

伴侶動物の重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染状況調査(2023年度)

佐賀由美子 矢澤 俊輔 嵩田 嵩久 川上 利恵
板持 雅恵 谷 英樹

Survey of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Infection in Companion Animals in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2023

Yumiko SAGA, Shunsuke YAZAWA, Takahisa SHIMADA, Rie KAWAKAMI,
Masae ITAMOCHI, and Hideki TANI

重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) は、2011年に中国の研究者より報告されたフェニユウイルス科バンダウイルス属に属するSFTSウイルス (SFTSV) によるマダニ媒介性感染症である[1]。国内では2013年に初めて発症者が確認[2]されて以降、西日本を中心に年間50～100症例程度の患者が報告されている。北陸地域では、2015年に石川県で、2017年に福井県でヒトのSFTS症例が報告されている[3]。一方、富山県では、2021年までヒトおよび動物のSFTS症例は報告されていなかったが、2022年5月にイヌの、同年11月にヒトのSFTS症例が初めて確認された[4-6]。SFTSの国内における致死率は27%と高く[7]、流行地域において公衆衛生上重要な問題となっている。

近年、SFTSVに感染したネコやイヌ等の伴侶

動物の咬傷や体液を介してヒトに感染したと推定されるSFTS症例が報告されている[7-11]。このため、ヒトにおけるSFTSV感染リスクを検討する際には、SFTSを発症した伴侶動物を介した感染も考慮する必要がある。

そこで、本県の伴侶動物のSFTSV感染状況を把握することを目的として、県内動物病院を受診した伴侶動物のSFTSV抗体保有状況およびSFTS発生状況について調査した。なお、本年度より、SFTS発生状況調査において検体として全血が提出された場合には、鑑別診断としてリケッチアの検査も併せて実施することにした。その結果、2頭のネコから紅斑熱群リケッチア (Spotted fever group *Rickettsiae*; SFGR) 遺伝子が検出された。この2頭のリケッチア症例の検査所見についても報告する。

(1) 抗原のコーティング

SFTSV抗原 (SFTSV感染Huh7細胞溶解液) とMock抗原 (非感染Huh7細胞溶解液) をリン酸緩衝液 (PBS) を用いて800倍に希釈した後、ELISAプレートに100 μ l/wellずつ分注し、4°Cで1晩反応させる。

↓ 0.05% Tween20 in PBS (PBST) で1回洗浄

(2) ブロッキング

20% Blocking-One in DDWを100 μ l/wellずつ分注し、室温で1時間反応させる。

↓ PBSTで1回洗浄

(3) 1次抗体 (血清) の反応

20% Blocking-One in PBST (diluent) を用いて100倍希釈した血清を100 μ l/wellずつ分注し、37°Cで1時間反応させる。

↓ PBSTで3回洗浄

(4) 標識2次抗体の反応

diluentを用いて20,000倍希釈したProtin A/Gを100 μ l/wellずつ分注し、37°Cで1時間反応させる。

↓ PBSTで3回洗浄

(5) 基質の反応

ABTS基質液を100 μ l/wellずつ分注し、室温で1時間反応させる。

(6) OD値の測定

405nmのOD値を測定し、(SFTS抗原のOD値) - (Mock抗原のOD値) $\geq$ 0.3を陽性と判定する。

図 1. SFTSV に対するIgG 抗体検出用 ELISA のプロトコル

材料と方法：

1. SFTSV 抗体保有状況調査

2023 年 2 月～2024 年 1 月に県内動物病院 2 施設を受診したイヌ 96 頭およびネコ 25 頭の血清を材料とした (表 1)。SFTSV に対する IgG 抗体検出スクリーニングとして、国立感染症研究所獣医科学部のプロトコルに準じた酵素免疫測定法 (ELISA) を実施した (図 1)。

2. SFTS 発生状況調査

(1) SFTSV 検査

2023 年 5 月～2024 年 1 月に県内動物病院を受診し、SFTS を疑う症状を呈したネコ 7 頭から採取した全血、血清、尿を材料とした (表 2)。リアルタイム RT-PCR 法 [12] により SFTSV 遺伝子検出を行った。間接蛍光抗体法 (IF 法) により SFTSV 特異的 IgG 抗体価および IgM 抗体価の判定を行った。IF 法の抗原は、SFTSV YG-1 株感染 VeroE6 細胞を用い、抗体価 40 倍以上を陽性とした。

(2) リケッチア検査

上記の SFTSV 検査に用いたネコ 7 頭の全血を材料とした (表 2)。リアルタイム RT-PCR 法 [13 - 14] により、SFGR およびつつが虫病リケッチア (*Orientia tsutsugamushi*; Ot) の遺伝子検出を

表 1. SFTSV 抗体保有状況調査において血清を採取した伴侶動物の概要

動物種		イヌ	ネコ	合計
検体数		96	25	121
動物病院 (所在地)	A(高岡市)	79	16	95
	B(射水市)	17	9	26
年齢	0	1	0	1
	1～5	12	13	25
	6～10	28	8	36
	11～	52	4	56
	不明	3	0	3
性別	♀	7	0	7
	♀(避妊)	42	6	48
	♂	15	3	18
	♂(去勢)	32	15	47
	不明	0	1	1
飼育地	氷見市	8	1	9
	高岡市	59	11	70
	射水市	24	8	32
	砺波市	1	3	4
	富山市	3	2	5
	舟橋村	1	0	1
マダニ予防薬	有	37	4	41
	なし	59	20	79
	不明	0	1	1
屋外行動	有	87	15	102
	なし	9	9	18
	不明	0	1	1

表 2. SFTS 発生状況調査において検体を採取した伴侶動物の概要

症例 No.	動物種	年齢	性別	飼育市町村	マダニ予防薬	屋外行動	発症日	検体採取日	検体の種類	備考
1	ネコ	14	♂ (去勢)	滑川市	なし	なし	2023/4/28	2023/5/22	全血	4月上旬に保護猫と数日間の接触あり (保護猫は動物愛護団体に譲渡済)。基礎疾患 (心疾患) あり。2023/5/27に死亡。
								2023/5/26	全血	
2	ネコ	11	不明	滑川市	なし	なし	2023/5/16	2023/5/22	全血	症例1の同居猫
3	ネコ	0	♂ (去勢)	入善町	不明	不明	2023/5/10	2023/5/23	全血	2023年2月に保護団体より入手。過去にマダニの付着有。
4	ネコ	15	♀ (避妊)	射水市	なし	有	2023/6/29	2023/7/2	血漿	ノミの寄生有。頸部腫瘍あり (2023/7/26発見)。2023/8/5に死亡。
								2023/7/4	全血	
								2023/7/4	尿	
5	ネコ	1	♂	高岡市	なし	有	2023/7/9	2023/7/10	全血	ノミの寄生有
6	ネコ	9	♀ (避妊)	高岡市	有	有	2023/9/8	2023/9/11	全血	保護猫。FIV(-), FeLV(-)
7	ネコ	19	♀ (避妊)	射水市	なし	有	不明	2024/1/25	全血	ノミの寄生有。消化管腫瘍あり。2024/1/25に死亡。

行った。リアルタイム RT-PCR 法でSFGR 遺伝子が検出されたネコ 2 頭については、SFGR の 17kDa または *gltA* 領域を対象としたコンベンショナル PCR 法 [14] による遺伝子検出および IF 法による SFGR 特異的 IgG 抗体価および IgM 抗体価の判定も行った。IF 法の抗原は、SFGR の 1 種である *Rickettsia montana* を感染させた L929 細胞を用い、抗体価 40 倍以上を陽性とした。

結果：

1. SFTSV 抗体保有状況調査

イヌ 96 検体およびネコ 25 検体について、SFTSV に対する IgG 抗体検出のスクリーニング検査として ELISA を実施したところ、全て陰性であった。

2. SFTS 発生状況調査

(1) SFTSV 検査

SFTS を疑う症状を呈したネコ 7 頭 (表 2) について検査したが、いずれの個体からも SFTSV 遺伝子および SFTSV 特異的抗体は検出されなかった。

(2) リケッチア検査

SFTS を疑う症状を呈したネコ 7 頭全てで検体として全血が提出されたため、鑑別診断として Ot および SFGR の遺伝子検出を行ったところ、Ot 遺伝子は 7 頭とも検出されなかったが、2 頭 (症例 No.1 および 7) から SFGR 遺伝子が検出された (表 3)。SFGR 陽性が判明したネコ 2 頭の症例概要および検査所見は下記のとおりである。

① ネコの SFGR 感染症例 (症例 No.1)

発症ネコは 14 歳の去勢雄で、2023 年 4 月 28 日に発症 (発熱、元気食欲消失、白血球数減少) した。このネコは同居猫 1 頭と共に完全室内飼育されていたが、4 月上旬に保護された野良猫と数日間の接触歴があった。SFTSV 検査のため提出された 5 月 22 日採取の血液について SFTSV・SFGR・Ot を検出するリアルタイム PCR 法を実施したところ、SFGR が検出された (表 3)。なお、SFGR 遺伝子量が少なかったためか、コンベンショナル PCR 法は陰性であった (表 3)。IF 法で SFGR 特異的 IgM 抗体および IgG 抗体が検出された (表 3)。5 月 26 日採取の血液で SFGR の陰性化を確認したが (表 3)、基礎疾患である心疾患の悪化が原因と考えられる循環器障害により、5 月 27 日に死亡した。

② ネコの SFGR 感染症例 (症例 No.7)

発症ネコは 19 歳の避妊雌で、屋内外で飼育されていた。2024 年 1 月 25 日に動物病院を受診した際には、脱水、虚脱、意識混濁と極度の消瘦、黄疸が認められた。血液検査では、血小板低下 (8.7 万)、CPK 上昇 (>1,000) 等が認められた。また、エコー検査で小腸内に腫瘍性病変が認められた。このネコの発症日は不明であるが、来院前日までは食餌していたとのことであったが、動物病院で検査中に状態が急変し死亡した。SFTS 疑い症例として、1 月 25 日採取の全血が当所に提出されたため、SFTSV・SFGR・Ot を検出するリアルタイム PCR 法を実施したところ、SFGR が検出された (表 3)。IF 法を実施したが、SFGR 特異的 IgM 抗体および IgG 抗体は検出されな

表 3. ネコ 7 頭の SFGR 検査結果

症例 No.	発症日	検体採取日	検体の種類	リアルタイム PCR 検査結果 (Ct 値)	コンベンショナル PCR 検査結果		IF 抗体価	
					17kDa	<i>gltA</i>	IgM	IgG
1	2023/4/28	2023/5/22	全血	+(39.1)	—	—	80	160
		2023/5/26	全血	—	NT	NT	NT	NT
2	2023/5/16	2023/5/22	全血	—	NT	NT	NT	NT
3	2023/5/10	2023/5/23	全血	—	NT	NT	NT	NT
4	2023/6/29	2023/7/4	全血	—	NT	NT	NT	NT
5	2023/7/9	2023/7/10	全血	—	NT	NT	NT	NT
6	2023/9/8	2023/9/11	全血	—	NT	NT	NT	NT
7	不明	2024/1/25	全血	+(41.7)	NT	NT	<40	<40

＋：陽性，－：陰性，NT：検査未実施

かった (表3)。

考察：抗体保有状況調査においては、過去の調査分と合わせるとイヌ271頭、ネコ83頭について検査したが、SFTSV特異的IgG抗体を保有している動物はみつからなかった。また、今年度の発生状況調査で検査したネコからSFTSVは検出されなかった。しかしながら、2022年に県内でイヌおよびヒトのSFTSV症例が確認されたことから[4-6]、県内にSFTSVを保有するマダニが分布している可能性が考えられる。

今年度から、SFTSVの鑑別診断としてリケッチアの検査も併せて実施するようにしたところ、ネコ2頭のSFGR感染症例が確認された。ただし、ネコからリアルタイムPCR法により検出されたSFGRの遺伝子量は少なく、コンベンショナルPCR法は陰性でシーケンスを実施できなかったため、リケッチア種は特定できなかった。SFGRには多数の種が含まれており、病原性が不明な種も多いこと、ネコ2頭はいずれも基礎疾患（心疾患または消化管腫瘍）を有していたことから、今回検出されたリケッチアがネコの病態に関与していたかどうかは不明であった。なお、症例No.7のネコについては、マダニ刺咬歴は不明だが、屋外でマダニに刺咬されたことにより感染した可能性が推定された。一方、症例No.1のネコは、完全室内飼育であったが発症前に保護猫との接触があったことから、保護猫もしくは保護猫に付着していたマダニが感染原因となった可能性が推定された。

今年度、SFTSVと同じくマダニ媒介性であるSFGRがネコ2頭から検出され、伴侶動物にマダニ媒介性病原体が感染するリスクがあらためて示された。伴侶動物はヒトの生活と密接に関わることから、そのSFTSV感染状況を把握することは、ヒトへのSFTSV感染防止対策を実施する上で重要である。したがって、今後も継続して調査を実施する必要があると考えられた。

また、県内のSFTSV浸淫状況を把握する上で、野生動物のSFTSV保有状況を調査することは意義がある。当所の過去の調査では、2014～2018年に採取したイノシシ129頭の血清からSFTSV抗体や遺伝子は検出されなかった。しかしながら、2019年以降の状況は把握していない。2022年に

イヌおよびヒトのSFTSV症例が確認されたことから[4-6]、今後、野生動物のモニタリングを行うことについても検討する必要があると考えられた。

謝 辞

本調査の実施にあたり、検体採取等にご協力いただいた関係各位に深謝いたします。

文 献

1. Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, et al. (2011). *N Engl J Med*, 364, 1523-1532
2. Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, et al. (2014). *J Infect Dis*, 209(6), 816-827
3. 国立感染症研究所．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）．<https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/3143-sfts.html>（2024年5月17日アクセス可能）
4. Saga Y, Yoshida T, Yoshida R, et al. (2023). *Viruses*, 15(11), 2228.
5. 佐賀由美子, 矢澤俊輔, 嵩田嵩久, 他. (2022). *IASR*, 43, 218-219
6. 坂東彬人, 村田久仁男, 村井祐至, 他. (2023). *IASR*, 44, 42-43
7. Kobayashi Y, Kato H, Yamagishi T, et al. (2020). *Emerg Infect Dis*, 26(4), 692-699
8. Yamanaka A, Kirino Y, Fujimoto S, et al. (2020). *Emerg Infect Dis*, 26(12), 2994-2998
9. Kida K, Matsuoka Y, Shimoda T, et al. (2019). *Jpn J Infect Dis*, 72, 356-358
10. Oshima H, Okumura H, Maeda K, et al. (2022). *Jpn J Infect Dis*, 75, 423-426
11. 石嶋慧多, 平良雅克, 松嶋 彩, 他. (2023). *IASR*, 44, 31-32
12. Yoshikawa T, Fukushima S, Tani H, et al. (2014). *J Clin Microbiol*, 52, 3325-3333
13. Kawamori F, Shimazu Y, Sato H, et al. (2018). *Jpn J Infect Dis*, 71(4), 267-273
14. 国立感染症研究所．リケッチア感染症診断マニュアル（令和元年度6月版）．<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Rickettsia20190628.pdf>（2024年5月17日アクセス可能）