

糞線虫検査としての普通寒天平板培地法について

安里龍二・仲宗根民男・新垣民樹・池城毅

Efficacy of Agar - plate Culture for *Strongyloides stercoralis*
from Human Stool

Ryuji ASATO, Tamio NAKASONE, Tamiki ARAKAKI
and Tsuyoshi IKESHIRO

I はじめに

従来、糞線虫の検査は佐々ら(1958)が報告した試験管内濾紙培養法(以下、濾紙培養法と略する。)が最も優れた検査法として普及し、同法による検査によって沖縄県でも1%前後の糞線虫浸淫が推測され(沖縄県予防医学協会, 1971~1987)また、県内の医療機関でも濾紙培養法, MGL法(ホルマリンエーテル集卵法), 直接塗抹法の何れかが使用されていた。しかし、これらの方法による1回検査の検出率は何れもLPG(糞便1g当りの虫数)が500隻以上では90%以上であるが、50隻以下では36.5~47.5%と低く、少数保有者の検査には不十分である事が報告されていた。(安里ら, 1987)。また、近年の医療技術の進歩に伴い、免疫抑制剤(ステロイドホルモン)や抗癌剤の使用を受けたり、ATLとの合併症や術後の縫合不全等により重症化する患者(重症糞線虫症)が後を絶たず(高良ら, 1977; 城間ら, 1978; 池原ら, 1982; 喜舎場, 1982; 喜舎場ら, 1985; 松井ら, 1982; 仲田ら, 1987; 古谷ら, 1989; 斎藤, 1989), 糞線虫の浸淫地では日和見感染症として重視され、少数保有者の場合でも検出できる、より精度の高い検査法の開発が要求されている。

Arakaki et al (1988)は普通寒天平板培地上に便を乗せ、37°Cで2日間培養し、虫体の這った痕跡(痕跡=シャコン)を検出する事によって検出率が従来の検査法より数倍高くなることを報告した。安里ら(1998~1992)が同法を用いて検査した結果、従来1%前後といわれていた沖縄県の糞線虫浸淫率は、3.7~17.8%(平均10.3%)と高くなり、同法が糞線虫の最も優れた検査法である事が確認

された。

しかし、Arakaki et al (1988)の報告には普通寒天平板培地法(以下、平板培地法と略する)についての具体的な手技が明示されていなかった。

今回、著者らはシャーレの構造、培養温度、培養期間、糞便量、検査に要する日数、各種検査法による検出率の比較、虫体の検出法等について検討したので、これまでの結果について報告する。

II 材料及び方法

1. 便の回収及び保存

人の便はクーラーボックスに入れて午前中に回収し、同日の午後に検査した。犬及び猫の便はガス殺後、剖検によって直腸便を採集した。

2. 検査法

人の便は平板培地法(直径9.5cm, 高さ1.5cmの既製のシャーレに普通寒天を入れ、中央に1.5~3gの便を乗せて28°Cで2~3日間培養)、濾紙培養法(28°Cで5日間培養)、MGL法(ホルマリンエーテル集卵法, 1500rpm, 5分間)の3方法で検査した。

犬及び猫の便は平板培地法、濾紙培養法、飽和食塩水浮遊法の3方法で検査した。

3. 這痕の検出法

這痕の検出は実体顕微鏡(×20)及び生物顕微鏡(×40)により行った。なお、生物顕微鏡ではコンデンサーを最大に拡散して検鏡した。

4. 虫体の検出法及び同定法

這痕陽性便の虫体の検出は実体顕微鏡下で培地上の虫体を確認し、虫体上に水道水を1滴滴下して行った。

虫体の同定は生物顕微鏡下で行った。

Ⅲ 結 果

1. 平板培地法の検討

Arakaki et al (1988) の報告では明示されていなかった糞線虫検査の具体的手技、即ち、シャーレの構造、培養温度、糞便量、這痕の検出、虫体の検出法等について検討した。

(1) シャーレの構造

既製のシャーレ（直径9 cm、高さ1.5 cm）の中央に便を乗せて28℃で2日間培養すると糞線虫がシャーレ外へ脱出するのが確認された（図1）。また二重構造のシャーレ（図2）の外側の溝に水を入れた状態で培養すると、蒸発し凝結した水滴の中に幼虫が集まるのが確認された（図3）。水のかわりに25%のグリセリン水を入れるとグリセリン水中には幼虫が確認されず、糞線虫の脱出防止が可能であった。

(2) 培養温度および糞便量

57人の陽性者の便各1.5 gについて37℃と28℃で5日間の連続検査を行い、その結果を表1に示した。

這痕の形成率は1日目で、37℃が86.0%、28℃が93.0%を示した。這痕形成率が100%に達するには、37℃で5日、28℃で4日を要し、這痕の形成率は37℃よりも28℃の方が若干高くなる傾向があった。37℃では虫体の動きが弱く、培地上で仮死状態の虫体がしばしば確認されるのに対し、28℃では活発に運動する虫体が多く確認された。しかし、28℃でも培養3日目以降では仮死状態の幼虫がしばしば観察された。また、37℃と28℃のシャーレの組合せでは1日目の検査で94.7%の這痕形成率を示し、3日目には100%の形成率に達した。

表1. 培養温度による這痕検出率の比較

| 培養温度 | 糞便量 (g) | 累積這痕検出数 (%) | | | | |
|-----------------|------------|-------------|----------|----------|----------|---------|
| | | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 | 5日目 |
| 37℃ | 1.5 | 49(86.0) | 53(93.0) | 55(96.5) | 56(98.3) | 57(100) |
| 28℃ | 1.5 | 53(93.0) | 56(98.2) | 56(98.3) | 57(100) | 57(100) |
| 37℃と28℃を1組としたもの | 3.0 | 54(94.7) | 56(98.2) | 57(100) | 57(100) | 57(100) |

(注) 虫体陽性者57人の糞便を用いた。

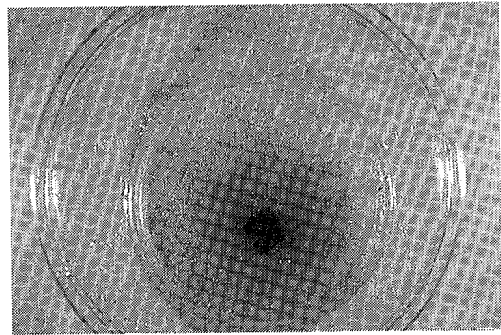


図1. 既製のシャーレから虫体が脱出して這痕上に形成された細菌のコロニー

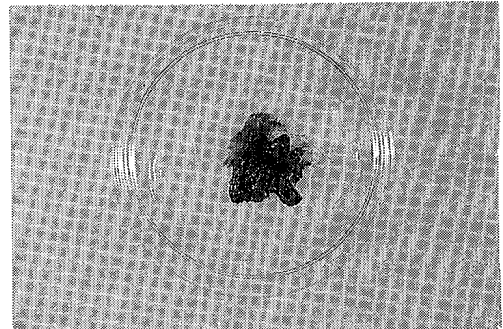


図2. 自家製の二重壁になった特殊シャーレ（丸カップのその部分を切り抜いて張り付けたもの）

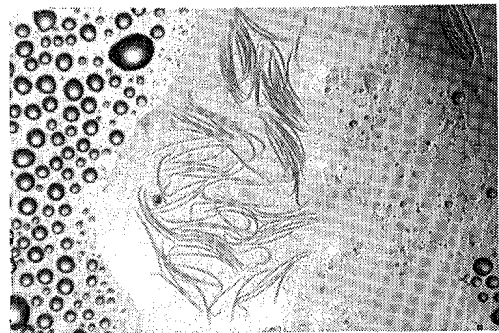


図3. 二重壁になったシャーレの外側に水道水を入れて培養した結果、シャーレ蓋の水滴の中に集まった糞線虫

表2. 生物顕微鏡と実体顕微鏡による這痕検出率の比較 (普通寒天板培地法)

| 顕微鏡 | 累積這痕検出数 (%) | | | | |
|-------|-------------|----------|----------|----------|----------|
| | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 | 5日目 |
| 生物顕微鏡 | 52(91.2) | 54(94.7) | 55(96.5) | 55(96.5) | 55(96.5) |
| 実体顕微鏡 | 49(86.0) | 52(91.2) | 53(93.0) | 55(96.5) | 55(96.5) |

(注) 虫陽性者57人の糞便を用いた。

更に、初回検査で虫体が確認できなかった23人について全便による検査を行った。便量3gではシャーレ286枚中249枚(87.1%)が陽性、5gでは185枚中162枚(87.6%)が陽性となり、糞便量3gと5gでは陽性率に差は見られなかった。

(3) 生物顕微鏡と実体顕微鏡による這痕検出の比較

実体顕微鏡と生物顕微鏡による這痕の検出率を表2に示した。実体顕微鏡の場合、操作は容易であるが、1回目の這痕の検出率が86.0%で、生物顕微鏡の91.2%に比べ若干低かった。特に培地上に形成される濃い這痕や這痕上に細菌のコロニーが形成されたものは容易に検出できるが(図4)、細菌のコロニーが形成されていない薄い這痕(図5)は実体顕微鏡下での検出が困難であった。また、生物顕微鏡を使用する時にはコンデンサーを最大に拡散しなければ這痕検出には不十分であり、特に注意を要した。

(4) 培養日数と這痕検出率

集団検診時に集便された742人を対象に3日目までの実体顕微鏡による這痕検出率を表3に示した。這痕は全部で96人から検出され検出率は12.9%であった。1日目は75人(陽性者の78.1%)、2日目は90人(93.8%)から検出され、1日目と2日目では約16%の差があった。

自由世代の成虫は1日目に8人、2日目に21人、3日目に3人から検出され、自由世代の成虫が確認できた人の75%(32人中24人)は2日目以降のものであった。虫卵は2日目以降にのみ確認された。

(5) 採便後の経過日数と這痕検出率

初回検査で確認された糞線虫陽性者の便を室温に(20°~30°C)に放置し、採便後の経

過日数と這痕形成率の関係を調べた(表4)。



図4. 培養3~4日後に培地上の這痕部に形成された細菌のコロニーと幼虫

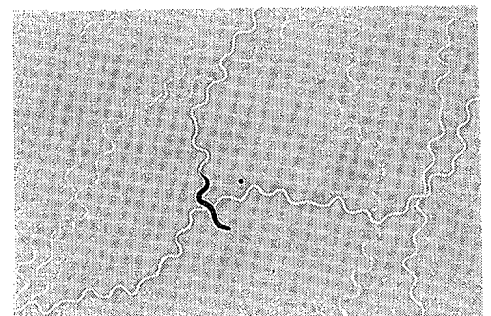


図5. 培地上の薄い這痕と幼虫

表3. 742人の便の培養日数による這痕検出率

| 培養日数 | 1日 | 2日 | 3日 |
|---------|------|------|------|
| 這痕検出数 | 75 | 90 | 96 |
| 検出率 (%) | 10.1 | 12.1 | 12.9 |

表4. 採便後の経過日数と這痕検出率

| 経過日数 | 検査数 | 検出数 | 検出率 |
|------|-----|-----|-------|
| 当日 | 39 | 37 | 94.9% |
| 1日目 | 38 | 32 | 84.2% |
| 2日目 | 37 | 21 | 56.8% |
| 3日目 | 32 | 15 | 46.9% |

同一便ではないが便量各3gを使用した結果、何れの検体も這痕形成率は当日の検査では平均94.9%であったが、1日放置により84.2%、2日で56.8%、3日で46.9%に低下した。即ち、1日経過するだけで這痕形成率が約10%、2日で約40%低下した。

(6) 平板培地上に形成される這痕の判別

平板培地上に形成される這痕は糞線虫だけでなく、鉤虫、人糞虫、ダニ(図6)、ウジ(図7)、移動する細菌(図8)、原中等にも見られる。また、糞線虫の這痕にも幼虫

(図9)、自由世代の成虫(図10)、糞便から這い出した時に形成される這痕等(図11)があり、各々の特徴を把握していないと判別に混乱を来す事がある。

(7) 平板培地法とMGL法、濾紙培養法

4,435人の住民を対象に平板培地法、MGL法、濾紙培養法の3法併用により検査し、結果を表5に示した。平板培地法では369人(8.3%)が這痕陽性で、4,066人(91.7%)が陰性であった。這痕陽性群369人からMGL法で61人(16.5%)、濾紙培養法で45人(12.2%)

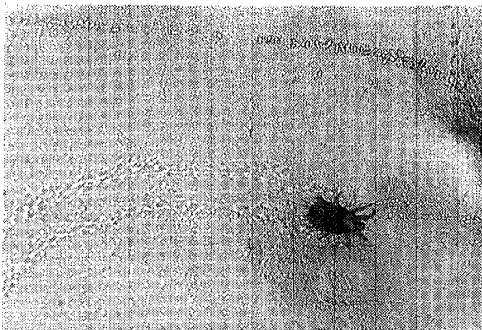


図6. ダニによって形成された這痕

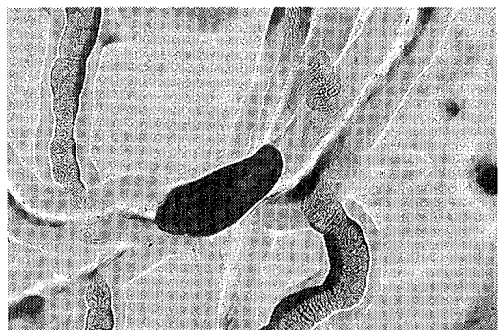


図7. ウジによって形成された這痕

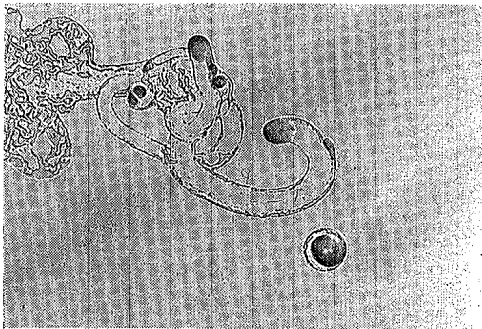


図8. 移動する細菌によって形成された這痕

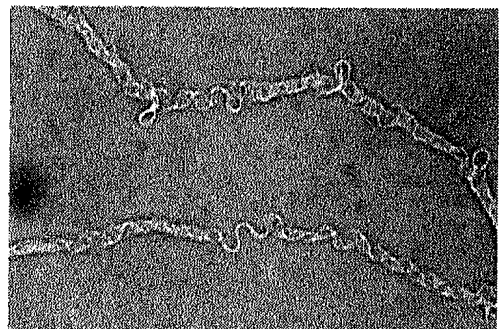


図9. 脱皮直前に形成された糞線虫の這痕

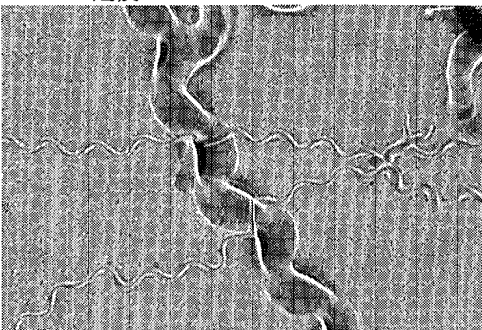


図10. 糞線虫の幼虫と自由世代の成虫によって形成された這痕

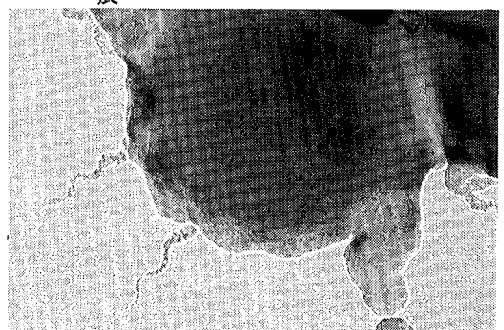


図11. 糞便から這い出した時に形成された這痕

表5. 普通寒天平板培地法とMGL法, 試験管内濾紙培地法の比較

| 検査数 | 普通寒天平板培地法 | MGL法 | 試験管内濾紙培養法 | MGL+試験管内濾紙培養法 |
|--------|----------------|--------------------------------|-------------------------|---|
| 4,435人 | 這痕陽性 369人 | 糞線虫61人 | 糞線虫45人 鉤虫2人 人糞虫3人 | 糞線虫84人 鉤虫2人 人糞虫3人 |
| | 這痕陰性 4,066人 | 糞線虫2人 小型アメーバ1人 ランブル鞭毛虫3人 | 糞線虫5人 鉤虫2人 人糞虫4人 | 糞線虫7人 鉤虫2人 人糞虫4人 小型アメーバ1人 ランブル鞭毛虫3人 |

の糞線虫虫体を検出したが、両法の併用では84人(22.8%)の検出率であった。這痕陰性群4,066人についてはMGL法で2人、濾紙培養法で5人、両法併用で7人(1.9%)の検出率であった。なお、両法併用により這痕陰性群から鉤虫2人(0.5%)、人糞虫3人(0.8%)の虫体を検出し、這痕陰性群からは鉤虫2人、人糞虫4人の虫体を検出した。

(8) 虫体の検出

各種検査法による糞線虫の虫体の検出率を表6に示した。虫体の検出率は平板培地上で直接検出する方法が83.1%で最も高く、次に、濾紙培養法の培養液を遠心する方法が65.5%であった。他の方法はどれも39.0%以下の検出率であった。

平板培地上での虫体検出は虫体を確認後、虫体上にパスツール・ピペットで水道水を1滴、滴下する事によって容易に検出できる。また、這痕陽性ではあるが虫体が確認できない検体については、2~3mlの水道水を加える事によって約95%の検体から虫体検出が可能

表6. 這痕陽性者からの各種検査法による虫体の検出率

| 検査法 | 検査数 | 検出数 | 検出率 |
|-----------------|-----|-----|-------|
| Arakaki法 | 40 | 15 | 37.5% |
| 普通寒天平板培地上での直接検出 | 154 | 128 | 83.1% |
| 試験管内濾紙培養法 | 172 | 67 | 39.0% |
| MGL法 | 172 | 38 | 22.1% |
| 試験管内濾紙培養法+MGL法 | 172 | 75 | 43.6% |
| 試験管内濾紙培養液を遠心 | 174 | 114 | 65.5% |

能となる。しかし、100%の虫体検出は困難で、特に極小数の保有者と考えられる者では困難であった。

(9) 虫体の同定

平板培地上で検出される虫体には糞線虫(ラブジチス型幼虫, フィラリア型幼虫, 自由世代の成虫♂♀, 図12~15参照), 鉤虫(ラブジチス型幼虫, フィラリア型幼虫), 人糞虫(幼虫, 自由世代の成虫)等がある。その他に糞線虫の虫卵も確認される事がある。ラブジチス型幼虫の鑑別には口腔, 生殖原器の観察が重要で、糞線虫のラブジチス型幼虫は口腔が短く、生殖原器が大きいのに対し、鉤虫や人糞虫では口腔が長く、生殖原器が小さい。また、人糞虫は食道に食道球と食道中部膨隆部を有し(図16), 大部分の尾部が極端に長いのが特徴である。

2. 平板培地法による検出率の検討

平板培地法, MGL法, 濾紙培養法の3法による糞線虫の検出率を比較検討した。

(1) 5日間連続検査による検出率の比較

57人の陽性者を対象に平板培地法, MGL法, 濾紙培養法による検出率を比較し、結果を表7に示した。1日目の検査では平板培地法による這痕検出率が91.2%であるのに対し、MGL法及び濾紙培養法による虫体検出率は、それぞれ15.8%及び29.8%で、這痕形成率で比較すると平板培地法に較べて培養法やMGL法での検出率は1/5から1/3以下であった。また、MGL法や濾紙培養法では5日間の連続検査をしても検出率は43.9%にとどまり、両法の併用でも59.7%で、培養法やMG

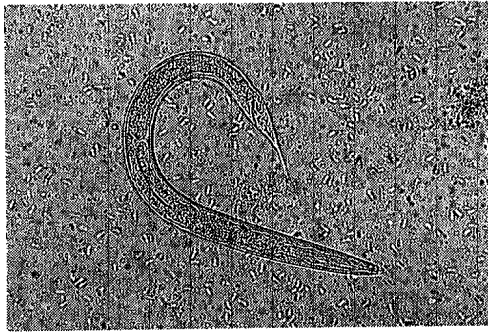


図12. 口腔が浅い糞線虫のラブジチス型幼虫

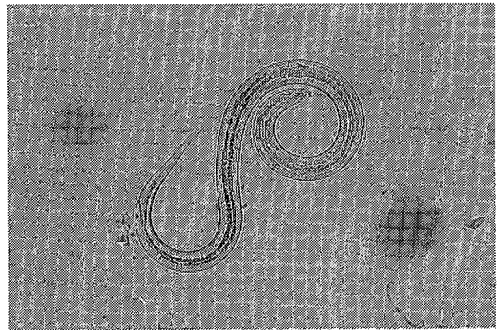


図13. 食道が全長の1/3を有するフィラリア型幼虫

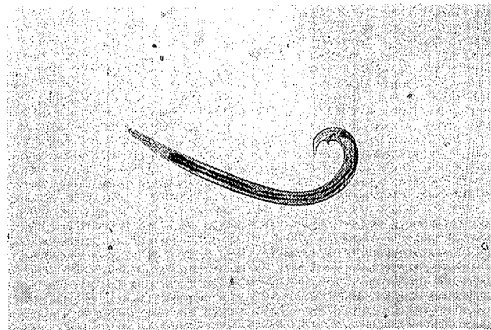


図14. 糞線虫の自由世代雄

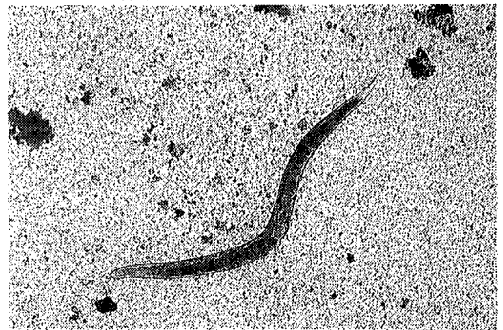


図15. 糞線虫の自由世代雌

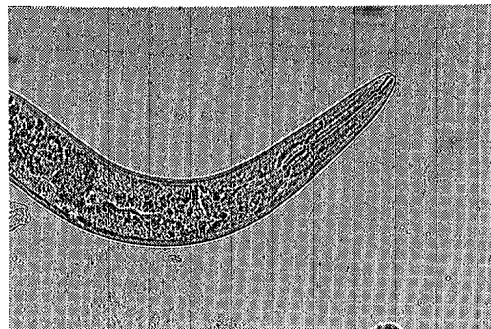


図16. 口腔が長く、食道中部膨隆部を有する人糞虫の頭部

表7. 5日間連続検査による検出率の比較

| 検査法 | 検査数 | 累積検出数 (%) | | | | |
|---------------|-----|-----------|----------|----------|----------|----------|
| | | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 | 5日目 |
| 普通寒天平板培地法 | 57 | 52(91.2) | 54(94.7) | 55(96.5) | 55(96.5) | 55(96.5) |
| MGL法 | 57 | 9(15.8) | 13(22.8) | 16(28.1) | 23(40.4) | 29(43.9) |
| 試験管内濾紙培養法 | 57 | 17(29.8) | 21(36.8) | 21(36.8) | 24(42.1) | 29(43.9) |
| MGL+試験管内濾紙培養法 | 57 | 19(33.3) | 24(42.1) | 25(43.9) | 30(52.6) | 34(59.7) |

L法では5日間の連続検査を行っても平板培地法の1日検査の約半分の検出率であった。しかし平板培地法で5日間連続検査をしても陽性者57人中2人からは検出する事が出来なかった。この2人については全便による再検査を行った結果、1人はシャーレ34枚中20枚(58.8%)から這痕が検出された。しかし、他の1人については這痕を検出できなかった。

(2) 這痕陽性便からの虫体検出の割合

平板培地上に這痕を形成する虫体には糞線虫、鉤虫、人糞虫の3種があるので、沖縄本島の這痕形成者850人を対象に、検出された虫体の同定を行いその割合を表8に示した。這痕陽性者から検出された虫体は糞線虫と人糞虫だけで鉤虫は検出されなかった。初回検査で検出された虫体は糞線虫784人(92.2%)、人糞虫2人(0.2%)である。更に、虫体が検出されなかった64人については全便による再検査を行い、50人から糞線虫、3人から人糞虫の虫体を検出したが、3人は陰性であった。なお、残りの8人は未検査である。従って、這痕陽性者850人中未検査の8人を除く842人の中から、糞線虫が834人(99.0%)、人糞虫が5人(0.6%)検出されたことになる。

表8. 這痕陽性850人の便からの糞線虫虫体検出状況

| | 初回検査 | 再検査 | 最終結果 | 最終検出率(%) |
|-------|------|-----|------|----------|
| 検体数 | 850 | 64 | 850 | |
| 検査数 | 850 | 56 | 842 | |
| 未検査数 | 0 | 8 | 8 | |
| 虫体検出数 | 786 | 53 | 839 | 99.6 |
| 糞線虫 | 784 | 50 | 834 | 99.0 |
| 人糞虫 | 2 | 3 | 5 | 0.6 |
| 鉤虫 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 虫体不検出 | 64 | 3 | 3 | 0.4 |

3. 犬・猫の糞便を使用した平板培地法による鉤虫検査の検討

犬・猫の糞便について平板培地法、MGL法、飽和食塩水浮遊法の3法で検査を行い、鉤虫の検出率を表9に示した。犬・猫から検出された鉤虫109頭(犬32頭、猫77頭)について検出率を比較した結果、平板培地法では2日間培養で66.1%、5日間培養で87.2%の検出率に対し、濾紙培養法では78.9%、飽和食塩水浮遊法では89.9%で、何れの検査法も検出率に大きな差は見られなかった。

4. 平板培地法の手技

- (1)糞便の輸送は高温(40℃以上)に曝さないようにする。
- (2)糞便量は約1.5g以上を使い、採便した当日に検査に供する。
- (3)シャーレは二重構造になった物を使用し、外側の溝に25%のグリセリン水を入れる。
- (4)培養は28℃で2日間行う。
- (5)這痕の検出は生物顕微鏡下(接眼×10, 対物×4)でコンデンサーを最大に拡散して行う。集団検診時には若干検出率は低下するが労力を考慮すると実体顕微鏡下でも可能。
- (6)虫体の検出は這痕陽性者を対象に実体顕微鏡下で行い、培地の虫体上にパスツール・ピペットで水滴1滴を落下すると容易に虫体が検出できる。虫体が確認できない這痕陽性者については3m1程度の水を加えると這痕陽性者の約95%までは虫体が検出可能である。

IV 考察

Arakaki et al (1988)は平板培地上に便を乗せ、37℃で2日間培養し、這痕を検出する事(平板培地法)によって濾紙培養法より

表9. 犬・猫の糞便に対する普通寒天平板培地法と試験管内濾紙培養法、飽和食塩水浮遊法による鉤虫検出率

| 被検査の便 | 鉤虫陽性数 | 普通寒天平板培地法 | | 試験管内濾紙培養法 | 飽和食塩水有浮遊法 |
|-------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 2日目 | 5日目 | | |
| 犬 | 32 | 23(71.9%) | 26(81.3%) | 21(65.6%) | 26(81.3%) |
| 猫 | 77 | 49(63.6%) | 69(89.6%) | 65(84.4%) | 72(93.5%) |
| 計 | 109 | 72(66.1%) | 95(87.2%) | 86(78.9%) | 98(89.9%) |

数倍も糞線虫の検出率が高くなる事を報告した。同法は平板培地上の虫体が這った痕跡を確認後、虫体を検出して同定を行う2段階検査で、糞便中の虫体が生存し、運動性のある事が必要条件となる。白坂(1958)は糞線虫幼虫の温度と運動性について100℃の運動性を示す温度範囲は20~27.5℃で、37.5~40℃では57.2%まで低下し、糞線虫の至適温度は20~25℃と報告している。

今回の実験でも37℃の培養温度よりは28℃の方が這痕形成率は高く、しかも培地上の運動性も培養温度が37℃では動きが鈍いものや仮死状態の虫体がしばしば見られるのに対し、28℃では活発に運動するのが多く見られた。しかし、28℃でも培養期間が1日目では検出された虫体の全てが活発に運動するのに対し、2日目以降では時々仮死状態の虫体も検出され、這痕形成者からの虫体検出も100%は困難で、今後、這痕形成者の全てから虫体が検出できる方法を工夫する必要があると思われる。

平板培地法は2日間の培養期間では自由世代の成虫が約30%に確認され、自由世代が産卵した虫卵や多数の這痕も見られる事から定量的な検査には不向きと考えられていた。しかし、1日間の培養期間では自由世代の成虫も大部分が雄虫で、虫卵も確認されず、定量的検査の可能性も示唆された。また検査に必要な糞便量は1.5gで93.0%、検体の違いはあるが3gで91.2%の検出率を示し、初回検査で虫体が検出できなかった23人を対象に1回分の全便を採集して3gと5gの検査でも這痕形成率が87.1%~87.6%を示し、糞便量1.5~5gでの這痕検出率には大きな差は見られず、今後更に濾紙培養法やMGL法に必要な0.5~1g及び糞線虫幼虫の至適温度(20~25℃)での培養を行い、糞便量、這痕の形成、虫体の検出等での定量的検査法の検討を要すると思われる。

糞線虫の検査は従来使用されていた濾紙培養法、MGL法、直接塗抹法の何れの検査法もLPG50隻以下の少数保有者では1回の検査で36.8~42.1%の検出率で、5日間連続検査をしても検出率が80%に達する事がなく、

糞線虫の少数保有者の検査としては何れの検査法も不十分である事が報告され(安里・長谷川, 1987), 少数保有者でも検出できる検査法の開発が望まれていた。

今回、平板培地法の検討を行った結果、同法は這痕を形成しない者からも糞線虫が検出される事はあるが、糞線虫が検出された92%は這痕形成者から検出され、這痕形成者を対象にすれば従来の検査法に較べて3~5倍も検出率が高く、1回の検査で陽性者の90%が検出可能と考えられていた。また同法は例えば少数の保有者でも虫体が培地上を這う事さえ出来れば這痕の形成は確実にと考えられ、糞線虫の検査としては現在、最も優れた検査法である事が確認された。しかし当初糞線虫が確認されながら平板培地法で5日間連続検査をしても陰性になり、その後の全便の検査で平板培地34枚中20枚(58.8%)だけが陽性になった者もあり、平板培地法が優れた検査法とは言え、採便した当日に検査に供しても再現率は約90%にしかならず、免疫抑制剤(ステロイドホルモンや抗癌剤)が投与される患者等では平板培地法の1回検査でも不十分と考えられる。

更に平板培地法は培養温度だけでなく、集団検診時での集便、検体の輸送、処理までの経過日数等でも検出率に大きく影響を及ぼし30℃を越す高温には留意し、検体は速やかに検査に供しなければならない。また初回検査で這痕形成者で、虫体未確認について全便による再検査の結果、陰性になった者が3人も見られ、糞線虫保有者が毎日糞便中に幼虫が排出されるか否かは更に検討を要すると考えられる。

平板培地法は最初に弱拡大下(生物顕微鏡)で這痕を検出した後、這痕形成者を対象に実体顕微鏡下で虫体を検出する2段階の検査が必要で、特に虫体の検出には糞便から這出したもの、培地上の這痕に細菌のコロニーが形成されたもの、更に普通寒天平板培地上だけに形成された濃い這痕に関しては実体顕微鏡でも十分に検出可能であるが培地上のみに形成された薄い這痕の検出は困難で、より正確な

判定が必要な時には実体顕微鏡よりも生物顕微鏡の方が望ましい。しかし実体顕微鏡での検査も従来の検査法よりは2～4倍も検出率が高く、1回の検査で陽性者の85%は検出可能と考えられ、1日に300人も楽に検査ができ、虫体の検出には実体顕微鏡が不可欠である事からスクリーニングとしては実体顕微鏡でも充分と考えられる。しかし、より正確な判定が要求される時には生物顕微鏡下での検査が不可欠である。

生物顕微鏡を使用する時にはコンデンサーを最大に拡散するのが必須であり、通常の状態では這痕検出が困難なので留意しなければならない。安里ら(1984)は外気温が30℃を越す(車内温度40℃前後)状態での検体の輸送にわずか30分間、曝すだけで濾紙培養法の検出率が激減する事を報告しているが、平板培地法も輸送時にはアイスボックス等に入れ、高温に曝さないように留意しなければならない。特に沖縄県のような30℃を越す月日が多い地域では集団検診時の検体集めや輸送時には特に高温に曝さないように留意を要する。また採便から処理までの日数も1日経過するだけで10%の這痕形成率が低下し、2日も経過すると40%も低下してしまい、糞便の検査は採便した当日に検査に供するのが必須となる。

普通寒天平板培地上に形成される這痕には糞線虫(幼虫, 自由世代の成虫), 鉤虫, 人糞虫(幼虫, 自由世代の成虫), タニ, ウジ, 移動する細菌, アメーバ等があり, その各々の這痕の特徴を把握しなければならない。糞線虫や人糞虫の成虫と幼虫が形成する這痕は大きさが違い鑑別は容易であるが, 這痕だけでの糞線虫と人糞虫の鑑別は困難であり, 更に糞線虫, 鉤虫, 人糞虫の幼虫が形成する這痕での這痕のみでの虫体鑑別は困難である。従って, 種の同定には虫体検出が不可欠である。虫体の検出は這痕陽性者を対象に実体顕微鏡下で検索すれば這痕形成者の約90%までは発見でき, 虫体上にパスツール・ピペットで水道水を1滴, 滴下する事によって容易に虫体が検出できる。

また虫体が確認できない者については糞便中に2～3mlの水道水を加える事によって這痕形成者の約95%までは虫体検出が可能となる。しかし沖縄本島で, 普通寒天平板培地上に這痕を形成する者の99%は糞線虫が占める事から沖縄では這痕形成者の99%は糞線虫と考えられる。

平板培地法で使用されるシャーレは既製品では虫体が脱出し, 検査員への感染の危険性が危惧され, 二重構造になった特殊なシャーレを使用するのが不可欠である。またシャーレの外側の溝に水道水を入れたりするとかえって危険が増大するので必ず25%グリセリン水を注入する。25%のグリセリン水で虫体の脱出防止が可能であるが培地を傾けたりして培地上にグリセリン水を混入すると糞便中の幼虫が数分以内で死滅し, 這痕形成が困難になるので留意しなければならない。

平板培地法で這痕を形成する虫体には糞線虫(自由世代の成虫: 雌雄, ラブジチス型幼虫, フィラリア型幼虫), 鉤虫(ラブジチス型幼虫), 人糞虫(成虫: 雌雄, ラブジチス型幼虫, フィラリア型幼虫)が検出される事があり, その各々の虫体の形態的特徴を把握する事が不可欠である。また寒天平板培地法は糞線虫の検査のみでなく, 犬, 猫の鉤虫検査の結果から濾紙培養法, 飽和食塩水浮遊法と検出率に大きな差はなく, 培養期間を5日間にすれば鉤虫検査としても十分に使用可能と示唆され, 今後, 人鉤虫を使用して検討する必要があると思われる。

IV まとめ

Arakaki et al (1988) が報告した平板培地法について培養温度, 培養期間, 糞便量, 検査に要する日数, シャーレの構造, 這痕及び虫体の検出及び犬, 猫の糞便を使用して鉤虫検査等の検討を行った。

1. 培養温度は37℃の1回の検査で57人中49人(86.0%)に対し, 28℃では53人(93%)で, 28℃の方が検出率は若干良かった。
2. 培養期間の調査は28℃で行い, 這痕の検出は実体顕微鏡下で行ったが, 陽性者96人

中1日目75人(78.1%),2日目に90人(93.8%),3日目に96人(100%)が検出され,2日間の検査では不十分であった。

3. 検査に要する日数は,室温20~30°Cに放置した状態で這痕の形成率は当日39人中37人(94.9%)1日後32人(84.2%),2日後21人(56.8%),3日後15人(46.9%)と1日経過するだけで10%,2日後に約48%も低下した。

4. シャーレの構造は既製品では虫体がシャーレ外へ脱出したため,二重構造になったシャーレを作成した。外側の溝に25%のグリセリン水を入れることにより虫体の脱出防止が可能であった。

5. 検査に要する糞便量は1.5g以上であれば這痕形成率に大きな差は認められなかった。

6. 這痕の検出は実体顕微鏡で行うと1回の検査で,57人中49人(86.0%)に対し,生物顕微鏡では52人(91.2%)で,生物顕微鏡での検出率が高く,培地上に形成される薄い這痕は実体顕微鏡での検出は困難であった。

7. 培養期間は実体顕微鏡での這痕の検出を行うと1日目で96人中75人(78.1%),2日目で90人(93.8%),3日目で96人(100%)が検出された。

8. 糞線虫の検出は91人中,平板培地法で這痕を形成した者から84人(92.2%),未形成者から7人(7.7%)が検出された。

9. 這痕陽性者を対象に糞線虫の検出率をArakaki法,平板培地法,濾紙培養法,MGL法の各々について比較すると普通寒天平板培地上で直接検出方法が83.1%で最も高く,次に濾紙培養液を遠心する方法が65.5%,その他の方法は濾紙培養法とMGL法を併用しても22.1~43.6%の検出率であった。

10. 糞線虫検査としては1回の検査で平板培地法が57人中52人(91.2%)で最も高く,次に濾紙培養法29.8%,MGL法15.9%の順であった。

V 参考文献

Arakaki T.,Hasegawa H.,Asato R.,Ikeshiro

T.,Kinjo F.,Saito A.and Iwanaga M. (1988) A New Method to Detect *Strongyloides stercoralis* from Human Stool. Jap.J.Trop.Hyg.,23:16-21.

安里龍二(1984)検査,診断(1)糞便検査法に関する最近の問題,沖縄公衆衛生誌,15:91-95.

安里龍二・長谷川英夫(1987)糞線虫検査に用いられる糞線虫検査法の検討,沖縄県公害衛生研究所報,21:37-41.

安里龍二・仲宗根民男・新垣民樹・池城毅(1988)沖縄県における糞線虫の浸淫状況I.地域特殊感染症対策事業(糞線虫),10pp.

安里龍二・仲宗根民男・新垣民樹・池城毅(1989)沖縄県における糞線虫の浸淫状況II.地域特殊感染症対策事業(糞線虫)10pp.

安里龍二・仲宗根民男・新垣民樹・池城毅(1989)普通寒天平板培地法を用いた糞線虫の浸淫状況調査及び同法の検討について,沖縄公衆衛生誌,19・20:15-22.

安里龍二・仲宗根民男・吉田朝啓・新垣民樹・岩永正明・池城毅・斉藤厚・城間盛光・石原昌清・金城勇徳・嶋田雅暁・上原ひろみ・新城正紀・崎山絹代(1990)地域特殊感染症(糞線虫)対策事業報告書一沖縄県における糞線虫の現状一,22pp.

安里龍二・仲宗根民男・吉田朝啓・新垣民樹・岩永正明・池城毅・斉藤厚・城間盛光・嶋田雅暁・石原昌清・城間祥行・新城正紀・崎山八郎・宮国玲子・具志堅浩・池間嘉則・新垣義男(1991)平成2年度地域特殊感染症対策事業報告書,20pp.

安里龍二・仲宗根民男・吉田朝啓・新垣民樹・池城毅・斉藤厚・城間祥行・城間盛光・嶋田雅暁・村上秀親・松原利夫・伊集不二男・比嘉智恵・宮里治(1992)平成3年度地域特殊感染症(糞線虫)対策事業報告書,19pp.

古谷信彦・下地克佳・中村博・大湾朝尚・健山正男・玉城和則・普久原浩・草野展周・志喜屋孝伸・兼島洋・伊良部勇榮・橋川桂

- 三・重野芳輝・金城福則・斉藤厚(1989) 糞線虫症に合併した*Enterococcus faecium*による化膿性随膜炎, 敗血症の治療例. 感染症学雑誌, 63(12): 1344-1349.
- 池原修・平田一仁・喜舎場朝和(1987) 成人T細胞性白血病と糞線虫. 最新医学, 42(1): 124-130.
- 喜舎場朝和(1982) 糞線虫と腸内細菌による感染症—播種性糞線虫症に合併するグラム陰性桿菌の敗血症, 肺炎および随膜炎—. 感染症, 12(5): 180-185.
- 喜舎場朝和・内原俊記・上野勝己・護得久朝一・島袋良秀(1985) “潜在的”播種性糞線虫症によると思われるグラム陰性桿菌性随膜炎. 沖縄医学会誌, 22(2): 539-541.
- 松井克明・崎浜秀一・当山清美・伊藤悦男・川平稔・大城朝光・豊田善成(1982) 沖縄県における糞線虫症の臨床病理学的研究. 琉大保健医学誌, 5(1): 19-32.
- 仲田精伸・古堅宗英・仲宗根克・仲宗根妙子・大城吉秀・山口一成・石井俊徳・高月清・吉田光昭(1987) くすぶり型ATLと糞線虫症. 沖縄医学会誌, 24(1): 277-279.
- 沖縄県予防医学協会事業年報(1971~1987).
- 斉藤厚(1989) 沖縄県における糞線虫症の緊急性—糞線虫に関する現状と問題点およびその対策—. 琉大第1内科資料, 39pp.
- 佐々学・照屋寛善・池宮喜春・国吉真英・城間盛吉・金城進(1958) 沖縄農村の寄生虫罹患状況について. 日本医師会誌, 15: 97-100.
- 白坂竜曠(1958) 寄生線虫類感染幼虫の生態に関する研究(1) 鉤虫類, 毛様線虫及び糞線虫各感染幼虫の温度反応の比較について. 寄生虫誌, 7(5): 85-91.
- 城間祥行・真境名豊次・内原栄輝・安座間清(1978) 重症糞線虫症の検討. 沖縄医学会誌, 15: 97-100.
- 高良勲・照屋功・山里将典・比嘉実・高良光雄・金城正太郎・仲地紀正・小吉信祥(1977) 頻回の下痢により著名な低Ka血症を呈した糞線虫症の1例. 沖縄医学会誌, 14(14): 113-114.