

鉤虫卵検査法の再検討

——冬期検査時における浮游法および培養法の 鉤虫卵検出力について——

小宮 義孝 小林 昭夫 杉山 太幹 久津見 晴彦

国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和35年4月1日受領)

本邦における鉤虫保有者の分布は、厚生省による広汎なる集計データによると全国平均鉤虫感染率は約4~5%となつている。しかしこのような感染率をもとめる場合におけるその基調となつているデータは、主として保健所および衛生研究所で行つた一般検便成績によるものであり、この場合における検査方法も、普通の直接塗抹標本1~3枚が主体となつているので、鉤虫卵検査を目的とした、より検出精度のたかい検査法、たとえば飽和食塩水浮游法を用いて検査したならば、はるかに高い陽性率がえられるはずである。実際そうした高精度の検査法を用いて行われた場合における諸家の鉤虫卵検査成績をみると、いずれも上記の感染率をはるかに上廻つた陽性率がみられ、本邦農山村における鉤虫感染率は、とくに高緯度の寒冷地は別として、平均20~30%ないしはそれ以上と推定されている(小宮, 1958)。

そうした鉤虫感染の実態があきらかになるにつれ、近年ようやく同虫対策の重要性が一般にも認識されるようになり、その結果として鉤虫問題はいまや厚生行政上の重要課題の一つとしてとりあげられるまでにいたつている。そしてその検査には、現在では卵検出力の高い飽和食塩水浮游法を採用することが原則とされている(厚生省, 1958)。

便中の鉤虫卵(仔虫)の検出には、上記集卵法のほかに最近では濾紙培養法もかなり汎く行われている。培養法の鉤虫卵(仔虫)検出の精度は、それが適切に行われた場合にはきわめて高く、ふつうには飽和食塩水浮游法のそれよりも優ると考えられている。そのような考えから鉤虫駆虫剤投与後におけるその効果判定時には、いわゆる「見かけの陰転」の介在をできうるだけ小さくおさ

えようとする意図のもとに、検出力のたかい培養法を浮游法と併用することがすすめられている(小宮ら, 1959)。

しかしすでに著者らが説いたように、培養法は、それが本来卵の発育、孵化、仔虫の発育とその走性をもふくむ一連の生物学的な機序を基調としているわけであるから、たんに物理的な操作だけで行われる浮游法に比すれば、それだけ虫卵検出力の安定性にとほしいとも考えられる。とくに寒冷期において、被検便が検査にうつされるまでにある程度まで低温に曝されて保存されたような場合には、いちじるしく検出力が低下してしまうことが容易に考えられる。また事実そうした事例に該当すると考えられるデータも散見されており、培養法施行にともなうこのような危険性についてはすでに指摘した(小宮ら, 1955, 1959)。

そこで著者らは冬期鉤虫卵集団検査時において、ほぼふつうの手順にしたがつて行われた場合における上記浮游、培養両法の鉤虫卵(仔虫)検出力についての比較試験を埼玉県深谷地区の一般農民を対象として実際に行つてみた。

なお同時に飽和食塩水浮游法について、各地保健所、寄生虫予防協会等の検査機関では、浮游検査に用いる試験管として、中試験管のかわりに小試験管で代用して行つていところも多い実情にあるので、被検便を同一として中試験管、小試験管各同時使用時における鉤虫卵検出力についての比較検討をも行つてみた。以下はその報告である。

中試験管浮游法と小試験管浮游法の 鉤虫卵検出力についての比較試験

被検対象は埼玉県深谷市藤沢地区在住の一般農民 605

本研究の一部は千代田生命厚生事業助成金の補助によつた。記して謝す。

名で、これを昭和34年12月16日、17日の両日にわたり、それぞれ中試験管および小試験管を用いて飽和食塩水浮游法（1回）によつて鉤虫卵検査を行った。上記対象のうち、兩種試験管によつて同時に検査可能であつたものは159名であつた。ちなみに同地区の平均鉤虫卵陽性率は59.9%（小試験管浮游法1回）で、蔓延度のかなり高い地区である（第1表）。

第1表 埼玉県深谷地区一般農民の鉤虫卵保有率（飽和食塩水浮游法1回）

区 分	被検人員	陽性者	陽性率
12月16日集便群	300	185	61.7%
" 17日集便群	293	170	58.0%
計	593	355	59.9%

比較試験のために使用した試験管は、中試験管としてふつうに用いられている管内径15mm×管長170mmのものを、また小試験管としては、内径15mm×管長80mmのもの（兩管とも内径は同一、管長は約2:1の比となつてゐる）を用いた。

これらの試験管を用いて実際に採便した場合の便量を秤量したところ、中試験管使用時には600~700mg、小試験管使用時にはその約半量300~400mgであつた。

浮游時間はほぼ40分から1時間までの間とし、浮上虫卵の採取にはすべて同一大（18×18mm）の清浄なカバーガラスを用い、作成標本の全視野を鏡検し、鉤虫卵数の算定を行った。

成 績

12月16日、17日の2日間に集便された便のうち、中試験管と小試験管とを用いて同時に浮游検査を行へた159件について、それぞれの方法で検査してえられた鉤

第2表 中試験管浮游法と小試験管浮游法の鉤虫卵検出力（各1回検査）

方 法	被検人員	陽性者	陽性率	虫卵発見程度別内 訳			
				卍	卄	+	-
中試験管法	159	98	61.6%	24	37	37	61
小試験管法	159	102	64.2%	17	41	44	57

- 卍 18×18mm カバーガラス全視野中の虫卵数100コ以上
- 卄 同上 10~99コ
- + 同上 1~9コ
- 虫卵を発見しなかつたもの

虫卵陽性率は第2表に示めされる。この表によれば、中試験管使用時の虫卵陽性者は159名のうち98名で陽性率は61.6%であり、また小試験管使用時の陽性者は102名（陽性率64.2%）となつてゐる。兩者陽性率はきわめて近接した値であり、この間全く有意差をみとめない（ χ^2 値=0.22）。

また兩試験管法によつて発見された虫卵密度分布についてみても、同表右欄にみるように大差をみとめえなかつた。

なお兩種試験管法による成績の一致度を虫卵検出の有無によつてみると、第3表に示めされるように、兩者ともにそろつて虫卵陽性または陰性であつたものは159名のうち139名で、87.4%に相当する。その他の20名は、兩者において陽性、陰性の結果がくいちがつたものであるが、そのうち中試験管法では8名が、また小試験管法

第3表 兩種試験管使用時における検査成績の一致度

被検人員	成績の一致度	左 の 内 訳	
159	兩種試験管とも一致 139 (87.4%)	ともに陽性	90
		ともに陰性	49
20 (12.6%)	同上不一致	中試陽性、小試陰性	8
		中試陰性、小試陽性	12

表中、たんに中試とあるは中試験管法、小試とあるは小試験管法を意味する

では12名が陽性結果をしめしてあり、この間にも差をみとめることはできない。この20例は、いずれかの試験管によつて結局は虫卵が検出された事例であるが、その発見虫卵数をみると、そのうちの大多数（18例）が全視野中9コ以下の軽感染例と考えられる階層に属してゐた。

小試験管浮游法と濾紙培養法による鉤虫卵検出力比較試験

前項において飽和食塩水浮游法による鉤虫卵検査の場合に、使用試験管として中試験管のかわりに小試験管を使用し、採便量も後者では前者の約半量300~400mgとしてこれを行つた場合でも、その他の条件を一定とした場合には、ほとんど全く同一の虫卵検出力をしめすことが明らかになつた。

そこで飽和食塩水浮游法による鉤虫卵検出力と濾紙培

養法によるそれとの比較試験には、浮游法に用いる容器としては前記規格の小試験管を用い、浮游操作、虫卵算定等についても前項におけると全く同様にしてこれを行い、また培養法には前記規格の中試験管を容器として使用し、型のごとく短冊型に切った濾紙に便を塗布してから、これを蒸留水を入れた試験管中にその一部をひたし、管口をゴム栓で密栓してから28°Cの孵卵器内に2週間保存、2週間後に培養水全部を別にとり、そのなかの游出仔虫について鏡検、その数を算定した。なお別に仔虫の種別についての同定を行った。採便量は浮游法施行時300~400mg、培養法時200~250mgであった。

被検便は兩種検査法施行につき同一便とした。

さて、冬期低気温下における鉤虫卵の培養検査時には、排便から集便まで、さらに集便後これを採便して培養にうつすまでにおける便の保存条件、とりわけそのときの温度条件によつて虫卵検出率がいちじるしく影響されるであろうことは先きにも述べた。そこで培養法実施までの過程と便保存期間中における同保存場所の気温につき具体的にこれをしめせば次の如くである。すなわち被検者対象のうちの一群については、12月16日午前中に集便し、同日午後現地の熊谷保健所において浮游法を施行、他の一群については翌12月17日午前中に集便、同日午後同上保健所で浮游法を行った。浮游検査を行いえたこれらの便の残余部分は一括して同月18日午前中に東京、予研までこれを運搬し、同日午後予研にて、まず12月16日集便分の便につき培養操作を完了し、翌19日午前より午後にかけて17日集便分の便について培養を行いこれを完了した。したがつて集便より培養開始までの経過時間は16日集便分については2昼夜以上翌17日集便分については約2昼夜ということになる。なお集便は排便後半日から1日ないし2日経過してから行われたと推定されるので、上記の経過時間は排便時からこれを計算するとさらに若干加算されることになる。さて集便後における便保存場所の気温につき測定した結果は、16日午前から17日午前まで1°~14°C、17日午前~18日午前4°~10°C、18日午前~19日午前13.5°C~21°Cとなつている。

成 績

上記集便日を異にする2群の便(排便日もおおむね1日ずれる)について、それぞれ小試験管浮游法1回施行時と濾紙培養法1回施行時の鉤虫卵検出についての比較試験成績は第4表にみるとおりである。

表より初日(12月16日)集便群については、被検人員107名中浮游法で虫卵陽性のもの69名(64.5%)、培養法では

陽性者25名(23.4%)であり、また翌日(12月17日)集便群についてみると被検人員154名中浮游法では100名(64.9%)、培養法では42名(27.3%)が各陽性であった。いま各検査法ごとに集便日を異にする両被検群の虫卵陽性率をみるに、いずれもほぼ同一の陽性率であり、検査法にして同一なる限り、集便日の別によつてはここでは差がみとめられないので、これを各検査法ごとに集計してみると、浮游法施行時の虫卵陽性率は261名中169名(64.8%)、培養法施行時のそれは67名(25.7%)となる。結果はあきらかに浮游法の方が培養法よりもより高率をしめし、後者の陽性率は前者のその $1/2.5$ にし過ぎなかつた。この両陽性率間の差は χ^2 検定法により1%以下の危険率で有意である(χ^2 値=80.5)。

なお培養法によつて游出をみた仔虫の同定の結果はすべてネカトル種であつた。

第4表 冬期検査を行った場合における浮游、培養両法の鉤虫卵検出力(各1回検査)

区 分	被検人員	浮 游 法		培 養 法	
		陽性者	陽性率	陽性者	陽性率
12月16日集便群	107	69	64.5%	25	23.4%
" 17日集便群	154	100	64.9%	42	27.3%
計	261	169	64.8%	67	25.7%

浮游法には小試験管を使用し、培養法には濾紙培養法を採用。

論 議

1. 浮游法に用いられる試験管とその鉤虫卵検出力について

厚生省編纂の寄生虫検査指針によれば、飽和食塩水浮游法には中試験管を使用し、この場合の採便量はおおむね1gとして行うことが原則とされている。しかし実際には、集団検査の場合、これだけの便量が被検者側から提出されえない場合が屢々であり、またかりにあらかじめ検査者側から便量についての注意を与えておいた場合にあつても、必要かつ充分なだけの便量が保持されえない事態が間々生ずる。そうした場合に対処する便法の意味もあつて寄生虫予防協会、保健所等では屢々小試験管でこれを代用している向きも多いようである。また同時に小試験管を用いた場合の方がその取扱いが概して簡便である点や、飽和食塩水の使用量が少なくすむなどの利点もやや必然的にこのような小試験管を使用させるにいたつている理由ともなつていのであろう。しかし、

かような場合における検査法自体としての根本的な問題点は、このような試験管を用いて検査した場合における虫卵検出力如何ということであるが、これについては未だ確定的な結論は出されていない。そこで著者らはこの点についての実験検討の必要をみとめ、以上のように試験してみた。

その結果は、小試験管を用いて行つた場合の鉤虫卵検出力は中試験管を用いた場合のそれと比較して、ほぼ同等であり、少なくとも劣ることのないことを実証した。もちろん以上の成績は、使用試験管と採便量とを先に述べたようにして行つた場合にえられたそれであり、これを以て管径と管長との比がさまざまであるすべてのいわゆる小試験管について、そのまま普遍化することは避けなければならない。

さて上記のごとく、小試験管を用いて浮游法を行つた場合における虫卵検出力が、その採便量が中試験管使用時の約半量であつたにもかかわらず、中試験管使用の場合とほぼ同等にしめされたことの解釈であるが、それは結局のところ各試験管使用時における採便量と各試験管自体の虫卵検出効率(卵回収率)の2つの要因に帰着するようである。なぜなら虫卵検出力に影響を与えると考えられるその他の要因は、本試験時に関する限り両試験管使用時とも全く同一と見做して差支えないものと考えられるからである。

かつて著者らの1人小宮ら(1957)は、大きさの異なる2種の試験管(中試験管として管口径15mm×管長165mm、小試験管として管口径11mm×管長60mmのもの)を用いて飽和食塩水浮游法による鉤虫卵の検出力について実験的に検討するところがあつたが、その結果によると、両管使用時とも同一の尿溶解比率(約60倍)とした場合の虫卵回収率は、中試験管使用時34.3%、小試験管使用時93.3%で、後者の方がはるかに高かつた。そしてその場合、試験管を一定とし、便の性状を一定とした場合には、採便量と虫卵回収率とは逆相関の傾向がみられることがしめされた。

このような先きの検討結果を考慮しつつ、上記虫卵検出力を左右したと考えられる2つの要因について少しく考察を加えれば下記ようになる。

すなわち、本比較試験に用いた両種試験管の容積は、中試験管は小試験管の2倍であり、また一方採便量も前者は後者の約2倍であつたので、この場合における両者の飽和食塩水による尿溶解比率はほぼ同一とみなしてよい。とすると、両種試験管採用時の虫卵回収率そのもの

は、おおむね前記小宮らのそれに近い値をしめすものと推定される。かりに同一と仮定するならば、虫卵回収率は小試験管は中試験管の約2倍強となる。一方この場合において、試験管中に含有される虫卵数自体、換言すれば採便量は、前記のごとく小試験管は中試験管の約 $\frac{1}{2}$ であるから、両要因による総合結果としての浮游虫卵数さらには虫卵検出率は両種試験管使用時につきほぼ同一か、場合により小試験管採用時の方がやや凌駕することも理論的に考えられるところであり、実際にも上記の結果とよく一致する。

2. 寒冷期における浮游法、培養法施行による鉤虫卵(仔虫)検出力について

培養法による鉤虫卵(仔虫)検出率は、これが温暖の候に行われ、かつ集便後便の乾燥をみざるまでの間に検査にうつされた場合におけるかぎりにおいては、いちじるしく高く、また安定度もかなり高く、一般には浮游法によるそれよりも精度は高いことがみとめられ、また著者ら(小宮ら、1959)のデータによつてもしめされている。

しかるに、冬期12月中旬に行われた今回の試験の結果では、培養法(採便量200~250mg)は浮游法(同300~400mg)よりも虫卵または仔虫の検出力の上でいちじるしく劣り、前者は後者の2~3分の1の陽性率をしめさなかつた。

このような冬期ふつうに行われた場合における培養法の卵(仔虫)検出力の大巾な低下の危険性については、すでに小宮ら(1955, 1959)によつて再三警告されているが、このような事実は冬期寒冷による虫卵の死滅または傷害が、培養法施行時におけるその仔虫游出を大きく阻止したためと考えざるをえない。

鉤虫卵の低温に対する抵抗力はきわめて小さく、とりわけ今回のようなネカトール種においてそうである。本試験において、集便後便が培養にうつされるまでの間において被検便が曝露された気温は、その下限値(夜間)についてみると1°Cおよび4°Cであり、かかる低温下に1晩ないし2晩にわたつて放置された場合には、虫卵のほとんどが、死滅してしまうであろうことは容易に想像される。事実著者らの1人小林ら(1958)がききに低温に対する鉤虫卵の抵抗力を実験的に試験してえた結果では、アメリカ鉤虫卵の場合では5°C、数時間の作用でその半数以上が死滅し、0°Cでは約80%以上が死滅してしまうことがしめされている。

このように、冬期被検便に対する特別の考慮を払うこ

となく行われた培養法の卵(仔虫)検出力の精度は、温暖期におけるそれよりもいちじるしく低下し、浮游法による検出力に較べてわずかにその数分の1にしか達しなかつたのは、浮游法による鉤虫卵検出の機序と培養法によるそれとを関連させて考えれば当然の理であり、この点が冬期における鉤虫卵検査のために、一般には浮游法が推奨される所以でもある。

ま と め

著者らは鉤虫卵検査法に関する検討として、形状をことにする中、小2種の試験管使用時における飽和食塩水浮游法による鉤虫卵検出力の比較と、冬期(12月中旬)被検便の保存についての特別な考慮を払うことなく行つた場合における浮游、培養両法による鉤虫卵検出力の比較試験とを実施し、下記の結果をえた。

1. 小試験管(管内径15mm×管長80mm)を使用し採便量を300~400mgとして行つた場合における飽和食塩水浮游法による鉤虫卵検出力は、ふつうの中試験管(管内径同上、管長170mm)を用い、採便量を600~700mgとして行つた場合のそれとほぼ同一であつた。

2. 冬期採便後2昼夜乃至それ以上にわたつて不用意に保存された便につき、これを濾紙培養法(採便量200~250mg)によつて検査した場合の鉤虫卵(仔虫)検出力は、上記小試験管浮游法時のそれに比していちじるしい低下をしめした。

3. 以上の結果から、冬期における鉤虫卵検査法としては、一般に浮游法を採用することがのぞましい。また浮游法については、ふつうの中試験管のかわりに管長

の短い小試験管を容器として用いることも可能である。また鉤虫卵検査時には、その検査方法、採取便量等の記載のみでなく、かならずその検査時期を明記する必要がある。

稿を終るにあたり、種々技術援助をいただいた埼玉県熊谷保健所の各位、とくに同所試験室の鈴木豊治、細村新吉および藤倉政春の諸氏に深く感謝の意を表する。

主要文献

- 1) 小林昭夫ら(1959): 低温に対する鉤虫卵の抵抗性に関する研究, 寄生虫誌, 8(4), 637-641.
- 2) 小宮義孝ら(1954a, b.): 直接塗抹標本における廻・鉤虫卵検出率と駆虫剤駆虫効果検査における見かけの陰転率, 1, 2, 寄生虫誌, 3(3), 216-219; 3(4), 260-264.
- 3) 小宮義孝(1955): 鉤虫駆虫剤, 診療, 8(7), 40-48.
- 4) 小宮義孝ら(1957): 鉤虫卵検査法としての飽和食塩水浮游法の再検討, 第17回日本寄生虫学会東日本支部大会記事, 28.
- 5) 小宮義孝(1958): 鉤虫と鉤虫症, 初版, 1~93頁 東京, 續文堂.
- 6) 小宮義孝ら(1959): 4ヨードチモール製剤による鉤虫集団駆虫効果と副作用 附鉤虫駆虫剤の陰転率の検討, 寄生虫誌, 8(5), 835-842.
- 7) 厚生省(1956): 衛生検査指針1, 改訂版, 1~54頁, 東京, 協同医書出版社.
- 8) 厚生省(1958): 廻虫及び十二指腸虫(鉤虫)の集団駆除実施要項の改正について

COMPARATIVE STUDIES ON THE TECHNICS FOR STOOL EXAMINATION
FOR HOOKWORM OVA DURING THE COLD CLIMATE, PARTICULARLY
ON THE RECOVERING RATE OF HOOKWORM OVA WITH
BRINE FLOATATION TECHNIC AND ON CULTURING
ONE WITH FILTER PAPER

YOSHITAKA KOMIYA, AKIO KOBAYASHI, TAKAMOTO
SUGIYAMA & HARUHIKO KUTSUMI

(*Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo, Japan*)

It has been suggested by the senior authors (Komiya *et al*, 1955) that the detectability of hookworm ova in stool is proved to be much lower with the culturing technic than that with the brine floatation one during the cold climate (winter time).

On 261 persons in rural district, the examination of stools for hookworm ova was performed by applying both the culuring- and floatation technic in December, 1959. The floatation technic was proceeded applying two different sized test tubes on the same materials viz. the ordinary medium sized one (15 mm × 170 mm) and a smaller one (15 mm × 80 mm). The results obtained were summarized as follows :

1. The rate of the positive for hookworm ova to the people examined was shown much lower with the culturing technic (25.7%) as compared with the floatation one (64.8%). The cause of the lower detectability with the latter is considered to be the unfavorable effect of the cold to the hatch ability of the ova.
2. No difference of detectability was recognized between the floatation technics above mentioned.
3. It is revealed from the above results that the floatation technic should be recommendable during the cold season (winter time) because of its markedly higher recovering rate.