

ISSN 0913-5154

平成 8 年度

川崎市衛生研究所年報

(第 3 2 号)

KAWASAKI CITY INSTITUTE
FOR PUBLIC HEALTH

川崎市衛生研究所
(1996)

川崎市衛生研究所年報編集委員

安藤正義(委員長)

小島完公

小野勝美

佐久間貞

青山林作

佐藤英毅

土田瑞穂

発行年月日 平成9年12月

発行 川崎市

編集 川崎市衛生研究所

所在地 〒210-0834

川崎市川崎区大島5-13-10

TEL 044(244)4985~6

FAX 044(246)2606

印刷 有限会社協立印刷社

〒210 川崎市川崎区貝塚2-14-11

TEL 044(222)4205

VI 人事記録

(平成8年5月2日～9年5月1日)

出られた方

年月日	職名等	氏名	配属
9. 4. 1	所長	大村敏郎	高津保健所
9. 4. 1	主幹	浜野直樹	幸保健所
9. 4. 1	主幹	大久保吉雄	南部市場
9. 4. 1	主幹	春山長治	井田病院
9. 5. 1	主査	和賀昭蔵	多摩区役所
9. 5. 1	主任	鈴木壮美	川崎病院
9. 5. 1		齋藤武弥	環境局公害部

来られた方

年月日	職名等	氏名	前職
8. 10. 1	主任	殿岡弘敏	川崎病院
9. 4. 1	所長	安藤正義	中原保健所
9. 4. 1	主幹	小島完公	幸保健所
9. 4. 1	主幹	小野勝美	南部市場
9. 5. 1	主査	平位芳江	川崎病院
9. 5. 1	主任	富樫眞一	環境局公害部
9. 5. 1		田島路広	幸区役所

昇格

年月日	任命	氏名
8. 5. 1	主査	竹澤英二
8. 5. 1	主査	入口政信

目 次

I 概 要	1
1. 沿 革	1
2. 施設及び建物の状況	2
3. 機 構	2
(1) 組 織	2
(2) 事務分掌	3
4. 人員配置	3
5. 予算及び決算	4
(1) 歳 入	4
(2) 歳 出	4
6. 行 事	5
(1) 学会及び研究会	5
(2) 講習会及び研修会	5
(3) 職場研修	6
(4) 会 議	7
(5) 講師派遣	9
(6) 指導訓練	10
II 業 務	11
1. 微生物検査担当	11
2. 理化学検査担当	28
III 試 験 検 査	46
1. 月別検査件数	46
2. 依頼別検査件数	48
3. 項目別検査件数	49
食品別検査項目内訳	53
水質別検査項目内訳	55
IV 調 査 研 究	56
1. 調査研究報告	56
2. 学会発表	86
3. 論文発表	87
4. 講 演	88
5. 座長就任	89
V 職 員 名 簿	90
VI 人 事 記 録	91

水質別検査項目内訳

検査項目		件数	外観・臭気・濁度	P H	窒素化合物	過カリウム・マンガン酸量	硬度	陽イオン類	陰イオン類	蒸発残留物	残留塩素	溶存酸素	C O D	B O D	浮遊物質	陰イオン活性剤	n・へキサミン	その他試験	一般細菌数	大腸菌群	細菌学的試験	総数	
飲料水検査	水道水	600																	580	580	91	1,251	
	浄水																						
	貯槽水(細)	(38)																					
	その他																						
井戸水	井戸水	806	2,240	560	1,122	560	560	690	578	22	561					9		359				7,261	
	その他																						
	貯槽水(理)	(39)																					
	その他																						
中水道	井戸水	765	2,964	742	1,490	741	741	789	748	3	741					3		2,653	805	798	390	1,993	
	その他																			6	6	6	12
	貯槽水(細)	(40)																					
	その他																						
中水道	水道水																						
	その他																						
	貯槽水(理)	(41)																					
	その他																						
生物学的検査	生物学的検査	3																					
	その他																						
	貯槽水(細)	(42)																					
	その他																						
下水関係検査	下水	57																					
	その他																						
	貯槽水(理)	(43)																					
	その他																						
清掃関係検査	浄化放流水																						
	浄化槽水																						
	浄化放流水(理)	(44)																					
	浄化槽水																						
公舎・一般環境検査	河川汚濁	168																					
	その他																						
	貯槽水(細)	(45)																					
	その他																						
温泉	浴場	14	3		3	3																	
	プール	129	123	122	1	122	1	1	1	122													
	その他																						
	泉(鉱泉)	(69)																					
計																							
計	3,276	5,340	1,467	2,619	1,428	1,304	1,711	1,363	149	1,302	3	8	6	7	12	27	3,584	1,556	1,653	1,693	25,232		

IV 調査研究

1. 調査研究報告

1996年に川崎市で分離したVero毒素産生性大腸菌の
生物学的、遺伝子学的性状について

小嶋 由香 小川 正之 植田 葉子 関口 忠男
松尾 千秋 本間 幸子 佐久間 貞 安藤 正義

【はじめに】

1996年にわが国で発生した、いわゆる病原性大腸菌O157による集団食中毒は世界的にも類をみない大規模なものとなり、大きな社会問題となった。この*E. coli* O157を含むVero毒素産生性大腸菌(Verotoxin-producing *Escherichia coli*:VTEC)は腸管出血性大腸菌(Enterohemorrhagic *E. coli*:EHEC)とも呼ばれ、本菌の産生する毒素(Vero Toxin:VT)により、出血性大腸炎(hemorrhagic colitis)や溶血性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome:HUS)の原因となることが知られている¹⁾。VTは、免疫学および物理化学的性状の違いにより、VT1とVT2の2種類に分けられ、この毒素がVTEC感染症の発症機序において重要な役割を果たしていると考えている²⁾。また最近では、*eae*遺伝子や90キロベースペア(Kbp)プラスミドの関与による細胞への付着³⁾もVTECの病原性に関係していると考えられている^{4) 5)}がその詳細は明らかになっていない。

当所では、1984年よりVero毒素産生性大腸菌の検出状況について調査し報告してきている^{6) 7)}。今回、私達は、1996年に本市において分離したVTECについて毒素量の定量、Krishnanらの生物型⁸⁾、薬剤感受性、*eae*遺伝子および90Kbpプラスミドの保有状況について検討したので報告する。また、O157株については、国立感染症研究所に依頼し、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)における遺伝子疫学解析を行ったので併せて報告する。

【材料および検査方法】

1 菌 株

供試菌株は、当所に搬入された散発下痢症患者便から常法により分離したVTEC3株(O157:H7 2株、O153:

H19 1株)および市内の病院や検査センターより搬入され当所でVTECと同定した8株(O157:H7 6株 O157:H-1株、O26:H11 1株)計11株を用いた。

2 毒素産生性試験

1)逆受身ラテックス凝集法(Reversed Passive Latex Agglutination Reaction:RPLA法)

供試菌株は、Trypticase soy broth(TSB)1mlに接種し、37°C18~24時間振盪培養後、12,000rpmで5分間遠心した上清を粗毒素液とした。大腸菌ベロトキシン検出用キット(デンカ生研)を用い、RPLA法により毒素産生性試験を実施し、毒素量の定量はPBS(-)を用いた二倍段階希釈法で行った。VT産生対照株として*E. coli* O157:H7 EDL931およびEDL932株を用いた。

2)遺伝子増幅法(Polymerase Chain Reaction:PCR法)

VT1およびVT2遺伝子の検出は、Cebula TMらが報告した⁹⁾プライマーを用い、VT1は348ベースペア(bp)VT2は584bpの増幅産物の確認を行った。テンプレートDNAは、被検菌を生理食塩水に懸濁し、沸騰水中で10分間加熱したものを用い、反応液の組成は×10反作用緩衝液5μl、dNTP溶液4μl、Taq polymelase0.5μl(和光純薬)、プライマー(0.5μM濃度)各1μl、H₂O26.5μl、テンプレート溶液10μlとした。サーマルサイクラー(アイダホ社製)を用い、変性94°C1分、アニーリング55°C1分、伸長72°C1分を25サイクル行い、増幅したDNAの検出は、3%NuSieve+1%アガロゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイド溶液(0.5μg/ml)で15分染色し、トランスイルミネーター(302nm)で観察した。

3 Krishnanらの生物型および薬剤感受性試験

Krishnanらの分類に従い、ズルシットとラムノースの糖利用能の検討を行い、薬剤感受性試験は、昭和ディスクを用い一濃度法で行った。薬剤は、アミノペニシリン(ABPC)、セファロチン(CET)、クロラムフェニコール(CP)、フォスホマイシン(FOM)、ゲンタマイシン(GM)、カナマイシン(KM)ミノマイシン(MINO)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、の9薬剤を使用した。

4 eae遺伝子および90Kbpプラスミドの検出方法

1) eae遺伝子

eae遺伝子は、Jerse AEらが考案した¹⁰⁾プライマーを用い前記PCR法と同条件で454bpの増幅産物の確認を行った。

2) 90Kbpプラスミド

Kadoら¹¹⁾の方法に準じて抽出したプラスミドを0.7%アガロスゲルで100V40分電気泳動し、エチジウムブロマイド溶液(0.5g/ml)で15分染色後、トランスイルミネーター(302nm)で観察した。サイズマーカー株としては、V517, NR1を用いた。

【結果および考察】

1 菌株の血清型、毒素量の定量およびVTEC患者の臨床症状

菌株の血清型、毒素量の定量およびVTEC患者の臨床症状は表1に示すとおりである。血清型はO157:H7が8株、O157:H-が1株、O153:H19が1株、O26:H11が1株であった。

表1 菌株の血清型、産生毒素量および臨床症状

No.	血清型	産生毒素量		年齢	血便	HUS
		VT1	VT2			
1	O157:H7	32	320	8y	+	-
2	O153:H19	16	-	5y	-	-
3	O157:H7	32	640	2y	+	-
4	O157:H7	-	640	5y	+	-
5	O157:H-	-	160	67y	+	-
6	O157:H7	-	320	41y	-	-
7	O157:H7	16	320	4y	-	-
8	O157:H7	8	320	54y	+	-
9	O157:H7	-	20	16y	-	-
10	O26:H11	8	-	1y	-	-
11	O157:H7	32	640	26y	-	-

単位はng/ml

毒素型は、O157以外の血清型(O153:H19, O26:H11)はVT1単独産生株であり、O157株はVT1, VT2両毒素産生株が5株、VT2単独産生株が4株であった。産生毒素量は、VT1では8~32ng/ml、VT2では20~640ng/mlで、O157が他の血清型に比べ特にVT2の産生量が多かった。O157感染症はその菌体より産生されるVero毒素の細胞内への侵入により細胞破壊が起こり、出血性大腸炎を発症させ、その後血中に侵入し、腎臓をはじめ諸臓器に機能不全を惹起しHUSへ進行したり、脳血管の透過性亢進による脳浮腫や直接脳実質へ侵入し神経細胞その他に障害を与え脳症を起こすと考えられている。今回の結果から、VTEC感染症のなかでO157によるものが重症化する傾向にあり、特にVT2の産生量の多いことが重症化と関係しているものと推察された。

VTEC患者の臨床症状は、O157患者では血便を呈する者が5名(56.5%)と過半数を占めたが、幸いにもHUSへの進行は認められなかった。またNo.6は、No.4の父親であり家族内感染が疑われ、症状はなく保菌者であった。

2 eae遺伝子および90Kbpプラスミドの保有状況

eae遺伝子(図1)および90Kbpプラスミドは表2に



図1 PCR法によるeae遺伝子の検出
M:DNAマーカー 1~11:供試菌株

表2 Krishnanの分類, *eae*遺伝子, 90Kbpプラスミド保有状況

No.	血清型	Krishnanの分類	<i>eae</i> 遺伝子	90Kbpプラスミド
1	O157:H7	C	+	+
2	O153:H19	—	+	+
3	O157:H7	C	+	+
4	O157:H7	C	+	+
5	O157:H-	C	+	+
6	O157:H7	C	+	+
7	O157:H7	C	+	+
8	O157:H7	C	+	+
9	O157:H7	C	+	+
10	O 26:H11	—	+	+
11	O157:H7	C	+	+

表3 薬剤感受性試験結果

No.	ABPC	CET	CP	FOM	GM	KN	MONO	SM	TC
1	R	S	S	S	S	S	S	R	R
2	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	R	S	S	S	S	S	S	S	R
4	R	S	S	S	S	S	S	S	R
5	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	S	S	S	S	S	S	S	S	S
9	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	S	S	S	S	S	S	S	S	S
11	S	S	S	S	S	S	S	S	S

示すとおり、今回供試した11株全てが保有していた。これらの因子は、HEp-2細胞³⁾やHeLa^{1,2)}への付着を支配し、細胞の骨格に障害を与えたり、微絨毛の剥奪、細胞膜のアクチン構造の崩壊に関係すると言われ⁶⁾VTEC感染症の病原性発症機構に関与しているものと考えられているが、未だ不明な点が多く、今後その役割について更に検討する必要があると思われた。

3 Krishnanの生物型および薬剤感受性試験

E.coli O157のKrishnanの生物型は表2に示すとおり、供試菌株全てがズルシット、ラムノース陽性でありC型に分類された。

薬剤感受性試験は、表3に示すとおり、ABPC, SM, TC耐性株が1株、ABPC, TC耐性株が2株認められたが、厚生省が指定したVTEC感染症の選択治療薬剤¹⁾であるFOMに耐性のものは認められなかった。

4 PFGEによるO157の疫学的解析

国立感染症研究所に依頼し、O157株についてパルスフィールドゲル電気泳動による染色体DNAの制限酵素(XbaI)切断パターン解析を行った。表4に示すとおり、供試各株によってパターンが違っており、それぞれ由来の異なる株であると考えられた。岡山県邑久町や堺市で分離した株のパターンとも違っていった。

No.4とNo.6は家族内感染と考えられる株であるが、耐性パターンが異なっていた。PFGEパターンは同一であったことから、No.6は保菌中に何らかの原因で遺伝子形質が変化したものではないかと考えられたが、これについては今後更に詳細なプラスミドプロファイル等を検討するつもりである。

今回分離した11株は、全て散発事例であり、その感

染源については不明であった。わが国で発生した集団事例で感染源が特定できたものは、岐阜市の‘おおかササラダ’、盛岡市の‘カボチャサラダとシーフードソーズ’、帯広市の‘ポテトサラダ’等数例に過ぎない。昨夏のような事態を繰り返さないためにも感染源の究明が急務であると思われた。

表4 O157に関するPFGEパターン結果

No.	XbaIパターン		
	(100kbp以下)	(100~400kbp)	(400kbp以上)
1	ND	IIb	I
2	—	—	—
3	IIIa	IIb	III
4	IIIb	ND	ND
5	ND	ND	ND
6	IIIb	ND	ND
7	ND	IIb	I
8	ND	IIb	I
9	ND	ND	ND
10	—	—	—
11	不明	不明	不明
邑久町	Ic	I	I
堺市	IIa	IIb	I

*パターン表示は国立感染症研究所の分類による

【まとめ】

1996年川崎市内で分離したVTEC11株について毒素量の定量、薬剤感受性試験等について検討し、以下の結果を得た。

1. O157の毒素産生量が他の血清型に比べ特にVT2が多く検出され、臨床症状も血便を呈する者が多かった。
2. 供試菌株全てが*eae*遺伝子および90Kbpのプラスミドを保有していた。
3. ABPC, SM, TCに対して耐性株が認められたが、FOMに対する耐性株は認められなかった。O157に関するKurishnanらの生物型はC型であった。
4. O157に関するPFGEによるパターン解析の結果は、各株によってパターンが違っており由来の異なる株であると考えられた。

【謝辞】

O157分離株のPFGEを実施していただいた国立感染症研究所渡辺治雄先生および関係スタッフの方々に感謝いたします。

【参考文献】

- 1) Karmali.M.A.:Infection by Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli*. Clin Microbiol.Rev.,2:15-38, 1989
- 2) O'Brien,A.D.,et al:Shiga and Shiga-like toxins. Microbiol.Rev.,51:206-220,1987.
- 3) 小川正之：病原大腸菌の下痢原性に関する研究：Vero細胞致死毒素産生大腸菌の検出およびそれらHEp-2細胞付着性。お茶の水医学雑誌，37:181-190,1990
- 4) Barrett,T.J.,et al:Virulence factors in Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* Isolated from Human and cattle. J.Infect.Dis.,165:979-980,1992
- 5) 八柳 潤：秋田県で散発下痢症から分離されたVero毒素産生性大腸菌の性状。感染症誌，69:1286-1293, 1995.
- 6) 小川正之 他：川崎市における下痢症由来大腸菌のShiga-Like toxinの産生について。感染症誌，59(臨時増刊号)：176-177,1985.
- 7) 小嶋由香 他：散発下痢症者からのVero毒素産生性大腸菌の検出状況について。川崎市衛研年報，29, 85-89,1993.
- 8) Krishnan,C.,et al:Laboratoy investigation of outbreak of Hemorrhagic colitis cased by *Escherichia coli*.J.Clin.Miclobiol.25:1043-1047,1987
- 9) Cebula T.M.,et al:Simultaneous identification of strains *Escherichia coli* sero type O157:H7 and their Shiga-like toxin type by mismatch amplification muton assay-multiplex PCR.J.Cli Microbiol 33:248-250,1995.
- 10)Jerse AE.,:A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissueculture cells.Proc Natl Acad Sci USA 87:7839-7843,1990.
- 11)Kado Cl,et al:Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids.J.Bacteriol 145:1365-1373,1981.
- 12)塚本定三：下痢症から分離した大腸菌の*eae*遺伝子と細胞付着性および血清型について：感染症誌，69: 85-90,1995.
- 13)腸管出血性大腸菌感染症の診断治療に関する研究班：一次、二次医療機関のためのO-157感染症治療のマニュアル，P3-4,1996.

環境からのレジオネラ属菌の検出状況について

本間 幸子 小川 正之 関口 忠男 松尾 千秋
 小嶋 由香 植田 葉子 佐久間 貞 安藤 正義

レジオネラ属菌は、1979年に米国において発見された呼吸器系の病原細菌である。本菌が原因で発症するレジオネラ症には2タイプがあり、その臨床症状により肺炎型と非肺炎型(ポンティアック熱)に分かれる。

本菌は、本来自然界の土壌や淡水に広く分布している¹⁾²⁾が、偶然に野菜や魚介類に付着してあるいは水の微粒子(ミスト)や土埃とともに河川水、湖水、水道水、ビルの冷却塔水^{3)~5)}やシャワーなどヒトの生活環境を汚染している。このような水環境から生じる目に見えないエアロゾルを吸入することにより日和見感染症(特に肺炎)の原因菌となる⁶⁾。

近年、本菌属が原因で温泉水の誤飲や乳児の沐浴による肺炎が報告される一方で、通産省が家庭用24時間風呂におけるレジオネラ汚染を指摘したことから、関心が高まり社会問題化してきている。

本市においても、一部の保健所で1995年より温泉水、給湯水、冷却塔水などの調査を実施している。ここでは、24時間風呂浴槽水を含めた環境水由来の本菌属の検出状況を報告する。

【材料および方法】

- 1) 検査期間 1995年6月～1997年4月
- 2) 採水場所および検体数
 - 給湯水：旅館，ホテル(ビジネスホテル含む)，会社，保健所，病院 計44件
 - 家庭用24時間風呂：市内在住者 計24件
 - 給水塔(高架タンク)：病院 計3件
 - 大型浴槽水：公衆浴場，老人いこいの家，病院 計44件
 - 温泉水：中原区管内の温泉施設(原水および浴槽水)計36件
 - 冷却塔水：大手スーパー，会社ビル，病院 計21件
 - 空調用加湿器：温水，蒸気，気化式の3タイプ

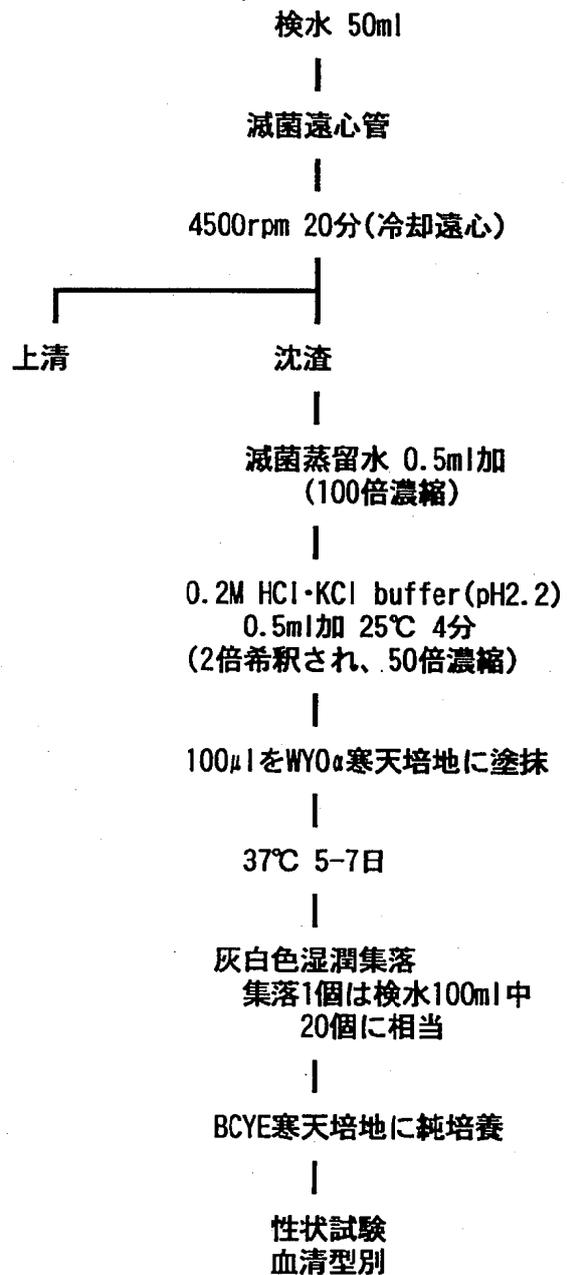


図1 環境水中のレジオネラ属菌の検出法

計11件

検体総数 183件

3) 採水方法

保健所監視員が立ち入り調査時に検体を滅菌採水ビンに採取した。

4) 検査方法

a. 一般細菌数, 大腸菌群⁷⁾

水質基準に関する省令(1992年厚生省省令第69号)に準ずる。

浴槽水においては公衆浴場における水質等に関する基準についてを参照した。

b. レジオネラ属菌⁸⁾

レジオネラ症防止指針の検査法に準ずる。すなわち検水50mlを冷却遠心(4500rpm, 20 min)し, 沈査に滅菌蒸留水0.5mlを加え100倍濃縮後酸処理(PH2.2)を行い, WYO α 寒天培地(栄研化学)に塗抹, 37°C 5~7日(最長10日まで)培養した。灰白色でわずかに透明感のある湿潤な集落を算定後, 釣菌し, 性状試験(オキシダーゼ, カタラーゼ, 馬尿酸分解, ブドウ糖利用)を実施し, 本菌属を同定した。また, レジオネラ免疫血清(デンカ生研)を用いてスライド凝集反応により血清型別(I~VI)を行った。

表1 レジオネラ属菌の検出状況

検体名	給湯水	24時間風呂	浴槽水	温泉水	冷却塔水	加湿器	給水塔	合計
検査件数	4	4	4	3	2	1	3	18
陽性数 (%)	0	10	2	4	1	0	0	17
	0	41.7	4.5	11.1	4.8	0	0	9.3

表2 環境水由来*L.pneumophila*の菌数及び血清型

No.	由来	レジオネラ属菌数 (CFU/100ml)	血清型	一般細菌数 (1ml中)	大腸菌群 (50ml中)
1	温泉水(浴槽水)	440	UT	4.1x10 ⁴	検出
2	" (")	120	UT	5.0x10 ⁴	不検出
3	" (")	70	V	4.1x10 ⁴	検出
4	冷却塔水	230	UT	1.3x10 ³	検出
5	温泉水(浴槽水)	3400	UT	5.9x10 ²	検出
6	浴槽水(ツグツグ-貼)	640	V	—	—
7	" (薬湯)	7300	I	—	—
8	24時間風呂	6100	V	—	—
9	"	1300	III	2.8x10 ²	0/ml
10	"	1700	UT	5.6x10 ²	0/ml
11	"	3400	UT	10	0/ml
12	"	1200	V	4.7x10 ³	0/ml
13	"	40	III	6.5x10 ²	0/ml
14	"	200	VI	9.8x10 ²	0/ml
15	"	100	III	7.8x10 ²	0/ml
16	"	100	III	1.0x10 ³	0/ml
17	"	20	III	54	5/ml

【結果および考察】

各検体からのレジオネラ属菌の検出状況は表1のとおりである。検体総数183件中17件(9.3%)からレジオネラ属菌が検出され、すべて*Legionella pneumophila*であった。検体別で検出率の最も高いものは家庭用24時間風呂で24検体中10件(41.7%)から検出され、次いで温泉水4件(11.1%)、冷却塔水1件(4.8%)、浴槽水2件(4.5%)の順であった。一般家庭で使用されている24時間風呂は、浴槽水を40°C前後に保ち使用後も浴槽水を交換せず、狭い容積内で繰り返し水を循環使用しているため汚染率が高かった。浴槽水から検出した2施設は公衆浴場とスポーツクラブのジャグジー風呂で不特定多数の人々が利用可能な場所であった。古畑ら⁹⁾の報告によるジャグジー27件中1件から 1.0×10^2 CFU/100mlのレジオネラ属菌の汚染が認められているが、今回の私達の結果でもジャグジー風呂浴槽水からは 6.4×10^2 CFU/100mlのレジオネラ属菌が検出され、公衆浴場の浴槽水(薬湯)にいたっては 7.3×10^3 CFU/100mlの汚染が認められた(表2参照)。また、今回検査を行った老人いこいの家の浴槽水からは幸いにもレジオネラ属菌は検出されなかったが、過去に老人が温泉水を誤飲したことにより肺炎が発症し、死亡した事例¹⁰⁾もあることから今後も監視を続け、定期的に検査を実施するなどの注意が必要であると思

われる。

環境水より検出された*L.pneumophila*の菌数と血清型は表2のとおりである。それぞれの菌数(CFU/100ml)は、温泉水で70~3400、冷却塔水230、浴槽水640~7300、24時間風呂20~6100であった。菌数別に見ると、レジオネラ症防止指針が示すレジオネラ属菌数と対策⁹⁾を適用すると表3のとおりで幸いにも今回の調査結果からは「要緊急処理範囲」に該当する汚染は認められなかったが、「望ましい範囲」である 1×10^2 未満の検体は3件(17.6%)のみであって、「要観察範囲」である $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^3$ 未満は7件(41.2%)、「要注意範囲」である $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ 未満は7件(41.2%)であった。最大値は、No.7の浴槽水から検出された7300CFU/100mlであった。血清型は17件中Ⅲ型が5件、Ⅴ型が4件、Ⅰ型が1件、Ⅵ型が1件で6件が型別不能であった。古畑ら¹⁾、藪内ら⁶⁾は、冷却塔水や修景用水から検出されるのは*L.pneumophila*Ⅰ型が圧倒的に多いが浴槽水や温泉水ではⅣ~Ⅵ型が多い傾向にあると報告しており、今回の結果も温泉水やジャグジー風呂浴槽水からはⅤ型であったが、薬湯からはⅠ型であり、これは乾燥葉草の汚染によるものと考えられた。

家庭用24時間風呂からのレジオネラ属菌の検出状況は表4のとおりである。

表3 レジオネラ属菌数の範囲と検出率

区 分	レジオネラ属菌数 (CFU/100ml)	検 出 件 数	検出率 (%)
(望ましい範囲)	1×10^2 未満	3/17	17.6
(要観察範囲)	$1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^3$ 未満	7/17	41.2
(要注意範囲)	$1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$	7/17	41.2
(要緊急処理範囲)	1×10^5 以上	0/17	0

表4 家庭用24時間風呂からのレジオネラ属菌の検出状況(再掲)

No.	レジオネラ属菌数 (CFU/100ml)	血清型 (SG)	一般細菌数 (1ml中)	大腸菌群 (1ml中)
1	不検出	—	—	—
2	6100	V	—	—
3	不検出	—	—	—
4	不検出	—	—	—
5	不検出	—	—	—
6	不検出	—	—	—
7	不検出	—	—	—
8	不検出	—	—	—
9	不検出	—	1.2×10 ³	0
10	不検出	—	2.9×10 ³	0
11	不検出	—	1.2×10 ⁵	0
12	不検出	—	1	0
13	不検出	—	2.9×10 ³	0
14	不検出	—	7.8×10 ²	0
15	1300	III	2.8×10 ²	0
16	1700	UT	5.6×10 ²	0
17	3400	UT	10	0
18	1200	V	4.7×10 ³	0
19	40	III	6.5×10 ²	0
20	200	VI	9.8×10 ²	0
21	100	III	7.8×10 ²	0
22	100	III	1.0×10 ³	0
23	20	III	54	5
24	不検出	—	1.7×10 ²	0

表5 レジオネラ属菌の検出と一般細菌数

一般細菌数 (CFU/ml)	L. p./一般細菌 検出件数	L. p.の検出率 (%)
1×10 ² 未満	2/3	66.7
1×10 ² ~1×10 ³ 未満	6/7	85.7
1×10 ³ ~1×10 ⁴	3/6	50.0
1×10 ⁴ ~1×10 ⁵	3/3	100.0
1×10 ⁵ 以上	0/1	0

大腸菌群の結果については、公衆浴場における水質基準に準じて検査を実施したところ、一検体のみ検出(5個/ml)され、それ以外はすべて不検出(0個/ml)で基準に適合していた。また、一般細菌数の結果は表4のNo.11の検体から 1.2×10^5 CFU/100mlが最大値であった。一般細菌数と*L.pneumophila*の検出との関係は表5のとおりで 1×10^3 CFU/100ml未満は10検体中8件(80.0%)、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^6$ CFU/100ml未満が10検体中6件(60.0%)で両者の相関関係は認められなかった。表4の24検体中、No.2→5, No.17→20, No.19→21→22→23→24は同一浴槽水を換水した検体である。No.2は、全換水後再検査(No.5)を行ったところ 10^3 オーダーあった*L.pneumophila*が不検出となった。No.17も同様に全換水後、3400CFU/100mlからNo.20の200CFU/100mlへ減少した。どちらも風呂の清掃・換水の効果と思われた。No.19については、使用中(No.19→21→22)と換水後(No.23→24)の経時変化を検討した。換水前は風呂の使用回数が増えるにつれ、*L.pneumophila*も40→100→100CFU/100mlと増加傾向がみられ、換水後は20→0CFU/100mlと減少した。李ら¹¹⁾は、予備実験として毎日浴槽水を交換する一般家庭の浴槽水8家庭からレジオネラ属菌の分離を試みたがすべて陰性だったと報告している。しかし、24時間風呂では浴槽水は常に一定温度に保たれているためレジオネラ属菌を完全に除去することは難しく、構造的に循環濾過装置内で菌が発育し、継続した汚染を引き起こすものと思われる。藪内ら¹²⁾は遊離塩素濃度が0.4mg/lになるように塩素を加えると15分以内にレジオネラ属菌が死滅し、また李ら¹¹⁾は、毎日使用後の浴槽水に初期濃度が2ppmになるように塩素を投与するとレジオネラ属菌は検出されなくなると報告している。

このように毎日換水する一般家庭の浴槽水と同様に24時間風呂浴槽水についても定期的に浴槽内の清掃・換水・塩素投入を行うことは、*L.pneumophila*による汚染を除去し、あるいは菌数を常に少なく維持するために非常に有効な手段と思われる。

【まとめ】

浴槽水や冷却塔水からのレジオネラ属菌の分離が広く報告されている。今回の調査でもレジオネラ属菌は24時間風呂水、公衆浴槽水、温泉浴槽水、冷却塔水か

ら検出され、広域にわたる水環境に存在し得るものと考えられる。発症予防には菌が生息しても増殖の機会をあたえぬよう、清掃・換水などの管理の徹底が必要と思われる。

最後に、本調査にご協力いただいた保健所衛生課の皆様へ深謝いたします。

【文献】

- 1) 古畑勝則：レジオネラ属菌の検査法と水環境からの検出状況. 環境管理技術, 15(5):236-243,1997
- 2) 伊藤直美：わが国全土における*Legionella*の分布調査および検出菌の病原性に関する研究. 感染症学雑誌, 57(8):682-693,1983
- 3) 江花恭子, 他：冷却塔水のレジオネラ属菌の生息調査について(1). 福島県衛生公害研究所年報No.13:65-70,1996
- 4) 小出道夫, 他：近畿地方のクーリングタワー水からの*Legionella*の分離. 感染症学雑誌, 65(12):1578-1582,1991
- 5) 古畑勝則：空調用冷却塔におけるレジオネラ属菌の生息状況. 東京都衛研年報41:186-195,1990
- 6) 藪内英子：レジオネラ症の現況と対策. モダンメディア, 42(5):20-25,1996
- 7) 日本水道協会 上水試験方法, 1993
- 8) 財団法人ビル管理教育センター レジオネラ症防止指針, 1994
- 9) 古畑勝則, 他：水環境からのレジオネラ属菌の検出状況. 日本公衛誌 第56回日本公衆衛生学会総会抄録集1421,1997
- 10) 徳田 均, 他：公衆浴場での溺水後発症した*Legionella pneumophila* serogroup6 による劇症肺炎の1例. 感染症学雑誌71(2):169-174,1996
- 11) 李 娜, 他：24時間循環風呂のレジオネラ汚染とその感染防止対策. 感染症学雑誌71(8):763-769,1996
- 12) 藪内英子, 他：*Legionella*属菌に対する塩素の殺菌効果. 感染学雑誌69(2):151-157,1994

アレルギー調査と抗体測定について

鈴木 壮美 原 玲子 青山 林作
 鏑木 友子(多摩保健所)

現代病、文明病とも言えるアレルギー疾患が年々増加している。今日では日本人の約3割の人が何らかのアレルギーに関係があると言われている。アレルギー性鼻炎は症状が一年中持続する通年性アレルギー性鼻炎と季節性アレルギー性鼻炎に分類され、通年性鼻炎はダニ、ハウスダストが大部分で、季節性鼻炎は花粉が主に抗原となる。これら抗原がおよぼすアレルギー症状・アレルギー抗体について医療機関の協力を得て調査を行った。

【I. 対象および方法】

(1)対象者：平成7年4月から11月までアレルギー性鼻炎等で本市川崎病院耳鼻科外来を受診した者29名(Aグループ)、一般受検者「アレルギー検査希望者」でアレルギー既往歴のある者16名および健常者5名計21名(Bグループ)、合計50名を対象とした。

(2)調査：調査票の記入は、Aグループは問診により、Bグループは各自で記入した。

(3)方法：アレルギー特異的IgE抗体の検索にはELISA法を原理としたクイーデル アレルギー スクリーン QAS-Ⅲ、QAS-ⅣおよびQAS-V(富士レビオ)を用い15項目を測定。総IgE定量の測定にはイムザインIgE(富士レビオ)を使用した。各方法とも添付の使用書通り実施した。

【II. 結果】

(1)対象者の年齢は(図-1)両グループの合計は10才未満1名(2%)、10才代3名(6%)、20才代13名(26%)、30才代17名(34%)、40才代8名(16%)、50才代5名(10%)、60才代以上3名(6%)で、男女別では男性16名(32%)、女性34名(68%)である。

(2)症状に関する調査(図-2)は「重複回答」鼻：クシャミ30名(60%)、はな水30名(60%)、鼻閉21名(42%)、眼：眼のカユミ20名(40%)および、アレルギー歴：鼻炎20名(40%)が主である。

(3)特異IgE抗体の検査(図-3)は「重複回答」花粉

系ではスギ24名(48%)、室内塵系ではコナヒョウヒダニ22名(44%)、ヤケヒョウヒダニ21名(42%)、ハウスダスト11名(22%)多く、食餌系では検出されていない(内科、小児科、皮膚科系)。

(4)総IgE抗体の検査はグループ別の平均はAグループ：206(IU/mL)、Bグループ：342(IU/mL)で一般受検者が高値である。

【III. 考察】

(1)検査対象者の男女比較については68%が女性である。(診療部門でも同等との事)

(2)症状の調査内容は、疾患名に関して耳鼻科はアレルギー性鼻炎、一般受検者のうち一部は花粉症と自己判断している。また、症状は花粉症の主症状である鼻(クシャミ、はな水)が主であり、検査日からの推定から季節的な特長は春～夏までは眼のカユミを同時に訴えるが夏以降は高温、多湿のためか減少がみられる(スギ花粉特有の季節性アレルギー)。罹病年数はAグループ：4.9年、Bグループ：3.3年、Bグループは今後罹病年数の長期化が考えられる。罹病家族の構成は各グループ同様である。

(3)特異的IgE測定で、スティック パット(テープ)がムラに染まる時(洗浄不良)は陰性、均一に染まる場合のみ陽性と判断した。なお、検出感度を上げるには第一反応を長くすれば判定保留領域の鑑別が明確になる。花粉症の季節的な原因植物(初春：スギ、初夏：カモガヤ・ハルガヤ、晩夏～秋：ブタクサ・ヨモギ)を

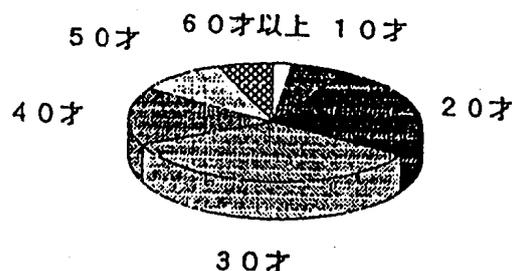


図1 対象者の年齢構成

を特徴とする抗体の相違は見られず、四季を通じて抗体を保有していた。なお、季節による抗体価(総IgE量)の変動は不明。

(4)総IgEでBグループが高値の原因は長期の罹病者(小児喘息等)が含まれていることが原因と考える。年齢による総IgE量の差異はみられない。(検査はアレルギー症状→総IgE量→特異的IgEと進められるが、データは必ずしも臨床側と一致するとは限らない。)

【IV. 結語】

(1)特異的IgE測定のカイデル アレルギースクリーン法は反応過程にオーバーナイトがあり最低2日間を要するため即日検査は不可であるが、専用洗浄器を使用すれば洗浄誤差も少なく、発色後の測定もQRXア

ナライザーを用いれば客観的な測定ができる。総IgE測定で標準液および検体を2重測定するが誤差はみられない。各試薬ともに特別な機器を必要とせず比較的容易にアレルギー測定が可能である。

(2)現在、約180種のアレルゲン測定は可能であるが、果物・金属などの発症報告もあり起因アレルゲンの検索や測定項目の増加が考えられる。アレルギーの発症メカニズムは飛躍的に解明が進められているが不明な点も多く今後の研究に期待したい。

(この調査にあたり、川崎病院耳鼻科 坂本 裕先生、検査科 岡田房夫先生に御指導・御協力をいただきました。)

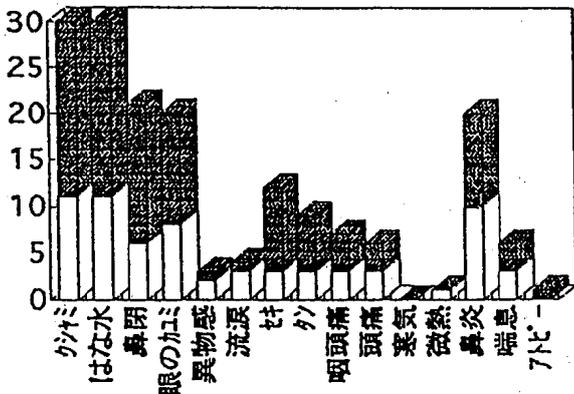


図2 症状に関する調査

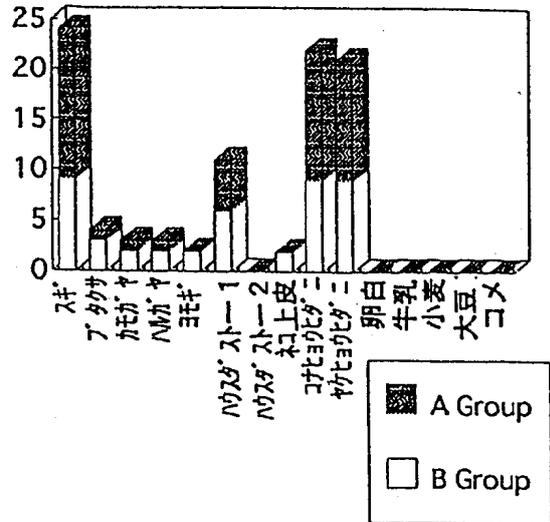


図3 特異IgE抗体の陽性数

RT-PCR法によるライノウイルスの検出状況

清水 英明 春山 長治 佐久間 貞

ヒトライノウイルス(HRV)は、エンテロウイルス(EV)と共にピコルナウイルス科に属する1本鎖のRNAウイルスである。HRVには100以上の血清型があり、そのため、ウイルスの分離・同定や血清学的検査による感染の確認は難しい。現在のところ、一部の検査機関でHRV検出の報告があるにすぎない。

HRVは主に発熱、咽頭痛、咳、鼻汁等の症状が認められ、一般的なかぜ症候群の主要ウイルスとされている¹⁾。しかし、小児においては下気道炎を引き起こし重症化することがあり、また、HRVと小児喘息の関連についての報告もみられる^{2) 3) 4)}。今回、RT-PCR法によってHRV遺伝子の検出を行ない、年間における流行状況を把握するとともに、感染が証明された患者の年齢および臨床症状について比較検討を行なった。

【材料と方法】

検体：1996年4月から1997年3月にかけて、川崎市内の小児科に呼吸器疾患で来院した患児286名を対象とし、鼻汁吸引液および咽頭ぬぐい液を採取して検体とした。

RNAの抽出：検体を、3,000rpmで20分遠心し、その上清にIsogen-LS(ニッポンジーン)とクロロホルムを加え、攪拌後、12,000rpmで15分遠心した。上清にグリコーゲン添加イソプロパノールを加え-30℃で一晩放置した。翌日、15,000rpmで30分遠心後、沈渣を70%エタノールで洗浄し、真空乾燥した。

RT-PCR法：抽出したRNAは、逆転写酵素(M-MLV)で37℃で60分、95℃で5分反応させて、cDNAを作製した。

PCRは耐熱性酵素(Taq DNA polymerase)を用い、94℃1分(熱変性)、55℃1分(アニーリング)、72℃1分(伸長反応)を40サイクル行なった。その産物を1.5%アガロースゲルで泳動し、エチジウムブロマイド染色にてDNAバンドを検出した。なお、試薬の反応組成については酵素に添付された説明書の条件によって作製した。

プライマー：プライマーの設定部位は、構造遺伝子であるVP4および5' ノンコーディングリージョンの領域で、ピコルナウイルス科に共通して保存されているものを用いた。そのため、このプライマーはHRVだけでなくEVも検出することができ、PCR産物の長さはHRVが約240bp、EVが約360bpである。

【結果】

RT-PCR法によりHRVに特異的なバンドが認められたのは286検体中107例(37.4%)であった。また、41例(14.3%)でEVに特異的なバンドが認められた。陽性検体のうち31例(10.8%)においてHRVとEVの両方のバンドが検出され、混合感染も認められた。

月別のライノウイルス検出数を図1に示した。検出数は5月～7月、9月～11月に多く、最も多く検出されたのは11月で24例検出された。

年齢別では0～4歳で多く検出され、1歳の患者で27例と最も多く認められた(図2)。また、0歳のうち5ヵ月以下と6ヵ月以上で比較したところ、5ヵ月以下が1例、6ヵ月以上が12例と明らかな差が認められた。

疾患別では気管支喘息34例、喘息性気管支炎15例、クループ症候群3例、肺炎3例で喘鳴を伴う患者から高率に検出された。

【考察】

HRVは細胞による分離・同定検査が難しく、最近では、他の呼吸器ウイルスに比べると詳細な報告例が少なくなっている。今回使用したRT-PCR法は迅速かつ高感度な検査法であり、24時間以内に判定が可能であった。また、反応系の検出感度を、無菌性髄膜炎の患者髄液から分離されたエコー-30型のウイルス感染細胞上清を用いて測定したところ、約80TCID₅₀/mlのウイルス液まで検出可能であり、HRVについてもほぼ同等の検出感度と思われる。

HRVは一般的に春と秋に流行するとされている。今回の結果において春(5月～7月)と秋(9月～11月)

の季節で多く検出され、過去のHRVの疫学状況の報告²⁾と一致していた。また、下気道炎、特に喘鳴を伴う患者から高率にHRV遺伝子を検出することができた。このことからHRVの感染は小児においては単なるかぜ症候群にとどまらず重症例もみられること、そして、喘息性の症状に深く関与しているものと示唆される。

年齢別では12歳以下の患者からHRVが検出され、その検出数は4歳以下の乳幼児から多く検出された。しかし、5ヵ月以下の乳児では検出数が少なく、母親からの移行抗体による感染防御が成立していると考えられる。

【文献】

- 1) 松本一郎, 他: 小児呼吸器感染症のウイルス学的サーベイランス I. 盛岡市における10年間の呼吸器ウイルスの病原疫学. 感染症誌, 65:423-432,1991
- 2) 松本一郎, 他: 小児呼吸器感染症のウイルス学的サーベイランス II. ライノウイルス感染症. 感染症誌, 65:1286-1295,1991
- 3) Monto, A.S., et al.: Rhinovirus infections in Tecumseh, Michigan. J. Inf. Dis., 156:43-49, 1987
- 4) Minor, T.D., et al.: Rhinovirus and influenza type A infections as precipitants of asthma. Am. Rev. Resp. Dis., 113:149-153, 1976

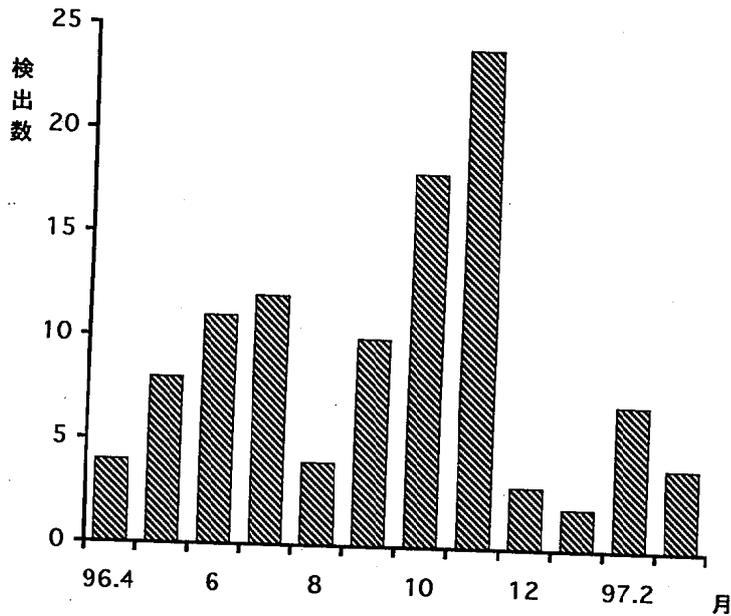


図1 月別HRV検出状況

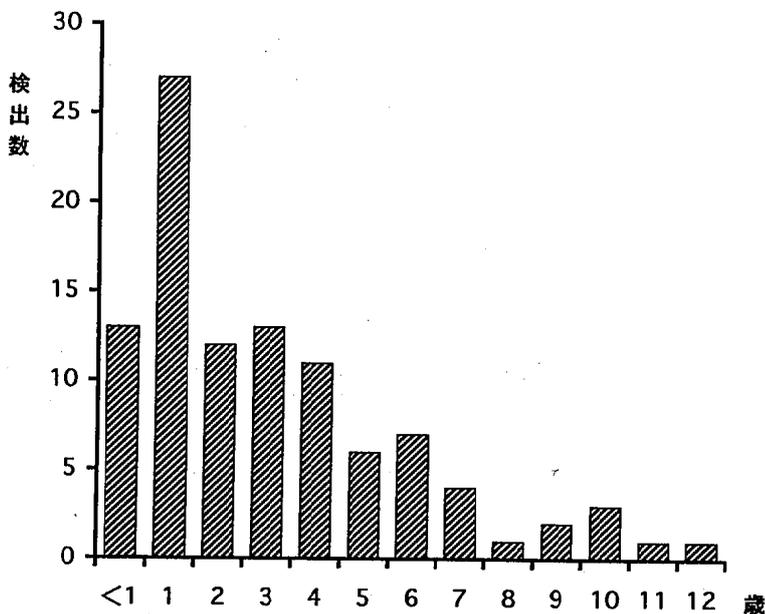


図2 年齢別HRV検出状況

川崎市におけるスギ花粉飛散調査成績(1997年)

佐藤 英毅 青山 林作

本市におけるスギ花粉捕獲調査は、地上では1986年から、上空ではヘリコプターによって1988年から各々継続して行ってきた。ここでは、これまでの地上と上空における調査成績^{1), 2), 3), 4), 5)}に加えて、カーフェリーによる東京湾での海上調査の成績を追加し、スギ花粉の飛散状況を考察する。

【調査方法】

1. 地上捕獲

衛生研究所の敷地内で、年間を通じて最も環境が安定していると考えられた、3階部分の屋上の中心に位置する場所で捕獲した。捕獲器はDurham式標準捕集器に、白色ワセリンを薄く塗布したスライドガラスを装着して、毎朝9時に交換する、24時間暴露方式をとった。IS・rotary式捕集器も近くにおいて同様な調査を行った。

2. 上空捕獲

本市消防局航空隊のヘリコプターに便乗し、ワセリンを塗布したスライドガラスを捕獲棒に装着して調査定点上空で5分間機外に暴露した。高度は標準を300mとし速度は80km/hとした。定点は本市を中心にして高島平、橋本、鎌倉および富津とした。

3. 海上捕獲

海上調査は、東京湾の川崎-木更津および久里浜-金谷間を往復するカーフェリーの定期便に乗船し、甲板にDurham式捕集器を置きこれを標準とした。それとは別に手摺に上空調査と同様のスライドガラスを張り付けて、付着した花粉を調べた。

4. 同定

得られた花粉はゲンチアナ・バイオレット・グリセ

リンゼリーで加温染色した後、生物顕微鏡で観察した。カバーガラスは原則として18mm四方のものをを用い、全数を計測したのち1cm²あたりに換算した。

ゲンチアナ・バイオレット・グリセリンゼリーの組成は、ゲラチン(10g)、グリセリン(60ml)、0.1%メチルバイオレット・アルコール溶液(1.0ml)、蒸留水(35ml)、液状フェノール(0.5ml)とした。

【成績および考察】

Durham式での初捕獲日は1997年の1月7日で1cm²当たり0.6個であった。これは過去12年間のうちで、早い順に第6順位の成績であった。最多捕獲日は3月7日の399個/cm²で、一日当たりの捕獲数としては第3順位に多い数値であった。最終捕獲日は4月25日で0.6個/cm²捕獲され、第4順位に早い終息となった。飛散期間は109日で、第6順位に長かった。年間総捕獲数は2,916個/cm²で第3順位に多い年となった。(表1, 図1)。ヒノキ花粉はスギ花粉の減少しはじめる3月下旬から捕獲され始め、4月1週と2週にピークが認められた(表2)。上空調査では、これまでと似か

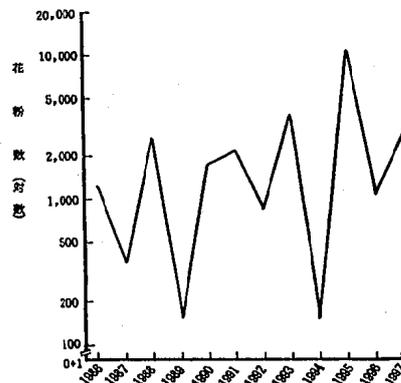


図1 川崎市衛生研究所屋上におけるスギ花粉捕獲数の推移
Durham式捕集器による1cm²当りの年間総数

表1 川崎市衛生研究所屋上におけるスギ花粉捕集状況

年度	初捕獲 月/日	初捕獲 個数	最終捕獲 月/日	最終捕獲 個数	期間 日数	最多捕獲 月/日	最多捕獲 個数	月別捕獲数						2,3,4月の 合計	2,3,4月の 捕獲率(%)	
								11月	12月	1月	2月	3月	4月			5月
1997	1/7	1	4/25	1	109	3/11	399	0	0.3	1	285	2,538	92	0	2,916	(100.0)

* Durham式標準捕集器使用, 花粉数(個/cm²/24h)。12月の0.3個は今回初捕獲日とはしなかった。

表2 スギおよびヒノキ花粉の季節消長(1997)

日	1月		2月		3月				4月			
	スギ		スギ		スギ		ヒノキ		スギ		ヒノキ	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	0	0	0	0	288.9	468.2	0	0	15.7	16.7	9.0	11.7
2	0	0	0	0	141.0	311.7	0	0	12.0	35.8	8.6	118.5
3	0	0	0	0	7.1	16.7	0	0	2.8	2.1	1.9	3.1
4	0	0	0	0.3	25.6	30.6	0	0	0.6	7.1	2.5	5.6
5	0	0	0	0	134.9	148.8	0	0	4.3	1.9	0.9	0.6
6	0	0.3	0	0	122.2	513.6	0	0	0	0	0	0
7	0.6	0	0	0	398.5	1,242.0	0	0	0.9	3.7	57.7	90.1
8	0	0.3	0	0	172.5	346.0	0	0	6.5	10.8	69.8	160.8
9	0	0	0	0	69.8	266.7	0	0	22.5	126.5	198.8	538.3
10	0	0	0.3	0.6	48.1	372.2	0	0	6.8	23.8	98.8	251.9
11	0	0	0.9	7.2	103.7	729.9	0	0	3.7	7.1	105.2	231.2
12	0	0	0	1.2	61.4	230.2	0	0	6.5	15.7	29.9	171.6
13	0	0	0.3	0.6	35.8	86.1	0	0	4.0	13.9	69.1	211.4
14	0	0	0	0.3	53.4	61.7	0	0	0.9	8.6	8.6	170.4
15	0	0	0.3	1.8	37.0	153.7	0	0	0.6	4.9	4.0	38.6
16	0	0	1.5	3.1	0.9	7.7	0	0	0.3	0.9	1.5	8.3
17	0	0	2.5	11.1	169.1	506.5	0	0	0.3	0.6	0.9	18.2
18	0	0	8.3	7.7	75.3	263.6	0	0	0	0.9	0	8.6
19	0.3	0.3	13.3	19.8	87.7	302.5	0	0	1.2	7.1	7.1	296.9
20	0	0	24.7	328.4	41.9	242.0	0	0.9	0	0.6	0.9	6.5
21	0	0	9.9	32.1	30.6	95.7	0	0	0	0	1.5	13.3
22	0	0	3.7	16.7	29.9	194.8	0.3	3.1	0	0	0.3	3.4
23	0	0	1.9	2.8	49.7	228.7	0.6	0.6	2.2	5.2	6.8	24.7
24	0	0	1.5	1.5	67.6	383.3	0	0.9	0	3.4	0.6	24.7
25	0	0	77.5	422.8	41.4	211.1	3.1	13.6	0.6	0.9	1.2	26.2
26	0	0	36.7	237.0	25.3	40.7	0.6	12.3	0.3	1.5	12.5	11.7
27	0	0	44.1	215.7	26.2	110.7	9.6	34.0	0	0.9	5.6	21.0*
28	0	0	57.7	354.9	17.6	59.9	4.3	19.8	0	0	0	0
29	0	0	-	-	4.9	32.1	2.5	20.7	0	0	0.9	12.3
30	0	0.6	-	-	113.9	286.4	20.7	382.7	0	0	0	2.8
31	0	0	-	-	56.2	191.0	16.0	51.9	-	-	-	-
計	0.9	1.5	285.1	1665.6	2538.1	8134.8	57.7	540.5	92.7	300.6	704.6	2482.4

*衛生研究所屋上定点, A:Durham式捕集器, B:IS・rotary式捕集器, 花粉数:個/24h/cm².

表3 ヘリコプターによる上空スギ花粉捕獲成績 (1996/12~'97/04)

定 点	12月24日				1月27日				2月5日				2月18日							
	花粉数	℃	風向	風速	天気	花粉数	℃	風向	風速	天気	花粉数	℃	風向	風速	天気	花粉数	℃	風向	風速	天気
川崎	0.11	5	NE	3	晴	0	6	S	4	晴	0.16	6	ESE	2	晴	8.1	6	S	3	晴
橋本	0.15	6	SE	2	晴	0	-6	SSE	5	晴	0	5	SSE	4	晴	32.5	5	SSE	3	晴
鎌倉	0.05	8	SE	2	晴	0	5	S	6	晴	0	5	E	2	晴	26.5	4	SSE	3	晴
富津	0.05	7	SW	4	晴	0.05	5	S	5	晴	0	5	無風	0	晴	22.1	4	SW	1	晴

定 点	2月25日				3月4日				3月10日				4月1日							
	花粉数	℃	風向	風速	天気	花粉数	℃	風向	風速	天気	花粉数	℃	風向	風速	天気	花粉数	℃	風向	風速	天気
川崎	129.8	11	SSW	8	晴	14.5	8	SE	3	晴	147.7	2	S	2	曇	52.5	12	ESE	3	晴
橋本	190.2	10	SSW	5	晴	148.6	7	S	5	晴	136.8	2	S	6	曇	33.7	11	S	5	晴
鎌倉	222.0	10	SSW	7	晴	80.8	6	SSW	5	晴	215.7	5	S	2	曇	44.1	11	SSW	3	晴
富津	202.2	10	SSW	5	晴	0.8	7	S	6	晴	145.2	1	S	5	曇	28.8	12	S	4	晴

定 点	4月8日				4月15日				4月30日						
	花粉数	℃	風向	風速	天気	花粉数	℃	風向	風速	天気	花粉数	℃	風向	風速	天気
川崎	7.9	18	S	7.5	晴	1.0	9	SE	6	曇	0	21	S	5	曇
橋本	7.2	17	S	7	晴	1.5	10	E	7	曇	1.9	21	N	5	曇後雨
鎌倉	4.4	16	S	5.5	晴	0.8	9	SSW	6	曇	0.2	18	SW	8	曇後雨
富津	3.8	18	S	7	晴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
高島平	-	-	-	-	-	1.5	9	E	5	曇	0	22	SSW	4.5	曇

注：通常（高度約300m，花粉数は $cm^2/5min./40knot$ ）。

よった成績で、橋本の定点で多く捕獲される傾向にあった。比較的気温の低い時期には鎌倉と富津の定点で多く、川崎の定点はこれらの中間的な捕獲数であった(表3)。高度をかえて捕獲調査を行った。今年は天候の都合により1回のみの実施となったが、これまでの成績も考慮して考察すると、高くなるほど花粉類は少なくなる傾向が認められた(図2)。地上と同様に上空でも3月に多く捕獲された。風向による捕獲数の差については、今回は明確には示されなく、今後の課題となった。

カーフェリーによる東京湾の海上調査では、概ね千葉県側で多く捕獲され、神奈川県側では少なかった(表4, 5)。また、陸に近い海上で多く捕獲され、東京湾の中心部では殆ど捕れないことが分かった。すなわち、上空における捕獲数では定点間に差のあることが示唆され、飛散のメカニズムを解明するためにはスギ花粉の重量、発生源からの濃度勾配を調べるとともに、上昇気流との関係においてどの程度空中に舞い上がるかを知る必要があり、その状況に普遍的法則が有

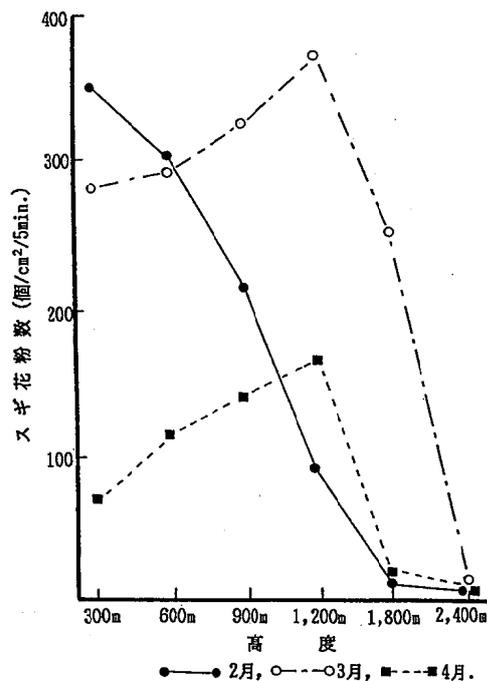


図2 各月の高度別捕獲数

るか否かを確認する必要があると考えられた。また、花粉発生源からの濃度勾配を調べるうえで、ヘリコプターや船を応用する事は有効であると思われる。

表4 海上におけるスギ花粉捕獲成績(1997)

	川崎	木更津	Durham(好)	久里浜	金谷	Durham(好)	風向	風速	気温
2月23日	0.3	0.6	0.3(10.8)	0.3	0.6	0.9(0.9)	南西	1m未満	10.5
"	0	0.3	0(0.6)	0.3	0.3	0.3(0.9)	南西	1m未満	11.5
3月2日	0.6	25.3	0.3(27.8)	0	6.5	0.3(8.3)	南西	2m	13.5
"	0.9	8.3	0.3(10.8)	0.6	3.6	0(6.2)	南西	2m	14.0
3月9日	2.8	11.1	3.7(6.2)	6.5	6.5	1.5(13.9)	北東	1-2m	14.5
"	7.4	26.9	2.2(7.7)	2.5	3.2	1.2(5.2)	北東	1-1.5m	16.0

*川崎,木更津間カーフェリー往復(片道65分),速度14ノット,久里浜,金谷間カーフェリー往復(片道35分),13ノット,タテ:スライドグラスを手摺に張り付けた。Durham以外は全てこの方法による。

表5 海上におけるスギ花粉捕獲成績(1997)

	川崎	中央	木更津	Durham(好)	風向	風速	気温
3月25日	6.8	4.0	4.9	4.6(10.8)	南西	10-13m	13.5-15.0
"	1.5	2.5	9.6	4.6(28.4)	南西	3m	15.0
3月26日	2.8	0	24.7	8.0(9.6)	南西	5-8m	14.5
"	0.3	0	0.6	0.6(2.2)	南西	3m	16.5-17.0
3月28日	0.6	0.9	0.6	0.9(3.1)	南西	3-5m	15.0-16.5
"	0.6	0	0.6	0.6(1.2)	南西	1m	17.5-18.5
3月29日	0.6	0	2.8	1.2(4.6)	南	2m	17.5-18.5
"	0.9	0	8.6	8.0(9.3)	南	2m	18.5-19.0

*川崎,木更津間カーフェリー往復,速度26km/h,(タテ):スライドグラスを手摺に張り付けた。Durham以外は全てこの方法による。乗船時間65分,川崎:港から20分間,中央:海上の中間地点20分間,木更津:港から20分間。

【謝辞】

上空調査にご協力戴いた本市消防局航空隊の諸氏および,休日の調査にご協力を戴いた当所細菌検査部門の諸氏に深く感謝いたします。日頃からご指導戴いている当所の佐久間貞主幹に深く感謝の意を表します。

【文献】

- 1) 佐藤英毅,大村敏郎:花粉アレルギー症にかかわるスギ花粉の飛散動態. 環境管理技術. 14(2):91-99.1996
- 2) 佐藤英毅:川崎市衛生研究所を定点としたスギ花粉の飛散動態(1986-1996). 川崎市衛生研究所年報, 31:59-62,1995
- 3) 佐藤英毅:川崎市周辺の上空と地上におけるスギ花粉捕獲数の地域的な特徴(1986~1996). 抄;日本公衛誌特別付録(第55回大阪総会), 43(10):916, 1996
- 4) 佐藤英毅:上空,地上,海上におけるスギ花粉捕獲成績. 抄;日本公衛誌特別付録(第56回神奈川総会), 44(10):1415,1997
- 5) 佐藤英毅:アレルギー症に対する有害生物,スギ花粉の飛散消長に関する研究(1986-1996). 第12回日本ペストロロジー学会大会(京都市,11月), 1996

保冷剤含有プラスチック製品中の保冷剤の鑑別法について

森 悦男 田中 幸生 入口 政信
山田 直子 柳堀 成喜 大久保吉雄

平成7年6月、ビール会社が景品として提供したジョッキを使用して麦茶を喫飲したところ、異味を感じ下痢を起こしたという事件が発生した。当該ジョッキには保冷剤としてエチレングリコールが内蔵されており、ジョッキの内側にヒビ割れを生じていた。この様な背景から人体への安全性を考慮して、内蔵保冷剤の鑑別法の確立が必要となった。しかし現在まで、この様な保冷剤の系統的鑑別法に関する報告は見られない。そこで、国立衛生試験所による実態調査をもとに、保冷剤として使用されている有機及び無機化合物について系統的鑑別法を検討した。

【試験方法】

1. 試料

マグカップ(8), ジョッキ(4), ビルスナー(1)

2. 試薬

エチレングリコール(EG), ジエチレングリコール(DEG), プロピレングリコール(PG), 安息香酸ナトリウム(BA), 塩化ナトリウム, 塩化カリウム, 塩化カルシウム, 酢酸, メタノール(以上特級品), カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC), ポリビニルアルコール(PVA)500, ポリビニルアルコール1500~1800, ポリビニルアルコール2000, メチルセルロース(MC), カルボキシビニルポリマー(CVP), 次亜塩素酸ナトリウム, 臭化カリウム(IR吸収測定用), 1% オルトトリジン溶液(残留塩素測定用), 透析用チューブ(36-32,100feet, 三光純薬), アルミナ(中性, 活性度I, Woelm社)

3. 試料の調製

Scheme 1の方法により行った。

4. 鑑別法

1) 官能試験

封入された保冷剤を取り出した後、直ちに試料溶液の粘性, 臭気, pH, 残留塩素を調べた。

2) 水の同定及び定量法

(1) 装置: TCD検出器付ガスクロマトグラフ

(2) 測定条件: カラム Porapak N(80~100mesh)

2.6mm ϕ \times 1 m

カラム温度 60°C

注入口温度 220°C

検出器温度 240°C

注入量 2 μ l

ヘリウム流量 25ml/min

(3) 試料の測定

保冷剤をガスクロマトグラフに直接注入し、得られたピークのリテンションタイムやピーク波形を超純水と比較することにより、水の同定及び定量を行った。

3) IR法

Scheme 1中の粉末状固形物, 粘液状固形物について鑑別を行った。

(1) 装置: フーリエ変換赤外分光光度計

水平状全反射(水平状ATR)測定装置

(2) 測定条件: 波数範囲4000~400 cm^{-1}

分解能 4 cm^{-1}

DTGS検出器 積算4回

(但し水平ATR法においては256回)

(3) 試料の測定

IR用試料をFT-IR透過法により測定した。また、水平状ATR用試験溶液は、プリズム上に1~2滴垂らし、測定を行った。

(4) スペクトルの鑑別

得られたスペクトルは、渡辺の保冷剤等のIRスペクトルによる系統的識別(図1)¹⁾に従って識別し、さらに標準スペクトルと比較し、鑑別を行った。

4) 原子吸光光度法

(1) 装置: 原子吸光光度計

(2) 測定条件:

	ランプ電流値(mA)	スリット(nm)
Ca	7.5	1.3
Na	1.0	0.4
K	1.0	1.3

(3) 試料の測定

無機塩類用試験溶液を、直接原子吸光光度計により分析し、Ca, Na, Kの濃度を測定した。

5) 陰イオンの鑑別

(1) 塩化物の確認

無機塩類用試験溶液10mlを50ml比色管に採り、硝酸(1→10)6 ml及び純水を加え、50ml にメスアップした。この液に、硝酸銀溶液(1→50)1 mlを加えよく混和し、5分間放置後白濁の有無を確認した。白濁が認められた場合は、モール法により定量を行った。

(2) 酢酸塩の確認

無機塩類用試験溶液に塩化第二鉄溶液(1+10)を加えると赤褐色を呈する。また、これを煮沸すると赤褐色の沈殿を生じ、さらに塩酸を加えると沈殿が溶解し、溶液は黄変する。

5. EG, DEG

(1) 装置: FID検出器付ガスクロマトグラフ

(2) 測定条件: カラム DB-WAX 0.25mm φ×30m

膜厚 0.25 μm

カラム温度 80°C(8 min)

→(15°C/min)

→220°C(8 min)

注入口温度 250°C

検出器温度 280°C

注入量 1 μl (スプリットレス)

キャリアガス N₂ 15.0psi

(3) 試料の測定

保冷剤10mlを40°Cで減圧濃縮し、残留物にメタノール10mlを加え、アルミナカラム(15g, 2cm φ×30cm)に負荷後、メタノール30mlで溶出した。溶出液を約1 mlまで減圧濃縮し、メタノールで全量5 mlとした後、ガスクロマトグラフに注入し、定量を行った。

2) PG, BA, CMC, MC

保冷剤10~50mlを用い、「食品衛生検査指針・食品中の食品添加物分析法」(日本食品衛生協会)により、定量を行った。

【試験結果及び考察】

1) IR法による鑑別

官能試験の結果から、粘性の低い保冷剤については100mlをとり、蒸発乾固すると粉末状固形物が得られ、

KBr錠剤法により測定が可能であった。

一方、粘性の高い保冷剤では、蒸発に極めて長時間かかり、しかも粘液状の残渣となり、完全な固形物は得られなかった。また、粘性の高い試料では成分の含有量が高いことが予想されるため、保冷剤の採取量は10~20mlで濃縮を行うこととした。得られた粘液状固形物については、アセトンを加えてアセトン可溶物と不溶物とに分け、それぞれを蒸発乾固後、可溶物は液膜法、不溶物は薄膜法により測定が可能であった。

試料13検体について測定を行った結果では、ピルスナー1検体からEGとPVAが検出され、マグカップ1検体からPGが検出された。他の11検体からは増粘剤等は検出されなかった。

また、IR測定手法の1つである水平状ATR装置を用いると、液体、粉体、ゲル状物等を全反射法により簡単に測定することができる。しかもZnSeプリズムを用いると、水溶液のままでも測定でき、検出限界は約10%である。そこで試料13検体について保冷剤を約1/10量に濃縮したのみで測定を行ったところ、上記と同様の結果が得られた。

図2は、EGとPVAの混和されていた保冷剤と、標準品の当量混合物のスペクトルの重ね書きである。PVAに帰属する1700cm⁻¹付近の鋭くやや強いピークと、EGに帰属する883cm⁻¹付近の鋭く強いピーク、及び両者に共通な3300cm⁻¹付近のブロードで強いピーク、1100cm⁻¹付近のブロードで強いピーク、1400~1200cm⁻¹付近のブロードで弱い連続ピークの一致から、両者の混合物であることが推定できる。図3は、PGが混和されていた保冷剤と標準品のスペクトルの重ね書きである。標準品とのメインピークの一致が明瞭である。

2. 無機塩類の鑑別

保冷剤には殺菌等を目的として無機塩類が添加されている可能性がある。そこで無機塩類の鑑別法として原子吸光光度計により主な陽イオンであるCa, Na, Kの定性を行った。また、陰イオンについては、塩素イオンは硝酸銀による定性、酢酸イオンは塩化第二鉄による定性を行った。試料は増粘剤が共存していると測定できない場合もあることから、保冷剤を一昼夜透析し、得られた透析外液を測定に用いることとした。さらに、検出された陽イオンと陰イオンから、添加さ

れた無機塩類を推定することが可能であった。

試料13検体中ピルスナー1検体からNa及び塩素イオンが検出されたことから、塩素イオンについてモール法による定量を行い、NaCl 0.11%を含有すると判断した。

以上、1. 2. の方法を併用することにより、混入が予測される有機及び無機化合物についての鑑別及び定量が可能となった。

3. 水の同定及び定量

増粘剤、無機塩類のいずれも検出されなかった試料については、主成分が水であることを明らかにするために、TCD検出器付ガスクロマトグラフにより、水の同定及び定量を行った。

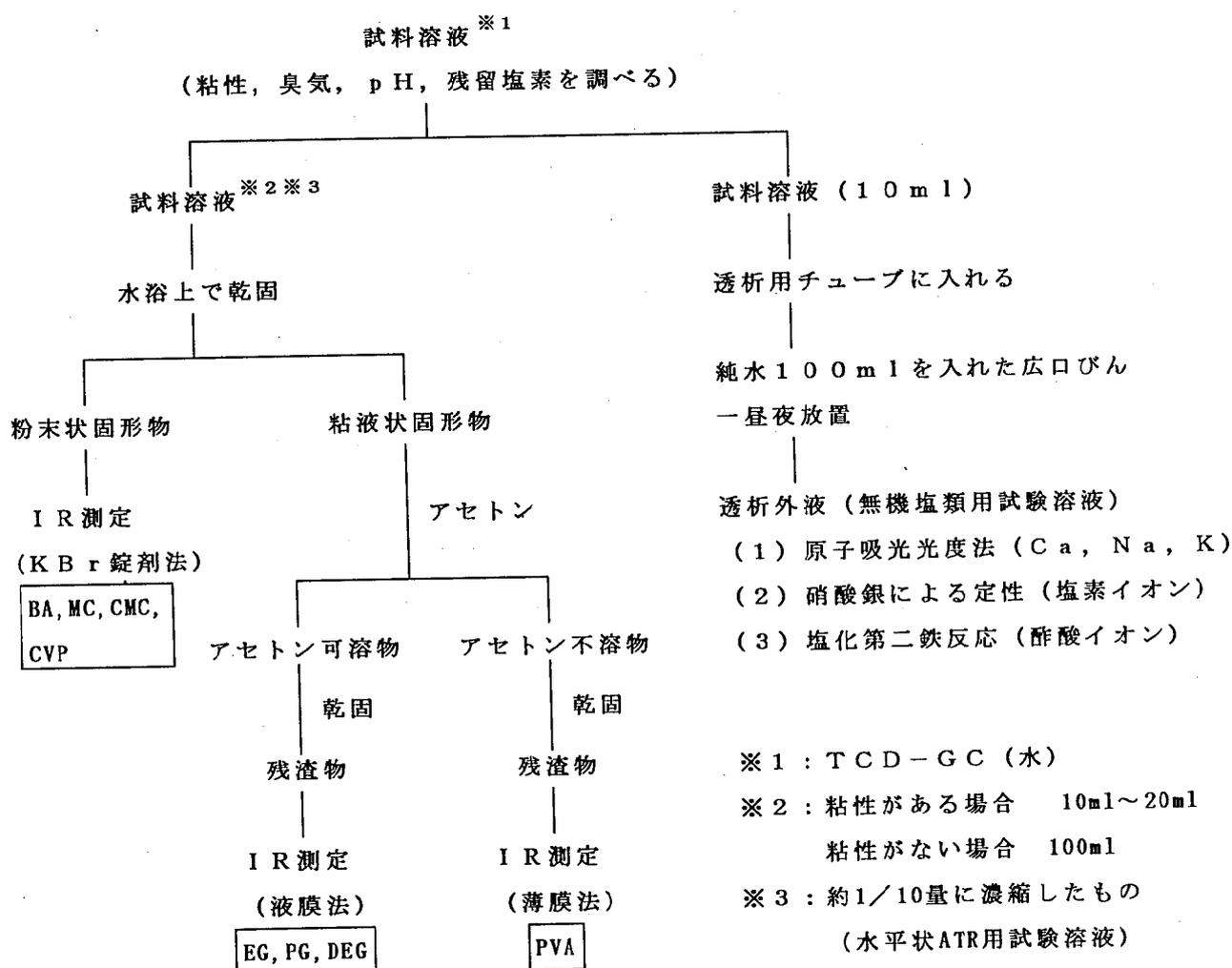
【まとめ】

Scheme 1 に示した方法により鑑別ができた化合物については、それぞれの公定法により定量を行った。市販品13件について鑑別をおこなった結果、PG2.1%を含有するもの1件、EG6.2%とNaCl 0.11%及びPVAを含有するもの1件が判明した。

本研究は、平成7年度厚生科学研究(器具・容器包装の健康影響に関する研究)の一環として行った。

【文献】

1) 渡辺悠二：プラスチック製マグカップ等に封入された保冷剤の鑑別法. 東京都衛生研究所年報, 47:169-174,1996



Scheme 1. 保冷剤の系統的鑑別法

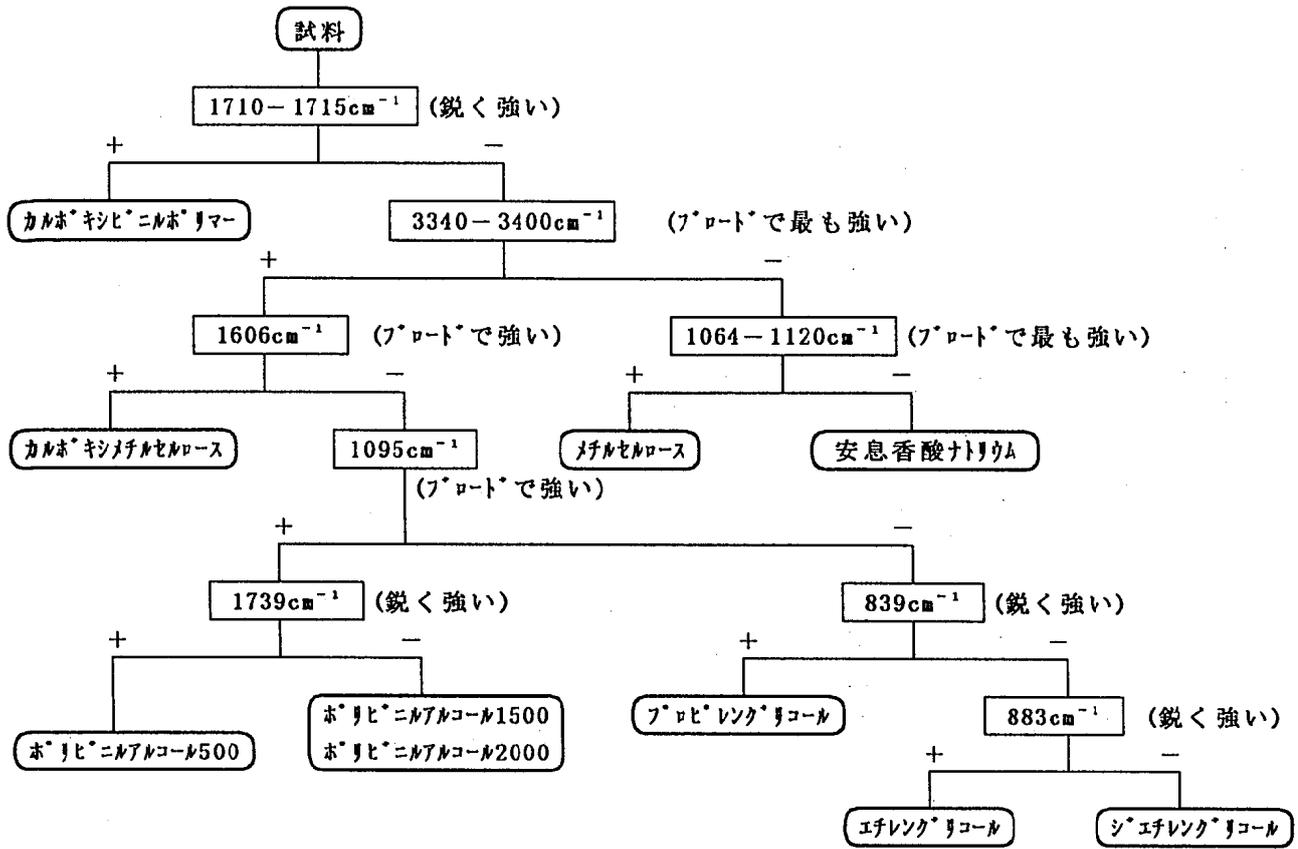


図1 保冷剤等のIRスペクトルによる系統的識別

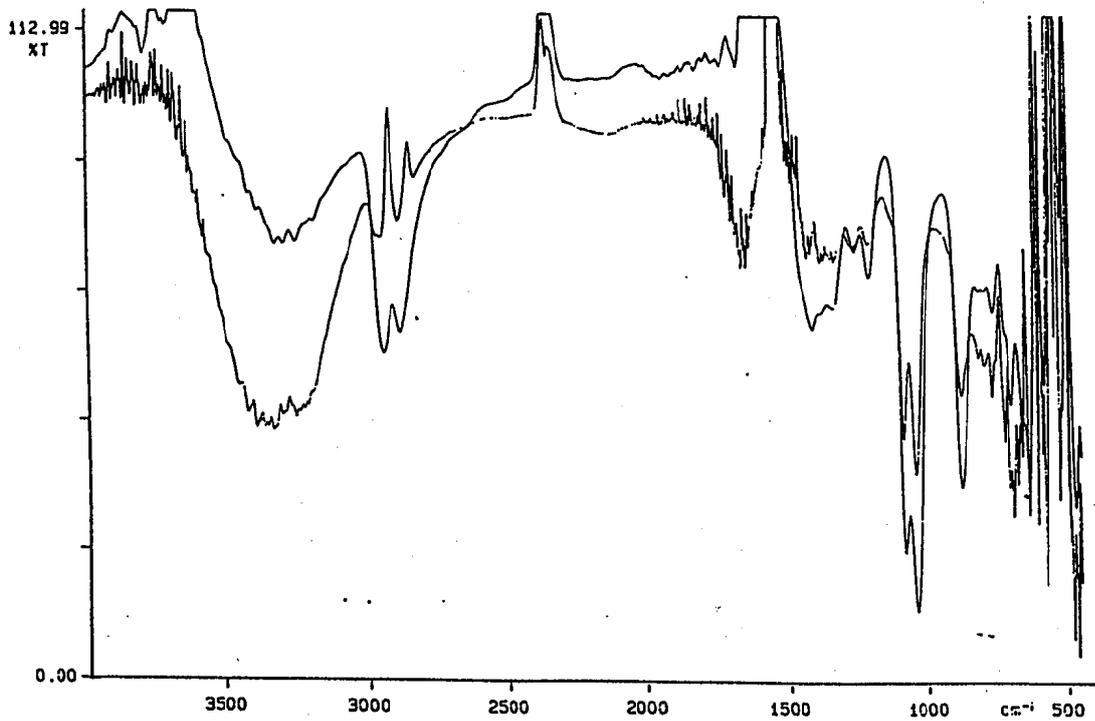


図2 EG及びPVA含有保冷剤と標準品等量混合物のIRスペクトル

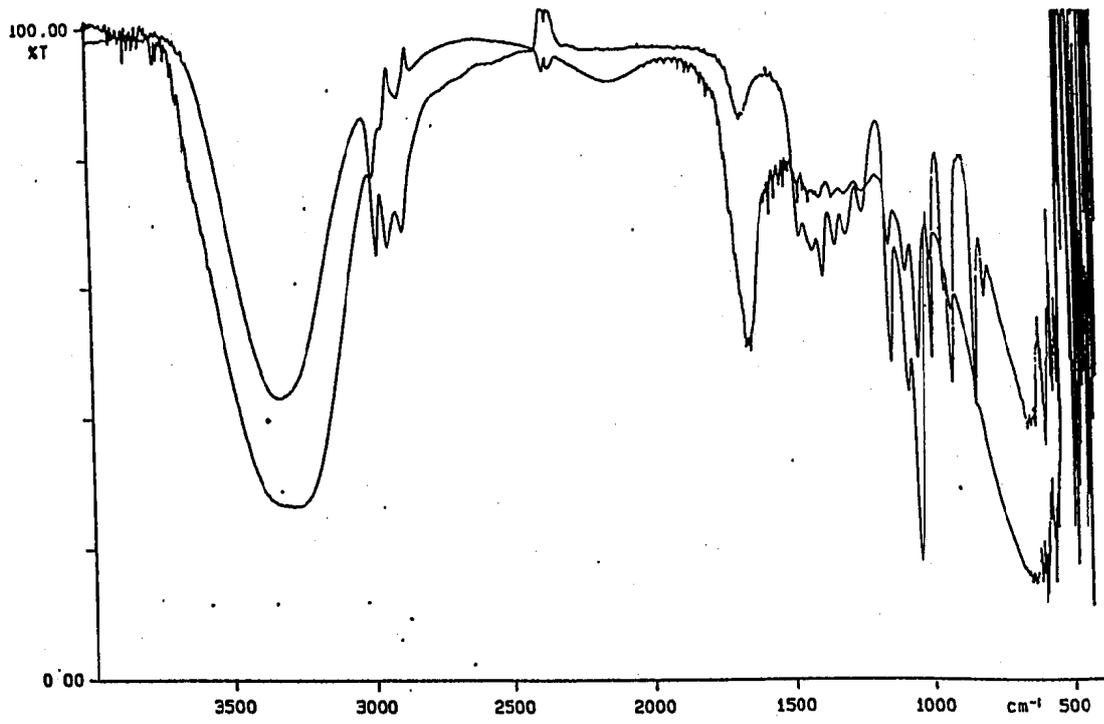


図3 PG含有保冷剤と標準品のIRスペクトル

水中農薬のGC-MSを用いた一斉分析

千田千代子 岸 美紀 齋藤 武弥 林 幸子
酒井 泰 小野 勝美

近代農業において、農薬は農作物に与える被害をおさえ安定した生産をはかるために不可欠なものとなっている。様々な用途により多種多様な農薬が使用され、土壌、大気、表流水等の環境中に放出されて、水道水源となっている公共水域等に微量ながらも混入されるようになった¹⁾。平成4年12月厚生省令第69号「水質基準に関する省令」が制定され、水道法の水質基準が大幅に拡大強化された。この水質基準には、農薬類4種が基準項目に、また、監視項目にも11種が新たに定められた。これらの農薬のうち、基準項目のシマジン、チオベンカルブと監視項目については、ガスクロマトグラフ-質量分析計(以下、GC-MSという。)を用いた高感度な一斉分析法が提唱されている。本報は、このGC-MSによる一斉分析法の検討結果について報告する。

【実験方法】

1. 測定項目：基準項目2項目と監視項目11項目の合わせて13項目について測定した。表1に項目名および基準値、指針値を示す。

2. 試薬：13種農薬混合標準液(各10mg/ℓアセトン溶液残留農薬試験用：和光純薬)、アセトン(残留農薬試験用：和光純薬)、ジクロロメタン(残留農薬試験用：関東化学)、メタノール(残留農薬試験用：関東化学)、Sep-Pak Plus PS-2(日本ウォーターズ)
3. 分析方法：上水試験法²⁾に準じた。
4. GC-MSの分析条件：13種農薬の分析時のカラムの昇温、試料の注入量について検討した。各成分の検出感度等を考慮し、GC-MSの分析条件を表2に示すとおりとした。

表2 GC-MS分析条件

ガスクロマトグラフ	HP 5890 SERIES II
質量分析計	HP 5971A SERIES
カラム	HP HP-5MS (30m×0.25mm i. d. ×0.25μm)
カラム温度	70℃(1分)→10℃/分→250℃(5分)
キャリアーガス	He 定圧10psi
カラム注入温度	250℃
注入法	スプリットレス
注入量	2μℓ
イオン化法	EI法
イオン化電圧	70eV
インターフェース温度	300℃

表1 農薬の基準値(指針値)

項目名	基準値 (指針値) mg/ℓ
* シマジン	<0.003
* チオベンカルブ	<0.02
**イソキサチオン	<0.008
**ダイアジノン	<0.005
**フェニトロチオン(MEP)	<0.003
**イソプロチオラン	<0.04
**クロロタロニル(TPN)	<0.04
**プロピザミド	<0.008
**ジクロロボス(DDVP)	<0.01
**フェノブカルブ(BPMC)	<0.02
**クロルニトロフェン(CNP)	<0.005
**イプロベンホス(IPP)	<0.008
**EPN	<0.006

*：基準項目 **：監視項目

【結果と考察】

1. 検量線の検討

13種の農薬混合標準液10mg/ℓ(アセトン溶液)をGC-MSによりスキャン測定し、図1にクロマトグラムを示した。これより、各成分のモニターイオンと保持時間を確認した。表3に各成分のモニターイオンを示した。次に、農薬混合標準液をジクロロメタンで適宜希釈し、各濃度の標準混合溶液をSIM法で測定した。この結果、1.0,0.6,0.4,0.2,0.1mg/ℓまで検量線は、各成分とも良好な直線性を示した。図2にシマジン、図3にチオベンカルブの検量線を示した。

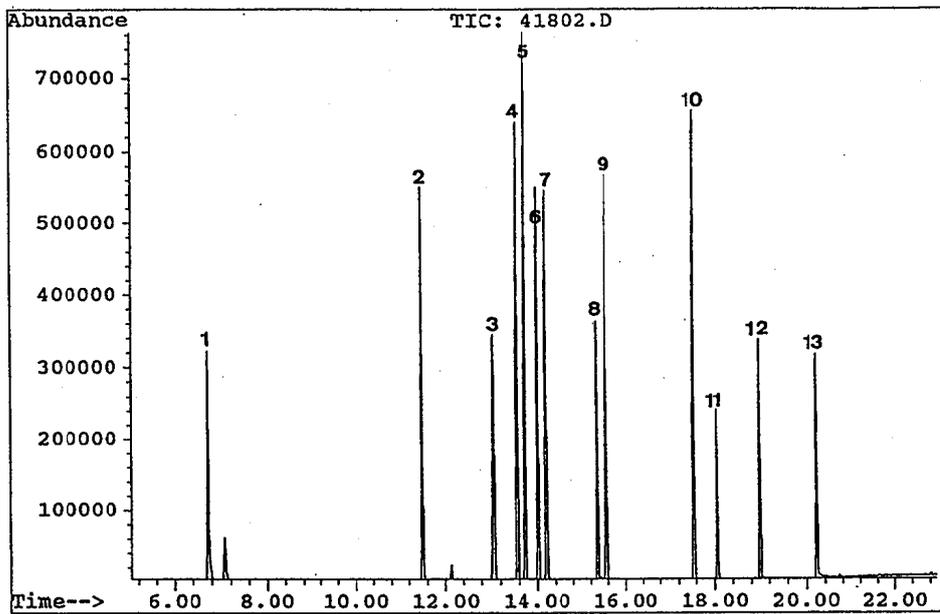


図1 農薬13成分マスキロマトグラム

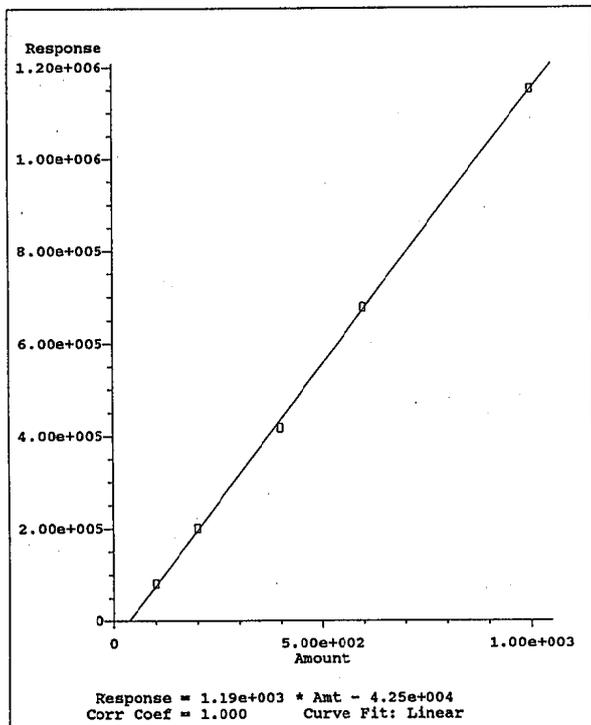


図2 シマジンの検量線

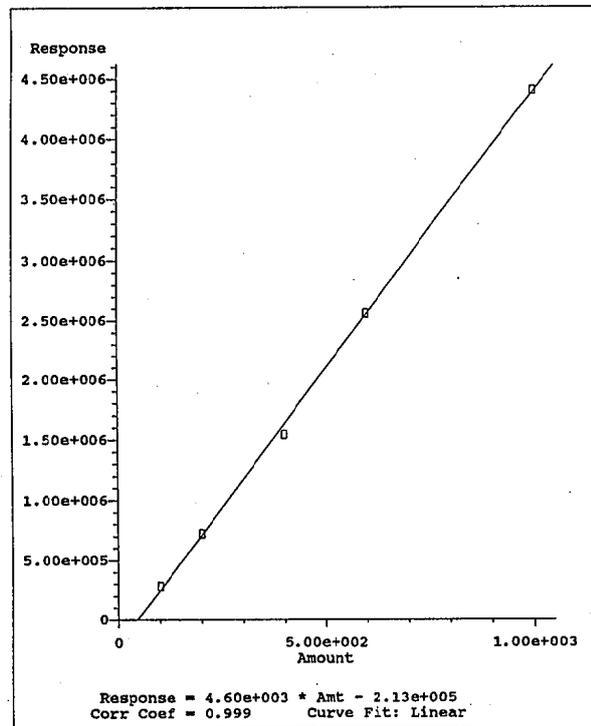


図3 チオベンカルブの検量線

2. 再現性

標準混合溶液0.1,0.4,1.0mg/lについて、それぞれ5回繰り返し測定したときの再現性の結果を表3に示した。各成分とも変動係数2.1~9.5%の精度となり、

定められた測定精度20%以内を満足し得る結果であった。このことと検量線の結果より、測定下限値を0.1mg/lと定めた。試料の検水量を500mlとすると、検出限界値は試料濃度として0.0002mg/lとなった。

表3 農薬13成分の各濃度における再現性

ピーク No	成分名	モーターイオン (m/z)	混合標準液濃度		
			1.0 mg/l	0.4 mg/l	0.1 mg/l
			変動係数(%)	変動係数(%)	変動係数(%)
1	ジクロロボス	109, 185	3.3	2.6	4.7
2	フェノブカルブ	121, 150	3.0	2.2	5.6
3	シマジン	201, 186	3.2	3.7	3.6
4	プロピザミド	173, 175	5.0	3.8	2.3
5	ダイアジノン	179, 137	5.8	2.2	6.2
6	クロロタロニル	266, 264	2.0	3.0	4.0
7	イプロベンホス	91, 204	5.8	2.1	4.3
8	フェニトロチオン	125, 109	5.9	3.7	3.1
9	チオベンカルブ	100, 125	2.7	3.5	3.1
10	イソプロチオラン	118, 162	5.4	3.7	3.6
11	イソキサチオン	105, 177	3.0	9.5	4.4
12	クロルニトロフェン	317, 319	5.0	5.1	6.1
13	EPN	157, 169	4.6	4.8	3.8

(n = 5)

表4 添加回収試験

ピーク No	成分名	回収率(%) n = 3
1	ジクロロボス	70.4
2	フェノブカルブ	90.2
3	シマジン	89.7
4	プロピザミド	101
5	ダイアジノン	86.3
6	クロロタロニル	85.0
7	イプロベンホス	98.5
8	フェニトロチオン	101
9	チオベンカルブ	86.5
10	イソプロチオラン	97.8
11	イソキサチオン	119
12	クロルニトロフェン	104
13	EPN	105

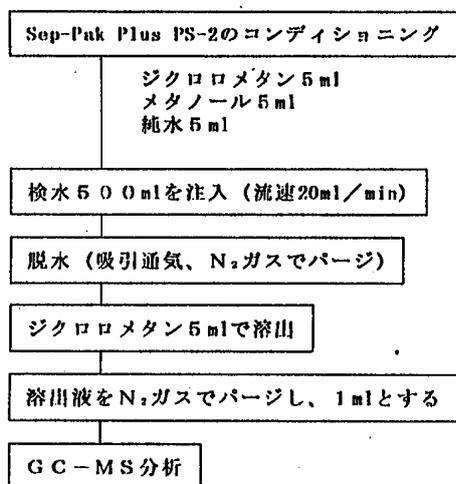


図4 固相抽出の操作法

3. 添加回収試験

井戸水500mlに13種類の農薬を添加し回収試験を行った。井戸水の試料濃度が0.001mg/lになるように農薬混合標準液を添加し調整した試料を、図4に示した操作法により固相抽出を行い、各成分の回収率を求め表4に示した。その結果、ジクロロボスの回収率が70.4%と低い傾向がみられたが、その他の成分は85.0~119%となり良好であった。

4. 市内井戸水の測定結果

市内の井戸水4検体について、固相抽出を行いGC-MSで分析した結果、すべての検体において不検出であった。

【まとめ】

GC-MSを用いて農薬13項目の一斉分析を行った結

果、SIM法の測定では、1.0~0.1mg/lまで有効な検量線が得られた。試料濃度においては、0.0002mg/lまで精度良く定量でき、各項目とも基準値の1/10以下を充分満足し得る結果となり、市内の井戸水中の農薬を効率よく一斉分析できた。今後、川崎市内の井戸水中の農薬汚染実態を把握するために有用したい。

【文献】

- 1) 後藤真康：農薬の生産と使用および農薬汚染の実態。水質汚濁研究, 14(2):70-74,1991
- 2) 厚生省生活衛生局水道環境部監修：上水試験方法解説。日本水道協会1993

イオンクロマトグラフを用いたアンモニウムイオンの測定について

林 幸子 岸 美紀 齊藤 武弥 千田千代子
酒井 泰 小野 勝美

アンモニウムイオンの測定方法としては、1856年に Nessler が発表したネスラー法が古くから採用されてきた。ネスラー法は、その生成物が水に難溶解性であるため沈澱や濁りを生じ、しかも試薬の調製が複雑なうえ不安定であるなど難点が多いが、操作が簡単で、かつ反応が鋭敏であるため、上水試験法等の公定法^{1) 2)}として用いられてきた。しかし、水質汚濁防止法の施行に伴い、ネスラー試薬が水銀化合物を含有するため、1992年の水質基準に関する省令(厚生省令第69号)の改正に伴い、水道整備課長通知(衛水第268号)では、ネスラー法は削除され、上水試験方法³⁾では、1-ナフトール法を第1法とし、インドフェノール法を第2法として採用している。しかし、これらの方法も試薬の調製や反応条件の設定等が複雑である等、多くの難点が指摘されている。

そこで、最近、クリーンアナリシスの立場から、各種イオンの測定方法⁴⁾として注目されているイオンクロマトグラフを用いたアンモニウムイオンの測定について検討し若干の知見を得たので報告する。

1 実験方法

1) 試薬

メタンスルホン酸(関東化学製1級)

アンモニウムイオン標準(和光純薬製イオンクロマトグラフ用)

次亜塩素酸ナトリウム溶液(和光純薬製化学用)

エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム・2水塩、水酸化ナトリウム、1-ナフトール、フェノール、ニトロプルシドナトリウム、エチルアルコール、アセトン(和光純薬製特級)

入浴剤(ツムラ製)

2) 器具及び装置

メンブランフィルター・ろ過装置：孔径約0.45 μm メンブランフィルターを装着したもの。イオンクロマトグラフ：DX-500(ダイオネクス社製)

ポンプ：IP-20(ダイオネクス社製)

オートサンプラー：AS-3500(ダイオネクス社製)

恒温槽：LC-30(ダイオネクス社製)

電気伝導度検出器：CD-20(ダイオネクス社製)

サプレッサー：CSRS-1(ダイオネクス社製)

自記分光光度計(日本分光製)

3) 測定条件

表1にイオンクロマトグラフの測定条件を示した。

表1 イオンクロマトグラフの測定条件

カラム	Ionpac CS12A(4×250mm)ダイオネクス社製 Ionpac CG12A(4×50mm)ダイオネクス社製
溶離液	20mmol/lメタンスルホン酸溶液
流量	1.0ml/分
サンプル量	50 μl

4) 試験操作

①前処理：試料をメンブランフィルターろ過装置でろ過し、初めのろ液約10mlをすて、次のろ液を試験溶液とした。

②試験溶液をイオンクロマトグラフに導入して伝導率を測定しアンモニウムイオンの保持時間に相当する位置のピーク高さ又はピーク面積を求め定量した。

2 結果

1) 精度

精度は、定量分析において結果を評価する決め手である。そこで、0.1~1.0mg/l希釈標準溶液の注入を5回繰り返して、各濃度における再現性について検討した。表2に示したように変動率(0.15~1.66%)は小さく良好な結果であった。

表2 再現性

濃度	統計値			
	平均値	最大値	最小値	変動率
0.1mg/l	24705	24946	23982	1.66%
0.2mg/l	467139	46848	46545	0.25%
0.4mg/l	88979	89219	88775	0.19%
0.6mg/l	128014	128324	127658	0.19%
0.8mg/l	164172	164547	163646	0.22%
1.0mg/l	202078	202431	201589	0.15%

2) 検量線の作成

イオンクロマトグラフ法では、注入した試料中のイオンが多いとカラムの交換容量が不足し、ピークの形状が変化したり、分離能が低下し検出限界値が悪くなり、検量線も直線からずれることから、多点検量線法により直線性を確認し、測定可能な濃度の上限を見極める必要がある。

そこで、0.0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8及び1.0mg/ℓ希釈標準溶液を用いて検量線を作成したところ、図1に示したように1.0mg/ℓの範囲で相関係数0.999の良好な直線関係が得られた。

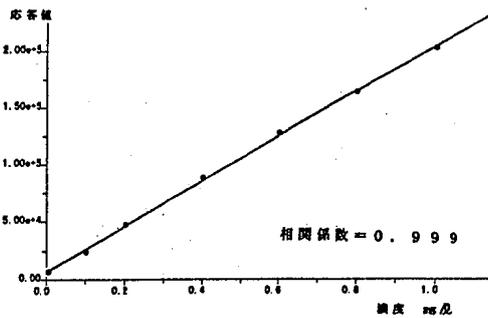


図1 アンモニウムイオンの検量線

3) 実試料(浴槽水)についての検討

浴槽水(5試料)について、イオンクロマトグラフ法、インドフェノール法及び1-ナフトール法で測定した。結果を表3に示した。ここで、浴槽水1, 2, 3, 及び4については3方法での測定結果に顕著な差はみられなかった。

しかし、浴槽水5では、インドフェノール法及び1-ナフトール法の測定結果が、イオンクロマトグラフ法に比べ1.1倍から6.6倍高い値となった。その原因として、浴槽水5で使用されているライトグリーンの入浴剤の影響が考えられた。そこで、市販されている入浴剤の影響について検討した。その結果を表4に示した。ここで、入浴剤は、インドフェノール法及び1-ナフトール法において、正の誤差として測定されることが確認された。

表3 アンモニウムイオンの測定結果

種別	イオンクロマトグラフ法mg/ℓ	インドフェノール法mg/ℓ	1-ナフトール法mg/ℓ
浴槽水1	0.05	0.05未満	0.04
浴槽水2	0.05未満	0.05未満	0.03
浴槽水3	0.05	0.07	0.11
浴槽水4	0.05未満	0.05未満	0.02未満
*浴槽水5	0.05未満	0.33	0.16
0.1mg/ℓ(浴槽水1)	0.15	0.16	0.13
0.1mg/ℓ(浴槽水2)	0.10	0.14	0.13
0.1mg/ℓ(浴槽水3)	0.11	0.16	0.15
0.1mg/ℓ(浴槽水4)	0.15	0.12	0.12
*0.1mg/ℓ(浴槽水5)	0.14	0.39	0.33
0.4mg/ℓ(浴槽水1)	0.42	0.45	0.37
0.4mg/ℓ(浴槽水2)	0.42	0.45	0.37
0.4mg/ℓ(浴槽水3)	0.40	0.47	0.37
0.4mg/ℓ(浴槽水4)	0.42	0.44	0.41
*0.4mg/ℓ(浴槽水5)	0.47	0.67	0.50

*: ライトグリーンに着色

表4 入浴剤の影響

方法	入浴剤濃度 mg/ℓ	200 mg/ℓ	2000 mg/ℓ	4000 mg/ℓ
インドフェノール法 (mg/ℓ)	0.05 未満	0.11	0.05	0.05 未満
1-ナフトール法 (mg/ℓ)	0.02 未満	0.14	0.05	

3 まとめ

- ① アンモニウムイオンの測定法として、イオンクロマトグラフ法は、再現性の高い方法であり、検量線は0.1~1.0mg/ℓの範囲で直線性を示した。
- ② 浴槽水の測定において、イオンクロマトグラフ法による結果と公定法⁵⁾であるインドフェノール法及び1-ナフトール法の結果は、ほぼ一致していた。しかし、入浴剤等で着色している試料の場合は、イオンクロマ

トグラフ法が他の方法に比べ有効な方法であると思われた。

4 文献

- 1) 日本水道協会：厚生省生活衛生局水道環境部上水試験方法273-280.1985
- 2) 日本下水道協会：下水試験法120-121.1974
- 3) 日本規格協会：工場排水試験方法JIS K0102 184-189.1993
- 4) 日本水道協会：厚生省生活衛生局水道環境部上水試験方法164-167.1993
- 5) 日本水道協会：厚生省生活衛生局水道環境部上水試験方法149-150.1993

残留農薬に関する調査研究(第3報) —残留農薬簡易分析法について—

竹澤 英二 奥山 恵子 小川 時彦
松本 文秀 小野 勝美 (衛生研究所)
大久保吉雄(南部市場食品衛生検査所)

1. はじめに

食品衛生法における食品中残留農薬基準が、従来の26農薬・53農作物から大幅に拡大され、平成9年3月現在、138農薬130農作物になった。この残留農薬分析に対し、国から示された方法は、基本的に各個分析法であり、138農薬について73種類の分析法が設定されている。また、厚生省は平成12年には、約200農薬まで基準を拡大する予定であることから、平成6年度に「残留農薬簡易分析法開発検討委員会」を発足させ、告示農薬の一斉分析に着手し、検討内容及び結果を逐次公表している。

そこで我々は、検査業務の円滑な推進のために、告示法よりも簡便かつ多成分を同時に分析できる方法として、残留農薬簡易分析法を取り上げ、その中からガスクロマトグラフで測定可能な農薬について検討した。その結果、若干の知見を得たので報告する。

2. 装置および試薬

(1) 装置

塩素系農薬：バリアン社製 3500 ECD-GC
窒素系農薬：島津製作所社製 17A FTD-GC
リン系農薬：ヒューレット・パッカード社製 5890 II FPD-GC
固層抽出装置：島津製作所社製

(2) 試薬

農薬標準品：和光純薬社製、林純薬社製
シリカゲル・フロリジルミニカラム：ウォーターズ社製
有機溶媒：残留農薬試験用
その他試薬：特級試薬

3. 分析方法

野菜・果実20g

アセトン100ml
攪拌(ブレンダーで3分)

吸引ろ過

抽出液

濃縮(40°以下で30ml)
10%食塩水100ml
20%酢酸エチルーヘキサン100ml+50ml
振とう(5分間)

有機層

無水硫酸ナトリウムで脱水、溶媒留去

残留物

15%アセトン-ヘキサン1mlで溶解

試料液

第一分画15%アセトン-ヘキサン10ml
アセトン5ml
(リン・窒素・N-カーバメート系試料)
第二分画50%アセトン-ヘキサン10ml
(リン・窒素系の一部試料)

フロリジルミニカラム

シリカゲル第一分画の1mlを使用
第一分画15%エーテル-ヘキサン15ml
ヘキサン2ml(塩素・ピレスロイド系試料)
第二分画15%アセトン-ヘキサン15ml
ヘキサン2ml(塩素系の一部試料)

この分析法では、分画の操作を行うことでリン系のジメトエート・フェンスルホチオン、窒素系のメトリプジン・トリアジメノール・ピテルタノール、塩素系のジクロフルアニドが第一・第二分画の両方に溶出し、検出限界を押し上げる要因になっている。ミニカラムでの分画は、わずかな溶媒量で目的物質の挙動が大きく変化するため、煩雑な操作と高度な技術が要求され、簡易法にはなじまない。そこで簡易分析法の趣旨から、より操作を簡便にするため分画を行わない方法を検討した。その結果、シリカゲルミニカラムでは50%アセ

トナーヘキサンを15ml, フロリジルミニカラムでは15%アセトンヘキサンを25mlで溶出することで良好な結果が得られた。

4. 添加回収試験

市販の農作物5種類(ほうれん草・にんじん・カボチャ・レモン・キャベツ)に、塩素系農薬22種類、リン系農薬25種類、窒素系農薬33種類を添加し回収試験を3回繰り返し行った。試験結果は表-1, 表-2, 表-3に回収率の平均値で示した。80農薬の内、バミドチオン・オキサミル・プロバモカルブは水溶性が高

いため、転溶時に回収されにくく、アミトラズおよび代謝物は酸性下では不安定なため、殆ど回収されなかった。また、塩素系6種類、リン系5種類、窒素系6種類、合計17種類の農薬については回収率が60%未満で悪かったが、他の58農薬については、60~120%の回収率であった。

今回検討した結果、58農薬において実試料の試験を行うときには、同時に添加回収試験を行うことで実用可能と思われる。

表1 塩素系農薬添加回収試験結果

(単位: %)

農薬名 試料名	α-BHC	β-BHC	γ-BHC	δ-BHC	ヘプタクロル	ジクロルメネト	ジコホル	アルドリン	キャブタン	ビリフェノックス-1	ヘプタクロルエポキサイド	ビリフェノックス-2	PP'-DDE
ほうれんそう	92.8	64.6	61.0	71.7	78.6	45.7	83.5	86.5	30.5	119.9	73.7	110.7	78.5
にんじん	86.1	88.8	82.6	92.7	77.7	80.4	78.0	83.1	79.1	91.9	87.7	56.3	87.2
かぼちゃ	60.7	60.1	66.1	93.3	61.6	33.4	51.3	76.8	38.2	113.6	66.8	95.4	70.8
レモン	100.1	102.8	102.9	101.5	106.7	116.8	80.0	84.5	49.6	135.2	116.1	105.8	83.7
キャベツ	81.9	91.1	79.3	65.6	73.6	46.8	108.3	74.6	32.4	125.9	95.5	115.5	93.8

農薬名 試料名	ディルトリン	エンドリン	クロルベンジレート	PP'-DDD	OP'-DDT	PP'-DDT	カブタン	フルトリネット-1	フルトリネット-2
ほうれんそう	89.3	63.2	82.5	76.6	72.3	72.3	67.7	85.1	103.3
にんじん	76.2	105.3	80.6	115.2	100.4	80.8	85.4	115.3	112.9
かぼちゃ	83.1	67.4	68.8	98.8	65.0	62.1	52.7	122.0	119.3
レモン	104.5	85.0	89.2	106.5	108.9	118.8	103.7	112.6	118.0
キャベツ	104.1	98.3	89.5	105.9	63.7	86.1	102.9	113.2	113.3

表2 リン系農薬添加回収試験結果

(単位: %)

農薬名 試料名	ジクロルホス	ダイジン	エプロホス	チオメトン	テラホス	エトリホス	ビリホス	トリクロホス	クロルピホス	フェンチオン	ジメトエート	プロチホス	キラルホス
ほうれんそう	88.8	111.3	110.3	107.7	107.0	109.9	109.9	106.7	106.1	108.3	75.6	98.6	106.7
にんじん	90.9	105.6	106.1	101.5	109.9	110.4	115.6	112.4	119.8	110.9	72.6	127.4	118.0
かぼちゃ	58.5	85.6	87.8	76.0	84.3	83.1	88.2	87.8	90.7	88.9	46.4	87.6	88.7
レモン	46.3	104.2	99.7	97.6	91.1	102.9	108.2	106.7	88.4	109.6	45.2	114.4	107.6
キャベツ	60.8	94.4	95.0	62.0	85.7	95.1	98.0	97.6	101.1	91.8	49.6	107.3	99.1

農薬名 試料名	マラチオン	フェトエート	パラオメチル	α-CVP	フェトメチオン	β-CVP	パラチオン	エチフェンホス	バシチオン	フェンスルホチオン	E P N	ネロン
ほうれんそう	110.0	111.3	113.1	118.1	113.6	118.0	109.1	108.8	11.3	129.9	112.9	112.2
にんじん	114.6	113.8	114.9	112.3	112.6	115.7	113.6	108.6	15.8	114.6	116.9	120.4
かぼちゃ	91.8	89.1	99.1	96.2	94.6	99.2	91.3	115.0	8.4	99.1	99.0	102.1
レモン	107.3	102.0	113.8	112.7	108.3	112.7	114.0	121.1	0	115.2	110.1	116.2
キャベツ	99.1	97.1	104.0	99.8	100.3	101.6	102.2	108.3	3.5	102.1	107.6	106.8

表3 窒素系農薬添加回収試験結果

(単位：%)

農薬名 試料名	アルジ カルブ	オキサ シ	クロフ ン テジ ン	プロハ モカル ブ	メト リブ シ ン DADK	イソ プロ カル ブ	アミ ト ラ ス 代 謝 物	クロ ル ブ ロ フ ア ム	ベン ダ イ カ ル ブ	メ ト リ ブ ジ ン DK	メ ト リ ブ ジ ン DA	ピ リ ミ カ ル ブ	エ チ オ フェ ン カ ル ブ
ほうれんそう	58.6	0	57.9	0	79.9	70.7	0	93.6	102.4	14.8	85.9	91.2	101.3
にんじん	60.0	0	75.4	0	77.3	86.9	0	89.3	104.2	10.8	73.4	86.3	90.2
かぼちゃ	37.5	0	80.1	0	49.1	70.3	12.2	66.3	79.8	9.3	66.2	65.1	68.7
レモン	37.2	0	71.3	0	54.6	72.3	0	74.4	86.7	0	50.6	80.2	66.0
キャベツ	34.8	0	99.8	0	63.4	73.2	0	72.8	81.4	11.5	53.6	74.3	69.5
農薬名 試料名	メ ト リ ブ ジ ン	エ ス プロ カ ル ブ	チ オ ベン カ ル ブ	ジ エ ト フェ ン カ ル ブ	ベン テ イ メ タ リ ン	ト リア ジ ン メ ノ ール	キノ メ チ オ ネ ート	フル トラ ニ ル	プロ レ チ ラ クロ ル	ミ クロ ブ タ ニ ル	メ プロ ニ ル	レ シ ム ソ ール -1	フ ロ ピ コ ナ ソ ール -1
ほうれんそう	97.9	90.9	96.3	107.8	94.1	102.9	98.1	99.5	96.1	69.8	100.1	98.3	94.7
にんじん	92.6	95.5	91.7	84.6	97.7	89.8	94.1	84.8	91.8	74.3	87.0	89.9	87.7
かぼちゃ	69.3	68.5	62.6	65.3	67.0	65.7	61.2	64.3	65.3	68.8	66.4	78.9	63.8
レモン	77.7	73.6	70.8	74.4	76.8	74.5	73.7	76.4	76.3	72.9	76.6	73.8	73.3
キャベツ	55.5	73.7	73.4	71.1	76.7	71.5	67.2	69.9	70.5	70.6	74.4	78.3	70.5
農薬名 試料名	フ ロ ピ コ ナ ソ ール -2	メ フェ ナ セ ット	ア ミ ト ラ ス	フェ ナ リ モ ル	ピ テ ル ノ ール -1	ピ テ ル ノ ール -2	ピ リ ガ ベン						
ほうれんそう	100.0	98.9	0	95.5	89.6	97.5	86.6						
にんじん	87.6	90.3	9.6	86.5	82.9	69.3	94.1						
かぼちゃ	63.0	74.1	3.3	65.5	73.3	80.6	67.6						
レモン	65.8	77.6	10.9	73.5	81.5	65.5	75.5						
キャベツ	72.3	75.2	17.0	75.0	72.5	73.8	70.2						

5. まとめ

食品衛生法で指定されている食品中残留農薬の分析法は、個別分析法で多くの人員と時間が必要となる。今回検討した分析法は一部の農薬については問題点の残るものの、操作が簡便で多くの農薬が同時に分析でき、ジクロロメタン・ベンゼン等の有害性の高い有機溶媒を使用しないなどの利点があり、予試験として活用できると思われる。

しかし、検出された農薬に関しては告示法で再試験を行わなければならない。

厚生省では平成9年4月8日付「残留農薬迅速分析法の利用について」(通知)³⁾で多成分一斉分析法を、初めて文書で示した。その内容は簡易分析法をベースに改良した方法で、今回検討した事も取り入れられており、また、分析法の精度管理、検出限界、再検査の判断基準等細かい運用法も示した。今後は、この迅速分析法の検討を早急に行い、日常業務に反映したい。

【文献】

- 1) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会：残留農薬多成分分析法の開発について、食品衛生研究、9:31-49,1995
- 2) 厚生省生活衛生局長：残留農薬迅速分析法の利用について、衛化第43号、平成9年4月8日

2. 学会発表

大村 敏郎 中山 博

◆平成8年度川崎市公衆衛生研究発表会

平成8年6月26日
教育文化会館

川崎市で検出されたNAGビブリオについて

松尾 千秋 植田 葉子
本間 幸子 小嶋 由香
岡田 京子 小川 正之
佐久間 貞

川崎市におけるA群溶血レンサ球菌の検出状況

岡田 京子 松尾 千秋
小嶋 由香 本間 幸子
植田 葉子 小川 正之
佐久間 貞

井戸水の細菌検査における特定酵素基質法と従来法

本間 幸子 岡田 京子
松尾 千秋 小嶋 由香
植田 葉子 小川 正之
佐久間 貞

アレルギー調査と抗体測定について

鈴木 壮美 原 玲子
青山 林作 鍋木 友子

マイクロプレートハイブリダイゼーションを用いた エンテロウイルスの血清型別

清水 英明 春山 長治
佐久間 貞

川崎市における蚊成虫の季節消長(1995年を中心に して)

佐藤 英毅 青山 林作
中山 博 大川 東三

川崎市の地上及び上空におけるスギ花粉捕集成績 (1996年)

佐藤 英毅 青山 林作

揮発性有機化合物の一斉分析法の検討

千田千代子 林 幸子
大場 初義 斎藤 武弥
岸 美紀 酒井 泰
大久保吉雄

市内における湧水の分布及び水質調査

林 幸子 千田千代子
大場 初義 斎藤 武弥
岸 美紀 酒井 泰
大久保吉雄

飲用井戸水の水質について

—昭和63年度から平成7年度—

斎藤 武弥 千田千代子
大場 初義 林 幸子
岸 美紀 酒井 泰
大久保吉雄

食品中の異物混入事例について(平成7年度)

田中 幸生 柳堀 成喜
山田 直子 藤井 令子
森 悦男 大久保吉雄

高速液体クロマトグラフによる保存料の簡易定量法 (第二報)

山田 直子 柳堀 成喜
藤井 令子 田中 幸生
森 悦男 大久保吉雄

◆第11回地研全国協議会関東甲信静支部ウイルス研究 部会

平成8年9月27日

東京都食品環境指導センター

マイクロプレートハイブリダイゼーションを用いた エンテロウイルスの血清型別

清水 英明 春山 長治
佐久間 貞