

気をつけようエキノコックス

文/奥祐三郎
text by Yusaburo Oku



【プロフィール】

北海道大学大学院獣医学研究科寄生虫学教室助教授。1952年、大医生まれ。帯広畜産大学卒業後、北大大学院獣医学研究科進学。寄生虫学教室助手を経て90年より助教授。家畜や野生動物の寄生虫について研究。特に、エキノコックスについてはペットの検査法開発と野外のキツネの駆虫による感染源対策に取り組んでいる。

エキノコックスとは

エキノコックスは細菌やウイルスとは異なり、肉眼でも見える寄生虫の一種である。北海道に分布するエキノコックスは、和名で「多包条虫」、幼虫については特に「多包虫」と呼ばれている。主に野生動物間(キツネ・野ネズミ間)で伝播している寄生虫であるが、人にも偶発的に感染する人獣共通感染症で、北海道の重要な疾病の一つである。一般に人の寄生虫感染では一つの虫卵はそのまま一つの寄生虫に発育し、病原性も弱いのが普通である。しかし、多包虫は一つの虫卵に感染しても、その宿主(寄生される動物)の肝臓で小さな袋状になり、瘤のように増殖・浸潤・転移し、強い病原性を発揮する。

現在、わが国では本症の流行は北海道に限局していると考えられているが、世界的には北半球の温帯からツンドラ地帯に広く分布し、北米やヨーロッパなどでも問題となっている。

流行状況

国内では様々な人の寄生虫病が根絶もしくは症例が激減してきたが、多包条虫症の状況は全く異なる。すなわち、一九六〇年代には北海道の一部の地域のみ風土病であったものが、一九八〇年代には全道に広がっていることが確認され、さらに、一九九〇年代には主な宿主であるキツネの感染率が上昇し、近年では約四〇%になっている。過去五年間の北海道での年間平均患者発生数は十六名と報

告されているが(103ページの棒グラフ参照)、今後道外への分布拡大や患者数の増加が危惧されている。

多包条虫の一生

多包条虫の一生には、成虫の寄生する宿主(終宿主)と、幼虫の寄生する宿主(中間宿主)の二つの宿主動物が必要である。寄生虫はそれぞれ寄生する動物種(宿主域)がほぼ限定され、感染後に寄生虫が正常に発育できる好適な宿主動物だけでなく、感染はするが寄生虫の発育が抑えられる宿主動物もある。

多包条虫にとって好適な終宿主はキツネや犬などの犬科動物であり、成虫は多数の虫卵を排泄する。猫はやや抵抗性で、感染はするが成虫が虫卵を産生する例はまれである。

好適な中間宿主としては様々な野ネズミ(北海道では主にエゾヤチネズミ)が知られ、これらのネズミでは幼虫(多包虫)が活発に増殖・発育し、多数の原頭節(成虫の前段階)を産生する。一方、人や豚・馬はあまり好適な中間宿主ではない。例えば、豚や馬では肝臓に小さな限局した病変を作るのみで、原頭節も全く形成されない。人では多包虫の発育はゆっくりで、病変の中心部がしばしば壊死もしくは膿瘍になり、原頭節の産生も少ない。

多包条虫の一生は図に示したように、虫卵が好適な中間宿主(北海道では主にエゾヤチネズミ)によって食べられると、その肝臓で無数の小さな袋状の虫体となって無性増殖し、感染後一〜二カ月するとその中に無数の原頭節を産生する。

このような野ネズミを犬やキツネが捕食すると、小腸粘膜に原頭節が吸着し、数個の片節(卵を保有した袋)のある小型の成虫へと発育する。なお、小腸において一つの原頭節は一つの成虫となり、増殖することはない。成虫の最終片節内には虫卵が作られ、感染後一カ月すると最終片節の脱落と共に、虫卵が外界へ拡散する。残った虫体では新たな片節が再生され、この脱落・再生が繰り返されるが、犬での成虫の寄生期間は二〜三カ月が多いと考えられる。虫卵はしばらく外界で生存し、低温で湿った状態では一年以上生存することもある。人は偶然にこの虫卵を摂取して感染する。

ペットへの感染の機会

キツネだけでなく、犬・猫への感染経路も野ネズミを食べたときのみである。野ネズミは自然の豊かな環境、例えば野山、自然公園、防風林、牧草地、笹藪、雑草の生い茂る荒地や河川敷などに生息する。このような場所で犬をリード(引き綱)から放すと、野ネズミを捕食する可能性がある。さらに、ネズミが死んだ場合でも原頭節は数日間生存しているので、道端の野ネズミの死体を拾い食いしても感染する可能性がある。キツネが時折見かけられるような郊外や農村において、屋外での放し飼いかしくはしばしばリードから放す犬では感染機会が多いと予想される。しかし、通常は室内飼いで、散歩時や郊外に連れて行った時のみにリードから放す犬でも感染例が知られている。飼いがネズミを食べるところを見たため犬の多包条虫検査を依

頼し、感染犬が発見された症例があるが、感染した犬の飼い主でもその犬が野ネズミを食べるとは全く予想していなかった例もある。ちなみに、現在コンパニオンとして飼育されている小型犬の品種でも、ネズミ捕獲が初期の用途であった品種もある。飼い犬がネズミを食べている

ところを見たかどうかだけでなく、その周辺が野ネズミの生息しそうな環境かどうか判断する必要がある。なお、キツネの感染状況は都市周辺部でも高いので、都市周辺の野ネズミも犬や猫の感染源となりうる。

感染キツネの生息する地域でも、野ネ

ズミの感染率は一般に低く、同一地域内でも場所による極端なバラツキがある。したがって、野ネズミを捕食した場合でも、感染ネズミを捕食することはまれと考えられる。キツネは日常的に多数のネズミを捕食するため感染率が高いが、犬はまれにのみネズミを食べるので感染率

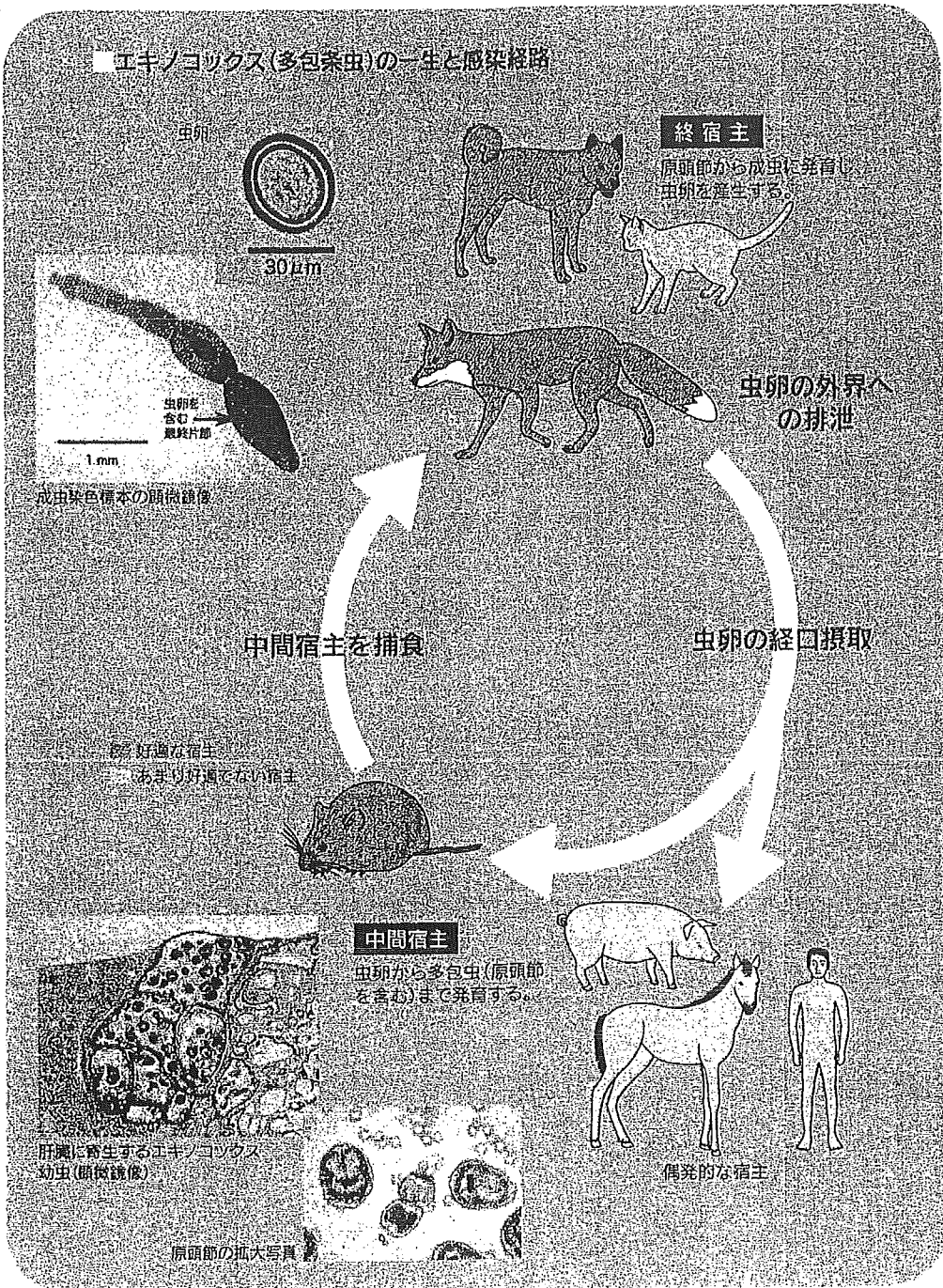
が低いものと考えられる。北海道庁による野犬・畜犬の調査を集計すると一％程度の感染率であったが、ペットの多包条虫検査を行っている環境動物フォーラムによる飼い犬の検査結果の集計では、多包条虫の虫卵を排泄していたことが確認された例は〇・三％(11/3700)であった。

ペットを全く室外に出さない完全な室内飼いの場合は、多包条虫に感染する機会はないと考えられる。ただし、同居の猫が野ネズミを屋内に運ぶ習慣がある場合は例外である。都市部の整地され芝生

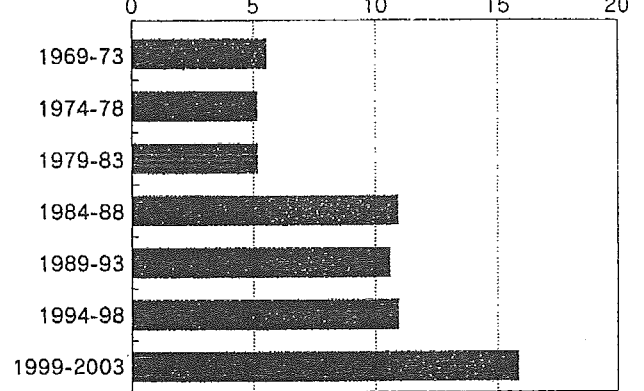
のみの公園には野ネズミは生息しない。また、市街地の住家性ネズミ(ドブネズミ、クマネズミ、ハツカネズミ)がエキノコックスに感染している可能性も極めて低いので、市街地での散歩では犬の感染の機会はないと考えられる。飼い犬でも他の犬の糞便を食べることがあるが、もし感染した犬やキツネの糞便を食べたり、キツネの糞便のある沢水を飲んだとしても犬や猫には感染しない。

ペットが感染すると

犬や猫が感染した時には小型の成虫が小腸粘膜に吸着するだけで、ほとんど症状を示さない。しかし、北海道の飼い犬の症例で下痢を示し、その下痢便中に成虫が検出された例があることから、重度に感染した場合は下痢を引き起こすこともあると考えられる。なお、感染ネズミでは数十万以上の原頭節を保有していることもあるので、一匹のネズミの捕食でも重度感染することがある。感染犬は虫卵を糞便と共に排泄するので、人の感染



■北海道における多包虫症の年間発生患者数(各5年間平均)の推移



(データは北海道保健福祉部より)

源となる可能性があり、感染犬は無症状で飼いが感染について気づかないので、野ネズミ捕食の機会の有無について十分気をつける必要がある。なお、感染した犬やキツネは自分が糞便と共に出した虫卵を偶発的に摂取することも多いと考えられるが、幼虫が肝臓に寄生した例は極めてまれであり、虫卵感染に対しては抵抗性である。

猫については放し飼いが多く、ネズミを捕食することも多いので、感染の機会は犬より多く、北海道庁の剖検調査では九十九頭中五頭から多包条虫の未熟成虫が発見されたが、虫卵のある成虫は含まれていなかった。ヨーロッパにおいても猫はやや抵抗性の動物であるが、時折虫卵を排泄することが知られている。

■ペットの管理

- 1 ペットが感染する機会は野ネズミの捕食もしくは死体の拾い食いのみ！ これを防げば感染しない！（犬や猫は虫卵を食べても感染しない。したがって、感染キツネや感染犬との直接的な接触や、それらの糞便を食べても感染しない。キツネの糞便が混入した沢水を日常的に飲んでも感染しない。さらに、感染した豚や馬の生の肝臓を食べても、原頭節がないので感染しない）
- 2 野ネズミの生息するような場所で犬のリードを放した場合は、感染の可能性はある。感染の機会が多い場合は駆虫もしくは検査が必要である。

■ペットの診断・治療について

犬や猫のエキノコックス診断法としては遺伝子（PCR）診断、虫体の同定、虫卵検査、糞便内抗原検査などがあり、遺伝子診断や虫体の同定は研究機関や大学に依頼することとなるが、糞便内抗原検査はスクリーニング法として有用で、飼い主は獣医師を介して糞便を送付して検査を依頼できる。この方法で陽性の場合には、確認のための検査をさらに行うこととなる。もし感染が確認された場合は駆虫薬を投与して駆虫するが、同時に虫卵対策のために糞便の適切な処置が重要であり、獣医師や保健所の職員のサポートが必要となる（フライバシーについては守られる）。なお、感染症法の改

正により二〇〇四年十月から獣医師がエキノコックス感染犬を発見した時には所轄の保健所に直ちに届け出ることが義務づけられている。

犬の多包条虫に対する駆虫薬としてはブラジカンテルが非常に効果的で、安全域もかなり広い。

虫卵は乾燥や熱に弱く、日光にも長時間さらせば死ぬ。一般の消毒剤では虫卵は死なないが、高濃度のブリーチは効果的である。

■飼い主と地域における対策について

以上のことから、ペットの飼い主は飼いが多包条虫に罹らないように、すなわち野ネズミを食べないように注意しなければならぬ。また、日常的に犬の糞便の適切な処理に心がけなければならない。犬が感染した場合でも感染後に虫卵が排泄されるまでの期間に駆虫薬を投与することによって、虫卵の排泄を阻止することができる。犬に感染の機会がありそうな場合は、安全および確認のために駆虫および検査が勧められる。猫はやや抵抗性の宿主であるが、郊外や農村部で野ネズミをよく捕まえる猫については、検査もしくは駆虫も考えるべきと思われる。

犬や猫の感染予防としては、野ネズミを食べさせないことが重要であるが、この野ネズミへの感染源であり、最も重要な自然界の終宿主であるキツネに対する対策が、地域レベルの対策としては肝心である。私たちの研究も含めてキツネへの駆虫薬入りペイト（餌）の配布による感染源対策が試みられ、成果がいくつ

報告されている。北海道の豊かな自然を満喫するために、自然公園へも多くの住民やペットが訪れるが、犬を放しても安全な公園が望ましい。このような限定された地域での感染源対策は可能と考えられる。

■人の早期診断の重要性

北海道の現状ではキツネの感染率が高く、人の生活環境が多包条虫の虫卵に汚染され、人が感染する可能性がある。しかし、人ではエキノコックスの病気の進行はゆっくりで、早期発見により完治率が極めて高くなるので早期診断が重要である。肝臓の超音波や画像診断でも多包条虫の病変が検出できるが、北海道では自治体により検診（血清診断）が行われているので、道民は受診することが望ましい。全道的にキツネの感染率が上昇しているのにもかかわらず、一九九〇年度の受診者数約九万から、二〇〇三年度には約五万と年々減少しているが、多包条虫を侮ってはならない。

■まとめ

以上のように、通常ペットの多包条虫の感染の機会は少なく、虫卵を排泄しているペットは少ないので、むやみに心配する必要はないが、ペットと人との関係は密接であるので、侮らず、ペットの適切な管理・駆虫および検査により、人とのより安全な関係が保たれるように飼い主は心がける必要がある。


[CDC Home](#)
[Search](#)
[Health Topics A-Z](#)

EMERGING INFECTIOUS DISEASES

Past Issue

Vol. 11, No. 5
May 2005

[EID Home](#) | [Ahead of Print](#) | [Past Issues](#) | [EID Search](#) | [Contact Us](#) | [Announcements](#) | [Suggested Citation](#)
[Submit Manuscript](#)

[Comments](#) | [Email this article](#)

[Online Only](#)

[Online Only](#)

[Online Only](#)

• [References](#)

Conference Summary

Symposium on Infectious Diseases of Animals and Quarantine

Masao Kamiya,* Hong K. Ooi,† and Yuzaburo Oku‡

*Rakuno-Gakuen University, Ebetsu, Japan; †National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; and ‡Hokkaido University, Sapporo, Japan

[Suggested citation for this article](#)

Japan–Taiwan Symposium on Infectious Diseases of Animals and Quarantine

Sapporo, Japan

October 20–21, 2004

The Japan–Taiwan Symposium on Infectious Diseases of Animals and Quarantine, sponsored by the Japan Interchange Association, was held October 20–21, 2004, at the Sapporo Convention Center. The symposium focused mainly on human health and food safety. Issues that were discussed included 1) infectious diseases of animals that caused economic loss, and those diseases that threaten the health of companion animals, 2) infectious diseases that are transmitted from animals to humans, 3) emerging infectious diseases that have been reported recently in world news, such as bovine spongiform encephalomyopathy and avian influenza, and 4) animal quarantine measures to prevent the spread of the aforementioned diseases. Challenges posed by infectious diseases of animals that were faced in the past, are being faced now, and will be faced in the future were highlighted in the 3 plenary lectures.

The first plenary lecture described how Japan struggled to control rabies, Japanese encephalitis, Korean hemorrhagic fever, anthrax, and other zoonoses after the Second World War (1941–1945) when poverty and poor sanitary conditions were common in Japanese. The second plenary lecture reported on the economic loss to the pig industry in Taiwan brought about by diseases such as foot and mouth disease and circovirus infection. Also described were the efforts of Taiwanese public health officials to control the epizootic diseases through the strategic use of vaccine. The third plenary lecture described our responses to a variety of risks and focused on the necessity of risk management by an ideologically mature society when it is challenged. The need to integrate diverse expertise was reiterated and

examples of collaboration with mass media to solve problems were presented.

Speakers reported on the recent outbreaks of avian influenza in Yamaguchi, Oita, and Kyoto; the crisis control measures being implemented to curb the spread of the disease; and Dr. S. Y. Lin, Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Taiwan, and finding and eradicating the H5N2 subtype of avian influenza virus in Taiwan. The pathogenic H5N1 avian influenza virus was found in 6 ducks in the Taiwan Sea straits. The ducks had been thrown overboard by smugglers on a boat from mainland China who were being pursued by the coast guards at Kinmen Prefecture. This occurrence illustrates that infectious diseases know no national boundary and underscores the need for a global surveillance system to prevent the spread of the virus.

One session detailed how an echinococcosis transmission was interrupted and monitored. Praziquantel-laced bait was distributed to wild foxes in Hokkaido in a mass deworming program attempting to interrupt the transmission cycle; the efficacy of the program was monitored by using the worm coporantigen detection method. This method did not disrupt the movement or eco-hierarchy of the red fox population and was sustainable in its efficacy. The drug-laced bait was produced by using marine waste products. Prevalence of echinococcosis in the red foxes in Hokkaido was reduced by using this method (1,2). This method was also successful in reducing the prevalence of the cestode infection in Zurich, Switzerland (3). Knowledge of being protected against infection will instill a sense of safety among the inhabitants, which in turn will lead to increased agricultural activities, as well as developing tourism industry in the region.

The control policy against echinococcosis was presented, as was the mandatory reporting of infection in dogs, which became part of a revised law that became effective after October 1, 2004. This implementation is the first of its kind in the world.

Also noted was that a mutual understanding and consensus must exist among all parties concerned to effectively eradicate *Echinococcus* from red foxes. The stakeholders in this case are the inhabitants of the area, government officials, researchers, farmers, and tourist organizations.

Contemporary society is confronted with many forms of risk, including infectious disease risks and risks that threaten our food safety, that need urgent attention. This symposium brought researchers, government officials, and members of the public from Taiwan and Japan together to facilitate the bilateral regional exchange of information, with the understanding that technology that is applicable to both regions can also be extrapolated to the whole world. With the current pace of globalization, the concepts demonstrated in this symposium can serve as worldwide models.

After the symposium, the Taiwan delegation was asked for a comment on future development. The answer was that the symposium started on a bilateral basis but the discussion should be expanded to include other neighboring countries, such as Korea. Too strong a sense of nationalism may not protect national interests or the wellbeing of a nation itself.

Regarding the control of infectious diseases in animals, the symposium urged that research and development efforts tailored to specific needs be conducted.

Government authorities should not ignore problems and leave them for future generations to solve. Professional organizations, such as veterinary associations, should address the problems directly; scientific societies should not limit their activities to meetings or congresses. When these aspirations take shape, the world will have changed for the better.

The abstract of this symposium is published in Japanese and English and can be obtained through a request to Kamiya Masao.

References

1. Kamiya M, Nonaka N, Sumiya G, Oku Y. Effective countermeasures against alveolar echinococcosis in red fox population of Hokkaido, Japan. In: Paul Torgerson, Blok Shaikenov, editors. *Echinococcosis in central Asia: problems and solutions*. Zurich: Daur; 2004. p. 273–82.
2. Tsukada H. Potential remedy against *Echinococcus multilocularis* in wild red foxes using baits with anthelmintic distributed around fox breeding dens in Hokkaido, Japan. *Parasitology*. 2002;125:119–29.
3. Hegglin D, Ward PI, Deplazes P. Anthelmintic baiting of foxes against urban contamination with *Echinococcus multilocularis*. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:1266–72.

Suggested citation for this article:

Kamiya M, Ooi HK, Oku Y. Symposium on infectious diseases of animals and quarantine [conference summary]. *Emerg Infect Dis* [serial on the Internet]. 2005 May [date cited]. Available from <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no05/04-1348.htm>

Comments to the Authors

Please use the form below to submit correspondence to the authors or contact them at the following address:

Hong-Kean Ooi, Department of Veterinary Medicine, National Chung Hsing University, 250 Kuo Rd, Taichung, Taiwan; fax: 886-4-2285-6782; email: hkooi@mail.nchu.edu.tw

Please note: To prevent email errors, please use no web addresses, email addresses, HTML code, or the characters <, >, and @ in the body of your message.

Return email address optional:

nematodeESTs/), we found cDNA clusters putatively encoding cytosolic Cu/Zn-SODs (cluster BMC00677). When aligned with these sequences, our sequence exhibited high sequence identity that ranged from 97 to 98%. The gene cloned in this study might represent the Cu/Zn-SOD of *B. malayi*. Because we could not find any evidence that cytosolic Cu/Zn-SOD of *B. malayi* is membrane bound, it might not play a major role in protecting parasites from oxygen-mediated killing mechanisms of the hosts; instead, it might be involved in the survival of parasites by detoxifying intracellular superoxide radicals generated by cellular metabolism.

Overexpression of enzymatically active recombinant *B. malayi* Cu/Zn-SOD would help us to investigate the enzymatic characteristics and molecular structure of the enzyme in detail. The pathophysiological and biological role of the enzyme in host-parasite interaction should also be further elucidated.

This work was supported by a grant from the National Institute of Health, Ministry of Health and Welfare, Republic of Korea (NIH-348-6112-156).

LITERATURE CITED

- BANNISTER, J. V., W. H. BANNISTER, AND G. ROTTILIO. 1987. Aspects of the structure, function and application of superoxide dismutases. *Critical Review of Biochemistry* **22**: 111–180.
- CALLAHAN, H. L., R. K. CROUCH, AND E. R. JAMES. 1988. Helminth antioxidant enzymes: A protective mechanism against host oxidants? *Parasitology Today* **4**: 218–225.
- , ———, AND ———. 1991. *Dirofilaria immitis* superoxide dismutase: Purification and characterization. *Molecular and Biochemical Parasitology* **49**: 245–252.
- CHOI, D. H., B. K. NA, M. S. SEO, H. R. SONG, AND C. Y. SONG. 2000. Purification and characterization of iron superoxide dismutase and copper-zinc superoxide dismutase from *Acanthamoeba castellanii*. *Journal of Parasitology* **86**: 899–907.
- DENG, H.-X., A. HENTATI, J. A. TAINER, Z. IQGAL, A. CAYABYAB, W.-Y. HUNG, E. GETZOFF, P. HU, B. HERFELDT, R. P. ROSS, C. WARNER, G. DENG, E. SORINO, C. SMYTH, H. E. PARGE, A. AHMED, A. D. ROSES, R. A. HALLWELL, M. A. PERICAK-VANCE, AND T. SIDDIQUE. 1993. Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu, Zn superoxide dismutase. *Science* **261**: 1047–1051.
- FRIDOVICH, I. 1986. Superoxide dismutases. *Advances in Enzymology* **58**: 62–97.
- HENKLE, K. J., E. LIEBAU, S. MULLER, B. BERGMANN, AND R. D. WALTER. 1991. Characterization and molecular cloning of a Cu/Zn superoxide dismutase from the human parasite *Onchocerca volvulus*. *Infection and Immunity* **59**: 2063–2069.
- HENKLE-DÜHRSEN, K., R. S. TUAN, G. WILDENBERG, M. L. ESCHBACH, W. TAWE, P. ZIPFEL, AND R. D. WALTER. 1997. Localization and functional analysis of the cytosolic and extracellular Cu/Zn superoxide dismutases in the human parasitic nematode *Onchocerca volvulus*. *Molecular and Biochemical Parasitology* **88**: 187–202.
- JAMES, E. R., D. C. MCLEAN JR., AND F. PERLER. 1994. Molecular cloning of an *Onchocerca volvulus* extracellular Cu-Zn superoxide dismutase. *Infection and Immunity* **62**: 713–716.
- KIM, T. S., Y. JUNG, B. K. NA, K. S. KIM, AND P. R. CHUNG. 2000. Molecular cloning and expression of Cu/Zn-containing superoxide dismutase from *Fasciola hepatica*. *Infection and Immunity* **68**: 3941–3948.
- KRAUSER, M., AND D. A. HIRSH. 1987. A trans-spliced leader sequence on actin mRNA in *C. elegans*. *Cell* **49**: 753–761.
- LYNCH, R. E., AND I. FRIDOVICH. 1978. Permeation of the erythrocyte stroma by superoxide radical. *Journal of Biological Chemistry* **253**: 4696–4699.
- MICHAEL, M., AND D. A. P. BUNDY. 1997. Global mapping of lymphatic filariasis. *Parasitology Today* **13**: 472–476.
- QU, X., L. TANG, M. MCCROSSAN, K. HENKLE-DÜHRSEN, AND M. E. SELKIRK. 1995. *Brugia malayi*: Localization and differential expression of extracellular and cytoplasmic CuZn superoxide dismutases in adults and microfilariae. *Experimental Parasitology* **80**: 515–529.
- SELKIRK, M. E., V. P. SMITH, G. R. THOMAS, AND K. GOUNARIS. 1998. Resistance of filarial nematod parasites to oxidative stress. *International Journal of Parasitology* **28**: 1315–1332.
- TAINER, J. A., E. D. GETZOFF, J. S. RICHARDSON, AND D. C. RICHARDSON. 1983. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature (London)* **306**: 284–287.
- TANG, L., X. OU, K. HENKLE-DÜHRSEN, AND M. E. SELKIRK. 1994. Extracellular and cytoplasmic CuZn superoxide dismutases from *Brugia* lymphatic filarial nematode parasites. *Infection and Immunity* **62**: 961–967.

J. Parasitol., 91(1), 2005, pp. 208–209
© American Society of Parasitologists 2005

Modified Sugar Centrifugal Flotation Technique for Recovering *Echinococcus multilocularis* Eggs From Soil

Kayoko Matsuo and Haruo Kamiya*, Department of Parasitology, Hirosaki University School of Medicine, Zaihu-cho, Hirosaki 036-8562, Japan; *To whom correspondence should be addressed. e-mail: hkamiya@cc.hirosaki-u.ac.jp

ABSTRACT: Among soil-transmitted parasitic diseases, alveolar hydatidosis due to the ingestion of *Echinococcus multilocularis* eggs is becoming a serious problem in Hokkaido, the northern most island of Japan. Dissemination of the infection far from the endemic areas can occur if motor vehicles transmit soil contaminated with eggs. No appropriate and validated method for recovering the taeniid eggs from soil is available. A modified sugar centrifugal flotation technique, using a sucrose solution of specific gravity 1.27 and 0.05% Tween-80, was evaluated as a method to successfully recover eggs from soil. Contamination levels as low as 10 eggs per gram could be detected. This method may be useful to determine the prevalence of *E. multilocularis*, its transmission, and the potential for by monitoring soil contamination with eggs.

Soil is contaminated with various kinds of helminth eggs, which can be transmitted to humans and other animals (Mizgajski, 1997; Chongsuvivatwong et al., 1999). *Echinococcus multilocularis* is the causative agent of alveolar hydatidosis and is distributed widely in the Northern

Hemisphere. *Echinococcus multilocularis* eggs are deposited in the environment by defecation from the infected definitive hosts, mainly foxes. Human infection with *E. multilocularis* is more likely to occur by accidental ingestion of eggs in soil, contaminated vegetables, water etc., rather than through direct contact with definitive hosts, except dogs. Various techniques have been developed for ascarid egg detection from the soil (World Health Organization Chronicle, 1968; Uga et al., 1989; Ruiz de Ybanez et al., 2000). However, few reports for recovering taeniid eggs from soil are available.

A method for recovering ascarid eggs from sand (Uga et al., 1989) was adapted to a sugar centrifugal flotation technique (Ito, 1980) using a sucrose solution of specific gravity 1.27 (Nonaka et al., 1998). Soil was collected from the ground of Hirosaki University School of Medicine located in a nonendemic area for *E. multilocularis*. Twenty grams of soil mixed with 20 (equivalent to 1 egg per gram [EPG]), 200 (10 EPG), or 2,000 (100 EPG) *E. multilocularis* eggs was placed in 50-ml conical tube to which was added 40 ml of 0.05% Tween-80. The eggs were not infective, having been preserved in 70% ethanol since 1969.

TABLE I. Modified sugar centrifugal flotation technique for recovering *Echinococcus multilocularis* eggs from 20 g of soil.

Time of incubation	Number of eggs detected (mean \pm SD)†		
	20‡ (1 EPG)	200‡ (10 EPG)	2,000‡ (100 EPG)
2 hr	0.3 \pm 0.5 (3/10)§	1.5 \pm 0.7 (10/10)**	64 \pm 18.7 (10/10)***
Overnight	0.2 \pm 0.4 (2/10)	8.1 \pm 3.7 (10/10)***	137 \pm 40.8 (10/10)***
Total	0.5 \pm 0.5 (5/10)	9.6 \pm 4.0 (10/10)***	201 \pm 54.5 (10/10)***

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

† Number of detected eggs were evaluated by Student's *t*-test and found significant, where $P < 0.05$, compared with that of sample containing 1 EPG.

‡ Number of eggs added.

§ Number of tubes detected eggs/examined ($n = 10$).

The mixture was stirred vigorously and sieved through 100- μ m mesh. The suspension was centrifuged at 1,000 *g* for 5 min, and the supernatant was discarded. The sediment was resuspended in 7–8 ml sucrose solution (1.27 specific gravity). The suspension was transferred to 15-ml tubes and centrifuged again at 1,000 *g* for 15 min. Tubes were filled to the top, and a coverslip (24 \times 24 mm) was placed on the tube. Coverslips were examined microscopically 2 hr later. A new coverslip was placed on the top of tube and left overnight to detect the remaining eggs. Statistical significance of the results was determined using Student's *t*-test. Data were expressed as mean \pm SD, and a *P* value of less than 0.05 was taken as the minimum level of significance.

Eggs were detected in all soil samples added with 100 EPG after 2 hr of incubation. More eggs were detected after overnight incubation compared with 2 hr of incubation. As shown in Table I, the egg recovery rate was 2.5, 4.8, and 10% in soil samples containing 1, 10, and 100 EPG, respectively. The egg detection rate significantly increased with increase in EPG. The present method could detect contamination of soil with taeniid eggs at a concentration of 10 EPG.

An average of 300 eggs per gravid segment was counted in *E. multilocularis* collected from the fox (Zeyhle and Bosch, 1982). Therefore, if only 1 gravid segment was mixed with 20 g of soil, the EPG in this locality will be more than 10. A total of 34,000 *E. multilocularis* adults were recorded from a heavily infected fox in endemic area of Japan (Morishima et al., 1999). *Echinococcus multilocularis* eggs deposited in feces and dispersed into soil could clearly contaminate a wide area. Furthermore, if fox heavily infected with *E. multilocularis* was involved in a motor accident, a huge number of eggs could be disseminated into the environment from injured viscera. According to Tsukada et al. (2000), infected foxes frequently encountered traffic accidents in Hokkaido, Japan. Therefore, motorcars contaminated with eggs could disperse the parasite to nonendemic areas.

It is somewhat difficult to evaluate the sensitivity of present techniques for application to field survey. However, the contamination of soil with *E. multilocularis* is not the same in different areas. The contamination of eggs in soil should be more intense around fox dens, showing that the wild rodents, its intermediate host, captured near the dens were heavily infected (Kamiya et al., 1977). Therefore, the sensitivity level of 1 EPG is still valuable for detection of eggs in certain instances such as in the soil of highly endemic areas or soil adhered to motorcars run over the injured fox viscera infected with *E. multilocularis*.

Recently, the present technique adapted for 2 kg of soil was used in a survey for detecting *E. multilocularis* eggs in soil left in the Hokkaido to Aomori ferryboat to monitor the transmission of eggs from endemic to nonendemic area. Although no helminth egg was detected, *Isospora* oocysts, mites, and eggs of mites were found (Matsuo et al., 2003). Of course, the soil collected from the endemic area must be incubated at 70 C for 12 hr (Nonaka et al., 1998) or frozen at -80 C for 3 days or more (Veit et al., 1995) to inactivate egg infectivity.

LITERATURE CITED

- CHONGSUWIVATWONG, V., S. UGA, AND W. NAGNAEN. 1999. Soil contamination and infections by soil-transmitted helminths in an endemic village in southern Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 30: 64–67.
- ITO, S. 1980. Modified Wisconsin sugar centrifugal-flotation technique for nematode eggs in bovine feces. Journal of Japan Veterinary Medical Association 33: 424–429.
- KAMIYA, H., M. OHBAYASHI, K. SUGAWARA, AND K. HATTORI. 1977. An epidemiological survey of multilocularis echinococcosis in small mammals of eastern Hokkaido, Japan. Japanese Journal of Parasitology 26: 148–156.
- MATSUO, K., T. INABA, AND H. KAMIYA. 2003. Detection of *Echinococcus multilocularis* eggs by centrifugal flotation technique: Preliminary survey of soil left in the ferryboats commuting between Hokkaido Island, where *E. multilocularis* is endemic, and mainland Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases 56: 118–119.
- MIZGAJSKA, H. 1997. The role of some environmental factors in the contamination of soil with *Toxocara* spp. and other geohelminth eggs. Parasitology International 46: 67–72.
- MORISHIMA, Y., H. TSUKADA, N. NONAKA, Y. OKU, AND M. KAMIYA. 1999. Evaluation of coproantigen diagnosis for natural *Echinococcus multilocularis* infection in red foxes. Japanese Journal of Veterinary Research 46: 185–189.
- NONAKA, N., H. TSUKADA, N. ABE, Y. OKU, AND M. KAMIYA. 1998. Monitoring of *Echinococcus multilocularis* infection in red foxes in Shiretoko, Japan, by coproantigen detection. Parasitology 117: 193–200.
- RUIZ DE YBANEZ, M. R., M. GARLO, M. GOYENA, AND F. D. ALONSO. 2000. Improved methods for recovering eggs of *Toxocara canis* from soil. Journal of Helminthology 74: 349–353.
- TSUKADA, H., Y. MORISHIMA, N. NONAKA, Y. OKU, AND M. KAMIYA. 2000. Preliminary study of the role of red foxes in *Echinococcus multilocularis* transmission in the urban area of Sapporo, Japan. Parasitology 120: 423–428.
- UGA, S., T. MATSUMURA, N. AOKI, AND N. KATAOKA. 1989. Prevalence of *Toxocara* species eggs in the sandpits of public parks in Hyogo Prefecture, Japan. Japanese Journal of Parasitology 38: 280–284.
- VEIT, P., B. BILGER, V. SCHAD, J. SCHAFER, W. FRANK, AND R. LUCIUS. 1995. Influence of environmental factors on the infectivity of *Echinococcus multilocularis* eggs. Parasitology 110: 79–86.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION CHRONICLE. 1967. Control of ascariasis. Technical Report Series No. 379. World Health Organization, Geneva, Switzerland, p. 155–159.
- ZEYHLE, E., AND D. BOSCH. 1982. Comparative experimental infection of cats and foxes with *Echinococcus multilocularis*. Zentralblatt für Bakteriologie 277: 117–118.

Laboratory and Epidemiology Communications

A Coprological Survey of the Potential Definitive Hosts of *Echinococcus multilocularis* in Aomori Prefecture

Yasuyuki Morishima*, Hiromu Sugiyama, Kyoko Arakawa, Joji Ohno¹,
Atsushi Waguri², Koichi Abe² and Masanori Kawanaka

Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640,

¹Aomori Regional Health Center, Aomori 030-0911 and

²Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment, Aomori 030-8566, Japan

Communicated by Ichiro Kurane

(Accepted August 12, 2005)

Alveolar echinococcosis (AE) is a zoonotic helminth disease classified as Category IV by the Infectious Diseases Control Law of Japan, which requires notification of both human and canine cases of the disease. The known domestic distribution of the causal agent, *Echinococcus multilocularis*, is exclusively restricted within Hokkaido; thus, human AE infections occur predominantly in the inhabitants of this region. On the other hand, there have also been AE patients reported from prefectures other than Hokkaido. Although many of these cases are thought to have had contact with either Hokkaido or foreign endemic countries, some infections were probably acquired autochthonously. It is noteworthy that half of the autochthonous cases were recorded in Aomori Prefecture (1), which is situated on the northern tip of the mainland of Japan and faces Hokkaido across the Tsugaru Strait (Fig. 1). Furthermore, slaughter pigs infected with metacestodes of *E. multilocularis* have recently been reported in this area (2). These data imply the spread of the parasite from Hokkaido to Aomori Prefecture, but adult *E. multilocularis* has not yet been detected in necropsy surveys on wild red foxes, though it must be kept in mind that relatively few animals were studied (3,4).

Necropsy diagnosis of *Echinococcus* in the small intestines of the definitive hosts is laborious, time-consuming and even biohazardous when it is performed on a fresh carcass, but nevertheless serves as a gold standard owing to its reliability. However, postmortem examination is not suitable for areas like Aomori Prefecture, where animal carcasses are sparse or unavailable. According to game bag records, for instance, the mean annual number of red foxes captured in this prefecture during 1999-2001 was less than 100 (5) (Full data are available at <http://www.sizenken.biodic.go.jp/wildbird/flash/toukei/07toukei.html>). Although domestic dogs can also become the definitive hosts of the parasite, they cannot be included in necropsy surveys for ethical reasons. Therefore, we attempted a survey with antemortem diagnostic approaches to increase the target population.

The survey was undertaken on potential definitive hosts in Aomori Prefecture from December 2003 to February 2005. Forty-three fecal samples of wild red foxes, which included 17 rectal feces of shot individuals and 26 naturally excreted

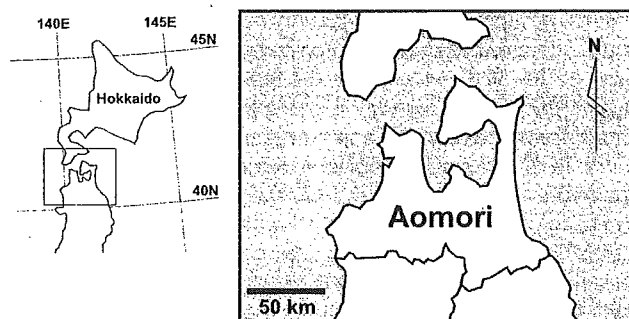


Fig. 1. Location of Aomori Prefecture, Japan.

feces in fields, were collected by local hunters. With regard to the collection of the latter samples, local hunters were instructed in the criteria of vulpine feces (6) in order to avoid sample contamination with other carnivores. In addition, 134 fecal samples of hunting dogs were collected due to their management in fields in which they may acquire the infection by preying on rodent intermediate hosts. All samples were stored at -20°C until used. Microscopic egg detection was conducted with both a modified Wisconsin procedure (7) using a sucrose solution whose specific gravity was 1.27 and a formalin-ethyl acetate sedimentation technique (8). Because the eggs of *Echinococcus* morphologically resemble those of other taeniid tapeworms (9), they were subjected to PCR as described below. *Echinococcus* coproantigen was screened using an ELISA kit from Dr. Bommeli AG (CHEKIT[®]-Echinotest; Liebefeld-Bern, Switzerland) following manufacturer's instructions. The results of the test were expressed as percentages of likelihood for infection using the following equation: relative positivity (%) = $\{(\text{OD of test sample} - \text{OD of negative control}) / (\text{OD of positive control} - \text{OD of negative control})\} \times 100$. A relative positivity value of less than 30% was regarded as a negative and a value greater than 40% was regarded as a positive. Values between 30-40% were considered to be indeterminate. The test has a sensitivity rate of 90.9% and a specificity rate of 98.8% when applied to a group with a prevalence of 8% (data from the manufacturer). To confirm the results of the coproantigen test, and to distinguish *E. multilocularis* from other taeniid tapeworms, a specific nested PCR test (10) was carried out. The extraction of DNA from fecal samples and egg materials was performed using a commercial kit (QIAamp DNA Stool Mini Kit; Qiagen GmbH, Hilden, Germany) and the protocol described by

*Corresponding author: Mailing address: Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases, Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan. Tel: +81-3-5285-1111, Fax: +81-3-5285-1173, E-mail: morishima@nih.go.jp

Bretagne et al. (11), respectively.

Taeniid eggs were detected in two vulpine and one canine fecal samples, but all were negative in the *E. multilocularis*-specific PCR test. Taking both host groups together, only a single dog gave a positive result for coproantigen. The dog was treated by oral administration of 5 mg/kg bodyweight of praziquantel (Droncit®; Bayer AG, Leverkusen, Germany), and feces excreted after the chemotherapy were taken daily until 2 days post-treatment. A follow-up coproantigen test was performed on post-treatment fecal samples. The relative positivity values yielded showed a remarkable change: the value had reduced from 44% at pretreatment to 10% at 2 days after treatment. This could be translated into success in deworming *E. multilocularis*, which is susceptible to chemotherapy with praziquantel. However, in the PCR test, no amplification products were obtained from any samples tested. The fecal samples were subjected to further parasitological examination. All remnants were slurried in an adequate volume of tap water and washed by decantation, and the sediments were scanned under a stereomicroscope at magnifications of 20-50×; no parasite segments were recovered. The reason for this discrepancy is unclear, but may be explained by a false positive of the coproantigen test or false negatives of the PCR and parasitological examination. Considering the reactivity to the taeniocidal drug, the false positive observed in the coproantigen test might have been caused by other taeniid cestodes. Such cross-reaction of the coproantigen test has previously been reported (12,13), however, no DNA fragments were amplified in the first round of the nested PCR test which detects cyclophillid cestodes, and no worm debris was found in the fecal sediments. The false negatives may relate to the degree of maturation and/or low infection intensity of *E. multilocularis*, both of which could give false negative results in the PCR test (10). Since adult *E. multilocularis* is a tiny worm, and because its proglottids will be broken off by the pharmacological action of praziquantel (14), it may be overlooked in parasitological examination. We are therefore not fully convinced of the existence of *Echinococcus* infection in this dog. Further study is needed to improve the confirmation test.

Once AE is established in an area, elimination is quite difficult. Taking into account its public health consequences, monitoring of the parasite among potential definitive hosts must be a continuous task until an effective countermeasure is established.

This study was supported by a grant for the Research on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases (H15 Shinkou-7) from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare.

REFERENCES

1. Doi, R., Kanda, E., Nihei, N. and Uchida, A. (2000): Occurrence of alveolar hydatid disease (multilocular

- echinococcosis) outside of Hokkaido and a proposal for its prevention. *Jpn. J. Public Health*, 47, 111-126 (in Japanese with English summary).
2. Kamiya, H. and Kanazawa, T. (1999): The first detection of *Echinococcus* infection among pigs on the main island of Japan, August 1998–Aomori. *Infect. Agents Surveill. Rep.*, 20, 248-249 (in Japanese).
3. Sato, H., Inaba, T., Ihama, Y. and Kamiya, H. (1999): Parasitological survey of wild carnivores in north-western Tohoku, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 61, 1023-1026.
4. Sato, H., Ihama, Y., Inaba, T., Yagisawa, M. and Kamiya, H. (1999): Helminth fauna of carnivores distributed in north-western Tohoku, Japan, with special reference to *Mesocostoides paucitesticulus* and *Brachylaima tokudai*. *J. Vet. Med. Sci.*, 61, 1339-1342.
5. Ministry of the Environment: Annual Statistics of Birds and Animals. Accessed June 4, 2005.
6. Morishima, Y., Tsukada, H., Nonaka, N., Oku, Y. and Kamiya, M. (1999): Coproantigen survey for *Echinococcus multilocularis* prevalence of red foxes in Hokkaido, Japan. *Parasitol. Int.*, 48, 121-134.
7. Ito, S. (1980): Modified Wisconsin sugar centrifugal-flotation technique for nematode eggs in bovine feces. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 33, 424-429.
8. Young, K. H., Bullock, S. L., Melvin, D. M. and Spuruill, C. L. (1979): Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. *J. Clin. Microbiol.*, 10, 852-853.
9. Thompson, R. C. A. (1995): Biology and systematics of *Echinococcus*. p. 1-50. In R. C. A. Thompson and A. J. Lymbery. (ed.), *Echinococcus* and Hydatid Disease. CAB International, Wallingford.
10. Dinkel, A., von Nickisch-Roseneck, M., Bilger, B., Merli, M., Lucius, R. and Romig, T. (1998): Detection of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host: coprodiagnosis by PCR as an alternatives to necropsy. *J. Clin. Microbiol.*, 36, 1871-1876.
11. Bretagne, S., Gillou, J.-P., Morand, M. and Houin, R. (1993): Detection of *Echinococcus multilocularis* DNA in fox faeces using DNA amplification. *Parasitology*, 106, 193-199.
12. Manfredi, M. T., Genchi, C., Deplazes, P., Trevisiol, K. and Fraquelli, C. (2002): *Echinococcus multilocularis* infection in red foxes in Italy. *Vet. Rec.*, 150, 757.
13. Štefanić, S., Shaikenov, B. S., Deplazes, P., Dinkel, A., Torgerson, P. R. and Mathis, A. (2004): Polymerase chain reaction for detection of patent infections of *Echinococcus granulosus* ("sheep strain") in naturally infected dogs. *Parasitol. Res.*, 92, 347-351.
14. Becker, B., Mehlhorn, H., Andrews, P. and Thomas, H. (1981): Ultrastructural investigations on the effect of praziquantel on the tegument of five species of cestodes. *Z. Parasitenkd.*, 64, 257-269.

rinii に対し抗体反応が陽性であった。刺咬マダニ種は *Ixodes persulcatus* (シュルツェマダニ) と同定された。また大原総合病院における抗体調査により、野兔病、ブルセラ症、日本紅斑熱、チフス熱、および Q 熱は否定的であった。

マダニに刺咬された記憶は本人にはないが、ハバロフスクでの蝶の採集の際に現地の人からダニがいると注意されていること、蝶の採取を終えて宿へ戻った際に友人のタオルにダニがついていることを見ていることから、ハバロフスクでマダニに刺咬されたと思われる。実際シュルツェマダニはハバロフスクでは見出されるが、カンボジアでは未記載のマダニで、国内のみならずロシアでのライム病ボレリア媒介種となっている。一方で *B. valaisiana* 近縁種は韓国、中国、タイなどの東南アジアおよび本邦南西諸島で見出されているが、ハバロフスクで見出されたことはない。またこれまでシュルツェマダニから *B. valaisiana* 近縁種が見出されたことはないことから、シュルツェマダニの *B. valaisiana* 近縁種の媒介能については不明である。

これらのことから、カンボジアで *B. valaisiana* 近縁種に感染後、ハバロフスクでさらにシュルツェマダニに刺咬された可能性と、ハバロフスクでのシュルツェマダニ刺咬により *B. valaisiana* 近縁種に感染、ライム病を発症した可能性が考えられた。いずれの可能性も現時点では否定できないが、*B. valaisiana* 近縁種による感染症例は世界で初めてであり、今後 *B. valaisiana* 近縁種に対しても注意が必要であることが示された。

これまで *B. garinii* 感染が見出されているハバロフスクなどシュルツェマダニの生息地域でのマダニ刺咬には注意が必要であるとともに、*B. valaisiana* 近縁種の存在が確認もしくは推定されている、東南アジア、韓国や本邦南西諸島などでも、ライム病媒介マダニの刺咬を受けないように注意する必要がある。

東京大学医学部附属病院・循環器内科

齋藤 幹 伊藤高章 大野 実

東京大学医学部附属病院・皮膚科 浅島信子

国立感染症研究所・細菌第一部

川端寛樹 渡邊治雄

研究協力者

国立感染症研究所・細菌第一部 小泉信夫

大原総合病院付属大原研究所 藤田博己

<国内情報>

埼玉県内の犬の糞便から検出されたエキノコックス(多包条虫)の虫卵

今般、埼玉県内で捕獲された犬の糞便から、エキノコックス(多包条虫 *Echinococcus multilocularis*) の虫卵が検出されたので、その概要について報告する。

衛生研究所および動物指導センターでは、共同研究として1999年5月から犬および猫における寄生虫類とりケッチャ等の保有状況に関する調査を開始し、「埼玉県における動物由来感染症に関する実態調査」を実施している。糞便検査は2005年8月末までに、犬は550検体、猫は747検体について実施した。

動物指導センターで採材された糞便は、その当日または翌日に衛研へ搬入し、できるだけ速やかに検査を実施している。すべての検体において薄層直接塗抹法、ホルマリン・エーテル(酢酸エチル)法、ショ糖遠心浮遊法を併用し、検出された原虫類の一部に関しては、それを同定するために各種染色法や遺伝子解析を実施している。

2005年6月3日、県北で捕獲された雌犬(犬種不明)の糞便からテニア科の虫卵が検出された。犬から検出し得るテニア科の条虫には、豆状条虫(*Taenia pisiformis*)、胞状条虫(*T. hydatigena*)、多包条虫(*Echinococcus multilocularis*)、単包条虫(*E. granulosus*)などがあるが、いずれの虫卵も形態は類似し、光学顕微鏡下での鑑別は困難である。そこで、得られた虫卵から抽出した遺伝子をPCR法で増幅し、その産物(約250bp)についてダイレクトシークエンスを行ったところ、塩基配列は既報の多包条虫(北海道由来)のものとして一致した。

感染症法の改正以降、国内では北海道以外の都府県からエキノコックスの虫卵が検出された初めての事例であることから、検査結果が得られた8月30日以後、直ちに関係機関による対応を開始した。

保健所などにおける住民対応を円滑に進めるために「エキノコックス症について」および「埼玉県におけるエキノコックス症についてQ & A」を作成し、生活衛生課、衛生研究所、動物指導センターのホームページに掲載した。

また、獣医師会、医師会などへの情報提供、そして保健所担当者に対する「エキノコックス症とその対策」、「県民相談に関わるQ & A」等の研修会を開催するなど、県民への十分な情報提供を行うための方策を重ねた上で、9月8日にプレスリリースを行った。

今後の対応については、飼い主、動物取扱業者に対して、北海道からの犬の持ち込みについて注意を呼びかけるとともに、飼育放棄犬で北海道との関連が確認された犬の糞便検査を実施する。また、エキノコックスが埼玉県に定着しているとは考えにくいですが、今回の事例は捕獲された犬から虫卵が検出されたことから、中間宿主となる野鼠を捕獲し、エキノコックスの感染状況を調査する。

近年、エキノコックスに関しては「厚生労働省新興・再興感染症事業」(主任研究者・神谷正男)などによる研究成果が公表され、「犬のエキノコックス症対応ガイドライン 2004 一人のエキノコックス症対策のた

めに一」が作成されるなど、その対策の重要性が再認識されている。

埼玉県では今後も動物由来感染症対策として、エキノコックス等の寄生虫に関する実態調査を継続する予定である。

埼玉県衛生研究所

山本徳栄 近 真理奈 山口正則 丹野瑛喜子
埼玉県動物指導センター

小山雅也 前野直弘 東 久 水澤 馨

木村 弘

埼玉県保健医療部感染症対策室, 生活衛生課

国立感染症研究所・寄生動物部第二室

森嶋康之 川中正憲

<国内情報>

保育園で発生した腸管出血性大腸菌 O26 の集団感染事例——札幌市

2005年6月29日, 医療機関から保健所に男児 A (3歳) について腸管出血性大腸菌 (EHEC) O26 を分離し, VT1(+) の届出があり, 患者および家族の健康調査から, 患者は保育園に通園していることが判明し, 保育園における有症者等の状況について調査および指導を開始した。

その翌週 (7月5日), 同医療機関から先に届出された男児 A と同じ保育園に通う男児 B (2歳) について EHEC O26, VT1(+) の届出があったため, 7月6日~8日, 同保育園について患者2名を除く全園児102名, 全職員26名の検便, トイレ周辺およびピニールプール (大1, 小4) 等のふきとり液20検体, 保存食17検体の EHEC O26 細菌検査を実施した。その結果, 園児15名から EHEC O26 が検出されたが, 職員の便, ふきとり液および食品からはいずれも検出されなかった。保育園では患者の発生状況および検便検査結果から, 二次感染予防のため7月11日~16日の間を自主休園とした。

翌々週 (7月14日), 初回検便で陰性の園児および職員の検便 (2回目) を実施した結果, 新たに園児2名および職員1名から EHEC O26 が検出された。その後, 8月9日までにさらに園児2名および陽性の園児の家族3名から EHEC O26 が検出された。

8月29日, 陽性者であった全員の検便の陰性が確認され, また, その後新たな発症者が見られないことから, 保育園における EHEC O26 集団感染の終息を確認

表1. 保育園における EHEC O26 検査結果

種類	検体数	陽性数	有症者	無症状保菌者
園児	104	21	14	7
職員	26	1	1	0
家族	69	3	0	3
ふきとり	20	0		
保存食	17	0		
合計	236	25	15	10

表2. 園児クラス別陽性数

クラス	園児数	年齢(歳)	陽性数(率)	有症者	無症状保菌者
	104		21 (20%)	14	7
A	13	1	4* (29%)	4*	0
B	21	2~6	4 (19%)	2	2
C	23	2~6	7* (30%)	6*	1
D	22	2~6	3 (14%)	0	3
E	24	2~6	3 (13%)	2	1

*初発患者を含む

なお, クラスAに男児B(2歳)も在籍していた

認した。

本事例における感染者数は園児21名, 職員1名および園児の家族3名, 計25名であった (表1)。

保育園の園児の年齢構成は1~6歳で, 13~24人のクラスが5クラスあり, 1歳の1クラスと2~6歳の4クラスで, 2~6歳の混合保育を主とし, 1週間に2回年齢別の交流会を実施しており, 陽性者は各クラスに3~7人認められた (表2)。

本事例では, 有症園児で症状回復後も菌が陰性化するまでに長期間 (25日) を要した例があった。また, 発症後1週間の検査で菌は検出されず10日以上経過してから EHEC O26 が検出された園児や, 初発患者の届出から約1カ月後に発症し, EHEC O26 が検出された園児の例があった。

検出された菌株のパルスフィールド・ゲル電気泳動のバンドパターンを調べた結果, 検査した11株中10株のバンドパターンは完全に一致しており, 1株のみが1本多かったが, 類似度は97%で同一由来と判断した。

細菌検査には, 従来のセフィキシム・亜テルル酸カリウム加ラムノース・マッコンキー基礎寒天培地に1%セロビオースを添加することにより, EHEC O26 の選択性をさらに高めた分離培地 (セロビオース加 CT-RMAC) を用いた (IASR 23: 290-291, 2002参照)。また, modified *Escherichia coli* Broth (mEC) による42°C18時間増菌培養を併用した。

疫学調査および細菌検査の結果, 感染源および伝播経路は特定することはできなかったが, 食品などの単一曝露による感染の可能性は低く, 人→人への感染の可能性が高いと考えられた。また, EHEC 感染の危険因子として, 幼児の衛生管理の困難さやプール遊びなどの要因が関わっていると考えられた。

過去, 札幌市における EHEC 感染症の集団発生状況は1999 (平成11) 年7月に1保育園で O26・VT2 (+), 2002 (平成14) 年7月に2保育園で O26・VT1 (+) (IASR 23: 290-291, 2002参照) であり, いずれも夏季に保育園において EHEC O26 の集団感染が発生していることから, 園児の健康管理, 園児・職員の手洗い等の衛生教育や夏季の簡易プールの衛生管理などの徹底が重要と考えられる。

札幌市衛生研究所

川合常明 廣地 敬 坂本裕美子

土屋英保 大川一美 藤田晃三

エキノコックス症 (犬)

Echinococcosis

神谷 正男*

はじめに

寄生虫・エキノコッ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コッ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、人体エキノコックス症は新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「エキノコックス症：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^{1,2)}にしたがって適切に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、エキノコッ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コッ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、エキノコッ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エキノコッ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。

成虫

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

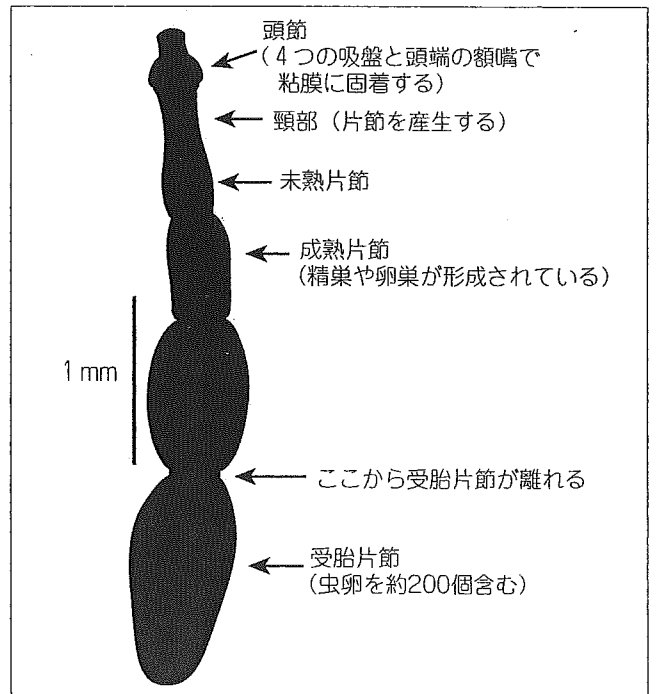


図2 エキノコックスの成虫(模式図)

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、その後には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

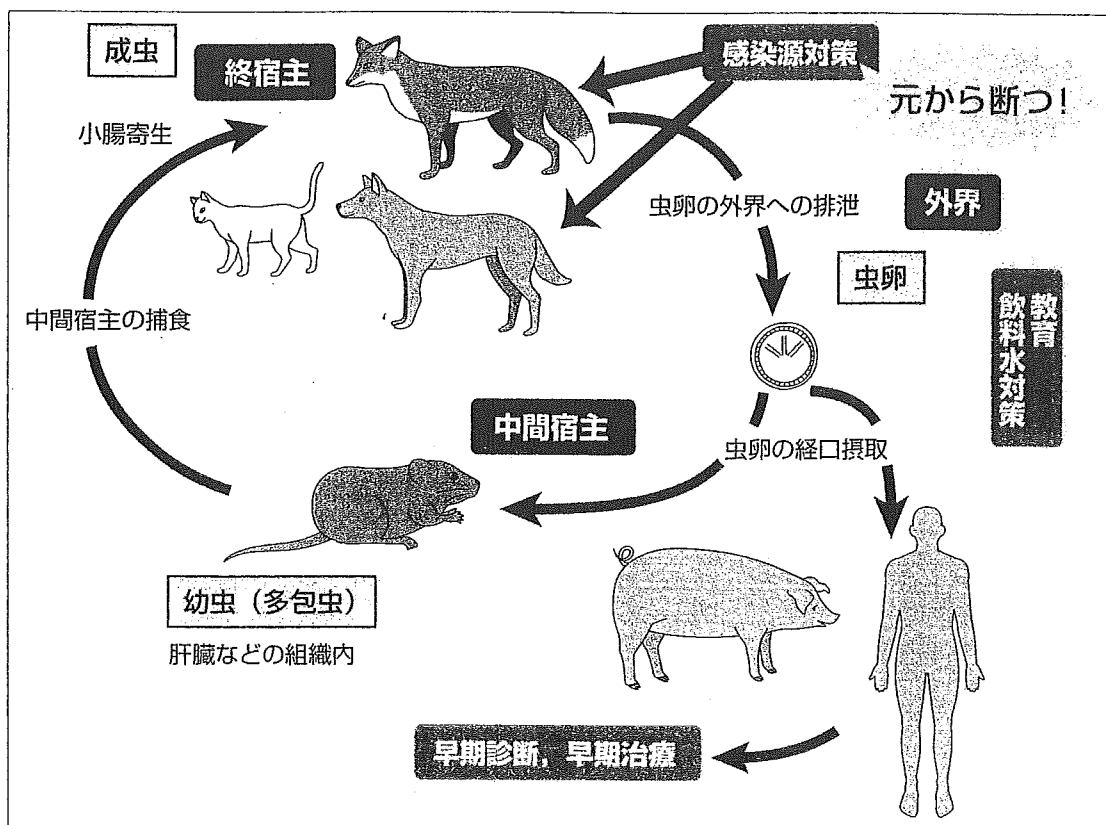


図3 多包条虫の生活環



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³⁾。

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
- ・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、ニクロサミド、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。感染経路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

どもに移る。

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、腹部症状が強くなり、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。

行政対応(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^{注1)}などに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^{注2)}：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)における放し飼いなど、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。

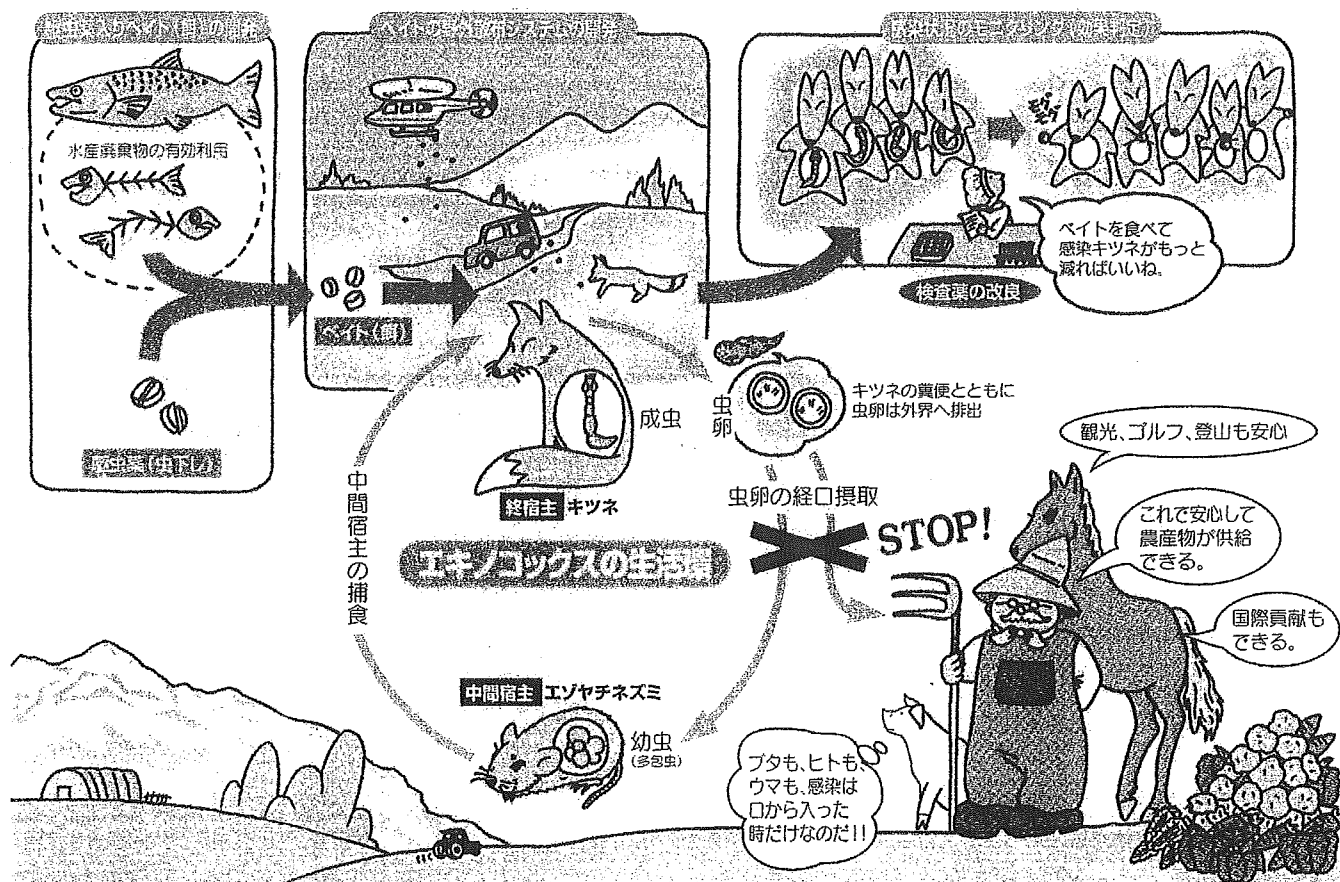


図5 環境修復メニュー

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けさせない、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。

おわりに

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疫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、虫卵と糞内抗原は低減⁴⁾、調査地(200km²)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⁵⁾。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⁶⁾ならびに民間団体⁷⁾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, in press).

Identification Procedure for *Pasteurella Pneumotropica* in Microbiologic Monitoring of Laboratory Animals

Nobuhito HAYASHIMOTO¹⁾, Takeshi AIBA²⁾, Kikuji ITOH³⁾, Megumi KATO⁴⁾,
Eiichi KAWAMOTO⁵⁾, Sumito KIYOKAWA⁶⁾, Yoko MORICHKA⁷⁾,
Takehiko MURAGUCHI⁸⁾, Teruo NARITA⁹⁾, Yasuo OKAJIMA¹⁰⁾,
Akira TAKAKURA¹⁾, and Toshio ITOH¹⁾

¹⁾ICLAS Monitoring Center, Central Institute for Experimental Animals, 1430 Nogawa, Miyamae-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa 216-0001, ²⁾Pharmacodynamics Research Laboratories, Sankyo CO., Ltd., 717 Horikoshi, Fukuroi-shi, Shizuoka 437-0065, ³⁾Laboratory of Veterinary Public Health, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, ⁴⁾Charles River Japan, Inc., 10210-6 Tana, Sagami-hara-shi, Kanagawa 229-1124, ⁵⁾Animal Research Center, Tokyo Medical University, 6-1-1 Shinjyuku-ku, Tokyo 160-8402, ⁶⁾CLEA JAPAN, Inc., 983-5 Kamiyuno, Shibakawa-cho, Fuji-gun, Shizuoka 419-0301, ⁷⁾Japan SLC, Inc., 3371-8 Koto-cho, Hamamatu-shi, Shizuoka 431-1103, ⁸⁾Institute of Laboratory Animals, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Yoshidakonoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606-8501, ⁹⁾Medicinal Safety Research Laboratory, Sankyo CO., Ltd., 717 Horikoshi, Fukuroi-shi, Shizuoka 437-0065, and ¹⁰⁾Environmental Research Center, Mercian Cleantec Corporation, 4-9-1 Jyonan, Fujisawa-shi, Kanagawa 251-0057, Japan

Abstract: Discrepancies have been recognized in the identification of *Pasteurella pneumotropica* between testing laboratories. To determine the causes of the differences and to propose a reliable identification procedure for *P. pneumotropica*, a working group was organized and 69 isolates identified or suspected as *P. pneumotropica* were collected from 8 laboratories in Japan. These isolates were examined by colony morphology, Gram-staining, the slide agglutination test using two antisera (ATCC35149 and MaR), two commercially available biochemical test kits (ID test, API20NE) and two primer sets of PCR tests (Wang PCR, CIEA PCR). The 69 isolates and two reference strains were divided into 10 groups by test results. No single procedure for *P. pneumotropica* identification was found. Among tested isolates, large differences were not observed by colony morphology and Gram-staining except for colony colors that depended on their biotypes. Sixty-eight out of 69 isolates were positive by the slide agglutination test using two antisera except for one isolate that tested with one antiserum. The ID test identified 61 out of 69 isolates as *P. pneumotropica* and there was no large difference from the results of CIEA PCR. From these results, we recommend the combination of colony observation, Gram-staining, the slide agglutination tests with two antisera and biochemical test using the ID test for practical and reliable identification of this organism.

Key words: identification procedure, microbiologic monitoring, *Pasteurella pneumotropica*

(Received 23 August 2004 / Accepted 19 November 2004)

Address corresponding: N. Hayashimoto, ICLAS Monitoring Center, Central Institute for Experimental Animals, 1430 Nogawa, Miyamae-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa 216-0001, Japan