

飼育イヌの *Giardia intestinalis* 感染に関する研究

2006 年

岐阜大学大学院連合獣医学研究科

伊藤 直之

飼育イヌの *Giardia intestinalis* 感染に関する研究

伊藤 直之

目 次

緒 言	1
第 I 章 ELISA 法による飼育イヌにおける <i>Giardia intestinalis</i> 感染の疫学調査	6
1. はじめに	7
2. 材料および方法	7
3. 成 績	9
4. 考 察	15
5. 小 括	23
第 II 章 飼育イヌから分離した <i>Giardia intestinalis</i> の 遺伝子型解析	38
1. はじめに	39
2. 材料および方法	40
3. 成 績	42
4. 考 察	44
5. 小 括	47
第 III 章 イヌにおける <i>Giardia intestinalis</i> 感染の臨床例に対する ニトロイミダゾール系薬剤とベンズイミダゾール系薬剤の 治療効果	50
1. はじめに	51
2. 材料および方法	51

3 . 成 績	53
4 . 考 察	57
5 . 小 括	62
総 括	66
謝 辞	70
文 献	72

略語一覧

DNA	: deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EDTA	: ethylenediaminetetraacetate	エチレンジアミン四酢酸
efl- α	: elongation factor 1- α	伸長因子 1 α
ELISA	: enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着検査法
gdh	: glutamate dehydrogenase	グルタミン酸脱水素酵素
MQ	: milliQ	ミリQ
PCR	: polymerase chain reaction	ポリメラーゼ連鎖反応
RNA	: ribonucleic acid	リボ核酸
SDS	: sodium dodecyl sulfate	ドデシル硫酸ナトリウム
SSU-rRNA	: small subunit ribosomal RNA	小サブユニットリボソーム RNA
tpi	: triosephosphate isomerase	トリオースリン酸イソメラーゼ

單位一覽

bp	: base pair	
M	: mol	
mM	: millimol	10^{-3} mol
pmol	: picomol	10^{-12} mol
μ m	: micrometer	10^{-6} meter
kg	: kilogram	10^3 gram
mg	: milligram	10^{-3} gram
μ g	: microgram	10^{-6} gram
μ l	: microliter	10^{-6} liter

緒 言

厚生労働省の「狂犬病予防法に基づくイヌの登録数」によると、2005年度におけるイヌの登録数は約670万頭であり、20年前の1985年度の登録数である約340万頭からおよそ2倍に増加している。さらに、未登録のイヌも増加傾向にあり、2003年の内閣府による「動物愛護に関する世論調査」では、イヌが1130万世帯(全世帯の22.8%)で飼育されていることが示されている。イヌはヒトの心に安らぎと潤いを与え、子供の精神的な発達に貢献しているのみならず、高齢者ならびに障害者のリハビリや介助の一部も付託され、コンパニオンアニマルとしてヒトとの絆がきわめて深いものになった。そのため、イヌが保有する人獣共通感染性病原体のヒトへの伝播が懸念されるようになってきた。イヌが感染源となる可能性がある人獣共通感染性病原体にはウイルスや細菌、真菌などの他に多くの寄生虫が含まれ、*Giardia intestinalis*もその一つである[11, 69, 84, 85, 97]。さらに、*G. intestinalis*は、イヌに急性ないしは慢性の下痢を引き起こす[64, 74, 83, 94, 111, 125, 126]ことから、小動物臨床においても重要な原虫として知られている。

*Giardia*属は1681年にLeeuwenhoekが発見した[21]鞭毛虫類に属する消化管内寄生原虫であり、世界中でヒトをはじめとした多くの脊椎動物から検出され、下痢の原因となる最も一般的な寄生虫の一つである。トロフォゾイトに存在する中心小体の形態学的特徴と宿主の違いから、*Giardia*属原虫は*G. intestinalis* (シノニム：*G. duodenalis*, *G. lamblia*), *G. muris*, *G. agilis*, *G. psittaci*, *G. ardeae* および *G. microti* の6種に分類されているが、ヒトやイヌ、ネコ、ウシ、ブタなど多くの哺乳動物に寄生する種は*G. intestinalis*である[2]。*G. intestinalis*は、糞便中に排泄されたシストを直接あるいは

は飲料水や食物を介して経口的に摂取することで感染が成立し，熱帯や亜熱帯の衛生不良な地域でヒトの集団感染がみられ，世界的な感染者数は年間約 2.8 億人に達すると推定されている [71]。一方，先進諸国でも近年，水系感染による *G. intestinalis* 感染症の発生が問題となり，アメリカ合衆国では，1998 年～2002 年の 5 年間で本虫の感染者数は 110,328 人であったことが報告されている [45]。日本国内では，ヒトの *G. intestinalis* 感染症は，1999 年 4 月から施行され 2003 年 11 月に一部改正された「感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律」で全医師に届け出義務のある 5 類感染症に指定され [58]，毎年 100 人前後の患者数が届け出されている [65] 再興感染症として，公衆衛生学的に注目されている。ヒトの *G. intestinalis* 感染では，シストで汚染された生水の摂取による水系感染やシストに触れた手で調理したことによる食物を介した感染事例が多数報告されている [18, 19, 51, 52, 82, 90, 92, 98, 99, 108, 109]。

G. intestinalis は，大別して assemblage A～G の 7 遺伝子型で構成され，それぞれの遺伝子型により宿主特異性が異なると考えられている [84, 85]。これまでに，ヒトから分離された *G. intestinalis* の遺伝子型は assemblage A または B であり，一方，イヌでは assemblage C または D とともに assemblage A または B も検出されている [11, 69, 85, 97]。また，assemblage A および B はヒトやイヌ以外にもウシなど種々の哺乳動物から分離されていることから，宿主特異性が低い人獣共通感染性の遺伝子型であると考えられ [11, 28, 69, 85, 97]，イヌ由来 *G. intestinalis* の遺伝子型を解明することは，イヌがヒトの感染に保虫宿主として果たす役割を評価するた

めに重要なことである。特に一般家庭で飼育されているイヌは、ヒトとの関係が親密であるため、保虫宿主として重要度が高く、メキシコ、オーストラリアおよびインドではイヌからヒトへの本虫感染が示唆されている[24, 79, 118, 119]。イヌから分離された *G. intestinalis* の遺伝子型に関する報告は、海外では多数認められる[11, 24, 60, 68, 69, 84, 85, 97, 118, 119]が、日本ではほとんどない[1]。

一般家庭で飼育されているイヌの *G. intestinalis* 感染状況については、これまでに多数の報告がある[4, 5, 26, 27, 50, 54, 63, 79, 83, 96, 103-105, 115]。しかし、これらの報告では調査対象イヌの疫学データ、すなわち、イヌの年齢や飼養形態、由来、飼育環境などについてはほとんど考慮されていない。これらの疫学的背景と感染状況との関連を明らかにすることは、ヒトとイヌの親密度が高まり、イヌの飼養環境が変化を遂げるなかで、ヒトへの感染を防ぐ上で重要である。また近年、子イヌの *G. intestinalis* 感染の場として繁殖施設の重要性が指摘されている[53, 111]が、イヌの繁殖施設における本虫浸潤状況の実態については、国の内外を問わずほとんど解明されていない。

従来、*G. intestinalis* の検査は、浮遊法や沈澱法による糞便検査で虫体を検出することで実施されてきた。しかし、これらの検査法は検出感度が低く、実際の感染状況を反映していないことが指摘されている[17, 75, 83, 107, 124]。最近では検出感度に優れた ELISA [3, 17, 35, 37, 38, 54, 75, 83, 107, 124] や PCR [33, 39, 75, 89, 123] による本虫の検査が推奨されていることから、これらの方法による感染状況の調査が必要と考えられる。

G. intestinalis 感染イヌに対する駆虫は，感染動物の健康回復とともに，保虫宿主としての汚染源を断つ上で重要である。日本国内では，イヌの *G. intestinalis* 感染症の治療薬としてニトロイミダゾール系薬剤の一つであるメトロニダゾールが使用され，その有効性が確認されている [74, 111] が，その一方で，海外では同薬剤の有効率が低いこと [16, 132] や副作用 [22, 127] が指摘され，最近ではメトロニダゾールに代わってベンズイミダゾール系薬剤がイヌにおける *G. intestinalis* 感染症の治療に用いられている [7-9, 34, 94, 131]。

以上の背景から，本研究の第 I 章では，一般家庭および繁殖施設で飼育されているイヌの *G. intestinalis* 感染状況を ELISA 法による本虫特異抗原の検出によって評価するとともに，従来の糞便検査法との比較を行った。第 II 章では，飼育イヌから分離した *G. intestinalis* の遺伝子型を解析し，人獣共通感染性について検討した。第 III 章では，イヌの *G. intestinalis* 感染症例におけるニトロイミダゾール系薬剤とベンズイミダゾール系薬剤の治療効果について検討した。

第 I 章 ELISA 法による飼育イヌにおける *Giardia intestinalis*
感染の疫学調査

1. はじめに

これまでイヌにおける *Giardia intestinalis* 感染状況の調査は、浮遊法や沈澱法による糞便検査が一般的であった[4, 5, 26, 27, 50, 53, 63, 79, 96, 103-105, 115]。しかし、虫体を直接検出するこれらの方法による検出感度は、検査技術や糞便に排泄される虫体数に影響されることが指摘されている[8, 20]。最近、*G. intestinalis* の検査に ELISA 法[3, 17, 32, 35, 37, 38, 43, 54, 56, 75, 83, 93, 94, 107, 124, 131]や PCR 法[33, 39, 75, 89, 123]が応用され、それらの検出感度は従来の糞便検査より優れていることが示され、特に糞便中の *G. intestinalis* 関連抗原を検出する ELISA 法は、PCR 法に比較して多数の検体を短時間で処理可能であることや操作が容易であることから、臨床検査用のキットがいくつか開発・販売され、すでに海外ではヒトの臨床診断や疫学調査に応用されている[3, 35, 37, 43, 56, 107, 124]。しかしながら、イヌの *G. intestinalis* 感染状況調査に ELISA 法を応用した報告は比較的少なく[17, 38, 54, 83, 93]、日本国内ではほとんどない[83]。本章では、はじめに小動物臨床の場において利用が可能な ELISA キット(RIDASCREEN *Giardia*, R-Biopharm AG, Germany)のイヌに対する応用の可否を検討した。ついで、本 ELISA キットを用いて東北地方の一般家庭で飼育されているイヌおよび日本各地の繁殖施設で飼育されているイヌの *G. intestinalis* 感染状況を明らかにし、イヌの疫学的背景との関連について考察した。

2. 材料および方法

1) 調査対象

2002年9月～2005年3月に青森県内，秋田県内および福島県内の3カ所の動物診療施設に来院した一般家庭の飼育イヌ40品種，1カ月齢～17歳齢の1020頭(雄473頭，雌547頭)から採取した新鮮な糞便を調査対象とした。なお，複数のイヌを飼育している家庭では1頭だけから糞便を採取した。対象としたイヌについては，年齢，飼養形態，由来，性別，飼育環境，調査した季節および品種を記録した。また，2003年10月～2004年6月に日本各地に存在する14カ所の繁殖施設で飼育されているイヌ27品種，1カ月齢～14歳齢の361頭(雄110頭，雌251頭)から採取した新鮮な糞便を調査対象とした。これらのイヌ繁殖施設は，青森県の5カ所(青森#1～#5)，秋田県の2カ所(秋田#1，#2)，岩手県の1カ所(岩手#1)，新潟県の1カ所(新潟#1)，長野県の1カ所(長野#1)，東京都の2カ所(東京#1，#2)，神奈川県1カ所(神奈川#1)および徳島県の1カ所(徳島#1)であり，各施設で調査したイヌの概要を表1に示した。

2) 糞便の検査

糞便は性状を肉眼的に観察して固形便，軟便または下痢便に分類した後，その一部を-20℃で保存し，市販のELISAキットによる*G. intestinalis*特異抗原の検査に供した。

一般家庭の飼育イヌから採取した糞便材料の1020検体中769検体については，ELISA法による検査(図1)とともに直接塗抹法によるトロフォゾイト(図2)またはシスト(図3)の検出，さらに，糞便1gを用いたホルマリン・酢酸エチル沈澱法[129](以下，沈澱法)によるシストの検出を行い，それぞれの検査方法による*G. intestinalis*の検出率を比較した。直接塗抹法と沈澱法では*G. intestinalis*のトロフォゾイトおよびシストの形態を観察するためにヨード染色を施

した。また、直接塗抹法および沈澱法では、消化管内寄生蠕虫の虫卵や *Isospora* 属原虫のオーシストについても検査した。

3) 疫学データの解析

検査の成績は、調査対象であるイヌの疫学データとの関連で解析した。すなわち、一般家庭の飼育イヌでは次のように区分した。年齢については、1～7カ月齢未満、7カ月齢～2歳齢未満、2～6歳齢未満または6歳齢以上の群、飼養形態については、1日のうち90%以上の時間を室内で過ごす室内飼育群とそれ以外の室外飼育群、由来については、一般家庭で生まれた一般家庭群とペットショップや繁殖施設から購入したペットショップ/繁殖施設群、性別は雄と雌、飼育環境については、市街地群と郊外群、季節については、糞便を採取した時期が10～3月の涼寒期群と4～9月の暖暑期群に区分して分析した。また、品種と *G. intestinalis* 感染との関係についても分析した。一方、繁殖施設の飼育イヌにおいては、年齢を1～7カ月齢未満群および7カ月齢以上の群に区分し、性別および品種とともに *G. intestinalis* の感染状況を解析した。

4) 統計学的解析

統計学的解析は、 χ^2 検定より誤差の少ないフィッシャーの直接確率計算法[87]で行い、危険率が5%以下($p < 0.05$)の場合に2数値間に有意差があると判断した。

3. 成績

1) *G. intestinalis* 検出における ELISA 法と直接塗抹法および沈澱法の比較

ELISA 法、直接塗抹法および沈澱法で検査した 769 検体について

は、ELISA法の陽性率が15.3%(118/769)であったのに対し、直接塗抹法および沈澱法の*G. intestinalis*検出率はそれぞれ7.0%(54/769)および8.5%(65/769)であり、ELISA法の陽性率はいずれの方法よりも有意に(いずれも $p < 0.0001$)高かった。一方、直接塗抹法と沈澱法の*G. intestinalis*検出率には、有意差が認められなかった($p = 0.3399$)。直接塗抹法で陽性の54検体は、沈澱法およびELISA法の両方ですべて陽性であった。また、沈澱法で陽性の65検体はELISA法ですべて陽性であり、沈澱法で陰性の704検体のうち651検体がELISA法でも陰性であったことから、ELISA法の沈澱法に対する検出感度と検出特異性は、それぞれ100%(65/65)および92.5%(651/704)であると考えられた(表2)。

ELISA法で陽性だった118検体のうち75検体からは、直接塗抹法または沈澱法で*G. intestinalis*のトロフォゾイトまたはシスト、*Isospora*属原虫のオーシスト、*Toxocara canis*(イヌ回虫)、*Ancylostoma caninum*(イヌ鉤虫)または*Trichuris vulpis*(イヌ鞭虫)と考えられる虫卵が検出され、そのうちの15検体では*G. intestinalis*と*Isospora*属原虫のオーシスト、*T. canis*または*T. vulpis*と考えられる虫卵が同時に検出された(表3)。一方、ELISA法で陰性だった651検体のうち79検体(12.1%)から*Isospora*属原虫のオーシスト、*T. canis*、*A. caninum*、*T. vulpis*または*Spirometra erinaceieuropaei*(マンソン裂頭条虫)と考えられる虫卵および*Strongyloides stercoralis*(糞線虫)の第1期子虫と考えられる虫体が検出され、そのうち9検体では2種以上の寄生虫が認められた。*G. intestinalis*以外の寄生虫検出率はELISA陽性検体で18.9%(10/53)、ELISA陰性検体で12.1%(79/651)であり、両者には

有意差がなかった($p=0.1931$)。

2) 一般家庭で飼育されているイヌにおける *G. intestinalis* 抗原の検出状況

一般家庭で飼育されているイヌ 1020 頭の 16.1% (164 頭) から *G. intestinalis* 抗原が検出された(表 4)。

検査した糞便の性状と ELISA 法による陽性率の関係では、固形便、軟便および下痢便の陽性率は、それぞれ 14.3% (100/701), 22.4% (50/223) および 14.6% (14/96) であり、軟便の陽性率は、固形便より有意に($p=0.0049$)高かった。

イヌの年齢と *G. intestinalis* 抗原陽性率との関係については、1 カ月齢～16 歳齢のイヌから抗原が検出され、年齢別にみると 1～7 カ月齢未満の抗原陽性率 22.8% (83/364) は、7 カ月齢～2 歳齢未満の 11.2% (16/143), 2～6 歳齢未満の 11.5% (35/304), 6 歳齢以上の 14.4% (30/209) と比較して有意に(それぞれ $p=0.0027$, $p=0.0001$, $p=0.0162$)高かった。

飼養形態別では、室内飼育イヌの抗原陽性率 18.9% (137/723) は、室外飼育イヌの 9.1% (27/297) に比較して有意に($p=0.0001$)高かった。

由来別では、ペットショップ/繁殖施設由来イヌの抗原陽性率 20.5% (130/634) は、一般家庭由来イヌの 8.8% (34/386) より有意に($p<0.0001$)高かった。

性別による検出率は雄イヌで 14.0% (66/473), 雌イヌで 17.9% (98/547) であり、両者に有意差は認められなかった。

飼育環境別では、市街地で飼育されているイヌの抗原陽性率は 12.4% (14/113) で、郊外で飼育されているイヌの 16.5% (150/907)

と有意差がなかった。

季節別の検出率は、涼寒期の 17.9% (73/408) と暖暑期の 14.9% (91/612) で差が認められなかった。

品種別の *G. intestinalis* 抗原陽性率については、疫学的要因とともに表 5 および 6 に示した。抗原陽性率が全頭数の陽性率 16.1% より高かった品種は、検査頭数が 10 頭以上ではチワワ (27.8%, 30/108), ミニチュア・ダックスフンド (23.5%, 32/136), シー・ズー (28.6%, 18/63), ポメラニアン (25.0%, 11/44), パピヨン (17.6%, 6/34), ビーグル (18.8%, 6/32), マルチーズ (30.4%, 7/23), 土佐犬 (20.0%, 3/15) およびキャバリア・キング・チャールズ・スパニエル (16.7%, 2/12) であり (表 5), 調査頭数が 10 頭未満の品種ではウェルシュ・コーギー (44.4%, 4/9), 秋田犬 (33.3%, 2/6), ジャーマン・シェパード (16.7%, 1/6), バーニーズ・マウンテン・ドッグ (66.7%, 2/3), フレンチ・ブルドッグ (33.3%, 1/3) およびウェルシュ・スプリンガー・スパニエル (100%, 1/1) であった (表 6)。

イヌの疫学的分析要因別で抗原陽性率に有意差が認められた糞便の性状、年齢、飼養形態および由来について、それぞれの組み合わせによる抗原の検出状況を解析した。

年齢と飼養形態の関係では、1~7 カ月齢未満の室内飼育イヌの抗原陽性率 25.3% (80/316) は、同年齢の室外飼育イヌの 6.3% (3/48) より有意に ($p=0.0026$) 高く、また、7 カ月齢~2 歳齢未満および 2~6 歳齢未満で室内飼育イヌの 14.5% (12/83) および 12.4% (26/209) より有意に (それぞれ $p=0.0403$, $p=0.0003$) 高かった (表 7)。

年齢と由来の関係では、一般家庭由来イヌの抗原陽性率は、6 歳齢以上で 17.8% (18/101) であり、これは 1~7 カ月齢未満の 3.2%

(3/93), 7カ月齢～2歳齢未満の3.1%(2/64)および2～6歳齢未満の8.6%(11/128)より有意に(それぞれ $p=0.0010$, $p=0.0058$, $p=0.0455$)高かった。一方, ペットショップ/繁殖施設由来イヌの抗原陽性率は, 1～7カ月齢未満で29.5%(80/271)であり, これは7カ月齢～2歳齢未満の17.7%(14/79), 2～6歳齢未満の13.6%(24/176)および6歳齢以上の11.1%(12/108)より有意に(それぞれ $p=0.0432$, $p<0.0001$, $p=0.0001$)高かった。また, 1～7カ月齢未満および7カ月齢～2歳齢未満のイヌの抗原陽性率は, ペットショップ/繁殖施設由来で29.5%および17.7%であり, いずれも同年齢の一般家庭由来の陽性率3.2%および3.1%より有意に(それぞれ $p<0.0001$, $p=0.0067$)高かった(表7)。

年齢と糞便の性状の関係では, 1～7カ月齢未満で軟便のイヌの抗原陽性率29.7%(41/138)は, 同年齢の固形便の陽性率17.6%(36/204)より有意に($p=0.0119$)高く, また, 2～6歳齢未満で軟便のイヌの陽性率9.5%(4/42)より有意に($p=0.0078$)高かった(表7)。

飼養形態と由来の関係では, 室内飼育イヌの抗原陽性率は, ペットショップ/繁殖施設由来で21.5%(121/562)であり, これは一般家庭由来の9.9%(16/161)より有意に($p=0.0006$)高かった(表8)。

飼養形態と糞便の性状の関係では, 室内飼育で軟便の抗原陽性率27.3%(47/172)は, 同飼養形態の固形便の陽性率16.2%(82/505)より有意に($p=0.0023$)高く, また, 室外飼育で軟便の陽性率5.9%(3/51)より有意に($p=0.0009$)高かった。さらに, 室内飼育で固形便の抗原陽性率(16.2%)は, 室外飼育で固形便の陽性率9.2%(18/196)より有意に($p=0.0161$)高かった(表8)。

由来と糞便の性状の関係では, ペットショップ/繁殖施設由来で軟

便の抗原陽性率 27.6% (47/170)は、同由来の固形便の陽性率 17.4% (73/419)より有意に ($p=0.0067$)高く、また、一般家庭由来で軟便の陽性率 5.7% (3/53)より有意に ($p=0.0005$)高かった。さらに、ペットショップ/繁殖施設由来で固形便の抗原陽性率 17.4% (73/419)は、一般家庭由来で固形便の 9.6% (27/282)より有意に ($p=0.0040$)高かった(表 9)。

3) 繁殖施設で飼育されているイヌにおける *G. intestinalis* 抗原の検出状況

検査した 14 カ所の繁殖施設のイヌにおける *G. intestinalis* 抗原陽性率は 37.4% (135/361)と高い値を示し、繁殖施設別の陽性率は 6.7~59.3%であった。1 カ月齢~8 歳齢までの幅広い年齢層から抗原が検出されたが、1~7 カ月齢未満の抗原陽性率 50.0% (42/84)は 7 カ月齢以上の 33.5% (93/277)に比較して有意に ($p=0.0097$)高かった(表 10)。

抗原陽性率は、固形便で 37.4% (111/297)、軟便で 37.3% (19/51)、下痢便で 38.5% (5/13)であり、糞便の性状による有意な差は認められなかった。また、抗原陽性率は、雄で 37.3% (41/110)、雌で 37.5% (94/251)と性別による差も認められなかった(表 11)。

G. intestinalis の母子間伝播の可能性を明らかにするため、母子関係が特定できた母イヌ 42 頭とその子イヌ 69 頭について抗原の検出状況を解析した。抗原が検出された 13 頭の母イヌから生まれた子イヌ 19 頭の抗原陽性率は 36.8% (7/19)であり、抗原が検出されなかった 29 頭の母イヌから生まれた子イヌ 50 頭の抗原陽性率 48.0% (24/50)と有意差がなかった ($p=0.4324$)。

繁殖施設のイヌ全頭における抗原陽性率 37.4% (135/361) より高い陽性率を示した品種は、チワワ 37.5% (33/88), パピヨン 44.4% (12/27), イングリッシュ・コッカー・スパニエル 40.9% (9/22), ミニチュア・プードル 57.1% (12/21), ベアデッド・コリー 64.7% (11/17), マルチーズ 53.3% (8/15), ポメラニアン 54.5% (6/11), 柴犬 100% (5/5), チャイニーズ・クレストッド・ドッグ 100% (1/1) およびペキニーズ 100% (1/1) であった(表 12)。

年齢と糞便の性状の関係を解析したところ, 1~7 カ月齢未満で固形便および軟便の抗原陽性率 49.3% (33/67) と 75.0% (6/8) は, いずれも 7 歳齢以上の陽性率 33.9% (78/230) と 30.2% (13/43) より有意に (それぞれ $p=0.0309$, $p=0.0403$) 高かった(表 13)。

4. 考 察

1) *G. intestinalis* 検出における ELISA 法と直接塗抹法および沈澱法の比較

ELISA 法による *G. intestinalis* 抗原の検出では, 一般的に抗原類似物質などによる非特異的反応の可能性が示唆されている [7, 54, 100]。本研究では, 直接塗抹法または沈澱法で *G. intestinalis* 虫体が確認された検体は, すべて ELISA 抗原が陽性であった(検出感度: 100%) ことから, 今回使用した ELISA キットによるイヌの *G. intestinalis* 感染評価において擬陰性の結果をもたらす可能性は低いことが示唆された。一方, ELISA 法の抗原陽性率は沈澱法のシスト検出率より有意に高く, ELISA 法が陽性で沈澱法が陰性を示した検体が 53 検体存在した。従来の糞便検査による虫体の検出は, 糞便内虫体数の経時的な増減 [44] や機械的ないしは化学的刺激による

トロフォゾイトやシストの破壊および変形[55]などの影響を受けやすいため、その検出率は約 70%であるとされている[8, 20]。これに対して、今回使用した ELISA キットは *G. intestinalis* のトロフォゾイト細胞壁およびシスト壁を構成する蛋白抗原をモノクローナル抗体で検出するものであり、糞便中に抗原蛋白が存在すれば虫体が完全な形でなくても検出可能である[107]。また、ELISA 法が陽性で沈澱法が陰性を示した 53 検体のうち 41 例については、*G. intestinalis* 感染率が高いことが示されているペットショップ/繁殖施設由来のイヌ[4, 6, 14, 49, 53, 110, 125]であったことから、*G. intestinalis* に感染している可能性が高いと考えられた。また、それ以外の 12 検体のうち 2 例のイヌは、ペットショップ併設のペットホテルやトリミング施設に出入りがあったことから、それらの施設内で感染した可能性が疑われた。

G. intestinalis 以外の消化管内寄生虫が ELISA の反応に及ぼす影響については、沈澱法で *G. intestinalis* 虫体が検出されずに ELISA 陽性であった 53 検体の 18.9%(10/53) から 4 種の寄生虫 (*Isospora* 属原虫, *T. canis*, *A. caninum* および *T. vulpis*) が検出され、一方、ELISA 陰性検体の 12.1%(79/651) から 6 種 (*Isospora* 属原虫, *T. canis*, *A. caninum*, *T. vulpis*, *S. stercoralis* および *S. erinaceieuropaei*) が検出され、両者間の検出率に有意差が認められなかったことから、これらの寄生虫種が ELISA の成績に影響を及ぼすことはない と推察された。Schunk ら[107]も今回使用した ELISA キットの検出感度と特異性はそれぞれ 100%ならびに 99.6% であり、*G. intestinalis* 以外の消化管内寄生虫に対する交差反応は認められず、それらが非特異的反応の原因となる可能性は極めて低

いことを報告している。さらに、本キットの反応に他の寄生虫種が影響を及ぼさないことは、Weitzelら[128]によっても確認されている。以上のことから、イヌの *G. intestinalis* 感染に関する疫学調査を実施する上で、本 ELISA キットの有用性が明らかになった。

2) 一般家庭で飼育されているイヌにおける *G. intestinalis* 抗原の検出状況

G. intestinalis 抗原は、調査したイヌの 16.1% (164/1020) から検出された。イヌの *G. intestinalis* 感染状況を浮遊法や沈澱法で調査した報告では、一般家庭飼育イヌにおける本虫体の検出率は日本国内で 0~23.4% [4, 5, 53, 83, 103-105], 海外で 0~17.0% である [26, 27, 50, 54, 63, 79, 96, 115]。これに対して、ELISA 法を用いた調査は少ないが、捕獲イヌの調査で 29.5% (78/264) [17] と 55.2% (101/183) [93], また、一般家庭飼育イヌの調査では、7.6% (93/1216) [54] と 48.2% (39/81) [83] の抗原陽性率が示されている。これらの報告のほとんどでは、調査対象としたイヌの年齢や飼養形態、由来などの疫学的データと *G. intestinalis* 検出との関係については触れていない。

今回の調査において、*G. intestinalis* 感染と疫学データとの関連について詳細に検討したところ、イヌの年齢、飼養形態、由来、品種および糞便の性状の各要因は、*G. intestinalis* 感染に関連する可能性があり、性別や飼育環境、季節の各要因との関連性は低いことが示された。

イヌの年齢と *G. intestinalis* の検出率については、若齢イヌで高いことが報告され [4, 6, 14, 53, 54, 63, 93, 114], 今回の成績でも 1

～7カ月齢未満群の抗原陽性率が他の年齢群より有意に高く，そのことが確認された。若齢イヌにおける感染率の高さは，免疫機能の未熟さと関連すると考えられている[62]が，一方ではイヌの免疫システムは，出生時すでに十分に発達していることが示されている[30, 117]。また，若齢イヌはストレスに対する感受性が高く[95]，ストレスによる免疫システムの異常[61]が高い感染率の原因であるのかもしれない。イヌの年齢と由来の関係では，1～7カ月齢未満のペットショップ/繁殖施設由来イヌの抗原陽性率は，同年齢の一般家庭由来イヌに比べて有意に高かった。過去の報告でも，ペットショップ/繁殖施設に由来する子イヌの *G. intestinalis* 感染率は高いことが示されている[4, 6, 14, 49, 53, 110, 125]。本調査の成績もこれを支持し，ペットショップ/繁殖施設が子イヌの *G. intestinalis* 感染の場として重要であることを示唆している。また，年齢と飼養形態の関係で，1～7カ月齢未満のイヌでは室内飼育の抗原陽性率が室外飼育より高かったが，これも由来が原因であると考えられた。なぜなら，1～7カ月齢未満のイヌにおいて，調査した室内飼育 316頭の 83.5% (264頭)がペットショップ/繁殖施設由来であったのに対し，室外飼育 48頭では 14.6% (7頭)がペットショップ/繁殖施設由来であったからである。さらに，7カ月齢以上の各年齢群において，室内飼育イヌと室外飼育イヌの抗原陽性率には有意差が認められなかったことから，飼養形態と *G. intestinalis* 感染には直接的な関係がないと考えられた。しかし，室内飼育イヌの抗原陽性率が高く，しかも抗原陽性イヌの 83.5% (137/164)が室内で飼育されていた事実は，ヒトへの感染源として重要な意義があると考えられた。

7カ月齢以上のイヌでは，各年齢群ともに 11%以上の比較的高い

抗原陽性率がみられた。この成績は、Itoh ら[53]が 2001 年に同地域で 7 カ月齢以上の一般家庭飼育イヌ 444 頭について沈澱法を用いて報告した *G. intestinalis* 虫体の検出率 2.4~7.5% より明らかに高かった。両者の検出率の違いは、前述した検査法の感度に起因すると考えられた。年齢と由来別との関連性では、ペットショップ/繁殖施設由来のイヌで、年齢の増加にともない抗原陽性率が低下した。*G. intestinalis* の感染では、年齢とともに感染率の低下がみられ[6, 14, 45, 53, 63, 106]、宿主の免疫システムによる虫体の排除が報告されている[23, 29, 88, 101]。さらに、今回調査したペットショップ/繁殖施設由来イヌの 88.6%(562/634)が室内飼育であり、一般家庭の室内環境では新たな感染機会が少ないと推測されることが、陽性率の低下に関与したと考えられた。また、室内飼育ではイヌの健康に対する飼育者の関心が高いことが多く、抗 *Giardia* 薬の投与による陽性率の低下もあると推察された。これに対して、一般家庭由来イヌでは、2 歳齢以上の年齢で抗原陽性率がそれまでの年齢より高い傾向を示した。2~6 歳齢未満および 6 歳齢以上の一般家庭由来イヌでは、それぞれの 57.8%(74/128)および 67.3%(68/101)が室外飼育であったことから、野外環境での *G. intestinalis* 感染機会の増加が関係していると考えられ、このことは、年齢と飼養形態の関係で、室外飼育イヌの抗原陽性率が年齢とともに増加する傾向を示したこととも一致していた。

イヌの品種と *G. intestinalis* 感染率との関係は、これまでに報告されていない。本調査では、抗原陽性率が高い品種(チワワ, ミニチュア・ダックスフンド, シー・ズー, ポメラニアン, パピヨン, ビーグル, マルチーズ, 土佐犬およびキャバリア・キング・チャール

ズ・スパニエル)が認められたが、そのうちシー・ズー、ビーグルおよび土佐犬を除いた品種ではいずれもペットショップ/繁殖施設に由来する割合が高く(86.8~94.1%), そのことがこれらの品種の抗原陽性率が高いことの要因であると考えられた。また、ビーグルでもペットショップ/繁殖施設に由来するイヌの割合は 62.5%であったが、抗原が検出された例は、すべてペットショップ/繁殖施設由来であった。一方、シー・ズーではペットショップ/繁殖施設に由来する割合が 74.6%と比較的高い値であったが、抗原陽性率は一般家庭由来で高かった。しかし、一般家庭由来の抗原陽性イヌは、全例が同一のトリミング施設を利用していたことから、その施設での感染が疑われた。ペットショップ/繁殖施設とは関係のない土佐犬で *G. intestinalis* の抗原陽性率が高いことは、ヒトに対する危険防止のために限られたスペースで非衛生的に飼養されていることが多く、再感染の機会が多いと考えられた。以上のことは、*G. intestinalis* 感染の差は、イヌの品種の差というよりはペットショップ/繁殖施設などの由来施設における感染状況の差や利用施設の汚染状況の差と関連があると考えられた。

糞便の性状と抗原陽性率の関係では、イヌの *G. intestinalis* 感染と下痢の発生については、必ずしも一致した知見は得られていない[62, 64, 74, 83, 94, 111, 125, 132]が、若齢イヌの感染で下痢の発生と関係があるとする報告もある[62, 74, 94, 111, 125]。今回の成績で 1~7 カ月齢未満のイヌにおける抗原陽性率が、軟便および下痢便で固形便より高い傾向を示したことは、これらの若齢イヌでは、*G. intestinalis* 感染が軟便や下痢便の発現に関係したと考えられ、臨床的にも下痢の原因の一つとして考慮すべきであると考えられた。

以上のように，一般家庭で飼育されているイヌの *G. intestinalis* 抗原陽性率は，ペットショップ/繁殖施設由来の室内飼育イヌで高いことから，ヒトへの感染源として重要な意義を持つことが明らかになった。そのため，臨床獣医師としてはイヌからヒトへの感染を防ぐために，一般家庭の飼育者に対して定期的にイヌの糞便を ELISA 法で検査して *G. intestinalis* を積極的に駆除することや糞便の適切な処理，飼育ケージおよび運動場の熱湯消毒を励行する必要があると考えられた。また，口移しで食べ物を与えるなどの過度な接触を避け，イヌを触った後には流水と石けんで十分に手指を洗浄し，さらに，イヌの体は定期的なシャンプーで清潔に保つなど衛生的対応を十分にとるよう指導する必要があると考えられた。

3) 繁殖施設で飼育されているイヌにおける *G. intestinalis* 抗原の検出状況

これまでに報告された疫学調査の成績 [4, 6, 14, 49, 53, 110, 125] や今回の一般家庭で飼育されているイヌにおける成績から，ペットショップ/繁殖施設が子イヌの *G. intestinalis* 感染の場として重要な役割を果たしていることが示唆された。しかしながら，これらの施設のイヌにおける *G. intestinalis* 感染状況に関する疫学調査は極めて少なく [49]，日本国内では実施されていない。

今回実施した日本各地に存在する繁殖施設で飼育されているイヌ 361 頭の調査で，*G. intestinalis* 抗原陽性率が 37.4% (135/361) と高く，特に 1~7 カ月齢未満の陽性率は 50.0% (42/84) と著しく高かった。また，抗原陽性イヌはすべての施設で確認され，*G. intestinalis* 感染が繁殖施設において広く，そして高率に蔓延していることが明

らかとなった。さらに、7カ月齢以上のイヌでも33.5%(93/277)の高い抗原陽性率であり、しかも8歳齢まで広い年齢層から抗原が検出されたことは、繰り返されるシストへの暴露により再感染が成立していることを示唆していると考えられた。ヒトでも *G. intestinalis* の濃厚感染地帯で、再感染が頻繁に生じていることが報告されている[102]。

抗原陽性率は、施設間で6.7～59.3%の違いが認められたが、飼育頭数が20頭以下の比較的小規模な施設(青森#1, 秋田#1 および神奈川#1)で低く、また、それらのうち1カ所(神奈川#1)は開設後間もない施設であった。一方、多頭飼育の7施設(青森#3, 青森#5, 新潟#1, 長野#1, 東京#1, 東京#2 および徳島#1)では高い陽性率であった。今回、各施設の衛生状態については調査を実施していないが、施設の衛生状態と *G. intestinalis* 感染状況には関連性があると推測され、繁殖施設管理者の衛生状態に対する意識がそれぞれの施設における抗原陽性率に反映されていると考えられた。

品種別の抗原陽性率が高かったのは、そのほとんどがチワワをはじめとした小型の室内飼育品種であり、これらの品種では施設内で数頭が同じサークルないしはケージ内で飼育・管理されている状況があり、感染の機会が多いことに起因すると考えられた。

本調査では、抗原が検出された母イヌとその子イヌの感染に関連性は認められなかった。Horejs と Koudela [49]もジャーマン・シェパードの繁殖施設における調査で同様の成績を報告している。このことは、子イヌの *G. intestinalis* 感染は、同居時に母イヌから排泄されたシストによって生じるものではなく、繁殖施設内の環境に存在するシストを摂取することが原因であることを示していると考え

られた。

以上、日本国内のイヌの繁殖施設において *G. intestinalis* が広く、そして高率に蔓延し、子イヌの感染源として重要な役割を果たしていることが明らかになった。今後、繁殖施設の管理者および従事者に対して、繁殖用イヌと若齢イヌの *G. intestinalis* 検査を定期的の実施することを推奨し、その成績をもとに有効性が高く安全な抗 *Giardia* 薬を積極的に投与することで、施設内の感染をコントロールする必要性を訴え、また、シストの排除を目的とした飼育ケージや運動場の定期的な熱湯消毒を実施するよう指導が必要であると考えられた。

5. 小 括

一般家庭および繁殖施設で飼育されているイヌにおける *G. intestinalis* の感染状況を糞便中の特異抗原を検出する ELISA キットで調査した。

今回使用した ELISA キットは、従来用いられてきた直接塗抹法やホルマリン・酢酸エチル沈澱法より *G. intestinalis* を検出する感度が高く、イヌの本虫感染を評価するのに有用であることが示された。

一般家庭で飼育されているイヌの *G. intestinalis* 抗原陽性率は、16.1% (164/1020) であり、イヌの年齢、由来および糞便の性状の各疫学的要因と関連が認められた。年齢と由来の関係では、1～7カ月齢未満のイヌの抗原陽性率は、ペットショップ/繁殖施設由来 (29.5%) が一般家庭由来 (3.2%) より有意に高いことから、子イヌにおける *G. intestinalis* 感染の場としてペットショップ/繁殖施設が

重要な役割を果たしていることが強く示唆された。飼養形態と *G. intestinalis* 感染との直接的な関係は認められなかったが、抗原陽性イヌの 83.5% が室内飼育であったことは、保虫宿主として重要な意義があると考えられた。糞便の性状と抗原陽性率の関係では、1～7 カ月齢未満の抗原陽性率が、軟便(29.7%)および下痢便(27.3%)で固形便(17.6%)より高い傾向がみられ、この年齢のイヌでは軟便や下痢便の発現に *G. intestinalis* 感染の関与が示唆された。

繁殖施設で飼育されているイヌ 361 頭の *G. intestinalis* 抗原陽性率は 37.4% (135/361) と高く、特に 1～7 カ月齢未満の抗原陽性率は、50.0% (42/84) であった。また、調査した 14 施設のすべてで抗原陽性イヌが確認されたことから、日本国内の繁殖施設は *G. intestinalis* に広く、そして高率に汚染され、子イヌの感染の場として極めて重要であることが明らかとなった。

表 1 調査した繁殖施設とイヌの数

施設	品 種	飼 養 数		合 計
		1~7カ月齢未満	7カ月齢以上	
青 森 #1	ミニチュア・シュナウザー	1	5	6
	ミニチュア・ダックスフンド	0	2	2
	ウェルシュ・スプリングー・スパニエル	0	1	1
	ゴールデン・レトリバー	0	1	1
	ベアデッド・コリー	0	1	1
	ウェスト・ハイランド・ホワイト・テリア	0	1	1
小計	1	11	12	
青 森 #2	チワワ	3	2	5
	ヨークシャー・テリア	1	4	5
	ゴールデン・レトリバー	0	1	1
	小計	4	7	11
青 森 #3	チワワ	1	9	10
	ミニチュア・ダックスフンド	1	10	11
	ヨークシャー・テリア	1	4	5
	シー・ズー	0	6	6
	マルチーズ	1	3	4
	ボメラニアン	0	1	1
	パピヨン	1	6	7
	小計	5	39	44
青 森 #4	フレンチ・ブルドッグ	0	1	1
	パピヨン	3	2	5
	ミニチュア・プードル	0	1	1
	チワワ	2	1	3
	ブリュッセルズ・グリフォン	1	0	1
小計	6	5	11	
青 森 #5	ミニチュア・ダックスフンド	6	6	12
	ヨークシャー・テリア	2	1	3
	チワワ	7	5	12
	小計	15	12	27
秋 田 #1	ジャーマン・シェパード	0	7	7
	ラブラドル・レトリバー	0	4	4
	シェットランド・シープドッグ	0	1	1
	ゴールデン・レトリバー	0	3	3
	ミニチュア・ダックスフンド	1	3	4
	パピヨン	1	0	1
	小計	2	18	20
秋 田 #2	ウェルシュ・コーギー	3	3	6
	チワワ	0	6	6
	ミニチュア・プードル	1	1	2
	ミニチュア・ダックスフンド	0	1	1
	小計	4	11	15
岩 手 #1	ミニチュア・ダックスフンド	0	4	4
	チワワ	1	4	5
	バグ	0	3	3
	アメリカン・コッカー・スパニエル	0	2	2
	小計	1	13	14
	新 潟 #1	マルチーズ	0	7
ボメラニアン		0	2	2
ウェルシュ・コーギー		1	0	1
雑 犬		1	2	3
ヨークシャー・テリア		2	5	7
チワワ		2	9	11
ゴールデン・レトリバー		0	2	2
パピヨン		0	2	2
シー・ズー		0	1	1
ミニチュア・プードル		1	1	2
スピッツ		0	1	1
ミニチュア・ダックスフンド		1	0	1
小計		8	32	40
長 野 #1		チワワ	1	9
	ヨークシャー・テリア	2	3	5
	ボメラニアン	0	3	3
	パピヨン	1	4	5
	バグ	1	1	2
小計	5	20	25	
東 京 #1	ベアデッド・コリー	9	7	16
	ボメラニアン	1	1	2
	シー・ズー	0	4	4
	ヨークシャー・テリア	0	2	2
	ラブラドル・レトリバー	0	1	1
	イングリッシュ・コッカー・スパニエル	0	22	22
	小計	10	37	47
	東 京 #2	チワワ	2	11
ミニチュア・ダックスフンド		0	2	2
シー・ズー		0	1	1
チャイニーズ・クレステッド・ドッグ		0	1	1
ミニチュア・プードル		4	3	7
キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル		0	2	2
アメリカン・コッカー・スパニエル		0	1	1
小計		6	21	27
神 奈 川 #1		ミニチュア・ダックスフンド	5	2
	チワワ	1	5	6
	ミニチュア・プードル	1	1	2
	小計	7	8	15
徳 島 #1	マルチーズ	0	4	4
	ヨークシャー・テリア	2	4	6
	パピヨン	2	5	7
	ミニチュア・プードル	0	7	7
	チワワ	0	7	7
	ウェルシュ・コーギー	2	1	3
	ミニチュア・ダックスフンド	1	9	10
	ボメラニアン	1	2	3
	雑 犬	0	2	2
	シー・ズー	1	1	2
	ベキニーズ	1	0	1
	キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル	1	0	1
	小計	10	43	53

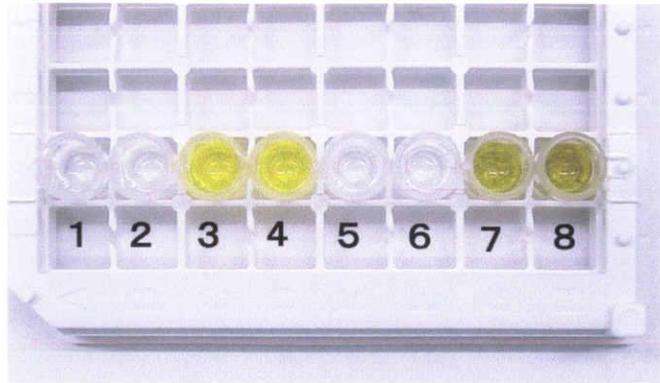


図 1 *Giardia intestinalis* 特異抗原検出 ELISA の反応
 1,2 : 特異抗原陰性検体
 3,4 : 特異抗原陽性検体
 5,6 : 陰性コントロール
 7,8 : 陽性コントロール

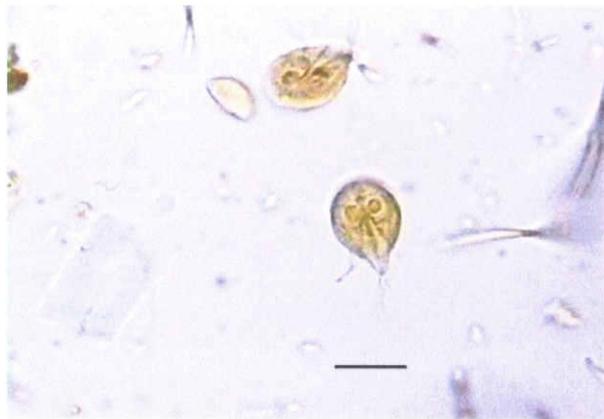


図 2 *Giardia intestinalis* のトロフォゾイト
 スケールバーは 10 μ m を示す



図 3 *Giardia intestinalis* のシスト
 スケールバーは 10 μ m を示す

表 2 一般家庭の飼育イヌ769検体における *Giardia intestinalis* 検出法の比較

		ELISA法		沈澱法		直接塗抹法	
		陽性数	陰性数	陽性数	陰性数	陽性数	陰性数
ELISA法	陽性数	118 (15.3%) ^a		65 (8.5%) ^b	53	54 (7.0%) ^c	64
	陰性数		651	0	651	0	651
沈澱法	陽性数			65		54	11
	陰性数				704		704
直接塗抹法	陽性数					54	
	陰性数						715

p値
a-b : <0.0001 a-c : <0.0001 b-c : 0.3399

表 3 ELISA 法による *Giardia intestinalis* 抗原の検出と糞便検査による寄生虫検出との関係

糞便検査で検出された寄生虫	ELISA 法による <i>G. intestinalis</i> 抗原の検出*	
	+	-
<i>G. intestinalis</i>	50	-
<i>Isospora</i> 属原虫	3	16
<i>Toxocara canis</i> (イヌ回虫)	3	23
<i>Ancylostoma caninum</i> (イヌ鉤虫)	1	6
<i>Trichuris vulpis</i> (イヌ鞭虫)	3	23
<i>Strongyloides stercoralis</i> (糞線虫)	0	1
<i>Spirometra erinaceieuropaei</i> (マンソン裂頭条虫)	0	1
<i>G. intestinalis</i> と <i>Isospora</i> 属原虫	13	0
<i>G. intestinalis</i> と <i>T. canis</i>	1	0
<i>G. intestinalis</i> と <i>T. vulpis</i>	1	0
<i>Isospora</i> 属原虫 と <i>T. canis</i>	0	2
<i>Isospora</i> 属原虫 と <i>S. stercoralis</i>	0	2
<i>T. canis</i> と <i>A. caninum</i>	0	1
<i>T. canis</i> と <i>T. vulpis</i>	0	4
なし	43	572
合計	118	651

* 数値は検体数を示し, +は陽性, -は陰性を示す

表 4 一般家庭飼育イヌの疫学的要因と*Giardia intestinalis* 抗原陽性率との関係

要 因	調 査 数	陽 性 数	陽 性 率 (%)		p 値
糞便の性状					
固形便	701	100	14.3	a	a-b : 0.0049 a-c : 0.8776 b-c : 0.1280
軟 便	223	50	22.4	b	
下痢便	96	14	14.6	c	
年 齢					
1～7カ月齢未満	364	83	22.8	d	d-e : 0.0027 d-f : 0.0001 d-g : 0.0162 e-f : >0.9999 e-g : 0.4242 f-g : 0.3477
7カ月齢～2歳齢未満	143	16	11.2	e	
2～6歳齢未満	304	35	11.5	f	
6歳齢以上	209	30	14.4	g	
飼養形態					
室内飼育	723	137	18.9	h	h-i : 0.0001
室外飼育	297	27	9.1	i	
由 来					
一般家庭	386	34	8.8	j	j-k : <0.0001
ペットショップ/繁殖施設	634	130	20.5	k	
性 別					
雄	473	66	14.0	l	l-m : 0.0881
雌	547	98	17.9	m	
飼育環境					
市街地	113	14	12.4	n	n-o : 0.2806
郊 外	907	150	16.5	o	
季 節					
涼寒期	408	73	17.9	p	p-q : 0.2232
暖暑期	612	91	14.9	q	
全 体	1020	164	16.1		-

表 5 一般家庭飼育イヌの品種と各要因別の *Giardia intestinalis* 抗原陽性率(%) : 調査数10頭以上

品 種	陽 性 率	年 齢 [§]				飼 養 形 態		由 来		性 別		飼 育 環 境		季 節	
		I	II	III	IV	室 内	室 外	一 般 家 庭	ペ/繁 [†]	雄	雌	市 街 地	郊 外	涼 寒 期	暖 暑 期
チワワ	27.8 (30/108) *	27.0 (20/75)	16.7 (1/6)	36.0 (9/25)	0 (0/2)	40.0 (30/75)	0 (0/33)	37.5 (3/8)	27.0 (27/100)	16.3 (7/43)	35.4 (23/65)	15.4 (2/13)	29.5 (28/95)	33.3 (17/51)	22.8 (13/57)
ミニチュア・ダックスフンド	23.5 (32/136)	37.7 (23/61)	10.0 (2/20)	11.1 (5/45)	20.0 (2/10)	23.5 (18/36)	0 (0/0)	5.6 (1/18)	26.3 (31/118)	20.6 (14/68)	26.5 (18/68)	16.7 (4/24)	25.0 (28/112)	25.5 (14/55)	22.2 (18/81)
雑種	6.8 (18/263)	0 (0/55)	2.1 (1/47)	6.2 (5/81)	15.0 (12/80)	4.7 (4/85)	7.9 (14/178)	7.0 (18/257)	0 (0/6)	6.4 (6/94)	7.1 (12/169)	14.3 (2/14)	6.4 (16/249)	4.1 (4/97)	8.4 (14/166)
シー・ズー	28.6 (18/63)	38.5 (5/13)	10.0 (1/10)	25.0 (5/20)	35.0 (7/20)	28.6 (18/63)	0 (0/0)	50.0 (8/16)	21.3 (10/47)	27.3 (9/33)	30.0 (9/30)	0 (0/8)	32.7 (18/55)	34.5 (10/29)	23.5 (8/34)
ヨークシャー・テリア	7.7 (4/52)	8.0 (2/25)	0 (0/3)	0 (0/13)	18.2 (2/11)	7.7 (4/52)	0 (0/0)	0 (0/5)	8.5 (4/47)	13.8 (4/29)	0 (0/23)	0 (0/7)	8.9 (4/45)	5.3 (1/19)	9.1 (3/33)
ラブラドル・レトリバー	2.2 (1/45)	8.3 (1/12)	0 (0/6)	0 (0/17)	0 (0/10)	3.7 (1/27)	0 (0/18)	0 (0/12)	3.0 (1/33)	4.0 (1/25)	0 (0/20)	0 (0/5)	2.5 (1/40)	6.7 (1/15)	0 (0/30)
ボメラニアン	25.0 (11/44)	36.8 (7/19)	0 (0/1)	21.4 (3/14)	10.0 (1/10)	25.0 (11/44)	0 (0/0)	0 (0/8)	30.6 (11/36)	17.6 (3/17)	29.6 (8/27)	33.3 (1/3)	24.4 (10/41)	30.8 (4/13)	22.6 (7/31)
柴犬	12.2 (5/41)	7.7 (1/13)	33.3 (2/6)	11.1 (1/9)	7.7 (1/13)	11.8 (2/17)	12.5 (3/24)	9.1 (1/11)	13.3 (4/30)	5.3 (1/19)	18.2 (4/22)	0 (0/2)	12.8 (5/39)	10.5 (2/19)	13.6 (3/22)
ゴールデン・レトリバー	13.9 (5/36)	33.3 (2/6)	0 (0/5)	7.7 (1/13)	16.7 (2/12)	27.8 (5/18)	0 (0/18)	0 (0/6)	16.7 (5/30)	16.7 (4/24)	8.3 (1/12)	16.7 (1/6)	13.3 (4/30)	11.8 (2/17)	15.8 (3/19)
パピヨン	17.6 (6/34)	23.5 (4/17)	40.0 (2/5)	0 (0/10)	0 (0/2)	17.6 (6/34)	0 (0/0)	0 (0/2)	18.8 (6/32)	16.7 (3/18)	18.8 (3/16)	0 (0/2)	18.8 (6/32)	22.2 (2/9)	16.0 (4/25)
ビーグル	18.8 (6/32)	57.1 (4/7)	20.0 (1/5)	12.5 (1/8)	0 (0/12)	18.8 (3/16)	18.8 (3/16)	0 (0/12)	30.0 (6/20)	14.3 (2/14)	22.2 (4/18)	0 (0/4)	21.4 (6/28)	18.2 (2/11)	19.0 (4/21)
シェットランド・シープドッグ	8.0 (2/25)	33.3 (2/6)	0 (0/4)	0 (0/7)	0 (0/8)	9.5 (2/21)	0 (0/4)	0 (0/2)	8.7 (2/23)	7.1 (1/14)	9.1 (1/11)	0 (0/4)	9.5 (2/21)	7.7 (1/13)	8.3 (1/12)
マルチーズ	30.4 (7/23)	45.5 (5/11)	25.0 (1/4)	25.0 (1/4)	0 (0/4)	31.8 (7/22)	0 (0/1)	0 (0/3)	35.0 (7/20)	28.6 (4/14)	33.3 (3/9)	37.5 (6/16)	14.3 (1/7)	36.4 (4/11)	25.0 (3/12)
土佐犬	20.0 (3/15)	0 (0/0)	20.0 (1/5)	20.0 (2/10)	0 (0/0)	0 (0/0)	20.0 (3/15)	20.0 (3/15)	0 (0/0)	20.0 (3/15)	0 (0/0)	0 (0/0)	20.0 (3/15)	28.6 (2/7)	12.5 (1/8)
バグ	13.3 (2/15)	0 (0/6)	100 (1/1)	0 (0/6)	50.0 (1/2)	13.3 (2/15)	0 (0/0)	0 (0/0)	13.3 (2/15)	14.3 (1/7)	12.5 (1/8)	0 (0/2)	15.4 (2/13)	0 (0/3)	16.7 (2/12)
キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル	16.7 (2/12)	20.0 (1/5)	0 (0/2)	0 (0/4)	100 (1/1)	18.2 (2/11)	0 (0/1)	0 (0/1)	18.2 (2/11)	20.0 (1/5)	14.3 (1/7)	50.0 (1/2)	10.0 (1/10)	20.0 (1/5)	14.3 (1/7)
ミニチュア・シュнауザー	0 (0/10)	0 (0/7)	0 (0/2)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/10)	0 (0/0)	0 (0/2)	0 (0/8)	0 (0/6)	0 (0/4)	0 (0/4)	0 (0/6)	0 (0/5)	0 (0/5)

* : (陽性数/調査数)

§ 年齢

I : 1~7カ月齢未満

II : 7カ月齢~2歳齢未満

III : 2~6歳齢未満

IV : 6歳齢以上

† : ペ/繁 = ペットショップ/繁殖施設

表 6 一般家庭飼育イヌの品種と各要因別の *Giardia intestinalis* 抗原陽性率(%) : 調査数10頭未満

品 種	陽 性 率	年 齢 [§]				飼 養 形 態		由 来		性 別		飼 育 環 境		季 節	
		I	II	III	IV	室 内	室 外	一 般 家 庭	ペ/繁 [†]	雄	雌	市 街 地	郊 外	涼 寒 期	暖 暑 期
ウェルシュ・コーギー	44.4 (4/9) *	66.7 (2/3)	50.0 (1/2)	33.3 (1/3)	0 (0/1)	50.0 (4/8)	0 (0/1)	0 (0/0)	44.4 (4/9)	20.0 (1/5)	75.0 (3/4)	50.0 (1/2)	42.9 (3/7)	40.0 (2/5)	50.0 (2/4)
ミニチュア・プードル	12.5 (1/8)	33.3 (1/3)	0 (0/1)	0 (0/3)	0 (0/1)	12.5 (1/8)	0 (0/0)	0 (0/0)	12.5 (1/8)	0 (0/5)	33.3 (1/3)	0 (0/2)	16.7 (1/6)	100 (1/1)	0 (0/7)
アメリカン・コッカー・スパニエル	0 (0/8)	0 (0/5)	0 (0/1)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/8)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/7)	0 (0/3)	0 (0/5)	0 (0/0)	0 (0/8)	0 (0/4)	0 (0/4)
秋田犬	33.3 (2/6)	0 (0/1)	50.0 (1/2)	100 (1/1)	0 (0/2)	0 (0/0)	33.3 (2/6)	0 (0/0)	33.3 (2/6)	0 (0/1)	40.0 (2/5)	0 (0/1)	40.0 (2/5)	0 (0/3)	66.7 (2/3)
ジャーマン・シェパード	16.7 (1/6)	50.0 (1/2)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/2)	0 (0/0)	16.7 (1/6)	0 (0/3)	33.3 (1/3)	0 (0/3)	33.3 (1/3)	0 (0/1)	20.0 (1/5)	0 (0/1)	20.0 (1/5)
グレート・ピレニーズ	0 (0/4)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/3)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/3)	0 (0/2)	0 (0/2)	0 (0/1)	0 (0/3)	0 (0/1)	0 (0/3)
バーニーズ・マウンテン・ドッグ	66.7 (2/3)	100 (1/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	100 (1/1)	50.0 (1/2)	100 (1/1)	0 (0/1)	100 (2/2)	0 (0/0)	66.7 (2/3)	0 (0/1)	100 (2/2)	50.0 (1/2)	100 (1/1)
フレンチ・ブルドッグ	33.3 (1/3)	0 (0/1)	50 (1/2)	0 (0/0)	0 (0/0)	33.3 (1/3)	0 (0/0)	0 (0/0)	33.3 (1/3)	50.0 (1/2)	0 (0/1)	100 (1/1)	0 (0/2)	100 (1/1)	0 (0/2)
ポインター	0 (0/3)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/3)	0 (0/3)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/3)	0 (0/2)	0 (0/1)
ウェスト・ハイランド・ホワイト・テリア	0 (0/2)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/2)	0 (0/1)	0 (0/1)
ボストン・テリア	0 (0/2)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/2)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/2)
ウェルシュ・スプリンガー・スパニエル	100 (1/1)	100 (1/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	100 (1/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	100 (1/1)	0 (0/0)	100 (1/1)	100 (1/1)	0 (0/0)	100 (1/1)	0 (0/0)
シベリアン・ハスキー	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)
パセンジ	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)
パセット・ハウンド	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)
ブリュッセルズ・グリフォン	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)
ボクサー	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)
ダルメシアン	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)
北海道犬	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)
ジャックラッセル・テリア	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)
紀州犬	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)
ミニチュア・ピンシャー	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)
ベキニーズ	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/1)

* : (陽性数/調査数)

§ 年齢

I : 1~7カ月齢未満

II : 7カ月齢~2歳齢未満

III : 2~6歳齢未満

IV : 6歳齢以上

† : ペ/繁 = ペットショップ/繁殖施設

表 7 一般家庭飼育イヌの年齢と飼養形態、由来および糞便の性状による *Giardia intestinalis* 抗原陽性率(%)の違い

要 因	年 齢 [§]				p 値					
	I	II	III	IV	飼養形態		由 来		糞便の性状	
飼養形態					a-b : 0.0403	a-c : 0.0003	a-d : 0.0694	a-e : 0.0026		
室内飼育	25.3 (80/316) *a	14.5 (12/83) b	12.4 (26/209) c	16.5 (19/115) d	b-c : 0.7000	b-d : 0.8432	c-d : 0.3180	b-f : 0.1837		
室外飼育	6.3 (3/48) e	6.7 (4/60) f	9.5 (9/95) g	11.7 (11/94) h	e-f : >0.9999	e-g : 0.7512	e-h : 0.3830	c-g : 0.5621		
					f-g : 0.7673	f-h : 0.4074	g-h : 0.6444	d-h : 0.4281		
由 来					A-B : >0.9999	A-C : 0.1610	A-D : 0.0010	A-E : <0.0001		
一般家庭	3.2 (3/93) A	3.1 (2/64) B	8.6 (11/128) C	17.8 (18/101) D	B-C : 0.2257	B-D : 0.0058	C-D : 0.0455	B-F : 0.0067		
ペットショップ/繁殖施設	29.5 (80/271) E	17.7 (14/79) F	13.6 (24/176) G	11.1 (12/108) H	E-F : 0.0432	E-G : <0.0001	E-H : 0.0001	C-G : 0.2047		
					F-G : 0.4477	F-H : 0.2071	G-H : 0.5858	D-H : 0.1743		
糞便の性状					ア-イ : 0.1392	ア-ウ : 0.1354	ア-エ : 0.5717	イ-ウ : 0.8577	イ-エ : 0.3643	ウ-エ : 0.4481
固形便	17.6 (36/204) ア	10.9 (12/110) イ	12.2 (28/230) ウ	15.3 (24/157) エ	オ-カ : 0.1036	オ-キ : 0.0078	オ-ク : 0.1300	カ-キ : >0.9999	カ-ク : >0.9999	キ-ク : 0.6909
軟 便	29.7 (41/138) オ	10.0 (2/20) カ	9.5 (4/42) キ	13.0 (3/23) ク	ケ-コ : 0.6800	ケ-サ : 0.1363	ケ-シ : 0.1499	コ-サ : 0.6174	コ-シ : 0.6370	サ-シ : >0.9999
下痢便	27.3 (6/22) ケ	15.4 (2/13) コ	9.4 (3/32) サ	10.3 (3/29) シ	ア-オ : 0.0119	ア-ケ : 0.2591	オ-ケ : >0.9999			
					イ-カ : >0.9999	イ-コ : 0.6428	カ-コ : >0.9999			
					ウ-キ : 0.7968	ウ-サ : >0.9999	キ-サ : >0.9999			
					エ-ク : >0.9999	エ-シ : 0.7737	ク-シ : >0.9999			

* : (陽性数/調査数)

§ 年齢

I : 1~7カ月齢未満

II : 7カ月齢~2歳齢未満

III : 2~6歳齢未満

IV : 6歳齢以上

表 8 一般家庭飼育イヌの飼養形態と由来および糞便の性状による *Giardia intestinalis* 特異抗原陽性率 (%) の違い

要因	飼養形態		p 値		
	室内飼育	室外飼育			
由来	一般家庭	9.9 (16/161) * a	8.0 (18/225) b	a-b : 0.5857	c-d : 0.0875
	ペットショップ/繁殖施設	21.5 (121/562) c	12.5 (9/72) d	a-c : 0.0006	b-d : 0.2461
糞便の性状	固形便	16.2 (82/505) e	9.2 (18/196) f	e-f : 0.0161	g-h : 0.0009 i-j : 0.5664
	軟便	27.3 (47/172) g	5.9 (3/51) h	e-g : 0.0023	e-i : 0.8353 g-i : 0.1865
	下痢便	17.4 (8/46) i	12.0 (6/50) j	f-h : 0.5808	f-j : 0.5936 h-j : 0.3184

*(陽性数/調査数)

表 9 一般家庭飼育イヌの由来と糞便の性状による *Giardia intestinalis* 抗原陽性率 (%) の違い

要因	由来		p 値		
	一般家庭	ペットショップ/繁殖施設			
糞便の性状	固形便	9.6 (27/282) k	17.4 (73/419) l	k-l : 0.0040	m-n : 0.0005 o-p : 0.0796
	軟便	5.7 (3/53) m	27.6 (47/170) n	k-m : 0.4433	k-o : >0.9999 m-o : 0.7129
	下痢便	7.8 (4/51) o	22.2 (10/45) p	l-n : 0.0067	l-p : 0.4160 n-p : 0.5700

*(陽性数/調査数)

表 10 繁殖施設別の飼育イヌにおける *Giardia intestinalis* 抗原陽性率(%)

繁殖施設	年 齢		合 計
	1~7月齢未満	7カ月齢以上	
青 森 #1	0 (0/1) *	9.1 (1/11)	8.3 (1/12)
青 森 #2	0 (0/4)	28.6 (2/7)	18.2 (2/11)
青 森 #3	60.0 (3/5)	38.5 (15/39)	40.9 (18/44)
青 森 #4	50.0 (3/6)	40.0 (2/5)	45.5 (5/11)
青 森 #5	33.3 (5/15)	25.0 (3/12)	29.6 (8/27)
秋 田 #1	0 (0/2)	11.1 (2/18)	10.0 (2/20)
秋 田 #2	25.0 (1/4)	18.2 (2/11)	20.0 (3/15)
岩 手 #1	100 (1/1)	15.4 (2/13)	21.4 (3/14)
新 潟 #1	100 (8/8)	28.1 (9/32)	42.5 (17/40)
長 野 #1	60.0 (3/5)	45.0 (9/20)	48.0 (12/25)
東 京 #1	100 (10/10)	32.4 (12/37)	46.8 (22/47)
東 京 #2	50.0 (3/6)	61.9 (13/21)	59.3 (16/27)
神 奈 川 #1	0 (0/7)	12.5 (1/8)	6.7 (1/15)
徳 島 #1	50.0 (5/10)	46.5 (20/43)	47.2 (25/53)
全 体	50.0 (42/84) ^a	33.5 (93/277) ^b	37.4 (135/361)

* : (陽性数/調査数)

p値

a-b : 0.0097

表 11 繁殖施設飼育イヌの疫学的要因と *Giardia intestinalis* 抗原陽性率との関係

要 因	調 査 数	陽 性 数	陽 性 率 (%)	p 値
糞便の性状				
固形便	297	111	37.4 ^a	a-b : >0.9999 a-c : >0.9999
軟 便	51	19	37.3 ^b	b-c : >0.9999
下痢便	13	5	38.5 ^c	
性 別				
雄	110	41	37.3 ^d	d-e : >0.9999
雌	251	94	37.5 ^e	
全 体	361	135	37.4	-

表 12 繁殖施設飼育イヌの品種と*Giardia intestinalis* 抗原陽性率の関係

品 種	調 査 数	陽 性 数	陽 性 率 (%)
チワワ	88	33	37.5
ミニチュア・ダックスフンド	54	17	31.5
ヨークシャー・テリア	33	11	33.3
パピヨン	27	12	44.4
イングリッシュ・コッカー・スパニエル	22	9	40.9
ミニチュア・プードル	21	12	57.1
ベアデッド・コリー	17	11	64.7
マルチーズ	15	8	53.3
シー・ズー	14	2	14.3
ポメラニアン	11	6	54.5
ウェルシュ・コーギー	10	2	20.0
ゴールデン・レトリバー	7	1	14.3
ジャーマン・シェパード	7	0	0
ミニチュア・シュнауザー	6	0	0
柴 犬	5	5	100
ラブラドル・レトリバー	5	1	20.0
シェットランド・シープドッグ	1	0	0
フレンチ・ブルドッグ	1	0	0
パ グ	5	1	20.0
アメリカン・コッカー・スパニエル	3	1	33.3
キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル	3	1	33.3
チャイニーズ・クレストッド・ドッグ	1	1	100
ペキニーズ	1	1	100
スピッツ	1	0	0
ウェスト・ハイランド・ホワイト・テリア	1	0	0
ブリュッセルズ・グリフォン	1	0	0
ウェルシュ・スプリンガー・スパニエル	1	0	0
全 体	361	135	37.4

表 13 繁殖施設飼育イヌの年齢と糞便の性状による *Giardia intestinalis* 抗原陽性率(%)の違い

	年 齢		p 値		
	1~7月齢未満	7カ月齢以上			
糞便の性状					
固形便	49.3 (33/67) * a	33.9 (78/230) b	a-b : 0.0309	c-d : 0.0403	e-f : >0.9999
軟便	75.0 (6/8) c	30.2 (13/43) d	a-c : 0.2649	a-e : 0.4861	c-e : 0.1534
下痢便	33.3 (3/9) e	50.0 (2/4) f	b-d : 0.7260	b-f : 0.6078	d-f : 0.5829

* : (陽性数/調査数)

第Ⅱ章 飼育イヌから分離した *Giardia intestinalis* の遺伝子型
解析

1. はじめに

Giardia intestinalis は、大別して assemblage A~G の 7 つの遺伝学的に異なる多様な集団(遺伝子型)で構成され、それぞれの遺伝子型により宿主特異性が異なると考えられている[84, 85]。これまでに、ヒトから分離された *G. intestinalis* の遺伝子型は assemblage A または B であり、イヌからは assemblage C または D とともに assemblage A または B も検出されている[11, 69, 85, 97]。すなわち、assemblage A および B はヒトやイヌ、ウシなど種々の哺乳動物から分離されていることから、宿主特異性が低い人獣共通感染性の遺伝子型であると考えられている[11, 28, 69, 85, 97]。実際にメキシコとインドでは、assemblage A または B によるイヌからの伝播が強く示唆されるヒトの感染事例が報告されている[24, 118, 119]ことから、ヒトの *G. intestinalis* 感染における保虫宿主としてイヌが果たす役割を解明することは、公衆衛生学的に重要であると考えられる。一方、assemblage C~G はそれぞれ分離された動物種が限定され、いずれもヒトからは分離されていないことから、宿主特異性が高く、ヒトへの感染性もないと考えられている[11, 69, 85, 97]。

第 I 章における疫学調査の成績から、日本国内の一般家庭で飼育されているあらゆる年齢のイヌが *G. intestinalis* に比較的高率に感染し、しかも感染イヌの 80% 以上が室内で飼育されていることが明らかとなった。さらに、これらの感染イヌの多くはペットショップ/繁殖施設で感染した可能性が強く示唆された。これまで日本国内のイヌから分離された *G. intestinalis* の遺伝子型に関しては、わずかに 4 分離株について解析されているに過ぎない[1]。そこで本章では、

イヌから分離される *G. intestinalis* の遺伝子型を有用性が確認されている *gdh* 遺伝子 [1, 28, 46, 85, 86] を用いて解明し, ヒトへの伝播の可能性を明らかにするとともに, 繁殖施設の *G. intestinalis* 感染の役割を考察した。

2. 材料および方法

1) *G. intestinalis* 分離株

青森県八戸市内およびその周辺地域の一般家庭で飼育され, 2003年2月~2004年2月に動物診療施設に来院した *G. intestinalis* 感染イヌ7頭の糞便から得た7分離株(分離株番号1~7)と, 2003年10月~2004年6月に青森県の2カ所(第I章の繁殖施設番号で青森#3, #4), 秋田県の1カ所(秋田#2), 長野県の1カ所(長野#1), 新潟県の1カ所(新潟#1)および東京都の1カ所(東京#1)の繁殖施設で飼育されていた *G. intestinalis* 感染イヌ17頭の糞便から得た17分離株(分離株番号8~24)の合計24分離株について遺伝子型を解析した(表14)。

2) シストの分離と精製

糞便からの *G. intestinalis* シストの分離・精製は, 比重1.21のショ糖溶液による遠心浮遊法でシストを回収し, シスト回収液に多量の夾雑物が存在する場合には Dynabeads anti-*Giardia* kit (Dynal A.S., Oslo, Norway) を用いてシストを精製して使用まで4℃または-80℃で保存した。

3) ゲノム DNA の抽出

ゲノム DNA の抽出は, Kuhn ら [66] の方法に従って実施した。すなわち, シストを 75 μ l の Tris-EDTA 緩衝液 (10 mM Tris-HCl, 1 mM

EDTA, pH 8.0)と 25 μ l の 10% SDS 混合液に浮遊し, 37°C で 24 時間インキュベートした。その後, 浮遊液を PCI(飽和フェノール:クロロホルム:イソアミルアルコール=25:24:1)で処理し, 冷却エタノールで DNA を沈澱した。乾燥させた DNA は, 10 μ l の MQ 水で溶解し, nested-PCR のテンプレートとして使用した。

4) nested-PCR 法による *gdh* 領域の増幅および塩基配列の決定

gdh 遺伝子の DNA 断片は, first PCR では *gdh* 遺伝子座の 768 bp を増幅する GDH1 (forward): ATC TTC GAG AGG ATG CTT GAG および GDH4 (reverse): AGT ACG CGA CGC TGG GAT ACT のプライマーセット[46], または, 約 700 bp を増幅する *gdh* 1f 2nd (forward): AGG ATG CTT GAG CCG GAG CG および *gdh* 4r 2nd (reverse): GGA TAC TTN TCC YTG AAC TC のプライマーセットを使用し, second PCR では約 220 bp を増幅する GDH F3 (forward): TCC ACC CCT CTG TCA ACC TTT C および GDH B5 (reverse): AAT GTC GCC AGC AGG AAC G のプライマーセット[1]を用いて, nested-PCR 法[36, 68]で増幅した。first PCR は, テンプレート DNA 溶液 3 μ l と 5 μ l の 5 \times Go Taq™ Reaction buffer, 0.2 mM dNTPs, 1.25 U Go Taq™ DNA Polymerase (Promega, Madison, USA) および 25 pmol ずつの各プライマーを含み, これに滅菌 MQ 水を加えて総反応液量 25 μ l で実施した。second PCR は, first PCR 産物 3 μ l をテンプレートとして用いたほかは, first PCR と同様に実施した。first および second PCR の反応条件は, 94°C で 3 分後, 94°C で 30 秒, 50°C または 55°C で 30 秒 および 72°C で 1 分の 3 ステップを 40 サイクル行い, 最後に 72°C で 7 分であった。反応は GeneAmp PCR System 2700 (PE Applied Biosystem, Norwalk,

USA)で行った。second PCR 産物は $0.5 \mu\text{g/ml}$ エチジウムブロマイドを含む 1.2%アガロース電気泳動により可視化し, ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit ver. 3.1 (PE Applied Biosystem, Norwalk, USA)と second PCR で使用したものと同一プライマーセットを用いてダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。シーケンス反応は, 3100-Avant Genetic Analyzer (PE Applied Biosystem, Norwalk, USA)で実施した。それぞれの DNA 試料は forward および reverse の両プライマーを用いて 2 回以上シーケンスを行った。シーケンスデータの編集には DNASIS プログラム(ver. 3.2, 日立ソフトウェア, 東京)を用い, 読み取った塩基はクロマトグラムの波形を確認することと, Genbank に登録された主要な assemblage の塩基配列と比較することで修正した。用いた既知の配列と登録番号は assemblage A が L40509 [86], assemblage B が L40508 [86], assemblage C が U60985 [85], assemblage D が U60986 [85]であった。

5) 疫学的調査項目

分離株を得たイヌについては品種, 年齢, 性別, 由来, 飼養形態および糞便の性状について調査した。

3. 成績

24 分離株で決定された塩基配列(177 bp)は異なる 4 パターンを示し, 14 分離株(分離株番号 3, 5, 8~15, 17, 19, 20, 22)は assemblage A の配列と 100%一致し, 6 分離株(分離株番号 1, 4, 6, 7, 16, 24)は assemblage D と 99.4%一致した。また, 1 分離株(分離株番号 2)は assemblage C と 100%配列が一致した。残りの 3 分離株(分

分離株番号 18, 21, 23)は, 3 回以上のシーケンスで *assemblage A* と *assemblage D* の両方に一致した塩基配列が認められた(*assemblage A/D*)。 *assemblage B* に一致した配列の分離株はなかった(図 4)。

一般家庭で飼育されているイヌから得た 7 分離株の遺伝子型は, 2 分離株(分離株番号 3, 5)が *assemblage A*, 1 分離株(分離株番号 2)が *assemblage C*, 4 分離株(分離株番号 1, 4, 6, 7)が *assemblage D* であった(表 14)。

繁殖施設で飼育されているイヌから得た 17 分離株の遺伝子型については, 繁殖施設青森#3 由来の 6 分離株, 繁殖施設青森#4 由来の 2 分離株, 繁殖施設長野#1 由来の 3 分離株および繁殖施設新潟#1 由来の 1 分離株は *assemblage A* であり, 繁殖施設秋田#2 由来の 1 分離株および繁殖施設東京#1 由来の 1 分離株は *assemblage D* であった。また, 繁殖施設長野#1 由来の 1 分離株, 繁殖施設新潟#1 由来の 1 分離株および繁殖施設東京#1 由来の 1 分離株は *assemblage A/D* であった(表 14)。

分離株の遺伝子型とイヌの疫学的背景との関係では, 遺伝子型とそれが分離されたイヌの年齢や性別に関連性は認められなかった。一方, イヌの飼養形態, 由来および品種との関係では, *assemblage A*, *assemblage D* および *assemblage A/D* は, いずれも室内飼育でペットショップ/繁殖施設由来の純血種から分離されたのに対し, *assemblage C* は室外飼育で一般家庭由来の雑種から分離された。糞便の性状との関係では, *assemblage A* は 10 分離株が固形便, 3 分離株が軟便, そして 1 分離株が下痢便から検出され, *assemblage C* の 1 分離株は下痢便から検出された。また, *assemblage D* は 3 分離株が固形便, 2 分離株が軟便, そして 1 分離株が下痢便から検

出され， assemblage A/D は 1 分離株が固形便，そして 2 分離株が軟便から検出された。

4. 考 察

イヌが保有する *G. intestinalis* のヒトへの感染性を明らかにすることは，公衆衛生学的に重要な問題である。しかし，イヌ由来 *G. intestinalis* のヒトへの感染性を直接証明することは不可能であることから，分離株の遺伝子型を比較することでその可能性が評価され，遺伝子型の解析には *gdh*，*efl-α*，*tpi*，*SSU-rRNA* および *β-giardin* 遺伝子領域などが利用されてきた [1, 11, 36, 48, 68, 69, 84-86, 97, 112, 118]。 *gdh* 遺伝子の一部の塩基配列 (690～864 bp) は，多くの哺乳動物由来 *G. intestinalis* で遺伝子型の決定に有用であることが明らかにされ [28, 46, 85, 86]，特に，この領域に含まれる 218 bp の塩基配列で遺伝子型を決定できることが示されている [1]。本研究では 218 bp の配列からプライマー領域の 41 bp を除いた 177 bp の塩基配列を分離株の遺伝子型決定に使用した。

海外ではイヌ由来 *G. intestinalis* 分離株の遺伝子型として，assemblage A, B, C および D が確認され，その多くはイヌに特異的な遺伝子型である assemblage C または D であったことが示されている [11, 84, 85, 97]。日本国内では，Abe ら [1] がイヌから得た 4 分離株の遺伝子型はすべて assemblage D であったことを報告しているのみであり，assemblage A または B がイヌから分離されたとする報告はない。一方，今回調査した分離株ではイヌに特異的な assemblage C または D 以外に，日本国内で初めて人獣共通感染性である assemblage A が検出され，しかも一般家庭飼育イヌの 28.6%

(2/7), 繁殖施設飼育イヌの 88.2%(15/17)で確認されたことから, 日本国内の飼育イヌにおいて人獣共通感染性の *assemblage A* が広く蔓延していると考えられ, イヌに寄生する *G. intestinalis* の公衆衛生学的な重要性が明らかになった。

これまでに, 一般家庭や繁殖施設で飼育されているイヌから得た *G. intestinalis* 分離株の遺伝子型とイヌの飼養形態や由来などの疫学的背景について, その関係を論じた報告はみあたらない。今回の調査において, ペットショップ/繁殖施設由来の室内飼育イヌから得た分離株が *assemblage A* または *assemblage D* であり, これらの施設に関係がない一般家庭由来の室外で飼育されている 8 歳齢の雑種イヌから得た分離株が *assemblage C* であったことから, *assemblage A* と *assemblage D* はペットショップ/繁殖施設が感染の場であるのに対し, *assemblage C* は野外環境に感染の場があると推察されたが, 今後, さらに調査数を増やして確認する必要がある。第 I 章の成績から, 一般家庭で飼育されている *G. intestinalis* 抗原陽性イヌの 83.5% が室内飼育であり, さらに, 本章の成績で室内飼育イヌから分離した *G. intestinalis* の 73.9% (17/23) が *assemblage A* であったことは, 飼育イヌの *G. intestinalis* がヒトへ感染する可能性が高いことを示している。また, 繁殖施設のイヌから分離した株の 88.2% が *assemblage A* であったことから, この遺伝子型の供給源として, 特に繁殖施設が果たす役割は大きいと考えられた。繁殖施設のイヌから得た 3 分離株から *assemblage A* と *assemblage D* が検出されたことは, 両遺伝子型による混合感染が考えられた。Traub ら [118] もインド北東部の一地域に住むヒトとイヌから得た分離株の遺伝子型を解析し, ヒトおよびイヌの両方で異

なる 2 つの遺伝子型による *G. intestinalis* 感染を報告している。糞便の性状と分離株の遺伝子型に明確な関連性は認められず，ヒトで示唆されている遺伝子型による下痢発生の違い[40, 47]は確認できなかった。

海外においてイヌから感染したと考えられるヒトの *G. intestinalis* 感染が報告されている[24, 79, 118, 119]。一方で，日本国内におけるヒトの *G. intestinalis* 感染症は，そのほとんどが発展途上国で感染し，帰国後に発症したもの[25]であり，イヌから感染した確かな事例はないとされている。しかしながら，日本国内でもアンケート調査の成績で，イヌからの感染が示唆されたヒトの 1 例が示されている[120]。ヒトの *G. intestinalis* 感染症は不顕性であることが多く[40, 88]，また，日本国内では保虫宿主としてイヌの重要性が示されてこなかったことから，イヌからの感染が見過ごされている可能性もあると考えられた。いずれにしても，今後，イヌとヒトにおける *G. intestinalis* 感染の関係を注意深く監視する必要があると考えられ，assemblage A の供給源として特に重要な繁殖施設に対する強い衛生指導が必要であると考えられた。さらに，公衆衛生学的観点からは，感染イヌが排泄する *G. intestinalis* のシストによる野外環境の汚染も重要な問題である。シストは様々な環境のもとで長期の生存が可能であり[12]，海外では都市排水から assemblage A および B が検出され[113]，日本国内の河川からも本虫のシストが検出されている[41, 42, 91]。都市排水および河川から検出された *G. intestinalis* シストの由来は明らかにされていないが，イヌが排泄源である可能性は否定できず，今後，さらなる調査が必要であると考えられた。

5. 小 括

一般家庭および日本各地の繁殖施設で飼育されているイヌから得た *G. intestinalis* の 24 分離株について、遺伝子型を *gdh* 遺伝子をマーカーとして解析し、イヌの疫学的背景との関連性を考察した。その結果、14 分離株が assemblage A, 6 分離株が assemblage D, 1 分離株が assemblage C であり、3 分離株は assemblage A と assemblage D の混合感染であると考えられた。assemblage A および C は、日本国内のイヌでは初めての検出であった。assemblage A および D は、ペットショップ/繁殖施設由来の室内飼育イヌから分離されたことから、それらの施設に感染の場があると考えられた。一方、assemblage C は一般家庭由来の室外飼育イヌから得られたことから、野外環境に感染の場があると推察された。人獣共通感染性である assemblage A が、一般家庭飼育イヌから分離された *G. intestinalis* の 28.6% (2/7), 繁殖施設飼育イヌから得た分離株の 88.2%(15/17), さらに、室内飼育イヌでは分離株の 73.9%(17/23) で確認されたことから、日本国内の飼育イヌでは assemblage A が優勢株であり、公衆衛生学的な重要性が明らかになった。

表 14 飼育イヌから分離した *Giardia intestinalis* の遺伝子型

分離株番号	品 種	年 齢	性 別	由 来	飼養形態	糞便の性状	遺伝子型 (assemblage)
1	チワワ	1歳齢	雌	繁殖施設	室内飼育	軟 便	D
2	雑 種	8歳齢	雄	一般家庭	室外飼育	下痢便	C
3	ミニチュア・ダックスフンド	1カ月齢	雄	繁殖施設	室内飼育	軟 便	A
4	ミニチュア・ダックスフンド	1カ月齢	雌	繁殖施設	室内飼育	軟 便	D
5	パピヨン	3カ月齢	雄	繁殖施設	室内飼育	下痢便	A
6	シェットランド・シープドッグ	1カ月齢	雌	ペットショップ	室内飼育	下痢便	D
7	パピヨン	1カ月齢	雌	ペットショップ	室内飼育	固形便	D
8	ヨークシャー・テリア	3歳齢	雌	繁殖施設青森#3	室内飼育	固形便	A
9	ミニチュア・ダックスフンド	8カ月齢	雌	繁殖施設青森#3	室内飼育	軟 便	A
10	ヨークシャー・テリア	4歳齢	雌	繁殖施設青森#3	室内飼育	固形便	A
11	パピヨン	1歳齢	雌	繁殖施設青森#3	室内飼育	固形便	A
12	パピヨン	5カ月齢	雌	繁殖施設青森#3	室内飼育	固形便	A
13	パピヨン	2歳齢	雌	繁殖施設青森#3	室内飼育	固形便	A
14	チワワ	3歳齢	雌	繁殖施設青森#4	室内飼育	固形便	A
15	チワワ	5カ月齢	雌	繁殖施設青森#4	室内飼育	固形便	A
16	ウェルシュ・コーギー	1歳齢	雌	繁殖施設秋田#2	室内飼育	固形便	D
17	チワワ	1歳齢	雌	繁殖施設長野#1	室内飼育	固形便	A
18	パピヨン	3歳齢	雌	繁殖施設長野#1	室内飼育	固形便	A/D
19	ヨークシャー・テリア	4歳齢	雌	繁殖施設長野#1	室内飼育	固形便	A
20	ヨークシャー・テリア	3歳齢	雌	繁殖施設長野#1	室内飼育	軟 便	A
21	ポメラニアン	7歳齢	雄	繁殖施設新潟#1	室内飼育	軟 便	A/D
22	柴 犬	7カ月齢	雌	繁殖施設新潟#1	室内飼育	固形便	A
23	ベアデッド・コリー	2カ月齢	雄	繁殖施設東京#1	室内飼育	軟 便	A/D
24	ベアデッド・コリー	2カ月齢	雄	繁殖施設東京#1	室内飼育	固形便	D

assemblage A (Portland-1) *	1	GATTCTCAAG	TTCCTCGGTT	TCGAGCAGAT	CCTGAAGAAC	TCCCTCACCA	CGCTCCCGAT	GGGCGGCGGC	AAGGGCGGCT	CCGACTTTGA
分離株番号 3, 5, 8-15, 17-23	1
assemblage B (Ad-7) *	1	..C..T...C..	..T.....T...T.....T..TT..TC..C..
assemblage C (Ad-147) **	1	A..C.....T..C..T.....T.....C..T...T.....T.....C..
分離株番号 2	1	A..C.....T..C..T.....T.....C..T...T.....T.....C..
assemblage D (Ad-148) **	1	..C..T...T..C..	..T.....	T..A.....	T..T.....C..T...T.....	..T.....C..
分離株番号 1, 4, 6, 7, 16, 18, 21, 23, 24	1	..C..T...T..C..	..T.....	T..A.....	T..T.....C..T...T.....	..T.....C..
assemblage A (Portland-1)		CCCAAAGGGC	AAGTCCGACA	ACGAGGTCAT	GCGCTTCTGC	CAGTCCTTCA	TGACCGAGCT	CCAGAGGCAC	GTCGGCGCCG	ACACTGA 177
分離株番号 3, 5, 8-15, 17-23	
assemblage B (Ad-7)		T..T.....G.....T.....T.....T.....T.....G..T..C..C..
assemblage C (Ad-147)		..C.....T.....C..						
分離株番号 2		..C.....T.....C..						
assemblage D (Ad-148)		..C.....T.....	..T.....T..T.....	..A.....T..T.....T.....T.....T.....
分離株番号 1, 4, 6, 7, 16, 18, 21, 23, 24		..C.....T.....	..T.....T..T.....	..A.....T..T.....T.....T.....T.....

図 4 *Giardia intestinalis* 分離株の *gdh* 領域における塩基配列比較

* : Monis, P. T. *et al.* (1996) [86], ** : Monis, P. T. *et al.* (1998) [85]

第Ⅲ章 イヌにおける *Giardia intestinalis* 感染の臨床例に対する
ニトロイミダゾール系薬剤とベンズイミダゾール系薬剤
の治療効果

1. はじめに

日本国内のイヌにおける *Giardia intestinalis* の感染は、決してまれではないことが第 I 章の成績から明らかになった。特に、子イヌの *G. intestinalis* 感染では、下痢をともなって重症化する例があり [74, 83, 94, 111, 125, 132], また、成イヌでも慢性大腸炎の原因となることが報告されている [126]。一方、イヌ由来 *G. intestinalis* には人獣共通感染性の遺伝子型である assemblage A および B が確認されているが [11, 69, 84, 85, 97], 第 II 章において日本国内のイヌ由来分離株に assemblage A が多数確認されたことから、ヒトへの感染を防御するためにも感染イヌに対する積極的な治療が必要となってきた。しかしながら、日本国内のイヌにおける *G. intestinalis* 感染症の治療に関する報告は少ない [74, 111]。これまで、国内ではイヌの *G. intestinalis* 感染症にニトロイミダゾール系薬剤であるメトロニダゾールが用いられてきた [74, 111]。これに対して、最近、海外ではベンズイミダゾール系薬剤がイヌの *G. intestinalis* 感染症に有効であることが報告されている [7-9, 34, 94, 131]。そこで、本章ではニトロイミダゾール系薬剤の中からメトロニダゾールとこれまで日本国内での使用報告がないチニダゾール、そして、ベンズイミダゾール系薬剤ではフェバンテル合剤、アルベンダゾールおよびフェンベンダゾールの 3 種類をイヌにおける *G. intestinalis* 感染症の臨床例に応用し、その治療効果について検討した。

2. 材料および方法

1) 供試イヌ

本研究に供したのは、2001 年 1 月～2003 年 6 月に青森県内およ

び秋田県内にある 2 カ所の動物診療施設に来院し、糞便検査で *G. intestinalis* 虫体が検出された 1~9 カ月齢のイヌ 37 頭(14 品種, 雄 18 頭, 雌 19 頭)であり, いずれも来院の 1~7 日前より下痢便または軟便の排泄がみられた。供試イヌの 11 頭では *G. intestinalis* 虫体の他に 6 頭から *Isospora* 属原虫のオーシスト, 4 頭から *Toxocara canis* の虫卵, 1 頭からは *Ancylostoma caninum* の虫卵が検出された(表 15)。

2) 投与薬剤

供試イヌ 37 頭を無作為に 5 群に分け, 4 頭にはメトロニダゾール(フラジール, 塩野義製薬(株), 大阪), 7 頭にはチニダゾール(ハイシジン, 富士製薬(株), 東京), 8 頭にはフェバンテル合剤(ドロントールプラス, バイエルメディカル(株), 東京), 7 頭にはアルベンダゾール(エスカゾール, スミスクライン・ビーチャム製薬(株), 東京), 11 頭にはフェンベンダゾール(Panacur C, Intervet Inc., U.S.A.)を投与した。各薬剤の投与プロトコールは, メトロニダゾールおよびチニダゾールでは Zimmer と Burrington[132]の報告に従って, メトロニダゾールは体重 1kg 当たり 25mg の薬量を 1 日 2 回 5 日間経口投与し, チニダゾールでは体重 1kg 当たり 50 mg を 1 日 1 回で 3 日間の経口投与をそれぞれ 1 クールとした。フェバンテル合剤では, Barr ら[7]の報告に従ってフェバンテルとして体重 1kg 当たり 30mg を 1 日 1 回で 3 日間, アルベンダゾールでは Barr ら[9]の報告に従って体重 1kg 当たり 25 mg を 1 日 2 回で 2 日間, そしてフェンベンダゾールでは Zajac ら[131]の報告に従って体重 1kg 当たり 50mg を 1 日 1 回で 3 日間を 1 クールとして, いずれも経口投与した。なお, 各薬剤投与後の糞便検査で *G. intestinalis* 虫体が検出さ

れた症例に対しては同じ薬剤，または他の薬剤を同様のプロトコールで再投与した。糞便検査で *Isospora* 属原虫のオーシストが検出された症例には，スルファジメトキシシン(アプシード，第一製薬(株)，東京)を体重 1kg 当たり 50 mg の用量で，1日 1回 10日間経口投与した。

3) 糞便検査

薬剤投与前，各薬剤の投与終了から 5日目，10日目，20日目および 30日目の糞便について，直接塗抹法およびホルマリン・酢酸エチル沈澱法[129]により，*G. intestinalis* およびその他の消化管内寄生虫のオーシストや虫卵を検査した。

4) 効果判定

各薬剤の効果判定は，薬剤投与終了後，一定間隔で実施した糞便検査で 3回以上 *G. intestinalis* が検出されなかった場合に有効と判断した。

3. 成績

メトロニダゾール投与の 4例では，第 1クール投与終了から 5日目の糞便検査により 2例(症例番号 1, 2)で *G. intestinalis* が陰性となり，糞便性状も固形便に改善された(表 15)。一方，他の 2例(症例番号 3, 4)は *G. intestinalis* が検出されたが，糞便性状は軟便となった。この 2例については第 2クールとしてメトロニダゾールの再投与を行った結果，1例(症例番号 3)では第 2クール投与終了から 5日目の検査で *G. intestinalis* が陰性となった(表 16)。一方，他の 1例(症例番号 4)では再度 *G. intestinalis* が検出されたが糞便性状は改善され，飼育者の意志によりそれ以降の治療・観察は実施できな

かった。症例番号 1 および 2 は，第 1 クール投与終了から 10 日目，20 日目および 30 日目の検査でも *G. intestinalis* は検出されず，糞便性状も固形便であった。症例番号 3 においても，第 2 クール投与終了後は *G. intestinalis* が検出されず，糞便性状も固形便であった。本剤の 1 クール投与による有効率は 50.0% (2/4) であった。

チニダゾール投与の 7 例では，第 1 クール投与終了から 5 日目の糞便検査により 5 例(症例番号 5～7, 10, 11)で *G. intestinalis* が陰性となり，糞便性状もすべて固形便となって改善が認められた。一方，2 例(症例番号 8, 9)では糞便性状は軟便で改善傾向がみられたが，*G. intestinalis* が検出されたため，チニダゾールを再投与した。症例番号 5～7, 10 および 11 では，第 1 クール投与終了から 10 日目，20 日目および 30 日目の検査でも *G. intestinalis* は検出されず，糞便性状の変化も認められなかった。症例番号 8 および 9 でも，チニダゾールの第 2 クール投与後は *G. intestinalis* が検出されず，糞便性状も固形便であった。本剤の 1 クール投与による有効率は 71.4% (5/7) であった。

フェバンテル合剤投与の 8 例では，投薬前の検査で 2 例(症例番号 15, 17)から *T. canis* の虫卵が，1 例(症例番号 13)からは *Isospora* 属原虫のオーシストが検出された。第 1 クール投与終了から 5 日目の糞便検査により 7 例(症例番号 12～18)で *G. intestinalis* が陰性となり，そのうち 6 例(症例番号 12, 14～18)では糞便性状も固形便に改善されたが，残り 1 例(症例番号 13)は下痢便のままであり，*Isospora* 属原虫のオーシストも引き続き検出された。症例番号 15 と 17 では，5 日目の糞便検査で *T. canis* 虫卵は検出されなかった。*G. intestinalis* が検出された 1 例(症例番号 19)には，第 2 クールと

してフェバンテル合剤の再投与を実施した。症例番号 12～18 の第 1 クール投与終了から 10 日目の検査では，症例番号 18 で *G. intestinalis* が検出された以外はすべて陰性であり，いずれの症例でも下痢は認められず，また，その他の消化管内寄生虫も検出されなかった。症例番号 18 には，フェバンテル合剤を再投与した。症例番号 12～17 の第 1 クール投与終了から 20 日目および 30 日目の検査では，*G. intestinalis* が検出されず，糞便性状も固形便であった。症例番号 18 および 19 のフェバンテル合剤の第 2 クール投与後は，*G. intestinalis* が陰性で糞便性状の変化も認められなかった。本剤の 1 クール投与による有効率は 75.0% (6/8) であった。

アルベンダゾール投与の 7 例では，投薬前の検査で 2 例(症例番号 20, 26)から *Isospora* 属原虫のオーシストが，1 例(症例番号 22)から *T. canis* の虫卵が検出された。第 1 クール投与終了から 5 日目の糞便検査により 6 例(症例番号 20～25)で *G. intestinalis* が陰性となった。一方，*G. intestinalis* が検出された 1 例(症例番号 26)では，*Isospora* 属原虫のオーシストも引き続き検出され，第 2 クールとしてフェンベンダゾールを投与した。いずれの症例でも下痢は認められず，症例 20 の *Isospora* 属原虫オーシスト，症例 22 の *T. canis* 虫卵は検出されなかった。症例番号 20～25 の第 1 クール投与終了から 10 日目の検査では，いずれの症例でも下痢は認められず，また，その他の消化管内寄生虫も検出されなかったが，症例番号 20, 21, 23～25 で *G. intestinalis* が陰性であったのに対し，症例番号 22 では陽性であり，第 2 クールとしてフェバンテル合剤を投与した。症例番号 20, 21, 23～25 では，第 1 クール投与終了から 20 日目および 30 日目の検査でも *G. intestinalis* が陰性であり，糞便性状の

変化も認められなかった。症例番号 22 および 26 では、第 2 クールとしてフェバンテル合剤またはフェンベンダゾールを投与後は、*G. intestinalis* が陰性となり、糞便性状も固形便であった。アルベンダゾールだけの 1 クール投与による有効率は 71.4% (5/7) であった。

フェンベンダゾール投与の 11 例では、投薬前の検査で 3 例(症例番号 27, 29, 34)から *Isospora* 属原虫のオーシスト, 1 例(症例番号 28)から *A. caninum* の虫卵, 1 例(症例番号 35)から *T. canis* の虫卵が検出された。第 1 クール投与終了後 5 日目の糞便検査により, 10 例(症例番号 28~37)で *G. intestinalis* が陰性となった。*G. intestinalis* が検出された 1 例(症例番号 27)は下痢をともない, *Isospora* 属原虫のオーシストも持続して検出された。症例番号 27 にはフェンベンダゾールの第 2 クール投与を実施した。症例 28 の *A. caninum* 虫卵, 症例 35 の *T. canis* 虫卵は陰性であった。第 1 クール投与終了後 10 日目の検査では, いずれの症例でも下痢は認められず, また, その他の消化管内寄生虫も検出されなかったが, 症例番号 28~33 および 35~37 で *G. intestinalis* が陰性であったのに対し, 症例番号 34 では陽性であり, フェンベンダゾールの第 2 クール投与を実施した。症例番号 28~33 および 35~37 では, 第 1 クール投与終了から 20 日目および 30 日目の検査でも *G. intestinalis* が陰性であり, 糞便性状の変化も認められなかった。症例番号 27 および 34 では, フェンベンダゾールの第 2 クール投与後は, *G. intestinalis* が陰性となり, 糞便性状も固形便であった。本剤の 1 クール投与による有効率は 81.8% (9/11) であった。

各薬剤の投与に伴う副作用は, フェバンテル合剤で投与直後に一過性の流涎が 1 例で 1 回のみ観察された以外には, いずれの薬剤で

も認められなかった。

4. 考 察

はじめに、本研究では *G. intestinalis* 感染の検査法としてホルマリン・酢酸エチル沈澱法を用いた。第 I 章でイヌの *G. intestinalis* 感染を評価するのに ELISA 法が有効であることを示したが、今回は実際の臨床例が研究対象であったことから、その場で診断が可能であり、さらに、他の消化管内寄生虫も検出可能な沈澱法を用い、各薬剤の投与終了後 3~4 回の検査を実施することで検出感度を ELISA 法と同等に高めた[20]。

従来、イヌの *G. intestinalis* 感染症の治療には、ニトロイミダゾール系薬剤であるメトロニダゾールやチニダゾールが用いられ、その効果が確認されている[74, 111, 132]。ニトロイミダゾール系薬剤は、抗真菌剤として広く用いられているイミダゾール誘導体に共通したイミダゾール基[13]を核としてその 5 位にニトロ基が付いたものであり[15]、そのニトロ基が *Giardia* 属トロフォゾイトの細胞質内に取り込まれた後に、ピルビン酸フェレドキシンオキシドレダクターゼおよびフェレドキシン(電子伝達蛋白)の作用により還元されて活性化し、DNA に対してラセン構造の喪失や塩基置換などの障害を引き起すことで抗 *Giardia* 作用を示す[31, 81]。また、*G. intestinalis* のトロフォゾイト細胞質内への酸素とニトロイミダゾール系薬剤の取り込みは競合し、ニトロイミダゾール系薬剤で処理するとトロフォゾイトの酸素取り込み率が容量依存性に低下することから、トロフォゾイトは非活動性または死に至る[55, 81]。さらに、シストの酸素取り込みは、トロフォゾイトの 10~20%である

[81]ため、トロフォゾイトに比較して効果は低いと考えられるが、ニトロイミダゾール系薬剤による殺シスト効果も期待できる[10]。今回の症例においてメトロニダゾールおよびチニダゾールの両薬剤は、再投与が必要な症例もみられたが、糞便中への *G. intestinalis* 虫体の排泄を抑制し、また、糞便性状を改善したことから、イヌの *G. intestinalis* 感染症に有効であることが確認された。日本国内では菅野ら[111]がイヌの *G. intestinalis* 感染症にメトロニダゾールを投与し、極めて良好な治療成績を報告している。これに対して、日本国内でイヌの *G. intestinalis* 感染症にメトロニダゾールの構造に類似した化合物であるチニダゾール[31]を応用した例は報告されていない。Zimmer と Burrington[132]は本研究と同じ投与プロトコールにより、メトロニダゾールおよびチニダゾールの *G. intestinalis* 感染イヌに対する 1クール投与の有効率は、糞便中のシスト排泄を指標としてそれぞれ 67%および 68%であり、その効果は十分ではなかったことを報告している。今回の成績で、メトロニダゾールおよびチニダゾールの 1クール投与による有効率は、それぞれ 50.0%および 71.4%であった。ヒトの *G. intestinalis* 感染症では、チニダゾールの効果がメトロニダゾールより優れていることが報告されている[31, 81]。今回はメトロニダゾールの投与が 4症例と少数であり、この成績のみで判断することはできないが、チニダゾールは 1クール投与による有効率がメトロニダゾールを上回り、投与回数および投与期間が少なくて済むことから臨床上の利点があると考えられた。今回の症例ではメトロニダゾールおよびチニダゾール投与による副作用は認められなかったが、ニトロイミダゾール系薬剤による神経障害[22]や骨髄抑制[127]の可能性が示され、

また、ピルビン酸フェレドキシンオキシドレダクターゼやフェレドキシンの欠損または活性低下によるメトロニダゾール耐性 *G. intestinalis* の存在が指摘されている[70, 122]。さらに、ニトロイミダゾール系薬剤相互の交差耐性も知られている[121]ことから、メトロニダゾールおよびチニダゾールの使用には、投与量および投与期間についての再考と他の抗 *Giardia* 薬との併用なども検討する必要があると考えられた。

ベンズイミダゾール系薬剤は、イミダゾール基にベンゼン環が付いたもので、最初に合成されたのがチアベンダゾールである[13]。ニトロイミダゾール系薬剤が嫌気性の細菌および *Giardia* 属、*Trichomonas* 属および *Entamoeba* 属の原虫に有効である[15, 31, 81, 121]のに対し、ベンズイミダゾール系薬剤は主に消化管内線虫類の駆虫薬として広く用いられ、安全性が高いことが示されている[78, 130]。最近、ベンズイミダゾール系薬剤のフェバンテル、アルベンダゾールおよびフェンベンダゾールが、イヌの *G. intestinalis* 感染症に有効であることが海外で報告されている[7-9, 34, 94, 131]。*Giardia* 属の原虫は、細胞骨格構造体として腹側吸着盤、鞭毛および中央小体などを有しているが、その主要な構成々分は微小管であり、ベンズイミダゾール系薬剤の抗 *Giardia* 作用は、トロフォゾイトの微小管構成蛋白質重合を特異的に阻害して微小管の構築を妨げ[67, 81]、さらに、グルコースの取り込みを障害することでトロフォゾイトの麻痺や死を引き起こす[81]ことによる。なお、ベンズイミダゾール系薬剤はシストに対する効果がないと考えられている[10]。フェバンテル合剤は、フェバンテル、プラジクアンテルおよびパモ酸ピランテルを成分とする製剤[7, 77, 94, 130]で、それ

らのうち、フェバンテルが動物体内で代謝されてフェンベンダゾールとなり[78, 130]、抗 *Giardia* 効果を示す。アルベンダゾールの効果もまたアルベンダゾールが吸収・代謝されて生成されるアルベンダゾールスルホオキシドに活性があるとされている[76, 81]。これらの薬剤に対してフェンベンダゾールは、そのものが活性型である[76, 130]。今回の臨床例でフェバンテル合剤、アルベンダゾールまたはフェンベンダゾールの1クール単独投与による有効率は、それぞれ75.0%、71.4%および81.8%であり、*Isospora* 属原虫が重複寄生していた症例を除けば全症例で下痢が改善され、*G. intestinalis* 虫体の糞便への排泄が抑制されたことから、これらの薬剤が日本国内のイヌにおける *G. intestinalis* 感染症にも有効であることが確認された。また、フェバンテル合剤およびフェンベンダゾールの効果は、メトロニダゾールやチニダゾールを上回る可能性が示唆された。さらに、今回使用したベンズイミダゾール系薬剤は *T. canis*, *A. caninum* および *Trichuris vulpis* の駆虫にも有効であり[76, 78, 130]、そのことは本研究でも一部確認され、これらの線虫類が重複寄生したイヌの *G. intestinalis* 感染症においては同時駆除が期待できることから、ニトロイミダゾール系薬剤に比較して臨床応用上の有用性が高いと考えられた。特に今後、本研究で *G. intestinalis* 感染症に対する有効率が高かったフェンベンダゾールの応用が期待される。ベンズイミダゾール系薬剤の第1クール投与で *G. intestinalis* の陰転が得られなかった症例26および27では、*Isospora* 属原虫の寄生による下痢の重症化にともない、消化管内における薬剤の通過速度が加速されたことが影響したと考えられた。症例18, 22および34では、薬剤の第1クール投与後5日目におけ

る糞便検査で *G. intestinalis* が検出されなかったにもかかわらず、10日目の検査で再度検出された。Payneら[94]は、環境や被毛に存在する *G. intestinalis* シストの摂取による再感染の可能性を指摘し、イヌの *G. intestinalis* 感染制御には薬剤投与による駆虫に加え、感染イヌの洗浄やケージ内飼育で再感染のリスクを軽減することが必要であることを強調している。Villeneuveら[125]も *G. intestinalis* の再感染には、周囲の衛生状態が深く関わっていることを示している。また、ネコではフェンベンダゾールの投与により一時的に減少した排泄シスト数が、その後増加に転じた症例が報告されている[59]ことや通常の糞便検査法では1回の検査による *G. intestinalis* の検出率は、糞便内虫体数の影響[44]を受けるため約70%であるとされている[8, 20]ことから、今回の症例でも抗 *Giardia* 薬の投与によって一時的に虫体数が減少し、1回の検査では検出できなかったものが再度増加した可能性もあると考えられた。各薬剤の *G. intestinalis* 感染イヌに対する有効率はフェバンテル合剤で100% [7]、アルベンダゾールで92% [9]、フェンベンダゾールで90% [131] であることが海外で報告されている。今回の試験では、これらの報告と同じ投与プロトコールであったにもかかわらず、有効率が低い傾向を示した。その原因は明らかでないが、これも再感染に対するリスクの違いや同時寄生の消化管内寄生虫の影響によるのかもしれない。

ベンズイミダゾール系薬剤の副作用として、アルベンダゾールでは、25 mg/kg 1日2回の投与を5日間続けたイヌで骨髄抑制による白血球減少症が報告されている[80]。そのため、今回の症例ではアルベンダゾールの再投与は実施しなかった。また、ヒツジの消化管

内寄生線虫である *Haemonchus contortus* で示されている微小管構成蛋白質遺伝子の変異[76, 116]によって生じるのと同じメカニズムであると推察されるアルベンダゾール耐性 *G. intestinalis* が報告されている[57]。一方，フェバンテルのイヌにおける副作用は，1日 150 mg/kg 以上の6日間経口投与で下痢や嘔吐などである[73]。本研究でフェバンテル合剤の投与直後に1例で観察された一過性の流涎は，この薬剤の苦味が口腔粘膜局所を刺激したことに起因すると推測された。フェンベンダゾールを投与したイヌにおいて副作用は全く認められず，1日 150 mg/kg の3日間経口投与で副作用は報告されていない[72]ことから，本薬剤の安全性は高いと考えられた。また，現在のところフェンベンダゾールに対する耐性 *G. intestinalis* は知られていない。

G. intestinalis 感染イヌに対する抗 *Giardia* 薬の投与は，イヌの健康回復とともに環境のシスト汚染を断つ上で重要である。今回使用した薬剤は，いずれも日本国内で発生しているイヌの *G. intestinalis* 感染症に有効であることが確認された。しかし，各薬剤の有効性や安全性，さらには他の消化管内線虫の駆除効果などの臨床的有用性を考えあわせれば，フェンベンダゾールの使用が最適であると考えられ，今後，症例数を増やして確認する必要がある。

5. 小 括

イヌにおける *G. intestinalis* 感染の臨床例に対するニトロイミダゾール系薬剤のメトロニダゾールとチニダゾール，ベンズイミダゾール系薬剤のフェバンテル合剤，アルベンダゾールおよびフェンベンダゾールの治療効果を検討した。その結果，いずれの薬剤も日本

国内で発生しているイヌの *G. intestinalis* 感染症に対して糞便の性状を改善させ、糞便内虫体の排泄を抑制するのに有効であることが確認された。フェンベンダゾールの 50mg/kg で 1 日 1 回 3 日間経口投与は、特に有効率が高く、消化管内線虫の同時駆除も期待できることから、イヌの *G. intestinalis* 感染症に対する治療薬として臨床的に有用であると考えられた。

表 15 イヌにおける *Giardia intestinalis* 感染症例に対する各種薬剤の第1クール投与による治療効果

症例番号	品 種	年 齢	性 別	投 薬 前				投 与 後 の 日 数													
				<i>Giardia</i>			他の寄生虫	5日目				10日目				20日目			30日目		
				糞性状	他の寄生虫	投与薬剤		<i>Giardia</i>	糞性状	他の寄生虫	投与薬剤	<i>Giardia</i>	糞性状	他の寄生虫	投与薬剤	<i>Giardia</i>	糞性状	他の寄生虫	<i>Giardia</i>	糞性状	他の寄生虫
1	ラブラドル・レトリバー	2か月齢	雄	+	\$(C, T)*	下痢便	-	メトロ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
2	ヨークシャー・テリア	4か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	メトロ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
3	ジャーマン・シェパード	3か月齢	雌	+	(C, T)	下痢便	-	メトロ	+	(C)	軟便	-	メトロ	+	(C)	軟便	-	-	軟便	-	
4	ウェルシュ・コーギー	3か月齢	雄	+	(C, T)	下痢便	-	メトロ	+	(C)	軟便	-	メトロ	+	(C)	軟便	-	-	軟便	-	
5	ラブラドル・レトリバー	9か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	チニダ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
6	ポメラニアン	2か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	チニダ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
7	バセット・ハウンド	2か月齢	雄	+	(C)	下痢便	-	チニダ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
8	パピヨン	3か月齢	雄	+	(C)	下痢便	-	チニダ	+	(C)	軟便	-	チニダ	+	(C)	軟便	-	-	軟便	-	
9	ミニチュア・ダックスフンド	4か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	チニダ	+	(C)	軟便	-	チニダ	+	(C)	軟便	-	-	軟便	-	
10	パピヨン	1か月齢	雌	+	(C)	軟便	-	チニダ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
11	ポメラニアン	3か月齢	雄	+	(T)	下痢便	-	チニダ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
12	ミニチュア・ダックスフンド	1か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	フェバ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
13	マルチーズ	1か月齢	雌	+	(C)	下痢便	<i>Isoospora</i> 属原虫	フェバ	-	下痢便	<i>Isoospora</i> 属原虫	-	フェバ	-	固形便	-	-	固形便	-		
14	ポメラニアン	2か月齢	雄	+	(C)	下痢便	-	フェバ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
15	ジャーマン・シェパード	4か月齢	雄	+	(C)	下痢便	<i>T. canis</i>	フェバ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
16	ヨークシャー・テリア	1か月齢	雄	+	(C, T)	下痢便	-	フェバ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
17	柴犬	2か月齢	雌	+	(C, T)	下痢便	<i>T. canis</i>	フェバ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
18	ヨークシャー・テリア	4か月齢	雌	+	(C, T)	下痢便	-	フェバ	-	固形便	-	+	(C)	固形便	-	フェバ	-	-	固形便	-	
19	シェットランド・シープドッグ	2か月齢	雄	+	(C)	下痢便	-	フェバ	+	(C)	固形便	-	フェバ	+	(C)	固形便	-	-	固形便	-	
20	ミニチュア・ダックスフンド	3か月齢	雄	+	(C, T)	下痢便	<i>Isoospora</i> 属原虫	アルベ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
21	ヨークシャー・テリア	7か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	アルベ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
22	ポメラニアン	3か月齢	雌	+	(C, T)	下痢便	<i>T. canis</i>	アルベ	-	固形便	-	+	(C)	固形便	-	フェバ	-	-	固形便	-	
23	ヨークシャー・テリア	7か月齢	雄	+	(C)	下痢便	-	アルベ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
24	柴犬	2か月齢	雄	+	(C)	下痢便	-	アルベ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
25	チワワ	2か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	アルベ	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
26	ジャーマン・シェパード	2か月齢	雄	+	(C)	下痢便	<i>Isoospora</i> 属原虫	アルベ	+	(C)	固形便	<i>Isoospora</i> 属原虫	フェン	+	(C)	固形便	-	-	固形便	-	
27	ポメラニアン	3か月齢	雄	+	(C, T)	下痢便	<i>Isoospora</i> 属原虫	フェン	+	(C)	下痢便	<i>Isoospora</i> 属原虫	フェン	+	(C)	固形便	-	-	固形便	-	
28	シェットランド・シープドッグ	7か月齢	雄	+	(C)	下痢便	<i>A. caninum</i>	フェン	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
29	パピヨン	4か月齢	雄	+	(C, T)	下痢便	<i>Isoospora</i> 属原虫	フェン	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
30	シェットランド・シープドッグ	3か月齢	雄	+	(C)	下痢便	-	フェン	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
31	ポメラニアン	2か月齢	雌	+	(C, T)	下痢便	-	フェン	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
32	柴犬	1か月齢	雄	+	(C)	下痢便	-	フェン	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
33	ポメラニアン	4か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	フェン	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
34	パピヨン	2か月齢	雌	+	(C)	下痢便	<i>Isoospora</i> 属原虫	フェン	-	固形便	-	+	(C)	固形便	-	フェン	-	-	固形便	-	
35	ビーグル	3か月齢	雌	+	(C)	下痢便	<i>T. canis</i>	フェン	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
36	シー・ズー	4か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	フェン	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	
37	ジャーマン・シェパード	4か月齢	雌	+	(C)	下痢便	-	フェン	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	-	固形便	-	

\$(+)は陽性、-は陰性を示す

*:()内は検出形態を表す。C = シスト、T = トロフォゾイト
T. canis = *Toxocara canis* (イヌ回虫)
A. caninum = *Ancylostoma caninum* (イヌ鉤虫)

#: メトロ:メトロナダゾール、チニダ:チニダゾール、フェバ:フェバンテル合剤、アルベ:アルベンダゾール、フェン:フェンベンダゾール

ND: 検査せず

表 16 イヌにおける *Giardia intestinalis* 感染症例に対する各種薬剤の第2クール投与による治療効果

症例番号	投 薬 前				投 与 後 の 日 数															
	<i>Giardia</i>	糞便性状	他の寄生虫	投与薬剤 #	5日目				10日目			20日目			30日目					
					<i>Giardia</i>	糞便性状	他の寄生虫	投与薬剤	<i>Giardia</i>	糞便性状	他の寄生虫	<i>Giardia</i>	糞便性状	他の寄生虫	<i>Giardia</i>	糞便性状	他の寄生虫			
3	+	\$ (C) *	軟便	-	メトロ	-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-
4	+	(C)	軟便	-	メトロ	+	(C)	固形便	-	無処置	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	+	(C)	軟便	-	チニダ	-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-
9	+	(C)	軟便	-	チニダ	-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-		ND	ND	ND
18	+	(C)	固形便	-	フェバ	-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-		ND	ND	ND
19	+	(C)	固形便	-	フェバ	-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-		ND	ND	ND
22	+	(C)	固形便	-	フェバ	-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-
26	+	(C)	固形便	<i>Isospora</i> 属原虫	フェン	-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-
27	+	(C)	下痢便	<i>Isospora</i> 属原虫	フェン	-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-		ND	ND	ND
34	+	(C)	固形便	-	フェン	-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-		-	固形便	-

\$: +は陽性, -は陰性を示す *;()内は検出形態を表す。C = シスト

: メトロ;メトロニダゾール、チニダ;チニダゾール、フェバ;フェバンテル合剤、フェン;フェンベンダゾール

ND : 検査せず

総 括

Giardia intestinalis は人獣共通感染性の原虫であり、イヌやヒトなどの小腸に寄生し、下痢をはじめとした消化器障害を引き起こす。本研究では、一般家庭および繁殖施設で飼育されているイヌにおける *G. intestinalis* 感染状況を糞便内の特異抗原検出 ELISA キットを用いて明らかにし、本虫感染とイヌの疫学的背景との関連について考察した。さらに、飼育イヌの糞便より分離した *G. intestinalis* 株の遺伝子型を解析し、人獣共通感染性について検討した。また、イヌの *G. intestinalis* 感染症例に対するニトロイミダゾール系薬剤とベンズイミダゾール系薬剤の治療効果について検討を加えた。その結果、以下のことが明らかになった。

1. 今回使用した ELISA キットは、直接塗抹法やホルマリン・酢酸エチル沈澱法より *G. intestinalis* を検出する感度が高く、イヌの本虫感染を評価するのに有用であることが示された。
2. 一般家庭で飼育されているイヌ 1020 頭の *G. intestinalis* 抗原陽性率は 16.1% であった。抗原陽性率はイヌの年齢、由来および糞便の性状の各疫学的要因と関連性が認められた。
3. 1~7 カ月齢未満でペットショップ/繁殖施設に由来するイヌの抗原陽性率が有意に高く、これらの施設が子イヌにおける *G. intestinalis* 感染の場として重要であることが強く示唆された。
4. 飼養形態と *G. intestinalis* 感染との直接的な関係は認められなかったが、抗原陽性イヌの多く(83.5%)が室内飼育であったことは、ヒトの *G. intestinalis* 感染に対する保虫宿主として飼育イヌは重要な意義があると考えられた。
5. 糞便の性状と抗原陽性率の関係では、1~7 カ月齢未満のイヌで

軟便と下痢便の抗原検出率が高い傾向を示したことから、これらのイヌでは *G. intestinalis* 感染が軟便や下痢便の発現に関与していることが示唆された。

6. 繁殖施設で飼育されているイヌ 361 頭の *G. intestinalis* 抗原陽性率は 37.4% と高く、特に 1~7 カ月齢未満の抗原陽性率は、50.0% であった。また、調査した 14 施設のすべてで抗原陽性イヌが確認された。これらのことから、日本国内の繁殖施設は *G. intestinalis* に広く、そして高率に汚染され、子イヌの感染の場として極めて重要であることが明らかになった。

7. *G. intestinalis* 感染イヌから得た 24 分離株の遺伝子型を *gdh* 遺伝子をマーカーとして解析したところ、14 分離株が assemblage A、6 分離株が assemblage D、1 分離株が assemblage C であり、残りの 3 分離株は assemblage A と assemblage D の混合感染であると考えられた。

8. assemblage A および assemblage D は、ペットショップ/繁殖施設由来の室内飼育イヌから分離されたことから、これらの施設に感染の場があると考えられた。一方、assemblage C は一般家庭由来の室外飼育イヌから分離されたことから、野外環境に感染の場があると推察された。

9. 人獣共通感染性である assemblage A が、日本国内で初めてイヌから検出され、それぞれ一般家庭飼育イヌから分離された *G. intestinalis* の 28.6%、繁殖施設飼育イヌから得た分離株の 88.2% で確認された。さらに、室内飼育イヌでは分離株の 73.9% が assemblage A であったことから、日本国内の飼育イヌでは assemblage A が優勢株であり、公衆衛生学的に重要であることが

明らかになった。

10. *G. intestinalis* 感染症例について，ニトロイミダゾール系薬剤のメトロニダゾールとチニダゾール，ベンズイミダゾール系薬剤のフェバンテル合剤，アルベンダゾールおよびフェンベンダゾールの治療効果を検討し，これらの薬剤投与は日本国内で発生しているイヌの *G. intestinalis* 感染症に対して糞便の性状を改善させ，糞便内虫体の排泄を抑制することが明らかになった。
11. フェンベンダゾールの 50mg/kg で 1 日 1 回 3 日間経口投与は，特に有効率が高く，消化管内線虫の同時駆除も期待できることから，イヌの *G. intestinalis* 感染症に対する治療薬として臨床的に有用であると考えられた。

以上，一般家庭および繁殖施設で飼育されているイヌの *G. intestinalis* 感染は，人間社会に身近な存在であり，しかも人獣共通感染性であると考えられる assemblage A の感染が多いことから，飼育イヌが保虫宿主として重要であることを日本国内で初めて明らかにした。また，子イヌの *G. intestinalis* 感染源として，繁殖施設が極めて重要であることを明らかにした。さらに，イヌの本虫感染症例に対して，特にフェンベンダゾール投与の有用性が高いことを明らかにした。

本研究の成果は，イヌからヒトへの *G. intestinalis* 感染を防ぐために，感染源である繁殖施設の衛生管理強化と，その対策の一つとして抗 *Giardia* 薬の積極的な投与が必要であることを示したものであり，社会的貢献度が高いと考えられた。

謝 辭

稿を終えるに臨み、本論文の御校閲と御指導を賜った岩手大学農学部
の板垣 匡教授ならびに安田 準教授，帯広畜産大学原虫病研究センターの鈴木宏志教授，東京農工大学農学部の岩崎利郎教授，岐阜大学応用生物科学部の鬼頭克也教授に謹んで感謝の意を表します。

始終適切な御助言と御協力を頂いた岩手大学農学部の青木美樹子博士ならびにむらおか動物クリニックの村岡 登博士に深謝いたします。

疫学調査にあたり御協力を頂きました麻布大学環境保健学部の佐伯英治博士ならびに千葉小動物クリニックの河又 淳氏に感謝いたします。

最後に，本研究の遂行に御協力を頂いた岩手大学農学部獣医寄生虫病学研究室の皆様感謝します。

文 献

1. Abe, N., Kimata, I. and Iseki, M. 2003. Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* isolates from dogs in Japan by direct sequencing of the PCR amplified glutamate dehydrogenase gene. *J. Vet. Med. Sci.* **65** : 29 – 33.
2. Adam, R. D. 2001. Biology of *Giardia lamblia*. *Clin. Microbiol. Rev.* **14** : 447 – 475.
3. Addiss, D. G., Mathews, H. M., Stewart, J. M., Wahlquist, S. P., Williams, R. M., Finton, R. J., Spencer, H. C. and Juranek, D. D. 1991. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for *Giardia lamblia* antigen in stool. *J. Clin. Microbiol.* **29** : 1137 – 1142.
4. 荒島康友, 熊坂一成, 河野均也, 浅野隆司, 保刈成男, 村杉栄治, 岩下栄一, 西川庄一郎, 松尾克徳. 1992. Zoonosis としてのジアルジア症に関する研究. III. 本邦におけるイヌおよび飼育者のジアルジア保有状況. *感染症誌* **66** : 1062 – 1066.
5. Asano, K., Suzuki, K., Matsumoto, T., Sakai, T. and Asano, R. 2004. Prevalence of dogs with intestinal parasites in Tochigi, Japan in 1979, 1991 and 2002. *Vet. Parasitol.* **120** : 243 – 248.
6. 浅野隆司, 保刈成男, 村杉栄治, 荒島康友, 久保信彦, 河野均也. 1991. Zoonosis としてのジアルジア症に関する研究. II. イヌおよびネコのジアルジア症. *感染症誌* **65** : 157 – 161.
7. Barr, S. C., Bowman, D. D., Frongillo, M. F. and Joseph, S. L. 1998. Efficacy of a drug combination of praziquantel, pyrantel pamoate, and fenbantel against giardiasis in dogs. *Am. J. Vet. Res.* **59** : 1134 – 1136.

8. Barr, S. C., Bowman, D. D. and Heller, R. L. 1994. Efficacy of fenbendazole against giardiasis in dogs. *Am. J. Vet. Res.* **55** : 988 – 990.
9. Barr, S. C., Bowman, D. D., Heller, R. L. and Erb, H. N. 1993. Efficacy of albendazole against giardiasis in dogs. *Am. J. Vet. Res.* **54** : 926 – 928.
10. Bernal-Redondo, R., Martinez-Mendez, L. G., Mendoza-Chavez, A., Velasco-Perales, D. and Chavez-Munguia, B. 2004. Evaluation of the *in vitro* effect of albendazole, metronidazole and nitazoxanide on viability and structure of *Giardia lamblia* cysts. *J. Submicroscopic Cytol. Pathol.* **36** : 241 – 245.
11. Berrilli, F., Cave, D. D., Liberato, C. D., Franco, A., Scaramozzino, P. and Orecchia, P. 2004. Genotype characterization of *Giardia duodenalis* isolates from domestic and farm animals by *SSU-rRNA* gene sequencing. *Vet. Parasitol.* **122** : 193 – 199.
12. Bingham, A. K., Jarroll, E. L., Meyer, E. A. and Radulescu, S. 1979. *Giardia* sp. : physical factors of excystation *in vitro*, and excystation vs eosin exclusion as determinants of viability. *Exp. Parasitol.* **47** : 284 – 291.
13. Boothe, D. M. 2001. Treatment of fungal infections. pp.222 – 236. *In* : Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics, 1st ed. (Boothe, D. M. ed.), WB Saunders, Philadelphia.
14. Bugg, R. J., Robertson, I. D., Elliot, A. D., Read, C. and Thompson, R. C. A. 1999. Gastrointestinal parasites of urban dogs in Perth, Western Australia. *Vet. J.* **157** : 295 – 301.
15. Castelli, M., Malagoli, M., Ruberto, A. I., Baggio, A., Casolari, C., Cermelli, C., Bossa, M. R., Rossi, T., Paolicci, F. and Roffia, S. 1997. *In-vitro* studies of two 5-nitroimidazole derivatives. *J. Antimicrob.*

- Chemother.* 40 : 19 – 25.
16. Chon, S. K. and Kim, N. S. 2005. Evaluation of silymarin in the treatment on asymptomatic *Giardia* infections in dogs. *Parasitol. Res.* 97 : 445 – 451.
 17. Cirak, V. Y. and Bauer, C. 2004. Comparison of conventional coproscopical methods and commercial coproantigen ELISA kits for the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dogs and cats. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 117 : 410 – 413.
 18. Craun, G. F., Calderon, R. L. and Craun, M. F. 2005. Outbreaks associated with recreational water in the United States. *Int. J. Environ. Health Res.* 15 : 243 – 262.
 19. Dawson, D. 2005. Foodborne protozoan parasites. *Int. J. Food Microbiol.* 103 : 207 – 227.
 20. Decock, C., Cadiergues, M. C., Larcher, M., Vermot, S. and Franc, M. 2003. Comparison of two techniques for diagnosis of giardiasis in dogs. *Parasite* 10 : 69 – 72.
 21. Dobell, C. 1920. The discovery of the intestinal protozoa of man. *Proc. Royal Soc. Med.* 13 : 1 – 15.
 22. Dow, S. W., Le Couteur, R. A., Poss, M. L. and Beadleston, D. 1989. Central nervous system toxicosis associated with metronidazole treatment of dogs : five cases (1984 – 1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 195 : 365 – 368.
 23. Eckmann, L. 2003. Mucosal defenses against *Giardia*. *Parasite Immunol.* 25 : 259 – 270.
 24. Eligio-Garcia, L., Cortes-Campos, A. and Jimenez-Cardoso, E. 2005. Genotype of *Giardia intestinalis* isolates from children and dogs and its relationship to host origin. *Parasitol. Res.* 97 : 1 – 6.

25. 遠藤卓郎, 黒木俊郎, 泉山信司. 2004. ジアルジア症. *モダンメディア* 50 : 73 – 77.
26. Epe, C., Coati, N. and Schnieder, T. 2004. Ergebnisse parasitologischer Kotuntersuchungen von Pferden, Wiederkäuern, Schweinen, Hunden, Katzen, Igel und Kaninchen in den Jahren 1998 – 2002. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 111 : 243 – 247.
27. Epe, C., Ising-Volmer, S. and Stoye, M. 1993. Ergebnisse parasitologischer Kotuntersuchungen von Equiden, Hunden, Katzen und Igel der Jahre 1984 – 1991. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 100 : 426 – 428.
28. Ey, P. L., Mansouri, M., Kulda, J., Nohynkova, E., Monis, P. T., Andrews, R. H. and Mayrhofer, G. 1997. Genetic analysis of *Giardia* from hoofed farm animals reveals artiodactyl-specific and potentially zoonotic genotypes. *J. Eukaryot. Microbiol.* 44 : 626 – 635.
29. Faubert, G. 2000. Immune response to *Giardia duodenalis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13 : 35 – 54.
30. Felsburg, P. J. 2002. Overview of immune system development in the dog : comparison with humans. *Hum. Exp. Toxicol.* 21 : 487 – 492.
31. Fung, H. B. and Doan, T. L. 2005. Tinidazole : a nitroimidazoles antiprotozoal agent. *Clin. Ther.* 27 : 1859 – 1884.
32. Geurden, T., Claerebout, E., Vercruyssen, J. and Berkvens, D. 2004. Estimation of diagnostic test characteristics and prevalence of *Giardia duodenalis* in dairy calves in Belgium using a Bayesian approach. *Int. J. Parasitol.* 34 : 1221 – 1227.
33. Ghosh, S., Debnath, A., Sil, A., De, S., Chattopadhyay, D. J. and Das, P. 2000. PCR detection of *Giardia lamblia* in stool : targeting intergenic spacer

- region of multicopy rRNA gene. *Mol. Cell. Probes.* **14** : 181 – 189.
34. Giangaspero, A., Traldi, G., Paoletti, B., Traversa, D. and Bianciardi, P. 2002. Efficacy of pyrantel embonate, febantel and praziquantel against *Giardia* species in naturally infected adult dogs. *Vet. Rec.* **150** : 184 – 186.
35. Goldin, A. J., Hall, A., Sarker, R. N., Warhurst, D. C. and Miles, M. A. 1993. Diagnosis of *Giardia duodenalis* infection in Bangladeshi infants : faecal antigen capture ELISA. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **87** : 428 – 432.
36. Gomez-Couso, H., Freire-Santos, F., Amar, C. F., Grant, K. A., Williamson, K., Ares-Mazas, M. E. and McLauchlin, J. 2004. Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in molluscan shellfish by multiplexed nested-PCR. *Int. J. Food Microbiol.* **91** : 279 – 288.
37. Goncalves, M. L., Araujo, A., Duarte, R., Silva, J. P., Reinhard, K., Bouchet, F. and Ferreira, L. F. 2002. Detection of *Giardia duodenalis* antigen in coprolites using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **96** : 640 – 643.
38. Gundlach, J. L., Sadzikowski, A. B., Stepień-Rukasz, H., Studzińska, M. B. and Tomczuk, K. 2005. Comparison of some serological methods and coproscopic examinations for diagnosis of *Giardia* spp. invasion in dogs. *Polish J. Vet. Sci.* **8** : 137 – 140.
39. Guy, R. A., Xiao, C. and Horgen, P. A. 2004. Real-time PCR assay for detection and genotype differentiation of *Giardia lamblia* in stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* **42** : 3317 – 3320.
40. Haque, R., Roy, S., Kabir, M., Stroup, S. E., Mondal, D. and Houpt, E. R. 2005. *Giardia* assemblage A infection and diarrhea in Bangladesh. *J. Infect. Dis.* **192** : 2171 – 2173.

41. 橋本 温, 平田 強. 1998. 相模川水系におけるクリプトスポリジウムおよびジアルジアの汚染レベル. *水環境学会誌* 21 : 119 – 122.
42. Hashimoto, A., Kunikane, S. and Hirata, T. 2002. Prevalence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in the drinking water supply in Japan. *Water Res.* 36 : 519 – 526.
43. Hassan, M. M., Afify, H., Abdel-Ghaffar, M., Dyab, A. K., Hassounah, O., Badrawy, S. M., Salaeh, A., Gabe, O. and Dawood, M. M. 2002. Detection of *E. histolytica*, *G. lamblia* and *Cryptosporidium* copro-antigens in stool samples. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 32 : 191 – 200.
44. Hewlett, E. L., Andrews, J. S., Ruffier, J. and Schaefer, F. W. 1982. Experimental infection of mongrel dogs with *Giardia lamblia* cysts and cultured trophozoites. *J. Infect. Dis.* 145 : 89 – 93.
45. Hlavsa, M. C., Watson, J. C. and Beach, M. J. 2005. Giardiasis surveillance – United States, 1998 – 2002. *Morbidity Mortality Weekly Report Surveill. Summ.* 54 : 9 – 16.
46. Homan, W. L., Gilsing, M., Bentala, H., Limper, L. and Knapen, F. 1998. Characterization of *Giardia duodenalis* by polymerase-chain-reaction fingerprinting. *Parasitol. Res.* 84 : 707 – 714.
47. Homan, W. L. and Mank, T. G. 2001. Human giardiasis : genotype linked differences in clinical symptomatology. *Int. J. Parasitol.* 31 : 822 – 826.
48. Hopkins, R. M., Melloni, B. P., Groth, D. M., Wetherall, J. D., Reynoldson, J. A. and Thompson, R. C. A. 1997. Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotypes of *Giardia* isolates recovered from humans and dogs living in the same locality. *J. Parasitol.* 83 : 44 – 51.
49. Horejs, R. and Koudela, B. 1994. Giardiasis in dogs in a breeding kennel.

- Vet. Med (Praha)*. **39** : 93 – 101.
50. Huber, F., Bomfim, T. C. and Gomes, R. C. 2005. Comparison between natural infection by *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. in dogs in two living situations in the West Zone of the municipality of Rio de Janeiro. *Vet. Parasitol.* **130** : 69 – 72.
51. Isaac-Renton, J. L., Cordeiro, C., Sarafis, K. and Shahriari, H. 1993. Characterization of *Giardia duodenalis* isolates from a waterborne outbreak. *J. Infect. Dis.* **167** : 431 – 440.
52. Isaac-Renton, J. L., Lewis, L. F., Ong, C. S. and Nulsen, M. F. 1994. A second community outbreak of waterborne giardiasis in Canada and serological investigation of patients. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **88** : 395 – 399.
53. Itoh, N., Muraoka, N., Aoki, M. and Itagaki, T. 2001. Prevalence of *Giardia lamblia* infection in household dogs. *J. Jpn. Assoc. Infect. Dis.* **75** : 671 – 677.
54. Jacobs, S. R., Forrester, C. P. R. and Yang, J. 2001. A survey of the prevalence of *Giardia* in dogs presented to Canadian veterinary practices. *Can. Vet. J.* **42** : 45 – 46.
55. Jarroll, E. L. and Sener, K. 2003. Potential drug targets in cyst-wall biosynthesis by intestinal protozoa. *Drug Regist. Updat.* **6** : 239 – 246.
56. Jelinek, T., Peyerl, G., Loscher, T. and Nothdurft, H. D. 1996. Giardiasis in travelers : evaluation of an antigen-capture ELISA for the detection of *Giardia lamblia* – antigen in stool. *Z. Gastroenterology* **34** : 237 – 240.
57. Jimenez-Cardoso, E., Flores-Luna, A. and Perez-Urizar, J. 2004. *In vitro* activity of two phenyl-carbamate derivatives, singly and in combination with

- albendazole against albendazole – resistant *Giardia intestinalis*. *Acta Trop.* **92** : 237 – 244.
58. 感染症法研究会. 2004. 法令. pp.221 – 352. *In* : 詳解 感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律, 改訂版. (感染症法研究会編集), 中央法規出版, 東京.
59. Keith, C. L., Radecki, S. V. and Lappin, M. R. 2003. Evaluation of fenbendazole for treatment of *Giardia* infection in cats concurrently infected with *Cryptosporidium parvum*. *Am. J. Vet. Res.* **64** : 1027 – 1029.
60. Keulen, H., Macechko, P. T., Wade, S., Schaaf, S., Wallis, P. M. and Erlandsen, S. L. 2002. Presence of human *Giardia* in domestic, farm and wild animals, and environmental samples suggests a zoonotic potential for giardiasis. *Vet. Parasitol.* **108** : 97 – 107.
61. Khanna, R., Vinayak, V. K., Mehta, F. S., Kumkum, R. K. and Cain, C. K. 1988. *Giardia lamblia* infection in immunosuppressed animals causes severe alterations to brush border membrane enzymes. *Digest. Dis. Sci.* **33** : 1147 – 1152.
62. Kirkpatrick, C. E. 1987. Giardiasis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* **17** : 1377 – 1387.
63. Kirkpatrick, C. E. 1988. Epizootiology of endoparasitic infections in pet dogs and cats presented to a veterinary teaching hospital. *Vet. Parasitol.* **30** : 113 – 124.
64. 鬼頭克也, 丹羽理恵, 久世拓史, 大場恵典, 深田恒夫, 北川 均, 佐々木榮英. 2004. 子犬の民間健康管理施設における消化管内寄生虫の検出状況. *日獣会誌* **57** : 181 – 185.
65. 国立感染症研究所感染症情報センター. 2005. 感染症発生動向調査週報

51 • 52 : 38.

66. Kuhn, R. C., Rock, C. M. and Oshima, K. H. 2002. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild ducks along the Rio Grande River Valley in southern New Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.* **68** : 161 – 165.
67. Lacy, E. 1990. Mode of action of benzimidazoles. *Parasitol. Today* **6** : 112 – 115.
68. Lalle, M., Jimenez-Cardosa, E., Caccio, S. M. and Pozio, E. 2005. Genotyping of *Giardia duodenalis* from humans and dogs from Mexico using a beta-giardin nested polymerase chain reaction assay. *J. Parasitol.* **91** : 203 – 205.
69. Lalle, M., Pozio, E., Capelli, G., Bruschi, F., Crotti, D. and Caccio, S. M. 2005. Genetic heterogeneity at the β -giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int. J. Parasitol.* **35** : 207 – 213.
70. Land, K. M. and Johnson, P. J. 1999. Molecular basis of metronidazole resistance in pathogenic bacteria and protozoa. *Drug Resist. Updat.* **2** : 289 – 294.
71. Lane, S. and Lloyd, D. 2002. Current trends in research into the waterborne parasite *Giardia*. *Crit. Rev. Microbiol.* **28** : 123 – 147.
72. Lloyd, S. and Soulsby, E. J. L. 1983. Prenatal and transmammary infections of *Toxocara canis* in dogs : effect of benzimidazole-carbamate anthelmintics on various developmental stages of the parasite. *J. Small Anim. Pract.* **24** : 763 – 768.
73. Lynn, R. C. 2001. Drugs for the treatment of helminth infections. pp.267 – 279. *In* : Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics,

1st ed. (Boothe, D. M. ed.), WB Saunders, Philadelphia.

74. 松林 誠, 阿部仁一郎, 木俣 勲, 竹澤康子, 谷 浩行, 笹井和美, 馬場栄一郎. 2004. 飼い犬における *Giardia* と *Cryptosporidium* の混合感染. *日獣会誌* 57 : 317 – 320.
75. McGlade, T. R., Robertson, I. D., Elliot, A. D. and Thompson, R. C. A. 2003. High prevalence of *Giardia* detected in cats by PCR. *Vet. Parasitol.* 110 : 197 – 205.
76. Mckellar, Q. A. and Scott, E. W. 1990. The benzimidazole anthelmintic agents – a review. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 13 : 223 – 247.
77. Mehlhorn, H., Hanser, E., Harder, A., Hansen, O., Mencke, N. and Schaper, R. 2003. Comparative efficacy of flubendazole chewable tablets and a tablet combination of febantel, pyrantel embonate and praziquantel against *Trichuris vulpis* in experimentally infected dogs. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 110 : 419 – 421.
78. Mehlhorn, H., Hanser, E., Harder, A., Hansen, O., Mencke, N. and Schaper, R. 2003. A light and electron microscopic study on the synergistic effect of pyrantel and the febantel metabolite fenbendazole on adult *Toxocara canis* *in vitro*. *Parasitol. Res.* 90 : 305 – 313.
79. Meloni, B. P., Thompson, R. C. A., Hopkins, R. M., Reynoldson, J. A. and Gracey, M. 1993. The prevalence of *Giardia* and other intestinal parasites in children, dogs and cats from aboriginal communities in the Kimberley. *Med. J. Aust.* 158 : 157 – 159.
80. Meyer, E. K. 1998. Adverse events associated with albendazole and other products used for treatment of giardiasis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213 : 44 – 46.

81. Minenoa, T. and Avery, M. A. 2003. Giardiasis : recent progress in chemotherapy and drug development. *Curr. Pharm. Design.* **9** : 841 – 855.
82. Mintz, E. D., Hudson-Wragg, M., Mshar, P., Cartter, M. L. and Hadler, J. L. 1993. Foodborne giardiasis in a corporate office setting. *J. Infect. Dis.* **167** : 250 – 253.
83. Mochizuki, M., Hashimoto, M. and Ishida, T. 2001. Recent epidemiological status of canine viral enteric infections and *Giardia* infection in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* **63** : 573 – 575.
84. Monis, P. T., Andrews, R. H., Mayrhofer, G. and Ey, P. L. 1999. Molecular systematics of the parasitic protozoan *Giardia intestinalis*. *Mol. Biol. Evol.* **16** : 1135 – 1144.
85. Monis, P. T., Andrews, R. H., Mayrhofer, G., Mackrill, J., Kulda, J., Isaac-Renton, J. L. and Ey, P. L. 1998. Novel lineages of *Giardia intestinalis* identified by genetic analysis of organisms isolated from dogs in Australia. *Parasitology* **116** : 7 – 19.
86. Monis, P. T., Mayrhofer, G., Andrews, R. H., Homan, W. L. and Limper, L. 1996. Molecular genetic analysis of *Giardia intestinalis* isolates at the glutamate dehydrogenase locus. *Parasitology* **112** : 1 – 12.
87. 長田 理. 1994. 分割表の検定. pp.71 – 92. *In* : Macintosh –医学–統計マニュアル, 第1版., 真興交易医書出版部, 東京.
88. Nash, T. E., Herrington, D. A., Losonsky, G. A. and Levine, M. M. 1987. Experimental human infections with *Giardia lamblia*. *J. Infect. Dis.* **156** : 974 – 984.
89. Ng, C. T., Gilchrist, C. A., Lane, A., Roy, S., Haque, R. and Houpt, E. R. 2005. Multiplex real-time PCR assay using scorpion probes and DNA

- capture for genotype-specific detection of *Giardia lamblia* on fecal samples.
J. Clin. Microbiol. 43 : 1256 – 1260.
90. Nygard, K., Schimmer, B., Sobstad, O., Walde, A., Tveit, I., Langeland, N., Hausken, T. and Aavitsland, P. 2006. A large community outbreak of waterborne giardiasis – delayed detection in a non-endemic urban area.
Bio. Med. Central Public Health. 6 : 141.
91. 小野一男, 辻 英高, 島田郁夫, 増田邦義, 遠藤卓郎. 2001. 河川からの *Cryptosporidium* と *Giardia* の検出状況. *感染症誌* 75 : 201 – 208.
92. Osterholm, M. T., Forfang, J. C., Ristinen, T. L., Dean, A. G., Washburn, J. W., Godes, J. R., Rude, R. A. and McCullough, J. G. 1981. An outbreak of foodborne giardiasis. *N. Engl. J. Med.* 304 : 24 – 28.
93. Papini, R., Gorini, G., Spaziani, A. and Caedini, G. 2005. Survey on giardiasis in shelter dog populations. *Vet. Parasitol.* 128 : 333 – 339.
94. Payne, P. A., Ridley, R. K., Dryden, M. W., Bathgate, C., Milliken, G. A. and Stewart, P. W. 2002. Efficacy of a combination febantel-praziquantel-pyrantel product, with or without vaccination with a commercial *Giardia* vaccine, for treatment of dogs with naturally occurring giardiasis.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 220 : 330 – 333.
95. Pereira, M. B., Traverse, M. C., Barros, D. M., Bianchini, A. and Martinez, P. E. 2003. The effects of aging on leukocyte glucocorticoid receptor concentration and response to dexamethasone in dogs.
Exp. Gerontol. 38 : 989 – 995.
96. Ramirez-Barrios, R. A., Barboza-Mena, G., Munoz, J., Angulo-Cubillan, F., Hernandez, E., Gonzalez, F. and Escalona, F. 2004. Prevalence of intestinal parasites in dogs under veterinary care in Maracaibo, Venezuela.

Vet. Parasitol. 121 : 11 – 20.

97. Read, C. M., Monis, P. T. and Thompson, R. C. A. 2004. Discrimination of all genotypes of *Giardia duodenalis* at the glutamate dehydrogenase locus using PCR-RFLP. *Infect. Gen. Evol.* 4 : 125 – 130.
98. Roach, P. D., Olson, M. E., Whitley, G. and Wallis, P. M. 1993. Waterborne *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in the Yukon, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 59 : 67 – 73.
99. Robertson, L. J., Hermansen, L., Gjerde, B. K., Strand, E., Alvsvag, J. O. and Langeland, N. 2006. Application of genotyping during an extensive outbreak of waterborne giardiasis in Bergen, Norway, during autumn and winter 2004. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 : 2212 – 2217.
100. Rosenblatt, J. E., Sloan, L. M. and Schneider, S. K. 1993. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Giardia lamblia* in stool specimens. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 16 : 337 – 341.
101. Roxström-Lindquist, K., Palm, D., Reiner, D., Ringqvist, E. and Svärd, S. G. 2006. *Giardia* immunity – an update. *Trends Parasitol.* 22 : 26 – 31.
102. Saffar, M. J., Oaffari, J., Khalilian, A. R. and Kosarian, M. 2005. Rapid reinfection by *Giardia lamblia* after treatment in a hyperendemic area : the case against treatment. *East Mediterr. Health J.* 11 : 73 – 78.
103. 斎藤哲郎, 橋口正大, 島谷和子, 宮野寿美子, 山足 清, 山口裕之, 吉田邦恵, 池田文雄, 久家光雄, 宇都宮敬三, 頓宮廉正. 2004. 2002年福山市内の飼育犬および飼育猫の内部寄生虫感染状況. *獣畜新報* 57 : 11 – 14.
104. 斎藤哲郎, 森重和久, 頓宮廉正. 1995. 広島県福山市における飼育犬および飼育猫の寄生虫感染状況. *寄生虫誌* 44 : 149 – 153.
105. 斎藤哲郎, 山口裕之, 吉田邦恵, 草浦潤子, 和田栄津子, 森重和久, 頓宮廉正. 1998.

- 1995年度の広島県福山市における飼育犬および飼育猫の寄生虫感染状況。
獣畜新報 51 : 889 - 892.
106. Sayyari, A. A., Imanzadeh, F., Bagheri, Y. S. A., Karami, H. and Yaghoobi, M. 2005. Prevalence of intestinal parasitic infections in the Islamic Republic of Iran. *East Mediterr. Health J.* 11 : 377 - 383.
107. Schunk, M., Jelinek, T., Wetzel, K. and Nothdurft, H. D. 2001. Detection of *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* in stool samples by two enzyme immunoassays. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20 : 389 - 391.
108. Schuster, C. J., Ellis, A. G., Robertson, W. J., Charron, D. F., Aramini, J. J., Marshall, B. J. and Medeiros, D. T. 2005. Infectious disease outbreaks related to drinking water in Canada, 1974 - 2001. *Can. J. Public Health.* 96 : 254 - 258.
109. Smith, H. and Nichols, R. A. 2006. Zoonotic protozoa - food for thought. *Parasitologia* 48 : 101 - 104.
110. Stehr-Green, J. K., Murray, G., Schantz, P. M. and Wahlquist, S. P. 1987. Intestinal parasites in pet store puppies in Atlanta. *Am. J. Public Health.* 77 : 345 - 346.
111. 菅野紘行, 深瀬 徹, 茅根士郎, 板垣 博. 1989. あるブリーダー由来の子犬におけるジアルジア症とその発症要因. *日獣会誌* 42 : 68 - 71.
112. Sulaiman, I. M., Fayer, R., Bern, C., Gilman, R. H., Trout, J. M., Schantz, P. M., Das, P., Lal, A. A. and Xiao, L. 2003. Triosephosphate isomerase gene characterization and potential zoonotic transmission of *Giardia duodenalis*. *Emerg. Infect. Dis.* 9 : 1444 - 1452.
113. Sulaiman, I. M., Jang, J., Singh, A. and Xiao, L. 2004. Distribution of *Giardia duodenalis* genotypes and subgenotypes in raw urban wastewater in

- Milwaukee, Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* **70** : 3776 – 3780.
114. Svobodova, V., Svoboda, M. and Konvalinova, J. 1995. Comparison of detection of *Giardia intestinalis* cysts with the presence of specific antibodies in dogs and cats. *Vet. Med(Praha)*. **40** : 141 – 146.
115. Taranto, N. J., Passamonte, L., Marinconz, R., Marzi, M. C., Cajal, S. P. and Malchiodi, E. L. 2000. Zoonotic parasitosis transmitted by dogs in the Chaco Salteno, Argentina. *Medicina(B Aires)*. **60** : 217 – 220.
116. Tiwari, J., Kumar, S., Kolte, A. P., Swarnkar, C. P., Singh, D. and Pathak, K. M. 2006. Detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* using RFLP-PCR technique. *Vet. Parasitol.* **138** : 301 – 307.
117. Toman, M., Faldyna, M., Knotigova, P., Pokorova, D. and Sinkora, J. 2002. Postnatal development of leukocyte subset composition and activity in dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **87** : 321 – 326.
118. Traub, R. J., Monis, P. T., Robertson, I. D., Irwin, P. J., Mencke, N., Monis, P. and Thompson, R. C. A. 2004. Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitology* **128** : 253 – 262.
119. Traub, R. J., Robertson, I. D., Irwin, P. J., Mencke, N., Monis, P. and Thompson, R. C. A. 2005. Canine gastrointestinal parasitic zoonoses in India using molecular tools. *Trends Parasitol.* **21** : 42 – 48.
120. 内田幸憲, 井村俊郎, 竹嶋康弘. 2001. 神戸市および福岡市医師会会員への動物由来感染症 (ズーノーシス) に関するアンケート調査. *感染症誌* **75** : 276 – 282.
121. Upcroft, J. A., Dunn, L. A., Wright, J. M., Benakli, K., Upcroft, P.

- and Vanelle, P. 2006. 5-nitroimidazole drugs effective against metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis* and *Giardia duodenalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50** : 344 – 347.
122. Upcroft, J. A. and Upcroft, P. 1993. Drug resistance and *Giardia*. *Parasitol. Today* **9** : 187 – 190.
123. Verweij, J. J., Schinkel, J., Laeijendecker, D., Rooyen, M. A., Lieshout, L. and Polderman, A. M. 2003. Real-time PCR for the detection of *Giardia lamblia*. *Mol. Cell. Probes.* **17** : 223 – 225.
124. Vidal, A. M. and Catapani, W. R. 2005. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) immunoassaying versus microscopy : advantages and drawbacks for diagnosing giardiasis. *Sao Paulo Med. J.* **123** : 282 – 285.
125. Villeneuve, V., Beugnet, F. and Bourdoiseau, G. 2000. Efficacy of oxfendazole for the treatment of giardiasis in dogs. Experiments in dog breeding kennels. *Parasite* **7** : 221 – 226.
126. Watson, A. D. 1980. Giardiasis and colitis in a dog. *Aust. Vet. J.* **56** : 444 – 447.
127. Weiss, D. J. 2005. Bone marrow necrosis in dogs : 34 cases (1996 – 2004). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **227** : 263 – 267.
128. Weitzel, T., Dittrich, S., Möhl, I., Adusu, E. and Jelinek, T. 2006. Evaluation of seven commercial antigen detection tests for *Giardia* and *Cryptosporidium* in stool samples. *Clin. Microbiol. Infect.* **12** : 656 – 659.
129. Young, K. H., Bullock, S. L., Melvin, D. M. and Spruill, C. L. 1979. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in formalin-ether sedimentation technique. *J. Clin. Microbiol.* **10** : 852 – 853.

130. Zajac, A. M. 1993. Developments in the treatment of gastrointestinal parasites of small animals. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* **23** : 671 – 681.
131. Zajac, A. M., LaBranche, T. P., Donoghue, A. R. and Chu, T. C. 1998. Efficacy of fenbendazole in the treatment of experimental *Giardia* infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.* **59** : 61 – 63.
132. Zimmer, J. F. and Burrington, D. B. 1986. Comparison of four protocols for the treatment of canine giardiasis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **22** : 168 – 172.