

病例報告：石虎衛氏肺吸蟲感染症

涂央昌*¹、莊宇菁¹、陳彥彰¹、黃子鳴¹、林桂賢²、林育秀²、詹芳澤²、許偉誠¹、胡書佳¹

¹ 農業部獸醫研究所

² 農業部生物多樣性研究所

摘要 *Paragonimus* 屬的吸蟲已知有超過 30 種以上可感染人類及動物，為一普遍存在全世界的重要食媒性人畜共通傳染病，主要透過食入蟹類及淡水螯蝦而感染，中國大陸及東南亞較常有病例報導，此類吸蟲中又以衛氏肺吸蟲 (*P. westermani*) 最為常見。本病例報告描述石虎感染衛氏肺吸蟲的肉眼病變、組織病理學特徵及分子生物學檢測結果。肺臟肉眼下有多發的氣腫、塌陷及直徑約 1-2 公分的凸起結節，結節呈出血及堅實觸感。切面下，結節內可見成對帶有吸盤之卵圓形吸蟲。鏡檢下，肺臟呈現出血性壞死性肉芽腫性肺炎，肉芽腫病灶區內有成對的吸蟲及數量不等的蟲卵。經分子生物學檢測及序列分析，確認為衛氏肺吸蟲。此為臺灣首次發現的石虎衛氏肺吸蟲感染症。

關鍵詞： 衛氏肺吸蟲、肺臟、病理、分子生物學檢測、石虎

緒言

Paragonimus 屬 (Trematoda: *Paragonimus*) 吸蟲大部分都可感染人類及哺乳類動物，主要引起肺吸蟲病 (lung fluke disease)，故又稱 paragonimiasis，為重要的食媒性人畜共通傳染病 (food-borne zoonotic disease) [5, 11]。人類感染主要的途徑是食入未適當處理的淡水甲殼類動物，主要是蟹類或淡水螯蝦，或食入保幼宿主 (paratenic host) [1, 11]。

全世界超過 50 多種的 *Paragonimus* 已被鑑定，其主要分佈在亞洲，其中以中國最多 [11, 12]。依據 2015 年世界衛生組織統計，每年約有 100 萬人受到感染，主要發生在中國、日本及韓國 [11, 12]。在亞洲感染人的 *Paragonimus* 種別中，最多的報告依序為 *P. westermani*、*P. heterotremus*、*P. skrjabini* / *P. miyazakii*。*P. westermani* 主要發生在日本、韓國、臺灣、中國及菲律賓；*P. heterotremus* 在南亞和東南亞國家，例如印度、斯里蘭卡、泰國、越南等；*P. skrjabini* 和 *P. miyazaki* 在中國和日本 [11, 12]。

Paragonimus 的生活史需要兩段中間宿主，第一中間宿主為淡水螺類，第二中間宿主為淡水蟹類及螯蝦 [1, 11]。哺乳動物為終宿主 (definitive host)，特別是人類、貓科和犬科動物，大多是食入含有囊蚴 (metacercaria) 的第二中間宿主而感染，而野生貓科和犬科動物亦能通過捕食野豬或其他感染 *Paragonimus* 的保幼宿主而感染 [1, 11]。囊蚴被保幼宿主食入後，並不成長為成蟲，而是在組織中 (尤其是肌肉組織) 持續維持幼蟲階段，直到保幼宿主被其他動物食入後，始造成感染 [11]。囊蚴在終宿主的腸道中，會透過移行 (migrate) 穿過腸壁進入腹腔及胸腔，最後進入肺臟。移行過程中，會造成出血性嗜酸性纖維素性胸膜炎的小病灶或癒合成小的臍樣斑疤 (umbilicated scars)，蟲體在肺臟成熟，並且形成包囊 (cyst) 及引起化膿性肉芽腫性炎症反應 [3]。成蟲產卵於小支氣管/細支氣管內，並經氣管支氣管樹 (tracheobronchial tree) 隨痰液經咳嗽由口吐出或吞入經糞便途徑排出 [3]，環境中的蟲卵孵化

* 抽印本索取作者
農業部獸醫研究所

後形成毛動蚴蟲 (miracidia)，並寄生於第一中間宿主 [11]。

多種的食肉性或雜食性 (omnivorous) 動物已被發現為自然界的最終宿主，如老虎 (*Panthera tigris tigris*) [4]、貂 (*Martes melampus melampus*) [6]、黃鼠狼 (*Mustela itatsi* and *M. sibirica coreana*) [6]、日本獾 (*Meles anakuma*) [6]、日本狸 (*Nyctereutes procyonoides*) [6]、水鼬 (*Musielia vison*) [9]、臭鼬 (*Mepizitis mephitis*) [9]、紅狐 (*Vulpes vulpes*) [9]、郊狼 (*Canis latrans*) [9] 等。北美地區野生動物盛行的 *Paragonimus* 主要為 *P. kellicotti*，感染的病變與亞洲盛行的 *P. westermani* 同為肺炎病變 [9]。

石虎 (*Prionailurus bengalensis chinensis*) 感染衛氏肺吸蟲的病例在臺灣尚未有文獻報告，本病例報導石虎感染衛氏肺吸蟲的肉眼病變、組織病理學特徵及分子生物學檢測結果。

病例來源

本石虎病例為發現於苗栗縣三義鄉縣道之路死動物。

外觀檢查

送檢石虎體重 1.7 公斤，去除皮毛後的吻 - 肛距離量測約 47 釐米 (cm)，尾長約 26 釐米。

外觀體態嚴重消瘦 (體態評分 = 1/5)，肋骨及脊椎的脊突明顯。

肉眼病變

剖檢可見肋間肌肉含量少，無明顯皮下及內臟脂肪 (圖 1)。肺臟有多發氣腫、塌陷及直徑約 1 - 2 釐米的凸起結節，該等結節呈現出血及堅實觸感 (圖 2、3)；結節的切面內，可見兩隻大小約 5 × 3 毫米 (mm) 呈扁平卵圓形具有吸盤之吸蟲 (圖 4)。其餘內臟無明顯病變。

組織病理學檢查

各臟器經 10% 中性福馬林固定後，組織進行修整、脫水、石蠟包埋及切片，再進行蘇木紫 - 伊紅常

規染色，供組織病理學判讀。

肺臟：肺實質內可見多發結節狀空腔 (cavitation)，空腔內含有成對的成年吸蟲，約 3 - 5 × 5 - 7 毫米 (圖 5、6)，其周圍為不等厚度的纖維結締組織所包被，其外則有不等嚴重度的肉芽腫性炎症反應，以及大量嗜酸性球與吞噬有血鐵素的巨噬細胞 (hemosiderin-laden macrophage) 的浸潤。成年吸蟲具有口吸盤 (oral sucker)，表皮 (tegument) 表面帶有棘狀突起 (surface spines)，實質組織呈海綿樣 (spongy parenchyma)，表皮下層 (subtegument) 含有無數呈嗜酸性的球狀卵黃物質 (eosinophilic globular yolk material) 的卵黃腺 (vitellaria)，兩個盲腸 (intestinal caeca)、睪丸 (testis)，子宮 (uterus) 內有無數的蟲卵，以及缺乏體腔 (body cavity) 等特徵 (圖 7)。包被有吸蟲的結節外肺實質區，呈現肺泡塌陷、出血、單核炎症細胞浸潤，並可見多發數量不等的蟲卵聚集區，蟲卵具有黃棕色的厚殼且形狀呈扭曲變形或破裂樣 (distorted or fractured shell)，蟲卵大小約 30 x 56 微米 (μm)，蟲卵周圍有大量巨噬細胞、淋巴球、嗜酸性球、嗜中性球及纖維母細胞 (圖 8、9、10)。此外，細支氣管腔及其周圍的肺泡有大量嗜中性球浸潤，此化膿性支氣管性肺炎病灶區內亦可發現蟲卵 (圖 11、12)。

肝臟：肝小葉的中央靜脈區呈現嚴重鬱血且肝細胞呈解離樣 (dissociation) (圖 13、14)。

小腸：腸腔內可見具有體腔、polymyarian-ceolomyarian muscle、消化道含單核腸細胞 (uninucleated intestine cell)、生殖腺、子宮含無數蟲卵及蟲卵的卵殼外有一層凹凸不平的蛋白質膜等特徵的線蟲，依據蟲體及蟲卵的特徵，推斷為蛔蟲 (圖 15、16)。

微生物學檢測

分子生物學檢測

利用聚合酶鏈反應 (polymerase chain reaction, PCR) 檢測吸蟲之核酸，吸蟲的引子參考 Prasad 等人發表針對 ITS2 (ribosomal DNA) 基因片段所設計之引子 (3S : 5'-GGTACCGGTGGATCAC

TCGGCTCGTG-3' ; A28 : 5'-GGGATCCTGGTTAGTG GGATCCTGGTTAGTTTCTTTTCTCCGC-3') [8] 及 Routtu 等人發表針對 18S rDNA 基因片段所設計之引子 (C : 5'-ATGGCTCATTAATCAGCTAT-3' ; A : 5'-TGCTTTGAGCACTCAAATTTG-3') [10] 進行增幅。

針對由吸蟲增幅出的 ITS2 及 18S rDNA 專一性基因片段產物進行定序，並與 NCBI 基因資料庫進行 BLAST 比對，結果顯示本病例之基因片段與基因庫之 *P. westermani* 基因序列 (OP081045) 相似度高達 99.78% (ITS2 rDNA) 及 100% (18S rDNA)。

細菌分離及鑑定

肺臟組織以血液培養基及 MacConkey agar 進行細菌分離，分離到的細菌以 VITEK[®] 2 COMPACT 微生物生化性狀鑑定系統進行細菌鑑定。結果顯示，肺臟的分離菌屬 *Burkholderia cepaciae* group。

討論

衛氏肺吸蟲在臺灣石虎目前尚未有病例報告，本病例為臺灣動物路死觀察網 (路殺社) 於苗栗縣三義鄉縣道拾獲之路死動物，送至本所進行例行性病理學診斷及死因探討，最終診斷為衛氏肺吸蟲感染合併急性細菌性支氣管肺炎。

本病例最顯著的肉眼病變是在肺臟有多發凸起結節，結節呈現出血及堅實觸感，結節的切面下含有兩隻呈扁平卵圓形且具有吸盤之吸蟲。在組織學下，結節區的肺臟實質呈現出血性壞死性肉芽腫性肺炎，肉芽腫病變分布於被不等厚度纖維結締組織所包被的成對吸蟲成蟲外圍，在肺實質內亦有因蟲卵而引起的區域性大量嗜中球、巨噬細胞、淋巴球及嗜酸性球的浸潤，此外，亦可見急性化膿性細菌性支氣管性肺。針對吸蟲特異的 18S rDNA 基因及 ribosomal DNA (ITS2) 基因進行增幅及序列比對，確認為 *P. westermani* 感染。

文獻中，已有多種貓科動物感染 *Paragonimus* sp. 的報告，其中包括家貓 (*Felis catus*) [2]、亞洲金貓 (*Catopuma temminckii*) [2]、雲豹 (*Neofelis nebulosi*) [2]、豹 (*Panthera pardus*) [2]、石虎

(*Prionailurus bengalensis*) [2]、扁頭貓 (*Prionailurus planiceps*) [2]、鏽斑豹貓 (*Prionailurus rubiginosus*) [2] 及孟加拉虎 (*Panthera tigris tigris*) [4]。

在吸蟲的生活史中，哺乳動物通常為終宿主，第一中間宿主為螺類，第二中間宿主為淡水甲殼類動物 (如螃蟹或淡水螯蝦)，終宿主的吸蟲感染通常為食入第二中間宿主，或是食入被 *Paragonimus* 囊蚴感染的保幼宿主，如野豬、梅花鹿等 [1, 11]。在食物鏈頂端的掠食者，如大型貓科動物，較不太可能直接食入小型甲殼類動物，通常是食入保幼宿主而造成感染 [2, 4, 11]。在感染實驗中，嚙齒動物和鳥類 (母雞、鴨、鵝) 已被證明可以成為 *Paragonimus* 的保幼宿主 [2]。

Paragonimus 除了會造成肺臟感染及病變外，也會造成肺臟以外其他器官的感染 (extrapulmonary paragonimiasis)，此乃因吸蟲未遵循感染肺臟的途徑，迷入到其他器官，最著名且最嚴重的是人類被感染而造成的大腦肺吸蟲病 (cerebral paragonimiasis)，導致嗜酸球性腦膜炎及/或顱內佔位性病變 (space-occupying lesion) [11]。除大腦肺吸蟲病外，犬也有皮膚肺吸蟲病 (cutaneous paragonimiasis) 的病例報告，感染的犬出現疑似皮下腫瘤或結節病變，經切除後病理檢查或生檢才發現是 *Paragonimus* 感染 [7, 11]。

臺灣尚未有動物感染衛氏肺吸蟲的報告，本次於路殺的野生動物疾病監測中，意外發現石虎感染衛氏肺吸蟲。衛氏肺吸蟲是人畜共通傳染病，亦是重要的食媒性疾病，此吸蟲除了對瀕臨絕種的臺灣石虎或其他保育類動物具致害性，亦對人類具潛在危險，故有必要對該地區的淡水甲殼類動物，特別是螃蟹或淡水螯蝦的 *Paragonimus* 囊蚴進行調查。此外，持續進行野生動物的疾病監測，是有助於野生動物保育及強化公共衛生安全。



圖 1、送檢石虎外觀體態消瘦。



圖 2、肺臟有多發氣腫、塌陷及凸起結節。



圖 3、肺臟結節直徑約 1 - 2 釐米 (cm)，呈現凸起、出血及堅實觸感。



圖 4、結節內有兩隻大小約 5 x 3 毫米 (mm)、扁平卵圓形、具有吸盤之吸蟲 (已浸泡過福馬林)。

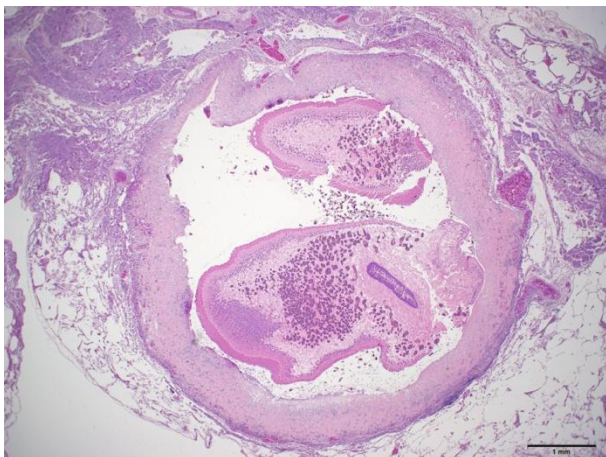


圖 5、肺臟，被結締組織包被的結節內有成對吸蟲。(H&E 染色，bar= 1 mm)

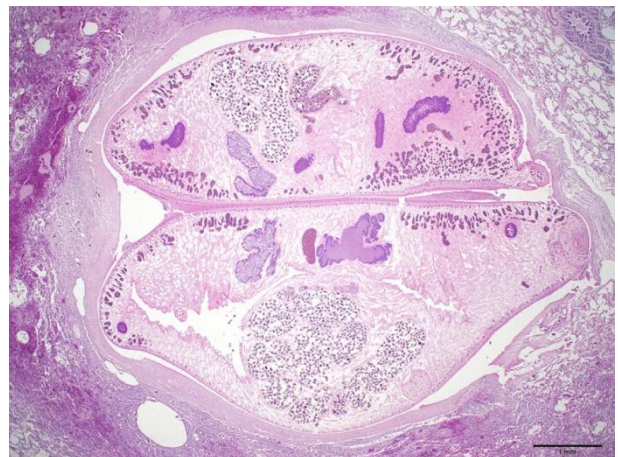


圖 6、肺臟，成對吸蟲被結締組織包被形成結節狀病灶。(H&E 染色，bar= 10 mm)

病例報告：石虎衛氏肺吸蟲感染症

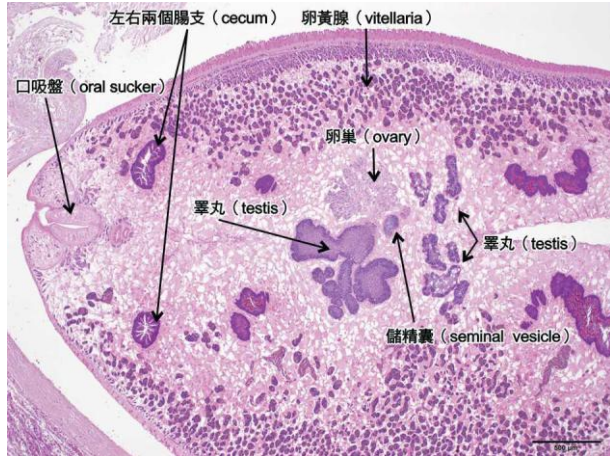


圖 7、切面下的吸蟲顯微結構。(H&E 染色, bar= 500 μ m)

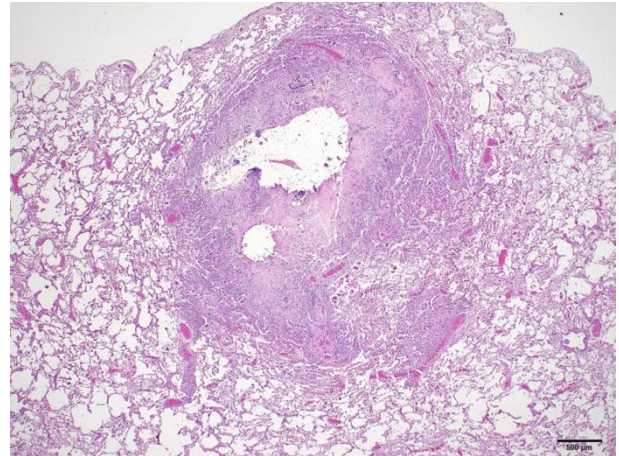


圖 8、肺臟·寄生蟲性肉芽腫性肺炎。(H&E 染色, bar= 500 μ m)

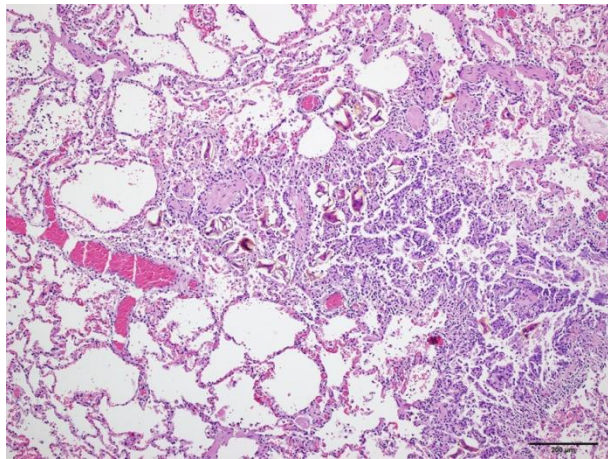


圖 9、肺臟·肉芽腫性肺炎病灶區內可見蟲卵分佈。(H&E 染色, bar= 200 μ m)

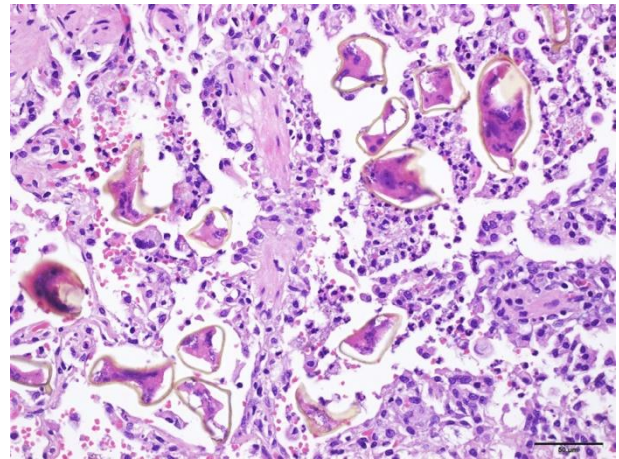


圖 10、肺臟·肉芽腫性肺炎病灶區內蟲卵具有淡黃色的厚殼且呈扭曲變形或破裂樣。(H&E 染色, bar= 50 μ m)

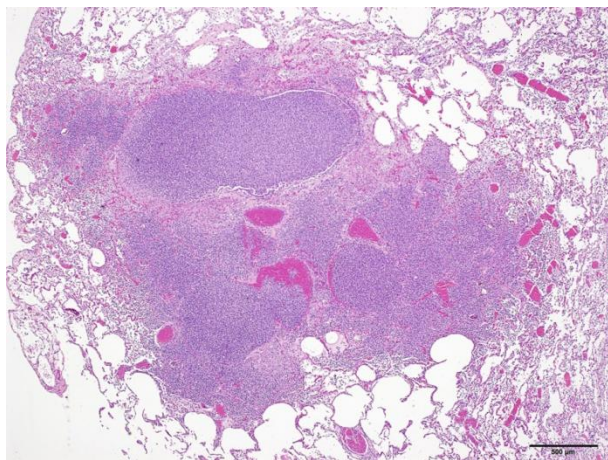


圖 11、肺臟·局部嚴重化膿性支氣管性肺炎。(H&E 染色, bar= 500 μ m)

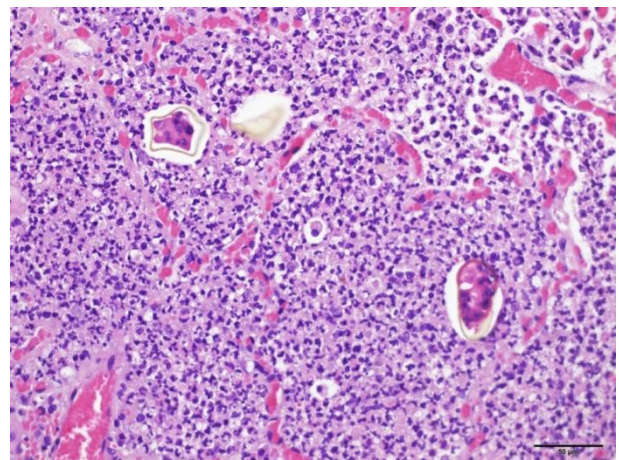


圖 12、肺臟·於化膿性支氣管性肺炎病灶區內可見扭曲變形或破裂樣蟲卵。(H&E 染色, bar= 50 μ m)

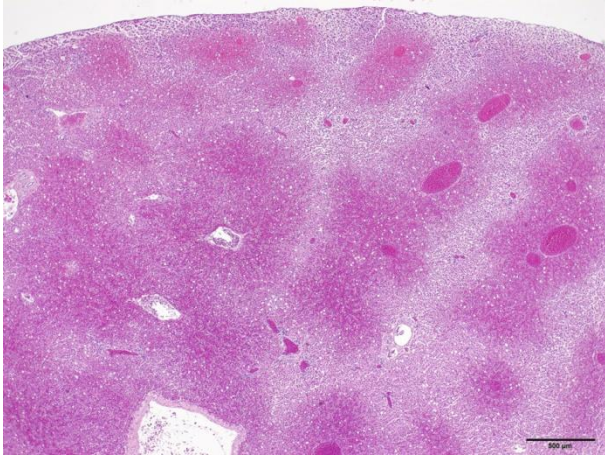


圖 13、肝臟，中央靜脈區呈嚴重鬱血。(H&E 染色，
bar= 500 μm)

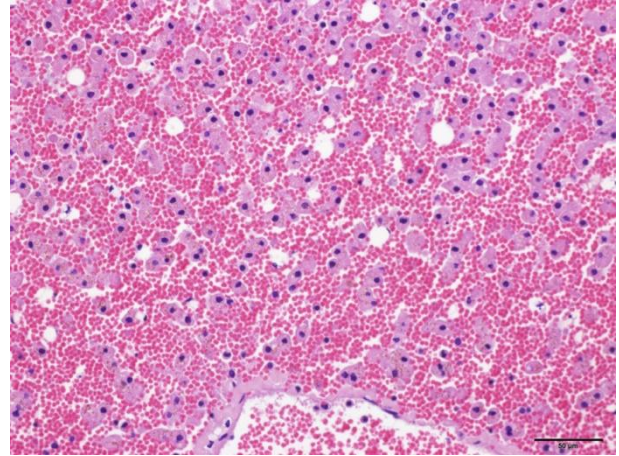


圖 14、肝臟，中央靜脈區呈嚴重鬱血且肝細胞呈解離
樣。(H&E 染色，bar= 50 μm)



圖 15、小腸，腸腔內可見數個蛔蟲成體的橫切面。
(H&E 染色，bar= 500 μm)

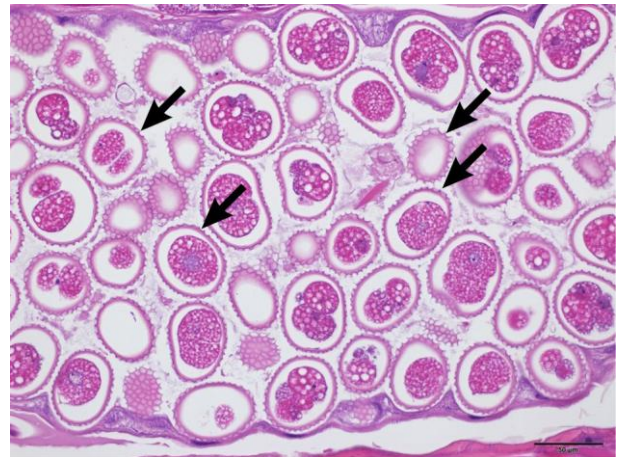


圖 16、小腸，蛔蟲體內的蟲卵，卵殼外具有一層凹凸
不平的蛋白質膜 (mammillated albuminoid
layer) (箭頭) 特徵。(H&E 染色，bar= 50
μm)

參考文獻

1. 衛生福利部疾病管制署。其他類法定傳染病。肺吸蟲感染症疾病介紹。
2. Blair D, Xu ZB, Agatsuma T. Paragonimiasis and the genus *Paragonimus*. *Adv Parasitol* 42: 113-222, 1999.
3. Caswell JL, Williams KJ. Respiratory System. In: Maxie ME ed. *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 6th ed. Vol 2, Philadelphia, PA, Elsevier, 591, 2016.
4. Dharanisha NK, Saminathan M, Mamta P, Ramesh KR, Ananda KJ, Giridhar P, Byregowda SM. Parasitic pneumonia caused by *Paragonimus* spp. in a wild Royal Bengal Tiger, Mysuru, South India. *J Parasit Dis* 43: 528-533, 2019.
5. Garcia LS. Unusual parasitic infections-Lung flukes. In: *Diagnostic Medical Parasitology*. 6th ed. AMS Press, Washington, DC, 478-515, 2016.
6. Ishida M, Kaneko C, Irie T, Maruyama Y, Tokuda A, Yoshida A. Sporadic endemicity of zoonotic *Paragonimus* in raccoon dogs and Japanese badgers from Miyazaki Prefecture, Japan. *J Vet Med Sci* 84: 454-456, 2022.
7. Madarame H, Suzuki H, Saitoh Y, Tachibana M, Habe S, Uchida A, Sugiyama H. Ectopic (subcutaneous) *Paragonimus miyazakii* infection in a dog. *Vet Pathol* 46: 945-948, 2009.
8. Prasad PK, Tandon V, Biswal DK, Goswami LM, Chatterjee A. Phylogenetic reconstruction using secondary structures and sequence motifs of ITS2 rDNA of *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) Braun, 1899 (Digenea: *Paragonimidae*) and related species. *BMC Genomics* 10: S25, 2009.
9. Ramsden RO, Presidente PJ. *Paragonimus kellycotti* infection in wild carnivores in southwestern Ontario: I. Prevalence and gross pathologic features. *J Wildl Dis* 11: 136-41, 1975.
10. Routtu J, Grunberg D, Izhar R, Dagan Y, Guttel Y, Ucko M, Ben-Ami F. Selective and universal primers for trematode barcoding in freshwater snails. *Parasitol Res* 113: 2535-2540, 2014.
11. Yoshida A, Doanh PN, Maruyama H. *Paragonimus* and paragonimiasis in Asia: An update. *Acta Trop* 199: 105074, 2019.
12. Zhou XJ, Yang Q, Tan QH, Zhang LY, Shi LB, Zou JX. *Paragonimus* and its hosts in China: An update. *Acta Trop* 223: 106094, 2021.

Case report: *Paragonimus westermani* infection in a free-ranging leopard cat (*Prionailurus bengalensis chinensis*)

YC Tu*¹, YC Chuang¹, YW Chen¹, TM Huang¹, KS Lin², YH Lin², FT Chan², WC Hsu¹, SC Hu¹

¹Veterinary Research Institute, Ministry of Agriculture

²Taiwan Biodiversity Research Institute, Ministry of Agriculture

Abstract More than 30 species of the genus *Paragonimus* have been reported to infect human and animals. Paragonimiasis is an important food-borne zoonotic disease affecting fresh water crab and crayfish-eating mammals and human worldwide. The disease is most frequently reported in China and Southeast Asia, in which *Paragonimus westermani* is the species most commonly identified. This case report describes the gross lesions, histopathological changes, and result of molecular analysis of a leopard cat (*Prionailurus bengalensis chinensis*) with *P. westermani* infection in the lungs. Grossly, emphysema, atelectasis, and multiple 1-2 cm in diameter dark encysted nodules were found in the lungs. The lung tissue around the nodules was hemorrhagic and consolidated. The incised encysted nodules contained two oval flukes. Microscopically, multifocal hemorrhagic necro-granulomatous pneumonia with encysted a pair of adult flukes and eggs was noted. The diagnosis of *P. westermani* was confirmed by molecular analysis and sequencing. This is the first report of *P. westermani* infection in leopard cat in Taiwan.

Keywords: *Paragonimus westermani*, Lung, Pathology, Molecular analysis, Leopard cat