

原著

福岡県内の愛玩動物に付着したマダニにおけるSFTSウイルス及び 紅斑熱群リケッチアの保有状況調査

芦塚由紀・小林孝行・吉富秀亮・中村麻子・梶原淳睦

近年、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)や日本紅斑熱などのマダニが媒介する感染症が、福岡県内においても報告されている。今回、福岡県内の愛玩動物に付着したマダニについて、SFTSウイルス及び紅斑熱群リケッチアの保有状況を明らかにするために調査を行った。2014-2016年度に愛玩動物から採取された計309匹(135プール検体)のマダニについて検査したところ、SFTSウイルス及び日本紅斑熱リケッチア(*Richettia japonica*)は検出されなかった。*Richettia japonica*以外の紅斑熱群リケッチア近縁の遺伝子が、フタトゲチマダニ9検体、タカサゴキララマダニ1検体から検出されたが、人への感染例が報告されているリケッチアと近縁のものはなかった。本調査において、屋外飼育犬だけでなく室内飼育犬へのマダニの付着が見られたことから、散歩時のマダニ付着に対する防除や駆除への啓発が重要と考えられる。

[キーワード: マダニ、愛玩動物、SFTSウイルス、日本紅斑熱、紅斑熱群リケッチア]

1 はじめに

近年、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)や日本紅斑熱などのマダニが媒介する感染症が、福岡県内においても報告されている。SFTSは2013年に国内で初めて報告され、西日本を中心に毎年患者が報告されている。福岡県内では2015-2016年の間に10名の患者が報告されている¹⁾。日本紅斑熱は近年患者数が増加しており、最近では全国で年間200名を超えている状況である。福岡県内においても、年間数例の患者が報告されている。

マダニは発育や産卵のために動物から吸血し、その際に病原体を媒介する。福岡県内の過去の調査研究において、日本紅斑熱の媒介種であるヤマアラシチマダニやキチマダニ、SFTSウイルスの媒介種であるフタトゲチマダニ(写真1)やタカサゴキララマダニ(写真2)が生息していることが報告されている²⁾。当時の報告では病原体は検出されていないが、近年の患者発生状況を考えると、病原体保有マダニの存在が推測される。

近年、シカやイノシシ、アライグマなどの野生動物の生息域拡大により、マダニが付着した野生動物が人の生活圏に侵入し、そのマダニが人や愛玩動物に付着して病原体を媒介することが危惧されている。このため、福岡県では2014-2016年度の3年間に、人と動物の共通感染症対策の一環として共通感染症発生状況等調査事業を実施した。その中で犬や猫などの愛玩動物に付着したマダニについて、



写真1 フタトゲチマダニ



写真2 タカサゴキララマダニ

SFTSウイルス及び紅斑熱群リケッチアの保有状況を明らかにするために調査を行ったので報告する。

2 方法

2・1 検査材料

福岡県内を4ブロック(福岡、筑後、筑紫、北九州)に分け、各ブロックから1施設以上の検体採取協力動物病院(合計8動物病院)が選定された。2014-2016年度に協力動物病院において、治療、予防接種、または一時預かり等の目的で来院した犬及び猫から採取されたマダニ計309匹を検査材料とした。調査時期は2014年度が9月から12月、2015年度及び2016度が6月から9月であった。

2・2 検査方法

採取されたマダニは種類、発育ステージ毎に鑑別及び分類し、成虫は1匹、若虫及び幼虫は5匹を目安としてプー

表1 遺伝子検査に用いたプライマー及びプローブ

検査法	対象	領域	プライマー及び プローブ名	配列	文献
リアルタイム PCR	SFTS ウイルス	S 分節	S2-237s	GCAACAAGATCGTCAAGGCATCAGG	3)
			S2-400a	TGCTGCAGCACATGTCCAAGTGG	3)
			S2-317MGB	5' FAM-CTGGTTGAGAGGGCA3' MGB	3)
Nested-PCR	紅斑熱群リケッチア	17kDa 抗原	R1	TCAATTCACAACCTTGCCATT	4)
			R2	TTTACAAAATCTAAAAACC	4)
			Rr17. 61p	GCTCTTGCAACTTCTATGTT	5)
			Rr17. 492n	CATTGTTGTCAGTTGGCG	5)
			(<i>Richettia japonica</i>)	Rj5	CGCCATTCTACGTTACTACC
	紅斑熱群リケッチア	<i>gltA</i>	Rj10	ATTCTAAAAACCATATACTG	4)
			RpCS. 877p	GGGGACCTGCTCAGCGGG	6), 7)
			RpCS. 1273r	CATAACCAGTGTAAGCTG	6), 7)
			RpCS. 896f	GGCTAATGAAGCGTAATAA	6), 7)
			RpCS. 1258n	ATTGCAAAAAGTACAGTGAAC	6), 7)

ルし1検体とした(計135プール検体)。SFTSウイルスの検査は、国立感染症研究所の“マダニからのSFTSウイルス検出マニュアル”³⁾に準拠して実施した。プールしたマダニはバイオマッシャーIIを用いてすり潰し、Isogen II(ニッポンジーン)を添加してRNA抽出を行い、リアルタイムRT-PCR法によりSFTSウイルスの検査を行った。さらに抽出残渣からISOGENOME(ニッポンジーン)を用いてDNA抽出を行い、“リケッチア感染症診断マニュアル”⁴⁾等に準拠して紅斑熱群リケッチアの遺伝子検査を行った。遺伝子検査に用いたプライマー及びプローブを表1に示す。17kDa蛋白抗原をコードする遺伝子を標的とし、日本紅斑熱リケッチア(*Richettia japonica*)DNAを特異的に検出するためのRj5-Rj10プライマーによるnested-PCRと、紅斑熱群リケッチアDNAを検出するためのR1-R2プライマー及びRr17. 61p-Rr17. 492nプライマーによるnested-PCRを行った。紅斑熱群リケッチアDNAが検出された場合は、さらにクエン酸合成酵素A遺伝子(*gltA*)を標的としたRpCS. 877p-RpCS. 1273rプライマー及びRpCS. 896f-RpCS. 1258nプライマーを用いてnested-PCRを行った。PCR産物は2%アガロースゲル電気泳動でバンドの有無を確認し、バンドが確認された検体については塩基配列を決定し、近隣結合(Neighbor-joining, NJ)法により系統樹解析を行った。解析ソフトウェアは塩基配列解析ソフトウェアMolecular Evolutionary Genetics Analysis(MEGA 5.1)を用い、検定はブートストラップ法(500回サンプリング)により行った。

3 結果及び考察

3・1 マダニを採取した愛玩動物について

表2にマダニを採取した愛玩動物の種類を示す。3年間で74匹の愛玩動物からマダニが採取された。そのうち71匹(97.3%)は犬であった。愛玩動物では犬がワクチン接種等の目的で来院する機会が多いことが要因として考えられる。表3に愛玩動物の飼育場所を示す。74匹中34匹(45.9%)は屋外、19匹(25.6%)は室内飼育であったことから、室内飼育の愛玩動物もマダニ付着が見られることがわかった。

3・2 採取されたマダニの種類

表4に3年間の愛玩動物からのマダニの種類別採取数を示す。3年間で計309匹が採取された。種類は、2属5種のマダニが採取され、その中でフタトゲチマダニが286匹(92.6%)と最も多く、次いでキチマダニが14匹(4.5%)、ヤマアラシチマダニが6匹(1.9%)、その他はタカサゴキラマダニが2匹、オオトゲチマダニ1匹採取された。

図1に月別のマダニ採取割合を示す。6-11月はフタトゲチマダニの割合が多く、特に6-8月は成虫の割合が多かった。8月-10月は若虫の割合が多くなり、11月はほとんどがフタトゲチマダニの幼虫であった。キチマダニは10月から増え、12月に採取されたマダニは3匹であったが、すべてキチマダニであった。タカサゴキラマダニは8月に採取され、オオトゲチマダニは11月に採取された。愛玩動物付着マダニの種類には季節変動が見られ、マダニの動物への嗜好性だけでなく、野外で活動しているマダニの相を反映していることが推察される。

表2 マダニを採取した愛玩動物の種類

年度	犬	猫	不明	計
2014	23	0	2	25
2015	31	1	0	32
2016	17	0	0	17
計	71	1	2	74

表3 愛玩動物の飼育場所

年度	室内	屋外	屋内外	不明	計
2014	4	11	0	10	25
2015	11	17	1	3	32
2016	4	6	0	7	17
計	19	34	1	20	74

表4 3年間の愛玩動物からのマダニの採取数

マダニの種類	発育ステージ	計
フタトゲチマダニ	成虫♂	9
	成虫♀	65
	若虫	90
	幼虫	122
	小計	286
キチマダニ	成虫♂	7
	成虫♀	6
	若虫	1
	小計	14
ヤマアラシチマダニ	成虫♀	3
	幼虫	3
	小計	6
タカサゴキララマダニ	成虫♀	2
オオトゲチマダニ	若虫	1
合計		309

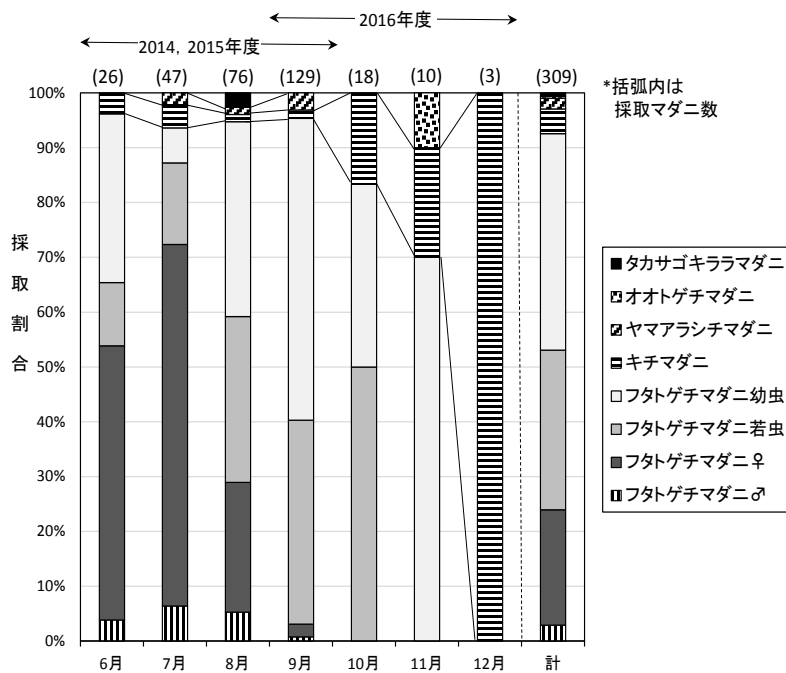


図1 マダニの月別採取割合

3・3 マダニにおける SFTS ウイルス及び紅斑熱群リケッチアの検査結果

採取されたマダニは、種類毎、発育ステージ毎に分類し、3年間で計135プール検体を検査した。その結果をまとめたものを表5に示す。SFTS ウイルス及び *Richettsia japonica* は検出されなかった。*Richettsia japonica* 以外の紅斑熱群リケッチア近縁の遺伝子が、10検体から検出された。図2に紅斑熱群リケッチアの系統樹を示す。フタトゲチマダニから検出された遺伝子には *Richettsia sp.* LON-13 に近縁のものが8検体、*Rickettsia sp.* Hf332 に近縁のものが1検体あった。また、タカサゴキララマダニからは *Candidatus Rickettsia* に近縁の遺伝子が1検体検出された。紅斑熱群リケッチアについては、*Rickettsia heilongjiangensis*、*Rickettsia helvetica*、*Rickettsia tamurae* など、国内で人への感染例が報告されているものがあるが^{8),9),10),11)}、本調査では、人への感染例が報告さ

れているリケッチアと近縁のものは検出されなかった。

4 まとめ

2014-2016年度に福岡県内の計74匹の愛玩動物(犬または猫)から採取されたマダニ計309匹を調査した。マダニの種類は92.6%がフタトゲチマダニ、4.5%がキチマダニであった。その他はヤマアラシチマダニ、タカサゴキララマダニ、オオトゲチマダニであり、マダニの種類には季節変動が見られた。採取されたマダニについて検査したところ、SFTS ウイルス及び *Richettsia japonica* は検出されなかった。*Richettsia japonica* 以外の紅斑熱群リケッチアについては近縁の遺伝子が、フタトゲチマダニ9検体、タカサゴキララマダニ1検体から検出されたが、人への感染が報告されているリケッチアと近縁のものはなかった。

今回の調査では、採取されたマダニから SFTS ウイルス及び *Richettsia japonica* は検出されなかったが、国内で

表5 SFTS ウイルス及び紅斑熱群リケッチアの検査結果

調査年度	採取動物数	採取マダニ数	検体数*	検査結果		
				SFTSV	日本紅斑熱リケッチア	紅斑熱群リケッチア*
2014	25	117	41	陰性	—	—
2015	32	113	54	陰性	陰性	<i>Richettsia sp.</i> (5) <i>Candidatus Richettsia</i> (1)
2016	17	79	40	陰性	陰性	<i>Richettsia sp.</i> (4)
計	74	309	135			

* 括弧内は紅斑熱群リケッチア近縁遺伝子が検出された検体数

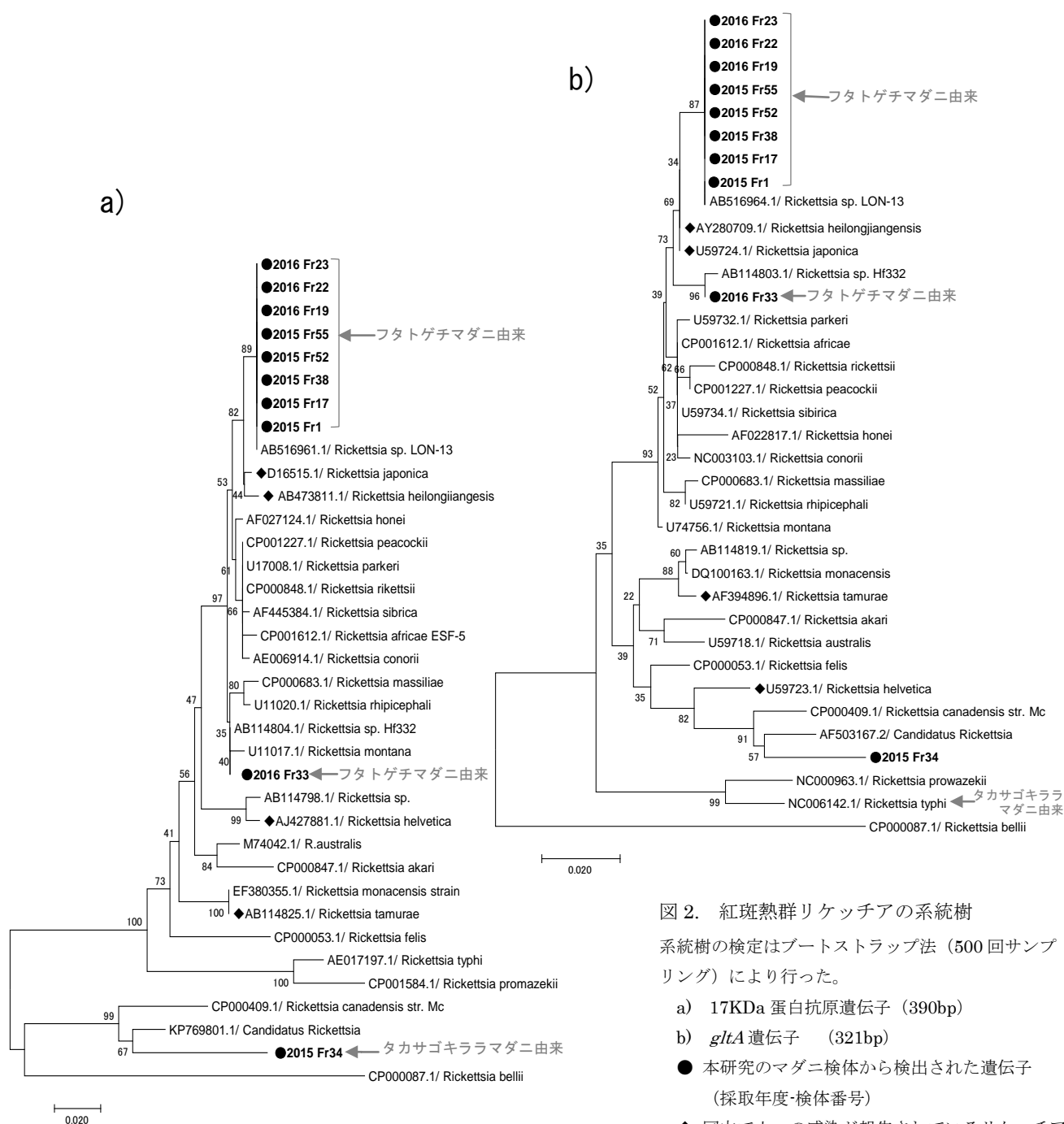


図2. 紅斑熱群リケッチアの系統樹

系統樹の検定はブートストラップ法 (500回サンプリング) により行った。

a) 17kDa 蛋白抗原遺伝子 (390bp)

b) *gItA* 遺伝子 (321bp)

● 本研究のマダニ検体から検出された遺伝子 (採取年度-検体番号)

◆ 国内で人への感染が報告されているリケッチア

SFTS ウイルスの媒介種とされているフタトゲチマダニが愛玩動物に多く付着していることがわかった。また、*Rickettsia japonica* の媒介種であるヤマアラシチマダニとキチマダニの付着が見られた。これらのマダニは室内飼育犬にも付着が見られたことから、散歩時のマダニ付着に注意する必要がある。さらに、マダニ由来病原体としては、紅斑熱群リケッチアについても分布や病原性など不明な点が多いことから、今後も県内に生息するマダニについて調査が必要と考えられる。

謝辞

本調査は福岡県医師会及び福岡県獣医師会の協力により、福岡県人獣共通感染症発生状況等調査事業の中で実施しました。関係各位に深謝いたします。また、マダニの調査を実施するにあたり、マダニの鑑別方法等について研修を実施していただきました山口大学共同獣医学部の前田健教授、高野愛准教授、馬原アカリ医学研究所の馬原文彦先生、藤田博己先生に深謝いたします。

(英文要旨)

Survey of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus and spotted fever group *Rickettsia* in ticks from companion animals in Fukuoka

Yuki ASHIZUKA, Takayuki KOBAYASHI, Hideaki YOSHITOMI, Asako NAKAMURA
and Jumboku KAJIWARA

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

Tick-borne infectious diseases, such as severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) and Japanese spotted fever were reported in Fukuoka recently. In 2014-2016, we collected 309 ticks from companion animals in Fukuoka to investigate the presence of SFTS virus and spotted fever group *Rickettsia*. SFTS virus and *Rickettsia japonica* were not detected. DNA of several spotted fever group *Rickettsia* were detected in samples of *Haemaphysalis longicornis* and *Amblyomma testudinarium*. However, no *Rickettsia* with reported pathogenicity to human were detected. Many ticks were found attached to dogs that lived both outdoors and indoors. Therefore, after walking indoor dogs outside, it is necessary to check for and remove ticks.

[Key words ; Tick, companion animal, SFTS, *Rickettsia japonica*, Japanese spotted fever]

文献

- 1) 国立感染症研究所：感染症発生動向調査週報 (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/idwr.html>) .
- 2) 石橋哲也ら：福岡県保健環境研究所年報，第36号，85-88，2009.
- 3) 国立感染症研究所：マダニからのSFTSウイルス検出マニュアル.
- 4) 国立感染症研究所：リケッチア感染症診断マニュアル，2000.
- 5) H. Noda *et al.*: AEM, 63, 3926-3932, 1997.
- 6) V. ROUX *et al.*: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, 252-261, 1997.
- 7) H. Hiraoka *et al.*: *J. Vet. Med. Sci.*, 67, 1217-1222, 2005.
- 8) 安藤秀二ら：IASR, Vol. 31, 136-137, 2010.
- 9) 岸本寿男ら：日本内科学会雑誌，104巻，2011-2019, 2016.
- 10) 高田伸弘ら：IASR, Vol. 27, 40-41, 2006.
- 11) K. Imaoka *et al.*: *Case Rep. Dermatol.*, 3, 68-73, 2011.