterohaemorrhagiae* (32.0%)、*L. australis* (16.0%)、*L. hebdomadis* (12.0%) の順であった。抗体価は12倍から2,592倍の範囲で、12倍と72倍の例が最も多かった。血清中に含まれる抗体は、血清型が単独と2種類の例（ともに28.0%）が4種類（24.0%）と3種類（16.0%）の例よりもやや多かったが、いずれにおいても *L. autumnalis* が最も多く検出された。

子牛は全例から抗体が検出され、血清型の種類は親牛と同様に6種類であったが、親と子で血清型の異なる例が多かった。子牛の抗体で検出率の最も高かった *L. autumnalis* の抗体は、加齢と共に検出率および抗体価の増加する傾向がみられ、210日齢（7ヵ月）を過ぎると、成牛の抗体価とほぼ同程度あるいはそれ以上になった。成牛の尿中および牛舎内の汚水中にラセン状の菌がみられ、抗体を含む血清と混合すると凝集した。また、菌を接種した幼弱ゴールデンハムスターの血清には抗体が認められた。成牛および子牛とも血液検査には異常値はみられなかった。牧場内で捕獲したカヤネズミの血液、尿、肝臓、腎臓には菌は認められず、血清中に抗体は検出されなかった。

謝辞 本研究の遂行にあたり多忙な日常作業があるにも関わらず献身的にご助力下さった入来牧場技官紙屋 茂、内村利美の両氏、農学部付属家畜病院技官益山貢二氏および家畜内科学研究室東迫恵子氏に心から感謝いたします。

文 献

- 1) 阿久沢正夫・高橋隆之・中村康男・竹之下浩和・原 由香・森園 充・中西喜彦・柳田宏一：入来牧場の黒毛和種牛におけるレプトスピラ浸潤状況の調査。鹿大農学術報告, No.38, 133-138 (1988)
- 2) 阿久沢正夫・高橋隆之・中村康男・竹之下浩和・原 由香・森園 充・坂本 紘・岡本嘉六・出口英三郎：鹿児島県畜犬管理センターの引き取り犬におけるレプトスピラ抗体調査。日獣会誌, 42, 313-317 (1989)
- 3) Hancock, C. R., Wilks, C. R., Kotiw, M. and Allen, D.: The long term efficacy of a *Hardjo-pomona* vaccine in preventing leptospirosis in cattle exposed to natural challenge with *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. *Aust. vet. J.*, 61, 54-56 (1984)
- 4) Mackintosh, C. G., Marshall R. B. and Thompson J. C.: Experimental infection of sheep and cattle with *Leptospira interrogans* serovar *balcanica*. *N. Z. vet. J.*, 29, 15-19 (1981)
- 5) Marshall, R. B., Schollum, L. M. and Dymock, B. L.: Prevention of *Leptospira interrogans* serovar *pomona* infection in cattle. *N. Z. vet. J.*, 30, 177-179 (1982)
- 6) Redetzke, K. A. and McCann, M. J.: Isolation of *Leptospira* from desert rodents of west texas. *J. Wildl. Dis.*, 16, 333-337 (1980)
- 7) Shimizu, M. M.: Environmental and biological determinants for the prevalence of leptospirosis among wild small mammal hosts, island of Hawaii. *Int. J. Zoon.*, 11, 173-188 (1984)
- 8) Shimizu, T., Kono, I., Yasuda, N. and Akuzawa, M.: Acute leptospirosis in a calf-Possibly preceding seroconversion of the herd. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, 21, 167-174 (1985)
- 9) Songer, G. J., Chilelli, B. S., Marshall, M. M., Noon, T. H. and Meyer, R.: Serologic survey for leptospirosis in Arizona beef cattle in 1981. *Am. J. Vet. Res.*, 44, 1763-1764 (1983)
- 10) Sullivan, N. D.: Further observations on *Leptospira hardjo* infections in pregnant cows. *Aust. Vet. J.*, 48, 388-390 (1972)
- 11) Thiermann, A. B.: Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of the *Hebdomadis* serogroup. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 780-784 (1982)
- 12) White, F. H., Sulzer, B. S. and Engel, B. S.: Isolation of *Leptospira interrogans* serovars *hardjo*, *balcanica*, and *pomona* from cattle at slaughter. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 1172-1173 (1983)

- 1) 阿久沢正夫・高橋隆之・中村康男・竹之下浩和・原 由香・森園 充・中西喜彦・柳田宏一：入来牧場の黒毛和種牛におけるレプトスピラ浸潤状況の調査。鹿大農学術報告, No.38,

Summary

The Holstein cows and their calves in the Iriki Livestock Farm of Kagoshima University were examined for an estimation of the serum agglutination antibody to leptospire. 96.0% of the cows were antibody positive in which *L. autumnalis* were detected with the highest incidence (84.0%) and were followed *L. canicola*(48.0%), *L. pyrogenes* (36.0%), *L. icterohaemorrhagiae* (32.0%), *L. australis* (16.0%), and *L. hebdomadis* (12.0%) in order. Antibody titers were within the range from x12 to x2, 592, with x12 and x72 cases being most in number. Concerning the incidence of serogroups, single and 2 serovars (both being 28.0%) were noted slightly higher than 4 (24.0%) and 3 (16.0%) serovars. The incidence of antibody to *L. autumnalis* was consistently high in the cases of both single or mixed infection.

In all of the calves antibody was detected in which there were 6 serogroups like as their dams, but in most dams and calves serovars were ascertained to be different. Antibody to *L. autumnalis*, which showed the highest incidence in the calves, tended to increase with age both in the incidence and the antibody titer and became as high as or more than those in dams by 210 days (7 months). From the dam's urine and the wasted water in the pen spiral leptospire-like organisms were cultured which were agglutinated by the serum containing the antibody to leptospire. Antibody to leptospire was also detected in young Golden hamsters inoculated with the leptospire. No abnormal value was obtained in the blood both of the dams and the calves. No leptospire-like organism was found in the blood, urine, liver and kidney of the field-mice caught in the farm-pasture, and no antibody was detected in their sera, either.