

エキノコックス(症)について

はじめに

人獣共通感染症(最近、動物由来感染症ともいわれる)に含まれる寄生虫症のうち、わが国の発症例は少ないものの今後十分に注意を要すると思われる、エキノコックス(症)について紹介する。

エキノコックスは条虫類(いわゆるサナダムシ)に属し、一般にイヌ科のキツネなどの肉食動物と野ネズミなどその他のほ乳類との間で生活環が営まれている。しかし、ヒトが虫卵を経口摂取すると、長期間にわたり幼虫が肝臓などに嚢胞を形成し、場合によっては重篤なエキノコックス症を引き起こすこともある。従来、北海道内での感染に限定されていたが、最近、北海道から移動した関東地方の飼育犬にエキノコックス(多包条虫)の感染が確認され、身近な人獣共通感染症として注目されている。なお、エキノコックス症は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」いわゆる感染症新法では4類感染症に分類されている。感染症発生動向調査週報によると平成13年度は全国で5例(多包虫症3例、単包虫症2例)が報告されたのみであったが、北海道立衛生研究所によれば、平成12年度には北海道だけで20例の多包虫症が診断されているとのことである。

エキノコックスとは

エキノコックスは古くから包虫とも呼ばれる円葉条虫綱テニア条虫科エキノコックス属に分類され、単包条虫(*Echinococcus granulosus*)、多包条虫(*E. multilocularis*)、フォーゲル条虫(*E. vogeli*)、及びヤマネコ条虫(*E. ologarthrus*)の4種が知られている。そのうち、わが国で問題視されているのは北海道からの拡大が懸念される多包条虫であり、以後、主として多包条虫について述べる。

多包条虫は、体長2~5mmと小型で、片節数は4~5個からなる(図1左側)。成虫はイヌ科、特にキタキツネなどの小腸上部粘膜内に寄生する。体節から遊離し、糞便に排出された虫卵(図1右側)は草原や水源などを汚染する。中間宿主のネズミなどに食べられると体内に取り込まれた幼虫(六鉤幼虫ともいわれる)は門脈を経て肝臓に達し、そこで嚢胞を形成して感染後5~6ヶ月後には多包虫になる(エキノコックス症)。嚢内は液体で満た

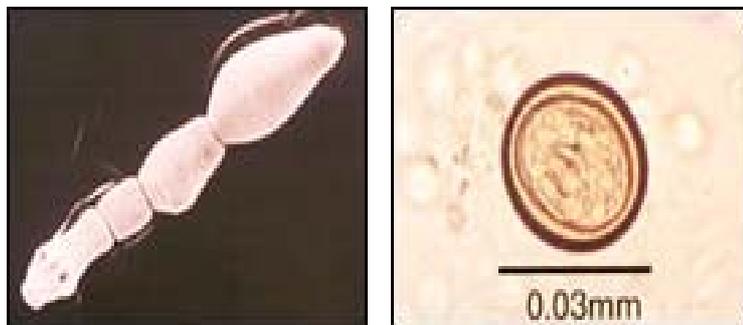


図1 エキノコックス(*E. multilocularis*)成虫(左)とその虫卵(右)(北海道保健福祉部HPより転載)

布が明らかとなり、1983年以降その分布は道内ほぼ全域にまで拡大している（図3）。

北海道内のエキノコックス症患者の累計は、1937～2000年度までに412名と報告されている。また、厚生労働省によれば、1999年以降の国内の感染者（多包虫、単包虫の区別なし）は53名で、死者は10名に達している。

1986年、旭川動物園では園内感染によるエキノコックス症でゴリラ、ワタオキツネザルなどが死亡している。道内の1986～1996年における食肉処理されたブタの調査でも本症が（検出率0.03-0.25%）確認された。また、青森県食肉衛生検査所の報告では、1998～1999年のと畜検査においてブタ3頭の肝臓に多包虫病変が確認され、東北北部に汚染地域が拡大したのではないかと考えられている。

北海道ではキツネが広範囲に活動する夏から秋にかけてエキノコックスの虫卵で原野が汚染されるが、この時期は観光シーズンでもあることから、旅行者などは感染に注意する必要がある（後述の予防の項参照）。ちなみに、キタキツネの半数以上にエキノコックスが寄生している（平成10年度調査では寄生率57.5%）と報告されている。一方、北海道の捕獲犬の寄生率は1.0%程度であるが、陽性犬が確認された地域については3.2%にも上る場合があり、その分布は道内一円におよんでいる。2003年には、北海道で飼育され関東地方に移動した一頭の飼い犬から本症の初発例が報告された。

ヒトを含めた中間宿主への感染は虫卵を経口摂取することによって起因するが、ヒトは終宿主ではないので、成虫が腸管に寄生することはない。感染症で気がかりなのは感染路であるが、ネズミからヒトへ、ブタからヒトへエキノコックス症が感染することはないとされている。従って、食物連鎖あるいは直接接触があったとしても、ヒトからヒトへなどの中間宿主間での感染は成立しない。



図3 エキノコックスの分布状況の変遷
（北海道衛生研究所HPより転載）

診 断

エキノコックスの虫卵を糞便と共に排出する終宿主と、肝臓などにとどまり体外へは排泄されない中間宿主では診断方法が異なる。

第1に終宿主（キツネ、イヌなど）の診断法としては、肉眼診断は無症状で経過することが多く容易ではない。しかし、イヌなどでは駆虫後の便からの虫卵検査が有効であり、酵素抗体法を用いた糞便中の抗原物質の検出も可能である。

次いで、中間宿主（ヒト）の診断法として、血清学的方法、遺伝子診断、超音波画像診断、MRI画像診断、血管造影などが行われる。なお、北海道では市町村が主体となったスクリーニング検査が実施されており、毎年およそ8万人が検査を受けている。検査法としては血清を用いた免疫学的法が行なわれ、1次試験にはエライザ法、2次試験には1988年以降はウェスタンブロット法が実施されている。なお、検査に対応している機関は、北海道立衛生研究所、北海道臨床検査技師会などである。中間宿主がブタなどの家畜の場合、食肉衛生検査所では一頭毎に検査が綿密に行われ、肝臓などに病変がみられてエキノコックス症が疑われれば免疫学的・遺伝子学的手法で調べることが可能となってきた。

治 療

ヒトについては、前述のように罹患から発症までの期間が十数年ともいわれ、根治できる有効な手段はみいだされてはおらず、今のところ外科的に患部の摘出しが有効な手段はないとされている。その他、薬物療法としてアルベンダゾールやメベンダゾールが使用されるが、治療効果は低いようである。

予 防

感染を予防するためには、1)虫卵が口に入らないように十分注意すること、2)原因虫である多包条虫を駆除し、感染経路を遮断することである。

以下に、エキノコックス症だけでなく、人獣共通寄生虫症全般に共通する遵守事項をあげる。

- ・ 生水の飲料禁止：汚染されている可能性がある沢などの生水は飲まない。
- ・ 山菜などの洗浄：野生動物の生息域で採集した山菜や果物は良く洗ってから調理する。
- ・ ゴミの適切な処理：ゴミを餌として野生動物が繁殖すると、周辺が虫卵で汚染される。
- ・ 野生動物に対し安易な餌付けはしない：一度与えてしまうと、頻りに周辺に出現しヒトと接する機会が多くなり、糞尿で周辺を汚染してしまう。また、動物の体表は虫卵に汚染されていることを念頭に入れておく。
- ・ イヌなどの放し飼いの禁止：汚染地域では、飼育犬は必ず係留するとともに、定期的に糞便検査を実施し、陽性の場合には確実に駆虫し数日間の糞便は焼却、消毒などで適切に処理する。ペットの衛生管理が重視されるのは、直接ヒトに容易に感染してしまう危険性があることによる。
- ・ 汚染地からの導入犬への対応：北海道などからイヌを移動させる時は検査・駆虫につとめる。本州にはホンダギツネが広範に多数生息しているので、一度導入されると、汚染地域が急速に拡大する可能性がでてくる。

おわりに

交通手段の発達にともない、様々な疾病が驚異的なスピードで世界中に拡大することは、HIVや新型の肺炎SARSなどの感染症を例に挙げるまでもない。その一方で、国内でも伝播のスピードはともかく、今回紹介したエキノコックスのように汚染地域が拡大するおそれのある疾病を念頭に置く必要がある。

エキノコックスに関する主なリンク先：
北海道保健福祉部保健予防課(エキノコックス症の知識と予防)；

<http://www.pref.hokkaido.jp/hfukusi/hf-hyobo/ekino/>

北海道衛生研究所(エキノコックス症について)；<http://www.iph.pref.hokkaido.jp/>

北海道大学獣医学研究科寄生虫学教室；
<http://133.87.224.209/>

独立行政法人動物衛生研究所；

<http://niah.naro.affrc.go.jp/>

(社)北海道臨床衛生検査技師会；

<http://www1.odn.ne.jp/hokuringi>

動物由来感染症を知っていますか；

http://www.forth.go.jp/mhlw/animal/page_hVh09.html/

参考文献

山下次郎、神谷正男：エキノコックス - その正体と対策 - ，北海道大学図書刊行会 1997.
石井俊雄：獣医寄生虫学・寄生虫病学2 蠕虫他，講談社サイエンティフィック pp.254-260，1998.

大林正士：人獣共通寄生虫症としてのエキノコックス症（本邦における人獣共通寄生虫症 林滋雄ら編），文永堂 pp.211-220 1983.

佐伯英治、升秀夫、早川典之：寄生虫鑑別アトラス，メディカルサイエンス pp.88-89 1999.

高田季久：エキノコックス症（輸入感染症 竹田美文ら編），近代出版 pp.332-336 1987.

山根洋右：条虫症，円葉類による疾患，包虫症（New 寄生虫病学），南江堂 pp.346-350 1993.

(文責 毒性部 奥村正直)

薄層クロマトグラフィーによる食品中のカロテノイド系天然着色料の一斉分析

目 的

天然物を起源とする天然着色料は、合成着色料に比べてその種類が非常に多く、食品衛生上の観点からは、合成着色料よりもむしろ天然着色料の確実かつ迅速な分析法の早急な確立が望まれている。特に、カロテノイド系天然着色料はその種類が多く、対象食品も多岐にわたっており、簡便な一斉分析法の確立が必要とされている。著者らはすでに逆相 C18-薄層クロマトグラフィー(TLC)とスキャニングデンシトメトリーとを組み合わせた分析法が、繁用されているカロテノイド系天然着色料6種(アナトー色素、オレンジ色素、クチナシ黄色素、トウガラシ色素、トマト色素、マリーゴールド色素)の分析において有効であることを報告している¹⁻⁶⁾。しかしながら、これらの方法は着色料ごとに抽出方法や TLC 条件等が異なる個別分析法であることから、多くの検体を一斉に分析するには不都合があった。そこで、繁用されている上述のカロテノイド系天然着色料に β -カロテンを加えた7種類のカロテノイド系天然着色料の TLC による一斉分析法の開発を試み、良好な結果を得たので紹介する。

実験方法

1. 試料

2002年4月~12月の間に、国内で市販されていた菓子類、漬物、氷菓、調味料類、そうざい類、清涼飲料水、魚肉ねり製品、食肉製品、乳製品、めん類等の73種類、294食品を用いた。

2. 標準品及び試薬等

色素標準品:カプサンチン、 β -カロテン、 β -クリプトキサンチン(以上 Extrasynthese 社製)、トウガラシ色素、ピキシン(以上東京化成社製)、クロセチン、リコペン(以上シグマ社製)、ルテイン(DHI社製)、クロシン、クチナシ黄色素、ノルピキシン、アナトー色素(以上和光純薬

製)、オレンジ色素、トマト色素、マリーゴールド色素(以上三栄源 FFI 社製)

C18カートリッジ: Sep-Pak C18 Vac 3cc (500mg、ウォーターズ社製)

その他の試薬: 試薬特級(和光純薬製)

3. TLC 条件

1) 逆相 TLC 条件

プレート: RP-18F254S (メルク社製、Art 15389)

展開溶媒:

[1] アセトニトリル - アセトン - n-ヘキサン = 11:7:2

[2] アセトン - 水 = 9:1

2) 逆相 TLC 条件

プレート: シリカゲル 60F₂₅₄ (メルク社製、Art 5808)

展開溶媒:

[3] n-ヘキサン - ジエチルエーテル - 酢酸 = 4:1:1

[4] ベンゼン - 酢酸エチル - メタノール = 15:4:1

4. 色素試験溶液の調製

1) 色素の抽出

乳製飲料以外のジュース(50mL)及び融解させた氷菓(50g)はそのまま、その他の試料(50g)は細切した後に、乳製飲料(50mL)は試料の約3倍量のアセトンを加え、攪拌、暫時放置後、沈殿を除去し、上澄液のアセトンを留去した後に、水50~100mLを加え、エーテル30~50mLで色素を抽出した。そのエーテル層を分取、留去してメタノール20~30mLに溶解し、これを色素抽出液とした。

2) ケン化

色素抽出液に5%水酸化ナトリウム-メタノール溶液2mLを加え、密栓、遮光して時々攪拌しながら室温にて24時間放置した。その後、水50~60mLを加えメタノールの濃度を30%以下にした後、1mol/L塩酸でpH4.5以下に調整し、あらかじめメタノー

ル及び水各 5mL で活性化した C 18 カートリッジに負荷した。つぎに、水 10mL でカートリッジを洗浄し、n-ヘキサン 20mL、アセトン 5 mL、及びメタノール 10mL の順で色素を溶出した。また、色素が試料からエーテルには抽出されずに、水層が着色している場合には、この水層を色素抽出液として、けん化を実施せず、直接 C 18 カートリッジによる精製を行なった。これらの色素抽出液をそれぞれ濃縮後、試験溶液とした。得られた色素試験溶液のうち、ヘキサン画分には β -カロテン、 β -クリプトキサンチン、ピキシン、及びリコペンが、アセトン画分にはカプサンチン、クロセチン、ノルピキシン、及びルテインが、メタノール画分にはクロシンが溶出された。

結果及び考察

1. TLC

プレートは化学結合型 C 18 とシリカゲルの 2 種類を、溶媒はアセトニトリル、アセトン、エタノール、メタノール、ジエチルエーテル、石油エーテル、ベンゼン、n-ヘキサン、酢酸エチル、及び酢酸等を用いて、プレートや展開溶媒の組み合わせ、あるいは混合比等について種々検討を加えた。その結果、実験方法に示したように、逆相、順相共に複数の TLC 条件を見出した。

オレンジ色素、トウガラシ色素、及びマリーゴールド色素は、多種類のエステル体を含んでいるため、そのまま TLC に供するとスポットが連なり、良好に分離することができなかった。

表-1

カロテノイド系色素の R f 値

色 素	TLC条件			
	(1)	(2)	(3)	(4)
	R f 値	R f 値	R f 値	R f 値
アナトー色素 (ピキシン)	0.80	0.73	0.38	0.35
(ノルピキシン)	0.83	0.80	0.37	0.10
オレンジ色素 (β -クリプトキサンチン)	0.37	0.36	0.40	0.68
クチナン黄色素 (クロシン)	0.00	0.89	0.00	0.00
(クロセチン)	0.86	0.84	0.39	0.22
トウガラシ色素 (カプサンチン)	0.50	0.65	0.28	0.32
トマト色素 (リコペン)	0.46	0.27	0.87	0.93
マリーゴールド色素 (ルテイン)	0.43	0.55	0.36	0.37
β -カロテン	0.34	0.18	0.89	0.91

TLC 条件

プレート：RP-18F254S (メルク社製、Art 15389)

展開溶媒：(1) アセトニトリル - アセトン - n-ヘキサン = 11:7:2

(2) アセトン - 水 = 9:1

プレート：シリカゲル 60F₂₅₄ (メルク社製、Art 5808)

展開溶媒：(3) n-ヘキサン - ジエチルエーテル - 酢酸 = 4:1:1

(4) ベンゼン - 酢酸エチル - メタノール = 15:4:1

しかし、実験方法に示したように、色素抽出液をけん化した後、C18カートリッジによる精製を行なってTLCを実施すると、それぞれの色素に単一のスポットが明瞭に観察された。これらのスポットは、それぞれの色素の主成分である β -クリプトキサンチン標準品、カプサンチン標準品、及びルテイン標準品とそれぞれ Rf 値、色調共に一致した。トマト色素はけん化することなく単一のスポットとして分離することができ、分離されたスポットはリコペン標準品と Rf 値及び色調が一致した。アナトー色素の主成分であるピキシンとノルピキシン、及びクチナシ黄色素の主成分であるクロシンとクロセチンは、けん化することなく単一の色素スポットとして検出することができた。それに、 β -カロテンも同様にけん化することなく単一の色素スポットとして検出された。

各色素スポットの Rf 値は表-1 に示したが、いずれの TLC 条件においてもスポットが重なるものは認められず、一斉に分離同定できることが確認された。従って、アナトー色素はピキシン及びノルピキシンを、オ

レンジ色素はケン化後の β -クリプトキサンチンを、クチナシ黄色素はクロシン及びクロセチンを、トウガラシ色素はケン化後のカプサンチンを、トマト色素はリコペンを、マリーゴールド色素はケン化後のルテインを、 β -カロテンは β -カロテンを指標成分として用い、上述の TLC 条件を適宜組み合わせることで使用することにより、7種類のカロテノイド系天然着色料の同定が可能であった。

2. 市販食品への適用

標準品での以上の検討から、本法は市販食品に適用が可能であることが示唆されたので、市販の73種類、294食品に本法を適用した。その代表的な TLC を図-1 に示したが、食品から得られた色素スポットの良好な分離が確認され、さらに、Rf 値及び色調は指標成分の標準品のそれとよく一致していた。したがって、今回開発した一斉分析法は、食品中の夾雑物の影響を受けることなく、確実かつ簡便にこれら7種類のカロテノイド系天然着色料の同定を可能とすることが明らかとなった。

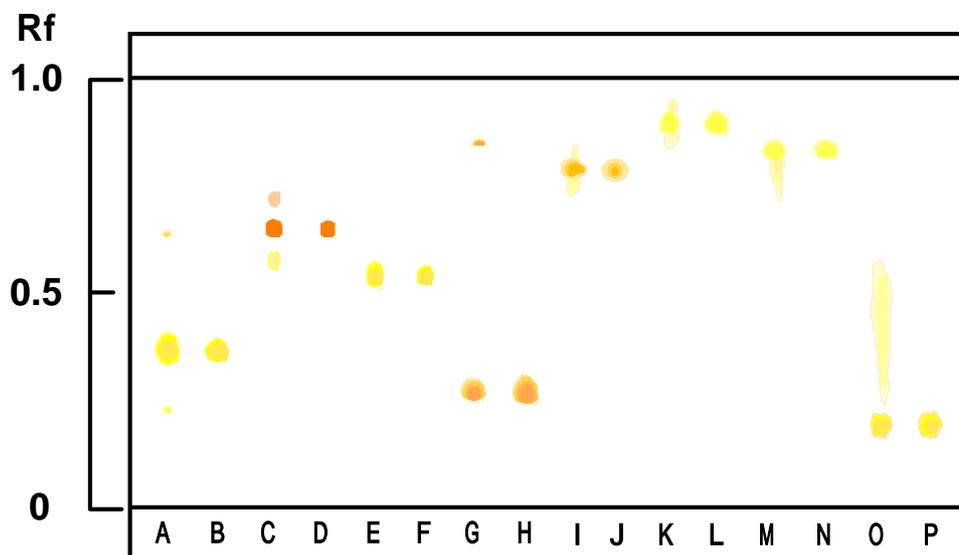


図-1 市販食品から抽出した天然着色料のTLC

- | | | |
|------------------|-----------------------|----------|
| A)ゼリー | B) β -クリプトキサンチン | C)キムチ |
| D)カプサンチン | E)ジュース | F)ルテイン |
| G)スパゲッティソース | H)リコペン | I)ソーセージ |
| J)ノルピキシン | K)漬物 | L)クロシン |
| M)中華麺 | N)クロセチン | O)チョコレート |
| P) β -カロテン | | |

TLC 条件：[2]

以上のことから、本法は特殊な機器を使用することなく TLC のみで食品中の 7 種類のカロテノイド系天然着色料を、簡便かつ迅速に同定するための一斉分析法として有用であると考えられる。

謝 辞

本研究は、愛知県一宮保健所 林 智子主査、愛知県衣浦東部保健所 尾関尚子主任主査、岡崎市保健所 板倉裕子主査らとの共同研究で実施されたものであり、その旨をここに記載し、謝意を表します。

文 献

- 1) 林 智子、上野英二、伊藤裕子、岡 尚男、尾関尚子、板倉裕子、山田貞二、加賀美忠明、梶田厚生、藤田次郎、小野正男
逆相 TLC/スキャニングデンシトメトリーによる β-カロテン及びトウガラシ色素の分析
食品衛生学雑誌, 40, 356-362 (1999).
- 2) 尾関尚子、上野英二、伊藤裕子、岡 尚男、林 智子、板倉裕子、山田貞二、松本浩、伊藤 徹、圓山 皋、鶴田益清、宮澤孝彦
逆相 TLC/スキャニングデンシトメトリーによるウコン、クチナシ黄及びアナトー色素の分析
食品衛生学雑誌, 41, 347-352 (2000).

- 3) Ozeki, N., Oka, H., Ito, Y., Ueno, E., Goto, T., Hayashi, T., Itakura, Y., Ito, T., Maruyama, T., Tsuruta, M., Miyazawa, T., Matsumoto, H.

A reversed-phase thin-layer chromatography/scanning densitometric method for the analysis of gardenia yellow in food using crocetin as an indicator

J. Liq. Chrom., 24, 2849-2860 (2001).

- 4) Hayashi, T., Oka, H., Ito, Y., Ueno, E., Goto, T., Ozeki, N., Itakura, Y., Yamada, S., Matsumoto, H., Nakahashi, C., Otsuji, Y., Akatuska, H., Ter ao, C.

A reversed-phase thin-layer chromatography/scanning densitometric method for the analysis of tomato, orange, and marigold colors in food.

J. Liq. Chrom., 25, 3151-3165, (2002).

- 5) Hayashi, T., Hayashi, K., Fujita, J., Ono, M., Oka, H., Ito, Y., Matsumoto, H., Ozeki, N., Itakura, Y., Nakazawa, H.
- An HPLC method for the analysis of paprika color in food using capsanthin as indicator

J. Liq. Chrom., 24, 2347-2361 (2001).

(文責 化学部 岡 尚男)

愛知衛研技術情報 第27巻 第2号 平成15(2003)年6月30日

照会・連絡先 愛知県衛生研究所

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流7番6号 FAX: 052-913-3641

愛知県衛生研究所のホームページ【<http://www.pref.aichi.jp/eiseiken>】

平成13年5月よりダイヤルインとなりました。

所 長 室：052-910-5604	毒性部・毒性病理科：052-910-5654
次 長：052-910-5683	毒性部・毒性化学科：052-910-5664
研 究 監：052-910-5684	化学部・生活化学科：052-910-5638
総 務 課：052-910-5618	化学部・環境化学科：052-910-5639
企 画 情 報 部：052-910-5619	化学部・薬品化学科：052-910-5629
微生物部・細菌：052-910-5669	生活科学部・水質科：052-910-5643
微生物部・ウイルス：052-910-5674	生活科学部・環境物理科：052-910-5644

FAX: 052-913-3641(変更ありません)