

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

エキゾチックアニマル・ワイルドアニマルの感染症のリスクとその対策

キンカジュウ由来回虫のリスク評価

研究協力者：宇根有美 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室  
共同研究者：平 健介 麻布大学獣医学部獣医学科寄生虫学研究室  
杉山 広 国立感染症研究所寄生動物部

研究要旨：キンカジュウはアライグマ科に属する動物であり、本邦でも近年、ペットとしての人気上昇し、輸入数が増加している。2011 年 5 月アメリカ疾病予防管理センターは、ペット用キンカジュウからのアライグマ回虫近縁の回虫検出を受け、人獣共通感染症としての警鐘を鳴らした。今回、都内動物病院に受診したペット用キンカジュウからアライグマ回虫近縁の回虫（以下、キンカジュウ回虫）が検出されたことから、国内展示施設で飼育されている動物およびペット用に輸入された動物を対象としてキンカジュウ回虫の侵淫状況を調査した。その結果、展示施設 7 施設の 19 頭、全頭において回虫寄生は認められなかった。しかし、このうちの 4 頭に、過去において、回虫寄生が確認され、投薬によりいずれも駆虫された。また、業者により輸入された個体とペットとして一般家庭で飼育されていた個体の合計 33 頭中の 6 頭に、回虫寄生が確認され、虫体断片の遺伝子検査によりキンカジュウ回虫と同定された。よって、公衆衛生上のリスクがあるとされる寄生虫が、輸入動物を介して国内に持ち込まれていることが明らかになった。今後は、本回虫の病原性を感染実験により明らかにし、人獣共通寄生虫病としてのキンカジュウ回虫の公衆衛生上のリスクを評価する必要がある。

A. 研究目的

キンカジュウ *Potos flavus* はアライグマ科に属する動物で、米国ではペットとして飼育されている。本邦でもテレビ放送で取り上げられ、近年、ペットとしての人気上昇し、輸入数が増加している。そのような状況下、2011 年 5 月アメリカ疾病予防管理センター (CDC) 発行の疫学週報 Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) が、

ペット用キンカジュウがアライグマ回虫 *Baylisascaris procyonis* の終宿主となりうることを報告し、さらに、キンカジュウがアライグマ回虫近縁の回虫（以下キンカジュウ回虫）を保有し、この寄生虫がアライグマ回虫と同等の激しい病原性を有し、人体感染すると大きな問題を引き起こす危険性があるとして警鐘を鳴らした。

2012 年、我々は、都内動物病院に受診し

たペット用キンカジュウからキンカジュウ回虫を検出したことから、国内における本虫の浸淫状況を把握することを目的として以下の調査を行った。i) 本邦におけるペット用キンカジュウより検出された回虫の遺伝子解析(種の同定)

ii) 国内展示施設およびペット用に輸入されたキンカジュウにおける回虫の侵淫状況併せて iii) として、キンカジュウ回虫感染リスクの対策を検討した。

## B. 材料と方法

i) ペット用キンカジュウより回収された回虫の同定と分子系統の解析(担当:平 健介)

感染動物のプロフィール: 一般人が 2010 年 1 月ペットショップから キンカジュウ(雌) 1 頭を購入した。2 月に主治医の臨床獣医師が糞便検査を実施したところ、回虫卵が検出されたため、ドロンタール錠(駆虫薬)を数回投与後 2 ヶ月以降虫卵は検出されなくなった。その後、2011 年 12 月に繁殖用に雄のキンカジュウを購入した。主治医が糞便検査を実施したところ、回虫卵と円虫卵が検出されたため、ドロンタール錠を投薬した。この投薬で排泄された回虫断片(10%ホルマリン液浸標本)を検査対象とした。虫体から DNA を抽出後、リボソーム DNA (以下、rDNA)・ITS2 領域を標的とするプライマー; F: LC1, R: HC2; (Yagi *et al.* 1999) を用いて、5.8SrDNA~ITS2 に至る rDNA の塩基配列を増幅した。得られた配列について、アライグマ回虫 ITS2 領域 (Accession No. AB051231, Sugiyama *et al.* (2000), base 1 to 344) との相同性を検討した。加えて、GenBank に登録されている

近縁種の配列を用いて、分子系統樹解析を実施した。

ii) キンカジュウ回虫の国内侵淫状況の把握

a) 国内展示施設のキンカジュウ回虫保有調査

日本動物園水族館協会(日動水)に、キンカジュウを飼育している日動水加盟園館への調査協力の仲介を依頼した(資料 1)。調査協力が得られた園館に、飼育下キンカジュウの個体情報および寄生虫調査に関するアンケートを送付して実態把握を行った(資料 2, 3)。併せて、現在飼育されているキンカジュウの糞便検査を実施した。

アンケート調査内容: 現在飼育しているキンカジュウについて、個体情報(年齢/飼育歴、性別、導入元)ならびに過去に実施した寄生虫検査の有無・結果・駆虫状況を調査した(担当:宇根有美)。

糞便検査内容: キンカジュウ糞便を直接法、飽和食塩液浮遊集卵法、AMSIII 法を用いて検査した(担当:杉山 広)。

b) 輸入キンカジュウの回虫保有調査

動物輸入業者とペットショップが取り扱うキンカジュウおよびペットとして一般家庭で飼育されているキンカジュウを対象として、個体情報(輸入時期、性別、寄生虫の感染履歴、駆虫の有無とその結果)の聴取(担当:宇根有美)、糞便検査を実施した。

糞便検査内容: 定量的浮遊法(浮遊液は砂糖水:比重 1.20、検出限界 EPG=50) および糞便 1g を用いた砂糖遠心浮遊法(定性法)にて、虫卵検査を行った(検査担当:平 健介)。

iii) キンカジュウ回虫感染リスクの対策

回虫寄生が認められたキンカジュウを飼育していた一般家庭に対して、主治医である臨床獣医師が、飼育経過、飼育環境・方法、

糞便の処理方法などについて聴取を行い、感染リスクの軽減対策を検討した。また、キンカジュール回虫卵陽性個体に対して駆虫実験を行った。

### C. 研究結果

#### i) ペット用キンカジュールより回収された回虫の同定結果

今回、キンカジュールから排泄された回虫由来の遺伝子配列は、アライグマ回虫の rDNA・ITS2 領域の配列と高い相同性を示した。近縁種との系統樹解析では、キンカジュール回虫は、アライグマ回虫に最も近縁であった(図 1, 2)。

#### ii) キンカジュール回虫の国内侵淫状況

##### a) 展示施設におけるキンカジュール回虫の保有状況

日動水加盟 9 園館にてキンカジュールが飼育されていたが、このうち 7 園館の協力を得ることができた。協力の得られた園館は、広島市安佐動物公園(南心司先生)、サンシャイン国際水族館(遠藤智子先生)、神戸市立王子動物園(花木久実子先生)、仙台市八木山動物公園(曾地千尋先生)、名古屋市東山動物園(中村 彰先生)、千葉市動物公園(中村 誠先生)、鹿児島県平川動物園(玉井勘次先生)である。( )は担当者

7 施設で 19 頭が飼育されており、その内訳は、雄 7 頭、雌 12 頭、輸入個体 6 頭、繁殖個体 13 頭であった。

糞便を用いた直接法あるいは AMSⅢ法による検査で、回虫卵が検出された動物はいなかった。なお、1 施設の 2 頭から条虫卵が検出された(表 2)。

アンケート調査では、現在、回虫寄生が認識されている個体はなかった。一方で、

過去の寄生虫検査で回虫卵・虫体の何れかが検出された動物が 3 園館に 4 頭いた(表 1)。これら 4 頭のうち 3 頭はガイアナで捕獲された野生個体であった。うち 1 頭から回収された回虫は、他の研究機関でアライグマ回虫と同定されていた。

##### b) 輸入キンカジュールの回虫保有状況

調査期間中(2011 年 12 月-2012 年 12 月)に、少なくとも 5 社の動物輸入業者あるいはペットショップが、33 頭のキンカジュールを取り扱っていることがわかった。うち 29 頭について聞き取り調査が実施できた。また、28 頭から糞便を採取し、寄生虫検査を実施した。その結果、5 頭から回虫卵が検出された(表 3)。なお、糞便検査は実施できなかった 2 頭にも、回虫感染の稟告があった。

キンカジュール輸出国及び現地業者が明らかかな 21 頭について詳細に検討したところ、これらの動物は 3 回に分けて輸入されていた。2012 年 5 月の輸入分および 7・8 月の輸入分は同一の現地業者が取り扱ったもので、回虫卵は検出されなかった。12 月分は別の業者が取り扱った 10 頭で、この中の 4 頭から回虫卵が検出された。この結果から、キンカジュールの捕獲場所および係留地などの違いによって感染状況が異なる可能性が指摘された。

##### iii) キンカジュール回虫への対策

回虫寄生が認められたキンカジュールを飼育していた一般家庭に対して、主治医である臨床獣医師が聞き取り調査を行った結果、以下の事実がわかった。すなわち、この家庭では、2010 年 1 月から 1 頭、2011 年 12 月から 1 頭、計 2 頭のキンカジュールを飼育していた。2 頭ともに、購入後数か月以内

に実施した糞便検査で回虫卵が確認されていた。飼育者宅ではキンカジューをリビングで飼育しており、家族構成としては夫婦、小学校低学年子供2人の4人家族であった。また、糞便は肥料として自宅の庭に散布していた。これらのことから、小児へのキンカジュー回虫の感染リスクを危惧し、臨床獣医師が飼育場所を変更、回虫卵の排出がなくなるまで子供との接触を最低限に留めるよう指示した。また、駆虫を厳重に行い、継続して糞便検査を行い、完全駆虫に心掛けた。また、糞便を肥料として庭に散布していたため、土壌を回収して煮沸消毒した。さらに、家族4人に健康管理のために、東京都立墨東病院 (<http://www.bokutoh-hp.metro.tokyo.jp/>) を紹介、受診してもらい、異常がないことを確認した。

キンカジュー回虫駆虫実験：表3のNo. 24-28, 30, 31の7頭に対して、ドロンタープラス錠(バイエル薬品)を経口投与して、経過観察中である。

#### D. 考察

北米原産のアライグマにポピュラーな寄生虫「アライグマ回虫 (*Baylisascaris procyonis*)」は、アライグマ以外の動物に致死的な中枢神経障害を起こす幼虫移行症を生じる。北米では人体感染例が報告され、人獣共通寄生虫病として重要視されている。わが国にも北米から移入されたアライグマが多数生息するが、今のところ野生化した動物からアライグマ回虫は検出されていない。

今回、一般家庭でペットとして飼育されていたキンカジューより回虫が検出された。

本寄生虫は遺伝子解析の結果、アライグマ回虫ではなく、その近縁種であることが分かった。国内においても、ペット用キンカジューが流通しており、展示施設でも飼育されていることから、本回虫の感染実態の把握を目的として、展示施設飼育下、ペット用に輸入されたキンカジューを対象とする糞便検査を実施した。結果として、一部の展示施設飼育下動物に、回虫感染の既往が明らかとなり、いずれも野生捕獲した輸入個体であった。また、ペット用キンカジューの調査では、5個体からキンカジュー回虫卵が検出され、輸入個体からのヒトへの回虫感染のリスクが明らかとなった。

今後は、本回虫の感染個体の糞便から虫卵を採取し、マウス・ラットなどを用いた実験感染により病原性を検討する予定である。併せて、動物の輸出国、野生捕獲/繁殖と回虫感染状況を明らかにする必要があると考える。

謝辞 情報および検体の提供に、ご協力いただいた7園館の関係者の方々、株式会社ペットサン 乾隆宗氏に深謝いたします。

#### E. 参考文献

1) Raccoon Roundworms in Pet Kinkajous - Three States, 1999 and 2010. MMWR. March 18, 2011;60(10):302-305.

#### G. 健康危機管理情報

なし

#### H. 研究発表等

学会発表

なし

図1. キンカジューから得られた虫体(4LC1 Kinkajyu a)の ITS2 領域 rDNA 塩基配列とアライグマ回虫 ITS2 領域(Accession No. AB571301, Sugiyama et al. (2000), base 1 to 344)の配列との相同性.

```
>gi|11231166|dbj|AB051231.1| Baylisascaris procyonis gene for ITS2
Length=344

Score = 417 bits (217), Expect = 2e-113
Identities = 317/362 (88%), Gaps = 22/362 (6%)
Strand=Plus/Plus

Query 1 ATATCGTAAGAATTGCCATTTATGAATTTTCAATATGGCATATTCGATAAGCTATGGTGG 60
      |||
Sbjct 1 ATATCGTAAGAGTTGCCATTTATGAATTTTCAACATGGCATATCCGATAAGCTATGATGG 60

Query 61 TAGACGAATAAAAAGAAGTACTATCGIACCTTCTTCAGCATATATGATGCAATAACTCGTT 120
      |||
Sbjct 61 TAGACGAATAAAAAGAAGTACTATCATACTTCTTCAGCATATATGATGCAATAACTCGTT 120

Query 121 CTCATTTGCTTCGACGAGCTCagagagagagagagagagagagagagaaagagaaagaaagaaa 180
      |||
Sbjct 121 CTCATTTCTTCAATGAGAT-----GAGAGAGAGAGAGAGAGA----- 158

Query 181 gaaagagaaagaaTATATGCATCAAGAAATTATCGTGTCTCTCTTAAAAATCGATTCGG 240
      |||
Sbjct 159 GAAAGAGAAAGAATATATGCATCAAGAAATTATCGTGTCTCTTAAAAAGTCGATTCAG 218

Query 241 CGTATATTGTTATGGATCTAGCAATATGCCATATGTGGAAAGAAAGATAGGAGATAGTGA 300
      |||
Sbjct 219 CGTATATTGTTATGGATCTAGCAATATGCCATAGTTGGAAAGAAAGATAGGCGATAATGA 278

Query 301 TGCATATAAGGGATTTTTTGACCTCCTCTCACTCGTGAATACCCGCTGAACTTAAATATA 360
      |||
Sbjct 279 TGCATATAAAGGATTTTTTGACCTCAGTCAGTCGTGAATACCCGCTGAATTTAAGCATA 338

Query 361 TA 362
      ||
Sbjct 339 TA 340
```

図2. キンカジューから得られた回虫(2虫体)と Genbank に登録されている近縁種(学名に続く英数字は Accession Numbers)についての系統樹図(ITS2rDNA 配列をもとに作成. UPGMA tree)

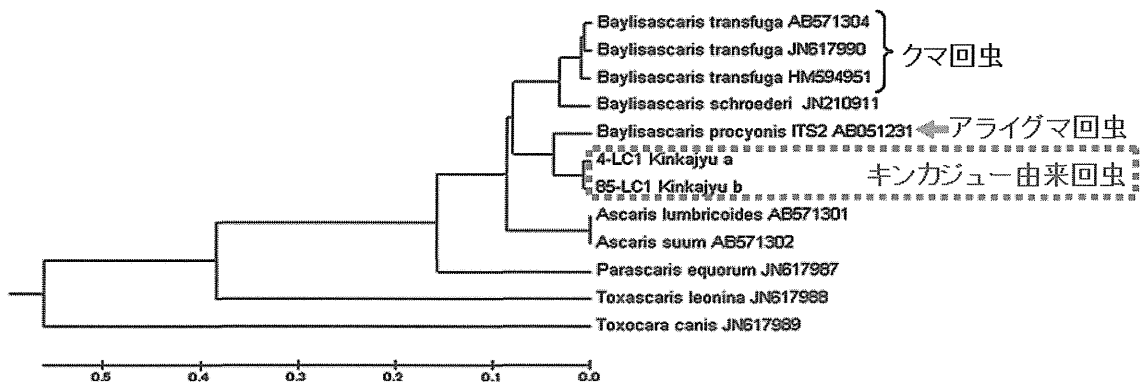


表1 展示施設飼育下キンカジューにおける寄生虫感染状況

表1 展示施設飼育下キンカジューにおける寄生虫感染状況															
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
千葉			王子				安佐		池袋			平川			
6	12	14	15	葉月 000620357F	チビ0006216517	モミジ 000671338E	ジル増票 No.19574	キンタロウ増票 No.19575	のりまき	キヨロ00- 0637F90D	あられ	ガイア	キン	カリン	
♀	♀	♂	♂	♀	♂	♀	♀	♂	♂	♀	♀	♂	♀	♀	
成体	4才	2才	1才	13	8	2	2	老齢	6	1	12歳以上	12歳以上	11ヶ月		
1999以前	2007/11/20	2009/12/4	2010/9/27	1998.8.1	2003.9.4	2005.2.26	2009/10/21	2009/11/21	2004年9月輸入 野生個体	2005/11/28	2011/2/17	不明	不明	2011/8/7	
WC	CB	CB	CB	CB	CB	CB	CB	CB	WC	CB	CB	WC	WC	CB	
	千葉	千葉	千葉	宝塚動物公園(?)	平川動物公園	名古屋市生まれ 動物園生まれかどうか不明	鹿児島市平川動物公園	名古屋市東山動植物公園	(有竹鳥獣店)	千葉市動物園	サンシャイン水族館	-	-	平川動物公園	
												Guyna	Guyna	-	
ガイアナ									ガイアナ			Guyna	Guyna	-	
2002/3/13	2007/11/20	2009/12/4	2010/9/27	2005.7.12	2006.1.27	2008.1.25	2011/11/21	2011/11/29	2005/3/12	2010/9/2		2012/10/9	2012/10/9	-	
2002/3/15	2011/1/6(群)	2011/1/6(群)	2011/1/6(群)	2005.7.12	2006.1.27	2008.1.25	2011/12/3	2011/12/3	2012/2/6	2012/2/26	2012/3/4	2010/5/14	2010/5/14	検査歴なし	
無	無	無	無	有 (吸虫、線虫)	有 (糞線虫?多数)	無	無	無	有 (条虫卵)	無 ( )	有 (条虫卵)	有・〇無 ( )	有・〇無 ( )	有・無 ( )	
				トロンタル投与 結果不明	フルモキリール投与、1週間 後卵数は少数に減少。							群単位で検査	群単位で検査		
2002/3/22	2012/2/10(群)	2012/2/10(群)	2012/2/10(群)	2005.10.20	2008.3.24	2008.3.24	2012/2/5	2012/2/5	有・無 ( )	有 (条虫卵(少 ))	有・無 ( )	有・〇無 ( )	有・〇無 ( )	有・無 ( )	
					イベルメクチン投与 結果不明	イベルメクチン投与 結果不明						群単位で検査	群単位で検査		
2011/1/6(群)				2005.12.19					2005年			2010/2/8	2010/2/8		
無	有・無 ( )	有・無 ( )	有・無 ( )	無	有・無 ( )	有・無 ( )	有・無 ( )	有・無 ( )	有 (アライグマ 回虫卵・虫体 )	有・無 ( )	有・無 ( )	有・〇無 ( )	有・〇無 ( )	有・無 ( )	
									駆虫			群単位で検査	群単位で検査		
2012/2/10(群)				2006.2.4								2009/12/1,11	2009/12/1,11		
無	有・無 ( )	有・無 ( )	有・無 ( )	無	有・無 ( )	有・無 ( )	有・無 ( )	有・無 ( )	有・無 ( )	有・無 ( )	有・無 ( )	〇有・無 (糞線虫様卵)	〇有・無 (糞線虫様卵)	有・無 ( )	
												群単位で検査。イベルメクチン投与により12/11に陰転確認。以後、月1回の投与を4ヶ月実施。	群単位で検査。イベルメクチン投与により12/11に陰転確認。以後、月1回の投与を4ヶ月実施。		
				2012.2.7						1	2	3	2008/6/3	2008/5/19	
				無	有・無 ( )	有・無 ( )							有・〇無 ( )	〇有・無 (糞線虫様卵)	有・無 ( )
													極めて多量に検出。5/29にイベルメクチン投与。6/3群単位の検査で陰転。		
												2006/1/30	2006/1/30	有・無 ( )	
												〇有・無 (糞線虫様卵)	〇有・無 (糞線虫様卵)		
												群単位で検査。フルベンドゾール4日間投与。陰転未確認。	群単位で検査。フルベンドゾール4日間投与。陰転未確認。		

表2 展示施設におけるキンカジュール回虫保有状況

検体番号	施設	名前	雌雄	重量(g)	結果	
					直接	AMSⅢ
1	広島市安佐動物公園	ジル	♀	1.9	陰性	陰性
2		キンタロウ	♂	2.2	陰性	陰性
3	サンシャイン国際水族館	のりまき	♂	7.5	条虫卵	条虫卵
4		キョロ	♀	11.5	陰性	陰性
5		あられ	♀	6.4	陰性	条虫卵
6	神戸市立王子動物園	葉月	♀	0.9	陰性	陰性
7		チビ	♂	1.3	陰性	陰性
8		モミジ	♀	0.6	陰性	陰性
9	仙台市八木山動物公園	(なし)	♀	3.8	陰性	陰性
10	名古屋市東山動物園	コガネ	♂	0.7	陰性	陰性
11		ハナ	♀	1.6	陰性	陰性
12		ウメ	♀	1.1	陰性	陰性
13	千葉市動物公園	(なし6)	♀	2.6	陰性	陰性
14		(なし12)	♀	3.6	陰性	陰性
15		(なし14)	♂	3.7	陰性	陰性
16		(なし15)	♂	4.2	陰性	陰性
17	鹿児島県平川動物園	ガイア	♂		陰性	陰性
18		キン	♀		陰性	陰性
19		カリン	♀		陰性	陰性

番号	業者	輸入時期	性別	年齢	転機	結果		由来
						直接	駆虫	
1	B業者(町田)	2010年1月?	♀		販売(東京)	回虫卵・回虫陽性	実施陰性	輸入
2	B業者(町田)	2011年12月	♂		販売(東京)	回虫卵・回虫・鉤虫陽性	実施鉤虫陽性	輸入
3	B業者(町田)	2011年12月			販売	ND	不明	輸入
4	B業者(町田)	2011年12月			販売	ND	不明	輸入
5	B業者(町田)	2011年12月			販売	ND	不明	輸入
6	A業者(東京)	2011年10月	まり		維持	円虫卵3700EPG(糞便1gあたりの虫卵数)	不明	輸入
7	A業者(東京)	2011年10月	まり		維持	円虫卵3800EPG	不明	輸入
8	A業者(東京)	2011年10月	きり		維持	陰性	不明	輸入
9	C業者(大阪)	2012年5月27日	♂	3歳前後	維持	円虫卵 <100EPG	実施	ガイアナ(野生)
10	C業者(大阪)	2012年5月27日	♀	3歳前後	死亡	円虫卵 <100EPG	ND	ガイアナ(野生)
11	C業者(大阪)	2012年5月27日	♀	3歳前後	維持	円虫卵 600EPG	実施	ガイアナ(野生)
12	C業者(大阪)	2012年5月27日	♀	3歳前後	維持	円虫卵 400EPG、コクシジウムオーシスト<100OPG	実施	ガイアナ(野生)
13	C業者(大阪)	2012年5月27日	♀	3歳前後	維持	円虫卵 200EPG	実施	ガイアナ(野生)
14	D業者(静岡)	2012年5月27日	♀	3歳前後	維持	陰性	不明	ガイアナ(野生)
15	D業者(静岡)	2012年5月27日	♂	3歳前後	維持	陰性	不明	ガイアナ(野生)
16	C業者(大阪)	2012年7月24日	♀	3歳前後	維持	円虫卵 250EPG	実施	ガイアナ(野生)
17	C業者(大阪)	2012年7月29日	♂	3歳前後	維持	円虫卵 150EPG	実施	ガイアナ(野生)
18	C業者(大阪)	2012年7月29日	♀	3歳前後	維持	円虫卵 2150EPG	実施	ガイアナ(野生)
19	C業者(大阪)	2012年8月24日	♂	3歳前後	維持	円虫卵 5200EPG	実施	ガイアナ(野生)
20	C業者(大阪)	2012年8月24日	♀	3歳前後	維持	円虫卵 2800EPG	実施	ガイアナ(野生)
21	C業者(大阪)	2012年8月24日	♂	3歳前後	維持	円虫卵 450EPG	実施	ガイアナ(野生)
22	E業者(静岡)	不明	♀	不明	販売	検査ND、情報なし		不明
23	E業者(静岡)	不明	♀	不明	維持	回虫がいたらしい、コクシジウムオーシスト	実施陰性	不明
24	C業者(大阪)	2012年12月21日	♂	1-3歳	維持	円虫卵1600EPG	実施中	ガイアナ(野生)
25	C業者(大阪)	2012年12月21日	♂	1-3歳	維持	円虫卵2600EPG	実施中	ガイアナ(野生)
26	C業者(大阪)	2012年12月21日	♂	1-3歳	維持	回虫卵1500、円虫卵2300EPG	実施中	ガイアナ(野生)
27	C業者(大阪)	2012年12月21日	♀	1-3歳	維持	回虫卵400、円虫卵600EPG	実施中	ガイアナ(野生)
28	C業者(大阪)	2012年12月21日	♂	1-3歳	維持	円虫卵300EPG	実施中	ガイアナ(野生)
29	C業者(大阪)	2012年12月21日	♀	1-3歳	維持	回虫卵8900、円虫卵8600		ガイアナ(野生)
30	C業者(大阪)	2012年12月21日	♀	1-3歳	維持	陰性	実施中	ガイアナ(野生)
31	C業者(大阪)	2012年12月21日	♀	1-3歳	維持	陰性	実施中	ガイアナ(野生)
32	C業者(大阪)	2012年12月21日	♀	1-3歳	維持	回虫卵15300、円虫卵500EPG		ガイアナ(野生)
33	C業者(大阪)	2012年12月21日	♀	2か月齢	販売	糞量不足で判定不能		ガイアナ(繁殖?)



平成 24 年 1 月 31 日

日本動物園水族館協会会長  
山本茂行 殿

厚生労働科学研究・新型新フルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
「動物由来感染症のリスク分析手法等に基づくリスク管理のあり方に関する研究」班  
研究代表者 北里大学獣医学部教授 吉川泰弘 印

### キンカジュール回虫に関する糞便検査等に関する依頼

拝啓

例年になく厳しい寒さの日が続いております。貴会の活動におかれましては益々ご隆盛のこととお慶び申し上げます。

さて、本研究班では動物由来感染症の統御のための研究を続けておりますが、昨年の MMWR (Morbidity and Mortality Weekly Report 60, 302, 2011) に、キンカジュールに寄生する回虫のリスク及び米国での疫学調査の結果が報告されました。

御存じのようにキンカジュールはアライグマに近く、またキンカジュールに寄生する回虫もアライグマ回虫に非常に近いため、ヒトへのリスクを把握する必要があります。

本研究班では、従来より、アライグマ回虫の調査を進めてきている一方、最近キンカジュールはペットとしての人気も高くなり、輸入も増えてきていることもあり、厚生労働省と相談の上、キンカジュール回虫の現状を把握する必要性を認識し、貴会に調査への協力を依頼するものです。

本研究班としては、回虫汚染の有無、汚染がある場合の有効な駆除方法の確立・検証、安全管理法、ヒトへの感染リスク等について検討したいと考えております。上記文献によりますと、犬も終宿主になるということで、場合によっては土壤汚染についても配慮する必要があるかと考えています。

貴会にご協力いただきたい点は、具体的には、キンカジュールの飼育状況を把握するため、飼育頭数、駆虫歴や糞便検査歴等のアンケートにお答えいただく事と、飼育個体の検査のための糞便検体の提供等です。検査結果の公表につきましては、風評被害等を考慮し、十分な科学的リスク評価を行い、また貴会と公表内容・時期等を十分協議した上で行いたいと考えています。なお、ペット動物として輸入された個体に関しても出来るだけ調査を進める予定です。

ご支援、ご協力をよろしくお願い申し上げます。

敬具

## キンカジャー回虫調査要領

キンカジャー由来回虫の国内浸淫状況の把握と公衆衛生上のリスク評価のための調査にご協力いただき、ありがとうございます。調査内容は以下の通りです。

### 1 キンカジャー飼育状況等に関するアンケート

#### 【アンケート用紙1】施設での飼育状況の概要

飼育開始時期とその時の個体数、過去5年間の飼育頭数（当該年末現在、2012年は1月末現在）、確認された寄生虫に関する情報の概要（確認寄生虫名、対応の概要）の記入をお願いします。

#### 【アンケート用紙2】飼育個体の情報

現在の飼育個体の情報について、わかる範囲で記入をお願いします。

##### 1. 個体識別情報

- ① 愛称。なければ、無記名で結構です。
- ② マイクロチップ番号又は園館で使用している個体番号

##### 2. 年齢等

正確な年齢が不明な場合、単に「不明」とするのではなく、推定年齢（満年齢）あるいは、若齢／成体／老齢などを併記願います。

##### 3. 由来

- ① 国内繁殖（CB）、国外繁殖（FB）又は野生捕獲（WC）の別
- ② 出生地等（国内繁殖の場合、繁殖園館名など、国外繁殖の場合は繁殖施設名などと出生国、野生捕獲の場合、輸出国と原産国（同じであれば国名1つ）
- ③ 来園年月日

##### 4. 寄生虫既往歴

検査時期毎にまとめて記載ください。（例：年1回の定期検診での検査を3回実施の場合、検査1～検査3の欄で記載。個別の処置、確認検査等については、処置及び結果にその内容を記載。）

寄生虫既往歴がさらに複数ある場合は、欄を増やして随時記入ください。

ご回答いただいたアンケート用紙1及びアンケート用紙2については、メールで下記に登録願います。（メール不可の場合は、下記連絡先までFAXでお願いします）

#### アンケート回答の連絡先：

麻布大学獣医学部病理学研究室 宇根 有美  
住所：252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺 1-17-71  
電話(FAX 兼用)： 042-769-1628  
E-mail [une@azabu-u.ac.jp](mailto:une@azabu-u.ac.jp)

### 2 キンカジャー回虫検査

#### (1) 採取検体

糞便：各個体につき、1検体（小指の先程度。数g）を採取、検体別に15mLの遠心管（プラスチックチューブ）1本に入れる。

遠心管には、検体番号及び採取年月日を記入する。検体番号は、アンケート用紙2に記載し、個体の情報と検体が確実に一致するよう注意する。

## (2) 検体の保存方法

採取した検体（糞便）は、輸送までの間、冷所（室内で可、冷蔵庫[4℃]でも良い）で保存する。

## (3) 検体の発送

各施設の検体は一括して、必要事項を記載した検体送付状（アンケート用紙2の写し）と共に、依頼者側から送付する検体発送容器に所定の要領で梱包し、採取後速やかに下記送付先に適切な方法で発送する。

なお、お手数ですが検体の採取前に、下記送付先に連絡し、具体的な送付要領を確認して下さい。

## (4) 検査結果の還元

検査結果については、検査終了後、速やかに検体提供者に還元する。

なお、結果については、必要に応じて、研究班の関係者及び厚生労働省の担当者にも提供することがある。

## (5) 検査結果の取扱い

検査結果の公表については、風評被害等を考慮し、十分な科学的リスク評価を行い、また、(社)日本動物園水族館会と公表内容・時期等を十分協議した上で行う。

### 検査検体の送付先：

国立感染症研究所寄生動物部 杉山 広

住所：162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1

電話： 03-5285-1111

E-mail hsugi@nih.go.jp

キンカジュー回虫調査 アンケート用紙 1

飼育園館名：

回答日：2012年 月 日

記入者：

年	飼育頭数		寄生虫確認 の有無	確認された寄生虫に関する情報／備考
	雄	雌		
※			有・無	
2008			有・無	
2009			有・無	
2010			有・無	
2011			有・無	
2012			有・無	

※飼育開始時の年を記入

キンカジュー回虫調査 アンケート用紙 2

飼育園館名:

回答日: 2012年 月 日

記入者:

1. 個体 識別情報	愛称						
	ID No.(チップNo.)						
2. 年齢 等	性別						
	年齢						
	生年月日						
3. 由来	国内繁殖・野生捕獲の別	CB/FB/WC	CB/FB/WC	CB/FB/WC	CB/FB/WC	CB/FB/WC	
	出生地 等	繁殖園館(施設)名					
		輸出国					
		原産国(出生国)					
来園年月日							
4. 寄生虫 既往歴	検査1	検査時期					
		検出の有無 (有の場合寄生虫名)	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )
		処置及び結果					
	検査2	検査時期					
		検出の有無 (有の場合寄生虫名)	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )
		処置及び結果					
	検査3	検査時期					
		検出の有無 (有の場合寄生虫名)	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )
		処置及び結果					
	検査4	検査時期					
		検出の有無 (有の場合寄生虫名)	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )	( 有 ・ 無 )
		処置及び結果					
検体番号							

4の項目については、複数回の既往歴がある場合、随時記入欄を増やして記入

海外翼手類における病原体の生態に関する研究、  
危機管理の必要な動物由来感染症への緊急対応

国立感染症研究所：新井 智

分担研究報告書

海外翼手類における病原体の生態に関する研究、危機管理の必要な動物由来感染症への緊急対応

研究分担者 吉川泰弘(千葉科学大学・危機管理学部・動物危機管理学科、人獣共通感染症)

研究協力者 新井 智、荒木和子、佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳(国立感染症研究所 感染症情報センター)、福井 大(和歌山大学地域創造支援機構)、大館智志(北海道大学低温科学研究所)、森川茂(国立感染症研究所 獣医科学部)

要約

2012年にアフリカ大陸の翼手目に新しいハンタウイルスが明らかになり、ハンタウイルスの自然宿主はこれまで考えられてきた以上に多様な宿主が存在していることが明らかになってきた。そこで、アジア地域の翼種目にもアフリカ大陸で確認された新しいハンタウイルスが感染しているか調査を行った。その結果、フィリピンおよびモンゴルの翼種目には感染は見られなかったが、ベトナムの翼種目に新しいハンタウイルスの遺伝子断片を検出した。これらの結果は、翼種目がハンタウイルスの自然宿主である可能性を示唆していた。

A 目的

翼種目は狂犬病やヘンドラウイルスなど多くの感染症の自然宿主となっていることが知られている。近年では、ヒトの麻疹ウイルスなどが含まれるモルビリウイルスの起源が翼種目に由来する可能性があるとする報告もあり、未知の感染症の宿主として翼種目が注目されている。また、2012年には、これまで齧歯目やトガリネズミ形目のウイルスと考えられてきたハンタウイルスがアフリカ大陸の翼種目から検出され、翼種目がこれまで考えられてきた以上に多くの感染症の自然宿主になっている可能性が示唆されている。

一方ハンタウイルスは、近隣国では中国で毎年数万人規模、韓国でも数百人規模の患者発生が確認されており、海外から日本に侵入してくる可能性も否定できない感染

症で、継続した対策の必要な感染症の一つである。そこで、ユーラシア大陸の翼種目にこれら新しいハンタウイルスが存在するか、実際にフィリピン、モンゴル、ベトナムの翼種目検体を入手し、感染の有無を調査した。また、これら翼種目の未知の感染症のデータを蓄積することにより、新しい感染症に対する効果的な予防法につながる基礎資料の収集を進めた。

B 研究方法

翼種目の未知の感染症の検索には、フィリピン、モンゴルおよびベトナムで捕獲した翼手目を用いた。捕獲した翼手目の組織サンプルから total RNA を抽出し、Reverse transcription を行い、ハンタウイルス共通領域に PCR プライマーをデザインしてウイルス RNA の

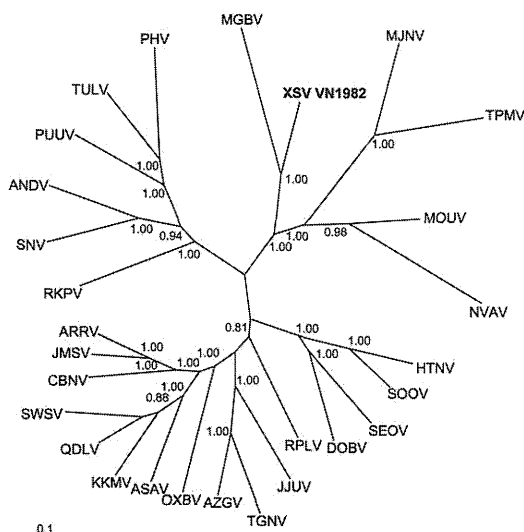
直接検出を行った。種の同定は、形態学的な同定に加え、宿主 Cytochrome-b (Cyt-b) 遺伝子配列を基に決定した。

### C 研究成果

- ① 調査対象の種同定は、形態学的に分類したのち Cyt-b 遺伝子配列を決定して遺伝学的にも検証した後に総合的に決定した。本年の調査には、2010年にフィリピンで捕獲した156頭、モンゴルで2011年に捕獲した18頭、2012年にベトナムで捕獲した32頭の合計206頭を対象にした。156頭のフィリピンで捕獲した翼手目は、*Rhinolophus rufus* 4頭、*Rhinolophus* sp. 2頭、*Emballonura alecto* 9頭、*Haplonycteris fischeri* 6頭、*Macroglossus minimus* 2頭、*Ptenochirus jagori* 46頭、*Rousettus amplexicaudatus* 6頭、*Cynopterus brachyotis* 81頭であった。モンゴルの翼種目は、*Plecotus ognevi* 18頭であった。ベトナムの翼種目は *Aselliscus stoliczkanus* 2頭、*Cynopterus sphinx* 4頭、*Hipposideros larvatus* 3頭、*Hipposideros pomona* 5頭、*Hipposideros* sp. 1頭、*Murina tubinaris* (*Murina* cf. *cyclotis*) 1頭、*Murina eleryi* 1頭、*Myotis siligorensis* 4頭、*Rhinolophus pearsonii* 2頭、*Rhinolophus pusillus* 2頭、*Rhinolophus sinicus* 7頭であった。上記翼種目についてハンタウイルス共通領域にデザインしたプライマーで RT-PCR 法によりハンタウイルス感染について検索したところ、フィリピンおよびモンゴルの翼種目については特異配列の増幅は認められず感染は確認できなかった。一方、ベトナムの翼種目については、*Hipposideros pomona* の1頭に特異的な

遺伝子増幅が認められ、シーケンスの結果からハンタウイルスの遺伝子であることが明らかになった。検出された新しいハンタウイルスは系統解析の結果、アフリカ大陸、シオラレオネの翼手目に検出された Magboi virus (MGBV) に最も近縁で、コートジボアールの翼手目から検出された Mouyassué virus (MOUV) にも近いウイルスであった(図1)。

図1



### D 考察

これまでの日本のハンタウイルス感染は、港湾地区のドブネズミに Soul virus の感染が確認されており、北海道のエゾヤチネズミに Hokkaido virus (HKDV)、また2008年に三重県のトガリネズミ科動物のヒミズに Asama virus が確認されている。近年、齧歯目のハンタウイルスだけでなく、トガリネズミ科やモグラ科動物に相次いで新しいハンタウイルスが検出され、2012年にはアフリカ大陸の翼種目にも新しいハンタウイルス感染が確認された。今回我々の調査でもベトナムの翼種目に新しいハンタウイルス感染を確認し、これまで考えられてきた以



上に多様な宿主がハンタウイルスに感染している事実が明らかになってきた。今回感染の明らかになった *Hipposideros pomona* は、東南アジア地域を中心に、インド、ネパール、ミャンマー、中国南部、タイ、ラオス、ベトナム、カンボジア、マレーシア西部とアジア地域に広く生息し、標高差も 10–1400 m の間で報告されている。このような広い地域に生息している翼種目がハンタウイルスに感染していた事実は、ヒトへの病原性如何に関わらず、ヒト感染のリスクが疑われる。今後、ヒト感染が引き起こされた場合を想定し、病原性の有無を明らかにしていく必要がある。また、迅速な診断系の確立は、アウトブレイク対策の基本であり、効率よく感染者と非感染者を区別する手段の基礎となる技術である。ウイルス遺伝子の検出方法だけでなく、抗体検査法など過去の感染についても評価可能な検査法の確立を目指す必要がある。

#### E 結論

- ① フィリピン、モンゴル、ベトナムの翼種目について、未知のウイルス性感染症の検索を行った。
- ② ベトナムで捕獲した翼種目から、新しいハンタウイルス遺伝子断片を検出し、翼種目がハンタウイルスに感染している事実を明らかにした。
- ③ 検出されたハンタウイルスは、系統解析の結果からアフリカ大陸の翼手目から検出されたハンタウイルスと近縁であり、齧歯目のハンタウイルスとは異なるクラスターに属していた。

#### F 健康危機管理情報

なし

#### G 研究発表

① 論文発表：なし

② 学会発表：なし

#### H 知的所有権の出願・登録状況

なし

「リッサウイルスの診断法確率に関する研究」

「わが国で狂犬病を発症したイヌが認められた場合の  
危機管理に対応に関する研究」

国立感染症研究所：井上 智

厚生労働科学研究費補助金（インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

（総括 **分担**）研究報告書

## 動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究

### リッサウイルスの診断法確立に関する研究

研究分担者： 井上 智 国立感染症研究所・獣医科学部

研究協力者： 佐藤 豪 日本大学・獣医微生物学研究室

野口 章 国立感染症研究所・獣医科学部

Bazartseren Boldbaatar モンゴル IVM・ウイルス部

朴 天鎬 北里大学・獣医病理学研究室

杉山 広 国立感染症研究所・寄生虫部

研究要旨：リッサウイルスは専門家がリストアップした主要な動物由来感染症の重要度序列上位20位に含まれ、早急にリスク管理対策が必要な感染症病原体と報告されている。本研究ではリッサウイルス感染症のリスクプロファイルを再検討・検証してリスク回避・危機管理法を確立するために、病原体サーベイランスに必要な当該ウイルスの検出法確立を行った。リッサウイルスは、モノネガウイルス目・ラブドウイルス科のリッサウイルス属に分類され、ラブドウイルスの網羅的検出・鑑別を可能にすれば、リッサウイルスの病原体プロファイルを正確に検証することが可能になる。そこで、データベース上のラブドウイルス塩基配列を利用して、ラブドウイルス検出用に設計された PCR プライマー (Bourhy, 2005) を基にリッサウイルス検出と近隣ウイルスとの鑑別が可能な PCR プライマーを検討した。In silico によるウイルスゲノムの配列解析と手持ちのリッサウイルス株を利用した PCR 増幅を行い、リッサウイルス属に分類される狂犬病ウイルス (RABV) 野外株：遺伝子型1型、ラゴスバットウイルス (LBV)：遺伝子型2型、モコラウイルス (MKV)：遺伝子型3型、ドゥーベンハーゲウイルス (DUVV)：遺伝子型4型、ヨーロッパバットリッサウイルス1型 (EBLV1)：遺伝子型5型、RABV 固定株 CVS-11株 (遺伝子型1型) を検出可能で、全てのリッサウイルス属と高い相同性を持つプライマーを構築することに成功した。

#### A. 研究目的

リッサウイルスは専門家がリストアップし

た主要な動物由来感染症の重要度序列上位20

位に含まれ、早急にリスク管理対策が必要な

感染症病原体と報告されている。本研究ではリッサウイルス感染症のリスクプロファイルを再検討・検証してリスク回避・危機管理法を確立するために、病原体サーベイランスに必要な当該ウイルスの検出法確立を行った。

## B. 研究方法

**ウイルスとプライマー：** フィリピンにおいて分離された狂犬病ウイルス（RABV）野外株3株（遺伝子型1型：No3, 5, 6, 9, 14, 21）、リッサウイルス4株（ラゴスバットウイルス（LBV）：遺伝子型2型、モコラウイルス（MKV）：遺伝子型3型、ドゥーベンハーグウイルス（DUVV）：遺伝子型4型、ヨーロッパバットリッサウイルス1型（EBLV1）：遺伝子型5型）、RABV固定毒・CVS-11株（遺伝子型1型）の計11検体を使用した。

プライマーはL遺伝子（RNAポリメラーゼ）を標的としたPVO3、PVO4、PVO5、PVO6の4種類（Bourhy H., Cowley JA., Larrous F., Holmes EC., Walker PJ. (2005). Phylogenetic relationships among rhabdoviruses inferred using the L polymerase gene: J. Gen. Virol. 86(Pt 10):2849-58)。

遺伝子型1型に対するPCR反応のコントロールとしてN7/JW6およびP1/P2プライマーを、遺伝子型2-5型のコントロールとしてJW12/JW6プライマーを使用した（表1）。

**PCR反応：** Platinum Taq Hifidelity（Invitrogen）およびEx Taq（Takara）を用いた。いずれも推奨プロトコールに従ったが、PVO3-6はBourhyらのプロトコールに従い

100pmol/μlとした。Tm値は、PVO3/PVO4プライマーで54°C、PVO5/PVO6プライマーで52°Cとした。

**配列比較：** プライマー配列を、ラブドウイルス56株のゲノム配列データとGenetyx ver.9を用いて比較した。ゲノム配列についてプライマーが使用可能である判断条件として「プライマー対のいずれとも3'末端の3塩基がゲノム配列と一致し、なおかつミスマッチが3塩基以下」を設けた。

## C. 研究結果

**PCR：** PVO3/PVO4プライマーはCVSを含む全ての株から標的遺伝子を増幅できなかった。PVO5/PVO6はRABV野外6株のうち4株（No.3、5、6、9）、MKV、DUVVおよびEBL1、CVS-11株の標的遺伝子を増幅できたが、他の株で増幅できなかった（表2）。Tm値およびプライマー濃度の最適値検討を行って、PVO3/PVO4プライマーがいずれの標的遺伝子も増幅できなかったのに対し、PVO5/PVO6プライマーは全ての条件で標的遺伝子を増幅できた（表3、4）。

**配列比較：** PVO3/PVO4プライマーの配列に合致するラブドウイルスはベジキュロウイルス属水疱性口炎インドアナウイルス（VSIV）およびSonchus yellow net virus（SYNV）の2つのみであった。一方、PVO5/PVO6プライマーは、全てのリッサウイルスに塩基配列の条件が合致した（図1）。