

人尿中に見出された尾久杆線虫の研究

(1) 培養条件の検討

魚谷 和彦

東京大学伝染病研究所寄生虫研究部 (主任 佐々学教授)

東京慈恵会医科大学林内科 (主任 林直敬教授)

(昭和35年4月14日受領)

特 別 掲 載

はしがき

1957年の3月から5月にかけて、東京都の尾久地帯で発生した尿線虫症については、林ら(1958)によつてその発生状況や、患者の臨床所見が報告され、同時に患者尿から分離された線虫 (*Rhabditis* sp.)——本編では「尾久杆線虫」と称えることとする——についてその形態と若干の生物学的性状が記載された。本虫の寄生例は、本邦内地における自由生活線虫類による尿線虫症として初めて報告されたものであるが、いづれも発熱、倦怠感、悪心、頭痛、腰痛等の訴えがあり、他覚的には尿の混濁、赤白血球、上皮、円柱等が証明され、中には甚だ重症の血尿を見た例もあつて、臨床上にもまた寄生虫学の面からも注目すべきものであつた。

しかるに、本虫に関しては形態を除いて、その生物学的性状については極く簡略な記載がなされているに過ぎない。その感染経路についても不明のままに残されているので、著者は、幸い伝研寄生虫研究部に累代飼育されている本虫につき、その培養法及び培養の至適条件を検討し、好適な条件下での一世代の寿命、脱皮回数、發育速度等の生物学的性質を明らかにし、更に種々なる環境に対する抵抗性、就中、人体への侵入経路の解明に関連して、食品の調味料や胃液、腸液、尿等の影響をしらべ実験動物への感染実験をも試みて、本虫の感染経路を検討する為の基礎的な知見を得た。また尿線虫症の治療剤を見出すことと、一般に殺線虫剤や駆虫剤のスクリーニングテストに本虫を利用する意図の下に、試験法の検討を行い、種々の駆虫剤、殺線虫剤、殺虫剤、除草剤、および抗生物質の作用を調べ、特に鉤虫駆除剤のスクリーニングには簡便で有用であることを見出したので、これ等の実験成績について以下4編にわたり報告する。

材料及び方法

1957年東京都荒川区尾久地帯に発生した尿線虫症の患者尿から分離され、ホールガラス又はシャーレにて水と薬用酵母で約100代にわたり継代培養された尾久杆線虫 (*Rhabditis* sp.) を使用した。本種は処女生殖をなし、初代より現在に至るまで虫体はすべて雌虫のみである。

実験方法の詳細は、各実験成績の項において述べる。

培養法に対する検討

A. 培地及び飼料について

尾久杆線虫が生存増殖して行くのに如何なる飼料、培地が最も適当であるか、以下数種の培養方法、飼料についての検討を行った。

a. 液体培地

リンゲル氏液、ロック氏液、タイロイド氏液の三液体培地を調整し、各培地を1.0 cc 宛、内径1.0 cmの小試験管6本づつに入れ、杆線虫数隻宛試験管に投入し、ゴム栓にて封じ25.0°C 孵卵器に入れ日を追つてその生存増殖状態を観察した。

リンゲル、及びロックでは6本中5本は4日乃至8日迄は生存し得るも全く増殖は見られず16日以後は殆ど死滅した。リンゲルの1本は3日目に、ロックの1本は8日目に死滅した。

タイロイドでは6本中4本が3日目に死滅し、あとの2本の中1本は16日目に死滅し、1本は長期間生存し、40日目頃には非常に増殖していた。

対照として水道水にて上記と同様の方法により培養したが6本の中2本で4日乃至8日目頃に僅かに増殖を見たが16日乃至23日目には殆ど死滅した。

上記3種の液体培地は、対照の水と比較して特に良好と認められるものは多く、本虫により培地として利用さ

れているとは思われなかつた。

b. 固形培地 (寒天, 動物臓器)

シャーレに1%の寒天を数mmの厚さに流し込んで固めたものに本虫を接種し、寒天表面に微量の薬用酵母を撒布して蓋をし、25.0°C. に保つと、線虫はよく増殖する。寒天平板に数カ所の凹みをつくり、水を入れておくと長期間、乾燥を防ぐことが出来る。

シャーレにマウスの肺、腎等と細切して入れ、少量の水とともに本虫を接種しても増殖が認められる。但し、肝、腸、尿を用いた場合は、数日で細菌の過度の繁殖の爲本虫が死滅することが多い。上記寒天平板の上に各種臓器の細切したものをのせた場合は、このような細菌の繁殖による影響があらわれず、良好な増殖をつづけることが分つた。

c. 試験管濾紙培養法

鉤虫類の試験管濾紙培養法と全く同様にして本虫を培養することも出来る。こゝには濾紙の上部 $\frac{2}{3}$ に3%バレイショ澱粉液を塗りその上に薬用酵母(エビオス)約100mgを撒布したものと、塗抹、浮遊、培養検査にて寄生虫卵陰性の便2.0gを塗り、薬用酵母100mgを撒布したもの、及び便のみで薬用酵母を撒布しないものゝ3種類の濾紙を作り、それらに本虫(成虫、幼虫共)約20隻宛接種し試験管内に入れ、管底に2.0ccの水を入れてポリエチレン紙にて封じ、25.0°C 孵卵器に入れ日を追つてその増殖状態を観察した成績についてのべる。対照として濾紙を入れない試験管に薬用酵母を含む水2.0ccを入れそれに本虫約20隻を投入し25.0°C 孵卵器に入れて観察した。観察にはアネキロスコープを使用した。

実験成績は第1表の如くである。

バレイショ澱粉液においては、1日後では管底に見えず、2日乃至3日目にほぼ接種数と同数の虫体を認め4

日目以後は増殖著しく、便においては、3日目迄は管底に認められず4日目乃至5日目に管底に虫体を認め5日目頃より増殖する。薬用酵母を撒布したものとししないものとの差は認められなかつた。対照は2日目頃より増殖し始め、上記3法に比し最も早く増殖を示した。

以上の実験により、便に依る試験管濾紙培養法にても充分發育増殖するが、対照として用いた薬用酵母と水のみにも簡単に増殖、培養し得ることを認めた。

d. 土壤培養法

腐殖土質の細かい土壤を、あらかじめ乾熱滅菌器にて100°C 約6時間乾燥滅菌し、雑菌と存在しているかも知れぬ自由生活種の線虫を殺しておき、別に滅菌した腰高シャーレの底に滅菌消毒したスライドグラスを立て、腰高シャーレの底面を二つの部分に分けておき(3:2位の比)大きい部分に滅菌土壤をスライドグラスの高さ位迄入れる。即ちスライドグラスにて土壤の部分とシャーレ底面の露出した部分とに分けられる。底面の露出した部分から水を注ぎ充分土壤がしめつてなお土壤のない部分に数mmの深さに水がたまる迄入れる。薬用酵母少量を土壤表面に撒き本虫を接種する。シャーレに蓋をして室温(15.0°C~20.0°C)に放置、又は25.0°Cの孵卵器におく。

数日して本虫は土壤部にて發育増殖して生きた虫体のみが水の部分に集まる。之の方法は諸種実験に際し、揃つた各齡期の虫体を集めるのに便宜である。

e. 水培養法について、並びに同法における飼料の検討

前記の如く寒天を用いた固形培地や試験管濾紙培養、土壤培地等によつても充分發育増殖出来るし、それぞれに特色を有するが、もつとも簡便な方法としては、水に適當な飼料を加えることにより容易に増殖せしめ得る。

試験管に水のみ入れた場合には増殖し得ないことは液

第1表 試験管濾紙培養法による培養試験 (25.0°C)

日数	培地 No.	3%バレイショ澱粉+薬用酵母			便+薬用酵母		便			対 照			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±
2	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	±	+	±
3	±	±	±	—	—	—	—	—	—	++	+	++	+
4	++	++	++	±	—	—	—	—	—	+++	++	+++	++
5	+++	+++	+++	++	±	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++
7	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
14	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

註 (— 0, ± 10~20, + 21~50, ++ 51~100, +++ 101~150, +++ 151~)

体培地の項で判明したので、今度は水に薬用酵母、小麦粉、バレイシヨ澱粉、クロレラを混じ、ホールグラスにて培養して見た。

各飼料 10 mg を水 10 cc に混じ、よく攪拌して均一ならしめその 0.5 cc をホールグラスにとり 1 齢幼虫 1 隻づつ投入し、そのホールグラスを大型シャーレに入れ割箸にて支柱を二本ホールグラスの下におき、シャーレに水を支柱の高さ位迄張り蓋をして 25.0°C 孵卵器に入れ 8 日目に取出し一斉に固定して各ホールグラス内の虫数と成虫幼虫の体長を測定して、飼料の優劣を发育と増殖の両面から比較検討した。実験は各飼料について夫々 5 枚のホールグラスで行った。

第 2 表 水培養法における餌の検討親虫 (P) の体長 (μ) の比較

No.	餌	薬用酵母	クロレラ	バレイシヨ澱粉	小麦粉
1		1116.60	867.20	死 亡	死 亡
2		1081.17	853.03	768.01	死 亡
3		844.53	925.30	死 亡	死 亡
4		1139.27	882.79	死 亡	705.67
5		1085.42	974.89	死 亡	死 亡
	平均値	1053.40	900.64		
	不偏分散 (σ^2)	14197.76	2706.11		
	σ	119.15	52.02		

1) 第 2 表は最初に接種した幼虫が親虫になったものについての体長の比較で、薬用酵母 (エビオス) では平均 1053.40 μ 、クロレラが平均 900.64 μ 、バレイシヨ澱粉、小麦粉は 5 隻の内各 1 隻づつしか发育せず、前者が 768.01 μ 、後者が 705.67 μ で薬用酵母が最も好い发育を示した。

2) F_1 成虫は薬用酵母では計 26 隻でホールグラス 1 コの平均は 5.2 隻、クロレラは計 20 隻でホールグラス 1 コの平均は 4.0 隻で、バレイシヨ澱粉、小麦粉は F_1 成虫を認めなかつた。

3) F_1 (成虫、幼虫共) の虫体数、体長を比較すると、薬用酵母では虫数、84 隻、96 隻、92 隻、70 隻、91 隻、計 433 隻でホールグラス 1 コの平均虫体数は 88.6 隻、

平均体長は、437.21 μ 、不偏分散 (σ^2) = 302030.57, σ = 549.29, クロレラでは虫体数、117 隻、95 隻、35 隻、35 隻、92 隻、135、計 474 隻でホールグラス 1 コの平均虫体数は 94.8 隻、平均体長は 368.56 μ 、不偏分散 (σ^2) = 26324.92, σ = 142.92 である。

バレイシヨ澱粉は 1 枚のみ F_1 が发育し、虫数は 7 隻で平均体長 203.85 μ 、不偏分散 (σ^2) = 286.78, σ = 17.08, ホールグラス 1 コの平均虫体数 1.4 隻、小麦粉も 1 枚のみ F_1 が发育し、虫数は 5 隻で平均体長 204.62 μ 、不偏分散 (σ^2) = 56.18, σ = 6.45, ホールグラス 1 コの平均虫体数は 1 隻であつた。

4) F_1 のなかで成虫に達したものの Δ 比率は、薬用酵母では F_1 成虫 26 隻で F_1 総虫数 433 隻、成虫の比率は 6.00 %、クロレラは F_1 成虫 20 隻で F_1 総虫数 474 隻、成虫の比率は 4.22 %、バレイシヨ澱粉、小麦粉は F_1 成虫は 0 であつた。

5) F_1 成虫の平均体長は、薬用酵母では、840.10 μ 、クロレラでは 746.41 μ であつた。

以上四種類の飼料について各齢期の体長を計測して比較検討したが、上述の如く、薬用酵母による培養法が最も发育がよく次代 (F_1) 産生能力も最大であつた。バレイシヨ澱粉、小麦粉は粒子が大きく幼齢期では食べられない様で、そのために死滅したものが多しと思われる。

B. 培養条件について

前項 A にて培地、及び飼料について検討し、水と薬用酵母による培養方法が最も发育に適當である事が分つた。今度はその发育増殖に至適な条件について検討した。

a. 温度

内径 1.0 cm の小試験管に薬用酵母を含む水 1.0 cc づつ入れ、それに本虫 10~30 隻投入し最高 45.0°C から最低 -10.0°C 迄の各温度の孵卵器、又は氷室におき日を追つてその生存状態を観察した。

第 3 表は各温度における生存試験の成績で、-10.0°C 及び 45.0°C では 1 日にて死滅し、0°C、37.0°C では 3 日生存し、10.0°C、25.0°C ではよく生存し、4 日以

第 3 表 各温度における生存試験 () 生存率 %

温度	-10°C	0°C	4~5°C	10°C	25°C	37°C	45°C
1 日数							
1	0/14 (0)	5/15 (33.3)	10/14 (71.4)	25/28 (89.3)	25/25 (100)	7/20 (35.0)	0/28 (0)
2	0/14 (0)	3/15 (20.0)	6/14 (42.9)	20/28 (71.4)	25/25 (100)	4/20 (20.0)	0/28 (0)
3	0/14 (0)	1/15 (6.7)	5/14 (35.7)	20/28 (71.4)	25/25 (100)	1/20 (5.0)	0/28 (0)
4	0/14 (0)	0/15 (0)	3/14 (21.4)	19/31 (61.3)	38/38 (100)	0/20 (0)	0/28 (0)
8	0/14 (0)	0/15 (0)	0/14 (0)	26/38 (68.4)	+	0/20 (0)	0/28 (0)

後は増殖して行くことが示された。

各温度における増殖試験について

上記と同様に処置した小試験管に1齢幼虫1~2隻投入し、上記と同じ温度段階におき、1週及び2週後にとり出して増殖状態を観察した。

-10.°C, 0°C, 37.0°C, 45.0°C では1週、及び2週後も全く増殖せず死滅し、4.0°C~5.0°C では1週後までは生存し得るが運動性乏しく、2週後では死滅した。10.0°C, 25.0°C では1週後には成虫、幼虫とも多数見られ、2週後では増殖が著るしい。又25.0°Cの方が10.0°Cより増殖が著るしかつた。

即ち本種杆線虫の生存発育及び繁殖には25.0°Cが最も適当した温度である事を認めた。

b. 酸素の要求

本杆線虫を水中にて培養するにあたって、酸素の要求度を知る為、空気中の酸素を遮断して杆線虫がどれ程生存し得るかを検討した。

内径1.0 cmに揃えた小試験管を集め、薬用酵母を含む水1.0 cc づつ入れ約30隻の杆線虫を投入し、流動パラフィンを、2.0 cm, 1.0 cm, 0.5 cm, 0.5 cm, 0.125 cmの厚さに重畳し、25.0°C 孵卵器におき目を追つてその生存状態を観察した。

2.0 cmの流動パラフィンでは2日目93.9%, 4日目21.2%の生存率を示し、8日目には死滅した。1.0 cmでは2日目75.0%, 4日目33.3%, 8日目16.7%, 0.5 cmでは2日目88.5%, 4日目81.1%, 8日目69.1%, 0.25 cmでは2日目79.2%, 4日目65.8%, 8日目65.8%, 0.125 cmでは2日目92.6%, 4日目86.7%, 8日目83.3%の生存率を示し0.5 cm以下の量ではその生存に大した影響を見られず4日目以後は僅かに増殖が認められた。対照として薬用酵母水のみでは全く生存し8日目には増殖が著るしかつた。

以上の所見から本虫が好气的であることが知られた。

c. 水素イオン濃度の影響

本杆線虫に対する水素イオン濃度による影響について3種の緩衝液を調製し実験した。

1) マッキルベン氏緩衝液(M/5 磷酸ソーダにM/10 グエン酸にて調製。pH 2.2~pH 8.0)

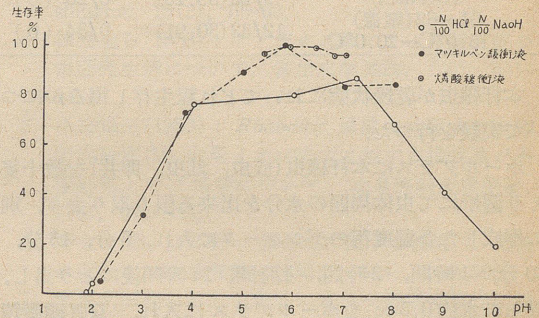
2) N/100 HCl, N/100 NaOHにて調製した緩衝液、(pH 1.8~pH 10.0)

3) 磷酸緩衝液 (pH 5.4~pH 7.0)

緩衝液は実験使用時夫々10倍に稀釈して用いた。

内径1.0 cmの小試験管に夫々調整した緩衝液を1.0

cc づつ入れ、杆線虫を投入しゴム栓にて封じ、25.0°C 孵卵器に入れ、24時間後取出し双眼顕微鏡にて虫体の生存状態を調べた。24時間後の各緩衝液のpHの移動は殆ど認められなかつた。



第1図 水素イオン濃度の影響 (25.0°C 24時間)

実験成績は第1図に示す如くである。

マッキルベン氏緩衝液では、pH 2.2では32隻中生存虫体2隻で6.25%の生存率で、pH 3.0では36隻中13隻生存(33.33%), pH 3.8では34隻中25隻生存(73.53%), pH 5.0では34隻中31隻生存(91.18%), pH 5.8では34隻中34隻生存(100%), pH 7.0では37隻中33隻生存(89.19%), pH 8.0では35隻中32隻生存(91.43%)にて大凡そpH 4.0~pH 8.0迄生存可能と認められた。

N/100 HCl, N/100 NaOH から調製した緩衝液においても同様の傾向を示し、pH 1.8では19隻中生存0, pH 4.0では83隻中64隻生存(77.11%), pH 6.0では38隻中31隻生存(81.58%), pH 7.2では32隻中28隻生存(87.50%), pH 8.0では23隻中16隻生存(69.60%), pH 9.0では30隻中13隻生存(43.33%), pH 10.0では28隻中6隻生存(21.43%)とpH 9.0以上では急激に生存率が落ちる。

磷酸緩衝液はpH 6.0付近で幅の狭い緩衝液を使用した。pH 5.4では34隻中32隻生存(97.06%), pH 5.8では28隻中28隻生存(100%), pH 6.4では32隻中32隻生存(100%), pH 6.8では31隻中30隻生存(96.77%), pH 7.0では32隻中31隻生存(96.87%)と殆ど全域にわたり生存し3法中最も高い生存率を示した。

以上の実験により本杆線虫は24時間ではpH 4.0~pH 9.0迄かなり広い域にわたり生存し得るが最も至適なpHは、pH 5.8~pH 7.0の間である事を認めた。

d. 乾燥

第4表 乾燥による生存試験 () 生存率 %

湿度%	時間	5分	15分	30分	1時間	2時間	4時間
100 (H ₂ O)		23/33 (69.70)	9/29 (31.04)	0/45 (0)	0/28 (0)	0/29 (0)	0/32 (0)
87 (KCl)		19/34 (55.88)	0/33 (0)		0/26 (0)	0/17 (0)	0/20 (0)
76 (NaCl)		9/23 (39.13)	0/26 (0)		0/32 (0)	0/12 (0)	0/18 (0)
61~62 (室温)							
15.0°C~20.0°C		12/33 (30.91)	0/34 (0)		0/25 (0)	0/24 (0)	0/35 (0)

本杆線虫が乾燥状態においてどれ程生存し得るかについて実験を行った。

ホールグラスに本杆線虫(成虫, 幼虫, 卵共)を数十隻とり濾紙にて虫体周囲の水分を出来る限り取り去り, 別に作成した各湿度毎のデシケータに入れ, 5分, 15分, 30分, 1時間, 2時間, 4時間, 24時間後にとり出し, 直ちに水約0.5ccをホールグラスに入れ, 双眼顕微鏡にてその生死を判定し, 観察後そのホールグラスに薬用酵母少量投じて25.0°C 孵卵器におさめ日を追つて増殖状態を観察した。

デシケーター内の湿度は, 水及び各種塩類の飽和溶液と平衡せしめることにより調整し, 飽和溶液と平衡する空気湿度は水の場合を100%とし, KCl 溶液では87% NaCl 溶液では76%であった。他に室内にも放置したが, このときの室内の湿度は61~62%であった。

実験成績は第4表の如くである。5分乾燥後では成虫及び幼虫は H₂O の場合69.70%の生存率で最も高く, 次に KCl 溶液の55.88%, NaCl 溶液の39.13%, 室内の30.91%で湿度の高さと生存率は比例した。15分乾燥後では, H₂O の場合のみ31.04%生存し, 他の3法はいづれもすべて死滅した。30分乾燥後では, H₂O の場合もすべて死滅していた。1時間以上の乾燥では4法とも死滅した。

以上の実験により, 本杆線虫は乾燥には非常に抵抗性

が弱いことが認められた。

表中の5分, 15分後にて生存した虫体は4日目以後著明に増殖したが生存率0%のものは25.0°C 孵卵器において日を追つて観察したが1週間後にも全く幼虫の孵化を見なかつた。即ち本種の虫卵の乾燥に対する抵抗性も左程大きいものではないことが分る。

e. 滲透圧

各濃度(3.4%~0.054%)の食塩水を作り, 本杆線虫を作用させて生存試験を行った。

3.4%, 1.7%, 0.85%, 0.425%, 0.213%, 0.107%, 0.054%の薬用酵母を含む食塩水を作り小試験管に1.0cc づつとり本虫を投入してゴム栓にて封じ10.0°C 25.0°C, 37.0°C の温度にて生存状態を観察した。

実験成績は第5表の如くである。

3.4%では各温度とも1日ですべて死滅し, 1.7%では, 25.0°C では2日目迄は約50%生存, 0.85%では10.0°C, 25.0°C でかなり長期間生存する。37.0°C では4日以後には死滅する。

0.425%以下の濃度では10.0°C, 25.0°C とも4日以上は100%に近く生存し, 1週間では増殖して来る。37.0°C では0.425%以下の濃度でも4日以後はすべて死滅する。

対照として薬用酵母を含む水1.0cc づつ投入10.0°C 25.0°C とも生存し得る。37.0°C では4日目以後は死

第5表 各濃度食塩水における各温度での生存試験 () 生存率 %

温度	濃度	濃度							対照
		3.4%	1.7%	0.85%	0.425%	0.213%	0.107%	0.054%	
10.0°C	1	0/18 (0)	2/12 (16.7)	13/13 (100)	18/18 (100)	17/17 (100)	23/23 (100)	21/21 (100)	13/13 (100)
	2	0/18 (0)	2/12 (16.7)	13/13 (100)	18/18 (100)	17/17 (100)	23/23 (100)	21/21 (100)	13/13 (100)
	4	0/18 (0)	0/12 (0)	13/13 (100)	19/19 (100)	19/19 (100)	23/23 (100)	21/21 (100)	15/15 (100)
	7	0/18 (0)	0/12 (0)	16/17 (94.1)	22/22 (100)	19/21 (90.5)	25/25 (100)	21/21 (100)	15/15 (100)
25.0°C	1	0/14 (0)	7/13 (53.9)	24/24 (100)	22/22 (100)	26/26 (100)	32/32 (100)	24/24 (100)	15/15 (100)
	2	0/14 (0)	6/13 (46.2)	23/24 (95.8)	21/22 (95.5)	26/26 (100)	31/32 (96.9)	24/24 (100)	15/15 (100)
	4	0/14 (0)	5/13 (38.6)	20/24 (83.3)	21/22 (95.5)	26/26 (100)	31/32 (96.9)	29/29 (100)	15/15 (100)
	7	0/14 (0)	1/13 (7.7)	18/26 (75.0)	32/32 (100)	38/38 (100)	34/35 (97.1)	30/30 (100)	16/17 (94.1)
37.0°C	1	0/13 (0)	6/16 (37.5)	14/17 (82.4)	14/15 (93.3)	15/18 (83.3)	17/20 (85.0)	17/18 (94.4)	13/13 (100)
	2	0/13 (0)	0/16 (0)	9/17 (52.9)	5/15 (33.3)	10/18 (55.6)	15/20 (75.0)	14/18 (77.8)	9/13 (69.2)
	4	0/13 (0)	0/16 (0)	0/17 (0)	0/15 (0)	0/18 (0)	0/20 (0)	0/18 (0)	0/13 (0)
	7	0/13 (0)	0/16 (0)	0/17 (0)	0/15 (0)	0/18 (0)	0/20 (0)	0/18 (0)	0/13 (0)

滅した。

これにより本種杆線虫は適温の下でも、かなり低滲透圧の環境を要求することが分つた。

以上にて本虫の培養には、中性乃至弱酸性の水中で、薬用酵母を飼料とし、25.0°C 前後の温度が行うのが最も適当で簡便であることを知つた。

結 論

1. 東京都尾久地帯で発生した尿線虫症患者尿より分離された尾久杆線虫 (*Rhabditis* sp.) について、諸種の液体培地、固形培地、試験管濾紙培養法、土壌培養法、水培養法等を検討し、ホールガラス、シャーレ、試験管等に水と少量の薬用酵母を加える水培養法が、良好な発育増殖を示して最も簡便な方法であることを確めた。

2. なお培養条件としては、水またはなるべく滲透圧の低い液で、酸素の不足しないよう液層を薄くし、しかも乾燥しないよう注意すること。また至適 pH は 5.8~7.0 の範囲で、至適温度は 25.0°C 前後である。

参 考 文 献

- 1) Baginsky, A. (1887) : Haemoglobinurie mit Auftreten von Rhabditiden im Urin. Deutsch. Med. Wochensh. No. 27, 604.
- 2) Chadler, A. C. (1938) : *Diploscapter coronata* as a facultative payasite of man, with a general review of vertebrate parasitism by rhabditoid worms.

Parasitology 30, 44-55.

- 3) Dougherty, E.C. & Calboun, H.G. (1948) : Experiences in culturing *Rhabditis pello* (Schneider, (1866) Bütschli, 1873 (Nematoda: Rhabditidae), and related soil nematodes. Proc. Hel. Soc. Washington. 15(2), 55-68.
- 4) 林滋生ら (1958) : ラブデチス類による尿線虫症の集団発生例について, 寄生虫学雑誌, 7(6), 641-645.
- 5) 小島輝三 (1959) : *Rhabditis* 属線虫に関する生物学的研究 (II) 水素イオン濃度に対する抵抗及び各種野菜上での培養について, 岐阜医科大学紀要, 7(3), 921-933.
- 6) 野々田昭一 (1958) : 糞桿虫に関する研究 I. 培養に就いて, 岐阜医科大学紀要, 6(4), 589-595.
- 7) 大里武三郎 (1935) : 数日に亘り一患者の尿中に検出したる一線虫並びに其感染経路, 台湾医学雑誌 34(12), 2185-2187.
- 8) Sprehn, C. (1928) : *Diplogaster lirata* (Schneider, 1866) Oerley, 1885, ein freilebender Nematode im Urin eines Mannes. Centralbl. f. Bakt. Orog. 108(5,6), 310-313.
- 9) 白坂竜噴 (1959) : 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, 寄生虫学雑誌, 8(1), 1-7.
- 10) 横川定 (1936) : *Diploscapter coronata* の人体寄生例, 動物学雑誌, 48(8,9,10), 507-512.

STUDIES ON RHABDITIS SP. ISOLATED FROM HUMAN URINE

(1) Comparative studies on culture methods

KAZUHIKO UOTANI

(Department of Parasitology, Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo)

(Department of Internal Medicine, Tokyo Jikeikai School of Medicine)

The present study comprises a part of the investigations pertaining to a species of *Rhabditis* (*Ogu-rhabditis*) isolated from human urine by Hayashi *et al* (1958).

The nematode has been maintained in the laboratory for more than one hundred generations in culture media containing yeast.

The results of the experiments will be reported in a series of four parts. The present article (Part 1.) pertains to the results of the study on optimum conditions for culturing. In Ringer's, Lock's and Tyrode solutions the nematode could survive only for several days but did not develop. On the agar plate, soil plate, and also by the test-tube filter paper culturing method the worm developed in large numbers when appropriate food (yeast, feces of human or other animals, teased animal organs, etc.) was added. However the simplest method culuring in water with a small amount of dried yeast gave the most satisfactory result both for the growth and for the propagation of the worm. Wheat flower and *Chlorela* powder were less effective when used in place of yeast. Potato starch could not yield any developing. The optimum temperature for culturing was around 25°C and the optimum pH ranged from 5.8 to 7.0.