

# 素焼板(立瓦)による鉤虫卵培養法

## 附. 焼製温度の素焼板の吸水性に及ぼす影響

分 島 整\* 小 津 茂 弘 会 田 忠 次 郎

埼玉県衛生研究所

加 地 信 板 橋 卓

千葉県衛生研究所

(1967 年 4 月 17 日 受 領)

### はじめに

鉤虫卵の培養法は Looss (1896) が糞便に獣炭末を混じて行なった炭末培養法を発表して以来, 我国でも各種の方法が宮川 (1913), 大平 (1914), 松林 (1921), 松崎 (1928), 原田 (1951), 福本 (1956), 大野 (1958), 佐野 (1959) などにより考案されている. 現在広く行なわれている沱紙培養法は塗抹出来る糞便量や培養水の汚濁などに, また素焼板培養法は操作の軽易性に欠点があり, これらの点を補う意味で大野 (1958) が立瓦培養法(塗抹糞便量 0.5 g の素焼製匙形でスピッツグラスに入れて培養する方法)を創案している. しかし素焼板には常に一定した塗抹面の湿潤が期待出来ない製品もある.

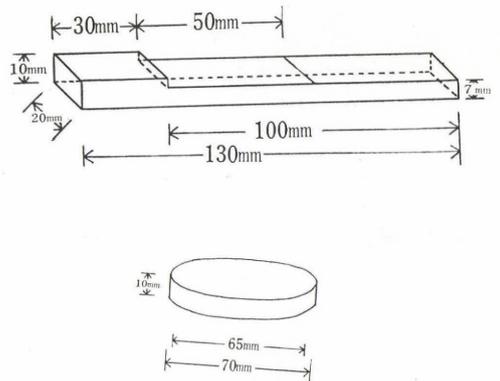
私達は鉤虫卵の培養法を検討中に素焼板の吸水性が焼製時の温度に著しく影響されることに気付いた. そこで大野の立瓦に多少の改変を加え, 多量の糞便も塗抹出来る様に成型し, これを用いて焼製温度と吸水性との関係を精査すると共に, 鉤虫卵の培養実験にも用い興味ある成績を得たので報告する.

### 実験材料および方法

#### 素焼板の作製法:

実験に用いた瓦用粘土は埼玉県大宮市, 鴻巣市, 深谷市の屋根瓦製造業者より求め, 粘土塊を粉碎して 1 mm 目の篩にかけ, 適宜清水を加えて捏ね 2~3 日丸めて室内に放置し, 成型前にさらに 5~10 分間充分捏ねて第 1 図の様に素焼板(立型)と比較用の素焼板(平型)(以下素焼皿という)を成型した.

焼製は実験用電気炉(内径 10 cm, 横径 14.5 cm, 縦



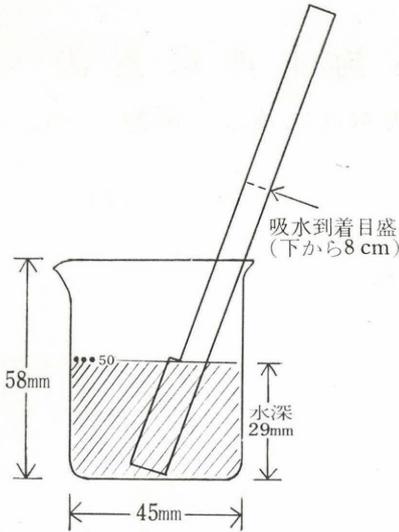
第 1 図 素焼板(上)および素焼皿(下)の型寸模型図

径 35 cm) で行ない, それぞれ所定の温度 (600°C, 700°C, 800°C, 900°C, 及び 1,000°C) に上昇後その温度で 5 時間焼いた後に電源を切り冷却してから取り出した.

#### 吸水性の試験方法:

素焼板は 100 ml 入りビーカーに約 50 ml の清水を入れ, 第 2 図の様にその中に殆ど直立させて, 素焼皿は内径 85 mm, 深さ 20 mm のシャーレに 20 ml の清水を入れてその中央に置き, それぞれ時間読みを始め, 前者は瓦の湿潤線が下から 8 cm の線に達するまでの時間を, 後者は瓦の上面中心部が完全に湿潤し終るまでの時間を計測した. 両者共に各焼製温度毎にそれぞれ 70 コずつを試験に用いた.

\* 現在: 埼玉県女子公衆衛生学院

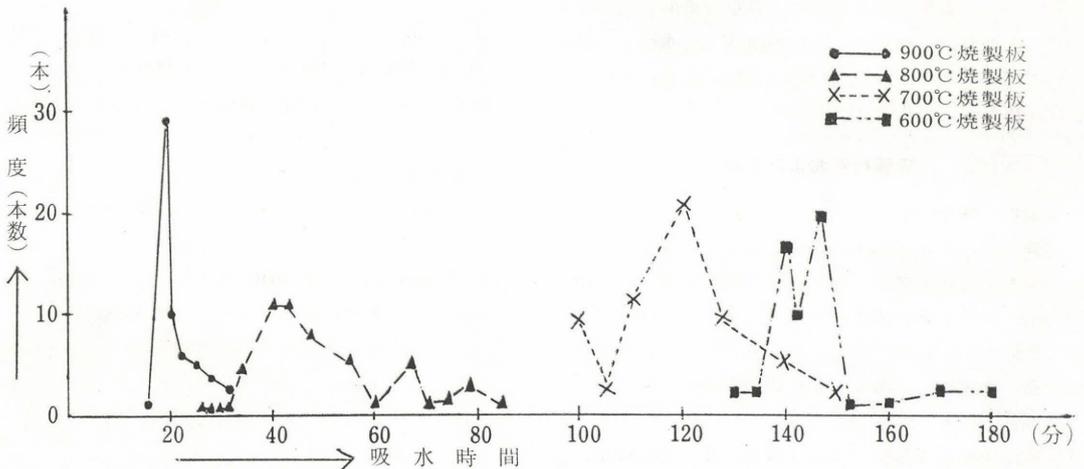


第2図 素焼板の吸水試験方法

培養実験材料および方法：

比較実験に用いたものはそれぞれ5種類の異なる温度で焼いた素焼板および素焼皿で、その吸水時間は第1表の如くであった。培養条件の悪い冬季(1月~2月)であったが埼玉県東部の農村の鉤虫保有者の糞便をなるべく実情に則する様にして集め、同一糞便について前記の素焼板ならびに素焼皿による培養法と塗抹3枚法、飽和食塩水浮游法、埼玉沈澱法の各虫卵検査を併せて行なった。

培養方法は素焼板に糞便2gを秤量塗抹し、大型試験管(内径26mm、長さ180mm)に入れて水深が3cm



第3図 素焼板の焼製温度別吸水時間範囲ならびに頻度

第1表 鉤虫卵培養実験に用いた素焼板および

素焼皿の種類

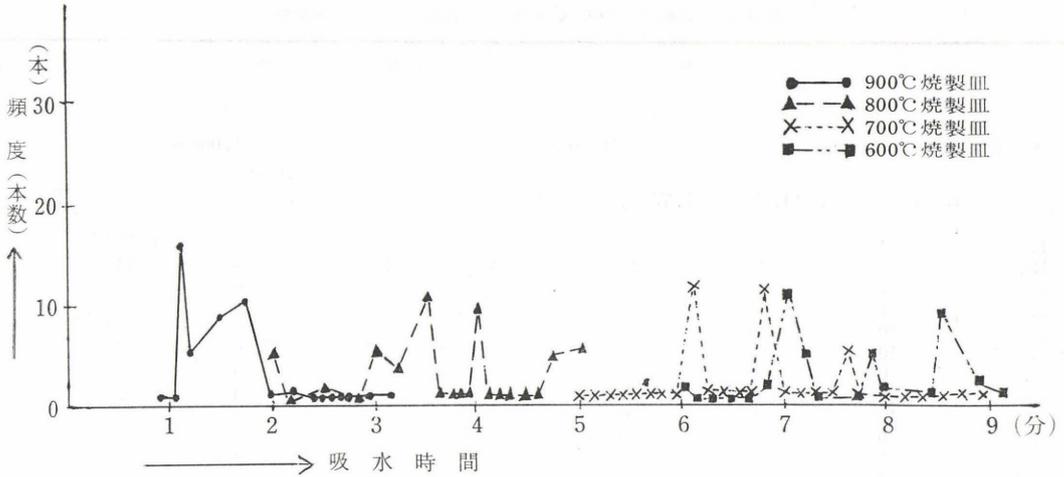
種別	焼製温度	吸水時間		
		最短時間	最高時間	実験に使用した範囲
素焼板 (立型)	1,000°C	4時間	観察で完全吸水せず	
	900°C	16分	32分	17分~20分
	800°C	27分	85分	28分~44分
	700°C	100分	150分	100分~120分
	600°C	130分	175分	130分~150分
素焼皿 (平型)	1,000°C	4時間	観察で完全吸水せず	
	900°C	60秒	195秒	60秒~165秒
	800°C	120秒	315秒	120秒~300秒
	700°C	300秒	540秒	300秒~540秒
	600°C	360秒	720秒	360秒~540秒

になる様に清水をピペットで注入後綿栓し、素焼皿は同じく糞便2gを秤量塗抹し、中型シャーレ(内径9cm)に入れ20mlの清水を注入後に蓋をして、それぞれ28°Cふ卵器内で15日間培養を行ない、鉤虫仔虫の隻数を算えた。なおこれとは別に集団検査の目的で冬季(1963年11月~1964年2月)に実施した千葉県茂原市他4町村の鉤虫対策事業の後検便の時に、セロハン厚層塗抹法、飽和食塩水浮游法による虫卵検査と併せて同一糞便で前記と同様に素焼板(900°C焼製のもの)培養法で同定を兼ねて検出仔虫数を算えた。

実験成績

1. 素焼板の焼製温度と吸水性の関係

素焼板ならびに素焼皿の焼製温度と吸水性の関係は第3図および第4図に示した通りで、両者共に900°Cで



第4図 素焼皿の焼製温度別吸水時間範囲ならびに頻度

第2表 鉤虫卵培養試験

方法	糞便検査				鉤虫卵培養検査								
	塗抹3枚法	飽和食塩水浮游法	埼玉法(沈澱法)	1,000°C	900°C	800°C	700°C	600°C	1,000°C	900°C	800°C	700°C	600°C
使用糞便量	1.5mg	0.5g	0.5g	2g	2g	2g	2g	2g	2g	2g	2g	2g	2g
検出数	虫卵数(個)				仔虫数(隻)				仔虫数(隻)				
検体番号													
A.	虫卵数の多い場合												
B.	54	1,202	1,692	11	985	794	1,055	793	797	1,128	1,771	1,587	280
	21	1,696	2,043	269	746	277	827	736	1,241	910	1,571	1,209	940
小計	75	2,898	3,735	280	1,731	1,071	1,882	1,529	2,038	2,038	3,342	2,796	1,220
C.	虫卵の少ない場合												
D.	4	117	192	107	190	57	67	111	217	94	69	184	186
E.	0	2	8	2	14	12	21	5	9	9	11	10	21
F.	5	169	237	4	12	2	4	6	31	9	10	13	9
G.	0	3	6	1	13	2	2	6	8	7	0	1	2
H.	1	25	38	20	9	8	1	6	35	7	4	12	6
I.	7	131	259	4	76	82	93	98	117	89	167	213	226
J.	3	100	185	13	315	336	304	307	111	238	245	131	223
K.	4	204	677	54	206	505	403	520	316	270	277	306	400
	3	77	217	153	308	225	149	281	262	325	361	350	530
小計	27	828	1,819	358	1,143	1,229	1,044	1,340	1,106	1,048	1,144	1,220	1,603
合計	102	3,726	5,554	638	2,874	2,300	2,926	2,869	3,144	3,086	4,486	4,016	2,823

焼製した場合が吸水性が一番安定しており、順次焼製温度が低くなるにつれて吸水性のばらつきが大となる。なお、1,000°C以上で焼製した素焼板は4時間観察でどれも完全に吸水し終った製品はなかった。

また硬度は900°C~800°Cで焼製したものが適当であり、700°C~600°Cでは脆く破損しやすい。

### 2. 焼製温度別素焼板の鉤虫培養成績

焼製温度別の素焼板ならびに素焼皿による鉤虫卵培養試験の成績は第2表に示すとおりで、1,000°C素焼板培養の成績は明らかに悪く、それを除けば各素焼板の間に仔虫検出数はそれ程著明な差は認められない。

### 3. 野外集団培養実験成績

第3表 素焼板(900°C焼製)培養法による野外実験

方法	糞便検査				虫卵培養検査			
	セロハン厚層塗抹法		飽和食塩水浮游法		素焼板培養法			
	50 mg		500 mg		1,000 mg			
使用糞便量 種別	H.W.(個) T.O.(個)		H.W.(個) T.O.(個)		H.W.		計(隻)	T.O.(隻)
検体番号	H.W.(個)	T.O.(個)	H.W.(個)	T.O.(個)	N.A.(隻)	A.D.(隻)		
No. 121	31	0	0	0	2,754	0	2,754	4
122	2	0	16	0	2,119	0	2,119	6
123	1	0	5	0	2	0	2	0
221	1	0	1	0	3	0	3	0
222	10	0	50	0	85	0	85	0
225	10	0	5	0	57	0	57	0
322	0	2	0	15	0	0	0	28
323	1	0	8	0	29	0	29	0
324	16	0	30	0	270	0	270	0
325	0	2	0	1	0	0	0	74
401	5	0	8	0	26	0	26	0
402	4	0	58	0	16	0	16	0
403	0	0	2	0	7	0	7	0
412	10	0	100	0	15	0	15	0
416	2	0	4	0	5	0	5	0
417	2	0	2	0	4	0	4	1
418	1	0	24	0	13	0	13	0
419	1	0	5	0	4	0	4	1
501	10	0	53	0	220	0	220	0
502	1	0	37	0	73	0	73	2
504	4	0	19	0	10	0	10	1
505	0	1	5	5	6	0	6	175
506	1	0	24	0	70	0	70	0
507	3	0	24	0	14	45	59	1
508	0	0	0	6	7	0	7	5
509	2	0	15	0	45	0	45	0
510	13	1	40	3	344	0	344	34
511	7	2	30	2	300	0	300	45
512	2	50	27	27	244	0	244	2,282
513	0	20	0	41	0	0	0	502
514	5	20	4	35	268	0	268	2,041
602	0	0	0	1	0	0	0	1
615	3	0	1	0	19	0	19	0
621	2	0	1	0	36	0	36	0
624	4	0	0	0	20	0	20	0
701	5	0	27	0	56	0	56	0
702	0	30	0	30	0	0	0	431
703	5	0	26	0	0	76	76	0
706	70	0	8	0	256	0	256	0
713	3	0	10	0	55	0	55	0
717	13	0	33	0	46	0	46	0
719	15	0	3	0	11	0	11	1
721	0	0	0	0	10	0	10	1
724	20	0	100	0	14	8	22	0
804	0	20	0	85	0	0	0	150
807	1	0	3	0	19	0	19	3
809	0	0	0	0	10	0	10	2
810	0	0	0	0	5	0	5	4
811	90	0	100	0	920	0	920	0
902	0	0	0	0	1	0	1	3
904	0	1	0	3	1	0	1	3
908	15	0	204	0	122	0	122	1
920	20	0	101	0	22	0	22	0
922	30	0	420	0	103	0	103	0

千葉県で鉤虫対策時に協力に応じた132名について集団培養実験を行なったが、その検出仔虫数および同定成

績は第3表に示すとおりである。虫卵検査法と培養法を併せて検討すると第4表に示すとおりで、鉤虫は87例

第4表 虫卵検査と仔虫培養法の比較

(鉤虫)		素焼板培養法			素焼板培養法				
		+	-	計	+	-	計		
飽水和浮食遊塩法	+	56	4	60	セ厚法 ロ層 ハ塗 ン抹	+	65	7	72
	-	23	49	72		-	14	46	60
		79	53	132			79	53	132

(東洋毛様線虫)		素焼板培養法			素焼板培養法				
		+	-	計	+	-	計		
飽水和浮食遊塩法	+	16	3	19	セ厚法 ロ層 ハ塗 ン抹	+	13	1	14
	-	21	92	113		-	24	94	118
		37	95	132			37	95	132

132名中の虫態は鉤虫陽性者87名, 東洋毛様線虫陽性者40名である。

中で培養法79例, 厚層塗抹法72例, 食塩浮游法60例が陽性を示し, 東洋毛様線虫は40例中で培養法37例, 厚層塗抹法14例, 食塩浮游法19例が陽性を示した。この結果からも培養法の併用を実施する必要性が認められる。

#### 考察ならびに討論

鉤虫卵培養法は日常業務の多忙な臨床検査室(病院保健所など)では, 検体の送付や糞便塗抹培養など一連の操作が簡単であり鉤虫感染の危険が少なく, しかも検出率のよい方法を望んでいる。松崎(1961)は良好な陽性率を得るには培養時の塗抹糞便量は少なくとも3gは必要といい, 柳沢(1956), 大野(1958)等は培養時のふ化率は糞便の塗布面積(6cm<sup>2</sup>~7cm<sup>2</sup>)に対し便量0.1g~0.3gがよいといっている。即ち糞便を比較的少量に薄く拡げて塗抹することが陽性率, ふ化率の向上に必要であると思われる。

沱紙培養法と素焼皿培養法の比較は大野(1956)が同一糞便を両者に同量ずつ用いて発生仔虫数を比較すると常に素焼皿培養法がすぐれていると云い, 藤原(1961)は沱紙培養法と素焼皿培養法の塗布面積をともに28cm<sup>2</sup>として比較した結果も素焼皿培養法がL.P.G.が多いと述べている。さらに大野(1958)は素焼皿培養法と立瓦培養法の比較では発生仔虫数において大差がなく, 培養操作の面では立瓦法がすぐれているので特に集団培養を行なう場合に有効な方法であるといっている。

私達は培養法の検討中に焼製温度の調節により常に安定した吸水性を有する素焼板の製作に成功したので, 前記諸家の業績を参考として大野が考案した立瓦を改変し, 約2gの糞便が薄く塗抹出来る様に成型した素焼板をつくり, 吸水性が沱紙同様に常に安定したものを作製したので, 市販の素焼皿で吸水不十分で表面が乾燥するものが混じているために培養を失敗すると言う心配が無くなった。

また素焼板培養法と素焼皿培養法との間に検出仔虫数がそれ程差がないので大野の説が再確認され, 従って集団検査時に素焼板培養法を利用することもよいと思われる。

#### まとめ

鉤虫卵培養法を検討中に素焼瓦の焼製温度が著しく吸水性を左右することを知ったので, 1. 焼製温度と素焼瓦の吸水性の関係, 2. 焼製温度別の素焼板と素焼皿の鉤虫卵培養成績の比較, 3. 集団検査に素焼板培養法の利用を行ない, 次の様な結論が得られた。

1) 素焼瓦は800°C~900°Cで5時間焼製すると適当な硬度で常に一定した強力な吸水性が得られる。しかし600°C~700°Cでは瓦は軟らかく破損し易く吸水性もやや劣り, 1,000°C以上では質は硬くなるが吸水性が著しく悪くなる。

2) 焼製温度別の培養比較試験では1,000°C焼製の素焼板の成績は明らかに悪いが, その他の各素焼瓦の間に検出仔虫数の著明な差が認められない。

3) 素焼板培養と素焼皿培養の間では多数寄生の場合には素焼皿が多少検出仔虫数が多いが, これは同一糞便量を用いたので塗抹面積が後者が前者の約1.5倍あるため薄く拡げられた結果ではないかと考えられる。なお少数寄生では両者の間に著明な差がない。

4) 集団検査で鉤虫, 東洋毛様線虫の検出には素焼板培養法を用いるのもよいと思われる。

本論文の要旨は第33回日本寄生虫学会総会に発表した。

#### 参考文献

- 1) 藤原満喜子(1961): 鉤虫卵および東洋毛様線虫卵含有糞便の定量的培養法ならびにその意義に関する研究. 新潟医学会誌, 75(1), 63-87.
- 2) 福本圭士(1956): 鉤虫仔虫の無菌的培養法. 南大阪病院医学誌, 4(2), 5-7.
- 3) 古山利雄(1929): 培養法による十二指腸虫および東洋毛様線虫の感染率について. 朝鮮医学, 94,

- 1107.
- 4) 原田義道・森 納(1951)：十二指腸虫の簡易培養法について. 医学と生物, 20(2), 65-67.
  - 5) 原田義道・森 納(1952)：培養法ならびに皮内反応による鉤虫症の診断. 臨床医学, 37(3), 219-223.
  - 6) 原田義道(1954)：簡易鉤虫卵培養法. 日本医事新報, (1575), 2787-2788.
  - 7) 今井二三子(1956)：鉤虫に関する研究 I. 鉤虫卵検査法その他について. 岐阜医大紀要, 4(5), 365-376.
  - 8) 伊藤淳一・藤原満喜子・児島幸信(1957)：鉤虫および東洋毛様線虫の培養仔虫数算定の意義. 第17回日本寄生虫学会東日本大会記事, 17.
  - 9) 方波見重兵衛(1959)：鉤虫卵の発育に関する研究. 特にポリエチレンフィルム法による観察. 千葉医学会誌, 34(6), 1845-1862.
  - 10) 小宮義孝・小林昭夫・杉山太幹・久津見晴彦(1960)：鉤虫卵検査法の再検討. 冬期検査時における浮游法および培養法の鉤虫卵検出力について. 寄生虫誌, 9(5), 480-485.
  - 11) 松林久吉(1954)：鉤虫卵培養法とその診断的価値. 日本医事新報, (1575), 2787.
  - 12) 松崎義周(1928)：アンキロストーマ種, ネカトール種十二指腸虫卵および東洋毛様線虫卵のふ化について. 慶応医学, 8(12), 2185-2200.
  - 13) 松崎義周(1961)：便の培養検査における各種仔虫の鑑別. 神奈川県寄生虫予防協会編, 7頁.
  - 14) 宮川米次(1913)：糞便内における卵子の培養法による十二指腸虫病の診断について. 日本消化機病学会誌, (12), 133-154.
  - 15) 大平得三(1914)：十二指腸虫およびストロングロイデスの培養試験における錯誤ならびにその原因. 東京医事新誌, (1889), 2031-2038.
  - 16) 大野俊雄・柳沢利喜雄・矢島ふき(1956)：鉤虫の仔虫培養法の吟味について (1) 瓦培養法と沔紙培養法の比較. 寄生虫誌, 5(2), 206-207.
  - 17) 大野俊雄(1958)：鉤虫卵および東洋毛様線虫卵の培養に関する研究. 千葉医学会誌, 33(6), 1285-1293; 34(1), 71-85.
  - 18) 佐野健二(1959)：鏡検用採便具の考案とその応用. 寄生虫誌, 8(3), 435.
  - 19) 佐々 学(1960)：寄生虫感染の試験管培養法による診断. 臨床検査, 4(8), 473-479.
  - 20) 佐々 学・三井源蔵・掛川征支・山本健治(1964)：ポリエチレンチューブ培養法と厚層塗抹法を併用した庵美大島における寄生虫検便成績の疫学的検討. 寄生虫誌, 13(5), 379-386.
  - 21) 宇佐美健一(1919)：余の考察に係る十二指腸虫培養の一新方法. 特に清浄なる仔虫聚集法について. 医事新聞, (1028), 961-990; (1029), 1025-1054; (1030), 1107-1119.
  - 22) 柳沢利喜雄・藤縄和聰・水野哲夫(1956)：瓦培養法による鉤虫仔虫発生数とストール法による鉤虫卵数との関係. 寄生虫誌, 5(2), 186.

**Abstract****A NEW TECHNIQUE WITH RECTANGULAR UNGLAZED TILE FOR  
CULTIVATION OF HOOKWORM EGGS**

TADASU WAKESHIMA, SHIGEHIRO OZU, CHUJIRO AIDA  
(*Saitama Institute of Public Health, Omiya, Saitama, Japan*)

SHIN KACHI & TAKASHI ITABASHI  
(*Chiba Institute of Public Health, Chiba, Japan*)

The unglazed tiles baked at various temperatures from 600°C to 1,000°C were used for the cultivation of hookworm eggs and the results were compared with other techniques as the filter paper, the unglazed tile disc and centrifugation techniques for hookworm eggs.

The shape of the tile used for the experiment was designed as shown in Fig. 1 and it was dipped vertically in the beaker with water as shown in Fig. 2. Prior to the cultivation of hookworm eggs with the tiles the hardness and water sucking power of them baked at various temperatures were comparatively examined.

The tiles baked at 800°C to 900°C for 5 hours are moderate in hardness and strong in water sucking power, but ones baked at 600°C to 700°C are somewhat soft, fragile and slightly poor in water sucking power.

However, no differences in detection rates of the larvae were seen among the unglazed tiles baked at temperature from 600°C to 900°C for 5 hours.

Although no differences among the detection rates of the larvae by the unglazed tile disc and rectangular unglazed tile were seen, the number of the larvae detected by the former was some larger than that of the latter.

It may be postulated that the smeared area of stool on the former was larger 1.5 times than that of the latter. From the results obtained, a new technique with rectangular unglazed tile is easy and safe in handling, therefore it might be considered to be recommendable for the survey of hookworm or *Trichostrongylus* infections.