

肺吸虫 *Paragonimus westermani* の生物学的研究

(2) 肺吸虫被囊幼虫の抵抗に就いて

津田 守道

千葉大学医学部医動物学教室 (指導 横川宗雄教授)

(昭和34年7月2日受領)

特別掲載

緒言

最近横川(宗)(1955~1957)らの肺吸虫症皮内反応の発表以来、各地で集団検査が実施され、その結果本症の意外に広汎なる分布並びに風土病的蔓延状況が逐次明らかにせられるに至つた。

それと同時に肺結核症との混同が意外に多く、又脳肺吸虫症についても改めて認識せられる様になつた。従つて本症流行地にあつては、其の感染予防対策は頗る重要視せらるるに至つた。ところが本症の感染予防に対し、もつとも重要な手がかりとなるべき肺吸虫被囊幼虫の抵抗に就いては、つとに安藤(1915)、中川(1916)横川(定)(1919)、小林(1921)等、最近に至り大島(1956)、下野(1957)等の報告があるとは云へ、何れも断片的なもので、系統的な研究は殆んどなされて居ない。

著者はさきにモクスガニ体内における肺吸虫被囊幼虫の新蒐集法及び本法による体内分布状態に就いて報告したが、本篇では、此の方法に依つて分離採集した多数のメタセルカリアに就いて、物理化学的作用に対する抵抗を検査し、2~3の興味ある知見を得たので以下に報告する。

実験材料及び実験方法

1. 実験材料

実験に用いたウエステルマン肺吸虫被囊幼虫は、静岡県、宮崎県、愛媛県産のモクスガニ体内から肉挽器により分離採集したもの、及び蟹体内に寄生の儘のものである。実験に当つては分離採集した被囊幼虫は可及的に分離直後のものを用いることにしたが、一部のものは分離

後保存液*中に浸漬氷室中に冷蔵したものをを用いた。尚之等の被囊幼虫は実験直前に解剖顕微鏡下で、虫体が固有の色素を有し、明らかに其の運動の認められたもののみを撰択した。又被囊表面に附着した筋肉残渣等は水洗、或は解剖針により完全に之を取り除き、夾雑物による検査成績の不正確さを極力避け、正確を期した。

2. メタセルカリアの使用数

各検査項目に就き、10箇宛のメタセルカリアを使用した。尚横川(定)(1919)等によればメタセルカリアは蟹体内への感染後の経過日数に依り、其の大いさ、被囊壁の厚さ、滲透性等にかかなりの差があり、従つて外開の理化学的害作用に対して、それぞれ抵抗力を異にすると報告せられて居る。そこで著者は実験に供するメタセルカリアについては、その大いさ、虫体の色素の状態等出来るだけ近似のものを選択することに努力した。

3. 検査項目

温度(高温、低温)、乾燥に対する抵抗、水中、湿潤における生存日数、調味料(醬油、ソース、食塩、食酢、重曹)、消毒剤(アルコール、昇汞、クレゾール、石炭酸)酸(塩酸、硫酸、硝酸、氷醋酸)などの他ホルマリン、アンチフォルミンに対する抵抗を検査した。

4. 検査方法及び観察方法

以上の検査項目について、短時間にその成績の判定し得る検査にあつては、ブロックシャーレ内にて解剖顕微鏡下刻々に変化する被囊及び虫体の形態的变化、着色、色素の変化、虫体の濁濁、崩解等を直接観察し、実験経過の長時間、長時日を要する場合は、小試験管内に用意

* 保存液

	NaCl	1.2	動物生理の実験(名大教授山中時男)昭和24.9 一河出書房
ザリガニ等張液	KCl	0.04	
	CaCl ₂	0.04	
	Aq	100.0	

本液に保存するときは4°Cでは少くとも一カ月以上は感染可能な状態で保存される。

MORIMICHI TSUDA: Biological studies on *Paragonimus westermani* (2) On the resistance of the metacercariae of *Paragonimus westermani* (Department of Parasitology, School of Medicine, Chiba University)

された溶液中にメタセルカリアを浸漬し、その際管内溶液の水分蒸発による濃度の変化、或は夾雑物の混入等を防止するため、密栓を施し、実験目的に従い、之を室温に放置、或は氷室、冷蔵庫等に入れ、観察日時は夫々の項目に依り適宜設定した。

実験結果判定の為のメタセルカリアの生死の鑑別は、被囊内虫体の運動停止、及び、溷濁を解剖顕微鏡下に直接観察した。大部分の検査では単なる解剖顕微鏡検査で充分メタセルカリアの生死の判別に役立つが、一部の検査では、之のみにては生死の判別の困難なる場合に遭遇した。即ち例へば、薬液浸漬後或る時間後には虫体は運動を停止したが、虫体の溷濁が全く認められない場合があった。かかる場合には先づ、最初に顕微鏡下(×400)にカバーガラスをかけ観察した。之のみにて微細な虫体の運動を認めることもあり、或は腸管内の内容物の移動を認めることもあった。この際メタセルカリアを傷付けない程度にカバーガラスを圧する時は、虫体は往々にして運動を開始した。又この外メタセルカリアを単に清水に移して観察すると、被囊内の虫体は暫時の後に運動する場合が屢々あった。或は清水に移した後に40°C前後に加温するときは、もし生存して居れば活潑なる運動を開始するのが認められた。加温しても尚運動の認められない場合は、pH 8.4のタイロド液に浸漬39°Cの孵卵器中に6~10時間入れ脱囊試験を行うことにしたが、脱囊検査を必要としたものは殆んどなかった。

実験成績

1. メタセルカリアの温度に対する抵抗

中川(1918)、及び下野(1957)等に依ればカ=を55°C 20分煮れば体内メタセルカリアは総て死滅すると報告した。又横川(宗)(1955)等は自然状態に近い幼虫を得る為、pH 8.4のタイロド液にメタセルカリアを浸漬し、39°Cの孵卵器中に6~10時間入れて脱囊せしめ、又大島(1956)は温度に依るメタセルカリアの脱囊は45°C迄とし、50°Cになれば脱囊も早いが直ちに死滅すると報じて居る。

そこで著者はメタセルカリアの高温に対する抵抗に就いて、一応45°Cの線に断面を設定し、之より以上の温度、45°C、50°C、60°C、70°C、100°Cに就いて検査した。低温については0°C~2°C、-10°C~-13°C、-40°C、に対する検査を行つた。即ち、中シャーレ内にブロックシャーレを入れ、ブロックシャーレ内には所定温度の水を入れた。又別に予め所定の温度に温められた水の中シャ

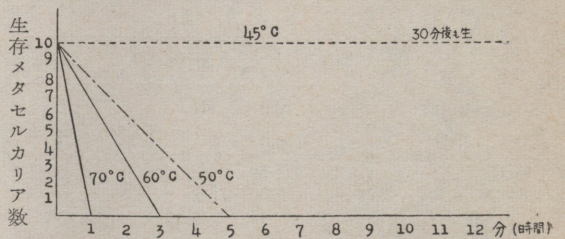
ーレ内に注加した。その高さはブロックシャーレの約1/5とした。暫時の後にメタセルカリアをブロックシャーレ内に投入、之を解剖顕微鏡下に置き観察した。

温度を一定に保つために別に熱湯を用意し中シャーレ内に入れた温度計の指示に従い之を注加した。熱湯注加の際は、出来るだけブロックシャーレより離れた場所を選び少量宛攪拌しながら注加した。即ち45°C、50°C、60°C、70°C、に作用させた結果は次の通りであつた。

45°Cの場合5分、10分、15分、20分、30分作用させたが、浸漬後暫時の後に被囊内の虫体は何れも猛烈なる運動を開始し、其の状況は恰も苦悶様で瞬時も運動を停止することはなかつた。30分後も死滅するものはなく、活潑なる運動が見られた。尚15分以後になると一部のものは被囊を破つて虫体は一部顔を出す、完全に脱囊するには至らなかつた。之を後に脱囊試験を実施した結果は、10時間後の成績では何れもその85%は脱囊した。然しこれらの脱囊した幼虫の飼育成績では3日目迄に全部死滅した。50°Cには1分、3分、5分と作用させた。1分、及び3分の場合は被囊内の虫体は活潑に運動し死には至らなかつた。後の脱囊検査でも夫々8匹、6匹が脱囊した。5分作用させると、遂には虫体は運動を停止して了ふが、未だ溷濁するには至らない。爾後の脱囊検査の結果では何れもが脱囊せず虫体は溷濁して居た。

60°Cには3分作用させたが、既に運動を停止し、脱囊検査は不成功で、虫体は溷濁して居た。

70°Cには1分作用させたが、一部のものは被囊が破裂して内容脱出し、その他のものも内容溷濁した(第1図)。



第1図 メタセルカリアの高温に対する抵抗

メタセルカリアを保存液に浸漬して氷室(0°C~2°C)に入れた場合は長期に亘り生存可能で、4ヶ月後も尚感染可能であつた。又下野(1957)等は0°C~2°Cにて毎水を取り替へた場合は60日に至るも死滅するものはないと報告して居る。

著者はメタセルカリアを-10°C~-13°Cの deepfreezer

に入れて検査したが、6時間後の成績では試験管内の水は凍結して居たが、之を室温に放置融解後は虫体は明らかに運動した。脱囊試験では3箇の脱囊を見た。而し2日、及び3日作用させたものは、虫体は何れも溷濁し、3日目のものは内容脱出するものが多かった。

之を-40°Cの冷蔵庫に入れ30分後に取り出した成績では、管内溶液は凍結し、虫体は既に溷濁して居た。60分後のものも同様であつた。

以上は遊離メタセルカリアの実験成績であるが、之を蟹体内寄生の儘のメタセルカリアに就いて検査した成績は下記の通りであつた。

水を入れた洗面器をヒーターにかけ、その中に温度計を入れ予め50°C、70°C、100°Cに温めて置き、その中に蟹を投入、それぞれ30分、5分、1分、と作用させた後に取り出して検査した。

50°C30分の場合、鰓は9箇のメタセルカリアの中3箇は被囊のみを認めたと、脱囊か内容脱出かは不明であつた。残りの6箇は溷濁して居た。脚内のものは5箇共に溷濁し、胴の筋肉内のものは、15箇中被囊のみ9箇、6箇は溷濁して居た。

70°C5分後の成績では鰓にはメタセルカリアを検出出来ず、脚には2箇の被囊のみのものと、1箇の溷濁したメタセルカリアを認め、胴には5箇の被囊のみと3箇の溷濁メタセルカリアを検出した。

100°C1分の場合、蟹の甲殻は既に赤変した。鰓には

第1表 メタセルカリアの高温に対する抵抗

温 度	時 間	鰓		胴		脚	
		被囊*のみ	溷濁	被囊*のみ	溷濁	被囊*のみ	溷濁
50°C	30分	3	6	9	6		5
70°C	5分			5	3	2	1
100°C	1分		2	3	7		4

* 虫体脱出後の空囊 (蟹体内寄生の儘)

2箇、脚には4箇の溷濁メタセルカリアを認め、胴には3箇の被囊のみと7箇の溷濁メタセルカリアを検出した(第1表)。

次に蟹の甲殻を外し、鰓内にメタセルカリアの寄生あるもののみを選別し、鰓及び内臓を除去した後に、氷室(0.°C~2°C)内に入れ一定期間後之を取り出して検査した。下野(1957)等の報告によれば、常温の場合は14日迄は鰓、筋肉共に全部生存、21日目には鰓内の極く一部は生存し、筋肉内のものは全部死滅し、30日目では腐敗の為に検査不能と云はれて居る。著者の例では22日目には2匹のモクスガニから3箇のメタセルカリアを検出し、何れも生、23日目には1匹の蟹から13箇、24日目には2匹の蟹から10箇のメタセルカリアを検出、30日目のものでは3箇生、45日目のものは5匹の蟹から全々検出出来ず、52日目に1箇、65日目は7匹全部が陰性であつた。(第2表)

第2表 0°~2°Cに於ける筋肉内寄生メタセルカリアの生存日数

区 分	検査蟹数	陽性蟹数	メタセルカリア数
22日	2	2	3
23日	1	1	13
24日	2	2	10
29日	2	1	3
36日	5	3	14
45日	5	0	0
52日	10	1	1
65日	7	0	0

2. メタセルカリアの水中における生存日数:

下野(1957)等の報告ではメタセルカリアを普通水中において毎日水を取替へた場合20日で $\frac{1}{3}$ 生40日で $\frac{1}{3}$ 生、50日で全部死滅したと云はれているが、著者はメタセルカリア10箇を小試験管に入れ、ガーゼ二枚を重ねて蓋をして紐でしばり、大なる野外の貯水槽に入れた。その貯水槽は僅か乍ら水道水が入る様になつて居る。貯水槽の

第3表 水中、湿潤中に於けるメタセルカリアの生存日数

区 分	日 数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17日
		水 中	3月	10	10	10	10	10	9	7	4	4	0					
	9月	10	10	10	1	0												
湿 潤	9月	10	10	10	10	10	10	8	8	8	8	7	7	6	5	3	3	0

水はガーゼを通して試験管内の水と交流する様にした。春季と夏季の 2 回に同一の実験を行つたが、夏季に行つたものではメタセルカリアは意外に早く死滅した。即ち 2 日目には貯水槽内のゾーリ虫や菌藻類が試験管内に混入し、3 日目迄は全部生であつたが、4 日目には 9 箇溷濁し、一部は内容脱出したものがあつた。5 日目には残り全部も死滅した (9 月)。然るに春季 3 月の実験ではこれよりやや長く 10 日目に至り全部死滅した。水温は夏季は 20°C 前後、春季は 10°C 前後で、殆んど 10°C 以下であつた (第 3 表)。

3. 湿潤に対する抵抗

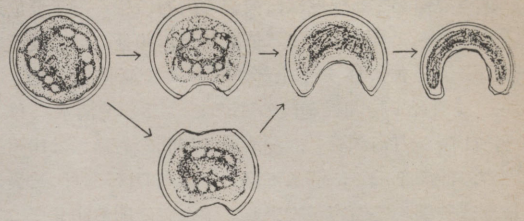
中シャーレ内に水を入れ、脱脂綿をその中に浸し、その上に適当な大きさの濾紙を置き、更に黒い紙を置きメタセルカリアをのせた。水は濾紙を漸く没し加減に入れて、中シャーレの蓋つをし、毎日湿潤の程度を観察し、時々水を注加した。その結果は 7 日目に 2 箇溷濁し、11 日目に 1 箇、17 日目には残り全部が溷濁した。検査期日は 9 月下旬より 10 月上旬であつた。この場合先の水中に浸漬した実験より長い期間生存して居た (第 3 表)。

4. 乾燥に対するメタセルカリアの抵抗

毛細管ピペットにてブロックシャーレ内にメタセルカリアを 10 箇入れた後、これを解剖顕微鏡下に運び、ピペットで大部分の水分を除去した後、濾紙にて残りの水分を吸出した。かゝる操作を施すと、殆んど水分は除外せられ、ブロックシャーレ内にはメタセルカリアのみとなる。かかる状態においては 3~4 分後には、メタセルカリア同志が接触する面、或はブロックシャーレとの接面が陥没し始め、5 分後には被囊内の虫体は運動を停止し、被囊は益々陥没を深めて、遂には全く空気の抜けたゴム球の様な形となる。即ち第 2 図の如く水分除去後 8 分にして碗状となつた。かかる状態となつたものに水道水を注加すると、2~3 分で被囊は全部元の球形に復帰したが、その時は既に虫体は溷濁して居た。7 分を経過すると早いものは被囊が破れて内容が脱出し始めた。内容脱出孔は乾燥開始時に陥没し始めた部分と一致して居た。尚一部のメタセルカリアでは接触面と反対の側が僅かに陥没したものを認めたが、接触面程の深い切痕にはならなかつた (第 2 図)。

5. 食塩水中におけるメタセルカリアの生存日数

10 箇宛のメタセルカリアを 0.4%, 0.85%, 1.0%, 3.0%, 5.0% の食塩水に浸漬してその生存日数を調査した。季節は 9~11 月であり、食塩水は交換せず、容器は密栓して水分蒸発による濃度の変化を避け、室温に



第 2 図 乾燥に対するメタセルカリアの態度 (殊に被囊の状態)

放置して観察し、死滅せるものはその都度除去した。

0.4% の食塩水では 3 日目、8 日目、に各 1 箇のメタセルカリアが自然脱囊して盛んに運動して居た。23 日目に至り初めて 1 箇のメタセルカリアが溷濁し、30 日、35 日、45 日目に各 1 箇宛溷濁死滅し、60 日目に 4 箇残つたが、何れも固有色素を有し、明らかに運動が認められた。

0.85% の場合 37 日目に初めて 1 箇溷濁したが、60 日目に至るも残り 9 箇は生存して居た。其の間に自然脱囊したものはなかつた。

1% の場合 20 日、22 日、26 日、28 日、に各 1 箇宛溷濁し、60 日目には半数の 5 箇が生存して居た。この場合も自然脱囊はなかつた。

3% の場合には 7 日目に 1 箇、10 日目に 2 箇、11 日目に 3 箇、12 日目に残り 4 箇も全部溷濁死滅した。

5% の場合には第 1 日目の終りに既に 6 箇、第 2 日目には残り全部が死滅した。

6. メタセルカリアの醬油に対する抵抗

原液、30%、20%、に対する抵抗を調べた。使用した醬油はキッコーマン醬油であつた。

メタセルカリアを醬油原液に浸漬すると約 30 秒でメタセルカリアの被囊の一部は陥没したが、その程度は囊の乾燥の時と異り、ゴム球の空気の僅かに抜けた程度であり、10 分後も陥没の程度は変化しなかつた。醬油原液の為に着色強く、内容の状態は判然としなが、運動は浸漬後間もなく停止し、10 分後そのメタセルカリアを清水に移したが、全部内容は溷濁して居た。清水に移して 5 分後には被囊は破れて内容は脱出した。

30% の醬油に浸漬した場合、浸漬後 2~7 分の間に運動停止し、被囊内の虫体は漸次縮小し、虫体の表面が凹凸不平になつた様に見える。浸漬後 10 分にして清水に移すと、7 分経過後に 5 箇は運動を開始し、8 分にして 3 箇、10 分にして残り 2 箇も運動を開始した。

虫体の縮小する程度は、被囊の内容の殆んど半分位迄の様に見えた。同様方法に依り20分、30分、迄の浸漬ではその後清水に移すと全部が間もなく運動を開始したが、浸漬後1時間経過後のものではその後清水に移すと、1箇が内容濁濁し、浸漬後2時間のものでは10箇共内容の濁濁を示し、清水に移して暫次の後には、被囊の一部は破裂して内容が脱出して了つた。即ち30分迄は生存して居るが、1時間から2時間迄に全部死滅した。

20%醤油にメタセルカリアを浸漬して密栓し室温に放置した。その結果2日目迄は全部生存し、3日目に1箇は自然脱囊して盛んに運動して居た。更に5日目には3箇自然脱囊し、その他3箇は既に虫体濁濁し、6日目で残り3箇も全部濁濁して了つた。即ち醤油の中では、原液の場合は10分以内に死滅し、30%では2時間以内に全部死滅し、20%では長いものでは5日目迄生存して居たが、其の間半数近く自然脱囊した。脱囊したものは盛んに運動して居た。

7. メタセルカリアのソースに対する抵抗

原液及び30%液で検査した。その結果は下記の通りである。

メタセルカリアをソース原液に浸漬すると、早いものは2分後に被囊内の虫体は縮小し始めるが、全部が縮小し終るには6分を要した、その間に運動を停止するが、被囊の陥凹は認められなかつた。10分後にメタセルカリアを取出し清水に移すと、縮小した虫体は膨化して来るが、既に濁濁を認め、運動するものはなく、やがて被囊の一部は破れて内容の脱出を見るに至つた。その状態は先の醤油原液の場合と変りなかつた。

30%のソースにメタセルカリアを浸漬すると、7分頃から虫体は縮小し始める、これも醤油30%の場合と同様であるが、20分、30分、1時間、3時間、浸漬後清水に移すと全部運動を開始した。之を密栓を施して観察すると、8日後に全部死滅したが、其の間に、3日目1箇、6日目に2箇、自然脱囊して盛んに運動して居た。丁度ソース30%に対するメタセルカリアの態度は、20%醤油に対するそれに相当した。

8. メタセルカリアの食酢に対する抵抗

原液、50%、30%、20%、10%、溶液を使用した。

原液及び50%液の場合もメタセルカリアの態度は同様であつた。即ち3分で運動は停止して了つて濁濁を開始した。5分後に清水に移しても運動するものは皆無であつた。

30%の場合は緩慢なる運動を続けたが、5分後には運

動は認められなくなつた。14分後には1箇が濁濁し、24分後清水に移すと残りのものは運動を開始した。6時間後も清水に移すと同様に運動を開始したが、12時間後には更に1箇濁濁し、24時間後には全部死滅した。

20%の場合も6時間迄の観察では凡て生存して居たが、12時間後から少数のものは濁濁し始め、24時間後には全部死滅した。

10%の食酢にメタセルカリアを浸漬すると2日目には半数が濁濁し、3日目には残り全部が死滅した。

9. 重曹に対するメタセルカリアの抵抗

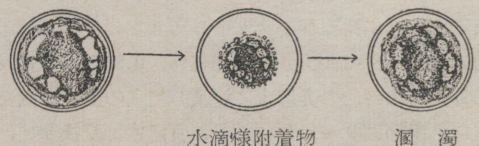
5%、3%、1%、0.5%、に対して検査した。重曹に対しては比較的抵抗が強い様に思はれる。即ち5%の重曹水中ではメタセルカリアは1週間は凡て生存して居た。3%のものでは15日目に4箇が濁濁し、20日目迄に全部が死滅したが、1%になると更に長く生存し、30日後に漸く6箇濁濁したが、0.5%になると30日に至るも死滅したものは1箇も認められなかつた。之等の検査はすべて室温において、容器は密栓して行はれた。尚経過観察途上において自然脱囊したものは1箇も認められなかつた。

10. アルコールに対するメタセルカリアの抵抗

メタセルカリアを70%アルコールに浸漬した場合、1分にして虫体は運動を停止し、3分にして虫体は濁濁し始めた。その後虫体、被囊共に膨化し始め、7分にして1箇、11分にして残り全部が内容脱出して了つた。

50%アルコールに浸漬するとメタセルカリアは、1~2分で運動を停止し、70%アルコールでは認められなかつたが、被囊内の虫体はやや縮小し、虫体の表面に恰も発汗した様な水滴(?)粒が附着して来た。之の水滴様附着物は虫体外から附着したものか、或は虫体内部から滲出して来たものかは不明であつた。その時間は50%アルコールに浸漬後1~3分であつた。その後虫体は膨化し始め30分にして被囊の一部は破れて内容が脱出した(第3図)。

70%、50%アルコール共に虫体の濁濁は、浸漬後3~5分であつた。



第3図 50%アルコールに対するメタセルカリアの態度

30%, 15%, 5%, のアルコールに浸漬した場合, 先づ30%のものでは2日目に, 15%のものでは3日目に, 5%のものでは5日目に全部が溷濁したが, 5%のアルコールの場合その溷濁は虫体の一部にのみ限局し, 未だ全体には溷濁は波及して居なかつた。

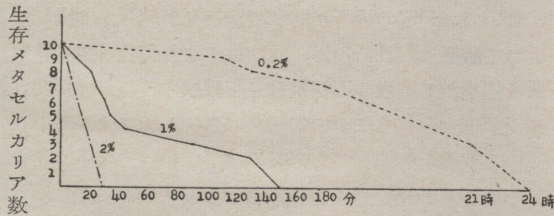
11. 塩酸に対するメタセルカリアの抵抗

0.2%, 1%, 2%液で検査した。

0.2%塩酸の場合メタセルカリアは種々なる態度をとつた。即ち浸漬後最も早いものでは2時間後に運動を停止したのものがあつた, 3時間後は3箇が溷濁したが, 遅いものでは24時間後に始めて運動を停止し, 虫体は運動停止後は間もなく溷濁して了つた。即ち2時間から24時間の間に全部が死滅した。

1%塩酸にメタセルカリアを浸漬した場合早いものは10分にて運動を停止し, 30分後には3箇, 150分迄に全部のメタセルカリアが運動を停止した。虫体の溷濁は運動停止後1~2分後に認められた。1%の塩酸の場合もメタセルカリアの死滅時間には10分~150分と其の抵抗力にかなりの差が認められた。

2%の塩酸にメタセルカリアを浸漬すると, 早いものは5分, 遅いものでも26分後にはすべてのメタセルカリアは運動を停止して, 其の後間もなく溷濁した(第4図)。



第4図 塩酸に対するメタセルカリアの抵抗

12. 硝酸に対するメタセルカリアの抵抗

4%, 2%, 1%, 0.2%溶液で検査した。

4%の硝酸に浸漬した場合早いものは1分, 遅いものでも7分後には溷濁した。此の場合メタセルカリアの固有の赤味が漸次失はれつつ褐色に変化した。

2%の場合も早いものは3分, 遅いものは30分後に溷濁した。其の状態は4%の場合と同様であつた。

然るに1%の溶液になると生存時間は急に延長して, 検査当日に死滅するものはなく, 2日目に5箇, 3日目に3箇, 4日目に至り残り2箇が溷濁死滅した。

0.2%の溶液になると3日目迄は全く変化なく4日目

に至り急に7箇, 5日目に残り3箇も溷濁死滅した。

13. 硫酸に対するメタセルカリアの抵抗

2%, 1%, 0.2%の溶液に就いて検査した。2%の溶液に浸漬すると, 早いものは約半数が3分にて運動を停止したが, 遅いものは68分, を要した。運動停止後は直ちに溷濁を開始した。

然るに1%液では検査当日溷濁するものはなく, 2日目に6箇, 3日目に2箇, 4日目に1箇, 5日目に至り全部死滅した。

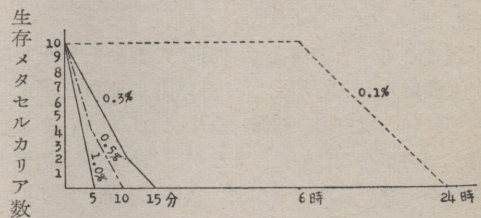
0.2%の場合には3日目迄変化なく4日目に5箇, 5日目に3箇, 6日目に残り2箇も溷濁した。

14. 石炭酸に対するメタセルカリアの抵抗

0.3%, 0.1%にて検査した。

0.3%石炭酸にメタセルカリアを浸漬すると, 2分後に既に運動を停止するのものが見られ, 7分後には大半が溷濁し, 15分で全部が溷濁して了つた。

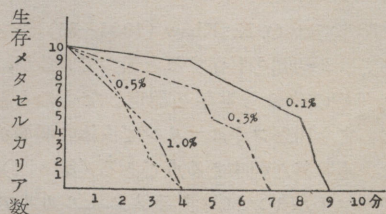
0.1%石炭酸溶液の場合早いものは5分で運動を停止し, 遅いものでも15分後に運動を停止するが, 之を清水に移す時は再び運動を開始するのが認められた。4時間浸漬のものも清水中に移すと再び運動を開始し, 6時間以上浸漬のものに始めて溷濁するものが出現し, 20時間後には全部死滅して了つた(第5図)。



第5図 石炭酸に対するメタセルカリアの抵抗

15. 昇汞に対するメタセルカリアの抵抗

1%, 0.5%液では殆んど同様の結果であつた。4分以内に全部溷濁した。0.1%, 0.3%の場合も10分以内に溷濁死滅した(第6図)。



第6図 昇汞に対するメタセルカリアの抵抗

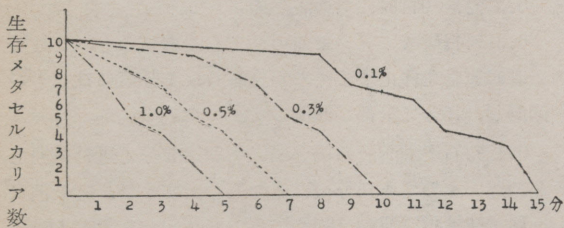
16. クレゾールに対するメタセルカリアの抵抗

1%, 0.5%, 0.3%, 0.1%液で検査した。

1%クレゾール液にメタセルカリアを浸漬すると1~3分後に運動を停止し、4~5分後には内容濁濁してつた。次いで膨化し始め遂には内容が脱出した。

0.5%クレゾール液にメタセルカリアを浸漬すると1~3分で運動を停止し、10~15分で内容は混濁してつた。

0.3%, 0.1%クレゾール液の場合、0.3%ならば5分以内に運動を停止し、0.1%ならば10分以内に何れも運動を停止して、その後間もなく濁濁してつた(第7図)。



第7図 クレゾールに対するメタセルカリアの抵抗

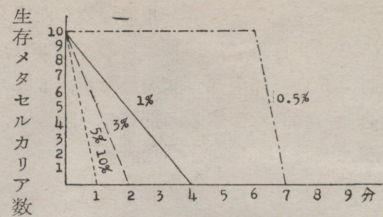
17. フォルマリンに対するメタセルカリアの抵抗

0.5%, 1.0%, 3.0%, 5.0%, 10.0%溶液について検査した。

最低濃度の0.5%の場合は7分にて運動を停止したが、最高濃度の10%の場合は1分以内に運動を停止した。然るに其の後虫体の濁濁は全く認められず、あたかも生存して居るものの如くであるが、これを清水に移すも運動は全く認められなかつた。虫体は被囊一杯に拡がった様に見え、之を加温するも運動は全く認められない。之を1週間後及び4週間後に再び検査するも、虫体の赤味がかつた色素はやや褪色したかの感があるが、濁濁は依然として認められず、外観からは生死の判定に迷う程であつた。然し脱囊検査に依るも脱囊するものは全くなかつたので、此の場合は運動停止と同時に死滅したものと考へざるを得なかつた。

この点に関しては O. K. Khaw (1934—35) がフォルマリン10%では2週間も生存すると云つて居るが、恐らく氏はこの外観のみから生存と認定したものと思はれる。何れにしても10%フォルマリンで虫体の濁濁が全く認められない点は甚だ興味ある点である(第8図)。

18. アンチフォルミンに対するメタセルカリアの抵抗



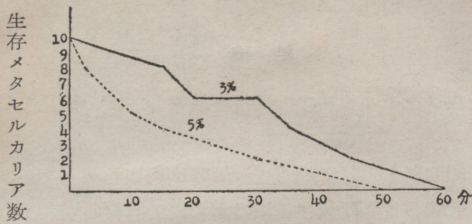
第8図 フォルマリンに対するメタセルカリアの抵抗

3%, 5%のアンチホルミンを使用した。メタセルカリアを3.0%のアンチフォルミン溶液中に浸漬すると、早いものでは15分後に運動を停止するが、遅いものでは60分を要した。運動停止後の虫体は間もなく濁濁した。其の後に被囊の一部が破壊せられたが、早いものでは浸漬後47分、遅いものでも117分で被囊の一部が破壊せられた。死滅した虫体は破壊孔が大きい為に自然脱囊の場合と違って容易に脱出してつた。死滅虫体脱出後の被囊は3時間後には完全に溶解してつた。即ちアンチフォルミンは被囊を溶解するが、3%液の場合虫体死滅に至る時間的経過には15~60分の差があり、又被囊の一部に破壊孔を造製する迄には47~117分の差があつたが、一旦死滅虫体の脱出した後の被囊を完全に溶解してつたこの時間は殆んど一定であつた。

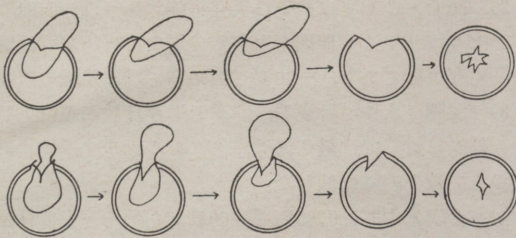
死滅虫体の破壊孔は一定の場所があるのか否かは全く不明で、二箇所が破れることはなかつた。自然脱囊機転において、一定の場所があつて、それが何らかの機転によつて破壊せられるのか、或は虫体より特殊の酵素様物質を排出して被囊の不定部分を破壊するのかの疑問は未だ解明せられるに至つて居ないがアンチフォルミンを用いて被囊を溶解しても、其の場所が特定の場所か否かは不明であつた。尚内容脱出の状態は第10図の如し。

5%アンチフォルミン溶液にメタセルカリアを浸漬した場合、早いものは浸漬後間もなく運動を停止したが、遅いものは50分後に運動停止を認めた。

被囊は浸漬後早いものは2分でその被囊の一部が破壊せられ、死滅虫体は脱出した。5%アンチフォルミンの場合3%溶液の場合と異り、虫体の運動停止後間もなく被囊の一部が破壊せられて死滅虫体は脱出したが、死滅虫体脱出後の残つた被囊を完全に溶解するには5分を要し、それ以上の時間を要しなかつた。即ち一旦破壊せられた被囊は5分以内に完全に溶解せられてつたのに反し、虫体を内蔵する被囊は抵抗力に非常な差を有して居た(第9図)。



第 9 図 アンチフォルミンに対するメタセルカリアの抵抗



第 10 図 アンチフォルミンによる被囊の破壊孔

19. 石鹼に対するメタセルカリアの抵抗

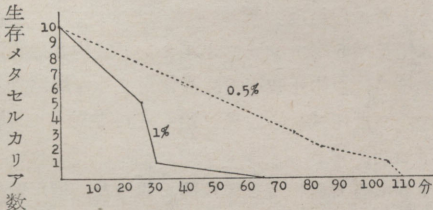
1%, 0.5%の粉石鹼溶液を用いた。

1%の場合、早いものは30分で運動を停止し間もなく溷濁したが、遅いものは63分後に始めて運動を停止した。この際虫体は表面が膨化した様な様相を示して、その輪郭がぼやけた様な感を逞した虫体は被囊内にて伸び切つて中央附近から二つ折にした様な形態を示した(第11図)。



第 11 図 石鹼に対するメタセルカリアの態度

0.5%の場合には半数は53分迄に運動を停止したが、遅いものは110分後に始めて運動を停止し、その後虫体は間もなく溷濁して30分後には内容の脱出を見た(第12図)。



第 12 図 石鹼に対するメタセルカリアの抵抗

考 察

種々の物理化学的作用に対するメタセルカリアの抵抗力に関し報告したが、同一の条件にあつても或る種の薬剤に対してはその個体差がかなり著しい場合が見られたが、これは恐らくメタセルカリアの成熟度と関係がある様に思はれる。これ迄の諸家の報告の如く温度に対しては、50°C以上では、メタセルカリアに直接作用した場合は、短時間内に死滅し、又筋肉内にあるものでも50°C30分間で殆んど死滅することが明らかとなつた。45°Cでは30分作用させても、直接死に至ることはないが、その後の飼育実験では3日以内にすべて死滅する、ところが40°Cでは長時間作用させても殆んど死滅することはないので、メタセルカリアは高い温度に対してかなり敏感であると考えられる。然し低温の場合2°C~5°Cでは最も長期間生存し、-10°C~-13°Cで6時間位の凍結では容易に死なないことが判つた。従つて肺吸虫感染予防の点からは、モクスガニを食する場合、或は実験室内でのメタセルカリア処理も70°C以上の高温により処理することがもつとも望ましいと考へられる。

次に水中に遊離したメタセルカリアは、夏季では5日以内、春季でも10日以内に死滅するが、湿潤の状態におく時は、水中に浸漬した場合よりもむしろ長く生存することが明らかとなつた。その理由については尚明らかではないが、肺吸虫感染予防上注目すべき点であると思はれる。尚乾燥に対しては極めて弱いことも重要な所見である。尚モクスガニが死亡しても、0°C~2°Cの低温に保存するときは筋肉内のメタセルカリアは、約1ヶ月間は生存して居ることが明らかとなつた。このことは、本種メタセルカリアを実験研究のために使用する際にその保存上有益な所見である。

0.4~0.85%の食塩水中及び、0.5~1.0%重曹水中ではメタセルカリアは非常に長く生存し得ることが明らかとなつたが、このことは大島(1954)が報告して居る様に、本種メタセルカリアは環境メジウムの滲透圧に極めて敏感である事を示して居ると思はれる。

調味料については、醤油、ソース、共にメタセルカリアは同じ様な態度を示し、又食酢に対する態度も他の調味料と同様な結果であつて、家庭にて普通使用する濃度では、メタセルカリアは死滅することはないと思はれるので、カニの醤油漬或はその他の調理による生食は危険である。

消毒液としては、50%アルコール溶液では虫体は特殊

な態度をとり間もなく死滅するが石炭酸に対して0.1%の濃度では容易に死滅しなかつた。昇汞では0.1%の濃度では10分以内に死滅した。クレゾールは0.3%の濃度では5分以内に死滅した。従つて消毒の目的には昇汞、クレゾールを用いることがよく、石炭酸の場合には普通に用いられる濃度より高い濃度を用いることが要求せられる。

強酸に対してはその濃度によつて種々なる態度を示すと共に、塩酸に対しては最も弱く、次いで硝酸、硫酸の順であつたが、一般に酸に対しては非常に強い態度を示す傾向が見られた。人体正常胃における遊離塩酸は、0.15~0.2%であるとして居るが、この実験の結果からも、メタセルカリアがたとへ胃内に2時間以上停滞したとしても、遊離塩酸の為には死滅しないことが明らかである。食物の胃内滞留時間はペンツオールド湯川氏胃内食物滞留時間表に依ると、肉汁、米飯、半熟卵等は2時間以内に胃内を通過する、蟹に比較的近いと思はれる鰻の天婦羅は3~4時間にて胃内を通過するから、例へ蟹の筋肉内寄生のメタセルカリアを食しても、メタセルカリアは胃内遊離塩酸の障害を被らない様に思はれる。

実験的にも動物に本種メタセルカリアを経口的に与へた場合は、30分乃至1時間ですでに小腸内で脱囊し、腸壁を穿通して腹腔に出現することが明らかにされて居る。

フォルマリアに対してはメタセルカリアは死滅後も全然変色せず、特有な色素顆粒もその儘であり、顕微鏡下における内部構造の観察では生死の判別は困難であつた。従つてメタセルカリアの生死の判定には形態的变化の観察のみでは不十分で、諸種の刺激に対する生活反応を観察する必要がある。Khaw (1934) が10%フォルマリン中で長期間生存すると報告したのは恐らく誤りであらうと考へられるが、フォルマリンの本種メタセルカリアに対する作用は甚だ興味ある点である。

アンチフォルミンの被囊に対する態度はメタセルカリアが生存して居る場合は、その死に至らず時間にかかりの幅が見られたが、一旦虫体の死滅を来した場合は、その被囊を溶解してしまう時間は常に一定して居るのを認めた。即ち虫体の脱出してつた空囊はすべて3時間以内に完全溶解してつたが、このアンチフォルミンの被囊の溶解機転を追求することに依り、本種メタセルカリアの被囊の組成についても或る程度の知見を得ることが出来るのではないかと考へられる。又アンチフォルミンによる蛔虫卵の孵化促進と同様、脱囊機転の促進にも応

用し得るかも知れない。

結 論

肺吸虫メタセルカリアの抵抗を検査して次の知見を得た。

1) 50°C以上の熱に対しては短時間内に死滅したが、45°Cでは30分でも死滅するには至らない。蟹の儘の場合50°Cに30分煮ればメタセルカリアは死滅する。100°Cでは1分以内に全部死滅した。

2) 0°C~2°Cでは長時日生存可能であり、筋肉内のメタセルカリアは52日迄も生存して居た。-10°Cでは24時間生存可能であり、-40°Cでは30分で既に死滅した。

3) 湿潤、水中では夏季、春季で生存日数に差を生じた。乾燥に対しては最も弱く、メタセルカリアは椀状に陥没して数分内に死滅した。

4) 食塩水中では0.85%では60日迄も殆んど大部分のメタセルカリアは生存可能であり、保存液として最適である。

5) 醤油、ソース等の調味料では低濃度では7日間も一部のものは生存可能であつた。食酢では10%でも3日間生存した。

6) 重曹水中では0.5%のものでは30日に至るも死滅するものはなかつた。従つて重曹もメタセルカリア保存液として使用出来る。

7) アルコール中には5%の場合4日迄は生存した。30%でも、1日は生存可能であつたが、50%、70%では5分以内に死滅した。

8) 強酸に対しては塩酸に最も弱く、0.2%濃度のもものでは24時間で全部死滅したが、同濃度の硝酸では3日目迄は生存し、硫酸の場合も同様であつた。

9) 消毒剤では0.1%の場合、昇汞溶液中では9分以内に死滅し、クレゾール溶液では15分以内に死滅したが、石炭酸溶液では20時間を要した。

10) 10%フォルマリアに対しては間もなく運動を停止したが、溷濁は認められず形態的には全く変化が見られなかつた。然し脱囊試験は不成功であつたことから死滅したものと考へられた。

11) 3%及び5%アンチフォルミンでは約2時間以内に死滅するが、虫体死滅迄の被囊に対する作用はまちまちであつたが、死滅後の被囊は殆んど同時間内に溶解せられてつた。

擱筆するに當り御指導と御校閲を賜つた、横川宗雄教授に深甚なる謝意を表する。又御協力を載いた教室員各

位並びに鈴木重一先生、勝呂毅先生に深甚なる謝意を表す。

参考文献

- 1) 安藤亮(1915) : 肺デストマの研究(第4回報告)肺デストマの予防並びに被囊幼虫の抵抗力について, 中外医事新報, 856, 1463-1487. —2) 森下薫(1953) : 蛔虫及蛔虫症, 杏林書院. —3) 森下薫・横川定(1949) 最新寄生虫学提要, 114-120, 杏林書院. —4) 中川幸庵(1916) : 肺デストマ病研究報告, パンフレット. —5) O. K. Khaw(1934) : *In vitro* experiment on the viability and experiment of *Paragonimus* cyst, Proc. Soci. Exptl. Biol. Med., 32, 2. —6) 大島智夫(1955) : 肺吸虫メタセルカリアの脱囊機転 Crowding effect について, 寄生虫学雑誌, 4(4), 394. —7) 大島智夫(1953) : 肺吸虫メタセルカリアの脱囊機転の再検討, 寄生虫学雑誌, 2(2), 169. —8) 下野修(1957) : 被囊幼虫の抵抗性に就いて, 愛媛県立研究所報第1報. —9) 鈴木重一(1958) : 南伊豆地方に於ける肺吸虫感染の疫学的研究, 寄生虫学雑誌, 7(5), 112-124. —10) 横川定(1914) : 台湾に於ける内臓寄生虫の研究(第二報告), 台湾医学雑誌, 135, 1-25. —11) 横川定(1919) 肺デストマの研究, 台湾総督府. —12) 横川定(1919) 被囊幼虫の抵抗に就いて, 私見による. —13) 横川定・森下薫(1931) : 人体寄生虫学, 単行本. —14) 横川定・横川宗雄(1952) : 寄生虫学研究の実際, 杏林書院. —15) 横川宗雄・大島智夫・木畑美智江(1955) : 肺吸虫 *Paragonimus westermanii* の生体外飼育(1) 脱囊幼虫の *in vitro* に於ける生存期間について, 寄生虫学雑誌, 4(4), 388-393. —16) 横川宗雄(1957) : 肺吸虫及肺吸虫症に就いて, 宮崎県公衆衛生資料, 宮崎県衛生部, 1-19. —17) 横川宗雄(1958) : 肺吸虫症, 内科の領域, 6(4), 239-246.

Summary

The accumulation of knowledge about the resistance of metacercaria of lung flukes to many kinds of substance has been reported fragmentally. In the present study a further effort was made to detect the resistance of metacercaria of *Paragonimus westermani* to the physical and chemical agents. The results obtained were as follows :

1) Metacercariae were killed by heat as high as 50°C. or more in a short period and survived for a long period at 0°-2°C.

2) They survived for around 10 days in water or moistened chamber showing difference of survival period between in spring and in summer.

3) 0.4-0.85% saline and 0.5-1.0% sodfium bicarbonate solution in both of which metacercaria could survive long time may serve as media for their maintenance.

4) Anti-metacercarial activity of disinfectants tested increased in the following order: phenol < cresol < mercury bichloride. Characteristic response occurred in metacercaria exposed to 50% alcohol solution.

5) Relatively high resistance of metacercariae to strong acids was observed and metacercariae were killed by 0.2% HCl in 24 hours.

6) Movement of metacercariae was stopped by formaline in a short period and no morphological changes had occurred in two weeks.

7) Metacercariae were killed by a exposure to 3-5% sodium hypochloride within two hours.

8) The response of metacercaria to a given agent was variable under the same outer conditions. This variance is presumably due to the difference in maturity between metacercariae.