

市販豚ひき肉からの *Toxoplasma* の分離

米 谷 武 士

新潟大学医学部医動物学教室 (主任 大鶴正満教授)

横 山 政 徳

新潟県衛生研究所 (所長 篠川至博士)

(1966 年 1 月 7 日受領)

まえがき

近年、わが国における家畜のトキソプラズマ (以下 Tp と略す) 症の研究が進むにつれ、とくに豚の間には高率に Tp 症が浸淫していることが多くの研究者により明らかにされてきた。豚 Tp 症は飼育中に感染発症する例がかなり認められるので、人畜共通伝染病の中でも食肉衛生の立場から注目されるようになり、とくに外観上健康な豚の肉の中に含まれる Tp、すなわちその不顕性感染が重要視されるに至った。徳富ら (1963) は飼育中に発見される豚 Tp 症には重症あるいはへい死例が多いのに対してと畜場で発見される Tp 罹患豚には生体検査時に著変がなく、解体後の検査で習熟した検査員によってようやく発見される程度の軽微な肉眼病変を呈するものが多いとした。また豚がと畜場に搬入されてからの検査で Tp 症のすべてを摘発することはほとんど不可能に近いので、と畜検査には Tp の蛍光抗体法などを導入して精度の高い現場検査を行なうとともに、多少とも疑わしい肉については食肉衛生の立場から凍結処理による無毒化を提唱した。

他方、豚肉における Tp 保有状況については、Jacobs (1960) は Baltimore のと畜場において豚の横隔膜筋 50 件からペプシン消化法により虫体分離を試み、8 件から虫体を得、さらに被接種マウスの色素試験抗体価が有意に上昇したことから豚肉に Tp 汚染のあつたことを推定した 4 件計 12 件 (24.0%) の陽性を得た。また、わが国では石井ら (1962) は 1960 年 3 月から 9 月の間、芝浦のと畜場においてと畜検査で異常を認めなかつた豚の横隔膜筋 61 件を非消化のままマウスに接種して 3 件 (4.9%) から虫体を分離した。徳富ら (1965) は 1964 年 3 月から 1965 年 2 月までの 1 年間に東京都内の一般市販豚小間切 130 件についてトリプシン消化法を用いて 25 件 (19.3

%) から、また田中 (英) ら (1964) は 1964 年 1 月から 9 月の間に大阪府下と畜場でと殺された豚の筋肉 144 件について同じくトリプシン消化法を用いて 18 件 (12.5%) から Tp 虫体を分離した。

われわれも家畜やその食品における Tp 分布の実態を知る第一着手として新潟県内で市販されている豚ひき肉について Tp の分離を試みたので、その成績の概要を次に報告する。

検査材料ならびに方法

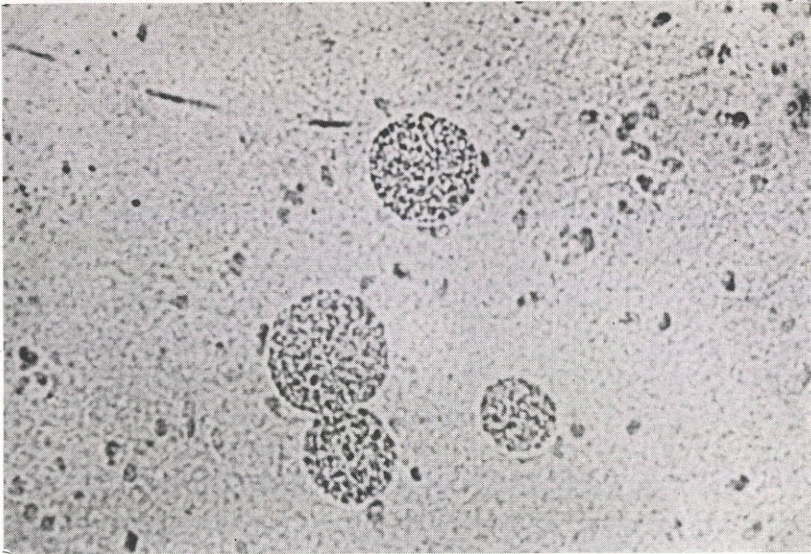
1964 年 12 月から 1965 年 3 月までの 4 月間に新潟県内の 10 地区の食肉販売店で販売されていた豚ひき肉を 1 店から 1 件 (約 200 g) あて 108 件を採取して検査に供した。

検査は花木・信藤 (1963) によるトリプシン消化法によつた。すなわち豚ひき肉 30 g を秤取し、0.5% トリプシン食塩水 300 ml を加え、スターラーを用いて室温で 1 時間消化した後ガーゼ 2 枚で濾過し、濾液を 1,500 rpm 10 分間遠心沈澱後沈渣を生理食塩水で 2 回洗浄し、どろどろとなつた液に抗生物質 (ペニシリン 50,000 u + ストレプトマイシン 40 mg/ml) を数滴加え、1.0 ml あて 5 匹のマウスの腹腔内に接種した。それらを約 1 月目に殺して血清を採取し、またそれぞれのマウスの脳の小片を圧偏標本 (18 m/m カバーガラス 1 枚) として Cyst の有無を鏡検した。採取したマウス血清については色素試験を行ない、その抗体価を調べた。なお接種後、観察期間中にへい死したマウスについては腹腔洗浄液を遠心し、沈渣中の Tp の有無を鏡検した。

成 績

1. 市販豚ひき肉の Tp 検査

市販豚ひき肉接種マウスの脳における Tp Cyst の検出成績は第 1 表に示す通りである。糸魚川市 0/4, 高田



第1図 市販豚ひき肉から分離した Tp Cyst(GPM-3) (×84)

第1表 市販豚ひき肉接種マウス脳における
Tp Cyst の検出成績
新潟県 1964.12-1965.3

検体採取地区	検査件数	陽性件数(%)
糸魚川	4	0
高田	8	0
柏崎	5	1
長岡	5	0
三條	6	1
巻津	10	2
新潟	8	0
新発田	49	8
村上	7	1
計	108	14(13.0)

市0/8, 柏崎市1/5, 長岡市0/5, 三條市1/6, 巻町2/10, 新津市0/8, 新潟市8/49, 新発田市1/7, 村上市1/6, 計108件中14件(13.0%)から Tp Cyst を検出した(第1図参照)。これら14件の陽性マウス(各5匹)の脳における Cyst の検出状況を見ると, 5匹のすべてから Cyst の検出された例はなく, マウス5匹中3匹から検出されたものが2件, 他の12件は5匹中1匹のみから認められた。また, 標本1枚中の Cyst 数は2-3個のものが最も多く, 10個以上認められたものは Cyst 検出マウス18匹のうち5匹に過ぎなかった。

2. 豚ひき肉接種マウスの色素試験

豚ひき肉接種マウス108件のうち39件のマウスの血清(3-5匹プール)について色素試験を試みた。その成績

は第2表に示す通りである。1:4以下のものが33件(84.6%)で, 1:16以上陽性のものは6件(15.4%)認められ, その内訳は1:16 3件, 1:256 2件, 1:1,024 1件で, 1:16以下のマウスからは Cyst を検出することができなかつた。

第2表 豚ひき肉接種マウスの色素試験成績

検査件数	色素試験		Cyst 陽性件数
	血清希釈	件数(%)	
39	1:4(-)	30(76.9)	0
	1:4	3(7.7)	0
	1:16	3	0
	1:64	0	0
	1:256	2	2
	1:1,024	1	1

3. 分離株の継代試験

豚ひき肉から分離した14株中7株についてマウスの脳を約10倍乳剤とし, 次代のマウスの腹腔内に接種する方法で継代を重ねたが, その経過は第3表に示す通りである。これら7株のうち4株(GPM-3, 11, 98, 131)は Cyst-Cyst で継代され, それらの血清の色素試験は1:64-1,024といずれも高い陽性を示した。また7株中2株(GPM-86, 136)は3代から増殖型となり4-5日でマウスを斃し, 他の1株(GPM-81)は3代で Cyst を検出することができなくなり, そのマウスの血清の色素試験も1:4陰性であつた。

第3表 分離株の継代試験

株 No.	継代経過 (マウス D.T.)					
3	C	C	C	C	C	C
	(256)	(64)	(256)	(64)	(256)	(64)
11	C	C	C	C	C	C
	(1,024)	(256)	(256)	(256)	(256)	(256)
81	C	C	(-)			
	(256)	(64)	(<4)			
86	C	C	P	P	P	P
	(1,024)	(1,024)				
98	C	C	C	C		
	(256)	(64)	(256)			
131	C	C	C	C		
	(1,024)	(256)	(256)			
136	C	C	P	P	P	P
	(256)	(1,024)				

註： C=Cyst P=増殖型 (-)=陰性
() 血清色素試験値

第4表 RH 株豚免疫血清ならびに健康豚血清に対する各分離株の色素試験成績 (不染虫体百分率)

株名	株の由来	継代数	RH 株豚免疫血清 No. 13 (HA 1:4,096)					健康豚血清 No. 194 (HA 1:16)			対照 (食塩水)
			16	64	256	1,024	4,096	4	16	64	
STS-1	と殺病豚	89	68	68	38	6	10	10	8	4	4
NTS-330	と殺豚	231	64	42	8	3	0	8	6	4	4
NTS-25	〃	15	79	40	24	6	6	18	8	2	10
NTS-30	〃	12	88	70	16	8	4	6	0	8	0
NOS-1	〃	25	45	12	12	4	4	16	4	4	8
GPM-86	豚ひき肉	32	76	46	8	0	4	4	2	2	8
GPM-136	〃	29	60	60	40	6	4	10	12	8	4
ASAI	人(脳膜炎)	691	68	58	24	8	4	14	16	8	8
RH	/		94	92	76	12	4	14	6	4	6

註： HA 赤血球凝集反応値

4. RH 株豚免疫血清ならびに健康豚血清に対する各分離株の色素試験

農林省動物医薬品検査所から分与を受けた RH 株豚免疫血清 No. 13 (HA 1:4,096) を 16→4,096 倍まで健康豚血清 No. 194 (HA 1:16) を 4→64 倍までそれぞれ 4 倍希釈し、各希釈液に豚ひき肉からの分離株の増殖型となった 2 株 (GPM-86, 136)、新潟県において分離したと殺豚からの分離株 5 株 (STS-1, NTS-330, 25, 30 および NOS-1)、人からの分離株 (浅井) および RH 株の各体浮遊液を加え、かたのごとく色素試験を行ない各株の比較を行なった。その成績は第 4 表に示すごとく RH 株に比べ各分離株はすべて 1-2 管まで低い力価を示した。しかし不染虫体の百分率は RH 株と類似した傾向がみられた。なおと殺豚から分離した 1 株 (NOS-1) は 16 倍希釈で不染虫体数が 45 で、陽性と判定できない成

績を示し、再検でも同じような数値が得られた。

総括ならびに考察

Tp 症の動物から人への感染には種々の方法が考えられるが、現在のところ確実な感染経路は究明されていない。Dolman (1957) は Tp 症を経口感染する可能性のある食肉由来の人獣伝染病と記載しているが、実際に食肉を介して人が Tp に感染発病したという確実な報告は少ないようである。Kayhoe *et al.* (1957) は生肉を好んで食べた婦人がリンパ腺腫を伴って発病したことを報告し、Weinman (1956) は旋毛虫感染の検索を指標として調理不完全の豚肉を食べた人々を調べたところ、一般人に比して高い Tp 抗体保有率を示したことを報じた。わが国では都留ら (1962) が北海道で豚肉を食べたことによ

って Tp 感染を起こしたと思われる幼児の 1 例を報告している程度である。しかし Tp 抗体保有調査によると、田中 (宏) ら (1958) は新潟において食肉販売従業員のトキソプラスミン反応を行ない陽性率 40.0% を得、従業員数の長いものほど陽性率が高いことを報じ、また小林ら (1963) は東京都芝浦と畜場従業員について抗体調査を行ない色素試験 59.1%、トキソプラスミン反応 67.8% の高い陽性率を認め、獣肉の取り扱いが Tp 感染に関連があるかも知れないとした。一方、鈴木ら (1960) は全国各地から集めた 1,891 頭の豚血清について補体結合阻止反応を行ない 162 頭 (8.6%) の陽性率を得ているので、豚の Tp 抗体保有率は一般に高いものと推測される。Tp の人への感染要因についてはまだ不明のまま残されているが、少なくとも以上の事実は豚から人への感染経路に関心が払われなければならないことを示すものと考

る。

今回われわれは新潟県下で一般に市販されている豚のひき肉について Tp 保有状況を食肉衛生の立場から検討してみた。その結果、108 件中 14 件 (13.0%) に Tp 虫体が認められた。この成績は徳富らの東京都における一般市販豚小間切の 19.3%、田中 (英) らの大阪府下と畜場でと殺された豚の肉 12.5% とほぼ似た成績である。東京、大阪等ではほとんど全国から食肉用豚が集荷されているので、これらの事実は豚肉における Tp 保有状況が全国的に、しかもかなり高率であることを示すものと判断される。

小林ら (1963) はと畜場従業者の Tp の具体的な感染経路について食肉中の Tp 虫体、なかんずく Cyst が小さな肉片とともに作業中取扱者の手指に付着し、これがなんらかの機会にそのまま口に運ばれて経口的に感染したり、あるいは取扱者の手その他の皮膚面における創傷または粘膜部から遊離虫体が経皮的に侵入する可能性がある と推論した。さらにと畜場従業員は肉塊や内臓をかるく炭火を通して半焼きのまま食べる機会が多く、これが Tp 感染の可能性と密接な関係があると指摘した。また徳富ら (1963) は Tp 虫体を含む肉はと畜場から販売店を通り家庭に達するまで、その危険性は少しも衰えないことを指摘し、Tp 虫体は高温に対して抵抗力が低いので普通の調理を行なった場合、肉中の Tp 虫体は容易に死滅するが、調理の過程で汚染されたまな板、庖丁などを用いてサラダなどの生食用の食品を扱う際にそれらに小肉片が付着して摂食される可能性があり、食肉を介しての Tp 感染のおそれは主としてかかる食肉の調理過程におこり得ることを強調した。これらのことを考慮すれば、新潟県内で一般に店頭で販売されている豚ひき肉から約 13% に Tp が認められた本成績は、食肉衛生上はなほだ憂慮すべき事実と考えられる。

今回われわれが用いた豚ひき肉からの Tp の分離法は、花木・信藤らのトリブシン消化法によつた。また信藤 (1965) は慢性無症状感染動物からの Tp の分離は Cyst をねらつて実施するため消化法によらなければ目的を達することができないとし、消化した沈渣はマウスの腹腔内に接種して 1 月以上観察を続けるが、この方法ではマウスが発病することは一般に少ないと述べた。われわれの分離試験においても、5 匹のマウスに接種し 1 月間観察を行なったが、観察期間中に発病した例はなかつた。5 匹のうち 1-2 匹がへい死した例はあつたが、これらのマウスの死因は主として被検材料の細菌汚染が著しく抗

生剤の添加量不足を来たしたためと考えられ、へい死マウスの腹腔液の懸濁標本の鏡検でも Tp 虫体は認めることができなかった。

つぎに接種マウスの脳における Cyst の検出状況について考察すると、われわれは接種マウス 5 匹のそれぞれの脳から 1 枚 (カバーガラス 18 m/m) の圧偏標本を作つて鏡検し、計 5 枚の中における Cyst の有無によつて陽性率を求めた。陽性標本 1 枚の Cyst の数は 2-3 個のことが多く、また一部について行なつた接種マウスの色素試験では 1:16 以上陽性のものが 15.4% で Cyst の陽性率 (13.0%) よりやや高かつた。なお信藤はマウス血清の赤血球凝集反応が強陽性を示すときは、必ず Cyst がみられるから根気よく数回調べる必要があると述べた。本調査でも 1 匹のマウスの脳からの標本数を増すことによりさらに検出率が高くなる可能性を考慮しておかねばならないであろう。

豚ひき肉から分離した Cyst のマウス継代試験では、前述のごとく Cyst-Cyst で継代されるものと Cyst-増殖型とマウスに対し病原性を増すものがあつた。信藤は株によつて速かに増殖性を獲得するものと病原性の弱いものがあるが、現在の知識では抗原的に株間の差異を明瞭にすることは難しいとし、また消化法で分離した Cyst を作り易い株の中にはマウス継代を重ねても病原性の増強しないものがあり、その腹腔液に Tp の出現がほとんどみられない株もあると述べた。われわれの分離した Cyst 株も現在マウス 7 代に継代中であるが、腹腔液中には Tp を認めることはできなかった。なお Cyst を有するマウスの血清の色素試験では花木ら (1963) の成績と同様いずれも高い力価が認められた。

Cyst から増殖型になつた株については RH 株免疫豚血清を用いて色素試験を行なつてみたが、RH 株に比べ 1-2 管低い力価を示した。しかし、その不染虫体の率には RH 株と類似した傾向が認められた。石井らは豚横隔膜筋から分離した 3 株についてわれわれと同様の実験を行ない、RH 株と一致する成績を得たが、これらの差異は RH 株との本質的な力価の差というより継代数の違いと一応考えたい。

まとめ

食肉衛生の立場から新潟県内で市販されている豚ひき肉について Tp の分離を試みた。その成績を要約すると次の通りである。

1. 市販豚ひき肉 108 件について、トリブシン消化法により Tp の分離を試みたところ、14 件 (13.0%) から

Cyst が検出された。

2. 豚ひき肉 39 件の接種マウスの血清について色素試験を行なったところ、1:16 以上陽性のもの 6 件(15.4%)、これらのうち Cyst の検出されたものは 1:256 の 2 件および 1:1,024 の 1 件の計 3 件で、1:16 以下の力価を示すマウスからは検出されなかつた。

3. 分離株の継代試験では、7 株中 4 株は Cyst-Cyst で継代され、それらのマウス血清の色素試験は 1:64-1,024 といずれも高い陽性を示した。また 2 株は 3 代から増殖型となりマウスを斃し、残りの 1 株は 3 代で Cyst を検出することができなくなつた。

4. 分離株のうち増殖型の 2 株について、RH 株豚免疫血清を用い、RH 株、人からの分離株、と殺豚からの分離株などと色素試験による比較を行なったところ、RH 株に比べこれらの分離株はすべて 1-2 管あて低い力価を示した。しかし不染虫体の率は RH 株と類似した傾向がみられた。

稿を終るにあたり、検体の採取についてご協力をいただいた県下各保健所の食品衛生監視員に感謝し、また色素試験のための豚免疫血清および健康豚血清の分与をいただいた農林省動物医薬品検査所信藤謙蔵部長、佐藤卯三郎技官、花木琢磨技官に深謝する。

本研究の要旨は第 25 回日本寄生虫学会東日本大会において発表した。

文 献

- Dolman, C. E. (1957): The Epidemiology of Meat-born Diseases. Meat Hygiene, WHO Monograph Series No. 33.
- 深沢平・輿水馨・金井恒夫・原田泰治・中村常仁・斎藤和雄・菅谷重雄・徳富剛二郎 (1964): 食肉中におけるトキソプラズマ虫体の温度に対する抵抗力試験。日獣会誌, 17(1), 25-27.
- 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。日獣会誌, 23 (学会号), 509.
- 花木琢磨・佐藤卯三郎・西村豊・信藤謙蔵 (1963): 豚のトキソプラズマ病における皮内反応と原虫保有の関係および無症状感染豚から分離されたトキソプラズマ株の性状について。農林省動薬検年報, 3, 69-79.
- 石井俊夫・小林昭夫・小山力・熊田三由・小宮義孝・深沢平・斎藤正度・輿水馨 (1962): 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。寄生虫誌, 11(3), 184-191.
- 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.
- Jacobs, L., Remington, J. S. & Melton, M. L. (1960): A survey of meat samples from swine, cattle and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma*, J. Parasit., 46(1), 23-28.
- 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・輿水馨・斎藤和雄・小野田孝義・花木琢磨 (1963): トキソプラズマに関する研究 (5) 屠場従業員, 臓器組合従業員, ハム工場従業員および一般農民におけるトキソプラズマ抗体保有率について。寄生虫誌, 12(2), 126-135.
- 小林昭夫 (1963): トキソプラズマ症とその検査法。食品衛生研究, 13(6), 43-58.
- 輿水馨・深沢平・金井恒夫・原田泰治・中村常仁・斎藤和雄・菅谷重雄・徳富剛二郎・赤尾頼幸 (1963): と畜場でと殺に供される豚およびと畜場関係者におけるトキソプラズマ抗体の分布について。日獣会誌, 16(12), 460-464.
- 信藤謙蔵 (1963): 家畜のトキソプラズマ病……特に慢性感染豚の感染源としての意義について。モダンメディア, 9(12), 463-468.
- 信藤謙蔵 (1965): トキソプラズマ症とその診断。日本動物薬事協会シリーズ 1.
- 佐藤平二 (1959): トキソプラズマ症。日獣会誌, 12(11), 437-477.
- 佐藤平二 (1961): 人畜共通伝染病 (VII) 各論 6. *Toxoplasma* 症の検査法について。モダンメディア, 7(9), 449-455.
- 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 VI. 豚トキソプラズマ病の疫学的調査。水曜会記事, 9(5), 29.
- 鈴木恭・伊藤進午・藤田澤吉 (1961): 豚の *Toxoplasma* 病の抗体調査。家衛試年報, 43, 22-26.
- 田中英雄・高田季久・井関基弘・渋谷次郎・黒田春野・本吉一郎・木下喜雄 (1964): 豚トキソプラズマ症に関する研究 (1)。第 6 回日本熱帯医学会総会発表。
- 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育家族および食肉販売業者のトキソプラズミン反応。医学と生物学, 47(6), 238-242.
- 徳富剛二郎・深沢平 (1963): トキソプラズマ症と食肉衛生。モダンメディア, 9(12), 450-455.
- 徳富剛二郎・池上竹二 (1965): 一般市販豚肉からのトキソプラズマ分離成績。第 59 回日本獣医学会発表。
- 徳富剛二郎 (1965): トキソプラズマ病——とくに豚のトキソプラズマ病と公衆衛生——。日獣会誌, 18(9), 563-567.
- Weinman, D. & Chandler, A. H. (1956): Toxoplasmosis in man and swine. An investigation of the possible relationship. J. A. M. A., 161(3), 229-232.

Abstract

ISOLATION RESULTS OF *TOXOPLASMA GONDII* FROM THE
GROUND PORK MEAT ON THE MARKET

TAKESHI MAITANI

(Department of Medical Zoology, Niigata University School of Medicine)

MASANORI YOKOYAMA

Public Health Laboratory, Niigata-Ken

An isolation survey of *Toxoplasma gondii* from the ground pork meat on the market was made in Niigata Prefecture, 1964-1965, and the results summarized are as follows:

1) By means of Trypsin-digestion method *Toxoplasma gondii* was isolated from 14 out of 108 meat samples, and positive cases were all discovered as cyst-forms in brains of intraperitoneally inoculated mice.

2) Six out of 39 meat samples showed positive titers (1:16 or higher) in dye-test of inoculated mice sera, but cysts were only found from three of the highest which were 1:256 in two and 1:1024 in one.

3) Among seven strains isolated from the ground pork meat 2 strains were changed from cyst to proliferative forms during the serial passage in mice but 4 strains continuing in cyst forms, one strain exhausted at the 3rd generation.

4) Such two proliferative strains showed the nearly same characteristics as RH strain, porcine strains and human strain (ASAI) in dye-test using the RH immune porcine serum.

訂 正

寄生虫学雑誌第14巻第1号掲載の「寄生虫卵殺滅剤に関する研究」(久津見晴彦)において、68頁右段5行目は次の如く訂正します

(誤) 作用濃度 50 ppm (稀釈倍率は 20,000 倍)

(正) 作用濃度 25 ppm (稀釈倍率は 40,000 倍)