

various routes. Because of the mild virulence of the *stx2c* genotype strains, they seemed to be transmitted asymptotically from cattle to humans and then spread from person to person. It may be a public health concern. Further, they occasionally cause severe symptoms in humans; therefore, caution is warranted for infections by *stx2c* genotype O157 strains, in addition to *stx2*-possessing genotype O157 strains.

○Comparison of real-time reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification and real-time reverse-transcription polymerase chain reaction for detection of noroviruses in municipal wastewater

・ Yoshihiro Suzuki¹⁾, Shogo Narimatsu¹⁾, Takashi Furukawa¹⁾, Akira Iwakiri²⁾, Miho Miura²⁾, Shogo Yamamoto²⁾, Hiroyuki Katayama³⁾

¹⁾Department of Civil and Environmental Engineering, Faculty of Engineering, University of Miyazaki, ²⁾Laboratory of Microbiology, Miyazaki Prefectural Institute for Public Health and Environment, ³⁾Department of Urban Engineering, School of Engineering, The University of Tokyo.

Journal of Bioscience and Bioengineering
vol.112(4) 369-372 (2011)

The monitoring of NVs in municipal wastewater by both real-time RT-LAMP and real-time RT-PCR, and the comparison of these two methods with respect to NV detection were carried out. The change in NVs detected by real-time RT-LAMP agreed well with that detected by real-time RT-PCR. In contrast, the correlation between the copy number determined by real-time RT-PCR and the threshold time (Tt) determined by real-time RT-LAMP obtained during monitoring was not significant ($0.1 < p$) for both NV-GI and NV-GII.

<学会及び研究発表会>

○宮古列島における *Orientia tsutsugamushi* の分離および遺伝子解析

・ 北野智一¹⁾, 平良勝也²⁾, 岡野祥²⁾, 角坂照貴³⁾, 藤田博己⁴⁾, 高田伸弘⁵⁾, 高橋守⁶⁾, 安藤秀二⁷⁾, 高野愛⁷⁾, 川端寛樹⁷⁾, 御供田睦代⁸⁾, 本田俊郎⁹⁾, 林哲也¹⁰⁾, 山本正悟¹⁰⁾

¹⁾宮崎衛研, ²⁾沖縄衛研, ³⁾愛知医大, ⁴⁾大原研, ⁵⁾福井大, ⁶⁾埼玉医大, ⁷⁾感染研, ⁸⁾鹿児島県環保セ, ⁹⁾鹿児島県立大島病院, ¹⁰⁾宮崎大・医

「第64回日本衛生動物学会大会

(平成24年3月29日~31日 長野県上田市信州大学)」

2008年6月, 沖縄県宮古島市の恙虫病患者初発後, 2011年7月までの野外調査の中で, 野鼠の脾臓や吸着 *Leptotrombidium deliense* (*Ld*) から *Orientia tsutsugamushi* の検索を試み, 45頭中13頭の脾臓が分離陽性, 1頭が遺伝子検出陽性, また, 個体毎の吸着 *Ld* プール試料35件中1件が分離陽性で本調査初の *Ld* 由来株となったほか, 2件が遺伝子検出陽性となった. 分離・検出は池間島という限られた地域由来ながら 56kDa 抗原遺伝子は多様で, 系統解析では台湾系 Gilliam 株, Saitama 株, Karp 株, TA678 株に一致または近縁な4グループに分かれた. うち分離株が得られた3グループにおける必須遺伝子11領域の Multi Locus Sequence 解析では, 国内主要株と異なる1つのクラスタを形成し, 3つのサブクラスタに別れ, さらに各サブクラスタの 56kDa 抗原遺伝子が一致したことから, *Ld* をベクターとして最低3種のクローンが共進化していると思われる. 今後, 宮古列島における感染環や東南アジアとの疫学的関連を解明したい.

○宮古島の恙虫病に関する調査—池間島のネズミとツツガムシから検出された病原体—

・ 北野智一¹⁾, 平良勝也, 岡野祥²⁾, 角坂照貴³⁾, 藤田博己⁴⁾, 高田伸弘⁵⁾, 高橋守⁶⁾, 安藤秀二⁷⁾, 高野愛⁷⁾, 川端寛樹⁷⁾, 御供田睦代⁸⁾, 本田俊郎⁹⁾, 林哲也¹⁰⁾, 山本正悟¹⁰⁾

¹⁾宮崎県衛生環境研究所, ²⁾ 沖縄県衛生環境研究所, ³⁾ 愛知医科大学, ⁴⁾ 大原総合病院附属大原研究所, ⁵⁾福井大学, ⁶⁾埼玉医科大学, ⁷⁾国立感染症研究所, ⁸⁾ 鹿児島県環境保健センター, ⁹⁾ 鹿児島

県立大島病院, ¹⁰⁾ 宮崎大学医学部

「第4回日本リケッチア症臨床研究会・第18回リケッチア研究会合同研究発表会

(平成24年2月12日 大阪市中央区)」

2008年6月に沖縄県宮古島市において沖縄県初となるツツガムシ病が確認され、現在までに4例の発生が認められている。2008年10月から2011年7月までに宮古列島(宮古島, 池間島, 来間島, 伊良部島, 多良間島)において計10回の野外調査が行われた。調査の結果, 患者の発生やベクター種として疑われる *Leptotrombidium deliense* (*Ld*) の浸潤および *Orientia tsutsugamushi* (*Ot*) を保有するネズミの分布は, 宮古列島のなかでも池間島との関連がみられている。また, 患者から検出された *Ot* の遺伝子配列が台湾系の株と一致したことや日本本土とは異なる *Ld* という東南アジアにおける主要ベクター種の浸潤を確認したことから, 池間島における本疾病の感染環が注目された。

今回, これまでの調査に関連してネズミと *Ld* から検出あるいは分離された *Ot* について, 56kDa 抗原領域の遺伝子系統解析および Multi Locus Sequence 解析 (MLSA) を行った。

45頭中13頭(クマネズミ11頭, ドブネズミ2頭)から *Ot* が分離され, ドブネズミ1頭から *Ot* の遺伝子のみが検出された。また, *Ld* の付着を認めた35頭中クマネズミ1頭から回収した *Ld* から *Ot* が分離され, これまでの調査ではじめて *Ld* からの分離に成功した。さらに, 分離は陰性であったが, 他のクマネズミ2頭から回収された *Ld* から *Ot* 遺伝子が検出された。これらの検出例はいずれも宮古列島の中の池間島で捕獲されたネズミに由来するものであった。

56kDa 抗原領域の遺伝子系統解析では, 池間島という限られた地域から分離・検出されたにも関わらず, 4つのグループに分類され, それぞれ台湾系 Gilliam 株, Saitama 株, Karp 株, タイの TA678 株に一致または近縁であった。タイの TA678 株に近縁なグループは, *Ld* から *Ot* 遺伝子が検出されたが分離株は得られなかった。

56kDa 抗原は表層抗原であり, それをコードする遺伝子は株間でバリエーションが著しい。また, 外環境にさらされるため遺伝子配列が一度に大きく変化する可能性があり, 進化系統を正確に反映

しないと考えられる。今回, より正確な *Ot* の進化系統を明らかとするため, 分離株の得られた3つのグループについて house keeping 遺伝子を用いた MLSA を行った。

その結果, *Ld* 由来株を含めたすべての株は, Kato, Ikeda に近縁であったが, これらを含めて国内で分離されている主要株とは異なる一つのクラスターを形成した。これらの株はさらに3つのサブクラスターを形成し, 有意な配列多様性を示すことも明らかとなった。さらに, MLSA により形成された各サブクラスター内の 56kDa 抗原領域の遺伝子は一致していることも明らかとなり, 少なくとも 56kDa 外膜蛋白の異なる3種のクローンが池間島に混在していると考えられる。

56kDa 抗原領域の遺伝子解析から, 患者は台湾系 Gilliam 株に近縁な *Ot* に感染したと推定されている。今回分離された *Ld* 由来株は 56kDa 抗原領域の遺伝子解析では Saitama 株に近縁で, *Ld* がベクターであるという直接的証拠は得られなかった。しかし, 池間島で分離された株は MLSA で同じクラスターを形成しており, *Ld* をベクターとして複数のサブクラスターの *Ot* が共進化している可能性が高い。今後さらに調査を継続し, 宮古島列島における本疾病の感染環や東南アジアとの疫学的関連を明らかにする必要がある。

○宮古島の恙虫病に関する調査—池間島のネズミとツツガムシから検出された病原体—

・北野智一¹⁾, 平良勝也, 岡野祥²⁾, 角坂照貴³⁾, 藤田博己⁴⁾, 高田伸弘⁵⁾, 高橋守⁶⁾, 安藤秀二, 高野愛, 川端寛樹⁷⁾, 御供田睦代⁸⁾, 本田俊郎⁹⁾, 林哲也, 山本正悟¹⁰⁾

¹⁾宮崎県衛生環境研究所, ²⁾ 沖縄県衛生環境研究所, ³⁾ 愛知医科大学, ⁴⁾ 大原総合病院附属大原研究所, ⁵⁾ 福井大学, ⁶⁾ 埼玉医科大学, ⁷⁾ 国立感染症研究所, ⁸⁾ 鹿児島県環境保健センター, ⁹⁾ 鹿児島県立大島病院, ¹⁰⁾ 宮崎大学医学部

「第19回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー (SADI) つつがの里大会 2011

(平成23年11月3日~5日 広島県安芸太田町)」

2008年6月に, 沖縄県で第1例目のツツガムシ病が宮古島市で発生した。これを受けて, 2008年10月から2011年7月までに宮古列島(宮古島,