

い、結締織増加を来すと云うが、著者等の血清中持続的亜鉛量増加は特に血糖値の上昇及び、尿中糖の出現を招来しなかつた。

入院の1例は自他覚症状が強かつたが、時日の経過と共に血清及尿中亜鉛量減少し、作業より離れて3ヶ月で正常に戻り、且血液所見及肝機能も之と並行して好転した。以上より Drinker の云う如く、著者等は、吸入された亜鉛は長く肺に沈着し、血清中濃度を持続的に維持し、各種臓器機能に障害を与えるが、適当な期間吸入を避け治療すれば恢復する事を知り得た。

14. 結 語

- イ. 松本市内某計量器製作所鍛造工5名に亜鉛中毒の発生を認めた。
- ロ. 急性銻造熱は全員に見られたが、症状の程度は熟練者程度であつた。
- ハ. 慢性的症状としては、咳嗽、不眠、全身倦怠、脱力、動悸、時に鼻出血、血痰、が見られた。此れも熟練者程度であつた。
- ニ. 臨床的には特別理学的所見を認めなかつたが、血液では軽度の貧血が見られた。
未熟練工に於ては B.S.P, Cobalt, 高田の各反応及尿「ウロビリノーゲン」反応が陽性で、肝機能障害を認めた以外、肺、副腎系機能には特に甚しい変化を認めなかつた。
- ホ. 神経炎を現はした1名では齒齦に暗黒色の色素沈着を認め、亜鉛量は血清では 10 γ /c.c. 尿で 3.5 γ /c.c.

又明らかに肝機能障害を証明し、「ワゴスチグミン」試験では、「ヂアスターゼ」曲線の異常降下を認めた。又左下腿筋萎縮及知覚障害あり、歩行障害をも認めたが、入院后治療によ尿中及血清中の亜鉛量が減少すると共に、臨床症状苦訴も消失し、各種機能も恢復した。此の症例は鉛中毒の合併が疑われる。

(終りに当り、大島教授の御指導御校閲を深謝する。尙本論文の要旨は、昭和29年7月18日日本内科学会信越地方会に於て発表した。)

文 献

- ①戸田茂：福岡医学誌 35, 11: 1108
- ②中島実：綜合眼科 37, 10
- ③魚路外：日本薬理学雑誌 44, 3
- ④岡本外：The Hyogo Journal of the Medical Science 1, 1
- ⑤豊川行平：日本衛生学雑誌 34, 7
- ⑥野中：日本衛生学雑誌
- ⑦豊川行平：日本衛生学雑誌 34, 7: 206 昭28年
- ⑧Drinker: J. Indust. Hyg 10, 56: 1928
- ⑨陳内日出二：海軍々医会雑誌 12, 25: 850 昭11年
- ⑩蛭田正一：大阪医事新誌 6, 7: 995 昭11年
- ⑪神立金作：海軍々医会雑誌 6, 22: 527 昭8年
- ⑫神立金作：海軍々医会雑誌 1, 22: 57, 昭8年
- ⑬横田郡三：大阪医学会雑誌 8, 30: 3037, 昭6年
- ⑭境太郎：海軍々医会雑誌 7, 28: 518, 昭14年
- ⑮Lehmann: Arch. of. Hyg., 1910; 72
- ⑯陳内日出二：海軍々医会雑誌 12, 25: 850, 昭11年

膻トリコモナスに関する研究

第1編 膻トリコモナスの培養

昭和29年9月20日受付

信州大学医学部産婦人科学教室(主任 岩井教授)

石井次男 林公健

Studies on *Trichomonas vaginalis*. 1) Cultivation of *Trichomonas vaginalis*

Tsugio ISHII and Kimitake HAYASHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Shinshu University

(Director: Prof. S. [wai])

We obtained pure culture of *Trichomonas vaginalis* with the following culture media added with 250u/cc of penicillin and 1mg/cc of streptomycin; (1) Davis and Hirschberg's media (Locke's solution containing 0.1% asparagin, and covered with liquid paraffin layer), (2) Chiba-Tanabe's media (To the 1.5% agar slant containing 0.1% asparagin, considerable amount of Ringer's solution containing 10% serum and 2 loopful wheat flour were added), (3) Serum-glucose-meat extract broth containing cystein hydrochloride, (4) Asami's media

(This contains cystein hydrochloride, peptone, liver extract, methylene blue, serum, penicillin 2000 u/cc, and streptomycin 200 mg/cc. Results are as follows; (1) Asami's media were most excellent among these four culture media; (2) Even with their relative simple culture media such as Davis and Hirschberg's, successive subculture was possible for some period, if they are anaerobically incubated.

緒 言

元来微生物の生物学的性状は、その純培養を得ることにより、初めて正しい姿を知ることが出来ることは云うまでもない。

臙トトリコモナス（以下臙ト）に関しても、その培養に就ては幾多先人の研究にも拘わらず純培養を得ることが困難で之が本研究の癆であつた。然るに最近ペニシリン、ストレプトマイシン等抗生物質の生現によつて、培地内の臙ト以外の共存細菌の発育を阻止せしめることが可能となつた為、その純培養を得ることが比較的容易となり、従来不分明だつた臙トの生物学的研究に、一縷の曙光を望み得るに至つたことは喜ばしいことである。

臙トの培養に初めて成功したのは Lynch(1915)で、彼は肉汁ブイオンを使用した。その後大平・野口(1917)は、腹水とリンゲル液を等量とした培地を作り、Reuling(1921)はこれに醋酸を加えて良い成績を得、Hogne(1926)は腹水の代りに血清を用いた。また1928年には、千葉・田辺の培地が創案された。これは0.1%にアスパラギンを含むリンゲル液を用いて作つた1%寒天斜面に、5%リンゲル血清液を加えた培地で、培養直前に滅菌米粉2~3白金耳を加えて培養するものであるが、深松によれば、この培地でアスパラギンは必須で、米粉より小麦粉が良く、血清は家兎・馬・牛が最良で、人血清はこれに次ぐという。Andrews(1929)は寒天斜面に血清クエン酸ソーダ液を加えた培地を、またDavis & Cowell(1929)は人血清ブドウ糖肉汁培地を報告し、更に1932年にはWenrichにより寒天斜面にリンゲル血清液を加えた培地が使われている。その後1935年Wagnerは、馬血清斜面に1:10血清食塩水を加えpH 7.4としたものに、滅菌澱粉10白金耳を加えた培地を用い、Davis & Hirschbergは適量の赤血球を含む人血清0.5ccをロック液9.5ccに加えた培地を使用しており、これにより継代培養(3日毎に植元継ぐ)が可能であるという。

この様に数多くの培地が考案されたが、本虫の培養には常に共存する細菌が混在し、臙トのみを純粋に培養することは容易でなかつた。

臙トが純粋に培養されたという最初の報告はTrussel(1940)によつてなされた。彼によれば、臙トの発育はpH 5.6~5.9で最も盛んで、ブドウ糖を添加すると発育は促進し、好気性の状態よりも嫌気性の状態

で良く発育すると述べている。わが国に於ても、二村は牛の性器に寄生する *Trichomonas genitalis bovinus* の継代培養を根気よく反復して遂にその純培養に成功したという。処が最近 Johnson, Trussel a. John(1945)は、培地にペニシリンを加え、Waksman, Harris, Kupferberg, Singher 及び Styles(1949)は、培地にストレプトマイシンを加えて細菌を伴わない臙トの純培養を試み、1950年に Hoffman a. Raritan は、Kupferberg(1948)の S. T. S. (Simplified Tripticase Serum) 培地にペニシリン及びストレプトマイシンを加えた培地を使用して、臙トの純培養を容易に得ることに成功した。この S. T. S. 培地は、Tripticase 20g, 塩酸チス테인 1.5g, マルトーゼ 1.0g, 寒天 1.0g, 水 1.000cc の組成を有し、pH 6.0 となし、酸化の指示薬としてこれに 0.5%メチレンブラウ 0.6cc を加え、使用に際して血清を 5% 加えるものである。我々も諸種の培地にペニシリン、ストレプトマイシンを加えて臙トの純培養を試みていたが、1952年浅見は、肝浸出液 100cc, プベトン 2.0g, 塩酸チス테인 0.2g, 1%メチレンブラウ 0.2cc, 馬血清 20% の組成を有する培地に、ペニシリンとストレプトマイシンを夫々培地 1cc に対して 2.000 単位づゝ加える方法を発表し、その後上野、真柄等幾多の培養法が発表されるようになった。以上の如く抗生物質の出現によつて臙ト培養の方面にも画期的な効果が収められるに至つた。

ここに、従来臙ト培地として用いられてきた Davis & Hirschberg 培地、千葉・田辺培地と血清ブドウ糖ブイオン(塩酸チス테인加)にペニシリン及びストレプトマイシンを添加したもの及び浅見培地等に、臙トの純培養を試みて、夫々の培地に於ける臙トの生存日数と継代培養の可否につき比較観察した処を報告する。

実 験

1. 実験方法

実験に使用した Davis & Hirschberg 培地、千葉・田辺培地、塩酸チス테인加血清ブドウ糖ブイオンは、次の如く作製した。

Davis & Hirschberg 培地: 0.1%にアスパラギンを加えて滅菌したロック液に、ペニシリン 250 u/cc 及びストレプトマイシン 1mg/cc を添加し、2.0cc づゝ小試験管に分注したのち、微量の赤血球を含む非細菌性山

羊血清 0.2cc を加え、更に流動パラフィンを重層した。その場合の培地の pH は 7.2 である。

千葉・田辺培地：0.1% にアスパラギンを加えた 1.5% 寒天培地（ペプトン 0.5%, 肉エキス 0.5% 添加, pH 7.2）5cc を斜面とし、リンゲル液に 10% に非礮性山羊血清を加えたもの 5cc をこれに注加した。リンゲル血清液中にはペニシリン 250u/cc 及びストレプトマイシン 1mg/cc を含ませ、培養直前に滅菌小麦粉 2 白金耳量を加えた。

塩酸チステイン加血清ブドウ糖ブイヨン：ペプトン 1.0, 肉エキス 1.0, ブドウ糖 1.0, 塩酸チステイン 0.1, 水 100 の組成を有し、小試験管に分注、100°C, 30分, 3 回滅菌後山羊血清 10%, ペニシリン 250u/cc, ストレプトマイシン 1mg/cc を添加した。pH 6.2

浅見培地：前記の如し。

予め鏡検により膿トを認めた患者の後膿円蓋から、

第1表 各種培地（ペニシリン・ストレプトマイシン加）に於ける膿トの消長

培地	培養日数		株				
	1	2	3	4	5		
Davis-Hirschberg	丸山 伊藤 本池 伊松	山藤	+	+	-	-	-
		木田	+	+	+	+	-
		藤本	+	+	+	+	-
		伊松	+	+	+	+	-
		伊松	+	+	+	+	-
		伊松	+	+	+	+	-
千葉・田辺	伊藤 林古 霜田 都堀 中	藤畑	-	-	-	-	-
		田中	-	-	-	-	-
		筑内	-	-	-	-	-
		内村	-	-	-	-	-
		内村	-	-	-	-	-
		内村	-	-	-	-	-
血清ブドウ糖ブイヨン	青徳 中野 伴川 伊	木村	+	+	+	+	-
		野	+	+	+	+	-
		伴川	+	+	+	+	-
		伊	+	+	+	+	-
		伊	+	+	+	+	-
		伊	+	+	+	+	-
浅見	金松 増原 深原	井島	+	+	+	+	+
		山	+	+	+	+	-
		原	+	+	+	+	-
		山	+	+	+	+	-
		山	+	+	+	+	-
		原	+	+	+	+	+

膿分泌物をピペットにとり、その 1 滴を、使用前 37°C に加温した上記培地に滴下混合して、直ちに 37°C に培養した。継代培養は 2 日目毎とし、管底の沈澱を滅菌ピペットにとり、この 0.1cc を新しい培地に移した。膿トの鏡検は、培地を軽く振盪したのち、その 1 白金耳乃至 1 滴を載物硝子にとり観察した。培養中屢々モニリアが共に発育増殖してきたものがあつたが、これは実験から除外した。

2. 実験成績

各種培地（ペニシリン、ストレプトマイシン加）に於ける膿トの消長は第 1 表の如くである。なお、この成績は、膿分泌物を接種した第 1 代培養について観たものである。

即ち Davis & Hirschberg 培地では、3~5 日で死滅し運動はみられなかつた。

千葉・田辺培地では、培地作製に或る程度技術を要

第2表 継代培養成績

培地	継代株	I	II	III	III	V
		Davis-Hirschberg	丸山 伊藤 本池 伊松	+	+	+
血清ブドウ糖ブイヨン	青徳 中野 伴川 伊	木村	+	+	-	-
		野	+	+	-	-
		伴川	+	+	+	-
		伊	+	+	+	-
		伊	+	+	+	-
		伊	+	+	+	-
浅見	金松 増原 深原	井島	+	+	+	+
		山	+	+	+	+
		原	+	+	+	+
		山	+	+	+	+
		山	+	+	+	+
		原	+	+	+	+

するといわれるが、培地作製に欠陥があつた為か、予期に反して培養第 1 日で既に膿トの運動はみられず、培養第 2 日、3 日も同様であつた。

塩酸チステインを加えた血清ブドウ糖ブイヨンの場合では、2~5 日以上生存をみ、浅見培地でも 3~5 日以上生存し、その間膿トの活潑な運動がみられた。

次に継代培養の成績は第 2 表に示す如くで、Davis & Hirschberg 培地では 2~4 代、塩酸チステインを加えた血清ブドウ糖ブイヨン（肉エキス使用）では 1~

4代継株し得たに過ぎなかつた。浅見培地では継代培養が可能で、前二者に較べて勝つてゐるよう思われた。

総 括

以上の成績を総括すると

1. Davis & Hirschberg 嫌気性培地、千葉・田辺培地及び塩酸チステイン加血清ブドウ糖肉エキスブイヨにソベニシリンとストレプトマイシンを加えたもの及び浅見培地を使つて腔トの純培養を試みた処では、浅見培地が他の三者に較べて最も勝つてゐるよう思われる。

2. 我々の実験では千葉・田辺培地では不成功に終つたが、Davis & Hirschberg 培地の如く、ロック液にアミノ窒素と血清を加えたような比較的簡単な培地でも、嫌気性培養により或る期間継代培養が可能である。

岩井教授の指導と校閲を感謝する。

(本論文の要旨は昭和27年3月2日長野県産科婦人

科医会總會並びに昭和28年5月第5回日本産婦人科科学会總會で発表した)

文 献

- ①浅見：臨産誌，6，(1)，36，1952。 ②深松：日婦誌，33，(1)，48，1938。 ③Hoffman & Baritan：Am. J. Obst & Gynec.，60，224，1950。 ④石井・林：日産婦誌，5，(3)，56，1953。 ⑤Johnson, Trussel & Jahn：Science，102，126，1945。 ⑥加藤：産と婦，20，(3)，185，1953。 ⑦Kupferberg, Johnson & Price：Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.，67，304，1948。 ⑧真柄・横内・網野：日産婦誌，5，(3)，46，1953。 ⑨Trussel & Plass：Am. J. Obst & Gynec.，40，(5)，883，1940。 ⑩打越：日婦誌，31，(7)，1278，1936。 ⑪上野：1951年10月18日附私信 ⑫Wagner：Zbl. Bak.，135，310，1935。 ⑬Waksman, Harris, Kupferberg, Singher & Styles：Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.，70，303，1949。

腔 ト リ コ モ ナ ス に 関 す る 研 究

第2編 腔トリコモナスの二三薬剤に対する抵抗性

昭和29年9月20日受付

信州大学医学部産婦人科学教室(主任 岩井教授)

石 井 次 男 林 公 健

Studies on Trichomonas vaginalis.

2) Resistance of Trichomonas vaginalis to Some Drugs.

Tsugio ISHII and Kimitake HAYASHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Shinshu University.

(Director: Prof. S. Iwai)

The authors used carbamidin, penicillin, streptomycin and colistin in invitro tests, and obtained the following results: (1) In the medium which contains 5-50 mg per cc of carbamidin, most of the trichomonas strains lost their motility in 24-72 hours; (2) Penicillin showed no inhibitory effect on trichomonas, except some strains, to the amount as high as 10,000 units per cc, but in some strains their motility was lost slightly in 5,000 units per cc, and completely in 10,000 units per cc after 72 hours; (3) In the medium, which contains 50 mg per cc of streptomycin, all trichomonas lost their motility in 72 hours; (4) In the medium, which contains doses equal to or less than 10,000 units per cc of colistin, trichomonas strains showed no change, and even in the solution of 500,000 units per cc 2-4 hours were necessary until the complete loss of motility.

緒 言

腔トリコモナス(以下腔ト)に対する治療剤としては、嘗てはデベガンが有効であるとして使われていた

が、その後 Carbarson 製剤(パラカルバミドフェニルアルシン酸)が現われ、最近ではオーレオマイシン、テラマイシン、ストレプトマイシン、トリコマイシン