

リケッチア・レファレンスセンター

会議2023

国立感染症研究所

安藤 秀二

令和5年7月5日

# 本日の予定

- 全国のリケッチア症 発生情報の共有
- R5年度レファレンスセンターの予定
- その他

# リケッチア・レファレンスセンターの目的と役割

## 必要性

1. 国内のリケッチア症(つづが虫病と日本紅斑熱)は、近年においても患者数が多数報告され、死亡例、重症化例もいまだ報告される。地域によって発生時期が異なり、地域状況に即した症例対応が必要となる。しかしながら、報告に必須とされる実験室的診断技術の大部分がイン・ハウスの検査法である。衛研と密に協議し、その技術の標準化に必要な情報分析、技術支援を行う。

2. リケッチア症は、患者発生地域に固有のベクターの消長に関する情報の把握や感染推定地域における感染源(ベクター、動物)の調査が重要であり、その調査技術の伝承・伝達や維持を行う。また、レファレンスセンター組織を機軸とした情報共有や新規リケッチア株、輸入リケッチア症病原体の検出法、検査診断法の構築を検討する。

## 目的

リケッチア症の病原体サーベイランスに必要となる疫学情報、リケッチア標準株、分離株の共有等、相互信頼と連携、機能強化。

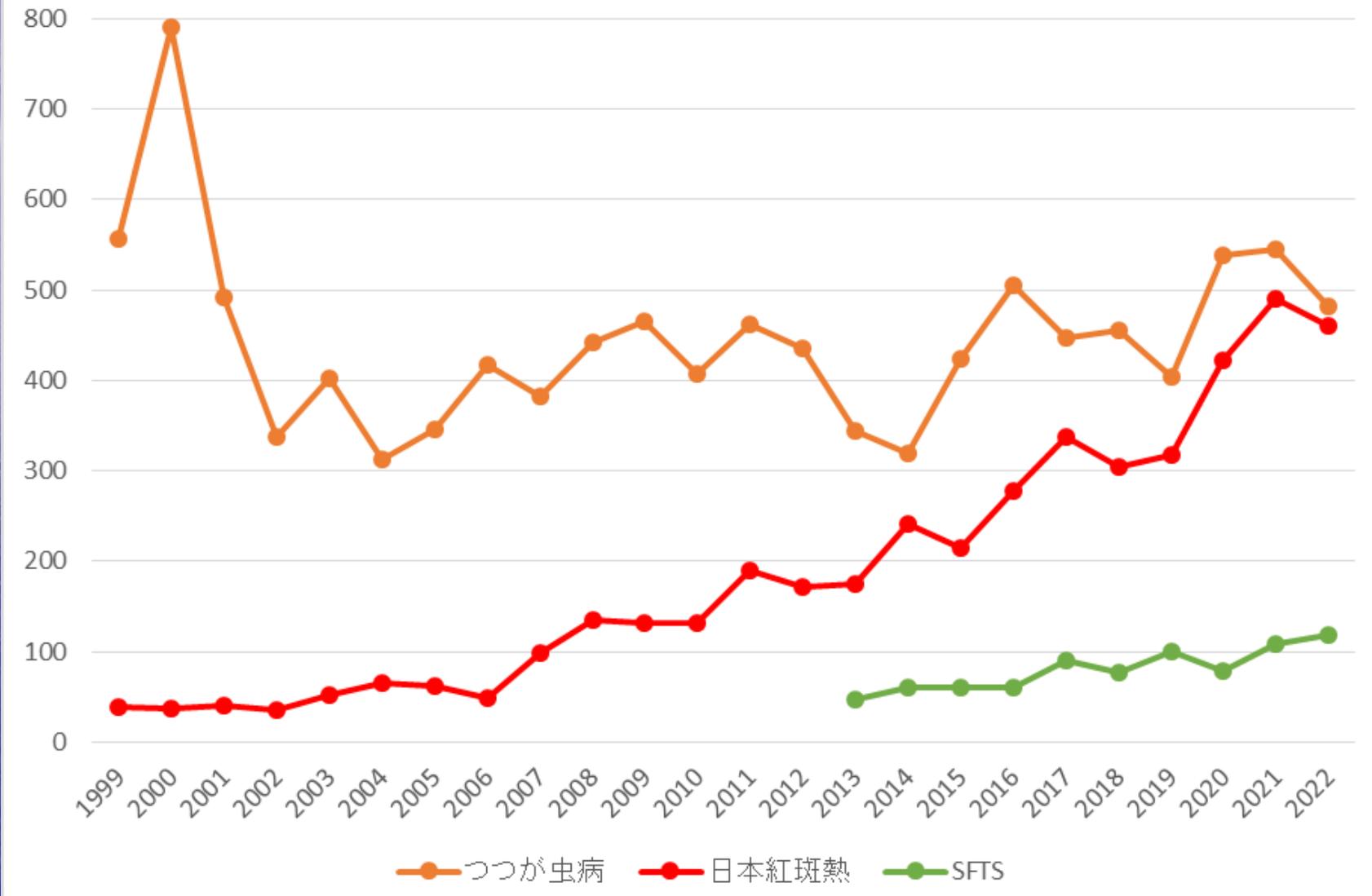
## 役割

- 標準株、分離株の維持(リスク分散)
- 診断用抗原並びにPCR陽性コントロールの分担作製と供給
- 実験室診断技術の相互評価(技術の維持)
- 新規診断法等の相互評価
- 疫学情報、診断情報の収集・分析と共有
- 緊急時のバックアップ体制
- 検査マニュアルの作成、改訂
- 検査技術の研修
- その他

# 活動状況(役割)

- 標準株、分離株の維持(リスク分散)
- 診断用抗原並びにPCR陽性コントロールの分担作製と供給
- 実験室診断技術の相互評価(技術の維持)
- 新規診断法等の相互評価
- 疫学情報、診断情報の収集・分析と共有
- 緊急時のバックアップ体制
- 検査マニュアルの作成、改訂
- 検査技術の研修
- その他

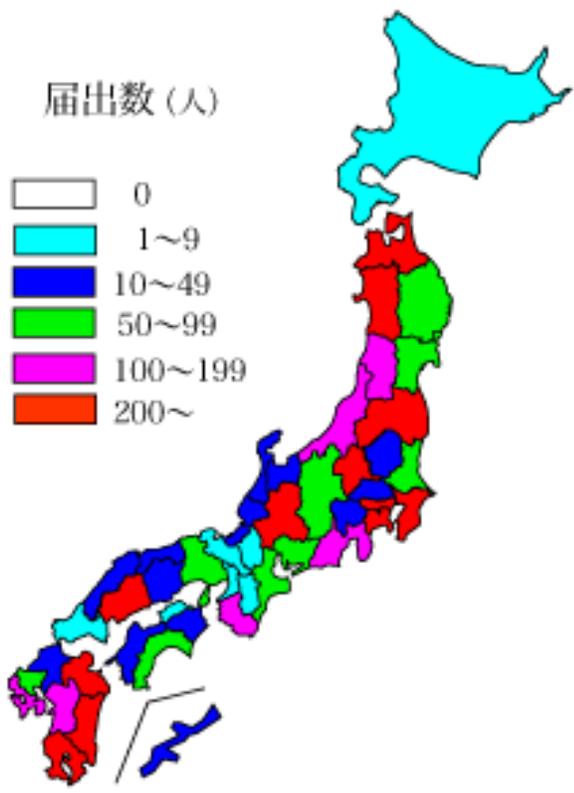
つつが虫病・日本紅斑熱・SFTSの患者報告数年次推移





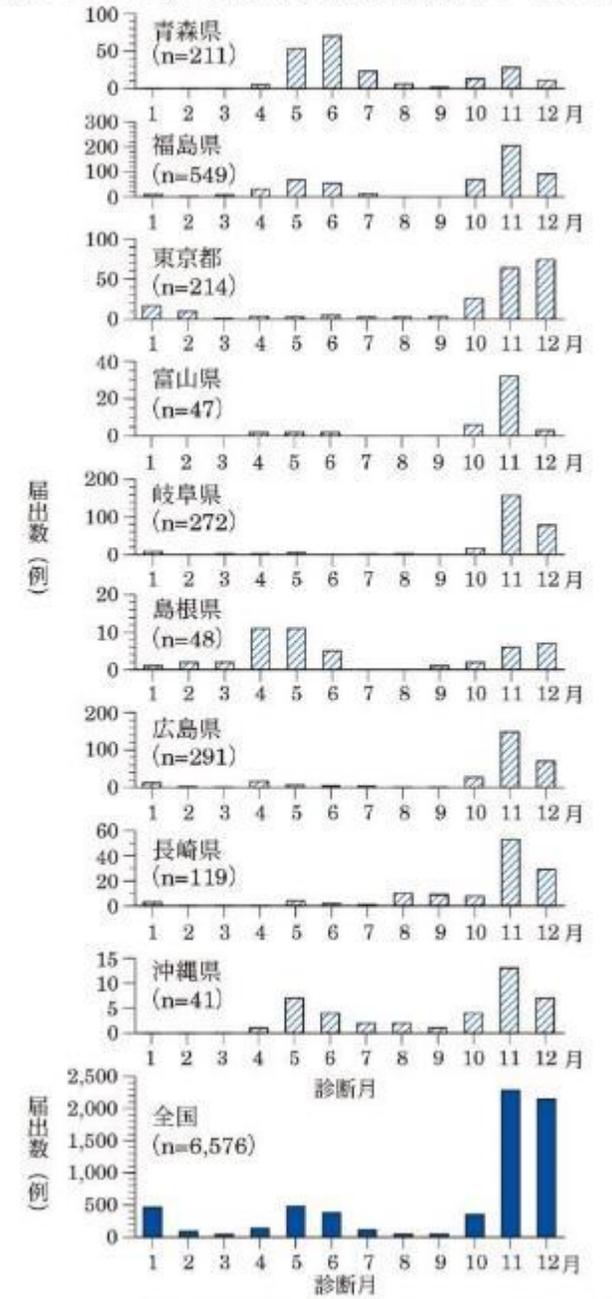
# つつが虫病

2007～2021年



(感染症発生動向調査:2022年6月16日現在届出数)

図2. つつが虫病の診断月別届出数, 2007～2021年



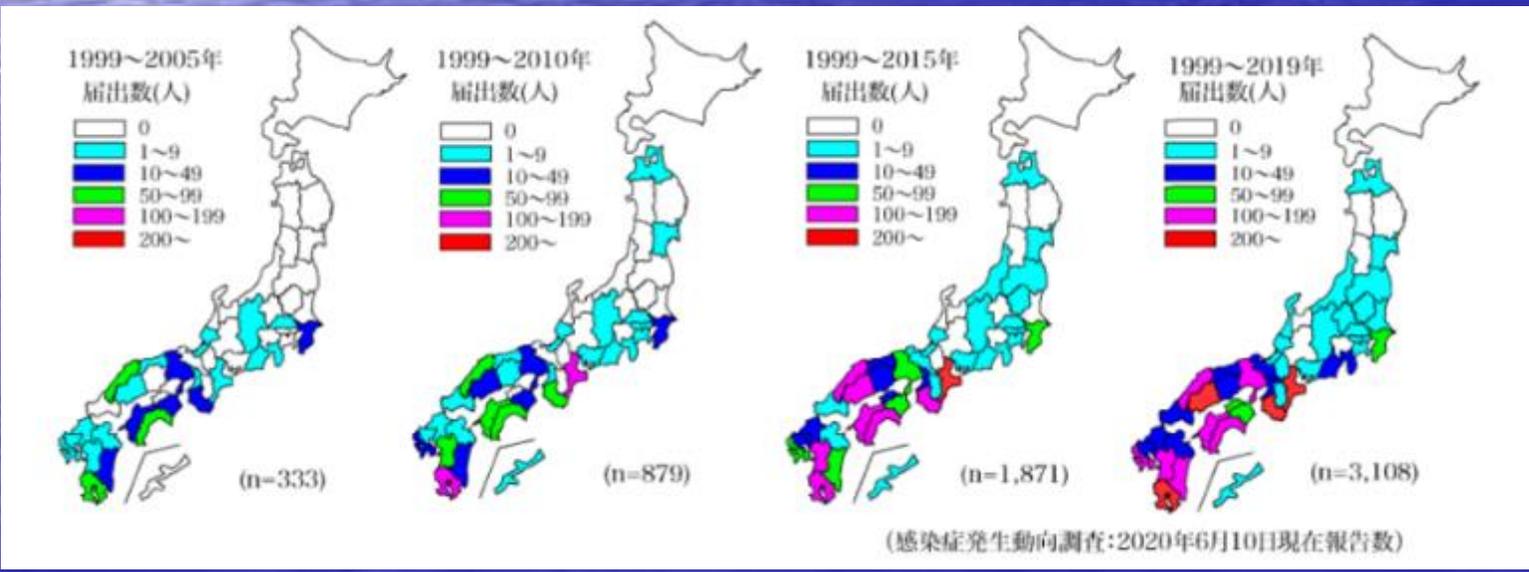
(感染症発生動向調査:2022年6月16日現在届出数)

# 日本紅斑熱



	SFTS			日本紅斑熱		
	死亡	致命率	年総計	死亡	致命率	年総計
1999					0.0	39
2000					0.0	38
2001				1	2.5	40
2002				1	2.8	36
2003					0.0	52
2004				1	1.5	66
2005				1	1.6	62
2006				1	2.0	49
2007					0.0	98
2008				1	0.7	135
2009				1	0.8	132
2010				3	2.3	132
2011				2	1.1	190
2012					0.0	171
2013	14	35.0	40	1	0.6	175
2014	16	26.2	61		0.0	241
2015	11	18.3	60	5	2.3	215
2016	8	13.3	60	3	1.1	277
2017	8	8.9	90	6	1.8	337
2018	4	5.2	77	4	1.3	305
2019	5	4.9	102	14	4.4	318

\* 死亡は届出時点





- 富山県における日本紅斑熱の確認
- 茨城県におけるOzウイルス感染症
- 中国地方におけるShimokoshi型つつが虫病の確認

詳細は各自治体から後日？  
OzはIASR発表(速報)済み

## PCR/qPCR用の合成プラスミドPCの検討

- SFTS／DENV／CHIKVのContAmplicon (CA)を用いた合成PCを参考
- ユーロフィンにプラスミドの合成依頼
  - 各所でコンスタントに品質のそろったPCが準備可能となる
- 機器ならびに試薬に関し、各所で評価

# qPCR用の合成プラスミドPCの検討

## リアルタイムPCR (1) SFG and Tsutsugamushi Diseases

\*紅斑熱群リケッチア (*R. japonica* 含む) とつつが虫病リケッチア (*O. tsutsugamushi*) の Duplex Real-time PCR (Kawamori et al, 2018)

日本国内の紅斑熱群リケッチアとつつが虫の多様性, 輸入リケッチア症を幅広く拾い上げるために開発された Duplex の系である. 試薬調製が比較的単純である利点がある.

### ①プライマー及びプローブ

Primer (probe)	Sequence (5' to 3')
OR-F	GGAGCATGCGGTTTAATTCG
OR-R	GCCATGCAACACCTGTGTGT
(Ot-FAM)	FAM-AATGGAGACATTTTCTTC-MGB
(Rj-VIC)	VIC-CGGATCGCAGAGATG-MGB

### ②試薬調製 \*Premix Ex Taq (Perfect Real Time)(TaKaRa)

Premix Ex Taq (2×) *	12.5 μL
OR-F (10 μM)	0.7 μL
OR-R (10 μM)	0.7 μL
Ot-FAM (10 μM)	0.5 μL
Rj-VIC (10 μM)	0.5 μL
DW	1.1 μL
	each 16 μL
DNA Template	9 μL
	total 25 μL

### ③反応条件

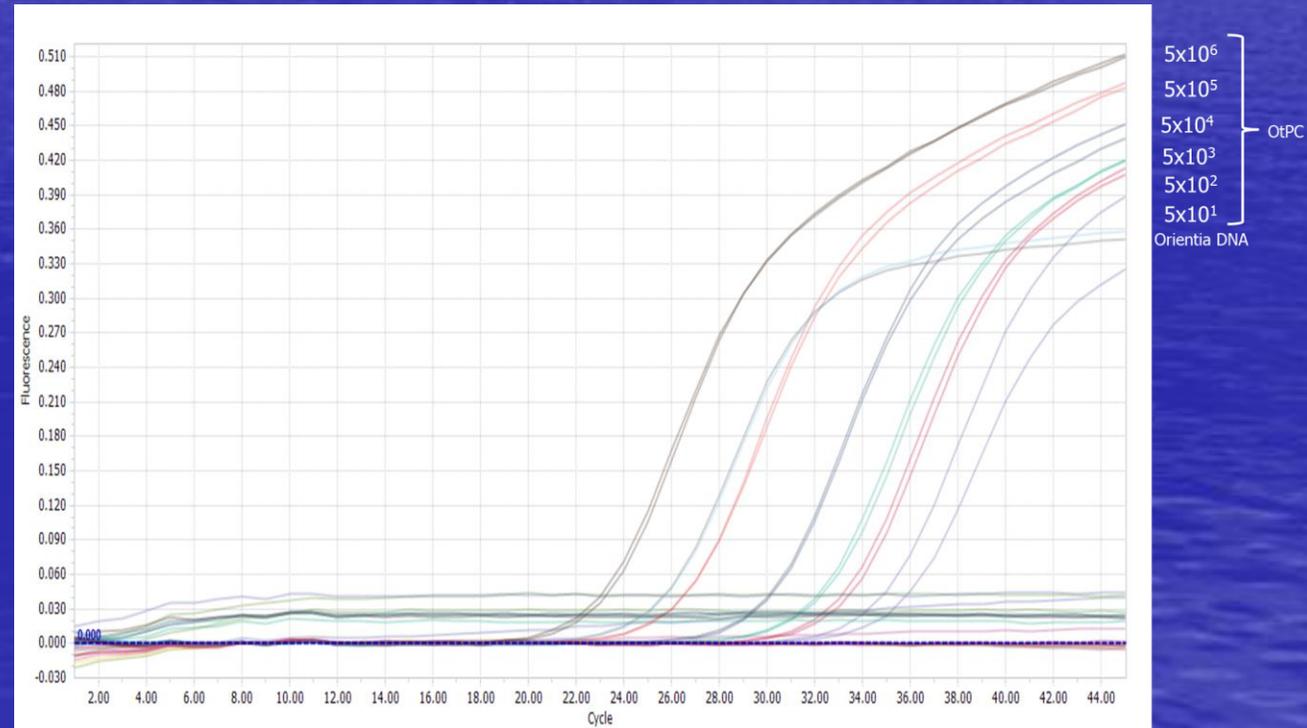
Initial denaturation	95°C 30 s
PCR Denaturation	95°C 5 s
PCR Annealing/extension	62°C 40 s
PCR Cycle	45 cycles

Light Cycler 98 →

R1マニュアル p8, Kawamori et al

## Orientia用ポジコン (Ot-PC)

GAATTGACGGGGGCCCGCACAA  
**TTAATTCG**ATGATCCGCGAAAA  
 agtagcttgcctcttcacgtggtacgATGGTAG  
**ATTTTCTTC**AGTTTGGCTGGA  
**TGGC**TGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTT





## PCR/qPCR用の合成プラスミドPCの検討

- 複数のブロック・レファレンスセンターにおいて、それぞれの施設に用意されている機器、試薬で試行。
- 比較評価後、配列情報等を公開予定。