

ガラス球層をふるいとした牛糞内肝蛭卵検査法

2. 傾斜状態での回転を与える方法の基礎試験

平 詔 亨[†] 吉 原 忍[†] 上 野 計[†]
吉 原 豊 彦[§] 岩 瀬 賢 介[‡]

(昭和53年6月6日 受領)

粗大な牛糞の食物残渣から肝蛭卵を分離する方法を模索している過程で、著者らはこれまでの方法と異なる新しいふるい分け法を独自に見出した。その原理は動的なふるいであり、ふるいとして用いたガラス球層に所定の運動を与えることによつて、沈殿した肝蛭卵を積極的に分別する方法である。

前報(平ら, 1978)では、その運動として振動をとりあげ、肝蛭卵の回収に適した振動条件を明らかにし、この検査法をVGB法として報告した。今回の報告は振動の代りに、傾斜状態での回転を与える方法(Slanted-rotation to the glass bead layer technique, SRGB法)についての基礎試験である。

材料と方法

可検材料と肝蛭卵回収率：前報(平ら, 1978)に準じ、肝蛭非寄生牛の糞1gの液に所定数の肝蛭卵を実験的に混入させた材料を供試した。回転速度および回転数についての実験には肝蛭卵約60個を加えた材料を用い、SRGB法の精度を調べる実験では1~64個の虫卵を2を底とする対数で等間隔7段階の材料を作り、使用した。虫卵回収率は検査前に加えた虫卵数に対する回収虫卵数の百分率とした。

ガラス球と遠心管：粒径500~710 μm のガラス球3gを敷いた60ml容量の丸底遠心管を基礎容器とした。これらは前報と同一のものを使用した。

回転装置(Photo. 1)：これは円形の遠心管立(A)、スタンド(B)およびモーター(C)から成っている。

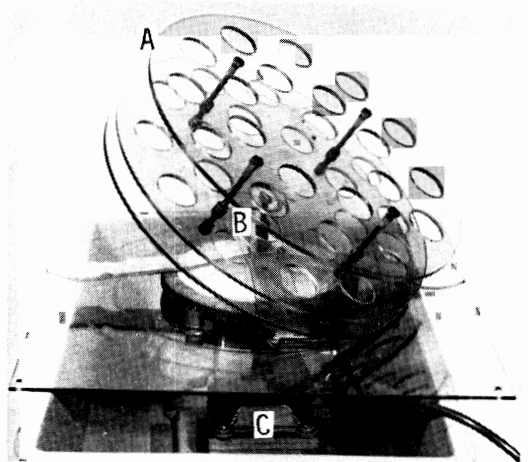


Photo. 1 Apparatus of rotation on the SRGB-technique.

円形の遠心管立(A)は遠心管20本が立てられる直径32cmの塩ビ製で、その底面中心部に軸受を付けた。スタンド(B)は円形の遠心管立の軸受を支点として、遠心管立が傾角35度に保たれるように調整された鉄製のボルトを用いた。また円形の遠心管立を一定の速度で回転させるため減速モーター(C)(Omega motor SM-3型, オメガレクトリック, 東京)を設置した。

回転速度と回転数：肝蛭卵回収率におよぼす回転速度を調べる実験では、回転数を5回に定め、遠心管立を1回転させるに要する時間を0(静置), 2, 4, 8, 16, および32秒の他に、1回転10秒を目安とした手動による回転を行なった。

肝蛭卵回収率におよぼす回転数を調べる実験では、回転速度を1回転あたり10秒に定め、回転数を0, 1, 2,

[†] 農林省家畜衛生試験場寄生虫第2研究室

[§] 日本中央競馬会競走馬総合研究所

[‡] 埼玉県食肉衛生検査センター

Table 1 Effects of velocity of the rotation on the recovery rates of *Fasciola* eggs in the feces by the SRGB-technique

Sample No.	Second per a rotation ^{D)}						
	0	2	4	8	10 ²⁾	16	32
1	35.2	37.1	79.6	50.9	53.3	64.4	60.7
2	24.5	56.0	59.5	76.0	78.7	51.2	63.6
3	26.1	54.2	75.0	42.8	78.8	52.8	74.7
4	33.3	38.5	49.1	57.5	61.3	62.7	76.1
5	33.8	45.3	67.2	54.9	48.0	68.0	73.7
6	22.1	48.9	66.2	60.3	79.0	79.5	69.2
7	35.9	27.6	47.6	78.0	60.5	61.3	79.7
8	28.4	41.3	70.0	73.8	64.5	77.1	46.5
9	17.6	26.2	67.8	76.2	67.3	74.9	77.0
10	22.2	40.0	65.4	73.2	77.0	63.4	66.0
Mean	27.9	41.5	64.7	64.4	66.8	65.5	68.7
Confidence limit	±4.6	±7.1	±7.3	±9.0	±8.1	±6.7	±7.1

1) Fixed the rotation at 5 times

2) Estimation time with a manual rotation

Table 2 Effects of frequency of the rotation on the recovery rates of *Fasciola* eggs in the feces by the SRGB-technique

Sample No.	Number of the rotation ^{D)}						
	0	1	2	3	5	8	
1	35.6	36.5	83.8	87.2	63.6	66.7	
2	47.1	71.9	75.9	74.5	80.0	66.7	
3	36.4	60.0	70.9	60.7	84.8	97.8	
4	36.2	46.0	46.7	87.2	73.2	71.4	
Mean	38.8	53.6	69.3	77.4	75.4	75.7	
Confidence limit	±8.8	±24.8	±25.4	±20.1	±14.6	±23.3	

1) Fixed the velocity at 10 sec. per a rotation

3, 5 および 8 回の 6 段階とした。また、SBGB 法の精度を調べる実験では、1 回転あたり 10 秒を要する速度で 5 回の回転を行なった。

SRGB 法の術式：前報に述べた振動の代りに前述の回転装置による回転を行なった。その他の術式は前報に準じた。

成 績

1. 肝蛭卵回収率におよぼす回転速度 (Table 1)

1 回転あたり 0 (静置), 2, 4, 8, 10 (手動回転), 16 および 32 秒を要する回転速度における平均虫卵回収率は、それぞれ 27.9, 41.5, 64.4, 66.8, 65.5 および 68.7 % であった。

2. 肝蛭卵回収率におよぼす回転数 (Table 2)

回転数 0, 1, 2, 3, 5 および 8 回における虫卵回収率の平均はそれぞれ 38.8, 53.6, 69.3, 77.4, 75.4 および 75.7% であり、3 回転以上において高い虫卵回収率が得られた。

3. SBGB 法における肝蛭卵回収の精度 (Table 3)

牛糞 1g の糞液に肝蛭卵を 1, 2, 4, 8, 16, 32 および 64 個を加えた材料についてそれぞれ 20 回の検査を、1 回転あたり 10 秒を要する回転速度で 5 回転する条件のもとに実施した。その結果、虫卵回収率はそれぞれ 55, 73, 65, 71, 73, 68 および 71% であった。また 20 回の検査における肝蛭卵検出率は虫卵 1 個を加えた材料で 11/20 (55%), 虫卵 2 個および 4 個で 19/20 (95%) そして虫

Table 3 Number of *Fasciola* eggs recovered from 1 gram of cattle feces mixing a serial number of the eggs by the SRGB-technique¹⁾

Sample No.	No. of <i>Fasciola</i> eggs mixed						
	1	2	4	8	16	32	64
1	0	1	1	6	8	24	48
2	0	0	3	6	13	19	49
3	1	1	4	6	8	25	51
4	1	1	2	6	14	16	47
5	1	2	3	3	12	21	45
6	1	2	0	7	15	20	41
7	0	1	2	6	11	22	37
8	1	1	1	5	11	18	43
9	0	1	4	5	14	19	42
10	0	2	2	7	12	26	38
11	1	1	4	4	10	25	44
12	0	2	4	4	14	29	53
13	1	1	4	6	11	23	46
14	0	2	3	7	11	17	55
15	1	2	1	4	11	18	45
16	1	2	3	6	11	27	47
17	1	2	3	6	14	21	43
18	0	1	2	6	11	20	44
19	1	2	3	7	9	21	54
20	0	2	3	6	13	25	41
<hr/>							
No. of positive samples	11	19	19	20	20	20	20
Positive of sample in %	55.	95.	95.	100.	100.	100.	100.
<hr/>							
Total No. of eggs mixed	20	40	80	160	320	640	1,280
Total No. of eggs recovered	11	29	52	113	233	436	913
Recovery rate of egg in %	55.	73.	65.	71.	73.	68.	71.

1) Fixed the velocity at 10 sec. per a rotation and rotated 5 times

卵8個以上で20/20(100%)であった。

考 察

肝蛭卵検査法の精度を調べるためには、虫卵検出率ばかりでなく、既知の肝蛭卵数を含む糞便からの虫卵回収率を測定することが望ましい。赤羽ら(1975)は、この虫卵回収率を測定値として、人肝蛭症患者の糞便について数種検査法の比較試験を行なっている。その結果、最も高い肝蛭卵回収率は界面活性剤による前処理を組み合わせたA・M・SⅢ法にみられ、その率は52.7%であったと述べている。

これとは別に平ら(1978)は、牛糞内肝蛭卵を対象として、これまでの方法と原理が異なるふり分けを応用し

たVGB法を考案し、基礎試験成績からのその肝蛭卵回収率は60~70%であったと報告している。今回はVGB法における振動の代りに、ガラス球層を傾斜状態で回転させることによって、肝蛭卵を積極的に分別する方法を考え、肝蛭卵回収率を測定値とした基礎試験を行なった。

回転運動を利用した肝蛭卵検査法としては、時計皿法(岩田, 1963)および隠岐法(坪倉ら, 1968)があるが、いずれも求心性操作そのものによる集卵法であり、ガラス球などは使用していない。

前報に述べたVGB法と今回のSRGB法を比較すると、肝蛭卵回収の精度の点では両法の差は認められず、いずれも60~70%の虫卵回収率が得られた。しかし運動

の制御および操作の難易の点では SRGB 法の方が VGB 法より優れていた。すなわち振動は運動そのものが複雑であり、振動を正確に伝達させるため遠心管を固定する必要があった。

これに対して SRGB 法における回転運動は単純な運動であり、遠心管の固定が不要であるためその取り扱いが容易であった。そして SRGB 法では、あまり厳密な運動を必要としないため、Photo. 1 に示したモーターによる回転でなくても、1 回転あたり 10 秒を要する速度を目安とした手動による回転によつても、高い肝蛭卵回収率が得られた (Table 1)。

このような結果から、SRGB 法は比較的安価な器材によつて検査できる方法と考えられる。しかし今回の報告は実験的に肝蛭卵を加えた牛糞材料についての結果であり、SRGB 法の実用性は肝蛭感染牛についての検査結果を待たなければならない。

ま と め

前報に述べた VGB 法における振動の代りに、傾斜状態での回転を与える牛糞内肝蛭卵検査法 (SRGB 法) を考え、その基礎試験を実施した。SRGB 法の回転装置は、20本の遠心管が立てられる直径 32cm の円形の遠心管立を、傾角 35 度を保ちつつ所定の速度で回転させることができるものを使用した。

高い肝蛭卵回収率は 1 回転あたり 4～32 秒を要する遅い速度で 3 回転以上まわすことによつて得られた。そ

で 1 回転あたり 10 秒を要する速度で 5 回転する条件のもとに、あらかじめ肝蛭卵 1, 2, 4, 8, 16, 32 および 64 個を含ませた牛糞 1g の材料について、20 回の検査を行なった。その結果、虫卵回収率はそれぞれ 55, 73, 65, 71, 73, 68 および 71% であった。また 20 回の検査における肝蛭卵検出率は虫卵 1 個を含む材料で 11/20 (55%)、虫卵 2 個および 4 個で 19/20 (95%)、そして虫卵 8 個以上で 20/20 (100%) であった。

謝 辞

稿を終るにあたり種々御指導を頂いた農林省家畜衛生試験場寄生虫第 2 研究室長角田清博士および日本獣医畜産大学藤田澗吉教授に深謝します。

文 献

- 1) 赤羽啓栄・大島智夫・嶋津 武・広沢毅一 (1975)：肝蛭症の診断に関する研究 1. ヒト糞便内肝蛭卵を対象とした数種集卵法の効果。寄生虫誌, 24, 55-60.
- 2) 岩田神之介 (1963)：糞便検査改良法と従来の簡易検査法との比較試験。日獣学誌, 25 [学会記事], 503-504.
- 3) 平 昭亨・吉原 忍・上野 計・吉原豊彦・岩瀬賢介 (1978)：ガラス球層をふるいとした牛糞内肝蛭卵検査法 1. 振動を与える方法の基礎試験。寄生虫誌, 27, 55-59.
- 4) 坪倉貫三・藤原 寿・高井寿文・岩田明敏・岩崎邦夫 (1968)：肝蛭卵検出に関する一考案について。日獣会誌, 21, 193-194.

Abstract

NEW SIEVING TECHNIQUES WITH THE GLASS BEAD LAYER FOR THE
DETECTION OF *FASCIOLA* EGGS FROM CATTLE FECES
2. PRELIMINARY TESTS ON THE SLANTED ROTATION TECHNIQUE

NORIYUKI TAIRA, SHINOBU YOSHIHARA, HAKARU UENO
(*National Institute of Animal Health, Tokyo, Japan*)

TOYOHICO YOSHIHARA
(*Equine Health Laboratory, Tokyo, Japan*)

AND

KENSUKE IWASE
(*Saitama Meat Inspection Office, Saitama, Japan*)

The VGB-technique for isolating *Fasciola* eggs in cattle feces was reported by Taira *et al.* (1978). This paper was designed for the same purpose of the VGB-technique. The major improvement of the present technique was application of the slanted rotation to the fine glass bead layer (SRGB-technique) as a dynamic sieve instead of the vibration in VGB-technique. Materials and procedures of this report were the same as the previous paper (Taira *et al.*, 1978) except the slanted rotation in the inclination of 35 degree. The apparatus for the rotation was composed of a diagraphic centrifuge tube rack (A) having 20 holes for centrifuge tubes, a stand of a vertical axis (B) and a low speed motor (C) as shown in Photo. 1.

A high recovery rate of *Fasciola* eggs was obtained under the condition of the velocity at 4-32 sec. per one rotation with more than 3 times of the rotation. A high recovery rate of eggs was also obtained under the manual rotation which 5 times with the velocity about 10 sec. per one rotation as shown in Table 1.

Recovery rates of *Fasciola* eggs were examined 20 times on every sample of fecal materials containing 1, 2, 4, 8, 16, 32 and 64 eggs, respectively, rotated 5 times with the velocity of 10 sec. per one rotation. As the results, the recovery rates of eggs were 55, 73, 65, 71, 73, 68 and 71%, respectively. The positive rate of egg-recovery was 11/20 (55%) in the case of contained only one egg, 19/20 (95%) in the case of 2 or 4 eggs and 20/20 (100%) in the case of 8-64 eggs as shown in Table 3.