

の土着が認められている北海道内での発生であるが、北海道以外の都府県でも現在までに77例が報告されている。その中には北海道や海外有病地での感染が否定され、その居住地での感染が疑われる17症例が含まれている。とりわけ青森県は、最多の北海道外例および原発疑い例が確認されている（それぞれ22症例および9症例）。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た。そして、1999年に同県産の豚から多包虫症が発見されたことから、同県での多包虫の土着が疑われてきた。しかしながらそれ以後現在にいたるまでは、青森県に於いて、豚肝臓からの多包虫虫体または終宿主動物からの多包虫虫体が検出されたとの報告はない。そこで著者らは、多包虫が実際に青森県において土着しているのかどうかについて調査し、その監視体制と拡大防止対策のあり方を検討した。

調査は、多包虫の終宿主となる動物としてキツネおよびイヌを対象とした。キツネの検査材料は、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用いた。多包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可能性が考えられる。そこで猟友会員が飼育する猟犬についても糞便の採取を依頼した。キツネ及びイヌのいずれも、糞便内抗原および虫卵の検査を実施した。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、キツネについては同県内での捕獲・生息に関する状況、イヌに関しては飼育状況などのアンケート調査も併せて実施した。また、豚の肝多包虫症にターゲットを絞った食肉検査についての連絡体制を構築した。

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、猟犬由来の糞便が16支部110検体であった。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%）。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、駆虫薬の投与後の糞便内からは虫体を検出することが出来ず、また糞便そのものから特異的DNAの検出をPCRで試行したが、いずれも陽性であることを証明することはできなかった。また、青森県内の食肉衛生検査所が実施している豚の肝臓検査では、この期間を通じて陽性個体は検出されなかった。

以上のことから、現時点の青森県では、多包虫の生活環が存在しているという確たる証拠は得られなかった。今後も、イヌ、キツネなどの終宿主動物と、食肉衛生検査所における豚の肝臓検査により、侵入状況の監視を継続することが必要であると考えている。

3-2 北海道からフェリーを用いて他都府県へ移動するイヌの実態調査³⁾

これまで行われてきた北海道庁による調査によれば、道内で飼育されるイヌの多包虫保虫率は約1%であることが示されている。一方で、北海道から年間1万頭以上のイヌが他都府県へ移動しているとのデータがある。そこで、北海道外へ移動するイヌについての実態調査とその多包虫感染状況の調査を行った。調査は、2003年9月～2004年9月までの間、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実施し、図2に示すポスター、ホームページなどを作成して各方面に周知させた。

調査は先ず（一次調査）、フェリーを利用しイヌ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によって実施した。具体的には、乗船手続の際に窓口でイヌの同乗申請を行った旅行者へ調査票（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）を配布し回答を待った。その結果、同封したハガキによって163名の飼い主から回答があった。回答者の所在地内訳は、北海道居住者（以下、北海道群とする）が



図2

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。

次に、一次調査への回答者を対象に二次調査を行った。即ち、イヌの検査を希望する旨を回答した飼い主に対して、糞便採取容器とより詳細な質問票調査を送付し、返送されたイヌの糞便について、糞便内抗原ならびに虫卵の検査を実施した。糞便内抗原の検出には市販の検査キットを使い、虫卵の検出は遠心浮遊法によって行った。質問票調査により、イヌの個体情報（品種・性など）・移動の目的・北海道滞在時（北海道現住者では居住時）の飼育管理の方法などの情報を得た。二次調査対象者の現住地内訳は、北海道居住者29名、非北海道群110名であった。両群の飼い主がイヌを連れて移動した目的をみると、北海道群では「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。別荘など利用の長期滞在（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イヌ（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、非北海道群が平均1.3頭であった。各犬群の年齢中央値は北海道犬群が5歳、非北海道群が4歳であった。おもなイヌの品種は、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。

糞便内抗原陽性のイヌは、両群から各1頭発見された（陽性率：北海道群2.2%、非北海道群0.8%）。この抗原陽性が判明したイヌについては飼い主ならびにその担当獣医師に連絡をとり、すみやかに駆虫薬投与による治療を行い、いずれも再検査で糞便内抗原が陰転したことが確認された。

わが国のように有病地と清浄地が海で隔てられている条件下において、エキノコックスの伝播経路は、野生のキツネや野ネズミによるよりも、エキノコックス感染犬が人に伴われて移動する事によって起きる可能性が高いと考えられていた。今回の調査は、それを、初めて実証する結果となった。従って、北海道から移動するイヌの監視とその対策は、わが国におけるエキノコックスの流行地域拡大を防止する上で不可欠と考えられた。

3-3. 埼玉県で発見されたイヌの多包条虫感染例⁴⁾

2003年11月の感染症法改正により、エキノコックス症の届出はヒトへの感染源となるイヌの感染例についても義務づけられることになった。改正以後の届出状況を見ると、イヌでの感染届出は、北海道からの報告のみにとどまっていた。しかし、北海道からの移動犬調査から、流行地で飼育歴或いは滞在歴のあるイヌを介した伝播の可能性が強く示唆された。多包条虫の非流行地への伝播に果たすイヌの役割が重要と認識される中、2005年6月、埼玉県北部で捕獲された放浪犬1頭（雌、年齢不明）の糞便からテニア科条虫の虫卵が検出さ

れた。テニア科条虫卵は形態学的な種の鑑別は困難なことから、埼玉衛研からの依頼により感染研で、虫卵のDNAを抽出してその特定領域の塩基配列を解読したところ、多包条虫（北海道産）と配列が完全に一致したのである。本例は、北海道において感染したイヌが何らかの経緯で埼玉県に移動し、そこで発見された可能性が最も強いと考えられた。

4. おわりに

再び、人獣共通感染症としてのエキノコックス症を今度は獣医診療上の立場から見た場合、イヌのエキノコックス症は、「病気治療」の対象というよりも、ヒトのエキノコックス症を予防するための病原体対策に他ならないということも言える。従って、エキノコックス感染犬の届出制度は、獣医師に対して公衆衛生のための役割と義務を積極的に果たすことを求めているのである。

英国は2000年2月から、ペット旅行協定 (Pet Travel Scheme, PETS) を欧州大陸側の多包条虫流行国（ドイツ、フランス、スイスなど）との間に結び、英国に到着するペット（イヌ、ネコ）に、空港での到着受付24～48時間前に、駆虫剤（ブラジカンテル）投与を義務付けている。PETSが制定された背景として、各地の大都市部にまでキツネの生息域が拡大し、その結果ペットのエキノコックス感染率が上昇したことにより、人的・物的移動の増加による新規感染症侵入の危険性が高まったという認識がある。

わが国においても、エキノコックス症の流行地域拡大を阻止するためには、北海道から道外へ移動するイヌに対してPETS同様の駆虫剤投与を飼い主に対して義務付けることを、真剣に検討する

べき段階に来ていると思われる。その為には、駆虫剤投与の実務を担う獣医師の理解と行政上の整備が不可欠な前提となると考える⁵⁾。

参考文献

- 1) 北海道のエキノコックス、北海道立衛生研究所創立50周年記念誌編集委員会編、正文舎印刷株式会社、1-141, 1999
- 2) Morishima Y, Sugiyama H, Arakawa K, Ohno J, Waguri A, Abe K and Kawanaka M. :A coprologic survey on the potential definitive hosts of *Echinococcus multilocularis* in Aomori Prefecture, Japan. Jpn. J. Infect. Dis., 58 (5) , 327-328, 2005
- 3) Morishima, Y., Sugiyama, H., Arakawa, K. and Kawanaka, M. :*Echinococcus multilocularis* in dogs, Japan. Emerging Infectious Diseases. 12: 1292-1294. 2006.
- 4) Yamamoto, N., Morishima, Y., Kon, M., Yamaguchi, M., Tanno, S., Koyama, M., Maeno, N., Azuma, H., Mizusawa, H., Kimura, H., Sugiyama, H., Arakawa, K. and Kawanaka, M. :The first reported case of an infected dog with *Echinococcus multilocularis* in Saitama Prefecture, Japan. Jpn. J. Infect Dis., 59: 351-352 2006
- 5) 平成16年度厚生労働科学研究補助金・新興再興感染症研究事業報告書 “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—”
http://www.forth.go.jp/mhlw/animal/download/4houki/b04_dog/b04_dog2004-1.pdf

<症例報告>

首都圏居住者にみられた多包虫症の1例

土井 陸雄^{1*} 川中 正憲²⁾ 森嶋 康之²⁾ 尾島 英知³⁾ 山崎 晋⁴⁾⁵⁾

要旨：1983年10月、首都圏在住の女性（35歳）が胆嚢がんの疑いで国立がんセンター病院に入院した。翌年2月開腹手術時、肝右葉に4個の腫瘤（直径 \leq 40mm）が発見され、周辺リンパ節とともに肝右葉を摘出した。病理組織検査により腫瘤はすべて多包虫嚢包と判明した。患者の夫は冷凍トラック運転手として約10年間、道東地域からの魚介類運送に従事し、患者の発病約1年前、北海道の路上で仔犬を拾って帰った。ほぼ同サイズの肝多包虫病巣が複数個存在した。患者が同時に多数の多包虫卵を摂取するのは感染犬の糞便を介する場合は他の偶発的虫卵摂取よりはるかに多いと考えられることなどから、感染源はこの仔犬である可能性が大きいと思われた。しかし、仔犬が多包虫に感染していた実証はなく、患者自身も2回北海道を旅行しているため、感染源を仔犬と特定することはできなかった。

索引用語：多包虫症 多包性エキノコックス症 首都圏 イヌ

はじめに

多包性エキノコックス症（多包虫症）は北海道全域で患者が発生している寄生虫病だが、時折、本州でも北海道からの本州移住者や海外の本症流行地からの帰還者に患者が発見される¹⁾。本症は、感染症新法（「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」、平成11年4月1日施行）で全数把握対象の四類感染症に分類され、全例が同法による感染症発生動向調査（サーベイランス）事業による届出対象になった²⁾。しかし、同法施行以前には届出義務もなく、肝がんや胆嚢がんの鑑別疾患としてCPCの検討対象になっても、担当医師に特別の関心がなければ、通常、学術雑誌等には発表されなかった。

本稿の症例は、1984年、国立がんセンター中央病院において、胆嚢がんとその肝転移の術前診断で手術を行ったが、病理組織診断で肝多包虫症と判明した首都圏居住者の一例である。当時、院内CPCで肝腫瘍の鑑別疾患として検討したが、学術雑誌への報告は行わな

かった。最近、偶然、多包虫症研究者（土井、川中、森嶋）の目にとまり、本症例が多包虫症の流行史上重要な位置を占めている可能性が考えられたため、本症研究者を加えて患者本人から生活歴等を再聴取し、本症に関する疫学的考察を加えて報告する。

症例

症例：女性、受診時35歳、主婦、群馬県居住。

病歴：1983年5月初、食後に上腹部痛を覚え、5月3日近医による上腹部X線検査で胆石を認め、5月10日頃腹部超音波検査を受けた。同年9月末から37.5℃以下の発熱が続き、再度の腹部超音波検査で肝右葉に複数の腫瘍性病変が認められ、転移性肝腫瘍の疑いで10月25日国立がんセンター病院を受診し、12月8日入院した。

既往・家族歴：33歳で虫垂炎手術以外に特別の罹患歴なく、家族にがん患者はいない。

現症：食欲良好、便通は便秘傾向、右季肋部圧痛（+）、直腸指診で子宮に圧痛（+）。

検査所見：入院時、バリウム造影および内視鏡検査で消化管に粗大病変なし。CT・血管造影では、肝右葉に計4個の独立した多発性肝腫瘍を認め、うち1個は胆嚢に接していた。診断として第一に胆嚢がんとしてからの同時性肝転移と考えたが、他臓器からの転移性肝腫瘍、肝膿瘍も否定できなかった。但し、臨床的には37.5℃以下の発熱と $11 \times 10^3/\mu\text{L}$ 以下の白血球増多が

1) 横浜市立大学名誉教授

2) 国立感染症研究所寄生物部

3) 国立がんセンター研究所病理部

4) 現・社会福祉法人善光会

5) 元・国立がんセンター中央病院肝臓腫瘍外科

*Corresponding author: doi-r@bj8.so-net.ne.jp

<受付日2008年3月25日><採択日2008年9月10日>

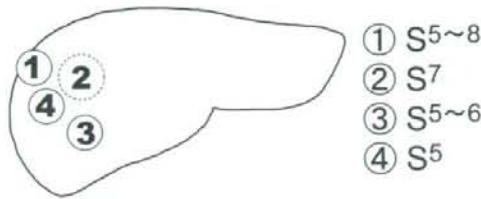


Fig. 1 Distribution of alveolar hydatid cysts of the right lobe.

みられる程度であった。10月25日の生化学検査値は、TP 8.2 g/dl, TTT 1.4 U, T-Bilirubin 0.3 mg/dl, T-chol 151 mg/dl, Glucose 90 mg/dl, Urea-N 13 mg/dl, Cl 102 mEq/l, Na 142 mEq/l, K 4.2 mEq/l, ALP 9.2 IU/l, GOT 18 IU/l, GPT 10 IU/l, LDH 267 IU/l, γ GTP 29 IU/l, LAP 80 U/l, Creatinine 1.1 mg/dl。腫瘍マーカーは AFP, CEA とともに正常範囲内であった。12月10日骨盤部 CT, 1月19日胃内視鏡検査で骨盤内および胃内壁に悪性腫瘍像は検出されなかった。1月21日骨盤部超音波検査で右卵巣に径 2 cm の嚢包と子宮頸部に 0.5×1 cm の嚢包を認めた。

鑑別診断：1) 他臓器からの転移性肝腫瘍, 2) 肝膿瘍。

手術：2月1日に開腹。腫瘍は肝表面に出ており、一見して悪性腫瘍を強く疑った。術中、超音波検査等の開腹後検索により胆嚢がんとその肝転移と判断した。総肝動脈 (No. 8) および傍大動脈 (No. 16) のリンパ節を生検しがん転移陰性だったので、拡大肝右葉切除術を施行した。

手術後経過：術後は嘔気・嘔吐のため経口食事摂取が14日後になった以外に著変なく、術後21日目に軽快退院した。なお、患者は2008年7月末現在、多包虫症の再発・転移、手術の後遺症もなく健康に日常生活を送っている。

病理組織学的検査：

肉眼的所見：摘出標本は横隔膜部分切除を伴う拡大肝右葉切除術および胆嚢切除術によって得られた検体であり、大きさは14×13×8 cm, ホルマリン固定後の重量は621 gであった。肝表面に4個の結節を認め、結節表面は球状で灰白色を呈していた。Fig. 1に正面像での結節の位置を示した。結節は、頭側より①29×26 mm (S7), ②34×33 mm (S5), ③40×35 mm (S6), ④39×32 mm (S5) の大きさで不整球状を呈し、辺縁は境界比較的明瞭だが、④では一部不明瞭になっていた。検

体をCT断になるようにスライスしたところ、結節は厚さ5 mm程度の被膜を持ち、内部は灰白色で、一部は液状となり融解および凝固壊死の状態であった (Fig. 2)。

胆嚢は、肝床部を中心とした軽度の壁肥厚と内部に6×4×2 mm 大の褐色調のコレステロール・胆汁混合結石を1個認める以外に特異的所見を認めなかった。

組織学的所見：胆嚢床から (胆嚢壁の一部を含めて) 肝実質にかけて厚い線維性被膜を有する膿瘍形成が認められた。線維性被膜は組織球、好酸球、リンパ球が主体で、一部に巨細胞を含む高度の慢性炎症像を伴った黄色肉芽腫様病変から成っていた。膿瘍周囲の門脈域には、種々の程度で線維性拡大と慢性炎症細胞浸潤が認められ、胆管炎を来たしていた。膿瘍の内部は、散在性の小石灰化巣と一部に凝固壊死を伴った融解壊死組織から成り、細菌感染巣は確認できなかった。陳旧性多発性膿瘍の像であり、胆嚢炎から胆嚢床膿瘍を形成し、末梢へ膿瘍が広がったものと考えた。また肝門リンパ節内にも膿瘍形成が認められた。

PAS染色を施して詳細に観察すると、肝内の膿瘍腔内および辺縁には層状構造の顕著な波状に走行する厚い膜状物を多数認め、これらはPAS強陽性であった。膜状物は入りくんだ屈曲をしながら内膜を形成しており、寄生虫のキチン膜による嚢胞であることが分かった (Fig. 3)。これらの所見は膿瘍内部および膿瘍壁に多数認められたが、合併切除された横隔膜筋層内には認めなかった。以上の所見から、本症例は肝多包虫症と考えられた。ただし、原頭節は検出されなかった。

多包虫症の感染源、感染機会

患者の夫は、1980年代初めまで約10年間、主に北海道東部からの魚介類冷凍車輸送を業とし、ほぼ毎週、北海道との間を往復していた。患者も夫の冷凍車に同乗して、2回北海道に行ったことがある。最初は1980年初秋、倶知安町郊外の知人宅を訪問し、一泊した。当時、知人宅ではイヌを飼育していなかった。二回目は1981年、子供を含む家族全員で八戸からフェリーで函館に渡り、札幌を経て赤平温泉に一泊し、根室で魚介類を積み込んで帰った。根室では荷積み作業だけで、途中で観光はしなかった。食事・休憩は沿道のドライブインでとり、沢水を飲んだこともなく、途中でキツネを見かけた記憶もない。長男は、4~5歳の頃、父の冷凍車に同乗してよく北海道へ往復した。1982年、夫が北海道の路上で仔犬を拾って帰り、戸外で飼育したが、約3年で死亡した。仔犬への投餌、糞便処理は患



Fig. 2 Hepatic lesions surgically resected from the present patient. From left to right, horizontal sections of the right lobe were shown in order from cephalic to caudal direction. Arrowheads indicate alveolar hydatid cysts and the number corresponding to Fig. 1. Scale bar equals to 5 cm.

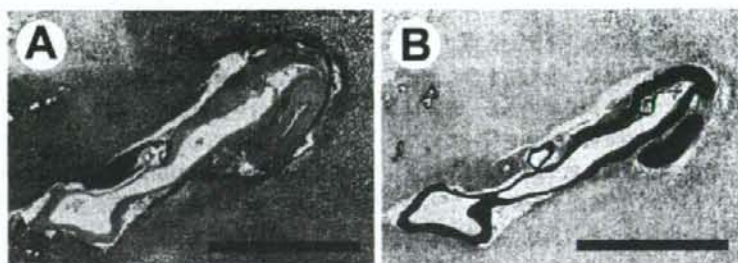


Fig. 3 The liver lesion was composed of multiple cysts characterized by a thick laminated-noncellular outer layer (A, hematoxylin-eosin (HE) staining; B, periodic acid-Schiff (PAS) reaction). The cuticular membrane showed a strong PAS positive reaction (B). Scale bar equals to 0.5 mm.

者が行った。夫は魚介類の冷凍輸送を専業としていたが、一度だけ根室から青森へ知人の引越荷物を運んだことがある。また、時折、北海道で干魚を購入し、路傍のフキを採取して帰宅した。

考 察

多包虫症の診断には、画像、血清抗体、病理組織標本が判定資料として用いられる。現在、流行地・北海道では住民の一次検診で ELISA 法による抗体検査をマス・スクリーニングとして行い、陽性の場合には二次検診でウェスタンブロット (WB) 法による血清抗体の確認と腹部超音波検査および X 線撮影を実施し、さらに X 線 CT、MRI などによる精密検診が行われる。しかし、近年は住民検診受診者数が 44 万人/年 (平成 18 年度) と全道人口 (平成 18 年 9 月現在、約 563 万人) の 0.8% 以下、住民検診での抗体陽性率 0.11% (平成 18 年度) で、

年間患者発生率は最大流行地の道東でも人口 10 万対 1 程度のため、北海道における届出患者の大部分は他疾患での病院受診者や地域・職域健康診断の受診者から発見されている³⁾。本症例が手術を受けた 1984 年当時、WB 法は開発されておらず、抗体検査法としては ELISA 法、補体結合反応、間接赤血球凝集反応、免疫電気泳動法が北海道立衛生研究所などで実施されていた³⁾。

本症の流行地ではない首都圏では、まず肝臓がん、胆石などを疑われて診療の場になり、その診断過程あるいは手術後に多包虫症であることが判明することが多い¹⁾。本症例も、初め胆石の疼痛発作で受診して胆嚢がんを疑われたが、開腹手術で切除した肝臓病巣の病理組織所見から多包虫症であることが判明した。手術前後に血清抗体価測定は行われず、切除病巣内に原頭節も発見されなかったが、PAS 染色陽性の膜様囊包構造などから多包虫症であることは疑いない⁴⁾。合計 4

個の独立した多包虫病巣は、ほぼ同時期に複数の虫卵が摂取され、孵化した複数の六幼幼虫が肝臓内で发育したものと考えられる。通常、多包虫症患者の多くは病巣が巨大化して肝機能障害をきたしてから受診するが、偶然、患者が胆石発作で受診したため、独立した4個の病巣が発見されたものと思われる。

胆嚢がんと多包虫症の鑑別には、画像上では胆嚢内がん病巣の有無、多包虫症病巣にみられる多発性嚢包、部分的石灰化などが重要だが、いずれも両者を確実に鑑別できる特徴ではない。両者をより確実に鑑別するには、血清中に抗多包虫抗体を検出する必要がある。ただし、これにも疑陽性や他寄生虫との類縁反応があるので、注意を要する。多包虫症を診断する重要な根拠は、感染機会の存在である。現在、日本国内の多包虫症流行域はほぼ北海道に限定されており、それ以外の都府県で本症が疑われる場合は、まず北海道での居住・滞在歴を確認する必要がある。北海道を含む流行域から来た犬との接触にも注意が必要である。日本は未だ海外からの移入犬に多包虫症の検査を行っていないので、海外の多包虫症流行域から来た犬では、移送前の検査、移送ルートについて確認が必要である⁹⁾。これらの感染機会がない場合は、多包虫症の可能性はきわめて低いと考えられる。術前の生検は、多包虫症病巣を腹腔内に拡散させる危険性があるので行わない。

当該患者の感染源を生活歴から考察すると、北海道から拾ってきた仔犬が第一に挙げられる。次に、患者自身の二度にわたる北海道訪問、および夫が冷凍車で道東部との間を約10年間往復していたことなどが感染機会として考えられる。本症例にはほぼ同サイズの肝多包虫病巣が複数個存在したことから、患者はほぼ同時に多数の多包虫虫卵を摂取したと考えられる。犬が多包虫症に感染すると多包虫虫卵が数ヶ月にわたって大量に犬糞便中に排泄されるので、犬は他の偶発的虫卵摂取よりはるかに感染源になり易いと考えられる。ただ、仔犬から多包虫虫卵や虫卵の検出は行われていない。また、仔犬が患者宅に来たのは肝臓手術の約1年前であり、肝多包虫病巣のサイズ(径3~4cm)からこれを感染源と断定するには疑問も残る。一方、患者自身の北海道旅行や夫の道東往復を感染機会と特定する根拠もない。しかし、患者は約10年間にわたって頻りに北海道との接触を保っており、そのどこかで多包虫症への感染機会をもったことは疑いない。

本症例が確認された1980年代初期は多包虫症患者発

生域が全道各地に急速に拡大した時期である。当時、北海道では水産業・酪農畜産業の大規模な振興とそれを支える道路網・自動車輸送の発展があった⁹⁾⁷⁾。これらは多包虫症の発生、伝播に大きな影響を及ぼしたと考えられる。すなわち、前者は主な本症感染源動物キツネの人為環境への依存性を高め^{8)~10)}、直接あるいは間接的にヒトの感染機会を増大させる。また、後者は本症例のように流行地からの感染者や感染動物の移動を容易にした。本症の流行抑制には、まずこれら人為的・社会的要因への対応を忘れてはならない。

犬の多包虫寄生自体は礼文島および道東地域の調査ですでに確認されていたが⁹⁾、北海道から本州へ移動する犬を介する多包虫症伝播の可能性が高まり⁹⁾、移動犬での寄生が実際に確認されたのは極めて最近のことである¹¹⁾。従って、1983(昭和58)年に本州で本症例が発症し、感染源としてイヌが強く疑われることは、多包虫症の本州波及を考える際にきわめて重大である。先述のとおり多包虫症の年間患者発生率は人口10万対1程度と低いが、逆にリスク人口はそれだけ大きく、1人の多包虫症患者の陰に10万人単位の被曝人口がある。2003年に多包虫症で部分肝切除手術を受けた首都圏在住症例が報告されているが、この症例は仕事や観光で頻りに北海道を訪れていた¹²⁾。また、東京都感染症週報(2007年第28週; <http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/weekly/2007/28.pdf>)は、北海道で感染したと考えられる多包虫症例1例を報じている。最近、北海道への道外観光客数は年間600万人を超え、北海道から本州各地への移住人口は毎年約7万人に上っている(<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sk/tuk/900brr/index.htm>)。さらに、北海道のキツネの多包虫感染率は、1998年以降40%前後の高率を維持しており(<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/hf/she/syokuniku/ekino.html>)、今後とも引き続き本症患者が首都圏で発見される可能性があることを銘記しておかねばならない。

謝辞：生活史の聞き取りから原稿作成まで多大の時間を割いてご協力下さった患者様に深謝します。また、資料作成にご助力頂いた国立がんセンター病理部長・金井弥栄様に感謝します。本研究は、平成19年度厚生労働省科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)「動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究」の助成により実施した。

文 献

- 1) 土井隆雄, 神田栄次, 二瓶直子, 他. 北海道外における多包虫症発生の実態と今後の対策への提言. 日本公衆衛生雑誌 2000; 47: 111-126
- 2) 医療法制研究会監修: 「医療六法—平成 18 年版」中央法規. 東京, 2006. p2235-2253
- 3) 北海道立衛生研究所創立 50 周年記念誌編集委員会. 「北海道のエキノコックス—創立 50 周年記念学術誌」北海道立衛生研究所, 札幌, 1999. p1-141
- 4) Edited by Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, et al. In: WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern, WHO/OIE, Paris, 2001. p1-265
- 5) 土井隆雄, 松田 肇, 内田明彦, 他. 北海道および海外からの畜犬を介するエキノコックス本州侵入の可能性. 日本公衆衛生雑誌 2003; 50: 639-643
- 6) 水上達三, 中西 睦, 他. 「生鮮食品物流の現状と問題点—輸送問題を中心として」日本経済調査協議会, 東京, 1980. p1-222
- 7) 北海道道路史調査会編. 「北海道道路史」北海道道路史調査会, 札幌, 1990. p1-571
- 8) 阿部 永. 道東方面におけるキツネの生態研究. 「北海道衛生部委託研究報告」札幌, 1971. p1-22
- 9) 三沢英一. 生息環境の相違によるキツネ *Vulpes vulpes schrencki* Kishida の食性変化について. 哺乳動物学雑誌 1979; 7: 311-320
- 10) 塚田英晴. キツネの採餌行動とエキノコックス症. 哺乳類科学 2005; 45: 91-98
- 11) Morishima Y, Sugiyama H, Arakawa K, et al. *Echinococcus multilocularis* in dogs, Japan. Emerging Infectious Diseases 2006; 12: 1292-1294
- 12) Shimada Y, Yamaguchi T, Matsumoto G, et al. Alveolar echinococcosis of the liver in a Tokyo resident with an unknown route of infection: report of a case. Surg Today 2006; 36: 750-753

Alveolar echinococcosis in a metropolitan area resident

Rikuo Doi¹⁾*, Masanori Kawanaka²⁾, Yasuyuki Morishima²⁾,
Hidenori Ojima³⁾, Susumu Yamasaki⁴⁾⁵⁾

This case report describes a 35-year-old female resident of a metropolitan area of Japan who presented with clinical symptoms of apparent gallbladder cancer and liver metastasis. After an extended right hepatic lobectomy, a resected lesion comprising four tumors (≤ 40 mm in diameter) was histopathologically confirmed as alveolar echinococcosis (AE). Although endemic in Japan, AE rarely arises in the mainland, because the causative pathogen, *Echinococcus multilocularis*, is distributed only in Hokkaido. The patient had visited Hokkaido twice, but she denied any behavior or history that would potentially relate to AE during these visits. A more detailed history revealed that she had kept a stray dog that her husband had picked up from a road in eastern Hokkaido. Although the dog showed no evidence of *Echinococcus* infection, the possibility of acquiring AE from the dog should be considered.

Key words: alveolar hydatidosis multilocular echinococcosis metropolitan area dog

Kanzo 2008; 49: 501-505

- 1) Yokohama City University, Emeritus Prof.
- 2) Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases
- 3) Pathology Division, National Cancer Center Research Institute
- 4) Hepatobiliary and Pancreatic Surgery Division, National Cancer Center Hospital
- 5) Present: The Zenkoukai Social Welfare Corporation

*Corresponding author: doi-r@bj8.so-net.ne.jp

Epidemiological Report

Cystic and Alveolar Echinococcosis: an Epidemiological Survey in a Tibetan Population in Southeast Qinghai, China

Yu Sen-Hai, Wang Hu¹, Wu Xian-Hong¹, Ma Xiao¹, Liu Pei-Yun¹, Liu Yu-Fang¹, Zhao Yan-Mei¹, Yasuyuki Morishima² and Masanori Kawanaka^{2*}

National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Shanghai;

¹Qinghai Provincial Institute of Endemic Disease Control, Xining, China; and

²Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan

(Received November 9, 2007. Accepted February 26, 2008)

SUMMARY: An epidemiological investigation on echinococcosis was made in Jiuzhi County of Qinghai Province, western China. Ultrasonography and an indirect hemagglutination test revealed a morbidity of 8.0% (124/1,549) and a seroprevalence of 25.8% (287/1,113), respectively, in the Tibetan population. The morbidity in herdsmen (16.6%) and Buddhist priests (15%) was significantly higher than that in other occupation groups (3.2%), and it was higher in females (9.8%) than in males (6.2%). The ultrasound images showed a coexistence of cystic echinococcosis (CE) and alveolar echinococcosis (AE), occupying 69 and 31% of the cases, respectively. An *Echinococcus* Western blot assay was performed as a serological backup test for differentiating CE and AE. The assay revealed that serum samples from most cases with a positive AE image showed a specific antibody against antigen bands at 16/18 kDa. Autopsy proved that 9 out of 12 stray dogs were infected with *Echinococcus granulosus* ($n=8$) and *E. multilocularis* ($n=1$). Inspection at the abattoirs demonstrated a hydatid rate of 78.5% in yaks and 82.6% in sheep. The data indicate that Jiuzhi County is an important endemic area for both CE and AE, in both human and animal populations.

INTRODUCTION

Both cystic echinococcosis (CE) and alveolar echinococcosis (AE) are endemic in China, and they are one of the most challenging problems for public health and animal husbandry in the western region. A national investigation of the major parasitic diseases, carried out in 2002-2004, revealed that by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and ultrasonography (US) for echinococcosis in randomly sampled populations of 39,826 and 34,486 people in 12 provinces and autonomous regions, respectively, the serological prevalence and morbidity were 12.0 and 1.1%, respectively (1). Qinghai, with a population of 5.3 million, is one of the provinces in the northwestern region where, due to the poor socioeconomic development, the prevalence of the disease has been increasing and even expanding from agro-pastoral areas to urban areas.

In 1997-1998, a seroepidemiological investigation with PVC-Dot-ELISA revealed a seropositive rate of 14.0% in the residents of south Qinghai, with rates of 16.8% in females and 11.5% in males, and the seroprevalence increased with age (2). As part of the national investigation 2002-2004, a survey on CE and AE was conducted in Qinghai in 2003. An ELISA test given to 3,989 randomly sampled people revealed a positive rate of 14.6%, with rates of 12.0 and 16.4% in males and females, respectively, while US examination in 5,274 people demonstrated an overall incidence of 1.8%, with rates of 1.4 and 2.1% in males and females, respectively; 5 out of 95 cases with clinical signs were patients of AE (3). Earlier data indicated that in some areas of the province, the

infection rate of echinococcosis in dogs was 36%, and the rate of hydatid disease in yaks and sheep was 46 and 63%, respectively (4).

To understand the epidemiological conditions of echinococcosis in a county where the predominant population is ethnic Tibetan, we conducted an investigation using parasitological, immunological and clinical examinations in humans and animals. In this report we describe the results of our investigation.

MATERIALS AND METHODS

Areas and subjects for the study: Jiuzhi County of the Guoluo Tibetan Autonomous Prefecture is situated in southeastern Qinghai, bordering Sichuan Province (longitude 101°00' - 101°50' and latitude 32°50' - 33°80') (Fig. 1). This area is located on the eastern part of the Tibetan Plateau, with approximately 8,700 km², between 3,600 and 4,500 m above sea level. The human population of Jiuzhi County is about 20,000, and 98% are ethnic Tibetans. Villages and towns in the sparsely populated area with animal husbandry as the major economy were identified for the survey. All the local residents aged 5 and above were included as subjects, if they were present during the survey.

Human echinococcosis screening: Image examination using a portable ultrasonograph (SSD-500; Aloka, Tokyo, Japan) was applied for the clinical diagnosis of all residents in each village/town who voluntarily participated in the abdominal examination. The classification of CE images followed the criteria proposed by the World Health Organization (WHO) (5), and that of AE images followed those recommended by Xu and associates (6). All individuals were registered by name, age, sex, occupation and any previous history of the disease recorded (usually surgical). Venous blood samples were taken from the same participants. A total of 1,549 residents living

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



Fig. 1. Location of Jiuzhi County of Qinghai Province, China.

in three villages (Waeryi, Baiyu and Suohurima) and a county town were screened by abdominal US, and 1,113 participants agreed to give blood samples for serology in October 2005.

Serologic tests: A conventional indirect hemagglutination (IHA) test was made for serum antibody detection for all samples. For the IHA test we used crude antigen, which was sterile *Echinococcus granulosus* hydatid cyst fluid from the livers of infected sheep. Serum samples of those cases that showed positive US images with CE or AE were used for a confirmatory test by the *Echinococcus* Western Blot IgG (LDBIO Diagnostics, Lyon, France). Serum samples of those cases that showed negative US images with CE and AE but that were positive in the IHA test were also evaluated by an immunoblot assay. This immunoblot assay, using a whole larval extract from *Echinococcus multilocularis* as the antigen, was carried out according to the manufacturer's instructions (7).

Survey of animals: As the definitive host for both *E. granulosus* and *E. multilocularis*, the local dog population was screened for infection. Because of religious beliefs, the Tibetan people did not allow the investigators to conduct postmortem diagnosis on their house dogs, so an autopsy survey was performed on a limited number of stray dogs captured around the villages.

Canine fecal samples were collected from around the houses/villages and subjected to coprological diagnosis. *Echinococcus* coproantigen was screened using an ELISA kit from the Sichuan Provincial Institute of Parasitic Diseases (8). Microscopic egg detection was also conducted with a modified Wisconsin procedure using sucrose solution with a specific gravity of 1.27. Since the eggs of *Echinococcus* are morphologically indistinguishable from the other members of Taeniidae (9), such eggs were subjected to additional molecular analysis. Extraction of DNA from egg materials was performed using a protocol described by Bretagne et al. (10) and subjected to polymerase chain reaction (PCR) as described by Nickisch-Roseneck et al. (11). Each PCR prod-

uct of the 12S ribosomal RNA gene was then digested with *AseI* and *SspI*, and individually identified using the species-specific restriction fragment length polymorphism (RFLP) patterns.

Yaks and sheep are the major livestock and are also thought to be important intermediate hosts for *E. granulosus* in the area. The animals slaughtered for human consumption in October 2005, and organs, mainly livers and lungs, were examined macroscopically at the local abattoirs. Occurrence of cystic lesions of *E. granulosus* was recorded.

Ethical consideration: Ethical clearance for the investigation was received in July 2005 from the Qinghai Provincial Center for Disease Prevention and Control. Explanation was made for why and how the survey was to be conducted to the leaders of the county and the related townships to help their understanding and gain their collaboration. Considering the high illiteracy rate of the local residents, only oral individual consent was required before the examination. Those examinees with positive US were advised to take treatment with albendazol, which was arranged after the examination at the local health centers.

Data analysis: A Pearson's chi-square test with Yates' continuity correction (2-tailed) was performed to examine differences between groups. When the overall value of χ^2 was significant, a post-hoc multiple comparison was made using the confidence intervals (CIs) to find the difference in proportions between any two groups. Statistical analysis and calculation of CIs were carried out using SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA) and Microsoft Excel 2000 (Microsoft Corp., Redmond, Wash., USA), respectively.

RESULTS

Prevalence of echinococcosis in the human population: Image examination revealed that among the total population examined by US (1,549), 124 persons showed positive results with 85 cases of CE (5.5%) and 39 cases of AE (2.5%) occupying 69 and 31% of the total, respectively, and revealing an overall morbidity of 8.0%. The incidence in males and females was 6.2 and 9.8%, respectively ($\chi^2 = 6.32$, d.f. = 1, $P < 0.05$).

Serological tests demonstrated an overall IHA positive rate of 25.8% (287/1,113), with rates of 20.3% in males and 31.1% in females ($\chi^2 = 16.40$, d.f. = 1, $P < 0.01$). Age distribution of the prevalence is shown in Table 1. The prevalence of CE and AE through US examination by age groups and the relationship between the prevalence of echinococcosis and sex are shown in Figures 2 and 3, respectively.

A significant difference in prevalence by occupation was found in the US examination ($\chi^2 = 90.35$, d.f. = 8, $P < 0.01$). The highest incidence of the disease was found in herdsmen (16.6%, 81/487), followed by Buddhist priests (15%, 12/78). A comparison of CIs showed a significant difference between herdsmen and others, and between Buddhist priests and others ($P < 0.01$ and $P < 0.01$, respectively), but there was no such difference between herdsmen and Buddhist priests ($P > 0.05$) (Table 2). The IHA result showed a positive rate of 36.7, 31 and 16.5% in the three groups, respectively ($\chi^2 = 59.14$, 9.03 and 1.01, $P < 0.01$, $P < 0.01$ and $P > 0.05$, respectively).

By areas, the US incidence in inhabitants from the three villages and from a county town was 11.9 and 2.7%, respectively, and there was a significant difference between the villages and the town ($\chi^2 = 41.54$, d.f. = 1, $P < 0.01$). Similarly, the IHA positive rate was 35.1 and 13.8%, respectively,

Table 1. Results of ultrasound examination and IHA test by age groups

Age group	Ultrasound		IHA	
	No. of examined	No. of positives (%)	No. of examined	No. of positives (%)
<9	83	0 (0)	8	3 (38)
10-19	721	25 (3.5)	428	76 (17.8)
20-29	186	18 (9.7)	168	46 (27.4)
30-39	283	37 (13.1)	262	77 (29.4)
40-49	127	18 (14.2)	111	36 (32.4)
50-59	79	10 (13)	71	26 (37)
≥60	70	16 (23)	65	23 (35)
Total	1,549	124 (8.0)	1,113	287 (25.8)

and this difference was also significant ($\chi^2 = 64.35$, d.f. = 1, $P < 0.01$).

Result of the immunoblot assay: The immunoblot assay was used for analyzing the specific antibody of the serum samples of 93 out of 112 cases showing positive images of CE or AE. Table 3 summarizes the number of serum samples showing different immunoblot patterns described by the manufacturer. The presence of bands at 7, 16, 18 and 26 to 28 kDa is indicative of the presence of *Echinococcus*-specific IgG in serum. The antigen recognition patterns for each of the serum samples and their interpretation are shown in Table 3. The immunoblot assay showed 88% (82/93) sensitivity for the detection of such positive patterns from P1 to P5. P1 and P2 were considered specific for CE, and 33 out of 63 serum samples (52%) from cases with a positive CE image were typed as P1 or P2. P3 was considered specific for AE. Of serum samples from 30 cases with positive AE images, 27 (90%) were typed as P3. Of serum samples from 63 cases with CE images, 5 (8%) were also typed as P3. P4 and P5 were considered to be indistinguishable between the two species. Interestingly, all 17 serum samples typed as P4 or P5 were simply from cases with CE images.

The immunoblot assay was also used for analyzing the specific antibody of the serum samples of 138 out of 175 cases who showed negative by US but positive in IHA. Among these serum samples, the positive rate of the immunoblot assay was 18.1% (25/138): 6 were typed as P1 or P2, 5 were typed as P3 and 14 were typed as P4 or P5.

Survey on animals: Dogs: Of 12 stray dogs captured around the villages, 9 were found to harbor adult worms at autopsy, with 8 cases of *E. granulosus* and one case of *E. multilocularis* morphologically identified. The latter one was

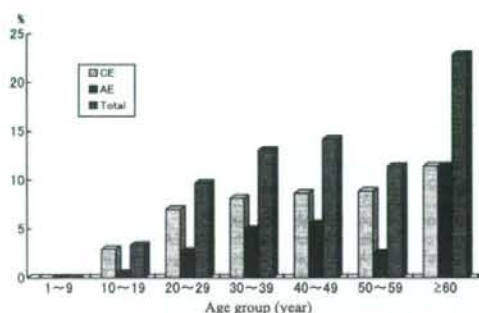


Fig. 2. Prevalence of cystic and alveolar echinococcosis (CE and AE) by ultrasound in age groups.

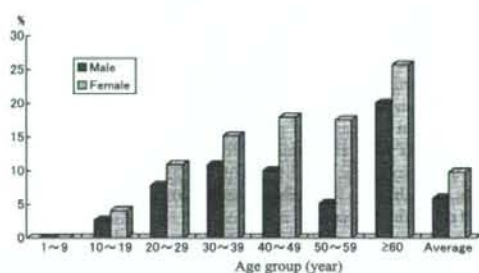


Fig. 3. Prevalence of echinococcosis by sex and age.

further confirmed by experimental infection of mice and dogs (to be reported separately).

A total of 149 canine fecal samples were collected and examined by coprological diagnosis. Of the samples, 14 and 58 dogs were found to be taeniid egg (9.3%) and coproantigen (38.9%) positive, respectively. Species identification of each taeniid egg by PCR-RFLP analysis revealed that 7 dogs were infected with *E. granulosus*, 2 had *Taenia hydatigena* and 5 showed concurrent infections of the 2 species. Among 10 samples with eggs of *E. granulosus*, 8 were coproantigen positive.

Yaks and sheep: During the study period, 106 of 135 yaks (78.5%) and 95 of 115 sheep (82.6%) from local abattoirs were found to have cystic lesions of *E. granulosus*.

Table 2. Results of ultrasound examination and IHA test by occupation groups

Occupation	Ultrasound			IHA		
	No. of examinees	No. of positives (%)	95% CI of positives	No. of examinees	No. of positives (%)	95% CI of positives
Buddhist priests	78	12 (15)	9.0-25.0	75	23 (31)	21.4-41.8
Cadres	62	3 (5)	1.0-13.5	52	10 (19)	10.8-31.9
Doctors	21	2 (10)	1.2-30.4	9	2 (22)	2.8-60.0
Herdsmen	487	81 (16.6)	13.6-20.2	461	169 (36.7)	32.4-41.2
Houseworkers	37	3 (8)	1.7-21.9	33	7 (21)	10.7-37.8
Merchants	26	1 (4)	0.1-19.6	24	3 (13)	2.7-32.4
Students	755	19 (2.5)	1.6-3.9	389	64 (16.5)	13.1-20.5
Teachers	56	1 (2)	0.05-9.6	51	4 (8)	2.2-18.9
Others	27	2 (7)	0.9-24.3	19	5 (26)	11.8-48.8
Total	1,549	124 (8.0)	6.8-9.5	1,113	287 (25.8)	23.3-28.4

Table 3. The immunoblot results of sera from cases with an image of alveolar (AE) or cystic (CE) echinococcosis at ultrasound examination

	Cases with AE/CE image	No. of serum samples with the following immunoblot pattern					
		No. tested sera	Negative	P1	P2	P3	P4
AE	30	3	0	0	27	0	0
CE	63	8	12	21	5	6	11
Total	93	11	12	21	32	6	11

"Echinococcus Western Blot IgG pattern"	Interpretation
Negative : No bands in the range of 7 through 28 kDa.	: not echinococcosis
P1 : Bands 7 kDa only.	: CE
P2 : Bands 7 kDa+fuzzy 16-18 kDa.	: CE
P3 : Bands 26-28 kDa+ both narrow bands 16/18 kDa.	: AE
P4 : Bands 26-28 kDa only.	: CE or AE
P5 : Bands 7 kDa+26-28 kDa.	: CE or AE

DISCUSSION

The majority of the population in Jiuzhi County are Tibetans with animal husbandry as their primary economy. During the seasons from spring to autumn, the Tibetan families move about in search of pasture with their herds of yaks or sheep. This typical nomadic life, almost always with dogs, and the unhygienic conditions on the grasslands and in their tents form highly favorable circumstances for the transmission of echinococcosis.

The examination by abdominal US revealed an echinococcosis morbidity of 8.0% (124/1,549) in the inhabitants, which is much higher than the rates previously reported in other areas of the province (12), which indicates that Jiuzhi is one of the important endemic areas for human echinococcosis. Among the total population examined by US, 124 people showed positive results, with 85 cases (5.5%) of CE and 39 cases (2.5%) of AE occupying 69 and 31% of the total, respectively. In a co-endemic area of CE and AE like this region, differentiation of the two species of *Echinococcus* as a pathogen is important. The diagnosis of human echinococcosis remains highly dependent on imaging techniques to detect the larval infection of *E. granulosus* or *E. multilocularis*. US is the only technique that can be used in the field and can virtually differentiate hepatic AE from CE (13). However, with an extrahepatic infection, US examination is not helpful in most cases. In addition, the efficacy of an US-based screening relies on the skill of the ultrasonographer. Therefore, a serological backup test is expected to play a complementary role for diagnosis (14). A commercial test kit, the *Echinococcus* Western Blot IgG, is available for differentiating CE and AE. Importantly, 27 out of 30 serum samples (90%) from cases with AE images showed the positive pattern of P3, including narrow bands at 16/18 kDa, which was considered to be specific to AE (7,15,16). On the other hand, 5 serum samples (8%) from 63 cases with CE images also showed the same pattern. Apparently, the specificity of the positive pattern P3 needs to be further studied in sera of CE cases in a co-endemic area like Jiuzhi.

Our investigation, like previous surveys, showed that more females were infected than males. This may be because Tibetan women were more involved in taking care of livestock, spent more time with the family dogs and were more closely involved with the environment in and around their houses.

It is interesting to note that the incidence in monks and nuns was among the highest, close to that of herdsmen, which

is similar to the results of a previous survey (12). This is most likely related to the monks' and nuns' religious beliefs. The killing of animals, especially dogs, is forbidden by the Buddhist practice, and this practice encourages benevolence in the form of feeding dogs and results in a huge number of stray dogs in and around the lamaseries (temples) and therefore a higher possibility of infection passing from the dogs to the monks and nuns.

The IHA test using a crude antigen prepared from *E. granulosus* hydatid cyst fluid is reasonably sensitive; in our study, 91% (112/122) of the examinees with confirmed clinical diagnosis by US showed positive IHA test results. However, it is well known that specificity of the test is not always satisfactory (17). For those with positive IHA but negative findings by US, an infection or historical infection could not be excluded as the examinees were all native residents. In fact, specific antibodies were detected by the immunoblot assay from 18.1% (25/138) of these serum samples.

The data on age distribution shown in Table 1 shows that the prevalence of *Echinococcus* infection approached a plateau at the age of 20-29 years by serology and 30-39 years by US. US examination disclosed a much lower prevalence (3.1%) among the examinees under 19 than did the serological test (18.1%), which probably reflects the fact that it takes longer for the development of a hydatid cyst in a host to appear as a distinguishable image than it takes for the appearance of a detectable antibody level, and that attention needs to be paid to adolescents to detect infection early.

A high prevalence in dogs and in livestock also revealed a high endemicity of the diseases. Because of the difficulties in dog deworming, observation was made in only a few dogs, and there may have been a bias toward the high prevalence (75%), as only stray dogs were examined. Coproantigen detection showed a rate of 38.9% positive. Further investigation is needed to interpret the result of the fecal antigen test on the basis of parasitological examination on dogs.

As the previous studies revealed, cystic and alveolar echinococcosis are of major public health importance in north-west China (18,19) and the infections are highly pertinent socioeconomical, ecological and environmental factors (20, 21). The rate and impact of infection in the south of Qinghai Province are similar to those of west Sichuan Province, which also has ethnic Tibetans as the predominant population and coexistence of the two types of echinococcosis (22). Further understanding of the epidemiological factors of echinococcosis will therefore be essential for providing a strategy to control the disease in this region, which probably also covers northern Tibet.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial support from the Japan Health Sciences Foundation and the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (H18 Shinkou-022) is gratefully acknowledged.

Technical assistance from Han Xiu-Min, Zhang Jing-Xiao, Ma Jun-Ying, Liu Hai-Qing and Kyoko Arakawa is highly appreciated.

REFERENCES

- Anonymous (2005): A national survey on current status of the important parasitic diseases in human population. *Chin. J. Parasitol. Parasit. Dis.*, 23 (Suppl.), 332-340 (in Chinese with English Summary).
- Wang, H., Ma, S.M., Cao, D.P., et al. (1999): Seroepidemiology of human hydatid disease in southern Qinghai. *Chin. J. Zoonoses*, 15, 92-93 (in Chinese with English Summary).
- Wu, X.H., He, D.L., Liu, B.R., et al. (2005): A survey on the prevalence of important parasitic diseases in Qinghai Province. *Chin. J. Parasitol.*

- Parasit. Dis., 23, 220-224 (in Chinese with English Summary).
4. Wu, X.H. and He, D.L. (2001): An epidemiological investigation on hydatid disease in Gonghe county, Qinghai Province. *Endem. Dis. Bull.*, 16, 29-31 (in Chinese with English Summary).
 5. World Health Organization, Informal Working Group (2001): International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological setting. In PAIR: An Option for the Treatment of Cystic Echinococcosis. WHO/CDS/CSR/APH/2001.6. Online at <http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_CDS_CSR_APH_2001.6.pdf>.
 6. Xu, M.Q., Ge, X.H., Kong, C.Q., et al. (2002): Imaging diagnosis of hepatic alveolar echinococcosis. *Natl. Med. J. Chin.*, 82, 249-252 (in Chinese with English Summary).
 7. Liance, M., Janin, V., Bresson-Hadni, S., et al. (2000): Immunodiagnosis of *Echinococcus* infections: confirmatory testing and species differentiation by a new commercial Western blot. *J. Clin. Microbiol.*, 38, 3718-3721.
 8. Huang, Y., Heath, D., Chen, X.W., et al. (2005): A surveillance on *Echinococcus* infection in dog population by using modified technique of coproantigen detection. Proceedings of the Conference, Society of Medical Parasitology. China Preventive Medicine Association, Shanghai, December 2005 (in Chinese).
 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. Bretagne, S., Gillou, J.P., Morand, M., et al. (1993): Detection of *Echinococcus multilocularis* DNA in fox faeces using DNA amplification. *Parasitology*, 106, 193-199.
 11. von Nickisch-Roseneck, M., Silva-Gonzalez, R. and Lucius, R. (1999): Modification of universal 12S rDNA primers for specific amplification of contaminated *Taenia* spp. (Cestoda) gDNA enabling phylogenetic studies. *Parasitol. Res.*, 85, 819-825.
 12. Wang, H., Zhang, J.X., Schantz, P.M., et al. (2006): Epidemiological survey and analysis on echinococcosis in humans and animals from 1995 to 2005 in Qinghai Province. *Chin. J. Zoonoses*, 22, 1129-1134 (in Chinese with English Summary).
 13. Macpherson, C.N. and Milner, R. (2003): Performance characteristics and quality control of community based ultrasound surveys for cystic and alveolar echinococcosis. *Acta Trop.*, 85, 203-209.
 14. Bartholomot, G., Vuitton, D.A., Harraga, S., et al. (2002): Combined ultrasound and serologic screening for hepatic alveolar echinococcosis in central China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 66, 23-29.
 15. Ito, A., Nakao, M., Kutsumi, H., et al. (1993): Serodiagnosis of alveolar hydatid disease by Western blotting. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 87, 170-172.
 16. Furuya, K., Kawanaka, M., Yamano, K., et al. (2004): Laboratory evaluation of commercial immunoblot assay kit for serodiagnosis of *Echinococcus* infections using sera from patients with alveolar hydatidosis in Hokkaido. *J. Jpn. Assoc. Infect. Dis.*, 78, 320-326 (in Japanese with English Summary).
 17. Pawlowski, Z.S., Eckert, J., Vuitton, D.A., et al. (2001): Echinococcosis in human: clinical aspects, diagnosis and treatment. p. 20-69. In WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern.
 18. McManus, D.P., Zhang, W., Li, J., et al. (2003): Echinococcosis. *Lancet*, 362, 1295-1304.
 19. Vuitton, D.A., Zhou, H., Bresson-Hadni, S., et al. (2003): Epidemiology of alveolar echinococcosis with particular reference to China and Europe. *Parasitology*, 127 (Suppl.), S87-S107.
 20. Craig, P.S., Rogan, M.T. and Campos-Ponce, M. (2003): Echinococcosis: disease, detection and transmission. *Parasitology*, 127 (Suppl.), S5-S20.
 21. Giraudoux, P., Craig, P.S., Delattre, P., et al. (2003): Interactions between landscape changes and host communities can regulate *Echinococcus multilocularis* transmission. *Parasitology*, 127 (Suppl.), S121-S131.
 22. Li, T., Qiu, J., Yang, W., et al. (2005): Echinococcosis in Tibetan populations, western Sichuan Province, China. *Emerg. Infect. Dis.*, 11, 1866-1873.

Evaluation of a Microplate Agglutination Test (MAT) for Serological Diagnosis of Canine Brucellosis

Masanobu KIMURA¹⁾, Koichi IMAOKA^{1)*}, Michio SUZUKI¹⁾, Tsuneo KAMIYAMA¹⁾ and Akio YAMADA¹⁾¹⁾Department of Veterinary Science, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan

(Received 12 November 2007/Accepted 19 February 2008)

ABSTRACT. A microplate agglutination test (MAT) was compared with the tube agglutination test (TAT), a standard test for the diagnosis of *Brucella canis*, in terms of the sensitivity and specificity. The results showed that MAT was more sensitive, simpler to perform and easier to read the results than TAT. On top of that the MAT allows us to handle a larger number of samples at once. Using this method we conducted sero-surveillance of the prevalence of *B. canis* in dogs kept in an Animal Shelter located in Kanagawa Prefecture. Twelve of 485 (2.5%) showed seropositive against *B. canis*. These results indicate that *B. canis* infection in dogs is still occurring in Japan.

KEY WORDS: *Brucella canis*, canine brucellosis, microplate agglutination test.

J. Vet. Med. Sci. 70(7): 707-709, 2008

Brucellosis, one of the major zoonoses worldwide, is caused by a bacteria belonging to the genus *Brucella* [4]. Among many species of the genus *Brucella*, *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* and *B. canis* are known to result in human brucellosis. Although *Brucella* spp. with smooth-type lipopolysaccharides (LPS), such as *B. melitensis*, *B. abortus* and *B. suis*, are known to infect several domestic animals, such as cows, sheep, goats and pigs, *B. canis*, one of *Brucella* spp. with rough LPS, infects a limited host range, such as dogs and wild canidae. *B. canis* infection in dogs is usually asymptomatic but can sometimes cause contagious abortion, epididymitis, testicular atrophy and infertility [3]. Most canine infections occur by direct contact with lochia at the time of abortion or vaginal discharges in infected female dogs. Semen and urine from infected male dogs have also been implicated as sources of infection [7]. Drug therapy for *B. canis* infection requires an appropriate regimen of antibiotic combination, but relapse may ensue, because *B. canis* often persists within macrophages or other type of cells [3]. Humans are rarely infected with *B. canis*. Most human infections are asymptomatic; however, several clinical symptoms, which are milder than those observed with other *Brucella* spp., are sometimes noticed [12].

In Japan, *B. canis* infection was first reported in a breeding colony of beagles in 1972 [20]. Several epidemiological studies of canine brucellosis in Japan were conducted in the 1970s and 1980s [10, 11, 15-18], but there have only been a few reports since then. In 2003 and 2006, canine brucellosis emerged as outbreaks in large breeding colonies, suggesting that *B. canis* infection is still enzootic in Japan. To assess the possible risk of *B. canis* on human, determination of the prevalence of *B. canis* in the dog population in Japan seemed helpful.

Although tube agglutination test (TAT) is the most widely used laboratory test for the detection of *B. canis* anti-

bodies in both humans and canines, it is time-consuming and cumbersome in terms of performance and measurement of results [2]. On the other hand, microplate agglutination test (MAT) described for *B. canis* [5] and *B. abortus* [1, 6] appeared advantageous, because a larger number of samples can be processed simultaneously by this method. In the present study, we attempted to evaluate whether the use of MAT with safranin-stained bacterial cells as antigens could serve as a substitute for TAT to conduct sero-epidemiologic investigations of canine brucellosis in Japan.

TAT was carried out by placing 0.5 ml of 2-fold serially diluted sera and an equal volume of *B. canis* antigen solution (OD₆₀₀=1) purchased from the Kitasato Institute (Tokyo, Japan) in glass tubes. After incubation at 50°C for 24 hr, the agglutination titer was determined and expressed as a reciprocal of final serum dilutions, which gave rise to agglutination as observed in the 50% control tube. Titers of 160 or higher were considered positive. Anti-*B. canis* antibody was prepared in our laboratory by immunizing a rabbit with inactivated *B. canis* whole antigen and was included as a reference.

MAT was performed as follows. First, serum samples, 2-fold serially diluted in phosphate-buffered saline, were prepared in a 96-well U-bottom microplate. Then, an equal volume (25 µl) of *B. canis* antigen solution (Kitasato Institute), which is same as used in TAT, containing 0.005% safranin solution (2% of Favor G[®], Nissui Pharmaceutical Co., Tokyo, Japan) was added to each well. The sealed plates were mixed gently for 20 sec and incubated at 50°C for 24 hr in a humid atmosphere. The titers were expressed as a reciprocal of the highest dilution of sera showing agglutination. Safranin-stained antigens made it possible to judge the results more easily and objectively. An agglutination titer greater than 160 was considered positive.

We have experienced an outbreak of *B. canis* infection in 2003 [8]. Sera obtained from dogs involved in the outbreak were examined for the presence of anti-*Brucella* antibody by TAT. Fifty-one of 110 sera tested positive for antibody against *B. canis*. These sera were subjected to MAT for

* CORRESPONDENCE TO: IMAOKA, K., Department of Veterinary Science, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan.
e-mail: imaoka@nih.go.jp

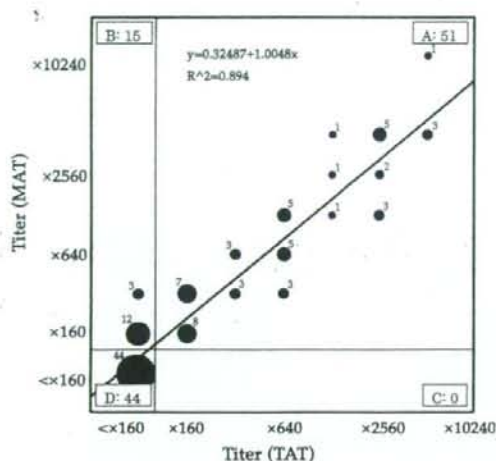


Fig. 1. Correlation of antibody titers determined by TAT and MAT. Sera were obtained from 110 dogs in the outbreak of *B. canis* infection in 2003. The titers are the reciprocals of the highest dilution of serum showing agglutination. Pearson's product-moment correlation coefficient (r) was determined to be 0.945, $p < 0.01$ by regression analysis. A-D shows each area and the number of dogs of each area.

determining its specificity and sensitivity. As shown in Fig. 1, 15 sero-negative samples (1:80) by TAT became positive (1:160 and 1:320) when MAT was employed. Combinatorial polymerase chain reaction method [9] showed that *B. canis*-specific gene segments were present in the sera of those 15 dogs [8], which indicate that they were infected with *B. canis* (data not shown). Therefore, MAT appeared superior to TAT in terms of sensitivity as shown in the previous report by Dump *et al.* [5]. The titers determined by two methods correlated well ($R^2 = 0.894$) as shown in Fig. 1.

We have therefore decided to apply MAT in the sero-surveillance of *B. canis* in Japan. During the period from February 2003 to December 2006, 485 serum samples were obtained from dogs in an animal shelter in Kanagawa Prefecture (Table 1). The dogs were categorized into three groups according to their origin: pets, strays, and unknown.

The results are summarized in Table 1. Of 485 dogs, 12 (2.5%) tested positive for antibody against *B. canis*. Sero-

prevalence in this study (2.5%) seemed slightly lower than those of 1970's (0.8%–21.7%) [10], but there was no apparent difference. This indicated that the disease was enzootic but not epizootic in Japan. Of the 12 sero-positive dogs, 3 were pets and 9 were strays. The reason why the apparent prevalence of infection was higher in strays (5.7%) than in pets (0.9%) was unknown, but it was likely that stray dogs had more opportunities to encounter other dogs, fomites or environments contaminated by bacteria. No differences attributed to the sex (Table 1) or breed (data not shown) of dogs were observed in the prevalence of infection.

Although symptomatic infections of *B. canis* in humans are rarely reported, Lucero *et al.* [12] pointed out that the possibility of *B. canis* infection in humans may be more widespread than speculated. Recently, an unusually severe form of human brucellosis caused by *B. canis* was reported [13]. Because human infections commonly occur after contact with the blood, semen, or placenta of infected dogs [19], an understanding of the prevalence of *B. canis* infection in dogs may help in inferring preventive measures for reducing human exposure to the bacteria. The results of the present sero-epidemiologic study showed that *B. canis* infection is still enzootic in Japan. Moreover, human brucellosis cases reported in 2002, 2005 and 2006 were probably caused by *B. canis* [14]. It therefore seems prudent that individuals at high risk of infection such as veterinarians, breeders and pet owners, be advised of possible *B. canis* infection in dogs.

ACKNOWLEDGEMENT. This work was supported in part by a grant for Research on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases, Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan.

REFERENCES

- Baum, M., Zamir, O., Bergman, R. R., Katz, E., Beider, Z., Cohen, A. and Banai, M. 1995. *J. Clin. Microbiol.* 33: 2166–2170.
- Brown, S. L., McKinney, F. T., Klein, G. C. and Jones, W. L. 1980. *J. Clin. Microbiol.* 11: 146–148.
- Carmichael, L. E. 1990. pp. 335–350. In: *Animal Brucellosis* (Nielsen, K. and Duncan, J. R. eds), CRC Press, Florida.
- Corbel, M. J. 1997. *Emerg. Infect. Dis.* 3: 213–221.
- Damp, S. C., Crumrine, M. H. and Lewis, G. E. Jr. 1973. *Appl. Microbiol.* 25: 489–490.
- Gaultney, J. B., Wende, R. D. and Williams, R. P. 1971. *Appl. Microbiol.* 22: 635–640.
- Greene, C. E. and Carmichael, L. E. 2006. pp. 369–381. In:

Table 1. Sero-prevalence of antibodies against *B. canis* in dogs determined by MAT

Year	Male		Female		Total	
	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive
2003	67	0	24	1	91	1
2004	82	3	38	2	120	5
2005	103	3	74	1	175	4
2006	52	2	29	0	81	2
Total	304	8 (2.6%)	165	4 (2.4%)	467	12 (2.5%)

- Infectious Diseases of Dog and Cat (Greene, C. E. ed), WB Saunders Co., Philadelphia.
8. Imaoka, K., Kamiyama, T., Kimura, M., Park, C.-H. and Mochizuki, M. 2004. pp. 84-102. In: Study about Hygiene Controls of Pets (H15-Shinkou-19) (Kamiyama, T. ed), The report of a grant for research on emerging and re-emerging infectious diseases, Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan (in Japanese).
 9. Imaoka, K., Kimura, M., Suzuki, M., Kamiyama, T. and Yamada, A. 2007. *Jpn. J. Infect. Dis.* **60**: 137-139.
 10. Isayama, Y. 1994. *J. Vet. Med.* **4**: 97-101 (in Japanese).
 11. Katami, M., Sato, H., Yoshimura, Y., Suzuki, T., Suzuki, Y., Nakano, K. and Saito, H. 1991. *J. Vet. Med. Sci.* **53**: 1113-1115.
 12. Lucero, N. E., Escobar, G. I., Ayala, S. M. and Jacob, N. 2005. *J. Med. Microbiol.* **54**: 457-461.
 13. Lucero, N. E., Jacob, N. O., Ayala, S. M., Escobar, G. I., Tucillo, P. and Jacques, I. 2005. *J. Med. Microbiol.* **54**: 505-508.
 14. Ministry of health, labour and welfare, and National institute of infectious diseases 2007. *Infect. Dis. Weekly Rep.* **9**: 12-13 (in Japanese).
 15. Saegusa, J., Ueda, K., Goto, Y. and Fujiwara, K. 1978. *Nippon Juigaku Zasshi* **40**: 75-80.
 16. Takayoshi, T., Hayashi, A. and Isayama, Y. 1977. *Microbiol. Immunol.* **21**: 295-298.
 17. Ueda, K., Saegusa, J., Fujiwara, K., Muto, S. and Okada, K. 1974. *Nippon Juigaku Zasshi* **36**: 539-542.
 18. Wada, T., Handa, S. and Mohri, S. 1979. *Nippon Juigaku Zasshi* **41**: 339-341.
 19. Wallach, J. C., Giambartolomei, G. H., Baldi, P. C. and Foshati, C. A. 2004. *Emerg. Infect. Dis.* **10**: 146-148.
 20. Yamauchi, C., Suzuki, T., Nomura, T., Kukita, Y. and Iwaki, T. 1974. *Nippon Juigaku Zasshi* **36**: 175-182 (in Japanese).

人獣共通感染症としてのブルセラ症

今岡浩一（国立感染症研究所獣医学部第一室）



はじめに

ブルセラ症 (Brucellosis) は、ブルセラ菌 (*Brucella* spp.) により引き起こされる人獣共通感染症である。ヒトに感染しうるおもなものは、その病原性の順に *Brucella melitensis* (自然宿主：山羊、ヒツジ)、*B. suis* (豚)、*B. abortus* (ウシ、水牛)、*B. canis* (犬) が知られている¹⁾。

B. melitensis、*B. abortus*、*B. suis* のいわゆる smooth-type (LPS が o-side chain を持つ) の家畜ブルセラ菌感染症は、世界中で多くの患者、患者がみられ、公衆衛生学的にも非常に重要な疾患である。一方、*B. canis* (イヌブルセラ菌) は rough-type (LPS が o-side chain を持たない、もしくは不完全) であり、ヒトに対する病原性も弱く、その公衆衛生学的意義については、まだまだ不明な点が多い。



法律上の位置づけ

ヒトブルセラ症は、感染症法 (感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律) により、対象病原体を *B. melitensis*、*B. abortus*、*B. suis*、*B. canis* として四類感染症に指定されている。そのため、診断した医師は7日以内に最寄りの保健所長を経由して都道府県知事に届け出なければならない (表1)。また、これら4菌種は同じく感染症法で特定三種病原体に指定されており、その所持・運搬等が厳しく規制されている。

一方、動物については、家畜ブルセラ症は、対象動物を牛、めん羊、山羊、豚、水牛、鹿、猪として家畜伝染病予防法により家畜伝染病に指定されており、患者は殺処分しなければならない。しかし、犬はブルセラ症の対象にならず、家畜伝染病予防法上の処置を受けない。



患者発生状況

1 | 世界における発生状況

世界中で年間5万人を越える家畜ブルセラ菌感染患者が新規に発生している。しかし、症状が軽微な場合、単に不明熱とされることもあり、実際は、その10~25倍の患者がいると考えられている。とくに食料や社会・経済面で家畜への依存度が高い国 (地中海地域、中近東、中央アジア、中南米、アフリカなど) で、多くの感染者・感染動物が発生している (図1)¹⁻³⁾。また、中国では近年患者が急増しており、年

表1 ブルセラ症の感染症法に基づく医師の届出基準

(1) 定義

本症はウシ、ブタ、ヤギ、犬およびヒツジの感染症であるが、原因菌 (*Brucella abortus*、*B. suis*、*B. melitensis* および *B. canis*) がヒトに感染して発症する。波状熱、マルタ熱、地中海熱などの名前でも呼ばれる。

(2) 臨床的特徴

略。潜伏期間は1~18週、通常2~8週との報告がある。臨床所見として比較的共通のものは脾腫、リンパ節 (とくに頸部、鼠径部リンパ節) の腫脹、関節の腫脹と痛みがあり、そのほかに20~50%の患者に、進行の時期によって泌尿器生殖器症状が現れる。以下、略。

(3) 届出基準

ア. 患者 (確定例)

医師は、(2)の臨床的特徴を有する者を診察した結果、症状や所見からブルセラ症が疑われ、かつ、以下の表の左欄に掲げる検査方法により、ブルセラ症患者と診断した場合は、法第12条第1項の規定による届出を直ちに行わなければならない。

この場合において、検査材料は、同欄に掲げる検査方法の区分ごとに、それぞれ下表の右欄に定めるもののいずれかを用いること。

イ. 無症状病原体保有者：以下、略。

ウ. 感染症死亡者の死体：以下、略。

エ. 感染症死亡疑いの死体：以下、略。

検査方法	検査材料
分離・同定による病原体の検出	血液、骨髄
試験管凝集反応による抗体の検出 (抗原がアボルタスの場合は40倍以上、カニスの場合は160倍以上の抗体価)	血清
補体結合反応による抗体の検出 (ベア血清による抗体価または抗体価の有意の上昇)	血清

間2万人を越えている⁴⁾。

B. canis は感染しにくい、感染しても発症しないことが多い、発症しても軽微であるといわれている。したがって、*B. canis* 感染者は、稀に文献的報告がみられるが、実際の感染者数など詳細については不明である。家畜ブルセラ菌感染症と同様に、犬ブルセラ症が認められる米国、中南米 (メキシコ、ペルー、アルゼンチン)、アジア (日本を含む)、ヨーロッパの一部 (ドイツ、スペイン、イタリアなど) に患者が存在すると思われる⁵⁾。

2 | 日本における発生状況

感染症法により指定された1999年4月1日以降、2008年6月30日現在までに、ブルセラ症患者10例が届け出られている (表2)⁶⁾。そのうち3例 (#2、4、6) は国外を推定

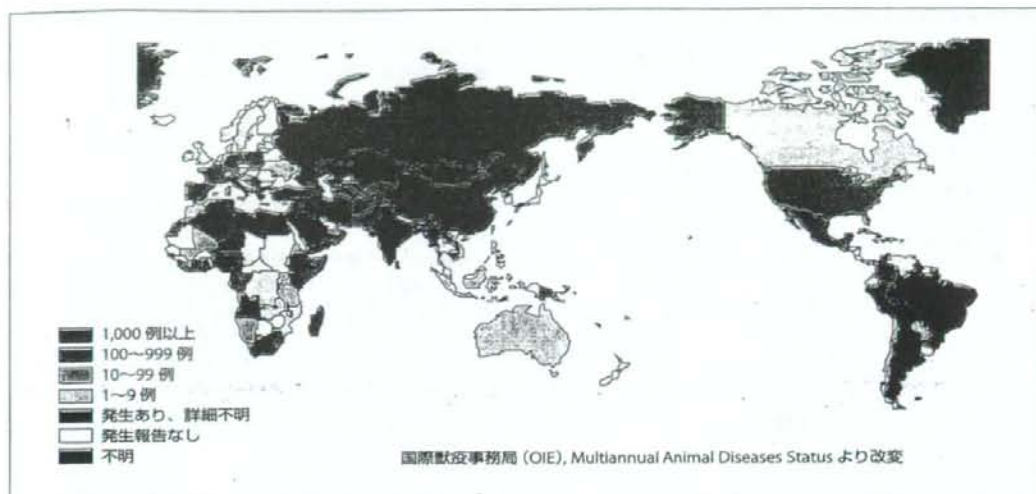


図1 世界におけるヒトブルセラ症の発生状況(2000～2004年)
中国、インド、ブラジルなど、OIEに報告されておらず、図中「不明」と表示されている国々でも、患者は発生している

表2 ブルセラ症の国内事例(感染症法指定後、1999.4.1～2008.6.30)

№	発病年月	診断年月	性	年齢	報告 都道府県	推定 感染地	推定 感染経路	症状	血清 抗体検査*	菌分離
1	—	2002.1	女	40代	東京都	不明	ペットの犬	発熱、食欲不振	BA-, BC+	(-)
2	2005.6	2005.6	女	30代	東京都	シリア	経口(羊肉)	発熱、皮疹、脾腫、腹部 リンパ節腫大、関節痛	BA+, BC+	<i>B. melitensis</i>
3	2005.10	2005.12	男	10代	長野県	国内(都道府県名情報なし)	不明	発熱、筋肉痛、腰痛	BA-, BC+	(-)
4	2006.2	2006.2	男	50代	東京都	エジプト	不明 (エアロゾル吸入扱い)	発熱、頭痛、肝脾腫	BA+, BC+	<i>B. melitensis</i>
5	2006.5	2006.6	女	20代	長野県	イタリア	不明	発熱、筋肉痛	BA-, BC+	(-)
6	2006.7	2006.7	女	20代	北海道	エジプト	経口(ミルク)	発熱、頭痛	BA+, BC-	<i>B. abortus</i>
7	2006.5	2006.9	女	60代	長野県	長野県	不明	発熱、脾腫	BA-, BC+	(-)
8	2006.9	2006.10	女	70代	宮城県	宮城県	不明	発熱、中枢神経症状	BA-, BC+	(-)
9	—	2007.4	—	—	大阪府	—	—	—	—	—
10	—	2008.6	—	—	埼玉県	—	飼い犬	—	—	—

* : 試験管内凝集反応。抗原として*B. abortus* (BA)または*B. canis* (BC)を使用。

** : 過去に2005.9にエジプトにて発症、治療。今回は再燃と思われる。

#1-8 : 病原微生物検出情報、国立感染症研究所、厚生労働省健康局、28(8) : 227-228、2007より

#9-10 : 感染症発生動向調査週報、国立感染症研究所、厚生労働省健康局他、9(17、18)、2007および10(25)、2008より

感染地域とした家畜ブルセラ菌感染であった。残りの7例のうち、国内を推定感染地域とする6例は*B. canis*感染であると考えられているが、犬が推定感染源として報告されているのは2例(#1、10)のみであり、残りの感染源は不明である。ただ、国内の3～5%程度の犬が抗体陽性であり、犬ブルセラ症は国内に定着している⁷⁾。



感染経路

ブルセラ菌は環境・食品中で長期間生残り、感染源となることが知られている(表3)³⁾。

*B. canis*感染犬は、外見上顕著な症状を示さないことが多

表3 環境・食品中でのブルセラ菌の生残期間

環境・食品	生残期間
直射日光下	4~5時間
土壌中(秋、水分90%)	2~3カ月
糞尿中(21~24℃、液状)	3~5カ月
流産胎子中(日陰)	6カ月
動物の飲水中	<4カ月
貯蔵庫の羊毛中	<4カ月
冷凍肉	数カ月
塩漬け肉	3カ月<
ミルク(71.1℃)	5~11秒
(38℃)	<9時間
(25~37℃)	24時間
(0℃)	18カ月
生クリーム(4℃)	6週
バター(8℃)	3~4カ月
ナチュラルチーズ	10~90日
(チェダーチーズ)	(180日)

J Travel Med, 11: 49-55, 2004ほかより改変

表4 ブルセラ菌の感染経路

B. canis 感染症:
1) 直接接合や吸入感染(流産時の汚物、死流産胎子、産分泌 物、尿、精液) -ハイリスク者: 獣医師、ブリーダー、犬取扱い・販売業者
2) 感染した犬に顔や目・口の周りを舐めさせる -飼い主における感染リスク
3) 検査室、実験室感染
家畜ブルセラ菌感染症:
1) 加熱不十分な乳・乳製品、食肉 - もっとも一般的
2) 直接接合(感染動物、流産時の汚物、死流産胎子) -ハイリスク者: 酪農家、と畜場従業員、獣医師
3) 吸入感染(毛皮、粉塵)
4) 検査室、実験室感染
5) ヒト-ヒト感染(性交、授乳) - 非常に稀

菌は流産時の汚物・死流産子・産分泌液などへ排出され、ヒトへの感染源となる。直接接触により手指に付着した菌の粘膜を介した感染や、エアロソルの吸入感染が主である。また、尿や精液も感染源となり得る³⁾。さらに、感染した犬に顔や目・口の周りを舐めさせ、それを手でぬぐい粘膜にこすりつけることにより感染することもある(表4)。これは、唾液中に菌が存在するという事実よりも、犬の顔や体に付着した菌によると考えられる。獣医師は、感染犬の去勢手術時には、とくに高い感染リスクを負うと考えられる。

家畜ブルセラ菌は、感染動物の加熱(殺菌)不十分な乳・チーズなど乳製品や肉の喫食による経口感染がもっとも一般的である。また、感染動物・流産時の汚物への直接接合、汚染エアロソルの吸入によっても感染する。ヒト-ヒト感染は、授乳や性交などによるが稀である(表4)¹⁻³⁾。

ブルセラ菌は、検査室・実験室感染事故の起こりやすい菌である⁸⁾。近年、安全キャビネットの使用により感染事故は減少したが、とくに菌の分離培養(増菌培養)時に感染リスクは高くなる。安全キャビネットを使用しない、培養液をこぼす、培養プレートの臭いをかく、などにより、エアロソ

ルを介して感染することが知られている。一般の動物病院では、安全キャビネットのないところが多いと思われるので、感染犬の血液、臓器などの検体を取り扱う際にはとくに注意が必要である。



症状

通常、潜伏期は1~3週間だが、時に数カ月間になることもある。

家畜ブルセラ菌感染時の主要な症状を表5に示した。軽症では風邪様だが、発熱や悪寒、関節痛・背筋痛など筋・骨格系の症状、倦怠感を示す。間欠熱、波状熱など特徴的な熱型を示すこともある。合併症として脊椎炎や脳炎を起こすこともあり、致死率は低いが死亡例の大半は心内膜炎による¹⁾。

家畜ブルセラ菌感染事例については、表2の#2、4の症例が病原微生物検出情報にそれぞれ報告されているので参照されたい^{9, 10)}。

ヒトは*B. canis*に抵抗性であり、一般的には感染しないとされる。感染しても発症しない、もしくは単に風邪様で気がつかないことが多いとされている。事実、2003年に静岡県、2006年に大阪府で犬繁殖施設における犬ブルセラ症の集団発生が報告されたが、飼育者・獣医師など、それぞれのケースに携わったヒトで感染者の報告はなかった。しかしながら、稀に家畜ブルセラ菌感染と同様の症状を示す場合がある。ブルセラ症の犬に接触歴があり、不明熱や倦怠感が続く時は、*B. canis*感染も疑われる。どのような感染症でも同様だが、免疫機能が低下(糖尿病、肝硬変など基礎疾患を持つ)、または未熟なヒト(乳幼児、高齢者、妊婦など)では、感染・発症のリスクは高い。

*B. canis*感染の国内事例については詳細な報告はない。そこで、海外の事例を紹介する。

1) 18歳齢、男。2週間の空咳、頭痛、下部背筋痛、発熱、悪寒、7kgに及ぶ体重減少で来院。理学的所見に異常はなし。39~40℃の発熱。アセトアミノフェンにより微熱は継続していたが退院。その後、血液培養よりアンピシリン感受性の細菌(後に*B. canis*と判明)が検出されたため、アンピシリンを処方された。約2週間後、38℃の発熱と、斑状発疹、結膜充血、咽頭紅斑、肝臓と脾臓の軽度の腫大が認められ、再度、血液培養から*B. canis*が分離された。*B. canis*に対する抗体も高値を示したため、テトラサイクリン(TC)を使用した。約1カ月後には抗体も低値(陰性)を示し、寛解した。

感染源に関する疫学調査を実施した結果、飼い犬が発

表5 ヒトブルセラ症の症状

急性型	風邪様(発熱、悪寒、倦怠感、関節痛、筋肉痛)。時に、脾腫、肝腫大。間欠熱。
限局型	心内膜炎、肺炎、骨髄炎、脾炎、精囊炎。死亡(致死率2%以下)原因の大半は心内膜炎。
慢性型	発症後、年余に及ぶ発熱の繰り返し(波状熱)や脱力感、疲労感。

表6 ブルセラ症の治療法

成人：2剤併用が基本(テトラサイクリン系+アミノグリコシド系/リファンピシン)	
推奨*	ドキシサイクリン ¹⁾ 100 mg × 2回/日、42日間 + ゲンタマイシン ²⁾ 5 mg/kg/日、7～10日間、静注/筋注またはストレプトマイシン ³⁾ 1 g × 1回/日、14～21日間、筋注
WHO*(1986)	ドキシサイクリン 100 mg × 2回/日、42日間 + リファンピシン ⁴⁾ 15 mg/kg (600～900 mg)/日、42日間
8歳未満の子ども、妊婦：基本はST合剤	
子ども(推奨*)	トリメトプリム(8 mg/kg)+スルファメトキサゾール(40 mg/kg) ⁵⁾ × 2回/日、6週間 + ストレプトマイシン(30 mg/kg)またはゲンタマイシン(5 mg/kg)またはリファンピシン
妊婦(推奨*)	トリメトプリム(8 mg/kg)+スルファメトキサゾール(40 mg/kg) × 2回/日、6週間 またはリファンピシン 15 mg/kg (600～900 mg)/日、少なくとも45日間以上
WHO*(1986)	リファンピシン 15 mg/kg (600～900 mg)/日、42日間

* : Brucellosis in humans and animals. WHO/CDS/EPR/2006.7 およびBMJ. 336: 701-4, 2008による推奨療法。

: WHO専門家委員会(1986年)による推奨療法。

1) : ビブラマイシン錠(ファイザー)、2) : ゲンタシン注(シエリング・ブラウ)、

3) : 硫酸ストレプトマイシン注射用(明治製薬)、4) : リマクタンカプセル(サント)、5) : パクタ錠・顆粒(塩野義) 等。

症の約1～2カ月前に流産していた。飼犬を含めて近隣の犬19頭を検査したところ、飼犬を含む2頭が抗体陽性で*B. canis*も分離され、さらに4頭が抗体陽性であった。近隣のほかの住民には抗体陽性者はいなかった¹¹⁾。

- 2) 31歳、男。3週間にわたる頭痛、咳、筋肉痛、関節の熱感と数カ月間にわたる寝汗により、近医を受診しエリスロマイシンなどの処方を受けたが、改善しないため転院した。理学的所見に著変はなかった。微熱と倦怠感に対して、21日間のTCの処方を受けた。その後も、*B. canis*に対する抗体が検出されていた。半年後に、TC+ストレプトマイシン(SM)の処置を受けた。

感染源については、飼犬に精巣肥大が認められ、*B. canis*に感染していることが明らかになった¹²⁾。

- 3) 15歳、男。口腔病変と40℃の発熱。ペニシリンを投与したが症状は増悪し、肝臓・脾臓の腫大、下顎リンパ節の腫大がみられた。血液培養より*B. canis*が検出されたため、ドキシサイクリン(DOXY)+リファンピシン(RFP)を用いて、寛解した。

患者の飼犬2頭は抗体陰性であった。しかし、野良犬1頭とも接触があり、これが感染源と疑われたが、捕まえられず検査はできなかった¹³⁾。

これら3つのケースは、患者から*B. canis*が分離され、また、感染源として犬も特定された稀なケースである。しかしながら、現実には、患者から*B. canis*が検出されることは非常に少ない。



治療と診断

ブルセラ症は、多くの場合慢性経過をたどり、有症状期(風邪様症状など)でもすでに抗体を保有していることが多い。また、検体からの菌の分離・培養は困難で、時間を要する。そのため、日常的な診断では多くの場合、血清診断として試

験管内凝集反応が行われる(表1)。smooth-LPSを持つ家畜ブルセラ菌に対する抗体の測定には、*B. abortus*の死菌体を用いるが、これではrough-LPSを持つ*B. canis*に対する抗体は検出できない。*B. canis*に対する抗体測定には、*B. canis*の死菌体を用いる。試験管内凝集反応用菌液は、*B. abortus*は農業・食品産業技術総合研究機構、*B. canis*は北里研究所より入手可能である。また、凝集反応による抗体の測定は、ヒト、犬ともに民間の臨床検査機関に検査依頼が可能である。

治療は、細胞内寄生性のため抗菌薬の長期間投与が必要である。また、治療が不十分な場合、再発の確率が非常に高い。

表6に抗菌薬による治療法を示した。1986年のWHO専門家委員会による、成人に対する推奨療法はDOXY+RFPであった¹⁴⁾。しかし、[Brucellosis in humans and animals. WHO/CDS/EPR/2006.7.]¹¹⁾ および最近報告されたブルセラ症に対する抗菌薬治療法の比較に関する論文¹⁵⁾では、RFPは血中からのDOXYのクリアランスを速めることや、腎椎炎などの合併症に対してDOXY+SMのほうが効果的であったことから、DOXY+SMを推奨している。また、ゲンタマイシン(GM)のほうが、SMよりも副作用が少ないとも言われる。ただ、実際の治療では、注射(GM/SM)ではなく経口(RFP)で行える利便性は、治療の継続を容易にするという観点からは無視できない点でもある。

ヒト用ワクチンは、家畜ブルセラ菌に対しては、かつて旧ソ連、中国、およびフランスにおいて弱毒生菌ワクチンやベブドグリカンワクチンが用いられたが、現在では用いられていない。*B. canis*に対するワクチンは、ヒト用、犬用ともない。



予防対策

人獣共通感染症対策には、一般的に、①病原体対策、②感染源動物対策、③伝播経路対策、④ヒトの感染抵抗性の増強、⑤国内への侵入阻止対策(国内にない感染症の場合)がある。