

Japan¹⁾, Yamaguchi University School of Medicine²⁾, Miyazaki Prefectural Institute for Public Health and Environment³⁾, Ohara General Hospital⁴⁾

We developed a specific and rapid detection system for *Rickettsia japonica* and *R. heilongjiangensis*, the causative agent of spotted fever, using a TaqMan minor groove binder probe for a particular open reading frame(ORF) identified by the *R. japonica* genome project. The target ORF was present only in *R. japonica*-related strains.

<学会及び研究発表会>

・山本正悟¹⁾, 安藤秀二²⁾, 岸本壽男³⁾,

○つつが虫病および日本紅斑熱の早期診断における刺口（痂皮）の有用性

第 79 回日本感染症学会西日本地方会(2009 年 11 月 19-20 日 福岡市)

宮崎県衛生環境研究所¹⁾ 国立感染症研究所²⁾ 岡山県環境保健センター³⁾

つつが虫病と日本紅斑熱は、それぞれ *Orientia tsutsugamushi* (Ot) と *Rickettsia japonica* (Rj) による、ダニ媒介性の疾患で、ダニの吸着部位に刺口が形成される。この刺口の痂皮を用いた PCR 法の有用性を検討した。

つつが虫病あるいは日本紅斑熱について検査依頼のあった患者 20 例の痂皮と血液から、市販のキットを用いて DNA を抽出し、Ot の 56kDa と Rj の 17kDa 蛋白質遺伝子を標的とした古屋らの方法に準じて PCR 法を実施した。また、Ot (Gilliam, Karp, Kato, Kawasaki, Kuroki 株) と Rj (YH 株) を抗原とした間接蛍光抗体法により血清抗体価を測定した。

20 例中 13 例の痂皮から PCR 法で Ot が検出され、これら 13 例は血清診断でもつつが虫病と確認された。また、これら 13 例中 12 例で実施した血液の PCR では、8 例のみが陽性であった。残る 7 例中 4 例の痂皮からは PCR 法により Rj が検出され、これら 4 例中、回復期血清の得られた 3 例は血清診断で日本紅斑熱と確認された。また、これら 4 例中 3 例の血液では 1 例のみが PCR 陽性であった。PCR 法で Ot 陽性を示した痂皮と Rj 陽性を

示した痂皮の採取された病日は、それぞれ 5～17 病日および 6～10 病日であった。

両疾患ともに抗生物質による治療が可能で、重症化の防止には早期診断が重要である。痂皮を用いた PCR 法は感度、特異性共に高く、刺口が認められる場合には、本法は両疾患の早期診断法として有用と思われる。

・松本一俊¹⁾, 松尾繁¹⁾, 八尋俊輔¹⁾, 原田誠也¹⁾, 山本正悟²⁾, 安藤秀二³⁾

○熊本県における日本紅斑熱の発生状況とベクター

第 16 回リケッチア研究会(2009 年 11 月 7 日 東京都)

熊本県保健環境科学研究所¹⁾ 宮崎県衛生環境研究所²⁾ 国立感染症研究所³⁾

熊本県では、日本紅斑熱の患者が 2007 年から急増している、このため、患者情報の収集と患者発生地におけるダニ類および野鼠の調査を実施した。

患者は 2002 年に初発 1 例、2006 年に 2 例、2007 年に 13 例、2008 年に 14 例、2009 年 10 月時点で 14 例が確認されている。発生地域は八代および天草地域で、直近 2 年は天草地域のみであったが、今年は 2006 年以来 3 年ぶりに八代地域でも 1 名の患者が発生した。2 名の患者からリケッチア様微生物が分離され、17kD 蛋白遺伝子のシーケンス解析結果から *Rickettsia japonica* (Rj) と同定された。

ダニ類の調査では、タカサゴキララマダニとキチマダニ、タカサゴチマダニ、ヤマアラシチマダニ、オオトゲチマダニ、フタトゲチマダニ、アカコッコマダニの 3 属 7 種が採取された。また、ヤマアラシチマダニの若虫 1 個体からリケッチア様微生物が分離され、17kD 蛋白遺伝子のシーケンス解析結果から Rj と同定された。

計 81 匹（アカネズミ 79 匹、ヒメネズミ 1 匹、ヒミズ 1 匹）の野鼠が捕獲され、アカネズミ 1 匹の肝臓と脾臓から検出されたリケッチア属の 17kD 蛋白遺伝子のシーケンス解析結果から Rj と同定された。

熊本県における近年の日本紅斑熱の増加、特に特定地域での増加の理由は不明であり、今後も調査を継続していく必要がある。

・花岡希¹⁾，松谷峰之介²⁾，川端寛樹¹⁾，山本正悟³⁾，藤田博己⁴⁾，坂田明子¹⁾，東慶直²⁾，小河基彦¹⁾，岸本壽男^{1,5)}，白井睦訓²⁾，倉根一郎¹⁾，安藤秀二¹⁾

○病原性 *Rickettsia japonica* グループにおける特異的 ORF の同定と検出系への応用

第 16 回リケッチア研究会(2009 年 11 月 7 日 東京都)

国立感染症研究所¹⁾ 山口大学医学部²⁾ 宮崎県衛生環境研究所³⁾ 大原研究所⁴⁾ 岡山県環境保健センター⁵⁾

近年の *Rickettsia japonica* (Rj) のゲノム解析によって、Rj にはいくつかの特異的な ORF が存在していることが明らかとなった。この Rj 特異的領域に着目し、TaqMANMGBprobe を使用した検出系を開発した。

Real-time PCR の酵素には Perfect Real-time PCR(TAKARA)を用い、ABI 7500 system で 20 μ l の反応系で行った。また、様々な *Rickettsia* 菌種の DNA と血清学的に日本紅斑熱と診断された患者検体(血餅から抽出した DNA)を使用して、検出系の評価を行った。

病原性の Rj グループ (*R. japonica* および *R. heilongjiangensis*) のみが保有する 216bp の ORF に着目し、この DNA 配列を検出するように設計した TaqMANMGBprobe は、高感度かつ特異性が高かった。また、通常の PCR 法では検出できなかった日本紅斑熱患者由来の DNA サンプルから、50%の回復率で病原性 Rj グループの DNA を検出できた。以上の結果から、新たに開発した Real-time PCR 検出系は、日本紅斑熱診断系への応用が期待される。

・田原研司¹⁾，山本正悟²⁾

○リケッチア症例に高齢者が多い理由を考えるー島根県と宮崎県の場合ー

第 64 回日本衛生動物学会西日本支部大会(2009 年 10 月 31 日 滋賀県)

島根県保健環境科学研究所¹⁾ 宮崎県衛生環境研究所²⁾

平成 20 年度の厚生科研報告書「リケッチア感染症の国内実態調査および早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築」で、「三重県志摩半島に多発する紅斑熱、その感染環と環境要

因」という項目で高田伸弘(福井大・医)が記載した中に「…一方、発症に性差は見ないが、多くが高齢であった。もとより高齢人口が増えた昨今ゆえという理由もあるだろうが、やはり高齢者で症状が強くて顕在化し易いということはあるだろう。ただ、自然環境に近く住んで立ち入る頻度が高いのも高齢の住民であるから、おそらく両方が理由になると思われる。」とあった。今回は、上記の下線部の事実確認を目的として、年齢別の患者発生状況と年齢別の罹患率を調べたところ、おおむね三重県での観察と一致した結果ではあった。ただ、島根県の場合、同一の地域住民を対象に、10 年を隔てて抗 *Rickettsia japonica* 抗体の保有率の推移をみたデータがあり、それを整理したところ、60 歳以降の年代では大きな変動が無かったのに対し、40~50 歳代では 10 年後に相当の抗体価上昇を見ていた。この解釈の一つとしては、40 歳代以降に地元の農林業に回帰した住民が暴露されて抗体が上昇したものと考えられる。このことから、やはり、高齢者が耕作地や周辺の自然環境に立ち入る頻度が高い故と言える。

・深江弘恵，堀田剛，大浦裕子，河野喜美子，都城保健所広域指導検査課検査担当，延岡保健所広域指導検査課検査担当

○カンピロバクター属菌による生食用食肉の汚染実態について

平成 21 年度九州地区食品衛生監視員協議会研修会

(2009 年 9 月 3 日，4 日 長崎県長崎市)

カンピロバクター属菌が食中毒の病因物質として毎年上位を占めているなか、本県における鶏肉やその内臓(肝，砂肝)を生食する慣習は、食の安全安心という観点から問題視されている。この状況を受け、カンピロバクター属菌による汚染の実態調査を実施し、食中毒及び散発下痢症との関連について検討を行った。

[対象及び方法]食肉処理施設，及び食肉販売業，飲食店から収去した生食用の処理肉，刺身，たたきを調査対象とした。これは、カンピロバクター属菌の生存環境の特殊性(微好気性)を考慮し、食鶏の処理後、経過日数の違う環境から採取したものである。また検査方法についてはサンプル量を 0.1g から 25g に増やすことで検出感度を高め