

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）  
**非動物性の加工食品等における病原微生物の汚染実態に関する研究**  
分担研究報告書

**寄生虫による汚染に関する研究**

研究分担者	杉山 広	国立感染症研究所寄生動物部
協力研究者	荒川京子	国立感染症研究所寄生動物部
協力研究者	柴田勝優	国立感染症研究所寄生動物部
協力研究者	賀川千里	国立感染症研究所寄生動物部
協力研究者	森嶋康之	国立感染症研究所寄生動物部
協力研究者	堀内朗子	日本食品衛生協会食品衛生研究所
協力研究者	生野 博	(株)ビー・エム・エル細菌検査部

**研究要旨：**我が国ではかつて国民の半数以上が回虫・鉤虫・鞭虫という土壌媒介寄生蠕虫に感染していたが、現在では感染者は激減した。しかしながら、土壌媒介寄生蠕虫による国内感染は、少数ながらも発生が継続しており、しかも感染経路あるいは原因食品等については推定の域を出ない事例が多い。そこで本年度は、昨年度の回虫症に続いて文献資料の検索に取り組み、最近の鉤虫症と鞭虫症の発生状況の詳細を調べた。その結果、鉤虫症と鞭虫症も少数ながら実際に日本国内で発生している事実が分かった。しかし原因食品や感染経路を明らかにすることはできなかった。土壌媒介寄生蠕虫の感染源となる非動物性食品の特定は重要であることから、その作業を効率的に実施するため、今年度は超音波を用いた非動物性食品の寄生虫卵検査法を構築して検討した。その結果、本法による虫卵回収数は従来法と同等であったが、虫卵を効率的に検出できる方法であることが明らかとなった。

**1. 非動物性食品を感染源とする寄生虫症例、特に鉤虫および鞭虫症例の発生状況に関する文献資料の検索**

**A. 研究目的**

回虫・鉤虫・鞭虫は野菜等を感染源とする食品媒介寄生蠕虫であり、土壌媒介寄生蠕虫とも呼ばれる。我が国ではかつて国民の半数

以上が土壌媒介寄生蠕虫に感染していたが、現在では感染者は激減した。しかしながら、土壌媒介寄生蠕虫の国内症例はゼロにはなっていない。そこで昨年度は回虫症に的を絞って文献資料の検索等を行い、本症の発生状況

の詳細把握に努める共に、その感染経路や原因食品について推定した。今年度は、回虫以外の土壌媒介寄生蠕虫である鉤虫および鞭虫について文献検索を行い、発生状況の詳細を調べた。

**B. 研究方法**

文献学的な一次資料として、日本臨床寄生虫学会誌（1990年/第1巻～2014年/第25巻の25年間/25巻）を用いた。これを通覧して、鉤虫および鞭虫感染の報告数・症例数をカウントした。また両症例の原因として推定・議論された感染源について、論文から情報の抽

表1. 鉤虫, 鞭虫の症例数: 日本臨床寄生虫学会誌における報告数とビー・エム・エル(BML)での検査数

年	日本臨床寄生虫学会誌						BML	
	巻	文献総数	鉤虫症文献数	鉤虫症症例数	鞭虫症文献数	鞭虫症症例数	鉤虫症症例数	鞭虫症症例数
1990	1	59	0	0	0	0	-	-
1991	2	44	1	1	0	0	-	-
1992	3	56	0	0	0	0	-	-
1993	4	69	0	0	0	0	-	-
1994	5	64	0	0	0	0	-	-
1995	6	59	0	0	0	0	-	-
1996	7	33	0	0	0	0	-	-
1997	8	39	0	0	0	0	-	-
1998	9	35	0	0	0	0	-	-
1999	10	41	0	0	0	0	-	-
2000	11	36	0	0	0	0	20 (5)	23 (13)*
2001	12	42	0	0	0	0	25 (25)	24 (17)
2002	13	31	0	0	0	0	33 (32)	29 (23)
2003	14	26	0	0	0	0	9 (8)	17 (12)
2004	15	26	0	0	0	0	9 (8)	13 (10)
2005	16	26	0	0	0	0	9 (9)	9 (4)
2006	17	31	0	0	0	0	0	4 (0)
2007	18	19	0	0	0	0	0	7 (2)
2008	19	39	0	0	0	0	5 (4)	10 (3)
2009	20	29	0	0	0	0	2 (0)	8 (1)
2010	21	33	0	0	0	0	2 (1)	7 (2)
2011	22	21	0	0	0	0	1 (0)	7 (0)
2012	23	32	0	0	0	0	2 (1)	13 (4)
2013	24	33	0	0	0	0	0	3 (0)
2014	25	27	1	1	1	1	0	9 (3)
合計		950	2	2	1	1	117 (93)	183 (94)

\* : 日本人 ( 外国人 )

出を試みた。さらに回虫症と同様に、臨床検体の検査会社であるBMLに依頼し、2000年以降に全国の医療機関で診断された鉤虫および鞭虫の症例数について提示を受けた。

日本臨床寄生虫学会誌計25巻に掲載された論文は950編で、このうち日本で感染した鉤虫症および鞭虫症の論文数(および症例数)は、それぞれ2編(2例)および1編(1例)であった。

### C. 研究結果

BML の資料では、鉤虫症例はその数が 2002 年までは二桁であったが、2003 年以降は一桁となり、2013 年および 2014 年は症例がゼロとなった。鞭虫症例は鉤虫症例と比較してやや多いが、2005 年以降はおおむね一桁でその数が推移した。

#### D. 考察

日本臨床寄生虫学会誌に報告された症例および BML が診断した症例から、回虫と同様に鉤虫および鞭虫の感染も、少数ではあるが最近でも継続して我が国で発生していることが確認された。なお、2014 年に日本臨床寄生虫学会誌に報告された鉤虫症例は、鞭虫および回虫にも同時に感染していた（3 種類の土壤媒介寄生蠕虫に重複して感染）。患者は 84 歳の女性で、無農薬野菜の栽培に従事していることが論文に記されており、自身が栽培した野菜に付着する虫卵を経口的に摂取して、継続的に感染していた可能性が示唆された。なお土壤媒介寄生蠕虫の症例数の経年推移は、BML の資料を見る限り、虫種を問わずに相互に類似していた。従って自家菜園の下肥利用を背景とするなど、3 種類の土壤媒介寄生蠕虫の感染経路や原因食品は、基本的には同様でないかと判断された。この点については今後のさらなる検証が必要と考えている。

#### E. 結論

土壤媒介蠕虫症として鉤虫症および鞭虫症は、少数ながら現在も日本国内で発生しているとの結論を得た。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 杉山 広 荒川京子 柴田勝優 川上 泰, 森嶋康之, 山崎 浩, 荒木 潤, 生野 博, 朝倉 宏. わが国における土壤媒介寄生虫症、特に回虫症の発生とその汚染源の文献的および検査機関データに基づく調査. 食品衛生研究 65(4), 印刷中, 2015.

2. 学会発表 なし.

## 2. 非動物性食品からの寄生虫卵の検出方法：超音波法の構築と従来法、ストマッカー法による成績との比較

### A. 研究目的

現在、我が国で流通する非動物性食品の土壤媒介寄生蠕虫卵汚染の程度は、昨年度および今年度実施の文献調査の結果からも、相当に低いと推定された。従って虫卵の検出にあたっては、多量の検体を効率的に処理する方法の開発が必要と考えられた。そこで昨年度は、食品細菌の検査分野で汎用されるストマッカーの導入を検討し、得られた検査結果について、食品衛生検査指針に記載の従来法による成績と比較した。今年度はさらに超音波法の導入を試み、試験条件を検討するとともに、得られた検査結果について、従来法およびストマッカー法による成績と比較した。

### B. 研究方法

昨年度に引き続き、日本食品衛生協会食品衛生研究所に委託して本検討を実施した（試験検査成績書は本報告書の末尾に添付したので参照されたい）。被検物質には、屠畜場から入手した自然感染ブタ由来の豚回虫を選んだ。豚回虫卵を接種する野菜には白菜を用い、雌成虫に由来するタンパク膜が完成した虫卵から虫卵液を調製し、模擬検体（虫卵接種検体）の調製を行った。また予備試験を繰り返して、超音波処理の最適時間および洗浄容器のリンス回数を設定し、寄生虫卵の検出方法としての超音波法を構築した。その上で本試験を実施し、従来法およびストマッカー法で得た成績と相互に比較した。なお超音波法では、従来法と同様、1 回の検体処理量に 100g 以上の試料を用いることが可能であるが、ストマッカー法との比較にあたり、白菜重量は 50g、洗浄液量は 250ml として本試験を実施し、沈殿法により回収虫卵数を求めた。また接種する回虫卵は 1,000 個および 200 個の 2 条件を選択し、各々 5 回の実験を繰り返して回収虫卵数を求めた。得られた値は F 検定で分散を見極め、t 検定で有意差を調べた。

### C. 研究結果

予備試験の結果から，超音波処理時間は5分，洗浄容器のリンス回数は2回とした．また回収虫卵数に関しては，以下の結果を得た．

(1) 接種回虫卵数を1,000個とした場合  
回収虫卵数は，超音波法では1129.6 ± 104.7 (平均 ± 標準偏差)，従来法では861.2 ± 264.4，ストマッカー法では1485.6 ± 398.6であった．ストマッカー法による回収

虫卵数の平均値が，従来法のそれより有意に高い(有意水準5%)との結果を得た．その他のデータ間には，有意差を認めなかった(表2)．

(2) 接種回虫卵数を200個とした場合  
回収虫卵数は，超音波法では133.0 ± 19.4，従来法では133.4 ± 34.6，ストマッカー法では154.6 ± 48.2であった．各データ間には，有意差を認めなかった(表3)．

表2. 超音波法と従来法，ストマッカー法による虫卵回収数(接種虫卵数1000個/50g)

試験法	回収虫卵数(個)					平均±SD	t検定: P(T<=t) 両側	
	1031	1032	1263	1210	1112		超音波法	従来法
超音波法	1031	1032	1263	1210	1112	1129.6 ± 104.7	-	-
従来法	854	469	1074	777	1132	861.2 ± 264.4	0.07	-
ストマッカー法	1505	1813	1670	1640	800	1485.6 ± 398.6	0.11	0.02*

表3. 超音波法と従来法，ストマッカー法による虫卵回収数(接種虫卵数200個/50g)

試験法	回収虫卵数(個)					平均±SD	t検定: P(T<=t) 両側	
	160	110	131	143	121		超音波法	従来法
超音波法	160	110	131	143	121	133.0 ± 19.4	-	-
従来法	122	151	185	107	102	133.4 ± 34.6	0.983	-
ストマッカー法	71	187	181	156	178	154.6 ± 48.2	0.380	0.447

### D. 考察

検体からの寄生虫卵検出については，野菜表面をブラシでこする従来法が定着している．しかし多量の検体を効率的に処理する方法の開発が必要となり，昨年度はストマッカー使用の是非を検討した．その結果，ストマッカーの使用により，検体からの虫卵分離に要する時間が短縮され，また回収虫卵数は従来法よりも有意に多くなることが明らかとなった．しかしストマッカー処理の過程で，検体である野菜由来の微細な破片が多数発生し，これが虫卵計数用の試料に混入して，顕微鏡下の虫卵計数作業に障害を与え，顕微鏡観察に予想外の長時間が必要となることが判明した．そこで微細な破片を発生させない効率的な虫卵回収の方法として，新たに超音波法を検討することになった．

超音波法に関する予備試験の結果，5分間の超音波処理で虫卵回収数は最大となること

が分かった．また洗浄容器のリンスは2回とした．この条件で本試験を実施し，超音波法，従来法およびストマッカー法による試験結果を相互に比較した．その結果，超音波法は他の試験法との間に，回収虫卵数で有意な差を認めなかった．

虫卵回収数に有意な差がない場合，検査の過程における作業をいくつか選び，その優劣に応じてスコアを与え，スコア合計に基づいて各試験法の優劣を総合的に判断する手法が採用される．このような定量分析の手法を，本検討にも適用した．すなわち，回収虫卵数のほか，1回の検査に使用可能な検体重量(検体重量)，各試験法に必要な処理時間(処理時間)，虫卵計数のための顕微鏡観察時間(観察時間)の計4項目を選定し，各項目についてスコアを与えて，各試験法のスコア合計を求めた(表4)．その結果，スコアの合計は超音波法，ストマッカー法，従来法の順とな

った。すなわち，超音波法は多数の検体から最も効率的に寄生虫卵を分離できる方法であることが分かった。超音波法は従来法に代替する非動物性食品（野菜）からの寄生虫卵検査法として，推奨されるべき方法と考えられ，

今後予定している非動物性食品の寄生虫卵汚染の実態調査では，本法も活用して多数の検体を処理し，我が国で流行が続く土壌媒介寄生蠕虫症の感染源を明らかにしたいと考えている。

表4 超音波法と従来法，ストマッカー法のスコアによる定量分析

検査法	回収虫卵数	検体重量	処理時間	観察時間	スコア合計
超音波法	2	3	2	3	10
従来法	1	3	1	2	7
ストマッカー法	3	1	3	1	8

**各項目について以下の基準により1~3までのスコアを与え，その合計を算出した。**

- 回収虫卵数：数値の最も高いものを3，最も低いものを1，中間のものを2とした。
- 検体重量：処理可能な検体重量の最も多いものを3とし，最も低いものを1とした。
- 処理時間：顕微鏡観察前までの作業時間が最も短いものを3とし，以下同上。
- 観察時間：顕微鏡観察の時間が最も短いものを3とし，以下同上。
- なお同位のものには（例：検体重量），同じスコアを与えた。

## E. 結論

超音波を利用した非動物性食品からの寄生虫卵検出法を構築し，従来法およびストマッカー法で得られた結果と比較した。その結果，超音波法は他の試験法との間に，回収虫卵数で有意差を認めなかった。さらにスコア定量分析を行ったところ，超音波法が最も高いスコアを得たことから，試験法として推奨されるべきものと考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

論文発表および学会発表共になし。