

遺伝子解析により *Rickettsia felis* と SARS-CoV-2 の混合感染が疑われた症例

微生物部 ○成田 翼、宮原 加奈、新田 真依子
水流 奈己、三浦 美穂、吉野 修司

1 はじめに

Rickettsia は偏性細胞内寄生病原体であり、マダニなどの節足動物によって媒介される病原体である。リケッチア科に属する病原体は世界各地に分布しており、日本においても日本紅斑熱やつつが虫病の患者発生が問題となっている。日本各地でマダニが保有する病原体調査が行われ、マダニからは様々な種類のリケッチアが検出されているが、多くのリケッチアは人への病原性が不明である。

Rickettsia felis は 1990 年に発見された新興感染症の病原体である。その後の調査で、世界中のノミ、哺乳動物、ヒトからの検出が報告され、日本においてもマダニや野生動物などから *Rickettsia felis* の近縁種が検出されているが、ヒトへの感染報告事例はまだない^{1,2)}。

今回、当所で行った紅斑熱群リケッチアの検査により、*Rickettsia felis* と SARS-CoV-2 の混合感染が疑われる症例が発生したため症例報告を行う。

2 症例

患者は基礎疾患のない 20 代男性、2022 年 8 月 29 日に新型コロナウイルス感染症に罹患し、自宅療養をしていた。この時行った SARS-CoV-2 の PCR 検査では、N 及び N2 領域の Ct 値はそれぞれ 23.0 及び 24.3 であった。自宅療養終了後、9 月 27 日に再度発熱が見られたため、医療機関を受診し、PCR 検査で新型コロナウイルス陽性 (Ct 値はいずれも 32.0) であったため、アセトアミノフェンおよびロキソニンが処方された。薬の服用後も、40℃の発熱が続き、顔面腫脹、嘔吐、丘疹、ショック症状、下痢、結膜炎、肝機能障害、腎不全などの症状がみられたことから、2022 年 10 月 3 日、県内の医療機関において、新型コロナウイルス感染症以外の感染症 (SFTS・日本紅斑熱・つつが虫病・レプトスピラ症) を疑い、当所に検査依頼があった。刺し口は確認できず、血液検査の結果、白血球 13,600/ μ l、血小板 79,000/ μ l、CRP37.3mg/dL、AST41U/L、ALT66U/L、LDH322U/L、CK497U/L であった。疫学調査により、海外渡航歴はなく、新型コロナウイルス感染症のワクチンは未接種であることが判明している。また、動物との接触はなく、ネズミなどの動物の尿への接触は認められなかったが、感染日付近に山奥で泥水に接触していた。治療にはテトラサイクリン系抗菌剤が投与され、当該患者は 2022 年 10 月 16 日に軽快退院した。

3 方法

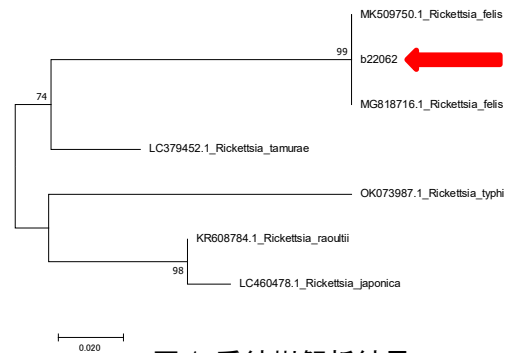
Rickettsia 属遺伝子の検出は、国立感染症研究所のリケッチア感染症診断マニュアル(令和元年 6 月版)³⁾に従って行い、DNA 抽出産物を用いて、*Rickettsia* 属共通 17kDa 蛋白遺伝子をターゲットとする nested PCR で行った。PCR 検査の試薬は Takara の Ex Taq Hot Start Version を用いた。First PCR では R1: 5'-TCAATTCACAACCTTGCCATT-3'、R2: 5'-TTTACAAAATTCTAAA AACC-3'、Second PCR では、Rr17.61p; 5'-GCTCTTGCAACTTCTATGTT-3'、Rr17.492n; 5'-CATTGTTTCGTCAGGTTGGCG-3'のプライマーを用いた。いずれの反応も 95℃2 分→(94℃45 秒→57℃30 秒→72℃45 秒)35 サイクル→72℃7 分の反応条件で PCR 検査を行った。PCR 産物の電気泳動を行い、約 400bp~500bp の間にバンドが見られた場合に、シーケンス解析を行った。

SARS-CoV-2 の検査は県内の民間検査機関によって行われた。検査機関に検査方法を確認したところ、N 及び N2 領域の real-timePCR で検査を行っており、前処理は行わず、唾液検体を直接 PCR 検査に供しているとのことであった。測定機器は Light Cycler96(Roche)、測定試薬は Ampdirect 2019-nCoV 検出キット(SHIMADZU)を使用し、測定条件は 42℃10 分→95℃1 分→(95℃5 秒→60℃30 秒)45 サイクルであった。

検査終了後、詳細な情報を確認するために、疫学調査を実施した。

4 結果

PCR 検査により、紅斑熱群リケッチアが陽性となったため、シーケンスを行い、NCBI の BLAST 検索を行った結果、435bp で *R. felis* (MK509750.1) と 100% の相同性が確認され、*R. felis* 陽性と確認された。系統樹解析の結果を図 1 に示す。一方、紅斑熱群リケッチアの他の遺伝子領域(*gltA* 及び *OmpB*)についても PCR 検査を行ったが、遺伝子は検出されなかった。



5 考察

Rickettsia は遺伝子的特徴から、以前は紅斑熱群とチフス群に分類されていたが、*R. felis* の発見により、第 3 のグループである移行グループ群が作られた⁴⁾。*R. felis* による感染症は、新興感染症であることや、他の疾患との症状の類似性から、*R. felis* は世界的に分布が報告されているにも関わらず、人における患者の報告例が極めて少ない。宿主についても、現在ノミが最有力候補であるが、蚊やマダニからの報告例もあり、詳細は不明である⁴⁾。本症例とは別に、宮崎県では今年度、2 例の *R. felis* 感染疑い例があり、いずれもつつが虫病との混合感染が疑われたことから、今後マダニだけでなくツツガムシや蚊などを含めた広範囲な病原体保有調査が必要であると考えられる。今年に入って本病原体が検出されている理由として、当所で、紅斑熱群リケッチアのシーケンスを行うようになったのは、2019 年からであり、プライマーの変更も行われたため、本疾病はそれ以前にも存在していたが見逃されていた可能性がある。

また、本疾病の特徴として、他の疾病と症状が類似しているため、混合感染の場合、見逃されてしまう可能性も否定できない。海外では、本疾病の重症例が報告されており、今後の調査が必要である。当該患者も、どの症状が本疾病由来のものであるか判断は難しい。本疾病には *R. felis* 様疾病として、遺伝的に近縁な他の *Rickettsia* 症が複数存在するが、今回の遺伝子検査では 17kDa 領域以外の領域では遺伝子が検出されなかったため、今回の症例が *R. felis* そのものであるか、*R. felis* 様病原体によるものか判断が難しい。海外の株と日本の株の遺伝的な同一性についても同様に判断が難しい。本症例と他の 2 症例は、投薬後に検体が送られてきており、DNA 量が少なく、投薬前の検体の入手が今後の課題である。今回の症例は SARS-CoV-2 との混合感染が疑われる事例であった。現在、新型コロナウイルスの感染者は多いが、今回の事例のように、他の類似症状の感染症と混合感染が起きている事例もあると思われる。今後も、医療機関や保健所と連携していくことで、本症例を含むダニ媒介感染症の詳細を解明していきたいと考える。

倫理

本症例の公表において、患者本人の同意確認を行い、プライバシーに配慮した上で発表を行っている。

謝辞

本研究を行うにあたり、協力していただいた保健所の皆様と民間検査機関の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 小河正雄, 加藤聖紀, 本田顕子 他. 大分県のマダニ分布状況及びマダニからのリケッチア検出 (第 2 報). 大分県衛生環境研究センター年報 2011 ; 39 : 19-22.
- 2) Maiko S, Go Abe, Kotaro Matsumoto, et al. Molecular survey of Rickettsial Agents in Feral Raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis* 2010 ; 63 : 353-354.
- 3) 国立感染症研究所. リケッチア感染症診断マニュアル (令和元年 6 月版)
- 4) Carlos E, Jorge E, Juan Jose A, et al. *Rickettsia felis* as Emergent Global Threat for Humans. *Emerging infectious Disease* 2008 ; 14(7) : 1019-1023.