

トキソプラズマに関する研究

(4) 豚肉からの虫体分離試験

石井 俊雄* 小林 昭夫 小山 力

熊田 三由 小宮 義孝

国立予防衛生研究所寄生虫部

深沢 平 斉藤 正度 興水 馨

東京都屠畜衛生検査所

(昭和37年3月26日受領)

わが国における、豚からのトキソプラズマ虫体の分離例は決して少なくない(松林ら, 1957; 佐藤ら, 1958; 山本, 1958; 信藤ら, 1960)。しかし、これらの分離、検出は、すべて斃死豚あるいは罹患豚の病理解剖にあたって、主として病性鑑定という目的から、脳、肺、肝、脾、リンパ腺などの臓器を被検材料としてなされたものである。中には肉についてなされたものもあるが(東京都屠畜衛生検査所・未発表)、それは病豚の筋肉という意味で、食品衛生上直接重要な意味をもつ“食肉”という意味ではない。なぜならば、“食肉”とは屠場において生体検査に合格し、さらに臓器および枝肉にも異常が認められない、すなわち現行の屠畜検査に合格し、当然市販されるべき肉をいうのであつて、普通は病性鑑定の対象となる筈のものではないからである。

現在のところ、トキソプラズマの感染経路についての定説はない。人トキソプラズマ症の場合も、それは一つではなく幾つかの可能経路が一般に考えられているにすぎない。Weinman (1956)はトリヒナ感染を指標として、undercooked porkを食べた人々は一般人に比してトキソプラズマ抗体保有率が高く、またその抗体価が高いといい、トキソプラズマの reservoir として豚を重要視している。また田中ら(1958)は食肉業者にトキソプラズミン反応を、望月ら(1960)は屠場従業員に色素試験を、そして小林ら(1961)は屠場従業員および食肉関係従業員に、トキソプラズミン反応および色素試験を行い、何れも対照とした一般人に比しその陽性率ははるかに高く、獣肉取扱いがトキソプラズマ感染に関連があるかと推測している。これらの事実は、前述の“食肉”にトキソプラ

マの汚染があること、そしてこれが感染源となつて、それぞれの対照群との間に、陽性率の有意の差を生じたのであろうことを示唆している。

一方、Jacobs (1957, 1960 b) は Baltimore の屠場で、豚の横隔膜筋を被検材料とし、これをマウスに接種し、虫体の分離検出を試みた。そして50件中8例から虫体を分離し、さらに4例の被接種マウスの抗体価が有意に上昇したことから、接種材料である豚肉にトキソプラズマの汚染があつたことを推定し、計12例24%の陽性率をえている。食肉の利用、並びに養豚の実態に種々の相異はあろうが、わが国においても、食用豚肉にトキソプラズマの汚染があつたことは、容易に想像されるところである。われわれはこの問題を、まづ食品衛生という見地からとり上げ、さらにトキソプラズマの感染経路を解明する一助たらしめんとし、東京都芝浦屠場で豚横隔膜筋を採取し、食肉のトキソプラズマ汚染度の調査を行なつた。

I. 予備実験：分離法、とくに消化法の検討

前記のごとく、Jacobs (1960 b) は豚の横隔膜筋を被検材料とし、これらの人工胃液消化乳剤をマウスに接種し、虫体分離を試みた。この際 Jacobs は、人が汚染肉を摂取した場合の胃通過ということをも考慮し、抵抗試験(1960 a)ののち人工胃液消化を行なつたが、われわれの当面の目的は人の摂食感染の証明にあるのではなく、食用豚肉の汚染度調査であるので、もし、消化に際して虫体が消化液の影響をうけるようなことがあつた場合、あるいは検出率が減少し、あるいは検出不能に陥る場合もあろうかと危惧し、分離法、とくに消化法の検討を、本試験に先立ち予備実験として行なつた。

本研究は文部省科学研究費の補助によつて行われた。記して謝す。(小宮義孝記)

* 現在：日本生物科学研究所

第 1 表 予備実験：消化法の比較

消化酵素	同濃度 (%)	食塩濃度 (%)			pH
		0.3	0.5	0.8	
ペプシン	0.3	×	△	×	1.8 (HCl)
	0.5	×	×	×	
トリプシン	0.3	△	○	○	8.0 (NaOH)
	0.5	△	○	○	

× : 1 時間で変性
 △ : 2 " "
 ○ : 2 " " 正常形態

予備実験は、まづマウス腹水中の遊離虫体について、次いで自然感染豚の筋肉について、それぞれに消化液を作用せしめ、前者にあつては形態的变化を鏡検により、後者にあつてはそれぞれの乳剤をマウスの腹腔に接種し、その感染、発症、致死の状態、および斃死マウスの腹水中からの虫体証明により、虫体の消化酵素に対する抵抗性を検討した。

材料および方法

1. 虫体：(1) RH 株感染 マウスの 腹水中 の 遊離虫体。腹水を材料とした。

(2) 豚筋中の虫体。東京都芝浦屠場において、屠畜検査によりトキソプラズマ症と判定され、全廃棄された自然感染豚の、全身各所の筋各 10g を挫細して用いた。また同一豚の肺を対照の意味で同様に処理して用いた。因に肺は、その塗染染色標本で容易に虫体を認めえたものであるが、筋の塗染標本では、いかなる形の虫体をも認めることはできなかった。

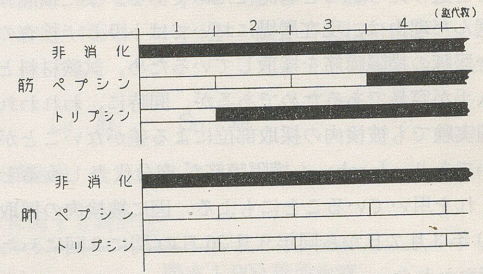
2. 消化液：食塩濃度 0.3, 0.5 および 0.8% の食塩水に、ペプシンおよびトリプシンのそれぞれ 0.3, 0.5% を溶解し、計 12 種の消化酵素液を調整した。それぞれの pH は 1.8 および 8.0 で HCl および NaOH をもつて補正した。

3. 作用方法：消化液は検体のほぼ 10 倍量を加え、37°C に保ち、作用時間は、遊離虫体の場合は 1, 2 および 4 時間、豚筋肉の場合はすべて 2 時間とした。

4. 観察：遊離虫体に関しては、それぞれ所定時間毎に一部をとりだして形態的变化を観察し、筋肉は消化後ガーゼ 2 枚で濾過し、3,000 rpm 10 分の遠沈を 2 回行い、酵素液を除去し、沈渣にほぼ 2ml の生理食塩水を加え、よく混和し、その 0.4ml に抗生物質(ペニシリン 1,000 u/ml + ストレプトマイシン 100 mg/ml) 溶液 0.1ml を加えた計 0.5ml を、それぞれ 3 匹宛のマウスの腹腔内に接種した。マウスの発症致死がない場合は、10~14 日毎に盲目継代を行い、各代について腹水を採取し、3,000 rpm 10 分遠沈し、沈渣の濃塗々抹標本をつくり、ギムザ染色を施し虫体の検出に努めた。鏡検は 400 倍視野でほぼ 450 視野以上を検索した。消化法の対照としては、無消化磨砕乳剤を上と同様に処理し比較を行なった。

実験結果

1. 遊離虫体については、ペプシン消化の全例は、すでに 1 時間にして強く消化の影響をうけ、極度に変性し、形態的には、かろうじて残骸のみが認められ、2 時間では全くそれすらも認めえなくなった。トリプシン消化の場



第 1 図 消化の有無による虫体分離の比較

合は、食塩濃度が 0.5% および 0.8% の場合は、酵素濃度にかかわらず(0.3% および 0.5%), 2 時間まではほぼ正常な形態を有し、4 時間にしてやや構造が粗くなるのを認めた(第 1 表)。

2. 豚筋肉の消化は、上の成績および Jacobs の方法をも併せ考慮し、ペプシンおよびトリプシンにつき、それぞれ酵素濃度 0.3%, 食塩濃度 0.5% について行なった。この結果は第 1 図にしめすごとく、無処置対照群では、初代からマウス腹水中に虫体を検出しえたが、トリプシン消化群では 2 代目、ペプシン消化群では 4 代目マウスにおいてはじめて虫体を認めた。

豚の筋肉としては、肩・内股および横隔膜筋を用いたが、この間に全く差を認めることはできなかったため、図では一括してしめしてある。

3. 肺では、無処置群では、初代から虫体が検出されたが、消化群では、すべて継代を重ねても検出されなかった。

小 括

以上の結果から、筋乳剤の調整にあつては、消化酵素を用いない方が虫体分離に好結果をうるということがわかった。また被検肉の採取部位の検討は、以上の範囲では勿論不十分ではあるが、一応差は認められなかった。

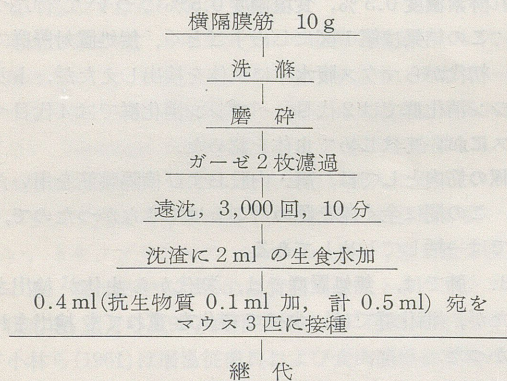
II. 食肉のトキソプラズマ汚染度の調査試験

予備実験の結果に基づき、豚横隔膜筋を非消化乳剤として、マウス腹腔に接種し、食肉のトキソプラズマによる汚染度を調査した。

材料および方法

1. 材料は東京都芝浦屠場において、生体検査に合格し、臓器検査、枝肉検査、ともに異常を認められなかった豚の横隔膜筋を無作為に採集したものである。芝浦屠場において行なつたという主な理由は、豚の集荷先がほとんど全国にわたっているため、局地的な調査に終ることを避けられると考えたためである。また横隔膜筋を選んだ理由は、現在屠場においてはトリヒナ検査のため全屠豚の横隔膜筋を採取しているため、試験材料として入手が容易であるためであるが、同時に、われわれの予備実験でも被検肉の採取部位による差がないことが明らかであり、Jacobs も横隔膜筋が充分代表しうるとしてこれを用いていることにもよる。因に被検肉の採取は1960年3月7日から同年9月26日の間に9回にわたって行なわれた。

2. 被検乳剤の調整：方法の詳細は予備実験と同様であり、第2図にしめす通りである。すなわち、上記被検材料 10g (この量はトリヒナの検体として採集してある横隔膜筋から表面汚染部分と筋膜を切り外せばほぼ 10g になることと、爾後の諸操作上ほぼ適当な量と思われることから定めたものである) を中性洗剤加滅菌生理食塩水でよく洗い、鉗で挫細し、ホモゲナイザーで10分間



- 判定：1. 腹水洗滌液の遠沈沈渣の塗抹ギムザ染色標本
2. マウスの発症
3. 株の分離
4. 免疫試験

第2図 豚肉からの虫体検出方法

磨碎し、少量の生理食塩水を加えガーゼ2枚で濾過、3,000 rpm 10分遠沈、その沈渣にほぼ 2 ml の生理食塩水を加えて攪拌し、この乳剤 0.4 ml に前述の抗生物質 0.1 ml を加えた計 0.5 ml をそれぞれ3匹宛のマウスの腹腔内へ接種した。

3. 判定：(1) 発症、瀕死あるいは斃死時、もしくは一定時日後被接種マウスの腹水を採り、生標本および遠沈沈渣の塗抹ギムザ染色標本を鏡検し、虫体を検索した。

(2) 虫体を認めたものは、これを新鮮マウスへ継代し、株の分離を試み、虫体の増殖状態とマウスに対する病原性を観察し同定の資とし、さらに継代条件が安定した後、病原性と抗原性を試験し同定を行なつた。

(3) 初代マウスに発症・致死がなく、また虫体もみとめられなかったものについては、試験前期は10~14日、後期は21日間隔で(後で詳述)それぞれ3匹宛の新鮮マウスへ盲目継代を行い、各代についてそれぞれ上述の検索を実施し、3代まで検査して虫体が確認されないものは陰性と判定して継代を打切つた。

成績

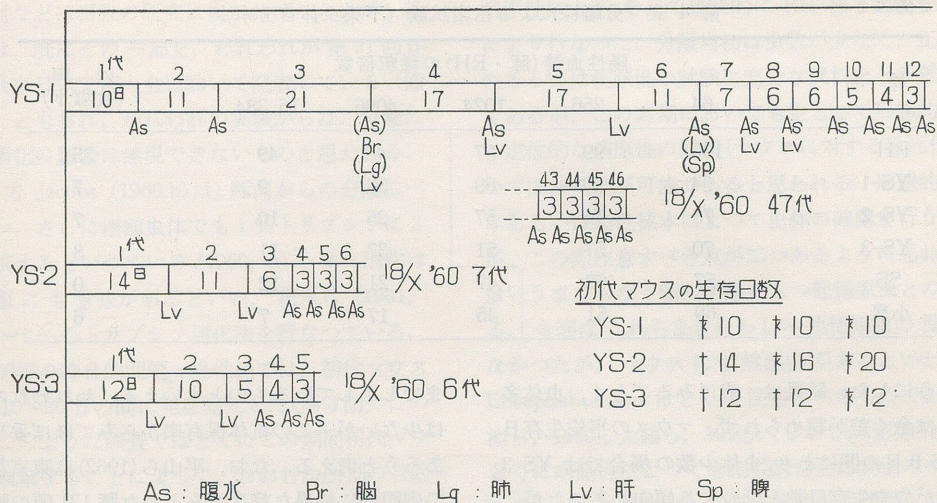
1. 分離成績：第2表にしめすごとく、試験前期においては29例中1例から、後期においては32例中2例から虫体を分離し、後述のごとき試験を行い、これらをすべて *Toxoplasma gondii* であると同定し、それぞれを YS-1, YS-2, および YS-3 株と命名した。

試験期間を前・後の2期に分けたのは、第3図にみるごとく、前期にあつてはまだ方法論的に一定しておらず、

第2表 豚肉からの虫体検出成績

検査件数	陽性件数	陽性率(%)	信頼限界(0.95)
29	1	3.5	Pr{ $\chi^2=0.255 > \chi_0^2$ } < 0.05
32	2	6.3	
61	3	4.9	$1.4 \leq m \leq 12.0$

本試験のうちでも予備試験的性格をもつもので、とくに継代間隔や継代に際して用うべき臓器などの検討を行いつつ実施したためである。つまり、前期では多数処理の場合は、腹水による継代がもし可能であれば、操作上より簡易であると考えられたので腹水を主に用い、附随的に諸種の臓器を用い、これらを比較しつつ分離を行つてきたものである。第3図において継代に使用した臓器名が括弧に入れてあるものは、能率上次代へ継代されることなく途中で打切られたものをしめしてある。後期では前期での成績に鑑み、臓器としては肝臓を用い、またその継



第 3 図 株の分離過程

第 3 表 分離株のマウスに対する病原性

株名	代数	腹腔洗滌原液		同左 1,000 倍稀釈液	
		虫数/0.3 ml	生存日数(平均)	虫数/0.3 ml	生存日数(平均)
RH	1475	1647(万)	5・5・6(5.3)	15,000	6・7・7(6.7)
YS-1	80	420	6・6・6(6.0)	3,000	6・6・7(6.3)
YS-2	40	129	5・5・6(5.3)	3,000	6・7・8(7.0)
YS-3	38	714	5・6・7(6.0)	6,000	9・10・10(9.7)
SS	109	405	5・6・6(5.7)	9,000	6・7・8(7.0)
小黑	364	734	6・6・6(6.0)	3,000	8・8・9(8.3)

代間隔もマウスの発症に重きをおき、発症のない場合は3週間を以つてし、手技を一定にしたものである。かように分離方法がやや異なっているが、両者の陽性率には有意の差はなく同質とみなしうるので、合計すると61件中陽性件数3件となり、その陽性率は4.9% (1.4 ≤ m ≤ 12.0) になる。

2. 分離株の性状：分離株は前述のようにそれぞれYS-1, YS-2 および YS-3 株と命名し、さらに予備実験に用いた分離株をSS株と仮命名し(この株は同時に東京都屠畜衛生検査所でも別に分離してあり、同所における他の分離株とともに別の機会に発表される筈である)、標準株RH株、および静岡県衛生研究所から保存を依頼されている豚由来の小黑株(松林ら, 1957)を対照とし、形態、マウス腹腔内での増殖状態、マウスに対する病原性、および色素試験により抗原性の比較を行なつた。

(1) 形態およびマウス腹腔での増殖状況：生鮮標本およびギムザ染色標本で観察したところ、形態も染色性も

従来諸家によつて記載されているところに全く一致する。ただ強いて比較すれば、RH株よりむしろ豚由来の小黑株に近い感を与える。すなわち、豚由来の5株はすべてRH株に比し僅かに太短く、集塊をなす性質がやや目立つた。また宿主の腹水の性状は粘性が強く、腹水中に游走する宿主の細胞が多いように見られた。しかし染色性や虫体の構造はRH株のそれと全く一致する。

(2) マウスに対する病原性：腹水中にみられる虫体は、継代を重ねるにしたがい増数し、YS-1株は十数代目から、YS-2およびYS-3株は数代目からほぼ安定し、通例の腹水継代で、マウスを4日前後で斃すような強い病原性をしめしてきた。それぞれの第80代、第40代、第38代を用いてマウスに対する病原性を検討した。第3表にしめすごとく、含有虫体多数および少数の2段階の虫体浮游液を各株についてつくり、各々の0.3mlづつを3匹のマウスの腹腔に注射し、その生存日数を記録した。全斃死マウスについては、腹水を採取し虫体の増殖状況を観察し、すべてトキソプラズマによる死亡であることを

第 4 表 分離株による色素試験 (不染虫体百分率)

株 名	陽性血清 (豚・RH) の稀釈倍数					対 照 (食塩水)
	64	256	1024	4096	16,384	
RH	100	99	97	40	49	5
YS-1	94	90	69	33	9	7
YS-2	78	76	57	26	10	7
YS-3	70	57	51	37	11	8
SS	57	62	47	21	12	0
小黒	69	51	45	17	7	6

確認するようにした。結果は、表にみるごとく、虫体多数の場合では全く差が認められず、マウスの平均生存日数は5.3~6.0日の間にあり、虫体少数の場合ではYS-3株と小黒株がやや生存日数を延長する傾向にあったが、全て同様の剖検所見(小林ら, 1959)のもとにマウスを斃した。

(3) 色素試験: 農林省家畜衛生試験場からRH株接種豚陽性血清と accessory factor の分与をうけ、豚陽性血清を64→16,384倍まで4倍5段階稀釈し、各々に各株虫体浮游液を作用せしめ、型のごとく色素試験を行なった。SS、小黒の2株にそれぞれ1管のズレが見られたが、他はRH株(homo.の場合)に一致し、血清学的にもトキソプラズマであるといえる結果をえた(第4表)。

総括ならびに考察

われわれは、食品衛生学的見地から、トキソプラズマ症の感染源の一つと推察される豚肉について、その汚染率を調査し、61検体中3検体、すなわち4.9%($1.4 \leq m \leq 12.0$)から虫体を分離した。被検材料はすでに述べたごとく、屠場で、生体検査においても肉眼的検査においても異常を認めなかつた豚の横隔膜筋を無作為に採集したもので、該肉は現行の屠畜検査に合格する以上、当然市販されるべき筈のものである。つまり、上記の陽性率はそのまま市場にある食肉のそれと考えて大過ないものであろう。実際の感染源としての意義については、われわれが第30回日本寄生虫学会で発表した(小林ら, 1961)、食品における5%という汚染率は忽にできないものと思われる。

分離率、つまり豚の虫体保有率は抗体保有率と密接な関連をもつものであろう。わが国の豚については、鈴木ら(1960)が全国から採集した血清1,891検体について、補体結合阻止反応を行い、8.6%の陽性率をえている。この数字はまた現在豚のトキソプラズマ症に関しては何らの取締法規のないまま、屠場における陽性率をある程度

までしめしているものともいえる。われわれの調査例数は少ないが、この抗体保有率からみてはほぼ妥当なものであると考える。なお、平山ら(1962)は東京都下の屠場で肉眼的に特異な病変をみとめた豚131頭の肺、およびリンパ腺の塗抹標本から82例(62.6%)に虫体を認めている。これは全屠殺頭数の0.13%にあたつていているが、塗抹標本による検索であるだけに真の陽性率はこれより高いものと想像される。しかし屠畜検査ですでに摘発しうるものに、高率に虫体が認められたことは注目し値する。

今回の分離試験は、屠畜検査に合格したいいわゆる肉眼的無病巣豚肉を被検材料として行なつたもので、かかる豚の臓器では、仮りに汚染されているとしても、含有虫体数は少ないものと推測されている。したがって、虫体汚染度の実態調査においては、上記の点を考慮しつつ、精度高く、かつ簡易な分離方法の確立が先決であると考えられた。

この検討の一部は予備実験として、また一部は本実験の前半期に行なつた。検討要項の主なものは、(1)接種材料(横隔膜筋)の消化処理の有無、(2)継代間隔の時日的問題、(3)その際の供用臓器、などである。

(1) 接種材料(横隔膜筋)の消化処理の有無: 第1表および第1図(予備実験)に示すごとく、虫体分離法として3法を比較した。虫体の検出は、各法それぞれ被接種マウスの腹腔洗滌液を遠沈し、その沈渣の塗抹ギムザ染色標本を鏡検して行つたのであるから、その検出度——検出の難易は標本上の虫数に左右される。上記3試験群の被検肉は、同一材料を3分したもので、含有虫数は同数とみなされるものであるから、各群それぞれの検出が可能になつた最少継代々数は、各被検材料中の虫数、あるいは虫体の感染能力に密接な関連を有するものであろう。自然感染豚の筋中のトキソプラズマの形状、それに伴う

抵抗性の検討などは将来の研究に俟たねばならぬが、後者については、既にその一部を、われわれが第21回日本寄生虫学会東日本支部大会において発表している(熊田ら, 1961)。ともあれ、われわれの実験からは、分離にあつての消化の影響は無現できないものと思われる。

しかし、一方 Jacobs (1960 b) は、豚肉からの分離にペプシンを用い、さらに増殖虫体でも1%トリプシンに3時間まで抵抗するといっている(1960, a)。また消化は抗体除去作用にも意味があるといい、花木ら(1961, 1962)は0.5~1%のトリプシン消化法を行なっている。

(2) 継代間隔の時日的問題: 陽性例では、初代マウスのすべてが10~20日の間に発症斃死した(第3図)。この事実から、このような調査ではとくにこの期間初代マウスを詳細に観察することによつて、おおむね所期の目的を達しうるのではなからうかと考える。かように3匹のマウスが全てほぼ同時期に発症斃死し、一方陰性例には全く斃死がみられなかつたことは、検出虫体が明らかに材料とした豚由来のものであることを物語っている。またマウスにおけるトキソプラズマの自然感染の報告はわが国ではみられないが、少なくとも3匹のマウスを用いることによつて、この危惧は妨げるものと思われる。

継代はマウスのひん死時、または斃死直後に行なつた。陰性例の盲目継代は、前記の成績に鑑み、前期では10~14日、後期では21日毎に行なつた。また今回の試験は実態調査が目的であり、陰性の場合、一応3代までのマウスの状態およびその腹水を検査して打切つたが、結果からみてほぼ妥当な線ではなからうかと考えている。

(3) 接種時の供用臓器: 継代材料について当初は操作の簡易さから、腹水を用いることに目標をおいた。しかし YS-1 の分離過程にみるごとく(第3図)、虫体が十分に増殖していない分離初期には肝、脳などの乳剤を用いた場合の成績がよく、腹水中である程度の増殖(顕微鏡の400倍の毎視野に1コ以上)をみた後は、むしろ腹水を接種材料にした方がよかつた。YS-2 および YS-3 はこの規準に基づき分離したもので、3代まではマウスの肝乳剤を、以後は腹水を用いたものである。図にみるごとく、かようにして4~5代の継代後は、4日前後の間隔でマウスを斃すようになってきた。分離当初における宿主の変換による影響も大であろうが、接種材料中の虫数の多寡も大きな要因となつていようと思われる。

上に列記したごとき検討要項の成績に基づき、調査を目的とした分離方法を設定した。

分離株の同定はまづ形態的に、次いでマウスに対する

病原性により、そして最終的に RH 株と比較した抗原性により行なつた。分離当初は虫数が少なく、正確な病原性あるいは抗原性の試験に十分な試料をとり難いのが常であるが、この時期においても主として形態的に、同時に定性的な病原性の観察(マウスに対する致死作用)によつてほぼ判定が可能であると思われる。形態的には生標本あるいは染色標本によつて虫体の確認を行うのであるが、この際注意すべき点が二つあるように思われた。一はいうまでもなく類似形態をもつ他種原虫との鑑別である。今回はこれらまぎらわしい他種原虫の混在を認めなかつたが、マウスに自然感染があるといわれている Encephalitozoon はとくに注意すべきものであろう(小池ら, 1960; 大鶴ら, 1960)。しかし、形態的に、またとくに病原性によつても比較的容易に判別のものであろう。次に注意すべき点は手技上の問題として目的外の虫体の混入による誤りである。これは、例えば保存株の継代などで、多量の虫体を扱つた注射器の後処置に、まづ煮沸消毒を行なつた場合、虫体は熱固定されて注射器内面に附着し、爾後の普通程度の水洗ではなおそのまま残存し、再度の煮沸消毒にもよく耐え、実験群マウスの腹水採取の際にこれが混入し、塗抹標本上に現われてくることを経験し、かつこれを実験的にも確めた。この場合の虫体のギムザ染色所見は、全体の形には変化はなく、核もよく染まる。ただ細胞質が均一に淡紅色に染まつてくる点が異なつていのにすぎない。勿論接種マウスに変状は現われてこない。このような染色性の変つた虫体が標本上に出現してきた場合は注意せねばならない。

要 約

公衆衛生的見地から、屠場において臨床的症狀(生体検査)および屠体の肉眼的病変を欠く豚肉の、トキソプラズマによる汚染度を調査すべく虫体の検出試験を行なつた。その成績を要約すれば次のごとくである。

1. 検査方法: 横隔膜筋 10g を磨碎、ガーゼ濾過、遠沈し、その沈渣 0.4 ml に抗生物質を加え3匹づつのマウスの腹腔へ接種した。
2. 検出成績: 被検食肉 61 件中3件から虫体を分離した。その陽性率は4.9% ($1.4\% \leq m \leq 12.0\%$) である。
3. 検討要項とその結果: (1) 被検材料の乳化前における消化処理(ペプシンまたはトリプシン)の有無の、虫体検出に及ぼす影響を検討した結果、非消化のままこれをマウスへ接種する方がよかつた。

(2) 陽性例ではすべて初代マウスが10~20日の間に発症斃死した。このことから、とくにこの期間初代マウ

スを詳細に観察することが必要であり、またこのことのみによつても概ね所期の目的を達しうるものであらうと考えられる。

(3) 分離は3代までは被接種マウスの肝乳剤を用い、以後腹水を用いた。このようにして4~5代で4日前後の間隔でマウスを斃すような病原性がえられた。

〔附記〕

最近、豚肉よりの虫体分離試験において、マウスに対し毒力が弱くシストを形成する株を得たとする報告がなされた(花木ら, 1961; 1962)。著者らの一人石井も花木らと同様の試験を行い、豚から1例のシスト形成株を得た(1962, 前記花木らの講演に追加)。かように不顕性自然感染豚中に弱毒株(マウスに対し)に由来するものが存在することは疑いない事実である。この知見から判断すれば、われわれがここに分離した株はすべてマウスに対し強い毒力をしめすもののみであつて、今後検索方法に検討を加えて弱毒株を含めた真の陽性率を求める必要を痛感するとともに、基礎的にも筋肉内虫体の存在、形態ならびにその性質の追求が望まれる。分離についての検討は現在行いつつあるが、接種マウスの一部を長期間観察し、1~2カ月後に検脳する方法をここに付け加えたい。

擧筆にあたり、色素試験のための既知豚陽性血清およびAFの分与を賜つた農林省家畜衛生試験場藤田澤吉部長、鈴木恭技官、伊藤進午技官に深謝の意を表する。

本研究の要旨は第50回日本獣医学会、第20回日本寄生虫学会東日本支部大会において発表した。

文 献

- 1) 花木琢磨・佐藤卯三郎・西村豊・信藤謙蔵(1961): 家畜のトキソプラズマ病に関する研究。VIII. TSC皮内反応陽性豚と体内における *Toxoplasma* 原虫の保有との関係について。日獣医誌, 23(学会号), 509.
- 2) 花木琢磨・佐藤卯三郎・西村豊・信藤謙蔵(1962): 家畜のトキソプラズマ病に関する研究, X. 無症状自然感染豚より分離されたトキソプラズマ株の性状について。第53回日本獣医学会講演。
- 3) 平山淡二・氏原徳男・中村常仁・田中錠太郎・北浦彌太郎・松井武夫・佐藤平二・佐伯百合夫・越智勇一(1962): 東京都下屠畜場において検出された豚のトキソプラズマ症について。日獣会誌, 15(2), 71-74.
- 4) Jacobs, L. & Melton, M. L. (1957): A procedure for testing meat samples for *Toxoplasma*, with preliminary results of a survey of pork and beef samples. J. Parasit., 43(5-2), 38-39.
- 5) Jacobs, L., Lemington, J. S. & Melton, M. L. (1960, a): The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. Ibid. 46(1), 11-21.
- 6) Jacobs, L., Remington, J. S. & Melton, M. L. (1960, b): A survey of meat samples from swine, cattle and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma*. Ibid., 46(1), 23-28.
- 7) 小林昭夫・石井俊雄・小山力・熊田三由・小宮義孝(1959): トキソプラズマに関する研究, (1) 実験マウスの系統の検討, 寄生虫誌, 8(5), 664-668.
- 8) 小林昭夫・石井俊雄・小山力・熊田三由・小宮義孝・金井恒夫・深沢平・興水馨・齊藤和雄・小野田孝義・花木琢磨(1961): トキソプラズマに関する研究, (5) 屠場従業員, 屠畜臓器組合従業員, ハム工場従業員および農村一般人におけるトキソプラズマ抗体保有率について。寄生虫誌, 10(4), 508-509.
- 9) 小池保・京吉美・飯野沈朗(1960): マウスの Encephalitozoon 自然感染について。寄生虫誌, 9(2), 129-132.
- 10) 熊田三由・小山力・橋本魁・小林昭夫・小宮義孝・石井俊雄(1961): トキソプラズマに関する研究, (6) 冷蔵温度下における虫体の生残性について。第21回日本寄生虫学会東日本支部大会記事, 15-16.
- 11) 松林久吉・阿部道夫・野口政輝・望月久・山田淳一(1957): 静岡地方にてブタから検出されたトキソプラズマ株について。日新医学, 44(7), 368-372.
- 12) 望月久・千須和柳三・浅川豊・野口政輝(1960): トキソプラズマ症の研究。静岡県下の屠場従業員及び家畜における色素試験成績について。第20回日本寄生虫学会東日本支部大会所演。
- 13) Nobuto, K., Suzuki, K., Omuro, M. & Ishii, S. (1960): Studies on toxoplasmosis in domestic animals. Serological response of animals to experimental infection and successful application of complement fixation inhibition test for exposure of infected herds. Bull. Nat. Inst. Anim. Health., 40, 29-52.
- 14) 大鶴正満・齊藤豊・長谷川慧重・篠川至(1960): 北陸地方における人畜トキソプラズマ症の疫学的研究。35年度文部省研究報告集録。
- 15) 佐藤平二・佐伯百合夫・武藤健・大石勇・小林茂雄・宮本讓・越智勇一(1958): 家畜のトキソプラズマ症に関する研究。1. 豚・犬よりの *Toxoplasma* の分離。日獣医誌, 20(5), 213-221.
- 16) 鈴木恭・伊藤進午・藤田澤吉(1960): 家畜のトキソプラズマ病の研究。IV. 豚トキソプラズマ

- 病の疫学的調査. 水曜会記事, 9(5), 29; 家衛
試年報, 34年, 83-89.
- 17) 田中宏・小島誠司・米谷武士(1958): トキソプ
ラズマ症の研究. I. 新潟市におけるイヌの飼養
家族および食肉販売業者のトキソプラスミン反
応. 医学と生物学, 47(6), 238-242.
- 18) Weinman, D. & Chandler, A. H. (1956):
Toxoplasmosis in man and swine. An investi-
gation of the possible relationship. J. A. M.
A., 161(3), 229-232.
- 19) 山本敏雄(1958): 九州地方における人および豚
のトキソプラスマ症. 福岡医誌, 50(10), 3888-
3909.

STUDIES ON TOXOPLASMA

VI. A SURVEY OF PORK MEAT FOR THE PRESENCE OF TOXOPLASMA

TOSHIO ISHII, AKIO KOBAYASHI, TSUTOMU KOYAMA, MITSUYOSHI KUMADA,
YOSHITAKA KOMIYA,

(Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo, Japan)

TAIRA FUKAZAWA, MASANORI SAITO & KAORU KOSHIMIZU

(Tokyo Metropolitan Meat Inspector's Office, Tokyo, Japan)

A survey of pork meat samples for the presence of *Toxoplasma* was carried out from the view-point of food hygiene.

I. Method: Samples of the diaphragm muscle of apparently healthy swine were randomly collected from a slaughter house in Tokyo. Every 10 g of the diaphragm muscle was taken, washed with sterilized normal saline, ground in the meat grinder, filtered with 2 layers of gauze and centrifuged. Each portion of the sediment was resuspended with a small amount of saline and then inoculated intraperitoneally into 3 mice with an addition of antibiotics.

II. Result: Organisms were isolated from 3 cases out of 61 samples, and identified as *Toxoplasma gondii* by the biological and serological examinations. Thus, 4.9% ($1.4 \leq m \leq 12.0$) of apparently normal pork meat was proved to be contaminated with *Toxoplasma*.

III. Considerations on method:

(1) The effect of pretreatment, whether to digest or not, on isolation of organisms was examined.

Materials were divided into two parts, the one was inoculated into mice after being digested by pepsin or trypsin, and the other without any pretreatment. The latter method was proved to be more suitable than the former in such kind of experiment.

(2) In all positive cases, the first passage level mice were died with the sign of toxoplasmosis during 10 to 20 days after inoculation. This findings indicates that the detailed observations on mice during these period will be favourable in the search for *Toxoplasma*.

(3) Until the 3rd passage, the liver suspension of mice was subinoculated, and there-after the peritoneal exudate was used. In this way, these newly isolated porcine strains have showed high virulence producing the death of mice as rapidly as the RH strain.