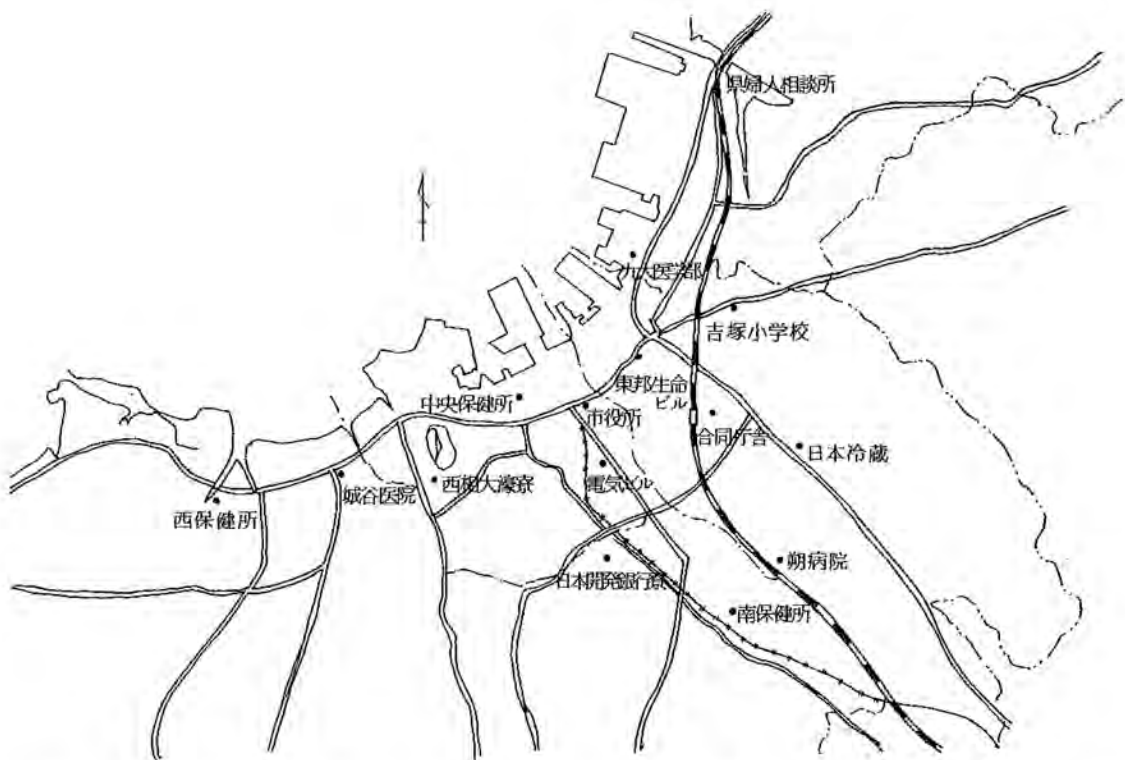


表7. 水質・底質等項目別検査数

項 目	総計	水 質						底 質				
		計	河 川	博多湾	排 水	苦 情	その他	計	河 川	博多湾	苦 情	その他
計	16,591	15,887	9,121	4,528	1,969	111	108	754	447	267	22	18
pH	1,293	1,255	668	272	294	15	6	38	24	14		
DO	950	950	668	272		4	6					
BOD	881	881	668		197	10	6					
COD	345	307		272	28	7		38	24	14		
SS	1,178	1,178	668	272	222	10	6					
n-hex	111	89		86	43	4	6	22			22	
CCl ₄	175	175	67	108								
CN	327	289	126	36	125	2		38	24	14		
T-Hg	250	212	126	36	46	4		38	24	14		
Cr ⁶⁺	316	278	126	36	116			38	24	14		
Cd	296	258	126	36	92	4		38	24	14		
Pb	264	226	126	36	80	4		38	24	14		
As	252	214	126	36	50	2		38	24	14		
Sb												
有機リン化合物	84	46	20	9	17			38	24	14		
R-Hg	67	29	20	9				38	24	14		
PCB	69	31	20	9	2			38	24	14		
Fe	124	124		108	14	2						
Mn	116	116		108	6	2						
Zn	20	20			18	2						
Cu	15	15			11	4						
F	2	2			2							
T-Cr	56	18			18			38	24	14		
フェノール	2	2			2							
Cl ⁻	810	810	525	272		7	6					
DON	799	799	525	272		2						
PON	799	799	525	272		2						
O-N	108	108			101	1	6					
NH ₄ -N	901	901	525	272	101	3						
NO ₂ -N	907	907	525	272	101	3	6					
NO ₃ -N	901	901	525	272	101	3						
DOP	798	798	524	272		2						
POP	798	798	524	272		2						
O-P	110	110			101	3	6					
PO ₄ -P	899	899	525	272	101	1						
TOC	278	278	278									
TOD	278	278	278									
ABS	278	278	278									
SiO ₂	272	272		272								
硫化物	146	108		108				38	24	14		
T-N	38							38	24	14		
T-P	38							38	24	14		
T-C	38							38	24	14		
含水率	44							44	27	17		
強熱減量	44							44	27	17		
ニトロベンゼン	36	24	3	3			18	12	3	3		6
BHT	36	24	3	3			18	12	3	3		6
TBP	36	24	3	3			18	12	3	3		6
その他	6	6				6						

化学物質追跡調査のフェノール、*o*、*m*、*p*クレゾールは衛生化学係で検査。ジイソプロピルナフタレン、1-フェニル-1-(3,4-キシリル)エタン、*o*、*m*、*p*ターフェニルについては福岡県衛生公害センターで検査の為表-7には計上されていない。ニトロベンゼン BHT、TBPのその他で計上されている水質18件のうち12件及び底質その他の6件については福岡県の検体を検査したものである。



測定点名	地上高さ (m)	用途地域
日本冷蔵	15	工業地域
吉塚小学校	15	準工業地域
中央保健所	12	商業地域
東邦生命ビル	35	〃
合同庁舎	40	〃
朔病院	10	〃
電気ビル	25	〃

城谷医院	12	商業地域
市役所	35	〃
九大医学部	14	住居地域
南保健所	8	〃
西相大濠寮	15	〃
県婦人相談所	6	〃
西保健所	6	住居専用地域
日本開発銀行寮	15	〃

図1. 降下ばいじん量、硫酸化物量 (PbO法) 測定点配置図

1) 河川の水質

那珂, 御笠川水域は隔月年6回(1日4回採水)をそれぞれの河川について25地点づつ合計10地点について調査を行った。そのうち7月及び1月の2回, 住吉橋, 東光寺橋において通日調査(1日13回採水)を行った。その他の類型河川についても隔月年6回(1日3回採水)21地点で調査を行い, その他の河川は年4回(1日1回採水)10地点で調査を行った。検査項目は, 環境基準

項目の他に, DON, PON, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, DOP, POP, $\text{PO}_4\text{-P}$, ABS, TOC, TOD, $\text{C}17$, $\text{CC}1$, 抽出物質の検査を行った。この外に那珂川, 室見川, 御笠川の3ヶ所に水質測定局を設置しており, 常時24時間の連続測定を行なっている。測定項目は, 水濁, pH, 電導度, 濁度, DO, NH_4^+ , CODであり, 試薬補給と機器保守管理に各局につき週一回点検した。(図2, 表8, 表9)



図 2. 河川水質及び底質調査地点

表 8 公共用水域水質測定結果 水域別総括表 生活環境項目 (基準点のみ)

水域名	類型	N	p H			D O			B O D			S S			
			%	劣	最小～最大	%	劣	最小～最大	%	劣	最小～最大	平均	劣	最小～最大	
那珂川	A-I	1	$\frac{4}{24}$	17	6.5~9.1	$\frac{6}{24}$	25	5.7~13	$\frac{19}{24}$	79	1.4~12	5.1	$\frac{4}{24}$	17	6~35
"	C-I	1	$\frac{3}{42}$	7.1	6.8~9.0	$\frac{14}{42}$	33	2.0~16	$\frac{26}{42}$	62	2.2~30	11	$\frac{0}{42}$	0	1~45
"	D-I	1	$\frac{4}{24}$	17	6.8~9.1	$\frac{0}{24}$	0	4.7~18	$\frac{9}{24}$	38	2.2~26	8.2	$\frac{0}{24}$	0	3~29
御笠川	B-I	1	$\frac{4}{24}$	17	7.1~9.5	$\frac{0}{24}$	0	6.6~69	$\frac{23}{24}$	96	2.1~12	5.7	$\frac{7}{24}$	29	2~44
"	D-I	1	$\frac{0}{42}$	0	6.9~7.7	$\frac{1}{42}$	2.4	0.6~90	$\frac{32}{42}$	76	4.8~25	16	$\frac{0}{42}$	0	4~53
"	E-I	1	$\frac{2}{24}$	8.3	6.8~8.1	$\frac{0}{24}$	0	2.8~15	$\frac{4}{24}$	17	2.4~18	8.1			
唐の原川	C-D	1	$\frac{0}{17}$	0	6.9~7.9	$\frac{10}{17}$	59	1.1~87	$\frac{15}{17}$	88	4.2~120	33	$\frac{3}{17}$	0	2~50
多々良川	A-D	1	$\frac{0}{17}$	0	7.4~8.4	$\frac{3}{17}$	18	6.2~13	$\frac{4}{17}$	24	0.9~2.9	1.8	$\frac{2}{17}$	12	<1~97
"	C-D	1	$\frac{0}{17}$	0	7.2~8.3	$\frac{5}{17}$	29	2.4~10	$\frac{5}{17}$	29	2.1~6.7	4.1	$\frac{0}{17}$	0	5~26
須恵川	C-I	1	$\frac{0}{17}$	0	7.4~8.3	$\frac{6}{17}$	35	2.2~13	$\frac{9}{17}$	53	3.7~13	6.0	$\frac{0}{17}$	0	12~35
宇美川	C-I	1	$\frac{0}{17}$	0	7.4~8.1	$\frac{9}{17}$	53	2.2~86	$\frac{15}{17}$	88	3.1~18	9.4	$\frac{0}{17}$	0	4~50
樋井川	C-I	1	$\frac{0}{15}$	0	7.0~7.7	$\frac{4}{15}$	27	3.3~87	$\frac{12}{15}$	80	3.8~1.9	7.9	$\frac{0}{15}$	0	2~21
室見川	A-I	1	$\frac{0}{17}$	0	7.1~8.5	$\frac{4}{11}$	24	5.4~14	$\frac{9}{17}$	53	3.9~3.4	2.1	$\frac{0}{17}$	0	2~17
金屑川	C-D	1	$\frac{0}{17}$	0	7.0~7.7	$\frac{3}{17}$	18	3.5~94	$\frac{14}{17}$	82	3.6~17	9.3	$\frac{0}{17}$	0	3~26
名納川	C-I	1	$\frac{0}{17}$	0	6.8~7.5	$\frac{7}{17}$	41	1.9~79	$\frac{9}{17}$	53	7~1.9	7.9	$\frac{1}{17}$	5.9	9~54
十郎川	C-I	1	$\frac{0}{14}$	0	7.2~7.6	$\frac{3}{14}$	21	4.3~10	$\frac{11}{14}$	78	3.0~1.3	7.8	$\frac{6}{14}$	43	14~170
瑞柳寺川	A-I	1	$\frac{0}{17}$	0	7.1~7.6	$\frac{6}{17}$	35	3.6~12	$\frac{2}{17}$	12	0.6~2.9	1.5	$\frac{2}{17}$	12	2~37

(備考) N:測定地点数 m:環境基準に適合しない検体数 n:総検体数

表 10 公共用水域水質測定結果 水域別総括表 生活環境項目（環境基準点のみ）

水域名	類型	N	pH			DO			COD				油分		
			m/n	%	最大～最小	m/n	%	最大～最小	m/n	%	最大～最小	平均	m/n	%	最大～最小
博多湾東部	B _ハ	9	16/36	4.4	8.9～8.2	2/36	6	1.3～4.5	15/36	4.2	5.2～1.4	3.1	0/12	0	ND
中部	A _ロ	9	18/36	5.0	9.0～7.9	8/36	2.2	1.3～1.0	19/36	5.3	6.0～1.1	2.5	0/12	0	ND
西部	A _イ	9	9/36	2.5	8.8～8.2	11/35	3.1	1.2～6.0	11/34	3.2	5.1～0.4	1.8	0/12	0	ND

表 11 公共用水域水質測定結果 水域別総括表 健康項目

水域名	N	カドミウム		シアン		有機リン		鉛		フロム(6価)		セレン		総水銀		アルキル水銀		P C B	
		m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値	m/n	最大値
博多湾東部	3	0/12	<0.005	0/12	ND	0/12	ND	0/3	<0.05	0/12	<0.02	0/12	<0.02	0/12	<0.005	0/12	ND	0/3	ND
中部	3	0/12	<0.005	0/12	ND	0/12	ND	0/3	<0.05	0/12	<0.02	0/12	<0.02	0/12	<0.005	0/12	ND	0/3	ND
西部	3	0/12	<0.005	0/12	ND	0/12	ND	0/3	<0.05	0/12	<0.02	0/12	<0.02	0/12	<0.005	0/12	ND	0/3	ND

(備考) N:測定地点数 m:環境基準に適合しない検体数 n:総検体数

4) 博多湾の底質

14地点年1回の調査を8月に実施した。検査項目は河川の底質と同じである(図3)

5) 特定事業場排水

水質汚濁防止法に基づいて、市内の全公共用水域に排出する特定事業場の排水の水質調査を年2回行った。その内訳は、生活項目のみ適用事業25、下水処理場7、し尿処理施設39、生活、健康項目及び健康項目のみ適用事業場59、で総計130事業場、のべ検体数295であった。その内排水基準不適合はpH8件、BOD16件、COD1件、SS8件、CN1件、Cr⁶⁺1件、As1件、Cu1件、Zn1件であった。

6) 苦情その他

苦情や他局からの依頼によるものが50件あった。また環境庁委託事業で化学物質環境追跡調査を行った。内訳は一般環境調査と精密環境調査に分れ、前者はフェノー

ル、o, m, p, グレゾールについて那珂川下流域(塩原橋)の水質底質を各々3試料、後者については、ニトロベンゼン、トリブチルホスフェート、ジブチルヒドロキシルエン、ジイソプロピルナフタレン、1-フェニル-1-(3,4-キシリル)エタン、o, m, p-ターフェニルの8項目について那珂川下流域(塩原橋)、博多湾(中部域)の水質、底質、生物を各々3試料づつ検査を行ったが結果はほとんどがNDであった。この外長野県衛生公害研究所が環境庁委託業務として那珂川下流域(塩原橋)の水質、底質の(LAS)の分析を行った結果は水質29, 0.63, 1.0(μg/ml)底質1>, 5.1, 4.6(μg/g)であった。

3. その他

全国地方衛生研究所協議会の委託事業で血液中の重金属からみた地域住民健康評価に関する研究の人中のFe, Cu, Zn, Pb, Cd.を調査した。(資料8参照)

表9 公共用水域測定結果 水域別総括表 健康項目(類型指定河川)

水域名	N	カドミウム		シアン		有機リン		鉛		クロム(6価)		ヒ素		総水銀		アルキル水銀		PCB	
		mg/l	最大値	mg/l	最大値	mg/l	最大値	mg/l	最大値	mg/l	最大値	mg/l	最大値	mg/l	最大値	mg/l	最大値	mg/l	最大値
那珂川	3	0/18	<0.005	0/18	N.D.	0/1	N.D.	0/18	<0.05	0/18	<0.02	0/18	<0.02	0/18	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
御笠川	3	0/18	<0.005	0/18	N.D.	0/1	N.D.	0/18	<0.05	0/18	<0.02	0/18	<0.02	0/18	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
唐の原川	1	0/6	<0.005	0/6	N.D.	0/1	N.D.	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
多々良川	1	0/6	<0.005	0/6	N.D.	0/1	N.D.	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
須恵川	1	0/6	<0.005	0/6	N.D.	0/1	N.D.	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
宇美川	1	0/6	<0.005	0/6	N.D.	0/1	N.D.	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
樋井川	1	0/5	<0.005	0/5	N.D.	0/1	N.D.	0/5	<0.05	0/6	<0.02	0/5	<0.02	0/5	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
室見川	1	0/6	<0.005	0/6	N.D.	0/1	N.D.	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
金屑川	1	0/6	<0.005	0/6	N.D.	0/1	N.D.	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
名柄川	1	0/6	<0.005	0/6	N.D.	0/1	N.D.	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
十郎川	1	0/5	<0.005	0/5	N.D.	0/1	N.D.	0/5	<0.05	0/5	<0.02	0/5	<0.02	0/5	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.
瑞樹寺川	1	0/6	<0.005	0/6	N.D.	0/1	N.D.	0/6	<0.05	0/6	<0.02	0/6	<0.02	0/6	<0.0005	0/1	N.D.	0/1	N.D.

(備考) N:測定地点数 m:環境基準に適合しない検体数 n:総検体数

2) 河川の底質

21 河川, 24 地点, 年1回の調査を10月に実施した。検査項目は, 含水率, 強熱減量, 硫化物, C, T-N T-P, CN, T-Hg, Cr⁶⁺, Cd, Pd, As, R-Hg, O-P, T-Cr, PCB, pH, CODであった。(図2)

3) 博多湾水質

41 地点において年4回の調査を行った。検査項目は, 環境基準項目及びFe, Mn, Si O₂, 硫化物, CC1₄抽出物 DON, PON, NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N, DOP, POP, PO₄-P, Cl⁻, SSであった。(図3, 表10, 表11)



図3. 博多湾水質及び底質調査地点

Ⅲ 調 査 研 究

1. 1978年1月福岡市内に流行したA(H₁N₁)型、 いわゆるAソ連型インフルエンザについて

微生物課 衛生細菌係

馬場 純一・永原 公一
西本 幸一・山本 泰寛
北原 郁也

I はじめに

1 昨年来、ブタ型インフルエンザ(以下「イ」と略す)については世界中で監視され、我國においてもその Surveillance System が強化されている最中である。1977年度の「イ」は1977年11月下旬以降に関東、関西地方を中心にA香港型による流行がみられた。九州地方では北九州(12月7日)で確認されたのが最初であったが、12月末まで当市における「イ」の発生はみられなかった。

一方、WHO¹⁾の報告によれば11月にソ連、香港において1947年から1956年まで流行したAイタリア型(H₁N₁)に類似したウィルス、いわゆるAソ連型ウィルスが分離されたため年内から我國への侵入が危惧され、監視体制が敷かれた。このような状況下で、当市における「イ」の流行は1978年1月上旬の休暇明け直後に確認され、1月17日から1月20日過ぎにかけて爆発的流行を起して市内全域のほとんどの学校に波及し、患者発生は約6万人に及んだ。本流行はAソ連型(H₁N₁)型ウィルスによるものである事が判明した。以下本流行について流行状況並びにウィルス学的、血清学的調査等を行ったのでその結果を報告する。

II 調査方法

1. 自覚症状調査

Aソ連型(H₁N₁)ウィルスに対する抗体調査を行うと同時にアンケート方式により舞鶴中学2年生32名、多々良中学2年生34名について自覚症状等の調査を行った。更に養護教諭会の協力を得て小学生510名、中学生316名の計826名について同様の調査を行った。

2. 「イ」ウィルス分離と同定

1月12日に発生届出があった西区私立西南中学校生徒8名及び南区屋形原養護学校(小年保養所)児童8名、更に1月25、26日に舞鶴小学校児童6名、博多区東吉塚小学校児童4名の患者を対象に滅菌トリプトソイブイオンにて含嗽液を採取し、直ちにドライアイスにて凍結させ供試まで-70℃下で保存した。

ウィルス分離は厚生省流行予測調査検査術式に基づき

孵化鶏卵法に従い、発育鶏卵(10日卵)にPC&SM処理を行った遠心上清を羊膜腔内及び漿尿膜腔内に0.2~0.5ml宛接種し、34±1℃3日間ないし4日間培養した。

分離ウィルスの同定はA型5種(A/NJ/8/76〔予研分与抗原〕、A/Fukuoka/104/75-A/Tokyo/1/75タイプ、A/Fukuoka/132/75-A/Victoria/3/75タイプ、A/Tokyo/1/75〔予研分与株〕、A/FM/1/47〔大日本製薬製〕)及びB/Kanagawa/3/76〔予研分与株〕の自家鶏免疫血清または市販抗血清を用い、抗原としてA型3種(A/Kumamoto/22/75〔武田薬品製〕、A/Tokyo/1/77、A/FM/1/47〔化血研分与株〕)及びB/Kanagawa/3/76、分離株を使用して行った。

3. 血清学的調査

1) 患者血清

ウィルス分離を行った同一患者26名について急性期及び回復期(10日前後及び20日前後)に採血を行った結果、22名のペア血清が得られた。これらにつきA/Kumamoto/22/76、A/Tokyo/1/77、A/FM/1/47、B/Kanagawa/3/76、分離株の5種抗原を使用して血球凝集抑制試験(以下HIと略す)試験を行った。

2) Aソ連型(H₁N₁)ウィルスに対する抗体産生状況調査

屋形原養護学校(少年保養所)児童8名について分離株に対する抗体産生状況を見るため、9病日、19病日、41病日に採血を行った。西南中学校生徒6名については13病日、23病日に採血を行いHI抗体価を測定した。

3) 中学生並びに住民のHI抗体保有状況調査

「イ」流行後において流行が明らかに確認された中央区舞鶴中学2年生36名と発生報告がなかった東区多々良中学2年生38名についてA/Tokyo/1/77、A/FM/1/47、B/Kanagawa/3/76、分離株に対するHI抗体を測定した。また、流行前、即ち1977年4月から12月末までの一般住民の血清183検体及び1978年3月以降の流行後の血清191検体につきHI

I 抗体価を測定した。

4. 分離株の交叉HI試験による抗原分析

4施設から分離された代表株4株及び標準株5株(A/FM/1/47, A/Adachi/2/57〔化血研分与株〕, A/PR/8/34〔予研分与株〕, A/Tokyo/1/77, A/USSR/0092/77〔予研分与抗原〕)の自家鶏免疫血清を使用して抗原分析を行った。

Ⅲ 成 績

1. 流行状況

1977年末までの「イ」様疾患の発生報告は皆無であったが、9月から12月末までの期間における市内小中学校計16校の旬間平均欠席率を調査した結果、11月下旬頃から12月中旬にかけて平均欠席率(1~2%)を少し上回り3~4%の欠席率を示した学校が小中学校共に数校ずつ認められたが、5%以上、かつ長期間の欠席率を示した学校は認められなかった。この状況から推察すれば12月末までに「イ」の散発小流行があった可能性は否定できないが、集団発生はなかったと思われる。

この度の流行は休暇明けて間もない1月11日に西区西南中学校等で確認されたが、当校における流行状況を調査した結果、9日から2年生4クラスのうち3クラス

でそれぞれ約10%の欠席者があった事から流行は9日頃に既に始まっていたものと推察される。また、南区屋形原養護学校では8日に流行が始まっていた。小中学校における9日以降の欠席率、罹患率の調査結果において、欠席率は平常時と変わりはなかったが、9日に既に10%前後の罹患者がみられた学校が数校認められた事から市内の数ヶ所ではほとんど同時に発生したと思われる。

患者発生は図1に示すように、中学、高校生の患者が先行して圧倒的に多く、1月17、18日頃をピークとする1月第3週では中学生が17000人、高校生が約10000人、小学生は全体の約 $\frac{1}{10}$ を占めたに過ぎず患者発生は約30000人に達した。次の第4週では罹患層が変わり、小学生の患者が急増して20~23日にかけて第2のピークを形成し、患者発生は約26000人となった。

流行は1月下旬頃に下火となったが、散発的小流行の形で2月下旬頃まで続いた。発生施設数133、学級閉鎖数828、患者総数59049人(表1)であった。

過去3ヶ年の流行についてみると、この度の流行は1975年(A香港型の流行)の患者数約37000人をはるかにしのぎ最大、かつ短期間の激しい流行であった(表2)。

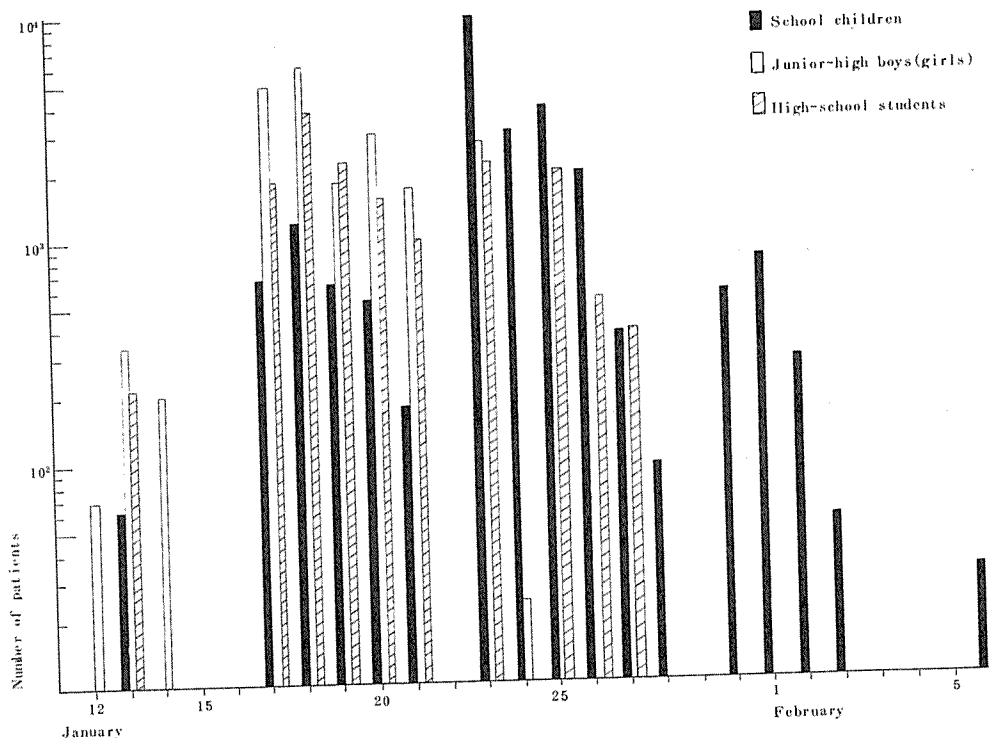


図1. 小中学生及び高校生の日別患者発生状況 1978年1月~2月

表1. 施設別インフルエンザ様疾患発生状況
(1978年1月~2月)

施設	施設数	発生施設数	在籍者数	学級閉鎖数	休校数	患者数
幼稚園		3	493		3	342
小学校	113	65	60,724	660	9	2,285
中学校	54	42	31,084	139	24	20,524
高校	26	20	20,972	29	16	15,192
その他		3	174		3	133
累計		133	113,447	828	55	59,049

表2. 最近のインフルエンザ流行状況

年度	流行ウィルスの型	患者数(人)
1975	A香港型(H ₃ N ₂)	36,994
1976	B型	9,228
1977	Aソ連型(H ₁ N ₁)	59,049

2. 自覚症状

「イ」流行が確認された中央区舞鶴中学2年生36名と発生報告がなかった東区多々良中学2年生38名を対象に採血(1978年3月10日)を行い、A/FM/1/47, 分離株に対する抗体保有状況を調べた結果、両校共にこれらH₁N₁型ウィルスに対して16倍以上を陽性とした場合約90%の抗体保有率を示したので流行があった事を確認した。同時に抗体保有が確認された生徒の

うち、舞鶴中学生32名、多々良中学生34名の合計66名について自覚症状等の調査を行った結果を表3に示した。

この度の流行に際してかぜに罹ったと答えた生徒は前者では32名中25名(90.6%)、後者では34名中25名(73.5%)であった。かぜに罹らなかったと答えた生徒で抗体を保有していたのは前者で36名中2名(5.6%)、後者で38名中9名(23.7%)であった。

この状況から発生報告がなかった多々良中学校では不顕性感染者が多かったものと思われ、次に述べる自覚症状の出現頻度においてもその影響が同われる。舞鶴中学生29名、多々良中学生25名の罹患者の自覚症状の発現頻度をみると前者では発熱、咳、咽頭痛、倦怠感、頭痛、鼻汁等が高かった。後者でも同じ傾向がみられたが、頭痛、関節痛、鼻汁、咳、その他消化器症状等がやや低頻度であった。更に、小学生510名、中学生316名合計826名を対象に調査した結果を表4に示した。前者355名、後者278名の罹患者の自覚症状発現頻度もほとんど同じであった。小学生では倦怠感、関節痛がやや低く、嘔吐、下痢等の消化器症状が僅かに多い傾向にあった。小中学生共に39℃以上の高熱者は約40%であり、有熱者の約90%が3日以内の有熱期間であった。

表3. Aソ連型(H₁N₁)の罹患者が確認された中学生の自覚症状発現頻度
(アンケート調査結果, 1978年3月)

施設	調査対象数(人)	罹患者数(%)	ワクチン接種率	一般症状								上気道症状			消化器症状							
				発熱	最高体温(℃)				頭痛	倦怠感	関節痛	発疹	目やに	鼻汁	鼻出血	咳	咽頭痛	食欲不振	嘔気	嘔吐	腹痛	下痢
					37.0}	38.0}	39.0}	40.0以上														
舞鶴中学校(2年生)	32	29(90.6)	7.19	7.24	14.3	4.29	38.1	4.8	7.24	6.55	2.07	0	0	7.59	3.4	8.28	5.52	4.83	4.48	1.38	1.72	3.4
多々良中学校(2年生)	34	25(73.5)	5.59	7.60	2.11	4.21	26.3	1.05	4.40	6.00	8.0	0	0	4.00	0	6.40	7.20	3.60	2.00	8.0	8.0	4.0
合計・平均	66	54(81.8)	6.36	7.41	1.75	4.25	3.25	7.5	5.93	6.30	1.48	0	0	5.93	1.8	7.41	6.30	4.26	3.33	11.1	1.30	3.7

注 1) 両校共血清学的にAソ連型(H₁N₁)に罹患者が確認された生徒の自覚症状発現率を示す。

2) 両校共H₁N₁型ウィルスに対して90%の抗体保有(16≦陽性)状況であった。

表 4. 小中学生における自觉症状発現頻度

(アンケート調査結果, 1978年3月)

調査対象	調査対象数(人)	罹患者数(%)	ワクチン接種率	一 般 症 状							上気道症状			消化器症状								
				発熱	最高体温(°C)				頭痛	倦怠感	関節痛	発疹	目やに	鼻汁	鼻出血	咳	咽頭痛	食欲不振	嘔気	嘔吐	腹痛	下痢
					37.0}	38.0}	39.0}	40.0以上														
小学生	510	355 (69.6)	69.8	85.4	19.5	37.6	38.0	4.9	56.1	40.8	5.1	0.9	3.1	49.6	5.4	75.8	60.6	49.9	20.3	16.9	17.7	18.6
中学生	316	278 (88.0)	77.5	83.1	12.6	42.9	35.9	8.7	64.4	68.3	24.8	0.4	1.8	57.2	2.9	81.7	63.3	38.8	22.3	8.3	12.2	7.6
合計・平均	826	633 (76.6)	73.7	84.4	16.5	39.9	37.1	6.6	59.7	52.9	13.7	0.6	2.5	52.9	4.3	78.4	61.8	45.0	21.2	13.1	15.3	13.7

注) ウィルス学的, 血清学的に確認をしていないかぜ様罹患者の自觉症状発現率を示す。

3. 「イ」ウィルス分離と同定

表5に示すように流行初期に2施設16名, 後期に2施設10名の計26名からウィルス分離を試みた結果, 22名(84.6%)が陽性であった。ウィルス分離陽性22例中20例(90.9%)が初代で分離され, 2例(9.1%)が2代目で分離された。分離状況を病日別にみると陽性22例中21例は3病日以内の患者から分離されたが, 1例は4病日であった。西南中学生1名は1月8日に罹患してから5病日を経過していたためかウィルス分離は陰性に終わった。しかし, 分離株に対する有意の抗体上昇を確認することができた。同じ1月8日にかぜに罹っていた舞鶴小学校児童1名からはウィルス, H₁N₁型ウィルスに対する抗体共に検出することはできな

った。

この患者は急性期に既にA/Tokyo/1/77株に対して512倍のHI抗体価を保有していたが, 回復期においても同じ抗体価を示した。これら分離株のうち代表株数株を自家鶏免疫血清及び市販抗血清を使用して同定を行った結果, A/NJ/8/76, A/Tokyo/1/77, B/Kanagawa/3/76株に全く抑制されず, A/FM/1/47株に対しホモのHI価に比べ $\frac{1}{8}$ 低く抑制されたことから, この株に類似したH₁N₁型と推定された。更に, ソ連型が疑われたため, 日本インフルエンザセンター(予研)に同定を依頼した結果, A/USSR/0092/77株と同じ型である事が判明し(表7), 島根県浜田市と共に我国への侵入と流行が確認された。

表5. インフルエンザウィルス分離成績と血清学的診断

(1978年1月)

施設	発生日	含嗽水採取日	回復期採血日(病日)	含嗽水検査数	Virus分離陽性数(%)	Virusの型	Virus + HI抗体 +		HI抗体 +		Vaccine接種数
							16 ≤ 32 ≤	32 ≤	16 ≤ 32 ≤	32 ≤	
西南中学校(西区)	1.11	1.13	2.2 (23)	8	7 (87.5)	A(H ₁ N ₁)	5/6 (83.3)	5/6 (83.3)	6/6 (100)	6/6 (100)	1 (12.5)
少年保養所(南区)	1.11	1.12	1.31 (20)	8	8 (100)	A(H ₁ N ₁)	8/8 (100)	8/8 (100)	8/8 (100)	8/8 (100)	5 (62.5)
舞鶴小学校(中央区)	1.23	1.25	2.16 (24)	6	4 (66.7)	A(H ₁ N ₁)	3/4 (75.0)	3/4 (75.0)	3/4 (75.0)	3/4 (75.0)	6 (100)
東吉塚小学校(博多区)	1.23	1.26	2.17 (25)	4	3 (75.0)	A(H ₁ N ₁)	3/4 (75.0)	3/4 (75.0)	4/4 (100)	4/4 (100)	3 (75.0)
計				26	22 (84.6)		19/22 (86.4)	19/22 (86.4)	21/22 (95.5)	21/22 (95.5)	15 (57.7)

- 注 1) 西南中学生8例中Virus陽性で血清診断不能が2例, Virus陰性で抗体陽性が1例あった。
 2) 舞鶴小学生6例中Virus陽性で血清診断不能, Virus陰性で血清診断不能, Virus抗体共に陰性がそれぞれ1例ずつあった。
 3) 東吉塚小学生4例中Virus陰性で抗体陽性が1例あった。

4. 血清学的調査

1) 患者血清

22名のペア血清についてH I抗体を調べた結果を図2に示した。A/Kumamoto/22/76, B/Kanagawa/3/76株に対してはH I価16倍から2048倍の間に分布してすべて抗体保有が認められたが、有意の抗体価の変動は認められなかった。同様にA/Tokyo/1/77株に対しても22名中17名(77.3%)は16倍以上の抗体価を保有していたが、有意の変動は認められなかった。これらのうち1名は先に述べた舞鶴小学生であり、「イ」ウィルスが分離されず、急性期、回復期共にA/Tokyo/1/77株に対して512倍の抗体価を示したが、分離株に対する抗体は認められなかった。A/FM/1/47及び分離株に対しては急性期においてすべて抗体を保有していなかったが、前述の1名を除く21名(95.5%)は回復期において32~512倍の抗体価を示し、かつ

4倍以上の有意の上昇が認められた。A/FM/1/47株に対しては22例中10例(45.5%)が2~4倍低い反応を示した。これらはH I価が高い例において多く認められた。

2) Aソ連型(H₁N₁)ウィルスに対する抗体産生状況

図3に示すように急性期において分離株に対する抗体は全く認められなかったが、10病日前後では屋形原養護学校(少年保養所)児童8名中5名、西南中学校生徒6名中4名がH I価16~128倍を示した。20病日前後では両施設14名中13名は更に2~32倍の抗体価上昇が認められたが、西南中学校生徒1名は128倍を維持した。少年保養所児童8名のH I抗体価は40病日頃まで全く変動はみられなかった。A/FM/1/47株に対してもほとんど同じ抗体産生状況であったが、前述のようにAソ連型に比べるとほとんどの例は2倍程度の低い価を示した。

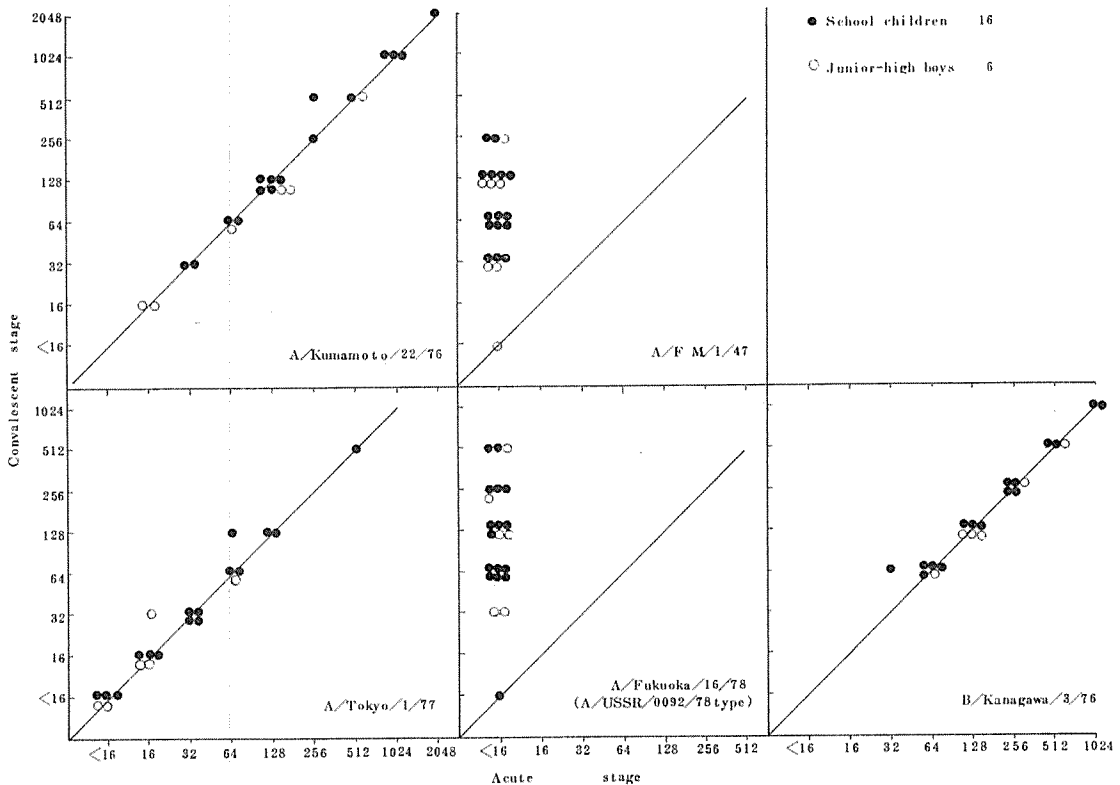


図2. 患者ペア血清におけるH I抗体価の推移

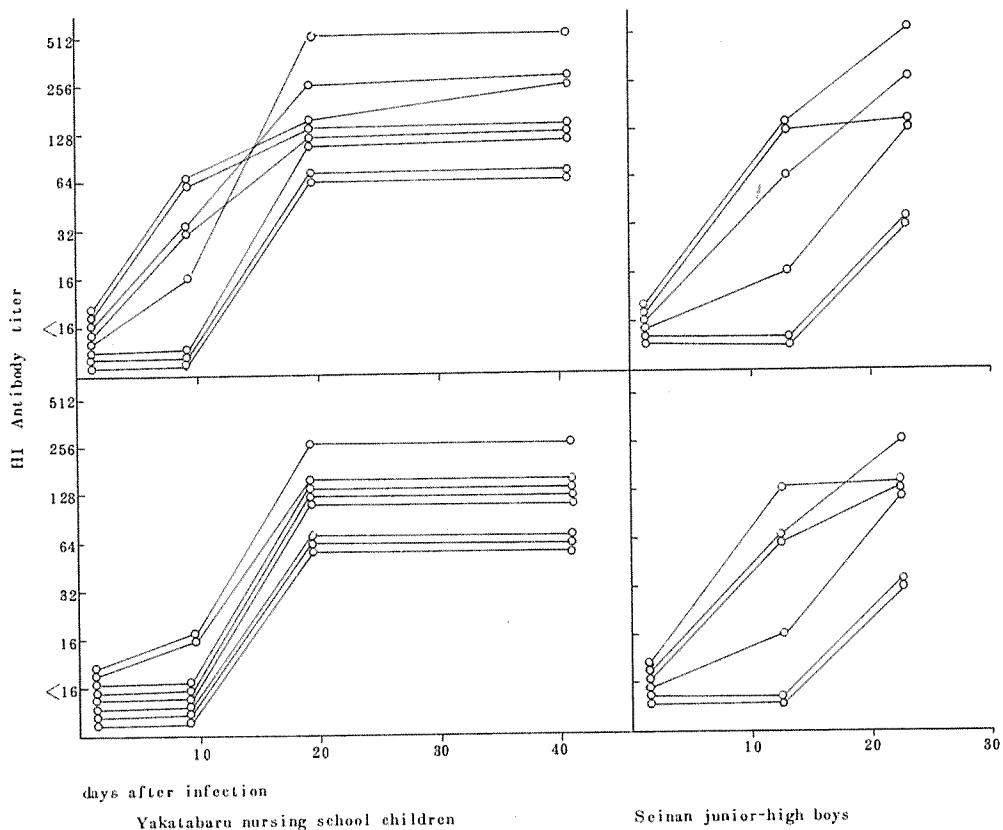


図3. Aソ連型(H₁N₁)インフルエンザ罹患者における抗体産生の経時的変化 1978年1月～3月

3) 中学生並びに住民のHI抗体保有状況

中学生から高齢者までの8年令区分におけるA/Tokyo/1/77, A/FM/1/47, 分離株の3株に対するAソ連型「イ」流行前後のHI抗体保有状況を図4に示した。流行前、即ち1977年12月末までの抗体保有状況は18～20歳の年齢層ではA/FM/1/47及び分離株に対する抗体は全く保有していなかった。HI価16倍以上を陽性とした場合、A/FM/1/47株に対する陽性率は21～30歳では56.7%, 31～40歳では100%, 41～50歳では77.8%, 51～60歳では88.9%, 61歳以上では86.7%で、平均は82.0%であった。分離株に対する陽性率もほとんど同じ傾向を示し、21～30歳では53.3%, 31～40歳では93.7%, 41～50歳では77.8%, 51～60歳では66.7%, 61歳以上では56.7%で、平均は69.6%であった。一方、流行後の陽性率は少しバラツキがみられるが、A/FM/1/47株に対して平均81.3%, 分離株に対して平均71.3%であり、流行前における陽性

率とはほとんど同じであった。21～30歳の年齢層においては流行前に比べると、抗体を保有していなかった21～23歳の年齢層において罹患者があったものと思われ、流行後は両株に対して15%程度の上昇がみられた。20歳以下の年齢層における流行後のHI抗体保有状況は両株に対して中学生では90.5%, 高校生(16, 17歳)では54.5%, 18～20歳では36.7%の陽性率であった。

1977年12月末までのA/Tokyo/1/77株に対するHI抗体保有状況は18歳以上の年齢層についてみると、僅かに差が認められるが、平均32.3%の低い陽性率であった。流行後においても平均36.1%の抗体保有率を示し、大きな変化は認められなかったが、21～30歳の年齢層において流行前の陽性率が20%であったのに対し、流行後では40%に上昇がみられた。中学生では81.1%, 高校生(16, 17歳)では45.5%の陽性率であった。

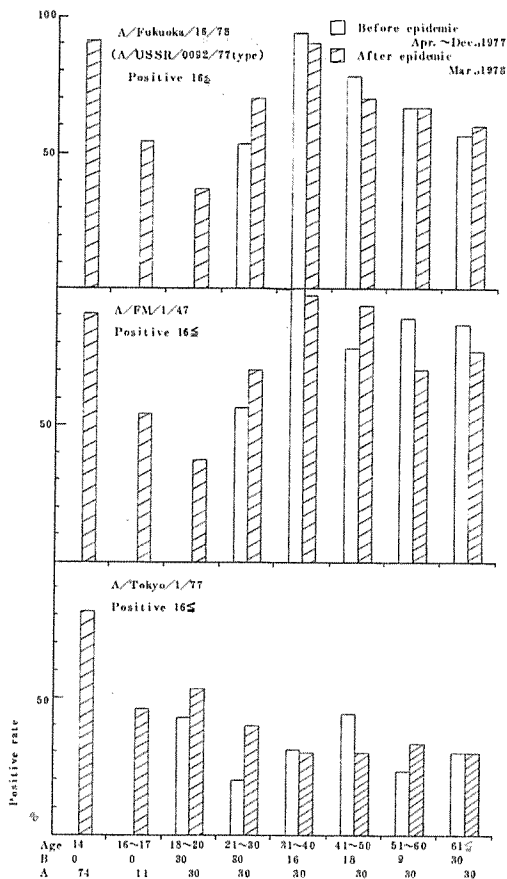


図4. A₁型(H₁N₁)インフルエンザ流行前後における年齢別H₁I抗体保有状況

5. 分離株の交叉HI試験による抗原分析

分離された22株の中からそれぞれの施設の代表株(A/Fukuoka/1/78, A/Fukuoka/16/78, A/Fukuoka/21/78, A/Fukuoka/24/78)4株を選び、自家鶏免疫血清を作成し、標準株抗原及びその自家鶏免疫血清を使用して交叉HI試験による抗原分析を行った。その結果、表6に示すようにA/FM/1/47株の免疫血清に対してホモでは2048倍を示したが、A/USSR/0092/77と分離株4株は全く同じ256倍を示した。

一方、A/USSR/0092/77株のホモで2048倍を示す免疫血清に対してA/FM/1/47と分離株4株はすべて同じ2048倍を示した。本文中に示さなかったが、他の分離株18株についての分析結果は全く同じであった。以上の結果から今回分離された株はすべて1947年に流行したA/FM/1/47(H₁N₁)株と抗原的に類似したウィルスであるが、僅かに差異が認められているA/USSR/0092/77株と同じ型である事が分った。この事は日本「イ」センター(予研)における抗原分析結果(表7)と一致した。

表6. 分離株の交叉HI試験成績

(January, 1978)

Antigens	Chicken antisera							
	A/Tokyo /1/77	A/PR /8/34	A/FM /1/47	A/USSR /0092/77	A/Fukuoka /1/78	A/Fukuoka /16/78	A/Fukuoka /21/78	A/Fukuoka /24/78
A/Tokyo /1/77	1024	<16						
A/PR /8/34	<16	1024						
A/FM /1/47	<16	<16	2048	2048	1024	512	512	1024
A/USSR /0092/77	<16	<16	256	2048	1024	512	512	1024
A/Fukuoka /1/78	<16	<16	256	2048	1024	512	512	1024
A/Fukuoka /16/78	<16	<16	256	2048	1024	512	512	1024
A/Fukuoka /21/78	<16	<16	256	2048	1024	512	512	1024
A/Fukuoka /24/78	<16	<16	256	2048	1024	512	512	1024

表 7. 分離株の抗原分析 (H1)

(日本インフルエンザセンターによる分析結果, 1978年)

Antigens	Ferret reconvalescent antisera			Chicken antisera
	A/Tokyo/1/77	A/F M/1/47	A/USSR/0092/77	A/USSR/0092/77
A/Tokyo/1/77	1 0 2 4			
A/F M/1/47	< 3 2	2 0 4 8		1 0 2 4
A/USSR/0092/77	< 3 2	2 5 6		1 0 2 4
A/Fukuoka/2/78 (A/Fukuoka/6/78)	< 3 2	2 5 6		1 0 2 4
A/Fukuoka/4/78 (A/Fukuoka/16/78)	< 3 2	2 5 6		1 0 2 4
A/Tokyo/1/77	1 0 2 4	< 3 2	< 3 2	
A/F M/1/47	< 3 2	2 5 6	1 0 2 4	
A/USSR/0092/77	< 3 2	3 2	1 0 2 4	
A/Fukuoka/19/78 (A/Fukuoka/18/78)	< 3 2	3 2	1 0 2 4	
A/Fukuoka/22/78 (A/Fukuoka/23/78)	< 3 2	3 2	2 0 4 8	

注) カッコ内は Original Designation

IV 考 察

パンデミックを起す A 型「イ」ウィルスはスペインかぜをはじめ 5 つの亜型が知られている。これらが一定の周期で循環し、不連続変異の形として出現すると考えられた抗原循環説²⁾は 1976 年(米国)の豚型(Hsw₁N₁)ウィルスの出現によって裏付けられたかに思われ、全世界で監視体制が強化された。その後、我国において豚からウィルスが分離され、また、全国的な汚染も確認された³⁾が、人における発生流行はみられていないのが現状である。

スペインかぜウィルスと共に次の流行ウィルスとして H₀N₁型も当然予測されていたであろう。このような状況のなかで、抗原循環説を否定するように 1977 年 1 月にソ連、香港等における「イ」流行から A(H₁N₁)型ウィルスが分離された。我国では 1978 年 1 月上旬に当市と島根県浜田市において初めてこのウィルスによる流行が確認された。いわゆるソ連かぜウィルスの侵入ルートについては不明であるが、正月前後において香港、台湾等への外国旅行者らによって持ち込まれ、Shope が考えているように感受性者によって顕性または不顕性感染の形で市内に広がり、多数の感染源が準備されていたものと思われる⁴⁾。H₁N₁型ウィルスは 1947 年から 1956 年まで流行した事から 20 歳以下の年齢層は全く抗体を保有していなかったため、流行は閉鎖的の学校集団を中心に、特に中学生、高校生の年齢層で爆発的様相

を呈した。日別患者発生状況に示しているように中学生、高校生の罹患が先行している事から、小学生、幼稚園児等の低年齢層より感受性が高い傾向が同われた。このような傾向は一般に新型株の流行に際してみられている^{5,6)}

H₁N₁型「イ」罹患者の自覚症状発現頻度は 1953 年における小野ら⁷⁾の調査結果と同様の傾向がみられ、発熱、咳、咽頭痛、頭痛、鼻汁、倦怠感等が共通して高かったが、過去の香港型や B 型の場合とほとんど変わりなかったものと思われる。多々良中学生では舞鶴中学生に比べ不顕性感染者が多く、罹患率、自覚症状の発現頻度共に低い傾向がみられたが、なぜこのような相違を生じたのかは詳細な調査を行っていないので不明である。

ウィルス分離は多くの場合、羊膜腔内の方がウィルスの増殖度が高いとされているが、今回の分離培養において羊水は極めて少なく、むしろほとんどの卵から漿尿液が 5~10 ml 採取され、ウィルス陽性例の 70~80% は HA 価 128~1024 倍を示した。この事は再分離テストによって実証された。

流行が始まって以来我々が調査を行った範囲では Aソ連型ウィルスのみ分離され、A香港型は全く分離されなかったが、九大及び化血研が行った調査によると 1 月初旬市内においてかぜ様患者から A香港型が分離されている。また、我々の調査において舞鶴小学校児童 1 名から Aソ連型ウィルスは分離されず、A/Tokyo/1/77 株に対して急性期に既に H₁価 512 倍の抗体が認められ、

本人は以前(1月13日)にかぜ様疾患に罹っていた。これらの事から1月初旬にA香港型「イ」の散発的小流行がみられていたのは事実である。しかし、Aソ連型ウィルスの出現によりそれまで存在していたA香港型ウィルスは制圧された状態になったものと思われる。

Aソ連型「イ」流行中において西南中学校等でかぜ様疾患の再罹患者が全校生徒の約20%みられたので8名についてウィルス分離及び血清学的調査を行ったが、ウィルスは全く分離されず、1名がAソ連型株に対して4倍の有意上昇を示したに止り、他のA香港型等に対しては全く変動は認められなかったため再罹患の原因を究明する事はできなかった。

Aソ連型「イ」流行前後における住民の抗体保有状況を調査した結果、Aソ連型ウィルスに対して21歳以上の年齢層では流行前と後においてほとんど同じ抗体陽性率(平均約70%)であった事から推察すれば大人の罹患者は極めて少なかったものと思われる。小学生以下の年齢層における抗体保有状況は未調査のため不明である。因に小学生の罹患者率はアンケートによる調査の結果約70%であった。

今回の調査結果では一部の年齢層(16~20歳)においてやや低い抗体保有状況であったが、本流行によりほとんどの年齢層は比較的高い保有状況になったため次期流行時におけるAソ連型「イ」は散発的小流行に止まるものと思われる。一方、A/Tokyo/1/77株に対してはほとんどの年齢層が30~50%程度の抗体保有状況である事から、消滅期にあるA香港型がまだ残存しておればこの型による流行の可能性も考えられる。いずれにしても、1978年度のワクチンに両株が含まれるため人の抗体保有率はさらに上昇する事は明白である故、今後これらの株の流行はかなり抑制されるであろう。

今回のAソ連型ウィルスに対する1977年度のワクチンの効果はワクチン株と流行株の抗原型が大きく異っていたためほとんど無効であった。ところで、本流行に際して注目し値する事はHobsonら(1973年)の調べによれば、HI価が192倍程度あれば罹患者率は0に近くなると示されている⁸⁾。しかし、今回のH₁N₁型ウィルスに対して30歳以上の年齢層では約59%の人がHI価16倍またはそれ以下の低い抗体保有状況であったにも拘らず、流行前と後の抗体保有率及び抗体価の変動がほとんど認められなかった。即ち、大人の罹患者が少なかった事からHI抗体以外に何らかの感染防禦要因があったのではないかと推測された事である。

今回のように過去において全く感作を受けた事がないウィルス(抗原)に感染した場合は抗体産生が余り良くない事は知られているが、我々の調査でもやはり抗体産

生が悪く20病日前後においてようやく最高値(HI価64~512倍)に達した。このような場合における回復期の採血は3週間後に行うのが適当であると思われる。

V 結 論

1978年1月上旬に福岡市内で流行した「イ」について流行状況並びにウィルス学的、血清学的調査等を行いつの成績を得た。

1. 当市における今冬の「イ」様疾患の発生は1977年秋から年末にかけて市内の小中学校16校を対象に欠席状況を調査した結果、散発的小流行の形跡は認められたが、明らかな集団発生はなかった。しかし、1978年1月8日頃から「イ」の爆発的流行がみられ、中学生、高校生の罹患者を主体に患者総数は約6万人に及び過去3ケ年のうちで最大かつ短期間の流行であった。

2. 抗体調査によりAソ連型(H₁N₁)ウィルスの罹患者が確認された中学生の自覚症状調査の結果、発熱、咳、咽頭痛、倦怠感、頭痛、鼻汁等の発現頻度が高かった。

また、小中学生を対象に行ったアンケート調査の結果においても同様の傾向がみられたが、小学生では中学生に比べ倦怠感、関節痛等の発現頻度が低く、低率ではあるが、嘔吐、下痢等の消化器症状がやや多い傾向にあった。

小中学生共に39℃以上の高熱者は約40%で、有熱者の約90%が3日以内の有熱期間であった。

3. 本流行において26名中22名(84.6%)から「イ」ウィルスが分離されたが、抗原分析の結果すべてA/USSR/0092/77(H₁N₁型)株と同じ型である事が分った。A香港型ウィルスは全く分離されなかった。

4. 22名の患者ペア血清についてHI抗体を測定した結果、21名がAソ連型ウィルスに対して32~512倍を示し有意の上昇を認めた。一方、A香港型、B型ウィルスに対しては有意の抗体上昇は認められなかった。

これら血清学的診断並びにウィルス分離同定結果から本流行の大部分はAソ連型ウィルスによるものと推定された。

5. Aソ連型ウィルスに感染(初感作)を受けた小中学生は抗体産生が悪く、20病日前後で最高値(HI価64~512倍)に達した。その後40数病日まで同じ抗体価を維持していた。

6. 住民のHI抗体保有状況を調査した結果、16倍以上を陽性とした場合、31歳以上ではAソ連型「イ」流行前後において、平均抗体価及びその保有率にほとんど変動を認めなかった事から罹患者は比較的少なかったものと推測される。20歳以下の年齢層における流行後の保有率は中学生が最も高く90%、16、17歳では約

55%, 18~20歳では最も低く約37%であった。以上のように、Aソ連型流行後においてほとんどの年齢層は比較的高い抗体保有率になったため、次の流行時におけるAソ連型の流行は散発的小流行程度に止まるものと思われる。

最後に、本調査に御協力を頂いた少年保養所所長 中島文雄先生並びに福岡市養護教諭会の先生方に深謝致します。

〔本文の要旨は第41回日本感染症学会西日本地方会総会(1978年6月9日、宮崎)において発表した。〕

文 献

- 1) WHO: Weekly Epidemiological Record
No. 50 Dec. 16, 1977
- 2) Francis, T., Jr.: On the doctrine of Original antigenic sin. Proc. Amer. Philosoph. Soc., 104, 572~578, 1960
- 3) 武内安恵: 今冬のインフルエンザ
公衆衛生情報, 1, 4~8, 1978
- 4) Charles H. Stuart-Harris, et al: Influenza, The Viruses and the Disease.
杉浦 昭ら翻訳, 講談社, 139, 1978
- 5) 福見秀雄ら: アジアかせ流行史
日本公衆衛生協会, 1960
- 6) Charles H. Stuart-Harris, et al:
Influenza, The Viruses and the Disease.
杉浦 昭ら翻訳, 講談社, 136, 1978
- 7) 小野蘇牧ら: 昭和28年福岡県下に流行せるインフルエンザに関する研究
福岡医学雑誌, 44, 40~49, 1953
- 8) 国立予防衛生研究所学友会編: 日本のワクチン
改訂2版, 丸善KK, 154~155, 1977

2. ブドウ球菌食中毒推定原因食品(特に米飯食品)からのエンテロトキシンの検出について

微生物課 衛生細菌係

小田 隆 弘・大久保 忠 敬
磯野 利 昭・西 本 幸 一
山 本 泰 寛

I 緒 言

ブドウ球菌(以下ブ菌と略記)食中毒は、わが国においても、高い発生率を示しており、近年増加の傾向すら伺われる¹⁾。ブ菌食中毒の検査は、現在、コアグラーズ(以下コと略記)陽性ブ菌の検出と型別^{2,3)}により、その診断を行っているのが実状であるが、推定原因食品等から、その原因物質であるエンテロトキシン(以下E Tと略記)を証明できれば、最も確実な診断となる。

ブ菌E Tは、現在までに、血清学的に区別されるA, B, C, D, Eの5型が確認されており、いずれもその本体は、分子量3万程度の単純蛋白質である事が知られている⁴⁾。E Tの検出は、ゲル内沈降反応法^{5~7)}、間接赤血球凝集阻止反応(P H I)^{8,9)}、逆受身赤血球凝集反応(R P H A)^{10~12)}、ラジオイムノアッセイ(R I A)¹³⁾等の免疫学的検出法により行なわれている。それらの検出法のうち、現在、最も一般的で、かつ容易に行えるものは、ゲル内沈降反応法であるが、その検出感度は、 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ ¹⁴⁾で、決して高いとは言えない。従って、ゲル内沈降反応法を用いて、食中毒原因食品等から微量(数 $\mu\text{g} \sim 1.0 \mu\text{g}$ /残存食品量¹⁵⁾)のE Tを検出するには、多量の食品成分の中から、いかに効率よくE Tを抽出し、濃縮するかが重要な問題となる。特に、わが国における、ブ菌食中毒の原因食品の大半は、米飯食品であり^{16~18)}、それに適したE T抽出法の開発が必要である。われわれは、E T A, B, Cの精製¹⁹⁾で用いたS P-Sephadex C-25による、バッチ式吸着法を、米飯食品からのE T抽出法に応用し、比較的容易な方法により、食中毒推定原因食品(米飯食品)からE T検出を、試みたので以下報告する。

II 材料および方法

1. E Tの検出と定量

E Tの検出には、マイクロライドゲル内沈降反応法⁷⁾を用い、抗血清は自家製の抗血清¹⁹⁾(抗E T A, 抗E T B, 抗E T C)を用いた。Reference抗血清として、大阪府公衆衛生研究所より分与を受けた抗E T A, 抗E T Bおよび抗E T Cを用いた。マイクロライドゲル内沈

降反応法の感度は、E T A, B, Cとも $0.5 \sim 0.75 \mu\text{g}/\text{ml}$ とし、2倍希釈法により定量を行った。

2. 回収率の算出

自家製の精製E T A, B, Cを絶対量として、10, 5, 3, 2, $1 \mu\text{g}$ を、市販のかしわめしおにぎり1個(70~90 g)にそれぞれ添加して行った。

3. 食中毒推定原因食品

1976年5月から1977年6月までの1年間に、市内で発生したブ菌食中毒のうち、推定原因食品が残存していた5事例について、E T検出を試みた。これらの推定原因食品はいずれも米飯食品であり、その内訳は、かしわめし弁当2件、いなりずし1件、おにぎり1件、おはぎ1件である。

4. ブドウ球菌分離株のコ型別とE T型別

上記5事例の推定原因食品および、患者吐物、患者便から分離されたブ菌それぞれにつき、コ型別とE T型別(A~C)を行った。コ型別法は、潮田ら³⁾の方法に従い、E T型別は以下の方法で行った。3% NZ-amine NAK(Sheffield Chemical, Novmeh), 3% ポリペプトン(大五栄養化学, 東京), 0.001%ニコチン酸, 0.00005%塩酸チアミン, pH6.8, 50 mlを300 mlの三角フラスコに分注後、 121°C , 15分間滅菌した培地に、分離株を接種し、 $100 \sim 110$ 回/分、 37°C で48時間振とう培養を行い、遠心分離(10,000 rpm 10分)により菌体を除去した上清を、50%ポリエチレングリコール(PEG)20,000に対し透析し、約1 mlまで濃縮した。この液を、2倍希釈法で希釈し、マイクロライドゲル内沈降反応法で、E T A, B, Cの型別を行った。

III 実験成績

1. 食品からのE T抽出法

食品からのE T抽出法を図1に示した。検体(いずれも米飯食品)に、0.01 Mリン酸緩衝液, pH7.4, 約250 mlを加えて、ストマッカー400(Colworth, London)で、約5分間摩砕し、遠心分離(7,000 rpm, 20分)により上清を集める。この操作を再度繰り返し、上清を合せる。このようにして得られた上清は、まっ白

に濁っており、このまま濃縮すると、ドロドロになって、以後の操作が不可能となった。従って、上清を濃縮する事なしに、pH 5.0 に調整し、精製水で約 10 倍に希釈し、0.01 M クエン酸-Na₂HPO₄ 緩衝液、pH 5.0、で平衡化した SP-Sephadex C-25 (Pharmacia Fine Chemicals, Sweden) を湿重量で、約 20 g (乾重量で約 2 g に相当) 加え、室温で 2 時間、攪拌し、ET を吸着させた。次に、ガラスロート G 2 により、SP-Sephadex C-25 を集め、0.01 M クエン酸-Na₂HPO₄ 緩衝液、pH 5.0、で十分に洗浄したのち、1 M NaCl 溶液、pH 7.5、約 40~50 ml で ET を溶出させる。この溶出液を、50% PEG 20,000 に対し透析し、1 ml まで濃縮する。この濃縮液を 2 倍希釈し、マイクロライドゲル内沈降反応法により、ET の検出と定量を行った。

表 1 E T A, B, C の添加回収成績
(おにぎり 1 個, 70~90 g 使用)

ETA, B, C 各添加量 μg	回 収 率 %		
	ETA	ETB	ETC
10	80-120	80-120	80-120
5	40-60	40-60	40-60
3	33-50	66-100	66-100
2	-	25-37.5	-
1	-	-	-

この抽出法の回収率は、表 1 のごとくであった。添加 ET 量が多い程、回収率も高い結果が得られ、検出限界は、ETA, C で 3 μg 、ETB で 2 μg であった。

2. 食中毒推定原因食品への応用

使用した 5 件の食中毒推定原因食品は、いずれも、-20℃ に凍結保存していたものに、抽出用緩衝液を加え、5℃ にて解凍して用いた。これら 5 件体の内訳は、かしわめし弁当 2 件、白めしおにぎり、いなりずし、おはぎ

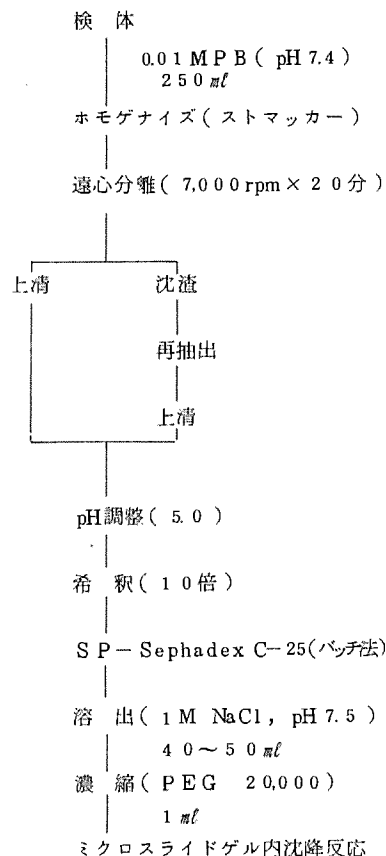


図 1. 食品からの ET 抽出法

各 1 件で、その残存量は、最少、いなりずし、おはぎの 40 g で、最大、かしわめし弁当の 230 g であった。これらの検体から、図 1 に示した方法により、ET の抽出および型別と定量を行って得られた成績を表 2 に示した。

表 2 食中毒推定原因食品からの ET 検出

事例	発生日月	推定原因食品	発症率	検出 ET	細菌数/g	コ型	ET 型
1	1976. 5. 24	かしわめし弁当	18/19	A 8-16 $\mu\text{g}/230\text{g}$	10^7	II	A
2	10. 2	おにぎり	5/50	- / 60 g	10^4	II	A
3	10. 26	いなりずし	3/3	A 1-2 $\mu\text{g}/40\text{g}$	10^7	不明	A+B
4	11. 10	かしわめし弁当	35/130	A 4-8 $\mu\text{g}/120\text{g}$	10^8	II	A
5	1977. 6. 6	おはぎ	3/3	- / 40 g	10^6	VII	A

事例 1 は、市内某弁当調製所が、市販バック弁当として販売したかしわめし弁当が、原因と推定される食中毒事例で、喫食者 19 名中 18 名が発症している (市内で確認された分、市外の方は不明)。残存していたかし

わめし弁当 1 個 (約 230 g) より、ETA が 8~16 μg 検出された。患者便および吐物より得られた細菌のコ型は II 型で、ET 型は A 型であった。なお、かしわめし弁当から検出された細菌 (コ陽性、以下同じ) 数は

10⁷/g であった。

事例2は、某弁当調製所が製造した白めしおにぎり（ふりかけ付）を、中学生50名が喫食し、5名が発症したものである。おにぎり1個（60g）からETは検出できなかった。おにぎり中のブ菌数は10⁴/gで、そのコ型はⅡ型で、ET型はA型であった。患者便および吐物から同型のブ菌が検出され、また、おにぎり調製人の鼻腔から、純培養状に同型のブ菌が検出された事からその調理人からの汚染が疑われた。

事例3は、市販いなりずし弁当を推定原因食品とする食中毒例で、喫食者3名中全てが発症者であった。食べ残しのいなりずし1個（40g）よりETAが1~2μg検出された。いなりずし、患者便および吐物から分離されたブ菌は、いずれもコ型不明、ET型はA+B型であった。

事例4は、事例1と同じ弁当調製所の市販かしわめし弁当を推定原因食品とするもので、発売130食のうち35名の発症者をみている。食べ残しのかしわめし弁当約120gより、4~8μgのETAが検出された。このかしわめし弁当中から、10⁷/gのブ菌が検出され、特に、盛り付けられていた錦糸卵は、10⁸/gのブ菌数を示した。分離されたブ菌はいずれも、コ型はⅡ型、ET型はA型であった。

事例5は、K市の家庭で作ったおはぎを持ち帰り、喫食した高校生3名が、いずれも発症したもので、食べ残しのおはぎ1個（40g）から、ブ菌が10⁶/g程度検出された。ETは検出できなかった。ブ菌分離株のコ型はⅦ型で、ET型はA型であった。

IV 考 察

最近、ET検出法として、逆受身赤血球凝集反応（RPHA）法が開発され、最少約0.01μg/mlのETを検出できると報告^{10~12}）されている。しかし、RPHA法は、純粋な抗ETガンマグロブリンで感作した血球等の調製が、容易でないため、まだ一般に、どこでも行えるというものではない。従来から、広く用いられているゲル内沈降反応法により、食品等からETを検出しようとする場合、その感度（0.5~1.0μg/ml）からみて、ETの抽出、爽雑物の除去および濃縮操作が不可欠であるため、この点に、多くの研究者^{14, 20~24}）の工夫が施されている。特に、わが国におけるブ菌食中毒の原因食品の大半は、米飯食品であり^{16~18}）、そのホモゲナイズ抽出液は、多量のでんぷん質を含んでおり、その除去が重要な問題となる。品川ら²¹）は、このでんぷん質の除去に、ジاستアーゼによる酵素分解法を導入し、良好な成績を上げている。また、彼らの方法では、脂肪成分を除去す

るのに、クロロホルムによる処理を2回行っている。ET抽出過程における、種々の操作によるETの損失程度を調べたNiskanenら²⁵）の報告によれば、クロロホルム処理を含め、多くの処理をすればする程、その損失は大きく、最終的には、回収率が著しく低下する事が指摘されている。

われわれは、ETA, B, Cの精製¹⁹）で用いたSP-Sephadex C-25によるバッチ式吸着法を応用し、他には、特別な処理する事なしにETを抽出する事を試み、5事例の食中毒推定原因食品のうち3例から、ETを証明する事ができた。これら5事例の検体はいずれも、米飯食品であり、われわれの用いた抽出法では、特にクロロホルム処理による脱脂操作の必要性は認められなかった。

食中毒事例1および4は、同じ弁当調製所のかしわめし弁当を推定原因食品とする食中毒事例であり、弁当1個分230gまたは約半個分120gから、それぞれ8~16μgおよび4~8μgのETAが検出され、原因食品である事が確認された。特に、両事例とも、かしわめしの上に盛り付けられた錦糸卵から多量（10⁷~10⁸/g）のブ菌が検出された事から、錦糸卵を盛り付けるまでの工程で、ブ菌に汚染されたものと考えられた。

事例2および5では、ETを検出する事ができなかったが、ブ菌数が比較的少かった（10⁴~10⁶/g）事から、ETの産生が充分でなく、少量であったため検出できなかったものと考えられる。事例2では、発症率が10%（5/50）程度で、低かったのも同じ理由によるものと思われる。

事例3では、推定原因食品であるいなりずし1個（40g）から、ETAが1~2μg検出されたが、ブ菌分離株のET型はA+B型であった。ETBは、いなりずし中では産生量が少なかったため、検出できなかったと考えられる。1人当たり4~5個のいなりずしを喫食しており、ETAだけでも、発症するのに充分な量に達したものと考える。

ブ菌食中毒は、一般に約10μg以上のETを摂取した時に発症すると言われている¹⁵）が、10μg以下でも、感受性の強い人は発症する。¹⁴）

今回、われわれが用いた抽出法では、前者の場合には検出可能であるが、後者の場合、特に残存食品中2~3μg以下の場合、検出できない。実際、事例2および4ではETを証明できなかった。このように、食品総量当りに数μg程度のET量しか含まれていない場合には、ET検出法として、ゲル内沈降反応法を用いる限り困難なように思われる。今後、RPHA法等の検出感度の優れたET検出法が、一般的な方法として確立する事が切望され

る。

V 結 論

1. 食中毒原因食品から、SP-Sephadex C-25 によるバッチ吸着法を用いて、ETの抽出および検出と定量を試み、5例の食中毒推定原因食品中3例より、1~16 μ gのET(いずれもETA)を証明した。
2. この抽出法の回収率は、10 μ g ET量の時、ETA, B, Cとも80~120%, 3 μ g ET量の時、33~100%であった。検出限界は、ETAおよびCで2 μ g, ETBでは1 μ gであった。
3. 5事例の食中毒におけるブ菌分離状況は、ETが検出された事例で10⁷~10⁸/g, ETが検出できなかった事例では10⁴~10⁶/gの菌数を示し、コ型別ではII型3例, VII型1例, 不明1例であり、ET型別ではA型4例, A+B型1例であった。

Reference 抗血清(抗ETA, 抗ETB, 抗ETC)およびReference ET(ETA, ETB, ETC)の分与を賜った大阪府公衆衛生研究所、品川邦汎先生に、心から感謝いたします。

文 献

1. 厚生省環境衛生局食品衛生課：昭和51年食中毒発生状況，食品衛生研究，27，59-75，1971
2. 善養寺浩，寺山武，潮田弘，工藤泰雄，坂井千三：ブドウ球菌コアグラゼに関する研究—ブドウ球菌食中毒の疫学的調査におけるコアグラゼ型別法の応用について—，東京衛研年報，19，45-55，1967
3. 潮田弘，寺山武，坂井千三，善養寺浩：黄色ブドウ球菌のコアグラゼ型別簡易法とその応用，東京衛研年報，26-1，1~6，1975
4. 寺山武：ブドウ球菌エンテロトキシンに関する最近の知見，日細菌誌，26，611-622，1971
5. Oudin, J. : III Techniques and analysis of the quantitative precipitin reaction: B, Specific precipitation in gels and its application to immunochemical analysis, Method Med. Res., 5, 335-378, 1952
6. Ouchterlony, O. : Antigen-antibody reactions in gels. Acta Pathol Microbiol. Scand., 26, 507-515, 1949
7. Crowle, A. J. : A simplified micro double-diffusion agar precipitin technique, J. Lab. Clin. Med., 52, 784-787, 1958
8. Morse, S.A., and Mah, R.A. : Microtiter hemagglutination-inhibition assay for Staphylococcal enterotoxin B. Appl. Microbiol., 15, 58-61, 1967
9. Shibata, Y., Morita, M., Amano, Y., and Ishida, N. : The passive hemagglutination inhibition test for detection of staphylococcal enterotoxin B with sensitized and lyophilized red blood cells, Microbiol. Immunol., 21, 45-48, 1977
10. Silverman, S. J., Knott, A. R., and Howard, M. : Rapid, sensitive assay for staphylococcal enterotoxin and a comparison of serological methods., Appl. Microbiol., 16, 1019-1023, 1968
11. Yamada, S., Igarashi, H., and Terayama, T. : Improved reversed passive hemagglutination for simple and rapid detection of staphylococcal enterotoxin A-E in food., Microbiol. Immunol., 21, 675-682, 1977
12. 品川邦汎，園田信治，阪口玄二：ブドウ球菌エンテロトキシンに関する研究(第5報)—逆受身血球凝集反応によるブドウ球菌エンテロトキシンA, B, Cの検出について—，大阪府公衛研年報，食品衛生編，8，1-6，1977
13. Collins, W. S. II, Metzger, J. F., and Johnson, A. D. : A rapid solid phase radioimmunoassay for staphylococcal B enterotoxin., J. Immunol., 108, 852-856, 1972
14. Casman, E. P., and Bennett, R. W. : Detection of staphylococcal enterotoxin in food., Appl. Microbiol., 13, 181-189, 1965
15. 阪口玄二，品川邦汎：ブドウ球菌エンテロトキシンの検出方法，モダンメディア，20，212-22，1974
16. 善養寺浩，寺山武，潮田弘，五十嵐英夫，丸山務，坂井千三：ブドウ球菌食中毒に関する研究(第1報 東京都において発生した本食中毒の原因食品の種類と原因菌のコアグラゼ型について)，食衛誌，12，311-314，1971
17. 品川邦汎，浅尾努，石橋正憲，山本博之，園田信治

- ：大阪府下で過去5年間に発生したブドウ球菌食中毒について，大阪府立公衛研究報告，食品衛生編，4，93-96，1973
18. 村上正博，浅川豊：過去11年間に分離した食中毒原因ブドウ球菌のフェージ型と薬剤耐性，日本公衛誌，19，561-569，1972
 19. 小田隆弘：SP-Sephadexクロマトグラフィーを用いたブドウ球菌エンテロトキシンA，B，C₂の簡易精製，日細菌誌，33(6)，1978
 20. Gilbert, R. J., Wieneke, A. A., Lanser, J., and Simkovicová, M.: Serological detection of enterotoxin in foods implicated in staphylococcal food poisoning., *J. Hyg. Camb.*, 70, 755-762, 1972
 21. 品川邦汎，中原正良，国田信治，阪口玄二：ブドウ球菌エンテロトキシンに関する研究(3) —食品(特に米飯)からのエンテロトキシンの抽出について—，大阪府立公衛研研究報告，食品衛生編，4，103-107，1973
 22. Reiser, R., Conaway, D., and Bergdoll, M. S.: Detection of staphylococcal enterotoxin in foods. *Appl. Microbiol.*, 27, 83-85, 1974
 23. Hall, H. E., Angelotti, R., and Lewis, K. H.: Detection of the staphylococcal enterotoxins in food., *Health Lab. Sci.*, 2, 179-191, 1965
 24. 原田禎顕：食品中のブドウ球菌エンテロトキシン検出法に関する研究 1. CM-Sephadex バッチ法イオン交換の導入，食衛誌，14，149-159，1973
 25. Niskanen, A., and Lindroth, S.: Comparison of different purification procedures for extraction of staphylococcal enterotoxin A from foods., *Appl. Environ. Microbiol.*, 32, 455-464, 1976

3. 腸炎ビブリオの増菌培地の考案並びに既存培地との比較試験(仮称:TCBBブイヨン) (第1報) 市販刺身、海水および海泥等からの腸炎ビブリオの検出

微生物課 衛生細菌係

大久保 忠 敬・小 田 隆 弘

磯 野 利 昭

ダイエイ品質管理センター

田 中 恭 生

I はじめに

腸炎ビブリオ(*Vibrio parahaemolyticus*)の増菌培地として今日広くルーチンに使用されているものには、2%食塩コリスチン培地(栄研)および食塩ポリミキシンブイヨン(日水)がある。これら両培地の組成はほぼ同一で、ただ前者にはコリスチン、後者にはポリミキシンがそれぞれ添加されており、腸炎ビブリオの増菌培地としての差はほとんど認め難い。しかし後者は滅菌が可能のため保存がきき、しかも一夜培養で本菌以外の細菌の選択力が失われないという利点がある¹⁾。

今回著者らは、著者中の一人である田中(旧姓中西)が1963年に報告したコレラ菌および腸炎ビブリオ分離用、中西のVカンテン培地²⁾の培地成分を基礎として、本菌増殖用培地を検討し、既存の前記2種培地と比較試験をしたところ、他の培地に比べいさか優れた成績が認められたのでここに報告し、参考に供したい。

II 実験材料および方法

1) 考案培地(TCBBブイヨン)の組成

スキムミルク	5 g
ポリペプトン	10 g
酵母エキス末	5 g
チオ硫酸ナトリウム	10 g
クエン酸ナトリウム	10 g
牛胆汁末	5 g
塩化ナトリウム	20 g
ブリリアントグリーン	0.005 g

(0.1%溶液の5mlでもよい)

以上を精製水1,000mlに溶かし、中試に10ml宛分注後、最終pHが8.4±0.1になるよう滅菌する。

2) 市販刺身、刺身用まな板、庖丁および海水からの腸炎ビブリオの検出

昭和52年6月～9月、刺身は約30～50gに等量の滅菌生理食塩水を加え、よく振盪し、その液を資料とし

た。まな板および庖丁のふき取りは滅菌スタンプ瓶(栄研)に約10mlの滅菌生理食塩水を入れ、ふき取りの資料とした。海水はそのままを資料とした。これらの資料を考案ブイヨン(以下T培地と略記)、ポリミキシンブイヨン(以下P培地と略記)、コリスチンブイヨン(以下C培地と略記)に各々1ml宛接種し、37℃、一夜(16～18時間)培養し、TCBS寒天培地(栄研)にて分離培養後、腸炎ビブリオと思われる集落を釣菌し、以下常法に従って同定した。

3) 河川底質および海泥の腸炎ビブリオMPN値の測定

昭和52年9月～10月、市内河川の河口部底質および博多湾内海泥を採集し、その20gに滅菌生理食塩水180mlを加え10倍液とし、これを均一化したものを資料とし、3種培地に各々接種し、37℃、一夜(16～18時間)増菌後、TCBS寒天培地にて分離後、同定して最終的MPN値を求めた。なお今回のMPN値測定は3本法によった。

今回増菌のための培養時間を一夜(16～18時間)と一定にしたのは、3種培地の内C培地は原則として8～12時間の増菌培養となっているが、そのほとんどが一夜培養で使用されることが多いことと、T培地およびP培地は一夜の増菌で使用するため、これら3種の培地の培養時間を一定にし、その結果を比較した。

III 実験成績

1) T(考案)培地における供試菌の発育態度

本培地は市販のTCBS寒天培地(栄研)の組成より白糖、コール酸ナトリウム、クエン酸鉄、BTB、TBおよび寒天末を除去したものに、スキムミルク、胆汁末およびブリリアントグリーンを添加し、食塩濃度を2%、チオ硫酸ナトリウムを1%としたものである。

本培地のpHは8.4±0.1とし、食塩を2%、チオ硫酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムを各々1%としたためビブリオ属以外の菌はかなり発育が抑制される。本培地におけるビブリオの旺盛な発育は、スキムミルクと胆汁

とによるものであるが、本培地には腸炎ビブリオ、コレラの他にV.アルギノリティックスや腸球菌が良く発育する。この腸球菌の発育抑制とビブリオ類似菌の発育抑制のためにブリアントグリーンを0.0005%添加した。その結果、腸球菌は37℃で20時間程度まではかなり抑制できたが、それ以降は徐々に発育した。

本培地における腸炎ビブリオの発育は非常に良く、2~3コ/mlの菌が37℃、6時間で 10^9 コ、10時間で $10^9 \sim 10^{10}$ コ/mlとなり、増菌6時間以降の分離培養も可能である。以上の結果、本培地は37℃、一夜(15~18時間)培養を原則とするが、本菌を早急に分離したい場合には5~6時間培養でも良い。しかし培養時間が20時間以上を経過すると、ビブリオ属以外の菌が発育することもある。

表1. 刺身、ふき取りおよび海水からの腸炎ビブリオ検出状況

資料	件数	腸炎ビブリオ陽性件数	3種培地に発育を示した件数	2種培地に発育した件数			1種培地のみに発育した件数		
				T・P	P・C	T・C	T	P	C
刺身	246	94	27	6	10	7	25	9	10
ふき取り	153	28	5	0	8	2	6	3	4
海水	137	23	0	4	1	0	14	3	1
計	536	145	32	10	19	9	45	15	15

注) T: 考察ブイヨン P: ポリメキシブイヨン C: コリステンブイヨン

一方培地別にみた本菌陽性数は表2に示すごとく、本菌陽性145例中、T培地に検出されたもの96例、P培地76例、そしてC培地75例であり、供試3種培地中ではT培地の本菌検出例数が最も多く、PおよびC培地においてはその差はなかった。

表2. 供試培地別にみた腸炎ビブリオ陽性件数

資料	腸炎ビブリオ陽性件数		
	T	P	C
刺身	65	52	54
ふき取り	13	16	19
海水	18	8	2
計	96	76	75

3) 3種培地を用いて測定した河口底質および海泥中の腸炎ビブリオMPN値の比較

市内河川の河口部底質および博多湾内海泥20例につき、3種の培地を用いて本菌のMPN値を測定した。その結果、資料20例中いずれかの培地に本菌が検出されたものは14例あり、そのうち表3~5に示すごとく、

2) 刺身、刺身用調理器具ふき取りおよび海水からの腸炎ビブリオの検出

供試3培地(T, P, C)別にみた各々の資料からの腸炎ビブリオ検出状況を表1に示した。その結果、資料536例中3種のいずれかの培地から腸炎ビブリオが検出されたものは145例であった。その中で3種培地全てに検出されたもの32例、2種の培地から検出されたもの38例、うちTおよびP培地より検出されたもの10例、PおよびC培地より検出されたもの19例、そしてTおよびC培地より検出されたもの9例であった。また1種培地にのみ検出されたものは75例で、うちT培地のみ45例、P培地のみ15例、そしてC培地のみ15例であった。

3種培地全てに検出されたものは7例で、そのMPN値が最も高い値を示したものはT培地で4例、P培地で2例、C培地で3例(3種培地のMPN値が同じ値の場合は、その順位は全て1位とした)、中位の値を示したのはT培地3例、P培地2例、C培地3例、下位の値を示したのはT培地ではなく、P培地3例、C培地1例であった。また2種の培地に本菌が検出されたのは3例で、いずれもTおよびP培地のみの発育であり、そのMPN値においてはほとんど差はなかったが、T培地において若干高い値を示したものが1例あった。さらに1種の培地のみ発育を示したものは4例あり、T培地3例、P

表3. 3種培地全てに発育した資料7例の腸炎ビブリオMPN値

No.	T	P	C
27	1.1×10^2	3.6×10	3.6×10
35	3.6×10	3.6×10	3.6×10
37	2.9×10^2	1.1×10^4	2.0×10^2
38	4.6×10^3	7.5×10^2	1.6×10^3
39	9.1×10	9.1×10	2.3×10^2
40	1.1×10^4	2.3×10^2	4.3×10^2
41	1.4×10^2	9.1×10	2.3×10^2

培地 1 例であった。

また本菌陽性 14 例中、T 培地 13 例、P 培地 11 例、C 培地 7 例と T 培地における本菌陽性例が最も多かった。

表 4. 2 種培地に発育した資料 3 例の腸炎ビブリオ MPN 値

№.	T	P
6	3.6×10	3.0×10
31	9.1×10	9.1×10
34	3.6×10	3.6×10

IV 考 察

今回新しい腸炎ビブリオの増菌培地 (T 培地) について検討し、既存の P および C 培地と比較した結果、市販刺身、刺身用調理器具ふき取りおよび海水からの本菌検出状況は、本菌の培地別陽性数において、T 培地 96 例、P 培地 76 例、C 培地 75 例とかなり有効差が認められ、また河口部底質および海泥中の本菌 MPN 値測定による 3 種培地の比較においても、T 培地の本菌陽性件数が最も多く、しかもその値は P および C 培地に比べ高い値を示すものが多かった。

腸炎ビブリオ (当所食中毒ふん便由来株) および V. アルギノリティックスを用いての分離試験において、供試菌一夜培養 (4% 食塩加ペプトン水) の各 10 倍段階希釈液の各 1 ml を供試 3 種培地に各々接種したところ、T 培地は P および C 培地に比較し、1~2 管 (10 倍 ~ 100 倍) 高い希釈から分離された。これは資料中における腸炎ビブリオや V. アルギノリティックスの菌数が少ないと思われる資料からの増菌分離においても、本培地は既存の培地より優れていることを示すものである。

なお、本培地には胆汁末が 0.5% 添加されているが、通常の普通濃度で使用する場合には支障はないが、MPN 等の倍濃度で使用する場合には、多量の沈澱物を生ずるため、できれば胆汁末のみを一担溶解、濾過後使用した方が望ましい。

表 5. 1 種培地のみで発育した資料 4 例の腸炎ビブリオ MPN 値

№.	T	№.	P
3	3.6×10	19	2.3×10^2
15	3.0×10		
22	3.6×10		

V 結 論

腸炎ビブリオの新しい増菌培地を検討し、既存の 2 種培地と比較した。その結果;

1) 刺身、刺身用調理器具ふき取りおよび海水からの本菌検出において、資料 536 例中本菌陽性例は 145 例で、供試培地別では T 培地 96 例、P 培地 76 例、C 培地 75 例の各陽性例数であった。

2) 市内河川の河口部底質および博多湾内の海泥中の腸炎ビブリオ MPN 値測定において、T 培地の値が P および C 培地の値より若干高い数値を示すものが多かった。

以上の結果、考案培地は既存のポリミキシン培地およびコリスチン培地と比較し、腸炎ビブリオ検出においてかなり優っているように思われた。

文 献

- 1) 仲西寿男、村瀬隆、寺本忠司：新しい腸炎ビブリオ増菌培地、食塩ポリミキシンブイオン、メヂヤサークル、22(3)、53~56、1977
- 2) 中西恭生：コレラ菌および病原性好塩菌の分離培地について、モダンメディア、9(7)、12~15、1963
- 3) 坂崎利一：培地学総論、48~49、納谷書店、東京、1967

4. 高速液体クロマトグラフィーによる農作物中の Carbaryl (N A C) のケイ光分析法について

理化学課 衛生化学係

山崎 哲 司・廣 中 博 見

藤 本 喬

環境化学係

榎 洋 子

I はじめに

カルバリル(1-naphthyl methylcarbamate, carbaryl, NAC)の残留分析法として比色法¹⁾、GC法^{2,3)}などが報告されている、これらの分析法は、クリーンアップや誘導体生成のために複雑な操作を必要とする。筆者らは、フローセルを取付けたケイ光光度計を検出器とする高速液体クロマトグラフィーにより種々の農作物中のNACの残留分析を行い、良好な結果を得たので報告する。

II 実験方法

1. 試料および試薬

試料：キャベツ、はくさい、ほうれんそう、レタス、はなやさい、春菊、大根、大根の葉、かぶ、かぶの葉、ばれいしょ、ピーマン、にんじん、きゅうり、とまと、なす、うり、アスパラガス、いちご、柿、もも、なし、みかん、なつみかん、なつみかんの果外皮、ぶどう、びわ、メロン、おうとう、りんご、玄米の31品目

試薬：アセトン、ジクロロメタン、n-ヘキサン、エチルエーテル、無水硫酸ナトリウム：残留分析用

メタノール：和光純薬高速液クロ用

活性アルミナ：メルク社製クロマトグラフィー用活性アルミナ(中性、活性度1) 5%相当量の水を添加し、十分に振り混ぜた後に密栓して一夜放置する。

NAC, CPMC, MIPC, MTMC, XMC, PHC, NPMC, EPMC, BPMC：和光純薬の標準品。

フィルター：住友エレクトリック社製フルオロポアフィルターFP-100, サイズ 13m/mφ

2. 装置

高速液体クロマトグラフ：島津 830 LC

同検出器：島津 UV-202型 分光光度計

日立 204型 ケイ光分光光度計, キセノンランプ, 水銀ランプ付,

フローセル：石英管で内径2.4mm, 長さ4.4cmのフローセルを自作した。(Fig-1)

高速液体クロマトグラフの流路を(Fig-2)に示す。

3. 高速液体クロマトグラフィーの条件

装置：島津 830 LC

固定相：Permaphase ODS

カラム：1m×2.1mm i.d. 温度：室温

移動相：メタノール：水(5:95V/V), 圧力：50 kg/cm²

検出条件：(i)UV-254nm, UV-220nm,

(ii)励起波長 285nm, ケイ光波長 335nm, スリット幅 10nm,

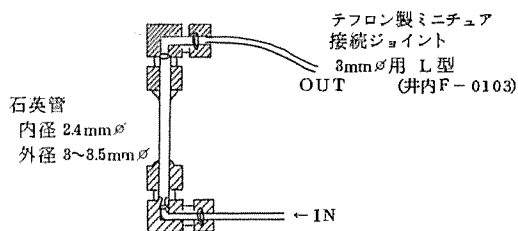


Fig-1 フローセルの構造

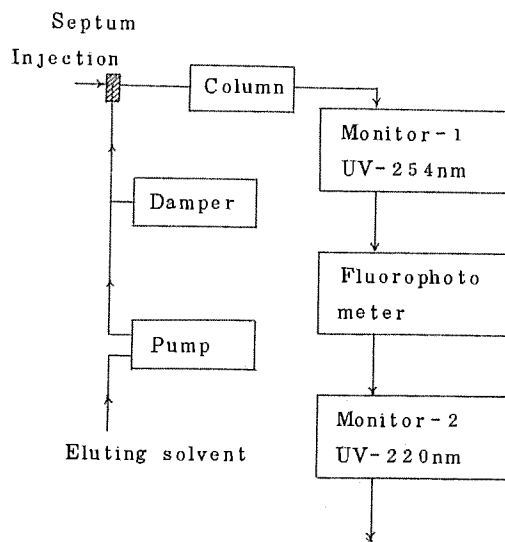


Fig-2 Diagram of HPLC.

4. 抽出および精製

野菜, 果実: 均一化した試料 20 g にアセトン 20 ml を加えときどき振り混ぜ, これにジクロロメタン 40 ml を加えて 10 分間振とうし, グラスフィルター (17 G-2 型) で吸引ろ過する。残渣をジクロロメタン 40 ml で洗い洗液とろ液を合して脱水する。この抽出液を減圧濃縮して, 溶媒留去したのち, 1 ml の n-ヘキサンに溶解しアルミナカラムクロマトグラフィーを行なう。

5%含水アルミナ 3 g を内径 1.0 cm のクロマト管に充てんし, n-ヘキサン:エチルエーテル (94:6 V/V) 200 ml で溶出する。この溶出液を減圧濃縮 (空気を導入して溶媒を完全に留去) したのち, メタノール 1 ml で溶解し, 高速液クロ用検液とする。

試料によっては, アルミナカラムを省略して, ジクロロメタン抽出液を減圧濃縮したのち, メタノール 1 ml に溶解し, フルオロポアフィルターでろ過して, 高速液クロ用検液とすることができる。

玄米: 全試料が, 40メッシュのふるいを通るように調製された試料 20 g をジクロロメタン 40 ml で 2 回抽出し, この抽出液を脱水し, 減圧濃縮して溶媒を留去する。残留物を n-ヘキサン 15 ml に溶解して, n-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 ml を加え, アセトニトリル分配をする。分配後, 前回と同様にアルミナカラムでクリーンアップをして高速液クロの検液とする。

III 実験結果および考察

1. 検出条件

NAC の 5%メタノール溶液中でのケイ光極大は, 330 nm 付近であり, 励起スペクトルは, 220 nm 付近と 280 nm 付近に極大を有する。紫外吸収スペクトルでは 220 nm 付近と 280 nm 付近に極大吸収を有する。(Fig-3)。これらのケイ光スペクトルは, 未補正であるが励起スペクトルの 220 nm 付近と 280 nm 付近の極大が紫外吸収⁴⁾でもみられる。

NAC の検出感度の高い励起波長 285 nm, ケイ光波長 335 nm を検出器の条件とした。

なお, NAC を紫外吸収光度計を検出器 (UV-220 nm, UV-254 nm) とした場合の感度は, ケイ光法の $\frac{1}{20} \sim \frac{1}{50}$ 程度であった。

2. カーバメート系農薬の分離および感度

カーバメート系農薬の NAC に対する相対保持時間 (RRT) 検出器 UV-220 nm, UV-254 nm, ケイ光 (Ex 285 nm, Em 335 nm) における NAC に対する相対ピーク高比 (RPH) を Table-1 に示す。この条件では, NAC は, 約 11 分で流出し EPMC と同じ保持時間であった。しかし NAC は, EPMC に比べ

てケイ光強度が約 30 倍程度強く, また UV-220 nm の紫外吸収でも約 1000 倍程度吸収が強い, UV-254 nm では, 逆に EPMC の方が 2 倍程度吸収が強く紫外吸収光度計をモニターすれば NAC と EPMC を定性できる。

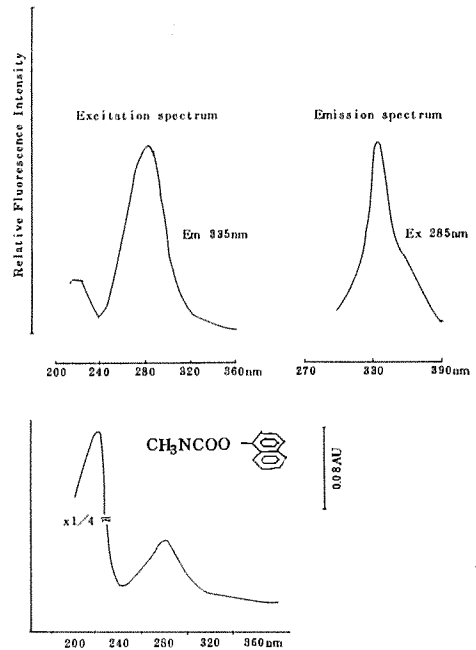


Fig-3 Fluorescence spectra and Absorption spectrum of NAC. Solvent; methanol-water (5;95, v/v)

Table-1 RRT, RPH, of carbamate Pesticides on Permaphase ODS column.

	RRT	RPH 254 nm	RPH (220 nm)	FL RPH Ex 285nm Em 335nm
PHC	0.14	0.1	0.04	0.02
CPMC	0.17	0.03	0.02	0.005
MTMC	0.18	0.06	0.03	0.005
MPMC	0.53	0.07	0.03	0.005
MI PC	0.55	0.07	0.01	0.005
XMC	0.55	0.05	0.07	0.005
EPMC	1.00	2.0	0.005	0.03
BPMC	1.45	0.05	0.01	0.005
NAC	1.00	1.00	1.00	1.00

RRT: relative retention time NAC, RPH: relative peak height to NAC,

3. 抽出物のクロマトグラフ

紫外外部検出器をもちいたクロマトグラフでは、NACの保持時間の付近に妨害ピークがあり、感度も悪く残留分析には、不適當であった(Fig-4)。ケイ光検出器

によるクロマトグラフでは、キャベツ、レタス、はなやさい、春菊、はくさい、なつみかんの果外皮でNACの保持時間付近に妨害ピークがでるが他の試料では、妨害なく感度よく測定することができた(Fig-5)。

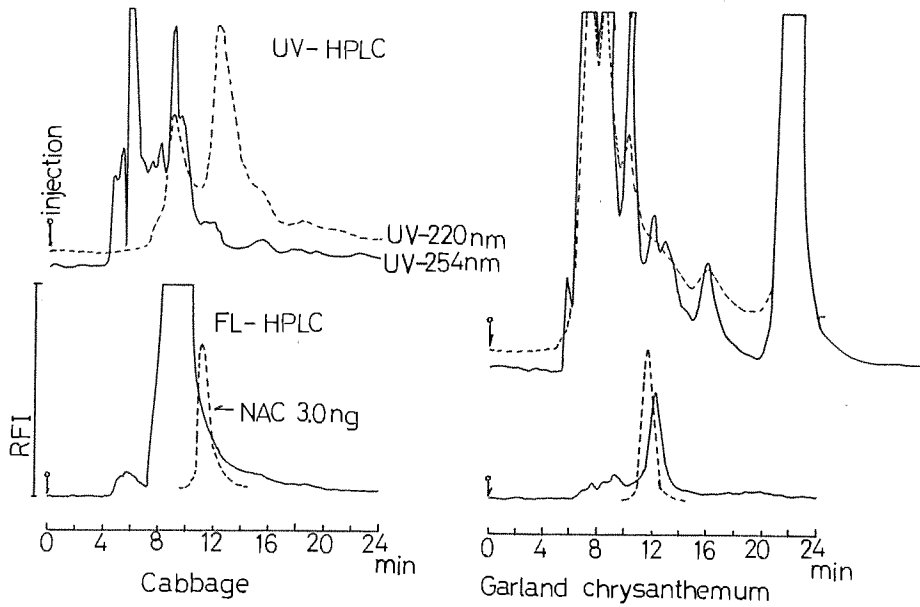


Fig-4 UV-and FL-HPLC of extract from agricultural products

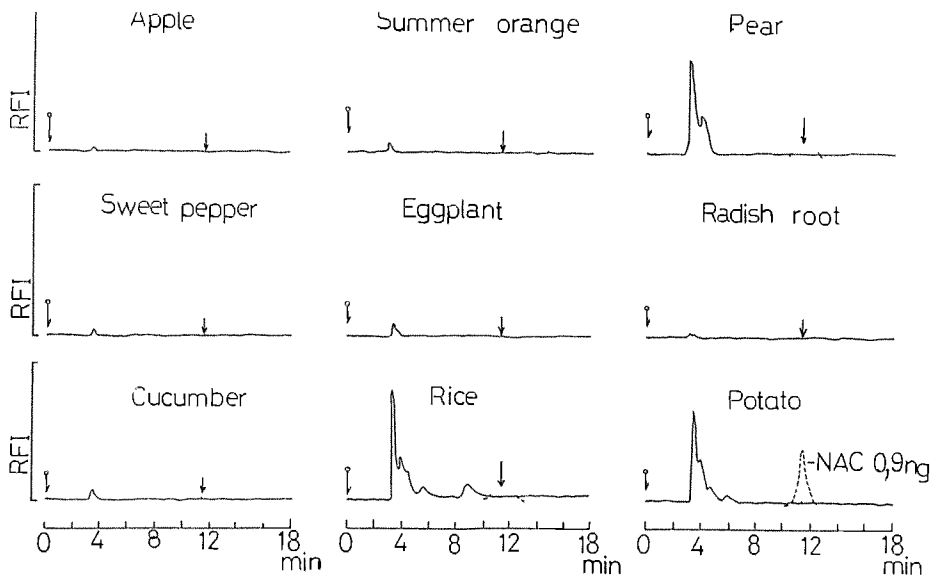


Fig-5 FL-HPLC of extract from agricultural products.

4. 添加回収実験

玄米, キャベツ, ばれいしょ, それぞれに NAC 20 μg , 2 μg , 0.2 μg , 添加した時の回収率を Table-2 に示す。これは, 試料中では, 1 ppm, 0.1 ppm, 0.01 ppm, に相当する。キャベツについては, 0.2 μg の添加では, 天然物による妨害ピークのため回収率が悪く, バラツキも大であった。玄米, ばれいしょでは, 回収率76%以上であった。その他の試料についての回収率を Table-3 に示す。

Table-2 Recovery of NAC added to agricultural products.

	NAC	
	added	recovery %
Rice	20 μg	83.2 + 5.5
	2.0 μg	77.4 + 3.9
	0.2 μg	83.2 + 7.3
Cabbage	20 μg	99.0 + 2.2
	2.0 μg	84.7 + 3.8
	0.2 μg	60.5 + 13.8
Potato	2.0 μg	77.4 + 5.6
	0.2 μg	76.4 + 8.2

Each value is the average of 3 sample.

Table-3 Recovery of NAC added to agricultural product.

Sample	Recovery %
Cauliflower	9.5
Radish green	8.6
Melon	8.7
Summer orange (peel)	8.5
Citrus unshiu	9.1
Summer orange	7.1
Radish root	9.6
Eggplant	9.0
Cucumber	7.8
Sweet pepper	11.3
Tomato	11.5
Apple	11.3

NAC (1 μg) was added to the sample (20g).

IV 要 約

フローセルを取付けたケイ光光度計を検出器とする高速液体クロマトグラフィーを用いて種々の農作物中の NAC の残留分析を行った。今回分析した31試料中キャベツ春菊, はくさい, レタス, なつみかんの果外皮, はなやさいを除いた試料では, 感度良く妨害物の影響なく測定できた。また試料によっては, アルミナカラムによる精製を省略することができ分析操作が簡略化できた。検出限界は, 0.005 ppm であった。

本報告は, 昭和52年5月の日本食品衛生学会第33回学術講演会(東京)で発表した。

文 献

- 1) R. Miskus, D. A. George and H. T. Gordon : J. Age, Food Chem., 7, 613, 1959
- 2) S. C. Lau and R. L. Marxiller : ibid., 18, 413, 1970
- 3) 金沢純 : 日本分析化学会第20年会講演要旨集 B 147, 1971
- 4) 岡村善藏, 太幡利一, 保田和雄 : けい光分析 81, 講談社, 1974