

寄生虫卵殺滅剤に関する研究

(3) 蛔虫卵に対する水溶性及び中間水溶性 Thiabendazole の殺卵効果ならびに作用日数と有効濃度との関係

久津見晴彦

国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和 39 年 1 月 20 日受領)

緒言

寄生虫卵殺滅剤としての Thiabendazole については、まづ前報においてその非水溶剤(純末)を用いた場合の各種作用 pH, 作用温度, 作用濃度, 作用日数の条件下における蛔虫卵殺卵効果を報告した(久津見, 1964)。即ち、酸, アルカリ兩種緩衝液(pH 5~8)中で等しい殺卵効果を発揮することが認められ、従つてこれがアルカリ性の尿尿中においても有効であろうと推定された。次いで尿尿中の蛔虫卵殺卵効果の検討を行ない、Thiabendazole は水中の蛔虫卵を殺滅する濃度とほとんど同様の低濃度で尿尿中蛔虫卵を殺滅することを見出し、上記の推定を実証した。

今回は水溶性及び中間水溶性 Thiabendazole を用いて実験を行ない、その結果を前報の非水溶剤のそれと比較し、主として薬剤の形態による殺卵効果の変動を検討した。その結果、Thiabendazole の蛔虫卵殺卵作用は非水溶剤(溶媒使用)、水溶剤、中間水溶剤などのいずれの剤型においても差がないことを認めた。

また従来の実験で規定した3日、7日の作用日数においては無効であつた濃度につき、実際使用上の考慮から作用日数を延長してその殺卵効果を追究した。その結果作用日数の延長により1.56 ppm, 0.78 ppm, 0.39 ppm(いずれも作用温度 25°C)という低濃度でも尿尿中蛔虫卵に対する殺卵効果を認めたので報告する。

中間水溶性 Thiabendazole の各種メヂウム中 豚蛔虫卵に対する殺卵効果

駆虫剤としての Thiabendazole の剤型には乳剤(シロップ)、拡散剤、中間水溶剤、水溶剤、非水溶剤(純末)などがあり、予備試験においていずれも殺卵作用を認めたが、今回は中間水溶剤の殺卵効果を検討した。

1. 使用薬剤

中間水溶剤は淡褐色の粉末で水を加えて振ると一時的

には懸濁液となり、暫らく放置すると沈澱を生ずるが一部は水にとけている。従つて実験に際しては溶媒を使用せず、懸濁液を十分に攪拌しながら稀釈液を作製したが使用した試験濃度においては沈澱を生じなかつた。メヂウムに加えた薬剤稀釈液量は1.6 mlである(第2報の場合も1.6 ml, 第1報では1 mlであるので附記する)。

2. メヂウム及び作用条件

メヂウムは水、尿(貯溜3日)、尿尿(1:5)の3種で各々50 mlを用いた。作用濃度は6.25 ppm, 3.12 ppm, 1.56 ppm, 0.78 ppm, 0.39 ppmの2倍稀釈の5段階(稀釈倍率として160,000倍から2,560,000倍まで)である。作用温度は25°C, 作用日数は7日とした。虫卵は前報と同様の豚蛔虫卵である。

3. 作用方法及び効果判定

虫卵含有メヂウム50 mlを管瓶に入れ、所定の濃度になるように薬剤を加えて恒温槽内に置き、作用終了後に水洗培養を行なつた。効果判定は培養4週後の虫卵の形態を観察して仔虫期卵(生卵と見做す)、単細胞変性卵及び異常發育卵(ともに死卵と見做す)に分類し(詳細は前報にのべた)、主として仔虫期卵形成率(百分率)をもつて効果を判定し、必要に応じて各種変性卵百分率も参考にした。

4. 実験成績

中間水溶性 Thiabendazole の殺卵効果は第1表に示した。作用中の pH は水では7.91~8.20, 尿では9.18~9.21, 尿尿では8.72~8.89である(Beckman pH meterによる、以下同様)。

a) 水中蛔虫卵に対しては1.56 ppm(640,000倍)まで完全に有効で仔虫期卵は出現しない。0.78 ppm(1,280,000倍)では20%の仔虫期卵形成率で或る程度の効果が認められるが、0.39 ppm(2,560,000倍)では対照と差がない。この結果は前報の非水溶剤(純末)の殺卵効果と一致する。

第1表 各種メヂウム中豚蛔虫卵に対する中間水溶性 Thiabendazole の殺卵効果(25°C, 7日作用)

Thiabendazole 濃度 ppm (稀釈倍率)		水				尿				尿		尿	
		仔虫期	単変細胞性	異常初期	發育後期	仔虫期	単変細胞性	異常初期	發育後期	仔虫期	単変細胞性	異常初期	發育後期
6.25	(160,000)	0	40	60	0	0	33	67	0	0	32	68	0
3.12	(320,000)	0	20	80	0	0	24	76	0	0	29	69	2
1.56	(640,000)	0	11	89	0	0	13	87	0	7	10	58	25
0.78	(1,280,000)	20	3	24	53	6	2	52	40	78	9	3	10
0.39	(2,560,000)	90	1	1	8	62	0	5	33	87	7	2	4
対照		95	0	1	4	88	0	3	9	90	4	0	6

作用中のメヂウム pH は水(pH 7.91~8.20), 尿(pH 9.20~6.22), 尿尿(pH 8.72~8.78) 単細胞変性はすべて強度である。

b) 尿中蛔虫卵に対する効果は水中の場合と殆んど同様で、1.56 ppm まで仔虫期卵は出現せず、0.78 ppm では仔虫期卵形成率6%でかなり有効である。0.39 ppm では対照にくらべるとやや効果が認められる。

c) 尿尿中蛔虫卵に対する殺卵効果をみると、水及び尿をメヂウムにした時には全く仔虫期卵が出現しなかった。1.56 ppm に7%の仔虫期卵を認めた。0.78 ppm と0.39 ppm ではそれぞれ78%, 87%の仔虫期卵形成率であった。尿尿中では殺卵効果が低下するので水中及び尿中と同様の効果を得るには作用濃度を2倍増加すればよいことが分る。この関係は前報の同一条件下(25°C, 7日作用)における非水溶剤の実験で、メヂウムが水と尿尿の場合の関係と一致する。

以上の結果を総合すると、中間水溶剤と非水溶剤の殺卵効果は一致していることが明らかとなった。

水溶性 Thiabendazole の尿尿中豚蛔虫卵及び人蛔虫卵に対する殺卵効果

実際使用上からみて、非水溶剤あるいは中間水溶剤よりも簡便に使用しうるものとして水溶性 Thiabendazole

(以下水溶剤)を用いた実験を行なった。水溶剤は淡褐色の粉末でその1g中に350mgのThiabendazoleを含有し、水を加えて軽く振ると直ちに完全に溶解し沈澱を生ぜず着色もない。作用濃度は含有されるThiabendazoleの量を基準にして示した。

対象とした虫卵は豚蛔虫卵と人蛔虫卵で、豚蛔虫卵は前報と同様の方法で用い、人蛔虫卵含有尿は5倍量の尿を加えて十分に攪拌し、篩で濾過して粗大な残渣を除去した。作用方法及び効果判定は前項と同様である。

1) 尿尿中豚蛔虫卵に対する殺卵効果

作用温度15°Cでは100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12.5 ppmの4段階(稀釈倍率として10,000倍から80,000倍)について、25°Cでは25 ppm, 12.5 ppm, 6.25 ppm 3.12 ppmの4段階(稀釈倍率として40,000倍から320,000倍)について、いずれも3日及び7日作用を行なった。第2表に示す結果によれば、15°Cの3日作用では50 ppm, 7日作用では25 ppm, 25°C 3日作用では62.5 ppm, 7日作用では3.12 ppmまで仔虫期卵形成率は0%であった。以上の結果を前報の同一作用条件下の非水溶剤のそれと比較すると殆んど一致している。

第2表 尿尿中豚蛔虫卵に対する水溶性 Thiabendazole の殺卵効果

Thiabendazole 濃度 ppm (稀釈倍率)		15°C								25°C							
		3日作用				7日作用				3日作用				7日作用			
		仔虫期	単変細胞性	異常初期	發育後期	仔虫期	単変細胞性	異常初期	發育後期	仔虫期	単変細胞性	異常初期	發育後期	仔虫期	単変細胞性	異常初期	發育後期
100	(10,000)	0	46	54	0	0	64	36	0	0	32	68	0	0	40	60	0
50	(20,000)	0	31	69	0	0	43	57	0	0	27	73	0	0	39	61	0
25	(40,000)	24	11	36	29	0	16	74	10	0	21	73	6	0	39	61	0
12.5	(80,000)	72	8	4	16	13	12	49	26	0	20	36	35	0	24	75	1
6.25	(160,000)									9	20	36	35	0	24	75	1
3.12	(320,000)									9	20	36	35	0	24	75	1
対照		89	10	1	0	97	3	0	0	98	0	2	0	98	2	0	0

作用中のメヂウム pH は8.70~8.87である。

第3表 尿尿中人蛔虫卵に対する水溶性 Thiabendazole の殺卵効果 (作用温度 25°C)

Thiabendazole 濃度 ppm (稀釈倍率)	3日作用				7日作用											
	第1例と同一材料				第1例		第2例		第3例							
	仔虫期	単変細胞性	異常発育初期	異常発育後期	仔虫期	単変細胞性	異常発育初期	異常発育後期	仔虫期	単変細胞性	異常発育初期	異常発育後期	仔虫期	単変細胞性	異常発育初期	異常発育後期
25 (40,000)	0	44	56	0	0	48	52	0								
12.5 (80,000)	0	32	65	3	0	35	65	0								
6.25 (160,000)	10	14	43	33	0	27	71	2								
3.12 (320,000)	76	2	12	10	0*	16	77	7	0	25	64	11	0	22	73	5
1.56 (640,000)	95	2	2	1	37	14	29	20	39	7	22	32	34	5	37	24
0.78 (1,280,000)	96	0	0	4	90	5	0	5	89	1	2	8	87	4	6	3
0.39 (2,560,000)	95	0	2	3	93	4	3	0	96	3	1	0	96	2	0	2
対照	98	0	1	1	95	4	1	0	99	0	1	0	99	1	0	0

作用中のメヂウム pH は 8.90~8.95 * は培養8週後の観察で2%となった。

2) 尿尿中人蛔虫卵に対する殺卵効果

検便を目的として集められた尿材料を次の如く3群に分け、蛔虫卵殺卵実験を同時に行なった。第1群は鞭虫卵をともに含有する材料で3日作用及び7日作用第1例に用い、第2群は鞭虫卵と少数の蛔虫不受精卵をともに含有する材料で7日作用第2例とし、第3群は鞭虫卵と鉤虫卵をともに含有する材料で7日作用第3例とした。

25°C, 3日作用の結果は第3表に示したが、25 ppm, 12.5 ppm では仔虫期卵が出現しないが、6.25 ppm 及び3.12 ppm ではそれぞれ10%, 76%の仔虫期卵形成率であり、1.56 ppm 以下では対照と差がなかった。

25°C, 7日作用の3例は殆んど同一の結果で、3.12 ppm まで仔虫期卵は出現せず、1.56 ppm では37%, 39%, 34%の仔虫期卵形成率であった。0.78 ppm 以下

では87~96%の仔虫期卵が認められるので対照と大きな差はない、

3) 各種剤型による殺卵効果の比較

この実験で初めて人蛔虫卵を対象としたので、各種剤型による豚蛔虫卵, 人蛔虫卵殺卵効果の比較を行なった。第4表はその結果であるが便宜的に仔虫期卵形成率のみで比較した。

第4表の結果で各種剤型の最小有効濃度(仔虫期卵の出現しない最小濃度)を比較すると15°C, 3日及び7日作用では50 ppm, 25 ppm で、25°C, 3日及び7日作用では6.25 ppm, 3.12 ppm であつて、薬剤の形態によらず概ね一定である。この表からは人蛔虫卵, 豚蛔虫卵の抵抗性の差は明らかではないが、ほとんど差がないように考えられる。

第4表 尿尿中人蛔虫卵, 豚蛔虫卵に対する各種剤型 Thiabendazole の殺卵効果の比較 (仔虫期卵形成率による)

Thiabendazole 濃度 ppm (稀釈倍率)	15°C				25°C								
	3日作用		7日作用		3日作用		7日作用						
	水溶剤	非*水溶剤	水溶剤	非*水溶剤	水溶剤	非*水溶剤	水溶剤	非*水溶剤	水溶剤	非*水溶剤	中水溶剤		
100 (10,000)	0	0	0	0									
50 (20,000)	0	2	0	0									
25 (40,000)	24	10	0	0	0	0					0		
12.5 (80,000)	72	80	13	8	0	0					0		
6.25 (160,000)		93		64	10	0	0				0	0	
3.12 (320,000)					76	9	40	0	0	0	0	0	0
1.56 (640,000)					95		94	37	39	34		11	7
0.78 (1,280,000)					96		99	90	89	87		89	78
0.39 (2,560,000)					95		98	93	96	96		96	87
対照	89	97	97	97	98	98	99	95	99	99	98	99	90

* 非水溶剤の殺卵効果は前報 (久津見, 1964) から引用した。

但し、25°C、3日作用における今回の人蛔虫卵に対する効果は、豚蛔虫卵に対するよりも稀釈1段階だけ効果が低下し、仔虫期卵の出現しない最小濃度は12.5 ppm となつたので、この点については考察において述べる。

作用日数の延長及び短縮に伴う
最小有効濃度の変動

既に述べてきた如く、Thiabendazole の尿尿中蛔虫卵殺卵効果は、すべて3日及び7日作用で検討し、その作用日数に対する最小有効濃度を求めた。そこで今回は作用日数を7日以上に延長すれば、作用日数の増加に伴って最小有効濃度がどのように変動するものであるかを検討し、続いて作用日数を短縮して殺卵効果をあげるにはどのような濃度が必要かを検討した。

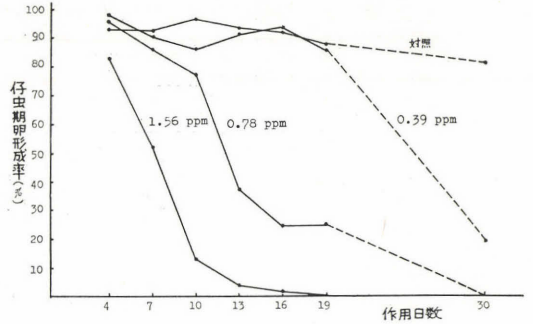
1. 薬剤及び虫卵材料

Thiabendazole は中間水溶剤を用い、蛔虫卵は豚蛔虫卵を使用した。

2. 作用条件

1) 作用日数延長：作用日数は4日作用から3日間隔で19日作用までと最終的に30日作用を行ない7種類とした。作用温度は25°C、作用濃度は1.56 ppm, 0.78 ppm, 0.39 ppm (何れも7日作用では仔虫期卵の出現する濃度)の3種類とした。尿尿量は300 ml でポリエチレン瓶(500 ml 入り)に入れてパラフィン紙で覆い、作用日数毎に30 ml の尿尿を取出して水洗、培養を行なつた。

2) 作用日数短縮：作用日数は1日、2日、3日作用の3種類とし、作用温度は25°Cである。作用濃度は100 ppm から20 ppm 間隔で20 ppm までの5種類としメヂウムは尿尿50 ml で管瓶中で実験した。



第1図 Thiabendazole の低濃度における作用日数の延長と仔虫期卵形成率の低下(25°C、尿尿中)(19日~30日の間は観察していないので点線で示した)

3. 実験成績

実験成績は第5表及び第1図、ならびに第6表に示した、1.56 ppm においては作用日数の延長によつて仔虫期卵形成率は順次低下し、4日、7日、10日作用では84%、52%、13%となり、13日、16日、19日作用では4%、1%、0%となつた。0.78 ppm では4~10日作用では96%、86%、78%であり、13~19日作用では37%、24%、24%であるが、30日作用では仔虫期卵形成率は0%となつた。0.39 ppm では4~19日作用のいづれも効果なく、30日作用でも18%の仔虫期卵を認めた。

対照として薬剤を添加しないで保存したものでは、4~19日保存のいづれも85~98%の仔虫期卵形成率で、30日保存でもそれは80%であつた。従つて上記の作用日数の延長による仔虫期卵形成率の低下は薬剤の作用によるものと考えられる。

次に作用日数の短縮に必要な濃度を調べると第6表の

第5表 作用日数の延長による低濃度 Thiabendazole の殺卵効果 (作用温度 25°C)

作用日数	1.56ppm				0.78ppm				0.39ppm				対 照							
	仔虫期	単変		異常發育	仔虫	単変		異常發育	仔虫	単変		異常發育	仔虫	単変		異常發育				
		胞性				胞性				胞性				胞性						
		強度	軽度			強度	軽度			強度	軽度			強度	軽度					
4	84	0	8	0	8	96	0	1	0	3	99	0	1	0	0	94	0	3	3	0
7	52	0	9	23	16	86	0	3	4	7	91	0	5	3	1	91	0	7	2	0
10	13	10	10	53	14	78	0	6	6	10	86	0	2	5	7	98	0	2	0	0
13	4	18	5	67	6	37	0	6	26	31	92	0	6	1	1	93	0	4	2	1
16	1	23	9	56	2	24	0	13	39	24	94	0	2	0	4	92	0	7	1	0
19	0	27	4	69	0	24	7	9	32	28	86	8	0	4	2	85	2	5	6	2
30	0	43	9	48	0	0	14	3	80	3	18	12	4	36	30	80	11	4	4	1

単細胞変性の強度は主として胞形成、軽度は崩壊とした、これらの濃度は25°C、7日作用で仔虫期卵の出現する濃度(第4表)である。メヂウムは尿尿、虫卵は豚蛔虫卵、薬剤は中間水溶剤使用、作用中 pH は7.9~8.2である。

第6表 作用日数の短縮による高濃度 Thiabendazole の殺卵効果 (作用温度 25°C)

Thiabendazole 濃度 ppm (稀釈 倍率)	1日作用			2日作用			3日作用		
	仔 虫 期	単 変 細 胞 性	異 常 発 育	仔 虫 期	単 変 細 胞 性	異 常 発 育	仔 虫 期	単 変 細 胞 性	異 常 発 育
100(10,000)	0	58	42	0	64	36	0	63	37
80(12,500)	0	58	42	0	50	50	0	62	38
60(16,600)	0	52	48	0	46	54	0	52	48
40(25,000)	0	50	50	0	58	42	0	57	43
20(50,000)	15	45	40	0	43	57	0	50	50
対 照	98	2	0	97	3	0	99	1	0

単細胞変性はすべて強度，異常発育はすべて初期である。メヂウムは尿尿，虫卵は豚蛔虫卵，中間水溶剤を用いた。作用中メヂウム pH は 8.75~9.25

通りで，40 ppm では1日作用で仔虫期卵は出現せず，20 ppm では1日作用では15%の仔虫期卵が認められるが，2日作用では0%となる。3日作用の最小有効濃度はすでに述べた通りで6.25 ppm あることが分つている。

考 察

著者は第1報において NaPCP (sodium pentachlorophenate) の殺卵効果を再検討し，アルカリ性の自然尿尿中では殆んど無効であるが酸性化尿尿中では或る程度の殺卵効果を発揮することを報告した。その際に殺卵剤の実験方法について若干の規格化を提唱し，これを第2報において出来るだけ実施してみた。第2報においては従来駆虫剤として使用されてきた Thiabendazole が無処置のアルカリ性尿尿中においても優れた蛔虫卵殺卵効果を発揮することを見出し，各種作用温度，日数，濃度別の殺卵効果を報告した。

今回は主として上記 Thiabendazole の各種剤型による蛔虫卵殺卵効果を比較検討した。

1. Thiabendazole の各種剤型による蛔虫卵殺卵効果について

各種剤型の Thiabendazole による蛔虫卵殺卵効果をその最小有効濃度で比較すると次の如くである。

中間水溶剤は 25°C，7日作用では水中，尿中ではともに 1.56 ppm，尿尿中で 3.12 ppm であつて前報の非水溶剤の結果と一致する。

水溶剤は尿尿中で検討したが，15°C の3日，7日作用では 50 ppm，25 ppm であり，非水溶剤と同一の効果を示した。25°C の3日，7日作用では 6.25 ppm，3.12 ppm (豚蛔虫卵) 12.5 ppm，3.12 ppm (人蛔虫卵) であつてこの結果は3日作用の人蛔虫卵の場合を除いて，前

報の非水溶剤及び上記中間水溶剤の効果と一致する。

以上の点を総合すると，尿尿中蛔虫卵に対する Thiabendazole の殺卵効果は，その剤型によつて差がないことが明らかとなつた。従つてこれを実際使用上から考えると完全に溶解する水溶剤が最も取扱い易いので，剤型として好適であると思われる。

しかし，一般に殺卵剤として有効なものは非水溶性であり，それが適格条件ではないかという推論が行なわれている (大沢，1955；加納，1957；宮田，1958；佐渡，1961)。またその場合に乳化剤又は溶媒の性質，使用量によつては，殺卵効果を發揮すべき濃度においても効果が減少すると報告されている (加納，1957；宮田，1958；鉤虫仔虫に対する駆虫剤では安羅岡，1957)。

そこで上記の2つの適格条件について考えてみると，非水溶性の点では Thiabendazole がこれを満足するものであることが分かる。一方，中間水溶剤，さらに水溶剤でも非水溶剤の殺卵効果と差のないことは，水に可溶化の条件が殺卵効果を減少せしめなかつたことを示すもので，第2の可溶化の条件も満足していることになる。

2. 最小有効濃度に関する考察

すでに前報に記載したように Thiabendazole の最小有効濃度を決定するためには，第1に最小有効濃度とは作用濃度を低下させていつたとき，仔虫期卵が出現しない最小濃度であるとし，第2に，はじめて仔虫期卵が出現する濃度 (最小有効濃度の 1/2 の濃度) において桑実期異常卵が 20~30% に出現することが原則であるとした。従つてこの原則をもつて最小有効濃度を推定ないし決定する補助手段としてきた。

しかるに人蛔虫卵を対象とした実験において (25°C，7日第1例，第3表)，培養4週後には仔虫期卵を認めなかつた 3.12 ppm の例を，同一材料中の鞭虫卵を観察するため培養8週後に調べたところ 1~2% の仔虫期卵が認められた。

そこで改めて最小有効濃度における仔虫期卵形成率 0% の例について培養8週後に虫卵材料1例につき 15 コの標本を作り，その左右2カ所の仔虫期卵数を計えたのが第7表である。培養8週後も仔虫期卵が認められないものは省略した。

この表によれば，最終的には仔虫期卵が 1~2% に検出される例であつても，虫卵材料から1枚の標本を作つて 100 コの虫卵を計えると仔虫期卵形成率が 0% になる確率はかなり大きいことが分かる。

以上の結果から最小有効濃度とはその濃度において仔虫期卵形成率が 0% であるか又は 0% になる可能性のあ

第7表 仔虫期卵形成率0%の同一材料から
作った検査標本15コ中の仔虫期卵出現率

標 本 番 号	仔虫期卵出現率					
	第1例		第2例		第3例	
	A	B	A	B	A	B
1	2	2	0	1	1	2
2	0	1	0	0	0	1
3	0	0	1	0	0	0
4	1	0	0	0	2	0
5	0	2	0	0	0	1
6	0	1	1	0	1	2
7	0	0	0	0	1	1
8	1	0	0	1	2	1
9	0	1	0	0	0	2
10	0	0	0	1	2	1
11	0	1	1	0	1	0
12	2	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	2	1
14	0	0	0	0	0	2
15	0	0	1	0	1	0
仔虫期卵 0%の回数	11	9	11	12	6	5

A, Bは標本1枚の左半分, 右半分を示し,
その部分で虫卵100コを観察した。

る場合の両者があるとするのが妥当であろうと思われる。

次に実験結果の項において人蛔虫卵を対象として水溶剤を用いた場合, 25°C, 3日作用では最小有効濃度が前報の非水溶剤のそれと異なっていることを述べた。人蛔虫卵と豚蛔虫卵は薬剤その他に対する抵抗性の差はないとされているので(齊藤, 1957; 寺尾, 1958), この差は次の理由によると思われる。

即ち今回の人蛔虫卵は検便を目的として集められた尿内蛔虫卵であり, その尿は従来の豚蛔虫卵の実験に使われた新鮮人尿にくらべると, 若干乾燥しているため固形成分量が大となつて, 尿尿比(1:5)が同一であつてもやや濃厚な尿尿であつたと推定される。

第4表において初めて仔虫期卵が出現する場合, その出現率は豚蛔虫卵を対象としたときよりもやや高率である傾向が認められる。そしてこのような傾向が顕著に認められた例として25°C, 3日作用における最小有効濃度の変動を考えることが出来る。しかもこれと同一材料を用いた7日作用の第1例にのみ, 最小有効濃度に2%の仔虫期卵が認められていることは, 上記の尿尿比に問題があることを意味するものであろう。

2. 作用日数の延長及び短縮に伴う最小有効濃度の変動について

まづ作用日数の延長に伴う最小有効濃度を調べたのは次の理由による。第1に7日以内の作用日数では不完

全な殺卵効果もしくは無効であつた濃度(1.56 ppm以下, 25°C, 尿尿中)でも, 作用日数を増せば有効になってくるであろうという推定による。第2に最小有効濃度で薬剤を使用したとき, 何らかの原因でその後尿尿が追加又は稀釈されれば薬剤の濃度も同時に低下する危険があることを考慮したためである。この場合に作用日数の延長によつて作用濃度の低下を補償しうることが予想される。

第5表によれば1.56 ppmで13~19日作用の仔虫期卵形成率は4%, 1%, 0%であるが, 0.78 ppmにおける同一作用日数では異常発育卵(後期, 主として後期桑実期)百分率は24~31%である。前報で述べた通り, はじめて仔虫期卵の出現する濃度(最小有効濃度の1/2)において異常発育卵(後期)が上記の20~30%に出現するのが原則であるから, これを今回の試験成績にあてはめると13~19日作用では1.56 ppmが最小有効濃度となる。従つて上記の如く0~4%の仔虫期卵形成率は前項の考察(第7表)から考えれば実験誤差であつて何れも0%の可能性をもつていると考えられる。

次に0.78 ppmにおいては30日作用で仔虫期卵形成率0%であり, 次の濃度0.39 ppmにおいて上記の異常発育卵(後期)が30%に出現していることは, 前に述べた理由から30日作用においては0.78 ppmが最小有効濃度であることを支持する。

0.39 ppmについては30日作用でも18%の仔虫期卵形成率で或る程度の殺卵効果を示すに止まつたが, 対照の無処置尿尿中のそれは80%であることは注目される。

即ち, 殺卵剤を使用する以外に尿尿を高温で長期間保存することが寄生虫卵殺滅方法の一つであるが, 西ら(1958)が行なつた尿尿中蛔虫卵の加温による殺滅試験でも25°C尿尿中では26日保存で96%の仔虫期卵形成率であり, 28日では87%となつている。このように夏期気温として設定した25°Cにおいて, 尿尿中蛔虫卵は今回の成績と同様に, 少なくとも26~28日保存では約90%が仔虫期卵となつるとするならば, これを短時間で殺滅するためには殺卵剤の使用が有意義であると思われる。

なお上記の検討とは逆に, 作用日数の短縮を目的として薬剤を高濃度に用いる場合の作用日数も検討した。これらの結果を総合して, 特定の作用日数において必要な特定の濃度(最小有効濃度)は第8表の通りである(作用温度25°C)。

これを見ると完全な殺卵効果が期待できる日数は, もし作用濃度を1/2に減らしたとするとほぼ2倍に延長する必要があり, 前報にのべた作用日数と作用濃度との関

第8表 各種作用日数における Thiabendazole
の最小有効濃度(作用温度 25°C の場合)

作用日数	作用日数に対応する Thiabendazole の最小有効濃度 ppm (稀釈倍率)	仔形成期卵率	対照卵の形成率
1	40 (25,000)	0	99
2	20 (50,000)	0	98
3	6.25 (160,000)	0	99
7	3.12 (320,000)	0	98
16	1.56 (640,000)	1	93
30	0.78 (1,280,000)	0	80

尿メチウムは尿尿, 虫卵は豚蛔虫卵, 中間水溶液を用いた。

係についての結論と一致する。

3. Thiabendazole の殺卵有効成分について

今までに述べた如く, Thiabendazole は非水溶剤であっても溶媒を用いることによつて, 水溶剤, 中間水溶剤と同様の殺卵効果を示す。その最小有効濃度は尿尿中においても 0.78 ppm (1,280,000 倍, 25°C 30 日作用, 中間水溶剤) という低濃度であつて, 蛔虫卵の發育を完全に阻止する。

そこで Thiabendazole 構成分子のいかなる部分が殺卵作用を有するかについて若干の補足的検討を行なつた。Thiabendazole の構造は 2-(4'-thiazolyl)-benzimidazole であるので第9表に示した benzimidazole, imidazole, benzothiazole 及び thiazole の水溶液(各 50 ml, 25°C, 7 日作用)について殺卵効果をみた。その結果 benzothiazole にのみ殺卵作用が認められたが, その有効濃度は Thiabendazole のそれにくらべて遙かに高濃度を必要とした。

上記の結果では質的には thiazole 部分に殺卵効果があることになるが, 表の如く thiazole 単独では殆んど効果がない。従つて Thiabendazole が実際に殺卵効果を發揮している理由として可能性のあるものを考えると, 次の2つの条件を満足しているためであると推定される。

第1には殺卵作用を有する部分としては thiazole であり, その分子構造中に環状の SCN (—S—C=N—) 結合を有することが注目される。第2にはそれが単独では有効でなく, benzene と結合した benzothiazole の形において或る程度有効なことである。

即ち SCN (又は NCS) 結合が殺卵作用を示すことは水中において有効な殺卵剤としての phenylthiocyanate, phenylisothiocyanate (芥子油) において著明である。これらにおける鎖状 NCS 結合は peptide の amino 及び oxy 残基に対して温和な条件でも反応することから, 蛔

第9表 各種薬剤水溶液による Thiabendazole
の殺卵有効成分の検討

a) 薬 剤	作用濃度		
	1,000ppm	100ppm	10ppm
1) Imidazole	94	95	98
2) Benzimidazole	92	96	93
3) Benzothiazole	0	95	99
4) Benzothiazole + Imidazole	0	98	96
5) Benzothiazole + Benzimidazole	0	98	93
対 照	99		

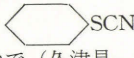
1-3 はそれぞれ単独の作用濃度で

4-5 はそれぞれの薬剤が表示濃度だけ使用。数字は仔虫期卵百分率

b) Thiazole (ppm)	仔虫期	単変細胞性	異常發育初期	後期
400	85	5	2	8
200	86	2	4	8
100	84	3	6	7
50	91	1	2	6
25	95	1	1	3
12.5	98	0	0	2
6.25	95	2	3	0
3.12	92	4	2	2
1.56	95	0	0	5
対 照	94	1	0	5

a) b) ともに作用温度 25°C, 7 日作用, 豚蛔虫卵を用いた, 作用中 pH は 1)~5) は 7.2~8.2 で Thiazole は 5.3~5.5 である

虫卵に対しては細胞蛋白質分子の親水性残基の amino, oxy 側鎖を封鎖し, 水分子に対する蛋白質分子の親水性を低下させ, 蛋白質の水中強制沈澱の如き収縮, 凝集像を呈して殺卵すると考えられる(宮田, 1958)。また $\text{S} \begin{matrix} \parallel \\ \text{N}-\text{C} \end{matrix} \text{S}-\text{H}$ 結合を有する dithiocarbamate も殺卵効果を示し, これはマウス精母細胞に対しては細胞蛋白質分子の鎖員間結合を —S—S— の部分で還元的に切断し, 細胞質の変形破壊をもたらすのと同理由によつても推定される(宮田, 1958)。

しかしながら上記の thiocyanate は水中における殺卵効果は著しいが, NCS 結合ではアンモニアの存在下で急激に効果が低下し, SCN 結合では急激な低下はないとされている。ところが実際に尿尿中においては SCN 結合(たとえば phenylthiocyanate,  SCN) であつてもその効果は急激に低下するので(久津見, 1964; 第6表), ともに尿尿中で効果の減少は避けられない。

今回の Thiabendazole においては SCN 結合はそれ自身は不飽和ヘテロ5員環化合物の thiazole 中に環状で存在することが特徴である。殺卵効果に関する SCN

結合が thiazole 部分にあつて Thiabendazole の殺卵作用の主な因子として働いているとすれば、尿尿中においてもその効果が減少させられることがないのはその構造と関連があるのではないかと想像される。

そして、すでに指摘した如く現在までに殺卵剤として有効な物質は親脂性であることが共通の性質である。これは蛔虫卵殻は2~4層がグルコサミン及び類脂体からなるキチン質であるため(只野・只野, 1956), benzene 核を有する芳香族化合物などはこれを通過する条件を有するためであろう。Thiabendazole は benzene と imidazole の結合した benzimidazole がこの条件を満たすとも考えられ、これが thiazole の附加によつて殺卵効果を發揮するものと推定される。

最後に殺卵剤の有効性の全般的な考察としては、構造非特異的な物質の作用に関する Ferguson の原理から媒質と生活相に対する毒性薬剤の分配の問題も考慮しなければならず、また薬剤の飽和度、溶媒量と殺卵効果の関連、尿尿それ自身の性質などの問題も残されている。このように殺卵剤の効果の解明には蛔虫卵の代謝という生理学的な面と、薬剤作用の生化学的、物理化学的な面からも追究されるべきであるが、現段階ではその説明に必要な資料が十分でなく、未だその時期に到達していない。

要 約

寄生虫卵殺滅剤として報告されているものはそのほとんどが難水溶性で、また水に可溶化の条件によつてはその効力が著しく減少することが知られている。

著者は前報で難水溶性の Thiabendazole 純末(非水溶剤)につき蛔虫卵殺卵実験を行ない、優れた殺卵効果を有すること述べたが、上記の点を検討するため今回はその水溶剤(完全水溶性)及び中間水溶剤につき同様の方法で蛔虫卵殺卵実験を行ない、次の結果を得た。

1. 中間水溶性 Thiabendazole の豚蛔虫卵殺滅に必要な最小有効濃度(仔虫期卵の出現しない最小濃度)は、25°C 7日作用の尿尿中では 3.12 ppm(稀釈倍率として 320,000倍)であるが、水中と尿中では 1.56 ppm(640,000倍)であつた。

2. 水溶性 Thiabendazole の尿尿中豚蛔虫卵に対する最小有効濃度は 15°C 3日作用では 50 ppm(20,000倍) 7日作用では 25 ppm(40,000倍)であり、25°C 3日作用では 6.25 ppm(160,000倍)、7日作用では 3.12 ppm(320,000倍)であつて、何れも仔虫期卵を認めない。これら中間水溶剤、水溶剤の殺卵効果は前報の非水溶剤の

それと一致した。

3. 水溶性 Thiabendazole の尿尿中人蛔虫卵に対する最小有効濃度は、25°C 7日作用(3例)では 3.12 ppm であり、3日作用では 12.5 ppm であつた。7日作用の結果はこれまでの豚蛔虫卵に対する結果と一致したが、3日作用では稀釈1段階だけ効果が低下した。後者の理由としてはメヂウムの尿尿比の変動に基づく実験誤差であろうと推定した。

4. 尿尿中蛔虫卵に対する Thiabendazole の最小有効濃度は 25°C 7日作用では上記の通り 3.12 ppm で、1.56 ppm 以下では仔虫期卵が出現する。そこでこれらの濃度において作用日数を延長し、仔虫期卵の認められなくなる作用日数を求めたところ、1.56 ppm(640,000倍)では 16~19日作用、0.78 ppm(1,280,000倍)では 30日作用であつた。0.39 ppm では 30日作用でも 18% の仔虫期卵が出現したが、対照のそれは 80% であるからこの濃度でも或る程度の殺卵効果が認められた。

5. 作用日数の短縮に必要な Thiabendazole の最小有効濃度を求めたところ、25°C 1日作用では 40 ppm(25,000倍)、2日作用では 20 ppm(50,000倍)であつた、3日作用ではさきに報告した如く 6.25 ppm である。

6. Thiabendazole の殺卵有効成分ならびにその殺卵作用の発現に関する考察を行なつた。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜つた予研寄生虫部長小宮義孝博士、及び柳沢十四男博士に感謝の意を表す。

本論文の要旨は第33回日本寄生虫学会総会(昭和39年4月)において発表した。

参 考 文 献

- 1) 加納宏一郎(1957): 殺卵剤に関する研究(4)、非イオン界面活性剤の殺卵剤に及ぼす影響、特に其の HLB と殺卵剤の効力に及ぼす影響との関係について。岐阜県医科大学紀要, 5(1), 40-47
- 2) 久津見晴彦(1963): 寄生虫卵殺滅剤に関する研究(1)、蛔虫卵に対する NaPCP の殺卵効果ならびに NaPCP に対する紫外線照射の影響について。寄生虫誌, 12(6), 485-496.
- 3) 久津見晴彦(1964): 寄生虫卵殺滅剤に関する研究(2)、蛔虫卵に対する非水溶性 Thiabendazole の殺卵効果とくに各種作用条件下における効果。寄生虫誌, 13(1), 32-42.
- 4) 宮田幸治(1958 a): 殺卵剤に関する研究(1)、dithiocarbamate および thiocyanate の殺卵効果について。日本衛生学雑誌, 13(2), 208-215.
- 5) 宮田幸治(1958 b): 殺卵剤に関する研究(2)、

- thiocyanate の殺卵効果に及ぼす乳化剤の影響について, 日本衛生学雑誌, 13(5), 619-622.
- 6) 西三郎ら(1958): 尿管消化槽内蛔虫卵の抵抗性に関する基礎的研究. 寄生虫誌, 7(7), 222.
- 7) 大沢正夫(1955): 尿管の薬剤処理による蛔虫感染予防に関する実験的研究(5), 尿管の薬剤処理による蛔虫卵殺滅に関する2, 3の考察. 日本小児科学会誌, 58(8), 835-843.
- 8) 斉藤敏昭(1957): 人蛔虫卵及び豚蛔虫卵の抵抗性に関する比較試験. 寄生虫誌, 6(6), 499-508
- 9) 佐渡正四郎(1961): 寄生虫殺卵剤に関する研究. 日本公衆衛生雑誌, 8(1), 101-109.
- 10) 只野正志・只野柳(1956): 蛔虫卵卵膜(卵殻)の構成とその除去. 科学, 25, 309-310.
- 11) 寺尾宏一郎(1958): 殺卵剤の研究(3), 尿管中の人蛔虫卵, 水中の人蛔虫卵及び水中の豚蛔虫子宮内卵に対する諸種薬剤の殺卵作用. 寄生虫誌, 7(2), 97-102.
- 12) 安羅岡一男(1957): 鉤仔・成虫の行動に及ぼす各種駆虫剤の影響に関する研究. 寄生虫誌, 6(5), 401-413.

STUDIES ON THE OVICIDES AGAINST HELMINTHS EGGS *IN VITRO*

III. OVICIDAL ACTIVITIES OF WATER-SOLUBLE AND SEMI-WATER-SOLUBLE THIABENDAZOLE ON *ASCARIS* EGGS IN NIGHTSOIL AND THE TIME-CONCENTRATION RELATIONSHIP FOR COMPLETE INHIBITION OF LARVAL FORMATION

HARUHIKO KUTSUMI

(Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo)

In the previous report (Kutsumi, 1964) author had observed that Thiabendazole (non-water-soluble pure powder) was a very promising ovicide against *Ascaris* eggs in nightsoil. In the present paper a further effort was made to investigate the ovicidal activities of water-soluble and semi-water-soluble Thiabendazole and the time-concentration relationship for complete inhibition of larval formation of human and swine *Ascaris* eggs. The results obtained were as follows:

1) Ovicidal activity of semi-water-soluble Thiabendazole on the eggs (swine) in water, urine and nightsoil were examined at concentrations between 6.25 and 0.39 ppm with two-fold dilution. A seven-day exposure resulted in no larval formation in 1.56 ppm in water and urine, and 3.12 ppm in nightsoil.

2) Ovicidal activity of water-soluble Thiabendazole on the eggs (swine) in nightsoil was examined. A three-day and seven-day exposure resulted in no larval formation in 50 ppm and 25 ppm at 15°C and 6.25 ppm and 3.12 ppm at 25°C, respectively.

3) Ovicidal activity of water-soluble Thiabendazole on the eggs (human) in nightsoil was examined. A three-day and seven-day exposure at 25°C resulted in no larval formation in 12.5 ppm and 3.12 ppm, respectively.

The ovicidal activities of both types of Thiabendazole above mentioned were in accord with that in the previous experiment using non-water-soluble Thiabendazole.

4) Time-concentration relationship for complete inhibition of larval formation of the eggs (swine) in nightsoil was examined at concentrations between 100 and 20 ppm in one to three days exposures and between 1.56 and 0.39 ppm in four to thirty days.

Complete inhibition of larval formation of the eggs in nightsoil at 25°C was obtained at the concentration of 40, 20, 6.25, 3.12, 1.56 and 0.78 ppm respectively in the exposure period of 1, 2, 3, 7, 16 and 30 days.

Concentration of 0.39 ppm showed 18% larval formation in 30 days exposure, but 80% in the control.

5) The mode of action of Thiabendazole against *Ascaris* eggs in nightsoil was discussed