

## ビルハルツ住血吸虫卵の孵化に関する二、三の観察

嶋 田 雅 暁

長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学部門

Some observations on hatchability of *Schistosoma haematobium* ova discharged into urine.

Masaaki SHIMADA (Department of Parasitology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University)

**Abstract** : Hatchability of *Schistosoma haematobium* ova was studied. Urine samples containing the ova were collected from the patients in Taveta area in Kenya, East Africa during the period between August 1975 and December 1976. Urinalysis revealed the specific gravity varying from 1.001 to 1.030, pH from 5 to 8 and most of the specimens showed slight or moderate haematuria and proteinuria. Occasionally, spontaneously emerged miracidia and empty egg shells were found even in fresh urine. The rate of hatched eggs reached up to 60 to 95 per cent of total eggs if the specific gravity of urine was lower than 1.011. Most of miracidia emerged from egg shells seemed to be less active, suggesting the decrease of infecting ability to the snail host. Hatchability was tested on the urine samples showing specific gravity higher than 1.010, where little spontaneous hatching was observed. The urine was diluted by two fold dilution method. It was recognized that hatched eggs began to appear in diluted urine having specific gravity lower than 1.006 and the number of hatched eggs increased as the urine was diluted more. But hatching in the diluted urine did not occur so frequently as those in non-diluted urine with the same specific gravity. When the intact *S. haematobium* ova were dropped into water, they started hatching within 10 minutes and almost all eggs completed the hatching process within 30 minutes. The hatching rate provided a normal distribution with a peak at 19 minutes after exposure. There was a great difference of hatching rates at two hours after exposure among the samples, which varied from 43 to 100 per cent. The difference seems to depend on the specific gravity of urine specimen. The hatching rates of ova from low specific gravity urine were diminished. There was no definite effect of pH of urine and RBC or protein in the urine on the hatchability. Hatching occurred equally well in light and in darkness but delayed in the latter, suggesting light plays minor role in the hatching process. Eggs stored in urine at room temperature lost their hatchability within 48 to 72 hours. These results apparently revealed the fact that the urine specific gravity, which is directly proportional to the osmolarity, appeared to have a definite effect on the hatching rate of ova.

Tropical Medicine, 21(1), 29-36, March, 1979

---

Studies on Schistosomiasis in Kenya, East Africa (Report 4) conducted by Schistosomiasis Research Team (Leader : D. Katamine), Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University and Kenyan Counterparts, supported by a Scientific Research Grant from the Ministry of Education, Japan.

長崎大学熱帯医学研究所業績 第818号

Received for publication, February 15, 1979

## はじめに

ビルハルトツ住血吸虫卵(以下ビ虫卵)はマンスン住血吸虫, 日本住血吸虫の卵と異なり尿中に排泄される。後二者虫卵の孵化の機序や孵化に及ぼす諸因子については, 温度, 光, pH, 塩類濃度や便の性状など詳しい研究が行なわれている。(Faust and Meloney, 1924; Maldonado *et al.* 1949, 1950; Standen, 1951; Pitchford and Visser; 1972, Upatham, 1972; Bair and Edges, 1973; Kassim and Gilbertson, 1976 etc.)

ビ虫卵に関してはFaust(1924)はその水中での孵化がきわめて速やかにおこることを, また Davis(1968)は20分以内に孵化することを述べているが, 前二者程の詳しい記載に乏しい。しかし, このような虫卵の孵化態度が, ビルハルトツ住血吸虫の伝搬動態とその疫学相の成り立ちに重要な意義をもつことが想像される。また最近, 抗住血吸虫剤の効果判定に虫卵の孵化能力の変化が一指標となることが唱導されている。(Davis, 1966, 1968; Justesen-Van Sloterdijck, 1977)

著者は1975年8月から1975年11月の間, ケニア国タバタ地区の流行地での住血吸虫症の研究の一端として, ビルハルトツ住血吸虫症患者の尿から得られるビ虫卵を材料として種々条件のもとで本虫卵の孵化の実態とそれに影響を与える因子について観察を行なった。

## 材料と方法

### 1. 虫卵の採取

実験に用いられた虫卵は, タバタ地区に居住する5才から14才の男女が自然に排出した尿中から得たものである。蓋付の紙製カップで採尿し, できるだけ速く持ち帰り遅くとも2時間以内に実験に用いた。

虫卵の沈澱を待つために採尿したカップを30分以上放置した後, 上清尿についてその性状を調べた。比重は尿濃度屈折計(ユリコン: アタゴ製)を用いて測定し, ヘマコンピスティクス(AMES)によりpH, 蛋白, 糖, ケトン体, 潜血の試験を行なった。

カップの底に沈んだ虫卵を尿とともに一定量吸い上げ, 時計皿に移し井戸水を用いて3回洗滌して得た虫卵を孵化の観察に用いた。

### 2. 孵化の観察

孵化実験に用いた水は付近の井戸水で, 室温(24.0°C~30.6°C)に戻したものを使用した。

約5mlの井戸水を容れたスピッツグラス1本に対し虫卵が50~150個になるように加え, 所定の時間に孵化率を算出した。虫卵を水中に投入してからの経過時間

は時計皿上で虫卵を井戸水を用いて洗滌し始めた時刻を起点とし, 各々の時間にホルマリン原液を1ml加えて固定した。スピッツグラスを1,000rpm5分間遠心した後沈澱をスライドグラス上に取り, 顕微鏡下で虫卵とミランジウムを数え孵化率を記録した。

虫卵の孵化を直接肉眼的に観察するためにシャーレに容れた水中の虫卵を倒立顕微鏡で観察した。

総て観察は昼間自然散光がよくはいる窓際の机上で行なった。

## 実験成績

### 1. ビルハルトツ住血吸虫症患者の尿性状

21症例から得られた計95の被検尿についてその性状を調べると, 比重, pHに異常値を示すものは認められず, 比重が最も高いものでは1.030, 最も低いものは1.001で, pHは5から8の間を示した。

糖, ケトン体は全例で検出されなかったが大部分に肉眼的血尿が観察され, 潜血反応は87例(92%)で陽性であった。蛋白も76例(80%)に認められたが, いずれも++以下を示し血尿に伴うものと考えられた。

### 2. 尿中での自然孵化

被検尿29のうち20検体で, 排泄尿の中で既に虫卵の自然孵化がみられる。その総ては尿比重1.011以下のもので, 孵化した虫卵数の率を採尿後2時間目でみると図1に示すように, 尿比重の低いもの程高く1.005以下では虫卵の大部分(61~95%)が自然孵化しているのが確認された。これに反し, 1.015以上のものでは虫卵は総て正常で活発なミランジウムを有し自然孵化はおこっていない。

尿中のビ虫卵は大量の水分の摂取による比重の低い尿中では, 虫卵の大部分が孵化して排泄されるものと思われる。また, 游出したミランジウムは運動が不活

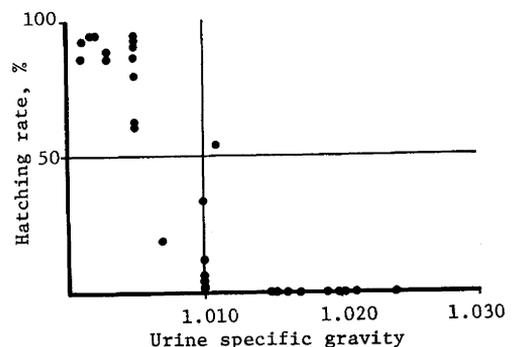


Fig. 1. Spontaneous hatching of *S. haematobium* ova in fresh urine showing a relation to specific gravity of urine.

Table 1. Hatching rate by serial 2-fold dilution of urine

No.	Patient		Percentage of hatched eggs						Urinalysis						
	Age	Sex	1X	2X	4X	8X	16X	32X	Water	Specific gravity	pH	Protein	Sugar	Keton body	Occult blood
1	8	F	0	0	0	29	83	93	90	1.027	8	+	-	-	-
2	11	F	0	0	0	21	48	64	80	1.025	8	+	-	-	+
3	11	F	0	0	0	57	57	100	90	1.024	8	+	-	-	+
4	8	F	0	0	0	0	17	31	79	1.021	8	+	-	-	+
5	8	M	0	0	0	37	63	79	78	1.021	8	-	-	-	+
6	9	F	0	0	0	8	58	80	94	1.018	8	+	-	-	++
7	6	F	0	0	11	84	88	100	99	1.018	7	+	-	-	+
8	10	F	0	0	50	60	89	73	92	1.018	8	+	-	-	+
9	10	F	0	0	0	0	11	23	95	1.017	8	+	-	-	++
10	6	F	0	0	0	33	80	95	99	1.012	8	++	-	-	++
11	7	F	0	0	0	33	33	80	78	1.011	7	++	-	-	+
12	5	F	0	8	61	88	87	73	85	1.011	7	++	-	-	++
13	7	M	0	10	90	100	95	95	87	1.011	5	+	-	-	++
14	7	M	0	30	50	65	71	75	89	1.010	7	+	-	-	+

発で一部は既に運動を停止したのもあり、一般に短時間内に死亡するものと考えられる。

### 3. 尿の稀釈による虫卵の孵化

虫卵を含む尿を井戸水で倍数稀釈し、その中の虫卵の孵化を観察した。尿比重1.010以上を示す被検尿14を選び倍数稀釈した系列について2時間後の孵化率をみると表1に示す成績が得られた。

比重1.018以下の尿中の虫卵には2倍または4倍稀釈で孵化する例がみられるが、比重1.021以上の尿中の虫卵は8倍以上に稀釈して初めて孵化が認められる。孵化率は稀釈度の高いもの程高くなる傾向が認められるが、32倍に稀釈しても井戸水中のものより低いものがある。稀釈尿中の孵化は尿比重で換算すると

1.006以下でおこるということになる。

図2は比重1.018の尿を稀釈して中の虫卵の孵化の経過を詳しく経時的にみたものである。原尿中、2倍稀釈尿中の虫卵に孵化は認められないが、4倍、8倍、16倍の稀釈尿中にはそれぞれ虫卵の孵化が認められた。比重が略1.005の4倍稀釈尿中では1時間目には孵化せず、2時間目で初めて孵化するものが現れた。

孵化率は低く10時間後で14%を示している。8倍稀釈尿は比重が略1.002で、この中での最初の孵化は1時間でおこり孵化率は50%に達した。16倍稀釈尿では1時間で大部分(92%)の虫卵が孵化するが、20分後の孵化率は27%に留まっていた。尿の稀釈度が低いものでは、虫卵の孵化に要する時間も長くなると思われる。

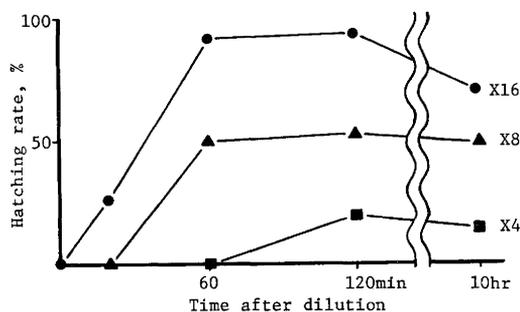


Fig. 2. Hatching of the ova in urine diluted by 2-fold dilution method.

### 4. 水中での孵化の時間的経過

pH6, 比重1.025の尿から得られたヒ虫卵を井戸水に投入してから虫卵の孵化の進み方を1分間隔にて観察すると、図3にみるようなパターンが得られた。

早いものでは10分以内に孵化が始まり、次第にその数を増して30分までには93%の虫卵が孵化を完了した。虫卵の孵化頻度の時間的分布は、概ね15分から20分をピークとした正規型分布を示し、50%の虫卵が孵化するに要する時間は概ね19分であることが窺われる。

30分以後に孵化するものは極めて少なく、1時間観

察しても孵化しなかった虫卵の中には生きたミラシジウムを含んだ虫卵もあるがその動きは不活発であった。孵化しない虫卵の多くは黒褐色を呈し死滅卵と思われる。恐らく、孵化能力を持った虫卵は水中に投入されると略30分以内に孵化を完了するものと思われる。

### 5. 尿性状と虫卵の孵化能力

19症例から得られた被検尿のうち、比重が1.010以

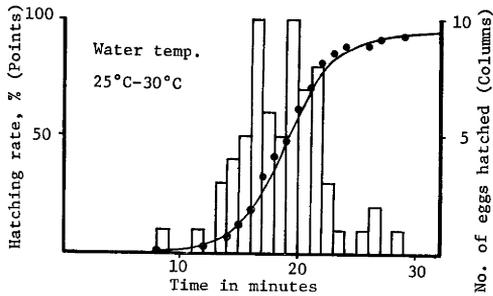


Fig. 3. Hatching pattern of ova in water.

上のもの合計27検体に含まれるビ虫卵の井戸水中での孵化を水温24.0°Cから30.6°Cの条件の下で観察すると、表2に示すような成績が得られた。

虫卵を水中に投入してから2時間目の孵化率についてみると、その率には100%から43%までの大きな差があることがわかる。これを孵化率とその虫卵が含まれていた尿の性状との関係で検討してみると、尿中の蛋白、潜血及びpHの間には特別な関係が認められない。

一方、尿比重の間には図4にみるような関係がみられた。尿比重1.015以上の尿中のビ虫卵を井戸水の中に投入すると、その孵化率は最高で100%、最低で72%を示した。これに比べて、尿比重1.013以下の尿中から得たビ虫卵では有意に孵化率が低く、最高で90%、最低では42%の孵化しか認められなかった。一般に、比重の低い尿から得られた虫卵の孵化率は低いと思われる。

Table 2. Correlation between hatchability of ova and specific gravity of urine

No.	Patient		No. of eggs examined	Hatching rate (%)	Urinalysis					
	Age	Sex			Specific gravity	pH	Protein	Sugar	Keton body	Occult blood
1	11	M	36	36.1	1.010	7	+	-	-	+
2	9	M	198	55.1	1.010	6	+	-	-	++
3	10	F	181	65.7	1.010	7	+	-	-	++
4	10	F	4894	80.0	1.010	7	+	-	-	+
5	7	M	67	89.5	1.010	7	+	-	-	+
6	5	F	79	84.8	1.011	7	++	-	-	++
7	7	M	129	86.8	1.011	5	+	-	-	++
8	14	F	149	42.3	1.013	6	+	-	-	++
9	11	M	74	89.2	1.015	7	+	-	-	++
10	6	F	116	99.1	1.015	8	++	-	-	++
11	6	M	1170	91.5	1.017	7	++	-	-	+
12	10	F	128	93.8	1.017	8	+	-	-	++
13	10	F	102	92.2	1.018	8	+	-	-	+
14	6	F	145	99.3	1.018	7	+	-	-	+
15	10	F	220	79.5	1.019	8	++	-	-	+
16	14	F	215	87.0	1.020	7	+	-	-	+
17	11	M	114	91.2	1.020	6	+	-	-	++
18	8	M	96	78.1	1.021	8	-	-	-	+
19	8	F	87	79.3	1.021	8	+	-	-	+
20	14	F	323	96.3	1.022	8	++	-	-	++
21	11	M	219	97.3	1.022	6	++	-	-	++
22	11	F	218	90.4	1.024	8	+	-	-	+
23	8	F	154	89.6	1.027	8	+	-	-	-
24	6	M	696	97.8	1.030	6	+	-	-	+

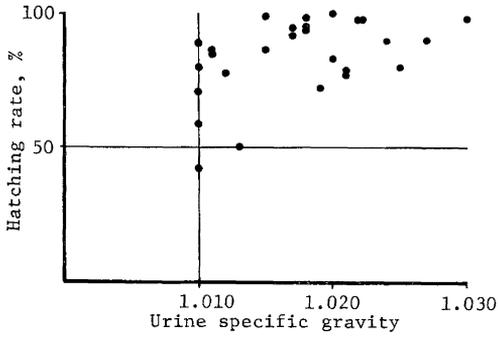


Fig. 4. Influence of specific gravity of urine upon hatchability of *S. haematobium* ova.

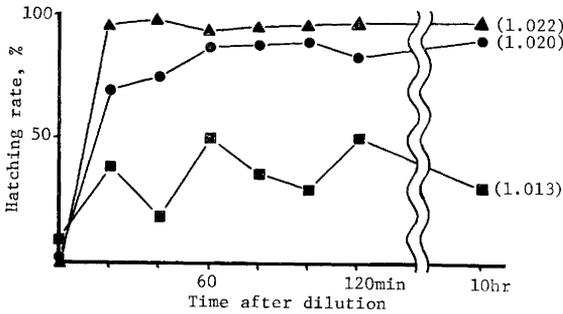


Fig. 5. Hatching of *S. haematobium* ova in different samples of urine from the same individual.

図5は日を替えて同一患者からとった尿の中の虫卵の水中の孵化を示したものであるが、孵化の時間的経過はいずれも同じパターンでありながら、排泄尿の比

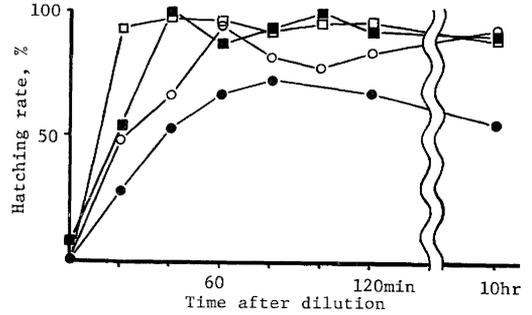


Fig. 6. Hatching of ova in dark environment.

重の違いによって虫卵の孵化率に違いがあることを示している。

6. 夜間に於けるヒ虫卵の孵化

図6は、夜間尿中に排泄された虫卵の水中の孵化経過を4例について水温24.0°C から27.2°C の下で暗黒下に10時間観察した成績を示している。

虫卵を水中に投入して20分後の孵化率はそれぞれ93%、54%、48%、28%で昼間のそれと比べて一般に低い値を示すが、40分後から80分後には72%及至96%に達する。夜間尿中の虫卵は暗黒下に於いて遅れて孵化することが考えられる。

7. 尿中放置における孵化能力の維持

尿をそのまま放置して中の虫卵の孵化能力がどの位の期間保たれるかを調べたのが表3である。

多くの例で虫卵は2日目に孵化能力を失い死滅したと考えられた。3日目にも孵化したものもあったが孵化率は低い。尿性状と孵化能力の維持期間の間には特別な関係はみられない。

Table 3. Survivorship of ova kept in urine

No.	Patient		Percentage of eggs hatched				Urinalysis					
	Age	sex	0	24	48	72 hr	Specific gravity	pH	Protein	Sugar	Keton body	Occult blood
1	—	F	93.7	96.2	0.0	—	1.020	6.8	+	—	—	+
2	6	F	98.3	92.7	0.0	—	1.011	8.2	++	—	—	++
3	6	F	99.1	50.0	0.0	—	1.015	8.4	++	—	—	++
4	7	M	89.5	78.0	0.0	—	1.010	8.4	+	—	—	+
5	5	F	84.8	89.9	0.0	—	1.011	8.2	++	—	—	++
6	6	F	99.3	0.0	—	—	1.018	6.5	+	—	—	+
7	8	F	93.8	0.0	—	—	1.017	8.6	+	—	—	++
8	9	M	96.3	82.3	44.4	—	1.017	8.8	+	—	—	++
9	9	M	97.8	89.1	0.0	—	1.016	8.8	+	—	—	++

## 考 察

ビルハルツ住血吸虫症患者の尿中のビ虫卵を観察すると、尿中で既に孵化しているものが観察されることがある。この現象は古くから知られており Seligman (1898), Ward (1945) などの記載があるが詳しくみたものはない。

尿中に於けるビ虫卵の孵化を尿比重との関係でみると、孵化は1.011以下でおこりしかも比重が低い程孵化した虫卵数の率が高いことが本実験で明らかになった。比重が1.010以上の尿を稀釈して人工的に低い比重尿の状態にすると、尿中の虫卵は稀釈尿の比重1.006以下で孵化する事実も得られた。尿濃度屈折計で測定する尿比重は浸透圧に相関し(斉藤, 1961) 1.010の比重の尿は体液とほぼ等張であることから推測すると、ビ虫卵の尿中での孵化は浸透圧の影響によるものであろう。

尿中で既に虫卵の孵化が高率に認められる比重1.005以下の尿は水分摂取を増すことにより容易に得られるものであり、尿中で孵化したミラシジウムは短時間で感染能力を失うと考えられるので、低比重尿中に排泄されたビ虫卵の感染源としての意義は再検討される必要がある。

尿中で虫卵の孵化がほとんどおこらない比重1.010以上の尿中から得た虫卵を用いて水中におけるビ虫卵の孵化を観察すると、自然散光の下、水温25°C から30°C の範囲では、孵化能力を持つビ虫卵はそのほとんどが30分以内に一相性に孵化するという一定のパターンを示すことが明らかとなった。WHO Expert Committee on Bilharziasis (1953) にはビ虫卵の孵化が5分から10分以内におこることが記載されており、Davis (1968) は水温22°C 人工照明下で孵化頻度は20分以内に最大になると報告している。また Abou senna and Bassaly (1963) は温度条件に触れて、25°C から29°C が最も良い孵化率を示す範囲と述べている。これらは本実験の結果にほぼ一致している。

比重1.010以上の尿中から得た虫卵の水中での孵化を更に多くの例について観察すると、比重が1.010に近い尿中から得た虫卵の孵化率には低いものが多いことが明らかになった。尿比重1.010付近の尿中では虫卵の自然孵化がみられることから推測して、これは、孵化能力のある虫卵は既に尿中で孵化し、残りの虫卵は孵化能力が低く、その虫卵だけについて観察したためと考えられる。低比重尿に排泄された虫卵は感染源として価値が劣っているのかもしれない。一方、比重

1.010以上の尿中に正常に排泄された虫卵も48時間から72時間経過すると孵化能力を失うことが明らかとなった。

住血吸虫卵の孵化機序についてはマンソン住血吸虫卵、日本住血吸虫卵で詳しく研究されており、総てで意見の一致をみているわけではないが孵化に影響を与える諸因子が明らかにされている。温度、塩類濃度(浸透圧)、光、pH、イオン、排泄された便の性状等がその主なものである。(Faust and Meleney, 1924; Lampe, 1926-27; Faust and Hoffman, 1934; Magath and Mathieson, 1946; Maldonado and Acosta-matienzo, 1948; Ingalls, Hunter, McMullen and Bauman, 1949; Maldonado, Acosta-matienzo and Velez-herrera, 1949, 1950; Standen, 1951; Sugiura, Sasaki, Hosaka and Ono, 1953; Ito, 1955; Jordan and Randall, 1962; Kusel, 1970; Pitchford and Visser, 1972; Upatham, 1972a, 1972b; Bair and Edges 1973; Upatham, Sturrock and Cook, 1976; Kassim and Gilbertson, 1976; Becker, 1977) これに対してビ虫卵の孵化に影響を与える因子について報告したものは少ない。

既に浸透圧がビ虫卵の孵化に与える影響については述べたが、人工的に稀釈して作った低比重尿中において同程度の低比重の自然排泄尿中における自然孵化よりも低い孵化率を示し、時間的にも孵化が遅れる理由は不明である。浸透圧の急激な変化、排尿による物理的刺激などが影響を及ぼすものと考えられる。暗黒下でビ虫卵の孵化が時間的に遅くなるという本実験の成績は、光が孵化に影響する可能性を示している。

以上の結果から、自然の生活の中で変動する尿性状の変化がその中に含まれるビ虫卵の孵化能力に微妙な影響を与えているものと考えられる。

## ま と め

ケニアのビルハルツ住血吸虫症患者から得た虫卵の孵化について実験観察を行ない、次のような成績を得た。

1. 大部分の患者の尿で潜血反応、尿蛋白は陽性であった。
2. 比重1.011以下の尿中では虫卵は既に自然孵化し、ミラシジウムの形で排泄される。
3. 比重1.010以上の尿を倍数稀釈してゆくと含まれる虫卵の孵化率は上昇するが、同比重の自然尿中のものと比べると孵化率が低く、孵化時間も長くなる。

4. 孵化能力を持つヒ虫卵は水中で速やかに孵化し、30分以内に孵化を完了する。

5. 高比重の尿に排泄されるヒ虫卵は水中で高率に孵化するが、低い比重の尿から得られる虫卵の孵化率は一般に低い。

6. 夜間尿中から得られた虫卵の暗黒下での孵化は

遅れる傾向にある。

7. 尿中に放置した虫卵はおよそ48時間及至72時間で孵化能力を失う。

8. 以上の結果から、ヒ虫卵は排泄された尿の比重によって孵化率が異なり、感染能力も異なることが示唆された。

## 謝 辞

稿を終るにあたり、御懇篤な御指導と御校閲を賜った 恩師片峰大助教授に深甚の謝意を捧げます。また実験に御協力下さった住血吸虫症研究班の皆様、当部門の皆様感謝いたします。

## 文 献

- 1) Abou senna, H.O. & Bassaly, M. (1964) : Observations on the hatching of miracidia from schistosome eggs. Medskaya Parazit., 33(6), 704-706.
- 2) Bair, R.D. & Edges, F.J. (1973) : *Schistosoma mansoni* : Factors affecting hatching of eggs. Exp. Parasitol., 33, 155-167.
- 3) Becker, W. (1977) : The activation of miracidia of *Schistosoma mansoni* in the eggshell : Uptake of water and the metabolic changes connected with it. Z. Parasitenk., 52. 69-79.
- 4) Davis, A. (1966) : Field trials of Ambilhar in the treatment of urinary bilharziasis in schoolchildren. Bull. Wld Hlth Org., 35, 827-835.
- 5) Davis, A. (1968) : Comparative trials of antimonial drugs in urinary schistosomiasis. Bull. Wld Hlth Org., 38, 197-227.
- 6) Faust, E.C. (1924) : The reactions of the miracidia of *Schistosoma japonicum* and *S. haematobium* in the presence of their intermediate hosts. J. Parasits., 10, 199-204.
- 7) Faust, E. C. & Hoffman, W.A (1934) : Studies on *Schistosoma mansoni* in Puerto Rico. Puerto Rico J. publ. Hlth. trop. Med., 10, 1.
- 8) Faust, E.C. & Meleney, H.E. (1924) : Studies on schistosomiasis japonica. Amer. J. Hyg. Monographic series No. 3, 339pp.
- 9) Ingalls, J.W., Jr., Hunter, G.W. III, McMullen, D.B. & Bauman, P.M. (1949) : The molluscan intermediate host and schistosomiasis japonica. I. Observations on the conditions governing the hatching of the eggs of *Schistosoma japonicum*. J. Parasit., 35(2), 147-151.
- 10) Ito, J. (1955) : Studies on hatchability of *Schistosoma japonicum* eggs in several external environment conditions. Jap. J. Med. Sci. Biol., 8(2), 175-184.
- 11) Jordan, P. & Randall, K. (1962) : Schistosomiasis in Tanganyika : Observations on suppressive management of *Schistosoma haematobium* with TWSb, with Particular reference to reduction in ova load. Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg., 56(6), 523-528.
- 12) Justesen-van Sloterdijck, D.W. (1977) : A quantitative and qualitative hatching test for schistosomiasis. Acta Leidensia, 45, 61-66.
- 13) Kassim, O. & Gilbertson, D.E. (1976) : Hatching of *Schistosoma mansoni* eggs and observations on motility of miracidia. J. Parasit., 62(5), 715-720.
- 14) Kusel, J. R. (1970) : Studies on the structure and hatching of the eggs of *Schistosoma mansoni*. Parasitology, 60, 79-88.

- 15) Lampe, P.H.J. (1926-27) : The development of *Schistosoma mansoni*. Proc. Royal Soc. Med., 20, 1510-1516.
- 16) Magath, T.B.C. & Mathieson, L.D.R. (1946) : Factors affecting the hatching of ova of *Schistosoma japonicum*. J. Parasit., 32, 64-68.
- 17) Maldonado, J.F. & Acosta-matienzo, J. (1948) : Biological studies on the miracidium of *Schistosoma mansoni*, Amer. J. trop. Med., 28, 645-657.
- 18) Maldonado, J.F., Acosta-matienzo, J. & Velez-herrera, F. (1949) : Biological studies on the miracidium of *Schistosoma mansoni*. Puerto Rico J. publ. Hlth. trop. Med., 25, 359-366.
- 19) Maldonado, J.F., Acosta-matienzo, J. & Velez-herrera, F. (1950) : Biological studies on the miracidium of *Schistosoma mansoni*. Puerto Rico J. publ. Hlth. trop. Med., 26, 85-91.
- 20) Pitchford, R. & Visser, P.S. (1972) : Some observations on the hatching pattern of *Schistosoma mansoni* eggs. Ann. trop. Med. Parasit., 66(3), 399-407.
- 21) 斉藤正行 (1961) : 尿比重を1滴で測定する試みに就て. 日本小児科学会雑誌, 65(9), 953.
- 22) Seligman, C.G. (1898) : Observations on the hatching of the ova of *Bilharzia haematobia*. Trans. Path. Soc. London, 49, 386-388.
- 23) Standen, O.D. (1951) : The effects of temperature, light and salinity upon the hatching of the ova of *Schistosoma mansoni*. Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg., 45(2), 225-241.
- 24) Sugiura, S., Sasaki, T., Hosaka, Y. & Ono, R. (1953) : A study of several factors influencing hatching of *Schistosoma japonicum* eggs. J. Parasit., 40(4), 381-386.
- 25) Upatham, E.S. (1972a) : Rapidity and duration of hatching of St Lucian *Schistosoma mansoni* eggs in outdoor habitats. J. Helminth., 46, 271-276.
- 26) Upatham, E.S. (1972b) : Studies on the hatching of *Schistosoma mansoni* eggs in standing-water and running-water habitats in St Lucia, West Indies. Southeast Asian J. trop. Med. pub. Hlth., 3, 600-604.
- 27) Upatham, E.S., Sturrock, R.F. & Cook, J.A. (1976) : Studies on the hatchability of *Schistosoma mansoni* eggs from a naturally infected human community on St Lucia, West Indies. Parasitology, 73, 253-264.
- 28) Ward, R.O. (1945) : Some surgical aspects of urinary bilharziasis. Proc. Royal Soc. Med., 39, 27-38.
- 29) WHO Expert Committee on Bilharziasis. (1953) : Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser., 65, 7, 41.