- 11) 小国秀男, 白井 弥, 松川岩夫: 獣畜新報, 401, 665~668 (1965). A-K.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 167, 1006~1010 (1975).
- 12) ROBERTS, S. J.: *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*, 421~424, Ithaca New York (1956). 14) SMITH, H. A., JONES, T. C. and HUNT, R. D.: *Veterinary Pathology*, 4th ed., 1318, Lea and Febiger, Philadelphia (1972).
- 13) SANDHOLM, M. H., VASENIUS, H. and KIVISTÖ,

公衆衛生

雨水および温泉水中の発熱性物質と細菌数の検索

正木宏幸* 岩崎久夫*

(昭和 61 年 1 月 31 日受理)

A Survey on Pyrogenic Contents and Bacterial Counts in Rain Water and Hot Spring Water

HIROYUKI MASAKI et al. (Saitama Prefectural Institute of Public Health, Urawa, Saitama 338)

SUMMARY

A survey was conducted on the water pollution of rain and hot spring by examining pyrogenic contents and bacterial counts.

Samples were analyzed for pyrogenic contents by the Japanese pyrogen test (PT) and Limulus test (LT) and for total colonies (TC) and coliforma (CF).

Rain water was negative for PT, LT and CF, and less than 300/ml for TC. Hot spring water was negative for CF and less than 100/ml for TC. When it was blended with other types of water (tap water, lake water, etc.), the blend was positive for PT and LT, and had a small quantity of pyrogenic contents. A similar blend of hot spring water was negative for these tests.

要 約

水質汚染調査の一環として、雨水と温泉水の発熱性物質と細菌の検査を行った。発熱性物質検査としては、日本薬局方発熱性物質試験とリムルステストを行った。細菌検査としては、生菌数および大腸菌群数を測定した。

結果は、次のごとくであった。

1) 雨水では、発熱性物質試験、リムルステストは反応を示さず、大腸菌群もすべて陰性であった。生菌数は 300/ml 以下であった。

2) 温泉水では大腸菌群は陰性で、生菌数は 100/ml 以下であった。水道水とか湖水等の他の水の混入した温泉水は、発熱性物質試験およびリムルステストで陽性を示したが、発熱性物質の含有量は低いものであった。しかし、温泉水そのものは両試験とも陰性であった。

社会生活環境の中での各種の水は、種々の方法で調査されているが、筆者らは細菌と発熱性物質の両面からその実態を明らかにし、自然界における水の汚染比較の報告¹⁰⁻¹²⁾を続けてきた。

従来、発熱性物質は微量ながらも恒温動物に、異常体温上昇を起こしうる物質といわれている¹³⁾。この発熱性

物質は、細菌性、ウイルス性、内因性および化学性と種々に分類される。なかでも細菌性発熱性物質中、グラム陰性桿菌が産生するエンドトキシンは発熱性が強く、医学領域において重要視されている。いっぽう、近年、実験の使用水や河川の水質とのかかわりあい問題視されている^{3-5, 18)}。

前報¹¹⁾では、河川水の調査を行い発熱性物質の高い検出結果を得た。今回は、筆者らの自然界での各種の水にお

* 埼玉県衛生研究所 (浦和市上大久保639-1)

雨水および温泉水中の発熱性物質と細菌数の検索

ける発熱性物質の分布¹²⁾の報告で、ほとんど検出の少なかった気象水の雨を年間をつうじて調査し、新しく温水として温泉水の調査を行ったので、その概要を報告する。

1. 材料および方法

1) 材 料

検体の採取期間、採取場所、採取数および試験項目は表1に示した。

雨水は1年間で毎月1回、浦和市上大久保（当衛生研究所）にて地上1～1.5mの位置で滅菌ビーカーにて直接採取した。

温泉水は昭和58年9月より翌年9月まで4カ所、延べ5検体採取した。

採取器具は、すべて250℃30分以上の乾熱滅菌したものを使用した。

2) 方 法

(1) 細菌検査：温泉水の生菌数は標準寒天培地で混積

し、5℃で10日、25℃で3日、37℃で2日、55℃で1日それぞれ培養後、計数した。雨水の生菌数は同培地を使用し、25℃で3日、37℃で2日それぞれ培養後、計数した。温泉水および雨水の大腸菌群はデオキシコレート培地で混積し、37℃で18～24時間培養後、計数した。

(2) 発熱性物質試験：日本薬局方発熱性物質試験²⁾に準じて、検体をpyrogen freeの生理食塩液で希釈し、日本白色在来種の雄で体重2.0～3.0kgのウサギ耳静脈に投与し、自動記録サーミスター（飯尾電機EP76-12）を使用して直腸内体温を測定した。

発熱性物質試験の判定基準は、投与後3時間以内に0.6℃以上の体温上昇を示したものを陽性とし、0.6℃未満のものは陰性とした。

(3) リムルステスト：市販カプトガニ血球抽出物の凍結乾燥品（Limulus Test wako）に各希釈の検体0.2mlを加え溶解したものを37℃1時間静置し、室温で5分間放置後、ゆっくりと180°転倒してゲル形成し、かつ落下しないものを陽性とし、他のものは陰性とした。

なお、本試験はFDA大腸菌レファレンスエンドトキシン0.1ng/mlで陽性を示したものを使用した。

(4) pH測定：ガラス電極によるpHメーター（岩城ガラスM225）を使用し測定した。

2. 成 績

1) 雨水の検査状況

雨水の月別の検査状況は表2に示した。

生菌数は25℃培養のものが37℃培養のものよりもわずかに多く検出されたが、最高の菌数でも130個であった。

大腸菌群は、1年間の検査雨水のすべてから検出されなかった。

発熱性物質試験は雨水の原液10ml/kgを投与し、そ

表1 材料および試験項目

検体名	採取年月	採取場所	検体数	試験項目
雨 水	S.57.4 ～58.3	埼玉県浦和市	12	生菌数 25℃ 3日培養 37℃ 2日培養
				大腸菌群数 発熱性物質試験 リムルステスト pH
温泉水	S.58.9	栃木県, Y	1	生菌数 5℃ 10日培養 25℃ 3日培養 37℃ 2日培養
	58.9	群馬県, M(1)	1	55℃ 1日培養
	59.8	群馬県, M(2)	1	大腸菌群数 発熱性物質試験 リムルステスト pH
	59.9	群馬県, S	1	
	59.9	岐阜県, N	1	

表2 雨水の月別検査状況

月	生菌数/ml 培養温度(℃)		大腸菌群数/ml 培養温度(℃)		pH	発熱性物質試験 (投与量, 10ml/kg)	リムルステスト
1	25	37	25	37	4.9	—	—
2	18	6	0	0	4.6	—	—
3	3	2	0	0	4.7	—	—
4	18	24	0	0	4.9	—	—
5	83	66	0	0	4.2	—	—
6	34	7	0	0	4.9	—	—
7	48	8	0	0	4.9	—	—
8	10	3	0	0	3.9	—	—
9	130	4	0	0	4.1	—	—
10	40	3	0	0	4.8	—	—
11	55	46	0	0	4.8	—	—
12	110	2	0	0	4.8	—	—
	19	2	0	0	4.9	—	—

の後5時間まで検温したが、すべて0.6℃をこす体温上昇はみられなかった。

リムステストはすべての雨水ともゲル形成は認められなかった。

pH 値は最高で4.9、最低で3.9であった。

2) 雨水投与によるウサギ体温変化

月別の12検体の雨水(原液)を10 ml/kg 投与した体温曲線と対照の体温曲線を図1に示した。

12検体の雨水投与のウサギ体温は、すべて0.6℃を超す上昇はみられなかった。最高上昇温度は3月の雨水で0.36℃であり、平常時の体温との相違はほとんどみられなかった。

3) 温泉水の検査状況

温泉水の地域別の検査状況は表3に示した。

細菌検査では生菌数はS温泉水の25℃と37℃培養で41個、48個の菌数が検出されたが、Y、MおよびNの各温泉水ともすべて10個未満の検出状況であった。

大腸菌群はどの温泉水からも検出されなかった。

発熱性物質試験結果は、Y温泉水では10倍希釈液の10 ml/kg 投与で0.6℃を超す発熱(陽性)を示し、それ以上の希釈液投与では陰性を示した。MおよびS温泉水では原液をはじめすべての希釈液投与とも陰性を示した。

リムステストのゲル形成結果は、YとN温泉水では原液および10倍希釈液が陽性を示し、100倍以上が陰性であった。M温泉水では2回の検査とも、すべての濃度において陰性であった。

4) 温泉水投与によるウサギ体温変化

MおよびS温泉水は原液の10 ml/kg および希釈したすべての検体投与で、注射後5時間をとって0.6℃を超す体温上昇は示さなかった。

Y温泉水では原液の10 ml/kg 投与および10倍希釈液の10 ml/kg 投与で0.6℃を超す体温上昇を示し、100倍希釈液の10 ml/kg 投与では0.6℃を超す体温上昇を

図1 雨水投与によるウサギ体温変化(投与量, 10ml/kg)

図2 温泉水投与によるウサギ体温変化

示さなかった。N温泉水は原液の10 ml/kg 投与で0.6℃を超す体温上昇を示したが、10倍希釈液および100倍希釈液の10 ml/kg 投与では0.6℃を超す体温上昇は示さなかった。

3. 考 察

本来、発熱性物質は動物に対して悪影響を及ぼす物質

表3 温泉水の検査状況

温泉水		生菌数/ml				大腸菌群数/ml		pH	発熱性物質試験 (投与量, 10ml/kg)			リムルステスト			
採水場所	培養温度(℃)	5	25	37	55	培養温度(℃)	37		希釈濃度	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	希釈濃度	1	10 ⁻¹
Y		0	1	1	1	0	6.7		+	+	—		+	+	—
M(1)		0	0	0	0	0	2.4		—	—	—		—	—	—
M(2)		0	0	0	0	0	2.3		—	—	—		—	—	—
S		1	41	48	2	0	7.0		—	—	—		+	—	—
N		0	3	2	0	0	7.2		+	—	—		+	+	—

として、臨床医学上非常に重要視されてきた。本物質はとくに医薬品および医療器具には、その存在は許されないものであり、現在では種々の滅菌、濾過等の除去法の発達のもとで、これら対象医薬品等には比較的まれなものとなってきたが、わが国をはじめ、各国の薬局方には注射剤および医療器具の安全性確認のために、発熱性物質試験 (pyrogen test) が公定化されている。

いわゆる、pyrogen と通称されているものは、細菌性発熱性物質であり⁸⁾、ことにグラム陰性菌の細胞外膜の構成成分であるエンドトキシンは代表的な発熱性物質である。そして、細菌類の中では発熱活性は非常に高いといわれている。いっぽう、このエンドトキシンの簡便検査法として、リムルテストの実用化が進み、発熱性物質試験と同様にヒトや動物の臨床医学面⁷⁾、環境衛生面³⁾および食品衛生面¹⁷⁾等の各分野で広く利用されている。この2つの試験法を応用し、筆者らは多くの自然界の水について発熱性物質の分布状況調査を行い報告してきた¹²⁾。

なかでも、発熱性物質がもっとも多く検出されたものは河川水であり、いっぽう検出されなかったものに気象水があった。

この気象水の中の雨水について1年間をとおして毎月採取し、細菌検査とエンドトキシン検査を行った。その結果、細菌検査では大腸菌群はまったく検出されず、生菌数もすべて300個以下を示した。エンドトキシン検査としての発熱性物質試験およびリムルテストはまったく反応を示さず、すべて陰性であった。このことから、雨水は比較的細菌数も少なく、とくにグラム陰性菌のごとき細菌の汚染が少ないことが考えられる。

また、今回 pH の調査を行ったが、1960年代よりこの方、大気汚染の進むにつれ、雨の酸性化が大きな社会問題となっている¹⁹⁾。ヨーロッパにおける酸性雨の被害は、河川、湖沼および森林に顕著にみられ、米国では1963年ごろより New Hampshire 地域に pH 2.1~5.0 の雨や雪が降っているという報告¹⁾があるが、筆者らの埼玉での調査でも pH 3.9~4.9 と低い状況を示した。

リムルテストのゲル化はこの pH の影響がかなり重視されている。REINHOLD¹⁶⁾、小林⁹⁾、丹羽¹⁵⁾らは、pH 値の許容範囲をほぼ 5.5~7.5 とし、それ以外であればゲル反応は著しく低下するか、あるいは進まないと報告している。本雨水はすべてその範囲外を示したことから、pyrogen free の水酸化ナトリウム溶液で pH 値を 6.0~7.0 に補正し、再度リムルテストを行ったところ、補正前と同じく陰性を示した。今後もリムルテストを行う場合には生の水のみならず、pH を必ず測定し、補正後のテストで判定する必要があると思われる。

筆者らは、この雨水とともに河川水、海水、井戸水、水道水の細菌および発熱性物質調査を行ってきたが、これまでの調査検体は水温の低いものであった。そこで、

水温の高いものとして温泉水をとりあげ、その中の細菌および発熱性物質の調査を同様に行った。

温泉水は4地域の検体について試験を行ったが、採取した場所および状況がそれぞれ相違している。Y温泉水は自然湧出地点と湖の接した場所からの採取であり、M温泉水は温泉湧出地点より直接の採取であり、SおよびN温泉水は温泉湧出地点よりパイプをとおして浴場に注がれる蛇口より採取したものである。

細菌検査の結果、大腸菌群は調査したすべての温泉水に検出されず、生菌数についてもすべて100個以下ではほとんど少ない菌数を示したことから、温泉水そのものには高温という条件もふまえ、細菌がきわめて少ないのではないと思われる。

エンドトキシン検査としての発熱性物質試験結果は、M温泉水では希釈したもの、および局方規定の原液の10 ml/kg 投与でもウサギは発熱を起こさなかった。しかし、Y温泉水は今回の調査検体の中で、もっとも発熱性物質が多く、原液および10倍希釈液の10 ml/kg 投与でも発熱を起こした。この結果は、筆者らの既報告の各種の水の発熱性物質分布状況¹²⁾と比較すれば河川水よりも低く、M温泉水では雨水に匹敵する水といえよう。

本調査の目的は温泉の自然湧出水の比較ではなく、温泉場の湯水の各状況下におけるものの比較である。すなわち、自然湧出した地点からの直接採取のM温泉水の場合は発熱性物質は検出されなく、Y温泉水採取のように他の自然界の水(湖水)の混入した場合とか、あるいは、S・N 温泉水採取のように加温・冷却等の他のプロセスを経てパイプを通過したものの場合は、微生物の増殖や発熱性物質の検出の一因となることが考えられる。したがって、発熱性物質を検出しなかったM温泉の自然湧出水も、水道水(一般的に発熱性物質検出)とか他の水の混入、あるいは冷却等の他のプロセスを経過することにより、発熱性物質が検出されることが予想される。

また、pH 調査では発熱性物質の検出されなかったM温泉水は酸性(pH 3以下、酸性泉⁹⁾)を示し、他の3カ所の温泉水がほぼ中性を示したことは、雨水と同様に発熱性物質そのものと pH (酸、アルカリ)による発熱影響度をも追求する必要があるように思われる。

今後の課題としては、M温泉水の場合のように自然湧出地点からの直接採取の検体調査をさらに多く行うこと、そして温泉水の環境状況をふまえ、その成分の確認、例えば日本の温鉱泉の主要成分はナトリウム、塩素および硫酸が多い^{6,14)}と述べられているが、その組成、比率はいかなるものか、あるいは他の成分調査とともに、これらと微生物および発熱性物質の相関関係があるか否かについても追求し、発熱性物質の本体を明らかにしていきたいものである。

最後に、今回調査した雨水および温泉水は明らかに他

の水に比べて、細菌数も発熱性物質も少ない。しかし、われわれの生活環境の変遷にともない、大気汚染も徐々に進行し、雨水といえども地上に降りてくるまでに発熱性物質がまったく誘発されないと断定するわけにはいかない。

いっぽう、温泉水にしても少ない細菌数、少ない発熱性物質であったが、やはり、近年の地熱資源利用にともない、人工操作が増えるにしたがって、微生物とか発熱性物質の増加する可能性があると思われる。そして、これらの水が直接にヒトや動物の血中に混入して障害を引き起こすことはほとんどないと考えられるが、このような発熱性物質が自然界に分布していることを把握したうえで、水の使用目的を考慮しつつ、危険のないように対処していかなければならない。

文 献

- 1) 馬場義雄：産業公害，18，29～34 (1982)。
- 2) 第10改正日本薬局方：日本公定書監修 B-206～B-214，広川書店，東京 (1981)。
- 3) DI LUZIO, N. R., FRIEDMANN, T. J.: *Nature*, 244, 49～51 (1973)。
- 4) EVANS, T. M., SCHILLINGER, J. E., STUART, D. G.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, 376～382 (1978)。
- 5) HAAS, C. N., MEIYER, M. A., PALLER, M. S., et al.: *Water Res.*, 17, 803～807 (1983)。
- 6) 本島公司，益子 安，甘露寺泰雄：地下水・温泉の分析（フィールドワークシリーズ水編）p. 129，講談社サイエンティフィック，東京 (1975)。
- 7) 石山 賢，玉熊正悦：ファルマシア，11，351～357 (1975)。
- 8) 加納晴三郎：内科，32，212～217 (1973)。
- 9) 小林正義，森本武男，山元正昭：薬誌，95，720～727 (1975)。
- 10) 正木宏幸：畜産の研究，37，1319～1324 (1983)。
- 11) 正木宏幸，徳丸雅一，宇佐美博幸，ほか：日獣会誌，38，28～33 (1985)。
- 12) 正木宏幸，宇佐美博幸，徳丸雅一，ほか：日獣会誌，36，325～329 (1983)。
- 13) 真下啓明：発熱，上田英雄，武内重五郎，豊倉康夫編，72～75，南江堂，東京 (1978)。
- 14) 長澤幹雄：水，23，84～91 (1981)。
- 15) 丹羽 允：日細誌，30，439～449 (1975)。
- 16) REINHOLD, R. B., FINE, J.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 137, 334～340 (1971)。
- 17) SEITER, J. A., JAY, J. M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 177～178 (1980)。
- 18) SYKORA, J. L., KELETI, G., ROCHE, R., et al.: *Water Res.*, 14, 829～839 (1980)。
- 19) 戸塚 績：産業公害，19，20～28 (1983)。

◆ 最 新 刊 ◆

獣医公衆衛生学概論

B 5 判 352ページ
定価7,800円 千400

編 集：中野蕙二・雨宮淳三・佐藤儀平・小川益男

執 筆（執筆順）：雨宮淳三・徳富剛二郎・小川益男・中野蕙二・金城俊夫・
佐藤儀平・橋本信夫・加藤英一・諏佐信行・植村 興・島崎保家・
松坂尚典・田坂隆美・浦川紀元・村田元秀

〈主要目次〉

公衆衛生の概念一定義と歴史，公衆衛生の考え方と進め方，公衆衛生と獣医学とのかかわりあい，国民衛生の動向，疾病予防—健康障害の発生要因，疫学方法論，感染症の予防，消毒法，非感染症の予防，人畜共通伝染病一定義と概要，ウイルス性ズーノーシス，リケッチア・クラミジア性ズーノーシス，細菌性ズーノーシス，真菌性ズーノーシス，原虫性ズーノーシス，寄生虫性ズーノーシス，病原体が不明なズーノーシス，その他の疾病，食品衛生〔I〕—定義と概要，食品微生物，食品の腐敗と変敗，栄養障害，食品の媒介による伝染病・寄生虫病，食中毒（概要，細菌性食中毒，化学性食中毒，自然毒による食中毒，アレルギー様食中毒），食品中の有害物質と健康障害，食品中の異物・衛生動物，食品添加物，食品の衛生管理，食品衛生〔II〕—乳の衛生，食肉の衛生，食鳥・卵の衛生，魚介類の衛生，環境衛生一定義と概要，気候，大気，気温・気湿，日光，上水，下水，土壌，廃棄物処理，公害，有害動物，公衆衛生の組織と活動—概要と衛生行政組織，関係法規

千113

東京都文京区本郷2-27-18

株式 文 永 堂
会社

振替口座 東京8-106829

電 話 03 (814) 5701