
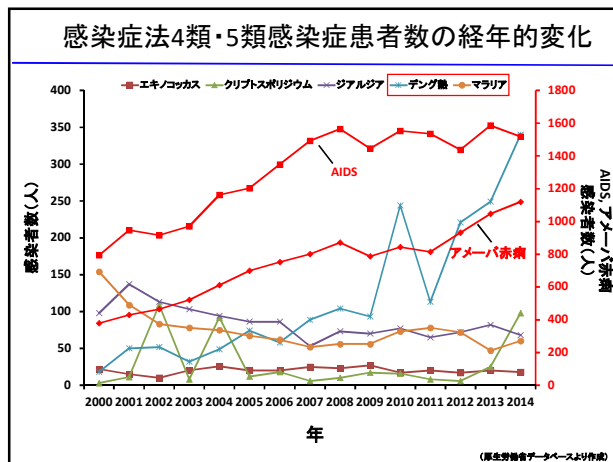
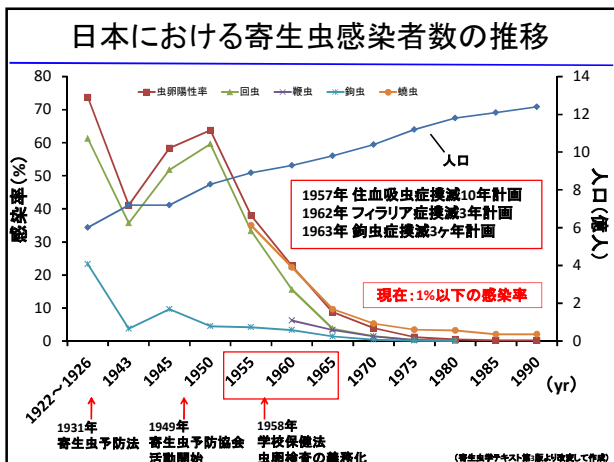
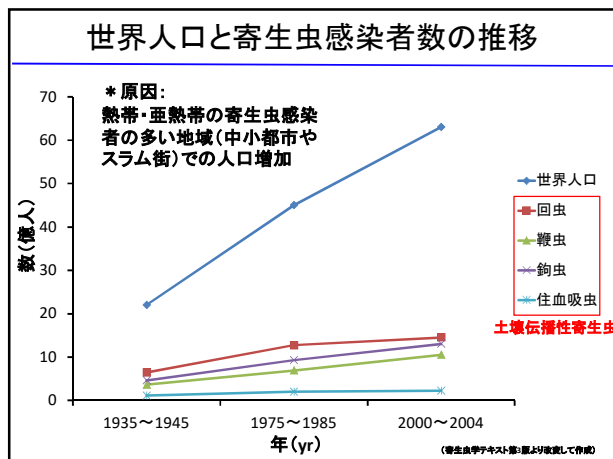


20230927 兵庫県臨床検査技師会

寄生虫総論 ～検査のための基礎知識～

神戸大学医学部附属病院検査部
大沼 健一郎

入院患者での寄生虫卵検査依頼について

- 主治医の目的: ①下痢(慢性)の精査
特に、免疫抑制剤使用患者やHIV感染者
②好酸球増加の原因精査
- 下痢の原因
細菌感染症(大腸菌、キャンピロバクター、抗菌薬関連下痢症)
寄生虫感染症
ウイルス感染症
その他: 術後、吸収異常、腫瘍性、クローン病など
- AIDS診断の指標疾患 23種のうち、下記3種は原虫感染症
・クリプトスポリジウム
・イソスポーラ
・トキソプラズマ

**入院患者において寄生虫感染症検査は
確定診断や除外診断としても必要**

症例

- 24歳、男性
- 既往歴: 特記すべき事項なし
- 渡航歴: 2年以内 ドイツ、シンガポール、タイ、ベトナム、ラオス、カンボジア、インド
- 現病歴:
20XY年1月末 タイ、カンボジア、インドへ渡航
2月 下痢症状出現
3月末 帰国
4月2日 39℃台の発熱のため近医受診(扁桃腺炎と診断)
7日 症状(発熱・下痢・頭痛)改善なく基幹病院へ入院
LVFXで治療開始
9日 CTRX + AZMへ変更後、症状改善傾向へ
下痢は持続
10日 入院時血液培養および便培養から *Salmonella* Typhi検出、加療も下痢が持続
11日 加療目的で本院へ転院、入院

入院時検査所見

生化学的検査

AST : 376 IU/l
 ALT : 364 IU/l
 γ-GTP : 226 IU/l
 ALP : 889 IU/l
 LD : 775 IU/l
 TG : 243 mg/dl
 TP : 7.6 g/dl
 ALB : 3.4 g/dl
 BUN : 8 mg/dl
 NA : 135 mEq/l
 K : 4.5 mEq/l
 Cl : 102 mEq/l

血液学的検査

WBC : 7900/μl
 RBC : 490万/μl
 HGB : 14.1 g/dl
 HCT : 40.9%
 PLT : 19.9万/μl

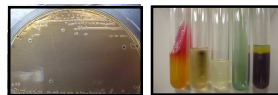
感染症検査

肝炎ウイルス抗体
 A型 IgG (-)
 A型 IgM (-)
 HBc IgM (-)
 赤痢アメーバ抗体
 100未満 : (-)

細菌学的検査

材料と方法 本院入院時血液培養および便培養は陰性

同定 (* 菌株は前医から供与)



血清型 (* 前医で実施)

O9: d: (Vi)
Salmonella Typhi

薬剤感受性

ABPC	≤4	S
PIPC	≤8	S
CTX	≤8	S
CAZ	≤1	S
GMZ	≤4	R
FMOX	≤8	S
IPM	≤1	S
AZT	≤8	S
A/C	≤8	S
S/C	≤16	S
MINO	≤1	S
LVFX	≤1	S
FOM	≤4	S

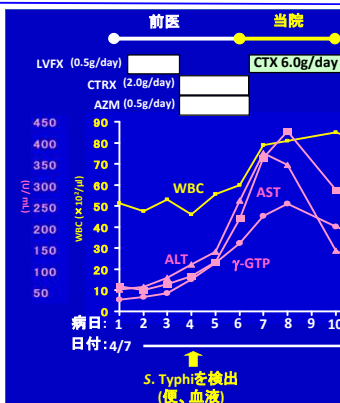
ナリジクス酸感受性試験

LVFX投与で症状改善なし

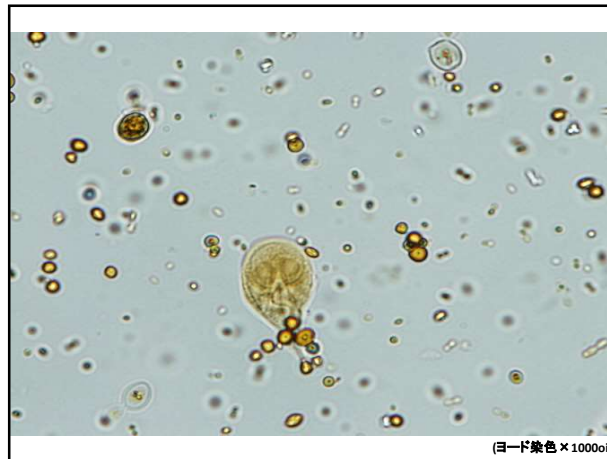


* ナリジクス酸 (nalidixic acid; NA)

経過 (転院直後)



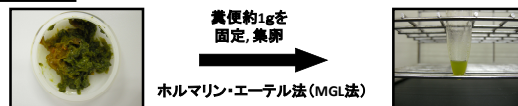
全身状態は安定するも、
 ①下痢が20回/日とS.Typhi感染症としては多い
 ②抗菌薬投与で症状改善なし?
 →S. Typhi以外の微生物の混合感染?



虫卵検査

目的 強い下痢症状→S. Typhi以外の微生物の混合感染?

材料と方法

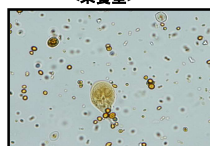


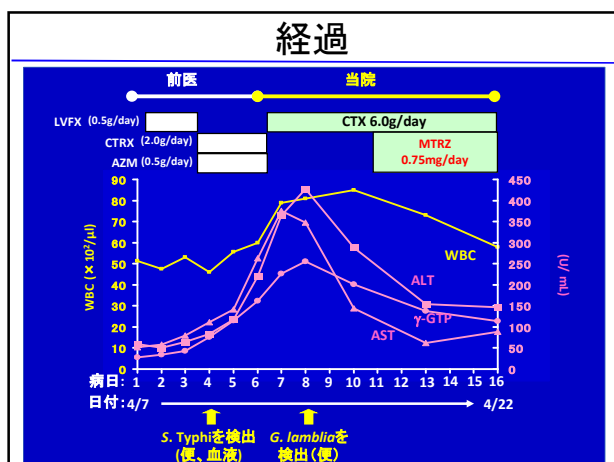
鏡検結果

Giardia lamblia (*G. lamblia*)

<栄養型>

<シスト>





ランブル鞭毛虫

Giardia lamblia (*Giardia intestinalis*, *Giardia duodenalis*)

- ・栄養型: 10~15μm × 6~10μm
2核、4対(8本)の鞭毛、腹部に吸着円盤をもつ
十二指腸~小腸上部に寄生(時に胆道~胆嚢寄生もあり)
- ・嚢子(シスト): 8~12μm × 5~8μm
4核(軸子と鞭毛)糞便に排泄された時点で成熟型→感染性あり無症候性キャリアあり
- ・A~Hの8つの遺伝子型
ヒトに感染:A型とB型
- ・感染経路: シストに汚染された食物や水の経口接種(10~25個の摂取でも感染成立)

(https://www.cdc.gov/parasites/giardia/pathogen.html)

ジアルジア症

- ・ランブル鞭毛虫による原虫感染症
- ・5類感染症(全数把握届出疾患)
→診断した医師は7日以内に最寄りの保健所に届け出なければならない
- ・臨床症状
1. 食欲不振、腹部不快感、**下痢(非血性、しばしば脂肪性下痢)**等
2. 無症状や自然治癒例もあり
- ・約40%では、原虫消失後も数週間乳糖不耐症が持続することがある
→製品摂取を控える指導が必要になることがある
(Farthing MJ. Giardiasis. Gastroenterol Clin North Am 1996;25:493-515.)
- ・成人よりも**小児、分泌型IgA低下症**や**低γ-グロブリン血症**、**免疫不全者(HIV/AIDSなど)**で重篤化や再発、難治例になりやすい
(ジアルジア症. 東京都感染症マニュアル2018.2018. p.262-3.)

ジアルジア症

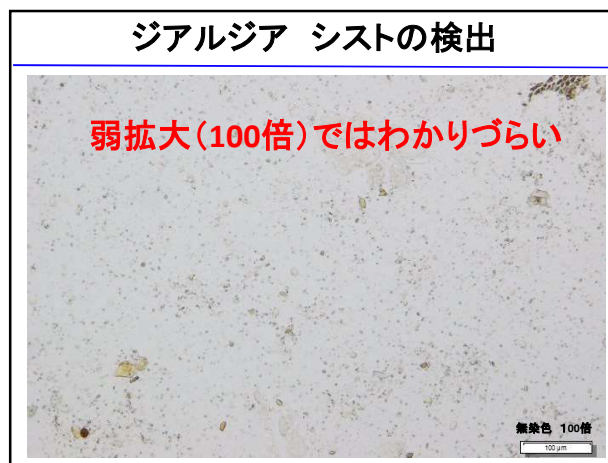
- ・診断
検査材料: 便、生検組織、十二指腸液、胆汁、唾液
検査法: ①顕微鏡下でのジアルジア原虫の証明
②酵素抗体法又はイムノクロマト法による病原体抗原の検出
③PCR法による病原体の遺伝子の検出

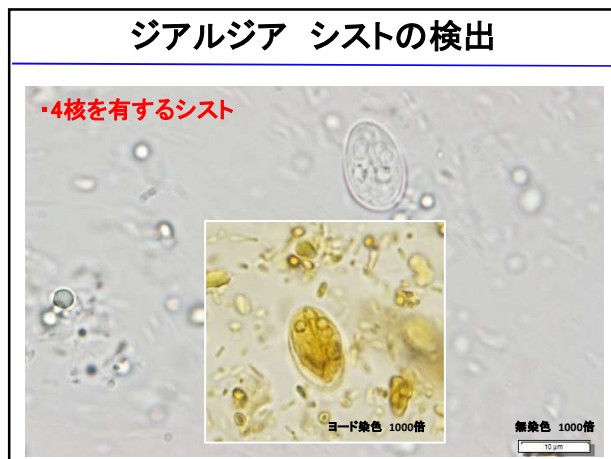
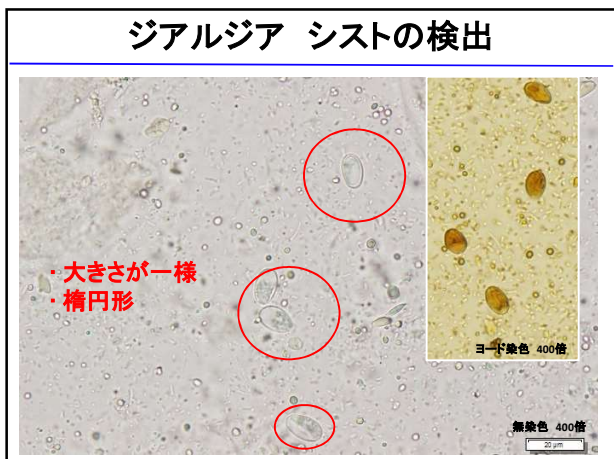
↑ギムザ染色(1000倍)
←グラム染色(1000倍)

- ・治療; 第一選択は**メトロニダゾール**や**チニダゾール**
メトロニダゾール 250mg・経口・3回/日・5~7日間(保険適応あり)
妊娠中は禁忌→**パロモマイシン**(8~11mg/kg・経口・3回/日・5~10日間)
治療後に原虫消失を確認

ジアルジア症の疫学

- ・*G. lamblia*感染率: 先進国 - 2~5%
途上国(熱帯地域) - 20~50%
日本 - 1%以下・28~71件/年(H28~R2)
過敏性腸炎の約7%
- ・環境中でのシストの検出率
兵庫県: 13河川中5河川(38%), 69採水地点中9地点(13%)で陽性
神奈川県相模川の13地点; 83~92%で陽性
(小野一男. 他. 河川水からのCryptosporidiumとGiardiaの検出状況. 感染症学雑誌. 2001;75:201-206.)
(橋本 温. 平田 強. 相模川水系におけるクリプトスポリジウムおよびジアルジアの汚染レベル. 水環境学会誌. 1998;21:119-122.)
- ・海外渡航後に消化管症状を示した患者からの分離率
G. lamblia: 27.9%
S. Typhi: 3.4%
(Ashwin S. et al. J Infect 2009; 59: 19-27)
(David O.F. et al. N Engl J Med 2006; 354: 119-130)





寄生虫感染症の問題点

- ・ 土壌伝播性寄生虫感染症は日本では激減したが世界的には増加傾向
↳ 渡航先での感染の可能性
- ・ アメーバ赤痢など近年増加傾向
- ・ 新興感染症、再興感染症としての寄生虫症
↳ 海外渡航者の増加、ペットブーム、グルメ嗜好、免疫不全疾患の増加、同性愛者の増加

日本においても寄生虫感染症検査は依然重要

寄生虫の特徴

- ・ 宿主特異性: 宿主寄生虫相互関係
固有宿主(終宿主)、中間宿主、媒介動物
⇒ 食歴、動物・海産物との接触の有無、咬傷の有無が感染寄生虫の同定のヒントとなる
- ・ 臓器特異性
異所寄生や迷入、転移
⇒ 感染臓器が同定のヒントとなる
- ・ 感染経路
⇒ 感染防止や寄生虫の撲滅策のヒントとなる

寄生虫の宿主特異性

「寄生虫は発育・成熟、生殖を可能ならしめる環境を持った特定の臓器や組織に定着して成虫となる」

例外

- ・ 異所寄生: 幼虫が本来の最終寄生部位以外の部位で成虫になる。
例) 肺吸虫による胸部肺吸虫症や脳肺吸虫症
- ・ 迷入: 成虫が本来の寄生場所を離れて他の臓器へ移動すること
例) 回虫の成虫が小腸から胆管などへ。
- ・ 転移: 血流やリンパ流により他の場所へ運ばれ定着、増殖すること
例) 赤痢アメーバが大腸から肝や脳に転移

寄生虫感染の臓器特異性

※赤字: ヒト以外を固有宿主とするもの

- 眼: アカントアメーバ
- 中枢神経系: トキソプラズマ
- 肺: ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫など
- 胃: アニサキス
- 肝細胞と赤血球: マラリア原虫
- 胆管: ジアルジア、肝吸虫、肝てつ
- 肝臓: 赤痢アメーバ、肝吸虫、肝てつ、日本住血吸虫など
- 大腸: 赤痢アメーバ、蟯虫、鞭虫など
- 泌尿器: 陰トリコモナス、ビルハルトツ住血吸虫
- 小腸: 回虫、鞭虫、条虫、糞線虫など多数

寄生虫の感染経路

- **経口感染**: 寄生虫の感染型(シスト、メタセルカリアなど)を飲食物などとともに摂取する。
例) 赤痢アメーバ、ランブル鞭毛虫、回虫、条虫類など。
- **経皮感染**: 皮膚や粘膜から幼虫等が体内に侵入する。吸血昆虫の刺咬時に体内に原虫や幼虫が侵入する際もあてはまる。
例) 糞線虫、鉤虫、日本住血吸虫、マラリア、トリパノソーマなど
⇒ 感染対策とくに重要 !!
- **性行為感染**: 例) 臈トリコモナス、赤痢アメーバ、ケジラミなど
- **経胎盤感染**: 母体から胎児への垂直感染。
例) トキソプラズマ、マラリア原虫など。
⇒ 妊婦でのトキソプラズマ抗体測定
- **血液感染**: 輸血や注射針の使い回しによるもの。
例) トリパノソーマ、マラリア原虫、リーシュマニアなど

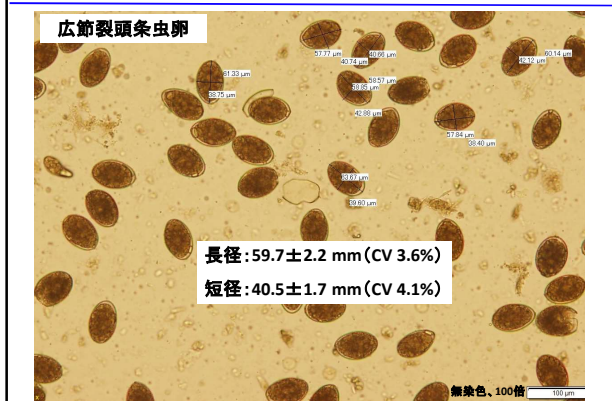
寄生虫の分類

原虫類	蠕虫類
<ul style="list-style-type: none"> • 根足虫類 赤痢アメーバ、アカントアメーバなど • 動物鞭毛虫類 臈トリコモナス、ランブル鞭毛虫、トリパノソーマなど • 孢子虫類 マラリア原虫、トキソプラズマ、クリプトスポリジウム、イソスポーラなど 	<ul style="list-style-type: none"> • 扁形動物門: 背腹に扁平、雌雄同体(一部例外あり) ① 吸虫類: 吸盤をもつ 住血吸虫、肺吸虫、肝吸虫、など ② 条虫類: 多くの片節に分かれる 日本海裂頭条虫、無鉤条虫、多胞条虫、マンソン裂頭条虫など • 鉤頭動物門: 鉤を有す物をもつ • 線形動物門: 体節をなさない。雌雄異体。 回虫、アニサキス、糞線虫など

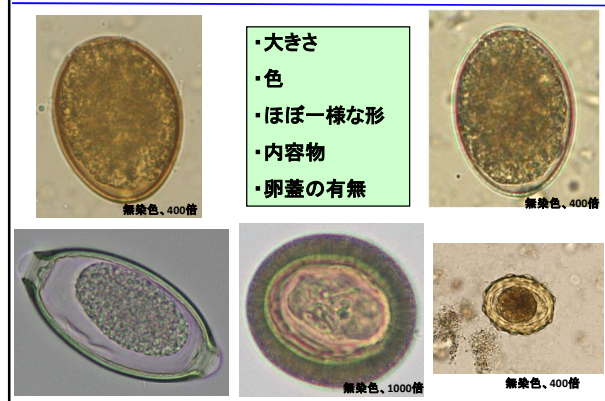
虫卵の鑑別と検査法



虫卵の大きさは一様である



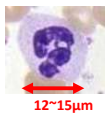
寄生虫虫卵鑑別のポイント



寄生虫虫卵鑑別のポイント: 大きさ

小

異形吸虫 (19~26 × 11~14 μm)
肝吸虫、横川吸虫 (28~32 × 14~19 μm)
 鞭虫 (50~54 × 22~23 μm)
 蟯虫 (50~60 × 20~30 μm)
 回虫受精卵 (50~70 × 40~50 μm)
 無鉤条虫 (62~66 × 62 × 66 μm)
 大複殖門条虫 (54~70 × 48~54 μm)
 日本海裂頭条虫 (66~75 × 45~53 μm)
 東洋毛様線虫 (90~95 × 43~45 μm)



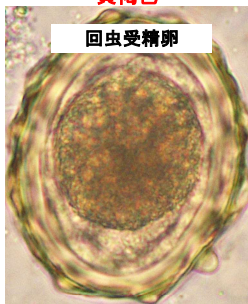
12~15μm

大

日本住血吸虫 (70~100 × 50~70 μm)
 ウエステルマン肺吸虫 (70~100 × 50~65 μm)
肝てつ (150~190 × 75~95 μm)

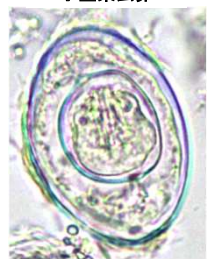
寄生虫虫卵鑑別のポイント: 色

黄褐色
回虫受精卵



他、多数の虫卵

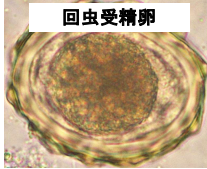
無色
小型条虫卵



他に、蟯虫、鉤虫卵、東洋毛様線虫卵

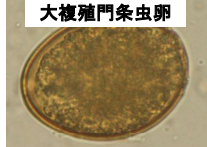
寄生虫虫卵鑑別のポイント: 内容物

一個の卵細胞
回虫受精卵



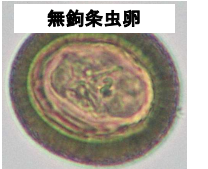
他に、鞭虫

一個の卵細胞と多数の卵黄細胞
大複殖門条虫卵



他に、肝てつ、肺吸虫

六鉤幼虫
無鉤条虫卵



他に、有鉤条虫、小型条虫、縮小条虫

ミラシジウム
肝吸虫、異形吸虫、横川吸虫、日本住血吸虫

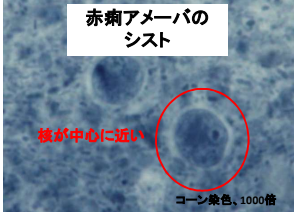
幼虫
蟯虫

原虫類の分類と鑑別のポイント

表. 原虫類の伝播様式、シストなどの中身、届出の有無

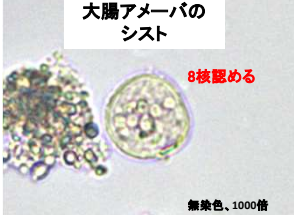
原虫名	伝播様式	中身	届出
赤痢アメーバ	シストの経口摂取	4核 (核小体は核の中心)	○
大腸アメーバ	シストの経口摂取	8核 (核小体は核の中心でない)	○
ランブル鞭毛虫	シストの経口摂取	シスト: 4核 栄養型: 2核	○
クリプトスポリジウム	オーシストの経口摂取	4つのスポロゾイト	○
イソスポーラ	オーシストの経口摂取	2個のスポロシスト	○
マラリア原虫	ハマダラカの刺咬	スポロシストに4個のスポロゾイト	○
アフリカトリパノソマ	ツエツエバエの刺咬	スポロシストの注入	○
アメリカトリパノソマ	サシガメの糞 (経皮)	シストやオーシスト	○
トキソプラズマ	経口摂取、経胎盤感染	2個のスポロシスト スポロシストに4個のスポロゾイト	○

赤痢アメーバのシスト



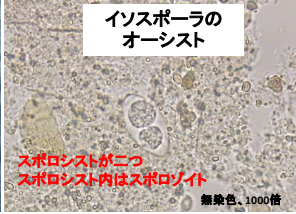
核が中心に近い
コーン染色, 1000倍

大腸アメーバのシスト



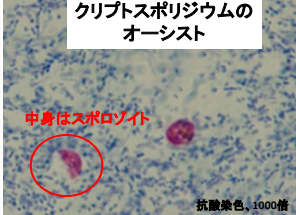
8核認める
無染色, 1000倍

イソスポーラのオーシスト



スポロシストが二つ
スポロシスト内はスポロゾイト
無染色, 1000倍

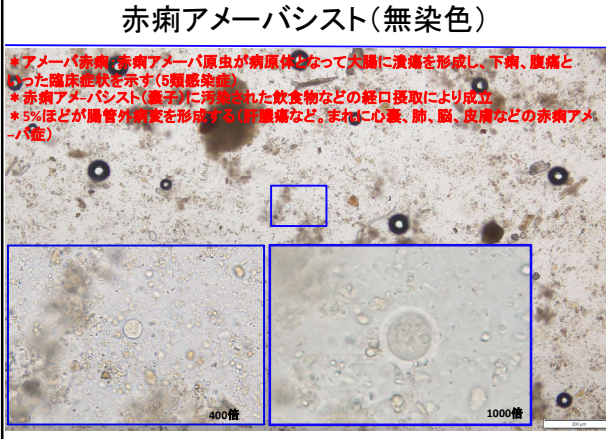
クリプトスポリジウムのオーシスト



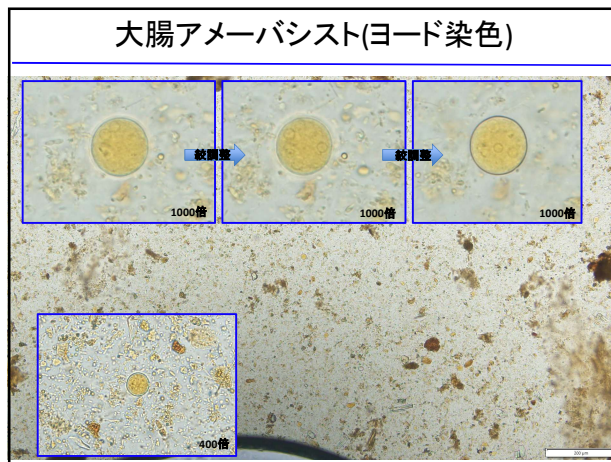
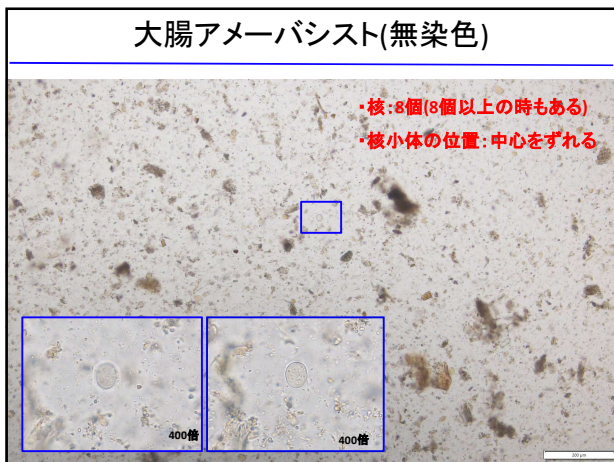
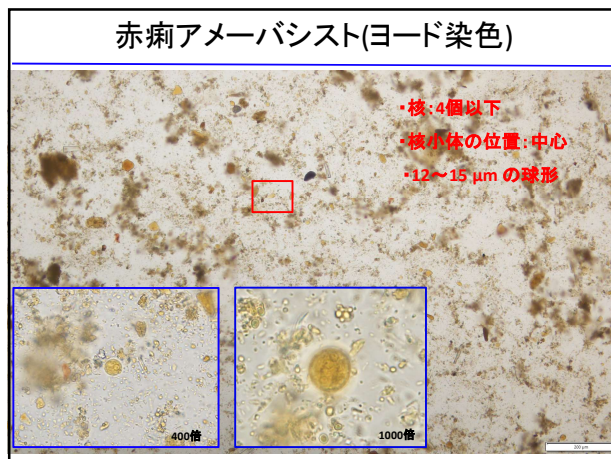
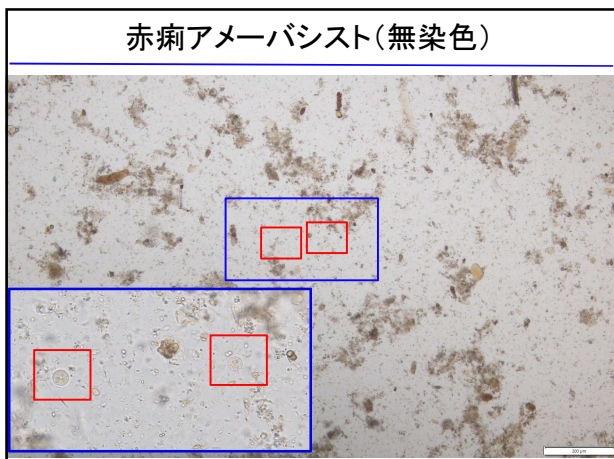
中身はスポロゾイト
抗酸染色, 1000倍

赤痢アメーバシスト(無染色)

*アメーバ赤痢 (赤痢アメーバ原虫が病原体) になって大腸に潰瘍を形成し、下痢、腹痛といった臨床症状を示す (5種類感染性)
 *赤痢アメーバシスト(嚢子)に汚染された飲食物などの経口摂取により成立
 *5%ほどが腸管外病変を形成する (肝腫瘍など、まれに心臓、肺、皮膚などの赤痢アメーバ症)



400倍 1000倍



マラリア原虫の分類と鑑別のポイント

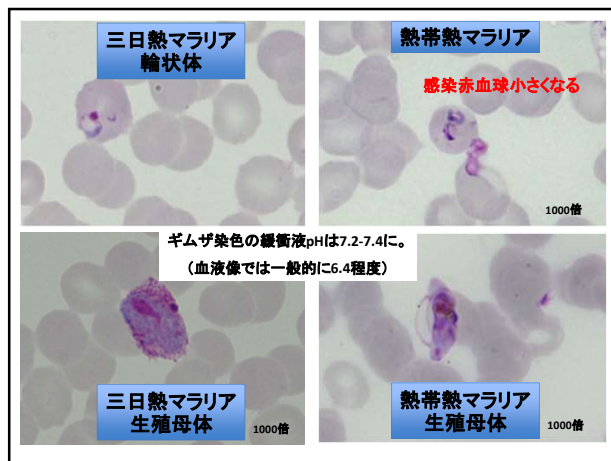
①迅速診断キット:熱帯熱マラリアかそれ以外を全血で迅速に検査できる

1. *Plasmodium vivax*
2. *P. malariae*
3. *P. ovale*
4. *P. falciparum*
5. *P. knowlesi*:第5のマラリアとして提唱

②血液像での鑑別

- 1) 感染赤血球は膨大しているか? Yes→三日熱マラリア/卵形マラリア
- 2) アメーバ体の形状、斑点の観察
- 3) 分裂体の数、生殖母体の形状 例:半月状:熱帯熱マラリア


③nested-PCR



蠕虫類の特徴:線虫類

- * **腸管寄生**するもの:回虫、蟯虫、鞭虫など。虫卵の経口摂取で感染。
- * **腸管外寄生**するもの:糞線虫、ズビニ鉤虫、アメリカ鉤虫など。感染性幼虫の経皮感染または経口感染。
⇒ ヒトを固有宿主とするのでヒト体内で生殖が可能!
⇒ 虫卵の検出が可能!
- * **幼虫移行症**をおこすもの = ヒトを固有宿主としない!
⇒ 虫卵の検出できない!

例) アニサキス、イヌ回虫、アライグマ回虫、広東住血線虫、顎口虫など



免疫学的検査や組織標本による検査、または虫体の検出が診断に必要

⇨ 十二指腸液から検出した糞線虫虫体 (無染色)


回虫症例

- ・1歳、女兒
- ・中国に半年ほど滞在していた
- ・両親がおムツの中にミズダの物体を確認し、当院へ持参
- ・虫体より虫卵を抽出、鏡検にて形態を確認
- ・回虫の成虫と同定し報告した


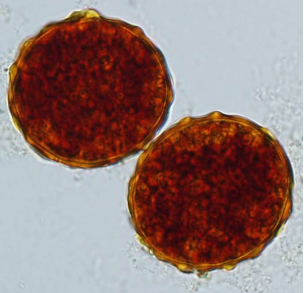




回虫症例

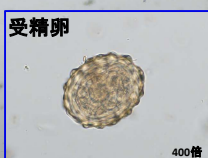


・虫体より虫卵を抽出し、回虫卵と判定した。


回虫卵

受精卵



400倍

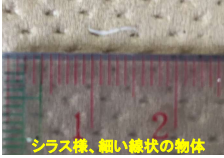
不受精卵



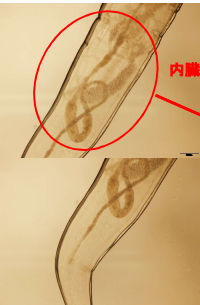
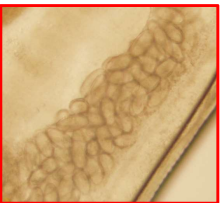
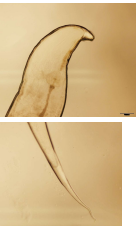
400倍

蟯虫症例

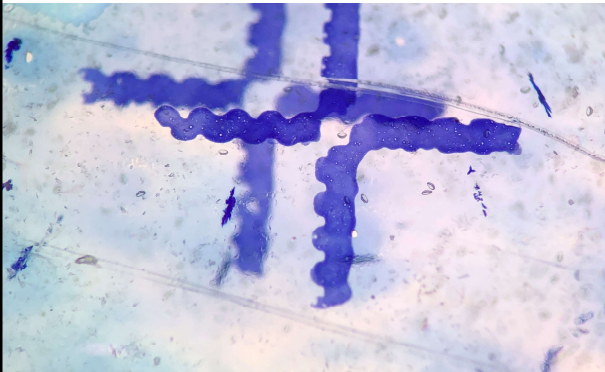
- ・50代、男性
- ・福祉施設入居
- ・前医で蟯虫症や鞭虫症と診断
- ・6mm程度の白色の虫体を持参



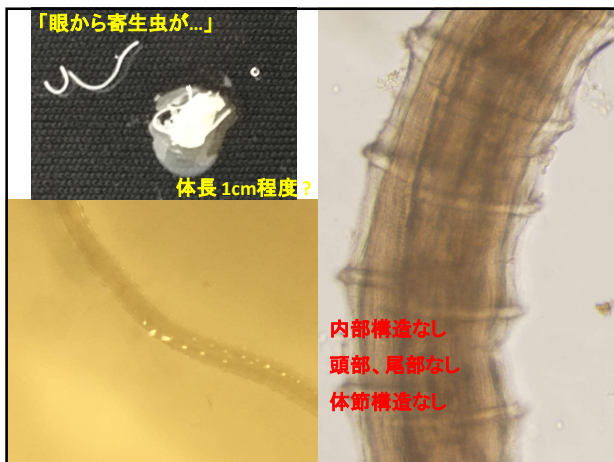
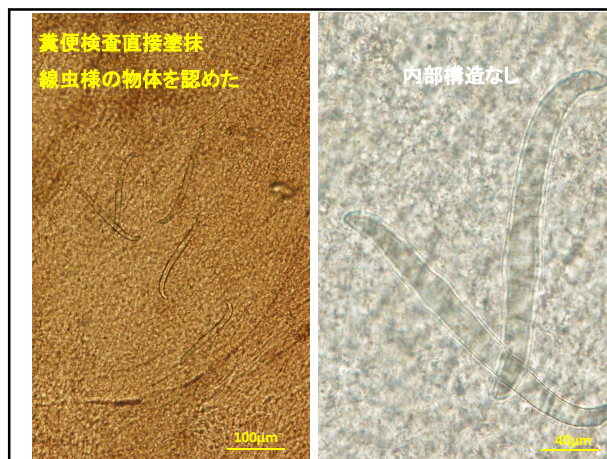
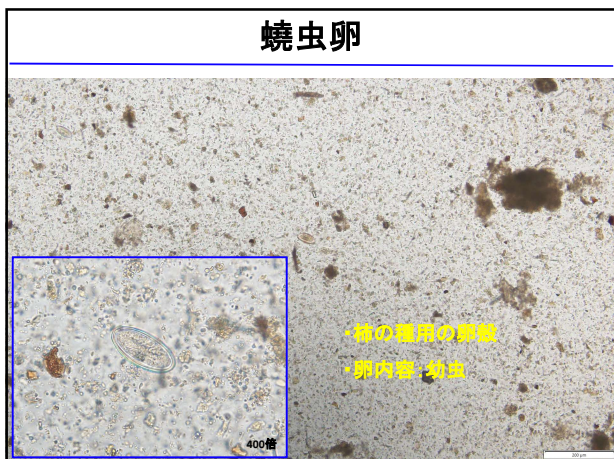
シラス様、細い線状の物体

蟯虫卵(セロファンテープ法)



蟻虫卵



成虫の虫体の比較

日本海裂頭条虫	5m~10m
マンソン裂頭条虫	50~100cm
回虫	20~30cm
アニサキス	60~200mm (幼虫: 10~40mm)
小型条虫	10~30mm (体節あり)
鉤虫	7~13mm
蟻虫	(雌) 8~13mm (雄) 2~5mm
東洋毛様線虫	4~7mm
糞線虫	1~3mm

(図説 人体寄生虫学 改訂9版 南山堂より転載)

糞線虫検査

- ろ紙培養法
 - 糞便を塗布した縦長のろ紙を、試験管にいれる。試験管には少量の水をいれておき、ろ紙の下端が浸るようにする
 - 数日間培養し、下の液体中に落下してきた虫体を確認する
- 寒天平板培地法
 - ミューラーヒントン培地などの寒天培地の真ん中に糞便をおく(シャーレ外に出ないよう、培地の端を円状に切り抜いて水をいれておく)
 - 糞線虫が爬行するとそれに伴い細菌が培地上に拡がって発育する

虫体が提出されたら...

- 成虫の大きさ、幅、外観、子宮枝数をよく観察
- 虫体の内部(内臓構造)や頭端・尾端の形状に注目
- 子宮内から取り出した虫卵は未成熟かもしれない

蠕虫類の特徴:吸虫類

吸虫類 : 検査は糞便や尿から虫卵を検出

- * 腸管寄生: 横川吸虫、高橋吸虫、有害異型吸虫など
メタセルカリアの経口感染(中間宿主の摂取とともに)
- * 肝胆管系寄生: 肝吸虫、肝てつ
メタセルカリアの経口摂取で感染
- * 肺寄生: ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫など
メタセルカリアの経口感染
- * 他の組織寄生: 日本住血吸虫、 Manson 住血吸虫、ピルハルトツ住血吸虫など。**セルカリア**の経皮感染。

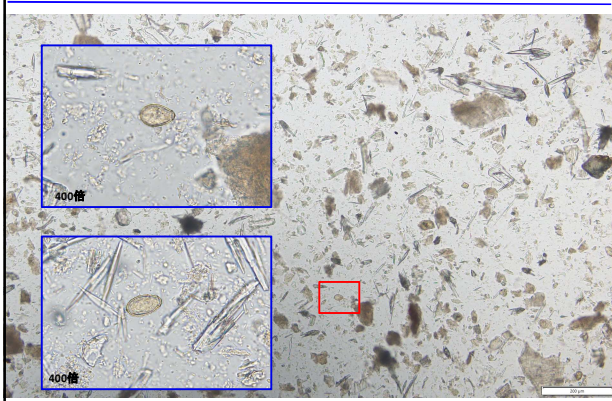
虫卵→ミラシジウム→スポロシスト→レジア→娘レジア→セルカリア→メタセルカリア		
	第1中間宿主内	第2中間宿主内
ウエステルマン肺吸虫	カワニナ	モクズガニ
肝てつ	ヒメモノアラガイ	セリ、牧草など
日本住血吸虫	ミヤイリガイ	なし

宮崎肺吸虫卵とウエステルマン肺吸虫卵

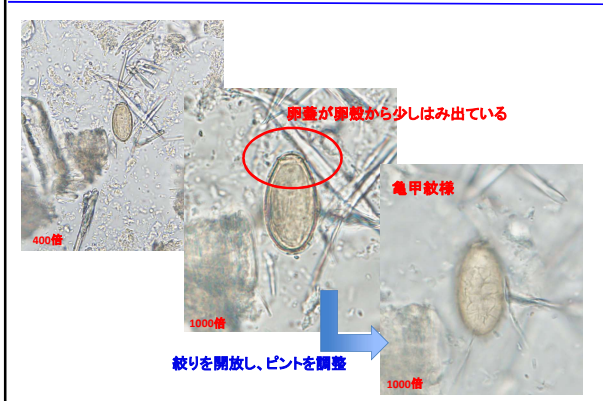


74 × 44μm	大きさ	90 × 55μm
ホラアナミジンナ	第一中間宿主	カワニナ
サワガニ	第二中間宿主	モクズガニ(3倍体) サワガニ(2倍体) アメリカザリガニ(一部の地域)

肝吸虫卵



肝吸虫卵

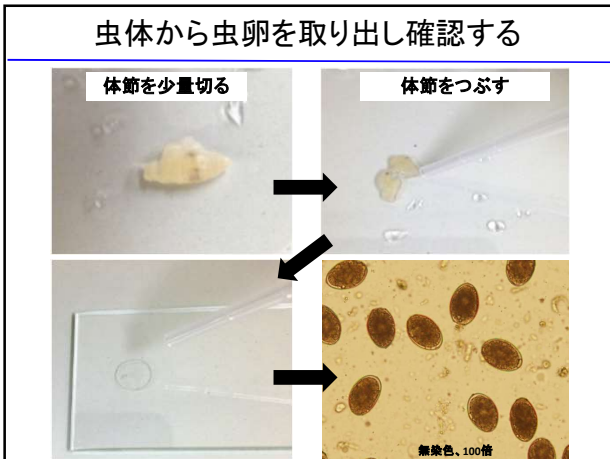


横川吸虫卵



蠕虫類の特徴:条虫類

擬葉類	卵内容	円葉類
卵細胞と卵黄細胞	子宮孔	六鉤幼虫
あり	生殖孔の開口部位	なし
片節の腹面	中間宿主	片節の側面
2つ	頭節	1つ(or なし:多胞条虫)
吸溝のみ	寄生虫種	吸溝・鉤
日本海裂頭条虫	感染源	無鉤・有鉤条虫
大複殖門条虫		多胞条虫
プレロセルコイド		囊尾虫、擬囊尾虫、虫卵
虫卵 → コラシジウム → プロセルコイド → プレロセルコイド		
日本海裂頭条虫	第1中間宿主内 ケンミジンコ	第2中間宿主内 サクラマス、カラフトマス
大複殖門条虫	クジラ	イワシ?



虫卵検査(鏡検)

感度 直接塗抹法 < セロファン厚層塗抹法 < 集卵法(MGL法)

- 直接塗抹法**
 - 生理食塩水を1滴スライドガラスに滴下する
 - 糞便を数カ所から約3mgとる
 - スライドガラス上に薄くのばす
 - カバーガラスをかけて鏡検

注: 赤痢アメーバを疑うときは37℃にあため、**粘血部位**を採取する。
- セロファン厚層塗抹法**
 - 糞便を数カ所から約60mgとる
 - 直接塗抹法で、カバーガラスの代わりに**マラカイトグリーン液**に浸したセロファンをかぶせる
 - セロファンの上から、ゴム棒などで押し、うすくのばす
 - 鏡検する
- 集卵法(MGL法)**
 - 10mL遠心管に小豆大(約0.5g)の便を入れ、生理食塩水を7mLに加えよく攪拌
 - 便汁をガーゼで濾過する(濾液は10mL遠心管に採取する)
 - 2,500rpm、3分遠心する
 - 上清を捨て、10%ホルマリン溶液7mLを加え沈澱をほぐし30分間放置
 - スポイトで酢酸エチル3mLを加えてよく攪拌、30秒
 - 2,500rpm、3分遠心する
 - 上部のエーテル層、スカム層、ホルマリン層の3層を捨て、沈澱を鏡検する

浮遊法
東洋毛様線虫卵、鉤虫卵、原虫オーシストの観察に適する

培養法
糞線虫、東洋毛様線虫、鉤虫の幼虫検出

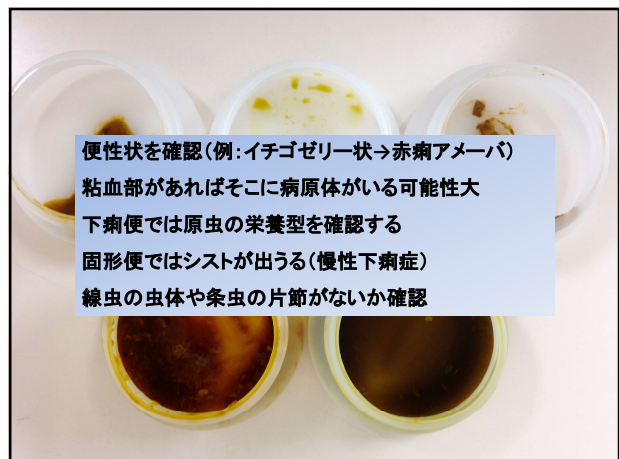
*一般検査技術教本参照

虫卵検査の検査法の選択

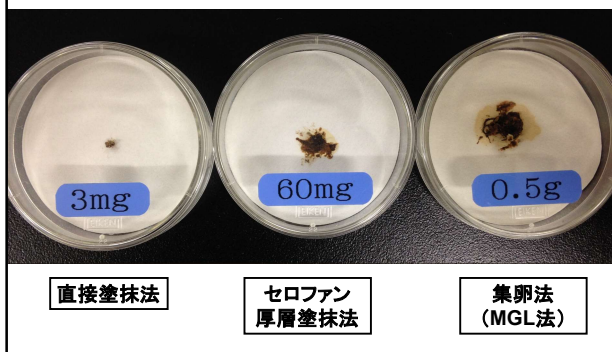
対象	薄層塗抹法	MGL法	シヨコ遠心浮遊法	ギムザ染色	コーン染色	産卵数/日
赤痢アメーバ	栄養型 ◎	シスト ○	×	×	◎	—
ランブル鞭毛虫	栄養型 ◎	シスト ○	×	○	◎	—
クリプトスポリジウム	×	×	◎	×	×	—
イソスポーラ	○	○	◎	×	×	—
東洋毛様線虫	○	○	◎	×	×	50-280
鉤虫	○	○	◎	×	×	5000-15000
鞭毛虫	○	○	◎	×	×	900
横川吸虫	○	○	◎	×	×	280
回虫	◎	◎	◎	×	×	10万-20万
日本海裂頭条虫	◎	◎	◎	×	×	4万-100万

検出には集卵法が必要

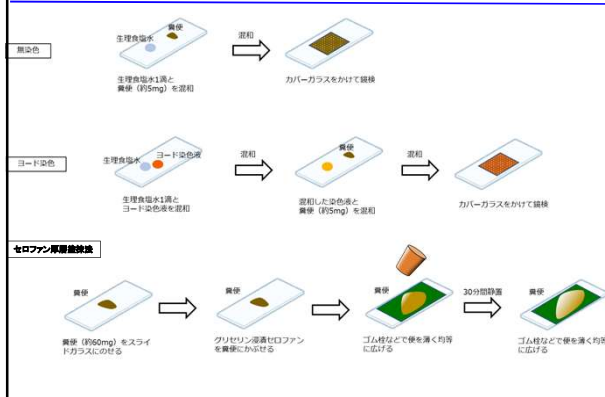
*一般検査技術教本 寄生虫学テキスト 参照



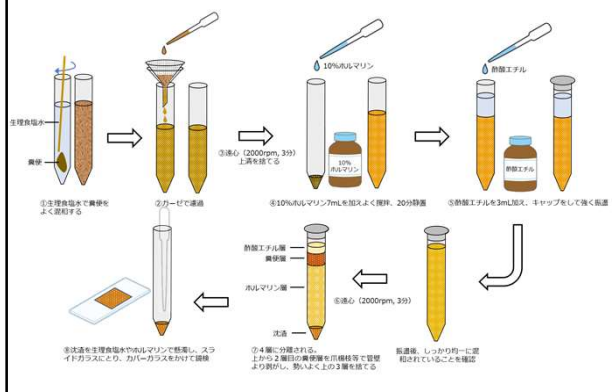
便量の目安



塗抹法(直接法、セロファン厚層塗抹法)



集卵法(MGL法、酢酸エチル法)



まとめ

- 寄生虫症は日本でも軽視できない感染症である。
- 虫卵や寄生虫の検出だけでなく、寄生虫感染症の除外も重要な意味をもつ
⇒様々な検査法を組み合わせ、感度の高い検査を行う。(確定診断は難しいことがある。)