

An Epidemiological Study of Food-borne Toxocariasis – Fowl and Cattle as Paratenic Hosts of *Toxocara canis* –

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: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8489

食品を感染源とするトキソカラ症に関する疫学的研究

—イヌ蛔虫の待機宿主としてのニワトリとウシについて—

金沢大学医学部寄生虫学講座 (主任代理: 近藤力王至)

高 倉 吉 正

トキソカラ症はイヌ蛔虫を始め、トキソカラ属線虫の幼虫を病原とする疾患で、自然界に散布された感染可能な虫卵を、人がたまたま経口的に摂取した時に発症すると考えられていた。しかし、近年、食品を介して発症したと疑われる症例が報告され、患者の中にはウシ・ニワトリの肝・筋肉を生食したのち、好酸球増多を伴う肝機能障害、眼科的異常を訴え、血清学的に本症と診断されたものが多く含まれていた。このことから、著者はウシ・ニワトリが待機宿主となり得るものかを実験的に検討した。さらに我々の生活圏におけるこれら動物のイヌ蛔虫幼虫による汚染状況を、血中抗体検出法を用いて調査し、次のような結果を得た。生食に供せられるニワトリが待機宿主としてイヌ蛔虫幼虫に汚染されているか否かについては、石川、大分および宮崎の各県から買い求めたニワトリの肝臓から幼虫検出を試みたが、いずれの肝臓からも幼虫は検出されなかった。しかし、孵化後50日齢の雛 (Nagoya Rhode 雛) にイヌ蛔虫卵6000個を経口投与し、経時的に体内移行、寄生状況を観察したところ、肝臓では虫卵投与後3日目に0.23%と少数ではあるが幼虫が移行しており、1~3週目では3.71~5.88%と最高値に達し、その後は減少するものの20週目においても0.39%の幼虫を検出した。生食する機会の多いササミ (深胸筋) への移行はマウスなどの非好適宿主に比べ遅れ、虫卵投与後2週目に0.03%しか移行していなかったが、5~7週目には0.20~0.86%と増加し、20週目まで0.28~0.57%と少数ではあるが長期にわたって寄生していた。これは哺乳動物 (マウス) におけるイヌ蛔虫幼虫の移行・寄生状況と異なっていた。この時、ニワトリのイヌ蛔虫幼虫排泄・代謝物 (*Toxocara canis* larva excretory-secretory, TcnLES) 抗原に対する抗体価の経時的変動は、虫卵投与後3~7週目に平均抗体価は $2.54 \pm 0.25 \sim 2.66 \pm 0.20$ と最高値を示し、その後は徐々に低下するものの、20週目まで $2.19 \pm 0.19 \sim 2.31 \pm 0.20$ と高値を維持した。飼育状況によるニワトリの TcnLES 抗体の保有状況は、地鶏 (36羽) の平均抗体価が最も高く 1.61 ± 0.20 で、抗体陽性鶏も2羽 (5.6%) と、ケージ飼いニワトリおよび中雛よりも高い値であった ($p < 0.05$)。一方、県内で飼育されているウシ520頭についてみると、平均抗体価は 2.07 ± 0.42 で、陽性抗体価を示したウシは2頭 (0.38%) に過ぎなかった。地域的にみると、能登地区 (2.18 ± 0.39) で飼育されているウシの方が、加賀地区 (1.91 ± 0.40) で飼育されているウシよりも高値である傾向を示した。また、放牧中にウシの TcnLES に対する抗体価上昇があるかについて調べたところ、全例に抗体価上昇を認めたものの、抗体価陽性牛はみつからなかった。これらのことから、ウシ、ニワトリは待機宿主となり得ることが明らかとなったが、イヌ蛔虫幼虫が体内に寄生していたとしても、それはわずかであろうと思われる。しかし、これら動物の筋肉、内臓を生食することは、トキソカラ症発症の危険性を高めることになることが示唆された。

Key words *Toxocara canis*, viscera larva migrans, fowl, cattle, epidemiology

人畜共通感染症 (Zoonoses) の一つであるトキソカラ症 (Toxocariasis) は、臨床医学はもとより、獣医学的見地からも重要な寄生虫感染症である。このトキソカラ症は、Beaverら¹⁾によりこれまでみられた種々な症例が、いずれもイヌ蛔虫 (*Toxocara canis*) の幼虫を病原虫とすることが推測され、実験的にもこの幼虫がヒトに病原性をもつことが明らかにされ、内臓幼虫移行症 (Visceral larva migrans) と称することが提唱された。それ以来、イヌ蛔虫を主たる病原虫とするトキソカラ症は、多くの研究者の注目するところとなった。その後、ネコ蛔虫 (*T. cati*) をはじめ、他のトキソカラ属線虫の幼虫によっても、同様な病変が起きることが知られるようになり、現在では総称してトキソカラ症と呼んでいる。トキソカラ症は、従来、

子イヌ・ネコと接触の多い幼・小児に多発するものと思われてきたが、近年、高齢者層にも本症と診断されたものが報告され、その症例数は年毎に増加する傾向がみられている²⁾。

Glickmanら³⁾は、1981年までの30年間に世界各地で報告された症例を検討したところ、1,900例を越す症例があることを示した。また、わが国では当教室で紹介された例を含め75例が報告されており、特に1985年頃から急激に症例が増えていることも示されている⁴⁾。これは、それまで本症が病理組織学的な診断のみにたよっていたため確診されなかったものが、近年の免疫学的診断法の急速な進歩により、血清学的に診断することが可能となったことがあげられる。一方、この疾患は自然界に散布されたトキソカラ属線虫の、感染能力のある虫卵 (幼虫包

平成5年10月28日受付, 平成5年12月7日受理

Abbreviations: ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; OD, optical density; NR, Nagoya Rhode; TcnLES, *Toxocara canis* larva excretory-secretory; 虫卵, イヌ蛔虫幼虫包蔵卵

蔵卵)が感染源となる。このため、公園や校庭などの砂場のイヌ蛔虫卵の汚染状況の調査の報告は多くあり、その感染源としての重要性が指摘されている。このような汚染された土壌を介する感染以外に、コウモリの蛔虫 (*T. pteropodia*) 卵に汚染された果物の摂取が原因とみられる症例⁵⁾や、カタツムリの生食によるものと思われる症例⁶⁾、ウシ、ニワトリ、ウサギ肉など食用獣肉の生食による症例⁷⁻¹⁰⁾などが報告されるなど、食品を介して感染したと考えられる症例の報告が最近相次いでいる。また、幼雛、ウズラを用いた感染実験から、これら食用鳥類が待機宿主 (paratenic host) となり得ることも明らかにされている¹¹⁾²⁾。

このようなことから、著者はこれら食用獣・鳥肉からの感染が実際にあり得るのか、また、そうであるなら、感染実験と、食用とする肉がどの程度汚染されているのか、血清抗体の疫学的調査を行い、実際にこれら動物が待機宿主となり得る可能性について検討した。

材料および方法

I. 待機宿主 (感染源動物) からのイヌ蛔虫幼虫の検出

臨床報告例の記載から、本症の感染源としてウシとニワトリが疑われているので、この2種類の動物を対象としてイヌ蛔虫幼虫の検出を試みた。ウシにおいては、一般に肝臓は大きく約4kg以上もあり、そのすべてについて人工消化法 (後述) によって幼虫を検出することは、量、検査人数、その労力に限界がある。従って、その一部分をサンプリングしても全体の1%程度しか検査ができず、虫体を検出できる確率は極めて低いと考えられるので、市販ウシ肝臓からの幼虫検出、感染実験は行わなかった。

ニワトリは、地鶏の肝臓やササミ (深胸筋, *Musculus pectoralis profundus*) が多くの場合生食されるため、患者発生の報告のあった大分、宮崎県に加え石川県から、それぞれ15, 7, 26羽の48羽の地鶏を入手した。それら地鶏の体重は平均2.5kgで、それぞれの肝臓を摘出後、細切し、よく攪拌した後、その半量に人工消化液 (蒸留水, 1,000ml; 濃塩酸, 7ml; ペプシン, 5g) を加え、37°C 10時間消化した。消化後遠心 (2500rpm, 5分間) し、沈渣をガラス平板に塗布して実体顕微鏡下でイヌ蛔虫幼虫の検出を試みた。

II. 待機宿主としてのニワトリへのイヌ蛔虫幼虫感染実験

1. 実験的イヌ蛔虫幼虫感染ニワトリからの幼虫検出

実験的にイヌ蛔虫幼虫を感染させたニワトリには、孵化後50日目の雛 (平均体重 910g) を用いた。この雛はナゴヤ (Nagoya) にロードアイランドレッド (Rhode Island Red) を交配させて得た F₁ 種 (Nagoya Rhode, NR) である。この NR 雛の39羽に感染可能な虫卵であるイヌ蛔虫幼虫包蔵卵 (虫卵) 6,000個/羽を胃チューブを用いてそれぞれ経口的に投与した。投与虫卵は近藤¹³⁾の方法に従って得たもので、虫卵培養後100日以内のものである。このようにして作成したイヌ蛔虫幼虫感染雛は、虫卵投与後3日目、1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20週目にそれぞれ採血、血清分離を行うと共に、侵入幼虫の検出を行った。侵入幼虫数を知るためには全筋肉、内臓から幼虫を検出することが望ましいが、今回は最も生食機会の多い肝臓とササミのみを検査対象とした。感染雛は、採血日にそれぞれ4羽ずつ屠殺剖検し、摘出した肝臓とササミは前述と同様に処理し、その1/2量を人工消化法で消化し幼虫検出を試みた。そ

のときの幼虫数は、その検出数を肝臓、ササミの全重量に換算し総検出幼虫数とした。

2. 実験的イヌ蛔虫幼虫感染鶏の抗体検出

抗体検出のための抗原として、de Savigny¹⁴⁾の方法に準じて作成したイヌ蛔虫幼虫排泄・代謝物 (*Toxocara canis* larva excretory-secretory, TcnLES) を用いた。前述した方法により得た虫卵を、Koizumi ら¹⁵⁾と近藤ら¹⁶⁾の方法に従って脱殻させ幼虫を回収、その幼虫をイーグルの培養液 (日本製薬, 東京) 中に培養した。培養液中に排出された TcnLES は、培養液を濃縮、透析した後、20,000G, 1時間高速遠心した上清を凍結乾燥し、保存したものを用に臨み0.05M 炭酸緩衝液 (pH 9.6) に1mg/ml になるように溶解して酵素結合抗体免疫アッセイ (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) の抗原とした¹⁶⁾。

イヌ蛔虫幼虫感染に対する抗体検出は、ELISA により抗 IgG 抗体を検出することにより行った。用いた抗血清は、抗ニワトリ IgG ウサギ血清 (cat. No. 3204-0082, Cappel, Cochranville, PA, USA) と抗ウシ IgG ウサギ血清 (cat. No. 3202-0082, Cappel) を1000倍希釈したものである。

吸光度 (optical density, OD 値) はマイクロプレートフォトメータ, MTP-2 (測定波長 450nm) (コロナ, 勝田) を用いて測定し、その OD 値をもとに次式に従って抗体価を求めた¹⁶⁾。

抗体価 = $\frac{[\log \{10^3(T \cdot OD \text{ 値} - B \cdot OD \text{ 値})\}]}{[\log \{10^3(N \cdot OD \text{ 値} - B \cdot OD \text{ 値})\}]}$ 、ただし、T・OD、被検血清の OD 値; N・OD、陰性血清の OD 値; B・OD、ブランクの OD 値。

III. TcnLES に対するニワトリ・ウシの血清疫学的検討

ニワトリ・ウシの供試数が多くなればなるほど、その肝臓、筋肉からイヌ蛔虫幼虫を検出することは困難になる。従って、イヌ蛔虫幼虫の感染の有無を推測するために、ヒトの血中抗体を検出するために広く用いられている ELISA を養鶏、畜産農家の飼育動物の血清について試みた。

1. 飼育ニワトリの抗体検出

ニワトリについては、石川県内養鶏農家のうち、地鶏として平飼いされているニワトリ36羽と、採卵鶏としてケージ飼いされているニワトリ140羽、および孵化後6-10週目の中雛27羽の計203羽について採血し、その血清について ELISA による TcnLES に対する抗体検出を試みた。陰性血清は正常ニワトリ血清 (Irvine, Santa, CA, USA) を用いた。

2. 飼育牛の抗体検出

TcnLES に対する抗体検出を試みたウシ血清は、石川県内畜産農家に飼育されているウシのうち、採血できた339頭と家畜保健衛生所に凍結保存 (約2年間) されていた181頭の計520頭分である。陰性血清はウシ胎児血清 (Cappel) を使用した。一方、自然放牧牛の抗体変動をみるために、入牧時6-10カ月齢の子ウシ40頭について、入牧時および約1年後の退牧時の2回採血を行った。

なお、抗体陽性動物の判定には、次のようにそれぞれ陽性限界を求めて行った。ニワトリの陽性限界は、ケージ飼いニワトリのそれぞれの抗体価から平均抗体価 + 3・SD を求め、それ以上を陽性鶏、平均抗体価 + 2・SD ~ 3・SD を疑陽性鶏とした。ウシでは、年令、飼育地域の判明しているウシと、放牧牛の入牧時のそれぞれの抗体価から平均抗体価 + 3・SD 以上を陽性牛、平均抗体価 + 2・SD ~ 3・SD を疑陽性牛とした。

イヌ蛔虫卵を実験的に感染させたニワトリからの幼虫の回

収率、ニワトリとウシの平均抗体価の有意差の検定には unpaired Student t 検定を、また放牧前後のウシの抗体価の変化の有意差の検定には paired Student t 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

成 績

I. 待機宿主 (ニワトリ) からのイヌ蛔虫幼虫検出状況

食用牛の肝臓、筋肉からの幼虫検出は既に述べた如く、対象臓器の全重量に対する検体重量の割合がマウスなどの実験動物に比べて極めて小さく、その効率が非常に悪いと考えられた。しかし、対象臓器が小さいニワトリについては、幼虫の検出は可能と考えられたので、食用に供せられる大分、宮崎および石川県産の地鶏について、それぞれから計48羽の肝臓を入手した。これら地鶏の肝臓の肉眼的所見は、石川県産26羽のうち11羽に肝臓表面に点在する白斑がみられたが、他県産ニワトリの22羽の肝臓には白斑は認められず、これらニワトリの肝臓からは、1隻の幼虫をも検出されなかった (表1)。

II. 待機宿主としてのニワトリへのイヌ蛔虫幼虫感染実験

1. 実験的イヌ蛔虫幼虫感染鶏の幼虫検出状況

実験的に虫卵を投与した NR 雛は、各剖検日に4羽づつ屠殺剖検し、その肝臓、ササミからの幼虫検出を試み、その検出状況は表2に示した。虫卵投与後3日目には、 14.0 ± 24.2 隻の幼虫が肝臓から検出され、幼虫はすでに肝臓に移行していたが、その数は少なく投与虫卵数の0.23%に過ぎなかった。肝臓への移行幼虫は1週目には 309.0 ± 57.9 隻と増加し、投与虫卵数の

5.15% (3日目の約22倍) の幼虫が認められた。さらに2~3週目になると 222.5 ± 92.5 , 353.0 ± 133.3 隻 (3.71, 5.88%) の幼虫が検出され、3週目の検出数は最高値に達した。その後、幼虫の検出は20週目まで行われたが、時間の経過とともに検出幼虫数は徐々に減少して行く傾向がみられた。20週目においても肝臓内に 55.8 ± 8.4 隻 (0.93%) が寄生していることが確認出来た。一方、ササミについてみると、虫卵投与後2週目に 1.8 ± 3.0 隻 (0.03%) とわずかではあるが、幼虫が移行していることが確認された。たまたま今回の実験で、3週目には幼虫が検出されなかったが、5~7週目には 11.8 ± 8.0 , 51.5 ± 21.8 隻 (0.20, 0.86%) の幼虫が検出された。その後、減少するものの20週目までわずかであるが $16.8 \pm 9.7 \sim 34.3 \pm 25.2$ 隻 (0.28~0.57%) の幼虫が検出され、筋肉内に移行した幼虫は少数ながら、長期にわたり寄生し続けることが確認出来た。

2. 実験的イヌ蛔虫幼虫感染鶏 (NR 雛) の TcnLES 抗原に対する抗体検出

虫卵を経口的感染させた実験鶏について、TcnLES 抗原に対する抗体検出を試みた。ELISA法により経時的にその抗体価を測定すると、虫卵投与前の NR ニワトリ (50日齢39羽) の平均抗体価は 0.95 ± 0.23 であった。虫卵投与後の経過週数が進むにつれ、1週目には 1.29 ± 0.31 と抗体価に若干の上昇がみられたが、2週目では 1.97 ± 0.37 と虫卵投与前に比し有意な抗体価の上昇をみた。3週目には 2.54 ± 0.25 と急増し、7週目まで $2.66 \pm 0.20 \sim 2.47 \pm 0.30$ と高い抗体価を示した。その後20週目までは、幾分減少するものの、 $2.19 \pm 0.19 \sim 2.32 \pm 0.15$ と高い抗体

Table 1. Recovery of *T. canis* larvae from the liver of fowls purchased from city markets in Ishikawa, Ohita and Miyazaki prefecture

Prefecture	Number of fowls examined	Number of livers with white spots ^{a)}	Number of larvae recovered
Ishikawa	26	11	0
Ohita	15	0	0
Miyazaki	7	0	0

^{a)} Histopathological section revealed that white spots were composed of neutrophils and eosinophils.

Table 2. Recovery of *T. canis* larvae from livers and muscles of experimentally infected fowls^{a)}

Weeks after infection	Number (mean±SD) of larvae from	
	Liver	Muscle ^{b)}
3 days	14.0 ± 24.2	0
1	309.0 ± 57.9	0
2	222.5 ± 92.5	1.8 ± 3.0
3	353.0 ± 133.3	0
5	187.8 ± 95.7	11.8 ± 8.0
7	167.0 ± 104.2	51.5 ± 21.8
10	92.3 ± 30.6	34.3 ± 25.2
15	37.3 ± 15.4	16.8 ± 9.7
20	55.8 ± 8.4	21.0 ± 4.6

^{a)} Six thousand eggs were inoculated orally for each fowl.

^{b)} *Musculus pectoralis profundus*

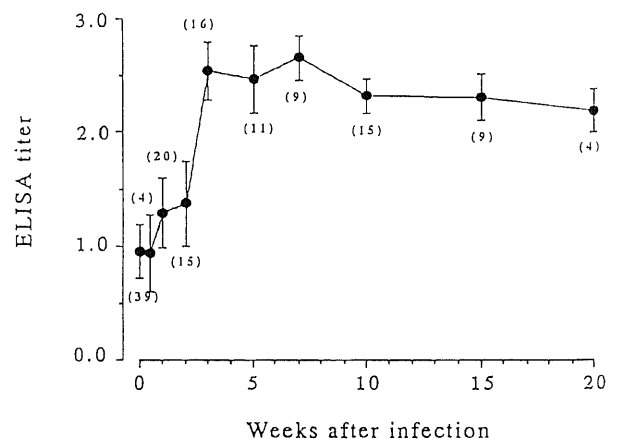


Fig. 1. Changes in antibody titers of sera from fowls infected with *T. canis*. Each point represents mean±SD of serum samples. ELISA titer of Y-axis was calculated as described in Materials and Methods. Figures in parenthesis indicate the numbers of fowls examined.

価が持続した (図 1)。

Ⅲ. 待機宿主としての飼育動物 (ニワトリ・ウシ) の TcnLES 抗原に対する抗体保有状況

1. 飼育状況別ニワトリの抗 TcnLES 抗体の検出状況

石川県で飼育されている地鶏, ケージ飼いニワトリ, および中雛の抗体検出を試みた。それぞれの集団について ELISA による抗体価を測定し, その結果は表 3 に, またケージ飼いニワトリの抗体保有状況の地域的分布を図 2 に示した。県内で一般に生食に供せられる地鶏 36 羽の TcnLES 抗体の保有状況を見ると, 平均抗体価は 1.61 ± 0.20 であった。ついで, ケージ飼いニワトリ 140 羽の平均抗体価は 1.24 ± 0.21 , 6-10 週齢の中雛 27 羽では 0.92 ± 0.21 の値と, 感染実験を行った NR 雛の虫卵投与前の平均抗体価と, ほぼ同様の抗体価を示した。ケージ飼いニワトリの抗体価を基準として陽性限界を求めると, $1.24 + 3 \times 0.21 = 1.87$ であった。この値から地鶏 36 羽中陽性抗体価を示したニワトリは 2 羽 (5.6%), 疑陽性鶏は 15 羽 (41.7%) で, 疑陽性鶏の確率は極めて高いものであった。ケージ飼いニワトリの抗体価分布をみると, 陽性鶏は 1 羽 (0.7%), 疑陽性鶏は 4 羽 (2.9%) で地鶏にくらべいづれも低い値であった (表 3)。また, ケージ飼いニワトリを地域的にみると穴水町の養鶏場で採血ができたニワトリの 10 羽中 1 羽 (10%) に陽性鶏が見い出され, 金沢市, 松任市, 穴水町の 2 市 1 町で得た計 55 羽のうち疑陽性鶏が 4 羽 (7.3%) 検出された (図 2)。中雛 27 羽では, 陽性, 疑陽性鶏のいづれも検出されなかった。その結果, 地鶏の平均抗体価は, ケージ飼いニワトリのそれと比較して有意に高い抗体価を示した ($p < 0.05$)。

2. ウシの抗 TcnLES 抗体の検出状況

石川県内各地で飼育されているウシのうち, 520 頭 (家畜保健

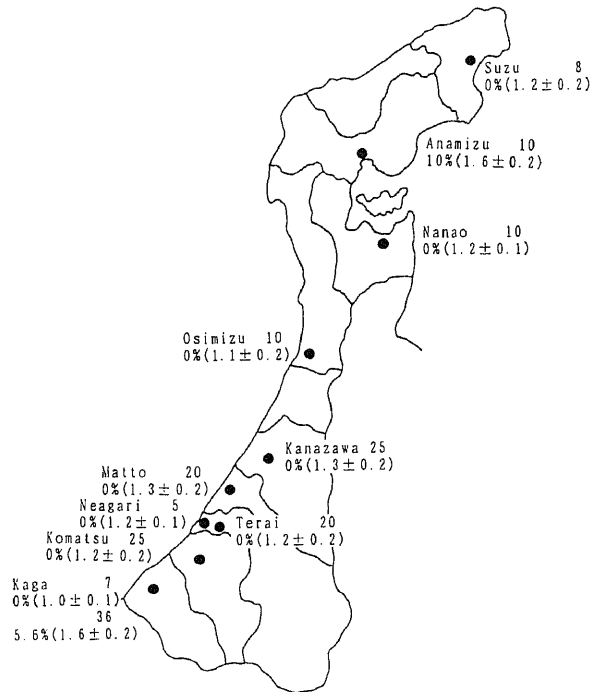


Fig. 2. Geographic distribution of the poultry farms examined and the number of fowls tested. The number in parentheses indicates average antibody titer ± SD. The number before parentheses indicates the rate of fowls which showed antigen-positive.

Table 3. Antibody prevalence of fowls being bred in Ishikawa prefecture

Subject	Number of fowls examined	P/N ratio ^{a)} (mean ± SD)	Number (%) of positive fowls	Number (%) of false-positive fowls
Floor-fed fowls	36	1.61 ± 0.20	2 (5.6)	15 (41.7)
Caged fowls	140	1.24 ± 0.22	1 (0.7)	4 (2.9)
Chicken (6-10w)	27	0.92 ± 0.21	0	0

^{a)} Specific antibody titer against *T. canis* larval ES antigen was measured with enzyme-linked immunosorbent assay, and the result was expressed by P/N ratio as described in Materials and Methods.

Table 4. Antibody prevalence of cattles being bred in Ishikawa prefecture

Subject	Number of cattle examined	P/N ratio ^{a)} (mean ± SD)	Number (%) of positive cattles	Number (%) of false-positive cattles
Breeding cattle				
Cattle keeping in cowshed	339	2.00 ± 0.41	0 (0)	22 (6.5)
Preserved serum	181	2.21 ± 0.41	2 (1.1)	8 (4.4)
Total	520	2.07 ± 0.42	2 (0.4)	30 (5.8)
Grasing cattle				
Before pasturage	40	1.65 ± 0.21	0	0
After pasturage	40	1.99 ± 0.27	0	0

^{a)} Specific antibody against *T. canis* larval ES antigen was measured with enzyme-linked immunosorbent assay, and the result was expressed by titers as described in Materials and Methods.

衛生所保存血清を含む)と放牧牛40頭について、ニワトリと同様抗 TcnLES 抗体の測定を行い、その結果を表4に、地理的分布は図3に示した。飼育牛339頭の平均抗体価は 2.00 ± 0.41 、家畜保健衛生所保存血清181頭の平均抗体価は 2.21 ± 0.41 であったが、両群の間に有意な差はみられなかった。これら両牛群を総合した520頭の平均抗体価は 2.07 ± 0.42 であった。

これらのウシのうち、年齢、飼育場所が明らかであった飼育牛339頭と、入牧牛40頭、計379頭の平均抗体価は 1.96 ± 0.40 で、この値から陽性限界を求めた。即ち、 $1.96 + 3 \times 0.40 = 3.16$ 以上を陽性抗体域とすると、飼育牛では陽性域の抗体を示すウシはいなかったが、疑陽性抗体域抗体価を示したウシは22頭(6.5%)であった。地域的には、松任市、珠洲市、美川町、鹿島町、鹿西町、鳥屋町の2市4町で、平均抗体価は $2.6 \pm 0.4 \sim 2.0 \pm 0.2$ と、高いものの陽性牛はみられず、178頭中22頭(12.4%)が疑陽性牛と判定された。一方、家畜保健衛生所保存血清では、抗体価陽性牛が2頭(1.1%)、疑陽性牛は8頭(4.4%)であった。

これらのウシを加賀地区と能登地区に分けてみると、加賀地区207頭の平均抗体価は 1.91 ± 0.40 、疑陽性牛11頭(5.3%)であり、能登地区313頭の平均抗体価は 2.18 ± 0.39 、陽性牛2頭(0.6%)、疑陽性牛19頭(6.1%)であった。

また、放牧牛40頭についてみると入牧時の平均抗体価は 1.65 ± 0.21 と低い値であったが、約1年後の退牧時平均抗体価は 1.99 ± 0.27 と、すべてのウシに抗体価上昇がみられた($p < 0.05$)。しかし、陽性抗体価や疑陽性抗体価を示すウシはいなかった。

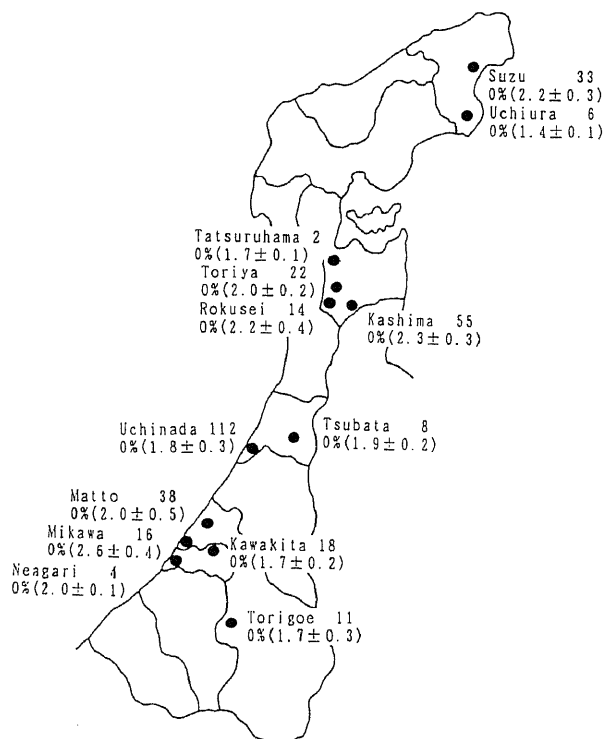


Fig. 3. Geographic distribution of the cattle farms examined and the number of cattle tested. The number in parentheses indicates average antibody titer \pm SD. The number before parentheses indicates the rate of cattles which showed antigen-positive.

考 察

トキソカラ症は、イヌ、ネコの蛔虫をはじめとするトキソカラ属線虫幼虫を原因寄生虫とする人畜共通寄生虫症である。その感染は、自然界に散布されたトキソカラ属線虫の、感染可能な虫卵がなんらかの方法により経口的に人体内に取り入れられ、消化管内で孵化した幼虫が移行、寄生することによっておこる。これまで本症はイヌ、ネコと接触の多い幼少時に好発すると考えられてきた。従って、その感染源として公園や校庭の砂場が、どの程度トキソカラ属線虫の虫卵を含む糞便に汚染されているのか、汚染砂場の割合と患者発生との相関関係などについて、多くの研究者によって疫学的調査が行われてきた^{17)~20)}。その結果、多くの公園や校庭の砂場がイヌやネコの糞便によって汚染されており、これらの砂の中に感染可能なトキソカラ属線虫の虫卵が混入していることが明らかにされ、公衆衛生学的にも重大な問題を提起している。

本症の診断は、病理組織学的にトキソカラ属線虫の幼虫をその病変臓器中に検出し、幼虫の種を同定することによって行われてきた。しかしながら、この方法では幼虫を検出する確率は低く、病理組織検査の際に偶然発見されたり²⁰⁾、非常な努力の末に虫体断端が見つけだされたりしている²¹⁾。それゆえ、本症の生前あるいは術前診断は極めて困難であった。しかし近年、寄生虫免疫学の進展のともない、本症の診断にも免疫血清学的手法が導入され、他の寄生虫抗原との間でほとんど交叉反応を示さない極めて特異性の高いイヌ蛔虫第2期幼虫の排泄・代謝物抗原を用いることによって、高い信頼性を持つ診断が可能となってきた^{28)~30)}。このような免疫血清学的検査方法によって、好酸球増多を伴う肝機能障害、あるいは視力障害を伴う眼科疾患を主訴とする高齢者に、本症と診断される例が最近増加している。

高齢者のトキソカラ症の特徴の一つに、一部の患者が発症前に動物性食品の、生食歴を有していることが挙げられている^{7)~10)}。わが国でも北九州市において、シャモの筋肉・肝臓の生食が原因と思われる集団発生例⁷⁾⁸⁾や、ニワトリやウシの肝臓の生食によって発症したと考えられる症例の報告⁹⁾が相次いでいる。これらの症例では、疫学的にニワトリやウシなどの動物性食品の生食が原因と推定されているが、実際にこれらの動物がどの程度イヌ蛔虫幼虫に汚染されているかについて調査された報告は全く行われたことがなかった。

本論文においては、わが国において本症の原因となつたと推定される食品のうち、ニワトリとウシについて、これらの動物が待機宿主となりうる可能性、およびイヌ蛔虫幼虫による汚染の状況を血清疫学的に検討した。

ウシについては感染実験を行えなかったが、孵化後50日令のニワトリにイヌ蛔虫幼虫包蔵卵を感染させると、肝臓から回収される幼虫数は感染後3週目にピークに達し、その後も幼虫は少数ながら検出され、感染後20週目でも投与虫卵数の約1%は肝臓に寄生していた。また、生食される機会の多いササミ(深胸筋)からも、感染2週目から幼虫が回収されはじめ、実験を終了した感染後20週目においてもなお生きた幼虫が筋肉に寄生していた。このことは、マウスなどの他の非好適宿主とは異なり、肝臓への移行と、肝臓からの移行が、ニワトリでは遅延する傾向にあることを示している。井上¹¹⁾はヒヨコを用いた感染実験を行い、ヒヨコがイヌ蛔虫の待機宿主となりうることを明

らかにした。また、Pahari ら¹²⁾はウズラにイヌ蛔虫を感染させ、筋肉から回収した幼虫が、マウスに再感染可能であることを実験的に証明し、ウズラも待機宿主であることを報告している。井上の実験では感染に用いたのがヒヨコだけであり、幼虫の回収も感染後約1ヵ月までと、実際に患者が生食したと考えられる。発育したニワトリについては検討されていなかった。今回の著者の実験結果から、一度ニワトリがイヌ蛔虫幼虫に感染すると、長期にわたり肝臓および筋肉に幼虫は寄生し続けることが初めて明らかになった。

数多くのニワトリやウシの筋肉や肝臓についてイヌ蛔虫幼虫の有無を消化法により検査することは事実上不可能であるので、既にヒトのトキソカラ症の疫学調査に用いられている血清学的方法を、ニワトリとウシのイヌ蛔虫による汚染状況の調査に応用した。今回用いた抗原はイヌ蛔虫幼虫の排泄・代謝物抗原で、従来用いられてきたイヌ蛔虫成虫抗原や、幼虫抽出物抗原に比べ極めて特異性が高く、感染の有無を正確に判定しうるものと考えられている。

血清学的調査の結果、ニワトリにおいては石川県下で飼育されているニワトリの1.7%に抗体陽性鶏が認められた。中でもケージ飼いのニワトリに比べ、平飼いのニワトリに陽性抗体を示すものが多く見られた。また、ウシについて放牧の前後での抗体価の変動を観察したところ、全頭のウシで抗体価の上昇が観察された。これらのことは、自然界においてなんらかの経路によって、ニワトリやウシはイヌ蛔虫に感作されたことを示唆している。一つの可能性として、畜舎内に数多く棲息する衛生害虫がイヌ蛔虫の虫卵の媒介者として果たす役割が考えられる。ゴキブリにイヌ蛔虫やネコ蛔虫の虫卵を摂取させ、糞便中に排泄されたこれらの虫卵をマウスに投与すると、抗体が上昇し、実験的に感染が成立したとする報告³¹⁾や、ミミズにイヌ蛔虫卵を与え、このミミズをウズラに与えるとウズラの肝臓から幼虫が回収された報告³²⁾がある。これらのことから、ニワトリやウシはゴキブリの糞便を飼料とともに摂食することは十分考えられる。また、ニワトリ、特に衛生管理の行き届きにくい平飼いのニワトリでは、ゴキブリを補食することはしばしば経験する。さらに、ニワトリはミミズを好んで食べる習性がある。このため、ニワトリやウシがこのような経路を介してイヌ蛔虫卵を体内へ取り込むことは十分考えられる。

今回の検査ではニワトリから幼虫を直接検出することは出来なかったが、血清疫学的な調査成績からは感染率は非常に低いものの、ニワトリやウシに陽性抗体価を示すものが確認され、潜在的な感染を疑わせる成績が得られた。最近のグルメブームによって、さまざまな食品が生あるいは生に近い状態で食用に供される機会が増加するとともに、食品を介する寄生虫症も増加する傾向にある。トキソカラ症も、従来の感染経路に加え、食品を介して感染する可能性があり、トキソカラ属線虫の虫卵による食品の汚染をどのようにして防止するかは獣医学ならびに公衆衛生学的にも今後に残された重要な課題である。

結 論

食品を介して発症するトキソカラ症について、ニワトリとウシが感染源となりうるか否かについて実験を行うと共に、血清疫学的見地から検討を行った。

1. 石川、大分および宮崎県産の生食される地鶏の肝臓計48羽分を入手し、人工消化法によりニワトリからイヌ蛔虫幼虫の

検出を行ったが、いずれの肝臓からも幼虫は検出されなかった。

2. 実験的イヌ蛔虫幼虫感染鶏 (NR 雛: 50日令) について、イヌ蛔虫卵投与 (6,000個) 後、経時的に剖検し、肝臓とササミ (*M. pectoralis profundus*) に移行、寄生している幼虫を回収した。肝臓では虫卵投与後、3日目にはすでに少数ではあるが移行しており、0.23%の幼虫を回収した。1~3週目には3.71~5.88%と増加したが、その後は徐々に減少するものの20週目においても0.39%の幼虫を検出した。一方、ササミに移行する幼虫は少なく、2週目に初めて幼虫を検出した。その割合は5~7週目に0.20~0.86%と増加するが、20週目まで0.28~0.57%の幼虫を検出し、少数とはいえ長期にわたって寄生していることが明らかとなった。

3. 生食用とされるニワトリにおけるイヌ蛔虫幼虫の寄生の有無を推測するために TcnLES 抗体の検出を試みた。虫卵を投与した NR 雛の抗体価は虫卵投与後急増し、3~7週目まで $2.54 \pm 0.25 \sim 2.66 \pm 0.20$ と高値を示したが、その後低下するものの、 $2.19 \pm 0.19 \sim 2.31 \pm 0.20$ と20週目まで高値を持続し、マウスにおける移行状況と、幾分違った移行・寄生状況を示した。

4. 飼育状況によるニワトリの TcnLES 抗体の保有状況の検討は、地鶏、ケージ飼いのニワトリおよび中雛について行った。地鶏 (36羽) の平均抗体価は最も高く 1.61 ± 0.20 で、抗体陽性鶏も2羽 (5.6%) みられ、他の群よりも有意に高い値であった ($p < 0.05$)。

5. 石川県内で飼育されているウシ520頭について TcnLES 抗体の保有状況をみると、平均抗体価は 2.07 ± 0.42 で、飼育場所を加賀地区で 1.91 ± 0.40 、能登地区で 2.18 ± 0.39 で能登地区の方が高い傾向を示した。しかし、陽性抗体価を示したウシは少なく、2頭 (0.4%) に過ぎなかった。一方、放牧中のウシに抗体価上昇があるかについて調査したところ、陽性抗体価を示したものは認められなかったが、全てのウシで抗体価の上昇がみられた。

以上の結果から、ニワトリはイヌ蛔虫の待機宿主となることが明らかになった。また、その抗体保有状況から、ニワトリのみならずウシについても少数ではあるがイヌ蛔虫幼虫の寄生が推測された。このことから、これら動物の筋肉、内臓の生食はトキソカラ症の発症に関与することを示唆するものである。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御校閲を頂きました生理学第1講座永坂鉄夫教授に深甚なる謝意を表します。また、御懇切なる御指導と御校閲を賜りました近藤力王至助教授に深謝すると共に、終始御協力頂きました赤尾信明講師、大山卓昭助手ならびに田口美樹氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Beaver, P. C., Suyder, C. H., Carrera, G. M., Dent, J. H. & Lafferty, J. W.: Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. *Pediatrics*, 9, 7-19 (1952).
- 2) 近藤力王至: 犬蛔虫幼虫移行症. *最新医学*, 44, 774-780 (1989).
- 3) Glickman, L. T. & Schantz, P. M.: Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocaríasis. *Epidemiol. Rev.*, 3, 230-250 (1981).
- 4) 近藤力王至, 赤尾信明, 大山卓昭, 高倉吉正, 小西喜

彦：現代のペット病とその対策。イヌ・ネコからの病気について。日本環境動物昆虫学会誌，3，175-180 (1991)。

5) Moorhouse, D. E.: A possible cause of the Palm Island mystery disease. Med. J. Aust., 1, 172-173 (1982).

6) Romen, J., Roig, J., Riera, C. & Munoz, C.: Adult human toxocariasis acquired by eating raw snails. J. Infect. Dis., 164, 438 (1991).

7) 木船梯嗣, 赤羽啓栄, 辻 守康: 福岡県下におけるシャモ生食による好酸球増多症集団発生例について。寄生虫誌, 33 (suppl.), 69 (1984)。

8) 浦野一志, 菅野聖逸, 大城戸宗男, 永倉貢一, 金田良男: 動物性皮膚症 シャモの生食により発症した犬蛔虫 (*Toxocara canis*) 内臓幼虫移行症の双子例。皮膚科の臨床, 32, 553-557 (1990)。

9) 伊藤孝一郎, 坂井健二, 岡嶋泰一郎, 大内和弘, 船越頭博, 西村純二, 井林 博, 辻 守康: 鶏肝や牛肝の生食により発症したと考えられる内臓幼虫移行症の3例。日本内科学誌, 75, 759-766 (1987)。

10) Nagakura, K., Tachibana, H., Kaneda, Y. & Kato, Y.: Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken. J. Infect. Dis., 160, 735-736 (1989).

11) 井上洋子: 幼虫移行症に関する研究 待機宿主内犬蛔虫幼虫の感染能と感染ラット血清抗体の推移。広大医誌, 35, 1417-1429 (1987)。

12) Pahari, T. K. & Sasmal, N. K.: Experimental infection of mice with *Toxocara canis* larvae obtained from Japanese quails. Int. J. Parasitol., 20, 263-264 (1990).

13) 近藤力王至: 移行性幼虫線虫症の実験的研究。京府医大誌, 79, 32-56 (1970)。

14) de Savigny, D. H.: *In vitro* maintenance of *Toxocara canis* larvae and simple method for production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic test for visceral larva migrans. J. Parasitol., 61, 781-782 (1975).

15) Koizumi, T., Hayakawa, J. & Kondo, K.: *Toxocara canis*: Immunogenic sources of *Toxocara canis* in infected rats. Jpn. J. Parasitol., 32, 379-386 (1983).

16) 近藤力王至, 赤尾信明, 小西喜彦, 吉村裕之: 実験的幼虫移行症の研究 (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)。

17) Abo, S. M.: Prevalence of *Toxocara* ova in some schools and public grounds in northern and central Jordan. Ann. Trop. Med. Parasitol., 83, 73-75 (1989).

18) Bundy, D. A., Thompson, D. E., Robertson B. D. & Cooper, E. S.: Age-relationships of *Toxocara canis* seropositivity and geohelminth infection prevalence in two communities in ST. Lucia, West Indies. Trop. Med.

Parasitol., 38, 309-312 (1987).

19) Embil, J. A., Tanner, C. E., Pereira, L. H., Staudt, M., Morrison, E. G. & Gualazzi, D. A.: Seroepidemiologic survey of *Toxocara canis* infection in urban and rural children. Public Health, 102, 129-133 (1988).

20) Horn, K., Schnieder, T. & Stoye, M.: Kontamination öffentlicher Kinderspielplätze Hannovers mit Helmintheneien. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr., 97, 124-125 (1990).

21) Liungstrom, I. & van Knapen, F.: An epidemiological and serological study of *Toxocara* infection in Sweden. Scand. J. Infect. Dis., 21, 87-93 (1989).

22) Ludlam, K. E. & Platt, T. R.: The relationship of park maintenance and accessibility to dogs to the presence of *Toxocara spp.* ova in the soil. Am. J. Public Health, 79, 633-634 (1989).

23) Lynch, N. R., Eddy, K., Hodgen, A. N., Lopez, R. I. & Turner, K. J.: Seroprevalence of *Toxocara canis* infection in tropical Venezuela. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 82, 275-281 (1988).

24) Umeche, N.: Helminth ova in soil from children's playgrounds in Calabar, Nigeria. Cent. Afr. J. Med., 35, 432-434 (1989).

25) 五十嵐健二, 矢富謙治: 犬と猫の蛔虫卵による公園の砂場の汚染状況。日獣会誌, 45, 597-599 (1992)。

26) Nelson, J., Frost, J. L. & Schochet, S. J.: Unsuspected cerebral *Toxocara* infection in a fire victim. Clin. Neuropathol., 9, 106-108 (1990).

27) Wilder, H. G.: Nematode endophthalmitis. Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Oto-laryngol., 55, 99-109 (1950).

28) Kennedy, M. W., Maizels, R. M., Meghji, M., Young L. F., Qureshi, F. & Smith H. V.: Species-specific and common epitopes on the secreted and surface antigens of *Toxocara cati* and *Toxocara canis* infective larvae. Parasite Immunol., 9, 407-720 (1987).

29) Lynch, N. R., Wilkes, L. K., Hodgen, A. N. & Turner, K. J.: Specificity of *Toxocara* ELISA in tropical populations. Parasite Immunol., 10, 323-337 (1988).

30) Robertson, B. D., Burkot, T. R., Gillespie, S. H., Kennedy, M. W., Wambai, Z. & Maizels, R. M.: Detection of circulating parasite antigen and specific antibody in *Toxocara canis* infections. Clin. Exp. Immunol., 74, 236-241 (1988).

31) 高橋純子, 宇賀昭二, 松村武男: 犬・猫蛔虫の伝搬におけるクロゴキブリの役割。寄生虫誌, 39, 551-556 (1990)。

32) Pahari, T. K. & Sasmal, N. K.: Experimental infection of Japanese quail with *Toxocara canis* larvae through earthworms. Vet. Parasitol., 39, 337-340 (1991).

An Epidemiological Study of Food-borne Toxocariasis—Fowl and Cattle as Paratenic Hosts of *Toxocara canis*—
Yoshimasa Takakura, Department of Parasitology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., 102, 828—835 (1993)

Key words *Toxocara canis*, viscera larva migrans, fowl, cattle, epidemiology

Abstract

Toxocariasis is a disease caused by the nematode larva of the genus *Toxocara*, including *Toxocara canis*. This disease is usually generated by the ingestion of mature eggs that are scattered in soil. Recently, after eating raw beef or chicken, certain patients showing high anti-*Toxocara* antibodies in their sera developed clinical features, such as ocular disorder or liver dysfunction, accompanied by an increase in eosinophils. Some investigators have therefore suspected that this disease may also be a food-borne parasite. We investigated whether bovines or fowls could be paratenic hosts of *T. canis*, and we carried out a sero-epidemiological survey of antibody prevalence in these animals. Chicken livers purchased from the city markets in the Ishikawa, Ohita, and Miyazaki prefectures of Japan were examined for the presence of *T. canis* larvae by a digestion method. No larva were detected in the livers. Experimental infection of fowls was conducted to determine whether fowls can be paratenic hosts. Six-thousand eggs of *T. canis* were orally administered to 50-day old fowls (NR strain), and the larvae were recovered from the liver and *M. pectoralis profundus*. Three days after infection, 0.23% of the larvae were recovered from the chicken livers. The migration rate reached a plateau of 3.71 to 5.88% at 1 to 3 weeks after infection. Although this percentage decreased gradually, 0.39% of the larvae were still detected at 20 weeks of infection. The *T. canis* larvae migrated more slowly in the somatic tissue of the fowls than that of mice, as determined in another study. Two weeks after infection, only 0.03% of the larvae were recovered from the *M. pectoralis profundus*. The migration rate slightly increased (0.20-0.86%) at 5 to 7 weeks after infection, and then remained fairly constant at a low level (0.28-0.50%) up to 20 weeks after infection. However, all the larvae recovered were alive. Antibody titers of sera from infected fowls significantly increased at 3 weeks after infection, and reached a maximum value of 2.66 ± 0.20 at 7 weeks after infection. Thereafter, a high antibody titer (2.54 ± 0.25 to 2.66 ± 0.20) was maintained until 20 weeks of infection, although it gradually decreased. The average antibody titer of 36 ground-fed fowls was higher (1.61 ± 0.20) than that of floor-caged fowls or middle-size nestlings ($P < 0.05$). Two antibody-positive fowls (5.6%) were found among the 36 ground-fed fowls. On the other hand, 2 out of 520 bovines fed in Ishikawa prefecture were serologically positive against larval excretory-secretory antigens of *T. canis*, and the average antibody titer was 2.07 ± 0.42 . A geographical distribution of antibody prevalence revealed that bovines in the Noto district demonstrated higher titer values (2.18 ± 0.39) than those in the Kaga district (1.91 ± 0.40). Furthermore, during the pasturing between spring and fall, antibody titers were significantly increased in all bovines, but no positive values were found. These results indicate that fowls and bovines can be paratenic hosts of *T. canis*, although the number of the larvae retained in these animals was small. Consequently, the ingestion of the raw meat or liver of these animals is a risk factor for the onset of toxocariasis.