

福岡市衛生試験所報

第 12 号

昭和61年度

福岡市衛生試験所

は じ め に

当試験所は昭和45年10月に、市内保健所の検査室を統合して発足して以来、今年で17年を経過いたしました。

この間には、社会情勢の急激な変化に伴い、衛生行政も高度化し、当所の重要な任務である試験検査業務も、その守備範囲の拡大と、より高度な試験検査技術が要請されてまいりました。具体的には、水質汚濁や大気汚染などの公害問題、残留農薬などの食品問題、輸入感染症の問題など、多様な衛生上の問題に対し、試験検査等で得られた科学的データを提供してきたところであります。

近年は、これらの問題に加えて、健康食品志向にみられる健康増進意識の向上や、AIDSなどの新たな感染症、つつがむしや集団赤痢の再流行など衛生上の様々な問題がおこっております。

当所は、福岡市における衛生行政の技術的中核として、そのような新たな問題にも対応すべく、所員一同、試験検査技術の向上と知識、情報の集積に努力しておりますが、今後ともなお一層の研鑽に励む所存であります。

日頃、技術の向上に努めております所員のささやかな成果として昭和61年度の調査・研究等を、業務報告とあわせて所報第12号として発刊いたします。

御高覧いただき、忌憚のない御意見、御批判ならびに御指導御鞭撻を賜れば幸いに存じます。

昭和62年12月1日

福岡市衛生試験所長

精 松 洋 一

目 次

I. 概 要

1. 沿 革	1
2. 施 設	1
3. 機構・事務分掌及び人員	1
4. 職 員	2
5. 予 算	4
6. 備 品	4
7. 学会・研修等出席状況	5
8. 衛生検査（厚生省報告例）	6

II. 業務報告

1. 微生物係	7
2. ウイルス	10
3. 臨床検査係	11
4. 衛生化学係	13
5. 環境化学係	21

III. 調査研究

1. 福岡市における5才未満児の日本脳炎中和抗体保有状況	27	馬場純一, 他
2. 福岡市における腸管寄生虫類の疫学的研究 第3報 赤痢アメーバの検査法と診断基準についての提案	31	真子俊博, 他
3. 福岡市における腸管寄生虫類の疫学的研究 第4報 過去10年間の赤痢アメーバ及び寄生虫検査成績	42	真子俊博, 他
4. 福岡市における腸管寄生虫類の疫学的研究 第5報 補体結合反応によるアメーバ症診断の評価	48	渡部高貴, 他
5. 分光光度計を用いた野菜漬物中許可タール色素の簡易定量法	53	桃崎悦子, 他
6. 高速液体クロマトグラフィーによる食肉中のニコチン酸及び ニコチン酸アミドの迅速定量法の検討	60	藤本 喬, 他
7. 食用タール色素を含有する清涼飲料水のL-アスコルビン酸 およびエリソルビン酸の確認法	63	藤本 喬, 他

8. コレステロールを指標とした卵成分含有アイスクリーム中の乳脂肪推定法	67
久保倉宏一	
9. ブロックバス分解台とインドフェノール比色法を用いた乳製品の無脂乳固 形分の測定法	72
久保倉宏一	
10. 小麦粉中に残留するディルドリン・マラチオン・フェニトロチオンの抽出法の比較	77
中村正規	
11. パーソナルコンピューターを用いた食品化学検査成績処理システムの開発 (第1報)	81
久保倉宏一	
12. パーソナルコンピューターによるガスクロマトグラフ信号処理システムの開発	97
中村正規	
13. 高速液体クロマトグラフィーを用いたフグ毒検査結果とクッキングロス実験成績	101
小田隆弘	
14. 米の成分規格試験におけるサンプル量の検討	111
加茂和義	
15. 底生動物による那珂川及び瑞梅寺川の水質評価に関する研究	115
古川滝雄	
16. ヘッドスペース GC/MS-MF および溶媒抽出 GC/MS-MS による 1.1-ジクロロエチレン, 1.2-ジクロロエタンの定量方法	123
松原英隆	
17. 事業場排水中の1.1.1-トリクロロエタン, トリクロロエチレン, テトラクロロエチレンの定量におけるヘッドスペース・GC法および 溶媒抽出・GC法の検討	126
松原英隆, 他	

IV 事例報告

1. 6種血清型が混在した腸炎ビブリオ集団食中毒事例	131
梶原一人, 他	
2. 保存中のす焼うなぎにおける青緑色斑点からの <i>Pseudomonas</i> の分離	134
梶原一人, 他	
3. 1987年1月に福岡市で発生した A・H1型インフルエンザの流行について	137
馬場純一, 他	
4. <i>Vibrio damsela</i> が分離された散発下痢症例	141
真子俊博, 他	

V 資料

1. 昭和61年度食中毒・苦情関係細菌検査結果	145
2. 昭和61年度における腸内病原微生物検出状況	149
3. 昭和60年度, 昭和61年度の法定伝染病関係検査成績	152
4. 昭和61年度に実施した食物繊維検査結果	157
5. 昭和61年度食中毒・苦情関係化学検査結果	160

6. 昭和61年度食品化学違反関連検査結果	161
7. 清涼飲料水の成分規格検査結果	163
8. 昭和61年度油症検診・血液中 PCB 及び PCQ 検査結果	167

VI 学会・雑誌発表抄録

学会誌等論文発表一覧	169
学会誌等論文発表抄録	169
学会等口演発表一覧	171
学会等口演発表抄録	172

I 概 要

1. 沿革

昭和45年10月	市保健所検査室を統合し、1所(課)3係職員数13名で衛生試験所発足。
昭和48年 4月	部長制がひかれ、1所(部)1次長(課)3係職員数29名となる。
昭和48年 8月	本階4・5階を増築。
昭和50年 4月	1所(部)2課3係職員数36名となる。
昭和58年 4月	1所(部)2課、4係職員数36名となる。
昭和61年 4月	1所(部)2課4係1主査職員数36名となり現在に至っている。

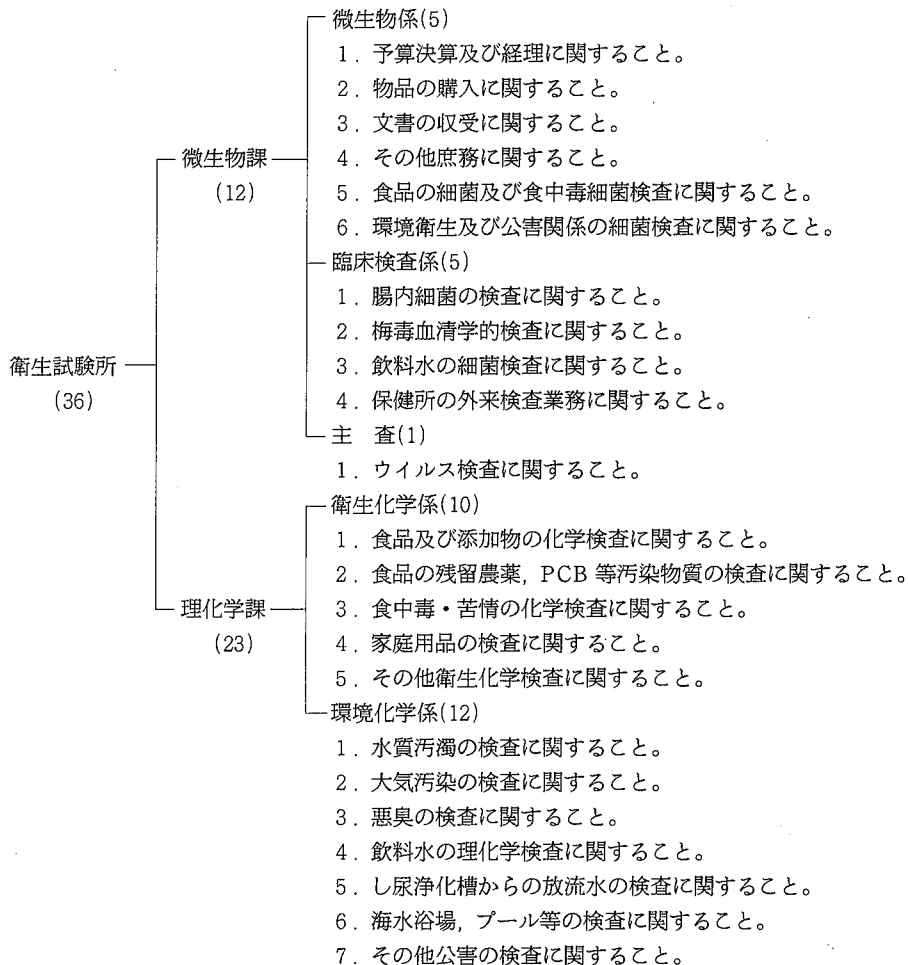
2. 施設

敷地	中央保健所と共有	2,088.09m ²
本館	鉄筋コンクリート5階建	1,415.04m ²
1階	事務部門	77.95m ²
2階	臨床・微生物検査部門	379.63m ²
3階	衛生化学検査部門	417.33m ²
4階	環境化学検査部門	474.54m ²
5階	所長室	65.59m ²
その他		
	動物舎	27.00m ²
	屋内危険物貯蔵庫	13.72m ²

3. 機構・事務分掌及び人員

昭和62年4月1日現在の機構及び事務分掌及び人員は図1のとおりである。

図1.



4. 職 員

表1. 職員名簿（昭和62年7月31日現在）

課名	係名	氏 名	配属年日	役職名等	担 当 業 務
所	所長	情 松 洋 一	62. 4	所 長	衛生試験所総括
	課長	佐 藤 泰 敏	59. 4	課 長	微生物課総括
微 生 物 物 係	主査	馬 場 純 一	61. 4	主 査	ウイルス
	微 生 物 物 係	大久保 忠 敬	58. 4	総括係長	微生物係総括
		野 田 秀 樹	60. 4	主 任	経理及び一般事務
	微 生 物 物 係	稻 葉 南海子	62. 4	〃	〃
		梶 原 一 人	57. 4	〃	食品細菌, 食中毒, 水質細菌
		松 隈 慶 子	60. 5	〃	ウイルス
		安 井 ンズ子	59. 4	嘱 託	洗浄準備
村 上 直 海	60. 4	〃	食品細菌, 食中毒, 水質細菌		
臨 床 検 査 係	村 尾 利 光	58. 4	係 長	臨床検査係総括	
	真 子 俊 博	49. 5	主 任	腸内細菌, 飲適	
	大 隈 英 子	56. 4	〃	〃 〃	
	渡 部 高 貴	60. 4	〃	〃 〃	
	大 庭 三和子	60. 6	〃	〃 血清	
理 化 学 係	課長	峯 尾 晴	58. 4	課 長	理化学課総括
	衛 生 化 学 係	小 田 隆 弘	60. 4	係 長	衛生化学係総括
		大 石 義 也	61. 4	総括主任	食品添加物
		中 西 和 道	62. 4	主 任	〃
		桃 崎 悦 子	60. 4	〃	食品添加物
		久保倉 宏 一	58. 4	〃	食品中の微量汚染物
		加 茂 和 義	60. 4	〃	〃
		中 村 正 規	54. 4	〃	〃
		木 内 佳 伸	59. 5	〃	〃
		本 田 啓 子	60. 5	〃	食品添加物
渡 辺 美千代	62. 5	〃	食品添加物		
環 境 化 学 係	總括係長	柳 洋 子	59. 4	總括係長	環境化学係総括
	總括主任	古 川 滝 雄	59. 4	總括主任	有機汚濁物質
	〃	田 辺 雄 一	60. 4	〃	飲料水, 無機化学物質
	〃	山 崎 真 孝	62. 4	〃	有機汚濁物質
	〃	赤 津 啓 一	60. 4	〃	飲料水, 無機化学物質
	〃	松 原 英 隆	61. 4	〃	有機微量化学物質
	主 任	安 増 眞 一	60. 4	主 任	有機汚濁物質
	〃	井 上 哲 男	52. 5	〃	大気, 悪臭
	〃	佐々木 康 江	50. 5	〃	有機汚濁物質
	〃	木 村 謙 治	61. 4	〃	大気, 悪臭
池 田 嘉 子	61. 5	〃	〃	有機微量化学物質	
	三 坂 亜矢子	62. 5	〃	有機汚濁物質	

他に臨時職員（準備・洗浄業務）6名配置

表2. 職員配置表 (昭和62年7月31日現在)

部門 職名		職種	獣 医 師	薬 剂 師	臨床 検査 技師	化学 系	農 学 系	生 物 系	一 般 事 務	そ の 他	計	
所 長			1								1	
微生物 課	課 長		1								1	
	主 査		1								1	
	生 物 係	係 長		1								1
		主 任		1					1			2
		技術吏員		1								1
		事務吏員							1			1
	臨 床 査 係	嘱 託			1						1	2
		係 長			1							1
		主 任			1							1
		技術吏員			3							3
理 化 学 課	課 長			1							1	
	衛 化 生 学 係	係 長					1				1	
		主 任			1	3	1					5
		技術吏員			1	1	1				4	
	環 化 学 係	係 長			1							1
		主 任			1	2	1	2				6
	技術吏員			2	3						5	
計			6	7	6	9	4	3	2	1	38	

表3. 職員の異動 (昭和62年7月31日現在)

氏 名	新	旧	異動年月
精松 洋一	衛生試験所長	保健部環境衛生課長	62. 4
楠本 五郎	環境局環境保全部長	衛生試験所長	"
稲葉 南海子	微生物課微生物係	西区役所総務部市民課窓口係	"
高橋 操枝	早良区役所総務部市民税課市民税第1係	微生物課微生物係	"
藤本 喬	東保健所衛生課主査	理化学課衛生化学係	"
古野 善久	" 食品係	"	"
森部 昌江	下水道局水質試験所水質第2係	"	"
中西 和道	理化学課衛生化学係	南保健所衛生課環境係	"
渡辺 美千代	"	人事課付	62. 5
佐伯 ゆかり	早良保健所衛生課環境係	理化学課環境化学係	62. 4
山崎 真孝	理化学課環境化学係	保健部食品衛生検査所検査第1係	"
三坂 亜矢子	"	人事課付	62. 5

5. 予 算

- 1) 歳入 (依頼検査は、保健所の歳入として計上される。)
 2) 歳出 (維持管理費は保健所費、事業にともなうものは関係部課の令達であり、衛生試験所の独立
 予算項目はない。)

表4. (単位 千円)

科 目	保健衛生 総務費	予防費	環 境 衛 生 費	食 品 衛 生 費	環 境 対 策 費	保健所費	計	備 考
報 酬						3,900	3,900	
共 済 費		2	4	5	24	60	95	
賃 金		208	391	434	1,884	3,680	6,597	
報 償 費						254	254	
旅 費	48	165			410	848	1,471	
需 用 費	印 刷 消 耗 品 費	2,848	5,186	14,162	14,971	10,339	47,506	
	被 服 費					346	346	
	光熱水費					5,572	5,572	
	食糧費					17	17	
	修繕費					2,770	2,770	
役 務 費						1,430	1,430	
委 託 料						2,916	2,916	
使用料及び 賃借料						3,000	3,000	
備品購入費			28	1,716		9,000	10,744	
負担金補助 及び交付金						509	509	
計	48	3,223	5,609	16,317	17,289	44,641	87,127	

6. 備 品

昭和61年度予算で購入した備品は表5のとおりである。

表5. (500千円以上)

備 品 名	数量	機 種 (形式)	備 品 名	数量	機 種 (型式)	
過酸化水素分析計 (オリエンタル電気)	1式	オリテクターⅢ (アンプルセンサー)	水分活性測定器 (ロトロニック)	1式	Hygroskop DT型	
		恒温槽	UVモニタリング システム (ファルマシア, ファインケミカル)	1式	測定ステーションWA-1型	
悪臭分析装置 (島津製作所)	1式	パーソナルコンピューター PC-9810/Vm2			UVモニターUV-1 280mm-10m/m	
		ディスプレイ PC-KD852			フランクシオンコレクター FRAC-100	
		プリンター PC-PR201F			ペリスタリックポンプ P-1	
		ガスクロマトグラフ			レコーダー REC-481	
		FIDGC-8 APF			FRAC-100用バルブ PSV-100	
		ガスクロマトグラフ		卓上ドラフトチャ ンバー(ダルトン)	1式	SD-8
		FPDモニター付 GC-8 APFP		超純水製造装置 (日本ミリポア)	1式	ミリQシステムオーガネクス仕様
		トリメチルアミン用濃縮装置				
VPC-1B						
加熱導入装置FLS-1						
データ処理装置クロマトパック C-R3A						

7. 学会・研修等出席状況

表6. 学会・研修会・会議等出席状況

学会・研修会・会議名	用務先	期 間	出席者名
地方公共団体公害試験研究機関等所長会議並びに第15回全国公害研協議会総会	東京都	S. 61. 6.17~18	楠本五郎
昭和61年度全国地方衛生研究所所長会議並びに地方衛生研究所全国協議会臨時総会	東京都	6.27~28	楠本五郎
第17回衛生微生物技術協議会研究会	熊本市	7.22~23	大久保 忠 敬 外4
第37回地研全国協議会九州支部総会	沖縄県	8. 7~ 9	楠本五郎 外1
第13回全国公害研協議会九州、沖縄支部総会	鹿児島市	8.28~29	楠本五郎
昭和61年度化学物質環境汚染実態調査ブロック別打合せ会議	北九州市	9.18	松原英隆
第23回全国衛生化学技術協議会年会	長崎市	10. 2~ 3	小田隆弘 外2
昭和61年度第37回地方衛生研究所全国協議会総会並びに次長庶務課長会議	仙台市	10.27~29	佐藤泰敏
日本公衆衛生学会	仙台市	10.29~31	真子俊博
九州衛生公害技術協議会	北九州市	11.27~28	楠本五郎 外20
昭和61年度全国公害研協議会シンポジウム並びに秋季総会並びに第13回環境保全公害防止発表会	東京都	12. 4~ 5	古川 滝雄
第13回環境保全公害研究発表会	東京都	12. 4~ 5	古川 滝雄
インフルエンザノイラミニダーゼ測定法及びELISA法の技術研修	熊本市	S. 62. 1. 6~10	松隈慶子
昭和61年度環境測定分析統一制度管理調査ブロック会議	北九州市	2. 4	榊 洋子 外3
エイズ抗体検査技術研修	東京都	3.15~20	馬場純一

8. 衛生検査 (厚生省報告例)

昭和61年度に行なった検査項目、件数は表7のとおりである。

表7.

(単位:件)

項 目			件 数	項 目			件 数	
細菌検査	分離・同定	腸管系病原菌(1)	39,628	水 質 検 査	飲 用 水	細菌学的検査(38)	1,328	
		その他の細菌(2)	-			理化学的検査(39)	1,348	
	血 清 検 査(3)		-			井戸水	細菌学的検査(40)	4,083
	化学療法剤に対する耐性検査(4)		-				理化学的検査(41)	4,712
ウイルス・リケッチア等検査	分離・同定	インフルエンザ(5)	7		その他	細菌学的検査(42)	69	
		その他のウイルス(6)	-			理化学的検査(43)	123	
		リケッチア・その他(7)	-		利 用 水	細菌学的検査(44)	461	
	血液検査	インフルエンザ(8)	14			理化学的検査(45)	730	
		その他のウイルス(9)	777			生物学的検査(46)	-	
		リケッチア・その他(10)	-		下 水	細菌学的検査(47)	223	
病原微生物の動物試験(11)		106	理化学的検査(48)	596				
原 虫(12)		159	生物学的検査(49)	-				
原虫・寄生虫等	寄 生 虫(13)		-	廃棄物関係検査	し 尿	細菌学的検査(50)	-	
	そ 族 ・ 節 足 動 物(14)		-			理化学的検査(51)	-	
	真 菌 そ の 他(15)		-			生物学的検査(52)	-	
結核	培 養(16)		-	そ の 他(53)			-	
	化学療法剤に対する耐性検査(17)		-	公 害 関 係 検 査	大 気	SO ₂ ・NO・NO ₂ ・O _x ・CO(54)	161	
性病	梅 毒(18)		1,528			浮遊粒子状物質(粉じんを含む)(55)	-	
	り ん 病(19)		-			降 下 ば い じ ん(56)	4,952	
	そ の 他(20)		-			そ の 他(57)	-	
食中毒	病原微生物検査(21)		237	河 川	理化学的検査(58)	804		
	理化学的検査(22)		39		そ の 他(59)	920		
臨床検査	血 液	血液型(23)	-	一 般 環 境	騒 音 ・ 振 動(60)		-	
		血液一般検査(24)	-		そ の 他(61)		896	
		生化学検査(25)	-		一 般 室 内 環 境(62)		-	
		先天性代謝異常検査(26)	-		浴 場 水 ・ プ ー ル 水(63)		543	
		そ の 他(27)	-		そ の 他(64)		302	
	尿 (28)		-		放 射 能	雨 水 ・ 陸 水(65)		-
	便 (29)		-			空 気 中(66)		-
	病理組織学的検査(30)		-			食 品(67)		-
	そ の 他(31)		-			そ の 他(68)		-
	病原微生物検査(32)		2,761			温 泉 (鉱 泉) 泉 質 検 査(69)		3
食品検査	理化学的検査(33)		2,628	家 庭 用 品 検 査(70)		298		
	そ の 他(34)		-	薬 品	医 薬 品(71)		-	
水質検査	水道原水	細菌学的検査(35)	74		そ の 他(72)		-	
		理化学的検査(36)	74	栄 養(73)		-		
		生物学的検査(37)	-	そ の 他(74)		-		

II 業 務 報 告

1. 微生物係

微生物係が昭和61年度に実施した試験検査業務は、食品・環境・公害関係事業計画に基づく食品細菌検査、環境関係及び公害関係の細菌検査と、食中毒苦情等の試験検査、その他一般依頼による各種細菌検査である。

試験検査業務と検査件数を表1に示す。

1) 食品細菌

昭和61年度に当所において実施した細菌検査、件数等は表4に示すとおりである。

表1. 検査件数

区分	依頼別	計	行政依頼		一般依頼
			保健所	その他*	
総計		4,031	2,672	1,128	231
食品	計	2,722	2,491		231
	食品	2,129	1,898		231
	食中毒・苦情	593	593		
環境	計	181	181		
	専用水道水	9	9		
	プール水	33	33		
	公衆浴場水	75	75		
	おしぼり等	64	64		
公害	計	1,128		1,128	
	河川水	629		629	
	海水	136		136	
	海水浴場	140		140	
	工場排水	223		223	

※：環境局環境保全部

2) 食中毒・苦情

当所で実施した細菌性食中毒及び苦情（無症苦情10事例18件を含む）は64事例593件であった。食中毒及び有症苦情54事例中病因物質として食中毒菌が検出されたものは15事例で、ブドウ球菌によるものが7件と最も多く、次いで腸炎ビブリオ5件、サルモネラ、ウェルシュ、毒素原性大腸菌各々1件であった。食中毒及び有症苦情については別途資料中に掲載。

3) 環境・公害関係

保健所依頼のプール、公衆浴場、専用水道、おしぼり等（リネン関係）、環境局環境保全部依頼の海水浴場、河川、海水、工場排水等の水質細菌検査を実施した（表2）。

表2. 昭和61年度 環境・公害関係検査件数

区分	資	検	計	一般細菌数	大腸菌群	大腸菌	ブドウ球菌	官能検査
環境	料	数						
	計	181	415	106	181		64	64
	専用水道水	9	18	9	9			
	プール水	33	66	33	33			
	公衆浴場水	75	75		75			
公害	おしぼり等	64	256	64	64		64	64
	計	1,128	1,128		988	140		
	河川水	629	629		629			
	海水	136	136		136			
	海水浴場水	140	140			140		
工場排水	223	223		223				

表3. 昭和61年度 細菌性食中毒発生状況（厚生省報告例）

No.	発生年月日	摂食者数	患者数	死者数	推定原因食品	原因物質(型別)	備考
1	61. 6. 7	159	74	—	ホテルの夕食	ウェルシュ菌(型別不能)	
2	7. 6	102	48	—	鉢盛、タコ酢物	腸炎ビブリオ(K-7, 8, 13, 29, 38, 64)	
3	7.20	10	5	—	おにぎり	ブドウ球菌(コアグラージェ7型, エンテロトキシンA型)	
4	7.30	41以上	6	—	不明	不明	
5	8.14	13以上	13	—	調理パン	ブドウ球菌(コアグラージェ7型, エンテロトキシンB型)	
6	8.19	211以上	41	—	マグロ刺身	腸炎ビブリオ(K-8, 56, 70)	
7	8.21	11以上	9	—	レストラン昼食	“(K-8)	
8	”	8以上	8	—	かしわ弁当	サルモネラ(S. infantis)	
9	9. 9	104	8	—	弁当	腸炎ビブリオ(K-8)	
10	9.20	12	11	—	”	ブドウ球菌(コアグラージェ7型, エンテロトキシンA型)	
11	9.28	3以上	2	—	不明	”(“ 4型, “ A, B, C型)	
12	10. 6	1以上	1	—	”	”(“ 6型, “ A, C型)	
13	10.12	33以上	5	—	おにぎり, 鉢盛	”(“ 6型, “ A, C型)	

表4. 昭和61年度 食品細菌及び食中毒・苦情検査件数

区分	検体名	検体数			検査																				
		計	行	有	計		一般細菌数		大腸菌群		大腸菌		サルモネラ		腸炎ビブリオ		ブドウ球菌		病原大腸菌		ウェルシュ菌		セレウス菌		
総	件数	2,722	2,491	231	10,839		1,687		1,792		101		760		744		1,376		119		483		545		
食	計	2,129	1,898	231	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	
					4,895	457	535	123	1,504	185	78	23	249	13	275	7	746	88			18	1	34	4	
		乳・乳飲料	281	184	97	424	106	72	9	157	97			39			39								
		発酵乳・乳酸菌飲料	35	30	5	60	10			30	5														
		食肉・鯨肉・加工品	138	126	12	500	30	87	4	79	5			120	8	1	2	109	8			2		1	
		鮮魚介類・加工品	174	160	14	402	26	160	14	37	12	44					157						4		
		魚肉練製品	91	91		212		91		91								15							
		弁当・惣菜	398	364	34	1,122	105	364	34	364	33				2		1	361	33				1	33	1
		和洋生菓子	135	133	2	485	5	133	2	133	2				5			133	1						
		氷雪	13	13		26		13		13															
		冷凍食品	88	40	48	80	139	40	44	26	19	14	23		2		4	45							1
		穀類・めん類	81	78	3	156	7	78	2	78	1				1			1							2
		豆腐	107	107		214		107		107															
		アイス・ソフトクリーム類	122	121	1	242	2	121	1	121	1														
		漬物	24	20	4	80	8	20	4		2	20					20								
		めんたい	64	60	4	120	7	60	4	60	3														
		清涼飲料水	125	124	1	248	2	124	1	124	1														
		缶詰	2		2		2																		
	品	液卵・他	66	66		224								66			66								
		淡水魚	19	19		38								19		19									
乳製品		19	19		19				19																
果物		12	12		36		12		12								12								
飲料水		19	5	4	10	8	5	4	5	4															
真空包装食品		12	12		36		12		12													12			
ふきとり		96	96		125		18		18						78		11								
からし		18	18		36		18		18																
		計	593	593		5,487		25		103				498		462		542		119		464		507	
食中毒・苦情		ヒト(便・吐物)	237	237		2,617		3		26				231		214		221		66		212		217	
	食品	174	174		1,678		22		52				160		145		163		27		150		160		
	ふきとり	182	182		1,192				55				107		103		158		26		102		130		

項		目																								
エルシニアエントロコリチカ	カンピロバクター	NAGビブリオ		ビブリオフルビアリス		エロモナスヒドロフィラ		エロモナスソブリア		プレシオモナスシゲロイデス		カビ・酵母		乳酸菌		総菌数		耐熱性菌		抗生物質		クロストリジア		無菌試験		その他
250	421	459		459		449		449		449		103		35		39				100		20		2		1
行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	行	有	
	166		4									101	2	30	5	39				100		20			2	
	39															39				39						
														30	5											
	61		3																	35		5				
																							15			
												81														
			1																							
														20	2											
																										2
	66																				26					
250	251	459		459		449		449		449																1
192	192	211		211		207		207		207																
42	43	145		145		141		141		141																1
16	16	103		103		101		101		101																

2. ウイルス

昭和61年度に実施した試験検査業務は風疹抗体検査、インフルエンザウイルス分離同定及び血清検査、日本脳炎中和抗体測定等で日本脳炎患者は発生がなかった。以下、検査件数、業務概要を述べる。

ウイルス関係検査件数

区分	依頼別	計	行政依頼		一般依頼
			保健所	その他	
総計		798	21	137	640
風疹		640			640
日本脳炎血清検査		137		137	
インフル	ウイルス分離	7	7		
エンザ	血清検査	14	14		

1) インフルエンザ

表1. 施設別発生状況

施設	発生施設数	在籍者数	患者数	欠席者数	休校数	学年閉鎖	学級閉鎖
幼稚園	1	99	49	49	0	0	1
小学校	0						
中学校	0						
高校	0						
計	1	99	49	49	0	0	1

今年度のインフルエンザ様疾患の流行は、1月29日に西区の幼稚園で初発がみられ、患者うがい液からウイルス分離を行った結果、7名中1名からA・H1型インフルエンザウイルスを分離同定した。7名のペア血清について血清学的検査を実施し、7名全員にHI抗体の有意

表2. 分離株の抗原分析結果 (HI)

Antigens	Ferret antisera			
	A/Brazil/11/78	A/Bangkok/10/83	A/Yamagata/120/86 (E5)	A/Yokohama/4/86 (M3,E3)
A/Brazil/11/78	512	128	<32	<32
A/Bangkok/10/83	256	512	<32	<32
A/Yamagata/120/86 (E5)	64	64	2048	1024
A/Yokohama/4/86 (M3,E3)	32	32	2048	1024
A/Fukuoka/C3/87 (E4)	<32	32	512	512
A/Fukuoka/C3/87 (M1,E3)	<32	<32	1024	512

上昇が認められた事から流行を確認した。市内においてその後集団発生の報告はなく、本年度は極めて小流行に終わった(表1)。以下、日本インフルエンザセンターにおける分離株の抗原分析結果を示すが、昨年4月~7月にかけて関東以北で流行してワクチン株に組み込まれた変異株A/山形/120/86株から更に若干変異していることが判明した(表2)。

2) 風疹

今年度における風疹HI抗体検査は640件(含2回検査27件)で、全体の陰性率は49.9%であった(表3)。今回の流行が始まった62年3月頃から受験者が急増した。

表4、図1に過去4ケ年の年齢別の陰性率を示す。

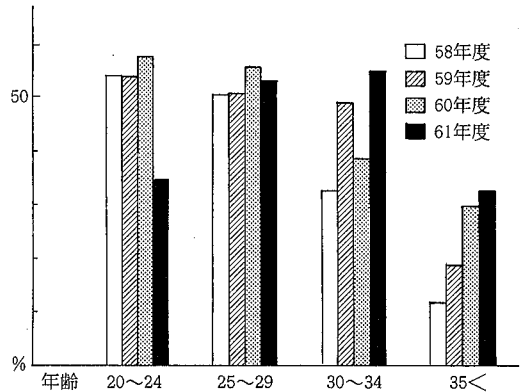
表3. 風疹HI抗体検査状況

	計	受検者数		陰性率
		初回	2回	
計	640	613	27	49.9 (306/613)
一般	638	611	27	50.1 (306/611)
主婦	2	2	0	0

表4. 過去4ケ年間の風疹HI抗体陰性率

年度 年齢区分	58	59	60	61
20~24	53.8	53.6	57.3	34.7
25~29	50.2	50.7	55.3	53.0
30~34	32.3	48.8	38.6	54.3
35<	11.4	18.5	29.4	32.0

図1



3. 臨床検査係

臨床検査係が昭和61年度に実施した試験検査業務は、腸内細菌検査、赤痢アメーバ等の原虫検査、梅毒血清反応、飲料水細菌検査、及び保健所外来検査である。試験検査業務と検査件数を表1検査件数総括表に示した。以下事項別に概要を述べる。

1) 腸内細菌検査

腸内細菌検査は39,628件で内訳は健康診断等の一般依頼3,626件、食品取扱業務従事者を対象とした勸奨検便35,339件、行政依頼による赤痢、チフス等の防疫検便663件であった。表2に保健所別、項目別の件数を示した。これ等の検体からの病原菌検出状況は資料に記載した。

昭和60年度に *Shigella sonnei* による大きな集団発生が2例あったが、これらの菌陽性者の追跡調査を行った。原則として1人につき1ヶ月毎計3回延べ259名について調査をしたが全員陰性で、治療後の再保菌者は発見できなかった。当所では従来より防疫検便ではキャリア・ブリア培地を、一般依頼及び勸奨検便ではプラスチック製採便容器を使用してきた。保健所の窓口を經由して搬送されてくるため検査まで時間を要して、プラスチック製容器では乾燥しているものもみうけられるなど検体として不適当な場合もあった。このため赤痢集団発症の後、衛生局保健予防課と共に、できるだけ検体中の病原菌に影響しない保存・輸送法を検討した結果、現在では最も評価が高いキャリア・ブリア培地を全ての腸内細菌検査にS62年度より採用することにした。

海外旅行者関係では8月に小学生を中心とした韓国訪問団42名の検査から、赤痢等の伝染病原菌は陰性であったが、27名からウェルシュを検出した。

腸チフス・パラチフス菌のフェージ型別依頼(腸チフス調査委員会)は腸チフス6株で、D₂

が2株、M₁が4株であった。

2) 赤痢アメーバ

近年赤痢アメーバが増加している。本年度は接触者等151名の検査を行った。8月には研修のために来日したインド人の一般依頼検査5名のうち1名の検便から赤痢アメーバのシストを検出した。当所では肝膿瘍患者の赤

表1. 検査件数総括表

区分	計	保健所		
		依頼	行政	
計	61,951	50,785	11,166	
細菌・血清	小計	41,307	40,318	989
	腸内細菌	39,628	38,965	663
	その他の細菌	0	0	0
	原虫(赤痢アメーバ)	151	5	146
梅毒血清反応	1,528	1,348	180	
	小計	5,480	5,480	0
飲料水	浄水	4,083	4,083	0
	井戸水	1,328	1,328	0
	その他	69	69	0
小計	20,644	10,467	10,177	
保健所臨床検査	結核菌	165	6	159
	一般検査	18,190	9,458	8,732
	沈沈検査	1,368	97	1,271
	細菌塗抹	8	8	0
	寄生虫	142	142	0
	潜血反応	26	26	0
血液検査	血球計算	106	106	0
	理化学反応	241	228	13
	全血比重	18	18	0
	ABO式血液型	297	296	1
	Rh式血液型	83	82	1

表2. 腸内細菌検査件数(S61年度)

区分	計	東	博多	中央	南	西	城南	早良
総計	39,628	7,338	6,785	5,815	6,483	4,259	2,938	6,010
依頼	小計	38,965	7,238	6,462	5,756	6,451	4,126	5,996
	一般勸奨	35,339	6,617	6,268	4,910	5,338	3,667	5,721
行政	小計	663	100	323	59	32	133	14
	チフス	124		4	5		115	
	赤痢	194	18	128	12	30		6
	海外旅行者	57	7	5	42	2		1
	海外接触者	4	2					2
チフス経過者	25		3			18		4
赤痢経過者	259	73	183					3

痢アメーバ血清診断の依頼が多く、これらについては補体結合反応とゲル内沈降反応の2法で対処している。腸アメーバについても形態学的検査だけでなく、血清学的検査を併用することに努めている。

3) 梅毒

梅毒血清反応検査は1,528件実施した。そのうちわけ

は一般依頼 1,348 件、行政依頼 180 件であった。行政依頼は婚姻 98 件、妊婦 75 件、医療扶助 7 件である。検査は TPHA と STS としてガラス板法、凝集法を行った

表 3. 梅毒血清反応件数 (S 61年度)

検査法	ガラス板法	凝集法	TPHA
計	1,528	1,528	1,528
一般依頼	1,348	1,348	1,348
行 婚 姻	98	98	98
妊 婦	75	75	75
政 医療扶助	7	7	7

表 4. 梅毒血清反応陽性例 (+ : 陽性)

No.	性・年齢	ガラス板	凝集	TPHA	No.	性・年齢	ガラス板	凝集	TPHA
1	F・64	+	+	+	15	F・81	-	-	+
2	F・72	+	+	+	16	F・18	+	-	-
3	F・72	+	+	+	17	F・73	+	+	+
4	M・69	+	+	+	18	F・57	-	-	+
5	F・71	+	+	+	19	F・74	+	+	+
6	M・21	+	+	+	20	M・64	+	+	+
7	F・66	-	-	+	21	F・49	+	+	+
8	F・74	-	-	+	22	F・75	-	-	+
9	M・61	+	-	+	23	M・56	+	+	+
10	F・68	±	-	+	24	F・63	-	-	+
11	M・49	+	-	+	25	F・80	-	-	+
12	F・24	+	-	-	26	F・69	-	-	+
13	F・22	+	-	-	27	F・21	+	-	-
14	F・89	-	-	+	28	F・78	-	-	+

表 6 保健所別外来検査件数 (S 61年度)

区 分	計	東	博 多	中 央	南	西	城 南	早 良	今 宿		
計	20,644	4,826	2,580	3,176	3,060	1,688	2,554	2,570	190		
尿	一般検査	1,890	(成人) 8,732	1,914	1,077	1,405	899	727	1,648	946	116
			(一般) 9,458	2,074	1,281	1,346	1,883	855	669	1,283	67
	沈 渣	1,368	(成人) 1,271	574	98	149	83	22	136	208	1
		(一般) 97	43	10	5	18	2	9	10	0	
	細菌塗抹	8	5	1	0	2	0	0	0	0	
便	寄生虫	142	16	7	58	24	3	14	20	0	
	潜血反応	26	0	3	2	13	3	3	2	0	
血 液	血球計算	106	42	2	8	28	10	7	9	0	
	理化学反応	241	64	10	74	32	16	24	20	1	
	全血比重	18	8	0	5	0	0	2	3	0	
	ABO式血液型	279	42	43	57	43	41	22	46	3	
	R h 式血液型	83	20	9	17	10	4	16	7	0	
結 核 菌	165	24	39	50	25	5	4	16	2		

(表 3)。陽性は計 28 件 (1.83%) で 3 法とも陽性は 11 件 (0.72%)、TPHA のみ陽性 10 件 (0.65%)、ガラス板のみ陽性 4 件 (0.26%)、凝集反応のみ陽性は 0 件、TPHA とガラス板のみ陽性 3 件 (0.2%) であった (表 4)。年齢別では 3 法とも陽性者 11 件のうち 1 件が 21 才で、10 件は 49 才以上であった。TPHA のみの陽性者は全員 57 才以上である一方、ガラス板のみ陽性者は全員 24 才以下と対照的な結果を示した。

4) 飲料水の細菌検査

飲料水の依頼検査は井戸水 4,083 件、浄水 1,328 件、その他 69 件であり (表 5)、井戸水の依頼検査では一般家庭とボーリング業者からの依頼及び下水道工事のための事前調査等の依頼で、浄水の依頼検査は主として「建築物における衛生の確保に関する法律」に基づくものであった。

5) 保健所外来検査

表 5. 飲料水細菌検査件数 (S. 61年度)

区分	計	井戸水	浄水	その他
保健所				
計	5,480	4,083	1,328	69
東	533	411	118	4
博 多	368	277	84	7
中 央	846	108	686	52
南	1,834	1,588	245	1
西	648	620	28	0
城 南	407	362	42	3
早 良	844	717	125	2

6保健所（東，博多，中央，南，西，早良），1保健出張所（城南），1保健相談所（今宿）へ一般健康診断と成人病健康診断のため出向した。出向は相談所は隔週，保健所及び出張所は週2回の午前中各1名である。表6に各保健所での外来検査件数を示す。結核菌の培養は保健所で行い，同定は当所で実施した。合計160件より，6名から人型結核菌を分離した。

4. 衛生化学係

当係では，検査業務として，事業計画に基づく食品収去検査，衛生行政研究協議会食品部会の調査研究（各保健所等が実施）に伴う検査，食中毒・苦情に対する化学検査，家庭用品検査，一般依頼検査および油症対策関連の血中PCB，PCQ検査等を実施した。

調査研究業務として，食用タール色素やパラオキシ安息香酸エステル類などの食品添加物の簡易定量法の検討，小麦粉からの残留農薬抽出法，コレステロールを指標としたアイスクリーム脂肪量の推定法の検討等の研究をおこなった。また，健康づくり財団から全国地方衛生研究所全国協議会への委託研究「表示栄養成分の分析法と摂取量に関する研究」の食物繊維分析法の検討にも参加した。

情報提供・解析業務として，パーソナルコンピューターを用いた検査成績処理システムの開発に取り組み，保健所等への成績書送付の迅速化ならびに調査データのディスクケットへの収納化をおこなった。また，例年のごとく，国立衛生試験所「汚染物質研究班」による「食品汚染物質モニタリング集計」に残留農薬，重金属等のデータを提供した。

研修・指導業務として，食品販売業者の検査室職員への技術指導，栄養士課程学生への研修指導を実施した。

以下，各業務の内容を述べる。

1) 検査業務

表1. 検査検体数総括

検体名	計	区分	
		行政	一般
計	3,005	2,535	470
小計	2,707	2,237	470
食品	2,240	2,131	109
食品添加物	342	8	334
衛生器具・容器包装	59	59	
食中毒・苦情	39	39	
血中PCB等	27		27
家庭用品	298	298	

行政依頼および一般依頼検査業務の総括を表1に示した。

(1) 食品衛生検査

① 行政収去検査

食品衛生化学の行政収去検査のまとめを表2に示した。食品中の添加物検査では保存料，甘味料，殺菌料，酸化防止剤，合成着色料，漂白料，発色剤，プロピレングリコールなどの検査を実施した。

食品添加物以外では，清涼飲料水，乳および乳製品，器具・容器包装・おもちゃ等の成分規格検査，油化学検査，調理済鮮魚介類の鮮度（VBN）検査，異物検査のほか，重金属，PCB，残留農薬，抗菌剤等の検査をおこなった。これらのまとめを表3～6に示した。

昭和61年度の食品収去検査結果の特徴として，合成抗菌剤（ナイカルバジン，クロピドール）が鶏肉・鶏卵から検出された違反例が多かったこと，ソルビン酸，プロピレングリコール，SO₂等の添加物の不正使用または過量使用違反が例年より多かったことなどがあげられる。（食品化学違反関連検査結果のまとめは「資料」に掲載）

また，東京都で問題となりマスコミ等に大きくとりあげられた食肉へのニコチン酸の不正使用の監視検査を食肉および魚肉約100件に対し実施したが不正使用したものは発見されなかった。

② 一般依頼検査及び製造検査

教育委員会，学校給食センターからの有料依頼検査，かんすいの製品検査等443検体につき検査を実施した（表7）。

③ 食中毒・苦情関係化学検査

食中毒・苦情関係の化学検査を13事例に対して実施した。その結果については「資料」に記載した。

④ 血中PCB等検査

油症対策関連検査として27名の血液につきPCB（27件）およびPCQ（4件）の検査を実施した。その結果は「資料」に記載した。

(2) 家庭用品検査

繊維製品を主に，計298検体について実施したが，違反例はなかった。まとめを表8に示した。

2) 検査以外の業務

調査研究業務および情報解析・提供業務として実施して得られた結果は「調査研究」に掲載した。

また，全国地研協議会共同研究「食物繊維分析法の検討」に参加して行った結果は「資料」に記した。また，全国衛生化学技術協議会精度管理として「清涼飲料水」の分析を実施した。

研修指導業務のまとめを表9に示した。

表2 食品等行政収去検査

	検 体 数	項 目 数	保 存 料						過 酸 化 水 素	甘 味 料		酸 防			合 成 着 色 料
			ソ ル ビ ン 酸	デ ヒ ド ロ 酢 酸	安 息 香 酸	パ ラ オ キ ン 安 息 香 酸	プ ロ ピ オ ン 酸	そ の 他		サ ナ ツ ト カ リ ウ ム	そ の 他	B H A	B H T	エ リ ソ ル ビ ン 酸	
計	2198	12960	830	349	345	244	40	8	89	428	10	167	167	55	196
魚 介 類	18	53													
冷 凍 食 品	0														
乾 製 品	30	114										30	30		
塩 蔵 品	8	10							7						1
魚 練 り	98	211	98	1	1					91					11
めんたい	175	385													4
むきえび	10	10													
漬 物	5	14	5							4					4
海 藻 加 工 品	10	21	1		1	1				1					
そ の 他	16	181	16	15	15	90				15					15
食 肉 製 品	109	413													
食 肉 製 品	55	165	55	1	1					2					
鯨 肉 製 品	66	165										39	39		
卵	53	240													
加 工 品	7	7													
乳 製 品	82	1302							19						
乳 製 品	69	373	40	40	35		21					19	19		
乳 類 加 工 品	24	146	14	14	3				21						2
アイスクリーム	23	98								2					6
穀 類	34	627													
め ん 等	145	177									9				
そ の 他	50	74	24	24			19		40						
野 菜 果 実	118	2676												17	
漬 物	69	174	68	2	2					42				1	38
加 工 品	111	281	70	24	21					23				4	6
豆 類	16	186													
あ じ 工 品	23	71	23	10						6					9
茶	1	1													
茶	30	570													
生 菓 子	77	170	64	44	44					2					3
油 菓 子	20	63													9
そ の 他	27	65	9	8	8					1					24
清 涼 飲 料	137	2165	56	56	83	70				58				33	31
酒 精 飲 料	27	52	26												
缶 詰 品															
調 味 料	145	544	81	46	83	83				87		3	3		1
油 脂	61	232	34	33	15							59	59		
惣 菜	62	143	58	10	14					23					22
煮 豆 佃 煮	12	22	12							7					1
フラーペースト	21	104	21	17	15					14		17	17		3
蜂 蜜	5	15													
健 康 食 品	14	137													
珍 味	55	171	54	4	4					50					6
添 加 物	8	17	1								1				
器 具 容 器 包 装	29	112							2						
お も ち ゃ	30	167													
そ の 他	1	2													
真 空 包 装 食 品	12	34													

亜硫酸塩	発色剤		プロピレングリコール	アスコルビン酸塩	防ばい剤 OPP D P TBZ	ニコチン酸アミド	その他添加物	一般理化学	成分・規格検査	乳理化学	油化学	鮮度試験	異物検査	重金 属	P C B	残留農薬	合成抗菌剤	フェオホルバイド	その他
	亜硝酸塩	硝酸塩																	
310	289	289	159	51	68	107	83	274	740	468	102	28	35	1641	178	4473	539	32	166
17						18													18
10	1 175	1 175	1					2	18		36								6 4
8			1				15	1				27							
23	53 32	53 32				81									51		204		77
7															53		187		
								42 20 24	1 24 34	323 67 44 34				70	64 10	721	133		10 22
3			105				2	21	42					126		459			
73				14			44							2					
7				1				13						289		2239			
53				3	68														9
17													1			180			6 6
																570			
8								5											
15									20		34								
				33			1	84	432					924		304			
24	1	1																	
33	25	25	2			1		27	3				32	5				4	
9						3		1											3
2						1								108		15		28	
1	1	1	50			3			3			1		1					5
									54					56					
									107					60					
									2										
								34											

表3. 残留農薬検査

	計	乳及び加工品	米	青果物	豆類	茶及び健康茶	ウーロン茶	小麦粉類	苦情
検体数	188	57	14	34	10	30	16	25	2
項目数	4515	721	294	2239	180	570	304	165	42
α-BHC	142	26	14	34	10	30	16	10	2
β-BHC	173	57	14	34	10	30	16	10	2
γ-BHC	142	26	14	34	10	30	16	10	2
δ-BHC	142	26	14	34	10	30	16	10	2
T-DDT	1038	342	84	204	60	180	96	60	12
エンドリン	142	26	14	34	10	30	16	10	2
キャプタン	34			34					
キャプタホール	34			34					
アルドリン	173	57	14	34	10	30	16	10	2
ディルドリン	173	57	14	34	10	30	16	10	2
ジコホール	82			34		30	16		2
クロルベンジレート	36			34					2
EDB	25							25	
TPN	34			34					
α-ベンゾエピン	60	26		34					
β-ベンゾエピン	34			34					
ベンゾエピンスルフェート	34			34					
ヘプタクロール	34			34					
ヘプタクロールエポキシド	60	26		34					
PCNB	60	26		34					
HCB	60	26		34					
CPCBS	34			34					
ピンクロゾリン	34			34					
EPN	106		14	34	10	30	16		2
クロルピリホス	34			34					
T-クロルフェンビンホス	68			68					
ジクロルボス	36			34					2
ジメトエート	34			34					
ダイアジノン	106		14	34	10	30	16		2
パラチオン	116		14	34	10	30	16	10	2
フェニトロチオン	106		14	34	10	30	16		2

	計	乳及び加工品	米	青果物	豆類	茶及び健康茶	ウーロン茶	小麦粉類	苦情
フェンチオン	48		14	34					
フェントエート	48		14	34					
ホサロン	34			34					
マラチオン	58		14	34	10				
メチダチオン	34			34					
エチオン	34			34					
ジアリホール	34			34					
ピリダフェンチオン	34			34					
シアノフェンホス	34			34					
イソキサチオン	34			34					
サリチオン	34			34					
CYAP	34			34					
ピリミホスメチル	34			34					
プロチオホス	34			34					
ジメチルビンホス	34			34					
クロルピリホスメチル	34			34					
メチルパラチオン	34			34					
ECP	34			34					
PMP	34			34					
CVMP	34			34					
IBP	34			34					
EDDP	34			34					
NAC	96		14	34		30	16		2
BPMC	34			34					
MIPC	34			34					
PHC	34			34					
XMC	34			34					
MTMC	34			34					
MPMC	34			34					
水酸化トリヘキシルスズ	29			29					

表4. 重 金 属 検 査

検 体 名	検体数	項目数	As	Pb	Cd	Fe	Mn	Cu	Zn	Sn	Ni	Ti	Ca	Na	K	Br
計	316	1,687	260	288	247	164	158	158	158	175	29	1	12	6	6	25
果 実	45	289	45	45	34	34	34	34	34	29						
健 康 食 品	14	108	14	14	14	13	13	13	13	1	13					
清 涼 飲 料 水	145	924	145	145	145	86	86	86	86	145						
米	14	126	14	14	14	14	14	14	14		14					14
育 粉	10	70	10	10	10	10	10	10	10							
器具・容器包装	28	56		28	28											
おもちゃ	30	60	30	30												
そ の 他	30	54	2	2	2	7	1	1	1	2	1	12	6	6	11	

表5. 昭和61年度 PCB検出結果

検体名	検体数	検出範囲 (ppb)
生 乳	39	0.1 ~1.5
牛 乳	25	0.1 ~0.5
調製粉乳	10	0.2 ~1.1
鶏 肉	29	0.3 ~9
牛 肉	13	0.08~3
豚 肉	5	0.2 ~2
馬 肉	1	0.3
マトン	3	0.07~0.2
鶏 卵	53	0.8 ~9

表6. 合成抗菌剤検査

	計	輸入肉	鶏 肉	鶏 卵	乳	はちみつ
検 体 数	143	23	28	53	39	5
項 目 数	539	78	126	187	133	15
スルファモノメトキシ	12	7				5
スルファジメトキシ	12	7				5
スルファキノキサリン	12	7				5
スルファメラジン	7	7				
スルファチアゾール	7	7				
ナイカルバジン	82	1	28	53		
クロピドール	81		28	53		
アンプロリウム	28		28			
クロラムフェニコール	63	16			47	
チアンフェニコール	63	16			47	
カルバドックス	5	5				
オラキンドックス	5	5				
テトラサイクリン	54		14	27	13	
クロルテトラサイクリン	54		14	27	13	
オキシテトラサイクリン	54		14	27	13	

表7. 依頼検査

	検 体 数	項 目 数	保 存 料					サ ッ カ リ ン	B H T	亜 硫 酸 塩	亜 硝 酸 塩	プロピレングリコール	そ の 他 添 加 物	一 般 理 化 学 検 査	成 分 ・ 規 格 検 査	鮮 度 試 験	重 金 属
			ソ ル ビ ン 酸	デ ヒ ド ロ 酢 酸	安 息 香 酸	パ ラ オ キ シ 安 息 香 酸	プ ロ ピ オ ン 酸										
計	443	494	41	8	6	10	8	18	8	7	16	1	11	16	334	1	9
魚介類加工品	乾 製 品	2	2						2								
	魚 ね り	8	11	8				3									
	め ん た い	2	3											2		1	
	漬 物	3	5										2	3			
	そ の 他 加 工 品	9	12	1									3	8			
肉類及びその加工品	食 肉	4	4										4				
	食 肉 製 品	12	21	5							16						
乳	製 品	5	13	4	5		3		1								
穀類及びその加工品	穀 類	1	2										2				
	め ん	1	1									1					
	そ の 他 加 工 品	1	1							1							
野菜果実及びその加工品	野 菜 ・ 果 物	2	2							2							
	漬 物	3	6	3				3									
	そ の 他 加 工 品	1	1	1													
生 菓 子	7	7					5							2			
清 涼 飲 料 水	6	6															6
酒 精 飲 料	2	4	2							2							1
か ん び ん 詰	1	1															1
その他の食品	調 味 料	19	32	2		4	10		11		2			1			2
	油 脂	7	12	2	3	2				5							
	煮 豆 ・ 佃 煮	4	5	4					1								
	フ ラ ワ ー ベ ー ス ト	3	3	3													
	ジ ャ ム	6	6	6													
か ん す い	334	334												334			

表8・家庭用品検査

	検 体 数	検 査 項 目 数	樹加工 脂剤		防加工 虫剤		防加工 炎剤			抗防 かび 菌剤		噴射 剤	溶 剤	酸	アル カリ	溶 剤	洗 浄 剤		
			ホル ム	アル デヒド	デ イ ル	D T B	A P O	T D B P P	B D B P P	T P T	T B T	有 機 水 銀 化 合 物	塩 化 ビ ニ ル	メ タ ノ ー ル	塩 化 水 素 ・ 硫 酸	水 酸 化 カ リ ・ 水 酸 化 ナ ト リ ウ ム	テ ト ラ ク ロ ロ エ チ レ ン	ト リ ク ロ ロ エ チ レ ン	
			生 後 二 四 月 以 内	以 外	ド リ ン														
試験検査件数合計	298	607	127	91	12	10		29	30	142	102	44	8	8			2	2	
基準違反件数合計	0																		
織 維 製 品	おしめ	32	72	32						16	16	8							
	おしめカバー	32	72	32						16	16	8							
	よだれ掛け	8	20	8						4	8								
	下着	124	262	24	68					98	52	20							
	中衣	9	11	5		4	2												
	外衣	6	10	2		4	4												
	手袋	6	12	2	4						2	4							
	くつ下	8	16	4	4					2	2	4							
	たび	2	2		2														
	帽子	4	4	4															
	衛生バンド																		
	衛生パンツ	6	12								6	6							
	寝衣	26	48	7	13				14	14									
	寝具	19	34	7					13	14									
床敷物																			
カーテン	2	4						2	2										
家庭用毛糸	4	8			4	4													
家庭用接着剤																			
かつら等の接着剤																			
家庭用塗料																			
家庭用ワックス																			
靴墨・靴クリーム																			
家庭用エアゾル製品	8	16										8	8						
住宅用洗剤																			
家庭用洗剤	2	4															2	2	

表9. 研修指導・見学者一覧(衛生化学係分)

No.	研修者	人員数	研修内容	期間
1	福岡市食品衛生協会検査員	1	食品添加物・VBN等検査	61. 6.16~21
2	福岡女子大栄養士課程学生	20	食品衛生化学概説	61. 7.17
3	(学法)原看護専門学校学生	54	〃	61. 9.26~10.30計6回
4	(株)サニー商品試験室職員	3	油化学検査・栄養成分分析法	62. 1. 5~2.21
5	京都市衛生研究所職員	1	抗菌性物質検査法	62. 1.23
6	福岡市食品衛生協会検査員	1	かんすい検査法・栄養分析法	62. 2.16~3.20
7	(財)日本冷凍食品検査協会 福岡検査所職員	1	液クロによる各種栄養成分の分析法	62. 2.16~2.20
8	福岡女子大栄養士課程学生他	10	食品衛生化学概説	62. 3. 5
	計	91		

5. 環境化学係

環境化学係においては、行政部門(主として公害行政を担当している環境局環境保全部)からの依頼により、環境保全行政推進上の柱である環境汚染状況の把握や、公害関係特定事業場の規制のため、大気、悪臭、水質及び底質についての検査を行った。また、トリクロロエチレン等の有機塩素化学物質による汚染実態調査として、事業所周辺井戸調査、河川水質調査、工場排水水質調査、暫定基準超過井戸の追跡調査を行った。この他、保健所からの依頼により、衛生行政上必要な検査である専用水道の水質調査、浴場水、プール水、クリーニング所の排水、し尿浄化槽放流水の検査を行った。また保健所を通じて一般市民からの依頼による飲料水の検査を年間約6000件ほど行った。

調査研究業務としては、底生動物による瑞梅寺川の水質評価のための調査、1,1,ジクロロエチレン及び1,2,ジクロロエタンの簡易定量法の検討、河川水のゲルクロマトグラフィーによる分子量分布の検討、環境庁委託業務として「水質分析方法検討試験(塩素化炭化水素類の測定方法の検討)」を行った。

1) 検査業務

(1) 大気

大気については、降下ばいじん、硫酸酸化物、重油中の硫黄分の測定を行った。この他SO_x計、NO_x計、O_x計用の試薬の調製、オゾン発生装置の発生量検査、NO_x計静的校正時の標準液の調製を行った。

① 降下ばいじん、硫酸酸化物

検体は、市役所屋上等14ヶ所で、毎月、降下ばいじんはデポジットゲージ法により、硫酸酸化物はPbO₂法(シェルターの形状は長谷川型)により採取したものである。

測定項目は、降下ばいじんについては、捕集総量、降

じん総量、不溶解性物質(総量、タール性物質、タール性以外の可燃性物質、灰分)、溶解性物質(総量、灰分、強熱減量)、pH、硫酸イオン、塩化物イオンである(図1,表1)。

② 重油中硫黄分

検体は、環境週間及び燃料規制期間中に採取したものである(表1)。

③ その他

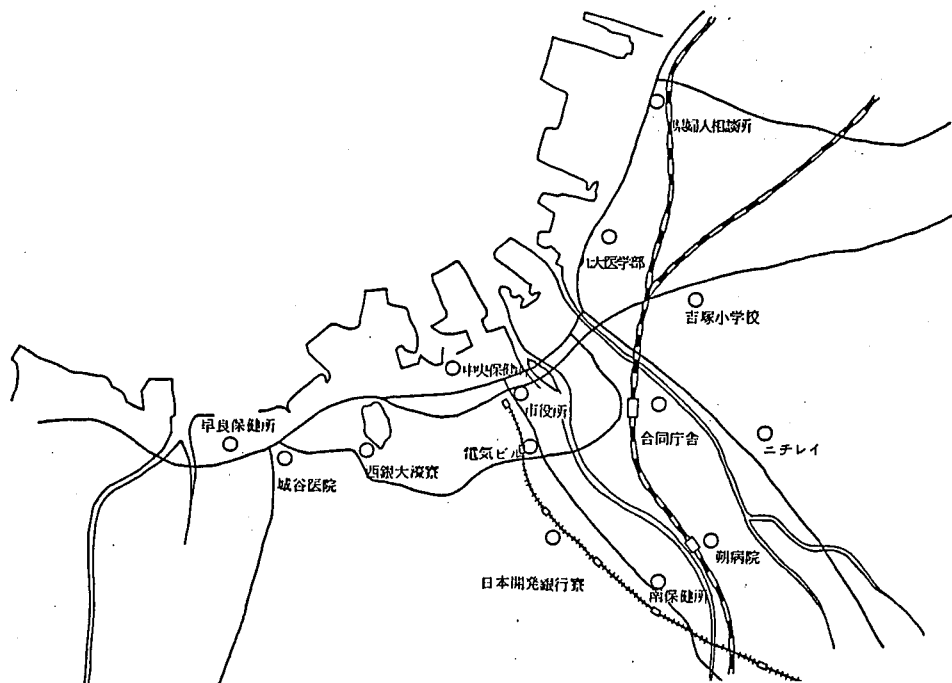
苦情による降下ばいじんの調査を一地点について一年間行った。

表1 大気検体数

区分	検体数
計	468
降下ばいじん	163
PbO ₂ 法による硫酸酸化物	161
重油中硫黄分	144

(2) 悪臭

検体は、畜産農業、飼料、肥料製造工場、食品製造工場、その他の製造工場、サービス業その他の合計16事業所で採取したものである。この他、苦情による汚泥肥料製造工場、産業廃棄物処理業の埋立場の調査を行った。



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
合同庁舎	40	〃
朔病院	10	〃
電気ビル	25	〃
城谷医院	12	〃

測定点名	地上高さ(m)	用途地域
市役所	35	商業地域
九大医学部	14	住居地域
南保健所	8	〃
西銀大濠寮	15	〃
県婦人相談所	6	〃
早良保健所	6	住居専用地域
日本開発銀行寮	15	〃

図1. 降下ばいじん、硫黄酸化物測定点位置図

表2 悪臭物質調査状況

業務区分	調査事業場数	調査件数	調査項目数	物質別調査件数						
				アンモニア	メチルメルカプタン	硫化水素	硫化メチル	二硫化メチル	トリメチルアミン	
計	17	83	284	83	40	40	40	40	41	
畜産農業	養豚業	4	8	48	8	8	8	8	8	8
	養鶏業	4	8	48	8	8	8	8	8	8
	養山羊業	1	1	6	1	1	1	1	1	1
酪農業	1	2	12	2	2	2	2	2	2	
飼料・肥料製造工場	汚泥肥料製造工場	1	25	55	25	6	6	6	6	6
食品製造工場	畜産食品製造工場	1	2	12	2	2	2	2	2	2
	アン類製造工場	1	2	8	2	1	1	1	1	2
その他の製造工場	非鉄金属製造工場	1	4	14	4	2	2	2	2	2
サービス業その他	廃棄物処理業	1	4	24	4	4	4	4	4	4
	と畜場	1	2	12	2	2	2	2	2	2
	その他	1	25	45	25	4	4	4	4	4

(3) 水 質

水質については、環境基準類型指定の市内 12 河川及び博多湾並びに類型指定のない 7 小河川の状況の測定を行うとともに、水質汚濁防止法に定める特定事業場の排水の状況の測定等を行った。またこの他海水浴場の水質についても実態調査を行った（図 2，表 4，表 5）。

① 河 川

那珂川等 13 河川については、調査地点 23 地点で毎月、1 日 2 回採水、その他の 6 河川については調査地点 6 地点で年 4 回四季に 1 日 1 回採水した検体について水質調査を行った。また東部小河川の香椎橋、御島橋、第一寺島橋、浜田橋の 4 地点で 8 月と 2 月に通日採水調査を行った。

検査項目は、環境基準に係わる項目及びその他 11 項目を行った。

② 博多湾

博多湾については、環境基準点 9 地点で毎月 1 回、表層、中層、底層で採水し、その他 3 地点で年 4 回四季に採水し調査を行った。

検査項目は、環境基準に係わる項目及びその他 15 項目を行った。

③ 海水浴場

海水浴場 7 箇所について、シーズン前とシーズン中に調査を行った。

④ 事業場排水

検体は、水質汚濁防止法に定める特定事業場において年 2 回採取したものである。

また、トリクロロエチレン等の有機塩素系化学物質による地下水汚染防止対策の一環として「トリクロロエチレン等の排出に係る暫定指導指針」に基づき、事業所に対して当該化学物質の適正な使用、管理、排水対策及び廃棄物の適正な処理の指導が行われ、クリーニング所の排水を含め、実態調査のための検査を行った。

⑤ 地下水汚染に関する調査

トリクロロエチレン等の有機塩素系化学物質による地下水汚染の防止について、水道法の「暫定水質基準」を超えた井戸の周辺井戸の調査及び事業所周辺の井戸の調査を行った。

⑥ そ の 他

環境水中のクロルデン類の調査を博多湾で 5 地点、河川で 8 地点について年 1 回行った。その他苦情等による水質の調査を 62 検体、延項目で 369 件の調査を行った。

(4) 底 質

底質については、水質汚濁との関連から、河川及び博多湾の状況の測定を行った（図 2，表 6，表 7）。

① 河 川

検体は、市内 9 河川 10 地点において年 1 回 8 月に採取したものである。

測定項目は、pH、COD、含水率、強熱減量、硫化物、T-C、T-N、T-P、有機りん化合物、シアン、アルキル水銀、総水銀、カドミウム、鉛、クロム（6 価）、総クロム、砒素、PCB である。

② 博多湾

検体は、9 地点において年 1 回 7 月に採取したものである。

測定項目は河川と同じである。

③ そ の 他

クロルデン類の調査を博多湾で 5 地点、河川で 8 地点について行った。その他苦情による底質の調査を 4 検体、延項目で 8 件の検査を行った。

(5) 環境衛生関係

保健所からの依頼による専用水道水、プール水、浴場水、し尿浄化槽放流水の検査を行った。この他、保健所を通じて一般市民からの依頼による飲料水の一般理化学検査（10 項目）、単項目検査、防錆剤の検査およびトリクロロエチレン、テトラクロロエチレンの検査を行った（表 3）。

表 3. 環境衛生関係検体総括表

検 体 名	計	区 分	
		行政	一般
計	6,595	581	6,014
一般飲料水	5,799	145	5,654
飲料水単項目	263	0	263
防 錆 剤	73	0	73
有機塩素系	9	0	9
プ ー ル 水	305	305	0
浴 場 水	129	129	0
浄化槽放流水	17	2	15

2) 調査研究

(1) 底生水生昆虫による瑞梅寺川水系の水質評価のための調査。

(2) 1,1-ジクロロエチレン、1,2-ジクロロエタンの定量の検討。

(3) 河川水のゲルクロマトグラフィーによる分子量分布の検討。

(4) トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタンの分析法の検討。（環境庁委託業務）

図2. 河川・博多湾水質底質調査地点

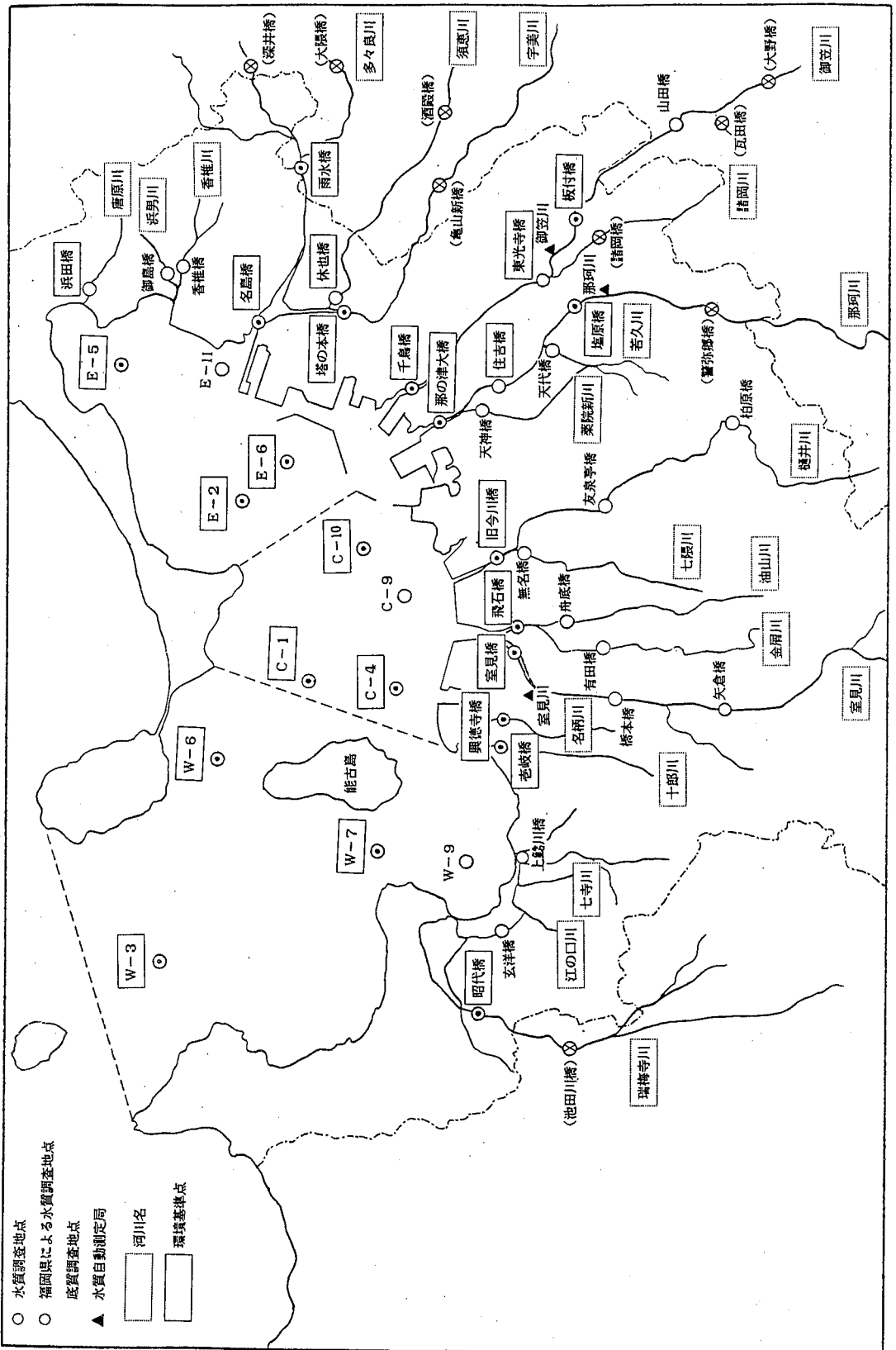


表4 水質検体数

区 分	検 体 数
計	1,837
河 川	753
博 多 湾	494
特 定 事 業 場	360
そ の 他	230

表6 底質検体数

区 分	検 体 数
計	36
河 川	18
博 多 湾	14
そ の 他	4

表5 水質項目別検査件数

項 目	計	河 川	博 多 湾	特定事業場	そ の 他
計	15,753	6,928	6,464	1,497	864
pH	1,592	741	494	315	42
DO	1,133	741	354		38
BOD	1,038	741		283	14
COD	589		476	72	41
SS	1,359	741	336	253	29
n-ヘキサン抽出物質	180		120	60	
カドミウム	112	17	9	70	16
シアン	124	17	9	82	16
有機りん化合物	58	17	9	16	16
鉛	105	17	9	63	16
六価クロム	110	17	9	68	16
ひ素	101	17	9	59	16
総水銀	86	17	9	44	16
アルキル水銀	34	17	9		8
PCB	34	17	9		8
フェノール	3			3	
銅	10			10	
亜鉛	10			10	
鉄	13			10	3
マンガン	3			3	
総クロム	11			11	
ふっ素	7			7	
塩化物イオン	1,218	705	482		31
総窒素	767	415	336		16
アンモニア態窒素	650	311	336		3
亜硝酸態窒素	647	311	336		
硝酸態窒素	647	311	336		
溶解性有機態窒素	336		336		
不溶解性有機態窒素	336		336		
有機態窒素	311	311			
総りん	767	415	336		16
りん酸態りん	647	311	336		
溶解性有機態りん	336		336		

不溶性有機態りん	336		336		
有機態りん	311	311			
けい酸	336		336		
クロロフィルa	336		336		
四塩化炭素抽出物質	48		48		
MBAS	185	164	21		
TOC	164	164			
トリクロロエチレン	192	6		18	168
テトラクロロエチレン	202	6		28	168
1, 1, 1, トリクロロエチレン	177	6		12	159
オキシクロルデン	21	16	5		
トランス-クロルデン	21	16	5		
シス-クロルデン					
トランス-ノナクロル	21	16	5		
その他金属	4				4
その他農薬	4				4

表7 底質項目別検査件数

項 目	計	河 川	博 多 湾	そ の 他
計	402	212	182	8
pH	23	10	9	4
COD	19	10	9	
含水率	19	10	9	
強熱減量	23	10	9	4
硫化物	19	10	9	
T-C	19	10	9	
T-N	19	10	9	
T-P	19	10	9	
カドミウム	19	10	9	
シアン	19	10	9	
有機りん化合物	19	10	9	
鉛	19	10	9	
六価クロム	19	10	9	
ひ素	19	10	9	
総水銀	19	10	9	
アルキル水銀	19	10	9	
PCB	19	10	9	
総クロム	19	10	9	
オキシクロルデン	13	9	5	
トランス-クロルデン	13	8	5	
シス-クロルデン	13	8	5	
トランス-ノナクロル	13	8	5	

Ⅲ 調 査 研 究

福岡市における5歳未満児の日本脳炎中和抗体保有状況

馬場純一¹・松隈慶子¹・佐藤泰敏¹・楠本五郎²
中川由子³・笠 珙子³・西岡和男⁴

Distribution of Neutralizing Antibodies to Japanese Encephalitis Virus in Underfives in Fukuoka City

Jun-ichi BABA, Keiko MATSUGUMA, Yasutoshi SATO
Goro KUSUMOTO, Yoshiko NAKAGAWA, Kyoko RYU
Kazuo NISHIOKA

1986年9月16日～12月25日の期間に採取された5歳未満の137名の血清について自然感染の有無を調査する目的で、野生株を含む日本脳炎ウイルス(JEV)3株に対する中和抗体保有状況を調査したところ次の結果を得た。

1. 17/137名(12.4%)が10倍以上の抗体を保有していた。年齢別では、0歳児21.4%、1歳児3.6%、2歳児陽性者なし、3歳児6.9%、4歳児30.8%であり、極めて低い保有率であった。ちなみにHI抗体陽性率は8.8%であった。
2. 中和抗体陽性者17名のうち9名は3歳以上のワクチン接種者であったが、他の8名は未接種者で3歳の1名を除きすべて1年3ヶ月以下の小児であった。0歳児5名はすべて5ヶ月以下であり、母乳による移行抗体と輸血による保有が考えられ、11ヶ月及び1年3ヶ月児の2名は輸血並びにglobulin製剤投与による保有と思われる。更に、3歳10ヶ月の1例(ワクチン未接種者)はワクチン株である中山一予研株等に対して40倍程度の抗体を保有していたが、野生株に対する抗体を保有していない事から自然感染とは推定し難く、今回の調査では自然感染と思われる例は認められなかった。

Key words : 日本脳炎ウイルス Japanese encephalitis virus, 中和抗体 neutralizing antibody, 5歳未満児 underfives

I はじめに

我国における日本脳炎(以下JEと略)患者発生は、1966年に最高を記録したが、1968年以降は急激に減少の一途をたどり、1972年以降100名以下となり、ついに1977年には微か4名の発生で最低を記録した¹⁾。

しかし、その翌年一時的に増加がみられたものの1980年以降は20～30名にとどまっている状態である。これらの約半数は九州の患者である。当市においても1972

年以降明らかに減少が認められ、1979年における4名の発生を除きここ10数年間は0～1名の発生状況である。

人の免疫度においてはJE流行予測事業等による感受性調査結果から分かるように、ワクチン接種率の高い6歳以上の年齢層ではワクチン接種の有無により異なるが80～100%の中和(以下Nと略)抗体を保有している。

5歳未満の低年齢層では30～50%程度の低い保有率であり地方によりかなりの相違が認められ^{2,3,4)}ワクチン接種率の低下と共に感受性者の増加が予想される。このような現象を反映するように近年低年齢層の患者発生が問題となっている⁵⁾。そこで、この度5歳未満の年齢層において自然感染がどれ位あるかを調べる目的で、1985年夏に蚊から分離された野生株を含むJEV3株

1. 福岡市衛生試験所 微生物課
2. " (現所属 環境局環境保全部長)
3. 福岡市衛生局保健部予防課
4. 福岡市衛生局保健部長

に対するN抗体保有状況を調査したので報告する。

II 材料及び方法

1. 被検血清

表1に示すように市立こども病院・感染センターにて1986年9月16日～12月25日の期間に採取された0～4歳児137名の血清を調査対象とした。

表1 中和抗体調査数

年齢 性別	0	1	2	3	4	計
男	16	18	18	13	14	81
女	12	10	8	16	12	56
計	28	28	26	29	26	137

2. 抗体測定法及び使用抗原

1) N抗体価

7.5% HCS加MEM (日水製薬) にて培養したニワトリ胎児 (CE) 初代細胞を使用した50% ブラック減少法 (流行予測調査検査術式)⁶⁾ にて測定した。N抗体価は10倍以上を陽性とし、個人票記載抗体価 (5 × 2ⁿ) で表示処理した。使用抗原は次の3株を使用した。

- ① 中山-予研株: Ad29, Sm11及びCE 3代継代ウイルス
- ② JaGAR 01株: Sm9代継代ウイルス
- ③ JaFAR 3085株: Sm2及びCE 3代継代ウイルス (福岡県衛生公害センター分与蚊由来野生株)

2) HI抗体価

Clarke & Casals 予研変法 (流行予測調査検査術式)⁷⁾ により Micro titer 法にて測定した。抗原は JaGAR 01株を使用した。

III 結 果

N抗体陽性者は表2に示すように137名中17名(12.4%)で極めて低い状況であり、中山-予研株に対する抗体で代表される。夫々のウイルス株別でみると、中山-予研株では17名(12.4%)、JaGAR 01株では13名(9.5%)、JaFAR 3085株では6名(4.4%)が陽性を示し、中山-予研株に対して最も高

い抗体価と保有率を示した。野生株である JaFAR 3085株に対しては最も低く、JaGAR 01株に対しては中間的であった(表2, 3)。

年齢別の保有状況は0歳児で21.4%、1歳児で3.6%、2歳児では陽性者なし、3歳児で6.9%、4歳児で26.9%であった。特に、1～3歳層で低かった。

次に、N抗体陽性者17名についてワクチン接種、未接種別にJEV3株に対する保有状況をみると、表4に示すようにワクチン株である中山-予研株に対してはワクチン接種の有無に関係なく保有がみられた。

JaGAR 01株に対してはワクチン接種群では中山-予研株とほとんど差はみられなかったが、未接種群では6割程度の保有で若干の差が認められた。更に、野生株のJaFAR 3085株に対しては中山-予研株に比べるとワクチン接種群では4/9例、未接種群では2/8例が保有しているに過ぎず、ワクチン接種の有無もしくはウイルス株によりかなりの差が認められた。

表3に示すように今回の調査でN抗体が認められた17名のうち9名は3歳以上のワクチン接種者(2回以上)であり、残りの8名はNo.50の3歳児を除き1年3ヶ月以下のワクチン未接種者であった。これら未接種者について調査を行った所、No.5, 57, 74は輸血を受けて

表2 年齢別抗体保有状況

年 齢	方 法	被 検 数	抗 体 価								陽 性 数				抗 体 保 有 率 (%)
			<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	HI	N-N	N-F	
0	H I	28	25	2	1						3				10.7
	N-N		22	2	1	2		1				6			21.4
	N-F		26	1		1							2		7.1
	N-G		25	1	1	1								3	10.7
1	H I	28	28								0				0
	N-N		27			1						1			3.6
	N-F		28										0		0
	N-G		27		1									1	3.6
2	H I	26	26								0				0
	N-N		26									0			0
	N-F		26										0		0
	N-G		26											0	0
3	H I	29	27		1	1					2				6.9
	N-N		27			2						2			6.9
	N-F		29										0		0
	N-G		27		1	1								2	6.9
4	H I	26	19	3	1	1		2			7				26.9
	N-N		18	2	2	2			1	1		8			30.8
	N-F		22		2						2		4		15.4
	N-G		19	1	2	2					2			7	26.9
計		137								12 (8.8)	17 (12.4)	6 (4.4)	13 (9.5)		

注) N-N: 中山-予研株, N-F: JaFAR3085株, N-G: JaGAR01株

表3 中和抗体陽性者一覽表

No.	年齢	性	ワクチン 歴	H I 抗体価		中和抗体価			母 親 ワクチン	備 考
				JaGAR 01	中山-予研	JaFAR 3085	JaGAR 01	JaGAR 01		
5	0.2	女	ナシ	20	160 (231) ^(a)	<10 (4.4)	10 (17)	40 (64)	有	輸血
22	0.4	男	ナシ	10	40 (47)	40 (42)	40 (64)	40 (64)	有	
52	0.5	男	ナシ	<10	20 (29)	<10 (<1.5)	<10 (7.1)	<10 (7.1)	有	
57	0.3	男	ナシ	<10	10 (11)	<10 (7.1)	<10 (2.1)	<10 (2.1)	有	輸血
69	0.1	男	ナシ	<10	10 (17)	<10 (7.1)	<10 (4.9)	<10 (4.9)	不明	授乳中
74	0.11	女	ナシ	10	40 (66)	10 (16)	20 (25)	20 (25)	ナシ	授乳 (4月) 心手術
31	1.3	女	ナシ	<10	40 (54)	<10 (3.0)	20 (29)	20 (29)	有	授乳 (7月) glob. 製剤
50	3.10	男	ナシ	20	40 (40)	<10 (7.1)	40 (63)	40 (63)	不明	
119	3.10	女	2回	40	40 (52)	<10 (8.4)	20 (39)	20 (39)	有	輸血 glob. 製剤
7	4.3	男	2回	<10	10 (13)	<10 (1.5)	<10 (4.2)	<10 (4.2)		
40	4.3	女	3回	160	1280 (1524)	640 (953)	1280 (1905)	1280 (1905)		
44	4.2	女	3回	160	640 (1256)	640 (713)	1280 (1496)	1280 (1496)		
92	4.8	女	2回	10	40 (54)	<10 (2.5)	20 (37)	20 (37)		
104	4.8	女	2回	<10	10 (18)	<10 (4.6)	10 (17)	10 (17)		
122	4.1	男	2回	20	20 (37)	20 (22)	40 (45)	40 (45)		
125	4.11	女	2回	40	40 (63)	20 (22)	40 (60)	40 (60)		
135	4.7	女	2回	10	20 (33)	<10 (6.2)	20 (39)	20 (39)		

注) () 内は測定値

表4. 中和抗体陽性者におけるワクチン接種, 未接種者別のJ E V 3株に対する保有状況

	N抗体 陽性者	中山- 予研株	JaGAR 01 株	JaFAR 3085 株
Vac. 接種	9	9	8	4
Vac. 未接種	8	8	5	2
計	17	17	13	6

おり, No. 31は globlin 製剤の投与を受けていた。

H I 抗体陽性者は12 / 137名 (8.8%) で, N抗体に比べて低い保有率であり, 年齢別にみてもN抗体の場合と同様の傾向であった。4歳のワクチン3回接種者 (61年度) の2例が160倍の高い抗体価を保有していたほかは10~40倍の低い抗体価保有者または陰性者であった。

N抗体陽性者のうちH I 抗体陽性者は11 / 17 (64.7%) であった。

IV 考 察

1966年をピークに大流行したJ Eは1972年以降は低流行が続いている。最近の患者発生は日本最大の汚染地域である九州と近畿地方が主である。J E流行が小規模化した理由として種々のfactorが考えられるが, その一つとして1954年以降のワクチンが挙げられ, その後の改良により効果が顕著であった事は否めない事実といえる。これまでワクチン接種対象年齢層 (6~15歳) は義務づけられてきたためN抗体保有率も80~100%と

極めて高い保有率であり^{2,3,4,8)}, ワクチンの効果が現われている。しかし, J E患者発生が減少したここ10数年間はそれを反映して全国的にワクチン接種率も低下の傾向にある。このような状況下で1978年頃から小児等の低年齢層の患者発生が報告が目立ち, これら患者のほとんどはワクチンを受けていなかったり, ワクチン対象年齢以下であったことからワクチンの必要性並びに接種対象年齢の再検討が望まれている^{6,9)}。本市においても1971年以降0~4歳2名, 5~9歳3名の患者が発生している。

大谷⁸⁾, 千々和⁹⁾らも指摘しているように, ワクチン任意接種となる15歳以上の年齢層における免疫力の低下, 特に20~30歳代の母親の免疫力の低下, J E V散布密度の希薄化による自然感染抗体獲得の低下並びに幼児に対する蚊からの攻撃防止策が低下している事等から判断すれば今後J E流行は継続または拡大する可能性はあっても決して皆無になる事は考えられないであろう。

前述のように, 本市においても小学生以上は8割以上の住民がN抗体を保有しており, 過去にワクチンを受けた事がない者でもほぼ5割以上の保有率であることから危険集団として問題は少ないと考えられる。しかし, 小学生以下の低年齢層, とりわけ抗体保有状況が把握し難い5歳未満が問題となり, 各年齢別のN抗体保有状況並びに自然感染の有無を調べておく必要があるため今回の調査を行った。調査対象の偏りはあるが, 12.4%と極めて低保有率であり, 特に母子免疫が消失する時期の幼児から3歳児層において0~7%と著しく低い保有率であっ

た事は注目される。中山ら⁹⁾の東京都における調査結果でも同様の傾向がみられている。このような低年齢層における各年齢別の保有状況が調査されたデータは少ないが、5歳以下(各年令別等対象数が不明)における保有状況は30~50%程度で報告によりかなりバラツキがみられる^{2,3,4)}。これは調査対象が都市部または農村部であるかによって異なってくるため両者を区別して考えなければならないであろう。ちなみに当市における3~5歳のワクチン接種率はここ数年間は20~30%程度であり、4歳児層のみN抗体保有率との相関がみられた。

少数例ではあるが、N抗体におけるJ E V株間の反応をみると、ワクチン接種の有無に関係なく中山-予研株に対する抗体を保有していたが、野生株に対しては25~44%程度の保有が認められたに過ぎずかなりの差が認められた。JaGAR01株に対しては両者の中間であった。この傾向は大谷¹⁰⁾らの野生株、中山-予研株、JaGAR01株についての中和抗体吸収試験による抗原分析結果及び小林¹¹⁾らの抗原分析結果からも納得できる。このようにワクチン株である中山-予研株に対する抗体を保有していても野生株に対する反応は低い事から、実際保毒蚊から攻撃を受けた場合発病する危険性が高くなることが考えられる。以上の事から感受性調査を行う場合は野生株に対する抗体も測定しておく必要があると考える。

最近では流行株とワクチン株の抗原性の相違が指摘されて以来スペクトルの広い株を使用したワクチンが検討されているのでその効果が期待される所である¹²⁾。

N抗体陽性者17名のうち、8名はワクチン未接種者であったが、そのうちの1年3ヶ月児1名を除き他は6ヶ月未満の0歳児であった。これらは母乳からの移行抗体または輸血による抗体保有と思われる。No.74, 31は心臓手術時の輸血並びにglobulin製剤投与による保有が考えられる。No.50のみがワクチン未接種であるのに抗体を保有して自然感染が疑われるが、中山-予研株等に対する抗体価が比較的低い事と現在の流行株と思われる野生株に対する抗体を保有していない事から自然感染とは推定し難い。

一方、HI抗体保有率もN抗体と同様に8.8%と極めて低率であり、N抗体陽性者のうちHI抗体陽性者は11/17(64.7%)名でその差は明らかである。この事と数々の動物実験から1:10以上のN抗体が血中に存在すれば発病からまぬがれるであろうという考え⁹⁾に立脚すれば、人の感受性調査を行う場合HI抗体を調べるよりN抗体の方がより妥当である事を裏付けている。

この種の抗体保有調査や自然感染の調査を行うに当ってはより良い調査対象の選択と多数のデータの積み重ねが必要かつ重要であろう。

最後に、被検血清の採取等に御協力頂いたことも病院・感染症センター・青木知信先生に深謝いたします。なお本文要旨は第46回日本公衆衛生学会総会(長崎, 1987)にて発表した。

文 献

- 1) 厚生省衛生衛生局保健情報課：伝染病流行予測調査報告(昭和54年度)I。日本脳炎、臨床とウイルス, 9, 2, 71~74, 1981
- 2) 吉田靖子ら：東京都における日本脳炎の流行予測調査成績(1984年~1985年), 東京都衛研年報, 37, 41~48, 1986
- 3) 千々と勝己ら：日本脳炎ウイルス中和抗体の年齢層別分布について, 臨床とウイルス, 10, 1, 75~78, 1982
- 4) 梶原一人ら：福岡市住民の日本脳炎ウイルス中和抗体調査成績、福岡市衛試報, 11, 34~38, 1985
- 5) 岡 尚記ら：日本脳炎の5症例—日本脳炎予防接種適応年齢の問題点, 臨床とウイルス, 19, 2, 75~79, 1981
- 6) 厚生省公衆衛生局保健情報課：伝染病流行予測調査検査術式, 1979. 5
- 7) 厚生省公衆衛生局保健情報課：伝染病流行予測調査検査術式, 1975. 6
- 8) 大谷 明：日本脳炎ワクチンの効果と反省、臨床とウイルス, 10, 1, 14~15, 1982
- 9) 中山哲夫ら：東京都心部住民における日本脳炎ウイルス中和抗体の保有状況, 感染症学雑誌, 61, 7, 802~809, 1987
- 10) 大谷 明ら：中和抗体吸収試験による日本脳炎ウイルスの抗原分析、国立予研年報, XXV I, 昭和47年度, 82, 1973
- 11) 小林 譲ら：モノクローナル抗体による日本脳炎ウイルス株間の抗原解析、感染症学誌, 59, 3, 237~243, 1985
- 12) 北野忠彦ら：日本脳炎中山株ワクチン、Beijing-1株ワクチンのマウス免疫血清による抗体産生能の比較とBeijing-1株ワクチンの野外試験, 第34回日本ウイルス学会総会演説抄録, 79, 1986(福岡)

福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究

第3報 赤痢アメーバの検査法と診断基準についての提案

真子俊博¹・渡部高貴¹・赤羽啓栄²

Epidemiological Studies on Intestinal Protozoan Diseases in Fukuoka City—3. Proposition to Diagnostic Criterion and Methods of *Entamoeba histolytica*—

Toshihiro MAKO, Takaki WATANABE, Hiroshige AKAHANE

近年の赤痢アメーバ症の増加はめざましいものであるが、当試験所へ本症の依頼検査の増加とともに、同定の誤りや検査方法のまちがいが目立ってきた。そこで、今回赤痢アメーバの検査方法および診断基準について、下記の提案を行った。1. 赤痢アメーバは法定伝染病であることから、早急に「検査必携」の作成がのぞまれる。2. 赤痢アメーバ症が疑われる患者についてはまず最初にゲル内沈降反応、補体結合反応による血清学的検査を実施し、これが陽性であったものは3以下の検査を実施する。両方法が陰性であったものは、現時点では赤痢アメーバ症を否定してほばまちがいない。3. 糞便検査はホルマリン・エーテル法まで実施し、疑わしい虫体がみられたら染色標本を作製する。4. 赤痢アメーバの同定は染色標本の鏡検により行う。5. 染色は鉄ヘマトキシリン染色を用いる。6. 栄養型の場合でも運動性のみの決定は行わず、染色標本により最終同定する。7. 糞便検査は少なくとも2回以上は実施する。

Key words: 赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica*, アメーバ症 Amebiasis, 血清診断法 Sero-diagnostic technique, 鉄ヘマトキシリン染色 Iron hematoxylin-stain, ホルマリン・エーテル法 Formalin-ethyl centrifugal sedimentation, シヤルコーライデン結晶 Charcot-leyden crystal.

I はじめに

赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica* Schaudinm, 1903) の感染によって発症するアメーバ症は、わが国においては細菌性赤痢と同様に法定伝染病に指定されているが、後者に比べると関心が低い。たしかに、戦後多数の患者がみられたアメーバ症は年々減少の一途をたどり、1970年代までに年間10名前後の患者が報告されるにすぎず、比較的まれな疾患であると考えられてきた。ところが、1980年代にはいるや患者は急増し、1984年には103名、1985年には136名と数年前に比べると10倍以

上の患者が報告されるにおよび、アメーバ症に対して関心が高まってきた。表1に伝染病統計によるアメーバ症患者の推移を示したが、年々増加の一途をたどっており、福岡市においても同様な傾向がみられている。また、本症は不顕性感染がかなりみられることから、実際にはもっと多くの感染者が存在しているものと思われる。

本症の最終診断は糞便中や肝膿瘍液中に出現している赤痢アメーバを同定することにより決定されるものであるが、虫体の同定は核、核小体などの微細部分の形態観察によることから、かなりの経験を必要としている。また、検査方法においても手技がやや複雑であることから、一般の検査室では最終同定検査まで行われていないのが現状である。しかし、本症が法定伝染病であることを考えるならば、検査法に習熟し、検査指針にそった方法を

1. 福岡市衛生試験所 微生物課
2. 福岡大学医学部 寄生虫学教室

表1 わが国における赤痢アメーバ患者数の推移

報告年	届出患者数 (全国) *	福岡市患者数	当試験所で の陽性者数 **
1972	9		
73	6		
74	15		
75	9		
76	15		
77	11		
78	6		
79	22		1
80	24	3	3
81	52	2	1
82	55	1	2
83	79		1
84	102	1	4
85	136	1	6
86		7	12
87		3	6

* 伝染病統計より ** 依頼検査を含む

行うのが当然であろうが、私共が知るかぎり現状にあった検査指針はみあたらない。日本寄生虫予防協会発行の寄生虫検査指針(昭和45年)は刊行されてから長年月を経過し、その間の検査技術の進歩はめざましく、時代の要望にあった検査方法と思えず、さらに、近年本症の補助診断として注目されてきた血清学的検査法は、各施設により方法が異なり、判定方法も統一されたものがないことから、検査方法や診断基準の見直しの必要性が生じてきた。

私共は以前より本症の診断に血清学的検査を併用しているが、依頼検査の増加とともに同定の誤りや検査方法のまちがいが目立つようになってきた。そこで、当所で実施している赤痢アメーバの検査方法および同定鑑別表を紹介するとともに、検査法および診断上の問題点について考察を加えたい。また、本症の同定検査を含む診断基準の必要性について提案する。

II 検査方法

1. 血清学的検査

アメーバ症を疑われる患者では、まずスクリーニングとして血清学的検査を行う。現時点では血清学的検査の診断率は当所では100%の一致率を示しており、血清学

的検査が陰性の場合には本症を否定してはばまちがいない。当所ではゲル内沈降反応(GDP)と補体結合反応(CF)反応の2法を用いている。GDPは慶応大学医学部寄生虫学教室より分与された赤痢アメーバ無菌培養株を抗原に、第1報¹⁾で示したとおり、下記の方法で行った。1.0%寒天(ノーブル寒天)加PBS溶液にてガラス板上に2mmの寒天層を作り、直径4mmの穴を5mm間で図1のように6個あけ、中心に抗原を、周りには血清を原液で入れ、24時間~48時間後に沈降線の有無を判定した。

CF反応は市販のCF抗原(Virion)を用い、デンカ生研製のマイクロタイター用CFキットを使用して行った。8倍以上を陽性とし、対象は赤痢アメーバ無菌培養株(HM-1)を免疫したウサギ血清を用いた。

2. 赤痢アメーバ虫体の検査

当所で実施している糞便および肝膿瘍液からの赤痢アメーバ検査の手順を図2に示した。糞便、肝膿瘍液は生理食塩水およびヨード・ヨードカリ液による薄層塗抹標本を作製して、栄養型、嚢子(シスト)の検索を行い、虫体がみられない場合にはホルマリン・エーテル法(MGL法、表2)を実施している。固形便では栄養型が出現しないことから、生食水による薄層標本の観察ははぶいてもよい。肝膿瘍液では通常MGL法は実施しない。

また、下痢便、肝膿瘍液については赤痢アメーバの検査とともに、ギムザ染色により白血球等の鑑別を行った。直接塗抹標本およびMGL法により原虫(白血球等も含む)が確認された検体は直ちに、図3に示す手順でハイデンハイン鉄ヘマトキリン染色を実施する。糞便は

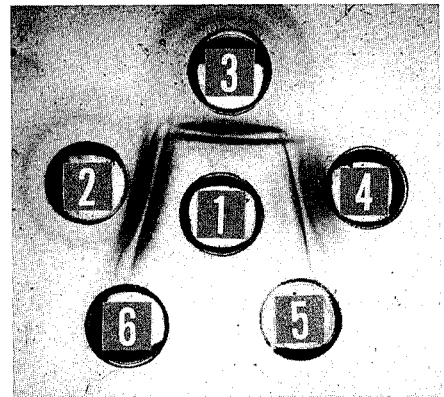


図1 ゲル内沈降反応の実施例

1. 赤痢アメーバ抗原
2. ウサギ免疫血清
- 3, 4 患者血清
- 5, 6 陰性コントロール血清

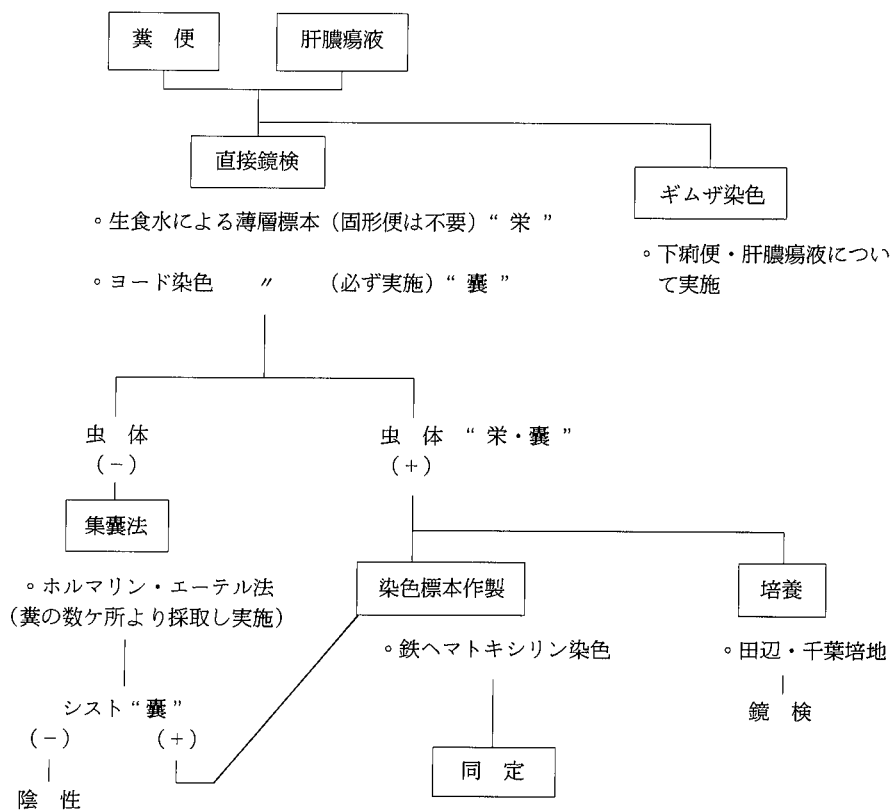


図2 赤痢アメーバ検査の手順

表2 ホルマリン・エーテル法 (MGL法)

- ① 糞便 0.5 g をガラス棒等でとり、10%ホルマリン水 10 ml によく溶かし、均一な浮遊液とする。
- ② ガーゼ一枚で遠心管に汙過して移し、2000 r.p.m. 3~5分遠心する。
- ③ 上清を捨てたのち、10%ホルマリン水を 7 ml 加えて、ガラス棒等で沈渣を浮遊させる。
- ④ エーテル 3~4 ml を加え、ゴムキャップ (C-キャップ) をかぶせ、30秒間激しく振とうする。
- ⑤ 2000 r.p.m. 3~5分遠心。
- ⑥ 線棒の棒の方で糞便層を管壁より離し、遠心管を傾けて上清を捨てる。
- ⑦ 遠心管を傾けたまま綿棒で、糞便層の所や管口をふき余分な液やよごれをのぞく。
- ⑧ ヨード・ヨードカリ液 (ヨードカリ 5g・ヨード 5g・水 100 ml 3~4倍にして使用) 1滴をスライドガラスにとり、よく混合した沈渣をピペットで加え、よく混合したのちカバーガラスをかけて鏡検する。

揚子等でスライドガラスに薄く塗抹、肝膿瘍液はピペットでスライドガラスに1滴とり、もう1枚のスライドガラスにより薄く塗抹したのち、直ちにシャウジン液で固定する。この際標本が乾燥しないように手早く固定する (固形便は乾燥しやすいので注意)。またシャウジン液は毒性が強く、金属腐蝕性があるので取扱いには注意する必要がある。

固定は30分以内で止め、当日は⑥の鉄ミョウバン液の所で止めておき、5~6時間でヘマトキシリン液の所まで進む場合には、6時間以上ヘマトキシリン液にて染色する。⑥で止めた場合は翌日、脱イオン水 (水道水では水道管の鉄分が標本に付着することが多いので不可) でかるく水洗したのち、ヘマトキシリン液に標本を入れる。このとき、染色壺をもう1つ用意しておき、かるく出入れしたのち新しい染色液の中に入れると、染色くずのない標本となる。1度使用したヘマトキシリン液は保存しておき洗浄用に使用する。ハイデンハインヘマトキシリン液は成書には熟成したものを使用するように記されているが、私共は常法通り作製後、1日室温に放置した

染色液を用いている。また、一定の染色状態を保つために、染色液は冷暗所に保存する。染色時間は長い方が良いが、2時間でも十分に染色され、この場合には脱色時間を短かくする(25秒前後)。染色時間が短かいと青染する傾向があるが、透過性がよくなるため、標本の厚い所でも原虫の検索が可能である。ハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色は脱色の良い、悪いが最大のポイントであるが、当所では脱色状態がややおちてきた時点で止めることにより好成績を得ている。また、1度に多数の標本を用いて、脱色時間を少しづつ変える方法でも良い標本を得ることが可能である。

Ⅲ 赤痢アメーバの形態

1. 栄養型の形態

赤痢アメーバの栄養型は生鮮標本では大きさ20~50 μm で、白血球の大きさに比べると数倍の大きさである。運動性は舌状の偽足を出して活発に運動するが、この際には保温状態であることがのぞましい。また、運動性の

他に赤血球の捕捉が重要で、赤痢アメーバの栄養型であれば原形質内に赤血球が認められ、他の白血球等細胞との大きな鑑別点となる。これらの栄養型の観察には光学顕微鏡の他にノマルスキー微分干渉顕微鏡を用いると、原形質内の赤血球、核および核小体の観察ができ、これらの条件により赤痢アメーバの同定が可能である。しかし一般には栄養型の生鮮標本の観察のみによる同定は不可能な場合が多く、染色標本により最終同定を行うことが必要である。栄養型の染色標本上の形態は図4のNo.1に示すとおり、核の中心に核小体を認め、その大きさは小さい。また、高倍率で観察すると核膜上にクロマチン顆粒が均一にならんでいるが、染色状態により大きく異なる。

2. シストの形態

糞便中のシストの観察は、まずヨード染色により行う。ヨード染色上では糞便が新鮮であれば大きなグリコーゲン胞が観察されるが、古くなるにともなって消失していく。核は少し時間をかけた方がよく観察できるが、高倍率で観察してもヨード染色では同定はむずかしく、最終

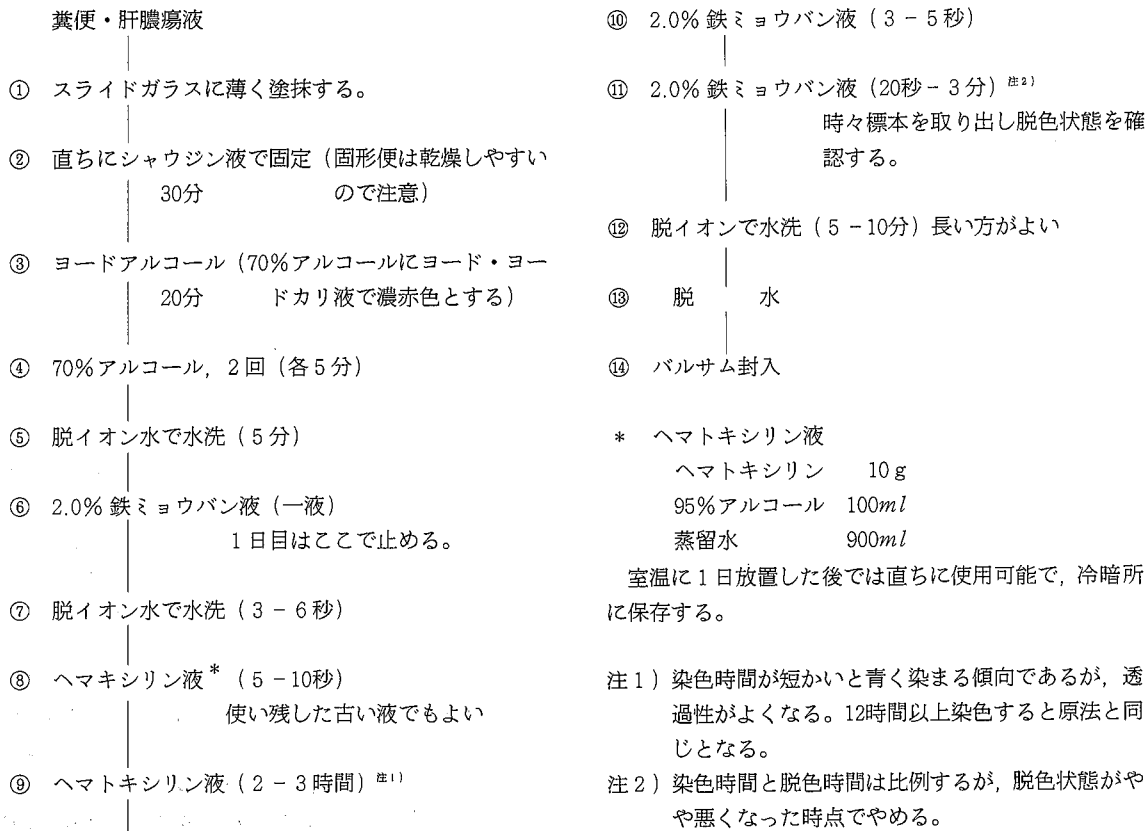


図3 ハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色法の手順

表3 赤痢アメーバと類似腸管寄生原虫との鑑別表

		<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.hartmanni</i>	<i>Endolimax nana</i>
生鮮標本	運動性	活発	弱い	弱い	やや活発
	赤血球捕捉	+	-	-	-
栄養型	赤血球	+	-	-	-
	細菌類の捕捉	-	+	-	+
	核小体の位置	核の中心	中心をはずれる	核の中心	中心
	〃 大きさ	小さい	やや大きい	小さい	大きい
	直径 (μm)	7-14	10-24	5-9	4-7
	形状	正円形	楕円形	円形	楕円形
	核数	1-4	1-8	1-4	1-4
グリコーゲン胞	大きさ	大きい	大きい	やや大きい	-
	数	1-2	不定	1-4	-
	単核シストの核小体の位置	核の中心	中心をはずれる	中心	中心
核小体	大きさ	小さい	やや大きい	小さい	大きい
	数	1	1, 2-3 ^{注1)}	1	1
類染色体	形	棒状	無, 不定形	点, 棒状	-
	数	1-3	1-3	1-5	-
	原形質の状態	均一	ややあらい	均一	ややあらい
	糞便中のシャルコーライデン結晶	+	-	-	-
	シスト指数*	2.60-2.63	2.87	2.78	

* シスト指数 = 単位シストの直径 ÷ 核の直径

注1: 単核および2核シストにみられる。

同定は染色標本により行う。当所ではハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色を用いているが、シストの観察に最良である。赤痢アメーバのシストは直径が11 μm 前後で、ほぼ正円形である。現在までに10例以上のシストを観察しているが、日本人(国内感染)より検出されたものは11 μm 前後の大型種であるのに対し、外国人から検出されるものは6~8 μm と小型のシストが多い傾向であった。

図4のNo.2~18に赤痢アメーバのシストを図示した。いずれも鉄ヘマトキシリン染色によるもので、No.2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12が単核シストである。単核シストは核の直径が大きく、核の中心に核小体が認められ、核小体は小さい。しかし、2核以上のシストでは中心をはずれるものも認められている。また、赤痢アメーバのシストに特異的に認められる類染色体は大多数のシストに

みられ、その形態は棒状、ソーセージ状を示しており、1~6個までみられるが、多くは1~3個が多い傾向であった。

3. 赤痢アメーバの同定

赤痢アメーバの同定を行う際には大腸アメーバ、*E. hartmanni*、小形アメーバと区別する必要がある。表3にこれらのアメーバと赤痢アメーバの鑑別表を示した。特に大腸アメーバ、*E. hartmanni*との鑑別は重要で、類似点も多いことから注意する必要がある。図5に大腸アメーバのシスト、図6に*E. hartmanni*のシストを示した。図5の大腸アメーバのシストが出現している患者は8核の成熟シストが多量にみられていたが、1~4核シストも検出された。このうち1~2核のシストでは棒状の類染色体も出現しており、形態も赤痢アメーバのシストと類似していたが、シストの大きさの大小不同が

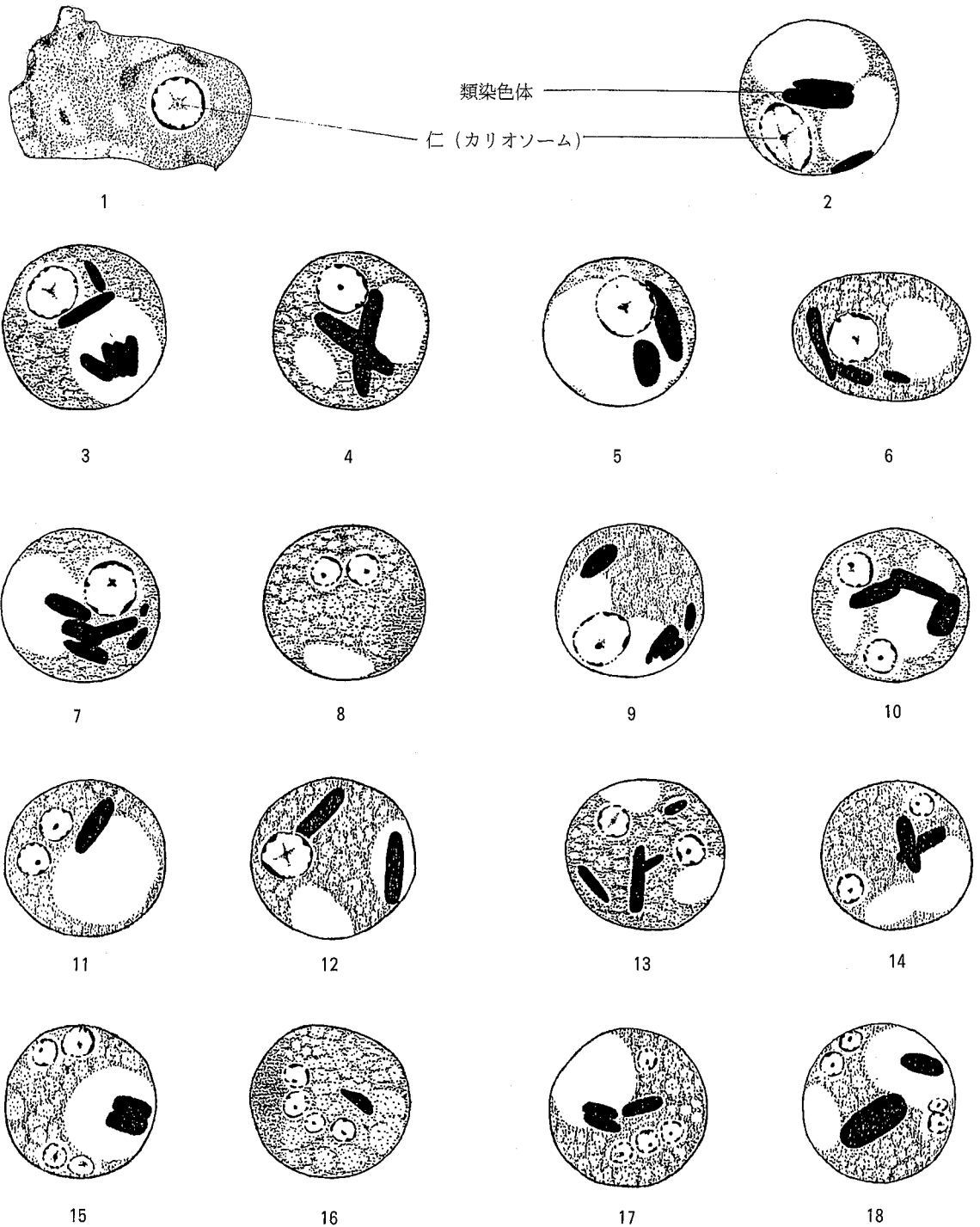


図4 赤痢 アメーバ *Entamoeba histolytica* (著者原図)
 1 栄養型, 2~18 シスト 鉄ヘマトキシリン染色

10 μ

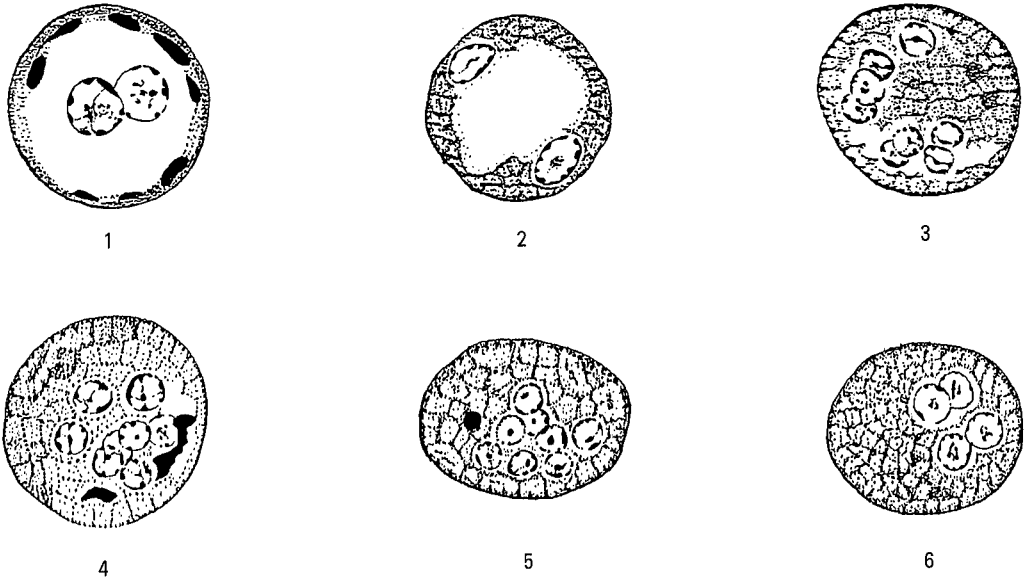


図5 大腸アメーバ *Entamoeba coli* (著者原図)
1~6 シスト 鉄ヘマトキシリン染色

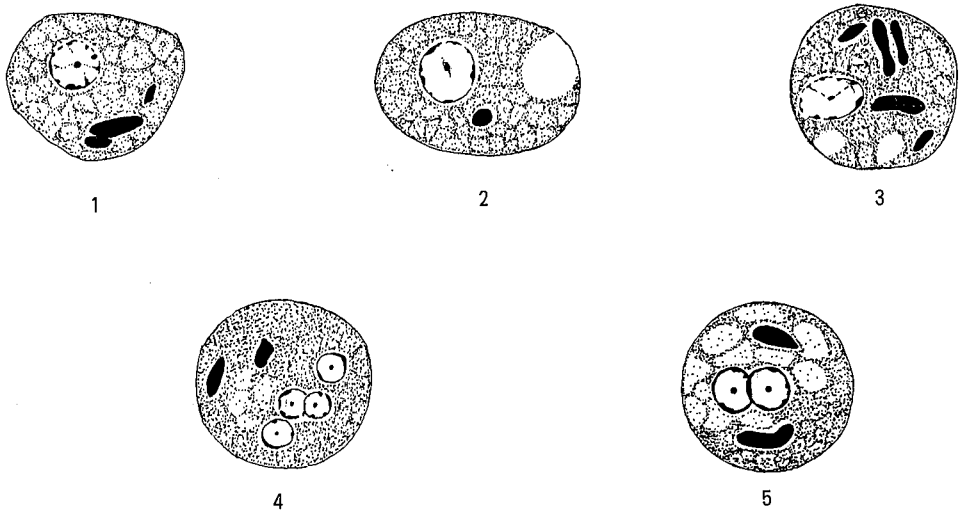


図6 *Entamoeba hartmanni* (著者原図)
1~5 シスト 鉄ヘマトキシリン染色

表4 糞便中の赤痢アメーバ, 大腸アメーバ, *E. hartmanni* の幼若シストの出現率

	幼若シストの核数				シスト 指 数	
	1核	2核	3核	4核		
赤痢アメーバ	1.	49	29	2	20	2.63
	2.	46	37		17	2.62
	3.	16	19		62	2.62
	4.	6	23		71	2.60
大腸アメーバ		4	84		12	2.87
<i>E. hartmanni</i>		22	25		53	2.78

著明で、楕円形のものが多いことなどから、赤痢アメーバとの区別は可能であった。また、図5のNo. 1, 2の幼若シストではグリコーゲン胞と思われる空胞がきわめて大きく、核がこの空胞により変形しているような形態を示しているものが多く認められた。大腸アメーバの核小体は幼若シストでは中心に2~3個集まっているもののみられ、また中心をはずれることが多く、4核シストでは中心を大きくはずれるものがみられた。さらに、原形質も赤痢アメーバとは異なりややあらく、内容の均一性がみられないものが多い傾向である。

E. hartmanni は大きさが7 μm 前後で、小型の赤痢アメーバの形態と類似している。幼若シストでは形が不整形のものが多いが、核小体も中心にあり、また棒状の類染色体も出現していた。しかし、赤痢アメーバのシストに比べると、核の直径が小さいこと、核膜上のクロマチン顆粒が少ないこと、類染色体の形や数が多いことなどより、区別は可能であった。また、グリコーゲン胞も赤痢アメーバに比べると小さなものが多くみられる傾向を示した。

赤痢アメーバのシストを観察する際には単核シストにより詳細な形態をみる必要がある。主な点はシストの形は正円形のものが多く、核小体が小さく中心にあること、棒状およびソーセージ状の類染色体がみられること、白くぬけてみえるグリコーゲン胞の大きさなどである。さらに、糞便中に出現する赤痢アメーバのシストは表4に示すように単核から4核までのシストが出現する。1例では単核シストが49%、2核シスト29%、3核シスト2%、4核シスト20%で、2例目では単核シストが46%、3例目では単核シストが16%、4例目では単核シストが6%であり6%から49%までのものがみられた。大腸アメーバでは8核の成熟シスト以外の幼若シストの出現率は単核シストが4%、2核シストが84%、4核シストが12%であった。*E. hartmanni* は単核シストが

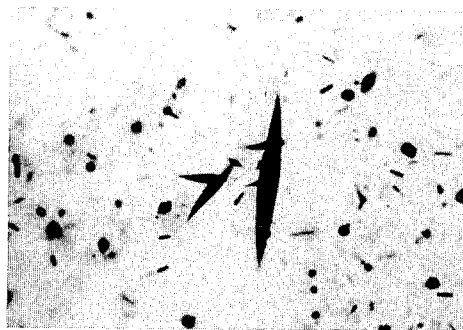


図7 糞便中のシャルコーライデン結晶(100 \times) 鉄ヘマトキシリン染色

22%、2核シストが25%、4核シストが53%を示した。また、赤痢アメーバの単核シストでは核の直径が大きく、シストの直径を核の直径で割った値は赤痢アメーバでは2.60~2.63であったのに対し、大腸アメーバでは2.87、*E. hartmanni* では2.78と大きな差が認められた。さらに、赤痢アメーバ患者の糞便中および肝膿瘍液中には図7に示したようなシャルコーライデン結晶が高頻度に出現しており、本結晶の出現の有無もアメーバ症の補助診断に有用である。

IV 考 察

赤痢アメーバの同定を含む診断上の基準は、法定伝染病であるにもかかわらず、現在統一されたものがないことから、各施設により検査方法が大きく異なり、また診断方法も施設により異なる。このため、最近では診断が誤っていると思われる症例も散見され、当所へもこのような相談が持ち込まれるようになってきた。さらに、近年血清学的検査が陰性であるアメーバ症の報告²⁻³⁾が増加しているが、この中にも赤痢アメーバの同定に疑問があるものも存在している。たしかに、最近抗体の産生がみられないアメーバ症がイギリス、アメリカなどから報告⁴⁻⁵⁾されているが、これらは病原性の認められない株であったり、症状のまったく見られない健康シスト保有者からのもので、わが国の状況とは別のものと考えられる。しかも、わが国の抗体陰性例は有症者であることを考えるならば、虫体の同定に疑問が生じてくる。これらの原因としては、直接塗抹のみによる判定、特に虫体の運動性のみにより同定されているようであるが、少なくとも赤痢アメーバの同定検査からは誤った方法であり、虫体の形態による最終同定検査まで行う必要があろう。

ここで、赤痢アメーバの検査上の問題点について指摘したい。法定伝染病の病原体である赤痢アメーバの検査

は従来より虫体の運動性に重点がおかれ、活発に運動する虫体を見たならば赤痢アメーバとして判定できることになっているが、運動性がきわめて活発なマイクロファージ様細胞が膿瘍、下痢症の場合にも出現することから、さらにくわしい検査を行う必要がある。しかし、同定検査に用いられるハイデンハイン鉄ヘマトキリン染色は方法が繁雑で再現性が悪く、しかも染色液は長期間熟成されたものを用いることになっていることから、検査時に使用できない点や、また染色時間が長くなるなどの問題点が多い。一般に赤痢アメーバを含む寄生虫疾患の検査は材料が糞便であることや検体数が少なく陽性率も著しく低いこともあって、片手間に実施されており、このため専門の技術者が少なくなっている。寄生虫疾患は虫体を同定することにより、直接診断されることから確実に同定できる経験が必要であると同時に、最終同定検査まで実施することが大事である。特にアメーバ症は潰瘍性大腸炎との区別が重要で、潰瘍性大腸炎の治療に用いられるステロイド剤の投与により、悪化するアメーバ症の報告⁶⁻⁷⁾もみられることから、確実に検査する必要がある。

今回、私共は当所で実施している赤痢アメーバの検査方法について紹介したが、法定伝染病である赤痢アメーバの同定検査には少なくとも、これくらいの検査を実施する必要がある。検体は直接鏡検により栄養型、シストの有無を確認し、虫体がみられない場合には必ずMGL法まで実施する。鏡検はヨード染色による観察で、栄養型では赤血球の有無、シストではグリコーゲン胞、核および核小体を確認する。疑わしい虫体が検出されたら、直ちに染色標本を作製するが、この時点での決定は行わない。また虫体がMGL法においても検出されない場合でも、日をかえてもう1度検査する必要がある、糞便も数ヶ所より採取して検査を行う。赤痢アメーバは寄生部位が大腸であることから、虫体が便中に均一に分布していないことが多く、虫体の増減も日によって大きく異なることから⁸⁾、少なくとも数回の検査を実施する必要がある。

一方、ハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色はさきほども述べたように色々な問題点が多いが、赤痢アメーバの形態観察には最良の方法であることから、今回、慶応大学医学部寄生虫学教室で実施されている方法を参考に若干改良を加えて、比較的实施しやすい方法を図示した。本方法は原法より染色時間が短かく、染色液も新しいものを使用することが異なっているが、同定上には問題が生じない染色状態である。しかも、本染色法では標本がやや青く染まるため、透過性がよくなり標本の厚い所でも観察が可能で、虫体の数が少ない場合などの検索に有

効であった。しかし、最近では手技の簡単なトリクローム染色⁹⁻¹⁰⁾やkohn染色¹¹⁾などが報告され、その有効性も認められてきていることから、赤痢アメーバの染色法の検討が必要と思われる。

赤痢アメーバの同定は表3に示す鑑別点を参考にした。栄養型は大きさが30-50 μ mであることと、赤血球の捕捉が重要な点である。シストの同定はヨード染色では核の数、グリコーゲン胞の形状、核小体の位置などで推定は可能であるが、大腸アメーバ、小形アメーバ、*E. hartmanni*のシストと類似点が多く、最終同定は染色標本により行なわなければならない。赤痢アメーバのシストは通常1核から4核までのシストが出現するが、Salis¹²⁾によれば糞便中の若幼シストの出現率は大きく3つのパターンに分けられるとしている。当所で出現率の算出できた4例についてみると、若干数値は異なるもののほぼ3つのパターンに類似しており、大腸アメーバ、*E. hartmanni*の出現率とは明らかに異なっていた。さらに、Salis¹²⁾は単核シストの直径と核の直径の比率(シストの直径を核の直径で割る)を指数で示し、赤痢アメーバは2.57であったと報告している。表4に示した赤痢アメーバの4例とも2.63、2.62、2.62、2.60ときわめて近い値であり、大腸アメーバの2.87、*E. hartmanni*の2.78と明らかに異なることから、シスト指数は赤痢アメーバの鑑別に十分利用できるものと思われた。

赤痢アメーバのシストに出現する類染色体は棒状、ソーセージ状のものが特徴で、赤痢アメーバの主な鑑別点となっているが、今回大腸アメーバの幼若シスト、*E. hartmanni*のシストにも棒状のものがみられた。特に、大腸アメーバでは従来より裂片状のものと考えられていたが、今回の大腸アメーバでは棒状の類染色体が出現していることから十分に注意する必要があると思われる。しかし、全体には点状、不定形のものが多いことから、観察を十分に行なえば赤痢アメーバとの鑑別は可能であると考えられる。また、*E. hartmanni*のシストは赤痢アメーバときわめて類似しており、ヨード染色では鑑別は不可能で、鉄ヘマトキシリン染色の必要性がある。主な鑑別点は直径が小さく、類染色体の形や数が異なること、空胞(グリコーゲン胞)が多いことである。私共も赤痢アメーバのシストと考えて検査していたが、アメーバ抗体が陰性であること、表4に示した性状等により、*E. hartmanni*と同定されたことから、このような原虫の存在も考えて検査する必要がある。また、アメーバ症診断の際に、虫体検査の他に検体中に出現するシャルコーライデン結晶の有無も重要な情報となる。それは、アメーバ症患者の糞便中や肝膿瘍液中に本結晶が高率に出現するもので、本結晶の出現も有効な鑑別点となるものと思

われ、特に肝臓瘍中での出現の場合には、アメーバ症を強く疑って検査を進める必要がある。しかし、一方で寄生虫疾患の患者には本結晶がみられることもあることから¹⁾、これらの疾患の鑑別も必要である。

つぎに、血清学的検査はアメーバ症の補助診断として注目され、腸外アメーバ症などの虫体出現が不定の場合にも診断可能であることから、近年さかんに行われるようになってきた。血清学的検査は Diamond¹³⁾ が赤痢アメーバの無菌培養法を確立しなことににより普及し、現在ではGDPにはじまる一連の検査法について検討され、数種類の検査法が行われている¹⁴⁻¹⁶⁾。わが国では関心の低さもあって、わずかに数ヶ所の研究室や病院等で実施されてきたにすぎない。当所では数年前よりGDPを用いてアメーバ症の診断を行ってきたが¹⁾、竹内¹⁶⁻¹⁸⁾も指摘しているように腸アメーバ症や健康シスト保有者では陽性率がやや低く、IFAやELISA等の併用が必要であった。私共の調査においても数名が陰性を示していることから、感度のよい検査法を検討していた。

このように、血清学的検査がアメーバ症の診断法として重要なものとなってきているが、検査に用いる抗原の入手困難性がある。現在、わが国で実施されている血清学的検査の多くは、慶応大学医学部寄生虫学教室（竹内勤教授）より分与された抗原および無菌培養株を用いたもので、一般検査室で実施するには多くの問題がのこされている。そこで、スクリーニング検査として行える血清学的検査法を検討していたところ、CF反応の抗原が市販され、アメーバ症患者の血清を用いてCF反応の検討を行った結果、本症の診断に十分利用できることが判明した¹⁹⁾。当所で確認のできたアメーバ症患者は100%陽性を示し、反対に下痢症などの有症者を含む非アメーバ患者の依頼血清はすべて陰性であったことから、非常に高い診断率を有するものと思われる。このことから、アメーバ症が疑われる患者の検査においては、まず血清学的検査を実施してスクリーニングを行ない、以後の検査を進める方がより確実な診断につながるものと思われる。そこで、アメーバ症の検査には糞便検査とともに、血清学的検査を併用することが必要で、本症の検査指針の公定法として用いていく必要があると考える。

最後に、当所へアメーバ症の依頼検査増加にともなうて、同定の誤りや検査方法のまちがいが目立つようになり、赤痢アメーバの検査指針の充実および公定検査「検査必携」の必要性を痛感していた。血清学的検査方法や染色方法をどの方法にするかなどの問題もあるが、ここで赤痢アメーバの検査方法および診断基準について、提案する。

① 赤痢アメーバは法定伝染病であることから、早急

にわかりやすい「検査必携」を作製する。

- ② 赤痢アメーバ症が疑われる患者については、まず最初にゲル内沈降反応、補体結合反応による血清学的検査を実施し、これが陽性であったものは③以下の検査を実施する。両方法が陰性であったものは現時点では赤痢アメーバ症をほぼ否定してもまちがいない。
- ③ 糞便検査はホルマリン・エーテル法まで実施し、疑わしい虫体が見られたら、染色標本作製する。
- ④ 赤痢アメーバの同定は染色標本の鏡検により行う。
- ⑤ 染色はハイデンハイン鉄ハマトキシリン染色を用いる。
- ⑥ 栄養型の場合でも運動性のみでの決定は行わず、染色標本により最終同定する。
- ⑦ 糞便検査は少なくとも2回以上は実施する。

以上、私共がこれまでに経験してきたことを参考に提案を行ったが、上記のものがすべてであるとは思われず、さらに検討する必要があると思われる。アメーバ症が増加してきていることや、本症が法定伝染病であることを考えるならば、早急に「検査必携」の立案がのぞまれる。

終りに当り、赤痢アメーバ抗原、無菌株の分与および検査方法の助言を賜った慶応大学医学部寄生虫学教室 竹内 勤教授、小林正規博士に深謝いたします。

なお、本論文の一部は第36回日本臨床衛生検査学会総会にて発表した。

文 献

- 1) 真子俊博, 赤羽啓栄: 福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究 第1報 赤痢アメーバの家族内感染例にともなう免疫診断法と染色法の検討, 福岡市衛試報, 7, 50-54, 1982
- 2) 足立利幸, 他: アメーバ性赤痢患者の発生状況と診断法について, メディアサークル, 31, 102-107, 1986
- 3) 伊藤孝一郎, 他: 飯塚病院のアメーバ症 - 昭和59年の症例を中心に、特に抗体陰性例についての考察一、臨床と研究, 64, 1489-1494, 1987
- 4) Mirelman, D., et al.: Changes in isoenzyme patterns of a cloned culture of nonpathogenic *Entamoeba histolytica* during axenization, Infect. Imm., 54, 827-832, 1986
- 5) Mcmillan, A., et al.: Amoebiasis in homosexual men. Gut, 25, 356-360, 1984
- 6) 増田剛太, 他: 日和見感染と考えられたアメーバ症

- の2症例, 感染症誌, 60, 1352-1356, 1986
- 7) 谷村 晃, 他: 大腸全域にわたる広範囲な潰瘍を形成したアメーバ赤痢の一部検例, 最近医学, 34, 1070-1073, 1979
 - 8) 真子俊博: 福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究 第2報 散発下痢症者の腸管寄生原虫類調査成績, 福岡市衛試報, 7, 55-59, 1982
 - 9) 清水廣美, 野口秀樹: 堺市における最近の赤痢アメーバ症について, 堺市衛研年報, 3, 63-68, 1985
 - 10) Neimester, R., et al.: Modified trichrome staining technique with a xylene substitute, J. clin. Micro., 22, 306-307, 1985
 - 11) 熊田三由, 他: Kohn法による消化管寄生原虫栄養体の染色について, 寄生虫誌(補), 35, 88, 1986
 - 12) Salis, H.: Studies on the morphology of the *E. histolytica*-like amoebae found in monkeys, J. parasit., 27, 327-341, 1941
 - 13) Diamond, L. S.: Axenic cultivation of *Entamoeba histolytica*, Science, 134, 336-337, 1961
 - 14) Juniper, J. K., et al.: Serologic diagnosis of amebiasis, Am. J. Trop. Med. Hyg., 21, 157-167, 1972
 - 15) Boonpucknavig, S. and Nairn, R. C.: Serological diagnosis of amoebiasis by immunofluorescence, J. clin. pathol., 20, 875-878, 1967
 - 16) 竹内 勤: 赤痢アメーバ症の最近の動向と診断法の進歩, メディアサークル, 30, 589-599, 1985
 - 17) 竹内 勤, 小林正規: 赤痢アメーバ症の血清学的診断, Immno-advance, 12, 27-30, 1983
 - 18) 竹内 勤, 他: 血清学的診断法による我が国の赤痢アメーバ症発生状況の解析—梅毒血清反応との関連について—, 日本医事新報, 3104, 43-46, 1983
 - 19) 渡部高貴, 真子俊博: 福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究 第5報 補体結合反応によるアメーバ症診断の評価, 福岡市衛試報, 12, 48-52, 1987

福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究

第4報 過去10年間の赤痢アメーバ及び寄生虫検査成績

真子俊博¹・渡部高貴¹

Epidemiological Studies on Intestinal Protozoan Diseases in Fukuoka City —4. A Survey of *Entamoeba histolytica* in the past Ten Years—

Toshihiro MAKO, Takaki WATANABE

1978年4月より1987年6月までの10年間に当試験所で確認、同定した赤痢アメーバ症は34名で、内訳は赤痢アメーバの疫学調査として実施した健康人1,939名より1名、散発下痢症者1,282名より2名、海外旅行者891名より1名、防疫検便386名より2名および来日外国人96名中9名、依頼検査118名中19名である。34名の病状は腸アメーバ症が12名、肝アメーバ症が10名、健康嚢子保有者が12名で、診断方法は虫体検出・血清診断によるものが15名、虫体検出のみによるものが10名、血清診断によるものが9名であった。患者の94.1%が男性で、このうち2名がホモセクシャルと思われた。また、赤痢アメーバ以外に5種の原虫、9種の蠕虫類が検出された。

Key words: 赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica*, アメーバ症 Amebiasis, 腸管寄生原虫 Intestinal protozoa, 血清診断法 Sero-diagnostic technique, 腸管寄生蠕虫 Intestinal helminths

I はじめに

わが国のアメーバ症は1970年代までは年間10名前後の患者が報告されるにすぎず、比較的まれな症例の一つと考えられてきたが、1980年代より著しい増加率を示し、現在では毎年100名以上の患者が報告されるに到っている。これらの傾向は私共も感じており、当所へアメーバ症の検査および血清診断の依頼が増加してきていることから伺い知ることができ、1986年には福岡市において7名の真性患者をみている。

また、最近の傾向はそれまで輸入感染症によるものが多いとされていたものから、国内感染によるものと思われる症例が増加し、それまでは性別に大きな差が見られなかったものが、今日では大多数の患者が男性によって占められているのも大きな特徴の一つとなっている。このように、男性のアメーバ症が増加している原因として、

STD (Sexually transmitted disease) 特にホモセクシャルの存在が指摘され、わが国にかぎらず米国、ヨーロッパなどの先進国においても、本症の重要な要因として考えられている¹⁻⁴⁾。本来、アメーバ症の感染は経口感染によるものであるが、男性患者が多くを占めることから、STDを含めた本症の存在を考える必要があるとともに、本症が身近な疾患の一つとなってきている。

私共は1980年に3名のアメーバ症を経験している⁵⁾、本症の検査方法の検討⁶⁾や各地からの依頼検査を実施してきたが、一方で各検査室間の検査方法のばらつきやまちがいの目立っている。赤痢アメーバの検査方法については第3報⁶⁾に記載したが、今回当所を経験してきたアメーバ症について検討を加えたので、その成績を報告するとともに、文献的考察を加えたい。また同時に、蠕虫類の調査も実施しているので、その成績も合わせて報告する。

1. 福岡市衛生試験所 微生物課

II 材料および方法

赤痢アメーバの調査対象は1978年4月より1987年6月までの間に実施した健康者、散発下痢症者、海外旅行者、来日外国人、伝染病予防法による接触者（以下、防疫検便者）およびアメーバ症の同定依頼による検体である。健康者は第2報⁷⁾で報告した1,107名とその後同様な目的による832名を加えた1,939名、散発下痢症者も同様に45名を加えた1,282名、海外旅行者は原虫・寄生虫の検査ができた891名、来日外国人は研修の目的で来日している主にアジアからの96名、防疫検便者は386名について原虫および蠕虫類の検索を行った。

依頼検査は血清によるものが65件、肝膿瘍液が11件、糞便が22件の計98件である。

健康者はすべてホルマリン・エーテル法（MGL法）を用い、ヨード染色により鏡検した。散発下痢症者はすべてヨード染色による直接薄層塗抹のみで実施した。海外旅行者および防疫検便者は糞便ではMGL法をキャリーブレイブ採便管によるものは直接鏡検のみを行った。来日外国人はMGL法とセロファン厚層塗抹法により検索した。原虫類が認められた検体は前報⁶⁾に示した方法および鑑別表に従って赤痢アメーバの同定を行った。血清学的検査法も前報と同様に実施した。

III 調査成績

1. アメーバ症の検査成績

過去10年間に当所で確認、同定ができたアメーバ症

表1 過去10年間に福岡市で確認された赤痢アメーバ患者数

対象	検査件数	陽性者数 (%)
計	4,712	34 (0.73)
健康人	1,939	1 (0.05)
散発下痢症者	1,282	2 (0.16)
防疫検便	386	2 (0.52)
海外旅行者	891	1 (0.11)
来日外国人	96	9 (9.38)
依頼検査	118	19 (16.1)

表2 アメーバ症患者34名の診断方法

赤痢アメーバ検出	血清学的診断	人数
+	+	15
-	+	9
+	-	10

を表1に示した。4,712件のうちアメーバ症と診断されたものは34名(0.73%)で、このうち依頼検査によるものが19名と半数以上を占めていた。各対象別の検出率は健康者が0.05%、散発下痢症者が0.16%、防疫検便者が0.52%、海外旅行者が0.11%、来日外国人が9.38%および依頼検査16.1%であった。

次にアメーバ症として確定した34名の診断方法を表2に示した。診断は赤痢アメーバの虫体検出（バイオプシーも含む）によるもの、血清学的診断による方法があるが、両方法による診断のものが15名、血清学的診断によるものが12名、虫体検出のみによるものが7名であった。血清学的診断のみによるものは9名中7名は肝アメーバ症で、肝膿瘍液からは虫体が検出されなかった。虫体検出のみによる患者10名のうち血清学的検査が実施できたのは2名で、2名ともゲル内沈降反応（以下、GDP）は陰性であった。

表3にアメーバ症患者34名の概要を示した。腸アメーバ症は12名、肝アメーバ症は10名、健康嚢子保有者は12名で、このうち32名が男性であったが、年齢別の確認はできなかった。肝アメーバ症では7名が虫体の確認はできなかったが、GDPおよびCF反応が陽性であったことから、アメーバ症と診断した。No.8~15および25は来日外国人で9名中8名より赤痢アメーバのシストが検出されたが、症状が認められず健康嚢子保有者であると考えられた。No.25は数日の糞便検査においても赤痢アメーバを検出しなかったが、GDPが陽性でCF抗体価も32倍あったことから、アメーバ症の患者として扱った。

No.3, 4, 5, 8, 9, 10, 15の7名の健康嚢子保有者について血清学的検査を実施したところ、7名中5名が陽性であった。また、No.18, 34の患者はホモセクシャルであると考えられた。GDPとCF反応との関係は両方の検査ができた20名についてみると、CF抗体価32倍以上になるとGDPが陽性になった。肝アメーバ症では全体に高いCF抗体価がみられ、GDPも陽性のものが多いが、腸アメーバ症ではCF抗体価も低く、GDPの沈降線も弱い傾向がみられた。

次に当所へ各地よりの依頼検査状況を表4に示した。依頼のうち一番多いものは血清による赤痢アメーバ抗体測定で依頼検査の8割以上を占めている。各検体の陽性数は血清では96件中16件(16.7%)、肝膿瘍液では10件中2件(20.0%)、下痢便では19件中3件(15.8%)、固形便では3件中1件(33.3%)であった。肝膿瘍液では2件とも赤痢アメーバの栄養型、下痢便では栄養型を2株、シストを1株、固形便ではシストが検出された。表5に依頼血清の症状別による検査状況を示した。依頼

表3 アメーバ患者 34 名の検査方法と概要

No.	性別	アメーバ 症の種類	血清学的検査		虫体検出	備考
			CF	GDP		
1	M	腸		+	+	
2	M	肝			+	
3	M	キャリアー	-		+	海外旅行者
4	F	キャリアー	64	+	+	
5	F	キャリアー	32	+	+	
6	M	肝	256	+		
7	M	肝	32	+		
⑧	M	キャリアー		+	+	
⑨	M	キャリアー		+	+	
⑩	M	キャリアー		+	+	
⑪	M	キャリアー			+	
⑫	M	キャリアー			+	
⑬	M	キャリアー			+	
⑭	M	キャリアー			+	
⑮	M	キャリアー		-	+	
16	M	腸		+	+	
17	M	腸		+	+	
18	M	腸	16	+	+	STD?
19	M	腸	8	-	+	
20	M	腸	32	+	+	
21	M	肝	32	+		
22	M	腸	18	+	+	
23	M	肝	32	+		
24	M	腸	16	+		
⑳	M	キャリアー	32	+	-	
26	M	肝		+		
27	M	腸	16	-		
28	M	腸	16	+		
29	M	肝	128	+		
30	M	肝	16	-	+	
31	M	腸	64	+		
32	M	肝	256	+		
33	M	腸	64	+	+	
34	M	肝	256	+	+	STD?

○は外国人

が多かったものは潰瘍性腸炎を含む不明下痢症の 40 件で、8 件 (20.0%) が陽性であった。肝膿瘍では 25 件中 8 件 (32.0%) が陽性を示し、下痢症より陽性率が高い傾向がみられた。

2. 福岡市における寄生虫感染状況

表4 依頼検体別の赤痢アメーバ検査成績

検体名	件数	陽性件数 (%)*
血清	96	16 (16.7)
肝膿瘍液	10	2 (20.0)
下痢便	19	3 (15.8)
固形便	3	1 (33.3)

* 同一患者より同時に異なる検体依頼による

表5 依頼血清の赤痢アメーバ抗体検査成績

	検体数	陽性件数 (%)
肝膿瘍	25	8 (32.0)
下痢症	40	8 (20.0)
無症状	23	-

表6に過去10年間における各対象者別の寄生虫検査成績を示した。4,712名より176名(3.7%)に寄生虫の感染が認められ、内訳は健康者が1,939名中58名(3.0%)、散発下痢症者が1,282名中20名(1.6%)、防疫検便者が389名中6名(1.6%)、海外旅行者が891名中7名(0.8%)、来日外国人が96名中74名(77.1%)、依頼検査が118名中11名(9.3%)であった。寄生虫は6種の原虫類と9種の蠕虫類が検出され、原虫類では最も多かったのが小形アメーバで、以下ランブル鞭毛虫、赤痢アメーバ、大腸アメーバ、ヨードアメーバ、*Entamoeba hartmanni*であった。病原性原虫である赤痢アメーバは全体で0.4%、ランブル鞭毛虫は0.6%であった。蠕虫類は最も多かったものが鞭虫の61件で、以下鉤虫類の57件、横川吸虫の33件、回虫の10件、糞線虫の4件および日本住血吸虫、肝吸虫、広節裂頭条虫の各1件である。

各対象者についてみると健康者、散発下痢症者、防疫検便者、海外旅行者の日本人グループと外国人および依頼検査との3つに大きく分けることができる。これらの各対象別についてみると日本人グループ4,498名の寄生虫感染率は2.0%で、来日外国人の77.1%、依頼検査の23.4%に比べて低率であった。しかも、非病原性である小形アメーバ、大腸アメーバをのぞくと1.4%と低い感染率であった。日本人グループの寄生虫感染率の最も高かったものは横川吸虫の0.6%で、ついでランブル鞭毛虫の0.5%である。これに対し、来日外国人は77.1%と高い感染率を示し、2種、3種の混合感染も認められ、わが国でめずらしくなった回虫、鉤虫類、鞭虫の感染が高率であった。また、赤痢アメーバおよび糞線虫も全体

で10.0%に検出された。

依頼検査は、虫卵、虫体の同定およびアメーバー症の確認同定のための検査であったことから、9.3%の高率になったもので、11件中6件が赤痢アメーバ検出であった。蠕虫類では日本住血吸虫、糞線虫、肺吸虫が注目された。

IV 考 察

アメーバ症は熱帯・亜熱帯地方では現在もおお、マラリアと同様に重要な寄生虫疾患で¹⁰⁾、高い感染率を示しており本症による死亡者もいぜんとしてみられている。このような状況は衛生状態と強く関係しており、本症の感染が経口感染によるものであることを考えるならば、衛生状態の良い先進国では輸入感染症によるものがあるにすぎないと考えられてきた。ところが、近年、アメリカやヨーロッパの大都市で赤痢アメーバの感染増加が指摘され、にわかに注目されはじめている。これらの多くの原因はホモセクシャル間の感染率増加で、ニューヨークでは27%²⁾、サンフランシスコでは36%⁴⁾の高い感染率を示し、また梅毒などの性病の罹患率も高いことからアメーバ症がSTDの一つとして考えられるようになってきた。

このように、アメーバ症が先進国において、特殊な感染形態をとりSTDとして重要な要因と考えられているが、わが国の状況はどうであろうか。わが国でも減少傾向がみられていたアメーバ症が、アメリカのホモセクシャル間で本症の増加が指摘されはじめた頃より、増加の傾向がみられ、しかも患者の大多数が男性であることを考えるならば、米国のような感染状況になりつつあると思われる。これを証明するかのように、最近の報告例の中にホモセクシャルの存在が高頻度に認められており¹¹⁾、またそのような患者も増加してきている¹²⁾。今回の調査では34名中2名が明らかにホモセクシャルと思われるものであったが、この種の調査においてはわが国では必ずしも正確な数値が得られるとはかぎらないことから、もっと多くの患者が存在する可能性は高いと考えられる。

わが国のアメーバ症は最近の増加率からみると、ますますその傾向が大きくなり、患者数が激増していくものと思われるが、赤痢アメーバに関する疫学調査は少なく、特にアメーバ症の増加が指適されてきた1970年代以降の調査はほとんどみられない。わずかに、私共が1981年に行った調査³⁾と角ら¹³⁾の報告があるにすぎず、それによると、赤痢アメーバの保有率はきわめて低いもので、いずれも0.1%以下である。今回の調査では健康人は0.05%、散発下痢症者は0.16%、防疫検便は0.52%、

表6 過去10年間の福岡市における寄生虫検査成績

	総計	健康者	散発下痢症者	防疫検便	海外旅行者	来日外国人	依頼検査
合計	4,712	1,939	1,282	386	891	96	118
陽性者数	176	58	20	6	7	74	11
(%)	(3.7)	(3.0)	(1.6)	(1.6)	(0.8)	(77.1)	(9.3)
<i>Entamoeba histolytica</i>	20	1	2	2	1	8	6
<i>Entamoeba coli</i>	8	4				3	1
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1					1	
<i>Endolimax nana</i>	35	16	5	1	1	11	1
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2					2	
<i>Giardia lamblia</i>	28	6	13	2	4	2	1
<i>Ascaris lumbricoides</i>	10					10	
<i>Clonorchis sinensis</i>	1					1	
<i>Diphyllobothrium latum</i>	1	1					
<i>Paragonimus westermanii</i>	1						1
<i>Metagonimus yokogawai</i>	33	29		1	1		2
<i>Schistosoma japonicum</i>	1						1
Hookworm sp	57	1				56	
<i>Trichuris trichiura</i>	61	1				60	
<i>Storonyloides stercoralis</i>	4					2	2

海外旅行者は0.11%と若干ばらつきがみられるものの、保有者は低いものであることから、わが国では赤痢アメーバの保有率は著しく低いものと考えられる。しかし、依頼検査では16.1%と高い陽性率であることから、潜在感染者は少なからず存在するものと思われる。このように、わが国では健康人の保有率は著しく低いものの、アメーバ症患者が増加してきている背景には一つにはホモセクシャル間での流行が考えられるが、多くは医療技術の発達による診断率の向上が大きな要因として上げられよう。特にCT、内視鏡等による病巣の早期発見がアメーバ症の増加に影響してきているものと思われ、肝膿瘍および潰瘍性大腸炎等の患者も同時に増加の傾向がみられている。当所においても、ここ数年肝膿瘍、潰瘍性大腸炎様疾患でアメーバ症が疑われる症例の依頼検査が増加してきており、アメーバ症が臨床の場合においても注目されるようになってきている。依頼検査の中で最も多かったものは潰瘍性大腸炎様疾患によるもので、このうち2割がアメーバ性腸炎であった。このアメーバ症患者の病歴をみると長く下痢、血便等があり、腸透視等によりアメーバ症が疑われたもので、実際にはこのような患者がもっと多く存在していると思われる。肝膿瘍患者では腸疾患に比べてさらに陽性率は向上しているものの、アメーバ症が否定される肝膿瘍も数多くみられ、最近では赤痢アメーバ様虫体の存在が指適される一方で、アメーバ症の誤った診断もみられるようになってきている。

赤痢アメーバの診断は虫体の検出、同定により決定されるものであるが、私共が知るかぎり検査指針にそった方法を行っている施設は少なく、また検査方法は経験が必要で手技も複雑である。さらに、虫体の出現は検体により変動が著しく、虫体数も日によって大きく異なるため、近年では血清学的検査方法が導入され、本症の診断に有効性が認められている。しかし、血清学的検査を用いている施設は少なく、さらに検査用抗原の入手は困難であることから、広く行われていないのが現状である。当所では本症の診断にGDPを用いてきたが、最近になりCF用の抗原が市販されたことにもなると、アメーバ症の診断の検討を行ったところ、きわめて有効であることが判明した¹⁾。陽性率は100%であり、非特異反応も0.05%以下であることから、CF反応は十分に本症の診断が可能であると同時に、今後アメーバ症の診断検査には必ず行っていく必要があるものと思われる。

一方、海外旅行者のアメーバ症では1名より虫体を検出したが、本事例はインドへ長期間滞在していたことから、現地に感染があったものと思われ、開発途上国の衛生状態をみるかぎり、輸入感染症としても考えていく必要があろう。しかし、今日輸入感染症としての対象は

細菌性のものに中心がおかれ、寄生虫疾患の存在はあまり考えられていないことから、寄生虫の検索も同時に行う必要があるものと思われる。

最後にわが国にも寄生虫が少なからず存在することを指摘したい。一般に寄生虫疾患はわが国ではもはやきわめてまれな疾患であると思われているものであるが、今回の調査では検出率は少いものの、10数種におよぶ寄生虫が確認された。最も多く検出された鞭虫や鉤虫類は来日外国人から検出されたものであるが、発展途上国では今なお寄生虫疾患が猛威を振っていることから、輸入感染症としての寄生虫も注目されるものである。一方、日本人グループでは最も注目されたものが、ランブル鞭毛虫でわが国でも今なお本疾患が存在していることを示しており、大規模な疫学調査の必要を認めた。また横川吸虫の多数寄生例および日本住血吸虫、糞線虫も認められたことから、糞便検査においては寄生虫の存在を考えて実施するならば、検出率の向上につながるものと思われる。

終りに当り、寄生虫の同定および検査方法等の助言を賜った福岡大学医学部寄生虫学教室 木船悌嗣教授、赤羽啓栄助教授に対し深謝いたします。

文 献

- 1) Marr, J. S. : Amebiasis in New York City a Changing Pattern of Transmission, Bull. NY. Acad. Med., 57, 188-200, 1981
- 2) William, D. C., et al. : High Rates of Enteric Protozoal Infection in Selected Homosexual Men Attending a Venereal Disease Clinic, Sex. Transm. Dis., 5, 155-157, 1978
- 3) Markell, E. K., et al. : Intestinal Protozoa in Homosexual Men of the San Francisco Bay Area : Prevalence and Correlates of Infection, Am. J. Trop. Med. Hyg., 32, 239-245, 1984
- 4) Ortega, H. B., et al. : Enteric Pathogenic Protozoa in Homosexual Men from San Francisco, Sex. Transm. Dis., 11, 56-63, 1984
- 5) Peters, C. S., et al. : Prevalence of Enteric Parasites in Homosexual Patients attending an Outpatient Clinic, J. clin. Microbial., 24, 684-685, 1986
- 6) 真子俊博, 他 : 寄生虫検査に見られた蠕虫類と赤痢

- アメーバの検出例について, 福岡市衛試報, 5, 59-61, 1980
- 7) 真子俊博, 渡部高貴: 福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究 第3報 赤痢アメーバの検査法と診断基準の提案, 12, 31-41, 1986
- 8) 真子俊博: 福岡市における腸管寄生原虫の疫学的研究 第2報 散発下痢症者の腸管寄生原虫類調査成績, 福岡市衛試報, 7, 55-59, 1982
- 10) WHO: Amoebiasis and its Control, Bull. WHO, 63, 417-426, 1985
- 11) 戸谷徹造, 前野芳正: 赤痢アメーバ症の感染問題と治療—特に Sexually Transmitted amoebiasis の臨床免疫学的検討—, 臨床と微生物, 14, 423-433, 1987
- 12) 竹内 勤, 他: Sexually-Transmitted Parasitic Diseases (STPD), 日本医事新報, 3211, 23-26, 1985
- 13) 角 佳代子, 他: 首都圏住宅の腸管寄生虫感染状況に関する一考察, 感染症誌, 60, 1317-1323, 1986
- 14) 渡部高貴, 真子俊博: 福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究 第5報 補体結合反応によるアメーバ症診断の評価, 福岡市衛試報, 12, 48-52, 1986

福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究

第5報 補体結合反応によるアメーバ症診断の評価

渡部 高貴¹・真子 俊博¹

Epidemiological Studies on Intestinal Protozoan Diseases in Fukuoka City

4. Evaluation of Complement Fixation Test for Diagnostics of Amebiasis

Takaki WATANABE, Toshihiro MAKO

赤痢アメーバ症の疑いで当所に依頼のあった患者54名と健康人209名、梅毒陽性者25名の血清を用いて、ゲル内沈降反応と補体結合反応の比較検討を行った。アメーバ真性患者ではゲル内沈降反応で15名中13名(86.7%)、補体結合反応で15名全員(100%)が陽性を示した。一方、非アメーバ性肝膿瘍患者では、ゲル内沈降反応で8名全員陰性であったが、補体結合反応では8名中1名が8倍の陽性反応を示し、また、非アメーバ性大腸炎患者では、31名全員が両反応で陰性を示した。健康人では、補体結合反応で209名中1名(0.5%)が陽性を示し、梅毒陽性者では、補体結合反応で25名中4名(16.0%)が陽性を示した。しかし、これら補体結合反応陽性で非アメーバ症の6名はゲル内沈降反応等によりアメーバ症の否定が可能であった。補体結合反応は、ゲル内沈降反応を併用することにより赤痢アメーバ症の診断に十分使用でき、スクリーニングに適した検査法であることがわかった。

Key Words: 赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica*, 補体結合反応 complement fixation test, ゲル内沈降反応 gel diffusion precipitin reaction, 血清学的診断法 serological diagnostic method, アメーバ症 Amebiasis

I はじめに

近年減少傾向を示していた赤痢アメーバ症は、1980年より増え始め、現在では毎年100人以上の発生を見るに到っている。しかも、それまで輸入感染症として注目されていたものが、今日では、国内感染の症例が多くなってきており、著者ら¹⁾ 堀ら²⁾ の調査においても国内に少なからず赤痢アメーバ保有者の存在を報告している。

アメーバ症は原虫である赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) のシストを経口摂取することにより大腸壁に侵入して潰瘍を形成したり、血行性に臓器に転移しておくるもので、特にアメーバ性肝膿瘍では死亡率も高

い。

一般的に赤痢アメーバ症の診断にはシストや栄養型を発見することが重要であり、従来より糞便検査において形態学的な同定がなされてきた。しかし、虫体を見出すには、近似の原虫との鑑別やそのための染色等に熟練を要し、また、肝膿瘍のような腸外アメーバ症では、虫体を見出すのは困難である。そこで、前記糞便検査の他に本症の補助診断として免疫学的検査法が開発され、ゲル内沈降反応(GDP)、向流免疫電気泳動法(CIE)、間接赤血球凝集反応(IIHA)、補体結合反応(CF)、間接蛍光抗体法(IFA)、酵素結合抗体免疫アッセイ(ELISA)、ラテックス凝集反応(LA)などが検討されている³⁾⁻⁶⁾。しかし、これら血清反応に用いられる抗原を入手するのは不可能に近く、抗原を保有してい

1. 福岡市衛生試験所 微生物課

る専門機関に依頼しなければならないのが現状である。

私どもは以前より赤痢アメーバ症の診断に血清学的検査としてゲル内沈降反応を併用してきたが、感度による問題点があるため、さらに感度の良い方法を検討してきた。最近になり蛍光抗体法であるアメーバスポット I F が発売予定となり、また、補体結合反應用抗原が市販され、簡単に検査ができるようになってきた。そこで、比較的器具を必要とせず、キットも市販されている補体結合反応（以下 C F と略）について、従来のゲル内沈降反応（以下 G D P と略）と比較検討を行ったのでその結果を報告する。

II 材料および方法

試料は、当所へ赤痢アメーバ症の診断依頼のあった血清のうち、アメーバ性肝膿瘍 4 名、アメーバ性大腸炎 11 名、非アメーバ性肝膿瘍 8 名、非アメーバ性大腸炎 31 名の計 54 名の患者血清を使用した。対照健康人血清と

して健康診断受診者より得た 209 名の血清ならびに T P H A 陽性者 25 名の血清を使用した。

1. 測定方法

1) ゲル内沈降反応

抗原には赤痢アメーバ無菌株 H M - 1（慶応大学医学部 寄生虫学教室より分与）の虫体を用い、第 1 報⁷⁾ に準じて行った。ガラス板上に寒天を作り、そこに孔間距離 5 mm、直径 6 mm の孔をあけ、中央に抗原、周囲の孔に被検血清を原液で入れた。室温に放置し、24 時間後に判定、沈降線が出現しない場合にはさらに一夜冷所に放置後判定した。

2) 補体結合反応

抗原には赤痢アメーバ C F 抗原 (Virion) を使用した。補体結合試験用試薬キットとして C F - Kit (デンカ生研) 50% 溶血マイクロ法を使用し、測定方法は原報に準じて 8 倍以上を陽性とした。

III 結 果

表 1 赤痢アメーバ患者 15 名に対する G D P と C F 反応試験の比較

No.	患者	C F 反応	G D P	虫 体
1	Y. S	1 : 512	+	肝膿瘍
2	T. Y	1 : 256	+	肝膿瘍
3	A. N	1 : 128	+	シスト (+) 肝膿瘍
4	K. K	1 : 64	+	
5	S. B	1 : 64	+	
6	T. M*	1 : 32	+	肝膿瘍
7	H. K*	1 : 32	+	シスト (+)
8	K. T	1 : 32	+	
9	T. H	1 : 32	+	栄養型 (+)
10	Y (外国人)	1 : 32	+	
11	M. Y*	1 : 16	+	シスト (+)
12	J. M	1 : 16	+	
13	N. S*	1 : 16	+	栄養型 (+)
14	Y. T	1 : 16	-	栄養型 (+)
15	E. Y	1 : 16	-	栄養型 (+)

* T P H A 陽性者

1. G D P と C F 反応の比較

赤痢アメーバと同定された患者 15 名における G D P と C F 反応との比較を行った (表 1)。患者 15 名全員が C F 反応で 16 倍以上の抗体価を示し、また、G D P で陰性であった腸アメーバ症の 2 名も陽性であった。肝膿瘍の患者 4 名はいずれも高い抗体価を示しており、No. 1 の患者は 512 倍であった。C F 反応 32 倍以上ではいずれも G D P が陽性であった。

2. 非アメーバ赤痢の症例別 C F 抗体価

アメーバ赤痢患者以外の C F 抗体価を表 2 に示した。非アメーバ性大腸炎 31 名は全く C F 抗体価は認められなかったが非アメーバ性肝膿瘍では 8 名中 1 名に、健康成人では 209 名中 1 名に、T P H A 陽性者では 25 名中 4 名が陽性であった。非アメーバ性肝膿瘍

表 2 非アメーバ赤痢患者の症例別赤痢アメーバ C F 抗体価

症 例	症例数	赤痢アメーバ C F 抗体価				
		1 : 8 >	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
計	273	267	2	2	1	1
非アメーバ性肝膿瘍	8	7	1			
非アメーバ性大腸炎	31	31				
健康成人	209	208			1	
T P H A 陽性者	25	21	1	2		1

表3 健康成人の赤痢アメーバCF抗体保有状況

性別	男		女	
	CF反応陽性	陰性	陽性	陰性
計	1*	101		107
10歳代		8		8
20歳代	1*	26		29
30歳代		24		26
40歳代		14		8
50歳代		8		4
60歳代		9		9
70歳以上		12		23

* 赤痢アメーバCF抗体価32倍

の1名は8倍と高い抗体価ではなかったが、健康成人の1名は32倍を示し、TPHA陽性者の4名は8倍から64倍までの抗体価を示した。しかし、これら陽性者6名全員がGDPでは陰性であった。

3. 非アメーバ患者のCF抗体価

非アメーバ性大腸炎の31名は全員陰性であったが、非アメーバ性肝膿瘍の8名中1名が8倍の抗体価を示した。しかし、この1名はGDPで陰性であり、肝膿瘍であるにもかかわらずCF抗体価が8倍しかないこと等から、赤痢アメーバ症は否定された。

4. 健康成人のCF抗体保有状況

健康成人209名の内訳を表3に示した。

健康成人209名のCF抗体価を調べたところ、1名が陽性を示し、抗体価も32倍と高い値であった。この1名は23歳の男性で、検便は実施できなかったが、CF抗体価が32倍あるにもかかわらずGDPが陰性であった。

5. TPHA陽性者のCF抗体保有状況

TPHA陽性者25名のCF抗体価を測定したところ、25名中4名が陽性を示し、抗体価も8倍が1名、16倍が2名、64倍が1名と高い値を示した。しかし、この4名ともGDPでは陰性であった。当所では梅毒検査としてTPHAと同時にガラス板反応と凝集反応を行っているが、この赤痢アメーバCF抗体陽性者4名全員が梅毒ガラス板反応と凝集反応陽性者で、赤痢アメーバCF抗体価と比例関係が認められた(図1)。

IV 考 察

赤痢アメーバ症の感染は、一般的には不顕性感染の形をとり、発症は、大腸壁に侵入した虫体により潰瘍を形成するアメーバ性大腸炎と、血流により臓器に転移して肝アメーバ症および肺アメーバ症等の腸外アメーバ症と

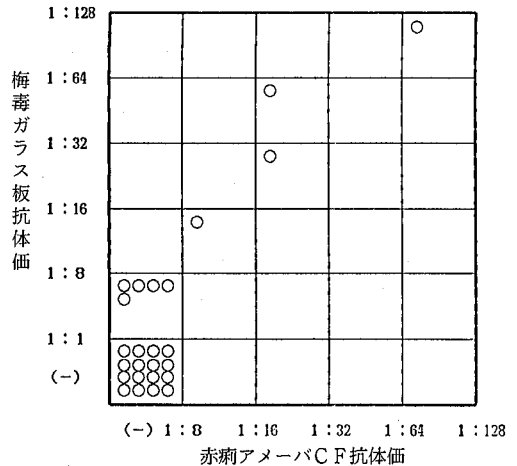


図1 TPHA陽性者における梅毒ガラス板抗体価と赤痢アメーバCF抗体価の比較

があり、腸外アメーバ症では重症例も多く死亡率も高い。

本症の診断は、細菌性赤痢と同様に法定伝染病に指定されていることから確実に診断することが重要であると同時に、潰瘍性大腸炎との鑑別が重要である。潰瘍性大腸炎の治療には副腎皮質ホルモンを使用するため、赤痢アメーバの患者では症状を悪化させる原因となり死亡例も報告されていることから⁸⁾⁻¹⁰⁾、アメーバ症を確実に否定しておかなければならない。

診断方法は、以前より原虫の形態学的同定により決定され、染色標本によらなければならないが、操作も複雑なことから一般検査室では広く行われていないのが現状である。このため、比較的確実性の高い血清学的検査法の導入が考えられている。

血清学的診断法は、1968年にDiamond¹¹⁾が無菌培養に成功して以来、いくつかの検査法が開発されてきたが我が国では一部の専門機関で実施されているのが現状である。竹内ら¹²⁾はGDP、IFA、CIE、ELISA、等を用いて赤痢アメーバ患者において100%の陽性率を示し高い診断結果が得られたと報告している。これらの方法は信頼度は高いが感度や操作性等に一長一短があり、GDPでは簡単な器具を用いるだけで操作も簡単であるが、判定に時間を要し感度や処理検体数が少ないことがあげられ、また、IFAにおいては信頼度もあり感度も高いが、操作が複雑であり蛍光顕微鏡を必要とし再現性が一定していない。飯村ら¹³⁾の報告では、アメーバスポットIF(bio Merieux社)について感度や特異性も高く再現性も良好であると報告しているが、やはり器具や操作の面で問題点が残されている。一方、CIEはGDPと同じ原理であるが、感度も高く特異性

にすぐれ、短時間に判定することも可能だが、電気泳動用の器具を必要とし染色等の操作性に問題がある。しかし、将来的には、有望な検査法の一つであると考えられる。ELISAについては、竹内ら³⁾¹²⁾、木村ら⁶⁾、と多くの研究者により検討が加えられ、いずれも良好な成績を得ているが、各施設により操作法等が異なっていることから、陽性限界の決定や操作法の統一化が待たれるところである。

当所では慶応大学医学部 寄生虫学教室より分与された赤痢アメーバ無菌株HM-1を用いGDPを使用してきたが、GDPは感度の点で若干低いのではないかと考えていた。今回、CF反応用の抗原が市販されたこととともないGDPとCFとの比較検討をおこなったところ、CF反応はアメーバ症の補助診断として十分利用できるものと思われた。CF反応はGDPより感度が高く、赤痢アメーバ患者15名全員(100%)が16倍以上を示した。足立ら¹⁴⁾の報告によると肝(肺)膿瘍アメーバ症患者で10名中8例(80%)、腸アメーバ症患者で30例中5例(16.6%)と低い陽性率になっているが、膿瘍の患者でありながらCF抗体価が陰性であることは考えにくい。これは、患者になんらかの免疫異常があるのか、あるいは、CFキットの違いによるものであろうと思われた。しかし、飯村ら¹³⁾の報告でのGDP、CF、アメーバスポットIFの比較では良い相関を示し、GDP陰性の腸アメーバ患者におけるCF反応では16倍の抗体価を示しており、我々の調査においてもGDP陰性の患者2名がCF反応16倍の抗体価を示していた。この2名はいずれも生検で栄養型を確認しており、GDPでは陰性を示すことの多い腸アメーバ症の患者にはCF反応が有用であると思われた。また、アメーバ性肝膿瘍患者4名においても全員が陽性であり、しかも、32倍から512倍と高い値を示しており、足立らの調査においても160倍から320倍であった。このように肝膿瘍患者においてはCF抗体価は高く、CF抗体価が64倍以上を示せばほぼ赤痢アメーバ症であると判断できるものと思われた。

一方、本症の診断のために依頼された潰瘍性大腸炎を含む大腸炎患者の血清は31名全員がCF反応陰性であることから、アメーバ性大腸炎と潰瘍性大腸炎との鑑別は可能であると思われた。しかし、若干の問題点として、非アメーバ性肝膿瘍の患者8名中1名、健康成人209名中1名、TPHA陽性者25名中4名が陽性を示した。非アメーバ性肝膿瘍の1名は膿瘍を形成していながらCF抗体価は8倍であるためアメーバ症は否定され、また、健康成人の1名も32倍の抗体価を示しながらGDPは陰性であった。このことからアメーバ症は否定することが可能であり、CF反応はGDP等と併用することによ

り診断効果を高めるものであると思われた。

最近の本症の増加にともない国内感染例が増加しているが、衛生状態の良い先進国における増加の一因として、男性ホモセクシャル間での伝播が重要視され、ニューヨーク¹⁵⁾やサンフランシスコ¹⁶⁾などでの調査では、ホモセクシャル間で梅毒、リン病とならんで本症の感染が高率で、STD (Sexually Transmitted Diseases) としても注目されており、我が国においても竹内ら^{12) 17)}の調査では赤痢アメーバ患者の40%がTPHA陽性者であったとしている。今回の我々の調査においても、赤痢アメーバ患者15名中4名(26.7%)がTPHA陽性であり、赤痢アメーバ症と梅毒陽性者との関連性がうらぎられた。また、梅毒陽性者における赤痢アメーバの抗体保有状況を知る目的でTPHA陽性者25名のCF抗体価を調査したところ、25名中4名がCF反応陽性で、抗体価も8倍1名、16倍2名、64倍1名と高い値を示した。しかし、この4名はGDPが全員陰性を示すことからアメーバ症は否定された。そこで、この4名の梅毒血清反応を調べたところ、いずれも梅毒ガラス板、凝集反応が高値を示し、CF抗体価と比例関係にあり、梅毒ガラス板において8倍より低い値ではCF反応も陰性であった。このことより、CF反応では梅毒ガラス板反応で8倍以上を示す進行性梅毒患者では疑陽性反応を示すものと思われた。

以上の結果から、CF反応が陰性の場合にはほぼ赤痢アメーバを否定することはできるが、CF反応が陽性であった場合は、検便やGDP、生検等を行うと同時に進行性梅毒ではないか確認する必要があると考えられた。すなわち、CF反応だけで診断を下すのは危険であるがスクリーニングや補助診断、予後の判定基準の一つとして充分使用できるものと考えられた。

最後に、赤痢アメーバ患者の診断には早期確定診断が望まれ免疫学的診断方の有用性が認められたが、いくつかの問題点が考えられた。それは、赤痢アメーバの同定法は各施設によりまちまちであり、無染色やヨード染色だけで同定を行っている施設も多く、伊藤ら¹¹⁾の症例では非アメーバ性肝膿瘍患者の肝胆汁中よりアメーバ様運動をするマクロファージと思われる細胞を確認しており運動性だけで同定するのは危険である。また、著者ら¹⁹⁾が診断基準の提案を行なっているが、一般的には、各施設にゆだねられているのが現状であることから、今後、形態学的同定法や免疫学的検査法等の検査手法の統一化が望まれる。

文 献

- 1) 真子 俊博：福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究 第2報 散発下痢症者の腸管寄生原虫類調査結果，福岡市衛試報，7，55-59，1982
- 2) 堀 栄太郎：関東地方における腸管寄生原虫の疫学的調査，寄生虫誌，14，6-14，1965
- 3) 竹内 勤，他：赤痢アメーバ症，臨床と微生物，14，72-76，1987
- 4) Juniper, J. K., *et al.* : Serologic Diagnosis of Amebiasis, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 21, 157-168, 1972
- 5) Krupp, I. M. : Comparison of Counterimmunoelectrophoresis with other Serologic Test in the Diagnosis of Amebiasis, *Am. J. Med. Hyg.*, 23, 27-30, 1974
- 6) 木村 明生，他：赤痢アメーバ疫学的診断法としてのELISA法の有用性について，大阪府立公衛研所報，24，33-38，1986
- 7) 真子 俊博，他：福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究 第1報 赤痢アメーバの家族内感染例にともなう免疫診断法と染色法の検討，福岡市衛試報，7，50-54，1982
- 8) 谷村 晃，他：大腸全域にわたる広範囲な潰瘍を形成した，アメーバ赤痢の一部検例，最新医学，34，1070-1073，1979
- 9) 増田 剛太，他：日和見感染と考えられたアメーバ症の2症例，感染症学雑誌，60，1352-1356，1986
- 10) 坂本 清人，他：腸アメーバ症，胃と腸，18，361-372，1983
- 11) Diamond, L. S. : Techniques of axenic cultivation of Entamoeba Amebae, *J. parasit.*, 54, 1047-1056, 1968
- 12) 竹内 勤：赤痢アメーバ症の最近の動向と診断法の進歩，メディヤサークル，30，589-599，1985
- 13) 飯村 さかえ，他：アメーバスポットIFにおける赤痢アメーバ血清抗体価の検討，最新検査，5，31-38，1987
- 14) 足立 利幸，他：アメーバ性赤痢患者の発生病況と診断法について，メディヤサークル，31，102-107，1986
- 15) Marr, J. S. : Amebiasis in New York City : A Changing Pattern of Transmission, *Bull N. Y. Acad. Med.*, 57, 188-200, 1981
- 16) Markell, E. K., *et al.* : Intestinal Protozoa in Homosexual Men of the San Francisco Bay Area : Prevalence and Correlates of Infection, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 33, 239-245, 1984
- 17) 竹内 勤，他：Sexually-Transmitted Parasitic Diseases (STPD)，日本医事新報，3211，23-26，1985
- 18) 伊藤 孝一郎，他：飯塚病院のアメーバ症一昭和59年の症例を中心に，特に抗体陰性例についての考察一，臨床と研究，64，119-124，1987
- 19) 真子 俊博，他：福岡市における腸管寄生原虫類の疫学的研究 第3報 赤痢アメーバの検査法と診断基準についての提案，福岡市衛試報，12，31-41，1987

分光光度計を用いた野菜漬物中許可タール色素の簡易定量法

桃崎悦子¹・藤本 喬²

Simple Method for Determination of Permitted Coal-Tar Dyes in Commercial Pickles by Spectrophotometry

Etsuko MOMOSAKI, Takashi FUJIMOTO

野菜漬物中のタール色素を0.5%アンモニア水で抽出しポリアミドカラムで精製および色素の分離を行った後、分光光度計を用いて定量する簡易定量法について検討し、以下の結果を得た。

1. しば漬、さくら大根、梅干し、紅しょうがは、通常色素が単一で使用されておりポリアミドカラムにより良く精製された。
2. 福神漬、きゅうり・しそ漬（緑色）は色素が数種使用されているので、ポリアミドカラムの溶離液濃度を变化させることにより分離できた。
3. たかな漬は食品成分の色が色素の定量にプラス妨害を与えるため、食品の影響の少ない波長を選ぶことによってプラス妨害が除去できた。
4. たくあん漬では食品成分よりの妨害はみられなかった。
5. 以上の方法により昭和61年度に定期収去された市販漬物38件について検査したところ17件が100 ppmをこえていた。

Key words: タール色素 Coal tar dyes, 分光光度法 Spectrophotometry, ポリアミドカラムクロマトグラフィー Polyamido column chromatography, 漬物 Pickles

I はじめに

食品添加物としてわが国で許可されているタール色素(11種及びそのアルミニウムレーキ7種)は、使用量についての基準が定められていない。しかし、漬物については、昭和56年9月に衛生規範が定められ、合成着色料を使用するものにあつては100 ppm以下にすることが望ましいと明記されている¹⁾。市販漬物中のタール色素含量を調査した報告²⁻⁷⁾において100 ppm以上検出された事例が数多く見うけられ、収去により当試験所に持ち込まれる漬物についてもタール色素が多量に使用されていると思われるものが散見される。

漬物からの色素の分離定量法としては、イオン交換液による液-液分配の薄層クロマトグラフィー(TLC)を行う方法²⁻⁴⁾、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により定量する方法⁵⁻⁷⁾が報告されている。HPLC法は厚生省編「食品中の食品添加物分析法」のタール色素の定量法に採用され、近年の定量法の主流を占めている。

しかしながら、HPLC法は高価な機器を必要とし、現場で簡易に測定する方法としては不向きである。今回著者は漬物製造者に対する指導に活用するため、迅速かつ簡易な方法としてポリアミドカラムクロマトグラフィーにより精製の後、分光光度計による定量法を試みた。あわせてTLCによる色素の同定も行なった。

1. 福岡市衛生試験所 理化学課
2. 福岡市衛生試験所 理化学課
(現所属 東保健所 衛生課)

II 実験方法

1. 試料

昭和61年度	定期収去されたつもの38件		
梅干し	1件	紅しょうが	2件
しば漬	5件	さくら大根	6件
九州菜	2件	たかな漬	6件
たくあん	6件	寒干し大根	1件
たまり漬	1件	福神漬	3件
その他	5件		

2. 試薬および標準品

ポリアミド：和光純薬 カラムクロマトグラフ用
C-200

色素標準液：三栄化学工業（株）製食用色素標本を使用

許可色素 11 種を蒸留水にとかして 1000 ppm とした。TLC 用スタンダードはこのまま使用した。吸収スペクトル測定用は、溶離液（0.5% 炭酸アンモニウム・50% エタノール溶液）にて 10 ppm に希釈したものを使用した。

その他の試薬：市販特級を用いた。

3. 装置及び器具

分光光度計：島津 UV-240

ポリアミドカラム：ポリアミド 0.5 g をガラスカラム（10 mm φ × 250 mm）に水を用いて湿式充填し水 20 ml で洗浄後、0.3 N 硫酸 10 ml を流し調製した。

薄層クロマトグラフィー：

プレート アビセル SF 10 × 20 cm

- 展開液 1) 25% アンモニア水・2.5% クエン酸ナトリウム・エタノール（2：7：1）
2) プロパノール・酢酸エチル・水（6：1：3）

4. 試験方法

(1) 試験溶液の調製

試料を 5-15 g 細切し、0.5% アンモニア水にて抽出した。肉眼にておおむね色素が見えなくなるまで繰り返した。抽出液の適量を 0.3 N 硫酸にて酸性とし試験溶液とした。

(2) 精製

試験溶液をポリアミドカラムに負荷し、0.3 N 硫酸を 30 ml 流した。次に蒸留水 30 ml および 50% エタノール溶液 10 ml で洗浄し、溶離液として、以下の炭酸アンモニウム・50% エタノール溶液を用いた。はじめに炭酸アンモニウム濃度 0.5%（0.5% 溶離液と略す）を 15 ml、1.0%（1.0% 溶離液）を 15 ml、8.0%（8.0% 溶

離液）を 30 ml 流し色素の溶出したフラクションを分取した。2 種以上の色素を含有するサンプルについてはフラクションの流量を適宜変更した。

(3) 定量

溶出液について、200-700 nm の吸収スペクトルを求め、スタンダードのスペクトルと比較し、吸収極大波長が一致し、吸収曲線のパターンが相似であることを確かめた後、スタンダードにより求めた吸収係数（吸光度/ppm）により濃度を求めた。

(4) 色素の同定

色素抽出液を毛糸染色の後、薄層クロマトグラフィーを行なって色素の種類を確認した。

III 結果及び考察

1. 液性による吸収スペクトルの変化

各色素について、操作中に用いた溶液中での吸収スペクトル変化を調べた。1) 0.5% アンモニア水 2) 0.3 N 硫酸 3) 蒸留水 4) 0.5% 炭酸アンモニウム・50% エタノール（0.5% 溶離液）によって 10 ppm の溶液を作り、200-700 nm の吸収スペクトルを測定した。

(1) アゾ染料

タートラジン（Y 4 と略す）、サンセットエロー F C F（Y 5）、ニューコクシン（R 102）、アマランス（R 2）は、衛生試験法注解¹⁴⁾によれば 0.1 N 水酸化ナトリウム中では、酸性および中性液中に比べ吸収極大が低波長側へ移動し、かつ吸光度も低下している。0.5% アンモニア水中で、Y 4 では吸収極大が低波長側へ移動し、Y 5 では吸光度がやや低くなった。しかし、R 102 R 2 は上記 4 溶液中でほぼ同じ吸収スペクトルを示した。

(2) キサンテン染料酸化型（フルオレセインの類）

0.3 N 硫酸中において、エリスロシン（R 3）は色が薄くなり、フロキシシン（R 104）、ローズベンガル（R 105）は、完全に消失した。この液をアルカリ側へ戻すと色調および吸光度が復帰した。復帰した後の吸光度は、R 3 で 98.5%、R 104・R 105 で 100% であった。0.5% アンモニア水中と蒸留水中では同じ吸収スペクトルを示した。0.5% 溶離液中では吸収極大が長波長側へと移動した。

(3) キサンテン染料塩基性型（ローダミンの類）

アシッドレッド（R 106）は 0.3 N 硫酸中にて吸光度がやや低くなる程度で他は変化はなかった。

(4) インジゴイド染料

インジゴカルミン（B 2）は、上記 4 溶液中でほぼ同じ吸収スペクトルを示した。しかし、0.5% アンモニア水溶液では、数時間放置すると青みが薄くなり黄色へと

変色した。

(5) トリフェニルメタン染料

ファストグリーンFCF (G3) とブリリアントブルーFCF (B1) は0.3 N 硫酸水溶液で620 nm 付近の吸光度が減少し、420 nm 付近の吸光度が増し緑色となった。B1は pHにより吸収極大波長は変化しないが、G3はアルカリ性になると吸収極大が低波長側へシフトした。

2. 溶離液における吸収極大と吸収係数

表1に0.5% 溶離液中における吸収極大波長 (nm) 及び吸収係数 (吸光度/ppm) を示した。炭酸アンモニウムの濃度を0.5% から8.0%へ変えても吸収極大波長と吸光度に変化はなかった。

3. ポリアミドカラムクロマトグラフィー

ポリアミドは酸性で、酸性タール色素のスルホン基な

表1 吸収極大波長と吸収係数

	吸収極大波長(nm)	吸収係数(吸光度/ppm)
Y 4	429 ± 1	0.0511
Y 5	484 ± 1	0.0512
R102	512 ± 2	0.0438
R 2	522 ± 2	0.0387
R 3	530	0.115
R104	548	0.124
R105	557	0.108
R106	563	0.192
G 3	609	0.122
B 2	613 ± 1	0.0498
B 1	629	0.166

どと水素結合によって強固に結合する。この状態で食品成分を流出させ、次にアルカリ性になると色素がポリアミドより脱離する。結合の度合が色素によって異なるので溶離液のアルカリ濃度を変化させることにより、色素の大まかな分離が可能であった。この溶出液の吸収スペクトルを測定し比色定量を行った。

11種の標準色素において、ポリアミドカラムクロマトグラフィーにおける挙動と回収率を見た。カラムに荷した色素は100 μgとした。

(1) 色素の吸着とカラムの洗浄

ポリアミド0.5gでカラム(内径10mm)中の充填剤の長さは約20mmであった。0.3N硫酸酸性下では色素は良好に吸着されていた。吸着帯の長さはR106で7mm、その他は1~2mmであった。色素以外の食品成分を除去するため蒸留水30ml、50%エタノール10mlにて洗浄した。R106の吸着帯の長さが蒸留水30ml洗浄にて8mmに、50%エタノール洗浄で15mmとなったが、他の色素では吸着帯の移動はみられなかった。この条件下では、R106についてはポリアミド0.5gで100 μg程度が最大負荷量であると思われる。

キサントゲン染料酸性型の色素は硫酸酸性下でR3では色がうすくなりR104、R105では消失してしまうが、水洗浄により色調および吸光度が復帰した。また、B1とG3は青より緑に変化するが、これも水洗浄により復帰した。

なお、水洗浄30mlにより流出液のpHは5に、50%エタノール洗浄にてpH6となった。

(2) カラムからの色素の溶出パターン及び回収率

各フラクションの濃度を表1の吸収係数を用いて算出し回収率を表2に示した。表2において各色素は溶出の

表2 ポリアミドカラムからの溶出パターンと回収率 (%)

	* (ml)	0.5%溶離液			1.0%溶離液 15ml	8.0%溶離液		Total
		0~5ml	5~10ml	10~15ml		0~30ml	30~60ml	
R106	1.8	91	5					96
B 1	2.2	87	12					98
G 3	2.2	72	23	2				97
Y 5	3.0	20	68	7				95
B 2	4.0	5	66	23	6(0~5ml)			100
Y 4	4.5	3	60	32	8(0~5ml)			103
R 2					73	25(0~10ml)		98
R102					14	86(0~15ml)		100
R104					8	85	5(0~10ml)	98
R 3					6	56	20	82
R105					3	24	42	69

早い順に並べた。*印の欄には0.5% 溶離液において、色素が流出し始める流出液量を示した。すなわちR106では、溶離液を流し始めて1.8 ml から5 ml までの間に91% の色素が溶出した。

R3 とR104の回収率が低いがこの場合エタノールの含量を75% まで増やして溶出を早めた。

4. 野菜漬物の測定結果

前記の方法を用いて市販漬物38件について、タール色素の定性と定量を行なった結果を表3に示した。

(1) 梅干, 及び紅しょうが

梅干, 紅しょうがにおいては, R102が検出され, 3件中2件は非常に高い値であった。

No.1の試料について各フラクションの吸収スペクトルを図1, 2に示した。図1は0.3N 硫酸, 水, および50% エタノールの, 図2はR102のスタンダードと1.0% 溶離液と8% 溶離液のフラクションを示した。食品成分が除去され, 溶出液の吸収スペクトルがスタンダードによく一致していた。

(2) しば漬

しば漬はR106が使用されており, 100 ppm をこえるものが5件中2件見られた。上記の梅干しと同じくカラム処理により, UV域がR106のパターンと一致し, 良好に精製されていた。

(3) さくら大根

さくら大根も, R106が使用されていた。さくら大根は色調が淡く, その濃度は3.1~12 ppm であった。

(4) たかな漬

たかな漬においてはY4が検出され, 8件中4件が100 ppm をこえていた。その理由はたかなが持つそのものの色の上に更に黄色くみせるためには, 多量の色素を必要とするためではないかと思われる。0.5% アンモニア水で抽出すると, たかな自体が持つ色素が抽出されカラム処理後のY4の定量に妨害となった。

無添加たかな漬に同操作してえられた吸収スペクトルとY4の吸収スペクトルを図3に示した。Y4の吸収極大428 nm においてはたかなの影響があるため, 妨害の少ない460 nm において, 吸光度を測定して, 濃度計算をした。Y4の460 nm における吸収係数は, 0.0391であった。Y4の吸収スペクトルでは, 310 nm において谷がみられ, 428 nm における吸光度をAとし, 310 nm における吸光度をBとすれば, B/Aの値は0.1程度である。Y4を使用した市販たかなの吸収スペクトルも図3に示した。310 nm における谷がスタンダードより浅くなっており, B/Aの値は, 大きいもので0.6以上のものもあった。

B/Aの値がたかなの妨害の程度を示しており, この値

が大きいと428 nm で求めた濃度(C)は460 nm で求めた濃度(D)より高くなっていた。B/AとC/Dとの間に以下のような関係があった。

B/Aが0.3より小さい時 → C/Dは1.0から1.05 3件

B/Aが0.3から0.6の時 → C/Dは1.05から1.10 2件

B/Aが0.6以上の時 → C/Dは1.10以上 3件

たかなにおいては, 460 nm における吸光度により求めた方が良いと思われた。

(5) たくあん漬

たくあん漬においてもY4が検出され, 8件中1件が100 ppm をこえていた。たくあんにおいては, たかなのように野菜そのものの影響はないと思われるが, 低波長側では食品成分の影響を受けやすいので, たかな漬に準じて計算した。たくあんではB/Aの値が0.08~0.3で, C/Dの値も0.96~1.03で428 nm と460 nm における計算値が良く一致した。

たくあん漬ではY4の吸収極大波長428 nm における吸光度より濃度計算してよいと考えられた。

(6) 福神漬

福神漬は, 2~4種の色素が併用されるのが常である。今回は, Y4, R102, R106が検出され, Y4はすべて100 ppm 前後の値であった。R106とY4は0.5% 溶離液のフラクションで溶出するがR106の溶出が早いので, R106が0.5% 溶離液を6.5 ml, Y4が1.0% 溶離液を8 ml, R102が8.0% 溶離液を10 ml で分取した。色素抽出液(0.5% アンモニア溶液)を中和したものと各フラクションの吸収スペクトルを図4に示した。

福神漬においてY4とY5が同時に使用される例が見受けられるが, Y4とY5はポリアミドカラムでほぼ同じ溶出パターンを示すため分離が不可能である。この場合, 混合成分系の検討が必要となってくる。

分光光度法的手法を用いて多成分混合系を分別定量する方法として, 二波長分光測光法⁸⁻¹¹⁾および微分分光光度法¹²⁻¹³⁾が詳細に検討されている。今回は 精製に用いたポリアミドカラムクロマトグラフィーにより色素を分離することに主眼をおいたため, 混合成分系の検討は行わなかった。

(7) その他の漬物

しそ, きゅうり等の緑色に着色された漬物から, Y4とB1が検出された。Y4では全て100 ppm 前後の値であった。Y4とB1は, ともに0.5% 溶離液のフラクションに溶出するが, B1の方が, Y4に比べ早く溶出するので, 0.5% 溶離液を7 ml 流してB1を分取し, その後1.0% 溶離液を10 ml 流して, Y4を分取した。色素抽出液(0.5% アンモニア溶液)を中和したものと各フラクションの吸収スペクトルを図5に示した。

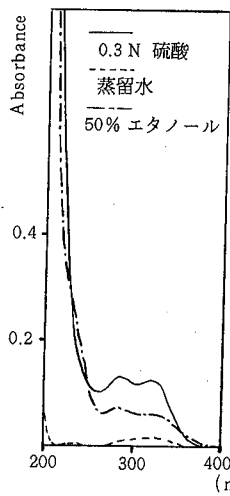


図1 梅干し
洗浄フラクションの
吸収スペクトル

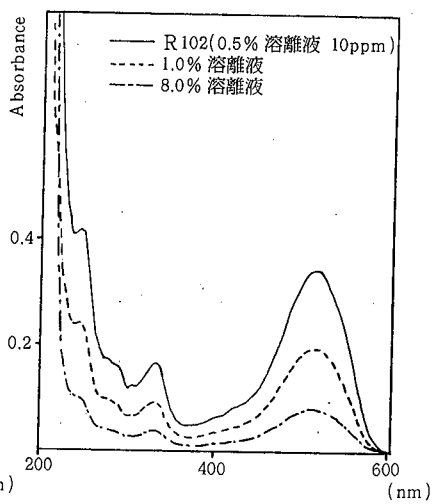


図2 梅干し
溶離液およびR102の吸収スペクトル

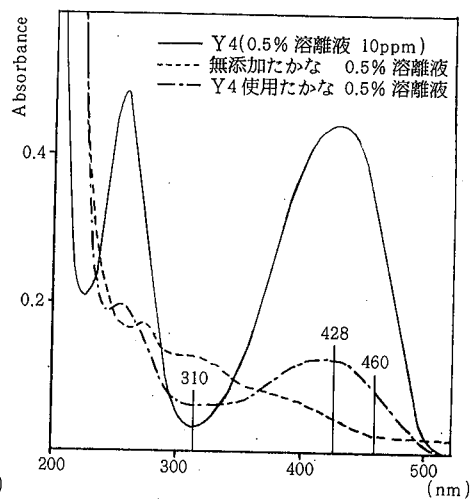


図3 たかな漬
溶離液およびY4の吸収スペクトル

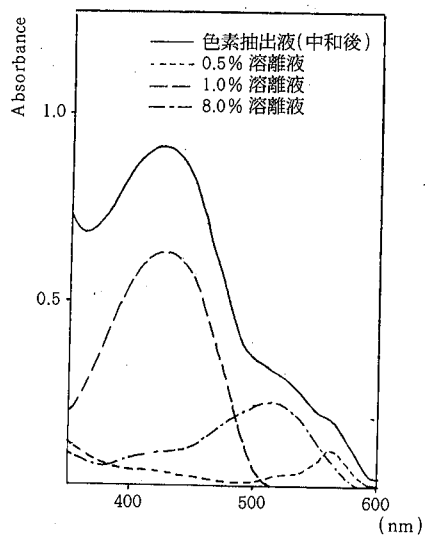


図4 福神漬 吸収スペクトル

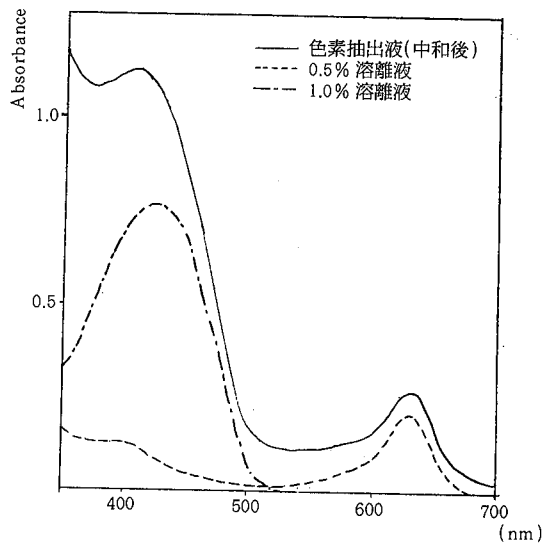


図5 青じその実 吸収スペクトル

5. 色素の同定

セルロース薄層クロマトグラフィーにより色素の同定をしたところ、ポリアミドカラム後分光光度計にて測定した結果によく一致した。

No.6の試料(しば漬)で、TLCにてR3が検出されたがポリアミドクロマトグラフィーでは8.0%の溶離液のフラクションに検出できなかった。R3の量がR106に比べて微量であったため負荷量が少なかったものと思われる。この様に微量含まれている場合、TLCを併用して色素の同定を確実にする必要がある。

表3 野菜漬物の測定結果

No.	試料	色素	濃度(ppm)
1	梅干し	R102	410
2	紅しょうが	R102	240
3	紅しょうが	R102	48
4	しば漬	R106	100
5	しば漬	R106	72
6	しば漬	R106	88
		R3	trace
7	しば漬	R106	120
8	しば漬	R106	28
9	さくら大根	R106	12
10	さくら大根	R106	4.2
11	さくら大根	R106	6.0
12	さくら大根	R106	4.5
13	さくら大根	R106	3.1
14	さくら大根	R106	7.8
15	九州菜	Y4	150
16	九州菜	Y4	140
17	たかな漬	Y4	90
18	たかな漬	Y4	94
19	たかな漬	Y4	150
20	たかな漬	Y4	340
21	たかな漬	Y4	20
22	たかな漬	Y4	36
23	たくあん	Y4	55
24	たくあん	Y4	35
25	寒干し大根	Y4	130
26	たくあん	Y4	32
27	たまり漬	Y4	70
28	たくあん	Y4	88
29	たくあん	Y4	55
30	たくあん	Y4	24

31	福神漬	R106	5.7
		R102	51
		Y4	130
32	福神漬	R102	24
		Y4	91
33	福神漬	R106	6.2
		R102	59
		Y4	89
34	しそきゅうり	Y4	110
		B1	6.1
35	青じその実	Y4	140
		B1	12
36	しょうゆ漬	Y4	120
		B1	5.7
37	きゅうり	Y4	110
		B1	3.4
38	青じそ	Y4	96
		B1	17

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局食品衛生課：環食第214号 S56. 9. 24
- 2) 西島基弘，他：食品中の許可タール色素の定量法，食衛誌，19，463-469，1977
- 3) 椎名 治，他：各種食品中のタール系着色量含有状況調査について，食品衛生研究，28，242-246，1978
- 4) 赤城幾代，他：市販食品の酸性タール色素の使用状況，道衛研所報，29，116-118，1979
- 5) 井上雅成，他：高速液体クロマトグラフィーによる漬物中のタール色素の定量，奈良衛生研究所年報，16，89-92，1981
- 6) 吉田 宏，他：高速液体クロマトグラフィーによる市販食品中の食用タール色素含有量調査，広島市衛研年報，4，29-32，1984
- 7) 長南隆夫，他：高速液体クロマトグラフィーによる食品中のタール色素の定量，道衛研所報，36，1-8，1986
- 8) 神蔵美枝子，他：食品混合色素の二波長分光側光法による分別定量(第1報)，食衛誌，13，555-565，1972
- 9) 佐々木英人：タール系食用色素および類似色素の多成分混合物の二波長分光測光法による定量分析，食衛誌，19，1-11，1978

- 10) 佐々木英人, 他: タール系食用色素などの混合物の二波長の分光法による定量分析, 食衛誌, 19, 12-22, 1978
- 11) 佐々木英人: 吸光係数倍率器を利用した二波長分光法によるタール系食用色素の定量分析 (第1報), 食衛誌, 19, 23-33, 1978
- 12) 佐々木英人: タール系食用色素の微分光法による定性定量分析 (第1法), 食衛誌, 19, 34-43, 1978
- 13) 佐々木英人: 液状食品中の合成着色料の微分光法による定性定量分析, 食衛誌, 20, 93-100, 1979
- 14) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 (1980), 368-374, 金原出版, 東京, 1980

高速液体クロマトグラフィーによる食肉中のニコチン酸 及びニコチン酸アミドの迅速定量法の検討

藤本 喬¹・森部 昌江²

A Rapid Method for Determination of Nicotinic acid and Nicotinamide with High Performance Liquid Chromatography

Takashi FUJIMOTO, Masae MORIBE

ニコチン酸及びニコチン酸アミドの分析法の検討及び福岡市内に流通する食肉のニコチン酸及びニコチン酸アミドの使用状況調査を行なった。

- (1) 前処理として用いたアルミナカラムにおいて、ニコチン酸アミドはメタノールによって溶出し、ニコチン酸は60% エタノールによって溶出することが判った。
- (2) HPLCの移動相の検討を行なったところ、ニコチン酸、ニコチン酸アミドとも20分以内で分析することができた。
- (3) 市販食肉94件を調査した結果、ニコチン酸、ニコチン酸アミドとも使用の疑いのあるものは認められなかった。

Key words: ニコチン酸 Nicotinic acid, ニコチン酸アミド Nicotinamide, 食肉 Meat, 高速液体クロマトグラフ High performance liquid chromatography, アルミナカラム Alumina column chromatography

I はじめに

食品添加物の強化剤であるニコチン酸アミドおよびニコチン酸は、食肉中の色素蛋白質の酸化をおさえ、食肉の変色を防止する作用があり、L-アスコルビン酸などの混合製剤のかたちで、食肉製品、魚肉煉製品、たらこなどの発色剤または発色助剤として、よく利用されている。また、一部の生鮮食肉や生鮮魚介類にみかけの鮮度保持の目的で使用されるという事例が発覚し、昭和57年2月、生鮮食品への使用が禁止された経緯のある添加物でもある¹⁾。しかしながら、昭和61年7月、牛肉にニコチン酸を使用した事実が報じられ、再度の指導

強化がなされた^{2),3)}。そこで、本市内に流通する食肉について、ニコチン酸アミド、ニコチン酸の使用状況調査を行なった。また、検査に際し分析法について若干の検討を行なったので合わせて報告する。

II 材料および方法

1. 試料

市内各保健所の食品監視員により、当試験所に検査依頼された食肉を用いた。

2. 試薬および装置

ニコチン酸(標準品) : 和光純薬(株)
ニコチン酸アミド(標準品) : 和光純薬(株)
エクストレルート : Extrelut 1 メルク社製
中性アルミナ : Art 1077 メルク社製
メタノール : 和光純薬(株) HPLC用
臭化テトラブチルアンモニウム(TBA) :

- 1) 衛生試験所 理化学課
(現所属 福岡市東保健所 衛生課)
- 2) 衛生試験所 理化学課
(現所属 福岡市下水道局管理部 水質試験所)

東京化成(株) 特級試薬

酢酸エチル: 和光純薬 残留農薬用

アセトニトリル: 和光純薬(株) HPLC用

その他の試薬: 市販特級を用いた。

高速液体クロマトグラフ: L-2000 柳本製作所(株)

フードプロセッサ: SKM-300 三洋電気(株)

超音波洗浄器: Sono Cleaner-200a 海上電機(株)

3. 実験方法

フードプロセッサによりミンチ肉としたもの5gをとり、メタノールを用いて超音波洗浄器で10分抽出した。その中から1g相当をロータリーエバポレーターにてほとんど乾固するまで濃縮し、少量のメタノールに溶かしアルミナカラムに注いだ。さらにメタノール10mlを流しニコチン酸アミドのフラクションとした。次に60%のエタノールを約20ml流し、ニコチン酸のフラクションとした。各フラクションをそれぞれロータリーエバポレーターで濃縮し、水に溶かし下記条件のHPLCで測定した。

表1 HPLC Conditions

column	UnisilQ C-18-5 (4.6mm, 250mm)
column temp	Ambient
mobile phase	10mM Sodium Acetate + 1mM TBA : MeOH (76 : 24)
flow rate	1.0ml/min.
detector	254 nm, 0.04 AUFS

III 結果および考察

1. 前処理法について

表2 市販食品中のニコチン酸アミド

Meats	(n)	Min. - Max.	Av	σ
牛肉 (ミンチ)	37	0.25 - 3.80	2.39	0.59
牛肉 (スライス)	21	0.73 - 3.30	2.21	0.65
豚肉 (ミンチ)	5	1.00 - 1.94	1.62	0.37
豚肉 (スライス)	5	1.05 - 2.78	1.64	0.62
合びきミンチ	16	2.19 - 3.60	2.74	0.38
牛レバー	1	5.70		
馬肉	1	2.73		
鶏肉	1	1.70		
鶏レバー	1	4.97		
マトン (ロース)	1	3.80		
マトン (レッド)	1	3.30		
生ハンバーグ	4	1.14 - 1.97	1.62	0.36

ニコチン酸アミド、ニコチン酸分析の前処理法としては、エクストレルートカラムを用いる方法^{(1), (2)}、アルミナカラムを用いる方法などが報じられている⁽³⁾。エクストレルートカラムではニコチン酸アミドの分析が示され、ニコチン酸も同時分析が可能なが示されている。そこで、エクストレルートカラムを用いてニコチン酸アミド、ニコチン酸の溶出条件の検討を行なった。標準液を添加した食肉のメタノール抽出液を濃縮後少量の水に溶解しエクストレルートカラムに負荷した。ニコチン酸アミドについては酢酸エチル10mlで溶出したが、ニコチン酸についてはメタノール混合酢酸エチルを用いなければ溶出しなかった。メタノール混合割合は20%以上が必要であった。そのため妨害物除去という点では充分とはいえなかった。

また、アルミナカラムではニコチン酸アミドとニコチン酸との分別分析法が示されている。ニコチン酸アミドはメタノールによりほとんど保持されずに溶出するが、ニコチン酸は強く保持され水系の溶離液を用いないと溶出しにくい。溶離条件の検討を行なったところ次のようなことが判った。

- (1) アルミナの量を多くすると、ニコチン酸アミドはメタノール量を増すことによって溶出したが、ニコチン酸の回収率が低下した。
- (2) ニコチン酸は30%以上含水のメタノール、エタノール、アセトニトリルなどによってアルミナカラムより溶出した。
- (3) ニコチン酸アミドとニコチン酸とをアルミナカラムによって同時に溶出させることはできたが、妨害物質が多く分別定量することが望ましかった。

以上の結果から、アルミナの量は1gとしニコチン酸アミドのフラクションはメタノール10ml、ニコチン酸のフラクションは濃縮操作を考慮して、60%エタノール20mlを用いることとした。

2. HPLC条件について

ニコチン酸アミド、ニコチン酸のHPLCによる測定方法としては、イオン交換カラム、逆相系カラムなどが考えられる。今回の実験では逆相系のカラムを用い、ニコチン酸アミド、ニコチン酸ともに室温で20分以内に測定可能となるよう溶離液の検討を行なった。酢酸緩衝液を用い、イオン対としてテトラブチルアンモニウムブロマイド(TBA)を用いた。イオン対を加えることによってピークの形状がよくなり、ニコチン酸アミドとニコチン酸との保持時間の差が小さくなった。カラムの劣化を防ぐためTBAの濃度は1mM程度とした。pHによる影響はあまり大きくはな

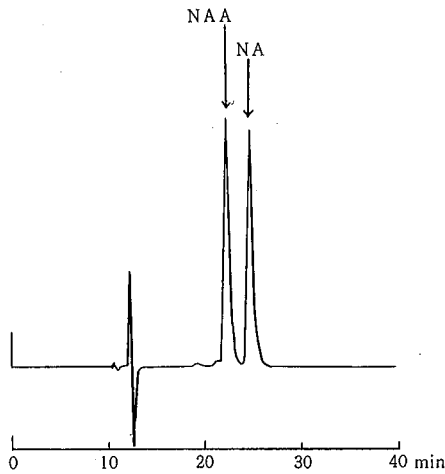


図1-1 NA, NAAのHPLCクロマトグラム

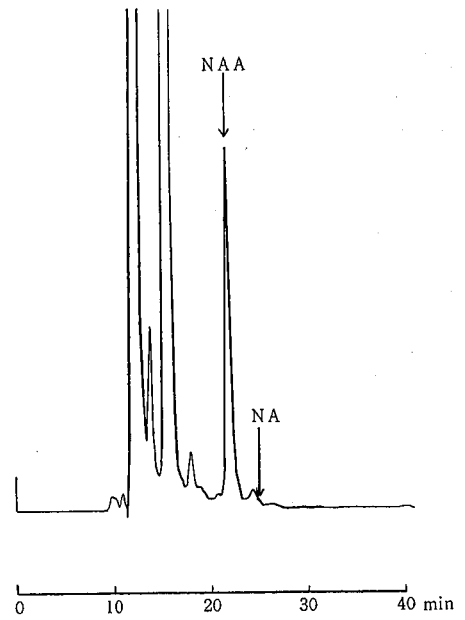


図1-2 牛肉抽出液のHPLCクロマトグラム

かったが、pHが高くなるに従って溶出は早くなった。そこで、酢酸ナトリウムを無調整のまま（pH 7.2）用いることにした。最も影響の大きかったのは、メタノール濃度であった。メタノール濃度が30%になるとニコチン酸アミドとニコチン酸との分離は困難となり、保持時間はそれぞれ8.4分と8.8分であった。また、メタノール濃度が20%では、分離はよいがニコチン酸が溶離するのに40分以上を要した。そこでメタノール濃度は24%とした。この条件ではニコチン酸アミドは16.5分、ニコチン酸は18.0分の保持時間を示した。図1にHPLCのクロマトグラムを示した。

3. 市販食肉の検査結果

表-2に市販食肉及び食肉製品94件のニコチン酸アミド検査結果を示した。

今回検査を行なった食肉のニコチン酸アミド含有量はレバーを除き、いずれも4mg%以下であった。レバーでは牛レバーで5.70、鶏レバーで4.97と若干高い値を示した。ニコチン酸はいずれも1mg%以下であり、最高値でも0.67と低い値であった。

肉色保持の目的で使用されるニコチン酸アミド、ニコチン酸の濃度は明確に示されていないが、食肉に含まれる他のデータと比較して、高い値ではなかったことから、使用実態はないものと思われる。

文 献

- 1) 厚生省告示第20号 昭和57年2月16日付 食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について
- 2) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課；衛乳第32号 昭和61年7月17日付 食肉販売業及食肉処理業の監視指導の強化について
- 3) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課；衛化第47号 昭和61年7月17日付 食品添加物の適正使用の周知徹底について
- 4) 厚生省食品化学課；食品中の食品添加物分析法 330~335, 講談社, 1982
- 5) 高槻圭悟, 他；HPLC法による牛肉中のNAA, NAの分析, 宮城県保健環境センター年報, 第2号, 89~92, 1984
- 6) 大石充男, 他；HPLCによる食肉中のNA及びNAAの分析, 東京都衛研年報, 35, 252~255, 1984

食用タール色素を含有する清涼飲料水のL-アスコルビン酸 およびエリソルビン酸の確認法

藤本 喬¹

A Devised Method for the Detection of L-Ascorbic acid and Erythorbic acid in Drinks Containing Food Tar Dyes

Takashi FUJIMOTO

食用タール色素を含有する清涼飲料水中のL-アスコルビン酸(Asc)とエリソルビン酸(Ery)の確認法について検討した。試料液にメタリン酸を加え、ポリアミドカラムを通すことにより食用タール色素は、完全に除去することができた。ポリアミドカラム処理によるAsc, Eryの損失は認められなかった。その結果、インドフェノール滴定法によりスクリーニングが可能となり、滴定法によりAsc, Eryの確認されたものについてのみHPLC法により、AscとEryとの分別定量を行えばよいことがわかった。この確認方法を市販清涼飲料水に適用したところ2/3の検体についてはHPLC法を必要とせず、検査時間の大幅な短縮が可能であった。

Key words: L-アスコルビン酸 L-Ascorbic acid, エリソルビン酸 Erythorbic acid, ポリアミドカラム Polyamide column, インドフェノール Indophenol, 高速液体クロマトグラフィー High performance liquid chromatography, 清涼飲料水 Soft drink, 食用タール色素 Food tar dye

I はじめに

食品中のL-アスコルビン酸及びエリソルビン酸の分析法としては適当な前処理の方法がないことから、一般に抽出液を直接HPLCに注入する方法¹⁾がとられている。そのためカラムの劣化をきたしたり、目的物の確認定量ということで若干の不安を生じたり、HPLCのクロマトグラム上、目的物のあとに大きな妨害ピークが出現するなどの理由から、かえって、分析時間がかかる場合が多い。

今回これらの解決の第一歩として食用色素を多量に含有する清涼飲料水について、食用色素の除去及びスクリーニング法の確立を目的に、ポリアミドカラムを用い、HPLC法及びインドフェノール滴定法を併用することに

より、迅速に精度よく確認定量が可能となったので以下報告する。

II 実験方法

1. 試料

食品衛生監視員により、当試験所に検査依頼された清涼飲料水、濃縮清涼飲料水および健康飲料水を用いた。なお添加回収実験には、次の濃縮清涼飲料水を用いた。

イチゴシロップ; 食用赤色2号 400 ppm および食用赤色102号 4 ppm を含有
メロンシロップ; 食用青色1号 51 ppm および食用黄色4号 170 ppm を含有
パインシロップ; 食用黄色4号 82 ppm 含有

2. 試薬および標準品

ポリアミドC-200: 和光純薬(株)
メタリン酸: 片山化学(株) 特級

1) 衛生試験所 理化学課
(現所属 福岡市東保健所 衛生課)

III 実験結果

アセトニトリル：和光純薬(株) 液体クロマト用
 L-アスコルビン酸(標準品)：和光純薬(株)
 エリソルビン酸(標準品)：〃
 インドフェノール液：インドフェノール200 mg/L
 水溶液
 その他の試薬：市販特級を用いた

3. 装置および器具

高速液体クロマトグラフ (HPLC)：

ポンプとして Shimadzu LC-5A を、検出器として Shimadzu SPD-6A を用いた。測定条件については Table-1 に示す。

ポリアミドカラム：

ポリアミド 1.0g をガラスカラム (10 mm φ × 250 mm) に水を用いて湿式充填し、水 20 ml で洗浄後 0.1% メタリン酸溶液 20 ml を流し調整を行った。

マイクロビューレット：2 ml メスピペットを用い自作したもの

4. 操作方法

試料 10 g をとり、1% メタリン酸 10 ml を加え 100 ml 定容とした。その中から一定量 (30~50 ml) をポリアミドカラムに注ぎ、10 ml を捨て、そののちの 20~30 ml を試験管にとり、L-アスコルビン酸およびエリソルビン酸の試験液とした。カラムに負荷した試料液はそのまま流し続け、さらに水 20~30 ml でカラムを洗浄し、アルカリ性エタノール液を用いて色素を溶出させ、着色料の試験液とした。L-アスコルビン酸およびエリソルビン酸の試験液は、その一部をとり、インドフェノール液により滴定し、L-アスコルビン酸およびエリソルビン酸の合計量を求めた。さらにインドフェノール液により L-アスコルビン酸、エリソルビン酸が確認されたものについては、試験液をそのままもしくは 0.1% メタリン酸溶液で適度に稀釈し、HPLC により分別定量を行った。分別定量による個々の値とインドフェノール滴定による値とが一致することにより、L-アスコルビン酸およびエリソルビン酸の定量値とした。

Table-1 Conditions of HPLC

column	Finepaksil NH ₂ -5 (4.6mm φ × 250mm)
column Temp.	Ambient
mobile phase	Potassium dihydrogen phosphate (10mM) : Acetonitrile / 1 : 3
flow rate	0.6ml/min
detector	UV-254nm (0.32AUPS)
sample size	5 μl

1. ポリアミドからの溶出状況

L-アスコルビン酸およびエリソルビン酸は 0.1% メタリン酸溶液ではポリアミドに吸着されず、そのまま溶出した。そこで、その溶出状況について検討した。L-アスコルビン酸、エリソルビン酸のそれぞれ 10 mg% のメタリン酸溶液を調製し、カラムからの溶出状況について HPLC により確認した。(Fig-1)

その結果、L-アスコルビン酸、エリソルビン酸いずれもポリアミドカラムには吸着されず、溶出液は 6 ml 以上で一定濃度となった。そこで、最初から 10 ml を捨て、その後の溶出液を試験液とした。

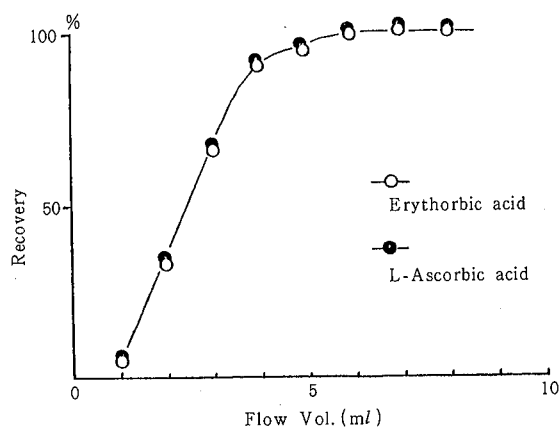


Fig. 1 Elution pattern of L-Ascorbic acid and Erythorbic acid from polyamide column

2. 添加回収実験

市販濃縮清涼飲料水に、L-アスコルビン酸、エリソルビン酸をそれぞれ 5 mg%、50 mg% 添加し、インドフェノール滴定法および HPLC 法により回収実験を行った。各濃度における添加回収結果は、Table-2 に示すように二つの方法においてよく一致しており、回収も良好であった。

3. 市販清涼飲料水の検出状況

市販の清涼飲料水 24 件について、L-アスコルビン酸およびエリソルビン酸の使用状況について検査を行った。その結果、エリソルビン酸が使用されたものはなかった。また、L-アスコルビン酸が検出されたものは全体の 3 分の 1 であり、1~35 mg% の濃度であった。

ドリンク剤、いわゆる健康飲料と呼ばれているものにおける使用状況は 16 件のうち 4 件のみが L-アスコル

Table-2 Recovery of Ascorbic acid and Erythorbic acid from polyamide column

Drinks	Added (mg%)		Recovery (%)		
			HPLC-method		Indophenol-method
			Asc	Ery	
Strawberry	5	5	100	100	98
	50	50	97.3	97.1	99
Melon	5	5	98.6	97.8	96
	50	50	100	98.6	100
Pineapple	5	5	99.3	100	98
	50	50	100	100	100

Table-3 Contents of Ascorbic acid and Erythorbic acid in Commercial drinks (mg%)

drinks	(n)	L-Ascorbic acid	Erythorbic acid
Orange, fruit drink	3	8, 35, 27	-
Apple, fruit drink	2	- -	-
Lemon, fruit drink	2	3, 1	-
Grapefruit, fruit drink	1	1	-
Strawberry, conc. drink	2	- -	-
Pineapple, conc. drink	1	-	-
Orange, conc. drink	3	- - -	-
Melon, conc. drink	2	- -	-
Soft viniger drink	2	- 4	-
Coffee, conc. drink	1	-	-
Ameyu, drink	2	- -	-
Gum syrup	1	-	-
Mix fruit drink	2	2 -	-
Health drink	16	7, 170, 25, 190	-

ビン酸を検出した。即ち、全体の4分の1に使用が認められ、その濃度は7~190 mg%であった。

これらの結果について Table-3 に示した。

IV 考 察

水煮野菜等の酸化防止剤として使用されているエリソルビン酸やL-アスコルビン酸の確認法として、当試験所ではインドフェノールによる滴定法とHPLC法との併用により迅速でより精度の高い検査結果を得ることを心掛けている。インドフェノール法は簡易であり、スクリーニング法として現場試験にもよく使用されている²⁾方法である。しかしながら、選択性に欠けており、エリソルビン酸、L-アスコルビン酸、二酸化イオウなどと

反応し、分別定量を行うには、他の分析法を併用しなければならない。また、着色の濃い試料については、色素の妨害により滴定の終点を確認することができない。今回、着色の濃い食品、とりわけ食用タール色素を含有する清涼飲料水について、インドフェノール滴定法による簡易な迅速検査法の検討を行った。

酸性域で食用タール色素はポリアミドカラムに吸着されるがエリソルビン酸やL-アスコルビン酸は吸着されない。そのため、ポリアミドカラムを通した試料液は透明なものとなり、インドフェノール滴定法による終点の確認が可能となった。市販清涼飲料水の検査結果からも判るように、強化剤もしくは酸味料としてL-アスコルビン酸が含まれているものは、全体の1/3以下である。L-アスコルビン酸はコスト的にも高く、酸味料として

使用するには一般的とは言えないようである。検出されたものの中でも果汁混合によるための原料移行程度の濃度のもも多く、強化剤として表示されたいわゆる健康飲料においても検出されないものも見られた。また、エリソルビン酸は全く使用されていなかった。このように、清涼飲料水の2/3以上のものが、インドフェノール滴定法により不検出の確認が可能となり、HPLC法による確認試験は大巾に削減され、時間的効果をもたらした。

健康飲料など生薬等を含む試料においては、妨害物も多く、ポリアミドカラム処理だけでは充分ではないものも見受けられた。これらの試料については、HPLC法による定量値とインドフェノール滴定法による値とを比較検討することに努めた。今回検査した市販清涼飲料水におけるHPLC法とインドフェノール滴定法とのL-

アスコルビン酸の値はよく一致しており、インドフェノール滴定法は単にスクリーニング法と言う認識にとどまらず、確認法としても、非常に効果的な分析手法であることが分った。

今後、高濃度の天然着色料含有食品中のL-アスコルビン酸、エリソルビン酸の効果的な確認法の検討を行うつもりである。

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局食品化学課編：食品中の食品添加物分析法，1983，283-302
- 2) 吉田隆太郎ら：食品衛生研究33，1983，785-789

コレステロールを指標とした卵成分含有 アイスクリーム中の乳脂肪推定法

久保倉 宏一¹⁾

Method for Estimation of Milk Fat Content in Ice Creams Containing Eggs with the Indication of Cholesterol Concentration

Kouichi KUBOKURA

アイスクリーム成分規格の乳脂肪測定法として、アイスクリーム粗脂肪中のコレステロールを定量することにより乳脂肪量を推定することを試みた。その結果、アイスクリーム中のコレステロールの定量によって、原材料に卵を使用しているアイスクリームと使用していないアイスクリームを明確に区別することができ、アイスクリーム乳脂肪量はアイスクリームのコレステロール測定値と卵及び牛乳の平均的コレステロール値の三者の簡単な関係式で求めることができるということが分かった。アイスクリーム成分規格検査においてこの関係式を適用したところ、乳脂肪分が規格基準に違反する疑いがあるアイスクリームが見つかり、この製品について製造所での現地調査の結果は乳脂肪分推定の結果とよく一致し、本方式の有用性を実証した。以上の結果より、本方式はアイスクリーム粗脂肪中の乳脂肪分の推定に対して、簡易かつ定量的な方法であることが判明した。

Key Words: アイスクリーム Ice Cream, 卵 Egg, 乳脂肪 Milk Fat, コレステロール Cholesterol

I. はじめに

乳及び乳製品の成分規格に関する省令（以下、乳等省令と略す）ではアイスクリーム類の理化学的成分規格として、乳固形分及び乳脂肪分の2つを定めており、種別「アイスクリーム」（以下、単にアイスクリームと呼ぶ）については、乳固形分15%以上、乳脂肪分8%以上と規定されている。このうち乳脂肪分の測定法はレーゼ・ゴットリーブ法によることとされているが、この方法は一般的脂質抽出法であるので乳脂肪分のみ測定は出来ない。アイスクリームについては牛乳のように異種脂肪の混入は禁止¹⁾されていないので、乳化剤などの目的で卵または卵黄が使用されたアイスクリームに対してレーゼ・ゴットリーブ法により乳脂肪の測定をおこなう

と、乳脂肪分と卵脂肪分の合計値（粗脂肪分）が測定され本来の乳脂肪分の測定がなされないという問題がある。しかし、乳等省令ではアイスクリーム中の乳脂肪とそれ以外の脂肪（異種脂肪）についてならんら区別されていない。

一方、日本農林規格（JAS）²⁾ではアイスクリームの脂肪分について、次のような規定をしている。

「乳脂肪分以外の脂肪分

：含まないこと。ただし、卵黄、乳化剤及び風味原料に含まれるものはこの限りではない。」

このようにJASでは、アイスクリームにおいて乳脂肪と異種脂肪を明確に区別しており、更に、アイスクリーム中の異種脂肪としては量的な面から卵黄脂肪を主に考えればよいことが分かる。

以上のように、アイスクリーム成分規格の乳脂肪分検査においては粗脂肪中の乳脂肪の量を定量する必要があ

1. 福岡市衛生試験所 理化学課

る。乳脂肪中の異種脂肪の測定法としては種々報告³⁻²⁰⁾されているが、操作が煩雑であったり、熟練を要したりする。今回、卵成分を含有するアイスクリームについて、乳脂肪と卵黄脂肪のコレステロールの含有量が大きく異なることに着目して、アイスクリーム粗脂肪中の乳脂肪量の推定の検討を行ったところ、良好な結果を得たので報告する。

II. 試料及び方法

1. 試料

アイスクリームは食品衛生監視員により市内の製造所から収去されたものを使用した。

2. 試薬

コレステロール：ガスクロ用標準品（ガスクロ工業製）
その他の試薬は、特級試薬を使用した。

3. 装置及び測定条件

電子天秤：PC-4400 (Mettler 社)
乾熱器：Labal Perfect oven
エバポレーター：N-4型 (東京理化器械社製)
ガスクロマトグラフィー：柳本GC 2800-FID
カラム：2%OV-1 on Chromsorb W
AW-DMCS 3 mm id×50 cm
温度 カラム：200℃
注入口：250℃
検出器：260℃
キャリアーガス：窒素 1.0 kg/cm²
FID 空気：0.7 kg/cm²
水素：1.2 kg/cm²

4. 全固形分の測定

試料約4gをアルミ皿にとり 100℃常圧恒量法で求めた。

5. 粗脂肪分の測定

乳等省令のアイスクリーム類の乳脂肪分の測定法²¹⁾に従った。

6. コレステロールの測定

5. で恒量にした脂肪を水酸化カリウムエタノールでケン化して不ケン化物を抽出したのち、ガスクロマトグラフィー法によりコレステロールの測定を行った^{22,23)}。内部標準物質は使用せず、絶対検量線法を用いて定量した。

III. 結 果

アイスクリームの粗脂肪分及びコレステロールの測定結果を表1に示した。また、容器に卵または卵黄使用の表示があるものについては備考欄に記した。

Fat base のコレステロール値でみると、300-400 mg% のグループと 1000 mg% を越えるグループの2つに分けられる。前者のコレステロール値は乳脂肪中のそれとほぼ同一であるので、使用材料の表示も考え併せて乳脂肪分 100% と考えられた。また後者のコレステロール値が高い原因は、使用原料中の卵または卵黄中のコレステロールに起因していると考えられ、このことは卵使用の表示とよく一致していた。この中で、No.2は容器には卵使用の表示はあるが、コレステロール値から考える限り卵の使用は認め難い。この原因としては、多種のアイスクリームを製造しているにもかかわらず、同一の容

表1. アイスクリームの全固形分、粗脂肪分、コレステロールの測定結果及び (I) 式による推定乳脂肪分

No.	全固形分 (%)	粗脂肪分 (%)	コレステロール (mg%)		(I) 式より求めた乳脂肪の割合 (%)	推定乳脂肪分 (%)	備 考
			as is	basis fat base			
1	36.6	8.4	37	425			
2	33.2	14.7	51	350			卵黄使用の表示あり
3	41.3	14.4	48	330			
4	37.9	14.7	44	300			
5	38.2	8.9	25	283			
6	32.2	10.6	160	1500	0.67	7.1	卵黄使用の表示あり
7	36.9	12.5	177	1400	0.70	8.8	卵黄使用の表示あり
8	36.4	10.4	105	1000	0.81	8.4	卵黄使用の表示あり
9	34.7	10.2	112	1100	0.78	8.0	卵黄使用の表示あり
10	34.3	11.7	153	1250	0.74	8.7	ホテル自家用のため表示なし

器を使用しているためだと考えられる。

次に、粗脂肪分中の乳脂肪分の割合を更に詳しく推定することを試みた。アイスクリーム、牛乳及び卵の Fat base のコレステロール値をそれぞれ $Ch_{O_{アイス}}$ 、 $Ch_{O_{MILK}}$ 及び $Ch_{O_{EGG}}$ とし粗脂肪分中の乳脂肪分の割合を x とすれば、コレステロールに関して次式が成立する。

$$Ch_{O_{アイス}} = Ch_{O_{MILK}} \times x + Ch_{O_{EGG}} \times (1 - x)$$

この式を x について解けば、

$$x = \frac{Ch_{O_{EGG}} - Ch_{O_{アイス}}}{Ch_{O_{EGG}} - Ch_{O_{MILK}}} \quad \text{--- (I) 式}$$

となる。

ここで、 $Ch_{O_{MILK}}$ と $Ch_{O_{EGG}}$ の値に日本国民の栄養摂取量の地域差に関する研究²²⁾ からそれぞれ 330 mg% (min 280 — max 360 mg%) 及び 3900 mg% (min 2800 — max 6200mg%) を平均値として採用して、(I) 式を表 1 のコレステロール値が高いアイスクリームに適用した。その結果を表 1 の第 6 欄に示す。更に、この値と粗脂肪量を掛け合わせた推定乳脂肪分を同じく表 1 の第 7 欄に記す。この結果、5 件中 4 件は成分規格の 8% を上回っているが、No. 6 が推定脂肪分 7.1% となり成分規格に不適格になるように思われた。そこで、乳脂肪のコレステロールを 200—500 mg% に変化させて計算したところ推定乳脂肪分は図 1 のような変化となり、最大 7.5% 程度にしかならずやはり 8% 未満であった。更に、卵のコレステロールを 3000—5000 mg% の間で変化させたところ図 2 のような変化となり、5000 mg% の時にようやく推定乳脂肪分 7.9% になった。

このように、No. 6 についてはアイスクリームの成分規格の乳脂肪分 8% 以上に違反する可能性が非常に大きかったので、違反疑いで製造所において保健所の調査がなされた。その結果、当該アイスクリームは表 2 の原材料の配合割合で製造されているとのことであった。そこで、製品中の固形分、粗脂肪分及び乳脂肪分を、各原料

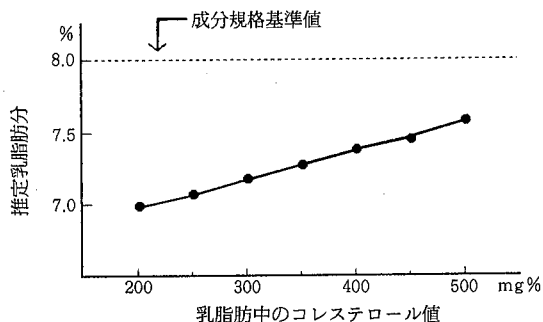


図 1. No. 6 の検体で乳脂肪中のコレステロール値を変化させた時の推定脂肪分の変化

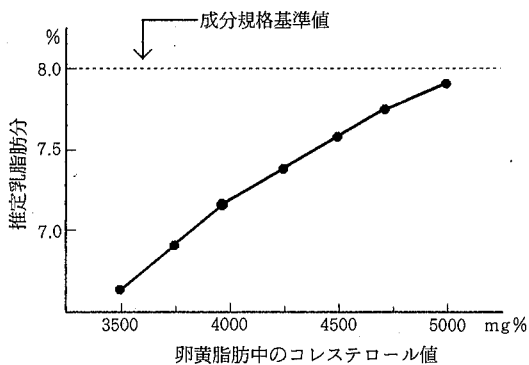


図 2. No. 6 の検体で卵黄中のコレステロール値を変化させた時の推定乳脂肪分の変化

料の成分から計算し表 2 中に示した。ここで、牛乳と生クリームの乳脂肪分は原料の表示をもとにし、その他については 4 訂版食品成分表²³⁾ に基づいた。

表 2. 表 1 中 No. 6 アイスクリームの原材料配合割合と各成分の計算表

材 料	量	固形分	粗脂肪	乳脂肪
牛 乳	39 l	4.7kg	1.3kg	1.3kg
生クリーム	10 l	5.0	4.6	4.6
卵 黄	10kg	4.9	3.1	
砂糖類	9kg	9.0		
ブルーベリー	10kg	1.5	0.1	
合 計	78kg	25.1kg	9.1kg	5.9kg
割合		32.2%	11.7%	7.6%

この結果は、先に牛乳と卵の平均的コレステロール値をもとにして求めた推定乳脂肪分とよく一致した。更に、全固形分と粗脂肪分についても実測値と計算値はよく一致しており、製造の当初より乳脂肪分 8% 未満であった。そこで、保健所の監視員によりアイスクリームの成分規格に適合するように、製造の配合を変更するよう指導がなされた。その後製造されたものが表 1 の No. 9 の Sample であるが、前回の検体と同様に乳脂肪分を推定すると 8.0% となった。新しい製品の製造配合割合は表 3 のとおりであり、表 2 と同様に固形分、粗脂肪分及び乳脂肪分を計算した結果も併せて記した。ここでも実測値及び推定乳脂肪分は配合割合からの計算値とよく一致した。

表3 表1中No.6アイスクリームの行政指導後アイスクリーム(表1中No.9)の原材料配合割合と各成分の計算表

材 料	量	固形分	粗脂肪	乳脂肪
牛 乳	23ℓ	2.6kg	0.8kg	0.8kg
生クリーム	7ℓ	3.5	3.2	3.2
スキムミルク	1.5kg	1.4		
卵 黄	6kg	2.9	1.9	
砂糖類	5.4kg	5.4		
ブルーベリー	6kg	0.9		
合 計	49kg	16.7kg	5.9kg	4.0kg
割合		34.1%	12.0%	8.2%

IV. 考 察

現在までに報告されている異種脂肪の検査法には、下記のようなものがある。

- 1) ライヘルト・マイスル価^{3, 6)}
- 2) ポレンスケ価^{3, 6)}
- 3) 酪酸価³⁾
- 4) 酢酸フィトステロール試験^{1, 8-11)}
- 5) ガスクロマトグラフィーによる低級脂肪酸の定量¹²⁾
- 6) ガスクロマトグラフィーによるステリルエステルの定量¹³⁾
- 7) ガスクロマトグラフィーによる全脂肪酸の定量¹⁴⁻¹⁶⁾
- 8) ガスクロマトグラフィーによるトリグリセライドの測定¹⁹⁾

しかし、これらの方法は異種脂肪として植物性脂肪を想定している場合が多く、実験操作が煩雑であったり、5)-8)の方法では多種類の項目の測定が必要であったりする。更に、得られた結果の評価についても一定の数式を用いればすぐに乳脂肪の純粋性の評価ができるという方法ではない。

今回、本法で用いた方法は4)の試験法とステロールを測定するという点ではよく似ている。しかし、4)法は植物性異種脂肪の検出を目的として植物性ステロールを測定するのに対し、本法は動物性である卵黄脂肪の検出及び定量を目的としてコレステロールを測定している。乳脂肪中のコレステロール値は300 mg%程度と比較的高い値であるので、GCによる定量は容易である。更に試験溶液は粗脂肪分を測定したサンプルをケン化抽出す

れば十分定量可能であるので、新たな脂質抽出操作が必要でなく日常検査で十分に行える。

乳脂肪と卵黄脂肪中のコレステロール含有量は前述のように約10倍も後者の方が高いので、(I)式のような簡単な方法で乳脂肪の純粋度の推定が可能となる。乳脂肪中に卵黄脂肪が1割混入すれば、混合コレステロールは700 mg%と計算され乳脂肪のその約2倍となるので、この程度の混入率であれば容易に判定がつくと思われる。更に、(I)式により求められた乳脂肪率は、前述の事例で述べたように乳脂肪中のコレステロールの変化に対してはほとんど変化を受けない。また、この乳脂肪率は卵黄油コレステロール値の変化に対しては若干の影響を受けるが、卵黄油中のコレステロール値が4000-5000 mg%の範囲であればほぼ同一の結果が得られると考えられる。

これらの点から考えて、本法は卵黄脂肪混入の場合のみであるが、コレステロール1項目を測定すればかなりの精度で乳脂肪の純粋度を推定し得る簡単な方法と考えられる。以上述べた本法の利点を要約すると次の通りである。

- 1) 測定項目がコレステロール1項目のみでよい。
- 2) 粗脂肪を測定した後の脂肪を用いてコレステロールを測定できるので、新たな脂質抽出操作が不要である。
- 3) 乳脂肪中のコレステロール値は比較的高いのでガスクロマトグラフィーによるコレステロール定量は容易である。
- 4) 測定されたコレステロール値を(I)式に代入すれば乳脂肪率をすぐに算出できる。
- 5) この場合、脂肪率を低く推定し過ぎることを避けるには(I)式中の卵黄脂肪中のコレステロール値を高め設定すればよい。

しかし、本報における違反事例では(I)式を適用して得られた乳脂肪分が7.0%と成分規格の8%以上に対して約1%の差があったので、高い確率で違反疑いと検査報告を出せたが、これがもっと8%に近い値となった時には判断に迷うところである。したがって、このような場合には収去者である監視員と連絡を密に取り、現地調査の結果などを考えに入れて慎重に対処することが望ましいと考えられる。

文 献

- 1) 厚生省乳肉衛生課：牛乳等の指導取締りの強化について、環乳第56号、昭和46年6月9日
- 2) 農林省：アイスクリーム類の農林規格、農林省告示

第 1254 号

- 3) 日本薬学会：衛生試験法注解，264，金原出版，東京，1980
- 4) 慶田雅洋：牛乳・乳製品の異種脂肪の検出法について，食品衛生研究，21，1269，1971
- 5) 慶田雅洋，他：アイスクリームの化学組成に関する国際規格について，食衛誌，9，409，1968
- 6) 慶田雅洋，他：乳脂肪のライヘルト・マイル価およびポレンスケ価について，食衛誌，11，52，1970
- 7) International Dairy Federation：International Standard FILIDF 37 (1966)
- 8) 星野庸二，他：乳脂肪中の異種脂肪の検出について，埼玉衛研所報，6，152，1973
- 9) 成田弘子，他：薄層クロマトグラフィーによる牛乳中の異種脂肪の検出について，静岡衛研所報，17，55，1974
- 10) 清谷寿雄，他：牛乳および加工乳からの異種脂肪検出事例について，福井衛研所報，9，93，1975
- 11) 沢部光一，他：乳製品の添加異種脂肪検出の検討，秋田衛研所報，17，195，1973
- 12) M. Iwaida：Detection of adulterated milk fat by gas liquid chromatographic determination of butyrate and caproate，J. Food Hyg. Soc.，20，328，1979
- 13) 松居正巳：乳脂肪中のステリルエステルの定量，食衛誌，14，517，1973
- 14) 菊田正則：牛乳の品質に関する検討，愛媛衛研所報，42，49，1981
- 15) 中村洋子：乳脂肪の脂肪酸組成，栃木衛研所報，15，63，1985
- 16) 久保倉宏一：アイスクリーム類の脂肪について，第 10 回九州衛生公害技術協技会，熊本，S 61. 2. 14
- 17) 市川澄子：群馬県における牛乳の脂肪について，群馬県衛研所報，5，113，1973
- 18) 慶田雅洋：牛乳およびアイスクリーム中の大豆成分の鑑別法について，食衛誌，9，405，1968
- 19) 加藤玲子：ガスクロマトグラフィーによるアイスクリーム脂肪中のトリグリセライドの分析，同上，12，315，1971
- 20) 慶田雅洋：ミルクチョコレート中の乳脂肪分の測定法について，同上，13，101，1972
- 21) 厚生省乳肉衛生課：乳及び乳製品の成分規格に関する省令，昭和 26 年 12 月 27 日，省令第 52 号
- 22) 地方衛生研究所全国協議会：日本国民の栄養摂取量の地域差に関する研究 II，昭和 59 年
- 23) 日本食品工業学会：食品分析法，571，光琳，1982
- 24) 科学技術庁資源調査会：四訂 日本食品標準成分表，大蔵省，昭和 57 年

ブロックバス分解台とインドフェノール比色法 を用いた乳製品の無脂乳固形分の測定法

久保倉 宏一¹

Determination of Solids non-Fat in Milk Products Using Block Bath Heating Digestor and Indophenol Method

Kouichi KUBOKURA

乳製品の無脂乳固形分の多検体同時迅速測定を目的として、従来法に対して分解方法およびアンモニアの定量法の2点について検討を行った。その結果、分解装置にブロックバス分解台を用い共栓付比色管中で分解を行うことで多検体の同時分解が可能であり、更に、分解後のアンモニアの定量は、分解液を蒸留することなく直接インドフェノール比色法で測定することで迅速化が可能であった。更にインドフェノール比色法はアンモニアに対する感度が高いので、ケルダール分解に用いるサンプル量が少量ですむので分解時間が短縮された。各種乳製品に本法を応用した結果、従来の蒸留-滴定法による無脂乳固形分の値と非常によく一致した値が得られた。

Key Words : 乳製品 Milk Products, 無脂乳固形分 Solid non-Fat, ケルダール分解 Kjeldahl Digests, インドフェノール比色法 Indophenol Method, ブロックバス分解台 Block Bath Heating Digestor

I. はじめに

現在、乳製品の無脂乳固形分の測定法は乳及び乳製品の成分規格等に関する省令（以下、乳等省令という）で、ケルダール窒素を測定してこの値に 6.38×2.82 を掛けて算出するように定められている¹⁾。ケルダール窒素の分析は、硫酸分解とアンモニア蒸留滴定の2段階に分けられる。硫酸分解は直火式ケルダール分解台上で300または500 mlのケルダールフラスコを用いて分解を行うため、広いスペースを必要とする。また、蒸留についても直接蒸留・水蒸気蒸留のどちらで行うにしてもやはり大きな装置と場所を必要とする。

当試験所では、乳製品の成分規格試験の一環として無脂乳固形分の分析を行っているが、一度に処理する検体数が多いので、従来のケルダール分解-蒸留滴定法では多くの時間と労力を必要とする。そこで、多検体の同時迅速処理を目的として、ケルダール分解にはブロックバ

スを用い、また、アンモニアの定量にはオートアナライザーを用い直接インドフェノール比色法で行う方法を検討したところ良好な結果が得られたので報告する。

II. 実験方法

1. 試料

牛乳及び乳製品は食品衛生監視員により市内の製造所から収去されたものを使用した。

2. 試薬

水酸化ナトリウム：窒素分析用

フェノール：片山化学 生化学用

硫酸規定液：1規定硫酸液 和光純薬

ケルダール分解剤^{2,3)}：硫酸カリウム30gと二酸化セレン100mgを濃硫酸100mlに溶解した。

アンモニア性窒素標準液：乾燥した特級硫酸アンモニウム0.472gを水に溶かして1ℓとし、 NH_4 -N 100ppmの標準原液とした。この標準原液を適宜希釈して、1, 2, 4, 5, 6, 8, 10ppm標準

1) 福岡市衛生試験所理化学課

液を作成した。

その他の試薬は、試薬特級を使用した。

3. 装置

オートアナライザーⅡ型：テクニコン社製

電子天秤：PC-4400 Mettler 社製

ブロックバス分解台：

東洋科学社製 穴数9 内径21 mm

電熱器：300, 600, 1200 ワット3段切り替え式

40 ml 共栓付比色管：外径 19 mm×220 mm

ケルダール分解装置：6 連式

アンモニア蒸留装置：5 連式

4. 乳等省令の無脂乳固形分量

サンプリング及びケルダール分解は乳等省令の方法¹⁾

に基づき行った。

分解液のアンモニアの定量は、蒸留装置には直接蒸留装置、補集液には4% ほう酸40 ml を用い、アンモニアを150 ml 程度蒸留し、これを0.1 N 硫酸溶液で滴定して窒素含有量を測定した³⁾。無脂乳固形分はこの値に6.38 × 2.82 を乗じて求めた。

5. ブロックバス分解台を用いたケルダール分解

サンプル約5 g を100 ml 共栓付比色管にとり、1% フェノールフタレイン溶液1滴を加えて水酸化ナトリウム溶液で微アルカリ性として100 ml とした。この中より1 ml を40 ml 共栓付比色管に取り、分解剤1 ml を加えて電熱器上でブロックバス分解台を用いて分解を行った。最初は300 Wで、最終的には1200 Wで分解した場合、分解の完了には3-4時間要した。9本掛けのブロックバス分解台を使用すれば1台の電熱器で3ブロック加熱可能なので、27本を同時に分解することが可能であった。

6. オートアナライザによるアンモニアの定量

ケルダール分解液を冷却しながら、0.7 N-水酸化ナトリウム溶液で40 ml に定容して、オートアナライザーでアンモニアを定量した。

試薬³⁾

EDTA溶液

：リン酸一水素ナトリウム7 g⁴⁾ とEDTA 2.5 g を蒸留水に溶かし水酸化ナトリウムでpHを10に調整し500 ml として、10% ブリッジ35を1 ml 加えた。

フェノール溶液

：フェノール3 g、ニトロブルジットナトリウム5 mg を蒸留水に溶かし、水酸化ナトリウムでpH 10に調整し100 ml とした。

アルカリ性アンチホルミン溶液

：水酸化ナトリウム1.8 g と8% アンチホルミン溶

液2 ml を蒸留水に溶かし100 ml とした。アンチホルミンの量は有効塩素量が0.15%⁵⁾ になるように調整した。

なお、フェノール溶液とアルカリ性アンチホルミン溶液は、その日に調製した。

オートアナライザでの分析は図1のシステムで行った。

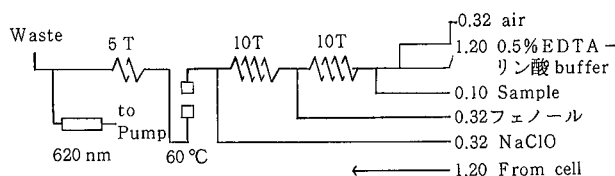


図1. オートアナライザーアンモニア測定のマニホールド

7. 無脂乳固形分の算出

4. の場合と同じように、窒素含有量に6.38 × 2.82 を乗じて算出した。

Ⅲ. 結 果

1. サンプル量及び分解剤量

オートアナライザによるアンモニアの定量範囲は図1のシステムでは1-10 ppmであった。したがって、分解液を最終的に40 ml に定容してアンモニアの定量を5 ppmで行うとすれば、窒素量として200 μgNが必要であり、これを無脂乳固形分に換算すると3.6 mgとなる。これより、無脂乳固形分が8% 程度のものについては0.05 g を分解すればよいことがわかった。従って、サンプリングについては、検体5 g とり100 ml に定容して、このうち1 ml を共栓付比色管で分解することとした。無脂乳固形分が8% より低いと予想されるものは適宜最初の検体量を調節した。

分解剤の量は乳等省令と同じスケールで行えば0.2 ml 程度となるが、器具の大きさなどから考えて1 ml とした。また、分解助剤は塩類濃度を減らすために、二酸化セレンを0.1%³⁾ で使用した。

2. 試験液 pH のインドフェノール発色に対する影響

インドフェノールの発色はpHにより変動しpH 11.7- pH 11.9で吸光度が最大になるといわれている⁶⁾。このため、pHを一定にするためリン酸緩衝液を使用する報告^{4,6-8)} がなされている。このため緩衝液としてリン酸二ナトリウム塩を使用したときに吸光度がどのように変化するか調べたところ、図2のような結果が得られた。リン酸緩衝液を使用すれば試験液の酸性度、アルカ

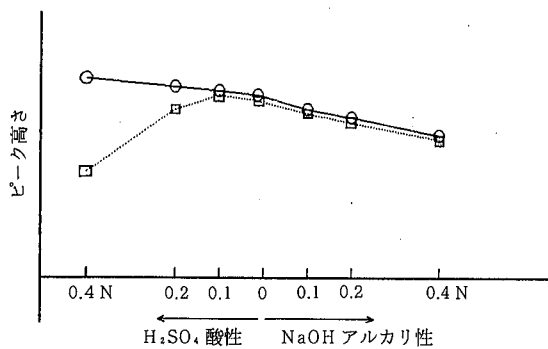


図2. 試料溶液の液性がインドフェノール発色に及ぼす影響

□…………□: 緩衝液なし
○——○: リン酸緩衝液使用

り度が変化しても、インドフェノールの吸光度は大きな変化を示さず広いpH範囲で定量が可能であった。これに対して、緩衝液を使用しない場合は、酸性側で吸光度の変化が大きくなり、pH調整なしでは定量に影響を及ぼした。以上のことから、リン酸緩衝液を使用すればケルダール分解後、分解液の硫酸を正確に中和することなく比色定量が可能であるといえる。そこで、分解中に硫酸が消費されたり揮散したりすることを考慮にいれて、0.7 N水酸化ナトリウム溶液で40 mlに定容して試験液とすることにした。この液は、分解による硫酸の消費や揮散がないとすれば、計算上0.2 N硫酸酸性に相当する。

3. 共存無機物質の影響

インドフェノール発色は金属イオンにより影響を受けるが、EDTAによりマスキングすることで、種々のサンプルの分解液を直接比色することが可能とされている⁹⁾。

そこで、牛乳中の各種無機物もEDTAでマスキング可能かどうかを調べた。牛乳中の主な無機物の濃度¹⁰⁾及び分解液のアンモニア濃度が5 ppmになるように牛乳を希釈した時のそれらの換算濃度を表1に示した。この値に基づいてカルシウム、マグネシウム、リンの5 ppm また亜鉛、銅、マンガン、鉄の0.06 ppmをアンモニア5 ppm標準液に添加してオートアナライザーでアンモニア定量値を比較したところ、塩類を添加しないものと差異はなかった。また、中和で生じる硫酸ナトリウムについても、5%程度の濃度で影響を調べたがやはり添加しないものととの差異はなかった。このことから、ケルダール分解液の直接インドフェノール比色定量が可能であると考えられた。

表1. 窒素濃度を5 ppmになるように牛乳を希釈した時の各種無機物質の濃度

元 素	牛乳 [※] (100 g中)	1000倍希釈
窒 素	500 mg	5 ppm
カルシウム	100	1
リ ン	90	0.9
マグネシウム	10	0.1
亜 鉛	360 μg	0.0036
鉄	43	0.0004
銅	8	0.00008
マンガン	5	0.00005

※ 文献¹⁰⁾ 値

4. 本法と蒸留滴定法の比較

牛乳1件、発酵乳3件、乳酸菌飲料1件およびアイスクリーム2件について、本法により無脂乳固形分の測定を行った。その結果を表2に、またオートアナライザーのチャートの一部を図3に示した。各測定値のCV%値は約3%以内であり、良好な再現性を示した。また、これらの検体について従来の蒸留滴定法でも同時に測定して本法の測定値と比較し、その結果を表3に示した。この結果より、本法を無脂乳固形分の測定に応用することが十分可能であるということが分かった。

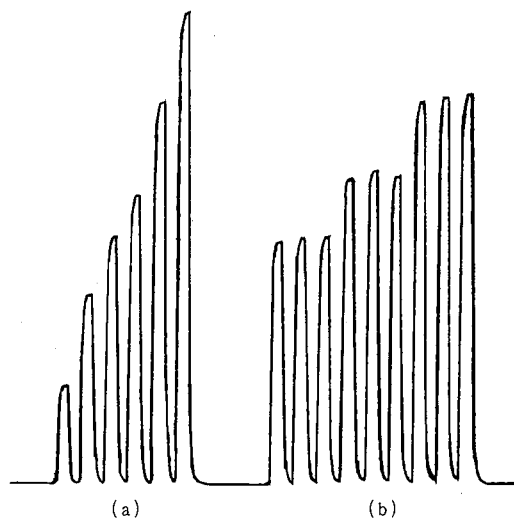


図3 オートアナライザーによるアンモニアの測定例
(a) スタンダード (2,4,5,6,8,10 ppm NH₄-N)
(b) Sample 測定例

表2. 乳及び乳製品の本法による無脂乳固形分測定結果

Sample	測定数	平均値(%)	Max(%)	Min(%)	CV%
牛 乳	12	9.62	9.89	9.33	2.49
	14	8.56	8.32	8.70	1.61
ヨーグルト	9	9.83	9.60	10.20	2.62
	9	9.60	9.38	9.78	1.58
	9	9.55	9.15	9.78	2.25
乳酸菌飲料	12	3.17	3.12	3.23	1.37
アイスクリーム	6	8.47	8.42	8.55	0.62
	11	10.31	10.19	10.62	1.59

表3. 乳及び乳製品の本法と蒸留-滴定法による無脂乳固形分測定値の比較

Sample	本法 (%)	蒸留-滴定法 (%)
牛 乳	8.56	8.47
	9.83	9.67
ヨーグルト	9.60	9.60
	9.55	9.62
	3.38	3.22

IV. 考 察

現在、乳製品の無脂乳固形分の測定には多くの労力が費やされており測定法の改良が望まれるが、乳製品についてケルダール分解測定法の改良を試みた報告は非常に少なく、わずかにアルカリ性ペルキオソニ硫酸カリウム分解を用いた報告¹¹⁾がなされているにすぎない。だが、この方法はケルダール窒素ではなくて全窒素を測定するので、乳等省令本来の無脂乳固形分測定法とは原理的に異なったものとなっている。そこで、乳製品について本来のケルダール窒素の多検体迅速定量の検討を行った。

いままでに、ケルダール窒素定量法については分解方法と窒素定量法の両面から多くの改良がなされてきた。まず、分解方法については試験管を用いてブロックヒーターで同時に多数の検体を処理する方法^{2,9)}や、分解を迅速に行うために封管を用いる方法^{12,13)}などが報告されている。更に、アンモニアの定量には蒸留を行わずに分解液を、サリチル酸塩-次亜塩素酸塩やフェノール-次亜塩素酸塩を用いて直接比色定量する方法が廃水や生体試料について多く報告^{4,6,7-9,14-16)}されている。従来までの滴定法によるアンモニアの定量は窒素量で最低10 mg 以上は必要であるが、インドフェノール比色法は感度が非常によいため0.5 mg 程度窒素があれば十分

測定が可能である。現在、この比色法は鋭敏かつ簡易なアンモニア定量方法として各分野で採用されており^{2-8, 16)}、食品分野でも今後利用される方法だと思われる。更に、アンモニアの定量感度がよいのでケルダール分解の試料が少なく済むため分解時間も短縮できるので、発酵乳、乳酸菌飲料、アイスクリームまたは育児用調製粉乳などのように水に溶かして均一化できるようなサンプルであれば、少量をケルダール分解して無脂乳固形分を測定することが出来る。

本法では、ブロックバス分解台を用いることで同時にケルダール分解できる件数を増やすことができ、電熱器が2台あれば50本程度が小さなスペースで同時に分解できた。分解温度もスライダックを接続して時々調整を行うことで、分解後のアンモニア定量もオートアナライザーで行うため、容易に多数の検体の処理を行うことができる。このように、本法の採用によって乳製品の無脂乳固形分測定が多数の検体について同時・迅速に、また少ない労力で可能となった。

更に、本法で用いたインドフェノール比色法はオートアナライザーだけでなく、普通の比色計でもアンモニア定量が可能である。従って、無脂乳固形分測定において従来の方法で分解した試料でも蒸留せずにインドフェノール比色法でアンモニアの定量を行った方が、分析時間の短縮が可能と考えられる。

文 献

- 1) 厚生省乳肉衛生課：乳及び乳製品の成分規格に関する省令、別表乳等の成分規格の試験法、昭和26年12月27日、省令第52号
- 2) 串岡慶子：ブロック分解台を用いたケルダール法による大豆中の粗蛋白質の定量、食物学会誌、38, 36, 1983
- 3) 日本食品工業学会編：食品分析法、93, 光琳、1982
- 4) 奥田拓道、藤井節郎：血中アンモニアの直接比色定量法、最新医学、21, 622, 1966
- 5) Weatherburn, M. W. : Anal. Chem., 39, 971, 1967
- 6) Beecher, G. R. and Whitter, B. K. : Anal. Biochem., 36, 243, 1970
- 7) 加賀屋博行他：ケルダール分解・インドフェノール比色法による植物体の全窒素の微量定量法、新農森林研究、27, 21, 1975
- 8) 千布圭子他：インドフェノールによる尿中窒素の定量の試み、臨床病理。XXIII, 569, 1975
- 9) Lenox, L. J and Flanagan, M. J : An auto-

mated procedure for the determination of total Kjeldahl nitrogen, *Water Res.*, 16, 1127, 1982

- 10) 地方衛生研究所全国協議会：日本国民の栄養摂取量の地域差に関する研究Ⅱ，昭和59年
- 11) 下川喜久男：アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム分解・紫外線吸光度法によるアイスクリーム類の無脂乳固形分の測定，和歌山市衛研所報，4，43，1985
- 12) Jacobs, S : *Analyst*, 89, 489, 1964
- 13) Hashmi, M. H., *et al.* : *Anal. Chem.*, 34, 988, 1962
- 14) Elkei, Omar : An automated method for the determination of low-level Kjeldahl nitrogen

in water and waste water, *Anal. Chem. Acta*, 86, 63, 1976

- 15) Nkonge, C and Ballance, G. M : A sensitive colorimetric procedure for nitrogen determination in Micro-Kjeldahl digests, *J. Agric. Food Chem.*, 30, 416, 1982
- 16) Fukumoto, H. E and Chang, G. W. : Manual Salicylate hypochlorite procedure for determination of ammonia in Kjeldahl digests, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 65, 1076, 1982
- 17) 日本規格協会：工場排水試験法，JIS K 0102, 1986

小麦粉中に残留するディルドリン・マラチオン・ フェニトロチオンの抽出法の比較

中村正規¹

A Comparison of the Extraction Method of Dieldrin, Marathion and Fenitrothion from Flour

Masanori NAKAMURA

農薬が残留している小麦粉を用いて、多成分分析法が採用されている公定法の抽出方法の比較を行った。残留していた農薬はディルドリン、マラチオン、フェニトロチオンで、比較した公定法は厚生省法、残留農薬分析法 (Draft S57, S60), AOAC 法と Draft (S57) を一部改良した抽出法で、検出方法と精製方法を同じ操作で行い、定量値により比較した。その結果、Draft (S60) と改良抽出法で高い定量値を示し、抽出効率が高いことが分かった。しかし、Draft (S60) で多用するベンゼンは発癌性が指摘されており、分析者の健康を考えると小麦粉からの農薬抽出法として 30% 含水アセトン + 20% CH_2Cl_2 含有 n-ヘキサンによる改良抽出法が適当であると考えられた。

Key Words : 農薬抽出法 extraction method of pesticide, ディルドリン dieldrin, マラチオン malathion, フェニトロチオン fenitrothion, 小麦粉 flour

I. はじめに

現在わが国における農薬登録数は 200 種以上を数え、ほとんどの農薬に対し環境庁長官により登録保留基準が定められている。同時に単成分の残留分析法も告示されているが¹⁾²⁾、農薬成分により抽出方法や精製方法が異なり、基準の定まっている全ての農薬を単成分分析法により分析することは不可能に近い。厚生省法³⁾ や AOAC⁴⁾ に採用されている残留農薬分析法、最近厚生省から出された残留農薬分析法 (Draft)⁵⁾⁶⁾ は、多くの農薬を同時に抽出し系統的に分析を行う多成分分析法が採用されている。これらの多成分分析法において検出方法と精製方法に大きな差はみられないが、試料からの抽出方法がかなり異なっている。抽出操作は分析の第一段階であり、抽出が不十分な場合大きな測定誤差になりかねない。従来分析方法の検討は、試料に標準品を添加し

その回収率により行われてきたが、実際に農薬が残留している試料を用いた抽出方法の比較は、試料の入手等に制限があり、あまり行われていない。今回当試験所に持ち込まれた小麦粉の中にディルドリン、マラチオン、フェニトロチオンが比較的高濃度に検出した試料が見られたため、この試料を用いてこれらの抽出法の比較を試みた。比較した抽出法の中で残留農薬分析法 (Draft) では有機塩素系と有機リン系農薬の抽出法が異なっているが、有機塩素系農薬の抽主法では有機リン系農薬の抽出が不十分だと考え、同時に多くの農薬の抽出が可能な有機リン系農薬の抽出法で行った。

II. 実験方法

1. 試料

食品衛生検査所の食品衛生監視員により市内小売店から収去され、当試験所に持ち込まれたもの。

2. 試薬及び装置

1. 福岡市衛生試験所理化学課

農薬標準品は和光純薬製を使用。

フロリジル：カラムクロマトグラフ用 60-100 mesh (Floridin. Co. 社) 電気炉中 500℃で 6 hr 活性化を行い、いくぶん冷却した後、5% (V/W%) になるよう水を加えて調整した。

水：脱塩水を 20% CH₂Cl₂ 含有 n-ヘキサンで洗浄したものを使用した。

無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム及び有機溶媒：市販残留農薬分析用試験を使用した。

グラスファイバーろ紙：GA-100 (Advantec 社製)

電子天秤：PC-4400 (Mettler 社製)

ECD (⁶³Ni) 検出器付ガスクロマトグラフ：

G-2800 EC (柳本製作所)

FPD 検出器付ガスクロマトグラフ：

GC-4 CMPF (島津製作所)

3. 測定条件

ECD ガスクロマトグラフィー条件：

Column. 2% Advance + 0.5% Phosphoric acid on Uniport HP 1.7 m * 2.6 mm φ Grass

Temp. Column 190℃

Inj. Det. 200℃

Carrier gas N₂ 2.0 atm

Ion. gas N₂ 0.8 atm

Applied A, Attenuator 1/32

Injected volume 5 μl

FPD ガスクロマトグラフィー条件：

Column. 3% Advance on Chromosorb W (AW-DMCS)

1.0 m * 2.5 mm φ Grass

Temp. Column 180℃

Inj. Det. 250℃

Carrier gas N₂ 1.1 atm

SENS. 10³, RANGE 0.16 v

Inject volume 5 μl

4. 抽出方法

1) 厚生省の定める残留分析法：小麦粉 10 g を共栓付き比色管に取りベンゼン-アセトン (3:2) 25 ml を

加え 10 分間振とう後 1 時間放置し、グラスファイバーろ紙 (以下 GFP) により吸引ろ過した。残渣を GFP と共にフラスコに戻しベンゼン 15 ml を加え 10 分間振とう後、再び GFP でろ過しろ液を合わせ、2% NaCl 溶液 100 ml * 2 で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、n-ヘキサン 5 ml で溶解し、以下 (5.) の操作を行った。

2) 残留分析法 (Draft, 昭和 57 年 7 月) の有機リン剤の試験方法：小麦粉 10 g を 200 ml の共栓付き比色管に取り 30% 含水アセトン 100 ml を加え 10 分間振とうし、1 夜放置後 GFP で吸引ろ過する。残渣を GFP と共に比色管に戻し、30% 含水アセトン 50 ml を加え 10 分間振とう後、再び GFP でろ過しろ液を合わせ、5% NaCl 溶液 400 ml を加え 20% CH₂Cl₂ 含有 n-ヘキサン 100 ml * 2 で抽出を行い、無水硫酸ナトリウムで脱水後ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、n-ヘキサン 5 ml で溶解し、以下 (5.) の操作を行った。

3) 残留分析法 (Draft, 昭和 60 年 3 月) の有機リン剤の試験方法：抽出方法(2)の中で 20% CH₂Cl₂ 含有 n-ヘキサンを 20% CH₂Cl₂ 含有ベンゼンに変更し、以下 (5.) の操作を行った。

4) AOAC 法の乾燥試料中有機リン系農薬の分析方法：小麦粉 10 g を 200 ml の共栓付き比色管に取り 35% 含水アセトンニトリル 200 ml を加え 10 分間振とう後、1 夜放置した。溶液量を記録した後、GFP でろ過し溶液量を測定した。

ろ液にジクロロメタン 200 ml を加え 10 分間振とう後、静置し下層を無水硫酸ナトリウムカラムを通し脱水後、ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、n-ヘキサン 5 ml で溶解し、以下 (5.) の操作を行った。

5) Draft (S57) を応用した改良抽出法：小麦粉 10 g に 30% 含水アセトン 100 ml を加え 10 分間振とう後、20% CH₂Cl₂ 含有 n-ヘキサン 50 ml * 2 で抽出を行った。分離が不十分な場合少量の塩化ナトリウムを加えた。無水硫酸ナトリウムで脱水後ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、n-ヘキサン 5 ml で溶解し、以下

表-1 各抽出法による小麦粉からの定量値

単位：ppb

	厚生省法	Draft(S57)	Draft(S60)	AOAC法	改良法
ディルドリン	7.8	7.4	7.9	7.4	7.8
マラチオン	57	47	64	57	68
フェニトロチオン	145	150	180	164	177

* 定量値は 3 回の平均値

(5.) の操作を行った。

5. 精製方法及び検出方法

抽出操作によって得られた n-ヘキサン溶液を分液ロートに移し、洗液と合わせ全量を 10 ml とする。n-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 ml * 2 で分配しアセトニトリルをロータリーエバポレーターで留去し n-ヘキサン 2 ml で溶解し、内径 1 cm のガラス管にフロリジル 3 g を 6% ベンゼン含有 n-ヘキサンの湿式充填したクロマト管に負荷した、6% ベンゼン含有 n-ヘキサン 30 ml で溶出させ第一画分とした。次に 6% エーテル含有 n-ヘキサン 30 ml で溶出させ第二画分とし、10% 酢酸エチル含有 n-ヘキサン 30 ml を第三画分とした。それぞれの画分をロータリーエバポレーターで溶媒を留去し n-ヘキサンで第一画分を 1 ml、第二画分を 10 ml に定溶し ECD-GC の検疫とした。第三画分を 10 ml に定溶し FPD-GC の検疫とした。AOAC 法は加えたアセトニトリル量とろ液量から試料量を換算した。

Ⅲ. 結 果

表-1 に各抽出方法別のディルドリン、マラチオン、フェニトロチオンの測定結果を示した。図-1 に各抽出法で得られた第二画分(ディルドリン画分)の ECD ガスクロマトグラム、図-2 に第三画分(マラチオン、フェニトロチオン画分)の FPD-ガスクロマトグラムを示した。

Ⅳ. 考 察

多成分の残留農薬分析法が厚生省や AOAC で採用されているが、分析方法の中で抽出方法に大きな違いがみられた。そこで農薬が残留している小麦粉を用いて、これらの公定法に示された抽出方法の比較を試みた。小麦粉中に残留していた農薬はディルドリン、マラチオンとフェニトロチオンで、5 種の異なる抽出法により抽出し、精製方法及び検出方法を同じ操作で行い定量値により抽出効率を比較した。

有機塩素系農薬のディルドリンは Draft (S57) と AOAC 法で若干低い定量値を示したが 5 種の方法とも定量値に大きな差は見られなかった。有機リン系農薬のマラチオンとフェニトロチオンは Draft (S60) と Draft (S57) を応用した 30% 含水アセトン + 20% CH₂Cl₂ 含有 n-ヘキサンによる改良抽出法で高い値を示した。水分含有量の低い試料の場合、含水した極性溶媒で抽出を行うことにより、高収率が得られることが指摘されているが⁷⁾、厚生省法では低極性溶媒で抽出を行っているた

表-2 ACGIH による干学物質の許容濃度
(1984-85)

	経皮吸作用	TWA (時間荷重平均)	
		ppm	mg/m ³
アセトニトリル	有	40	70
アセトン		750	1780
エタノール		1000	1900
酢酸エチルエステル		400	1400
ジエチルエーテル		400	1200
ジクロロメタン		100	350
n-ヘキサン		50	180
ベンゼン		10, A ₂	30, A ₂

A₂: ヒトに対する発癌性が⁸⁾、限られた疫学調査ないし動物実験で疑われる物質

め、水分含量の低い小麦粉では有機塩素系に比べ、極性が高い有機リン系農薬の抽出率が低下したものと思われた。今回行った実験では Draft (S60) と改良抽出法が 3 種の農薬に対し高い定量値を与え、抽出効率が高く多成分抽出法として優れていると思われた。この抽出法で同時に抽出される農薬の種類を、3 種の農薬の極性から考えてみると、有機塩素系殺虫・殺菌剤のほとんどは抽出可能であり、極性の高い有機リン系殺虫剤を除いて有機リン系農薬のほとんどが抽出可能である。またカルバメイト系農薬は高い極性を有するため今後の検討が必要である。

分析方法を採用する場合、多種多量の溶媒を使用する分析者の健康も考える必要がある。ACGIH (米国産業衛生専門家会議) による化学物質の許容濃度 (1984-85) から農薬分析に多用される溶媒の、作業環境空气中許容濃度を表-2 に抜粋したが⁹⁾、厚生省法や Draft (S60) で多用するベンゼンで発癌性が指摘されており、分析担当者以外にも、同じ実験室で作業する人や、換気により大気中への放出を考慮した場合、より安全性の高い溶媒や試薬の使用が必要だと考え、小麦粉からの農薬抽出法として Draft (S60) よりも Draft (S57) を応用した改良抽出法が適していると考えられる。

文 献

- 1) 後藤真康: 環境庁告示による残留農薬の分析法 (その1), 農業誌, 3, 169-178, 1979
- 2) 後藤真康: 環境庁告示による残留農薬の分析法 (その6), 農業誌, 10, 745-752, 1985
- 3) 武田明治: 残留農薬試験法の解説, 食品衛生研究,

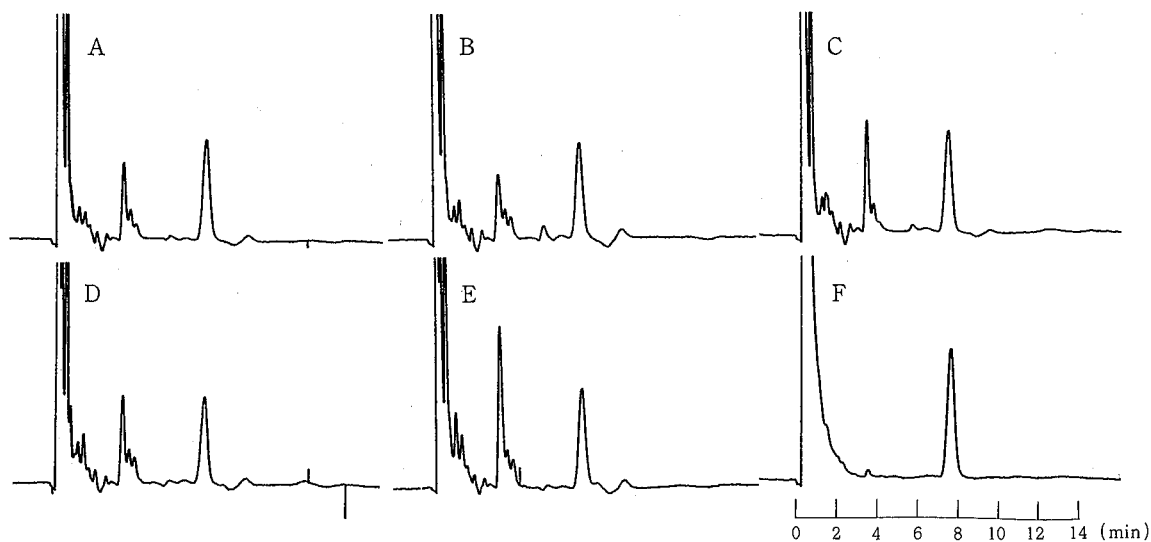


図-1 ディルドリン画分のECDガスクロマトグラム

A : 厚生省法 B : Draft(S57) C : Draft(S60)
 D : AOAC法 E : 改良抽出法 F : ディルドリン標準品 10 ppb

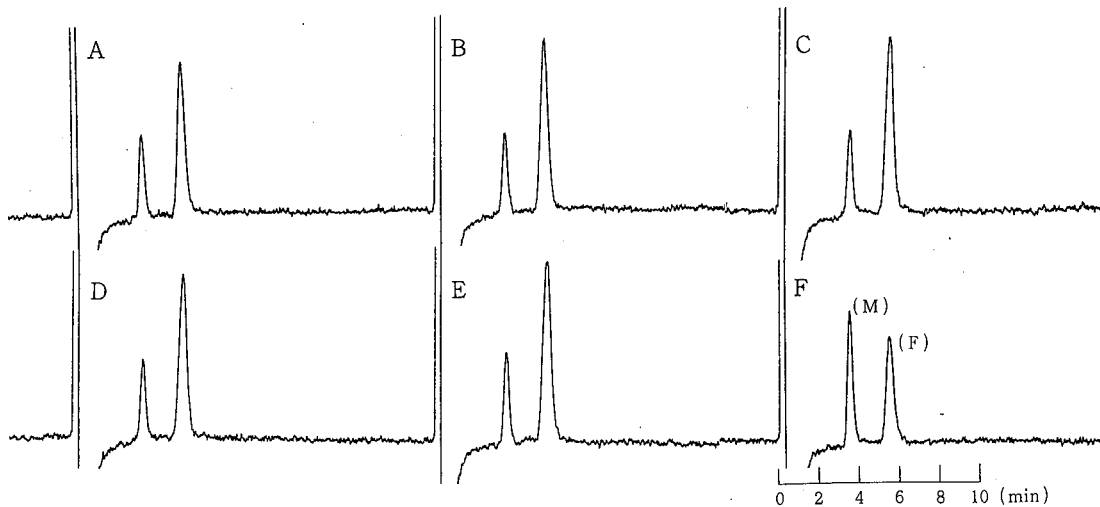


図-2 有機リン系農薬画分のFPDガスクロマトグラム

A : 厚生省法 B : Draft(S57) C : Draft(S60)
 D : AOAC法 E : 改良抽出法 F : マラチオン(M), フェントロチオン(F) 標準品 各0.1 ppm

24, 603-611, 1974

- 4) OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 12th ED, 518-552, WILLIAM HORWITH, WASHINGTON, 1975
- 5) 厚生省生活衛生局食品化学課：残留農薬分析法 (Draft), 21-29, 1985. 3

- 6) 厚生省生活衛生局食品化学課：残留農薬分析法 (Draft), 21-29, 1985. 3
- 7) 後藤真康, 加藤誠哉：残留農薬分析法, 19-23, ソフトサイエンス社, 東京, 1980
- 8) 荒木 峻, 他：環境科学辞典, 867-892, 東京化学同人社, 東京, 1985

パーソナルコンピューターを用いた食品化学検査 成績処理システムの開発 (第1報)

久保倉 宏一¹

Development of Computerrized Data Base System for Processing Results of Food Chemical Examination (I)

Kouichi KUBOKURA

パーソナルコンピューターを用いて食品化学検査結果の成績処理システムの開発を行った。その結果、検査項目約 450 項目をコード化して、この中より各々 42 項目以内で検査項目の選択を行ったうえでこれらに対する検査成績の処理を行うことができるシステムを開発した。当システムで、5 インチ 2 HD フロッピーディスクを用いれば、1 枚のディスクに約 4400 件のデータを保存することが可能であり、一年間の検査成績を収納するのに十分な量であった。当システムの利用により成績書作成の事務処理などの負担が軽減し、更に、MS-DOS 上の他のプログラムでデータを共用できるので、検査成績データベースとしてデータの有効利用を計ることが可能となった。

Key Words : データベース Data Base, パーソナルコンピューター Personal Computer,
食品化学検査 Food Chemical Examination

I. はじめに

近年のコンピュータ技術の発達はめざましく、一昔前には空調設備の整った部屋の中で大きなスペースを占領していた大型コンピューターと同じかそれ以上の機能を持つコンピューターが、机の上に乗るほどに小型化されてきた。それに伴い実験室にもコンピューターが浸透してきて測定機器の運転や測定データの計算の自動化などにも利用されてきた。その様な中で、われわれ分析担当者の事務処理の一つである成績書の作成などにも利用が試みられており、水質試験結果処理システム¹⁻³⁾ や細菌検査成績処理システム⁶⁻⁷⁾ などの報告がある。この種の業務では年間処理件数が多くて人手で処理するには多くの労力を要するのでコンピュータ利用の要求が高まり、また、試料の種類も少なく検査項目がある程度パターン化しており、検査対象項目数も数十とシステム化しやすい条件があったので、多くの報告がなされていると考えられる。しかし、食品化学分析の分析項目は食品添加

物、残留物質などを合わせるとその数は 500 以上にもなり、分析対象食品が異なれば分析項目が全く異なり分析値に大きな幅 (% ~ ppb) があり、結果の表示方法も種類が多いという特徴がある。このようなことが、マイクロコンピューターを食品化学成績処理業務に利用することを妨げる要因の一つとなっていると考えられる^{1,8)}。

当試験所における食品化学分析件数は昭和 60 年度では、検査検体数 2,523 件、検査延べ項目数 23,144 件とかなりの数になっており、成績書の作成などの事務処理にはかなりの労力を必要としている。そこで、この事務処理量の負担の軽減と、更にはこれらの検査データをデータファイル化して有効利用を計ることを目的として、検査成績処理システムの開発を試みた。その結果、現在までにある程度満足する結果が得られたので報告する。

II. 装置及びデータ仕様

1. 装置

本体 : PC-9801 vm (NEC 製)

1 福岡市衛生試験所理化学課

ディスプレイ : PC-KD 852
 プリンター : PC-PR 201 F
 オペレーションシステム : MS-DOS (マイクロソフト社)
 使用言語 : N 88 - 日本語 BASIC (86)
 (MS-DOS版)

2. データファイル仕様

当システムでは検査項目データ及び検査結果を以下の3つのランダムファイルに分割して保存している。

ファイルは全て 256 バイトを 1 レコードとして使用した。

1) インデックスファイル (検査結果用)

レコード内のフォーマットは表1のとおりであり標準で 250 レコード分の容量を持っているので、年 250 回の検体受付に対応できる。

2) メインファイル (検査結果用)

レコード内のフォーマットは表2のとおりで 4500 レコード (1 レコード = 1 検体) の容量のファイルをディスク上に作成することができる。

3) 項目コード名前ファイル

1 レコードを 8 分割して項目名と表示単位を記憶している。現在、容量は約 54 k バイトのファイルで、この中には 427 項目の項目名が格納されている。

表1 インデックスファイルのフィールドの割付

変数名	データ長	データ型	内容
FKENTAI SYURUI \$	30バイト	文字	受付検体の種類別を入力する 全角日本語文字のみであれば15文字まで
FNEN \$	2	整数	検体受付年を和暦で入力
FTUKI \$	2	整数	検体受付月を入力
FDAY \$	2	整数	検体受付日を入力
FREC \$	2	整数	メインファイル中の受付検体のスタートレコード番号
FKENTAI SU \$	2	整数	受付検体の総件数
PHOKENSHO \$(i)	2 * 8 保健所	整数	各保健所別の検体件数
FKOMOKUSU \$	2	整数	当該検体の検査項目数
FKOMOKU \$(i)	2 * 42	整数	検査項目名 (コード番号で入力)

注) レコード番号 1 番はプログラムで次のものに使用

FDAY \$: インデックスファイルの最終入力レコード番号。(= 検体受付回数 + 1)

FREC \$: メインファイルの最終入力レコード番号。(= 総検体数)

検体受付データはレコード番号 2 番以降に格納する。

143 バイト以降は未使用

表2 メインファイルのフィールドの割付

変数名	データ長	データ型	内容
FINDEX. NO \$	2バイト	整数	当該データの解読のための参照すべき インデックスファイル中のレコード番号
FKENTAIMEI \$	40	文字	依頼検体の名称。全角日本語文字で20文字まで
FSEIZOUSYO \$	40	文字	依頼検体の製造者名及び被収去者名
FNUMBER \$	2	整数	依頼検体の依頼書中の番号
FFOODCODE \$	2	整数	依頼検体の食品分類コード
FATAI!(i)	4 * 42	実数	分析結果を入力。項目の並びはインデックスファイルを参照

IV. システム概要

1. システム開発にあたって

食品化学検査成績処理システムの開発にあたっては、以下のような条件を考慮にいれて取り組んだ。

- 1) プログラムについての知識がない人でも取り扱いができること。
- 2) 操作が繁雑でないこと。
- 3) 5 インチフロッピーディスク 1 枚につき 1 年分のデータを記憶できること。
- 4) 残留物質などを含めてなるべく多くの項目を処理できること。
- 5) ファイル内のレコードの追加、変更ができること。
- 6) 一定の条件下でデータのサーチができること。
- 7) 業務報告の件数集計などに利用できること。
- 8) 成績書の作成に利用できること。

2. 使用言語

オペレーションシステムには、市販の汎用プログラムや他機種のパersonalコンピュータとのデータの共用性や互換性を考慮して、MS-DOS を用いた。更に、同じフロッピーディスクを使用しても MS-DOS 上で、使用した方が NEC-N 86-BASIC で使用するよりも、約 2 割程度フリーエリアが増加するので、データの収容能力から考えても MS-DOS の方が有利である。

MS-DOS 上で動作するプログラム記述言語には BASIC, FORTRAN, COBOL, PLI, C 言語等、数多くあるが、今までパーソナルコンピュータでもっとも一般的に用いられており、多くの人に理解しやすいと思われる BASIC を用いた。

3. データファイル形式

データをフロッピーディスクに保存するのに DATA 文にする方法があるが、この方法ではデータ量が多くなると、プログラム領域を圧迫するので大量のデータの取扱いには向かない。更に、取扱いには BASIC の知識がある程度要求されるので、1. 1) の条件に反するので採用しなかった。

データファイル形式にはシーケンシャルファイルとランダムファイルの 2 種類がある。シーケンシャルファイルはプログラムが割と容易であるがデータが多くなると、データの訂正挿入などが困難となるし、任意のデータを直接読み出すこともできない。そこで、データファイルの形式はランダムファイル形式を採用した。ランダムファイルのデータフォーマットには、まず図 1 のようなものが考えられる。この形式では各データの追加は簡単であるが、各レコードの管理はレコード番号で行うことが多く、取扱が若干複雑になる。また、このファイル形式で

は同一日に受付けた検体が多数並ぶと、受付日、検査項目についての同一データがファイル上に連続して並ぶので、ディスク上のスペースに無駄を生じてくるので効率的なフォーマットとは言えない。

一方、当試験所での成績の管理は検体受付日単位で行われている。そこで、この様な管理をうまく行い、更にファイル上のスペースを有効に利用するために、本システムでは、データファイルをインデックスファイルとメインファイルの 2 つに分けた。このデータフォーマットの概略は図 2 のとおりであり、各データの仕様は表 1, 2 に示したとおりである。この、データフォーマットの採用により、検体受付日別の管理がプログラム上でスムーズに行うことができ、今まで手作業で行っていた日常業務処理と整合性をうまく保つことが可能となった。更に、インデックスファイル中に検査項目を記入するので、メインファイル中には実際の測定値のみの記入で済むため、ディスクの有効利用率が高まり、ディスク中のデータ件数の増加や 1 レコード内の検査項目数の増加が可能となった。1 レコードの大きさはプログラムの取扱いの容易さとディスクのデータ容量から 256 バイトとした。

4. 検査項目の入力方式

食品関係の理化学分析項目は食品添加物だけでも 300 以上あり、これに残留物質などを加えるとかかなりの数になる。項目名を文字列データでファイルに格納したのでは大きな記憶エリアを必要とするし、入力操作も繁雑となる。また、同じ項目名でも全角カナで入力した場合と半角カナで入力した場合では、異なった項目と判断される恐れがある。そこで、検査項目を総てコード化しコード番号で入力することとし、検査項目を表 3 に示すように分類し、検査項目名を項目名コードファイルとしてフロッピー内に保存した。更に、この表をインデックステーブルとして使用し、コードデータファイルのアクセス時間の短縮化を計り、入力された項目コードのエラーチェックも行うようにした。この項目名コードデータファイルの構造は図 3 のとおりであり、項目名は半角文字で最大 30 文字とし、ファイルの作成・訂正は別プログラムで行った。現在、このファイルの容量は 54 k バイトで登録項目数は 427 項目でその内容は表 4 のとおりであるが、このファイルの大きさで約 1600 項目の登録が可能である。実際のプログラムでは、このコード番号を総て項目名に戻して表示あるいは出力することで運用上分かり易くした。

5. 検査結果の入力方式

検査結果には 1 項目につき 4 バイトを割り付けてあるので、実数型で入力することになる。しかし、日常の検査では「検出下限未満」、「検出す」などと検査結果を文

図1. 単一ファイルによる検査成績処理のためのランダムファイルとフォーマティング例

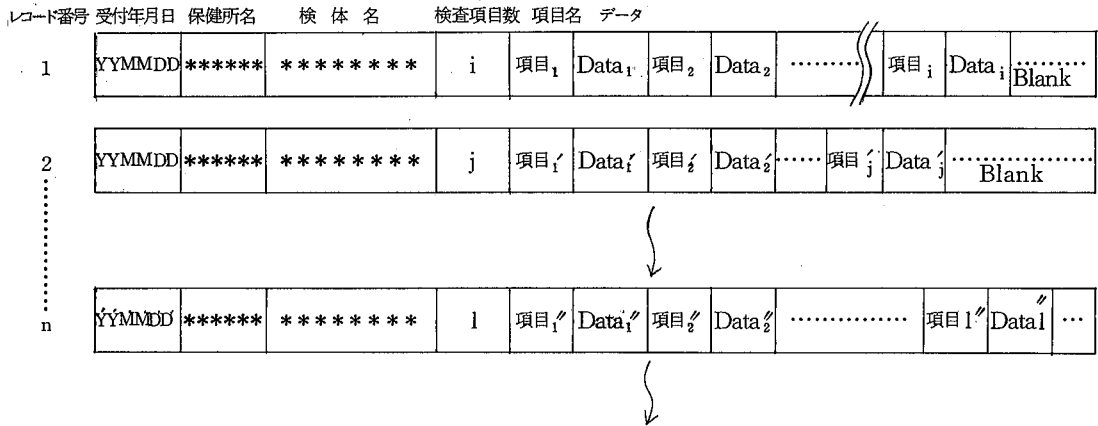
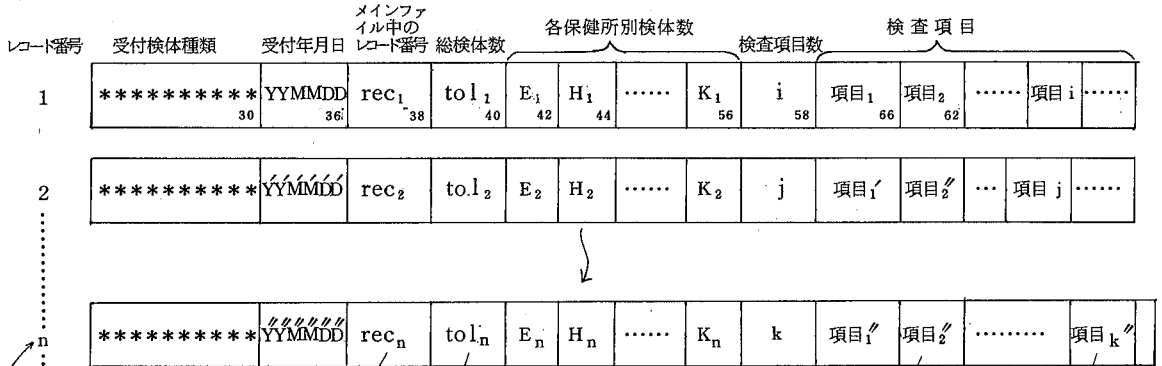


図2. 当システムのデータファイル構造図

① インデックスファイル



② メインファイル

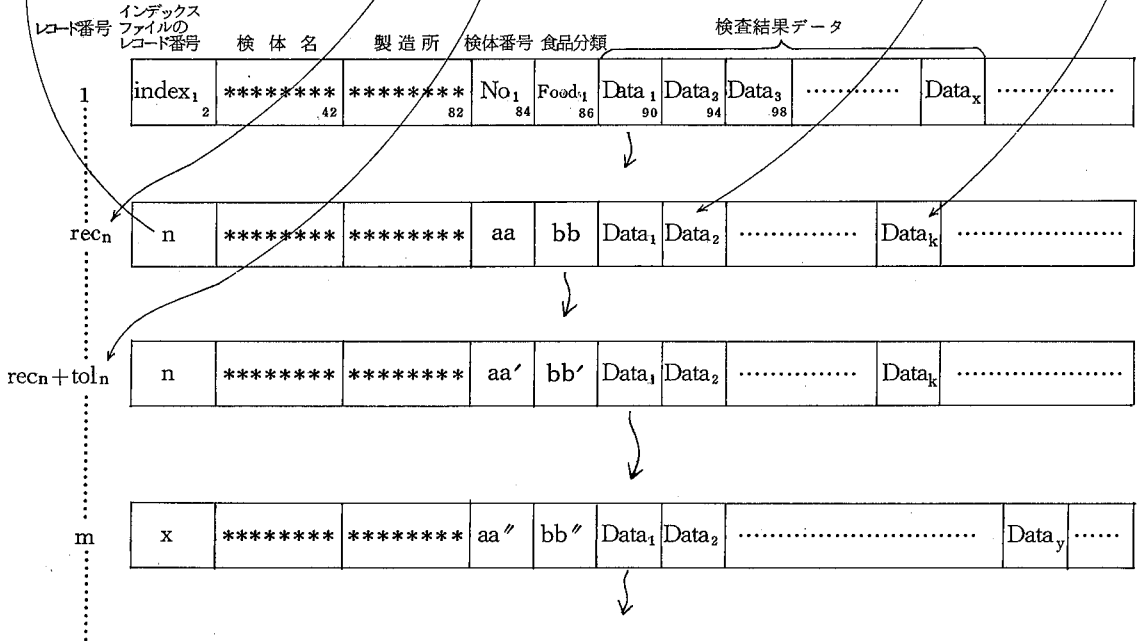


表3. 検査項目コードの分類とファイルアクセスのためのインデックステーブル

項目分類	Min. Code	Max. Code	占有レコ ード数	開始レコ ード番号
成分試験	1001	1019	4	1
無機質試験	1101	1109	3	5
ビタミン試験	1201	1208	2	8
鮮度, 変質試験	1301	1319	3	10
乳成分規格	1401	1433	5	13
金属類試験	1501	1518	3	18
栄養成分	1601	1603	2	21
保存料, 防虫剤	2001	2022	3	23
甘味料	2101	2108	2	26
酸化防止剤	2201	2213	2	28
合成着色料	2301	2312	4	30
殺菌料, 発色剤, 漂白剤	2401	2410	2	34
改良剤, 保持剤, 安定剤	2501	2508	2	36
糊料, 乳化剤	2601	2613	2	38
酸味料, 調味料	2701	2718	3	40
着色料	2801	2840	6	43
その他添加物	2901	2917	3	49
天然色素	3001	3012	3	52
有機汚染物質	4101	4103	1	55
有機金属	4201	4201	1	56
抗生物質	4301	4340	9	57
抗菌剤	4401	4440	9	66
有機リン剤	5101	5156	9	100
有機塩素剤	5201	5253	9	109
殺虫・殺ダニ剤・殺菌剤	5301	5342	9	118
除草剤	5401	5350	9	127
材質試験 (器具容器包装)	6101	6110	3	136
溶質試験 (器具容器包装)	6201	6218	4	139
洗浄剤	6301	6305	2	141
偽和物・異物・その他	7101	7110	3	143

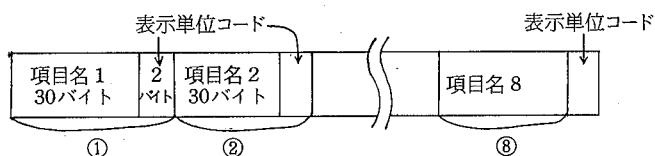


図3. 項目名コードデータファイルのフォーマット