

## (ポルトガル語)

Pesquisa da condição atual com o objetivo de contribuir para o estabelecimento do sistema de gestão de saúde e monitoramento da entrada de infecção parasitária crônica.

### Texto explicativo

#### 1. Introdução

A participação nesta pesquisa é voluntária e não haverá nenhum tipo de prejuízo caso não participe dela. Mesmo que tenha concordado em participar da pesquisa, poderá deixá-la a qualquer momento.

Esta pesquisa é direcionada aos estrangeiros saudáveis e com visto de permanência que moram na Província de Kanagawa e que queiram participar voluntariamente da pesquisa.

#### 2. Contexto da pesquisa

Em 2005 o número de estrangeiros residentes ultrapassou 1,500,000 habitantes. O Japão é um país que conta com uma boa infra-estrutura sanitária e assistência de saúde, porém as instituições médicas e laboratoriais do Japão não têm conseguido por vezes, atender de maneira eficiente doenças que não existem no país.

É sabido que existem em outros países, muitas doenças que não existem no Japão ou que existiam anteriormente mas que foram erradicadas com sucesso. Dentro deste contexto, tem sido apontada a possibilidade das pessoas com infecções parasitárias crônicas que não percebem que estão infectadas, manifestarem graves sintomas repentinos. Diante dessa possibilidade, estima-se que as instituições médicas do Japão possam encontrar dificuldades em diagnosticar adequadamente a doença e fazer o seu tratamento.

Portanto, no Japão de hoje, apesar da possibilidade ser baixa, não podemos descartar o ressurgimento da epidemia de infecções crônicas causadas por parasitas e protozoários.

#### 3. Objetivo da pesquisa

Através do trabalho de pesquisa e monitoramento das infecções crônicas de moradores estrangeiros e o necessário estabelecimento de um sistema de gestão de saúde, espera-se eliminar possíveis preconceitos e receios infundados por parte da população japonesa. O estabelecimento de um sistema de gestão de saúde e educação sanitária pode prevenir contra a possibilidade de ocorrência de casos repentinos de infecção. A realização desta pesquisa da condição atual é de suma importância para a elaboração pioneira de um manual de medidas nesta área.

#### 4. Responsáveis pela pesquisa

O Professor do curso de Aspectos Internacionais das Doenças Infecciosas da Universidade de Medicina da Defesa Nacional (Bouei Ika Daigaku) Miyahira Yasushi, cuidará da supervisão da segurança e metodologia da pesquisa, bem como o papel de prestador de esclarecimentos e coordenador de execução da pesquisa. A pesquisa será realizada pelos seguintes membros:

##### Representante da Pesquisa:

Universidade de Medicina da Defesa Nacional. Posição atual: Professor. Nome: Miyahira Yasushi

##### Grupo de pesquisa:

Universidade de Medicina e Odontologia de Tóquio. Posição atual: Professor adjunto. Nome: Akao Nobuaki

Hospital Metropolitano Bokutoh de Tóquio. Posição atual: Diretor. Nome: Onishi Kenji

Universidade Shinshu. Posição atual: Instrutor. Nome: Takagi Masaya

Universidade Keio. Posição atual: Professor. Nome: Takeuchi Tsutomu

##### Colaboradores da pesquisa:

Universidade de Medicina Dokkyo. Posição atual: Professor. Nome: Tigusa Yuichi

Universidade de Medicina da Defesa Nacional. Posição atual: Professor assistente. Nome: Ono Takeshi

Universidade de Medicina da Defesa Nacional. Posição atual: Professor assistente. Nome: Kanayama Atsuihiro

Universidade de Medicina da Defesa Nacional. Posição atual: Técnica. Nome: Yamaguchi Youko

Universidade de Medicina da Defesa Nacional. Posição atual: Assistente de pesquisa. Nome: Umemoto Saori

#### 5. Metodologia e período da pesquisa

As Cademetas de Saúde serão entregues pelas instituições médicas. As Cademetas estarão disponíveis em japonês, inglês, coreano, português, espanhol e chinês. Leia o conteúdo com muita atenção.

No dia da consulta serão feitas perguntas sobre o histórico pessoal, da família e de eventuais doenças que já teve. As perguntas serão importantes para organizarmos os dados epidemiológicos detalhados sobre a situação de proliferação das já citadas doenças de infecção por parasitas/ protozoários conforme a sua região de origem. Depois disso, realizaremos o exame de fezes e urina e coletaremos a amostra de sangue (exames de anticorpos, DNA e outros).

Se for necessário, realizaremos exames simplificados de imagem e verificação funcional como ultra-sonografia e eletrocardiograma. Todos os exames serão feitos usando tecnologias já estabelecidas sem riscos de acarretar problemas à saúde do examinado. Todo o exame está previsto para durar aproximadamente 1 hora. O resultado do exame será anotado na Cademeta de Saúde pela instituição médica e dependendo do resultado poderão ser necessárias novas consultas para a realização de medidas necessárias.

Esta pesquisa está prevista para durar 3 anos, de 2007 a 2009.

6. Os méritos e os deméritos desta pesquisa

Participando desta pesquisa você poderá fazer gratuitamente exames para detectar infecções parasitárias que são difíceis de serem diagnosticadas normalmente por médicos e laboratórios do Japão. Será possível detectar infecções parasitárias que muitas vezes progridem sem que possamos perceber. Conhecendo o seu estado de saúde será possível tomar medidas necessárias e receber um tratamento adequado. É muito importante saber se está ou não com alguma infecção parasitária crônica.

No dia do exame algumas pessoas podem passar mal durante a coleta da amostra de sangue. No local da consulta de saúde 3 médicos estarão de prontidão para atender a estas pessoas.

Se por ventura, o resultado desta pesquisa gerar um patente, este pertencerá à Universidade de Medicina da Defesa Nacional.

O resultado desta pesquisa será usado em forma de dissertações, publicações e apresentações acadêmicas de cunhos governamental, médico e acadêmico, com o devido cuidado em manter o nome e as informações pessoais do examinado em sigilo (anônimo). A proteção das informações pessoais será feita com rigor pelo Professor Seki Shuuji do Departamento de Microbiologia e Imunologia sob supervisão do administrador de informações pessoais da Universidade de Medicina da Defesa Nacional, e o progresso dos resultados da presente pesquisa será relatado à Comissão de Ética da Universidade.

7. Sobre a estrutura de suporte da presente pesquisa

Será tomado o máximo cuidado para que não aconteça nenhum acidente repentino durante os exames, porém se por uma fatalidade vier a acontecer um acidente, serão tomadas todas as medidas possíveis dentro da cobertura do seguro de saúde. Caso seja necessário algum tipo de indenização por causa da presente pesquisa, a Universidade de Medicina da Defesa Nacional e o hospital anexo não farão nenhum tipo de indenização em dinheiro.

8. Sobre os fundos para esta pesquisa

Os fundos para esta pesquisa serão arcadas pelo Fundo de Investigação Científica do Ministério da Saúde, Trabalho e Bem-Estar (No. de matrícula : H19 emergentes – geral 007). A participação nesta pesquisa é voluntária portanto sem nenhum tipo de recompensa em dinheiro.

Data da explicação: \_\_\_\_\_ ano \_\_\_\_\_ mês \_\_\_\_\_ dia.

Horário: \_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos a \_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

Nome da pessoa que explicou:

Universidade pertencente:

Posição atual:

Nome:

carimbo

Endereço:

Termo de Consentimento

Ao Reitor da Universidade Médica de Defesa Nacional

Assunto: Pesquisa da condição atual com o objetivo de contribuir para o estabelecimento do sistema de gestão de saúde e monitoramento da entrada de infecção parasitária crônica.

\_\_\_\_\_ ano \_\_\_\_\_ mês \_\_\_\_\_ dia \_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos a \_\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

Local \_\_\_\_\_

Universidade pertencente: \_\_\_\_\_

Posição atual: \_\_\_\_\_

Nome da pessoa que explicou: \_\_\_\_\_

Recebi todas as explicações necessárias com base no texto explicativo sobre os itens abaixo, e confirmo que compreendi tudo e por minha vontade própria concordo em participar desta pesquisa.

1. Objetivo da pesquisa e metodologia
2. Resultados esperados e efeitos secundários
3. Que a recusa na participação não acarretará nenhum tipo de prejuízo.
4. Que a desistência na participação não acarretará nenhum tipo de prejuízo.
5. Considerações sobre os direitos humanos e outras proteções.
6. Sobre as despesas caso participe desta pesquisa.
7. A pesquisa está sujeita a auditoria por representantes das instituições colaboradoras da pesquisa.

Data do consentimento \_\_\_\_\_ ano \_\_\_\_\_ mês \_\_\_\_\_ dia

Endereço:

Nome:

(スペイン語)

## INVESTIGACIÓN PARA VIGILAR LA PENETRACIÓN DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS PARASITARIAS CRÓNICAS Y ESTABLECER EL SISTEMA DE CONTROL DE SALUD

### DOCUMENTO DE EXPLICACIÓN

#### 1 Introducción

La participación en esta investigación es totalmente optativa y nadie sufre desventaja alguna por no participar. Además, aún cuando haya dado su consentimiento para participar en la investigación, puede desistir de ella en cualquier momento.

Esta investigación está planificada y dirigida a los voluntarios extranjeros que poseen permiso para residir en Japón, gozan de buena salud y residen en la Prefectura de Kanagawa.

#### 2 Trasfondo de la Investigación

En el año fiscal 2005 el número de residentes extranjeros en Japón sobrepasó las 1.500.000 personas. Japón es un país donde el saneamiento básico está establecido y la asistencia de salud es satisfactoria. Sin embargo, existe la posibilidad de que las instituciones médicas o laboratorios de análisis clínicos no puedan hacer frente en forma suficiente a las enfermedades que todavía no existen en Japón.

Se conocen algunas enfermedades infecciosas que no han existido nunca en Japón o que han sido erradicadas en el pasado, pero que aún siguen propagándose en otros países. En este contexto, las personas con enfermedades infecciosas crónicas, por no darse cuenta de la enfermedad, no se tratan y pueden súbitamente tener síntomas muy graves. Al respecto es muy difícil que las instituciones médicas de Japón puedan hacer un diagnóstico correcto y brindar el tratamiento médico adecuado.

Por lo tanto, no puede negarse la posibilidad de que en el Japón actual vuelvan a propagarse las enfermedades infecciosas parasitarias crónicas o enfermedades protozoarias.

#### 3 Objetivo de esta investigación

Esta investigación tiene como objetivo disipar prejuicios o ansiedades infundadas del pueblo japonés y establecer los sistemas de investigación, observación y atención sanitaria respecto a las situaciones actuales de las enfermedades infecciosas crónicas de los residentes extranjeros en Japón. También tiene como objeto prevenir las enfermedades infecciosas imprevistas por medio de los sistemas de educación y los controles de salud, y realizar investigaciones significativas para elaborar un manual pionero de medidas contra estas enfermedades.

#### 4 Encargados de las investigaciones

Las investigaciones serán llevadas a cabo por las siguientes personas. El Profesor Yasushi Miyahara de la Universidad de Medicina de Defensa Nacional / Cátedra de Enfermedades Infecciosas Internacionales es quien se hará cargo de la administración, principalmente de la seguridad o formas de llevar las investigaciones, así como sus respectivas explicaciones y prácticas.

##### INVESTIGADOR JEFE

Universidad de Medicina de Defensa Nacional	Profesor	Yasushi Miyahara
---	----------	------------------

##### INVESTIGADORES

Universidad de Medicina y Odontología de Tokio	Profesor asociado	Nobuaki Akao
Hospital Bokuto de la Municipalidad de Tokio	Director	Kenji Onishi
Universidad de Shinshu, Escuela de Posgrado	Seminarista	Masaya Takamoto
Universidad Keio Gijuku	Profesor	Tsutomu Takeuchi

##### INVESTIGADORES COLABORADORES

Universidad Dokkyo	Profesor	Yuichi Chigusa
Universidad de Medicina de Defensa Nacional	Profesor asistente	Takeshi Ono
Universidad de Medicina de Defensa Nacional	Profesor asistente	Atsuhiko Kanayama
Universidad de Medicina de Defensa Nacional	Oficial técnica	Yoko Yamaguchi
Universidad de Medicina de Defensa Nacional	Asistente auxiliar	Saori Umemoto

#### 5 Modo y Período de la Investigación

El Manual de Salud se distribuirá por medio de las Instituciones Médicas. El Manual está escrito en japonés, inglés, coreano, portugués, español y chino. Por favor, lea atentamente su contenido.

En los lugares donde se efectúen las Consultas de Salud le rogamos que conteste el cuestionario acerca de su historial de vida, su familia y enfermedades sufridas hasta el momento. Estos datos servirán para reunir información detallada de la epidemiología relacionada al estado actual de la propagación de las enfermedades parasitarias infecciosas crónicas y enfermedades protozoarias. La información será clasificada según países de origen. Luego, por favor, colabore para realizar la extracción de sangre (examen de anticuerpos, examen de ADN, etc.), de materia fecal y análisis de orina para sus respectivos estudios.

En caso de necesidad también se le harán exámenes sencillos de imagen y funciones como ecografía, electrocardiograma y otros. Todo se realiza por técnicas de investigación establecidas, por lo tanto, no sufrirá lesiones de salud. El cuestionario y todos los exámenes terminarán en una hora aproximadamente. Los resultados de los exámenes serán anotados en el Manual de Salud por las instituciones médicas u otros y según el resultado, se le comunicará y consultará sobre las medidas a tomar.

Esta investigación está prevista a realizarse durante 3 años consecutivos, desde el año fiscal 2007 al 2009.

**6 Acerca de la ventaja y desventaja de esta investigación**

Por participar en esta investigación Ud. puede realizarse gratuitamente los exámenes de enfermedades infecciosas crónicas, las cuales son difíciles de ser diagnosticadas en instituciones médicas u órganos de investigación comunes en Japón. Estos exámenes le permitirán captar el estado exacto de la enfermedad infecciosa crónica, la cual se agrava sin darse cuenta por no sentir los síntomas, y por consiguiente pensar en las medidas de tratamiento médico. Se recomienda que conozca exactamente el estado actual de la enfermedad infecciosa crónica.

Algunas personas pueden llegar a sentirse mal cuando se les extrae la sangre para el análisis. En el lugar de consulta de salud siempre habrá tres médicos para brindar el tratamiento adecuado.

En caso de que por los resultados de esta investigación se produzca una patente, ésta pertenecerá a la Universidad de Medicina de Defensa Nacional

El resultado de las investigaciones se destinará a los propósitos administrativos, médicos y científicos en forma de tesis, libros de texto, ponencias académicas, etc., pero la información personal de los voluntarios será estrictamente protegida (se convertirá en anónima). El profesor XXXXXX del Departamento XXXXXX de la Universidad de Medicina de Defensa Nacional, administra estrictamente la protección de información personal bajo la dirección del administrador, y los resultados y la marcha de la investigación se informarán al Comité de Ética de la Universidad.

**7 Sistema de Asistencia para la Investigación**

Durante la investigación se prestará la mayor atención para que no ocurran accidentes imprevistos. Sin embargo, si surgiera alguna situación inesperada, tomaremos todas las medidas posibles dentro de los límites de reconocimiento médico por el seguro de salud. No obstante, si surgiera alguna necesidad de indemnización durante esta investigación, la Universidad de Medicina de Defensa Nacional o el hospital anexo a la Universidad no realizarán indemnización económica alguna.

**8 Acerca de los fondos para esta investigación**

Los fondos para esta investigación están a cargo del subsidio para estudios científicos del Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar (Tema No. H19Shinko.Ippan 007). Asimismo para esta investigación se solicita a los participantes su cooperación en forma voluntaria, por lo que no habrá gratificaciones económicas.

Fecha de explicación: Heisei    año    mes    día  
   De las    horas    minutos  
A las    horas    minutos

Encargado de la explicación:

Cargo \_\_\_\_\_  
Oficio \_\_\_\_\_  
Nombre \_\_\_\_\_ (sello)  
Dirección \_\_\_\_\_

**CARTA DE CONSENTIMIENTO**

Sr. Rector  
UNIVERSIDAD DE MEDICINA DE DEFENSA NACIONAL

ASUNTO: Investigación referente a la "Vigilancia de penetración de enfermedades infecciosas parasitarias cónicas y el establecimiento del sistema de control de salud"

Persona que brindó la explicación:

Heisei año mes día de horas minutos a horas minutos

Lugar

Sección Cargo Nombre

- 1 Objetivo y forma de investigación
- 2 Resultados y efectos secundarios previsibles
- 3 Aún en el caso no dar el consentimiento, no sufriré desventaja alguna
- 4 Aún en el caso de que me retracte del consentimiento, no sufriré desventaja alguna
- 5 La investigación tiene en cuenta los derechos humanos y otras protecciones
- 6 Gastos en caso de participar en la investigación
- 7 Auditoría por parte de los representantes de los órganos de investigación conjunta

En cuanto a los siete puntos mencionados en la parte superior, he comprendido la explicación recibida, basada en los documentos de explicación. Estoy de acuerdo en participar en esta investigación por mi propia voluntad.

Fecha del consentimiento año mes día

Dirección

Nombre

## (中国語)

关于为监视慢性寄生虫感染病的侵入及确立有关健康管理体制的实况调查的说明

### 1、前言

参加此调查研究为自愿形式，即使不参加也不会给您带来任何损失。此外，即使曾同意参与此调查研究，也可以随时中断调查。

此调查研究是以现住神奈川县有在留资格的、身心健康的外国人志愿者为对象而策划的。

### 2、研究的背景

2005年在日外国人数已超过150万人。虽说日本是卫生基础齐备、健康方面的支援很充实的国家，但还存在着日本的医疗机构和检查机构对日本不存在的疾病的应对不充分的问题。

大家知道，在日本以外的国家里，至今还流行着日本本国不曾流行过的感染病，或者是在日本曾经流行过，但现在已被成功地扑灭的感染病。其中，尤其是患了慢性感染病者，若因本人没有自觉症状而置之不理，则有突然出现危急症状的可能。我们认为日本的医疗机构对这类疾病做出适当的诊断和治疗往往是比较困难的。

因此，虽说在今天的日本再次流行这些慢性寄生虫病/原虫病的可能性较低，但也不能完全否定。

### 3、研究的目的

此研究的目的是：通过对在日外国人的慢性感染病疾患状况的调查、监视及健康管理体制的确立，既可以消除日本国民的成见和毫无根据的担忧，还可以通过整顿健康管理体制/教育体制，将可能出现的意外感染事例防患于未然，并为编写对于本案例具有先驱性的对策手册而实施重要的实际情况调查。

### 4、研究责任者

研究是由以下各位实施的。防卫医科大学国际感染病学讲座的宫平靖教授，主要担负有关此研究的安全性及管理职责，以及担当此研究的有关说明和实际业务。

主任研究者	所属	防卫医科大学	现职	教授	姓名	宫平 靖
分担研究者	所属	东京医科齿科大学研究生院	现职	副教授	姓名	赤尾 信明
	所属	东京都立墨东病院	现职	部长	姓名	大西 健儿
	所属	信州大学研究生院	现职	讲师	姓名	高本 雅哉
	所属	庆应义塾大学	现职	教授	姓名	竹内 勤
协助研究者	所属	独协医科大学	现职	教授	姓名	千种 雄一
	所属	防卫医科大学	现职	助教	姓名	小野 岳史
	所属	防卫医科大学	现职	助教	姓名	金山 敦宏
	所属	防卫医科大学	现职	技术员	姓名	山口 阳子
	所属	防卫医科大学	现职	研究辅助员	姓名	梅本 纱央里

### 5、方法及期间

通过医疗机构等颁布此健康手册。有日文、英文、韩文、葡萄牙文、西班牙文和中文版，请仔细阅读。

健康咨询时，首先，将询问参加调查的诸位的生活史、家族史、病史。这有助于我们收集各出生地有关上述寄生虫病/原虫病的流行现状的详细流行病学数据。之后，将实施采血(抗体检查、DNA 检查等)、验便、验尿。

根据需要也有可能做超声波和心电图等简单的图像、功能检查。这些都是现在被公认的检查技术，不可能给被检验者带来健康方面的损害。预计到健康咨询会场以后，从问诊到全部检查结束大约需一个小时。检查结果由医疗机构等记载在此健康手册上，并根据检查结果进行今后的治疗措施等有关咨询。

此调查研究预计从2007年到2009年连续实施3年。

### 6、有关此研究的利弊

通过参与此调查研究，可以免费接受在一般的日本医疗、检查机构难以诊断的慢性感染病的检查。确切地掌握虽无自觉症状但病情却在发展的慢性感染病的感染状况，可及时考虑治疗措施等问题。我们建议诸位通过检查确切地掌握慢性感染病的染病现状。

在检查中，有时会遇到在采血时出现身体不适的人，为此，在健康咨询会场有3名医生一直在场，会及时地采取适当的措施。

如果此调查研究的结果，万一产生专利权，其权利将归属于防卫医科大学。

此研究结果将会以论文、教科书、学会的发表内容等形式，用于行政、医学、学术方面的用途，但对于被检验者的个人信息，我们将以不被特定(匿名化)的方法进行处理。有关保护个人信息的问题，在防卫医科大学个人信息管理者的指导下，由XXXXXXX讲座的XXXXXXX教授进行严格管理。此研究结果，将向防卫医科大学伦理委员会报告其进展状况。

7、关于此研究的赞助体制

我们将十分注意避免在检查、诊断时发生突发的意外事故，如果发生什么不测事故，我方会在保险诊疗范围内做最好处理。此外，如果在此研究中发生了什么需要补偿的情况，防卫医科大学及其附属医院将不会做任何金钱补偿。

8、有关此研究所需经费

此研究的所需经费由厚生劳动科学研究补助金(课题号 H19-新兴-一般-007)负担。其次，此研究由志愿者协助完成，不予以金钱酬谢。

说明时间            年        月        日  
从        点        分        到        点        分  
说明者 \_\_\_\_\_  
所属        \_\_\_\_\_  
现职        \_\_\_\_\_  
姓名        \_\_\_\_\_ 印  
住址        \_\_\_\_\_



## 同 意 书

防卫医科大学校长

课题名:关于为监视慢性寄生虫感染病的侵入及确立有关健康管理体制的实际情况调查

\_\_\_\_\_年\_\_\_\_月\_\_\_\_日 从\_\_\_\_\_点\_\_\_\_分 到\_\_\_\_\_点\_\_\_\_分

地点:\_\_\_\_\_

所属\_\_\_\_\_ 现职\_\_\_\_\_ 姓名\_\_\_\_\_

- 1 研究的目的及方法
- 2 预期效果及副作用
- 3 即使不同意也不会有任何不利影响
- 4 撤回同意时也不会有任何不利影响
- 5 考虑到人权及其他保护
- 6 参加研究时的费用等
- 7 由共同研究机关的代表者实施监察

对以上各项内容, 已根据说明文接受充分的说明并完全理解, 为此根据本人的意愿同意参加此研究。

同意日期 \_\_\_\_\_年\_\_\_\_月\_\_\_\_日

住址:

姓名:

설명문서

1. 머리말

본 조사연구에 대한 참가는 어디까지나 임의이며, 참가하지 않아도 불이익을 받는 일은 없습니다. 또한, 일단 조사 연구 참여에 동의해도, 언제라도 중단 할 수 있습니다.

본 조사연구는 가나가와현 주재의 재류 자격이 있는 외국인 일반 봉사활동단체를 대상으로 계획되어져 있습니다.

2. 연구의 배경

2005년도에 있어서 재류외국인의 수는 150만 명을 넘었습니다. 일본은, 위생기반이 정비된 나라로 건강 면에서의 지원은 충실히 하고 있습니다만, 일본의 의료기관과 검사기관은 일본에는 존재하지 않는 질병에 대한 대응은 충분하지 못한 경우가 있습니다.

일본 이외의 나라에서는, 일본에 이제껏 존재한 적이 없는 감염증, 또는 이전에 유행했었지만, 이미 박멸에 성공한 감염증이 아직도 유행하고 있는 사례가 알려져 있습니다. 그 중에서 특히 만성감염증에 걸린 분들이 자각하지 못한 채로 그것을 방치하여 돌연 위독한 증상을 나타낼 가능성이 지적되고 있습니다. 이것에 대해 일본의 의료기관은 적절한 진단을 내려 치료하는 것이 어렵다고 생각되어집니다.

따라서, 현대의 일본에서 이들 만성기생충증/원충증의 재유행이 일어날 수 있다는 가능성을 부정할 수 없습니다.

3. 본 연구의 목적

재류 외국인의 만성감염증의 발병상황 조사, 감시, 건강관리체제의 확립에 따라, 일본국민의 선입관과 근거 없는 불만을 불식시키고 건강관리/교육체제의 정비에 의한 예측 외의 감염사례 가능성을 미연에 방지하고, 본 사안에 대한 선구적인 대책 매뉴얼을 작성하여 중요한 실태조사를 행하는 것을 목적으로 합니다.

4. 연구담당자

연구는 이하의 사람으로 실시합니다. 방위의과대학교·국제감염증학강좌·미야히라 야스시는 주로 연구의 안정성과 방법에 관한 관리적인 역할 및 연구에 관한 설명과 실무적인 역할을 담당합니다.

연구대표자	소속	방위의과대학교	현직	교수	성명	미야히라 야스시
연구분담자	소속	도쿄의과치과대학대학원	현직	준교수	성명	아카오 노부아키
	소속	도쿄도립보쿠테병원	현직	부장	성명	오니시 켄지
	소속	신슈대학대학원	현직	강사	성명	다카모토 마사야
	소속	게이오기주쿠대학	현직	교수	성명	다케우치 쓰토무
연구협력자	소속	돗쿄의과대학	현직	교수	성명	지구사 유이치
	소속	방위의과대학교	현직	조교	성명	오노 다케시
	소속	방위의과대학교	현직	조교	성명	가나야마 아쓰히로
	소속	방위의과대학교	현직	기술관	성명	야마구치 요코
	소속	방위의과대학교	현직	연구보조자	성명	우메모토 사오리

5. 방법 및 기간

의료기관 등을 통해 건강수첩을 배포합니다. 일본어, 영어, 한국어, 포르투갈어, 스페인어, 중국어로 적혀 있습니다. 내용을 잘 읽어 봐 주십시오.

건강상담회장에서 생활력, 가족력, 병력조사를 문진합니다. 출신지마다 현지에서 상기 기생충증/원충증의 유행현황에 대해 상세한 역학 데이터를 수집하는 일에 도움이 됩니다. 그 후, 채혈(항체검사, DNA 검사 등) 및 검편, 검뇨를 실시합니다.

필요에 따라 초음파검사와 심전도 등의 간단한 화상·기능검사도 하고 있습니다. 모두 확립된 검사기술로 피험자 분께 건강피해를 끼칠 가능성은 거의 없습니다. 방문하셔서 대략 1시간 문진, 전 검사기술이 종료될 예정입니다. 검사결과를 의료기관 등에서 건강수첩에 기입하고, 검사결과에 적합한 이후의 대책 등 상담을 해 드립니다.

이 조사연구는 2007년도에서 2009년도까지 3년간 계속될 예정입니다.

6. 본 연구의 장절·단절에 대해서

본 조사연구에의 참여에 의해 일본의 일반의료, 검사기관에서는 진단이 곤란한 만성감염증에 대해 무료로 검사를 받을 수 있습니다. 무자각으로 병이 진행되는 만성감염증의 발병상황을 확실히 파악하여, 치료 등 대책에 대해 생각할 수 있습니다. 만성감염증의 현병파악은 확실히 해 두는 편이 좋다고 생각합니다.

검사 중 채혈을 하실 때 컨디션이 안 좋아 지시는 분을 가끔 볼 수 있습니다. 건강상담회장에는 3명의 의사가 상주하여 적절한 대응을 해드리고 있습니다.

본 조사연구의 결과, 만일 특허권이 만들어진다면 그 귀속처는 방위의과대학교가 됩니다.

본 연구결과는 논문·교과서·학회발표 등의 형식으로 행정적, 의학적, 학술적 용도로 쓰여지지만, 피험자 분의 개인정보는 개인을 특정할 수 없도록(익명화) 합니다. 개인정보의 보호에 대해서는 방위의과대학교 개인정보관리자의 지도 아래 XXXXX강좌의 XXXXX 교수가 엄중하게 관리 등을 행하고, 본 연구결과는 방위의과

윤리위원회에 그 진척상황을 보고합니다.

7. 본 연구의 서포트 체제에 대해서

검진에 의한 돌발적인 사고가 일어나지 않도록 세심한 주의를 기울입니다만, 만일 예측불가의 사고가 일어났을 경우는 저희 쪽이 보험 진료의 범위 내에서 만전의 처리를 할 것입니다. 또한, 본 연구에 수반하여 무언가의 보상 필요성이 생겼을 경우, 방위의대 및 부속 병원이 금전적인 보상을 실시하는 일은 없습니다.

8. 본 연구에 관계되는 자금에 대해서

본 연구에 관계되는 자금에 대해서는 후생노동과학 연구비 보조금(과제번호:H19- 신흥-일반-007)에서 부담합니다. 또한, 본 연구는 봉사활동단체에 부탁을 하고 있으며, 금전적인 사례는 없습니다.

설명일시      년   월   일  
시   분~      시   분   까지

설명자

소속 \_\_\_\_\_

현직 \_\_\_\_\_

성명 \_\_\_\_\_ 인

주소 \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

# 동 의 서

방위외과대학교장 전

건명: 만성기생충 감염증의 침입감시 및 그 건강관리체계에 이바지하기 위한 실태조사

\_\_\_\_년 \_\_\_\_월 \_\_\_\_일      \_\_\_\_시 \_\_\_\_분부터      \_\_\_\_시 \_\_\_\_분까지

\_\_\_\_에 대해

소속 \_\_\_\_\_      현직 \_\_\_\_\_      성명 \_\_\_\_\_

- 1 연구의 목적·방법
- 2 예상되는 효과 및 부작용
- 3 동의하지 않은 경우에도 불이익을 받지 않을 것
- 4 동의를 철회한 경우에도 불이익을 받지 않을 것
- 5 인권, 그 밖의 보호에 관해 배려되고 있는 것
- 6 연구에 참가한 경우의 비용 등
- 7 공동연구기관의 대표자에 의한 감사가 있을 것

에 관해, 설명문서에 의거하여, 충분한 설명을 받고, 이해했으므로, 스스로의 의사로 이 연구에 참가하는 것을 동의합니다

동의년월일    년    월    일

주 소

성 명

## 第6章 慢性寄生虫感染症の診断と諸検査

一般的な血算・生化学検査に関しては、検査会社に依頼することが可能である。寄生虫検査については、それが遂行可能な研究施設で実施する。実際の手技については、以下に掲載した。

### 6-1 概要

人体寄生虫は大きく原虫と蠕虫に分類され、蠕虫はさらに、線虫、吸虫、条虫に区分できる。一般的には、臨床症状、身体所見と一般検査から寄生虫疾患の存在を疑うが、特に在留外国人の場合には、当研究班のような積極的な実態調査（問診とスクリーニング）が端緒となりうる（図6-1～6-2）。確定診断のためには、さらに疾患に特異的な検査を行う。

図6-1 寄生虫症診断の進め方（一般診療）

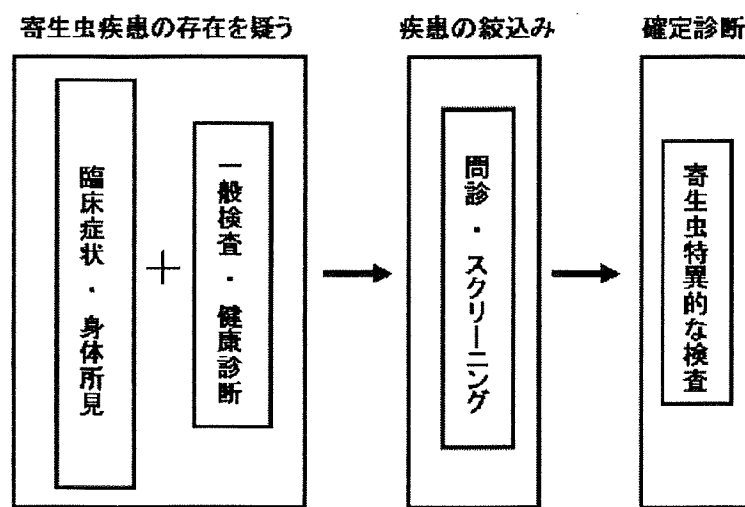
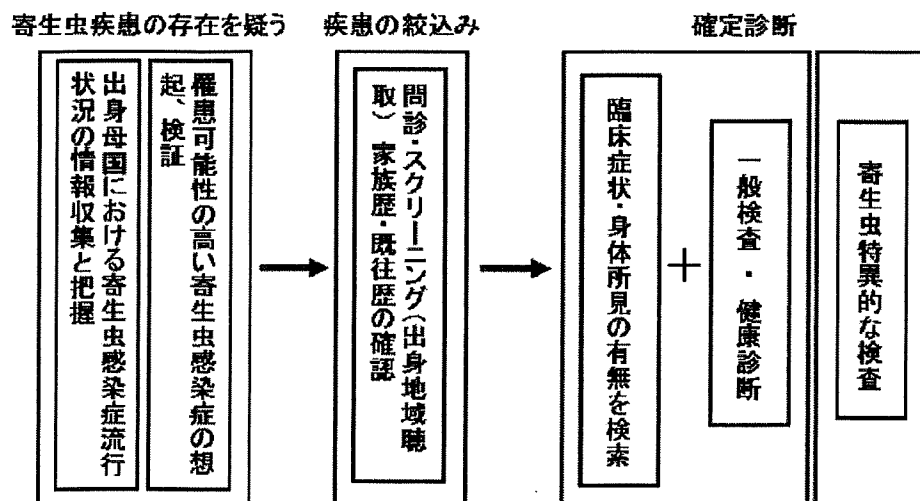


図6-2 寄生虫症診断の進め方（在留外国人対象）



6-2 臨床症状や身体所見から想起すべき寄生虫疾患

日常診療では臨床症状などから稀な寄生虫疾患を疑うことは困難である。表 6-1 を参照しながら、臨床症状から可能性の考えられる寄生虫を想起することが診断の第一歩である。

表 6-1 症状・身体所見と寄生虫感染 (1)

		原虫	線虫	吸虫	糸虫
消化器症状・疾患	腹痛	赤痢アメーバ ジアルジア クリプトスポリジウム 赤痢アメーバ (急性期; アメーバ性腸穿孔)	回虫症 (腸閉塞、迷入) アニサキス (心窩部痛、即時型過敏反応) 蟯虫 (多発寄生の場合) 糞線虫 東洋毛線虫 鞭虫 (回盲部痛) フィロピン毛細虫 旋毛虫 (急性)	肝吸虫 肝絛 (血痛発作) 肥大吸虫 住血吸虫 横川吸虫	裂頭条虫 無鉤条虫 有鉤条虫 小形条虫 輪小条虫 瓜実条虫 単包虫 (右季肋部) 多包虫 (右季肋部)
	下痢又は血便	赤痢アメーバ (粘血便) ジアルジア (血便) クリプトスポリジウム (水様性) サイクロスポーラ 大腸バランジウム (血便) 熱帯熱マラリア原虫 リーシュマニア (カラ・アザール)	蟯虫 (異所寄生迷入) 糞線虫 (赤痢便) 東洋毛線虫 鞭虫 (粘血便) フィロピン毛細虫 (水様性) 旋毛虫	日本住血吸虫 (急性期) マンソン住血吸虫 (急性期) 肝吸虫 肥大吸虫 (粘血下痢) 横川吸虫	裂頭条虫 無鉤条虫 有鉤条虫 小形条虫 輪小条虫 瓜実条虫
	肝・肝腫	赤痢アメーバ (肝のみ) マラリア原虫 アフリカトリパノソマ リーシュマニア (カラ・アザール) トキソプラズマ (急性期)	回虫 (胆道への迷入) 犬・猫回虫 (内臓移行型)	住血吸虫 (急性期、慢性期には肝萎縮・脾腫大) 肝吸虫 (急性期、慢性期には肝萎縮・脾腫大)	単包虫 多包虫
	その他	クルーズトリパノソマ (巨大食道、巨大結腸) ジアルジア (胆炎、胆石症、肝炎)	回虫 (異食症) 鉤虫 (異食症) 蟯虫 (肛門掻痒感) 鞭虫 (脱肛)		裂頭条虫 (片節連鎖排泄) 無鉤条虫 (肛門掻痒感、片節連鎖排泄) 有鉤条虫 (片節連鎖排泄) 小形条虫 (異食症) 瓜実条虫 (肛門掻痒感、片節連鎖排泄)

表 6-1 症状・身体所見と寄生虫感染 (2)

		原虫	線虫	吸虫	糸虫
呼吸器症状・疾患	急性肺炎	トキソプラズマ (先天性感染)	回虫 (回虫性肺炎、レフレル症候群) 鉤虫 (若菜病、レフレル症候群) 糞線虫 (F型幼虫の肺への移行、レフレル症候群) 糸状虫 (熱帯性好酸1群性肺炎)		
	慢性肺疾患・胸部異常陰影	赤痢アメーバ (横隔膜上による無気肺、下肺野の膿瘍)	犬糸状虫 (錢型陰影)	肺吸虫 (血痰、胸水貯留) 住血吸虫 (虫卵の血行転移による粟粒影)	単包虫 (胸痛、咳嗽、呼吸困難、血痰) 多包虫 (胸痛、咳嗽、呼吸困難、血痰) 有鉤条虫 (異常陰影)
循環器症状・疾患	心疾患	クルーズトリパノソマ (心筋炎)	旋毛虫 (幼虫移行)		マンソン瓜虫 (幼虫移行)
	その他			住血吸虫 (門脈)	
血液異常・疾患	貧血	マラリア原虫 リーシュマニア (カラ・アザール) トリパノソマ トキソプラズマ 赤痢アメーバ	鉤虫 (小児性低色素性) 鞭虫	住血吸虫 (晚期) 肝吸虫 肺吸虫	広節裂頭条虫 (大球性高色素性)

表 6-1 症状・身体所見と寄生虫感染 (3)

		原虫	線虫	吸虫	糸虫
血液異常・疾患	好酸球増多症		<ul style="list-style-type: none"> <li>・鈎虫</li> <li>・回虫</li> <li>・鞭虫</li> <li>・旋毛虫</li> <li>・糞線虫</li> <li>・糸状虫</li> <li>・犬回虫</li> <li>・アニサキス</li> <li>・顎口虫</li> <li>・広束住血線虫</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・住血吸虫</li> <li>・肝吸虫</li> <li>・肝蛭</li> <li>・肺吸虫</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・マノンノ孤虫</li> </ul>

表 6-1 症状・身体所見と寄生虫感染 (4)

		原虫	線虫	吸虫	糸虫
皮膚・リンパ系の症状・疾患	皮疹	<ul style="list-style-type: none"> <li>・アフリカトリバノーム等 (初期:紅斑、Kerandel's sign)</li> <li>・トキノプラズマ (斑点状)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・回虫 (尋麻疹様)</li> <li>・旋毛虫 (初期:丘疹状)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・住血吸虫 (尋麻疹様)</li> </ul>	
	皮膚炎		<ul style="list-style-type: none"> <li>・鈎虫 (幼虫侵入時)</li> <li>・糞線虫 (幼虫侵入時)</li> <li>・顎口虫</li> <li>・ダニノ虫 (掻痒性)</li> <li>・旋尾線虫 (皮膚爬行症)</li> <li>・回旋糸状虫 (掻痒性)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・住血吸虫セルガリア (掻痒性)</li> </ul>	
	浮腫	<ul style="list-style-type: none"> <li>・アフリカトリバノーム等 (晩期:腰部、四肢、顔面)</li> <li>・クルーズトリバノーム (初期:顔面・眼瞼、Romana's sign)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・旋毛虫 (初期:眼窩)</li> <li>・顎口虫 (移動性)</li> <li>・鈎虫</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肝蛭</li> </ul>	
	結節		<ul style="list-style-type: none"> <li>・回旋糸状虫 (脂肪腫様)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肺吸虫 (異所寄生)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・マノンノ幼殺菌糸虫 (移動性)</li> <li>・顎口虫 (移動性)</li> <li>・有鈎殺虫 (脂肪腫様)</li> </ul>
	リンパ管炎/リンパ節炎	<ul style="list-style-type: none"> <li>・アフリカトリバノーム (頸部後方、Winterbottom's sign)</li> <li>・トキノプラズマ (急性期:リンパ節炎)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・糸状虫 (リンパ節炎、リンパ管炎、リンパ管痛、象皮病)</li> </ul>		
	潰瘍	<ul style="list-style-type: none"> <li>・リーシュマニア</li> <li>・赤痢アメーバ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ダニノ虫</li> </ul>		

表 6-1 症状・身体所見と寄生虫感染 (5)

		原虫	線虫	吸虫	糸虫
中枢神経症状・疾患	びまん性脳障害	・熱帯熱マalaria原虫 (感染赤血球による塞栓) ・アフリカトリバノーマ等 (髄液細胞の変性萎縮) ・クルーズトリバノーマ (髄膜脳炎) ・トキソプラズマ (先天性・急性脳炎、後天性：髄膜脳炎) ・アメーバ類 (髄膜脳炎)	・広束住血線虫 (髄膜脳炎)		
	限局性脳障害	・赤痢アメーバ (髄膜脳)	・犬回虫 (幼虫移行) ・旋毛虫 (幼虫移行)	・住血吸虫 (虫卵による塞栓) ・肺吸虫 (脳内迷入)	・有鉤遊虫 (移行、石灰化) 包虫 ・マノノ孤虫 (幼虫移行)
眼症状・疾患	角膜	・アイトアメーバ			
	眼内	・トキソプラズマ (先天性、急性)	・犬猫回虫 (幼虫移行) ・回旋糸状虫 (River blindness)		・マノノ孤虫 (幼虫移行) ・有鉤遊虫
	眼瞼浮腫	・クルーズトリバノーマ			
泌尿・生殖器症状・疾患	尿の異常	・熱帯熱マalaria原虫 (ビリルビン尿・黒水熱)	・糸状虫 (乳び尿)	・ベルハルツ住血吸虫 (血尿)	
	尿道炎	・膀胱トリコモナス (男性)			
	膀胱炎	・膀胱トリコモナス (女性)	・蟻虫		
	精巣炎など		・糸状虫		

表 6-1 症状・身体所見と寄生虫感染 (6)

		原虫	線虫	吸虫	糸虫
発熱		・赤痢アメーバ ・マalaria ・トリバノーマ ・リージュマニア ・トキソプラズマ (急性期)	・旋毛虫 ・広束住血線虫 ・糸状虫	・肝臓住血吸虫	

### 6-3 問診とスクリーニング

問診は、出身地、食生活、動物との接触歴、免疫疾患の病歴などを把握することが重要である。また、血液検査で血清抗体の有無を調べることは比較的容易である。これらによって罹患の疑われる慢性寄生虫症の鑑別診断を絞り込むことにつながる。

### 6-4 慢性寄生虫感染症の確定診断

特定の寄生虫症と診断するためには、血液、糞便、その他の感染臓器から虫体を直接顕微鏡で確認することが基本である。検体多数の場合には、より簡便な抗体検査によって血清中の特異抗体のスクリーニングを行う。陽性または偽陽性の場合に、より精密な抗体検査、PCR 法による特異的遺伝子配列の検出や、顕微鏡や超音波検査による形態学的検査が行われる。



次に、実際に我々が行った検査方法を紹介する。

#### A 糞便検査法

糞便内の寄生虫卵検査にはホルマリン・エーテル法 (MGL 法) を用いる。または引火性の強いエチルエーテルの代わりに酢酸エチルを用いる (ホルマリン・酢酸エチル法, FEA 法)。

スピッツ遠沈管 (15ml のスクリーキャップ付きチューブでよい)

中試験管

ガーゼ

漏斗

- (1) 試験管に約 1g の糞便をとり、蒸留水または生理食塩水を加えて混和する。
- (2) ガーゼ 1 枚でろ過し、ろ液を遠沈管にとる。
- (3) 2000rpm, 3 分間遠心し、上清を捨てる。
- (4) 10% ホルマリン 7ml を加えて攪拌した後、20 分間放置。
- (5) エーテル(または酢酸エチル) 3ml を加え、栓をして激しく震盪する。
- (6) 2000rpm, 3 分間遠心で、上からエーテル、糞便、ホルマリン、沈渣の 4 層に分かれる。
- (7) 上部 3 層を捨てる。捨てる前に糞便層は爪楊枝などを用い管壁からはがす。
- (8) 沈渣をスライドグラスに取り、カバーグラスをかけて鏡検する。

鉤虫卵 (および東洋毛様線虫卵のような無色透明で2細胞～多細胞の虫卵) が見つかった場合、および糞線虫感染が疑われる場合には、糞便のろ紙培養をおこない (25~30°C、1~2週間) F 型幼虫に発育させて種を同定する。この際便はできるだけ新しく低温で保存していないものを用いる。感度を上げるためには普通寒天平板培地を用いておこなう。

原虫類嚢子 (シスト) の検出には上記沈渣にヨード染色を施して (沈渣をスライドグラスに取り、ヨード・ヨードカリ液を 1 滴加えカバーグラスの角でよく混和)、カバーグラスをかけ鏡検する。

ヨード・ヨードカリ液の作成法

- ・暗褐色瓶に蒸留水 50mL とヨウ化カリウム 2g を入れ、振盪して完全に溶解する。
- ・ヨウ素 1g を加えて、振盪して溶解する。
- ・密栓して遮光びんに保存する (室温でよい)。

下痢便の場合 (ホルマリン・エーテル法で得られた沈渣も可)、クリプトスポリジウムオーシストの検出のため簡易蔗糖浮遊法をおこなう。スライドグラスに便 25 $\mu$ l 程度とその倍量のシヨ糖液 (比重1.3) を取り、カバーグラスの角でよく混和し、カバーグラスをかける。約 5 分静置した後、カバーグラス下面 (液の最上層) を鏡検する。

シヨ糖液 (比重1.3) の作成法

- ・サッカロース 100g
- ・蒸留水 64ml
- ・液状フェノール 1ml

加温しながらスターラーで攪拌溶解する。室温で長期間保存可能。

## B 赤痢アメーバの遺伝子型の鑑別

病原株の *Entamoeba histolytica* と非病原株である *Entamoeba dispar* は形態学的には区別が困難であり、糞便から *E. histolytica* 様嚢子が検出された場合は PCR 法で種を鑑別する。シストをホルマリンで固定すると、DNA 抽出が困難になるために上記のホルマリン・エーテル法において、10% ホルマリン液に代えて精製水を用いる。また、便を高温で放置すると便の中の細菌類により DNA が破壊されるため低温で保持し、できるだけ早く DNA 抽出をおこなう。

この方法ではホルマリン固定をおこなわないため、便内のシストおよびオーシストは感染力を持つ。取り扱いおよび廃液の処理には特に注意のこと。

- (1) エーテル(または酢酸エチル)を加え遠心後得られた沈査を、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で 3 回洗浄する。
- (2) エタノール・ドライアイス (ディープ・フリーザーでも可) および温浴でペレットの凍結融解を 3 回繰り返す。
- (3) 1% TritonX-100 を 200 $\mu$ L 加え、90 $^{\circ}$ C で 10 分間加熱する。
- (4) さらに可溶化液 (0.5mg/mLプロティナーゼK, 10mMTris-HCl, pH8.0, 10mM EDTA, 0.5% N-ラウロイルサルコシナトリウム) を200 $\mu$ L加え、60 $^{\circ}$ Cで 2 時間振とうする。
- (5) フェノール抽出、エタノール沈殿 (5 $\mu$ g/mLグリコーゲンにて共沈) を行い DNA を抽出し、PCR 反応を行う。

プライマー

<i>E. histolytica</i>	5'- GGAGGAGTAGGAAAGTTGAC-3' 100bp のバンド
	5'- TTCTTGCAATTCCTGCTTCGA-3'
<i>E. dispar</i>	5'- AGGAGGAGTAGGAAAATTAGG-3' 101bp のバンド
	5'- TTCTTGAAACTCCTGTTTCTAC-3'

(Tachibana H, Kobayashi S, Takekoshi M, Ihara S: Distinguishing pathogenic isolates of *Entamoeba histolytica* by polymerase chain reaction. J Infect Dis. 164(4), 825-826. 1991)

## C クリプトスポリジウム、ジアルジアの蛍光抗体法

Aqua-Glo Giardia/Cryptosporidium, Waterborne 社にて試薬類は入手可能。

- (1) ホルマリン・エーテル法で得られた沈渣の少量を、スライドガラス上に DAKO ペンにて描いた円の中に塗抹し、インキュベータ内またはスライドウォーマーなどをもちいて乾燥させる。(あまり熱くしない。)
- (2) 乾燥後、メタノールにて塗抹試料を固定する。
- (3) クリプトスポリジウムのオーシストとジアルジアのシストに対する特異抗体を有する蛍光抗体染色液をリン酸緩衝液 (pH 7.4) にて 20 倍に希釈し、その 20 $\mu$ L を試料に滴下し、湿箱に入れて室温で 25 分間静置する。
- (4) 染色が終了する 5 分前に DAPI 液 10 $\mu$ L を加える。
- (5) 染色終了後、試料をリン酸緩衝液で静かに洗浄し、BlockOut Counterstain を 1 滴加え 1 分間室温で静置する。
- (6) リン酸緩衝液で静かに洗浄し、乾燥させる。(完全に乾燥させなくて良い。)
- (7) マウント液 (2 % DABCO 加グリセリン液) の適量を滴下し、カバーガラスをかけ蛍光顕微鏡を用いて観察する。

#### D マラリア、赤痢アメーバ、イヌ回虫、顎口虫、旋毛虫、アニサキス幼虫、肺吸虫、多包虫に対する抗体スクリーニング検査

慢性寄生虫感染症の診断は、病原体となる寄生虫を直接検出するかあるいはその遺伝子配列の一部を分子生物学的手法によって検出することによってなされる。しかし、虫体の同定や遺伝子検査には熟練を要したり高価な機器や試薬を必要としたり、さらに多数の検体を一度に検査するには適していないなどの問題点がある。一方、寄生虫に感染すると 3 週目頃から産生される IgG 抗体を検出することによって寄生虫感染の有無を検査することが出来る。

これまでも寄生虫抗体検査については数多くの手技が報告されてきたが、多数の寄生虫抗原に対する抗体を検査するためには、あらかじめ多数の寄生虫抗原を 1 枚のニトロセルロース膜に感作しておき、これを用いた酵素抗体法による検査法である Dot-ELISA が優れている。

今回、慢性感染症の感染実態を把握する目的で、国内に在留する外国人を対象に行った Dot-ELISA 法による血清抗体検査について、その実施方法について述べる。

#### 抗体検査方法

##### 1. 市販抗体検査キット

国内に入手可能なマラリア抗体検査キットには Malaria IgG Celisa (重松貿易株式会社、大阪) がある。1 キットで 192 検体の検査が可能である。検査原理は通常のプレート ELISA と同様である。

- (1) マラリア抗原で感作済みのプレートを室温に戻す。

- (2) 添付の陽性血清、陰性血清を希釈緩衝液で 100 倍に希釈する。
- (3) 被検血清を 100 倍に希釈する。
- (4) 陽性、陰性血清、各 2 ウェル用意し、被検血清は 1 検体につき 1 ウェル用意する。
- (5) ウェルにそれぞれ血清を入れ、室温、湿潤箱中で 1 時間反応させる。
- (6) ウェル洗浄後、200 倍希釈酵素結合抗体を 100mL 添加し、室温で 1 時間反応させる。
- (7) ウェルを洗浄後、20 倍希釈した発色基質を 100mL 添加し、遮光して 15 分反応させる。
- (8) 反応停止液を 50mL 加え、450nm の波長で吸光度を測定する。
- (9) 陽性対照血清の吸光度が 1.500 以上、陰性対照血清の吸光度が 0.25 以下であるときに、陽性限界を陰性対照血清が示す吸光度+0.1 に設定する。

## 2. Dot-ELISA による抗体検査

一度に多数の寄生虫抗体を測定するために、ニトロセルロース膜に抗原を感作して抗体の有無を知ることが出来る Dot-ELISA 法を実施した。用いた抗原は、赤痢アメーバ、イヌ回虫、顎口虫、旋毛虫、アニサキス幼虫、肺吸虫、多包虫の虫体抽出あるいは幼虫排泄物抗原である。

術式は以下の通りである。

- (1) ニトロセルロース (NC) 膜への抗原感作: 調製した抗原液を 0.5mL ずつ NC 膜に滴下した。また陽性対照として健常人の血清を 400 倍に希釈したものを同じ NC 膜に 0.5 mL 滴下して 37°C で 30 分間乾燥させた。
- (2) ブロッキング: 0.005 % Tween20 加 PBS 100mL にウシ血清アルブミン 1g を加えてブロッキングバッファー (以下 BSA/T) とした。乾燥させた膜は BSA/T に 30 分間浸した後、37°C で 30 分間乾燥させ、使用時まで密閉容器に入れ冷蔵保存した。
- (3) 一次反応: 抗原で感作した膜を取り出し BSA/T に浸して湿らせてからペーパータオルで水気を切り、箱型にしたパラフィルムの上に置いた。そこに BSA/T で 200 倍に希釈した検体を 70 mL 添加し、37°C で 40 分間反応させた。その後 0.005 % Tween 加 PBS で洗浄しペーパータオルで水切りした。
- (4) 二次反応: BSA/T でペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG ウサギ血清 (Cappel社、コスモバイオ) を 500 倍に希釈し、その 70 mL を膜にのせ、37°C で 40 分間反応後、一次反応後と同様に洗浄した。
- (5) 発色と反応停止 発色基質には EzWestBlue (ATTO, AE-1490) を用い、7 分間発色させた後、蒸留水で洗い酵素反応を停止してから結果を観察した。

## 3. 迅速診断用検査キット

上記の 2 種類の検査はいずれも検査の完了には数時間を要することから、短時間のうちに抗体の有無を知るために迅速診断キットを用いた検査法を開発した。

今回開発したキットは、赤痢アメーバ抗体とイヌ回虫抗体を検査するためのキットであり、使用した抗原は赤痢アメーバ HK-1 株 (慶応義塾大学医学部小林正規先生より分与) およびイヌ回虫