

昭和30年6月秋田県南秋田郡弘戸村に 発生したボトリヌス中毒について

藤 沢 宗 一

(公衆衛生課) 小 松 二 郎

I. ま え が き

1951年吾国に於て初めて報告されたボトリヌス中毒はその後北海道に合計5例の発生があり、その何れもが「魚の飯ずし」に起因するE型菌によるものであると報ぜられている。余等も1953年10月八郎潟南岸の南秋田郡天王町に発生した食中毒の原因食品の「川鯛の飯ずし」よりボトリヌスE型毒素と菌株を検出したが、これが日本本州に於ては初めての検出であつた。このことは2.3誌に発表したとおりである。然るに今年1955年6月上旬又も同じ秋田県下南秋田郡の八郎潟西南岸に面する1農漁村に於て「鰯の飯ずし」による食中毒が発生し、その原因菌を追究したところボトリヌスE型菌に起因するものであることを確認したので現在まで実施した検索のあらましを報告する。

II. 発 生 の 概 況

場所は南秋田郡弘戸村字福川で、この村は皆て「飯ずし」中毒の発生した既往のある村である。(1951年10月下旬同村小深見部落の農家で「はぜの飯ずし」を摂食し4名が発病しうち2名が死亡した例で、当時余等はその中毒原因を確め得なかつたものである。)

今回の発生は農業吉△長△助方で家族及び農事の手伝人合計11名が5月30日の朝食と昼食に同家で漬込んだ「鰯の飯ずし」を摂食し、そのうち6名が同日夕刻より翌31日の早朝にかけて発病した。附近の医師の往診を求めたところ、容態のただならぬ為に、急遽秋田県立中央病院へ入院を勧めら

れ、その途中1名は車上で死亡し、他の5名は入院加療したが4名は死の転帰をとり、恢復したものは唯の1名のみであつた。

III. 患者及び死者の状況 (表1)

今回の食中毒は同時に三世帯に発生した。原因食品の摂食者11名中発病者は6名で55%、死亡者は5名の致命率83%で、摂食より発病まで(潜伏期)短いものは8時間、長いもので23時間30分、平均は15時間以内であつた。

患者に共通であつた症状は嘔吐、嘔気、全身倦怠感、脱力感の他特に手指の運動障碍、呼吸困難、口渴、嚥下困難、しびれ感、唝声、眼症状(瞳孔散大、眼瞼下垂、視力低下、複視)等で、下痢、発熱等はなく、意識は危篤状態に入るまで明瞭であつた。代表的な1例の経過を記すと次のとおりである。

患 者 吉△長△郎 当42年 男 農業。

「飯ずし」(摂食量約200g)摂食後8時間の5月30日午後8時頃、手指のしびれからはじまり、指を曲げることは出来るが伸ばす事が出来ず、中風のような症状をもつて発症し、喫煙しようとしても煙草を支える事が出来なかつた。10数分後より眼症状(複視、瞳孔散大)が著明となり、この状態を経過し午後9時30分頃より嘔吐2~3回を繰返したので臥床した。午後10時附近の医師の往診を受けた頃は声が唝れて患者のいう言葉を聞きとるのに苦勞したという。翌31日午前0時入院するためト

(第 1 表)

「飯 ず し」 攝 食 者 の 個 人 的 調 査 表

[illegible]

ラックに乗車する時は腰が不安定であつたが看護人の世話をかり事なく乗車し約2時間後に入院した。午前2時20分頃より口渴を訴えたので水を与えた。しかし嚥下困難のため飲めなかつたのでタオルを濡らして口に含ませたが、苦痛が甚しかつた。この頃患者に字を書くよう奨めたら書いた字は判読の出来ないものであつた。

午前4時頃より腹部の膨満が顕れ、患者はしきりと腹部を圧迫して哭れるように看護人に頼んだ。同5時頃より呼吸困難となつたが、脈搏、意識は大した変化なくこのまま約2時間後の午前7時頃より一般症状悪化し、意識不明昏睡状態になり、それより約1時間後には爪が蒼白となり、角膜溷濁等を来して午前8時30分死亡した。

IV. 「鯨の飯ずし」について

鯨は5月23日午前8時頃患者戸主の弟が隣村の潟西村 鶴木部落沖より約10貫を漁獲したもので患者家では約3貫目を譲り受けたものである。この鯨は「たかのはかれい」の通称があり、この季節には長さ約15cm位の大きさとなるが、「飯ずし」以外には余り調理されないものであるという。

「飯ずし」を漬込んだのは戸主の母リサで当75才で、5月23日分与された鯨の頭部及び内臓を除去して三つ切りにし、充分水洗し（簡易水道水で）翌24日まで水に浸し（その間数回換水したが調理人が死亡したため回数は不明）、人肌程度に温度が下つた米飯と混ぜ、それに約200gの食塩を混和して桶に漬込んだものである。

この「飯ずし」はそれより5日後の5月29日午後7時30分死亡者の1人である吉△末△郎が初めて試食し、次いで翌30日の朝昼食に11名が摂食したものである。

V. 細菌の細菌的検索

(1) 検査材料

飯ずし（桶に残つたもの）

患者吐物（2名の患者からえたもの）

〃 糞便（患者1名）

(2) 方法

1. 毒素の検出

「飯ずし」は米飯及び魚肉に分け、各その20gに等量の生理的食塩水を加え滅菌乳鉢でよく磨細し3000回転20分遠心後サンペラン濾過器を通し、その濾液（何れもPH 4.6）を15g内外のマウスの腹腔内に0.5cc宛接種した。その結果魚肉の方は約1時間半後に発症し腹壁の陥凹後軀麻痺、呼吸困難等ボトリヌスを疑わしむる症状を呈し、接種後2時間にして斃死した。米飯の方は7時間目までは異状なく以後13時間以内に斃死した。

一方これ等の濾液を80°C. 30分加熱したものについて同様に実験した結果は、1週間観察したが何等異状を認めない。

又これ等の沈渣は各々5本宛の肝マブイヨンに1白金耳を移植し60°C. 1時間加熱して35°Cの孵卵器に納め18時間培養したもののについて「飯ずし」濾液と同様の実験を行つたが結果は同じであつた。

次に患者の吐物及び糞便も「飯ずし」の沈渣と同様に培養しその濾液についての実験の結果は総て同様であつた。

2. 毒素の中和試験

「飯ずし」そのもの及び「飯ずし」患者の吐物糞便の培養液中に存在する毒素は何れもボトリヌスE型抗毒素血清によりそれぞれ完全に中和されA型、B型は中和されない。（第2表参照）

第2表 中和試験実験例

×血清 毒素液	A 型	B 型	E 型	対 照
原 液	● ●	● ●	○ ○	● ●
× 10	● ●	● ●	○ ○	● ●
× 100	● ○	● ●	○ ○	● ○
× 1,000	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○

○ ～ 生存マウス

● ～ 斃死マウス

3. 「ボ」菌の分離培養

「飯ずし」「吐物」「糞便」等の肝々ブイオン培養液を綿羊血液を用いたツアイスラー平坂培地に塗抹し予め少量の10% NaOH液とピロガロールを別々に入れてある嫌気性瓶に納め、真空ポンプで陰圧としたのち両者を混和して残存酸素を吸収せしめ35°C, 48 時間培養して夫々の検体よりボ菌を疑う菌株を分離し得た。これ等菌株の肝々ブイオン培養液中に存在する。毒素はE型抗毒素血清により完全に中和され、従つてボトリヌスE型菌と考えられる。

これ等の菌株の諸性状、毒力その他についての実験は現在実施中である。

VI. 綜括並びにむすび

- 1) 昭和30年5月30日秋田県南秋田郡弘戸村字福川に於て「鯉の飯ずし」による6名の中毒患者が発生し、うち5名が死亡した。
- 2) これ等の患者は5月29日～30日晝食に30g～300gの「飯ずし」を摂食した。この「飯ずし」は6日前に八郎潟より漁獲された「たかのはがれい」を使用して漬け込みこの時初めて摂食したものである。

- 3) 患者は潜伏時間8～18時間、平均15時間で発症し主な症状は悪心、嘔吐、しびれ感、口渴、嗄声、眼症状、嚥下困難などの分泌並びに神経症状が著明である。
- 4) 死亡者中1名（摂食量約30g）を除いては何れも130～300gの多量を摂食し、発症から死亡までの平均時間は18時間で、致命率は83%である。
- 5) 病因物質を追求の結果「飯ずし」及び「飯ずし」の培養液、患者吐物、糞便等の培養液中にボトリヌスE型毒素の存在を確認した。
- 6) 又これ等の検体からボトリヌスE型菌を分離した。（参考文献省略）

秋田県における昭和29年度分離 赤痢菌株の薬剤耐性について

秋田県衛生研究所

児 玉 栄一郎
藤 沢 宗 一
茂 木 武 雄

I ま え が き

細菌性赤痢の治療にサルファ剤が一般に使用せられるようになったのは昭和21年頃からのことで1941年Sulfaguanidineが細菌性赤痢に使用せられて卓効を収めてから当時まで優秀な治療効果を期待することができたが、間もなくサルファ剤の奏効しない赤痢が現われて次第に殖えて来た。すなわち東京都では昭和23年頃からサルファ剤耐性菌が現われて漸増し、25年には分離菌の略90%、或はそれ以上が400mg/dl Sulsol (ほぼ飽和濃度) という成績となり、従つてサルファ剤が殆ど全部の患者に効かない状態になつた(阿部実氏)。また落合氏の報告によると、名古屋ではサルファ耐性菌が昭和24年初めて出現し、同年では耐性菌が僅か12.1%であつたが次第に殖えて、昭和25年には45.8%、26年には67.1%、27年には67.6%となつた、しかし西貢菌には耐性菌が無かつたという但しこの場合の培地は普通寒天にSulsolを100mg/dlの割合に加えたものであつた。この赤痢菌の薬剤耐性はやがて大都市以外の地方においても同様に発現したもの如く、例せば青森県下流行昭和26、27年度の菌株について森富夫氏等の実験成績ではスルファチアゾール (10^{-3} M 濃度) に対して既に88%の耐性が獲られたことを観察しているし、また昭和27年度の赤痢菌について和歌山衛研(熊野英雄氏ら)に於ける成績では、スルファ

チゾールの場合合計94%、スルファダイアジンの場合93%、スルファグアニジンの場合で略100%に近い。その他の地方に於ても昭和26年頃から分離株についてサルファ剤感受性試験が行われるようになって来た。

ところでサルファ剤耐性試験に関する多数の文献から検討すると。

1. 菌型によつて耐性菌の出現頻度に差のあること、すなわち耐性菌の検出率は菌型の分布状態によつて左右されることである。サルファ剤に接触したことのない菌型は恐らく同剤に対する耐性を獲得することなかるべく、之に反し一度乃至再三、再四サルファ剤と接触する機会を与えられるに及んで耐性菌が出現するが、この場合流行の菌型が耐性獲得として報告せられることは当然である。
2. しかし赤痢の治療にサルファ剤の無効を謂われると共に菌のサルファ剤との接触頻度も減じて、従つて耐性度が更に上昇することが見られなくなつたこと。
3. 菌型によつて比較的耐性菌となり難いものがあり、例せば落合氏の昭和27年度の分離株について言えば、Sh, dys, 2. Sh, flex, 4 と Y がすべて感性、31 と Sonne の約10%が耐性であつたという報告、また小林氏(新潟県衛生研究所)の報告では Sh, dys, 1, 2, 及び Sh, Flex, 4, 5, 6,

var x (3aの系) はすべて感性であり、また3a, Sonneeでは90%以上が感性であつたが、1b, 2a, 3b, 3c, var X (2b系)の大部分が耐性菌であつたという。なおまた秋葉教授、岩原繁雄氏らの成績(昭和28年度茨城、群馬、神奈川、東京の分離株の1部)によると、1b, 2a, 2b, 3b, Var X(2b系), Var Yの大部分が耐性であり、これに対してSh,dys,2, Sh,flex, 3a, 4, 5, 6, var x (3系) Sh,sonneiの大部分が感性であつたことで、約言すればSh,dys 1, 2, 及びSh,flex,3a, 4, 5, 6, VarX (3系) Sh,sonneiの大部分が感性であるが、1b, 2a, 2b,3b, Var X (2b系)及びVar,Yの多くが耐性であることが各報告に共通な点である。

なお以上の他に考えられることはsulf剤そのものの化学構造に関係ないものかどうかについての問題であるが、赤痢症の治療が本邦でsulfaguanidineを初めとして"sulphyridine, sulfathiazol, sulf.methyl-thiazol, sulfadiazine, sulfamesazine, sulfamerazine, sulf.methyloxydiazine, Sulfapyrazineと種類を重ね、Gantrosanが喧伝された頃には日本の赤痢は殆どスルファミン耐性になつてしまつたと福見秀雄氏(1952年)が述懐されているが、臨末的には交叉耐性があるものの如く思われる。

但しストレプトマイシンを初め他の抗生物質に対する耐性が問題とする程に上昇した報告は見当らぬことは不幸中の幸というべく、然し乍ら赤痢の多い本邦としては当然これらの抗生物質についても調査と研究とを重ねて行かざるべからざる運命に置かれてあると言えよう。

私共は今後予防のためにも治療のためにもかかる検査を継続して行くつもりである。

さて、秋田県では現在までこれらに関する報告が殆どないので、私共は昭和29年秋田県内各地で

分離された赤痢菌の165株について種々なサルファ剤並びに4種の抗生物質に対する抵抗を検査した。

Ⅱ 試 験 方 法

(i) 供試赤痢菌並びに菌型

供試菌は昭和29年3月から8月までの間に県衛生研究所並びに秋田、本荘、大館、鷹巣、能代、大曲、角館、横手、湯沢、男鹿の各保健所で分離したものうちの165株である。その配分並びに菌型検査成績は第1表に示す如くである。

第1表 昭和29年度分離赤痢菌株並びに菌型

保健所別 と菌株 数 菌 型	研	田	本 荘	大 鹿	大 館	鷹 巣	能 代	大 曲	角 館	横 手	湯 沢	計
Sh flex												
1 b	2	1	1									4
2 a	5	3	2			3	6	3	35	1	37	95
2 b	25	10	4	6			6	4	79	11	28	173
3 a	8				1	1	4	3	37		4	58
4 a	1	1			1							3
6								1				1
VX	4				5		1		13		3	26
VY								2	4			6
Sh sonnei	7	1		1		1	2	2	28		8	50
計	52	16	7	7	7	5	20	14	106	12	80	416

菌型は図表に示すとおり1b, 2a, 2b, 3a, 4a, 6, vx VY, Sonneiで、2bが断然多く、次は2a, 3a, で次がsonnei, VXの順である。ここで私共は3a, Sonneiが少なくなかつたことを強調しておきたい。

(ii) 使用 培 地

培地はサルファ剤の場合には落合合成培地を、抗生物質の場合には普通寒天培地を使用した。すなわちFHを7.4に修正し、各種サルファ剤をそれぞれ100m/gcc., 75m/gcc., 50m/gcc., 25m/gcc.,

及び10mg/cc.の割合に混和した。また抗生物質の場合は普通寒天培地のPHを7.2とし、各抗生物質を1cc.中50r, 25r, 10r, 5r, 2.5r,を含むようにしてからペトリ皿に分注し、平板培地として使用した。対照としては国立予研から分譲をうけた標準株をまず落合培地と普通ブイヨン培地に移植して数代継代培養を行い、充分その發育を確めてから供試培地へ標準白金耳をもつて移植し、37°Cで24時間後に判定した。

Ⅲ 試 験 成 績

(i) サルファ剤の場合

サルファ剤としてsulfadiazine, sulfamerazine, Sulfaguanidine, sulfamethylmerazine, sulfathiazolなどについて耐性試験を行つたのであるが、その成績は第2表に示すとおりである。まず菌型から言えば、Sh. flex 2aは35株中いづれのサルファ剤に対しても耐性株が35株であるから100%と言い得べく、また2b 35株中ではdiazineでは35株で100%、guanidine, methylmerazineでは33株で各々9

4%、sulfamerazineでは32株であるから91%という割合である。またSh. sonneiは12株でdiazineでは12株で100%、guanidine, methylmerazineでは各々11株で92%、menazineでは10株であるから83%という割合である。thiazolについても同様な成績が得られている。またSh. flex. 1bは唯1株に過ぎなかつたが、何れのサルファ剤に対しても100mg/cc. 陽性であるから、これまた相当の耐性を獲たものと思われる。V. Yについても略同様であるが株数が少い故に統計的な数字は挙げ得ない3a, V Xも株数が少く、前者同様確実な数値を出し得ない憾みがある。

秋葉教授や岩原氏らの業績では、新潟県衛生研究所の小林氏の約4000株について感受性試験を行つた業績、すなわち3a, Sonneの90%以上が感性であるに対して1b, 2a, 3b, 3c, Var. X (2b系)の大部分が耐性菌であつた報告をとりあげ、氏等も1b, 2a, 2b, 3b, Var X (2b系) Var. Yの大部分が耐性であり、これに対してSh. dys. 2, Sh. flex. 3a, 4, 5, 6, Var X (3a系)、Sh. sonneiの大部分が感性であつ

第2表各種サルファ剤に対する各型赤菌の抵抗性

(表中の数字は耐性株数をあらわす)

サルファ剤の種類 mg/cc 赤菌型 供試菌株数		Sulfadiazine				Sulfamerazine				Sulfaguanidine				Sulfamethylmerazine			
		100	10	1	小計	100	10	1	小計	100	10	1	小計	100	10	1	小計
Sh. flexb	1b	1	1		1	1			1	1			1	1			1
"	2a	35	34	1	35	31	4		35	35			35	35			35
"	2b	35	25	5	35	11	17	4	32	18	13	2	33	18	19	1	33
"	3a	16		1	1	1			1	1		1	2		1	1	2
"	V X	2									1		1		1		1
"	V Y	2	2		2	1	1		2	2			2	2			2
Sh. Sonnei		12		1	11	12		10	10		1	10	11	1	4	6	11
計		103	62	8	16	86	45	22	14	81	57	15	13	85	52	25	8
耐性率 (%)		83.5				78.6				82.5				82.5			

たという。私共の成績では菌株数が少ないためにこれらの事情を確認し得ないが、Var. Xや3aについて臆気ながらその間の性状が伺い得ると思う。唯Sh.sonneiについては反対の結果が得られているがSh.sonneiが果して耐性を最初から獲得し難いものか、或いは当県では検出sonne菌株数が多く、従つてサルファ剤と接触する機会が多く、従つてかかる結果が得られたものかどうか確言し難い。

なおVar. Xについては2b系か3a系かの分析試験は行わなかつた。

次にサルファ剤の種類と耐性菌との関係であるが、供試サルファ剤に対しては第2表に示す如く何れに対しても高度の耐性(83.5%~78.6%)を示して注目に値する差異を認め得なかつた。サルファ剤の化学構造と耐性獲得機序については目下実験中である。

(ii) 抗生物質の場合

抗生物質としては、streptomycin (SM), chl-

oromycetin (CM), aureomycin (AM), terramycin(TM)の4種で、濃度を50r, 25r, 10r, 5r, 2.5rとし、それぞれの赤痢菌種、菌株について得た成績は第3表並びに第4表に示したとおりである。菌の抵抗性または耐性はサルファ剤に比較すると全般的に低い、しかしSM, CMに対しては相当の耐性を示しつつあることが観られる。すなわちSMに対しては50r, 25rという濃度の培地にさえ耐え得る菌株が9株もあつたことである。CMに対してはSM程ではないというものの10rに耐え得るものが6株もあるのである。AM, TMに対しては流石に遙かに低く、2.5rの濃度に耐え得るのみである。約言すれば赤痢菌の耐性はSMに対して最も強く現われ、次がCMで、次がAM、TMという順序で弱くなつて来ている。しかし全体の菌株数からいえばCMは165株中耐性株は46株であるから27.9%となり最も高く、次がAMで21株で12.6%、SMは16株で9.8%、そしてT

第3表抗生物質に対する各型赤痢菌の抵抗性

(表中の数字は耐性株数をあらわす)

抗生物質 r/cc 赤痢菌型 供試菌株数		Streptomycin						Chloromycetin					
		50	25	10	5	2.5	小計	50	25	10	5	2.5	小計
Sh. flex													
1 b	2												
2 a	22			1	1	1	3				1	1	2
2 b	61	1		2	1		4			4	6	2	12
3 a	40		2				2			1	6	1	8
4 a	3									1	2		3
V X	16	1				1	2				3	1	4
V Y	3											1	1
Sh. Sonnei	18	5					5				15	1	16
計	165	7	2	3	2	2	16			6	33	7	46
耐性率(%)		9.8						27.9					

第 4 表 抗生物質に対する各型赤痢菌の抵抗性

(表中の数字は耐性株数をあらわす)

抗生物質 赤痢菌型 供試菌 株 数		Aureomycin						Terramycin					
		50	25	10	5	2.5	小計	50	25	10	5	2.5	小計
Sh.flex													
1 b	2												
2 a	22												
2 b	61												
3 a	40												
4 a	3					1	1						
VX	16					4	4						
VY	3												
Sh. S. nnei	18					16	16					5	5
計	165					21	21					5	5
耐性率 (%)		12.6						3.0					

Mは5株、3.0%で最も低い。

次に赤痢菌型と耐性株との関係であるが、何れの抗生物質に対しても Sh.Sonneiが高い抵抗性を示していることは特異的であるというべく、すなわちCMについていえば18株中16株であるから89%、AMに対しても同様に16株、89%、TMに対しては5株で31%、SMに対しては5株で28%という状態である。このことは Sh.sonneiが特に耐性を獲得し易いためか、或いは抗生物質と接触の機会が多かつたかどうか、現在直ちに結論を出し難いが、甚だ興味あることと思う。

次にCMに対して4aが100%、AMに対して30%の耐性が見られるが、SM、TMに対しては耐性を示していない。唯Var.XがCM、AMに対して25%、SMに対して13%の耐性が見られることはサルファ剤の場合と同様興味のあるところであるが、しかしTMに対しては耐性を示していない。

IV む す び

昭和29年3月から8月までの間に秋田県下において分離した赤痢菌165株についてサルファ剤及び抗生物質に対する耐性試験を実施した。

(1) サルファ剤 (Diazine, merazine, thiazol-guanidine, methylmerazine) に対しては78.6%~83.5%の耐性を認めた。

(2) 菌型からいえばSh.flex. 2a, 2bの耐性が高く、また Sh.Sonneiの案外高率を示したことは注目すべきである。

(3) 抗生物質に対しては菌全体としての耐性の程度は低いが、全然耐性を認め得ない訳ではないCMに対して27.9%、AMに対しては12.6%、SMに対しては12.6%、TMに対しては3.0%の抵抗性が既に認め得られた。

(4) 抗生物質に対する抵抗性と菌型との関係は抗生物質の種類によつて異なる。すなわちCMに対してはSh.Sonnei、Sh.flex, 4a, 2a, 2b, Var.

が耐性を獲得しており、SMに対してはSh.Sc-
nnei, Sh.flex, 2a, 2b, VarXなどで、またAM
に対してはSh.sonnei, Sh.flex, 4a, VarXで、T
Mに対してはSh.sonneiのみ耐性が観られた。

IV 主 要 文 献

- (1) 落合国太郎、他2氏、「名古屋市における赤痢菌の新国際分類法による菌型とそのサルファ剤耐性」日本医事新報号1932、昭和28年9月5日
- (2) 落合国太郎、他2氏、「昭和26年名古屋市における細菌性赤痢の疫学的観察、特に検出菌の菌型並にスルファミン耐性について」、日本医事新報、1471号、昭和27年7月5日
- (3) 熊野英雄、林克己、「昭和27年度分離赤痢菌の各種薬剤に対する抵抗性試験について」、和歌山県衛生研究所年報、2、昭和27年
- (4) 福見秀雄、「細菌学方面から見た最近の赤痢問題赤痢菌の薬剤耐性問題を論ず」、日本医事新報、1473号、昭和27年7月19日
- (5) 森富夫、他2氏、「青森県に於ける赤痢の臨床的及び細菌学的研究、第1報、弘前地方に於ける昭和26、27年度の流行菌型及び薬剤抵抗性に就いて」、日本伝染病学会雑誌、27巻、昭和28年
- (6) 阿部実、「細菌性赤痢の治療」、日本医事新報、1470号、昭和27年6月28日
- (7) 内山圭梧、「赤痢の治療」、日本医事新報、1473号、昭和27年7月19日
- (8) 川口尹通、他1氏、「細菌性赤痢に対する薬剤効果判定基準の1私案」、日本医事新報、1539号、昭和28年10月24日
- (9) 御簾納孝次郎、「赤痢菌の抗生剤に対する態度について」、第2報、日本伝染病学会雑誌、27巻、昭和28年
- (10) 北本治、香川修事、他2氏、「昭和28年度分離赤痢菌株のテラマイシン抵抗性について」、日本医事新報、1565号、昭和29年4月24日
- (11) 秋葉朝一郎、岩原繁雄、深沢義村、他2氏、「分離赤痢菌のサルファ剤感受性と菌型との関係」、日本医事新報、1609号、昭和30年2月26日
- (12) 野口政輝、他3氏、「昭和28年静岡県下における赤痢菌の菌型分類と前3ヶ年との比較」、静岡衛研年報、4巻、昭和30年
- (13) 西山要、井上正、他6氏、「最近3ヶ年間本邦に流行する赤痢菌の菌型について」、関西医学、昭和30年4月

ベンチジン呈色反應に関する研究

(第 2 報)

児 玉 栄 一 郎

I. 緒 言

前報で私はベンチジン、 $H_2N-\langle \text{—} \rangle-\langle \text{—} \rangle-NH_2$ がエタノール溶媒内で酸化せられて所謂Benzidine blueなる色彩を生ずるための種々な因子について述べた。

ベンチジンがエタノールを溶媒とする場合でもまた醋酸に溶解した場合でも、青呈色にどうしてもベンチジンの褐色が付きまとうので色彩上の不鮮明さに不便を感じていた。

ところがこのBenzidine acetate液にNaBr、その他の塩類を加えると白色の沈澱が生じて来ることを知つた。今ここでNaBrの場合を対象として実験の経過を述べると、このNaBrによつて生じた沈澱はエタノールに不溶、水にも難溶であるが、この水溶液は血色素をもつて呈色反応を試みるとき美しい青色、または藍色が現われ、然かもBenzidine acetateにつき纏う褐色がなく、色彩が格段に鮮明であることを知つた。すなわちこのものは水溶性であること、色調に不愉快な褐色の混入することが無いこと、エタノールを使用する必要のないことなどを考慮するとき、臨床検査により都合がよいと考えたので、ここに報告する次第である。

なおBenzidine acetate (針状) 以外にBenzidine hydrochloride も Benzidine nitrate も板状の結晶をつくるが、Benzidine nitrate 以外は水に易溶すぎて、取扱が困難である。

II. 實 験 成 績

[A] ベンチジン複塩の合成

Benzidine acetate 水溶液 (醋酸のみならず、HCl, HNO_3 , 砒酸などの酸抱合Benzidineから出発しても同様であるが) にNaBrの粉末を投ずるとき白色の沈澱を生じて来ることは上述のとおりであるが、このことは強ちNaBrに限られたものでないことがその後の実験で知り得た。しかしかかる複塩の合成は附加する塩の種類によつて異なる場合には収量が少く、ある場合には全く複塩を合成することが無い。これらの事情について次に述べたいと思う。

a. ベンチジン複塩合成に與る塩類

ベンチジンのエタノール溶液、または醋酸溶液に加えられて複塩を作り、比較的明瞭な白色の沈澱を來す塩類を挙げると次のとおりである。

NaBr, NaCl, $NaNO_3$, Na_2SO_4 , Na_2HPO_4 , Na-molybdate, Na-tungstate, KCl, KBr, KI, KNO_3 , K_2SO_4 , $KClO_4$, KCNS, K-oxalate, $KAl(SO_4)_2$, K-Ferrocyanide, NH_4NO_3 , $(NH_4)_2SO_4$, $(NH_4)_3PO_4$, Ammonium oxalate, Ammonium citrate, $BaCl_2$, $CaCl_2$, $MgCl_2$, $MgSO_4$, $ZnCl_2$, $ZnSO_4$, Zn-acetate,

Ferro chloride, K-Ferrocyanide, Ferri-phosphate,

CuSO_4

$\text{CO}(\text{NO}_3)_2$, CoCl_2 ,

AgNO_3 , Ag_2SO_4 ,

CdCl_2 ,

SnCl_4 ,

次に沈澱を作らないか、または反応が行き過ぎで着色（青または藍）し、沈澱物が青呈色反応に不適合なものを挙げると次のとおりである。

$\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$,

K-chromate, K-bichromate,

Ferri chloride, K-Ferri cyanide

CuCl_2 ,

AgNO_2 ,

HgI_2 ,

U-acetate,

以上の実験では勿論酸化剤である H_2O_2 の附加はないのであるから、最初の group の K I, K C N S, K-Ferrocyanide, 塩化鉄などを投入しても沈澱こそ造つても青色の発色がないことは当然と言える。然るに K-Chromate, K-bichromate などの Cr 化合物は酸化剤の無いに拘らず速かに反応して青藍色を呈す。

また鉄塩のうちでも Ferro chloride, K-Ferrocyanide のような 2 価の鉄は白色の沈澱をつくるが、Ferri-chloride, K-Ferri cyanide のような 3 価の鉄塩は沈澱と同時に紺色を発色して来る。但し Ferri-Phosphate は 3 価の鉄でありながら白色の沈澱をつくり、酸化剤の附加によつて初めて呈色する。

なおまた AgNO_3 , Ag_2SO_4 などの銀塩は最初立派に白色の沈澱を生ずるのであるが、徐々に自酸化が起り、比較的短時間に緑色から青色を経て藍色、または紫色に移行してしまうのである。

b. 酸の必要性

ベンチジンが塩類を抱合して複塩をつくる場合醋酸のような酸を必要とするか否かについて実験した。この場合のベンチジンは 2% エタノール溶液とし、酸としては $\frac{N}{10}\text{HCl}$, 塩類としては NaBr とし、試験管内に起る沈澱の多少を観察した。但し NaBr の量は経験的なものである。

成績は次に示すとおりで、生じた沈澱は白色板状の結晶で、水に溶けて酸性を呈す。

なおこの複塩は水に難溶、エタノールに不溶である。またかかる複塩をつくるためにはベンチジンの溶媒として必ずしもエタノールを必要としない。

第 1 表

ベンチジン複塩合成に対する
酸の必要性

2%ベンチジンエ タノール溶液 mℓ	NHcl mℓ	NaBr 0.3g	沈 澱 の 程 度
20.0	0.5	0.3	(-)
"	1.0	"	(+)
"	1.5	"	(+)
"	2.0	"	(++)
"	3.0	"	(+++)

C. ベンチジン複塩の呈色反応に與る 諸種塩類の影響

すでに第 1 報において報告したような塩類のそれぞれについて今回も実験したのであるが、大体陽性に出るものは陽性に出、陰性に終るものは陰性に終つたのであるが、しかし、2, 3 異なる成績もあるので、それらに就いてここに報告したい。

但し前回の実験ではエタノールを溶媒とした Benzidine acetate を使用したが、今回は Benzidine acetate と NaBr との抱合体、すなわちベンチジンの NaBr 複塩の 0.1% 水溶液を使用した。

まず陽性に出るものを列挙すると

Hb,

CuCl₂, CuSO₄,

KI, KIO₄, BiI₃,

KCNS,

KMnO₄,

K-Ferrocyanide, K-Ferri cyanide, Fe-Ammon citrate,

K-chromate, K-bichromate,

陰性に終るものは

Fe-phosphate, Fe-Ammon-sulfate

Ferro chloride, Ferri chloride, Fe-sulfate, Co nifrate

MnSO₄,

以上の成績から気付くように、Benzidine acetateのエタノール溶媒中では磷酸鉄を除く大部分の鉄化合物は陽性に出たのであるが、ベンチジン複塩の水溶液では醋塩と見做される K-Ferrocyanide, K-Ferri cyanideや、また Fe-Ammon-citrate など陽性に出るが、鉄と雖も錯塩に非る Ferro chloride, Ferri chloride, Ferro sulfateなどは陰性に終るのである。

畢竟ベンチジン呈色反応はベンチジンの酸化に因るものであり、血色素を初め Fe, Cu, Co, Mn, CNS, CN, I など塩類は酸化を容易ならしめる1種の触媒体と見做することができるのである。Randisch u j e f (1927)によると、 $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_2]\text{NH}_4$, $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{H}_2\text{O}]\text{Na}_3$ などの無機金属錯塩にはカタラーゼの作用のあることが述べられ、また両柴田教授(1936)も Co-, Ni-, Cr, Mn-などの諸種金属錯塩20数種について、それらにカタラーゼに類する触媒作用のあることを述べているし、更にまた Langenbeck, Hawitz らは Hemin の1種についてその触媒作用を述べ、この場合 Pyridin,

Nicotin及びImidazolなどの存在によつてその触媒作用が増強されるのみならず、更に活性の大なる Hemochromogen 様の色調を帯びて来るとさへ述べている。

d. ベンチジン複塩の呈色に関與する 至適水素イオン濃度について

Benzidine acetate、または Benzidine hydrochloride と NaBr とからつくつたベンチジン複塩、並びに Benzidine nitrate それ自体について発色に至適な水素イオン濃度を求め、また PH 値の推移に伴う色彩の変化を検査してみた。

ベンチジンの複塩並びに Benzidine nitrate は 0.1% 水溶液とし、酸化剤としては 30% 過酸化水素液、触媒体としては人血血色素、また酸としては $\text{N}/_{10} \sim \text{N}/_{20}$ HCl 液、鹼としては $\text{N}/_{10} \sim \text{N}/_{30}$ NaOH 液を使用した。なお PH 測定は東洋濾紙社の Toyo PH Test paper を使用した。

3度 Aqua dest で結晶を繰りかえした Benzidine-acetate の NaBr 複塩の 0.1% 水溶液の PH は 4.4 であり、Benzidine hydrochloride のそれは、3.6. Benzidine nitrate のそれは 4.0 であり、そして Benzidine nitrate そのものの 0.1% 液の PH は 3.6 であつた。

各溶液を HCl または NaOH で PH を変えて見た色彩の変化は第 2 表に示すとおりである。すなわちこれら 4 通り行つた実験成績について判定されることは、

(1) 発色は何れの場合も酸性側にあり、典型的な色彩は青藍色である。Benzidine hydrochloride からの複塩は多少ずれているが、他の 3 者は申し合わせたように PH 4.4 から 5.6 の間に特異な青藍の発色帯が存在することである。

(2) 4 者とも酸に傾き、PH 値の減少するに従つて青藍から青、青から緑、緑から黄緑、黄緑から黄に至るまで色彩の移行があること。更に PH

値が減じて1.6以下では黄色も淡くなつて行く傾向がある。

(3) 4者とも滴に傾きPH値の増すに従つて急激に青藍色が退き、淡青または淡黄となり、時に発色のない場合もある。

なおこの実験では初めに断わつてあるように触媒体として血色素を使用したのであるが、この血色素またはヘミンは、これに還元剤と O_2 、或いは H_2O_2 とを同時に作用せしめると、試験管内で胆汁色素に変化して緑色を呈するが、この変化の第一段階はメチン基の酸化と、ヒドロオキシポルフィリンの生成で、ヒドロオキシメチン基は更に酸化を受けて開裂し、Verdohemineが生成されるというのである。また一方補欠分子団からはCholeglobinが生成されて緑色を呈することがあるのでこれらのことを考慮して私はHbの換りに0.02% KI液を触媒体として実験を重ねたが、青色を呈する位置はPH4.0から5.6の間であつてHbの場合と一致した成績が得られたのである。すなわち呈する青色は結局Hbに由来するものではなく、Benzidine blueそのものであると思われる。

なおBenzidine acetateそれ自身とBenzidine acetateの複塩とは本質上異なる化学物質であるが故に、細部に亘つて比較検討することは当を得たものではないが、Benzidine acetateがエタノールを溶媒とする場合でも、水素イオン濃度を考慮しながら検査を行わないと思わぬ過誤を来す恐れのあることを私はこゝに強調したいのである。

第 2 表

各種酸 (CH_3COOH, HCl, HNO_3) による Benzidine 複塩及び Benzidine nitrate の発色と水素イオン濃度との関係

P H	色 彩			
	Benzidine-Acetate-NaBr	Benzidine-hydrochloride NaBr	Benzidine-nitrate NaBr	Benzidine-nitrate
1.2	黄 淡			
1.4	黄 淡			
1.6	黄			
1.8	黄 濃	黄		
2.0	黄 緑	淡 黄	黄 淡	黄
2.2		黄 緑	黄 緑	黄 淡
2.4	黄 緑	黄 緑	黄 緑	
2.8		黄 緑	黄 緑	黄 緑
3.0	黄 緑			
3.2	緑	緑	黄 緑	緑 黄
3.6		緑 青		緑
3.8	緑	青	緑	
4.0	青 緑	青 藍	緑 青	
4.2	青		緑 青	青
4.4	青	青 藍	青	青 藍
4.6	青	青 藍	青 藍	青 藍
4.8		青 藍	青 藍	青 藍
5.0	青 藍	青		青 藍
5.2	青 藍	青	青 藍	青 藍
5.4		青	青 藍	青 藍
5.6	青 藍		青 藍	青 藍
5.8		緑 淡	黄 青	青
6.0	緑 淡	黄 淡	黄 青	青 淡
6.2	黄 淡	黄 淡		青 淡
6.4		黄 淡	黄 淡	
6.6	黄 淡			

Ⅲ. 結 論

1. Benzidine acetate (エタノール溶液でも水溶液でも略同じ)にNa, K, NH_4 , Al, Ba, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Co, Ag, Cd, Sn, などの塩類を加えると白色結晶性の沈澱が得られる。但しFe, Cr, 塩は例外であり、またBa, Fe, Agなどアニオンの種類によつて異なる結果を来す。

そしてこれらの結晶性沈澱物はエタノールに不溶水に難溶であるが、NaBr, NaClなどから得られた複塩は酸化剤(H_2O_2)の存在で色彩鮮かなBenzidine blueの色彩反応を呈し、Benzidine acetateに見るが如き不愉快な「褐色」を混じない。

2. 上記複塩をつくるためにはベンチジンと結合する酸が必要であり、また酸としてはHCl, HNO_3 , 蔞酸などをもつて CH_3COOH に代用し得る。

3. Benzidine acetate と鉄塩との複塩は多く2価の場合であり、3価の場合は多くベンチジンの酸化を伴う。

4. ベンチジンの複塩は水に溶けて酸性を呈す。例せばBenzidine acetateとNaBrとの複塩の0.1%水溶液はPH 4.4, Benzidine hydrochlorideのそれはPH 3.6, Benzidine nitrateのそれはPH 4.0である。

5. 上記の複塩をもつて呈色反応を試みるとき、Benzidine-acetate-NaBrの複塩では典型的な紫紺色はPHの4.2~5.6, HClからの複塩ではPH 3.8~5.0, HNO_3 からの複塩では、PH 4.4~5.6の間にある。

そしていずれの場合においても酸度が増すにつれて紫紺色から青色、青色から緑色、緑から黄緑色、黄緑色から黄色となり、この黄色もPH 1.8以下になると淡くなる傾向が見られる。しかし反対にPH値が大となり、中性に近づくに従つて、

ある酸度を限界として急に特異な色彩を失い、淡黄、淡青、または無色となる。

6. 上記複塩水溶液について各種塩類の示す呈色態度はBenzidine acetateのエタノール溶液の場合と略同一であるが、異なる態度を示したものうち鉄塩について言えば、Ferri-Phosphateは勿論、Fe-sulfate, Ferro-chloride, Ferri-Chlorideなど陰性で、陽性を示すものは2価、3価の鉄の錯塩であつた。

Ⅳ. 主 要 文 献

- (1) Berkman, Sophia, Marrell, Jacques C. and Fgloff, Gustav, "Catalysis Inorganic and Organic." 1940.
- (2) Cullinane, H. M. et Chard, S. J., Analyst. 73:863, 1948.
- (3) Deniges, G. Precis de Chimie Analytique. 4th Ed 1913.
- (4) Feigl, F., Oesterr. Chem. Ztg., 22:124, 1919.
- (5) Feigl, F. et Stern, R., Z. and. Chem., 60:24, 1921
- (6) Feigl, F., Z. anal. Chem., 61:474, 1922. 74:386, 1928. 77:299, 1929
- (7) Feigl, F., et Neuber., Z. anal. Chem., 62:375, 1923.
- (8) Feigl, F. et Krumholz, P., Mikrochemie, Pregl Festschrift 1929.
- (9) Feigl, F. et Singer, A., Pharm. Praxis. 6:37, 1938
- (10) Feigl, F., "Chemistry of Specific, Selective and Sensitive Reactions" 1949.
- (11) Haase, L. W., Z. angew. Chem., 40:

- 595, 1927
- (12) Hawk, P. B. and Bergeim, O., "Practical Physiol. Chem." X Ed, 1931
- (13) Komarowsky, A. S. et Poluektoff, N. S., Mikrochemie, 18:66, 1935
- (14) Kulberg, L., Mikrochemie, 20:153, 1936.
- (15) Lynn, E. V., "Organic Chemistry" 3rd. Ed. 1948.
- (16) Müller, W. J., Ber. 35:1587, 1902.
- (17) Moir, J., Chem. News., 102:17, 1910.
- (18) Malasesta, G. et Nola, E. D., Chem. Abstr., 8:1397, 1914.
- (19) Mounier, A., Chem. Abstr., 11:426, 1917.
- (20) Rashig, F., Z. angew. Chem., 16:617, 1903
- (21) Schlenk, W., Ann. 363:313, 1908
- (22) Sieverts et Hermsdorf, A., Z. angew. Chem., 34:3, 1921
- (23) Schmidt, J. et Hinderer, W., Ber. 65:87, 1932
- (24) Tonanaeff, N. A., Z. anorg. allg. Chem., 140:327, 1924.
- (25) Tonanaeff, N. A. et Dolgow, K. A., Chem. Abstr., 24:1313, 1930
- (26) Vaubel, W., Z. anal. Chem., 35:163, 1896
- (27) Zinin, N., J. pract. Chem., 36:95, 1845.
- (28) 石館守三, 「微量定量分析」昭和24年
- (29) 小竹無二雄, 「有機化学」(改訂) 下巻 昭和24年
- (30) 小竹無二雄, 赤堀四郎, 「有機化学の進歩」第3輯, 昭和21年
- (31) 高木誠司, 「定性分析化学」上巻, 昭和9年
- (32) 槌田竜太郎, 細胞化学シンポジウム 1:1, 1953.
- (33) 有機合成化学協会, 「有機化学ハンドブック」昭和29年

結核菌染色法としてのハルベルグ法につて

佐々木千代治

I. 緒 言

結核菌の染色に関して従来幾多の方法が考案または改良せられ、最近に於ても Ziehl-Neelsen 法の改良変法である戸田、三友法があり、黒田法があり、或いは松岡法などがあり、更に auramin を染色剤とした螢光顕微鏡法があつて、何れも菌検出率が高く優秀な方法であることは疑いない。然るに最近結核に対する化学療法の普及に伴い菌検出率が低下し、培養法が唯一の頼りとなつた一方、培養陰性であつて然かも塗抹陽性である場合も現われるに及んで、塗抹染色法についても培養法についても今一度見直さなければならぬ機運に立ち到つた。尚また松岡法実施の際しばしば現われる桑実型に関する意義という問題もある一方、Ziehl-Neelsen 法、Ziehl-Gabbet 法に対する信頼度がいよいよ低下して来た今日手技簡単であつて検出率高く、そして鏡検に当つて周囲の細胞その他との区別明瞭であつて、且つ低廉で、標本の褪色速かならずして保存性の長いことなどを理想とする方法の発見を期待すること切なるものがあつた。

恰も昭和29年8月、Hallberg が1939年スエーデンの病理学会で発表され、その後ドイツ及び北歐で追試を受けた優秀なる方法を国立予研の室橋吉田が紹介と同時に追試業績を発表されたが、著者は取り敢えず更に追試して優秀なる方法たることを確認したのでここに発表する次第である。

II. 実験方法

(1) Hallberg 染色法の室橋、吉田変法

1939年発表当時 Hallberg は結核菌染色剤として Nachthlau なる色素を使用したものの如く、ドイ

ツでは Carbol-Nachthleu 法と呼んでいるという。Hallberg と別個にわが国に於て占部は昭和16年(1941) Nachthlau を用いて所謂3色法を発表したが3色染色法自身が組織切片の染色方法として発表されたがために、且つまた手技がやや複雑であつた理由も手伝い、その以後殆ど発展を見るに到らなかつたという。昭和30年2月室橋、吉田は一般に Nachthlau の入手困難なところから Nachtblau ($C_{33}H_{42}N_3Cl$, Tetraethyl-p-tolyl, pp'-diaminodiphenonaphthofuchson-immonium-chloride) に代るに Victoria blue ($C_{33}H_{32}N_3Cl$, Tetramethyl-Phenyl-p-p'-diaminodiphenonaphthofuchson-immonium-chloride) を以て行つた成績を発表した。この両者の相違の主要点は p-p' の ethyl 基が methyl と代つた以外大差がなく、然かも Victoria blue は国産品で安価に入手し得、「Nachtblau に替えて抗性菌の染色に充分用い得ると思う」という成績であつたので、著者も本実験で Victoria blue を使用した。

Hallberg の原法には連続染色法と同時染色法の2方法があつて、連続染色法では Nachtblau 染色次いで脱色、複染 (pyronin, Bismarckbraun, Suvin, Carbofuchsin, Neuralrot) という順序であるが、同時染色法では Nachtblau と Bismarckbraun とを同一液に溶解して染色し、複染を省略した方法で、著者は専ら後者の同時染色法を採用した。

(2) 試験材料

試験材料は専ら依頼検体並びに2,3病院入院中の結核患者の喀痰である。

且つ同一喀痰について攪拌混和、可及的均一にして、然る後次の4染色方法を同時に行い、且つ培養法を附加してこれらを比較した。

- (i) Ziehl-Neelsen 法
- (ii) 螢 光 法
- (iii) 松 岡 法
- (iv) Hallberg法
- (V) 培養法 (岡、片倉培地使用)

なお培養法は5週間後の成績である。

Ⅲ. 實 験 成 績

実施件数は約 150 件であつたが、何れの方法に於ても陰性なものを除外した 106 件についての成績である。すなわち第 1 表の成績は現在の肺結核

第 1 表 各種染色法と陽性率

(検体106件について)

区 分 検査法	陽 性		Ziehl-Neelsen 法を 100 とした 場合の各法の比 率
	件 数	率(%)	
Ziehl- Neelsen法	53	50	100.0
螢 光 法	60	57	113.2
松 岡 法	74	70	139.6
Hallberg 法	81	76	152.8
培 養 法 (岡、片倉培地)	69	65	130.0

患者の排菌率ではないが、何等かの方法によつて結核菌を証明し得た場合の各種染色法の比較である。

Ziehl-Neelsen法の陽性率は50%で、螢光法の57%に及ばないが、その差大ならず、且つ何れも培養法に劣る。しかし松岡法とHallberg法はそれぞれ70%、76%の陽性率を示して培養法(65%)に勝っている。

なおいうならば、培養法は螢光法よりは検出率が高いが、松岡法に劣るということとなり、また培養法によつて陰性に終つた65%との差、すなわち35%は實際上大いなる意義を有つものと思われる。検出せられた結核菌のうち生長繁殖の活力を有しないか、または死菌であるかの何れかであると想われるのである。なお著者の場合は、検体の選択が何れかの方法によつて結核菌が検出可能のもののみであつたのであるが、臨床上かかる選択を行わずして培養する場合には更に低率を示すものと思われる。

次に1つの方法が優秀ならば検出される菌数(この場合はGaffky数)も従つて多いことが当然である。第2表はこの間の消息を示していると思う。すなわちGaffky号数が何れの区分に於ても松岡法、Hallberg法が螢光法、Ziehl-Neelsen法より多く、また106件中の検出率から観ても松岡法、Hallberg法が他よりも優れていることが明瞭であ

第 2 表 結核菌の検出法と菌数(ガフキー号数)並びに培養成績

検 出 法 Gaffky号数	Ziehl Neels- en法	螢 光 法 (オーラミン 染色)	松 岡 法	Hallberg法 (Victori blue)	培 養 法 (岡・片倉培地) 集 落 数
1 ~ 3 号	33 (31%)	33 (31%)	43 (41%)	41 (39%)	100 個 以 内 21
4 ~ 6 号	17 (16%)	21 (20%)	19 (18%)	28 (26%)	多 数 7
7 ~ 10 号	3 (3%)	6 (6%)	12 (11%)	12 (11%)	無 数 41

る。

次に著者が検査材料（検体）の取捨について最初に予め断つたように、培養法をはじめ各種染色法で何れも陰性に終つたものを除外した、即ち何れかの方法で陽性に出たものを採り上げたのであるが、かかる場合、もし優秀な方法であれば、その方法のみに陽性であるという場合が出て来る訳である。著者の実臨成績から拾ひ集めたものを示すと次のとおりであつた。

Ziehl-Neelsen法のみ陽性な場合……なし
 螢光法のみ陽性な場合……なし
 松岡法のみ陽性な場合……なし
 Hallberg法のみ陽性な場合……4件
 培養法のみ陽性な場合……23件

この成績から考えると、培養法は他の染色法が陰性なる場合にも実施して結核菌の検出に努力すべきであると確信する一面、培養法が陰性に終る場合に於てすらHallberg法によれば菌検出が可能である場合のあることを知り得るのである。

なお参考までに如何なる方法の組合せが實際上役立つか否かについて求めて見ると、

Ziehl-Neelsen法と螢光法のみ陽性な場合
 ……なし
 Ziehl-Neelsen法と松岡法のみ陽性な場合
 ……なし
 Ziehl-Neelsen法とHallberg法のみ陽性な場合
 ……2件
 Ziehl-Neelsen法と培養法のみ陽性な場合
 ……なし

螢光法と松岡法とのみ陽性な場合……なし
 螢光法と培養とのみ陽性な場合……なし
 松岡法とHallberg法とのみ陽性な場合…4件
 松岡法と培養法とのみ陽性な場合……なし
 Hallberg法と培養法とのみ陽性な場合…なし
 塗抹各法と培養法とともに陽性な場合…32件

以上のことからHallbergの優れた方法であることを再び認めると同時に松岡法にも利点のあること、また培養も実施すべきであることを知り得る

と思う。

なお松岡法に於てしばしば観察して来た菌の群落と思われる所謂「桑実型」の所見はこのHallberg法に於ては絶無であつた。

IV. 結 論

結核患者の喀痰106件についてZiehl-Neelsen法、螢光顕微鏡法、松岡法、Hallberg法による染色法を比較し、これに培養法（岡、片倉法）を合せ行つて次の成績を得た。

(1) 結核菌の検出率はZiehl-Neelsen法50%、螢光法57%、松岡法70%、Hallberg法76%で、Hallberg法が塗抹染色法として最も勝れている。松岡法はこれに次ぐ。

(2) 塗抹標本において結核菌の少ない場合も多い場合も松岡法、Hallberg法は他のZiehl-Neelsen法や螢光法に勝り、松岡法よりもHallberg法は更に優秀な成績を示した。

(3) 松岡法とHallberg法との併用はZiehl-Neelsen法とHallberg法との併用よりも優るが、この際培養法は更に特別の意義を有つ。

(4) Hallberg法では松岡法の所謂「桑実型」を観ない。

(5) Hallberg法では手技の点からも、費用や時間の面から見て臨床検査上推奨の価値がある。

（終りに苴み検体を心よく提供され、試験に協力された秋田聖園サナトリウム園長丁野佳子先生に満腔の謝意を表す）

文 献

- (1) 室橋豊「ホールベルグ法による結核菌の染色（Carbol-fuchsin法との比較）」日本医事新報、1582号、昭和29年8月21日
- (2) 室橋豊穂、吉田幸之助「Hallberg法による結核菌の染色（松岡法との比較）」日本医事新報、1608号、昭和30年2月19日
- (3) 室橋豊穂、吉田幸之助「Hallberg結核菌染色法の一変法（Victoriablueによる染色）」日本医事新報、1609号、昭和30年2月26日

昭和30年春季流行のインフルエンザ血清反応検査成績

茂 木 武 雄

(公衆衛生課) 渡 辺 富 雄

I. 結 言

インフルエンザは今年早々から東京都、千葉県山梨県(厚生省インフルエンザ情報1)を始めとして各地方に発生流行したが、秋田県に於ても3月頃より雄勝郡小野小学校を始めとして北秋田郡河辺郡、南秋田郡、山本郡、由利郡、平鹿郡、仙北郡、本荘市、湯沢市、大館市等各小、中学校に発生し、全県を席卷するかの観があつた。

学童の罹患率は第1表に示す如く21.5%~98.6%で学校により多様であるが多くの学校は40%~50%~60%の罹患率を示している。

インフルエンザ罹患者の主なる症状は第2表に示す如く、咳嗽、発熱、咽頭炎、頭痛、食慾、倦怠感を有する事で肺炎等合併症の者もあつた。

尚インフルエンザは5月末日をもつて一応終熄した。

II. 検 査 方 法

試験方法及び判定は厚生省編纂「衛生検査指針Ⅱ」によつた。

III. 検 査 成 績

インフルエンザに罹患した学童を、厚生省編纂衛生検査指針Ⅱに従つて急性期、回復期と二回採血し、赤血球凝集抑制試験を行つた結果は第2表第3表のとおりである。

検査人員は56人という非常に少いものであつたが、急性期血清と回復期血清の抗体差が8のものはインフルエンザA'4例のみで、抗体差が8よりも大きな価を有するものは(インフルエンザの各型

(A、A'、B、))全然認めなかつた。

抗体差が4のものはインフルエンザA及Bに於て各1例あり、インフルエンザA'に於ては10例を認めた。他のものは全部抗体差が2以下であつた。

結 語

インフルエンザ患者学童の血清をもつて赤血球凝集抑制試験を行い、急性期と回復期の抗体差を調べた処、次のことがわかつた。

- (1) 抗体差8のものは、インフルエンザA'の4例のみで、インフルエンザA及Bには認めなかつた。
- (2) 抗体差4のものはインフルエンザA'に於て10例、インフルエンザA及Bに於て各1例あつた。
- (3) 抗体差が8以上のものは全然認めなかつた。

第 1 表

昭和 30 年集団感冒学校別一覽表

所 轄 保健所名	市 郡 町 村 別	学 校 名	発 生 時 期	生 徒 人 員	罹 患 者 数	罹 患 率
鷹 巢	北秋田郡七日市村	龍 森 小学校	昭30. 4.10	195	152	77.9
秋 田	河 辺 郡 河 辺 町	岩見三内中学校	" 4.22	468	209	44.7
五 城 目	南秋田郡五城目町	大 川 小学校	" 4.22	359	209	58.2
能 代	山 本 郡 大 龍 川 村	港 北 小学校	" 4.23	750	188	25.1
矢 島	由 利 郡 西 瀧 沢 村	西瀧沢 小学校	" 4.25	430	228	53.1
"	"	" 中学校	" 4.25	224	142	63.4
男 鹿	男 鹿 市 船 川	市立船川保育所	" 4.25	160	80	50.0
五 城 目	南秋田郡馬場町	馬場目 小学校	" 4.25	333	214	64.3
鷹 巢	北秋田郡早口町	早 口 小学校	" 4.26	652	343	52.6
"	" 栄 町	栄 小 小学校	" 4.26	414	121	29.2
"	" 七日市村	葛 黒 小学校	" 4.26	131	63	48.1
角 館	仙 北 郡 田 沢 村	田 沢 小学校	" 4.27	283	279	98.6
湯 沢	雄 勝 郡 羽 後 町	西馬音内小学校	" 4.28	764	298	39.0
本 荘	本 荘 市	本 荘西小学校	" 4.28	1,357	293	21.5
鷹 巢	北秋田郡鷹巢町	鷹 巢 小学校	" 4.12	1,400	315	22.5
能 代	山 本 郡 山 本 村	金 岡 小学校	" 5.11	673	365	54.2
大 館	北秋田郡比内町	大 葛 小学校	" 5.12	323	245	75.8
"	"	" 中学校	" 5.12	163	106	65.0
矢 島	由 利 郡 鳥 海 村	笹 子 小学校	" 5.18	625	214	34.2
"	"	" 中学校	" 5.18	296	154	52.0
湯 沢	湯 沢 市	弁 天 小学校	" 5.18	541	251	46.3
"	"	" 中学校	" 5.18	252	111	44.0
大 館	大 館 市	真 中 小学校	" 5.16	375	279	74.4
横 手	平 鹿 郡 醍 醐 村	醍 醐 中学校	" 5.28	498	270	54.2
"	"	" 小学校	" 5.27	788	296	37.6
大 館	大 館 市	川 口 小学校	" 5.30	394	186	47.2
鷹 巢	北秋田郡上阿仁村	小沢田 小学校	"			
湯 沢	雄 勝 郡 小 野 村	小 野 小学校	" 3.18	469	149	31.8
本 荘	本 荘 市 石 沢	石 沢 小学校	" 5. 1	576	233	40.5
"	"	" 中学校	" 5. 1	334	95	28.7
湯 沢	湯 沢 市 三 関	三 関 小学校	" 5.31	523	248	47.4
"	"	" 中学校	" 5.31	252	133	52.8
"	雄 勝 郡 皆 瀬 村	立 岩 小学校	" 5.16	148	93	62.8

第 2 表 昭和30年春季流行のインフルエンザ血清反応検査（赤血球凝集抑制試験）成績表

所轄保健所名	学 校 名	検査人員 (検査月日)	成 績	主 要 症 状
角 館	角 館 保 健 所	6 (3.10)		咳嗽、熱感、咽頭炎、気管枝炎等の上気道炎の症状が著明関節の違和感
湯 沢	小 野 小 学 校	6 (3.31)	A'—1 A' ? —3	悪寒、発熱、頭痛、咽頭痛、鼻水、腹痛、関節痛、咳嗽
矢 島	西 滝 沢 小 学 校	2 (5.12)	A'—1 A' ? —1	咳嗽、発熱、頭痛、咽頭軽度発赤、扁桃腺軽度腫張、舌の乾燥
五 城 目	大 川 小 学 校	2 (5.12)	A' ? —1	咳嗽、発熱、頭痛、めまい、悪寒、食欲不振
〃	馬 場 目 小 学 校	2 (5.12)		咳嗽、発熱、頭痛、咽頭痛、鼻汁、扁桃腺腫張、倦怠感
鷹 巣	鷹 巣 小 学 校	3 (5. 2)		咳嗽、発熱、頭痛、嘔吐
〃	龍 森 小 学 校	6 (5. 2)	A' ? —1 A ? A' ? —1	
能 代	湖 北 小 学 校	5 (5.25)	A'—1 A' ? —1	咳嗽、発熱、頭痛、食欲なし
本 荘	石 沢 小 学 校	7 (2.25~26)	B ? —1	頭痛、咽頭痛
〃	〃 中 学 校	4 (5.26)		頭痛、胸部圧迫感
角 館	田 沢 小 学 校	6 (5.27)	A'—1 A' ? —1	咳嗽、発熱、咽頭痛、腰痛、関節痛、鼻咽頭粘膜に軽い炎症、扁桃腺の炎症、鼻血、食欲減退
湯 沢	西馬音内 小 学 校	4 (5.12)	A' ? —1	咳嗽、発熱、咽頭痛、頭痛、腰痛、関節痛、扁桃腺腫張、鼻汁、鼻血、食欲不振、倦怠感、嘔吐、悪感
横 手	醍 醐 中 学 校	3 (6.15)		咳嗽、発熱、頭痛、食欲不振、倦怠感

第 3 表 昭和30年インフルエンザ血清反応検査（赤血球凝集抑制試験）成績表

区 分 検査人員	抗 元	急回復期血清の抗体価比率	
		1 : 4	1 : 8
56	A	1 (1.8)	0.
56	A'	10 (17.9)	4.(7.1)
56	B	1 (1.8)	0

註 1. () 内は陽性率
2. 判定は厚生省編纂衛生検査指針（インフルエンザ赤血球凝集抑制試験診断の基準）による。

雨水および空中塵埃の放射能測定成績

(秋田測候所提供)

秋田県放射能調査研究協議会

幹 事 児 玉 栄 一 郎
斎 藤 ミ キ

昭和29年12月31日、魚類の放射能検査が打ちりとなつて以来、私共の日常生活と不離の関係にある雨水、霞、雪、河川水、井水、水道水など、また植物、動物、殊に魚類などの汚染源となる放射物質についての検査は、保健上どうしても必要なことと思つていても多忙に紛れて怠りがちとなつたことは慚愧に堪えない。言うまでもなく放射能の問題は決して私共から遠ざかつた訳ではなく、更に新しい意義をもつて身近かに押し迫つて来ていると思われる。J. R. Arnold, H. A. Alsali (1955年4月)は宇宙線による Be^7 の生成を報告しているが、宇宙線の如き放射線は地球上の生物に不要なものか、それとも必要なものであるか解らないが、人工放射能に関する限り、今日以後原子力時代の人類は不必要なまでの放射線に曝露される機会がますます多くなつて行くことと思う。ある場合にはかかる過剰の放射線に曝され、健康を損ずることは、人類永久の福祉の道程にある偶然の事故であると思えば慰められもするが、交戦殺戮の目的を有つ場合は極力これを阻止し、且つ回避すべく努力しなければならぬことは当然である。

世はすでに原子力時代である。Tracerを使用すれば生物学上、医学上の不明であつた問題が簡単に鮮明される場合が多々ある。また捨てても構わぬ放射性物質に γ 線が遺残しているならばこの廃残物質を利用してエチレン、アセチレンにPolymerizationを起し、蠟様の粉末化が出来る世の中で

ある。わが国では遅れ走せながらシンクロサイクロトンが造られ、また原子爐も建造中である。しかし私共の立場からいえば平和作業必ずしも無害のみと限らないのである。そのため予防ということ、治療ということが当然調査や研究の対象となつて来るのである。

しかしここにいう予防も治療も原子力とか放射線の性状とか、または生物その他に及ぼす影響などを知ることなしに良策は生じて来ないのである従つて私共は努力を惜しむことなく、原子力や放射線について少しでも多く知り、また調査や研究を積まなければならないと思う。

今回秋田測候所から昭和30年4月以降の雨水と塵埃の放射能測定成績を示された。放射能調査研究の皆様に代つてここに満腔の謝意を捧げる次第である。

第 1 表 秋 田 測 候 所
雨水放射能観測表 (定時)

1955 年 4 月

採取時刻 日 時 分	降水量 耗	蒸乾量 cc.	試 料 番 号	測定値 cpm/ℓ
2 01 55	5.4	100	12	132
2 14 15	2.5	100	16	137
4 09 00	1.8	82	17	306
4 22 10	1.8	52	20	169
7 01 10	0.4	22	22	408
11 08 40	9.5	100	23	940
13 19 35	0.7	40	29	1660
16 09 00	6.1	100	30	167
17 09 00	85.9	100	34	(94)
18 08 40	29.3	100	35	(58)
25 09 00	35.0	100	37	(74)
26 12 50	1.9	87	41	(58)

第 2 表 雨水放射能観測表 (定時)

1955 年 5 月

採取時刻 日 時 分	降水量 耗	蒸乾量 cc.	試 料 番 号	測定値 cpm/ℓ	標準係 数 cpm
4 09 00	6.0	100	43	15※	1232
5 03 31	19.7	100	47	17※	1262
6 08 48	9.6	100	48	60※	1197
7 04 27	15.8	100	49	242※	1208
12 09 00	11.0	100	51	70※	1197
13 09 00	21.2	100	55	73※	1207
14 08 35	0.5	21	56	261	1205
15 01 25	3.5	100	60	160	1201
18 04 37	1.0	45	61	782	1230
19 09 00	51.5	100	62	248	1235
20 04 30	2.3	100	66	196	1228
20 22 20	1.3	65	67	252	1218
23 07 30	0.5	35	71	695	1256
25 05 28	41.4	100	73	56※	
26 09 00	16.1	100	77	63※	

26 23 40	16.8	100	78	10※	1258
29 09 00	0.7	33	79	282※	1230
30 06 50	34.9	100	80	66※	
31 06 45	4.7	100	84	9※	1192

第 3 表 雨水放射能観測表 (定時)

1955 年 6 月

採取時刻 日 時 分	降水量 耗	蒸乾量 cc.	試 料 番 号	測定値 cpm/ℓ
10 09 00	4.3	100	87	842
10 16 58	11.6	100	91	127
16 07 40	22.2	100	93	5※
16 16 20	7.0	100	97	0
18 09 00	0.9	43	98	208
19 09 00	35.7	100	102	16※
20 03 35	2.0	100	103	2※
22 09 00	19.6	100	105	58※
23 04 10	8.3	100	109	0※
25 09 00	55.3	100	113	40※
26 06 27	78.3	100	114	13※
27 09 00	0.2	13	115	515
28 08 25	10.9	100	116	41※
29 08 20	9.7	100	120	15※
30 05 45	3.1	100	121	46※

(註) 1.

採取場所 秋田測候所構内 (秋田市八橋)

採取時刻 採取の終つた時分 (前日09h~当日09h
の雨水について)

降 水 量 前日09h~当日09hの降水量 (耗)

蒸 乾 量 前24時間採取量のうち100cc. 蒸乾

測 定 値 採取が終つてから6時間を経過した値
に更正したものの毎分1ℓ当りのカウ
ント数 (自然係数を差引いた値)
自然係数……試料測定の前各10分間
の平均値

※ 1回の測定値が100カウント以下で、
以後の測定を打切つたため更正值の算
出が出来なかつたもの（更正值推定し
たものを含む）

（註） 2.

測定器 科研製32型GM計数器

マイカ窓の厚さ 2.2mg/cm²

試料皿 科研製ステンレス試料皿、直径25mm

測定距離 1 cm

第4表 雨水放射能観測表（定量）

1955年4月

降水期間 日 時 分				第 1 瓶				第 2 瓶				第 3 瓶			
				採取 時刻 時分	試料 番号	蒸乾 量 cc.	測定値 cpm/ℓ	採取 時刻 時分	試料 番号	蒸乾 量 cc.	測定値 cpm/ℓ	採取 時刻 時分	試料 番号	蒸乾 量 cc.	測定値 cpm/ℓ
自 1 12 50	至 2 01 55			16.30	9	100	401	17.43	10	100	(71)	20.00	11	100	(83)
自 2 12 50	至 2 14 15			13.34	13	100	325	13.37	14	100	118	14.15	15	30	(73)
自 3 20 15	至 5 05 22	4		02.10	18	100	199	12.00	19	62	147				
自 6 19 45	至 7 01 10	7		01.10	21	41	892								
自 10 18 35	至 11 08 40	10		19.40	24	100	1900	20.50	25	100	1280	21.35	26	100	1480
自 13 10 20	至 13 19 35			19.35	28	78	2540								
自 15 22 55	至 18 16 53	16		04.50	31	100	559	07.32	32	100	133	08.06	33	100	149
自 24 07 40	至 25 12 50	24		10.08	38	100	238	10.40	39	100	157	11.20	40	100	203

第5表 雨水放射能観測表（定量）

1955年5月

降水期間 日 時 分				第 1 瓶				第 2 瓶				第 3 瓶			
				採取 時刻 時分	試料 番号	蒸乾 量 cc.	測定値 cpm/ℓ	採取 時刻 時分	試料 番号	蒸乾 量 cc.	測定値 cpm/ℓ	採取 時刻 時分	試料 番号	蒸乾 量 cc.	測定値 cpm/ℓ
自 3 23 35	至 7 04 27	4		06.40	44	100	※4 63	07.13	45	100	※4 71	08.05	46	100	0
自 11 14 30	至 13 10 40	12		07.24	52	100	200	07.36	53	100	123	07.40	54	100	120
自 14 03 15	至 15 01 25	14		23.18	57	100	172	00.00	58	100	241	00.15	59	100	181
自 17 21 35	至 20 04 30	18		15.30	63	100	2950	17.05	64	100	3700	18.30	65	100	1380
自 20 15 45	至 20 22 20	20		21.30	68	100	545	22.20	69	23	481				
自 23 05 55	至 23 10 30	24		17.47	74	100	274	17.58	75	100	249	18.42	76	100	147
自 29 03 40	至 31 19 15	29		17.02	81	100	321	17.25	82	100	74	18.01	83	100	※ 96

第 6 表 雨 水 放 射 能 観 測 表 (定 量)

1955 年 6 月

降 水 期 間 日 時 分	第 1 瓶				第 2 瓶				第 3 瓶			
	採 取 時 刻 日 時 分	試 料 番 号	蒸 乾 量 cc.	測 定 値 cpm/ℓ	採 取 時 刻 日 時 分	試 料 番 号	蒸 乾 量 cc.	測 定 値 cpm/ℓ	採 取 時 刻 日 時 分	試 料 番 号	蒸 乾 量 cc.	測 定 値 cpm/ℓ
自 9 16 48	9 20.00	88	100	722	9 23.27	89	100	935	9 23.50	90	100	478
至 10 16 58				※16				※16				※27
自 15 22 52	16 01.56	94	100	35	16 02.09	95	100	6	16 02.23	96	100	27
至 16 16 20				※18				※18				※33
自 18 06 25	18 09.15	99	100	133	18 22.13	100	100	84	18 22.17	101	100	33
至 20 03 35				※22				※22				※48
自 22 00 39	22 00.40	106	100	46	22 00.40	107	100	62	22 00.40	108	100	48
至 23 04 10				※24				※24				※59
自 24 09 02	24 11.48	110	100	98	24 11.54	111	100	91	24 11.55	112	100	59
至 26 17 20				※27				※27				※12
自 27 05 45	27 10.54	117	100	18	27 15.57	118	100	18	27 16.42	119	100	12
至 29 08 20				※30				※30				
自 29 20 20	30 00.12	122	100	56	30 03.40	123	100	27				
至 30 05 45												

(註)

- 第 1 瓶 一降水期間の降り始めから 100cc. 採取
- 第 2 瓶 第 1 瓶採取後 100cc. 採取
- 第 3 瓶 第 2 瓶採取後 100cc. 採取
- 降 水 期 間 一降水の降り初め及び降り終り時分
- 測 定 値 各瓶満水後 6 時間経過した値に更正したものの毎分 1 ℓ 当りのカウント数
(自然計数を差引いた値)
- そ の 他 定時観測に準ずる

第 7 表 塵 埃 測 定 表 (水 盤 法)

1955 年 4 月

	上	中	下
曝 露 期 間	自 1日 09時 至 11日 09時	自 11日 09時 至 21日 11時	自 21日 11時 至 5月 1日 10時
有 効 曝 露 時 間	151.5時間	127.4時間	183.2時間
曝 露 水 量	2000cc	2000cc	2000cc
採 水 量	950 "	1670 "	2100 "
蒸 乾 量	100 "	100 "	100 "
試 料 番 号	27	36	42
測 定 日 時	11日 13時 25分	21日 13時 22分	5月 1日 11時 15分
自 然 係 数	23. 1	27. 3	23. 3
試 料 係 数	32	11.	7
雨 水 の 混 入 量	極 僅 少	ナ シ	5.0mm

(註) 試料係数…… 1 m³に落下した塵埃の 1 時間当りの値

第 8 表 塵 埃 測 定 表 (水 盤 法)

1955 年 5 月

	上 旬	中 旬	下 旬
採 取 時 刻	11日 09時	21日 09時	6月 1日 09時
曝 露 期 間	自 1日 09時 至 11日 09時	自 11日 09時 至 21日 09時	自 21日 09時 至 6月 1日 09時
遮 弊 時 間	84.4時間	168.0時間	174.8時間
有 効 曝 露 期 間	154.6 "	72.0 "	99.2 "
曝 露 水 量	2000cc	2000cc	2000cc
採 取 水 量	2000 "	1480 "	2330 "
蒸 乾 量	100 "	100 "	100 "
試 料 番 号	50	70	86
測 定 日 時	11日 10時 02分	21日 12時 17分	6月 1日 12時 12分
自 然 係 数	27.0	26.3	27.3
試 料 係 数	10.	48.	20.
雨 水 混 入 量	10.0 ?	0.0	15.0

(備考) 覆を伝つて雨水が混入した。

第 9 表 塵 埃 測 定 表 (水 盤 法)

1995 年 6 月

	上 旬	中 旬	下 旬
採 取 時 刻	11日 09時	21日 09時	7月 1日 09時
曝 露 期 間	自 1日 09時 至 11日 09時	自 11日 09時 至 21日 09時	自 21日 09時 至 7月 1日 09時
遮 弊 時 間	47.2時間	72.7時間	181.7時間
有 効 曝 露 時 間	192.8 "	167.3 "	58.3 "
曝 露 水 量	3000cc	3000cc	2000cc
採 取 水 量	530 "	140 "	1100 "
蒸 乾 量	100 "	100 "	100 "
試 料 番 号	92	104	124
測 定 日 時	11日 10時 08分	21日 10時 40分	7月 1日 57分
自 然 係 数	26.5	27.6	27.8
試 料 係 数	11.	1.	2.
雨 水 混 入 量	0.0	0.3	2.1