

トキソカラ症の感染に対する背景としての生物環境汚染

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高橋, あけみ メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8590

トキソカラ症の感染に対する背景としての生物環境汚染

金沢大学医学部公衆衛生学講座 (主任代理: 中村裕之助教授)

高橋 あけみ

近年, 生物環境, 特にイヌ・ネコの排泄物による環境汚染が, 公害としてとり上げられ問題となっている. イヌ・ネコの排泄物中に含まれるイヌ蛔虫 (*Toxocara canis*), ネコ蛔虫 (*Toxocara cati*) の虫卵は, トキソカラ症 (toxocariasis) の感染源であり, この様な観点から, その感染, 発症の背景を知ることは公衆衛生的にも重要なことであり, 虫卵の汚染状況と, 住民の抗体保有状況の関係について調査, 検討を行った. 虫卵による汚染状況については金沢市内46カ所の公園砂場の砂と, 植え込みの下の土を対象に, 硫黄・飽和食塩水浮遊法 (比重: 1.240) により調査した. 虫卵が検出された場所は, 公園の砂場からであって, 46カ所中6カ所 (13.0%) であった. そのうち, 最も検出虫卵数が多かったところは1カ所で, その虫卵密度は16ヶ/20g (0.8ヶ/g) で, 他の5カ所の公園では1ヶ/20g (0.05ヶ/g) しか検出されなかった. これら検出された虫卵の長径と短径を計測すると, それぞれ 66.7 ± 19.2 ($\bar{x} \pm SD$) と $60.5 \pm 4.3 \mu\text{m}$, 体積では 15.4 ± 2.0 ($\times 10^4$) μm^3 で, ネコ蛔虫卵に極めて近い値であった. また, 砂遊びをする3才児の手に付着する砂の量 (乾燥砂の場合, $0.70 \pm 0.12\text{g}$; 湿潤砂の場合, $2.10 \pm 0.52\text{g}$) から, 単純に虫卵の付着する量を算定すると, 金沢市内の最も虫卵密度の高い砂場においては, 1回の砂遊びで平均 $0.56 \sim 1.68$ ヶの虫卵が付着する. 動物実験による感染率37%から推し, $0.21 \sim 0.62$ 隻の幼虫が侵入するものと考えられる. 手についた砂が全部口に入る可能性は低く, このことから, 金沢市内においては現在のところ, 虫卵汚染はあるものの, 偶発的に虫卵を摂取する以外, 感染の機会が少ないものと思われた. 一方, 血清疫学的にトキソカラ症の抗体保有状況を, 市内住宅地住民, 学生, 市内のT会社従業員の計476名についてイヌ蛔虫幼虫排泄・代謝物抗原に対する平均抗体価を調査した. それらの人々の平均抗体価は 1.04 ± 0.33 , 陽性域抗体価を示したものは5名 (1.1%) であった. 石川県内の他地域住民の値に比べ陽性域抗体価を示したものは有意に低い値であった ($P < 0.05$). これらの結果から, 金沢市内のイヌ・ネコ蛔虫卵分布状況と, イヌ蛔虫幼虫排泄・代謝物抗原に対する抗体保有状況は, 相関関係にあるものと考えられた.

Key words *Toxocara* eggs, toxocariasis, sandpits, biological pollution, seroepidemiology

わが国における環境汚染, 特に鉱業, 工場からの廃液, 水あるいはガスによる汚染については, 公害として社会的にも関心は高く, 種々論議されると共に, その対策についても検討されてきた. 同時に, 急性症状を示す微生物感染症に対しては一般住民の関心も高く, 我々の生活の場における環境浄化が, 公衆衛生的研究ではもとより, 行政的にも検討された. その対策の結果, 微生物による環境の安全性は, 食品衛生を中心とする分野でほぼ確保されるに至った. しかし, 今までほとんど問題にされていなかった生物 (動物) の排泄物による環境汚染が, 近年になり急激に公害として問題視されるようになった¹⁾²⁾.

生物環境汚染の一つとして知られる寄生虫は, 戦後長い間, 土壌を介し感染する一般消化器系寄生虫症が問題とされてきたが, 現在, 研究者, 行政関係者の努力の結果, ほとんどその姿を消した感がある. しかし, これら寄生虫症の減少に反し, 人畜共通寄生虫症 (zoonoses), あるいは幼虫移行症 (larva migrans) といわれる新しい寄生虫症が次々と発見され, 社会的に問題視されるようになってきた. この幼虫移行症は, 緩慢な進行病変の末, 重篤な症状を示すようになる. これら寄生虫疾患は, グルメ, ペットに関わる寄生虫疾患が主であって, 中で

も診断, 治療が極めて困難なトキソカラ症 (toxocariasis) は, イヌ蛔虫 (*Toxocara canis*), ネコ蛔虫 (*Toxocara cati*), あるいはトキソカラ属 (*Genus Toxocara*) 線虫の幼虫を病原とする疾患で, 一般医家は勿論, 一般住民の間でも関心が高まった³⁾⁴⁾. この様な疾患を中心に社会的には, 生物環境汚染が最重要課題として, 国の内外を問わず検討されるようになった⁵⁾⁶⁾.

筆者は, この様な状況に鑑み, トキソカラ症の感染源となるイヌ・ネコの蛔虫卵が自然界に散布されている状況と, 侵入幼虫に感作された住民の抗体陽性率を金沢市について調査し, 生物環境とどの様な関係にあるか, さらに汚染の基準をどの様にするかを検討した.

材料および方法

1. 金沢市内のトキソカラ属線虫虫卵の汚染状況

1. 虫卵汚染の調査地点と, 材料および虫卵検出方法

金沢市内のトキソカラ属線虫虫卵の汚染状況の調査は, 市内中心部およびその周辺部住宅地にある公園のうち, 砂場のある46カ所の公園を選んだ (図1). 各公園では, 砂場の中心部と内周辺部の2カ所の砂と, 植え込み下の数カ所の土を採取した.

平成6年11月7日受付, 平成6年11月28日受理

Abbreviations: ABTS, 2, 2-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonate (6)); TcnLES, excretory and secretory substance of *Toxocara canis* larva

各地点では、最表層部分の約 200g (5×5×5cm³) の砂あるいは土を採取した。採取サンプルは室温で24時間以上乾燥した後、大きな石粒、ごみを取り除き、砂あるいは土の 20g を量り、10g ずつ2分し、それぞれを 50ml のプラスチック製スピッツ管に入れ、その中の虫卵の有無を調べた。

虫卵の検出は、従来から行われてきた硫苦・飽和食塩水浮遊法 (比重 1.240) に準じ行った。この方法に使われる硫苦・飽和食塩水は吉村ら⁷⁾に従い、熱湯に過飽和になるように食塩を溶解、冷やした後、比重が1.240になるまで硫酸マグネシウム (硫苦) を加えたものである。ただし、今回行った方法は 50ml のプラスチック製スピッツ管を用いたため、浮遊時間を45分とした。

2. 公園の砂から検出された虫卵の虫種同定

公園の砂から検出された虫卵が、イヌ蛔虫か、ネコ蛔虫の虫卵であるかを決定するのはかなり困難である。一般には長径、短径の計測値か、走査電子顕微鏡による視覚的同定が行われているが、いずれも両種を区別するにはそれだけでは不十分である。今回は新しい試みとして体積による同定を導入、検討した。

検出虫卵は、ビデオ計測装置、ビデオマイクロメータ・モデル VM31 (オリンパス、東京) により長径、短径を計測し、体積を算定した。体積の算定にあたっては、虫卵を楕円球と想定して、次のような計算式を設定、それぞれの虫卵の体積を求めた。その計算式は $V = [4\pi (b/2)^3/3] + [\pi (a-b) (b/2)^2]$ で、その式

中、V は体積 (volume)、a は虫卵の長径、b は短径の計測値である。

同定の基本的な資料とするイヌ・ネコ蛔虫の虫卵は、近藤⁸⁾が行った虫卵の幼虫包蔵卵 (幼虫卵) 作製方法にしたがったものである。子イヌ・ネコから摘出したイヌ・ネコ蛔虫の雌成虫の子宮、および腔内の虫卵を30℃、0.5%ホルマリン液中で飼養、30日以上を経過したものを無作為に取り出し、長径、短径を計測し、体積を算出し、砂中より検出された虫卵と比較した。

II. 虫卵取り込みの可能性に対する検討

トキソカラ症は、既に述べたごとく自然界に散布されたイヌ・ネコ蛔虫の虫卵が感染源となっている。特に、幼・小児の本症の感染経路は、イヌ・ネコ蛔虫の虫卵が散布されている遊び場として、公園の砂場が問題とされている。そこで、市内 T 保育園のよく砂遊びをする3才児9名の協力を得て、3才児の手にどのくらい砂が付着するかを検討した。砂場で10分間遊んだ後、両方の手に付いた砂は、まず充分手をこすりながら砂を払われた後、ビニール袋に手を入れ、更に手に付着している砂を、大人の介添えのもとに充分払い落とし、その砂を瓶量した。砂の付着量は砂の湿度によって変化するため、雨の後の濡れた砂場と、晴天続きの乾燥した砂場とで比較した。また、口に入った虫卵のヒトへの感染率は動物のイヌ蛔虫幼虫感染率をもとにして推定した。動物実験資料は近藤⁸⁾の結果から引用した。

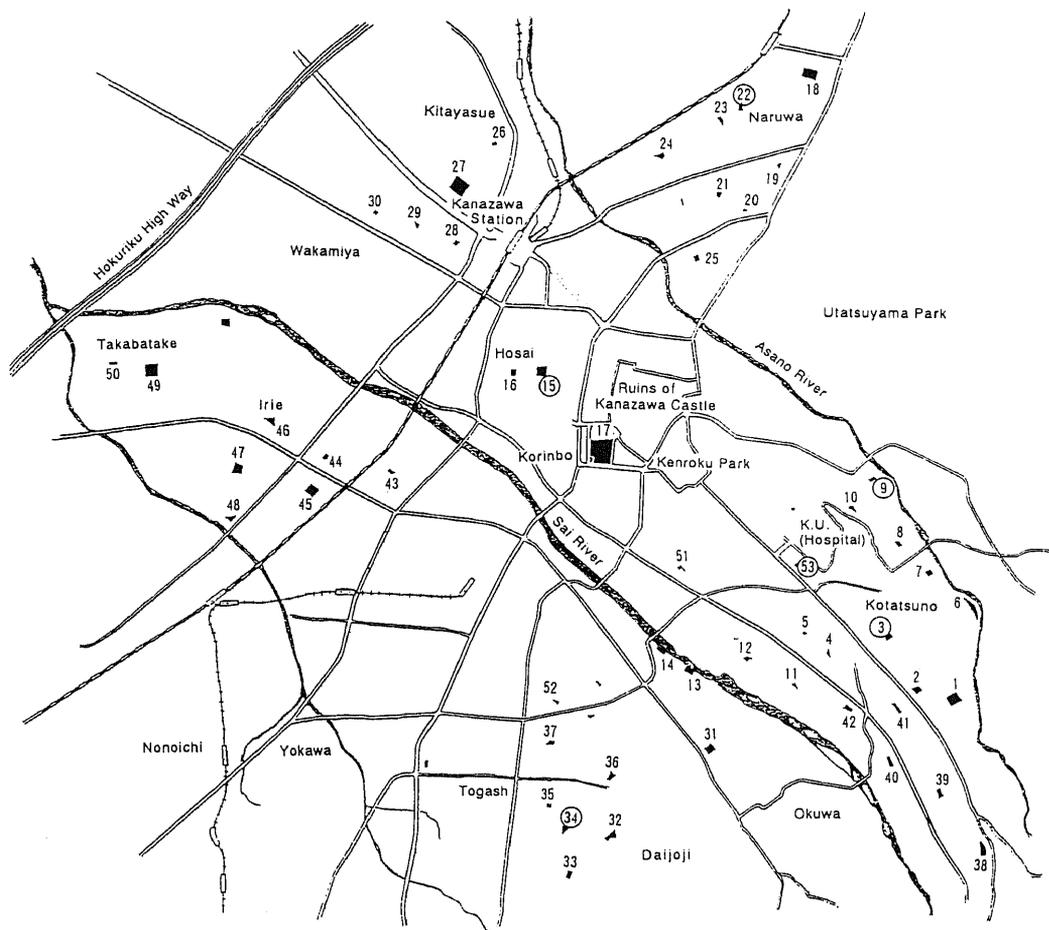


Fig. 1. Location of the public parks for sampling sand and soil. Numbers in circles indicate *Toxocara* egg positive-parks.

Ⅲ. 金沢市内におけるトキソカラ症の血清・疫学的調査成績

1. 抗原の作製

抗体検出のための抗原は、de Savigny⁹⁾の方法に準じて作製したイヌ蛔虫幼虫排泄・代謝物 (excretory and secretory substance of *Toxocara canis* larva, TcnLES) である。この TcnLES は、近藤ら¹⁰⁾の方法に従い幼虫を得、その幼虫をイーグルの改変培地 (pH7.2, 日本製薬, 東京) 中で培養し、その培養液を濃縮、15~16時間透析した後、20,000×g (14,000rpm) で1時間遠心したものの上清を凍結乾燥したものである¹¹⁾¹²⁾。

2. 市内中心部住民の抗体保有状況の調査

調査した住民の血清は、集団検診時に採血されたものから分与されたもので、小立野地区住民の115名、金沢大学医学部の学生96名、金沢大学医療短期大学の学生100名、市内のT会社従業員165名の計476名分についてである。本研究では、Suter ら¹³⁾、近藤ら¹²⁾の方法に準じ、発色基質には2,2アジノ-ジ-(3-エチルベンジチアゾリンサルフォネート (6)) (2,2-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonate (6)), ABTS) を用いるELISAによりこれらの血清のIgG抗体の検出を試みた。その方法は、平底のIMMULON 1 (cat. 011-010-3355, Dynatech Laboratories INC, Virginia, USA) 96穴マイクロプレートにTcnLES抗原を吸着させ、被検血清と反応させた。次いで、ペルオキシダーゼ結合抗ヒトIgGヤギ血清 (cat. No. 3201-0121, Cappel Products, Durham, USA) を1,000倍に希釈したものを反応させた。更にABTSと反応、フッ化ナトリウムにより反応を停止させて吸光度 (OD) を測定した。吸光度値はマイクロプレート・フォトメーター、MTP-2 (コロナ, 勝田) により測定波長405nmで測定し、そのOD値をもとに次式に従い抗体価を求めた。抗体価= $[\log(10^3 \times \text{T-OD 値})] / [\log(10^3 \times \text{N-OD 値})]$ 、た

だし、T-OD値は被検血清のOD値、N-OD値は陰性血清のOD値である。陽性域抗体価は既にトキソカラ症の診断のために用いている値で、陽性限界を超える値をもって示した²⁾。その陽性限界は、無作為に選んだ石川県住民584名の平均抗体価 (1.06 ± 0.34) を求め、その平均抗体価から陽性限界 ≥ 2.08 ($= \bar{x} + 3 \cdot \text{SD}$) を得た²⁾。

平均値の統計処理は2群間の分散が等しいときはStudentのt検定を、等しくないときはWelchのt検定を用い、両側検定で、有意水準は危険率5%あるいは1%で有意差ありとした。二群間の比率の検定にはFisherの直接確率計算法を用い、危険率5%以下を有意差ありとした。

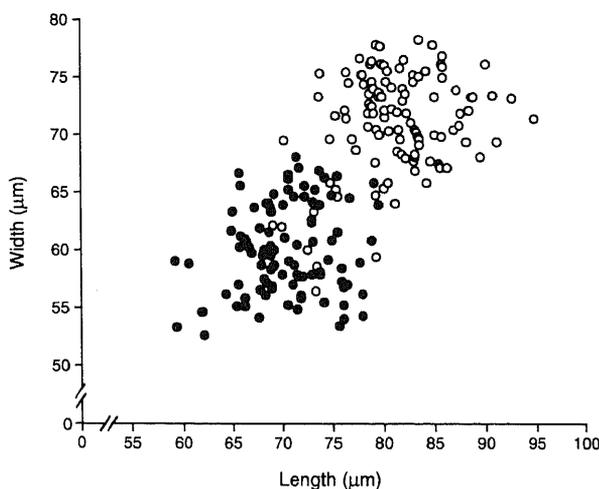


Fig. 2. Size distribution of the eggs of *Toxocara canis* (○) and *Toxocara cati* (●) reared in the laboratory.

Table 1. Prevalence of *Toxocara* eggs at sandpits in public parks in Kanazawa

Sampling site	Number of samples	Number (%) of positive sand pits
Under shrubs in parks	45	0 (0%)
Center of sandpits	46	3 (6.5)
Margin of sandpits	45	4 (8.9)

About 200 g (5×5×5 cm) sand or soil was collected from the surface of each sampling site in the public parks in Kanazawa. Two 10 g sand were subsampled and were examined for *Toxocara* eggs by the floating method using a saturated sodium chloride solution containing magnesium sulfate (specific gravity, 1.240; floating time, 45 min).

Table 2. Density of *Toxocara* eggs at egg-positive sandpits in public parks in Kanazawa

Sampling site	Sandpit number	Egg density (egg number/g sand)
Center of sandpit	15	0.05
	22	0.05
	34	0.05
Margin of sandpit	3	0.05
	9	0.80
	34	0.05
	54	0.05

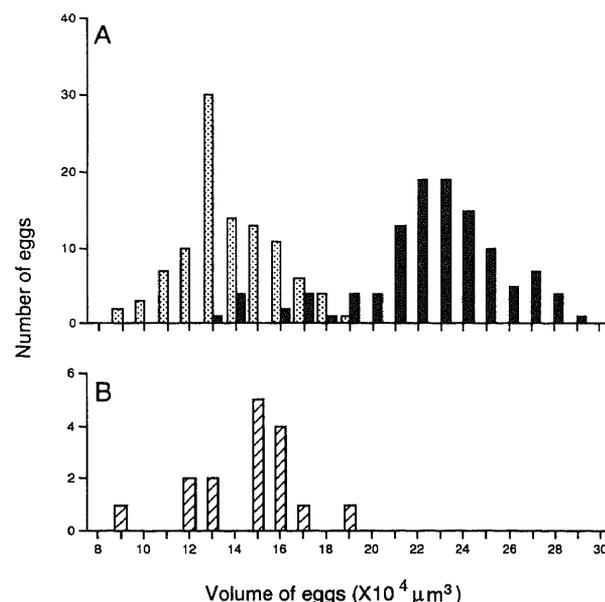


Fig. 3. Volume of *Toxocara* eggs. A: Embryonated eggs of *Toxocara canis* (■) and *Toxocara cati* (▨) reared in the laboratory. B: Eggs found at sandpits in public parks in Kanazawa.

成 績

I. 金沢市内公園のトキソカラ属線虫の虫卵分布と、虫卵汚染状況

1. 虫卵が検出された場所

虫卵検出のために砂が採取されたのは、市内住宅地にある公園のうち砂場のある46カ所の公園で、これら公園のうち6公園(13.0%)からイヌ・ネコ蛔虫の虫卵が検出された。それらの公園の位置は図1に、その成績は表1に示した。虫卵が検出された6カ所の公園は、市内全域に散在しているものの、浅野川と犀川にはさまれた小立野台地にある公園が3/6カ所と、半数を占めた。

虫卵が検出されたのは No. 3, 9, 15, 22, 34, 53 の公園の砂場の砂からであって、今回調査した公園では、植え込みの土からは虫卵を検出できなかった(表1)。虫卵の数が最も多く検出されたのは No. 9 公園で、16 ケ/20g (0.8 ケ/g) のイヌ・ネコ蛔虫卵が検出されたが、その他の5公園ではそれぞれ1ケ/20g (0.05 ケ/g) と少なかった。このうち、No. 34 公園は、砂場の中央部と内周辺部のそれぞれから1ケづつではあるが、虫卵が検出され、砂場全体に虫卵が散布されていることが推察された(表2)。

2. 公園の砂から検出された虫卵の虫種同定

公園の砂から検出された虫卵は全て幼虫包蔵卵であったが、虫種を同定するためにその計測値と、基準とした実験室で飼養されているイヌ・ネコ蛔虫の幼虫包蔵卵の計測値とを比較した。

飼養されたイヌ蛔虫幼虫包蔵卵61ケの長径の平均値($\bar{x} \pm SD$)は $82.5 \pm 3.9 \mu\text{m}$ で、短径は $71.5 \pm 4.2 \mu\text{m}$ であった。またネコ蛔虫幼虫包蔵卵62ケでは、長径 $73.7 \pm 5.7 \mu\text{m}$ 、短径 $63.9 \pm 5.8 \mu\text{m}$ で、両種の平均値には有意の差がみられた ($P < 0.05$)。しかし、イヌ・ネコ蛔虫の幼虫包蔵卵は計測値分布の上でかなり重複するものがあり(図2)、重複するものの割合は長径を使った場合、イヌ蛔虫では約26%、ネコ蛔虫では約49%で、長径あるいは短径の計測値から虫卵の種を決定することは実際上困難であった。これら計測値からさらに体積を求めたところ、イヌ蛔虫幼虫包蔵卵は $23.5 \pm 2.7 (\times 10^4) \mu\text{m}^3$ 、ネコ蛔虫のそれは $16.8 \pm 2.7 (\times 10^4) \mu\text{m}^3$ であって、有意の差が認めら

れた ($P < 0.01$)。また、両種の卵の体積の分布が交差する点 $17.5 \times 10^4 \mu\text{m}^3$ を仮に両者の境界とすると、体積値の重複はイヌ蛔虫幼虫包蔵卵では6.2%、ネコ蛔虫の幼虫包蔵卵では4.8%となり、かなりの確率で両種を区別することは可能であった(図3A)。

公園で検出された虫卵のうち、計測できたものは13個で、長径の平均値は $66.7 \pm 19.2 \mu\text{m}$ で、短径のそれは $60.5 \pm 4.3 \mu\text{m}$ 、体積の平均値は $15.4 \pm 2.0 (\times 10^4) \mu\text{m}^3$ で、ネコ蛔虫幼虫包蔵卵の計測値に近い値を示していた(図3B)。

II. 虫卵取り込みの可能性に対する検討

砂遊びをよくする幼児の手に付着する砂の量を検討した。市内 T 保育園児のうち、3才児9名の手に付着する砂の量を表3に示した。片方の手のひらの面積は $60 \sim 77 \text{cm}^2$ であった。雨上がりの翌日の湿度のある砂(湿潤砂)と、晴天続きの日の砂(乾燥砂)で手に付着する砂の乾燥重量を測った結果、湿潤砂で平均は $2.10 \pm 0.52 \text{g}$ 、乾燥時の砂では $0.70 \pm 0.12 \text{g}$ が付着していた。

III. 金沢市内住民の TenLES 抗原に対する抗体保有状況

金沢市内の住民として小立野地域115名、医学部学生96名、短大生100名、市内の T 会社従業員165名の計476名から集められた血清について、TenLES 抗原に対する抗体保有状況を調査した。小立野地域住民の平均抗体価は 1.07 ± 0.41 で、陽性域抗体価を示したものは2名(1.7%)であった。また、市内の T 会社従業員の通勤範囲は広いが、その平均抗体価は 1.08 ± 0.34 で、陽性域抗体価を示したものは2名(1.2%)であった。一方、医学部学生では平均抗体価 1.00 ± 0.28 、陽性域抗体価を示したものは1名(1.0%)、短大生の平均抗体価は他の3調査群よりも更に低く 0.98 ± 0.26 で、陽性域抗体価を示したものはいなかった。これら4調査群の平均抗体価を比較したが有意な差は見られなかった。陽性域抗体価保有率においても短大生を除き、同様に有意な差は見られなかった。これら4調査群の平均抗体価、陽性域抗体価保有率にほとんど差が見られないことから、これら476名の平均抗体価を集計すると 1.04 ± 0.33 、陽性域抗体価を示したものは5名(1.1%)であった。しかし、今回の採血血清は他検診時に得られたものの一部を入手したものであるため、年齢、性別の偏りが大きく、年齢、性別による血清疫学的比較はできなかった。

Table 3. Weight of sand attached to hands of 3-year-old children

Children	Size of hands (cm) (length × width)	Sand attached (g)	
		Wet condition	Dry condition
1	7.0 × 11.0	2.64	0.58
2	7.0 × 11.0	2.48	0.69
3	7.0 × 11.0	2.42	0.78
4	7.0 × 11.0	2.91	0.92
5	6.5 × 11.0	1.38	0.51
6	6.5 × 11.0	1.42	0.63
7	6.5 × 10.5	2.07	0.78
8	6.5 × 10.5	1.93	0.77
9	6.0 × 10.0	1.64	0.61

Children played with dry or wet sand in a sandpit for 10 minutes. The sand attached to their hands was detached and collected by rubbing hands with each other. Then the fine sand still remained on the hands was rub off in a plastic bag. These sand were combined and weighted after drying.

考 察

現在の我国で、一般に知られる蛔虫、鉤虫、鞭虫などを病原とするいわゆる土壌伝播性の寄生虫症は、研究者はもとより、一般住民の公衆衛生的思考の向上、行政部門の地道な予防策が功を奏し、ほとんど0%といわれるほどに減少したことは、世界的にも評価を受けるに至った。このような一般寄生虫疾患の激減に反し、幼虫移行症、あるいは人畜共通寄生虫症と呼ばれる疾患が次々と発見され、本症は診断、治療の極めて困難な寄生虫症として、臨床医学は勿論、感染経路、疫学的面など公衆衛生的見地からも重要な問題となっている¹¹⁻⁶⁾。

この幼虫移行症は、本来、ヒト以外の動物を終宿主とする寄生虫であって、たまたま人体に侵入した場合、成虫にまで発育できず幼虫のまま人体内を移行する。その幼虫が病原となり一時寄生した場所に病害を与えるが、時として重篤な症状を呈することもしばしばである。今回、筆者が研究の対象としたトキソカラ症は、幼虫移行症の中でも、現在最も重要な疾患であって各分野での研究課題として関心が高い。特に衛生、公衆衛生的分野では、環境汚染、特に生物による環境汚染として、ペットの排泄物による公害などが、社会的に問題視されるとともに、強い関心が持たれるようになってきた¹¹⁻⁶⁾。

このトキソカラ症は、1952年、Beaverら¹⁴⁾によってイヌ蛔虫幼虫による疾患として、内臓幼虫移行症 (visceral larva migrans) と名づけられ、多くの研究者の関心と呼ぶこととなった。本症の診断は極めて困難で、いずれも病理学的検索により診断されていたこともあって、その症例数も少なく、1982年までに世界で報告されていたものは約1,900例を数えるに過ぎなかった¹⁵⁾。その後、免疫・血清学的研究の進展に伴い、血清学的に診断される数は年々増加し、現在ではその数倍におよぶものと思われる¹¹⁻⁶⁾。一方、わが国でも1993年2月末までに、金沢大学寄生虫学教室から報告された症例を含め76例が報告されており、また同教室の未報告例も48例におよび、現在ではそれ以上の症例があるものと思われる¹⁶⁾。本症の感染源は子イヌや、ネコから排泄された糞便中の虫卵で、その虫卵は感染能力をもつ幼虫包蔵卵である。この幼虫包蔵卵が自然界に散布され、たまたま経口的に摂取されて感染が成立する。一般に、イヌ糞便は道路脇によく見られ、ネコ糞便は砂地に見られるようである。道路脇の糞便は成熟イヌにより排泄されたものが多く、子イヌ糞便は少なく、虫卵を含む確率は低い。一概にはいえないが、現在の都市の形態、環境から察し、飼イヌ・ネコの排泄物は、公園、特に幼・小児の遊び場となる砂場に集まるものと思われる。従って、世界的にも虫卵散布状況を調べるために、対象を公園、小学校の砂場を中心とするようになった²⁾。わが国においても松本ら¹⁸⁾の報告に始まり、いくつかの報告が見られる²⁾。

今回、筆者が行った調査は、1993年5月から7月にかけて46カ所の公園の砂を採取したもので、そのうち6カ所の公園(13.0%)の砂からトキソカラ属線虫の虫卵が検出された。この結果はあくまで硫苦・飽和食塩水法¹⁾(比重:1.240)による2回(砂10g×2)のみの検出法であり、砂場の陽性率はこの時点の定性的な資料である。砂場の砂について調査された定性的な検査は、1985年に調査された松本ら¹⁸⁾の報告に始まる。筆者の成績と近い値が報告されているのは松本ら¹⁸⁾の成績であるが、日沖¹⁷⁾の成績は極めて低く、和久ら¹⁹⁾、Ugaら¹⁹⁾、Düwel²⁰⁾の成績

は極めて高い検出・陽性率であった。これらの成績では地域的な虫卵検出、陽性率に差がみられたが、海外においては経済的、生活様式の違いによる環境の違いも重要な要因と思われる。これらの調査で用いられた検査方法には若干の差はあるものの、基本的には硫苦・飽和食塩水浮遊法(比重:1.200~1.240)である。筆者は2回のみ検査による結果であるのに対し、Uga²¹⁾は5~13回(50~150g)を越える検査を行い、虫卵検査公園に対する定性的な陽性率のみを示している。しかしながら、これら陽性率はあくまで定性的結果が示されているのみで、本質的な汚染度を論ずるためには、採集砂量から定量的な結果が反映されるべきで、疑問が残る。

筆者は、検査実施方法の標準化に基づき、汚染度を表現する方法が必要であると考えた。幼虫包蔵卵1ヶが摂取され、1隻のみの幼虫が移行し、寄生場所で症状を表すことは全く否定できないが、その確率は極めて低いと思われる。動物による実験的経過から、マウスにおいては経口投与虫卵数に対し25~37%の幼虫回収率であったと報告されている⁹⁾。本研究で示された幼・小児の手に付着する砂の量は水分を含む砂で 2.10 ± 0.52 g(標本の99%が入る範囲の最大値では $3.31 = 2.10 + 2.33 \times 0.52$)、乾燥砂で 0.70 ± 0.12 g(標本の99%が入る範囲の最大値では $0.98 = 0.70 + 2.33 \times 0.12$)であることから、金沢市において最も虫卵密度が高い砂場(0.8ヶ/g)では、1回の砂遊びで、湿潤砂で平均1.68ヶ(標本の99%が入る範囲の最大値では2.65ヶ)の虫卵、および乾燥砂では平均0.56ヶ(標本の99%が入る範囲の最大値では0.78ヶ)の虫卵が付着する可能性があることが推定された。先の動物実験の幼虫検出率(37%)⁹⁾に基づき、手に付いた砂が全部口にはいるとして、さらに砂と共に取り込まれた虫卵が孵化し幼虫になると仮定すると、人体内に侵入する幼虫数は、付着量の多い湿潤砂で平均0.62(標本の99%が入る範囲の最大値では0.98)隻となる。経口的に摂取した虫卵が全て幼虫になるとすると1隻の幼虫が幼・小児体内に侵入するためには2.70(1/0.37)ヶの虫卵が必要で、この3才児の場合、手に付く砂量から、砂中の卵が1.29ヶ/g(2.70/2.10)以上(標本の99%が入る範囲の最大値では0.82ヶ/g)の密度で分布していることが必要になる。金沢市においては、最も虫卵密度が高い砂場でも16ヶ/20g(0.8ヶ/g)であり、実際には手に付いた砂が全部口に入るようなことはほとんどあり得ないので、トキソカラ症発症の危険性は低いものと考えられる。

Toxocara 属の虫卵が人体に摂取され、発症に至るにはかなりの数の虫卵が砂中に散布されていることが必要である。このことから、汚染度を表現するためには、問題はあるものの、筆者が行った検出方法を用いた場合、すなわち硫苦・飽和食塩水浮遊法(50mlプラスチック速沈管、比重:1.240, 45分)による基本的な検査で、新たに砂の量は採集砂から30g(10g×3)を無作為に選び、砂付着の標本の99%が含まれる虫卵密度0.82ヶ/gに安全率1/10を掛けた0.08ヶ/gを基準とし、統一的に危険性を判定することを提案したい。このことをふまえ、さらに砂に含まれる虫卵検出を試み、検出法の検討を行いたいと考えている。

一方、トキソカラ症の血清疫学的面からみた、抗体保有者についての報告は多い。近年、de Savigny⁹⁾によりイヌ蛔虫幼虫の長期培養が可能となり、その飼養液中に排泄された代謝物が、診断に用いられる抗原として、抗原性が極めて高いことを明らかにした。もっぱら先進国においては診断抗原としてこの代謝

物 TcnLES を抗原とする血清学的方法が用いられているが、わが国においてはまだ成虫抽出物、成虫から取り出した虫卵の抽出抗原が用いられている。本研究においてはこの TcnLES を集め、抗原として用いた。また、本症の血清疫学的研究も推進されている¹⁾。わが国におけるこの抗原をいち早く用いた成績は、Matsumura ら²⁾の山口県におけるもので、石川県および全国レベルで調査された成績としては、近藤ら³⁾の成績があるに過ぎない。近藤ら³⁾により得られた金沢市以外の石川県の住民血清584名の抗体価分布の結果では、陽性域抗体価を示したものは1.4%、平均抗体価は 1.06 ± 0.34 であった。この成績と、今回行った調査成績を比較すると、金沢市内476名の陽性域抗体価を示したものは5名(1.1%)で、金沢市以外の石川県住民に比して有意に ($P < 0.05$) が低いが、平均抗体価では有意な差はみられなかった。全国的にみても、東京、神奈川など都市住民のそれ⁴⁾と比較すると、すべて有意な差はみられなかった。このことは、都市型の環境中には虫卵散布があるものの、虫卵摂取量は少なく、抗体価が陽性域抗体価を示すようになるためには、長期間にわたって侵入幼虫の蓄積、感作の必要があるものと推察される。発症との関わりは、たまたま侵入した幼虫が、宿主となるヒトの抵抗性の有無、免疫低下による日和見感染に起因するものと思われる。したがって、本症の発症、感染の背景には、さらに多くの問題点が含まれており、免疫学、分子生物学的な解析はもちろん、公衆衛生的見地からも、検討されねばならない点が多々あることが知られた。

結 論

環境汚染の一つとして、イヌ・ネコの排泄物に含まれるイヌ・ネコの蛔虫卵の自然界への散布状況を調査し、トキソカラ感染発症の背景についてその関係を検討した。

1. 金沢市内の46公園の砂について、イヌ蛔虫卵およびネコ蛔虫卵の検出を試みた。各公園の砂場で2カ所、植え込みで1カ所、砂土サンプルを採集し、硫苦・飽和食塩水浮遊法(比重: 1.240)により虫卵検出を行った。6カ所(13.0%)の公園砂場から虫卵が検出された。検出虫卵数は最も高い公園が1カ所で16ヶ/20g (0.8ヶ/g)、他5カ所の公園では0.05ヶ/g と少なかった。

2. これら公園からの検出虫卵は総て幼虫包蔵卵で、その計測値は長径 $66.7 \pm 19.2 \mu\text{m}$ 、短径 $60.5 \pm 4.3 \mu\text{m}$ であった。さらに体積値を求めたところ、 $15.4 \pm 2.0 (\times 10^4) \mu\text{m}^3$ で、既知のイヌ蛔虫およびネコ蛔虫卵と比較すると、計測値ではネコ蛔虫卵に近く、特に体積値は、よりネコ蛔虫卵に近い値を示した。

3. 3才児の手に付着する砂量の平均値 ($\bar{x} \pm \text{SD}$) は乾燥砂では $0.70 \pm 0.12\text{g}$ 、湿潤砂では $2.10 \pm 0.52\text{g}$ であった。これらの値から推定した危険虫卵密度1.29ヶ/g と比べ、金沢市の公園砂場における虫卵散布密度は低かった。

4. 血清疫学的調査として、小立野地区と、その他市内住民の計476名について TcnLES 抗原に対する抗体価を調べた。その結果、陽性域抗体価を示したものは5名(1.1%)で、この値はかつて調査された金沢市以外の石川県民584名の値(1.4%)と比較すると有意に低い値であった ($P < 0.05$)。しかし、金沢市住民の平均抗体価 1.04 ± 0.33 と石川県住民の 1.06 ± 0.34 との間には有意な差はみられなかった。

これらのことから、金沢市における虫卵汚染は高いものではなく、血清疫学的結果からも都市型の汚染状況を示唆しうるも

のと思われた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師岡田 見金沢大学学長に謹んで謝意を表します。また御懇切な御指導と御校閲を賜りました金沢大学医学部微生物学講座の中村信一教授に深甚なる謝意を表します。本研究の遂行に当たり直接の御指導を賜りました寄生虫学講座近藤力王至助教授、公衆衛生学講座中村裕之助教授、同講座岡澤孝雄講師に深謝します。

文 献

- 1) 近藤力王至: 犬蛔虫幼虫移行症. 最新医学, 44, 774-780 (1989).
- 2) 近藤力王至, 赤尾信明, 大山卓昭, 岡澤孝雄, 高橋あけみ, 畑 直宏: 環境と寄生虫 トキソカラ症の感染背景から. 予防医学, 35, 35-45 (1993).
- 3) 近藤力王至, 赤尾信明, 大山卓昭, 岡澤孝雄: トキソカラ症-イヌ蛔虫症について-. 小児科, 35, 147-158 (1994).
- 4) Glickman, L. T., Magnaval, J. F., Domanski, L. M., Shofer, F. S., Lauria, S. S., Gottstein, B. & Brochier, B.: Visceral larva migrans in French adults. A new disease syndrom? Am. J. Epidemiol., 125, 1019-1034 (1987).
- 5) Schantz, P. M.: Toxocara larva migrans now. Am. J. Trop. Med. Hyg., 41 (suppl.), 21-34 (1989).
- 6) Reotutar, R.: Taking a close look at toxocariasis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 196, 1009-1012 (1990).
- 7) 吉村裕之, 上村 清, 近藤力王至: 寄生虫学新書, 第8版, 225-253頁, 文光堂, 東京, 1991.
- 8) 近藤力王至: 移行性幼線虫症の実験的研究. 京府医大誌, 79, 32-56 (1970).
- 9) de Savigny, D. H.: In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic test for visceral larva migrans. J. Parasitol., 61, 781-782 (1975).
- 10) 近藤力王至, 小泉 勤, 坪田宣之, 大西義博, 吉村裕之: 実験的移行性幼線虫症の研究 (3) 犬蛔虫幼虫感染家兎の抗体価の推移. 寄生虫誌, 30, 549-556 (1981).
- 11) Koizumi, T., Hayakawa, J. & Kondo, K.: *Toxocara canis*: Immunogenic sources of *Toxocara canis* in infected rate. Jpn. J. Parasitol., 32, 379-386 (1983).
- 12) 近藤力王至, 赤尾信明, 小西喜彦, 吉村裕之: 実験的幼線虫移行症の研究 (4) 蛍光抗体法および酵素抗体法による犬蛔虫感染家兎における血清免疫グロブリン. 寄生虫誌, 33, 99-104 (1984).
- 13) Suter, L., Brigggen, J. & Sorg, C.: Use of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for screening of hyblydoma antibodies against cell surface antigen. J. Immunol. Methods, 39, 407-411 (1980).
- 14) Beaver, P. C., Snyder, C. H., Carrera, G. M., Dent, J. H. & Lafferty, J. W.: Chronic eosinophilia due the visceral larva migrans. Pediatrics, 9, 7-19 (1952).
- 15) Glickman, L. T. & Schantz, P. M.: Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. Epidemiol. Rev., 3, 230-250 (1981).
- 16) 松本 寛, 松田政明, 央戸正巳, 荒川 勇, 池田秀雄, 田

辺圭二, 松 幸徳: 公園の砂場での蛔虫卵検出状況. 食品衛生研究, 35, 229-232 (1985).

17) 日沖雅人: 紀州地方における犬蛔虫卵検査. 三重県食品衛生監視協会研究発表会抄録 (平成2年度), 7-9 (1990).

18) 和久克枝, 三瓶孝明, 加島準子, 安住義克, 岡本美恵子, 市山浩二, 鎌田良美, 宮本陽子, 高橋章子, 竹田喜美子, 伊藤機一: 砂場からの犬ネコ回虫卵の検出調査について. 第28回予防医学技術研究会抄録集, No. 30, 120-121 (1994).

19) Uga, S., Matsumura, T., Aoki, N. & Kataoka, N.: Prevalence of *Toxocara* species eggs in the sandpits of public parks in Hyogo Prefecture, Japan. Jpn. J. Parasitol.,

38, 280-284 (1989).

20) Düwel, D.: The prevalence of *Toxocara* eggs in the sand in children's playgrounds in Frankfurt/M. Annals Trop. Med. Parasitol., 78, 633-636 (1984).

21) Uga, S.: Prevalence of *Toxocara* egg and number of faecal deposits from dogs and cats in sandpits of public park in Japan. J. Helminthol., 67, 78-82 (1993).

22) Matsumura, K. & Endo, R.: Seroepidemiological study on toxocaral infection in man by enzyme-linked immuno-sorbent assay. J. Hyg. Camb., 90, 61-65 (1983).

An assessment of Environmental Pollution Due to Animal Feces as a Risk of Toxocariasis infection Akemi Takahashi, Department of Public Health, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. J. J. Med. Soc., 103, 931—937 (1994)

Key words *Toxocara* eggs, toxocariasis, sandpits, biological pollution, seroepidemiology

Abstract

Environmental pollution due to animal feces, especially those of dogs and cats, is a growing problem. These feces often carry the eggs of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* which can lead to toxocariasis, a larval migrans. To clarify the route of infection and assess the public health risk, the author investigated the prevalence of *Toxocara* eggs, the risk to local children who play in the sandpits of public parks, and the sensitization of inhabitants with *Toxocara* in Kanazawa, Japan. The sand in pits and the soil under shrubs were sampled from 46 public parks and *Toxocara* eggs were detected using a floating method with a saturated sodium chloride solution containing magnesium sulfate (relative gravity, 1.24). Six sandpits (13.0%) were found to carry eggs, while no eggs were detected in the soil under shrubs. The highest density was 16 eggs per 20 g of sand (0.8/g), with the other 5 sandpits having a density of one egg per 20 g of sand (0.05/g). The mean size of these eggs was 66.7 ± 19.2 ($\bar{x} \pm SD$) μm in length and 60.5 ± 4.3 μm in width. The mean volume was 15.4 ± 2.0 ($\times 10^4$) μm^3 , which was similar to that of *Toxocara cati*. The mean dry weight of sand attached to the hands of 3 year old children was 0.70 ± 0.02 g when they played with dry sand, or 2.10 ± 0.52 g when they played with wet sand. If a child plays in the sandpit having the highest density of eggs in the present study, 0.56-1.68 eggs attach to his hands. Since it is unlikely that all this sand would enter the mouth of the child, the risk of *Toxocara* infection in children in Kanazawa appears to be low. In immunoepidemiological analysis, the sera of 476 area inhabitants, including students and workers, were examined for the level of antibody to the antigen of excretory-secretory substance of *T. canis* larvae. The mean antibody titer was 1.04 ± 0.33 . The rate of positive titers was 1.1%, which is significantly lower than that in other parts of Ishikawa Prefecture ($p < 0.05$). These results indicate that the prevalence of *Toxocara* eggs is related to the level of antibody titer proportionate to the *T. canis* larval antigen.