

## 殺卵剤としての亜硝酸曹達の再評価

### (2) 過磷酸石灰-亜硝酸曹達混合系による尿尿中蛔虫卵殺滅実験

小 財 勳

国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和35年4月9日受領)

亜硝酸曹達、その他のいわゆる殺卵剤の蛔虫卵殺滅効果は、尿尿とりわけアルカリ性尿尿メヂウム中においては、いずれも水中直接接触時のそれに比して著しく減損する。そこで当然かような尿尿メヂウム中において殺卵力を発揮させるためには、殺卵剤を投入するまえに、該メヂウム pH を酸性化する薬剤を投入することによつてある程度の酸性 pH を確保しておくことが必要であるが、そのための pH 低下薬剤としては、過磷酸石灰がきわめて有望であることを見出し、本剤を用いた場合における pH 低下の状況と、他の二・三強酸使用時のそれと比較試験を行い、その結果については先報に記した(小財, 1960 a)。そこで、今回は貯溜による最高アルカリ性尿尿メヂウムを用いた場合における、混入各種過磷酸石灰量と、同メヂウム pH 酸性低下との関係、および同メヂウムにおける各種量過磷酸石灰投入時における亜硝酸曹達蛔虫卵殺滅有効濃度をもとめるため以下の実験をおこなつた。

#### アルカリ性尿尿メヂウム中過磷酸石灰の各種混入量と、同混入後における放置時間によるメヂウム pH の変動

亜硝酸曹達の殺卵力を発揮させるために、あらかじめアルカリ性尿尿に過磷酸石灰を投入して pH を酸性側に低下させておく必要があるが、この場合に同上尿尿メヂウム中に過磷酸石灰を投入してからの経過時間による尿尿 pH の酸性移行の状況を、あらかじめ検討しておく必要がある。ただし、過磷酸石灰投入後 pH 値が最も低下したときに亜硝酸曹達を混入すれば、同薬剤の殺卵効果が最大に発揮されることが予想されるからである。そうした意味から、予備試験として、同一のアルカリ性尿尿を用いた場合において、各種量の過磷酸石灰投入後における時間的経過にともなう同メヂウム pH 値の変動をしらべてみた。

材料および方法

1. 供試尿尿：尿尿混合比、1 : 5 とした新鮮尿尿を、夏期室温(約26~31°C)下、3日間2l入りシリンダー(有蓋)中に保存したもの(pH 8.5)を被検尿尿材料とし、試験には各事例とも、その50ml づつを用い、容器としては100ml 入り三角コルベンを用いた。

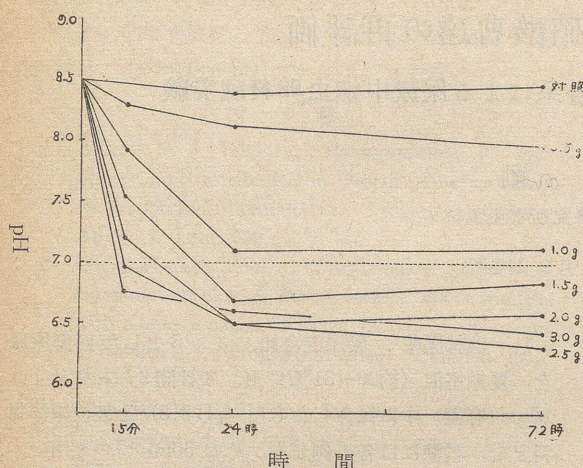
2. pH 酸性低下剤：肥料過磷酸石灰(神島化学製)を使用した。

3. 実験方法：上記 pH 8.5 のアルカリ性貯溜尿尿50 ml に対して、過磷酸石灰原末のそれぞれ 0.5g, 1.0g, 1.5g, 2.0g, 2.5g, 3.0g を混入した。混入後、約30分間そのまま放置して、混入直後におけるガス発生による発泡が消褪するをまつて、容器にゴム栓を施し、かつ充分にしんとうしてから、これを28°C 孵卵器内に収めた。過磷酸石灰作用中のメヂウム pH 値の測定は、尿尿中混入直後(15分後)、2時間後、24時間後、72時間後に各事例ごとに Beckman pH meter によりおこなつた。なお、過磷酸石灰は、かようなアルカリ性尿尿に混入した場合には、混入直後に、メヂウム中のアンモニアと該薬剤との中和反応によるガスの発生のため著しい発泡をみるので、混入直後には栓をすることなく、そのまま少なくとも15分くらい静置することが肝要である。そのような事情のために、上記混入直後の pH 測定の時間を15分とし、かつ同メヂウムの均等化のためのしんとうを30分後におこなつた。

4. 対照：過磷酸石灰を混入しない尿尿とした。  
実験成績

薬剤混入直前の尿尿メヂウム pH はすべて、8.5 であつた。この尿尿に各種過磷酸石灰量を混入した直後(15分後)においては、第1図に示すごとく、メヂウム pH は該薬剤の混入量に比例して pH 低下が認められた。すなわち、尿尿50ml に対して、過磷酸石灰0.5g 混入時のメヂウム pH は8.30 で若干の pH 低下をしか示さなかつたが、同薬剤量を3.0g とすると、6.80 と弱酸性に





第1図 アルカリ性尿尿中過磷酸石灰の各種混入量と同混入後における放置時間によるpHの変動  
尿尿, 尿尿混合比を1:5とし, 28.0°C, 3日間貯溜のものを使用

移行をみている。したがって、かようなかなり高いアルカリ性尿尿にあつては、過磷酸石灰混入直後のpHを、中性または弱酸性側に低下させるためには、おおむね同薬剤の2~3gの混入が必要と思われる。一方、同図により、過磷酸石灰混入後における放置時間の経過に伴うメヂウムpH値の変動を各事例ごとにとみると、いずれの事例とも混入直後のpHよりも放置後のその方がより酸性側への移行を認めた。とりわけこのpH下降の傾向は、概して過磷酸石灰混入後より24時間までの間に著しく、その後は72時間までの間ほぼ同一のpH値を維持した。いま、24時間後におけるpH値を各事例についてみるに、過磷酸石灰1.0g以上を使用したものでは大略中性、または酸性側pHを示した。なお、対照尿尿は、28°C, 72時間保存後においても、当初のpHとほぼ同等のpH約8.45を示した。

#### アルカリ性尿尿メヂウム中、各種過磷酸石灰投入時における亜硝酸曹達の殺卵効果

上記実験の結果より、殺卵剤使用の前処置としてメヂウムpH酸性低下の目的のため過磷酸石灰を使用した場合、当初のアルカリ性尿尿pHは時間の経過とともに確実に低下を示す。その低下は混入直後より1昼夜後までの間に著しく、1昼夜以後にはほぼ一定化することが判明した。そこで、殺卵剤亜硝酸曹達混入のための前処置としての過磷酸石灰の投入を殺卵剤混入の前1昼夜とし、1昼夜経過後における亜硝酸曹達混入による同剤の

殺卵効果について、過磷酸石灰と亜硝酸曹達の各種量組み合わせの条件下において検討した。

#### 実験材料および方法

1. 虫卵材料：前記同様豚蛔虫新鮮卵を用いた。
2. 使用薬剤：肥料過磷酸石灰および亜硝酸曹達は前記と同一のものを使用した。

#### 3. 薬剤作用方法

a) 尿尿メヂウム：尿尿混合比, 1:5として3日間, 27~28°C, 孵卵器内に保存したものを用いた。試験には各条件のものとも50mlずつを用い、容器は100ml入り三角コルベン(ゴム栓つき)とした。

b) 薬剤の濃度：メヂウムpH低下剤としての過磷酸石灰は、尿尿50mlに対して、1, 2, 3, 4各gの4種とし、殺卵薬剤としての亜硝酸曹達は、1,000, 2,000, 4,000, 8,000の各稀釈濃度とした。

c) 薬剤の作用条件：浸漬温度を高温(26~29°C)および低温(5~6°C)の2種とし、亜硝酸曹達の作用期間は、上記各温度下で、過磷酸石灰混入1昼夜後から、それぞれ、3日および8日とした。薬剤の作用期間中はゴム栓にて使用三角コルベンに密栓した。

d) 実験の手続き：まず、尿尿50mlを100ml入り三角コルベンにとり、これに過磷酸石灰の上記各量を混入、同時に、これに虫卵の濃厚懸濁液4滴ずつを滴下し、それぞれ所定の温度条件下に1昼夜放置した。しかるのち、亜硝酸曹達の間中稀釈濃度液(100, 200, 400, 800倍稀釈)の各6ml宛を混じ、蒸留水を加え全量60mlとし亜硝酸曹達の各所定濃度となるごとくした。

4. 対照：薬剤作用に対する対照試験としては、肥料過磷酸石灰、亜硝酸曹達の各実験群最高濃度の各単独使用、および尿尿のみとし、いずれも高温、低温の別をおいた。

5. 薬剤作用期間中のメヂウムpHの測定：亜硝酸曹達混入直前、直後および作用3, 8日後におけるメヂウムpHをBeckman pH meterにより測定した。

6. 薬剤の効果判定：薬剤の効果は、各所定日数、薬液浸漬直後各尿尿メヂウム約10mlを25ml遠心管にとり、これを三回遠心水洗し、沈渣を素焼瓦培養法(28°C)により培養し、培養直後および4週末における虫卵を鏡検し、4週末における観察虫卵の発育像によつて、生死を判定し、これにより薬剤の効果を判定した。

#### 実験成績

##### A. 殺卵効果

1. 高温作用時の効果



第1表 各種過磷酸石灰量混入時における亜硝酸曹達の殺卵効果—分離混入方式 (培養4週末)

## A: 高温 (26~29°C) 作用時

pH 調整手段	混入亜硝酸曹達量 (稀釈倍)	3 日 間 作 用				8 日 間 作 用			
		単細胞期	発育期	仔虫期	変性	単細胞期	発育期	仔虫期	変性
過磷酸石灰 1g 使用群	1,000	8	0	44	48	0	0	3	97
	2,000	0	0	85	15	0	1	96	3
	4,000	0	0	96	4	0	0	96	4
	8,000	0	0	91	9	0	0	97	3
過磷酸石灰 2g 使用群	1,000	0	0	0	100	0	0	0	100
	2,000	4	0	5	91	0	0	0	100
	4,000	0	0	97	3	0	0	88	12
	8,000	0	0	99	1	0	0	87	13
過磷酸石灰 3g 使用群	1,000	0	0	0	100	0	0	0	100
	2,000	0	0	0	100	0	0	0	100
	4,000	0	0	0	100	0	0	0	100
	8,000	0	0	96	4	0	0	98	2
過磷酸石灰 4g 使用群	1,000	0	0	0	100	0	0	0	100
	2,000	0	0	0	100	0	0	0	100
	4,000	0	0	0	100	0	0	0	100
	8,000	0	0	0	100	0	0	4	96
対 照 群	1,000	0	0	97	3	0	0	95	5
	(過石 4g) (尿尿のみ)	0	0	100	0	0	0	98	2
		0	0	96	4	0	1	95	4

尿尿: 尿: 尿混合比を 1:5 とし, 28.0°C, 3日間貯溜のもの (pH 8.35) を使用,  
薬剤混入前の尿尿量はすべて 50ml.

## B: 低温 (5~6°C) 作用時

pH 調整手段	混入亜硝酸曹達量 (稀釈倍)	3 日 間 作 用				8 日 間 作 用			
		単細胞期	発育期	仔虫期	変性	単細胞期	発育期	仔虫期	変性
過磷酸石灰 1g 使用群	1,000	0	0	97	3	0	0	96	4
	2,000	0	0	97	3	0	0	94	6
	4,000	0	0	100	0	0	0	97	3
	8,000	0	0	95	5	0	0	94	6
過磷酸石灰 2g 使用群	1,000	0	0	94	6	0	0	84	16
	2,000	0	0	98	2	0	0	96	4
	4,000	0	0	95	5	0	0	93	7
	8,000	0	0	94	6	0	0	96	4
過磷酸石灰 3g 使用群	1,000	34	12	16	38	14	1	33	52
	2,000	33	1	35	31	10	2	35	53
	4,000	1	0	96	3	0	0	89	11
	8,000	0	1	95	4	0	0	97	3
過磷酸石灰 4g 使用群	1,000	28	0	0	72	4	2	1	93
	2,000	32	2	4	62	6	2	10	82
	4,000	33	1	12	54	15	3	25	57
	8,000	4	0	84	12	0	0	91	9
対 照 群	1,000	0	0	98	2	0	0	98	2
	(過石 4g) (尿尿のみ)	0	0	98	2	0	0	97	3
		0	0	98	2	0	0	100	0

薬剤混入前の尿尿量はすべて 50ml とし, 28°C, 3日間貯溜のもの (pH 8.35) を使用



対照群においては、3日および8日間浸漬時ともに、亜硝酸曹達、過磷酸石灰の各単独使用（実験使用の最高濃度）は、尿尿のみの対照とほぼ同一の95%以上の仔虫期卵のおおむね完全に近い発育を認めた。

a) 3日間浸漬時：第1表Aに示すように、培養第4週末の成績をもつて薬剤の効果を判断すれば、過磷酸石灰1g 使用群では亜硝酸曹達1,000倍稀釈作用で、44%の仔虫期卵を認め全く無効、2g 使用群においては1,000倍液作用では完全有効であつたが同2,000倍作用では5%の仔虫期卵を認めた。また過磷酸石灰3g 使用群では、亜硝酸曹達の4,000倍稀釈まで完全であり、同4g 使用群においては、本試験における最大稀釈倍である亜硝酸曹達の8,000倍稀釈においても完全な殺滅効果が認められた。

b) 8日間浸漬時：8日間浸漬時の殺卵効果は、概括的にみると、大体において薬剤の有効濃度は、3日間浸漬時のそれとほぼ同等であつた。ただ、過磷酸石灰2g 使用時における亜硝酸曹達の効果とその2,000倍稀釈で完全であつたことと、過磷酸石灰4g 使用群において亜硝酸曹達8,000倍作用で、4%の仔虫期卵の出現を認めたことが主な差違であるが、この程度の差違はほとんど誤差範囲に包含されるものであろうと考えられる（第1表A）。

## 2. 低温作用時の効果

対照群においては、3日および8日間浸漬時ともに、亜硝酸曹達、過磷酸石灰の各単独使用（実験使用の最高濃度）は、尿尿のみの対照とほぼ同一の97%以上の仔虫期卵のおおむね完全に近い発育を認めた。

a) 3日間浸漬時：培養第4週末の成績は、第1表Bに示すごとく、過磷酸石灰3g 以下の使用群では、作用亜硝酸曹達の最高濃度である1,000倍液作用でも全く無効であつた（仔虫形成率、16~97%）。しかし、過磷酸石灰の4g 使用群においては、亜硝酸曹達の1,000倍稀釈で完全、同2,000倍ではわずか4%の仔虫期卵の出現をみた。

b) 8日間浸漬時：8日間浸漬時の殺卵効果は、大体において前項3日間浸漬時のそれと等しかつた。

過磷酸石灰3g 使用において各亜硝酸曹達稀釈液作用時とも、仔虫期卵の出現率が、3日浸漬時のそれよりもかえつて若干高率に示されているが、この程度の差違は誤差範囲に属するものと考えられる。

B. 薬剤作用直前および作用期間中のメヂウム pH 値  
薬剤作用直前の尿尿 pH 値は、8.35であつた。

1. 高温（26~29°C）作用時：上記アルカリ性尿尿に対して過磷酸石灰投入1昼夜後、亜硝酸曹達混入前における各尿尿メヂウム pH については第2表にみるように、投入過磷酸石灰量とほぼ平行的に pH の低下が示されている。すなわち、同剤1g 投入時の pH 約6.3、4g 投入時では約 pH 5.7であつた。

以上の各酸性調整尿尿メヂウムに対して、それぞれ各種量の亜硝酸曹達を混入した後における pH 値についてみると、作用8日までの範囲では、亜硝酸曹達を混入したことによる pH の変化はほとんど認められなかつた。ただし、過磷酸石灰4g 投入事例においてのみ、浸漬時間にしたがつて若干の pH 低下傾向が認められるようであつた。以上により亜硝酸曹達使用期間中におけるメヂウム pH は、おおむね過磷酸石灰を投入し1昼夜放置（亜硝酸曹達混入直前）時のそれとほぼ同等の pH を保持したと認めてよいことがわかつた。

2. 低温（5~6°C）作用時：低温時においては、pH 8.35の尿尿に対して過磷酸石灰投入1昼夜後、亜硝酸曹達混入直前における尿尿メヂウムについては、概括的には、高温時のそれとほぼ同等であつたが、過磷酸石灰4g 使用事例のみは、かえつて低温時のそれの方が若干高目（pH にして約0.1~0.2）のようにも思われるが、4g 投入事例のみに限り、亜硝酸曹達混入後の浸漬時間の経過にともなう pH 低下傾向が認められたことは、高温時におけるそれと規を一にしている。

## 過磷酸石灰投入1日後亜硝酸曹達混入時における殺卵効果と、過磷酸石灰と亜硝酸曹達の同時混入時におけるそれとの比較実験

アルカリ性尿尿メヂウムに過磷酸石灰を投入した場合、メヂウム pH の低下は、該薬剤投入1日後においておおむね最大に達し、以後少なくとも3日間は一定化する。そこで、前項では、まず亜硝酸曹達の殺卵効果を、過磷酸石灰投入24時間後に混入した場合について試験した（以下分離混入方式と略称する）。しかし、両薬剤をそれぞれ1日の間隔をおいて別々に混入することは、実際に使用の場合を考えると、その操作の上で若干繁雑であることも考えられる。もし、かりに両薬剤を同時に尿尿中に混入した場合（以下同時混入方式と略称）にあつても、なお相当に有効であるならばこのような方式の方がむしろ好ましいと考えられるので、ここでは両薬剤の投入方法を、同時とした場合と、これを分けた場合とについてそれぞれの殺卵比較試験を行つてみた。

材料および方法



第2表 薬剤作用中の尿尿メヂウム pH

pH 調整手段	混入亜硝酸曹達量 (稀釈倍)	薬剤混入直前の尿尿メヂウム pH	尿 尿				メヂウム pH			
			高温 (26~29°C) 作用時				低温 (5~6°C) 作用時			
			過石混入1昼夜末	左に亜硝酸曹達混入時	左を3日間放置後	同8日間放置後	過石混入1昼夜末	左に亜硝酸曹達混入後	左を3日間放置後	同8日間放置後
過磷酸石灰 1g 使用群	1,000	8.35	7.21	7.18	7.05	7.03	7.00	7.26	7.38	7.62
	2,000	8.35	7.21	7.18	7.00	6.97	6.80	7.20	7.30	7.52
	4,000	8.35	7.10	7.20	6.98	7.03	6.80	7.20	7.30	7.55
	8,000	8.35	7.21	7.22	7.10	7.02	6.80	7.20	7.30	7.52
過磷酸石灰 2g 使用群	1,000	8.35	6.80	6.90	7.00	7.20	6.55	6.78	6.84	7.15
	2,000	8.35	6.75	6.82	6.91	7.26	6.40	6.70	6.80	7.08
	4,000	8.35	6.80	6.82	6.98	6.78	6.32	6.70	6.75	7.08
	8,000	8.35	6.80	6.75	6.90	6.68	9.42	6.71	6.82	7.12
過磷酸石灰 3g 使用群	1,000	8.35	6.38	6.50	6.36	6.30	6.12	6.30	6.25	6.42
	2,000	8.35	6.25	6.32	6.20	6.15	6.10	6.30	6.24	6.37
	4,000	8.35	6.25	6.32	6.13	6.40	6.10	6.30	6.23	6.31
	8,000	8.35	6.25	6.30	6.15	6.43	6.10	6.30	6.20	6.30
過磷酸石灰 4g 使用群	1,000	8.35	5.66	5.76	5.50	5.40	5.80	5.80	5.62	5.52
	2,000	8.35	5.74	5.84	5.53	5.42	5.80	5.80	5.60	5.52
	4,000	8.35	5.70	5.80	5.44	5.30	5.80	5.80	5.62	5.48
	8,000	8.35	5.70	5.80	5.40	5.30	5.80	5.85	5.68	5.50
対 照 群	1,000	8.35	8.25	8.11	8.11	8.00	8.14	8.16	8.20	8.20
	(過石 4g) (尿尿のみ)	8.35	5.70	—	5.44	5.29	5.80	—	5.67	5.03
		8.35	8.25	—	8.00	7.79	8.14	—	8.15	8.12

薬剤混入前の尿尿は、すべて 50ml とし、28°C、3 日間貯溜のものを使用。

1. 虫卵材料：前記実験に使用と同条件の新鮮虫卵とし、これを過磷酸石灰混入直後に各尿尿メヂウム中に(虫卵濃厚懸濁液、5滴)混入した。

2. 尿尿メヂウム：新鮮尿尿(混合比、1:5)を3日間、27~28°C 孵卵器内に保存したもの(pH: 8.8~9.0)を被検尿尿メヂウムとし、試験各事例ともこれの 50ml ずつを試験に供した。容器としては、100ml 入り三角コルベンを用いた。

3. 使用薬剤および作用薬剤濃度：過磷酸石灰、亜硝酸曹達とも前記実験時と全く同一のものを用いた。尿尿中への投入過磷酸石灰および亜硝酸曹達の濃度は、前項での試験結果を参酌し、そのほぼ有効と思われる量を中心として用いることにした。すなわち、過磷酸石灰量は、尿尿 50ml に対して高温作用時では 3g とし、低温作用時には 4g とした。また、亜硝酸曹達の作用終末濃度は、高温試験時のそれを 500, 1,000, 2,000, 4,000, 8,000 各稀釈倍とし、低温試験時には 500, 1,000, 2,000 各稀釈倍とした。

4. 作用条件：作用温度は高温 (27~28°C) および低温 (5~6°C) の 2 種とした。亜硝酸曹達の作用期間は、上記両温度作用につき、同時、分離両試験とも 3 日間と

し、過磷酸石灰の投入は、同時試験時には亜硝酸曹達と同時に混入、分離試験時には、亜硝酸曹達の混入 1 昼夜とし、亜硝酸曹達混入までの間各所定温度下に保存した。

5. 薬剤作用期間中のメヂウム pH 値の側定：同時混入実験においては、薬剤混入直前、直後および作用 3 日後におけるメヂウム pH を、また分離混入実験にあつては、過磷酸石灰投入直前、直後、亜硝酸曹達混入直前(過磷酸石灰投入 1 昼夜後)、直後および作用 3 日後におけるメヂウム pH 値をそれぞれ pH 濃度試験紙(東洋濾紙)により測定した。

6. 薬剤の効果判定：前記実験における効果判定と全く同じ方法により、培養 4 週末における虫卵の発育状況を観察し、これにより効果を判定した。

7. 対照：使用薬剤の対照としては、過磷酸石灰(4日浸漬)、亜硝酸曹達(3日浸漬)の各実験群最高濃度の各単独使用とし、高温、低温の別をおいた。また、尿尿のみ(4日、高温)の対照もおいた。

#### 実験成績

1. 対照：亜硝酸曹達、過磷酸石灰の各単独使用では高温、低温浸漬時とも、いずれも尿尿のみの場合とほぼ



第3表 同時混入方式と分離混入方式の殺卵効果比較成績

A: 殺卵効果 (培養4週末)

pH 調整手段	混入亜硝酸曹達量 (稀釈倍)	過磷酸石灰—亜硝酸曹達同時混入						過磷酸石灰投入1昼夜後亜硝酸曹達混入					
		単細胞期	分裂期	桑柎期	蝌蚪期	仔虫期	変性	単細胞期	分裂期	桑柎期	蝌蚪期	仔虫期	変性
過磷酸石灰 3g 使用群	500	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100
	1,000	19	0	0	0	0	81	9	0	0	0	0	91
	2,000	0	0	0	1	98	1	21	0	0	0	0	79
	4,000	2	0	1	0	97	0	2	0	0	0	98	0
	8,000	0	0	2	0	98	0	1	0	0	0	98	1
過磷酸石灰 4g 使用群	500	40	0	1	0	18	41	42	2	0	1	10	45
	1,000	45	0	1	1	17	36	37	1	1	0	23	38
	2,000	44	2	0	2	19	33	42	0	1	2	24	31
対照群	亜硝酸曹達500 (27~29°C)	0	0	1	1	98	0						
	亜硝酸曹達500 (5~6°C)	0	0	0	2	98	0						
	過磷酸石灰3g (27~28°C)							1	0	1	0	97	1
	過磷酸石灰4g (5~6°C)							1	0	0	0	98	1
	尿尿のみ (27~28°C)							0	0	2	1	97	0

薬剤混入直前の尿尿量はすべて50mlとし、28°C、3日間貯溜のもの (pH 8.8~9.0) を使用

B: 薬剤作用期間中におけるメデウム pH 値

pH 調整手段	混入亜硝酸曹達量 (稀釈倍)	薬剤混入直前の尿メデウム pH	過磷酸石灰—亜硝酸曹達同時混入		過磷酸石灰投入1昼夜後亜硝酸曹達混入				
			薬剤混入直後	同3日後	過磷酸石灰投入直後	右1昼夜後	同左に亜硝酸曹達投入直後	同3日後	右
過磷酸石灰 3g 使用群	500	8.8~9.0	6.6~6.8	6.8~7.0	6.6~6.8	6.4~6.6	6.4~6.6	6.6~6.8	
	1,000	8.8~9.0	6.6~6.8	6.8~7.0	6.6~6.8	6.4~6.6	6.4~6.6	6.6~6.8	
	2,000	8.8~9.0	6.6~6.8	6.8~7.0	6.6~6.8	6.4~6.6	6.4~6.6	6.6~6.8	
	4,000	8.8~9.0	6.6~6.8	6.8~7.0	6.6~6.8	6.4~6.6	6.4~6.6	6.6~6.8	
	8,000	8.8~9.0	6.6~6.8	6.8~7.0	6.6~6.8	6.4~6.6	6.4~6.6	6.6~6.8	
過磷酸石灰 4g 使用群	500	8.8~9.0	6.4~6.6	6.2~6.4	6.4~6.6	6.2~6.4	6.2~6.4	6.2~6.4	
	1,000	8.8~9.0	6.4~6.6	6.2~6.4	6.4~6.6	6.2~6.4	6.2~6.4	6.2~6.4	
	2,000	8.8~9.0	6.4~6.6	6.2~6.4	6.4~6.6	6.2~6.4	6.2~6.4	6.2~6.4	
対照群	亜硝酸曹達500 (27~28°C)	8.8~9.0	8.8~9.0	8.6~8.8					
	亜硝酸曹達500 (5~6°C)	8.8~9.0	8.8~9.0	8.6~8.8					
	過磷酸石灰3g (27~28°C)	8.8~9.0			6.6~6.8	6.4~6.6		6.6~6.8	
	過磷酸石灰4g (5~6°C)	8.8~9.0			6.4~6.6	6.2~6.4		6.2~6.4	
	尿尿のみ (27~28°C)	8.8~9.0				8.8~9.0		8.6~8.8	

薬剤混入直前の尿尿量は、すべて50mlとし、28°C、3日間貯溜のものを使用

同様に97%以上の仔虫期卵を認めた。

2. 分離混入方式および同時混入方式による効果: 両方式による殺卵比較成績は、第3表Aに示される。

a) 高温作用時: 両混入方式とも、亜硝酸曹達の1,000倍稀釈夜までの高濃度域では完全に有効であり、また

4,000倍以上の高稀釈では、ともに全く無効であった点は一貫していた。しかし、2,000倍作用時においては、両方式間に顕著な差が認められ、分離混入方式では、本稀釈倍で完全に有効(仔虫形成率、0%)であったのに対して同時混入方式では逆に完全に無効(仔虫形成率、98



%)であつた。

b) 低温作用時：両方式とも、ここで用いた過磷酸石灰と亜硝酸曹達の各濃度組み合わせ条件のもとでは、その濃度にほとんど関係なく約10~20%前後の仔虫期卵の出現を認め、両方式間による効果上の差は、この限りにおいては認められなかつた。

3. メヂウム pH：薬剤作用直前の尿尿メヂウム pH は、8.8~9.0であつた。これに対する薬剤混入後におけるメヂウム pH 値は、第3表Bにみるように、亜硝酸曹達混入直後、および同3日作用後における両方式による pH 値を比較してみると、概して分離方式の場合の方が若干 (pH 値にして約0.2) 酸性側に低下しているように思われる。しかし、一方低温作用時は、同時、分離両実験とも、いずれも全く同一の pH 6.2~6.4 を示した。

#### 総括および考察

先報において著者 (小財, 1960 a) は、アルカリ性尿尿の pH を酸性側に低下させ、かつその調整 pH を保持させるのに過磷酸石灰が、きわめて有効であることをのべ、本薬剤によりあらかじめアルカリ性尿尿 pH を低下させておいてから殺卵剤として亜硝酸曹達を投入したならば、同殺卵効果は著しく増大されるであろうことを記した。そこで、今回は、過磷酸石灰と亜硝酸曹達の各種濃度組み合わせ条件下における亜硝酸曹達の殺卵効果を、その作用温度を高、低2種とし、作用日数を3日および8日として試験してみた。しかし、この場合に、亜硝酸曹達の混入は、メヂウム pH 低下のための前処置薬剤である過磷酸石灰を投入してから最低の pH 値に達し、かつ安定したときに行われた場合に、同殺卵剤の効果は最大となるであろうことが考えられる。

かような観点により予備試験として、まずこの点についての検討を行った。その結果は、過磷酸石灰のアルカリ性尿尿 (pH 8.5) 中投入量の多寡によつて、pH の低下の程度は異なるが、これの投入後における pH の時間的低下状況については、投入量に関係なく、同一の傾向が認められ、薬剤混入直後より1昼夜での間にその低下は最も顕著で、以後はほぼ一定の pH をそのまま保持することが判明した。

そこで、はじめに亜硝酸曹達の尿尿中混入の時期を過磷酸石灰投入後1昼夜としてその効果を試験してみた。その結果は、本試験において用いたようなアルカリ性尿尿 (pH 8.35) に関する限りにおいて、高温 (28°C)、3日間作用時における亜硝酸曹達の完全殺卵効果をみると

めには、過磷酸石灰量を少なくとも尿尿 50ml に対して 2g 以上必要であることがわかつた。

なお、これの投入量が 2g から 4g までの間では、量が増すとともに亜硝酸曹達の殺卵力が増大され、たとえば、過磷酸石灰を 2g とした場合の完全有効亜硝酸曹達の稀釈倍が 1,000 倍であつたのに対して、同 3g では 4,000倍、同 4g では 8,000 倍までに増大している。この場合における各完全有効事例について、その薬剤作用中のメヂウム pH をみると、過磷酸石灰 2g 投入事例では pH 約 6.8~7.0、同 3g 投入事例では約 6.2~6.3、同 4g 投入事例では約 5.8 以下となつているので、メヂウム pH 値と亜硝酸曹達の完全殺卵濃度との関係をこれよりみると、亜硝酸曹達の有効稀釈倍を 4,000 倍以上として期待するためには、かかる条件下で、メヂウム pH がおおむね 6.0 附近、またはそれ以下に保持する必要があるように考えられ、pH 7.0 以上のメヂウムでは亜硝酸曹達の効果は激減するように考えられる。以上の結果は、高温、3日間作用時のそれであるが、同温度8日間作用時でも、これとほぼ同様の関係が認められる。しかし、低温作用時の場合には、同上尿尿メヂウムにおいて、両日数作用時とも、過磷酸石灰量を 4g とした場合にはじめて亜硝酸曹達の効果がみられ、高温作用時の約2倍量の過磷酸石灰を要した。

なお、低温作用時におけるメヂウム pH 値は、高温作用時のそれと大差がなかつたことを考察すると、亜硝酸曹達の殺卵効果は、メヂウム pH によつて著しく影響されるが、同時に、作用温度も重大な影響を、その効果の上におよぼすものであることが考えられる。これらの要因に比すれば、作用日数による影響は、少なくとも 3~8 日間の範囲では、きわめて小さいと言える。

さて、上記のような過磷酸石灰と亜硝酸曹達とを日をかえて投入するやり方は、とりわけ農繁期多忙時において、かなりの困難性を伴うことが考えられる。

そこで、もしも、過磷酸石灰と亜硝酸曹達系とを同時に混入するやり方によつても、なお亜硝酸曹達の殺卵力が、かなり有効であるならば、実際応用上では同時混入方式が簡便であり、したがつて、実用であると考えられる。そのような意味から、次の試験として、同一の薬剤と薬量を用いた場合における両混入方式の効果について比較検討した。この場合の試験は、さきにものべたように、使用過磷酸石灰量は、前項試験の結果を参酌して高温試験時 3g、低温試験時 4g としてこれを行ったが、両混入方式による効果の差は、高温時において明瞭



に認められ、明らかに分離混入方式の方が同時混入方式よりも有効であることが判明した。この両混入方式による殺卵効果の差異をみたことの主な原因としては、両方式において亜硝酸曹達作用中におけるメヂウム pH 値の差にこれを求めることができるように考えられる。この場合における両方式による pH 値の差は、たかだか 0.2 前後であつたが、分離混入方式の方が、常にそれだけ酸性側に移行しており、同時に、この両方式については、その他の条件を全く同一として行つたことをあわせ考えるならば、上記の推定は妥当であらうと思われる。一方低温時の試験では、この限りにおいて、両混入方式による殺卵効果には、両者間にほとんど差が認められなかつたが、それは思うに両方式施行時とも、そのメヂウム pH が全く同一であつたため、pH による殺卵効果上の差が現われなかつたためではないかと思ふ。以上のように pH 値の僅少な差が著しく亜硝酸曹達の効力を左右すると考えられる点は、本試験時と前項試験時における成績の差異にも現われているようである。すなわち、前項試験では、供試尿尿として pH 8.35 のものを、また、本試験では pH 8.8~9.0 のものを用いており、過磷酸石灰量を等しく 3g とした場合におけるメヂウム pH 値をみると、前試験時のそれは pH 6.2~6.3 であつたのに対して本試験時のそれでは pH 6.4~6.8 と約 0.2~0.5 だけアルカリ側に高くなつてゐる。この場合における亜硝酸曹達の完全殺卵濃度をみると、前者 4,000 倍であつたのに対して後者 2,000 倍となつており、これだけの pH のアルカリ化が亜硝酸曹達の効果をその稀釈倍にして約  $\frac{1}{2}$  に低下させていることからもうなずける。いずれにもせよ、以上の試験の結果より、ほぼ最高のアルカリ性尿尿メヂウムを用いた場合でも、高温時 (28°C) には、メヂウム pH 酸性低下剤として過磷酸石灰を尿尿 50ml に対して 3g (終末濃度 5% となる) 投入し、1 昼夜放置後に亜硝酸曹達を 2,000 倍になるごとく混入すれば、完全に殺卵が可能であり、両薬剤を同時に混入した場合には 1,000 倍稀釈で完全に有効であることが明らかになつた。また、同上アルカリ性尿尿について 5~6°C の低温下で殺卵を行う場合には、完全殺卵は困難と思われるが、かりに 20% 前後の生卵の出現を許容するという条件でならば、尿尿 50ml に対し過磷酸石灰を 4g (約 6~7%) 投入し、1 日後亜硝酸曹達 1,000~2,000 倍稀釈でおおむね完全であらうと考えられる。しかし、実際の農地区便池内尿尿のメヂウム pH 値は、先報にも触れたように、8.0 前後であることが多いから著者が試験に用いた高ア

ルカリ尿尿の場合よりも、より稀釈濃度で、薬剤効果が發揮されることが考えられ、上記の結論は実地応用上でも安全であると考え、以上の結果については、これを實際、フィールドに適用し、その場合における殺卵効果について詳細に検討することが必要となるが、これについては次報にゆづる。

## 要 約

アルカリ性尿尿メヂウム中蛔虫卵に対する、過磷酸石灰と亜硝酸曹達の各種濃度組み合わせ作用による殺滅効果を各種作用条件下で実施し下記の結果を得た。

1. アルカリ性尿尿メヂウム (pH 8.5) 中に過磷酸石灰の各種量 (約 1~5%) を投入した場合には、程度の差はあれ、その投入量に比例してメヂウム pH は、確実に酸性側に低下するが、その時間的低下の傾向は、共通しており、過磷酸石灰投入後 1 昼夜の間に下限値に達し、以後は、ほぼ同一の pH を保持するものであることを認めた。

2. そこで、別に作製した尿尿メヂウム (pH 8.35) を用い、これに過磷酸石灰の各種量を投入し、投入 1 日後に亜硝酸曹達の各種濃度を混入した場合 (分離混入方式) における殺卵効果を、作用温度、作用濃度をかえて、各種作用条件下において試験した。その結果判明したことは、上記のような高アルカリ性尿尿をメヂウムとして用いた場合における上記両薬剤併用による効果は、高温 (28°C) 作用時には、3、8 日間作用で、過磷酸石灰の混入量を尿尿 50ml に対し 2g (終末濃度、約 3.3%) とした場合の亜硝酸曹達の完全有効稀釈濃度は約 1,000~2,000 倍、同 3g (同上、5%) 投入時 4,000 倍、同 4g (同上、6.6%) 投入時 8,000 倍以上であつた。

しかし、低温 (5~6°C) で、同上メヂウム、同上薬剤作用時の効果は、高温時のそれに比して著しく低く、3、8 日間作用時とも、過磷酸石灰 4g (終末濃度 6.6%) 使用の場合にのみ亜硝酸曹達の効果がみられたが、その完全殺卵濃度は約 1,000 倍であつた。

3. 一方、この場合に亜硝酸曹達の殺卵効力を、メヂウム pH との関係において検討するに、高温作用時、亜硝酸曹達の高稀釈倍 (4,000 倍以上) で完全殺滅が認められたときのメヂウム pH をみると、おおむね pH 6.3 以下であり、それ以上アルカリ側に移行した pH の場合には、著しく殺卵効果が減弱する。ただし、低温作用時における亜硝酸曹達の効果は、以上よりもさらに酸性側 (pH 約 5.5 以下) において、はじめて認められた。

4. 以上は、過磷酸石灰と亜硝酸曹達とを中 1 日の間



隔において混入する分離混入方式による場合の効果試験であつたが、殺卵剤の実地応用の場合を考慮すれば、両薬剤を同時に混入するやり方のほうが操作の上からは、より簡易である点で有利である。そこで、次に、分離混入方式と同時混入方式の殺卵効果に対する比較試験を行った。本試験に用いた尿尿は pH 8.8~9.0 で、きわめて高いアルカリ性を有するものであつたが、分離方式の薬剤の高温時完全殺滅濃度は、尿尿 50ml に対して過磷酸石灰 3g (終末濃度、5%) 投入時、亜硝酸曹達 2,000 倍稀釈であつた。これに対して、同時混入の場合のそれは同 3g 投入時の亜硝酸曹達の完全有効濃度は 1,000 倍まで、あきらかに稀釈倍にして 1 段階だけ下廻る結果が得られた。この点からすれば、分離混入方式のほうがより有効であると言ひうる。しかし、過磷酸石灰を尿尿 50ml に対して 4g (終末濃度、6.6%) として行つた低温時の試験では、両方式間に認むべき効力差がなかつた。

5. 過磷酸石灰—亜硝酸曹達の殺卵効力は、高温、低温両作用時とも、作用日数 (3 日、8 日) による差は認められなかつた。

### 結 語

過磷酸石灰と亜硝酸曹達の併用による蛔虫卵殺滅効果は、殺滅の場が貯溜尿尿としてほぼ最高のアルカリ性尿

尿の場合にあつても、高温 (28°C 前後) 時では、あらかじめ過磷酸石灰を尿尿 50ml に対し 3g 割合で尿尿中に投入しおき 1 日おいて、亜硝酸曹達を 2,000~4,000 倍稀釈となるように混入すれば効果はほぼ完全である。また低温 (5~6°C) 時にあつては、過磷酸石灰量を尿尿 50ml に対し約 4g を投入し、1 日後に亜硝酸曹達を 1,000 倍稀釈となるごとく混入すれば、かなり有効であると言ひうる。ただし、上記両薬剤を同時に混入するというやり方の場合には、低温作用時には上記分離したやり方とほぼ同一の効果を示すが、高温作用時には亜硝酸曹達を分離混入時の倍量増加する必要がある。

稿を終るにあたり、終始御懇篤な御指導と御校閲をいただきました予研寄生虫部長小宮義孝博士に深甚なる謝意を表し、また種々御教示を賜つた同部小林昭夫博士、柳沢十四男博士および同部諸先生に対し感謝の意を表します。

### 文 献

- 1) 小財勳 (1960): 殺卵剤としての亜硝酸曹達の再評価 (1) 尿尿メザウム酸性化に用うる過磷酸石灰について、寄生虫誌, 9(2), 202~210.  
他の参考文献に関しては、著者の第 1 報 (小財, 1960) の文献を参照されたい。



## RE-EVALUATION OF SODIUM NITRITE AS THE OVICIDE USED IN NIGHTSOIL (2)

ISAO KOZAI

*(Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo, Japan)*

In the previous report present author had observed that calcium super phosphate was very promising agent to lower pH value of nightsoil, the high alkalinity of which seemed to cause the decrease in activity of the ovicides against the parasite eggs in feces. In the present paper a further effort was made to investigate the change in pH values of acidified nightsoil with calcium super phosphate and ovicidal effect of sodium nitrite against ascaris eggs in such a nightsoil under the varying conditions. The results obtained were as follows:

1) Change in pH value of nightsoil acidified with various amount of calcium super phosphate during the incubation at 28°C

Addition of calcium super phosphate to be the final concentration, 1~5% to artificial nightsoil could bring pH of nightsoil enough to lower than 7.0. The degree of lowering pH value by this phosphate was depending on the amount of it. pH of the acidified nightsoil with phosphate reaching to the lowest 24 hours after addition of calcium salt, was followed by the constant phase of pH value for 2 days.

2) Ovicidal activity of sodium nitrite in such a acidified nightsoil under various exposure conditions

In the case of addition of 2 grams of the calcium salt minimum dilution of sodium nitrite to kill ascaris eggs completely was 1:1,000-1:2,000 after 3- and 8-day exposure at 28°C. In the case of 3 and 4 grams it was 1:4,000 and higher than 1:8,000 respectively under the same conditions as that of 2 grams.

Another experiment was carried out under the same conditions except exposure temperature, 5°C and showed that minimum dilution rate to kill the eggs was as 1:1,000.

3) Relation between effective concentrations of sodium nitrite to kill the eggs and pH values of their media

The pH value, 6.3 was observed in acidified nightsoil with dilution of 1:4,000 at which all ascaris eggs were killed at exposure temperature, 28°C. In the case of lower exposure temperature, 5°C, the critical pH value was recognized on more acidic side (5.5) than that of 28°C.

4) Effect of mixing procedure of calcium super phosphate and sodium nitrite to nightsoil upon the ovicidal activity against ascaris eggs

Simultaneous addition of Ca-salt and Na-salt to nightsoil was likely to show slightly higher activity against the eggs when compared with that shown in the procedure by which sodium nitrite was added to nightsoil 24 hours after pre-addition of Ca-salt in the case of 3 grams of Ca-salt used. But in the case of 4 grams used, there was no significant difference in the activity between both mixing procedures.

5) No significant differences were seen in ovicidal activity between 3- and 8-day exposure.