

# 鉤虫卵検査法の研究

## (3) 直接塗抹法の再検討

佐藤 澄子

国立予防衛生研究所 寄生虫部

(昭和 31 年 8 月 2 日 受領)

従来、鉤虫感染程度を測定するための鉤虫排卵量の定量的検査法として Stoll's dilution egg-counting method (以下 Stoll 氏法と略す) が広く用いられてきている。この方法は 1923 年 Stoll によつて創始され、さらに 1926 年 Stoll & Hausheer によつて若干方法が簡便化されて現在に及んでいる。その方法の概要を記すと、まず 1 回排泄全尿の各所から正確に秤量された 1~数 g の部分尿を  $\frac{1}{10}$ -N 苛性ソーダ溶液に溶かす。その時尿 1 g が溶液 15cc 中に含まれるような比率にする。次に尿の粉碎を充分にするために小硝子球をいれて容器をよく振盪し、均等な虫卵浮遊液を得るよう努める。その尿溶液 0.15cc、簡便法では 0.075cc をピペットで吸取つてスライドグラス上に取り、カバーグラスでおつて鏡検し、その中の虫卵数を数える。こうして得られた虫卵数は 0.15cc とつた時は尿 10mg、0.075cc とつた時は尿 5mg 中の虫卵数に相当するからこれを尿 1 g 中の虫卵数に換算する。この単位量尿内虫卵数を鉤虫感染量の示標とするには、さらに肉眼的に識別された尿硬度の各階梯において、経験的に得られた係数によつて補正を行う。

以上の Stoll 氏法操作の主要眼目は次の 2 点にあると思われる。1) 採取尿量を正確に秤量し、かつ稀釈度並びに稀釈液の検査所要量を一定にすることによつて排卵量測定を厳密に定量化する。2) 尿内虫卵分布の不均等性を予想して全尿の各所からとつた部分尿の均等な攪拌溶液を作り、虫卵分布の均一化をはかる。

しかし以上の 2 点の中 2) を考慮せず 1) のルーズな直接塗抹法によつても鉤虫寄生数を概算できることは、従来 Smillie (1921), Cort & Payne (1922), Keller (1934) 等によつて報告されている。Hausheer & Herrick

(1926) は、熟練した技術者による直接塗抹法は尿 1 g 内虫卵数が 300~500 以上の時にはかなり正確な値を与えるということを報告している。さらに平井 (1926) は秤量白金耳を用いて直接塗抹法を定量化し、その方法が Stoll 氏法とほぼ同様な正確性をもつことを報告している。また Beaver (1949) は、photoelectric foot-candle meter によつて一定濃度の塗抹標本を作ると、その中の虫卵数は同一尿についてはほぼ一定で、その変異係数はむしろ Stoll 氏法による値よりやや小さいことを報告している。

以上の報告は鉤虫卵の尿内均等分布の想定を示唆する。私は先にこの想定のもとに実験を行い、本研究の第 1 篇において尿単位量内鉤虫卵の分布型はポアソン分布で近似され、従つて鉤虫卵は尿内にはほぼ均等に分布していることを報告した。

続いて第 2 篇において、尿単位量内虫卵数は、鉤虫の寄生数に変化がなくても種々の要因によつて変動しうること、及びこの変動を補正するために従来用いられてきた種々の方法は何れも必ずしも有効ではないことを明かにした。即ち被検単位尿量を厳密に定量化しても、それによつて鉤虫感染程度を定量的にそれほど厳密に指示することはできないと考えられる。かなりの誤差の巾を予定しなければならぬ。

私は、以上の観点から、種々の制約をうけがちな実際検査において、方法が複雑で実験誤差の入り易い (Stoll & Hausheer, 1926) Stoll 氏法をわざわざ用いることに疑義をもつた。そしてこれに代る簡易で実施し易い鉤虫感染程度測定法として従来の直接塗抹法をとりあげ、その意義について再検討を試みた。

『厚生省衛生検査指針』によつて規格化された直接塗抹 3 枚法を検討の対象とし、それによる被検単位尿量とその変動状況について調べ、直接塗抹法の感染程度測定法としての限界、精度を検した。なお指針の概要を示すと、まずスライドグラス上に水一滴をとる。その量は 18

*Sumiko Sato: Studies on the fecal examination for hookworm. (3) The critical study of the direct smear method in the diagnosis of the grade of hookworm infection. (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo, Japan.)*

×18mmカバーグラスでおおつた時、その下に充分にわたつてしかも外に溢れ出ない程度の量にする。次にマッチの軸木又は妻楊子の先で少量の尿をとり、その水によく混和し薄めてから18×18mmカバーグラスをのせる。採取する尿量はマッチ棒の先の葉よりやや少な目、その稀積度は尿の黄褐色が丁度灰色に移り変わる程度で又標本の下に新聞紙をおいてその活字が明らかに見られる程度にする。以上の標本を3枚作つて検鏡する。

被検材料及検査方法

1) 被検対象

5人の技術者を被検対象とした。内3人は検便の習熟者で2人は未経験者である。未経験者については検査指針を示して暫く塗抹の練習をさせ、よく要領のみこませてから検査した。実際検査において塗抹に未経験者を使うことはしばしば起りうるからである。

II) 検査材料

検査指針では、上記のようにおおよその光の透過度を基準にして尿が稀積された時の濃度を指定している。従つてこれも指針の規定にしたがつて稀積水の量をば一一定にとることになると、被検尿の色調・硬度等によつて採取尿量に或程度の調節が行われる可能性がある。即ち被検尿の性状が採取尿量に影響を及ぼすことが予想される。

その中尿の色調については当然その明暗度が問題になる。しかし Beaver (1949) によつて、塗抹法に用いるような薄層標本では尿色調の明暗度による光の透過度の差は、大ていの場合殆ど問題にならない程度のものであることが報告されているので、ここでは特に考慮しなかつた。

尿硬度については Beaver (1949) も、尿を一定の割合に稀積した場合の濃度が尿硬度に関係することを述べているので、これを被検尿選択の基準とした。

先づ通常の寄生虫検査に提供された尿について、硬度を示標とした場合の尿の出現頻度分布を一応調べてみた。尿硬度を表すには尿乾燥量比率(前報参照)を用いた。その結果を表1に示す。これによつて尿乾燥量比率15%~44%の間に分布する尿が比較的多いことが分つたので、その間で4種類の尿を選んでそれを被検尿とした。

被検尿 No. I~IVの性状の詳細を表2に示した。表中尿乾燥量比率は5標本について検した結果である。尿濃度とは、各尿を一定の割合に稀積して一定の厚さに拡げて作つた尿溶液薄層標本の光の透過度を測定して得た値である。その方法は、光源ランプを垂直にしてその真

第1表 通常検査に供された尿における乾燥量比率分布(括弧内%)

尿乾燥量比率 (%)	東京都南多摩保健所管内	茨城県大宮保健所管内	茨城県石岡保健所管内	計
5~	0(0)	4(5.0)	0(0)	4(1.6)
10~	3(3.6)	2(2.5)	1(1.1)	6(2.4)
15~	21(25.3)	11(13.8)	7(7.7)	39(15.4)
20~	15(18.1)	13(16.3)	20(22.0)	48(18.9)
25~	14(16.9)	15(18.8)	22(24.2)	51(20.1)
30~	11(13.3)	14(17.5)	12(13.2)	37(14.6)
35~	10(12.0)	12(15.0)	15(16.5)	37(14.6)
40~	5(6.1)	5(6.3)	11(12.1)	21(8.3)
45~	2(2.4)	2(2.5)	2(2.2)	6(2.4)
50~	2(2.4)	2(2.5)	1(1.1)	5(2.0)
55~	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
計	83	80	91	254

第2表 被検尿の性状

色調	肉眼的尿硬度	尿乾燥量比率(%)			尿濃度
		最小値	最大値	平均値	
I	暗褐色 有形硬便	38.8~41.1	40.1	200/150	
II	茶褐色 有形便	26.6~33.3	28.8	200/130	
III	黄褐色 有形軟便	24.1~26.6	25.7	200/130	
IV	黄褐色 泥状便	17.2~18.8	17.6	200/90	

下に lux-meter の photo-cell を固定し、最初感光膜を除去した清浄な乾板を photo-cell の上においてそれを透過する光が 200ルクスになるように光源ランプを調整する。次に各尿についてその 0.5g を正確に秤量して10ccの水によく溶かしてからその 1cc を同様な乾板上に作つて 2.5cm 平方の囲いの中に平等に拡げる。それを photo-cell の上において透過した光を検査する。その時の照度の値の低いものほど遮光力が強くつまり濃度が高いわけである。その時の照度を X とすると尿濃度を 200/X と表した。表によると尿乾燥量比率の高値を示すものほど尿濃度も高く、先の見解をうらづけする。なお II と III において尿乾燥量比率に差があるのに尿濃度の差が検出されていない。これについては理由として両者の尿乾燥量比率の差が僅かであり III の方が明色であることが一応考えられるが、検査の実際において ± 5 ルッ

クス程度の誤差を見こしておく必要があると見られるので確定的なことはいえない。

### Ⅲ) 検査方法

1) 採取単位尿量とその変動：実際検査に模して次のような方法で検した。

No. I ~ IV の被検尿を湿室にいれて番号順に並べる。被検技術者は予め秤量してある楊子で塗抹所要量の尿を取る。それを楊子ごと秤量して先にはかつた楊子の重さとの差から採取尿量を知る。被検技術者は、秤量を終った尿をスライドガラス上に予めとつてある水滴によく溶かして均等な尿稀釈液を得るように努める。水滴の量は指針の規定に従つて所要量をほぼ 50mg と決めた。実際には注射器を用いて秤量したが予め調べた 50 標本の平均値は 49.6mg ± 0.12 であつた。次に尿溶液が均等に拡がるように注意しながら 18 × 18mm カバーガラスをのせる。この塗抹標本作製の操作は下に新聞紙を敷いて行い、常に濃度基準が被検技術者の念頭にあるようにした。尿を溶かし終えた楊子は直ちに秤量して楊子尖についた尿溶液の量をはかる。この操作を各尿について順次 3 回づつ繰返す。即ち各尿から 3 枚づつの標本を作つて各尿を一巡すると最初の尿にもどり、これを繰返して各人が各尿について全部で 50 標本づつ作るようにした。秤量には全てトーションバランスを用いた。

2) 濃度基準及び濃度許容限界における尿量とその変動：以上の操作を行つている被検技術者を観察すると、各尿から 3 枚づつの標本を作る時、最初作つた標本の濃度によつて次の標本作製の時の採取尿量を調節しようとする意図が見られる。即ち検査指針によつて指定された濃度基準を各場合に適用して採取尿量を調節している。しかしまたでき上つた標本がその濃度基準からはづれていと思われても、実際にはこの程度ならそのままその標本を採用するという許容限界濃度も各人がもつているようである。そして標本の実際の取捨はこの許容限界濃度において行われている。

このように採取尿量は濃度基準を目標に調節され、許容限界濃度によつて変動の範囲が決められると考えられるが、このそれぞれの濃度における尿量は、濃度の決め方の各人によるずれによつても、尿性状の相異によつても変動を生ずる可能性があるので一応調べてみた。

方法は、各尿について尿量の既知な各濃度の塗抹標本の系列を作り、各人に基準濃度及び許容限界濃度の上限と下限を指摘させて験した。通常塗抹標本に換算する時、採取単位尿量が 0.5mg づつの段階で変化するような

塗抹標本の系列を作つたが、尿の秤量誤差を少くするため段階の単位尿量を 1mg としたので、カバーガラスも倍面積の 18 × 36mm の大きさのものをを用い、稀釈水も倍量にした。

### 観察成績とその検討

#### I) 塗抹単位尿量とその変動

各人の各尿における塗抹尿量についての観察結果を表 3 ~ 6 に示した。なお最初楊子尖に採取した尿量は厳密にいうとそのまま塗抹標本中に含まれる尿量にはならないわけである。つまり塗抹し終えたあと楊子尖に幾分かづつ尿溶液が残るために減量する筈である。この楊子尖に残る尿溶液の量は各人の塗抹のしかたで幾分かづつのふれを示すが、5 人の検査者のそれぞれの平均値は 3.3mg ± 1.31, 4.5mg ± 1.80, 5.0mg ± 1.75, 3.4mg ± 1.73, 3.9mg ± 1.84 であつた。つまり稀釈水をほぼ 50mg とすると、それぞれその 10% 前後の量である。従つてその中に含まれる尿量は、最初採取した尿を秤量する時の誤差範囲に入り得る程度の微量と考えられるので、以下最初の採取尿量をそのまま塗抹尿量として述べる。

表 3 に各塗抹標本 1 枚中の尿量の各人・各尿における 50 標本平均値とその標準偏差を示した。なお各人・各尿別一括した場合の平均値、各出現値の最小値と最大値、変異係数と、表中右隅にはさらに全標本を一括した場合のそれぞれの値を併せ示した。

表によつて各 1 枚標本の塗抹尿量をみると、その全標本平均値は 3.9mg、各出現値の最小値 ~ 最大値は 0.5mg ~ 12.0mg である。

上記各出現値の変動はかなり著しい (変異係数 50%)。この変動の要因として各人の秤量誤差が当然考えられるが、なお各人・各尿における 50 標本平均値をみてもその変動はかなり著しく、その最小値 ~ 最大値は 1.7mg ~ 6.0mg なので、技術者の相異及び尿性状の相異も塗抹尿量変動に関与するのではないかと考えられる。以下この塗抹尿量変動の要因について検討する。

1) 技術者及び尿性状の相異による変動：先づ同一尿における各技術者の塗抹尿量平均値をみると各人の間にかんがりのふれがみられる。No. I の尿においては各人間の最小平均値 (表 3 中下線を附す) ~ 最大平均値 (表 3 中上線を附す) は 1.7mg ~ 3.3mg, No. II. 2.8mg ~ 5.4mg, No. III. 3.6mg ~ 4.5mg, No. IV. 5.0mg ~ 6.0mg である。この各人間のふれはそれぞれ 1% 以下の危険率で有意であつた。

第3表 各人・各尿における塗抹尿量とその変動（1枚標本）（単位mg）

	各 人 別				平均値	出現値 最小値～ 最大値	変異係数
	I	II	III	IV			
A	3.3±1.09	5.4±1.55	4.5±2.26	5.0±1.89	4.1	1.5～9.0	67.6%
B	2.5±0.54	3.4±1.73	3.6±1.28	6.0±1.85	3.9	1.0～11.0	47.9%
C	2.7±1.10	3.5±1.26	4.2±1.94	5.8±1.88	4.0	0.5～11.0	51.3%
D	1.7±0.72	2.8±1.15	3.7±1.21	5.2±1.35	3.3	0.5～9.5	52.4%
E	2.2±1.04	3.2±1.12	4.0±1.65	5.5±2.15	3.8	0.5～12.0	49.6%
各 尿 別	平均値	2.5	3.7	4.0	5.5	3.9	
	出現値 最小値～最大値	0.5～6.0	1.0～11.0	1.0～10.0	1.5～12.0		0.5～12.0
	変異係数	44.1%	44.8%	44.0%	34.4%		50.0%

次に同一人における塗抹尿量平均値を各尿別にみてゆくと、やはり各々かなりのふれを示している。技術者Aでは各尿間の最小平均値～最大平均値は3.3mg～5.4mg、Bでは2.5mg～6.0mg、Cでは2.7mg～5.8mg、Dでは1.7mg～5.2mg、Eでは2.2mg～5.5mgである。このふれは何れも1%以下の危険率で有意であり、しかも上記の各人間のふれよりむしろ顕著のようである。

そこで表3により、尿性状の相異を無視して一括した各人についての塗抹尿量平均値の変異係数（表中各人別変異係数）と、技術者の相異を無視して一括した各尿についての塗抹尿量平均値の変異係数（表中各尿別変異係数）を比較してみると、前者は47.9%～67.6%、後者は34.4%～44.4%で前者の方が高値を示している。やはり各尿間のふれの方が大きい。

即ち塗抹尿量平均値は技術者及び尿性状の相異によって推計学的に有意な変動を示し、従つて両者とも塗抹標本作製の際の塗抹尿量変動の要因となり得ると思われるが、その中特に尿性状の相異の方がより大きく変動に関与するものと思われる。

次いで両要因による塗抹尿量変動の傾向をみる。

再び表3により同一尿における各技術者の塗抹尿量平均値を一覧すると、技術者Dは尿No. I, II, IIIにおいて各人間最小平均値を示し、技術者Aは尿No. I, II, IIIにおいて各人間最大平均値を示している。全尿一括しての平均値ではやはりA、4.1mgで各人間最大平均値、D、3.3mgで各人間最小平均値を示した。即ちこの実験においてはAにおいてより多く秤量する傾向、Dにおいてより少く秤量する傾向がみられた。Dは塗抹初心者で、検査指針の濃度基準にかなり神経質に留意し、特に

標本が濃すぎないように注意している様子が観察された。

また同一人において各尿別に塗抹尿量平均値をみてゆくと、多少の例外はあるが概ねI<II<III<IVの順にその価が大きくなる傾向が見られる。各人を一括しての平均値でも、尿No. I. 2.5mg, No. II. 3.7mg, No. III. 4.0mg, No. IV. 5.5mgと同様の傾向を示している。比率で示すとほぼ1:1.5:1.6:2.2と変動しており、表2の各尿についての尿乾燥量比率を参照すると、その価とほぼ逆比例していることがわかる。即ち乾燥量比率のより高値を示す尿、尿硬度についていえばより硬い尿ほど塗抹尿量が減じてゆく傾向がみられる。

2) 秤量誤差による変動：表3により、各人・各尿についての塗抹尿量各50標本平均値の標準偏差をみると、何れもかなり高値を示している。即ち同一技術者・同一尿材料をもつてしても、秤量が目分量で行われるため秤量誤差による変動がかなり著しくなる。

この秤量誤差変動の程度は各技術者の秤量のしかたで異り得ると思われるので、これを調べるために表4に各人・各尿における塗抹尿量変異係数を示した。表中、各

第4表 各人の各尿における塗抹尿量変異係数(%)

	I	II	III	IV	平均
A	32.8	28.7	49.7	37.8	37.3
B	21.7	50.9	35.7	30.9	34.8
C	41.5	36.0	46.4	32.3	39.1
D	32.6	41.7	32.8	26.1	33.3
E	46.6	34.6	40.9	38.9	40.3

第5表 各人の各尿における塗抹尿量出現値の範囲 (単位 mg)

	I		II		III		IV	
	範囲	範囲	範囲	範囲	範囲	範囲	範囲	範囲
A	4.5	1.5~6.0	8.5	2.5~11.0	7.5	1.5~ 9.0	7.5	1.5~ 9.0
B	4.0	1.0~5.0	8.5	1.0~ 9.5	6.0	1.0~ 7.0	7.5	3.5~11.0
C	4.5	0.5~5.0	6.0	1.5~ 7.5	9.0	1.0~10.0	9.0	2.0~11.0
D	3.5	0.5~4.0	7.5	1.0~ 8.5	6.5	1.0~ 7.5	7.5	2.0~ 9.5
E	5.0	0.5~5.5	5.0	1.5~ 6.5	6.0	1.5~ 7.5	10.0	2.0~12.0

尿別に各技術者間の変異係数最大値には上線, 最小値には下線を附して示したが, これを参照してみてもいづれかという技術者 D において変異係数がより小さく, E においてより大きいようである。即ち技術者 D において秤量誤差変動がより小さい傾向, E においてより大きい傾向が見られた。D, E, 共に塗抹初心者であるが, 前述のように D は特に細心に秤量していたため変動が比較的少かつたのではないと思われる。

表5には秤量誤差による変動の範囲の実際の値と, その上限における塗抹尿量を示した。これによると変動の範囲は各人によっても多少のふれがあるが, 尿性状の差によるふれはより顕著で, 範囲及び上限, 下限における塗抹尿量は, それぞれ尿硬度を参照する時平均値が示したのと同じ傾向を示している。即ち尿硬度のより硬いものほど量が少くなる傾向を示す。しかして範囲の最大値は技術者 E, 尿 No. IV, における10.0mgで, その上限及び下限の尿量は12.0mg~ 2.0mgであるが, 表3によると全標本を通じての最小値~最大値は 0.5mg~12.0mgであるからその範囲は11.5mgで両者に大差なく, 秤量誤差変動

の全標本変動に与える影響はかなり大きいと思われる。

しかし以上の秤量誤差変動は, 塗抹3枚標本合計の尿量についてみればかなり軽減される可能性がある。前述のように, 塗抹に際しては最初作った塗抹標本の濃度によって次の標本の塗抹尿量の調節が行われているから, 尿量変動が平均化されると考えられる。従つて, その全標本変動も軽減されるわけである。表6には, 表3のデータに基いて, 3枚塗抹総尿量についての各人・各尿における標本平均値, 各尿別・各技術者別に一括した場合の平均値と各出現値の最小値~最大値, 並びに表右側には全標本を通じての平均値と各出現値の最小値~最大値及び変異係数を示した。これによると全標本の平均値は11.8mgとなり, 各出現値の最小値は3.5mg, 最大値は29.5mgで最大値は最小値のほぼ8.4倍, 変異係数は39.5%であった。各1枚塗抹標本における全標本の変動状況は, 表3により, 最小値0.5mg, 最大値12.0mgで最大値は最小値の24倍, 変異係数は50%であるから, 3枚標本の全標本変動はかなり軽減されている。

なお以上の塗抹標本における秤量誤差変動は, 各出現

第6表 各人・各尿における塗抹尿量とその変動 (3枚標本) (単位 mg)

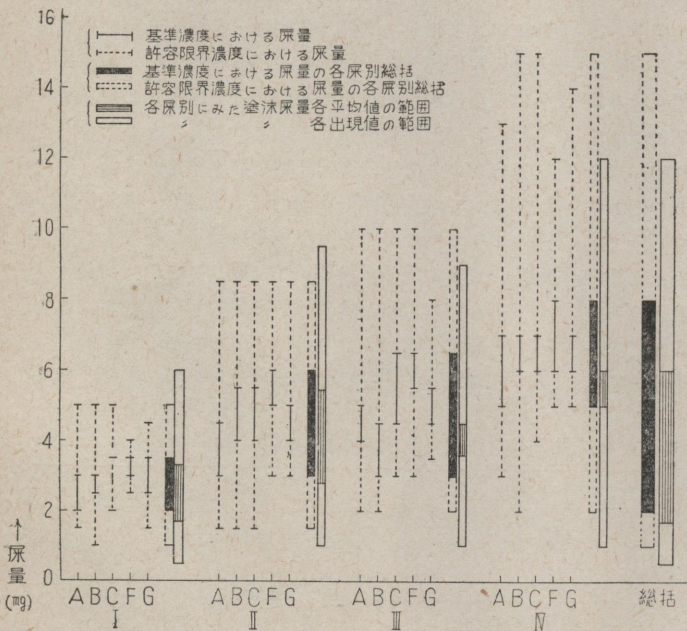
	I	II	III	IV	各 人 別		
					平均値	出現値 最小値~ 最大値	変異係数
A	9.9	16.1	13.6	14.8	13.6	5.5~22.0	
B	7.6	10.2	10.6	18.1	11.6	4.5~24.0	
C	8.2	10.3	12.5	17.4	12.1	4.0~29.5	
D	5.1	8.3	11.3	15.6	10.1	3.5~19.0	
E	6.8	9.8	12.4	16.9	11.5	3.0~28.0	
各尿別	平均値	7.5	10.9	12.1	16.6	11.8	
	出現値 最小値~ 最大値	3.5~14.5	6.0~20.5	5.5~25.0	8.0~29.5	3.5~29.5	
	変異係数						39.5%

値の範囲と平均値との関係をも推察されるように平均値は値の小さい方に偏し、厳密には正規分布をとるといい得ないと思われるが、便宜上正規分布として取扱った。

II) 基準濃度及び許容限界濃度における尿量とその変動

図1には、各人の各尿における基準濃度及び許容限界濃度における尿量と、その各尿別の総括、さらに図右端に各尿を通じてこの総括を示した。なお先の検査結果に基づく実際の塗抹尿量の各尿別、及び全標本を通じての各出現値及び各技術者別平均値の範囲をも併示した。この検査対象になった技術者は、先の検便の未経験者2人を除き、新に習熟者2人を加えて全て検便習熟者とした。許容限界濃度は検便習熟者によって初めて決定しうからである。

第1図 基準濃度及び許容限界濃度における尿量



1) 基準濃度における尿量とその変動：図によると基準濃度における尿量は各人・各尿を総括すると2mg~8mgである。

その各々をみると、基準濃度における尿量は尿No. Iにおける技術者Cを除き全て或巾をもっている。これは段階単位尿量0.5mgづつの変化は隣接標本の濃度に著差を生じないためと思われる。従って尿乾燥量比率が最

高値で濃度の最も濃い尿 No. I よりもより薄いII, III, IVにおいて若干その巾が広がる傾向がみられる。つまりII, III, IVにおいては段階の濃度変化がより緩慢になるためと考えられる。またその各々には同一尿においても各技術者間で若干のずれが見られる。これは指針の濃度基準の指定しかたがそれれほど厳密なものでないののでその実際への適用にあたって各人の基準濃度に幾分ずれを生じたものと考えられる。当然そのずれの程度は、標本の濃度変化の緩慢なより濃度の薄い尿において若干大きくなっている。

基準濃度における尿量を各尿別に一括してみると、尿No. I 2.0mg~3.5mg, No. II 3.0mg~6.0mg, No. III 3.0mg~6.5mg, No. IV 5.0mg~8.0mgとなり、概ねI < II < III < IVと、尿乾燥量比率にほぼ逆比例してその量が多くなっている。尿濃度の薄いものほど同一程度の濃度を得るのに多量を要するわけで当然の結果である。

2) 許容限界濃度における尿量とその変動：図によると許容限界濃度における尿量は各人、各尿を通ずる時その上限は15mg、下限は1mgで範囲は14mgになる。

その各々には同一尿においても各技術者間で若干のずれが見られる。

各尿別に一括すると、その下限及び上限における尿量は尿No. Iでは0.5mg~6.0mg, No. II 1.5mg~8.5mg, No. III 2.0mg~9.0mg, No. IV 2.0mg~15.0mgとなり、上限、下限における尿量及びその範囲は尿乾燥量比率の高値を示すものほど量が少くなる傾向がみられる。これは基準濃度における尿量と尿性状との関係とほぼ一致し、同一理由による。

この許容限界濃度における尿量と基準濃度における尿量との関係をみると、後者は前者の範囲の中に許容限界下限に近く偏って存在する。即ち基準濃度より

より薄い方への許容限界よりも、より濃い方への許容限界の方が寛大であるという結果になっている。

3) 基準濃度及び許容限界濃度における尿量と実際の塗抹尿量との関係：以上の基準濃度並びに許容限界濃度における尿量とその変動の状況は、前述の塗抹尿量とその変動の状況にほぼ一致するものと思われる。

図1によると各平均値はほぼその材料尿の基準濃度の

尿量の範囲内にあり、塗抹尿量が基準濃度で調節され、各人・各尿についての基準濃度における尿量が実際には秤量の目標になっていると考えられる。つまり塗抹尿量の尿性状の相異による変動は、各尿の基準濃度における尿量の尿性状による変動に基づくといえよう。

また各出現値の変動範囲の上限及び下限はその材料尿の許容限界濃度における上限及び下限の尿量とほぼ一致しているようである。その中尿 No. I, II の各出現値の範囲の上限・下限及び No. III, IV の下限がそれぞれ許容限界を 0.5mg ~ 1.0mg 越えているが、この程度の尿量変化は濃度の著しい変化を来さないため許容されたものと思われる。また No. IV においては許容限界濃度上限に比べて各出現値の範囲の上限はかなり小さい。この際の許容限界濃度上限の尿量は 15.0mg であるから、マッチ棒の先の葉よりやや少な目という体積単位の秤量基準からみて多すぎる量になり、実際には秤量され難いためと考えられる。しかし塗抹尿量は、各人・各尿における許容限界濃度の尿量に、概ね変動の実際の範囲を制限されているといえよう。

また図において、許容限界濃度と基準濃度における尿量の相互関係が、塗抹尿量各出現値の範囲と平均値との関係に反映しているのを見る。塗抹の実際においては、基準濃度における尿量が大体秤量の目標になっているが、たまたま作られた基準濃度よりかなり濃すぎる標本はそのまゝ許容され、薄すぎる標本には許容限界がきびしいと共に、さらに基準濃度を中心にして許容限界上限の尿量と対称的な位置の尿量はあり得ず、塗抹尿量出現値の下限はかなり制限される。先述のように塗抹尿量の秤量誤差変動が正規分布といえない分布型を示した所以と考えられる。

### III) 感染程度測定法としての直接塗抹法の検討

以上現在行われている直接塗抹法における塗抹尿量とその変動の状況について検討した。

その結果によると、各技術者が通常の検査に提供される各種の尿について直接塗抹標本を作る時、各 1 枚標本の平均尿量は 3.9mg、3 枚合計の平均尿量は 11.8mg であった。この 3 枚合計の平均尿量は Stoll 氏法の所謂 large drop の被検単位尿量とほぼ等しく、その改良法の small drop の被検単位尿量の約倍量である。この 3 枚合計の平均尿量を直接塗抹法による 1 回の検査単位尿量としてその鉤虫卵検出限界をみると、虫卵陰性確率を 2% 以下におさえる時、1 単位量内の排卵数の母平均は 4.0 個以上

であるから、E. P. G. はほぼ 350 個以上となる。E. P. G. P. F. は各実験者によつてかなり区々であるが Stoll (1923) によるアメリカ鉤虫 44 個、ツビ=鉤虫 200 個一有形便一をとると前者ではほぼ ♀ 8 匹以上感染、後者ではほぼ ♀ 2 匹以上感染の場合ということになる。

しかし塗抹法における単位尿量は厳密に定量化されていないために、種々の要因によつてその実際の塗抹尿量はかなりの変動を示した。

その中尿性状の相異による塗抹尿量変動は一定の傾向を示し、尿硬度に逆比例して有形硬便 < 有形便 < 有形軟便 < 泥状便の順にほぼ 1 : 1.5 : 1.6 : 2.2 の比率で尿量が増していた。この変動は各尿についての塗抹基準濃度における尿量が実際の秤量の目標になる結果起るものと考えられた。Stoll 氏法では尿硬度に応じて単位量内虫卵数に係数をかけて排泄尿量の変動に基づく尿内虫卵密度変動の補正を行つている。この補正法は前篇で検討したように、個々の場合については単位量内虫卵数を産卵量のより正確な示標にするための有効な補正法とはいひ難い。しかし一般に尿の 1 成分である水分含有量がふえれば全尿量がふえる傾向にあるのは当然であるから、Stoll 氏法が初めてその有用性を発揮するといわれる (中略, 1926) 集団の概括的感染程度の表示のための検査に Stoll 氏法を用いる場合には、その補正法は有用であると考えられる。しかして直接塗抹法におけるこの尿性状による塗抹尿量の変動は、Stoll 氏法における補正法と同様な意義において有用なものと考えられる。

次に各技術者間の変動及び秤量誤差変動について検討する。塗抹法における秤量誤差変動はかなり著しく、このため同一人が同一尿材料によつて標本を作つても、各標本内虫卵数の変動はかなり顕著になる筈である。Hausheer & Herrick (1926) は 20 例の検査で塗抹標本内虫卵数の変異係数 67 という結果を得ている。表 7 は技術者 A が行つた通常の寄生虫検査での鉤虫卵陽性例 10 例において、6 標本内虫卵数の変動状況を調べた結果である。これによると変異係数平均値は 60.6 で上記の数字とほぼ一致している。Beaver (1949) は Stoll 氏法による 41 例の検査で 5 標本内各虫卵数の変異係数平均値 25 という結果を得ているから、塗抹法による変動は Stoll 氏法による変動に比べてかなり著しい。Beaver はこの Stoll 氏法の実施と併行して直接塗抹法を行つたが、この際塗抹標本の基準濃度を厳密に定量化する方法を講じて秤量誤差変動の軽減をはかつた。これによつて同時に各技術者間の基準濃度のずれによる塗抹尿量変動もなくなる。

第7表 塗抹6標内虫卵数の変動状況  
(技術者Aによる)

	1	2	3	4	5	6	平均 値	変異 係数
1	7	8	2	12	20	20	11.5	58.0
2	8	10	7	4	1	4	5.7	51.2
3	1	1	3	10	17	8	6.7	84.9
4	2	2	0	5	11	8	4.7	80.2
5	7	7	6	1	6	3	5.0	44.8
6	6	2	4	9	9	10	6.7	42.5
7	4	4	2	9	6	5	5.0	43.4
8	3	3	7	16	28	20	12.8	73.0
9	2	14	3	3	5	3	5.0	82.4
10	31	17	17	13	47	34	26.5	45.2
平均値							60.6	

そして5標本内各虫卵数の変異係数41例平均値22という結果を得ている。これは Stoll 氏法による変異係数よりやや小さく、また表8に示したようにトーションバランスで厳密に塗抹単位尿量を秤量して得られた5標本内各虫卵数の変異係数は5例平均で23.9であつたから、Beaverによる定量化の手続きの正確なことが推察される。

第8表 塗抹5標本虫卵数の変動状況  
(各10mg秤量)

	1	2	3	4	5	平均 値	変異 係数	
1	3	3	8	4	5	4.6	41.3	
2	10	6	12	10	8	9.2	27.2	
3	35	44	45	47	35	41.2	12.4	
4	7	5	5	6	3	5.2	25.0	
5	15	19	21	23	20	19.6	13.8	
平均値							23.9	

しかしこの方法は一般検査では行われ難いと思われるので、塗抹方法をBeaver法に模し基準濃度の決め方は従来の目測で行つた場合の5標本内各虫卵数変動について調べてみた。方法は、新聞紙を敷いてその上に5枚のスライドグラスをおき、通常塗抹所要量の水滴を予め5枚のスライドグラス上におとしておく。楊子尖で少量の尿を取り水滴1によく溶かす。その際下の活字をすかしてみながら基準濃度を念頭において適当と思われる濃度に達するまでさらに少量づつ尿を加えてゆく。固型夾雑物はなるべく除く。次いで2, 3, 4, 5と尿溶液を

ほぼ同じ面積に拡げて同程度の濃度になるように見比べながら同様の方法で尿を溶かしてゆく。溶かし終えたら各々に18×18mmデッキグラスを静かにのせる。かくしてほぼ著者の基準濃度に適合した、しかも各標本濃度にむらの少ない5標本を得た。この5標本作製に要した時間は

第9表 塗抹標内虫卵数の変動状況  
(著者による)

	1	2	3	4	5	平均 値	変異 係数	
1	33	21	18	20	29	24.2	23.9	
2	3	7	8	7	2	5.4	44.8	
3	5	8	6	7	4	6.0	23.5	
4	3	2	1	2	4	2.4	42.5	
5	7	4	6	6	2	5.0	35.8	
平均値							34.1	

5分内外である。この方法による5例検査の結果は表9に示した。これによると5例の変異係数平均値は34.1で厳密に定量化した場合よりも変動が著しいが、通常の場合に比べてかなり変動は軽減されている。即ち直接塗抹法における秤量誤差変動は、技術者の目測でも許容限界濃度の範囲を従来より制限し各標本に基準濃度を厳密に適用しようとする努力でかなり軽減することができる。即ちほぼ各人の基準濃度における尿量のふれの範囲内に軽減しようと思われる。このふれの範囲は、図1によるとさらに各技術者間の塗抹尿量変動をもたらずと考えられる基準濃度の各人間のずれを考慮に入れても最小は尿No. Iにおける1.5mg、最大は尿No. IIIにおける3.5mgであるから、各人の尿における塗抹尿量平均値2.5mg及び4.0mgに比べて大きな価ではない。なお今までの実際の塗抹状況を見ると、先述のように基準濃度よりより濃い方への許容限界がかなり寛大であつたから、この際特に濃すぎないようにとの注意が有用と考えられる。

以上により直接塗抹法は、基準濃度の適用を厳密にすることにより、その被検単位尿量のふれをかなり軽減し得、同時に尿量変動に基づく虫卵密度変動の或程度の補正を行いうるから、他の検査法以前の諸問題も考慮に入れる時、Stoll氏法と同じく集団の感染程度の概括的表示の目的にはそいうる検査法と考えられる。なおこの際の検出限界の虫卵数は、実際には尿硬度により1回の被検単位尿量(3枚合計塗抹尿量平均値)が7.5mg~16.5mgと変動するから、虫卵陰性確率を2%以下におさえる時E.P.



G. 530個～240個と変動するわけである。しかし現実の問題は鉤虫感染の程度の測定であるから、尿性状の相異に基くこの検出限界 E. P. G. の変動は、尿量変動に基く虫卵密度変動を考慮に入れる時、概括的には等値といえるであろう。

### 要 約

通常の検査に提供される各種の尿について、5人の技術者を用いて『厚生省衛生検査指針』に基く直接塗抹標本を作り、塗抹尿量及びその変動の状況を検討し、直接塗抹法の鉤虫感染程度測定法としての意義の再検討を試みた。

1) 上記検査における塗抹標本3枚合計の尿量平均値は11.3mgでこれがほぼ直接塗抹法における1回の被検単位尿量になると考えられる。

2) この塗抹尿量は検査技術者及び尿性状の相異によつてふれを示し、なお同一人、同一尿材料をもつてしてもかなり著しい秤量誤差変動を示した。

3) しかしこの変動のうち、尿性状の相異に基く変動は感染程度測定法としては有用であり、各技術者の相異及び秤量誤差に基く変動は検査指針基準濃度の厳密な適用によりかなり軽減しようと考えられる。

4) 以上により直接塗抹法は Stoll 氏法と同じく、集団の概括的感染程度の表示の目的にはそういう検査法と考えられる。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜つた部長小宮義孝博士に心からなる謝意を表します。なお本研究に御協力下さつた予研寄生虫部の諸兄姉に深謝いたします。

### 文 献

- 1) Beaver, P. C. (1949) : Quantitative hookworm diagnosis by direct smear. *J. Parasit.*, 35, 125-135. —2) Beaver, P. C. (1950) : The standardization of fecal smears for estimating egg production and worm burden. *J. Parasit.*, 36, 451-456. —3) Cort, W. W. and Payne, G. C. (1922) : Investigations on the control of hookworm disease. VI. A study of the effect of hookworm control measures on soil pollution and infestation in a sugar estate. *Am. J. Hyg.*, 2, 107-148. —4) 平井正就 (1926) : 蛔虫及十二指腸虫の排卵数と寄生虫体数との数的関係並に虫卵計算法. 慶応医学, 6, 973-994. —5) Hausheer, W. C. and Herrick, C. A. (1926) : The place of the smear in hookworm diagnosis. *Am. J. Hyg.*, 6, July Suppl., 136-148. —6) Keller, A. E. (1934) : A comparison of the

efficiency of the Stoll egg-counting technique with the simple smear method in the diagnosis of hookworm. *Am. J. Hyg.*, 20, 307-316. —7) 小平敬子, 矢島ふき (1952) : ストール氏法による鉤虫卵検査法の研究. (1) 検査単位容積中の虫卵分布について. 第11回寄生虫学会関東部会発表. —8) 中路三平 (1928) : 寄生虫感染程度測定法としての虫卵計算法の意義並に実験的批判. 慶応医学, 8, 2201-2277. —9) Smillie, W. G. (1921) : A comparison of the number of hookworm ova in the stool with the actual number of hookworms harbored by the individual. *Am. J. Trop. Med.* 1, 389-395. —10) Stoll, N. R. (1923a) : Investigations on the control of hookworm disease. XV. An effective method of counting hookworm eggs in feces. *Am. J. Hyg.*, 3, 59-70. —11) Stoll, N. R. (1923b) : Investigations on the control of hookworm disease. XVIII. On the relation between the number of eggs found in human feces and the number of hookworms in the host. *Am. J. Hyg.*, 3, 156-179. —12) Stoll, N. R. and Hausheer, W. C. (1926a) : Accuracy in the dilution egg counting method. *Am. J. Hyg.*, 6, March Suppl., 80-133. —13) Stoll, N. R. and Hausheer, W. C. (1926b) : Concerning two options in dilution egg counting: small drop displacement. *Am. J. Hyg.*, 6, March Suppl., 134-145.

### Summary

In order to see whether the direct smear method can be apply as an index to measure the grade of hookworm infection, I made analyzed several experiments on a serie of smear examinations. The smear was made according to the procedure directed by "Standard Methods of the Sanitary Examinations" published by Ministry of Health & Welfare. At experiment the fecal content of each specimen was measured quantitatively and the variation of its content was calculated on each technicians under experiments. The results were summarized as follows:

1) The mean of the fecal quantity in three successive smear specimens was 11.8 mg, which is to be regarded as the unit fecal quantity at the single examination.

2) Actually, these smear quantities showed some variations.

3) These variations were constituted from the properties of the stool and from the estimation error of each personal under examination. However, the variations according to the properties

of the stool is rather favorable to correct automatically the variation of egg density in stool, and the personal estimation error can be corrected by the strict applications of the "color standard of each smear" described in the above

book.

4) Thus, as Stoll's method, the direct smear method is appeared to be able to be the general index for the measurement of the grade of hookworm infection.

### 寄贈文献目録(7) つゞき

292. 上野計, 市川収, 尾形藤治(1953): 蛔虫卵の細胞化学的形態 第1報, 虫卵發育各期の核酸多糖類の消長について. 同上, 2(1), 6~7.
293. 角田清, 市川収, 尾形藤治(1953): 鶏コクシチウムの細胞内寄生と其の物質代謝 第3報, 酸性グリセロ磷酸酵素の消長に就いて. 同上, 2(2), 7~8.
294. 尾形藤治, 上野計(1953): 馬及豚蛔虫に対するミブヨモギの野外駆虫試験. 同上, 2(5), 3.
295. 石原忠雄, 尾形藤治(1953): 蟻に寄生するセタリアに関する研究. 同上, 2(5), 6~7.
296. 角田清(1953): 岡崎種畜牧場で発生せる鶏黒頭病に就て. 同上, 2(5), 8.
297. 石原忠雄, 石井進(1953): 数種薬剤に対する小型ピロプラズマ病の態度. 同上, 2(6), 7~8.
298. 石原忠雄, 尾形藤治, 上野計, 二宮正明, 川田史郎, 三木茂(1954): 緬山羊の脳脊髄糸状虫病予防に関する研究特に牛体内セタリア駆虫による予防法について, 第3報 予防効果について. 同上, 3(1), 7.
299. 上野計, 石原忠雄, 市川収, 尾形藤治(1954): *Microfilaria digitata* と *M. marshalli* の組織化学的形態 第1報母虫より摘出した *Microfilariae* の比較. 同上, 3(2), 2.
300. 石原忠雄, 米村寿男, 市川収, 上野計, 尾形藤治(1954): 緬山羊の脳脊髄糸状虫病的免疫学的研究, 第2報, 皮内反応の診断的価値. 同上, 3(3) 1~2.
301. 角田清, 尾形藤治(1954): Thiuram 化合物の鶏コクシチウム殺虫効果について, 第2報, Dimethyl-dithiocarbamate の殺虫効果. 同上, 3(6), 1~2.
302. 佐々木昇, 佐藤政雄, 佐野敬二(1954): 馬の皮膚マイクロフィラリア症に関する研究, 第4報, (その一) ピペラヂン誘導体(スパトニン)の本症に対する最少有効量を求めて. 同上, 3(8), 5~6.
303. 石原忠雄, 石井進: 小型ピロプラズマ病に関する研究, 第2報, 小型ピロプラズマの牛体内特に赤血球内に於ける發育環について. 同上, 3(10), 94~95.
304. 角田清(1954): 鶏コクシチウムオーシストの消毒に関する研究. 第1報, 各種薬剤による殺卵試験. 同上, 3(10), 95~96.
305. 石原忠雄(1954): 小型ピロプラズマ病に関する研究. 第3報, 日本の畜牛に認められる所謂大型ピロプラズマに就いて. 同上, 3(11), 103~104.
306. 岩田神之介, 渡辺昇蔵(1954): ヒメモノアラガイの生態發育史に関する研究. 同上, 3(11), 105.
307. 石原忠雄, 上野計, 尾形藤治(1955): 夏癬に関する研究. 第1報, *Onchocerca cervicalis* のマイクロフィラリアの寄生率並に分布. 同上, 3(12), 109~110.
308. 北岡茂男, 矢島朝彦, 上野計, 石原忠雄(1955): 同上, 第2報, ヌカカについて, 同上, 4(1), 3.
309. 上野計, 石原忠雄, 北岡茂男, 矢島朝彦(1955): 同上, 第3報, 小平地方に於ける *O. cervicalis* の中間宿主としてのヌカカについて. 同上, 4(1), 3~4.
310. 石原忠雄, 上野計, 尾形藤治(1955): 同上, 第4報, 発病素因の遺伝学的考察. 同上, 4(1), 4~5.
311. 石原忠雄, 緒方一喜(1955): 同上, 第5報, 青森県上北郡地方に於ける吸血昆虫特に虻, 並虻に関する二, 三の研究. 同上, 4(2), 11~12.
312. 石原忠雄, 上野計(1955): 同上, 第6報, 発病素因の遺伝学的考察補遺. 同上, 4(8), 54~55.
313. 同上(1955): 同上. 第7報, 防虫法による夏癬の予防試験. 同上, 4(10), 68~69.
314. 同上(1956): 同上, 第8報, 抗ヒスタミン剤を中心とした予防治療試験. 同上, 5(1), 1~2.