

尿中ウロビリソ體定量法の改良

増山 元三郎 鳥居 敏雄

(中央氣象臺調査課, 東京帝國大學醫學部内科物理療法學教室)

ウロビリソ體の定量にフルオレッシソの螢光を初めて利用したのは Pincussen (1922) である。わが國では佐々木氏 (1930)¹⁾ がフルオレッシソの苛性加里溶液を利用して定量を試みられたことがある。これ等の二法は何れも純粹なウロビリソを抽出して定量する場合にはよいが、尿中ウロビリソ體を醋酸亞鉛酒精飽和溶液で抽出して測る場合には、尿とフルオレッシソ溶液とでは色合ひが全く違ふため、これ等の方法では比色は著しく困難である。私達はこの色合ひの違ひによる困難さを除くため、メチール・オレンジで尿の色に近いものを作り、さらに一定の比で比色規準液原液を薄めて行つて、丁度この比が肉眼の識別限界にかなふ様にし、しかもこの稀釋がなるべく手輕に出来る様に工夫した。従來のやり方にくらべて臨床的には甚だ便利な方法と思はれるので、ここに御知らせしたい。

規準液の作り方 I (原液)

フルオレッシソ	0.160 g
飽和苛性ソーダ	1.0 cc
0.05% メチール・オレンジ	2.0 cc
蒸餾水を加へて全體を 1000 cc とする	

II (稀釋用液)

飽和苛性ソーダ	1.0 cc
0.050% メチール・オレンジ	2.0 cc
蒸餾水を加へて全體を1000 ccとする。	

この際フルオレッシソは化學天秤で正確に測る必要があるが、苛性ソーダ及び

1) 佐々木萬次郎：妊娠時及び肝臟機態障礙時に於ける血液内ウロビリソの定量的研究。社會醫學雜誌。519號。243頁。昭和5年。

メチール・オレンヂの溶液は駒込ピペットを用ひて取つて差支へない。フルオレッシンはアルカリ性の水でないといふと溶けにくいから、秤量した後で時計皿を洗つてフルオレッシンを秤量瓶へ移すときには、飽和苛性ソーダを取るに使ふピペットで軽く僅か苛性ソーダ液を皿の上に取り、直ちに蒸留水で洗つて秤量瓶へ流し込むとよい。一組の比色規準液を作るだけなら、I液は50 cc、II液は25 ccもあれば十分であるが、フルオレッシンの極微量を正確に測ることが難しいので、上の處方に従ふ方が安全である。

20 cc 入る内径 15 mm 程度の同質の試験管を40本用意し、まづそのうち21本に0番から20番迄の番號をつける。0番以外は總て秤量ピペットでII液をそれぞれ5.00 ccづつ入れておく。0番へはI液を5.00 cc入れる。次に8.00 ccの秤量ピペットでI液を8.00 ccとり、これを1番へ入れ、そのピペット内に液を上下させながらよく混合する。混合後またそのピペットでその混合液を8.00 ccをとり之を2番へ入れる。以下同様にして19番に至り、ここでは混合後その8.00 ccを棄てる。20番はII液だけを含む對照に使ふ。この薄め方では、相隣る番號の試験管内の濃度の比は1.625²⁾になつて居るから、番號が5だけ離れた試験管内のフルオレッシンの濃度の比は11.25 即ち大體10になつて居る。正確に10になるやうに作りたならば、公比は1.585でなければならぬから、8.00 ccのピペットの代りに8.550 ccのピペット

表 1

を新しく作つて使ふ必要がある。0番のフルオレッシンの濃度を1.000とした時の、1番から5番迄の濃度を表1に示す。比較のため表の第2例には8.550 ccのピペットを用ひたと假定した場合を擧げておく。でき上つた規準液はその試験管へ封入

0°	1.0000	1.0000
1°	0.6154	0.6309
2°	0.3787	0.3980
3°	0.2331	0.2511
4°	0.1434	0.1534
5°	0.0887	0.1000

し、番號をつけて暗所に保存する。作つた日附と責任者の名も書いておくといふ。

これだけでは倍數稀釋法よりはましであるが、まだ肉眼の識別限界に

2) この比は胃液中のペプシンを測るときにも利用出来る。即ちこの時は各試験管に1.0 ccづつ稀釋用液を取り、之に胃液を駒込ピペット1.6 ccの目盛を利用して加へて混合して行けばよい。

くらべて間隔が粗過ぎるので0.5番, 1.5番……18.5番の比色規準液を作る。これには1.5番以下へ豫め5.00 ccづつII液を入れておき, 0.5番へはI液を14.56 cc II液を4.00 cc加へよく混合し, その8.00 ccを1.5番へ移し混合し, 混合後その8.00 ccを2.5番へ移す。以下同様である。18.5番からは混合後8.00 ccを棄てる。0.5番からも混合後5.56 cc棄ててより, 前に作ったものと一緒にして番號順に並べて行くと, 公比 $\left(\frac{8}{13}\right)^{0.5} = 0.7845$ で薄くなつて行く規準液が得られたことになる。これは丁度肉眼の識別限界にふさはしいものになつてゐる。識別限界そのものと, 數

表 2

番號	濃度 (mg/dl)	番號	濃度 (mg/dl)
7.0	11.64	7.5	9.132
8.0	7.164	8.5	5.620
9.0	4.409	9.5	3.459
10.0	2.714	10.5	2.129
11.0	1.670	11.5	2.310
12.0	1.028	11.5	0.8065
13.0	0.6327	13.5	0.4964
14.0	0.3897	14.5	0.3055
15.0	0.2397	15.5	0.1880
16.0	0.1475	15.5	0.1157
17.0	0.0977	17.5	0.07121
18.0	0.05586	18.5	0.04382
19.0	0.03438	10.5	0.02697

ゴチで組んだ番號は正常な濃度に相當する。

の濃度に相當するかをフォトメーターで比較する豫定であつたが, 注文した品が獨ソ戦争で手に入らなくなつたので, 絶對測定はできなくなつた。已むを得ないので表2には佐々木氏が比較された値を元にして計算した値を載せる。これでも増減そのものを比較研究する場合には差支へないし, また臨床上の目的には十分である。残る問題はこの規準液がどれ位永く使へるかであらう。初めて作ったのは昭和14年6月であるが,

の覚え易い點から言へば, 公比が0.8000になるやうに始めから作った方がよささうに見えるが, この公比の系列を作るには, 5.00 ccと20.00 ccの秤量ピペットが要り, 30 cc以上入る試験管を用意しなければならない。同時に幾組も作りたい場合には秤量瓶で豫めこの比に澤山作つて置けばよいから差支へないが, 二組三組作るなら前に述べた方が手輕である³⁾。

このやうにして作った規準液がウロビリンのいくら

3) 20 cc吸つて混合するより8 cc吸つて混合する方が遙かに樂だから。

昭和17年3月作つたものと比較して見ると、圖1の通り番號は2.5乃至1.5だけ移動してゐる。この差は用ひた試験管の硝子の質や壁の厚さの

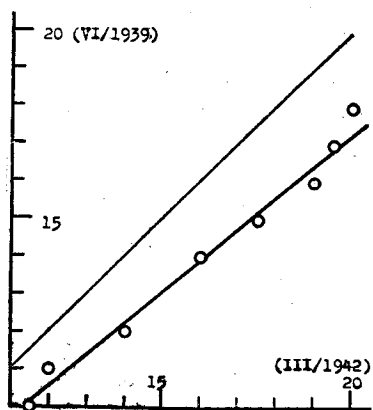


圖 1

差にも依るかも知れないが、主として螢光自身が弱まつたことに依るものであらう。この圖を見ると1年に1回規準液は作り直した方が安全であるやうに思はれる。

比色の際には、尿を5.0 cc とり、これに3%沃度丁幾一二滴を加へ⁴⁾ さらに醋酸亞鉛酒精飽和溶液⁵⁾ 5.0 cc 加へ濾液を規準液と比較する。得られた値が厚尿ウロビリン體の濃度である。

經驗上7番以下の濃いところで

は肉眼での比色は困難であるから、必要に應じて尿の方を豫め薄めて使ふ方がよいやうである。

(受附: 昭和17年3月13日)

4) 沃度丁幾で酸化するより空氣中に長く曝して酸化した方が濃く出るやうである。

5) 酒精は局方で差支へない。