

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

動物由来寄生虫症の流行地拡大防止対策に関する研究

(H15-新興-7)

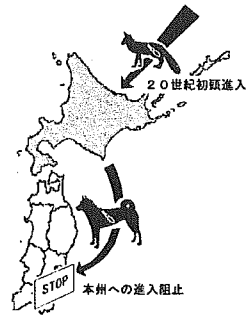
平成 15～17 年度 総合研究報告書

主任研究者 神谷正男

平成 18 (2006) 年 3 月

## はじめに

20世紀の半ば、わが国では、主に学童を対象にした集団駆虫法を採用し、寄生虫病コントロールに成功した。研究班『動物由来寄生虫症の流行拡大防止対策に関する研究』では、感染源（リスク）が、動物界にある寄生虫症を対象にしている。従来の人体寄生虫病対策とは異なり、野生動物などが、リスクの伝播に重要な役割を果たしているため対策は、より複雑である。



最近、世界銀行(WB)や世界保健機関(WHO)が注目しているDALYs(障害調整生存年数)からエキノコックス症の重要性が論じられるようになってきた(Budke,C. M.et al: EID Vol 12, No. 2 February 2006)。

研究班は、エキノコックス感染源対策の重要性について指摘し、リスク除去による環境修復へ向けた技術開発を進めてきた。このリスクを放置すれば、人的被害のみならず、経済的損失(農業、観光など)への影響は甚大である。病原体は拡散し本州へ侵入・定着する可能性がある。流行地の感染源対策は急務である。

平成11年(1999)に施行された『感染症新法』で、エキノコックス症は四類感染症に分類された。その後、法改正を経て、平成16年(2004)の厚生科学審議会感染症分科会において、「獣医師の届出対象感染症として犬のエキノコックス症を追加すべきである」との意見が出され、平成16年(2004)10月、世界に先駆けて、犬のエキノコックス症の届出が義務化された。同年11月、研究班による『犬のエキノコックス症対策ガイドライン 2004 人のエキノコックス症予防のために』が作成された。現在、地域住民が主体となったリスク除去や自治体による『媒介動物対策ガイドライン』が検討されている。



『平成15～17年度総合研究報告書』をまとめることができました。ご理解をいただきました関係各位に感謝申し上げます。

主任研究者 神谷正男

酪農学園大学 環境システム学部 環境動物学研究室

OIE エキノコックス症リファレンス・ラボ <http://www.k3.dion.ne.jp/~fea/>

## 目次

はじめに

### I. 総合研究報告書

動物由来寄生虫症の流行地拡大防止対策に関する研究 主任研究者 神谷正男	1
--	---

### II. 資料

#### 資料 1.

エキノコックス症の監視体制の強化と感染源対策 その他 神谷正男	31
------------------------------------	----

#### 資料 2.

エキノコックス症の感染源対策 奥祐三郎	45
------------------------	----

#### 資料 3.

エキノコックス症ならびにアライグマ回虫症の実態調査 川中正憲	57
-----------------------------------	----

#### 資料 4.

エキノコックス診断法のインハウス・キットの開発 高倉彰	67
--------------------------------	----

#### 資料 5.

エキノコックスに関するリスクアナリシス、リスクコミュニケーション およびリスクマネジメント 嘉田良平	70
--	----

#### 資料 6.

エキノコックスの全長cDNAの解析 渡辺純一	99
---------------------------	----

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	101
---------------------	-----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	110
-----------------	-----

V. 犬のエキノコックス症対策ガイドブック 2004	611
----------------------------	-----

## 動物由来寄生虫症の流行地拡大防止対策に関する研究

主任研究者 神谷正男 酪農大学環境システム学部環境動物学教室教授

### 研究要旨：

エキノコックス(多包条虫)症は主に野生動物間で伝播する動物由来寄生虫症で、わが国では北海道に限局していると考えられているが、本州への流行地拡大が懸念されている。多包条虫の主たる終宿主はキツネであるが、飼い犬も好適な宿主であり、人への感染源となり、北海道外への流行地拡大に関与する危険性が高いと考えられる。感染犬の移動を阻止するためには、まず北海道における流行を抑える必要がある。さらに、流行地拡大に関わると考えられる北海道における犬の感染状況の把握および感染犬に対する対策法の確立が急務であり、道外へ移動したペットのフォローアップも重要である。このエキノコックス以外にもアライグマ回虫やトリヒナなども人に重篤な疾病を引き起こし、今後の感染拡大を防止しなければならない動物由来寄生虫である。

#### 【北海道におけるエキノコックス(多包条虫)の感染源対策の確立】

まず、北海道におけるエキノコックス症の深刻な流行状況を抑えるために、我々は1998年から農村地帯(小清水町)において感染源対策の方法として駆虫薬入りベイトの散布法についてほぼ確立してきた、また、野外採取された糞便を用いたキツネの感染状況評価法についても確立してきた。2005年には住民が感染源対策を実施できるように、技術移転を試みた。すなわち、2002年度までベイトを散布し、キツネにおけるエキノコックス症の感染率の減少を確認後、2003年および2004年においてベイト散布せず、感染率が上昇した小清水町において、2005年にベイトの散布法およびキツネの糞便採取法を地域住民に対し実地説明し、その後住民によりベイトの散布および糞便採取が行われた。2004年には糞便の抗原・虫卵陽性率が8%に上昇はじめていたが、2005年には2%に減少した。予めその地域について十分にデータの揃った小清水町では容易であったが、このようなデータがない地域における住民の感染源対策を行うために、倶知安町において技術移転を試み、住民による事前調査が行われ、2005年度にはキツネの流行状況が把握された。今後ベイト散布を実施する予定である。

次に、山間部におけるベイト散布法を検討するために、2001年より小樽市の山沿いおよび山間部の道路でのベイト散布を試み、この地域で捕獲されたキツネの剖検を行い、ベイト摂取率と感染率を調べた。2004年におけるキツネのベイト摂取率は約60%(4-7月まで4回ベイト散布)で、キツネの多包条虫感染率の低下(感染率40%→10%)が認められ、山間部における感染源対策としてのベイト散布法の有効性が示された。2005年度には小樽市においてベイト散布を休止したが、感染率の上昇は認められなかった。

都市におけるエキノコックス伝播を解明するために、札幌市北東部において調査を実施し、キツネの営巣地6カ所中5カ所から感染キツネ(キツネ18頭中6頭)または糞便内抗原および虫卵陽性糞便が見つかった。営巣地周辺では好適な中間宿主であるエゾヤチネズミが発見され、エキノコックスが都市周辺部に定着していることが示唆された。2005年には住民が多数集まる野幌森林公園においても、キツネの糞便採取を試み、この糞便を検査したところ、公園内のキツネが感染していることが明らかとなった。このような公園におけるベイト散布が必要と考えられる。

現在、キツネのエキノコックス流行状況を把握するために、野外採取した糞便を用い、その形態や内容から糞主動物を推定しているが、この鑑別法を確認するために、DNAによる糞主動物種の鑑別法を開発した。すなわち、凍結糞便表面の洗浄液からDNAを抽出し、新たに設計したプライマーセットを用いたMultiplex-PCRにより鑑別し、古い検体を含め野外材料に対しても十分に応用可能な糞主動物の鑑別法を確立した。これにより、動物別(キツネ、タヌキ、犬、猫、イタチなど)の感染状況がより詳細に把握可能となった。

#### 【エキノコックス伝播数理モデルの開発】

宿主生態モデルを実装したエキノコックス伝播数理モデルを開発し、2003年には感染源対策に対するシ

ミュレーションを実行できるようにした。2004年にはこの数理モデルを深度化し、全体計画の構築、捕食感染エゾヤチネズミの原頭節分布の部分設計、モデル化に必要とされる準備を行なった。さらに、2005年には主要な終宿主であるキツネの Individual model 化を行い、エキノコックス伝播ストカスティック数理モデルを構築した。

#### 【感染源対策によりもたらされるリスク削減便益の経済評価と感染源対策の費用】

エキノコックス関連リスクの効果的・効率的な管理のあり方についての検討を深めるため、道内4市町を対象に、エキノコックス対策に関するアンケート調査を実施し、地域住民の認識や選好の把握を試みた。ここでは、表明選好アプローチの1つであるCVM (Contingent Valuation Method: 仮想評価法) を用いて、感染源対策(ペイト剤散布)によりもたらされるリスク削減便益の経済評価を行った。さらに、感染源対策の費用対効果の検証に向けた検討を行った。

#### 【北海道のペットのエキノコックス流行状況と感染動物の特徴】

我々は、北海道(一部道外も含む)の飼い犬および飼い猫の検査(糞便内抗原・虫卵検査)を行ってきたが、ペットについては、2003年には飼い犬および猫それぞれ1,140頭中6頭および107頭中3頭が糞便内抗原陽性を示し、うち犬3頭はエキノコックス虫卵を排泄していた。2004年度には犬(約1100頭)、猫(約100頭)を検査し、犬ではELISA擬陽性および陽性が8頭あり、そのうち犬3頭においては虫卵も検出され、虫卵の遺伝子検査からも3例とも多包条虫感染と確認された。さらに、下痢便中に多包条虫様の片節が発見された犬の症例も1例発見され、この虫卵の遺伝子を検査により確認された。合計7例の感染犬が2003-2004年度に北海道において発見した。これらの感染犬については健康危険情報を提供した。2005年もほぼ同様の成績(552頭中2頭が陽性)で、陽性であった例については獣医師によって届け出がなされた。これらの感染動物は当初予想された屋外飼育で、放し飼いの犬だけでなく、現在一般的な飼育形態である、主に室内で飼育され、毎日リードに繋がれて散歩に出る犬でも感染していることがわかった。

#### 【本州のペット・豚の調査】

エキノコックス症流行地拡大を具体的に監視し、阻止する方策を提案する事が重要な課題である。その為の可能な方策の一つとしては北海道から移動する飼育犬への対策があり、その実態調査を実施した。まず、本州のペットについては動物病院を介して、2003年および2004年において関東地方の19ヶ所の動物病院から犬、猫併せて385検体、東北地方でも19動物病院から457検体を集め、さらに、2004年には大阪市内で捕獲された放浪犬81頭と飼育放棄犬19頭の100頭について糞便を検査(抗原および虫卵検査)したが、陽性個体は全く検出されなかった。

また、多数の多包条虫症患者が報告されている青森県におけるエキノコックス監視体制構築のための方策について研究した。2002年~2006年2月までに収集された検体数は、キツネ由来糞便が42検体、猟犬由来糞便が134検体、その他犬由来糞便が86検体で、猟犬群1頭に糞便内抗原陽性が発見された。この個体についてはさらに試験的駆虫を実施し、糞便内抗原の陰転が確認された。しかし、駆虫薬の投与によって排出が予想される糞便内の虫体あるいは特異的DNAは濾便の簡易沈殿およびnested-PCRのいずれの方法でも検出されず、多包条虫感染を寄生虫学的に証明することはできなかった。東北地方の食肉検査所で検査された豚からも、肝臓の病変について詳細な検討を加えたところ、いずれも病理組織学的に否定された。

2004年度はフェリー会社などの協力を得て、実際に移動犬調査を実施したが(北海道犬群41頭、非北海道群142頭)、虫卵陽性例は発見されなかった。しかし、糞便内抗原陽性は両群各1頭から発見され、糞便内DNAの検出を試みたところ、非北海道群の犬では駆虫前後のいずれの検体からも予想サイズの増幅産物(250bp)が得られ、その塩基配列は多包条虫と完全に一致し、エキノコックスの感染の可能性が示唆された。また、流行地拡散因子としてフェリーで移動するこれら車輛の汚染を考慮し、土壌中の虫卵検査法を確立し、北海道の港から青森港に入港するフェリーの土砂を集めて検査したが、汚染を特定できなかった。

動物取り扱い業者の北海道から東京への移転に伴う検査では全例陰性であったが、今後も多数の動物の移動に関与する動物取り扱い業者における監視体制も重要と考えられた。

ところが、埼玉県において2005年5月下旬に県北部で捕獲された雌犬1頭からテニア科条虫卵が検出され、虫卵から得たDNAの12S rRNA領域の塩基配列を解読したところ、多包条虫(北海道分離株)の配列と完全に一致した。この事例は、感染症法改正後に北海道外で初めて発見された犬のエキノコックス症として届出がなされた。犬での感染発見を受け、埼玉県内で中間宿主動物に対する流行調査が実施された。

#### 【犬のエキノコックス症対策ガイドライン作成】

これまでの感染犬の診断・治療の経験を踏まえて、2004年10月からのエキノコックス感染犬の届け出の義務化に伴い、「犬のエキノコックス症対策ガイドライン 2004-人のエキノコックス症予防のために」を作成し、関係部署に配布した。

#### 【ペットの迅速診断としてのイムノクロマトキットの開発】

エキノコックスのペット診断法(糞便内抗原検出法)の迅速(インハウス)診断キット開発のためにイムノクロマト法について検討した。モノクローナル抗体 EmA9 クローンとポリクローナル抗体あるいは Emi と EM11 クローン抗体を抗原捕捉抗体として組み合わせたイムノクロマト法による簡便で、高感度・特異性を有し、かつ迅速に診断できる検査キットの開発を検討した。その結果、EmA9 クローンとポリクローナル抗体の組合せた IGC が従来法である ELISA と同等の検出感度(98.8%)を有することが確認でき、本感染症スクリーニング用診断薬として有用性が高いことが示された。しかし、確立した本 IGC の特異性は、陰性検体において 80%程度であり、確認試験等のバックアップ体制が必要と考えられる。

#### 【エキノコックス虫卵 DNA 検査について】

現行の ELISA 法および虫卵検査の確認診断法として、虫卵 DNA を利用したテニア科条虫種の同定法を検討した。COI 領域のエキノコックス特異プライマー E.mSP1-A & B を構築し、さらに、適当な制限酵素を用いた COI 領域の PCR-RFLP により、各種のテニア科条虫が同定できる可能性を示した。

#### 【虫卵排泄前の糞便 DNA の PCR によるエキノコックス症診断】

現在までペットの多包条虫感染診断法として糞便内抗原検出法を開発してきたが、感染初期に抗原陽性となるが、虫卵は排泄されていない症例がしばしばあり、虫卵 DNA による確認ができなかった。この虫卵排泄前の期間における虫体由来 DNA 確認法の開発のために、犬へ感染実験を試み、感染後 22 日(虫卵排泄前)までの犬の糞便から直接エキノコックス DNA 検査を実施した。しかし、重度感染犬においても DNA の検出率は低く、検出率を上げるために、駆虫薬投与直後の糞便を用いて検査を行ったところ、検出率は顕著に上昇したが、100%の感度ではなく、今後さらに DNA 抽出法、プライマーの変更などの改善が必要と考えられた。単包条虫感染させた代替終宿主においてもほぼ同様の結果であった。

#### 【エキノコックスに対する宿主免疫応答と感染による免疫抑制】

将来的な終宿主対策として、ベイト散布以外にもワクチン製造が重要と考えられる。この基礎情報として、終宿主の免疫応答を調べ、液性および細胞性免疫応答が誘導されることを確認した。しかし、多包条虫は糖鎖を多く含んだ物質を排泄・分泌することで、局所(小腸)の免疫応答を抑制することが示唆された。感染防御に関わる物質の特定だけでなく、免疫抑制物質に対する対策も必要であることが示唆された。

#### 【人のエキノコックス症血清診断法】

人のエキノコックス症の実態調査の為に必要な血清診断法について検討を行い、ウエスタンブロット法によるフランス製市販キットの有用性を確かめた。

#### 【中央アジア・カザフスタンにおける調査】

2005年8月、カザフスタン共和国教育科学省動物学研究所(旧科学アカデミー)との共同調査で、同国のロシア国境に近い地域に多包条虫流行地が確認された。動物学研究所は旧ソ連時代から動物由来寄生虫病の研究分野では中央アジア諸国の中核研究機関として業績をあげている。最近の報告でエキノコックス症(単包条虫症)は、独立前の1974年~1994年と独立後の1994年~2003年で患者数は4倍に、また14歳以下の児童の感染率が35%増加しているとしている。その要因として、家畜、主に羊の飼養形態(牧畜規模の変化:少数飼育→牧羊犬の増加)が指摘されている。同国は、本研究班で検討されているエキノコックス感染源対策、とくに終宿主の「迅速診断法」を中心にした技術協力を JICA へ要請している(12案件中2位)。

#### 【中国青海省におけるエキノコックス症の疫学調査】

中国青海省の4箇所の集落を対象とし、住民1549名の超音波による検査と、血清のエキノコックス抗体の検出を試みた。また、同地域での浮浪犬あるいは飼育犬のエキノコックス感染状況を調査した。これらの検査により、濃厚侵淫状況(約8パーセントが有病者、犬の糞便の9.0%がテニア科条虫卵陽性)が明らかとなり、かつ今後の対策研究に必要な生物材料を得る事が出来た。

#### 【アライグマ回虫の調査と虫卵の鑑別法】

アライグマ回虫感染について実態調査を行ったところ、7つの動物園・観光施設で感染個体が認められた。野生アライグマの糞便検査ではアライグマ回虫卵は発見できなかったが、タヌキ回虫の寄生が認められた。この結果からアライグマ回虫卵の鑑別の必要性が示されたため、今後の監視に必要な回虫卵のマルチプレックス PCR 法による迅速鑑別法を開発した。

#### 【トリヒナ（旋毛虫）の調査と分類】

小樽市はトリヒナの流行地であるが、2003年に北海道各地（函館，音更，釧路，網走，栗山）から集められたキツネ18頭について調査したところ、4頭からトリヒナ幼虫が検出され、北海道全域に分布している可能性が示唆された。2000-2004年の調査では小樽のキツネでは14% (49/350)の感染率であることを示した。2005年にはヒグマからも感染個体が検出された。これらの分離されたトリヒナの遺伝的な解析により、北海道には2種(T9および *Trichinella nativa*)分布することが明らかとなった(本州では散発例のみでT9のみが報告)。今後、全道的にさらに大規模な調査が必要であると考えられる。

#### 【ペットの人獣共通寄生虫調査】

北海道および関東地方において飼い犬(1,419頭)および飼い猫(203頭)の消化管内寄生虫流行状況を調査したところ、犬の4.6%、猫の6.9%で何らかの寄生虫感染が認められ、特に人獣共通寄生虫として重要な回虫は犬で0.9%、猫で6.4%の感染が検出された。

#### 分担研究者

川中正憲 国立感染症研究所寄生動物部 第二室長

嘉田良平 農林水産省農林水産政策研究所 (株式会社 UFJ 総合研究所 顧問、その後アマタ株式会社)

高倉 彰 (財) 実験動物中央研究所 室長

渡辺純一 東京大学医科学研究所 助手

奥祐三郎 北海道大学大学院獣医学研究科 助教授

を確立する必要がある。本研究では小樽の山沿いおよび山間部における駆虫薬入りペイト散布による多包条虫症感染源対策を試みた。さらに、感染源対策の全道展開のために、住民による感染源対策実施に向けて技術移転を試みた。

エキノコックスの感染源対策の効果判定のためには、野外で多数の糞便を採取し、その形態や内容などからキツネ由来の糞便と推定しているが、その糞便がキツネ由来であることの確認が必要である。糞主動物種を同定するために、Multiplex-PCRによる鑑別法の開発を試みた。

感染源対策に投ずる費用を考えるに当たり、エキノコックス関連リスクの効果的・効率的な管理のあり方について検討する必要がある。道内4市町を対象に、エキノコックス対策に関するアンケート調査を実施し、地域住民の認識や選好の把握を試みた。また、ペイト剤の散布によりもたらされるリスク削減便益に対して、地域住民がどの程度の価値付けを行うかを検証するために、表明選好アプローチの1つであるCVM (Contingent Valuation Method: 仮想評価法)を用いた調査設計を行った。さらに、その対策実施に要する費用の試算を行った。

感染源対策をシュミレートするためにもエキノコックスの伝播に関する数理モデルは重要と考えられる。北海道におけるエキノコックス流行は、主に終宿主であるキツネと中間宿主であるエゾヤチネズミに関わる感染環を通して維持されている。従前のエキノコックス伝播数理モデルを深度化を試みた。

北海道では多数の住民が生活する都市部においてもキツネが出没し、エキノコックスの感染が危惧されている。札幌市のような都市部においてもエキノ

## 【エキノコックス】

### A. 研究目的

多包条虫症は主に野生動物間で伝播する人獣共通寄生虫病で、現在わが国では北海道に限局していると考えられている。北海道へは海外から人為的に導入されたものと推測されており、1980年代に道東から全道への流行地拡大が確認されてきた。さらに1990年代には主な終宿主であるキツネの感染率が上昇し、現在ではほぼ40%と多包条虫は北海道において猖獗を極めている。北海道では年間発生患者数も増加し、過去5年間の平均では年間16名の患者が報告されている。今後、本州への分布拡大が予想され、すでに感染犬が本州に持ち込まれたことを我々は報告した。今後の本州への流行地拡大が懸念される。

近年、北海道ではキツネの多包条虫感染率は高く、これらの感染源動物に対する対策が必要となっている。すでに平坦な農村地帯におけるペイト散布による多包条虫感染源対策についてはほぼ確立してきたが、市街地辺縁部における多包条虫症感染源対策も急務となっており、山沿いや山間部における散布法

コックスの流行状況および伝播状況を把握する必要がある。因みに、札幌市内の市街地で交通事故にあったキツネから感染個体がしばしば発見される。また住民の憩いの場となっている森林公園などにおける状況を把握する必要がある。

上述したように、キツネは多包条虫の主たる終宿主であるが、飼い犬も好適な宿主であり、人への感染源となる危険性が高く、流行地拡大防止に関与すると推測される。したがって、北海道におけるペットの感染状況の把握および感染犬に対する対策法の確立が急務となっている。現在、年間1万頭以上の犬が北海道から他都府県へ移動しているとの推計されている。犬を伴って移動する飼い主の多包虫症に対する認知度の調査を行い、さらに実際に移動した犬の多包条虫検査を実施することで、多包虫症拡大防止対策のあり方を検討した。

わが国における人の多包虫症の大部分は、多包条虫の土着が認められる北海道での発生であるが、青森県は最多の北海道外例および原発が疑われる例が確認されている。これは、北海道・青森両県間の人的・物的交流の緊密さに起因すると考えられるが、その具体的な要因については解明されていない。1999年に同県産の豚から多包虫症が発見され、同県での多包条虫定着が疑われてきた。多包条虫は青森県において土着しているのか、あるいは北海道からの侵入を受けつつあるのか、などを調査し、監視体制と拡大防止対策のあり方を検討する必要がある。

豚は全頭食肉処理場で獣医師により検査されていることから、全国のエキノコックス症の監視のためには有用な指標となりうる。現在豚の多包虫診断は肉眼的な病変を検出し、その材料を病理組織学的にクチクラ層を検出することにより行われているが、クチクラ層の検出が困難なことがある。より確実な検査法が望まれており、今回遺伝子診断を試みた。

現在ペットの診断はサンドイッチELISAによる糞便内抗原検出が行われているが、この検査のためには検査所に検体を送付し、回答を得るまでに時間を要する。今後、迅速で、簡便で、高い感度・特異度を有する診断キットが必要である。そこで本研究では高い感度・特異度のインムノクロマト法を開発することを目的とした。

平成16年11月、感染症法が改正された。この改正では「犬のエキノコックス症」を診断した獣医師に届出が義務付けられ、その基準となる診断法として、(1)病原体の検出、(2)病原体の遺伝子の検出、(3)病原体の抗原の検出、の3つの方法が指定されている。虫卵が検出された場合でも、テニア科条虫

卵は形態学的類似性の高さからエキノコックスのものと同定が困難であるが、虫卵からの遺伝子検出によりエキノコックスを含む他のテニア科条虫も鑑別可能な方法を試み。また、虫卵を産生する前の感染初期における糞便そのものを材料とした糞便DNA診断を検討した。

人への多包虫感染機会を減少させるために、終宿主に対するワクチン開発も重要な課題である。本来の終宿主である犬と代替終宿主モデルであるスナネズミを用いて、多包条虫の感染に対する免疫応答を観察し、腸粘膜における多包条虫の定着・生存に重要と考えられる寄生虫成分の免疫系への影響について調べ、また、抗原に含まれる糖鎖成分についても解析した。

カザフスタン共和国教育科学省動物学研究所は、旧ソ連時代から動物由来寄生虫病の研究分野では中央アジア諸国の中核研究機関として業績をあげている。エキノコックスに関して、同国の独立前後の変化を文献的に明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 感染源対策の試行

小清水では、2003年と2004年はベイトを散布せず、我々が各8月に糞便採取し、キツネの流行状況の推移を調べるために、これらの糞便内の抗原および虫卵を検査した。2005年には、NPO法人オホーツクの村の会員に小清水町全体のベイト散布地点(主に道路と防風林の交点)についてプロットした地図を配布し説明を加えた。その後、同伴し、小清水町を自動車で行き、数カ所のプロットにおける散布法を示し、またキツネ糞便採取ポイントと自動車からのキツネ糞便発見法および糞便の取り扱いの注意点(虫卵感染の予防)について実地で説明した。

倶知安でも2005年キツネの糞便採取法の技術移転を試みた。すなわち、実地説明後、住民が7月、9月、11月に糞便を採取し(各約80検体)、各糞便の採取地点を地図にプロットした。これらの採取糞便を用いて糞便検査(抗原および虫卵)を実施した。

小樽では、市街地辺縁部山沿いおよび山間地における駆虫薬入りベイト散布による多包条虫症感染源対策の試みのために、市街地辺縁部(110km<sup>2</sup>)の山沿いおよび山間部において、多包条虫症の感染源である野生キツネを対象とした駆虫薬(プラジカンテル)入りベイト散布を1km<sup>2</sup>あたり約30個の密度で道路沿いに行い、多包条虫症のコントロールを試みた。キツネによるベイトの摂取確認のためテトラ



サイクリンをバイオマーカーとしてベイトに添加した。2001～2002年は試験的に5～7月に2回の散布を行い、ベイト摂取群での多包条虫感染の減少を確認した。さらに効果を高めるために、2003・2004年は積雪のない5～11月に毎月1回計7回のベイト散布を行った。2003年には6月にのみテトラサイクリン入りのベイトを散布し、1回散布によるキツネのベイト摂取率を調査した。2004年度には2003年度に採取した動物を検査し、ベイト散布も実施した。効果の判定には、北海道猟友会の協力で有害鳥獣駆除で捕殺されたキツネおよびタヌキを検体としてもらい受け、直腸便の糞便内抗原検査および虫卵検査を行った。

ベイト摂取状況はキツネを剖検し、犬歯におけるテトラサイクリン沈着の指標となる蛍光のラインを検出した。

## 2. 札幌市でのエキノコックス感染リスクの評価

### 2-1. 札幌市北東部の調査

都市でのエキノコックス生活環の成立の可能性について検討するため、札幌市北東部およびその周辺において猟友会の協力によりエキノコックスの媒介動物調査を行った。まず、キツネの活動の拠点としての営巣地の位置を特定し、エキノコックスの流行状況を知るためにキツネの捕獲・剖検を行なった。また、これらのキツネの生息地においてキツネの糞便を採集し、エキノコックス糞便内抗原検査と虫卵検査を行なった。営巣地の周辺における野ネズミ類（特にエゾヤチネズミ）の分布を調べ、エキノコックス感染状況を調査した。

### 2-2. 野幌森林公園

人への感染ルートが不明であるエキノコックス症の対策には、感染源（リスク）の分析およびその除去が重要である。リスクの把握（ハイリスク地域の特定など）や最適なリスク除去対策の立案には、正確な感染源モニタリングによる基礎情報が不可欠である。そこで、本調査では、地理情報システム（GIS）を活用した都市圏におけるエキノコックス症感染源モニタリングを実施した。

## 3. Multiplex-PCRによる糞由来動物種判定法の開発

まず、糞便を混和後DNA抽出を試みPCRを実施したところ、PCR阻害物質の混入が問題となった。そこで、糞便表面の大腸粘膜細胞を採取するために、糞便を凍結し、その糞便表面の洗浄液のみを利用した。この方法により、糞のPCR阻害物質のDNA抽出物への混入を抑え、より効率の高いPCRを行うこ

とができた。

次に、Multiplex-PCRの増幅標的とする部位としてミトコンドリアDNAのD-loop領域を選び、プライマーは、リバーには哺乳動物共通部分を使用し、フォワードにはアカギツネ、タヌキ、イヌ、ネコ、アライグマ、イタチ類にそれぞれ特異的なものを使用した。6種類の特異プライマーは増幅産物の大きさが約160bp、240bp、300-330bpの三段階の組合せが二組になるように設計し、既知動物種の材料を用いて同定を確認した。さらに、糞便を屋外に放置し、長期間雨ざらし状態でも排泄動物種の同定が可能であるか確かめた。最後に、野外採取された多数の糞便を用いて、実用的であるかどうか確認した。

## 4. エキノコックス伝播数理モデルの開発

これまでに開発したエキノコックス流行モデルについて、野ネズミ個体群密度及び積雪深に依存するキツネの野ネズミ日捕食数を表す食性関数、および環境中に排出された虫卵の感染能維持期間を考慮した虫卵活性度の概念を導入しその精密化を行った。このモデルについて、北海道で実施された事項に基づきコントロール対策として、キツネの駆除およびキツネの駆虫の2つの効果を組み込んだ。ストカスティック個体基盤モデル、キツネ個体エキノコックスモデルおよび感染強度について検討した。

## 5. 感染源対策によりもたらされるリスク削減便益の経済評価

### 5-1. エキノコックス対策に関するアンケート調査の実施

#### ①対象地域・配布数の選定

地域特性やベイト剤散布の実績等を勘案し、札幌市（中央区・北区）、小樽市、富良野市、小清水町の4市町をアンケート対象地域に選定した。また、郵送方式によるアンケートの回収率を25%と想定し、各市町から150部程度の回答を回収するために、アンケートの配布数は各600通（計2,400通）とした。

#### ②標本抽出

各市区町の選挙人名簿から、無作為抽出によって標本の抽出を行った。

#### ③感染源対策（ベイト剤散布）によりもたらされるリスク削減便益の計測方法

ベイト剤の散布によりもたらされるリスク削減便益の計測には、CVM（Contingent Valuation Method：仮想評価法）を用いた。ここでは、二段階二肢方式の質問方式を採用し、感染源対策（ベイト

剤散布)によりもたらされるエキノコックス感染リスクの削減に対する地域住民の支払意思額 (Willingness to Pay: 以下、WTP) を尋ねた。また、WTP を推定するための計測モデルとしては、寺脇 (2002) を参考に、間接効用アプローチによるパラメトリック推定法を採用した。

## 5-2. 便益移転性の検証方法

### ①分析データ、計測モデル

平成 16 年 1 月に実施された「エキノコックス対策に関するアンケート調査」で得られた CV データを対象に分析を行った。このアンケート調査は、札幌市 (中央区・北区)、小樽市、富良野市、小清水町の各市町に対して実施されたものである。ここで、回答者に WTP を尋ねる質問形式としては、図表 1 に示す二段階二肢方式が採用され、一段階目及び二段階目の提示額が設定されている。また、標本サイズの決定は、WTP 推定に関わるアンケート項目に全て回答している被験者から、抵抗回答を表明している被験者を除外することで行っている。

支払行動関数の計測モデルとしては、間接効用アプローチによるパラメトリック推定法を採用し、WTP 分布は対数ロジスティック分布を仮定した。また、支払行動関数の推定を行う際の説明変数の候補としては、アンケート調査において得られた各項目を設定した。

### ②便益関数移転

便益移転の方法としては、原単位法、便益関数移転、メタ分析移転等があるが、ここでは、わが国においてその研究が盛んである便益関数移転を用いた。

具体的には、寺脇 (2002) や吉田 (2000) を参考に、便益関数の移転可能性について、尤度比検定によりパラメータの一致性に関する仮説検定を行った。この検定における帰無仮説は「便益関数移転は可能である」であり、対立仮説は「便益関数移転は不可能」である。尤度比検定統計量は式(1)に示す通りである。

$$LR = -2 \left[ \ln L(\hat{\theta}_r) - \sum_{g=1}^G \ln L(\hat{\theta}_g) \right] \dots (1)$$

ここで、 $\ln L(\hat{\theta}_r)$  はパラメータが分割される地区間で均一であるという仮説の下で得られる推定値によって評価された対数尤度、 $\ln L(\hat{\theta}_g)$  は分割された地区  $g$  において得られる推定値によって評価された対数尤度、 $G$  は分割された地区の数を表している。また、地区  $g$  のパラメータの数を  $K_g$ 、分割が行われない場合のモデルのパラメータの数を  $K$  とすると、(1)式で

表わされる尤度比検定統計量は、自由度  $\sum_{g=1}^G K_g - K$  の  $\chi^2$  分布に従う。

## 6. 北海道の多包虫症流行抑制対策と廃棄物処理の実態調査

研究材料は、主に北海道庁刊行物 (「北海道農林水産統計年報-総合編」(農林水産省北海道統計情報事務所)、「北海道農林水産統計年表-市町村別編」(同)、「飼育動物診療年報」(農政部酪農畜産課)、「食肉検査グループ事業概要」(保健福祉部食品衛生課) および「産業廃棄物実態調査報告書」(北海道環境生活部環境室循環型社会推進課)と「鳥獣関係統計」(環境省自然環境局野生生物課)によった。また、北海道水産林務部企画調整課ホームページ (<http://www.pref.hokkaido.jp/srinmu/sr-kcsei/index.html>)「データでみる北海道の水産」、「漁業養殖業生産統計年報」(農林水産省統計情報部)及び「北海道農林水産統計年報」から水産林務部水産経営課ホームページ (<http://www.pref.hokkaido.jp/srinmu/sr-skeie/contents/index.htm>)「平成 15 年度漁業系廃棄物発生量調査(平成 14 年度分)」、「北海道エキノコックス症対策協議会資料」(北海道保健福祉部)を参照した。また、情報を補足・確認するため北海道保健福祉部疾病対策課、同環境生活部循環型社会推進課、同農政部畜産振興課の担当者とメール及び直接面談による情報交換を行った。さらに、北海道北広島市のゴミ処理場を視察し、雪面に残されたキツネ足跡から、ごみ処理場におけるキツネ生態を観察した。

## 7. 北海道のペットのエキノコックス感染状況調査

飼い犬および猫のエキノコックス感染状況を検討するため、動物病院から依頼されたペットの糞便を用いて虫卵検査および糞便内抗原検出法による調査を行った。糞便の虫卵検査については比重 1.27 のシヨ糖を用いて遠心浮遊法で実施し、さらに、エキノコックス感染に関して EmA9 を用いたサンドイッチ ELISA 法で糞便内抗原検査を実施し、さらに、ペットについては飼い主へのアンケート調査も併せて実施した。

2003 年度は飼い犬および猫それぞれ 1,140 および 107 頭について調査を行った。

2004 年度においては、犬(1,048 頭)、猫(105 頭)を調査した。

2005 年度においては検査頭数は計 584 頭(犬:552 猫:32)であった。

## 8. 本州の動物病院に来院したペットおよび捕獲犬の多包条虫調査

東北地方および関東地方の動物病院に協力を仰ぎ、飼い犬および飼い猫の糞便を集めた。大阪では大阪市内で捕獲された放浪犬および不要犬の糞便を集めた。糞便の虫卵検査については比重 1.27 のシヨ糖を用いて遠心浮遊法で実施し、さらに、エキノコックス感染に関して EmA9 を用いたサンドイッチ ELISA 法で糞便内抗原検査を実施し、さらに、ペットについては飼い主へのアンケート調査も併せて実施した。

## 9. 北海道からフェリーを用いて他都府県へ移動する犬の実態調査

2003 年 9 月～2004 年 9 月まで北海道と他県との連絡航路をもつフェリー会社の協力を得て、以下の調査を行った。

一次調査：犬を連れて道内各港から本州へ向けて出発する飼い主への質問票調査。この調査は、乗船手続の際に窓口で犬の同乗申請を行った者への調査票（多包虫症を解説した折込み印刷物および質問を印刷したハガキ）の配布による。

二次調査：一次調査への回答者を対象に行った。この調査は、犬の検査を希望する飼い主から受け付けた糞便検体の検査と、より詳細な質問票調査からなる。糞便の検査は糞便内抗原ならびに虫卵の検出によって行った。糞便内抗原の検出には市販キット（CHEKIT®-Echinotest, Dr. Bommeli AG, スイス）を使い、虫卵の検出は比重 1.27 の蔗糖液を用いる遠心浮遊法によって行った。質問票調査には、犬の個体情報（品種・性等）・移動の目的・北海道滞在時（北海道現住者では居住時）の飼育管理の方法に関する質問項目が含まれた。集計項目の群間比較として統計学的検定を行った場合は有意水準 5% 以下を有意とみなした。

## 10. 青森県におけるエキノコックス調査

多包条虫の終宿主となる動物としてキツネおよび犬を対象とした。キツネ由来の材料は、県猟友会の協力を得て、猟期および有害獣駆除期間（2003 年 12 月～2004 年 6 月）に県内にて採取されたキツネ直腸便および落下便を収集した。多包条虫が定着していた場合、主たる終宿主であるキツネの生息地で活動する猟犬もまた感染の機会が考えられる。そこで猟友会員が飼育する猟犬の糞便検査も行った。糞便内抗原の検出および虫卵の検出方法は 1-1 と同様の方法で実施した。さらに陽性例については糞便内

DNA の検出も行った。糞便検体からの鑄型 DNA の精製は QIAamp® DNA Stool Mini Kit（キアゲン）で行い、Dinkel ら（1998）が報告した nested-PCR 法に若干の改変を加えて多包条虫特異配列の増幅を試みた。以上と糞便を用いた調査のほか、今後の疫学調査における予備的資料（材料入手の可否および容易性）とする目的で、同県内でのキツネの捕獲・生息に関する状況の質問票調査も併せて実施した。また、犬に関する質問票調査も同時に実施した。

## 11. 簡便迅速なイムノクロマトキットの作成

迅速で簡便な検査法として、モノクローナル抗体を補足抗体としたイムノクロマト法による本感染症の診断のためのインハウスキットの開発・実用化を検討した。

まず、2003 年には試作キットの作成と性能評価のために、幅約 5mm のニトロセルロース膜の先端に、モノクローナル抗体と陽・陰性判定用ラテックス標識抗 Em ウサギポリクローナル抗体結合物を装着し、反応展開部の陽・陰性判定部に捕捉抗体として EmA9Mb を、また反応確認部に抗ウサギ IgG をライン状に塗布し、試作キットとした。その評価を、陽・陰性対照糞便および野外材料 13 検体を用いて実施した。

つぎに、試作キットの評価のために、捕捉抗体として EmA9 と Em ポリクローナル抗体の組合せによる反応系の評価を ELISA 陽・陰性イヌ・キツネ糞便 205 検体を材料に試作キットの検出感度、特異性を ELISA と比較した。2004 年には特異性向上の検討のために、EmA9 のロット差の比較とその結果をふまえ、特異性向上のため、他モノクローナル抗体（Emi, Em11）の検討と測定法として 1 ステップ方式（Full dip stick (FD)）および 2 ステップ方式（Half dip stick (HD)）の比較を実施した。2005 年には FD と HD の感度・特異性の比較を、陰性・陽性計 126 検体および感染実験材料を用いて検討した。さらに、実用化に向けたキットの最適化を行った。

## 12. 虫卵排泄前の糞便の PCR による診断

### 12-1. 多包条虫感染犬について

様々な数(1,000-1,000,000)の原頭節を犬(5 頭、A-E)および猫(2 頭、A および B)に感染させ、虫卵排泄前の 22 日まで、経時的に糞便 200mg を採取した。これらの糞便から QIAamp DNA Stool Mini Kit を用いて DNA 抽出し、プライマー(Em-1、Em-2、Em-3、Em-4)を用いて、Single-Tube Nested PCR (van der Giessen, 1999)を行い、多包条虫ミ

トコンドリア 12s rRNA 遺伝子の増幅の有無を調べた。また、別の感染犬 2 頭(F および G、10,000 もしくは 100,000 投与)を用いて感染後 14 日目に駆虫薬プラジカンテルを用いて駆虫し、糞便を採取して、糞便 DNA を上記と同様に調べた。

#### 12-2. 単包条虫感染代替終宿主について

実験感染には代替終宿主として免疫抑制スナネズミ 1 頭を用いた。青海省産ヒツジ由来単包条虫原頭節 7 万を経口投与し、安楽殺を行った感染後 30 日目まで糞便を経口的に採取した。また、腸管からのエキノコックス排除による糞便内 DNA 消失の傾向を見るため、感染 27 日後にプラジクアンテル (50 mg/kg B.W.) による駆虫処理を行い、安楽殺後に摘出した腸管内腔を実体顕微鏡下で検索し駆虫効果を確認した。糞便内 DNA の抽出には QIAamp DNA Mini Stool Kit (QIAGEN GmbH, Germany) を用い、12S rRNA 領域を標的部位とするプライマーペア (P60.for.と P375.rev.) を用いて検出を試みた。

#### 13. 虫卵 DNA 検査

現行の糞便内抗原および虫卵の検出によるエキノコックス終宿主診断の補足診断法として、虫卵 DNA の利用によるテニア科条虫種の同定法を検討した。

#### 14. 多包条虫に対する終宿主の免疫応答

感染後の免疫応答を明らかにするために、2 頭の犬を用いて多包条虫感染後の液性および細胞性免疫応答を経時的に観察した。その後代替終宿主としてスナネズミ(多数)に原頭節を経口投与して感染に対する免疫応答を観察した。さらに多包条虫抗原による免疫応答の抑制効果を調べるために、リンパ系細胞に原頭節の虫体抗原および排泄・分泌抗原、成虫の虫体抗原および排泄・分泌抗原をマイトジェン (ConA および LPS) と共刺激し、増殖応答の抑制を観察した。さらに多包条虫抗原の糖鎖成分について検討した。

#### 15. 人の診断法の検討

人患者血清 80 検体を用いてフランス製市販診断キット (高感度イムノブロットアッセイキット (FWB)) を評価した。

#### 16. カザクスタン

2005 年 8 月、B. シャイケノフ教授 (動物学研究所) との共同で流行地ならびに文献調査を実施した。

#### 17. 中国青海省におけるエキノコックス症の疫学調

#### 査

中国青海省は、単包条虫と多包条虫が同所的に分布し両方の寄生虫感染によってヒトのエキノコックス症が起きている。この地において、ヒトと終宿主動物の疫学調査をヒューマンサイエンス振興財団の中国疾病予防センター寄生虫研究所への委託事業として実施した。

調査地は、青海省果洛 (グオルオチベット族自治州) の久治 (チクジイル) に設定した。この地域は 3600-4500m の高地にあり人口約 2 万人のうちチベット人が 87% を占め、青海省と四川省とのボーダーに位置する。エキノコックス症については殆ど調査されていない。

調査方法は、4 箇所の集落を対象として住民検診の中で、超音波による検査と血清採取を行い抗体の検出を試みた。また、同地域での浮浪犬あるいは飼育犬のエキノコックス感染状況を調査した。

### C. 研究結果

#### 1. 感染源対策の試行

1998 年から 2005 年までのベイト散布地域の感染状況 (抗原および虫卵陽性糞便数/全採取糞便数) の推移を青線、非散布地域を緑線で分担報告書に示した。ベイト散布前は 30% であったものが、2000 年には 5% に、2002 年ではさらに 2% 程度にまで減少した。2002 年にベイト散布を 2004 年まで中止したが、2004 年には 9% に上昇していた。2005 年の 5 月から 11 月までの住民による毎月のベイト散布が実施された。その間に 8 月に採取したキツネの糞便について検査したところ、糞便の抗原および虫卵陽性率が 2% に減少し、散布効果が認められた。

小樽のキツネによるベイト摂取を犬歯のテトラサイクリン沈着により調べたところ、73 頭中 33 頭 (45%) のキツネでベイト摂取が確認された。6~9 月に捕獲されたキツネの結腸便の糞便内抗原陽性率はベイト散布前の 1999・2000 年は 50% 程度であったが、ベイト散布を実施した 2001~2003 年は 20% 前後を推移し、このようにベイト散布により山沿いにおいてもキツネの多包条虫感染率が低く抑えられていることが示唆された。2004 年の検体は現在処理中であるが、2003 年の頻回ベイト散布による累積効果によるさらなる感染率減少が期待される。また、ベイト摂取 (犬歯のテトラサイクリン沈着) と腸管のエキノコックスの検査結果から、ベイト摂取による駆虫効果が確認された。

#### 2. 札幌市でのエキノコックス感染リスクの評価

## 2-1. 札幌市北東部の調査

2003年5月から9月まで、札幌市北東部(北区、東区)およびその周辺(江別市、当別町)において捕獲された25頭のキツネを剖検した。これらは捕獲場所から9グループに分けられた。当別の畑、川岸の荒地、および山間地では3グループ、7頭捕獲されたが、感染ギツネは発見されなかった。札幌市北東部と江別市では6グループ、18頭が捕獲された。このうち4グループ、6頭(感染率33%)から感染ギツネが発見された。キツネの営業地周辺でキツネの糞便(15個)を採集し、糞便内抗原および虫卵陽性糞便(2個)が見つかった。このうちの1頭の陽性糞便は剖検で感染ギツネが見つからなかったグループの活動地域で発見された。キツネ営業地周辺においてエゾヤチネズミの生息調査を行ない、16匹が捕獲されたが、多包虫に感染したエゾヤチネズミは発見されなかった。これにより札幌北東部で、エキノコックス感染ギツネとエゾヤチネズミの生息が確認され、エキノコックスがこの地域内で定着していることが示唆された。

## 2-2. 野幌森林公園の調査

2005年の野幌森林公園では合計131個の糞便が採取されたが、糞便の多くは公園辺縁の道沿い、公園周辺の畑において見つかった。また、糞便が採取できた地点は時期により変動が認められた(Figure)。検査陽性率の平均は、抗原50%、虫卵18%であった。抗原陽性率は調査期間中、漸増の傾向にあった(45~59%)。一方、環境汚染ならびに人体への感染リスクとして重要な虫卵は、7~8月は、検出されなかったが、その後、9~10月に20%、11~12月に30%の糞便で検出された。

## 3. Multiplex-PCRによる糞由来動物種判定法の開発

まず、糞便を混和後DNA抽出を試みPCRを実施したところ、PCR阻害物質の混入が問題となった。そこで、糞便表面の大腸粘膜細胞を採取するために、糞便を凍結し、その糞便表面の洗浄液のみを利用した。この方法により、糞のPCR阻害物質のDNA抽出物への混入を抑え、より効率の高いPCRを行うことができた。

次に、Multiplex-PCRの増幅標的とする部位としてミトコンドリアDNAのD-loop領域を選び、プライマーは、リバーズには哺乳動物共通部分を使用し、フォワードにはアカギツネ、タヌキ、イヌ、ネコ、アライグマ、イタチ類にそれぞれ特異的なものを使用した。6種類の特異プライマーは増幅産物の大きさ

が約160bp、240bp、300-330bpの三段階の組合せが二組になるよう設計し、鑑別可能とした。

さらに、夏期に2ヶ月間屋外に放置された糞便でも排泄動物の同定が可能であることが確認された。2004年5月~8月に小樽市および余市町で採集した147個の糞便を調べ、140個(95%)の動物種が特定された。また、見かけ上キツネとして採集した糞便のうち87%がキツネのものとDNA検査結果で判定された。

## 4. エキノコックス伝播数理モデルの開発

エキノコックス伝播数理モデルを中心とする宿主生態モデルを実装したプログラムを開発し、ダイアログ上から各種条件設定を行い、エキノコックス・コントロール・プロジェクトに対するシミュレーションを実行できるようにした。キツネ個体群に対するエキノコックスのストックモデルの全体設計を行い、従前に開発した主要中間宿主のネズミ生態モデルとの結合を図った。さらに感染した野ネズミの原頭節分布の部分设计了。

## 5. 感染源対策によりもたらされるリスク削減便益の経済評価

北海道内4市町を対象に、エキノコックス対策に関するアンケート調査を実施し、地域住民の認識や選好の把握を試みたところ、富良野町、小清水町において、エキノコックス症感染に対する不安を感じる回答者の割合が高いことがわかった。また、感染源対策(ベイト剤散布)によりもたらされるリスク削減に対するWTPを計測した結果、1世帯あたりの年間WTPは、中央値で2,000~3,000円、平均値で2,500~4,500円の範囲にあることがわかった。

便益移転性の検証のために仮説検定を行ったところ、仮説検定の有意水準を10%に設定し、便益関数の移転可能性に関する検定を行った。なお、支払行動関数の推定を行う際には、資料5に示した説明変数のうち、変数減少法によりt値の絶対値が1以上となる説明変数のみを選択している。これによると、一部の市町間では便益移転性が確認される結果となった。便益移転性が確認された地区の支払行動関数の推定結果を資料5に示した。

つぎに、対策費用を試算するために小清水町と斜里町を対象に、基本情報の設定のもと、ベイト散布及びモニタリングの実施に要する年間費用の試算を行った。

試算結果は資料5の図表7に示すとおりである。ここでは、各町の総面積及び可住地面積(資料5の

図表 8) を参考に、対策の対象面積をそれぞれ 3 通り設定し、対策費用の試算を行っている。ここで、対象面積を可住地面積程度に設定した場合、小清水町 (150km<sup>2</sup>) では、ベイト散布の年間費用は約 390 万円、モニタリングの年間費用は約 66 万円と試算された。一方、斜里町 (300km<sup>2</sup>) では、ベイト散布の年間費用は約 740 万円、モニタリングの年間費用は約 120 万円と試算された。なお、今回の試算には、感染源対策のマネジメント (対策計画の策定等) やリスクコミュニケーションの実施に必要な費用を算定対象外としている点に注意が必要である。

## 6. 北海道の多包虫症流行抑制対策と廃棄物処理の実態調査

北海道における多包虫症感染源動物キツネに対する個体数抑制対策に関して、(a) 酪農畜産振興とキツネ個体群との関係 (b) キツネの餌資源としての酪農畜産・漁業由来の廃棄物 (c) キツネが利用可能な一般廃棄物-生ごみ という観点から 1950 年から現在までの動きを、前述の資料にもとづいて解析を行った。

北海道のエキノコックス症対策とくに感染源動物対策の重点がキツネの餌資源に置かれていることは、「北海道エキノコックス症対策実施要領」(「実施要領」) に明記されている。そして、エキノコックス症対策は保健福祉部疾病対策課、廃棄物対策全般は環境生活部環境室循環型社会推進課、酪農畜産廃棄物は農政部畜産振興課、水産廃棄物は水産林務部水産経営課がそれぞれ担当している。ところが、疾病対策課担当者は、廃棄物処理の実態をまったく知らなかった。廃棄物対策を担当する循環型社会推進課の担当者は、違法建築廃材対策で手一杯で、エキノコックス症対策どころではなかった。保健福祉部長から農政部長にエキノコックス症媒介動物 (キツネ) 対策として「実施要領」への「協力依頼」(平成 5 年 6 月) が行われているが、疾病対策課が開設しているホームページ「エキノコックス症の知識と予防」には、道民の生ゴミ対策への協力要請だけで、農政部や循環型社会推進課との関係は一切記載がなく、これら各部の廃棄物関係統計資料へのリンクもまったくない。昨年後半、ようやく厚生労働省、国立感染症情報センター、北海道立衛生研究所とのリンクが設置されたが、廃棄物関連のリンクは未設置である。これでは、道民に一方的に生ゴミ処理の責任を押しつけておきながら、道民が折角、分別収集した生ゴミの大半を行政が野外処分場に投棄して、キツネの繁殖を助けていると言っても過言ではない。

## 7. 北海道のペットのエキノコックス感染状況調査

2003 年度において、北海道内の飼い犬および猫それぞれ 1,140 および 107 頭のうち、糞便内抗原陽性を示す犬および猫がそれぞれ 6 頭および 3 頭確認された。うち犬 3 頭は虫卵 DNA の検査によってエキノコックス虫卵を排泄していることが確認された。本州のペットについては、検査した犬 299 頭および猫 97 頭のいずれからもエキノコックスの感染は検出されなかった。

2004 年度においては、犬(北海道 1,048 頭、その他 59 頭)、猫(北海道 105 頭、その他 1 頭)を検査 (糞便内抗原および虫卵検査) し、犬では ELISA 擬陽性および陽性が 8 頭あり、そのうち犬 3 頭においては虫卵も検出され、遺伝子検査からも 3 例とも多包条虫であると判断された。これらの犬は主に室内飼いで、散歩には行っているが、同居の猫がしばしば野ネズミを運んでくることが知られている。駆虫およびその後の対処については前述のガイドラインに沿って行っている。猫については 1 例 ELISA 陽性で、虫卵は検出されなかったが、駆虫前後で ELISA の反応が陰転し、エキノコックス症の疑いが極めて高いことが示された。

2005 年度における北海道のペットの検査頭数は 584 頭 (犬 : 552 猫 : 32) で、室内飼育犬を含む 2 頭の犬がエキノコックスに感染していることが判明し、これらの症例はすべて担当の獣医師により迅速に届け出がなされ、行政側もおおむね問題なく対処したと考えられる。これらの結果からペットの検査の必要性が示され、ペットの感染予防と飼育管理の重要性が示されたが、検査依頼件数が減少していることから、獣医師および飼い主のエキノコックスに対する関心が薄れてきているものと憂慮される。

2003 年 6 月の網走近辺の感染犬については、下痢便中に多包条虫様の片節が発見されたもので、虫卵の遺伝子を検査することにより、多包条虫と確認された症例である。

2004 年度にはあきる野市へのムツゴロウ動物王国の移転に伴い、飼育動物を検査したが、すべて陰性であることを確認後本州に搬入された。北海道外のペットでは全く多包条虫は検出できなかった。

あきる野市へのムツゴロウ動物王国の移転に伴い、飼育動物を検査したが、すべて陰性であることを確認後本州に搬入された。北海道外のペットでは全く多包条虫は検出できなかった。

## 8. 本州の動物病院に来院したペットおよび捕獲犬



## の多包条虫調査

東北地方の動物病院 19 ヶ所から犬・猫併せて 457 検体、関東地方では同じく 19 ヶ所から 385 検体を集めた。これらの東北地方の犬では 314 検体中 26 検体、8.3%で、猫では 142 検体中 20 検体、14.1% でなんらかの消化管内寄生虫が確認された。また、関東地方の犬でも 279 検体中 24 検体、8.6%で、猫では 96 検体中 5 検体、5.2%からなんらかの消化管内寄生虫が確認された。多包条虫を含むテニア科条虫卵は検出されず、ELISA 法によるエキノコックスの糞便内抗原検出においても、全ての検体が陰性であった。

さらに、大阪市内で捕獲された放浪犬 81 頭と飼育放棄犬 19 頭の 100 頭について、多包条虫の感染の有無を糞便の虫卵検査とサンドイッチ ELISA による抗原検査（100 頭中 84 頭について実施）にて調査したところ、全頭において多包条虫を含むテニア科条虫卵は見出されず、また、多包条虫の糞便内抗原も 84 頭から検出されなかった。

## 9. 北海道からフェリーを用いて他都府県へ移動する犬の実態調査

一次調査では 163 名の飼い主から回答があった。回答者の現住地内訳は、北海道居住者（以下、北海道群とする）が 40 名、北海道以外の都府県居住者（以下、非北海道群とする）が 123 名であった。北海道旅行者の多包虫症に関する認知度として、一次調査では「北海道に人のエキノコックス症があることを知っているかどうか」を質問したが、「知っている」と回答したのは、北海道群 98% (39/40)、非北海道群 77.2% (95/123) で、認知度に関して両群間には有意な差が認められた (Fisher's exact  $P < 0.01$ , 2-tailed)。

上述の一次調査回答者 163 名中 139 名が二次調査の対象となった（二次参加率 85.9%）。二次調査対象者の現住地内訳は、北海道居住者 29 名（二次参加率 73%）、非北海道群 110 名（二次参加率 89.4%）で、両群の参加率の差は有意であった (Fisher's exact  $P < 0.05$ , 2-tailed)。

北海道からの出発港上位 3 港は、北海道群は苫小牧 (34%)・函館 (31%)・小樽 (21%)、非北海道群は函館 (52%)・小樽 (21%)・苫小牧 (16%) であった。

両群が犬を連れて移動した目的をみると、北海道群は「観光」が最も多く (11 名)、他に「転居」および「帰省」が同数 (8 名) あり、この 3 つが移動目的の 9 割以上を占めた。一方、非北海道群の主た

る移動目的は「観光」(74.5%, 82/110) であった。別荘等利用の長期滞在 (6 名) を除く非北海道群 104 名の滞在日数は平均 11.5 日 (95%信頼区間 [CI]: 8.7-14.3) であった。

両群に伴って北海道から移出した犬の頭数は、北海道群の移動に伴った犬（以下、北海道犬群とする）が 41 頭、非北海道群の移動に伴った犬（以下、非北海道犬群とする）が 142 頭で、これを飼い主 1 名あたりの随伴頭数でみると、北海道群が平均 1.4 頭 [95%CI: 1.1-1.7]、非北海道群が平均 1.3 頭 [95%CI: 0.5-2.0] であった。各犬群の年齢中央値は北海道犬群が 5 歳 [95%CI: 4-6]、非北海道群が 4 歳 [95%CI: 3.5-5] であった。おもな犬の品種は、北海道犬群では雑種が最多で (17 頭)、ゴールデンレトリバーとビーグル (各 4 頭) がそれに続く。非北海道犬群ではミニチュアダックスが最も多く (20 頭)、次いで雑種 (16 頭)、ゴールデン/ラブラドルレトリバー (各 9 頭) であった。

遠心浮遊法での虫卵陽性例は発見されなかったが、糞便内抗原陽性は両群各 1 頭から発見された (陽性率: 北海道群 2.2% [95%CI: 0.1-11.5]、非北海道群 0.8% [95%CI: 0.02-4.1])。抗原陽性犬については飼い主ならびに担当獣医師へ連絡をとり、すみやかに治療 (駆虫薬投与) を行い、いずれも再検査において糞便内抗原の陰転が確認された。駆虫前および駆虫後の糞便を用いて糞便内 DNA の検出を試みたところ、北海道群の犬では増幅産物が得られなかったが、非北海道群の犬では駆虫前後のいずれの検体からも予想サイズの増幅産物 (250 bp) が得られ、その塩基配列は多包条虫 (北海道分離株) と完全に一致した (AB243207)。

## 10. 青森県におけるエキノコックス調査

採集された検体数は、キツネ由来の糞便が 15 市町村から 38 検体 (10 検体については採取地不明)、猟犬由来の糞便が 16 支部 110 検体 (14 検体は支部不明) であった。これらについて糞便内抗原検出法による検査を行ったところ、キツネ検体はすべて陰性であったが、猟犬検体からは陽性 1 例が発見された (陽性率: 0.9% [95%CI: 0.02-4.96])。この陽性個体についてはさらに試験的駆虫を実施し、駆虫後 3 日目まで排泄全量を採集した糞便を用いて詳細に検討したところ、糞便内抗原の陰転が確認された。しかし、駆虫薬の投与によって排出が予想される糞便内の虫体あるいは特異的 DNA は濾便の簡易沈殿および nested-PCR のいずれの方法でも検出されず、陽性を寄生虫学的に証明することはできな

った。

青森県猟友会員を対象とした同県におけるキツネの狩猟・生息状況に関する質問票調査では、87名中40名が「キツネを捕獲したことがある」と回答した。これらの一猟期中の捕獲数は平均1.1頭であった。同県におけるキツネの生息状況（回答者数73名、複数回答可）は、「最近個体数が増加した」（45名、62%）・「交通事故死体が増えた」（23名、32%）などのようなキツネの個体数増を示唆する回答が全体的に寄せられた一方で、「最近個体数が減少した」（11名、15%）・「交通事故死体が減った」（4名、5%）もあり、地域あるいは猟友会支部による一定傾向は確認されなかった。

弘前の食肉衛生検査所との共同研究で豚について、PCRによる診断法を確立し、今後の疫学調査に利用できるようにした。なお、豚の肝臓の病変からエキノコックスの疑いのため、本年度に約20件の検査依頼があったが、陽性例は検出されなかった。

## 11. エキノコックス診断法：インハウス・キットの開発

### 1. 平成15年度

#### ① 試作キットの作成および性能評価

2003年度の試作キットは陽性対照および陽性野外材料において陽性反応を示し、陰性対照および陰性野外材料において非特異反応は認められなかった。反応時間も20分で判定可能であることが確認された。また、ELISA陽・陰性イヌ・キツネ糞便205検体を対象に、EmA9とEmポリクローナル抗体の組合せによる反応系の評価を実施し、ELISAと比較した。その結果、感度93.3%、特異性95.4%と良好な反応性を示すことが確認された。

2004年度には特異性向上を検討し、EmA9のロット差を比較した結果、ロットにより陰性検体において特異性に差が見られ、多くは80%程度しか得られないことが明らかになり、特異性向上が不可避であることが示された。そこで、他クローンであるEmiとEm11および測定法としてFDとHDの反応性を比較した。その結果、両モノクローナル抗体の組合せは、FDおよびHD方式とも高い検出感度・特異性を有することが示された。しかし反応時間はHDでは30分以内なのに対し、FDは60分以上要するため、簡便性はHDが優れていた。

2005年にはFDとHDの感度・特異性の比較を行い、HDとELISAを比較した結果、感度86.7%、特異性100%であった。一方FDは、感度98.8%、特異性90.7%を示した。この結果、ELISAに比べ、

HDは感度が、FDは特異性が劣ることが示された。

次に感染実験糞便を用いた検出感度の検討を実施した。その結果、原頭節100万個群ではHD、FDおよびELISAは感染後3日目から検出できた。つぎに原頭節1000個感染群では、ELISAは吸光値が低いが感染9日目から陽転した。それに対しHDは感染16日目のみで陽性を示した。またFDは感染後11日目で陽転した。この結果、低濃度感染におけるHDおよびFDの検出感度はELISAに比べ劣ること、特にHDが低感度であることが示された。

最後に、FD方式の最適化のために、検体パットを従来のセルロース系からガラス繊維系に、滴下検体量を50μlから100μlに変更した結果、反応ラインが明確になり、検出感度も従来の125ng/mlから31ng/mlへと向上した。つぎに便懸濁緩衝液をELISAと共有化するためのFDの改良を実施し、FDの感度・特異性を再確認した。その結果、改良FDはELISAに比べ感染実験糞便において感度は98.8%、特異性90.7%を示し、陰性糞便において82.1%の特異性を示した。その結果緩衝液をELISAと共有化しても同等の検出感度を有することが確認された。

## 12. 虫卵排泄前の糞便のPCRによる診断

### 12-1. 多包条虫感染犬について

感染実験における虫体の回収率は犬では約50%が、猫では2.5%となっており、多いものでは50万匹も虫体が回収された。感染直後(1-2日後)にほぼすべての例で陽性になったが、これは投与した材料に定着する原頭節だけでなく、エキノコックスのシスト成分が多量に含まれ、糞便中にこれらの成分が排泄されたことによると考えられた。しかし、その後の検出率は低く、50万匹以上回収された犬でも21日間で5回のみです。その他の例では2-4回程度であった。この結果から、プレパテントピリオドの感染犬においては、糞便に含まれる多包条虫由来細胞・片節が、少量で、DNAを検出できる可能性は高くないものと考えられた。そこで、あらかじめ駆虫薬を投与すれば投与後の糞便には、同時に多数の虫体が排出されるので、DNA検出率が向上すると考えられた。この駆虫に関する実験は犬2例のみの実験であるが、駆虫前後については、同一糞便の5つの部位からDNA抽出し、駆虫当日は、駆虫直前、駆虫後9時間、駆虫後12時間の3回採糞した。感染から13日目までは、全くバンドは検出されなかった。駆虫後(1-2日間)の検査における検出率は顕著に向上したが、糞便から検査材料を採取する部位による



差が認められた。

### 12-2. 単包条虫感染代替終宿主について

糞便内 DNA は感染翌日には検出されたが、その検出結果は常に一定して陽性を示すのではなく間欠的であった。即ち、感染当日～感染 27 日後の感染期間を通じての検出感度は 26% と計算された。また、駆虫（安楽殺後の腸管検索で虫体は発見されず、駆虫成功を確認）にともなう変化では、駆虫翌日（感染後 28 日）午前中採取の糞便検体は陽性を示したが、午後採取のものでは不検出となり、これは実験感染終了日まで持続した。

### 13. 虫卵 DNA 検査

まず、猫条虫卵および豆状条虫卵を用いて糞便材料からの虫卵分離および DNA 抽出法について検討した。虫卵分離については、蔗糖液浮遊後のナイロンメッシュ濾過法が効率的であった。DNA 抽出は市販の QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) を用いることで、従来必要であった幼虫被殻の破壊処理を省略することができた。70°C 12 時間および -80°C 冷凍による殺卵処理虫卵では DNA 抽出材料の PCR（扁形動物共通プライマー-PRA, PRB による増幅）で同程度の増幅が確認できたが、1%ホルマリン固定した虫卵では増幅が認められなかった。

これと平行して、エキノコックス属 3 種およびテニア属 7 種、合計 39 系統または分離株の虫体を用いて COI 領域の塩基配列を決定した。得られた配列とすでに報告されている各種テニア科条虫種の配列とを比較解析して、エキノコックス特異プライマー E.mSP1-A&B を構築した。70°C 12 時間加熱したエキノコックス卵を用いて PCR を行ったところ、虫卵 1 個分の DNA テンプレートで増幅像が確認できた。また、適当な制限酵素を用いた COI 領域の PCR-RFLP により、猫条虫 (*EagI*, *XhoI*)、胞状条虫 (*SexA I*)、肥頭条虫 (*SfcI*)、豆状条虫 (*Nsi I*)、羊条虫 (*Msi I*) およびエキノコックス以外の包条虫 3 種 (*EcoR I*, *Hph I*) が同定できる可能性が示された。

### 14. 多包条虫に対する終宿主の免疫応答

#### 犬における感染

感染後、寄生虫に対する抗体産生が誘導され(血清 IgG1 は感染後 10 日目、IgG2 は感染後 7 日目から)、特に原頭節の排泄・分泌抗原に対する抗体応答が顕著であった。ConA に対する末梢血単核球の増殖応答は感染後 7 日目に低下し、一過性の

免疫抑制が示唆された。感染後 21 日目に脾細胞、腸間膜リンパ節およびパイエル板細胞の細胞増殖応答を調べたところ、1 頭の犬のパイエル板細胞において、原頭節の排泄・分泌抗原に対する増殖応答が観察された。しかし、原頭節抗原の添加によって ConA に対する細胞増殖応答が全体的に抑制され、特に原頭節の排泄・分泌抗原で抑制が顕著であった。

#### スナネズミにおける感染

プレドニゾロン未処置動物では感染後 3 日以内にほとんどの虫体が体外に排出され、原頭節に対する腸管 IgA 抗体は感染後 7 日目より上昇が認められ、14 日目の検査では血清 IgG 抗体が検出された。一方、プレドニゾロン処置動物では抗体応答は認められず、虫体が長期間残存した。プレドニゾロン未処置のスナネズミに原頭節を経口投与した後、原頭節抗原に対する脾細胞、腸間膜リンパ節およびパイエル板細胞の増殖応答を調べたところ、パイエル板細胞で顕著な増殖応答が観察された。原頭節虫体抗原による免疫応答の抑制効果をマイトジェン (ConA および LPS) に対するリンパ球増殖応答の阻害程度により調べたところ、スナネズミにおいても原頭節抗原によるリンパ球増殖応答の抑制が認められた。

#### 多包条虫抗原の宿主免疫応答の抑制効果

ほとんどの多包条虫抗原が脾細胞の ConA 応答を用量依存的に抑制したが、LPS 応答の抑制は顕著でなく、ConA 応答の抑制効果は原頭節排泄・分泌抗原において顕著であった。

#### 多包条虫抗原の成分解析

糖染色によって多包条虫抗原は糖鎖成分を含有していることが明らかとなった。特に原頭節排泄・分泌抗原の糖/蛋白比が高い値を示した。原頭節および成虫抗原(虫体抗原および排泄・分泌抗原を含む)の多包条虫感染犬の血清を用いたイムノブロッキングによる解析から、多包条虫に対する抗体の多くが糖に対するものであることが示唆された。多包条虫抗原の糖鎖成分を調べるためにレクチンブロットを行ったところ、すべての多包条虫抗原において、N型およびO型糖鎖の両方を混合していた。また、多包条虫の成虫がO型糖鎖を含有・分泌していることを初めて明らかにした。

### 15. 人の診断法の検討

使用した 80 血清に対する市販キット FWB による結果と北海道立衛生研究所が現在行っているウエスタンブロット法 (HWB) の結果とを比較したところ、

HWB で完全型と判定された血清のすべては FWB で P3 パターンとなり、高力価抗体血清を示唆する結果となった。反対に、HWB で不完全型あるいは疑陽性と判定された血清のほとんどは P4 あるいは P5 のような他のパターンとなり、低力価抗体血清を示唆する結果となった。

#### 16. 中央アジア・カザフスタンにおける調査

単包条虫 (*Echinococcus granulosus*) の流行地は同国、南西部から南東部の牧畜地帯、とくにアルマトイ県、ザンブル県に集中しこの地域が、流行地全体の 82~85% を占めている。また、多包条虫 (*E. multilocularis*) の流行地は同国の中央部、東北部ならびにロシア国境に隣接する地域に拡大していることが、終宿主 (キツネ、イヌ) と中間宿主のげっ歯類の調査で確認された。最近の報告で人体例 (単包虫症) は、独立前の 1974 年~1994 年と独立後の 10 年以内 (1994 年~2003 年) 患者数は 4 倍に上昇し、2003 年は 979 例が外科手術を受けた。また 14 歳以下の児童の感染率が 35% 増加している (Baitursynov et al., 2004; Shaikenov et al., 1999, 2002a, b, 2003, 2004; Shaikenov and Torgerson, 2004; Torgerson et al., 2003a, b)。

#### 17. 中国青海省におけるエキノコックス症の疫学調査

検診に応じた住民は 1549 名であった。超音波検査では 124 名が陽性と判定され (嚢型: 85、泡型: 39) 陽性率は 8.01% であった。血液採取に応じた住民は 1113 名で、IHA による抗体検査では、陽性者が 287 名 (25.79%) という結果であった。超音波検査で陽性を示したの者及び IHA で陽性の者について、現在それらの抗体応答についてウエスタンブロット法などで精査している。この地域で採集された犬の糞は 155 検体であるが、14 検体 (9.0%) からテニア科条虫卵が検出された。現在 PCR 法によって虫種の確認とエキノコックス卵である事の検索を実施している。

### D. 考察

#### 1. 感染源対策の試行

小清水では今まで我々研究者がベイトを散布し、キツネ糞便を採取してきたが、地域住民でもこの作業が可能で、キツネの感染率が抑えられることが示された。今後、小清水では散布回数を減らすことを予定しているが、一応住民がベイトを散布しても効

果があることが示唆された。これは、予め研究者がその地域についての情報を収集していれば、研究者から短時間の住民への講習で、ベイト散布およびキツネの糞便採取は可能であることが示された。すなわち、今後の北海道における感染源対策が専門家のアドバイスがあれば住民で実施可能であることが示唆された。

今後は、研究者が全く調査していなかった地域における感染源対策実施に向けて、専門家が如何にサポートするかについての研究が必要となる。これについては、倶知安町で現在検討中であり、2005 年における事前調査についても住民が行い、糞便採取が可能であることを示した (神谷主任研究員)。

山沿いおよび山間部の道路でのベイト散布では、散布すべきポイントが把握困難であったため、道路沿いにほぼ一定の間隔で散布しているが、ベイトの散布の持続および頻回散布により、ベイトの摂取率の向上が見られ、ベイト散布によるキツネの感染率の低下は認められるものと考えられる。しかし、現在までの結果では、小清水 (やや平坦な畑作地) での散布効果ほどは顕著ではなく、今後さらに検討が必要である。ベイト摂取率についてはベイト散布を重ねる毎に上昇がみられ、ベイト散布を継続することによりその地域のキツネのベイト摂取率が上昇することが期待される。

#### 2. 札幌市でのエキノコックス感染リスクの評価

##### 2-1. 札幌市の東北部の調査

2003 年度調査を行なった札幌市の東北部においてエキノコックスが定着していることが示唆されたが、調査地域は地理的に隣接した地域から河川によって隔離されており、キツネの行動範囲はこの地域内に制限されていると考えられる。したがって、札幌市北東部は駆虫薬入りのベイト散布を試行するには好条件が整っており、効率的にキツネのエキノコックス感染率を低下させることができると考えられた。

##### 2-2. 野幌森林公園の調査

本調査では、都市圏におけるエキノコックス症の感染源 (リスク) の地理分布、季節変動についての基礎情報を得ることができた。GIS を活用したキツネ糞便調査の解析がエキノコックス汚染環境のモニタリングに有用であることが示唆された。今回の知見は、今後、地域住民も参加する広範囲の環境修復作業にも活用可能である。

#### 3. Multiplex-PCR による糞由来動物種判定法の開発

糞便に含まれる PCR 阻害物質の混入を最小限にとどめ、かつ糞便の宿主細胞由来の DNA を効果的に抽出することが重要と考えられた。今回の方法ではかなり長期間雨ざらし状態であった糞便でも、排泄動物の同定が可能であり。野外採取された多数の糞便を用いた結果からも、実用的なレベルに達しているものと思われる。

#### 4. エキノコックス伝播数理モデルの開発

感染キツネ個体群における worm burden の分布は、ほぼフィールド・データより得られる範囲となった。しかしながら分布が指数的なため、平均値にはずれが生じた。キツネにおける獲得免疫の効果については不明な点が多く、今回のモデルではその枠組みのみを準備したが作動させていない。この点については今後の研究の進展を待つ必要がある。本モデルに、コントロール効果の組み込みを行いモデルの有用性を高める必要がある。北海道大学・獣医学・寄生虫学教室のフィールド研究結果に基づく Follow-up Study が今後の重要な課題である。

#### 5. 感染源対策によりもたらされるリスク削減便益の経済評価

感染源対策（バイト剤散布）の本格実施に要する費用の推定や、感染源対策と血清検査や啓蒙活動等との組合せによる総合的な対策方法、また、エキノコックス関連リスクについて、ステイクホルダー間でのリスクコミュニケーションをより適切に行うための体制等についての検討を進めることが今後必要となるであろう。

#### 6. 北海道の多包虫症流行抑制対策と廃棄物処理の実態調査

以上述べてきた通り、現状では北海道における感染源動物（キツネ）対策としての動物性廃棄物対策は、担当部局に丸投げされ、相互の有機的連携がまったくない。エキノコックス症対策担当の疾病対策課は廃棄物処理の実態をまったく把握しておらず、関心もない。従って、感染源動物対策としての廃棄物対策がどのような成果を挙げているかについてもまったく把握していない。つまり、感染源動物対策としての廃棄物対策は、ほとんど機能していない。僅かに希望が残されているとすれば、北海道でも廃棄物の再資源化や焼却処理が徐々に進行しているので、その展開に期待するほかない。

#### 7. 北海道のペットの調査

北海道(一部道外も含む)の飼い犬および飼い猫の検査(糞便内抗原・虫卵検査)を行ってきたが、ペットについては、2003年には飼い犬および猫それぞれ1,140頭中6頭および107頭中3頭が糞便内抗原陽性を示し、うち犬3頭はエキノコックス虫卵を排泄していた。2004年度には犬(約1100頭)、猫(約100頭)を検査し、犬ではELISA擬陽性および陽性が8頭あり、そのうち犬3頭においては虫卵も検出され、虫卵の遺伝子検査からも3例とも多包条虫感染と確認された。さらに、下痢便中に多包条虫様の片節が発見された犬の症例も1例発見され、この虫卵の遺伝子を検査により確認された。合計7例の感染犬が2003-2004年度に北海道において発見した。これらの感染犬については健康危険情報を提供した。2005年もほぼ同様の成績(552頭中2頭が陽性)で、陽性であった例については獣医師によって届け出がなされた。これらの感染動物は当初予想された屋外飼育で、放し飼いの犬だけでなく、現在一般的な飼育形態である、主に室内で飼育され、毎日リードに繋がれて散歩に出る犬でも感染していることがわかった。今後さらに感染ペットが発見されるものと予想される。今後、飼い主の血清診断を数年続けることにより、飼い主への感染源としての重要性も推定できる。

さらに、ムツゴロウ動物王国の北海道から東京への移転に関して当事者間でエキノコックス問題が取り上げられていることなど、国民の関心は非常に高まっており、このムツゴロウ動物王国の移転に伴い、飼育動物を全頭検査したが、不特定多数の人と接する機会のある犬および猫については飼育環境および形態の指導や、定期的な検査の義務づけが必要と思われる。現在実施中の北海道からの移動犬の調査と合わせて、今後も継続調査の必要があり、感染ペットの北海道からの移動の可能性があるので、移動に際したペットのエキノコックス検査もしくは駆虫薬投与を義務づける必要があると考えられる。

エキノコックス症の疑いが極めて高い猫が発見されたが、アンケート調査の結果でも猫がしばしばネズミを捕食することが示された。特に郊外や農村部の猫については今後とも注意を要する。さらに、放し飼いされていない犬への野ネズミの供給源としての猫の重要性も示されつつある。

#### 8. 本州の動物病院に来院したペットおよび捕獲犬の多包条虫調査

本調査では本州から感染したペットは見つからなかった。しかし、過去において感染犬が北海道から本

州へ移動した事例があること、人と身近に接するペットの感染は、飼主のみならず、周辺地域の住民もかかわる公衆衛生上の問題であり、感染動物の早期発見とその適切な処置が必要なのは言うまでもない。

#### 9. 北海道からフェリーを用いて他都府県へ移動する犬の実態調査

北海道群および非北海道群に随伴する犬各1頭から多包条虫感染が疑われる例を発見した。この結果が示すように、わが国のように有病地と清浄地が海で隔てられている場合、最も蓋然性の高い侵入経路は、有病地からの感染犬の人為的持ち込みと思われる。よって、この集団に対する監視は流行地域拡大を防止する上で不可欠といえる。

一次調査において有病地に居住する北海道群は多包虫症へのきわめて高い認知度を示したが、一方で二次調査への参加率は非北海道群を下回る。このことは北海道群の多包虫症に対する「慣れ」あるいは「軽視」を示唆するものかもしれない。上述の監視体制構築とも関連し、有病地住民に対してより一層の啓発が求められる。

#### 10. 青森県におけるエキノコックス調査

青森県における調査でも1-1と同様に糞便内抗原の検出にスイス製キットを利用した。この検査系の検査特性値は感度 86.3%、特異度 98.3%である(メーカー公表グラフから算出)。青森県の猟犬における多包条虫保虫率が北海道の犬と同様に1%と仮定すると、この方法を適用した場合の陽性予測値は42.1%となる(逆に陰性予測値は99.9%以上で、陰性結果を得た検体は真の陰性とみなすことができる)。青森県はいまだ多包条虫の土着が確認されておらず、そのため発見された陽性例の取り扱いにあたっては寄生虫学的証明が必須と考えられる。今後さらに検討数を増やして調査を進めるため、キツネについては2004年度猟期も検体の収集および検査を継続すると同時に、一般家庭の飼育犬および保健所で捕獲された放浪犬からの採材を行っている。

第6回自然環境保全基礎調査(環境省)によれば、青森県におけるキツネの生息区画率は60.9%で、ほぼ全県的に生息するが、津軽半島側より下北半島側で高い。今回の検討対象としたキツネ由来材料もこれと一致し、下北半島側で採取されたものが半数以上であった。しかしながら、今回の質問票調査の結果を、多包条虫疫学調査で大量の検体を利用する北海道の例(北海道, 2003)と比べると、青森県では

ハンターがキツネ猟に積極的でなく、かつ捕獲数も少ない(青森県平均1.1頭/年 vs. 北海道2.9頭/年)。今後、同県で疫学調査を実施するには材料入手が解決すべき最大の問題となると思われる。

#### 11. 簡便迅速なインムクロマトキットの作成

なお、現在のサンドイッチ ELISA の検査体制では週に1回のみでの検査で、検査材料郵送のタイミングが悪いと、検査依頼から結果の報告まで10日要することもあり、休日を挟んだ場合はさらに検査結果の報告が遅れる。出来るだけ早急に結果を報告することが必要である。現在他の節に記載したようにインハウス検査キット(インムクロマト)を開発しており、現場でこのキットを用いて検査し、陽性であった症例については、研究室において虫卵(テニア科虫卵)検査と再度の糞便内抗原検査(ELISA)、さらに遺伝子検査を行う検査体制が必要と考えられる。

2003年度の結果から EmA9 を用いたインムクロマトを選択したが、その後の大量生産に向けてのモノクローナル抗体 EmA9 生産において、理由は不明であるが、非特異反応が見られ、試行錯誤により改善を試みたが、この非特異反応を抑えることは出来なかった。したがって、他のモノクローナル抗体(Emi および Em11)について検討したところ、これらのモノクローナル抗体が EmA の代用となり、かつ、非特異反応がほとんど見られなかった。したがって、これらのモノクローナル抗体と EmA9 を用いたインムクロマト法、さらにコントロールとして現在の EmA9 サンドイッチ ELISA の結果を比較しながら、改善を試みた。これらのモノクローナル抗体を用いた FDS と HDS の比較では、感度の点で HDS が FDS より良かった。しかし、その後の HDS の改善により特異度・感度共に優れた方法となったが、迅速性についてはまだ HDS が優れていた。

今後は、便の保存安定性、基準方法を虫卵および虫体検査としたインムクロマト法の特異度・感度の検討、申請用基礎データの取得(用法・用量、保存試験開始)、さらに申請(2006年9~10月頃)安定性は6ヵ月を目指している終宿主診断用インハウスキットの開発は短時間で診断できるため、感染動物に対して現場での対応が可能となり、その実用性は非常に高い。試作したキットは従来法に比べ、若干特異性が劣るが、感度は現行の ELISA と基本的なシステムはほぼ確立できたと考えられる。このインムクロマトをスクリーニングとし、ELISA 包および治療ウラン検査、さらに DNA 検査により、サポートする体制が重要であるが、環境動物フォーラムが