

資料

## つつが虫病の早期診断法の検討

－ 刺し口（痂皮）からの遺伝子検出 －

御供田 睦 代                      濱 田 まどか                      吉 國 謙一郎<sup>1</sup>  
 上 村 晃 秀                      湯 田 充 典<sup>2</sup>                      藤 崎 隆 司

### 1 はじめに

つつが虫病は、つつが虫病リケッチア (*Orientia tsutsugamushi* (以下「*O.t*」という。)) を保有するツツガムシ (図1) に刺されることによって発症する熱性発疹性疾患である。

リケッチアは、グラム陰性菌で、大きさは、0.5～2.5 $\mu$ m程 (図2) で細菌より小さくウイルスより大きい。生きた細胞でないと増殖できないため、細菌とウイルスの中間に属すると言われている。「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」では、全数把握の対象である四類感染症に分類され、診断した医師は、直ちに届出ることになっている。

2010年の本県におけるつつが虫病の報告数は、53名で全国2位 (全国:396名) であった (図3)。

今回、鹿児島市内の救命救急センターに搬送された患者に発熱、発疹、刺し口 (図4) を認め、つつが虫病の血清抗体価検査が当センターに依頼された。抗体価を測定したところKuroki株に陽性となったため、刺し口の痂皮 (図5) 採取を依頼し、遺伝子検査法の確立及び有用性について検討したので報告する。

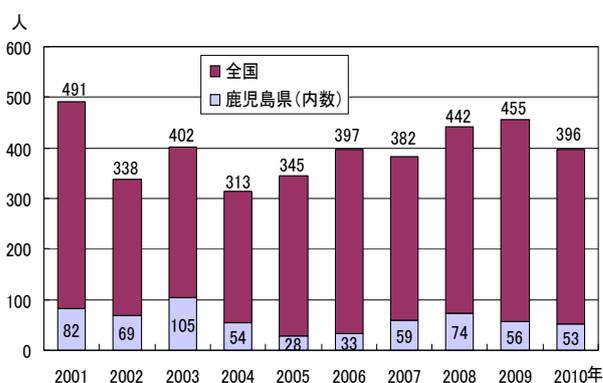


図3 つつが虫病年別報告数



図4 10mm内外の中心部の黒色痂皮とツツガムシ幼虫

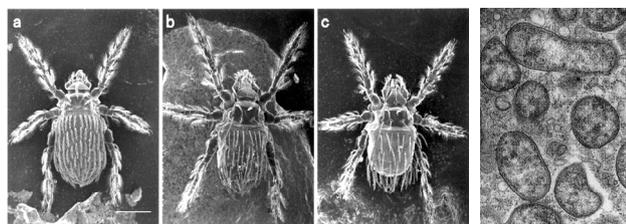


図1 代表的なツツガムシ幼虫  
 a. フトゲツツガムシ    b. タテツツガムシ    c. アカツツガムシ  
 国立感染症研究所  
 (電子顕微鏡写真)

図2 リケッチア  
 新潟薬科大  
 浦上弘先生  
 (電子顕微鏡写真)



図5 提供された痂皮

1 鹿児島県北薩地域振興局保健福祉環境部  
 2 医療法人 玉昌会 高田病院

〒895-0041 鹿児島県薩摩川内市隈之城町228-1  
 〒892-0824 鹿児島県鹿児島市堀江町5番1号

## 2 症例及び検査方法

### 2. 1 症例

患者 鹿児島市内在住68歳男性  
 感染推定日 2010年11月20日頃  
 採血日 2010年12月7日  
 痂皮採取日 2010年12月8日  
 感染推定地域 南九州市  
 感染場所 山地・竹やぶ 森林作業  
 刺し口 有 (左足・大腿部)  
 発熱 有 39.5℃ (11月後半より約10日間)  
 発疹 有 (顔・頭・胸・腹・背・腕・足)  
 リンパ節腫脹 無  
 血液所見 WBC 7300 CRP上昇 有 DIC 無  
 AST上昇 有 ALT上昇 有  
 LDH上昇 有  
 尿所見 蛋白 有 潜血 有  
 治療 抗生物質 (テトラサイクリン系)

### 2. 2 検査方法

医療機関から提出された検体 (血清及び痂皮) について、血清は、間接免疫蛍光抗体法により、現在使用している5株 (Gilliam, Karp, Kato, Kawasaki及びKuroki) について検査を行った。痂皮は、QIAamp DNA Mini Kit

(QIAGEN) を使い、DNAを抽出した。遺伝子型別は、国立感染症研究所 (レファレンス委員会) 及び地方衛生研究所全国協議会発行の「リケッチア感染症診断マニュアル」に準じ、PCR検査<sup>1)</sup>を実施した。

## 3 結果

### 3. 1 血清検査結果

検体番号 No. 178  
 検体採取日 2010年12月7日  
 血清検査結果 IgG 1:160 IgM 1:320 Kuroki株に陽性

### 3. 2 PCR検査結果

当センターで使用している5株について遺伝子検出を行い、1stPCRでは、*O. t*を検出するプライマー34'と55'を使用し、図6のように約1000bpのバンドを示した。

さらに2ndPCRではプライマー10'と11'を使用したところ、約500bpにバンドを示した。検体番号No. 178の検体 (痂皮) (図では「178」と表記する。) は、1stPCRでは遺伝子は検出できなかったが、2ndPCRで、約500bpにバンドを示した。

そこで、型別PCR (図7) を行った結果、Kuroki株と同一性を示した。血清抗体価もKuroki株陽性であり一致した。

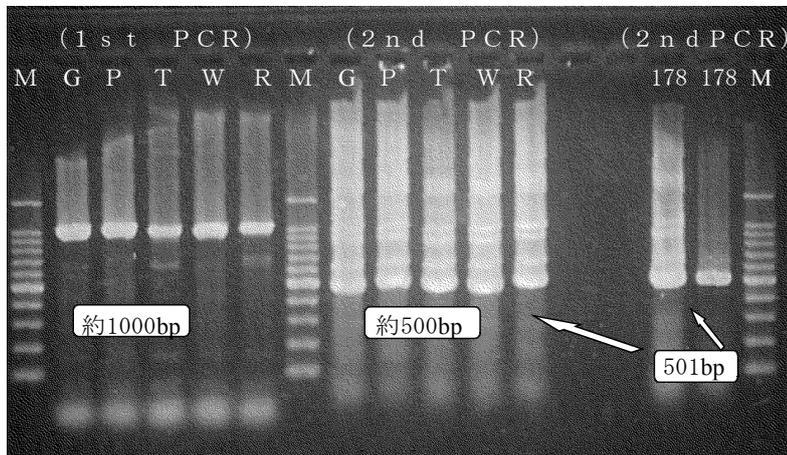


図6 使用している5株のPCR結果と患者のPCR結果

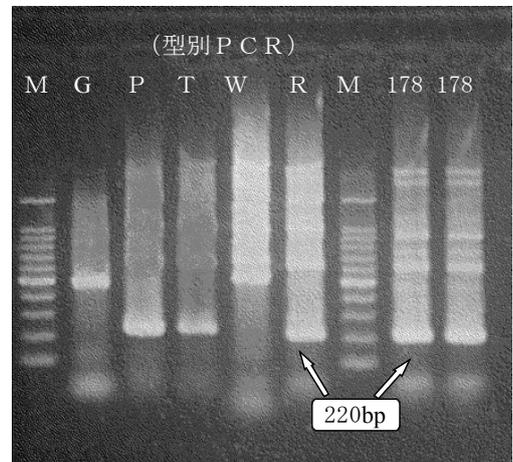


図7 型別PCR結果

(参考) 図6及び図7の略称説明と検出バンド

略称	株名	(1stPCR)	(2ndPCR)	(型別PCR)
G	Gilliam	1003bp	481bp	407bp
P	Karp	1030bp	507bp	230bp
T	Kato	1003bp	495bp	242bp
W	Kawasaki	1003bp	481bp	523bp
R	Kuroki	1026bp	501bp	220bp

(注) Mは、Markerの略称

#### 4 考察及びまとめ

患者は、2010年12月7日に発熱と発疹で救命救急センターに搬送された。診察した医師が、つつが虫病の三徴候を確認したため、つつが虫病の検査を依頼した。患者の血清抗体価は、すでにIgG 1:160 IgM 1:320と上昇しており、つつが虫病と判定された。

当センターでは、痂皮検査における遺伝子検査法<sup>2)</sup>の確立が課題となっていたが、今回のケースで痂皮における遺伝子検査法が確立できたこと、感染推定日から17病日でも、痂皮には遺伝子が存在すること、約1mm<sup>2</sup>の痂皮からでも検出が可能なことが確認できた。

2011年4月1日から、つつが虫病患者の届出基準が改正され、病理組織からの病原体検出が加わった。今後、検体採取については、血液の他、痂皮を加えて採取することを医療機関に依頼し早期診断に役立てたい。

また、当センターでは、2011年度からリケッチアの調査研究を行っており、早期診断に向けた迅速な遺伝子検査（リアルタイムPCR）などの確立について更なる検討を重ねていきたい。

#### 謝辞

検査に御協力いただきました鹿児島市立病院救命救急センターの吉原秀明医師ならびに久保園孝明医師に謝意を申し上げます。

#### 参考文献

- 1) Furuya, Y., Yoshida, Y. et al. ; Serotype Specific Amplification of *Rickettsia tsutsugamushi* DNA by Nested Polymerase Chain Reaction, *Journal of Clinical Microbiology*, 31 (6), 1637~1640 (1993)
- 2) 山本正悟, 安藤秀二, 岸本壽男 ; つつが虫病および日本紅斑熱の早期診断における刺口（痂皮）の有用性, *感染症学雑誌*, 84 (2), 221 (2010)