

弱酸性次亜塩素酸水の多包条虫卵に対する影響 (補足データを加えた再解析)

Influence of Slightly Acidic Hypochlorous Acid against *Echinococcus multilocularis* Eggs
(Reanalysis with Supplemental Data)

孝口 裕一 松山 紘之 日高 正人

Hirokazu KOUGUCHI, Hiroyuki MATSUYAMA and Masahito HIDAKA

Key words : *Echinococcus multilocularis* (多包条虫) ; slightly acidic hypochlorous acid water
(弱酸性次亜塩素酸水) ; Hokkaido isolate (北海道分離株) ; eggs (虫卵)

緒 言

多包条虫は *Echinococcus* 属の条虫の一種であり、キツネやイヌなどのイヌ科動物に成虫が寄生する。ヒトのエキノコックス症は、虫卵の偶発的な経口摂取により感染が成立する人獣共通感染症である。

先に我々は、多包条虫卵に対する薬剤の殺滅効果を検討する中で、弱酸性次亜塩素酸水の影響を調べ、感染性に影響を及ぼさないことを報告した¹⁾。しかしながらその報告においては限られた条件のみでしか影響を調べることができなかった。今回、さらに高濃度 (1,000 ppm) の弱酸性次亜塩素酸水を手し、前回の報告よりも長時間、虫卵を浸漬した影響について報告する。

方 法

1. 虫卵の精製

北海道根室市において分離され、当所で継代維持されている多包条虫 (北海道株)²⁾ を本試験に用いた。

虫卵は先に報告した方法³⁾ で多包条虫に実験的に感染させたイヌの糞便から精製した。すなわち、糞便を水道水に懸濁し、茶漉し及び 125 μ m の金網メッシュを用いてろ過し、ろ液を簡易沈殿し、未消化物を除去した虫卵を回収した。ペニシリン (Meiji Seika 社製、100 万単位 /L) 及びストレプトマイシン (Meiji Seika 社製、2 g/L) を含むリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で約 2,500 個虫卵 /mL に調整し、これを精製虫卵として試験に供した。

2. 薬剤処理

15 mL 容コニカルチューブに精製虫卵 10 mL を採り、遠心分離 (1,500 rpm、5 分間) により上清を除いた。その沈さ (約 0.8 g) に市販弱酸性次亜塩素酸水 (500 ppm

及び 1,000 ppm 濃度の製品) を加えて、それぞれ 13 mL とした。対照実験として、PBS を加えた。これらの試験液を室温で 1 時間あるいは 24 時間それぞれ静置し、その間に 2 回すべてのチューブを転倒混和した。以上の処理後、すべての試験液を遠心分離 (1,500 rpm、5 分間) して上清を取り除き、10 mL の PBS を加えて沈さを再懸濁させる操作を 2 回繰り返し、虫卵を十分に洗浄した。

3. マウスへの虫卵投与試験

先に報告したように、1 群 5 頭の ddY 系マウス (オス、7~8 週齢) に、上記処理後の虫卵約 400 個を、胃ゾンデを用いて経口投与し、投与 25 日後に解剖し、肝臓を摘出した。摘出した肝臓をデイスポプラスチックシャーレに置き、-18℃で一晩凍結した後、メスで約 1 mm 厚に薄切し、ヘッドルーペ (1.6 $\times$) を用いた肉眼的観察により肝臓に定着・発育した病巣 (シスト) を計数した。市販弱酸性次亜塩素酸水 (500 ppm 及び 1,000 ppm 濃度) 及び PBS で処理した虫卵を投与した各群について、感染が成立したマウスの形成シスト数の平均及び標準偏差を算出した。本研究結果の信頼性を高めるため、先に報告したデータ¹⁾ を含めて、後述の解析に用いた。対照群に対して各処理群間に違いがないかを明らかにするために、各マウスの形成シスト数を目的変数、各処理群を説明変数、研究実施年及び各マウス個体を変量効果、処理時間 (1 時間あるいは 24 時間) をオフセット項とした一般化線形混合モデルを構築した。目的変数の確率分布はポアソン分布、リンク関数は log とした。対照群に対して各処理群の回帰係数が有意にゼロと異なるかどうかを Wald 検定で判定した ($p < 0.05$)。この解析には統計ソフト R version 4.1.2⁴⁾ における glmmTMB パッケージの glmmTMB 関数⁵⁾ を使用した。

表1 マウスへの虫卵投与試験による形成シスト数の比較

試験液	処理時間	濃度 (ppm)	投与頭数	感染頭数	平均シスト数* (標準偏差)
PBS	1 時間**	—	5	5	23.8 (7.9)
市販弱酸性次亜塩素酸水		200	5	5	32.8 (12.0)
		500	5	5	27.8 (10.6)
PBS	1 時間	—	4	4	27.3 (9.4)
市販弱酸性次亜塩素酸水		500	4	4	31.3 (13.5)
		1,000	5	5	18.0 (9.3)
PBS	24 時間	—	5	5	28.2 (7.0)
市販弱酸性次亜塩素酸水		500	5	5	19.2 (11.5)
		1,000	5	5	24.2 (3.9)

* 対照群 (PBS) に対してすべての処理群に有意差なし ($p > 0.05$)

** 文献¹⁾より引用

結果及び考察

表1に示すように、200 ppm、500 ppm 及び 1,000 ppm 濃度の市販弱酸性次亜塩素酸水で処理した虫卵を投与したマウスすべてが感染し、コントロール (PBS) と比べてすべての処理群に有意なシスト数の減少も認められなかった ($p > 0.05$)。本解析では、24 時間処理したデータを加えたが前回の 1 時間処理した報告¹⁾と同様に有意差がなかった。再解析を行うにあたり、虫卵の感染性等が同様であることを確認するため、前回と同様の処理条件 (500 ppm、1 時間) での実験も行ったが大きな差異は無かった。以上のことから、今回の試験においても弱酸性次亜塩素酸水が多包条虫卵の感染性へ及ぼす影響は認められず、これらの製品をエキノコックス虫卵の殺滅に使用することはできないと結論した。

文 献

- 1) 孝口裕一, 入江隆夫: 実験室内における多包条虫卵の不活性化に関する諸検討 (その 2) — 弱酸性次亜塩素酸水の影響 — 道衛研所報, **67**, 87-89 (2017)
- 2) 八木欣平, 伊東拓也, 川瀬史郎, 高橋健一: ヨーロッパ株多包条虫の虫卵を介したイヌーコトンラットによる継代の確立と PCR-RFLP による株の同定. 道衛研所報, **51**, 72-75 (2001)
- 3) 入江隆夫, 孝口裕一: 実験室内における多包条虫卵の不活性化条件に関する諸検討. 道衛研所報, **64**, 63-65 (2014)
- 4) R Core Team (2021). R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <https://www.r-project.org/> (確認: 2024 年 4 月 17 日)
- 5) Brooks ME, Kristensen K, van Benthem KJ, Magnusson A, Berg CW, Nielsen A, Skaug HJ, Mächler M, Bolker BM: glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. The R Journal, **9**, 378-400 (2017)