

ネオヂクロン及び二硫化炭素による 蛔・鉤虫卵の殺滅試験

久津見晴彦

国立予防衛生研究所寄生虫部

大手裕

川崎市高津保健所稲田支所

(昭和 29 年 11 月 2 日受領)

最近和泉(1954)は各種消毒薬の蛔虫卵殺滅効果を調べて、市販殺蛆剤ネオヂクロンがかなり著しい殺卵効果のあることを発表している。そこで我々はネオヂクロンについて、実験的に蛔・鉤虫卵の殺卵効果を追試し、併せて二硫化炭素及びネオヂクロンによる蛔虫卵殺滅の野外試験を行った。

I. 実験室内試験

A. 蛔虫卵殺滅試験

(1) 試験材料及び方法

(i) 供試薬品及びその組成：ネオヂクロン(明治薬品工業株式会社製)は市販されている1ポンド塊入を使用した。この組成は、パラヂクロール・ベンゾール 10.56%、ブローム・エチレン 9.55%、トリクロールエチレン 39.44%、などを主剤とするもので、濃茶色の原液に水道水を加えて充分攪拌すると白色の乳化液となる。

(ii) 被検材料及び試験方法：蛔虫卵は数匹の新鮮な豚蛔虫雌虫の子宮内端部 2 cm 内の成熟した豚蛔虫受精卵を用いた。虫卵液の作り方は次の如くで

(a) 直接薬液に接触せしめた場合：虫卵に若干の水道水を加えて良く混和し虫卵液を作り之に薬剤を加えた。薬剤ネオヂクロンは水道水で 500 倍、1000 倍、2000 倍に稀釈し、夫々 40 cc 宛前記虫卵液に加え充分混和して室温(18~25°C)に置いて作用させた。

(b) 虫卵を人尿中に混入し、次で薬液を作用させた場合：予め寄生虫卵を含みぬ新鮮な人尿(尿を含まず)に 5 倍量の水道水を加えて細碎し、1枚のガーゼで濾過し沈澱せしめ約 2 倍に稀釈された尿液を作る。之に虫卵液を

加えて混和し蛔虫卵含有尿液を作り、次いで薬剤を加えた。この場合ネオヂクロンは先づ 250 倍、500 倍、1000 倍に稀釈した液を作つて、その 2 cc を尿液 2 cc に加えて充分攪拌し所定の 500 倍、1000 倍、2000 倍稀釈において作用させた。作用温度は室温(21~27°C)である。別に (a) (b) 共に薬剤を入れないで水道水だけを加えた対照を置いた。

(iii) 効果判定の方法：所定日数作用せしめた虫卵液又は虫卵含有尿液を沈澱管に移して充分量の水道水で数回洗滌して薬液を除き、瓦培養法により 1~2 週間培養を行い、その各時期において培養虫卵 100 コについてその発育状況をしらべた。観察の結果は和泉(1954)の判定方法を用い、単細胞期、初期分裂期、桑実期、蛸蚪期、仔虫期、退化に分類した。退化卵とは、(1) 卵細胞が微小顆粒状となつて固有の形の崩れたもの。これは退化の直前の状態であると考えられるものである。(2) 更に退化が進んで粗大な油滴状物が卵細胞内又は卵殻内に満たされたもの、(脂肪球変性卵)等の種類がある。単細胞期卵とは外見上正常な単細胞期卵と、卵細胞が片側に転位したもの(単細胞変位卵)、細胞外空隙即ち半月形部に偽足様物質が現われたもの(単細胞変性卵)等正常と認められないものも含んでいる。つまり全く正常でなくても退化と決定出来ない場合単細胞期卵に含め、この変性が著しくなつたもののみを退化卵としている。従来正常単細胞卵とすでに死滅した虫卵とを形態的に区別することは困難とされ、染色その他の方法が考案されているが未だ確定的な方法は見当たらない。この試験に於ては、この問題の解決のため 1 カ月余(35~40 日)培養を行つて観察したが、なお上述の如く形態的に両者を充分区別するに至らなかつた。この解決については更に後章で取上げるので、こゝでは上述の記載に従つた分類を行うに止めた。

Haruhiko Kutsumi, Hiroshi Ote: Ovocidal effects of Carbon disulphate and Neo-Gikuron on the ascaris and hookworm ova. (Division of Parasitology, National Institute of Health, Takatsu Health Center)

第1表 豚蛔虫卵に対するネオデクロンの殺卵作用(作用室温18~25°C)

稀 積 倍 数	作用 日数	培養 日数	観察 卵数	発 育 卵				未 発 育 卵	
				初 期 分 裂 期	桑 実 期	蛭 蚪 期	仔 虫 期	単細胞	退化
500倍	9日	10日	100	—	—	—	—	36	64
		15	〃	—	—	—	—	89	11
	17日	7	〃	—	—	—	—	74	26
		14	〃	—	—	—	—	75	25
		25	〃	—	—	—	—	38	62
		10	〃	—	—	—	—	46	54
1000倍	9日	15	〃	—	—	—	—	63	37
		35	84	—	—	—	—	64	20
		7	100	—	—	1	1	85	13
	17日	14	〃	—	1	—	—	56	43
		25	〃	—	—	—	—	72	20
		10	〃	—	2	5	24	49	20
2000倍	9日	15	〃	—	5	4	7	78	6
		35	45	—	—	—	13	—	32
		7	100	43	20	15	1	14	7
	17日	14	〃	—	8	4	63	9	16
		25	〃	—	—	—	83	—	17
		10	〃	—	1	—	96	—	3
水道水	9日	35	〃	—	—	—	97	—	3
		7	〃	—	4	1	90	—	5
	17日	14	〃	—	—	—	96	—	4
		25	〃	—	—	—	100	—	—

(2) 試験成績

表1~2に示した如くである。

(a) 尿を混入しない場合: 500倍では9日及び17日作用例で発育するもの全くなく、1000倍においても殆んど同様で、9日及び17日間作用例の何れにおいても培養25~30日後に発育するものを認めなかつた。2000倍においては9日間作用例で一部発育するものが認められ、17日でも発育卵を認めた。しかしその発育は対照に比べると遅く、対照は3~5%の退化卵があつただけで、その他はすべて既に1週間で仔虫包蔵卵に達していた。

(b) 尿を混入した場合: 500倍7日作用例では培養32日目の観察で10%が仔虫期に達し、他は単細胞期に止まつた。14日作用例では41日目の観察で39%が発育し他は単細胞期であつた。1000倍以上の稀釈では大部分乃至全部発育するが、対照と比べてみると若干発育が遅れ

るように思われる。

以上(a)(b)の結果を和泉(1954)の成績と比較してみると概ね一致した成績であつた。

B. 鉤虫卵殺滅試験

(1) 試験材料及び方法

(i) 供試薬品: ネオデクロンを使用し、Aの場合と同一製品を用いた。

(ii) 被験材料: 若干の鉤虫感染者から得た新鮮な鉤虫卵含有尿に、10倍の水を加えて細碎し1枚のガーゼで濾過して静置し、1時間後上澄を棄て沈渣を含む半量を残し、約5倍に稀釈された虫卵含有尿液として使用した。虫卵はヅビニ、アメリカ(2:1)の兩種であつた。

(iii) 試験方法: ネオデクロンは虫卵含有尿液と1:4の比で混合するため稀釈されるので、予め100倍、200倍、1000倍に稀釈しその1ccを尿液4ccに加えて充分

第 2 表 人尿内豚蛔虫卵に対するネオデクロンの殺卵成績 (作用室温 21~27°C)

稀 積 倍 数	作用 日数	培養 日数	観察 卵数	発 育 卵				未 発 育 卵	
				初 期 分 裂 期	桑 実 期	蛭 蚪 期	仔 虫 期	単 細 胞	退 化
500倍	7日	7	100	9	—	—	—	90	1
		14	"	10	—	—	—	86	4
		32	"	—	—	—	11	63	26
	14日	7	"	25	—	—	—	68	7
		14	"	17	13	3	—	65	2
		41	"	—	—	—	39	56	5
1000倍	7日	7	"	20	80	—	—	—	—
		14	"	7	23	4	63	3	—
		32	"	1	—	—	95	—	4
	14日	7	"	72	25	—	—	3	—
		14	"	—	6	12	82	—	—
		41	"	—	—	—	98	—	2
2000倍	7日	7	"	23	31	37	—	9	—
		14	"	10	12	7	64	8	—
		32	"	—	2	2	90	4	2
	14日	7	"	11	89	—	—	—	—
		14	"	—	—	5	95	—	—
		41	"	—	—	—	96	—	4
水道水	7日	7	"	—	11	35	54	—	—
		14	"	—	2	3	95	—	—
		32	"	—	—	—	100	—	—
	14日	7	"	—	100	—	—	—	—
		14	"	—	1	—	99	—	—
		41	"	—	—	—	100	—	—

攪拌し、夫々所定の 500 倍、1000 倍、5000 倍稀釈にして作用せしめた。作用日数は 24 時間、5 日、10 日、温度は室温 (25~31°C) に置いた。

(iv) 虫卵の生死判定：所定日数を経た虫卵含有尿液は、直ちに充分量の水を加えて遠心沈澱し、沈澱を同様 2 回水洗し、薬液を除いた沈澱約 2 瓦を瓦培養法により 27~28°C で培養した。同時に培養直前の沈澱の一部を採つて、虫卵の発育、変性の程度を調べ、2 週間後に游出した全仔虫数を算えて効果を判定した。鉤虫卵の観察は、蛔虫卵の場合の如く培養皿上の材料を採つて発育退化の退化の比率を観察するよりも、培養した場合の発育卵の最終過程が培養皿を浸した水に游出する被鞘仔虫であることから、游出仔虫を算える方がより容易で又確実

と考えられる。勿論それには個々尿液中の鉤虫卵数が分つており、且概ね等しい前提が必要であるが、今のところ之を正確に求めることは困難である。従つて同一例を 2 例づゝ置き、対照は各々 3 例づゝとし虫卵数の変動による誤差を防いだ。

(2) 試験成績

表 3 に示した。500 倍稀釈では 24 時間作用で効果なく、5 日間作用では培養直前の観察によると、虫卵は卵細胞が崩壊して微小顆粒状に変化したものが最も多く 85% を占め、僅かの多細胞期卵が見られた。培養によつて游出した仔虫数は、対照例の 3~6% であつた。10 日作用例では、何れも卵細胞は変性し卵殻は光線の屈折弱く、固有の大きさより稍々膨大するのが見られた。正常

第3表 尿内人鉤虫卵に対するネオデクロンの殺卵成績（作用室温 25~31°C）

稀 積 倍 数	作用 日数	番 号	作用直後の虫卵の性状								培養による 游出仔虫数			
			観 察 卵 数	正 常 と 認 む も の				異 常 と 認 む も の						
				分	桑	蛭	仔	計	分	桑		蛭	仔	退 化
500倍	24時	1	15	15				15/15				0	521	
		2											656	
	5日	1	13	2		2/13				1	10	11/13	18	
		2	7	1		1/7							37	
	10日	1	14					14				14/14	0	
		2											0	
1000倍	24時	1	15	15				15/15				0	660	
		2											682	
	5日	1	22	10	5		15/22				7	7/22	272	
		2	21	10	5		15/21				6	6/21	283	
	10日	1	17					7 1				9	17/17	9
		2											40	
5000倍	24時	1	15	15				15/15				0	549	
		2											518	
	5日	1	17	15	1		16/17				9	1/17	438	
		2											400	
	10日	1	15	4		4/15				5	1	5	11/15	432
		2											375	
水道水	24時	1	15	15				15/15				0	645	
		2											858	
		3											662	
	5日	1	9	7		7/9				2	2/9	554		
		2											449	
		3											565	
10日	1											463		
	2	12	11		11/12				1	1/12	560			
	3	12	11		11/12				1	1/12	742			

分：分裂期 桑：桑実期 蛭：蛭蚪期
仔：仔虫期

卵は認められず分裂期、桑実期にあるものも変性の状態にあつた。培養によつても仔虫の游出は全く見られなかつた。1000倍では24時間で作用が認められず、5日間では培養直前の観察で1/3前後の変性卵が認められ、変性の状態は500倍の場合のそれと同様で、培養結果で游

出仔虫数は対照の略々半数であつた。10日間作用例では殆んどが変性卵となり、培養による游出仔虫数は対照例の1~7%であつた。5000倍では24時間、5日、10日とも培養直前では変性卵と認められるものがあつたが、培養して得た仔虫数は対照のそれと有意差なく、顕著な効

第 4 表 薬剤投入前の尿尿内蛔虫卵の性状 培養月日：11 月 21 日

槽 番 号	培 養 日 数	観 察 卵 数	正 常 と 認 め ら れ る 虫 卵						異 常 卵			投 入 薬 剤 別	
			単 細 胞	分 裂 期	桑 実 期	蛭 蚪 期	仔 虫 期	計	単 變 位 細 胞 性	脂 肪 變 性	計		
1	21	50	6	7	6	6	18	43	2	5	7	ネ	250×
2	〃	〃	4	4	4	9	23	44	2	4	6	ネ	2000×
3	〃	〃	16	5	4	6	17	48	0	2	2	ネ	1000×
4	〃	〃	17	2	4	2	16	41	3	6	9	対 照	
5	〃	〃	4	1	10	2	29	46	4	0	4	ネ	500×
6	〃	〃	6	0	2	2	31	41	0	9	9	対 照	
7	〃	〃	3	0	5	2	36	46	0	4	4	CS ₂	2000×
8	〃	〃	2	6	5	1	19	46	1	3	4	CS ₂	250×
9	〃	〃	2	2	5	2	34	45	0	5	5	CS ₂	500×
10	〃	〃	7	4	11	3	19	44	0	6	6	CS ₂	1000×

果は認められない。

II. 尿尿中蛔虫卵の野外殺滅試験

I の実験室内試験において、ネオデクロンが豚蛔虫卵殺滅に或る程度の効果があることが確認されたので、続いて人蛔虫卵について野外モデル殺滅試験を行つた。

(1) 試験材料及び方法

川崎市高津保健所稲田支所構内に約 70 立入りの陶器製水甕 10 ヲを設置した。甕は土中に埋め上部 10 cm を地上に出し、木製の蓋に重しを置き雨水の流入と塵埃の混入を防いだ。昭和 28 年 11 月 10 日市内の市民寮から人蛔虫卵を含む尿尿を汲入れ、上記水甕内に各 15~30 立宛分け入れ、1 週間後に薬剤を投入した。投入に先立ち各尿尿槽から内容を攪拌しつゝ 100 cc 宛の尿尿を採取し、数倍の水を加えて濾過、遠心沈澱を繰返し沈澱を互培養して蛔虫卵の変性状況を調べた。その結果、表 4 に示す如く不受精卵を除き受精卵について調べ、退化卵と認められるものが 10%前後であることを確かめた。

(i) 供試薬品：I. と同様のネオデクロン（明治薬品製）と、更に二硫化炭素試薬一級（純正化学株式会社製）も併せて使用した。

(ii) 試験方法：ネオデクロンは使用前水に溶かし後者はそのまま、夫々 $1/250$, $1/500$, $1/1000$, $1/2000$ に相当する量を投入し直ちに充分攪拌した。別に無処置の対照を 2 例置いた。作用期間は 11 月 18 日から 12 月 15 日迄の 28

日間、気温は最高 19°C、最低 -1.5°C、日中平均気温は 15°C 前後であつた。

(iii) 効果判定の方法：所定の作用日数を経た時、該尿尿を攪拌しつゝ 200 cc (作用 1 週のみ 60~120 cc) 宛を採取し、之を水洗して沈澱を互培養した。所定の培養日数に達した材料の検査に際しては、小豆大の材料を水洗して沈澱に 50%アンチホルミン数滴を加えて卵細胞の変化を観察した。卵細胞の変化は、發育卵は I.A における分類と同様であるが、単細胞期卵で異常と認められるものについて、単細胞変位卵、単細胞変性卵、脂肪球変性卵の三つ（何れも I.A 参照）に分類した。更にこの試験においては、上記諸種変性卵の確実な生死の判定は肉眼的判定や染色による方法は適当でなく、又従来の如く正常な虫卵の發育期間を基準にした 1~4 週間の培養では判定日数として不充分と考えられた。従つてすべての虫卵が仔虫包蔵卵と脂肪球変性卵の 2 種に分れるまで即ち生死不明の変性卵が変性最終過程の脂肪球変性卵に退化するに至るまで 70~90 日間培養を行い、かゝる退化卵の百分率をもつて殺卵率とした。

(2) 試験成績

表 5 に示した如く、培養 70~90 日の最終結果によると、ネオデクロンの殺卵率は 250 倍 14 日以上作用させた例で 100%、500 倍 14~21 日ではほぼ 100%、28 日で %であつた。1000 倍と 2000 倍では 7 日間では対照と差

第5表 培養70日目(作用3, 4週は90日)
の殺卵率(作用気温-1.5~19°C)

積度 稀	作用日 数	1週	2週	3週	4週
		ネク	250倍	100	100
オロ	500 "	24	96	98	100
	1000 "	22	84	90	96
ヂン	2000 "	18	84	68	72
	二硫化炭素	250 "	100	100	100
二硫化炭素	500 "	42	92	96	100
	1000 "	16	60	86	86
	2000 "	12	30	56	50
対照	A	12	20	24	20
	B	14	16	24	26

がなく、14~28日では夫々84~90%、68~84%の殺卵率を認めた。二硫化炭素では250倍7日間で100%の殺卵率を示し、500倍では14~21日で95%前後(92~96%)、28日で100%である。1000倍、2000倍では共に7日間では対照と差がなく、14~28日では夫々60~86%、30~56%の殺卵率を示した。対照についてみると、何れの週においても75~90%の仔虫包蔵卵を認め、脂肪球変性卵は対照4週間で1週間の2倍(20~26%)に増加した。2種薬剤を比較してみると、この試験では殆んど同程度の効果を認めたが、250倍7日作用でネオデクロンでは%の仔虫包蔵卵があるが、二硫化炭素では100%の殺卵率を示したこと、及び2000倍14~23日作用でネオデクロン例の仔虫期に達するものは32~14%で、二硫化炭素例のそれが、70~44%であるのに比較して1/2であること等の差があつた。

松村(1952a)によれば二硫化炭素による蛔虫卵の死滅率は、5°Cの尿尿中で1000倍7日間で90~100%、14日間で100%であり、実験肥溜中では同じく5°C前後の液温で、2000倍7日で90%、14日で100%の死滅率であるというが、私のこの結果との差違は、或はその試験方法の差に基づくものか、又は製品自体の差に基づくものかについては更に検討を要す。

なお、尿尿上澄液のpHは試験前8.1~8.3、試験後1週間目8.1~8.3、4週間目8.3~8.4であつて変動をみなかつた。尿尿槽の内容は日を経るに従い浮遊物を失い、沈澱した固形物は概ね溶けており、茶褐色の内容を攪拌するとネオデクロン群では固有の薬品臭、二硫化炭素群では刺戟性の強い悪臭を発した。対照は黒褐色を呈

しガス泡を生じており、固形浮遊物を認めた。

III. 要 約

1. 豚蛔虫卵に対してネオデクロンは、直接作用1000倍以下の稀釈で作用期間を1~2週間とすると、25日間培養を行つて虫卵の發育を試験したが、全く發育卵を認めなかつた。尿内に混入した虫卵では、同様の方法で500倍稀釈でも若干發育するものを認め、1000倍以上の稀釈では殆んど効果がなかつた。但し若干發育の遅延が見られる。(作用時室温18~27°C)。

2. 人鉤虫卵に対するネオデクロンの殺卵率は、尿尿内で500倍5日間作用で95%前後、10日間作用で100%であり、1000倍では5日間作用で50%、10日間作用で93~99%である。5000倍では対照に比して著明な差はなかつた。(作用時室温25~31°C)。

3. 人蛔虫卵に対する野外試験は実験的尿尿槽を設置し、平均気温15°C(-1.5~19°C)の下において試験した。ネオデクロン、二硫化炭素を1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000量投入し、1~4週間作用させ、その後70~90日間培養して殺卵率を調べた。ネオデクロンは250倍14日で100%、500倍14~21日ではほぼ100%、28日で100%の殺卵率であつた。1000倍以上の稀釈では2~3週以上作用させても、猶或程度の虫卵は生存發育した。二硫化炭素では250倍7日で100%、500倍14~21日で95%前後28日で100%と前者とはほぼ同様の殺卵率で、1000倍以上の稀釈でも概ね前者と同様の成績を示した。

擧筆にあたり、御指導と御校閲を賜つた小宮寄生虫部長及び石崎博士、並びに野外試験の御便宜を賜つた川崎市高津保健所長小宮山博士に深甚の謝意を捧げる。

参 考 文 献

- 1) 和泉精一(1954): 数種市販消毒薬の蛔虫卵殺滅効果に就て, 東京医事新誌, 71(1), 20. — 2) 松村竜雄等(1952a): 蛔虫感染予防の研究, 東京医事新誌, 69(2), 119. — 3) 松村竜雄等(1952b): 蛔虫感染予防の研究, (第6, 7報), 燻蒸剤の殺卵作用, 日本寄生虫学会記事, 26, 36. — 4) 松村竜雄等(1953a): 尿尿の薬液処理による蛔虫感染予防の可能性, 公衆衛生, 13(2), 40. — 5) 松村竜雄(1953b): 尿尿の二硫化炭素処理による蛔虫感染予防の野外実験成績, 小児科診療, 16(8), 17. — 6) 児玉威等(1954): 尿尿分離処理の研究7, 神奈川県衛生研究所年報, 21, 231.

Summary

Ovicidal effects of carbon disulphate and Neo-Gikuron on the ascaris and hookworm ova were studied and.

1) No development of pig ascaris ova was observed when immersed for 1 and 2 weeks in Neo-Gikuron solution diluted with in the ratio of 1 : 500 and 1 : 1000. (Room temperature 18-25°C)

No ovocidal effects were observed when ova were treated along with night soil, but in such cases their speed of the development were slightly prolonged. (Room temperature 21-27°C)

2) In Neo-Gikuron solution with 1 : 500 and 1 : 1000 along with night soil no larvae of hookworm (A. d : N. a. = 2 : 1) were observed after cultivation for 2 weeks. (Room temperature 25-31°C)

3) Model reservoirs for night soil was installed in the field and the practical ovocidal effect of the above mentioned was tested.

The ovocidal effects were judged as follows : Observation of cultivated ova for 70-90 days, after these days ova either developed into larvae or denaturated with course in them.

The latter was recognized as the dead.

With 1 : 250 diluted Neo-Gikuron ova were completely killed for 2 weeks and with 1 : 500 diluted one for 4 weeks.

With carbon disulphate in 1 : 250 dilution for a week and in 1 : 500 dilution for 4 weeks ova were all destroyed as the former.

A few larvae were recognized with both chemicals diluted 1 : 1000. (Atmospheric temperature, mean 15°C, maximum 19°C, minimum -1.5°C)