

栃木県におけるダニ媒介性感染症病原体の実態調査

微生物部

中島 亜子 鈴木 尚子¹ 水越 文徳 船渡川 圭次 桐谷 礼子

(1 現県南健康福祉センター)

要旨

県内のダニ媒介性感染症のリスク評価を目的に栃木県内に生息するダニ類及び野生動物(シカ、イノシシ)を対象として調査を実施した。2016年～2018年にマダニ218検体、シカ55検体、イノシシ75検体を採取し、つつが虫病と日本紅斑熱、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の病原体検索を行った。その結果、ヤマトマダニ3検体、キチマダニ1検体から紅斑熱群リケッチア遺伝子が検出された。また、野生動物のダニ媒介性感染症についての抗体検査を行ったが、結果はすべて陰性であった。

キーワード: マダニ、つつが虫病、日本紅斑熱、SFTS、野生動物

1 はじめに

ダニ類によって媒介される感染症は、つつが虫病や日本紅斑熱、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)などがある。近年、全国的にダニ媒介性感染症が発生しており、日本紅斑熱は2017年には337件、SFTSは2019年7月までに453件の患者報告があり、年々増加傾向がみられる。栃木県内でのダニ媒介性感染症は、つつが虫病が年に数例発生している状況だったが、2014年11月に初めて県内で日本紅斑熱の患者が発生した¹⁾。また、2013年5月から開始された厚生労働科学研究の「SFTS(重症熱性血小板減少症候群)制圧に向けた総合研究」²⁾において、栃木県内で採取したマダニからSFTSウイルス遺伝子が検出されている。本調査では、本県におけるダニ媒介性感染症の感染リスクを把握するために、ダニ類の生息状況調査及び、紅斑熱群リケッチアおよびSFTSの病原体保有状況調査を実施した。更にシカ、イノシシにおいては紅斑熱群リケッチア及びSFTSウイルスについて病原体保有状況調査と抗体保有状況調査も実施したので、その概要を報告する。

2 材料と方法

2.1 材料

2016年～2018年間に採取したマダニ218個体、シカの血清55検体、イノシシの血清75検体を対象とした。マダニは旗振り法により地表及び植物から採取したものの167個体、栃木県動物愛護指導センターで収容された犬に付着していたもの50個体、ヒトに刺咬したものの1個体を材料とした。

今回、つつが虫の採取も実施したが検体を採取することはできなかった。

2.2 方法

2.2.1 マダニ種の同定及びマダニからの遺伝子抽出

捕獲したマダニは、形態学的観察により発育ステージ・雌雄・触肢の形・花彩・目の有無からマダニの属を

鑑別した。また、形態鑑別が困難な検体は、マダニから抽出したDNAを用いてTakanoらの方法³⁾によりマダニミトコンドリア16SrRNAのDNA配列による種の同定を実施した。成ダニは1個体を、若ダニ及び幼ダニは約5個体を1検体とし、113検体を検査材料とした。マダニはエタノールで洗浄後、メスで切り込みを入れ、細胞破砕機で破碎し、All Prep DNA RNA Mini kit(QIAGEN)を使用しDNA、RNAを同時に抽出した。

2.2.2 野生動物の血液検体からの遺伝子抽出

野生動物は、全血200μlからQIAamp DNA Mini kit(QIAGEN)を使用しDNAを抽出し、血漿140μlからQIAamp Viral RNA Mini kit(QIAGEN)を使用しRNAを抽出した。

2.2.3 抽出遺伝子からの病原体検出

抽出したDNAは17kDa蛋白抗原をコードする遺伝子を標的とし、紅斑熱群リケッチア(日本紅斑熱リケッチア(*Rickettsia japonica*)を含む)DNAを検出するための17kDaを標的とし、R1-R2プライマー及びRr17.61-Rr17.492プライマーを用いたNested-PCR法により紅斑熱群リケッチア遺伝子の検出をEx-Taq(TaKaRa)を使用して行った⁴⁾⁵⁾。抽出したRNAはSFTSウイルスの核蛋白質をコードするNP遺伝子を標的とし、プライマーセット1(SFTSV NP-1F/NP-Rd)及びプライマーセット2(SFTSV NP-2F/NP-2Rd)を用いたOne-Step RT-PCR法によりSFTSウイルス遺伝子の検出をSS III RT/Platinum TaqMix(Thermo Fisher)を使用して行った⁶⁾。陽性となった検体は、ダイレクトシーケンス法により増幅産物の塩基配列を決定し、BLAST検索による同定を行った。

2.2.4 野生動物からの抗体検出

紅斑熱群リケッチア及びSFTSウイルスに対する抗体検出は、国立感染症研究所に依頼した。

表1. マダニの生息状況

マダニ種	採取地区					計(%)
	県北	県南	県東	県西	宇都宮市内	
キチマダニ	30	9		6	124	169(77.5%)
フタトゲチマダニ	3	14	5	4	4	30(13.8%)
ヤマトマダニ	8			11		19(8.7%)
計(%)	41(18.8%)	23(10.5%)	5(2.3%)	21(9.6%)	128(58.7%)	218(100%)

表2. 採取したマダニの内訳

マダニ種	発育ステージ	雌雄	採取場所別			計(%)
			植物	収容犬	ヒト	
キチマダニ	成ダニ	雄	9	12		169(77.5%)
		雌	16	20		
	若ダニ	雄	2	2		
		雌	104			
幼ダニ		4				
フタトゲチマダニ	成ダニ	雌	6	7	1	30(13.8%)
	若ダニ	雄	7			
		雌	4	2		
幼ダニ			3			
ヤマトマダニ	成ダニ	雄	9	1		19(8.7%)
		雌	6	3		
計(%)			167(76.6%)	50(22.9%)	1(0.5%)	218(100%)

表3. マダニの病原体保有状況

採取方法	採取地区	マダニ種	発育ステージ/雌雄	紅斑熱群リケッチア種
植生マダニ	県西	ヤマトマダニ	成ダニ/雄	<i>R. helvetica</i>
植生マダニ	県西	ヤマトマダニ	成ダニ/雌	<i>R. helvetica</i>
収容犬	県西	ヤマトマダニ	成ダニ/雄	<i>R. helvetica</i>
収容犬	県北	キチマダニ	成ダニ/雌	<i>R. raoultii</i>

3 結果

3.1 マダニの生息状況

採取したマダニは218個体で、3種が確認された。内訳は、キチマダニ169個体(77.5%)、フタトゲチマダニ30個体(13.8%)、ヤマトマダニ19個体(8.7%)であった。マダニの採取地区別は表1に、採取したマダニの種、発育ステージ、雌雄、採取方法別の数は表2に示す。

3.2 マダニの病原体保有状況

ヤマトマダニ19個体のうち3個体(15.8%)から *Rickettsia helvetica*、キチマダニ169個体のうち1個体(0.6%)から *Rickettsia raoultii* が検出された(表3)。*R. japonica* 及び SFTS ウイルス遺伝子は検出されなかった。

3.3 野生動物の病原体保有状況

2016～2018年に捕獲された、シカ55検体、イノシシ75検体から紅斑熱群リケッチア及びSFTSウイルス遺伝子は検出されなかった。

3.4 野生動物の抗体保有状況

2016～2017年に捕獲された、シカ55検体、イノシシ18検体から紅斑熱群リケッチア及びSFTSウイルスに対する抗体は検出されなかった。

4 考察

今回の調査で採取されたキチマダニ、フタトゲチマダニ及びヤマトマダニは広く全国に生息している普通種である。隣接する福島県では、キチマダニとフタトゲチマダニは積雪期以外ではいつでも採取され、フタトゲチマダニとヤマトマダニの成ダニは春に多く採取されるとの報告⁷⁾があり、今回の調査はそれと同様の傾向がみられた。

ヤマトマダニの15.8%から *R. helvetica* が、キチマダニの0.6%から *R. raoultii* が検出された。*R. helvetica* はヨーロッパ各国で本種による紅斑熱症例が散発しており、日本国内でも症例が報告されている⁷⁾。また

R. raoultii はヨーロッパや中国で感染症例の報告がある⁸⁾⁹⁾。藤田らの報告¹⁰⁾によると、日本のダニ類には *R. japonica* 以外の紅斑熱群リケッチアが存在すると報告されており、今回の調査の結果はそれと同様であった。

シカ、イノシシの血液検体から紅斑熱群リケッチアと SFTS ウイルスの遺伝子および抗体は検出されなかった。遺伝子検査は検体採取時点での病原体保有を示すもので、感染から時間が経過すると検出されなくなる。一方、抗体検査は抗体価の上昇が長時間持続するため、時間が経過しても検出できる。最近の SFTS ウイルスの国内調査で、ニホンジカの抗体陽性率と患者数には正の相関関係があることが明らかとなっている¹¹⁾。これらのことより、県内のダニ媒介性感染症のリスクを評価する上で野生動物の抗体検査は非常に有用であり、今後も継続した調査が必要と考える。

日本紅斑熱や SFTS を媒介するマダニ種は比較的多種にわたるが、ダニ種と保有する病原体が限定されるものもあり、調査地域のダニ種を明らかにすることはリスク評価をする上で必要である。今回の調査結果から、栃木県内のダニ媒介性感染症のリスクは低いと考えられたが、このような調査を通じて県内にある、又はこれから侵入の可能性がある病原体を監視することは重要である。今後も監視を継続していくとともに、県内のダニ対策やダニ媒介性感染症の早期発見や治療等の啓発に寄与したいと考える。

5 謝辞

マダニ類の採取にあたり河俣雅久様(現栃木県東環境森林事務所)、笹沼修二様(元県北環境森林事務所)、馬淵佐知子様(栃木県動物愛護指導センター)に御協力いただきました。

野生動物の血液検体の採材にあたり、丸山哲也様(現栃木県自然環境課)、野澤努様(元宇都宮大学)に御協力いただきました。

野生動物の抗体検査にあたり森川茂先生(元国立感染症研究所獣医学部)に御協力いただきました。この場を借りて心から感謝を申し上げます。

6 参考文献

- 1) 国立感染症研究、〈特集〉つがが虫・日本紅斑熱 2007～2016年、病原微生物検出情報、38、109-112、2017。
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスの国内分布調査(第二報)について(情報提供)、2014。
- 3) Takano, *et al.*, Construction of a DNA database for ticks collected in Japan: application of molecule ear identification based on the

mitochondrial 16S rDNA gene, Medical Entomology and Zoology, 65, 13-21, 2014.

- 4) Katayama, *et al.*, Kansenshogaku Zasshi, 70, 561-569, 1996.
- 5) Williams, *et al.*, Typhus and typhuslike rickettsiae associated with opossums and their fleas in Los Angeles County, Journal of Clinical Microbiology, 30, 1758-62, 1992.
- 6) 国立感染症研究所獣医学部、SFTSV 検出マニュアル、2013。
- 7) 藤田博己他、2012年までに確認できた福島県のマダニ類とマダニ媒介リケッチア、日本衛生動物学会衛生動物、64、37-41、2013。
- 8) Na, *et al.*, Human Infections with Rickettsia raoultii, China, Emerging Infectious Diseases, 20, 866-868, 2014.
- 9) Philippe, *et al.*, Rickettsia slovacica and R. raoultii in Tick borne Rickettsioses, Emerging Infectious Diseases, 15, 1105-1108, 2009.
- 10) 藤田博己他、日本産マダニから分離された紅斑熱群リケッチア、ダニと疾患のインターフェイス、142-149、1994。
- 11) 国立感染症研究、動物における SFTS ウイルス感染状況、病原微生物検出情報、37、51-53、2016。