

寄生線虫類感染幼虫の生態に関する研究

(2) 鉤虫類, 毛様線虫等の試験管培養検出法に於ける至適条件の検討

白坂 竜 曠

東京大学伝染病研究所寄生虫研究部

(部長 長谷川秀治教授 指導 佐々学助教授)

(昭和33年8月28日受領)

まえがき

寄生虫集団検診にあつては、これまで簡単な直接塗抹法が最も多く実施されて来たが、この方法は鉤虫類などの検出率が悪いことは周知の通りである。これを補ふ意味で、近年は濃厚塩類溶液を用いた浮游法が一部で実用されつゝあるが、これにもなお不十分な面が多い。さらに最近では培養法が集団検診に応用されるようになり、この方法は鉤虫類, 毛様線虫, 糞線虫等の検出には最も鋭敏で、しかも鉤虫の種類が可能である為、その価値が高く認められるに到つた。

我々は培養法による集団検診の実施にあつてその操作が簡単で、かつ判定が確実にい得るような技術面の改良を行い、すでに炭鉱従業員や農村民を対象に2カ年間にわたり約7万人の検査を行つて興味ある成績を報告した(佐々ら:1957, 1958)。著者はこの研究と併行して、培養法を行うにあつての至適条件を追求し、また諸種の培養条件下における各種線虫の検出成績の比較検討を行つて、本検査法に関する基礎資料の集積に努めて来たので、その結果をまとめてここに報告する。

腸内寄生線虫類には回虫, 鞭虫, 蟯虫のように卵のまゝ経口感染するものと、鉤虫類, 毛様線虫類, 糞線虫類のように親虫からうみ出された卵が外界でかえり、*rhabditis* 型幼虫から *filaria* 型幼虫にまで発育がすんだのち、経口、又は経皮感染するものとがみられる。培養法の原理は後者の発育型を示す線虫類を保有する糞便をガラス器内で発育させ、水中に *filaria* 型幼虫が游出するのを待つてこれを検出し、その形態により線虫の

種類を判定するものである。

糞便材料から鉤虫類幼虫などを培養するにあつては、これまでシャーレを用いた瓦培養法などと、原田ら(1951)により報告された試験管を用いるいわゆる濾紙培養法などがあげられている。ここに用いた方法は、原田氏法にその原理をとり、その培養技術ならびに判定操作に改良を加え、伝研寄生虫研究部において標準としての試験管培養法である。

集団検診にあつては、容器にシャーレを用いる方法より、試験管を用いた方がはるかに便利であることは言うまでもない。また試験管を用いる原田らの原法に改良を加えた主要点は、試験管口をポリエチレン片を用いて密封し、液の乾燥とゴミの混入を防いだこと、濾紙片の糞便塗抹法を基礎実験により規準化したこと、結果の判定にアンキロスコープを用い、陽性例の判別はもとより、ある程度線虫の種類をも可能にして検査能率を著しく向上させた点にある。現在当研究室で実施している標準法は次の通りであるが、これを標準として採用するようになるまでに本報に記述したような基礎実験を重ねた次第である。

試験管培養法の標準術式(伝研寄生虫部法)

内径 1.8 cm, 長さ17 cm のいわゆる中試験管を用い、これを挿入する濾紙は幅 2 cm, 長さ16 cm の長方形を正中で2つ折りにしたものである。なるべく新鮮な便を約 0.5 g 割着てとり、濾紙の一滴より 5 cm, 他端より 2 cm をあけて残りの約 9 cm の部にうすく平等になすりつけ、5 cm あけた方の端を下にして管中に挿入し、清水 3 cc を加え、管口に 6 cm 正方形のポリエチレン片を輪ゴムでとめて密封する。これを凡そ 25°C で 10~14 日培養した後に管底の水中に游出する線虫類をアンキロスコープで検出し、必要によりピペットでスライドにとつて、加温固定したうえ、通常の顕微鏡で種別を判定するのである。

RYUKOH SHIRASAKA: Studies on the bionomics of infective larvae of parasitic nematodes (2) Researches for the optimum conditions in the test tube cultivation of hookworm and *Trichostrongylus* larvae (Department of Parasitology, Institute for Infectious Disease, University of Tokyo)

本研究においては、以上の方法のうち、培養温度、便量、塗布面積、塗布部位、水量などの諸条件を変えたときに、ツビニ鉤虫、アメリカ鉤虫、毛様線虫などの検出成績がどのように変るか、またこれらを検出するに至適な条件はどの範囲にあるかを解明する為、以下の実験を行った。

実験成績

材料はツビ (*A.d.*) アメリカ鉤虫 (*N.a.*) 毛様線虫 (*T.o.*) をそれぞれ単独に保有せる便をあらかじめえらび、採便後 1 日以内のものを集め、便約 100 g に 4 cc の水を加えて割箸数本で 20 分間攪拌して均等に卵を分布させた上で使用した。

1. 培養温度 (第 1 表)

培養試験管を色々な温度に保存した場合の各種幼虫の游出数の時間的経過及び総数の比較をしらべた (第 1 表)。 *A.d.*, *N.a.*, *T.o.* をそれぞれ単独に保有する 3 種の便材料を各 0.4 g 濾紙面にぬり、37°C, 25°C, 室温 (平均 15°C 最高 20°C 最低 8°C), 9°C, 4°C, 0°C, -10°C, の 7 段階の温度にそれぞれ 10 本づゝ試験管に入れて保有し、1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 日目に何匹の幼虫が水中に游出して来たかを数えた。このさいには、底の水を他の試験管

に移してその中の虫数をしらべ、もとの試験管には新しく 3 cc の水を加えて再びもとの温度に保存した。表中の数字はいずれも 2 日おきの期間中にだけ出現した虫数の 10 本の合計を示すものである。なお新に水を注入した後にアンキロスコープでしらべ、移し残した虫の数を記録してこれに加え、その分だけ今回の検出数から差し引いた。これらは各温度に 12 日間 (*T.o.* の場合は実験上の都合により 8 日間) 保存した上で、これらを 25°C の恒温室に移し、10 日後に浮出する数をしらべてさらに生き残っている虫の数を推定した。*A.d.* の材料については、37°C において最高の游出数を示すのは 2~4 日の間で、総計 404 匹のうち 263 匹 (65.2%) がこの期間に水中に移行し、10 日以後にはもう虫は出なくなる。25°C にすると、その游出速度はやゝおそくなって、最高は 6~8 日の間の 659 匹 (総数 45.3%) となり、游出の期間も長く、12 日以後にも 41 匹 (2.7%) がさらに現われている。しかし、総数は 1,515 匹を示して、37°C の場合の凡そ 3.7 倍にも達する。室温 (平均 15°C) でも 4 日目から、少数の虫が見出されるのが 12 日後に 25°C に移した後に 470 匹 (73.4%) が游出して来た。しかし、総数は始めから 25°C においたものの約 42% であつた。9°C 以下の

第 1 表 異つた培養温度における各種幼虫の出現状況

種別	温度	経過日数ごとの出現幼虫数							後観察	
		1日	2日	4日	6日	8日	10日	12日	10日	計
<i>N.a.</i>	37°C	0	0	93	34	5	0	0	0	133
	25°	0	0	16	55	26	19	2	0	118
	室温	0	0	0	0	0	0	4	8	12
	9°	0	0	0	0	0	0	2	4	6
	4°	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0°	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-10°	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>A.d.</i>	37°	0	12	263	92	34	3	0	0	404
	25°	0	0	122	440	659	151	52	41	1,515
	室温	0	0	6	31	44	45	32	470	621
	9°	0	0	0	0	0	0	0	107	107
	4°	0	0	0	0	0	0	0	20	20
	0°	0	0	0	0	0	0	0	45	45
	-10°	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T.o.</i>	37°	0	1	24	58	9	—	—	0	91
	25°	0	0	2	207	201	—	—	70	480
	室温	0	0	4	20	40	—	—	269	333
	9°	0	0	0	1	9	—	—	62	72
	4°	0	0	0	0	0	—	—	64	64
	0°	0	0	0	0	0	—	—	86	86
	-10°	0	0	0	0	0	—	—	0	0

第2表 一定面積に異なる便量を塗布した場合培養日数毎の検出幼虫数

便量	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	12日	計
0.1g	0	0	8	1	0	0	0	0	0	0	1	10
0.2	0	0	9	8	0	2	0	0	0	2	0	21
0.4	0	0	1	37	11	6	1	2	0	0	0	56
0.8	0	0	8	75	12	30	30	71	31	61	28	355
0.1	0	0	12	5	1	1	0	0	0	0	1	20
0.2	0	0	14	13	3	8	7	2	0	5	0	51
0.4	0	0	6	102	67	85	57	29	9	2	0	351
0.8	0	0	12	114	29	31	44	56	80	71	32	459
1.6	0	0	15	58	18	7	15	9	8	6	19	155

ものは12日たつてもフィリヤ型幼虫は水中に見出されず、これを25°Cに移して10日後には9°Cで107匹、4°C及び0°Cのものはさらに少なく、-10°Cにおいたものについては虫の出現はみられなかった。*N.a.*についても*A.d.*と似た傾向がみられ、37°Cでは2~4日、25°Cでは4~6日の間が最高游出数を示したが、全般的には*A.d.*より高温に適応して、低温には弱い傾向があり、37°Cと25°Cの総游出数にはほとんど差がない代りに室温と9°Cでは游出日数がずつとおそくなって、25°Cに移しても出現数が著しく少なくなり、4°C以下に12日おくとこれを25°Cに移しても全く虫は現われて来なかった。これは*A.d.*、*T.o.*とも、この条件でかなり多くの虫が出現したのと比べて著しい差である。

*T.o.*は逆に*A.d.*よりも低温の方に適応が見られ、しかもその游出速度が同じ条件下でも*A.d.*、*N.a.*よりおそいのが特徴である。37°Cにおいたものでも最高游出数は4~6日の間にみられ、游出総数91は25°Cの480に比べ約5分の1にすぎないが、室温に8日おいたものでもその後25°Cに移すと、はじめから25°Cにおいたものに近い数が検出され、9°C、4°C、0°Cのものの游出数にも著差が認められない。しかし、-10°Cにおくと死滅することは*A.d.*と同様である。

以上の成績から、3種ともこの範囲の温度では高温ほど虫の出現が速かであり、温度がある程度低くなると虫の游出がみられなくなり、さらに低くなると死滅して、これを適温にもどしてもフィリヤ型幼虫の出現がみられなくなることに、游出する総数が温度が高すぎても、また低すぎても至適温度に比べて少なくなることが一般的に指摘される。しかし、その温度条件は虫の種類によって異なり、たとえば*N.a.*は37°Cと25°Cでは虫の総数に著差がないのに比して、*A.d.*と*T.o.*は37°Cにおくと25°Cの場合より数が著しく少ない。逆に低温に対しては

*N.a.*は弱くて、15°C以下の場合には虫の出現のおくれも、総数の減少も他の2種に比して著しく、4°C以下では死滅するのに比べて、*A.d.*、*T.o.*は0°Cまで生存が認められた。また、同じ温度において、*T.o.*は*A.d.*や*N.a.*より幼虫の游出する時間的経過が長いことが認められた。

以上の所見から、培養温度を37°Cとすると、虫の出現は早いのが*A.d.*と*T.o.*では総数が少なくなるので検出率が低くなるおそれがあることより25°Cの方が好適であり、また、材料を低温におくとその程度によって出現する数が減少し、とくに、*N.a.*では*A.d.*や*T.o.*より低温に対する抵抗が弱いことが示された。

2. 塗布便量の検討 (第2表)

この実験は、濾紙面にぬる便量がどのくらいが最適であるかを知るため同一面積に異なる便量をぬって、幼虫出現状況を知らべたものである。ツピ=鉤虫卵を単独に保有する便をえらび、濾紙面の幅2cm、長さ8cmの範囲に0.1g、0.2g、0.4g、0.8g(第2回実験では1.6gを加う)の便をぬり、水3ccを加えて試験管に入れ、25°Cに保存して毎日その水を傾斜して他の管に移して虫の数をかぞえ新に水3ccを加えてまた25°Cに保管しつつ観察をつづけたものである。各実験とも、同じ条件のものを5本づつ作り、各管中の虫数を合計して表に示した。なお、本材料の1g中の虫卵数はStoll法ではかつたところEPG 133であった。

この結果、両実験とも0.1g、0.2g、0.4g、0.8gの順に便量の増加と共に出現幼虫総数の増加が見られたのは当然であるが、1.6gになると逆に0.8gより減少し、便量が多すぎると幼虫の発育率が低下することが認められた。また、一般に便量が少いほど発育が早く、短期間のうちに虫が浮出し、多くなるにつれて幼虫の発育がおそくその出現が長期間にわたることを認め

第 3 表 塗布面積による各培養日数毎の幼虫検出数

面積		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	10日	計
2 cm ²	幼虫数	0	0	1	3	0	1	0	0	0	5
	陽性本数	0	0	1	2	2	2	3	3	3	3/5
4 cm ²	幼虫数	0	0	0	4	1	1	0	3	1	7
	陽性本数	0	0	0	2	3	3	3	3	3	3/5
8 cm ²	幼虫数	0	0	0	7	0	8	26	14	6	61
	陽性本数	0	0	0	4	4	4	5	5	5	5/5
16 cm ²	幼虫数	0	0	4	8	1	5	4	13	2	35
	陽性本数	0	0	2	5	5	5	5	5	5	5/5

註. 各面積について上段の数字は観察日数に応じ新に游出した幼虫数, 下段はそのときの 5 本の試験管中の陽性本数の累積, ツビ=鉤虫を用い便量はいずれも 0.4g.

第 4 表 濾紙上の塗布部位による各培養日数毎の幼虫検出数

部 位		培 養 日 数									計
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	10日	
上 部	幼虫数	0	0	0	0	80	53	18	421	49	611
	陽性本数	0	0	0	0	(2)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
下 部	幼虫数	0	0	4	15	72	59	70	415	105	740
	陽性本数	0	0	(1)	(3)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)

註. 便量 0.4g, 各 5 本を同一条件で培養

た。

以上の成績から, 培養法により幼虫を検出するさいには濾紙面にぬる便量に至適範囲があつて, 量が少なれば虫卵数がそれに依じて少ないので, 出現幼虫数も少なくなるのは当然であるが多すぎても便層が厚くなって孵化, 発育の率が低下して成績がおちることが示された。しかも, 便量が多いと底の水が汚れる危険が多いので実用上には凡そ 0.5g 前後が至適と判断された。

3. 塗布面積の検討 (第 3 表)

さきの実験で便量と游出幼虫数との間には密接な関係があることが分つたので, 次に同一量の便を異なつた面積にひろげた場合の幼虫游出数の比較を行つた。0.4g の便をそれぞれ幅 2cm 長さ 16cm の濾紙の中央部を中心とし長さ 1cm (面積 2平方cm), 2cm (4平方cm), 4cm (8平方cm), 8cm (16平方cm) の範囲に塗布したものを各 5 本づつを作り, 各管に水 3cc を加えて口をポリエチレン片でかぶせ, 25°C に保存して 10 日間, 毎日 1 回づつアンキロスコープを用いて各管の幼虫游出の数及び 5 本のうちの陽性本数を記録した。なお, この材料はツビ=鉤虫を単独に保有せるものを用いた。

第 3 表は各観察日ごとに前回の観察後に新に出現した幼虫数と, それまでの累積陽性本数を示したもので, たとえば 2cm² の場合, 3 日後と 4 日後の間の 24 時間に 5 本の管中に合計して 3 匹の虫が新に現われたこと, 及び 4 日後に 5 本中 2 本に虫が陽性であり, 他の 3 本には虫

が検出されなかつたことを示している。

この成績をみると, 0.4g の便を 2 平方 cm, 4 平方 cm のように小面積に厚くぬつた場合には出現幼虫数がそれぞれ 5, 7 というように少なく, いずれも 5 本中 3 本しか陽性となつていない。これに反し 8 平方 cm の場合は 61, 16 平方 cm の場合には 35, 両者とも 5 本全部陽性というように広い面積にうすくぬつた場合には幼虫の発育と游出が良好であることが分つた。なお, 16 平方 cm より 8 平方 cm の方が幼虫数が多かつたのはおそらく前者の場合便をぬる範囲が広すぎて管底の水の近くまで便が達し, 水を汚染するに到つたため, このようにより便をひろげすぎても反つて成績がおちることが認められた。

4. 塗布部位の検討 (第 4 表)

濾紙に便をぬる場合, どの部位にぬるべきであるかは, これまで十分に検討されていなかった。そこで, ツビ=鉤虫卵を単独に保有する新鮮便をえらび, その 0.4g づつをとつて, 長さ 16cm の濾紙を長さ 4cm づつの 4 区域に分けたうち上から 2 番目の第 2 区 (上端より 4cm と 8cm の間), 及び第 3 区 (上端より 8cm と 12cm の間) にぬつて, これを管中に挿入し, 常法のように水 3cc を加えポリエチレン片のふたをして 25°C に保存し, 毎日その幼虫出現状況をアンキロスコープでしらべた。即ち, 第 2 区 (上位) のものは便を塗布した部位が底の水から少なくとも 6cm はなれており, 第 3 区のもののは約

第5表 水量の差による検出幼虫数の比較

水量	培養日数												計
	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	14日		
0.1cc	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.2cc	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	3	3
	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
0.5cc	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
1.0cc	0	0	0	0	0	2	3	12	2	4	0	33	33
	0	0	0	0	0	1	2	3	3	3	3	3	3
2.0cc	0	0	1	3	3	3	1	13	0	7	0	25	25
	0	0	1	3	3	3	4	5	5	5	5	5	5
4.0cc	0	0	5	4	3	11	13	32	4	5	0	77	77
	0	0	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
8.0cc	0	0	4	7	5	26	17	8	9	8	0	83	83
	0	0	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
16.0cc	0	0	6	14	8	8	1	1	5	4	3	63	63
	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

註. 各水量ごとの上段は幼虫游出数の累計, 下段は5本中の陽性本数の累計

2 cm しかはなれていない。両群とも5本づゝ用意し、ほゞ24時間おきに陽性本数及び幼虫出現数(5本の合計)を記録した成績が第4表である。

これをみると、10日間の幼虫游出数は上位のもので611、下位のもので740とあまり差はなく、また両群とも5本全部が陽性であつて、10日後の判定成績に差はなかつた。しかし、便材料を仕込んでから虫が現われるまでの月数は下位のものの方が短く、その初日は上位5日後、下位3日後であり、また5本とも全部陽性となる日数は上位6日後、下位5日後であつた。

この実験から、10日後に判定を行う場合、便を濾紙と上部にぬつても、下部にぬつても成績に差を認めないが、下部(水の近く)にぬれば幼虫の出現がやゝ早い傾向が見られた。しかし、その反面便が水面に近くまで達すると、水を汚染して判定に困難を来し、又幼虫の発育にも支障があることはすでに経験されていることで、やはり便の塗布部位も適当に水面よりはなすことが望ましいことを知つた。

5. 水量の検討(第5表)

試験管培養を行ふ際に、これに入れる水の量がどの位が適当であるかを知るためこの実験を行つた。原田らの原法では、試験管口を開放しておくために、水が蒸発してその成積も環境の湿度により著しく左右されるが、我々の培養法は管口にポリエチレン片を輪ゴムでとめて密封する為に、ほとんど水量に変化がなく、この実験も後

者の条件で行つた。

ツビニ鉤虫卵を単独に保有する材料をえらび、濾紙にぬる便量はすべて0.4gとし、これを同じ面積で同じ部位にぬり、濾紙を挿入して後に加える水量を0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0ccと8段階に分け、各5本づゝ作り、25°Cで14日間培養し、ほゞ毎日その成績(陽性本数及び幼虫出現数)を記録した。

その結果、0.1ccのものは濾紙と便が水を吸つて管底に水がなくなり、14日たつても1匹も幼虫は出現しなかつた。0.2ccのものも水がないのは同様であつたが、わずかに5本中2本、管底の水の中に入れて3匹の幼虫を検出したにすぎなかつた。0.5ccのものも0.2ccと同様管底に水はなく水滴中に5本の中1本幼虫が現われ陽性であつた他は4本とも水がなく陰性であつた。1ccの場合は前者とことなりわずかではあつたが管底に水が認められ5本のうち3本が陽性となつていた。2cc以上のものは5本とも陽性であつたが、幼虫出現数は2cc25, 4cc77, 8cc84, 16cc63というように、2ccより4cc以上の方が多数であつた。

しかし、4cc以上のものには虫数の差が認められず、しかも8cc及び16ccのものは水位が高すぎて濾紙上の便が水中にうずまり水が汚染して検査に支障を生じ、幼虫の発育も阻害され、その死滅を来す為になつた。又4ccの場合も5本中2本の水が染まり検査の上にならずかであるが支障を感じた。結局この条件では凡そ3

ccが至適と判定された。なお、水量の多い程、幼虫の出現期日が早かったのは、前の実験にもあるように、便と水の距離が短いためと考えられる。

ま と め

糞便の試験管培養法による集団検査は鉤虫類、毛様線虫、糞線虫などの検出に従前の直接塗抹検査法はもとより、浮游検査法よりもその成績が鋭敏であり、しかも虫卵検査では区別しえなかつたツビ=鉤虫やアメリカ鉤虫の判別さえ可能であるために、将来ひろく応用されるべき検査法と考える。

しかし、これまで試験管培養法を行うさいにどのような条件が最適であるかが充分に明らかにされていなかったため、筆者は色々な面から実験を試み、次のような成績を得た。

1. 温度：培養温度は25°C前後が至適である。37°Cにおいてはアメリカ鉤虫幼虫の出現はよいが、ツビ=鉤虫、毛様線虫は出現数が減少する。しかしいずれの種類においても温度の高いほどその所要培養日数は短縮されることが分つた。また15°C前後では幼虫の発育、游出が少く、9°Cではアメリカ鉤虫は発育せず、他の2種も成熟幼虫の出現が甚だ少く、4°C以下ではいずれも幼虫の游出をみない。なお、毛線虫は比較的低温に強いが、アメリカ鉤虫は4°C12日間で全滅し、従つて材料を培養期間中に低温におくこともよくない。

2. 便量：内径1.8 cm、長さ17 cmの中試験管を用い、長さ16 cm、幅2 cmの濾紙片に便を塗る場合、便量は0.5 g前後が至適である。これより少いと、幼虫の游出数がへつて検出率が悪くなるし、多すぎても便層が厚くなつて発育率が低下するうえに、便が流れて底の水を汚染し、検査に支障を来たすおそれがある。

3. 塗布面積：便を小面積に厚くやると、薄くぬつた場合に比べて成熟幼虫の発育率が低下する。しかし、あまり広範囲にぬつても、水中に便が入るおそれがある。従つて、現行のように濾紙の下を5 cmあけて、あとの約8 cmの長さの部位に適量(約0.5 g)の便をなるべくうすくひろげてぬるものがよいと思われる。

4. 塗布部位：便を濾紙の上半部にぬつても、下半部にぬつても、10日後の幼虫出現数には著変はないが、下半部の方が游出しはじめるまでの期間が短い、しかし、便層が水面に近いので、水の汚染を来たすので、少くも現行通り一端から5 cmくらいはなした方がよい。

5. 水量：試験管に加える水の量が少なすぎると、乾燥し、管底の水が少くなり、幼虫の游出数が減少する。

多すぎても便にふれて汚染されるのでよくない。3~4 ccくらいが至適である。

最後にあたりこの研究を指導された伝研寄生虫研究部の佐々助教授、御協力をえた林滋生、田中寛、三浦昭子前田繁らの諸氏に深謝する。

この研究を指導された伝研寄生虫研究部の佐々助教授、御協力をえた林滋生、田中寛、三浦昭子らの諸氏に深謝する。

文 献

- 1) 富士田猛(1951): 各種温度の鉤虫卵及び感染仔虫に及ぼす影響. 日本寄生虫学会記事, 70(26), 78-79.
- 2) 浜田彪(1953): ツビ=鉤虫感染仔虫の温度に対する抵抗力. 寄生虫学雑誌, 3(1), 76-77.
- 3) 原田義道(1953): 培養法並びに皮内反応による鉤虫症の診断. 臨床医学, 37(3), 1-5.
- 4) 飯島利彦(1953): 鉤虫卵の低温に対する抵抗. 寄生虫学雑誌, 2(1), 120.
- 5) 小宮義孝(1956): 集団検便, 集団駆虫指針. 金原堂出版社, 1-117.
- 6) 小宮義孝(1958): 鉤虫と鉤虫症. 積文堂出版株式会社.
- 7) 松崎義周(1956): 便の培養検査時における各種仔虫の鑑別. 臨床病理, 4(3), 119-205.
- 8) 佐々学・他(1957): 人体病害動物学, 医学書院.
- 9) 佐々学・他(1957): 九州, 北海道等の炭鉄従業員寄生虫相の比較研究, 第1報, 長距離輸送材料による塗抹, 浮游, 培養検便の併用法について. 第2報, 地域別の寄生虫相の差異について, 公衆衛生, 21(11), 19-27.
- 10) 佐々学・他(1958): 九州, 北海道等の炭鉄従業員寄生虫相の比較研究(第4報)試験管培養法による集団検便で見出された糞線虫保有者について. 公衆衛生, 22(7), 395-8.
- 11) 佐々学・他(1958): 新しい寄生虫集団検便法の実際別刷.
- 12) 杉山博・福田正道(1954): 糞便内寄生虫卵検査について(第2報)寄生虫学雑誌, 3(1), 36.

Summary

The test-tube cultivation method of fecal specimens for the detection of hookworm, *Trichostrongylus* and *Strongyloides* has recently been widely applied by us in the laboratory diagnosis of clinical cases as well as in parasitological surveys of local communities, as it is simple in its procedure, most sensitive in its results, and moreover, it allows us to differentiate *Necator* from *Ancylostoma*. The present study has been made to see the effects of various environmental conditions on the developments of larvae and to detect the optimum requirements for the test-tube cultivation.

1. Temperature: Among the temperature levels tested here, 25°C was found to be the best.

At 37°C, larval developments were fewer in *Ancylostoma* and in *Trichostrongylus* than at the optimum, though about the same in *Necator*. At temperatures lower than 15°C, the developments were almost or completely restrained. Among the three nematode species tested here, *Necator* seemed to be adapted to highest temperature levels and *Trichostrongylus* to the lowest.

2. Amount of fecal smear: In the standard fecal cultivation method of the author's laboratory, a filter paper strips of 15 cm long and 2 cm wide is inserted a test-tube of 17 cm long and 1.8 cm in diameter, with 3 cc of water in the bottom. The relationship between the specimens smeared on the paper and the number of larvae developed in the bottom-water was studied. The optimum amount was found to be some 0.5 g under this condition; in cases when less amounts of feces were smeared, the number of larvae decreased; if feces of more than 1 gram were applied on the paper, it resulted in the contamination of the water and also blocked their developments.

3. Area of fecal smear: When the smears were made too thick and the areas were too small, the larval developments were more or less prevented. The optimum area to be smeared on the filter

paper strip was about 8 cm long when 0.5 g of feces was applied.

4. Level of fecal smear: Smears of the same size were made on the upper, middle and lower portions of the filter paper strip. No essential differences were seen in the numbers of larvae developed by the level. The days required for the appearance of larvae in the bottom were shorter in tubes with the smears in lower levels or near the bottom. However, contaminations of the bottom-water were often seen when the smears were made too close to the water level. As the results, the present standard method of leaving about 5 cm from the bottom end of the paper unsmeared was found to be the choice.

5. Amount of water in the tube: Comparative studies on the effects of the amount of water on the larval developments were made in the range from 0.1 cc to 16 cc. In the tubes with less than 1 cc of water, no or only a few larvae developed, as they resulted in the dessication of the bottom-water. Maximum numbers were seen in tubes with more than 3 cc, though contaminations of the bottom-water were seen when too much water was added into the tubes. The optimum amount was found to be about 3 or 4 cc.

寄贈文献目録(14) つづき

583. 梅谷勇一(1958): 鉤虫 Carrier の循環器に関する研究 第1編 心電図に就いて. 千葉医学会雑誌, 33(5), 1033~1047.
584. 上田晋・山根積・松田鎮雄(1958): 山農村に於ける寄生虫の分布 III. 寺西小学校児童の検査成績, 広島医学, 11(10), 659~662.
585. 松田鎮雄(1958): 肛門検査法の研究 XIII. 続セロテープ法, 広島医学, 11(10), 656~658.
586. 春田孝正(1958): 鉤虫キャリアーに対する鉄剤投与の影響に関する研究 第1編 鉄剤投与のみによる尿内鉤虫卵の陰転について, 第2編 駆虫剤投与前後における鉄剤投与の尿内虫卵陰転に及ぼす影響について, 通信医学, 10(10), 854~863.
587. 春田孝正(1958): 鉤虫キャリアーに対する鉄剤投与の影響に関する研究. 第3編 駆虫前後における鉄剤投与の身体状況に及ぼす影響について, 通信医学, 10(13), 1149~1155.