

表 1. 症例一覧

症例	動物種	年齢	性別	体重 (kg)	真菌性腹膜炎 の原因	原因菌種	治療方法	治療 日数	転帰
1	ネコ	6ヶ月	雄	2.2	交通事故 膀胱破裂□腸管破裂 膀胱破裂	<i>C. glabrata</i>	ITCZ, KCZ: 経口 AMPH-B: 膀胱洗浄	60日 30日	完治
2	ネコ	1歳	雄	4.1	交通事故 腸管破裂□尿道断裂	<i>C. albicans</i>	ITCZ: 経口 AMPH-B 膀胱洗浄	60日 40日	完治
3	ネコ	3ヶ月	雄	1.8	交通事故 外傷性横隔膜ヘルニア 腸管破裂□尿道断裂	<i>P. guilliermondii</i> <i>C. glabrata</i>	ITCZ, KCZ: 経口 AMPH-B 膀胱洗浄	55日 32日	完治
4	イヌ	10歳	雄	20.1	消化器型リンパ腫 による腸管破裂	<i>C. albicans</i>	ITCZ: 静脈内投与	3日	死亡

表2. 服腔および尿から分離された *Candida* spp. の薬剤感受性

分離源	<i>Candida</i> 種	AMPH-B	5-FC	FLCZ	ITCZ	MCZ	MCFG
症例1 (腹水)	<i>C. glabrata</i>	0.25	0.125>	>16	1	0.5	0.03>
症例2 (尿)	<i>C. albicans</i>	1	0.125	>16	1<	4	0.03>
症例3 (腹水)	<i>C. guilliermondii</i>	0.25	0.125	4	0.5	1	0.25
症例3 (尿)	<i>C. glabrata</i>	1	0.125	16	1	2	0.03
症例4 (腹水)	<i>C. albicans</i>	1	0.125>	>16	1	0.5	0.03>

アムホテリシン B - Amphotericin B (AMPH-B), フルシトシン - Flucytosine (5-FC),
 フルコナゾール - Fluconazole (FLCZ), イトラコナゾール - Itraconazole (ITZ), ミコナ
 ザール - Miconazole, (MCZ) ミカフアンギン - Micafungin (MCFG)

表3. イルカの呼気より分離された *C. albicans* の薬剤感受性と MDR1遺伝子型

調査時期	実験番号	IFM番号	由来	AMPH-B	5-FC	FLGZ	ITZ	MCZ	MCFG	二重塩基数	MDR1type
2006年8月	009	55224	サミ	0.5	<0.125	>64	>8	8	<0.03	0	1
	010	55225	サミ	0.06	<0.125	>64	>8	2	<0.03	0	1
	011	55226	フジ	0.25	0.25	32	8	2	<0.03	10	13
	025	55267	コニー	0.25	>64	>64	>8	1	<0.03	9	17
	032	55273	クロ	0.25	0.125	>64	>8	4	<0.03	9	17
	033	55274	クロ	0.5	<0.125	2	0.125	1	<0.03	9	17
	037	55276	ラーフ	0.25	<0.125	>64	>8	4	<0.03	0	2
	042	55281	ダン	0.125	>64	>64	>8	2	<0.03	9	17
	053	55290	ボイ	0.5	<0.125	8	0.125	<0.06	<0.03	0	1
	055	55292	カナ	0.5	<0.125	64	8	2	<0.03	0	1
2007年2月	W15	55372	ゴン	0.5	<0.125	>64	>8	4	<0.03	0	1
	W17	55374	サミ	0.5	<0.125	>64	>8	2	<0.03	0	1
	W19	55376	フジ	0.25	0.125	1	0.125	2	<0.03	10	13
	W21	55378	コニー	0.25	>64	>64	>8	32	<0.03	9	17
	W24	55381	クロ	0.25	<0.125	64	2	8	<0.03	9	17
	W25	55382	ラーフ	0.25	<0.125	64	8	4	<0.03	0	2
2006年8月	057	55295	F1(プール)	0.5	<0.125	4	>8	2	<0.03	0	1
	059	55867	F1(プール)	0.5	<0.125	4	2	2	<0.03	0	1
	064	55298	F2(プール)	0.5	<0.125	>64	>8	2	<0.03	0	1
	085	55302	F8(プール)	0.5	<0.125	>64	>8	2	<0.03	0	1
	090	55304	F8(プール)	0.25	<0.125	64	>8	2	<0.03	0	1
	098	55871	F8(プール)	0.5	<0.125	8	1	2	<0.03	9	17
	102	55307	F8(プール)	0.5	<0.125	8	0.5	2	<0.03	9	17
	147	55319	W16(プール)	0.25	<0.125	4	0.06	2	<0.03	9	17
	148	55874	W16(プール)	0.5	<0.125	16	2	2	<0.03	9	17
2007年2月	W27	55384	Fil1	0.5	<0.125	>64	>8	2	<0.03	0	1
	W28	55385	Fil2	0.5	<0.125	0.125	0.03	0.06	<0.03	0	2
	W29	55386	おきちゃんプール	0.25	<0.125	>64	>8	>32	<0.03	0	1
	W30	55387	南	0.25	>64	>64	>8	>32	<0.03	9	17
	W31	55388	スタジオ1	0.25	<0.125	>64	>8	16	>16	0	1
	W33	55390	U(飼育関係者)	0.25	<0.125	>64	>8	8	<0.03	10	17
	W35	55392	S(飼育関係者)	0.5	<0.125	2	0.125	0.5	<0.03	0	12
	W38	55395	T(飼育関係者)	0.5	<0.125	0.5	0.03	2	<0.03	0	9
センター保存株	A01	4953	千葉県 喀痰	0.25	<0.125	0.25	0.03	<0.06	<0.03	0	7
	A02	5633	千葉県 口腔粘膜	0.25	<0.125	0.25	0.03	0.06	<0.03	18	19
	A03	5713	千葉県 喀痰	0.25	<0.125	0.125	0.03	<0.06	<0.03	8	5
	A04	5801	USA 爪 ATCC 24433	0.25	0.125	0.5	0.06	0.06	<0.03	0	3
	A05	40009	千葉県 喀痰 7N	0.25	<0.125	0.25	0.015	<0.06	<0.03	8	16
	A06	40213	USA血液ATCC90028	0.5	0.25	0.25	0.03	0.06	<0.03	0	3
	A07	40214	USA血液ATCC90029	0.25	<0.125	0.25	0.03	0.06	<0.03	ND	ND
	A08	41419	千葉県 喀痰 IFM 5863	0.25	<0.125	0.25	0.03	0.06	<0.03	0	8
	A09	47268	千葉県 咽頭	0.5	<0.125	0.25	0.03	0.06	<0.03	ND	ND
	A10	49693	関東地方 咽頭粘膜	0.5	<0.125	64	2	2	<0.03	13	20
	A11	49694	関東地方 咽頭粘膜	0.25	<0.125	>64	>8	4	<0.03	10	13
	A12	49715	関東地方 咽頭粘膜	0.5	<0.125	16	2	0.25	<0.03	11	14
	A13	49764	広島県 咽頭拭い液	0.5	<0.125	0.25	0.03	0.06	<0.03	0	8
	A14	49765	広島県 咽頭拭い液	0.5	>64	8	0.06	0.06	<0.03	0	4
	A15	49767	広島県 舌苔	0.5	<0.125	1	0.06	0.25	<0.03	0	10
	A16	51852	Thailand 喀痰	0.5	<0.125	0.125	0.015	0.06	<0.03	11	22
	A17	51862	Thailand 喀痰	0.5	0.5	0.25	0.03	0.06	<0.03	10	13
	A18	51895	Thailand 喀痰	0.5	<0.125	0.125	0.03	0.06	<0.03	5	18
	A19	51952	広島県 血液	1	>64	>64	>8	8	<0.03	0	10
	A20	51964	広島県 血液	0.5	<0.125	>64	>8	16	<0.03	8	11
	A21	51988	広島県2001-02-710	0.5	<0.125	>64	>8	4	<0.03	ND	ND
	A22	51994	広島県2002-6-2439	0.5	<0.125	>64	>8	4	<0.03	7	21
	A24	54349	北海道 喀痰	0.5	<0.125	0.25	0.03	0.06	<0.03	4	6
	A25	54381	千葉県 喀痰	0.5	<0.125	0.125	0.03	0.125	<0.03	ND	ND
	A26	54588	台湾-1	0.5	<0.125	16	2	0.5	<0.03	ND	ND
	A27	54604	台湾-18	0.5	1	1	0.125	0.25	<0.03	10	13
	A28	54985	Brazil, Londerina1-9	0.5	1	32	>8	4	<0.03	9	15
	A29	55046	千葉県 小児科	0.5	<0.125	0.125	0.03	0.06	<0.03	ND	ND
	A30	55496	千葉県 イヌ尿	0.5	<0.125	0.125	0.03	0.06	<0.03	ND	ND

耐性 容量依存性耐性

ND: not done

表4. イルカの呼気より分離された *C.tropicalis* の薬剤感受性とMDR1遺伝子型

調査時期	実験番号	IFM番号	由来	AMPH-B	5-FC	FLGZ	ITZ	MCZ	MCFG	二重増基数	MDR1type
2006年8月	001	55217	ゴン	0.25	<0.125	>64	>8	0.5	<0.03	8	12
	002	55218	ゴン	0.5	<0.125	32	4	2	<0.03	8	12
	004	55220	スカイ	0.25	<0.125	2	0.125	1	<0.03	8	12
	007	55222	スカイ	0.5	<0.125	32	4	1	<0.03	8	12
	014	55229	カナ	0.25	<0.125	32	8	2	<0.03	27	1
	015	55230	カナ	1	<0.125	0.25	0.06	0.25	<0.03	27	1
	018	55233	オキゴン4	0.25	<0.125	64	4	0.5	<0.03	8	12
	019	55234	オキゴン4	0.5	<0.125	0.5	0.25	0.5	<0.03	8	12
	020	55235	オキゴン4	0.5	<0.125	>64	2	1	<0.03	6	16
	027	55269	チャオ	0.25	<0.125	>64	>8	0.5	0.06	27	1
	028	55270	チャオ	0.5	<0.125	0.5	0.06	<0.06	<0.03	27	1
	038	55277	オキゴン3	0.25	<0.125	64	>8	0.5	<0.03	0	5
	040	55279	オキゴン3	0.25	<0.125	64	8	2	<0.03	0	5
2007年2月	W16	55373	スカイ	0.5	<0.125	64	4	0.5	<0.03	16	4
	W22	55379	チャオ大	0.5	<0.125	0.25	0.06	0.25	<0.03	8	12
	W23	55380	チャオ小	0.25	<0.125	0.5	0.06	0.125	<0.03	0	5
	W26	55383	オキゴン3	0.25	<0.125	64	2	2	<0.03	25	3
2006年8月	056	55294	飼育プールF1	0.5	<0.125	4	0.25	1	<0.03	7	15
	058	55866	飼育プールF1	0.5	<0.125	64	2	1	<0.03	7	15
	062	55297	飼育プールF2	0.5	<0.125	16	1	1	<0.03	8	12
	063	55868	飼育プールF2	0.5	<0.125	0.5	0.06	0.5	<0.03	8	12
	073	55299	飼育プールF3	0.5	<0.125	1	0.25	1	<0.03	8	12
	081	55301	飼育プールF5	0.5	<0.125	0.25	0.06	0.25	<0.03	27	1
	082	55870	飼育プールF5	0.5	<0.125	0.25	0.06	0.25	<0.03	26	2
	087	55303	飼育プールF6	0.5	<0.125	0.25	0.06	0.25	0.03	27	1
	143	55318	飼育プールW8	0.5	<0.125	0.5	0.06	0.25	<0.03	26	2
センター保存株	T01	5446	欧州 肺疾患	1	<0.125	2	0.25	2	<0.03	0	6
	T02	5746	82	1	<0.125	2	0.25	0.5	<0.03	0	9
	T03	5754	新潟県 血液	0.5	<0.125	>64	8	2	<0.03	9	13
	T04	41420	千葉県 79-5847	0.5	<0.125	>64	8	0.5	<0.03	8	12
	T05	46820	USA IFO 0587	0.5	<0.125	1	0.125	0.25	<0.03	0	9
	T08	52008	広島県 ID 2453561	0.5	<0.125	>64	>8	16	<0.03	8	12
	T09	52010	広島県 ID 2765693	0.5	<0.125	>64	>8	8	<0.03	0	7
	T10	52012	広島県 ID 2741745	0.5	<0.125	>64	>8	>32	<0.03	6	17
	T11	52013	広島県 ID 2901334	0.5	<0.125	2	0.25	0.25	<0.03	9	14
	T13	52938	千葉県 ネコ 尿	0.5	<0.125	1	0.06	0.5	<0.03	11	18
	T14	53032	Czech CA 9	0.5	>64	>64	>8	1	<0.03	0	5
	T15	53819	Italy 耳	0.5	<0.125	0.5	0.25	0.25	<0.03	0	9
	T16	53910	兵庫県 血液	0.5	<0.125	0.5	0.03	0.125	<0.03	0	7
	T17	53912	岐阜県 精子 体液	0.5	0.25	32	0.125	0.125	<0.03	0	7
	T18	54637	岡山県 咽頭膿瘍	0.5	<0.125	0.5	0.125	0.125	<0.03	9	14
	T19	54674	広島県 咽頭拭い液	0.5	0.125	2	0.125	0.5	<0.03	0	7
	T20	54675	広島県 咽頭拭い液	0.5	<0.125	1	0.125	0.25	<0.03	9	14
	T21	55010	Brazil, Londrina 爪	0.5	<0.125	2	0.125	0.5	<0.03	0	11
	T22	55048	千葉県 眼科	0.5	<0.125	64	4	0.5	<0.03	4	8
	T23	55049	千葉県 血液	0.5	<0.125	0.5	0.25	0.5	0.03	9	13
	T24	55256	神奈川県 血液、眼	0.5	<0.125	>64	2	2	<0.03	8	12
	T25	55626	椰子大箆象虫 内臓	0.5	<0.125	0.5	0.125	0.125	<0.03	5	10
	T26	55627	椰子大箆象虫 顎	0.5	<0.125	0.5	0.25	0.5	<0.03	5	10
	T27	55628	椰子大箆象虫に喰われたフェニックス	0.25	<0.125	0.5	0.25	0.5	<0.03	5	10
	T28	55632	椰子大箆象虫 内臓	0.5	<0.125	0.5	0.25	0.25	<0.03	5	10
	T29	55861	椰子大箆象虫 雄の口吻	0.5	<0.125	0.5	0.125	0.5	<0.03	5	10
	T30	55865	椰子大箆象虫 飼育に用いた水苔	0.5	0.125	0.5	0.125	0.5	<0.03	5	10

耐性

容量依存性耐性



b



d



a



c



b



c



a



a

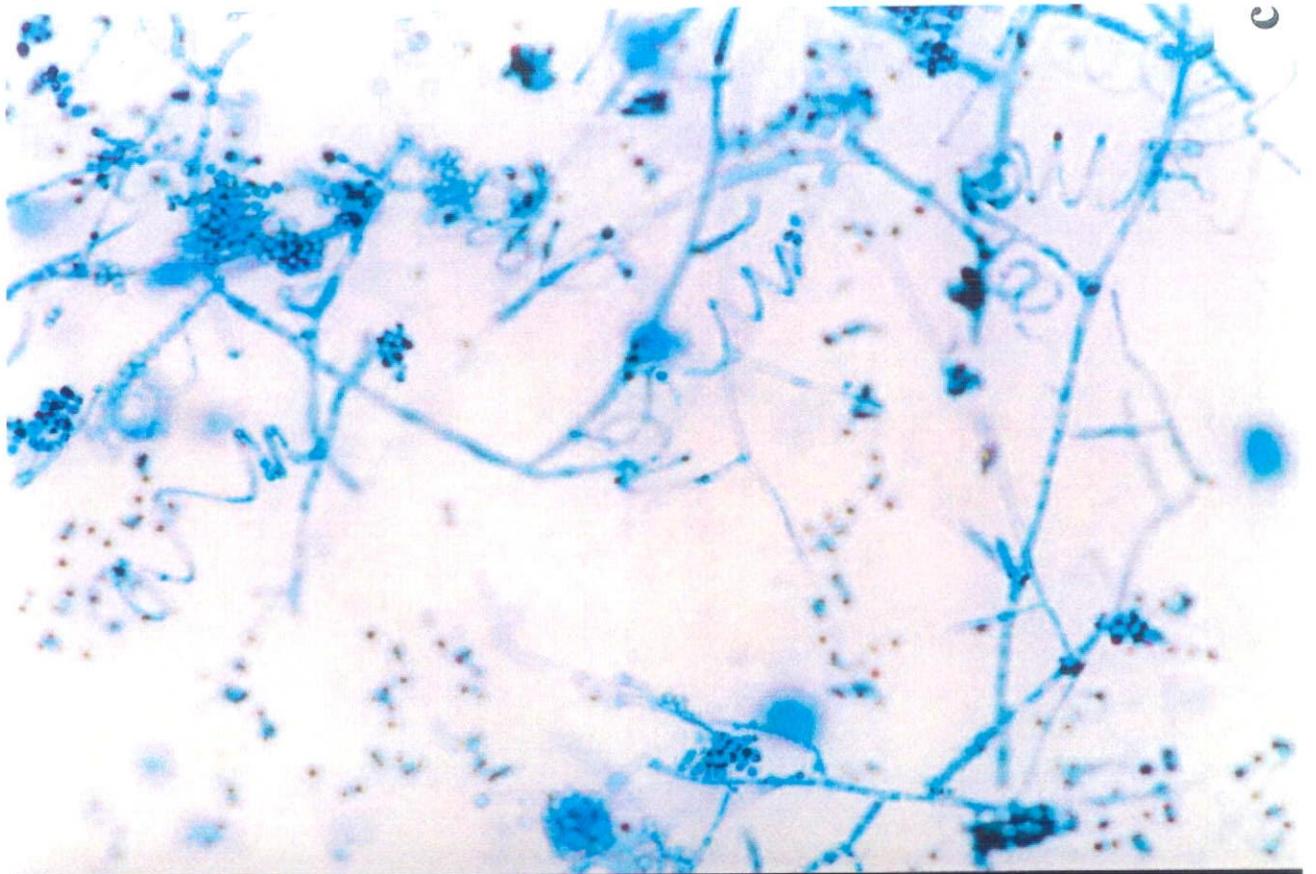
ネコ由来株

ヒト由来株

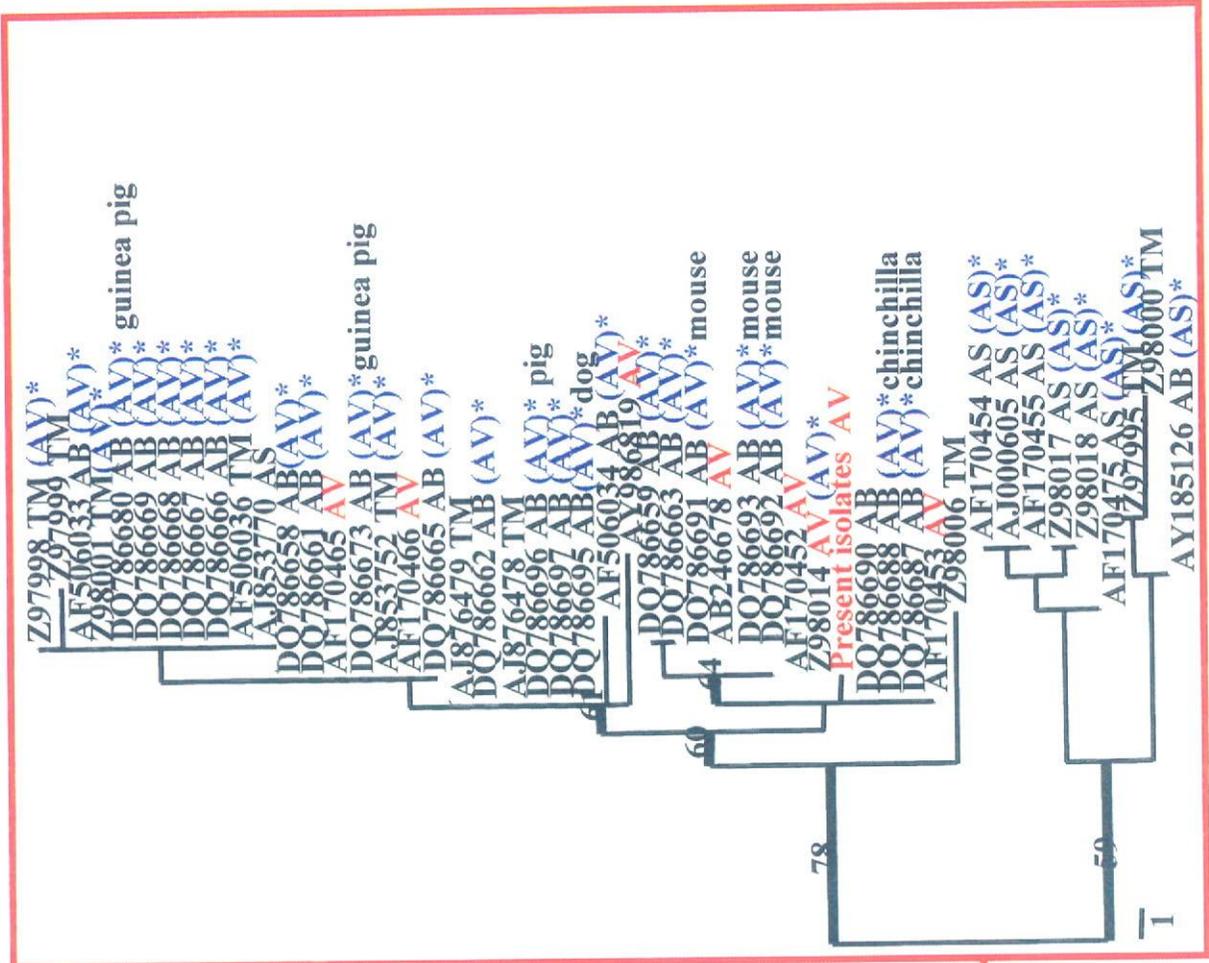
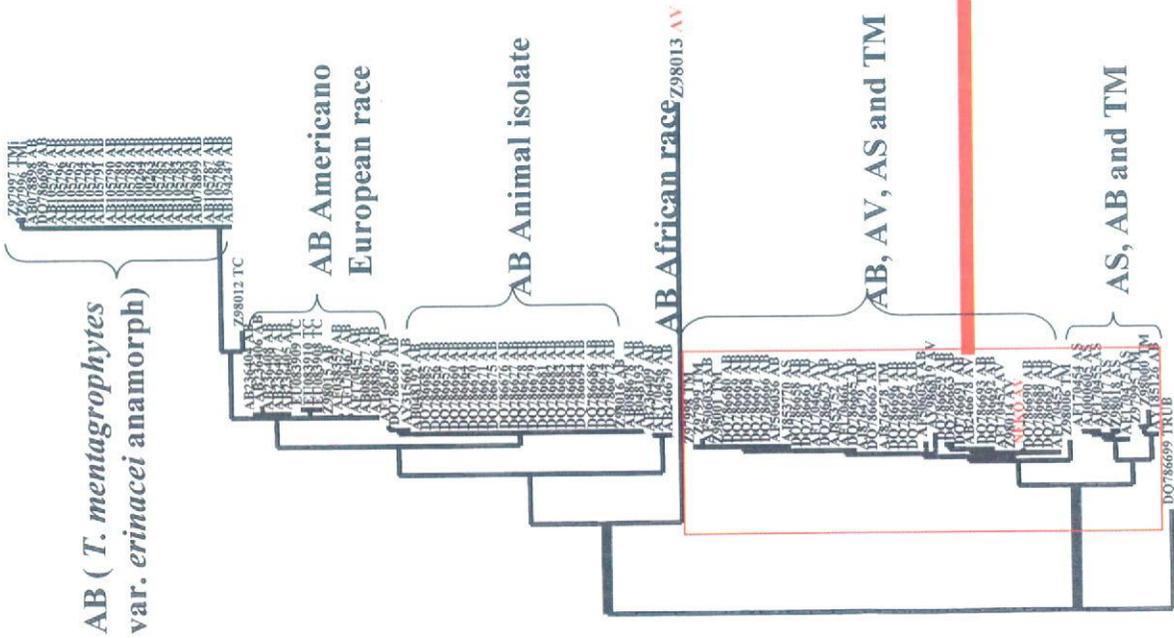
b

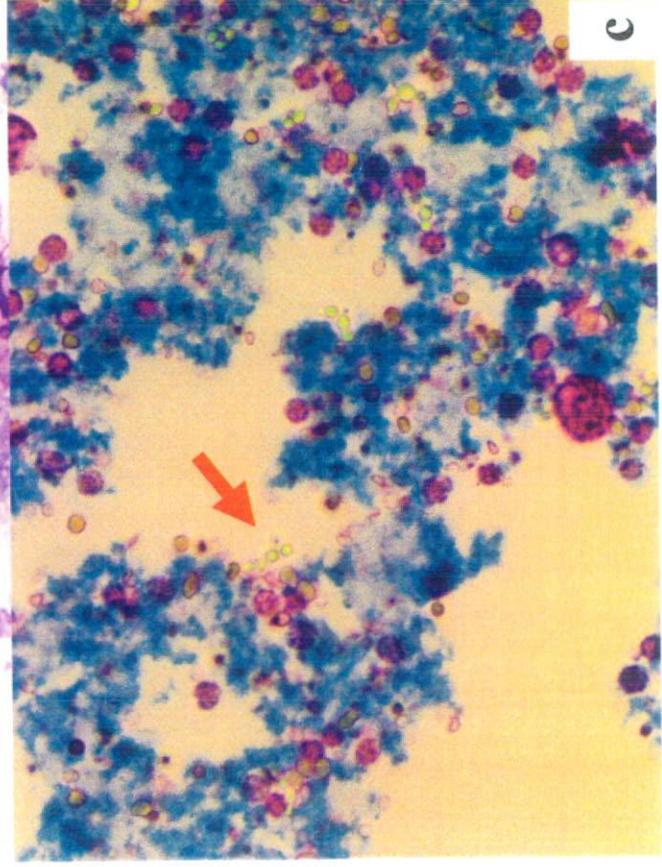
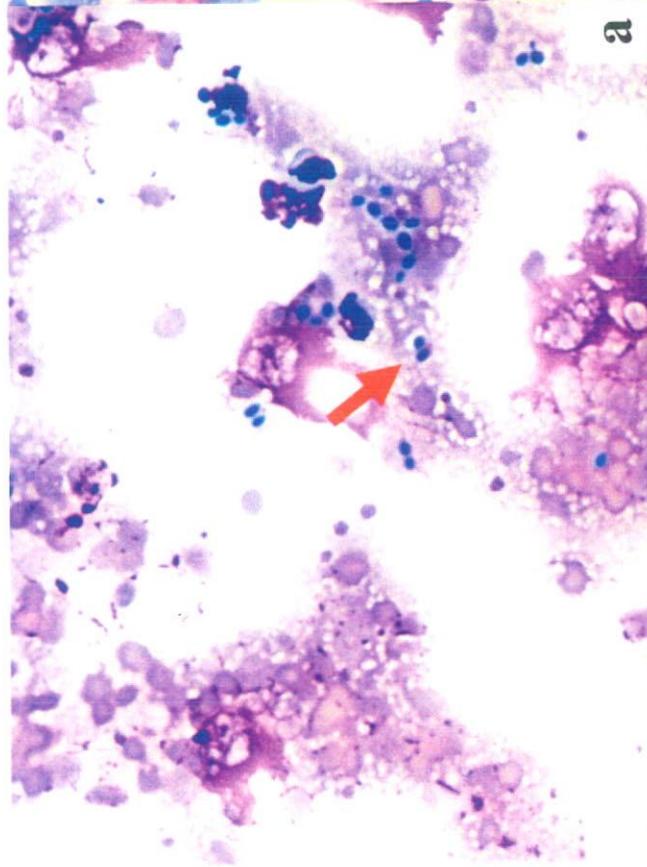
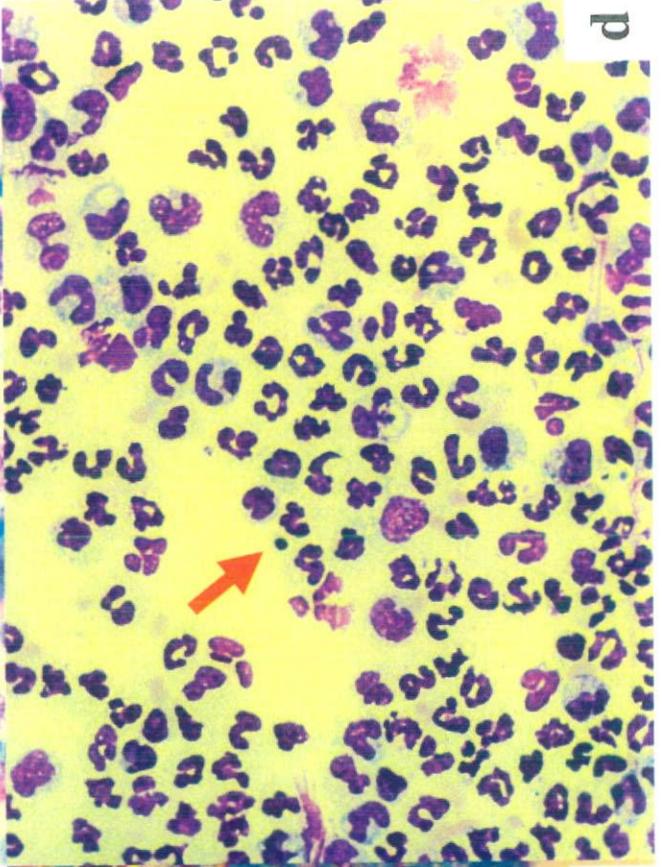
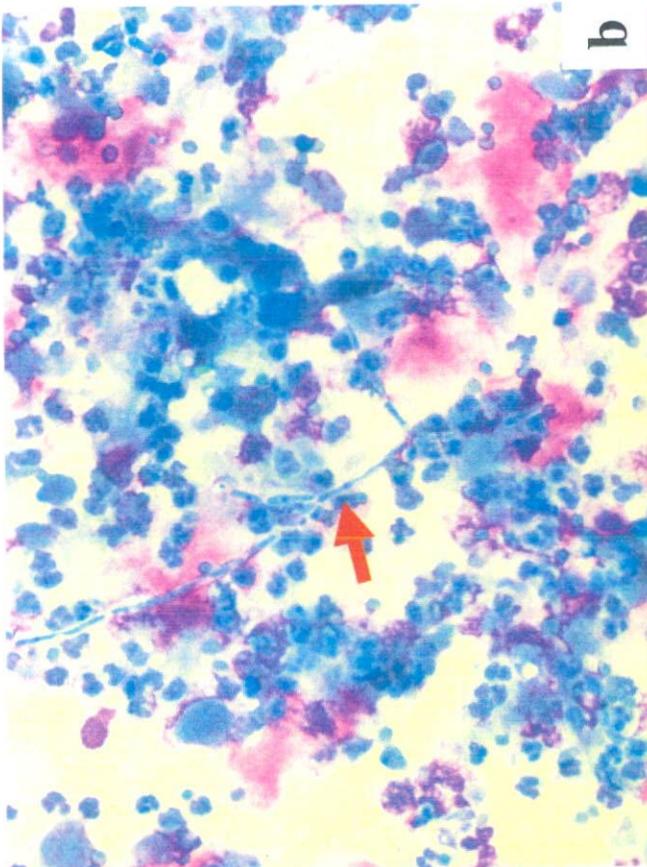
PDA, 25°C、3週間

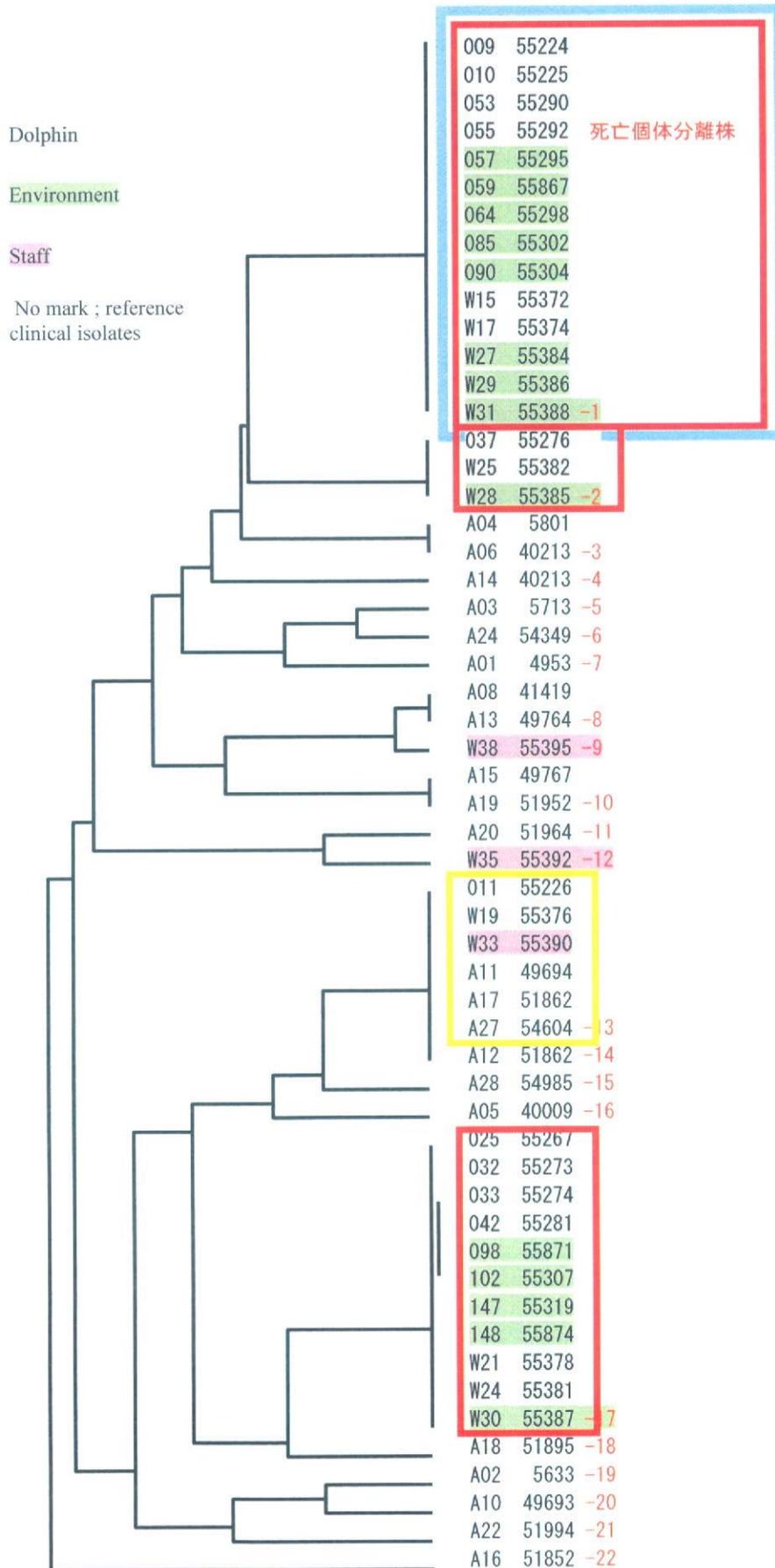
SDA, 25°C、3週間

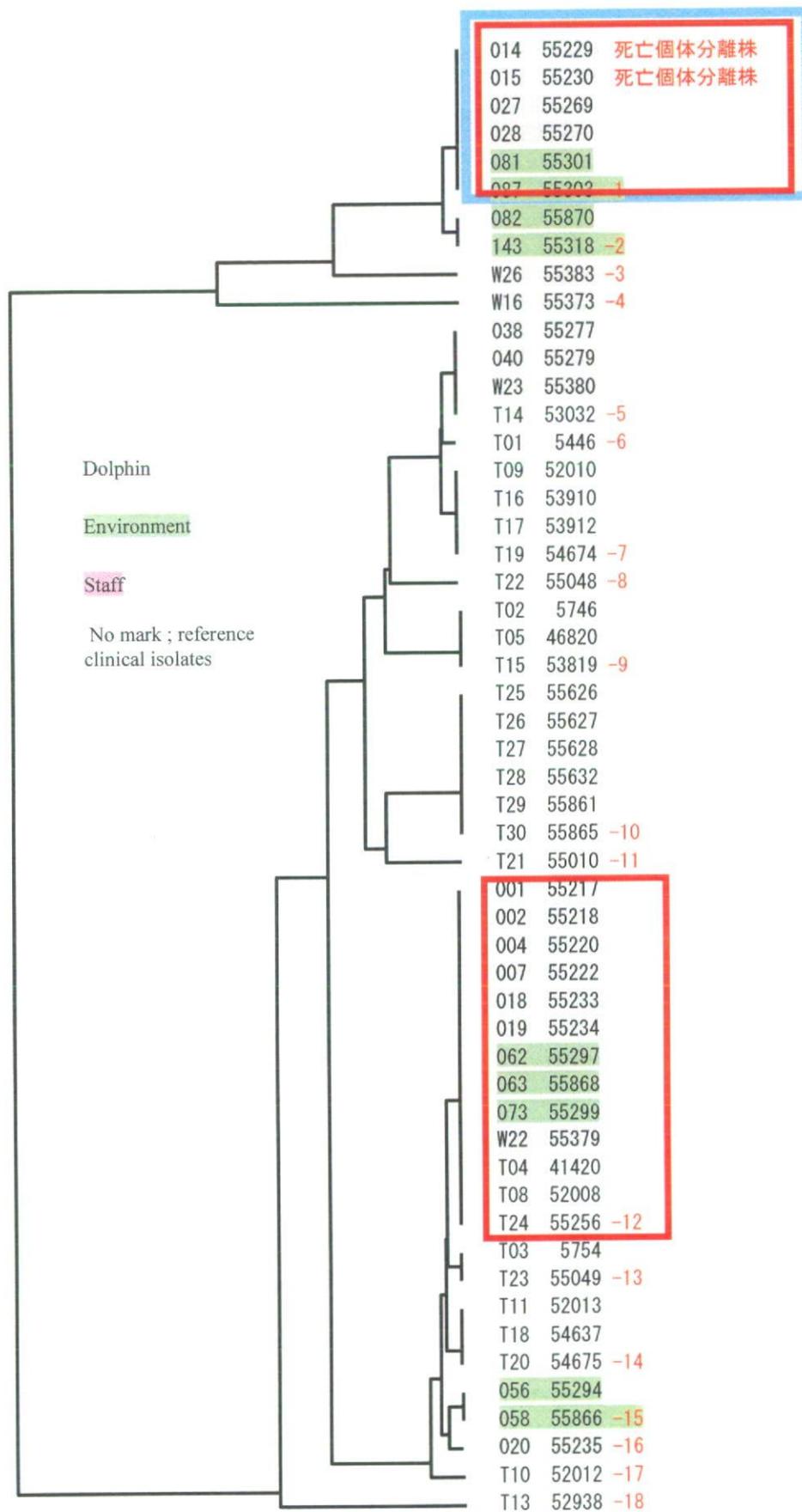


c









平成 19 年度厚生労働科学研究補助金（新興・再興感染症研究事業）分担研究報告書

動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究（主任研究者 吉川泰弘）

1.3. 伴侶動物由来バルトネラ症に関する研究

分担研究者 丸山総一 日本大学生物資源科学部 教授

研究要旨

1988 年～1991 年に埼玉県で採材した猫 150 頭（旧サンプル）、2004 年～2006 年に東京都および埼玉県で採材した猫 227 頭（新サンプル）の血清について、*Bartonella henselae* (B. h)、*Toxoplasma gondii* (T. g)、FIV、FeLV ならびにフィラリア (FHW) の感染状況を比較検討した。B. h.抗体陽性率は旧サンプルが 23.3% (35 / 150) と、新サンプルの 9.7% (22 / 227) に比べ、有意に高い値を示した ($P < 0.01$)。T. g 抗体陽性率は旧サンプルが 21.3% (32 / 150) と、新サンプルの 1.8% (4 / 227) に比べ有意に高い値となった ($P < 0.01$)。FIV 抗体陽性率は旧サンプルが 12.7% (19 / 150) と、新サンプルの 7.0% (16 / 227) に比べやや高い値を示した。また、FeLV 抗原陽性率は、旧サンプルが 2.0% (3 / 150)、新サンプルが 3.1% (7 / 227) であった。FHW 抗体は旧サンプルの 2.0% (3 / 150) が陽性を示したのみで、新サンプルは全て陰性であった。

A. 研究目的

近年、さまざまなペットが多くのご家庭で飼育されるようになった。特に、犬や猫はコンパニオンアニマルとして家族同様に扱われるようになり、人と接する距離も過去に比べてより近くなってきた。その一方で、猫は猫ひっかき病やトキソプラズマ症など各種の人獣共通感染症の感染源となる場合があるため、猫におけるこれらの疾病の感染状況を把握しておくことは疫学上極めて重要であると考えられる。

近年、猫の飼育形態の変化あるいは環境衛生の向上に伴い、猫間の接触、咬傷、あるいはノミ、ダニ、蚊などのベクターによる各種疾病に感染する機会が減少傾向にあることが予測されるものの、その実態は明らかではない。そこで、本研究では関東地域の異なる年代における猫のバルトネラ、トキソプラズマ、FIV、FeLV ならびにフィラリアの感染状況について血清学的に調査・検討した。

B. 研究方法

1. 検体

1988 年から 1991 年に埼玉県の動物保護センターの猫 150 頭（旧サンプル）、2004 年から 2006 年に東京都および埼玉県の動物病院の猫 227 頭（新サンプル）からそれぞれ血清を採取した。

2. 各病原体感染状況の測定方法

血清は全て 56°C、30 分間非働化した後、実験に供試した。

バルトネラの抗体は *B. henselae* (B. h ATCC49882) を抗原とした間接蛍光抗体法 (IFA 法) で測定した。*Toxoplasma gondii* (T. g) 抗体測定には、市販のラテックス凝集反応キット (トキソチェック-TM “栄研”) を用いた。FIV 抗体、FeLV 抗原、フィラリア (FHW) 抗体は、それぞれ市販の酵素免疫抗体法のキット (ウイットネス FHW, ウイットネス FeLV/FIV) で測定した。

C. 研究結果および考察

B. h 抗体陽性率は旧サンプルが 23.3% (35 / 150) と、新サンプルの 9.7% (22 / 227) に比べ、有意に高い値を示した ($P < 0.01$)。とくに、新サンプルではノミ寄生のあった猫の B. h 陽性率は 38.5% (5 / 13) と、ノミ寄生のない猫の 7.6% (14 / 184) に比べ有意に高い値であったことから ($P < 0.01$)、B. h の猫間の伝播における猫ノミの関与とその予防の重要性が確認された (表 1, 表 2)。

T. g 抗体陽性率は、旧サンプルが 21.3% (32 / 150) と新サンプルの 1.8% (4 / 227) に比べ有意に高い値となった ($P < 0.01$)。とくに、3 歳齢以上の猫の陽性率は旧サンプルが 35.4% (17 / 48) と、新サンプルの 2.5% (3 / 121) に比べ有意に高い値となった ($P < 0.01$)。これより、20 年前には環境中の T. g の汚染率が高く、猫は加齢とともに T. g に感染する機会が高まっているものと推測された (表 1, 表 3)。

FIV 抗体陽性率は旧サンプルが 12.7% (19 / 150) と、新サンプルの 7.0% (16 / 227) に比べやや高い値を示した。新サンプルの FIV 陽性率は、室外飼育個体では 21.2% (7 / 33) と、室内飼育個体の 3.4% (5 / 146) に比べ有意に高い値を示した ($P < 0.05$)。これより、屋外では FIV 罹患猫とのケンカなどの咬傷により感染する機会が多いと考えられた (表 1, 表 4)。

FeLV 抗原陽性率は、旧サンプルが 2.0% (3 / 150)、新サンプルが 3.1% (7 / 227) で、ほぼ同様の値であった (表 1)。

FHW 抗体陽性率は旧サンプルの 2.0% (3 / 150) が陽性を示したのみで、新サンプルは全て陰性であった (表 1)。

今回 FeLV を除く全ての猫の感染症で、旧サンプルは新サンプルに比べ高い陽性率を示し、特に B. h 抗体、T. g 抗体陽性率には有意な差が認められた。また、主に他の猫の咬傷により感染する FIV 陽性率も旧サンプルで高かったことから、20 年前の猫では室外飼育も一般的で、他の猫との接触が多かったことが推測される。一方、FHW 陽性率は新サンプルでは 0%、旧サンプルでもわずか 2.0% にすぎなかった。現在は犬のフィラリア予防が普及し、また犬も小型室内犬が多くなったことからフィラリアに感染した犬から蚊によって媒介される猫のフィラリア症も減少していると考えられる。

D. 結論

B. henselae 抗体陽性率と *T. gondii* 抗体陽性率とともに、新サンプルに比べ、旧サンプルで有意に高い値を示した。*B. henselae* は咬傷などで伝播し、*T. gondii* は室外での感染猫の糞便中に排泄されたオーシストや、ネズミの筋肉内のシストの経口摂取により感染するため、近年の猫の室内飼育への飼育形態の変化、あるいは、近年の環境衛生の向上に伴い、感染機会が減少したことが示唆された。特に、新サンプルにおける *B. henselae* 抗体陽性率は、ノミ寄生陽性の個体で有意に高い値を示したことから、*B. henselae* の猫間の伝播における猫ノミの関与とその予防の重要性が確認された。

また、新サンプルの飼育形態別にみた FIV 抗体陽性率が室外飼育個体で有意に高い値を示したことから、屋外では FIV 罹患猫とのケンカなどの咬傷により感染する機会が多いと考えられた。

FHW 抗体陽性率が旧サンプルで 2.0%、新サンプルでは 0% であったことから、近年のフィラリア予防の普及や、小型室内犬の増加傾向に伴い、フィラリアに感染犬の血液を吸血した蚊による、猫への伝播の機会が減少したことが推測された。また、下水の整備等により、蚊の発生が減少するなど環境衛生の向上が背景にあることも考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 壁谷英則, 藤田雅弘, 森田幸雄, 横山栄二, 依田清江, 山内 昭, 村田浩一, 丸山総一: ペットのグリーンイグアナにおける *Salmonella*, *Pasteurella* および *Staphylococcus* の保菌状況. 日獣会誌 61 : 70-74, 2008.

2. 学会発表

- 1) 井上 快, 丸山総一, 壁谷英則, 瀧川裕一郎, 谷原 光, 泉 泰仁, 萩谷佳子, 宇根有美, 吉川泰弘 (2007. 4.): 輸入齧歯類における *Bartonella* 属菌の保有状況. 第143回 日本獣医学会 (つくば)

- 2) 萩谷佳子, 丸山総一, 壁谷英則, 井上 快, 泉 泰仁, 宇根有美, 吉川泰弘 (2007. 4) : 輸入肉類ス科動物における*Bartonella washoensis*ゲノムと宿主の関連性. 第143回 日本獣医学会 (つくば)
- 3) 井上 快, 丸山総一, 壁谷英則, 瀧川裕一郎, 谷原 光, 泉 泰仁, 萩谷佳子, 宇根有美, 吉川泰弘 (2007. 5) : 輸入齧歯類およびわが国の野生齧歯類由来*Bartonella*属菌の比較系統解析, 第15回 ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー(白神, 青森) .
- 4) 丸山総一 (2007.5) : 人獣共通感染症としての細菌性赤痢—人と動物が共存する時代—, 日本化学療法学会, 志賀潔記念・公開シンポジウム (仙台)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表 1. 猫における各種病原体の感染状況

検査項目	陽性数 (%)	
	旧検体 (n=150)	新検体 (n=227)
<i>Bartonella henselae</i>	35 (23.3)*	22 (9.7)*
<i>Toxoplasma gondii</i>	32 (21.3)*	4 (1.8)*
FIV	19 (12.7)	16 (7.0)
FeLV	3 (2.0)	7 (3.1)
フィラリア	3 (2.0)	0

* $P < 0.01$

表 2. 新サンプルの猫のノミ寄生と *B. henselae* 抗体保有状況

寄生	検体数	陽性数 (%)
寄生あり	13	5 (38.5) *
寄生なし	184	14 (7.6)
不明	30	3 (10.0)

* $P < 0.01$

表 3. 猫の年齢別にみた *T. gondii* 抗体保有状況

年齢	旧サンプル		新サンプル	
	検体数	陽性数(%)	検体数	陽性数(%)
1歳未満	NA		34	0
1-2歳未満	52	4 (7.7)	29	0
2-3歳未満	50	11 (22.0)	17	1 (5.9)
3歳以上	48	17 (35.4) *	121	3 (2.5) *
年齢不明	NA		26	0

NA(Not applicable) : 該当なし

* $P < 0.01$

表 5. 新サンプルの猫の飼育環境別にみた FIV 抗体保有状況

飼育環境	検体数	陽性数 (%)
室内飼育	146	5 (3.4) * **
室外飼育	33	7 (21.2) *
室内および室外	31	4 (12.9) **
不明	16	0 (0)

* $P < 0.01$

** $P < 0.05$

「動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究」
分担研究報告書

分担課題：14. 輸入蠕虫症の監視機構整備

分担研究者 太田伸生 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・国際環境寄生虫病学分野
研究協力者 赤尾信明（同上）・有菌直樹（京都府立医科大学）

研究要旨

動物由来および輸入蠕虫症の国内発生を監視して適切な医療対応をとるための制度構築を目指した。動物由来の蠕虫感染による幼虫移行症の国内発生動向に関する正確なデータが得られないため、疫学調査の実施に加えて、その診断のレファレンス機能の強化をめざした。今年度はイヌ回虫症疑い23例の抗体検査の結果、8例が陽性であった（擬陽性を含む）。イヌ回虫症の診断キットを国内の3機関に無償で配布し、診断機能を強化した。イヌ回虫症のうちで、臨床的に問題となる眼トキソカラ症の免疫診断法をヒト眼内液を用いて検討し、眼内液中の抗体の診断的な意義を明らかにした。平成19年度に栃木県保健環境センターに搬入された仔犬36頭の検査で67%が糞便中のイヌ回虫卵が陽性であった。国内に定着した代表的な輸入蠕虫症の病原体である広東住血線虫の東京都内の実態調査として、ドブネズミを捕獲して調査したが、今年度は広東住血線虫の陽性個体は検出されなかった。東アジア産の条虫の鑑別同定法の検討も実施し、DNA鑑別法を確立した。以上の検討を通じて国内の各種蠕虫症の発生動向を把握し、エビデンスに基づく医療対応強化を目指した情報整備を進めた。

A. 研究目的

わが国の疾病構造が大きく変化した中で、蠕虫感染症は症状が不定愁訴にとどまり、診断法も感度・特異性を必ずしも十分に満たす状況にはないことから、感染症の中でも実態把握がなされていない特殊な疾患カテゴリーである。その一方で、わが国社会の国際化や生活様式の変化に伴い、新興・再興蠕虫感染症が増加しつつあるとの状況証拠も上がりつつある。一部のケースでは、発症した場合の症状の重篤度から考えて、医学的な問題は大きいと言ってよい。行政の責任による発生動向把握の対象外にあるこれらの蠕虫症については情報が散逸し、エビデンスに基づくリスク予測や医療対応策定に大きな支障となっている。本分担課題において、わが国が抱える動物由来および輸入蠕虫感染症の問題解決のためのアプローチを図った。

発生動向の実態把握については能動的な情報取得が必要であり、そのためのデータベース的な情報整備と疫学調査が進められるべきである。また、実態把握の困難要因として動物由来蠕虫感染症の持つ医学的な特殊性がある。ヒトが好適宿主でない場合は、幼虫移行症を起こすことが多く、蠕虫の幼虫ステージに対する宿主反応を指標に診断することが必要であるが、そのための診断法の標準化は未整備である。さらにヒトから回収された蠕虫幼虫の同定も困難である場合があり、分子的分類同定の方法を確立することも望まれている。特に、アジア地域の近縁種を明確に鑑別する手技の確立は、疫学的追跡において不可欠である。

本研究では上記の課題解決に向けて臨床的・疫学的なエビデンスの収集を主たる目的として、国内の輸入または動物由来蠕虫感染症に向けた対応の構

築を進めることを目的とした。

B. 研究方法

1. 蠕虫感染症に関する疫学情報収集

国内で発症した蠕虫感染症のデータベースをファイルメーカー Pro Version 6 を用いて構築し、Web 上に公開した。Web 公開にはファイルメーカー Pro の CDML を用いてフォーマットファイルを作成し、Web 上からデータの入力、閲覧、検索、更新を可能にした。サーバは東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野内に設置し、アカウントとパスワードによって閲覧制限を行った。

臨床寄生虫学雑誌掲載論文データベースもファイルメーカー Pro を用いて構築した。掲載論文はすべて pdf ファイルを行い、全文検索可能な形式で公開した。

上述の研究と平行して、国内の医療機関よりイヌ回虫症の擬診例の免疫診断を受け入れ、今年度は23例の抗体検査（血清19検体、硝子体液4検体）を、本研究室で開発した ToxocaraCHEK の迅速診断にて実施した。なお、擬診例の内訳は、内蔵型トキソカラ症4例と眼トキソカラ症19例であった。

感染源に関する調査としては、仔犬のイヌ回虫感染実態把握のために、栃木県保健環境センターに搬入された雑種仔犬（2ヶ月齢）36頭の糞便検査をホルマリン・酢酸エーテル法で実施した。

都市部のネズミの広東住血線虫感染状況を調べるために、東京都内、渋谷センター街で捕獲したドブネズミ25頭のうち、体長10cm以上の10個体を解剖して感染の有無を調べた。

2. 眼トキソカラ症の眼内液抗体検査による診断法の標準化

過去13年間にトキソカラ症の検査依頼のあった51症例の眼内液（硝子体液39検体および前眼房水12検体）について検討した。年齢は3～72歳で、男性32名、女性15名、記載不明4名であ

った。イヌ回虫 (*Toxocara canis*) 雌成虫の子宮から虫卵を回収し、0.5%ホルマリン水中で2ヶ月以上発育させた幼虫包蔵卵から得た幼虫の分泌抗原 (TLES 抗原) を用いて、ToxocaraCHEK および plate ELISA 法によって IgG、IgG4、IgA、および IgE 特異抗体の測定をおこなった。検体は IgE 以外は 100 倍希釈、IgE 測定には 10 倍希釈で行なった。抗体価の評価は、硝子体液中の蛋白成分は通常血清中の 1%以下であるといわれていることや、イヌ回虫幼虫排泄物抗原とその抗体との反応は非常に特異的であることを考慮し、陽性対象血清が示す吸光度が 2%以上のものを抗体陽性域と判断した。

3. 人獣共通条虫症病原体の分子的同定

使用した裂頭条虫は、2000 年から 2007 年の間に日本人から得られた日本海裂頭条虫 (*Dn*) 成虫 16 検体、カムチャッカ半島のヒグマ (*Ursus arctos piscator*) から 1991 年に得られた *Diphyllobothrium klebanovskii* (*Dk*) 成虫 3 検体、極東ロシアの Udygeyci (Udege) 族住民から 1964 年に得られた *Dk* 成虫 4 検体、及びプレロセルコイド 4 検体 (カムチャッカ半島産サケ由来 1 検体、サハリン島沖で捕獲されたサケ由来 1 検体及び神通川産サクラマス由来 2 検体) の計 27 検体である。

DNA は QIAmp DNA Mini Kit を用いて抽出し、18S rDNA、internal transcribed spacer (ITS)1 領域、mtDNA *cox1*、*nd3* 遺伝子を標的として PCR 法を行った。PCR 産物から、直接塩基配列解析法で両鎖解析で得られた塩基配列を ClustalW 及び MEGA version 3.1 ソフトウェアで解析した。

倫理面への配慮

倫理面への配慮症例登録システムにおける個人情報保護は氏名、住所等の表示は行なわないこと、データ保存媒体

の保管を規則に准じて行なうこと等の注意を払っている。ヒト検体を用いた抗体検査は倫理審査の承認を得て実施した。

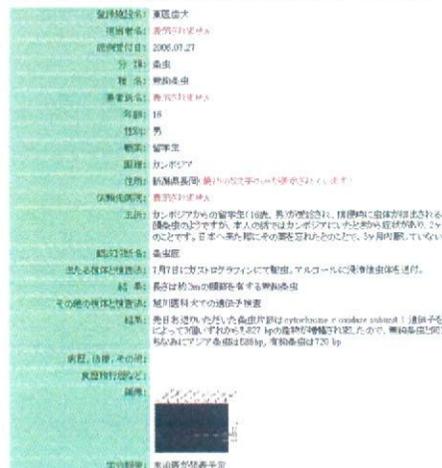
C. 研究結果と考察

1. 症例登録システムの運用

蠕虫症データベースのデータ入力は http://ascaris.tmd.ac.jp:591/ohta_entry.html からアクセスでき、個人情報保護の観点から個人名は表示されず、また住所についても最初の5文字のみが表示される仕様とした。

指定された症例の詳細なデータを表示します

登録されているデータの多くは匿名化された状態で閲覧し、個人情報等の観点から表示ができません。



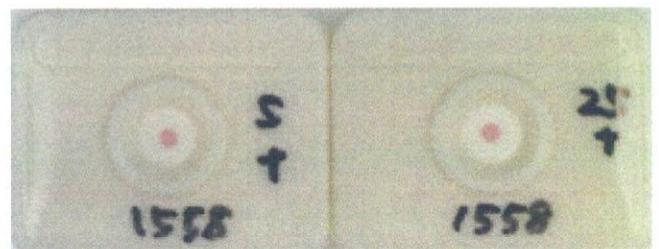
平成20年3月現在、62例の登録がある。そのうち、線虫感染27例、吸虫感染14例、条虫感染21例である。

一方、臨床寄生虫学雑誌は1990年の1巻1号から2007年18巻1号まで刊行されている。今回構築した臨床寄生虫学雑誌掲載論文データベースもファイルメーカーProのCDMLを用いて開発された環境によってWeb公開し、平成20年3月現在787件のデータが収録されている。本データベースはそれぞれの号の目次一覧(図7)、検索(図8)、およびその結果(図9)を表示することができ、かつそれぞれの論文についてはpdfファイルとしてダウンロードすることが可能となっている。

今後も継続して実態把握に努めることが重要であると考えている。今年度の発生事例の解析は未だ例数が少なく

動向を評価する段階にないが、情報蓄積を通じてリスク評価、予測等の応用価値が高まることと期待している。本事業は個人情報保護を第一にする必要があるが、情報は制限公開であるが、情報アクセスをどのように管理するかが今後の課題である。

国内の医療機関から寄せられたイヌ回虫症擬診例血清19症例のToxocaraCHEKによる抗体検査では、4例(21.1%)が陽性、1例(4.2%)が擬陽性と判定され、硝子体液検体4例中2例が陽性であった。臨床的に眼トキソカラ症が疑われた19検体では6例(32%)がTLESに対する抗体が陽性であった。臨床医の判断に基づく検査依頼であるが、健常日本人集団における陽性率5%未満と比較して高いことから、擬診例についてはイヌ回虫の病院的意義があると考えられた。現在、国内の3機関の眼科(東京医科歯科大学、愛媛大学、近畿大学)にToxocaraCHEKを無償で配布して、診断の簡易化を図っている。



図：硝子体液中のイヌ回虫幼虫排泄抗原に対する抗体陽性例。

2. 動物由来蠕虫症に関連する疫学調査

栃木県保健環境センターに搬入された仔犬36頭の糞便検査では、24頭(67%)がイヌ回虫卵陽性であった。イヌ回虫以外に、イヌ鉤虫卵、イヌ鞭虫卵、マンソン裂頭条虫卵、日本海裂頭条虫卵が検出された。わが国では仔犬のイヌ回虫感染率が依然として高いことが確認されたが、これが通常の飼育犬と比較してどう評価するかは、今後の情報蓄積が必要である。

今年度実施した広東住血線虫の調査

では、渋谷センター街で捕獲したドブネズミ10頭からは、同虫の寄生は認められなかった。調査地点が限られており、検査個体数も少なかったので結論を導くことが出来なかった。

3. 眼トキソカラ症の免疫診断法に関する研究

ヒト症例由来の眼内液51検体のイヌ回虫ES抗原に特異的な抗体測定をToxocaraCHEKおよびplate ELISA法によって行ない、眼内液を用いたトキソカラ症の診断的意義の検討をおこなった。その結果、IgG ELISAの結果に基づいたToxocaraCHEKの感度は88.9%、特異度は90.9%であった。

表：ToxocaraCHEKとIgG、IgG4-ELISAの結果の比較

		ToxocaraCHECK	
		陽性(%)	陰性(%)
IgG	陽性	17 (89.5)	2 (6.3)
	陰性	2 (10.5)	30 (93.8)
IgG4	陽性	17 (89.5)	2 (6.3)
	陰性	2 (10.5)	30 (93.8)

さらに、眼内液ではES抗原特異的なIgG陰性例でもIgAやIgE陽性例が観察され、眼トキソカラ症の診断を目的とした場合は、IgGのみでなく、IgAやIgE特異抗体の測定も併せて行なうべきであることが示唆された。

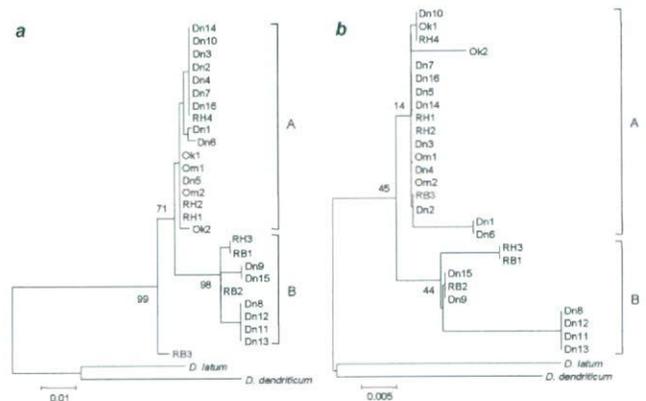
4. 条虫の分子同定研究

最初にDn1検体、カムチャッカ半島産ヒグマ由来のDk2検体について18S rDNA塩基配列を行った結果、DnとDkの塩基配列、2,171 bpは完全に一致した。次に、Dn9検体、カムチャッカ半島産ヒグマ由来のDk3検体、カムチャッカ半島産サケ由来プレロセルコイド1検体及びサハリン島沖産のサケ由来プレロセルコイド1検体、計14検体についてITS1領域の塩基配列(553 bp)を解析したところ、14検体中5検体(Dn3検体Dk2検体)に1塩基置換が

見られたのみであった。以上の結果から、DnとDkは同一種と見做された。なお、Dn(Dk)の18S rDNA及びITS1の塩基配列は*D. latum*(広節裂頭条虫)とは明瞭に異なっていた。

核DNAに比べて変異速度が速いミトコンドリアDNAのcox1領域の塩基配列解析を行った結果でも、*D. latum*とは遺伝子距離0.075 - 0.078で明瞭に区別されるとともに、Dn, Dk14検体は大きく2つの遺伝子型(A, B)に分類された。A, B両遺伝子型にはそれぞれDn, Dkの検体が含まれており、やはりDn, Dkは同一種であることが示された。

全27検体を用いてmtDNAのnd3遺伝子の塩基配列解析を行った結果でも、Dn, Dkは*D. latum*とは明瞭に区別されるとともに、A, Bの2遺伝子型に区別されることが明らかとなった。



日本海裂頭条虫の産地(感染源)を特定できるような遺伝子マーカーを見つけることが、疫学上、今後の重要な課題になると考えられる。今回cox1及びnd3で見られた2遺伝子系は、残念ながら感染源との関連は見出せなかった。今後、さらに調査地域やサンプル数を拡大していくことにより、有効な遺伝子マーカーが見いだされるものと考えられる。

D. 結論

ヒト蠕虫感染の発生動向を把握し、エビデンスに基づくリスク評価と医療対応を可能とするためのシステム整備