

## *Trichomonas vaginalis* の二、三薬剤に対する 耐性増強について

岩 井 澄 雄

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室(主任 松林久吉教授)

(昭和 34 年 2 月 16 日受領)

### 緒 言

微生物の薬剤に対する耐性獲得と云う現象は秋葉(1952)によれば1907年に Ehrlich 門下の Frank & Roehl により *Trypanosoma* において発見されたものである。赤痢アメーバにおいても Harawani (1930), 平山(1934)等はその原虫がエメチンに対して耐性を獲得した事を報告している。

陸トリコモナス(以下 T.v. と略す)においてもこの現象は考へられ、又現実には臨床面ではこのことが問題とされている。

試験管内における T.v. の薬剤耐性の獲得の有無に就いて検討したのものには Adler 等(1952), 猪木ら(1954), 細谷ら(1955)及び三浦ら(1956)の報告があり、又臨床面から藤井等(1956)は Carbarsone-Hexestrol を使用した際の再発例において T.v. の耐性増強と云う事を示唆している。之に反し青河(1956)はトリコマイシンによる治療において年次の推移による感受性分布からは T.v. の同剤に対する抵抗性獲得の兆候を認めているが、分離部位別及び消虫に要する投薬回数別に分離した各株の間に感受性に差は無く、難治症例株でも同様の傾向であったと報告している。

著者の実験は抗トリコモナス乃至抗アメーバ作用を有するカルバミジン、塩酸エメチン、トリコマイシン、アクロマイシンの4種の薬剤を使用し之等に対する T.v. の耐性増強の有無を試験管内及び動物実験によって比較検討したものである。

### I. 試験管内実験

SUMIO IWAI: Experiments on acquirement of resistance to carbarsone, tetracycline, trichomycin and emetine hydrochloride in *Trichomonas vaginalis* (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo)

### 実験材料及び方法

使用培地はチステインブイヨン血清培地である。

供試 T.v. 株はトリコモナス陸炎患者の帯下からペニシリン及びストレプトマイシンを加えた上記培地で分離し、ペニシリンのみを加えて上記培地で200代以上継代した無菌のB株である。供試薬剤はカルバミジン末(三共), 塩酸エメチン注射液(40 mg/cc, 武田), アクロマイシン末(Lot No. 4761-103 武田), トリコマイシン末(L. 912, 3050u/mg 藤沢)の4種である。

薬剤を培地に添加するに当りカルバミジン以外は予め滅菌蒸留水で数段階の濃度に溶解し、この溶液の0.1ccを培地に添加した時に培地内で所要の濃度となる様に調製した。カルバミジンは蒸留水に不溶の為、培地成分として添加すべき人血清で所要濃度に溶解して培地に添加した。

又雑菌混入を防ぐ目的で培地にストレプトマイシン2 mg/cc, ペニシリン 20,000 u/cc を添加した。各薬剤溶液は力価の低減を恐れて実験直前に調製した。

各薬剤に就き数段階の濃度列の培地に原株の48時間培養虫体を移植し、各濃度列に就き48時間毎の継代を行い、原株の継代可能の最高濃度で10代迄継代しそれより漸次濃度を高めてどの濃度迄継代出来るかを見た。

又この継代実験成績に基づいて各濃度における継代前後の虫体の増殖状態を比較検討するため、各薬剤に就いて夫々一定数の虫体を移植し数日間増殖虫体数を血球計算盤で算定して、各濃度における継代後の耐性増強の有無を虫体の増殖曲線の上から検討した。

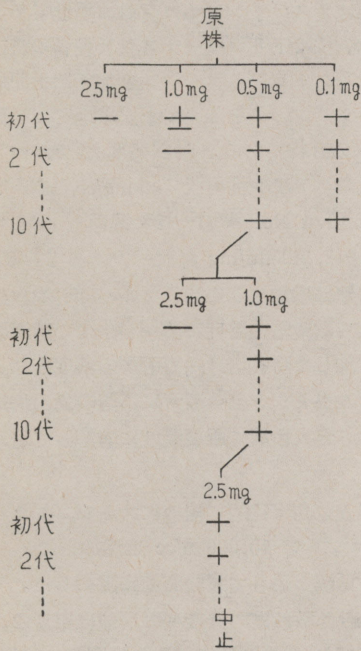
継代実験には各濃度において2本の培養基を使用し、増殖曲線を作る場合には、同一培地で毎日観察する事は培地の攪拌に伴う汚染や培養液の減少など種々の不都合があるので毎日計算後にはその培地は棄却する事にし一日3本宛の培地で計算してその平均値を以てその日の増

殖虫体数とした。

成績

カルバミジン—継代成績は第1図の如くである。原株の継代可能最高濃度は 0.5 mg/cc でその10代において 1.0 mg/cc に継代可能となり更にその10代において 2.5 mg/cc に継代可能となつた。

2.5 mg/cc での継代を途中で中止したのはこの濃度がカルバミジンのチステインブイオン血清培地での溶解限度でそれ以上の高濃度では薬剤は沈澱していい実験を続ける事は無意味と考えられたからである。



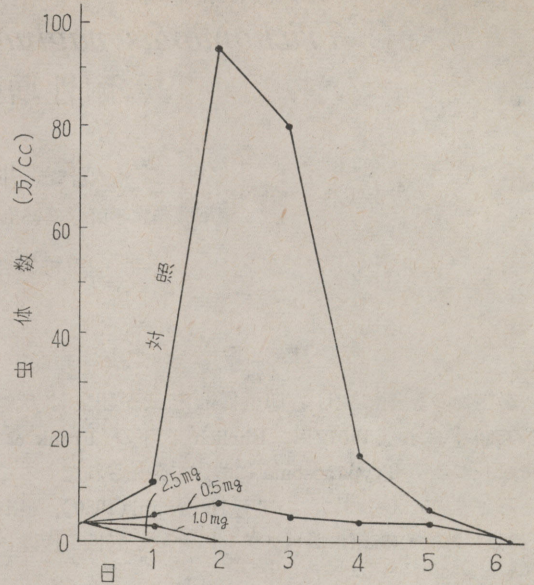
第1図 カルバミジン継代成績

原株の各濃度における増殖曲線は第2図に示す通りである。

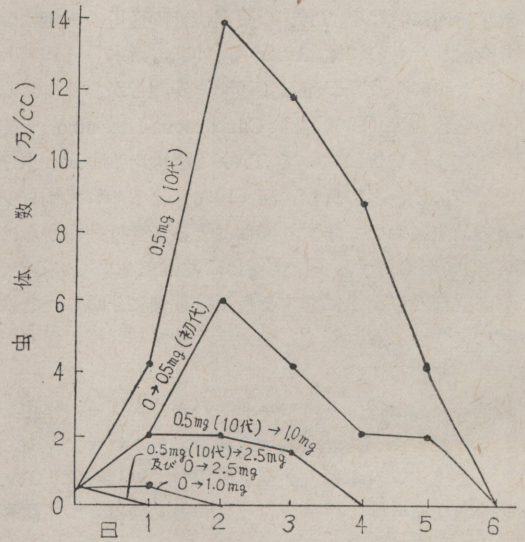
継代可能濃度である 0.5 mg/cc では対照に比して著しく増殖は抑制されてはいるが生存日数においては差がない。

1.0 mg/cc 及び 2.5 mg/cc では夫々48時間、24時間で虫体は死滅した。

0.5 mg/cc での継代前後の増殖曲線は第3図に示す如く、10代では初代よりも、曲線は上昇しており、1.0 mg/cc に移した場合の曲線も原株の同濃度における曲線よりも上昇し、且つ生存日数も延長している。



第2図 カルバミジン各濃度に於ける T.v. 増殖状態

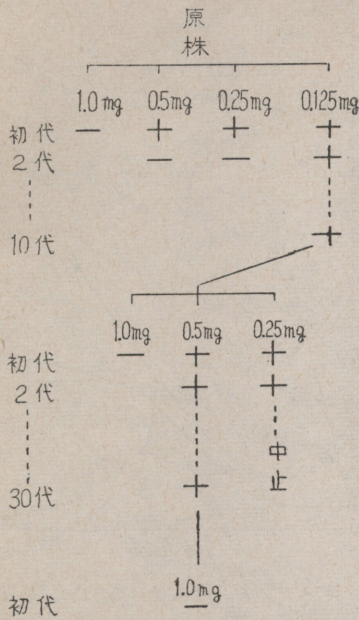


第3図 カルバミジン 0.5 mg/cc の濃度で継代した時の耐性増強状態

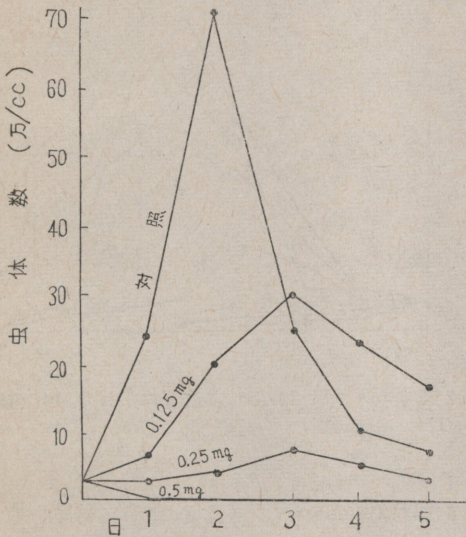
第4図は 1.0 mg/cc での継代前後の増殖曲線を示すもので10代においても初代より曲線は上昇し、且つ生存日数も延長している。

又 1.0 mg/cc より 2.5 mg/cc に移した場合も軽度乍



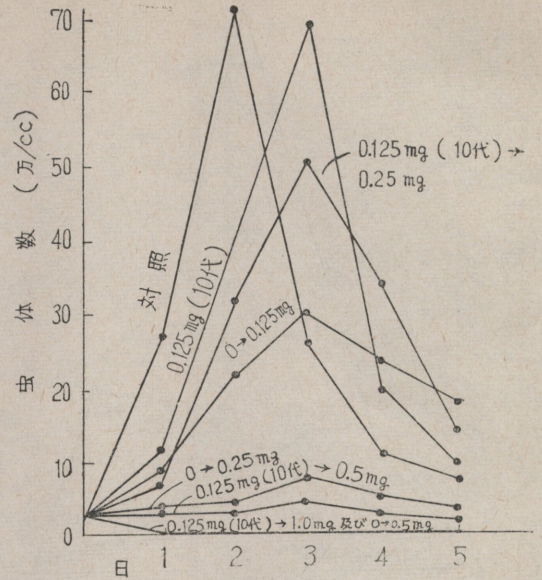


第8図 アクロマイシン継代成績



第9図 アクロマイシン各濃度に於ける T.v. 増殖状態

見ると第7図の如く、25 $\gamma$ /ccの10代は初代よりも曲線は低下し、又25 $\gamma$ /ccから50 $\gamma$ /ccに移した時の曲線及び25 $\gamma$ /ccから100 $\gamma$ /ccに移した時の曲線は全く上昇を示さず且つ原株の50 $\gamma$ /cc及び100 $\gamma$ /ccにおける曲線よりも



第10図 アクロマイシン 0.125 mg/cc の濃度で継代した時の耐性増強状態

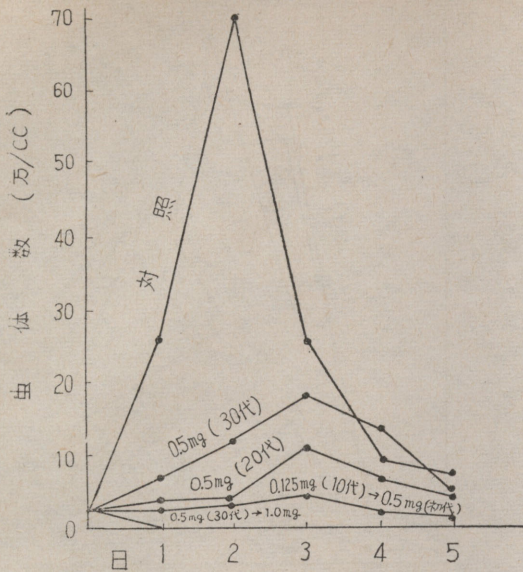
著しい低下を示している。

アクロマイシン—継代実験成績は第8図に示す如く、0.125mg/ccが原株の継代可能最高濃度であり、この濃度で10代継代後には4倍濃度の0.5mg/ccに継代可能となった。0.5mg/ccで継代して更に高濃度に移そうと努めたがその30代においても尚1.0mg/ccには継代し得なかつた。又0.125mg/ccより0.5mg/ccに継代し得たので0.25mg/ccでの継代は途中で中止した。

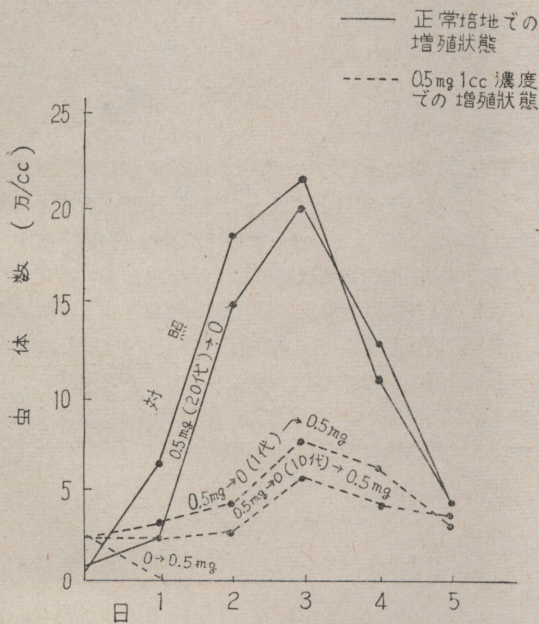
原株の各濃度における増殖曲線は第9図に示す通りである。原株継代可能最高濃度である0.125mg/ccにおいては曲線は可能りの上昇を示しているが、0.25mg/ccでは生存日数は0.125mg/ccと差はないが曲線の上昇は僅かしか認められない。0.5mg/ccでは虫体は24時間内に死滅した事を示している。

0.125 mg/ccでの継代前後の増殖曲線は第10図の如く、その10代では曲線は著明に上昇して対照と略々等しく、更に0.25mg/cc及び0.5mg/ccに移した場合の曲線は原株の夫々の濃度における曲線に比して上昇しており、0.5mg/ccでは生存日数も継代後においては著明に延長している。

0.5 mg/ccで30代迄継代した時の初代20代との増殖曲線を比較すると第11図の如く、曲線は次第に上昇しているが尚な対照に比してかなり低くその30代より1.0



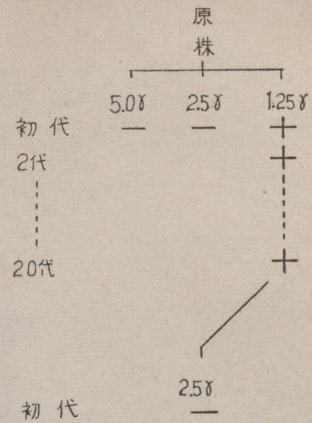
第11図 アクロマイシン 0.5 mg/cc の濃度で継代した時の耐性増強状態



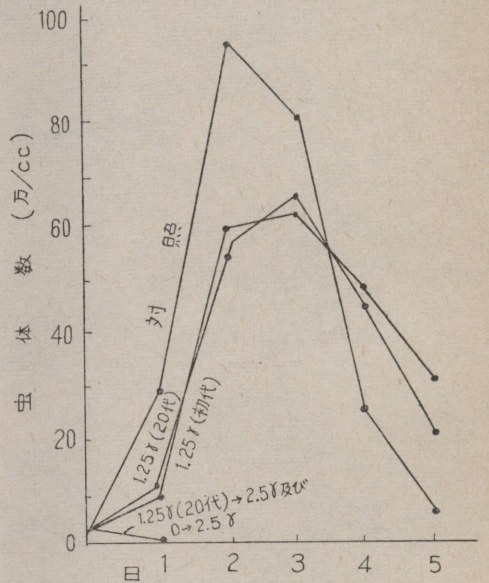
第12図 アクロマイシン耐性株を正常培地に戻した時の耐性復帰状態

mg/cc に移しても虫体は増殖せず24時間内に死滅した事を示している。

第12図はアクロマイシン 0.5 mg/cc の 20 代の 虫体を



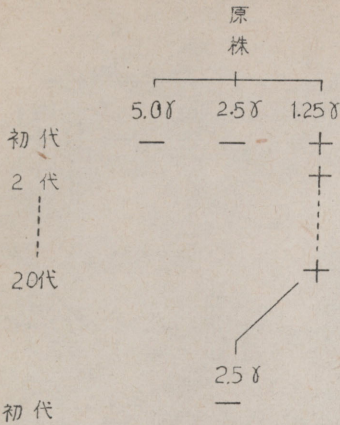
第13図 トリコマイシン継代成績



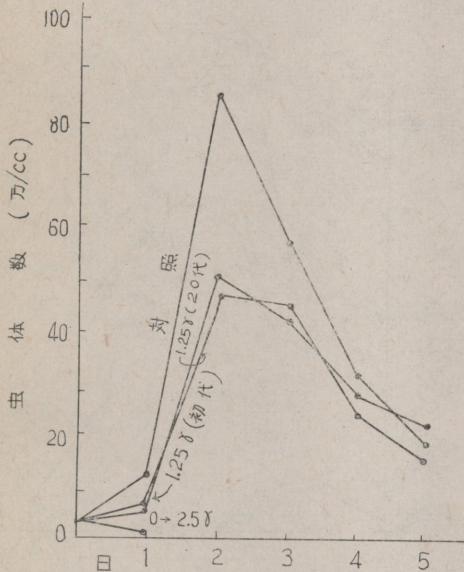
第14図 トリコマイシンに於ける T.v. 増殖状態

薬剤非添加の正常培地に戻して10代迄継代後再び 0.5 mg/cc に移して耐性が維持されているかどうか見たものである。図の如く耐性株を正常培地に戻すと虫体の増殖は対照と略同様であり、正常培地で10代継代後にも尚ほ 0.5 mg/cc に増殖し得る事を示している。

トリコマイシン——継代実験成績は第13図に示す如く、1.25γ/cc が原株の継代可能最高濃度であり、その濃度で20代迄継代したが 2.5γ/cc に継代出来なかつた。



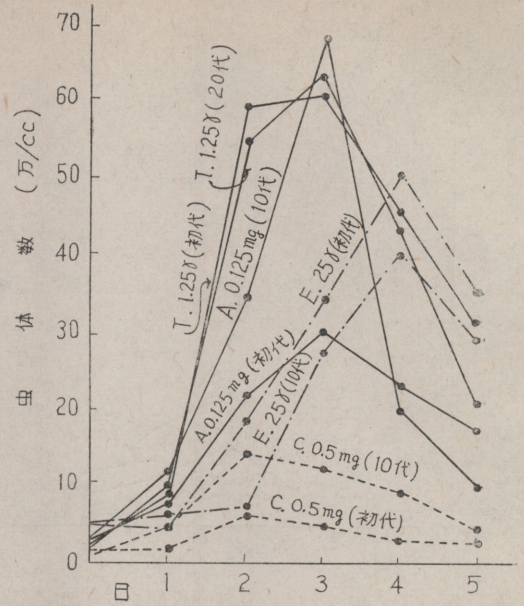
第15図 トリコマイシン難治症例株のトリコマイシン継代成績



第16図 トリコマイシン難治症例株のトリコマイシン各濃度に於ける増殖状態

1.25γ/ccにおける継代前後の増殖曲線は第14図の如く、初代と20代では殆んど差は認められない。又1.25γ/ccから2.5γ/ccに移した時も原株の2.5γ/ccの曲線と同様に24時間内に虫体は死滅した事を示している。

第15図はトリコマイシンに難治性の患者の腫より分離したH株に就いてトリコマイシンで継代実験を行った成績である。之によるとH株は1.25γ/ccが継代可能最高濃度であり20代より2.5γ/ccに移したが増殖不可能で



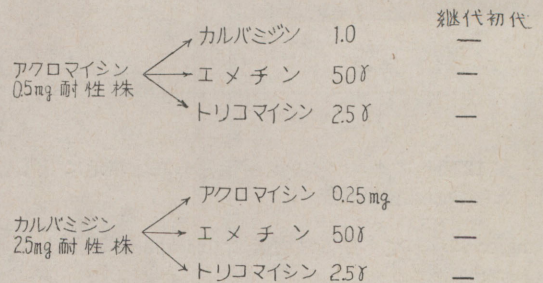
第17図 カルバミジン、エメチン、アクロマイシン、トリコマイシンに対するT.v.の耐性増強度の比較

C.—カルバミジン E.—エメチン  
A.—アクロマイシン T.—トリコマイシン

あつた。

H株の1.25γ/ccにおける継代前後の増殖曲線は第16図の如く、初代と20代とは殆んど差は認められなかつた。1.25γ/ccから2.5γ/ccに移した時の曲線も原株と同様に24時間内に虫体は死滅した事を示している。

以上の4剤に就き原株の継代可能最高濃度における継代前後の増殖曲線から夫々の薬剤の耐性増強度を比較すると第17図の如くである。即ちカルバミジン及びアクロマイシンでは明らかに耐性の増強が認められたが、エメチンでは継代後の方がむしろ増殖曲線は低下しており、



第18図 アクロマイシン、カルバミジンの交叉耐性

トリコマイシンでは継代前後で曲線に差は無く、従つてエメチン及びトリコマイシンでは耐性増強は認められなかつた。

第 18 図は継代実験で得られたアクロマイシンの 0.5 mg/cc 耐性株及びカルバミジンの 2.5 mg/cc 耐性株に就いて、両者の交叉耐性及びエメチン並にトリコマイシンに対する耐性の有無を示したものである。

図の如く、耐性株は夫々他の 3 剤の原株の継代不能最低濃度で継代出来ず、従つて交叉耐性は認められなかつた。

II. 動物実験

著者 (1957) は T.v. をマウスの皮下、筋内、腹腔内に接種するとそこに膿瘍を形成する事を報告した。

そこで本実験においては T.v. をマウスに感染させ同時に上記 4 薬剤溶液をそのマウスに注射して先づその効果を虫体の生存及び膿瘍形成の有無から判定し、更にその効果量以下を注射して形成した膿瘍から虫体を分離増殖せしめて再び新たなマウスに感染させ、その虫体が薬剤の初めの効果量に対して耐性を得たかどうかを知らんとした。併し本実験では各薬剤ともマウスに対する耐容量では T.v. の感染阻止的效果が認められず、この方法で耐性実験を行う事は失敗に終つた。

以下にその大要を述べる。

実験材料及び方法

T.v. のマウスへの接種方法は著者が先に発表した通りである。併し確実に膿瘍を形成せしめ得る事、細菌による汚染を受け難い事などから T.v. の接種部位は筋内とした。

接種虫体数は先の実験に基き  $50 \times 10^4$  とした。

薬剤溶液の注射は薬剤の高濃度のものを直接虫体に作用させる上からは筋内に行うのが望ましいのであるが、この部位では薬剤を繰り返して注射すると組織の損傷甚しく且つ細菌による汚染が起り効果の判定が困難となり又同じ部位とは云へ虫体接種部に確実に薬剤を注入する事も困難なので、薬剤は全て腹腔に注射した。

かくして T.v. 接種直後薬剤溶液を腹腔内に注射しその後は連日乃至隔日に 6 回乃至 3 回注射し 1 週後にマウスを屠殺し膿瘍形成の有無及び生虫体の有無から薬剤効果を判定した。薬剤溶液の作製はカルバミジンは 2% の滅菌重曹水で他は滅菌蒸留水で溶解し、その 0.5cc を注射した。

薬剤投与量は成績において表記する通りである。

マウスは各投与量に就き 5 匹宛使用した。

成績

カルバミジン——第 1 表の如く、最大耐容量たる 82.5 mg/kg を連日 6 回注射し生存マウス 3 匹において何れも膿瘍形成を認め、且つ生虫を検出した。

第 1 表 カルバミジン投与成績(連日 6 回)

投与量/kg	生存マウス数	生存マウスに於ける	
		膿瘍形成例	生虫検出例
330 mg	0/5	/	/
165 mg	0/5	/	/
82.5 mg	3/5	3/5	3/5
Control	5/5	5/5	5/5

塩酸エメチン——第 2 表の如く、最大耐容量たる 8.25 mg/kg を隔日 3 回注射し生存マウスは 2 匹で共に膿瘍形成を認め生虫を検出した。

第 2 表 塩酸エメチン投与成績(隔日 3 回)

投与量/kg	生存マウス数	生存マウスに於ける	
		膿瘍形成例	生虫検出例
33 mg	0/5	/	/
16.5 mg	0/5	/	/
8.25 mg	2/5	2/5	2/5
Control	5/5	5/5	5/5

アクロマイシン——第 3 表の如く、最大耐容量たる 330mg/kg を連日 6 回注射し生存した 2 例は共に膿瘍を形成し生虫を検出した。165mg/kg 82.5mg/kg を注射した例では夫々 4 匹、5 匹が生存し全例において膿瘍形成を認め生虫を検出した。

第 3 表 アクロマイシン投与成績(連日 6 回)

投与量/kg	生存マウス数	生存マウスに於ける	
		膿瘍形成例	生虫検出例
660 mg	0/5	/	/
330 mg	2/5	2/5	2/5
165 mg	4/5	4/5	4/5
82.5 mg	5/5	5/5	5/5
Control	5/5	5/5	5/5

トリコマイシン——第 4 表の如く、連日 6 回投与群では最大耐容量たる 2.5mg/kg を注射し 1 匹が生存したが膿瘍形成を認め生虫を検出した。隔日 3 回投与群では最大耐容量たる 5 mg/kg を注射し生存マウスは 4 匹で

第4表 トリコマイシン投与成績

投与量/kg	連日6回投与群			隔日3回投与群		
	生存マウス数	生存マウスに於ける		生存マウス数	生存マウスに於ける	
		膿瘍形成例	生虫検出例		膿瘍形成例	生虫検出例
10 mg	0/5	/	/	0/5	/	/
5 mg	0/5	/	/	4/5	4/5	4/5
2.5 mg	1/5	1/5	1/5	5/5	5/5	5/5
Control	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

何れも膿瘍を形成し生虫を検出した。

### 総括並に考按

Adler 等 (1952) は培養 *T.v.* を用いて試験管内で薬剤に対して耐性を獲得させ得たと報告している。初め彼等は 4,4'-diamidino stilbene に就てその 70,000 倍濃度に *T.v.* を移植し漸増的に濃度を高めて遂に 5,000 倍濃度にも発育せしめる事が出来た。更に彼等は一種のアルカロイドである Colchicine に就いても同様の実験を行い最初 16,000 倍濃度に移植し次第に高濃度に移して 26 カ月後に 600 倍濃度に耐性を獲得せしめた。又 Colchicine 耐性株の耐性の維持を見る為に 3,000 倍, 2,000 倍, 1,600 倍, 1,300 倍濃度に耐性を得た株を 4 カ月～9 カ月間 Colchicine を含まぬ培地で継代後再び夫々の濃度に移した所全て充分正常な培養を得たと云っている。

最近細谷等 (1955) 及び三浦等 (1956) はトリコマイシンに対する *T.v.* の耐性を実験的に見たが互に反する報告をしている。

即ち細谷等はトリコマイシン添加培地で 30 代 (60 日間) 継代したがその虫体は原株に比して耐性を得ず、又トリコマイシン感受性は常に 0.31～0.62 mg/cc の低濃度で完全に殺滅的に作用したと云っている。

之に反して三浦等は 0.37 cc で 10 代数継代後 4 倍の濃度迄耐性を獲得せしめ得たが、この耐性株は薬剤を含まぬ培地で代数継代した結果、初代発育許容濃度の 0.37 cc 迄復させる事は出来なかつた。又この耐性株はオレオマイシン、フラバシッド、カルバミジン、サルバルサン、アクチノマイシン等に対して交又耐性を示さなかつたと云っている。

猪木等 (1954) はカルバミジン他数種薬剤の効力判定の一つとして虫体の増殖抑制濃度で継代しその間の虫体の増殖状態によって効力の有無を決めると共に同濃度で継

代した際の耐性の発現状態を知らんとした。この実験ではカルバミジンにおいては発育抑制限界濃度たる 5,000 倍濃度では継代の最高は 3 代迄であり 10,000 倍濃度では 25 代迄も継代出来た例がありその実験においては他の薬剤と同様に耐性の発現を明確にし得なかつたと云っている。

本実験においては原株の継代成績と各濃度における増殖曲線とから薬剤の有効濃度を判定し、この濃度より高濃度で継代出来、且つ継代後の増殖曲線が継代前より上昇している事を以て耐性を獲得したと判定した。

之によるとカルバミジンでは 1.0 mg/cc が最低有効濃度と考へられ 2.5 mg/cc に迄継代可能となり増殖曲線からも虫体の増殖は認められたので、原株の継代可能濃度 0.5 mg/cc に対して 5 倍の耐性を獲得した。

猪木等がカルバミジンに就て耐性の発現を認め得なかつたのは薬剤の効力判定を重視し耐性獲得に関しては同濃度だけで継代を行い低濃度から次第に高濃度へ移すと云う方法を採らなかつたためと増殖状態を明確に追求しなかつた事によるものであろう。

次に塩酸エメチンに対する耐性実験であるが、之は赤痢アメーバに主として使用せられ従つて赤痢アメーバに対する耐性獲得に関して数氏の報告がある。

即ち Dobell 及び Laidlaw (1926) は 5 万分の 1 の濃度で 1 カ月継代し時々高濃度にアメーバを移したが一度も生育せず結局耐性株を作り得なかつた。千葉 (1928) は 5 万分の 1 の濃度で 10 代継代し高濃度に移植したが増殖しなかつた。St. John (1933) は 40 万分の 1 の濃度で 47 日間培養し之を 10 万分の 1 の濃度に移植したが 4 回移植して絶えた。Halawani (1930) は 40 万分の 1 の濃度 (死滅最小濃度 8 万～2 万分の 1) から始め次第に濃度を上げて途中で弱つて来ると一度低濃度に移してから又高濃度に上げると云う様にして 5 カ月後に 1 万分の 1 の濃度迄耐性を獲得させ得た。平山 (1934) は 10 万倍濃度から始めて 4 万乃至 3 万倍濃度でも生育せしめ得た。又松林 (1947) によれば Bonnin & Aretas はエメチン濃度の低い培地から次第に高濃度にアメーバを馴らし、初めには生育し得なかつた高濃度に生育せしめ得たが、この株をエメチンを含みぬ培地で継代すると 10 代後にもエメチンに対する耐性は残留したと云う。

以上の如く赤痢アメーバにおいてはエメチンに対する耐性の獲得は全面的に認められてはいないが、耐性を獲得したと云う報告においても容易、且つ高度に獲得し得るものではない様である。



T.v. においては本実験では耐性の獲得は認められなかつたが、Halawani の如く虫体が弱つたら低濃度に移してから又高濃度に上げると云う様な方法をとらず、同濃度でのみ継代を続けた事、又 25  $\gamma$ /cc と云う濃度では原株の継代濃度として高すぎたかも知れぬ事などが考えられ尚ほこれ等の点に関して今後の検討を要するものである。

アクロマイシンでは 0.125 mg/cc から始めて4倍の 0.5mg/cc迄耐性を獲得せしめ得たが、0.5mg/cc 30代迄の継代では継代を重ねるにつれて増殖曲線は漸次上昇しておる事から見て更に継代を続ければより高濃度に耐性を得させ得る事が期待出来る。又この 0.5mg/cc 耐性株をアクロマイシンを含みぬ培地に移すと増殖曲線は一度も薬剤と接触した事のない株と余り差は無く従つてアクロマイシン依存の如き傾向は認められなかつた。更に感受性からも普通培地で10代継代後においても 0.5 mg/cc に対して耐性を維持している事が証明された。

トリコマイシンでは1.25 $\gamma$ /ccから始めたがその20代からより高濃度には耐性を獲得せしめ得なかつた。1.25  $\gamma$ /cc の初代と20代では増殖曲線において殆んど差が無い事からこの薬剤は耐性を獲得させ難いものと考えられる。この成績は薬剤の作用濃度には差があるが細谷等 (1955) の報告と略一致する。併し前述の如く三浦等 (1956) はトリコマイシンに対する耐性獲得に成功したと報告しているが、之は細谷等の報告と相反するものであり被検株の異なる事が一応その原因と考えられる。併し之に就いては青河 (1957) は分離諸株の感受性分布を調べてその抗原虫スペクトラムが両者の被検株の範囲に一致する事から両者の異見が株以外による事が想定されると云っている。

著者の成績をも併せて耐性獲得に相反する成績が得られる事が株以外にあるとすれば、使用薬剤に何らかの相異があるのかも知らぬがこの点を解明するには数多くの株に就き又 Lot number の異なる多くの薬剤に就き検討する必要があると思われる。

又一例ではあるがトリコマイシン難治性患者の腔分泌物より分離した株と同様の実験を行った成績は B 株と全く同様であり、之は青河の報告と一致するものである。この成績から臨床的にトリコマイシン療法に抵抗する症例では腔内でトリコマイシンの濃度が急速に低下し与えた濃度の薬剤が T.v. に接触しないものと考えられよう。

秋葉 (1952) は細菌における薬剤耐性獲得の難易は薬

剤の種類により異なるし、細菌に比して変異率の低いスピロヘータや原虫類は耐性を得難いと云っている通り、本実験において T.v. の耐性獲得は細菌の如く容易且つ高度ではないが、薬剤の種類によつては明らかに耐性を獲得し得るものである。

著者 (未発表) は之等 4 剤の T.v. の脱水素酵素系に及ぼす影響を比較した所、アクロマイシンとカルバミジンとはその系を阻害する事を認めたが、両者の耐性株相互間及び夫々他の 3 剤の間に交叉耐性を認めなかつた事から 4 剤は作用機序を異にするものであろう。

秋葉 (1952)、小酒井 (1955)、水野 (1955) 等によれば細菌における薬剤耐性獲得の機序は単なる適応によるものではなく、増殖中に遺伝子に突然変異を起して耐性の菌が生じ、薬剤は単に感性菌を抑制し耐性菌のみを増殖せしめると云う選択作用を営むに過ぎぬと云う自然突然変異説と、薬剤が菌体に直接作用して遺伝子の変異を誘発する作用を有すると云う誘導変異説とが行われているが今日未だ何れとも決定していない様である。

本実験において単に T.v. が耐性を獲得するか否かを検討したものであり耐性獲得の機序に就いては今後の検討を待たねばならぬ。

マウスにおいて耐性を獲得せしめんとした実験では前述の如く失敗に終つたが、永田 (1954) も T. foetus をマウス腹腔に接種しトリコマイシンを皮注した所、マウスの耐容量以上の薬剤を注射しても T.f. は尚生存していた事を報告している。

以上の如く動物実験では遺傳乍ら耐性獲得を証明し得なかつたが、耐性獲得の支配的因子は薬剤と微生物との関係にあるものであり、試験管内で薬剤の種類により耐性を獲得し得る事を証明した事は T.v. の治療に際し、又再発の問題を論ずる場合に耐性と云う事も一応念頭に置くべきである。

## 結 論

培養 T.v. を使用してカルバミジン、塩酸エメチン、アクロマイシン、トリコマイシンに対する耐性獲得の有無を比較検討した。

- 1) カルバミジンに対しては 0.5 mg/cc から始めて 2.5mg/cc 迄耐性を獲得せしめ得た。
- 2) 塩酸エメチンに対しては 25 $\gamma$ /cc で10代継代後50  $\gamma$ /cc に移植継代したが 8代で絶え耐性は獲得せしめ得なかつた。
- 3) アクロマイシンに対しては 0.125mg/cc から始め

て 0.5mg/cc 迄耐性を獲得せしめ得たが更に高濃度に耐性を増強し得る事が期待された。又 0.5mg/cc 耐性株は薬剤との接触を絶つても耐性を維持し得る事を認めた。

4) トリコマイシンに対しては 0.125  $\gamma$ /cc で 20 代継代後もそれより高濃度に上げ得ず耐性獲得は認められなかつた。

又トリコマイシン難治性患者よりの分離株においてもその感受性は全く同様であつた。

5) カルバミジン及びアクロマイシンの耐性株においては両者間及び夫々他の 3 剤間において交叉耐性は認められなかつた。

6) マウスに T.v. を感染せしめて上記 4 剤に対し耐性を獲得せしめんとしたが、各薬剤ともマウスの耐容量注射では T.v. 感染を防止し得ず耐性獲得を証明する事は出来なかつた。

本論文の要旨は昭和 32 年 9 月第 17 回日本寄生虫学会東日本支部大会に於て発表した。

摺筆するに当り御指導御校閲を賜つた松林久吉教授並に浅見敬三助教授に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) Adler, S., Back, A., S adovsky, A. (1952) : Acquired Resistance to Colchicine in a strain of *Trichomonas vaginalis*, Nature, 170, 930-931. —
- 2) 秋葉朝一郎 (1952) : 化学療法に於ける細菌の耐性—細菌の薬剤耐性の獲得及び復帰の機作, 医学のあゆみ, 13, 250-271. —
- 3) 青河寛次 (1957) : トリコマイシンによる Trichomoniasis の系統的治療, 日産婦誌, 9, 1117-1125. —
- 4) 千葉英一 (1928) : 培養赤痢アメーバに対する二, 三治療剤の作用に就て, 朝鮮医誌, 92, 735-745. —
- 5) Dobell, C., & Laidlow, P. P. (1926) : The action of ipecacuanha alkaloids on *Entamoeba histolytica* and some other entozoic amoebae in culture, 18, 203-206, Parasit., —
- 6) 藤井久四郎・八尾十三・片山初雄 (1956) トリコモナス膣炎の治療経験, 臨産婦, 10, 419-422. —
- 7) Harawani, A. (1930) : Experimental study on the resistance of *Entamoeba histolytica* to emetine hydrochloride *in vitro*, Ann. Trop. Med. & parasitol., 24, 273-288. —
- 8) 平山茂樹 (1934) : 人体腸管アメーバの統計的観察並にその型態学的研究, 福岡医誌, 27, 719-832. —
- 9) 細谷省吾・中沢昭三 (1955) : トリコマイシンに対する *Trichomonas vaginalis* の耐性に就いて, The Journal of Antibiotics, ser. B, 8, 92-93. —
- 10) 猪木正三・中林敏夫 (1954) : 二, 三薬剤の膣トリコモナスに対する効力実験, 綜合臨床, 3, 1413-1416. —
- 11) 岩井澄雄 (1957) : 膣ト

リコモナスの小動物接種実験, 寄生虫学雑誌, 6, 136-144. —
- 12) 岩井澄雄 (未発表) : 数種薬剤の *Trichomonas vaginalis* のメチレン青脱色能に及ぼす影響. —
- 13) 小酒井望 (1955) : 耐性菌, 医学の動向, 第 1 集, 抗生物質の半面, 73-101, 金原出版株式会社, 東京. —
- 14) 松林久吉 (1947) : 赤痢アメーバ, 東西出版社, 東京. —
- 15) 三浦正大・武田正美・矢島高明 (1956) : 膣トリコモナス症の治療法の検討, 特に膣トリコモナスの各種薬剤に対する耐性獲得と頸管粘液に対する態度, 日産婦誌, 8, 208. —
- 16) 水野伝一 (1955) : 細菌の生理, 共立出版株式会社, 東京. —
- 17) 永田二郎 (1954) : 膣トリコモナスの培養に関する研究, 岐阜医大紀要, 2, 167-170. —
- 18) St. John, J. H. (1933) : The effect of emetine on *Entamoeba histolytica* in culture, Amer. Jour. Hyg., 18, 414-432.

## Summary

The author attempted to make bacteria-free strains of *Trichomonas vaginalis* resistant to some therapeutic remedies, such as emetine hydrochloride, trichomycin, tetracycline and carbarsone. The strains used were isolated from *trichomonas vaginalis* and maintained serially through cysteine-bouillon-serum medium & more than two hundred subcultures. Each remedy was added in adequate concentrations into the media in which 2 mg/cc of streptomycin and 2000U/cc of penicillin were contained in order to prevent bacterial contaminations. The evaluation of the growth of the organism in remedy containing media was made in two points, namely the establishment of serial transplantation and the growth curve under the rem-concentrations tested.

Initially the maximum concentration which permitted the growth of the strains was determined. After the maintenance on this concentration for the passages, the strain was transferred into the higher concentrations. The same procedure was repeated until the highest concentration under which the strain could acquire resistance. In every subculture, population was calculated by hemocytometer in order to obtain growth curve.

In case of carbarsone, initially the strain tolerated the concentration of 0.5 mg/cc, and after the passages it acquired the resistance in concentrations of 2.5 mg/cc. However, further experiments could not be performed because carbarsone could not be dissolved in higher concentrations. In emetine hydrochloride, initial concentration tolerated was 2.5  $\gamma$ /cc, and the strain did not acquire any resistance. In tetracycline, the strain initially tolerated the concentration of 0.125 mg/cc and finally 0.5 mg/cc, however, it was expected to obtain resistance in

higher concentrations. The resistance once acquired was maintained after ten passages in tetracycline-free media. The initial maximum concentration of trichomycin was 0.125  $\gamma$ /cc, and no resistance could be acquired in higher concentrations. One strain which was isolated from the

case of vaginal trichomoniasis resistant to trichomycin treatment did not show any difference from the normal strains in resistance to trichomycin. The acquired resistance to carbarsone and tetracycline was not in common with each other and also with the other two remedies.