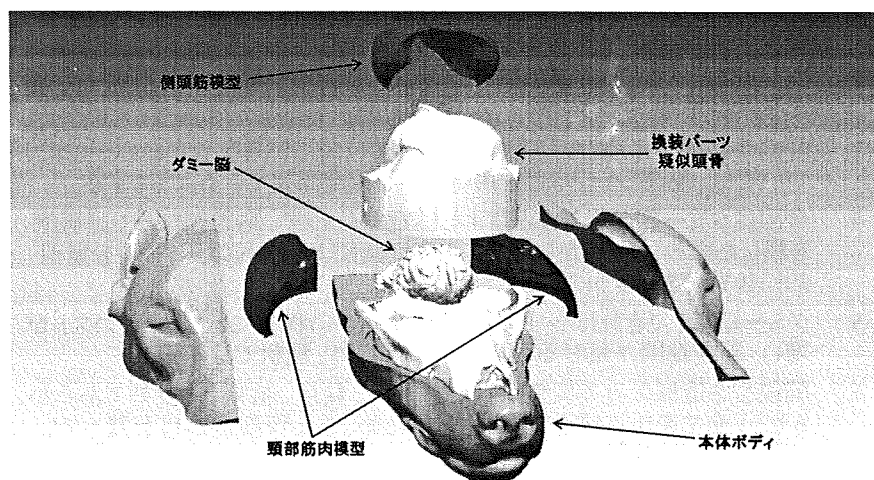


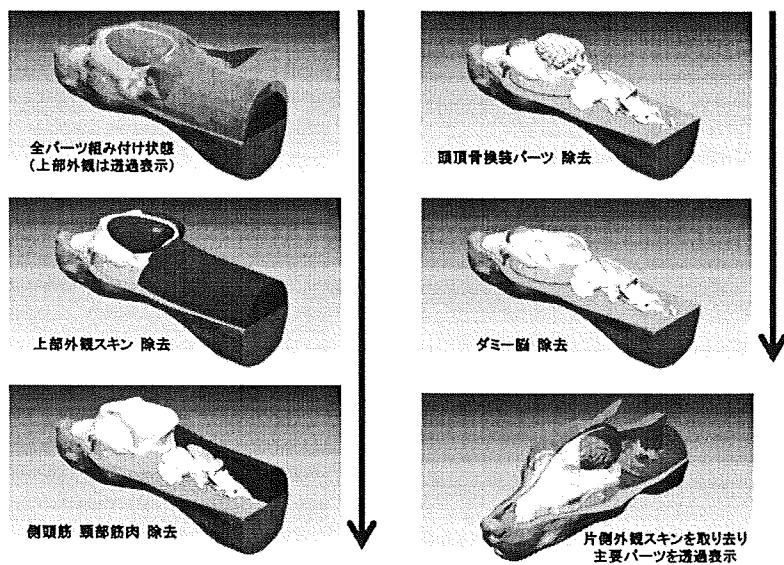
資料 1 (03)

### 3次元データ①



資料 1 (04)

### 3次元データ②



## 製作上の要点

1. アンダーカットになる形状については、注型の抜き方向に応じて、ある程度の肉埋めが発生するものと思われる。
2. 肉が薄くなり過ぎ、破損の恐れがある部位については、肉盛りを行い強度を確保する。
3. 解剖手技モデル・脳模型ともに、組み付け時にバラケやすいパーツについては、粘着シートなどを用いてある程度固定できるようにする。
4. 今回はダミー脳のネジなどによる固定は行わず、粘着剤などで頭蓋底を模した窪みに緩やかに固定し、骨切断による脳へのダメージを疑似的に体感できるようにする。
5. ダミー脳は、できればシリコンなどの柔らかい材質にしたいが、コストが増し、製作期間が延びる可能性があるため、現状では不可。
6. 脳模型を造形のみで製作すれば、コスト、精度、納期とも良好であるが、8セット全てを仕上げるのが困難なため、ある程度造形目が残ってしまう可能性がある。
7. 脳模型は、強度を重視した場合、ABS造形での製作を強く推奨する。

## 解剖手技モデルの作製方法

# 真空注型と粉体造形の比較

国立感染症研究所獣医科学部第二室  
株式会社モルフォバイオイメージング研究所

### 造形方法の概要

#### 真空注型

- 主材質はエポキシ・ポリウレタン・シリコンなど
- 原型となるモデルが必要
- 原型から型取りしてシリコンで雌型を作製
- 雌型に液状の材料を流し込み硬化させる
- 硬化後、雌型からモデルを取り出す
- モデルのバリなどを除去し表面を仕上げる
- 必要に応じて塗装などを行う
- 全体のイメージはアナログ

#### 粉体造形

- 主材質は石膏もしくはデンブロンなどをベースに調整した粉体
- 原型モデルは必要ないがモデルの3Dデータが必要
- 3Dデータを解析して積層データに変換
- 特殊な3Dプリンタを使用
- 粉体を積層データの形状で固めて積み重ねる
- 着色なども同時に行える
- 造形後樹脂を含浸させて形状を固定する
- 全体のイメージはデジタル

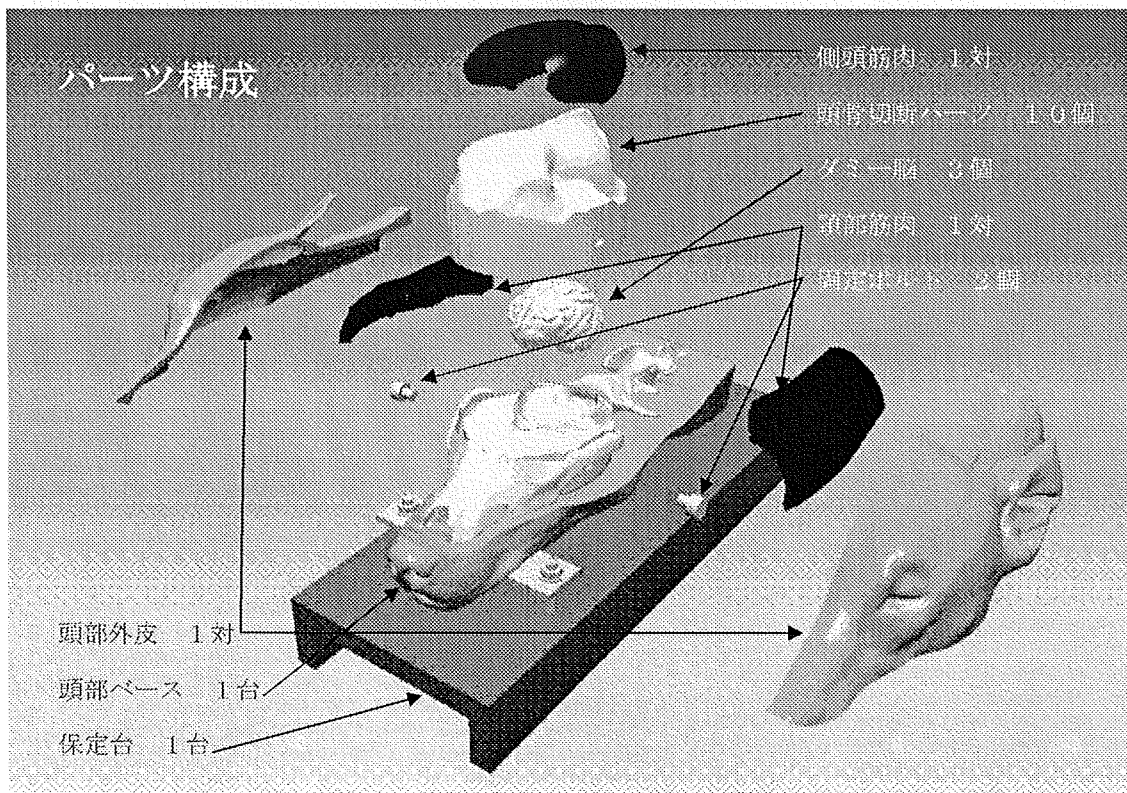
## 両者の比較

|      | 真空注型   | 粉体造形  |
|------|--|---|
| コスト  | マスター・型を作成しなければならないため材料費は比較的安価だが、全体ではやや割高になる。20個程度までなら、コストメリットあり。<br>それ以上は型の再作成が必要。<br>今回のモデル一式で50万円程度が最低ライン。 | 造形パウダー・接着剤・硬化ワックスなど、特殊な材料のため比較的高価である。<br>ひとつひとつ同じ工程で作成するため、コストメリットは少ないが、1台辺りの工数は数分の1程度。<br>今回のモデル一式で30万円程度が最低ライン。 |
| 時間   | それぞれのパーツで型製作・型入れ・硬化・脱型・仕上げ・塗装が必要のため非常に時間がかかる。<br>全ての工程で人の手が必要。<br>今回のモデル一式で延べ80時間工数程度。                       | モデル一式で、延べ50時間工数程度かかる。<br>造形エリア内での配置の工夫で短縮も可能。<br>そのほとんどを機械が自動で行うため、人の手がかかる部分は非常に少なく24時間稼働が可能。                     |
| 仕上がり | 非常に滑らかできれいな仕上がり。<br>塗装も人力のため、多少ばらつきが発生する可能性あり。   | 粉体を固めるため、表面はそのざらつきがある。<br>全てデジタル処理され色などのバラつきは少ないが、全て同じ質感になってしまう。  |
| 強度   | 非常に硬く、強度も高い。<br>水分や溶剤にも強い。   | 含浸する樹脂による。<br>衝撃にやや弱い。  |
| 耐久性  | 耐水性、耐候性とも良好。<br>熱にはやや弱く、真夏の車内などに放置すると変形の可能性がある。  | 湿気には注意が必要。耐候性はあるが、着色がインクのため、色が褪せる可能性あり。<br>衝撃に注意が必要。  |

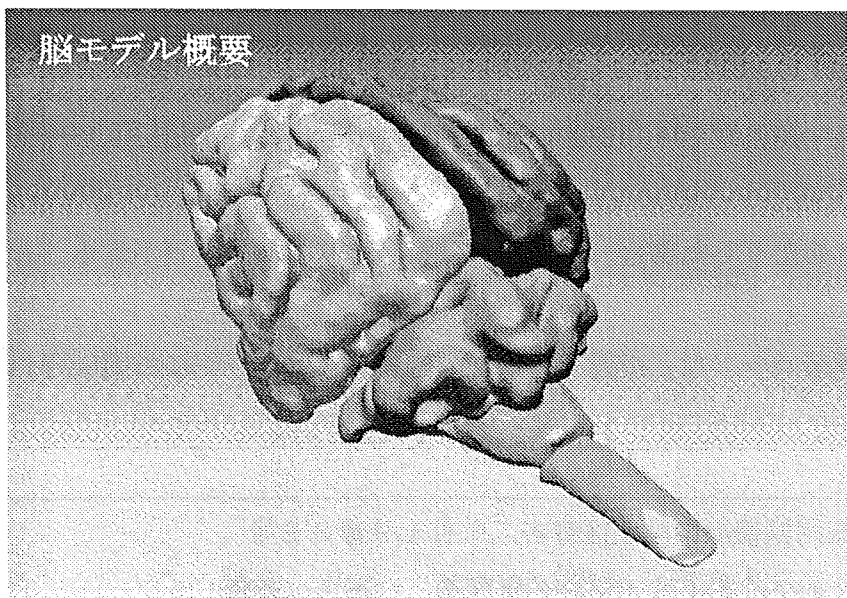
# 解剖手技習得モデルセット

## 取り扱い説明書

## 取り扱い説明書



- その他付属品
- 予備ボルト 1本
  - 粘着シート 1枚
  - 六角レンチ 1本
  - 脳モデル 1式  
(別途説明図有)
  - 解剖手技 DVD
  - 狂犬病概要 DVD
  - 〇〇DVD 各1枚
  - 本書 1部

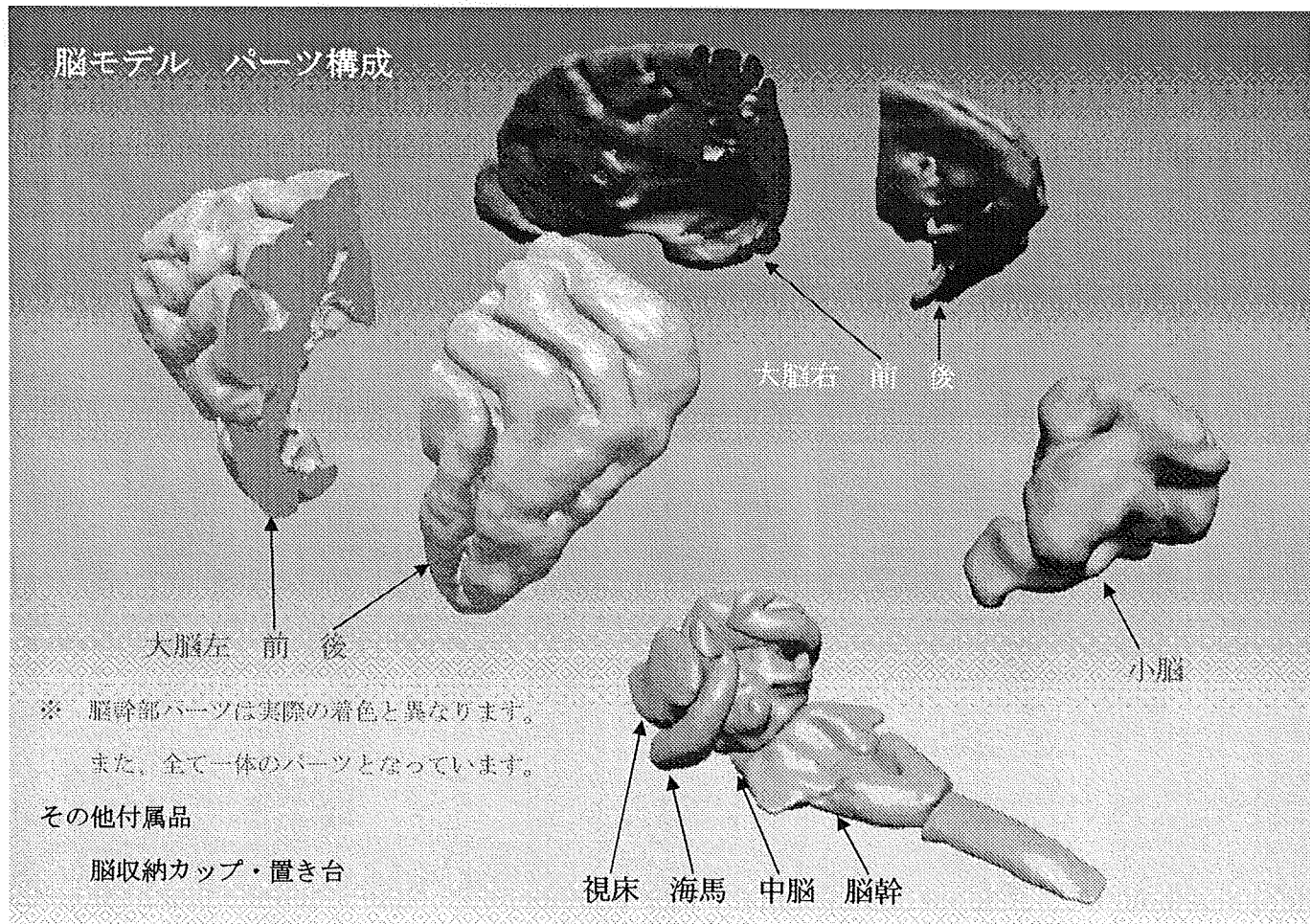


脳モデル概要

付属の脳モデルは、本体全6パーツと収納カップ、置き台の構成です。犬の脳の構造を、立体パズル状に組み立てながら、理解できるようになっています。

通常は、組み立てた状態で収納カップに頭頂を下に収納し、置き台を被せて保管します。

小さなパーツが多いため、紛失には充分注意するようにして下さい。



脳モデル パーツ構成

※ 脳幹部パーツは実際の着色と異なります。  
また、全て一体のパーツとなっています。

その他付属品

脳収納カップ・置き台

### パーツ原材料

解剖手技・骨切断モデル： ポリウレタン樹脂 エポキシ樹脂 木材 ステンレス 塗料

脳モデル： ABS樹脂 ポリウレタン樹脂 エポキシ樹脂 塗料

### 取り扱い上の注意

1. 本モデル、付属 DVDなどを、本来の目的以外に使用することを禁じます。
2. パーツの中に、造形上一部鋭利な箇所があります。切断演習と合わせて、怪我などには充分注意するようにして下さい。
3. 強くぶついたり、高い処から落下させたりした場合、パーツが破損したり、塗装が剥がれることがあります。
4. 取り付けネジ、粘着テープ、頭骨換装パーツなどが追加、破損の修理などは、下記にお問い合わせ下さい。

制作・連絡先： 〒223-0041 神奈川県横浜市港北区日吉二丁目19番32号  
株式会社 モルフォバイオイメージング研究所 担当 齋藤  
TEL 045 (563) 6851 FAX 045 (563) 6851



事務連絡  
平成21年11月30日

各 

|      |
|------|
| 都道府県 |
| 政令市  |
| 特別区  |

 狂犬病予防対策担当者 殿

厚生労働省健康局結核感染症課  
動物由来感染症指導係

準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）の配備並びに  
交換用パーツの購入希望調査について

平素より狂犬病予防対策に関し、ご協力いただきありがとうございます。

厚生労働科学研究（新興・再興感染症研究事業）「動物由来感染症の診断当実習に有効な器具・資材の開発」において国立感染症研究所獣医科学部と株式会社モルフオバイオイメージング研究所の共同で開発を進めておりました「準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）」が完成し、先日開催しました平成21年度動物由来感染症対策（狂犬病予防を含む）技術研修会にて公開デモを行ったところです。（詳細は別紙1参照。）

今般、このモデルについて、別紙2のとおり、全国動物管理関係事業所協議会の各ブロックに1体ずつ配備することとしましたので、適宜融通して研修会等においてご活用いただきますようよろしくお願いいたします。

なお、利用にあたり、「頭骨切断パーツ」は再利用できませんので、各自治体で必要数を準備いただく必要があります。本パーツについては受注生産となるため、各自治体における購入個数をあらかじめ把握しておく必要があります。（価格は、個数等により変動します。）

このため、本年度分の購入希望数について、お手数ですが、別添の購入希望用紙に記載の上、12月15日までに返信いただくようお願いします。

|   |
|---|
| 狂犬病予防対策担当：大野<br>TEL：(代) 03-5253-1111 (内) 2387<br>FAX：03-3581-6251<br>e-mail： <a href="mailto:chno-takafumi@mhlw.go.jp">chno-takafumi@mhlw.go.jp</a> |
|---|

## 狂犬病検体採取模型配布先一覧

|             |  |
|-------------|--|
| 北海道、東北ブロック  | 〒039-3505<br>青森県青森市大字宮田字玉水119-1<br>青森県動物愛護センター<br>017-726-6100                 |
| 関東甲信越静岡ブロック | 〒286-0211<br>千葉県富里市御料709-1<br>千葉県動物愛護センター<br>0476-93-5711                      |
| 中部ブロック      | 〒444-2222<br>愛知県豊田市穂積町新屋73-3<br>愛知県動物保護管理センター<br>0565-58-2323                  |
| 近畿ブロック      | 〒661-0047<br>兵庫県尼崎市西昆陽4-1-1<br>兵庫県動物愛護センター<br>06-6432-4599                     |
| 中国、四国ブロック   | 〒754-0891<br>山口県山口市陶943-12<br>山口県動物愛護センター<br>083-973-8315                      |
| 九州ブロック      | 〒890-8577<br>鹿児島県鹿児島市鴨池新町10番1号<br>鹿児島県 保健福祉部 生活衛生課<br>乳肉衛生係 赤坂<br>099-286-2788 |

(案の1)

## 平成21年度 狂犬病予防業務担当者会議

1. 日 時：平成22年2月26日（金） 10:00～17:00
2. 場 所：三田共用会議所 講堂 （東京都港区三田2-1-8、別紙地図参照）
3. プログラム：

|             |   |
|-------------|---|
| 10:00～10:05 | 開会あいさつ<br>厚生労働省健康局結核感染症課 課長 福島 靖正   |
| 10:05～10:10 | 事務局説明   |
| 10:10～11:20 | 「他国における狂犬病の現状について」<br>講師：国立感染症研究所獣医科学部第2室 室長 井上 智<br>農林水産省動物医薬品検査所<br>検査第一部シードロット監理官 蒲生 恒一郎 |
| 11:20～12:05 | 「狂犬病の臨床診断について」<br>講師：狂犬病臨床研究会 会長 佐藤 克   |
| 12:05～12:20 | 「準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）の活用について」<br>講師：国立感染症研究所獣医科学部第2室 室長 井上 智<br>狂犬病臨床研究会 会長 佐藤 克       |
| 12:20～13:30 | （昼 休 憩 ※）   |
| 13:30～14:40 | 「ヒト用及び犬用狂犬病ワクチンの有効性、検定及び生産について」<br>講師：財団法人 化学及血清療法研究所 （講演者2名で調整中）                           |
| 14:40～15:00 | （休 憩）   |
| 15:00～15:30 | 自治体の意見・情報交換①「犬の登録、予防注射の推進について」  |
| 15:30～16:00 | 自治体の意見・情報交換②「犬の抑留業務の現状と課題について」  |
| 16:00～16:30 | 自治体の意見・情報交換③「その他（業務上の課題、連絡事項等）」   |
| 16:30～16:55 | 質疑応答  |
| 16:55～17:00 | 閉会あいさつ<br>厚生労働省健康局結核感染症課 情報管理室 室長 中嶋 建介   |

（講義演題等は変更される場合があります。）

※昼休憩を用いて準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）を用いた実技演習（講師：国立感染症研究所獣医科学部第2室 室長 井上 智・狂犬病臨床研究会 会長 佐藤 克）を実施しますので適宜ご参加ください。

事務連絡  
平成22年1月15日

各 

|      |
|------|
| 都道府県 |
| 政令市  |
| 特別区  |

 狂犬病予防対策担当者 殿

厚生労働省健康局結核感染症課  
動物由来感染症指導係

準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）の使用に関する  
技術講習会の開催について

平素より狂犬病予防対策に関し、ご協力いただきありがとうございます。

平成21年12月2日付け事務連絡により「準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）」を全国動物管理関係事業所協議会の各ブロックに1体ずつ配備することとしたところです。

この配備にあたり、当該モデルを有効に活用していただくための技術講習会を国立感染症研究所獣医科学部第2室室長の井上智先生の協力のもと、以下の日程で開催いたしますので、別紙により参加者登録をお願いします。

配備先となる各ブロック担当者においては、積極的な参加をお願いします。

記

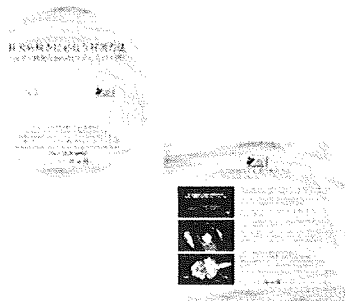
日時：平成22年2月25日（木）午後2時～5時

場所：厚生労働省仮設会議室

以上

狂犬病検査に必要な解剖方法  
(安全で簡便な脳の取り出し方の一例)

DVD仕様書



株式会社モルフォハイオイメージング研究所

**趣旨説明**

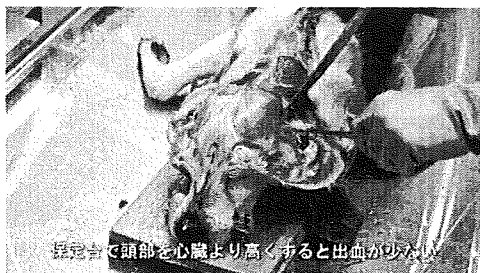
本映像は、日本で狂犬病対策に従事している関係者の方々が、将来万一、狂犬病が疑われるイヌなどの動物に遭遇した場合、迅速かつ安全に検体の脳組織を取り出して、確実な病原体診断を行えるようにするために作成されました。

本編では、検体の消毒から組織の分離までの一連の流れを、自分が解剖台に立って行っているような視点でより実践に即した疑似体験として学習できるように構成されています。

最前線で活躍されている皆さんの、有事即応の一助になればと願っています。

- ①本映像は、狂犬病対策に従事する関係者の教育を目的に制作されたものである。それ以外の目的で本映像を使用することを固く禁じる。
- ②疑似狂犬病>狂犬病が疑われる動物の解剖に従事する者は事前に狂犬病の経路前ワクチン接種を受けておくこと
- ③当該動物の解剖を行う際には、適切なPPE（フェイスマスク、ガウン、ゴム手袋など）を装着すること。
- ④当該動物は、解剖前に必要に応じて殺虫剤などで付着した外部寄生動物などの駆除を行い、消毒液で口腔周囲の悪液を拭き取ること。

また、解剖後の検体の安全な処分方法をあらかじめ検討準備しておくこと。



## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

| 著者氏名       | 論文タイトル名                                      | 書籍全体の編集者名  | 書籍名               | 出版社名                      | 出版地 | 出版年  | ページ     |
|------------|--|------------|-------------------|---------------------------|-----|------|---------|
| 今岡浩一, 高橋英之 | エルシニア症.                                      | 岸本寿男, 山田章雄 | ズーノーシスハンドブック      | メディカルサイエンス社               | 東京  | 2009 | 118-120 |
| 今岡浩一       | ブルセラ症.                                       | 岸本寿男, 山田章雄 | ズーノーシスハンドブック      | メディカルサイエンス社               | 東京  | 2009 | 156-158 |
| 井上 智       | 3) リッサウイルス感染症 (四類感染症)。<br>6 神経疾患。III 疾患別各論編。 |            | 東京都 感染症マニュアル 2009 | 東京都新 たな感染症対策委員会。東京都福祉保険局。 | 東京  | 2009 | 262-263 |
| 井上 智       | ウイルス<br>狂犬病                                  | 岸本寿男, 山田章雄 | ズーノーシスハンドブック      | メディカルサイエンス社               | 東京  | 2009 | 41-43   |
| 井上 智       | ウイルス<br>リッサウイルス感染症                           | 岸本寿男, 山田章雄 | ズーノーシスハンドブック      | メディカルサイエンス社               | 東京  | 2009 | 75-76   |

## 雑誌

| 発表者氏名  | 論文タイトル名  | 発表誌名                         | 巻号    | ページ       | 出版年  |
|--|--|------------------------------|-------|-----------|------|
| Takano A, Muto M, Sakata A, Ogasawara Y, Ando S, Hanaoka N, Tsurumi M, Sato F, Nakamura N, Fujita H, Watanabe H, Kawabata H. | Relapsing fever spirochete in seabird tick, Japan. | Emerging Infectious Diseases | 15    | 1528-1530 | 2009 |
| 今岡浩一   | 犬ブルセラ症の現状と課題.                                      | 日本獣医師会誌                      | 62    | 5-12      | 2009 |
| 今岡浩一   | ブルセラ症の最近の話題.                                       | モダンメディア                      | 55(3) | 76-85     | 2009 |
| 今岡浩一   | ブルセラ症 一人・家畜・犬一.                                    | 獣医畜産新報                       | 62(6) | 457-461   | 2009 |
| 内田幸憲, 鎌倉和政, 後藤郁夫, 杉本昌生, 山本和正, 丸山総一, 福士秀人, 今岡浩一, 岸本壽男, 吉川泰弘   | 動物病院勤務者の人獣共通感染症にかかわる健康調査.                          | 獣医畜産新報                       | 62(6) | 485-487   | 2009 |

|   |  |                   |         |           |       |
|---|--|-------------------|---------|-----------|-------|
| 今岡浩一  | 犬, 猫由来細菌感染症.   | 獣医疫学雑誌            | 13(1)   | 65-70     | 2009  |
| Park CH, Nakanishi A, Hatai H, Kojima D, Oyama T, Sato H, Kudo N, Shindo J, Fujita O, Hotta A, Inoue S, Tanabayashi K.  | Pathological and Microbiological Studies of Japanese Hare ( <i>Lepus brachyurus angustidens</i> ) Naturally Infected with <i>Francisella tularensis</i> subsp. <i>holarctica</i> . | J Vet Med Sci.    | 71 (12) | 1629-1635 | 2009  |
| Honma Y, Yoshii Y, Watanabe Y, Aoki N, Komiya T, Iwaki M, Arai H, Arakawa Y, Takahashi M, Kimura H.                     | A Case of Afebrile Pneumonia Caused by Non-Toxigenic <i>Corynebacterium diphtheriae</i> .  | Jpn J Infect Dis. | 62(4)   | 327-9.    | 2009  |
| Katsukawa C, Kawahara R, Inoue K, Ishii A, Yamagishi H, Kida K, Nishino S, Nagahama S, Komiya T, Iwaki M, Takahashi M.: | Toxigenic <i>Corynebacterium ulcerans</i> Isolated from the Domestic Dog for the First Time in Japan.  | Jpn J Infect Dis. | 62(2)   | 171-2.    | 2009  |
| 本間康夫、吉井裕子、小宮貴子、高橋元秀   | ジフテリア毒素非産生 <i>C. diphtheriae</i> が検出された3症例の検討  | 新潟県臨床検査技師会誌       | 49. 4.  | 1-6       | 平成21年 |
| Seto Y, Komiya T, Iwaki M, Kohda T, Mukamoto M, Takahashi M, and Kozaki S.:   | Properties of coryneophage attachment site and molecular epidemiology of <i>Corynebacterium ulcerans</i> isolated from humans and animals in Japan.                                | Jpn J Infect Dis. | 61(2)   | 116-22.   | 2008  |
| 勝川千尋、河原隆二、井上清、石井篤嗣、山岸寛明、木田一裕、西野俊治、長浜伸也、小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀   | 本邦で初めてイヌから分離されたジフテリア毒素産生性 <i>Corynebacterium ulcerans</i>  | 病原微生物検出情報         | 29. 2   | 17 (51)   | 2008  |

Ramon (Mamore Province) belonged to lineage II. These isolates showed 10% nucleotide difference within the S segment and a 6% amino acid difference within the glycoprotein precursor gene. Similar genetic diversity has been described with Machupo virus and other arenaviruses (2–4). Sequences generated were deposited in GenBank (accession nos. FJ696411, FJ696412, FJ696413, FJ696414, and FJ696415).

It is not known whether lineage VII and I viruses continue to circulate or have been replaced by lineage V and II viruses, respectively. This study confirms the long-term maintenance of distinct phylogenetically forms of Machupo virus in a small area within Beni. Although the distribution of the Machupo virus rodent reservoir (*Calomys callosus*) extends beyond the geographic area of the Machupo cases described, factors that limit the endemic distribution of the virus remain unknown. However, population differences among *C. callosus* may account for the natural nidality of BHF (5). Studies are needed to fully identify and understand the ecology of the rodent reservoir and Machupo virus transmission.

Machupo virus continues to cause sporadic cases and focal outbreaks of BHF in Bolivia. We describe 5 confirmed human cases (3 fatal) of Machupo virus infection in Beni Department, Bolivia, an area in which BHF is endemic. That all 5 patients were farmers suggests their infections were probably acquired through occupational exposure. Although all the patients received plasma transfusion from patients who had survived BHF infection, 3 patients still died. An early diagnosis and the rapid administration of Machupo immune plasma before the hemorrhagic phase may increase the chance of survival, as has been observed with other arenavirus infections (6–8).

#### Acknowledgments

We thank Roxana Caceda and Juan Sulca for excellent technical assistance and the personnel of the Bolivian Ministry of Health for supporting our febrile illness surveillance study. Local activities were approved by the Ministry of Health of Bolivia and were developed by CENETROP personnel through local coordinators.

This study was funded by the United States Department of Defense Global Emerging Infections Systems Research Program, Work Unit No. 800000.82000.25GB.B0016.

**Patricia V. Aguilar,  
Wilfredo Camargo,  
Jorge Vargas,  
Carolina Guevara, Yelin Roca,  
Vidal Felices, V. Alberto  
Laguna-Torres, Robert Tesh,  
Thomas G. Ksiazek,  
and Tadeusz J. Kochel**

Author affiliations: US Naval Medical Research Center Detachment, Lima, Peru (P.V. Aguilar, C. Guevara, V. Felices, V.A. Laguna-Torres, T. Kochel); Centro Nacional de Enfermedades Tropicales, Santa Cruz, Bolivia (J. Vargas, Y. Roca); El Servicio Departamental de Salud, Beni, Bolivia (W. Camargo); University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA (R. Tesh); and Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA (T.G. Ksiazek).

DOI: 10.3201/eid1509.090017

#### References

1. Johnson KM, Wiebenga NH, Mackenzie RB, Kuns ML, Tauraso NM, Shelokov A, et al. Virus isolations from human cases of hemorrhagic fever in Bolivia. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1965;118:113–8.
2. Cajimat MN, Milazzo ML, Rollin PE, Nichol ST, Bowen MD, Ksiazek TG, et al. Genetic diversity among Bolivian arenaviruses. *Virus Res.* 2009;140:24–31. DOI: 10.1016/j.virusres.2008.10.016
3. Fulhorst CF, Charrel RN, Weaver SC, Ksiazek TG, Bradley RD, Milazzo ML, et al. Geographic distribution and genetic diversity of Whitewater Arroyo virus in the southwestern United States. *Emerg Infect Dis.* 2001;7:403–7.
4. Weaver SC, Salas RA, de Manzione N, Fulhorst CF, Travasos da Rosa AP, Duno G, et al. Extreme genetic diversity among Pirital virus (*Arenaviridae*) isolates from western Venezuela. *Virology.* 2001;285:110–8. DOI: 10.1006/viro.2001.0954
5. Salazar-Bravo J, Dragoo JW, Bowen MD, Peters CJ, Ksiazek TG, Yates TL. Natural nidality in Bolivian hemorrhagic fever and the systematics of the reservoir species. *Infect Genet Evol.* 2002;1:191–9. DOI: 10.1016/S1567-1348(02)00026-6
6. Fisher-Hoch SP, Tomori O, Nasidi A, Perez-Oronoz GI, Fakile Y, Hutwagner L, et al. Review of cases of nosocomial Lassa fever in Nigeria: the high price of poor medical practice. *BMJ.* 1995;311:857–9.
7. Maiztegui JI, Fernandez NJ, de Damilano AJ. Efficacy of immune plasma in treatment of Argentine haemorrhagic fever and association between treatment and a late neurological syndrome. *Lancet.* 1979;2:1216–7. DOI: 10.1016/S0140-6736(79)92335-3
8. Enria DA, Briggiler AM, Sanchez Z. Treatment of Argentine hemorrhagic fever. *Antiviral Res.* 2008;78:132–9. DOI: 10.1016/j.antiviral.2007.10.010

Address for correspondence: Patricia V. Aguilar, US Naval Medical Research Center Detachment, 3230 Lima Pl, Washington, DC 20521-3230, USA; email: patricia.aguilar@med.navy.mil

## Relapsing Fever Spirochete in Seabird Tick, Japan

**To the Editor:** Tick-borne relapsing fever (TBRF) is caused by infection with spirochetes belonging to the genus *Borrelia*. We previously reported a human case of febrile illness suspected to be TBRF on the basis of serologic examination results; the vector most likely was a genus *Carios* tick that had fed on a seabird colony (1). However, surveillance of ticks in the area did not identify *Borrelia* spp. in any of the *Carios* ticks sampled (2). In 2007 and 2008, a borreliosis investigation was conducted on Kutsujima Island (35.71°N, 135.44°E) because



a bird-associated tick, genus *Carios*, inhabits this island. During the investigation, 77 *Carios* ticks (55 nymphs, 11 adult males, and 11 adult females) were collected from colonies of seabirds: Swinhoe's storm petrel (*Oceanodroma monorhis*) and streaked shearwater (*Calonectris leucomelas*). Identification of tick species as *C. sawaii* was based on tick morphology and *rrs* gene sequence analysis of the tick mitochondrion DNA (2). Total DNA was extracted from the ticks by using a DNeasy Tissue Kit (QIAGEN, Germantown, MD, USA). For the detection of *Borrelia* DNA, PCR designed was based on the flagellin gene (*flaB*) according to Sato et al. (3). To check for contamination and amplicon carryover, we used blank tubes as a negative control for each experiment. Of 77 *C. sawaii* ticks that were positive by PCR of tick genes (2), 25 (14 nymphs, 6 adult males, 5 adult females) were positive for *Borrelia* DNA by PCR of *flaB*.

To characterize the *Borrelia* spp., we sequenced amplified fragments of the *flaB* gene and the 16S ribosomal RNA (*16SrRNA*) gene of *Borrelia* spp. in a tick and compared the results with those of representative *Borrelia* spp. The primers BflaPBU and BflaPCR (3) for *flaB* and the 4 PCR primers (online Technical Appendix, available from [www.cdc.gov/EID/content/15/9/1528-Techapp.pdf](http://www.cdc.gov/EID/content/15/9/1528-Techapp.pdf)) for *16SrRNA* were used for direct sequencing and/or amplification. DNA sequence (GenBank accession no. AB491928) of a 294-bp amplified fragment of *flaB* showed the following nucleotide similarities with those of *Borrelia* spp.: *B. turicatae* (98.98%), *B. parkeri* (98.30%), *Borrelia* sp. *Carios* spiro-1 (98.64%), and *Borrelia* sp. *Carios* spiro-2 (98.30%). DNA sequence (GenBank accession no. AB491930) of a 1,490-bp amplified fragment of *16SrRNA* showed the following nucleotide similarities with those of *Borrelia* spp.: *B. turicatae* (99.60%), *B. parkeri* (99.53%), and

*Borrelia* sp. *Carios* spiro-2 (99.45%). *Borrelia* sp. *Carios* spiro-1 and *Carios* spiro-2, which were recently identified in *C. kelleyi* in the United States, have been classified into TBRF *Borrelia* (4,5). The *Borrelia* sp. found in this study, designated as *Borrelia* sp. K64, was closely related to *B. turicatae* but was distinct from other TBRF *Borrelia* spp. (online Technical Appendix).

To observe *Borrelia* spp. in tick tissues, we performed an indirect fluorescence assay (IFA) according to methods described by Fisher et al. (6), with minor modifications. A tick that was negative by PCRs of *flaB* and *16SrRNA* was used as a negative control. The IFA of the tick salivary gland and midgut was conducted by using acetone for fixation, goat anti-*Borrelia* sp. polyclonal immunoglobulin (Ig) G (1:100; KPL, Inc., Gaithersburg, MD, USA) as the primary antibody, and Alexa fluor 488-labeled rabbit anti-goat IgG (1:200, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) as the secondary antibody. Our analysis showed a spirochete, which was stained by anti-*Borrelia* spp. antibody, in salivary gland and midgut tissue (online Technical Appendix). However, no spirochetes were detected by IFA in the negative control (data not shown).

We also attempted to isolate *Borrelia* spp. from tick specimens by using Barbour-Stoenner-Kelly medium (7). The motility of *Borrelia*-like organisms in the medium was initially observed by using dark-field microscopy. The *Borrelia*-like organisms were identified as *Borrelia* sp. K64 by sequencing of PCR-amplified fragments of *flaB* and *16SrRNA* genes from the cultured medium. However, these *Borrelia* organisms were found for only 2 weeks after inoculation (data not shown).

The vertebrate reservoir hosts of TBRF *Borrelia* are usually rodents but can be a variety of other animals (8). Although competence as a reservoir has not been determined for birds, infection of an owl with a

TBRF *Borrelia* sp. has been reported (9). The vertebrate host of the spirochete has not yet been determined. Given our results, it is possible that seabirds are potential vertebrate hosts for *Borrelia* spp.

In Japan, relapsing fever is a neglected infectious disease because it was not reported during 1956–1998 (10). In this study, we detected a *Borrelia* sp. in *C. sawaii*, and the spirochete we characterized is closely related to *B. turicatae*. Although the human health implications of infections caused by *Borrelia* spp. are not yet known, the findings from this study should contribute to the epidemiologic investigation of TBRF in Japan.

#### Acknowledgements

We thank Kiyotaka Karino for the tick collection and Eri Watanabe, Manabu Ato, and Norio Ohashi for the imaging analysis. We are also grateful to Jun Ohnishi for technical information regarding tick dissection.

This study was supported by the Global Environment Research Fund (F-3 and F-081, leader: K. Goka) 1 of the Ministry of the Environment, Japan 2008, and by a grant for Emerging and Reemerging Infectious Diseases from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan.

**Ai Takano, Maki Muto,  
Akiko Sakata,  
Yumiko Ogasawara, Shuji Ando,  
Nozomu Hanaoka,  
Miyako Tsurumi, Fumio Sato,  
Noboru Nakamura,  
Hiromi Fujita, Haruo Watanabe,  
and Hiroki Kawabata**

Author affiliations: National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan (A. Takano, M. Muto, A. Sakata, Y. Ogasawara, S. Ando, N. Hanaoka, H. Watanabe, H. Kawabata); Gifu University, Gifu, Japan (A. Takano, H. Watanabe, H. Kawabata); Yamashina Institute for Ornithology, Chiba, Japan (M. Tsurumi, F. Sato, N. Nakamura); and Ohara General Hospital, Fukushima, Japan (H. Fujita)

DOI: 10.3201/eid1509.090459

## References

1. Tsurumi M, Kawabata H, Sato F. Present status and epidemiological investigation of *Carios (Ornithodoros) capensis* in the colony of the black-footed albatross *Diomedea nigripes* on Tori-shima, Izu Islands, Japan [in Japanese]. *Journal of the Yamashina Institute for Ornithology*. 2002;10:250–6.
2. Kawabata H, Ando S, Kishimoto T, Kurane I, Takano A, Nogami S, et al. First detection of *Rickettsia* in soft-bodied ticks associated with seabirds, Japan. *Microbiol Immunol*. 2006;50:403–6.
3. Sato Y, Konishi T, Hashimoto Y, Takahashi H, Nakaya K, Fukunaga M, et al. Rapid diagnosis of Lyme disease: flagellin gene-based nested polymerase chain reaction for identification of causative *Borrelia* species. *Int J Infect Dis*. 1997;2:64–73. DOI: 10.1016/S1201-9712(97)90084-9
4. Loftis AD, Gill JS, Schriefer ME, Levin ML, Eremeeva ME, Gilchrist MJ, et al. Detection of *Rickettsia*, *Borrelia*, and *Bartonella* in *Carios kelleyi* (Acari: Argasidae). *J Med Entomol*. 2005;42:473–80. DOI: 10.1603/0022-2585(2005)042[0473:DORBAB]2.0.CO;2
5. Gill JS, Ullmann AJ, Loftis AD, Schwan TG, Raffel SJ, Schrupf ME, et al. Novel relapsing fever spirochete in bat tick. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:522–3. DOI: 10.3201/eid1403.070766
6. Fisher MA, Grimm D, Henion AK, Elias AF, Stewart PE, Rosa PA, et al. *Borrelia burgdorferi* sigma54 is required for mammalian infection and vector transmission but not for tick colonization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:5162–7. DOI: 10.1073/pnas.0408536102
7. Barbour AG. Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. *Yale J Biol Med*. 1984;57:521–5.
8. Barbour AG. Relapsing fever. In: Goodman JL, Dennis DT, Sonenshine DE, editors. *Tick-borne diseases of humans*. Washington: ASM Press; 2005. p. 268–91.
9. Thomas NJ, Bunikis J, Barbour AG, Wolcott MJ. Fatal spirochetosis due to a relapsing fever-like *Borrelia* sp. in a northern spotted owl. *J Wildl Dis*. 2002;38:187–93.
10. Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan. MHLW statistical database; 1998 [in Japanese] [cited 2009 Jun 23]. Available from [http://www.dbtk.mhlw.go.jp/toukei/data/210/1998/toukeihyou/0002222/t0033267/hyo02\\_001.html](http://www.dbtk.mhlw.go.jp/toukei/data/210/1998/toukeihyou/0002222/t0033267/hyo02_001.html)

Address for correspondence: Hiroki Kawabata, National Institute of Infectious Diseases, Bacteriology, Toyama 1-23-1 Shinjuku Tokyo 162-8640, Japan; email: kbata@nih.go.jp

## Backyard Raccoon Latrines and Risk for *Baylisascaris procyonis* Transmission to Humans

To the Editor: Raccoons (*Procyon lotor*) are abundant in urban environments and carry a variety of diseases that threaten domestic animals (1) and humans (2,3). A ubiquitous parasite of raccoons, *Baylisascaris procyonis* causes a widely recognized emerging zoonosis, baylisascariasis (3). Although only 14 human cases of severe *B. procyonis* encephalitis have been reported over 30 years (4), prevention is still a priority for public health and wildlife officials because of the seriousness of the resulting neurologic disease (5).

Raccoons prefer to defecate at latrines they create. Infected animals shed  $\approx 20,000$  eggs/g of feces (3), so latrines serve as the foci of parasite transmission (6). When latrines occur in close proximity to humans, the risk for zoonotic transmission increases (2). Because *B. procyonis* are transmitted by the fecal–oral route, young children have the greatest risk for zoonotic infection because of their tendency to put objects into their mouths (1,2). Many human cases have occurred in environments where latrines were near children’s play areas. Our objective was to determine which factors encourage raccoons to create latrines in human habitats. This information will allow public health officials and wildlife managers to develop strategies to educate the public and to ultimately prevent zoonotic transmission.

We surveyed 119 backyards for raccoon latrines in the suburbs of Chicago, Illinois, USA, near the Ned Brown Forest Preserve ( $n = 38$ ;  $42^{\circ}01'55.05''N$ ,  $88^{\circ}00'00.62''W$ , Cook County) and Lincoln Marsh ( $n = 81$ ;  $41^{\circ}51'4.54''N$ ,  $88^{\circ}5'39.019''W$ , Du-

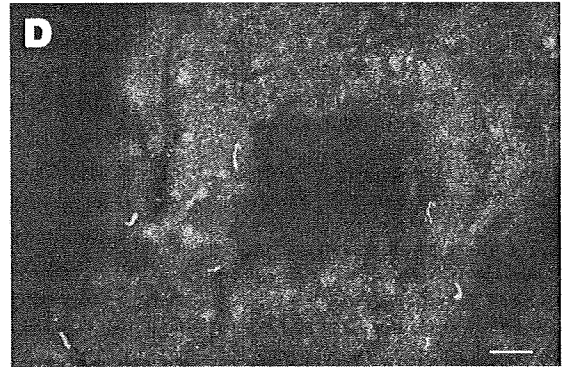
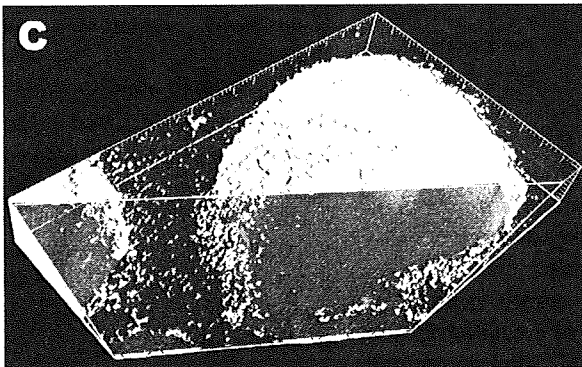
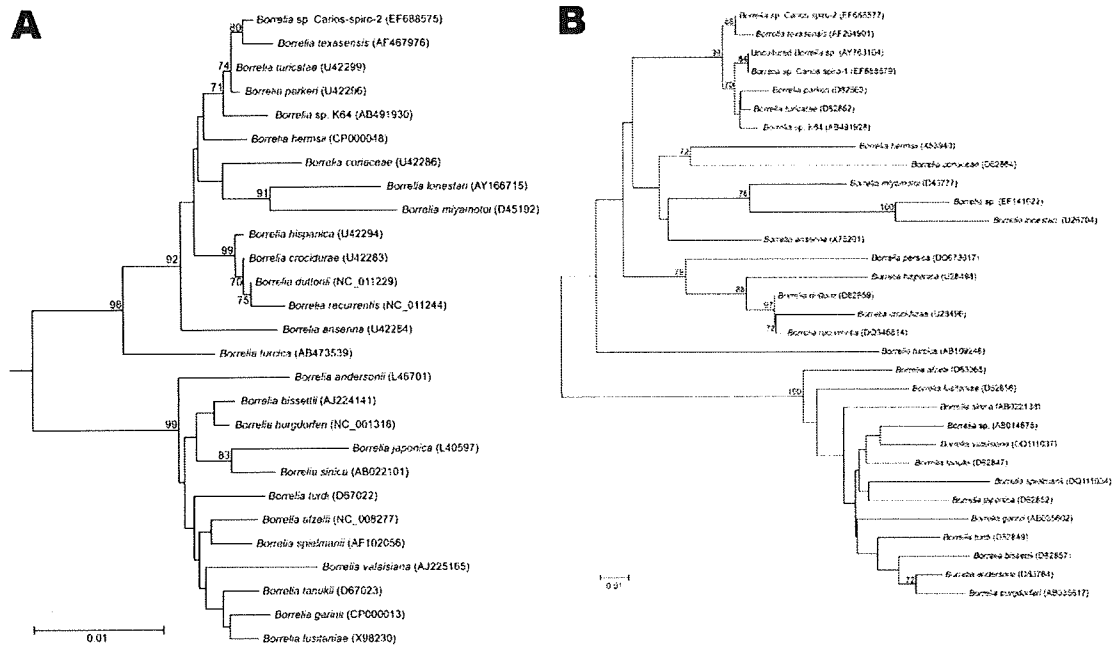
Page County). Yards were selected on the basis of proximity to forest preserves and willingness of homeowners to participate in the study. We located latrines by systematically searching yards, giving special attention to horizontal substrates, such as piles of wood and the bases of large trees (6). We removed all fecal material to test for *B. procyonis* and stored it in plastic bags at  $-20^{\circ}C$  until analysis. Composite samples that were at least 2 g underwent fecal flotation in Sheather solution (7) (at least 1 g of every fecal deposit at a latrine) ( $n = 131$ ). We identified *B. procyonis* eggs by microscopic examination on the basis of their size and morphologic appearance (2). Multiple slides were examined for  $\approx 10\%$  of the samples (randomly selected) to validate our results. Prevalence was considered the proportion of positive samples from all sampled yards.

Each yard was additionally surveyed for potential latrine substrates (8) and factors believed to attract or deter raccoons. The distance of each yard from the nearest forested habitat was calculated by using ArcGIS 9.0 (Geographic Information Systems, Redlands, CA, USA). We used homogeneity tests to identify differences in the proportion of yards with latrines present and to compare the prevalence of *B. procyonis* between study areas. Logistic regression and odds ratios were used to evaluate a main effect model composed of 10 yard attributes, including the presence of a pet, bird-feeders, garbage cans, and sandboxes, and to evaluate a simplified model in which attributes were combined to reflect the presence of food and latrine substrates, such as pet food, birdfeed, garbage and piles of wood or logs, respectively.

Latrines occurred in 61/119 yards (51%; 95% confidence interval [CI] 0.42%–0.60%). There was no significant difference in the proportion of backyards with latrines in proximity to Ned Brown (23/38, 82%) and Lin-

# Relapsing Fever Spirochete in Seabird Tick, Japan

## Technical Appendix



Phylogenetic analysis based on A) the 16S ribosomal RNA gene (*16SrRNA*) and B) flagellin gene of *Borrelia* spp. Representative *Borrelia* spp. were used. GenBank accession numbers are in parentheses. For the amplification and direct sequencing of *16SrRNA*, the 4 PCR primers *rrs*-F1 (5'-ATAACGAAGAGTTTGATCCTGGCT-3'), *rrs*-F2 (5'-GGTGTAAAGGGTGAATCTGTTG-3'), *rrs*-R3 (5'-TTTCGTGACTCAGCGTCAGT-3'), and *rrs*-R4 (5'-AAAGGAGGTGATCCAGCCRCRACT-3') were used. These primers were designated by DNA sequence alignment of 5 of *16SrRNA* (GenBank accession nos.

NC\_001318 [*B. burgdorferi*], CP000048 [*B. hermsii*], CP000013 [*B. garinii*], NC\_008277 [*B. afzelii*], and NC\_011229 [*B. duttonii*]). The phylogenetic trees were constructed by using neighbor-joining methods, and a bootstrap test was carried out according to the Kimura 2-parameter distances method. The percentage of replicate trees in which the associated taxa were clustered together in the bootstrap test (1,000 replicates) was calculated. More than 80% of the phylogenetic branches were supported by bootstrap analysis. The scale bar indicates the percentage of sequence divergence. All positions containing alignment gaps and missing data were eliminated in the pairwise sequence comparisons (pairwise deletion). Phylogenetic analyses were conducted by using MEGA4 ([www.megasoftware.net](http://www.megasoftware.net)). *Borrelia* sp. K64 (underlined) was detected from *Carios sawaii* tick samples in this study. *Treponema pallidum* (GenBank accession no. NC\_000919), *Spirochaeta americana* (AF373921) and *Cristispira* sp. (U42638) were used as outgroups (not shown) for phylogenetic analysis based on 16S rRNA. Panels C and D show spirochetes (red) in the acinus of a salivary gland (3D surface and cutaway projection by confocal microscopy, smallest scale increment = 1  $\mu$ m) (C) and midgut (immunofluorescence assay, scale bar = 10  $\mu$ m) (D) from an unfed *C. sawaii* tick. The DNA fragment of *Borrelia* sp. K64 was detected in another side of the salivary gland and in a part of midgut of the same tick, respectively.