

生薬の総水銀量について(III) 薬草とその生育土壌について

石野 正蔵 大沢 尚 小山又次郎
森本 功 興津 知明

はじめに

前報¹⁾で、埼玉県内に自生する約7種類の薬草及び土壌の水銀濃度について報告した。

このたびは水銀濃度に違いが見られた、どくだみ、よもぎ、おおばこの3種類について 1) 薬草種類別の水銀濃度の比較、2) 薬草とそれらが自生した土壌との水銀濃度の関係について調査した。その結果を報告する。

方 法

1. 試料

1-1 薬草の採取

埼玉県内18地点から、どくだみ、よもぎ、おおばこの3種類、53検体を昭和54年6月中旬及び昭和55年6月中旬に採取した。

1-2 土壌の採取

県内6カ所、14検体について、薬草採取地の地表15cmまでの土層から、土壌量約100gを採土器でそれぞれ採取²⁾した。

2. 試料の調製

2-1 薬草試料の調製

乾燥した薬草をNRK分析粉砕器R6型で粉砕し、日本工業規格試験篩(opening width: 0.200mm)を用い篩別して得た細粉を70°Cの熱風乾燥器中で、10時間乾燥したのち、デシケーター中に保存した。

2-2 土壌試料の調製

風乾、細粉した土壌を篩(opening width: 0.200mm)により篩別して得た細土³⁾70°Cの熱風乾燥器中で10時間乾燥したのち、試料びんに入れ、デシケーター中に保存した。

2-3 水銀回収試験用土壌試料の調製

土壌試料100gに酢酸フェニル水銀溶液(Hg²⁺として、0.3μg/ml)100mlを加え、均一としたのち、風乾、細土とした土壌を、篩(opening width: 0.200mm)により篩別した。この土壌を70°Cの熱風乾燥器中で乾燥したのち、試料びんに入れ、デシケーター中に保存した。

以下、この土壌(添加Hg²⁺/土壌として、0.3μg/g)を標準土壌とした。

3. 試薬

水銀標準液: 和光純薬製の原子吸光分析用水銀標準液(1000ppm)を1ppmに希釈して用いた。

チオリンゴ酸(TMP)溶液: 0.1N Na₂HPO₄溶液中にTMP(和光純薬製、1級試薬)を0.3%, 1%, 2%, 3%, 5%含むように調製した。これらの溶液をそれぞれ、0.3%, 1%, 2%, 3%, 5%TMP溶液とした。

4. 薬草試料及び土壌試料中の水銀定量法(金-アマルガム法)

精秤した試料100mgを水銀分析用試料分解装置(杉山元MV-250)中で、酸素気流1.2l/min, 800°C, 8時間の分解条件により、完全に燃焼し、杉山元MV-253R水銀分析計に日立056記録計を連結した装置を用い試料中の水銀濃度を測定した。

5. TMP溶液に抽出される水銀(TMP可溶性水銀)の定量法(金-アマルガム法)

5-1 水銀の回収率

土壌及び標準土壌5gに、0.3%, 1%, 2%, 3%, 5%各TMP溶液10mlをそれぞれ加え、1時間振とうしたのち、No.50のろ紙(東洋ろ紙製)でろ過した。ろ液200μlを精密にとり、前述の装置及び条件により、各TMP可溶性水銀を測定し、各TMP溶液による水銀の回収率を求めた。

5-2 土壌試料

各土壌試料5gに3%TMP溶液10mlをそれぞれ加え、1時間振とうしたのち、No.50のろ紙でろ過した。ろ液200μlを精密にとり、前述の装置及び条件により、3%TMP可溶性水銀を測定した。

成績及び考察

1. 薬草

1-1 薬草の水銀濃度について

どくだみ、よもぎ、おおばこの水銀濃度を産地別に測定し、その結果を図1に示した。

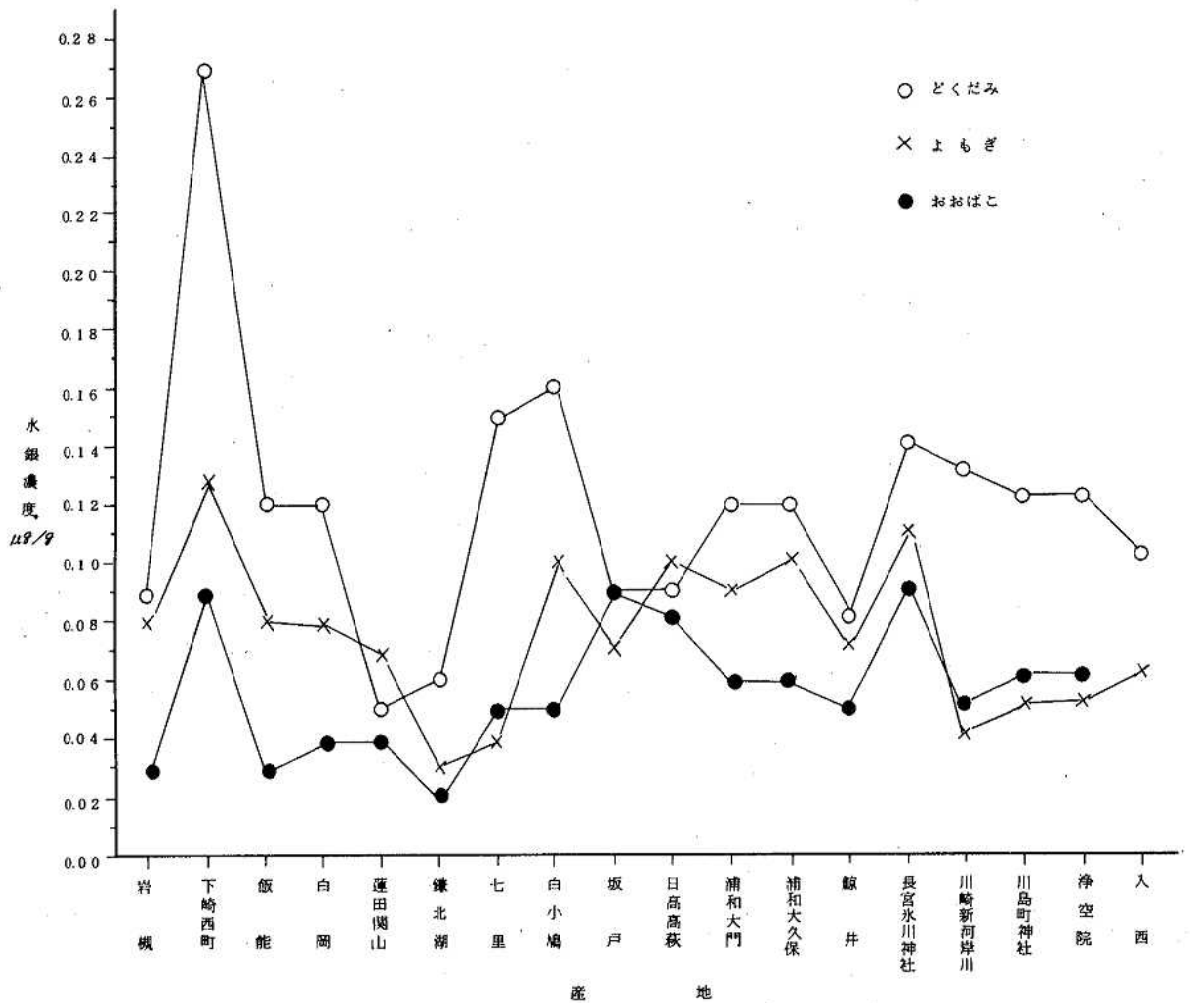


図1 薬草の産地別の水銀濃度

各水銀濃度は、薬草の乾燥重量当たりの平均濃度で示した。薬草中最高濃度はNo.2のどくだみで $0.27\mu\text{g/g}$ 、最低濃度はNo.6のおおぼこで $0.02\mu\text{g/g}$ であった。

産地別に見た水銀濃度は、どくだみ>よもぎ>おおぼこの順であった。

また、どくだみは、県内18地点中16地点で最高濃度

を示した。

1-2 薬草の水銀濃度と検体数について

図2は、各薬草における水銀濃度別の検体数を示すヒストグラムである。平均水銀濃度はどくだみで $0.12\mu\text{g/g}$ 、よもぎで $0.08\mu\text{g/g}$ 、おおぼこで $0.06\mu\text{g/g}$ であった。

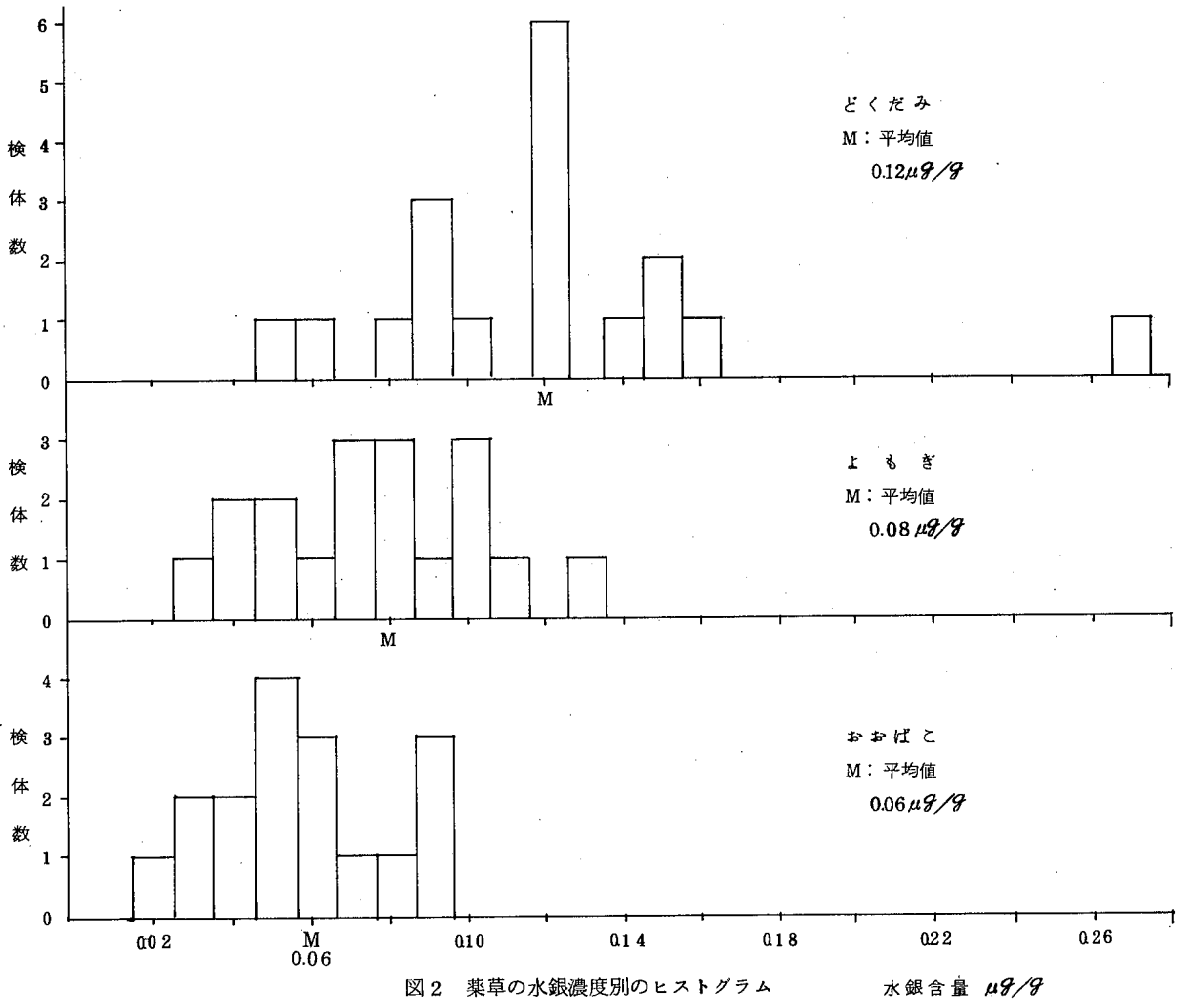


図2 薬草の水銀濃度別のヒストグラム

水銀含量 $\mu\text{g/g}$

また、各薬草においてヒストグラムのピークの水銀濃度は、どくだみで $0.12 \mu\text{g/g}$ 、よもぎで $0.07 \sim 0.08 \mu\text{g/g}$ 、おおばこで $0.05 \sim 0.06 \mu\text{g/g}$ であった。

これらの傾向は前報¹⁾と同様であった。

2. 薬草と土壌

2-1 土壌に添加した酢酸フェニル水銀の回収率に及ぼすTMP溶液の濃度の影響

金-アマルガム法に適切なTMP溶液の濃度を検討するため、0.3%、1%、2%、3%、5%各TMP溶液10mlで、土壌及び標準土壌各5gからそれぞれ水銀を抽出し金-アマルガム法で測定し、水銀の回収率を求めた。これらの結果を表1に示す。表1に示した水銀濃度は、土壌の乾燥重量当たりの水銀濃度として表わしたものである。水銀の回収率は2%TMP溶液で28.7%、3%TMP溶液で44.7%、5%TMP溶液で45.7%であった。

なお、試料分解用石英ボードの浸蝕性は、TMP溶液の濃度が高くなるにつれ増大するので、土壌試料からの水銀の抽出に、3%TMP溶液を使用することとした。

表1 土壌に添加した水銀の回収率に及ぼすTMP溶液の濃度の影響

| TMP濃度 (%) | 標準土壌中の水銀 (ng/g) | 土壌中の水銀 (ng/g) | 回収した水銀 (ng/g) | 回収率 (%) |
|-----------|-----------------|---------------|---------------|---------|
| 0.3 | 71 | 13 | 58 | 19.3 |
| 1.0 | 69 | 13 | 56 | 18.7 |
| 2.0 | 99 | 13 | 86 | 28.7 |
| 3.0 | 157 | 23 | 134 | 44.7 |
| 5.0 | 168 | 31 | 137 | 45.7 |

(水銀添加量: 300 ng/g)

2-2 薬草中の水銀濃度と土壌の水銀濃度について表2に、薬草中の水銀濃度及びそれらが自生した土壌中の総水銀濃度、3%TMP可溶性水銀濃度を、試料の乾燥重量当たりの水銀濃度として示した。

表2 薬草及びそれらが自生した土壌中の水銀濃度

| No. (地点) | 薬草 | 薬草中の水銀 ($\mu\text{g/g}$) | 薬草の自生した土壌 | |
|-------------|------|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|
| | | | 総水銀 ($\mu\text{g/g}$) | 3%TMP可溶性水銀 ($\mu\text{g/g}$) |
| 1 | どくだみ | 0.13 | 0.22 | 0.022 |
| 2 | " | 0.12 | 0.17 | 0.022 |
| 3 | " | 0.12 | 0.20 | 0.048 |
| 4 | " | 0.10 | 0.11 | 0.030 |
| 5 | " | 0.14 | 0.20 | 0.037 |
| | | 0.12 | 0.18 | 0.032 |
| 1 | よもぎ | 0.04 | 0.15 | 0.020 |
| 2 | " | 0.05 | 0.22 | 0.032 |
| 3 | " | 0.05 | 0.15 | 0.017 |
| 4 | " | 0.06 | 0.18 | 0.009 |
| 5 | " | 0.11 | 0.16 | 0.018 |
| 6 | " | 0.10 | 0.19 | 0.011 |
| | | 0.07 | 0.18 | 0.021 |
| 1 | おおばこ | 0.05 | 0.14 | 0.011 |
| 2 | " | 0.06 | 0.19 | 0.008 |
| 3 | " | 0.06 | 0.11 | 0.006 |
| | | 0.06 | 0.15 | 0.008 |

No.1:川崎新河岸川, No.2:川島町神社, No.3:浄空院
No.4:入西, No.5:長宮水川神社, No.6:浄空院

どくだみ, よもぎ, おおばこの自生する土壌の総水銀濃度の平均はそれぞれ $0.18\mu\text{g/g}$, $0.18\mu\text{g/g}$, $0.15\mu\text{g/g}$, 3%TMP可溶性水銀濃度の平均は, それぞれ $0.032\mu\text{g/g}$, $0.021\mu\text{g/g}$, $0.008\mu\text{g/g}$ であった。

どくだみ, よもぎ, おおばこの自生する土壌の総水銀濃度の平均はほぼ等しく, 一方, 3%TMP可溶性水銀濃度の平均には差がみられた。

2-3 薬草の水銀の濃縮係数について

表3は薬草の種類別の総水銀及び3%TMP可溶性水銀に対する濃縮係数を示したものである。総水銀濃縮係数は, 前報¹⁾と同様に薬草の水銀濃度と薬草の自生した土壌の総水銀濃度との比で示した。また3%TMP可溶性水銀濃縮係数は, 薬草の水銀濃度と3%TMP可溶性水銀濃度との比で示した。総水銀濃縮係数の平均はどくだみで0.70, よもぎで0.40, おおばこで0.41, 一方3%TMP可溶性水銀濃縮係数の平均は, どくだみで4.3, よもぎで4.6, おおばこで5.7であった。

土壌の水銀化合物の大部分が水に不溶性の硫化物⁴⁾として存在し, 薬草に吸収されないことを考えると, 総水銀濃縮係数より, 3%TMP可溶性水銀濃縮係数が水銀の薬草にとりこまれる傾向をよく示すものと考えられる。

どくだみの平均水銀濃度が, よもぎ, おおばこの平均水銀濃度の約2倍である原因は, 薬草間の3%TMP可溶性水銀濃縮係数の平均値に大きな違いがないことから, おそらくどくだみの自生する土壌のTMP可溶性水銀濃度が他の薬草のそれより高いためと思われる。

表3 薬草の水銀及び3%TMP可溶性水銀濃縮係数

| No. (地点) | 薬草 | 水銀濃縮係数 ^{a)} | 3%TMP可溶性水銀濃縮係数 ^{b)} |
|-------------|------|----------------------|------------------------------|
| 1 | どくだみ | 0.59 | 6.5 |
| 2 | " | 0.71 | 6.0 |
| 3 | " | 0.60 | 2.4 |
| 4 | " | 0.91 | 3.3 |
| 5 | " | 0.70 | 3.5 |
| | | 0.70 | 4.3 |
| 1 | よもぎ | 0.27 | 2.0 |
| 2 | " | 0.23 | 1.7 |
| 3 | " | 0.33 | 2.5 |
| 4 | " | 0.33 | 6.0 |
| 5 | " | 0.69 | 5.5 |
| 6 | " | 0.53 | 10.0 |
| | | 0.40 | 4.6 |
| 1 | おおばこ | 0.36 | 5.0 |
| 2 | " | 0.32 | 6.0 |
| 3 | " | 0.55 | 6.0 |
| | | 0.41 | 5.7 |

No.1:川崎新河岸川, No.2:川島町神社,
No.3:浄空院, No.4:入西,
No.5:長宮水川神社, No.6:浄空院

a) 薬草中の水銀 濃縮係数
b) 薬草中の水銀 濃縮係数
土壌中の総水銀, 3%TMP可溶性水銀

要 約

薬草間の水銀濃度を調べる目的で, 県内18地点を選び, どくだみ, よもぎ, おおばこの3種類計53検体及びそれらが自生した土壌14検体を採取し, それぞれの水銀濃度を測定した。

1) 薬草の平均水銀濃度は, どくだみで $0.12\mu\text{g/g}$, よもぎで $0.08\mu\text{g/g}$, おおばこで $0.06\mu\text{g/g}$ であった。
2) どくだみ, よもぎ, おおばこの自生した土壌の総水銀濃度の平均は, それぞれ $0.18\mu\text{g/g}$, $0.18\mu\text{g/g}$, $0.15\mu\text{g/g}$, 3%TMP可溶性水銀濃度の平均は, それぞれ $0.032\mu\text{g/g}$, $0.021\mu\text{g/g}$, $0.008\mu\text{g/g}$ であった。

3) どくだみ, よもぎ, おおばこの総水銀濃縮係数の平均は, それぞれ0.70, 0.41, 0.40, 3%TMP可溶性水銀濃縮係数の平均はそれぞれ4.3, 4.6, 5.7であった。

以上の結果から, どくだみの水銀濃度がよもぎ, おおばこの水銀濃度より高い原因は, 土壌中にTMP可溶性水銀が多く含まれているためと思われる。

文 献

- 1) 森本功, ほか5名(1978):生薬中の総水銀量について(II), 埼玉県衛生研究所報, 12, 43-48.
- 2) 環境庁土壌農薬課編(1974):土壌汚染, 252.
- 3) 渋谷政夫, ほか2名(1978):重金属測定法, 博友社 190-191.
- 4) 環境庁土壌農薬課編(1974):土壌汚染, 216-217.

化粧品用タール色素の突然変異原性

渡辺富士雄 野坂 富雄 森本 功
興津 知明

はじめに

最近の研究の進歩につれて、発がん変異原物質との間の関連が明らかになった。このため、環境中の発がん物質のスクリーニングテストに変異原性テストが行われている。変異原性テストには、微生物を用いた方法、ショウジョウバエやカイコを用いた方法、チャイニーズハムスター卵巣細胞などの培養細胞を用いた方法などが知られている。これらの方法のなかで、微生物を用いた変異原性テストは経済性、迅速性に優れており、Amesによるサルモネラ菌のヒスチジン栄養要求株を用いたAmes test¹⁾、賀田による枯草菌のDNA修復機能欠損株と野性株を用いたrec-assay²⁾などが一般化されている。

タール色素は、現在、メイクアップ製品などの原料として用いられている。また、医薬品、医薬部外品及び化粧品に使用できるタール色素及びその品質は厚生省令によって定められている。しかし、アリザリンイエロー³⁾、ゲンチアナバイオレットB⁴⁾など多くの色素が変異原性を有することが明らかになっている。また、Muzzallら⁵⁾は市販の口紅から抽出した色素に変異原性があることを報告し、Ames⁶⁾及び吉川⁷⁾は酸化染毛剤の原料が変異原性を示す事実を明らかにした。従って、化粧品などに使用されているタール色素の安全性を評価するための指標として変異原性の検討を行うことは必要であると考えられる。そこで著者らは、厚生省令で化粧品原料として指定されているタール色素の17種について、rec-assay及びAmes testを用いて、変異原性の検索を行った。変異原性試験方法は既知の方法であるが、その紹介と合わせて検討の結果を報告する。

方法

1. 試薬

肉エキス(極東薬品製)、ポリペプトン(大五栄養製)、寒天(Difco製)、ニュートリエントプロス(Difco製)、POB(西尾工業製、カネクロール500)、G-6-P、NADH、NADPH(以上オリエンタル酵母製)、ジメチルスルホキシド(以下DMSOと略す。和光純薬製)。

2. 試料

赤色202号(Lithol Rubine BOA)、赤色203号(Lake Red C)、赤色204号(Lake Red OBA)、赤色206号(Lithol Red OA)、赤色207号(Lithol Red BA)、赤色213号(Rhodamine B)、赤色215号(Rodamine B stearate)、赤色220号(Deep Maroon)、赤色223号(Tetrabromofluorescein)、赤色227号(Fast Acid Magenta)、青色1号(Brilliant Blue FCF)、青色205号(Alphazurine FG)、だいだい色201号(Dibromofluorescein)、だいだい色205号(Orange II)、緑色201号(Alizarin Cyanine Green F)、緑色202号(Quinizarin Green SS)以上K化粧品会社から提供を受けた。黄色201号(Fluorescein)は関東化学製試薬を使用した。

3. 菌株

1) 枯草菌(*Bacillus subtilis*) H17 (rec⁺, arg⁻ try⁻)、M45 (rec⁻, arg⁻ try⁻)
2) サルモネラ菌(*Salmonella typhimurium*) TA98, TA100 以上の4株は、国立遺伝研究所変異遺伝部長、賀田博士から分与された。

4. 培地

1) B-2プロス寒天培地
肉エキス10g、ポリペプトン10g、塩化ナトリウム5gに蒸留水を加え1000mlとし、PH7.0に調整した後、10gの寒天を加えた。
2) 最小グルコース寒天培地
リン酸二カリウム・無水塩10g、リン酸水素アンモニウムナトリウム・四水塩3.5g、クエン酸・一水塩2g、硫酸マグネシウム・七水塩0.2gに蒸留水を加えて1000mlとし、PH7.0に調整した。これにグルコース20g、寒天15gを加えた。
3) ソフトアガー
寒天7g、塩化ナトリウム6gに蒸留水を加え1000mlとした。

5. 試料溶液の調製

試料をDMSOに溶解し、10mg/ml、5mg/ml、1mg/mlの試料溶液を調製した。試料溶液は滅菌しなくても十

分, 実験に使用することができた。

6. S9mixの調製

Sprague-Dawley系ラットの5週令雄に, 体重100g当たりPCB50mgを腹腔内投与した。PCBはコーンオイルに溶解して使用した。投与後5日目に断頭により屠殺し, 肝臓を摘出した。肝臓を細切した後, 肝重量の2倍量の0.15mM塩化カリウム溶液を加え, ホモジナイズした。これを9000×g10分間遠心し, その上清(S9分画)を分取し, -80°Cにて保存した。

S9mixは, S9分画0.3ml, 塩化マグネシウム8μmol, 塩化カリウム33μmol, G-6-P5Fμmol, NADPH4μmol, NADH4μmol, 250mMリン酸緩衝液(pH7.4)100μmolに蒸留水を加えて1mlとした。S9mixは用時調製した。

7. rec-assay

DNA組換え修復機能を欠くM45(rec⁻)株は, 修復機能を有する野性株H17(rec⁺)株に比べ, 化学物質によってDNA損傷を受けやすく高い致死感受性を示す。rec-assayは, この致死感受性の差を利用して変異原を調べる方法である。本報では, 賀田のrec-assay²⁾の改良法⁸⁾を用いた。

B-2プロス寒天培地を加熱溶解し, 45°Cに保温した。H17またはM45株の胞子浮遊液(約2×10⁷/ml)0.1ml及びB-2プロス寒天培地10mlをシャーレに入れ, よく混合した。固化後, 厚さ約1mm, 直径8mmの円型ろ紙に, 10mg/ml濃度の試料溶液60μlをしませ, 胞子寒天培地上におき, 37°Cで24時間培養後, 生じた阻止円の長さを測定した。阻止円の長さの差が2mm以上のものを陽性とした。

8. Ames test

Salmonella typhimurium TA98, TA100株は変異原物質によって, ヒスチジン要求株からヒスチジン非要求株へ復帰突然変異を起す。両株はAmesらによって開発された株でR因子プラスミド, pKM101を組み込み, 従来の菌株(TA1538, TA1535)より変異原に対する感受性を高めたものである⁹⁾。TA98はFlame-shift型突然変異の検出に, TA100は塩基置換型突然変異の検出に用いられる。また, 代謝活性化酵素系(S9mix)の併用によって代謝活性化後の変異原を検出することができる¹⁾。本報では, Amesの方法にブレインキューベーションを加えた矢作の方法¹⁰⁾を用いた。

試験の前日に, 菌株をニュートリエントプロスに接種し, 37°Cで16時間振とう培養して菌懸濁液(菌数1×10⁹/ml)を調製した。溶かしたソフトアガー100mlに5mMヒスチジン-5mMビオチン溶液10mlを加え45°Cに保温した。試料溶液0.1mlにS9mix(または250mMリン酸緩衝液pH7.4)0.5ml, 菌懸濁液0.1mlを加え37°Cで20分間おだやかに振とうした。これに上述のソフトアガー2mlを加え, 最小グルコース寒天培地プレート上に注ぎ, 手早く一様に広げた。37°Cで2日間培養後, 復帰

変異コロニーを計数した。復帰変異コロニー数がTA98では100以上, TA100では300以上のものを陽性と判定した。

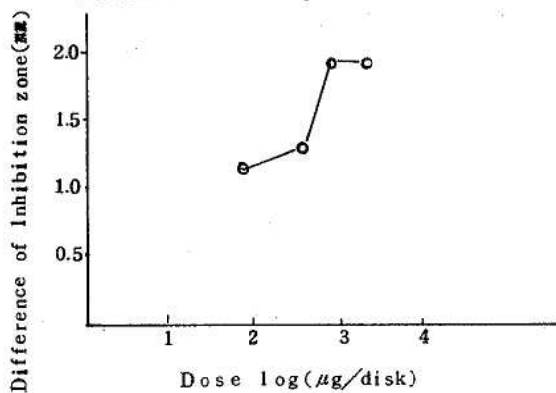
結果および考察

rec-assayの結果をTable.1に示した。陽性と判定されたものはなかった。赤色202号, 赤色213号, 赤色215号, 赤色223号, だいたい色201号, だいたい色205号及び緑色201号に阻止円の差がみられた。このように, 1~2mmの再現性のあるrec-effectを示すものは, DNAに直接作用するのではなく, DNA合成過程になんらかの干渉を行うことによるもの¹¹⁾と考えられている。

Table.1 The results of rec-assay of cosmetic coal-tar dyes

| Dye(600μg/disk) | Inhibition zone(mm) | | Difference |
|-----------------|------------------------|------------------------|------------|
| | H17(Rec ⁺) | M45(Rec ⁻) | |
| control | 0 | 0 | 0 |
| Red No.202 | 3.4 | 4.7 | 1.3 |
| Red No.203 | 0 | 0 | 0 |
| Red No.204 | 0 | 0 | 0 |
| Red No.206 | 0 | 0 | 0 |
| Red No.207 | 0 | 0 | 0 |
| Red No.213 | 5.6 | 7.1 | 1.5 |
| Red No.215 | 5.0 | 6.0 | 1.0 |
| Red No.220 | 0 | 0 | 0 |
| Red No.223 | 6.2 | 7.8 | 1.6 |
| Red No.227 | 0 | 0 | 0 |
| Blue No.1 | 0 | 0 | 0 |
| Blue No.205 | 0 | 0 | 0 |
| Orange No.201 | 6.8 | 8.7 | 1.9 |
| Orange No.205 | 0 | 1.3 | 1.3 |
| Green No.201 | 0 | 1.1 | 1.1 |
| Green No.202 | 0 | 0 | 0 |
| Yellow No.201 | 0 | 0 | 0 |

Fig.1 The dose-response curve of orange No.201 in rec-assay



だいたい色201号は、阻止円差が1.9mmと陽性に近い値を示したため、確認のため定量的に rec-assay を行い、Fig.1 のような Dose-response curve を得た。600μg/disk までは、rec-effect の増大がみられ

たが、1200μg/disk では阻止円差は1.9mmであり、600μg/disk の値から変化せず、最大値は1.9mm/600μg·disk であることが判った。

Ames test の結果を Table.2 に示した。だいたい色

Table.2 Mutagenic activity of cosmetic coal-tar dyes in Ames test

| Dye | μg/plate | revertants / plate | | | |
|----------------|----------|-----------------------------|---------------|--------|--------|
| | | TA 98 | | TA 100 | |
| | | S9 (-) | S9 (+) | S9 (-) | S9 (+) |
| Red No. 202 | 1000 | 10 | 25 | 94 | 128 |
| | 500 | 11 | 29 | 164 | 145 |
| | 100 | 10 | 30 | 157 | 177 |
| Red No. 203 | 500 | 27 | 39 | 167 | 118 |
| | 100 | 13 | 41 | 155 | 179 |
| Red No. 204 | 500 | 32 | 40 | 165 | 122 |
| | 100 | 18 | 36 | 151 | 179 |
| Red No. 206 | 1000 | 19 | 31 | 135 | 125 |
| | 500 | 28 | 32 | 165 | 171 |
| | 100 | 21 | 39 | 174 | 175 |
| Red No. 207 | 1000 | 13 | 38 | 191 | 159 |
| | 500 | 28 | 44 | 168 | 140 |
| | 100 | 20 | 37 | 151 | 137 |
| Red No. 213 | 1000 | 4 | 62 | 101 | 115 |
| | 500 | 16 | 54 | 136 | 124 |
| | 100 | 18 | 35 | 175 | 122 |
| Red No. 215 | 1000 | 2 | 78 | 98 | 129 |
| | 500 | 10 | 74 | 133 | 109 |
| | 100 | 23 | 46 | 174 | 132 |
| Red No. 220 | 1000 | 17 | 27 | 186 | 136 |
| | 500 | 25 | 38 | 186 | 130 |
| | 100 | 26 | 32 | 178 | 135 |
| Red No. 223 | 1000 | 9 | 25 | 191 | 108 |
| | 500 | 3 | 29 | 140 | 132 |
| | 100 | 4 | 30 | 166 | 134 |
| Red No. 227 | 1000 | 17 | 36 | 145 | 172 |
| | 500 | 17 | 47 | 181 | 134 |
| | 100 | 12 | 36 | 187 | 121 |
| Blue No. 1 | 1000 | 16 | 30 | 118 | 107 |
| | 500 | 25 | 33 | 126 | 157 |
| | 100 | 16 | 30 | 136 | 148 |
| Blue No. 205 | 1000 | 8 | 33 | 149 | 157 |
| | 500 | 23 | 38 | 162 | 165 |
| | 100 | 30 | 33 | 136 | 145 |
| Orange No. 201 | 1000 | <u>266±90</u> ^{a)} | 86±18 | 131 | 148 |
| | 500 | <u>456±95</u> | <u>108±18</u> | 169 | 139 |
| | 100 | <u>204±32</u> | 43±5 | 148 | 118 |
| Orange No. 205 | 1000 | 40 | 23 | 154 | 175 |
| | 500 | 28 | 13 | 153 | 187 |
| | 100 | 23 | 30 | 165 | 164 |
| Green No. 201 | 1000 | 25 | 37 | 122 | 181 |
| | 500 | 29 | 30 | 125 | 154 |
| | 100 | 21 | 39 | 142 | 152 |
| Yellow No. 201 | 1000 | 15 | 30 | 174 | 187 |
| | 500 | 19 | 24 | 176 | 180 |
| | 100 | 24 | 43 | 174 | 166 |
| Control | | 22±4 | 37±5 | 135±26 | 139±23 |

a) Mean and standard deviation of revertants from 3 tests; underlined data indicates that the dye was mutagenic at the concentration tested.

201号は、TA98で、復帰コロニー数が456/500 $\mu\text{g} \cdot \text{plate}$ であり、自然復帰コロニー数の約20倍であった。しかし、S9mix(+)では、復帰コロニー数は108/500 $\mu\text{g} \cdot \text{plate}$ と減少し、代謝活性化によって変異原性は弱まる事が判った。また、TA100では自然復帰コロニー数とほぼ同じ復帰コロニー数であり、陰性と判定されたことから、だいたい色201号はFlame-shift型の変異原であると考えられる。

Ames testの欠点として、試料中にヒスチジンが存在すると復帰コロニー数が増加するため、みかけ上、変異原性があらわれることがある。このため、フルオレサミン-ヒスチジン薄層クロマトグラフィー法¹²⁾(検出限界: 20 pmol)によってだいたい色201号中のヒスチジンの検出を行ったが、ヒスチジンけい光スポットはみられなかった。

また、試料中の夾雑物を調べるため、だいたい色201号について薄層クロマトグラフィー(シリカゲル:ワコーゲルB-10・和光純薬製、展開溶媒:酢酸エチル-ピリジン-水 7:3:1)を行ったところ7種のスポットが得られた。だいたい色201号は、通常、付随色素として、フルオレセイン、4-ブロムフルオレセイン、2,4及び2,5-ジブロムフルオレセイン、2,4,5-トリブロムフルオレセイン、2,4,5,7-テトラブロムフルオレセインを含んでおり¹³⁾、薄層クロマトグラフィーのスポットはこれらの付随色素と思われる。このことは、だいたい色201号の変異原性は付随色素に起因していることも考えられ、このことについての検討は今後の研究を待ちたい。

一方、女性は平均して、1日に口紅を1500 μg 摂取している⁵⁾といわれている。この量は、だいたい色201号がサルモネラ試験菌株に突然変異を引き起す濃度に近い量と思われる。従って、だいたい色201号については十分に検討を行う必要がある。

また、だいたい色201号は、rec-assayでは陰性であったが、Ames testでは陽性であり、試験結果が一致しなかった。これは、薬物に対する菌種の膜透過性の差異や特異性などによるもの¹⁴⁾と考えられている。

要 約

化粧品用タール色素の安全性を評価する目的で、化粧品用タール色素17種の変異原性を、枯草菌を用いたrec-assayとサルモネラ菌TA98株、TA100株を用いたAmes testによって検索した。その結果、rec-assayでは陽性と判定されたものはなかった。Ames testではだいたい色201号が陽性であり、Flame-shift型の変異原物質が含まれていることがわかった。

- 1) Bruce N. Ames, Joyce Mccann and Edith Yamasaki (1975): Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test, Mutation Research, 31, 347-364.
- 2) T. Kada, K. Tutikawa and Y. Sadaie (1972): In vitro and host-mediated "rec-assay" procedures for screening chemical mutagens; and phloxine, a mutagenic red dye detected, Mutation Research, 16, 165-174.
- 3) Joseph P. Brown, Gerald W. Rhom and Ronald J. Brown, (1978): Mutagenicity testing of certified food colors and related azo, xanthene and triphenylmethane dyes with the salmonella/microsome system: Mutation Research, 56, 249-271.
- 4) 藤田博, 水尾昭江, 平賀興吾(1976): 色素の微生物系における変異原性について, 東京衛研年報, 27の2, 153-158.
- 5) Jeanne M. Muzzall and Warren L. Cook (1979): Mutagenicity test of dyes used in cosmetics with the Salmonella/mammalian-microsome test, Mutation Research, 67, 1-8.
- 6) Bruce N. Ames, H. O. Kammen, and Edith Yamasaki (1975): Hair Dyes are mutagenic: Identification of a Variety of mutagenic ingredients, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72 (6), 2423-2427.
- 7) 吉川邦衛, 内野晴美, 倉田浩(1976): 染毛剤の突然変異性に関する研究, 衛生試験所報告, 94, 28-32.
- 8) 平野光一(1978): 微生物による最新の変異原検出試験諸改良点, 変異原と毒性, 2, 54-57.
- 9) Joyce Mccann, Neil E Spingarn, Joan Kobori, and Bruce N. Ames (1975): Detection of carcinogens as mutagens: Bacterial tester strains with R factor plasmids, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72 (3), 979-983 (1975).
- 10) 矢作多貴江(1975): 環境中の発ガン物質を微生物を使ってスクリーニングする実験法について, 蛋白質・核酸・酵素, 20(13), 1178-1189.
- 11) 田島弥太郎, 吉田俊秀, 賀田恒夫(1973): 化学物質の突然変異検出法, 講談社, P35.

12) Hiroshi Nakamura (1977) : Thin-layer chromatography of histidine, histamine and histidyl peptides at picomole level using a unique fluorogenic reaction with fluorescamine, Journal of chromatography, 131, 215-222.

13) 日本薬学会編(1980) : 衛生試験法注解, 金原

出版, P705.

14) Nobutake Kanematsu, Masako Hara and Tsuneo kada (1980) : Rec-assay and mutagenicity studies on metal compounds, Mutation Research, 77, 109-116.

ゼーマン原子吸光法による血中重金属の定量 (希釈直接法と硝酸分解法の比較)

鈴木 章 森本 功 興津 知明

はじめに

近年生体内の重金属分析の重要性が広く認められるようになり、血液中の重金属の分析は公衆衛生上大きな意義をもつと考えられている。血中重金属の分析は血液量を多く採取できないこと、成分が変化しやすいこと、タンパク質などの成分により測定妨害を受けやすいことなどから測定に種々の問題点を生じやすい。また多数の検体をできるだけ簡易に、かつ汚染を受けることなく測定する方法として血液を直接希釈か、簡単な処理後フレイムレスによる原子吸光測定することが考えられるが、測定時に発生するスモークは測定に著しい妨害を与え、これは重水素ランプによるバックグランド補正では補正しきれないことが多い。最近使用されるようになった偏光ゼーマン方式によるバックグランド補正ではこの補正がほぼ可能と考えられるのでこの装置による測定の検討を行った。血液試料は直接希釈及び硝酸による簡単な分解を行ったものを用い、測定条件、妨害、くり返し精度などを検討したのでその結果を報告する。

方 法

1. 装 置

日立170-70型ゼーマン原子吸光光度計にデュープ型グラファイトキューベットを使用した。

2. 試 薬

クロム、銅、マンガン、ニッケル、カドミウム、鉛の各標準溶液は和光純薬製原子吸光用標準液(1000ppm)を希釈して用いた。硝酸は和光純薬製S.S.G.を使用した。

3. 試 料

血液は人血を用い、採取後直ちに凝固防止剤としてEDTA-3カリウム塩を血液1ml当り1mgになるように加えた。EDTA-3カリウム塩は本実験に用いた濃度では各金属の測定値に影響を与えなかった。測定には全血を用いた。血液中のニッケルは表1に示した検出限界以下であったので、血液中にニッケルが多く含まれた場合の検体として、ニッケルの標準液を10ppmの濃度になるよう採取直後の血液に添加した。

表 1 分析条件及び検出限界

| | | Cr | Cu | Cd | Pb | Mn | Ni |
|------------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 分析線(nm) | | 357.9 | 324.7 | 228.8 | 283.3 | 279.8 | 232.0 |
| ランプ電流(mA) | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 15 |
| 硝酸分解法 | Dry. sec. | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | Ash. sec. | 100 | 100 | 60 | 80 | 100 | 100 |
| | | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 希釈直接法 | Dry. sec. | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| | | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| | Ash. sec. | 100 | 100 | 60 | 80 | 100 | 100 |
| | | 30 | 30 | 60 | 30 | 30 | 30 |
| Atom. sec. | A | 310 | 310 | 170 | 220 | 270 | 310 |
| | sec. | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 検出限界(ppb) | | 2 | 3 | 0.1 | 1 | 1 | 20 |

Dry. : ランプモード

アルゴンガス : sheath 3.0 l/min

chrrier 0.3 l/min

サンプル量 : 20 μl

サンプル希釈率 : 10

実験結果

1. 希釈直接法

1) 測定条件の検討

血液を希釈せず直接原子吸光測定を行うと原子化時のスモークの発生が多く、補正を完全に行うことができず、さらに血液の粘性が高いためにマイクロピペットによる注入誤差も大きくなった。したがって血液 1 ml を蒸留水で 10 ml に希釈して測定した。また塩酸あるいは硝酸を加えると血液が凝固し、沈澱を生ずるので酸は加えなかった。

フレイムレス原子吸光の乾燥過程では試料の突沸を防ぐためと、灰化初期の燃焼による目的元素の損失を防ぐために、ランプモードにより電流を灰化の過程まで上げた。以上の結果から測定条件を表 1 のように定めた。灰化過程で表 1 に示した電流では各元素とも 2 分間の灰化時間で損失はなかったが、この電流値を上げると短い灰化時間でも目的元素の減少がみられた。原子吸光測定時にスモークが発生したが、バックグラウンド補正は十分であった。

2) くり返し精度

上記の結果から、血液を蒸留水で 10 倍希釈して直接フレイムレス原子吸光法による測定を行うことにより重金属の測定が可能と考えられるので、この方法によりくり返し精度の検討を行った。同一試料による 10 回のくり返し測定の結果、カドミウム及び鉛では再現性悪く、変動係数は

カドミウム 24%、鉛 13% であり、灰化時間も長く、定量法としては不適當であった。銅、マンガン、ニッケルでは負の干渉があるため標準添加法を用いれば測定可能であり、変動係数は銅 11%、マンガン 7%、ニッケル 2% であった。クロムについては干渉が認められず、直接測定は可能であったが、変動係数は 12% と余り良くなかった。

2. 硝酸分解法

1) 測定条件の検討

血液 5 ml を 25 ml 試験管にとり硝酸 5 ml を加え 1 時間静置後、110°C のアルミブロックバスで血液の黒色が消え褐色になるまで加熱後、水で 10 ml とした。測定時にはこの液 2 ml を水で 10 ml とした。フレイムレス原子吸光の測定条件は検討の結果、表 1 の通り行った。原子化時にはスモークが発生したがバックグラウンド補正は十分であった。

2) 硝酸の影響

硝酸分解したものについて硝酸濃度を測定したところ 1.3 N であったので硝酸による影響を検討した。各元素の標準液に対して硝酸を 0~2 N になるように加えて測定した。結果は図 1 に示した。縦軸は硝酸無添加での各金属測定値に対する各硝酸濃度における測定値の比を相対強度として % で示したものである。図 1 より各金属とも酸の影響が認められた。しかしむしろ酸濃度の高い範囲で相対強度の変化は少なく、また血液分解後の酸濃度もほぼ一定であるのでそのまま測定した。

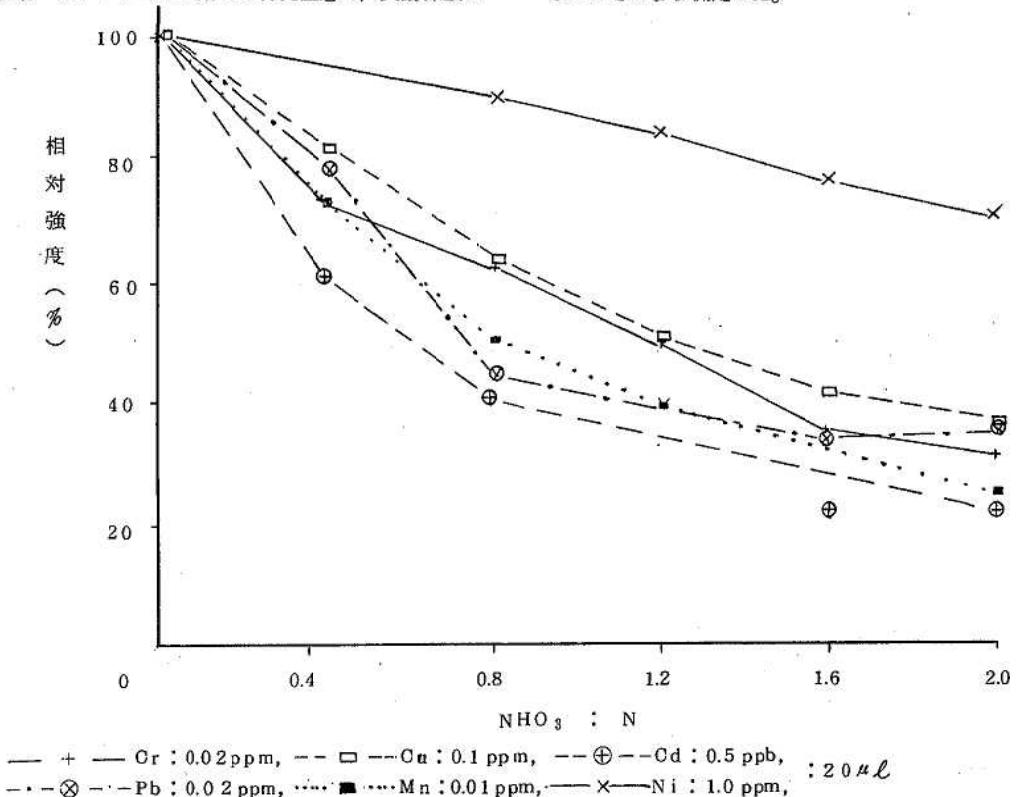


図 1 硝酸濃度の影響

3) くり返し精度

同一試料の10回くり返し測定の結果、変動係数はクロム5%、銅10%、マンガン6%、ニッケル5%、鉛4%、カドミウム7%と直接希釈法にくらべておおむね良好であった。しかし負の干渉があるため標準添加法を用いれば測定可能であった。

3. 鉄の影響

血液中には約500ppmの鉄を含んでいるため、鉄の干

渉について検討を行った。測定時に血液が希釈されることを考慮し、各金属の標準液に鉄を0~100ppmになるように添加して測定した。結果は図2に示した。縦軸は鉄無添加の各金属の測定値に対して、鉄を添加したときの測定値の比を%で表した。図2から、鉄50ppmまででは銅及びカドミウムで干渉が認められたが、他の金属ではほとんど影響はみられなかった。

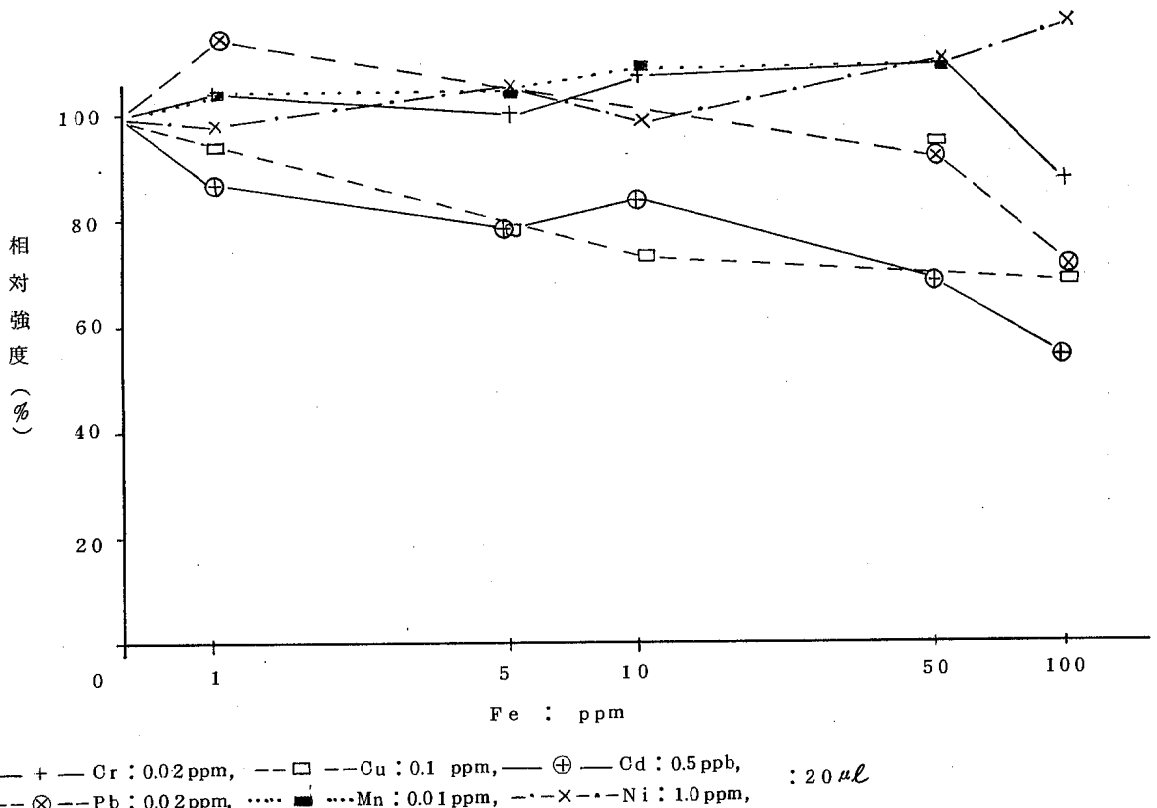


図2 鉄の影響

要約

血液に含まれる数種の金属の測定法を、希釈のみの場合と硝酸分解した場合につき検討した。測定はスモークによる妨害を防ぐためゼーマン原子吸光法を用いた。水による希釈のみの測定は、鉛及びカドミウムには適さないが、クロムは直接測定可能であり、銅及びマンガンも標準添加法により測定可能であった。硝酸分解したものでは標準添加法により測定可能であり、希釈のみの場合にくらべて変動

係数も4~10%と少く良好であった。これらの結果から、ゼーマン原子吸光法を用いることにより、血液を硝酸で加熱分解するのみで、銅、クロム、マンガン、鉛及びカドミウムの測定が可能であることを認めた。

文献

- 1) 三島昌夫(1975), 原子吸光分析法による血液中の重金属分析, 分析化学, 24, 433-436.
- 2) 細貝祐太郎ほか(1978), 有害元素マニュアル(中央法規出版), 315~323.

有機塩素系農薬およびPCB等による母乳汚染疫学調査

山田 文子* 田中 章男* 能勢 憲英* 渡辺 昭宣*
渋谷 修** 若狭 衛** 伊藤 賢行**

はじめに

昭和53年度に引き続き、本年度も、母乳中の有機塩素系農薬およびPCB, PCTについて調査を行ったので、その結果をここに報告する。

調査方法及び実験方法

県内の5保健所(川口, 熊谷, 春日部, 朝霞, 中央)管内に居住する産婦114名から前回同様母乳約100mlを採取し、検査に供した。実験方法は前報¹⁾と同様である。

調査結果

調査対象者については、前報¹⁾と同様の分類を表1, 表2に示したが、今回は初産者が52.6%, 経産者が47.4%と初産者が経産者より多く、産婦の年齢も20代, 30代のみであった。居住区分では、農村, 工場周辺に住む産婦が少なく、住宅地域に住む産婦が約85%となっている。

検査各項目についての検出率は、総BHC, 総DDT, PCBについては100%, ディルドリンは72.8%, PCTは95.6%であった。また、濃度分布については、前報¹⁾と同様に分類をしてみると、PCTと脂肪含量を除き検出濃度幅が広がっているが、初産が経産に比して高濃度に検出される傾向は同様であった。総BHC, 総DDT, PCB, 脂肪量については、居住地区間に余り差は見られないが、ディルドリン, PCTについては若干差が見られる。表9に示す中央値, 平均値についても概ね昨年より高く、表10で明らかなように、最高値が昨年より高く、検出濃度幅が広がっていることにより、平均値も高くなっている。調査を始めた当初に比べると減少の傾向は見られるものの、高濃度に検出されるものが依然として存在することは、汚染の長期化を想わせる。

また、各検査項目について、濃度別検出数のヒストグラムを書いてみると、脂肪含量, 総BHC, 総DDTは、正規分布に近い分布をしているが、PCB, PCTでは異なっている。ディルドリンは不検出検体が多く、分布の型が

異なっている。このことは、有機塩素系農薬の汚染が長期化, 広域化していることにより、バックグラウンド的に存在するようになってきていることを示しているものと思われる。

母乳中PCBの検出濃度について、年代, 出産回数, 乳児期栄養(母乳, 混合), 居住地別について検討を行ったところ、初産で、乳児期栄養が母乳の母親からの母乳に限っては20代, 30代の検出値について差が見られるが、経産者の母乳については差がみられない。出産回数別では、初産と経産(2回, 3回, 4回)との間で差が見られた。しかし、初産乳, 経産乳ともに、乳児期栄養法の差, 居住地による差は見られない。

PCTについても、同様の検討を行ったが、何も知見は得られなかった。

まとめ

前年度と同様の検出状況が得られたが、減少の傾向は見られず、今後の調査の必要性を感じさせられる。

また、検出濃度の頻度から、有機塩素系農薬汚染の長期化, 広域化が伺われる。

各検査項目間の相関性については、ほぼ、昨年と同様であった。

PCB汚染については、その体内残留性と難代謝性から、県内において地域特性の余りない本県の場合、出産回数, 年齢, 乳児期栄養法について、検討の余地があったところであるが、今回検討の結果、初産, 経産の差及び年代の差が、PCB濃度の影響する要因と推定される。

終わりに、今回の調査を行うにあたり検体採取等の御協力をいただきました川口, 熊谷, 春日部, 朝霞各保健所の関係各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 埼玉県衛生研究所報 第13号(1979)

* 埼玉県衛生研究所

** 埼玉県衛生部保健予防課

表1 検体内訳

| 保健所名 | 初・経産 | 居住環境 | | | | 計 | |
|------|------|----------|---------|--------|----------|-----------------------------|-----|
| | | 都市住宅 | 農村 | 工場周辺 | その他 | | |
| 朝霞 | 初産 | 15 | 1 | | 4 | 20 | |
| | 経産 | 2 | 1 | 2 | 4 | 9 | |
| 春日部 | 初産 | 13 | 1 | | 1 | 15 | |
| | 経産 | 9 | 2 | | 3 | 14 | |
| 川口 | 初産 | 9 | | 1 | | 10 | |
| | 経産 | 10 | 1 | 3 | 1 | 15 | |
| 熊谷 | 初産 | 12 | 2 | | 1 | 15 | |
| | 経産 | 12 | 3 | | | 15 | |
| 中央 | 経産 | 1 | | | | 1 | |
| | | 83(72.8) | 11(9.6) | 6(5.3) | 14(12.3) | 初(52.6) 60 (47.4) 経54 | 114 |

表2 年令別検体数

| 保健所名 | 20~29 | | 30~39 | |
|------|-------|----|-------|----|
| | 初産 | 経産 | 初産 | 経産 |
| 朝霞 | 13 | 5 | 7 | 4 |
| 春日部 | 13 | 10 | 2 | 4 |
| 川口 | 9 | 6 | 1 | 9 |
| 熊谷 | 15 | 7 | | 8 |
| 中央 | | | | 1 |
| 計 | 50 | 28 | 10 | 26 |

表3 総BHCの全乳あたり濃度別分布

| 濃度 (ppm) | 総数 (累積劣) | | | 都市住宅 | | | 農村 | | | 工場周辺 | | | その他 | | |
|-----------|----------|----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 初産 | 経産 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 |
| 0.01未満 | 2(3.3) | 14(25.9) | 16(14.0) | 1 | 10 | 11 | 1 | 3 | 4 | | 1 | 1 | | | |
| 0.01~ | 6(13.3) | 9(42.6) | 15(27.2) | 6 | 7 | 13 | | | | | | | | 2 | 2 |
| 0.02~ | 11(31.7) | 11(63.0) | 22(46.5) | 10 | 8 | 18 | | 1 | 1 | | | | 1 | 2 | 3 |
| 0.03~ | 15(56.7) | 7(75.9) | 22(65.8) | 9 | 2 | 11 | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 | 2 | 4 | 2 | 6 |
| 0.04~ | 6(66.7) | 2(79.6) | 8(72.8) | 5 | 1 | 6 | 1 | | 1 | | 1 | 1 | | | |
| 0.05~ | 4(73.3) | 3(85.2) | 7(78.9) | 4 | 2 | 6 | | | | | | | | 1 | 1 |
| 0.06~ | 4(80.0) | 1(87.0) | 5(83.3) | 3 | | 3 | 1 | 1 | 2 | | | | | | |
| 0.07~ | 2(83.3) | 1(88.9) | 3(86.0) | 2 | | 2 | | | | | 1 | 1 | | | |
| 0.08~ | 3(88.3) | 2(92.6) | 5(90.4) | 2 | 1 | 3 | | | | | 1 | 1 | 1 | | 1 |
| 0.09~ | 1(90.0) | | 1(91.2) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| 0.10~ | 1(91.7) | | 1(92.1) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| 0.11~ | 2(95.0) | 1(94.4) | 3(94.7) | 2 | 1 | 3 | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.14~ | 1(96.7) | | 1(95.6) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| 0.15~ | 1(98.3) | 1(96.3) | 2(97.4) | 1 | | 1 | | | | | | | | 1 | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.17~ | | 1(98.1) | 1(98.2) | | | 1 | | | | | | | | | |
| 0.20~0.30 | 1(100.0) | 1(100.0) | 2(100.0) | 1 | 1 | 2 | | | | | | | | | |
| 計 | 60 | 54 | 114 | 49 | 34 | 83 | 4 | 7 | 11 | 1 | 5 | 6 | 6 | 8 | 14 |
| 平均濃度 | 0.050 | 0.036 | 0.044 | 0.053 | 0.035 | 0.046 | 0.036 | 0.025 | 0.029 | 0.030 | 0.049 | 0.045 | 0.041 | 0.044 | 0.043 |

表4 総 D D T の全乳あたり濃度別分布

| 濃度 (ppm) | 総 数 (累積%) | | | 都 市 住 宅 | | | 農 村 | | | 工 場 周 辺 | | | そ の 他 | | |
|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 初 産 | 経 産 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 |
| 0.01未満 | 2 (33) | 6 (11.1) | 8 (7.0) | 1 | 4 | 5 | 1 | 1 | 2 | | 1 | 1 | | | |
| 0.01 ~ | 13 (25.0) | 12 (33.3) | 25 (28.9) | 11 | 7 | 18 | | 2 | 2 | 1 | | 1 | 1 | 3 | 4 |
| 0.02 ~ | 9 (40.0) | 9 (50.0) | 18 (44.7) | 7 | 8 | 15 | | | | | | | | 2 | 3 |
| 0.03 ~ | 8 (53.3) | 8 (64.8) | 16 (58.8) | 6 | 5 | 11 | 1 | | 1 | | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| 0.04 ~ | 5 (61.7) | 3 (70.4) | 8 (65.8) | 4 | 1 | 5 | | 1 | 1 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0.05 ~ | 9 (76.7) | 7 (83.3) | 16 (79.8) | 7 | 2 | 9 | 1 | 3 | 4 | | | | 1 | 2 | 3 |
| 0.06 ~ | 2 (80.0) | 4 (90.7) | 6 (85.1) | 1 | 4 | 5 | 1 | | 1 | | | | | | |
| 0.07 ~ | 5 (88.3) | 2 (94.4) | 7 (91.2) | 5 | 2 | 7 | | | | | | | | | |
| 0.08 ~ | 3 (93.3) | | 3 (93.9) | 3 | | 3 | | | | | | | | | |
| 0.09 ~ | | 1 (96.3) | 1 (94.7) | | 1 | 1 | | | | | | | | | |
| 0.10 ~ | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.11 ~ | 1 (95.0) | 1 (98.1) | 2 (96.5) | 1 | | 1 | | | | | 1 | 1 | | | |
| 0.12 ~ | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.13 ~ | 1 (96.7) | | 1 (97.4) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.16 ~ | 1 (98.3) | | 1 (98.2) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.20~0.30 | | 1 (100.0) | 1 (99.1) | | | | | | | | | | | 1 | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.50~0.60 | 1 (100.0) | | 1 (100.0) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| 計 | 60 | 54 | 114 | 49 | 34 | 83 | 4 | 7 | 11 | 1 | 5 | 6 | 6 | 8 | 14 |
| 平均濃度 | 0.053 | 0.038 | 0.046 | 0.057 | 0.034 | 0.047 | 0.041 | 0.033 | 0.036 | 0.017 | 0.047 | 0.042 | 0.034 | 0.056 | 0.047 |

表5 デェルドリンの全乳あたり濃度別分布

| 濃度 (ppm) | 総 数 (累積%) | | | 都 市 住 宅 | | | 農 村 | | | 工 場 周 辺 | | | そ の 他 | | |
|----------|-----------|-----------|-----------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 初 産 | 経 産 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 |
| 不 検 出 | 15 (25.0) | 16 (29.6) | 31 (27.2) | 10 | 5 | 15 | 3 | 4 | 7 | | 2 | 2 | 2 | 5 | 7 |
| 0.001未満 | 14 (48.3) | 9 (46.3) | 23 (47.4) | 11 | 5 | 16 | 1 | 2 | 3 | | | | 2 | 2 | 4 |
| 0.001 ~ | 2 (68.3) | 7 (59.3) | 19 (64.0) | 10 | 4 | 14 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| 0.002 ~ | 3 (73.3) | 13 (83.3) | 16 (78.1) | 2 | 11 | 13 | | | | | 2 | 2 | 1 | | 1 |
| 0.003 ~ | 2 (76.7) | 4 (90.7) | 6 (83.3) | 2 | 4 | 6 | | | | | | | | | |
| 0.004 ~ | 4 (83.3) | 2 (94.4) | 6 (88.6) | 4 | 2 | 6 | | | | | | | | | |
| 0.005 ~ | 5 (91.7) | 1 (96.3) | 6 (93.9) | 5 | 1 | 6 | | | | | | | | | |
| 0.006 ~ | 2 (95.0) | 1 (98.1) | 3 (96.5) | 2 | 1 | 3 | | | | | | | | | |
| 0.007 ~ | 1 (96.7) | 1 (100.0) | 2 (98.2) | 1 | 1 | 2 | | | | | | | | | |
| 0.008 ~ | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.009 ~ | 1 (98.3) | | 1 (99.1) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| 0.010 ~ | 1 (100.0) | | 1 (100.0) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| 計 | 60 | 54 | 114 | 49 | 34 | 83 | 4 | 7 | 11 | 1 | 5 | 6 | 6 | 8 | 14 |
| 平均濃度 | 0.0020 | 0.0016 | 0.0018 | 0.0024 | 0.0023 | 0.0023 | 0.0001 | 0.0004 | 0.0003 | 0.0010 | 0.0011 | 0.0011 | 0.0008 | 0.0003 | 0.0005 |

表6 P C B の全乳あたり濃度別分布

| 濃度 (ppm) | 総 数 (累積%) | | | 都 市 住 宅 | | | 農 村 | | | 工 場 周 辺 | | | そ の 他 | | |
|----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 初 産 | 経 産 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 |
| 0.01未満 | 16 (26.7) | 26 (48.1) | 42 (36.8) | 14 | 20 | 34 | 1 | 3 | 4 | | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| 0.01 ~ | 26 (70.0) | 21 (87.0) | 47 (78.1) | 20 | 11 | 31 | 1 | 2 | 3 | 1 | 3 | 4 | 4 | 5 | 9 |
| 0.02 ~ | 9 (85.0) | 5 (96.3) | 14 (90.4) | 6 | 2 | 8 | 2 | 2 | 4 | | 1 | 1 | 1 | | 1 |
| 0.03 ~ | 6 (95.0) | 1 (98.1) | 7 (96.5) | 6 | 1 | 7 | | | | | | | | | |
| 0.04 ~ | 2 (98.3) | | 2 (98.2) | 2 | | 2 | | | | | | | | | |
| 0.05 ~ | | 1 (100.1) | 1 (99.1) | | | | | | | | | | | 1 | 1 |
| 0.06 ~ | 1 (100.0) | | 1 (100.0) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| 計 | 60 | 54 | 114 | 49 | 34 | 83 | 4 | 7 | 11 | 1 | 5 | 6 | 6 | 8 | 14 |
| 平均濃度 | 0.017 | 0.012 | 0.015 | 0.018 | 0.010 | 0.015 | 0.016 | 0.015 | 0.015 | 0.012 | 0.014 | 0.014 | 0.014 | 0.018 | 0.016 |

表7 P C T の全乳あたり濃度別分布

| 濃度 (Pb) | 総 数 (果積%) | | | 都 市 住 宅 | | | 農 村 | | | 工 場 周 辺 | | | そ の 他 | | |
|---------|-----------|-----------|-----------|---------|------|------|------|------|------|---------|------|------|-------|------|------|
| | 初 産 | 経 産 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 |
| 不 検 出 | 2 (3.3) | 3 (5.6) | 5 (4.4) | 2 | 2 | 4 | | | | | | | | 1 | 1 |
| 0.1 ~ | 6 (13.3) | 4 (13.0) | 10 (13.2) | 6 | 1 | 7 | | 2 | 2 | | 1 | 1 | | | |
| 0.2 ~ | 9 (28.3) | 9 (29.6) | 18 (28.9) | 5 | 6 | 11 | 1 | | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 4 |
| 0.3 ~ | 6 (38.3) | 8 (44.4) | 14 (41.2) | 3 | 5 | 8 | 2 | | 2 | | 3 | 3 | 1 | | 1 |
| 0.4 ~ | 4 (45.0) | 6 (55.6) | 10 (50.0) | 4 | 4 | 8 | | 1 | 1 | | | | | 1 | 1 |
| 0.5 ~ | 8 (58.3) | 3 (61.1) | 11 (59.6) | 7 | 1 | 8 | 1 | 1 | 2 | | | | | 1 | 1 |
| 0.6 ~ | 3 (63.3) | 4 (68.5) | 7 (65.8) | 2 | 2 | 4 | | 1 | 1 | | | | 1 | 1 | 2 |
| 0.7 ~ | 1 (65.0) | 2 (72.2) | 3 (68.4) | 1 | 2 | 3 | | | | | | | | | |
| 0.8 ~ | 3 (70.0) | 6 (83.3) | 9 (76.3) | 3 | 5 | 8 | | 1 | 1 | | | | | | |
| 0.9 ~ | 2 (73.3) | 2 (87.0) | 4 (79.8) | 1 | 1 | 2 | | 1 | 1 | | | | 1 | | 1 |
| 1.0 ~ | 4 (80.0) | | 4 (83.3) | 3 | | 3 | | | | | | | 1 | | 1 |
| 1.1 ~ | | 2 (90.7) | 2 (85.1) | | 1 | 1 | | | | | | | | 1 | 1 |
| 1.2 ~ | 1 (81.7) | 1 (92.6) | 2 (86.8) | 1 | 1 | 2 | | | | | | | | | |
| 1.3 ~ | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1.4 ~ | | 1 (94.4) | 1 (87.7) | | 1 | 1 | | | | | | | | | |
| 1.5 ~ | 2 (85.0) | | 2 (89.5) | 2 | | 2 | | | | | | | | | |
| 1.6 ~ | 1 (86.7) | | 1 (90.4) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| 1.7 ~ | 1 (88.3) | | 1 (91.2) | 1 | | 1 | | | | | | | | | |
| 1.8 ~ | 2 (91.7) | | 2 (93.0) | 2 | | 2 | | | | | | | | | |
| 1.9 ~ | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2.0 ~ | 4 (98.3) | 2 (98.1) | 6 (98.2) | 4 | 2 | 6 | | | | | | | | | |
| 3.0 ~ | 1 (100.0) | 1 (100.0) | 2 (100.0) | 1 | | 1 | | | | | | | | 1 | 1 |
| 計 | 60 | 54 | 114 | 49 | 34 | 83 | 4 | 7 | 11 | 1 | 5 | 6 | 6 | 8 | 14 |
| 平均濃度 | 0.74 | 0.59 | 0.67 | 0.80 | 0.61 | 0.72 | 0.33 | 0.49 | 0.43 | 0.20 | 0.24 | 0.23 | 0.53 | 0.83 | 0.70 |

表8 母乳中の脂肪含量分布

| 脂 肪 量 % | 総 数 (果積%) | | | 都 市 住 宅 | | | 農 村 | | | 工 場 周 辺 | | | そ の 他 | | |
|------------|-----------|-----------|-----------|---------|-----|-----|-----|-----|-----|---------|-----|-----|-------|-----|-----|
| | 初 産 | 経 産 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 | 初 | 経 | 計 |
| 1.0 ~ | 3 (5.0) | 6 (11.1) | 9 (7.9) | 2 | 5 | 7 | 1 | 1 | 2 | | | | | | |
| 2.0 ~ | 9 (20.0) | 11 (31.5) | 20 (25.4) | 8 | 7 | 15 | | 1 | 1 | | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| 3.0 ~ | 20 (53.3) | 14 (57.4) | 34 (55.3) | 17 | 7 | 24 | 1 | 2 | 3 | | 2 | 2 | 2 | 3 | 5 |
| 4.0 ~ | 9 (68.3) | 9 (74.1) | 18 (71.1) | 5 | 8 | 13 | 1 | 1 | 2 | 1 | | 1 | 2 | | 2 |
| 5.0 ~ | 11 (86.7) | 7 (87.0) | 18 (86.8) | 9 | 2 | 11 | 1 | 2 | 3 | | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| 6.0 ~ | 5 (95.0) | 4 (94.4) | 9 (94.7) | 5 | 4 | 9 | | | | | | 1 | | | |
| 7.0 ~ | 3 (100.0) | 2 (98.1) | 5 (99.1) | 3 | | 3 | | | | | 1 | 1 | | 1 | 1 |
| 8.0 ~ | | 1 (100.0) | 1 (100.0) | | 1 | 1 | | | | | | | | | |
| 計 | 60 | 54 | 114 | 49 | 34 | 83 | 4 | 7 | 11 | 1 | 5 | 6 | 6 | 8 | 14 |
| 平 均 | 4.2 | 3.9 | 4.0 | 4.3 | 3.8 | 4.1 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 4.6 | 4.4 | 4.4 | 4.0 | 4.2 | 4.1 |

表9 居住区分による全乳中濃度

| | | 総BHC | | 総DDT | | ディルドリン | | PCB | | PCT | |
|------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|------|
| | | 初・経産別 | 全体 | 初・経産別 | 全体 | 初・経産別 | 全体 | 初・経産別 | 全体 | 初・経産別 | 全体 |
| 埼玉県 | 検数 | 60 | 114 | 60 | 114 | 60 | 114 | 60 | 114 | 60 | 114 |
| | | 54 | | 54 | | 54 | | 54 | | 54 | |
| | 平均値 | 0.050 | 0.044 | 0.053 | 0.046 | 0.0020 | 0.0018 | 0.017 | 0.015 | 0.74 | 0.67 |
| | | 0.036 | | 0.038 | | 0.0016 | | 0.012 | | 0.59 | |
| | 中央値 | 0.037 | 0.031 | 0.039 | 0.035 | 0.0010 | 0.0010 | 0.013 | 0.012 | 0.5 | 0.5 |
| | 0.024 | | 0.028 | | 0.0012 | | 0.010 | | 0.4 | | |
| 最高値 | 0.29 | 0.29 | 0.56 | 0.56 | 0.0107 | 0.0107 | 0.067 | 0.067 | 3.3 | 3.6 | |
| | 0.25 | | 0.23 | | 0.0077 | | 0.059 | | 3.6 | | |
| 都市住宅 | 検数 | 49 | 83 | 49 | 83 | 49 | 83 | 49 | 83 | 49 | 83 |
| | | 34 | | 34 | | 34 | | 34 | | 34 | |
| | 平均値 | 0.053 | 0.046 | 0.057 | 0.047 | 0.0024 | 0.0023 | 0.018 | 0.015 | 0.80 | 0.72 |
| | | 0.035 | | 0.034 | | 0.0023 | | 0.010 | | 0.61 | |
| | 中央値 | 0.038 | 0.029 | 0.039 | 0.033 | 0.0011 | 0.0017 | 0.013 | 0.012 | 0.5 | 0.5 |
| | 0.020 | | 0.026 | | 0.0024 | | 0.009 | | 0.4 | | |
| 最高値 | 0.29 | 0.29 | 0.56 | 0.56 | 0.0107 | 0.0107 | 0.067 | 0.067 | 3.3 | 3.3 | |
| | 0.25 | | 0.090 | | 0.0077 | | 0.033 | | 2.4 | | |
| 農村 | 検数 | 4 | 11 | 4 | 11 | 4 | 11 | 4 | 11 | 4 | 11 |
| | | 7 | | 7 | | 7 | | 7 | | 7 | |
| | 平均値 | 0.036 | 0.029 | 0.041 | 0.036 | 0.0001 | 0.0003 | 0.016 | 0.015 | 0.33 | 0.43 |
| | | 0.025 | | 0.033 | | 0.0004 | | 0.015 | | 0.49 | |
| | 中央値 | 0.037 | 0.033 | 0.046 | 0.044 | ND | ND | 0.018 | 0.018 | 0.3 | 0.4 |
| | 0.025 | | 0.044 | | ND | | 0.018 | | 0.5 | | |
| 最高値 | 0.067 | 0.067 | 0.063 | 0.063 | 0.0005 | 0.0012 | 0.025 | 0.028 | 0.5 | 0.9 | |
| | 0.065 | | 0.055 | | 0.0012 | | 0.028 | | 0.9 | | |
| 工場周辺 | 検数 | 1 | 6 | 1 | 6 | 1 | 6 | 1 | 6 | 1 | 6 |
| | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | |
| | 平均値 | 0.030 | 0.045 | 0.017 | 0.042 | 0.0010 | 0.0011 | 0.012 | 0.014 | 0.20 | 0.23 |
| | | 0.049 | | 0.047 | | 0.0011 | | 0.014 | | 0.24 | |
| | 中央値 | 0.030 | 0.038 | 0.017 | 0.036 | 0.0010 | 0.0011 | 0.012 | 0.013 | 0.2 | 0.3 |
| | 0.041 | | 0.037 | | 0.0011 | | 0.014 | | 0.3 | | |
| 最高値 | 0.034 | 0.080 | 0.034 | 0.11 | 0.0010 | 0.0022 | 0.012 | 0.024 | 0.2 | 0.3 | |
| | 0.080 | | 0.11 | | 0.0022 | | 0.024 | | 0.3 | | |
| その他 | 検数 | 6 | 14 | 6 | 14 | 6 | 14 | 6 | 14 | 6 | 14 |
| | | 8 | | 8 | | 8 | | 8 | | 8 | |
| | 平均値 | 0.041 | 0.043 | 0.034 | 0.047 | 0.0008 | 0.0005 | 0.014 | 0.016 | 0.53 | 0.70 |
| | | 0.044 | | 0.056 | | 0.0003 | | 0.018 | | 0.83 | |
| | 中央値 | 0.034 | 0.032 | 0.031 | 0.031 | 0.0005 | 0.0002 | 0.012 | 0.013 | 0.5 | 0.5 |
| | 0.029 | | 0.032 | | ND | | 0.014 | | 0.5 | | |
| 最高値 | 0.087 | 0.15 | 0.053 | 0.23 | 0.0022 | 0.0022 | 0.027 | 0.059 | 1.0 | 3.6 | |
| | 0.15 | | 0.23 | | 0.0010 | | 0.059 | | 3.6 | | |

表 1 0 経 年 変 化

| 検 査 年 度 | | S 4 6 | S 4 7 | S 4 8 | S 4 9 | S 5 1 | S 5 3 | S 5 4 |
|---------------|-----|---------------|---------|---------|---------|-----------|-----------|-----------|
| 検 体 数 | | 3 0 (9) | 1 9 | 5 | 6 | 5 2 | 1 5 7 | 1 1 4 |
| 脂肪含量 (%) | 最高値 | 8.1 | 7.2 | 4.2 | 9.3 | 6.3 | 1 3 | 8.3 |
| | 平均値 | 3.4 | 3.4 | 2.7 | 4.6 | 3.0 | 3.9 | 4.0 |
| 総BHC (ppm) | 最高値 | (0.1 2 3) | — | — | — | 0.1 7 | 0.1 6 | 0.2 9 |
| | 平均値 | (0.0 5 2) | — | — | — | 0.0 4 7 | 0.0 2 8 | 0.0 4 4 |
| 総DDT (ppm) | 最高値 | (0.0 7 0) | — | — | — | 0.1 6 | 0.2 9 | 0.5 6 |
| | 平均値 | (0.0 3 3) | — | — | — | 0.0 3 4 | 0.0 2 8 | 0.0 4 6 |
| Dieldrin(ppm) | 最高値 | (0.0 0 9) | — | — | — | 0.0 1 9 | 0.0 0 5 | 0.0 1 1 |
| | 平均値 | (0.0 0 3 8) | — | — | — | 0.0 0 4 1 | 0.0 0 0 9 | 0.0 0 1 8 |
| PCB (ppm) | 最高値 | 0.0 4 9 | 0.0 3 9 | 0.0 2 0 | 0.0 2 0 | 0.0 2 5 | 0.0 4 1 | 0.0 6 7 |
| | 平均値 | 0.0 2 0 | 0.0 1 6 | 0.0 1 0 | 0.0 1 0 | 0.0 1 0 | 0.0 1 0 | 0.0 1 5 |
| PCT (ppb) | 最高値 | — | — | — | — | — | 4.6 | 3.6 |
| | 平均値 | — | — | — | — | — | 0.2 9 | 0.6 7 |

透析法による小麦粉中臭素酸カリウムの定量法について

田中 章男 菊池 好則 能勢 憲英 渡辺 昭寛

はじめに

臭素酸カリウム(以下 $KBrO_3$)は食品添加物に指定されており、魚肉ねり製品及び小麦粉に改良剤として基準量が臭素酸として $0.27\%kg$, $0.05\%kg$ が定められている。しかし、 $KBrO_3$ の測定法¹⁾は魚肉ねり製品に対しては確立されているが、小麦粉中の測定法は確立されていないようである。本年度、小麦粉中の $KBrO_3$ の使用状況を調査するため著者らは測定法として魚肉ねり製品に準じて行ったが、抽出時でにごりがひどくチオ硫酸ナトリウム滴定法では良好な結果が得られなかった。そこで著者らは、小麦粉から $KBrO_3$ を抽出する方法として、透析法を検討したので報告する。

方 法

1 試料

小麦粉は県内保健所監視員が収去したものについて検査を行った。

2 試薬

$KBrO_3$ 標準液：和光純薬製(特級)100mgを蒸留水に溶解して100mlによる。この液1mlは $KBrO_3$ 1mgに相当。

0.01Nチオ硫酸ナトリウム溶液：和光純薬製の容量分析用(F=1.0)をそのまま使用した。

10%ヨウ化カリウム溶液

10%硫酸

デンプン試薬：デンプン1gを冷水10mlとよくすり混ぜ、これに熱湯200ml中にかきまぜながら、除々に加え、液が半透明になるまで煮沸し、放冷し静置した後、上澄液を用いる。(用時調製)

3 試験溶液の調製

小麦粉40gをとり、これに透析膜(Visking)社製：直径約3~4cmのものを、長さ約30cmに切断して一端を細ひもでしばって袋状とする)に入れ、これに蒸留水50mlを加えてよく混和し、膜の上端をしばって密封し、これをあらかじめ蒸留水200mlを入れた内容500mlのメスシリンダー中に入れ、膜内の液面と外液の液面がほぼ同じ高さになるようにする。ときどきゆり動しながら室温で7~8時間放置して透析を行なう。終わったのち、外液の定量をとる。

4 定量法

文献1に準じて行った。

実験結果及び考察

1 透析時間の検討

透析膜に50mlの蒸留水を入れ、これに $KBrO_3$ 標準液2mlを入れて、3の方法に準じて装置して透析時間として30分間から12時間まで検討した。結果として、図1のようになり5時間以上ではほぼ $KBrO_3$ の透析は一定となった。したがって実際の検体を測定する際は、多めの7時間から8時間とした。

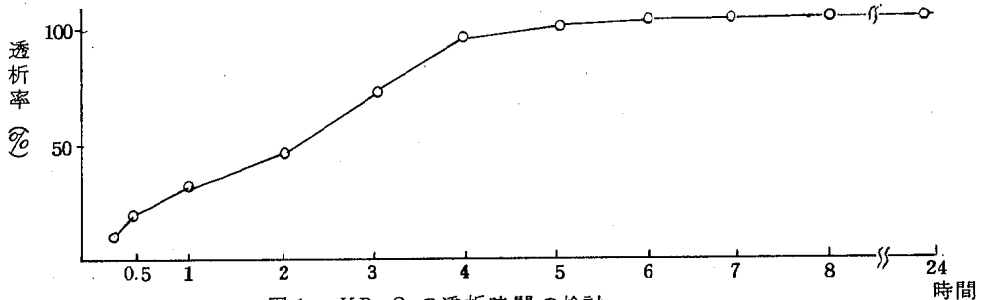


図1. $KBrO_3$ の透析時間の検討

2 透析における検体量の検討

検体量により KBrO_3 の透析率に違いがあると思われるので、検体量として 5g, 10g, 20g, 40g 及び 50g について、3の方法に準じて装置し、 KBrO_3 標準液 2ml を加えてその回収率から検討した。表1のように8時間透析した場合で 40g までは KBrO_3 回収率は良好であったが 50g では低下した。したがって検体量は 40g ときめた。また、12時間以上検体を入れて透析すると検液はにごり測定値はかなり低下した。

表1 透析における検体量の検討

| KBrO_3 (mg) | KBrO_3 回収率 (%) | 平均 KBrO_3 回収率 (%) |
|----------------------|-------------------------|----------------------------|
| 1 | 90.2 | 90.0 |
| | 89.2 | |
| | 91.1 | |
| | 89.6 | |
| 3 | 88.6 | 89.8 |
| | 90.4 | |
| | 89.2 | |
| | 90.9 | |

3 透析補助液の検討

KBrO_3 標準液 2ml と PH を 1.0 から 12.0 まで調整した溶液 50ml を混ぜ、さらに正確に再調整した各液について8時間透析した。図2より、ほぼ中性域での回収率がよかった。それゆえ、蒸留水 50ml を使用したところ同様な結果が得られたので、蒸留水 50ml を透析補助液とした。

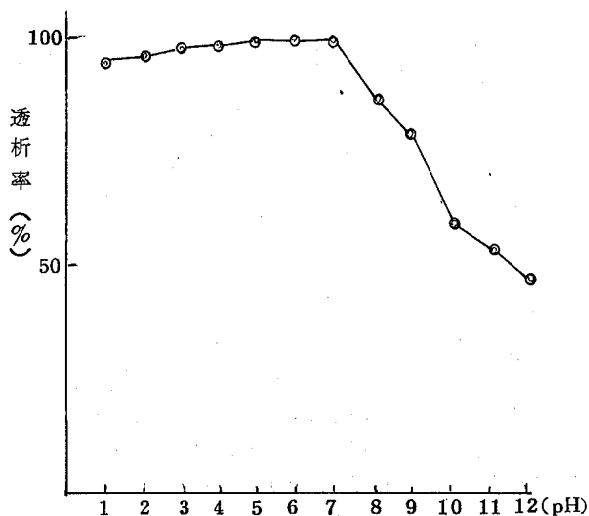


図2. 透析補助液の pH の影響

4 検量線の検討

KBrO_3 標準液 0.1 ~ 5ml を取り、これについて直接に測定したもの、又、検体を使用せず蒸留水 50ml に各量の標準液を加えて透析した液について測定したもの、検体 40g を蒸留水と混ぜ、各量の標準液を加えて測定したものについて各検量線を求めたのが図3であり、いずれも直線性があることを認めた。

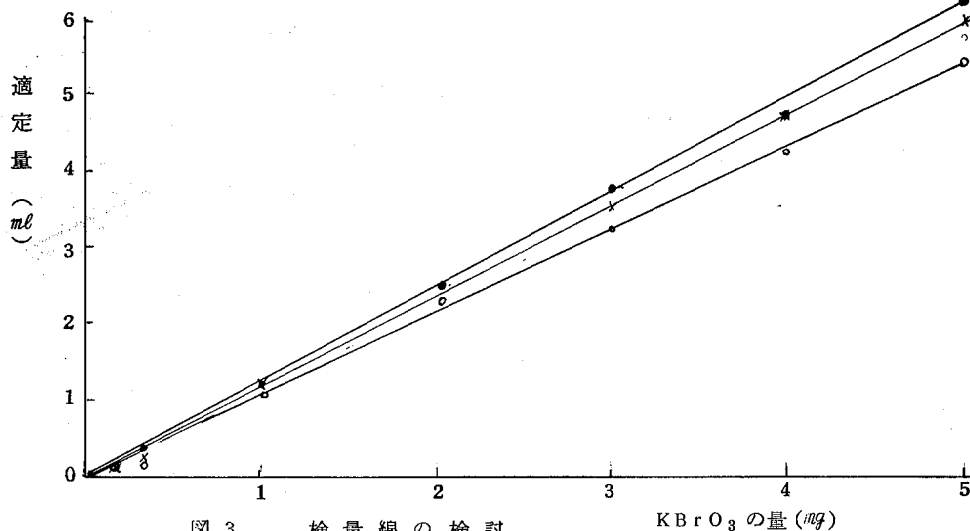


図3. 検量線の検討

- KBrO_3 標準液
- ×—× KBrO_3 標準液 + 蒸留水 50ml で透析
- KBrO_3 標準液 + 蒸留水 50ml + 小麦粉 40g で透析

5 添加回収実験

小麦粉40gに KBrO_3 を1mgと3mgを添加して、3の方法に準じて回収率を求めた。実験は4回くり返して行ない、この結果を表2に示す。1mg添加で平均回収率は90%、3mg添加で平均回収率は89.8%であった。

表2 KBrO_3 添加回収実験

| | 小麦粉の量(g) | | | | | |
|------------------------|----------|------|------|------|------|------|
| | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| KBrO_3 回収率(%) | 90.1 | 89.8 | 91.1 | 90.4 | 90.0 | 81.0 |

まとめ

- 1) 小麦粉中の KBrO_3 の抽出法として、透析を利用することより、従来¹⁾の方法よりは透明な抽出液が得られた。
- 2) 透析時間は7~8時間で良好な結果が得られたが、

小麦粉を入れて透析すると12時間以上になると液がにごるため、透析後ただちに測定しなければならない。今後この点において検討する必要がある。

3) 検量線は直線的であることから、 KBrO_3 は定量的に透析され、透析補助液の液性はほぼ中性でもよいことから蒸留水もちいた。

4) 添加回収実験で1mg添加で平均90%、3mg添加で平均89.8%であり、いずれも回収率はほぼ一定であったが、かならずしも良好な結果とはいえなかった。しかし、小麦由来のにごりのない抽出液を得るという当初の目的はかなえた。

文 献

- 1 食品添加物分析法(第4集):厚生省環境衛生局食品化学課(昭和53年9月,資料)。

カビおよびカビ毒に関する調査研究

6. 麦類および *Fusarium* 培養物からの Butenolide の分析

鈴木 敏正 栗栖 誠 能勢 憲英 渡辺 昭宣

はじめに

Fusarium (赤カビ) が産生する代表的マイコトキシン (*Fusarium* toxins) には, *Trichothecenes*¹⁾, *Zearalenon*²⁾ に加えて Butenolide が知られている。

近年, 我が国において *Fusarium* の感染を受けた麦類から *Trichothecenes*³⁾ や *Zearalenone*⁴⁾ が見出され, 飼料および食品への自然汚染について強い関心が持たれている。また, その主な汚染原因菌が, 従来から麦類の赤カビ病菌の一つに挙げられている, *F. graminearum* であることが明らかになってきた。

今回, 著者らは *Fusarium* toxins の中でも分析の報告例が少なく, その汚染実態も殆ど不明である Butenolide について, 実態調査に資する目的で GC 分析法を検討し, その適用試験を試みた。この Butenolide は 1967 年 Yates⁵⁾, White⁶⁾ らにより検出確認され, 病理学的には末梢血液循環の障害を引き起すと言われており, 化学構造は 5 員環のラクトン構造を持った 4-acetamido-4-hydroxy-2-butenic acid γ -lactone である。分析法については薄層クロマトグラフィー (TLC) による検出方法が多く, ガスクロマトグラフィー (GC) による検出方法は Yates⁷⁾ らの定性的な報告があるに過ぎない。著者らは Butenolide の GC 分析法を検討した結果, ECD-GC による高感度検出法を見出し, これを応用して麦類からの微量分析法を確立することができたので, Butenolide の汚染実態を調査するとともに, *Fusarium* 分離菌の Butenolide 生産性についても検査を加えることができたので, その概要を報告する。

実験方法

1 試料

1977年に埼玉県内で生産された小麦30件, 大麦3件と国立衛生試験所から分析依頼されたH地域の大麦9件, S地域の小麦と大麦32件の合計74検体について実施した。

また, *Fusarium* の Butenolide 生産性試験のための培養物試料は, 埼玉県の麦類から分離した *Fusarium* 11菌種79株 (未同定株含む) を1%ペプトン添加滅菌精白米に接種し, 25°で1週間培養後, さらに15°で2週間培養を継続させたものを用いた。

2 実験操作

麦類については細切均一化した試料2.5gを500mlのホモジナイザーカップに取り, アセトニトリル150ml, 5%酢酸鉛溶液50mlおよびハイフロスーパーセル10gを加えて5分間ホモジナイズ抽出し, 吸引ろ過した。このろ液100mlを分取し, 水25mlを加えてn-ヘキサン50mlで洗浄し, クロロホルム50mlで2回抽出し, 無水硫酸ナトリウムで脱水後減圧濃縮乾固した。

残留物はクロロホルム-アセトニトリル(9:1)混液に溶解し, 5gのワコーゲルS-1(130°, 3時間活性化)と無水硫酸ナトリウム10gをクロロホルムを用いて充てん調製したカラム管(2.2×30cm)上に注ぎ, クロロホルム150mlおよびベンゼン-アセトン(9:1)混液150mlで洗浄し, ベンゼン-アセトン(7:3)混液150mlで溶離した。溶離液は減圧濃縮乾固後, クロロホルム-アセトニトリル(9:1)混液に溶解し, 10gのシカゲル60と10gの無水硫酸ナトリウムをクロロホルムを用いて充てん調製したカラム管(2.2×30cm)上に注ぎ, クロロホルムおよびベンゼン-アセトン(9:1)混液のそれぞれ150mlずつで洗浄し, ベンゼン-アセトン(7:3)混液で溶離した。溶離液は減圧濃縮後10mlの共栓試験管に移して濃縮乾固後, 残留物をDecachlorobiphenyl(0.25 μ g/ml)内部標準溶液0.25mlで溶解し, 試験溶液とした。

また, *Fusarium* の Butenolide 生産性試験のための白米培養物は, 全量をアセトニトリルを用いてホモジナイザーカップに入れ, 5%酢酸鉛溶液を加えて麦類と同様の

操作を行った。

GC操作条件は、検出器：ECD ($^{63}\text{Ni}-10\text{mCi}$)、カラム：2% DEGS+0.5% H_3PO_4 (Chromosorb W, 80~100 mesh), $3\text{mm}\times 1\text{m}$, カラム温度：205°, 検出器および注入口温度：220°, キャリヤガスおよび流量： N_2 , 60 ml/min., 検出感度： $10^2\text{M}\Omega\times 0.08\text{V}$, 注入量：1 μl で行った。

実験結果及び考察

1 分析方法の検討

GCの充てん剤についてはChromosorb Wを担体とした5%OV-17, 5%DC-200, 5%SE-30, 2%OV-1, 2%DEGSおよび2%DEGS+0.5% H_3PO_4 のカラム ($3\text{mm}\times 1\text{m}$)を用いて比較検討した結果, OV-17, DC-200, SE-30, OV-1等のシリコン系カラムではtailingが大きく, 分離能および感度が悪く, 良好なピークが得られなかった。それに対して, DEGSおよびDEGS+ H_3PO_4 のカラムは, tailingが少なく, 分離能および感度も優れ, Fig. 1に示したように良好なピークが得られた。

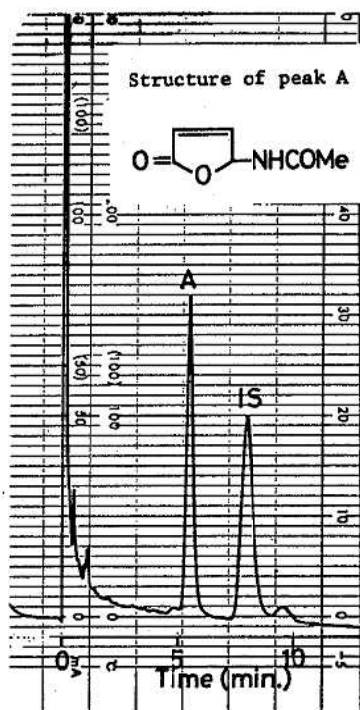


Fig. 1 Typical gas chromatogram of butenolide by ECD-GC A, butenolide 8 ng; IS, decachlorobiphenyl 0.25 ng; Column, DEGS+ H_3PO_4 (2+0.5%)/chromosorb W (AW-DMCS, 80-100 mesh), 1.0m; Temp. 205°; N_2 flow rate, 60 ml/min.; Sense, $10^2\text{M}\Omega\times 0.08\text{V}$.

検量線は内部標準法により作製したところ, Fig. 2に示すように1~20 ngの範囲でほぼ直線性が得られ, 検出限界は0.5 ngと高感度であった。

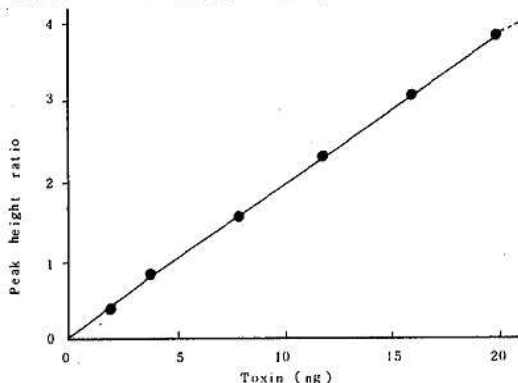


Fig. 2 Calibration curve of butenolide by ECD-GC with internal standard method

また, 酢酸エチル溶媒中, 室温での安定性について調べた結果, 6日間は殆ど分解しないことが認められ, 通常のGC操作で十分測定が可能であった。

Butenolideの抽出クリーンアップについては, Ueno⁸⁾およびYoshizawa⁹⁾らは活性炭吸着後TLC分析を行っているが, ECD-GCの前処理としては不十分であった。そこで, ワコーゲルS-1およびシリカゲル60によるカラムクロマトグラフィーを検討した。その結果, 両カラムともベンゼン-アセトン(7:3)混液150 mlで溶離したところ, ほぼ定量的に回収されることが認められた。そして, 麦類からのアセトニトリル抽出物をワコーゲルS-1とシリカゲル60によるカラムクロマトグラフィーを行った結果, Butenolideおよび内部標準物質を妨害するピークは殆ど除去され, 検出定量が十分可能となった。

2 麦類における回収試験と国産麦類への適用

上記の実験操作に従い, 大麦および小麦の試料にそれぞれ0.04 ppmと0.8 ppmの濃度になるようにButenolide標準溶液(1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)を添加し, 回収試験を行った結果, 0.04 ppm添加の大麦は72.3%, 小麦は76.5%, 0.08 ppm添加の大麦は75.8%, 小麦は81.1%の回収率が得られた。この試験方法による分析限界は0.01 ppmであり, TLCに比較して数十倍の高感度であった。

この分析方法を適用し, 1977年の埼玉県産の大麦および小麦試料33検体についてButenolideの調査を行ったところ, Table 1に示すような結果が得られ, 埼玉県産の麦類からはいずれも検出されなかった。なお, この試料は他のFusarium toxinsであるZearalenoneおよびTrichothecenesについても調査した結果, いずれも検出されなかった。

Table 1. Detection of Butenolide in Domestic Barley and Wheat

| Sample | NO. of examined | No. of detected | Level (ppm) |
|----------------------------|-----------------|-----------------|-------------|
| Barley and wheat (Saitama) | 33 | 0 | - |
| Barley (NIH-1) | 9 | 3 | 0.01-0.10 |
| Barley and wheat (NIH-2) | 32 | 9 | 0.01-0.43 |

NIH, national institute of hygienic science

また、共同調査研究により国立衛生試験所から分析依頼された国産麦類のNIH-1とNIH-2の試料については、Table 1に示すように、NIH-1の9検体のうち3検体とNIH-2の32検体のうち9検体の合計12検体からButenolideが検出された。この定量値は0.01~0.43 ppmの低濃度ではあるが、我が国の麦類におけるButenolideの自然汚染例として最初ではないかと思われる。なお、このButenolideが検出された12検体の試料については、他のFusarium toxinsであるTrichothecenes及びZearalenoneについても調査中であるが、現在までのところ数検体の試料からこれらのtoxinsも検出されている。

このような結果から、我が国の麦類は地域によってはある気象条件のもとに赤カビ病の被害を受け、Fusariumに感染されると同時に数種類のFusarium toxinsによって複合汚染される可能性が伺われた。

3 Fusarium培養物試料への適用

著者らは1977年の埼玉県産麦類からFusariumの12菌種810株を分離し報告した¹⁰⁾。そのうちのF. graminearum 5株を選び、培養温度と日数に変化を与え、その培養物中のButenolideの生産量を定量したところ、Table 2に示すような結果が得られた。

Table 2. Production of Butenolide on Different Condition by F. graminearum Isolated from Barley and Wheat

| Sample no. | Butenolide (ppm) | |
|------------|------------------|------------------------------------|
| | 1 week at 25° | 1 week at 25°, then 2 weeks at 15° |
| F-1184 | 2.8 | 4.8 |
| F-1185 | 0.04 | 0.10 |
| F-1186 | 0.13 | 0.09 |
| F-1202 | 0.07 | 0.11 |
| F-1204 | 0.56 | 0.56 |

この25°で1週間培養を行う条件はTrichothecenesの生産性を検索するための条件であり、25°で1週間培養後15°で2週間行う条件はZearalenoneの生産性を検索するための条件であるが、この両培養条件でのButenolideの生産性を比較して見ると、Zearalenoneと同様な条件で低温に下げて培養を継続して行った方が生産性の高いことが認められた。このことはYates⁷⁾らが7°あるいは15°で3週間培養を行った方が良いと報告しているように、低温培養がButenolide生産性に重要な条件の一つであることが認められた。

この結果から、他の11菌種74株(未同定株含む)については、25°で1週間培養後15°で2週間培養を継続させ、その培養物中のButenolideを分析してその生産性を検索した。その結果、Table 3に示すような定量値が得られ、F. graminearumは6/6株、F. avenaceumは3/9株、F. semitectumは4/8株、F. tricinatumは3/6株、F. acuminatumは3/3株、F. sulphureumは1/1株、未同定株は6/25株に0.06~6.72 ppmのButenolide生産性が認められた。

Table 3. Production of Butenolide by Fusarium Species Isolated from Barley and Wheat in Saitama Prefecture

| Species | No. of strain | Yield (on rice $\mu\text{g/g}$) |
|-----------------------|---------------|----------------------------------|
| F. <u>graminearum</u> | 6/6 | 0.09-424 |
| F. <u>avenaceum</u> | 3/9 | 0.09-9.22 |
| F. <u>semitectum</u> | 4/8 | 0.06-1.18 |
| F. <u>tricinatum</u> | 3/6 | 0.09-1.18 |
| F. <u>acuminatum</u> | 3/3 | 1.63-9.11 |
| F. <u>sulphureum</u> | 1/1 | 44.50 |
| F. <u>equiseti</u> | 0/8 | - |
| F. <u>poae</u> | 0/5 | - |
| F. <u>oxysporum</u> | 0/4 | - |
| F. <u>moniliforme</u> | 0/3 | - |
| F. <u>solani</u> | 0/1 | - |
| F. spp. | 6/25 | 0.80-67.26 |

すでにButenolideの生産性が認められているF. equiseti¹¹⁾、F. poae¹²⁾、F. oxysporum¹²⁾からは生産性が確認できなかったが、報告例の見当たらないF. avenaceum、F. acuminatum、F. sulphureumから強いButenolide生産性が認められたことは大へん興味深い。また、これらのガスクロマトグラムはFig. 3にその一例を示し、検出されたButenolideのピークはGC-MSを用いてm/e 141 (C₈H₇O₃N₁)であることを確認して同定した。

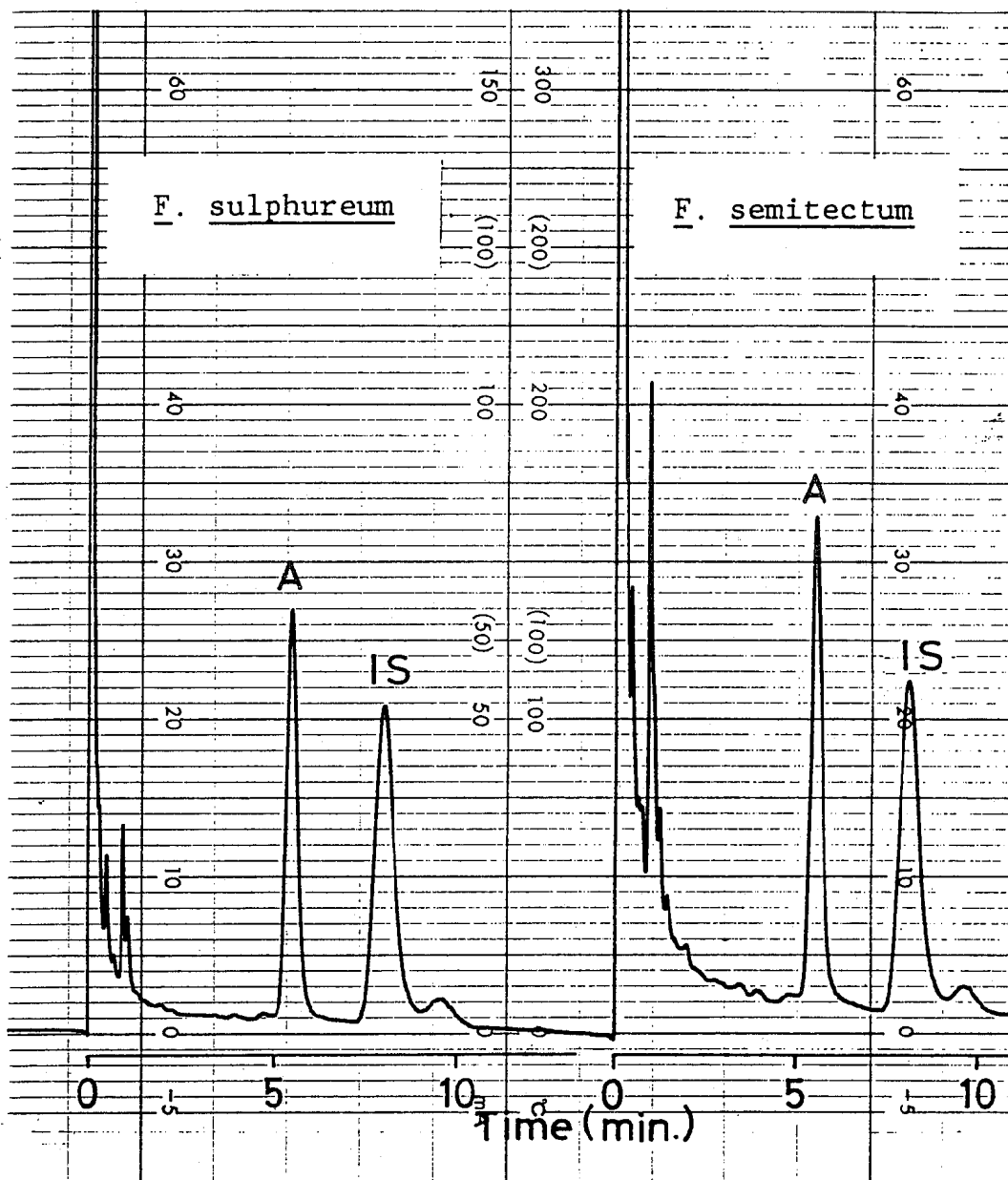


Fig. 3. Gas chromatograms of the extracts obtained from milled rice inoculated with *Fusarium* species isolated from barley and wheat
 Incubation, 1 week at 25° then 2 weeks at 15°; A, butenolide; Is, decachlorobiphenyl.

また、著者らは F. graminearum について Zearalenone および Trichothecenes の生産性について検索中であるが、約 75~95% の菌株に両者の生産性が認められ、Butenolide を含めた三種の Fusarium toxins の同時生産性が十分推察された。このことは前述したように、国産麦類の Fusarium toxins の自然汚染についても Butenolide, Zearalenone および Trichothecenes の三種による複合汚染の可能性が示唆された。

今後は、これら Fusarium toxins の食品、飼料原料への自然汚染がどの程度見られるか追求調査し、カビおよびカビ毒の防止に努める必要があるのではないかと考える。

要 約

麦類および Fusarium 培養物からの Butenolide の分析法を検討したところ、次のような結論を得た。

- 1) Butenolide は 2% DEGS + 0.5% H_3PO_4 (chromosorb W, $3mm \times 1m$) のカラムを用いた ECD-GC で良好なピークが得られ、ng 単位の微量検出が可能となった。
- 2) 麦類および Fusarium 培養物からのクリーンアップは、ワコーゲル S-1 とシリカゲル 60 のカラムクロマトグラフィーが有効であった。
- 3) 1977 年の埼玉県産麦類からは Butenolide は検出されなかったが、国立衛生試験所より依頼された国産麦類の 41 検体中 12 検体から 0.01~0.43 ppm の範囲で検出された。
- 4) 1977 年の埼玉県産麦類から分離した F. graminearum, F. avenaceum, F. semitectum, F. tricinatum, F. acuminatum, F. sulphureum および F. spp. などに 0.06~67.26 ppm の Butenolide 生産性が確認された。

文 献

- 1) 上野芳夫 (1973): 赤カビ毒(1), 食衛誌., 14, 403-414
- 2) 上野芳夫 (1973): 赤カビ毒(2), 同上, 14, 501-510
- 3) 黒田弘之, 毛利孝明, 西岡平鶴, 岡崎秀信, 高橋正浩 (1979): 食品中のトリコテセン系マイコトキシンのガスクロマトグラフィーによる分析法, 同上, 20, 137-142
- 4) 一戸正勝 (1978): Fusarium 属菌の産生するマイコトキシン, 植物防疫, 32, 417-422
- 5) Yates, S.G., Tookey, H. L., Ellis, J. J. and Burkhardt, H. J. (1967): Toxic butenolide produced by Fusarium nivale isolated from tall fescue, Tetrahedron letters, 7, 621-625
- 6) White, E. P. (1967): Isolation of (±)-2-acetamido-2,5-dihydro-5-oxofuran from Fusarium equiseti, J. Chem. Soc. (C), Org., 346-347
- 7) Yates, S. G., Tookey, H. L., Ellis, J. J. and Burkhardt, H. J. (1968): Mycotoxins produced by Fusarium nivale isolated from tall fescue, Phytochemistry, 7, 139-146
- 8) Ueno, Y., Sato, N., Ishii, K., Sakai, K. and Enomoto, M. (1972): Neosolaniol, T-2 toxin and butenolide, toxic metabolites of Fusarium sporotrichioides NRBS 3510 and Fusarium poae 3287, Japan J. Exp. Med., 42, 461-472
- 9) Yoshizawa, T., Matsuura, Y., Tsuchiya, Y., Morooka, N., Kitani, K., Ichinoe, M. and Kurata, H. (1979): On the toxic Fusaria invading barley and wheat in the southern Japan, J. Food Hyg. Soc., 20, 21-26
- 10) 鈴木敏正, 栗栖 誠, 星野庸二, 一戸正勝, 能勢憲英, 徳丸雅一, 渡辺昭宣 (1980): 埼玉県の麦類を汚染する Fusarium とそのトリコテセン生産性について, 食衛誌., 21, 43-49
- 11) Burmeister, H.R., Ellis, J. J. and Yates, S. G. (1971): Correlation of biological to chromatographic data for mycotoxins elaborated by Fusarium, Appl. Microbiol., 21, 673-675
- 12) 石井賢二 (1973): 第7回マイコトキシン研究会発表。

養殖食用淡水魚におけるサルモネラ汚染とその防止対策

第2報 養殖場および川魚料理店でのサルモネラ分布について

渡辺 昭宣 徳丸 雅一 池内 俱子
栗栖 誠 正木 宏幸 柳川 敬子

はじめに

人のサルモネラ感染は年々増大する傾向を示し、その汚染源として食肉および食鳥肉などが注目されているが、我々は1) 昭和53年5月に食用鯉を汚染源とするサルモネラ食中毒に遭遇したことから、魚介類とくに養殖淡水魚にも潜在的要因があるものと考え、その実態を把握すべく川魚料理店および川魚卸売店においてサルモネラの汚染調査を行った。

材料および方法

1) 調査材料

川魚料理店における淡水魚の調査は、昭和53年7月~8月の間に浦和市内の26店舗を対象に行った。いけすの水は1ℓ容量のポリ瓶に採取した。鯉について各料理店で調理する際に、鰓及び内臓を個体別に別々のビニール袋に入れ翌日まで冷蔵保存させたものを回収し検体とした。また、ウナギについては頭部と内臓を個体別に別々のビニール袋に入れ鯉と同様に保存したものを検体とした。

養殖場別汚染調査については、昭和53年12月から翌年11月までの一年間を調査期間とし、県内の川魚卸売店15店舗(鯉13店、鱒2店)を対象として各産地からトラック輸送で搬入された時点で輸送車上の水を直接ポリ瓶に1~2ℓ採取した。淡水魚については同一搬入月日の鯉又は鱒を1~2匹とりだし、調理後に鰓と内臓を料理店の場合と同様に採取した。

2) 検査方法

いけすの水及び輸送水は、1試料を大体2等分し、その1部をメンブランフィルターで濾過し、その濾過液をEEM培地50mlに投入し、35℃24時間培養した後、その1mlをラバポート培地10mlに接種し、35℃24時間培養した後MLCB及びDHL平板培地に塗抹し、菌分離した。残りの1部は、篠川ら²⁾の方法に従い、水1ℓにつき10% FeCl₃を1ml添加し、よく攪拌後3時間以上静置し、Fe(OH)₃の沈殿物を作らせ、その沈殿層約50mlを2倍濃度のSBGサルファ培地50mlを加え、43℃48時間培養した。その後1白金耳をとりMLCB及びDHL平板培地に塗抹して菌分離を行った。

鰓及び腸については、それぞれ採取してきた検体から鰓

又は腸管を剥離摘出し、それを細切してからEEM培地50mlに接種し35℃24時間培養した。その後1mlをラバポート培地10mlに移植し35℃24時間培養後、MLCB及びDHL平板培地で菌分離した。

各分離培地からはサルモネラを疑い集落を1平板当り平均5個づつ釣菌し、TSI培地、LIM培地及びマロン酸塩培地に接種して性状を確認し、血清学的検査は常法通り行って菌型を決定した。

調査結果

1) 川魚料理店でのサルモネラ汚染状況

浦和市内の川魚料理店から、いけすの水及び魚の及び内臓を合計136検体採取し、表1に示すサルモネラの検出率をみた。

Table 1. Distribution of Salmonella in restaurants of fresh-water fish.

| Samples | Number of examined | Number of positive (%) |
|------------------------|--------------------|------------------------|
| water of crawl. | 27 | 11 (40.7) |
| gills of carp | 39 | 6 (15.4) |
| intestines of carp | 41 | 6 (14.5) |
| heads of eel | 8 | 0 |
| internal organs of eel | 21 | 2 (9.5) |
| Total | 136 | 25 (18.4) |

すなわち、いけすの水からは40.7%の高率にサルモネラが検出され、鯉の鰓からは15.4%、腸内容からは14.6%の検出率を示した。しかし、鯉の個体別にみると鰓と腸内容から同一菌型が検出されたものは3匹で少く、鰓のみから検出されたものは3匹、腸内容のみから検出されたもの3匹であった。また、いけすの水と鯉との関係では、両者から同一菌型が検出されたもの2件、異った菌型が検出されたもの2件であった。いけすの水のみから検出されたものは7件で、いけすの水からは不検出で、鯉のみから検出されたものが4件あった。

つぎに、ウナギでは鰓だけを摘出することが困難であったため頭部を細切して培養したがサルモネラは検出されなかった。しかし、腸を含む内臓からは9.5%にサルモネラ

が検出された。ちなみに各川魚料理店の自家井水を検査したが、すべてサルモネラは不検出であった。

2) 養殖場別のサルモネラ汚染状況

埼玉県内には鯉の養殖場はなく、県内で消費される食用鯉はすべて他県からトラックなどで卸売業者に搬入され、料理店に卸されている。従って前項にみられる料理店でのサルモネラ汚染は生産地での養殖中に汚染されたものと推測し、その実態を調査した。県内に搬入される淡水魚の大部分は群馬県からのもので、一部に茨城県、長野県のもので搬入される。輸送方法は各県ともほぼ同様で、少数の場合はビニール袋に酸素をふき込み密封してトラック輸送さ

れるが、多数匹の場合はトラックの荷台に大型水槽（鉄製又は合成樹脂製）を装置し、酸素ポンプから酸素を注入しながら輸送している。1回の輸送量はビニール袋では100～400匹、水槽では200～1,000匹程度である。

a) 月別サルモネラ検出状況

結果は表2に示すごとくで、全体では輸送水78件中14件(17.9%)から、鯉88件中5件(5.7%)から、腸88件中10件(11.4%)からサルモネラが検出されたが、これを鯉と鱒にわけると輸送水では鯉の22.8%に対し、鱒が4.8%で低かった。また、鯉及び腸についてもサルモネラの検出率は鯉に高く、鱒に低い結果を示した。

Table 2. Comparison of contamination rate of Salmonella isolated from fresh-water fish in Dec. 1978 - Nov. 1979.

| Date | carps | | | trouts | | | total | | |
|---------|------------------|-----------|------------|------------------|-------|------------|------------------|------------|-------------|
| | transport waters | gills | intestines | transport waters | gills | intestines | transport waters | gills | intestines |
| 1978.12 | 0/5* | 0/5 | 0/5 | 0/2 | 0/4 | 0/4 | | | |
| 1979.1 | 1/5(20.0) | 0/5 | 0/5 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 3/21(14.3) | 0/23 | 1/23(4.3) |
| 2 | 2/5(40.0) | 0/4 | 1/4(25.0) | 0/2 | 0/3 | 0/3 | | | |
| 3 | 1/7(14.3) | 0/9 | 0/9 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | |
| 4 | 2/5(40.0) | 1/4(25.0) | 1/4(25.0) | 1/1(100.0) | 0/2 | 1/2(50.0) | 4/22(18.2) | 1/24(4.2) | 2/24(8.3) |
| 5 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | | | |
| 6 | 0/4 | 0/4 | 1/4(25.0) | 0/2 | 0/3 | 0/3 | | | |
| 7 | 1/4(25.0) | 1/4(25.0) | 1/4(25.0) | 0/1 | 0/2 | 0/2 | 3/18(16.7) | 3/21(14.3) | 3/21(14.3) |
| 8 | 2/5(40.0) | 2/5(40.0) | 1/5(20.0) | 0/2 | 0/3 | 0/3 | | | |
| 9 | 1/2(50.0) | 1/2(50.0) | 1/2(50.0) | 0/1 | 0/2 | 0/2 | | | |
| 10 | 3/7(42.9) | 0/7 | 1/7(14.3) | 0/2 | 0/3 | 0/3 | 4/17(23.5) | 1/20(5.0) | 4/20(20.0) |
| 11 | 0/4 | 0/4 | 2/4(50.0) | 0/1 | 0/2 | 0/2 | | | |
| total | 13/57(22.8) | 5/57(8.8) | 9/57(15.8) | 1/21(4.8) | 0/31 | 1/31(3.2) | 14/78(17.9) | 5/88(5.7) | 10/88(11.4) |

* No. of positive/No. of samples.

この原因は鯉の養殖池に導入する水は河川水をそのまま利用するのに対して、鱒の場合は河川の伏流水をポンプアップして池に汲み入れるためと思われる。これら検出率を月別にみると鯉の輸送水からは年間を通してほぼ同率に検出されるが、からは6月頃に検出されはじめ、夏から秋にかけて高い検出率を示すようになる。この事は、養殖池の水は1年中サルモネラの汚染をうけているが、鯉はその中で飼育されても水温が低いと食餌しないため汚染菌が体内に侵入しないため、水温が15℃以上になると食餌を開始し、24～28℃で最も成長期に入るため、夏以後に餌と共に水中のサルモネラも体内に侵入するため検出率が高まるものと考えられる。

b) 生産地及び利用河川別サルモネラ汚染

鯉の養殖は1養殖場で産卵から成魚までを一環して生産するものではなく、その流通経路は極めて複雑のようである。即ち稚魚から養殖するもの、或いは仔魚から養殖するもの、或いは仔魚を購入して養殖するものなど形態は様々である。従ってサルモネラ汚染の汚染源追及は必ずしく最終養殖場が利用する河川の汚染と完全に結びつけようと

しても困難のようである。今回は出荷時の生産県又は河川別にサルモネラの検出率を比較してみた。表3は生産県別の検出率であるが、本県に搬入される県は群馬、茨城、長野の3県が主で、その中の75%前後は群馬県からのものが占めている。各県別のサルモネラ検出率は、輸送水と鯉の鯉では群馬県産のものが最も高かったが、鯉の腸については3県とも10～20%の範囲で検出された。また、鱒は埼玉県産のものであるが、輸送水及び腸とも鯉よりは検出率は低く、鯉からは検出されなかった。

さらに、各養殖場が利用する河川別に比較してみると表4のような結果を示した。

即ち、今回の調査での群馬県内の養殖場は9施設で、利用する河川は8水系であった。

これをサルモネラの検出率で比較すると、馬場川、藤沢川及び利根川を利用する3養殖場からの輸送水及び鯉は共に高い検出率を示したのに対し、他の河川を利用する養殖場からのものは、検出率としては高い数値を示したが、輸送水あるいは腸かの何れかのみから検出されただけであった。また、早川、鍋川の利用養殖場からのものは輸送水

及び鯉の何れからもサルモネラは検出されなかった。長野県の千曲川を利用する養殖場からのものは検出率は低く、輸送水及び鯉から1件づつ検出されただけである。茨城県

の北浦湖を利用する養殖場からのものでは、鯉の腸から1件だけ検出されるにとどまった。

Table 3. Comparison of contamination rate of Salmonella isolated from fresh-water fish in different districts.

| Name of prefecture | carps | | | trouts | | |
|--------------------|------------------|------------|------------|------------------|-------|------------|
| | transport waters | gills | intestines | transport waters | gills | intestines |
| Gunma | 12/43(27.9)* | 5/43(11.6) | 7/43(16.3) | | | |
| Ibaragi | 0/5 | 0/5 | 1/5(20.0) | | | |
| Nagano | 1/9(11.1) | 0/9 | 1/9(11.1) | | | |
| Saitama | | | | 1/21(4.8) | 0/31 | 1/31(3.2) |
| total | 13/57(22.8) | 5/57(8.8) | 9/57(15.8) | 1/21(4.8) | 0/31 | 1/31(3.2) |

* No. of positive / No. of samples. (%)

Table 4. Comparison of contamination rate of Salmonella isolated from fresh-water fish in used rivers of nurseries.

| Name of used rivers | Seat of nurseries | No. of nurseries | carps | | | trouts | | |
|---------------------|-------------------|------------------|------------------|------------|------------|------------------|-------|------------|
| | | | transport waters | gills | intestines | transport waters | gills | intestines |
| Babagawa | Maebashi-shi | 1 | 2/10(20.0)* | 1/10(10.0) | 1/10(10.0) | | | |
| Fujisawagawa | " | 1 | 4/12(33.3) | 1/12(8.3) | 1/12(8.3) | | | |
| Tonegawa | Isezaki-shi | 1 | 4/8(50.0) | 3/9(33.3) | 2/9(22.2) | | | |
| Kasugawa | " | 1 | 0/2 | 0/2 | 1/2(50.0) | | | |
| Hayakawa | " | 1 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | | | |
| Usuigawa | Takasaka-shi | 2 | 0/6 | 0/3 | 2/3(66.7) | | | |
| Kaburagawa | Fujioaka-shi | 1 | 0/1 | 0/3 | 0/3 | | | |
| Kannagawa | Tano-gun | 1 | 2/2(100.0) | 0/2 | 0/2 | | | |
| Kitaurako | Kitakasumi-gaura | 3 | 0/5 | 0/5 | 1/5(20.0) | | | |
| Chikumagawa | Saku-shi | 1 | 1/9(11.1) | 0/9 | 1/9(11.1) | | | |
| Masegawa | | | | | | | | |
| Fukuryusui | Kodama-gun | 1 | | | | 1/12(8.3) | 0/24 | 1/24(4.2) |
| Arakawa | Kawabe-gun | 1 | | | | 0/9 | 0/7 | 0/7 |
| Fukuryusui | | | | | | | | |
| total | | 15 | 13/57(22.8) | 5/57(8.8) | 9/57(15.8) | 1/21(4.8) | 0/31 | 1/31(3.2) |

* No. of positive / No. of samples. (%)

このように鯉のサルモネラ汚染は利用する河川の汚染状況と強い関連性をもつようにはみられたが、分離されたサルモネラの菌型から相関性をみると、輸送水と鯉の両者から同一菌型が検出されたものは1件しかなく、菌型は異なるが同時に検出されたものも1件であった。他の陽性検体は何れか一方のみからの検出がみられたもので、鯉からのみ

検出されたもの10件、輸送水からのみ検出されたもの12件という分布を示した。

3) 分離されたサルモネラの菌型

今回の調査から分離されたサルモネラの菌型は、表5に示す17種62菌株であった。

Table 5. Serotypes of Salmonella isolated from fresh-water fish.

| serotypes | nurserys | | | | restsurants of fresh-water fish | | | | total | | | |
|-----------------------------|----------|-----------|-------|------------|---------------------------------|-----------|------------|-----------------|-------|-------|------------|-----------------|
| | carps | | | trouts | carps | | | eels | | | | |
| | waters | transport | gills | intestines | waters | transport | intestines | waters of crawl | | gills | intestines | internal organs |
| S. typhimurium (4:12:i:-) | 3 | | 1 | 1 | | | | 7 | 1 | | 1 | 14 |
| S. java | | | 1 | 2* | | | | 1 | 1 | 1 | | 6 |
| S. heidelberg | | | | 1 | | | | | | | | 1 |
| S. agona | 1 | | | | | | | | | | | 1 |
| C ₁ S. thompson | | | 1 | | | | | 1 | | 1 | | 3 |
| S. braenderup | 3 | | | 2 | | | | | | | | 5 |
| S. livingstone | | | | | | | | 1 | 2 | 1 | | 4 |
| S. singapore | | | | | | | | | 1 | | | 1 |
| C ₂ S. munchen | | | | | | | | 1 | | | | 1 |
| S. newport | | | | | | | | 2 | | | 1 | 3 |
| S. litchifield | 1 | | 1 | 3 | 1 | 1 | | 2 | | | | 9 |
| S. tananarive | | | | | | | | 2 | | 1 | | 3 |
| E ₁ S. london | 3 | | | | | | | | | | | 3 |
| S. weltevreden | | | | | | | | 1 | 1 | 2 | | 4 |
| S. anatum | 1 | | 1 | 1* | | | | | | | | 3 |
| E ₂ S. newington | 1 | | | | | | | | | | | 1 |
| 17 serotypes | 13 | | 5 | 10 | 1 | 1 | | 18 | 6 | 6 | 2 | 62 |

* Simultaneously detected from same sample.

その中、検出頻度の高かった菌型は *S. typhimurium*, *S. litchifield*, *S. java* 及び *S. braenderup* などである。また、輸送水及びいけすの水などから検出される菌型は、淡水魚の鰓及び腸内容から検出される菌型にも多くみられ、17種の菌型のうち、水関係と魚の両方から検出されている菌型は11種もあり、水関係のみから検出された菌型は4種、魚のみから検出された菌型は2種であった。

4) 養殖淡水魚のサルモネラ汚染源追求

サルモネラ食中毒における疫学上の感染源追求の手段として、*S. typhimurium* や *S. enteritidis* については、フージ型別や生化学的性状の相違による生物型の分類が行われている。

そこで、本調査でも分離したサルモネラの中、*S. typhimurium* を用いて、Duguid³⁾ らの方法による生物型別を実施した。また、当研究室で以前から人、動物及び環境から分離していた *S. typhimurium* についても同様に生物型別を行い、淡水魚由来の生物型との関連をしらべ汚染源追求の目的とした。

結果は、表6のごとくで、淡水魚関係では輸送水及びいけすの水からの *S. typhimurium* は生物型の1型が多く、分離株の約70%を占め、鯉やウナギからの由来株も同様に生物型別を行い、淡水魚由来の生物型との関連をしらべ汚染源追求の目的とした。

また、これらの *S. typhimurium* が分離された養殖場

Table 6. Distribution of biotypes of strains of *S. typhimurium* from fresh-water fish and other sources. (by Duguid's method, 1975)

| biotypes | d-xylose | m-inositol | l-rhamnose | d-tartrate | m-tartrate | fresh-water fish | | human feces | river water | drainage of slaughter house | pork | canary | white heron | chicken | tortoise | total (5) |
|-----------------|----------|------------|------------|------------|------------|------------------|-------|-------------|-------------|-----------------------------|------|--------|-------------|---------|----------|-----------|
| | | | | | | water | carps | | | | | | | | | |
| 1 | + | + | + | + | + | 7 | 3 | 5 | | 2 | | | | | 2 | 19(11.3) |
| 3 | + | + | + | - | + | 2 | 1 | 39 | 22 | 7 | 7 | 1 | | 2 | 1 | 82(48.8) |
| 9 | + | - | + | + | + | 1 | | | | | | | 3 | | | 4(2.4) |
| 11 | + | - | + | - | + | | | 1 | | 1 | | 3 | | | | 5(3.0) |
| 17 | - | + | + | + | + | | | 8 | 2 | | | | | | 3 | 13(7.7) |
| 25 | - | - | + | + | + | | | 1 | | | | | 17 | | | 18(10.7) |
| 26 unknown type | - | - | + | + | - | | | 11 | 1 | 2 | | | | 11 | | 25(14.9) |
| | + | + | + | + | + | | | | | 1 | | | | 1 | | 2(1.2) |
| | total | | | | | 10 | 4 | 65 | 25 | 13 | 7 | 4 | 20 | 14 | 6 | 168 |

はほとんどが群馬県内のものであった。

また、人、動物及び環境から分離された *S. typhimurium* の生物型をみると、人の便、埼玉県内のと畜場排水及び豚由来株は、何れもその主生物型は3型で占められていた。これに対し、鳥類ではカナリヤ由来株が11型、シラサギ由来株が25型、鶏由来株が26株、またペット用亀由来株が17型に分類された。

これら由来別の *S. typhimurium* 生物型と今回調査した淡水魚関係の生物型を比較すると、淡水魚からの *S. typhimurium* は1型であったが、県内の河川水由来株は3型で生物型を異にしたが、群馬県内の河川水からの *S. typhimurium* の生物型分布が不明なので、その関係を結びつけるわけにはいかなかった。しかし、今泉⁴⁾らが報告した有毒微生物の分布に関する研究報告をみると、人、豚、牛及び犬由来の *S. typhimurium* の生物型は1型と3型に優勢に分類されるということから、淡水魚のサルモネラ汚染源はこれら哺乳動物の尿が関係するものと思われる。浄化槽や雑排水の不完全処理によって汚水が河川に流れ込み淡水魚への侵入というサイクルをとっているものと考えられる。

考 察

わが国におけるサルモネラ食中毒の原因食品を厚生省の食中毒統計⁵⁾からみると、従来から食肉類を推定原因食とする発生が多くみられてきたが、昭和52年以降になると魚介類を原因食品とする食中毒の発件数が増加してきている傾向がみられる。しかし、これら原因食品についての汚染源追求は余り行われておらず、とくに日本料理として

親しまれている鯉料理については食中毒例がみられないことから、食品、水産界とも食品衛生面での対策は殆んど行われていない現状である。

我々は、川魚料理店で鯉を汚染源とするサルモネラ食中毒を経験したことから、淡水魚についてのサルモネラの汚染実態とその防止対策を検討するにいたった。その結果、淡水魚のサルモネラ検出率は、鯉が10~15%、ウナギが10%、鱒が3%前後と魚種によって若干の差がみられるが、これらは養殖場での水の汚染と関係しているものと思われる。

例えば、鯉の養殖場は河川水を直接利用するのに対し、鱒は伏流水の汲み上げ水を利用するため自然浄化作用によってサルモネラの汚染を防止しているものと考えられ、今後の防止対策の一手段として考慮せられる問題と思われる。

一方、河川の汚染は、その水系が流れる地勢によっても汚染の度合いを異にする。例えば埼玉県内の河川でもサルモネラの検出率⁶⁾は新河岸川92.1%、芝川・鴨川85.7%、中川54.1%、荒川23.1%、利根川22.7%、人間川・都幾川13.0%というように汚染度を異にし、市街地、畜産振興地などを流れる河川はサルモネラの検出率は高いようにみられる。また、全国的にみても河川の汚染は高く、善養寺⁷⁾、来住⁸⁾、秋山⁹⁾、篠川¹⁰⁾、中塚¹¹⁾らの報告をみても大体70~100%の範囲でサルモネラが検出されている。魚類については河川水ほど報告はみられないが、伊藤¹²⁾らが多摩川上流で採取したハヤ、フナの腸から10%前後の検出率を報告し、篠川¹⁰⁾らは新潟県内で採取した魚類を年度別に比較し、昭和51年ではフナ12.2%、鯉、アユからは不検出だったものが、昭和52年には

フナ27%, 鯉31.3%と検出率が上昇したことから、河川環境汚染と淡水魚のサルモネラ汚染の関連性を強く指摘している。

このような報告から、養殖場をもつ生産地では使用河川の細菌学的汚染状況を常に把握し、病原菌の浄化対策をたてなければならない。

淡水魚の料理法には鯉こく、鮎の甘露煮、泥鰌の柳川などの加熱調理食品が多いが、中には鯉の刺身や鯉の洗いのように無加熱で摂食する料理もあるので、淡水魚そのものが一次汚染食品となる場合もある。また、サルモネラを保菌した鯉を調理した器具が媒体となって加工食品を汚染する二次汚染源ともなりうるので、養殖淡水魚から食中毒起因病原菌を排除する対策をたてると同時に、川魚料理店への十分な衛生教育を施し、食中毒防止につとめさせなければならない。

要 約

淡水魚によるサルモネラ食中毒を防止する目的で、まず養殖場から搬入される淡水魚及び輸送水についてサルモネラの汚染状況をしらべた。

1) 川魚料理店からのサルモネラ検出率は、いけすの水40.7%, 鯉の鰓15.4%, 鯉の腸14.6%, ウナギの内臓9.5%であった。

2) 養殖場から県内に搬入される淡水魚などからのサルモネラ検出率は、鯉では輸送水22.8%, 鰓8.8%, 腸15.8%に対し、鱒では輸送水4.8%, 腸3.2%で鰓からは検出されなかった。

季節的にみると輸送水からは年間を通してほぼ同率のサルモネラが検出されたことから、河川水の汚染は一年中みられるが、魚については夏から秋にかけて検出率が高くなる傾向を示した。

3) 養殖場が利用する河川別にサルモネラの検出率を比較すると、群馬県内の馬場川、藤沢川、利根川の水系を利用するところからの鯉に高い汚染がみられた。

4) 分離されたサルモネラの菌型は17種62菌株で、*S. typhimurium*, *S. litchfield*, *S. java*及び*S. braenderup*が検出頻度が高く、17菌型の中11菌型が水関係と魚から検出されていることから使用水の汚染には強い関連性があるとみとめられた。

5) 分離された*S. typhimurium*のDuguidによる生物型は1型であったが、人及び哺乳動物からの生物型と関連性がみられ、淡水魚に対するサルモネラの汚染源は陸上からの尿尿に由来することが推定された。

文 献

- 1) 渡辺昭宣, 徳丸雅一, 柳川敬子, 栗栖 誠, 藤沢宣克, 小見山茂人, 野田新次: (1980): 川魚料理店で発生したサルモネラ食中毒の一症例, 日獣会誌, 33, 29~32.
- 2) 篠川 至: (1971): 最近の *Salmonella* - 新潟県の成績を中心として - 衛生検査, 20, (5), 251~258.
- 3) J. P. Duguid, E. S. Anderson, G. A. Alfredson, Ruth Barker and D. C. Old: (1975): A new biotyping scheme for *Salmonella typhimurium* and its phylogenetic significance. J. Med. microbiol. 8, 149~166.
- 4) 今泉 清: (1978): 有毒微生物の分布に関する研究報告書.
- 5) 厚生省環境衛生局: (1978): 昭和52年食中毒発生状況, 食品衛生研究, 28, (9), 78~98.
- 6) 芦田博之, 大関瑤子, 池内俱子, 小野冷子, 岡田正次郎: (1976): 埼玉県におけるサルモネラによる環境汚染. 埼玉衛研年報, 10, 35~41.
- 7) 善養寺 浩: (1967): 都市環境におけるサルモネラの生態とその食中毒: メディアサークル, 12, 437~446.
- 8) 来住輝彦: (1968): 第26回日本公衆衛生学会講演集, NO. 2, 80.
- 9) 秋山昭一: (1969): 河川および汲取り尿のサルモネラ, メディアサークル, 14, 339~345.
- 10) 篠川 至: (1970): 水洗便所放流水, 下水, 河川水等における *Salmonella* 検索: 感染症雑誌, 44, 352.
- 11) 中塚 繁, 松島章喜, 浅井良夫, 滝沢金次郎, 宮本泰, 高橋武夫, 秋山昭一, 荒井道子: (1970): サルモネラ環境汚染(1) 河川におけるサルモネラ分布について: 日公衛誌, 17, 962.
- 12) 伊藤 武, 坂井千三, 福山正文, 上村知雄, 原 元宣, 田淵 清, 今井信実: (1977): サルモネラの生態に関する研究. 淡水魚における本菌保菌について. Bull. Azabu. Vet. Coll. 2(1), 197-201.

弁当類の細菌学的汚染実態調査

渡辺 昭宣 徳丸 雅一 池内 俱子
栗栖 誠 正木 宏幸 柳川 敬子

はじめに

弁当類の販売については、従来は営業許可対象外であったことから、十分な監視も行なわれなかった。しかし、本県では諸般の事情にかんがみ、昭和54年4月1日改正の県条例で食料品販売業の許可対象施設となり、監視対象業種に入るようになった。

この条例の設定にあたり、弁当類販売施設の実態調査を昭和54年5月から昭和55年2月までの1年間にわたって実施したので、その結果を報告する。

調査方法

1 調査期間

昭和54年5月～昭和55年2月

2 調査対象品目

米飯を主食とし、もしくはその主食と副食を容器包装に詰め、そのまま摂食できるようにした弁当類を調査対象とした。

総検査品目数は439件で、その内訳は幕の内弁当131件(29.8%)、おにぎり90件(20.5%)、詰合せすし72件(16.4%)、いなりすし48件(10.9%)、のりまき46件(10.5%)、五目ごはん12件(2.7%)、生ずし11件(2.5%)、ちらしずし10件(2.3%)、赤飯9件(2.1%)、たまごまき5件(1.1%)、焼そば3件(0.7%)、白飯2件(0.5%)である。

3 調査対象施設

- 1) 固定店舗で、食品衛生法に基づく従来の営業許可を有している施設での販売(自製造自販売も含む)
- 2) 自動車などを利用して弁当類を販売する営業
- 3) 沿道などで弁当類を販売する簡易な施設
- 4) デパート、スーパーなど屋内において弁当類を販売する施設
- 5) 駅の構内で弁当類を販売する営業(駅弁屋)
- 6) 弁当類の仲買卸売業
- 7) その他(駅弁製造元施設など)

4 調査内容

一般細菌数、大腸菌群および食中毒原因菌として病原ブ

ドウ球菌、サルモネラ、腸炎ビブリオの検査を実施した。検査術式については、食品衛生検査指針Iの各項に準じて行った。

調査結果

1 弁当類の販売施設実態調査

県内で弁当類を販売する施設の総数は4513店、その販売区分の内訳は、1)の営業許可施設で固定店舗による販売が3918店(86.8%)で施設の大部分を占めている。つぎは4)のデパート、スーパーなどでの販売が413店(9.2%)である。また、3)の簡易施設での販売業は165店(3.7%)で、みかけほど施設数は多くなかった。その他の施設は少く0.2%以下であるが5)の駅弁販売業は施設数では7店(0.2%)であるが、販売量では上位になるものと思われる。

2 細菌汚染実態調査

各検査項目毎の不良品判定基準は、一般細菌数については1gあたり 10^5 以上検出されたもの、大腸菌群陽性のもの、およびブドウ球菌、腸炎ビブリオ、サルモネラなどが検出されたものを不適とした。

今回の検査では、全検体を通して腸炎ビブリオおよびサルモネラは不検出であった。従って各表から同項目の検査結果は削除している。

1) 弁当の種類別汚染状況(表1)

幕の内弁当を主食と副食に分けてみると、米飯に不適率が高く、一般細菌数では 10^7 以上の菌数を示すものが39件(30.7%)もあった。また、大腸菌群も約半数のものから検出され、ブドウ球菌に至っては1g当り 10^5 という高い菌数がみられるものもあり、これらのものは保存管理の不適当な条件におかれた場合は数時間後には 10^6 以上の毒素産生菌量にまで達することが予想され危険である。

副食類については、魚介類、肉類に比べると、卵類、ねり製品類、野菜類は汚染が高く、とくに卵類の大腸菌群検出率77.8%、ブドウ球菌検出率33.3%は最も危険な状態にあるといえる。詰合せすしの一般細菌数および大腸菌群の不適率については、いなりずし、のりまきおよびたまご巻間には大差がみられなかったが、のりまきの一般細菌数が 10^7 以上のもの3件、たまご巻の大腸菌群数 10^6 以

上1件は衛生上問題がある。また、ブドウ球菌についてみると、たまご巻からの検出率21.1%は、汚染菌量こそ少なかったが、卵製品の足のはやい事からみると、短時間で食中毒原因食品になりかねないものと思われる。

五目ごはんは、数種類の具を米飯にませこむ作業が加わることから、その取扱作業の上で細菌汚染の機会が多く、そのため一般細菌数、大腸菌群とも菌数の多い不適品が検出された。また、ブドウ球菌も25%の高い検出率がみられたが、汚染菌量では低かった。

赤飯では、大腸菌群およびブドウ球菌は検出されなかったが、一般細菌数の 10^5 以上のものが44.4%も検出された。その菌種は耐熱性の有芽胞菌が多いことから、大豆などの原料由来の汚染ではないかと考えられる。

いなりずし弁当は、詰合せずし中のいなりずしと大体類似の結果を示し、ブドウ球菌の検出率がやや高い程度であった。

ちらしずしについては、他の弁当類に比べて一般細菌の菌数は少ないが、検出率が高くとくに魚介類では大腸菌群100%、ブドウ球菌25%の検出率がみられた。

のりまき弁当は、詰合せずし中ののりまきと殆んど同様の結果がみられた。しかるに、たまご巻(茶きんずしを含む)では一般細菌数および大腸菌群の不適率は高く、他の弁当類に比べても不適率が最も高く、目立つ存在である。

おにぎり弁当は、たまご巻について不適率が高く、一般細菌数ではとくに 10^7 以上のものが多かった。また、大腸菌群についても同様で、検出菌量も高く、製造品目中でも販売量が多いものと予想されるだけに要注意食品といえる。ブドウ球菌では、その検出率ではとくに高い方ではないが、汚染菌量が 10^3 以上検出されるものが多く、とくに 10^5 を検出したものは毒素産生の一手前という感もあり、おにぎりによるブドウ球菌食中毒が顕発している折から厳重な監視が必要である。

生ずし類には、鉄火巻とにぎりずしがあったが、にぎりずしの中ではたまごずしが一般細菌数および大腸菌群の菌量が高いものが多く検出された。

2) 月別汚染状況(表2)

一般細菌数についてみると、総不適件数は269件(61.3%)で、半数以上のものが 10^5 以上の菌数に汚染されていた。これを月別にみると、6月および8月に不適率が75%を示したが、10月以降は徐々に減少し、12月~2月の冬季に入ると不適率は過半数を割り、40%前後となった。

また、大腸菌群では総検出率は265件(60.4%)で半数以上のものが大腸菌群陽性を示したが、これを月別にみると5月から10月までは60%以上の高い陽性率を示し、12月~2月の冬季では50%前後に低下する傾向を示した。

ブドウ球菌では、総検出率は75件(17.1%)であったが、月別にみるとやはり夏季に高く、冬季に減少するという傾向を示している。しかし、夏季におけるブドウ球菌の検出率が20%前後を示したことは、食中毒予防の面から監視指導を強化しなければならない。

また、一般細菌数および大腸菌群ともに不適率の高かった弁当類は、ちらしずし、たまご巻、おにぎりおよび幕の内弁当で、ブドウ球菌の検出率の高い弁当は五目ごはん、幕の内弁当、詰合せずし、ちらしずしおよびたまご巻などである。

3) 販売施設の形態別汚染状況(表3)

総検査数439件の施設別割合は、固定店舗からのもの202件(46%)で最も多く、ついでデパート、スーパー内販売施設のもの124件(28.2%)、沿道際の簡易施設のもの86件(19.6%)、駅弁21件(4.8%)、自動販売のもの4件(0.9%)などであった。

施設別にみると、不適率の低かった施設は固定店舗およびデパート、スーパー内販売施設からのもので、沿道際の簡易施設および駅弁では不適率が高かった。とくに、沿道際の簡易施設からのものは大腸菌群検出率82.6%、ブドウ球菌検出率24.4%と最も高く、中でもこれら施設の販売品目中主体をなすとみられるのりまき、おにぎりには不適率が高く、保管販売中での菌増殖も考えられるので、保管管理についての基準が必要であると考えられる。

4) 保存温度別汚染状況(表4)

保存温度別検体数は、21~25℃保存が138件(31.4%)と最も多く、ついで16~20℃保存が134件(30.5%)で、全体の半数強がこれら高温で販売されているとみられる。

保存温度別不適率をみると、15℃以下の温度では不適率が低く、温度が高くなるにつれて不適率も上昇する傾向がみられ、とくに、26~35℃のいわゆる細菌発育至適温度に相当する保存温度では不適率が高く、かつブドウ球菌の検出率も高いという結果がえられた。

5) 保存時間別汚染状況(表5)

保存時間別検体数は、5時間以内のものが238件(54.2%)で最も多く、ついで6~10時間のもの88件(20%)であった。それ以上の保存時間のものは何れも10%以下であった。

保存時間別不適率は、6~15時間の間のものが最も不適率が高く、ついで5時間以内のものであった。しかるに、16時間以上の長時間保存のものからは逆に不適率は低いという結果が得られた。このことは製造量と保存時間との関係を見ると明らかなように、保存時間の長いものは製造量も多いという関係がみられ、これらの製造量の多い施設は工場内の衛生管理も十分に行なわれているということと裏付けするものであると推察される。

また、逆に50個以内製造の店内工業的施設で製造され

る弁当は、施設、従業員とも衛生観念に乏しいということが考えられ、さらに監視の目も十分にゆきとどかないのではないかと思われるので、監視行政の検討課題と思われる。

6) 弁当のPHと細菌汚染の関係(表6)

各種弁当の中から12品目28件をえらび米飯のPHを測定し、不適率との関係を調べた。

弁当類のPH域から考慮すると、PH5.0を境としてPH無調整弁当とPH調整弁当に分られる。また、各PH域についての不適率では、PH4.4以下のものは比較的不適率が低かったが、PH調整を行った弁当でも弱酸性域では余り効果はあがらず、PH調整をするならばPH4.5以下にしなければならないことが認められた。

7) 包装容器の種類別汚染状況(表7)

容器の種類別検体数の比率は、合成樹脂製容器のもの291件(66.3%)で最も多く使用され、ついで発泡スチロール製容器の97件(22.1%)、その他の容器のものは何れも10%以下であった。

容器の種類と不適率との関係は、あまり大差がみられなかったが、意外と折詰、加工紙容器のものに不適率が高く、またブドウ球菌の検出率も高かったが、有意の差があるほどではなかった。

8) 製造量と不適率との関係(表8)

各販売施設が仕入れる先の製造工場での製造量別の検体数の比率は、1日50個以下を製造する小規模工場が167件(38%)と最も多く、ついで100個以下の79件(18%)であった。即ち1日100個以下の弁当を製造する小規模工場が全体の50%弱を占めていることがわかった。

これらの製造工場で作られる弁当の製造量と細菌汚染の関係をみると、一般細菌数では各群間の不適率に有意の差はみられなかったが、大腸菌群では500個以下と500個以上の製造量の間では、その検出率に差がみられ、大量製造のものからは大腸菌群陽性のものは少なかった。また、ブドウ球菌についても同様のことがみられ、少量製造のものに細菌汚染の高い傾向がみられた。このことは保存時間の項のところでも述べた通り、大規模工場での衛生観念が従業員全体によく浸透している表れでないかと考えられる。

まとめ

昭和54年5月から翌年2月までの1年間に県内各所で販売される弁当類を隔月毎に購入し、主として細菌検査を調査項目として実施した。

弁当類については、食品衛生法による成分規格の基準は定められていないが、冷凍食品、生食用冷凍鮮魚介類およびゆでだこ、アイスクリームなどの成分規格および東京都条例による一般食品の衛生指導基準を参考として、一般細菌数1g当り 10^5 以上、大腸菌群検出、ブドウ球菌検出および食中毒原因菌検出を基準として設定し、これらの基

準を上まわるものを不適食品として取扱った。

その結果、総検査数に対する不適弁当数は328件(74.7%)となった。検査項目別での不適率は、一般細菌数61.3%、大腸菌群60.4%、ブドウ菌17.1%である。またサルモネラおよび腸炎ビブリオの病原菌は全く検出されなかった。

各種弁当の品目中、汚染指標としての一般生菌数、大腸菌群の不適率の高かったものは、ちらしずし、たまご巻、おにぎり、幕の内弁当などで、ブドウ球菌の検出率の高いものは五目ごはん、幕の内弁当、詰合せずし、ちらしずし、たまご巻などである。これら不適率と季節の関係は、夏季において高く、冬季に低くなる傾向がみられるが、冬季だからと言って決して良好な結果を示すということではなく、ブドウ球菌では冬季でも10~15%の検出率がみられる状況である。

弁当の内容別に細菌数との関係をみると、米飯類ではおにぎり、五目ごはんなどに 10^9 もの菌数が検出されるものがみられたが、大腸菌群も米飯では、おにぎり、副食類では野菜、ねり製品に 10^7 を検出したものがみられた。

また、ブドウ球菌では、おにぎり、幕の内弁当の米飯、ねり製品などに 10^5 の菌数が検出され、数時間後にはエンテロトキシン産生菌量にも達して食中毒を引き起しかねないほどの危険食品もあった。

また、卵類はすし種にしろ、副食類にしろ不適率が高く、要注意食品であることが認められた。

販売形態別では、固定店舗での販売に比べ、駅弁、沿道際の簡易店舗での販売品には不適率が高い傾向がみられる。このことは保存温度とも関係し、 15°C 以下での保存と 16°C 以上での保存では低温の方が不適率が低いという調査結果が得られたことから、販売施設に対する保存基準の設定も考慮しなければならない。

製造量との関係では、大量製造の大手工場からの製品は概して良く、中小企業からのものは不適率が高い傾向がみられるので、監視指導の強化がのぞまれる。

また、弁当の米飯PHと細菌汚染の関係では、PHが酸性に傾くにつれ不適率は低くなる結果がみられたことから、米飯類の酸調整を行う場合は、PH4.5前後に調整する方が効果的であると思われる。しかしPH調整手段に殺菌効果を求めることは無理なことであるので、食品製造の原則としては、原料の鮮度、衛生的製造管理および低温流通を厳守させなければならない。しかし、酸調整をすることによって微生物の増殖を抑制し、保存時間、腐敗速度を延長させようとする期待は有効と考えられるので、弁当類の細菌汚染防止対策の1手段として、今後配慮しなければならない。

本報告は実態調査結果を総括したものであるが、さらに食品類の安全対策の手段として酸調整を感覚的に感じさせずにPH調整する方法を試行する研究を継続し、監視指導の際の対策をたてなければならぬと考えている。

表 1. 弁当種類別汚染状況

| 項目 品名 | 検査数 | 一般細菌菌数 | | | | | | | | | | 大腸菌群 | | | | | | | 黄色ブドウ球菌 | | | | | | |
|----------|------|----------------------|-----------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|---|
| | | 10 ⁵ <(%) | <300 | ~10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁴ | 10 ⁶ | 10 ⁵ | 10 ⁷ | 10 ⁶ | 10 ⁸ < | + (%) | ≤10 | 10 ² | 10 ³ | 10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁶ | 10 ⁷ | + (%) | ≤10 ³ | 10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁶ | |
| 米飯 | 127 | 67(52.8) | 22 | 7 | 13 | 18 | 14 | 14 | 18 | 21 | 60(47.2) | 5 | 6 | 5 | 11 | 16 | 15 | 2 | 14(11.0) | 8 | 4 | 1 | 1 | | |
| A 副食 | 魚介類 | 60 | 26(43.3) | 9 | 10 | 8 | 7 | 16 | 5 | 3 | 25(41.7) | 6 | 5 | 2 | 5 | 5 | 2 | | 1(1.7) | 1 | | | | | |
| | 肉類 | 104 | 40(38.5) | 19 | 9 | 21 | 15 | 13 | 8 | 12 | 7 | 49(47.1) | 10 | 14 | 5 | 8 | 6 | 5 | 9(8.7) | 8 | 1 | | | | |
| | 卵類 | 9 | 5(55.6) | | | | 4 | 1 | 1 | 2 | 1 | 7(77.8) | | | 3 | | | 1 | 3(33.3) | 2 | 1 | | | | |
| | 野菜類 | 20 | 13(65.0) | 4 | 2 | | 1 | 7 | | 2 | 4 | 12(60.0) | 3 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 1(5.0) | 1 | | | | | |
| | おにぎり | 26 | 19(73.1) | 1 | | 6 | | 6 | 7 | 3 | 3 | 15(57.7) | 1 | 1 | 5 | 3 | 3 | 1 | 1 | 5(19.2) | 4 | | | | 1 |
| B | いなり | 67 | 24(35.8) | 9 | 6 | 7 | 21 | 15 | 5 | 4 | 28(41.8) | 13 | 12 | 3 | | | | | 8(11.9) | 8 | | | | | |
| | のりまき | 71 | 30(42.2) | 6 | 5 | 13 | 17 | 16 | 11 | 1 | 2 | 34(47.9) | 13 | 13 | 4 | 3 | 1 | | 7(9.9) | 7 | | | | | |
| | 卵まき | 19 | 6(31.6) | 4 | 3 | 5 | 1 | 3 | 1 | 2 | | 9(47.4) | 2 | 3 | 2 | | 1 | 1 | 4(21.1) | 4 | | | | | |
| | おにぎり | 1 | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| C 五目ごはん | 12 | 7(58.3) | 1 | | 2 | 2 | 2 | | 2 | 3 | 6(50.0) | | | 1 | 3 | 2 | | 3(25.0) | 3 | | | | | | |
| D 赤飯 | 9 | 4(44.4) | 3 | 1 | 1 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1(11.1) | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| E いなり | 48 | 21(43.8) | 3 | 4 | 13 | 7 | 11 | 7 | 2 | 1 | 15(31.3) | 6 | 7 | 2 | | | | | 7(14.6) | 7 | | | | | |
| F 副食 | 米飯 | 11 | 7(63.6) | 1 | | 3 | | 5 | 2 | | 4(36.4) | 1 | | 2 | 1 | | | | 2(18.2) | 2 | | | | | |
| | 魚介類 | 4 | 2(50.0) | | | 2 | | 2 | | | 4(100.0) | | | 2 | 2 | | | | 1(25.0) | | | | | | |
| | 卵類 | 1 | | | | 1 | | | | | 1(100.0) | | | 1 | | | | | | | | | | | |
| G のりまき | 48 | 21(43.8) | 5 | 3 | 6 | 13 | 8 | 4 | 7 | 2 | 23(47.9) | 3 | 7 | 7 | 3 | 3 | | | 5(10.4) | 4 | 1 | | | | |
| H 卵まき | 5 | 4(80.0) | | 1 | | | 1 | 1 | 1 | 1 | 4(80.0) | | | 2 | | 1 | 1 | | 1(20.0) | 1 | | | | | |
| I おにぎり | 90 | 66(73.3) | 4 | 2 | 5 | 13 | 17 | 16 | 20 | 13 | 67(74.4) | 13 | 5 | 12 | 14 | 11 | 11 | 1 | 12(13.3) | 6 | 4 | 1 | 1 | | |
| J 焼ッパ | 3 | 1(33.3) | 1 | | 1 | | 1 | | | | 1(33.3) | | | | | | | | | | | | | | |
| K 巻きもの | 2 | 1(50.0) | | | 1 | | 1 | | 1 | | 1(50.0) | | | 1 | | | | | | | | | | | |
| 卵すし | 4 | 3(75.0) | | | 1 | | 2 | 1 | | 1 | 3(75.0) | | | 2 | | 1 | | | | | | | | | |
| 魚介類 | 15 | 9(60.0) | 1 | | 1 | 4 | 3 | 2 | 3 | 1 | 9(60.0) | 1 | 2 | 4 | 2 | | | | 1(6.7) | 1 | | | | | |
| L 白飯 | 2 | 1(50.0) | 1 | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 計 (%) | 758 | 377 (49.7) | 94 (12.4) | 53 (7.0) | 109 (14.4) | 125 (16.5) | 144 (19.0) | 87 (11.5) | 84 (11.1) | 62 (8.2) | 378 (49.9) | 78 (20.6) | 87 (23.0) | 59 (15.6) | 62 (16.4) | 50 (13.2) | 37 (9.8) | 5 (1.3) | 84 (11.1) | 68 (9.0) | 11 (1.5) | 2 (0.3) | 3 (0.4) | | |

表 2. 月別汚染状況

| 項目 月別 | 検査数 (%) | S P C | | |
|------------|------------|----------------------|-------------------|------------------|
| | | 10 ⁵ <(%) | Coliform + (%) | Saureus + (%) |
| 昭和54年 5月 | 40 (9.2) | 29 (72.5) | 26 (65.0) | 10 (25.0) |
| " 6月 | 80 (18.2) | 60 (75.0) | 61 (76.3) | 18 (22.5) |
| " 8月 | 80 (18.2) | 60 (75.0) | 53 (66.3) | 9 (11.3) |
| " 10月 | 79 (18.0) | 55 (69.6) | 48 (60.8) | 18 (22.8) |
| " 12月 | 80 (18.2) | 35 (43.8) | 34 (42.5) | 8 (10.0) |
| 昭和55年 1~2月 | 80 (18.2) | 30 (37.5) | 43 (53.8) | 12 (15.0) |
| 計 | 439 | 269 (61.3) | 265 (60.4) | 75 (17.1) |

表 3. 販売施設形態別汚染状況

| 施設 | 項目 | 検査数 (%) | SPC 10 ⁵ <(%) | Coliform + (%) | S. aureus + (%) |
|-----------------|----|------------|-----------------------------|-------------------|--------------------|
| 固定店舗(有営業許可施設) | | 202(46.0) | 110(54.5) | 118(58.4) | 36(17.8) |
| 自動車等移動販売営業 | | 4(0.9) | | 1(25.0) | |
| 沿道での簡易販売施設 | | 86(19.6) | 68(79.1) | 71(82.6) | 21(24.4) |
| デパート, スーパー内販売施設 | | 124(28.2) | 73(58.9) | 58(46.8) | 13(10.5) |
| 駅構内販売施設 | | 21(4.8) | 16(76.2) | 17(81.0) | 5(23.8) |
| その他(駅弁製造元施設) | | 2(0.5) | 2(100.0) | | |

表 4. 保存温度別汚染状況

| 保存温度 | 項目 | 検査数 (%) | SPC 10 ⁵ <(%) | Coliform + (%) | S. aureus + (%) |
|------------|----|------------|-----------------------------|-------------------|--------------------|
| 6 ~ 10 °C | | 24(5.5) | 14(58.3) | 13(54.2) | 1(4.2) |
| 11 ~ 15 °C | | 56(12.8) | 27(48.2) | 28(50.0) | 7(12.5) |
| 16 ~ 20 °C | | 134(30.5) | 76(56.7) | 78(58.2) | 24(17.9) |
| 21 ~ 25 °C | | 138(31.4) | 91(65.9) | 88(63.8) | 24(17.4) |
| 26 ~ 30 °C | | 62(14.1) | 43(69.4) | 42(67.7) | 16(25.8) |
| 31 ~ 35 °C | | 21(4.8) | 18(85.7) | 16(76.2) | 3(14.3) |
| 50 °C < | | 4(0.9) | | | |

表 5. 保存時間別汚染状況

| 保存時間 | 項目 | 検査数 (%) | SPC 10 ⁵ <(%) | Coliform + (%) | S. aureus + (%) |
|------------|----|------------|-----------------------------|-------------------|--------------------|
| 5 時間以内 | | 238(54.2) | 142(59.7) | 152(63.9) | 40(16.8) |
| 6 ~ 10 時間 | | 88(20.0) | 63(71.6) | 59(67.0) | 16(18.2) |
| 11 ~ 15 時間 | | 22(5.0) | 19(86.4) | 14(63.6) | 5(22.7) |
| 16 ~ 20 時間 | | 31(7.1) | 13(41.9) | 8(25.8) | 3(9.7) |
| 21 ~ 33 時間 | | 24(5.5) | 8(33.3) | 9(37.5) | |
| 不明 | | 36(8.2) | 24(66.7) | 23(63.9) | 11(30.6) |

表 6. PH 別 汚 染 状 況

| PH | 6.0 以上 | | | 5.0 ~ 5.9 | | | 4.5 ~ 4.9 | | | 4.4 以下 | | | | |
|------|----------|--|----------------------|----------------------|--|----------------------|----------------------|--|----------------------|----------------------|--|----------------------|----------------------|---|
| | 項目 品名 | 検査数 S P C 10 ⁵ < (%) | Coliform + (%) | S.aureus + (%) | 検査数 S P C 10 ⁵ < (%) | Coliform + (%) | S.aureus + (%) | 検査数 S P C 10 ⁵ < (%) | Coliform + (%) | S.aureus + (%) | 検査数 S P C 10 ⁵ < (%) | Coliform + (%) | S.aureus + (%) | |
| 幕の内 | 5 | 2 (40.0) | 3 (60.0) | 1 (20.0) | | | | | | | | | | |
| おにぎり | | | | | 7 | 3 (42.9) | 4 (57.1) | 1 (14.3) | | | | | | |
| のりまき | | | | | | | | 10 | 5 (50.0) | 6 (50.0) | 2 (20.0) | | | |
| 生ずし | | | | | | | | | | | 6 | 1 (16.7) | 3 (50.0) | 0 |

表 7. 包装容器形態別汚染状況

| 項目 包装容器 | 検査数 (%) | S P C 10 ⁵ (%) | Coliform + (%) | S. aureus + (%) |
|------------|------------|------------------------------|-------------------|--------------------|
| 加工紙 | 18 (4.1) | 11 (61.1) | 14 (77.8) | 5 (27.8) |
| 折詰 | 25 (5.7) | 20 (80.0) | 18 (72.0) | 7 (28.0) |
| 発泡スチロール | 97 (22.1) | 62 (63.9) | 57 (58.8) | 17 (17.5) |
| その他の合成樹脂 | 291 (66.3) | 169 (58.1) | 171 (58.8) | 46 (15.8) |
| その他 | 8 (1.8) | 7 (87.5) | 5 (62.5) | |

表 8. 製造量別汚染状況

| 項目 製造量 | 検査数 (%) | S P C 10 ⁵ <(%) | Coliform + (%) | S. aureus + (%) |
|-----------|------------|-------------------------------|-------------------|--------------------|
| 49コ以下 | 167 (38.0) | 105 (62.9) | 109 (65.3) | 29 (17.4) |
| 50~100コ | 79 (18.0) | 51 (64.6) | 49 (62.0) | 15 (19.0) |
| 101~500コ | 95 (21.6) | 54 (56.8) | 52 (54.7) | 17 (17.9) |
| 501~1000コ | 18 (4.2) | 11 (61.1) | 6 (33.3) | 3 (16.7) |
| 1,000コ以上 | 33 (7.5) | 19 (57.6) | 16 (48.5) | 4 (12.1) |
| 不明 | 47 (10.7) | 29 (61.7) | 33 (70.2) | 7 (14.9) |

国内産食肉類由来の *Salmonella typhimurium* の生物型

一分布並びに分離培養後の変異について

柳川 敬子 渡辺 昭宣 徳丸 雅一

はじめに

S. typhimurium による食中毒の感染源追求に Duguid らの生物型分類が有効な手段とされている。今回は本菌の主要な疫原とみられる国内産食肉類について生物型の分布を調査するとともに、型別試験法の検討と、保存再分離後の変異株の出現状況について検討した。

材料と方法

1) 供試菌株：1968～1978年の間に国立衛試ほか8地方研究機関で市販食肉類から分離した *S. typhimurium* 97株を収集して実験に供した。菌株の畜種別は表1のとおりで、豚由来が最も多く次いで鶏由来であった。

表1. 供試菌株の由来

| 畜種 | 株数(%) |
|-----|-----------|
| 豚 | 63 (64.9) |
| 鶏 | 27 (27.9) |
| 牛 | 1 (1.0) |
| 牛・豚 | 4 ((4.1) |
| 鯉 | 2 (2.1) |

計 97

2) 生物型別法：Duguid ら (J. Med. Microbiol. 8, 149, 1975) の方法に準拠した。

3) 生物型別試験法についての検討：酒石酸利用能試験について、Duguid らの方法とその変法および *kauffman*

表2. 畜種別生物型の分布

| 生物型 | 第1次分類 | | | | | 生物型 | 第2次分類 | | | | | タイプ数 | | |
|-----|-------|----|----|-----|---|-------------|---|--|---|----|--|-------------|----|----|
| | 牛 | 豚 | 鶏 | 牛・豚 | 鯉 | | 計 | 牛 | 豚 | 鶏 | 牛・豚 | | 鯉 | 計 |
| 1 | | 5 | | 2 | 1 | 8 (82) | a b d | 2 3 | | 2 | | 4 3 1 | 3 | |
| 3 | | 5 | 2 | 3 | | 55 (567) | a b bf bg bj d dj f j z | 9 2 6 1 3 1 1 7 1 2 | 1 1 | | 10 22 7 1 3 1 1 7 1 2 | 10 | | |
| 10 | | | 1 | | | 1 (10) | d i | | 1 | | | 1 | 1 | |
| 11 | | 3 | | | 1 | 4 (41) | a b f | 1 1 1 | | | 1 | 1 2 1 | 3 | |
| 25 | 1 | 1 | | | | 2 (21) | e f h h i | 1 | 1 | | | 1 1 | 2 | |
| 26 | | 2 | 2 | 3 | 2 | 27 (279) | a b be bf bg bi biz e f i z f fhz f j z i j i | 1 | 8 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 | 1 | 10 2 1 1 1 1 1 1 5 1 1 1 1 | 13 | | |
| 計 | 1 | 63 | 27 | 4 | 2 | 97 | | 1 | 63 | 27 | 4 | 2 | 97 | 32 |

-Petersen (K-P培地)による方法を比較検討した。また線毛についての血球凝集反応では、培養培地を、OxoidのNutrient broth, Oxoidのpepton水および栄研化学の普通ブイヨンの3つについて比較し、継代効果についても比較した。

4) 保存後再分離後の変異株の出現について：保存株の再分離後の変異株の出現については、親株をOxoidのNutrient Agarで分離して得た子株、変異の出現した子株については孫株を更に得、1次型別法による生物型を調べた。

成績及び考察

1) 生物型の分布：表2のように、供試菌株の第1次分類では生物型は6種類に分かれ、検出率の高い生物型は3型(5.67%)で、ついで26型(2.79%)、1型(8.2%)、11型(4.1%)、25型(2.1%)、10型(1.0%)であった。これを畜種別にみると、3型1型は豚に多く、26型は鶏に多く分布することがみられた。鯉は1型と11型に分かれ、豚と共通することが推察された。牛は1株だが25型に分類された。第2次分類では更に32種類に分かれた。1型は3種に分かれ、豚由来株は1a, 1bに、鯉は1dとなった。3型では10種に分かれ、3bが最も多く、ついで3aで、3b, 3fは同程度の検

出であった。その他はばらばらの少数検出であった。また3型の鶏由来株は、豚にも多い3a, 3b, 3bfであった。26型は最も多く分かれ13種に分かれた。その大部分が鶏に傾よるが、最も多かったのは26a, ついで26f, 26bであった。11型は3種に分かれ、鯉は豚と同じ11biに一致した。第1次分類では生物型と畜種の関係は比較的に明瞭にわかれ、1, 3型は豚由来、26型は鶏由来となったが、第2次分類を含むと、生物型特性はうすらぐ傾向を示した。

2) 生物型別試験法の検討：型別試験中比較的不安定な成績を示す酒石酸利用能についてDuguidらの原法と著者が考えた改良法、それにK-P培地での判定を比較してみた。原法では、酒石酸添加ブイオンと無添加ブイオンでの発育が無添加ブイオンより数倍なら⊕と判定し、はっきりしない時は吸光度計にかけ、 $-\log T$ 値が無添加ブイオンより100%以上なら⊕、50~100%なら⊕、50%以下なら⊖と、煩雑です。そこで私達は、肉眼的に⊕と判定される株を中心に、波長を、660nmにしてOD値を設定することが可能か、K-P培地も併用し検討しました。原法で⊕と判定される添加ブイオンはOD値が0.2~0.3であり、K-P培地での結果も合わせると、結局0.3で区切りそれ以上を⊕、それ未満を⊖とするのがよ

表3. 酒石酸利用能における2法の比較

| Duguid 法 | | K-P 法 | | |
|----------|-----------|-------|------|-----------|
| 肉眼法 | OD 値 | 肉眼法 | 試薬添加 | 株数 (%) |
| - | 0.2 以下 | - | - | 49 (50.5) |
| + | 0.3 以上 | + | + | 34 (35.1) |
| + | 0.3 以上 | + | - | 4 (4.1) |
| - | 0.2 ~ 0.3 | - | - | 10 (10.3) |

いと判断した。

また報告者によって検出率に差がみられるのが、線毛の有無である。これは培養培地によるものと考え、原法のOxoidのnutrient brothと、Oxoidのpepton水と栄研化学の普通ブイオンとを比較した。又継代により差が出るかを1代目と6代目の菌を使用して比較した。

表4. 線毛陽性株検出率の比較

| 培地 | 継代数 | |
|----------------------|-----------|-----------|
| | 1代目 (%) | 6代目 (%) |
| Oxoid Nutrient broth | 32株(33.0) | 54株(55.7) |
| Oxoid Pepton 水 | 47株(48.5) | 60株(61.9) |
| 栄研化学 普通ブイオン | 71株(83.5) | 90株(92.8) |

表4のように、Oxoidのnutrient brothは1代目では、97株中32株(33.0%)が線毛⊕、pepton水では47株(48.5%)と、いずれも50%を切ったが、栄研化学の普通ブイオンでは81株(83.5%)と

高い値を示した。6代目まで培養してもこの順位は変わらなかったが、線毛⊕株は、いずれも50%以上検出されるようになった。また血球凝集能⊕を示した株は、全てがmannose感受性でありType I型の線毛に分類された。

3) 保存後再分離後の変異株の出現について：代表親

表5. 再分離後の生物型の変異

| 親型 | 子株10株 |
|------------|-----------------|
| NO. 由来 生物型 | 生物型 |
| 3 鶏 26型 | 26型(10株) |
| 21 豚 11型 | 11型(1株)+3型(9株) |
| 24 豚 3型 | 3型(10株) |
| 65 豚 1型 | 1型(10株) |
| 77 豚 1型 | 1型(10株) |
| 86 鶏 10型 | 10型(3株)+26型(7株) |

株として6株を選んだ。6株の由来と第1次の生物型は表5のとおりである。普通寒天に保存されていたこれらの株を直接OxoidのNutrient Agarにまいて、10株を子株として釣菌し、その生物型をみたところ、親と同じ生物型ばかりを示したのは4株、違った生物型が型別されたのが2株であった。

即ち豚由来株NO.21は、親株が11型なのに対し、子株は10株中1株のみ11型で残り9株は3型となった。これは、inosital分解能が親株が⊕だったのに

⊖となった結果である。次に、子株を更にまいて各々の孫株10株の生物型をみたのが表6である。NO.21の株では、子株と同じ生物型となった孫株は5株で、他の5株は株数に差があれ、親株と子株の生物型を混じえたものとなった。NO.86株では、孫株は全て子株の生物型に一致した。

表 6.

| 親 株 | 子株の生物型 | 孫株の生物型 (各孫株10株) |
|-----------------|--------|--------------------|
| NO.21 生物型11型 | イ 3型 | 3型 (10株) |
| | ロ 3型 | 3型 (10株) |
| | ハ 3型 | 3型 (10株) |
| | ニ 3型 | 3型 (6株) + 11型 (4株) |
| | ホ 3型 | 3型 (6株) + 11型 (4株) |
| | ヘ 3型 | 3型 (9株) + 11型 (1株) |
| | ト 3型 | 3型 (9株) + 11型 (1株) |
| | チ 11型 | 11型 (7株) + 3型 (3株) |
| | リ 3型 | 3型 (10株) |
| | ヌ 3型 | 3型 (10株) |
| NO.86 生物型10型 | イ 10型 | 10型 (10株) |
| | ロ 26型 | 26型 (10株) |
| | ハ 26型 | 26型 (10株) |
| | ニ 26型 | 26型 (10株) |
| | ホ 10型 | 10型 (10株) |
| | ヘ 10型 | 10型 (10株) |
| | ト 26型 | 26型 (10株) |
| | チ 26型 | 26型 (10株) |
| | リ 26型 | 26型 (10株) |
| | ヌ 26型 | 26型 (10株) |

ま と め

1. 国内産食肉類から分離された *S. typhimurium* 97株について Duguid の方法による生物型別を行なったところ、1次分類で6種類、2次分類では32種類に細分された。
2. 畜種別では、豚由来株は1a, 1b, 3a, 3b, 3bf, 3f型に、鶏由来株は26a, 26f型に多く分布した。牛由来の1株は25efb型であった。
3. 酒石酸利用能試験は、吸光度計を用いた場合は、OD値0.3以上を⊕、それ未満を⊖とするとよい。
4. 血球凝集反応による線毛の有無をみる時は培養培地に

よって、検出率が変動するので、培地を規定した方がよい。又、1代培養菌より6代培養菌の方が線毛(株)の検出はよくなる。

5. 保存後再分離後の子株の生物型を調べたところ、6株中4株は、親株と同一生物型であったが、2株は親株と異った生物型も検出された。この2株を更に再分離して孫株を調べたところ、1株は子株の生物型に一致したが他の1株は、子株と同じ型5株、親株と同じ型5株と、親子混在した生物型となった。
6. 5にのべたことから、生物型を疫原追求の手段として用いる場合は、慎重に行う必要があると考えた。

各種水における発熱性物質の比較

正木 宏幸 渡辺 昭宣

はじめに

発熱は、各種原因によって末梢、中枢の障害のために体温調節中枢に異常をひきおこした結果、体温が正常より高いレベルで維持されている状態といわれている¹⁾。こういった発熱を起す要因は種々あると考えられるが、とくに細菌由来の発熱物質によることが多いと思われる。

我々は、1977年、サルモネラのエンドトキシンと発熱の関係(報告²⁾)し、さらに、1979年には、河川水における発熱物質について報告³⁾してきたが、本報告では自然界における各種の水について発熱性物質の汚染度を検討したのでその概要を報告する。

実験材料および方法

1) 実験材料

供試水は、浦和、与野地区の水道水と、上尾、狭山地区の井戸水と荒川下流の河川水および浦和地区で採取した雨水と雪水を用いた。

雨水および雪水は、地上約1mの台の上に1ℓ用のビーカーを設置し採取した。雨水採取時期は1980年9月、雪水は同年2月におこなったものである。

2) 実験方法

a) Pyrogen Test

第9改正日本薬局方発熱性物質試験法にしたがっておこなった。供試水は、それぞれPyrogen freeの生理食塩水で希釈し、所定の量をウサギ耳静脈内に接種した。実験に使用したガラス器具類はすべて25°C、30分以上の乾熱で滅菌したものをを用いた。体温測定は12点式自動記録サーミスター(飯尾電気E. P. 76-12)を用いた。Pyrogen Testの判定基準は、接種後3時間以内に0.6°Cをこえる発熱上昇値を示したものを陽性とし、0.6°C未満のものを陰性とする局方の基準にしたがった。

b) 細菌数の測定

供試水の各希釈液1mlについて標準寒天培地を用いて混釈培養し、37°C、48時間培養後、発生集落数を算定して1ml中の菌数を換算した。

c) Limulus Test

市販カプトガン血球成分の凍結乾燥品(帝國機器製)にPyrogen freeの生理食塩水0.1mlを加え、よく溶解し、

これに被検水の希釈液をそれぞれ0.1ml添加したのち、ゆるやかに混合し、37°Cで1時間感作した。その後、室温で5分間静置し、ゲル化の状況を判定した。

実験結果

1) 水の細菌汚染とPyrogen Testの関係

前回の報告における水道水と河川水につづき、新たに、井戸水、雨水、雪水を加えて、細菌数とPyrogen Testの関係をしらべた結果は、表1のとおりである。

表1. 各種水の細菌数とPyrogen Testとの関係

| NO. 水の種類 | 細菌数/ml | Pyrogen Test | | |
|----------|---------------------|---------------------------------|--------------|---|
| | | 接種量10 ^{ml} /kg 希釈濃度 | 1ml/kg 原水 | 1ml/kg 原水 10 ¹ 10 ⁻² |
| 1 水道水-A | 0 | + | - | - |
| 2 水道水-B | 1.5×10 ² | + | + | - |
| 3 水道水-C | 8.1×10 ³ | + | + | - |
| 4 井戸水-A | 0 | + | - | - |
| 5 井戸水-B | 2.5×10 | + | - | - |
| 6 井戸水-C | 4.7×10 ³ | + | + | - |
| 7 河川水-A | 3.2×10 ³ | + | + | + |
| 8 河川水-B | 7.5×10 ³ | + | + | + |
| 9 河川水-C | 1.5×10 ⁴ | + | + | + |
| 10 雨水-A | 0 | + | - | - |
| 11 雨水-B | 2.0×10 | + | - | - |
| 12 雪水-C | 0 | + | - | - |

まず水道水では、試料Aのように細菌数0のものはPyrogen Testでは、原水の10ml/kgの接種の場合のみ陽性を示したが、接種量が1ml/kgの場合は原水、10倍希釈液、100倍希釈液の3者とも陰性であった。また、細菌数1.5×10²の試料Bと、細菌数8.1×10³の試料Cの汚染水では、両者とも原水の1ml/kg接種までが陽性を示し、以上の希釈では陰性となった。

井戸水では、細菌数0の試料Aと、細菌数2.5×10の試料Bはともに、原水の10ml/kgの接種の場合のみ陽性を示した。しかし、細菌数4.7×10³の試料Cでは、原水の1ml/kg接種までが陽性を示し、以上の希釈では陰性

となった。

河川水では、試料のA, B, Cとも細菌数 1×10^3 以上を示し、そのPyrogen Test 結果は10倍希釈液の1 ml/kgの接種まで陽性となり、それ以上の希釈液では陰性を示した。

また、雨水、雪水では、いずれも細菌数は少なく、20以下であったが、そのPyrogen Test の結果は原水の10ml/kg接種まで陽性を示し、以上の希釈では陰性となる結果を示した。

つぎに、図1は、水道水（試料A）と雪水（試料A）の10ml/kg接種時の発熱上昇曲線を示したものである。

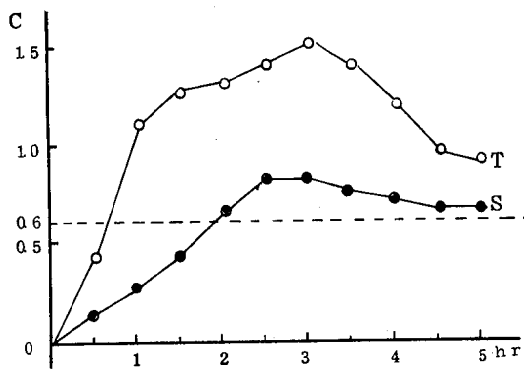


図1 水道水と雪水のウサギ静脈内接種による発熱作用

○ T ……水道水 細菌数 0/ml
接種量 10ml/kg
● S ……雪水 細菌数 0/ml
接種量10ml/kg

T線は細菌数0の水道水を10ml/kgの量になるように3匹のウサギに接種した発熱温度を平均したものである。発熱は接種後30分から1時間にかけて、判定基準値の0.6°Cをこす体温上昇を示し、3時間後には1.5°Cの最高上昇温度を示した。その後は下降の傾向をたどるが、5時間経過しても、なお0.6°Cをこす発熱を持続した。

S線は同様に細菌数0の雪水を接種した1例の発熱曲線である。水道水に比べ、同じ細菌数0のものでも、雪水の場合は接種後1時間30分から2時間にかけて0.6°Cをこす発熱を示し、2時間30分で最高となったが、その時の発熱上昇値は0.8°Cで水道水の場合より低かった。その後は、同様に下降の傾向をたどるが、5時間経過時でも0.6°Cをわずかにこえる発熱を持続した。

2) 加熱殺菌による発熱物質の影響

水道水を加熱殺菌することによって、Pyrogen Test の結果に及ぼす影響を示したものが図2である。図の上段

は水道水の原水と同原水を120°C、15分の高圧滅菌したものそれぞれ10ml/kg接種した時の発熱曲線を示した。また、図下段は対照としてS. typhimuriumのLPSの 10^{-2} μg/mlの溶解液を作り、同様に処理したものについての発熱曲線である。

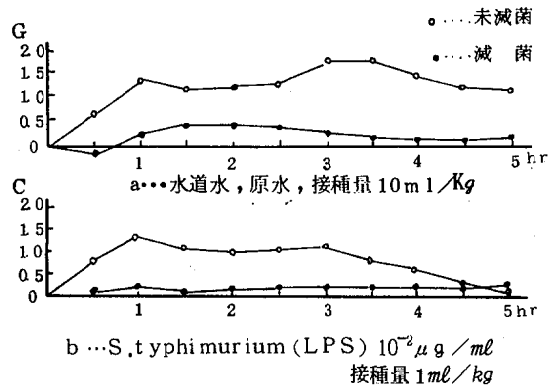


図2. 水道水とS. typhimurium (LPS)溶解液の滅菌による発熱作用への影響 滅菌法…120°C 15分の高圧滅菌

水道水では図aのごとく、未滅菌原水では接種後30分で、すでに発熱性物質試験の判定基準をこえ、その後、5時間まで1.0°Cをこえる発熱を持続したが、滅菌原水の場合は接種後30分で一時わずかな体温低下を示し、その後、徐々に上昇したが、判定基準をこす発熱量は示さなかった。

S. typhimuriumのLPSを生理食塩水で溶解したもものでは図bに示すごとく、未滅菌の場合は接種後30分で0.6°Cをこえる発熱上昇を示し、3時間まで1.0°Cをこえる発熱を持続したが、その後、下降の傾向を示し、5時間後にはほぼ平温まで回復した。これに対し、滅菌後のLPSの溶解液では接種後5時間を経過しても、ほぼ平温に近く0.6°Cをこえる発熱は示されなかった。このように発熱性物質は120°C、15分の高圧滅菌処理である程度分解される成分で構成されているものと推定される。

3) 水の細菌汚染とLimulus Test の関係

各種水の細菌数とLimulus Test について比較検討した。結果は表2に示すごとく、供試水6例とも原水では明瞭なゲル化反応を示し陽性と判定されたが、10倍以上に希釈した場合は細菌数が 1×10^3 以上の汚染を示したものが陽性を示し、細菌数0のものは陰性となった。とくに表2. 各種水の細菌数とLimulus Test との関係

| No. | 水の種類 | 細菌数/ml | Limulus Test | | | |
|-----|-------|-------------------|--------------|--------|--------|---------------|
| | | | 原水 | 10^1 | 10^2 | 10^3 10^4 |
| 1 | 水道水-A | 0 | + | - | - | - |
| 2 | 水道水-B | 8.1×10^3 | + | + | - | - |
| 3 | 井戸水-A | 0 | + | - | - | - |
| 4 | 河川水-B | 7.5×10^3 | + | + | + | + |
| 5 | 雨水-A | 0 | + | - | - | - |
| 6 | 雪水-A | 0 | + | - | - | - |

細菌数の多い河川水-Bでは1,000倍希釈まで陽性を示した。

考 察

前報³⁾において、我々は発熱という生体内反応を通して、水道水と河川水の汚染度を比較し、報告した。今回はこれに井戸水、雨水、雪水等を加え、Pyrogen Test と水質汚染を評価したが、さらにPyrogen Test の裏づけとして、Limulus Test によるエンドトキシン汚染⁴⁾との関係も検討した。

今回の実験に供した5種の水は、すべて飲料水あるいは、飲料水の源水となるもので、人間の生活には欠くべからざるものがある。したがって、今までの水質判定試験には化学検査と細菌学検査が用いられ、細菌学的判定基準には細菌数が1mlあたり100以下、大腸菌群陰性と定められているが、その評価と意義を検討する目的で、これら汚染度をPyrogen Test による発熱性を通じて再調査した。その結果、いずれの原水の場合も、局方試験法では陽性と判定されるが、河川水を除く他の水では、1オーダー希釈することほとんど陰性となり、河川水に比べ汚染度が少ないことがうかがえる。さらに細菌数との比較では、 1×10^3 以上でPyrogen Test の判定に1オーダーの差が認められることから、細菌汚染とPyrogen Test の関係はこのあたりで接するのではないかと考えられる。しかし、河川水では、同じ細菌汚染をうけながら、井戸水、水道水に比べPyrogen Test の結果が高いことは細菌以外の異物、ウィルス、あるいは化学物質が関与しているのではないかと考えられる。

雨水、雪水については検体数が少なく、多くの問題点を残すが、今回の結果だけみると、河川水よりも良い結果がえられ、水の汚染を進行さず直接の因子は少なく、むしろ土地と接した河川水、井戸水に本来の汚染の因子が含まれているものと考えられる。Lamka ら⁵⁾は農村の飲料水、井戸水について、一般細菌数、大腸菌群等の細菌学的汚染調査をおこない、降雨後の井戸水に大腸菌群が多く検出される傾向がみられると報告しているが、これは今回の実験でもみられるように雨そのものに原因があると考えられるよりも、むしろ雨による地表水の滲透が井戸水の汚染につながっていると解釈もできる。

さらに水中の発熱性物質の性状が易熱性のものであるか否かを加熱滅菌によってしらべてみた。その結果、 120°C 、15分の高圧滅菌のもとでは発熱作用が減少することがわかった。すなわち、水に含まれる発熱物質はサルモネラのエンドトキシンと同様高圧滅菌することにより、大部分の発熱活性を失なうもので、水の発熱性物質に細菌性毒素も関与していることが考えられる。

また、現在エンドトキシン検出手段としてのLimulus Test は臨床医学⁶⁾、水質検査⁷⁾、および市販ワクチン検査⁸⁾など多くの方面で応用されている。そこでエンドトキシン検出法としてのLimulus Test およびPyrogen Test を細菌汚染の面から検討してみた。その結果、比較的菌数の多いものに両試験の陽性度が高く、菌数の少ないものでは原水のみが陽性を示し、1オーダー希釈を高めると陰性となった。その限界は細菌数 1×10^3 にあるように考えられた。

G. Keleti ら⁹⁾は飲料水の汚染に関して、cyanobacteria のSchizothrix calcicola のLPSを抽出し、Limulus Test ならびにSchwartzman reactionの陽性を示し、これが水のエンドトキシン汚染の一原因であると示唆している。

しかし、今回のようにLimulus Test と細菌数がある程度相関するのに対して、J. H. Jorgensen ら¹⁰⁾は再生廃水でLimulus Test をおこなった結果、細菌数との相関関係はあまり成立しないという報告もあり、このことから対象水によって汚染の観点は異ってくる。

以上のごとく、各種水のPyrogen Test をおこなってきたが、このような水の発熱性は直接血中に接種した場合に生じるもので、経口的に接種された場合はいちぢるしく減じられるか、発熱を有しないことが知られており、その点も今後追求していかなければならない。

また、Limulus Test についてもその比較を一般細菌数にとどまらず、検出される個々の菌種との関係をも考えていかなければならない。水道水の塩素滅菌が一方では社会問題化しつつある現在、こういったエンドトキシンの汚染も充分考えなおさなければならないと思われる。

要 約

各種の水につき、細菌数とPyrogen Test ならびにLimulus Test をおこなったところ、次の結論をえた。

1) Pyrogen Test については、すべての供試水の原水の $10\text{ml}/\text{kg}$ 接種量で 0.6°C をこえる発熱がみられた。細菌数1000個以上の河川水、井戸水、水道水では、原水の $1\text{ml}/\text{kg}$ の接種で陽性を示す発熱がみられた。しかし汚染の高い河川水では、さらに1オーダー高い希釈の10倍希釈液の $1\text{ml}/\text{kg}$ の接種で陽性を示したことから、河川水汚染にはエンドトキシン以外の要因も含まれていることが推察される。

2) 水道水の原水およびS. typhimuriumのLPSの発熱作用は、 120°C 、15分以上高圧滅菌することによりほとんど失われた。

3) 各種の水の原水でのLimulus Test の結果はすべて陽性を示したが、 $1 \times 10^3/\text{ml}$ 以上の菌数が検出される水

道水で10倍希釈まで陽性を示し、河川水で1000倍まで陽性を示し、細菌汚染とLimulus Test の間に相関性があることが示唆された。

文 献

- 1) 上田英雄, 武内重五郎, 豊倉康夫 (1978) : 発熱, 28. 南江堂.
- 2) 正木宏幸, 渡辺昭宣 (1977) : 細菌性発熱物質の静脈内注射による発熱比較, 埼玉県衛生研究所報, 11, 107.
- 3) 正木宏幸, 渡辺昭宣 (1979) : 河川水および水道水における発熱性物質の比較, 埼玉県衛生研究所報, 13, 91.
- 4) 丹羽 允 (1974) : エンドトキシンの微量定量法としてのLimulus Test の意義, モダンメィア, 20, 137.
- 5) K.G. Lamka, M.W. Lechevallier and R.J. Seidler (1980) : Bacterial contamination of drinking water supplies in a modern rural neighborhood, Appl. Environ. Microbiol., 39 (4), 734.
- 6) 織田敏次 (1979) : エンドトキシンの基礎と臨床, 35. 羊土社.
- 7) T. M. Evans, J. E. Schillinger, and D. G. Stuart (1978) : Rapid determination of bacteriological water quality by using Limulus lysate, Appl. Environ. Microbiol., 35 (2), 376.
- 8) M. R. Geier, H. Stanbro and C. R. Merrill (1978) : Endotoxins in Commercial vaccines, Appl. Environ. Microbiol., 36(3), 445.
- 9) G. Keleti, J. L. Sykora, E. C. Lippy and M. A. Shapiro (1979) : Composition and biological properties of lipopolysaccharides isolated from *Schizothrix calcicola* (Ag.) Gomont (Cyanobacteria), Appl. Environ. Microbiol., 38 (3), 471.
- 10) J. H. Jorgensen, J. C. Lee, G. A. Alexander and H. W. Wolf (1979) : Comparison of Limulus assay, standard plate count, and total coliform count for microbiological assessment of renovated wastewater, Appl. Environ. Microbiol., 37 (5) 928.

鯉の微生物叢と Fluorescent Pseudomonas の性状について

池内 俱子 渡辺 昭宣

はじめに

食品の腐敗は、多種多様の微生物が、それぞれの増殖に必要な条件が与えられた場合に反応して総合的に発現する現象といわれている。そしてこの反応は、食品の組成と腐敗に関与する微生物叢の間に、相関性のあることが認められており、とくに蛋白食品は腐敗の速いことが知られている。¹⁾ われわれは、食品の腐敗に関与する細菌のうち、グラム陰性桿菌をとりあげ、前報²⁾では動物蛋白食品のうち食肉の微生物叢を調査したが、本報では淡水魚である鯉の微生物叢を検索し、食肉由来菌叢と比較するとともに、とくに変質の主要菌叢を占めると思われる *Pseudomonas* について検討したので報告する。

実験材料および方法

1) 供試菌株

食肉由来株は 1976~77 年の間に、食肉小売店で行った細菌汚染の実態調査の際に²⁾³⁾、食肉から分離したものを使用した。また、鯉由来株は、1978 年 7 月~8 月に渡って養殖淡水魚のサルモネラ汚染の実態調査を行ったとき、その一部を実験に供し分離したものである。

鯉および鰻についての検査方法は、それぞれのエラおよび内臓を、直接標準寒天平板培地と NAC 寒天平板培地に塗抹した。標準寒天平板は 35℃、4.8 時間と 4℃、1 週間の培養を行い、NAC 寒天平板は 30℃、4.8 時間培養とした。各平板から発生集落を無作為に 3 ずつ釣菌し、普通寒天斜面に分離したのち、Cowan & Steel の方法⁴⁾により同定した。

2) *Aeromonas* 属についての第二次鑑別

Bergey's manual 第 8 版⁵⁾、島田⁶⁾、小迫⁷⁾らの方法を応用し、30℃ 培養での生化学性状から同定を行った。

a) 食塩加ベプトン水での発育テスト：3%, 4%, 5%, 7.5%, 9% に食塩濃度を調整したベプトン水に菌を微量接種し、1 夜培養後混濁したものを陽性とし、わずかに発育が認められるものは陰性とした。

b) インドールの産生：インドール産生試験ベプトン水⁸⁾に、トリプトファンを 0.1% 加えた培地に菌を接種し、2.4 時間後 Kovac 試薬を滴加して呈色反応を行った。

c) グルコン酸々化試験：Moore & Picket の方法(亜酸化銅法)によって行った。

d) 糖の分解試験：糖分解半合成基礎培地(日水)、PYP 基礎培地(日水)の両培地について 1 週間毎日観察した。

e) その他の生化学性状：普通ピジョンでの 37℃ における増殖性、KCN 利用試験 (Møller), セラチン液化試験を行った。

3) *Pseudomonas* 属についての同定

Bergey's manual 第 8 版⁵⁾、本間ら⁹⁾および緑膿菌研究会の同定法¹⁰⁾に準じ、主として 25℃ 培養による性状を調べ同定した。*Fluorescent Pseudomonas* の生物型別については、藪内¹¹⁾¹²⁾、Stanier¹³⁾らの報告に従って行った。炭水化物の分解試験は、OF 基礎培地 (Difco)、PYP 基礎培地(日水)の併用で行い、他の性状は前報²⁾の方法によった。また、対照として、*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9721 (東邦大学分与株)を用いた。

薬剤耐性試験は、ストレプトマイシン(S)、クロラムフェニコール(C)、アミノベンジルペニシリン(Pd)、カナマイシン(Ka)、テトラサイクリン(T)、ナリジシン酸(Nd)の6剤について寒天稀釈法で行い、各薬剤とも 2.5 mcg/ml 以上の発育を示したものを耐性とした。なお、鰻から分離した株は、4 株と少なかった為、鯉由来として一括した。

実験結果

1) 食肉および鯉からの分離菌の比較

食肉および鯉から分離した微生物叢を比較すると Table 1 に示した様に、両者間には明らかな差異がみられ、食肉由来ではグラム陽性菌とグラム陰性菌がほぼ同率に分離されたのに対し、鯉由来ではグラム陽性菌は全く検出されなかった。

Table 1. Comparison of Microflora Isolated from Meat and Carp

| Genus | Meat | Carp |
|-----------------------|-----------|-----------|
| <i>Pseudomonas</i> | 30 (24.8) | 58 (71.6) |
| Enterobacteriaceae | 13 (10.7) | 3 (3.7) |
| <i>Alcaligenes</i> | 1 (0.8) | 5 (6.2) |
| <i>Aeromonas</i> | | 14 (17.3) |
| <i>Moraxella</i> | 2 (1.7) | |
| <i>Flavobacterium</i> | 4 (3.3) | |
| <i>Micrococcus</i> | 10 (8.3) | |
| <i>Staphylococcus</i> | 3 (2.5) | |
| <i>Lactobacillus</i> | 3 (2.5) | |
| <i>Bacillus</i> | 26 (21.5) | |
| Yeast | 16 (13.2) | |
| Unidentified | 13 (10.7) | 1 (1.2) |
| Total | 121 | 81 |

その分布をみてみると、前者では *Pseudomonas* 属が 24.8%, *Enterobacteriaceae* 10.7%, *Micrococcus* 属 8.3%, *Bacillus* 属 2.1.5% および *Yeast* 13.2% の割であったが、後者では *Pseudomonas* 属 71.6%, *Aeromonas* 属 17.3%, *Alcaligenes* 属 6.2% の順であった。

そこで、両由来ともに主要菌叢を占める *Pseudomonas* 属について比較したのが Table 2 である。微生物叢と同

様に両由来間には相違がみられ、食肉由来株は *Fluorescent group* と *P. stutzeri* とに大別されるが、鯉由来では色素を産生する *Fluorescent group* が 70% を占めている。また、種を決定出来なかった株についてみると、鯉由来株 16 株の内 10 株までが色素を産生し、蛍光性を持つ特徴的な性状を示すのに比し、食肉由来株は何ら決定的な生化学性状を示さず好対照をみせた。

Table 2. Distribution of genus *Pseudomonas*

| Species | Meat | Carp | Bergey's |
|-------------------------------|-------------|-------------|------------|
| <i>Ps. aeruginosa</i> | | 5 (8.6) | Section I |
| <i>Ps. fluorescens</i> | 5 (16.7) | 22 (37.9) | |
| <i>Ps. putida</i> | 1 (3.3) | 14 (24.2) | |
| <i>Ps. stutzeri</i> | 5 (16.7) | | |
| Like- <i>Ps. pseudomallei</i> | 2 (6.6) | | Section II |
| <i>Ps. pseudoalcaligenes</i> | | 1 (1.7) | * |
| Unknown species | 17 (56.7) | 16 (27.6) | |
| Total | 30 | 58 | |

2) 鯉由来の *Fluorescent Pseudomonas* の性状について

P. aeruginosa 以外の *Pseudomonads* でピオベルジ

ンを産生するいわゆる *Fluorescent Pseudomonas* のうち、鯉由来の *P. fluorescens* と *P. putida* の生物型別の結果は Table 3 と 4 に示すとおりである。

Table 3. Biotypes of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*

| Characteristics tested | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|-----------------------------|---|----|---|---|---|---|---|
| Growth in BHI at 37C | - | + | - | + | - | + | + |
| " " 4C | + | + | + | + | + | + | ⊖ |
| Growth on NAC agar | ⊕ | + | + | + | - | + | + |
| L-arginine dihydrolase | + | + | + | + | + | + | + |
| 2-Ketogluconate | + | - | + | + | - | - | + |
| Acylamidase | - | - | - | - | - | ⊕ | ⊕ |
| Hydrolysis of Tween 80 | - | + | + | - | - | - | - |
| Liquefaction of Gelatin | + | + | + | - | - | - | - |
| Gas from nitrate | + | - | - | - | - | - | - |
| Decarboxylase of L-arginine | + | + | + | + | + | + | + |
| " " L-lysine | - | - | - | - | - | - | - |
| " " L-ornithine | - | - | - | - | - | - | - |
| Utilization of Citrate | + | + | + | + | + | + | + |
| Total | 3 | 16 | 3 | 9 | 3 | 1 | 1 |

- 1.....*Ps. fluorescens* biotype C
 2.....*Ps.* " G
 3.....*Ps.* " (unknown)
 4.....*Ps. putida* biotype A
 5.....*Ps.* " B
 6.....*Ps.* " (unknown)
 7.....*Ps.* " (")

Table 4. Utilization of Carbohydrates

| Carbohydrate | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|--------------|---|----|----|---|----|---|---|
| Adonitol | + | - | ⊕ | - | - | ⊕ | ⊕ |
| L-arabinose | + | + | + | + | + | + | + |
| Cellobiose | - | - | ⊕ | - | - | - | - |
| Dulcitol | - | - | - | - | - | - | - |
| Fructose | + | + | + | + | + | + | + |
| Galactose | + | + | + | + | + | + | + |
| Glycerol | + | + | + | + | + | + | + |
| Mannose | + | + | + | + | + | + | + |
| Inositol | + | + | + | - | - | ⊕ | ⊕ |
| Lactose | - | - | - | - | - | ⊕ | ⊕ |
| Maltose | - | - | - | - | - | - | - |
| Mannitol | ⊖ | + | -6 | + | - | ⊕ | ⊕ |
| Trehalose | + | + | + | - | - | ⊕ | ⊕ |
| Melezitose | - | - | - | - | - | ⊕ | ⊕ |
| Salicin | - | - | - | - | - | - | - |
| Melibiose | + | + | + | + | + | + | + |
| Rhamnose | - | - | - | - | +2 | ⊕ | ⊕ |
| Sorbitol | - | - | ⊕ | - | - | ⊕ | ⊕ |
| Sucrose | - | - | - | - | - | ⊕ | ⊕ |
| Xylose | + | + | + | + | + | + | + |
| Total | 3 | 16 | 3 | 9 | 3 | 1 | 1 |

*P. fluorescens*についてみると、マンニト分解能に多少のばらつきがみられるものの、グルコン酸々化試験で陰性、37℃で発育することから16株は生物型Gに、硝酸塩還元テストでガスを出すこと、4℃での発育が難しくアドニトを分解するなど3株はCに属し、多生物型には分類されなかった。

一方、*P. putida*では、NAC寒天上での発育、グルコン酸々化試験、37℃での発育の有無からAに属するもの9株、Bに属するもの3株という結果であった。

3) 鯉分離株の薬剤耐性試験と *Aeromonas* 属の分類について

鯉由来株は、人に対しては食品の腐敗菌のみならず環境汚染菌として重要だと思われる。そこで、その因果関係を究明する一助として行ったのがTable 5に見られるごとの薬剤耐性試験である。*P. aeruginosa*は、1株の6剤耐性を除いて、クロラムフェニコール、アミノベンジルペニシリン、カナマイシン、ナリジキシン酸の4剤耐性、*P. fluorescens*と*P. putida*はストレプトマイシン、クロラムフェニコール、アミノベンジルペニシリン、ナリジキシン酸の4剤耐性と、クロラムフェニコール、アミノベンジルペニシリン、ナリジキシン酸の3剤耐性に2分され、その他の *Pseudomonads* も同様であった。

Table 5. Drug Resistance of Strains Isolated from Carp

| Patterns | S S S S S S C C Pb Pb Nd | | | | | | | | | |
|------------------------------|--------------------------|-------------|-------|----------|-------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | C C C Ka Nd | Pb Pb Pb Pb | Ka Nd | Pb Pb Nd | Ka Nd | Pb Pb Nd | Pb Pb Nd | Pb Pb Nd | Pb Pb Nd | Pb Pb Nd |
| Strains | Nd | | | | | | | | | |
| <i>Ps. aeruginosa</i> | 1 | | | | | | 4 | | | |
| <i>Ps. fluorescens</i> | | 1 | 14 | | | | 1 | 5 | 1 | |
| <i>Ps. putida</i> | | | 13 | | | | 1 | | | |
| <i>Ps. pseudoalcaligenes</i> | | | | 1 | | | | | | |
| Other pseudomonas. | | 1 | 5 | | | | | 8 | | 1 |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | | | | | | | | 2 | 2 | 7 |
| " <i>punctata</i> | | | | | | | | | | 3 |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | | | | 2 | 1 | | | | 1 | |
| Total | 1 | 2 | 32 | 1 | 2 | 1 | 5 | 16 | 4 | 10 |

S.....streptomycin
 C.....chloramphenicol
 Pb.....aminobenzyl-
 penicillin
 Ka.....kanamycin
 T.....tetracycline
 Nd.....nalidixic acid

Aeromonas 属は、アミノベンジルペニシリンの単剤耐性が71%と高率を示し、他の耐性株もすべてアミノベンジ

ルペニシリンに耐性であり、他菌株と相違する様相を示した。

Table 6. Biochemical Characteristics of genus Aeromonas (Second)

| Characteristics | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------------|---|---|---|---|---|
| Growth at 37C | + | + | + | + | + |
| Growth in 4% NaCl | + | - | + | + | + |
| in 5% NaCl | - | - | + | - | - |
| in 7.5% NaCl | - | - | - | - | - |
| KCN (MØLLER) | + | + | + | + | + |
| Production of | | | | | |
| Gas from glycerol | + | - | + | - | - |
| Gas from glucose | + | - | + | + | + |
| Indole (0.1% tryptophan) | + | + | + | + | + |
| Voges-Proskauer reaction | + | - | + | - | + |
| Gluconate oxidase test | + | - | + | - | + |
| Breakdown of Galactose | + | + | + | + | + |
| Sucrose | + | + | + | + | + |
| Mannitol | + | + | + | + | + |
| L-Arabinose | + | - | + | - | + |
| Esculin | + | - | - | - | + |
| Salicin | + | - | - | - | + |
| Arbutin | + | - | - | - | + |
| Inositol | - | - | + | - | + |
| Total | 6 | 1 | 4 | 2 | 1 |

- 1.....A. hydrophila subsp. hydrophila
 2.....A. hydrophila subsp. anaerogenes
 3.....A. hydrophila (Unknown subsp.)
 4.....A. punctata subsp. punctata
 5.....A. punctata (Unknown subsp.)

鯉の微生物叢のうち第二の分離率を示した Aeromonas の性状は、Table 6 にみられるとおりで、ブタンジオール環元テストを除いては、A. hydrophila と A. punctata を区別する有効な分類性状を見つけ得たとは思われないが、glycerol と glucose からのガス発生、VP反応、グルコン酸々化試験、糖分解から Bergey's manual による分類に従って参考までに示した。

考 察

鯉および食肉に付着する微生物叢を比較した結果、前者は分離細菌種は少ないが殆んどが水棲細菌によって占められ、しかも低温菌が多いことから腐敗の速い食品といえる。また、後者では菌種も広範囲でいわゆる腐敗細菌に含まれる菌種のすべてを含んでおり高度汚染食品ということが出来る。

生きている動植物の組織は、腐敗細菌の侵襲は受けないが、細胞内の種々の酵素による自己消化現象は古くから認められており¹⁾、一般に肉類の腐敗は、組織の自己消化に

よる分解と、いわゆる腐敗細菌によるその後の分解との協同作用によって起きる。ところが魚肉は、自己消化させると軟弱になりすぎ食用としては適さない。この事実は腐敗しやすい食品としてくい食品にもつながることであり、食中毒の観点から微生物叢をみても、食肉由来では腸内細菌が、鯉由来では Pseudomonas 属と Aeromonas 属であるかと思われる。

特に、食肉では全く検出されなかった Aeromonas 属が、鯉由来では17.3%とグラム陰性桿菌の中でも第二の出現率を示したことは注目値する。近年、この菌種による食中毒が報告される様になり、小沼ら¹⁴⁾の報告にもみられる様に、魚肉や淡水魚が原因食品として疑われていても、腸炎ビブリオをはじめとする中温菌検索が重点的に行なわれていたために、あまり問題視されなかった傾向がうかがわれる。

実験結果の項でも述べたとおり、A. hydrophila と A. punctata を区別する性状は、ブタンジオール環元テストであり、前者は陽性、後者は陰性であると島田⁶⁾は

記しているが、我々の試験結果とくに糖分解の結果からすれば妥当と思われるが、坂崎・小迫⁸⁾らの言う Phenon 説では、別個の種として扱う根拠は数値分析上は認められなかったとしており、その分類にはまだまだ研究の余地が残されているのが実状の様である。

Pseudomonas 属は、一般にいわれる条件付きの病原菌であり、分離菌と感染・発症の因果関係が論ぜられてから久しいが、Bergey's manual⁵⁾による分類では、両由来ともに Section I に属する株が大半で、食肉由来株は種の決定出来なかった株にもみられる様に、複雑多岐に渡り汚染という観点に立って見た場合は、鯉由来株よりも激しいことが推察された。しかし、人に対する感染症の可能性、Opportunistic pathogen としても鯉由来株に問題があると思われた。

また、*P. aeruginosa* 以外の *Pseudomonas* でピオベルジンを産生する *Fluorescent pseudomonas* は臨床材料からも自然界からも多数分離されており、*P. fluorescens* は魚類に病原性を示すことがすでに報告されている。

そこで、われわれは食品の腐敗に因与する *Pseudomonas* のうち大きな比率を占める鯉由来の *P. fluorescens* と *P. putida* について、生物型を調べたが、糖分解試験に使用する培地、接種方法、培養温度や条件、判定に付随する諸問題を解決することが出来ずに終始した。このことは、まず種の同定をしっかりと確認した上で多少解決されるものの、同種菌の中の異なる生物型の間にもみられる性状の差が、生物型相互の鑑別同定に役立つかどうかは、現時点では結論づけることは出来ないとしている藪内¹¹⁾の説を裏付けたに過ぎなかった。Rosenthal¹⁵⁾ は、多くの種の定義は1つあるいは2・3の特徴の上に成り立っており、実験室でまず正確に *Pseudomonas* を鑑定するべきであると述べており、藪内¹¹⁾ 12) はまた、OF培地で adonitol, inositol, mannitol, sorbitol, sucrose, trehalose の全部又は一部から酸を産生し、グラチンを液化するものは *P. fluorescens* として *P. putida* から区別できるとしており、Rosenthal 説を支持しているものと解された。

要 約

鯉の微生物叢を検索し、*Pseudomonas* 属が主要菌叢とみられることからその分布をみたところ、しばしば人に対して病原性を表わす *P. aeruginosa* を分離すると共に、黄緑色の螢光物質ピオベルジンを産生する *P. fluorescens* と *P. putida* をかなりの頻度で検出した。

古くから、*P. fluorescens* に含まれる菌群には問題が多いと言われているが、Stanier らによって(A~G)の7生物型に分類された方法によって型別を実施したところ、大半がGに属し、多生物型に分類されなかったこ

とは、その他の食品(冷凍食品・牛乳・食肉類)から分離した株にも同様な傾向がみられることから、汚染源追求の1方法として利用可能であると言えるが、現時点では試験項目数も雑多で、試験方法にも問題が多く、しかも試験に日数を要するなど改良の余地は多いと思われる。

P. putida についても同様であった。

薬剤耐性試験では、4剤耐性(O・S・Pb・Nd)と3剤耐性(O・Pb・Nd)に2分された。

同じ蛋白食品でありながら、食肉由来株と鯉由来株には明らかな差異がみられ、殊に鯉由来では臨床由来の菌株と同じ様相を示したことから、環境汚染が食品を二次的に汚染し循環しているものと考えられ、食肉に比し生で食される機会が多いことから、単に腐敗に因与する細菌として *Pseudomonas* 属をとらえることは、食品衛生上の問題点が多いものと考えられる。

文 献

- 1) 林 誠(1970):食品と腐敗。食衛誌, Vol 11, NO.6, 429-438.
- 2) 池内俱子, 徳丸雅一, 渡辺昭宣(1977):食肉に付着するブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌について。埼玉県衛生研究所報, 11, 92-95.
- 3) 池内俱子ら(1977):食肉小売店における細菌汚染の実態と対策について。埼玉県衛生研究所報, 11, 96-99.
- 4) Cowan, S. T. 著, 坂崎利一訳(1974):医学細菌同定の手引き-第2版-, 近代出版.
- 5) Gibson, I., and Gordon, R. E. (1974): In Bergey's Manual of Determination Bacteriology, 8th. 345-348.
- 6) 島田俊雄(1978):Vibrio, Aeromonas, Pleisiomonasの検査, メディサークル, Vol. 23, NO.4, 65-70.
- 7) 小迫芳正ら(1979):ヒト由来 "Aeromonas" の分類学的研究。日細誌, 34(1), 173.
- 8) 坂崎利一著(1978):新細菌培地学講座(上), 近代出版, 285-290.
- 9) 本間 遜, 小酒井望, 滝上 正(1975):緑膿菌とその感染症。文光堂, 274-289.
- 10) 五島瑳智子(1975):第9回緑膿菌研究会講演記録, 193-202.
- 11) 藪内英子(1972):第6回緑膿菌研究会抄録集, 40-44.
- 12) 藪内英子(1973):緑膿菌以外の *Pseudomonas* にも目を向けよう(その4) メディサークル, 18, 1-15.
- 13) R. Y. Stanier, N. J. Palleroni and M. Dou-doroff (1966): The Aerobic *Pseudomonads*

- : a Taxonomic Study J, gen. Microbiol,
43, 159-271.
- 14) 小沼博隆ら(1975): カキの微生物叢について, 食
衛誌, Vol 16, NO.6, 159-271.
- 15) Rosenthal, S. L. (1974): A Simplified
Method for Single Carbon Source Tests
with Pseudomonas Species. J. appl, Bact,
37, 437-441.

浦和市内の学校食堂におけるクロゴキブリの生息調査

浦辺 研一, 会田忠次郎, 武井 伸一, 藤本 義典

住家性のゴキブリは、蚊・ハエにつぐ第3の衛生害虫などともいわれ、人の生活環境の都市化に伴い、特に昭和30年代から40年代にかけての高度経済成長期に、急激にその勢力を増してきた昆虫である。県内においても、ヤマトゴキブリ、クロゴキブリおよびチャバネゴキブリの3種の生息が知られ、¹⁾中でもクロゴキブリとチャバネゴキブリの市街地における繁殖はすさまじく、駆除しても容易に絶やせないのが現状である。

ゴキブリ類はその外見的不潔感もさることながら、サルモネラ菌、病原性大腸菌、赤痢菌およびぶどう球菌などの病原菌を伝播することが知られている。その効果的な防除には、生態に関する豊富な知見が必要であるが、今までのところ県内におけるゴキブリ類の生態についての調査研究は少ない。

今回、人の出入する家屋内でのゴキブリの消長や令構成の推移、また分布様相などの生息状況を明らかにするため、浦和市内にある学校の食堂においてトラップ調査を行ったので、その結果を報告する。

調査場所と方法

調査を行った場所は、浦和市上大久保にある学校の食堂で、正月休みと8月の一時期を除いて通年営業している。建物は鉄筋モルタル塗り1階建てで、図1に示したように、厨房とホールの2室から成るが、高さ1m程のカウンター

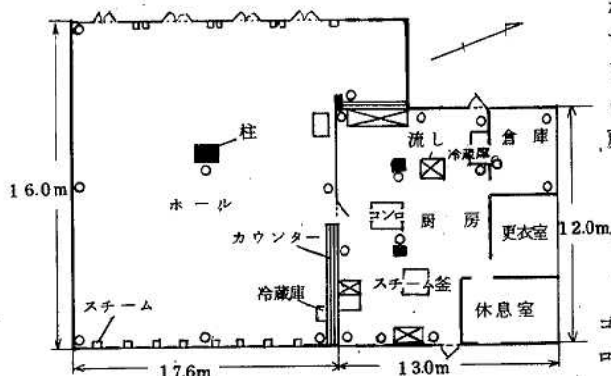


図1 調査場所の見取図とバットラップの設置位置(○)

と、従業員が随時出入りするための幅60cmのドアとで2室は通じている。厨房の側には、食料倉庫、更衣室、休息室が附随しており、それらの出入口は常に開口し、床はコンクリートである。ホールはリノリウム張りの床で、49台のテーブルと196脚の椅子が備えられている。本建物は、鉄筋4階建の校舎と学生寮をコの字型につなぐ位置にあり、西側は校庭、東側も約2m幅の道路をはさんで運動場になっている。

調査期間は、1979年8月2日から1980年7月25日までで、原則として週1回、木曜日の夕方から金曜日の午前中にかけてバットラップをしかけた。トラップは、直径9cm、高さ6cmの腰高シャーレの内側に口から3~4cmの幅でバターを塗ったもので、エサとして少量のマウス用固型飼料を入れ、調査日ごとに新しいものと取り替えた。しかけた場所は、図1に示すように、おおむね部屋の四隅とその中間および中央部であるが、厨房側には倉庫内を含め13個、ホールには9個設置した。

捕集したゴキブリは、トラップごとに令構成と各令の個体数を調べた。令構成は、高木(1974)²⁾を参考にして、幼虫期を4つと成虫期の合計5段階に分類した。すなわち、幼虫はすべて氷冷麻酔してからその前胸背板の最大幅をノギスで測定し、3.2mm以下のものをクラスI、5.1mmまでをクラスII、6.9mmまでをクラスIII、それ以上をクラスIVとした。測定したゴキブリは24時間以内にもとの場所へ放逐した。

なお、本調査場所は営業中の食堂であって、人の出入りが常にあり、ゴキブリの駆除も従業員によって随時行われている。そうした環境下における生息調査であるが、設置したトラップに対する人為的な影響をできる限りさけるようにした。また、調査中の温度と湿度を測定するため、厨房内に自記寒暖湿度計を設置した。

結果と考察

クロゴキブリの消長と令構成
調査期間中、44回にわたるトラップ調査で捕集されたゴキブリの個体数は延べ812匹であり、そのすべてがクロゴキブリであった。

住家性のゴキブリは種によってすみつく建物のタイプが異なることが知られており、一般にクロゴキブリはアパートや民家に、チャバネゴキブリはビルや飲食店に多いとき

れている。³⁾ 今回の調査においてもチャバネゴキブリの生息を予想していたので、やや意外な結果であった。本調査の場所から約7m離れた鉄筋5階建の建物では、クロゴキブリとチャバネゴキブリを確認しており、今のところ単にチャバネゴキブリが侵入していないだけであるとも考えられるが、本食堂の環境に繁殖できない原因があるのかもしれない、今後の調査と検討が必要である。

図2に、クロゴキブリの消長と月別令構成を示した。消長をみると、5月中旬から11月中旬までが活動期と考えられ、9月4日には最高の99匹が捕集された。そして、11月下旬から4月下旬まではほとんど捕集されていない。クロゴキブリが正常な行動を示すのは、18~34℃の間であるといわれる。⁴⁾ 厨房内で観測した午前10時の温湿度をグラフに示したが、11月中旬から4月中旬にかけて室温は15℃以下になった。そこで、捕集数の極めて少なかった11月下旬から4月下旬までは、寒冷のためクロゴキブリが行動できなくなったものと思われ、いわゆる越冬期間であると考えられる。

ところで、活動期と思われる間にも、捕集数にはかなりの変動がみられた。この期間のゴキブリ数の減少の原因としては、行動の不活発化よりも老令化による死亡、その他何らかの消失を考えるべきであろう。

ここで各月別令構成をみると、年間を通してクラスIの比率が圧倒的に高い。高木(1974)²⁾は、廃屋におけるクロゴキブリの自然個体群を対象とした調査で、7月には最も令の進んだ幼虫のピーク、次いで8月には成虫が優占的な比率を示すに至り、10・11月頃に1令幼虫の比率が高くなったことを報告している。つまり、個体群の老令化とそれともなう世代交代である。ところが、今回の調査結果にはそのような顕著な傾向はない。クラスII以上の

消失が異常に多かったとみることが出来る。

ところで、先にも述べたように、本食堂ではゴキブリの出没が目立ってくると、家庭用スプレー式殺虫剤や粘着トラップなどによる駆除が従業員により行われている。活動期における捕集数の変動の主な原因は、令構成の様相とも考え合わせると、駆除作業によるものと考えのが妥当であろう。おそらく、動きが活発で目にもつきやすい中令以上のゴキブリが駆除される率が高く、そのために相対的に若令幼虫(クラスI)の比率が高くなるのではないか。クロゴキブリの場合、一卵鞘から20~25匹の幼虫が孵化するので、少数生き残った成虫からも常にある水準以上の数の幼虫が産まれてきていることが想像される。

なお、越冬期と考えられる間にも、毎月少数のゴキブリが捕集された。これは、屋内という環境下のため、漸進的な季節的低温低下のもとで低温に対する耐性が強化され、18℃よりはるかに低い温度下でも行動可能な個体が生じていることを示す²⁾とも考えられ、また冷蔵庫のモーターなど一定の高温が確保された場所があることも、ゴキブリの冬期間の行動を助けていよう。また、2月~4月にかけても、クラスIのほかクラスII、クラスIV、および成虫が確認され、ほぼ全発育過程のクロゴキブリが越冬していることが示された。

なお、年間を通じてクラスIの比率が高いといっても、5月以後中~老令幼虫と成虫の比率が全体的にあがっており、ゴキブリ個体群の成長と繁殖のピークの存在を示すものと思われる。

クロゴキブリの分布様相

次に、各トラップで捕集されたクロゴキブリの多少を、調査家屋の見取図上の、個々のトラップのおおよその設置位置に示したのが図3である。

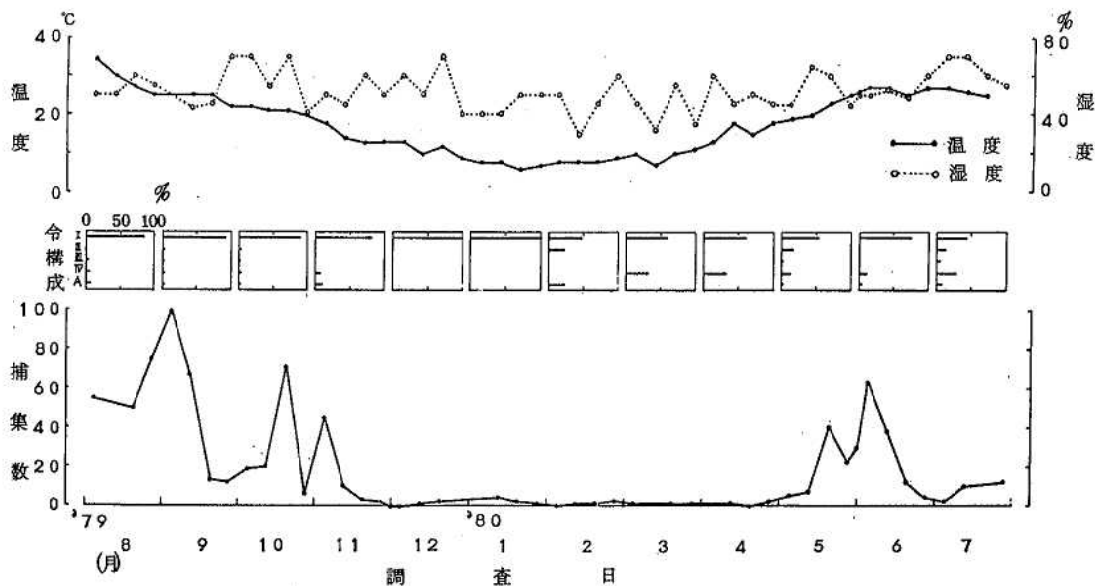


図2 クロゴキブリの消長と月別令構成

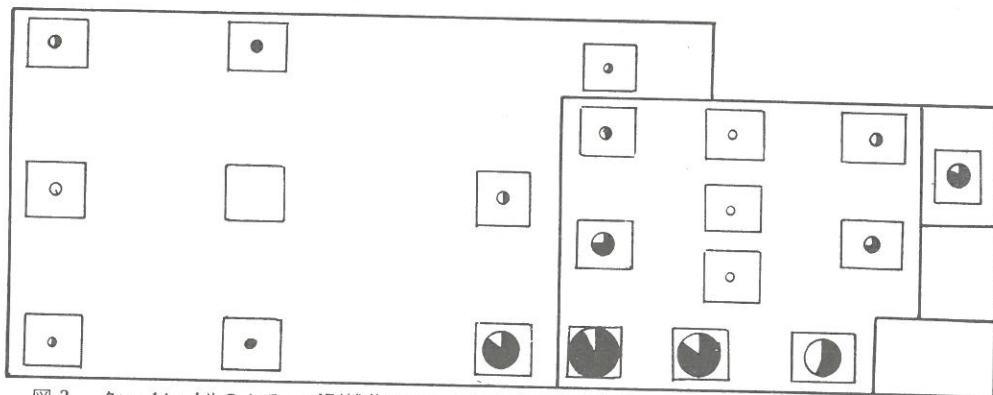
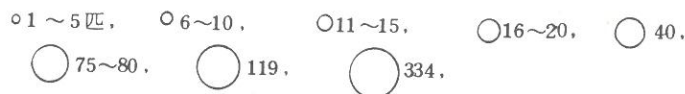


図3 クロゴキブリのトラップ別捕集状況とクラスI幼虫の比率



捕集数は円の大きさで表わし、特にクラスIの比率を円内に示した。なお、倉庫には3個のトラップをしかけたが、ここではその平均値で示してある。

クロゴキブリが多数捕集される場所はほぼ決まっていた。分布が極めて集中的であることがわかるが、それはクラスIが多数捕集された結果であるように思える。厨房内での様相を詳しくみると、倉庫内と334匹捕集された場所にクラスIの分布の中心があり、そこから遠ざかるにつれ比率が低くなる傾向がみられる。

厨房とホールに分けてみると、捕集数は圧倒的に厨房側に多く、ホール側でも厨房と接した場所で大部分のものが捕集された。厨房とホールの間には、おそらくカウンターや従業員用の出入口を通じて、ゴキブリの移動があるように思われ、壁沿いにかなり広くホール内を行動するものもみられる。しかし、カウンターと冷蔵庫に接した場所を除いてゴキブリの集合はなく、ホール全体におけるゴキブリの行動は迷入した程度のもと考えられる。また両室とも、中央部での捕集は少なく、ホールでは0であった。

ゴキブリの集合については、環境条件のほかゴキブリ自身が分泌する集合フェロモンの存在など複雑な要因があり、簡単に論じることにはできないが、本調査場所においても、餌や水分、また熱源などの諸条件がゴキブリの行動に影響しているものと考えられる。

以上、一般に多く使用されているふきつけ式の殺虫剤や粘着トラップなどでも、屋内のゴキブリ個体群にはかなりの影響を与えていると思われるが、若令幼虫に対してはその効果が及びにくく、一時的にゴキブリを減少させても、やがて回復してくるものと考えられる。しかし、屋内におけるゴキブリの分布はかなり集中的で、特に若令幼虫にその傾向が強いように思われることから、ゴキブリが活動期に入る前の4月頃に、潜み場所を中心に重点的な防除を試みれば、殺虫剤の効果はよりあがるものと思われる。

ま と め

1979年8月から1980年7月まで、営業中の学校食堂におけるクロゴキブリ個体群の消長、令構成および分布様相を明らかにするため、バタートラップによる捕集調査を行った。

- 1) 捕集されたゴキブリは延べ812匹ですべてクロゴキブリであり、5月中旬から11月中旬頃までが活動期、11月下旬から4月下旬までは越冬期と思われた。
- 2) 活動期間中でも捕集数にはかなり変動があり、また月別令構成をみると常にクラスI(若令幼虫)の比率が高かったが、これらの主な原因は駆除作業によるものと考えられた。
- 3) 12月から4月にかけても、極めて少数ではあるが、クラスI、クラスII、クラスIVおよび成虫が捕集され、おそらく全発育過程のクロゴキブリが越冬しているものと思われた。
- 4) トラップ別捕集状況から、屋内におけるクロゴキブリの分布はかなり局所的であるようだが、それはクラスI(若令幼虫)が集中的に捕集された結果であると思われる。

文 献

- 1) 埼玉県動物誌(1978), 385-386, 埼玉県教育委員会。
- 2) 高木正洋(1974): クロゴキブリ *Periplaneta fuliginosa* S. の生態学的研究(I)ある独立家屋における自然個体群の周年経過と分布。衛生動物, 25(1), 27-34。
- 3) 鈴木猛, 緒方一喜(1961): ゴキブリとその駆除。123, 日本厚生通信社, 東京。
- 4) 吉川公雄, 生嶋功(1956): 温度変化に伴うゴキブリ行動群の推移。医学と生物学, 40(5), 199-201。

感染症情報管理事業に伴う溶血レンサ球菌検査状況 (昭和54年度) 第1報

岡山 雄介 松岡 正 桐ヶ谷まり子

表1 情報管理関係溶血レンサ球菌検体数
及び群別成績

(1979.5~1980.3)

| 年月 | 検査数 | 溶血レンサ球菌 | | | | |
|-------|-----|---------|-------|-------|-------|-------|
| | | A群 | B群 | C群 | G群 | その他 |
| 79. 5 | 37 | 37 | | | | |
| 6 | 99 | 97 | 1 | | 1 | |
| 7 | 56 | 39 | 10 | 1 | 4 | 2 |
| 8 | 11 | 6 | 3 | | | 2 |
| 9 | 12 | 7 | 5 | | | |
| 10 | 51 | 46 | 4 | 1 | | |
| 11 | 74 | 67 | 6 | 1 | | |
| 12 | 202 | 189 | 8 | | 4 | 1 |
| 80. 1 | 59 | 56 | | | 1 | 2 |
| 2 | 47 | 42 | 3 | | 1 | 1 |
| 3 | 48 | 42 | 4 | | 1 | 1 |
| 計 | 696 | 628 | 44 | 3 | 12 | 9 |
| (%) | | (90.2) | (6.3) | (0.4) | (1.7) | (1.3) |

埼玉県において昭和54年度からスタートした感染症情報管理事業は、県内における感染症の発生、流行を監視する目的で行われている。感染症サーベイランスは15種類に及ぶ疾病を対象にしており、県内東西南北4地域16医療機関から1週毎に情報が送られ、さらに情報に基づく各種疾病の検査も必要に応じて行っている。溶血レンサ球菌感染症（以下、溶レン菌感染症と略す。）もその対象疾患として取り扱われており、54年6月から55年3月までの10ヶ月間で948件の発生情報を得ている。

溶レン菌の検査は、県内4地域全体を対象に行うには距離的關係上不可能であり、衛生研究所の所在する浦和市内及びその周辺都市の医療機関で分離された検体について行っている。特に浦和市医師会センターからは毎週臨床分離株が送られており、ただちに血清学的検査によってその群別及び型別を決定している。

54年5月から55年3月までに、浦和市及びその周辺都市の医療機関から送られてきた溶レン菌の検査成績をまとめたので報告する。

1. 月別溶レン菌検査状況

溶レン菌分離株の群別試験は、54年5月から55年3月までの11ヶ月間に696例実施した。そのうちT型凝集反応法（宮本らの法）による既知市販診断用群血清A、B、C、及びG群のいずれにも凝集されなかった株は9株あり、それ以外の株は全てこの4種の抗血清によって群別された。群別の内訳は、A群628（90.2%）、B群44（6.3%）、C群3（0.4%）、G群12（1.7%）、及びその他の溶血レンサ球菌9（1.3%）でありA群が依然としてその主位を占めている。したがって殆んど溶レン菌感染症は、A群溶レン菌に起因しているものと推測される。

また、検体送付を最も多く受けたのは12月であり、総検体数の29.0%にあたる202検体であった。過去におけるA群溶レン菌感染症の多くの疫学調査例でも冬期にその発生の山が認められており、さらにこの時期には好発年齢層の健康者からもA群溶レン菌が高頻度に咽頭から分離されることが知られている（表1）。

2. 検体由来別溶レン菌分離状況

溶レン菌感染症は、その病態像の多彩さにおいて他の感染症とは異なる。特に臨床上では、溶レン菌感染症の疑がわれる疾患も多く、各種臨床材料がその検索対象になっている。しかし、1933年 Lancefieldがレンサ球菌を血清学的にA群からT群（I、J群を除く）までの18群に分類して以来、人に最も多く疾病を起こす菌としてA群溶レン菌が知られており、したがって溶レン菌感染症という時には、A群溶レン菌感染症を対象にしている場合が多い。今回送付されている菌株も主に猩紅熱様疾患を対照に分離されたものであり、696株中606株(87%)が咽頭粘液分離株であった。

残り90株（13%）は尿、耳（分泌物）、鼻膿、痰、性器分泌物、精液、皮膚及び便などであり、これら臨床材料から分離された溶レン菌は猩紅熱様疾患を対象にしたものでなく、成人の内科疾患の原因菌検索を目的に行った結果検出された株と推測される。なかでもB群溶レン菌は44株中24株（54.5%）が尿から分離されており、そのうち28例が女性であることから、特に最近問題になってきたB群溶

レン菌による新生児髄膜炎及び敗血症の産道感染と何んらかの関連を示唆するものとして興味もたれる(表2)

表2 検体由来別、溶血レンサ球菌分離状況
(1979.5~1980.3)

| 検体 | 群 | | | | | 計 |
|--------|-----|----|----|----|-----|-----|
| | A群 | B群 | C群 | G群 | その他 | |
| 咽頭 | 580 | 8 | 3 | 9 | 6 | 606 |
| 尿 | 4 | 24 | | 2 | 1 | 31 |
| 耳(分泌物) | 15 | 1 | | | | 16 |
| 鼻 | 10 | | | | | 10 |
| 膿 | 3 | 1 | | | | 4 |
| 痰 | | 2 | | | 1 | 3 |
| 性器分泌物 | 3 | 5 | | | | 8 |
| 精液 | 1 | 2 | | 1 | | 4 |
| 皮膚 | | 1 | | | | 1 |
| 便 | 1 | | | | | 1 |
| 不明 | 11 | | | | 1 | 12 |
| 計 | 628 | 44 | 3 | 12 | 9 | 696 |

3. 年令別溶レン菌分離状況

分離株696のうち患者の年令が明確なもの576例についてその年令分布をみると、0才から14才児までの低年齢層から分離されたものが487株あり84.5%を占めた。0才から5才児までは年令が上がるにしたがい増加しており、5才から7才児までを頂点としてそれ以後、年令が進むにしたがい減少している。5才から7才児までの年令層における例数は、248例であり全年令の43.0%を占めている。さらにこの年令層の前後4才から9才児までをいれと、388例(67.4%)になり、いかに溶レン菌感染症が幼児及び小学校低学年の児童に多発しているかが裏付けられる。特にA群ではその71.3%がこの年令層に集中しており、さらに0才から11才児までをいれと、その約80%がこの低年齢層によって占められている。

しかし、B群溶レン菌は少い例数ではあるがA群に比べ高年齢層から分離される傾向がみられる。年令が明らか31例についてみるとその26例(83.9%)が15才以上でありB群溶レン菌の起こす疾病像がいかにA群とは異なるかが、B群が分離される患者年令層の分布からも推測される(表3)。

4. A群溶レン菌の菌型

A群溶レン菌628例のT型菌型分布は、12型146例(23.2%)、6型131例(20.8%)、4型92例(14.6%)、B3264型58例(9.2%)、13型49例(7.8%)、I型38例(6.0%)、22型29例(4.6%)、28型18

例(2.8%)、11型7例(1.1%)、3型6例(0.9%)、18型3例(0.4%)及び型別不能51例(8.1%)であった。

54年度における埼玉県の主流菌型は12型、6型及び4型であると推測される(表4)。

主な分離菌型の月別推移ではいずれも6月に小さな山があり、12月に大きな山を示した。しかしこれら菌型の推移をみると、必ずしも特定の菌型のみが極端に多く検出されているのではなく、各分離菌型が相対的な変動推移をとっていることから、地域的な流行が起きたというよりは、散発的発生の集積結果であろうと推測する(図1)。

5. おわりに

54年度から始まった感染症情報管理事業に伴い、溶レン菌感染症の県内発生状況が把握されるようになり、県内における溶レン菌感染症発生及び流行の現状が徐々に明らかになってきた。それと同時に各医療機関で分離される溶レン菌の群及び型別検査が軌道に乗り出し、さらに適確な情報を掴むことが可能になり、溶レン菌感染症の疫学的解析が容易になった。したがって今後この事業が継続されることによって各種疾病の解析が進められ、年々蓄積される情報によって県内における感染症予防対策がより高度になり、しかもきめ細かい対応が出来るようになると期待される。

表3 年令別溶血レンサ球菌分状況 (1979.5~1980.3)

| 年令 | 例数 | 性別 | | 溶血レンサ球菌の群別 | | | | | |
|-------|-----|------|------|------------|-----|----|----|-----|----|
| | | 男 | 女 | A群 | B群 | C群 | G群 | その他 | |
| 0 | 3 | 1 | 2 | 2 | | | | 1 | |
| 1 | 4 | 1 | 3 | 4 | | | | | |
| 2 | 14 | 9 | 5 | 14 | | | | | |
| 3 | 22 | 14 | 8 | 22 | | | | | |
| 4 | 56 | 30 | 26 | 52 | | | 2 | 2 | |
| 5 | 83 | 51 | 32 | 80 | 1 | | 2 | | |
| 6 | 83 | 45 | 38 | 81 | 1 | | | 1 | |
| 7 | 82 | 31 | 51 | 80 | | | 1 | 1 | |
| 8 | 43 | 25 | 18 | 43 | | | | | |
| 9 | 41 | 16 | 25 | 39 | 2 | | | | |
| 10 | 24 | 8 | 16 | 23 | | | 1 | | |
| 11 | 20 | 10 | 10 | 19 | 1 | | | | |
| 12 | 6 | 3 | 3 | 5 | | 1 | | | |
| 13 | 2 | | 2 | 2 | | | | | |
| 14 | 4 | 1 | 3 | 4 | | | | | |
| 15~20 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | | | | |
| 21~30 | 20 | 8 | 12 | 13 | 5 | | 1 | 1 | |
| 31~40 | 37 | 16 | 21 | 27 | 7 | 1 | 2 | | |
| 41~50 | 18 | 7 | 11 | 9 | 8 | | | 1 | |
| 51以上 | 11 | 4 | 7 | 5 | 5 | | 1 | | |
| 年令不明 | 120 | 63 | 57 | 102 | 13 | 1 | 2 | 2 | |
| 計 | 696 | 345 | 351 | 628 | 44 | 3 | 12 | 9 | |
| | | 男315 | 女313 | 男16 | 女28 | 男1 | 女2 | 男8 | 女4 |

表4 A群溶血レンサ球菌の型別分布

(1979.5~1980.3)

| 年月 | 検体数 | A群溶血レンサ球菌型別 (T凝集反応) | | | | | | | | | | | |
|-------|-----|---------------------|-------|--------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|
| | | 1 | 3 | 4 | 6 | 11 | 12 | 13 | 18 | 22 | 28 | B 3264 | ut※ |
| 79 5 | 37 | | | 6 | | | 16 | 1 | | | | 4 | 10 |
| 6 | 97 | 9 | 1 | 8 | 16 | 1 | 24 | 6 | | 2 | | 10 | 20 |
| 7 | 39 | 2 | | 5 | 16 | | 9 | 1 | | | 1 | 1 | 4 |
| 8 | 6 | | | 1 | 1 | | 1 | | | 1 | | 1 | 1 |
| 9 | 7 | | | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | | | | | |
| 10 | 46 | | | 12 | 9 | 1 | 9 | 3 | | 2 | 3 | 5 | 2 |
| 11 | 67 | 5 | 1 | 8 | 17 | 3 | 9 | 5 | 3 | 6 | 2 | 5 | 3 |
| 12 | 189 | 8 | 3 | 39 | 46 | | 37 | 13 | | 11 | 7 | 21 | 4 |
| 80. 1 | 56 | 6 | 1 | 8 | 8 | 1 | 13 | 8 | | 1 | 1 | 6 | 3 |
| 2 | 42 | 2 | | 3 | 7 | | 11 | 6 | | 5 | 4 | 4 | |
| 3 | 42 | 6 | | 1 | 10 | | 14 | 5 | | 1 | | 1 | 4 |
| 計 | 628 | 38 | 6 | 92 | 131 | 7 | 146 | 49 | 3 | 29 | 18 | 58 | 51 |
| (%) | | (6.0) | (0.9) | (14.6) | (20.8) | (1.1) | (23.2) | (7.8) | (0.4) | (4.6) | (2.8) | (9.2) | (8.1) |

※ ut : 型別不能

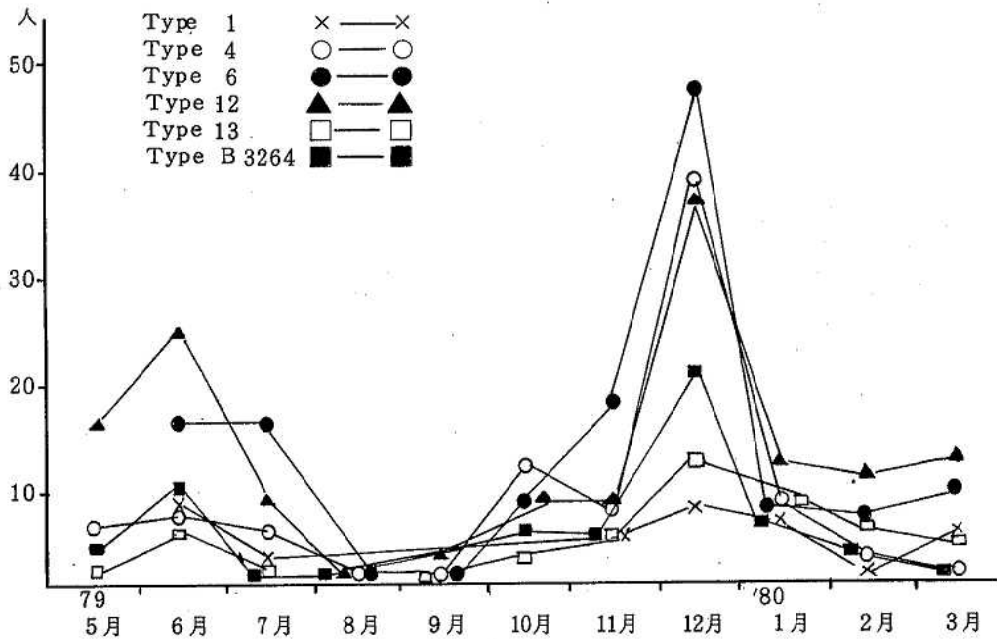


図1 主なA群溶血レンサ球菌菌型の月別推移

埼玉県における腸管系法定伝染病菌の検出状況(1979年)

大関 瑤子 首藤 栄治 奥山 雄介
 芦田 博之

埼玉県における腸管系法定伝染病は、従来の発生件数に比べ年々減少傾向をたどっているが、その患者発生状況は時代の推移と共に大きく変貌しつつある。特に近年東南アジア方面の海外旅行者が増加するに伴い、腸管系法定伝染病も輸入伝染病としての様相が濃くなり、県内単独発生例が激減したのに替り、海外旅行帰国者による発生が増加している。

したがってこれらの発生はいずれも散发例が多く、集団発生までに至った例は少ない。

1979年(1月~12月)に埼玉県内で発生した腸管系法定伝染病は29例で、このうち輸入例は11例(37.9%)であった。これら腸管系伝染病発生例を中心に、その細菌学的疫学的検討を加えたので報告する。

1、1979年の腸管系法定伝染病原菌分離状況

1979年(1月~12月)に県内で発生した腸管系法定伝染病原菌の内訳は表1、表2に示すとおりであるコレラ菌1例、赤痢菌11例、腸チフス菌14例、パラチフスB菌3例の29例であり、このうち県内発生は腸チフス菌13例、パラチフス菌3例及び赤痢菌2例計18例であった。それに対し輸入例はコレラ菌1例、腸チフス菌1例及び赤痢菌9例であり、特に赤痢菌は11例中9例が輸入例によって占められ、県内の2例を大きく上回っていることが注目された。

表1 腸管系病原菌分離状況

(1979.1~12月)

| | コレラ菌 | 腸チフス菌 | パラチフスB菌 | 赤痢菌 | 赤痢菌内訳 | | | | | | | | |
|-----|------|-------|---------|-----|-------|------|------|---------|------|------|------|------|------|
| | | | | | B群 | | | D群コリシン型 | | | | | |
| | | | | | 1a | 2a | VX | 6 | 9A | 12 | 0 | | |
| 県内 | | 13 | 3 | 2 | | 1(1) | | | | | | | 1(1) |
| 輸入例 | 1 | 1 | | 9 | 1(1) | 3(2) | 1(1) | 2(1) | 1(1) | 1(1) | 1(1) | | |
| 計 | 1 | 14 | 3 | 11 | 1(1) | 4(3) | 1(1) | 2(1) | 1(1) | 1(1) | 1(1) | 1(1) | |

(): 耐性菌再掲

さらに腸チフス菌の検出が県内13例を占め輸入例1例を上回っているが、いずれも散发例であり、家族内長期保菌者による感染と考えられる例が、3家族7例あった。その他の5例については、疫学調査を行ったが、その感染源については不明であった。

表2 腸管系伝染病原菌保健所別分離状況

(1979.1~12月)

| 保健所 | コレラ菌 | 腸チフス菌 | パラチフスB菌 | 赤痢菌 | 赤痢菌内訳 (散发) | | | | | | | | |
|-----|------|-------|---------|-----|------------|------|------|------------|------|------|------|------|------|
| | | | | | B群 | | | D群 (コリシン型) | | | | | |
| | | | | | 1a | 2a | VX | 6 | 9A | 12 | 0 | | |
| 中央 | | 2 | 1 | 1* | | | | | | | | | * |
| 戸田 | | | | 2* | | | | | | | | | 1(1) |
| 大宮 | | 1 | | | | | | | | | | | 1(1) |
| 鴻巣 | | | | 1* | | | | | | | | | * |
| 草加 | | | 1 | 2* | * | | | | | | | | 2(1) |
| 川越 | | 4 | | 2* | * | | | | | | | | 1(1) |
| 所沢 | 1* | 2 | | | | | | | | | | | 1* |
| 東松山 | | | | 1 | | | | | | | | | 1(1) |
| 本庄 | | | 1 | 1* | | | | | | | | | 1(1) |
| 熊谷 | | 5 | | | | | | | | | | | |
| 寄居 | | | | 1* | | | | | | | | | 1(1) |
| 計 | 1 | 14 | 3 | 11 | 1(1) | 4(3) | 1(1) | 2(1) | 1(1) | 1(1) | 1(1) | 1(1) | |

* : 輸入例数

(): 耐性菌 再掲

2、コレラ菌

1979年は622例の海外旅行者について腸管系病原菌検査が行われ、1例(0.2%)からエルトルコレラ菌小川型が検出された。

この1例は所沢市の学生(男, 19才)で、シンガポール

タイなどを20人で研修旅行（7月23日～8月1日）を行ったもので、7月27日、旅行中に下痢があった。8月1日、新東京空港検疫所で検査をうけ帰宅した。8月2日、エルトール小川型が検出された。8月3日、当衛研に検体が送付され、8月4日同菌が検出された。発病日時と日程から推定感染地はタイと考えられた（表3）。この発生にともない、家族、接触者についてコレラ菌検査が行われたが、2次感染はみられなかった。

表3 コレラ患者（♂19才）行動表

1979

| 月 | 日 | 旅行地 | 症状 |
|----|-------|------------|--------------------|
| 7. | 23 | 成田発シンガポール着 | 7.27 下痢 … 1日1回位 |
| | 24 | シンガポール | |
| | 25～28 | タイ | |
| | 29～31 | 香港・マカオ | |
| 8. | 1 | 香港発成田着 | 8.1 |

3. 赤痢菌

赤痢菌分離例数は、海外旅行者622例から検出された9例と国内発生の2例をあわせて11例であった。分離株の菌型と薬剤耐性パターンを表4に示す。

菌型別ではB群が6例、D群が5例で、B群は2aが4株、1a、VXが1株ずつみられた。D群をコリシン型で見ると6型が2例、9A、12型、O型が1例ずつみられた。

表4 赤痢菌の薬剤耐性

(19791～12月)

| | B 群 | | | D群 (コリシン型) | | | | 計 |
|-------|-----|----|----|------------|----|----|----|----|
| | 1a | 2a | VX | 6 | 9A | 12 | 0 | |
| 感受性 | | 1 | | 1 | | | | 2 |
| C S T | | 1* | | 1 | | | 1* | 3 |
| S | 1 | 2 | | | 1 | | | 4 |
| T | | | 1 | | | 1 | | 2 |
| | 1 | 4 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 11 |

* 国内発生

薬剤耐性菌は9例（81.8%）でC.S.Tが3株、S4株、Tおよび感受性株が2株ずつみられた。

国内発生はB群2aとD群コリシンO型の1例ずつで、ともにC.S.Tであった。

輸入例9例のうちB群2aの3例はいずれも同一のフィ

リピン観光団から検出されたもので、他県での患者診定にともない、同行者として検査を指示されたものである（表5）。このB群2a陽性者3名のうち1名からはS. stanleyが同時な検出されている。またB群2a3株の薬剤感受性は、感受性が1株、SM耐性が2株であった。

その他の赤痢菌輸入例を推定感染地別にみると、インドが4例、インドネシアが2例となった。

4. 腸チフス、パラチフス菌

腸チフス菌の分離は14例で、患者11例（78.6%）、保菌者3例（21.4%）であった。この3例の保菌者は、患者発生に伴って行われた家族検便から検出されたもので、いずれも長期保菌者と考えられ、何らかの経路で家族に感染させたものと思われる（表6）。

患者11例のうち10例に菌血症がみられた。

パラチフスB菌は3例分離された。患者は2名、保菌者は1名であった。感染源はいずれも不明であった。

腸パラチフスの発生件数は例年と比べ差はみられない。長期保菌者からの感染と思われる例をのぞいてはいずれも感染経路は不明で発生地地域の今後の監視が必要と思われる。

フェージ型別は予研フェージ型別室に依頼した。

腸チフス菌のフェージ型はE1が4例、D2が3例、A、E11、M1、53がそれぞれ1例ずつみられた。型別不能株が輸入株を含めて3株あった。長期保菌者から感染したと思われる3家族7例のフェージ型は、E1が1家族2例、D2が1家族2例であった。残りの1家族3例は、感染源と目される祖父がE1で、被感染者と思われる幼児2例は型別不能であった。

パラチフスB菌のフェージ型は、3aが2株、1が1株であった。

5. まとめ

1) 1979年の埼玉県の腸管系法定伝染病原菌検出状況は29例で、コレラ菌1例、赤痢菌11例、腸チフス菌14例、パラチフスB菌1例であった。

2) 輸入例の占める比率は高率で、コレラ菌1例、赤痢菌9例、腸チフス菌1例であり、これらの推定感染地はいずれも東南アジアであった。

3) 国内発生は赤痢菌2例、腸チフス菌13例、パラチフスB菌3例であった。腸チフス菌の長期保菌者から感染したと思われる3家族7例をのぞいては、感染源はいずれも不明であった。

表 5 輸 入 法 定 伝 染 病

(1979. 1 ~ 12月)

| No. | 性 | 年齢 | 住 所 | 発 病 月 日 | 分離菌 (ファージ型・コリシン型) | 薬剤耐性 | 推定感染地 | 旅行期間 |
|-----|---|----|------|---------|-------------------|-------|-------------|-----------------------------------|
| 1 | 女 | 24 | 富士見市 | 3. 1 | S. sonnei (6) | 感受性 | インドネシア | 2. 20 ~ 3. 2 |
| 2 | 女 | 32 | " | 3. 22 | S. flexneri VX | T | " | 2. 20 ~ 3. 23 |
| 3 | 男 | 53 | 浦和市 | 4. 3 | S. typhi (型別不能) | 感受性 | インドネシア | 2. 27 ~ 3. 9 |
| 4 | 女 | 23 | " | 5. 4 | S. sonnei (12) | T | インド | 4. 17 ~ 5. 3 |
| 5 | 男 | 38 | 鴻巣市 | 6. 28 | S. flexneri 2a | S | フィリピン | 6. 24 ~ 6. 28 |
| 6 | " | 19 | 草加市 | 6. 26 | " 2a | 感受性 | " | " |
| 7 | 女 | 21 | " | 6. 28 | " 2a, S. stanley | S | " | " |
| 8 | 男 | 26 | 本庄市 | 7. | " 1a | S | インド | 1978 10. 28 ~ 7. 21 |
| 9 | " | 22 | 寄居町 | 7. 14 | S. sonnei (6) | C S T | インド (タイ) | 12. 26 ~ 7. 19 (7. 20 ~ 7. 24) |
| 10 | " | 19 | 所沢市 | 7. 27 | V. cholerae Ogawa | 感受性 | タイ | 7. 23 ~ 8. 1 |
| 11 | " | 16 | 蕨 市 | 8. 12 | S. sonnei (9A) | S | インド | 7. 26 ~ 8. 11 |

表 6 腸・バラチフス患者・保菌者

(1979. 1 ~ 12月)

| | 性 | 年齢 | 住 所 | 発 病 月 日 | 診 定 月 日 | 分離菌 (ファージ型) | 検体 | 備 考 |
|----|---|----|-----|----------------|--------------|----------------------------|----|-----------------------|
| 1 | 男 | 16 | 熊谷市 | 1978 12. 31 | 月 日 1. 13 | S. typhi (E ₁) | 血液 | |
| 2 | " | 48 | " | - | 1. 19 | " (E ₁) | 尿 | 保菌者, No. 1の父親 |
| 3 | 女 | 29 | 川越市 | 1. 19 | 2. 6 | " (E _{II}) | 血液 | |
| 4 | 男 | 71 | 人間市 | 1. 25 | 3. 6 | " (A) | " | |
| 5 | 男 | 51 | 熊谷市 | 3. 13 | 3. 30 | " (D ₂) | 尿 | |
| 6 | 女 | 71 | " | - | 4. 1 | " (D ₂) | 尿 | 保菌者, No. 5の母親 |
| 7 | 女 | 60 | " | | 4. 14 | " (D ₂) | 血液 | No. 5, 6との関係はみられず |
| 8 | 男 | 53 | 浦和市 | 4. 3 | 4. 23 | " (型別不能) | " | インドネシア (2. 27 ~ 3. 9) |
| 9 | " | 4 | 川口市 | 5. 9 | 5. 26 | S. paratyphi B (3a) | 血液 | |
| 10 | 女 | 47 | 浦和市 | 6. 7 | 7. 5 | " (1) | 尿 | |
| 11 | 男 | 48 | 人間市 | 7. 2 | 7. 26 | S. typhi (E ₁) | 血液 | |
| 12 | 男 | 39 | 与野市 | 7. 22 | 8. 16 | " (53) | " | |
| 13 | 女 | 12 | 大宮市 | 10. 5 | 10. 23 | " (M ₁) | " | |
| 14 | 女 | 3 | 鳩山村 | 10. 15 | 10. 30 | " (型別不能) | " | |
| 15 | 男 | 60 | " | - | 11. 3 | " (E ₁) | 尿 | 保菌者, No. 14, 17の祖父 |
| 16 | 女 | 61 | 児玉町 | - | 12. 4 | S. paratyphi B (3a) | " | 保菌者 |
| 17 | 男 | 5 | 鳩山村 | 11. 30 | 12. 8 | S. typhi (型別不能) | 血液 | |

埼玉県の海外旅行者の腸管系病原菌 (1979年)

大関 瑤子 首藤 栄治 芦田 博之

1977年の和歌山県有田市集団コレラ以来、海外旅行者の持ちこむ輸入感染症に大きな関心が向けられるようになった。埼玉県においてもこの事件をきっかけに海外旅行者のコレラ菌をはじめとした腸管系病原菌の検査件数が著しく増加した。

1979年の海外旅行者の腸管系病原菌検索状況について報告する。

方法

1) 検査区分: 検査対象は、海外旅行者のうち検疫通報、医療機関からの通報、本人の申し出によるもの、およびコレラ、または赤痢発生にともなった患者、または保菌者との同一行動者、接触者である。

2) 検査項目: コレラ菌、赤痢菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ、病原大腸菌、NAG ビブリオであり、微生物検査必携(2版)に基き行なわれた。

3) 症状及び旅行地などの調査は、検体受付時に本人に調査票に記入させた。

結果と考察

1. 腸管系病原菌月別検査状況

1979年の海外旅行者検査件数は622件で、コレラ菌1例(0.2%)、赤痢菌9例(1.4%)、サルモネラ71例(11.4%)、腸炎ビブリオ32例(5.1%)、病原大腸菌16例(2.6%)、NAGビブリオ8例(1.3%)が検出された。この中には同一人より同時に複数種の病原菌の検出された例が多く、とくにNAGビブリオは8例ともすべて腸炎ビブリオまたはサルモネラと同時に検出されている。サルモネラと腸炎ビブリオ、赤痢菌とサルモネラという組合せもみられた。従って病原菌陽性例数は合せて126例(20.3%)であった(表1)。

月別検査件数は8月が133例と最も多かったが、他の月は季節と関係なく検体が送付されている。病原菌陽性率を季節的にみると、冬期(1, 2月)が12%前後と若干低率の傾向がみられた。しかし検出された病原菌についてみると、赤痢菌は春から夏にかけて多く分離されて

いるが、サルモネラ、腸炎ビブリオ病原菌大腸菌などについては、あまり差が認められなかった。

表1 腸管系病原菌月別検査状況

| 検査病原菌例数 | 陽性例数(%) | 1979 | | | | | | |
|---------|---------|-----------|-----|-------|--------|-------|---------|-----|
| | | コレラ菌 | 赤痢菌 | サルモネラ | 腸炎ビブリオ | 病原大腸菌 | NAGビブリオ | |
| 1月 | 25 | 3(12.0) | | 2 | | 1 | | |
| 2月 | 58 | 7(12.1) | | 5※ | 1 | 1 | 1※ | |
| 3月 | 56 | 12(21.4) | 2 | 7 | 3※※ | | 2※※ | |
| 4月 | 34 | 11(32.4) | | 8※ | 2※ | 2 | | |
| 5月 | 66 | 20(30.3) | 1 | 12 | 6※※ | 1 | 2※※ | |
| 6月 | 36 | 6(16.7) | | 3※ | 2※ | 2※ | 1※ | |
| 7月 | 64 | 13(20.3) | | 2 | 7※ | 5※※ | 1※ | |
| 8月 | 133 | 29(21.8) | 1 | 1 | 11 | 8 | 8 | |
| 9月 | 54 | 6(11.1) | | | 2 | 2 | 2 | |
| 10月 | 46 | 13(28.3) | | | 12※ | 1 | 1※ | |
| 11月 | 37 | 4(10.8) | | | 1 | 2 | 1 | |
| 12月 | 13 | 2(15.4) | | | 2 | | | |
| 計 | 622 | 126(20.3) | 1 | 9 | 71 | 32 | 16 | 8 |
| (%) | | | 0.2 | 1.4 | 11.4 | 5.1 | 2.6 | 1.3 |

※: 他菌種が同時に検出された例数

2. 検査区分別病原菌検出状況

海外旅行者の帰国前後の症状の有無を検査区分別にし、検出された病原菌の種類について示した。下痢、腹痛、発熱などの下痢症症状(+)は460例(74.0%)で、他は症状(-)は162例(26.0%)であった。症状(+のうち検疫通報が294例(63.9%)で、他は検疫所では申告をしなかったか、またはその後発病したものである(表2)。

表 2 検査区分別病原菌検出状況

(1979. 1~12月)

| 検査区分 | | 症状あり | | | | 症状なし | | | 計 | |
|---------|----------------|------------|----------------------|------------|------------|--------|----------------------|--------|-------|--------|
| | | 検 疫 通 報 | コレラ・ 赤痢同行 ・同 乗 | 自 主 検 査 | 医 師 通 報 | 計 | コレラ・ 赤痢同行 ・同 乗 | 自 主 | | 計 |
| 検査例数 | | 294 | 40 | 96 | 30 | 460 | 133 | 29 | 162 | 622 |
| 病原菌陽性例数 | | 71 | 7 | 23 | 12 | 113 | 10 | 3 | 13 | 126 |
| (%) | | (24.1) | (17.5) | (24.0) | (40.6) | (24.6) | (7.5) | (10.3) | (8.0) | (20.3) |
| 内 訳 | コレラ菌 | 1 | | | | 1 | | | | 1 |
| | 赤痢菌 | 4 | 1 | 3 | | 8 | | | | 8 |
| | 赤痢菌+サルモネラ | | 1 | | | 1 | | | | 1 |
| | サルモネラ 2菌型 | 2 | | | | 2 | | | | 2 |
| | “ 1菌型 | 37 | 3 | 9 | 5 | 54 | 7 | 3 | 10 | 64 |
| | サルモネラ+腸炎ビブリオ | 2 | | | | 2 | | | | 2 |
| | サルモネラ+NAGビブリオ | 1 | | | | 1 | 1 | | 1 | 2 |
| | 腸炎ビブリオ | 16 | 1 | 4 | 2 | 23 | 1 | | 1 | 24 |
| | 腸炎ビブリオ+NAGビブリオ | 2 | | 1 | 3 | 6 | | | | 6 |
| | 病原大腸菌 | 6 | 1 | 6 | 2 | 15 | 1 | | 1 | 16 |

症状の有無による病原菌陽性率のちがいをみると、症状(+)では113例(24.6%)で、症状(-)では13例(8.0%)と大きな差がみられた。これはコレラ菌、赤痢菌、腸炎ビブリオおよび病原大腸菌の検出例が症状(+)の方に明らかに多く検出されている結果による。サルモネラについても、症状(+)で60例(13.0%)、症状(-)で11例(6.8%)と、陽性率に約2倍の差がみられた。症状(+)の中の検査区分では、とくに医療機関からの通報に基づいて行われた検査の30例中12例(40.6%)から病原菌が検出されたことが注目された。分離菌としては、腸炎ビブリオ、サルモネラ、病原大腸菌である。これは、医療機関へ受診を必要とするような、比較的重い症状であること、発病が検査時からみて最近のことによるためと思われる。同一人から複数の菌種が検出されていることは表1にも示したとおりである。同一人から分離された菌種、菌型の組合せを表2に示した。赤痢菌とサルモネラ1例、サルモネラ+腸炎ビブリオ2例、腸炎ビブリオ+NAGビブリオ6例およびサルモネラ2菌型検出が2例みられた。

3. 推定感染地別分離菌

旅行地別ではフィリピンが206例(33.2%)で最も多く、次いでインドネパール方面109例(17.5%)、タイ98例(15.8%)などで、インドネパール方面旅行者が、前年より増加している傾向にある。病原菌の国別検出状況を見るとコレラ菌はタイ、赤痢菌はインド、ネパール方面、腸炎ビブリオはフィリピン、マレーシア、シンガポール方面の旅行者から多く検出されている(表3)。

4. 性別、年齢別病原菌陽性率

旅行者622例を性別にみると男性491例(78.9%)、女性131例(21.1%)であった。年齢区分は、男性が20~29才で172例(35.0%)、30~39才で180例(36.7%)であり71.7%が20~39才で占められていた。女性は20~29才が最も多く73例(55.7%)であった。年齢別による病原菌陽性率に差はみられなかった(表4)

5. 分離菌型

1) コレラ菌、赤痢菌

コレラ菌はエルトル・小川型1株であった。

赤痢菌はB群が5株、D群が4株計9株でこのうちB群2a 3株は同一観光団から分離されたもので、感

表 3 推定感染地別分離菌

1979

| 推定感染地 | 検査例数 | 病原菌陽性 (%) | 内 訳 | | | | | |
|---------------|------|--------------|------|-----|-------|--------|-------|---------|
| | | | コレラ菌 | 赤痢菌 | サルモネラ | 腸炎ビブリオ | 病原大腸菌 | NAGビブリオ |
| フィリピン | 206 | 53(25.7) | | 3 | 31 | 17 | 5 | 5 |
| インド・ネパール | 109 | 14(12.8) | | | 4 | 7 | | 3 |
| タイ | 98 | 23(23.5) | 1 | | | 15 | 5 | 2 |
| マレーシア・シンガポール | 63 | 8(12.7) | | | | 3 | 4 | 1 |
| インドネシア | 47 | 13(27.7) | | 2 | | 7 | 1 | 3 |
| 台湾 | 34 | 3(8.8) | | | | 3 | | |
| 韓国・香港 | 31 | 6(19.4) | | | | 1 | 4 | 1 |
| 中国 | 7 | 2(28.6) | | | | 1 | | 1 |
| 欧州南まわり コース | 19 | 3(15.8) | | | | 3 | | |
| その他 | 8 | 1(12.5) | | | | | 1 | |
| 計 | 622 | 126(20.3) | 1 | 9 | 71 | 32 | 16 | 8 |

表 4 性別，年齢別病原菌陽性率

| 性 | 年齢区分 | 検査件数 | 病原菌陽性 (%) | 内 訳 | | | | | |
|---|-------|------|--------------|--------|--------|----------|---------|---------|--------|
| | | | | コレラ菌 | 赤痢菌 | サルモネラ | 腸炎ビブリオ | 病原大腸菌 | NAG |
| 男 | 0～19 | 13 | 7(53.8) | 1 | 2 | | 2 | 2 | 1 |
| | 20～29 | 172 | 33(19.2) | | 2 | 19 | 6 | 7 | 3 |
| | 30～39 | 180 | 40(22.2) | | 1 | 22 | 15 | 3 | 2 |
| | 40～49 | 82 | 10(12.2) | | | 7 | 2 | 1 | 1 |
| | 50～59 | 25 | 7(28.0) | | | 5 | 2 | | |
| | 60～ | 19 | 2(10.5) | | | 1 | | 1 | |
| | 計 | 491 | 99(20.2) | 1(0.2) | 5(1.0) | 54(11.0) | 27(5.5) | 14(2.9) | 7(1.4) |
| 女 | 0～19 | 13 | 3(23.1) | | | 2 | 1 | | |
| | 20～29 | 73 | 17(23.3) | | 3 | 11 | 3 | 1 | 1 |
| | 30～39 | 19 | 4(21.1) | | 1 | 3 | | | |
| | 40～49 | 13 | 3(23.1) | | | 1 | 1 | 1 | |
| | 50～59 | 7 | | | | | | | |
| | 60～ | 6 | | | | | | | |
| | 計 | 131 | 27(20.6) | | 4(3.1) | 17(13.0) | 5(3.8) | 2(1.5) | 1(0.7) |

染経路は同一と推定されるが感受性1株, S M耐性2株であった。D群のコリシン型は6型, 9A型, 12型がみられ, 耐性パターンも多彩であった(表5)。

表5 分離菌型(コレラ菌, 赤痢菌)

| 1979 | | | | |
|---------------------------|-----------|-------|-------|-------|
| 菌 | 型 | 分離株数 | 耐性 | 計 |
| V. eltor | Ogawa | 1 | | 1 |
| Shigella flexneri | 1a | 1 (1) | S | |
| | 2a | 3 (2) | S : 2 | |
| | VX | 1 (1) | T | |
| S. sonnei (colicin type6) | | 2 (1) | C S T | |
| | (" " 9A) | 1 (1) | S | |
| | (" " 12) | 1 (1) | T | |
| | | | | 9 (7) |

(): 耐性菌: 再掲

2) サルモネラ

海外旅行者622例のうちサルモネラ陽性者は71例(11.4%)で, 73株が分離された。国内発生株との比較は別稿(衛研所報No14)に掲載した。S. anatum 10株, S. agona, S. bovismorbificansなどが多く分離された。国内で最も多く分離されるS. typhimuriumは比較的少かった(表6)。

表6 海外旅行者のサルモネラ分離菌型

| 1979 | | | |
|--------------|---------------------|--------------|---|
| 菌 | 型 | 分離株数 | |
| B | S. java | 2 | |
| | S. stanley | 2 (1) | |
| | S. agona | 7 | |
| | S. typhimurium | 4 (3) | |
| | S. heidelberg | 3 (1) | |
| | S. kiambu | 1 (1) | |
| | C 1 | S. coleypark | 1 |
| | | S. ohio | 1 |
| S. mission | | 1 | |
| S. potsdam | | 2 | |
| S. virchow | | 3 | |
| S. bareilly | | 1 | |
| S. tennessee | | 1 | |
| C 2 | S. newport | 5 | |
| | S. kottbus | 1 | |
| | S. bovismorbificans | 6 | |

| 1979 | | |
|---------|-----------------|---------|
| 菌 | 型 | 分離株数 |
| C 2 U T | | 3 |
| D | S. enteritidis | 2 |
| | S. panama | 1 (1) |
| | S. javiana | 1 |
| E 1 | S. anatum | 10 (3) |
| | S. meleagridis | 1 |
| | S. london | 3 (1) |
| | S. weltevreden | 3 |
| | E 1 U T | 1 |
| E 2 | S. newington | 1 (1) |
| | S. binza | 1 |
| E 4 | S. senftenberg | 2 |
| | S. krefeld | 1 (1) |
| I | S. hvittingfoss | 1 |
| K | S. cerro | 1 |
| 計 | | 73 (13) |

(): 薬剤耐性, 再掲

3) 腸炎ビブリオ, 病原大腸菌

腸炎ビブリオは32株分離され, K10が5株と最も多く, 他はいずれも菌型が異っており, 多彩であった。しかし, 既知血清でKまたはO, Kが同定できなかった株が16株(50%)みられた(表7, 表8)。

表7 腸炎ビブリオの菌型

| 1979 | | | |
|------|---------|-----|-------|
| 菌 | 型 | 海 外 | 国 内 計 |
| | K 1 | 1 | 1 |
| | K 3 | 1 | 1 |
| | K 4 | 1 | 1 |
| | K 7 | 1 | 1 |
| | K 8 | | 2 |
| | K 9 | | 1 |
| | K 10 | 5 | 5 |
| | K 12 | 1 | 1 |
| | K 13 | | 1 |
| | K 18 | | 1 |
| | K 29 | | 1 |
| | K 47 | 1 | 1 |
| | K 53 | 1 | 1 |
| | K 55 | 1 | 1 |
| | K 56 | 1 | 1 |
| | K 57 | 1 | 1 |
| | K 58 | 1 | 1 |
| | 01: K ? | 2 | 2 |
| | 03: K ? | 1 | 1 |
| | 05: K ? | 1 | 1 |
| UT | 12 | 1 | 13 |
| 計 | | 32 | 7 39 |

表 8 病原大腸菌の菌型

| 1979 | | | |
|----------------|-----|-----|----|
| 菌 型 | 海 外 | 国 内 | 計 |
| 06; K 15 | 8 | | 8 |
| 026; K 60 | 1 | | 1 |
| 028 a, c; K 73 | 1 | 1 | 2 |
| 055; K 59 | 1 | | 1 |
| 086; K 61 | 1 | | 1 |
| 0111; K 58 | | 1 | 1 |
| 0119; K 69 | 2 | | 2 |
| 0124; K 72 | 1 | 1 | 1 |
| 0128; K 67 | | 2 | 2 |
| 0128; K 78 | 1 | | 1 |
| 計 | 16 | 5 | 21 |

国内の下痢症患者から分離された腸炎ビブリオ7株のうち6株は既知血清で型別されたが、1株は型別不能であった。しかし、型別された菌型をみると海外旅行者から分離された菌型とは異っていた。

病原大腸菌の海外分離株は16株で、そのうち06 : K 15が8株(50.0%)みられた。国内下痢患者から分離された病原大腸菌は5株であった。

両神村における肝炎の追跡調査

芦田 博之* 田中 厚子* 河橋 幸恵*
岡田 正次郎*
松卜 寛** 寺島 綾子** 白木 和夫***

はじめに

昭和40年頃から46年にかけて秩父郡両神村に肝炎患者が多発し、国保疾病分類をもとに調査したところ、り患率(10,00人対)が12.6で県平均1.18を大きく上廻り県内最高であることがわかった(図1)。そこで47年7月秩父郡医師会の協力を得て、県の調査事業として同村住民を対象に肝炎集団検診を実施した。48年以降は厚生省難治性肝炎研究班の調査活動の一環として年1回追跡検診を実施し、検診対象も逐次幼稚園児、小中学生、乳幼児(51年から)にまで拡大し54年には全村民を対象として検診を実施した。今回は47年から53年までの肝炎検診の経過について報告する。

調査対象と方法

1. 調査対象

初回検診(47年)は村内13地区のうち6地区を調査地区として選び15才以上の地区住民全員を、残りの7地区は肝炎患者発生世帯を対象とした。49年以降は拡大し全村民を対象とした。幼稚園児、小中学生は全員を対象に保護者の同意が得られたものについて行った、51年からは乳幼児も対象に加えた。

2. 肝炎検診

一般成人の検診は47年は秩父郡市医師会、48年以降は国立公衆衛生院疫学部、浜松医大公衆衛生学教室および三宿病院の協力を得て実施した。乳幼児検診は51年から東京大医学部小児科学教室の協力を得て実施した。

成人病検診は初回受診時に流行性肝炎調査個人票を作成し問診により既往歴、家族歴、食事、嗜好、薬剤使用等を調査記入し、検診の都度内科検診所見、検査成績、

指導区分を記入し個人票によって経過観察出来るよう配慮した。乳幼児は成人に準じて個人票を作成した。

成人の検診内容は問診、計測(身長、体重)、血圧測定、検尿(糖、蛋白)、採血、内科検診、生活指導などで、53年からは肝炎検診に併せて成人病1次検診も行った。

検査項目は肝機能検査、HBs抗原抗体検査、血清脂質(成人のみ)、検尿(成人のみ)、貧血検査である。

3. 肝機能検査

肝機能検査はGOT、GPT、TTT、ZTTの4項目について行った。

4. HBs抗原、HBs抗体検査

HBs抗原、HBs抗体の検査はそれぞれIAHA法(53年はRPHA法)、PHA法によって行い、47年は東京大附属病院輸血部において、48年以降は厚生省肝炎研究班の検査として自治医大、東京都臨床医研、浜松医大公衆衛生学教室において行った。

5. 判定基準(松下ら肝炎研究班基準)

1) 要医療

- ① GOTまたはGPT: 100以上
- ② TTT: 10以上またはZTT: 15以上
- ①または②の条件の1つ以上をみたすもの。

2) 要経過観察

- ① GOT: 40以上またはGPT: 40以上
- ② TTT: 6以上またはZTT: 12以上
- ③ HBs抗原陽性
- ①②③の条件の1つ以上をみたすもの。

6. 事後指導

検診時に医師および秩父保健所保健婦によって生活

*埼玉県衛生研究所 **浜松医科大公衆衛生学教室 ***東京大医学部小児科学教室

県平均 1.18

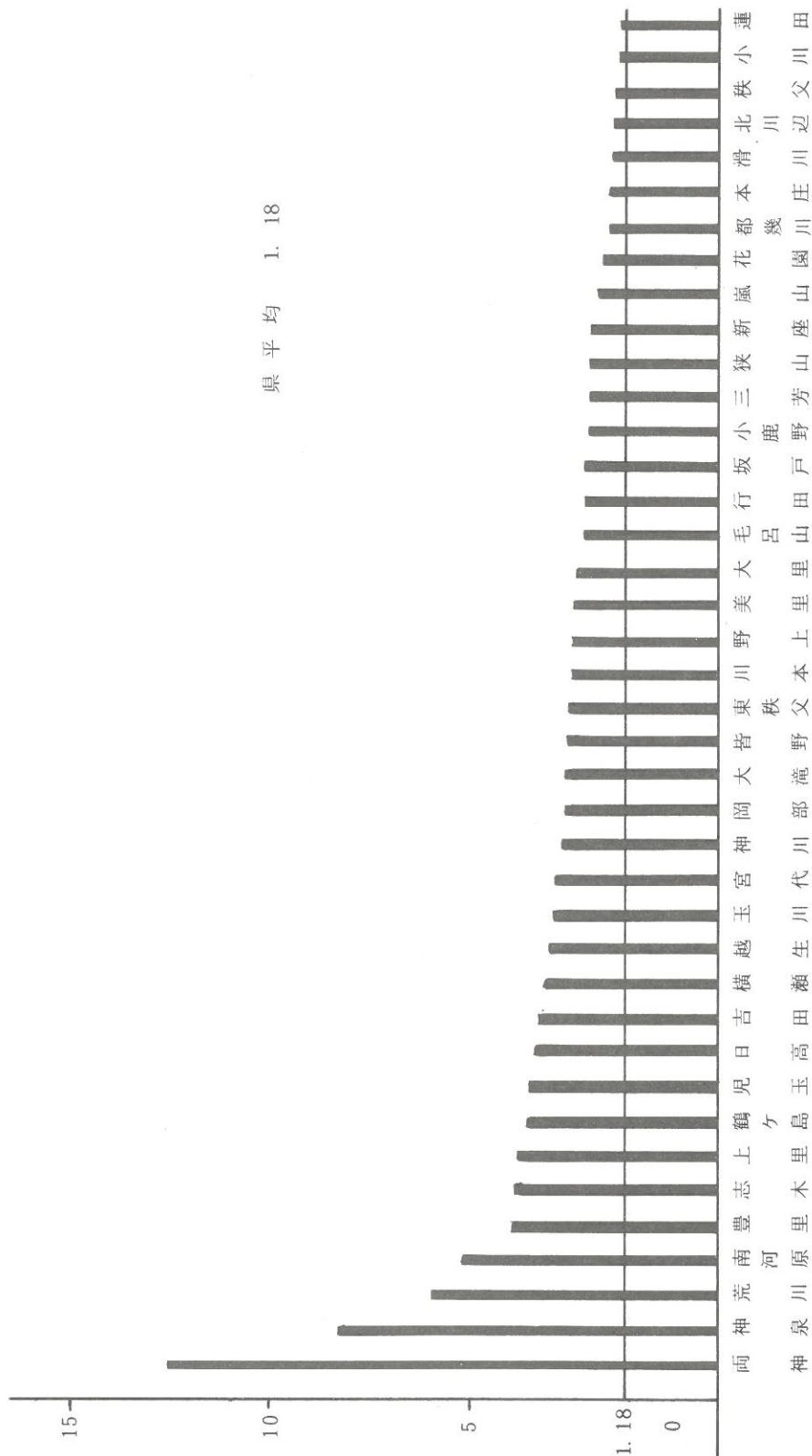


図1 国保被保険者に対する肝疾患の割合 (千対) (46. 5月)

指導を行い、検診後検査結果による要医療、要経過観察の判定をしたのち、有所見者を集め、浜松医大松下教授、東大小児科白木助教授による集団および個別指導を行った。

調査結果

同村の国保レセプトをもとに調査した40年から47年までの肝炎受診患者は471人で国保被保険者の17.8%にあたり有病率はきわめて高率であることがわかった(表1)。年齢別の有病率は0~19才では3.3%であるが20才台で25.7%と急激な増加がみられ、この傾向はそれ以上の年齢層でもほぼ同率であった(表2)。

表1 肝炎患者年次別発生(S40~46)
国保レセプト

| | | 両神村 | | | | | | | |
|-------|------|-----|----|----|----|----|----|-----|------|
| 国保被保 | 患者発生 | | | | | | | 計 | 有病率 |
| 険者数 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | | |
| 2,647 | 44 | 73 | 71 | 87 | 64 | 75 | 57 | 471 | 17.8 |

表2 肝炎患者年齢別分布(国保レセプト)
(S40~46)

| | 年 令 区 分 | | | | | | 計 |
|------|---------|---------|---------|---------|---------|------|-------|
| | 0 - 19才 | 20 - 29 | 30 - 39 | 40 - 49 | 50 - 59 | 60 ~ | |
| 患者数 | 31 | 44 | 76 | 96 | 82 | 142 | 471 |
| 国保人口 | 942 | 171 | 293 | 399 | 326 | 516 | 2,647 |
| 有病率 | 3.3 | 25.7 | 25.9 | 24.1 | 25.2 | 27.5 | 17.8 |

1. 47年の肝炎検診結果

調査は44年毛呂町で行った方法に準じ、第1次スクリーニングを行い、9月国立公衆衛生院の協力をえ、第2次検診を1部肝生検を含め実施し、松下らの判定基準により判定した。表3に示すように第1次受診者は調査地区およびその他の地区のいずれもほぼ50%であった。第2次検診で判定された肝障害およびその疑いは両地ともほぼ20%で高率であった。肝生検は9人について行われ、いずれも急性肝炎と診断された。表4は東大輸血部で行ったHBs抗原、HBs抗体検査の結果である。肝障害の有無で分類するとHBs抗原陽性は有症者192人中20人(10.4%)、異常なし750人中4人(0.5%)となり前者に明らかな高率がみとめられた。

以上のことから本流行は肝生検および疫学調査の結果ウィルス性肝炎によるものと推定され、なかにB型肝炎によると思われる患者がかなり高率にいたることがわかった。また、その発生は爆発的でなく連続的であって、伝播様式は間接接触感染を中心とした連鎖伝播と推定された。

48年5月、これらの受診者の追跡検診をした結果、前年の $\frac{1}{3}$ の314人が受診し、そのうち有症者は15人(4.4%)であった。47年48年の両年にわたって受診した、302人について経過をまとめてみると数例を除き著しい肝障害の回復がみとめられ、肝炎流行はほぼ終息したものと推定された。

2. 49~53年の検診成績の推移

49年以降は厚生省難治性肝炎研究班の調査活動の一環として年1回継的に追跡検診を実施し、検診対象も全村地区住民とし、逐次幼稚園児、小・中学生、乳幼児(51年から)にまで拡大した。

49年~53年の検診結果は表5に示すように平均7~9%の有病率で、47年の17.0%に比し大きく下廻り約半数に減少した。とくに、有所見のうち要医療は1.0~2.3%で47年の5.9%に比し明らかな減少がみられ年1回の追跡検診の効果はあがったものと考えられる。

表4 HBs抗原、HBs抗体検査
(S47)

| | 検査数 | HBs抗原 | | HBs抗体 | |
|--------|-----|-------|------|-------|------|
| | | 陽性者 | % | 陽性者 | % |
| 肝障害(+) | 192 | 20 | 10.4 | 37 | 19.3 |
| 肝障害(-) | 750 | 4 | 0.5 | 120 | 16.0 |
| 計 | 942 | 24 | 2.5 | 157 | 16.7 |

まとめ

著者らは40~46年頃にかけて肝炎患者の多発した秩父郡両神村において、村住民を対象に47年以降降年的に肝炎検診を実施してきた。47年検診にさきかけて調査した国保レセプトによる肝炎患者は40~46年で471人にのぼり、国保人口の17.8%をしめ、きわめて高率であることがわかった。患者発生は41年から急増し46年にはやや減少傾向がみられた。年齢分布から有病率は20歳台から急激に増加し25%をこえ、それ以上の年齢層にも同様な傾向がみられ、成人の約 $\frac{1}{4}$ が肝炎に罹患していることが判明した。

表3 肝炎集検受診者・有所見者（47年7～9）

| | 検診1次 | | 受診率 | 2次判定 | | | 有病率 | |
|--------|-------|-----|-------|------|--------|---------|-----|------|
| | 対象者 | 受診者 | | 受診者 | 肝障害(+) | 肝障害(+)計 | | |
| 調査地区 | 1,244 | 644 | 51.8 | 139 | 43 | 89 | 132 | 20.5 |
| その他の地区 | 622 | 301 | 48.4 | 87 | 23 | 37 | 60 | 19.9 |
| 中学生 | 200 | 200 | 100.0 | 6 | 1 | 2 | 3 | 1.5 |

表5 肝炎検診年次別有病率

| 年次 | 受検者 | 要医療 (%) | 要観察 (%) | 計 | 有病率% |
|------|------|----------|------------|-----|------|
| | 人 | 人 | 人 | | |
| S 47 | 1145 | 67 (5.9) | 128 (11.2) | 195 | 17.0 |
| 49 | 1213 | 27 (2.2) | 65 (5.4) | 92 | 7.6 |
| 50 | 1219 | 23 (1.9) | 97 (7.9) | 120 | 9.8 |
| 51 | 1419 | 14 (1.0) | 112 (7.9) | 126 | 8.9 |
| 52 | 1144 | 20 (1.7) | 86 (7.5) | 106 | 9.3 |
| 53 | 1117 | 26 (2.3) | 60 (5.4) | 86 | 7.7 |

当初地元では、奥秩父にある某鉱山の鉱石運搬のケーブルが同村を流れる薄川にそって架かっていることから、バスケットからこぼれ落ちる鉱石の有害物による水系汚染、あるいは村の特産であるコンニャク栽培に行なわれる農薬散布によっておこる農薬中毒による肝炎が疑われていた。しかし47年、肝炎検診が行なわれ疫学調査、環境調査、臨床所見、肝生検および検査結果から薬物による肝障害ではなく、ウィルス性肝炎による流行であることが明らかになった。また、HBs抗原およびHBs抗体検査の結果、それぞれの陽性率は25.0%および16.7%で、とくにHBs抗原陽性者の分布は検診において明らかな肝障害もしくはその疑いを有するもの10.4%で、健康人の0.5%に比べ有意に高率であることが判明した。このことから同村に流行するウィルス肝炎のなかにはHBウィルスによるものかなり高率に存在することがわかった。

47年48年の両年にわたって受診した302人について経過をまとめると数例を除き著しく肝障害の回復がみとめられ、

肝炎流行はほぼ終息に近づいたものと推定された。

49～53年は対象を全村地区住民に拡げ年1回の追跡検診を行ったが、有病率は平均7～9%台で47年に比べ約1/2に減少した。しかし、現在なほ過去流行時にり患したHBs抗原陽性者もかなりおり、なかには慢性肝炎に移行している例もみられることから、今後さらに追跡検診を継続することが必要と思われる。

この資料は故芦田部長が昭和55年2月、埼玉医学会において口演したものをもとにして作成した。御冥福を祈る。

埼玉県内の飲料水の水質 — 昭和54年度 —

鈴木 章 松田 勝彦 広瀬 義文
小山又次郎 興津 知明

はじめに

埼玉県内の飲料水の水質は当所で行った水道原水と浄水の、水道法に基づく全項目試験の結果をもとに毎年報告している。今回も前報¹⁾に引き続き昭和54年度に行った全項目試験の結果を報告する。

試験方法および結果

昭和54年4月1日より水質基準に関する省令の改正が施行された。主な改正事項は、アンモニア性窒素の項目が基準より除かれ、亜硝酸性窒素と硝酸性窒素の項目は「硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素」と改正された。そのため「アンモニア性窒素・亜硝酸性窒素同時検出」の基準は消去された。また測定値の単位も残留塩素を除きppm から mg/ℓ に変更された。

試験方法は水質基準に関する省令に従ったが、鉄は原子吸光法、ヒ素はグツツァイト法、フッ素はイオン電極法も併用した。

試験検体総数は314件で、その内訳は浄水147件(46.8%)、井水157件(50.0%)、表流水10件(3.2%)、伏流水0件であった。

1. 水質基準に対する不適率

水源別の水道法水質基準に対する不適率と主な項目の不適率を表1に示した。水質基準は浄水に適用するものであるが、ここでは原水についてもこの基準に対する不適率を求めた。マンガンについては水質基準の他に指導基準に対する不適率も求めた。

不適率は浄水7.5%、井水36.3%、表流水70.0%であり、図1に示した過去数年間の不適率の年度別推移では、2、3年前より不適率が下がり、特に浄水の不適率は毎年減少する傾向を示した。

浄水の項目別不適率では一般細菌数の項目で不適になったものが4件(2.7%)あったが、この検体は給水開始前の試験によるもので、4件とも残留塩素が0.1ppm

以下であり、滅菌不十分のためと考えられる。鉄、色度で不適、あるいはマンガンで指導基準不適になった検体は、そのほとんどが受水槽のある施設であり、定期的に受水槽の清掃をするなどの管理が望まれる。

昭和54年度の試験では塩素イオン、シアンイオン、水銀、有機リン、銅、亜鉛、鉛、六価クロム、カドミウム、ヒ素、フッ素、カルシウム・マグネシウム等(硬度)、蒸発残留物、フェノール類、陰イオン界面活性剤及びpH値については不適のものはなかった。

2. 主要項目の平均値

主要項目の最大値、最小値、平均値を水源別に表2~4に示した。導電率は水道法の試験項目にないが、水道法による全項目試験を行った全ての検体について測定しているので併せて示した。

平均値は前年度に比較してほとんど差は認められなかった。過去数年間の平均値を比較しても特に大きな変化は見られず、硬度、蒸発残留物等の変動も10%以下であった。

要 約

昭和54年度に行った水道法全項目試験の結果は、前年度に比較して不適率が下がり、特に浄水の不適率は数年前より減少する傾向にあった。水質の傾向は前年度とほとんど差がなく、過去数年間の結果と比較しても特に大きな変化は見られなかった。

文 献

1) 広瀬義文, 松田勝彦, 鈴木章, 小山又次郎, 興津知明(1979): 埼玉県内の飲料水の水質(昭和53年度), 埼玉県衛生研究所報, 13, 156 - 158.

表 1 水 源 別 不 適 率

| 水 源 | 浄 水 | 井 水 | 表 流 水 | |
|-------------------|---------------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| 検 査 件 数 | 147 | 157 | 10 | |
| 不 適 件 数 | 11 | 57 | 7 | |
| 不 適 率 (%) | 7.5 | 36.3 | 70.0 | |
| 項 目 別 不 適 率 (%) | 硝 酸 性 窒 素 及 び 亜 硝 酸 性 窒 素 | 0 | 0.6 (1.8) | 0 |
| | 塩 素 イ オ ン | 0 | 0 | 0 |
| | 有 機 物 等 (過 マ ン ガ ン 酸 カ リ ウ ム 消 費 量) | 0 | 0.6 (1.8) | 0 |
| | 一 般 細 菌 数 | 2.7 (36.4) | 3.8 (10.5) | 50.0 (71.4) |
| | 大 腸 菌 群 | 0 | 14.6 (40.4) | 70.0 (100) |
| | 鉄 | 4.8 (63.6) | 14.0 (38.6) | 20.0 (28.6) |
| | マ ン ガ ン | 0 | 10.2 (28.1) | 10.0 (14.3) |
| | カ ル シ ウ ム ・ マ グ ネ シ ウ ム 等 (硬 度) | 0 | 0 | 0 |
| | 蒸 発 残 留 物 | 0 | 0 | 0 |
| | pH 値 | 0 | 0.6 (1.8) | 0 |
| | 色 度 | 4.1 (54.5) | 22.3 (61.4) | 10.0 (14.3) |
| | 濁 度 | 0 | 3.2 (8.8) | 20.0 (28.6) |
| マ ン ガ ン * | 4.1 (54.5) | 26.1 (71.9) | 0 | |

注) (1) 項目別不適率 = (各項目の不適数 / 検査件数) × 100

(2) ()内の数字は不適件数に対する不適率 = (各項目の不適数 / 不適件数) × 100

(3) * : 指導基準不適率 (マンガンの指導基準 0.05 mg / l)

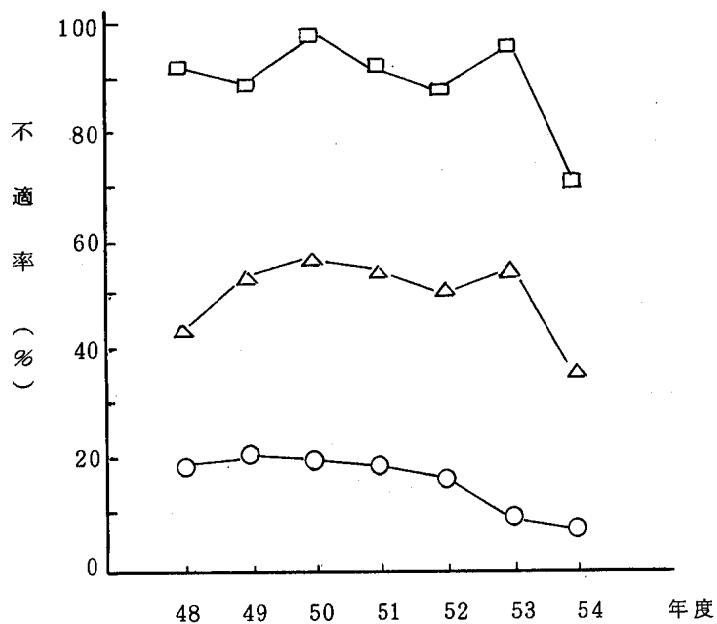


図1 不適率の年度別推移

○-○浄水, △-△井水, □-□表流水

表2 浄水の最大値, 最小値, 平均値

| | 最大値 | 最小値 | 平均値 |
|---|------|------|------|
| アンモニア性窒素(mg/l) | 0.2 | 0.0 | 0.0 |
| 硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素(mg/l) | 10 | 0.0 | 1.8 |
| 塩素イオン(mg/l) | 117 | 2.7 | 21.2 |
| 有機物等(過マンガン酸カリウム消費量)(mg/l) | 7.5 | 0.0 | 1.8 |
| 一般細菌数(1ml中) | 2900 | 0 | - |
| 鉄(mg/l) | 0.71 | 0.00 | 0.07 |
| マンガン(mg/l) | 0.24 | 0.00 | 0.01 |
| カルシウム・マグネシウム(CaCO ₃ 等)(硬度)(mg/l) | 213 | 34.7 | 73.5 |
| 蒸発残留物(mg/l) | 445 | 14 | 168 |
| pH値 | 7.9 | 6.4 | 7.1 |
| 色度(度) | 24 | 0 | 2 |
| 濁度(度) | 2 | 0 | 0 |
| 導電率(μS/cm) | 590 | 86 | 234 |

表 3 井水の最大値，最小値，平均値

| | 最大値 | 最小値 | 平均値 |
|---|------|------|------|
| アンモニア性窒素(mg/l) | 4.0 | 0.0 | 0.3 |
| 硝酸性窒素及び 亜硝酸性窒素(mg/l) | 32 | 0.0 | 1.5 |
| 塩素イオン(mg/l) | 106 | 1.0 | 15.0 |
| 有機物等(過マンガン 酸カリウム消費量)(mg/l) | 11.8 | 0.0 | 1.9 |
| 一般細菌数(1ml中) | 3500 | 0 | — |
| 鉄(mg/l) | 4.8 | 0.00 | 0.20 |
| マンガン(mg/l) | 2.1 | 0.00 | 0.12 |
| カルシウム・マグネシウム等 (硬度)(CaCO ₃)(mg/l) | 233 | 28.1 | 68.3 |
| 蒸発残留物(mg/l) | 456 | 13 | 154 |
| pH 値 | 8.8 | 6.1 | 7.4 |
| 色 度(度) | 26 | 0 | 3 |
| 濁 度(度) | 4 | 0 | 0 |
| 導 電 率(μV/cm) | 614 | 12 | 209 |

表 4 表流水の最大値，最小値，平均値

| | 最大値 | 最小値 | 平均値 |
|---|------|------|------|
| アンモニア性窒素(mg/l) | 0.2 | 0.0 | 0.0 |
| 硝酸性窒素及び 亜硝酸性窒素(mg/l) | 4.6 | 1.1 | 2.3 |
| 塩素イオン(mg/l) | 25.3 | 1.4 | 7.6 |
| 有機物等(過マンガン 酸カリウム消費量)(mg/l) | 6.5 | 0.5 | 2.5 |
| 一般細菌数(1ml中) | 5400 | 0 | — |
| 鉄(mg/l) | 1.0 | 0.00 | 0.16 |
| マンガン(mg/l) | 0.49 | 0.00 | 0.05 |
| カルシウム・マグネシウム等 (硬度)(CaCO ₃)(mg/l) | 88.2 | 38.6 | 56.9 |
| 蒸発残留物(mg/l) | 167 | 88 | 107 |
| pH 値 | 8.4 | 6.9 | 7.5 |
| 色 度(度) | 8 | 2 | 4 |
| 濁 度(度) | 7 | 0 | 1 |
| 導 電 率(μV/cm) | 290 | 98 | 144 |