

表2 サバ加工品におけるアニサキスの検出状況

品目	原料原産国	腹部筋肉の有無	検体数	陽性検体数 (%)	アニサキス検出総数	アニサキスの種類
シメサバ	日本	有	6	1 (16.7)	1	<i>A. simplex sensu stricto</i>
	日本	無	95	13 (13.7)	20	<i>A. simplex sensu stricto</i>
	中国	無	4	0	0	
	ノルウェー	無	8	0	0	
	合計		113	14 (12.4)	21	
塩サバ	日本	有	8	0	0	
	日本	無	17	2 (11.8)	2	<i>A. simplex sensu stricto</i>
	ノルウェー	有	81	1 (1.2)	1	<i>A. simplex sensu stricto</i>
	ノルウェー	無	5	0	0	
	合計		111	3 (2.7)	3	
サバみりん干・ぬか漬け等	日本	有	2			
	日本	無	14	0	0	
	中国	有	4	1 (7.1)	1	<i>A. simplex sensu stricto</i>
	ノルウェー	有	20	1 (25.0)	3	<i>A. pegreffii</i>
	合計		40	0	0	

腹痛を呈する典型的な胃アニサキス症であった。わが国のアニサキス症は、99%が *A. simplex sensu stricto* によるものと報告⁴⁾されているが、今回の17事例においても、16/17事例のアニサキスが *A. simplex sensu stricto* であった。これまでの調査²⁾からサバにおけるアニサキスの筋肉内移行率は *A. pegreffii* と比較して *A. simplex sensu stricto* が約100倍高率であることが原因にあると考えられた。

サバ加工品では、シメサバでは内臓周りの筋肉を切除しているにもかかわらず20個体のアニサキスが検出され、一部のアニサキスは内臓周りの筋肉からさらに背側へ移行していた。*A. simplex sensu stricto* は15%食塩水中で18時間後には死滅するが、食酢中では18時間経過後でも活発な運動性を保持している。そのため、塩サバやぬか漬けのような乾燥品や塩濃度の高い加工品と比較してシメサバでは、その製造段階でアニサキスの筋肉部への移行率が高いのではないかと考えられた。今回調査を行ったサバ加工品から検出されたアニサキスはいずれも死滅していたが、アニサキスはアレルギーの原因物質⁵⁾としても知られ、多数のアニサキスが検出されるような加工品であればアレルギーの原因となる可能性がある

考えられる。したがって、生食用に限らず、加工食品用のサバであっても早期の内臓部分の摘出が食品の安全性確保に必要と考えられた。

文 献

- 1) Zhu X. *et al.* (1998): Characterisation of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *Int J Parasitol*, 28, 1911-1921.
- 2) Suzuki J. *et al.* (2010): Risk factors for human *Anisakis* infection and association between the geographic origins of *Scomber japonicus* and anisakid nematodes. *Int J Food Microbiol*, 137, 88-93.
- 3) 唐沢洋一, 他 (2008): 最近の消化管アニサキス症について. *日本医事新報*, 4386, 68-74.
- 4) Umehara A. *et al.* (2007): Molecular identification of the etiological agent of the human anisakiasis in Japan. *Parasitol Int*, 56, 211-215.
- 5) Kasuya, S. *et al.* (1990): Mackerel-induced urticaria and *Anisakis*, *Lancet*, 335, 365.



Short communication

Tolerance to low temperatures of *Toxocara cati* larvae in chicken muscle tissueKensuke Taira^a, Yasuhide Saitoh^{a,*}, Natsuki Okada^a, Hiromu Sugiyama^b, Christian M.O. Kapel^c^a Laboratory for Parasitology, Department of Veterinary Medicine, Azabu University, 1-17-71 Fuchinobe, Chuo-ku, Sagami-hara, Kanagawa 252-5201, Japan^b Department of Parasitology, National Institute of Infectious Disease, 1-23-1 Toyama, Shinjyuku, Tokyo 162-8640, Japan^c Section for Zoology, Department of Agriculture and Ecology, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Thorvaldsensvej 40, DK-1871 Frederiksberg C, Denmark

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 September 2011

Received in revised form 25 April 2012

Accepted 29 April 2012

Keywords:

Toxocara cati

Poultry

Cold tolerance

Food-borne

Zoonosis

ABSTRACT

Infectivity of *Toxocara cati* larvae in muscle tissue of chickens after storage at 4 °C and –25 °C was assessed in a mouse bioassay to provide information on the risk of meat-borne toxocarosis. Muscle tissue samples of 30-day old *T. cati* infections were stored at 4 °C for 14 and 28 days and at –25 °C for 12, 24 and 48 h, whereafter, larvae were released by digestion. For each experimental group, the released larvae were inoculated in six mice. After 15 days, mice were euthanized and larval burden was assessed by digestion. In the control group (no storage of the infected chicken meat), 47.9% of the inoculated larvae established in mice, whereas storage of meat at 4 °C for 14 days or 28 days reduced the recovery to 24.1% or 3.3%, respectively. Muscle larvae exposed to –25 °C for 12, 24 or 48 h did not establish in the mice. The observation that larvae retain infective after refrigeration at exposure in 4 °C for 28 days, emphasize the zoonotic potential of poultry meat as a causative agent of human toxocarosis.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The common roundworm of cats, *Toxocara cati* is a zoonotic helminth which is increasingly recognized as an etiological agent of human toxocarosis (Shimokawa et al., 1982; Fisher, 2003; Akao and Ohta, 2007; Lee et al., 2010). In addition to direct infection from eggs deposited to the environment, cultural dietary preferences for raw or undercooked chicken dishes may be associated with risk because chicken may serve as a paratenic host (Okoshi and Usui, 1968; Taira et al., 2011). Thus, accumulating evidence links human toxocarosis to consumption of raw or undercooked chicken products (Mitsugi et al., 1988; Nishikata et al., 1991; Yoshikawa et al., 2010). An experimental study

clearly demonstrated that *T. cati* larvae in the chicken meat were highly infective to recipient mice (Taira et al., 2011).

As refrigeration or freezing of chicken products are common means of preservation through the consumer chain, an assessment of risk associated to consumption of *T. cati* infected chicken meat should include controlled experimental studies on the survival of muscle larvae at low temperatures. Although a few studies have indicated the survival of larvae of *Toxocara canis*, the round worm of dogs, at low temperatures, comparable knowledge does not exist for *T. cati*. Sprent (1953) reported that motile larvae of *T. canis* were found after digestion of mice carcass which had been kept at –20 °C for 4 weeks, although the infectivity of the larvae was not evaluated. Taira et al. (2004) reported also on *T. canis* that 43% of larvae from pig tissues and 19% of larvae from chicken tissues, both tissues were preserved at 4 °C for 1 week, were established in recipient pigs. In the present study, therefore, the infectivity of *T. cati*

* Corresponding author. Tel.: +81 42 850 2483; fax: +81 42 850 2483.
E-mail address: saitohya@azabu-u.ac.jp (Y. Saitoh).

muscle larvae of chicken after storage at 4 °C and –25 °C was investigated in a mouse bioassay.

2. Materials and methods

2.1. Parasite isolates

Eggs of *T. cati* obtained from a naturally infected local cat were subsequently propagated in a laboratory cat. Adult worms expelled from this cat had typical arrow-headed, formed cervical alae of *T. cati*. Fecal eggs were isolated, embryonated and stored in 1% formalin at 25 °C for approx. 3 months (Taira et al., 2011). The eggs were washed twice with tap water prior to inoculation to remove the formalin.

2.2. Chickens: infection and necropsy

Ten parasite-naïve *Boris brown* chickens of both sexes, aged 4 weeks on the day of inoculation, were group-housed in disinfected cages. Food and water were administered *ad libitum*. Each chicken was inoculated orally with 10,000 embryonated *T. cati* eggs in a single dose of 0.7 ml egg suspension. All chickens were euthanized and necropsied at 30 days post-infection.

The pectoral muscles (white meat) and hindlimb muscles (red meat) of chickens were removed, and minced into pieces of approx. 5 mm³ with a commercial food processor.

2.3. Preservation of the chicken muscle tissue

The entire portion of thoroughly mixed minced muscle tissue was divided into 18 portions of 50 g in plastic bags. All portions of minced muscle tissues in the plastic bags were flattened to about 2 cm in thickness. Three control bags were not stored and the muscle larval burden was assessed at the day of necropsy by HCl-pepsin digestion (see below). Five sets of three bags were stored respectively at 4 °C for 14 days, at 4 °C for 28 days, at –25 °C for 12 h, at –25 °C for 24 h, and at –25 °C for 48 h. The bags stored at –25 °C for 12 h were followed by 4 °C storage for another 12 h to digest the meats at the same time with that stored at –25 °C for 24 h. After storage, muscle larvae were immediately released by digestion as described below.

2.4. Mice: infection and necropsy

Thirty six 5 wk old male ICR mice (closed colony) were used in the study: Six groups of six mice were inoculated *per os* by stomach tubation with around 50 larvae per mouse (in approx. 0.5 ml saline). Inoculation was conducted within 1 h after the release of the muscle larvae. Fifteen days after inoculation, mice were euthanized. Whole carcass of a mouse, excluding the skin, tip of limbs, tail, muzzle, stomach, and intestines, were minced into pieces of approx. 5 mm³ with a commercial food processor, and digested for larval recovery. The food processor was disinfected and washed with boiling water in the process for each carcass.

All animals used in this study were treated in accordance with the guidelines for animal experimentation of

Azabu University with the reference number 100304-5 and the relevant ethical guidelines of the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology.

2.5. Digestion and larval counts

The muscle digestion was conducted after Taira et al. (2011): Chicken muscle tissue or carcass of mouse was digested in an HCl-pepsin solution for 2 h. The ratio between tissue (g) and fluid (ml) was approximately 1:10. The digestion solution was sedimented for 1 h and washed in 40 °C saline three times. Immediately after the final sedimentation, the recovered larvae were counted under a stereoscopic microscope, and their motility was roughly estimated.

3. Results

No clinical signs of the infection or changes in behavior were observed in the chickens and mice during the experiments. Macroscopic changes in muscles of chickens were not observed at necropsy.

The larval recovery from chicken meat and mice is presented in Table 1. Almost all larvae recovered from the chicken muscle tissue at necropsy (controls) were motile, and half (47.9%) of these larvae were recovered from the inoculated mice. Although, the muscle tissue did not show clear visible signs of degradation after storage at 4 °C for 14 days, only half of the released larvae were estimated as motile, and 24.1% of the inoculated larvae established in mice. After further storage at 4 °C for a total of 28 days, the tissue showed clear signs of degradation (appearance and smell), only a few of the released larvae were motile and overall only 3.3% of the inoculated larvae could be recovered from mice.

If frozen at –25 °C for 12 h, only a few of the larvae released from the chicken muscle tissue were motile, but none established in mice. When the storage period at –25 °C was extended to 24 or 48 h, the released larvae were neither motile nor infective to mice.

4. Discussion

The present study provides the first data on the infectivity of *T. cati* larvae in poultry after refrigeration or deep freezing of the meat. The bioassay in mice illustrates that *T. cati* larvae may retain high infectivity in chicken meat stored at 4 °C up to two weeks. An extended storage period significantly decreases larval infectivity. The decrease of larval infectivity may relate to decay process of the chicken meat, although the meats stored for 14 days did not show clear visible degradation. For human consumption, storage of fresh poultry would rarely exceed two weeks, and the present storage at 4 °C for 28 days may primarily be of academic interest. Thus, if stored in a common domestic refrigerator (4–5 °C), chicken meat infected with *T. cati* larvae may pose a food safety risk.

Contrary, deep freezing appears to be an effective measure to inactivate *T. cati* larvae in chicken meat, as none of the larvae recovered after freezing at –25 °C were able to establish in mice. The observation of a few motile

Table 1
Infectivity of *Toxocara cati* muscle larvae in chicken meat stored at 4 °C or -25 °C.

Storage temperature and period ^b	Chicken muscles ^a		Mice		Recovery % (recovered/inoculated)		
	Number of recovered larvae in 150 g	Estimation of motility of recovered larvae ^c	N	Number of larvae inoculated per mouse		Number of larvae recovered 15 days post inoculation	
						Mean	(SD)
0 days	1190	Approx. 100%	6	48.0 (6.07)	23.0 (4.3)	47.9 (8.9)	
4 °C, 14 days	969	Approx. 50%	6	52.5 (9.86)	12.7 (2.5)	24.1 (4.8)	
4 °C, 28 days	550	Approx. 5%	6	50.0 (8.26)	1.7 (1.2)	3.3 (2.4)	
-25 °C, 12 h (+4 °C, 12 h)	769	Approx. 5%	6	49.0 (7.08)	0 (0)	0 (0)	
-25 °C, 24 h	478	0%	6	44.8 (9.11)	0 (0)	0 (0)	
-25 °C, 48 h	628	0%	6	51.8 (5.86)	0 (0)	0 (0)	

^a Pectoral and hindlimb muscles of 10 chickens inoculated with 10,000 embryonated eggs of *Toxocara cati* and necropsied 30 days after inoculation.

^b Prior to storage, plastic bags with 50 g minced muscle tissue were flattened out to about 2 cm thickness.

^c Motility of larvae was estimated under microscope within 1 h after release from chicken muscle tissue digested.

but non-infective larvae released from meat frozen for 12 h may illustrate that larvae may survive more moderate freezing, e.g. at -10 °C or -18 °C. Although the minced meat samples were flattened out, the inside temperature was not monitored in the present study, and the core temperature of the samples may not have reached a thermal dead point for the larvae within the first 12 h. Wharton and Alders (2002) reported for fish-borne *Anisakiasis* that freezing at -20 °C for 24 h is required for the complete inactivation of *Anisakis* larvae, because a low core temperature of the fish meat is needed. Similarly, inactivation of *Trichinella* in pork by freezing is closely correlated to the size of the cut of meat and temperature and period of freezing (Noeckler and Kapel, 2007). Thus, to explore the food safety implications of the present findings, further studies are required to determine specific thermal dead point relations between size of the chicken meat, temperature and period of freezing.

In conclusion, the present study demonstrated that *T. cati* larvae in chicken muscle tissue were highly infective even after 14 days refrigeration at 4 °C, but also that deep freezing appear to be an effective inactivation measure. The results indicate that *T. cati* in poultry may pose a food safety risk if infected chicken is consumed raw or undercooked without prior deep freezing, and thus support the assumption that *T. cati* in poultry may be an agent of human toxocarosis.

Acknowledgment

This study was partially supported by a grant for Research on Food Safety from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan (H22-Shokuhin-ippan-009).

References

- Akao, N., Ohta, N., 2007. Toxocarosis in Japan. *Parasitol. Int.* 56, 87–93.
- Fisher, M., 2003. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. *Trends Parasitol.* 19, 167–170.
- Lee, A.C.Y., Schantz, P.M., Kazacos, K.R., Montgomery, S.P., Bowman, D.D., 2010. Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. *Trends Parasitol.* 26, 155–161.
- Mitsugi, K., Umei, T., Inoue, T., Sumida, I., Hanada, M., 1988. Visceral larva migrans by *Toxocara cati* with multiple nodules in liver. *J. Nihon Naika Gakkai* 77, 1742–1743 (in Japanese).
- Nishikata, H., Hirata, Y., Shimamura, R., Dohmen, K., Kudo, J., Ishibashi, H., Onizuka, H., Oda, M., 1991. A case of visceral larva migrans by *Toxocara cati* infection with multiple liver granuloma. *Jpn. J. Gastroenterol.* 88, 2697–2702 (in Japanese).
- Noeckler, K., Kapel, C.M.O., 2007. Detection and surveillance for *Trichinella*: meat inspection and hygiene, and legislation. In: Dupouy-Camet, J., Murrell, K.D. (Eds.), *FAO/WHO/OIE Guidelines for the Surveillance, Management, Prevention and Control of Trichinellosis*. World Organisation for Animal Health (OIE), Paris, France, pp. 69–98. ISBN: 978-92-9044-704-7 (Chapter 3).
- Okoshi, S., Usui, M., 1968. Experimental studies on *Toxascaris leonina*. VI. Experimental infection of mice, chickens and earthworms with *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis* and *Toxocara cati*. *Jpn. J. Vet. Sci.* 30, 151–166.
- Shimokawa, H., Nakashima, T., Akagi, K., 1982. Visceral larva migrans by *Toxocara cati*. *Fukuoka Acta Med.* 73, 64–69.
- Sprent, J.F.A., 1953. On the migratory behaviors of the larvae of various *Ascaris* species in white mice. II. Longevity of encapsulated larvae and their resistance and putrefaction. *J. Infect. Dis.* 92, 114–117.
- Taira, K., Saeed, I., Permin, A., Kapel, C.M., 2004. Zoonotic risk of *Toxocara canis* infection through consumption of pig or poultry viscera. *Vet. Parasitol.* 121, 115–124.

Taira, K., Saitoh, Y., Kapel, C.M.O., 2011. *Toxocara cati* larvae persist and retain high infectivity in muscles of experimentally infected chickens. *Vet. Parasitol.* 180, 287–291.

Wharton, D.A., Alders, O., 2002. The response of *Anisakis* larvae to freezing. *J. Helminthol.* 76, 363–368.

Yoshikawa, M., Koyama, N., Hontsu, S., Yamamoto, Y., Ogawa, S., Nakamura, T., Mizuno, Y., Miura, S., Mikasa, K., Kimura, H., 2010. Clinical analysis of eight patients with pulmonary toxocariasis. *Ann. Jpn. Resp. Soc.* 48, 351–356 (in Japanese with English summary).

肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ冷凍条件の検討

杉山 広¹⁾, 柴田勝優¹⁾, 森嶋康之¹⁾, 山崎 浩¹⁾, 川上 泰²⁾

¹⁾ 国立感染症研究所 寄生動物部

²⁾ 麻布大学 生命・環境科学部

Key Words: ウェステルマン肺吸虫, サワガニ, メタセルカリア, 温度感受性, 感染予防

はじめに

東京の鮮魚店で食用として販売されたサワガニの約20%から、人体寄生性肺吸虫(ウェステルマンと宮崎)のメタセルカリアが検出されている¹⁾。この市販の食用サワガニを食材に利用し、出身地固有の料理を調理・喫食して、肺吸虫に感染した外国人の事例が報告されている^{2,3)}。肺吸虫の感染予防法の確立が必要であり、その1つとして加熱によるサワガニの前処理が有効と考えられた。そこで、ウェステルマン肺吸虫陽性地区由来のサワガニを55℃で5分間加熱処理し、虫体を回収して、マウスへ実験的に投与した。その結果、感染が成立しなくなることが明らかとなった⁴⁾。肺吸虫感染予防のための前処理として、冷凍も同様に有効と考えられたので、今回はその条件を検討した。

材料と方法

ウェステルマン肺吸虫(2倍体型)陽性のサワガニは、三重県伊賀市の流行地で採集した⁵⁾。実験に当たっては、活発に運動するサワガニを選び、20×30 cmのネット(ポリエチレン製、メッシュサイズ16)に入れ、庫内の平均温度を-18℃に設定した冷凍庫(容量334リットル)内で、所定の時間、冷凍処理した。処理後のサワガニは、ネットに入れたまま流水(水道水)に1分間浸漬して解凍した。そして速やかに解剖用はさみで細切り、多量の水道水で洗浄した。洗浄水を静置した後、沈渣を実体顕微鏡下に精査し、虫体(幼虫)を回収した。得られた虫体は形態を観察すると共に、マウス(ddY系、雄、5週齢、各群5頭)に各10個ずつ、経口的に感染させた。マウスは感染後

Effect of freezing on the infectivity of *Paragonimus westermani* metacercariae in intermediate host crabs

Hiromu Sugiyama¹⁾, Katsumasa Shibata¹⁾, Yasuyuki Morishima¹⁾, Hiroshi Yamasaki¹⁾, Yasushi Kawakami²⁾

¹⁾ Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases

²⁾ School of Life and Environmental Science, Azabu University

論文請求先: 杉山 広 〒162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1 国立感染症研究所寄生動物部

22-28 日に剖検し、既報に準じて全身からの虫体回収を試みた⁶⁾。

結果

1. 形態所見

(1) 非冷凍 (未処理) サワガニ由来のメタセルカリア⁴⁾

メタセルカリアはほぼ球形を呈した。囊内の幼虫は体全体を回転させる、あるいは体肉の一部を波動させるなど、活発に運動した。幼虫は、体の中央部に I 字状に伸びる排泄囊を有し、その中には排泄顆粒が充満していた。また排泄囊の両側には、腸管が明瞭であった (図 1A)。

(2) 冷凍サワガニ由来のメタセルカリア

A. -18°C ・50 分間の処理

幼虫は囊内に留まり、やや不明瞭ながらも腸管を特定し得たメタセルカリアが大部分を占めた (図 1B)。しかし、一部は囊壁に欠損を認め、更にこの欠損部から虫体の一部あるいは大部分が囊外に脱出していた。囊壁に欠損を認めた個体では、幼虫の体肉は混濁し、腸管の特定が困難で、運動性は著しく減弱していた。

B. -18°C ・100 分間あるいは 150 分間の処理

ほぼ総てのメタセルカリアが囊壁に欠損を認め、この欠損部から虫体の一部あるいは大部分が囊外に脱出していた。完全に脱囊した個体も少数ながら認めた。幼虫は総て体肉が混濁し、腸管の特定が困難で、運動性を欠いていた (図 1C)。

2. マウスへの感染試験

(1) 非冷凍 (未処理) サワガニ由来のメタセルカリア⁴⁾

総ての試験マウス (5 頭) で感染が成立した (表 1)。回収数は 1 頭あたり平均 5.8 虫体 (1 頭あたり 5-8 虫体) であった。部位別の回収数では骨格筋が最も多く、1 頭あたり平均 4.8 虫体 (1 頭あたり 4-7 虫体)、次いで体腔から平均 1 虫体 (0-2 虫体) が回収された。横隔膜・肝・肺は陰性であった。

(2) 冷凍サワガニ由来のメタセルカリア

A. -18°C ・50 分間の処理

総ての試験マウス (5 頭) で感染が成立した。回収数は 1 頭あたり平均 4.2 虫体 (1 頭あたり 1-7 虫体) であった。部位別の回収数は骨格筋が最も多く、1 頭あたり平均 3.2 虫体 (1 頭あたり 1-5 虫体)、次いで体腔から平均 1 虫体 (0-2 虫体) が回収された。横隔膜・肝・肺は陰性であった (表 1)。

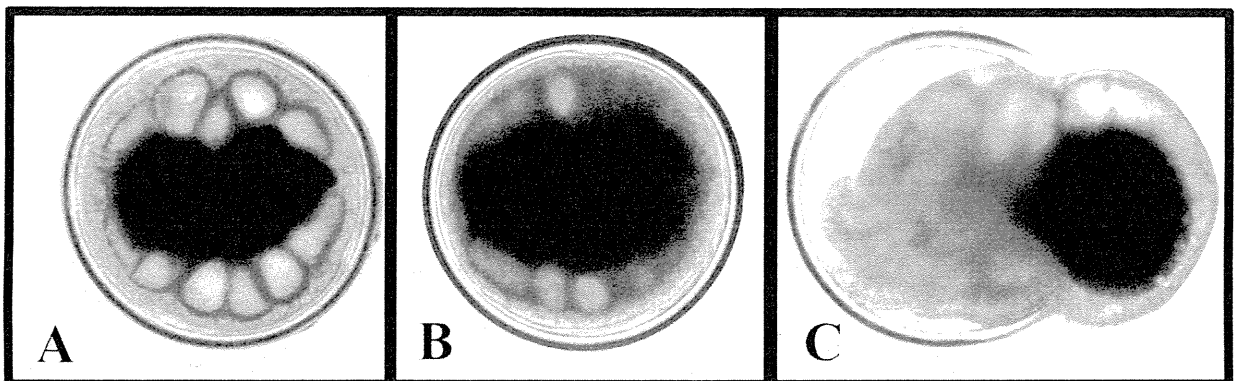


図 1 ウェステルマン肺吸虫メタセルカリアの形態所見。非冷凍 (A)、および -18°C で 50 分間 (B)、あるいは同 100 分間 (C) の冷凍による前処理を施したサワガニ由来のメタセルカリア・顕微鏡写真 (中拡大像)。冷凍処理により幼虫は体肉が混濁し (B, C)、腸管は不明瞭となり、囊壁の欠損部から虫体が囊外に脱出した (C)。

B. -18°C・100 分間あるいは 150 分間の処理

虫体は全く回収されなかった (表 1)。

表 1 冷凍・非冷凍のサワガニ由来のウエステルマン肺吸虫メタセルカリアを用いたマウスへの感染試験

群 ^a	サワガニ処理		回収虫体数 ^b (1 頭平均)			回収率 (%)
	温度 (°C)	時間 (分)	体腔	筋	合計	
1	NF ^c		1	4.8	5.8	58
2	-18	50	1	3.2	4.2	42
3	-18	100	0	0	0	0
3	-18	150	0	0	0	0

^a ddY 系, 雄, 5 週齢のマウスを各群 5 頭使用

^b 試験マウスはメタセルカリア (幼虫) を各 10 個ずつ経口的に投与し, 投与後 22-28 日に剖検して, 体腔・全身の骨格筋・横隔膜・肝・肺を対象に, 虫体の回収を試みた。

^c NF: 非冷凍

考察

本研究の結果, 肺吸虫の感染源となるサワガニ (第 2 中間宿主) を -18°C で 100 分間冷凍すれば, サワガニ体内に寄生するメタセルカリアは, マウスへの感染能力を消失することが分かった。すなわち冷凍は, 加熱 (サワガニを 55°C で 5 分間前処理)⁴⁾と同様に, 肺吸虫の感染予防の手段として有効であった。一方で, -18°C でも 50 分間の冷凍では, 総ての試験マウスが感染した。従って, 肺吸虫の感染を確実に予防するには, 冷凍の温度だけでなく, その時間も厳守されているか, 確認する必要があると考えられた。

ウエステルマン肺吸虫の感染源として, サワガニと同様に重要なモクズガニからメタセルカリアを分離し, 感染予防に資する条件が検討され, -40°C で 30 分間の冷凍が有効だと報告されている (形態観察に基づく効果判定)⁷⁾。今回我々が検討した -18°C より低い温度, すなわち -40°C では,

より短い時間でのサワガニの冷凍で, 感染予防が成立する可能性を示唆した成績と考えられた。従って今後更に, 種々の温度・時間でサワガニを冷凍し, 感染試験を行ない, 感染予防に有効な諸条件を明らかにしたいと考えている。

文 献

- 1) Sugiyama, H., *et al.* (2009) : Detection of *Paragonimus metacercariae* in the Japanese freshwater crab, *Geothelphusa dehaani*, bought at retail fish markets in Japan. *Jpn J Infect Dis*, 62, 324-325.
- 2) 杉山 広 (2010) : 食品と寄生虫感染症. 食衛誌, 51, 285-291.
- 3) 佐藤 亮, 他 (2012) : 特発性好酸球増多症候群としてステロイド投与中に両肺多発空洞陰影を呈したウエステルマン肺吸虫症の一例. *Clin Parasitol*, 23, 印刷中.
- 4) 杉山 広, 他 (2010) : 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ加熱条件の検討. *Clin Parasitol*, 21, 43-45.
- 5) 杉山 広, 他 (1989) : 南近畿地方におけるウエステルマン肺吸虫 *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) の地理的分布に関する研究. 三重県伊賀地方産サワガニ *Geothelphusa dehaani* におけるウエステルマン肺吸虫メタセルカリアの寄生状況について. *生物地理報*, 44, 165-173.
- 6) Sugiyama, H., *et al.* (1984) : The macaque monkey as an experimental paratenic host for *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) Braun, 1899. *Jpn J Vet Sci*, 46, 345-356.
- 7) 津田守道 (1959) : 肺吸虫 *Paragonimus westermani* の生物学的研究. (2) 肺吸虫被囊幼虫の抵抗に就いて. *寄生虫誌*, 8, 812-821.

Current Status of Lung Fluke Metacercarial Infection in Freshwater Crabs in the Kawane Area of Shizuoka Prefecture, Japan

Hiromu SUGIYAMA^{1)*}, Katsumasa SHIBATA¹⁾, Yasuyuki MORISHIMA¹⁾, Maki MUTO¹⁾, Hiroshi YAMASAKI¹⁾ and Yasushi KAWAKAMI²⁾

¹⁾Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan

²⁾Laboratory of Parasitology, School of Life and Environmental Science, Azabu University, 1-17-71 Fuchinobe, Chuo-ku, Sagami-hara, Kanagawa 229-8501, Japan

(Received 20 July 2012/Accepted 1 October 2012/Published online in J-STAGE 18 October 2012)

ABSTRACT. Feline cases of lung fluke infection were recently reported in the upper basin of the Oi River in Shizuoka Prefecture. The causative species of these cases were not identified, although a field survey conducted about 40 years ago in this area demonstrated the prevalence of *Paragonimus miyazakii* metacercariae in intermediate host crabs. To clarify the current status of lung fluke metacercarial infection in host crabs, we collected the Japanese freshwater crab or Sawagani, *Geothelphusa dehaani*, at 14 sampling sites in the Kawane area, which is located in the upper basin of the Oi River. Sawagani harboring *Paragonimus* metacercariae were collected at all sampling sites in this study with a total prevalence of 42% (281 of 677 crabs examined) and a range of 16% to 92%. The number of metacercariae per infected crab ranged from 1 to 19 with a mean of 2.2. Based on the morphological features of the metacercariae and adult worms recovered from rats that were experimentally infected with the metacercariae, the lung flukes examined were identified as *P. miyazakii* Kamo, Nishida, Hatsushika and Tomimura, 1961; ITS2 sequence data corroborate this conclusion. *P. miyazakii* is still widely prevalent in this area, implying that the recently reported feline paragonimiasis cases were likely caused by *P. miyazakii* infection.

KEY WORDS: Japanese freshwater crab, lung fluke, *Paragonimus miyazakii*, *Paragonimus skrjabini*, Sawagani.

doi: 10.1292/jvms.12-0325; *J. Vet. Med. Sci.* 75(3): **-**, 2013

Lung flukes *Paragonimus westermani*, *Paragonimus miyazakii*, and *Paragonimus ohirai* occur in Japan; the first 2 species are zoonotic pathogens that cause pulmonary and sometimes extrapulmonary diseases [8]. These 2 lung fluke species share a major infection source, the Japanese freshwater crab or Sawagani (*sawa* means mountain stream and *gani* [or *kani*] means crab in Japanese), *Geothelphusa dehaani*. Sawagani has a geographical distribution that covers almost all of Japan except for Hokkaido and the southern islands of Okinawa Prefecture, and Sawagani harboring metacercariae of these 2 *Paragonimus* spp. have been identified in several areas throughout this range [9]. Among the regions in Japan to which Sawagani is endemic, the Kawane area in the upper basin of the Oi River (now merged with Shimada City) of Shizuoka Prefecture received marked attention about 40 years ago when outbreaks of human paragonimiasis in Tokyo, Kanagawa and Yamanashi prefectures were traced to the consumption of raw Sawagani harvested in Shizuoka Prefecture, particularly the Kawane area [20]. Although the patient sputum and/or fecal samples were negative for lung fluke eggs, serological tests suggested infection with *P. miyazakii* [6, 20]. Extensive field surveys conducted throughout Shizuoka Prefecture revealed a high prevalence of *P. miyazakii* metacercariae in Sawagani in regions along

the Oi River, including in the Kawane area, but lower or zero prevalence in regions along rivers other than the Oi River [4]. Recently, paragonimiasis cases were reported in cats kept by villagers in the upper basin of the Oi River [11], but the causative species was not identified.

Here, we examined the current status of lung fluke metacercarial infection in Sawagani at 14 sampling sites in the Kawane area. These data will be useful for establishing countermeasures needed to control lung fluke infections not only in the Kawane area, but also in Tokyo, because Sawagani from several prefectures, including Shizuoka, are sold as foodstuffs at retail fish markets in Tokyo, and some were found to be positive for *P. westermani* and/or *P. miyazakii* metacercariae [17, 19].

MATERIALS AND METHODS

Isolation and examination of Paragonimus metacercariae: Between October 2010 and May 2012, we collected 677 Sawagani from 14 sampling sites in mountain streams in the Kawane area of Shizuoka Prefecture (Fig. 1). Stream names were assigned as sampling site names. Sawagani were examined one by one to gather accurate data on the prevalence and burden of *Paragonimus* metacercariae, as described previously [15]. Briefly, the internal organs including the gills, heart, midgut gland, and genital organs were excised from crabs after removing the carapace, compressed between 2 glass plates, and examined for the presence of metacercariae under a stereoscopic microscope. When *Paragonimus* metacercariae were identified, the glass plate covering the tissues was carefully removed and metacercariae in the compressed

*CORRESPONDENCE TO: SUGIYAMA, H., Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases, Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan.
e-mail: hsugi@nih.go.jp

tissues were recovered using teasing needles or tweezers. Isolated metacercariae were placed on glass slides and pressed lightly under a coverslip for morphological observation and measurement.

Adult worms from test rats: Male Wistar rats (n=2, 5-week-old) were orally infected with 21 and 33 metacercariae from 2 different sampling sites. Necropsy was performed 69 and 81 days after infection, and worms were recovered from the lungs and pleural cavity by macroscopic examination. The recovered worms were compressed between 2 glass slides, fixed in 70% alcohol, stained with borax carmine,

and mounted with Canada balsam for morphological observations and measurements. Developmental stages of the recovered worms were determined according to the criterion of Shibahara [13].

DNA amplification and sequencing of the second internal transcribed spacer (ITS2) region of ribosomal DNA: The ITS2 region of 2 metacercariae from each sampling site was amplified by PCR and sequenced as described previously [16]. The primers used were 3S, 5'-GGTAC-CGGTGGATCACTCGGCTCGTG-3' (forward), and A28, 5'-GGGATCCTGGTTAGTTTCTTTTCTCCGC-3' (reverse). Sequences were aligned and compared using the GENETYX-Win software (Ver. 10, Genetyx Co., Tokyo, Japan).

RESULTS

Prevalence and burden of Paragonimus metacercariae in Sawagani: We collected 677 Sawagani from 14 sampling sites in the Kawane area (Fig. 1). At all examined sites, Sawagani harboring *Paragonimus* metacercariae were detected. The total prevalence of *Paragonimus* metacercariae over the entire Kawane area was 42% (281 of 677 crabs examined), ranging from 16% to 92% among sites (Table 1). A total of 631 metacercariae were collected from the 281 positive crabs, and the number collected from a single infected crab ranged from 1 to 19 (mean, 2.2 for infected crabs). Taken over all crabs collected, the mean number of metacercariae per individual was 0.93 per crab. Among sampling sites, the highest incidence (92%) of metacercarial infection and greatest mean metacercarial burden per infected crab (4.0) were found at Yano.

Morphology of metacercariae collected from Sawagani: *Paragonimus* metacercariae obtained from Sawagani were spherical with thin outer and thick inner walls (Fig. 2). The

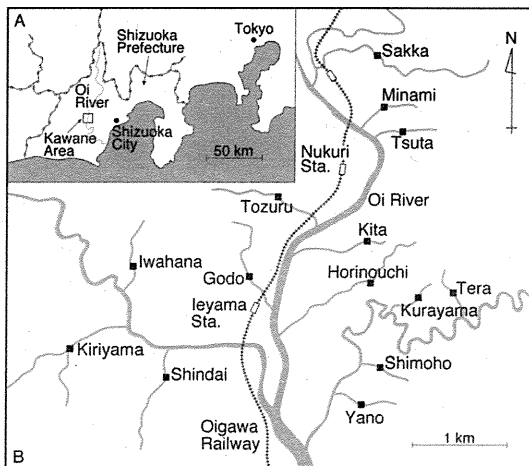


Fig. 1. Study area and sites of freshwater crab sampling. (A) Map of central Japan showing the study area in Kawane, central Shizuoka Prefecture. (B) Detailed map of the study area, showing sampling sites in mountain streams at which freshwater crabs, *Geothelphusa dehaani*, were collected.

Table 1. Prevalence and burden of *Paragonimus* metacercariae in freshwater crabs collected from mountain streams in 14 locations in the Kawane area, Shizuoka Prefecture

Location	No. of crabs		% infected	Total no. of mc ^{a)} detected	No. of mc per infected crab	
	Examined	Infected			Range	Average
Sakka	81	20	25	57	1-19	2.9
Minami	51	27	53	53	1-11	2.0
Tsuta	54	36	67	63	1-11	1.8
Kita	35	6	17	17	1-3	2.8
Horinouchi	69	11	16	16	1-2	1.5
Tera	55	33	60	60	1-10	1.8
Kurayama	32	11	34	34	1-4	3.1
Shimoho	48	26	54	54	1-10	2.1
Yano	25	23	92	92	1-10	4.0
Shindai	46	12	26	26	1-3	2.2
Kiriyama	61	33	54	58	1-11	1.8
Iwahana	54	21	39	39	1-4	1.9
Godo	25	8	32	32	1-3	4.0
Tozuru	41	14	34	30	1-7	2.1
Total	677	281	42	631	-	2.2

a) mc: metacercariae.

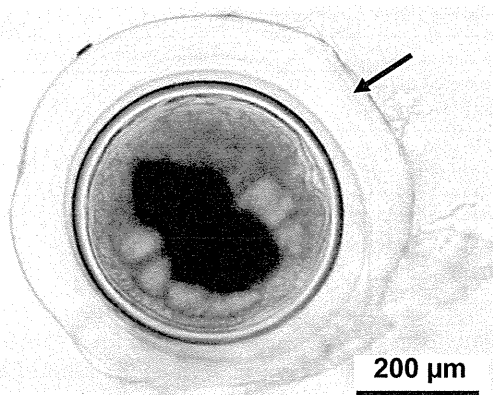


Fig. 2. Photomicrograph of a *Paragonimus* metacercaria. Note the very thick outermost membranous substance (arrow).

thickness of the outer cyst wall of 47 specimens from Yano ranged from 2.1 to 3.7 μm (mean, 2.6 μm); that of the inner cyst wall ranged from 10.0 to 22.9 μm (mean, 17.6 μm). Furthermore, the outer cyst of many specimens was tightly enveloped with a very thick membranous substance with a thickness ranging from 11.8 to 69.8 μm (mean, 30.6 μm). The diameter of the inner cyst after being freed from the outer cyst ranged from 398 to 515 μm (mean, 458 μm). Examination of 10 larvae showed that none had a stylet in the oral sucker.

Infection of rats with metacercariae and morphology of adult worms: Necropsy was performed on the two rats 69 and 81 days after inoculation with 21 and 33 *Paragonimus* metacercariae, respectively, collected from 2 different sampling sites in the Kawane area (Table 2). In Rat 1, 6 and 2 worms in the lungs and pleural cavity were identified as adults and pre-adults, respectively. Rat 2 had 10 worms in each of the lungs and pleural cavity of which 7 worms from the lungs and 2 worms from the pleural cavity were identified as adults. The remaining 11 worms were identified as pre-adults. The mean size of the 15 adult worms from the 2 rats that were mounted on glass slides was 5.8 \times 2.7 mm, ranging from 4.4 to 6.6 mm in length and 2.2 to 3.3 mm in width. The ratio of body length to width ranged from 1.9 to 2.4 (mean, 2.1). The mean transverse diameter of the oral and ventral suckers was 540 and 680 μm , respectively.

A representative specimen is shown in Fig. 3, and the morphology of the adults is described as follows. The ventral sucker is always larger than the oral sucker and is situated slightly anterior to the middle of the body. The ovary is intricately branched, having a coral-like appearance (Fig. 3A). The uterus is situated opposite the ovary. The testes are situated on both sides of the posterior part of the body, and these are larger than the ovary. The cuticular spines are singly spaced (Fig. 3B).

ITS2 sequence analysis: The alignment of ribosomal DNA ITS2 sequences of 28 metacercariae (2 from each of 14 collection sites) was 361 bp in length and showed no variation in length or composition among the specimens. The nucleo-

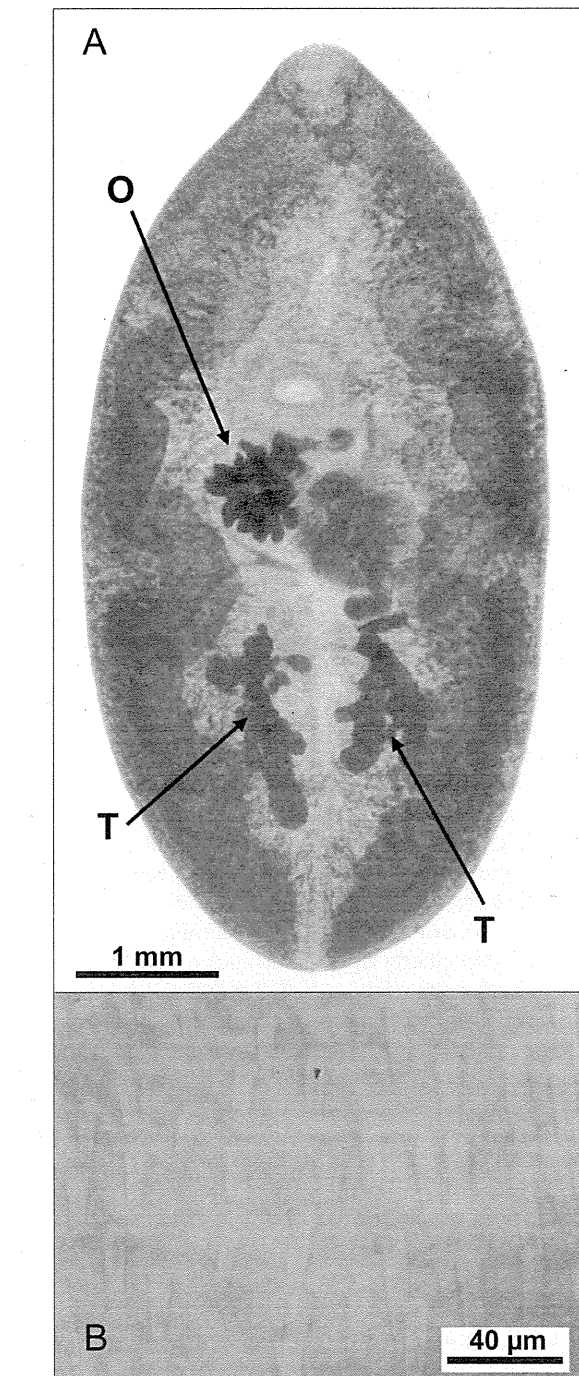


Fig. 3. Photomicrograph of an adult worm. (A) Dorsal view of an adult worm isolated from the lung of a rat on necropsy 81 days after infection. Stained with borax carmine, showing the testes (T) and ovary (O). (B) Photomicrograph of cuticular spines. Note the singly spaced arrangement.

tide sequence was deposited in the DDBJ/EMBL/GenBank database under accession number AB733177.

Searches of nucleotide databases revealed that the ITS2

Table 2. Experimental infection of rats with *Paragonimus* metacercariae isolated from freshwater crabs

Rat No.	Source of mc ^{a),b)}	Dose of mc	Duration of infection (days)	Rate of mc recovered as (pre) adult ^{c)} worms (%)	No. of (pre) adult worms recovered		
					Total	Pleural cavity	Lungs
1	Tsuta	21	69	38	8	2	6
2	Yano	33	81	61	20	10	10

a) Locations in the Kawane area from where the infected freshwater crabs were collected. b) mc: metacercariae. c) (pre) adult: preadult and adult

sequence determined in this study was identical to that of *P. miyazakii* isolated from Rokuroshi in Iwakuni City, Yamaguchi Prefecture (DDBJ/EMBL/GenBank accession number: AB713405), where Sawagani was first discovered to be the second intermediate host of *P. miyazakii* [5].

DISCUSSION

Three lung fluke species, *P. westermani*, *P. miyazakii*, and *P. ohirai*, occur in Japan and can be differentiated by the morphological features observed in living metacercariae and mounted adult fluke specimens [7, 8]. The morphological features of the metacercariae and adult worms examined in this study are consistent only with those of *P. miyazakii* [7, 8] and, thus, we identified the specimens as *P. miyazakii*. The ITS2 sequence data corroborate this conclusion. Therefore, Sawagani infected with *P. miyazakii* are concluded to still be widely prevalent in the Kawane area of Shizuoka Prefecture as reported previously [4]. Thus, the recently reported feline paragonimiasis cases [11] were likely caused by *P. miyazakii* infection. Veterinarians and owners of carnivorous companion animals, particularly cats, kept in and around the Kawane area should be aware of the risk of *P. miyazakii* infection.

Paragonimus skrjabini infections in humans and animals have been reported in China, since this species was first described in 1959 [3]. *P. miyazakii* was designated as a new species 2 years after the designation of *P. skrjabini* [5]. *P. skrjabini* occurs in various parts of China as well as Thailand and northeastern India [8, 14], while *P. miyazakii* has been reported to occur exclusively throughout most of Japan [9]. Blair *et al.* [2] determined that *P. skrjabini* found in China is very closely related to *P. miyazakii* found in Japan based on identical ITS2 sequence in a recent phylogenetic study. A subsequent study by Blair *et al.* [1] comparing morphometric data and molecular phylogenetic findings based on mitochondrial DNA cytochrome *c* oxidase subunit I gene sequences showed that *P. skrjabini* from Fujian Province in Eastern China was very closely related to *P. miyazakii*. They proposed that these populations should be referred to as one and the same subspecies, *P. skrjabini miyazakii*, and that *P. skrjabini* populations from other parts of China should be referred to as a different subspecies, *P. skrjabini skrjabini*. Based on these findings, they concluded that *P. skrjabini* represents a species complex [1]. *P. miyazakii* or *P. skrjabini miyazakii* in Japan is a primary member of the *P. skrjabini* species complex, and it has been reported that this species/subspecies can be discriminated from *P. skrjabini*

populations in China, even those from Fujian Province, using morphometric parameters such as the ratio of the oral sucker diameter to body length [1]. Therefore, we retain the use of the original name, *P. miyazakii*, in the present study. In addition, recent scientific literature using the scientific name *P. miyazakii* has been published, implying that this name is widely accepted [12].

In Japan, paragonimiasis is still an important foodborne helminthic zoonosis; at least 30 human cases are reported annually [10]. To establish countermeasures for controlling lung fluke infection, we previously investigated the effect of heat on the infectivity of *P. westermani* metacercariae in Sawagani. Boiling Sawagani infected with *P. westermani* metacercariae at 55°C for 5 min eliminated the infectivity to test mice [18]. However, the conditions required to reduce or eliminate the infectivity of *P. miyazakii* metacercariae harbored in Sawagani have not yet been confirmed; we are currently conducting tests on Sawagani from the Kawane area. Therefore, currently, a health education campaign that emphasizes on the risks of *P. miyazakii* infection from consuming raw and undercooked Sawagani, including those sold at retail fish markets, is recommended as the most efficient countermeasure for preventing lung fluke infections.

ACKNOWLEDGMENTS. This study was supported in part by grants for Research on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases (H23-Shinko-Ippan-014 and H24-Shinko-ippan-006) and for Research on Food Safety (H22-Shokuhin-Ippan-009) from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

REFERENCES

- Blair, D., Chang, Z.H., Chen, M.G., Cui, A., Wu, B., Agatsuma, T., Iwagami, M., Corlis, D., Fu, C.B. and Zhan, X.M. 2005. *Paragonimus skrjabini* Chen, 1959 (Digenea: Paragonimidae) and related species in eastern Asia: a combined molecular and morphological approach to identification and taxonomy. *Syst. Parasitol.* **60**: 1–21. [Medline] [CrossRef]
- Blair, D., Wu, B., Chang, Z.S., Gong, X., Agatsuma, T., Zhang, Y.N., Chen, S.H., Lin, J.X., Chen, M.G., Waikagul, J., Guevara, A. G., Feng, Z. and Davis, G. M. 1999. A molecular perspective on the genera *Paragonimus* Braun, *Euparagonimus* Chen and *Pagumogonimus* Chen. *J. Helminthol.* **73**: 295–299. [Medline]
- Chen, H.-T. 1959. The occurrence of a new type of *Paragonimus* and some clinical problems related to lung flukes in China. *Annual Rep. 1958, Chung Shan Med. College*: 192–193 (in Chinese).

4. Ito, J. and Mochizuki, H. 1975. Studies on the incidence of encysted larvae of *Paragonimus miyazakii* Kamo et al., 1961. in the crab *Potamon dehaani* in Shizuoka Prefecture, Japan. *Jpn. J. Parasitol.* **24**: 241–249 (in Japanese with English abstract).
5. Kamo, H., Nishida, H., Hatsushika, R. and Tomimura, T. 1961. On the occurrence of a new lung fluke, *Paragonimus miyazakii* n. sp. in Japan (Trematoda: Troglotrematidae). *Yonago Acta Med.* **5**: 43–52.
6. Kobayashi, A., Suzuki, S., Horiuchi, K., Yokogawa, M. and Araki, K. 1975. Four human cases of paragonimiasis miyazakii. *Jikeikai Med. J.* **22**: 127–135.
7. Miyazaki, I. 1974. Lung flukes in the world. morphology and life history. pp. 101–135. *In*: A Symposium on Epidemiology of Parasitic Diseases (Sasa, M. ed.), International Medical Foundation of Japan, Tokyo.
8. Miyazaki, I. 1991. Paragonimiasis. pp. 76–146. *In*: An Illustrated Book of Helminthic Zoonoses (Miyazaki, I. ed.), International Medical Foundation of Japan, Tokyo.
9. Nishida, H. and Shibahara, T. 2003. Epidemiology of paragonimiasis. pp. 201–217. *In*: Progress of Medical Parasitology in Japan, vol. 8 (Otsuru, M., Kamegai, S. and Hayashi, S. eds.), Meguro Parasitological Museum, Tokyo.
10. Obara, A., Nakamura-Uchiyama, F., Hiromatsu, K. and Nawa, Y. 2004. Paragonimiasis cases recently found among immigrants in Japan. *Intern. Med.* **43**: 388–392. [Medline] [CrossRef]
11. Ogawa, T., Mishima, H. and Araie, T. 2011. Radiographic features of five cases of feline paragonimiasis. *Jpn. J. Vet. Med. Assoc.* **64**: 474–476 (in Japanese with English abstract).
12. Procop, G. W. 2009. North American paragonimiasis (caused by *Paragonimus kellicotti*) in the context of global paragonimiasis. *Clin. Microbiol. Rev.* **22**: 415–446. [Medline] [CrossRef]
13. Shibahara, T. 1984. Studies on the lung fluke, *Paragonimus westermani* -diploid type-, in the northern part of Hyogo Prefecture, Japan. III. Experimental oral infection with metacercariae of rats, with reference to juvenile worms removed from the muscle. *Kisechugaku Zasshi* **33**: 119–132 (in Japanese with English abstract).
14. Singh, S. T., Singh, D. L. and Sugiyama, H. 2006. Possible discovery of Chinese lung fluke, *Paragonimus skrjabini* in Manipur, India. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* **37**(Suppl. 3): 53–56. [Medline]
15. Sugiyama, H., Matsumoto, M., Tomimura, T. and Nishida, H. 1985. Geographical distribution of the lung fluke, *Paragonimus miyazakii* Kamo et al., 1961, in the southern prefectures of the Kinki District, Japan: observations on the incidence of encysted larvae of *P. miyazakii* in *Geothelphusa dehaani* in the central part of Wakayama Prefecture. *Jpn. J. Vet. Sci.* **47**: 617–625. [Medline] [CrossRef]
16. Sugiyama, H., Morishima, Y., Kameoka, Y. and Kawanaka, M. 2002. Polymerase chain reaction (PCR)-based molecular discrimination between *Paragonimus westermani* and *P. miyazakii* at the metacercarial stage. *Mol. Cell. Probes* **16**: 231–236. [Medline] [CrossRef]
17. Sugiyama, H., Morishima, Y., Yamasaki, H. and Kasuga, F. 2011. Detection of *Paragonimus* metacercariae in the Japanese freshwater crab, *Geothelphusa dehaani*, bought at retail fish markets, a follow-up study. *Infect. Agents Surveill. Rep.* **32**: 172–173 (in Japanese).
18. Sugiyama, H., Morishima, Y., Yamasaki, H., Shibata, K. and Kawakami, Y. 2010. Effect of heat on the infectivity of *Paragonimus* metacercariae in intermediate host crabs. *Clin. Parasitol.* **21**: 43–45 (in Japanese).
19. Sugiyama, H., Umehara, A., Morishima, Y., Yamasaki, H. and Kawanaka, M. 2009. Detection of *Paragonimus* metacercariae in the Japanese freshwater crab, *Geothelphusa dehaani*, bought at retail fish markets in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* **62**: 324–325. [Medline]
20. Yokogawa, M., Araki, K., Saito, K., Momose, T., Kimura, K., Suzuki, S., Chiba, N., Kutsumi, H. and Minai, M. 1974. *Paragonimus miyazakii* infections in man first found in Kanto district, Japan. Especially, on the methods of immunoserodiagnosis for paragonimiasis. *Kisechugaku Zasshi* **23**: 167–179 (in Japanese with English abstract).

講座

食品による寄生動物感染症⁷

蠕虫感染症 (2) 肺吸虫

杉山 広

はじめに

肺吸虫は、サワガニや野生のイノシシ肉が感染源となる食品媒介の寄生虫である。淡水産のカニやイノシシなどの体内には、肺吸虫の幼虫が寄生し、これらを生（なま、非加熱）で人が食べると、人の体の中で肺吸虫が肺に移行し、成虫に発育して、さまざまな呼吸器症状を引き起こす。このような肺吸虫症は、昔から北海道を除く日本各地で発生していたが、現在でも年間に50例程度の患者発生が続いている。一方で目を世界に転じると、ヨーロッパとオセアニアを除く熱帯から亜寒帯に至る各地に、肺吸虫症の有病地を認める。有病地から来訪した人々が、渡航先で肺吸虫症を発症する例もあるが、我が国では近年、有病地から渡航した人々が彼らの食習慣を維持し、日本で肺吸虫に感染する例が注目されている。

肺吸虫症の治療には駆虫薬が有効であるが、本症の臨床症状や画像所見は、呼吸器系疾患として馴染みが深い肺癌や肺結核と類似するため、類症鑑別の重要性が常に指摘されてきた。また、神経系への虫体侵入など、死に至る肺吸虫症例も報告されている。従って、感染の予防に十分な注意を払うべき寄生虫として、肺吸虫を認識し直す必要がある。

本稿では、上記のように重篤な疾患となる可能性があるにもかかわらず、一般的にはあまり馴染みがない肺吸虫という多細胞の寄生虫（蠕虫、ぜんちゅう）について、まず我が国における発生事例を紹介し、次いで本虫の寄生虫学的な事項を述べ、そして病気としての肺吸虫症について概説し、更に行政の対応にも触れてみたい。

1. 我が国における肺吸虫症例

1) カニを原因食品とする症例

元来我が国には、淡水産のカニを生食する習慣はな

かった。それにもかかわらず1960年代まで、新潟、岐阜、岡山、山口、徳島、愛媛、長崎、熊本など、北海道を除く全国各地に肺吸虫症の流行地が認められた。これらの地域では、淡水産のカニ（特にモクズガニ）を細切し、味噌汁などの具材として加熱調理の上、安全に摂食していた。しかしカニが肺吸虫陽性の場合、調理の過程で包丁やまな板に肺吸虫の幼虫が付着することがあった。しかもこれらの包丁やまな板は、よく洗われることなく、続けて漬物などを切るのに使われたため、肺吸虫の幼虫が漬物などの野菜に付着し、それを加熱せずに摂食することで、肺吸虫の感染が起こっていた¹⁾。このような交差汚染による肺吸虫の感染が、ウェステルマン肺吸虫（我が国での人体症例の主たる原因種）の重要な感染経路となっていた。このような肺吸虫感染は、カニの調理過程で偶発的に生じていたが、行政による啓発活動が展開されたことにより、我が国では終息に至った。

ところが一方で、最近になって、カニの生食に起因する肺吸虫症例が目立つようになった。隣国の中国や台湾では、カニの老酒漬、すなわち中国のモクズガニ（いわゆる上海蟹）を紹興酒に数日間浸漬して、加熱せずに食べる料理（「醉蟹」と呼ぶ）が、ウェステルマン肺吸虫の感染源として重視されていた。このようなモクズガニの老酒漬を原因食品とする肺吸虫症例が、患者4名の集団事例として、2004年に佐賀県で発生した²⁾。原因施設の調理担当者が誤認して、地元産のモクズガニは安全と考えたことから、地元産モクズガニを用いた老酒漬が調理され、加熱なしで提供されて、感染事例が発生した。事例発生後に地元の河川で改めてモクズガニを捕獲し、調査を行なったところ、約20%のカニがウェステルマン肺吸虫に陽性であることが分かった。しかも肺吸虫の幼虫の寄生数は、カニ1匹あたり最大で167個（可食部の筋肉から124個）と極めて多数であることも確認された³⁾。このことから、我が国のモクズガニも生で摂食す

表1. 東京都内において食用として販売されていたサワガニからの肺吸虫メタセルカリアの検出状況

購入時期	産地	検査数	陽性数 (陽性率%)	検出メタセル カリア総数	同定結果*
2004.4.	静岡	48	0	0	-
2007.4.	宮崎	46	0	0	-
2007.4.	宮崎	16	7 (44%)	29	Pm
2007.4.	長崎	21	5 (24%)	9	Pm
2007.6.	静岡	35	0	0	-
2007.6.	宮崎	44	5 (11%)	9	Pw (3n)
2008.1.	宮崎	30	4 (13%)	6	Pm + Pw (2n)
2008.2.	宮崎	26	23 (88%)	116	Pm
合計		266	44 (17%)	169	

*Pm: 宮崎肺吸虫; Pw (2n): ウェステルマン肺吸虫 (2倍体型);
Pw (3n): ウェステルマン肺吸虫 (3倍体型)

れば、ウェステルマン肺吸虫の感染源となり得ることが再確認された。なお本事例は、ウェステルマン肺吸虫を病因物質とする食中毒として、食品衛生法に則した届出が行なわれ、アニサキス以外の蠕虫による初めての食中毒事例となった²⁾。

サワガニを感染源とする肺吸虫症事例も発生している。例えば東南アジアのタイでは、若いパパイヤを千切りにしたサラダに、塩あるいはナンプラ (魚醤) に漬けた淡水産や汽水産のカニをすり潰して加え、これを混ぜて加熱せずに食べる「ソムタム・プー」と呼ばれる料理がある。この料理を原因とした肺吸虫症例が発生している⁴⁾。この症例では、宮崎肺吸虫が原因であった (宮崎肺吸虫とウェステルマン肺吸虫の2種類が、我が国における人体寄生種)。他にも、我が国に長期間滞在し、その間も出身地固有の食習慣を維持する外国人が患者となった症例、および彼らと食事を共にした日本人の感染事例も報告されている⁵⁾。また、サワガニの老酒漬を原因食品とする肺吸虫症例も、我が国で発生している⁶⁾。

このような肺吸虫症例では、しばしば鮮魚店で購入した食用の日本産サワガニを使用して、原因の料理が調理されていた。そこで、東京都内の鮮魚店で購入した静岡・長崎・宮崎の各県産のサワガニについて、肺吸虫の汚染状況を調査した。その結果、検査したサワガニの2割弱から、合計169個の肺吸虫の幼虫が検出された (表1)。これらの幼虫について肺吸虫の種類を同定したところ、9割以上が宮崎肺吸虫で、残りがウェステルマン肺吸虫であった。食用サワガニの肺吸虫汚染は、東京だけでなく福岡市でも確認された⁷⁾。このように我が国のサワガニは、たとえ市場で食用として販売されているものであっても、肺吸虫感染の原因食品となり得る。あえて摂食するのであれば、事前に温度処理 (加熱・冷凍) を施す必要がある (後述)。

2) イノシシ肉を原因食品とする症例

イノシシが淡水産のカニを捕食し、ウェステルマン肺吸虫の幼虫を筋肉内に蓄積して、人への重要な感染源となることが、1970年代の九州南部での調査で明らかと

なった⁸⁾。現在でも、西日本 (特に九州南部) のハンターやその家族・関係者を中心に、集団感染事例を含めて、イノシシ肉の生食 (非加熱摂食) による肺吸虫の感染事例を認める⁹⁾。

3) 我が国での症例数

世界における肺吸虫症の患者は数百万人と推定されているが、我が国では患者数に関する統計はなく、発生数の詳細は明らかではない。しかし、宮崎大学医学部寄生虫学教室では、寄生虫症の血清診断により、年間約30-40例の肺吸虫症例を見出すという¹⁰⁾。筆者の所属する感染研寄生動物部における血清診断・分子同定の依頼件数を合わせると、我が国での肺吸虫症発生数は、毎年50例前後と推測される。

4) 地域別の発生状況と原因虫種

医学中央雑誌を中心に1991年以降の「肺吸虫症 (例)」に関する報告を検索し、本症の地域別・人種別・原因虫種別の発生状況を解析した。抽出された文献資料のうち、患者の居住地・人種および原因虫種などが明らかなのは計166報で、この中に363例の症例が含まれていた (表2)。これを年平均にすると18.2例となる。

患者の発生数は九州 (沖縄を含む、以下同様) が61%と、他の地域に比較して圧倒的に多かった。しかも九州では、患者の約3分の2を日本人男性が占め、次いで日本人女性 (51例, 23%)、更に外国人女性 (19例, 9%) の順であった。一方、九州に次いで近畿と同様に発生数の多い関東では、九州と同様に患者の多くは日本人男性であったが (20例, 43%)、僅差で外国人女性が続いた (17例, 37%)。なお外国人女性の出身国を見ると、九州では中国 (68%) が、関東ではタイ (76%) が、それぞれ多数を占めた。

原因虫種は、全体ではウェステルマン肺吸虫が88%を占め、宮崎肺吸虫は12%に過ぎなかった (原因種不明・

表2. 我が国における肺吸虫症例: 地域別の発生状況と原因虫種

	日本人			外国人			原因種		
	男	女	不明 ^{a)}	男	女	不明 ^{a)}	Pw ^{b)}	Pm ^{c)}	不明 ^{d)}
北海道	0	0	0	0	0	0	0	0	0
東北	1	0	0	0	0	0	0	1	0
関東	20	8	0	1	17	0	25	15	6
中部	12	13	0	0	3	0	22	3	3
近畿	17	2	13	4	5	6	27	11	9
中国	7	1	0	0	0	0	5	0	3
四国	5	4	0	0	2	0	6	1	4
九州 ^{e)}	145	51	2	5	19	0	182	7	33
合計	207	79	15	10	46	6	267	38	58

a) 不明: 性別不明

b) Pw: ウェステルマン肺吸虫

c) Pm: 宮崎肺吸虫

d) 不明: 原因種不明あるいは未同定

e) 九州: 九州および沖縄

未同定の事例を除く)。しかしながら関東では、宮崎肺吸虫による症例の割合が高くなり、38%に達した。この理由としては、東京など大都市に滞在する東南アジア出身の外国人女性が、鮮魚店で食用サワガニを購入し、これを使った出身国の料理を加熱なしで摂食して、宮崎肺吸虫に感染するためと推定された（食用サワガニ寄生の9割以上が宮崎肺吸虫、前述）。また、九州に多い日本人男性の症例は、地元の食習慣であるイノシシ肉の非加熱摂食が原因で、ウェステルマン肺吸虫に感染したものと考えられた。

2. 寄生虫学的事項

1) 世界における肺吸虫の種類と分布

肺吸虫は *Paragonimus* 属の吸虫であり、熱帯から温帯、更に亜寒帯に至る世界の各地に約50種類が分布する。このうち人体症例の原因として重要な種類は、東アジアではウェステルマン肺吸虫 *Paragonimus westermani* およびスクリヤビン肺吸虫 *P. skrjabini* であり、東南アジアではヒロクチ肺吸虫 *P. heterotremus*、中央アフリカではアフリカ肺吸虫 *P. africanus* およびフォーゲル肺吸虫 *P. uterobilateralis*、北米ではケリコット肺吸虫 *P. kellicotti*、中南米ではメキシコ肺吸虫 *P. mexicanus* である¹¹⁾。

人体感染の原因となるこれら7種類の肺吸虫の中でも、特にウェステルマン肺吸虫は感染者数も多いことから、*Paragonimus* 属の代表種 (type species) として捉えられ、様々な研究が進められてきた。本種は、インドのベンガル地方からオランダ・アムステルダム動物園に送られ、そこで死亡したベンガルトラから検出された虫体に由来する。その虫体が、約130年前にウェステルマン肺吸虫と命名された¹²⁾。ウェステルマン肺吸虫はアジアの各地に広く分布し、東アジア諸国では日本・中国・韓国・台湾、東南アジアではフィリピンで、人体肺吸虫症の主たる原因種となっている。しかしフィリピン以外の東南アジアの国々やインドを含む南アジアの国々では、本虫が分布するにもかかわらず、本種による人体症例は確認されていない¹³⁾。

2) 我が国に分布する肺吸虫の種類

我が国ではウェステルマン肺吸虫と、宮崎肺吸虫 *P. miyazakii*、大平肺吸虫 *P. ohirai* の合計3種類の肺吸虫が、北海道を除く各地、特に本州中部以西に広く分布する。ウェステルマン肺吸虫に加えて、宮崎肺吸虫も人の肺吸虫症の原因となる¹²⁾が、大平肺吸虫の人体寄生例は確認がない。なお宮崎肺吸虫は1961年の新種記載以降、我が国の固有種と考えられてきたが、最近の分子遺伝学的な解析により、中国原産のスクリヤビン肺吸虫の

亜種 *P. skrjabini miyazakii* との学説が有力となってきた¹⁴⁾。なお本稿ではこの点には立ち入らず、本虫の和名を用いて宮崎肺吸虫と呼ぶこととした。

3) 生活環

我が国に分布する3種類の肺吸虫は、表3に示した動物を主な宿主として利用し、野外における生活環を維持している。肺吸虫の生活環の維持には、終宿主、第1中間宿主、第2中間宿主の3種類の宿主が必要となる。

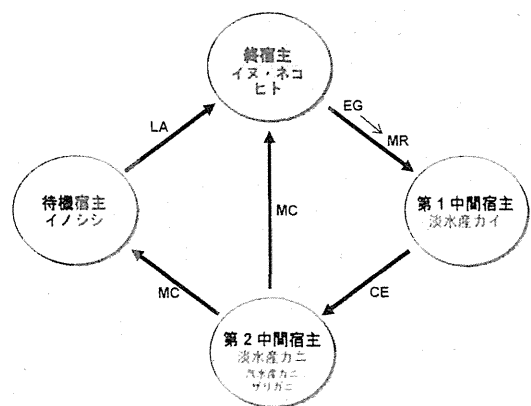
まず成虫が寄生する「終宿主」として、人および肉食動物がその役割を果たす。次に、幼虫が寄生する宿主として、肺吸虫は2段階の「中間宿主」が必要となる。「第1中間宿主」としては淡水産・汽水産の貝類が、「第2中間宿主」としてはザリガニ類や淡水産・汽水産のカニ類が、順次それぞれの役割を果たす(図1)。またイノシシがウェステルマン肺吸虫の「待機宿主」となる。

i) 通常的生活環

肺吸虫が卵から成虫になるまでには、1)卵、2)ミラシジウム、3)スポロシスト、4)レジア、5)セルカリア、6)メタセルカリア、7)成虫という発育期を順に経る必要がある。成虫は、終宿主の肺に虫嚢を形成して寄生し、虫卵を産出する。虫卵は喀痰に混じり、あるいは喀痰が(特に就寝中に無意識に)飲み込まれて糞便に混じり、体外へ排出される。虫卵が水中に入ると、卵細胞

表3. 日本産肺吸虫の宿主

種名	第1中間宿主	第2中間宿主	終宿主	待機宿主
ウェステルマン肺吸虫	カワニナ	モクズガニ サワガニ ザリガニ	イヌ ネコ イノシシ ヒト	
宮崎肺吸虫	ホラアナミジンナ ナタネミズツボ	サワガニ	イタチ テン イヌ ネコ ヒト	-
大平肺吸虫	ムシヤドリカワザン ショウなど	クロベンケイガニ ベンケイガニなど	イタチ ネズミ	-



EG, 虫卵; MR, ミラシジウム; CE, セルカリア; MC, メタセルカリア; LA, 幼虫

図1. ウェステルマン肺吸虫の生活環

胞が発育してミラシジウムとなり、これが卵より孵化して第1中間宿主の貝に侵入する。ミラシジウムは貝の中で、無性生殖で増殖する発育期（スポロシストおよびレジア）を経て、セルカリアとなる。セルカリアは第2中間宿主のカニに感染し、その鰓や肝、筋肉で被囊し、メタセルカリアとなる。

メタセルカリアが経口的に終宿主に摂取されると、十二指腸内で脱囊し、虫体は腸壁を穿通して腹腔に入り、腹壁の筋肉内に侵入する。虫体はその後、再び腹腔に出て横隔膜を穿通し、胸腔に達する。そして肺胸膜面から肺実質内に侵入し、通常は2匹（以上）が一つの虫囊内に同棲して成熟する。成虫の生存期間（寿命）であるが、人体に寄生した場合は10年前後と考えられている。しかし20年以上に及んだとの報告もある¹⁵⁾。

なお肺吸虫には、肺に移行する過程で、あるいは肺に定着した後に、終宿主の体内各所に侵入する性質があり、脳、眼窩、腹腔内臓器、泌尿生殖器、皮下などから虫体が検出された例が多数報告されている（肺外肺吸虫症）¹⁶⁾。

ii) 待機宿主を介した生活環

イノシシのような本来の終宿主以外の哺乳動物が、ウエステルマン肺吸虫のメタセルカリアを摂取した場合は、虫体は終宿主体内とは異なる移行経路をとり、また発育の状況も異なる。すなわち、メタセルカリアは十二指腸内で脱囊して腸壁を穿通し、腹腔から腹壁の筋肉内に侵入するが、虫体は再び腹腔に戻ることがなく、全身の筋肉内を移行しながら、長期間にわたって生存し続ける。この間も虫体は、メタセルカリア内の幼虫の状態から殆ど発育しない。このような役割を果たす動物を「待機宿主」と呼ぶ。待機宿主は、生活環の維持に直接的には貢献しないが、終宿主への感染源として重要な役割を果たす¹²⁾。

4) 形態と分類・同定

肺吸虫の形態を成虫、虫卵、メタセルカリアに分け、以下に解説する。

i) 成虫

肺吸虫の成虫は種を問わず淡紅色で、約10~12mmのコーヒー豆様を呈し、宿主の臓器に接する腹面は扁平で背面が膨隆する。同定すなわち生物の種名を確定する作業は、従来は主として成虫の形態的形質の観察に基づいて行われてきた（形態学的種概念）。特に肺吸虫の新種記載や種の同定・鑑別にあたっては、成虫の染色封入標本を作製して形態学的特徴を精査することが求められ、中でも体表の皮棘の生え方や卵巣の分岐状態などが種別表徴として重視されてきた¹⁷⁾。

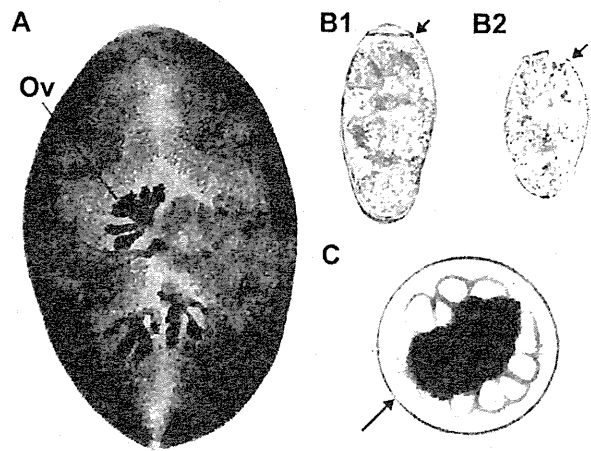


図2. 肺吸虫の形態

- A. ウエステルマン肺吸虫（3倍体型・成虫）の染色封入標本。卵巣（Ov）は6本に単純に分岐する。卵巣の反対側には虫卵を充満した子宮を認める。卵巣の後方には左精巣と右精巣を認める。精巣も単純に4-6葉に分岐する。
- B1. ウエステルマン肺吸虫（3倍体型）の虫卵。虫卵は大型で長く、卵蓋と反対側の卵殻に肥厚を認める。矢印は卵蓋を示す。
- B2. 宮崎肺吸虫の虫卵。虫卵は小型で、卵殻は薄くて厚さもほぼ均一である。矢印は卵蓋を示す。
- C. ウエステルマン肺吸虫（2倍体型）のメタセルカリア。メタセルカリアは球形で、厚い内膜（矢印）と薄い外膜を持つ。メタセルカリア囊内の幼虫の体中央部には排泄顆粒を満ちた排泄囊が明らかで、その左右を腸管が湾曲しながら取り囲む。

本邦産の3種についてこれらの特徴を比較すると、ウエステルマン肺吸虫は単生の皮棘で覆われており、卵巣は6本に分岐する（図2-A）。また宮崎肺吸虫も皮棘は単生であるが、卵巣は複雑に分岐する。大平肺吸虫は皮棘が群生で、卵巣は前2種よりも更に著しく分岐する。この他に、虫体全体の形（体長と体幅の比）、腹吸盤・口吸盤の大きさの比、精巣の分岐状態と卵巣との大きさの比、なども成虫に認める種別表徴として、種の同定・鑑別の為に利用されている¹²⁾。

肺吸虫の染色体分析に関する検討は、成虫の精巣を出発材料に進められてきた。その結果、ウエステルマン肺吸虫のみ、染色体を2組持つ2倍体型（ $2n=22$ ）と3組持つ3倍体型（ $3n=33$ ）の2型が含まれることが明らかになった^{18,19)}。このうち3倍体型は精子の形成能を欠くか、あるいは形成能が著しく劣り、その為に卵細胞は受精せずに体細胞分裂し、これが虫卵内でミラシジウムに発育すると考えられている。従って3倍体型の貯精囊内には精子を認めず、また受精囊内には精子に代わって卵細胞・卵黄細胞が観察される。一方、2倍体型では貯精囊内・受精囊内に精子が多数認められるため、成虫の染色封入標本の観察により、両型が鑑別できる¹²⁾。

両型の分布であるが、日本・中国・韓国・台湾などウエステルマン肺吸虫の人体症例が多い東アジアの各国では両型が共に分布するのに対して、人体症例報告のない東南アジアや南アジアの国々では、現在までのところ2倍体型しか見付かっていない¹²⁾。

なお、宮崎肺吸虫など他種肺吸虫についても染色体分析が行われたが、ウェステルマン肺吸虫以外には、3倍体型などの倍数体は見付からず、総て2倍体型であることが分かっている²⁰⁾。

ii) 虫卵

肺吸虫の虫卵はいずれも黄金色で、楕円形を呈し、卵蓋を有す。本邦産の人体寄生種であるウェステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫について比較すると、3倍体型のウェステルマン肺吸虫の虫卵は大型(85~100 μ m \times 40~57 μ m)で、左右非対称的な虫卵や卵蓋と反対側の卵殻に肥厚を認めるものが多い(図2-B1)。一方、2倍体型のウェステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫の虫卵は、やや小型(75~80 μ m \times 40~45 μ m)となるが、2倍体型のウェステルマン肺吸虫卵は、卵蓋と反対側の卵殻にわずかな肥厚を認める虫卵が多い。これらの点が、卵殻が薄くて厚さもほぼ均一な宮崎肺吸虫の虫卵との鑑別点となる(図2-B2)。

iii) メタセルカリア

ウェステルマン肺吸虫のメタセルカリアは球形で、二重の膜(厚い内膜と薄い外膜)を持つ(図2-C)。本種は、2倍体型・3倍体型ともに、内膜の直径は350 μ m前後のものが多い。一方、宮崎肺吸虫のメタセルカリアは450 μ m前後で、ウェステルマン肺吸虫のそれよりもやや大きく、また時に外膜の外側に宿主カニ由来の厚い膜様物を認めることがある。更にモクズガニより分離した3倍体型のウェステルマン肺吸虫では、メタセルカリア体内に淡紅色の微細顆粒を認め、これらの特徴が種や染色体型の鑑別点となる。しかしこれらの形態学的特徴が、総てのメタセルカリアに備わる訳ではないため、メタセルカリアの形態による種・型の鑑別は、容易でない。

なお我が国に分布するもう一種類の肺吸虫である大平肺吸虫は、メタセルカリアが楕円形を呈し、大きさも内膜の長径が300 μ m前後、短径が250 μ m前後と前2者に比べて相当に小さいため、鑑別は容易である。

iv) 分子同定

前述のように、ウェステルマン肺吸虫(2倍体型・3倍体型)と宮崎肺吸虫とをメタセルカリアの段階で形態鑑別することは容易ではない。この為、現在では分子同定法が開発され、1個のメタセルカリアからでも、正確な同定が可能となった。実際の作業としては、各メタセルカリアからDNAを調製し、リボソームDNAのITS2領域、あるいはミトコンドリアDNAの*cox1*遺伝子をPCRで増幅する²¹⁾。ITS2領域は種内ではほぼ同一の配列を示すことから、種間に認める配列の相異を検出するのに有効な領域とされる。一方で*cox1*遺伝子は、

小さな変異を種内に認めることから、種内変異の検出や解析に有効な領域とされる¹³⁾。なお、ウェステルマン肺吸虫の2倍体型と3倍体型とは、ミトコンドリアDNAの16SリボソームDNAの配列で分子鑑別される²²⁾。

遺伝子配列を利用した分子同定法は、患者由来の肺吸虫卵にも適用される。虫卵は患者の喀痰に含まれ、肺吸虫症との確定診断にも重要な検査材料となる¹¹⁾。

3. 肺吸虫症という病気

1) 症状

肺吸虫の主たる標的臓器は肺であるが、感染時の臨床症状は原因となった肺吸虫の種類や染色体型によって異なる¹²⁾。すなわち、3倍体型のウェステルマン肺吸虫に人が感染した場合は、肺に形成された虫嚢内で虫体が成熟することから、胸部X線等では結節影や輪状影を認め、咳嗽や魚腸様の血痰の喀出が主徴となる。これに対して2倍体型のウェステルマン肺吸虫および宮崎肺吸虫では、虫体は十分に成熟しないまま胸腔内を移行し続けるため、自然気胸、胸水貯留、胸痛などが主な症状となる。

また、肺外肺吸虫症の場合は、虫体の侵入部位に応じた症状が発現する¹⁶⁾。

2) 検査・診断

喀痰あるいは糞便中から虫卵が検出されれば診断は確定される。一方、肺吸虫症を疑うが虫卵が検出されない場合は、ELISAなどの血清診断を実施する。各種肺吸虫から調製した抗原を保有する場合は、吸収試験(各種抗原で患者血清を吸収)を試みることで、原因種の推定が可能となる場合も多い²³⁾。

一般検査の所見として、患者では概ね末梢血あるいは胸水中の好酸球増多と血清IgE値の上昇を認める。また画像検査(胸部X線やCT)では、異常所見(結節像・浸潤像・空洞形成・胸水貯留)がしばしば認められるが、他症との鑑別が重要となる。

3) 治療

駆虫剤としてはプラジカンテル(ビルトリシド[®], バイエル)を第1選択とする。用量や投与方法の詳細は「寄生虫症薬物治療の手引き」を参照されたい。この手引きは、日本寄生虫学会のウェブサイトからダウンロードできる。

なお、ピチオノールおよびトリクラベンダゾールも駆虫剤として有用であるが、日本での入手は極めて困難である(実質的に不可能)。

4) 予防

感染源となるモクズガニやサワガニ、あるいはイノシシ肉を生で、あるいは不完全な加熱で摂食しなければ、肺吸虫の感染は予防できる。

これら感染源の中でサワガニは、肺吸虫症有病地出身の外国人により、出身地の郷土料理の食材として、積極的に利用されると推測される。そこで、調理前のサワガニを温度処理して、感染防止できるか検討した。その結果、55℃で5分間の加熱、あるいは-18℃で約2時間の冷凍処理により、サワガニに寄生するウェステルマン肺吸虫を死滅させることが実験マウスを用いた感染試験で確認された^{24,25)}。現在、宮崎肺吸虫についても同様の検討を進めているが、あえてサワガニを摂食するのであれば、このような事前の加熱・冷凍が必須である。

5) 法的な対応

肺吸虫による健康被害が飲食に起因して発生した場合、患者を診断した医師は食品衛生法に則して、診断後24時間以内に最寄りの保健所に、その事例を「食中毒」として届け出る義務がある。一方で、医師以外の者からの報告・苦情等は、食中毒の疑いのある事案として保健所が受け付ける²⁶⁾。

おわりに

我が国では毎年、50例前後の肺吸虫症例が発生すると考えられる。一方で、食品衛生法に則して届出があった肺吸虫の感染事例は、2004年に1件(4名)、2007年に1件(3名)の合計2件(7名)に留まる²⁷⁾。このように、法に則した肺吸虫症の届出はほとんど行なわれていないのが実情であった。

昨年末の2012年12月28日に食品衛生法施行規則の一部が改正され、食中毒の病因物質の種別として、「19 クドア」、「20 サルコシステイス」、「21 アニサキス」および「22 その他の寄生虫」が追加された。肺吸虫は「その他の寄生虫」の中に、クリプトスポリジウムなどと共に、具体的な寄生虫名として例示された。従来、これらの寄生虫は単に「その他」という範疇で一括して取扱われ、サルモネラや大腸菌、あるいはノロウイルスなどと区別されたに過ぎなかった。

今般の改正は、食中毒患者の発生状況を的確に把握し、系統的な調査を行い、食品衛生対策のための基礎資料を得ることなどが大きな目的となっている。ひいては肺吸虫症など寄生虫による食中毒、すなわち食品媒介寄生虫による健康被害の発生予防にも、役立つと期待される。法に則した届出の重要性を、ここで改めて強調しておきたい。

参考文献

- 1) Komiya, Y., Yokogawa, M., Chichijo, K., Nishimiya, H., Suguro, T., and Yamaoka, K. (1952) Studies on paragonimiasis in Shizuoka Prefecture I. An epidemiologic survey of *Paragonimus westermani* along the banks of the Kano River. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 55, 341-350.
- 2) 平野敬之, 増本久人, 船津丸貞幸, 藤原義行, 池添博士, 杉元昌志, 松崎祐己, 森田満雄, 杉山 広, 森嶋康之, 荒川京子, 川中正憲 (2006) 平成16年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例について. *Clin. Parasitol.*, 17, 60-62.
- 3) 杉山 広, 森嶋康之, 荒川京子, 川中正憲, 平野敬之, 増本久人, 池添博士 (2006) 平成16年に集団発生した肺吸虫による食中毒事例: 原因の寄生虫学的精査. *Clin. Parasitol.*, 17, 63-66.
- 4) 杉山 広, 森嶋康之, 坂本京子, 川中正憲, 亀岡洋祐, 鈴木雄二郎, 西山秀樹 (2003) 開腹術により腹腔から虫体が検出され塩基配列で種同定した宮崎肺吸虫症の1例. *Clin. Parasitol.*, 14, 57-60.
- 5) 川中正憲, 荒川京子, 森嶋康之, 杉山 広 (2004) 在日外国人固有の食習慣に起因する肺吸虫症. 病原微生物検出情報, 25, 121-125.
- 6) 佐藤 亮, 三角祐生, 上見葉子, 下川恒生, 檜田直也, 岡本浩明, 加志崎史大, 石井真理, 相佐好伸, 神谷一徳, 吉津 晃, 吉田幸子, 武藤麻紀, 山崎 浩, 杉山 広 (2012) 特発性好酸球増多症候群としてステロイド投与中に両肺多発空洞陰影を呈したウェステルマン肺吸虫症の一例. *Clin. Parasitol.*, 23, 53-56.
- 7) Sugiyama, H., Umehara, A., Morishima, Y., Yamasaki, H., and Kawanaka, M. (2009) Detection of *Paragonimus metacercariae* in the Japanese freshwater crab, *Geothelphusa dehaani*, bought at retail fish markets in Japan. *Jpn. J. Inf. Dis.*, 62, 324-325.
- 8) 宮崎一郎, 広瀬浩士 (1976) イノシシの筋肉から発見された肺吸虫の幼虫. 日本医事新報, (2718), 43-44.
- 9) 杉山 広 (2007) イノシシ肉を生で食べて感染する肺吸虫. 狩猟界, 51, 88-91.
- 10) 丸山治彦, 名和行文 (2007) 肺吸虫. 日胸, 66, 269-275.
- 11) Sugiyama, H., Singh, T. S., and Rangsiruji, A. (2012) *Paragonimus* (Chapter 39). In *Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens*, (Liu, D.Y. ed.), PP.421-433, CRC press, Boca Raton.
- 12) 宮崎一郎, 藤 幸治 (1988) 肺吸虫症. In 図説・人畜共通寄生虫症 (宮崎一郎, 藤 幸治編), pp.277-361. 九州大学出版会, 東京.
- 13) Blair, D., Agatsuma, T., Watanobe, T., Okamoto, M., and Ito, A. (1997) Geographical genetic structure within the human lung fluke, *Paragonimus westermani*, detected from DNA sequences. *Parasitology*, 115, 411-417.
- 14) Blair, D., Chang, Z., Chen, M., Cui, A., Wu, B., Agatsuma, T., Iwagami, M., Corlis, D., Fu, C., and Zhan, X. (2005) *Paragonimus skrjabini* Chen, 1959 (Digenea: Paragonimidae) and related species in eastern Asia: A

- combined molecular and morphological approach to identification and taxonomy. *Syst. Parasitol.*, 60, 1-21.
- 15) 鈴木了司 (1974) 肺臓に寄生する吸虫. In 医寄生虫学, (石崎 達 編), pp.22-27, 第一出版株式会社, 東京.
- 16) 影井 昇 (2000) 蟹・猪肉の生食が呼吸困難を起こす肺吸虫症. *SRL 宝函*, 24, 177-187.
- 17) Miyazaki, I. (1974) Lung flukes in the world-Morphology and life history. In *A Symposium on Epidemiology of Parasitic Diseases*, (Sasa, M. ed.), pp.101-135, International Medical Foundation of Japan, Tokyo.
- 18) Sakaguchi, Y., and Tada, I. (1980) Karyotypic studies of lung flukes, *Paragonimus iloktsuenensis*, *P. sadoensis* and *P. westermani*, with special reference to gametogenesis in *P. westermani*. *Jpn. J. Parasitol.*, 29, 251-256.
- 19) Terasaki, K. (1980) Comparative studies on the karyotypes of *Paragonimus westermani* (s. str) and *P. pulmonalis*. *Jpn. J. Parasitol.*, 29, 239-243.
- 20) Terasaki, K. (1977) Studies on chromosomes of the lung flukes in Japan. *Jpn. J. Parasitol.*, 26, 222-229.
- 21) Sugiyama, H., Morishima, Y., Kameoka, Y., and Kawanaka, M. (2002) Polymerase chain reaction (PCR)-based molecular discrimination between *Paragonimus westermani* and *P. miyazakii* at the metacercarial stage. *Mol. Cell. Probes*, 16, 231-236.
- 22) Agatsuma, T., Iwagami, M., Sato, Y., Iwashita, J., Hong, S. J., Kang, S. Y., Ho, L. Y., Su, K. E., Kawashima, K., and Abe, T. (2003) The origin of the triploid in *Paragonimus westermani* on the basis of variable regions in the mitochondrial DNA. *J. Helminthol.*, 77, 279-285.
- 23) Yoshino, I., Nawa, Y., Yano, T., and Ichinose, Y. (1998) *Paragonimiasis westermani* presenting as an asymptomatic nodular lesion in the lung: Report of a case. *Surg. Today*, 28, 108-110.
- 24) 杉山 広, 森嶋康之, 山崎 浩, 柴田勝優, 川上 泰 (2010) 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ加熱条件の検討. *Clin. Parasitol.*, 21, 43-45.
- 25) 杉山 広, 柴田勝優, 森嶋康之, 山崎 浩, 川上 泰 (2012) 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ冷凍条件の検討. *Clin. Parasitol.*, 23, 57-59.
- 26) 熊谷優子 (2009) 我が国における食中毒対策の取り組み～食中毒被害情報管理室の行政上の役割～. *日獣会誌*, 62, 902-907.
- 27) 温泉川肇彦 (2012) 食品媒介寄生虫食中毒の実態と対策-行政の立場から-. *防菌防霉*, 40, 657-663.