

硫苦浮游法による土壤中蛔虫卵 検査の効率について

伊 藤 二 郎 夏 目 常 磐

静岡大学教育学部保健研究室

(昭和 39 年 5 月 22 日受領)

実験材料および方法

1. 虫卵材料

屠場から採取した新鮮な豚回虫雌虫の子宮末端部約 2 cm 内の虫卵を使用し、これを中山(1956)の方法によって処理して用いた。これらの虫卵を二分して一方は、予備実験の結果もつとも適当と認められた 30%アンチフォルミンに数分間浸漬して蛋白膜除去卵とし、他は何ら処置せずに蛋白膜附着卵とし、ただ検鏡に便のためにエオジン溶液でうすく着色した。以上の二群の虫卵をいずれも 1%フォルマリン水に混入し、その虫卵密度を混入液 0.1 cc につき虫卵数 110 コ(信頼限界 98~122 個)になるように注意深く調製し、標準虫卵混入液として共口瓶に密栓し冷蔵庫に保管した。実験の際には内容を十分均等に攪伴してすみやかにその 0.1 cc をメスピペットで取り、実験に供した。

2. 土壌

粘土質、殖土質、および砂質の畑土を乾燥細砕し、篩でこしたものを多量調製し、これを約半年も放置しておいたものである。その中には下肥撒布などによつた回虫卵の混入は殆んどないものと推定された土壌材料で、実験に際してはその各々を 0.5 g, 1 g, 2 g, 3.5 g および 5 g づつ秤量し、10×1 cm および 8×3 cm の管瓶に投入した。管瓶に投入された場合の各々の土壌の厚さは大約であるが、参考のために示すと表の如くであった。

3. 実験方法

回虫卵の検出率に影響をあたえると考えられる要因のうち、浮游液と浮游時間、および検鏡法は総べて杉山(1958)の報告に従つて一定にした。浮游液はすなわち $MgSO_4$ の水溶液を用いてその比重は 1.260 として用いた。浮游時間はいずれの実験例においても実験開始後、5 分、15 分、25 分、35 分および 45 分に検鏡した。検鏡

昭和 30 年、厚生省と農林省からの通達を契機として全国的に清浄蔬菜の生産が奨励されている。これは寄生虫、特に回虫の予防的見地から考えだされたことで、下肥を用いる我国独特の政策であり、若しこれが非常に効果的なものであるならば、同じような条件下の近隣諸国家にも推奨できるわけである。

清浄蔬菜取扱い要綱の中には、指定検査機関(主として保健所)による指定栽培地の土壌検査および生産物の生体検査に合格することが必要とされ、同時に市町村や農協によるそれらの予備検査もおこなわれている。静岡県の場合でも大体上述のような方法で栽培面積 1 アール毎に土壌検査を 3 カ所づつ、生体検査を 5 株づつ検査して適当と認めたときに合格として販売されている。

問題はそれらの検査法およびその効率(回虫卵の検出力)が学問的に十分検討されていない点にある。生体検査についてはしばらくおくとして、土壌検査に関しては現在のところ、アンチフォルミンで回虫卵の蛋白膜を除去し、飽和硫苦水で虫卵を浮游させる方法が最も簡便でしかも実用的であり、一般に用いられているが、少なくとも数グラムの被検土壌中に混在している回虫卵の何%がこの方法によつて検出できるかについては全く未検討であった。

筆者らはこの問題を解決しようと試みた。回虫卵の検出力に影響をもつ要因は多数あるのであるが、幸に杉山(1958)によつて各種比重液と回虫卵の浮上時間については詳細に検討されている。すなわち浮游液の比重は 1.250~1.270 が最もよく、その浮上時間は 40 分が妥当であるとの報告をもとにして、今回は 3 種の土壌中に既知数の回虫卵を混入し、硫苦浮游法によつてどれだけの回虫卵検出力が期待できるかを実験した。

方法も全く杉山(1958)の場合と同様にし、カバーガラスを用いず液面を直接検鏡した。すなわち集光器およびシボリを取りはづした顕微鏡に厚目のボール紙に試験管の入る穴をとりつけた支持板をとりつけ、これに試験管が垂直になるようにさしこんで、48倍の倍率をもって虫卵を観察算定した。

今回の実験で比較検討した点は、実験材料の項でものべた如く、第1に土壌の種類(粘土質、殖土質、砂質)、第2に管瓶の大きさ(8×3cm, 10×1cm)、第3に検査土壌の量(0.5, 1.0, 2.0, 3.5, 5.0g)、第4に回虫卵の処理(蛋白膜附着卵、蛋白膜除去卵)の4つの要因を検討したもので、すなわちそれらの組合せとして60種類

の実験を行なった。各々の実験はすべて3回以上反復してその平均値を求めた。

実験操作は、まづ最初に所定の管瓶に所定の土壌を入れ、管瓶の約半量のMgSO₄液を注加して軽く攪拌したのち、0.1ccの回虫卵懸濁液(この中に回虫卵は110±12個含まれている)を滴加して攪拌し、さらにMgSO₄液を追加して攪拌後、既述の顕微鏡支持板に挿入し、最後にピペットでMgSO₄液を追加して液面を盛りあげ、かくして観察に供した。

実験成績

最初に浮游実験開始後の経過時間と浮游率との関係を

第1表 8×3cmの管瓶を用いた場合の蛔虫卵の浮上率
(投入した推定虫卵数に対する浮上虫卵数の百分率を示す)

土壌の種類		粘 土 質					殖 土 質					砂 質					
土壌の重量 g		0.5	1.0	2.0	3.5	5.0	0.5	1.0	2.0	3.5	5.0	0.5	1.0	2.0	3.5	5.0	
土壌の深さcm		0.1	0.2	0.4	0.7	1.0	0.1	0.2	0.3	0.5	0.7	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	
経過時間	5分	2.7	0.9	0.7	0	0	9.3	7.3	1.1	1.1	1.1	21.2	20.0	11.2	9.7	8.2	
	蛋白膜附着	15	3.9	1.4	0.9	0	0	22.7	18.2	4.1	3.0	2.5	36.4	27.9	26.1	18.8	14.8
	蛋白膜除去	25	3.9	1.6	1.3	0	0	31.5	18.8	5.2	4.2	3.0	43.6	37.9	32.7	26.4	20.3
	膜卵	35	6.7	1.6	1.3	0.5	0	31.5	20.9	5.2	4.5	4.1	45.2	44.8	34.8	27.0	23.4
		45	6.7	1.6	1.3	0.5	0	31.5	21.8	5.9	4.5	4.5	50.3	45.2	35.5	27.0	24.5
	5分	2.7	0.9	0	0	0	11.5	6.4	6.6	3.9	1.8	11.8	10.3	8.9	7.9	5.2	
	蛋白膜除去	15	6.3	2.7	0	0	0	16.1	13.0	9.7	6.6	4.5	30.3	27.5	13.6	16.4	14.3
	蛋白膜除去	25	8.0	3.6	0	0	0	22.1	17.0	12.7	7.9	5.2	41.5	30.3	21.8	19.7	17.3
	膜卵	35	9.3	4.6	0	0	0	28.8	18.5	12.7	7.9	6.1	48.8	33.6	26.1	21.5	20.9
		45	10.7	5.7	0	0	0	35.5	19.8	12.7	7.9	6.6	50.0	35.7	27.9	23.6	21.5

各管瓶に投入した推定虫卵数は総べて110±12個

第2表 10×1cmの管瓶を用いた場合の蛔虫卵の浮上率
(投入した推定虫卵数に対する浮上虫卵数の百分率を示す)

土壌の種類		粘 土 質					殖 土 質					砂 質					
土壌の重量 g		0.5	1.0	2.0	3.5	5.0	0.5	1.0	2.0	3.5	5.0	0.5	1.0	2.0	3.5	5.0	
土壌の深さcm		1.0	1.7	3.5	5.0	8.0	1.0	1.5	3.0	4.0	5.0	0.5	1.0	1.8	3.0	4.0	
経過時間	5分	0.15	0	0	0	0	2.9	0	0	0	0	17.3	13.6	7.3	8.5	8.8	
	蛋白膜附着	15	0.8	0	0	0	0	3.5	0	0	0	0	39.1	25.3	18.9	14.9	11.3
	蛋白膜除去	25	0.8	0	0	0	0	3.8	0	0	0	0	49.6	31.8	22.8	17.6	12.5
	膜卵	35	0.8	0	0	0	0	3.8	0	0	0	0	53.6	37.5	26.3	17.6	12.5
		45	0.8	0	0	0	0	3.8	0	0	0	0	50.2	39.4	29.1	17.7	12.5
	5分	1.9	0.9	2.1	0	0	11.2	9.1	6.1	3.6	2.0	11.8	14.5	5.7	7.9	7.5	
	蛋白膜除去	15	4.3	3.9	3.0	0	0	20.6	16.4	10.9	6.1	3.7	20.6	25.5	17.9	12.5	15.2
	蛋白膜除去	25	7.9	5.2	3.0	0	0	28.5	17.3	12.1	7.5	5.5	37.3	32.5	23.0	20.0	19.7
	膜卵	35	8.8	5.2	3.4	0	0	34.6	21.2	13.6	9.7	5.8	41.5	40.3	28.8	23.9	23.4
		45	8.8	5.2	3.4	0	0	38.8	24.5	14.6	10.3	7.1	45.5	45.7	31.8	26.6	24.3

各管瓶に投入した推定虫卵数は総べて110±12個

みると、各実験例ともほぼ一致した結果をえた（第1、2表参照）。すなわち観察は55分まで10分間隔におこなったが、僅少例を除いては45分までの間に浮上すべき回虫卵の殆んど総べてが浮上したものと認められた。このことは $MgSO_4$ 液の1.250~1.270の比重の範囲内では浮上は40分で最高に達するとの杉山(1958)の結果と全く一致した。

今回の実験の範囲では、回虫卵の浮游率に最も大きな影響をあたえるものは土壌の性質であることが明かであった。すなわち砂質土壌の場合は45分後の浮上率をみると、0.5gの土量ではいずれも推定虫卵数の50%前後の浮上率を示して優秀であり、5.0gの土量例でも20%前後の浮上率を示した。これに対して粘土質土壌の場合は0.5g土量でも10%の浮上率に満たない場合が多く、5.0g土量では全実験例において浮上率は0%であった。殖土質の土壌では砂質と粘土質のほぼ中間の浮上率であった。

供試土壌の重量と浮上率の関係をみると、いずれの実験例でも0.5g土量の場合が浮上率が高く、1.0g、2.0g、3.5gと次第に土量が増加する程浮上率が低下し、5.0gの土量では浮上率が最低であった。この傾向は殊に粘土質土壌になるほど顕著で、得られた数値は粘土質の場合に5.0gの実験例では浮上虫卵が皆無、同じく3.5gの例でも殆んど皆無、同じく2.0gの例では4つの実験例のうち2つの例において皆無であった。すなわち粘土質の土壌においては供試材料はせいぜい1.0gを限度とする如き結果であった。砂質土壌の場合は0.5gの土量で約50%の浮上率であり、土量の増加するにしたがつて浮上率が低下し、5.0gでは約20%の浮上率であった。浮上虫卵が皆無という場合は全くなかった。実験問題としては、今回の実験では土量のいかにかわらず投入虫卵数は一定であったのであるが、野外からの検査土壌では5.0gの土量中の混入回虫卵数は0.5gの土量中の混入回虫卵数の10倍に相当するわけであるから、砂質土壌の被検体の場合は5.0gを使用した方が検出率が遙かに高いものと結論された。殖土質の土壌の場合は粘土質と砂質のほぼ中間の値であったが、実際の場合はやはり5.0gの供試量がやや検出率が高いようであった。

管瓶の大きさと回虫卵浮上率との関係をみると、土質によつてその影響が異なる傾向がみられた。粘土質土壌の場合は10×1cmの細長い管瓶では浮上率が明かに低く、8×3cmの広い管瓶を使用した場合が浮上率が高

い結果であつた。一方、砂質土壌では管瓶の大きさと関係がなく殆んど同じ浮上率を示した。殖土質の場合は大体それらの中間の値であつた。

最後に回虫卵の蛋白膜の有無と浮上率との関係をみると必ずしも両者に顕著な差異は認められなかつた。砂質土壌の場合は両者に全く有無の差はなく、殖土質の場合は蛋白膜除去卵がやや浮上率が高い程度であつた。ただ粘土質土壌においてのみ明かに蛋白膜除去卵の方が浮上率が高い結果が認められた。

考 察

土壌中の回虫卵を硫苦液の浮游法によつて検出する際に、その効果が土質によつて大きく影響されることは当然であろう。砂質土壌の場合はその粒子は大きくてしかも比重が高いから硫苦液中ではすみやかに沈澱し、回虫卵の浮上が極めて容易であるのに対し、粘土質土壌の場合はそれらの条件がすべて逆となり、粒子の微細なために硫苦液との間の界面張力も大きくなつて回虫卵までも吸着させたり、沈澱がおそいためにいつまでも局所的対流がおこつたりして虫卵の浮上率をさまたげるものと考えられる。この様な土壌の基本的性質が要因となつて、他のいろいろな条件に影響をもたらしている。たとえば粘土質土壌の場合は被検土壌の少ない程、容器底面積のひろい程、回虫卵の浮上率が高くなり、さらに蛋白膜除去の操作を加えることにより一層効果的に検出される。これに反して砂質土壌の場合はそれらの条件とは殆んど無関係に浮上してくる。ただ砂質土壌の場合でも被検土量との関係は明かに土量の少ないほど浮上率が高いがそれにしても土量の少ない場合はそれだけ含有虫卵量が少ないわけであるから、実際的には土量の多い程検出率の高くなるのは当然であろう。

以上の結果からみて実際の畑土の土壌検査に際してはその土質を十分検討してから用いるべき容器や土量を適正にすることが必要である。しかもなおいろいろな条件を吟味して土壌検査を行なつても実際の浮上率は想像以上に低率であるところに問題があらう。今回の実験の範囲で、最も好条件に設定して検査してもなお粘土質土壌で10%、殖土質土壌で30%、砂質土壌ですら50%前後の浮上率しか得られないとすれば、ルーチンの検査業務として行なつた場合は更にそれらの浮上率が低下するかもしれない。緒言でのべたように土壌中の回虫卵検査が学問的だけでなく政策的にも重要なことであり、その検出率をさらに向上するように工夫しなければならない

と考えられる。

要 約

畑土の土壤内回虫卵の検査は清浄野菜生産の政策上重要な問題であるが、その検査法はいまだ十分検討されていない。今回の実験では最も普通におこなわれている $MgSO_4$ 溶液の浮游法を用いて、回虫卵の浮上率との関係を検討して次の如き結論をえた。

1. 回虫卵の浮上率に最も大きな影響をもつのは土質であつて、砂質土壤の場合が最も浮上率が高く、粘土質土壤の場合が最も低かつた。

2. 被検土壤の量もまた浮上率に影響が大きく、実際の検査に際しては粘土質土壤ほど土量を少なくする必要がある。

3. 容器の大きさや、回虫卵蛋白膜の除去処理なども粘土質土壤において特に吟味される必要がある。

4. 実験の範囲内では最適の条件で検査しても、粘土質で 10%、殖土質で 30%、砂土質で 50% 前後の検出率であり、将来はそれらの検出を更に向上すべく研究の要がある。

文 献

- 1) 安保寿(1926)：土壤及び野菜の寄生虫卵検査。東京医事新誌, 2453, 180.
- 2) 中条惟基(1950)：蛔虫卵の比重に就て。日本寄生虫学会記事, 19, 54.
- 3) 藤井満(1955)：京都府下一農村に於ける寄生虫問題。寄生虫学雑誌, 4(2), 219.
- 4) 今園義盛(1955)：都市道路上土壤塵埃の寄生虫卵検査成績。寄生虫学雑誌, 3(1), 83.
- 5) 和泉精一ら(1955)：清浄野菜土壤における寄生虫卵の問題。寄生虫学雑誌, 3(1), 84.
- 6) 小林昭夫(1954)：群馬県地方における蛔虫自然感染様式に関する研究, 第2報, 特に土壤内蛔虫卵の浮游検査法について。北関東医学, 4(2), 1-3.
- 7) 児玉威(1953)：野菜の清浄栽培に関する研究(2), 栽培圃場土壤中の蛔虫卵検査。神奈川衛生研究所年報, 2(2), 83.
- 8) 西村猛(1952)：自然界に於ける蛔虫卵の分布に関する研究, 第1報各季節の耕作地土壤にみられる蛔虫卵の調査と之れが発育経過に関する実験的観察。大阪大学医学雑誌, 4(2,3), 125.
- 9) 杉山太幹(1958)：土壤中の蛔虫卵検査法に関する研究(1) 硫苦浮游法の検討。寄生虫学雑誌, 7(4), 343-349.

STUDIES ON THE EFFECT OF FLOATATION TECHNIQUE FOR RECOVERING OF ASCARIS OVA FROM SOIL

JIRO ITO & TOKIWA NATSUME

(Hygiene Laboratory, Faculty of Education, Shizuoka University, Shizuoka)

The farm soil in Japan is sometimes polluted with ascaris ova because of the night soil as a fertilizer. A qualitative and quantitative examination of such ascaris ova pollution in the soil is very important for epidemiological surveys and for public health administrations. For such purpose, a floatation technique by saturated $MgSO_4$ solution has been employed as a routine method.

In this paper, it was tested how many percentages of really contaminated ascaris ova in the soil can be expected to recover by the above mentioned routine floatation technique. The result was as follows.

1. The nature of soil has a large influence upon the recovering ratio of ova. The best result was obtained when the sandy soil was examined. In that case the recovering ratio of ova was about 50%. On the other hand merely 10% of recovering ratio of ova was gained in the clayey soil examination.

2. The volume of soil to be examined has also some influence upon the recovering ratio of ova. In general the smaller is the soil volume, the better is that ratio. And this tendency was much prominent in the case of clayey soil.

3. The factors of container size and the treatment by antiformin solution were more influential in the case of clayey soil than in the case of sandy soil.

会 記

第34回日本寄生虫学会総会開催予告

第34回日本寄生虫学会総会を下記の如く開催致します。

1) 会期：昭和40年4月8日(木)，9日(金)

2) 会場：日経ホール

東京都千代田区大手町

3) シンポジウム：行方予定です。

4) 一般講演および示説：演題申し込み締切は12月10日(木)

なお、その他総会についての詳細は追って御知らせ致します。

第34回日本寄生虫学会会長 板東 丈夫