

3種糸状虫の伝搬過程の量的観察

和田 芳 武

東京女子医科大学寄生虫学教室

高 岡 正 敏

東京医科歯科大学医学部医動物学教室

白 坂 昭 子

東京大学医科学研究所寄生虫研究部

(昭和52年2月1日 受領)

はじめに

糸状虫の伝搬を考える際に、宿主から媒介動物に取込まれたマイクロフィラリア (mf) が感染幼虫へと発育し、さらに次の宿主へ感染していく過程で、どのような数量的変化をするかは、媒介動物の媒介効率等の面で重要な意味を持っている。

今日まで mf の媒介動物による取込みに関しては、Nicholas and Kershaw (1954), Duke (1956), Wharton (1957a, b), 大森 (1958), 田中ら (1963), 中村 (1964) など、各種糸状虫と媒介動物の組合せで報告があり、一部は mf 取込数の分布様式にまで言及している。また感染幼虫への発育は Jordan and Goatly (1962), Wharton (1957a) などに、媒介動物の再吸血の際に媒介動物から脱出する感染幼虫数を扱った報告は、Lavoipierre and Ho (1966), de Meillon *et al.*, (1967), Duke (1973) 等に見受けられる。

しかし mf の媒介動物への取込みから、次の宿主への感染に至るまでの糸状虫の数量的変化を、一つの感染群で一貫して観察したものは少なく、各段階での虫数の分布様式を追っているものも見当たらない。そこで筆者らはこれらに重点を置き、3種の糸状虫を用いて感染実験を行った。

実験材料および方法

用いた糸状虫は、マレーシアの Dr. C. P. Ramachandran より譲渡されたマレーシア産イエネコに感染しているマレー糸状虫 *Brugia malayi* (Brug, 1927), 東京で捕獲された野犬に感染した犬糸状虫 *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856), 東京大学医科学研究所寄生虫

研究部で飼育中のコトナラット *Sigmodon hispidus* に感染させたコトナラット糸状虫 *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919) の3種である。

媒介動物としては、東京大学医科学研究所寄生虫研究部で累代飼育中のトウゴウヤブカ *Aedes togoi* (Theobald, 1907) の2系統、オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* (Coquillett, 1898), イエダニ *Ornithonyssus bacoti* (Hirst, 1913) の3種4系統を用いた。

糸状虫と媒介動物の組合せに従って以下の様に実験番号を定めた。マレー糸状虫と台北系トウゴウヤブカを実験1, 同じくマレー糸状虫と三崎系トウゴウヤブカを実験2とし、6回の繰返えしを行なった(実験2-1から実験2-6まで)。マレー糸状虫とオオクロヤブカを実験3, 犬糸状虫と三崎系トウゴウヤブカを実験4, コトナラット糸状虫とイエダニを実験5とした。

観察は、次の4つの段階で行なった。

1. 宿主末梢血中の mf 数 (「宿主内 mf 数」と略す)

実験1~4では、イヌまたはネコをペントバルビタール-ナトリウム (ソムノペンチル) の 30 mg/kg 静脈注射で麻酔し、蚊に吸血させている間に、宿主の耳静脈から 2.5mm³ ずつ 50回以上の採血を行ない、塗抹標本とし、溶血、メタノール固定後ギムザ染色して mf 数を検鏡・計数した。但し実験2の一部と実験3は 10mm³ 数回の採血しか行なっていない。

実験5では、イエダニに吸血させる直前のコトナラットの尾静脈から、2.5mm³ ずつ 14回採血し、以下同様に処理、mf 数を調べた。

2. 媒介動物の取込む mf 数 (「取込 mf 数」と略す)

実験1~4では、麻酔した宿主を金網製蚊飼育ケージ

(30×30×30cm) 上に置き、30分間集団で吸血させ、その後直ちに満腹吸血蚊だけを取り出し、一部を-20Cで凍結した。また、上述の30分間集団吸血の場合と、吸血終了30秒以内の蚊の中腸内 mf 数を比較するため、実験2-2では集団吸血と同時に、個別に中試験管に入れた蚊を吸血させ、満腹になった直後に凍結させる方法も実施した。

凍結した蚊は随時冷凍庫より取出し、融解しない内に中腸内血液だけをスライドグラス上に取出し、24×24mmのカバーグラスをかけて融解させ、そのまま顕微鏡下でmf数を調べた。

実験5に対しては、空腹のイエダニの内、充分大きくて雌成虫と思われるものを選んで、金網にはさんで固定した感染コトナラットにふりかけ、30分間吸血させた。満腹吸血したダニはスライドグラスに取り、18×18mmのカバーグラスをかけてダニをおしつぶし、そのまま検鏡して、雌成虫について数を調べた。

また、「宿主内mf数」から媒介動物の吸血量に従った「mf取込期待数」を算出するため、吸血直前と直後の媒介動物の平均体重の差を調べ、血液の比重を1.055として吸血容量を求めた。

3. 媒介動物内で发育した感染幼虫数（「感染幼虫数」と略す）

実験2～4では、満腹吸血した蚊を26±1.5Cの飼育室で2%蔗糖液と産卵用の容器を与えて14日間飼育した後、実体顕微鏡下で解剖して感染幼虫数を調べた。

実験5では、満腹吸血したイエダニを同じく26±1.5Cの飼育室内で20日間飼育した後、スライドグラス上に取り、生理食塩水一滴を落して実体顕微鏡下でダニの体を壊し、カバーグラスをかけて検鏡、雌成虫について感染幼虫数をかぞえた。

4. 再吸血後の媒介動物体内に残留している感染幼虫数（「残留幼虫数」と略す）

実験2および4では、満腹吸血後14日間飼育した蚊に、金網にはさんで固定したモウコスナネズミ *Merionis unguiculatus* を与えて2回目の吸血をさせた。そして再度満腹に吸血した蚊は解剖して体内に残っている感染幼虫数を調べた。

実験5では、満腹吸血後20日間飼育したダニを金網にはさんで固定したコトナラットにふりかけて再度吸血させた。充分吸血したものは、スライドグラス上でカバーグラスをかけておしつぶし検鏡、雌成虫について残留している感染幼虫数を調べた。

各観察段階で得られたフィラリア虫数の度数分布データについて、その分布型を調べるため伊藤(1960)に従って、まずバリエーションと平均値の比 S^2/\bar{x} の値と、負の二項分布当てはめに必要な k 値を算出した。次いで S^2/\bar{x} 値について、ポアソン散布指数を用いて、有意水準0.10で検定しポアソン分布当てはめの適否を調べた。ポアソン分布と考えられたものは同分布の理論値を、この分布からはずれ集中型分布と思われるものは、負の二項分布を当てはめ、その理論値を算出した。得られた理論値については χ^2 検定を行った。

各実験毎に、各観察段階でのフィラリア虫数の変動については、単純平均を用いて比較を行なった。

さらに、「感染幼虫数」と「残留幼虫数」の比較を、当てはめた分布型の理論値を用いて行なつたが、詳細は結果の項で述べる。

結 果

粗データと言うべき、各観察段階で得られたフィラリア虫数の度数分布は Table 1 に示し、各度数分布に当てはめた分布型と、検定結果は Table 2 に示した。また実験2-2, 4, 5については各観察段階の度数分布と、当てはめた分布型の理論値を合わせて、各々 Figs. 1, 2, 3 として示した。

実験2-2の「取込mf数」は、個別吸血で吸血直後の中腸内mf数を調べたデータと、30分間集団吸血後の中腸内mf数を調べたデータの2つが有るが、Table 1 に示した様に、平均mf数は各々2.95匹と2.94匹で差がなく、負の二項分布当てはめに必要な k 値は各々0.42と0.46で近い値を示した。そこで集団吸血のデータに個別吸血の平均値と k 値を用いた負の二項分布を当てはめ、またその逆の当てはめを行なつて χ^2 検定を行なつたが、共に当てはめは適当であると考えられた。つまり、個別吸血と30分間集団吸血での度数分布には差が認められず、30分以内に中腸内から中腸壁又は体腔へ脱出するmfは、ほとんど無いと思われた。

そこで Table 2 をはじめ、以後の実験2-2の「取込mf数」の記述には2つの方法によるデータを合計した値を用いた。

平均虫数の推移を見るため、各観察段階の単純平均の他に、標本数不足で度数分布を取るに至らなかつた「宿主内mf数」の平均値および吸血量から算出した「mf取込期待数」を加えて Table 3 に示した。

1) フィラリア虫数度数分布の分布型

Table 2 に示した通り、「宿主内mf数」の分布は全

Table 1 Frequency distribution of samples with microfilariae or infective larvae: in the combination of *Brugia malayi* and *Aedes togoi* Taipei strain (Experiment No. 1), *B. malayi* and *A. togoi* Misaki strain (Exp. No. 2 series), *B. malayi* and *Armigeres subalbatus* (Exp. No. 3), *Dirofilaria immitis* and *A. togoi* Misaki strain (Exp. No. 4) and *Litomosoides carinii* and *Ornithonyssus bacoti* (Exp. No. 5)

Experiment No.	Observation* step No.	Frequency of samples with following number of microfilariae or larvae												Total sample	Total worm	Average worm	S ² / \bar{x} ***	k****
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	10<					
1	1	13	18	17	13	3	2	0	0	0	0	0	0	66	113	1.71	0.95	35.37
	2	31	20	10	6	7	4	2	4	1	0	0	1	86	165	1.92	2.80	1.06
2-1	1	22	27	17	14	4	2	1	0	0	0	0	0	87	135	1.55	1.20	7.90
	2	11	7	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	20	20	1.00	3.80	0.63
	3	72	11	7	3	4	2	4	3	0	1	1	2	110	151	1.37	5.39	0.21
2-2	4	63	13	7	3	1	1	0	0	0	0	0	0	88	45	0.51	1.91	0.42
	1	3	8	13	12	9	5	4	4	1	1	0	0	60	200	3.33	1.27	12.05
	2	40	13	11	8	7	4	4	3	1	0	2	7	100	294	2.94	7.64	0.46
	2**	17	6	4	3	1	2	2	2	1	0	0	3	41	121	2.95	6.99	0.42
2-3	3	71	15	6	4	2	2	0	0	0	0	0	0	100	57	0.57	2.18	0.36
	4	87	9	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	100	22	0.22	2.33	0.16
	3	41	13	10	3	4	3	0	1	1	1	1	4	82	158	1.92	5.49	0.39
	4	40	12	2	3	1	0	0	1	0	0	0	1	60	49	0.82	4.92	0.32
2-4	1	0	0	1	8	8	2	7	7	7	3	5	3	51	328	6.43	1.11	57.78
	3	27	8	7	9	5	3	0	1	0	2	1	3	66	166	2.52	5.49	0.50
2-5	3	18	15	8	2	3	2	2	0	0	0	0	3	53	118	2.23	6.89	0.83
2-6	3	56	14	8	5	2	7	2	1	2	3	0	3	112	186	1.16	4.92	0.28
3	3	26	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	3	0.10	0.90	1.00
4	1	0	0	5	10	11	15	16	11	6	6	2	6	88	530	6.02	1.18	33.97
	2	4	2	2	1	1	1	0	0	0	0	0	1	12	32	2.67	5.33	0.70
	3	40	27	15	9	12	8	3	2	1	2	1	0	120	240	2.00	2.55	1.29
	4	33	17	9	8	5	2	1	1	0	0	0	1	77	114	1.48	2.76	0.82
5	2	12	10	9	6	5	7	5	7	4	1	2	32	100	1,974	19.74	88.91	0.60
	3	41	13	14	15	5	1	3	2	0	1	1	5	101	240	2.38	5.72	0.53
	4	77	6	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	85	13	0.15	2.23	0.12

* Observation step 1: microfilariae in 2.5mm³ of host blood smear ;
 step 2: microfilariae taken up by a vector ;
 step 3: infective larvae matured in a vector ;
 step 4: infective larvae remained in a vector which had taken the second blood meal.

** Mosquito samples were frozen immediately after individual blood sucking ; in other cases of observation step 2, mosquitoes were frozen after 30min. mass blood sucking.

*** Empirical divergence coefficient of Poisson distribution.

**** A constant for negative binomial distribution.

例, ポアソン分布に一致した.

一方媒介動物内のフィラリア虫数は, 実験3の「感染幼虫数」だけがポアソン散布指数検定からポアソン分布に一致し, 他は集中型分布と考えられた. そして負の二項分布を当てはめ χ^2 検定の結果, 実験2-1および5の

「取込mf数」だけが確率5%以下となつたが, 他は一応この分布と一致する様に思われた.

2) 媒介動物によるmfの取込み

Table 3に示した「mf取込期待数」と「取込mf数」の比較は以下の様になつた.

Table 2 Specification of the type of distribution for the observed frequency distribution of samples with microfilariae or with infective larvae: The experiment number and the combinations of parasite and vector were shown in Table 1

Experiment No.	Observation step No.	S ² / \bar{x}	k	nS ² / \bar{x}	χ^2_{n-1} (0.95)	χ^2_{n-1} (0.05)	Distribution* pattern	sum χ^2	d. f.	Probability
1	1	0.95	35.37	63	47	85	P	1.58	3	0.66
	2	2.80	1.06	241	—	107	N-B	1.25	2	0.54
2-1	1	1.20	7.90	104	66	109	P	2.63	3	0.45
	2	3.80	0.63	76	—	30	N-B	4.07	1	0.04
	3	5.39	0.21	593	—	134	N-B	1.31	1	0.25
2-2	4	1.91	0.42	168	—	109	N-B	0.48	1	0.48
	1	1.27	12.05	76	42	78	P	0.91	3	0.82
	2**	7.46	0.45	1,051	—	168	N-B	1.34	4	0.85
	3	2.18	0.36	218	—	123	N-B	0.33	1	0.56
2-3	4	2.33	0.16	233	—	123	N-B	0.31	1	0.58
	3	5.49	0.39	450	—	103	N-B	0.75	2	0.68
	4	4.92	0.32	295	—	77	N-B	1.59	1	0.21
2-4	1	1.11	57.78	57	35	68	P	5.17	2	0.08
	3	5.49	0.50	362	—	85	N-B	2.45	2	0.29
2-5	3	6.89	0.83	365	—	70	N-B	3.33	2	0.18
2-6	3	4.92	0.28	551	—	136	N-B	0.86	2	0.65
3	3	0.90	1.00	26	17	41	P	0.18	1	0.66
4	1	1.18	33.97	104	67	110	P	1.46	5	0.92
	2	5.33	0.70	64	—	20	N-B	0.12	1	0.72
	3	2.55	1.29	306	—	145	N-B	5.47	4	0.25
	4	2.76	0.82	213	—	97	N-B	0.69	2	0.73
5	2	88.91	0.60	8,891	—	123	N-B	17.8	6	0.006
	3	5.72	0.53	577	—	124	N-B	6.89	3	0.08
	4	2.23	0.12	190	—	106	N-B	2.33	1	0.13

* Distribution pattern applied: P is Poisson distribution and N-B is negative binomial distribution.

** Combined data of individual and mass blood sucking ones.

Table 3 Changes of the average number of filarial worms in the course of transmission

Experiment No.	1	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6	3	4	5
Parasite	B.m.	B.m.	B.m.	B.m.	B.m.	B.m.	B.m.	B.m.	D.i.	L.c.
Host	cat	cat	cat	cat	cat	cat	cat	cat	dog	cotton-rat
Vector	A.t.(T)	A.t.(M)	A.t.(M)	A.t.(M)	A.t.(M)	A.t.(M)	A.t.(M)	A.s.	A.t.(M)	O.b.
mf in 2.5mm ³ (10mm ³) of host blood	1.71	1.55	3.33	(22.88)	6.43	(51.00)	(13.33)	(13.33)	6.02	2285
Expected No. of mf in a vector	1.27	1.92	3.86	6.04	7.05	—	—	—	8.93	233.05
Observed No. of mf in a vector	1.92	1.00	2.94	—	—	—	—	—	2.67	19.74
Infective larvae matured in a vector	—	1.37	0.57	1.92	2.52	2.23	1.66	0.10	2.00	2.38
Infective larvae remained in a re-engorged vector	—	0.51	0.22	0.82	—	—	—	—	1.48	0.15

Parasite B. m. : *Brugia malayi*
 D. i. : *Dirofilaria immitis*
 L. c. : *Litomosoides carinii*

Vector A. t. (T) : *Aedes togoi* Taipei strain
 A. t. (M) : *Aedes togoi* Misaki strain
 A. s. : *Armigeres subalbatus*
 O. b. : *Ornithonyssus bacoti*

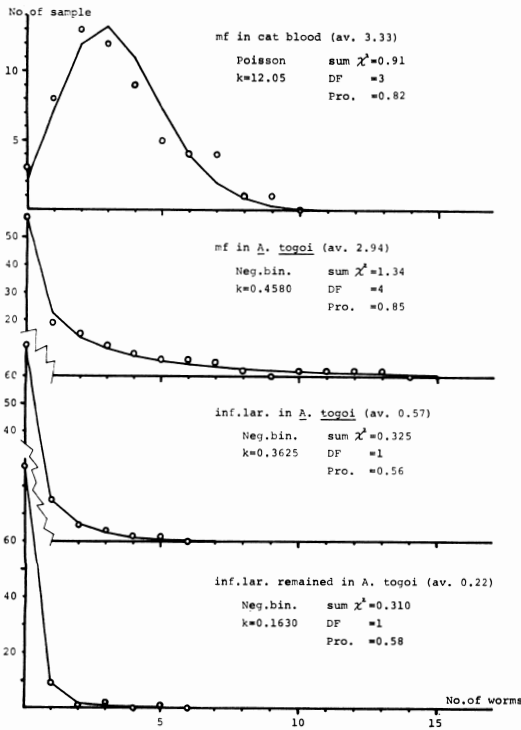


Fig. 1 Exp. 2-2 : *B. malayi*

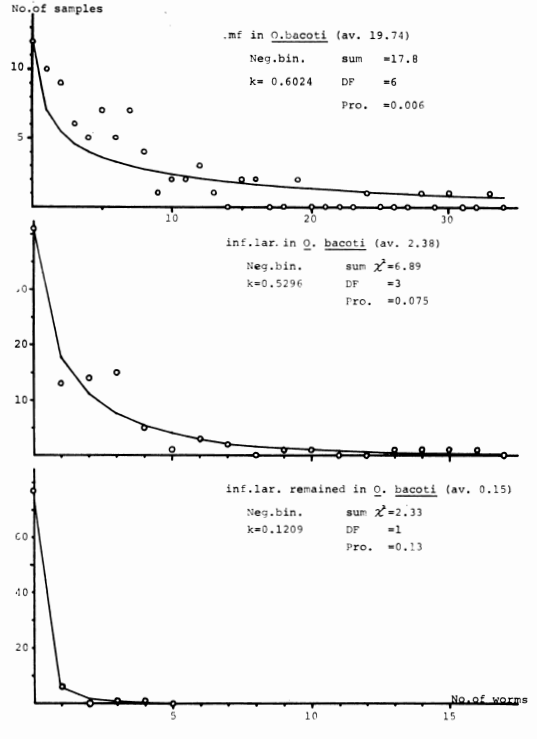


Fig. 3 Exp. 5 : *L. carinii*

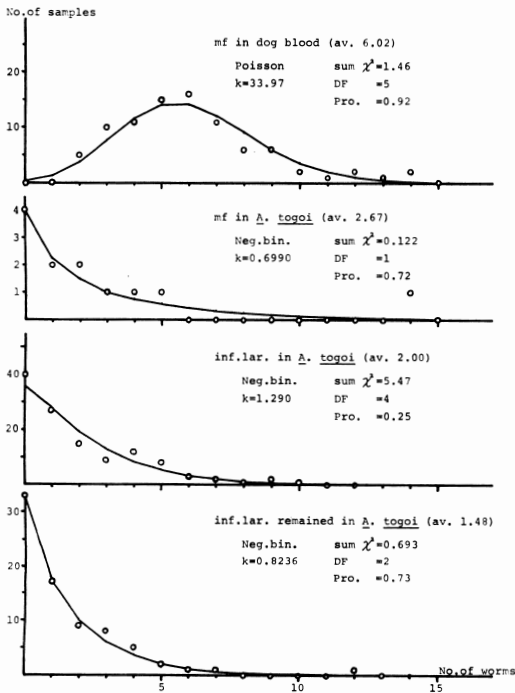


Fig. 2 Exp. 4 : *D. immitis*

マレー糸状虫 mf のトウゴウヤブカによる取込みは、実験 1 では「取込 mf 数」平均 1.92 匹で「mf 取込期待数」1.27 匹の 1.5 倍であった。同様に実験 2-1 では 0.52 倍、実験 2-2 で 0.76 倍で、いずれも、三崎系トウゴウヤブカによる取込みは台北系によるよりも低い効率となった。

犬糸状虫の実験 4 では、「mf 取込期待数」8.93 匹の 0.30 倍に当たる 2.67 匹が三崎系トウゴウヤブカに実際に取込まれたが、これはマレー糸状虫の場合よりかなり低い値であった。

実験 5 でイエダニがコトンラット糸状虫 mf を取込んだ量は、「mf 取込期待数」の 0.085 倍と極めて低かった。

3) 感染幼虫への発育

Table 3 で「取込 mf 数」と「感染幼虫数」を比較出来る例は少ないが、実験 2-1 では「取込 mf 数」1.00 匹に対して「感染幼虫数」1.37 匹と増加しており、「取込 mf 数」の標本数が少ない事などによる、明らかに矛盾した結果となった。実験 2-2 では「取込 mf 数」に対する「感染幼虫数」の比の値は 0.19 と極めて小さかった。

Table 4 The estimations of the extrication rate of infective larvae from the vector based on the data of experiment No. 2-2

No. of "infective larvae" (N)	Hypothetical frequency* of vector with "infective larvae"	Extrication rate set temporarily (P)	Calculated frequency of mosquitos with following number of "remained infective larvae"***								
			0	1	2	3	4	5	5<		
0	71.00	—	71.00								
1	15.73	0.77	12.11	3.62							
2	6.55	0.69	3.11	2.80	0.63						
3	3.15	0.61	0.71	1.37	0.88	0.19					
4	1.62	0.53	0.13	0.45	0.60	0.36	0.08				
5	0.86	0.45	0.02	0.10	0.24	0.29	0.18	0.04			
6	0.47	0.37	0.00	0.01	0.05	0.12	0.15	0.10	0.04		
7	0.26	0.29	0.00	0.00	0.01	0.02	0.05	0.08	0.10		
8	0.14	0.21	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.10		
8<	0.22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Total	100		87.1	8.4	2.4	1.0	1.1				
Hypothetical frequency* of vector with "remained infective larvae"			87.00	8.15	2.72	1.13	1.00				

* for both of hypothetical frequency, negative-binomial distribution were applied.

** for the calculation, formula $[P+(1-P)]^N$ was expanded for each frequency of "infective larvae".

トウゴウヤブカ内の犬糸状虫については、「取込 mf 数」2.67 匹が「感染幼虫数」で2.00 匹となつて比の値0.75とマレー糸状虫の場合より若干高率と考えられた。イエダニ内のコトラット糸状虫では比の値が0.12と極めて低い値を示した。

また、実験3は実験2-6と同時に、同じネコから吸血させたものだが、オオクロヤブカ内で発育したマレー糸状虫感染幼虫は平均0.10匹しかなく、トウゴウヤブカ内の平均1.66匹の $1/17$ 程度であつた。

4) 感染幼虫の媒介動物からの脱出

Table 3に示した単純平均でみると、実験2-1では「感染幼虫数」1.37匹「残留幼虫数」0.51匹で残留率0.37、脱出率0.63となつた。同様に実験2-2、2-3では脱出率は各々0.61と0.57となり、マレー糸状虫感染幼虫のトウゴウヤブカ再吸血の際の脱出率は60%位であつた。この値を犬糸状虫を用いた実験4で求めると26%、コトラット糸状虫の実験5では94%を示した。

次いで感染幼虫の脱出の様子を知る為に、以下の検討を加えた。1匹の媒介動物内に n 匹の感染幼虫が居て、再吸血の際に感染幼虫は脱出を試みて残留した数が x 匹 (x=0, 1, ..., n) となる確率は、脱出率を p として $\{p+(1-p)\}^n$ を展開した時の x 項、すなわち $\frac{n!}{(n-x)! x!} (p)^{n-x} (1-p)^x$ になると考えた。そして「感染幼虫数」に負の二項分布を当てはめた理論度数分

布の各虫数項毎に残留する感染幼虫が x 匹となる頻度を算出し、各 x 項の頻度の和として求めた度数分布と「残留幼虫数」に負の二項分布を当てはめた理論度数分布を比較することにした。各実験のデータに単純平均から求めた脱出率を一律にあてはめて試算を行なつたが、この結果と「残留幼虫数」の理論度数分布には大きな差があつた。そこで実験2-2を例に取つて Table 4に示した如く、算出結果が理論度数分布に出来るだけ近くなる様試行錯誤的に各虫数項の p の値を変えてみた。これらの計算は卓上電子計算器によつた。

一応満足出来る近似を得た際に設定した p の値を Table 5および Table 6に示した。

実験2-1を除いた他の4例は、感染幼虫数が多くなるに従つて等差級数的に脱出率を低く設定していくと、かなり良い一致を見たことになる。この結果に従えば、トウゴウヤブカ内のマレー糸状虫については、実験2-2、2-3で感染幼虫1匹の場合の脱出率は各々0.77と0.65、5匹の場合は0.45と0.55となつた。

犬糸状虫では感染幼虫1匹の時に脱出率0.45、5匹の時に0.25となつた。コトラット糸状虫ではイエダニ内の感染幼虫数1匹の時に脱出率0.999、10匹でも0.900と大変高い値を示した。

Table 5 Estimated extrication rate of infective larvae of *B. malayi* from *A. togoi*, by the way as shown in Table 4

No. of worm	Experiment No. 2-1				Experiment No. 2-2				Experiment No. 2-3								
	A	P	B	C	A	P	B	C	A	P	B	C					
0	65.45	—	71.4	71.59	71.00	—	87.1	87.00	50.00	—	66.2	66.67					
1	11.91	0.36	13.2	16.48	15.73	0.77	8.4	8.15	16.15	0.650	15.2	15.32					
2	6.25	0.39	6.9	6.43	6.55	0.69	2.4	2.72	9.33	0.625	6.8	7.26					
3	3.99	0.42	4.0	2.85	3.15	0.61	1.0	1.13	6.18	0.600	3.8	4.04					
4	2.78	0.45	4.5	2.65	1.62	0.53	1.1	1.00	4.36	0.575	2.3	2.41					
5	2.03	0.48			0.86	0.45			3.18	0.550	1.5	1.49					
6	1.53	0.51			0.47	0.37			2.38	0.525	1.0	0.95					
7	1.18	0.54			0.26	0.29			1.81	0.500	3.2	1.86					
8	0.92	0.57			0.14	0.21			1.39	0.475							
9	0.73	0.60			0.22*	—			1.08	0.450							
10	0.58	0.63			0.84	0.425											
11	0.47	0.66			0.66	0.400											
12	0.38	0.69			0.52	0.375											
13	0.25	0.72			0.41	0.350											
14	0.21	0.75			0.33	0.325											
14<	1.34	—			1.38	—											
	100				100	100			100	100			100	100	100	100	100

*: Total frequency of more than 8 larvae.

A: Hypothetical frequency of mosquitoes with "infective larvae".

B: Calculated frequency of mosquitoes with "remained infective larvae", using the extrication rate "P".

C: Hypothetical frequency of mosquitoes with "remained infective larvae".

P: Extrication rate used for the calculation of "remained infective larvae" from hypothetical frequency of mosquitoes with "infective larvae".

考 察

フィラリア虫数の分布型に関して、まず宿主内の mf 数の分布は全てポアソン分布とよく一致しており、末梢血を採血塗抹する通常の方法では、mf 数はランダムな分布を示すと言えよう。大森 (1958) はバンクロフト糸状虫とアカイエカ、中村 (1964) はバンクロフト糸状虫とトウゴウヤブカを使つて、吸血させた蚊の中の mf 数を調べ、末梢血中の mf 数は通常 Polya-Eggenberger 型、すなわち負の二項分布を示すと結論している。本報の実験結果も蚊に取込まれた mf 数の分布は負の二項分布を示すと考えられ、大森、中村の成績を確認した。しかし、蚊の中の mf 数分布から血液中の mf 数分布も負の二項分布を示すと推定している点については、なお検討を要すると思われる。

mf が媒介動物に取込まれて以後の各観察段階の内、

実験 3 の「感染幼虫数」の分布型以外は全て集中型で、負の二項分布当てはめで、実験 2-1 と 5 の「取込 mf 数」を除いて、全てこの分布型と一応の一致をみた。前述の大森 (1958)、中村 (1964) でも少数例を除いて蚊の取込んだ mf 数は負の二項分布を示したし、Duke (1956) がヌカカ 2 種の常在糸状虫およびロア糸状虫 mf 取込数を調べたデータを検定した結果も、負の二項分布に一致した (Table 7)。また田中ら (1963) がコトノラット糸状虫 mf をイエダニに取込ませ、集中型分布である事を示している。

本実験 3 の「感染幼虫数」は、単純平均虫数が 0.1 と小さく、分布はポアソン型と考えられた。また、大森 (1958) および中村 (1964) でも「取込 mf 数」の平均値の小さい例ではポアソン分布に一致している。一方伊藤 (1960) によれば、ポアソン分布では負の二項分布に使われる k 値が理論的には無限大 (実際には大体 5 以上

Table 6 Estimated extrication rate of infective larvae from the vector, by the way as shown in Table 4

No. of worm	Experiment No. 4 <i>D. immitis</i> in <i>A. togoi</i>				Experiment No. 5 <i>L. carinii</i> in <i>O. bacoti</i>			
	A	P	B	C	A	P	B	C
0	29.88	—	43.6	42.86	40.59	—	90.0	90.59
1	23.44	0.45	23.9	22.68	17.58	0.999	6.3	6.12
2	16.31	0.40	13.0	13.29	10.99	0.988	1.9	1.91
3	10.88	0.35	7.4	8.04	7.58	0.977	0.8	0.76
4	7.09	0.30	4.3	4.94	5.47	0.966	1.0	0.62
5	4.56	0.25	7.8	8.19	4.05	0.955		
6	2.91	0.20			3.05	0.944		
7	1.84	0.15			2.33	0.933		
8	1.16	0.10			1.79	0.922		
9	1.93*	—			1.39	0.911		
10					1.08	0.900		
11					0.85	0.889		
12					0.67	0.878		
13					0.52	0.867		
14					0.41	0.856		
15			0.33	0.845				
15<				1.32	—			
	100		100	100	100		100	100

*: Total frequency of more than 8 larvae.

A: Hypothetical frequency of vector with "infective larvae".

B: Calculated frequency of vector with "remained infective larvae".

C: Hypothetical frequency of vector with "remained infective larvae".

P: Extrication rate used for the calculation of "remained infective larvae" from hypothetical frequency of vector with "infective larvae".

Table 7 Specification of the type of distribution for the frequency distribution of vectors with microfilariae, observed by Duke (1956)

Parasite species	Vector species	No. of vector	Total mf	Average No. of mf per vector	S^2/\bar{x}	k of N.-bino.*	Distribution pattern applied	sum χ^2	Df	Probability
<i>A. per.</i>	<i>C. gra.</i>	120	300	2.50	3.19	1.14	N.-bino.*	4.83	4	0.30
<i>A. per.</i>	<i>C. ino.</i>	100	205	2.05	2.31	1.57	N.-bino.	4.63	3	0.20
<i>L. loa</i>	<i>C. gra.</i>	120	4	0.03	1.47	0.05	N.-bino.	0.76	1	0.38
<i>L. loa</i>	<i>C. ino.</i>	100	23	0.23	1.47	0.69	N.-bino.	0.40	1	0.52

*: Negative binomial distribution

A. per.: *Acanthocheilonema perstans*, *L. loa*: *Loa loa*

C. gra.: *Culicoides grahamii* *C. ino.*: *Culicoides inornatipennis*

か?)となるはずである。本実験3の例では $k=1.00$ であり、大森(1958)の Lot. No. 76では $k=3.37$ 、中村(1964)の Lot. No. 17では $k=2.57$ と計算されるので、ポアソン分布と考えられた例でも k 値の点からは

疑問が残る。実際これらの内、自由度の関係から級数が4ある例に負の二項分布を当てはめても、かなり良い一致がみられる。

以上の点と、実験2-1の「取込 mf 数」は標本数が

少なく、同じ組合せの実験2-2の「取込 mf 数」は負の二項分布に一致したこと、実験5の「取込 mf 数」は単純平均が大きく、各級毎の例数が少なく、負の二項分布に一致しないが、田中ら (1963) の同じ組合せのデータからは負の二項分布に一致すると思われる点を考え合わせると、本実験に用いた寄生虫と媒介動物の組合せについては、媒介動物体内のフィラリア虫数は負の二項分布を示すと言って差しつかえない様に思われる。

しかし、Wharton (1957a) が *Mansonia* 属の蚊とマレー糸状虫の関係を示したデータは、標本数が充分とは言えないが、かなり様子のちがったものである。これは mf の取込みが「mf 取込期待数」よりかなり多いことなども含め、媒介動物種によっては、吸血様式の違いから「取込 mf 数」の分布型が違ったものになる可能性を示している。

本実験では「宿主内 mf 数」は塗抹染色によって計数したが、この方法は Denham *et al.* (1971) にも示される様に、作業過程において mf を失う可能性が高い。それ故本報における「宿主内 mf 数」およびそれから算出した「mf 取込期待数」は過少になつている可能性が大である。その意味も含め、台北系トウゴウヤブカによる実験1では、「mf 取込期待数」の1.5倍も実際に取込んでいた事は、三崎系トウゴウヤブカの各種 mf の取込や、中村 (1964) のトウゴウヤブカによるバンクロフト糸状虫 mf の取込に比べ、測定誤差だけとは考えられない差が有る様に思われる。

イエダニによるコトナラット糸状虫 mf の取込みは、田中ら (1963) の成績と一致した。

感染幼虫への発育について「取込 mf 数」と「感染幼虫数」の比較を行った内、実験2-1では「取込 mf 数」の方が少なかったが、これは集中型分布のものに対して、わずか20の標本数で単純平均をとつたため生じた矛盾と考えられる。この点は多くの先駆者の報告にも当てはまる事で、少数の標本で単純平均を取つてあるものについては、大きな誤差を含んでいる可能性がある。

媒介動物の再吸血による感染幼虫の脱出について、コトナラット糸状虫感染幼虫のイエダニからの脱出率が単純平均で94%と、他の糸状虫に比べ格段に高い値を示したが、これはコトナラット糸状虫 mf のイエダニによる取込効率及び感染幼虫への発育率の悪さを考えると、媒介効率を維持する上で大きく働いていると考えられた。

マレー糸状虫とトウゴウヤブカの組合せの実験2の系

統では、単純平均での脱出率は3例共60%前後で安定した値を示した。しかし蚊体内の感染幼虫数別に脱出率を求めた結果、実験2-1だけは感染幼虫数が多いほど脱出率が高くなると考えられ、他の2例とは逆であつた。「取込 mf 数」と「感染幼虫数」の比較に於ける矛盾と考え合わせると、実験2-1については、全般的に再検討が必要と思われる。

実験2-1を除き、媒介動物体内の感染幼虫の数が多くなるに従つて脱出率が等差級数的に低くなると考えると、実測から求めた「残留幼虫数」の理論分布とよく一致した。しかし、ここで求めた脱出率は試行錯誤的当てはめから出た値であり、より良い脱出率の設定が可能な事はいうまでもない。

一方この様な脱出率の変異の持つ意味を考えると、媒介動物体内の感染幼虫数が直接に脱出率に結びつくのではなく、媒介動物体内での位置分布を介して脱出率に影響しているのではないかと思われる。つまり、de Meillone *et al.* (1967) が示した様に、蚊の吻にいる幼虫は100%脱出するが、腹部にいるものはあまり脱出出来ないという事から、媒介動物内の感染幼虫の数が多くなるに従つて、吻や頭部など脱出しやすい部位に分布している幼虫の割合が低下するのではないかと考えられる。しかし本実験では媒介動物の体の部位別の感染幼虫数を調べていないので、他の報告のデータをこの観点から見なおしてみた。

de Meillon *et al.* (1967) の *Culex pipiens fatigans* とバンクロフト糸状虫の組合せで、成熟した感染幼虫が主な発育の場である胸部からの移動を一段落させたと思われる、吸血後12~12.5日のデータを比較した。「infective」な蚊1匹当たり平均5匹の感染幼虫がいた「Dissection sheet」No. 9とNo. 11の合計で、吻と頭部にいた感染幼虫は全感染幼虫の51.1%であつたが、平均6.3匹の感染幼虫がいた「Dissection sheet」No. 10では吻と頭に36.6%の感染幼虫しかいなかった。この場合、吻と頭部にいた感染幼虫数は「infective」な蚊1匹当たり、前者で2.09匹、後者で2.12匹であつた。

Lavoipierre and Ho (1966) の *Aedes togoi* と *Brugia pahange* の組合せでは、胸部からの感染幼虫の移動が一段落した吸血後9日以後についてみると、吻と頭部にいる感染幼虫数は全幼虫数が多いほど多くなるが、その割合は、吸血後20日の1群を例外として、全幼虫数が多いほど低くなる傾向を示した (Fig. 4)。

Omori (1958) のアカイエカとバンクロフト糸状虫の組合せ、Zeike (1973) のトウゴウヤブカと犬糸状虫の

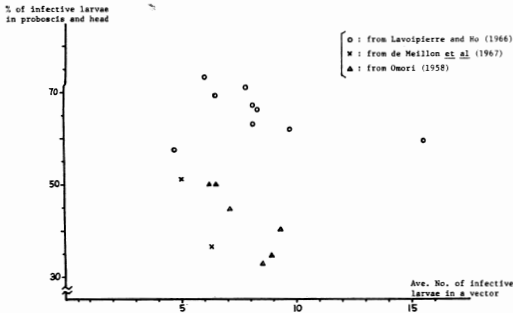


Fig. 4 The relation between the average number of infective larvae in a vector and the percentage of infective larvae in proboscis and head of vector.

組合せでも、蚊の吸血後ほぼ1ヶ月以内では、幼虫数が多いと吻と頭部にいる率は低くなる傾向にあった。

以上の全例共、蚊1匹1匹についての感染幼虫数に従って級を取って比較することは出来ず、蚊1匹当りの平均幼虫数で比較した。しかしこれら多くの例から、媒介動物、少なくとも蚊の様に体の部位が明確に分れている昆虫類では、体内の感染幼虫数が多くなるに従って口器や頭部の様な幼虫の脱出しやすい部位にいる幼虫の割合は低くなり、その結果として、虫数が多いほど全体としての脱出率は低くなると思われた。

ま と め

マレー糸状虫とトウゴウヤブカ、マレー糸状虫とオオクロヤブカ、犬糸状虫とトウゴウヤブカ、コトラット糸状虫とイエダニの4つの組合せで、宿主末梢血中のマイクロフィラリア (mf) 数、媒介動物のmf取込数、媒介動物内で発育した感染幼虫数、媒介動物の再吸血後も媒介動物体内に残留する感染幼虫数を調べ、各段階でのフィラリア虫数の度数分布の分布様式と共に、フィラリア虫数の推移を検討した。

各観察段階でのフィラリア虫数の内、宿主内mf数はポアソン分布に一致し、媒介動物に取込まれて以後の虫数は、全て負の二項分布を示すと思われた。

トウゴウヤブカによる各種mfの取込数は、吸血量から期待される数より若干少ない様であったが、蚊の系統のちがいによって変動する可能性もあった。イエダニによるコトラット糸状虫mfの取込数は期待値の $1/10$ 以下であった。

マレー糸状虫がトウゴウヤブカの中で感染幼虫にまで発育する数は、取込んだmf数に比べかなり少ない様であったが、マレー糸状虫がオオクロヤブカの中で感染幼

虫になる数はトウゴウヤブカの中での $1/17$ 程度と極めて少なかった。犬糸状虫のトウゴウヤブカ内の発育率はマレー糸状虫の場合より若干良いと思われた。一方コトラット糸状虫は取込まれたmf数の $1/10$ 程が感染幼虫になっただけである。

マレー糸状虫感染幼虫の60%は、トウゴウヤブカの再吸血の間に蚊の体外に出たが、犬糸状虫では26%がトウゴウヤブカから出ただけであった。コトラット糸状虫ではイエダニの再吸血の間に94%の感染幼虫が脱出した。

媒介動物内で発育した感染幼虫数と再吸血後も残留した感染幼虫数に負の二項分布を当てはめた理論度数分布を比較検討した所、媒介動物の再吸血の間に媒介動物から脱出する感染幼虫の割合は再吸血前に媒介動物内にいた感染幼虫数が多いほど、低くなると思われた。この原因は感染幼虫数が多いほど、媒介動物の体の部位の内、脱出しやすい吻や頭部に居る感染幼虫の割合が低くなるためと考えられた。

謝 辞

本研究に当り、種々御指導いただいた、東京大学医学研究所寄生虫研究部の田中寛教授、並びに現国立公害研究所副所長の佐々学前教授、東京女子医科大学寄生虫学教室の松本克彦助教授、御協力いただいたMoh. Arbain Joesoef 博士 (インドネシア厚生省) 他、上記二教室の室員一同に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) de Meillon, B., Hayashi, S. and Sebastian, A. (1967): Infection and reinfection of *Culex pipiens fatigans* with *Wuchereria bancrofti* and the loss of mature larvae in blood-feeding. Bull. Wld. Hlth. Org., 36, 81-90.
- 2) Denham, D. A., Dennis, D. T., Ponnudurai, T., Nelson, G. S. and Guy, F. (1971): Comparison of a counting chamber and thick smear methods of counting microfilariae. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 65, 521-526.
- 3) Duke, B. O. L. (1956): The intake of the microfilariae of *Acanthocheilonema perstans* by *Culicoides grahamii* and *C. inornatipennis*, and their subsequent development. Ann. Trop. Med. Parasit., 50, 32-38.
- 4) Duke, B. O. L. (1973): Studies on factors influencing the transmission of onchocercia-

- sis VIII: The escape of infective *Onchocerca volvulus* larvae from feeding 'forest' *Simulium damnosum*. Ann. Trop. Med. Parasit., 67, 95-99.
- 5) 伊藤嘉昭(1960): 動物生態学入門——個体群生態学編——. 394頁, 古今書院, 東京.
 - 6) Jordan, P. and Goatly, K. D. (1962): Bancroftian filariasis in Tanganyika: A quantitative study of the uptake, fate and development of microfilariae of *Wuchereria bancrofti* in *Culex fatigans*. Ann. Trop. Med. Parasit., 56, 173-187.
 - 7) Lavoipierre, M. M. J. and Ho, B. C. (1966): Studies on filariasis. 1. The migration of the infective larvae of *Brugia pahangi* in *Aedes togoi* and their loss from the mosquito under experimental condition. J. Helminth., 40, 343-362.
 - 8) 中村義清(1964): パンクロフト糸状虫症の伝搬に関わるトウゴウヤブカの役割に関する実験的研究. 第1報, トウゴウヤブカの摂取する仔虫数及び仔虫の蚊体内に於ける移動. 長崎大風土病紀要, 6, 25-33.
 - 9) Nicholas, W. L. and Kershaw, W. E. (1954): Studies on the intake of microfilariae by their insect vectors, their survival, and their effect on the survival of their vectors. III. The intake of the microfilariae of *Acanthocheilonema perstans* by *Culicoides austeni* and *C. grahamii*. Ann. Trop. Med. Parasit., 48, 201-206.
 - 10) 大森南三郎(1958): パンクロフト糸状虫症の伝搬に関わるアカイエカの役割に関する実験的研究. 第2報, 人末梢血流中のマイクロフィラリアの分布様成について. 長崎医学会誌, 33, 1045-1053.
 - 11) Omori, N. (1958): Experimental studies on the role of the house mosquito, *Culex pipiens fatigans* in the transmission of bancroftian filariasis. 5. On the distribution of infective larvae in mosquito and the effect of parasitism of filariae upon the host insect. Nagasaki Igakkai Zasshi, 33, 143-155.
 - 12) 田中 寛・千葉日美・田中英文(1963): コットンラット糸状虫マイクロフィラリアの中間宿主イエダニによる吸入量の定量的観察. 寄生虫誌, 12, 191-195.
 - 13) Wharton, R. H. (1957a): Studies on filariasis in Malaya: Observations on the development of *Wuchereria malayi* in *Mansonia (Mansonioides) longipalpis*. Ann. Trop. Med. Parasit., 51, 278-296.
 - 14) Wharton, R. H. (1957b): Studies on filariasis in Malaya: The efficiency of *Mansonia longipalpis* as an experimental vector of *Wuchereria malayi*. Ann. Trop. Med. Parasit., 51, 422-439.
 - 15) Zeilke, E. (1973): Experimentelle Untersuchungen über die quantitativen Verhältnisse bei der Übertragung von *Dirofilaria immitis* durch Stechmücken. Z. Tropenmed. Parasit., 24, 214-221.

Abstract

A QUANTITATIVE STUDY ON THE FILARIAL WORMS IN THE
VECTOR IN REGARD TO THE UPTAKE, DEVELOPMENT
AND THE LOSS AT REFEEDING

YOSHITAKE WADA

Dept. of Parasitology, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan

MASATOSHI TAKAOKA

*Dept. of Medical Zoology, School of Medicine, Tokyo Medical and Dental
University, Tokyo, Japan*

AND

AKIKO SHIRASAKA

Dept. of Parasitology, Institute of Medicinal Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan

Using the combination of *Brugia malayi* (*B.m.*) in cat and *Aedes togoi* (*A.t.*), *B.m.* and *Armigeres subalbatus* (*A.s.*), *Dirofilaria immitis* (*D.i.*) in dog and *A.t.*, and *Litomosoides carinii* (*L.c.*) in cotton rat and *Ornithonyssus bacoti* (*O.b.*), the number of microfilariae in 2.5mm³ of host periferal blood, microfilariae taken by vector, infective larvae developed in vector and infective larvae remained in the re-engorged vector were observed (Table 1).

In each combination, the frequency distribution of microfilariae in host blood fitted to Poisson distribution and most of frequency distribution of filariae in the vector showed the negative-binomial distribution (Table 2).

As shown in Table 3, *A.t.* took usually a little smaller number of microfilariae of *B.m.* and of *D.i.* than the number expected from the volume of blood taken by this mosquito. *O.b.* took 1/10 of expected number of microfilariae of *L.c.*

Compared with the number of microfilariae of *B.m.* in *A.t.*, number of infective larvae found from this mosquito were fairly small, though these ratios were variable. In the case of *B.m.* in *A.s.*, number of infective larvae were 1/17 of that in *A.t.* This development ratio of *D.i.* in *A.t.* was a little larger than that of *B.m.* in the same vector. Only 1/10 of microfilariae of *L.c.* developed to infective larvae in *O.b.*

About 60% of infective larvae of *B.m.* developed in *A.t.* were extricated from the mosquito during the blood sucking, but only 26% of that of *D.i.* went out of the vector during the re-engorgement of *A.t.* The extrication rate of the infective larvae of *L.c.* from *O.b.* was 94% and this value was remarkably high in comparison with the low rate of microfilariae in-take and of the maturation rate of microfilariae.

By changing the extrication rates of infective larvae from the vector, frequencies of larvae to remain in the re-engorged vector were calculated as shown in Table 4. At a good fit of these frequencies with the theoretical frequency of remained larvae, the extrication rates of the larvae showed the arithmetrical progressional decrease in accordance with the increase of the number of infective larvae in the vector (Tables 5 and 6). This decrease of the extrication rate may be caused by the lower rate of existance of infective larvae in the proboscis and the head of vector which has larger number of infective larvae.