

201123025A

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

ワンヘルス理念に基づく動物由来 感染症制御に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 田 章 雄

平成24（2012）年3月

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

ワンヘルス理念に基づく動物由来 感染症制御に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 田 章 雄

平成24（2012）年3月

目 次

I. 総括研究報告書	
ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究	
山田章雄	1
II. 分担研究報告書	
1. Q熱コクシエラの生態系における感染リスク評価に関する研究	
岸本壽男	11
2. 国内分離ライム病ボレリア遺伝子データベースの構築	
川端寛樹	17
3. 猟犬を歩哨動物としたライム病ボレリアの血清疫学調査	
川端寛樹	21
4. ブルセラ症等に関する研究	
今岡浩	25
5. コリネバクテリウムに関する研究	
山本明彦	34
6. 猟犬における感染症抗体保有状況に関する研究：島嶼部を中心として	
柳井徳磨	44
7. 競合 ELISA 法による多様な動物種に適用可能な野兔病菌抗体測定法の開発	
棚林 清	58
8. エキノコックスに関する研究	
森嶋康之	65
9. 土壌中の <i>Bacillus</i> 属菌の分離・同定法の確立	
井上 智	68
10. single chain variable fragment (scFv) と Direct, rapid immunohistochemical test (DRIT) 法による狂犬病ウイルス抗原検出法の開発	
井上 智	70
11. 輸入狂犬病発生前後における当院ワクチン外来での曝露後発病予防被実施者の分析	
菅沼明彦	73
12. 狂犬病の治療 改訂版	
菅沼明彦	84
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	99
IV. 研究成果の刊行物・別刷	101

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
総括研究報告書

ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究

研究代表者 山田章雄 国立感染症研究所獣医科学部長

研究要旨 本研究では「One Health」理念を念頭に置きつつ、分野横断的なアプローチにより、動物由来感染症の制御に深く関連する、診断、予防、治療について研究を深めること並びにこれらの病原体の病原性発揮の機構を知ることが目的とし、以下の成績を得た。

- ① 本年度は、昨年に引き続き、全国の食用ウシ 125 頭の全血から抽出した DNA を用いて realtime PCR で Q 熱コクシエラの遺伝子検出を試みたが、全て陰性であった。追加調査として、平成 20 年度に未実施だった、ネコ 1762 頭の全血から同様に遺伝子検出を試みたが、全て陰性であった。また、ベクターと考えられているマダニについて、岡山県全域で捕獲した 622 個体から遺伝子検出を試みたが、全て陰性であった。これまでの調査で、ヒト、ペットとしてのイヌ、ネコ、家畜としてのウシについては、感染リスクが低いことが明らかとなってきたが、本邦における野生動物への侵淫実体や、ベクターと考えられているマダニ種など、不明な点が多く存在しており、今後の課題である。
- ② 国内でのライム病ボレリアの高感度 DNA 型別解析法による遺伝子データベース構築作業を継続的に行った。本年度は新たに 26 株についてデータベースへの登録を行った。また、中国、モンゴルを含むアジア地域で共通の DNA 型が存在することも明らかとなった。また、猟犬を歩哨動物としたライム病ボレリアの血清疫学調査を行い、ライム病非流行地と考えられている南九州などにおいても猟犬から抗ボレリア抗体を検出した。一方、ウエスタンブロット法による抗体検索では、猟犬の在住地域により反応する抗原が異なる傾向が見られた。これは猟犬が感染したボレリア種が地域によって異なるためと考えられた。
- ③ 本年度も、四国地方を中心に、イノシシ血液サンプルを収集し、MAT 法によりブルセラ属菌に対する抗体保有を検討した。イヌブルセラ菌 (*B. canis*) に対しては、全国で 11.0% (60/543)、うち四国では 15.4% (47/305)、家畜ブルセラ菌 (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*) に対しては、全国 0.6% (3/543)、うち四国では 0.7% (2/305) が、それぞれ陽性であった。MAT 法により陽性となったサンプルについて、PCR 法によるブルセラ特異的遺伝子の検出を行ったところ 25 サンプルが陽性を示し、そのうち 5 サンプルがイヌブルセラ菌 (*B. canis*) 型の陽性パターンを示した。増幅バンドのシーケンスは、3 つの異なる遺伝子座においてブルセラ属菌遺伝子と配列が一致した。しかし、ブルセラ SE 抗原を用いたウエスタンブロッティング法による MAT 陽性サンプルの再検討を実施したところ、明らかに陽性と判定されるものは無かった。遺伝子検出の結果から、一部のイノシシはイヌブルセラ菌に感染していたと考えられるが、MAT 陽性例（イヌブルセラ菌陽性、家畜ブルセラ菌陽性）がより感度も特異性も高い WB 法では、全て陰性であったことから、現時点では他のグラム陰性菌との交叉反応によるものである可能性を否定できていない。
- ④ 新たにジフテリア様症状を呈する 1 名の患者からジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans*^{Tox+}) を分離した。患者の環境調査において飼いネコ、イヌ及びヤギから *Corynebacterium* 属菌が分離された。10 カ所の地方自治体の動物愛護センターに搬入されたイヌまたはネコの咽頭スワブ等について菌分離及び血清ジフテリア抗毒素抗体価測定を実施した結果、4 カ所の愛護センターのネコとイヌより *C. ulcerans*^{Tox+} が分離され、また抗毒素は 1 箇所 2 検体が陽性を示した。野外活動時間の多いイヌやネコは本菌を保菌または本菌に感染している可能性が高い。感染した動物からは動物への菌の伝播がおこり感染が成立する。感染動物では排菌量が多いため、免疫力が低下している人はイヌ、ネコからの感染リスクが高いとが考えられる。また、畜産動物の検体については血清ジフテリア抗毒素価測定を実施した結果、2 検体が陽性を示した。一方、国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターの協力を得て、日本で初めてヒトから分離さ

れた 0102 株の全ゲノム解読を行なった。

- ⑤ 島嶼部および半島部(渥美半島, 佐渡島, 対馬, 大隅半島, 種子島, 屋久島, 奄美大島, 沖縄本島および石垣島)の猟犬計 196 頭について, 各種の感染症の血清抗体調査を行った。過年度の西日本および中部地方の調査に引き続き, 今回の島嶼部においてもジフテリア症, 破傷風, ブルセラ症, トキソプラズマ症, レプトスピラ症およびボレリア症に関する調査を実施した。ジフテリア抗毒素は佐渡島, 大隅半島, 奄美大島, 沖縄本島および石垣島で, 抗ブルセラ抗体は佐渡島, 種子島, 奄美大島, 沖縄本島および石垣島で少数例検出された。抗トキソプラズマ抗体はほとんどの検索地で比較的高頻度に検出された。抗レプトスピラ抗体, フィラリア抗原などは渥美半島以外の地域でそれぞれ高頻度に検出された。ヘパトゾーンおよびバベシアは, いずれも渥美半島および佐渡島を除く地域で陽性例が認められ, 屋久島ではヘパトゾーンの陽性個体が 26/28 (92.9%) と高率に認められた。破傷風抗毒素および野兎病抗体は検出されなかった。島ごとに感染状況が異なることから(ブルセラなど), 島嶼部における感染症のリスク評価には, 島ごとの個別調査が必要であると考えられる。
- ⑥ 野兎病菌 LPS および抗 LPS モノクローナル抗体を抗原と標準抗体として各種動物由来血液検体に含まれる野兎病菌抗体による競合反応として測定する競合 ELISA (Ft-cELISA) を開発した。本方法で, 既知の野兎病菌免疫ウサギ血清抗体や患者血清抗体等を効率よく測定することができた。また, 国内の野生動物の血液検体について野兎病菌抗体の検出を試み, ツキノワグマ, ニホンザル, ホンドタヌキ, 野鼠類で陽性反応を認めた。これらはいずれも微量凝集反応 (MA) 法でも陽性であった。Ft-cELISA は動物種特異的標識二次抗体等を用いることなく野兎病菌抗体を測定でき有用な方法と考えられるが, さらに多くの検体を測定し, MA やウエスタンブロット法等の他の手法との相関性を検証する必要がある。
- ⑦ ヒトの感染時における早期診断システムの確立ならびに感染源となる動物での寄生虫の発育を阻害する分子標的治療薬の開発を目的とし, エキノコックスの各発育ステージに特異的に発現する遺伝子群を網羅的に同定するため, マイクロアレイでの解析に至適化した *in vitro* の人工培養系を開発した。
- ⑧ 炭疽菌の生活史を明らかにすることは国内における炭疽発生リスクを考える上でも非常に重要である。国内各地から土壌を採取・収集して, MYP 選択培地と羊血液寒天培地を用いて土壌中の炭疽菌近縁菌種で構成される *Bacillus cereus* group 菌種群を効率良く分離培養を行う方法を確立した。また, *B. cereus* group 菌種群の菌株ライブラリーを構築することで, 臨床分離株と環境由来株との鑑別や, 感染経路の特定にも有益となる遺伝型別に必要なゲノム情報等を得られることが期待される。
- ⑨ 狂犬病ウイルス (RABV) 抗原を特異的に認識する single chain variable fragment (scFv) を使用した Direct Rapid Immunohistochemical Test (DRIT) 法の確立を試みており, 現在, 検出感度の向上を図るために P および N 蛋白質に特異的 scFv にビオチンを融合させた蛋白の発現を検討している。これまでに 4 クローンの抗 RABV-P scFv, 1 クローンの抗 RABV-N scFv の当該遺伝子をビオチン融合蛋白質発現プラスミドにクローニングした。今後, scFv-ビオチン融合蛋白質の発現確認を行って, DRIT 法の確立を行う予定である。
- ⑩ 海外で狂犬病危険動物による咬傷などの傷を受け, 当院ワクチン外来を受診した曝露後発病予防被実施者数は, 2004-5 年は 70 名台であったが, 2006 年 11 月に輸入狂犬病が 2 例発生した後は受診者数が急増した。このため, 2006~2008 年における受診者の動向を比較検討した。2007 年の受診者は男性並びに年齢層では 20 代後半の者が多く, フィリピンでの受傷者の増加が目立った。また脱落者の割合が大きかったが, 現地医療機関を受診した者の割合, 被害を受けた地域, 受傷部位などには 2006~2008 年の間に著しい差はみられなかった。
- ⑪ 狂犬病は発病するとほぼ全例が死に至る。発病後の治療は未確立だが, 近年, 新たな治療法を模索する動きがみられる。輸入狂犬病発生の際に, 日本国内には, 狂犬病の治療, 院内感染対策に関する資料が非常に乏しいことが明らかとなった。今年度は狂犬病治療を考える基礎資料として海外から報告された文献に基づき, 狂犬病救命例, 治療法, 院内感染対策についてまとめた。これまでに報告された狂犬病発症後の救命例は少数に過ぎず 6 例目の救命例は狂犬病ワクチン及

び抗狂犬病免疫グロブリン (RIG) の投与なしで、人工呼吸管理及びケタミン、ミダゾラムなどの投与による強力な鎮静処置を受けた後に救命され、社会復帰できた。この症例での治療を基礎として、Milwaukee rabies protocol(MRP)が、ウイスコンシン大学より提唱され、2008年に同様の治療を受けた2例の救命例が報告された。しかし、それらの詳細は明らかでなく、かつ治療失敗例の報告も数多いことから、MRBは確立された治療法としての合意は得られていない。これまでに報告された救命例では、いずれも狂犬病ウイルスが検出されておらず、抗体上昇により診断されている。これは、狂犬病ウイルスが発症早期に排除されていることが、発症後の転帰に影響することを示唆していると思われる。狂犬病ウイルスの早期排除には、曝露量、宿主の免疫応答などが予後に影響する可能性があり、今後これらの因子について更なる検討が必要であると思われる。

研究分担者

岸本壽男 国立感染症研究所ウイルス1部室長
川端寛樹 国立感染症研究所細菌第1部室長
山本明彦 国立感染症研究所細菌第2部主任研究官
柳井徳磨 岐阜大学農学部教授
井上 智 国立感染症研究所獣医学部室長
今岡浩一 国立感染症研究所獣医学部室長
棚林 清 国立感染症研究所獣医学部室長

A. 研究目的

動物由来感染症は世界に200以上存在し、その病原体は850種を超える。新興感染症の殆どは動物由来感染症であるのみならず、現時点でヒトに特化した感染症もすべてが動物に由来すると言っても過言ではない。動物由来感染症は自然生態系との関与が大きく、その制御にはヒトへの視点からのみでなく、家畜、野生動物さらにはそれらを取り巻く環境への視点が欠かせない。近年提唱されている「One Health」の基本的考え方である。本研究では「One Health」理念を念頭に置きつつ、分野横断的なアプローチにより、動物由来感染症の制御に深く関連する、診断、予防、治療について、これまで対象としてきた感染症を中心に研究を深める。一方で国内では稀となったり、その存在がはっきりと確認されてなかったような動物由来感染症について、その実態を明らかにすべく、モニタリングあるいはサーベイランスを実施する。具体的にはライム病、ブルセラ症、野兔病、Q熱、コリネバクテリウムウルセランス感染症、エキノコックス症、狂犬病について、これらの研究を実施する。また、野生動物に接触する機会の多い職業に従事する者の血清疫学調査を行い、リスクを評価する。これらの研究によって国内に存在する動物由来感染症に関する情報の整備が可能となり、これにより新興感染症の発生があった場合にいち早く検出することが可能になると

考えられる。

B. 研究方法

病原体あるいは抗体の検出は個々の報告書に記載した方法による。

C. 研究結果

(1) Q熱に関する研究

ヒト、家畜を含む動物並びに環境における本病原体の存在様式を明らかにすること、すなわち①ヒト、ペット、家畜、野生動物、環境におけるQ熱コクシエラ感染の実態、②国内における本病原体の存在様式、感染源、感染経路の解明、③過去の疫学データとの比較検証と現在の感染リスクの評価を目的として本研究を実施した。これまでにヒト、ペットのイヌ、ネコ、家畜のウシを対象に疫学調査を実施したが、本年度はウシについてさらに調査を進めるとともに、平成20年度に未実施であったネコ全血からの遺伝子疫学調査を実施した。さらに海外の報告からベクターと考えられてはいるが、本邦での実体は全く不明であるマダニを対象に遺伝子疫学調査を実施した。ウシ125頭、ネコ1762頭及びマダニ622匹について、Real-time PCR法による*C.burnetii*遺伝子検出を試みたが、すべて陰性であった。

(2) ボレリアに関する研究

ライム病の制御には、自然界における病原体の分布状況の把握とそこからの感染経路の遮断が重要であり、精度の高い病原体同定法が必要である。また、近年渡り鳥等の移動に付随した病原体の拡散も指摘されており、多国間での病原体比較解析において、国際標準の導入も求められている。そこで本研究では国際標準法に準拠した国内ボレリアのDNA型別データベースを充実させ、多国間での疫学解析に必要な情報を提供するとともに、我が国では患者はほとんど見出されないが、欧州では患者数が見出される

B. afzelii 等についてもデータベースを構築することとした。本年度は新たに 26 株 (*B. afzelii* 4 株、*B. garinii* 20 株、および *B. japonica* 2 株) についてデータベースへの登録を完了した。北海道で捕獲された野鼠からは ST131 (meman As11 株および Mr17 株) の他、新規 ST418 (meman As13 株) が分離された。長野県で捕獲された野鼠からは *B. garinii* および *B. japonica* が各 1 株分離されたが、これらはこれまでに知られていない ST であった。*Ixodes persulcatus* からは *B. garinii* 17 株および *B. afzelii* 3 株が分離された。*B. garinii* 17 株の内、ST131 が 4 株、ST375 が 3 株、新規 ST420 が 3 株見出された。*B. afzelii* は全てこれまで報告の無い新規 ST であった。*I. ovatus* より分離された *B. japonica* は長野県の野鼠より分離された株と近縁であったが異なる ST に分類された。一方、イヌがボレリアに対して感受性が高いこと、加えてマダニ刺咬を受けやすいことから、イヌを歩哨動物とする病原体ボレリアの環境モニタリングが海外で試みられてきている。そこで本研究では、マダニの曝露機会が高いと考えられる猟犬を歩哨動物として、その血中抗ボレリア抗体保有状況を調べた。猟犬血清 506 検体のうち、ELISA 法にて 134 検体(26.5%)が抗ボレリア IgG 抗体陽性と判定され、うち 83 検体(16.4%)が WB 法により陽性が確認された。WB 法による地域別での抗体陽性率は、北信越地方で 10.3%、東海地方で 21.8%、中国・四国地方で 6.5%、南西諸島を除く九州地方で 23.5%、南西諸島では 12.6% であった。ライム病非流行地と考えられている南九州などにおいても猟犬から抗ボレリア抗体が見出されたが、これらの種の同定が必要である。

(3) コリネバクテリウムに関する研究

国内 9 症例目の人での *C. ulcerans*^{Stox+} 感染症が滋賀県で報告されたが、患者はイヌやネコなどの動物を飼育していた。これまでの症例の検討からジフテリア毒素に感受性を有するヒトが飼育動物から感染していると考えられる。これらの動物は家の内外を行き来できるような飼育をされているという共通点があることから、屋外の何らかの生物がこの病原体を有している可能性があるが、特定には至っていない。昨年からは実施している猟犬の血清調査で、新たにジフテリア抗毒素価が陽性の地域が同定された。また、ネコやシカのおよび動物病院および愛護センターの動物においても、陽性が確認された。一方、日本で初めて人から分離された 0102 株の全ゲ

ノム解読を行ない、3 つのプロフェージ領域を含む塩基長 2579188 塩基の配列を決定した。

(4) ヒトの動物由来感染症への曝露の指標としての猟犬の応用に関する研究

南西諸島を中心とした島嶼部および半島部(渥美および大隅半島)の猟犬につき、ジフテリア症、レプトスピラ症、ライム病、トキソプラズマ症など重要人獣共通感染症についての抗体調査を実施したところ、それぞれの感染症に対する高い抗体陽性例がしばしば検出された。島嶼部においては、島ごとに各感染症の陽性率に変動が認められた。屋久島など南西諸島の一部では、トキソプラズマ、ヘパトゾーンなどの感染症で極めて高い陽性率が認められたことから、実際の患者の発生を含め、その原因とヒトに対する影響について再調査する必要がある。以上のことからヒトでの感染リスクを予想するうえで、前回の報告と同様に猟犬がこれらの感染症の疫学情報の収集に有用と思われる。

(5) ブルセラ症に関する研究

これまでの我々の調査により、国内のイノシシで *B. canis* に対する抗体を持つものや、血中にブルセラ属菌特異的遺伝子を保有するものが認められている。前年に引き続き、過去に抗体保有の報告があった四国地方を中心に、ブルセラ属菌の宿主となりうる野生イノシシの血液サンプルを入手し、ブルセラ属菌の保菌状況やブルセラ属菌に対する抗体の保有状況を検討した。MAT 法によりブルセラ属菌に対する抗体保有を検討したイノシシ血液は、前年までと合計で 543 サンプルとなった。イヌブルセラ菌 (*B. canis*) に対しては、全国で 11.0% (60/543)、うち四国では 15.4% (47/305)、家畜ブルセラ菌 (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*) に対しては、全国 0.6% で (3/543)、うち四国では 0.7% (2/305) が、それぞれ陽性であった。さらに、MAT 法により血清陽性となったサンプルについて PCR 法によりブルセラ特異的遺伝子の検出を行ったところ、25 サンプルが、陽性を示し、そのうち 5 サンプルがイヌブルセラ菌 (*B. canis*) 型の陽性パターンを示した。それらイヌブルセラ菌型陽性の増幅バンドのシーケンスは、3 つの異なる遺伝子座においてブルセラ属菌遺伝子と配列が一致した。しかし、ブルセラ SE 抗原を用いたウエスタンブロッティング法で、MAT 陽性サンプルの再検討を実施したところ、明らかに陽性と判定されるものは無かった。

(6) 野兎病に関する研究

日本での野兎病患者の発生は近年まれであるが、

これまで報告されているヒトの感染は、ほとんどがノウサギとの接触が原因とされている。しかしながら、本菌は非常に多数の動物種に感染しうることが知られており、本菌の生態系での維持様式を知りヒトへの感染リスクを評価することは重要である。野生動物における感染状況の把握には血清疫学調査が有効な手法と考えられるが、野生動物から採取される検体は、溶血や、少量しか採取できないなどの問題がある。また、二次抗体を要する検査法では野生動物特有的なもの入手は限られている。本研究では、多様な種の動物における野兎病菌抗体を測定するために、二次抗体を要しない競合 ELISA (Ft-cELISA) 法の開発を行い、国内各種動物からの野兎病菌抗体検出を試みた。その結果実験用ウサギやマウス免疫または感染血清、および野兎病患者血清で明らかな抗野兎病菌 LPS モノクローナル抗体の反応阻害がみられ、野兎病菌以外の抗体は反応を阻害せず、本法の有用性が確認できた。次に Ft-cELISA で 510 検体の各種野生動物の血液検体を測定したところ 10 検体が陽性と判定され、微量凝集反応法での陽性検体は全て陽性だった。

(7) 炭疽菌に関する研究

国内では以前炭疽が発生した地域あるいは炭疽の患畜を埋却した箇所には炭疽菌の芽胞が存在している可能性はあるものの、今回解析した土壌検体を鋳型とした PCR からは炭疽菌特異的遺伝子は検出されなかった。

選択圧の高い MYP 培地で一次培養を行い、純培養に羊血液寒天培地を用いたところ、MYP および羊血液寒天培地から純培養したコロニーの 60%以上が *B. cereus* group 菌種群特異的遺伝子を保有していたことから、効率よく *B. cereus* group 菌種群のコロニーを分離培養することが出来た。

炭疽菌に近縁な *B. cereus* を各地点から 6 株ずつをグリセロールストックで -80°C で保存し、今後の遺伝子解析用のライブラリーを作成した。

(8) 狂犬病に関する研究

1) ビオチン融合 scFv を大腸菌内に発現させるため、4 クローンの抗 RABV-P scFv (P19, P38, P80, P115)、1 クローンの抗 RABV-N scFv (N1) を PinPoint Xa-3 ベクターにクローニングを行った。現在、scFv-ビオチン融合蛋白質の発現確認を行っている。

2) 2006 年に発生した輸入狂犬病が海外渡航者の狂犬病に対する認識にどのような影響を与えたかを知るために、海外でイヌと接触があった

ことを理由に駒込病院を受診した患者数の動向を 2006 年以前と以降に分けて検討した。その結果 2004-5 年は 70 名台であった受診者が 2006 年 11 月以降急増し、2007 年には 138 名に達した。しかし、その後 2008 年には 98 名、2009 年には 70 名と減少した。

3) 狂犬病ワクチン及び抗狂犬病免疫グロブリン (RIG) の投与を受けず、人工呼吸管理及びケタミン、ミダゾラムなどの投与による強力な鎮静処置を受けた後に救命され、社会復帰できた症例での治療を基礎として、Milwaukee rabies protocol (MRP) が、ウイスコンシン大学より提唱され、2008 年に同様の治療を受けた 2 例の救命例が報告された。しかし、それらの詳細は明らかでなく、かつ治療失敗例の報告も数多いことから、MRB は確立された治療法としての合意は得られていない。

D. 考察

Q 熱に関しては昨年に引き続き全国で飼育された食用ウシを対象とする疫学調査を行ったが、*C. burnetii* 遺伝子陽性個体は見出されなかった。これまでの結果を勘案すると、食肉を介したヒトへの感染リスクは低いと思われるが、最終的な判断は血清疫学調査の結果と併せて行うべきであろう。ネコについては、平成 20 年に実施した血清疫学調査では 580 頭のうち 36 頭が陽性 (6.2%) であったが、今回新たに 1762 頭から遺伝子検出を試みたところ全て陰性であり、血清疫学調査の結果を勘案すると、ネコからの感染リスクは低いと考えられた。マダニ 622 匹からも遺伝子検出を試みたが、全て陰性であり、宿主の特定には至らなかった。Ho らは岐阜県の牧場で採集したマダニ約 250 匹の 15 プール検体中 4 検体から *C. burnetii* を分離した (1995) と報告しているが、これは牧場のマダニが高率に菌を保有している、あるいは岐阜県の汚染率が全体に高いなどによる可能性が考えられるが、結論を出すためにはさらなる調査が必要である。生態系での感染様式を解明するためには、今後さらにウシやマダニの数を増やして検討するとともに、昨年の本研究で明らかになった一部の牧場のウシの抗体保有率から *C. burnetii* 汚染地域が存在する可能性が考えられる北海道の野生動物についての調査も必要と思われる。今後の課題である。

ライム病をおこすボレリアの遺伝子タイプ (ST) を検討したが、ST131 は野鼠の他、これまでに国内患者、中国、モンゴルの *I. persulcatus* からも分離されていることから、ヒ

トに病原性があり、かつアジアに広域分布している可能性が示された。本 ST は 1990 年代に長野県で採取された *I. persulcatus* から分離されており、国内にも広く浸潤していると考えられる。昨年度の本研究で ST375 は北海道で捕獲された野鼠から分離されていることから、本 ST は野鼠からマダニへ伝播されていると考えられた。ST376、ST384、ST387 は国内患者からも分離されており本マダニが病原体伝播に関与していることが強く示された。一方、本研究で広域型ボレリアであることが明らかとなった ST131 の拡散方法については不明であるが、これは 1) ST131 に感染した野鳥類が移動した、2) ST131 を保菌したマダニが野鳥類などに寄生し移動した、もしくは 3) その両方、が考えられた。一方、イヌをライム病の流行度を知る歩哨動物として使用できるかについては、特に欧米でライム病患者発生地域におけるイヌで抗体保有率が高いこと等から、その可能性が示されている (Goossens et al 2001, Rand et al. 2011)。本研究における猟犬の抗ボレリア抗体陽性率は米国での調査と比較して高かったが、これは愛玩動物と比較して猟犬はマダニの曝露機会が高いためであると考えられた。一方、地域間でボレリア抗原に対する反応性に違いが見られ、特に九州以南の地域では他の地域と比較して反応抗原に違いが見出された。これは各地域に浸潤しているボレリア種が異なることが一因と考えられたが、血液からのボレリア分離ができなかったため、感染種の同定にはいたらなかった。

国内 9 例目になる 50 代の *C. ulcerans*^{Tox+} 感染患者が滋賀県で報告された。患者には基礎疾患はないが血中ジフテリア抗毒素価が低く、イヌやネコなどの動物をペットとして飼育していた。これまでの症例と同様に、ジフテリア毒素へ感受性者が飼育動物から感染を受けていると推察された。室内飼育されている動物からはほとんどこの病原体が検出されることがないことから、野外に生息する生物が病原体を保有している可能性がある。*C. ulcerans*^{Tox+} の汚染状況を知るために各地の愛護センターや動物病院の患者での調査を継続したが特定の動物の同定には至っていない。猟犬における血清調査では新たな地域のイヌがジフテリア抗毒素価陽性であった。また、ネコやシカあるいは動物病院および愛護センターの動物においても、陽性動物が検出されている。動物からのジフテリア抗毒素価検出による *C. ulcerans*^{Tox+} 汚染状況の把握は今後有用

な手段となると考えられる。一般家庭で飼育する鼻水を呈するネコの中に *C. ulcerans*^{Tox+} が潜在している可能性が示されたことは、特に免疫力の低下した高齢者、ジフテリアトキソイド接種後 20 年以上を経過したヒトは、ネコからの当該菌の感染には注意を必要であることを示唆している。

猟犬は狩猟のパートナーとして山林に入り、野生動物を狩るため、山間部に多く存在するダニへの曝露や野生動物との接触の機会が多くなる。そのため、ダニ媒介性の感染症や野生動物由来感染症の発症リスクが高くなることが予想される。また、猟犬を介して人にこれらの感染症が伝播する可能性も考えられる。したがって、猟犬におけるダニ媒介性の感染症や野生動物由来感染症を調べることは、これらの感染症の保有状況や地理的分布を知ることができ、人への伝播の可能性についても推測する手助けとなると考えられる。

本年度に収集した野生イノシシサンプルにおいても *B. canis* に対して MAT 法で、抗体陽性を示すものが確認された。特に、調査した四国地区では約 23% が陽性を示した。全国では、前年までとの合計で 543 頭中、60 頭 (11.0%) が陽性となった。国内では *B. canis* の存在は、イヌ繁殖施設におけるブルセラ病の流行や愛護センター等でのイヌの抗体検査により確認されており、国内感染による患者も報告されている。今回、新たに実施した、ウエスタンブロッティング法での検討では、陽性を示すものは見つからなかったが、一部のイノシシ血液サンプルからは、ブルセラ特異的 DNA が増幅されている。生物種としてイノシシと同種であるブタは、イヌブルセラ菌に対し、抵抗性とされるが、野生イノシシが、*B. canis* に軽度感染し、抗体を持つ可能性は否定できない。また、前年分までとの合計 543 頭中で、家畜ブルセラ菌に対し抗体陽性の 3 例については、ブルセラ特異的 DNA が増幅されておらず、ウエスタンブロッティング法でも陰性であったことから、現時点では、他のグラム陰性菌との交叉反応を否定できない。しかし野生イノシシで家畜ブルセラ菌の保有が疑われることは、畜産業はもとより公衆衛生上も大きな懸念材料となる。確証を得るために、さらなる検討が必要と考える。

野兎病の抗体検査は通常 MA 法により実施され、簡易な方法である一方、非特異反応の可能性があること、検出感度が低いこと、溶血が著しい検体では利用しにくい等の問題がある。

また、ELISA 法は、多検体処理が可能で感度もよい方法であるが、利用できる標識二次抗体に制限がある。これらの問題を解決する抗体検出法として競合 ELISA を確立できた。MA 法で 10 倍以上の抗体価を示した全検体が Ft-cELISA でも陽性と判定できたことから、本法が多種類の動物血清の抗体を高感度に検出することに有用であることが示唆された。しかしながら、野兎病菌抗体陽性の野生動物の検体数は少なく他の手法との相関性等を正確に検証するためにもさらに多数の検体の測定と MA をはじめウエスタンブロット法や蛍光抗体法等の他の測定方法との比較検証をする必要があると考えられる。

これまで検討がなされてきたエキノコックス原頭節の人工培養法は、生活環を完結させることに目標が置かれてきた。すなわち、成虫型への分化であれば性成熟（中間宿主への感染能を持つ虫卵の有無）である。しかしながら、これらの方法では、そのような処理によって一時的にはあれ生じている虫体そのものの損傷が顧みられることはなかった。今回の成績からは先行研究のプロトコルでは、分化・発育自体は促進されたものの、生体へのダメージが大きく、マイクロアレイで要求される品質の RNA を得ることは極めて困難であった。今回確立した方法では、虫体の損傷をできるだけ避けつつ、従来報告されてきた分化・発育程度とほぼ同等の効率を達成することができ、マイクロアレイデータを取得し現在解析を進めている。また、今回の *in vitro* の人工培養法は、分化関連遺伝子の発現解析に有用であるのみならず、新規薬剤候補をスクリーニングする際の評価にも応用可能なものであり、作用機序の理解など、トランスクリプトーム解析と組み合わせての活用も期待される。

土壌から効率よく *B. cereus* group 菌種群を分離培養する方法を確立することができた。これにより、近縁菌の菌株ライブラリーを充実させて、国内各地域の土壌中の *B. cereus* group 菌種群の分布を解析することが可能になった。また、これらの方法は土壌からの炭疽菌芽胞の分離に応用可能であると考えられる。次年度は、構築した菌株ライブラリーから遺伝子を抽出して、*B. cereus* の 7 house keeping genes を用いた MLVA (タンデムリピート) 解析による系統解析を行い、土壌分離地域との相関の有無や食中毒由来の *B. cereus* との比較解析を行って遺伝子型別の方法の確立を試みる。土壌中における

炭疽菌の生活史を明らかにすることは国内における炭疽発生リスクを考える上でも非常に重要である。また、本研究の推進によって *B. cereus* group 菌種群の菌株ライブラリーを構築することで、臨床分離株と環境由来株との鑑別および、感染経路の特定にも有益となる遺伝型別に必要なゲノム情報等を得られることが期待される。

2006 年 11 月に、2 例の輸入狂犬病が発生したのは、曝露後発病予防希望者の受診が急増し、2007 年における曝露後発病予防被実施者は 138 例に達した。輸入狂犬病症例発生後の被実施者急増は、以前であれば治療を考えなかった海外咬傷被害者が新聞やテレビなどの報道から狂犬病の致命率の高さに気づいたためと考えられる。しかし 2007 年を境に受診者数は減少に転じ、2009 年には輸入狂犬病が発生した 2006 年以前の水準に戻った。この間海外で動物咬傷を受ける渡航者数が減少したとは考えにくく、海外で動物に傷つけられても狂犬病の可能性を考えない渡航者が以前の水準まで増えたと推測すべきであろう。海外旅行者などに対する狂犬病に関する知識の啓発が重要である。これまでに報告された狂犬病発症後の救命例は、いずれも狂犬病ウイルスが検出されておらず、抗体上昇により診断されている。これは、狂犬病ウイルスが発症早期に排除されていることが、発症後の転帰に影響することを示唆していると思われる。狂犬病ウイルスの早期排除には、曝露量、宿主の免疫応答などが予後に影響する可能性があり、今後これらの因子について更なる検討が必要であると思われる。

E. 結論

国内での存在は明らかにされているがその存在様式が不明な動物由来感染症について検査法を確立し、我が国の自然界におけるこれら病原体の存在様式に関する実態調査を継続した。その結果様々な動物が動物由来感染症の伝播に関与していることが確認されたが、どの動物が真のリザーバーであるか未だに不明なものもあり、今後の調査研究の継続がわが国における動物由来感染症のリスクを評価するためには不可欠である。そのためにはワンヘルスの理念を実践に移して行くことが重要である。

F. 健康危機情報 特になし

G. 研究発表

1. 紙上発表

- (1) Takano A, Nakao M, Masuzawa T, Takada N, Yano Y, Ishiguro F, Fujita H, Ito T, Ma X, Oikawa Y, Kawamori F, Kumagai K, Mikami T, Hanaoka N, Ando S, Honda N, Taylor K, Tsubota T, Konnai S, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H. Multi-locus sequence typing implicates rodents as the main reservoir host of human pathogenic *Borrelia garinii* in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*. 49: 2035-2039, 2011.
- (2) Katsukawa C, Komiya T, Yamagishi H, Ishii A, Nishino S, Nagahama S, Iwaki M, Yamamoto A, Takahashi M. : Prevalence of *Corynebacterium ulcerans* in dogs in Osaka, Japan.: *J Med Microbiol*. Feb; 61(Pt 2): 266-273. 2012
- (3) A. Hotta, K. Tanabayashi, Y. Yamamoto, O. Fujita, A. Uda, T. Mizoguchi and A. Yamada Seroprevalence of tularemia in wild bears and hares in Japan. *Zoonoses and Public Health* (印刷中)
- (4) A Okutani, H Tungalag, B Boldbaatar, A Yamada, D Tserennorov, I Otgonchimeg, A Erdenebat, D Otgonbaatar, and S Inoue. Molecular Epidemiological Study of *Bacillus anthracis* Isolated in Mongolia by Multiple-Locus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis for 8 Loci (MLVA-8) *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2011;4:345-348.

2. 学会発表

- (1) 木田浩司、中本敦、溝口嘉範、葛谷光隆、濱野雅子、藤井理津志、岸本壽男、福士秀人、大屋賢司、松本千聖. ウシにおける Q 熱コクシエラ感染実態. 平成 23 年度獣医学術中国地区学会. 広島市
- (2) 川端寛樹, 高野 愛, 中尾稔, 増沢俊幸, 高田伸弘, 矢野泰弘, 石畝史, 藤田博己, 伊東拓也, 及川陽三郎, 川森文彦, 熊谷邦彦, 三上稔之, 花岡希, 安藤秀二, 本田尚子, カイルテイラー, 坪田敏男, 今内寛, 渡邊治雄, 大西真. マダニ媒介性のライム病病原体 *Borrelia garinii* の維持伝播サイクルに関する研究. 第 63 回日本衛生動物学会大会. 2011 年 4 月. 東京.
- (3) 伊東拓也, 高田伸弘, 藤田博己, 川端寛樹, 中本敦, 赤松達矢, 安藤秀二, 大久保 (佐藤) 梢, 高野 愛, 小笠原由美子. 礼文島におけるマダニ類及びダニ媒介性病原体の調査. 第 57 回日本衛生動物学会北日本支部大会. 2011 年 10 月. 山形
- (4) 川端寛樹, 多田有希, 高野 愛, 佐藤梢, 大西真. 我が国におけるライム病の現状と疫学解析. 第 153 回日本獣医学会学術集会. 2012 年 3 月. 大宮.
- (5) 佐藤 梢, 後藤みなみ, 村井厚子, 柳井徳磨, 高野 愛, 川端寛樹. 猟犬における抗ライム病ボレリア抗体の保有状況. 第 153 回日本獣医学会学術集会. 2012 年 3 月. 大宮.
- (6) 泉田さゆり, 峯田有美子, 浅井蓉子, 長原正静, 今岡浩一. *Brucella melitensis* による腸腰筋膿瘍の 1 症例. 第 22 回日本臨床微生物学会総会, 岡山, 2011 年 1 月
- (7) Koichi Imaoka. Brucellosis in Japan. 8th Japan-Taiwan Symposium on Antibiotics resistance and Foodborne Disease, Tokyo, Oct. 12-14, 2011
- (8) Koichi Imaoka. Bacterial infection from dogs and cats - Brucellosis and *Capnocytophaga canimorsus* infection. Workshop I: Zoonoses transmitted from pet animals in daily life. The 2nd International Conference on Animal Care in KOBE 2012, Kobe, Feb. 18-19, 2012
- (9) 畠山 薫、藤元 琢也、奥野 ルミ、貞升健志、甲斐 明美、山本明彦、高橋元秀. *Corynebacterium ulcerans* の遺伝子検査法の検討. 第 23 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会 (宇都宮). 2011 年 2 月.
- (10) 吉村幸浩、立川夏夫、山本明彦、小宮貴子. *Corynebacterium ulcerans* による腋窩リンパ節膿瘍の一例. 第 85 回日本感染症学会 (東京), 2011 年 4 月
- (11) 岡本その子、内藤秀樹、船渡川圭次、今井一穂、佐伯貴之、小宮貴子、山本明彦、高橋元秀: 栃木県内のイヌ・ネコにおける *Corynebacterium ulcerans* の保有状況調査. 第 49 回栃木県公衆衛生学会総会, 宇都宮, 2011 年 9 月
- (12) 佐藤静香, 大井誠明, 側嶋絵里菜, 松本淳, 柳井徳磨, 村井厚子, 野中成晃, 堀井洋一, 野上貞雄. 猟犬のトキソプラズマ抗体保有状況. 第 17 回日本野生動物医学会 (東京), 2011 年 9 月, 要旨集 p108
- (13) N Sharma, A Hotta, K Tanabayashi, Y

Yamamoto, O Fujita, A Uda, T
Mizoguchi, J Shindo, C-H Park, N Kudo,
H Hatai, T Oyamada, A Yamada.
Development of competitive ELISA for
serosurvey of tularemia among various
animal species. 5th Asian Workshop on
Zoo and Wildlife Medicine/Conservation
in Nepal 2011

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

分担研究報告書

Q 熱コクシエラの生態系における感染リスク評価に関する研究

研究分担者	岸本壽男	岡山県環境保健センター	所長
研究協力者	木田浩司	岡山県環境保健センター 保健科学部	研究員
	葛谷光隆	同	専門研究員
	濱野雅子	同	専門研究員
	溝口嘉範	同	研究員
	中嶋 洋	同	科長
	藤井理津志	同	部長
	猪熊 壽	帯広畜産大学獣医内科学・感染症学	教授
	福士秀人	岐阜大学農学部獣医学科獣医微生物学講座	教授
	大屋賢司	同	准教授

研究要旨 本邦における Q 熱は 4 類感染症として重要であるが、不明な点が多く、感染経路や実態の解明はほとんどなされていない。特に、*Coxiella burnetii* の生態系での存在様式については全く不明であるため、家畜を含む動物並びに環境、ヒトでの実態について調査を行い、国内における本病原体の存在様式を明らかにすることを目的とした。すなわち①ヒト、ペット、家畜、野生動物、環境における Q 熱コクシエラ感染の実態調査。②国内における本病原体の存在様式、感染源、感染経路の解明。③過去の疫学データとの比較検証と現在の感染リスクの評価。これまでにヒト、ペットとしてのイヌ、ネコ、家畜としてのウシを対象に疫学調査を実施している。本年度は、昨年を引き続き、全国の食用ウシ 125 頭の全血から抽出した DNA を用いて realtime PCR で遺伝子検出を試みたが、全て陰性であった。追加調査として、平成 20 年度の調査で未実施であった、ネコ 1762 頭の全血から同様に遺伝子検出を試みたが、全て陰性であった。また、ベクターと考えられているマダニについて、岡山県全域で捕獲した 622 個体から遺伝子検出を試みたが、全て陰性であった。これまでの調査で、ヒト、ペットとしてのイヌ、ネコ、家畜としてのウシについては、感染リスクが低いことが明らかとなってきたが、本邦における野生動物への侵淫実体や、ベクターと考えられているマダニ種など、不明な点が多く存在しており、今後の課題である。

A.研究目的

Q 熱はヒトでは特異的な症状が認められず、インフルエンザ様疾患、肺炎、肝炎等、多彩な病状を示すが、動物では一般に無症

状とされる人獣共通感染症である。起因菌は *Coxiella burnetii*(以下 *C.burnetii*)であり、感染症法では 4 類感染症に分類されるが、本邦での実態は未だ不明な点が多く、感染

リスク評価が求められている。そこで、ヒト、家畜を含む動物並びに環境における本病原体の存在様式を明らかにすることを目的とした。すなわち①ヒト、ペット、家畜、野生動物、環境における Q 熱コクシエラ感染の実態調査。②国内における本病原体の存在様式、感染源、感染経路の解明。③過去の疫学データとの比較検証と現在の感染リスクの評価。以上を目的としている。これまでにヒト、ペットとしてのイヌ、ネコ、家畜としてのウシを対象に疫学調査を実施したが、本年度はウシについてさらに調査を進めるとともに、平成 20 年度に未実施であったネコ全血からの遺伝子疫学調査を実施した。さらに海外の報告からベクターと考えられてはいるが、本邦での実体は全く不明であるマダニを対象に遺伝子疫学調査を実施した。

B.研究方法

1) Q 熱に関する遺伝子疫学調査

ウシについては、岡山県食肉衛生検査所の協力により、2011 年に T と畜場に搬入された食用ウシのうち、健康牛 73 頭及び病畜 52 頭（計 125 頭）から全血を採取した（表 1）。ネコについては、2008 年 3 月～10 月に全国 47 都道府県の動物病院に来院した患畜 1762 頭から全血を採取した（表 2）。また、2010 年から 2011 年にかけて岡山県でマダニを採集し、形態学的に種を同定した後、1 匹ずつリン酸緩衝液（PBS）で洗浄・圧潰し、内臓をウシ胎児血清 100 μ l に浮遊した（表 3）。

ウシ血液、ネコ血液及びマダニ内臓浮遊液から、それぞれ Qiagen DNA mini kit を使用して DNA を抽出し、Real-time PCR 法に

よる遺伝子疫学調査を実施した。

C.burnetii の Real-time PCR 法は、Klee(2006)らの報告をもとに、既存分離株において保存性の高い領域である Isocitrate dehydrogenase (icd) gene をターゲットに、Primer 及び Taqman probe は、それぞれ icd-439F= CGTTATTTTACGGGTGTGCCA (439-459), icd-514R = CAGAATTTTCGCGGAAAATCA (494-514), icd-464TM = FAM-CATATTCACCTTTTCAGGCGTTTTG ACCG-TAMRA(464-492) を使用した (Genbank accession no. AF146284)

また、合成 Oligo = CGTTATTTTACGGGTGTGCCAAGCCCGG TCAAAACGCCTGAAAAGGTGAATATGGT GATTTTCCGCGAAAATTCTG (439-514) を Internal control として、定量分析を行った。

C.研究結果

1) Q 熱に関する遺伝子疫学調査

ウシ 125 頭、ネコ 1762 頭及びマダニ 622 匹について、Real-time PCR 法による *C.burnetii* 遺伝子検出を試みたが、すべて陰性であった。

D.考察

昨年に引き続き、全国で飼育された食用ウシを対象として遺伝子疫学調査を行ったが、陽性個体は無かった。昨年までの結果を勘案すると、食肉を介したヒトへの感染リスクは低いと思われるが、最終的な判断は、今回実施できていない血清疫学調査の結果と併せて行うべきであろう。Htwe らの報告（1992）では日本のウシの抗体陽性率は 46.6%であった。血清疫学調査に用いた

間接蛍光抗体法で陽性と判定する血清希釈倍数は、我々は128倍であるが、Htweらは16倍と低い。しかし、このことを考慮しても、現在のウシの感染率は1990年代と比較して低いと考えられた。

ネコについては、平成20年に実施した血清疫学調査では580頭のうち36頭が陽性(6.2%)であったが、今回新たに1762頭の遺伝子疫学調査を追加実施した。その結果は全て陰性であり、血清疫学調査の結果を勘案すると、ネコからの感染リスクは低いと考えられた。

マダニ622匹から*C.burnetii*の遺伝子検出を試みたが、全て陰性であり、宿主の特定には至らなかった。Hoらは岐阜県の牧場で採集したマダニ約250匹の15プール検体中4検体から*C.burnetii*を分離した(1995)。我々の調査と比較して高い検出率を示した理由として、牧場のマダニが高率に*C.burnetii*を保有している、岐阜県の汚染率が全体に高いなどの可能性が考えられるが、結論を出すためにはさらなる調査が必要である。

生態系での感染様式を解明するためには、今後さらにウシやマダニの数を増やして検討するとともに、昨年の本研究で明らかになった一部の牧場のウシの抗体保有率から*C.burnetii*汚染地域が存在する可能性が考えられる北海道の野生動物についての調査も必要と思われる。今後の課題である。

E. 結論

昨年度に引き続き、食肉処理場に搬入されたウシ125頭、平成20年の調査で未実施であったネコ1762頭、さらに宿主と目されているマダニ622匹を対象として*C.burnetii*遺伝子の検

出を試みたが全て陰性であった。昨年度までの結果を勘案すると、近年の国内のウシ及びネコの*C.burnetii*感染率は低く、これらの動物を介したヒトへの感染リスクは低いと考えられた。また、宿主と目されるマダニについても、少なくとも岡山県では*C.burnetii*保有率は低いと考えられた。今後、さらにウシ及びマダニの数を増やして検討するとともに、*C.burnetii*汚染地域の存在が推察されている北海道の野生動物についても検討予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1)木田浩司、中本敦、溝口嘉範、葛谷光隆、濱野雅子、藤井理津志、岸本壽男、福士秀人、大屋賢司、松本千聖. ウシにおけるQ熱コクシエラ感染実態. 平成23年度獣医学術中国地区学会. 広島市

論文発表は特になし

表1 津山市 Tと畜場へ搬入された食用牛(都道府県別)

	2009年	2010年	2011年	合計	総計	
健康牛	岡山県	20	46	41	107	214
	広島県	3	5	4	12	
	島根県	4	7	6	17	
	鳥取県	3	—	4	7	
	北海道	10	—	4	14	
	山形県	6	1	2	9	
	福島県	1	1	—	2	
	新潟県	1	6	1	8	
	栃木県	5	—	—	5	
	静岡県	1	—	—	1	
	長野県	—	1	1	2	
	愛知県	7	—	2	9	
	岐阜県	—	—	1	1	
	三重県	—	5	—	5	
	滋賀県	2	—	—	2	
	兵庫県	1	—	6	7	
	香川県	—	1	—	1	
	愛媛県	—	—	1	1	
	徳島県	—	1	—	1	
	大分県	1	—	—	1	
長崎県	1	—	—	1		
沖縄県	—	1	—	1		
病畜	岡山県	46	65	40	151	177
	鳥取県	3	3	—	6	
	島根県	—	2	4	6	
	北海道	—	3	5	8	
	新潟県	—	1	—	1	
	愛知県	—	—	3	3	
	京都府	1	—	—	1	
	兵庫県	—	1	—	1	

表2 全国47都道府県の動物病院で採材したネコ検体(内訳)

都道府県	検体数	都道府県	検体数	都道府県	検体数	都道府県	検体数	都道府県	検体数
北海道	28	埼玉県	35	岐阜県	40	鳥取県	30	佐賀県	40
青森県	40	千葉県	35	静岡県	40	島根県	40	長崎県	40
岩手県	40	東京都	23	愛知県	15	岡山県	40	熊本県	40
宮城県	40	神奈川県	38	三重県	40	広島県	31	大分県	40
秋田県	40	新潟県	40	滋賀県	39	山口県	40	宮崎県	40
山形県	40	富山県	40	京都府	40	徳島県	40	鹿児島県	38
福島県	40	石川県	40	大阪府	40	香川県	40	沖縄県	37
茨城県	40	福井県	40	兵庫県	40	愛媛県	40		
栃木県	40	山梨県	40	奈良県	40	高知県	40		
群馬県	40	長野県	14	和歌山県	39	福岡県	40		
合計									1762

表3 岡山県で採集したマダニ

マダニ種	個体数
<i>Haemaphysalis flava</i> (キチマダニ)	372
<i>Haemaphysalis hystrix</i> (ヤマアラシチマダニ)	23
<i>Haemaphysalis longicornis</i> (フタトゲチマダニ)	115
<i>Haemaphysalis formosensis</i> (タカサゴチマダニ)	2
<i>Haemaphysalis kitaokai</i> (ヒゲナガチマダニ)	6
<i>Haemaphysalis megaspinosa</i> (オオトゲチマダニ)	39
<i>Ixodes turdus</i> (アカコッコマダニ)	31
<i>Ixodes ovatus</i> (ヤマトマダニ)	19
<i>Ixodes nipponensis</i> (タネガタマダニ)	3
<i>Amblyomma testudinarium</i> (タカサゴキララマダニ)	7
<i>Dermacentor taiwanensis</i> (タイワンカクマダニ)	5
合 計	622