

# 蛔虫の無菌飼育について

門 多 魁

大阪大学微生物病研究所 寄生虫原虫学部

(昭和 29 年 6 月 19 日受領)

## I. 緒 言

蛔虫が宿主体内に寄生する際、虫体の物質代謝は宿主消化管内に棲息する諸種細菌の影響を受けることは想像するに難くない。又既往の蛔虫体外飼育試験の結果、飼育中に於ける飼育液の不浄腐敗がその生存条件に悪影響を及ぼす一因にあらずやと推論されている。

1950年 D. Fairbairn 等<sup>1)</sup>は抗生物質を添加した飼育液中に於て蛔虫を完全に無菌化した実験を報告し、又同年 W. Epps 等<sup>2)</sup>は同じく抗生物質を使用し、蛔虫を完全に無菌化すると共にその際虫体から産生する揮発生酸類の分布状態に関する知見を報告している。著者は蛔虫の物質代謝を研究する基礎として *in vitro* の方法により、前二者と同様抗生物質を使用して稍異なる方法を用い先ず蛔虫の完全無菌化を企て、同時に無菌飼育の虫体生存力に及ぼす影響を観察したのでその結果を報告する。

## II. 実験材料及び方法

実験材料としては、屠殺場で採取した生鮮豚蛔虫のうち体長概ね雌 25~30 cm 雄 18~23 cm で虫体に異常を認めず活潑に運動するものを用いた。処置は凡て 37°C で無菌的操作を厳重にして実施する。

蛔虫は 1 乃至数隻宛をとり各隻毎に水道水で数回洗滌した後更に外表を消毒浄化するため 2 万倍マーズニン加 1% 滅菌食塩水中に 30 分間浸し、次に滅菌 コルベン (300 cc) 中に抗生物質を加えた 1% 滅菌食塩水 50 乃至 150 cc をとり、充分振盪溶解させた上前記蛔虫を 1 乃至 5 隻宛投入し 37°C 孵卵器中に一定時間飼育する。以下実験は蛔虫の無菌化及び無菌飼育の二つに別けて試みた。

### 1. 無菌化試験

蛔虫の無菌化を検する方法として、抗生物質を加えてある飼育液及び蛔虫の体腔液並に腸管の三者に就て各

T. G. C 培地及び普通寒天培地を併用して無菌試験を実施した。体腔液は虫体を滅菌大シャーレ中に取り出し、その尾端を少しく切斷滴下したものをを用い、腸管は虫体の中央部に於て縦に切開露出させ、約 1 cm 切除した小片を夫々上記培地に植えた。

### 2. 無菌飼育試験

抗生物質を加えた飼育液中で 37°C 飼育を行い、液の更新は毎日、隔日、3 乃至 4 日毎更新のもの及び不換のもの 4 つに別けて観察した。

尚 1, 2 お共に抗生物質としては、クロラムフェニコール (以下 CM)、オーレオマイシン (以下 AM)、ストレプトマイシン (以下 SM)、結晶ペニシリン (以下 P) を単独又は併用し、その添加濃度は W. Epps 等<sup>2)</sup>の示したものを基準にとり時に倍量を採用した。

## III. 実験成績

### 1. 無菌化試験

- 1) CM 添加の場合 (第 1 表参照)
- 2) CM 及び SM 添加の場合 (第 2 表参照)
- 3) SM 及び P 添加の場合 (第 3 表参照)
- 4) AM, SM 及び P 添加の場合 (第 4, 5 表参照)

以上の成績から蛔虫の無菌化試験では、完全無菌化例 (飼育液、虫体の体腔液及び腸管の三者共に無菌化する) は CM 単独及び CM, SM 併用添加の場合、何れも全く認められず、SM 及び P 併用添加の場合は第 3 表に示す様に K 群 ♂ 7, M 群 ♀ 11 の 2 例に見られた。又 AM, SM 及び P 併用添加の場合は第 4 表では N 群 ♀ 1, ♂ 2 の 2 例にとどまつたが、第 5 表では R 群 ♂ 14, T 群 ♂ 17, W 群 ♀ 23, X 群 ♀ 24 の 4 例に認めた。無菌化試験の成績を総合すると第 6 表に示す様になる。

### 2. 無菌飼育試験 (第 7 表参照)

第 7 表に示す様に、CM 或は AM 単独添加、飼育液不換の場合は平均生存日数前者 5.4 日 (15 例中) 後者 6.2 日 (18 例中) となり対照との差は認め難く又 CM 単独或は AM, SM 及び P 併用添加飼育液毎日更新の場合は前

Kai Kadota: Bacteria-free rearing of *Ascaris lumbricoides*. (Osaka Univ. Osaka, Japan)

第 1 表

添加抗生物質の種類及濃度	飼育液の更新	群	蛔虫の性別及番号	生死の状態及飼育日数	被検物		
					N	K	D
CM 200r/cc	1×1	A	♀ 1	M <sup>2</sup>	+	+	+
			♀ 2	M <sup>3</sup>	+	+	+
			♀ 3	M <sup>5</sup>	+	-	+
CM 400r/cc	1×2	B	♀ 4	M <sup>4</sup>	+	+	+
			♀ 5	M <sup>2</sup>	-	-	+
		C	♀ 6	M <sup>2</sup>	-	-	+
			♂ 7	M <sup>2</sup>	-	-	+
			♀ 8	M <sup>2</sup>	-	-	+

註. M: 自発運動を示すもの  
 R(+): 機械的刺戟反応陽性のも  
 R(-): 同陰性のも(死と見做す)  
 M<sup>x</sup>: Xは飼育日数を示す  
 1×1は毎日, 1×2は隔日液更新を示す  
 N: 飼育液 +: 細菌を認めたもの  
 K: 蛔虫体腔液 -: 無菌のもの  
 D: 同腸管

第 2 表

添加抗生物質の種類及濃度	飼育液の更新	群	蛔虫の性別及番号	生死の状態及飼育日数	被検物		
					N	K	D
CM 200r/cc + SM 500r/cc	1×1	E	♀ 1	M <sup>2</sup>	-	+	+
			♀ 2	M <sup>3</sup>	+	-	+
			♀ 3	R(-) <sup>4</sup>	+	+	+
			♀ 4	R(-) <sup>4</sup>	+	+	+
			♀ 5	R(-) <sup>5</sup>	+	+	+
		F	♀ 6	M <sup>2</sup>	-	+	+
			♀ 7	R(-) <sup>4</sup>	+	+	+
			♂ 8	R(+) <sup>6</sup>	+	-	+
		G	♀ 9	M <sup>2</sup>	+	-	+
			♂ 10	M <sup>3</sup>	+	+	+
			♂ 11	M <sup>4</sup>	+	+	+

者6.1日(18例中)後者8.1日(8例中)となり同様対照に比べ差を殆ど認めないが, AM, SM及びP併用添加液隔日更新の際は8.6日(7例中)となり稍々対照例より増延する感があり, 更に同液3~4日毎更新の場合は12.9日(15例中)を示し相当に平均生存日数延長の傾向を認めた。

IV. 考 案

豚蛔虫を抗生物質添加1%滅菌食塩水中37°Cに飼育

第 3 表

添加抗生物質の種類及濃度	飼育液の更新	群	蛔虫の性別及番号	生死の状態及飼育日数	被検物		
					N	K	D
SM 1mg/cc + P 1,000u/cc	1×2	H	♂ 1	M <sup>2</sup>	+	+	+
			♂ 2	M <sup>5</sup>	+	-	+
		I	♀ 3	M <sup>2</sup>	-	-	+
			♀ 4	M <sup>4</sup>	+	-	+
		J	♀ 5	M <sup>2</sup>	+	-	+
			♂ 6	M <sup>2</sup>	+	-	+
		K	♂ 7	M <sup>2</sup>	-	-	-
			♀ 8	M <sup>2</sup>	+	+	+
		L	♀ 9	M <sup>2</sup>	+	+	+
			♀ 10	M <sup>2</sup>	-	-	+
		M	♀ 11	M <sup>2</sup>	-	-	-

第 4 表

添加抗生物質の種類及濃度	飼育液の更新	群	蛔虫の性別及番号	生死の状態及飼育日数	被検物		
					N	K	D
AM 200r/cc + SM 500r/cc + P 1,000u/cc	1×1	N	♀ 1	M <sup>2</sup>	-	-	-
			♂ 2	M <sup>4</sup>	-	-	-
			♀ 3	M <sup>6</sup>	+	+	+
		O	♀ 4	R(-) <sup>6</sup>	+	-	+
			♀ 5	M <sup>2</sup>	-	-	+
		P	♀ 6	R(-) <sup>4</sup>	-	-	+
			♂ 7	R(-) <sup>5</sup>	+	+	+
		Q	♂ 8	R(-) <sup>10</sup>	+	+	+
			♀ 9	M <sup>2</sup>	-	-	+
		Q	♀ 10	M <sup>4</sup>	+	-	+
			♀ 11	M <sup>6</sup>	+	-	+
			♀ 12	M <sup>2</sup>	-	-	+
			♀ 13	M <sup>4</sup>	+	+	+

して以上の如き無菌化成績を得たが, 完全無菌化例は第6表に示す様に CM 単独添加例では全く認めていない。

Epps 等<sup>2)</sup>は豚蛔虫から分離した細菌類について in vitro で諸種抗生物質の最低発育阻止濃度を定め, 塩類飼育液を使用し各一定濃度の抗生物質を単独及び併用添加の上37°C 48時間飼育後虫体の完全無菌化を観察している。その成績によると, 単独添加の場合はやはり完全無菌化例は著るしく低率で AM(500 r/cc)では5%(20例中)に認めているが, P(1000 u/cc)及び Bacitracin(1000 u/cc)では何れも皆無である。かく単独添加例で完

第 5 表

添加抗生物質の種類及濃度	飼育液の更新	群別	蛔虫の性別及番号	生死の状態及飼育日数	被検物		
					N	K	D
AM 400r/cc + SM 1mg/cc + P 1,000u/cc	1×2	R	♂14	M <sup>2</sup>	-	-	-
			S	♀15	M <sup>1</sup>	-	-
		♀16		M <sup>2</sup>	-	-	+
		♂17		M <sup>2</sup>	-	-	-
		U	♀18	M <sup>2</sup>	-	-	+
			♀19	M <sup>2</sup>	-	-	+
		V	♀20	M <sup>2</sup>	-	-	+
			♀21	M <sup>2</sup>	-	-	+
		W	♂22	M <sup>2</sup>	-	-	+
			♀23	M <sup>2</sup>	-	-	-
X	♀24	M <sup>2</sup>	-	-	-		
	♀25	M <sup>2</sup>	-	-	+		

第 6 表

添加抗生物質の種類	同濃度/cc	飼育液の更新	被検蛔虫数	完全無菌化蛔虫数	完全無菌化蛔虫の%
CM	200r	1×1	3	0	0
	400r	1×2	5	0	0
CM+SM	CM 200r SM 500r	1×1	11	0	0
SM+P	SM 1mg P 1,000u	1×2	11	2	18%
AM+SM +P	AM 200r SM 500r P 1,000r	1×1	13	2	15%
	AM 400r SM 1mg P 1,000u	1×2	12	4	33%

全無菌化が至難なのは、抗生物質の抗菌性が細菌の種類により差異を示し、凡ての細菌には有効でなかつた結果と思われる。又併用添加の場合は SM(500 r/cc)及び P(1000 r/cc)併用では 20%(10 例中)、AM(100 r/cc)、SM(500 r/cc)及び P(1000 u/cc)併用では 40%(15 例中)の無菌化例を認めており、著者の得た成績も略々これに接近している。

飼育液の瀕回更新の及ぼす影響は第 1 表 A 群 ♀ 2, ♀ 3 B 群 ♀ 4 の様に、液更新を反覆実施して 3 日乃至 5 日後無菌化を検した例が必ずしも無菌化度を高める傾向を認めず、更に AM, SM 及び P 併用添加の場合は第 4 表に示す様に、N 群 ♀ 3, P 群 ♀ 10, ♀ 11, Q 群 ♀ 13 等に於てはむしろ無菌化度の低下を示す結果を得た。これ

は細菌が抗生物質に馴れ漸次抵抗性を得ることに起因するものと考えられる。又飼育中死亡した蛔虫に就ては、第 2 表 E 群 ♀ 3, ♀ 4, ♀ 5 及び F 群 ♀ 7 並に第 4 表 O 群 ♀ 4, ♀ 6, ♀ 7, ♀ 8 に見られる様に、何れも腸管に菌を認めると同時に体腔液にも菌を検出したものが多い。江渡<sup>3)</sup>は蛔虫体腔液の細菌学的検索を行い、その結果新鮮蛔虫の体腔液には細菌の存在を認め得ず、死亡した場合には大多数に於てグラム陰性短桿菌の存在を認めると報告している。著者の成績では、生存蛔虫に於ても屢々体腔液に細菌検出例を見たが、これは体腔液採取の際特に飼育液及び体表からの菌浸入防止処置はとらなかつたので或る程度菌の浸入出現を許した場合もあり得ると思われる。

抗生物質の濃度を高めた影響を見るに、第 1 表に示す如く CM(400 r/cc)添加は CM(200 r/cc)添加に比べ、無菌化度を増大させた感があり、AM, SM 及び P 併用添加の際には第 5 表に示す様に、AM(400 r/cc)、SM(1 mg/cc)及び P(1000 u/cc)では全例飼育液、体腔液共に無菌状態を呈し著明に無菌化度の増強を観察した。

又完全無菌化蛔虫の体長、体重を示すと第 8 表の通りである。表示の如く体重は N 群 ♀ 1 を除く他は凡て 1.5 乃至 3.0 gr の比較的小さい蛔虫であるが、Fairbairn 等<sup>7)</sup>が豚蛔虫を完全無菌化した報告によると、蛔虫は予め雌雄共体重 1.5~3.0 gr のものを使用している。虫体内に棲息する細菌の量的関係は勿論不明ではあるが体長体重の大小は無菌化度に相当の影響力を及ぼすものと推測される点である。

次に無菌飼育試験の結果を見ると第 7 表に示す様に、AM, SM 及び P 併用添加に於て飼育液 3~4 日毎更新の場合は、平均生存日数 12.9 日に及び相当延長する傾向を認めている。Epps 等<sup>2)</sup>は抗生物質の中 CM のみは虫体の生存力に有害的に作用するが、AM, SM 及び P により無菌化した蛔虫は普通飼育の蛔虫に比べ長期に生存し、例えば牛血清中で前者は 2 週間以上も生存するが、後者は 4 日以内に死亡すると述べている。著者の得た成績では、CM が特に虫体の生存力を減弱させたと見るべきものはないが、AM, SM 及び P 併用の様に生存期間の増延した場合は認めていない。

生存の最長に関しては、既往の蛔虫体外飼育試験に於て、蛔虫の生活環境の改善及び種々栄養素の投与或は飼育液の清浄化により漸次生存期間延長の成績があり、凡そ長きは 17~20 日内外で最長は 23 日に及んでいる。著者の成績では、AM, SM 及び P 併用添加 3~4 日毎液更

第 7 表

添加抗生物質 の種類及濃度	飼育液 の更新	日数																							平均 生存日数
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
CM 200 r		12(♀)	12	12	12	12	8	7	4	1	0														
		3(♂)	3	3	3	2	1	1	0																
AM 400 r, SM 1 mg P 1,000 u	0	13(♀)	13	13	13	13	9	6	5	4	3	0													
		5(♂)	5	5	5	5	5	3	2	1	1	1	0												
対 照		4(♀)	4	4	4	3	1	1	1	1	1	0													
		2(♂)	2	2	2	2	1	0																	
CM 200 r		14(♀)	14	14	13	11	8	5	5	5	3	2	1	0											
		4(♂)	4	4	4	3	2	2	2	1	1	0													
AM 200 r, SM 500 r P 1,000 u	1×1	6(♀)	6	6	6	6	5	4	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
		2(♂)	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	0												
対 照		5(♀)	5	5	5	4	3	3	3	3	3	3	0												
		1(♂)	1	1	1	1	1	0																	
AM 400 r, SM 1 mg P 1,000 u	1×2	5(♀)	5	5	5	5	5	5	4	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
		2(♂)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0												
対 照		3(♀)	3	3	3	2	2	1	1	1	0														
		2(♂)	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0													
CM 400 r		14(♀)	14	14	14	14	10	10	4	4	4	3	0												
		4(♂)	4	4	4	4	2	2	0																
AM 400 r, SM 1 mg P 1,000 u	1×3~4	11(♀)	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
		4(♂)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
対 照		4(♀)	4	4	4	4	3	2	0																
		2(♂)	2	2	2	2	1	0																	

註：対照は1%食塩水飼育をとる

飼育液の更新中 0 は不換, 1×1 は毎日, 1×2 は隔日, 1×3~4 は3乃至4日毎更新を示す

第 8 表

添加抗生物質の種類	群	蛔虫の性別及番号	体長 (cm)	体重 (gr)
SM+P	K	♂ 7	17.7	1.7
	M	♀ 11	22.1	2.4
AM + SM + P	N	♀ 1	27.3	4.1
		♀ 2	21.7	2.4
	R	♂ 14	19.5	1.6
	T	♂ 17	20.2	1.8
	W	♀ 23	25.5	2.7
	X	♀ 24	25.3	2.9

新例中の 22 日であり略々同様の結果を得ている。

又飼育液の毎日及び隔日更新が良結果を得ず、3~4 日毎更新が生存期間延長に最も有効と見做されたが、若林等りの「オリゴヂン」を使用し、金属の「オリゴヂナミン」作用による飼育液の清浄化を図り、蛔虫生存期間の延長を試みた報告に於ても飼育液の 3 日及び 5 日毎更新が略々同様の優秀さを示している。同氏等は液の短日数の更新は虫体の生活環境を攪乱すること多く殊に虫体のエネルギー消耗を助長して生存力に悪影響を与えることを推測しているが、著者の抗生物質添加の際にも同様の原因を挙げて差支えない様に思われる。尙お本試験に於ける虫体の死亡後数例を抽出し飼育液及び虫体に就て無菌試験を実施したが、凡て完全無菌化の成績は認められなかつた。従つて蛔虫は比較的無菌化の状態で飼育されたと見做すべきであろう。

V. 結 語

1. 1%滅菌食塩水中に抗生物質 (CM, AM, SM, P) を単独及び併用添加して豚蛔虫の 37°C 飼育を試みその完全無菌化及び生存日数を観察した。

2. 飼育液及び蛔虫の完全無菌化は SM, P 併用及び AM, SM, P 併用添加の場合、その一部に認められた。

3. 蛔虫の平均生存日数は抗生物質添加飼育液に於て、液不換の場合及び毎日更新する場合は対照に比べ変化を認め難いが、AM, SM 及び P 併用添加液 3 乃至 4 日毎更新の場合は 12.9 日 (15 例) を示し相当に延長する傾向を認めた。

終りに臨み、終始御指導と御鞭撻を賜つた森下教授に対し厚く感謝の意を表する。

文 献

1) Fairbairn, D. and Reesal, M.R. (1950): Complete elimination of microorganisms from an intestinal parasites (*Ascaris lumbricoides*). Science, 1950, Dec. 29, 792. 2) Epps, W., Weiner, M. and Bueding, E. (1950): Production of stearam volatile acids by bacteria-free *Ascaris lumbricoides*. Journal of Infectious diseases, Vol. 87, No. 2, 149. 3) 江渡哲哉 (1932): 蛔虫体腔液の細菌学的研究並に蛔虫腸内細菌主として大腸菌属の生物学的性状に就て. 慶応医学, XII, 2041. 4) 若林一夫, 藤田成孝 (1943): 松風「オリゴヂン」をもつてせる蛔虫体外飼育試験. 慶応医学, XXIII, 283.