

蔗糖液浮遊法の多包条虫卵への適用
—猫条虫卵を用いての回収率—

Application of Sugar
Centrifugal-flotation Technique to
the Eggs of *Echinococcus multilocularis*
in Canine Feces
—Recovery Rate Using Eggs of *Taenia
taeniaeformis*—

伊東 拓也 八木 欣平 石下 真通

Takuya Ito, Kinpei Yagi and Masamichi Ishige

糞便中の寄生虫卵を定量的に測定するためには、回収率が一定で、かつ顕微鏡下で計数可能なまで夾雑物が取り除かれていることが必要条件である。それらの条件を満たす方法の中で、蔗糖液による遠沈浮遊法が優れているとされている¹⁾。線虫卵に対する蔗糖液遠沈浮遊法としては、Coxらによる Wisconsin sugar centrifugal-flotation technique²⁾および伊東による蔗糖液直接遠沈浮遊法¹⁾がある。著者らは、感染実験におけるイヌ糞便中の多包条虫 *Echinococcus multilocularis* 卵排出動態を解析するために、これら2方法を一部改変の上、適用した。本法の信頼性評価のため添加回収実験を行なったので報告する。なお、添加回収実験には多包条虫卵(平均比重1.118³⁾)のモデルとして、形態的に酷似した猫条虫 *Taenia taeniaeformis* の卵を用いた。

ドッグフード(クレア社CD-5)により飼育した生後2ヶ月齢の雑種犬の糞便に、猫条虫の卵を40EPG(Egg Per Gram, 糞便1g中の虫卵数)、200EPG、1600EPG、5000EPGおよび25000EPGとなるように添加し、図1に示した方法で試料を作成した。各添加量について4試料を作成(再現精度を考慮し、2試料は別の者が作成する)した。これら試料をMcMaster EPG計算盤(富士平工業製、0.3ml分を計数できる)にとり、倒立顕微鏡下で虫卵を計数し、以下の式によってEPGを算出し、回収率を求めた。

試料(糞便2.5g相当)中の虫卵数=計数虫卵数×試料液量/計数に用いた液量

EPG=試料中の虫卵数/2.5

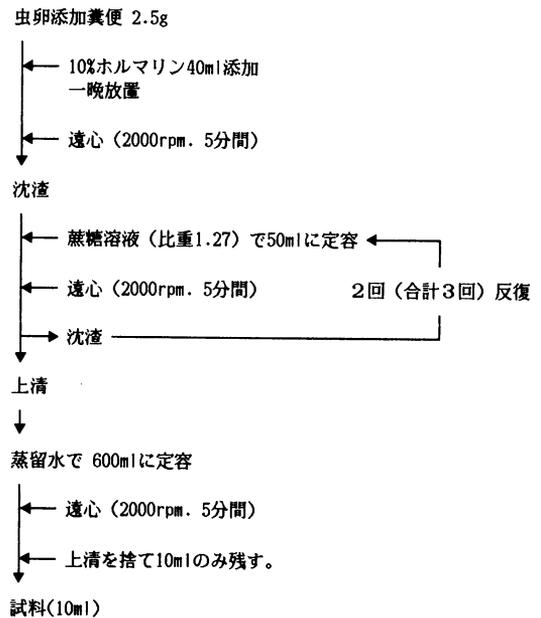


図1 試料の作成

以上のように本法では、伊東¹⁾およびCoxら²⁾の蔗糖液遠沈浮遊法が試験管の口にカバーガラスを置くことによって蔗糖液表面に浮き上がる虫卵を回収するのに対して、蔗糖液を水で希釈して虫卵を沈澱させ回収することとし、さらに浮遊・沈澱を計3回繰り返すという操作を追加することによって、糞便の状態あるいは実験者による差を小さくするよう配慮した。本実験に用いた糞便の含水率は、62.8%

表1 添加回収結果

添加数 (EPG)	回収率 (EPG)	平均回収数* (EPG)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
40	32.0		80	
	21.3		53	
	32.0		80	
	10.7	24.0±16.3	27	60
200	120.0		60	
	160.0		80	
	40.0		20	
	80.0	100.0±82.2	40	50
1600	1173.3		73	
	1133.3		71	
	1346.7		84	
	1106.7	1190.0±171.8	69	74
5000	3693.3		74	
	3600.0		72	
	3586.6		72	
	3773.3	3663.3±139.0	75	73
25000	19053.3		76	
	19386.7		78	
	17826.7		71	
	20093.3	19090.0±1507.3	80	76

* 数値は平均値±95%母平均信頼区間（母分散未知）を示す。

であった。

結果として、各々の添加量に対する回収率を表1に示し、回収虫卵数が正規分布に従う¹⁾ことから母平均の95%信頼区間を併記した。

40EPGおよび200EPGにおける回収虫卵数のばらつきが大きい。これは試料10ml中の0.3ml分のみ計数したために、計算盤上での虫卵1個の差が試料中では計算上約33個の差となって現われることによると考える。特に40EPG付近の虫卵数におけるこの33個の差は大きな変動である。これは、この試料全液量に占める計数に用いる液量の割合を増加させることで解決できる。そのためには、試料の液量を減らすかまたは、計数回数を増やすという2法がある。前者では、試料によっては夾雑物のために計数不能となる場合があるので、後者を採用すべきと考える。

40EPG, 200EPG以外の添加量における回収率は70-80%で安定している。

総合的に評価すると、本法における回収率は200EPG以下を除いて安定しており、200EPG以下における変動は計数回数を増やすことで解決でき、解析に有効であるといえる。

文 献

- 1) 伊東季春：日獣会誌, 33, 424 (1980)
- 2) Cox, D. D. & Todd, A. C.: J. Am. Vet. Med. Assoc., 141, 706 (1962)
- 3) Meyers, H. F.: J. Parasit., 41, 548 (1955)