

酪農学園大学におけるエキノкокスの感染リスク評価

佐藤 優¹⁾・森 詩央里¹⁾・小林 文夫²⁾
神谷 正男²⁾・鈴木 透³⁾

Evaluation of echinococcosis risk in Rakuno Gakuen University

Yu SATO¹⁾, Shiori MORI¹⁾, Fumio KOBAYASHI²⁾, Masao KAMIYA²⁾ and Toru SUZUKI³⁾
(Accepted 12 July 2017)

はじめに

エキノкокスとは扁形動物門条虫綱真性条虫亜綱円葉目テニア科エキノкокス属に属する生物の総称である。エキノкокス属は現在9種に分類されており、北海道では多包条虫 (*Echinococcus multilocularis*) (以下、エキノкокス)による人獣共通感染症のエキノкокス症が確認されている(神谷 1989)。北海道でのエキノкокスの生活環は主にキツネ (*Vulpes vulpes schrencki*; 以下、キツネ)を終宿主とし、主な中間宿主であるエゾヤチネズミ (*Myodes rufocanus bedfordiae*; 以下、ネズミ)を捕食することで成立している。ヒトはネズミと同様に中間宿主にあたり、ヒトへの感染はキツネのフンに含まれる虫卵を経口摂取することが原因となる。ヒトの体内に侵入したエキノкокスは主に肝臓に寄生し、肝機能障害を引き起こす(山下・神谷 1997)。厚生労働省によると、日本ではほぼ毎年エキノкокス症で死亡者を出しており、これまでもエキノкокス症の感染源対策が取られてきた(神谷 2004a)。

現在、エキノкокス症の対策として駆虫薬入りの餌(以下、ベイト)を散布することが有効であると報告されている(神谷 2004a)。ベイトを摂食させることでキツネの小腸に寄生しているエキノкокス成虫をフン中に排出させることができる。その結果、キツネは虫卵を排出しなくなる。虫卵は中間宿主への感染源であるため、虫卵を排出しなくなることはヒトへの感染源を断つことになる。さらに、

ネズミへの新たな感染も起こらなくなる。現在行われているベイトの散布は主に北海道保健福祉部保健医療局食品衛生課のキツネの駆虫に関するガイドラインに記載されている散布方法に則っており、1 km²あたりのベイトの個数を一定の密度にする散布量を重視した対策を行っている(北海道保健福祉部保健医療局食品衛生課 2007)。

酪農学園大学ではエキノкокスへの対策として、ベイトの散布を2012年に9月から12月の期間に計4回実施している。その結果、ベイトの散布前には13%であったキツネの感染率は、ベイト散布後2012年10月から12月の調査で0%に下がっており、半年後の2013年6月から7月においても3.4%と低い感染率に抑えられていた(合同会社環境動物フォーラム 2013)。しかし、2015年に再度キツネの感染率を調査した研究では、感染率が40%まで上昇していた(曾根 2016)。感染率が上昇した原因としてベイトの散布により除染されたキツネが、残存している感染したネズミを捕食したことで再感染を起こした可能性があり、短期間のベイトの散布では感染率を継続的に抑えることができないと考えられた。また、効果的な対策にはリスクの分析と除去が必要であり、散布場所の選定などを行う必要がある(神谷ほか 2006)。そのため、効果的な対策のためにはベイトの長期間の散布と散布場所の選定が必要だと考えた。

そこで、本研究では酪農学園大学におけるエキノкокス、ヒトとネズミへの感染源であるキツネの感染状況と、キツネへの感染源であり、酪農学園の

¹⁾ 株式会社ズコーシャ
Presently at Zukosha Inc., 17, Nishi18 Kita 1, Obihiro, Hokkaido, 080-0048, Japan

²⁾ 環境動物フォーラム
Forum Environment & Animals, 2-32, Kita 20Higashi2, Higashi-ku, Sapporo, Hokkaido, 065-0020, Japan

³⁾ 酪農学園大学農食環境学群環境共生学類保全生物学研究室
Laboratory of Conservation Biology, Department of Environmental and Symbiotic Science, College of Agriculture, Food and Environment Sciences, Rakuno Gakuen University, Bunkyo dai midorimachi 582, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan
連絡先 (Correspondence): 鈴木透 tsuzuki@rakuno.ac.jp

感染率が上昇してしまった原因として考えられるネズミの感染状況を調査した。それらの結果から、これら2種の感染状況を把握し、ヒトへの感染だけでなく、キツネの再感染を考慮した感染リスクを評価することで、効果的なベイト散布場所の選定と散布方法を検討することを目的とした。

方 法

調査地概要

北海道江別市に所在する酪農学園及び酪農学園所有の、南東側で隣接する森林を調査対象地とした。調査対象地は主に農地、草地、森林で構成されている。農地や林縁部には農道があり、酪農学園の中央には敷地を大きく2分する北東から南西を通る大きな道路のある場所である。

キツネの感染率

酪農学園大学の外周及び構内の道にルート (9.27 km) を設定し、2016年5月~12月の期間、設定したルート上からキツネのフンを探索した(図1)。フンは専用の容器(以下、エキビン)を用いて回収した。回収したフンの位置情報をハンディGPS eTrex

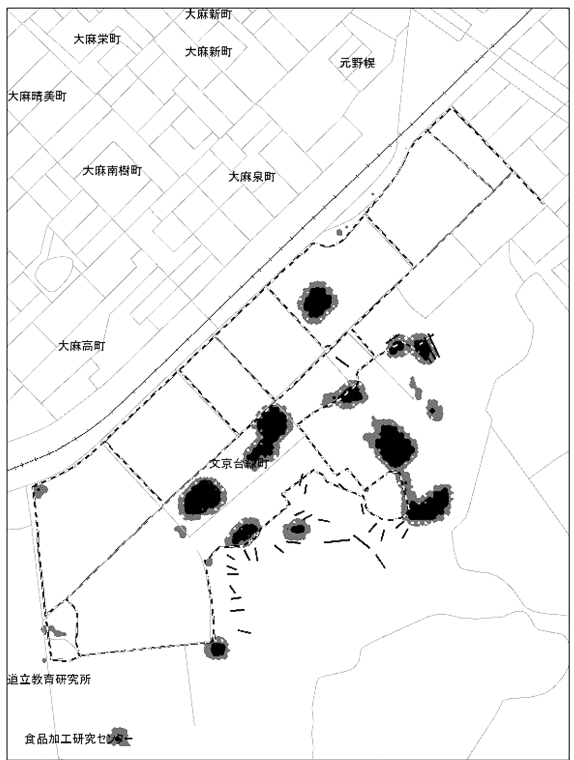


図1 設定したキツネのフン探索用ルートとネズミの捕獲用トランセクト

10 J (GARMIN) を使用して記録した。

回収したフンをエキビンに入れたまま60℃で12時間加熱し、殺卵し検査を行った。感染率の検査をショ糖浮遊法による虫卵検査とサンドイッチELISA法による抗原検査の2種類の検査方法で行った。ショ糖浮遊法とは、虫卵より比重の重い1.27%ショ糖液を使用し虫卵を浮かせてカバーガラスに付着させたものを顕微鏡下で確認する検査方法である。エキノコックスの虫卵は他のテニア科条虫卵と酷似しているため顕微鏡下での判別は困難である。したがって、次に記す抗原検査と併せてエキノコックスの虫卵であるかを判断した。サンドイッチELISA法とは、先ずエキノコックス抗原に対する抗体を96穴プレートに吸着させ、抗原を固定できるようにする。次に、96穴プレートに検体を遠心分離によって得られた上清を流しこみ、エキノコックス抗原を抗体に固定させる。その後、多包条虫成虫祖抗原に対して作成された単クローン抗体を加える。最後に発色する酵素の基質を加えたものをプレートリーダーで吸光度を測定し、感染の有無を検査する方法である。検査の結果は吸光度測定値(OD値)として示される。このOD値による判定基準はOD値が0.206より小さければ陰性、0.206と0.289の間であれば擬陽性、0.289より大きければ陽性とした。各検体のOD値は付表に記した。感染を算出するにあたり擬陽性はショ糖浮遊法によってテニア科条虫卵が確認された場合陽性に含めるものとし、虫卵検査のみ陽性反応が出た検体はエキノコックス以外のテニア科の条虫卵とみなし、感染陽性には含めないこととした。

ネズミの感染率

酪農学園大学内の草地と森林に50mのライントランセクトを30地点設定した(図1)。設定した50mのライントランセクト上の10m置き計5カ所にパンチュウトラップを1個ずつ設置し、2016年9月~12月の期間捕獲を行った。また、パンチュウトラップに仕掛ける餌にはピーナッツを用いた。

捕獲されたネズミを解剖し、エキノコックスの幼虫が主に寄生する肝臓、肺、脳の観察を行った。ネズミがエキノコックスに感染すると、寄生した臓器に嚢胞を作り増殖する。この嚢胞を解剖により発見した場合、嚢胞をスライドガラスに塗抹し、顕微鏡下でのエキノコックス幼虫の有無を観察することで、感染の有無を検査した。なお、本捕獲は酪農学園大学動物実験委員会の許可を受けて実施した(承認番号DH16A7)。

感染のリスク評価

キツネのエキノコックス感染のリスクはフンの分布状況から評価した。採取したフンの位置情報からカーネル密度推定によりフンの分布密度を推定し、推定した密度に応じてリスクを低、中、高の3段階にクラス分類した。クラス分類の基準は、検索範囲を50 mに設定したカーネル密度推定によって得られた値が、225.13未満を低、225.13以上451.02未満を中、451.02以上の値を示すものを高とした。ネズミのエキノコックス感染のリスクはネズミの捕獲の有無と生息環境の関連を分析することで評価した。生息環境は、環境省25,000分の1植生図と衛星画像を基に人工物、森林、水域、草地、農用地、裸地に区分した土地被覆とした。設置したパンチュウトラップの周囲20 mの土地被覆を、ネズミ捕獲の際に設定したライトランセクト毎に集計した。集計した土地被覆の割合を説明変数に用い、ライン毎のネズミの捕獲数を目的変数に用いて、ポアソン分布に従うと仮定したGLM (Generalized Linear Model; 一般化線形モデル) を適用したモデルを作成し生息環境の評価とした。さらに、GLMで得られた予測式を調査地全体の土地被覆に当てはめ、ネズミの捕獲数を予測した。ネズミの捕獲数の予測結果をネズミのリスクとし、低、中、高の3段階のクラスに分類した。分類の基準は予測された捕獲数が1匹未満のものを低、1匹以上5匹未満のものを中とし、5匹以上捕獲されると予測されるものを高とした。GLMはR, 3.2.2 (R Core Team 2015) を使用し求めた。

結果と考察

酪農学園大学におけるエキノコックスの感染率
設定したルートでキツネのフンを探索した結果、計37検体回収された。ネズミは設定した30地点のランセクトのうち、4地点で計10検体が捕獲された。キツネのフン37検体のうち、8検体(21.6%)がサンドイッチELISA法による抗原陽性を示した。そのうち、1検体(2.7%)からショ糖浮遊法によってテニア科条虫卵が検出された。また、捕獲されたネズミ10検体のうち1検体(10%)は剖検において肝臓及び周辺の消化器官へと広範囲に転移している嚢胞が確認された(図2)。この嚢胞を塗抹検査による顕微鏡下での観察を行った結果、エキノコックス幼虫が確認された(図2)。

キツネのエキノコックスの一般的な感染率は、北海道の対策が行われていない地域では20から40%程度、対策が行われている地域は0から10%程度の

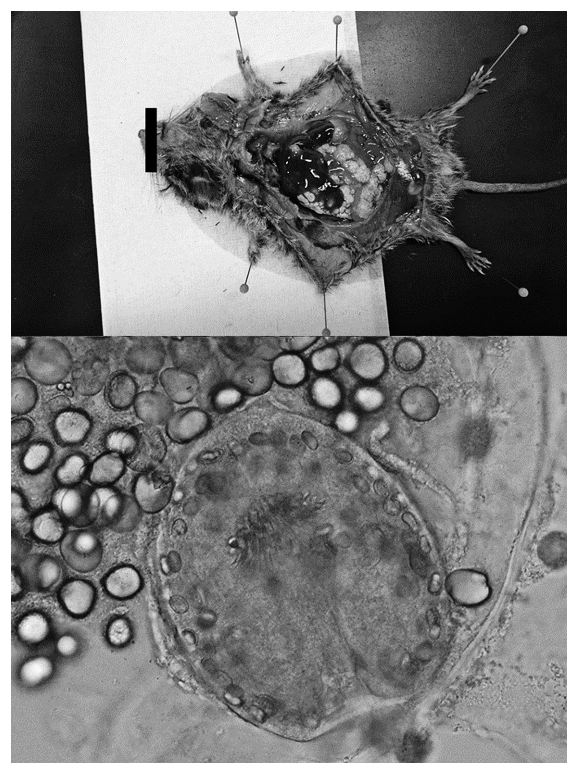


図2 エキノコックスによる嚢胞が確認されたエゾヤチネズミ(上)と塗抹検査により確認されたエキノコックス幼虫(下)

感染率となっている(山下・神谷 1997, 八木ほか2015)。酪農学園大学におけるキツネの感染率は21.6%であり、感染率は対策を行っていない地域と同程度に高いと言える。また、北海道の野ネズミ類の一般的な感染率は約1%となっている(神谷2004b)。酪農学園大学におけるネズミの感染率は10%であったため、ネズミの感染率は比較的高いと言えるが、本研究のネズミの検体数は合計10検体であり、感染検体も1検体のみであったことから、ネズミの正確な感染率の把握とは言い難い。検体の母数を増やすことで感染率の信憑性をあげる必要があると考える。しかし、キツネとネズミの両方の感染が確認されたことから、酪農学園大学ではエキノコックスの生活環が存在している可能性が高いと示唆された。

エキノコックスのリスク評価

キツネのエキノコックス感染のリスクを、フンの分布密度から評価した結果を図3に示した。酪農学園大学内を北東から南西に通る比較的大きい道路ではフンが高密度に分布している傾向がみられた。また、酪農学園内の大きい道路上のフンが高密度に分布している場所ではエキノコックスに感染したフン



図3 フンの分布密度より推定したキツネのエキノコックス感染のリスク

と感染が確認されなかったフンが混在していた。キツネはフンを目立つ場所に集中的に排泄することで社会的情報を個体間で伝達するためのマーキングとして利用している (Macdonald 1985)。酪農学園大学内の大きな道路もマーキングとして多く利用されているものと推測できる。また、感染したフンと感染していないフンが混在していたことから、複数のキツネが大きい道路をマーキングに利用している可能性が考えられる。これらの結果より、酪農学園大学内の大きな道路はキツネによるエキノコックス感染のリスクが非常に高いと考えられる。さらに、多くの虫卵で汚染された場所は中間宿主への感染のリスクが高いスポット (塚田 2005) となることから、虫卵を排出するキツネが増えた際に、酪農学園大学内の大きな道路のリスクはさらに高くなる危険性が示唆された。

ネズミのエキノコックス感染のリスクを評価するために、設定したライントランセクト毎の周辺 20 m の土地被覆とネズミの捕獲数の関係を GLM で分析した結果を表 1 に示した。草地割合とネズミの捕獲数には有意な正の関係、森林割合とネズミの捕獲数には有意な負の関係がみられた。調査地は主に農地、

草地、森林で構成されており、草地割合と森林割合には強い相関がみられたためこの 2 つのモデルは同じことを意味しており、森林割合と草地割合を用いたモデルの AIC 値の差が約 1 程度であったため、便宜上草地割合を用いたモデルを選択した。このモデルは酪農学園大学では草地割合が多くなるにつれネズミの捕獲数が増える、つまりネズミの生息数が増えることを意味している。さらに、GLM で得られたモデルから調査地全体のネズミの生息数を予測し、感染のリスクの評価を行った (図 4)。酪農学園大学内を通る大きな道路で北西側と南東側に分けた場合、南東側にネズミが多く生息していると予測される傾向がみられた。

キツネのフンの分布密度によるリスクとネズミの生息数によるリスクをオーバーレイした結果、キツネとネズミの感染リスクの高い場所が重なっている箇所が確認された (図 5)。このキツネとネズミによるリスクの重なる箇所では、感染したキツネのフンと感染したネズミの捕獲が確認されている。感染したキツネのフンがネズミの生息地に排泄されると、そのフンはヒトへの感染源だけでなく、ネズミへの感染源となる可能性が高いと考えられる。ネズミにエキノコックスが感染した場合、キツネへの感染のリスクが高まり、その場所を利用するキツネ、ネズミ間での感染が拡大すると予想される。このことから、キツネとエゾヤチネズミによる感染のリスクの重なる場所は、エキノコックスの感染源の源となる危険性があると考えられる。

効果的なベイト散布方法の検討

合同会社環境動物フォーラム (2013) はエキノコックス対策を第 1 段階のキツネからの虫卵排出阻止 (安全性の向上) と第 2 段階のキツネおよび野ネズミの感染阻止 (エキノコックスの根絶) に区別する必要があると述べている。

第 1 段階の安全性の向上のためにはキツネによる感染リスクとヒトの利用頻度の高い場所でのベイト散布が効果的であると考えられる。酪農学園大学内の大きな道路はキツネによるエキノコックス感染のリスクが高いと考えられ、学生が通学に利用するだけでなく、散歩や野外のイベント等、一般の利用者も多い場所である。この道路のようなヒトへの感染リスクの高い場所でベイトを散布することで、エキノコックス対策の第 1 段階は効果的に成し遂げられると考える。

しかし、酪農学園の過去の対策の事例 (曾根 2016) から、第 1 段階が達成された時点でベイトの

表1 土地被覆とネズミの捕獲数の関係を GLM で分析した結果の要約

モデル	切片	係数	AIC
捕獲数～森林割合	3.80***	-6.79***	26.74
捕獲数～草地割合	-2.65***	6.37***	27.84

***p<0.001

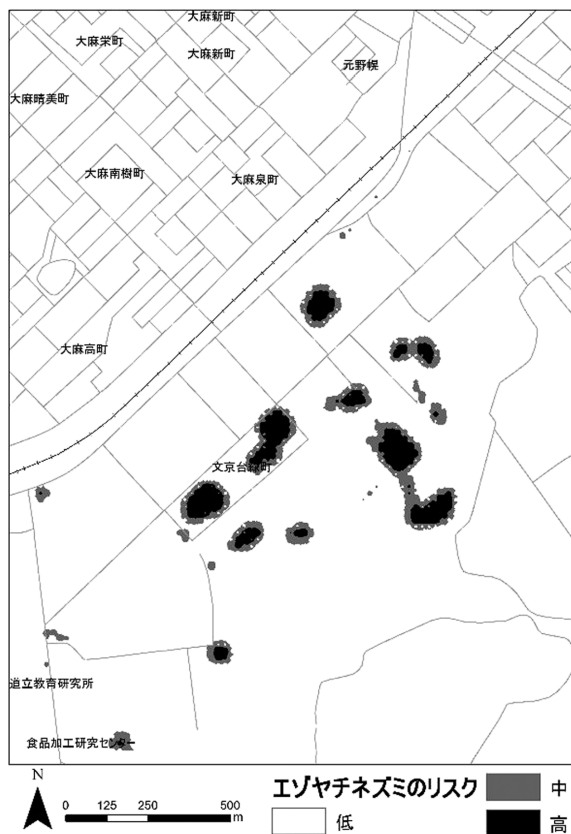


図4 ネズミの生息数の予測結果より推定したネズミのエキノコックス感染のリスク

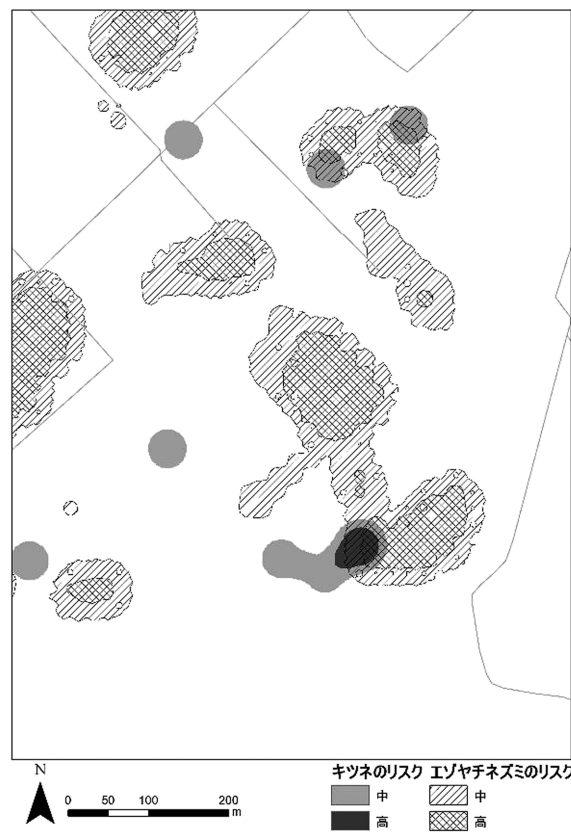


図5 キツネとネズミのエキノコックス感染のリスクが中・高程度の地域が重なる箇所

散布を止めてしまうと、キツネへの再感染が起きる恐れがある。キツネへの再感染の対策のためにはキツネが虫卵を排出しない状態で維持し、新たなネズミへの感染を防止し続けることネズミの感染率を0%にする必要がある。感染したネズミがいなくなることでキツネがネズミを捕食してもエキノコックスに感染することはなくなる。キツネとネズミの感染率を0%にすることで、第2段階であるエキノコックスの根絶が達成され、継続して感染リスクを抑えることができる。また、エゾヤチネズミの最長生存期間が738日であるため(日高 1996)、ベイトの散布期間は2年以上の必要だと報告されている(曾根 2016)。そのため、エキノコックス根絶のためにはエキノコックスの感染源の源である場所での長期間のベイトの散布が効果的だと考えられる。酪農学園では感染源の源となる場所は森林と接する草

地に多い傾向がみられた。したがって、森林と接する草地に2年以上ベイトを散布することでエキノコックス対策の第2段階であるエキノコックスの根絶が達成され、継続的に感染リスクを抑えることができると考えられる。以上のように、ヒトへの感染リスク評価はエキノコックス対策の第1段階である安全の向上を目的とした散布場所の選定に用い、感染源の源となる感染リスクは、第2段階のエキノコックス根絶のため再感染を防止することを目的としたベイト散布場所の選定に用いることで効果的なベイト散布が可能になると考えられた。

謝 辞

本研究におきまして様々なご指導、ご協力を頂きました酪農学園大学地域環境保全学研究室宮木雅美教授、保全生物学研究室的の皆様、また、本研究の趣

旨を理解し、エゾヤチネズミの捕獲を許可して頂いた北海道知事様に心よりお礼申し上げます。

引用文献

- 合同会社環境動物フォーラム (2013) 平成 24 年度調査報告書 学校法人酪農学園 エキノコックス駆除事業. 合同会社 環境動物フォーラム, 北海道.
- 日高敏隆 (1996) 日本動物大百科 哺乳類 1. 平凡社, 東京.
- 神谷正男 (1989) エキノコックスの分類・生活環・分布ならびに種分化. (上本騏一編, 和田義人編) 病気の生物地理学 — 病原媒介動物の分布と種細分化をめぐる, 62-74. 東海大学出版会, 東京.
- 神谷正男 (2004a) エキノコックス症の危機管理へ向けて — 現状と対策 —. 日獣会誌, 57: 605-611.
- 神谷正男 (2004b) 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 —. 厚生労働省健康局結核感染症課, 東京.
- 神谷正男, 川中正憲, 嘉田良平, 高倉彰, 渡辺純一, 奥祐三郎 (2006) 動物由来寄生虫の流行地拡大防止対策に関する研究. (神谷正男) 動物由来寄生虫の流行地拡大防止対策に関する研究 平成 15~17 年度 総合研究書, 1-30. 厚生労働省健康局結核感染症課, 東京.
- 北海道保健福祉部保健医療局食品衛生課 (2007) キツネの駆虫に関するガイドライン — エキノコックス症対策 —. 北海道保健福祉部保健医療局食品衛生課, 北海道.
- Macdonald DW (1985) The carnivores: order carnivora. In: Brown RE, Macdonald DW (eds), Social Odors in Mammals Vol. 2, 619-722. Clarendon Press, Oxford.
- R Core Team (2015) R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- 曾根浩太 (2016) 北広島市におけるエキノコックス症の感染状況と効率的な感染症対策の検討. 酪農学園大学 農食環境学群 環境共生学類 2015 年度 卒業論文.
- 塚田英晴 (2005) キツネの採餌行動とエキノコックス症. 哺乳類科学, 45(1): 91-98.
- 八木欣平, 高橋俊幸, 浦口宏二, 山野公明, 孝口裕一, 入江隆夫, 神谷正男, 小林文夫, 斎藤通彦, 野中成晃, 奥祐三郎, 野中成晃, 関口敏, 梅田滋, 加地祥文, 岡崎克則, 黄鴻堅, 高橋徹, 小清水町, ニセコ町, 京極町, 喜茂別町, 蘭越町, 北海道, 札幌市 (2015) 動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究 エキノコックス等寄生虫感染撲滅のための方策の研究と効率の良い有効性評価方法の開発. (吉川泰弘) 動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究 平成 26 年度 総括・分担研究報告書, 132-145. 厚生労働省健康局結核感染症課, 東京.
- 山下次郎, 神谷正男 (1997) エキノコックス その正体と対策 増補版. 北海道大学図書刊行会, 北海道.

Abstract

To evaluate the echinococcosis risk in Rakuno Gakuen University, we examined the echinococcosis infection rates in red foxes (*Vulpes vulpes schrencki*) and gray red-backed voles (*Clethrionomys rufocanus bedfordiae*). Scats of red foxes tended to be densely distributed on large roads, whereas gray red-backed voles were found to inhabit grasslands rather than forests. The echinococcosis infection rates in red foxes and gray red-backed voles were 21.6% and 10.0%, respectively. These results indicated that the echinococcosis risk is higher in habitats where those of red foxes and gray red-backed voles overlap.