

2.血清学的手法の開発、応用

A. 目的

実験動物を用いて、肝多包虫症の感染経過、外科的術後のフォローアップ等、臨床に即した血清学的な基礎データを得ることを目的とする。

B. 方法

肝多包虫症モデル確立のため、多種類の実験動物に多包虫を実験感染させ、比較検討する。さらにこれら動物モデル系を用いて、種々の条件下（感染の経過、病巣肝部分切除、免疫反応に影響を与える薬剤等の投与および再感染など臨床を想定）において眼窩静脈より経時的に採血し、その血清反応をウェスタンブロット法およびELISAにより解析する。

C. 結果および考察

昨年までのラット4系統に代わり、今年度はマウス4系統（C3H/He Jcl、BALB/cBy Jcl、C57BL/6J Jcl、DBA/2N crj）についてラット同様に実施した。ただし今回は病巣肝部分切除手術を多包虫接種後3週目に行い、またELISAでの血清学的検討には従来の蛋白を主成分とした抗原に加え、新たに過沃素酸処理により失活する糖類が主成分と考えられる抗原についても併用した。

今回実験に用いた4系統のマウスすべてで、ウェスタンブロット法により感染の初期（接種後2~3週）から30~35kDaのC抗原に対する抗体反応が明瞭に認められた。さらに

C57BL/6J マウスでは感染の経過に伴い、蛋白抗原に対する複数の抗体バンドが次第に出現し、ラット同様ヒト患者における不完全型から完全型抗体反応への移行を示唆するような結果が得られた（図1）。

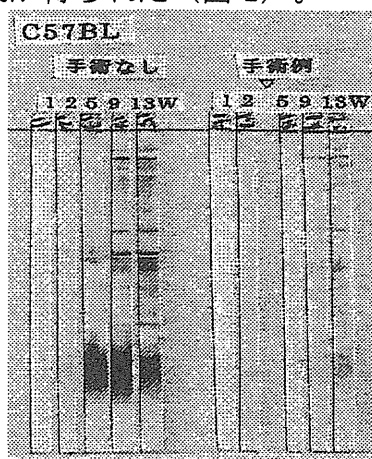


図1

その一方でDBA/2Nマウスのように、C抗原に対し強い抗体反応が持続的に認められるのみで、感染が経過しても蛋白抗原に対する反応へのシフトが著しく弱い、不明瞭な系統も存在し、系統による抗体反応の相違が認められた（図2）。C3H/He、BALB/cBy

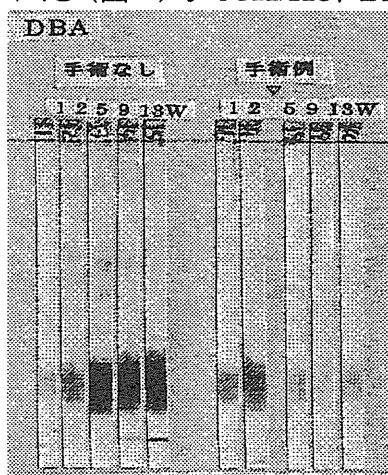


図2

マウスは上記2系統の中間型のウェスタンブロットパターンを示した。

ELISA による検討では、蛋白を主成分とする抗原を用いた場合、4 系統のマウスともほぼ同様の傾向が認められた。すなわち感染の経過に伴う明らかな抗体反応の上昇と、病巣切除による抗体反応の抑制ないし減弱である。代表して図 3 に C57BL/6J マウスの例を示した。これに対し糖類が主

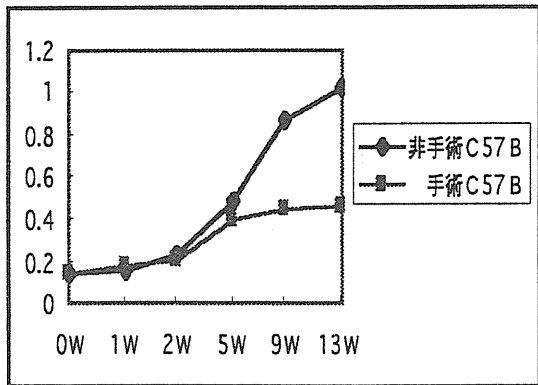


図 3

成分と考えられる抗原を用いた場合、系統による明らかな相違が認められた。すなわち、DBA/2N マウス (図 4) をはじめ C3H/He、BALB/cBy マウスでは蛋白抗原の場合と類似し、感染の経過に伴う抗体反応の上昇と、病巣切除による抗体反応の下降が明らかに認められたのに対し、C57BL/6J マ

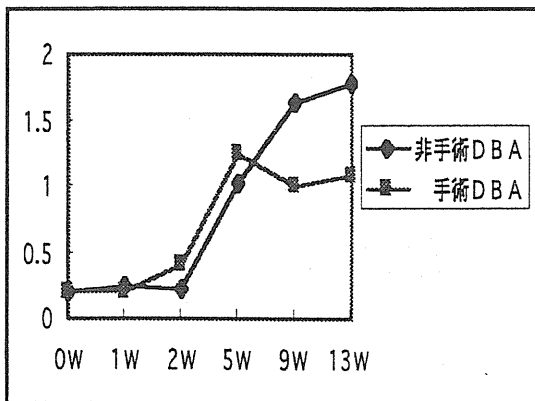


図 4

ウスでは病巣切除手術の有無にかか

わらず、感染のいずれの時期においても抗体反応はまったく認められなかった (図 5)。C57BL/6J マウスでは

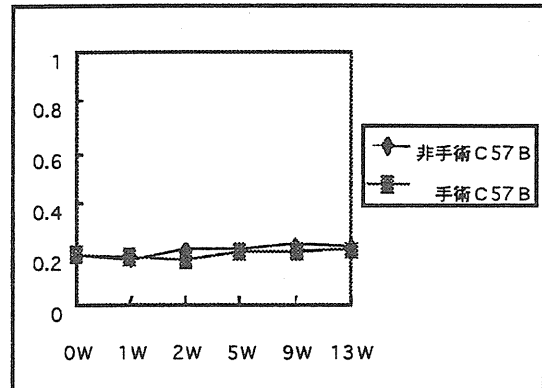


図 5

ウェスタンブロット法で C 抗原に対する抗体反応が明らかに認められているので (図 1)、ELISA に用いた糖類抗原の主成分はこれとは別のものと考えられた。すなわち多包虫抗原に含まれる糖類の複雑な構成およびその多様な抗原性の存在と、それに対するマウスの抗体産生能に著しい系統差があることが明らかとなった。Gottstein らはクチクラに分布する糖抗原の一種 Em-2 に対する抗体産生能と、マウスの多包虫に対する抵抗性を関連づけ、Em-2 に対する抗体産生能が低い C57BL/6 マウスを感受性であるとし、一方同じ H-2 ハプロタイプ (b) を持つ C57BL/10 マウスが Em-2 に対し高抗体産生能を有することから、抵抗性であるとした。そしてこれらマウスの多包虫に対する感受性の差は H-2 とは別の因子によりコントロールされているとした。今回我々が用いた ELISA 糖類抗原に対し、マウス抗体反応の明らかな系統差が確認されたことから、今後この抗原と

Em-2 との異同を確認するとともに、これら相違を示すマウス系統間のハイブリッドがこの抗原に対しどのように反応するか、抗体産生の遺伝的背景を解析する上で興味を持たれる。

病巣切除後の陰転化のパターンについては、前回のラット実験に比べ、接種後かなり早期に病巣切除手術を施したことから、術後しばらく抗体反応の上昇が持続するといったタイムラグがみられるものの、その後は急速に減弱し、ラット実験に比較して短期間で陰転化することが確認された。すなわち病巣切除による抗体反応の陰転化は、感染から病巣切除までの期間の長さに影響されることが示された。

D. 結論

前回のラット実験同様、今回のマウス実験においても、感染の初期から 30~35 kDa の C 抗原に対する抗体反応がウエスタンブロット法において認められ、この抗原が感染宿主の種および系統を越えて多包虫症に対しきわめて特異性の高い、しかも早期診断に役立つ重要な抗原であることが確認された。

動物モデル系として、血清学的には前回のラット実験とりわけ F344 ラットの抗体反応が、ヒトの抗体反応と類似性が高いと思われたが、今回のマウス実験では系統による抗体反応の多様性が確認され、これらの遺伝的背景を検討する目的のために重要な動物モデルであると考えられた。

E. 研究発表

学会発表

川瀬史郎、佐藤千秋、山野公明、木村浩男 (1999)、実験的二次多包虫症の研究 8. 肝接種モデル動物における血清反応の推移と病巣切除後の変化、第 46 回日本寄生虫学会北日本支部大会、小樽

北海道外における多包性エキノコックス症の疫学

土井陸雄¹、神田栄次²、二瓶直子³、内田明彦⁴

1) 横浜市立大学医学部衛生学、2) 東京野生動物研究所、3) 国立感染症研究所寄生動物部、4) 麻布大学環境保健学科医動物学

研究要旨 北海道以外の都府県で発生した多包性エキノコックス（多包虫）症例の感染地を調査し、原発？群、北海道群、海外群、不明群の4群に分類した。これら各群の患者性比には特徴があり、原発？患者は現住地で感染したが北海道の流行と何らかの関連があることが示唆された。また、北海道礼文島での本症流行の解析結果に基づいて各群の感染時期を推定した結果、原発？群、北海道群は、今後、患者数が増加する可能性があると考えられた。

A. 研究目的：

北海道以外の都府県で発生した多包性エキノコックス症（以下、多包虫症）例を解析し、北海道以外の日本各地での多包虫症の発生状況を把握し、その予防方法を検討すること。

B. 研究方法：

既刊の多包虫症関係論文、医学中央雑誌ならびに Index Medicus(PubMed/NIH)で検索した論文、病理剖検輯報を資料とし、不明部分とくに患者の居住歴・生活歴を原著者に問い合わせ不明部分の解消に努めた。感染したと考えられる地域によって症例を原発？群（現住地で感染）、北海道群（北海道で感染）、海外群（海外で感染）、不明群の4群に分類した。また、礼文島における流行を住民の死亡個票から解析して平均潜伏期間を推定し、これを用いて本州における患者の感染時期を推定した。

C/D. 結果/考察：

(1)地理的分布：総数は76例、海外群30例、北海道群23例、原発？群19例、不明群4例だった。症例数の最多地域は青森県21例、次に東京12例、宮城県8例などである。京都、大阪以西では大分県と沖縄県に各1例のみで、74例は関西以北の症例だった。青森県は地理的に北海道に最も近いためか、原発？患者19例中の半数近い9例が青森県で発生している事実は、原発？群が北海道の流行と何らかの関連があることを示唆するものと思われる（図1）。

(2)患者の性比：海外群の患者性比（男/女 = 28/2 = 14.0）は、症例の大半が太平洋戦争中に出征し戦後シベリア等に抑留された兵士たちなので理解し易い。北海道群の性比（1.88）は、全北海道（1.19）や礼文島のみ（1.26）の性比よりやや大きい。統計的有意差はなかった。原発？群の性比（0.58）は北海道群と比較して著しく女性に偏っている。この理由として虫卵の伝播経路が異なる可能性も考えられるが、むしろ3ちゃん（爺ちゃん、婆ちゃん、母ちゃん）農業と呼ばれる日本農村の農業運営形態が重要な要因と考えられる。即ち、農作業の多くが女性の労働力に依存しており、女性の虫卵への曝露機会も多いと考えられるからである。

この性比が他群と著しく異なる事実こそ、本群の感染が患者現住地で起きていることの証拠と思われた（表1）。

(3)潜伏期間および感染時期の推定：礼文島住民の死亡個票（1948～90）の解析から、感染と発症の間の平均潜伏期間は 21 ± 7 年（ $\bar{x} \pm SD$ ）と推定され、また同島での流行期間は1926～40年、北海道本島の流行期間は1945年以降と考えられた。

(4)(3)で得た推定値を各群患者に当てはめて感染時期を推定した（図2-4）。注目すべきは、原発？群、北海道群とも1980年以降の推定感染時期の症例がないことである。根室半島での初発例の発見は1965年、北海道全島への流行域拡大は1980年以降、また1990年以降全道でブタ感染個体数が増加し始めているなどから考察して、北海道以外の都府県の北海道群患者発生数は今後確実に増加が予想される。また、原発？群が北海道での流行と関連しているという推測が正しいならば、今後、原発？群患者発生数の増加も予想される。

E. 結論

上述の状況から推察して、北海道以外の都府県で北海道群の患者と原発？群患者発生数の増加が起こると予想され、今後、これらについて十分な注意が必要である。また、多包虫症例が発生した場合に、患者の居住歴、生活歴を十分に調査して、感染源、虫卵伝播経路などについての追跡を行うことが、本疾患の北海道外での流行拡大を阻止し、万一、本州に感染環が成立している場合には流行域を縮小するための必須要件である。さらに、キツネ、ネズミの感染監視、屠畜場でのブタ肝臓多包虫病監視など多面的な監視体制の確立が求められる。

F. 研究発表

1. 論文発表

・土井陸雄、神田栄次、二瓶直子、内田明彦：北海道外における多包虫症発生の実態と今後の対策への提言、日本公衛誌、2000、47(2):111-126。

・土井陸雄、中尾稔、二瓶直子、久津見晴彦：北海道礼文島における多包虫症の消長と感染期間の推定、日本公衛誌、2000、47(2):145-152。

Fig. 1 Distribution of AHD patients out of Hokkaido

The number of AHD patients in Rebun Isl. are included in the number in Hokkaido.

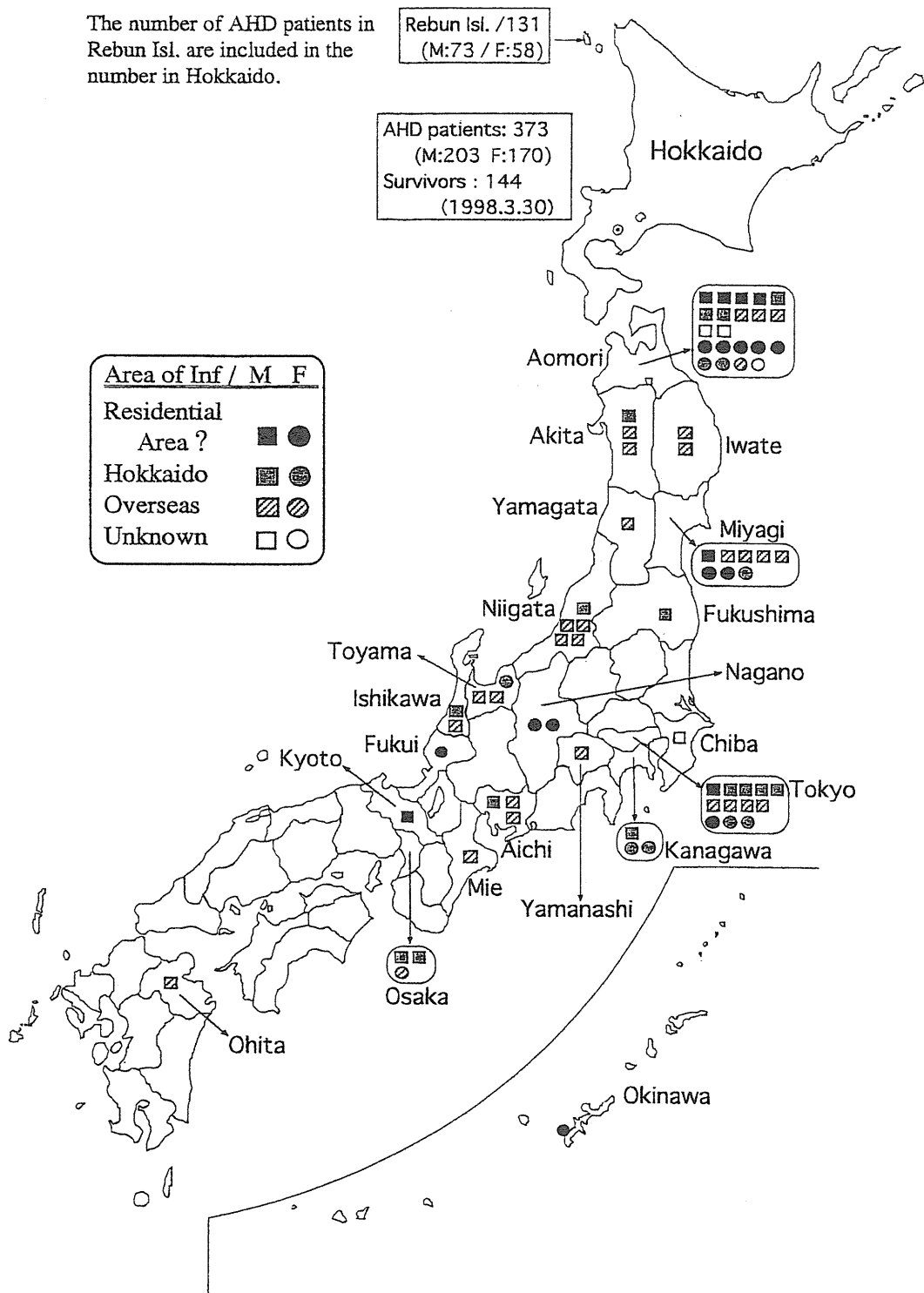


表1 北海道外の多包虫症患者地域分布

	原発?	北海道	海外	不明	小計	
02青森県	男	4	3	3	2	12
	女	5	2	1	1	9
03岩手県	男			2		2
	女					
04宮城県	男	1		4		5
	女	2	1			3
05秋田県	男		1	2		3
	女					
06山形県	男			1		1
	女					
07福島県	男		1			1
	女					
12千葉県	男				1	1
	女					
13東京都	男	1	4	4		9
	女	1	2			3
14神奈川県	男		1			1
	女		2			2
15新潟県	男		1	4		5
	女					
16富山県	男			2		2
	女		1			1
17石川県	男		1	1		2
	女					
18福井県	男					
	女	1				1
19山梨県	男			1		1
	女					
20長野県	男					
	女	2				2
23愛知県	男		1	2		3
	女					
24三重県	男			1		1
	女					
26京都府	男	1				1
	女					
27大阪府	男		2			2
	女			1		1
44大分県	男			1		1
	女					
47沖縄県	男					
	女	1				1
合計	男	7	15	28	3	53
	女	12	8	2	1	23
総数		19	23	30	4	76
性比		0.58	1.88	14.00	3.00	2.30

Fig. 2 Estimated time of AHD infection in the patients who had been thought as infected in their residing area.

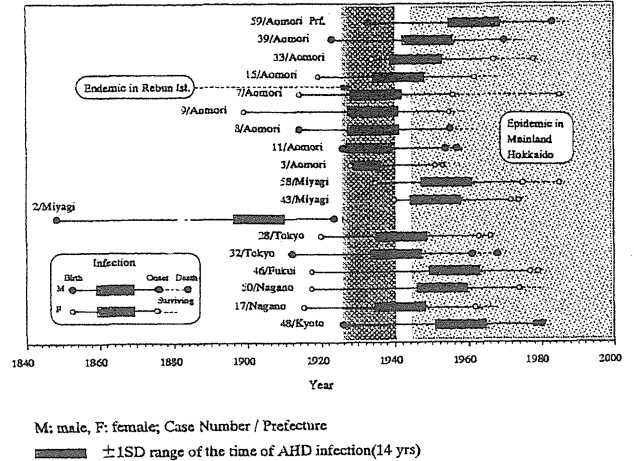


Fig. 3 Estimated time of AHD infection in the patients who had infected in Hokkaido and been taken ill in other prefectures.

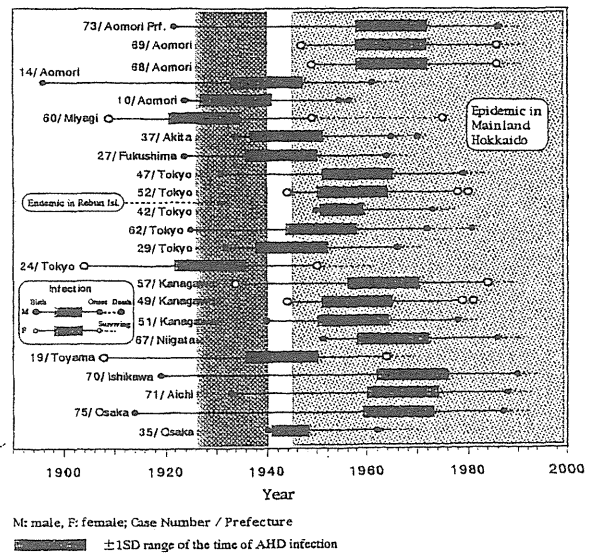
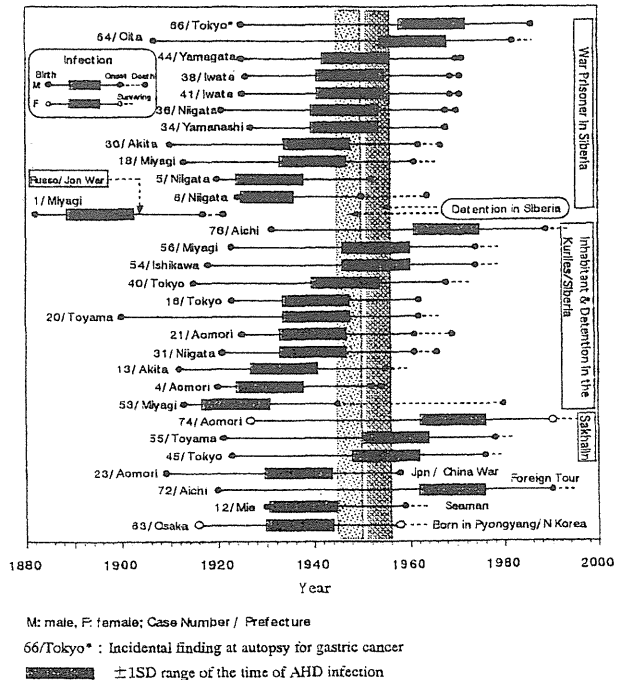


Fig. 4 Estimated time of AHD infection in the patients who had infected in foreign countries.



道東地方における屋内・屋外環境からの多包条虫卵の検出

真喜屋 清・金澤 保（産業医科大学寄生虫学・熱帯医学教室）

研究要旨

家屋内の室内塵・水道水および屋外の河川流水・土砂などが、どの程度多包条虫（エキノコックス）虫卵に汚染されているかを知るために、界面活性剤で虫卵を遊離させ、ポア・サイズの異なるナイロンメッシュでふるい分けて、高比重液で浮遊処理を行って捕集する、効率的な虫卵検出法の改良を行った。この検出法を用いて、北海道道東地方の民家の室内塵および河川流水から本虫卵の検出を実施した結果、少数ではあるが民家内の室内塵と河川流水の中から、本種虫卵に酷似の条虫卵が検出された。複数の量的形質に基づいて多面的に鑑別を行う判別関数法を導入して検討した結果、これらの虫卵は猫条虫ではなく、多包条虫卵の可能性が高いことが明らかにされた。

A. 研究目的

キタキツネの糞便由来の虫卵によって、経口的に感染する多包条虫（エキノコックス）症の、流行地における屋内外の感染源を明らかにするために、生活環境から採取した検体試料を検査する方法を改良し、北海道道東地方の民家の室内塵、河川流水の汚染状況を調べることを目的とした。

B. 材料と方法

1. 屋内外の材料からの虫卵の検出方法

家屋内の室内塵・水道水および屋外の土砂・河川流水などから多包条虫卵を検出するために、本報ではどの試料にもほぼ共通して、基本的には各検体材料から（1）界面活性剤で虫卵を遊離させ、（2）ナイロンメッシュを用いた濾過と（3）高比重液による浮遊処理を組み合わせた検出方法を用いた。室内塵を対象としたこの方法の概略を図1に示し、また用いる装置・器具の取り扱いや試薬などの詳細については以下に記す。

（1）材料の採取：室内塵の採取には通

常の吸入式掃除機を用いた。12 x 12 cmのポアサイズ20 μ mのナイロンメッシュと同大のオーガンジーメッシュとを重ね合わせ、前者を吸入口側にして吸入筒の継ぎ口に装着して、床面の室内塵を採取する。

また、河川流水の採取は長い縄をつけた小型のポリバケツを、河川の瀬の部分に投げ入れてすくい上げ、別に用意した大型のバケツに6リットルを採水した。これを、20 μ mのナイロンメッシュを取り付けた柄杓で水を濾過して、メッシュ上に残ったゴミ（scum）を検体試料として持ち帰った。流水試料の採取地点では市販のGPS装置で、その緯度・経度を測定した。

なお、採取された試料は感染を防ぐために、実験室に搬入直後に100℃で30分以上加熱して、殺卵を行ってから以下の処理を実施した。

（2）材料の秤量（定量）：室内塵試料については、単位重量当たりの虫卵数（EPG）を算出するために、以下の処理をする前にその重量を測定する。

（3）攪拌：虫卵を室内塵や土壌から遊離させ抽出しやすくするために、本報ではTween 80の0.5%液にホルマリンを1%に

なるように溶かした溶液を用い、約10分間攪拌した。この攪拌液は比重が約1.01と低いので、攪拌後そのまま静置することによって虫卵を選択的に沈殿させ、比重の低い浮水性のゴミを除去するのに都合が良い。なお、攪拌処理は、河川流水などゴミの量の少ない試料では省略しても、虫卵の捕集率に大きな影響はないものと考えられた。

(3) 濾過処理：網目サイズ300、48、 $20\mu\text{m}$ の順に3枚のナイロンメッシュを上下にセットした濾過装置に、この攪拌後の液を注ぎ込み、強力なスプレー状の水流によって順次下へ洗い流すと、多包条虫卵は $20\mu\text{m}$ のメッシュ上に捕集される。

(4) 浮遊処理：モーター式吸引装置によってこの $20\mu\text{m}$ のメッシュの水分を十分に切り、裏返しにして漏斗に固定し、59.13%の硫酸亜鉛水溶液（比重1.45）を上から注いで分液ロートに流し込み、10分間静置する。予備的に調べた道東産多包条虫卵のほぼ100%が比重1.45より軽い（図2）ので、この処理によってこれより重い砂粒などのゴミを、効率よく沈殿させ除外することができる。

(5) 集卵処理：分液ロートの沈殿層を捨てて浮遊層を取り、吸引装置を用いてポアサイズ $14\mu\text{m}$ のメンブレンフィルター・ディスク（直径2.5cm）上に集卵する。

(6) 鏡検：上記のメンブレンフィルターを裏返してスライドガラスに載せ、100倍で鏡検する。必要によっては、虫卵を見つけやすいように、エオシン希釈液を滴下して薄赤色に染めたうえで鏡検した。

2. 多包条虫卵と猫条虫卵との計測・形態的鑑別

家屋内外で検出される可能性のある猫条虫卵と多包条虫卵とを、虫卵の大きさで鑑別することができないかどうかを検討するために、上述のようにして虫卵の長径と短径を400倍の倍率で鏡検・計測した。

虫卵を変形させない状態で計測するために、重いカバーガラスの代わりに水に浮くプラスチック（OPP）で作製したカバースリップをかけて計測した。

計測値データの統計処理のうち、判別関数法関連の数値は自作のコンピューター・プログラムによって算出した。

C. 研究結果

1. 本報で用いた虫卵検出法の効率の検討

上述の虫卵検出法の効率を調べるために、多包条虫に感染したキタキツネの糞を少量取り、上述の検出法の(3)攪拌以降の処理を行って、虫卵が $20\mu\text{m}$ のメッシュにどの程度効率良く捕集されるかを調べた。2回繰り返した実験の結果を図3に示したが、第1回の実験では393個の虫卵のうち約91%が、2回目の実験では135個のうち約95%の虫卵が、 $20\mu\text{m}$ のメッシュ上に捕集された。この結果は、本法の虫卵捕集の効率が非常に高いことを示すものと解釈される。

3. 道東地域から採取した検体試料からの虫卵の検出状況

道東の2民家の家屋内外で採取した室内塵からの検出結果を表1に、また河川流水を採取した道東13市町22地域（A～V）51地点の試料について、採取地点の位置（緯度・経度）と検出結果を表2に、それぞれ示す。

表1からわかるように、2民家で採取した塵のうち、民家Tの家人のズボンから吸入した塵（T-2）から多包条虫卵に酷似した虫卵が1個検出された。検出された虫卵の写真を図4に示してあるが、その大きさは $33.8 \times 30.0\mu\text{m}$ と計測され、六鉤幼虫はおそらく乾燥のため幼虫被殻から遊離しかけているが、鉤は6本のうち3本が明瞭に認められた。

民家 H の室内塵から採取された 7 個の室内塵試料からは、今のところ虫卵は検出されていない。なお、両民家とも室内塵からは図 5 に示すような無数の松柏科の花粉

(中央球形部の直径が約 $48\mu\text{m}$) が本報の虫卵検出法で効率良く検出され、道東の民家には風に運ばれた花粉がかなりの密度で飛来していることがうかがわれた。

一方、河川流水からは B 地域 (女満別町郊外) のトマップ川で汲み上げた 5 個の採水試料のうちの 1 試料 (W-3) から、多包条虫卵に酷似の虫卵が 1 個検出されただけで、残り 50 個 (計 300 リットル) の河川流水からは検出することができなかった。

検出された虫卵は、民家から捕集されたものと同じ形態的な特徴を持ち、大きさも $33.7 \times 30.0\mu\text{m}$ とほとんど同じであった。

なお、道東の河川流水からは写真 (図 6) に示すような *Navicula* 属を中心とする数 $10\mu\text{m}$ の珪藻類が多数捕集されるが、これはこれらの河川が貧腐水性 (oligo-saprobic) で、有機汚濁の少ないきれいな水系であることを示唆している (小島ら、1966)。

3. 多包条虫卵と猫条虫卵との計測・形態的鑑別

流行地北海道の野外で捕集される蠕虫卵のうち、多包条虫卵と形や大きさの点で鑑別が困難なものとして猫条虫卵が指摘されている。両者は虫卵由来の DNA を用いた PCR 法で鑑別が可能であるとされているが、屋内外の試料から検出される虫卵は古いものがほとんどで、数も非常に少ないので、この方法の適用は困難である。

そこで本報では、多包条虫卵と猫条虫卵とを、虫卵の大きさで鑑別することができないかどうかを検討するために、上述のように虫卵の長径と短径を計測した。北海道大学獣医学研究科寄生虫学教室および北海道立衛生研究所から恵与された多包条虫卵

および猫条虫卵のうち、それぞれ無作為に取り出した 87 個と 83 個の、長径と短径をプロットすると図 7 のような散布図が得られ、その平均値はそれぞれ 34.76 、 $31.48\mu\text{m}$ 、および 29.30 、 $27.33\mu\text{m}$ であった。図からわかるように、多包条虫卵の方が猫条虫卵より大きく、両種の虫卵の大きさは重なり合うけれども、ある程度鑑別が可能ないように思われる。

これらの計測値から得られる危険率 5% の棄却楕円を求めると、多包条虫卵と猫条虫卵について、それぞれ

$$\frac{(x-34.76)^2}{5.8796^2} + \frac{(y-31.48)^2}{2.4256^2} = 1$$

$$\frac{(x-29.30)^2}{5.8881^2} + \frac{(y-27.33)^2}{2.3903^2} = 1$$

で表わされる 2 つの楕円 (図 7) が得られた。楕円のかなりの部分が重ならないことから、両種の虫卵が計測値によってある程度判別可能であることが示唆された。

そこで、複数の量的形質に基づいて多面的に鑑別を行う判別関数法を導入して、両種の虫卵の鑑別を試みた。これは前もって判定された 2 つの集団について、複数の計測値 (ここでは虫卵の長径と短径) から得られる判別値の平均の差が最大になるように判別係数を求めたうえで、新しい個体 (虫卵) がどの集団に属するかを知るための方法である (鳥居ら、1968; 真喜屋、1973)。

計算の結果、両種の虫卵を見分けるための判別式

$$D = x - 0.04325y$$

(但し、 x は虫卵の長径 (単位 μm)、 y は同じく短径) が得られた。

この判別式に、上記の多包条虫卵および猫条虫卵の計測値をあらためて代入すると、図 8 に示すような範囲にそれぞれの判別値がほぼ正規型に分布し、平均値はそれぞれ 33.40 および 28.12 と計算された。

虫卵の長径、短径を同時に組み込んだこの判別値を利用すると、両者間の裾は多少重

なるものの、両種の鑑別がさらに容易にかつ定量的になるものと推察された。

多包条虫卵を誤って猫条虫卵と判定する危険率(α)と、猫条虫卵を多包条虫卵と判定する危険率(β)が等しくなるように判別境界値(D_c)を求めると、 $D_c = 30.66$ が得られた。この境界値より大きいものを多包条虫卵、小さいものを猫条虫卵と判定した場合、判定を誤る危険率 $\alpha (= \beta)$ は5.26%と計算され、20個にほぼ1個程度に押さえられるものと考えられた。

この方法をここまで進めるには煩雑な計算を必要とするが、一旦判別限界値が得られれば、この値から図7に示すような判別境界線

$$y = 23.12x - 708.97$$

が得られ、新しい虫卵の長径・短径の計測値(μm)をこの図7にプロットして、境界線のどちら側に落ちるかによって、両種の虫卵を判別することができる。

前述のように、本報で室内塵と河川流水から検出されたそれぞれ1個ずつの多包条虫卵に酷似の虫卵は、大きさが $33.8 \times 30.0 \mu\text{m}$ および $33.7 \times 33.0 \mu\text{m}$ であった。そこでこの虫卵を図7上にプロットしてみると、いずれも多包条虫卵と猫条虫卵の重なり合う領域に含まれるが、どちらかと言うと多包条虫卵の領域に落ちる。

また、判別式 $D = x - 0.04325y$ の x 、 y に長径、短径の値を代入して判別値を求めるとそれぞれ $D = 32.50$ および 32.40 が得られるが、これらの値は判別境界値 $D_c = 30.66$ より大きく、この判別値からも多包条虫卵と判定された。

このように、野外で捕集される *Taenia* 型の虫卵については、その長径と短径を測ることによって、一定の誤差(約5%)の下に多包条虫卵と猫条虫卵との鑑別が可能となった。

D. 考 察

1. 多包条虫卵の検出方法の改良点

室内塵から多包条虫卵を検出するために昨年度試みた方法(真喜屋、1999)では、ダニ抽出用のポア・サイズ2mmの標準篩によって、粗塵から微細塵を分けたうえで虫卵検出を行う乾式の方法を採用したが、虫卵が粗塵の繊維にも付着する可能性があることを考慮して、今回は図1の流れ図に示すように、粗塵そのものから虫卵を遊離・抽出する湿式の方法に変更した。

また、浮遊液を比重1.30の62.4%蔗糖液から、比重1.45の59.1%硫酸亜鉛液にかえて抽出時間を30~60分から10分に短縮し、さらに濾過に使うナイロンメッシュを4枚から3枚に減らすなど、効率を保ちながら短時間に簡易に検出ができる実用性の高い検出法に改良した。

その結果、図3に示したように、多包条虫卵の捕集率が91~95%という、高い検出効率を得ることができた。そして、計測・形態的に猫条虫卵との鑑別を行うことに配慮して、虫卵を変形させずに計測できる鏡検法を採用した。

なお、本法の攪拌、濾過、浮遊処理の過程で、いくつかの虫卵がガラス容器の器壁などに付着して、検出からもれる可能性も考えられるが、容器はたえず水道水でゆすぎながら次の過程へ進んでいるので、実際に検出からもれる虫卵の数は捕集される虫卵数に比べると、無視できるほど少ないものと推察される。

2. 道東地域の検体試料からの多包条虫卵の検出結果

道東斜里郡小清水町の2民家で採取した室内塵と、道東13市町22地域51地点で採水した河川流水の検体試料を、本報の虫卵検出法で調べた結果、1民家の家人のズボンから採取した試料の中に、多包条虫卵と同定される虫卵1個が発見された。

この試料の粗塵重量は0.027gのわずかな

量であるが、これを1g当たりの虫卵数(EPG)に換算すると37個となる。この数字は、虫卵が塵の中にランダムに分布すると仮定した場合のものであり、現実はこの仮定が成立するかどうかはわからないが、人家によっては屋内外の生活空間が、多包条虫の虫卵に汚染されている可能性を示すものとして重視される。

今回道東における調査で、阿寒町オンネット一付近のキタキツネの糞便からは、本条虫と思われる単独虫卵約400個が20 μ mのメッシュで検出されたのに対し、大小6個の片節断片に含まれる虫卵計80数個(約20%)が、48 μ mメッシュ上に捕集された。

これらの片節断片内虫卵が、遅かれ早かれ単独虫卵となって人間の生活環境を汚染するのか、片節のまま汚染するのかについては、今回何の情報も得られなかったが、もし片節断片のまま屋内外を汚染する頻度が高くなると、一度に複数虫卵による感染も考えなければならない。また、虫卵検出は20 μ mメッシュだけでなく、48 μ mメッシュも含めた検出を行う必要が起こる。

いずれにしても、キタキツネの生息密度が増え本条虫の感染率が高くなれば、人間の生活空間を汚染する虫卵の密度は、ゆっくりではあっても確実に増加をするものと危惧され、特にキタキツネが良く訪れる酪農家屋周辺などでは、その可能性が高いものと推察される。

一方、道東の河川流水は*Navicula*属を主とする数10 μ m大の珪藻類が多数採集されるきれいな水であるが、これらの珪素類に混じって、本条虫卵と同定される虫卵が、51地点で採取した約300リットルの水から、1個だけ検出された。

人家の室内塵からは高密度に検出される松柏科の花粉(図5)も、河川流水には数える位しか見つからないことを考え合わせると、仮にキタキツネの糞由来の多包条虫卵が河川水を汚染したとしても、6リットル程度の採水量ではなかなか検出しにくいこ

とを示唆するものと考えられる。

今後はむしろ、水道の蛇口に装着した浄水用のメッシュなどを検査することが必要であろう。

3. 多包条虫卵と猫条虫卵との計測・形態的鑑別

本報では多包条虫卵と猫条虫卵とを計測・形態的に鑑別するために、判別関数法を導入し、虫卵の長径と短径を同時に用いて両者を判別する方法を導いた。道東の民家の室内塵および河川流水から検出された多包条虫卵に酷似の虫卵は、この方法を適用した結果、両種が重なり合う境界領域に含まれるものの、多包条虫卵の可能性が高いものと判定された。

これは、条件を一定にして計測した虫卵の長径と短径を散布図にプロットするか、あるいは判別式に代入して判別値を求め、境界値と比較することによって種を判別するものであるが、PCR法の使えない野外由来の少数の虫卵については、簡単に応用できる方法である。

今後、形態的に近似した*Taenia*属の他の条虫卵にも、応用できる可能性が考えられる。

E. 結論

多包条虫(エキノコックス)症の、流行地における感染源を明らかにするために、ナイロンメッシュによる濾過と高比重液による浮遊処理を組み合わせた検出方法に改良を加え、北海道道東地方の民家の室内塵と河川流水の汚染状況を調べた。その結果、少数ではあるが本条虫卵に酷似の虫卵が検出された。判別関数法を導入して近縁種の猫条虫卵との計測・形態的な鑑別を行ったところ、これらの虫卵は多包条虫の虫卵と同定された。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表 なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案特許 なし

3. その他 なし

H. 引用文献

1) 小島貞男・須藤隆一・千原光雄
(1995): 環境微生物図鑑。758pp., 講談社、
東京。

2) 鳥居俊雄・高橋暁正・土肥一郎
(1968): 医学生物学のための推計学。
40pp., 東大出版会、東京。

3) 真喜屋清(1973): 判別関数の応用によ
るアカイエカとチカイエカ雌成虫の形態学
的鑑別。衛生動物、23 (3) 、225-235。

4) 真喜屋清(1999) : 生活環境からのエキ
ノコックス虫卵の検出の試み。新興・再興
感染症研究事業「流行地が拡大しつつある
エキノコックス症の監視・防遏に関する研
究」報告書。5 pp. (付図3)。

表1. 道東地方における家屋内外室内塵からの
多包条虫卵に酷似した虫卵の検出状況

番号	採取地点	採取場所	室内塵番号	検出虫卵数
1	斜里郡小清水町/民家T	居間	T-1	0
2	”	家人のズボン	T-2	1
3	”	自家用車の前座席	T-3	0
4	”	自家用車の中座席	T-4	0
5	”	自家用車の後座席	T-5	0
6	斜里郡小清水町/民家H	畳の部屋（1）	H-1	0
7	”	畳の部屋（2）	H-2	0
8	”	畳の部屋（3）	H-3	0
9	”	廊下	H-4	0
10	”	畳の部屋（4）	H-5	0
11	”	玄関の土間	H-6	0
12	”	脱靴用の土間	H-7	0

表2. 道東地方における河川流水からの
多包条虫卵に酷似した虫卵の検出状況

番号	採水地域	採水地点	水系	北緯	東経	採水番号	検出虫卵数
1	A	常呂郡常呂町	常呂川	44° 07' 14"	144° 05' 23"	W-1	0
2	B	網走郡女満別町	網走川	43° 54' 36"	144° 10' 54"	W-2	0
3	"	"	"	"	"	W-3	1
4	"	"	"	"	"	W-4	0
5	"	"	"	"	"	W-5	0
6	"	"	"	"	"	W-6	0
7	C	網走郡女満別町	網走川	43° 52' 24"	144° 08' 20"	W-7	0
8	"	"	"	"	"	W-8	0
9	"	"	"	"	"	W-9	0
10	"	"	"	"	"	W-10	0
11	"	"	"	"	"	W-11	0
12	D	網走郡美幌町	網走川	43° 47' 59"	144° 10' 28"	W-12	0
13	"	"	"	"	"	W-13	0
14	"	"	"	"	"	W-14	0
15	"	"	"	"	"	W-15	0
16	"	"	"	"	"	W-16	0
17	E	斜里郡斜里町	海別川	43° 54' 41"	144° 47' 07"	W-17	0
18	"	"	"	"	"	W-18	0
19	F	斜里郡斜里町	フンベ川	44° 02' 06"	144° 59' 20"	W-19	0
20	"	"	"	"	"	W-20	0
21	G	斜里郡斜里町	ベレケ川	44° 04' 00"	144° 59' 52"	W-21	0
22	"	"	"	"	"	W-22	0
23	H	目梨郡羅臼町	(旅館の水道水)	43° 57' 45"	145° 08' 45"	W-23	0
24	I	目梨郡羅臼町	羅臼川	44° 01' 09"	145° 11' 44"	W-24	0
25	J	標津郡標津町	植別川	43° 51' 27"	145° 06' 05"	W-25	0
26	K	標津郡標津町	茶志骨川	43° 38' 08"	145° 10' 04"	W-26-1	0
27	"	"	"	"	"	W-26-2	0
28	"	"	"	"	"	W-27-1	0
29	"	"	"	"	"	W-27-2	0
30	L	根室市	排水溝	43° 22' 48"	145° 39' 13"	W-28	0
31	"	"	"	"	"	W-29	0
32	M	根室市	排水溝	43° 22' 55"	145° 47' 08"	W-30	0
33	"	"	"	"	"	W-31	0
34	N	根室市	排水溝	43° 22' 47"	145° 42' 41"	W-32	0
35	"	"	"	"	"	W-33	0
36	O	根室市	風蓮川	43° 15' 30"	145° 15' 48"	W-34	0
37	"	"	"	"	"	W-35	0
38	P	野付郡別海町	床丹川	43° 25' 30"	145° 05' 58"	W-36	0
39	"	"	"	"	"	W-37	0
40	Q	野付郡別海町	当別川	43° 30' 23"	145° 01' 57"	W-38	0
41	"	"	"	"	"	W-39	0
42	R	標津郡中標津町	当別川	43° 28' 28"	144° 49' 04"	W-40	0
43	"	"	"	"	"	W-41	0
44	S	斜里郡清里町	斜里川	43° 38' 35"	144° 33' 10"	W-42	0
45	"	"	"	"	"	W-43	0
46	T	足寄郡足寄町	勝川(足寄川)	43° 22' 54"	143° 58' 59"	W-44	0
47	"	"	"	"	"	W-45	0
48	U	阿寒郡阿寒町	勝川(足寄川)	43° 25' 58"	144° 04' 48"	W-46	0
49	V	川上郡弟子屈町	釧路川	43° 28' 21"	144° 24' 22"	W-47-1	0
50	"	"	"	"	"	W-47-2	0
51	"	"	"	"	"	W-48	0

図1. 室内塵などからの多包条虫卵の検出方法

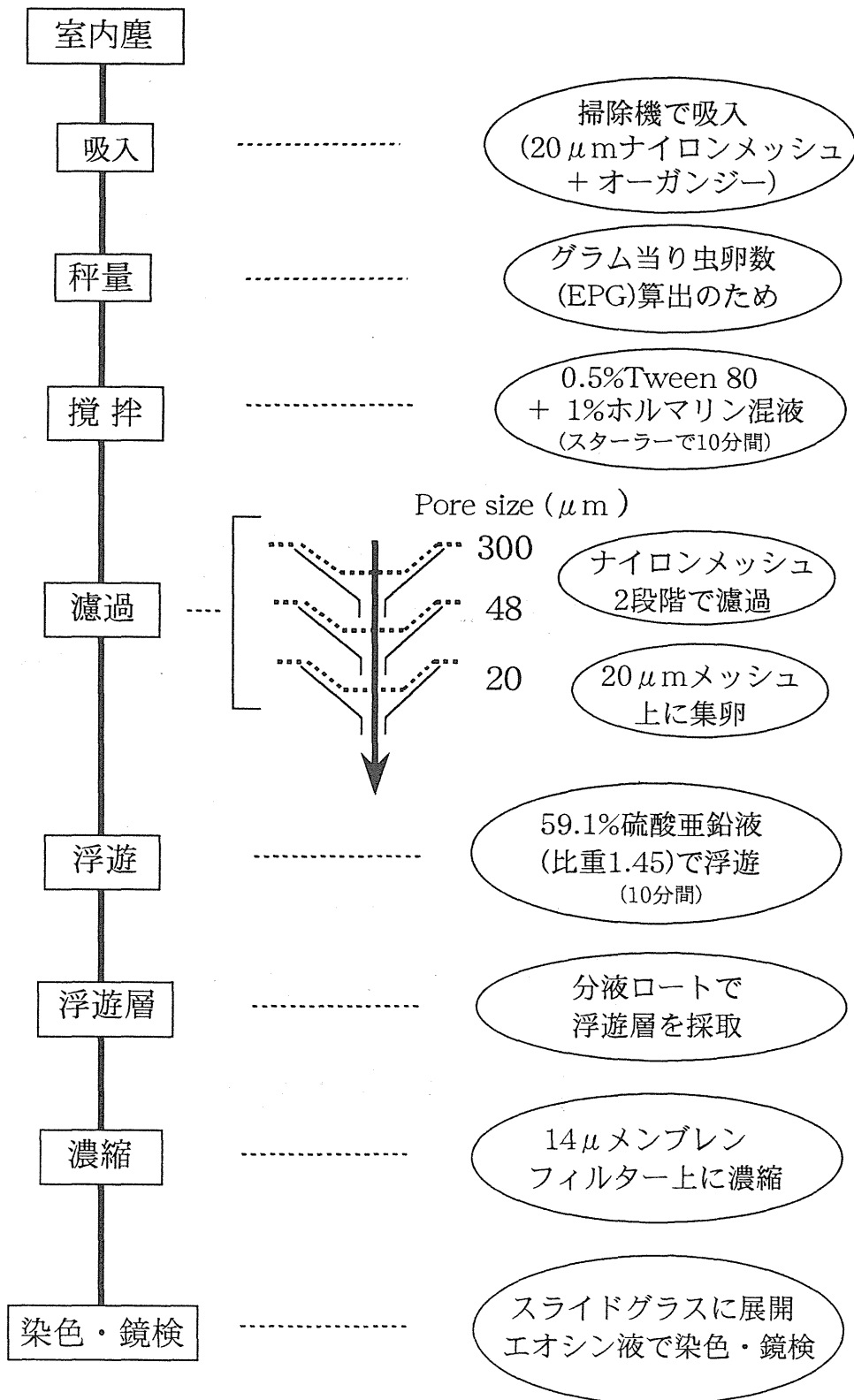


図2. 道東産多包条虫卵の比重分布

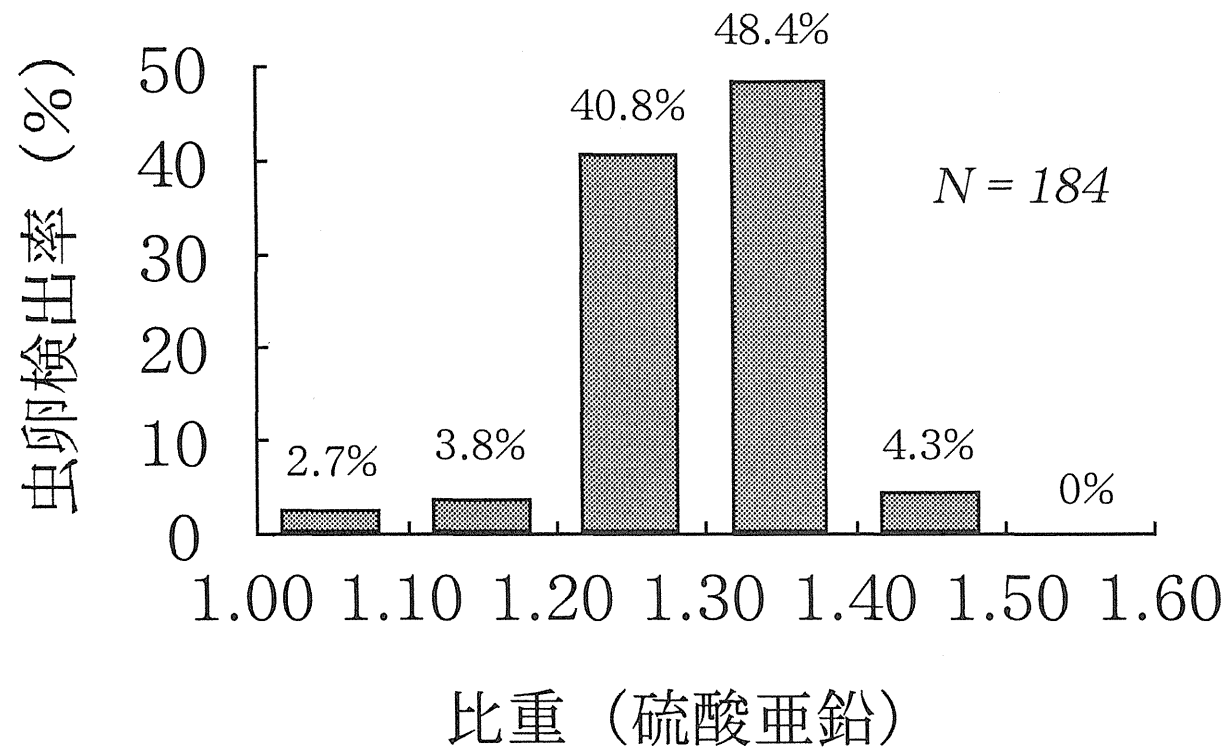


図3. ナイロンメッシュによる多包条虫卵の捕集率

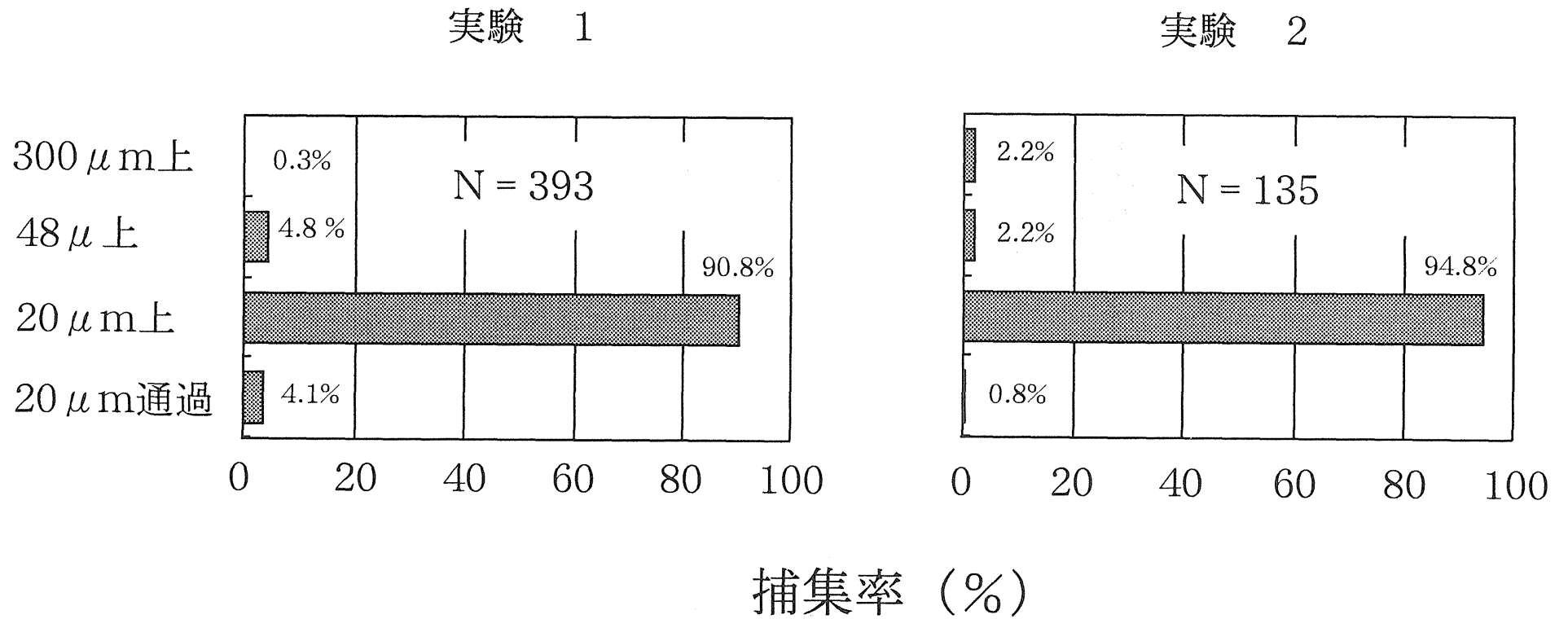


図4. 道東地方の1民家の室内塵から検出された
多包条虫卵に酷似した虫卵

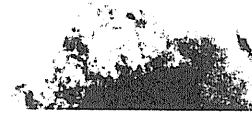


図5. 道東地方の民家の室内塵から
検出された松柏科の花粉

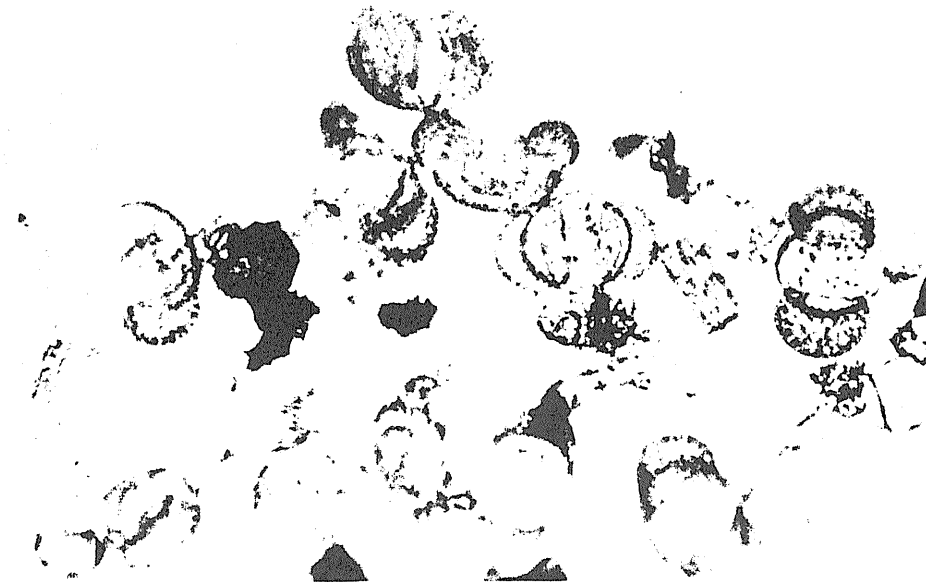


図6. 道東地方の河川流水から
検出された珪藻類

