

福岡市衛生試験所報

第 13 号

昭和62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18年を経過いたしました。

この間には、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公害問題、輸入感染症の問題など多様な衛生上の問題が発生し、当試験所もそれら行政ニーズに対応すべく試験検査等の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など新たな感染症、集団赤痢の再発生、輸入食品の残留農薬、高齢化社会化への移行に伴う成人病対策など、公衆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・環境保全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、現在、施設の改築や組織・機構、人員等の拡充整備を検討いたしておりますので、皆様の今後の御支援をお願いいたします。

このたび、昭和62年度の業務報告と、日頃、試験検査技術の向上に努めております所員のささやかな成果等を所報第13号として発刊いたしますので、御高覧いただき、忌憚のない御意見、御批判ならびに今後の御鞭撻を賜れば幸いに存じます。

昭和63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. ウイルス担当	9
3. 臨床検査係	10
4. 衛生化学係	13
5. 環境化学係	22

III. 調査研究

1. 海水浴場水域におけるふん便性大腸菌群測定法の検討	27	梶原一人, 他
2. 日本脳炎ワクチン未接種児における中和抗体保有状況	31	馬場純一, 他
3. 輸入熱帯魚からの病原ビブリオ検出状況	37	大隈英子, 他
4. 輸入熱帯魚からの <i>Aeromonas</i> , <i>Plesiomonas</i> 検出状況	42	渡部高貴, 他
5. 徳之島産アカマタに多数検出された ドロレス顎口虫 <i>Gnathostoma doloresi</i> 幼虫	47	真子俊博, 他
6. 赤痢アメーバ染色（鉄ヘマトキシリン, トリクローム, コーン）の比較	53	真子俊博, 他
7. コレステロールおよび脂肪酸組成データを用いた アイスクリーム類中粗脂肪の主成分分析法による分類	60	久保倉宏一
8. 福岡市における食品中のPCB残留量の調査結果 —牛乳および生乳—	66	久保倉宏一, 他

9. アミノアルキルカラムを用いた液体クロマトグラフィーによる食品中の ソルビン酸,安息香酸,デヒドロ酢酸の検出法	76
	中村正規, 他
10. マススペクトルデータ処理プログラムの開発	81
	中村正規
11. 順相高速液体クロマトグラフィーによる油性食品中の β -カロチンの定量	92
	桃崎悦子, 他
12. 高速液体クロマトグラフィーによる食肉および食肉製品中の ニコチン酸・ニコチン酸アミドの定量について	96
	桃崎悦子
13. 陶器からの鉛およびカドミウムの溶出試験	100
	加茂和義
14. 可視検出器を用いた高速液体クロマトグラフィーによる食品の総エリソルビン酸の定量	105
	木内佳伸, 他
15. 短期熟成味噌製造における漂白料(SO ₂)使用法の検討	110
	渡辺美千代, 他
 IV. 事例報告	
1. 薬湯の大腸菌群について	115
	梶原一人, 他
2. 1988年1月に福岡市で発生したインフルエンザの流行について	119
	馬場純一, 他
3. 糞線虫が検出された1事例	124
	渡部高貴, 他
4. アジの唐揚げによるヒスタミン食中毒事例	128
	小田隆弘, 他
 V. 資料	
1. 昭和62年度食中毒・苦情関係細菌検査	133
2. 昭和62年度における腸内病原微生物検出状況	136
3. 過去14年間の食品化学関係違反食品についてのまとめ	139
4. 昭和62年度 油症検診・血液中PCBおよびPCQ検査結果	153
5. 昭和62年度 食中毒・苦情関係化学検査	155
6. 昭和62年度食品化学違反関連検査結果	157
7. 結論を誰にでもわかるようにするためのデータ処理プログラム	159
 VI. 学会・雑誌発表抄録	
学会誌等論文発表一覧	171
学会誌等論文発表抄録	171
学会等口演発表一覧	171
学会等口演発表抄録	173

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。

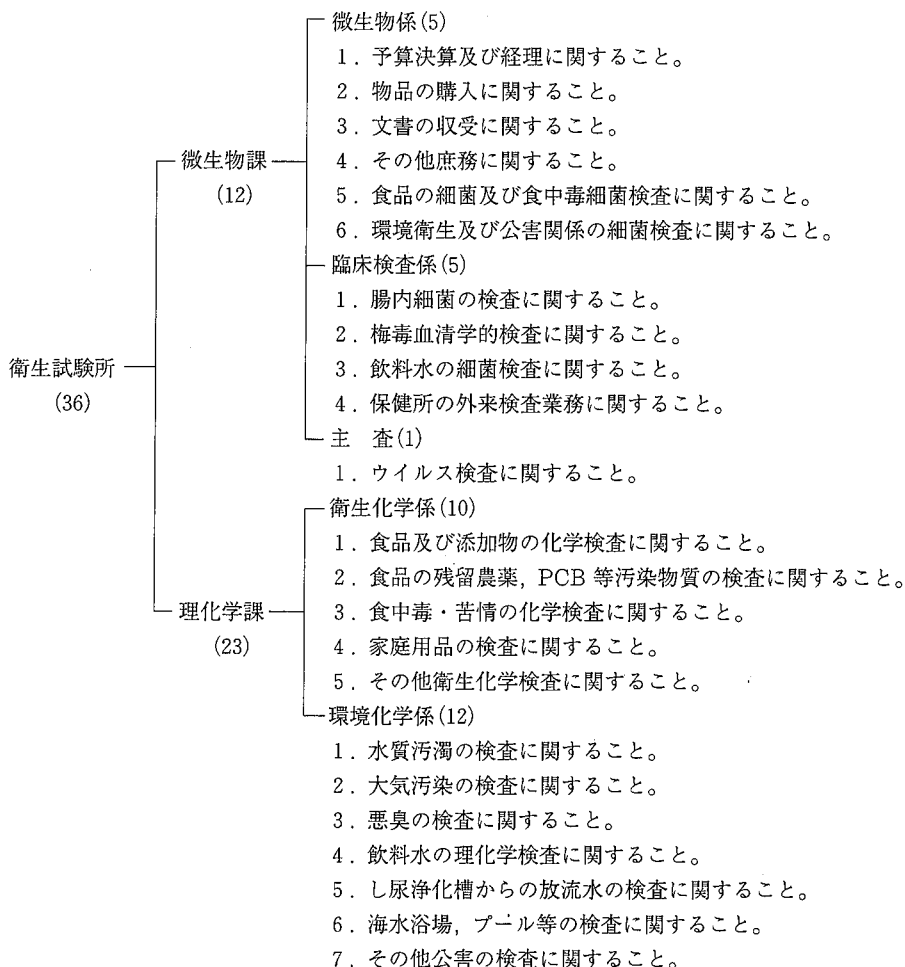
2. 施設

敷地	中央保健所と共有	2,088.09㎡
本館	鉄筋コンクリート5階建	1,415.04㎡
1階	事務部門	77.95㎡
2階	臨床・微生物検査部門	379.63㎡
3階	衛生化学検査部門	417.33㎡
4階	環境化学検査部門	474.54㎡
5階	所長室	65.59㎡
その他		
	動物舎	27.00㎡
	屋内危険物貯蔵庫	13.72㎡

3. 機構・事務分掌及び人員

昭和63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63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	
微生物 物 係 課	所長	情 松 洋 一	62. 4	部 長	衛生試験所総括	
	課長	佐 藤 泰 敏	59. 4	課 長	微生物課総括	
	主査	馬 場 純 一	61. 4	主 査	ウイルス	
	微 生 物 係	微	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
			稲 葉 南海子	62. 4	〃	〃
			梶 原 一 人	57. 4	総括主任	食品細菌，食中毒，水質細菌
			黒 木 将 仁	63. 4	主 任	ウイルス
			藤 山 美智子	63. 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 課	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	課長	峯 尾 晴	58. 4	課 長	理化学課総括	
	衛 生 化 学 係	小 大 中 桃 久 加 中 木 本 渡	田 隆 弘	60. 4	係 長	衛生化学係総括
			石 義 也	61. 4	総括主任	食品添加物
			西 和 道	62. 4	〃	〃
			崎 悦 子	60. 4	主 任	家庭用品
			保倉 宏 一	58. 4	総括主任	食品中の微量汚染物
			加 茂 和 義	60. 4	主 任	〃
			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 課	環 境 化 学 係	石 橋 俊 雄	63. 4	総括係長	環境化学係総括
			古 川 滝 雄	59. 4	総括主任	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	〃	大気，悪臭，化学物質
山 崎 真 孝			62. 4	〃	有機汚濁物質	
木 村 謙 治			61. 4	〃	大気，悪臭，化学物質	
江 崎 光 洋			63. 4	〃	〃	
池 田 嘉 子			61. 5	〃	飲料水，金属物質	
三 坂 亜 矢子			62. 5	〃	有機汚濁物質	
小 野 英 樹			63. 4	〃	〃	
水 野 久 子	63. 4	〃	飲料水，金属物質			
中 山 真 治	63. 4	〃	大気，悪臭，化学物質			

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63年7月31日現在)

部門 職名		職種	獣 医 師	薬 劑 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
課 長			1								1
主 査			1								1
微生物 物 係	微 係 長		1								1
	主 任		2					1			3
	技術吏員										0
	事務吏員							1			1
	嘱 託				1					1	2
	臨検 床査 係	係 長			1						1
		主 任			1						1
	技術吏員			3						3	
理 学 課	課 長			1							1
	衛化 生学 係	係 長					1				1
		主 任		1		4	2				7
		技術吏員		1			1				2
	環化 境学 係	係 長					1				1
		主 任				3		1			4
	技術吏員		4		3					7	
計			6	7	6	10	5	1	2	1	38

表3. 職員の異動 (昭和63年7月31日現在)

氏 名	新	旧	異動年月
石 橋 俊 雄	理化学課環境化学係長	環境局環境保全部環境管理係長	63. 4
榊 洋 子	西区役所総務部市民相談室長	理化学課環境化学係長	〃
門 司 慶 子	食品衛生検査所検査第2係	微生物課微生物係	〃
田 辺 雄 一	環境局南部清掃工場試験係	理化学課環境化学係	〃
安 増 眞 一	中央保健所衛生課食品係	〃	〃
井 上 哲 男	下水道局水質試験所水質第2係	〃	〃
佐々木 康 江	〃 水質第1係	〃	〃
黒 木 将 仁	微生物課微生物係	食肉衛生検査所食肉係	〃
江 崎 光 洋	理化学課環境化学係	下水道局水質試験所水質第1係	〃
小 野 英 樹	〃	人事課付	〃
水 野 久 子	〃	〃	〃
中 山 真 治	〃	〃	〃

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						3,984	3,984	
共 済 費		2	4	3	25	60	94	
賃 金		192	308	221	1,973	3,821	6,515	
報 償 費						254	254	
旅 費		40			327	1,132	1,499	
需 用 費	印 刷 消 耗 品 費	3,927	6,658	13,599	15,205	12,151	51,540	
	被 服 費					320	320	
	光熱水費					5,706	5,706	
	食 糧 費	60				16	76	
	修 繕 費					2,770	2,770	
役 務 費						1,424	1,424	
委 託 料						2,982	2,982	
使 用 借 賃 及 び 料						3,250	3,250	
備 品 購 入 費		3,839	26	260		9,045	13,170	
負 担 金 補 助 及 び 交 付 金						204	204	
計	60	8,000	6,996	14,083	17,530	47,119	93,788	

6. 備 品

昭和62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)
マイクロプレートウォッシャー (フロウボラトリーズ)	1式	S 8 / 12 デイスベンヘッドS12 吸引装置 (真空ポンプ, 吸引ピン等)	全有機炭素計 (島津製作所)	1式	TOC-500 (VOC付) 自動試料注入装置A S I -502 T C触媒セット I C充てん剤セット シリコングリース ソーダライム 空気導管セット ポンベ減圧器 (TU-1085)
透過型ノマルスキー式 微分干渉顕微鏡 (オリンパス)	1台	B H S - 373 N	高速液体クロマトグラフ (ウォーターズ)	1式	電気伝導度検出器 (CDD-6 A) (島津製作所) 高圧ポンプ (510) (ウォーターズ) 超高感度多機能検出器 (490) (ウォーターズ) インジェクター (レオダイン7125) (ウォーターズ) 記録計 (日本電子科学ユニコーダーU-329)

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
第36回日本臨床衛生検査学会	鹿児島	S. 62. 5. 1～2	真子俊博
化学物質環境汚染実態調査打合せ会議	東京都	5.29～30	松原英隆
昭和62年度全国地方衛生研究所長会議並びに地方衛生研究所全国協議会臨時総会	〃	6.25～26	楢松洋一
第8回衛生微生物技術協議会研究会	〃	6.25～26	梶原一人
第38回地方衛生研究所全国協議会九州支部総会並びに第14回全国公害研協議会九州、沖縄支部総会	宮崎市	7.30～31	楢松洋一
昭和62年度指定都市衛生研究所長会議	横浜市	9.3～4	〃
昭和62年度化学物質環境汚染実態調査ブロック別打合せ会議	鳥取市	9.9～11	松原英隆
第24回全国衛生化学技術協議会	東京都	9.30～10.1	久保倉宏一
タイ国における顎口虫症ならびに熱帯寄生虫病の免疫診断に関する研究	バンコク (マヒドン大学)	10.12～11.25	真子俊博
第16回全国公害研協議会総会及び地方公共団体公害試験研究機関等所長会議	東京都	10.14～15	楢松洋一
第38回地研全国協議会総会及び次長、庶務課長会議	長崎市	11.17～18	〃
第46回日本公衆衛生学会総会	〃	11.18～20	馬場純一 外1
九州衛生公害技術協議会	鹿児島市	11.26～27	楢松洋一 外9
昭和62年度第2回血中PCB分析班会議	北九州市	63. 1.13	峯尾 噓 外3
全国公害研究所交流シンポジウム	茨城県 (筑波郡)	1.27～28	古川 滝雄
第5回環境科学セミナー	所沢市,東京都	2.3～5	山崎真孝 外2
環境測定分析統一精度管理調査結果検討九州、沖縄ブロック会議	鹿児島市	2.18～19	井上哲男

8. 衛生検査 (厚生省報告例)

昭和62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)	40,289	水 質 検 査	飲 用 水	水道水	細菌学的検査 (38)	1,622
		その他の細菌 (2)	13			理化学的検査 (39)	1,558	
	血清検査 (3)	—	井戸水			細菌学的検査 (40)	3,887	
		化学療法剤に対する耐性検査 (4)				—	理化学的検査 (41)	4,667
ウイルス・リケッチア等検査	分離 同定	インフルエンザ (5)	18		水	その他	細菌学的検査 (42)	275
		その他のウイルス (6)	—				理化学的検査 (43)	—
		リケッチア・その他 (7)	—				利 用 水	細菌学的検査 (44)
	血液検査	インフルエンザ (8)	33		理化学的検査 (45)	746		
		その他のウイルス (9)	1,701		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)	207	
	病原微生物の動物試験 (11)		24	理化学的検査 (48)		367		
	生物学的検査 (49)	—						
	原虫・寄生虫等	原 虫 (12)	79	廃 棄 物 関 係 検 査	し 尿	細菌学的検査 (50)	—	
		寄 生 虫 (13)	—			理化学的検査 (51)	—	
そ 族 ・ 節 足 動 物 (14)		—	生物学的検査 (52)			—		
真 菌 そ の 他 (15)		—	そ の 他 (53)		—			
結核性病	培 養 (16)	—	公 害 関 係 検 査	大 気	SO ₂ ・NO・NO ₂ ・O ₃ ・CO (54)	164		
	化学療法剤に対する耐性検査 (17)	—			浮遊粒子状物質 (粉じんを含む) (55)	—		
	梅 毒 (18)	1,528			降 下 ば い じ ん (56)	5,456		
	り ん 病 (19)	—			そ の 他 (57)	114		
食中毒	そ の 他 (20)	—	河 川	理化学的検査 (58)	839			
	病原微生物検査 (21)	295		そ の 他 (59)	1,092			
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)	531		
		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)	391		
		そ の 他 (27)	—		そ の 他 (64)	—		
	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)	—		
	食品検査	病原微生物検査 (32)			2,527	温 泉 (鉱 泉) 泉 質 検 査 (69)		
理化学的検査 (33)		2,229	家 庭 用 品 検 査 (70)			251		
そ の 他 (34)		—	薬 品	医 薬 品 (71)		—		
水道検査	水道原水	細菌学的検査 (35)		93	そ の 他 (72)		—	
		理化学的検査 (36)	93	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62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。

表1. 検査件数総括

区分	依頼別 計	行政依頼		一般 依頼
		保健所	その他 ^{※1}	
総計	3,680	2,454	1,079	147
食品	計	2,325	2,182	8
	食品 食中毒・苦情	1,737 588	1,602 580	8 ^{※2}
環境	計	284	272	0
	専用水道水	4	4	
	プール水	54	54	
	公衆浴場水 リネンサプライ等	131 95	124 90	7 5
公害	計	1,071	0	1,071
	河川水	606		606
	海水	120		120
	海水浴場水 工場排水	138 207		138 207

※1 環境局環境保全部
 ※2 民間検査施設からの菌株譲渡

当係の試験検査業務と検査件数を表1に示す。

1) 食品細菌

昭和62年度に当所において実施した細菌検査、件数等は表2に示すとおりである。

表3. 昭和62年度 環境・公害関係検査件数

区分	資 料	検 体 数	検 査 項 目					
			計	一 般 細菌 数	大 腸 菌 群	糞 大 腸 性 菌 群	ブ ド ウ 球 菌	官 能 検 査
総計		1,343	1,715	211	1,200	138	90	76
環境	計	272	644	211	267	0	90	76
	専用水道水	4	8	4	4			
	プール水	54	108	54	54			
	公衆浴場水	124	187	63	124			
	リネンサプライ等	90	341	90	85		90	76
公害	計	1,071	1,071	0	933	138	0	0
	河川水	606	606		606			
	海水	120	120		120			
	海水浴場水	138	138			138		
	工場排水	207	207		207			

表2. 昭和62年度 食品細菌検査件数

資 料	検 体 数	検 査 項 目														
		計	一 般 細菌 数	大 腸 菌 群	大 腸 菌	サ ル モ ネ ラ	腸 炎 レ ビ オ	ブ ド ウ 球 菌	カ ン ピ ロ バ ク テ リ	乳 酸 菌	ポ ツ リ ヌ ス	ク ロ ス ト ジ ア	総 菌 数	無 菌 試 験	カ ビ ・ 酵 母	抗 生 物 質
計	1,602	4,293	1,331	1,249	81	257	108	699	168	40	24	15	39	22	123	137
牛乳・乳飲料	87	286	48	43		39		39								39
はっ酵乳・乳酸菌飲料	40	80		40						40						
常温保存可能品類	14	28	14	14												
バター・チーズ類	11	11		11												
食肉・鯨肉・加工品	155	556	83	73												
鮮魚介類・加工品	120	286	115	45	33			145	77		5					18
養殖淡水魚介類	6	16														
養ウニ・めんたい	54	108	54	54		6	6									4
魚肉ねり製品	104	224	104	104												
弁当・そうざい	321	963	321	321							10					
和洋生菓子	136	507	136	136												
氷雪	12	24	12	12												99
冷凍食品	48	105	48	24	24											
穀類・麺類	29	58	29	29			9									
豆	87	174	87	87												
アイスクリーム類・氷菓	159	318	159	159												
漬物	24	72	24	24	24											
清涼飲料水	79	158	79	79												24
粉末清涼飲料	8	16	8	8												
詰缶・レトルト	22	22														
鶏卵・液卵	57	223	5	5									22			
蜂蜜	24	48				57		52	52							52
飲料	5	10	5	5						24						24

2) 環境・公害関係

保健所依頼のプール、公衆浴場、専用水道、おしほり等（リネン関係）、環境局環境保全全部依頼の海水浴場、河川、海水、工場排水等の細菌検査を表3に示す。

3) 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6事例13件を含む）は57事例601件であった（糞便291、吐物4、患者由来菌株8、食品115、ふきとり183）。

この内原因菌が推定できたものは25事例で、腸炎ビブリオによるものが16件と最も多く、次いでブドウ球菌4、サルモネラ3、病原大腸菌1、カンピロバクター1の順であった。

細菌性食中毒発生状況（厚生省報告例）を表4に示す。

4) 一般依頼検査

一般の依頼検査については表5に示すとおりである。

表4. 昭和62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）
1	62. 4. 23	2以上	2	0	弁当	ブドウ球菌（コアグラゼ2型、エンテロトキシンA型）
2	5. 27	15	7	0	昼の定食	サルモネラ（S. braenderup）
3	6. 9	32	4	0	弁当および鉢盛	ブドウ球菌（コアグラゼ7型、エンテロトキシンA B型）
4	6. 27	186	6	0	飲食店提供の朝食、夕食	病原大腸菌（0128:K67）
5	6. 30	15	7	0	不明	カンピロバクター（C. jejuni）
6	7. 16	132	7	0	〃	サルモネラ（S. typhimurium）
7	7. 21	83	3	0	昼の定食	腸炎ビブリオ（04: K63）
8	7. 22	3以上	3	0	不明	〃（04: K63）
9	7. 23	644	23	0	弁当	〃（04: K8）
10	7. 24	1以上	1	0	不明	〃（03: K5）
11	7. 25	1以上	1	0	飲食店での提供の食事（うどん・おにぎり）	ブドウ球菌（コアグラゼ6型、エンテロトキシンAC型）
12	7. 26	385	64	0	夏祭りで提供されたかしわのおにぎり・おでん	ブドウ球菌（コアグラゼ7型、エンテロトキシンA B型）
13	8. 23	1以上	1	0	不明	腸炎ビブリオ（01: K56）
14	8. 29	1以上	1	0	〃	〃（05: K15）
15	9. 4	14	12	0	〃	〃（02: K3）
16	9. 5	1以上	1	0	〃	〃（02: K3）
17	9. 5	2以上	2	0	〃	〃（02: K3）
18	9. 12	2以上	2	0	〃	〃（03: K33）

表5. 昭和62年度 一般依頼検査件数

資 料	検体数	検 査 項 目												
		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	カンピロバクター	乳酸菌	セレウス	無菌試験	カビ・酵母	抗生物質
計	147	370	103	116	18	18	6	89	5	4	7	1	1	2
牛乳・乳飲料	20	27	7	20										
はっ酵乳・乳酸菌飲料	4	8		4					4					
食肉・鯨肉・加工品	15	51	9	9		13		13	5					2
鮮魚介類・加工品	12	26	7	6	6	5	2							
ウニ・めんたい	1	2	1	1										
魚肉ねり製品	1	2	1	1										
弁当・そうざい	38	119	38	38				38			4		1	
和洋生菓子	6	18	6	6				6						
氷雪	1	2	1	1										
冷凍食品	26	70	22	10	12		4	22						
穀類・麺類	3	12	3	3				3			3			
アイスクリーム類・氷菓	3	4	1	3										
缶詰・レトルト	1	1										1		
野菜・果物等	2	4	2	2										
味噌	2	2						2						
公衆浴場水	7	7		7										
リネンサバイ	5	15	5	5				5						

2. ウイルス担当

昭和 62 年度に実施した試験検査業務は、風疹抗体検査、インフルエンザ分離同定及び血清検査、日本脳炎患者血清診断、エイズ（HIV）抗体検査等である。その他、日本脳炎ワクチン未接種児について中和抗体保有調査を行った。

以下、各業務の概要について述べる。

1) 風疹

今年度の風疹 HI 抗体検査件数は、計 1,358 件（再検 65 件を含む）で、全体の抗体陰性率は 42.1%であった。（表 1）

表 2、図 1、に過去 5 年間の年齢別抗体陰性率を示したが、今年度は例年に比べ 20~24 才の年齢層の抗体保有率が著しく高いのが特徴となっている。これは、春以降の 3 年振りの流行による抗体獲得によるものか、ワクチン接種によるものと思われる。

表 1.

	計	受検者数		陰性率 (%)
		初回	2 回	
計	1,358	1,293	65	42.1 (545/1,293)
一般	1,340	1,279	61	42.6 (545/1,279)
妊婦	18	14	4	0

表 2. 過去 5 カ年の風疹 HI 抗体陰性率 (%)

年度 年齢区分	5 8	5 9	6 0	6 1	6 2
20~24	53.8	53.6	57.3	34.7	14.9
25~29	50.2	50.7	55.3	53.0	48.9
30~34	32.3	48.8	38.6	54.3	42.6
35<	11.4	18.5	29.4	32.0	22.2
平均	46.7	52.1	51.7	49.9	42.1

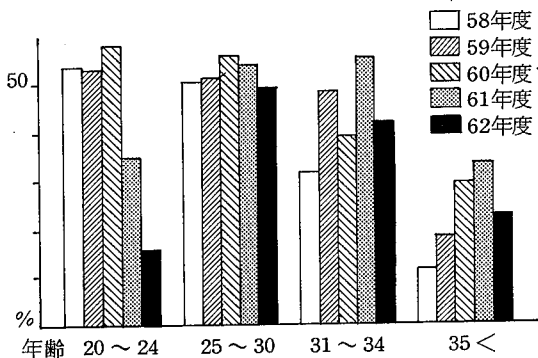


図 1

2) インフルエンザ

今年度のインフルエンザ様疾患の流行は、1月26日に城南区で初発の届出があり、以降2月末までに小、中学校を主体に16施設、患者数728名の発生状況であったが、比較的小流行であった。（表3）

2施設の患者18名中13名からB型ウイルスが分離され、血清学的にもB型インフルエンザウイルスによる感染、流行を確認した。また、これらのうち1例については血清学的にA・H3型の感染が確認されたことから、B型とA・H3型の混合流行が確認された。表4に分離ウイルスの抗原分析結果を示す。（詳細は事例報告を参照）

表 3. 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	2	216	134	75	1	0	2
小学校	10	580	348	165	0	0	18
中学校	4	423	246	79	0	1	4
その他	0						
計	16	1,219	728	319	1	1	24

表 4. 分離株の抗原分析結果 (HI titer)

Antigens	Ferret antisera			
	B/茨城 2/85 No.1378	B/長崎 1/87 No.1458	B/長崎 3/87 No.1461	B/山形 16/88 No.1499
B/茨城/2/85 (E-18)	2,048	512	1,024	<32
B/長崎/1/87 (E-5)	512	512	1,024	<32
B/長崎/3/87 (E-4)	64	64	256	<32
B/山形/16/88 (E-5)	<32	32	32	1,024
B/福岡/C-1/88 (E-4)	<32	128	64	<32
B/福岡/C-4/88 (E-4)	64	512	128	<32
B/福岡/C-5/88 (E-4)	32	128	32	<32
B/福岡/C-9/88 (E-4)	128	512	128	<32
B/福岡/C-12/88 (E-4)	<32	128	32	<32
B/福岡/C-15/88 (E-4)	64	256	128	<32

(日本インフルエンザセンターによる分析結果)

3) 日本脳炎

今年度は、疑似日本脳炎患者4名の検査依頼があり、うち1名が死亡、3名が血清学的に真性と確認された。（表5）

表 5. 昭和62年度日本脳炎届出患者一覧表

No.	年齢	性別	住所	職業	発病 月日	採血 月日	H I 抗体価		C F 抗体価		判定	ワクチン の有無	備考
							1 回	2 回	1 回	2 回			
1	72	男	中央区	無	8. 5	8. 6	[シオノギ 20×]		[シオノギ 4×]		8.16 真性	無	
						8.14		1,280× (80×)		8×			
2	55	男	西区	無	8.15	8.19	80× (<10×)		< 4 ×		8.21 真性	不明	8.19 疑似届出
						8.24		320× (<10×)		< 4 ×			
3	4	女	早良区	幼児	8.11	8.17	640× (<10×) [SRL40×]		< 4 × [SRL<4×]		9. 2 真性	無	
						8.27		SRL 40× (<10×)		[SRL 16×]			
						9. 3		1,280× (40×)		16×			
4	63	男	中央区	無	8.28	8.29	160× (80×) [BML 40×]		抗補体 [BML 4×]		9. 3 真性 8.30 死亡	不明	9. 3 医師届出 (血清学的 決定) ※リコール(-)

注) No.4 の同一血清を 9 月 8 日に当所でも検査を実施した。

[] 内シオノギ, SRL, BML等民間検査所における成積

() 内 2ME感受性抗体

4) エイズ

エイズ (H I V) 抗体検査については、62 年 2 月より県衛生公害センターに分離血清を送付し検査を依頼していたが、本年 10 月より当所で検査を開始した。

H I V 抗体は、現在酵素免疫測定法 (E I A 法) 又は、ゼラチン粒子凝集法 (P A 法) で実施している。

今年度に抗体検査を実施した 131 名 (再検者を含む) はすべて陰性であった。

3. 臨床検査係

臨床検査係が昭和 62 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 (出向) 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 40,248 件で、内訳は健康診断等の一般依頼 3,562 件、食品取扱い業務従事者を対象とした勤奨検便 33,711 件、行政依頼による赤痢、チフス等の防疫検査 2,975 件 (73 件の食品を含む) であった。表 2 に保健所別項目別の腸内細菌検査件数を示した。これ等の検体からの病原菌検出状況は報文に記載した。

数回にわたる大型の赤痢集団発生を契機に、それまで防疫検便のみに使用していた変法キャリアブリア培地を全ての腸内細菌検査に保存輸送培地として使用している。そこで、変法キャリアブリア培地中の赤痢菌の消長実験を試みた。その結果 D 群を除く A 群、B 群では時間の経過と共に菌数の減少がみられたことから、検体採取後すくなくとも 6 時間以内に検査することが望ましいと思われた。

10 月中旬から 1 月にかけて、*Shigella flexneri 2a* の散発の届け出があいついだ。患者はほぼ市内全域にわたり、調査の結果、魚介類が原因と疑われ、ウニ等の検査をしたが証明するにいたらなかった。同時期に他都市においても同様な事例報道が続発し、生ウニが原因とされたところから、生ウニにおける赤痢菌の消長実験を行った。生ウニに赤痢菌が付着した場合、少量の菌数でも 25℃の保存状態では、6 時間で発症可能な菌数に達することが判明したことから、場合によってはウニの生食が赤痢の原因となることが示唆された。

海外旅行者による輸入感染症が増加しているが、中国への旅行者が原因となった家族内感染事例があった。原因菌は *Shigella sonnei* で患者は計 5 名であった。

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2株で、A型とVi-であった。

表1 検査件数総括表

区分	計	保健所	
		依頼	行政
計	71,250	54,829	16,421
細菌・血清			
小計	41,891	38,611	3,229
腸内細菌	40,248	37,273	2,975
その他の細菌	5	5	0
原虫(赤痢アメーバ)	79		79
梅毒血清反応	1,508	1,333	175
飲料水			
小計	5,784	5,784	0
浄水	1,622	1,622	0
井戸水	3,887	3,887	0
その他	275	275	0
保健所臨床検査			
小計	23,626	10,434	13,192
結核菌	178	2	176
尿			
一般検査	20,364	9,383	10,981
沈渣	2,132	107	2,025
細菌塗抹	13	13	0
便			
寄生虫	159	159	0
潜血反応	16	16	0
血液			
血球計算	197	197	0
理化学反応	205	195	10
全血比重	34	34	0
液			
A B O式血液型	251	251	0
R h式血液型	77	77	0

2) 赤痢アメーバ

赤痢アメーバ症が増加している。本年度は4事例の届出があり、79名の接触者検便を行ったが二次感染者はいなかった。当所では赤痢アメーバの確認同定や、血清診断の依頼が多い。これ等のうち赤痢アメーバが否定された事例も目立っている。原因として専門技術者が少ないこと、法定伝染病であるにもかかわらず、染色法等を含めた検査法指針がない事が考えられる。公定法としての検査指針の早急な作成が望まれる。

3) 梅毒

梅毒血清反応検査は1,508件実施した。そのうちわけは一般依頼1,333件、行政依頼は婚姻132件、妊婦23件、医療扶助20件である(表3)。検査はTPHAとSTSとしてガラス板法、凝集法を行い、必要に応じてFTA-ABS法を行った。

陽性は計32件(2.1%)で、3法とも陽性は10件(0.7%)、TPHAのみ陽性11件(0.7%)、ガラス板法のみ陽性3件(0.2%)、凝集法のみ陽性0件、TPHAとガラス板法陽性5件(0.3%)であった。年齢別にみると、3法ともに陽性者は中高年齢者、特に高齢者に多かった(表4)。

表3. 梅毒血清反応件数(S62年度)

検査法	ガラス板法	凝集法	TPHA
計	1,508	1,508	1,508
一般依頼	1,333	1,333	1,333
行政			
婚姻	132	132	132
妊婦	23	23	23
医療扶助	20	20	20

表2. 腸内細菌検査件数

区分	計	東	博多	中央	南	西	城南	早良	その他
総計	40,248	7,167	7,050	5,870	6,938	4,897	3,027	5,226	73
依頼									
小計	37,273	6,929	6,478	4,766	6,417	4,561	2,924	5,198	
一般	3,562	643	250	943	1,330	177	91	128	
勸奨	33,711	6,286	6,228	3,823	5,087	4,384	2,833	5,070	
行政									
小計	2,975	238	572	1,104	521	336	103	28	73
チフス	141	127	5	1	8				
赤痢	2,751	83	563	1,086	505	333	94	14	73(食品)
海外旅行者	18	4	2	3	1	1	2	5	
海外接触者	20	6					7	7	
チフス経過者	10	6	2			2			
赤痢経過者	35	12		14	7			2	

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	M33	+	+	+	17	F76	-	-	+
2	M31	+	+	+	18	M71	-	-	+
3	F83	+	+	+	19	F88	-	-	+
4	F81	+	+	+	20	M22	-	-	+
5	M69	+	+	+	21	F40	-	-	+
6	F60	+	+	+	22	M72	-	-	+
7	M81	+	+	+	23	F74	-	-	+
8	F67	+	+	+	24	M40	-	-	+
9	F74	+	+	+	25	M40	-	-	+
10	F74	+	±	+	26	M68	-	-	+
11	M45	+	-	+	27	F80	-	-	+
12	F72	+	-	+	28	F22	+	+	-
13	M24	+	-	+	29	F80	±	+	-
14	M76	±	-	+	30	F18	+	-	-
15	F68	±	-	+	31	F18	+	-	-
16	F76	-	+	+	32	F81	±	-	-

4) 飲料水の細菌検査

飲料水の依頼検査は計5,784件で、井戸水3,887件、浄水1,622件、その他275件である(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。

表6. 保健所別外来検査件数

区 分		計	東	博多	中央	南	西	城南	早良
計		23,626	5,086	3,038	3,220	4,198	2,445	2,812	2,827
尿	一 般 検 査	20,364 (成人) 10,981 (一般) 9,383	2,056	1,215	1,344	2,343	1,066	1,763	1,194
	沈 渣	2,132 (成人) 2,025 (一般) 107	775	294	172	86	233	113	352
	細 菌 塗 抹	13	6	2			4		1
便	寄 生 虫	159	23	20	75	9	8	13	11
	潜 血 反 応	16	3	2		2	3	5	1
血	血 球 計 算	197	61	19	26	25	22	26	18
	理 化 学 反 応	205	52	25	37	26	15	21	29
	全 血 比 重	34	8		2		1	21	2
液	A B O 式 血 液 型	251	34	37	31	72	31	18	28
	R h 式 血 液 型	77	17	10	7	23	4	9	7
結 核 菌		178	59	30	33	34	7	5	10

表5. 飲料水細菌検査件数

区分	計	井戸水	浄水	その他
保健所				
計	5,784	3,887	1,622	275
東	640	493	138	9
博多	464	320	133	11
中央	1,109	124	740	245
南	1,785	1,524	260	1
西	460	353	106	1
城南	568	506	62	0
早良	758	567	183	8

5) 保健所外来検査

東、博多、中央、南、西、城南、早良の計7保健所へ一般健康診断と成人健康診断のため出向した。出向は各保健所とも一週間に2日の午前中1名である。総件数は23,626件であった。表6に各保健所での検査件数を示す。

結核菌の培養は保健所で行い、同定及び薬剤耐性検査は当所で実施した。合計178件より*M. tuberculosis* 7株、*M. avium complex* 3株、*M. marinum* 1株、*M. scrofulaceum* 1株を分離した(同一人から2回以上分離されたものは除外)。

寄生虫検査では、研修のため来日した東南アジアの6名のうち、3名から鞭虫を、1名から鞭虫、糞線虫、大腸アメーバの3種を検出した。

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、学校給食センターからの食品化学検査を中心とした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、エリソルビン酸や各種保存料、ニコチン酸およびニコチン酸アミド、β-カロテンなどの食品添加物の高速液体クロマトグラフィーを用いた検出法の検討、アイスクリーム中の油脂の分析、マススペクトルデータの解析プログラムの開発等の研究をおこなった。また、昨年に引きつづき、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」の食物繊維分析にも参加した。

情報提供・解析業務として、検査結果のパソコンディスクへの収納と成績書の発行は引きつづき継続している。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、重金属等の分

析データを提供した。

研修・指導業務として、今年度初めて「新任食品衛生監視員研修」を一週間実施した。食品販売業者の検査室職員への技術指導も実施した。

以下、各業務の内容を述べる。

1) 検査業務

行政検査および一般依頼検査の検体数総括を表1-AおよびBに示した。

表1-A. 検体別検体数総括

検 体 数		計	区 分	
			行政	一般
計		2,563	2,443	120
食 品 衛 生	小 計	2,312	2,192	120
	食 品 添 加 物	2,102	2,030	72
	器 具 ・ 容 器 包 装 等	22	14	8
	食 中 毒 ・ 苦 情	105	96	9
	血 中 P C B 等	32	32	
	そ の 他 (飼 料 等)	31		31
家 庭 用 品		20	20	
		251	251	

表1-B 検査項目別検体数総括

区 分		行政収去		一般依頼	
		検 体 数	検査項目数	検 体 数	検査項目数
食 品 化 学	食 品 添 加 物	1547	4201	53	45
	食 品 成 分	563	1351	18	18
	苦 情	39	110	-	-
微 量 汚 染 物 質	残 留 農 薬	211	5086	7	7
	重 金 属 類	247	1242	5	5
	抗 菌 剤	109	335	6	6
	P C B 等	168	168	27	31
家 庭 用 品		251	668	-	-

(1) 食品衛生検査

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、ニコチン酸（アミド）などの検査をおこなった。

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、魚介類の鮮度試験、異物検査および重金属、PCB、残留農薬、合成抗菌剤等の残留物質の検査を実施した。残留物質の検査については表3～6にその内容を示した。

昭和62年度の食品収去検査結果の特徴として、昨年

と同様に鶏卵から合成抗菌剤（ナイカルバジン）が検出された例が多かった。鶏卵からナイカルバジンが検出される理由については、飼育実験によりその原因を追求中である。従来にはなかった違反例としては、寒天中のホウ酸が基準値である1g/kgをこえて検出された例があり、これは、原料にもともと高かったためであろうと推測された。（食品化学違反関連検査結果のまとめは「資料」に示した。）

食中毒・苦情関係の化学検査を21事例について実施した。昭和62年11月にヒスタミンによる患者38名におよぶかなり規模の大きい食中毒例があった。これらの

表2 食品等行政取去検査

	検 体 数	項 目 数	保 存 料						過 酸 化 水 素	甘 味 料		酸 化 防 止 剤			合 成 着 色 料	亜 硫 酸 塩
			ソ ル ビ ン 酸	デ ト ロ ピ ク 酸	安 息 香 酸	パ ラ オ キ ン	安 息 香 酸	プ ロ ピ オ ン 酸		そ の 他	サ ッ ト リ ウ ム	そ の 他	B H A	B H T		
計	2,160	12,455	868	227	327	165	22	5	18	543	18	110	110	58	426	380
魚 介 類	49	49														3
冷 凍 食 品																
乾 製 品	11	55	1	1	1					1		10	10		1	9
塩 蔵 練 り	11	24							9						2	
魚 肉 練 り	131	270	125	4	4					91					46	
めん たい	88	260									8			8	17	
む き え び	6	6														6
漬 け 物																
海 草 加 工 品	6	20	1	1	1					1					6	5
そ の 他	18	16	12													2
食 肉 製 品	79	386												2		
食 肉 製 品	74	353	74	25	25					7		3	3	22	16	14
鯨 肉 製 品	40	67													1	
卵 工 品	56	87														5
加 工 品	6	8	1													
乳 製 品	79	1,129								5						
乳 製 品	28	233	17	15	15							12	12			
乳 類 加 工 品	41	61								4		1				
アイスクリーム	42	170									5				7	
穀 類 等	25	789														
め ん 等	141	295	1									9	35	35		
そ の 他	26	54	23	23	3	3										
野 菜 ・ 果 実	143	2,363													8	82
漬 け 物	124	413	96	8	11					91					4	33
加 工 品	93	1,200	63	11	11					65					4	61
豆 類	23	505	10													10
あ 加 工 品	18	47	17	1	1					8					4	9
茶																
生 菓 子	137	379	122	72	70			9		41		1	1		38	2
油 菓 子	20	60														
そ の 他	34	55	3	2	2					3		1	1		29	13
清 涼 飲 料	73	582	23	15	34	10				10				5	25	
酒 精 飲 料	21	84	21	2	2											21
缶 詰 味 料	189	822	109	5	105	149				134		9	9	5	18	93
油 脂	45	246	26	19	19			5		3		34	34		3	2
惣 菜	54	151	52	6	6			1		43					35	3
煮 豆 ・ 佃 煮	19	78	18	12	12					19					15	2
フ ラ ワ ー ペ ー ス ト	3	12	1	1	1			1				2	2			
蜂 蜜	9	336														
健 康 食 品																
珍 味	50	137	46	1	1			1		20		3	3		22	
添 加 物	14	142	1													
器 具 容 器 包 装	71	345	2													2
お も ち ゃ	25	113	2	2	2	2									4	
そ の 他	20	53	1	1	1	1				1					1	3

発色剤		プロピレングリコール	臭素酸カリウム	アスコルビン酸	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	乳理化学	油化学	鮮度	ダニ	重金属	P C B	農薬	抗菌剤	その他
亜硝酸塩	硝酸塩																	
182	182	133		59		48	84	413	1,008	484	152	48 46	19	561	168	5,023	354	260
88	88			8				4 33	10		20		2					8
																		2
68 26	68 26			2 22		35 12									29 53	168	115 34	35 8 2
							5	58 16 4	1 40 4 72	340 36 48 60				40	74 10	507	144	10 26
		106				1		1 32			68			120		668 2		8
				9 4 4			42 4	15 64 1				2		178		2,027 940 481		1 4 5
								23 20 1			40							
		1		5				19	275					160				38
				5			28 5	106 5 2			16		17		2	2 228	45	30 78
		26						6 1	140		8			63				5
									336									
									101									
									28								16	

内容については、「資料」および「事例報告」に記載した。

血中PCBおよびPCQ検査は今年度も油症対策関連調査として福岡県の委託を受けて31件について分析を実施した。その結果は「資料」に記載した。

(2) 家庭用品検査

繊維製品を中心に251件について検査を実施した。基準違反が1件あり、それは家庭用洗剤（しみ抜き剤）からトリクロロエチレンが1.9%検出された例であった。その原因は、そのしみ抜き剤の主成分である1, 1, 2-トリクロロ-1, 2, 2, -トリフルオルエタンに再生品が使われており、その中にトリクロロエチレンが混入していたためであった。

2) 検査以外の業務

調査研究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」および全国衛生化学技術協議会精度管理事業である「食用色素の分析」に参加した。

表3. 残留農薬検査

	計	乳及び加工品	米	青果物	豆類	牛肉	蜂蜜	ジャム	小麦粉類	苦情・依頼
検体数	211	74	25	43	12	21	6	20	7	3
項目数	5086	507	665	2027	481	168	228	940	7	63
T-BHC	187	57	25	43	12	21	6	20		3
β-BHC	17	17								
T-DDT	204	74	25	43	12	21	6	20		3
エンドリン	187	57	25	43	12	21	6	20		3
キャプタン	25			25						
キャプタホール	25			25						
アルドリン+ディルドリン	204	74	25	43	12	21	6	20		3
ジコホール	78		10	30	11		6	20		3
クロルベンジレート	30			10			6	20		1
EDB	4							20		
TPN	25			25					7	
α-ベンゾエピン	148	57	10	43	11		6	20		1
T-ヘプタクロール	171	57	10	43	11	21	6	20		3
PCNB	148	57	10	43	11		6	20		1
HCB	148	57	10	43	11		6	20		1
CPCBS	43			43						1
ピンクロゾリン	70			43			6	20		1
EPN	106		25	43	11		6	20		1
クロルピリホス	114		10	43	11	21	6	20		1
T-クロルフェンピホス	91		10	43	11		6	20		3
ジクロルボス	91		10	43	11		6	20		1
ジメトエート	106		25	43	11		6	20		1
ダイアジノン	107		25	43	12		6	20		1
パラチオン	107		25	43	12		6	20		1
フェントロチオン	107		25	43	12		6	20		1
フェンチオン	106		25	43	11		6	20		1
フェントエート	106		25	43	11		6	20		1
ホサロン	91		10	43	11		6	20		1
マラチオン	107		25	43	12		6	20		1
メチダチオン	91		10	43	11		6	20		1

(次ページにつづく)

	計	乳及び加工品	米	青果物	豆類	牛肉	蜂蜜	ジャム	小麦粉類	苦情・依頼
エチオン	114		10	43	11	21	6	20		3
ジアリホール	91		10	43	11		6	20		1
ピリダフェンチオン	1									1
シアノフェンホス	91		10	43	11		6	20		1
イソキサチオン	91		10	43	11		6	20		1
サリチオン	91		10	43	11		6	20		1
CYAP	91		10	43	11		6	20		1
ピリミホスメチル	91		10	43	11		6	20		1
プロチオホス	91		10	43	11		6	20		1
ジメチルビンホス	91		10	43	11		6	20		1
クロルピリホスメチル	114		10	43	11	21	6	20		3
メチルバラチオン	91		10	43	11		6	20		1
EC	91		10	43	11		6	20		1
PM	91		10	43	11		6	20		1
CVMP	91		10	43	11		6	20		1
IB	11		10							1
EDD	11		10							1
NA	106		25	43	11		6	20		1
BPMC	85		10	43	11			20		1
MIPC	85		10	43	11			20		1
PH	85		10	43	11			20		1
XM	85		10	43	11			20		1
MTM	85		10	43	11			20		1
MPMC	85		10	43	11			20		1
EMP	20							20		
CPM	20							20		
イソプロチオラン	10		10							
ベルメトリン	20			20						
プロフェジン	10		10							

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	Al	Br
計	247	1242	186	224	190	119	138	138	146	72	10	4	15
育 児 粉 乳	10	70	10	10	10	10	10	10	10				
米	15	120	15	15	15	15	15	15	15				15
野 菜 ・ 果 実	48	176	28	28	10	10	30	30	30		10		
清 涼 飲 料 水	67	428	67	67	67	40	40	40	40	67			
蜂 蜜	9	63	9	9	9	9	9	9	9				
器 具 ・ 容 器 包 装	66	266	30	66	50	30	30	30	30				
お も ち ゃ	20	65	18	20	20				7				
そ の 他	12	54	9	9	9	5	4	4	5	5		4	

表5. P C B 検 査

検 体 名	検 体 数	検 出 範 囲 (p p b)
生 乳	39	<0.1~0.8
牛 乳	35	0.1~0.8
調 整 粉 乳	10	0.1~0.8
鶏 肉	28	0.2~5.6
豚 脂	1	0.7
牛 脂	1	0.3
鶏 卵	54	0.3~3.3
計	168	

表6. 合 成 抗 菌 剤 検 査

検 査 項 目	食 鳥 卵			鶏			乳			は ち み つ	総 計
	鶏卵	液卵	計	鶏肉	内蔵	計	生乳	牛乳	計		
	28件	5件	33件	28件	3件	31件	35件	1件	36件	9件	109件
チアンフェニコール							35	1	36		36
クロラムフェニコール							35	1	36		36
テトラサイクリン							21		21		21
オキシテトラサイクリン							21		21		21
クロルテトラサイクリン							21		21		21
スルファモノメトキシ				11		11				9	20
スルファジメトキシ				11		11				9	20
スルファキノキサリン				11		11				9	20
スルファメラジン				11		11				9	20
スルファチアゾール				11		11				9	20
アンプロリウム	2		2	15	3	18				9	20
クロビドール				11		11					20
ナイカルバジン	10/28	3/5	13/33	5/28	1/3	6/31					11
総 検 査 項 目 数	10/30	3/5	13/35	5/109	1/6	6/115	133	2	135	45	19/330

(分子は陽性数)

表7. 依頼検査

	検 体	項 目	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	残 留 農 薬	抗 菌 剤	ヒ ス タ ミ ン	溶 出 試 験	材 質 試 験	E D B
			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	89	124	29	3	4	8	3	6	4	8	3	1	4	5	11	1	4	6	6	2	9	6	1
魚介類及びその加工品	生鮮魚介類	2	2												1					1			
	乾製品	2	2	1					1														
	魚ねり	5	5	5																			
	めんたい																						
	その他加工品	5	5											4							1		
肉類及びその加工品	食肉	4	12														6	6					
	食肉製品	3	6	3							3												
乳及び乳製品	4	8	2	2			2							2									
穀類及びその加工品	穀類																						
	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	3	4							1		3											
	漬物	1	1	1																			
	その他加工品																						
生菓子	1	1					1																
清涼飲料水	2	2	1											1									
酒精飲料	1	2	1							1													
かん・びん詰	5	6								1		1			4								
その他の食品	調味料	18	26	2		3	8		6	1	5			1									
	油脂	3	5	1	1	1				2													
	煮豆・佃煮	5	5	5																			
	フラワーペースト	3	3	3																			
	ジャム	4	4	4																			
かんすい	8	8												8									
器具・容器包装	9	15																				9	6

表 8. 家庭用品検査

	検 体 数	検 査 項 目 数	樹 脂		加 工 剤		防 虫 剤		加 工 剤			防 炎 剤		加 工 剤		抗 菌 剤		防 か び 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	T B		P P P	P P P	T T																
試験検査件数合計	251	668	89	52	5			11	40	40	106	106	119								3	5	46	46		
基準違反件数合計	1																							1		
織 製 品	おしめ	23	76	23								15	15	23												
	おしめカバー	24	88	24								24	24	16												
	よだれ掛け	5	20	5								5	5	5												
	下着	40	132	13	27							26	26	40												
	中衣	1	1	1																						
	外衣	5	5	5																						
	手袋	10	40	5	5							10	10	10												
	くつ下	10	40	5	5							10	10	10												
	たび																									
	帽子	2	2	2																						
	衛生バンド																									
	衛生パンツ	6	12									6	6													
	寝衣	16	42	1	15			6	10	10																
	寝具	16	32	5				5	11	11																
床敷物	11	22						11	11																	
カーテン	8	16						8	8																	
家庭用毛糸	5	5		5																						
家庭用接着剤	5	9									2	2	5													
かつら等の接着剤																										
家庭用塗料	5	11									3	3	5													
家庭用ワックス	5	15									5	5	5													
靴墨・靴クリーム																										
家庭用エアゾル製品	10	20																								
住宅用洗浄剤	3	3																				10	10			
家庭用洗浄剤	41	77																		3						
																					5	36	36(1)			

5. 環境化学係

環境化学係においては、環境局環境保全部からの依頼により、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。その他、保健所からの依頼により、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の市民からの依頼による飲料水の検査を行った。

調査研究業務等については、「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」のほか、環境庁委託業務として「化学物質環境汚染実態調査」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、硫黄酸化物、重油中の硫黄分の測定を行った。その他 SO_x 計、 NO_x 計、 O_3 計の試薬の調製、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、硫黄酸化物

検体は、市役所屋上等 14 カ所で、毎月、降下ばいじ

んはデポジットゲージ法により、硫黄酸化物は PbO_2 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

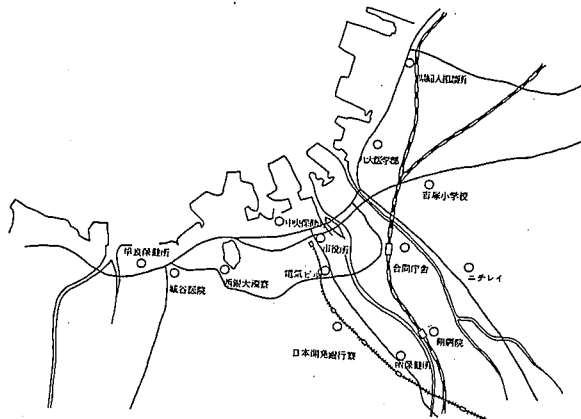
検体は、環境週間及び燃料規制期間中に燃料規制地域内の事業場から採取したものである（表 1）。

③ その他

苦情に伴う降下ばいじんの調査を 1 地点について 1 年間行った。

表 1 大気検体数

区 分	検体数
計	457
降下ばいじん	180
PbO_2 法による硫黄酸化物	163
重油中硫黄分	114



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	〃
西銀大漆寮	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

(2) 悪臭

検体は、畜産農業 11，飼料・肥料製造業 2，食品製造業 3，その他の製造業 1，サービス業・その他 4 の合計延 21 事業所で採取したものである。

(3) 水質

水質については、環境基準の類型が指定されている 12 河川と博多湾，類型が指定されていない 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を行った。また、この他、海水浴場や地下水についても水質測定を行った（図 2，表 3，表 6）。

① 河川

検体は、那珂川等 13 河川（うち類型未指定 1；油山川）では、調査地点 24 地点で毎月、1 日 2 回採水、その他の 6 河川では調査地点 6 地点で年 4 回四季に 1 日 1 回採水したものである。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 9 月と 3 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とそのほか総窒素等 11 項目である。

② 博多湾

検体は、環境基準点 9 地点では毎月 1 回、表層、中層、底層で、補助地点 3 地点では年 4 回四季に採水したものである。

検査項目は、環境基準に係わる項目とそのほか総リン等 15 項目である。

③ 特定事業場

検体は、水質汚濁防止法に定める特定事業場で年 2 回採取したものである。

④ 地下水

検体は、クリーニング所等の事業所周辺の井戸や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の水道法の「暫定水質基準」を超えた井戸の周辺井戸から採水したものである。

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、クリーニング所からの排水の検査も行った。

⑤ 海水浴場

検体は、海水浴場 7 箇所シーズン前とシーズン中に採水したものである。

⑥ その他

市民からの苦情申立に伴い、水質について、22 検体延項目で 102 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、河川と博多湾の状況の測定を行った（図 2，表 4，表 7）。

① 河川

検体は、市内 9 河川 10 地点で年 1 回 9 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，有機リン化合物，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，ヒ素，PCB である。

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 項 目 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	アセトアルデヒド	スチレン
計	21	106	392	99	60	60	60	60	61	3	4
畜 産 農 業	養 豚 場	5	11	66	11	11	11	11	11		
	養 鶏 場	3	6	36	6	6	6	6	6		
	養 牛 場	3	4	24	4	4	4	4	4		
飼 料 ・ 肥 料 製 造 業	汚 泥 肥 料 製 造 工 場	1	24	24	24						
	飼 料 製 造 工 場	1	4	16	4	4	4	4	4		
食 品 製 造 業	畜 産 食 料 品 製 造 工 場	1	15	90	15	15	15	15	15		
	醬 油 製 造 工 場	1	2	12	2	2	2	2	2		
	製 あ ん 工 場	1	4	20	4	3	3	3	3	4	
そ の 他 の 製 造 業	非 鉄 金 属 製 造 工 場	1	2	12	2	2	2	2	2		
サ ー ビ ス 業 そ の 他	廃 棄 物 処 理 場	1	7							3	4
	と 畜 場	1	11	66	11	11	11	11	11		
	そ の 他	2	16	26	16	2	2	2	2		

② 博多湾

検体は、9地点で年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。

表3. 水質検体数

区 分	検 体 数
計	1,806
河 川	828
博 多 湾	336
特 定 事 業 場	307
地 下 水	179
海 水 浴 場	134
そ の 他	22

表4. 底質検体数

区 分	検 体 数
計	19
河 川	10
博 多 湾	9

(5) 環境衛生関係

検体は、一般市民から保健所を通じて依頼の飲料水
(一般理化学検査, 単項目検査, 防錆剤検査, 有機塩素

系化合物検査)のほか、保健所から依頼の専用水道水,
プール水, 浴場水, し尿浄化槽放流水, クリーニング所
排水である(表5)。

表5. 環境衛生関係検体総括表

検 体 名	計	区 分	
		行 政	一 般
計	7,246	1,092	6,154
飲 料 水	一般理化学検査 ¹⁰⁾	177	5,778
	単項目検査	2	258
	防錆剤検査	0	68
	有機塩素化合物検査	82	50
プ ー ル 水	387	387	0
浴 場 水	102	102	0
浄 化 槽 放 流 水	283	283	0
ク リ ー ニ ン グ 所 排 出 水	59	59	0

有機塩素化合物とは、トリクロロエチレン, テトラク
ロロエチレン及び1, 1, 1-トリクロロエタンのこと
である。

2) 調査研究

(1) 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。

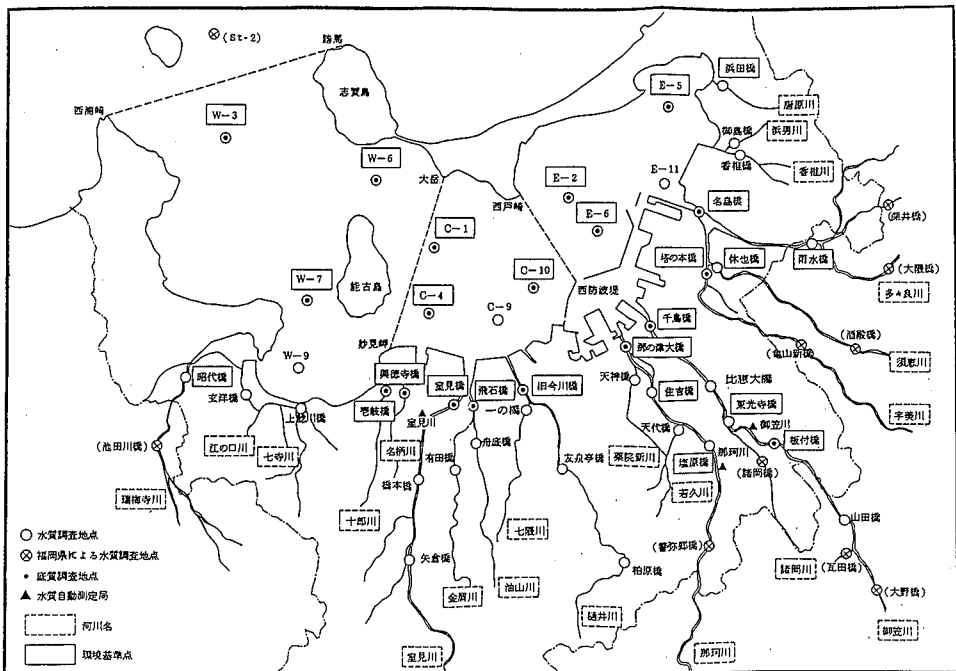


図2. 河川・博多湾調査地点

表6. 水質項目別検査件数

項 目	計	河 川	博多湾	特定事業場	地下水	海水浴場	その他
計	15,857	7,433	5,979	1,404	537	402	102
pH	1,624	828	336	307		134	19
DO	1,071	735	336				
BOD	1,058	804		243			11
COD	536		336	60		134	6
SS	1,347	729	336	276			6
n-ヘキサン抽出物質	197		120	71			6
カドミウム	94	17	9	65			3
シアン	103	17	9	74			3
有機りん化合物	37	17	9	11			
鉛	88	17	9	59			3
六価クロム	95	17	9	63			6
ひ素	91	17	9	62			3
総水銀	75	17	9	46			3
アルキル水銀	26	27	9				
PCB	29	17	9				3
フェノール	3			3			
銅	14			11			3
亜鉛	14			11			3
鉄	11			11			
マンガン							
総クロム	14			11			3
ふっ素	8			8			
塩化物イオン	1,173	692	336			134	11
総窒素	857	510	336	6			5
アンモニア態窒素	724	388	336				
亜硝酸態窒素	724	388	336				
硝酸態窒素	724	388	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	324	324					
総りん	857	510	336	6			5
りん酸態りん	660	324	336				
溶解性有機態りん	336		336				
不溶解性有機態りん	336		336				
有機態りん	324	324					
けい酸	336		336				
クロロフィルa	336		336				
四塩化炭素抽出物質	45		45				
MBAS	189	168	21				
TOC	168	168					
トリクロロエチレン	179				179		
テトラクロロエチレン	179				179		
1, 1, 1, トリクロロエチレン	179				179		

表7. 底質項目別検査件数

項 目	計	河 川	博多湾
計	378	216	182
pH	21	12	9
COD	21	12	9
含水率	21	12	9
強熱減量	21	12	9
硫化物	21	12	9
T-C	21	12	9
T-N	21	12	9
T-P	21	12	9
カドミウム	21	12	9
シアン	21	12	9
有機りん化合物	21	12	9
鉛	21	12	9
六価クロム	21	12	9
ひ素	21	12	9
総水銀	21	12	9
アルキル水銀	21	12	9
PCB	21	12	9
総クロム	21	12	9

Ⅲ 調 査 研 究

海水浴場水域におけるふん便性大腸菌群測定法の検討

梶原 一人¹ 村上直海¹ 大久保忠敬¹

A Comparative Study on Measurement of Fecal Coliform Number in Sea Bathing Water

Kazuto KAJIWARA · Naomi MURAKAMI · Tadanori OHKUBO

昭和62年度に128件の海水浴場水を用いてふん便性大腸菌群数をメンブランフィルター法、HGMF法、BGLB法、およびEC法を併用して測定したところ、4者間には高い相関が認められた。海水浴場水の快適となる新、旧基準値を比較検討したところ、新基準は旧基準に比してやや穏やかな規制だと思われた。またメンブランフィルターやHGMF上で種々の青い色を呈するコロニーを、IMViC法により分類したところ、当市海水浴場水中のふん便性大腸菌群の中では *Escherichia coli* I が最も多く (49.2%)、また44.5℃培養であるにもかかわらず *Klebsiella*, *Citrobacter* 等他の大腸菌群も多数検出された。

Key Words: 海水浴場水 sea bathing water ふん便性大腸菌群数 fecal coliform number メンブランフィルター membrane filter 疎水性格子膜フィルター hydrophobic grid membrane filter

I はじめに

従来、海水浴場水の細菌検査は、BGLB 37℃法による大腸菌群 (以下TCと略) MPN法を用いてきたが、環境庁により昭和59年度からメンブランフィルター等を用いたふん便性大腸菌群 (以下FCと略) 数測定に改定された。

FC測定に用いるフィルターには2種あって、一つは一般的な隔線入りメンブランフィルター (以下MFと略)、他は6cm角に40×40合計1,600の区画をもうけた疎水性格子膜フィルター (以下HGMFと略) である。

当所では、昭和59年度より海水浴場水のFC検査にMFをもちいて実施してきたが、検水を2~3段階希釈する必要があったり、MF上の青色コロニーがさまざま、また種々の条件によってコロニーが重なりあったり、遊走が認められる等、カウントに支障をきたすこともあった。そこで昭和62年度よりHGMFを取り入れ、MFおよび従来のBGLB (37℃) 法、さらにEC (44.5℃) 法とを比較検討した。

II 材料および方法

1 福岡市衛生試験所 微生物課

MF上でのコロニー分類

- A ● 濃青~青色で、全体に均一1~1.5mm
- B ⊙ 青~淡青色で、中心部は褐色~茶色 1.5~2mm
- C ⊗ 淡青~水色で、中心部に褐色部分あり 1~1.5mm
- D ⊕ 白~灰白色で、中心部は淡青色~うぐいす色 1.5mm
- E ⊖ 透明~白色で、中心部に青~濃青色部分あり 1mm以下
- F ○ 白~ベージュ~透明 大きさ不定

HGMF上でのコロニー分類

- A ⊙ 濃青~青色で均一、中心部に褐色変化なし
- B ⊗ 青~淡青色で中心部に褐色~茶色部分あり
- C ⊠ グリッドの半分以下しか発育せず小さい、色は濃青
- D ⊕ 白~灰白色だが、全体に青味をおびるもの
- E ⊖ 透明だが、中に淡青~うぐいす色の斑点があるもの
- F ○ 白~ベージュ~透明

図1 フィルター上におけるコロニーの分類

海水浴場水は、市環境局環境保全部により採水された市内7海水浴場16ポイント、午前・午後採水の32検体、海水浴シーズン前・後各2回の計128検体を用いた。検査は環境庁により示された方法¹⁾に従い、MFは検水50mlと10mlの2段階、HGMFは50mlの1段階のみで実施した。

MFはミリポア社もしくはアドバンテック東洋社の47mmフィルターファンネルにアドバンテック東洋社の隔線入りフィルター(0.45 μ m)を用い、HGMFはQA社のISOGRID FILTRATION UNITに同社のISOGRID MEMBRANE FILTER(0.45 μ m)を用いた。培地は、DIFCO社のmFC agarを用い、MF、HGMFともに培地の厚さが5mm以上になるようにして

使用した。

同時に従来法であるBGLB-EC法も併用した。これはBGLB5本法37 $^{\circ}$ C 48時間培養でガス(+)の本数を計数し、これをECに移植し44.5 $^{\circ}$ C 24時間培養後同様にガス(+)の本数を数え、それぞれMPN値をもとめた。

図1のようにMF上のコロニーを6型、HGMF上のコロニーを6型(いずれも非青色を含む)に肉眼的に型別し、その中から不特定多数の人が見て青いと判断すると思われる、いわゆる典型的なA、B、Cの3タイプの合計を100mlあたりに換算した値をもってFC数とした。

MFで169株、HGMFで80株、合計249株を釣菌

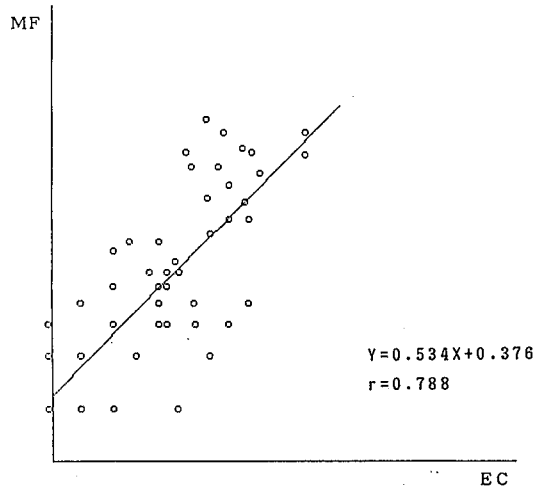


図2 ECとMFの相関

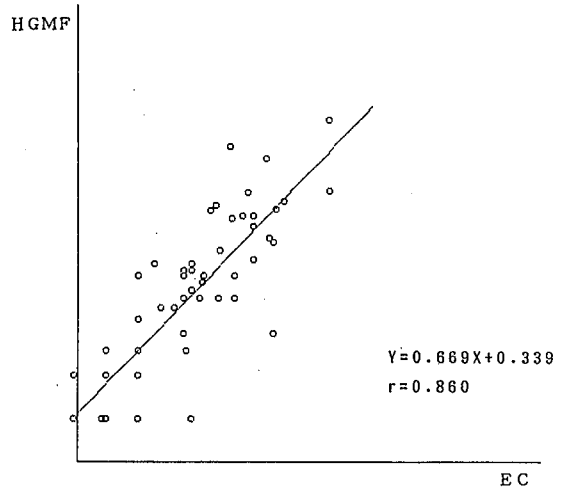


図3 ECとHGMFの相関

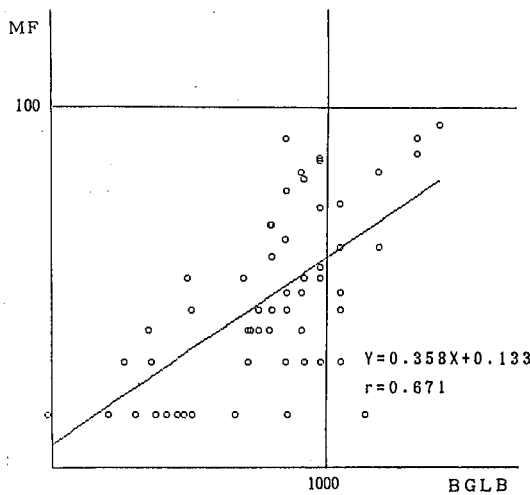


図4 BGLBとMFの相関

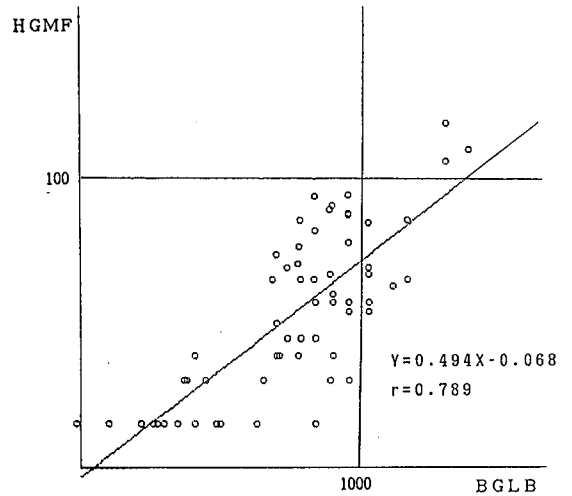


図5 BGLBとHGMFの相関

し IMViC 法による coli-Aerogenes-Subcommites (1956) の分類を実施し、青色コロニーの菌種別比率も検討した。さらに、そのうち 20 株と、IMViC 法で分類不明な 32 株についてバイオテスト (栄研) での同定を実施した。

表1 海水浴場水における規制の新旧比較

旧規制	大腸菌群	50,000<	不適
	(MPN/100ml)	1,000~50,000	適
	BGLB 37°C	< 1,000	快適
新規制	ふん便性大腸菌群	1,000<	不適
	(/100ml)	100~1,000	適
	M-FC等 44.5°C	< 100	快適

表2 MF上コロニーのIMViC法による分類

	A	B	C	D	E	F	ABCの計に対する比
<i>Escherichia coli</i> I	15 (53.6%)	26 (83.9%)	7 (33.3%)	4	(13.8%)	3 (10.7%)	60.0% (48/80)
<i>Escherichia coli</i> II	1 (3.6%)	1 (3.2%)					2.5% (2/80)
<i>Klebsiella aerogenes</i> I	9 (32.1%)		10 (47.6%)	27 (96.4%)	19 (65.5%)	15 (53.6%)	23.8% (19/80)
<i>Klebsiella aerogenes</i> II	1 (3.6%)		4 (19.0%)		1 (3.4%)	2 (7.1%)	6.3% (5/80)
<i>Citrobacter freundii</i> I	1 (3.6%)				1 (3.4%)	1 (3.6%)	1.3% (1/80)
<i>Citrobacter freundii</i> II		3 (9.7%)					3.8% (3/80)
分類不能	1 (3.6%)	1 (3.2%)		1 (3.6%)	4 (13.8%)	7 (25.0%)	2.5% (2/80)
計	28	31	21	28	29	28	169

表3 HGMF上コロニーのIMViC法による分類

	A	B	C	D	E	F	ABCの計に対する比
<i>Escherichia coli</i> I	2 (14.2%)	8 (50.0%)	2 (16.7%)	1 (7.7%)			28.6% (12/42)
<i>Escherichia coli</i> II	1 (7.1%)	2 (12.5%)					7.1% (3/42)
<i>Klebsiella aerogenes</i> I	8 (57.1%)	4 (25.0%)	7 (58.3%)	12 (92.3%)	7 (100%)	2 (11.1%)	45.2% (19/42)
<i>Klebsiella aerogenes</i> II		2 (12.5%)					4.8% (2/42)
<i>Citrobacter freundii</i> I	3 (21.4%)		1 (8.3%)				9.5% (4/42)
<i>Citrobacter freundii</i> II							0 (0/42)
分類不能			2 (16.7%)			16 (88.9%)	4.8% (2/42)
計	14	16	12	13	7	18	80

III 結果および考察

1 MF, HGMF, ECによるFCと, BGLBによ

るTC4者間には高い相関が認められた ($r=0.67 \sim 0.86$ 図2~5)。一般に生活排水の影響の大きい河川や海水ほどTCとFCの相関が高いと報告²⁾されていることから、当市海水浴場もかなり生活排水の

影響を受けているものと思われた。

FCに限定してフィルター法2法とEC法MPN値との相関を見てもMF法が $r=0.79$, HGMF法が $r=0.86$ とHGMFの方がやや高い相関が得られた。

HGMF法はグリッド内のコロニーを機械的にカウントすれば良いのに対し、MF法は大小入り混じった、

表4 IMViC法による分類とバイオテストによる同定

IMViC	バイオテスト
<i>Escherichia coli</i> I	<i>Escherichia coli</i>
<i>Escherichia coli</i> II	<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i> I	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i> II	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Citrobacter freundii</i> I	<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Citrobacter freundii</i> II	<i>Citrobacter diversus</i>
不明	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter agglomerans</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Pseudomonas alcaligenes</i> <i>Pseudomonas statzneri</i>

もしくは重なったコロニーのために正確なカウントができなかったものと思われた。

2 海水浴場水の新、旧基準値を比較したところ(表1), TCでは11例が快適限界の1,000を越えていたが, FC快適限界の100を越えたものはMFでは0, HGMFでも3例しか認められなかった(図4~5)。このことから、平松ら³⁾も指摘しているように新基準(FC)は旧基準(TC)に対して少しゆるやかな基準であると思われた。

3 図1のようにMFやHGMF上のコロニーをそれぞれ6型に分類し、IMViC法により分類した結果(表2, 3), MFでは青いコロニーとしてカウントした80株のうち*Escherichia coli*(以下*E. coli*と略)Iが60.0%, *Klebsiella aerogenes* Iが23.8%であり, HGMFでは42株のうち*Klebsiella aerogenes* I 45.2%で, *E. coli* Iは28.6%であった。両者を合計すると*E. coli* I 49.2%, *Klebsiella aerogenes* I 31.1%となり, 当市の海水浴場水から分離

されるFCの中では*E. coli* Iが最も多かった。IMViC法による分類が可能だった6菌株20株と, 分類不明な32株について, バイオテストを用い同定したところ, 表4のように同定された。また, フィルター上の非青色のコロニーからも*E. coli*, *Klebsiella*等のFCが18.9%検出された。

本来 coli-Arogenes-Subcomittes の分類では44.5℃で発育できるのは大腸菌群の中で*E. coli* Iのみと記載されているが, 今回フィルター上の青いコロニーから44.5℃培養にもかかわらず, *Klebsiella*や*Citrobacter* 等其他の大腸菌群も多く検出された。

MFではすでに多くの報告例^{4)~5)}があるように, 一口に青いコロニーといっても青色の濃淡があったり, また大きさや形などさまざまで, 判定上紛らわしく, 主観的にならざるを得ない。今回HGMFを検討してみたところ, グリッド内にコロニーができるためにコロニー相互の干渉がないこと, 青いコロニーをただ機械的にカウントした成績でEC法によるMPNとの相関も高かったことから, HGMFは現時点では有用な方法だと思われた。

文 献

- 1) 環境庁水質保全局長: 水浴に供される公共用水域の水質等の実態調査について 環水管第91号, 1985
- 2) 赤石尚一, 他: メンブランフィルター法による河川水中のふん便性大腸菌群の検討 札幌市衛研報, 11, 98~102, 1984
- 3) 平松礼司, 他: 海水浴場水域におけるふん便性大腸菌群数について, 愛知県衛研報, 36, 61~64, 1986
- 4) 多田 博, 他: メンブランフィルター法による大腸菌群の測定について, 徳島県保健環境センター年報, 2, 5~7, 1984
- 5) 横堀満男, 他: 海水浴場水からのふん便性大腸菌群検出状況, 仙台市衛生試験所報, 14, 104~106, 1984
- 6) 杉山信子: メンブランフィルター報によるふん便性大腸菌群集落について, 滋賀県衛生環境センター所報, 21, 109~110, 1986

日本脳炎ワクチン未接種児における中和抗体保有状況

馬場 純一¹・門司 慶子²・佐藤 泰敏¹・精松 洋一³

石原理 生⁴・吉本 雅彦⁴・坂本 雅子⁴・西岡 和男⁵

Serological Study of Neutralizing Antibody to Japanese Encephalitis Virus in Children without Vaccination

Jun-ichi BABA, Keiko MONJI, Yasutoshi SATO, Yoichi ABEMATSU,
Michio ISHIHARA, Masahiko YOSHIMOTO, Masako SAKAMOTO and Kazuo NISHIOKA

日本脳炎 (JE) 流行後に, 市内5小児科及び西区3保育園の2~6歳におけるJEワクチン未接種児162名を対象として, 昨年に続き自然感染状況を把握する目的で, 野生株を含む日本脳炎ウイルス (JEV) 3株に対する中和 (N) 抗体保有状況を調査すると共に, 参考的にワクチン接種者27名及び最近のJE患者7名のsingleまたはpair血清についてN抗体価を測定し次の結果を得た。

1. JEワクチン未接種児162名中5名 (3.1%) がいずれの株または3株に対してN抗体 (10~60倍) を保有していた。これらのうち3名は中山一予研株に対して10~30倍程度の抗体を保有していたが, 最近の流行株 (JaFAr 3085株, Beijing-1株) に対しては抗体が認められない事から自然感染を受けた可能性は低いものと思われる。他の2名は3株すべてに対して15~60倍の抗体を保有しており, 自然感染が推定された。故に, 今回の調査結果から当市における自然感染率は1~3%程度と推測された。
2. JEワクチン接種児27名すべてがいずれの株または3株すべてに対してN抗体を保有していた。

3株に対する抗体保有状況並びに抗体価の比較において, 中山一予研株, Beijing-1株, JaFAr 3085株の順に高く明らかに差が認められたが, これらはほとんどワクチンによる抗体保有を裏づける結果であった。

3. JE患者 (疑似患者を含む) 7名のN抗体を調べた結果, 血清学的真性患者は最低3病日で300~1000倍程度, 10病日で1400~2500倍程度 (最高1万倍) の高い抗体価を獲得し, 最近の流行株に対する抗体価は高く, 大方のワクチンによる抗体保有状況と異っていた。

Key words ; 日本脳炎 Japanese encephalitis, 日本脳炎ウイルス Japanese encephalitis virus, 中和抗体 neutralizing antibody, ワクチン vaccine, 福岡市 Fukuoka City

I は じ め に

1. 福岡市衛生試験所 微生物課
2. " (現所属 福岡市食品衛生検査所)
3. 福岡市衛生試験所長
4. 福岡市衛生局保健部保健予防課
5. 福岡市衛生局保健部長

我国におけるJE患者発生は1978~1979年に一時増加がみられたが, 1972年以降は3桁以下となり, 20~40名程度の発生状況で小康状態を保っている。ここ数年をみても九州の患者が約半数を占めている¹⁾。

当市においても患者発生は少なく, このところ0~1名の発生状況であったが, 1987年は8年ぶりに1979年と同じ4名の発生をみた。4名中1名は4歳の子供であ

り、1978年以降は低年齢層の患者が約4割を占めている。全国の患者の多くは30歳以上の成人であるが、最近低年齢層の患者が目立ってきている。^{1, 2)}

最近、ワクチン接種率の低下と共に感受性者の蓄積が高まり、当市における低年齢層のワクチン接種率もここ数年30%程度である。前回、我々が行った5歳未満児のN抗体保有状況調査結果³⁾でもそれを裏付けるように接種率に比例して抗体保有率は30%以下と低率で問題である。このような状況下で昨年と同様の目的で主にワクチン未接種児を対象としてJ E V 3株に対する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, 4に示すように、市内5小児科と西区3保育園にて1987年10月8日～1988年1月20日の期間に採取された2～6歳のワクチン未接種児162名及びワクチン接種児27名の血清を対象に、また、最近の当市におけるJ E 患者7名のsingle または pair 保存血清を対象とした。

表1 中和抗体調査数

ワクチン	性	施設	2歳	3歳	4歳	5歳	6歳	合計
未接種	男	小児科	3	19	10	4	1	37
		保育園	0	1	19	21	2	43
	女	小児科	4	19	10	3	0	36
		保育園	0	3	16	23	4	46
	小計		7	42	55	51	7	162
接種			0	5	7	12	3	27
合計		7	47	62	63	10	189	

2. 抗体測定法及び使用抗原

1) N抗体価測定

7.5%CS加MEM(日本製薬)にて培養した鶏胚線維芽細胞を使用した50%ブラック減少法(流行予測調

査検査術式)⁴⁾に準じて測定し、N抗体価10倍以上を陽性とした。まず10倍希釈血清についてスクリーニングを行い、高抗体価陽性例については抗体価に応じて適当な希釈を行って測定した。

再現性は良好であったが、抗体価が10倍前後であったものについては、2～3回再検して平均値をとり、2/3が10倍以下の場合は陰性とした。抗原として次の3株を使用した。

中山一予研株: M b 29, S m b 12

10% S m b 乳剤(国立予防衛生研究所分与株)

Beijing-1株: M b 36, S m b 4

10% S m b 乳剤(国立予防衛生研究所分与株)

JaFAr 3085株: S m b 2

10% S m b 乳剤(福岡県衛生公害センター分与蚊由来野生株, 1985年分離)

2) H I抗体価測定

Clarke & Casals 予研変法(流行予測調査検査術式)⁵⁾によりMicro titer 法にて測定した。抗原はJaGAR01株(化血研製)を使用した。

III 結 果

1. ワクチン未接種児におけるN抗体保有状況(表2)

ワクチン未接種児162名中5名(3.1%)が、いずれの株または3株すべてに対してN抗体(10～60倍)を保有していた。5名共抗体価はそれ程高いものではなかった。3株に対する抗体保有状況から2つのグループに分けられた。即ち、No. 169, 182の2名は3株すべてに対して抗体を保有しており、次のワクチン株であるBeijing-1株に対しても現在のワクチン株である中山一予研株と同様もしくはそれより若干高い抗体価であった。一方、No. 167, 178, 205の3名は中山一予研株に対してのみ10～30倍程度の抗体価を保有していたが、最近の流行株(JaFAr 3085株, Beijing-1株)に対しては抗体価10倍以下であった。

これら5名のH I抗体価を調べた結果、No. 182の1名が10倍の抗体価を保有していた。

表2. 日本脳炎ワクチン未接種者の中和抗体陽性者

No.	性	年齢	採血 月日	H I抗体価 JaGAR 01	中和抗体価			ワクチン
					Nakayama	Beijing-1	JaFAr 3085	
167	女	5.9	1.20	<10	32	<10	<10	—
169	男	5.4	1.20	<10	28	37	15	—
178	女	5.7	1.20	<10	13	<10	<10	—
182	女	5.2	1.20	10	60	60	28	—
205	女	5.4	1.20	<10	14	<10	<10	—

表3. 日本脳炎ワクチン接種者の中和抗体保有状況

No.	性	年齢	採血 月日	HI抗体価				ワクチン
				JaGAR 01	Nakayama	Beijing-1	JaFAR 3085	
2	男	6.3	10.20	80	953	1099	381	+
3	男	4.8	10.22	<10	94	18	<10	+
6	男	6.6	10.23	<10	152	41	22	+
8	男	3.11	10.17	<10	24	<10	<10	+
13	女	5.10	10.26	80	1100	1233	647	+
14	女	3.6	10.27	10	168	12	<10	+
16	男	4.6	10.24	10	47	15	<10	+
48	男	5.2	11.13	<10	52	<10	<10	+
50	男	4.4	11.17	<10	31	24	<10	+
55	男	5.5	11.16	40	381	214	63	+
57	男	4.9	11.20	NT*	381	168	53	+
64	男	5.11	11.28	10	617	247	67	+
67	女	3.8	12.4	10	17	<10	<10	+
73	女	6.0	12.12	20	533	81	21	+
77	男	4.6	12.11	<10	35	<10	<10	+
87	男	5.5	12.16	<10	37	32	13	+
100	男	3.9	1.5	10	37	70	10	+
122	女	5.8	1.19	10	374	84	84	+
127	女	5.0	1.19	20	69	70	25	+
136	男	3.11	1.20	10	54	47	32	+
141	女	4.8	1.20	40	533	748	713	+
156	女	5.5	1.20	<10	42	<10	<10	+
172	男	5.2	1.20	40	508	285	150	+
174	男	5.1	1.20	10	35	10	10	+
176	女	5.9	1.20	10	400	86	49	+
185	女	4.10	1.20	10	247	86	45	+
191	男	5.0	1.20	10	47	18	<10	+

※ NT: not tested

表4. 日本脳炎患者のHI, CF, 中和(N)抗体価

No.	性別	年齢	病日	予防 接種	HI抗体価			中和抗体価			備考
					JaGAR 01	2ME感受性 JaGAR01	CF抗体価 JaGAR01	Nakayama	Beijing-1	JaFAR3085	
JE 8711	男	72	9	無	1280	80	8	2133	2716	1941	真性
JE 8721	男	55	5	不明	80	<10	<4	533	587	420	真性
			10		320	<10	<4	1679	1384	2466	
JE 8731	女	4	7	無	640	<10	<4	2466	3681	1762	真性
			24		1280	40	16	2466	4198	1849	
JE 8741	男	63	2	不明	160	80	判定 保留	167	114	208	疑似 (3病日死亡)
JE 8421	男	73	6	不明	1280	160	NT*	3141	5000	3459	真性
			8		2560	320	NT	8395	10000	5176	
JE 7941	男	31	3	無	80	<10	<4	400	953	299	真性
			13		320	40	<4	2239	2466	1679	
JE 7921	男	63	4	無	10	<10	<4	57	80	45	疑似 (4病日死亡)

※ NT: not tested

2. ワクチン接種者におけるN抗体保有状況(表3)

ワクチン接種者27名すべてが、いずれの株または3株すべてに対してN抗体を保有しており、多様であった。

中山一予研株に対しては全員が保有していたが、Beijing-1株にたいしては22/27名(81.5%)、JaFAr 3085株に対しては17/27名(63.0%)が保有していた。平均抗体価は中山一予研株で258倍、Beijing-1株で174倍、JaFAr 3085株で88倍であった。

3株に対する抗体保有状況及び抗体価の比較において中山一予研株、Beijing-1株、JaFAr 3085株の順に高く、明らかに差が認められた。

3. JE患者のN抗体保有状況(表4)

1979～1987年の過去9年間のJE患者(疑似死亡例を含む)7例のN抗体を調べた結果、血清学的真性患者JE 8711の9病日のsingle血清(HI抗体価1280倍)では、中山一予研株とJaFAr 3085株に対してほぼ同程度の約2000倍の高い抗体価であったが、Beijing-1株に対しては前2者より高い抗体価であった。

pair血清の揃った4例のうち、JE 8721及びJE 7941の2例は3～5病日の急性期において既に300～1000倍近い抗体価(HI抗体価は2例共80倍)が認められ、10～13病日では1400倍～2500倍程度に上昇が認められた。また、JE 8731及びJE 8421の2例では6～7病日で2000～5000倍とかなり高い抗体価(HI抗体価も640～1280倍と高い)が認められ、前者の24病日ではほとんど抗体価の上昇が認められないのに対し、後者の例では8病日で5000～10000倍と高い上昇が認められた。

この2例は感染を受けて発病するまでにある程度日数が経過していた事が考えられ、特異的な例と思われる。JE 8741、JE 7921の疑似死亡患者についてはHI抗体価に比例した通常のN抗体価保有と思われる、他の血清学的真性患者に比べるとかなり抗体価は低く、判断は難しい。

IV 考 察

我国におけるJE患者発生は1967年以来急激に減少し、それがウイルス散布の希薄化によることは伝染病流行予測事業による感受性調査で明らかにされている^{1, 7)}。

近年、患者が減少した中で低年齢層の患者発生が目立ってきている^{1, 2, 6)}。1986年における伝染病流行予測事業による感受性調査結果⁷⁾報告でも0～4歳の免疫が一段と低下し、年を経る毎に20～30歳代の免疫が低下し

ている事が明らかにされている。この要因としてJEの小流行化に伴うワクチン接種率の低下が挙げられ、ひいては母子免疫の低下をきたし、新生児感染を起こす可能性が高くなる。これらの問題を解決する手段としては岡⁸⁾らが指摘しているようにワクチン接種年齢の再検討を行い、母親の年代層と高齢者におけるワクチン接種率を上げるような予防策が重要であろう。このような意味から最近の流行株から選択され、次回から使用される抗原性スペクトルの広いBeijing-1株ワクチン⁸⁾は期待されるところである。

我々が今回、ワクチンを接種しなかった2～6歳の小児162名を対象にN抗体を調査した結果、5/162名(3.1%)に抗体保有が認められた。このうち3名は最近の流行株であるJaFAr 3085株とBeijing-1株に対する抗体が認められない事並びに中山一予研株に対する抗体価も10～30倍程度と比較的低い事から自然感染を受けた可能性は低いものと推測される。

今回使用したJEV 3株に対する同様のパターンは、参考的にワクチン接種者について調べた結果でも5/27例認められた。27例のすべてがワクチン株の中山一予研株に対して抗体を保有しており、平均抗体価の比較においても3株のうち最近の流行株よりやはり中山一予研株に対して最も高い抗体価を保有していた。中にはワクチン反復接種等により比較的高いN抗体を保有している者もいた。固体差等種々の状況が考えられるが、やはりほとんどはワクチンによる抗体獲得と思われる、多種多様の保有状況であった。

ワクチンによるN抗体の持続について南谷ら⁹⁾はワクチン接種後の3年後においてHI抗体価が10倍以下の例でもN抗体価は30倍以上を保有していたと報告しているが、一方、武井ら¹⁰⁾はワクチンの追加接種を受けなければ1年間で16.0%、3年間で26.1%が10倍以下になると報告している。

流行予測事業報告⁷⁾によれば、ワクチンを受けていない0～4歳児のN抗体保有率は10倍以上を陽性とした場合約20%程度で、その平均抗体価は29.6倍となっている。また、中山ら¹¹⁾が東京都心部のワクチン未接種児(0～4歳)について行ったN抗体保有率は23.0%であり、最近の流行株Beijing-1株とJaGAr01株等に対する抗体価は中山一予研株に比べて低値を示し、特に、野生株(熊本80679株)に対しては低かったと報告している。この傾向は我々の調査結果と同様の傾向であったが、ワクチン接種児におけるJaGAr01、Beijing-1、熊本、中山一予研株の4株に対する抗体価に差がみられなかった点は我々の結果と異なる。これは反復接種頻度の差によるものかどうか不明である。

一方、山本¹²⁾は香川県においてELISA法によって、1～6月のJE非流行期に3歳未満のワクチン未接種年代層を調べたところELISA・IgG抗体保有者はいなかったと報告している。

以上のような、ワクチン接種、未接種夫々においてN抗体保有状況は報告により異なっている。特に、自然感染の推定に当っては調査対象者のワクチン接種の有無の正確さ、乳幼児の移行抗体、使用するウイルスの抗原性、その地方のウイルス散布密度の相違、自然感染後の抗体の経時的変化、さらには血清中の非特異物質等種々の要因によって左右される事を念頭におかねばならないであろう。

JEVの抗原性については草場¹³⁾、大谷¹⁴⁾、小林¹⁵⁾らの抗原分析からウイルス株間に抗原性の差が認められ、特に、中山一予研株と最近の流行ウイルス間に相当の差が認められている。人血清のN抗体においてもその差が中山ら¹¹⁾の調査及び我々の前回³⁾と今回の調査から明らかに認められている。このように現在の流行ウイルスに対する抗体保有率や抗体価が低い状態で実際に感染を受ければ防衛は不可能と思われ、今度のワクチン株(Beijing-1株)の効果が期待される。

また、我々は今回、自然感染推定の参考的判断材料としてJE患者のN抗体産生状況を把握しておく必要があるため、7例のsingleまたはpair血清について調べた。

少数例ではあるが、血清学的(HI試験等による)真性患者において、最低3病日で300～1000倍となり、2～3週後では最低2000～5000倍となり、個体によっては1万～数万倍に上がることが分かった。

急性期の死亡例については判断は不可能であるが、顕症例では相当高いN抗体価に至り、ワクチン接種による抗体価が高くても1000倍程度(平均は中山一予研株で258倍)であるのに比べれば差が大きい。

また、各株に対する抗体価の比較において、最近の流行株に対して中山株と同等もしくは高い抗体価である事から、ワクチン反復接種の場合を除いてワクチン接種者の保有状況と顕性、不顕性感染者の保有状況とは異なっているようである。

それでは、不顕性(自然)感染の場合はどの程度のN抗体価を獲得するのであろうか。専門家の推定では100倍程度であろうと言われている。我々が行った前回の調査³⁾において、3歳のワクチン未接種(母親の申告)児1例が中山一予研株及びJaGAR01株に対して40～60倍程度の低いN抗体価を保有していたが、野生株(JaFAR 3085株)に対しては抗体保有が認められない事から自然感染の可能性は低いと判断した。また、今回の調

査においても同様の結果であり、ワクチンを受けていないとの母親からの申告を正しいとすれば感染率は3.1%(5/162名)であるが、前回と同様に抗体価が低く、野生株に対して抗体が認められない事及び5例すべてが同一年齢、施設の園児で片寄りがある事等から判断すれば、1.2%(2/162名)と考えられる。以上の事から、今年の当市における自然感染率は1～3%程度と推測された。

最後に、被検血清の採取に御協力頂いた新宮、高崎、井上、小館、中尾小児科の各先生方並びにウイルスの分与を賜わった国立予防衛生研究所、小林正美先生に深謝いたします。

また、コメントを賜わった布上 薫、草場公宏両先生(九州大学)に深謝いたします。

文 献

- 1) 国立予防衛生研究所、厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室；〈特集〉日本脳炎，1984～1987，9，1(1)～20(20)，1988
- 2) 岡 尚記 他：日本脳炎の5症例—日本予防接種適応年齢の問題点，臨床とウイルス，9，2，75～79，1981
- 3) 馬場純一 他：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，福岡市衛試報，12，27～30，1987
- 4) 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，1986，5
- 5) 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
- 6) 細菌製剤協会，予防接種リサーチセンター：日本脳炎ワクチン，最新予防接種の知識，48～57，1988，7
- 7) 厚生省保健医療局感染症対策室，国立予防衛生研究所血清情報管理室：日本脳炎，昭和61年度 伝染病流行予測調査報告書，69～96，1988，2
- 8) 北野忠彦 他：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)
- 9) 南谷幹夫 他：日本脳炎ワクチン接種による抗体の持続，第22回日本伝染病学会東日本地方会講演会抄録，感染症学誌，48，7，277，1974，7
- 10) 武井直己 他：高等学校生徒における日本脳炎中和抗体の維持状況について，感染症学誌，56，11，1003～1011，1982

- 11) 中山哲夫 他：東京都心部住民における日本脳炎ウイルス中和抗体保有状況，感染症学誌，61，7，802～809，1987
- 12) 山本忠雄：E L I S A法による香川県住民の日本脳炎ウイルス抗体保有状況の検討，感染症学誌，62，4，1988
- 13) 草場公宏：日本脳炎ウイルスの免疫学的研究，感染症学誌，45，7，253～269，1971，7
- 14) 大谷 明他：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，X X X I，昭和47年度，82，1973

輸入熱帯魚からの病原ビブリオ検出状況

大隈英子¹・真子俊博¹・渡部高貴¹

大庭三和子¹・村尾利光¹

Isolation of Pathogenic Vibrio Species from Imported Tropical Fishes for Pets

Eiko OKUMA, Toshihiro MAKO, Takaki WATANABE,
Miwako OBA and Toshimitsu MURAO

輸入熱帯魚の病原細菌汚染状況を知る目的で、1987年2月より9月にかけて福岡市内の熱帯魚輸入卸業者より購入した熱帯魚から病原ビブリオ属の検出を試みた。輸入熱帯魚98件中53件(54.1%)が陽性で、検出菌種は non-01 *Vibrio* (以下V. と略) *cholerae* 46件(46.9%), *V. mimicus* 13件(13.3%), *V. vulnificus* 14件(14.3%), *V. fluvialis* 7件(7.1%), *V. parahaemolyticus* 1件(0.1%)であり、単独あるいは複数の菌種が同時に検出された。

さらに、分離した non-01 *V. cholerae* 124株及び *V. mimicus* 24株についてCT様毒素産生性とヒツジ赤血球溶血性を調べたところ、CT様毒素産生性は全株が陰性で、溶血性は non-01 *V. cholerae* が124株中80株、*V. mimicus* が24株中15株陽性であった。

Key words ; 輸入熱帯魚 imported tropical fish, *Vibrio cholerae*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio parahaemolyticus*

I はじめに

国際交流の活発化にともない輸入感染症の増加が問題化して久しい。海外旅行者が、旅行先で感染して病原菌を国内に持ち込む例や病原体が付着した食品が輸入される例など、その実態は徐々に解明されつつある。魚介類についても、輸入冷凍エビからコレラ菌が検出されたり、ウナギからサルモネラ菌が、あるいはウニから腸炎ビブリオが検出されるなど、食品として経口摂取されるものについては、かなり検査が行われるようになってきた。しかし、鑑賞用として輸入される淡水魚いわゆる熱帯魚については、その産地が各種病原菌汚染度が高い熱帯、亜熱帯地方を主としているにもかかわらず、実態はあまりよくわかっていない。当所においては、1983年7月より1984年3月にかけて輸入熱帯魚から non-01 *V. cholerae* (いわゆるNAG *Vibrio*, 以下NAGと略)

の分離を試みて、高率に本菌を得たことを既に報告した¹⁾が、今回は、その他の病原ビブリオ属各菌種を含めて調査を行った。さらに分離したNAG及び *V. mimicus* について毒素産生性を検討したので、あわせて報告する。

II 材料及び方法

1. 試料

1987年2月より9月にかけて福岡市内の熱帯魚輸入卸業者より購入した熱帯魚を検査に供した。このうち輸入魚は98件で産地別は、天然魚がタイ産32件、南米産10件、アフリカ産1件、養殖魚はタイ産4件、台湾産23件、ホンコン産19件、シンガポール産8件、インド産1件であった。これらに日本国内で養殖された11件を加えた計109件の熱帯魚について、その腸管を無菌的に取り出し全量を滅菌生理食塩水で約10倍に希釈したものの(以下腸管試料と略)及び飼育水を試料とした。

1. 福岡市衛生試験所 微生物課

2. 培 地

1) 分離培地

TCBS : TCBS寒天平板

PMT : PMT寒天基礎培地 (亜テルル酸無添加で使用)

2) 増菌培地

AP : アルカリ性ペプトン水 (pH8.6, 1% NaCl)

PB : 食塩ポリミキシンブイオン

MP : モンスールのペプトン水

SGP : SGP培地²⁾

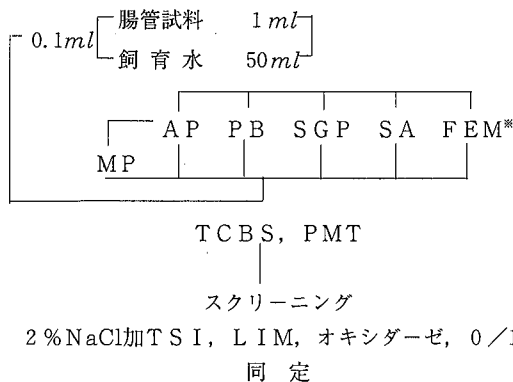
SA : SA培地³⁾

FEM : *V. fluvialis* enrichment medium⁴⁾

(5月以降併用)

3. 方 法

検査方法を図1に示した。腸管試料は各0.1mlをTCBS, PMTに接種して直接分離培養, 各1mlを10mlのAP, PB, SGP, SA, FEMにて増菌培養後TCBS, PMTにて分離培養した。また, APについてはMPにて二次増菌も行い同様に分離した。APからは病原ビブリオ属全般を, PBからは *V. parahaemolyticus* を, SGPからは *V. vulnificus* を, SA及びFEMからは *V. fluvialis* を, 主な目的として釣菌し, 2%NaCl加TSI, LIMに接種した。これらの性状にチトクロームオキシダーゼ, O/129感受性試験を加え, 病原ビブリオに該当する菌(オキシターゼ(-)の菌を除く)をスクリーニングした。得られた菌株は, 成書に従ってリジン, オルニチン, アルギニン, 各種糖分解性, ONPG等により同定した。また, 飼育水は各0.1mlをTCBS, PMTで直接分離培養し, 各50ml



リジン, オルニチン, アルギニン, 各種糖分解性, 食塩要求性, ONPG等

※5月以降併用

図1. 病原ビブリオの検査方法

を25mlの3倍濃度各増菌培地に接種し, 腸管試料と同様の手順で分離, 同定を行った。さらに, *V. cholerae*と同定された菌株は, デンカ生研製コレラ菌抗血清で凝集反応を行った。

分離したNAG及び *V. mimicus* の一部の株については, CT様毒素と溶血素の産生性を調べた。CT様毒素産生性は, CAYE培地で30℃一夜振盪培養後の遠心上清を0.8µm及び0.45µmのフィルターで濾過した後デンカ生研製VET・RPLAにて調べ, 溶血性は, プレインハートインフュージョンブイオンで37℃一夜静置培養後の上清を同様に処理して, ヒツジ赤血球に対する溶血価を調べた。

III 結 果

腸管試料もしくは, 飼育水のどちらか一方からでも病原ビブリオが検出された検体は陽性と判断し, その検出状況を表1に示した。輸入熱帯魚全体では98件中53件(54.1%)からいずれかの病原ビブリオが検出された。最も多数の検体から検出された菌種は *V. cholerae* で98件中46件(46.9%)から分離されており, 次いで *V. vulnificus* が14件(14.3%), *V. mimicus* が13件(13.3%), *V. fluvialis* が7件(7.1%), *V. parahaemolyticus* が1件(1.0%)から分離された。なお分離された *V. cholerae* は全てO1非凝集性のNAGであった。

天然魚では, タイ産32件中21件(65.6%)が病原ビブリオ陽性で, NAGが17件(53.1%), *V. mimicus* が11件(34.4%), *V. vulnificus* が6件(18.8%), *V. fluvialis* が5件(15.6%), *V. parahaemolyticus* が1件(3.1%)から検出された。また, 南米産10件中5件, アフリカ産1件からNAGのみが検出された。

養殖魚では, 台湾産23件中15件(65.2%)が病原ビブリオ陽性で, NAGが13件(56.5%), *V. vulnificus* が6件(26.1%), *V. fluvialis* が1件(4.3%)から検出された。ホンコン産は19件中5件(26.3%)が病原ビブリオ陽性で, NAGが4件(21.1%)から検出された他 *V. mimicus*, *V. vulnificus* が各1件(5.3%)から検出された。シンガポール産は8件中4件が病原ビブリオ陽性で, NAGが4件から, *V. mimicus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* が各1件ずつから検出された。タイ産は, 4件中2件からNAGのみが検出された。インド産の1件は, 病原ビブリオ陰性であった。対照として実施した日本産養殖魚は11件中4件からNAGのみが検出された。

分離したNAG及び *V. mimicus* のうち、それぞれ124株と24株についてのCT様毒素と溶血素の産生性を表2に示した。なお、溶血性は2倍以上で完全溶血を示したものを陽性と判断した。CT様毒素産生性は、NAG *V. mimicus* とも全供試菌株が陰性であった。ヒツジ赤血球に対する溶血素産生性は、NAGが124株中80株(64.5%)、*V. mimicus* が24株中15株(62.5%)陽性であった。完全溶血を示した最高希釈倍数を溶血価として、その分布を図2に示した。両菌種とも2~8倍を中心として、NAGは128倍まで、*V. mimicus* は16倍までであった。

IV 考 察

「はじめに」でも述べたように、鑑賞用輸入熱帯魚の細菌学的実態は把握できていないのが現状であるが、そ

の産地が病原菌汚染度の高い地域を中心としていることや、産地の河川等に分布する細菌が魚類と共に持ち込まれることなどを考慮すると、早急に病原菌保有状況を調査する必要があると考え、福岡市内の輸入卸業者から購入した熱帯魚について、病原ビブリオ属の調査を実施した。今回の調査では、熱帯魚の糞便や、エラ、体表に付着している細菌によって飼育水が汚染を受けていると思われることから飼育水まで含めて試料とした。検査の際には、共存する細菌類によって目的とする病原ビブリオの分離が妨げられる可能性や、腸管は少量しか得られないが、飼育水は多量に得られることなどを考慮して腸管と飼育水を別々に分離、増菌培養し、そのどちらか一方からでも病原ビブリオが検出された検体は陽性と判断した。その結果、半数以上の検体からいずれかの菌種が検出された。このうちタイ産天然魚は、32件中21件(65.6%)と最も病原ビブリオ陽性率が高く検出菌種も

表1. 熱帯魚からの病原ビブリオ検出状況

	検査件数	陽性件数(%)	non-O1				
			<i>V. cholerae</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
輸入熱帯魚計	98	53 (54.1)	46 (46.9)	13 (13.3)	14 (14.3)	7 (7.1)	1 (1.0)
天然魚 小計	43	27 (62.8)	23 (53.5)	11 (25.6)	6 (14.0)	5 (11.6)	1 (2.3)
タイ	32	21 (65.6)	17 (53.1)	11 (34.4)	6 (18.8)	5 (15.6)	1 (3.1)
南米	10	5 (50.0)	5 (50.0)				
アフリカ	1	1	1				
養殖魚 小計	55	26 (47.3)	23 (41.8)	2 (3.6)	8 (14.5)	2 (3.6)	
タイ	4	2 (50.0)	2 (50.0)				
台湾	23	15 (65.2)	13 (56.5)				
ホンコン	19	5 (26.3)	4 (21.1)	1 (5.3)	1 (5.3)		
シンガポール	8	4 (50.0)	4 (50.0)	1 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	
インド	1	5					
日本産養殖魚	11	4 (36.4)	4 (36.4)				

表2. non-O1 *V. cholerae* 及び *V. mimicus* の毒素産生性

	供試菌株数	CT様毒素		溶血素	
		+	-	+	-
non-O1 <i>V. cholerae</i>	124	0	124	80	44
<i>V. mimicus</i>	24	0	24	15	9

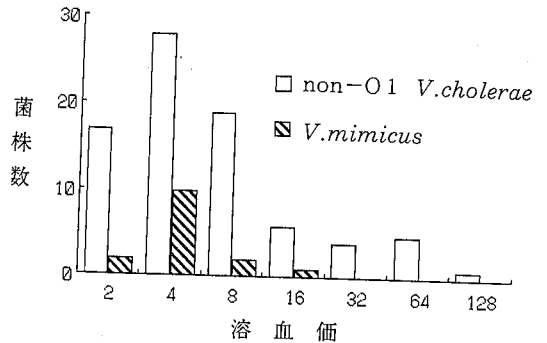


図2 non-O1 *V. cholerae* 及び *V. mimicus* 培養上清のヒツジ赤血球溶血活性

NAGを始めとして *V. mimicus*, *V. vulnificus*, *V. luivialis*, *V. parahaemolyticus* と広範囲であった。これは、魚種が15種と広範にわたっており、汽水域で採取されたと思われるものもあったためと考えられる。また、*V. mimicus* が32件中11件(34.4%)から検出されており、タイ産天然魚は他地域産熱帯魚に比較して高い検出率であった。養殖魚の中では台湾産が最も病原ビブリオ陽性率が高く23件中15件(65.2%)陽性であり、なかでも *V. vulnificus* が6件(26.1%)から検出されているのは特徴的であった。これらに比較してホンコン産養殖魚は19件中5件(26.3%)と低い病原ビブリオ陽性率で、検出菌種もNAGが4件、*V. mimicus*, *V. vulnificus* が各1件であり、複数の菌種を保有するものも少なかった。

分離菌株の病原性に関しては、NAG及び *V. mimicus* についてのみCT様毒素と溶血素の産生性を検討した。CT様毒素の産生性は全株陰性という予想外の結果であった。*V. mimicus* については以前 *V. cholerae* に含まれていたこともあって報告が少ないが、NAGのCT様毒素産生性は多くの研究者によって調査されている。しかしながら、その陽性率は報告によって非常に異なっており、当所における福岡市内の河川、海水の調査⁵⁾では71株中2株(2.8%)陽性であったが、島田ら⁶⁾は、魚介類、トリ、環境由来373株のうち62株(16.6%)陽性、安形ら⁷⁾は301株中158株(52.5%)陽性と報告している。これらの報告に対して千屋ら⁸⁾は輸入スポンから分離した25株は全て陰性、Gyobu, et al.⁹⁾も魚介類及び環境由来では88株全て陰性であったと報告している。これらの報告では、培地や培養条件がそれぞれ異なっており、また分離後時間の経過した菌株も含めたものもあると思われる。CTについては感度が数ng/mlというRPLA法を用いたキットが市販され、一般の検査室でも検出が容易にできるようになったが、試料となる培養上清の調査については、研究者によってまちまちであり、実際、菌株によっても最適な培地や培養条件が異なっているように思われる。*V. cholerae* O1についても、神中¹⁰⁾は毒素検出法の標準化を図る必要を指摘している。

溶血素については、NAGを原因とする下痢症のうち非コレラ様の場合の原因物質の一つと考えられている。当所における福岡市内の河川、海水の調査⁵⁾ではNAG71株全てが2倍以上の溶血価を示し、最高では1024倍であったが、今回の熱帯魚の調査では、2~8倍を中心として最高128倍と低く、陰性(2倍未満)の株がNAGで124株中44株(35.5%) *V. mimicus* で24株中9株(37.5%)存在した。しかし陰性の中には2倍で

不完全な溶血を示した様が多数見られ、微量の溶血素が産生されているのではないかと考えられた。

熱帯魚は輸入後、仕分けの時点である程度換水されるが、今回購入した業者では、販売のサイクルが短いためそれ以降店頭での飼育水の交換は、ほとんどしていない。また、換水する場合も、一日放置した水道水を使用しているため、分離された各菌種は産地より、熱帯魚の腸管缶内や、エラ、体表に付着して持ち込まれたものと考えられた。今回の調査では *V. cholerae* O1 は検出されなかったが、産地の河川等がコレラ菌で汚染されている場合、熱帯魚と共に持ち込まれる可能性も否定できない結果であった。

ところで、熱帯魚を実際に飼育する場合に存在する細菌類がどのように変化するのか考えると、食塩要求性のビブリオは、淡水で飼育するために速かに死滅すると思われるが、無塩ペプトンでも発育するNAGや *V. mimicus* は、魚の腸管内や飼育水中で、ある程度保有されるのではないかと考えられたので、当所においても、熱帯魚の実験的な飼育を試みた。一般に熱帯魚の飼育条件は魚種によって多少の違いはあるものの、水槽底に砂などを敷き、水温は25℃程度に保ち、エアープンプや濾過器を使用し、飼育水の交換は5~10日に1度、全量ではなく水槽の1/5~1/3程度を入れ替える。当所においても同様の条件で、NAGを腸管内に $4.6 \times 10^5/100\text{g}$ (NPN) 保有していたナイフフィッシュを飼育したところ、4日目には検出されなかった。(3.0 × 10 以下/100g) 飼育水もスタート時に $1.5 \times 10^4/100\text{ml}$ であったのが、4日目には検出不能(0.3以下/100ml)となった。即断するには無理があろうが、熱帯魚を水槽内などの閉鎖系で飼育する場合NAGは速かに死滅するのではないかと考えられる結果であった。香西ら¹¹⁾も、活魚料理店や鮮魚店の生簀の水(全例海水使用)を調査した結果、新鮮海水を使用している店からのみNAGを検出しており、NAGについては新鮮海水でなければ、長期生存することができないのではないかと推測している。これらを考慮すると、NAGと同様の生簀の *V. cholerae* O1 が、万一熱帯魚と共に持ち込まれたとしても、輸入から販売までに一定の期間をおくことにより、一般消費者(飼育者)に対するビブリオ属に関する危険は殆ど無くなるのではないかと考えられた。

いずれにせよ、輸入熱帯魚の半数以上の検体が病原ビブリオを保有していたことは事実であり、輸入直後の時点においては、今回の検出率以上に保有しているとも考えられることから、関係業者は取扱いに充分注意が必要と思われた。

この報告の一部は、第46回日本公衆衛生学会総会(1987年 長崎市)において発表した。

文 献

- 1) 真子俊博：輸入淡水魚における病原ビブリオの疫学的研究 第1報 輸入熱帯魚からの non-O1 *Vibrio cholerae* の分離状況と毒素産生性，福岡市衛試報，9，32～38，1984
- 2) 道家直，他： *Vibrio vulnificus* の環境・貝類中の分布，熊本県衛公研所報，11，20，1981
- 3) 道家直，他： *Vibrio fluvialis* の環境・魚介類中分布，熊本県衛公研所報，12，22～23，1982
- 4) Mitsuaki Nishibuchi, et al. : Broth medium for enrichment of *Vibrio fluvialis* from the Environment, Appl. Environ. Microbiol., 46, 425～429, 1983
- 5) 渡部高貴，他：河川水・海水より検出された *V. cholerae* non-O1 の毒素産生性，福岡市衛試報，11，39～43，1986
- 6) 島田俊雄，他：Non-O1 *Vibrio cholerae* の分布 (1976～1981) およびその毒素産生性について，感染症誌，56，1017～1024，1982
- 7) 安形則雄，他：河川水中のNAGビブリオに関する研究，名古屋衛研所報，29，15～17，1982
- 8) 千屋誠造，他：台湾産輸入スッポンから分離した non-O1 *Vibrio cholerae* について，高知衛研報，30，33～36，1983
- 9) Yotaku Gyobu et al. : Studies on the enteropathogenic mechanism of non-O1 *Vibrio cholerae* isolated from the environment and fish in Toyama prefecture, Microbiol. Immunol., 28, 735～745, 1984
- 10) 神中寛：病原細菌の群別と型別法 コレラ菌，臨床と微生物，15，83～87，1988
- 11) 香西俣行，他：過去5年間における魚介類のビブリオ等の季節的消長について，香川県衛研所報，13，58～66，1984

輸入熱帯魚からの *Aeromonas*, *Plesiomonas* 検出状況

渡部 高貴¹・真子 俊博¹・大隈 英子¹

大庭 三和子¹・村尾 利光¹

Isolation of *Aeromonas* and *Plesiomonas* Species from Imported Tropical Fish for Pets.

Takaki WATANABE, Toshihiro MAKU, Eiko OKUMA,
Miwako OBA and Toshimitu MURAO

1987年2月から9月にかけて、鑑賞用として輸入された熱帯魚98件、国内産11件の計109件を用いて *Aeromonas*, *Plesiomonas* の保菌状況を調査し、あわせて *Aeromonas* 分離株118株の毒素産生試験を行った。

熱帯魚からの分離状況は、109件中86件(78.9%)と高い検出率を示した。菌種別においては *A. hydrophila*, *A. sobria*, *P. shigelloides* とともに40%前後の検出率であった。また、産地別では、輸入天然産で43件中35件(81.4%)、輸入養殖魚で55件中44件(80.0%)、国内養殖魚で11件中7件(63.6%)と国内魚よりも輸入魚が高い傾向であった。*Aeromonas* の毒素試験は、ウサギ血球溶血性テストが118株中87株(74.0%)、乳のみマウステストが118株中51株(43.0%)と高い陽性率であった。熱帯魚の飼育試験における *Plesiomonas* の消長は、飼育水、腸管ともに菌の減少はみられず21日後ではやや増加する傾向がみられた。

Key words : *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Plesiomonas shigelloides*,
熱帯魚 tropical fish for pets, 汚染状況 contamination,
毒素産生性 toxigenicity

I はじめに

Aeromonas と *Plesiomonas* は河川水に常在すると報告され、近年、人の下痢症の原因菌として関心が高まり、昭和57年3月に新たに食中毒菌として指定された菌種である¹⁻²⁾。*Aeromonas* は、初め両性類や魚の病原菌として研究されてきたが、現在では溶血活性やエンテロトキシンを産生すると言われており、下痢患者より高率に分離されている¹⁾³⁾。一方、*Plesiomonas shigelloides* (以下 *P. shigelloides* と略) は一部の赤痢菌と同一0抗原をもつことで注目され、本菌が集団胃腸炎から優勢に検出される報告が多くみられることから²⁾⁴⁾、下痢症の原因菌と考えられるようになった菌である。しかし、この2菌種の病原性や生態についてはいまだ不明な点が多く、疫学的調査もあまり報告されてい

ない。

我々は以前より輸入淡水熱帯魚より病原ビブリオの検出状況を調査しているが⁵⁾、今回、1987年2月から9月にかけて福岡市内で購入した熱帯魚から *Aeromonas hydrophila* (以下 *A. hydrophila* と略)、*Aeromonas sobria* (以下 *A. sobria* と略)、*P. shigelloides* の3菌種の検出状況、ならびに *Aeromonas* 毒素産生試験を調査したのでその結果を報告する。さらに、熱帯魚における *P. shigelloides* の消長を知る目的で飼育試験を試みたので合わせて報告する。

II 材料および方法

材料は福岡市内の販売店より購入した輸入熱帯魚98件、国内養殖11件の計109件を用いそれぞれ飼育水と腸管を試料とした。

飼育水は50 mlを3倍濃度のアルカリ性ペプトン水

1. 福岡市衛生試験所 微生物課

表1 *A. hydrophila*, *A. sobria*, *P. shigelloides* の産地別検出状況

	件数	陽性 (%)	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>	<i>P. shigelloides</i>
計	109	86 (78.9)	46 (42.2)	45 (41.3)	46 (42.2)
天然	43	35 (81.4)	20 (46.5)	15 (34.9)	23 (53.5)
輸入養殖	55	44 (80.0)	24 (43.6)	25 (45.5)	17 (30.9)
国内養殖	11	7 (63.6)	2 (18.2)	5 (45.5)	3 (27.3)
天	32	27 (84.4)	14 (43.8)	12 (37.5)	17 (53.1)
南	10	7 (70.0)	5 (50.0)	2 (20.0)	6 (60.0)
然	1	1	1	1	0
タ	4	4 (100)	2 (50.0)	3 (75.0)	2 (50.0)
養	23	16 (69.6)	9 (39.1)	9 (39.1)	7 (30.4)
台	19	15 (78.9)	6 (31.6)	7 (36.8)	8 (42.1)
殖	8	8 (100)	6 (75.0)	5 (62.5)	0
シ	1	1	1	1	0
ン					
ド					

表2 飼育水と腸管からの *A. hydrophila*, *A. sobria*, *P. shigelloides* の検出状況

	件数	検体	陽性 (%)	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>	<i>P. shigelloides</i>
天	43	飼育水	26 (60.5)	15 (34.9)	10 (23.3)	10 (23.3)
然		腸管	30 (69.8)	13 (30.2)	8 (18.6)	19 (44.2)
養	66	飼育水	38 (57.6)	21 (31.8)	22 (33.3)	5 (5.7)
殖		腸管	40 (60.6)	14 (21.2)	13 (19.7)	17 (25.8)

表3 *Aeromonas* 分離菌株の毒素試験

	株数	ウサギ血球溶血性	乳のみマウステスト
<i>A. hydrophila</i>	71	57 (80.3) *	31 (43.7)
<i>A. sobria</i>	47	30 (63.8)	20 (42.6)
計	118	87 (73.7)	51 (43.2)

※ 陽性株数 (陽性率)

25 mlで、腸管は1 gを9 mlの滅菌生食でホモジナイズした後その1 mlをアルカリ性ペプトン水10 mlに加え、それぞれ37℃、18時間培養した。分離培地にはSS寒天、PMT寒天を用いた。スクリーニングとしてTSI、LIM、オキシダーゼ試験を行ない、性状の一致するものはさらにアルギニン、オルニチン、VP、サリシン、イノシット、マンニット、エスクリン、ブドウ糖からのガス産生試験で同定した。

Aeromonas の毒素産生性は、BHIブイヨンで、37℃24時間振盪培養後、上清を0.45 μm フィルターでろ過し試料とした。溶血性試験は、上記試料に1%ウサギ血球PBS浮遊液を等量加え、37℃1時間インキュベート後、4℃一夜放置、完全溶血を示したものを陽性とした。また、乳のみマウステストは、ICR系の生後

3日齢の乳のみマウスに上記試料0.1mlを胃内投与して、室温で4時間後液体貯留比を求め、FA比0.09以上を陽性とした。

飼育試験は、タイ産の天然インデアアンナイフフィッシュ (*Notopterus chitala*) 30匹を使用し、飼育水と腸管を用い上記同様に *P. shigelloides* の菌数をMPN (3本法) にて求めた。水槽は90×45×45 cm (容量457 l) を用い、砂30 kgの他にろ過器、エアポンプ、ヒーターをとりつけ、飼育温度は25℃で行った。菌数測定は初日、4、7、14、21日後にそれぞれ飼育水と腸管5匹分の菌数測定を行った後、そのつど飼育水の半量を塩素除去をした水道水で交換を行った。また、飼育は一般的な熱帯魚の飼育法に従った⁶⁾。

III 結 果

1. *Aeromonas*, *Plesiomonas* の検出状況

表1に産地別検出状況を、表2に飼育水と腸管の検出率を示した。

輸入熱帯魚では、天然、養殖魚とも80%代の検出率を示し、*A. hydrophila*, *A. sobria* は40%前後の検出率であったが、*P. shigelloides* は天然53.5%、養殖30.9%と天然魚が高い検出率を示した。国別では、天然、養殖魚を含めてタイ産が高く、養殖魚ではシンガポール産が高い値を示した。

飼育水と腸管からの検出率は、*Aeromonas* で天然、養殖とも飼育水が高い傾向であった。しかし、*P. shigelloides* は、飼育水からの天然23.3、養殖7.6%とやや低いものに対して腸管はそれぞれ44.2、25.8%と高い検出率を示した。

2. *Aeromonas* 118株の毒素産生性

表3に*Aeromonas* 118株の毒素産生試験の結果を示した。

ウサギ血球溶血性は、118株中87株(74.0%)が陽性であった。そのうちわけは、*A. hydrophila* では71株中57株(80.0%)、*A. sobria* では47株中30株(64.0%)が陽性を示し、前者が高い陽性率を示した。また、力価は2倍から1024倍の範囲で、2倍から32倍の力価を示すものが多かった。

乳のみマウス試験では、118株中51株(43.0%)が陽性であり、*A. hydrophila* では71株中31株(44.0%)、*A. sobria* では47株中20株(43.0%)が陽性を示し、これら陽性株は全てウサギ血球溶血性が陽性であった。

3. 熱帯魚の飼育における *Plesiomonas* の消長

図1に飼育試験における *Plesiomonas* の消長を示した。

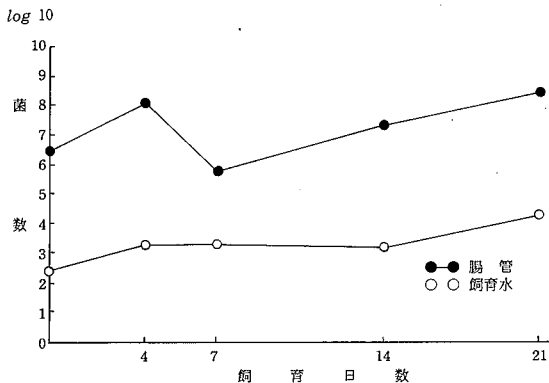


図1 飼育試験における *Plesiomonas* の消長

熱帯魚は天然魚のナイフフィッシュ(タイ産)を使用し、1回の検査に5匹分の腸管を用い、検査後に飼育水の交換を行った。飼育水では、*Plesiomonas* の菌数が検査前に $4.6 \times 10^2 / 100 \text{ ml}$ であったが、4日目には $1.5 \times 10^3 / 100 \text{ ml}$ 、7日目 $1.5 \times 10^3 / 100 \text{ ml}$ 、14日目 $1.1 \times 10^3 / 100 \text{ ml}$ 、21日目 $2.1 \times 10^4 / 100 \text{ ml}$ と徐々に増加した。また、腸管においては、 $5.3 \times 10^6 / 100 \text{ g}$ であったものが4日目 $1.1 \times 10^8 / 100 \text{ g}$ 、7日目 $7.3 \times 10^5 / 100 \text{ g}$ 、14日目 $3.5 \times 10^7 / 100 \text{ g}$ 、21日目 $4.4 \times 10^8 / 100 \text{ g}$ と、7日目に若干の減少が見られたが、21日目には 10^8 のオーダーに達しておりやはり増加の傾向であった。

IV 考 察

Aeromonas, *Plesiomonas* は従来から水生菌として研究されていた菌種であったが、近年、急性胃腸炎の原因菌として注目を集め、その生態についても多くの調査が行われている。*Aeromonas* は、井戸水や河川中に四季を通じて検出され⁷⁻¹²⁾、海産物からも高率に分離されたとの報告⁹⁾ 等があり、広く環境に生息しているとされている。一方、*Plesiomonas* についても、池や河川に広く分布しているが、水よりも泥からよく検出され、夏期は冬期に比べて高く検出されている⁴⁾。また、海外においても Van Damme & Vandepitte¹³⁾ のザイルにおける淡水魚の調査で *Plesiomonas* を60%近く分離したとの報告や、Pitarangsi et al¹⁴⁾ のタイの調査で成人の30%近くから *Aeromonas* を分離したと報告等がある。この様に、*Aeromonas*, *Plesiomonas* は、自然環境中に広く分布していることは明らかで、また、その病原性も注目されはじめてきた。そこで今回、汚染率の高いと思われる東南アジアより輸入され、家庭で鑑賞用として飼われている輸入熱帯魚について、どの程度の汚染状況であるのか調査を行った。

今回の調査での熱帯魚からの検出状況は、*A. hydrophila*, *A. sobria*, *P. shigelloides* とも40%前後の検出率であり全体では80%前後であった。*Aeromonas* では養殖魚と天然魚に差は見られず、飼育水は魚体より5~10%高い傾向がみられた。杉山⁸⁾は琵琶湖での調査で湖水、淡水魚からの検出率は100%であったとし、今回の調査より高い値である。これは、今回対象としなかった *A. caviae* の検出率も含まれているためと思われる。

また、*P. shigelloides* は、*Aeromonas* とは反対に魚体が飼育水の2倍前後の検出率で、養殖魚よりも天然魚が高い傾向であった。斉藤ら¹²⁾は夏季に *P. shigell-*

oides が淡水魚から 31.3% 検出されたとしており、今回の 42.2% に近いものであった。また、今回の調査では、飼育水よりも魚体が高い検出率であったが、これは、斉藤ら¹²⁾ の調査で河川水よりも淡水魚から高い検出率を示していることや、塚本ら⁴⁾ の水よりも栄養が豊富に存在する泥中に多く生息しているとの報告等から *Plesiomonas* は、飼育水よりも菌の栄養となる多くの有機物が存在する腸管内に生息するものと思われた。

一方、*Aeromonas* の病原性については、溶血活性や ST 様エンテロトキシンを産生すると言われ、本菌の毒素産生率は下痢症由来株と環境由来株の間に差が見られたとの報告⁹⁾ ¹⁵⁾ や差が認められなかったとする報告¹²⁾ 等があり、環境由来の株がどの程度毒素を産生するか、また病原性があるか不明である。そこで、今回分離した *Aeromonas* 118 株を用いて毒素試験を行った結果、ウサギ血球溶血性では *A. hydrophila* が 80%、*A. sobria* が 64% の陽性率であったが、乳のみマウステストでは両菌種とも 40% 台であった。杉山ら⁸⁾ の調査では溶血性は 85% 以上であったが、乳のみマウステストでは 40% 以上であったとしており、今回の調査はこれを裏づけるものであった。しかし、富岡ら⁹⁾ は、環境由来株において ST 様活性は認められなかったとしている。これは、培養条件や培地の違いによるものではないかと思われた。

また、*P. shigelloides* の病原性については、坂崎ら²⁾ が Sanyal *et al* の供試菌での追試において毒素活性を確認できなかったとしており、塚本ら⁴⁾ の報告においても下痢症者や水からの分離株についてウサギグループ、乳のみマウス、CHO 細胞、ウサギ皮内反応で陰性であったとしている。また、坂崎ら²⁾ は本菌が赤痢菌と共通抗原を持つが細胞侵襲性は認めないと報告しており、このように、*P. shigelloides* の病原性は今後の研究にまたなければならぬのが現状である。

さらに今回、熱帯魚の飼育による *P. shigelloides* の消長を調べた結果、飼育期間が長くなるにつれて菌数の増加することが判明した。このことは、今回は実験を行っていないが、水性菌である *Aeromonas* についても同様に菌が増殖するのではないかと思われた。

今回の調査で *Aeromonas* や *Plasiomonas* が高率に熱帯魚を汚染していることが判明したが、真子ら⁵⁾ 著者ら¹⁰⁾ の調査においても熱帯魚から NAG が高率に分離されている。このことは、ペットブームにより熱帯魚が大量に輸入されている今日、熱帯魚によりこれら病原菌が持ち込まれている可能性を示している。

また、熱帯魚の飼育における *Plesiomonas* の消長試験の結果、明らかな菌の増加を見た。このことより、

家庭で飼われている熱帯魚においても菌の増殖が考えられ、村尾ら¹⁷⁾ のミドリガメが感染源となったサルモネラ の家庭内感染例に見られるように、熱帯魚が感染源になりうるのではないかと推察され、熱帯魚の飼育においては、頻繁に飼育水の交換を行なう等十分に注意を払う必要があると思われた。

本論文の要旨の一部は第 46 回日本公衆衛生学会総会 (長崎市, 1987) にて発表した。

文 献

- 1) 坂崎利一編：食中毒 11—新たに認定された食中毒菌，69—123，中央法規，東京，1983
- 2) 坂崎利一編：食中毒 11—新たに認定された食中毒菌，124—142，中央法規，東京，1983
- 3) 小林一寛，他：*Aeromonas* の下痢原性に関する研究，大阪府立公衛研所報，公衆衛生編，20，19—23，1982
- 4) 塚本定三，他：*Plesiomonas shigelloides* の分離とその病原性の検討，大阪府立公衛研所報，食品衛生編，9，139—145，1978
- 5) 真子俊博：輸入淡水魚における病原ビブリオの疫学的研究，福岡市衛試報，9，32—38，1984
- 6) 石津恵造編：熱帯魚入門，アクアライフ，18—31，1986
- 7) 大庭三和子，他：井戸水からのエロモナス属の分離状況及びその病原性，福岡市衛試報，11，44—46，1986
- 8) 杉山信子，他：環境およびヒト材料からのエロモナスの分離状況，滋賀衛環セ所報，22，29—33，1987
- 9) 富岡 淳，他：河川水中の *Aeromonas* について (第 2 報)，群馬県衛公研年報，19，75—78，1987
- 10) 小林一寛，他：*Aeromonas* 属の生態学的研究，大阪府立公衛研所報，公衆衛生編，22，21—27，1984
- 11) 井藤典彦：紀の川河口付近におけるビブリオ，エロモナス及びプレシオモナスの分離成績，和衛公研年報，30，59—61，1984
- 12) 斉藤祥博，他：運動性エロモナス，プレシオモナス用分離培地の検討と河川水，淡水魚およびヒト糞便からの分離成績，静岡県衛環セ報，29，17—25，1986
- 13) Van Damme, L. R. and Vandepitte, j: Fre-

- quent isolation of *Edwardsiella tarda* and *Plesiomonas shigelloides* from healthy Zair ese freshwater fish: a possible source of sporadic diarrhea in tropics, *Appl. Environ. Microbiol.*, 39, 475 - 479, 1980
- 14) Pitarangsi, C. *et al* : Enteropathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides* : prevalence among individuals with and without diarrhea in Thailand, *Infect. Immun.* 35, 666 - 673, 1982
- 15) 沖津忠行, 他 : 散発下痢患者由来の *Aeromonas* 属について, *感染症誌*, 59, 977 - 983, 1985
- 16) 大隈英子, 他 : 輸入熱帯魚からの病原ビブリオ検出状況, *福岡市衛試報*, 13, 37 - 41, 1988
- 17) 村尾利光, 他 : ミドリガメが感染源となったパラチフスBの家庭内感染事例と福岡市内で販売されているミドリガメのサルモネラ保菌状況, *福岡市衛試報*, 10, 70 - 71, 1985

徳之島産アカマタに多数検出された ドロレス顎口虫 *Gnathostoma doloresi* 幼虫

真子 俊博¹ · 渡部 高貴¹

A finding of numerous larvae of *Gnathostoma doloresi* in snakes, *Dinodon semicarinatus*, from Tokunosima Is, Japan

Toshihiro MAKU and Takaki WATANABE

For the purpose of obtaining the advanced third-stage larvae of *Gnathostoma doloresi*, snakes (*Dinodon semicarinatus*) collected in Tokunosima Is., Japan, at May 1987, were examined. All of five snakes were found to be parasitized with larval Gnathostomes. A snake had 4,757 encysted larvae in muscle. It was noted that numerous larvae were found from larger-sized snakes.

The average body length of 10 larvae was 3.1 mm, and average width was 0.3 mm. The head-bulb of the larva was provided with 4 row of hooklets and 1st row was conspicuously smaller than the others. The average number of the hooklets of the 1st, 2nd, 3rd, and 4th row were 37.4, 35.6, 35.4, and 35.1, respectively. From these results, the larval Gnathostomes found in *D. semicarinatus* were indentified as the advanced third-stage larva of *G. doloresi*.

It was considered that the *D. semicarinatus* would be the most important intermediate host of *G. doloresi*. This is a first report of finding the larval *G. doloresi* in the Tokunosima Is., Japan.

Key words : ドロレス顎口虫 *Gnathostoma doloresi*, 第3後期幼虫 advanced third-stage larva, アカマタ *Dinodon semicarinatus*, 爬虫類 Reptile, 徳之島 Tokunosima Is.

I はじめに

ドロレス顎口虫 *Gnathostoma doloresi* Tubangui, 1925 はブタ, イノシシを終宿主とする寄生虫で, アジアに広く分布している。わが国では宮崎¹⁾がブタより得られて屠場に *G. hispidum* として保存されていたものを精査した結果, これがドロレス顎口虫であったと報告したのが最初で, その後各地のイノシシに分布しているのが確認されている。

本虫の中間宿主については, 宮崎・石井²⁾がサンショウウオを報告して以来, ブチサンショウウオ³⁾, サキシマハブ⁴⁾, ハブ⁵⁾, ヒメハブ⁶⁾などの両生類, 爬虫類に

ついて報告がある。しかし, いずれも寄生率, 寄生数が低く, より濃厚に寄生する中間宿主および待機宿主の存在が予想されていた。

最近, Hasegawa *et al*⁷⁾ は奄美大島の両生類, 爬虫類を調査し, 本幼虫が高率に寄生していることを報告した。そこで, 私共も1984年に奄美大島産のヘビやカエルを調査したところ, アカマタ (*Dinodon semicarinatus*) と言うヘビに, 従来報告されている中間宿主に比べてきわめて多数のドロレス顎口虫の第3後期幼虫 (advanced third-stage larva) が寄生していること見出し, 新たに本幼虫の中間宿主として追加報告した⁸⁾。

今回, 終宿主であるリュウキュウイノシシが多数生息している徳之島産のアカマタを調査した結果, 奄美大島

1. 福岡市衛生試験所 微生物課

産アカマタよりさらに多量の本幼虫寄生を認めたので、その成績を報告する。

II 材料および方法

1987年5月、徳之島在住のハブ保業者よりアカマタ5匹を購入した。入手したアカマタは体長を測定後、剥皮し、筋肉のみを対象に顎口虫幼虫の寄生状況を調べた。5匹のアカマタのうち体長の長い3匹については正確な寄生幼虫数を求めたが、残りの体長の短いアカマタについては寄生数が著しく少ないため、幼虫寄生の有無を調べたのみで寄生数の確認は行わなかった。

顎口虫幼虫の検索は筋肉を薄くスライスし、ガラス板2枚による圧平法にて、実体顕微鏡下で被囊状態のまま分離を行った。得られた被囊幼虫は大きさを測定後、人工胃液による消化法にて脱囊した。脱囊させた幼虫はPBSに浮遊し、幼虫を伸展させるために4℃で一晩放置した。伸展させた幼虫は10%ホルマリンで固定後、計測および形態観察に用いた。頭部の観察と頭球鉤の計測は頭部を実体顕微鏡下で切り放し、Fig. 1に示したように頭部鉤が上から見た場合、同心円上にならぶように封入した標本を用いて行った。

III 結 果

1. ドロレス顎口虫幼虫の寄生状況

入手した5匹のアカマタすべてからドロレス顎口虫幼虫が検出され、寄生率は100%であった。正確な寄生幼虫数を求めた3匹についてみると、Table. 1に示したように、161cmと体長の最も長い個体より4,757虫と多数の寄生が認められ、以下147cmでは581虫、130cmでは150虫と100虫以上の幼虫が分離された。一方

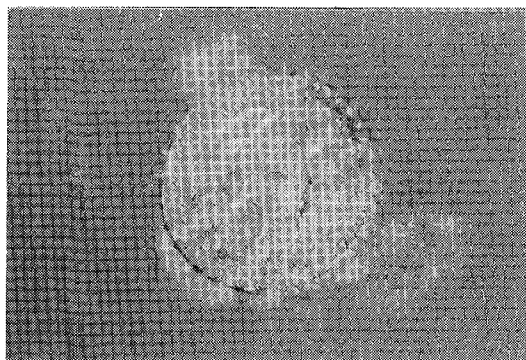


Fig. 1 Head-bulb of the advanced third-stage larva of *G. doloresi*

130cm以下の個体では幼虫の寄生は認められたが、寄生数は著しく少なく、大型の個体に寄生数が多くなる傾向であった。

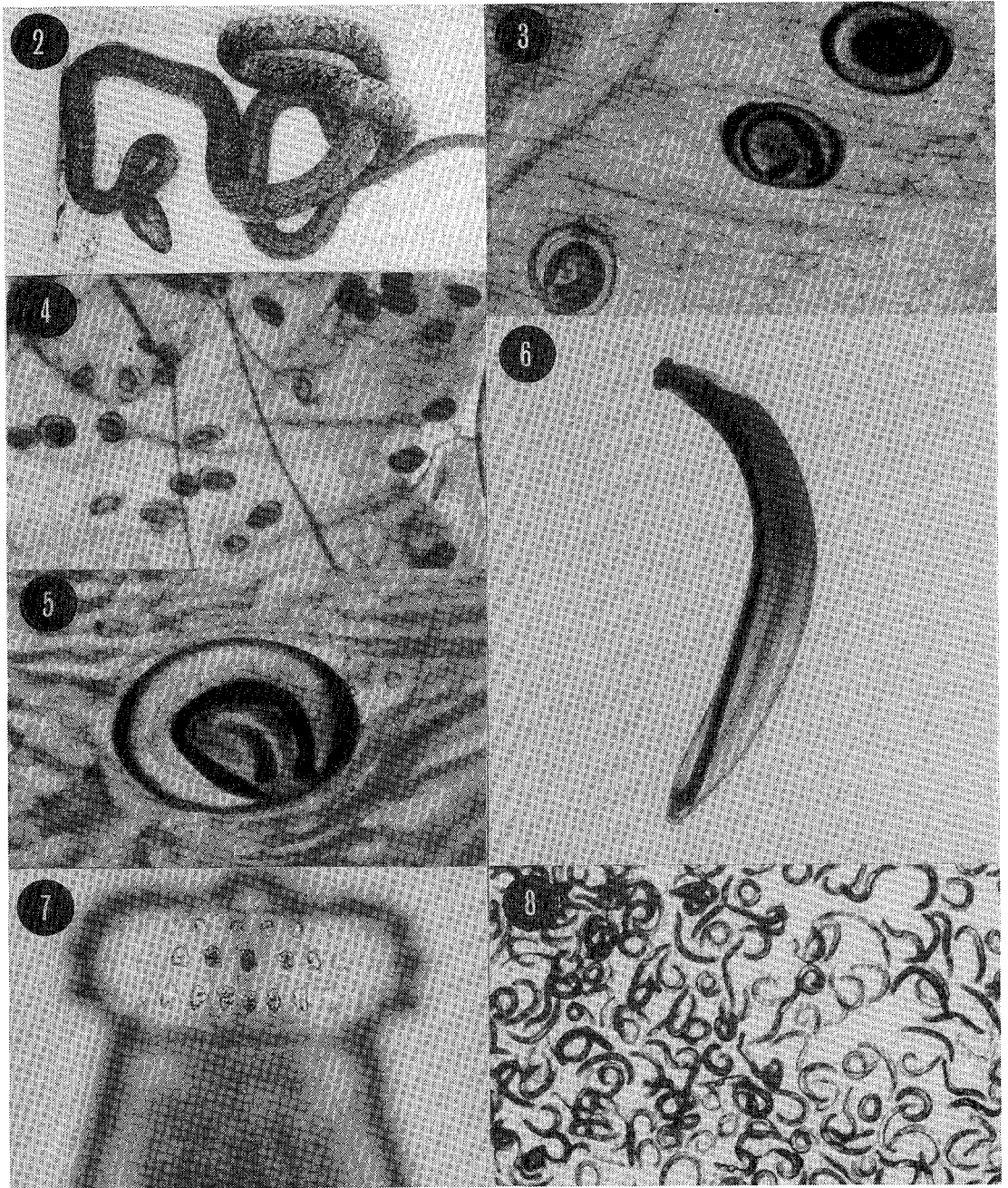
幼虫の多くは筋肉内に被囊しており (Fig. 3), 特に少数寄生のヘビではほとんど筋肉内より発見された。一方、多数寄生個体では筋肉内のほか内臓からも幼虫が検出されたが、今回は寄生幼虫数に加えなかった。幼虫の分布状況は長いヘビの体に均等に分布するのではなく、体の中央付近の腹側の筋肉で寄生密度が高く、そのような部位ではFig. 4に示すように、2cm平方の筋肉片に幼虫が多数見られた。また、多数寄生部位では遊離した状態の幼虫も認められ、さらに被囊幼虫の被囊表面に石灰化がみられるものや、被囊内で変性した幼虫も確認された。

Table. 1 Prevalence of *G. doloresi* larvae in *D. semicarinatus* collected on Tokunosima Is.

snake No.	Body length in cm	No. of larval obtained from the muscle
1	161	4,757
2	147	581
3	130	150

Table. 2 Number of hooklets on the head-bulb of 10 larval *G. doloresi* obtained from *D. semicarinatus*

larva No.	row No.			
	1st	2nd	3rd	4th
1	40	41	38	37
2	38	37	35	33
3	35	36	34	35
4	41	39	35	34
5	38	39	37	37
6	39	38	35	36
7	38	36	34	33
8	37	38	35	37
9	36	37	35	34
10	37	36	34	35
Average No. of hooklets	37.9	37.7	35.2	35.1



- Fig. 2 *Dinodon semicarinatus* captured on Tokuno-sima Is.
 Fig. 3 An encysted larva of *Gnathostoma dororesi*.
 Fig. 4 Histological section of *D. semicarinatus* muscle containing many encysted larva.
 Fig. 5 An encysted larva of *Gnathostoma dororesi*.
 Fig. 6 Advanced third-stage larva of *Gnathostoma dororesi*.
 Fig. 7 Head-bulb of the larva.
 Fig. 8 The larvae collected of the snake.

2. アカマタより得られたドロレス顎口虫幼虫の形態

筋肉内の被囊幼虫の大きさは10虫の平均で 1.4×0.9 mm (Fig. 5), 脱囊した幼虫 (Fig. 6) は10虫の平均で体長3.3 mm, 体幅0.3 mmであった。幼虫は頭部に4列の鉤を有し, 頭球鉤の形態はFig. 7に示すように, 第1列が他の3列に比べて著しく小さかった。頭球鉤数はTable. 2に示したように, 10虫の平均で第1列37.9 (最高41—最低35), 第2列37.7 (最高41—最低36), 第3列35.2 (最高38—最低34), 第4列35.1 (最高37—最低33) と各列ともばらつきはあるものの平均値には大きな差はみられなかったが, 後方になるにしたがって徐々に減少していた。皮棘は体部全体にわたって環状にはえ, 尾端まで認められ, 頸部乳頭は15~18輪節の間に認められた。幼虫はFig. 8に示すように腸管をのぞき体部全体が無色であるものと体部全体淡黄色, 淡黄褐色のものがあり, その比率はほぼ半数ずつであった。

IV 考 察

わが国における顎口虫に関する研究は有棘顎口虫 (*G. spinigerum*) に対するものが多く, 戦後筑後川流域や佐賀平野での患者の多発例はいずれも有棘顎口虫幼虫によるもので, 他の顎口虫は人体に感染しないものとされてきた⁹⁾。ところが, 1970年代の終りより関西を中心に輸入ドジョウの生食が原因と思われる顎口虫症が多発し^{10,11)}, 寄生虫学者の非常な関心を集めた。それは, 輸入ドジョウの体内にみられる虫体は有棘ではなく剛棘顎口虫幼虫で, 有棘以外で顎口虫症が起りうることが判明したことであった。その後, 輸入ドジョウに寄生するのは剛棘顎口虫の第3前期幼虫 (early third-stage larva) であること, わが国においても本種が定着, 蔓延する可能性があることなどが明らかになってきた¹²⁾。

その後も散発的ではあるが患者がみられ, 新たに診断用抗原の入手の問題が生じてきた。顎口虫抗原は中間宿主に寄生する幼虫を入手して, 終宿主に感染させ得られた成虫を抗原として用いるが, 中間宿主に関する調査は以外に少なく, しかも現在わが国においてはドロレス顎口虫幼虫以外はほとんどみられなくなっている。ドロレス顎口虫の中間宿主についてはいくつか知られているが, 九州南部に集中しており, 琉球列島, 奄美群島の両生類¹³⁾, 爬虫類¹⁴⁾に寄生が認められている。しかし, 寄生率は高いものの寄生数が少なく, 最も高濃度に本幼虫が寄生していると言われる中間宿主のハブについても, Tada *et al.*⁵⁾, Koga and Ishii¹⁴⁾によると寄生数は数十のオーダーでしかなく, より濃厚に寄生する中間宿

主が求められてきた。

私共は以前より顎口虫の研究を行ってきたが, 診断用抗原入手を目的に, 奄美大島の両生類, 爬虫類を調査した際, 同地にきわめて多数のドロレス顎口虫幼虫が寄生する中間宿主, アカマタと言うヘビをみいだした⁸⁾。アカマタの幼虫寄生率は100%で, アカマタ1匹当りの寄生数も最高が751虫と従来報告されている中間宿主より, はるかに多数の幼虫がみられ, 同地では重要な中間宿主であることを報告した。

今回, 奄美大島に近く, 終宿主のリュウキュウイノシシが多数生息する徳之島にも, 本幼虫が高率に分布するのではないかと予想で, 徳之島産のアカマタを調査した結果, 前回のアカマタよりさらに多数のドロレス顎口虫の第3後期幼虫が見い出された。5匹のアカマタすべてよりドロレス顎口虫幼虫が検出され, 1匹のアカマタには4,757虫ときわめて多量の幼虫が認められた。このような多数の顎口虫幼虫が寄生する中間宿主はドロレス顎口虫以外でも例はみられず, アカマタがドロレス顎口虫の生活史においても重要な役割を演じているものと思われる。

アカマタは琉球列島, 奄美群島に分布する固有種で, 同地域ではハブとならぶ大型のヘビである。ではなぜ, アカマタにドロレス顎口虫幼虫が多量に寄生するのであろうか。アカマタの食性は最も多く補食するのが爬虫類で, 続いて両生類と言われ¹⁵⁾, このことからアカマタは終生ドロレス顎口虫の第2中間宿主を常食としており, その結果大型のヘビには幼虫が多量に蓄積しているものと思われる。しかし, 同じ両生類, 爬虫類を補食するハブ, ガラスヒバアは, このような傾向はみられない⁸⁾。これは, ハブは幼蛇の時期には両生類, 爬虫類を食べるものの, 成蛇になるに従って温血動物に食性が変わる¹⁶⁾ためと思われる, また, ガラスヒバアは小型のヘビであることから, 摂取量のちがいが寄生数の差になっているものと考ええる。

今回のアカマタより得た顎口虫幼虫は奄美大島産アカマタより検出したドロレス顎口虫幼虫とほぼ同じ形態を示しており, 頭球鉤数もほぼ一致していた。頭球鉤の形態や数は顎口虫幼虫の種の鑑別に重要であるが⁹⁾, 宮崎・石井²⁾のサンショウウオより検出された幼虫とは鉤の形態は同一であったが, 数は各列とも若干多い傾向がみられた。また, サンショウウオより分離された幼虫は腸管以外は無色であると報告されているが, 徳之島産アカマタより得た幼虫の半数は淡黄色, 淡黄褐色を呈していた。

幼虫の寄生部位はほとんど筋肉内に被囊していたが, 多数寄生する個体では遊離した状態のものもみられ, さらに内臓内にも幼虫が検出された。これは寄生数の著し

い増加が関係しているものと思われたが, Toshioka⁶⁾, Hasegawa *et al.*⁷⁾は少数寄生の中間宿主より, 内臓内にも幼虫を認めており, 一部の幼虫は内臓内にも分布するものと思われる。また, 今回は調査しなかったものの, 奄美大島産のアカマタでは全寄生幼虫数の約20%が内臓内より分離され, 特に肝臓に分布が多くみられることから, ヘビに摂取された幼虫は一度肝臓内にとどまるものと考えられる。しかし, 最終的な寄生部位はおそらく筋肉中であろう。それは多量に寄生している部位より被囊幼虫の被囊表面に石灰化がみられるものが認められ, また石灰化が多数みられる所では一部の幼虫が変性していることから, 長期に滞在した結果によるものであると考える。

今回, 5匹のアカマタを調査した結果, 1匹のアカマタでは4,757虫のドロレス顎口虫幼虫の寄生が確認された。このような多量の寄生が認められる中間宿主の存在はおそらく, 他の顎口虫でも例はみられない。また, アカマタは第1中間宿主であるケンミジンコを直接摂取するとは考えられないことから, ドロレス顎口虫の生活史においては第2中間宿主というよりは, 待機宿主であると考えられ, 徳之島では最も重要な待機宿主であろうと結論された。

V ま と め

1987年5月, 徳之島産アカマタのドロレス顎口虫幼虫の寄生状況を調査した結果, すべてのアカマタに本幼虫の寄生を認め寄生率は100%であった。このうち, 正確な寄生数を求めた3匹のアカマタより5,448虫(最高4,757, 最低150)の幼虫が分離された。幼虫の多くは筋肉内に被囊しており, 脱囊後の幼虫は平均体長が3.1mm, 体幅0.3mmで, 頭部に4列の鉤を認めた。頭球鉤は第1列が他の3列に比べて著しく小さく, その数の平均は第1列37.9, 第2列37.7, 第3列35.2, 第4列35.1であることなどから, 本幼虫はドロレス顎口虫の第3後期幼虫と考えられた。

徳之島から本幼虫の報告例はなく, 新たに追加するとともに, 同地においてはアカマタは重要な待機宿主であると考ええる。

文 献

- 1) 宮崎一郎: 日本では, はじめて得られたドロレス顎口虫について, 臨床と研究, 27, 617-619, 1956
- 2) 宮崎一郎・石井洋一: サンショウウオに被囊する顎口虫の幼虫について, 医学研究, 22, 467-473, 1952
- 3) 石井洋一: ドロレス顎口虫の發育史に関する研究, 福岡医誌, 47, 1474-1494, 1956
- 4) Miyazaki, I. and Kawoshima, K.: On the larval *Gnathostoma doloresi* Tubangu found in a snake from Ishigaki-jima, the Ryukyu Islands (Nematoda: Gnathosmiidae), *Kyusyu J. Med. Sci.*, 13, 165-169, 1962
- 5) Tada, I., *et al.*: On the larval *Gnathostoma doloresi* found in snakes, *Trimeresurus flavoviridis flavoviridis*. from Amami-oshima Is., Kagoshima Japan, *Jpn. J. Parasitol.*, 18, 289-293, 1969
- 6) Toshioka, S.: On the larval *Gnathostoma doloresi* found in the Himehabu, *Trimeresurus meresurus okinavensis*, from Amami Islands, Kagoshima Prefecture. Japan, snake, 2, 57-58, 1970
- 7) Hasegawa, H. *et al.*: Helminth fauna of the Ryukyu Archipelago, Japan: 3. *Gnathostoma doloresi* larvae from *Rana (Babina) subaspera* in Amami-oshima Island, Ryukyu, *Univ. J. Hlth. Sci. Med.*, 5, 87-91, 1982
- 8) 真子俊博・赤羽啓榮: 奄美大島のアカマタに多数見出されたドロレス顎口虫 *Gnathostoma doloresi* 幼虫, 寄生虫誌, 34, 493-499, 1983
- 9) Miyazaki, I.: On the Genua *Gnathostoma* and Human Gnathostomiasis, with special reference of Japan, *Exp. parasitol.*, 9, 338-370, 1960
- 10) 荒木恒治: 顎口虫症の最近の話題, 皮膚病診療, 5, 890-894, 1983
- 11) 北島拓弥, 他: 皮膚顎口虫症-臨床と治療-, 皮膚臨床, 23, 665-672, 1981
- 12) 赤羽啓榮, 他: 中国から輸入されたドジョウに寄生していた剛棘顎口虫 *Gnathostoma hispidum* Fedchenko, 1872, 寄生史誌, 31, 507-516, 1982
- 13) Hasegawa, H. *et al.*: Larval *Gnathostoma* covered from amphibian and reptilian host in Okinawa Island, Japan, *Ryukyu Univ. J. Hlth. Sci. Med.*, 4, 103-108, 1981
- 14) Koga, M. and Ishii, Y.: Susceptibility of mammalian host to larvae of *Gnathostoma*

- doloresi* Tubangui, 1925, J.parasitol., 67,
965 - 966, 1981
- 15) 三島章義：奄美大島産アカマタの食性に関する研究,
爬虫類誌, 1, 75 - 81, 1966
- 16) 三島章義：ハブに関する研究 I .奄美大島産ハブの
食性について, 衛生動物, 17, 1 - 21, 1966

赤痢アメーバ染色（鉄ヘマトキシリン，トリクローム， コーン）の比較

真子俊博¹・渡部高貴¹

A Comparison of Three Staining Methods, Hematoxylin Stain, Trichrome Stain and Kohn Stain on *Entamoeba histolytica*

Toshihiro MAKO and Takaki WATANABE

当所で改良した鉄ヘマトキシリン染色法と最近実施されてきたコーンおよびトリクローム染色法との比較を、アメーバ症患者便とサル便を用いて行った。手法が簡単であったものはコーン染色で、One step で実施できるのに対し、変法鉄ヘマトキシリン、トリクローム染色とも手順が多くやや複雑であった。染め上がりまでの時間は変法鉄ヘマトキシリン染色が約5時間と最も長く、ついでコーン染色の約3.5時間、トリクローム染色の約1時間で、染色状態は変法鉄ヘマトキシリン染色が最も赤痢アメーバの栄養型、嚢子の観察に適しており、類染色体、核小体、核膜などの微細部分の染まり方も良好であった。コーン染色は類染色体、核小体、核膜などの染まり方がやや悪く、高倍率で観察する必要を認めた。トリクローム染色は栄養型の染色には良好な状態であったが、嚢子の染色法としては不適で、原虫類の確認はできるものの、赤痢アメーバの同定には不適であると思われる。このことから、肝膿瘍など栄養型が出現する材料ではトリクローム染色を用い、嚢子の出現が予想される材料では鉄ヘマトキシリン染色を実施する方法が最も望ましいものと思われる。

Key words : 赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica*, 鉄ヘマトキシリン染色 iron hematoxylin stain, トリクローム染色 trichrome stain, コーン染色 Kohn stain, 原虫類 protozoa

I はじめに

寄生虫疾患はわが国では衛生状態の向上および上下水道の普及などにより激減し、もはや比較的まれな疾患であると考えられている。しかし、赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) 症のここ数年の増加率は目ざましいのがみられ、1970年代には10名前後であった患者数が1980年を境に増加し、1983年は79名、1984年は102名、1985年は136名、1986年は108名と一挙に10倍以上の患者をみるに至っている。

このように、赤痢アメーバ症が激増している一方で、近年同定のあやまりや診断に疑問のある症例が散見されるようになってきた。これらの原因としては虫体の運動性のみで診断され、最終同定検査まで行われていないこ

とが上げられ、大きな問題点になっていることが指摘されている¹⁻²⁾。本症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、虫体の同定検査に必要なハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色は再現性が悪く、手法が煩雑であることなどから、広く一般に実施さ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、同定検査まで行うのが当然であり、このため、最近では簡単に実施できるコーン染色、トリクローム染色が検討されるようになってきた³⁻⁴⁾。

そこで、今回、これらの染色法と私共が改良した変法鉄ヘマトキシリン染色について、アメーバ症の患者便を用いて栄養型、嚢子の染色性について検討したので、その結果を報告する。

1. 福岡市衛生試験所 微生物課

変法鉄ヘマトキシリン染色

- ① 塗 抹
- ② シャウジン液で固定 (30分)
- ③ ヨードアルコール (10分)
- ④ 70%アルコール2回 (各5分)
- ⑤ 蒸留水で水洗 (5分)
- ⑥ 2%鉄ミョウバン液 (2-18時間)
1日目はここで止めてもよい。
- ⑦ 蒸留水で水洗 (3-5秒)
- ⑧ ヘマトキシリン液 (20-30秒)
- ⑨ ヘマトキシリン液 (2-3時間)
- ⑩ 2%鉄ミョウバン液で脱色 (1-15分)
標本の厚さにより変動, やや長い方がよい。
- ⑪ 蒸留水で水洗 (10分)
- ⑫ 脱水・透徹・封入

コーン染色

- ① 塗 抹
- ② コーン染色液 (3時間)
- ③ 口紙2枚にはさみ余分な染色液を取る
- ④ 90%アルコール (10秒)
- ⑤ 無水アルコール
- ⑥ 透徹・封入

トリクローム染色

- ① 塗 抹
- ② 氷酢酸不含シャウジン液で固定 (30分)
- ③ ヨードアルコール (10分)
- ④ 70%アルコール2回 (各5分)
- ⑤ 蒸留水で水洗 (5分)
- ⑥ トリクローム染色液 (8分)
- ⑦ 90%アルコール (1-2秒)
- ⑧ 95%アルコール (5分)
- ⑨ 無水アルコール
- ⑩ 透徹・封入

図1 各染色方法の手順

〔試薬の調整〕		メチルアルコール	160 ml
		氷酢酸	20 ml
1) シャウジン液		石炭酸	20 ml
昇汞飽和液 (煮沸水 100 mlに昇汞 7 g)	200 ml	1%リンタングステン酸液	12 ml
95%アルコール	100 ml	蒸留水	618 ml
氷酢酸	12-15 ml	それぞれを溶かし、マグネチックスターラーで一夜かくはんする。室温で1ヶ月熟成させ使用する。	
2) ヨードアルコール		5) トリクローム染色液	
70%アルコールにヨード・ヨードカリ液を加え、濃いビール色にする。		クロモトローブ2R	6 g
3) ヘマトキシリン液		ライトグリーンSPFY	3 g
ヘマトキシリン 10 gを95%アルコール 100 mlに溶かし、蒸留水で1000 mlにする。室温に2日間放置後、冷暗所に保存する。		リンタングステン酸	7 g
4) コーン染色液		氷酢酸	10 ml
クロラゾール・ブラックE (Kodak)	5 g	蒸留水	1000 ml
90%エチルアルコール	170 ml	各試薬を溶かし、マグネチックスターラーで一夜かくはんする。室温で40日間熟成させ使用する。	

II 材料および方法

染色法の比較に用いた材料は1988年6月、大腸バイオペシーにて診断された63才男性のアメーバ症患者便とカニクイザルの便で、アメーバ症患者便には赤痢アメーバ嚢子 (Cyst) が、カニクイザルの便にはエントアメーバ属が1種、Endolimax属が2種、鞭毛虫が1種出現しており、いずれも嚢子で図1に示した手順により各染色を実施した。赤痢アメーバの栄養型は田辺・千葉培地にて継代している株 (図2) を用いて、染色を行った。

鉄ヘマトキシリン染色は私共が改良している方法¹⁾を用いた。すなわち、糞便を塗抹後、直ちにシャウジン液で30分固定、脱昇汞、脱ヨードののち、2%鉄ミョウバン液で媒染を行った。媒染は2-18時間であるが、私共は当日はここで止める方法によった。2日目、軽く蒸留水で水洗したのち、2%ヘマトキシリン液で2-3時間染色、2%鉄ミョウバン液にて脱色を行った。脱色は標本の厚さにより異なるが、嚢子では長く (5分)、栄養型では短く (2分) 行った。

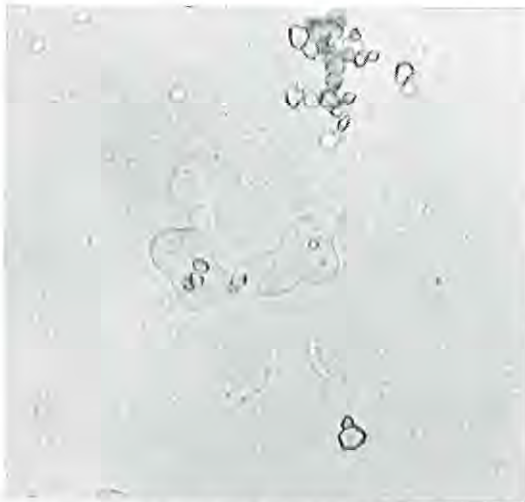


図2 田辺・千葉培地で継代している赤痢アメーバの栄養型

コーン染色は小山⁵⁾の方法に従って、糞便を塗抹後、直ちにコーン染色液で固定・染色 (3時間) し、染色後、標本をロ紙2枚で挟み余分な染色液を取り除き、90%アルコールで10秒間脱色した。

トリクローム染色はNeimeister *et al.*⁶⁾の方法に従い、氷酢酸を加えないシャウジン液で標本を固定 (30分) 後、脱昇汞、脱ヨードをへて、トリクローム染色液で8分間染色した。染色後、90%アルコールで1-2秒、95%アルコールで5分脱色し、脱水、透徹を行い封入した。

染色性の比較は図3に示した赤痢アメーバの栄養型、嚢子の形態的特徴である角膜上の染色顆粒、核小体の大きさ、類染色体の染色性、原形質および内容物などの染色性について比較した。

III 結 果

1. 赤痢アメーバ栄養型の染色性

各染色による赤痢アメーバ栄養型を図4-6に示した。変法鉄ヘマトキシリン染色 (図4) による赤痢アメーバの栄養型は核膜上の染色顆粒も明瞭に認められ、核小体も中心に小さく染色されており、他の染色法の中でも最も形態的特徴が示されていた。このような染色状態はやや脱色を強くした場合にみられ、脱色が弱いと染色顆粒は融合したようになり、核小体もやや大きく染色された。

コーン染色 (図5) は原形質が他の染色法に比べるとやや濃く染色されたが、内容物の確認などは容易であった。核の染色性は核膜上の染色顆粒が融合した状態で染色され、核小体もやや大きく染色されるものの、赤痢アメーバの栄養型の同定は可能であった。

トリクローム染色は図6に示すように、全体的に薄く染色され、原形質内の内部構造は判別できるものの、細かい部分はやや不明瞭であった。また核膜上の染色顆粒も融合した状態で染色されていたが、核小体はよく染色されており、赤痢アメーバの同定は可能であった。

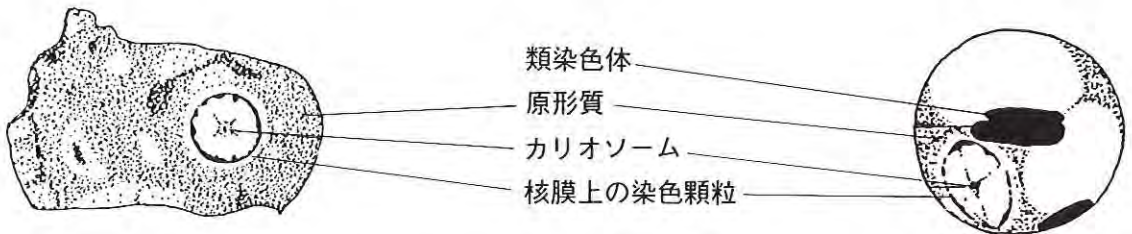


図3 赤痢アメーバの栄養型と嚢子 (著者原図)

2. 赤痢アメーバ嚢子の染色性

鉄ヘマトキシリン染色(図7)は嚢子の染色としては最も良い状態に染色され、核膜、核小体、原形質、類染色体が明瞭に判別できた。核膜上の染色顆粒はよく染色されており、低倍率でもよく確認された。

コーン染色(図8)は全体的に濃く染色され、嚢子の形態は判別できるものの、核膜、核小体はやや不明瞭であった。また、類染色体はやや弱く染色され、低倍率では確認されず、高倍率で観察する必要をみとめ、形も変法鉄ヘマトキシリン染色に比べると小さく染まる傾向であった。

トリクローム染色は図9に示すように、核膜、核小体はよく染色されており、原形質内の内部構造も比較的明瞭であった。しかし、コーン染色と同様に類染色体が不明瞭に染色され、類染色体として判別されない状態のものもみられた。

3. 他の原虫類の染色性

サル糞便内に出現している原虫類の染色状態を図10-12に、メニール鞭毛虫の染色性を図13-15に示した。原虫類の検索で最もみやすかった染色法はトリクローム染色(図12)で、標本全体が薄い緑色で原虫類はやや薄く染色されるため、原虫の確認、検索が容易であった。

鉄ヘマトキシリン染色(図10)はトリクローム染色に比べると、標本全体がやや濃く染まるため、原虫類の検索がややめんどうであるが、原虫類の確認は低倍率でも可能であった。

コーン染色(図11)は原虫類が緑色に染色されることから、検索の時に発見しやすいが、標本全体が濃く染まるため原虫類の確認においては高倍率で観察する必要がある。また、濃染することから、糞便はかなり薄く塗抹する必要がある。

メニール鞭毛虫は核染色法ともよく染色され、核膜や核の構造も明瞭に染まっており、いずれも同定は可能であったが、トリクロームおよびコーン染色が微細構造がよく判別され、メニール鞭毛虫の特徴がよく染色されていた。

4. 各染色法の操作性と原虫の染色性の比較

各染色法の操作性と染色性の比較を表1に示した。操作が最も簡単であった染色法はコーン染色で、染色、脱色とも簡単に実施でき、ほぼOne stepで標本作製が可能であった。トリクローム染色は固定操作や脱昇汞、脱ヨードなどの操作がはいるものの、コーン染色と同様に脱色は簡単に実施でき、再現性もよく特に、栄養型の染

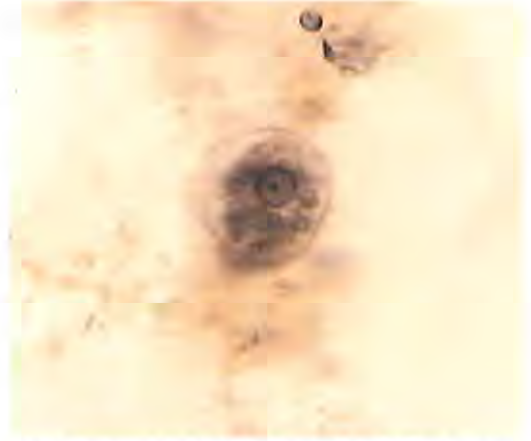


図4 鉄ヘマトキシリン染色による赤痢アメーバの栄養型(×1000)

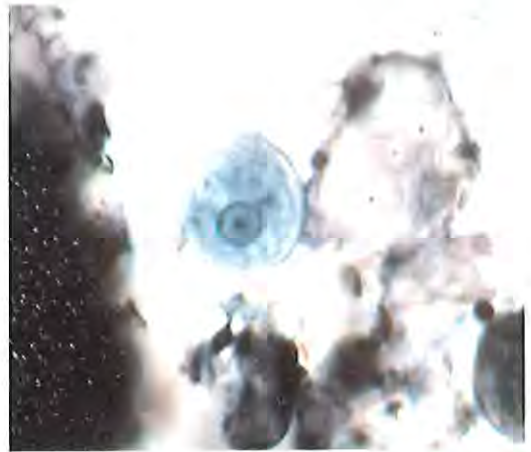


図5 コーン染色による赤痢アメーバの栄養型

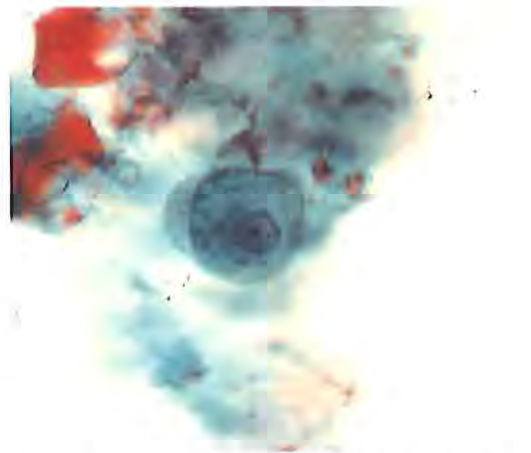


図6 トリクローム染色による赤痢アメーバの栄養型

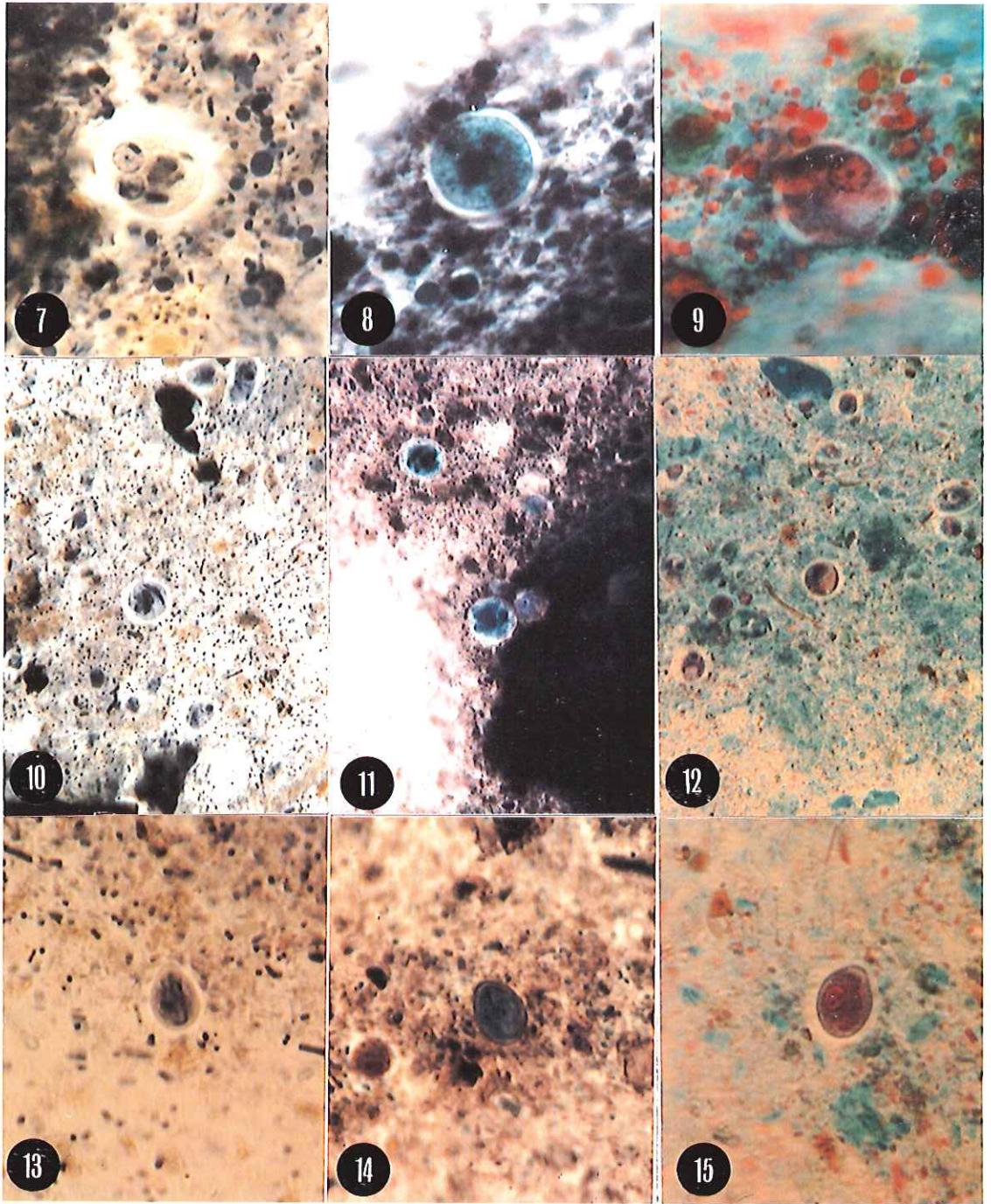


図7 鉄ヘマトキシリン染色(赤痢アメーバ囊子)

図8 コーン染色(赤痢アメーバ囊子)

図9 トリクローム染色(赤痢アメーバ囊子)

図10 鉄ヘマトキシリン染色(カニクイザルの糞便)

図11 コーン染色(カニクイザルの糞便)

図12 トリクローム染色(カニクイザルの糞便)

図13 鉄ヘマトキシリン染色のメニール鞭毛虫囊子

図14 コーン染色のメニール鞭毛虫囊子

図15 トリクローム染色のメニール鞭毛虫囊子

色法としては最もよい状態に染色された。鉄ヘマトキシリン染色は赤痢アメーバ、原虫類の染色性は他の染色法よりよかったものの、操作手順が長く、脱色時間も材料によって異なるなど再現性に劣っていた。

染色時間はトリクローム染色が1時間、コーン染色が3.5時間、鉄ヘマトキシリンが5時間で、トリクローム染色が最も短時間に終了できる反面、鉄ヘマトキシリン染色は午後の検体では当日に標本作製が困難であった。

IV 考 察

赤痢アメーバの染色には従来よりハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色が用いられ、エントアメーバの分類に重要な核膜上の染色顆粒の状態、カリオソームの染色状態など、赤痢アメーバの同定基準はすべて鉄ヘマトキシリン染色によって、記載されている。しかし、本染色法は時間がかかり、操作性や再現性が悪いなど問題点が多く、わが国では広く実施されていないのが現状である。そこで、私共は以前より鉄ヘマトキシリン染色法の改良を試み、原法より短時間で済み、比較的实施しやすい方法を考案、報告した⁴⁾が、依然として鉄ヘマトキシリン染色法は煩雑さがあり、広く一般検査室まで実施するまでに至っていない。

最近になり、熊田ら³⁾は赤痢アメーバの染色方法として、簡単に実施できる有効なコーン染色法を紹介した。コーン染色法はGleson (1965)²⁾によりOne stepで染色ができ、赤痢アメーバを含む原虫類の同定検査に有効な方法として紹介報告されたが、わが国では長い間実施されていなかった。数年前より、熊田らによって追試され、赤痢アメーバの栄養型、嚢子の同定検査にその有効性が認められている。

一方、トリクローム染色は赤痢アメーバの染色法として、わが国でも以前より実施され、栄養型の染色法として定着しつつある⁴⁾。しかし、本染色法の嚢子での染色性についてはあまり検討されておらず、また、赤痢アメーバ嚢子の染色法を比較した報告もみられない。

今回、鉄ヘマトキシリン染色、コーン染色およびトリクローム染色法について、赤痢アメーバ症の患者便、カニクイザルの糞便および赤痢アメーバ培養株を用いて、染色性の比較を実施したところ、染色法により若干の差がみられた。まず、鉄ヘマトキシリン染色は赤痢アメーバの栄養型、嚢子とも最もよい状態に染色され、同定基準となる核の構造、核膜上の染色顆粒、カリオソーム、類染色体などがすべて明瞭に確認できた。しかし、本染色法は他の染色法に比べて操作性が煩雑で、再現性も悪く、染色時間も長くかかることから、急ぐ場合には他の染色法を併用する必要があると思われる。

つぎに、コーン染色は栄養型、嚢子とも記載されている方法ではやや濃く染まる傾向がみられ、赤痢アメーバの特徴はほぼ判別されるものの、嚢子では類染色体がやや不明瞭に染まるため、高倍率で観察する必要があった。また、本染色に際しては非常に薄く塗抹する必要があり、原虫が著しく少ない場合には検索に時間がかかるものと思われる。しかし、本法は操作が非常に簡単で、他の染色に用いられるシャウジン液(飽和昇液)を使用しなどの利点もあることから、さらに改良を加えていく必要があると思われる。実際に、栄養型の染色に脱色時間を長く(約2分)した結果、ほぼ満足する成績が得られたことから、さらに改良を加えていく予定である。

トリクローム染色はコーン染色に比べると若干操作性は多いものの、全体的に簡単に実施でき、脱色操作も非常に簡単で、さらに染色時間が他の染色法に比べると最

表1 各染色法の操作性と原虫の染色性の比較

	鉄ヘマトキシリン	コーン染色	トリクローム染色
赤痢アメーバ栄養型の形態	良好に染色	やや良好	良好
赤痢アメーバ嚢子の形態	〃	〃	やや不良
他の原虫類の染色性	良好	良好	良好
染色終了時間	約5時間	約3.5時間	約1時間
染色手順の操作性	煩雑	簡単	簡単
操作手順の量	多い	少ない	やや多い
脱色の操作性	やや煩雑	簡単	簡単
再現性	やや悪い	良好	良好
低倍率でのみやすさ	やや悪い	やや悪い	良好
染色液の熟成時間	2日	1カ月	1カ月

も短く、診断が急がれる場合には有効な方法であると思われる。染色性は栄養型では同定上に支障がみられず、また標本全体の原虫確認性もすぐれていることから、栄養型の同定検査として用いられるものと思われた。しかし、嚢子では類染色体が染色されないなど、嚢子の染色としては不適であった。

以上のことから、赤痢アメーバの染色においては、おおむね鉄ヘマトキシリン染色を用いていく必要があると思われるが診断を急がれるような場合にはトリクローム、コーン染色を併用する必要があると考える。特に、栄養型の出現が予想される材料ではトリクローム染色での迅速診断が可能であると考えられる。

最後に、今日赤痢アメーバ症の増加が懸念されてきたが、検査法の確立は不十分である。血清学的検査法、染色法をどの方法を用いるかは十分検討されておらず、また各施設により方法も異なっているなど、問題点も多く、早急に検査方法の確立が必要と思われる。また、本症は法定伝染病であることから、検査法に習熟し、確実に同定可能な状態にしておく必要があるものと思われた。

文 献

- 1) 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
- 2) 高田季久, 他: 赤痢アメーバ症-疫学的考察および診断-, 臨床と微生物, 14, 415 - 422, 1987
- 3) 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
- 4) 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
- 5) 小山 力: 赤痢アメーバの検出法, 教習用テキスト, 16 - 35
- 6) Neimeister, R., *et al.*: Modified Trichrome Staining Technique with a Xylene Substitute, J. Clin. Micro, 22, 306 - 307, 1985
- 7) Gleson, N.N. and Healy, G.: Modification and evaluation of Koh's one-step staining technic for intestinal protozoa in feces or tissue, Am. J. Clin. Path., 43, 494 - 497, 1965

コレステロール及び脂肪酸組成データを用いた アイスクリーム類中粗脂肪の主成分分析法による分類

久保倉 宏 一¹

The Classification of Fat in Ice Creams by the Principal Component Analysis using The Data of Cholesterol and Fatty Acid Composition

Kouichi KUBOKURA

アイスクリーム類の粗脂肪のコレステロール及び脂肪酸組成を測定し、得られたデータに対して主成分分析法を適用してその脂肪の由来を推定するための解析を行った。その結果、固有値が1以上の主成分は4個得られこの時の累積寄与率は82.6%であった。主成分に対する各測定項目の因子負荷量から第1主成分は乳脂肪の因子、第2主成分は卵脂肪の因子であると解釈された。さらに、因子得点により解析を行ったアイスクリーム類は大きく3つのグループに分けられ、この分類は製品表示の原材料油脂別の分類と良く一致した。以上の結果より、アイスクリーム類中の粗脂肪のコレステロールと脂肪酸組成を測定し主成分分析を行うことで、使用原材料油脂による製品の分別が可能であり、成分規格の乳脂肪の検査に有用であることが分かった。

Key words: アイスクリーム ice cream, 乳脂肪 milk fat, コレステロール cholesterol, 脂肪酸組成 fatty acid composition, 主成分分析 principal component analysis

I はじめに

乳及び乳製品の成分規格に関する省令¹⁾ではアイスクリーム類の理化学成分規格として乳固形分及び乳脂肪分の2つが定められている。このうち乳脂肪分の測定はレーゼ・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他の脂肪(異種脂肪)が含まれる場合には乳脂肪分のみ測定はできない。従って、成分規格の乳脂肪分の検査にあたっては抽出された脂肪中の乳脂肪の割合の推定や植物性脂肪の判別などの評価が必要とされる。

著者は前報²⁾においてコレステロールを指標として「アイスクリーム」脂肪分中の異種脂肪としての卵黄脂肪量の推定法について報告した。しかし、成分規格の乳脂肪分や乳固形分の検査において、異種脂肪の推定は「アイスクリーム」のみならず「アイスマルク」及び

「ラクトアイス」中の脂肪についても行う必要がある。

粗脂肪中の異種脂肪としての植物性脂肪の判定方法としては脂肪酸組成の違いを用いる方法³⁾がある。しかし、今までの判定方法は低級脂肪酸のみを用いる方法や、数種の特徴的な脂肪酸の組成の違いを利用したりする方法であり、脂肪酸組成測定により得られる多くのデータを有効に利用しているとは言いがたい。

そこで成分規格試験の乳脂肪の検査を行う際に、アイスクリーム粗脂肪中に乳脂肪が含有されているかどうかの判別を目的として、粗脂肪中のコレステロール及び脂肪酸組成を測定した。さらに、得られたデータを主成分分析法を用いて解析し、アイスクリーム粗脂肪の類別を試みたところ興味ある結果が得られたので報告する。

II 実験方法

1. 試料

アイスクリームは食品衛生監視員により市内の各製造

1, 福岡市衛生試験所 理化学課

表1. 分析を行ったアイスクリームの種類別及び表示

No.	種 類 別	乳 脂 肪 分(%)	植物性脂肪分(%)	使用油脂・原材料・表示
1	アイスクリーム	14.0以上		卵 黄
2	アイスクリーム	14.0		
3	アイスクリーム	14.0		
4	アイスクリーム	8.0以上		卵 黄
5	アイスクリーム	8.0以上		卵 黄
6	アイスマルク	6.9		卵
7	アイスマルク	6.9		卵
8	アイスマルク	5.0	1.0	ヤシ油、パーム油
9	アイスマルク	3.0	2.0	ヤシ油、パーム油
10	ラクトアイス		3.0	ヤシ油、パーム油
11	ラクトアイス		3.0	ヤシ油、パーム油
12	ラクトアイス		2.0	ヤシ油、パーム油、ナタネ油

所から収去されたもの12件を使用した。各製品の「種類別」、乳脂肪量及び原材料の表示の主なものを表1に示した。

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）

脂肪酸エステル：ガスクロ用標準品（ガスクロ工業製）

三フッ化ホウ素メタノール：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

電子天秤：PC-4400 (Mettler社)

エバポレータ：N-4型（東京理化学器械社製）

ブロックヒーター：TPB-33 (TOYO社製)

FIDガスクロマトグラフ：柳本G-2800, 180 GFID

インテグレーター：クロマトパックC-R1B (島津製作所)

パーソナルコンピューター：PC-9800 (日本電気)

4. 測定条件

コレステロール：

Column:

2%-OV 17 on Chromosorb
W (AW-DMCS)

Temp: Column 270 °C

Inj, Det 300 °C

Carrier gass: N₂ 2.0 kg/cm²

Sens 10⁻¹, range 1/16

Injection volume: 2 μl

脂肪酸

Column: Silar 10 C 0.23mm id × 50 m

Temp: Column 70 °C → 200 °C (4 °C/min)

Inj, Det 220 °C

Carrier gass: H₂ 1.0 kg/cm², Split ratio: 1/100

Make up gass: N₂ 20 ml/min

Injection volume: 1 μl

5. 試験溶液の調製⁴⁾

アイスクリーム中よりレーゼゴットリーブ法により脂質を抽出し粗脂肪量を測定した後、1N-KOHエタノールでケン化を行った。不ケン化物を抽出し、これをコレステロール試験溶液とし、またケン化部分より脂肪酸を抽出し三フッ化ホウ素メタノールでメチルエステル化しガスクロ溶液とした。

6. 主成分分析

固有値及び固有ベクトルの計算は古川らの報告⁵⁾のプログラムを使用した。

III 結 果

1. 粗脂肪量、コレステロール及び脂肪酸組成

今回分析を行った12件のアイスクリーム類の粗脂肪量及び脂肪中のコレステロール値、脂肪酸組成を表2に示した。

製品の表示と分析の結果を比較してみると、No. 1の製品については粗脂肪量が14.7%であるので、乳脂肪量の表示には問題はないと思われたが、fat baseのコレステロールは350 mg%と平均的乳脂肪中コレステロール値⁶⁾と同程度であるので、卵黄の使用は認めがたく表示が不適切であると思われた。

No. 7の製品については乳脂肪量は6.9%で卵使用と表示されていたが、実際の測定では粗脂肪量は3.9%でfat baseのコレステロールは290 mg%なので卵の使用は考えられずこの表示は全く不適切であると思われた。

2. コレステロール及び脂肪酸組成データ間の相関行列

表2のコレステロール値及び脂肪酸組成に対して相関行列を求めたところ、表3の結果となった。

この中で自由度10のときの1%の有意水準で相関関係を示す相関係数0.708を越えて正の高い相関係数を有

表2 アイスクリーム粗脂肪量, コレステロール及び脂肪酸組成測定結果

(単位; コレステロール: mg% fat base, 脂肪酸組成: %)

No	粗脂肪量	コレステロールC6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C15:1	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1	C18:2	
1	14.7%	350	2.2	1.4	3.2	0.3	3.5	10.9	1.5	1.4	0.8	32.6	1.4	0.6	0.4	10.3	24.6	1.8
2	14.7	300	2.0	1.4	3.2	0.4	3.8	12.5	2.0	1.2	0.3	32.1	1.7	0.5	0.3	9.8	21.6	1.5
3	14.4	330	2.2	1.9	3.6	0.4	4.0	12.2	2.0	1.1	0.3	29.8	1.6	0.6	0.3	10.0	23.4	1.9
4	10.6	1500	1.5	1.0	2.3	0.2	2.7	8.5	1.3	0.9	0.3	29.6	1.4	0.4	0.3	9.2	27.9	4.8
5	12.5	1400	2.4	1.4	2.7	0.3	2.8	9.1	1.4	0.9	0.0	27.9	1.8	0.4	0.3	8.9	26.8	3.6
6	10.4	1000	3.3	2.1	4.6	0.0	5.0	13.5	1.9	1.4	0.0	30.1	1.4	0.5	0.0	8.1	22.2	2.8
7	3.9	290	0.0	0.0	5.6	0.6	5.4	14.1	2.1	1.2	0.4	26.2	1.4	0.3	0.0	7.0	16.3	1.7
8	6.7	220	2.1	2.3	3.7	0.3	7.9	13.2	2.2	1.4	0.4	26.1	2.9	0.9	0.6	8.2	20.5	1.4
9	6.0	200	1.7	1.9	2.6	0.3	6.2	9.2	1.9	1.5	0.5	27.4	0.8	0.0	0.0	7.7	20.7	3.5
10	3.3	110	0.0	0.0	3.1	0.0	15.8	9.6	0.6	0.4	0.0	26.7	0.4	0.0	0.0	8.3	23.0	1.9
11	3.6	26	0.0	0.9	0.6	0.0	3.2	2.6	0.0	0.0	0.0	39.7	0.0	0.0	0.0	6.0	36.0	7.3
12	2.6	90	0.7	2.4	2.3	0.0	12.7	7.0	0.4	0.0	0.0	22.3	0.0	0.0	0.0	7.9	39.9	1.6

表3 脂肪酸組成とコレステロールの相関関係

C 6:0	0.5028																	
C 8:0	0.0282	0.6631																
C10:0	0.0631	0.2483	-0.1031															
C10:1	0.0179	0.1172	-0.1586	0.5374														
C12:0	-0.4775	-0.4560	-0.0908	0.0370	-0.4458													
C14:0	0.0995	0.4730	0.0747	0.9271	0.5911	-0.0524												
C14:1	0.1889	0.6.29	0.2310	0.7412	0.7427	-0.3690	0.8827											
C15:0	0.2299	0.6719	0.2177	0.6302	0.6191	-0.4230	0.7837	0.9315										
C15:1	-0.1586	0.2056	0.0460	0.2649	0.6271	-0.3295	0.3873	0.5446	0.6705									
C16:0	-0.0262	0.0096	-0.0909	-0.4474	-0.1253	-0.5960	-0.39.8	-0.2392	-0.0927	0.0425								
C16:1	0.3479	0.6234	0.2509	0.5167	0.5912	-0.3899	0.7213	0.8156	0.7472	0.4064	-0.1422							
C17:0	0.2784	0.6755	0.3479	0.4584	0.4508	-0.4214	0.6682	0.7014	0.6558	0.4278	0.0151	0.9203						
C17:1	0.2249	0.5015	0.3192	0.0579	0.3917	-0.3419	0.3369	0.4503	0.4393	0.4747	0.0262	0.8134	0.8530					
C18:0	0.3096	0.5966	0.2273	0.1706	0.3.3.	-0.2130	0.4250	0.4091	0.4242	0.4242	-0.0750	0.4636	0.5713	0.6285				
C18:1	-0.0525	-0.2796	0.2406	-0.7644	-0.6262	0.1441	-0.8295	0.8369	-0.8293	-0.4792	0.1542	-0.6338	-0.4609	-0.2268	0.2329			
C18:2	0.2431	-0.2593	-0.1653	-0.6422	-0.3773	-0.3524	-0.7190	-0.4805	-0.4407	-0.4665	0.5418	-0.3860	-0.4412	0.3366	-0.5695	0.4280		
chole	6:0	8:0	10:0	10:1	12:0	14:0	14:1	15:0	15:1	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1			

する組み合わせは,

- C14:0 * C10:0, C14:0 * C14:1, 14:0 * C15:0,
- C15:0 * C14:1, C15:0 * C16:1,
- C16:1 * C17:0, C16:1 * C17:1,
- C17:0 * C17:1

等であり, これらの多くは乳脂肪中に多く含まれる脂肪酸⁶⁾であった。

これらとは逆に負の大きな相関係数 (-0.750 以下) を有する組み合わせは,

- C 18:1 * C 10:0, C 18:1 * C 14:0,
- C 18:1 * C 14:1, C 18:1 * C 18:0

であり, これは植物性脂肪に特有な脂肪酸 C 18:1⁷⁾と乳脂肪に特有な脂肪酸の組み合わせであった。さらに負の相関係数を示すものの多くは, C 12:0, C 18:1 及び C 18:2 であって, このことはこれらの脂肪酸が植物性脂肪に多く含まれるという事実⁷⁾と一致していた。

コレステロールと脂肪酸の相関係数を見てみると, 正も負も相関係数の大きなものはみられない。このことは, 油脂の特性の測定においてコレステロールと脂肪酸とは

かなり異質な部分の測定をしていると考えられ, コレステロールの測定も重要な意味を持つと考えられる。

3. コレステロールと脂肪酸組成の主成分分析

抽出された粗脂肪が純粋な乳脂肪であるか, 植物性脂肪などの異種脂肪が混入されているのかなどを判定するために, コレステロールと脂肪酸組成の相関行列に対し主成分分析を行った。

その結果主成分分析で有効とされる固有値が1以上の固有ベクトルは4個得られた。さらに, この固有値と固有ベクトルより求められる因子負荷量を第3主成分まで表4に示し, 同時に各項目の寄与率も示した。

第4主成分までの累積寄与率は82.6%であり, このことは17測定項目の持つ情報量の損失を2割弱に押さえて, 4個の主成分で粗脂肪の特性を説明できることを意味している。従ってアイスクリーム類より抽出された粗脂肪中のコレステロールと脂肪酸組成データに対する今回の主成分分析は有用であると考えられた。さらに, 主成分の数を減らして2つとしたきでも累積寄与率は63.0%と高い値だったので2主成分を用いた解釈でも

表4. 固有値1以上の固有ベクトル及びその固有値

項目	E 1	E 2	E 3	E 4
コレステロール	0.0893	0.3081	0.0064	0.5383
C 6 : 0	0.2383	0.2998	0.2507	0.2052
C 8 : 0	0.0843	0.2309	0.4885	-0.0341
C10:0	0.2493	-0.3360	-0.0419	0.2679
C10:1	0.2509	-0.1054	-0.3273	-0.1511
C12:0	-0.1321	-0.4192	0.3724	-0.0574
C14:0	0.3132	-0.2269	0.0335	0.1574
C14:1	0.3352	-0.0608	-0.0813	0.2296
C15:0	0.3234	0.0042	-0.1153	0.0698
C15:1	0.2196	-0.0189	-0.1887	-0.4975
C16:0	-0.0745	0.3591	-0.3991	-0.1784
C17:0	0.3020	0.1822	0.0934	-0.0671
C17:1	0.2336	0.2599	0.1326	-0.3173
C18:0	0.2171	0.1508	0.2235	-0.2245
C18:1	-0.2733	0.2240	0.2656	-0.1323
C18:2	-0.2193	0.3020	-0.2965	0.2636
固有値	7.91	2.79	1.94	1.39
寄与率 (%)	46.53	16.41	11.41	8.18
(累積寄与率) (%)		(62.94)	(74.35)	(82.53)

表5. 第3主成分までの因子負荷量及び各項目の寄与率

項目	Z 1	Z 2	寄与率 (%)	Z 3	寄与率 (%)
コレステロール	0.2512	0.5146	57.26	0.0089	57.27
C 6 : 0	0.6702	0.5008	83.66	0.3492	90.66
C 8 : 0	0.2371	0.3857	45.27	0.6804	81.73
C10:0	0.7011	-0.5612	89.81	-0.0584	90.00
C10:1	0.7056	-0.1761	72.73	-0.4559	85.83
C12:0	-0.3715	-0.7002	79.27	0.5187	94.73
C14:0	0.8809	-0.3790	95.89	0.0467	96.01
C14:1	0.9427	-0.1016	94.82	-0.1132	95.49
C15:0	0.9096	0.0070	90.96	-0.1606	92.36
C15:1	0.6176	-0.0316	61.84	0.2628	67.20
C16:0	-0.2095	0.5998	63.54	-0.5559	84.42
C16:1	0.8941	0.1887	91.38	0.0256	91.41
C17:0	0.8494	0.3043	90.22	0.1301	91.16
C17:1	0.6570	0.4341	78.75	0.1847	80.88
C18:0	0.6106	0.2519	66.05	0.3113	73.02
C18:1	-0.7686	0.3742	85.49	0.3699	93.15
C18:2	-0.6168	0.5044	79.68	-0.4130	89.75

粗脂肪の性質をある程度明らかにできると思われた。

主成分1 (Z1) 及び主成分2 (Z2) に対する各測定値の重要性を考えるために、図1にZ1, Z2に対す各測定項目の因子負荷量の散布図を示した。この図よりC8:0を除いた測定項目は全て寄与率0.5の円の外側にあり、また寄与率1.0の円周近くに多くの測定項目が分

布していることが分かる。このことから、第2主成分までに各測定項目が大きな寄与をしているということであり、言い換えれば各測定項目の中には油脂の性質の記述に不必要なものはなく全て重要な測定項目であるということである。Z2までの寄与率が0.5以下のC:8もZ3までの寄与率を見ると0.817であり、やはり意味ある測

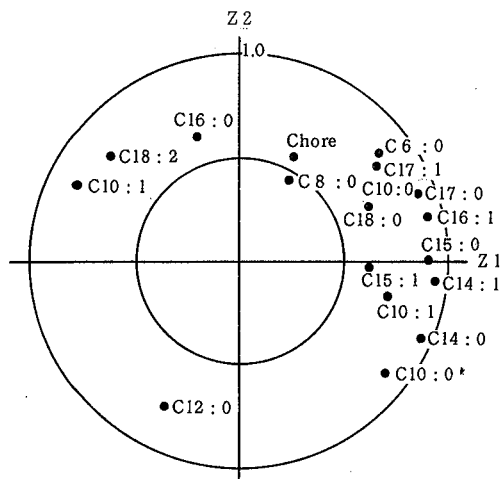


図1. 因子負荷量のZ1、Z2散布図

定項目であると言える。

つぎに、Z1、Z2の持つ意味を考えてみたところ、まずZ1については正の大きな負荷量を持つ項目は表4よりC14:0、C14:1、C16:1や奇数脂肪酸であり、これらの脂肪酸は植物性脂肪よりも乳脂肪に多く含まれている脂肪酸⁹⁾である。逆に負の大きな負荷量を持つ項目はC18:1、C18:2であり、これらは植物性脂肪に多く含まれている脂肪酸である。これらのことより、Z1は乳脂肪の因子と考えることができる。

Z2について、正の大きな負荷量を持つ項目はコレステロール、C16:1、C18:1などでありこれらは卵成分に多いものである。逆に負の大きな負荷量を持つ項目はC12:0、C16:0であり、これらは卵成分に少ないものである。従って、Z2は卵の因子であると考えこ

表6. 今回分析を行った製品のZ1、Z2、Z3得点

No.	Z1	Z2	Z3
1	1.3085	0.2692	-0.0548
2	0.9637	0.1207	-0.1456
3	1.0177	0.2545	0.0872
4	0.0347	1.1075	-0.3423
5	0.2986	1.0703	0.0702
6	0.4327	0.4378	0.6001
7	0.6038	-1.4008	-1.3279
8	1.8578	0.3753	0.6546
9	-0.0928	-0.3542	-0.3853
10	-1.7017	-1.5410	0.2541
11	-2.7526	0.4014	-0.6355
12	-1.9703	-0.7407	1.2261

とができる。

4. 因子得点による抽出脂肪の分類

Z1、Z2、Z3に対する各粗脂肪の因子得点を表6に、またZ1およびZ2の散布図を図2に示した。

この散布図においてサンプルは図2に示したように大きく次の3つのグループに分けることができる。

- Aグループ：Z1得点が大きく、Z2得点が0に近い
- Bグループ：Z1正でかつ、Z2得点が多い
- Cグループ：Z1得点が負の大きな値である

これらグループの持つ意味は、AグループはZ1因子即ち乳脂肪因子が大きく、Z2因子即ち卵成分の因子が0に近いことから純粋な乳脂肪に近いグループであると考えられる。BグループはZ1因子はAグループより少し小さいが、Z2因子が大きいことが特徴である。そこでこのグループは、乳脂肪に卵黄脂肪が混入しているのではないかと考えられる。CグループはZ1因子が負の大きな値であることから、植物性脂肪であると考えられる。

この因子得点から分類解釈されたグループ分けを表1の製品の表示と比較してみると、両者は非常によく一致していることが分かる。

さらに例数は少ないが上記3グループに分類されないNo.7、No.9は乳脂肪と植物性脂肪の混合油脂であると考えられる。

IV 考 察

主成分分析法は多変量解析法に一手法である。一般にn個の変量によって説明される個体(事象)はn次元空間に分布しているのであるが、我々は3次元までは考えることはできるがn次元空間に分布している様子を想像することはできない。そこで、n次元空間の分布の様子を最も良く表すことができるように、我々が考えるこ

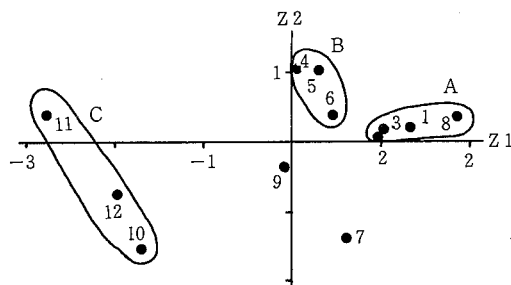


図2. 各種アイスクリーム中脂肪のZ1、Z2スコア散布図

とができる2次元あるいは3次元空間に投影することが主成分分析であると言える。言い換えると、多くの変数の持つ情報量のロスを最少限に抑えながら、生のデータをより少ない合成変量である主成分にまとめ上げることである。この主成分分析法も含めて多変量解析には莫大な計算量が必要とされるが、現在のコンピュータの発達がこの解析法をより身近なものとしたと言える。

主成分分析を食品の分類に適用した例も最近報告⁹⁻¹¹⁾されつつあるが、アイスクリームに適用した例は見当たらない。

また、異種脂肪の検出法と言った面から考えると、脂肪酸測定による方法¹⁾もいくつかある。これらの方法は、例えば低級脂肪酸の測定を応用した方法ではC4/C6, C6/C8, C12/C10というような特定の脂肪酸のみに着目して方法であり、脂肪酸組成測定の全データを利用する方法ではない。また、全脂肪酸組成を利用するような報告¹¹⁾もあるが、この場合でも脂肪酸組成を並べて互いに比較しやはり判断の基準には特定脂肪酸の比が用いられている。

以上のような点から考えて、主成分分析法により全測定項目を用い個人の主観を交えない客観的な方法で解析を行うことは有用なことである。

主成分分析の成否は、いかに少数の主成分に結果をまとめられるか更にその主成分を利用してどれだけ現実を説明することができるかということでもある。この点から今回の分析結果を考えると、抽出された主成分は4主成分であったがこのうち2主成分を用いても図2に示したように粗脂肪の特性を良く説明できた。ここでのグループ分けは製品の使用原材料から良く裏付けられ、現実を十分に説明することができ満足する結果が得られたと考えられる。

しかし、今回の主成分分析を行ったサンプルの数は12件と数が少なく、更に原材料に使用されている植物性脂肪は表1のとおりやし油とパーム油ほとんどであった。今後は更にサンプル数を増やし、また使用されている植物性油脂の種類も増やせば更に興味ある結果が得られると考えられる。

市販されているアイスクリームの種類は非常に多く、その使用原材料も様々である。このような傾向は今後も続くと考えられ、乳の成分規格である乳脂肪の検査における異種脂肪の検査の重要性は今後ますます大きくなると思われる。この目的のために、今回の主成分分析法という解析法は一つの有効な手段になると思われた。

本研究の要旨は第35回福岡県公衆衛生学会(福岡市:昭和63年5月12日)において発表した。

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,昭和26年12月27日,省令第52号
- 2) 久保倉宏一: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量推定法,福岡市衛試報,12,67,1987
- 3) 日本薬学会:衛生試験法注解,264,金原出版,東京,1980
- 4) 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
- 5) 古川滝雄 他:富栄養化海域でのクロロフィルa濃度と環境因子の解析,福岡市衛試所報,10,37,1985
- 6) 油脂及び油脂製品試験法部会・ガスクロデータ小委員会編:油化学,27,814,1978
- 7) 食品成分研究会:食品の含有量表,医歯薬出版,東京,1983
- 8) 溝渕 彦:インスタントラーメン中の油脂の脂肪酸組成及びその特徴について,衛生化学,31,343,1985
- 9) 玉城 武 他:泡盛りの新酒及び古酒の主成分分析法による類別,発酵工学,64,65,1986
- 10) 小泉幸道:市販調理済みカレーの脂肪酸組成と遊離脂肪酸,日食工誌,33,323,1986
- 11) 中村洋子 他:乳脂肪の脂肪酸組成,栃木衛研所報,15,63,1985

福岡市における食品中のPCB残留量の調査結果

—牛乳および生乳—

久保倉 宏¹・廣中博見²・木内佳伸¹

The Survey of PCBs' Residual Level in Foods in Fukuoka City —Liquid Milk and Raw Milk—

Koichi KUBOKURA, Hiromi HIRONAKA and Yosinobu KIUCHI

昭和48年度から昭和62年度に福岡市内に流通する牛乳203件中のPCB濃度および昭和54年度から昭和62年度に福岡市内で生産された生乳338件中のPCB濃度の調査を行ったところ、次の結果であった。

- 1) 市販乳および生乳とも、牛乳中の暫定基準値0.1 ppmを越えて検出されることはなかった。
- 2) PCB濃度の経年的傾向は昭和48年度調査開始当初は減少傾向であったが、昭和52～53年以降はおおきな変化は見られず横這い傾向であった。
- 3) 市販乳と生乳中のPCB濃度を比較した場合、生乳中のPCB濃度のほうが変動が大きい傾向が見られた。

Key words: PCB, 残留量 residual level, 牛乳 milk, 生乳 raw milk

I はじめに

昭和43年夏頃より西日本一帯で発生したカネミ油症事件は我が国における食品公害の中で最も有名なもののひとつであり、この事件を契機として食品中のPCBの暫定基準値¹⁾が定められPCBの分析法についても研究が行われた。これと同時にPCBの残留濃度調査が各種食品について行われ²⁾、当衛生試験所でも母乳、牛乳、食肉、卵及び魚介類等についてPCB濃度の残留量調査³⁾を行ってきた。今回、昭和48年からの福岡市における牛乳及び生乳のPCB濃度のデータについてまとめたので報告する。

II 実験方法

1. 試料

牛乳については福岡市内の製造所にて製造されたもの

- 1) 福岡市衛生試験所理化学課
- 2) 福岡市環境局環境保全部

及び市内の販売店にて食品監視員により取去されたものを試料とした。

生乳は市内の畜産農家にて取去されたものを試料とした。

2. 試験方法

「厚生省PCB分析研究班報告書」に記載された方法⁴⁾、または血液中PCBの分析法の直接アルカリ分解法⁵⁾に準じて行った。クリーンアップ法にはシリカゲルカラム法または発煙硫酸法⁶⁾を用いた。定量はKC 500またはKC 500:KC 600=1:1を標準としたパターン法により、pp'-DDEのピーク以後のPCBピークを用い計算を行った。

乳脂肪分はゲルベル法により測定した。

III 結果及び考察

昭和48年度から62年度までの牛乳(加工乳を含む)の収去年月日、PCB分析結果、乳脂肪分及び脂肪換算PCB濃度を表1に、また昭和54年度から62年度までの生乳中のPCB分析結果を同様に表2に示した。

表1-1 牛乳中PCB分析結果

サンプル日 PCB fat base 乳脂肪 備考					サンプル日 PCB fat base 乳脂肪 備考						
		(ppb)	(ppb)	(%)			(ppb)	(ppb)	(%)		
昭和48年度	480906	0.80	—	—	昭和48年度	570520	0.80	23.53	3.4		
	480906	1.00	—	—		570520	0.60	18.18	3.3		
	480906	0.60	—	—		570520	1.10	32.35	3.4		
	480906	1.00	—	—		570520	1.00	—	—		
	480906	2.00	—	—		昭和58年度	580519	0.64	18.82	3.4	
	480906	1.00	—	—			580519	0.46	12.43	3.7	加工乳
	480906	1.00	—	—			580519	0.63	18.53	3.4	
	480906	0.80	—	—			580519	0.47	11.46	4.1	加工乳
	480906	1.00	—	—			580519	0.56	15.56	3.6	
480906	1.00	—	—	580519	0.58	14.15	4.1	加工乳			
昭和49年度	490507	1.00	—	—	昭和49年度	580825	0.40	10.53	3.8		
	490507	2.00	—	—		580825	0.50	13.33	3.8		
	490507	2.00	—	—		580825	0.40	11.76	3.4		
	490507	3.00	—	—		580825	0.60	16.67	3.6		
	490507	2.00	—	—		580825	0.60	16.67	3.6		
昭和50年度	500404	1.00	—	—	昭和50年度	580825	0.30	7.89	3.8		
	500404	2.00	—	—		580825	0.40	11.11	3.6		
	500404	2.00	—	—		昭和58年度	581116	0.60	15.38	3.9	
	500404	2.00	—	—			581116	0.70	17.50	4.0	加工乳
	500404	2.00	—	—			581116	0.40	10.81	3.7	
	500404	1.00	—	—			581116	0.50	12.20	4.1	
	500404	2.00	—	—			581116	0.50	13.16	3.8	
	500404	2.00	—	—		581116	0.60	17.14	3.5	加工乳	
	500404	1.00	—	—		581116	0.60	17.14	3.5		
500404	1.00	—	—	昭和59年度	590220	0.50	13.16	3.8			
500404	2.00	—	—		590220	0.40	10.26	3.9	加工乳		
昭和51年度	520314	0.80	25.81		3.1	590221	0.15	4.41	3.4		
	520314	1.60	51.61		3.1	590221	0.20	5.71	3.5	加工乳	
	520314	0.90	27.27		3.3	590221	0.30	7.32	4.1	加工乳	
	520314	0.80	26.67	3.0	590221	0.30	7.89	3.8			
	520314	0.70	21.88	3.2	590221	0.40	10.81	3.7			
	520314	0.90	28.13	3.2	590221	0.30	8.11	3.7			
	520314	1.20	36.36	3.3	昭和59年度	590516	0.14	4.00	3.5		
	520314	1.30	41.94	3.1		590516	0.14	3.68	3.8	加工乳	
昭和52年度	530123	1.00	—	—		590516	0.10	2.94	3.4		
	530123	1.10	—	—		590516	0.26	7.65	3.4		
	530123	0.70	—	—		590516	0.07	5.00	1.4	加工乳	
	530123	0.90	—	—		590516	0.07	1.94	3.6	加工乳	
	530123	1.70	—	—		590516	0.14	4.00	3.5		
530123	1.00	—	—	590516		0.22	5.24	4.2	加工乳		
昭和53年度	531018	0.80	24.24	3.3	590516	0.14	4.38	3.2			
	531020	0.70	22.58	3.1	590516	0.18	4.50	4.0	加工乳		
	531020	0.50	14.71	3.4	590516	0.14	4.00	3.5			
	531020	0.70	22.58	3.1	590516	0.14	4.00	3.5			
	531020	0.50	15.15	3.3	590516	0.26	7.22	3.6			
	531020	0.60	18.18	3.3	590516	0.13	3.51	3.7			
	531020	0.70	22.58	3.1	590516	0.17	4.86	3.5			
	531020	0.50	16.13	3.1	590516	0.28	7.78	3.6			
	531020	0.30	8.82	3.4	590516	0.10	2.70	3.7			
昭和56年度	560907	0.10	2.86	3.5	590516	0.10	2.78	3.6			
	560907	0.20	6.06	3.3							
	560907	0.30	9.09	3.3							
	560914	0.10	2.94	3.4							

表1-2 牛乳中PCB分析結果

サンプル日		PCB (ppb)	fat base (ppb)	乳脂肪 (%)	備考	サンプル日		PCB (ppb)	fat base (ppb)	乳脂肪 (%)	備考
昭和59年度 (つづき)	591113	0.60	15.79	3.8		昭和61年度 (つづき)	620112	0.38	10.27	3.7	
	591113	0.40	10.81	3.7			620112	0.36	9.73	3.7	
	591113	0.30	7.32	4.1			620112	0.29	7.63	3.8	
	591113	0.40	10.00	4.0			620112	0.36	9.00	4.0	加工乳
	591113	0.40	10.81	3.7			620112	0.44	13.33	3.3	
	591113	0.40	10.81	3.7			620112	0.39	9.75	4.0	加工乳
	591113	0.20	5.26	3.8			620112	0.41	11.39	3.6	加工乳
	591113	0.20	5.26	3.8			620112	0.42	12.00	3.5	
	591113	0.30	8.11	3.7			620112	0.39	11.82	3.3	
	591113	0.70	17.95	3.9			620112	0.38	9.74	3.9	
	591113	0.30	8.11	3.7			620112	0.29	7.84	3.7	
	600208	0.30	8.57	3.5			620112	0.32	8.89	3.6	
	600208	0.18	5.14	3.5			620112	0.25	7.35	3.4	
	600208	0.40	10.53	3.8	加工乳		620112	0.44	13.33	3.3	
	600208	0.50	13.16	3.8			620112	0.24	6.49	3.7	加工乳
	600208	0.20	6.06	3.3			620112	0.15	10.00	1.5	加工乳
	600208	0.06	4.00	1.5	加工乳		620112	0.16	4.57	3.5	
	600208	0.13	3.71	3.5			620609	0.28	8.00	3.5	
600208	0.70	20.59	3.4		620609	0.31	7.38	4.2	加工乳		
600208	0.11	3.14	3.5		620609	0.38	10.00	3.8	加工乳		
昭和60年度	600618	0.24	7.06	3.4		620609	0.48	13.71	3.5	加工乳	
	600618	0.50	13.89	3.6	加工乳	620609	0.35	10.00	3.5		
	600618	0.56	16.00	3.5		620609	0.35	10.29	3.4		
	600618	0.54	16.36	3.3		620609	0.29	6.90	4.2	加工乳	
	600618	0.55	16.18	3.4		620609	0.43	11.03	3.9	加工乳	
	600618	0.43	12.65	3.4		620616	0.27	7.71	3.5		
	600618	0.77	24.06	3.2		620616	0.29	6.90	4.2		
	600618	0.59	16.39	3.6	加工乳	620616	0.23	6.22	3.7		
	600618	0.18	5.29	3.4		620616	0.12	7.50	1.6	加工乳	
	600618	0.19	5.59	3.4		620616	0.35	9.46	3.7		
	600618	0.46	13.53	3.4		620616	0.21	6.00	3.5		
	600618	0.54	15.43	3.5		620616	0.30	8.57	3.5		
	600618	0.46	14.38	3.2		620616	0.29	8.29	3.5		
	600618	0.45	13.24	3.4		620616	0.25	7.35	3.4		
	600618	0.29	8.29	3.5		620616	0.32	8.00	4.0	加工乳	
	昭和61年度	610116	0.41	11.39	3.6		620126	0.34	8.72	3.9	
		610116	0.61	16.81	3.6	加工乳	630126	0.37	10.00	3.7	
		610116	0.35	8.51	4.1	加工乳	630126	0.25	6.41	3.9	加工乳
610116		0.16	4.49	3.5		630126	0.42	9.55	4.4	加工乳	
610116		0.44	11.63	3.8	加工乳	630126	0.41	11.39	3.6	加工乳	
610116		0.30	8.05	3.7		630126	0.26	6.50	4.0	加工乳	
610116		0.26	8.39	3.1		630126	0.52	13.68	3.8		
610116		0.56	14.28	3.9	加工乳	630126	0.58	16.57	3.5		
610116		0.37	7.16	5.1		630126	0.27	6.92	3.9	加工乳	
610116		0.29	7.89	3.7		630126	0.34	9.44	3.6		
610116		0.34	10.63	3.2		630126	0.73	20.28	3.6		
610116		0.49	12.82	3.8		630126	0.67	18.61	3.6		
610116		0.59	14.49	4.1		630126	0.79	52.67	1.5	加工乳	
610116		0.29	8.70	3.3		630126	0.38	7.17	5.3		
610116		0.16	16.40	1.0	加工乳	630126	0.35	9.46	3.7		
610610	0.50	12.82	3.9	加工乳	630126	0.36	10.29	3.5			
610610	0.49	14.41	3.4		630126	0.46	11.50	4.0	加工乳		
610610	0.29	8.06	3.6								
610610	0.11	3.14	3.5								
610610	0.24	6.86	3.5								
610610	0.17	3.95	4.3	加工乳							
610610	0.29	8.29	3.5								
610610	0.35	8.75	3.3								

表2-1 生乳中PCB分析結果

サンプル日					サンプル日						
PCB (ppb)	fat (ppb)	base (ppb)	乳脂肪 (%)	備考	PCB (ppb)	fat (ppb)	base (ppb)	乳脂肪 (%)	備考		
540411	0.30	8.57	3.5	横浜	昭和54年度	550618	0.10	2.86	3.5	重留	
540411	0.14	10.77	1.3	田尻		550618	0.10	2.63	3.8	中山	
540411	0.30	8.57	3.5	元岡		550618	0.05	1.92	2.6	中山	
540411	0.30	8.11	3.7	元岡		550618	0.10	3.03	3.3	中山	
540411	0.50	15.15	3.3	元岡		550625	0.30	8.57	3.5	東入部	
540411	0.18	6.21	2.9	元岡		550625	0.20	5.56	3.6	東入部	
540411	0.60	17.65	3.4	田尻		550625	0.20	5.88	3.4	東入部	
540411	0.40	12.12	3.3	元岡		550625	0.05	1.35	3.7	金武	
540411	0.60	21.43	2.8	千里		550625	0.10	2.78	3.6	今宿	
540411	0.50	14.71	3.4	今宿		550625	0.05	1.61	3.1	元岡	
540411	0.30	15.00	2.0	金武		550625	0.05	1.19	4.2	元岡	
540411	0.40	12.50	3.2	東入部		550625	0.05	1.35	3.7	元岡	
540411	0.50	14.29	3.5	東入部		550625	0.05	1.39	3.6	元岡	
540411	0.30	8.33	3.6	東入部		550625	0.05	2.17	2.3	元岡	
540411	0.50	13.51	3.7	東入部		550625	0.05	1.39	3.6	元岡	
540411	0.30	9.38	3.2	重留		550625	0.05	2.08	2.4	元岡	
540411	0.60	17.65	3.4	東入部		550625	0.05	2.08	2.4	元岡	
540411	0.60	17.65	3.4	脇山		550625	0.10	3.70	2.7	千里	
540411	0.70	20.00	3.5	元岡		昭和55年度	560514	0.40	18.18	2.2	東入部
540411	0.60	16.67	3.6	元岡			560514	0.50	14.29	3.5	東入部
540411	0.20	5.88	3.4	元岡			560514	0.30	8.11	3.7	東入部
540411	0.90	25.71	3.5	元岡			560514	0.30	8.57	3.5	重留
540411	0.60	16.22	3.7	元岡			560514	0.50	14.29	3.5	東入部
540925	0.50	13.51	3.7	東入部			560514	0.30	9.38	3.2	東入部
540925	0.50	13.16	3.8	東入部	560514		0.60	22.22	2.7	金武	
540925	0.50	13.89	3.6	東入部	560514		0.50	13.16	3.8	太郎丸	
540925	0.30	9.68	3.1	東入部	560514		1.00	28.57	3.5	太郎丸	
540925	0.50	13.89	3.6	重留	560514		0.70	20.59	3.4	元岡	
540925	0.50	13.89	3.6	東入部	560514		0.60	17.14	3.5	元岡	
540925	0.40	11.43	3.5	脇山	560514		0.40	11.76	3.4	太郎丸	
540925	0.30	8.33	3.6	金武	560514		0.80	25.00	3.2	元岡	
540925	0.50	14.29	3.5	千里	560514		0.40	12.50	3.2	元岡	
540925	0.50	14.71	3.4	今宿	560514		0.80	22.86	3.5	元岡	
540925	0.30	8.57	3.5	横浜	560514		0.80	22.22	3.6	元岡	
540925	0.70	20.00	3.5	元岡	昭和55年度		560527	0.80	22.22	3.6	元岡
540925	1.00	27.78	3.6	元岡			560527	0.70	19.44	3.6	元岡
540925	0.70	21.21	3.3	元岡			560527	0.50	12.50	4.0	元岡
540925	0.30	9.68	3.1	元岡			560527	0.70	20.00	3.5	元岡
540925	1.00	27.78	3.6	元岡			560527	0.50	14.71	3.4	元岡
540925	1.50	45.45	3.3	元岡			560527	0.40	11.76	3.4	元岡
540925	1.00	28.57	3.5	元岡			560527	0.70	18.92	3.7	千里
540925	0.60	17.14	3.5	元岡			560527	0.50	16.13	3.1	今宿
540925	1.00	28.57	3.5	元岡		560527	0.50	14.71	3.4	東入部	
550618	0.30	8.82	3.4	横浜		560527	0.40	12.12	3.3	東入部	
550618	0.10	2.86	3.5	元岡		560527	0.30	8.33	3.6	脇山	
550618	0.10	2.78	3.6	元岡		560527	0.50	15.63	3.2	中山	
550618	0.30	8.33	3.6	太郎丸		560527	0.60	17.65	3.4	中山	
550618	0.20	5.56	3.6	太郎丸		昭和57年度	570511	0.70	20.00	3.5	元岡
550618	0.20	5.26	3.8	太郎丸			570511	0.70	19.44	3.6	元岡
550618	0.30	9.38	3.2	元岡			570511	0.90	25.00	3.6	元岡
550618	0.05	1.52	3.3	元岡	570511		0.50	13.51	3.7	元岡	
550618	0.10	3.03	3.3	東入部	570511		1.00	26.32	3.8	元岡	
550618	0.40	11.11	3.6	東入部	570511		0.90	23.08	3.9	元岡	
550618	0.20	6.45	3.1	東入部	570511		0.50	13.51	3.7	元岡	
550618	0.10	3.03	3.3	東入部	570511		0.60	18.18	3.3	元岡	

表2-2 生乳中PCB分析結果

サンプル日		PCB (ppb)	fat base (ppb)	乳脂肪 (%)	備考	サンプル日		PCB (ppb)	fat base (ppb)	乳脂肪 (%)	備考	
昭和57年度 (つづき)	570511	0.70	17.95	3.9	元岡	昭和58年度 (つづき)	581121	0.40	11.43	3.5	元岡	
	570511	0.80	21.05	3.8	元岡		581121	1.10	30.14	3.7	元岡	
	570511	0.80	22.22	3.6	元岡		581121	2.40	60.76	4.0	田	
	570511	0.70	21.88	3.2	西		581121	1.10	26.51	4.2	千里	
	570511	0.60	18.75	3.2	東入部		581121	0.40	11.11	3.6	今宿	
	570511	0.50	14.71	3.4	東入部		581121	0.40	12.12	3.3	西	
	570511	0.70	19.44	3.6	西		581121	0.50	12.99	3.9	西	
	570512	0.70	21.88	3.2	東入部		581121	0.30	7.41	4.1	椎原	
	570512	0.70	20.00	3.5	東入部		581121	0.30	8.96	3.4	脇山	
	570512	0.40	11.11	3.6	東入部		581121	0.50	10.20	4.9	脇山	
	570512	0.40	11.43	3.5	東入部		581121	0.40	7.48	5.4	椎原	
	570512	0.70	21.21	3.3	東入部		581122	1.90	46.34	4.1	名子	
	570512	0.70	18.92	3.7	東入部		581122	0.50	11.24	4.5	勝馬	
	570512	1.10	34.38	3.2	脇山		昭和59年度	590515	0.22	6.11	3.6	東入部
	570512	0.50	12.82	3.9	脇山			590515	0.36	10.00	3.6	東入部
	570512	0.60	13.33	4.5	脇山			590515	0.26	7.22	3.6	東入部
	570512	0.70	21.21	3.3	太郎丸			590515	0.25	6.94	3.6	東入部
	570512	1.10	33.33	3.3	太郎丸			590515	0.52	13.33	3.9	東入部
	570512	0.80	22.86	3.5	元岡			590515	0.23	6.76	3.4	東入部
	570512	0.40	13.33	3.0	元岡			590515	0.36	9.47	3.8	中山
570512	0.40	11.43	3.5	元岡	590515	0.20		6.06	3.3	脇山		
570512	0.70	20.59	3.4	千里	590515	0.32		3.44	9.3	脇山		
570512	0.50	16.13	3.1	今宿	590515	0.23		6.57	3.5	脇山		
570512	0.40	11.76	3.4	脇山	590515	0.32		8.00	4.0	太郎丸		
昭和58年度	580511	0.60	17.91	3.4	東入部	590515		0.17	4.47	3.8	太郎丸	
	580511	0.30	8.93	3.4	東入部	590515		0.22	5.37	4.1	元岡	
	580511	0.30	7.96	3.8	東入部	590515		0.22	5.79	3.8	元岡	
	580511	0.30	8.77	3.4	東入部	590515		0.36	10.00	3.6	太郎丸	
	580511	0.40	11.30	3.5	東入部	590515		0.59	16.86	3.5	元岡	
	580511	0.90	22.50	4.0	東入部	590515		0.22	6.29	3.5	元岡	
	580511	0.50	12.63	4.0	四箇	590515		0.17	4.59	3.7	元岡	
	580511	0.60	17.14	3.5	飯盛	590515		0.23	6.57	3.5	元岡	
	580511	0.30	8.17	3.7	元岡	590515		0.34	9.19	3.7	太郎丸	
	580511	0.50	14.29	3.5	元岡	590515	0.36	13.85	2.6	元岡		
	580511	0.40	11.08	3.6	太郎丸	590515	0.43	11.94	3.6	元岡		
	580511	0.30	7.58	4.0	太郎丸	590515	0.29	7.84	3.7	元岡		
	580511	0.40	11.90	3.4	太郎丸	590515	0.15	4.05	3.7	元岡		
	580511	0.50	15.53	3.2	元岡	590515	0.27	7.94	3.4	元岡		
	580511	0.20	5.78	3.5	元岡	昭和59年度	591107	0.20	5.13	3.9	脇山	
	580511	0.40	13.25	3.0	元岡		591107	0.60	12.24	4.9	脇山	
	580511	0.70	21.41	3.3	脇山		591107	0.50	5.56	9.0	脇山	
	580511	0.70	23.89	2.9	脇山		591107	0.16	3.14	5.1	脇山	
	580511	0.30	8.22	3.7	脇山		591107	0.40	10.00	4.0	脇山	
	580511	0.30	5.85	5.1	脇山		591107	0.16	4.21	3.8	脇山	
580511	0.30	6.80	4.4	脇山	591107		0.15	4.29	3.5	脇山		
580511	0.20	3.97	5.0	脇山	591107		0.20	4.76	4.2	西入部		
580511	0.30	8.80	3.4	脇山	591107		0.18	4.19	4.3	四箇		
580511	0.40	12.42	3.2	脇山	591107		0.60	15.38	3.9	田		
580511	0.20	5.78	3.5	脇山	591107	0.40	10.26	3.9	門戸口			
580511	0.30	8.40	3.6	脇山	591107	0.20	4.76	4.2	東入部			
581121	1.30	35.62	3.7	日佐	591107	0.20	5.26	3.8	千里			
581121	2.40	62.34	3.9	元岡	591107	0.30	8.82	3.4	今宿			
581121	1.20	29.63	4.1	元岡	591107	0.50	11.36	4.4	飯盛			
581121	0.70	17.95	3.9	元岡	600508	1.00	27.03	3.7	名子			
581121	0.60	15.79	3.8	元岡	600508	0.35	10.00	3.5	脇山			

表2-3 生乳中PCB分析結果

サンプル日	PCB (ppb)	fat base (ppb)	乳脂肪 (%)	備考	サンプル日	PCB (ppb)	fat base (ppb)	乳脂肪 (%)	備考		
昭和60年度	600508	0.31	6.46	4.8	鷗山	昭和61年度(つづき)	610507	0.34	8.72	3.6	太郎丸
	600508	0.23	6.39	3.6	鷗山		610507	0.76	24.52	3.7	太郎丸
	600508	0.43	13.44	3.2	鷗山		610507	0.22	6.67	3.1	太郎丸
	600508	0.69	16.43	4.2	鷗山		610507	1.50	42.86	3.5	田尻
	600508	0.30	9.09	3.3	鷗山		610507	0.28	7.78	3.3	元岡
	600508	0.28	7.78	3.6	中山		610507	0.70	18.92	3.4	元岡
	600508	0.32	8.65	3.7	中山		610507	0.30	9.68	3.1	田尻
	600508	0.34	10.30	3.3	東入部		611007	0.26	7.43	4.6	小笠木
	600508	0.29	7.84	3.7	東入部		611007	0.15	4.55	3.4	門戸口
	600508	0.40	10.53	3.8	東入部		611007	0.26	7.65	4.1	入部
	600508	0.71	20.88	3.4	東入部		611007	0.80	25.81	3.5	入部
	600508	0.36	8.78	4.1	東入部		611007	0.24	5.22	3.3	田
	600508	0.29	8.53	3.4	田尻		611007	0.37	10.88	3.9	四箇
	600508	0.39	10.83	3.6	田尻		611007	0.25	6.10	3.2	西入部
	600508	0.24	6.86	3.5	太郎丸		611007	0.20	5.71	3.2	東入部
	600508	0.40	10.53	3.8	太郎丸		611007	0.21	6.36	3.4	東入部
	600508	0.29	7.84	3.7	太郎丸		611007	0.27	6.92	4.1	東入部
	600508	0.36	10.91	3.3	太郎丸		611007	0.64	20.00	4.1	飯盛
	600508	0.44	13.33	3.3	太郎丸		611007	0.20	6.25	3.3	今宿
	昭和61年度	600508	0.32	8.65	3.7		太郎丸	611007	0.34	10.00	3.7
600508		0.24	8.00	3.0	太郎丸	620511	0.76	18.54	3.6	名子	
600508		0.40	10.53	3.8	太郎丸	620511	0.37	9.02	3.5	千里	
600508		0.47	13.43	3.5	太郎丸	620511	0.24	7.27	3.5	今宿	
600508		0.47	13.82	3.4	元岡	620511	0.25	6.76	3.9	飯盛	
600508		0.30	8.57	3.5	元岡	620525	0.28	7.78	3.8	田尻	
600508		0.34	10.00	3.4	田尻	620525	0.29	8.29	3.7	田尻	
600508		0.41	14.14	2.9	田尻	620525	0.35	10.00	4.2	田尻	
601111		0.40	14.29	2.8	田	620525	0.42	10.77	4.0	田尻	
601111		0.28	9.66	2.9	西入部	620525	0.26	6.84	3.6	田尻	
601111		0.25	8.93	2.8	東入部	620525	0.30	8.11	3.6	田尻	
601111		0.39	10.54	3.7	東入部	620525	0.49	11.67	3.5	太郎丸	
601111		0.17	6.54	2.6	東入部	620525	0.37	9.25	3.7	太郎丸	
601111		0.52	10.61	4.9	四箇	620525	0.32	8.89	3.4	太郎丸	
601111		0.15	3.13	4.8	小笠木	620525	0.29	8.06	3.7	太郎丸	
601111		0.29	7.84	3.7	入部	620525	0.74	21.14	3.8	田尻	
601111		0.38	10.00	3.8	門戸口	620525	0.24	6.49	3.4	元岡	
601111		0.16	4.57	3.5	小笠木	620525	0.38	11.18	3.6	元岡	
601111		0.37	8.81	4.2	千里	620525	0.30	8.11	3.5	田尻	
601111		0.23	6.97	3.3	今宿	621028	0.49	12.89	3.6	名子	
601111	0.44	12.22	3.6	飯盛	621028	0.17	5.00	4.8	鷗山		
昭和61年度	610507	0.26	7.03	3.7	名子	621028	0.09	2.50	2.9	鷗山	
	610507	0.22	6.47	3.4	東入部	621028	0.13	3.71	3.9	鷗山	
	610507	0.17	5.31	3.2	東入部	621028	0.20	5.56	4.0	鷗山	
	610507	0.33	10.00	3.3	東入部	621028	0.17	3.54	4.0	鷗山	
	610507	0.56	18.06	3.1	中山	621028	0.23	7.93	4.3	鷗山	
	610507	0.63	19.69	3.2	中山	621028	0.24	6.15	3.7	鷗山	
	610507	0.14	4.38	3.2	門戸口	621028	0.20	5.00	3.5	鷗山	
	610507	0.20	5.71	3.5	門戸口	621028	0.23	5.75	4.1	鷗山	
	610507	0.20	4.76	4.2	椎原	621028	0.29	6.74	4.2	四箇	
	610507	0.32	8.21	3.9	小笠木	621028	0.18	4.86	3.7	東入部	
	610507	0.15	6.00	2.5	門戸口	621028	0.22	6.29	3.9	東入部	
	610507	0.27	8.44	3.2	田尻	621028	0.17	4.15	3.6	東入部	
	610507	0.35	10.29	3.4	田尻	621028	0.21	5.00	3.5	東入部	
	610507	0.21	6.00	3.5	太郎丸	621028	0.19	5.14	3.9	東入部	
	610507	0.66	16.50	4.0	太郎丸	621028	0.31	7.95	3.7	東入部	
	610507	0.34	8.72	3.9	太郎丸	621028	0.28	7.78	3.6	西入部	
	610507	0.23	7.42	3.1	太郎丸	621028	0.21	6.00	3.4	中山	
	610507	0.36	10.91	3.3	太郎丸	621028	0.16	4.10	3.5	中山	
	610507	0.18	5.14	3.5	太郎丸	621028	0.17	4.59	3.6	門戸口	

牛乳と生乳の全てのサンプルについてPCBの暫定基準値を越えて検出されたものはなかった。牛乳及び生乳における各年度別の as is basis および fat base の PCB濃度の平均値、最大値及び最小値のまとめをそれぞれ表3および表4に示した。さらに、これらの表におけるPCB濃度の変化の様子を as basis で図1、2に示した。

図1より牛乳中のPCB濃度は調査開始直後は as is basis で2 ppb 程度であったものが、最近では0.5 ppbと明らかにその濃度レベルが低下している。しかし、PCB濃度レベルの低下傾向は昭和48年度から53年度にかけてみられるものであり、昭和56年度以降は特に目立った傾向はみられず、牛乳中PCB濃度レベルは横這い傾向にある。生乳についてはPCB濃度の調査が54年度に開始されているため、牛乳においてみられるよう

な濃度レベルの低下が観測されていない。しかし、昭和54年度以後のPCB濃度の変化の傾向はやはり横這い傾向で、このことは牛乳中PCB濃度の変化と同じ傾向である。

このようなPCB濃度の変化傾向は全国的調査であるモニタリング調査²⁾の結果とも一致するが、PCB濃度レベルの平均値は全国平均値よりも当市調査の平均値のほうが低いレベルである。この原因の1つとして考えられるのがND値の取扱いである。一般によく行われているPCB濃度レベル調査では検出下限10 ppb となっている場合が多く、モニタリング調査では検出下限未満は検出下限値の1/2で報告することになっているため、平均値の計算の際に5 ppb (10 ppb/2) が用いられることが多いのでPCB濃度平均値レベルが若干高めになっていると考えられる。さらに、PCBの定量法にはバター

表3 牛乳中のPCB濃度の経年変化 (単位: ppb)

年度	検体数	as is basis			fat base		
		平均	最大	最小	平均	最大	最小
48	10	1.02	2.00	0.60			
49	5	2.00	3.00	1.00			
50	10	1.60	2.00	1.00			
51	8	1.03	1.60	0.70	32.46	51.61	21.88
52	6	1.07	1.70	0.70			
53	9	0.59	0.80	0.30	18.33	24.24	8.82
54							
55							
56	4	0.18	0.30	0.10	18.33	24.24	8.82
57	4	0.88	1.10	0.60	24.61	32.35	18.18
58	28	0.46	0.70	0.15	12.50	18.82	4.41
59	37	0.25	0.70	0.06	7.06	20.59	1.94
60	30	0.40	0.80	0.10	12.00	24.06	4.49
61	17	0.30	0.40	0.10	9.25	14.41	3.14
62	35	0.37	0.79	0.12	10.43	28.00	6.00

表4 生乳中のPCB濃度の経年変化 (単位ppb)

年度	検体数	as is basis			fat base		
		平均	最大	最小	平均	最大	最小
54	43	0.53	1.50	0.14	15.76	45.45	5.88
55	30	0.14	0.40	0.05	3.99	11.11	1.19
56	29	0.55	1.00	0.30	16.31	28.57	8.11
57	32	0.67	1.10	0.40	19.09	34.38	11.11
58	44	0.61	2.40	0.20	16.32	62.34	3.97
59	40	0.30	0.60	0.15	7.70	16.86	3.14
60	42	0.37	1.00	0.20	10.32	27.03	3.13
61	39	0.36	1.50	0.10	10.29	42.86	4.38
62	39	0.29	0.76	0.13	7.75	21.11	3.10

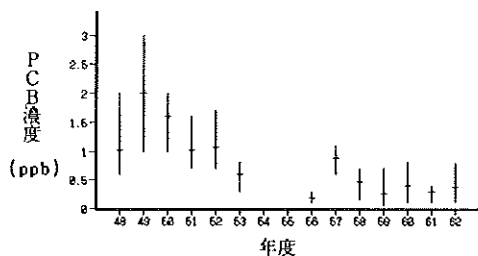


図1 牛乳中P C B濃度経年変化 (as is basis)

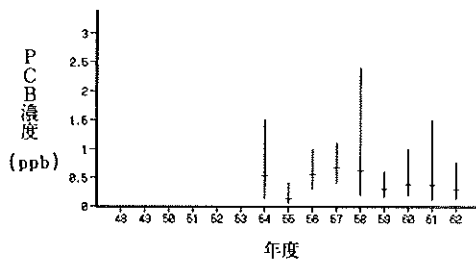


図2 生乳中P C B濃度経年変化 (as is basis)

ン法と数値法がありどちらの方法を採用するかによっても定量値に差が生じてくると思われる。本報におけるP C B濃度定量は pp'-D D E のピークより後のピークを基にしたパターン法であることも平均値に差が生じた原因の一つであるとも考えられる。

牛乳と生乳中の P C B濃度レベルを比較すると、平均的濃度レベルにはそれほど差はないが生乳中の P C B濃度の変動のほうが牛乳中のそれより大きい傾向がある。これは生乳は畜産農家において10頭程度から搾乳されたものを分析しているためより固体差の影響を大きくうけているためだと考えられる。これに比べて牛乳の場合は工場において大量の生乳などを原材料としているので、P C B濃度が平均化されていると考えられる。

P C B濃度が一定化傾向に達したと考えられ、さらに P C B測定値と乳脂肪分測定値の両方のデータが揃っている昭和53年度以降のデータについて、乳脂肪分と P C B濃度の関係を検討するために、まず乳脂肪分と P C B濃度 (as is absis) の度数分布を調べ、次に両者の散布図を作成しその関係の検討を行った。

図3に牛乳の乳脂肪分の度数分布図を、図4に生乳の乳脂肪分のそれを示した。但し、図3においては、ローファット牛乳は除外している。図3、4において牛乳及び生乳の乳脂肪分は、両方とも対称的な正規分布をしていることが分かる。しかし、工場製品である牛乳は乳脂肪分が調整されているためそのばらつきは小さいが、生乳は脂肪分調整が施されていないので乳脂肪分の分布の広がりが大きくなっている。

次に牛乳及び生乳の P C B濃度の度数分布図を、それぞれ図5および図6に示した。P C B濃度の度数分布においても乳脂肪分の時と同様に、生乳のほうが牛乳に比べて分布の広がりが大きい傾向であった。しかし、P C B濃度の分布は乳脂肪分のときのように正規分布はしておらず濃度の高いほうに広がっている分布を示した。一般に多くの濃度測定値は正規分布よりも対数正規分布をすることが知られており、P C B濃度の場合もこのことが当てはまると考えられる。そこで、P C B濃度を対数

変換して度数分布を調べたのが、図7、8であるが、図5、6に比べるとその分布は正規分布に近づいたようであり、P C B濃度の分布は対数正規分布をしていると思われる。

つぎに、牛乳における乳脂肪分と P C B濃度の散布図を図9に、生乳におけるそれを図10に示した。ここで P C B濃度のスケールは前述の検討より対数目盛とした。図3より牛乳中の P C Bについては、乳脂肪分が3%を超える普通乳と乳脂肪分が1.5%以下の低脂肪加工乳(いわゆるローファット牛乳)の2者に分けられることが分かる。ローファット牛乳の P C B濃度は普通乳のそれと比べると低い値であるが、普通乳においてもローファット牛乳よりも低い P C B濃度を持つものもあり一概にローファット牛乳のほうが低い値であるとは言えない。さらに、普通乳においても牛乳と加工乳について P C B濃度と乳脂肪の分布の違いを検討したが、ほとんど差はなかった。

P C Bのような有機塩素系化合物は一般に脂溶性であるので脂肪中に取り込まれるが、図9の乳脂肪と P C B濃度の散布図を見るかぎり両者の間に相関関係は成立しないと考えられる。この原因としては、P C B濃度がかなり低いレベルにあるためであると考えられる。また乳脂肪のばらつきの範囲が狭いため相関関係が確認できないとも考えられる。

生乳についての乳脂肪分と P C B濃度の散布図(図10)を図9と比較すると、乳脂肪と P C B濃度のばらつきは明らかに生乳の方が大きいことが分かる。しかし、図10においても乳脂肪分と P C B濃度の相関関係はみられない。

以上のように当試験所においては毎年かなりの数の牛乳及び生乳の P C B残留レベルの調査を行ってきており、その変化の傾向もある程度把握できた。現在では、P C Bの国内生産は禁止され、その使用も特定用途以外は禁止されているので、環境中の P C B濃度レベルが急に上昇することは考えられない。しかし、使用済み P C Bの処理や突発的事故などにより P C B濃度レベルが上昇す

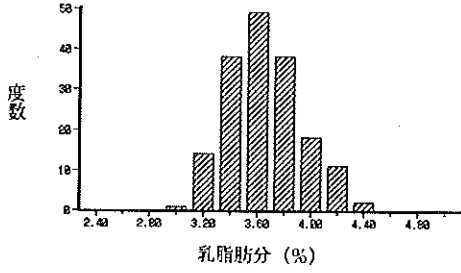


図3 牛乳の乳脂肪度数分布

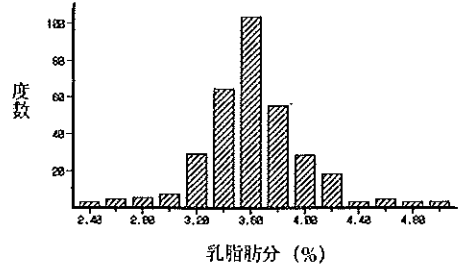


図4 生乳の乳脂肪度数分布

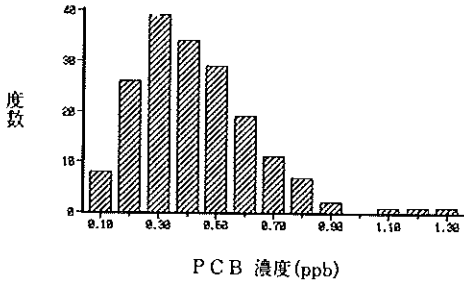


図5 牛乳中PCB濃度の度数分布

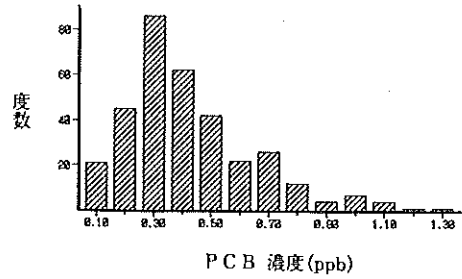


図6 生乳中PCB濃度の度数分布

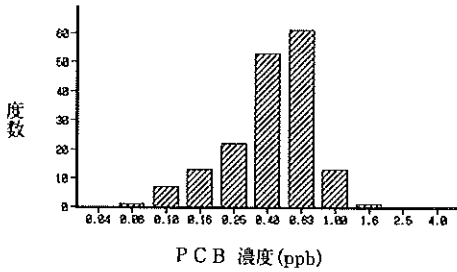


図7 牛乳中PCBの対数度数分布
(昭和53年度以降)

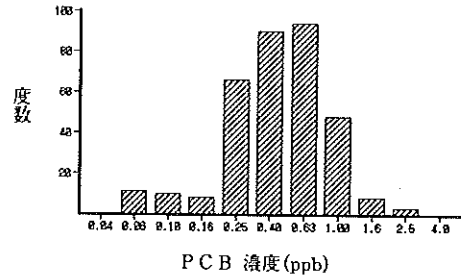


図8 生乳中PCBの対数度数分布
(全データ)

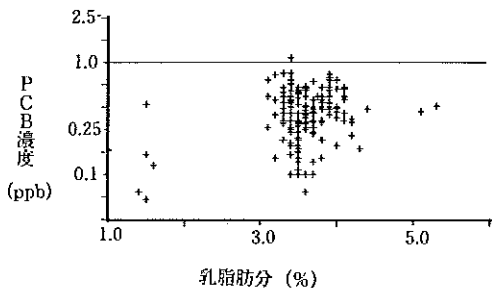


図9 牛乳中PCBと乳脂肪分の散布図

る可能性もあるので、今後とも定期的に食品中のPCB残留レベルを監視することは重要であると考えられる。

参 考 文 献

- 1) 厚生省環境衛生局：食品中に残留するPCBの規制について，環食第442号，昭和47年8月24日
- 2) 厚生省食品汚染物質研究班：食品汚染物質モニタリングデータ I，1982

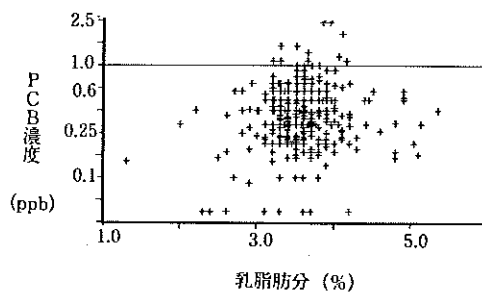


図10 生乳中PCBと乳脂肪分の散布図

- 3) 廣中博見：福岡市における母乳中PCBの推移について，福岡市衛試報，1，66，1975
- 4) 厚生省環境衛生局：PCB分析法に関する研究，1972
- 5) 増田義人 他：油症患者及び一般人の血液中のポリ塩化ビフェニール，福岡医誌，65，25，1974
- 6) 立川 涼 他：PCBの分析方法，P P M，（1）56，：（2），46，1973

アミノアルキルカラムを用いた液体クロマトグラフィーによる 食品中のソルビン酸, 安息香酸, デヒドロ酢酸の検出法

中村 正規¹・渡辺 美千代¹

Liquid Chromatographic Determination of Sorbic Acid, Benzoic Acid, Dehydro Acetic Acid in Foods by Amino Alkyl Bonded Column

Masanori NAKAMURA · Michiyo WATANABE

逆相系で陰イオン交換作用を有する, アミノアルキルカラムを用いた高速液体クロマトグラフィーによる食品中のソルビン酸, 安息香酸, デヒドロ酢酸の簡易分析法を検討した。検出器にUV 230 nm, 移動相はリン酸1カリウム1gを水600mlに溶解し, アセトニトリルで1ℓに定容したものを使用した。検討を行った3物質はデヒドロ酢酸, ソルビン酸, 安息香酸の順に溶出し, ピーク形状及び検出感度も良好であった。最小検出量は2.5 ngで500 ngまで直線性のある検量線が得られた。UV吸収を有する有機酸によるプラス妨害が見られたが, 分析時間も8分以内で終了し, FID-GC法との定量値も良く一致し, 本法はスクリーニング法として十分実用的であった。

key words: 高速液体クロマトグラフィー high performance liquid chromatography, 保存料 preservatives, パラオキシ安息香酸エステル p-hydroxy-benzoate esters, サッカリン saccharin, サリチル酸 salicylic acid, 桂皮酸 cinnamic acid

I はじめに

ソルビン酸 (SoA), 安息香酸 (BA), デヒドロ酢酸 (DHA) は保存料として多種の食品に用いられている合成添加物である。これらは食品衛生法により, 対象食品と使用基準が定められており, 行政収去による検査検体数も当所における添加物検査の中で, 最も多い項目である。検出方法としては FID-GC^{1,2)}が多く採用されてきたが, 近年, HPLC装置の普及にともない, 簡易な方法によりパラオキシ安息香酸エステル類

(PHBA-Es類)を含めた保存料の一斉分析法も報告されている³⁻⁶⁾。分離カラムは ODS系カラム^{3,6)}や陰イオン交換カラム^{4,5)}が多く用いられている。今回, 強極性物質の糖やアスコルビン酸等の分離に用いられており¹⁾, 逆相系で陰イオン交換作用を有するアミノアルキルカラム (NH₂カラム) を使用したところ, SoA, BA, DHA を短時間でスクリーニングすることが可能で

あったので報告する。

II 実験方法

1. 試料

食品衛生監視員によって収去された, 市販の漬物, 煮豆, かまぼこ, チーズ, 清涼飲料水, 乾燥果実加工品, あんを用いた。

2. 試薬及び標準品

SoA, BA, DHA, フルフラール, ベンズアルデヒド, PHBA-Es類, ケイ皮酸, バニリン, エチルバニリン, サリチル酸, サッカリン: 和光純薬製特級試薬を精秤しエタノールに溶解し1000 mg/1の溶液を調整した。GC用標準液はエタノール, HPLC用の標準液と添加回収用は水で適宜希釈して用いた。

水は脱塩蒸留水を用い, その他の試薬は市販特級試薬及び液体クロマトグラフィー用試薬を用いた。

3. HPLCの装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ: LC-5A 島津製作所

1. 福岡市衛生試験所 理化学課

インジェクター：7125型 レオダイン社
 検出器：UVIDEC 100-II 日本分光
 カラム：Finepak Sil NH₂ 10μm 4.6mm
 *250mm (日本分光)
 ガードカラム：Lichrospher 100 NH₂ 4mm
 *4mm (Merck)

移動相：リン酸1カリウム1gを水600mlで溶解し、
 アセトニトリルで1ℓに定容したもの。
 流速：1ml/min, 検出波長：UV 230nm 0.02AUFS
 注入量：10μl

4. FID-GCの装置及び測定条件

FID-GC：G-2800 柳本製作所
 カラム：5% Advance + 1% H₃PO₄ on Chromosorb W (AW-DMCS) in 2.5mm * 2.0mm Glass column
 キャリヤースト：N₂ 1.4 atm, カラム温度 150℃
 注入量：2μl

5. 試験溶液の調整

細切混合した試料5-20gを用い衛生試験法・注解²⁾に準じて水蒸気蒸留を行い留液200mlを用いた。HPLC用検液は蒸留液を直接使用し、FID-GC用検液は1-5g相当分の蒸留液を衛生試験法・注解²⁾に準じて酸・アルカリ分配を行いエーテルを除去した後、エタノールで定容したものを用いた。

III 結果及び考察

1. HPLC測定条件の検討

1) 検出方法

SoA, BA, DHAはUV域に吸収を持つ物質であり、それぞれ254nm, 223nm, 310・230nm付近に極大吸収がある。これらを同時に等感度で測定するために、UV 230nmを用いてスクリーニングを行い、ピークを検出した場合にはそれぞれの極大吸収波長や他の波長で測定し、定量値を比較することで妨害物質の有無を確認した。

2) 移動相条件

NH₂カラムはアスコルビン酸と食品添加物であるエリソルビン酸との分離に用いられており、その移動相はアセトニトリル・水系にリン酸塩や酢酸を加えて調整されている¹⁾。

この移動相を大きく変えることなく保存料の測定が可能となれば、装置を有効に利用することができる。酢酸を移動相に加えた場合、測定波長域での移動相の吸収が強くなりノイズの原因になるため、移動相にはリン酸1カリウム(PK1)を使用した。PK1を0.5g(6mM), 1.0g(12mM), 2.0g(24mM)を水600mlに溶解しアセトニトリルで1ℓに定容し保持時間を測定した。結果を表-1に示し、図-1に標準品のクロマトグラム

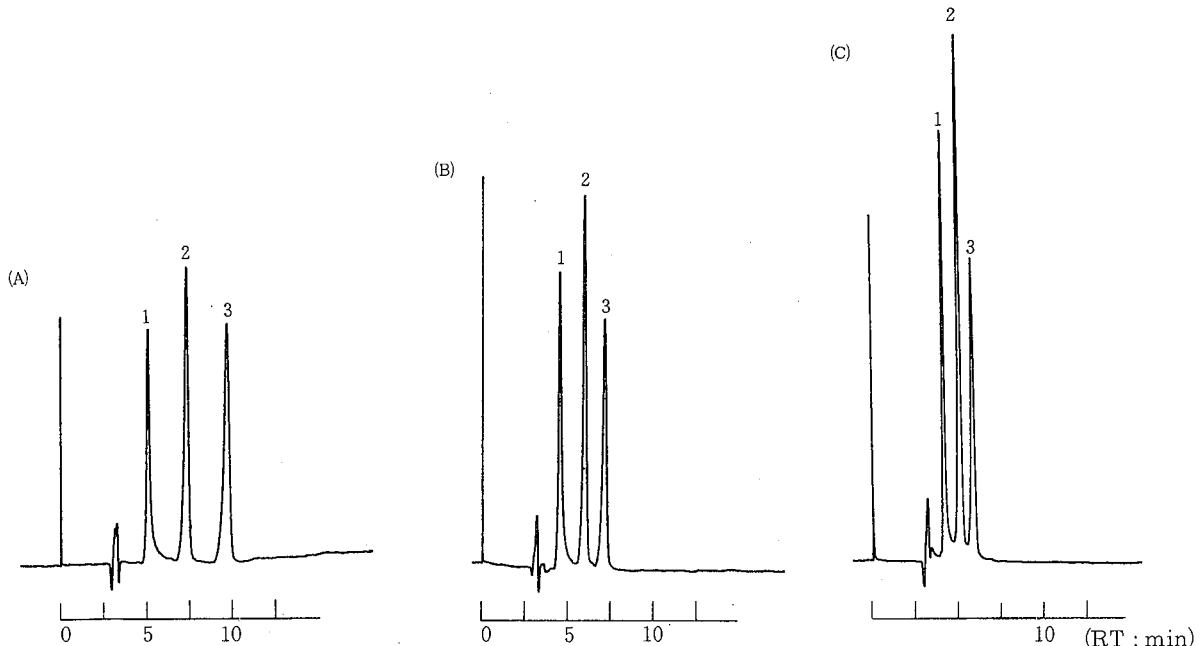


図-1 移動相中の塩濃度差によるクロマトグラムの変化

移動相：(A) 6mM リン酸1カリウム, (B) 12mM リン酸1カリウム,

(C) 24mM リン酸1カリウム 600mlをアセトニトリルで1ℓに定容

(1) デヒドロ酢酸 (2) ソルビン酸 (3) 安息香酸 各 5ppm

表-1 移動相中の塩濃度差による保持時間の変化

単位: min

移動相中の水に含まれるリン酸1カリウムの濃度	6 mM	12mM	24mM
デヒドロ酢酸	5.0	4.5	4.3
ソルビン酸	7.3	5.9	5.2
安息香酸	9.7	7.1	5.9

*移動相は各リン酸1カリウム溶液 600 ml をアセトニトリルで1 ℓ に定容したもの。

表-2 移動相中のアセトニトリル量の影響

単位: min

12mM リン酸1カリウム水溶液: アセトニトリル	4 : 1	3 : 2	2 : 3
デヒドロ酢酸	6.7	4.5	3.6
ソルビン酸	9.2	5.9	4.6
安息香酸	10.8	7.1	5.3

の変化を示した。塩濃度が低くなるにつれ So A, BA, DHA の保持時間は増加した。

水中の PK 1 濃度 (1g / 600 ml, 12 mM) を一定にし、水とアセトニトリルの割合を 4:6, 6:4, 8:2 に変化させ保持時間を測定した。結果を表-2 に示したが、アセトニトリルの量が増えると保持時間は減少した。

NH₂ カラムの分離モードは逆相分配とイオン交換が知られているが、2つの実験から今回の分離モードを推察してみた。逆相分配のみで保持されている場合、PK 1 濃度の上昇は pH 低下につながり保持時間が増大することが考えられるが⁷⁾、表-1 に示したように PK 1 濃度の上昇により保持時間が減少しておりイオン交換作用があることが分かる。またアセトニトリル量の増加で保持時間が減少していることは逆相分配も作用している。しかし ODS 系カラムに比べると影響は小さかった。水の量が40%の移動相で PK 1 を0.5 g に減らしてみると DHA が3.7, So A が5.0, BA が6.3 min と PK 1 が1 g に比べ保持時間が増加したが、水の量が多い時より塩濃度の影響は小さかった。今回の NH₂ の分離モードは逆相分配とイオン交換の両者で分離が行われているが、水の量が多いとイオン交換の割合が高くなることが判明した。

これらの結果から、移動相は分析時間が10分以内で3物質の分離がなされ、調整する時に計算等が不要な、水600 ml に1 g の PK 1 を溶解しアセトニトリルで1 ℓ に定容したものを用いた。

3) 妨害物質の影響

西山ら³⁾は ODS 系カラムを用いた HPLC により、水蒸気蒸留後 UV 法で妨害を与える物質について保存料分析への影響を検討している。これらの物質は NH₂ カラムでも妨害の可能性があるため、フルフラール、ベンズアルデヒド、PHBA-Es 類、ケイ皮酸、バニリン、

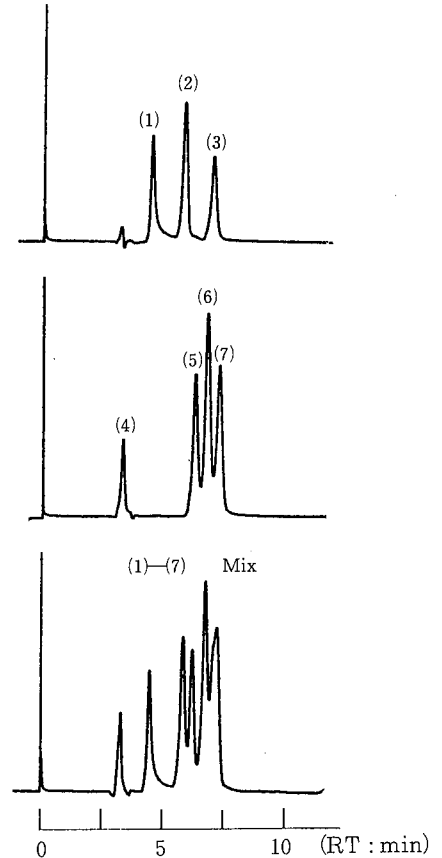


図-2 標準品と妨害物質のクロマトグラム

- (1) デヒドロ酢酸 (2) ソルビン酸
- (3) 安息香酸
- (4) PHBA-Es 類 (5) 桂皮酸
- (6) サッカリン (7) サリチル酸

測定条件: カラム Finepak Sil NH₂ 10 μm 4.6mm
*250mm + Lichrospher 100 NH₂ 4 mm
*4mm

移動相: リン酸1カリウム 1 g を水 600 ml で溶解し、アセトニトリルで1 ℓ に定容。

流速: 1 ml/mim

検出波長: UV 230 nm 0.02 AUFS

注入量: 10 μl

エチルバニリン、サリチル酸と水蒸気蒸留では蒸留されないがサッカリンの標準品を注入し保持時間を比較した。フルフラール、ベンズアルデヒド、PHBA-Es類、バニリンとエチルバニリンの中性及び弱酸性物質はほぼ溶媒先端に溶出し、有機酸のケイ皮酸、サリチル酸とサッカリンはカラムに保持されていた。図-2にクロマトグラムを示したが、SoAとBAのピークに重なった保持時間に溶出してプラス妨害となったが、定量下限値以上のピークが見られた試料はFID-GCによる確認を行うため、実質上問題にはならなかった。

4) 注入試料の問題点

注入試料に蒸留液をそのまま用いることにより、分析時間の短縮となる、しかし移動相との塩濃度の差があるため目的物の吸着などの悪影響が考えられた。表-1の条件で移動相のPK1濃度を变化させた時、水と移動相で希釈した標準品のクロマトグラムを比較した。2gのPK1では水で希釈された方が移動相に比べDHAは114%、SoA 103%と高く、BAは78%と低くなったが、1gと0.5gではピーク形状・高さとも同じであった。

注入量は水で希釈した標準品を、絶対量を50ngと一定にし注入量を10~50 μ lまで変化させカラムに負荷したが、ピーク形状及びピーク高さともほとんど差がなかった。注入量を増加させることで感度の向上が見られるが、蒸留液を多量に注入することは分析カラムの劣化につながり、検出下限の確認は10 μ lで十分可能であった。

5) ガードカラムについて

カラムに注入する試料は、水蒸気蒸留した水溶液を直接に負荷するため分析カラムが微粒子や溶出しな物質により汚れる可能性が考えられ、ガードカラムの使用を検討した。一般的には分析カラムと同じ充填剤を使用した5cm程度のカラムが用いられるが、分析カラムに比べて高価なためあまり用いられていない。今回使用したガードカラムは充填剤が分析カラムと異なっているが、取扱いやすく安価であり、また分離や感度の面で影響がなかったためメルク社のカラムホルダー式のガードカラムを使用した。ガードカラムの交換の目安として初期のカラム入口圧から10kg/cm²上昇した時点とした。検体数としては300件程度に相当する。

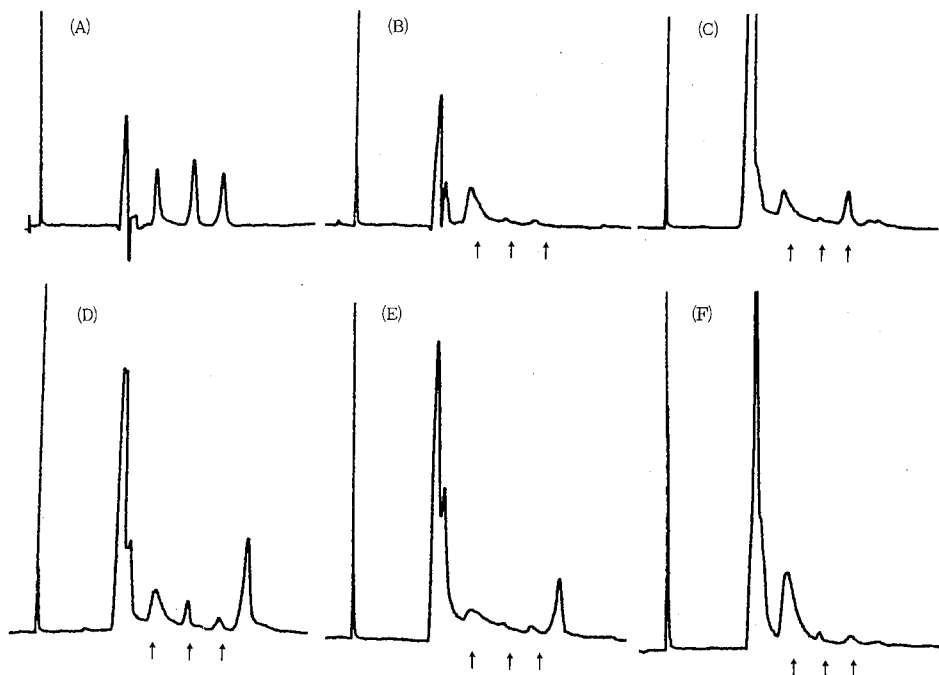


図-3 ブランク試料のクロマトグラム

(A) 0.5ppm 標準品 (B) ソーセージ (C) チーズ
(D) つぼ漬 (E) 福じん漬 (F) ジャム

測定条件は図-2と同じ。

6) 検量線の作成

SoA, BA, DHAを2.5 ng から50 ng また検出器のレンジを変えることにより500 ng まで直線性が得られた。蒸留時に10 g の試料を用い10 μl を注入した場合、検出下限は0.005 g/kg であった。

7) HPLC 法と GC 法による定量値の比較

保存料が検出された試料を HPLC 法と FID - GC 法により定量値を比較し、表-3 に示した。DHA が検出された試料は今回見られなかったが、SoA, BA と

も両者の値はよく一致している。しかし、HPLC 法では UV 吸収を有する有機酸等によるプラス妨害の可能性があり、GC 法においても BA のプラス妨害としてレブリン酸やコハク酸モノエチルが知られている⁸⁾。このように1種の方法で定性及び定量を行うことは、分析精度の面から危険性が非常に高いといえる。GC 法は煩雑な抽出操作を必要とするため、HPLC 法でスクリーニングを行い、GC 法により確認することでより精度の高い分析値が得られる。図-3 に保存料が検出されなかった試料のクロマトグラムを示した。DHA のすぐ前にブロードなピークが見られるが、特にジャムのような糖分の多い食品で高い傾向で、DHA の測定を妨害することもあったが、DHA の極大吸収の310 nm で測定することにより、このブロードなピークは消滅した。つぼ漬けや福じん漬けでは BA の後ろに有機酸と思われる未知ピークが見られた。

表-3 HPLC 法と GC 法の定量値の比較

単位: g/kg

試料名	保存料	LC法	GC法
高菜いため漬物類	SoA	0.043	0.044
しば漬	SoA	0.57	0.54
さくら大根	SoA	0.16	0.15
醤油漬	SoA	0.47	0.48
練りあん	SoA	0.57	0.54
惣菜類			
うぐいす豆	SoA	0.43	0.42
山菜あさり	BA	0.18	0.19
豆昆布	SoA	0.19	0.20
魚練り製品			
板付き蒲鉾	SoA	1.5	1.6
角天	SoA	0.52	0.52
清涼飲料水			
オレンジジュース	BA	0.030	0.028
スポーツドリンク	BA	0.018	0.018
メロンサワー	BA	0.070	0.064

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局食品化学課: 食品中の食品添加物分析法, 1983, 講談社
- 2) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解, 1980, 金原書店
- 3) 西山良子, 他: 東京衛研年報, 38, 198-202, 1987
- 4) 藤村一良, 土屋正彦: 分析化学, 37, 56-59, 1987
- 5) 嶋村保洋, 他: 東京衛研年報, 38, 195-197, 1987
- 6) 猪飼誉友, 他: 第53回日本食品衛生学会第53回学術講演会要旨集, 1987
- 7) 峯 孝則, 堀内美恵: 食衛誌, 26, 1, 61-64, 1985
- 8) 青木 茂, 他: 滋賀県衛環報, 21, 42-54, 1986

マススペクトルデータ処理プログラムの開発

中村 正規¹

Development of Computer program for Data Processing of Mass Spectrum

Masanori NAKAMURA

パーソナルコンピューターを使用したマススペクトルデータ処理プログラムを開発した。オペレーションシステムは記録可能なデータ数に有利でデータの互換性が高い MS-DOS 版の N 88-日本語 Basic (86) を使用し、スペクトル情報はランダムファイルを用いてディスクケットに記録した。プログラムはスペクトルデータの入力、検索、表示、修正の4部分で構成し、分子式から分子量を自動計算する機能などを有し、簡便な操作で使用できるように入力方法を考慮した。入力可能なピーク数は10本とし質量数と強度の記録に40バイトを用い、物質名や文献名の記録のために50バイト、分子式20バイト、分子量2バイト、質量分析計の測定条件に6バイト、それに今後の予備を含めて、1レコードサイズは128バイトにした。このレコードサイズで一枚のデータディスクケットに約9700種、プログラムディスクケットとの共用でも約1900種のスペクトルデータが記録可能であり、専門分野でのデータベースとして十分に実用可能であった。

Key words : マススペクトル mass spectrum, パーソナルコンピューター personal computer, データ検索 data referring, データベース data base, 質量分析計 mass spectrometry

I はじめに

質量分析計 (Mass) は従来より未知物質や合成品の構造決定に用いられてきたが、多くの研究機関で使用するには非常に高価な機器であった。近年、4重極型マスの実用化やコンピューターによる制御技術の発展にともない、安価でより性能の高い Mass が供給されるようになり、試験検査機関では主にガスクロマトグラフと接続し、高い選択性を有した検出器として多方面で利用されている。Mass での定性方法は標準品から得られたマススペクトルとの比較で行われ、数万スペクトルを記憶したライブラリーからの検索機能を有する Mass も多い。また国内においても電話回線を利用してデータベースにアクセスし検索するシステム¹⁾も実用化されている。しかし、分析者自身で得たスペクトルや文献等で発表された物質のスペクトルを、これらのデータベースにアペンドすることは不可能に近い。このような新しい情報を、コンピューターに蓄積し検索させることにより、利用価値

が非常に高い情報となる²⁾。この問題を解決するために身近にあるパーソナルコンピューターを用いてマススペクトルデータ処理を検討したが、市販プログラムでは該当するものがなく、自作によるプログラムの開発を行った。

II システムの構成

パーソナルコンピューター : PC-9801 M 2 CLK 8 MHz (NEC社製)
プリンター : PCPR-201 F (NEC社製)
ディスプレイ : PC 8853 K (NEC社製)
RAM ディスクボード : BM-2000 (メルコ社製)
拡張 RAM 領域以外はキャッシュディスクで使用。
OS : N88-日本語 Basic (86) (MS-DOS版)

III プログラムの構成

1. オペレーションシステムの選択

PC 9801 で使用できる日本語 Basic は N 88-日本語 Basic (86) が一般的であり、NEC-DOS と MS-D

1. 福岡市衛生試験所 理化学課

OS上で動作する2種が供給されている。2 HDのディスクをフォーマットした場合、MS-DOSの方が記録容量が大きい、これはマススペクトルのように多量のデータを記録するのに優位である。また市販プログラムのほとんどがMS-DOS上で動作するように作成されており、他の機種でのデータ互換性などを考慮してオペレーションシステム(OS)にMS-DOS版のN88-日本語Basic(86)を使用した。

2. プログラム

データ処理プログラムディスクのプログラム一覧を図-1に示した。プログラムの起動は電源を入れるかリセットによりMS-DOSが立ち上がり、AUTOEXEC.BATプログラムにより、N88Basic(86)を起動するためのBASIC.BATが実行される。その時点でファイルのレコードサイズが指定され、次にデータ処理プログラム(GC-MASS.BAS)がスタートする。マス

COMMAND	COM	24145	86-10-13	0:00
NECDIC	DRV	31190	86-10-13	0:00
NECDIC	SYS	520192	86-10-13	0:00
N88BASIC	LIB	180736	85-10-31	18:45
N88BASIC	EXE	135680	85-11-05	11:46
MASSHLP	DAT	1117	88-03-30	15:25
BASIC	BAT	38	88-03-05	17:17
AUTOEXEC	BAT	16	88-05-23	18:37
FORMAT	EXE	34038	85-12-26	11:29
CONFIG	SYS	85	88-05-21	14:56
GC-MASS	BAS	10845	29-12-22	23:38
MASS	DAT	6912	88-07-29	13:09

図-1 プログラムディスクの内容

AUTOEXEC. BAT
SC/ BASIC. BAT
BASIC. BAT
N88BASIC /S:128 /T:RUN" GC-MASS. BAS"
CONFIG. SYS
FILES=8
BUFFERS=10
BREAK=ON
DEVICE=NECDIC. DRV
SHELL=COMMAND. COM /P

図-2 バッチプログラムとCOFIG. SYSの内容

表-1 構成ルーチン一覧

ルーチン名	ラベル名
メインメニュー	*MENU
初期設定	*IINT
メニュー選択	*MS
データ入力メニュー	*FIN
項目表示	*DP
データ入力	*DR
データセーブ	*DS
データ修正	*DRS
分子量計算	*CMW
条件選択	*HOL
説明	*SETU
データ検索	*SOUT
化合物	*JS 1
質量数	*JS 2
分子量	*JS 3
構成元素	*JS 4
検索の継続	*JS 5
データ出力	*FOUT
スペクトル表示	*PT 1
	*PT 2
	*PT 3
データ修正	*RFD
項目表示	*DP
データ入力	*DR
ENDルーチン	*PEND
ヘルプキー	*HLP

ペクトルデータはMASS.DATに記録され、MASSHLP.DATは入力方法の説明用のデータである。バッチプログラムとCONFIG.SYSの内容を図-2に示し、メインプログラムのGC-MASS.BASのプログラムリストを末尾に記載した。プログラムの主なルーチンのラベル名と、関連するサブルーチンの一覧を表-1に示した。

2. データファイル形式

データファイルの保存方法にはシーケンシャルファイルとランダムファイルの2つの形式があるが、マススペクトル情報はデータの種類や大きさを一定にすることができ、任意に1つのデータを取り出し、編集が可能であるランダムファイルを用いたファイル管理を行った。

3. スペクトル情報

1枚のディスクに収納できるデータ数は、スペクトル情報のレコードサイズを、小さくすることで増加する。スペクトル情報として物質名、文献名、分子式、分

子量、質量分析計の測定条件、ピークデータなどが考えられ、必要な最小レコードサイズを検討した。

1) 物質名、別名や文献名をそれぞれ独自のフィールドに書き込むと余分なスペースが生じることが多い。これを解決するためには、これらの情報を広いスペースにまとめて入力することである。また、漢字での入力はほとんど必要なく、カタカナとアルファベットを含めたキャラクタで50文字分と大きな入力スペースを確保した。

2) 化合物の構成元素は多くても7元素で元素名と元素数の文字数を合わせて3バイト程度で入力するため、分子式の記録は20バイトとした。質量数は入力された分子式を判断し自動的に計算させた。同異体の割合が多い元素は、同異体比率の最も高い質量数とした。

3) 質量分析計の測定条件は測定したMassの種類、イオン化条件とMassへの導入方法の違いを、選択する方法で入力することにした。イオン化の方法が同じであれば、Massの種類によるスペクトルの違いは見られないはずだが、ピーク強度の校正が十分でなかったりイオン化電圧やイオン化電流などのイオン化条件や試料量の違いによるピーク強度の若干の違いが見られるため、今回は通常使用されているイオン化方法のEI, CI, FABの大きな分類にとどめた。

4) マススペクトルで数十本のピークを与える物質もあるが、検索に必要なピークは5本程度で十分であり、分子構造を解析するためのピークを含めて10本のピークが記録されていれば物質の確認には十分である。また登録可能な質量数の範囲は10~999と設定した、これは整数型の変数には約3万までの質量数の登録が可能であるが、1画面に表示可能なスペクトルを画面の解像度と数字の表示方法から検討し質量数の範囲を決定した。この範囲はガスクロマトグラフで分析する物質であれば十分だと考える。

表-2 データ名とフィールド

データ名	変数名	バイト数
物質名	NAME 1 \$	50
分子式	FORM 1 \$	20
分子量	MOWT%	2
測定機種	IOC%	2
イオン化条件	INC%	2
導入条件	SOC%	2
ピーク質量数	MASS% ()	2 * 10
ピーク強度	MASS% ()	2 * 10
計		118

これらのスペクトルデータ名とフィールドの大きさを表-2に示した。各データのフィールドを合計すると118バイトになる。ランダムファイルのレコードサイズはOSを起動する際に/Sパラメーターで任意の値に設定できるが、他のデータとディスクを兼用したりプログラムディスクにデータを記録する場合には、ディスクの有効利用のためにレコードサイズは2のべき乗倍数がよく、今後データ増加の予備を含めて128バイトに決定した。このサイズでMS-DOSのデータディスクに約9700種のスペクトルデータを記録させることが可能であり、個人的に必要な物質データ数としては十分な数だと思われる。またプログラムディスクとの共用でも約1900種の記録が可能である。

III プログラムの使用方法

1. プログラムの起動方法

プログラムの起動は電源を入れるかりセットにより自動的にプログラムが起動し図-3のメインメニューが表示される。プログラムはスペクトルデータの入力、検索、表示、修正の4部分から構成されており、もし入力操作に誤りがあった場合、HELPキーを押すことによりメインメニューまたはデータ検索メニューに戻る。

GC-Mass データ検索プログラム

1. マススペクトルデータ入力
2. マススペクトルデータ検索
3. スペクトル表示
4. マススペクトルデータ修正
5. 終了

図-3 メインメニュー

2. スペクトルデータの入力

入力画面を図-4に示したがスペクトル情報で示した各データを入力している。

化合物名及び別名は50バイト以内で入力する。通常は英語あるいはカタカナで入力するため50文字の入力が可能であり、文献等に掲載されていたものは、この部分に出典を記録しておくことと検索時に便利である。

分子式の入力は20文字以内で、例えばC6H10PSFN5と元素名の間にスペースを入れずに入力する。分子量は分子式を入力した時に同時に計算しているが、登録している元素は一般的な有機化合物を構成している12種類で、これ以外の元素を入力したい場合は*IINT

マススペクトルデータ入力画面		No. 55	
化合物名, 別名	カマンダレト HFB	<	
分子式	C20H13Cl2F7O4	<	分子量 520
情報源	QP-1000 文献-M 文献-Q		
イオン化条件	EI CI FAB		
導入条件	GC DI TLC		
スペクトルデータ (below 10 peaks)			
m/e	PH(%)	m/e	PH(%)
? 520	? 5	? 141	? 10
? 522	? 3		
? 447	? 100		
? 449	? 80		
? 139	? 50		

f・1=説明

f・9=修正 f・10=保存

図-4 データ入力画面

ルーチンに設けてある元素名データの予備部分に付け加える必要がある。

スペクトルの情報源としてスペクトルの測定機種, イオン化条件, イオン源への導入方法を選択入力する。当所の GC-Mass が四重極型の QP-1000 のため, 当所で得たスペクトルをここに分類している。文献-M, Qは文献から入手したスペクトルで, Mは磁場型, Qは四重極型に分けて登録する。イオン化条件は微妙な違いがあるため, EI, CI, FAB の大きな分類とした。導入条件は, 通常使用されている GC (ガスクロマトグラフィー), DI (直接導入), TLC (薄相クロマトグラフィー) で, 選択は←→キーで行う。

マスデータはピークの質量数と強度を整数で入力する。ピーク数は 10 本以内で, 強度が高いなどのスペクトル上必要なピークの質量数と強度を入力する。f・10 キーを押すことで登録される。途中でデータのミスに気付いた場合は f・9 キーで化合物名に入力が戻る, 正しい項目は RET キーを押して, 誤ったデータのみを修正する。登録後, 誤りに気付いた場合はメインメニューのデータ修正で行う。またデータ入力方法の簡単な説明を f・1 キーを押すことで表示するようになっている。

3. スペクトルデータの検索

図-5 に検索メニューを示した。検索可能な項目は化合物名, フラグメント質量数, 分子量と構成元素の 4 種類を検討したが, 分子量と構成元素のルーチンはまだ作成していない。フラグメント質量数は 5 本以内で検索する, 検索条件の入力は画面に従って行い, 検索が開始され, 該当物質があればそのデータが表示される。そのデータが目的の物質でプリントの必要があれば, COPY キーでプリンターに出力する。今後, データ量の増加と共に 2 種類での項目, 例えばフラグメント質量数と構成元素のようなプログラムも必要になってくると思われる。

GC-Mass データ検索ルーチン

1. 化合物名
2. フラグメント質量数
3. 分子量
4. 構成元素
5. メインメニュー

図-5 検索メニュー画面

4. スペクトルデータの表示

保存したスペクトルデータを表示するためのルーチンで, その時点の最大データ数以内で番号を入力しデータの表示をさせる。また↑↓キーで表示データの前後を見ることができ, COPY キーによるプリンターへの出力も可能である。図-6 にスペクトルデータの表示例を示した。表示ルーチンを終了させるためには, HELP キーを押すことでメインメニューに戻る。

5. スペクトルデータの修正

保存したスペクトルデータを修正するルーチンで, 使用方法は修正するスペクトルデータの番号を入力しデータの入力方法に従って入力し, 修正する。

IV 最 後 に

当所の GC-Mass はライブラリー機能を持っていないため, 未知ピークの固定にはデータ集として EPA/NIH Spectral Data Base, データベースとして三洋情報システム (株) から購入した Registry of Mass Spectral Data (PC-9801 用) の検索プログラムを改良して使用しているが, 農薬等の汚染物質に関するデー

文 献

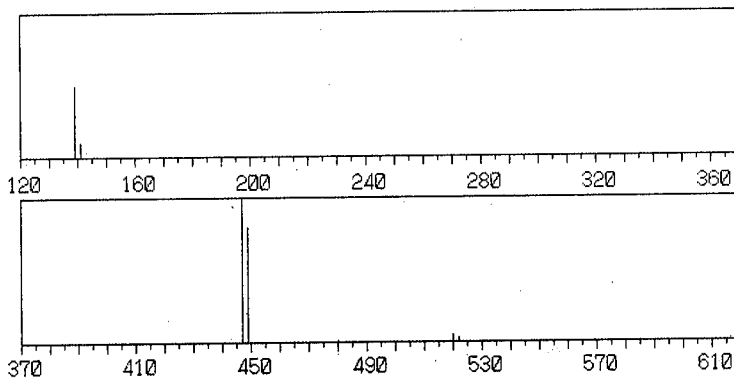
タは少なく不便を感じていた。現在、測定したマススペクトルや文献等からのスペクトルデータを、本プログラムを使用して整理しており、今後、データの充実とともに汚染物質関係のデータベースとして十分に活用できると感じている。また本プログラムに興味を持たれた方で、N 88-日本語 Basic (86) (MS-DOS 版) を所有しておられましたら、連絡いただければ、プログラムと数は少ないのですがデータをお送り致します。

- 1) 日本科学技術情報センター：JOIS - F 技術資料，1988，東京
- 2) 鈮持堅志，他：岡山県環境保健センター年報，10，114-121，1986

マススペクトルデータ表示画面

No. 55

化合物名	クロムンジレット HFB	分子量	520
分子式	C20H13C12F7O4	導入条件	GC
情報源	QP-1000		
イオン化条件	E I		



マススペクトルデータ表示画面

No. 53

化合物名	n°ラチオン	分子量	291
分子式	C10H14N05PS	導入条件	GC
情報源	QP-1000		
イオン化条件	E I		

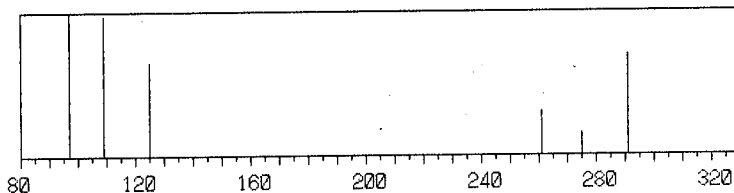


図-6 スペクトルデータの表示例

```

100 '
110 ' G C - M a s s   データ
120 ' 検索プログラム
130 '
140 ' 昭和63年3月   中村正規
150 '
160 ' save"GC-MASS.BAS"
170 '
180 CONSOLE 0,25,0,1:SCREEN 3,0,0,1:COLOR 7,0,0,0
190 DIM MASS%(10,1),ATOM$(20,1),FF$(10,1)
200 ON HELP GOSUB *HLP: HELP ON
210 ON KEY GOSUB *SETU,,,,,,,,*DRS,*DS
220 DEFINT I-N : JNO=1 : JSNO=1
230 GOSUB *IINT
240 '
250 ' ***** メニュー -
260 *MENU:CLS 3 :WIDTH 80,25
270 COLOR 5
280 LOCATE 8,3 :PRINT"G C - M a s s データ検索プログラム"
290 COLOR 7
300 X1=4 : X2=78 : SY=6 : Z=2 : KOSU=5
310 EY=SY+Z*(KOSU-1) : YY=(JNO-1)*2+SY
320 LOCATE 10,SY :PRINT"1 . マススペクトルデータ入力"
330 LOCATE 10,SY+2:PRINT"2 . マススペクトルデータ検索"
340 LOCATE 10,SY+4:PRINT"3 . スペクトル表示"
350 LOCATE 10,SY+6:PRINT"4 . マススペクトルデータ修正"
360 LOCATE 10,SY+8:PRINT"5 . 終了"
370 '
380 GOSUB *MS
390 JNO=JN
400 OPEN "a:Mass.DAT" AS #1
410 LFILE=LOF(1)
420 ON JNO GOTO *FIN,*SOUT,*FOUT,*RFD,*PEND
430 GOTO *MENU
1000 ' *****
1010 ' ***** データ ニュウリョク メイン ルーチン JNO=1
1020 *FIN : LFILE=LFILE+1
1030 *FINI
1040 GOSUB *DP
1050 GOSUB *DR
1060 GOTO *MENU
1070 ' ***** コウモク ヒョウシ` ルーチン
1080 *DP
1090 CLS 3
1100 X1=12:X2=635:Y1=8:Y2=328
1110 FOR I=0 TO 12 STEP 2:LINE (X1,I*16+8)-(X2,I*16+8),6 :NEXT
1120 LINE (X1,Y1)-(X1,Y2),6 : LINE (X2,Y1)-(X2,Y2),6
1130 LINE (X1,Y2)-(X2,Y2),6
1140 COLOR 5 : LOCATE 5,1
1150 IF JNO=1 THEN PRINT"マススペクトルデータ入力画面
No. "; ELSE PRINT"マススペクトルデータ修正画面
No. ";
1160 IF JNO=4 THEN PRINT CN% ELSE PRINT LFILE
1170 LOCATE 3,3 : PRINT"化合物名, 別名 "
1190 LOCATE 3,5 : PRINT"分子式" : LOCATE 50,5 :PRINT"分子量"
1210 GOSUB *COND
1220 LOCATE 3,13: PRINT"スペクトルデータ (below 10 peaks)"
1230 LOCATE 13,14:FOR I=1 TO 2:PRINT"m/e PH(%)" ";:NEXT:PRINT
1240 LOCATE 1 ,23:PRINT"f.1=説明"
1250 LOCATE 60,23:PRINT"f.9=修正 f.10=保存"
1260 RETURN
1270 ' ***** データ ニュウリョク ルーチン
1280 *DR
1290 KEY (1) ON : KEY (9) ON : KEY (10) ON
1301 PUT(560,48),KANJI(&H2152),PSET,5,0
1306 PUT(320,80),KANJI(&H2152),PSET,5,0
1310 LOCATE 21,3: LINE INPUT A$:IF A$<>" THEN NAME1$=A$
1320 LOCATE 21,5: LINE INPUT A$:IF A$<>" THEN FORM1$=A$
1330 GOSUB *CMW
1340 IF MOWT%=0 THEN 1320 ELSE LOCATE 60,5:PRINT MOWT%

```

```

1350 YY=7 : IF JNO=4 THEN XX=SOC% ELSE XX=1
1355 GOSUB *HOL5 : SOC%=XX
1360 YY=9 : IF JNO=4 THEN XX=IOC% ELSE XX=1
1365 GOSUB *HOL5 : IOC%=XX
1370 YY=11 : IF JNO=4 THEN XX=INC% ELSE XX=1
1375 GOSUB *HOL5 : INC%=XX
1380 FOR I=0 TO 1 : FOR J=0 TO 4
1390   LOCATE 11+I*15,15+J : INPUT A$
1395   IF A$="" THEN 1420 ELSE A%=VAL(A$)
1400   IF A%<10 AND A%>1000 THEN 1390
1410   MASS%(I*5+J+1,0)=A%
1420   LOCATE 18+I*15,15+J : INPUT A$
1425   IF A$="" THEN 1450 ELSE A%=VAL(A$)
1430   IF A%<1 AND A%>100 THEN 1420
1440   MASS%(I*5+J+1,1)=A%
1450 NEXT J : NEXT I
1460 GOSUB *DS
1480 '
1490 ' ***** ニュウリョク データ シュウセイ ルーチン
1500 *DRS : GOSUB *COND : RETURN *DR
1510 '
1520 *COND
1530 LOCATE 3,7 : PRINT SOC$(0);TAB(19);SOC$(1);SOC$(2);SOC$(3)
1540 LOCATE 3,9 : PRINT IOC$(0);TAB(19);IOC$(1);IOC$(2);IOC$(3)
1550 LOCATE 3,11 : PRINT INC$(0);TAB(19);INC$(1);INC$(2);INC$(3)
1560 LOCATE 60,5 : PRINT SPC(10)
1570 LOCATE 21,3 : PRINT SPC(50) : LOCATE 21,3 : PRINT NAME1$
1580 LOCATE , , 1 : RETURN
1590 '
1600 ' ***** データ セーブ ルーチン
1610 *DS
1620 LSET AA1$=NAME1$ : LSET BB$=FORM1$ : LSET FF$=MKI$(SOC%)
1630 LSET CC$=MKI$(MOWT%) : LSET DD$=MKI$(IOC%) : LSET EE$=MKI$(INC%)
1640 FOR I=1 TO 10
1650   LSET FF$(I,0)=MKI$(MASS%(I,0)) : LSET FF$(I,1)=MKI$(MASS%(I,1))
1660 NEXT
1670 IF JNO=4 THEN PUT #1,CN% ELSE PUT #1,LFILE
1680 ERASE MASS% : DIM MASS%(10,1) : NAME1$="" : FORM1$=""
1690 IF JNO=4 THEN CLOSE : RETURN *MENU
1700 LOCATE 10,22 : PRINT "続けますか y/n"
1710 Q$=INKEY$ : IF Q$="" THEN 1710 ELSE LOCATE 10,22 : PRINT SPC(40)
1720 IF INSTR("yYn",Q$)>0 THEN RETURN *FIN
1730 KEY (1) OFF : KEY (9) OFF : KEY (10) OFF
1740 CLOSE : RETURN *MENU
2000 '
2010 ' ***** フォンシリョウ ケイサン ルーチン
2020 *CMW : MOWT%=0
2030 FOR I=1 TO LEN(FORM1$)
2035   IF INSTR(MID$(FORM1$,I,1)," ")>0 THEN 2210
2040   FOR J=1 TO 10
2050     IF INSTR(MID$(FORM1$,I,2),ATOM$(J,0))>0 THEN I=I+1 : GOTO 2150
2060   NEXT J
2070   FOR J=11 TO 20
2080     IF INSTR(MID$(FORM1$,I,1),ATOM$(J,0))>0 THEN 2150
2090   NEXT J
2100   LOCATE 5,22 : COLOR 6
2110   PRINT "登録されていない元素が含まれています。          確認=RET"
2120   BEEP : MOWT%=0 : COLOR 5
2130   IF INKEY$="" THEN 2130 ELSE LOCATE 5,22 : PRINT SPC(40) : RETURN
2140 '
2150   IF I=LEN(FORM1$) THEN 2170
2160   IF MID$(FORM1$,I+1,1)>"A" THEN KAZU=1 : GOTO 2190 ELSE I=I+1
2170   KAZU=VAL(MID$(FORM1$,I,3)) : IF KAZU=0 THEN KAZU=1
2180   IF KAZU#10 > 0 THEN I=I+1
2190   MOWT%=MOWT%+KAZU*VAL(ATOM$(J,1))
2200   PRINT MOWT,KAZU,VAL(ATOM$(J,1))
2210 NEXT I
2220 RETURN
2230 '
2240 ' ***** ショキ セツテイ ルーチン

```