

鞭虫卵の糞便内分布について

堀田 猛雄 白 木 公
大 鶴 正 満 監 物 実

新潟大学医学部医動物学教室

(昭和46年4月7日 受領)

はじめに

近年、鞭虫症の治療剤の開発が進められ、それに伴って鞭虫駆除剤投与後の効果判定法が問題となってきた。

糞便内の虫卵密度の定量法としては塗抹法、Stoll (1923)の稀積算定法、Beaver(1949, 1950)のいわゆるBeaver法等によりE.P.G.を求める方法があり、さらに横川(1956)の分島改良法のように一定数のメタクリール樹脂球を連日規則的に服用して糞便内に排泄された虫卵数と樹脂球の比から直接E.P.D.を求める方法もある。しかし手技の複雑さなどのため一般にはStoll法と塗抹法とが行なわれている。

これらの定量法は雌虫の産卵数、排泄される糞便量が時間的に一定であること、さらに虫卵が腸管内で十分に攪拌され、均等に分布していることなどが前提となる。従来から回虫、鉤虫などでは産卵が短時間に反復して行なわれ、1日のうちに時間による増減はほとんどないとされ、また寄生部位が小腸上部のため排泄されるまでに十分に均等化されると推定されている。最初に虫卵分布の均等性の実証を試みたのは石崎(1950)で、一定量の糞便を繰り返し抽出し、直接塗抹法により測定した回虫卵数の度数分布はポアソン型であることを証明した。さらに佐藤(1953)、守屋(1956)も同様の方法で鉤虫、回虫について検討し、ポアソン分布することから、虫卵の分布は均等であろうと推定した。鞭虫卵の定量が問題となるのは寄生部位が盲腸部のため、攪拌が不十分で均等化され難いのではないかと、また鞭虫のE.P.G.P.F.が比較的小さいため10mg程度の少量の糞便塗抹標本内には

本研究は文部省総合研究「鞭虫症の病害性ならびに治療剤開発に関する研究」(代表者：横川宗雄教授)の補助を受けた。

検出され難いと判断されることなどにある。

著者らは一回排泄便内における鞭虫卵の分布の均等性を調べる目的で、一回の排泄便の各所から繰り返し一定量を抽出し、塗抹法およびAMS III法により鞭虫卵の算定を行ない、そこにみられる虫卵数の出現度数を観察し、若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

実験に供した糞便は新潟県の鞭虫濃厚寄生地区(古志郡、南魚沼郡、東頸城郡、直江津市)の鞭虫保有者14名のそれぞれ一回排泄便である。糞便は罐に密封して冷蔵庫(4°C)に保存し、数日以内に検査した。

始めに一回排泄便の各所から繰り返し採った一定重量の糞便内の虫卵数の度数分布を検討するため、一回排泄便の全体から無作為的に70~100回抽出し、虫卵数を数えた。5例は直示天秤を用いて正確に10mg(測定誤差±0.5mg)をスライドガラス上に採り、塗抹法により全虫卵数を数えた。なお塗抹標本は検査中に乾燥するのを防ぐため少量のマラカイトグリーン加グリセリンを加えて24×40mmのカバーガラスでおおい鏡検した。また6例は500mgずつを同様に70~100回採り、AMS III法により集卵し、沈渣中の全虫卵数を数えた。両法共に水分蒸発による重量の変化をさけるため計量はできるだけ短時間に行なうよう努めた。また一回排泄便で部分的に硬度(水分含量)が異なる便や、下痢便は除外した。

かくして繰り返し測定した虫卵数の度数分布について χ^2 -検定を行ない理論度数との適合を検討した。理論度数は平均値が10以下の場合にはポアソン分布表(北川, 1968)から求めたが、平均値が10を越える場合は後述のように正規型として検定した。

別に一回排泄便の部位により虫卵密度に差異があるか否かを直接的に調べるため、3例については一回排泄便

を4～5区画に分け、各区画から20回ずつ抽出し、区画間で有意の差があるか否かを調べた。

成績

1. 一回排泄便全体における虫卵の分布

1) 塗抹法(10mg)

5例の平均虫卵数はそれぞれ1.74, 1.99, 2.32, 4.45, 153.5であった。各例について累積度数の百分率を正規確率紙にプロットすると、虫卵数の少ない例(例2)では図1の点線のように直線上にはのらず上に凸の曲線を示すが、横軸に虫卵数xの平方根(あるいは $\sqrt{x + \frac{1}{2}}$)をとると同図の実線のようにほぼ直線となることからポアソン分布が予想される。一方虫卵数の多い例(例5)では図2にみるように各点がほぼ直線上にのることから正規型に近いことがわかる。ポアソン分布では平均値が大きくなると正規分布に近づくことが知られている(守屋, 1956)ので、一応10を境として $\bar{x} \leq 10$ の場合はポアソン分布の理論値と、 $\bar{x} > 10$ の場合は標本平均と標本標準偏差をもとに正規分布の理論値を求め、

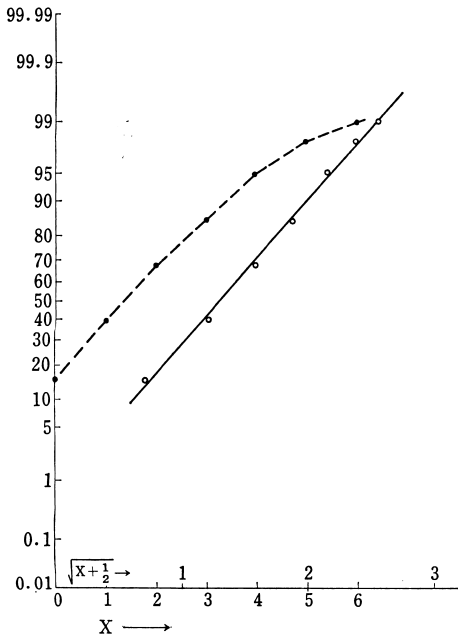


Fig. 1 Accumulated frequency plotted on normal probability graph. Repeated counts of 100 preparations by direct smear (10mg each) from one stool sample (Case 2).

●—indicate actual number of eggs(x).
○—indicate $\sqrt{x + \frac{1}{2}}$.

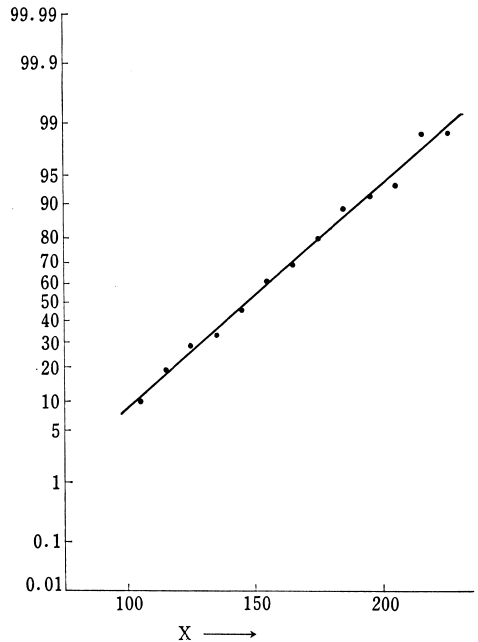


Fig. 2 Accumulated frequency plotted on normal probability graph. Repeated counts of 70 preparations by direct smear(10mg each) from one stool sample (Case 5).

それぞれ観測値との χ^2 -検定を行なった(表1)。表1に示したごとく5%を有意水準とすると1例(例4)を除いてポアソン分布あるいは正規分布に適合した。例2のようにきわめて理論値に近い分布を呈した例もみられた。

2) AMS III 法(500mg)

AMS III 法によつた6例の平均虫卵数はそれぞれ3.45, 5.59, 9.23, 19.06, 119.5, 355.3であった。これらについても前と同様にして理論度数との χ^2 -検定を行なった(表2)。 χ^2 -確率が5%に満たない例が1例(例8)あるが、他の5例はポアソン型あるいは正規型とみなされた。しかし塗抹法に比べ適合度は全体に低下していることがわかる。

2. 一回排泄便の部位毎の虫卵密度の比較

任意の3例について一回排泄便を4～5区画に分け、各区画のほぼ中央部から2gの糞塊を採り、それぞれ10mg ずつ20回標本抽出を行なった。その成績を表3～5に示した。

もし、各区画における虫卵数に偶然では起こり得ないほどの差があれば虫卵が均等に分散しているとは言えないことになる。各区画における虫卵数に差がないか否

Table 1 Goodness of fitting between the observed
and a theoretical frequency(1)
Direct smear (10 mg), case 1-5

Case	Weight of stool (g)	Times of sampling (N)	Mean (\bar{X})	Variance (U^2)	χ^2 -probability between observed and theoretical frequency	U^2/\bar{X}
1	120	100	1.74	1.53	0.25 < Pr. < 0.30	0.88
2	110	100	1.99	2.15	0.90 < Pr. < 0.95	1.08
3	70	100	2.32	2.02	0.10 < Pr. < 0.20	0.87
4	110	100	4.45	7.22	0.001 < Pr. < 0.005	1.62
5	100	70	153.5	1024.0	0.30 < Pr. < 0.50*	6.67

* Case 5 was tested as a normal distribution and the others as the "Poisson distribution"

Table 2 Goodness of fitting between the observed
and a theoretical frequency (2)
AMS III method(500 mg), case 6-11

Case	Weight of stool (g)	Times of sampling (N)	Mean (\bar{X})	Variance (U^2)	χ^2 -probability between observed and theoretical frequency	U^2/\bar{X}
6	210	80	3.45	7.87	0.05 < Pr. < 0.10	2.28
7	157	80	5.59	7.71	0.05 < Pr. < 0.10	1.38
8	120	90	9.23	44.88	Pr. < 0.001	4.86
9	120	100	19.06	36.84	0.20 < Pr. < 0.25*	1.93
10	110	100	119.5	2827.3	0.25 < Pr. < 0.30*	23.8
11	91	90	355.3	12507.1	0.05 < Pr. < 0.10*	35.2

* Case 9-11 were tested as a normal distribution and the others as the "Poisson distribution".

Table 3 Frequency distribution of egg count (1) Case 12

Egg count	Frequency					Total
	Portions					
	I	II	III	IV	V	
0	3	5	10	5	5	28
1	16	10	6	7	6	45
2	1	3	4	6	5	19
3		2		2	2	6
4					2	2
N	20	20	20	20	20	100
Mean	0.90	1.10	0.70	1.25	1.50	1.09
Variation	3.80	15.80	12.20	17.75	31.00	88.19
Variance	0.20	0.83	0.64	0.93	1.63	0.89

Analysis of variance

Origin of variation	Sum of squares	Degree of freedom	Variance	Ratio
Interportions	7.64	4	1.910	2.252 < $F_{95}^4(0.01)$
Within portion	80.55	95	0.848	
General variation	88.19	99		

The stool sample was divided into 5 portions and 20 samplings (10 mg, direct smear) were made from each portion.

Table 4 Frequency distribution of egg count (2) Case 13

Egg count	Frequency				Total
	Portions				
	I	II	III	IV	
0	8	11	4	4	27
1	6	4	5	6	21
2	4	1	6	9	20
3	1	4	4	0	9
4	1		1	1	3
N	20	20	20	20	80
Mean	1.05	0.90	1.65	1.40	1.25
Variation	24.95	27.80	26.55	18.80	105.00
Variance	1.31	1.46	1.40	0.99	1.33

Analysis of variance

Origin of variation	Sum of squares	Degree of freedom	Variance	Ratio
Interportions	6.90	3	2.300	1.782 < $F_{76}^3(0.05)$
Within portion	98.10	76	1.291	
General variation	105.00	79		

The stool sample was divided into 4 portions and 20 samplings (10 mg, direct smear) were made from each portion.

Table 5 Frequency distribution of egg count (3) Case 14

Egg count	Frequency					Total
	Portions					
	I	II	III	IV	V	
0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	1	2	4	0	7
3	1	5	2	1	3	12
4	2	4	4	1	4	15
5	3	5	5	3	1	17
6	5	4	2	3	3	17
7	3	1	3	6	1	14
8	4		2	0	2	8
9	2			0	3	5
10				1	2	3
11				0	0	0
12				1	1	2
N	20	20	20	20	20	100
Mean	6.35	4.45	5.00	5.60	6.50	5.58
Variation	54.55	34.95	62.00	134.80	143.00	490.36
Variance	2.87	1.84	3.26	7.10	7.53	4.95

Analysis of variance

Origin of variation	Sum of squares	Degree of freedom	Variance	Ratio
Interportions	61.06	4	15.27	3.347 < $F_{95}^4(0.01)$
Within portion	429.30	95	4.561	
General variation	490.36	99		

The stool sample was divided into 5 portions and 20 samplings (10 mg, direct smear) were made from each portion.

Table 6 Goodness of fitting between the observed and a theoretical frequency (3) Direct smear (10 mg), case 12-14

Case	Weight of stool (g)	Times of sampling (N)	Mean (\bar{X})	Variance (U^2)	χ^2 -probability between observed and theoretical frequency	U^2/\bar{X}
12	163	20×5	1.09	0.89	0.30 < Pr. < 0.50	0.82
13	100	20×4	1.25	1.33	0.30 < Pr. < 0.50	1.06
14	140	20×5	5.58	4.95	Pr. > 0.99	0.89

か、言いかえれば各区画が同一母集団に属すると言えるか否かを分散分析により判定した。その結果、3例とも区画間の変動から導かれた分散と、区画内の変動から導かれた分散との間に有意の差はなく、各区画が母集団を異にするとは言えなかつた(表3~5)。すなわち3例とも虫卵分布に不均等があるとは言えないことになる。なお各例における全区画の度数分布はいずれもポアソン分布に適合し、特に例14は χ^2 -確率が99%を越えきわめて理論値に近い分布を示した(表6)。

考 察

Beaver(1950)は Stoll 法および彼の考案した Beaver 法により回虫卵、鉤虫卵および鞭虫卵の定量を行ない、繰り返し行なった測定値の変動係数は虫卵の種類により大きな差が認められないことから虫卵の分布状態にも差異はないであろうと推定した。しかし、これは直接虫卵分布の均等性を検討したのではない。

これまでに糞便内における虫卵分布の均等性を論じた報告は主として回虫と鉤虫に関するもので、鞭虫卵については守屋(1956)の2例の報告のみみられるだけである。これらはいずれも繰り返し測定した一定量の糞便の塗抹標本内の虫卵数の度数分布がポアソン型を呈することから、虫卵の分布が均等であろうとしたものである。しかし、分布型の検定のために χ^2 -検定を行なった例は平均虫卵数が2以下の例についてだけで、虫卵数の比較的大きな例ではグラフによる推定しかなされていない。また平均虫卵数が100を越えるような例の度数分布を検討した報告はみられない。

著者らの成績は表1, 2に示したように、少なくとも平均虫卵数が10以下の場合には大部分がポアソン分布に適合した。特に塗抹法では7例中6例が適合し、しかも χ^2 -確率が90%を越える例が2例あつた。不適合の1例[例4(0.001 < Pr. < 0.005)]は塗抹標本で食物残渣が多くみられたことから、測定誤差が大きく影響したものと考えられた。AMS III 法によつた例は3例中2例(例6, 7)がポアソン分布に適合したが、1例(例8)は理論値

との隔たりが著しかつた。また全体として塗抹法に比べ χ^2 -確率が小さくなつてゐる。AMS III 法では粗大食物残渣の影響をまぬかれず、また集卵率が必ずしも一定しないこと等により適合度が低下したものと考えられる。

ところでポアソン分布では母分散(σ^2)=母平均(m)なる関係があるので、個々の例について σ^2 の推定値として不偏分散 u^2 を求め、mの推定値として標本平均 \bar{x} をおくと、もし母集団がポアソン分布に従えば $\frac{u^2}{\bar{x}}$ は1に近い値となり、これによつてもポアソン分布との適合の度を χ^2 -検定とは別の見地からうかがえるはずである。表1, 2, 6の右欄に示したごとく、ポアソン分布に適合する例では $\frac{u^2}{\bar{x}}$ がほぼ1前後の値となつてゐるが、適合度の低い例では $\frac{u^2}{\bar{x}}$ が一般に大きくなつてゐる。すなわち分散が大きくなつてゐることがわかる。一方、便宜的に正規型として検定した平均虫卵数の大きな例(塗抹法の例5, AMS III 法の例9, 10, 11)についてみると、いずれも正規型に適合してゐる。しかし $\frac{u^2}{\bar{x}}$ の値は例9(平均虫卵数19.06)が1.93でかなりポアソン分布に近いと考えられるが、その他は1より甚だしく大きくなつてゐることからポアソン分布には当てはまらないことがわかる。平均値が大きくなるにしたがつて $\frac{\sigma^2}{m}$ が大きくなることが想像される。

以上のことから塗抹法ではもとより、AMS III 法でも大部分の例が虫卵平均の小さな場合(およそ20まで)はポアソン型に適合し、虫卵数が大きくなるとポアソン型から外れていくが正規型には当てはまることわかる。したがつて塗抹法はもちろん、AMS III 法でも平均の集卵率で補正することによりある程度虫卵数の定量が可能と考えられる。

次に一回排泄便の部分毎で虫卵密度に差異があるか否かを直接的に調べるため任意の3例について一回排泄便を4~5区画に分け、それぞれの区画内の小範囲から20回ずつ標本抽出を行ない、分散分析により区画間の虫卵数の差異を検討したところ、3例とも有意の差を認めなかつた。このことは実際の検便に際して必ずしも一回

排泄便全体から抽出しなくとも部分便からも虫卵数の定量が可能なことを示している。

む す び

鞭虫保有者の1回排泄便から一定量(塗抹法 10 mg, AMS III 法 500 mg) 繰り返し抽出し, そこに現われる虫卵の出現度数の分布を14例について検討した結果, 以下の結論が得られた。

1) 1回排泄便の全体から万遍なく抽出した場合, 出現度数の分布は平均虫卵数10以下ではポアソン分布がよくあてはまる。平均虫卵数がそれより大きくなるにつれて分散が大となり, ポアソン型から外れてゆくが, この場合は正規型が当てはまる。

2) 1回排泄便を4~5区画に分け, 各区画の小範囲から20回ずつ標本抽出を行なつたところ, 区画間で虫卵数に有意の差が認められなかつた。

3) 以上のことから, 鞭虫卵も糞便内において均等に分布しているとみなされる。したがって粗大残渣の少ない, 硬度の均質な糞便では糞便の一定重量あたりの鞭虫卵数を定量することは有意義と考えられる。

稿を終るにあたり, ご助言を頂いた国立予防衛生研究所の石崎 達部長, 新潟大学医学部衛生学教室の上村 桂講師ならびにご協力頂いた高田保健所の藤原満喜子博士, 大島保健所の杉田 功氏, 湯沢中学校の松本美佐氏, 新潟県公衆衛生検査センターの近藤 進氏, 新 イツ氏らに深く感謝します。

なお, 本論文の一部は第39回日本寄生虫学会大会で発表した。

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) 石崎達(1950) : 直接塗抹標本による糞便内回虫卵数定量法. *総合医学*, 7, 979-982.
- 4) 石崎達(1956) : 糞便内寄生虫卵分布の型式. *臨床病理*, 4, 191-198.
- 5) 北川敏雄(1968) : ポアソン分布表. 第2版, 156頁, 培風館, 東京.
- 6) 増山元三郎(1969) : 少数例のまとめ方. 第2刷, 762頁, 竹内書店, 東京.
- 7) 守屋尚二(1956) : 寄生虫卵検査の理論と方法. *阪大医誌*, 8, 81-94.
- 8) 佐藤澄子(1953) : 鉤虫卵検査法の研究. 1. 人尿内鉤虫卵分布状況について. *寄生虫誌*, 2, 146-150.
- 9) Stoll, N. R. (1923) : Investigations on the control of hookworm disease. XV. An effective method of counting hookworm eggs in feces. *Am. J. Hyg.*, 3, 59-70.
- 10) 鳥居敏雄・高橋暁正・土肥一郎(1969) : 医学・生物学のための推計学. 第9版, 370頁, 東京大学出版会, 東京.
- 11) 横川宗雄・大島智夫・吉村裕之・木畑美知江・石川行一(1956) : メタアクリル樹脂球による虫卵計算法(分島法改良法). *日本医事新報*, 1668, 28-31.

Abstract

THE DISTRIBUTION OF WHIPWORM EGGS IN THE FECES

TAKEO HOTTA, TADASHI SHIRAKI, MASAMITSU OTSURU AND MINORU KENMOTSU
(*Department of Medical Zoology, School of Medicine, Niigata University, Niigata, Japan*)

A statistical study was made to test whether whipworm eggs are distributed randomly in one stool sample. Of 14 whipworm carriers 8 stool samples were examined by means of direct smear (10 mg) and the other 6 stools by AMS III centrifugation method (500 mg).

The results obtained were as follows :

1. In almost all cases, especially in those examined by direct smear, the frequency distribution of 70-100 repeated egg counts in a set weight of feces followed the Poisson distribution when the mean count was below 10. When the mean count was relatively large, for example 100-300, the variances (σ^2) were 6 or more times as large as the mean and the egg counts did not seem to follow the Poisson distribution but fit the normal distribution.

2. The stool sample was divided into 4-5 portions and 20 samplings for direct smear (10 mg each) were made from a small area near the center of each portion. An analysis of variance revealed no significant differences among the egg counts of these portions.

3. From the above results it is assumed that the whipworm eggs are more or less uniformly distributed in one stool sample. Therefore, it seems possible to estimate the number of eggs per unit weight of feces, if the stool is relatively homogenous in consistency and scanty of gross debris.