

# エキノкокクス症 (犬)

Echinococcosis

神谷 正男\*

## はじめに

寄生虫・エキノкокクス症は人体内でその幼虫が無性的に肝臓などで増殖し、放置すれば90%以上が死亡する深刻なズーノーシスである。北海道では2004年上半期20名の患者が報告され、そのうち半数は都市部、札幌からの報告であった。これまで、わが国で術後摘出された病巣で確認された患者は500名を超えているが、近年、増加傾向にある。飼い犬が本州へ移送された例も明らかになってきたため人体への感染源として重要視されるようになった。2004年3月、「ムツゴロウ動物王国」の東京都移転で、動物とともにエキノкокクスが本州へ伝播することを危惧した自治体（あきる野市）の呼びかけで対策委員会（委員長：吉川泰弘東大教授）が設置され、東京都獣医師会等の専門家が協力して、検疫などリスク・コミュニケーションが住民参加のもとに実施された（図1）。

感染症法が2003年11月に改正され、人体エキノкокクス症は新4類感染症に分類された。それまで、診断後7日以内の届出であったが、ただちに届出が義務づけられることになった。また2004年10月、世界に先駆けて獣医師の責務を明確にした動物由来感染症対策「エキノкокクス症：犬の届け出」が施行された。2005年1月に、第1例目の届出が北海道小動物獣医師会会員によってなされ、ガイドライン<sup>1,2)</sup>にしたがって適切なリスク管理が実施された。

わが国ではこれまでにBSE, SARS, 鳥インフルエンザ, ウエストナイル熱など、世界的に知られる感染症の対策が重点的に取り上げられてきたが、これらで犠牲者は発生していない。一方、エキノкокクス症は国内においてすでに流行があり、多数の犠牲者がでており、新たな患者数は増加傾向にある。これまでこの感染源対策が、必ずしも十分であったとは言えない。今後は法的裏付けを得て流行拡大防止、その縮小、根絶など危機管理へ向けた取り組みに獣医師の果たす役割は大きい。

## 関係法律名

4類感染症（ただちに届出：ヒトならびに感染源動物としての犬）

## 疫学（発生状況）

わが国での最初の人体例（単包条虫による単包虫症）は19世紀末に紹介されているが、20世紀中頃から多包条虫による人体例（多包虫症）が、北米アラスカ、ヨーロッパ中央部や北海道など世界的に流行し、問題になってきた。

現在、北海道で問題となっているエキノкокクスは多包条虫である。主に野ネズミを中間宿主として野生動物間で流行し、北半球に広く分布し、約30万人の患者が推定されている。一方、単包条虫の中間宿主は主に有蹄家畜であり、分布は全世界的である。畜産の盛んな国で問題となっており、患者は約300万人と推定される。わが国では、食肉検査所において輸入牛からまれに検出されたり、人体の輸入症例が散発的に報告されている程度で、多包条虫ほど問題とはなっていない。ここでは主に多包条虫について述べる。

多包条虫症は、1936年から礼文島、1966年から道東に限局しているものと考えられていたが、1990年代には全道に蔓延していることが明らかとなった。北海道の調査では、犬で約1%に感染が認められ、感染例は野犬だけでなく飼い犬においても見られる。拾った犬、大きな敷地や牧場内で放し飼いの犬、主に室内飼育であるが毎日の散歩やまれに郊外に連れて行く犬、緊急避難時に放されしばらく野犬状態の犬の感染例が知られている。猫でも感染が報告されており、北海道では約5.5%の成虫寄生が認められているが（表1）、虫卵排出は確認されていない。

北海道外へ移動した犬で、エキノкокクス虫卵を排泄していた犬が発見されている。多数の飼い犬が北海道から本州へ搬出されており、観光などで一時的に北海道に滞在する犬も

\* OIEエキノкокクス症リファレンスラボラトリー（札幌市北区北21条西11丁目北海道大学大学先端科学技術共同研究センター内 〒001-0021）、酪農学園大学環境システム学部（江別市文京台緑町582 〒069-8501）



図1 リスク・コミュニケーション

表1 北海道のエキノコックス終宿主の剖検調査 (1966～2002年度の総計)

動物	感染数 / 剖検数	感染率
キツネ	4,393 / 23,462	18.7%
犬	99 / 9,881	1.0%
猫	5 / 91	5.5%
タヌキ	1 / 82	1.2%

\*1983年以降虫体の検査は小腸下部(回盲部上方約30cm)について行われている。北海道保健福祉部のデータより

含め、本州へ多包条虫感染犬が移動し、流行地が拡大する可能性がある。

病原体

エキノコックス (*Echinococcus*) は、多包条虫 (*E. multilocularis*)、単包条虫 (*E. granulosus*) など、4種に分類され、いずれも人獣共通寄生虫である。成虫は体長4mm前後の微小な条虫であるが(図2)、幼虫は中間宿主(ネズミ、ヒトなど)の肝臓を中心に無性増殖し、巨大な病巣を形成する。エキノコックスの学名はEchino(=棘のある)coccus(=球状のもの)に由来する。幼虫形(包虫)がそのまま採用されている。

犬は多包条虫の終宿主であり、原頭節を保有する野ネズミ(中間宿主)を捕食して感染する。感染後原頭節は小腸粘膜に

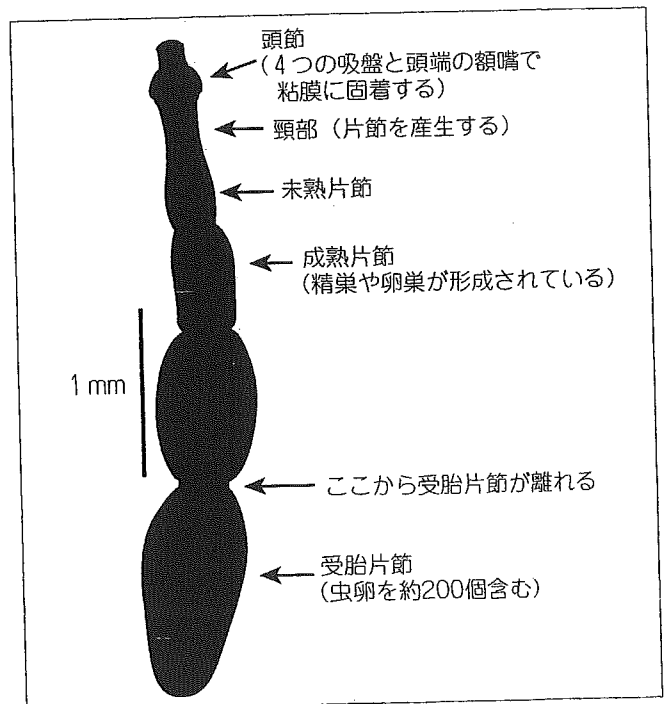


図2 エキノコックスの成虫(模式図)

頭節で吸着し、片節を形成し、成熟すると体長2～4mmの小形の条虫となる。

成虫の前端には、多数の小さな鉤のある額嘴と4つの吸盤のある頭節がある。頭節に続き細い頸部があり、その後3～5の片節がつながっている。後端の受胎片節には200～300個の虫卵を含む。この最終片節が離脱し、虫卵が糞便とともに

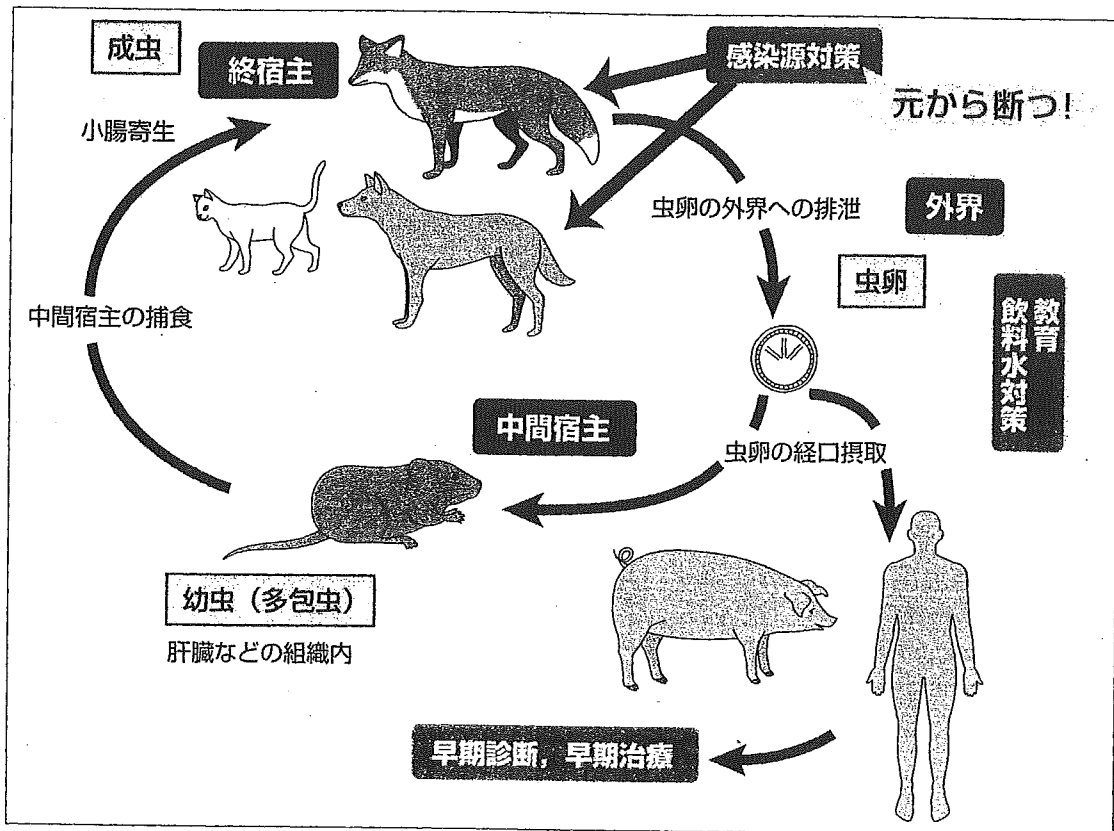


図3 多包条虫の生活環



道立衛生研究所 八木欣平氏 提供

図4 犬における臨床症状

通常は無症状で、普通の硬い便に加えて粘液の塊を排泄したり、まれに下痢便を排泄する。成虫が糞便とともに排泄される場合もあるが、小形の虫体なので、顕微鏡で観察しないと判別不可能である。

外界へ排泄される。頸部では新たな片節を産生し、未熟片節、成熟片節を経て、受胎片節となる。感染後1カ月(早い例では26日)ほどで虫卵が糞便とともに排泄されるようになる。

### 感染経路

終宿主=捕食者(肉食獣:犬,キツネなど)と中間宿主=被食者(草食獣:ネズミなど)の間で伝播している<sup>3)</sup>。

自然界においては、キツネ(終宿主)と野ネズミ(中間宿主)間の生活環が主であるが、犬(終宿主)もヤチネズミなどの野ネズミを捕食して感染する。野ネズミの肝臓に寄生する多包虫(多包条虫の幼虫)に含まれる多数の原頭節が、犬やキツネの小腸に定着し、成虫となる。原頭節の経口摂取後約1カ月で成虫となり、糞便とともに虫卵が排泄されるようになる。2~3カ月でほとんどの虫体は小腸から排泄されるが、一部の虫体は半年ほど残存することがある。

ヒトは中間宿主で、ヒトからヒトへも、ネズミからヒトへも感染しない。ヒト、ブタ、ウマなどが感染するのは、食物などを介して終宿主動物であるキツネや犬の糞便に排泄されるエキノコックス虫卵を経口摂取する場合にのみ感染する(図3)。

### 症状・診断・治療

#### 1. 犬の場合

##### (1) 症状

成虫はその頭節で小腸粘膜に吸着するのみで、固有層に侵入することはないので、通常、症状を示さない。まれに、下痢や粘血便が見られる。その際、1~4mm程度の細長い白色の虫体を排泄することがある。糞便中にエキノコックス様の虫体が発見された場合は、生殖孔、頭節、片節および虫卵の形態観察により同定が可能である(図4)。

## (2) 診断

感染しても無症状なため、流行地において感染した可能性のある犬については以下の検査を受けることが奨められる。なお、野ネズミのすべてが感染しているわけではないが、流行地では、野ネズミを食べた、あるいはその可能性のある犬は「感染した可能性のある犬」と考えられる。野ネズミの捕食頻度が高いほど感染する確率も高い。

糞便内のエキノコックス抗原をサンドイッチELISAで検出する方法が開発されてきた。モノクロナール抗体EmA 9を用いたサンドイッチELISAは、糞便を加熱し殺卵後検査できることから安全で、感染後数日で抗原検出による早期診断が可能である。また、従来の方法では排泄虫卵が少数で検出できない時期の診断もこのサンドイッチELISA法では診断可能である。さらに、駆虫後3日以内に陰転するので駆虫効果の判定にも有効である。この検査は「環境動物フォーラム」で実施されていて、感染犬に対する迅速なリスク管理に役立っている。

糞便の虫卵検査法としては、蔗糖液浮遊法もしくは蔗糖液浮遊法とメッシュ濾過法の組み合わせがある。テニア科虫卵の陽性例は感染の可能性があり、迅速な対応のためにも虫卵検査は重要である。テニア科虫卵が検出された場合は、確定診断のためにDNA検査を用いる。PCR-RFLP法によりエキノコックス種同定が可能である。

糞便中にエキノコックス様の虫体が発見された場合は、専門家に同定を依頼する。頭節、片節および虫卵の形態観察により確定診断が可能である。

### \* 検査項目

- ・ 糞便の抗原検査 (スクリーニング)  
例: サンドイッチELISA法
- ・ 糞便の虫卵検査  
例: 蔗糖浮遊法もしくは蔗糖浮遊法とメッシュ濾過法の組み合わせ
- ・ 虫卵のDNA検査 (確定診断)  
例: PCR法およびPCR-RFLP法

### \* 検査のポイント

犬の糞便中にテニア科条虫卵が検出された場合は、エキノコックスの可能性があるので、検査者も飼い主も注意を要する。エキノコックス様の虫体が発見された場合は、生殖孔の位置は種同定に重要である。

糞便内抗原検査で陽性となった例については虫卵検査し、虫卵が検出されたものについてはPCR法により確定診断する。抗原陽性であるが、虫卵陰性のものについては、試験的に駆虫薬を投与し、駆虫の前後に採便し、その糞便内抗原の推移を見る。駆虫前後において糞便内抗原が陰転しない例については、偽陽性と判定する。

なお、確定診断のためのPCR実施まで時間を要することが

## 【検査の問い合わせ先(参考)】

- 環境動物フォーラム  
〒001-0021 札幌市北区北21条西11丁目 北海道大学  
先端科学技術共同研究センター内106号室  
URL: <http://www.k3.dion.ne.jp/~fea/>
- 国立感染症研究所寄生動物部  
〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1
- 北海道立衛生研究所生物科学部  
衛生動物科もしくは感染病理科  
〒060-0819 札幌市北区北19条西12丁目
- 北海道大学大学院獣医学研究科寄生虫学教室  
〒060-0818 札幌市北区北18条西9丁目
- 酪農学園大学獣医学部寄生虫学教室ならびに環境システム学部環境動物学教室  
〒069-8501 江別市文京台緑町582

ある。虫卵排泄を止めることおよび虫卵排泄前に駆虫することが重要であるので、確定診断前であっても、糞便内抗原検査で陽性の場合にはできるだけ速やかに駆虫薬を投与する。

## (3) 治療

駆虫薬として塩酸ブナミジン、アレコリン、ニコロサミド、フェンベンダゾールなどがあるが、プラジカンテルはエキノコックス成虫に対して有効で、安全域も広い。飼い犬の感染はヒトへの感染源として危険なので、完全に駆虫する必要がある。通常のプラジカンテル投与量(5 mg/kg)でもほぼ100%の駆虫効果があるが、より確実に駆虫するために倍量もしくは2回投与する。これらの駆虫薬は虫卵に対する殺滅効果はないので、虫卵が糞便中に含まれていることを想定して(駆虫しない場合は感染性の高い虫卵排出があり、より危険)、2~3日間は糞便の適正な処置(例えば、焼却、熱湯消毒、もしくは感染性廃棄物として業者に委託、また、室内の清掃およびシーツなどの洗濯、加熱・乾燥)が必要である。

飼い主の家族および感染犬に密接に接した人については、2~3年毎に定期的に血清診断を受けた方がよい。感染経験のある犬は以前と同様の環境下で飼育を続けると、再感染する可能性がある。

## 2. ヒトの場合

### (1) 症状

多包虫は主に肝臓実質に寄生し、無性増殖する。この増殖による病巣の拡大はゆっくりで、症状が現れるまで子供では約5年、成人では10年以上を要する。原発巣のほとんどは肝臓であるが、進行すると肺、脾臓、腎臓、脳、腸間膜、骨髄な

どもに転移する。

病気の経過は通常以下の3期に分けられる。

- ① 無症状期：成人では感染後10年間ほどで、多包虫の病巣が小さく感染していても症状の出ない時期。
- ② 進行期：無症状期の後の数年間で、病気の進行につれて、病巣が大きくなり周囲の肝臓内の胆管および血管を塞ぐために肝臓の機能が悪くなる時期。この時期はさらに不定症状期と完成期に分けられる。不定症状期は上腹部の膨満・不快感などの不定症状のみで、肝機能障害は検出できない。完成期は肝機能不全となり、腹部症状が強く、発熱、黄疸をみる。末期患者でより症状の出現頻度が高くなる。
- ③ 末期：通常半年以内で、重度の肝臓機能不全となり、黄疸・腹水・浮腫を合併し、門脈圧亢進症状をともなう時期。様々な臓器にも多包虫が転移し、予後不良である。

## (2) 診断

早期診断した場合、病巣は小さく、治癒率（完全な病巣切除率）は高い。一方、自覚症状があらわれた後に多包虫症と診断された場合は、多包虫が大きく増殖、転移している例が多く、現在の治療技術でも治癒率は低い。したがって、早期診断のため血清検査を受診し、感染リスクの高い場合は数年おきの定期的な検査が推奨される。

北海道の市町村で行っているエキノコックス症の検診は第一次診断としてELISA法の血清診断、第二次診断としてウェスタンブロット法によるELISA法陽性反応の確認と、問診、腹部の触診、超音波診断、腹部X線撮影等を併用している。さらに治療方法を選択する目的も含めて詳細な超音波診断、CTスキャン、腹腔鏡検査、肝動脈造影などの精密検査も行われる。

北海道外の人については最寄りの病院から血清検査を依頼する必要がある。病院からの依頼先は①北海道臨床衛生検査技師会、②北海道立衛生研究所疫学部血清科、③民間の検査センター（検査センターから北海道臨床衛生検査技師会へ依頼する形となる）のいずれかとなる。いずれの機関も個人からの依頼は受け付けていない。

## (3) 治療

最も有効な多包虫症の治療法は、外科手術による多包虫の摘出である。多包虫は小さな嚢胞の集合体で周囲の組織に浸潤しているため、周囲の健康な組織ごと摘出する。完全に摘出しないと、残存した多包虫が増殖し、さらに転移する。駆虫薬のアルベンダゾールやメベンダゾールも治療のために用いられるが、著効を示す例は多くなく、寄生虫の発育を抑える程度の例が多い。治療効果を上げるためには、大量の長期投薬が必要である。この化学療法は手術が適応できない場合や手術の補助として用いられている。駆虫薬の開発研究は今後期待される課題である。

## 行状対応（報告基準）

### 1. 犬の場合

感染していた場合は虫卵を排泄し、ヒトの感染源となるため、迅速な対応が求められる。以下の方法によって病原体検査もしくは糞便検査（抗原・虫卵DNA）で確定診断された犬は速やかに報告する。

- ・病原体の検出 例：下痢便中に虫体を発見した場合
- ・糞便内抗原の検出 例：サンドイッチELISA
- ・虫卵のDNA検査 例：PCR法およびPCR-RFLP法

獣医師が疫学的な情報<sup>注1)</sup>などに基づきエキノコックスの感染を疑い、かつ以下のいずれかの検査方法によって病原体診断がなされたもの。

- ・病原体の検出：虫体またはその一部（片節）の確認
- ・病原体の遺伝子の検出<sup>注2)</sup>：PCR法による遺伝子の検出
- ・病原体の抗原の検出：ELISA法による成虫由来抗原の検出（駆虫治療の結果、成虫由来抗原が不検出になったものに限る）

### 3. ヒトの場合

ヒトからヒトへの伝播は起こらないが、診断した医師の判断により報告義務がある。症状や所見から当該疾患が疑われ、かつ、以下のいずれかの方法によって病原体診断や血清学的診断がなされたもの。

- ・病原体の検出 例：患者から包虫の嚢胞、嚢胞壁の一部、原頭節および鉤などが検出された場合など。
- ・病原体に対する抗体の検出 例：ELISA法およびWestern Blot法など。

## 犬の感染予防

犬は野ネズミを食べなければ感染しないので、野ネズミを捕食させないことがもっとも重要である。野ネズミの生息するような地域で飼っている犬を係留することはエキノコックス対策上も特に重要である。

犬が野ネズミを捕食する機会は、散歩時あるいは放されて

注1) 現在のところ、国内における犬の感染例は、多包条虫のみである。また、通常、感染した犬は症状を示すことはない。したがって、キツネのエキノコックス症が確認されている地域（現在のところ確認地域は、北海道）における放し飼いや、中間宿主である野ネズミの捕食の可能性を示す疫学的な情報をもとに病原体診断を実施する必要がある。さらに、糞便中の虫卵は、ヒトのエキノコックス症の感染原因となるので、糞便の取り扱いに注意を払う必要がある。

注2) 虫卵はテニア科条虫では形態上区別できないので遺伝子の検出を試みる。

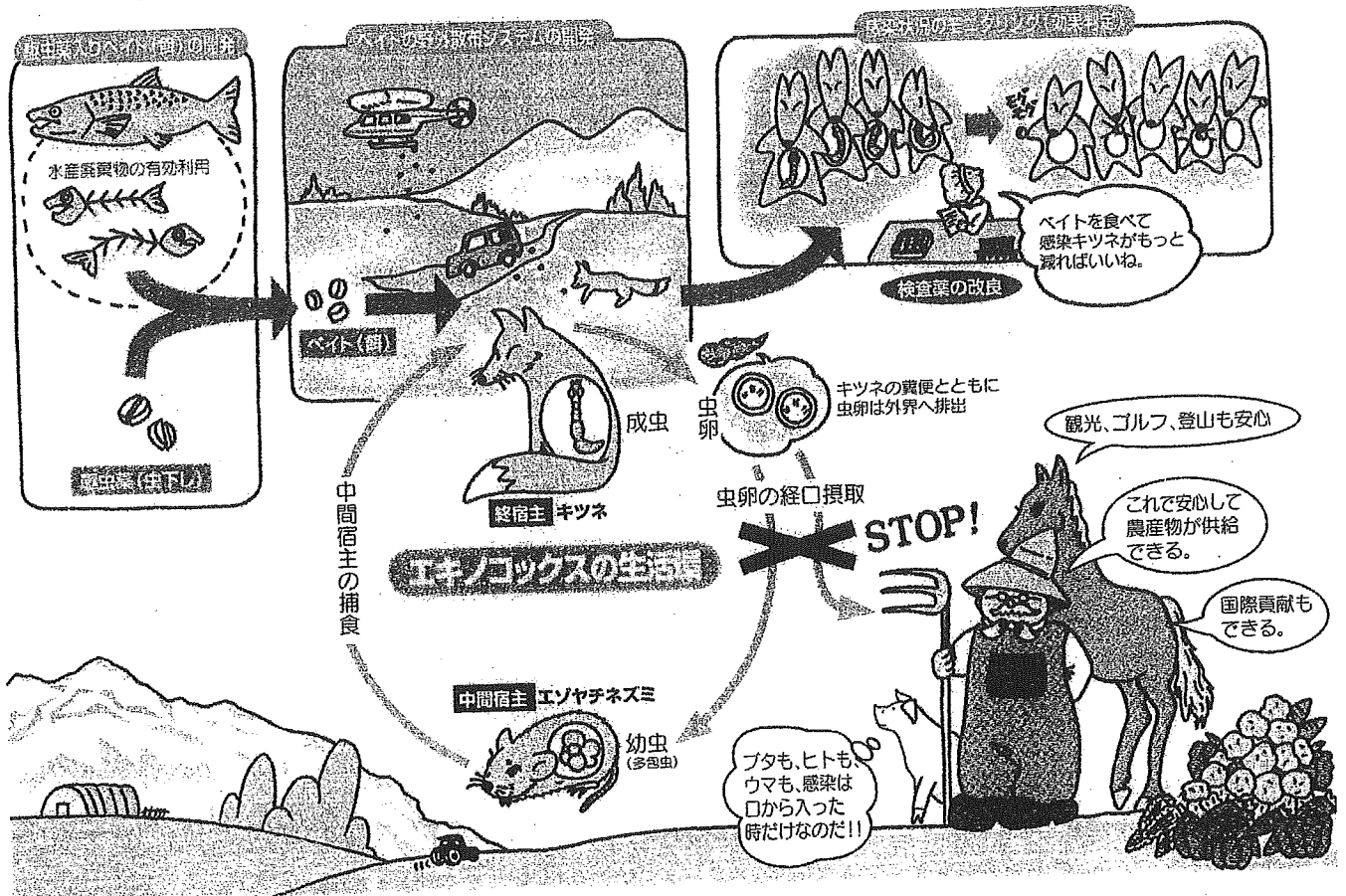


図5 環境修復メニュー

自由な時がほとんどであるので、飼育場所の環境、散歩コースなどの環境を十分考慮する必要がある。野ネズミの捕食機会があるような場所で犬を放さないことを徹底すべきである。さらに、飼い犬が野ネズミなどを捕食しないように、普段から拾い食いの癖をつかせせない、十分に餌を与えるなどの飼育管理も重要となる。

リール式のリードを使用した場合、飼い犬の野ネズミの捕食に飼い主は気がつかないことがある。飼い犬が野ネズミを捕食することの危険性を認識している飼い主もいるが、全く認識していない場合もあり、飼い主が注意していても飼い犬が感染することがある。また係留してある犬と同居している猫が野ネズミを捕獲して、持って帰ってくることもあり、係留してある犬が野ネズミを捕食する可能性にも注意が必要である。

## おひに

1999年、青森のブタからエキノコックスの幼虫が発見された。それ以前から本州でも北海道と関係のない患者が知らされてはいたが、わが国でこの寄生虫の生活環が維持されるのは北海道だけというのが通説であった。その後、本州への侵入について、青函トンネルをキツネなどが通過するとか、北海道の産物によって感染源(虫卵)が移送されているとか様々な

風評があった。しかし、現在、明らかになった事実として、ごく少数であるが感染犬が北海道から本州に持ち込まれている事実である。年間7000頭の犬が北海道から移動する(旅行者の同伴犬を含む)。最近、北海道ではキツネのはほぼ半数が感染し、飼育されている犬や猫からもエキノコックスが検出されている。海外から年間1万5千頭以上の犬がエキノコックスの検査なしで輸入されている。これらを放置すると、本州にもエキノコックスが定着し、患者発生リスクは増大する。幸いこれまでの調査では本州の野生動物間でエキノコックス生活環が維持されている事実は確認されていない。早急に感染レベルの高い北海道の感染源・キツネ対策と海外からの感染犬侵入防止策を実施することで、エキノコックス症危機管理は可能である。

また、感染源診断法が確立され、感染源動物を特定し、駆虫薬で防除することが可能となった。駆虫薬を入れた魚肉ソーセージをオホーツク海に面した地域でキツネを対象に散布し、この診断方法を組み合わせた疫学調査を行った結果、虫卵と糞便内抗原は低減し<sup>4)</sup>、調査地(200km<sup>2</sup>)のエキノコックス汚染環境の修復が明らかとなった(図5)。その後、スイス・チューリッヒ市内でも、この浄化法によって効果をあげている<sup>5)</sup>。イギリスなどは、多包条虫流行国からのペットの持ち込み前の駆虫を義務付けている。わが国もペットの移動前の検査・駆虫が必要である。また、これらの関連技術は、今後、わ

が国に侵入が危惧される狂犬病, ウエストナイル熱などの野生動物が関与する動物由来感染症に対する危機管理へも応用できる。

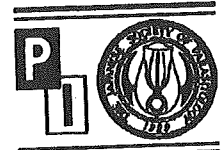
2004年10月の感染症法改正で, 世界に先駆けてエキノコックス症は感染源対策の一部である「感染犬の届出」が実現することになった。2005年1月には「第1号の届出」があり, 法的裏付けを得てリスク管理が実施された。これらの成果は, 政府関係者<sup>6)</sup>ならびに民間団体<sup>7)</sup>から世界へ発信されている。

これまでの厚生労働省, 小動物獣医師会他, 関係各位の努力に敬意を表する。

#### 参考文献

1. 北海道小動物獣医師会: <http://www.hsave.com/>
2. 厚生労働省新興・再興感染症研究事業「イヌのエキノコックス症対策ガイドライン2004—ヒトのエキノコックス予防のために」
3. Oku, Y. and Kamiya, M.(2003): 5. Biology of Echinococcus. *Progress of Medical Parasitology in Japan*. Vol. 8, Chapter III. Otsuru, M., Kamegai, S. and Hayashi, S. (Eds.), 293-318, Meguro Parasitological Museum, Tokyo.
4. Tsukada H. *et al.*(2002): Potential remedy against Echinococcus multilocularis in wild red foxes using baits with anthelmintic distributed around fox breeding dens in Hokkaido, Japan., *Parasitology*, 125:119-129.
5. Hagglin, D. *et al.*(2003): Anthelmintic baiting of foxes against urban contamination with Echinococcus multilocularis. *Emerging Infectious Diseases*, 9:1266-1272.
6. 大平真紀 (2004) : 「犬のエキノコックス症が届出対象となるまで」, 台湾との合同シンポジウム「動物の感染症と検疫」抄録集.
7. M. Kamiya, H.K. Ooi and Y. Oku (2005): Japan-Taiwan Symposium on Infectious Diseases of Animals and Quarantine, *Emerging Infectious Diseases* (EID Online: [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid), in press).





# Mathematical modeling of *Echinococcus multilocularis* transmission

Hirofumi Ishikawa \*

Department of Human Ecology, Graduate School of Environmental Science, Okayama University, Tsushimanaka, Okayama 700-8530, Japan

Available online 15 December 2005

## Abstract

A mathematical model for the transmission cycle of *Echinococcus multilocularis* would be useful for estimating its prevalence, and the model simulation can be instrumental in designing various control strategies. This review focuses on the epidemiological factors in the *E. multilocularis* transmission cycle and the recent advances of mathematical models for *E. multilocularis* transmission.  
© 2005 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** *Echinococcus multilocularis*; Fox; Mathematical model; Vole

## 1. Introduction

*Echinococcus multilocularis* is distributed in central Europe, North America, and northern and central Eurasia [1]. In Japan, human alveolar *Echinococcus* (HAE) caused by *E. multilocularis* has spread throughout the mainland of Hokkaido [2], making it desirable to design effective control strategies against HAE. It is difficult to elucidate the source of infections due to the long incubation period [3]. A mathematical model for the transmission cycle of *E. multilocularis* would be useful for estimating its prevalence, and the model simulation can be instrumental in designing various control strategies. A few models about *E. multilocularis* transmission have been proposed since 1995 [4–6]. This review focuses on the epidemiological factors in the *E. multilocularis* transmission cycle and the recent advances of mathematical models for *E. multilocularis* transmission.

*E. multilocularis* carries out its transmission cycle in two hosts; the definitive hosts are canines, while the intermediate hosts are mainly rodents and ungulates [1,7–9]. Individuals are infected by the accidental ingestion of parasite eggs. The intermediate hosts are infected by ingesting parasite eggs voided in the feces of infected definitive hosts, while the definitive hosts are infected by preying on the intermediate hosts that have hydatid cysts. A mathematical model which

quantitatively describes the transmission of *E. multilocularis* needs to include the following components [5,10]:

1. dynamics of definitive host population,
2. dynamics of intermediate host population,
3. predator–prey relationship between the definitive hosts (canines) and the intermediate hosts (rodents), and
4. longevity of parasite eggs in the environment.

## 2. Dynamics of definitive hosts

Foxes mainly maintain the transmission cycle of *E. multilocularis*. The major definitive host is the red fox (*Vulpes vulpes*) for most endemic regions, or the arctic fox (*Alopex lagopus*) for the tundra zone of Eurasia and North America [1,7,9,11]. The dynamics of the fox population show marked seasonal variations because foxes are wild animals. Therefore, a quantitative transmission model needs to include a host population dynamic component [5]. In Hokkaido, Japan, the breeding season of red foxes is generally in the early spring (the last third of March – the first third of April) and newborns after weaning, which might be exposed to *E. multilocularis* infection, emerge from their dens 1 month after birth [12]. Generally, for any wild animal, the death rate of juveniles is significantly higher than that of adults. The death rate of juvenile (under 1 year old) red foxes in Hokkaido was estimated to be 2.5 times higher than that of adults [5]. The seasonal population model of red fox density in Hokkaido is shown in Fig. 1. The arctic fox population is

\* Tel.: +81 86 251 8826; fax: +81 86 251 8837.  
E-mail address: [ishikawa@ems.okayama-u.ac.jp](mailto:ishikawa@ems.okayama-u.ac.jp).



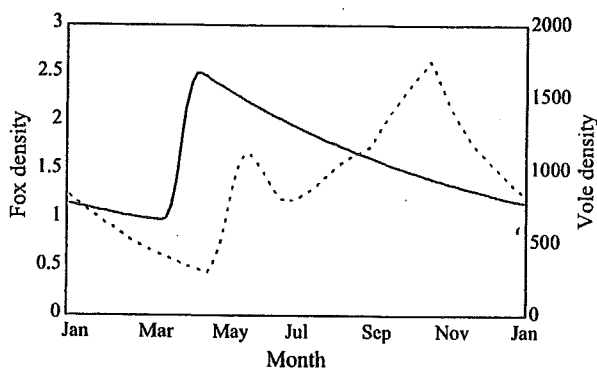


Fig. 1. The seasonal population dynamics models for foxes and voles in Hokkaido. The solid line and the dotted line shows the variations in fox and vole density/km<sup>2</sup>, respectively [5].

also influenced by emigration and immigration due to long-distance traveling [11].

3. Dynamics of intermediate hosts

Rodents mainly maintain the transmission cycle of *E. multilocularis* as the intermediate hosts, and the species that are involved in the cycle vary in different endemic regions [1,9]. In Hokkaido, the major intermediate host is the gray-sided vole (*Clethrionomys rufocanus*) [7]. The gray-sided vole breeds in three seasons of the year (all seasons except winter) [13,14]. The survival rate of voles depends on the season and age, with that for the first month of life being lower than that of >1 month [13,14], while the survival rate in winter is higher than that in summer [15]. Besides the season variation, the dynamics of the vole population vary on a large scale annually and have certain geographical characteristics [16]. There is no necessity to consider emigration or immigration in the dynamics of the vole population because of the small size of home ranges [13].

4. Transmission processes of *E. multilocularis*

The definitive host is infected with *E. multilocularis* by preying on rodents which harbor multilocular *Echinococcus* with infectious protoscolexes. Therefore, the prevalence of *E.*

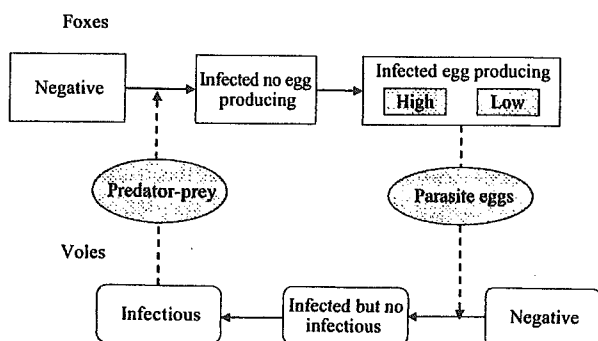


Fig. 2. The basic scheme for the model of the *Echinococcus multilocularis* transmission cycle between foxes (the major definitive host) and voles (the major intermediate host).

*multilocularis* is affected by the average number (NVF) of voles ingested by a fox each day, which depends on the density of the vole population and on the depth of the snow factors [17, 18], which were introduced into the transmission model [5].

The intermediate host is infected by ingesting *E. multilocularis* eggs voided in the feces of infected definitive hosts. The duration of the egg's infectious ability is mainly affected by temperature and humidity. The tenacity of eggs is sensitive to elevated temperature, to very low temperature and to desiccation [19]. The experimental formula for the longevity (*d* for days) of eggs at temperature (*t* at °C) was established as  $d = \exp[-0.135(t - 43.7)]$  [20].

5. Mathematical models of *E. multilocularis* transmission

A deterministic model for the transmission of a parasite essentially describes its transmission cycle as a set of differential equations. Roberts and Aubert [4] constructed a simple deterministic *E. multilocularis* transmission model to evaluate the effect of control by addition of praziquantel in France. Ishikawa et al. [5] proposed a model that took into account the influence of the dynamics of both the definitive and the intermediate host populations and the seasonal effects on the longevity of *E. multilocularis* eggs and NVF to describe the mechanism of seasonal transmission in Hokkaido quantitatively. Hansen et al. [6] tried to develop a stochastic transmission model from the Roberts and Aubert model to devise a hypothesis that would fit well with the prevalence data during the pre- and post-control periods in the northern Germany. In these models [4–6], each host population is broadly divided into three epidemiology classes. Moreover, in the quantitative model shown in Fig. 2 [5], the infected egg-producing class in foxes is subdivided into two subclasses according to whether egg production is abundant or not.

The basic reproductive rate (*R*<sub>0</sub>) is the theoretically maximum number of secondary infections. *R*<sub>0</sub> was estimated from the Roberts and Aubert model [4] or the

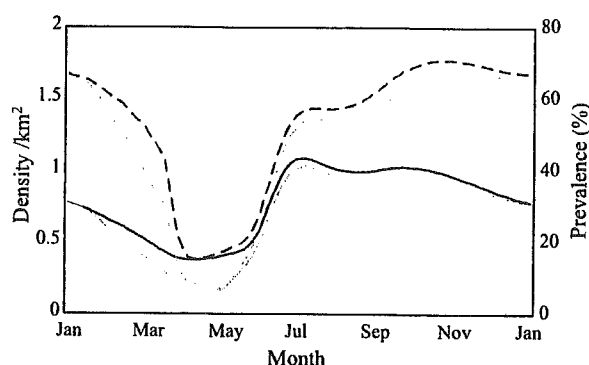


Fig. 3. Seasonal variations in the density/km<sup>2</sup> of foxes infected with *E. multilocularis* (solid line) and the prevalence of *E. multilocularis* in the fox population (broken line). The black and gray lines show the Nemuro and Abashiri situations, respectively [5].

model of Ishikawa et al. excluding seasonal factors [5] as follows:

$$R_0 = \frac{\lambda_f \lambda_v \bar{N}_f}{\delta_v (1 + \delta_v \tau_v) (1 + \delta_f \tau_f) (1 + \delta_f \eta_l)} \eta_l$$

$$R_0 = \frac{s_f \bar{NVF} \lambda_v \bar{N}_f}{\delta_v (1 + \delta_v \tau_v) (1 + \delta_f \tau_f) (1 + \delta_f \eta_h)} \left( \rho \eta_h + \frac{\eta_l}{1 + \delta_f \eta_l} \right)$$

The symbols  $\lambda_a$ ,  $\delta_a$ ,  $\tau_a$ ,  $s_f$ ,  $\bar{NVF}$ ,  $\bar{N}_f$ ,  $\eta_l$ ,  $\eta_h$ ,  $\eta_l$ , and  $\rho$  represent the infectious contact rate ( $a=f, v$ ), the death rate ( $a=f, v$ ), the period of no egg production ( $a=f$ ) or for acquiring infectious protoscoleces ( $a=v$ ) expressed as days after infection, the conditional probability of maturity of worms ( $f$ ), the average NVF, the average of density ( $f$ ), the durations of total, high and low egg production, and the multiplicative factor caused by high egg production, with the suffixes  $f$  and  $v$  standing for fox and vole, respectively.

The seasonal variations of the prevalence and the density of infected foxes were simulated for the two endemic regions in Hokkaido, Japan: Nemuro and Abashiri, where the average prevalence rates (1995–2000) were 53% and 48%, respectively. There is a great difference between the two regions in terms of snowfall. Comparison of two regions using the model simulation shows that the winter density of the infected foxes is maintained at a certain level in Nemuro, while it falls to a low level in Abashiri, which leads to the difference of the winter prevalence between Nemuro and Abashiri (Fig. 3) [5].

## 6. Risk of HAE

The risk to the human population of being infected with HAE has a close relation to the amount of *E. multilocularis* eggs that maintain infectious ability in the environment. A comparative study on the risk of HAE between Sapporo, the capital of Hokkaido, and Nemuro was carried out by simulating the seasonal fluctuation in *E. multilocularis* egg dispersion in the environment based on the model [5].

## 7. Prospects

Recent advances in mathematical modeling of *E. multilocularis* transmission were summarized here. There has been steady progress in mathematical modeling of *E. multilocularis* transmission into consideration taking seasonal factors. Further follow-up studies based on field data will be needed to precisely estimate the effects of control strategies against *E. multilocularis* using model simulations.

## Acknowledgements

This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science (Grant No. 16540105) and by grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan for “The control

of emerging and reemerging diseases in Japan” (Principal investigator: Prof. M. Kamiya).

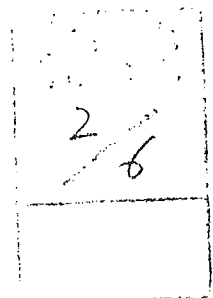
## References

- [1] Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawlowski ZS. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Human and Animals: A Public Health Problem of Global Concern. Paris: World Organisation for Animal Health; 2001.
- [2] Annual reports of the council for alveolar *Echinococcus* in Hokkaido 1984–1994. Department of Health and Welfare, Hokkaido Government, Sapporo, 1995.
- [3] Doi R, Nakao M, Nihei N, Kutsumi H. Epidemiology of alveolar hydatid disease (AHD) and estimation of infected period of AHD in Rebun Island, Hokkaido. Jpn J Public Health 2000;47:145–52 [in Japanese with English abstract].
- [4] Roberts MG, Aubert MFA. A model for the control of *Echinococcus multilocularis* in France. Vet Parasitol 1995;56:67–74.
- [5] Ishikawa H, Ohga Y, Doi R. A model for the transmission of *Echinococcus multilocularis* in Hokkaido, Japan. Parasitol Res 2003;91:444–51.
- [6] Hansen F, Tackmann K, Jeltsch F, Wissel C, Thulke H-H. Controlling *Echinococcus multilocularis* – ecological implications of field trials. Prev Vet Med 2003;60:91–105.
- [7] Ohbayashi M. Host animals of *Echinococcus multilocularis* in Hokkaido. In: Uchino J, Sato N, editors. Alveolar echinococcosis: strategy for eradication of alveolar echinococcosis of the liver. Sapporo: Fujishoin, 1996. p. 59–64.
- [8] Pectavy AF, Deblock S, Walbaum S. Life cycles of *Echinococcus multilocularis* in relation to human infection. J Parasitol 1991;77:133–7.
- [9] Rausch RL. Life cycle patterns and geographic distribution of *Echinococcus* species. In: Thompson RCA, Lymbery AJ, editors. *Echinococcus* and hydatid diseases. Wallingford Oxon: CAB International, 1995. p. 88–134.
- [10] Saitoh T, Takahashi K. The role of vole populations in prevalence of the parasite (*Echinococcus multilocularis*) in foxes. Res Popul Ecol 1998;40:97–105.
- [11] Fay FH, Rausch RL. Dynamics of the arctic fox population on St. Lawrence Island, Bering Sea. Arctic 1992;45:393–7.
- [12] Uraguchi K, Takahashi K. Ecology of the red fox in Hokkaido. In: Tsuduki T, editor. Alveolar *Echinococcus* in Hokkaido. Sapporo: Hokkaido Institute of Public Health, 1999. p. 39–48 (in Japanese).
- [13] Ota K. Study on wild murid rodents in Hokkaido. Sapporo: Hokkaido University Press; 1984 (in Japanese).
- [14] Yoccoz NG, Nakata K, Stenseth NC, Saitoh T. The demography of *Clethrionomys rufocanus*: from mathematical and statistical models to further field studies. Res Popul Ecol 1998;40:107–21.
- [15] Dewa H. Seasonal variation of the daily activity rhythms in snow season. Res Bull College Exp Forests Hokkaido Univ 1975;22:105–20 (in Japanese with English summary).
- [16] Saitoh T, Stenseth NC, Bjornstad ON. The population dynamics of the vole *Clethrionomys rufocanus* in Hokkaido, Japan. Res Popul Ecol 1998;40:61–76.
- [17] Abe H. Winter Food of red fox, *Vulpes vulpes schrencki* Kishida, in Hokkaido, with special reference to vole populations. Appl Entomol Zool 1975;10:40–51.
- [18] Yoneda M. Influence of red fox predation upon a local population of small rodents: III. Seasonal changes in predation pressure, prey preference and predation effect. Appl Entomol Zool 1983;18:1–10.
- [19] Veit P, Bilger B, Schad V, Schafer J, Frank W, Lucius R. Influence of environmental factors on the infectivity of *Echinococcus multilocularis* eggs. Parasitology 1995;110:79–86.
- [20] Ishige M, Itoh T, Yagi K. Biological characters of *Echinococcus multilocularis* on temperature effects on life span of eggs. Rep Hokkaido Inst Public Health 1993;43:49–51 [in Japanese with English summary].

**A stochastic model of *Echinococcus multilocularis*  
focusing on protoscoleces**

Tomohiko NISHINA, CHEN Tian Tian, Kazutoshi FUJITA and Hirofumi ISHIKAWA

Journal of  
The Faculty of Environmental Science and Technology  
Okayama University  
Volume 11, Number 1, February 2006



## A stochastic model of *Echinococcus multilocularis* focusing on protoscoleces

Tomohiko NISHINA<sup>1</sup>, CHEN Tian Tian<sup>1</sup>, Kazutoshi FUJITA<sup>2</sup>  
and Hirofumi ISHIKAWA<sup>1</sup>

(Received November 30, 2005)

The red fox (*Vulpes vulpes*) and the vole (*Clethrionomys refocanus*) are principal hosts of *Echinococcus multilocularis* in Hokkaido, Japan. How protoscoleces increases in voles and the level of immunity in foxes remain unknown because of the lack of survey data, so that it is important to clarify these mechanisms in order to develop control strategies against *E. multilocularis*. In this study, the growth of protoscoleces in the infected voles was approximated as the logistic curve, the level of immunity in the fox was assumed to depend on the experience of the infection with *E. multilocularis*, and the worm burden in the fox was assumed to be governed by the amount of protoscoleces in the vole. Our model showed that the population densities of the hosts and the level of immunity influenced the prevalence of the *E. multilocularis*.

**Key words:** *Echinococcus multilocularis*, protoscoleces, immunity, worm burden, stochastic model

### 1. INTRODUCTION

*Echinococcus multilocularis*, a type of zoonoses, is now prevalent in Hokkaido, Japan. The life-cycle of *E. multilocularis* takes place in the definitive hosts and the intermediate hosts. The principal definitive host and the principal intermediate host in Hokkaido are recognized as the red fox (*Vulpes vulpes*) and the grey-sided vole (*Clethrionomys refocanus*), respectively. The prevalence of *E. multilocularis* in the foxes was estimated as 45% in 1998, and has remained high until now (The Department of Health and Welfare, the Hokkaido Government). Moreover, domestic dogs may also be infected with *E. multilocularis* as the definitive hosts. In 1965, the first case of human alveolar echinococcosis was reported (Yamamoto et al., 1966). In the future, 1000 new patients are predicted to be infected over the next ten years, so that immediate control strategies against of *E. multilocularis* are needed (Doi, 1995).

Humans and voles become infected with *E.*

*multilocularis* when they ingest free living parasite eggs discharged by the definitive hosts orally. The parasite eggs start to make protoscoleces in the vole about 40 days after infection (Yagi and Ito, 1998). When a fox preys upon an infected vole which has an adequate amount of protoscoleces, *E. multilocularis* will be transmitted from the vole to the fox. It is important to consider the population dynamics of both the definitive and the intermediate hosts because the variances of the population of the both hosts influence the transmission of *E. multilocularis* greatly. Both fox and vole populations have a seasonal fluctuation so that the time-course of *E. multilocularis* infections depend on the season.

Mathematical models have been developed to explain observations from field studies. Recently, Ohga et al. (2002) investigated the seasonal differences of the food habits of foxes, and Ishikawa et al. (2003) the seasonal fluctuations of both host populations, which had a large effect on the time-course of *E. multilocularis* population levels. Hansen et al. (2003, 2004) introduced a spatial model which included heterogeneity of the dispersing hosts.

Moreover, Kato et al. (2005) reported that foxes had an immune response, although the relation between the level of immunity and worm burden was not well known.

---

Department of Human Ecology, Graduate School of Environmental Science, Okayama University, 700-8530, Japan<sup>1</sup>

Department of Environmental Synthesis and Analysis, Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, 700-8530, Japan<sup>2</sup>

In the model, we supposed that the level of immunity in the fox depends on the experience of the infection of *E. multilocularis*.

There have been few critical studies on the formation of protoscoleces in the infected voles. Yagi and Ito (1998) carried out experimental infections to investigate how protoscoleces increase in the infected vole. It was uncertain how to protoscoleces increase up to numbers in the millions in voles and how many protoscoleces are attached to the intestine of a fox when the fox preys on an infected vole. In the model, the growth of protoscoleces in the infected voles was approximated as a logistic curve.

The model simulates the infection from voles to foxes stochastically under the condition that the worm burden in the fox is governed by the amount of protoscoleces in the vole. Additionally, the model takes into consideration the seasonal fluctuation of the hosts through the population dynamics for the definitive and the intermediate hosts.

We carried out 1000 repeated trials of the model to study the seasonal fluctuation of the prevalence and also to consider mechanism of the immunity of foxes. We observed that the prevalence was influenced by the population densities of the hosts. Moreover, from the results of the simulations, it was plausible that a high level of immunity would be acquired in the several first exposures to infection.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2-1 Population dynamics of hosts

Regarding the life cycle of *E. multilocularis*, the population dynamics of definitive and intermediate hosts which have a seasonal fluctuation play an important role in the transmission of *E. multilocularis*. In Hokkaido, the major definitive hosts are foxes and the major intermediate hosts are voles.

The breeding season of foxes in Hokkaido begins in spring. The mortality of juvenile foxes (less than 1 year old) is considerably higher than that of adult foxes (more than 1 year old) (Uraguchi and Takahashi, 1991, 1998). Although foxes eat voles by preference, the deeper the snow falls, the less foxes feed on voles (Kondo et al., 1986).

The breeding season of voles is recognized as occurring in three seasons every year. The main breeding seasons are spring and autumn, since the breeding rate in summer is much less than that in the

other breeding seasons (Kaneko et al., 1998). The females born in spring reach maturity and account for a large part of pregnant voles in autumn. On the other hand, only the females born in autumn breed in the spring. When the density of the vole population is fairly high, their pregnancy rate will tend to decrease because of the tendency of a slowdown in the rate of maturity. In contrast, they will mature faster and become active for breeding, resulting in their population becoming large, when the density of the vole population is low (Ota, 1984).

In this report, the fox population dynamics will be modeled stochastically with survival, infection and experimental status for every fox, which leads to various situations regarding the prevalence of *E. multilocularis* in every trial. On the other hand, the vole population dynamics will be modeled deterministically. The parameter values in both the host population models change according to the season and densities to take into account the seasonal fluctuation.

### 2-2 Transmission of *E. multilocularis* from foxes to voles

If a vole ingests a free living egg contained in the feces of a fox orally, it becomes infected with *E. multilocularis*. The environmental conditions such as temperature and humidity can influence the longevity of *E. multilocularis* eggs. Yagi and Ito (1991) gave the experimental formula on the relationship between the longevity ( $d$  days) and the temperature ( $t$ °C) for experimental infections:

$$d = \exp(-0.135(t - 45.37))$$

In Nemuro, Hokkaido, Japan, the longevity of eggs in summer at the average temperature 19.9°C (observed by the Japan Meteorological Agency in August, 2005) is about 31 days according to the experimental formula. We assume that the longevity of eggs cannot exceed 100 days due to the experimental report that the infectivity was maintained only for 125 days after infection (Yagi and Ito, 1998), as the low temperature in winter will surpass the limits of the formula. It is very difficult to survey how many eggs exist in the environment, how often voles come into contact with and ingest infectious eggs, and additionally the number of eggs required to infect a vole.

Nevertheless, it is natural to think that the risk of infection for voles may depend on the number of free living parasite eggs. Then, the infection risk depends

on the number of active eggs and the number of contacts. Therefore, we use the infection risk as the transfer rate from the susceptible class to the infected class.

### 2-3 Growth of protoscoleces in voles

An ingested egg starts to develop protoscoleces of *E. multilocularis* in the vole about 40 days after infection. If a fox preys on a vole having an adequate amount of protoscoleces, it can be infected with *E. multilocularis*, so the amount of protoscoleces in voles plays a fundamental role in the transmission of *E. multilocularis*. However, there are few studies about the growth of protoscoleces in voles. Yagi and Ito (1991) reported in experimental infections that 11 voles produced 200 eggs, with one of the necropsied voles starting to make protoscoleces 44 days after infection, and another vole having 3.300.000 protoscoleces 142 days after infection. We assume that the number of protoscoleces in voles increases exponentially after the latent period, that the rate of increase declines slowly due to environmental factors, and that the number of protoscoleces is finally saturated. In the model, we approximate the growth of protoscoleces ( $P(t)$ , say, protoscoleces-day model) voles as the logistic curve (Fig.1):

$$\frac{dP}{dt} = r \left(1 - \frac{P(t)}{P_{\max}}\right) P(t)$$

with  $P_{\max}$ ,  $r$  being the maximum number of protoscoleces and the growth rate, respectively.

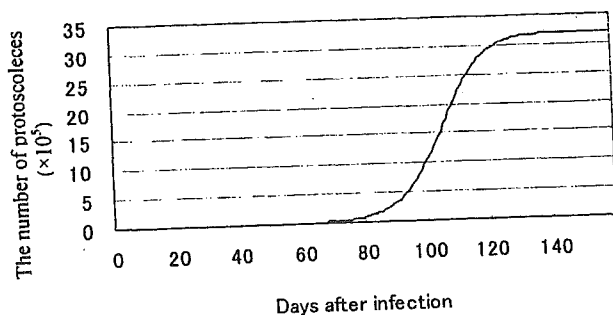


Fig.1 The time-course of prevalence of infection in voles. The curve was obtained using the logistic differential equation.

### 2-4 Transmission of *E. multilocularis* from voles to foxes

A fox becomes infected with *E. multilocularis* after

ingestion of an infected vole which has a sufficient amount of protoscoleces. *E. multilocularis* in the fox starts to produce eggs about 30 days after infection, and egg production lasts for about 80 days after infection (Yagi and Ito, 1998). The more protoscoleces in the vole eaten by a fox, the larger worm burden the fox has. In addition, the total number of eggs discharged depends on the number of worms in the fox. We propose a model scheme from preying on voles to discharging eggs as below:

1. The number of voles preyed on by a fox per day follows the food habit function (Ohga et al., 2002)
2. If a fox preys on infected voles which have an adequate amount of protoscoleces, the fox will be infected. The probability that foxes will become infected follows from the vole prevalence. Precisely, the probability follows the binominal distribution function  $f(k)$ , where  $n$ ,  $k$  and  $p$  stand for the number of voles ingested by a fox per day, the number of infected voles ingested and prevalence rate of voles:

$$f(k) = \binom{n}{k} p^k (1-p)^{n-k}$$

Then, the sum of  $f(k)$  over  $k \geq 1$  is the probability that a fox will become infected per day.

3. For an infected fox, we decide the age of infected voles preyed on by the fox following from the age distribution (the number of protoscoleces in the vole following the protoscoleces-day model).
4. The worm burden in the fox is determined by both the protoscoleces-day model and the immune response, which will be discussed in the next section. The infected fox discharges parasite eggs constantly, depending on its worm burden after the latent period (30 days) during a 50 days period (from the end of latent period).

### 2-5 Immune responses against *E. multilocularis* in foxes

Various studies concluded that foxes might have immunity (Kato et al., 2005a; 2005b), but it is not well known such immunity would affect the worm burden. Hofer et al. reported (2000) that there were remarkable differences of worm burden between

Table 1 Range and mean worm burden of foxes collected in the city of Zurich in winter<sup>a</sup>

	Number of examined infected foxes	Worm burden range	Mean worm burden
juvenile	68	1-56970	4995
adult	65	1-19344	907

<sup>a</sup> Derived from Hofer et al. (1999)

males and females, and also between juveniles and adults. Especially, the mean worm burden in juveniles was five-seven times higher than that in adults (Table 1). Then we assume that the immunity of *E. multilocularis* in foxes can be strengthened in proportion to the number of infection experiences, and adopt the following formula for the level of immunity:

$$I_{fox} = 1 - 0.8^n$$

with  $n$  being the number of infection experiences.

### 3. RESULTS

Each fox structure consists of 8 characteristics, which we listed in Table 2.

We carried out simulations of the model 1000 times under the immune assumptions argued in the "immune response against *E. multilocularis* in foxes" subsection.

#### Prevalence of infection of host population

The mean prevalence of infection of the fox population in 1000 trials varied within the range of 12~48%, and the yearly mean prevalence ranged over

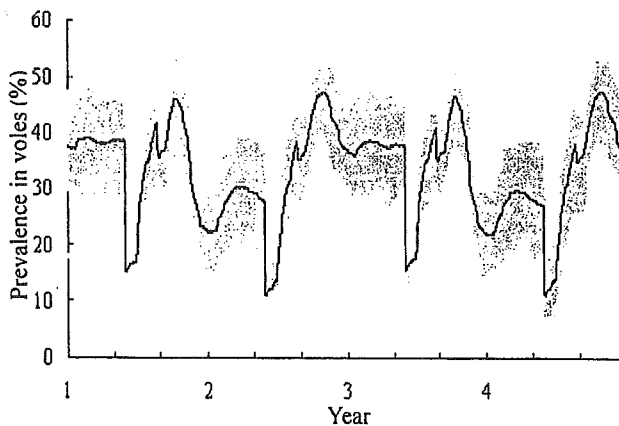


Fig. 2 Variation in the prevalence of infection in the fox population obtained by simulation. The black line shows the average prevalence in 1000 trials. The grey zone shows the prevalence in 100 trials.

Table 2 Structure of characteristics in fox in the model

litter size (only female)
alive or dead
sex
age (year)
number of infection experiences
day after infection
number of worms
pregnancy or not (only female)

6.0~57%, and the average was estimated as 33%, which agreed with the recent reports of prevalence (30~50%) in Hokkaido. The prevalence falls remarkably after the breeding season (May), and quickly rises to the peak thereafter (Fig.2). The prevalence falls slightly from autumn to winter, but the prevalence in winter always fluctuates on a large scale. For the case of high prevalence in the breeding season, the prevalence in the next winter tends to remain at a low level, and diminishes 20~30% compared to the prevalence in summer, while for the case of low prevalence in the breeding season, the prevalence in the next winter tends to remain fairly high, and diminishes only 10% compared with the prevalence in summer.

The mean prevalence of the vole population in 1000 trials varied within the range of 1.8~6.2%, and the yearly mean prevalence ranged over 1.26~8.77%, and the average was estimated as 3.8%. The prevalence in spring has a tendency to fall with a small fluctuation (Fig.3), and the prevalence in voles in spring remained low in all the trials because the variance was fairly small. In contrast, the prevalence in voles increases

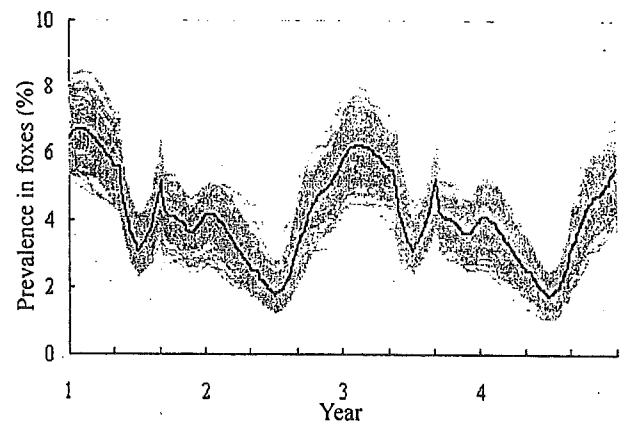


Fig. 3 Variation in the prevalence of infection in the vole population obtained by simulation. The black line shows the average prevalence in 1000 trials. The grey zone shows the prevalence for 100 trials.



Table 3 Range and mean worm burden of foxes in the results of simulations

	Number of examined infected foxes	Range of worm burden	Mean worm burden
juvenile	35	28-99300	22270
adult	65	1-25670	3300

together with a large scale of fluctuation in summer. The peak of prevalence occurs variably between autumn and winter depending on the year in repeated trials.

#### Worm burden in foxes

It followed from the simulations that the worm burden in juvenile and adult foxes infected with *E. multilocularis* ranged from 28~99,300 and from 1~25,670, and that it averaged 22,220 and 3,300, respectively (Table 3), which would lead to the overgrowth of the worm burden, especially in juveniles, because Hofer (2000) estimated the average worm burden as 4,995 and 907 based on actual surveys (Table 1). Fig.4 shows the graphs of the distributions of worm burden and logarithmic worm burden. Since the latter curve was almost a straight line, the worm burden would disperse exponentially. The stochastic system of foxes preying on voles taking into consideration the age structure and the growth of protoscoleces resulted in a reasonable distribution of worm burden.

## 4. DISCUSSION

Although little is known about how protoscoleces increase in infected voles due to the lack of survey data, our approximate protoscoleces-day model could reproduce the distribution of the worm burden in foxes. Actually, stochastic simulation achieved a reasonable distribution of worm burden in foxes.

The average worm burden obtained from simulations went beyond the bounds of the field survey (Hofer, 2000), although the range of worm burden in foxes agreed with the field survey. We assume that the immunity is strengthened in proportion to the number of infections experienced by a fox. However, it is plausible that a high level of immunity would be acquired in the several first experiences. In the model, we take no account of the reduction of immunity or shortening of the period of discharging eggs, which must be addressed in

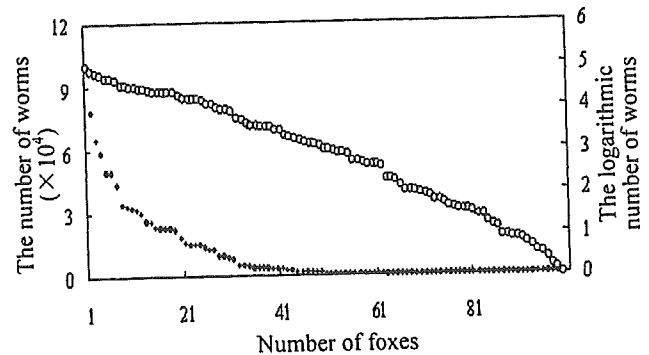


Fig. 4 Distribution of the worm burden in the infected foxes obtained by simulation. The number of worms (worm burden) and the log number of worm burden are shown by dots and circles, respectively.

further studies.

The prevalence of infection in the fox population varies according to the season. It decreases remarkably after the breeding season (May) because of newborns, afterwards, newborns become infected so that the prevalence quickly rises to a peak. Actually, most newborns experience infection with *E. multilocularis* by summer. It was shown that the prevalence of infection in foxes decreases slightly from the peak, and the prevalence in winter varies on a large scale from year to year. The dangerous term for the infection of individuals with *E. multilocularis* comes after the fox breeding season because that is the time with the highest density of foxes, which is supported by the fact that the prevalence of infection in the vole population increases from summer to winter. When the fox population is large in a certain trial, the prevalence tends to hold at a high level compared with the prevalence in a small fox population in other trials. A large fox population and a high prevalence lead to a large number of infected foxes and free living parasite eggs, and may increase the prevalence in voles, too. If the fox population increases by some chance, the prevalence of *E. multilocularis* becomes high in both the fox and vole populations.

The low prevalence in voles from June to July is due to the short longevity of the parasite eggs and the fact that most juvenile foxes stay in the latent period. In winter, the prevalence in vole population increases along with prevalence in the fox population, reaches a peak and varies widely, which means that the prevalence in voles strongly depends on the population dynamics of the fox.

In the model, the infection risk in the vole population depends only on active parasite eggs

because the contact rate is set at a constant value. The human risk of infection with *E. multilocularis* can be thought of as the same as the vole risk because both humans and voles are infected by ingesting parasite eggs orally.

In the model, the longevity of the parasite eggs is assumed to depend on only temperature, but actually it also depends on humidity. Moreover, it was reported that there were some hot spots because voles are distributed heterogeneously. It is conceivable that under natural circumstances the rate of contact of voles with parasite eggs is influenced by some environmental factors such as the densities of both the definitive and the intermediate hosts and the habits of the hosts. Further improvement of the model, including consideration of the effect of control measures against *E. multilocularis*, is needed to forecast future prevalence precisely.

**ACKNOWLEDGEMENTS:** This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science (Grant No. 16540105) and by grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan for "Research for emerging and re-emerging infections" (Principal investigator: Prof. M. Kamiya).

#### REFERENCES

- Doi R (1995) A critical situation of the prevalence of echinococcus is (alveolar hydatid disease) – necessity immediate action for the prevention (in Japanese). Japanese Journal of Public Health 42:63–68
- Hansen F, Tackmann K, Jeltsch F, Wissel C, Thulke HH. (2003). Controlling *Echinococcus multilocularis* ecological implications of field trials. Preventive Veterinary Medicine 60:91–105
- Hansen F, Jeltsch F, Tackmann K, Staubach C, Thulke HH (2004): Processes leading to a spatial aggregation of *Echinococcus multilocularis* in its natural intermediate host *Microtus arvalis*. International Journal for Parasitology 34:37–44
- Hofer S, Gloor S, Muller U, Mathis A, Hegglin D, Deplazes P (2000): High prevalence of *Echinococcus multilocularis* in urban red foxes (*Vulpes vulpes*) and voles (*Arvicola terrestris*) in the city of Zuerich, Switzerland. Parasitology 120:135–142
- Ishikawa H, Ohga Y, Doi R (2003): A model for transmission of *Echinococcus multilocularis* in Hokkaido, Japan. Parasitol Reserch 91:444–451
- Kaneko Y, Nakata K, Saito T, Stenseth NC, Bjornstad ON (1998): The biology of the vole *Clethrionomys rufocans*: a review. Researches on Population Ecologies 40:21–37
- Kato N, Nonaka N, Oku Y, Kamiya M (2005): Modified cellular immune responses in dogs infected with *Echinococcus multilocularis*. Parasitol Reserch 95:339–345
- Kato N, Nonaka N, Oku Y, Kamiya M (2005): Immune responses to oral infection with *Echinococcus multilocularis* protoscoleces in gerbils: modified lymphocyte responses due to the parasite antigen. Parasitol Reserch 96:12–17
- Kondo N, Takahashi K, Yagi K, (1986): Winter food of the red fox, *Vulpes vulpes schrenki* Kishida, in the endemic area of multilocular Echinococcosis. Bulletin of Preparative Office of Nemuro Municipal Museum 1:23–31
- Ohga Y, Ishikawa H, and Doi R (2002): Simulations of Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in Hokkaido on the Basis of Vole Population Dynamics. Journal of Faculty of Environmental science and technology, Okayama University 7:1–5
- Ota K (1984) Study on wild murid rodents in Hokkaido, Hokkaido University press, Sapporo, (in Japanese)
- Uraguchi K, Takahashi K (1991) Wildlife conservation. In: Maruyama N, Bobek B, Ono Y, Regelin W, Bartos L, Ratcliffe PR (eds) Proceedings of the International Symposium on Wildlife Conservation in Tsukuba and Yokohama, Japan 1990, p228
- Uraguchi K, Takahashi K (1998) Ecology of the red fox in Hokkaido. In: Tsuduki T, Yano S, Furuya K, Takahashi K, Kawase S, Yagi K, Sudo S (eds) Alveolar echinococcus in Hokkaido (in Japanese). Hokkaido Institute of Public Health, Sapporo, pp 39–48
- Yagi K, Itoh T (1998) Biological characteristics of *Echinococcus multilocularis* clarified in experimental infections (in Japanese). In: Tsuduki T, Yano S, Furuya K, Takahashi K, Kawase S, Yagi K, Sudo S (eds) Alveolar echinococcus in Hokkaido. Hokkaido Institute of Public Health, Sapporo, pp 51–63
- Yagi K, Itoh T (1999) Influence of low temperature and desiccation on the infectivity of *Echinococcus multilocularis* eggs (in Japanese). Rep Hokkaido Institute Public Health 49:167–168
- Yamamoto K, Tanaka T, Yamada J, Sasaki H, Ohira S, Suzuki R, Iida H, Danjyo T (1966): A child case of alveolar hydatid disease in Nemuro, Hokkaido (in Japanese). Rinsho Shoni Igaku/J Clinical Pediatrics, Sapporo 14:60–64

# 多包条虫疫学調査への応用を目的とした野外採取糞便の排泄動物鑑別法の検討

野中成晃<sup>1</sup>、井上貴史<sup>1</sup>、佐野隆史<sup>1</sup>、片倉 賢<sup>1</sup>、福井大祐<sup>2</sup>、奥祐三郎<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北海道大学大学院獣医学研究科寄生虫学教室、<sup>2</sup>旭川市旭山動物園

## Identification of animals excreting feces collected in field for epizootiological studies of echinococcosis

Nariaki Nonaka<sup>1</sup>, Takashi Inoue<sup>1</sup>, Takafumi Sano<sup>1</sup>, Ken Katakura<sup>1</sup>, Daisuke Fukui<sup>2</sup>,  
 Yuzaburo Oku<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Parasitology, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, <sup>2</sup>Asahiyama Zoo

これまで我々は野外で採取した糞便を材料として多包条虫の動物疫学調査を実施してきたが、糞便の排泄動物の判定は、大きさ、形、内容物や匂い等に頼っていた。今回、糞便排泄動物の区別をより明確にするため、糞便内DNAを利用した糞便排泄動物鑑別法の開発を試みた。まず、糞便DNA抽出法の改善として、糞便中に含まれるPCR阻害物質の混入を最小限にし、かつ、糞便表面に付着する腸粘膜細胞を効率的に回収するために、凍結糞便表面の洗浄液を抽出材料として、QIAmp DNA Stool Mini KitによりDNA抽出を行った。次に、北海道において多包条虫の終宿主となるキツネ、タヌキ、イヌ、ネコおよびこれらの動物と類似の糞便を排泄するアライグマ、イタチ類のミトコンドリアDNA D-loop領域について、増幅産物の大きさの違いで鑑別が可能となるようにそれぞれ特異的な6種類のプライマーを設計しmultiplex-PCRを行ったところ、本法は食肉目間で交差反応を起こさず、糞便排泄動物の鑑別が可能であることが示された(図1)。糞便に含まれる餌動物の影響についても検討したが、北海道に生息する野鼠のDNAとの交差反応は認められなかった。実験的に屋外環境で8週間放置したキツネ糞便からも10個全てのサンプルで明瞭な増幅バンドが認められ、本法の安定性が示された。2004年5～8月に小樽市および余市町で採取した147個の糞便に本法を適用したところ、140個(95%)について糞便排泄動物を鑑別することができた。以上の結果、野外採取糞便を材料とした多包条虫の動物疫学調査にお

いて、本法を併用することにより、宿主動物種を区別したより精度の高い感染率調査が実施可能となることが示された。

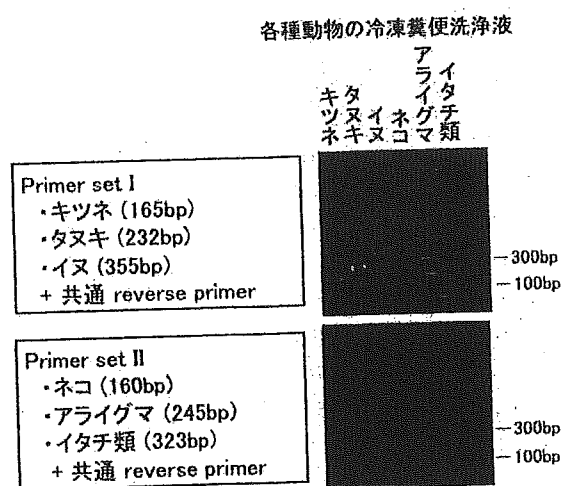


図1 Multiplex PCRの糞便由来DNAへの適用

Keywords: *Echinococcus*, feces, PCR, epizootiology

連絡先責任者：野中成晃、北海道大学大学院獣医学研究科寄生虫学教室、〒060-0818 札幌市北区北18条西9丁目  
 E-mail: mnonaka@vetmed.hokudai.ac.jp  
 Correspondance: N. Nonaka, Laboratory of Parasitology, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Kita-ku Kita 18, Nishi 9, Sapporo 060-0818, Japan

# 駆虫を組み合わせたプレパテント期における多包条虫感染の copro-DNA 診断

神廣創太<sup>1</sup>、野中成晃<sup>1</sup>、片倉賢<sup>1</sup>、八木欣平<sup>2</sup>、奥祐三郎<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北海道大学大学院獣医学研究科寄生虫学教室, <sup>2</sup>北海道立衛生研究

## Copro-DNA diagnosis of prepatent infection with *Echinococcus multilocularis* in combination with anthelmintic treatment

Sota Kamihiro<sup>1</sup>, Nariaki Nonaka<sup>1</sup>, Ken Katakura<sup>1</sup>, Kinpei Yagi<sup>2</sup>, Yuzaburo Oku<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Laboratory of Parasitology, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University,  
<sup>2</sup>Hokkaido Institute of Public Health

Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in foxes in Hokkaido has been around 40%, increasing the risk of infections to domestic dogs and cats. At present, standard diagnostic procedure for dogs and cats is detection of coproantigen and fecal taeniid eggs, followed by the confirmative DNA detection from the eggs. However, during the prepatent period, eggs cannot be detected while coproantigen is already positive. Unfortunately, positive results of coproantigen alone can not be definitive indication of the infection because of its cross reactivity with other *Taenia* infection and occasional false positive result. To correctly evaluate the risk of *E. multilocularis* and to take effective preventive measures, it is essential to detect DNA from the feces even during the prepatent period.

Five dogs were orally given 1,000 (1 dog), 150,000 (3) and 1,000,000 (1) protoscoleces of *E. multilocularis*. Feces were collected daily until 21 days after infection and DNA was extracted using QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen) and tested by specific PCR [1]. As a result, DNA was detected only sporadically, indicating that it is difficult to detect DNA during the prepatent period.

In the next experiment, two dogs were orally given 10,000 and 100,000 protoscoleces respectively. Fourteen days after infection, they were treated with

praziquantel.

Feces were collected until 21 days post infection and DNA was extracted and tested by the PCR. Before the praziquantel treatment, only one sample was positive for the PCR. But after the treatment, the PCR was positive in feces of both dogs. Detected DNA is probably derived from the worms that were killed and excreted together with feces. These results suggest that DNA detection from feces in combination with the praziquantel treatment can be a new option for the diagnosis of *E. multilocularis* infection in the definitive hosts.

**Key words:** *Echinococcus multilocularis*, Diagnosis, copro-DNA

### Reference

- [1] van der Giessen JWB, et al. (1999): Detection of *Echinococcus multilocularis* in foxes in the Netherlands. *Vet. Parasitol.*, 82, 49-57

連絡先責任者: 野中成晃、北海道大学獣医学研究科寄生虫学教室、〒060-0818 北海道札幌市北区北18条西9丁目  
E-mail: nnonaka@vetmed.hokudai.ac.jp

**Correspondence:** N. Nonaka, Laboratory of Parasitology, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, 060-0818 Sapporo, Japan

# SCID マウスとスナネズミにおけるアジア条虫の幼虫の発育と人および代替終宿主に対するその感染能

張 秀玲、野中 成晃、黄 鴻堅、神谷正男、奥 祐三郎  
北海道大学大学院獣医学研究科寄生虫学教室

## Larval development of *Taenia asiatica* in scid mice and gerbils and their infectivity to humans and alternative definitive hosts

Shiou Ling CHANG, Nariaki NONAKA, Hong Kean OOI, Masao KAMITA, Yuzaburo OKU  
Laboratory of Parasitology, Graduate School of Veterinary Medicine

【目的】アジア条虫 *Taenia asiatica* は無鉤条虫に近縁な条虫で主な中間宿主は豚で、その肝臓に囊虫が寄生するがその寿命は短い事が特徴である。アジアで多くの人体寄生例が報告され、有鉤条虫や無鉤条虫とならんで公衆衛生上重要な条虫である。我々は SCID マウスとスナネズミにおける幼虫の発育と、感染後10から48週後に得られた囊虫の感染能力を調べた。

【方法・結果】虫卵の皮下接種後 SCID マウスの皮下から10、24、45週後に囊虫を回収した(表1)。囊虫には少数の遺残的小鉤が額嘴領域に認められ、10週齢ではこの領域周囲に小型顆粒が多数認められたが、24と45週齢では減少していた。一方、10週齢では石灰小体の数が少

なかつたが、24と45週齢では増加していた。スナネズミにおける発育も同様であった。SCID マウスから回収した10週齢囊虫を経口投与したスナネズミでは全例陰性(0/21例)だったのに対し、20から45週齢の囊虫を経口投与した場合、虫体陽性率(陽性ネズミ数/全投与ネズミ数)は6%から18%で(表2)、ハムスターの虫体陽性率もほぼ同様であった。虫体回収率は0.5-6%であった。また、スナネズミから回収した48週齢の囊虫を経口投与したスナネズミの虫体陽性率は45%(5/11)で、虫体回収率は27%であった。これらのハムスターおよびスナネズミとも部分的な虫体の発育が観察された。一方、SCID マウスとスナネズミから回収されたそれぞれ45と48週齢の囊虫を経口投与したボランティアの人では、それぞれ2/3、2/2に感染し、受胎片節を排泄し、駆虫による虫体回収率は約50%であった(表3)。

表1 アジア条虫の六鉤幼虫を投与したSCIDマウスにおける幼虫の発育

六鉤幼虫*	SCIDマウス		回収幼虫	
	投与経路	投与数	頭数	回収率(範囲)
A 皮下	20,000	5	12,20 週	0.1-1.1%
	腹腔	18,600	5	12,20 週
B 皮下	40,000	3	24,62 週	0.003-1.1%
	皮下	20,000	5	10-45 週

\* 幼虫被殻を除去した六鉤幼虫を感染に使用した。

A 2003年12月台湾で受胎片節採取 2004年1月感染実験に使用  
B 2004年4月台湾で受胎片節採取 2004年5月感染実験に使用

表2 SCIDマウスから得た各種週齢の囊虫の感染能の検討 -代替終宿主を用いて-

動物	囊虫	陽性動物/全使用動物	虫体回収率*
週齢	投与数	(1-4週に剖検)	
スナネズミ			
A	10	20,40	0/21(0%) 0/640(0%)
B	20	6	2/32(6%) 2/192(1.0%)
C	21	25-40	2/11(18%) 2/403(0.5%)
D	45	2	2/17(11%) 2/34(5.8%)
ハムスター			
A	20	6	3/41(7%) 3/246(1.2%)
B	24	15	3/14(21%) 3/210(1.4%)

\* 回収虫体数/全投与虫体数(%)

表3 SCIDマウス(45週齢)およびスナネズミ(48週齢)の囊虫を用いた人への感染結果

人	由来動物	週齢	投与数	駆虫後の回収虫体数
A	SCIDマウス	45	5	0
B	SCIDマウス	45	5	1
C	SCIDマウス	45	5	2
D	スナネズミ	48	5	3
E	スナネズミ	48	5	4

\* A-Cの駆虫は感染後7ヶ月、DとEの駆虫は感染後4ヶ月  
虫体陽性率は4/5(80%)、虫体回収率は10/25(40%)

【総括】アジア条虫の囊虫の額嘴領域の小型顆粒と石灰小体の数は成熟の指標として評価できることが示唆され、SCID マウスとスナネズミにおいて感染能を有する囊虫まで発育することを示した。

Keywords, *Taenia asiatica*, alternative host

連絡先責任者: 奥祐三郎 北海道大学大学院獣医学研究科 寄生虫学教室、〒060-0818 札幌市北区北18条西9丁目  
E-mail: oku@vetmed.hokudai.ac.jp

Correspondence: Y. OKU, Laboratory of Parasitology, Graduate School of Veterinary Medicine, Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo, 060-0818, Japan