中央獸醫學雜誌

第49年 第10號

論 說

TRYPANOSOMA THEILERI の 移植試験に就て I.

鯛 瀬 國 一

(群馬縣衛生課及傳染病研究所 西澤博士指導)

ON THE ANIMAL EXPERIMENT WITH *TRYPANOSOMA THEILERI*. I.

K. TAISE.

(From the Division of Public Health, Gunma Prefectural Office)

目 次

I. 緒 言	III. 培養蟲體の移植試験
II. <i>Trypanosoma theileri</i> 罹患成牛血液の
移植試験	1 犢
1 犢	2 牛以外の動物に於ける感染試験
2 牛以外の動物に於ける移植試験	IV 總括並に結論

I. 緒 言

1892年 David Bruce により Nagana 病の病原體たる *Tryp. evansi* が *Glossina* の媒介にて傳播する事實を闡明したる以來、吸血性無脊椎動物、蠅、蚤、蝨、虻等は *Tryp.* 病と密接なる關係を有するものとして刮目せらるるに至れり。此等

無脊椎動物が傳搬を行ふに二方法を考へらるるものにして、一は罹患動物より吸血したる後直ちに健康動物を刺螫して器械的媒介によるものと、他は吸血後或期間傳染力を失ひ無毒の状態にあり其間に Tryp. は無脊椎動物の體內、腸、吻等にて發育循環を行ひ一定の發育期に達したる時初めて感染を惹起する恰も Malaria の Anopheles 體內に於ける或は日本住血吸虫の宮入貝に於けるが如く中間宿主としての役目を演ずる場合とありて何れも學者間に承認せらるる處なり。又敘上の傳染方法の外 Nagana 病、Dourine 病の如く人類又は動物相互間の接觸、即ち交接等により直接感染の方法あるは多數の實驗報告ありて之れ亦疑ひを容れざる處なり。

Tryp. theileri の牛相互間の感染経路に就き第一に注目したるは Theiler にして氏は Hippobosca macula, Hippobosca rufipes の類により 又 Behn 等は螫蠅 Stomoxys calcitrans の類により傳播作用行はるるものとしたり。余は曩に罹患牛に寄生吸血せる本邦唯一の螫蠅たる Stomoxys calcitrans 及少數の Tabanus に就き顯微鏡検査並に培養法により本 Tryp. の検索を行ひたるも不成功に終れりと記せり。

Tryp. theileri 罹患牛血液の移植による直接感染試験に就ては Behn, Ferber,⁽¹⁾ Bonger,⁽²⁾ Stockmann,⁽³⁾ Schmitt,⁽⁴⁾ Peter,⁽⁵⁾ Schein⁽⁶⁾ 等の實驗報告あり。Behn は罹患成牛血液の少量 (5.0c.c) にては感染不能なれど多量 (100.0c.c以上) を健康犢に注射すれば感染可能なり されど本病を経過せる成牛、犢に對しては感染不能なりと言へり。Bonger は Tryp. theileri 含有犢血液を6頭の犢に接種したるに何れも例外なく感染せしめ得たり。Stockmann は Piroplasma 感染牛の血液を免疫の目的にて10頭の牛に注射したる處6頭に於て血中に本 Tryp. を發見し。Schmitt も亦 Piroplasma 罹患牝血液を牝に注射したるに本 Tryp. に罹患せりと記載せり。Peter は Uruguay に於て本實驗を行ひたるに成牛より成牛には感染可能なるも犢には不能にして又他種動物馬、羊、山羊、犬、家兎、海狸、白鼠、南京鼠にも同様不能なりと言へり。

余も亦 Tryp. theileri 罹患牛の血液を以て健康犢に直接感染試験を行ひ以て先人の跡を尋ね、又他動物に接種して感染試験の有無を確め又本 Tryp. の培養型を以て犢に感染試験を行ひ且培養型注射による免疫體發生の有無を研究したり。

II. *Tryp. theileri* 罹患成牛血液移植試験

I. 犢

A. 實驗要領並に方法

(1) 材 料 實驗材料は傳染病研究所々屬牛第24號の血液にして10數回に亘り Bouillon 培養に於て Kultur-Flagellaten を證明し又屢々塗抹染色標本に *Tryp. theileri* を發見したるものにして、試驗實施當日も予め血液採取して厚滴染色標本を作り一標本中13—19匹の多數の *Tryp.* 虫體の出現を見たるを以て直ちに實驗に使用したり。尙實驗に供したる血液は同時に Bouillon 培養及塗抹標本作製して檢したるに後日培養に多數の Kultur-Flagellaten の發生せるを知り、塗抹標本にては35枚中7匹の *Tryp.* 虫體を發見したるを以て明かに實驗材料中に本 *Tryp.* の含有しおれるを立證したり。

(2) 實驗犢血液の検査 實驗に使用したる犢1號は研究所々屬牛第23號の分娩したる小牛にして生後約6ヶ月を經過したるホルスタイン雜種の黑色犢なり。

文献に徴するに Behn は生後10日より10ヶ月迄の犢18頭に就き本 *Tryp.* の檢索を行ひたるも總て陰性に終り其他も一般に犢は本 *Tryp.* の自然感染なきものとして從來本 *Tryp.* の直接感染の實驗に主として使用したるも 朝鮮に於て河村は朝鮮犢の門脉血液の塗抹標本にて71頭中22頭即ち30.9%の多數の罹患率を掲げたるを以て 本犢に於ても或は之れに罹患しおるに非ざるやを懸念し 接種前一定の間隔を置き5回に亘り血液の培養を行ひて觀察したるに、1回も Kultur-Flagellaten を證明せず尙接種直前にも血液採取して塗抹厚滴染色標本作製して之れを檢したるに *Tryp.* を發見せざりしを以て實驗犢には本 *Tryp.* の感染なきものとして使用したり。

(3) 實驗方法、注射量及其部位 試驗血液は罹患牛24號の頸靜脉より套管子を用ひて無菌的操作の下に採取したる靜脉血にして其 100.0c.c を 0.85%滅菌生理的食塩水 50.0c.c と混じ良く混和して血液の凝固を防ぎ可及的速かに Sahli 氏食塩注入装置を用ひて實驗犢の頸靜脉内に接種を行ひたり。

(4) 検査方法 接種翌日より日々或は數日置に實驗犢の頸靜脉より無菌的に採血し培養及染色法を行ひて感染の有無を確めたり。

(a) 培養法 0.5%葡萄糖加 Bouillon 7.0 c.c に對して犢脫纖維血液 2.0—3.0 c.cを加へ 30.°C の孵卵器にて培養し、4日以後數回に亘り暗視野鏡下にて觀察し Kultur-Flagellaten 發育の有無を検したり。

(b) 染色法 イ. 塗抹標本 採血直後の新鮮血液を薄く塗抹し Alkohol-Aether 等分液にて15—20分固定し染色は蒸溜水 (pH6.8—7.0) 1.0 c.c に對し Giemsa 液1滴の割に稀釋したる液にて40分乃至2時間染色したり。

ロ. 厚滴標本 採血したる血液を Object glas 上に約10—20 c.se を5錢

第 I

増 年 齡	接 材 種 料	接 部 種 位	接 種 量	接 月 種 日	檢 查 日 數	實驗前試驗成績					實							
						6 22	7 6	7 26	7 29	8 10	第 1日	2	3	4	5	6	7	8
生 後 六 ヶ 月	患 牛 の 血 液 2:1 混 合 液	生 理 的 食 鹽 水 2:1 混 合 液	頸 靜 脈	1 c.c	8 月 18 日	檢 査 方 法	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	
						塗 抹 標 本 20 枚	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
						厚 滴 標 本 10—20 枚	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	

〔備考〕 1. 培養法の+數は培養蟲體の析出管數を示す

第I表の成績に據るに接種後6日目に初めて厚滴標本に Tryp. 虫體を發見し、7日目に培養に於て Kultur-Flagellaten を證明し得たり。塗抹染色標本に於ては全検査を通じ1回も虫體を發見し得ざりしも厚滴標本にては接種第6、11日に4匹の虫體を發見し培養にては接種第7、8、10、16、17、18、19、29日の8回に亘り Kultur-Flagellaten を證明し得たり。即ち本 Tryp. の犢1に於ての潜伏期間は5日にして血液中の本 Tryp. 證明期間は其間陰性時期ありしも最終第29日迄算ふる時

第 II 表

實驗者	潜伏期間	證明期間
Behn	9.5日	11日
Bonger	7.5日	10.8日
Schmitt	5日	10日
Stockmann	13日	約5日
鯛瀬	5日	24日

は24日なり。之れを先人の實驗成績と比較するに Behn は潜伏期間8—11日 平均9.5日 虫體證明期間は6—16日 平均11日 Bonger は潜伏期間5—10日 平均7.5日證明期間5—18日 平均10.8日 Schmitt は潜伏期間5日證明期間10日 Stockmann は1頭に於て潜伏

白銅貨大の圓形に塗抹し室温にて緩徐に乾燥せしめたる後、水道水中に入れ血球の自家溶解を起さしめ塗布面が乳白色となりたる後靜かに取出して再び室温乾燥して Giemsa 染色を行ふ。Giemsa 液は蒸溜水20c.c に對し Giemsa 原液3滴の割に混じたる液を用ひ染色時間8—10分作用せしむれば白血球其他異染體の着色に先だち Tryp. 虫體は既に染色せられて虫體の有無を知るに充分なる標本を得べし。

B. 實 驗 成 績

表

驗 後 成 績																																				
9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	23	24	26	27	28	29	30	31	33	34	35													
-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	++	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-												
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-												
-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-												

2. 厚滴標本の+數は原蟲體の發見數を示す

期間9日 證明期間8日なりしも5頭は潜伏期間12—16日、證明期間5日なりしと云へり。即ち余の成績は潜伏期間に於ては他に比し短にして稍 Schmitt の成績に一致し證明期間に於ては大概10日前後或は夫れ以内なるに比し甚だ長期出現するを見たり。29日以後は89日に至る迄日々或は數日置きに上述の検査を行ひたるも總ては陰性に終りたり。

本 Tryp. 感染試験に於て實驗懷は體溫異動の外何等臨床的症狀を現さず。體重食慾等依然變化なきを以て諸家は僅かに體溫に於て窺知したり。而して一般に體溫の上昇は培養中に Kultur-Flagellaten を證明し得る時期、注射後5—10日に於て最高溫度を示すものにして Bohu は 40.0°C — 40.5°C 、Bonger は 40.0°C — 41.5°C を算へたり。余の實驗に於ても注射後稍上昇したるも最も動搖せるは Trip. の血中初出現當時にして接種第8日に最高 39.9°C を示し夫れより漸次下降し約3週間にして平溫に復せり。(第III表參照)

以上の成績より考察するに實驗前槽血液中に本 Tryp. の出現なかりしものが、Tryp. 含有血液注入により一定の期間をおきて Tryp. 出現を來したるを以て確に

感染したるものと考へ差支へなかる可く 尙又牛 24 號より分離培養せる培養型 Tryp. 24 と 牛 24 號 血液を以て移植試験を行ひたる犢 I 號の血液より得たる培養型 Kalb 24 とに就き細菌學, 免疫學的研究を行ひたる結果劃然相一致するを見たり。

第 III 表

C. 培養型 Tr. 24 と Kalb 24 とは同一種なりや

余は傳研所屬牛及朝鮮より移入したる罹患牛より分離せる 24 種の *Tryp. theileri* 培養型に就て細菌學的, 免疫學的研究を行ひたる結果略 3 型に分類せらるゝを知りたり。而して本章に於ては單に分類上の主眼點たる (1) 菌體の形狀 (2) 培養基上の性狀 (3) 糖分解關係 (4) 免疫學的關係を比較研究し以て傳研牛 24 號より得たる培養型 Tryp. 24 及 24 號血液を以て移植試験を行ひたる犢 I 號血液より得たる Kalb 24 が何れの型に一致するや又此の兩者の培養型が相一致するものなりや將又異種なるやを究め以て移植試験の成績を一層明確ならしめたり。

(1) 虫體の形狀

罹患牛血液中に發見せらるゝ本 Tryp. 虫體の形狀は既述の如く 塗抹標本の Alcohol-Aether 固定後 Giemsa 液を以て染色したるものに於て grosse breite Form 及 grosse schlanke Form の 2 種あるを知る 何れも甚だ大なる Tryp. にして長さ 70—100 μ . 巾は 4—10 μ を示せしものなり。虫體の體形は多少の相異あれど略一定し中央部に於て最も巾廣く漸次兩端に移行するに従ひ狹少となり主核

は中央より稍後端に近く所在し眼核は兩者間に多少の相違を認むれども必ず虫體の後端に所在し、此部より前方に向ひて鞭毛を出せり。鞭毛は主核所在の前後に於て虫體より孤立し其間に著明なる波動膜を形成し、虫體先端に於て虫體より分離し遊離鞭毛となる。遊離鞭毛の長さは大抵 $7-10\mu$ 、最大 13.7μ にして體長に比し短なり。

罹患牛血液の培養により折出したる培養型は其形狀血液中に發見せる Tryp. 虫體に比し著しき變化を來すものなり。されど之れを *Tryp. theileri* に於ける關係に照し且本 Tryp. 培養型を出したる牛血液中に Tryp. 虫體を發見したる事及培養型を得たる牛血液中多く Piroplasma を發見したるも尙之れを發見し得ざりし例あり。之より考へて *Tryp. theileri* の培養型なりと信ぜらる。而して培養型の精細なる形態學的觀察は後報に譲り簡単に原虫體との相違點を述べれば虫體長は一般に短縮し $30.0-40.0\mu$ となり巾も亦狹小となりて $2.0-3.0\mu$ を示すに過ぎざるに反し鞭毛は著しく長くなりて虫體長より少しく短かきか略同長なるか或は又遙かに長く $20.0-30.0\mu$ を算せしものあり。主核の位置大いさも種々にして更に著明なる變化は眼核の位置にして血液中の夫れと正反對に殆ど總て虫體の前方に座位し、又主核との距離も種々にして多く主核に接近して存在し或は全然眼核の欠除せるものあり。次に原虫體と異なる主眼點の一つは波動膜の存在にして原虫體にては總て之れの存在を見れど培養型にては殆ど形成を見ず 稀に認むる事まれど甚だ狹少にして僅かに鞭毛遊離部に甚だ不完全なる形成を見るのみなり。

斯くの如く原虫體に比し著しく形態學的變化を來せるを以て生態運動にも從つて著しき變化あるを見る。即ち原虫體の運動は全身的にして波動膜の波動傳達の活動に援を得て體部は飛躍的に伸展、屈曲自在の運動を行ひ之に伴ひ鞭毛も非常に敏活に振動し主として虫體の先進運動を司るを見るも 培養型にありては波動膜の折出著明ならず從つて體部の彎曲、屈折の飛躍運動を欠き僅かに後端を左右に振動せしむるのみにして、主として原虫體に比し著しく發達せる鞭毛に依頼して先進運動を行ふものなり。

以上の如く培養型は罹患牛血液中に見る Tryp. 原虫體に比し著しく形態學的變化を來せるも異なりたる罹患牛より分離したる培養虫體相互間にありても亦二つ異なりたる型あるを知る。一は培養虫體の體長一般に短かく且つ後端は鈍圓に終

り、虫體の前方先端に近く圓形又は卵圓形に膨大して恰も棍棒狀を呈し主核は中央より著しく前端に近く其膨大部に存在し眼核も亦甚だ主核に接近して座位し或は全く之れと一致するを見るものにして、二は培養新らしく分裂直後のものにては決して敍上の形を示さず中央は稍大なるも兩端に至り甚だ緩慢に狹少となり殊に絶対に鈍圓ならず極めて鋭く尖り恰も毛筆の穂を思はしむるが如く或は後端にも鞭毛を有するが如き感を抱かしむることあり。又 I の如く前端に棍棒狀の膨大部存在せず主核は略中央にありて眼核は主核と距りて存在するを常とし余の分離せる24種の培養虫體中2種に於て此型あるを見たり。余は一をA型、二をB型と呼べり。

而して傳研牛24號の培養型並に牛24號血液の移植を行ひたる種一より分離せる培養型 Kalb 24 は其の形狀原虫體に比し著しく變化を來し何れも棍棒狀を呈し後端は鈍圓にして尖らず主核は前端に近く膨大部中にあり眼核は主核に接近存在するものにして兩者の間に何等相違を認めず全く同一型にしてA型に屬するものなるを知れり。

(2) 培養基上の性狀

余が分離せる24種の菌種中培養基上の性狀に於ても相違あるを認めたり。使用したる培養基並に其性狀に關する詳細なる觀察は追つて記載することとして單に培養基上の主眼たる相違點を列擧すれば 1 集落の性狀 2 菌苔並に菌膜の狀況 3 血液寒天上の假性溶血形成の強弱なり。而して上述形態學的に分類せるA、B型は培養基上の性狀に於ても劃然區別せらるるものにして其他に集落形成狀況假性溶血形成の強弱によりA及Bの中間に位するC型の存在を示すなり。A型に屬する培養型の集落は Tryp. 獨特の形にて移植せる菌苔を中心として四方に多くの偽足を出し、若し菌苔を直線に移植する時は之れに直角に足を出し恰も船虫型を思はしめ或は多毛桿菌の鞭毛染色を聯想せしめ、若し培養斜面の中央に菌苔を置く時は之れを中心として四方に放射狀に偽足を出し星形狀を思はしめ、又培養基の上方硝子管壁に接近して之れを置く時は偽足は凝水面に向つて一方にのみ伸展して恰も水面に向ひ火花の爆發せるが如く或は扇子の枝を思はしむるものあり。

而して斯の如き偽足の發展は分離若き培養型又は凝水中の Tryp. を以て集落形

成せしめたる初期に最も多く見らるるものにして培養世代を重ねるに従ひて漸次偽足大となり美麗なる像を見ること少なきに至る。斯る偽足を出す培養型は菌苔の増量は甚だ不良にして且菌膜の形成も培養舊きものにありては僅かに凝水表面に形成するに過ぎず。又凝水は透明にして濁濁せず 且管底に白色凝塊の形成甚だ僅少なり。又菌苔塗布面の血液は菌苔成分の化學的變化を受けて假性溶血の形成遅延し4—5日或は夫れ以後にて菌苔の増量一定度に達して初めて惹起するものなり。之れに反しB型に屬するものは集落は分離當初より偽足を形成することなく而も菌苔の増量は極めて速かに進行し移植第2—3日にして蚕食的に培養基全面に擴がり且菌苔はA型に比し甚だ厚く白金耳を以て多量に搔取せられ又菌膜は強く且厚く形成し第3—4日にして管壁に攀昇り高きものにては30—5.0cm に達するものあり。凝水は培養日數を重ねるに従ひ愈々濁濁し管底の凝水は甚だ多量なり。斯の如く菌苔の發育良好なるが故に培養斜面は早期に假性溶血を起すものなり。C型に屬するものはA型の如く偽足狀集落の形成あるも菌苔の増量假性溶血形成の時期、凝水、凝塊の狀況全くB型に一致するものなり。而して牛24號及犢Iより分離せる菌種は何れも發育狀況A型に一致し且兩者間に何等差異あるを認めざるなり。

(3) 糖 分 解 關 係

各種細菌の鑑別法の一として諸種含水炭素、高級アルコール類を應用したるは古來より廣く使用せられつゝあるも原虫類に應用したる成績は未だ多からず。余は培養基面に極めて良く發育せる Tryp. 培養型を用ひて實驗したるに或る種の糖に限り分解する事實を知り分離せる24種の菌種に就きて行ひたるに宛然、完全に分解して培地を赤變せしむるものと然らざるものあるを知り、引いて叙上培養型の形狀、培養基上の性狀を参照したるに之れに一致するものあるを知たり。即ち Raffinose を分解するや否やによりてA型、B型との間に劃然たる區別を示すものにして、A型間にては又 Mannit, Salicin の分解の可否により更に區別せらるるを見る。而して罹患牛24號より分離したる Tryp.24及24號血液の移植により得たる犢I號の血液より分離したる Kalb 24 は何れも形態學及培養性狀より分類せるA型の糖分解關係に含まれ且A型の小區劃の中にては兩者とも Mannit のみ分解し Salicin を分解せざる群に一致するより考ふれば兩者同一培養虫體なる

(4) 免疫學的關係

培養型を以て家兎を免疫するに其の血清中に免疫物質の發生を認むるが故に免疫學的諸實驗により菌型を分類し得るに非ずやを思ひ諸種交叉試験を行ひたるに免疫反應は菌種により一樣ならず。菌型、培養性狀竝に糖分解性により分類したるものと一致せず。劃然菌種の區別困難なるを知れり。即ち A 型中の甲菌種を以て免疫したる家兎血清は甲菌に對しては高度の免疫價を現はすも A 型中の他菌種には B 型、C 型中の或る菌種より却つて低き免疫價を示す事あり。又 B 型中の乙菌種を以て作りたる家兎血清中には乙菌種には強き免疫反應を現はすも B 型以外の他菌種が之れと同等の免疫價を示す事ありて當然 A 型に屬す可き菌種が B、C 型に編入せらるる事ありて區別判然たらざるものあり。されど牛 24 號及犢 I 號より分離したる兩培養型は兩者間の免疫血清竝に他種血清に對して略同程度に反應するより考ふれば、兩者間に共通なる免疫關係を有するは推知し得らるゝ處なり。

(附)

Tryp. 誘出法 本 Tryp. の犢血液中より消失したる時期に於て何等かの方法を講ずるに於ては Tryp. の再出現を來すものに非ずやと思ひ次の方法を行ひたり。

1 Tryp. の犢血液より消失後 40 日目に朝食を與へず饑餓の状態におき約 30 分間極度に運動させ過勞せしめたる後(運動場を動かなくなる迄輒にて追廻す)直ちに採血して厚滴竝に培養法によりて検査したるに陰性に終りたり。2 Tryp. 消失後 46 日目に牛乳 1600gr を犢皮下に接種して數回に亘りて採血して同様の方法によりて検索したるも陰性に終りたり。

2. 牛以外の諸動物に於ける移植試験

Tryp. gambiense, *Tryp. evansi*, *Tryp. equiperdium* 等病原性 Tryp. は容易に南京鼠其他小動物に移植せらるゝ故に學徒の研究に甚だ便宜を與ふるものなり。

本 Tryp. も亦實驗室内に容易に取扱はるる實驗小動物に移植し得しむれば大動物より經費勞力の不便を除き且詳細に研究するを得て甚だ好都合なるが故に。本 Tryp. の研究者は本實驗の成功を企てたり。Peter は馬、羊、山羊、家兎、海狢、白鼠、南京鼠に就き Schein は犬、家兎、白鼠に就き。Bonger は羊、山羊、家兎、海狢、南京鼠に就き夫々本 Tryp. の移植を企てたるに何れも不成功に終れり。

(1) 接種材料 本 Tryp. 罹患牛血液にして實驗前數回の培養検査に於て常に

Kultur-Flagellaten を證明し得たる傳研所屬牛第25號. 第37號血液を使用したり。

第 V 表

動物種類	注射材料	注射部位	注射量	實驗月日	檢査方法	成績	
						實驗前	實驗後
山羊	牛25號 罹患牛 血2:食1	腹腔内	180.0 c	30/ Ⅴ	培養	—	—
					厚滴	—	—
					暗視野	—	—
家兔	Ⅰ	牛25 血2:食1	耳靜脈	15/ Ⅴ	培養	—	—
					厚滴	—	—
	Ⅱ	牛37 血2:食1	耳靜脈	15/ Ⅴ	暗視野	—	—
					培養	—	—
海獺	Ⅰ	牛25 血2:食1	心臟→ 皮下	15/ Ⅴ	厚滴	—	—
					暗視野	—	—
	Ⅱ	牛37 血2:食1	皮下	15/ Ⅴ	培養	—	—
					厚滴	—	—
白鼠	Ⅰ	牛25 血2:食1	皮下	15/ Ⅴ	暗視野	—	—
					培養	—	—
	Ⅱ	牛25 血2:食1	皮下	15/ Ⅴ	厚滴	—	—
					暗視野	—	—
	Ⅲ	牛37 血2:食1	皮下	15/ Ⅴ	培養	—	—
					厚滴	—	—
南京鼠	Ⅰ	牛25 血2:食1	皮下	15/ Ⅴ	暗視野	—	—
					培養	—	—
	Ⅱ	牛37 罹患牛脱纖維血	皮下	18/ Ⅴ	厚滴	—	—
					暗視野	—	—
	Ⅲ	牛37 脱纖維血	皮下	18/ Ⅴ	培養	—	—
					厚滴	—	—
鳩	Ⅰ	牛25 血2:食1	皮下	24/ Ⅴ	暗視野	—	—
					培養	—	—
	Ⅱ	牛25 脱纖維血	腹腔	20/ Ⅴ	厚滴	—	—
					暗視野	—	—
	Ⅲ	牛25 脱纖維血	皮下	20/ Ⅴ	培養	—	—
					厚滴	—	—

採血後は可及的速かに實驗動物に接種を行ひたるも尙一時的凝固を防ぐ目的に生理的食鹽水を加入し或は脱纖維として使用したり。

- (2) 接種部位・量 接種部位並に分量は各動物に適當なる方法を選びて行ひたり。
- (3) 實驗動物 山羊は過去に痘苗接種を行ひたれど以後健康なるもの。他は何れも健康にして實驗前血液検査を行ひ *Tryp.* 其の他原虫等に罹患し居らざる事を確めたる後實驗に供したり。
- (4) 検査方法 検査方法として心臓或は靜脉より採血したるものを培養厚滴染色標本、暗視野検査法により *Tryp.* の有無を確めたり。検査日數は接種翌日より日々或は數日置きに1ヶ月間觀察したり。(第V表参照) 即ち第IV表に示す如く本 *Tryp.* 罹患牛血液を山羊、家兎、海狢、白鼠、南京鼠、鳩に接種するも *Tryp.* を移植せしめ得ざるを知りたり。

III. 培養虫體の移植試験

本 *Tryp.* 罹患牛血液の培養によりて得たる Kultur-Flagellaten を以て犢に移植を行ひたる實驗は宮島、Martini、Behn 外數氏により報告せられたるも其の成績は區々にして確實ならず。宮島は本 *Tryp.* の Bouillon 培養に成功し其の Kultur-Flagellaten を犢3頭⁽⁸⁾に接種したるに其の中2頭の血液培養に現はれ來れりと言へり。Martini も同様に Kultur-Flagellaten を以て犢の移植試験を行ひ成功せりと言ふ。之れに反し Behn は2例の實驗に於て陰性成績を得たり。即ち1例は生後12日の犢に13日間培養の Bouillon 3管 1例は生後20日の犢に Bouillon 5日培養を皮下に注射し厚滴、塗抹染色法並に培養法によりて検査したるに何れも陰性に終れり。余も亦本 *Tryp.* の培養型を以て犢3頭其他諸動物に移植試験を行ふ機會を得たり。

I. 犢

A. 實驗要領並に方法

- (1) 接種材料 接種材料は各異なる牛より分離したる3種を用ひたり。一は前感染試験に於ける犢I號の血液より分離したるものに分離後15世代を重ねたる牛血液寒天斜面の8日培養の中、試験管集落5斜面(約10öse)を凝水中に搔落し其の菌液を使用せり。菌液中の Kultur-Flagellaten の運動は勿論活潑なりき。二は傳研牛 25號より分離したるものにして約50世代を経て培養基に馴致せるものにして培養第5日にて集落の著しく増加せるものを使用したり。三は朝鮮より取

り寄せたる朝鮮牛より分離したるものにして生物學的性狀一及二と全く異なる菌種にして分離後8代を経たるものにして何れも接種前暗視野鏡下にて運動甚だ活潑なりしものなり。

(2) 實驗犢 犢2は9ヶ月を経過せる朝鮮牛にて外見上何等病的症狀を有せざるものにして、實驗前 22/Ⅶ 6/Ⅶ 26/Ⅶ 29/Ⅶ 26/Ⅷ 28/Ⅷ の7回に亘り培養試験により Kultur-Flagellaten を證明せず。犢3は日本産ホルスタイン雜種にして生後4ヶ月を経過せるもの、全毛黑色なり。犢4は生後3ヶ月のものにて朝鮮産純朝鮮牛にして特有の茶褐色毛を有し何れも外見上健康と認む可きものなり。接種前一定の時期を置き5回に亘り血液培養及厚滴によりて Tryp. の檢出に努めしも陰性にして 本 Tryp. に罹患し居らざるを確めたる後實驗に供したり。

(3) 實驗方法其他 以上の如く犢に Tryp. の感染し居らざるを確めたる後接種部位は頸靜脈を撰び剪毛後沃度チンキ及アルコールにて無菌的消毒を施したる後豫め調製し置きたる菌液(血液寒天、凝水浮游液及生理的食鹽水10.0cc 中に 20.0 mgr. を溶かし平等の Emulsion としたるもの) を注射器を用ひて接種せり。即ち犢2には菌種 Kalb 24、犢3には Tryp. 25、犢4には No. 33 を接種したり。

(4) 檢査方法 本 Tryp. 罹患牛血液を以てせる感染試験と同じく培養試験及塗抹、厚滴標本檢査なり。(第Ⅵ表参照)

第 VI 表

犢番號	犢年齡	注射材料	注射部位	注射量	實驗月日	檢査方法	成績	
							實驗前	實驗後
Ⅱ	9ヶ月	Kalb 24	頸靜脈	試驗管 5 斜 面 (約 20mg)	30/Ⅷ	培 養 4 本	7 回—	18 回—
		血液寒天				塗抹染色 10 枚	—	—
		集 落				厚滴染色 5 枚	—	—
Ⅲ	4ヶ月	Tryp 25	頸靜脈	20 mg	19/Ⅷ	培 養 4 本	5 回—	15 回—
		血液寒天				塗抹染色 5 枚	—	—
		集 落				厚滴染色 10 枚	—	—
Ⅳ	3ヶ月	No. 33	頸靜脈	20 mg	19/Ⅷ	培 養 4 本	5 回—	15 回—
		血液寒天				塗 抹 10 枚	—	—
		集 落				厚 滴 5 枚	—	—

B. 實驗成績

接種後は犢の健康狀態、體溫の移動等注意深く觀察したるも接種前に比し何等變化を認めず。又血液檢査は主として培養に重きをおき15—18回に亘り檢したるに遂に Kultur-Flagellaten を證明する事能はざりき。

即ち培養型を以てせる犢感染試験は宮島, Martini 等の試験と相反し全く不成功に終りたり。

2. 培養型を以てせる諸動物感染試験

實驗材料としては余の分離せる菌種 Kalb 24, Tryp. 25 を用ひ 4—5 日血液寒

第 VII 表

動物種類	注射材料	注射部位	注射量	實驗月日	檢査方法	成績	
						實驗前	實驗後
家兔	I Tryp. 25 集落	耳靜脈	血寒中試験管 1 斜面	22/V	培養厚滴暗視野	—	—
	II Kalb 24 集落	耳靜脈	血寒中試験管 1 斜面	22/V	培養厚滴暗視野	—	—
海豚	I Falb 24 血寒凝水	皮下	1.5 cc	22/V	培養厚滴暗視野	—	—
	II Kalb 24 集落	心臓	凝水に融して 0.5 cc	28/V	培養厚滴暗視野	—	—
	III Kalb 24 集落	腹腔	凝水に融して 2.0 cc	28/V	培養厚滴暗視野	—	—
白鼠	I Kalb 24 血寒凝水	皮下	1.0 cc	24/V	培養厚滴暗視野	—	—
	II Kalb 24 集落	心臓	凝水に融して 0.5 cc	28/V	培養厚滴暗視野	—	—
	III Kalb 24 集落	腹腔	凝水に融して 1.0 cc	28/V	培養厚滴暗視野	—	—
南京鼠	I Kalb 24 血寒凝水	皮下	0.2 cc	28/V	培養厚滴暗視野	—	—
	II Kalb 24 集落	皮下	凝水に融して 0.5 cc	28/V	培養厚滴暗視野	—	—
	III Kalb 24 集落	腹腔	凝水に融して 1.0 cc	28/V	培養厚滴暗視野	—	—
鳩	I Tryp. 25 集落	皮下	2 mg	24/VII	培養厚滴暗視野	—	—
	II Tryp. 25 集落	腹腔	2 mg	24/VII	培養厚滴暗視野	—	—

天培養の集落を使用せり。動物は家兎、海狸、白鼠、南京鼠、鳩を使用し検査方法其の他總て前實驗に準ず。

成績判定は日々或は 2, 3 日置きに數回乃至十數回検査したるも陰性にして感染試験は不成功に終りたり (第VII表参照)

IV 總括竝に結論

1. *Tryp. theileri* の感染なき犢に本 *Tryp.* 罹患牛血液100.0cc(生理的食鹽水と混じて150.0cc) を頸靜脈に注入し日々培養、塗抹竝に厚滴染色標本検査法にて検査するに 培養法にて培養型を證明し厚滴標本中に虫體を發見して確實に *Tryp.* の移植感染せるを證明したり。而して犢血液中の *Tryp.* 初發見は移植後第6日にして最終證明は29日なり。即ち潜伏期間は Behu, Bonger, Schmitt, Stockman 等の成績と大差なきも、出現期間は第24日にして稍長期出現せるを知りたり。
2. 本 *Tryp.* の移植を受けたる犢は *Tryp.* の血中に出現する期間に於て體温の上昇を來し最高39.9°Cを算したる外著明なる臨床的症狀を現はさざりき。
3. 移植に用ひたる牛24號より分離せる *Tryp.* 24 と移植犢の血液中より分離したる *Kalb.* 24 とを比較するに形態學的には何れも後端鈍圓に終り主核は前端に近く存在して其の部膨隆し所謂棍棒狀を呈する余の分類による A 型に屬し、又培養性狀にては集落の形狀、莖苔竝に菌膜の狀況、血液寒天上の假性溶血形成の強弱等相一致し 又糖分解關係にては何れも *Raffinose* を分解する事により A 型に屬し、A 型中にては共に *Maunit* を分解する部に含まれ、又免疫試験にては兩者間の家兎免疫血清竝に他菌株免疫血清に對して略同程度に反應し共同なる免疫關係の存在するを知り、*Tryp.* 24 及 *Kalb.* 24 兩培養型は形態、生物學的性狀竝に免疫學的關係に於て相一致するを知りたり。即ち此實驗成績により移植試験の成績を一層明かにしたり。
4. 罹患牛血液を以て犢以外の諸動物山羊、家兎、海狸、白鼠、南京鼠、鳩に移植試験を行ひたるに何れも感染せず。
5. 培養型 *Kalb.* 24, *Tryp.* 25, No. 33 を以て生後 3—9 ケ月の犢に感染試験を行ひたるに何れも陰性に終り、又家兎、海狸、白鼠、南京鼠、鳩にも同じく陰性なりき。

撰筆に臨み前所長長興先生、所長宮川先生に敬意を表し御指導、御校閲を賜はりし西澤先生に衷心より感謝す。

主 要 文 献

- (1) Ferber : Beiträge zur Biologie der nur auf kulturellem Wege nachweisbaren Flagellaten des Rindesblutes. *Z. Hyg. u. Infektionskr.*, 76 (1917).
- (2) Bongor : Über die Morphologie und das Verhalten der von P. Behn in deutschen Rindern nachgewiesenen Trypanosomen bei Künstlicher Infektion. *Z. Hyg. u. Infektionskr.*, 75 (1913).
- (3) Stockman : Preliminary Note on a Trypanosoma of British Cattle. *J. Comp. Path. & Ther.*, 23 (1910).
- (4) Schmitt : Zum Vollkommen von Trypanosomen vom Typus des *Trypanosoma theileri* in deutschen Rindern. *B. T. W.*, 4) (1910).
- (5) Petter, Otto : Morphologische und experimentelle Studien über ein neues, bei Rindern in Uruguay gefundenes Trypanosoma. *Arch. Schiffs-u. Trop.-Hyg.*, 14 (1910).
- (6) Schein : Haematozoa of bovidae in Indochina, *J. Trop. Vet. Sci.*, 3, 202 (1908).
- (7) 宮 嶋 : On the cultivation of a bovine piroplasma, *Philipp. J. Sci.*, (1907).
- (8) Martini : Über *Tr. theileri* und diesem verwandte Rinder-Trypanosomen, *Z. Infektionskr. d. Haust.*, 6 (1909).