

・ 頭部を切り離して行なう方法

頭部を切り離してから脳を取り出す場合には、切り離した頭部を保定器具に固定して行なう（参考資料の簡易保定器を参照）。頭部を切り離した体躯は体液の飛散に気をつけて速やかに焼却用の袋に入れる。

- (1) 動物の頸部皮膚を正中に切開した後、頭部を切り離す頸椎周囲の皮膚を切り開く。第2頸椎（軸椎）と3頸椎もしくは第3頸椎と第4頸椎の境界域周囲の筋肉をできるだけ剥ぎ取った後に「のこ」を使用して頭部を体躯から切り離す（図1）。



図1 頭部の切り離し

- (2) ドライバー等を利用して上顎と下顎に隙間を開ける（顎の筋肉が硬直して口蓋が十分に開かない場合には、ガーゼもしくはタオルを上顎と下顎に引っ掛けて反対方向に引くと安全に開口できる）。



図2 「顎固定板」を顎に挿入して頭部を保定器に固定するために口蓋を開ける

(3) 頭部を簡易保定器に固定する。



・小型犬は下顎の厚みが薄いので下顎の下に適切な台をおくと固定がしやすい。

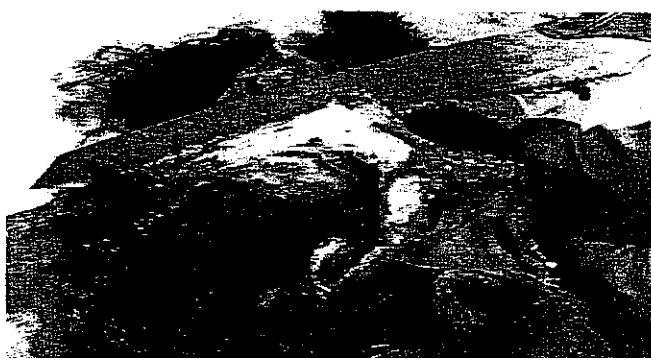
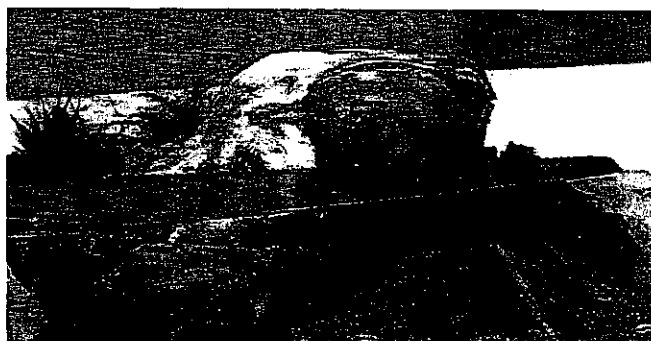
(4) 頭部の皮膚を切開する。



(5) 頭部の筋肉を取り除く。



- (6) 頭部に「のこ」を入れる。「頭部の皮膚」を切開して「側頭部と後頭部の筋肉」を十分に剥ぎ取った後に、「のこ」を眼球の真上で保定器の板面に水平に刃をあてて頭骨に切り込みを入れる。「のこ」の刃の高さを変えないで、頭部を一周するように切り込みを入れていく。



- (7) 「のこ」の切り込みが、頭部を一周したら頭蓋をピンセット等でこじ開ける。頭蓋に脳の硬膜が付着している場合には脳を傷つけないようにハサミとピンセットで硬膜を切り取る。次に、脳を持ち上げながら脳底部に繋がる脳神経を1つずつ切り離す。

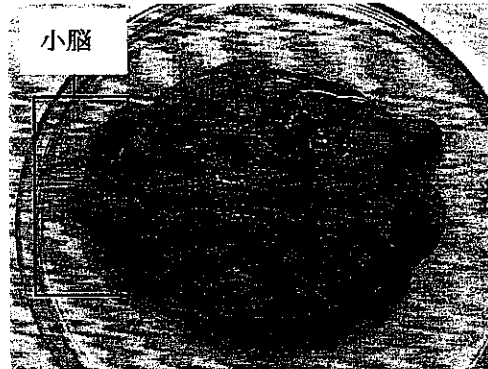


- (8) 脳を脳底部から切り離したら、脳を舌圧子やスパーテル等で持ち上げて、検体のラベルを貼ったペトリ皿か紙皿に載せる。取り出した脳は、輸送用の安全な容器に入れて検査室に運ぶ。

3) 検査部位の採取

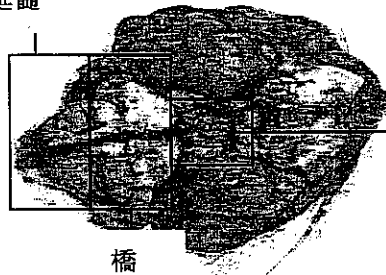
死亡および殺処分をおこなった検体から、脳幹部3ヶ所（延髄、橋、視床）、小脳、海馬それぞれを採取して直接蛍光抗体法を行なうために必要なスタンプスメアーを作成する。検査材料の採取した残りの脳幹部、小脳および海馬は、追検査や確定診断が必要となった場合のために凍結保存（-80℃）しておく。

摘出した脳の上側面（右が前方）



摘出した脳の底面（右が前方）

延髄



橋

視床：橋に続く脳幹部の先端部背側に位置する（写真では、脳幹部先端部腹側の下垂体・乳頭体を示している）。

右側の脳半球を切開して海馬を示す



4) 作業終了時の消毒等

解剖に際して発生した動物の残骸と汚染タオル類は、焼却処分用のビニール袋等に密閉して入れる。

- (1) 使用した器具は消毒液に置いて、作業面を消毒液で拭いて洗剤と温水で洗浄する。
 - (2) 汚染された可能性のある「衣服」や「用具」は、家庭用の「消毒用石鹼」や「洗濯用洗剤」を使用した洗濯または「オートクレーブ滅菌」により狂犬病ウイルスを不活化することが可能である。
 - (3) 所有者がいとわなければ衣服などは「焼却」する。
 - (4) 狂犬病の動物を飼育および解剖を行った部屋の床等は、「1%の温湯石鹼水」や「洗浄液」もしくは「第4級アンモニア塩」によって狂犬病ウイルスを不活化することが可能である。
- (注) 洗剤等の噴霧により部屋を清浄化する前には、床や壁に付着した感染動物の飛散組織等の有機物を洗剤で十分に取り除いておくことが重要である。ちなみに米国の動物検疫所の洗濯機は、通常の洗濯石鹼や家庭用の洗剤を63℃で使用している。

5) ウイルス抗原の検出 (直接蛍光抗体法)

1. 摘出した「脳幹部 (視床、橋、延髄)」、「小脳」と「海馬」組織を 1cm 角大に切り出す。
2. 切り出した組織を舌圧子もしくは折り曲げたペーパータオルやスパーテル (背面) などの上に置き、これにスライドガラスを押しあてて脳の組織を付着 (スタンプ) させる。摘出した脳のそれぞれについて 3~4 枚の標本を作成しておく。組織に付着している血液は蛍光観察時の非特異反応となりやすいので十分に除去しておく。
3. 検査する組織をスライド (スタンプ標本) にスタンプした後に、スタンプ面を新しいペーパータオルに押し付けてスライドに付着した組織が厚くならないようにする。スタンプ標本が厚いと蛍光観察が行ないにくく、非特異蛍光の原因となる場合がある。
4. 作成したスタンプ標本を「安全キャビネット」内で十分に風乾する。
5. 乾燥したスタンプ標本を「冷-100%アセトン (-20°C)」を満たした染色瓶等に浸して固定を行なう (30 分以上)。
6. 固定の終了したスタンプ標本をアセトン溶液から取り出して十分に乾燥する (風乾したスライドは、-20°C で 1 ヶ月は保存可能であるが、抗原性が失活する恐れがあるので蛍光染色は標本作成後ただちに行なう)。
7. FITC 標識された検査用抗体 (検査キット) で蛍光染色を行なう。標識抗体をスタンプ標本上の組織片に重層し、遮光して室温で 30 分間染色を行なう (8 穴のスライドでは 1 穴あたり 100 μ l を使用)。検査に使用可能な市販抗体は国内で購入可能である (6: 参考資料の「市販されている検査用抗体」を参照)。
8. 蛍光染色後、スタンプ標本上の標識抗体を PBS (-) で軽く洗い流した後に十分量の PBS (-) で 2 回洗浄を行なう (室温で 10 分間、2 回。また、洗浄瓶を利用した方法も可能である)。
9. PBS (-) で洗浄した後にスタンプ標本を蒸留水に 2-3 秒浸して塩を除去してから風乾を十分に行なう。
10. グリセリンで封入を行なった後に、蛍光顕微鏡でウイルス抗原の検査を行なう。

標識抗体 (Rabies FITC KIT) の調整

添付されている説明書にしたがって標識抗体を溶解する（原液は、小分けして冷凍保存しておく）。使用時には、標識抗体の原液を PBS（－）で x50 倍に希釈してから 1%エバンスブルー水溶液を 1/500 の割合に加えて（2 μ l/ml）使用液とする。

（注）陰性コントロールとして健康なイヌの脳から採取した組織のスタンプ標本を必ず作成して同時に蛍光染色を行なう。

市販されている検査用抗体

抗体名：「Rabies FITC Conjugate Kit」

製造元：FDI（フジレビオアメリカ）

販売：（株）テイエフビー

本社（電話：03-5951-1181）
171-0021、豊島区西池袋 1-18-2、フジヒサビル西 1 号館 5 階

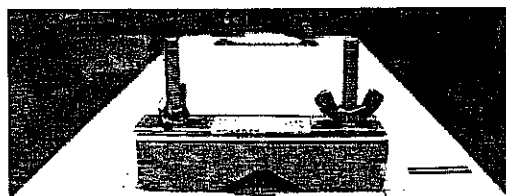
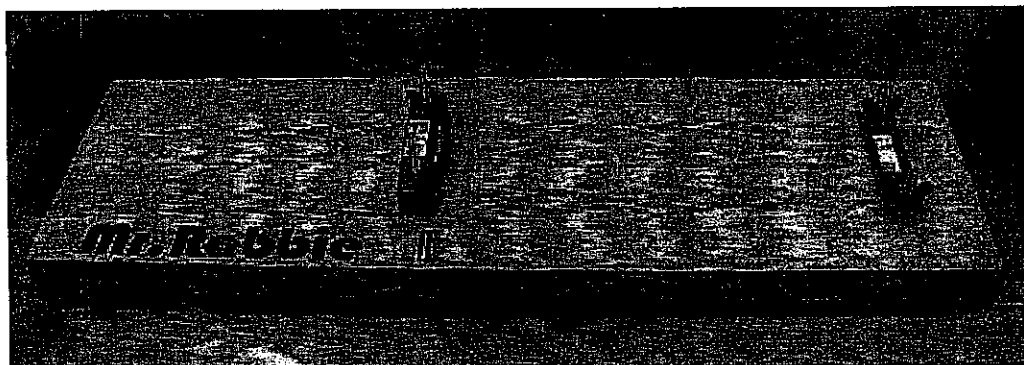
東京事業所（電話：03-3933-1022）
179-0081、練馬区北町 3-10-1

テイエフビーカスタマーズセンター（電話：03-5922-2821）

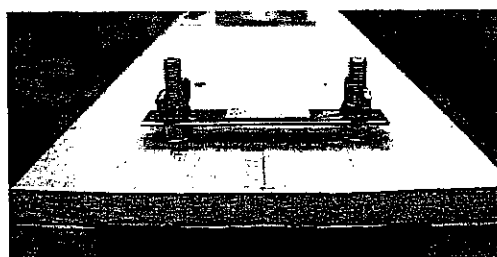
6) 参考資料

簡易保定器

イヌの頭部保定器具 (試作2号/佐藤式)



小型犬の頭部固定用



中型犬以上の頭部固定用

顎固定板の長さやボルトを立てる位置(幅)は、保定するイヌの顎の横幅に応じて調整を行なうと固定がしやすい。小型から中型犬では8cmの幅で固定が可能であった。大型犬では12cm前後の幅が必要とされるが、使用施設で収容頻度の高い犬種に応じた組み合わせを検討することが望まれる。

・材料と費用 (家庭用大工用品店で購入)

保定台	ラワン材 (14x180x600mm) :	680 円
保定台足	ラワン材 (14x30x600mm x 2) :	260 円 (130 x 2)
顎固定板	ステンレス製 :	300 円
顎固定板固定用部品 (ステンレス製)		
(ナット x 2、ワッシャー x 2、ボルト x 1) x 2 :		500 円前後

総額 : 1,600 円相当

保定器を使用した頭部の固定

- (1) 「頭部を切り離して行なう方法」によって切り離された頭部に「顎固定板」を挿入して頭部を保定器に固定する。

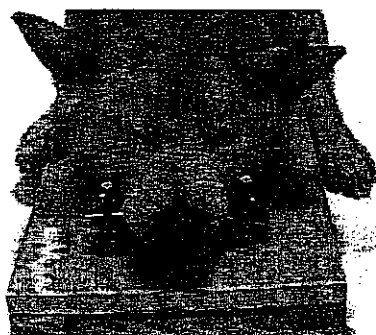


「顎固定板」を犬歯の後ろに挿入



顎に挿入した「顎固定板」を頭部保定台のボルトに通してナットで固定

- (2) 本保定器は、「頭部を切り離さないで脳を取り出す」場合の頭部の固定にも使用可能である。頭骨に「のこ」で切り込みを入れる際に、頭部を手で押さえずに行なうことが可能となる。



「顎固定版」で頭部を固定している状況

- (注) 保定器を試作した場合には必ず、作成した保定器具を使用して「頭部の保定」と「脳の摘出」を行ない検査に至るまでの一連の作業を経験して緊急時に安全な作業が可能にしておく。

参考文献と狂犬病に関するホームページアドレス

- ・ 狂犬病対応ガイドライン 2001、厚生労働省健康局結核感染症課、2001年10月18日、第1版第1刷。
- ・ Meslin, F.-X.、Kaplan, M. M.、Koprowski, H.、eds. : Laboratory techniques in rabies. 4th ed.、WHO Geneva、1996.
- ・ WHO : 8th Report of the WHO Expert Committee on Rabies、 Technical Report Series、 No. 824、 Geneva、 1992.
- ・ 国立感染症研究所病原体安全管理規程、平成11年4月、国立感染症研究所
- ・ Trimarchi, C. V. and Briggs, D. J.、 The diagnosis of rabies、 In: Rabies.、 Guidelines for Medical Professionals、 Veterinary Learning systems、 a division of MediMedia、 USA、 55-66、 1999.
- ・ Bingham, J. and van der Merwe, M.、 Distribution of rabies antigen in infected brain material : determining the reliability of different regions of the brain for the rabies fluorescent antibody test、 Journal of Virological Methods、 101:85-94、 2002.
- ・ 狂犬病、編集: 山崎修道、井上 栄、大久保一郎、神谷 斎、倉田 毅、小池麒一郎、竹内 勤、千葉俊三、箕輪眞澄、感染症予防必携、日本公衆衛生協会、88-91、1999.
- ・ 井上 智 : 狂犬病と狂犬病ウイルス. 遺伝 : 53(2)、14-19、1999.

WHO の狂犬病に関するホームページ (RABNET)

[<http://oms2.b3e.jussieu.fr/rabnet/>]

米国 CDC の狂犬病ホームページ

[<http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/rabies/>]

仏国パスツール研究所の狂犬病ホームページ

[<http://www.pasteur.fr/recherche/rage/init-eng.html>]

動物由来感染症を知っていますか?

[<http://www.forth.go.jp/mhlw/animal/>]

人と動物の共通感染症研究会

[<http://www.hdkkk.net/>]

動物検疫所—世界における伝染病発生状況目次

[<http://www.maff-aqs.go.jp/tokei/index.htm>]

世界におけるコウモリ由来感染症の実態とわが国におけるコウモリ対策の必要性

分担研究者： 神山 恒夫（国立感染症研究所 獣医科学部）

調査研究要旨：コウモリ（翼種目）は地球上で種類と数が最も多い哺乳類で、国内に棲息する約 100 種類の地上哺乳類のうちオオコウモリ科やキクガシラコウモリ科に属するコウモリなど、約 33 種が棲息している。

コウモリが原因となる感染症に関して調査し、わが国へ輸入されるコウモリとの関連を調べた。また、国内のオオコウモリ（Pteropus）に関する調査を行った。この結果、コウモリ由来感染症の国内発生に関する調査研究を進める必要があること、コウモリ由来感染症のわが国への侵入に関してリスクアナリシスを行う必要があること、および翼種目動物の輸入規制に関して検討を急ぐ必要のあると考えられた。

A 調査研究目的

コウモリ（翼種目）は地球上で種類と数が最も多い哺乳類で、国内に棲息する約 100 種類の地上哺乳類のうちオオコウモリ科やキクガシラコウモリ科に属するコウモリなど、約 33 種が棲息しているといわれる。

コウモリは狂犬病のほかにもさまざまな人獣共通感染症の感染源となっている可能性がある。しかし、これまで、日本ではコウモリが直接の原因となってヒトへうつったと考えられる感染症は報告されていない。しかし国外では多くの人獣共通感染症がコウモリ由来感染症として警戒されている。

コウモリが原因となる感染症に関して調査し、わが国へ輸入されるコウモリとの関連を調べた。また、国内のオオコウモリ（Pteropus）に関する調査を行った。

B 調査研究方法、結果および考察

コウモリ（翼種目）は地球上で種類と数が最も多い哺乳類で、国内に棲息する約 100 種類の地上哺乳類のうちオオコウモリ科やキクガシラコウモリ科に属するコウモリなど、約 33 種が棲息しているといわれる。中でもオオコウモリ（Pteropus）に対しては感染症との関わりで注目しなければならない。

疾病との関連が必ずしも明らかになっていないものも多いが、地球上には各種のオオコウモリ（Pteropus）が棲息している。世界のオオコウモリ（Pteropus）とそのおもな生息地を表 1 に示す。

表 1 世界のオオコウモリとそのおもな生息地

オオコウモリ（Pteropus）	おもな生息地
<i>Eidolon</i> （ストローオオコウモリ属）	アフリカ各地、アラビア半島南西部、マダガスカル
<i>Rousettus</i> （ルーセットオオコウモリ属）	アフリカ各地、中東、東南アジア
<i>Myonycteris</i> （クビワフルーツコウモリ属）	ケニア南東部、アンゴラ、ザンビア
<i>Boneia</i> （キタセレベスオオコウモリ属）	

<i>Pteropus</i> (オオコウモリ属)	ニューギニア、オーストラリア、インド、台湾、琉球諸島、東南アジア各地、太平洋諸島
<i>Pteralopex</i> (キツネオオコウモリ属)	太平洋諸島
<i>Acerodon</i> (スنداオオコウモリ属)	インドネシア、フィリピン
<i>Neopteryx</i> (コバフルーツコウモリ属)	インドネシア
<i>Styloctenium</i> (ストライプフルーツコウモリ属)	インドネシア
<i>Dobsonia</i> (ケナシフルーツコウモリ属)	インドネシア、オーストラリア、フィリピン
<i>Plerotes</i> (アンシエタフルーツコウモリ属)	アンゴラ、ザイール南部、ザンビア
<i>Hypsignathus</i> (ウマツラコウモリ属)	ガンビア、ザイール、アンゴラ北東部
<i>Epomops</i> (オナシケンショウコウモリ属)	アフリカ西部
<i>Epomophorus</i> (ケンショウコウモリ属)	アフリカ各地
<i>Micropteropus</i> (コケンショウフルーツコウモリ属)	アフリカ中南部
<i>Nanonycteris</i> (フェルトカンブコフルーツコウモリ属)	アフリカ中部
<i>Scotonycteris</i> (ポールフルーツコウモリ属)	アフリカ中部
<i>Casinycteris</i> (アンギンフルーツコウモリ属)	アフリカ中部
<i>Cynopterus</i> (コバナフルーツコウモリ属)	東南アジア、中国南部
<i>Megaerops</i> (オナシフルーツコウモリ属)	東南アジア
<i>Ptenochirus</i> (ピロードフルーツコウモリ属)	フィリピン
<i>Dyacopterus</i> (ダヤクフルーツコウモリ属)	インドネシア
<i>Chironax</i> (ズグロフルーツコウモリ属)	タイ南部、インドネシア
<i>Pentherot</i> (ルーカスコバナフルーツコウモリ属)	マレー半島、ボルネオ
<i>Thoopterus</i> (スウィフトフルーツコウモリ属)	インドネシア
<i>Aproteles</i> (ニューギニアフルーツコウモリ属)	ニューギニア東部
<i>Sphaerias</i> (ブランフォードフルーツコウモリ属)	インドからタイ
<i>Balionycteris</i> (ホシバネフルーツコウモリ属)	タイ、インドネシア
<i>Aethalops</i> (ヒメフルーツコウモリ属)	マレー半島、インドネシア
<i>Haplonycteris</i> (ローレンスフルーツコウモリ属)	フィリピン、
<i>Alionycteris</i> (ケナガフルーツコウモリ属)	
<i>Otopterus</i> (ルソソテングフルーツコウモリ属)	
<i>Harpyionycteris</i> (ハルピュイアフルーツコウモリ属)	
<i>Paranyctimene</i> (ニューギニアヒメテングフルーツコウモリ属)	
<i>Eonycteris</i> (ヨアケオオコウモリ属)	

我が国においてはコウモリ輸入に対して検疫や輸入規制等の法的措置は講じられていない。輸入数は年によって大きく変動しているが、輸入目的としては、展示のほかにペットとしての飼育が大きな目的とされる。

動物輸入業者に対する調査および財務省貿易統計によると、2000年~2002年には図1に示すコウモリが輸入されたことが記録されている。これによると、輸入されているコウモリはいわ

ゆるオオコウモリ (*Pteropus*) がほとんどである。しかし、貿易統計には記録されない1件あたり20万円未満の輸入を加えると、実際の輸入数はさらに増加する可能性もある。

これらのコウモリの病原体保有状況や産地における感染情報はほとんど知られていない。

これまで、輸入されたコウモリが国内でヒトの健康被害の原因となったとの報告はなされていない。しかし、国外では狂犬病(アメリカ他)、

ニパウイルス（マレーシア）、ヘンドラウイルス（オーストラリア）、リッサウイルス（イギリス他）、ヒストプラズマ（ブラジル他）、ベネズエラウマ脳炎、東部ウマ脳炎、チクングニア、リフトバレー熱、キャサヌール森林熱、レプトスピラ症、トリパノソーマ症、Q 熱、ヒストプラズマ症など、多くの感染症がコウモリ由来として知られている。

また、腎症候性出血熱ウイルスは韓国においてキクガシラコウモリなどによって保有されていることが明らかになっている。キクガシラコウモリはわが国にも多数棲息していることが知られているが調査研究は行われていない。

わが国が輸入しているコウモリの産出国にもヒトに感染しうる各種のコウモリ由来感染症が存在していることが知られている。

図 2-5 にはおもなコウモリ由来感染症である狂犬病、ヘンドラウイルス感染、ニパウイルス感染、およびリッサウイルス感染の 1997 年から 2001 年の間の感染者数を示す（年平均発生数）。

このうちオーストラリアでは、コウモリは狂犬病類似ウイルスを保有しているとの前提のもとに、コウモリに接触することの多い人に対しては狂犬病ワクチンの接種が行われている。また、アメリカ合衆国では原則的に国外からのコウモリの輸入は法律によって禁止されている。これらの国では例外的に研究等の目的でコウモリの輸入が許可される場合でも、厳しい書類検

査と、狂犬病とヒストプラズマ症を念頭においた検疫が実施されている。

一方、日本にはこのような対策は現在、全く存在していない。

コウモリ由来感染症のサーベイランス体制を確立するため、引き続き、コウモリの輸出入および検査態勢に関して情報を入手して分析するとともに、わが国と同様人獣共通感染症対策に力を入れている諸外国のサーベイランス体制を参考にすることは重要である。

沖縄県竹富町西表島におけるヤエヤマオオコウモリの生息状況調査

わが国に棲息するコウモリにおける疾病調査はほとんど行われていない。特に諸外国で問題となっているオオコウモリ類に関する調査が急がれる。

世界のオオコウモリ類のうち Pteropus（オオコウモリ）は南はオーストラリアから北はインドまで、また東は日本今で広い地域に棲息している。表 2 に日本に棲息しているオオコウモリを示す

これらわが国に棲息するオオコウモリ（Pteropus）を対象として、それがヒトの感染症の原因となる可能性について調査する必要がある。

表 2 日本に棲息しているオオコウモリ（Pteropus）

和名	学名	生息地
オガサワラオオコウモリ	<i>Pteropus pselaphon</i>	小笠原諸島
クビワオオコウモリ	<i>P. dasymallus</i>	
エラブオオコウモリ	<i>P. d. dasymallus</i>	鹿児島県口永良部島、トカラ列島
オリイオオコウモリ	<i>P. d. inopinatus</i>	沖縄本島と周辺の小島
ダイトウオオコウモリ	<i>P. d. daitoensis</i>	北大東島、南大東島
ヤエヤマオオコウモリ	<i>P. d. yayeyamae</i>	宮古島、八重山諸島

西表島にはクビワオオコウモリ (*Pteropus dasymallus*) の亜種であるヤエヤマオオコウモリ (*P. d. yaeyamae*) が多数棲息しているとされている。

コウモリが原因となる動物由来感染症感染症サーベイランスシステムの開発の一環として沖縄県竹富町西表島におけるヤエヤマオオコウモリの生息状況を調査した。調査は平成 14 年 7 月 2 日から同年 7 月 5 日までの 4 日間行われた。調査担当者は神山恒夫 (分担研究者) および木村昌伸 (研究協力者、感染研) であった。

現地での聞き取り調査から、ヤエヤマオオコウモリの飛来数が多いとの情報が得られた大原地区、豊原地区、古見地区、祖納地区、および白浜地区でオオコウモリ飛来数とヒトおよび人家等との距離などの調査を行った。調査には西表在住の自然観察家の協力が得られた。

夜間および昼間の調査の結果、大原地区においては数頭のオオコウモリを容易に視認することが可能であった。しかし調査前に予想していたものより生息密度は低かった。飛来樹木から 20-30 メートルの範囲には人家、観光土産品点、食堂の存在が確認された。これらのオオコウモリとヒトとの距離は数メートルにまで接近することがあると思われた。またオオコウモリの排泄物がヒトを汚染する機会もあると思われた。しかしヒトへの健康危害の原因動物としての意義に関しては不明であった。

一方、大原地区以外では棲息個体は確認されなかった。大原地区以外で個体観察が失敗した原因としては、ヤエヤマオオコウモリが好むとされる果実の少ない時期であったことや調査時に偶然大型台風が西表島付近を通過して天候条件が悪かったことが考えられる。

このため、調査期間、調査時期、調査地を代えてさらに調査する必要性が残されている。

また、本調査の結果と経験をふまえてコウモリおよびヒトの棲息・居住密度が濃密とされている沖縄本島などでのサーベイランスシステムを確立する必要がある。

E 結論と健康危機情報

コウモリ由来感染症の国内発生に関する調査研究を進める必要がある。

諸外国におけるコウモリ由来感染症調査を行い、わが国への侵入に関してリスクアナリシスを行うべきである。

翼種目動物の輸入規制に関し、検討を急ぐべきである。

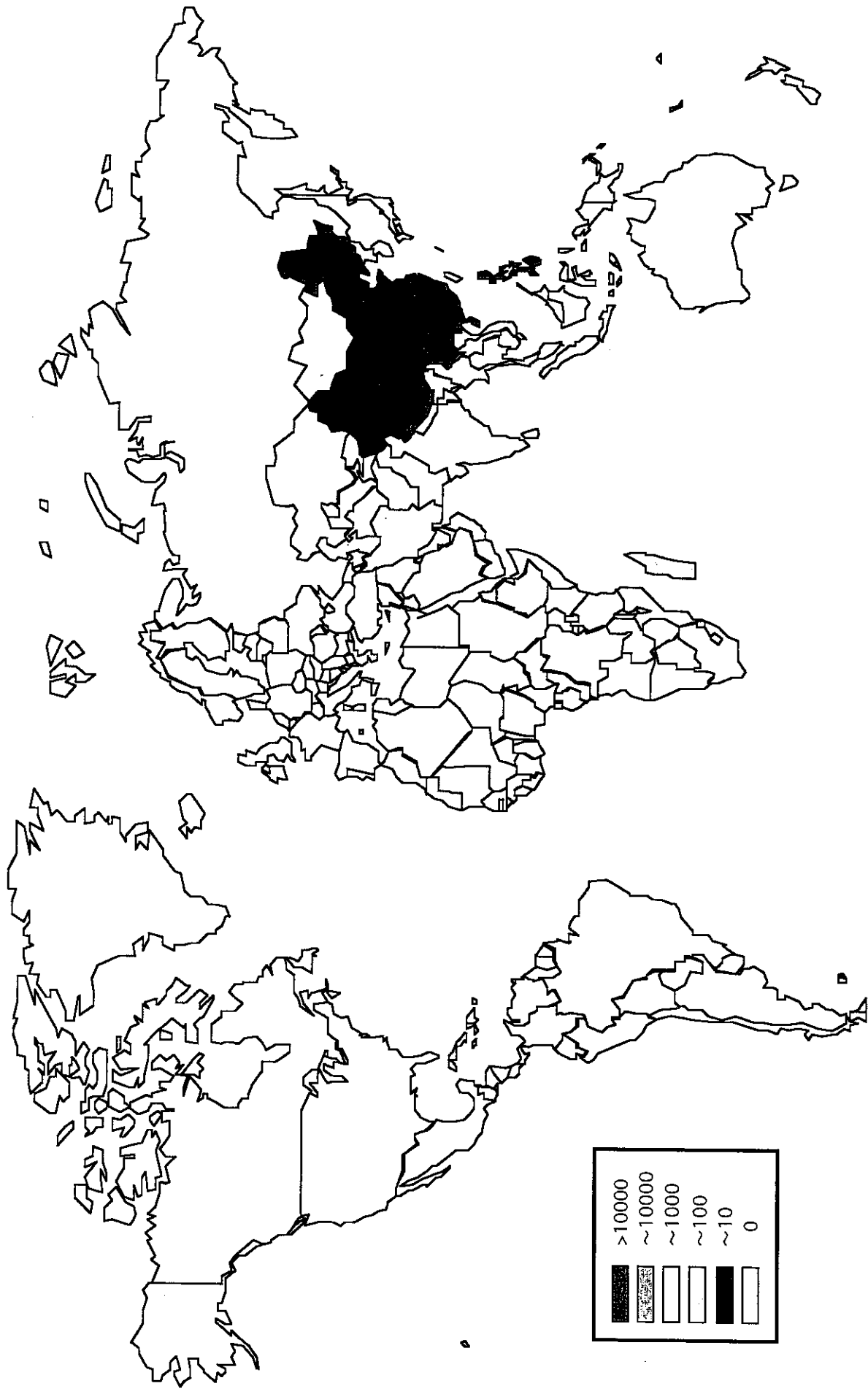


図1 コウモリの輸入頭数(2000~2002)

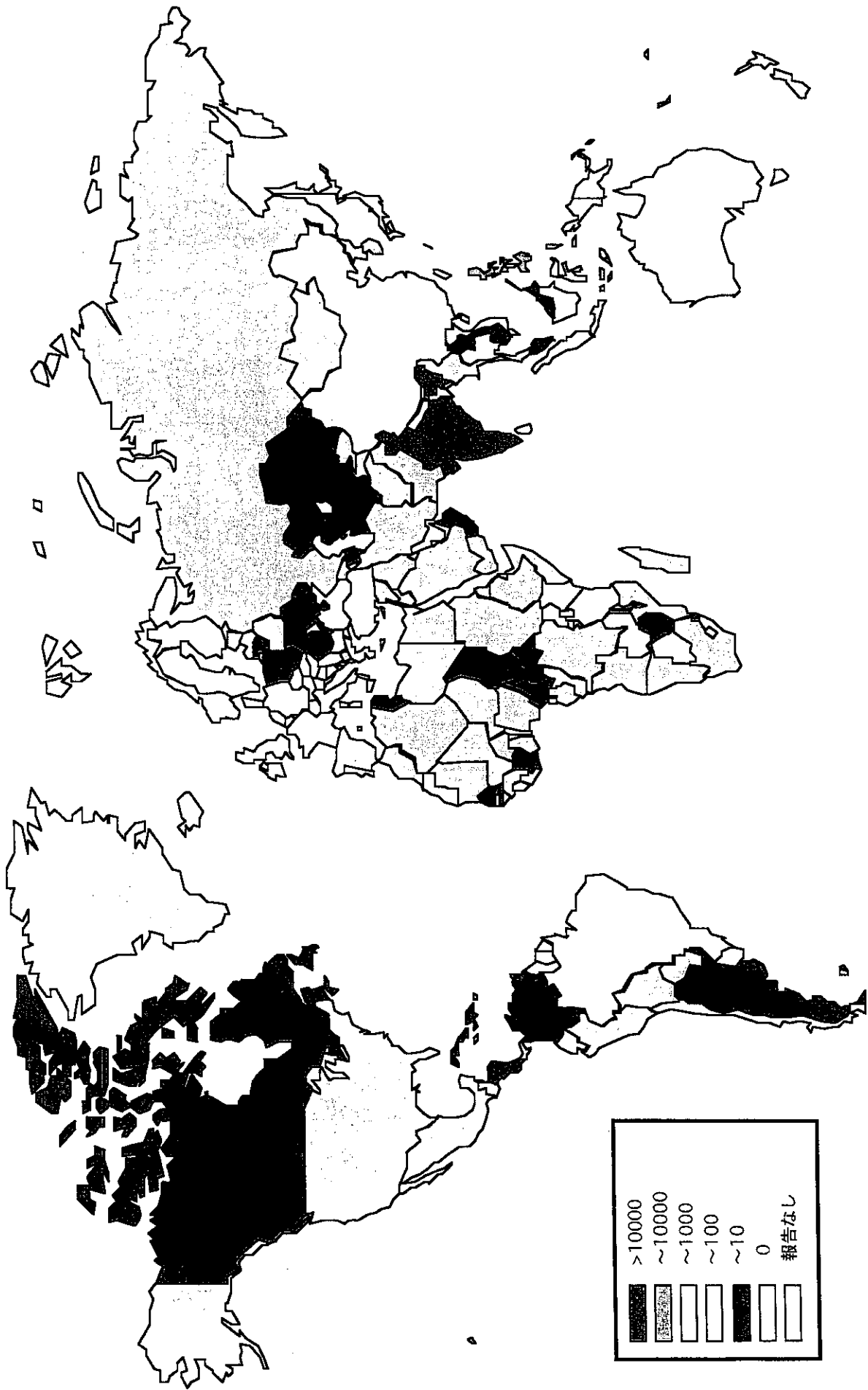


图2 狂犬病患者発生数(GIDEON 1997~2001)

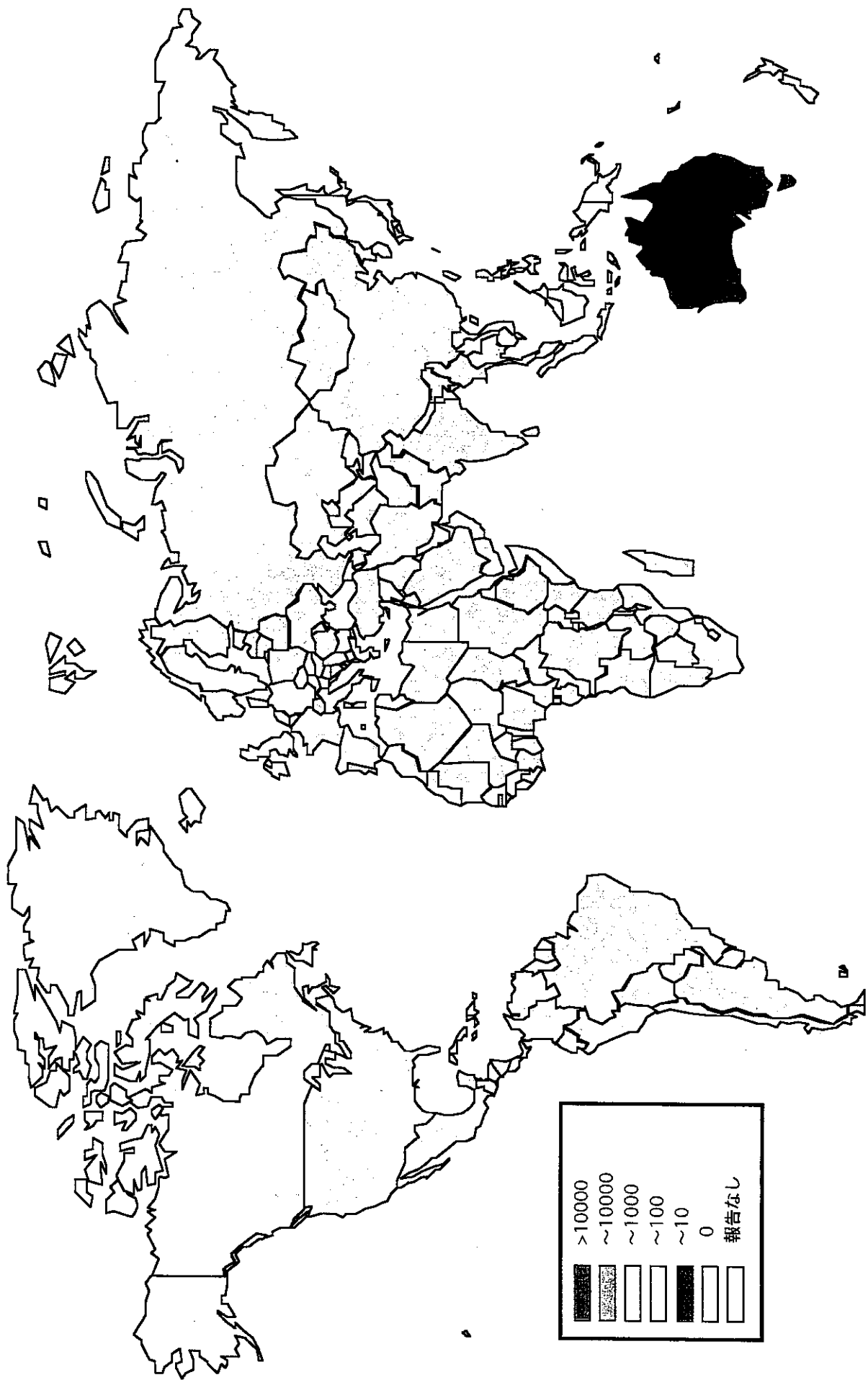


図3 ハンドウイルス感染患者発生数(GIDEON 1997~2001)

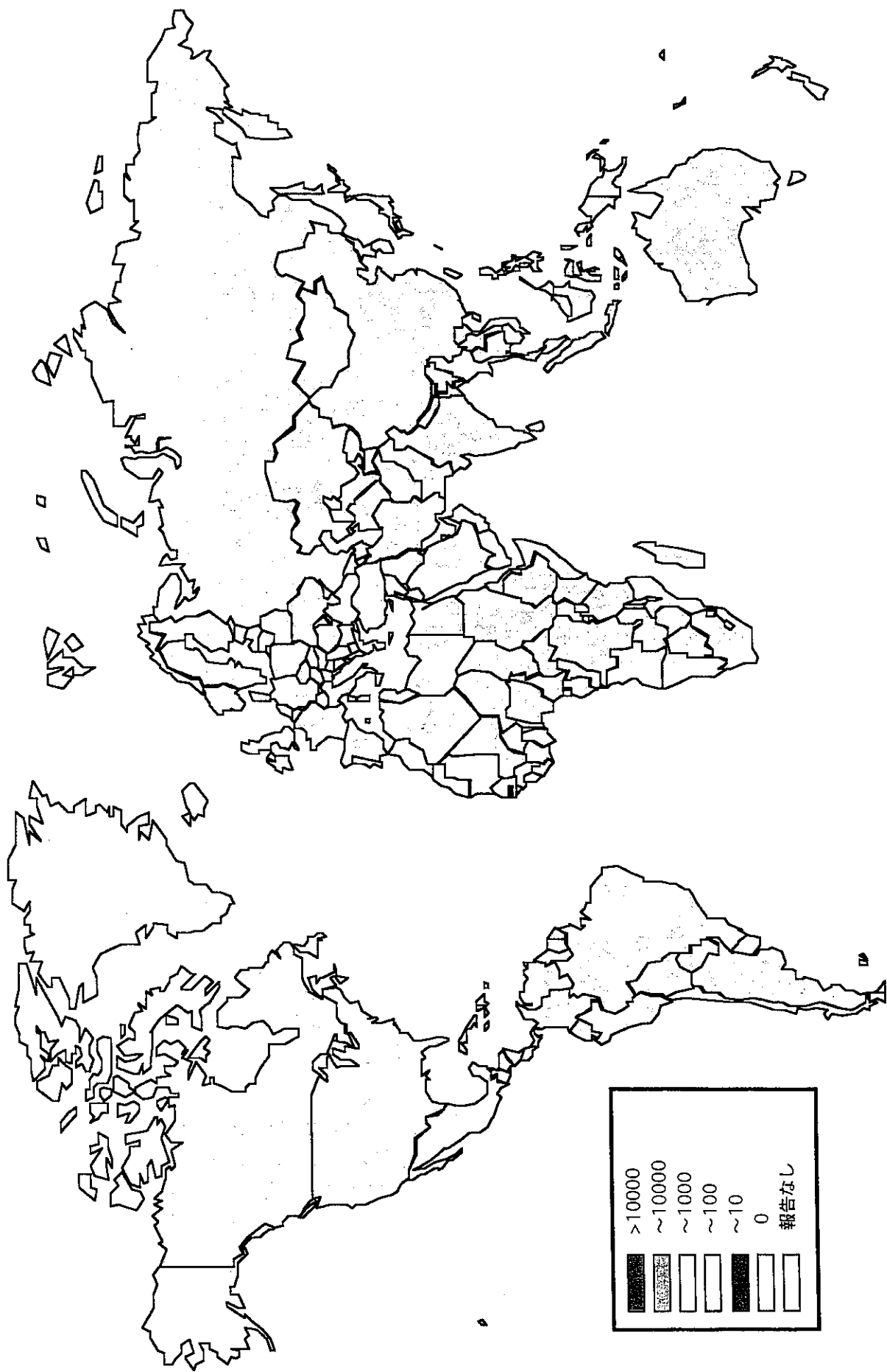


図4 ニパウイルス感染者発生数(GIDEON 1997~2001)

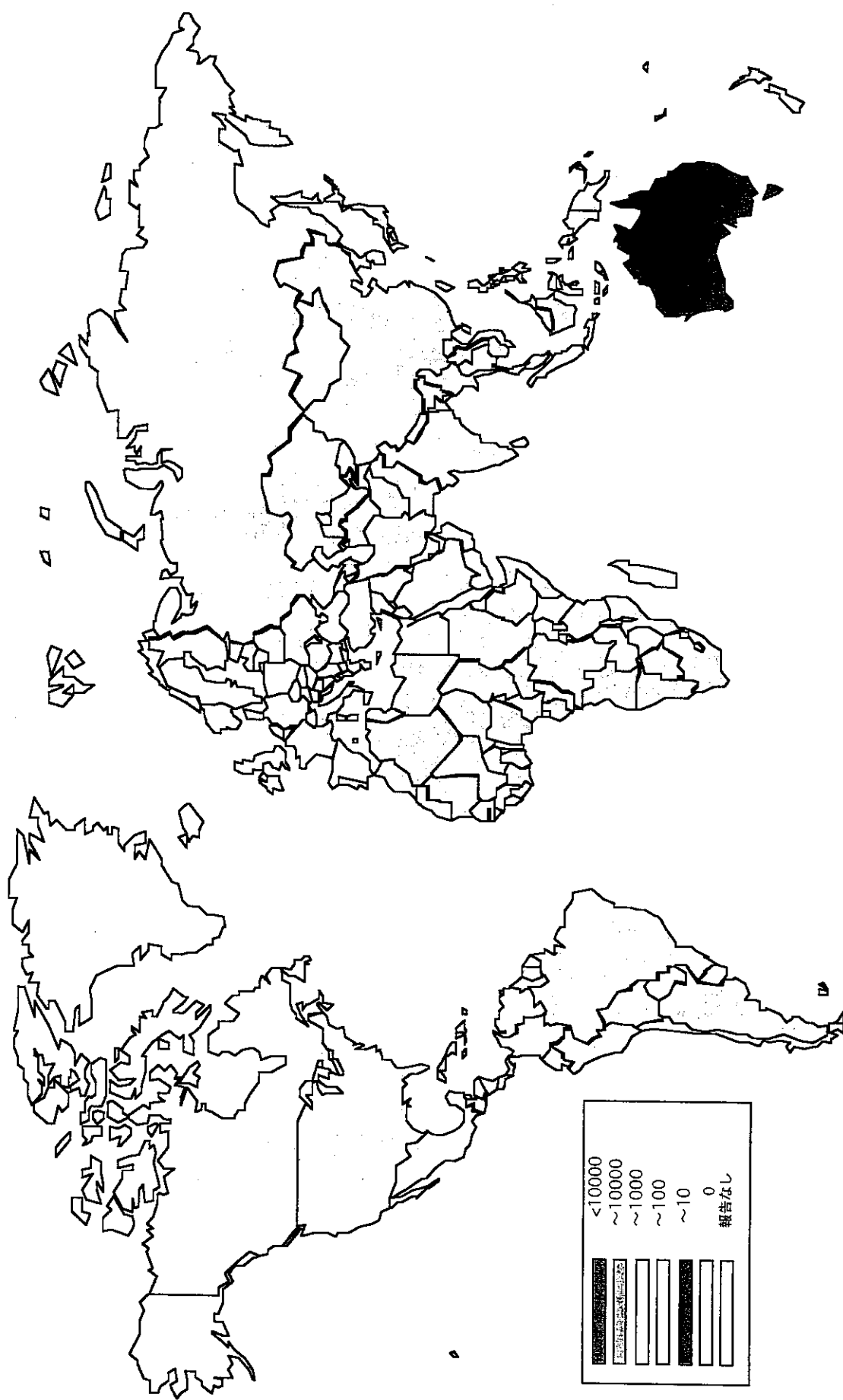


図5 リッサウイルスの患者数(GIDEON1997~2001、年平均)

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

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
岡部信彦	動物由来感染症は今なぜ重要か	感染と抗菌薬	5	343	2002
山田章雄	動物由来感染症のサーベイランス	感染と抗菌薬	5	348	2002