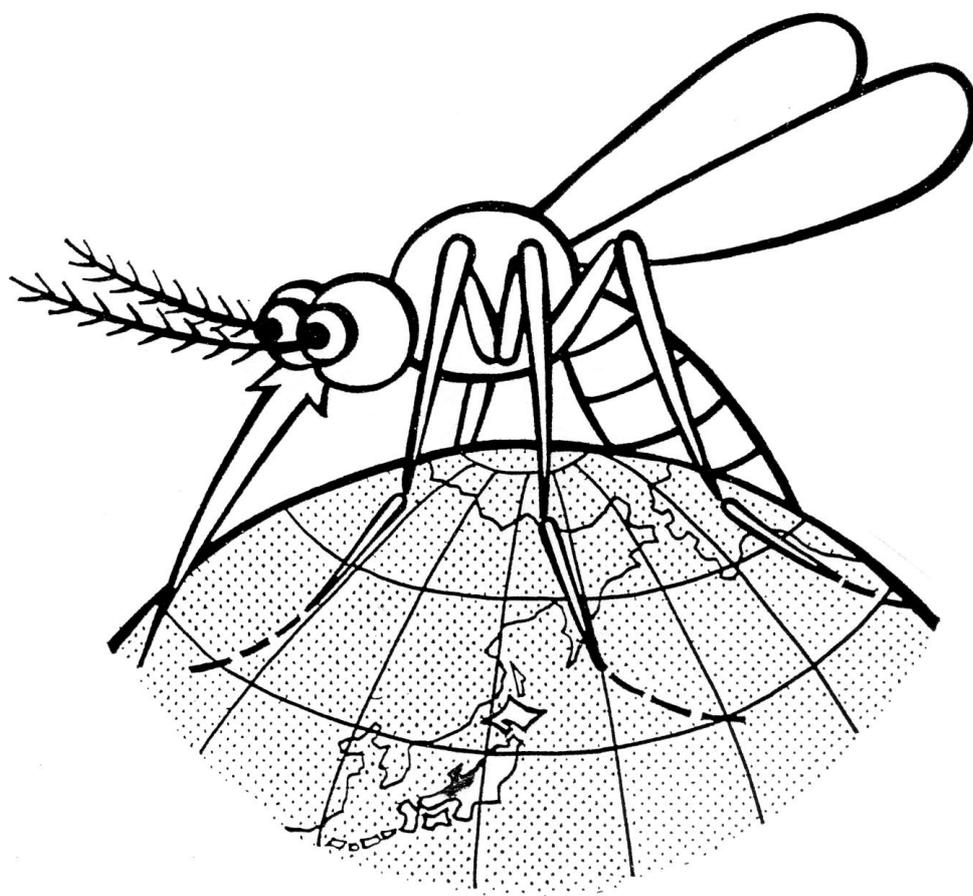


第 32 回北陸病害動物研究会

プログラム ・ 抄録集



会期 2014年6月21日(土)

会場 丸三製薬バイオテック株式会社本社研修室

当番 富山県幹事

第 32 回北陸病害動物研究会

開催要領

- 会 期 2014 年 6 月 21 日（土） 10～16 時すぎ
会 場 丸三製薬バイオテック株式会社本社研修室（2 階）
会 費 1,000 円（学生 500 円）
発 表 液晶プロジェクター映写による口頭発表（当日 USB メモリを持参下さい）
受付開始 9:30

プログラム

開会あいさつ 藤井健太郎（10:00）

一般講演（10:10～12:00、持ち時間 各 10 分） 座長は前演者

- 1) 虫の生態を利用した防虫管理ー昆虫相モニタリングー。
森田剛史（丸三製薬バイオテック）
- 2) 10 年間のデータを使用したアメリカシロヒトリの発生予察。
都野展子（金沢大・理）、本光章一・河野祐介（金沢市役所）
- 3) 能登半島輪島市三蛇山北斜面における疾病媒介蚊の発生調査。
渡辺 護（感染研・昆虫医科学）、山内健生（兵庫県人と自然の博物館）
- 4) 西日本域の福井県で確認されたシモコシ型恙虫病、その後の展開。
高田伸弘・矢野泰弘・池ヶ谷論史・岩崎博道（福井大・医）、石畝 史（福井県環衛研）
- 5) 石川県能登半島のマダニに関する研究 口能登～中能登地区のマダニ調査(中間報告)。
及川陽三郎（金沢医大・医動物）、村上 学（金沢医大・総医研）
- 6) 福井県におけるマダニ由来感染症の発生リスク評価。
塩谷 匠・菖野邦浩・林 菜生子・山田慎太郎・高久明子・松崎竜太郎（福井大・医 4）
- 7) 北陸の SFTS を考えるー福井県のマダニ相とウイルス検索を基にー。
石畝 史（福井県環衛研）、宇田晶彦・森川 茂（感染研・獣医科学）、
大村勝彦（福井県環衛研）、矢野泰弘・高田伸弘（福井大・医）
- 8) Deet 含有医薬品虫よけ剤のマダニ忌避効果。
五十嵐 晶・富田博之・小川和男（池田模範堂・開発部）
- 9) インドネシア人血清を用いた蚊唾液タンパクに対する抗体価評価法の開発。
伊従光洋・藤吉里紗・舟津知宏・澤口明日香（金沢大・薬）、Din Syafruddin (Eijkman
Inst. Molecular Biol.)、吉田栄人（金沢大・薬）
- 10) インドネシア島嶼部における *Giardia intestinalis* の感染状況について。
水野哲志・所 正治（金沢大・寄生虫）

11) ジアルジアのガラビーズを用いた培養法。

松村隆弘・所 正治 (金沢大・寄生虫)

昼食 (懇親会を兼ねる、12:00~13:00)

特別講演 (13:00~13:40)

座長 上村 清

動物に由来する痒み。

倉石 泰 (富山大・薬・応用薬理)

特別企画セミナー 「有害鳥獣の生態と対策」 (13:40~15:20)

座長 横畑泰志・渡辺 護

1) カラス捕獲業務の現状と雑感。

吉枝卓郎 (丸三製薬バイオテック)

2) ダニ宿主としての動物。

高田伸弘 (福井大・医)

3) 富山県産イノシシの生態・最近の知見。

安田 暁・横畑泰志 (富山大・理工)

4) ハクビシンの家屋侵入例、とくに新潟県中越地区における事例とその傾向について。

岩田泰幸 (ニューロンサニター)

5) 農地などにおけるモグラ類の忌避的防除法開発の試み。

横畑泰志 (富山大・理工)

総合討論

一般講演 (15:30~16:20、持ち時間 各 8~10 分)

座長 所 正治

12) PCRを用いた腸管寄生原虫の網羅的検出法の開発。

永元健啓 (金沢大・寄生虫)

13) アメーバ類のPCR検出の可能性と問題点について。

真嶋ちはる (金沢大・寄生虫)

14) 鞭毛虫類のPCR検出トライアル。

阿部郁里 (金沢大・寄生虫)

15) 腸トリコモナスの形態学的解析。

荒山駿介 (金沢大・寄生虫)

16) 河川水からのヒト寄生性原虫類の検出時に見られたPCRとRT-PCRにおける非特異性反応

について。

大西義博 (大阪府大・獣医学)

閉会あいさつ

上村 清

第 32 回北陸病害動物研究会のご案内

2014 年 5 月 12 日

本研究会は、1982 年に談話会として発足し、以来、病害動物などを担当する北陸地方の関係大学や衛生行政、民間企業などの仲間がシーズン始めに毎年集まり、研鑽の場としてきました。今年度は、丸三製薬バイオテック株式会社で第 32 回北陸病害動物研究会を担当させていただきます。どうか、皆様方多数のご口演申込みとご参集をお願いいたします。

開催日時： 2014 年 6 月 21 日（土）10 時～16 時を予定。

開催場所： 富山市南央町 3-37 丸三製薬バイオテック株式会社 2 階研修室。
北陸高速道富山インター下車 南 8 分、駐車場の空き空間にお停め下さい。
正面玄関から履物をスリッパに履き替えて入所願います。所内禁煙です。

特別講演： 倉石 泰 富山大学名誉教授（元薬学部長）；「動物に由来する痒み」
当日午後 1 時から 30 分間を予定しております。

特別企画セミナー： 「有害鳥獣の生態と対策」；皆様方から話題提供を公募。
各 15～20 分程度で、皆様方のお話を伺ってから総合討論の予定。
勉強会を兼ねて、従来知見をまとめたお話を歓迎いたします。
当日、特別講演に引き続いて開催の予定です。

一般講演： 各 10 分程度、お気軽にお申し込みください。
当日午前を予定しておりますが、ご都合悪い方はお申し出願います。

いずれもあらかじめ演者名と演題とをメールで 6 月 6 日（金）までにお知らせ願います。
また、6 月 12 日（木）までに、A4 用紙 1 枚で、メール添付でも郵送でも結構ですので、抄録を添えて正式にお申し込みください。発表パワーポイントは当日持参願います。

参加費： 一般 1,000 円、学生 500 円（軽昼食代を含む）。
昼食時は、懇親会を兼ね、飲み物と巻きずし、調理パンなどを用意します。
当日参加も歓迎しますが、事前にご参加のご都合をうかがえれば幸いです。

担当： 上村 清 k-kamimura@03biotech.com ・上島正憲 m-ueshima@03biotech.com
〒939-2832 富山市南央町 3-37 丸三製薬バイオテック株式会社
Tel:076-429-0303 Fax: 076-429-3303 www.03biotech.com

特別講演

動物に由来する痒み

倉石 泰

(富山大学薬学部応用薬理学)

痒みは、皮膚表層の寄生虫あるいは刺激物・異物を搔くことで除去させることを目的とした生体防御感覚であると考えられる。痒み刺激は、表皮直下の真皮に高密度に分布する神経網とそこから表皮内に延びる神経線維で受容され、長脊髓反射である引っ掻き反射、あるいは搔きたいとの衝動を引き起こす。組織を侵害する刺激から逃避する、あるいは生体内の異常を感知し対処・保護する生体防御感覚である痛みとは、生物的目的が異なる。

動物に由来する痒みとしては、虫刺症など動物自体による痒みと、皮膚糸状菌症など動物からの感染による痒みがある。ハチやアブ、イラガ幼虫などの攻撃・防御を目的とした刺咬は痛みを生じ、カ、ノミ、シラミ、トコジラミなどによる吸血などを目的とした刺咬は自覚症状を伴わない。しかし、同じ種類の動物による刺咬が繰り返されるとアレルギー反応が起こり、痒みが生じると考えられている。ヒゼンダニによる産卵のための角質層内の寄生も初感染では強い痒みを伴う疥癬の発病に約1カ月を要することからアレルギーによるものと考えられている。皮膚糸状菌も、通常角質層に感染することから自覚症状を伴わないが、アレルギー反応が起こると痒みが生じると考えられている。

演者らは、マウスを用いて蚊刺による痒みのメカニズムについて解析している。ヒトは、初めての蚊刺では即時型の皮膚反応は起こらず遅延型の皮膚反応が起こるが、蚊刺が繰り返えられることにより皮膚反応の発症が早くなる。ヒトと同様に、マウスも生まれて初めての蚊刺では、少なくとも蚊刺後1時間は痒み反応（後肢による搔き動作）を示さないが、その反復により蚊刺直後から搔き動作を示すようになる。即時型アレルギーは、通常IgEが関与しマスト細胞の脱顆粒によるヒスタミン遊離を伴う。実際、花粉によるアレルギー性結膜炎の痒みのマウスモデルでは、痒み反応が抗ヒスタミン薬で抑制される。ところが、蚊アレルギーの痒みのマウスモデル（蚊刺直後から搔き動作を示すようになったマウス）では、ヒスタミンによる血管透過性の亢進が観察されるが、痒み反応は抗ヒスタミン薬に抵抗するのでヒスタミンの関与は少ないと考えられる。蚊刺を繰り返すと、蚊刺を受けた部位以外の皮膚でもT細胞が観察されるようになる。この状態で蚊刺を受けると局所の樹状細胞から情報を受け取ったT細胞が放出するセリンプロテアーゼによるプロテアーゼ活性化受容体2の刺激などが痒みの原因の1つとなっている可能性がある。

アレルギーが原因であるものが多いと考えられる動物に由来する皮膚の痒みは、反応が即時性であっても、その発生機序は眼瞼結膜などのI型アレルギーとは異なる可能性がある。動物に由来する痒みに対する適切な対処法を確立するには、それぞれの発生機序を解明する必要がある。

カラス捕獲業務の現状と雑感

吉枝卓郎

(丸三製薬バイオテック)

弊社は昨年度に続き県内の2自治体から委託を受け檻によるカラス捕獲業務を実施している。業務の現状をお伝えするとともに、世の中（インターネット上）に見かけられるカラス対策に対する様々な意見も紹介しつつ、現場に携わる者としての雑感も述べたい。

ダニ宿主としての動物

高田伸弘
(福井大・医)

動物群・・・一般の認識としての陸生哺乳動物は寄生性ダニ類にとって無くてはならない宿主である。例えばマダニは幼虫、若虫、成虫いずれのステージも宿主からの吸血を要するし、ツツガムシとて俗に言われる野鼠ばかりでなく野生動物全般が宿主になり得るものである。また、ダニの種によっては、鳥類、爬虫類（カメやウミヘビまで）など、そしてコウモリの呼吸器などまで含み、多様な動物を吸血対象にすることがある。

そういう密接な関係ゆえ、動物群の生態分布の遷移がダニの生態分布、ひいてはダニ自体が保菌ないし共生させる微生物（地域住民にとっての病原体含む）の濃淡頻度まで左右するものである。例えば、シカやイノシシなどの急増が感染症発生（各種細菌やウイルス感染症、最近のSFTSなど）を押し上げている可能性、逆にアカネズミに一色化したような野鼠種の変遷がそれら感染症疫学に影響を与えている可能性など、さまざまなことが起きているように思われる。しかし、地域住民（主に農林業者）も黙ってはおらず、南西日本ではとくに、農耕地を山側環境から網や柵で徹底隔離するなどの方策も普及しつつあって、一般の自然環境保全の認識が高まる反面、相互の関係が対峙的に問い直され始めている。

そうして考えると、ダニ類を寄生させ増殖を助長させるような動物すべてが有害鳥獣と言えなくもない雰囲気になってしまい、ダニと動物とヒトの共存共生あるいは自然環境保全の線引きは如何にすべきなのだろう、考え込んでしまう。

富山県産イノシシの生態・最近の話題

安田 暁、横畑泰志

(富山大学大学院理工学教育部、同理工学研究部)

イノシシ (*Sus scrofa*) は、1970 年代までは富山県などの北陸や東北地方の日本海側多雪地帯には生息していなかったとされていた(環境庁 1979)。しかし、イノシシは近年北陸地方に分布を拡大しており、富山県内では 1980 年代後半から県南部を中心に頻繁に目撃されるようになった(富山県動物生態研究会 2008)。2001 年からは県内で農業被害も報告されるようになり、大きな問題になっている(富山県自然保護課 2013)。演者らは、富山県と猟友会の協力の元に県内で捕殺された 641 頭の捕殺死体を分析し、以下の研究を行った。

日本海側の多雪地帯に分布を拡大したイノシシの食性を調べることは、分布拡大の理由の解明や被害対策を行う上で重要である。2007~2008 年度の 9~3 月に富山県内で捕殺されたイノシシ 44 頭の胃内容分析を重量パーセント法によって行ったところ、植物の地下部分(塊根、地下茎など)を冬期の主な餌資源としていた(1~3 月に占有率で 78.0~96.5%)。積雪期には植物の地下部分の採食が困難であったが、積雪量の減少がそれを容易にしたと推測される。

今回の研究で、イノシシの生殖器官のサンプルはほとんど収集できなかった。しかし、イノシシは個体ごとに週齢と捕殺日から出生日を推定でき、それによって出産が盛んになる時期(高頻度出生期間)を推測できる(小寺ら 2013)。そこで、県内での 2012 年度までの捕獲個体に基づいて毎年の高頻度出生期間を推測し、それにどのような環境要因が影響を与えているのかを重回帰分析により調べた。その結果、積雪深度、コナラの豊凶、当年と前年の夏の気温が影響を与えていた。これらの要因は地域によって異なるので、他地域の個体群との比較や、生殖器の観察など異なる手法で得た結果との比較が必要である。

千葉県内での研究により、アライグマ(*Procyon lotor*)とニホンジカ(*Cervus nippon*)の捕獲個体群において、分布が拡大途上にある地域では性比がオスに偏ることが判明し、イノシシでも同様の現象が発生することが推測されている(浅田 2013)。2007~2013 年に富山県内で捕殺された 1 歳以上のイノシシについて、捕殺された年度ごとに捕殺された地域の個体群の性比を計算したところ、2007 年と 2010 年に性比がオスに偏っていた。2007 年はそれ以前からの時期に引き続き、県外からの分布拡大があったと推測される。さらに富山県産イノシシのミトコンドリア DNA ハプロタイプの調査により、2010 年に県西部と南部から東部に向けてイノシシの移動があったと推定されている(山崎 2010)。このことから、2010 年に性比がオスに偏ったのは東部への分布拡大によるものと考えられる。県内のイノシシの分布動態の指標として、性比が使える可能性が示唆された。

県庁職員や猟友会の協力により膨大なイノシシ(主として頭骨)が集まり、様々な知見が得られた。これらの情報が他の地域のイノシシ対策や今後の研究に活用されるために、全国への情報発信が必要である。

ハクビシンの家屋侵入、 とくに新潟県中越地区における事例とその傾向について

岩田泰幸

(ニューロンサニター株式会社)

ハクビシン *Paguma larvata* (食肉目, ジャコウネコ科) は, 農作物に対する加害事例がここ十数年で急増している一方, 家屋への侵入も問題視されている (古谷, 2009),

演者は新潟県中越地区において, 2007年から2014年5月末まで期間に, 弊社(新潟県長岡市)へ寄せられたハクビシン関連の相談(計84件)を集計して, その傾向について調査を行った。こうした相談が寄せられるようになったのは2007年以降であり, その件数は年々増加傾向にある。主な相談内容は家屋侵入に関するもので, 天井裏からの騒音および糞害に起因する事例が多い。侵入経路としては, 床下の開口部から侵入して壁内を通り抜け, 天井裏へ到達して住处とする事例がほとんどである。侵入物件に対しては, 主に侵入口を金網などで遮断する処置を行っている。ハクビシンは単独で家屋侵入する事例が少なく, つがいや子連れなどの複数頭による侵入例が多い。また, 相談が多く寄せられる時期は冬季と春季である。冬季は冬越しのため, 春季は子育てに伴い, 侵入したと思われる。夏季に相談件数が減少するのは, 天井裏が高温に達することで, 侵入を試みる個体数が減少するためであろう。天井裏から回収された糞塊を目視調査した結果, ギンナンとカキの種子を確認できる事例が多かった。ハクビシンは, 冬季まで収穫されずに残った果実類を有効的に活用しており, 近隣に果樹のある家屋へ侵入している傾向が強い。

農地などにおけるモグラ類の忌避的防除手法開発の試み

横畑泰志

(富山大学大学院理工学研究部理学領域)

モグラ類は農地や庭園などに坑道の掘削やモグラ塚の形成を通じて直接的な被害を及ぼすとともに、その坑道を利用して野ネズミ類が農地に侵入し、食害を及ぼすといった間接的被害が生じることがある (Atkinson et al., 1994、横畑、1998 など)。統計上の被害額は他の鳥獣と較べて大きくはないが、家庭菜園から大規模なゴルフ場まで、被害対象は多岐にわたり普遍的である。モグラ類はなわばりによる排他性が顕著であり、捕獲による対策は新たな個体の侵入を招くため効果が一時的であり、農地以外での捕獲は 1993 年以来鳥獣保護法による制限を受けている。

振動や臭気物質によるモグラ類の忌避的防除法の効果の科学的検証は、欧米ではヨーロッパモグラ *Talpa europaea* に対する骨油 (bone oil) を用いた方法について行われている (Atkinson and Macdald, 1994) のみのようである。演者は岐阜県飛騨市内の業者が市販している漢方生薬の抽出残渣を配合した牛糞堆肥および大阪市内の業者が開発を検討していた電動式振動発生器によるモグラ忌避効果の有無を検討してきた。いずれもアズマモグラ *Mogera imaizumii* およびコウベモグラ *M. wogura* に対して、金網トンネルを用いた室内での行動観察と野外でのラジオテレメトリーを用いた追跡実験を行った。

漢方生薬抽出残渣配合堆肥は、室内実験でアズマモグラ 4 頭、コウベモグラ 2 頭に対して忌避的影響が、コウベモグラ 1 頭に対して誘因的影響がみられた。野外実験では、アズマモグラ 2 頭に堆肥散布場所の利用率減少がみられたが、コウベモグラ 1 頭ではむしろ利用率が増加した。堆肥の原料となる生薬抽出残渣そのものに対しては、野外実験でコウベモグラ 1 頭の利用度が顕著に減少した。室内実験で堆肥と抽出残渣の効果を同時に検証し、比較しようとしたが、装置が複雑になりすぎ、明瞭な結果は得られなかった。

電導式振動発生器は、アズマモグラ 2 頭、コウベモグラ 1 頭に対して野外実験では発生器付近の利用率が減少し、貫通式土壌硬度計で各調査地の土壌硬度を測定したところ、土壌が固いほど振動による忌避効果は不明瞭になった。室内実験ではどちらの種にも忌避的效果がみられず、コウベモグラ 1 頭にはむしろ誘因的な効果がみられた。これは金網トンネルが振動を伝えやすく、振動が装置全体に飽和してしまうためではないかと考えられた。

以上のように、多くの実験でモグラ類に対する忌避的影響がみられたが、全般的に実験例数が少なく、個体によっては影響がみられず、コウベモグラを中心に、時には誘因的な影響も認められた。室内実験については、実験装置の問題もあると考えられる。これらの結果は吉村ら (2008) や大野・横畑 (2010)、横畑ら (2012) で報告している (いずれも日本哺乳類学会口頭発表、要旨は学会 HP (<http://www.mammalogy.jp/japanese/programs.html>) より閲覧可能)。野外実験の際に得られたモグラ類の空間利用や、モグラの巣に共生するワラジムシ類 (*Lucasioides* spp.) に関する知見についても簡単に紹介したい。

虫の生態を利用した防虫管理－昆虫相モニタリング

森田剛史

(丸三製薬バイオテック株式会社)

近年、食の安全性への消費者意識が高まり、食品工場での環境衛生管理の質の向上がより求められている。また、製薬会社においても国内で規定した GMP から国際統一化した PIC/S GMP への対応に伴い、関連企業に求める管理レベルが高まっている為、幅広い分野での防虫・防鼠対策の需要が高まってきている。

弊社の業務項目の一つに、防虫対策として昆虫相モニタリングがある。昆虫相モニタリングでは、床置き式粘着トラップ（非誘因）及びライトトラップ（誘因性）を対象区域内に設置し、捕獲された種類及び捕獲数を調査する。

弊社では、昆虫の種類によって生態（食性・発生源）が大きく異なることを利用して、内部発生・外部発生、カビの発生、排水の汚れなど各環境指標へのカテゴリ分けを行っており、昆虫相モニタリングの結果を基に、区域の環境衛生状況を把握し、問題改善の提案を行い、より良好な環境を構築するためのツールとして利用している。

本講演では、弊社の業務項目の一つである、「昆虫相モニタリング」について、現場での事例を含めて紹介する。

10年間のデータを使用したアメリカシロヒトリの発生予察

都野展子、本光章一・河野祐介
(金沢大・理、金沢市役所)

公園樹木や街路樹などを食害する樹木害虫アメリカシロヒトリの効果的防除を考えるため、アメリカシロヒトリの発生活長と発生量を規定する環境要因について解析を行った。金沢市では幼虫が6月に成長する1化期と6月下旬から8月上旬にかけて成長する2化期の2つのピークが毎年観察され、さらに年によっては8月後半以降にも小さな3つ目のピークが観察されている。これら3つの時期の発生活長を説明する要因を2004年から2013年のデータにもとづき多変量解析により調べた。応答変量として金沢市内に9箇所を設置しているフェロモントラップで採集されるオス捕獲個体数を適用し、説明変量として気象要因と金沢市東部に広がる山林地帯からの距離を適用した。その結果、蛹越冬した1化の親個体数は1月から3月の積雪量と、2化の親個体数は、6月の有効積算温量と森林からの距離、3化期の親個体数は6月の高温と強い正の相関を示した。これらの結果はアメリカシロヒトリ個体群の年次変動は越冬成功個体数を始点に、6月の気温で、発生量と発生パターンが決まること、また金沢市内の地域的な発生量の変異は1化期幼虫に強く働く捕食圧を意味すると考えられる森林からの距離により決まることが示された。

能登半島輪島市三蛇山北斜面における疾病媒介蚊の発生

調査

渡辺 護、山内健生

(感染研・昆虫医科学、兵庫県立人と自然の博物館)

国内では日本脳炎が流行していた 1960 年代後半まで各地で畜舎にライトトラップを吊るし、蚊の捕集調査を行なっていたが、1970 年代後半には日本脳炎患者と畜舎の減少もあり全国的に調査が中止された。しかし、近年国際的に蚊が媒介する感染症が発生拡大し、国内への侵入が強く懸念されており、蚊の分布や発生状況を知る必要がある。

最近、電池駆動の小形ライトトラップによる蚊の調査が行なわれる様になり、畜舎が無くとも容易に調査が出来る様になるとともに、各地での捕集成績が比較し易くなった。今回は日本海に突き出た能登半島における蚊の発生状況を明らかにすることを目的とした。

調査地は能登半島の日本海に面した輪島市の西部であり、市中心部から 15km ほど離れている。トラップは海岸絶壁の上にある水田（標高約 35m）から標高 300m の水田・溜池までのほぼ 750m × 2km の範囲に 12 台設置した。この範囲は三蛇山（372m）の北斜面で、谷筋には水田が開けている。トラップは海岸絶壁上の水田脇から（No. 1～3、標高 35～40m）、農道沿いに棚田斜面を登りつつ、水田脇の立木に設置し、標高 300m の杉林や雑木に囲まれた独立した水田（50×100m）と溜池（20×30m）を最終設置点（No. 12）とした。

成虫の捕集は CDC 型ライトトラップの豆電球を外し、ドライアイス 1 kg からの二酸化炭素を誘引源として行った。設置時間は毎回午後 3 時前後に稼働させ、翌朝 8 時～9 時に蚊を回収し、残ったドライアイスと共にアイスボックスに保存して、その日の夜に分類計数した。5 月から 9 月まで、毎月下旬に計 5 回の調査を行った。

蚊は全体で 12 種 455 個体が捕集された。その内訳はコガタアカイエカが最も多く 307 個体、次いでトウゴウヤブカが 68 個体、ヒトスジシマカが 33 個体、オオクロヤブカ 10 個体などであった。海岸の絶壁上の水田脇に設置した定点 No. 1（標高 35m）がコガタアカイエカ（80 個体）、トウゴウヤブカ（44 個体）とも最も多く捕集された。コガタアカイエカは次いで標高 160～170m の水田脇の No. 4（39 個体）と No. 5（37 個体）で多く、標高 290～300m の雑木林や水田の脇の No. 10（2 個体）、No. 11（8 個体）、No. 12（12 個体）で少なかった。ヒトスジシマカは No. 2（14 個体）、No. 3（9 個体）で多く捕集された。

トラップ 1 台当りの最大捕集数はコガタアカイエカで 34 個体、平均捕集数が 5.1 個体であり、トウゴウヤブカは 20 個体と 1.1 個体、ヒトスジシマカは 10 個体と 0.6 個体であった。

最近の富山県と石川県の山裾水田地帯における同様な調査成績と比べると、種類数は多いが、捕集数は少なかった。とくに、コガタアカイエカが明らかに少なかったことは家畜がいないこと、水田の水管理（中干しが頻繁）が影響している可能性がある。さらに、日常の強風が関与していることも大きいと感じられ、今後の継続した調査で確認したいと考えている。

一般講演 4

西日本域の福井県で確認されたシモコシ型恙虫病、その後の展開

○高田伸弘・矢野泰弘・池ヶ谷諭史・岩崎博道、石畝 史
(福井大・医、福井県衛環研)

2012年4月下旬に当医学部と同じ永平寺町で確認された恙虫病は、演者らが関わる厚労科研課題の中では「病原菌 *Orientia tsutsugamushi* (Ot) の型多様性と検査態勢」なる問題に係る症例であった。すなわち、患者血清につき通常は行われない6つの型の抗原を揃えた検査を試行することでようやく、西日本の福井県で初めてシモコシ型恙虫病（東北地方に偏った分布とされていた）を診断し得たのであった（海外誌に症例報告として掲載済み）。

そこで、その春から早速開始した感染環の調査は、本年までも機会あるごとに継続しているが、結果として、当該患者が常に腰を下ろして感染することになったスポットで捕獲した野鼠脾臓のPCRでシモコシ型 Ot 遺伝子を検出できたほか、その野鼠と生息土壌からヒゲツツガムシ *Leptotrombidium palpale* を優先的に見出した。最近、本種は山形県でシモコシ型のベクターの可能性が提唱されたこともあり、本種は媒介種有力候補と見なし得る。そこで演者らは本種の未吸着幼虫からシモコシ型の証明を試みつつある。

ところで、この型の感染が永平寺町だけというのは不自然と考え、過去に県内さらには北陸などから検査依頼あった症例30例弱の血清抗体を調べ直したところ、いずれも春季のみに大野市で4例、高浜町で1例が本型であったことが判明した。さらに京都府ほかの野鼠からも本型抗体を検出し得たので、本型は東北のみならず北陸から近畿圏までも分布（患者も潜在か？）することが強く示唆された。今春からは、濃厚感染地と思われた大野市の住民につき血清疫学を試行しつつある（概要は平成23年度厚労科研報告書に記載）。

いずれにしる、恙虫病は今後ともわが国で最も発生数の多いリケッチア症であり続けるであろうから、その確実な診断と対応のためには、東北のみならず北陸から近畿圏ではシモコシ型までも配慮した検査法を普及させる必要があると思われる。

研究協力者：高橋 守（埼玉医大）、山本正悟（宮崎大学）、中嶋智子（京都府保環研）、
山川 秀（山川医院）

石川県能登半島のマダニに関する研究 口能登～中能登地区のマダニ調査（中間報告）

及川陽三郎、村上 学

（金沢医大・医動物、金沢医大・総医研）

マダニは紅斑熱リケッチアや SFTS ウイルスなどの病原体を媒介する。石川県の能登地方ではこれまでに、タネガタマダニ、ヤマトマダニおよびフタトゲチマダニなどのマダニ刺症が認められたが、今のところ紅斑熱や SFTS の発生は見られていない。然るに 2013 年に、金沢市内と加賀地方で初めてタカサゴキララマダニ刺症が報告されたり、南方系のタイワンカクマダニが捕獲されたりなど、他所からのマダニの侵入を思わせる事象が認められている。演者らは、1993-1995 年に主に奥能登地区のマダニ調査を行い、ヤマトマダニ、キチマダニおよびフタトゲチマダニの主要 3 種と少数のタネガタマダニの 2 属 4 種しか捕獲できなかったことを報告した。現在、口能登～中能登地区の調査を行っているので、その途中経過から得られた結果を報告する。

4 月初旬から 6 月初旬に能登地方で捕れたマダニ種は、ヤマトマダニ、キチマダニおよびフタトゲチマダニで、まれにアカコッコマダニとタネガタマダニが混じった。成虫は♂がやや多く、チマダニ属では若虫が主体だった。フタトゲチマダニでは、成虫は 5 個体のみしか捕獲できず多数の若虫と十数個体の幼虫だった。幼虫は 5 月前半と 6 月前半の採集で捕れ、上記のフタトゲチマダニのみだった。

出来るだけ山系を変えて合計 21 か所を調査し、19 か所で上記主要 3 種のマダニがすべて捕獲でき、残りの地点ではキチマダニとフタトゲチマダニの 2 種だった。また、能登島では、5 か所の調査地点のうち 1 か所のみしかマダニが捕獲できなかった。地域環境と捕獲できたマダニ数や種との関係は特に認められなかった。アカコッコマダニは 2 地点で若虫が合計 3 個体、タネガタマダニは今のところ♂が 1 個体捕れたのみである。

採集時期による違いをみると、採集期間を通じ捕獲数および捕獲種ともにあまり変化が認められなかったが、ヤマトマダニでは 4、5 月中は♂が多く、6 月に入って♀がやや多くなって総捕獲数が増えた。

以上より、これまでに得られたマダニ種は少数のアカコッコマダニを除き、前回 1993-1995 年の調査と変わりなく、能登地方のマダニ相に特に変化は認められないと考えられた。しかし今年 5 月の金沢市内の調査では、タカサゴキララマダニの若虫が 1 個体捕れており、これからこの種がどのように能登地方に拡散していくのか興味深い。

参考文献：能登半島におけるマダニ刺症およびマダニ媒介性疾患に関する疫学調査；及川陽三郎、池田照明、南 陸男、久堂寛久、山村敏明、高田伸弘；大原総合病院年報：38, 23-28, 1995.

福井県におけるマダニ由来感染症の発生リスク評価

塩谷 匠・菅野邦浩・林 菜生子・山田慎太郎・高久明子・松嶋竜太郎

(福井大学医学部医学科4年次学生)

福井県では2005年に大野市荒島岳が感染推定地で、マダニ咬着によって感染したと推定される新種のリケッチア (*Rickettsia helvetica*) 紅斑熱が報告されている。その後の疫学調査ではヒトツトゲマダニから病原体が検出され、本種が媒介マダニであると考えられている。また、昨年には重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の患者が日本において初めて確認され、連日のマスコミ報道が賑わったのは記憶に新しい。その後の厚生省の研究班の調査結果では、福井県産のマダニからも SFTS ウイルス遺伝子が検出されている。そこで、今回は実際に県内各地でマダニの採集を行い、その生息状況を明らかにしつつ、環境要因などを考慮し本県におけるマダニ由来感染症の発生のリスクを評価する。なお、本課題は本学平成26年度の環境保健学実習の一課題である。

調査時期は5月で、調査地は若狭町三方石観世音、敦賀市野坂岳、越前市日野山および丸岡町丈競山のそれぞれの登山道5か所とした。旗振り法によって各地点7名が、往復約1-1.5時間マダニ採集を行った。

その結果、タカサゴキララマダニ、キチマダニ、ヒゲナガチマダニ、フタトゲチマダニ、オオトゲチマダニ、ヤマアラシチマダニ、ヤマトマダニ、およびヒトツトゲマダニの8種のマダニ類が採集された。また、発育段階別の採集個体数は成虫70、若虫330および幼虫3個体であった。特に野坂岳では最も多くの個体数のマダニを採集した。なお、今回採集されたマダニは今後、種々の病原体検出に供試される予定である。

今回採集したマダニ類の中で、これまでに SFTS ウイルス遺伝子が検出されているのはタカサゴキララマダニ、キチマダニ、ヒゲナガチマダニ、フタトゲチマダニおよびオオトゲチマダニである。一方、日本紅斑熱リケッチア (*Rickettsia japonica*) が検出されているのはキチマダニ、フタトゲチマダニ、オオトゲチマダニ、ヤマアラシチマダニおよびヤマトマダニである。

(指導担当：福井大学医学部・免疫学・寄生虫学領域・矢野泰弘)

北陸の SFTS を考えるー福井県のマダニ相とウイルス検索を基

にー

石畝 史¹、宇田晶彦²、森川 茂²、大村勝彦¹、矢野泰弘³、高田伸弘³

(¹福井県衛環研、²国立感染研・獣医科学部、³福井大・医)

昨年来、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスの媒介者と指摘されたフタトゲチマダニ (H1) の生息域である低山帯を中心に、マダニ分布相の再調査を行い、さらにマダニの SFTS ウイルス遺伝子検索も行った。

マダニの採集は 2013 年夏季 (5 月下旬~7 月下旬) に若狭地区 3 地点、越前地区 6 地点および奥越地区 6 地点の計 15 地点、また秋季 (9 月下旬~10 月中旬) には夏季調査で SFTS ウイルス遺伝子保有マダニが確認された 5 地点および奥越地区 1 地点の計 6 地点、合計 16 地点で延べ 23 回、いずれもフランネル法で主に遊歩道や山道沿いで行った。調査地域の標高は約 50~800m の地域が 13 ヶ所および 1,100m 以上が 3 ヶ所であった。ウイルスの遺伝子検索は、成虫は個別に、若虫および幼虫は原則として 5 個体をプールして 1 検体とした。方法はマダニから抽出した RNA の 1/10 量を、SFTS ウイルスの S セグメントを標的とする MGB プローブを用いたリアルタイム RT-PCR 法で検査し、10 コピー/reaction 以上を陽性とした。

採集個体はチマダニ属では H1、キチマダニ (Hf)、オオトゲチマダニ (Hm)、ヒゲナガチマダニ (Hk) およびヤマトチマダニの 5 種類、マダニ属ではヤマトマダニ、シュルツェマダニ およびヒトツトゲマダニの 3 種類、その他にタカサゴキラマダニ (At) およびタイワンカクマダニ (Dt) の計 4 属 10 種類であった。夏季では H1 が 7 地点、Hf が 13 地点、Hm が 6 地点、Hk が 3 地点、At が 9 地点および Dt が 7 地点から採集できた。秋季では H1 が 2 地点、Hf が 6 地点および Hm が 3 地点から採集できた。分布の特徴としては、Hk は若狭地区のみで採集でき、Hm は若狭地区で優勢で、H1 は県東北部で確認されなかった。一方、大型種で南方系である Dt と At が想定以上に分布を広げていることが確認されたが、加越国境の標高 1,200m 超の山系では Dt は確認されたものの At は確認されなかった。北方系のシュルツェマダニは予想通り高い標高のみであった。

SFTS ウイルス遺伝子は、夏季では若狭地区の Hk♂、H1 若虫および Hm 若虫、越前地区の Hf 若虫および Dt♀、ならびに奥越地区の Hf 若虫の計 7 検体から検出された (At の陽性はみない)。秋季では若狭地区の H1 および Hf 若虫、Hm 若虫および成虫、越前および奥越地区の Hf 若虫の計 22 検体から検出され、夏季に陽性個体が確認された 5 地点のうち 4 地点で陽性個体が確認された。このうち、H1 と Hf はヒト嗜好性が高い種であり、ほとんどが標高約 600m 以下の平地~低山帯にみた点は疫学的に興味深い。

さて今後、本県以外の北陸さらには隣接地区で如何なる SFTS の疫学事情が分かってゆくのだろうか、今回の報告が先鞭の 1 つとなるのなら、ぜひ比較調査がほしいものである。

Deet 含有医薬品虫よけ剤のマダニ忌避効果

五十嵐 晶・富田 博之・小川 和男

(池田模範堂・開発部)

平成 25 年 1 月に報告された日本初のマダニ媒介性感染症 (SFTS) 発生事例を皮切りに、現在に至るまで数多くの SFTS 感染者が確認された。感染者の致死率の高さからもマダニによる SFTS の危険性は世に広く知れ渡り、大きな社会問題となった。SFTS 感染を防ぐためには、マダニとの接触を断つことが求められる。一般に蚊・アブ・イエダニといった吸血動物に対しては、一般用 (OTC) 医薬品や医薬部外品として販売されている忌避剤が汎用されている。一方で、同じく吸血動物に該当するマダニに対しては、忌避効果を持った忌避剤が存在していなかった。そのため、自身をマダニから守るための対処法としては、全身を衣類で覆って肌の露出を避けるという方法が推奨されているのみで、言わば積極的対処法のない状況が続いていた。そのような中、平成 25 年 6 月 26 日付で厚生労働省からの通知により、OTC 医薬品や医薬部外品として販売されている忌避剤に対して、マダニへの忌避効果を確認することを条件に効能追加を認めるとの内容が通達された。池田模範堂ではムシペールシリーズとして 2 品の医薬品虫よけ剤を販売している。同 2 製品にはマダニ忌避の効能追加が認められる可能性があったことから、忌避効果の確認試験を実施した。

確認には濾紙コンタクト法を用いた。本法では半円形にカットした丸濾紙を 2 枚用意し、一方は検体塗布濾紙、もう一方は無塗布濾紙とした。20 分間風乾させて検体のアルコール成分を揮発させたのち、この 2 枚を中央が 1cm 空くよう、シャーレの左右に張り付けた。シャーレ中央部に幼マダニ 200 匹を放ち、マダニの動きを経過観察しながら忌避効果を確認した。その結果、2 製品共に確かな忌避効果が確認された。

弊社のみならず各虫よけ剤販売メーカーの取り組みの結果、現在のドラッグストアにはマダニ忌避効果を取得した虫よけ剤が複数陳列されている。我々の取り組みが一般消費者の安全な野外活動を支援する一助となることを切に願う。

インドネシア人血清を用いた蚊唾液タンパクに対する抗体価評価法の開発

○伊従光洋¹, 藤吉里紗¹, 舟津知宏¹, 澤口明日香¹, Din Syafruddin², 吉田栄人¹
(¹金沢大学・薬学系, ²Eijkman Institute for Molecular Biology)

蚊唾液タンパクの中には抗原性の高い分子が含まれており、マラリア感染流行地域などで頻回吸血を受けると抗体が産生されることが知られている。マラリア感染はハマダラカの吸血頻度と相関があるため、蚊唾液タンパクに対する抗体価を調べることにより新しいマラリア疫学調査法の確立につながるものと考えている。我々は、マラリア媒介蚊であるハマダラカ唾液腺に **Anopheline Anti-Platelet Protein (AAPP)** という分泌タンパクが特異的に発現していることを発見した。AAPP はコラーゲン刺激時の血小板凝集を特異的に阻害する活性を持つ代表的な蚊唾液タンパクである。先行研究において、熱帯熱マラリア流行地域であるソロモン諸島の住民に広く AAPP に対する抗体が誘導されており、熱帯熱マラリア原虫のスポロゾイト抗原に対する抗体価と正の相関が見られた。そこで、本研究では三日熱マラリアの流行地域であるインドネシアにおいても同様の血清調査法が通用するか調べるため、インドネシア人 21 名の血清を用いて抗 AAPP 抗体価と抗マラリア抗体価の測定を行った。インドネシア人血清における抗 AAPP 抗体価と三日熱マラリア原虫 CSP 分子に対する抗体価を調べたところ、両者の抗体価の間には有意な正の相関が認められた。以上の結果から、抗 AAPP 抗体価は熱帯熱マラリアに対する抗体価と同様、三日熱マラリアに対する抗体価とも相関があることから、マラリア感染のバイオマーカーとして利用することが可能であり、マラリア感染をハマダラカ吸血頻度の観点から予測する新しい手段になるものと期待される。

インドネシア島嶼部における *Giardia intestinalis* の感染状況について

水野哲志・所 正治

(金沢大学医薬保健研究域医学系寄生虫感染症制御学)

ジアルジア *G. intestinalis* (ランブル鞭毛虫) はヒトの腸管に感染し、下痢などの症状を引き起こす腸管寄生原虫である。ジアルジア症は先進国での施設における集団発生から途上国における日常的な感染まで世界中で報告され、致死的下痢症などの原因となることはほとんど無いものの、しかし確実に一定の病害をもたらしながらまん延し続けている。本原虫は特に途上国においては常時高率にまん延を継続する土着原虫症であり、まん延地域の住民は一定の抵抗性を構築しているように見える。実際、本原虫の感染は、まん延地域の成人においてはほぼ確実に無症状である。つまり、低年齢層で観察される高率の感染は、繰り返しの感染につれて徐々に低下し、およそ15歳以降は無症状かつ短期間で感染が排除されるようである。宿主免疫応答が一定の役割を果たすとの観察もあるが、イヌを対象として開発されたワクチンでは効果は認められていない。また、腸管免疫の成熟が関係するとも言われてきたが、先進国の旅行者では成人でも下痢を発症することを考慮すると、違うようである。

この途上国にまん延する腸管寄生原虫のまん延地域での実態を分子疫学的に調査することを目的に、2009年からインドネシアの小学校を対象に検診方式での糞便・尿採取を実施してきた。便からはジアルジアを検出し、遺伝子レベルでの種内多型を解析し、また、尿では、抗ジアルジア分泌型 IgA 抗体の年齢層による変化を見ることを試みてきた。また、人獣共通感染の可能性を評価するべく、ヒトとその周辺の動物の糞便サンプルの解析も実施した。さらにジアルジアの地理的分布の解明を目的にインドネシア国内の異なる地域からのサンプル採取、さらに集落内で分布の詳細を明らかにするべく GPS を用いた分布解析も行ってきた。

本発表では、これまでの知見をまとめる。

ジアルジアのガラビーズを用いた培養法

松村隆弘・所 正治

(金沢大・院医・寄生虫感染症制御学)

ジアルジア症の病原体である *Giardia intestinalis* (以下：ジアルジア) の生活環には、①外部環境に耐性を持つ感染性嚢子と②ヒトを含む哺乳類の小腸上部粘膜に吸着する栄養型の2つの形態がある。感染は感染性嚢子を経口摂取することで成立し、主な症状として、水様下痢や脂肪便、腹痛、嘔気・嘔吐などが現れ、特に免疫異常の患者では慢性化することで脱水や栄養失調に陥ることがあるため早期の治療が重要となる。治療には第一選択薬としてメトロニダゾールが用いられ、難治性を示す場合、アルベンダゾールやニタゾキサニドなどが使用される。前述のように近年、再発を繰り返す難治性のジアルジア症の報告が散見され、本原虫の耐性株の存在が危ぶまれている。これまで当研究室では耐性株を検出するため細胞増殖試薬 WST-1 を用いたメトロニダゾール感受性試験の検査方法を確立したが、マイクロプレートでの培養法と培養液のPBS置換の手技など煩雑な点が問題となっている。

今回、我々は新たにガラスビーズを用いるという発案により、従来の試験管での培養にはなるが、試験管内に4mm径のビーズを入れておくことで、ビーズにジアルジアの栄養型を吸着させる方法を確立した。この方法は栄養型吸着ビーズのみをマイクロプレートに移し入れるため、増殖試薬の阻害物質であった液体培地の持ち込みが無くなり、PBS置換の手技を省略することができる。また、培養の定常期にはビーズに約7万個体が吸着することから、個体数に関しても十分に薬剤感受性試験に利用可能と考えられた。

そこで予備実験として、メトロニダゾール、ニタゾキサニド、他4薬剤を各40 μ Mを用いた感受性試験を実施した。結果、抗ジアルジア薬であるメトロニダゾール、ニタゾキサニドとその他薬剤と比べ、有意に栄養型の生存個体数が少ないことがわかった。よって、ガラビーズを用いた薬剤感受性試験は実施可能であり、手技も従来より煩雑さが軽減できた。さらに幸運なことに、ビーズ培養はビーズの移動だけで継代培養ができることもわかり、従来の試験管を用いずとも1.5mlチューブでの培養も可能となり、継代培養のコストダウンや試薬の節約、手技の軽減にもつながった。また、栄養型がビーズに吸着することを利用し、容易に糞便サンプルから本原虫を分離できると考え、今秋、インドネシア・スンバ島フィールドワークにてチャレンジを行う予定である。

PCR を用いた腸管寄生原虫の網羅的検出法の開発

永元健啓

(金沢大学医薬保健研究域医学系寄生虫感染症制御学)

ヒトから検出される腸管寄生原虫には、病原性・非病原性の多様な種が含まれる(表 1)。病原性原虫としては、アメーバ赤痢の原因となる *Entamoeba histolytica* や、帰国者下痢症の原因原虫として最も多く検出される *Giardia intestinalis*、また AIDS 患者などで日和見感染症として検出される *Cryptosporidium* sp. などがよく知られ、いずれも感染症法の五類疾患として、2013 年度(第 51 週まで)には赤痢アメーバ症 1019 件(富山 8, 石川 10, 福井 6)、ジアルジア症 80 件(富山 0, 石川 0, 福井 0)、クリプトスポリジウム症 19 件(富山 0, 石川 0, 福井 0)が報告されている。一方、*Cystoisospora belli* による戦争イソスポーラ症、*Cyclospora cayetanensis* によるサイクロスポーラ症、また *Balantidium* sp. による大腸バランチジウム症などは極めて稀なために認知度が低く、また無症候性とされる様々な鞭毛虫感染、レトルタモナス(*Retortamonas* sp.)、メニール鞭毛虫(*Chilomastix mesnili*)、腸トリコモナス(*Pentatrachomonas hominis*) などについては、その存在すら知られておらず、検査自体が実施されていない。

通常は忘れられているこのような腸管寄生原虫をシステムティックかつ網羅的に検出可能な PCR ベースの同定法が開発できないか。その戦略についてお話しする。

表 1. ヒトの糞便から検出される多様な寄生原虫

Amebic species	Flagellates	Other species
<i>Entamoeba</i> spp.	<i>Pentatrachomonas hominis</i>	<i>Blastocystis</i> sp.
<i>Iodamoeba buetschlii</i>	<i>Enteromonas hominis</i>	
<i>Endolimax nana</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	
Apicomplexa	<i>Retortamonas intestinalis</i>	
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i>	
<i>Cystoisospora (Isospora) belli</i>	Ciliate	
<i>Sarcocystis</i> spp.	<i>Balantidium coli</i>	

アメーバ類のPCR検出の可能性と問題点について

真鳴ちはる

(金沢大学医薬保健研究域医学系寄生虫感染症制御学)

ヒトの糞便には、多様なアメーバ類が検出される。顕微鏡検査では、感染性の囊子のサイズ、核数、核小体の染色性などを目安に鑑別を進めるが、一部の種では形態的に区別がつかず、また特に途上国のサンプルでは、アメーバ類及び他種原虫の重複感染が少なくないため、正確な種同定が困難となる。一方国内では、下痢症状を欠き糞便検査でも囊子が認められないアメーバ性肝膿瘍などの非典型的な赤痢アメーバ症や、従来は無症候性とされていたアメーバ類による病態が疑われる症例などが報告されており、分子分類によるアメーバ類の確実な検出・同定法が求められている。

研究目的：ヒトから検出されうる5種の *Entamoeba* 属のPCR検出・同定法の確立。

材料と方法：アフリカ及びインドネシアで採取されたヒト及び動物糞便サンプルを材料に18S small subunit ribosomal RNA 遺伝子座を標的とする一連のプライマーセットを用いたPCRスクリーニング検査法をデザインした。

1stPCR：糞便から精製したDNAをテンプレートに腸管寄生原虫全般をターゲットとしてDNAを増幅する。2ndPCR：上記増幅産物をテンプレートにアメーバ類全般をターゲットとした2ndPCRを実施する。以上のネステッドPCRの産物を電気泳動によって可視化し、ターゲットバンドの有無によってアメーバ類感染の判定をおこなう。以降は、ここで陽性と判定されたサンプルに絞り込み、各アメーバに特異的な解析を進めていく。

結果と考察：この方法によって、*Entamoeba coli*、*E. hartmani*、*E. histolytica*、*E. dispar*、*E. moshkovskii* の5種を特異的に検出することが可能となった。途上国サンプルでの重複感染は、顕微鏡下で観察された結果以上に極めて高率であり、特異的PCRは、重複感染例でも効果的に各種の同定が可能だった。また本法では、上記種以外のアメーバ類の感染が疑われるサンプルが存在するような場合でも、スクリーニングで検出された増幅産物を直接シーケンス解析に供することで、未同定のアメーバ疑いサンプルからデータを取得することができるため、新たなリファレンスデータ収集のツールとしても有用である。

鞭毛虫類の PCR 検出トライアル

阿部郁里

(金沢大学医薬保健研究域医学系寄生虫感染症制御学)

寄生虫検査では顕微鏡を用いた形態学的検査が標準法として実施されてきたが、これには専門知識や技量が必要であり、実際、病原体の検出率には経験者と未経験者では大きな差があることが知られている。腸管寄生原虫の中でも特に鞭毛虫は、ジアラジアこそ年間数十例が帰国者下痢症および国内症例として報告されているものの、バラランチジウム、メニール鞭毛虫などは極めて稀であり、さらにエンテロモナス、レトルタモナスとなると医療関係者ですらその存在を知らない。これは、メニール鞭毛虫、エンテロモナス、レトルタモナスが非病原性と考えられてきたことや、ほとんど検出例が無いことから経験を積もうにも見つからないということだろうと思われる。

本研究では、このようなりファレンスデータの極めて少ない鞭毛虫類について、PCR 検出・同定を試みた。

PCR のテンプレートには、ケニアとインドネシア・スンバ島で採取したヒト・動物糞便から genomic DNA を抽出したサンプルを用いた。PCR には原虫全体の遺伝子領域をターゲットとしたユニバーサルプライマーと、各種に特異的な遺伝子領域をターゲットとした種特異プライマーを設計し、組み合わせることでスクリーニングを行った。PCR 結果陽性サンプルについてはダイレクトシーケンスにより DNA 情報を確定し、データバンクにある既存データとの比較によって各種の同定を行った。

現在までに、*Balantidium* 属、*Chilomastix* 属、*Enteromonas* 属、*Retortamonas* 属をヒト及び動物糞便サンプル中に同定することができた。これらの鞭毛虫のヒト及び動物における分布の実態や、遺伝子レベルでの種内多型などのデータはこれまでにほとんど明らかにされていないため、今回得られたサンプルを用いた詳細解析が進行中である。

腸トリコモナスの形態学的解析

荒山駿介

(金沢大学医薬保健研究域医学系寄生虫感染症制御学)

【概要と目的】腸内寄生原虫である腸トリコモナス *Pentatrichomonas hominis* は、人や動物に感染し下痢等を引き起こす。健常人への感染は通常無症状であるが、免疫不全患者や幼児等宿主の抵抗力が小さい場合、重篤な症状を引き起こす可能性がある。海外旅行者下痢症患者の原虫検索においても腸トリコモナスの報告はあり、検出・同定および対策の精度を上げるため形態学的、分子分類学的等多方面からの詳細解析および分類は重要であると考えられる。またウシや鳥、ペット（犬、猫）等にもそれぞれウシ胎仔トリコモナス *Trichomonas foetus*, ハトリコモナス *Trichomonas gallinae*, 腸トリコモナスが感染すると知られているとおり、身近な場所にもトリコモナス類は多数存在しているが、様々な地域・動物から検出されるトリコモナスやその近縁種は膨大で多種多様であり、誤鑑別や同定しきれていない検体が存在する可能性も高いと思われる。本研究では形態学的な観点からトリコモナスを解析するため、顕微鏡検査による腸トリコモナスの特徴及び染色法、鑑別の方法を探った。

【材料と方法】インドネシアスンバ島で採取したヒト及び動物（ブタ、鳥、ネズミ、馬、犬等）の糞便を、田辺・千葉培地変法で培養継代を続け、トリコモナス及びその近縁種と思われる虫体を複数種得た。それらを検体に、無染色及びギムザ染色、プロタルゴール染色での光学顕微鏡観察と、TI ブルー染色を用いての低真空操作電顕観察を試みた。

【結果と考察】培養下での無染色顕微鏡観察により、腸トリコモナスの栄養型のほか、アメーバ様形態、シスト様形態（シュードシスト）が見られ、接合を行っていると思われる動きも見受けられた。電顕観察では鞭毛や波動膜、軸索が比較的明瞭に描出できた。現在、広く使われているギムザ染色や、絨毛虫等の鞭毛を染めることに適したプロタルゴール染色のトリコモナスへの最適化も試みており、今発表ではそれらの形態学的解析手法の概要と得られた形態的特徴を報告する。

河川水からのヒト寄生性原虫類の検出時に見られた PCR と RT-PCR における非特異的反応について

大西義博

(大阪府大、院、獣医)

ヒトに寄生する原虫症として、アメーバ赤痢(赤痢アメーバ症)、クリプトスポリジウム症及びジアアルジア症が知られている。これらの原虫症は感染症新法で五類感染症に指定されており、患者数が集計されている。赤痢アメーバ症は近年、増加傾向にあり、全国の報告数は 800 症例を超えている。さらに、これらの原虫症は水系感染症でもあり、これらの原虫によって飲料水が汚染した場合は、endemic の状態に陥ることもありうると思われる。

以上のことから、今回、淀川水系の河川水がヒト寄生性原虫類によって汚染しているか否かについて調査した。調査期間は平成 25 年 6 月から平成 26 年 1 月までで、検査材料は淀川水系から採取した河川水、延べ 37 検体である。検査法としては、一般寄生虫検査法ではホルマリン・エーテル法(MGL 法)とシヨ糖液遠心浮遊法を、及び DNA 検出法では PCR 又は定量的 RT-PCR を用いた。

結果として、アメーバ原虫のシストを 1 検体から MGL 法で検出した。しかしこの検体からは、PCR(primer として P11/P12 を使用)では赤痢アメーバ原虫の配列とは異なる非特異的 DNA を検出した。現在、この原虫の種類について精査中である。また、クリプトスポリジウム原虫の検出については、一般寄生虫検査法のシヨ糖液遠心浮遊法では、紛らわしい顆粒が多く散見された。市販のキットを用いた定量的 RT-PCR においては、非特異的な蛍光の増強が認められ、特異的と思われる蛍光強度の増強に基づく計算ではすべての検体が陰性と判断された。さらに、クリプトスポリジウム原虫の検出用 primer を用いた PCR の解析では、非特異的反応として *Peridiniopsis penardii* と類似の DNA 配列が検出された。ジアアルジア原虫の検出では、市販のキットを用いた定量的 RT-PCR によって計算上で陽性と判定された検体があったが、この検体では MGL 法でジアアルジア原虫のシストは検出されず、*Eimeria* 属のオーシストが検出された。よって、RT-PCR で検出された蛍光の増強は、非特異的反応によるものと考えられた。現在、これらの点についても、精査中である。

今年度も、調査を継続中であり、検査法の改良が必要であると考えられた。
(この研究は公益財団法人琵琶湖・淀川水質機構の平成 25 年度水質保全研究助成金によって行われた。)