

温度処理アニサキス幼虫のダイコクネズミ に対する感染能力

橋 口 義 久

高知大学教育学部生物学教室

武 井 次 雄

福岡市飯倉

(昭和49年9月27日 受領)

近年、海産魚類やスルメイカ *Todarodes pacificus* に寄生し、Anisakidae に属するある種の幼線虫が、ヒトの主として胃腸壁へ移行迷入して、蜂窩織炎、膿瘍、肉芽腫などを生じた症例が報告され、アニサキス症として知られている。本症は主として *Anisakis* およびその近縁属の幼線虫によるものとされ、その分類形態ならびに人体への感染経路、さらには発症機序などについて、多くの知見が明らかにされつつある。また、本症の予防や治療面、あるいは免疫学的診断法などについても、種々の観点から追究されている。今回は、とくに本症の予防という立場から、その基礎的研究として、幼虫の温度処理による感染能力の問題を検討した。

これまでに、幼虫の温度処理、各種調味料ならびに化学薬品処理を試み、アニサキス幼虫の抵抗性を、主に *in vitro* で検討した報告はかなり多い(山口ら, 1965; 福永ら, 1965; 安間, 1965; 川島ら, 1965; 山口, 1966; 福永・平尾, 1966; 浜島・川島, 1966; 川島・浜島, 1966; 山田・西村, 1967; Asami and Inoshita, 1967, 五藤ら, 1968)。しかし、幼虫を一定の温度条件下で処理したのち、その幼虫を実験動物へ投与し、アニサキス幼虫の感染能力を *in vivo* で検討した例は、山口(1966)、福永・平尾(1966)、山田・西村(1967)、Asami and Inoshita (1967) らの報告があるにすぎない。

そこで、今回は種々の温度で処理されたアニサキス幼虫を、ダイコクネズミ *Rattus norvegicus albinus* に投与し、感染の成否を追究したので、その結果について述べる。また、ネズミ体内における幼虫の回収部位や、生存期間についても、若干の興味ある知見が得られたので、それらの成績についても併せて報告する。

材料および方法

実験に用いたアニサキス幼虫は、マサバ *Scomber japonicus* とマアジ *Trachurus japonicus* から採取されたもので、すべて *Anisakis* I型に属する幼虫である。これらの幼虫のうち、活発に運動するもの900個体を選別し、実験に用いた。また、ダイコクネズミは、S. D. 株の雄17頭、雌28頭の計45頭(体重69~254g)で、これらのネズミには、オリエンタル社の固型飼料(MF)と水を毎日与えた。

ダイコクネズミ1頭あたりの投与幼虫数は、いずれの温度処理群(-15°C, -5°C, 2°C, 28°C, 39°Cおよび65°C)においても、20個体である。また幼虫の温度処理時間は、-15°Cで60分、120分および150分、65°Cで1分、5分、7分および10分であり、その他の温度群ではいずれも60分のみとした。なお、幼虫の温度処理に際しては、-15°C、-5°Cでは冷凍庫を、2°Cでは冷蔵庫を、その他の温度については孵卵器を用いた。まず水道水20mlを入れたシヤーレを各温度下に置き、一定温度に達したのち幼虫を投入した。この場合、-15°Cおよび-5°Cの温度では、凍結した水道水上に幼虫を置いた。これら各温度条件下の幼虫を、処理後、ただちに水道水(室温, 14°C)中にもどし、ダイコクネズミに経口投与した。対照群としては、マサバおよびマアジから分離したアニサキス幼虫20個体ずつを、室温下で、ただちにダイコクネズミへ投与した。

アニサキス幼虫の経口投与にあたっては、細いビニール管を備えた注射筒を用い、少量の水道水と共に幼虫を、ネズミの胃腔内へ確実に注入した。その後、ネズミを4日、5日、7日、12日目に剖検し、アニサキス幼虫

の回収部位、ならびに寄生虫体数などについて調べた。見出された幼虫については、実体顕微鏡下で、幼虫の運動性の有無により生死を判定した。

結 果

1. アニサキス幼虫のダイコクネズミにおける回収状況

種々の温度条件下で処理された幼虫を、ダイコクネズミに投与し、得られた幼虫の回収状況は、Table 1 に示

されたとおりである。すなわち、 -15°C で120分あるいは150分処理されたアニサキス幼虫では、経口投与4日後のネズミ剖検時に、これが全く見出されなかつた。しかし、同温の60分処理では投与5日から12日後に、18.3 (10~30)%の割合で生存虫体が見出された。温度 -5°C におけるアニサキス幼虫の60分処理では、平均回収率は23.3 (10~30)%でやや高くなつた。また、 2°C では33.3 (25~50)%の値を示し、対照群での値26.0 (20~35)%よりも、むしろ高くなる傾向にあつた。一方、 28°C お

Table 1 Results of experimental inoculation of the albino rats with 20 *Anisakis* larvae exposed to the various temperatures

Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Rat no.	No. of rats used	Time of exposure (minutes)	Days after inoculation	No. of larvae inoculated	No. of larvae recovered (%)	Average recovery rate (%)
-15	1	3	60	5	20	6 (30)	18.3
	2		60	7	20	2 (10)	
	3		60	12	20	3 (15)	
	4-8	5	120	4	100	0	0
	9-13	5	150	4	100	0	0
-5	14	3	60	5	20	6 (30)	23.3
	15		60	7	20	6 (30)	
	16		60	12	20	2 (10)	
2	17	3	60	5	20	5 (25)	33.3
	18		60	7	20	10 (50)	
	19		60	12	20	5 (25)	
28	20	3	60	5	20	2 (10)	18.3
	21		60	7	20	7 (35)	
	22		60	12	20	2 (10)	
39	23	3	60	5	20	2 (10)	20.0
	24		60	7	20	3 (15)	
	25		60	12	20	7 (35)	
65	26-28	3	1	4	60	9 (15)	15.0
	29-32	4	5	4	80	1 (1)	1.3
	33-37	5	7	4	100	0	0
	38-40	3	10	4	60	0	0
Control*	41	5		4	20	5 (25)	26.0
	42		4	20	4 (20)		
	43		5	20	6 (30)		
	44		7	20	7 (35)		
	45		12	20	4 (20)		

* The larvae detected were immediately inoculated in to the albino rats.

よび 39°C で60分処理された幼虫の場合、ダイコクネズミに対する感染能力は、ほぼ同様なものと考えられ、幼虫の回収率はそれぞれ18.3 (10~35) %および20.0 (15~35) %を示した。本実験で最も高い温度群の 65°C では、幼虫は 1分、5分、7分および10分という短時間の処理を受けた。しかし、7分および10分の処理では経口投与 4日後に、虫体は全く見出されず、1分処理で60中9個体(15.0%)、5分処理で80中1個体(1.3%)の幼虫が回収されたにすぎない。

このように、アニサキス幼虫を温度処理したのち、ダイコクネズミへ経口投与し、4日後の剖検ですでに幼虫が全く回収されなかつた温度群は、-15°Cでの120分お

よび150分処理、65°Cでの7分および10分処理であつた。その他の温度処理では、65°Cでの1分および5分処理を除き、いずれも幼虫投与後12日まで、生存虫体が認められた。

2. アニサキス幼虫のダイコクネズミにおける回収部位ならびに生存状況

ダイコクネズミに、900個体のアニサキス幼虫を経口投与したのち、4日から12日後にネズミを剖検し、得られた虫体の総数は対照群を含めて、104個体であつた。これらの幼虫のネズミ体内における回収部位は、Table 2に示されたとおりである。すなわち、最も多くの幼虫

Table 2 Numbers of *Anisakis* larvae found in the albino rats inoculated with 20 larvae each

Temperature (°C)	Rat no.	Days after inoculation	Abdominal cavity (free)	Abdominal wall	Mesentery	Inner wall of stomach	Outer wall of stomach	Greater omentum	Spleen	Liver	Fat	Genital organ	Diaphragm	Pleura
-15	1	5		3	1			1						1
	2	7			2									
	3	12								1		2		
-5	14	5	3		3									
	15	7			2			1		1		2		
	16	12									2			
2	17	5			2(1D*)	2(1D)							1	
	18	7			3(2D)		2			1		4		
	19	12			1					1		2	1	
28	20	5		1	1									
	21	7	3		1		1					2		
	22	12					1					1		
39	23	5			2									
	24	7			2						1			
	25	12			1(D)		2(1D)					4		
65	26	4			2		1		1		1	2		
	27	4			2									
	28	4									1			
Control	41	4			2				1			2		
	42	4			1		1					2		
	43	5			4				2					
	44	7	2			1				1		2		
	45	12			1				1		1	1	1	
Total			8	4	33	3	8	3	4	5	6	27	2	1

* D: Dead larva

が見出されたのは、腸間膜に穿入した33個体 (32%) であり、ついで生殖器官 (睾丸, 副睾丸, (貯)精囊, 摂護腺, 卵巣, 子宮, 脂肪組織) へ穿入した27個体 (26%) で、これらの部位への幼虫移行が主であった。その他、腹腔内遊離ならびに胃壁外面穿入, 腹腔内の脂肪体穿入, 肝臓穿入, 腹壁ならびに脾臓穿入, 胃壁内面ならびに大網穿入, 横隔膜穿入, そして肋膜穿入の順に、回収された幼虫数は減少する傾向にあった。

一方、アニサキス幼虫のダイコクネズミ体内での生存状況は、Table 2 で明らかなように、死虫体として見出された幼虫は、2°Cでの処理による5日後の2個体、7日後の2個体、そして39°Cでの処理による12日後の2個体、合計6個体のみであった。残る98個体の幼虫は、すべて生存しており、幼虫投与後12日目のネズミ剖検では、23個体の幼虫が見出されたが、このうち21個体は生存し、活発に運動していた。

考 察

1. アニサキス幼虫の感染能力

種々の温度条件下で処理されたアニサキス幼虫の回収率から、その感染能力を検討してみると、60分処理では2°Cにおいて、最も高い回収率が得られた。この値は対照のそれよりもやや高い傾向にあり、2°Cにおける温度処理では、幼虫は比較的強い感染能力を保持しうるものと考えられる。また、*in vitro* で2°Cに置かれたアニサキス幼虫は、水道水中で50日後に至つても、なお運動性を有し、しかもイヌに対する感染能力を保持するといわれている(山口, 1966; 福永・平尾, 1966)。他の温度での60分処理においても、アニサキス幼虫は18.3~23.3%の割合で、ダイコクネズミに対する感染能力を有し、とくに-15°Cの温度に対しても抵抗性を示したことは注目される。一方、-15°Cで120分および150分処理されたアニサキス幼虫は、ダイコクネズミに対する感染能力の著しい低下を示すものと考えられ、幼虫投与4日後に剖検されたネズミでは、虫体は全く見出されなかつた。しかし、*in vitro* でのアニサキス幼虫は、同温で4時間処理後もなお運動性を有するという(福永・平尾, 1966)。このことは、幼虫の運動性保持と感染能力の有無という点で興味深い問題である。また、4°Cの冷蔵庫に魚肉と共に保存されたアニサキス幼虫は、生存していても、テンジクネズミ *Cavia cobaya* に対する感染能力は急速に低下し、20日間の保存では、この実験動物に感染した幼虫は、全く見出されないという

(Asami and Inoshita, 1967)。

一方、65°Cでは1分間の処理により、幼虫の回収率は平均15.0%となり、5分では1.3%の低率を示した。さらに、この温度で7分、10分の処理では、幼虫は全く見出されなかつた。このように、アニサキス幼虫は高温に対し、著しく弱い抵抗性を示す傾向にある。また、*in vitro* で70°C以上の熱湯処理を施すと、幼虫は瞬間的に死滅するといわれている(山口ら, 1965; 山口, 1966)。安間(1965)によれば、60°Cの温度では *in vitro* で5分間の処理により、アニサキス幼虫は死滅し、これ以上の温度になると、ほとんどの幼虫は直ちに死滅するという。今回の著者らの実験では、65°Cで5分および7分処理されたアニサキス幼虫は、僅かながら運動性を有した。しかし、これらの幼虫のダイコクネズミに対する感染能力は、すでに失なわれたものと考えられ、上述のように、その平均回収率はそれぞれ、1.3%、0%を示した。

以上のように、アニサキス幼虫を-15°Cで120分および150分、また65°Cで7分および10分処理すると、ダイコクネズミでの幼虫回収率は0となることが証明された。しかし、65°Cでの1分および5分処理では、幼虫はなおネズミに対する感染能力を有したことは注目される。また、-5°Cおよび2°Cでの60分処理では、ダイコクネズミへの経口投与後12日に至つても、幼虫の生存は可能であることが知られた。

2. ダイコクネズミ体内におけるアニサキス幼虫の移行と生存状況

今回の温度処理によるアニサキス幼虫のダイコクネズミ体内での回収部位は、腸間膜、生殖器官その他多くの臓器におよび、幼虫の大部分は、これらの臓器に穿入した状態で見出された。これまでに、アニサキス幼虫の実験動物体内での移行状況については、かなり多くの研究成果が報告されている(Myers, 1960; 浅見ら, 1965; 横川ら, 1965; 西村ら, 1966; 奥村, 1967; 岩田ら, 1968)。それによると、アニサキス幼虫は、実験動物の腹腔内のあらゆる臓器に穿入しうるという。また、今回の実験では、ダイコクネズミの横隔膜ならびに肋膜に穿入していた幼虫が認められた。このような例は、従来、全く報告がなく、アニサキス幼虫は、少なくともダイコクネズミにおいて、横隔膜を穿通して胸腔に侵入することはないものと考えられていた(奥村, 1967)。

胃壁内面に穿入していた虫体は、回収された幼虫総数104個体のうち、わずかに3個体 (2.9%) にすぎない。

これは、今回のダイコクネズミ剖検が、幼虫投与4日後から行なわれたことによるものと考えられる。ダイコクネズミにアニサキス幼虫を感染させて、18時間から4日後に見出される虫体の多くは、胃壁内面に深く穿入しつつあるものや、すでに腹腔内へ移行して、大網小網あるいは腹壁内面に穿入しているものが認められるという(横川ら, 1965)。また、イヌ *Canis familiaris* に感染したアニサキス幼虫は、1時間から48時間後の剖検によると、27.7%が胃壁穿入、5.2%が胃壁穿通、2.6%が腸壁穿入の状態で見出される(菊地ら, 1969)。一方、このようなアニサキス幼虫の移行部位に対し、寄生魚種により、ダイコクネズミに対する感染態度が異なり、胃壁に長く留るものと、そうでないものが存在するという意見もみられる(西村ら, 1966; 田中ら, 1967; 奥村, 1967)。今回の実験では、マサバやマアジの区別なく、見出されたアニサキスI型幼虫を、ダイコクネズミに投与し、4日後に剖検したところ、幼虫のほとんどは、すでに胃壁あるいは腸壁を穿通していた。

以上のように、回収されたアニサキス幼虫104個体のうち、60個体(58%)は腸間膜ならびに生殖器官に穿入して見出された。このほか、腹腔内の多くの臓器や横隔膜、肋膜にもアニサキス幼虫は穿入することが確認された。また、遊離の状態で見出された虫体は、わずかに8個体(8%)だけであり、他の幼虫はいずれも穿入していた。このことは、アニサキス幼虫の生態、なかでもダイコクネズミ体内での臓器穿入性という面から注目される。

次に、ダイコクネズミ体内でのアニサキス幼虫の生存期間は、今回の場合、すべてのネズミが幼虫投与後4日から12日に剖検されたため、最長の生存期間は12日間ということになる。しかし、12日後に回収された幼虫23中21個体は生存していたことから、アニサキス幼虫は、ダイコクネズミ体内で12日以上にわたって、生存可能であるといえる。また、アニサキス幼虫は、ダイコクネズミ体内で20日後まで生存するという報告があり(奥村, 1967)、著者ら(未発表)もマサバおよびマアジから得た幼虫を、ダイコクネズミに投与し、25日後に生存虫体を見出している。イヌおよびウサギ *Oryctolagus cuniculus domesticus* に、アニサキス幼虫を投与すると、前者の動物では15~20日、後者では10~15日の生存がみられたという(白谷・新野, 1965; 白谷, 1965, 1966)。また、ハトにおけるアニサキス幼虫の生存期間は、6日間とされ、この場合、幼虫の多くは嗉嚢内壁に穿入して見出され、腸間膜に穿入した虫体は少なかった(橋口・

陳, 1967)。これら数種動物における実験成績を比較してみると、ダイコクネズミでのアニサキス幼虫は、最も長期間にわたって生存可能といえる。奥村(1967)はテンジクネズミ、ウサギおよびダイコクネズミに、アニサキス幼虫を感染させた結果から、ダイコクネズミの方が、感染率も高く幼虫の検索にも便利であると指摘している。

以上の成績から、 -15°C あるいは 65°C の温度で、アニサキス幼虫を一定時間処理すれば、その感染能力を消失させることができるものと結論づけられる。しかし、 -5°C ~ 39°C の温度範囲における処理では、幼虫はかなり強い感染能力を有することが確認された。これらの事実は、アニサキス症の予防的見地から、極めて注目される。

要 約

マサバおよびマアジから分離された *Anisakis* I 型幼虫を、 -15°C 、 -5°C 、 2°C 、 28°C 、 39°C および 65°C の温度で、一定時間処理したのち、幼虫をダイコクネズミに経口投与し、虫体の感染能力を調べた。また、その際にアニサキス幼虫のネズミ体内での移行や生存についても、興味ある知見が得られたので、それらの結果についてのべた。得られた成績は次のとおりである。

1) 温度 -15°C で60分処理されたアニサキス幼虫は、感染能力を保持したが、120分および150分の処理では、幼虫は感染能力を失なうものと考えられ、虫体は全く回収されなかつた。また、 65°C で1分処理された幼虫は、ダイコクネズミに対し感染能力を有した。しかし、同温で5分間の処理をすると、ほとんどの幼虫は感染能力を失ない、7分および10分の処理では、幼虫の回収率0%を示した。

2) 今回、 65°C 以外の温度群で60分の幼虫処理を試みたところ、 2°C での回収率は対照群のそれよりも、いくぶん高い値を示し、この温度では、幼虫は強い感染能力を保持することが知られた。また、 -15°C 、 -5°C 、 28°C および 39°C での60分処理においても、アニサキス幼虫は平均18.3~23.3%の回収率を示し、感染能力を有した。

3) 今回のダイコクネズミにおけるアニサキス幼虫の回収部位は、腸間膜および生殖器官が主で、見出された幼虫104個体のうち、60個体(58%)はこれらの部位に穿入していた。その他、アニサキス幼虫はダイコクネズミ腹腔内のあらゆる臓器に穿入しうることが確認された。

さらに、横隔膜および肋膜に穿入した幼虫が、今回はじめて見出された。

4) 今回の温度処理によるアニサキス幼虫のダイコクネズミ体内での生存期間は、少なくとも12日以上に及ぶものと推定された。すなわち、12日後のネズミ剖検では23中2個体のみが、死虫体として認められ、他の幼虫はすべて運動性を有し生存していた。

以上のことから、 -15°C での120分および150分処理、ならびに 65°C での7分および10分処理を試みれば、ダイコクネズミに対するアニサキス幼虫の感染能力を消失させうるものと考えられる。しかし、 $-5\sim 39^{\circ}\text{C}$ の温度範囲における今回の処理では、幼虫は感染能力を保持し、経口投与後12日目においても、生存虫体が見出され、アニサキス症の予防的見地から注目された。

本研究の一部は、九州大学医学部寄生虫学教室で行なわれた。現九州大学名誉教授宮崎一郎博士に感謝の意を表す。また、実験に御協力頂いた元九州大学医学部学生劉会中氏に感謝する。

文 献

- 1) Asami, K. and Inoshita, Y. (1967) : Experimental anisakiasis in guinea pigs; Factors influencing infection of larvae in the host. *Japan. J. Parasit.*, 16, 415-422.
- 2) 浅見敬三・堀見利昌・井下好幸(1965) : アニサキス子虫の動物感染実験. *寄生虫誌*, 14, 360.
- 3) 安間征雄(1965) : アニサキス型線虫の生物学的研究. *寄生虫誌*, 14, 639-640.
- 4) 福永正子・平尾芳行(1966) : Larva migrans の研究(21) *Anisakis* 様幼虫の低温に対する抵抗力について. *寄生虫誌*, 15, 351.
- 5) 福永正子・山口富雄・松岡義雄(1965) : Larva migrans の研究(16) *Anisakis*-type 幼虫に対する各種薬剤の直接殺虫効果. *寄生虫誌*, 14, 368.
- 6) 五藤 基・長瀬啓三・細井達夫・岡藤達夫・篠田 寛(1968) : アニサキスの生体内における行動. *寄生虫誌*, 17, 268.
- 7) 橋口義久・陳 敏華(1967) : ハトに対するアニサキス幼虫の感染実験. *寄生虫誌*, 16, 589.
- 8) 浜島房則・川島健治郎(1966) : アニサキス幼虫の解糖および呼吸代謝に対する Allyl-および phenyl-isothiocyanate の作用. *寄生虫誌*, 15, 348.
- 9) 岩田光司・西村 猛・竹村恒雄・浦野栄一・小田富雄(1968) : 和歌山県における *Anisakis* 症

の研究—臨床病理学的考察—. *和歌山医学*, 19, 59-67.

- 10) 川島健治郎・浜島房則(1966) : Allyl-および phenyl-isothiocyanate の *Anisakis* 属幼虫に対する殺滅効果の研究. *寄生虫誌*, 15, 507-510.
- 11) 川島健治郎・中村武子・村松京子・江川桂子・横山浩子(1965) : 海産魚類に寄生する *Filocapsulariinae* 亜科線虫に関する研究(3) アジとサバに普通に見出される *Filocapsularia*, *Raphidascaris* 属線虫の数種調味料に対する抵抗力. *寄生虫誌*, 14, 655.
- 12) 菊地 滋・平林春雄・小杉国雄・林 滋生(1969) : アニサキス I 型幼虫とコントラシーカム 幼虫の実験動物に対する感染実験. *横浜医学*, 20, 241-252.
- 13) Myers, B. J. (1960) : The migration of *Anisakis*-type larvae in experimental animals. *Canadian Jour. Zool.*, 41, 147-148.
- 14) 西村 猛・奥村利夫・森下吉数・稲本孝夫(1966) : *Anisakis*-type worm の研究(9) 各種魚類より得た *Anisakis* 幼虫のラットにおける感染態度. *寄生虫誌*, 15, 350.
- 15) 奥村利夫(1967) : *Anisakis* 症の実験的研究. *阪市大医誌*, 16, 465-499.
- 16) 田中英雄・奥村利夫・稲本孝夫・西村 猛(1967) : *Anisakis*-type worm の研究(9) 3種の魚類より得た *Anisakis* のラットにおける短時間後の感染態度. *寄生虫誌*, 16, 287-288.
- 17) 白谷直純(1965) : Larva migrans の研究(17) *Anisakis*-type 幼虫を投与したウサギの組織病変. *寄生虫誌*, 14, 620.
- 18) 白谷直純(1966) : アニサキス症の実験的研究—海産魚から得られたアニサキス様幼虫に起因する組織病変について(Larva migrans の研究3). *四国医誌*, 22, 486-503.
- 19) 白谷直純・新野和夫(1965) : Larva migrans の研究(14) *Anisakis*-type 幼虫による感染実験. *寄生虫誌*, 14, 341.
- 20) 山口富雄・白谷直純・平尾芳行・松岡義雄(1965) : Larva migrans の研究(13) 海産魚における *Anisakis*-type 幼虫の寄生状況と抵抗力について. *寄生虫誌*, 14, 352-353.
- 21) 山口富雄(1966) : 寄生性肉芽腫—感染と予防—. *寄生虫誌*, 15, 285-286.
- 22) 山田源二・西村 猛(1967) : *Anisakis* 症の予防に関する基礎的研究 1) 低温の *Anisakis* 幼虫感染能に及ぼす影響. *寄生虫誌*, 16, 567.
- 23) 横川宗雄・吉村裕之・辻 守康(1965) : アニサキス様幼虫感染症の実験的研究(1) 小動物への同幼虫感染と免疫反応. *寄生虫誌*, 14, 606-607.

Abstract

EFFECTS OF VARIOUS TEMPERATURES ON THE INFECTIVITY
OF *ANISAKIS* LARVAE TO ALBINO RAT

YOSHIHISA HASHIGUCHI

(*Biological Laboratory, Faculty of Education,
Kochi University, Kochi, Japan*)

AND

TSUGIO TAKEI

(*Iikura, Fukuoka City, Fukuoka, Japan*)

From the preventive point of view of the anisakiasis, the authors tried the experimental inoculation to albino rats with the *Anisakis* larvae kept under the various temperatures; the larvae used were collected from *Scomber japonicus* and *Trachurus japonicus*. Up to date, the resistance of the *Anisakis* larvae had been mainly examined *in vitro*, based on the motility of the larvae exposed to various temperatures, seasonings and chemicals. In the present study, on the basis of the recovery rates of the worms from the albino rats, the infectivity of the *Anisakis* larvae was discussed; the larvae were kept at -15°C , -5°C , 2°C , 28°C , 39°C and 65°C for the certain times. The results (Tables 1 and 2) obtained were summarized as follows:

1) The *Anisakis* larvae exposed to -15°C for 60 minutes showed a infectivity to the rats, showing the recovery rate of 18.3 (10-30)%, while the exposure to the same temperature for 120 and or 150 minutes deprived the larval viability. At 65°C the larvae were recovered in 15.0% and 1.3% under the exposure time one and five minutes, respectively. But no worms were recovered in the exposure at the same temperature for seven or 10 minutes.

2) The larvae kept at 2°C for 60 minutes showed a comparatively high infectivity to the rat, however no significant differences were recognized in the infectivities of the larvae exposed to -15°C , -5°C , 28°C and 39°C for 60 minutes.

3) Inoculating the 900 larvae to the albino rats, the larvae recovered were 104 in all, of which 33 larvae (32%) were found in the mesenteries and 27 (26%) were recongized in the genital organs; of the remaining larvae 41 (39%) were detected from the other organs in the rat peritoneal cavity and only three larvae (3%) were found in the diaphragm and pleura.

4) At the autopsy of the rats 12 days after the inoculation, only two out of 23 larvae were found to be dead. This fact suggests that the *Anisakis* larvae could survive for a period more than 12 days in the albino rats.

From the results mentioned above, it was suggested that the treatment of the *Anisakis* larvae with -15°C for 120 or 150 minutes and with 65°C for seven or 10 minutes could deprive the larval viability to the albino rats.