

# リケッチア・レファレンスセンター会議報告2019

全国衛生微生物技術協議会, 2019年7月11日, 熊本市

- 北海道東北  
福島県衛生研究所  
青森県環境保健センター
- 関東甲信静  
東京都健康安全研究センター  
千葉県衛生研究所
- 東海北陸  
三重県保健環境研究所  
富山県衛生研究所
- 近畿  
和歌山県環境衛生研究センター  
兵庫県立生活科学研究所健康科学研究センター
- 中国・四国  
岡山県環境保健センター  
広島県総合科学研究所環境保健センター  
高知県衛生研究所
- 九州  
宮崎県衛生環境研究所  
鹿児島県環境保健センター

世話人 安藤秀二  
国立感染症研究所  
ウイルス第一部第五室  
shuando@nih.go.jp

# リケッチア・レファレンスセンターの目的

## 必要性

- 国内のリケッチア症(つづが虫病と日本紅斑熱)は、決して少なくない患者数が報告され、日本紅斑熱は増加している。
- 有効な抗菌薬がありながら、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。
- 国内のリケッチア症の多様性ととも、様々な輸入症例が確認される。
- 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。
- 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・伝達や維持の課題。
- **関係機関が密に協議・連携し、情報共有、技術の標準化に必要な情報分析、相互支援。**

## 目的・役割

- 標準株、分離株の維持(リスク分散)。\*課題: 特定病原体、BLS3
- 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

# 発生状況1

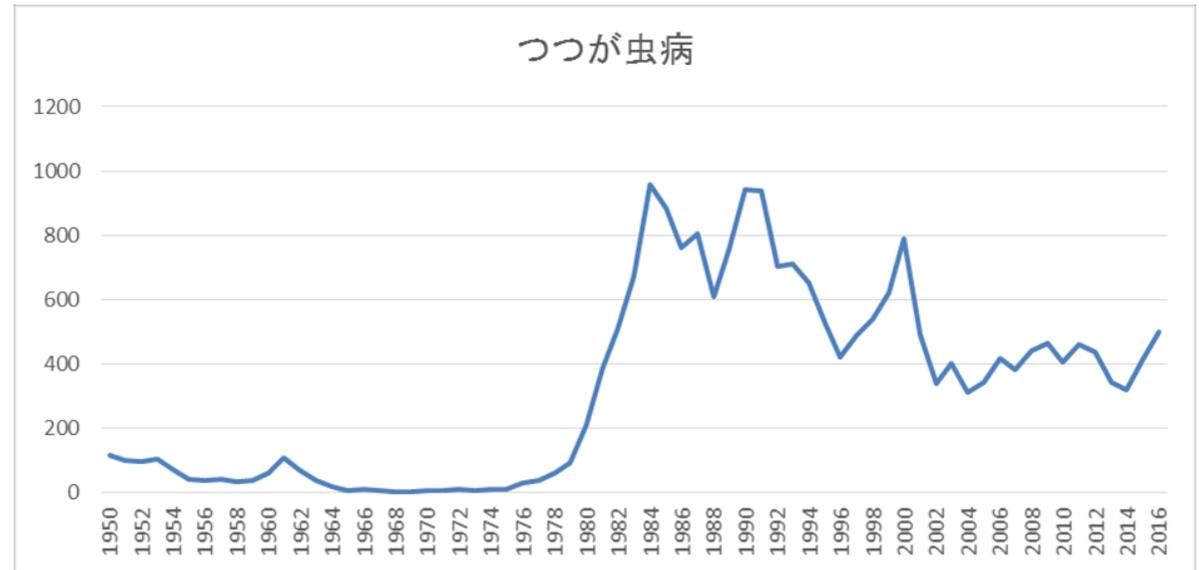
## 感染症法

- ・日本紅斑熱 (*R. japonica*, 3種)
- ・つつが虫病 (*O. tsutsugamushi*)
- ・ロッキー山紅斑熱 (*R. rickettsii*, 3種)
- ・発疹チフス (*R. prowazekii*, 3種)

## その他

- ・発疹熱 (*R. typhi*)
- ・極東紅斑熱 (*R. heilongjiangensis*)
- ・地中海紅斑熱 (*R. conorii*)
- ・*R. helvetica*
- ・African tick bite fever (*R. africae*)
- ・Flinder tick bite fever (*R. honei*)
- ・*R. sibirica*

ほか多種



## 過去10年で日本が経験したリケッチア症

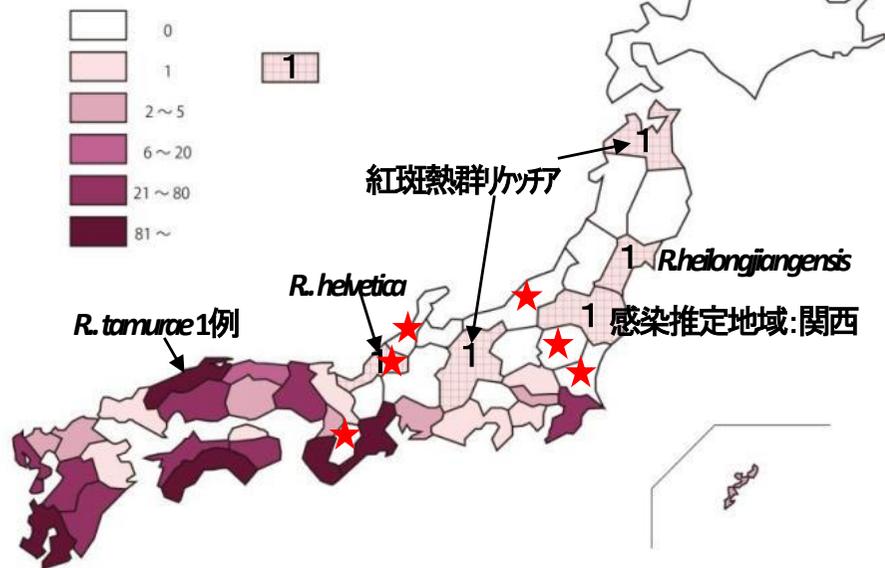
- ・つつが虫病\*
- ・日本紅斑熱
- ・極東紅斑熱
- ・地中海紅斑熱\*
- ・African tick bite fever \*
- ・Queensland tick fever (*R. australis*) \*
- ・*R. tamurae*
- ・*R. helvetica*
- ・Ca *R. indica* \*      \*輸入症例
- ・発疹熱\*      \*国内感染と輸入症例



# 発生状況2

紅斑熱(カラー)

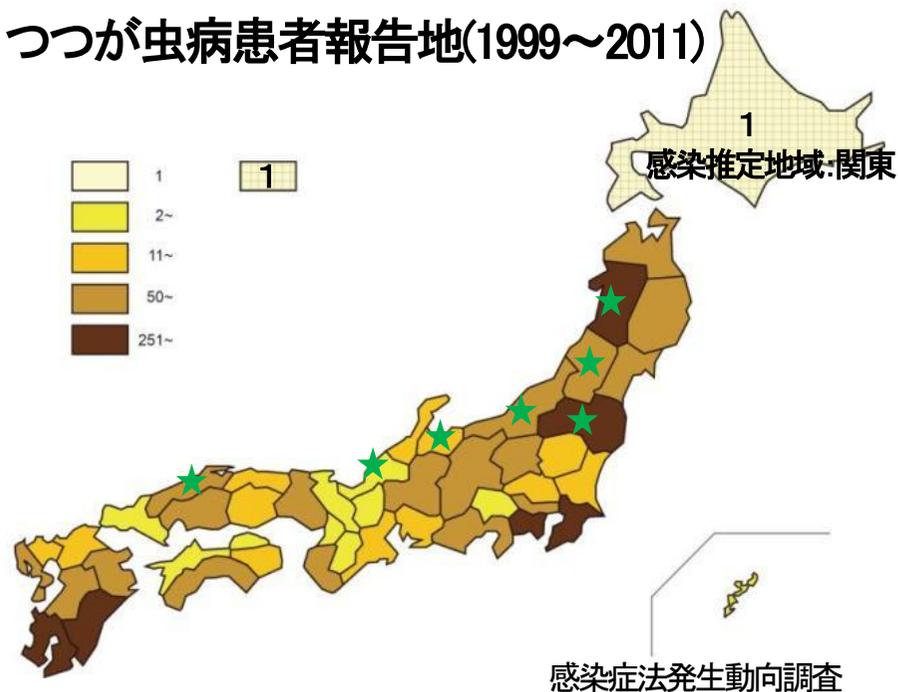
## 日本紅斑熱患者報告地(1999~2011)



★ 日本紅斑熱の新規発生

つつが虫病(カラー)

## つつが虫病患者報告地(1999~2011)



★ Shimokoshi型の発生

# リケッチア感染症 診断マニュアル

令和 元年 6 月版

## 目次

疾患の概要

つづが虫病

日本紅斑熱と紅斑熱群リケッチア症(ロッキー山紅斑熱を含む)

検体

検査の流れ

病原体検出

遺伝子検出

検体の前処理

リアルタイム PCR

コンベンショナル PCR

血清診断法

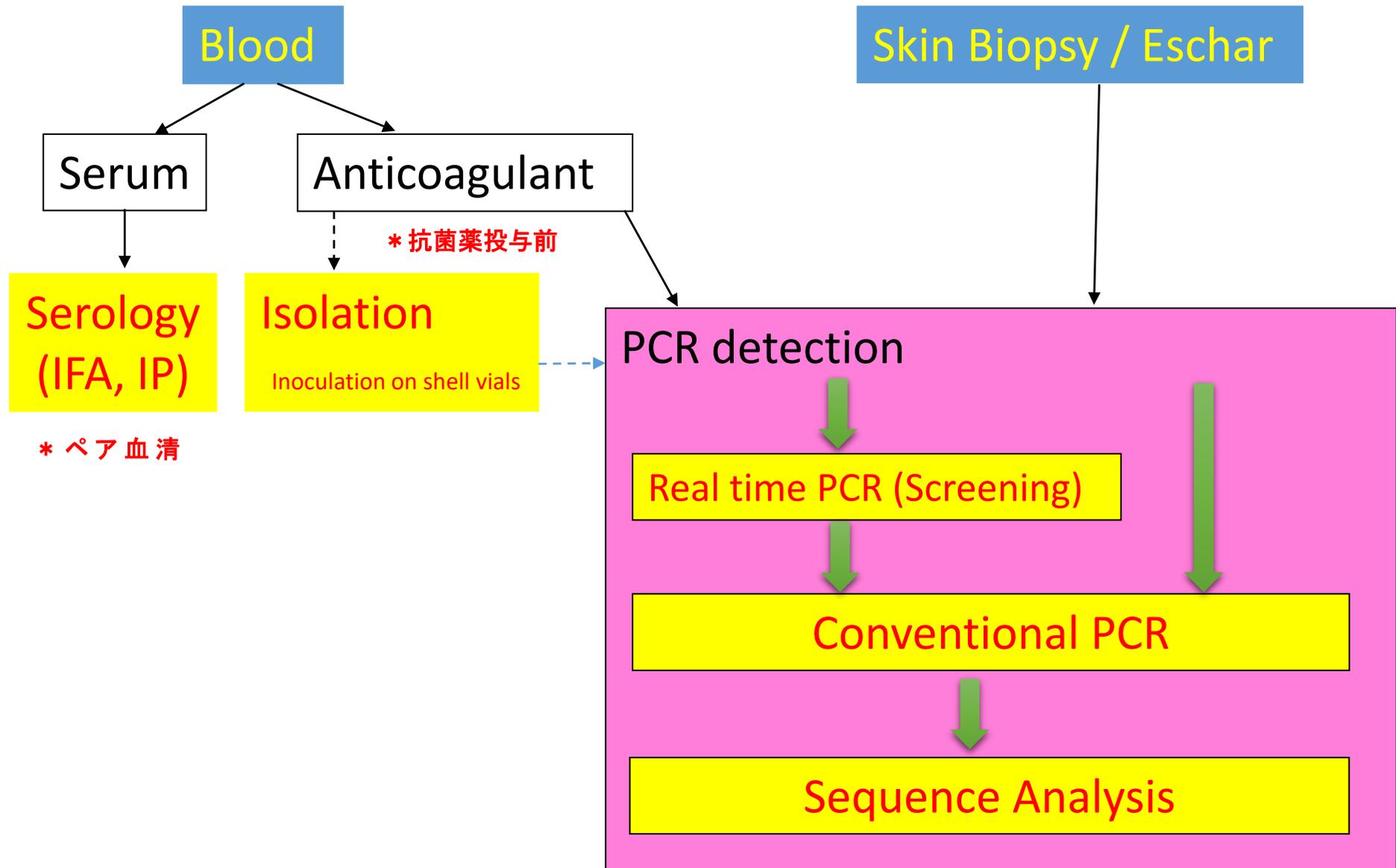
間接蛍光抗体法 Indirect immunofluorescence assay (IF 法)

間接免疫ペルオキシダーゼ法 Indirect immunoperoxidase assay (IP 法)

著者 一覧

全国衛生研究所衛生微生物協議会 リケッチア・レファレンスセンター 一覧

# リケッチア感染症実験室診断の流れ



## Specificity of Ot-Rj-duplex real-time PCR in Rickettsiales bacteria

Species	Strain (serotype)	Source	Ot-Rj-duplex real-time PCR		Hanaoka Rj-FAM <sup>1)</sup>
			Ot-FAM	Rj-VIC	
<b>(Orientia)</b>					
<i>O. tsutsugamushi</i>	Gilliam	Human	Ot-FAM positive	Negative	Negative
	Karp	Human	Ot-FAM positive	Negative	Negative
	Kato	Human	Ot-FAM positive	Negative	Negative
	Irie/Kawasaki	Human	Ot-FAM positive	Negative	Negative
	Hirano/Kuroki	Human	Ot-FAM positive	Negative	Negative
	Shimokoshi	Human	Ot-FAM positive	Negative	Negative
	JP-2: Sato Gilliam)	Human	Ot-FAM positive	Negative	Negative
	JG: Kasei (Karp)	Apodemus speciosus	Ot-FAM positive	Negative	Negative
<b>(Rickettsia)</b>					
<i>R. japonica</i>	YH	Human	Negative	Rj-VIC positive	Rj-FAM positive
	FT	Human	Negative	Rj-VIC positive	Rj-FAM positive
<i>R. heilongjiangensis</i>	CH8-1	Haemaphysalis concinna	Negative	Rj-VIC positive	Rj-FAM positive
<i>R. asiatica</i>	IO-1	Ixodes ovatus	Negative	Rj-VIC positive	Negative
	IO-46	Ixodes ovatus	Negative	Rj-VIC positive	Negative
<i>R. conorii</i>	Makino	Human	Negative	Rj-VIC positive	Negative
<i>R. helvetica</i>	JP-1	Ixodes persulcatus	Negative	Rj-VIC positive	Negative
	IC-1	Ixodes columnae			
<i>R. honei</i>	TT-118	Ixodes sp.			
<i>R. rickettsii</i>	Sheila Smith	Human			
<i>R. sibirica</i>	246	Human			
<i>R. tamurae</i>	AT-1	Amblyomma testudinarium			
	HM-1	Haemaphysalis megaspinosus			
<i>R. australis</i>					
<i>Rickettsia</i> sp. LON	LON-2	Haemaphysalis longicornis			
<i>R. monacensis</i> (formally In-56)	IN-1	Ixodes nipponensis			
<i>R. prowazekii</i>	brein1	Human			
<i>R. typhi</i>	Wilmington	Human			
<i>R. canadensis</i>	FLA-2	Haemaphysalis flava			
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	HZ	Human			
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	Arkansas	Human			
<i>E. muris</i>	AS145 <sup>T</sup>	Eothenomys kageus			
<i>Ehrlichia</i> sp. HF ( <i>E. ovatus</i> )	HF565	Ixodes ovatus			

R. africae 未検出可能

Jpn. J. Infect. Dis., 71, 267-273, 2018

**Original Article**

Evaluation of Diagnostic Assay for Rickettsioses Using Duplex Real-Time PCR in Multiple Laboratories in Japan

Fumihiko Kawamori<sup>1,9</sup>, Yukie Shimazu<sup>2</sup>, Hiroko Sato<sup>3</sup>, Naota Mounma<sup>4</sup>, Asaka Ikegaya<sup>1</sup>, Seigo Yamamoto<sup>5</sup>, Hiromi Fujita<sup>6</sup>, Hiroshi Morita<sup>7</sup>, Yukiko Tamaki<sup>8</sup>, Naoya Takamoto<sup>9</sup>, Hongru Su<sup>9</sup>, Masahiko Shimada<sup>9</sup>, Yuko Shimamura<sup>9</sup>, Shuichi Masuda<sup>9</sup>, Shuji Ando<sup>10</sup>, and Norio Ohashi<sup>9\*</sup>

<sup>1</sup>Shizuoka Institute of Environment and Hygiene, Shizuoka 420-8637; <sup>2</sup>Hiroshima Prefectural Technology Research Institute, Public Health and Environment Center, Hiroshima 734-0007; <sup>3</sup>Akita Research Center for Public Health and Environment, Akita 010-0874; <sup>4</sup>Fukushima Institute for Public Health, Fukushima 960-8670; <sup>5</sup>Miyazaki Prefectural Institute for Public Health and Environment, Miyazaki 889-2155; <sup>6</sup>Mahara Institute of Medical Acarology, Tokushima 779-1510; <sup>7</sup>Myojin Clinic, Wakayama 649-4223; <sup>8</sup>Tamaki Hospital, Wakayama 646-0033; <sup>9</sup>Department of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Integrated Pharmaceutical and Nutritional Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka 422-8526; and <sup>10</sup>Department of Virology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan

**SUMMARY:** Tsutsugamushi disease and Japanese spotted fever are representative rickettsioses in Japan, and are caused by infection with *Orientia tsutsugamushi* and *Rickettsia japonica*, respectively. For molecular-based diagnosis, conventional PCR assays, which independently amplify respective rickettsial DNA, are usually used; however, this approach is time-consuming. Here, we describe a new duplex real-time PCR assay for the simultaneous detection of *O. tsutsugamushi* and spotted fever group rickettsiae, and its evaluation using several PCR conditions in 6 public health laboratories. The detection limit of the assay was estimated to be 10<sup>2</sup> copies and the sensitivity was almost identical to that of 3 conventional PCR methods. A total of 317 febrile patients were selected as clinically suspected or confirmed cases of rickettsioses. The detection efficiency of this assay for *O. tsutsugamushi* from blood or skin (eschar) specimens appeared to be almost the same as that of the conventional PCR method, even when performed in different laboratories, whereas the efficiency for spotted fever group rickettsiae tended to be higher than that of the 2 traditional double PCR assays. Our duplex real-time PCR is thus a powerful tool for the rapid diagnosis of rickettsioses, especially at the acute stage of infection.

# 課題(活動予定)

- 感染研HP(感染症の話等)のupdate
  - 検査施設情報 ~アンケート調査による情報の更新
- 課題の洗い出し
  - マニュアル内容の追加・更新
  - 検査系のトラブルシューティング
- 症例解析