

ISSN 0911-2073
CODEN: HEKNEU

1

広島市衛生研究所年報

ANNUAL REPORT

OF

HIROSHIMA CITY INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

No. 20

(平成12年度)

広島市衛生研究所

は じ め に

広島市衛生研究所年報第 20 号をお届けします。本年報は、平成 12 年度に当所において実施した業務の概要や調査研究の成果をとりまとめたものです。少しでも皆様方の業務の参考になれば幸いです。

平成 12 年度を振り返りますと、6 月末には、加工乳により 15 府県で患者数が 14,780 名にも及ぶ近年例を見ない大規模な食中毒事件が発生しました。食品企業に対する不信感が高まり、消費者の食品の安全性に対しての関心や意識が以前とはずいぶん変わってきました。市民から、保健所に対し食品への異物混入などの苦情が増加し、当所へ異物の同定や原因究明のための検査が数多く求められるようになるとともに、検査結果に対し、より一層高い精度が求められるようになりました。

こうしたなか、赤痢菌等が食中毒起因菌として追加指定されたことを受け、さらなる検査体制を整備するとともに、検査の信頼性をより確実なものとするために G L P の徹底を図りました。

3 月末には、「ダイオキシン類対策特別措置法」の制定に伴い、平成 11 年度から整備を進めてまいりましたダイオキシン類測定のためのケミカルハザード試験施設が完成し、平成 13 年度から環境中のダイオキシン類の分析を開始しています。

また、5 月 25 日、26 日の両日、広島国際会議場で開催された第 41 回日本臨床ウイルス学会の学会長、事務局としてお世話させていただきましたところ、294 名のご参加を賜り、盛大に会を終えることができました。ここに厚くお礼申し上げます。

当所は、政令指定都市昇格を機に、昭和 57 年 4 月衛生試験所と公害試験所を統合し新たに設置して以来、今年度で 20 年目の節目の年を迎えました。本市における衛生行政の科学的・技術的中核機関として、市民の健康に直接結びついた重要な業務を担っており、国際化や地球化、少子・高齢化、技術革新や情報化の進展など様々な時代の潮流や社会的課題を踏まえ、さらなる努力を致す所存でございます。今後とも、ご指導ご鞭撻を賜りますようお願いいたします。

平成 13 年 12 月

広島市衛生研究所長

荻 野 武 雄

目 次

総 務

I 沿 革	1
II 組織機構及び業務内容	
1 組織及び業務内容	2
2 職員配置	3
3 職員名簿	4
III 庁舎及び施設概要	
1 建物・施設概要	5
2 庁舎配置図	5
IV 予算概要	
1 予算概要	6
2 平成 12 年度主要整備機器	7
V 会議・研修等	
1 会議	7
2 研修・講習会	8
3 所内技術専門研修	8
4 研修指導	9
5 施設見学	10

業 務 報 告

生活科学部

1 食品化学関連業務	11
2 環境衛生関連業務	15
3 疫学情報関連業務	17

生物科学部

1 細菌病理関連業務	19
2 ウイルス関連業務	20
3 食品細菌関連業務	23

1 水質関連業務	27
2 大気関連業務	28
3 特殊公害関連業務	29

調査研究報告

I 調査研究

1 広島湾周辺水域魚介類中の環境汚染物質残存調査	31
2 食品中の有機リン系農薬 56 種の迅速一斉分析法	38
3 平成 12 年度の胃腸炎集団発生事例のウイルス学的検査結果について	43
4 水中農薬分析におけるディスク型固相抽出法の検討	49
5 底質中のアルキルフェノール類, 2,4-ジクロロフェノール, ビスフェノール A, アジピン酸ジエチルヘキシル及びフタル酸エステル類の分析法の検討	54
6 底質中の 4-ニトロトルエン, ベンゾフェノン, オクタクロロスチレン, ベンゾ[a]ピレン, スチレン 2 量体及びスチレン 3 量体の同時分析法の検討	62

II 資 料

1 平成 12 年度広島湾内産かきの重金属試験結果	65
2 ポリスチレン製容器のスチレンダイマー等について	66
3 二次感染が多発した腸管出血性大腸菌感染症事例について	69
4 病原細菌検出情報 (1993~1998)	71
5 広島市の感染症発生状況 (2000)	73
6 感染症発生動向調査事業におけるウイルス・クラミジア検出状況 (平成 12 年)	74
7 <i>astA</i> 遺伝子保有大腸菌 O166 : H15 が原因菌と考えられた集団食中毒事例	79
8 広島市の <i>Salmonella</i> Enteritidis の疫学的解析 (1998~2000)	82
9 収去食品の細菌学的検査結果 (1998~2000)	85
10 ふっ素及びその化合物分析法の検討	87
11 広島市における環境放射能調査結果	89
12 広島市の大気中における酸化エチレン調査	91
13 河川からの農薬検出状況	93

III 抄 録

他誌掲載論文

- 1 地研と国立試験研究機関との公衆衛生情報に関する役割分担と連携97
- 2 地方衛生研究所の情報ネットワーク構築等による情報関連機能の強化に関する研究97
- 3 アデノウイルス 7 型再興感染症97
- 4 アデノウイルス 7 型による岡山市内の保育園における急性胃腸炎の流行拡大97
- 5 ウイルス感染症における血清アミロイド A 蛋白 (SAA) 値の検討98
- 6 広島市域におけるイカ菓子の原因とした *Salmonella* Oranienburg および
Salmonella Chester による Diffuse Outbreak への分子疫学的アプローチ98
- 7 広島市における散発食中毒事例の疫学解析
— *S.* Oranienburg と *S.* Chester による diffuse outbreak の究明 —98

学 会 発 表

- 1 胃腸炎由来 NLV の分子疫学的解析 (1992—1999)99
- 2 広島市におけるポリオウイルス (ワクチン株) の分離結果について99
- 3 広島市域における散発食中毒由来菌株の疫学的解析99
- 4 広島市の河川水のアルキルフェノール類とビスフェノール A の同時分析99
- 5 広島市の公共用水域における栄養塩類の推移 100

総 務

- I 沿 革
- II 組織機構及び業務内容
- III 庁舎及び施設概要
- IV 予算概要
- V 会議・研修等

I 沿革

昭和25年 7月、当所の前身である衛生試験室が、広島市保健所に設置された。その後、昭和44年 4月衛生試験所として独立、昭和46年10月に公害試験所を分離設置し、市民生活の衛生的基盤の確立に努力してきた。

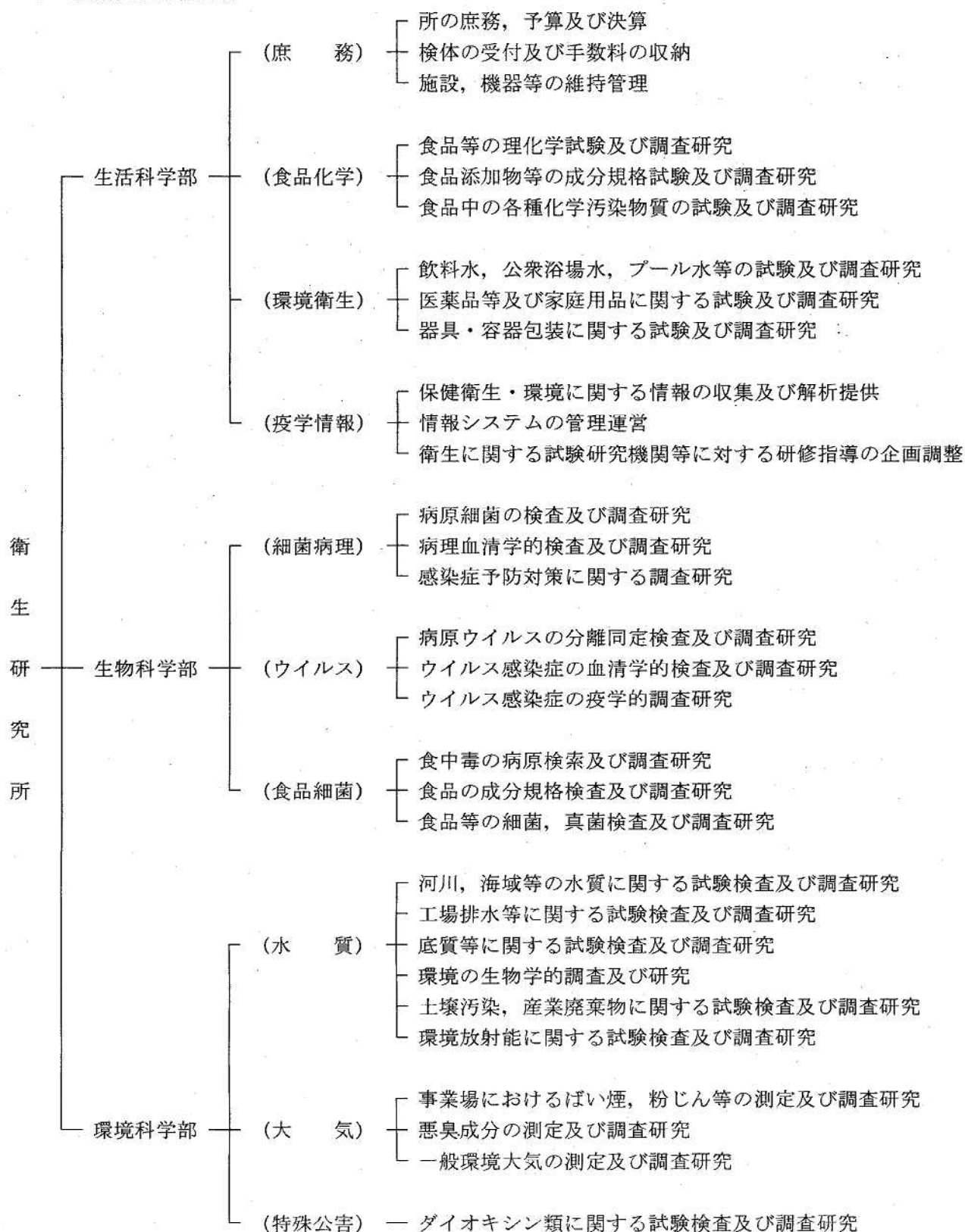
昭和55年政令指定都市昇格を機に、昭和57年 4月衛生試験所と公害試験所を統合し衛生研究所を新設した。庶務・食品化学・環境衛生・疫学情報に関する業務を行う生活科学部、細菌病理・ウイルス・食品細菌に関する業務を行う生物科学部、水質・大気・特殊公害に関する業務を行う環境科学部の3部体制をとり、複雑多様化してきた公衆衛生に係る行政需要に対応している。

年 譜

- | | |
|----------|--|
| 昭和25年 7月 | 広島市保健所（昭和28年より東保健所）に衛生試験室を設置。 |
| 昭和44年 4月 | 衛生試験所条例施行により、東保健所の2階の一部に衛生試験所（化学試験係、細菌病理検査係）を設置。 |
| 昭和45年 1月 | 東保健所に増築された3階部分に移転。 |
| 昭和46年10月 | 化学試験係より公害関連業務を分離、環境保全部に公害試験所を新設。 |
| 昭和48年 4月 | 衛生試験所の係制を科制に変更。 |
| 昭和50年 7月 | 衛生試験所に環境科を新設し、化学試験科を食品科に改め、細菌病理科と合わせて3科体制となる。 |
| 昭和55年 3月 | 「衛生研究所建設事業計画」にもとづいて、庁舎の建設に着手。 |
| 昭和55年 4月 | 政令指定都市に昇格。
衛生試験所に食品衛生科を新設し、食品科を食品化学科に、環境科を環境衛生科に改め、細菌病理科と合わせて4科体制となる。
公害試験所は水質科と大気科の2科体制となる。 |
| 昭和57年 4月 | 衛生研究所条例施行により衛生試験所と公害試験所を統合し、西区商工センター四丁目に衛生研究所を設置。
食品環境部、微生物部、公害部の3部体制で発足。 |
| 平成 9年 4月 | 食品環境部を生活科学部に、微生物部を生物科学部に、公害部を環境科学部に改める。 |

Ⅱ 組織機構及び業務内容

1 組織及び業務内容



2 職員配置

(平成13年 4月 1日現在)

部 門	職 種	事 務	技 術					計
			医 師	薬剤師	獣医師	化学系	農学系	
所	長		1					1
次	長					2		2
生活科学部	部 長					*(1)		*(1)
	(庶 務)	3						3
	(食品化学)			1		5	1	7
	(環境衛生)					4		4
	(疫学情報)					3		3
生物科学部	部 長				1			1
	(細菌病理)			2			2	4
	(ウイルス)				4			4
	(食品細菌)			1	1		2	4
環境科学部	部 長					*(1)		*(1)
	(水 質)			1		6		7
	(大 気)					4		4
	(特殊公害)					4		4
合 計		3	1	5	6	28	5	48

* : 事務取扱

3 職員名簿

(平成13年 4月 1日現在)

社会局理事

事務取扱衛生研究所長 荻野 武雄

次 長 長谷川宏行

次 長 世良 勝利

生活科学部

事務取扱生活科学部長 長谷川宏行

(庶 務)

主 幹 (事務取扱主任) 石田 馨

主 査 高山 直之

主 事 鈴木 直子

(食品化学)

専門員 (事務取扱主任) 山本 修

主任技師 萱島 隆之

主任技師 山名 正史

主任技師 福田 裕

技 師 中島 三恵

技 師 佐々木珠生

技 師 小串 恭子

(環境衛生)

専門員 (事務取扱主任) 高垣 昌明

主任技師 細末 次郎

技 師 松尾 愛子

技 師 花尾 香奈恵

(疫学情報)

専門員 (事務取扱主任) 上野 博昭

主任技師 宮本 伸一

技 師 丸山 幹二

生物科学部

部 長 山岡 弘二

(細菌病理)

専門員 (事務取扱主任) 笠間 良雄

主任技師 石村 勝之

技 師 毛利 好江

技 師 山本 美和子

(ウイルス)

専門員 (事務取扱主任) 池田 義文

主任技師 藤井 彰人

主任技師 野田 衛

技 師 上村 真由美

(食品細菌)

専門員 (事務取扱主任) 河本 秀一

主任技師 佐々木敏之

主任技師 児玉 実

技 師 橋渡 佳子

環境科学部

事務取扱環境科学部長 世良 勝利

(水 質)

専門員 (事務取扱主任) 尾川 健

主任技師 関川 恵子

主任技師 佐伯 彩路

主任技師 橋本 和久

主任技師 常政 典貴

技 師 小中 ゆかり

技 師 馬部 文恵

(大 気)

専門員 (事務取扱主任) 上本 宗祥

主任技師 堂道 和彦

主任技師 松室 康子

技 師 渡邊 進一

(特殊公害)

専門員 (事務取扱主任) 矢野 泰正

主任技師 松木 司

技 師 下田 喜則

技 師 竹井 秀夫

Ⅲ 庁舎及び施設概要

1 建物・施設概要

(1) 建設規模

ア 敷地面積		5,575.56 m ²
イ 建築面積	総建築面積	1,529.96 m ²
	総延床面積	4,915.141 m ²

ウ 建物概要

本 館	鉄筋コンクリート造 地下1階・地上4階建（一部5階）
	建築面積 1,101.86 m ²
	延床面積 4,487.041 m ²

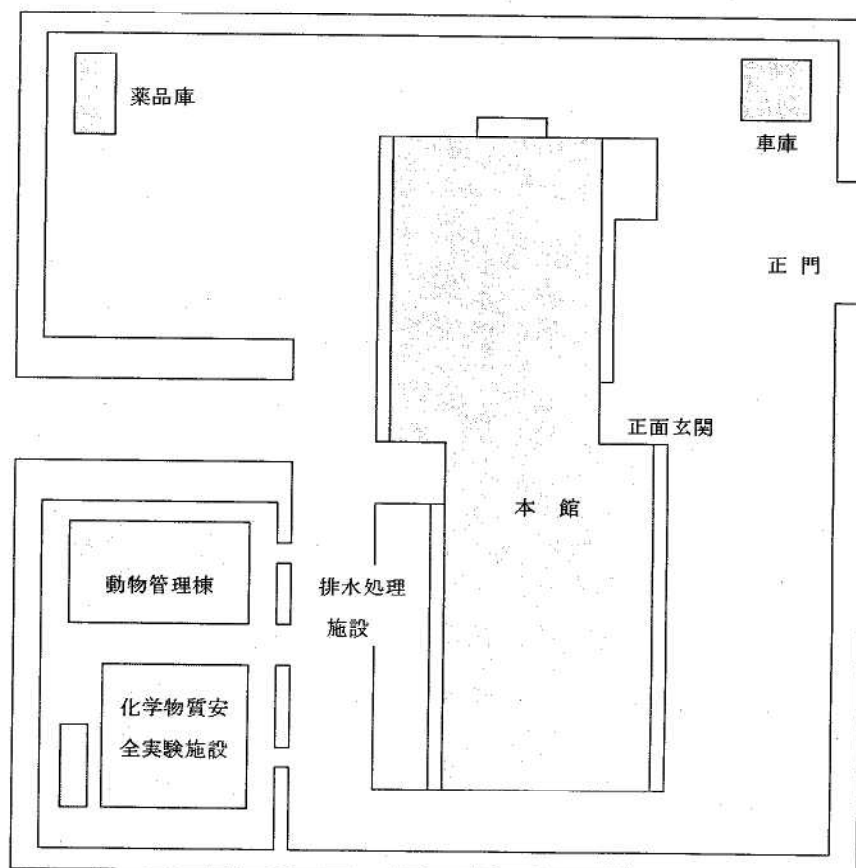
化学物質安全実験施設

	鉄筋コンクリート造平屋建	床面積 204.27 m ² （内 倉庫等90.83 m ² を含む）
動物管理棟	鉄筋コンクリート造平屋建	床面積 199.83 m ²
薬品庫	ブロック造平屋建	床面積 24 m ²

(2) 設備概要

電気設備	非常用発電機 6.6kV 375kVA
排水処理設備	pH調整装置

2 庁舎配置図



IV 予算概要

1 予算概要

科 目		予 算 額	
		平成13年度	平成12年度
歳 入		(千円)	(千円)
使用料及び手数料		10,891	12,492
手 数 料			
衛生手数料	保健衛生手数料	(10,891)	(12,492)
国庫支出金		2,291	61,168
国庫負担金			
衛生費国庫負担金	保健衛生費負担金	(1,653)	
国庫補助金			
衛生費国庫補助金	保健衛生費補助金	(638)	(61,168)
市 債			80,000
市 衛生債	保 健 衛 生 債		(80,000)
計		13,182	153,660
歳 出			
総 務 費			
総務管理費	交 際 費	90	100
一 般 管 理 費			
衛 生 費			
保健衛生費	需 用 費	1,209	1,021
保健衛生総務費	役 務 費	2,878	3,098
	委 託 料	0	548
	使用料及び賃借料	7,218	7,218
	報 償 費	165	0
環 境 衛 生 費	旅 費	5,070	5,321
	需 用 費	88,897	79,571
	役 務 費	1,302	1,395
	委 託 料	54,886	49,836
	使用料及び賃借料	2,452	2,578
	工 事 請 負 費	0	111,000
	備 品 購 入 費	19,630	86,922
	負担金、補助及び交付金	480	576
	公 課 費	22	60
計		184,299	349,244

2 平成12年度主要整備機器

品 名	型 式	数 量
高分解能ガスクロマトグラフ質量分析装置	日本電子 : JMS-700D MStation	1
高速液体クロマトグラフ	島津製作所 : LC-VP前処理システム	1
高速自動濃縮装置	柴田科学 : Syncore Analyst	1
高圧滅菌器	平山製作所 : HR-40Ag型	1

V 会議・研修等

1 会 議

年 月 日	会 議 名	開催地	出席者名
12. 5. 10～ 5. 11	第54回地研中国四国支部会議（所長部会・庶務部会・理化学部会・微生物部会）	高松市	荻野・石田 高垣・池田 笠間
5. 11～ 5. 12	平成12年度全国公害研協議会中国四国支部会議	高知市	荻野・矢野
5. 11～ 5. 12	平成12年度地研・公研協議会中国四国支部廃棄物研究会	高知市	尾川
6. 8	平成12年度全国地方衛生研究所長会議	東京都	荻野
6. 9	平成12年度地方衛生研究所全国協議会臨時総会	東京都	荻野・沖西
6. 27	平成12年度全国家庭用品安全対策担当係長会議	東京都	高垣
7. 18	平成12年度化学物質環境汚染実態調査ブロック別打ち合わせ会議	佐賀市	山縣
8. 17～ 8. 18	平成12年度指定都市衛生研究所長会議	神戸市	沖西・鈴木
8. 31	平成12年度中国地区衛生公害研究所長会議	鳥取市	荻野
9. 26～ 9. 28	第10回全国酸性雨調査研究連絡会議	津市	山水
10. 11	瀬戸内海水質汚濁公害研会議に係る企画検討会	大阪市	尾川
10. 24～10. 25	全国公害研協議会中国四国支部第27回大気部会	高松市	上本・松尾
10. 17～10. 18	平成12年度第51回地方衛生研究所全国協議会総会及び次長・庶務課長会議	前橋市	荻野・沖西
10. 26～10. 27	全国公害研協議会中国四国支部第27回水質部会	松山市	尾川・橋本
12. 6	平成12年度全国公害研協議会総会	東京都	荻野
12. 7	平成12年度地方公共団体公害試験研究機関等所長会議	東京都	荻野
13. 2. 7	第24回瀬戸内海水質汚濁研究公害研会議	大阪市	荻野・尾川 関川
2. 26	平成12年度環境測定分析統一精度管理調査結果検討中国四国ブロック会議	松江市	橋本

2 研修・講習会

年 月 日	研 修 ・ 講 習 会 名	研 修 機 関	参 加 者
12. 5. 10～ 6. 8 5. 23, 9. 28 ～ 9. 29 6. 21～ 6. 22	ダイオキシン類環境モニタリング研修 平成12年度専門研修（防災課程） 平成12年度防疫訓練会議	環境庁環境研修センター 広島市消防局 広島県福祉保健部健康対 策課	松木 上本 阿部・ 山本（美）
7. 7 7. 10～ 7. 14 7. 28	地方衛生研究所試験担当者講習会 特定機器分析研修Ⅰ ダイオキシン類の環境測定分析に係る 技術講習会	厚生省監視指導課 環境庁環境研修センター 環境庁環境研究技術課	細末 村上 松木・下田
9. 27～ 9. 28 10. 2～10. 6 11. 7～11. 8 11. 14	平成12年度石綿測定技術者研修 平成12年度新興再興感染症技術研修 ウイルス検査に係る技術修得研修 平成12年度放射線安全管理講習会	環境庁大気規制課 国立公衆衛生院 大阪府立公衆衛生研究所 (財)原子力安全技術セン ター	渡邊 佐々木 阿部 松木
11. 15～11. 16 11. 16～11. 17 11. 16～11. 17	平成12年度食品化学講習会 平成12年度食品残留農薬分析法講習会 第41回放射線取扱主任者研修会	厚生省食品化学課 厚生省食品化学課 日本アイソトープ協会	萱島 福田 矢野
13. 1. 9～ 2. 8 2. 20～ 2. 21 2. 26～ 3. 9 3. 23	特別課程ウイルスコース研修 平成12年度希少感染症診断技術研修会 水道クリプトスポリジウム試験法実習 平成12年度厚生大臣認定「特別管理産 業廃棄物管理責任者講習会」	国立公衆衛生院 厚生労働省結核感染症課 国立公衆衛生院 (財)日本産業廃棄物処理 振興センター	上村 藤井 石村 尾川

3 所内技術専門研修

年月日	内 容	講 師 名
13. 3. 22	ポリスチレン製容器のスチレンモノマー等について 魚介類中の環境汚染物質残留調査 アデノウイルス8型分離株の疫学解析 平成12年度の広島市の細菌性集団感染症・食中毒発生状況 と検査対応 広島市における散发食中毒発生状況と食中毒由来菌株の疫 学的解析 第3次酸性雨共同調査結果について（中間報告） 有機スズ化合物の分析法と広島湾の現況	花 尾 香奈恵 山 名 正 史 池 田 義 文 石 村 勝 之 児 玉 実 山 水 敏 明 山 縣 修 三 枝 晃次郎 (財団法人広島県環境保 健協会)
3. 23	指定検査機関の GLP と ISO	

4 研修指導

(1) 技術指導

年 月 日	指 導 内 容	受 講 者	人 員	担 当
12. 9. 20～ 9. 22	環境測定技術	パキスタン・クウェッタ 市職員	2	環境科学部
12. 18～12. 22	環境測定技術	インド・トリヴァンドラ ム市職員	2	環境科学部
13. 2. 22～ 2. 23	食品衛生指標菌の一般検査技術	中華人民共和国・重慶市 職員 広島市食品衛生協会会員	8	生物科学部

(2) 講師派遣

年月日	講演会等の名称及び内容	依 頼 機 関	講 師 名
12. 7. 10	水生生物による水質調査	環境局環境企画課	橋本 和久
7. 11	水生生物による水質調査	環境局環境企画課	小中ゆかり
7. 26	親と子の水辺教室	環境局環境企画課	尾川 健
8. 2	水辺教室	環境局環境企画課	橋本 和久
8. 8	水生生物による水質調査	環境局環境企画課	尾川 健
8. 19	太田川源流探検	太田川流域振興交流会議	尾川 健
8. 25	親と子の水辺教室	環境局環境企画課	橋本 和久
8. 28	平成12年度防疫研修会	社会局保健医療課	石村 勝之
9. 3	加計町一斉調査	太田川流域振興交流会議	尾川 健
			橋本 和久

5 施設見学

年 月 日	見 学 者	人 員
12. 6. 15	広島大学医学部総合薬学科社会薬学講座 3年次学生	23
7. 5	鈴峯女子短期大学食物栄養科学生	4
7. 17	広島女学院大学生活科学部生活科学科食物栄養専攻 3年生	53
7. 21	広島市安佐南区生活衛生推進員	14
11. 15	JICA研修員（阪大微生物病研究会観音寺研究所ワクチン品質管理技術コース）ほか	8
11. 29	重慶市職員	2
13. 1. 25	鈴峯女子短期大学家庭理科 2年生	5
2. 21	原田学園広島酔心調理師専門学校生	36
3. 1	広島市安芸区生活衛生推進員	15
3. 15	北九州市環境科学研究所保健環境課職員	1
計		161

業 務 報 告

生 活 科 学 部

生活科学部の主要業務は、食品衛生および環境衛生に関する試験、調査研究ならびに公衆衛生情報の解析提供であり、食品化学関連業務、環境衛生関連業務および疫学情報関連業務に大別される。

食品化学関連業務では、食品衛生法に基づく食品等の理化学試験、食品の成分規格および食品中の食品添加物試験、さらに食品中の有害化学物質(残留農薬、動物用医薬品、重金属等)の各種試験ならびに調査研究を実施している。

環境衛生関連業務では、水道法に基づく飲料水試験、環境衛生関係の法令等に基づくプール水・浴場水等の環境水質試験、有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律に基づく家庭用品試験、食品衛生法に基づく器具および容器包装等の各種試験、薬事法に基づく医薬品試験ならびに調査研究を実施している。

疫学情報関連業務では、公衆衛生情報の解析提供に関する業務を実施している。

さらに当部では、衛生研究所の庶務に関する事務も併せて行っている。

1 食品化学関連業務

市内に流通する食品について食品化学に関する行政試験を行った。また、市内食品製造業者等からの依頼による加工食品等の依頼試験も併せて行った。その内訳は表1のとおりである。

(1) 行政試験

食品の収去試験のほか、市民からの食品に対する苦情に伴う試験である。

収去試験は保健所の収去計画に基づくもので、本年度は、輸入食品の汚染実態調査も併せて実施した。

延11,601項目について行政試験を行った。その主な内訳は次のとおりである。

a 食品等の理化学試験

表2 食品等の理化学試験

区分	検体数	延項目数
異物・異臭の同定	43	112
塩分濃度	88	88
水素イオン濃度(pH)	47	47
酸価・過酸化価	22	43
TTC反応	33	33
水分	9	9
ヒスタミン	5	5
水分活性	4	4
残留塩素	1	1
その他	40	46
計	292	388

表3 食品の成分規格試験

食品	検体数	延項目数
乳・乳製品	29	120
清涼飲料水	9	36
生あん	10	10
食肉製品	12	12
アイスクリーム	4	6
乳製品	4	4
計	68	188

292検体、延388項目について試験を行った。その内訳は表2のとおりである。主な試験項目は異物・異臭の同定、カキ浸漬水の塩分濃度、水素イオン濃度、油脂および油脂使用食品の酸価・過酸化価、生カキのTTC反応などである。

本年度は食品製造に伴う事故が多発し、市民の食品に対する関心や不安感が高くなり、腐敗・変敗、異物混入などの苦情による異物・異臭の同定試験依頼が増加した。

b 食品の成分規格試験

牛乳、清涼飲料水など規格を有する食品68検体、延188項目について試験を行った。その内訳は表3のとおりで、規格違反となった食品はなかった。

表1 食品化学試験

試験区分	行政試験		依頼試験		計	
	検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
食品等の理化学試験	292	388	23	28	315	416
食品の成分規格試験	68	188	6	24	74	212
食品中の食品添加物試験	208	1156	36	57	244	1213
食品中の有害化学物質試験	305	9,868	25	60	330	9,928
栄養分析	1	1	1	8	2	9
計	874	11,601	91	177	965	11,778

表4 食品中の添加物試験

区分	検体数	延項目数
保存料	107	423
着色料	35	560
甘味料	12	39
発色剤	2	2
酸化防止剤	18	68
漂白剤	14	14
防かび剤	10	40
その他	10	10
計	208	1,156

表5 食品中の有害化学物質試験

区分	検体数	延項目数
残留農薬	100	8,821
動物用医薬品	37	637
重金属	22	242
PCB	22	22
TBTO・TPTC	22	44
HCB	22	22
ベンツピレン	22	22
麻痺性・下痢性貝毒	51	51
フグ毒	7	7
計	305	9,868

表6 食品中の残留農薬試験

区分	検体数	延項目数
野菜・果実	60	7,546
肉類・乳製品・その他	10	190
市内産野菜の残留調査	29	1,051
苦情関係	1	34
計	100	8,821

c 食品中の食品添加物試験

輸入食品を主に208検体、延1,156項目について食品添加物試験を行った。その内訳は表4のとおりである。結果は保存料(安息香酸)にかかる表示基準違反が1件あった。

d 食品中の有害化学物質試験

これらの化学物質の試験は、収去試験等の行政試験を中心に、本市における食品の安全性の確保を目的に実施している。305検体、延9,868項目

表8 市内生産農作物の残留農薬調査状況

月	農作物名	検体数	延項目数
6	きゅうり・トマト・なす	8	315
8	ねぎ・ピーマン・なす	7	260
9	小松菜・しろな (栽培土壌を含む)	10	340
10	小松菜・しろな (栽培土壌を含む)	4	136
計		29	1,051

表9 食品中の動物用医薬品試験

品名	検体数	延項目数
生乳	10	210
養殖魚介類	10	130
鶏卵	8	158
鶏肉	6	96
牛肉	2	42
はちみつ	1	1
計	37	637

について試験を行った。その内訳は表5のとおりである。

(a) 残留農薬試験

平成5年度以降、食品衛生法に基づく農薬の残留基準の設定が続いており、平成12年度も新規に15農薬について基準が告示され、計214農薬となる予定である(平成13年4月1日施行)。当所においても昨年度に続いて本年度も、試験項目の拡充を図った。

輸入食品を含む野菜・果実、食肉など100検体、延8,821項目について残留農薬試験を行った。その内訳は表6のとおりである。このうち5検体から農薬を検出したが、いずれも残留基準以下であった。検出結果は表7のとおりである。

また、市内生産農作物の残留農薬調査状況は表8のとおりである。

(b) 動物用医薬品試験

現在15種類の動物用医薬品について残留基準値が設定されている。本年度は21項目について実施した。

また、厚生労働省が示す畜水産物の残留有害物

表7 食品中の残留農薬検出結果

農薬名	農作物名	産地	分析値(ppm)	残留基準(ppm)
メソミル	レタス	国内産	0.11	-
クレソキシムメチル	ぶどう	国内産	0.04	15
フルバリネート	いちご	国内産	0.58	1.0
クロルフェナピル	いちご	国内産	0.01	0.2
ダイアジノン	いちご	国内産	0.01	0.1

表 10 貝毒試験

年月	あさり 検体数(結果)	カキ 検体数(結果)	ムラサキイガイ 検体数(結果)	計
麻痺性貝毒				
12. 4	6(1.75 未満 ~2.06)	7(1.93 ~2.55)	3(1.75 未満~28)	16
5	4(1.95 ~1.75 未満)	6(1.95 ~1.75 未満)	4(6.72 ~1.75 未満)	14
10	1(1.75 未満)	2(1.75 未満)	—	3
11	—	2(1.75 未満)	1(1.75 未満)	3
13. 3	2(1.75 未満)	4(1.75 未満)	2(1.75 未満)	8
小計	13	21	10	44
下痢性貝毒				
12. 5	2(0.05 未満)	—	1(0.05)	3
6	—	—	1(0.05 未満)	1
10	1(0.05 未満)	2(0.05 未満)	—	3
小計	3	2	2	7
計	16	23	12	51

():単位 MU/g

質モニタリング検査実施要領に基づき、生乳、養殖魚介類、鶏卵、鶏肉、牛肉、はちみつの試験を実施した。

37 検体、延 637 項目について試験を行った。その内訳は表 9 のとおりで、すべて検出しなかった。

(c) 重金属等の環境汚染化学物質の試験

広島湾産の魚類、生カキ等 22 検体のカドミウム、鉛、ヒ素、総水銀等の重金属、PCB、TBTO、TPTC、HCB、ベンツピレン試験を実施した。

特に異常値を示す環境汚染物質は検出されなかった。

(d) 貝毒試験

『貝毒対策実施要領』(広島県)に基づいて、広島湾北部海域の貝毒試験を実施した。51 検体について試験を行った。結果を表 10 に示す。

麻痺性貝毒では、あさり、カキは規制値を超えなかったが、ムラサキイガイは 4 月 18 日に 22.3 MU/g を検出し自主規制され 5 月 23 日に規制解除された。

下痢性貝毒は、いずれも規制値を超えなかった。

e 苦情に伴う試験(化学試験分)

市民から苦情として保健所によせられた食品の試験結果の主なものは、表 11 のとおりである。

食品の異味異臭、食品への異物混入がほとんどで、異物は昆虫、毛髪、金属、合成樹脂等が多かった。

(2) 依頼試験

市内の食品製造、加工、販売業者等からの依頼により 91 検体、延 177 項目について試験を行った。その内訳は表 12 のとおりである。

表 12 依頼試験

区分	検体数	延項目数
酸価・過酸化価	5	10
水素イオン濃度(pH)	2	2
ヒスタミン	2	2
揮発性塩基性窒素	5	5
脂肪分	3	3
でんぷん含有	3	3
塩分相当量	2	2
固形分	1	1
乳類の成分規格試験	6	24
保存料	30	42
着色料	1	1
漂白剤	1	1
防かび剤	4	13
残留農薬	7	42
動物用医薬品	18	18
栄養分析	1	8
計	91	177

(3) 精度管理

(財)食品薬品安全センターが実施する食品衛生外部精度管理調査に参加した。調査項目は重金属(カドミウム、鉛)、保存料(ソルビン酸)、残留農薬(マラチオン・フェンチオン)および動物用医薬品(フルベンダゾール)である。結果はおおむね良好であった。

また、定期的に内部精度管理調査(繰り返し試験および確認試験)を実施した。繰り返し試験の項目は、防かび剤および動物用医薬品、確認試験の項目は、保存料および動物用医薬品である。

本年度も主要な分析機器の保守点検を外部委託し実施した。

表 11 苦情に伴う試験(化学試験分)

No.	検体名	苦情内容	試験項目	試験結果			
				残品	苦情品	対照品	
1	牛肉	異臭がする	酸価 過酸化価 VBN	1.6 1.0 8.4mg%	1.7 0.8 5.2mg%	1.3 1.6 4.7mg%	
2	焼きアナゴ	巻すしが薬品臭	次亜塩素酸ナトリウム	検出せず			
3	豆菓子	石油臭がする	パラフィン炭化水素	苦情品 検出	同一ロット 検出	他ロット 不検出	
4	おでん	自動販売機用おでん を食べ舌がしびれた	pH カルシウム	汁 6.0 30.2ppm	ちくわ 6.1 41.5ppm	汁 6.2 15.7ppm	ちくわ 6.5 36.5ppm
5	シーフード グラタン	味がすっぱい	pH	同一ロット 4.6		他ロット 6.5	
6	菓子パン	異臭がする	pH 乳酸 酢酸	苦情品 5.6 1.47 0.42	対照品 5.6 1.70 0.39		
7	はと麦茶	色, つやが濃い	合成着色料	検出せず			
8	ベビーフード	味がすっぱい	pH	苦情品 4.4	同一ロット 5.7	他ロット 5.6	
9	小松菜	薬品臭がする煮物	残留農薬	イソキサチオン 0.86ppm			
10	コロッケ	味がすっぱい	pH	苦情品 4.5	対照品 5.5		
11	食パン	アルコール臭がする	エタノール	苦情品 1.98%	対照品 0.70%		
12	せんべい	食べて湿疹症状が 出た	酸価 過酸化価 ヒスタミン	苦情品 0.5 0.1未満 44 μ g	対照品 0.5 0.1未満 14 μ g		
13	すじ肉	腐っている	VBN	苦情品 6.3mg%	対照品 5.9mg%		
14	グラタン	味がすっぱい	pH	苦情品 6.5	対照品 6.3		
15	むすび ぎょうざ	薬品臭がする	エタノール 洗剤(LAS) 次亜塩素酸ナトリウム	苦情品 不検出 不検出 不検出	対照品 不検出 不検出 不検出		
16	チャーシュー	食べて下痢	VBN ヒスタミン	17mg% 71 μ g/g			
17	あさりのぬた	プラスチック様物質が混入	Ca 化合物(あさりの貝殻)				
18	レーズンパン	口の中でガリツとした	干しレーズンの軸				
19	弁当	ガラス様の丸い玉が混入	Si 化合物(しいたけ乾燥用シリカゲル)				
20	キャンディー	表面に黒い異物	C 化合物(炭化したもの)				
21	ネギトロ丼	ヒトの爪が混入	Ca, P 化合物 (魚の骨に類似)				
22	アイスクリーム	黒い異物	Fe 化合物(マグネット)				
23	カップめん	テグス糸様物質	Ca, P, Mg 化合物(小魚の骨に類似)				
24	パン	金属片	Cr, Ni 化合物(ミキサー塗料に一致)				
25	ラーメンスープ	プラスチック様物質	Cl 化合物(食塩の結晶)				
26	ケーキ	毛髪が混入	ブラシの毛				
27	アイ스티ー	黒い異物	ティーポット修理用パテ				

2 環境衛生関連業務

保健所からの依頼により、環境衛生に関する行政試験を行った。また、市民や市内事業所からの依頼により、飲料水等の依頼試験も合わせて行った。その内訳は表13のとおりである。

(1) 飲料水試験

水道水や井戸水等の飲料用適否試験を行った。

総検体数は373検体、延6,652項目であり、その内訳は表14のとおりである。

このうち、水質基準に適合しなかったものは136

検体、不適率36%であった。不適検体のほとんどは井戸水や伏流水であり、主な不適項目は、一般細菌、大腸菌群、色度、濁度、臭気、pH等の一般項目であった。

その他、飲料用の地下水質を把握するため、80検体、延720項目について硫酸イオン、溶性ケイ酸等の無機溶存成分の試験を行った。また、農業等による水質汚染を把握するため、80検体、延1,280項目についてダイアジノン、ジクロロボス等の監視項目の試験を行った。

表13 環境衛生試験

試験区分	行政試験		依頼試験		計	
	検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
飲料水試験	136	4,203	237	2,449	373	6,652
無機溶存成分試験	80	720	—	—	80	720
農薬監視項目試験	80	1,280	—	—	80	1,280
その他の水質試験	275	849	117	512	392	1,361
家庭用品試験	209	951	5	22	214	973
器具・容器包装等の試験	2	22	4	20	6	42
おしぼり・おむつ等の試験	6	24	—	—	6	24
食器の陰イオン界面活性剤試験	—	—	59	59	59	59
氷雪の試験	—	—	3	6	3	6
医薬品の試験	4	5	—	—	4	5
計	792	8,054	425	3,068	1,217	11,122

表14 飲料水の種類別試験

区 分		行政試験		依頼試験		計	
		検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
水道水	一般項目	3	19	97	958	100	977
	全項目	14	644	—	—	14	644
	小 計	17	663	97	958	114	1,621
小規模給水	一般項目	9	34	—	—	9	34
	全項目	29	1,334	—	—	29	1,334
	小 計	38	1,368	—	—	38	1,368
井戸水	一般項目	35	334	125	1,211	160	1,545
	全項目	31	1,426	9(9)	225	40	1,651
	小 計	66	1,760	134	1,436	200	3,196
その他	一般項目	5	32	6	55	11	87
	全項目	10(4)	380	—	—	10	380
	小 計	15	412	6	55	21	467
	計	136	4,203	237	2,449	373	6,652

() の数字は、旧水質基準項目の検体数を示す。

表 15 その他の水質試験の種類別試験

区 分	行政試験		依頼検査		計	
	検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
公衆浴場水	155	457	1	3	156	460
プール水	70	280	22	110	92	390
かき洗浄水	10	26	57	337	67	363
利用水	40	86	37	62	77	148
計	275	849	117	512	392	1,361

(2) その他の水質試験

公衆浴場水、プール水、かき洗浄水等 392 検体、延 1,361 項目について水質試験を行った。その内訳は表 15 のとおりである。

利用水の行政試験は、クリプトスポリジウムに関する試験で、濁度と糞便性大腸菌群の項目について行ったものである。

依頼試験は、主に水耕栽培用の肥料水中の一般細菌や大腸菌群及び冷却用水中の pH、硬度、溶性ケイ酸等の項目について行ったものである。

(3) 家庭用品試験

家庭用品の安全性をチェックするため、209 検体、延 951 項目について行政試験を行った。その内訳は表 16 のとおりである。

このうち、乳幼児用中衣 2 検体が、ホルムアルデヒドの基準を超えており、住宅用洗浄剤 1 検体が、落下試験の基準に不適合であった。

また、洗浄剤 5 検体、延 22 項目について依頼試験を行った。

(4) 器具・容器包装等の試験

食品添加物 2 検体、延 22 項目について行政試験を行った。また、器具・容器包装 2 検体、延 16 項目、食品添加物 2 検体、延 4 項目について依頼試験を行った。

(5) おしぼり・おむつ等の試験

おしぼり・おむつ等 6 検体、延 24 項目について行政試験を行った。

(6) 食器の陰イオン界面活性剤試験

食器に残留する陰イオン界面活性剤 59 検体、延 59 項目について依頼試験を行った。

(7) 氷雪の試験

氷雪 3 検体、延 6 項目について依頼試験を行った。

(8) 医薬品の試験

医薬品の安全性をチェックするため、薬事法に基づき、風邪薬 4 検体、延 5 項目について行政試験を行った。

表 16 家庭用品の項目別試験(行政試験)

区 分	繊維製品	その他	計
塩化水素又は硫酸	—	6	6
容器又は被包(酸)	—	6	6
水酸化カリウム又は水酸化ナトリウム	—	4	4
容器又は被包(アルカリ)	—	3	3
塩化ビニル	—	14	14
テトラクロロエチレン	—	14	14
トリクロロエチレン	—	14	14
トリフェニル錫化合物	160	14	174
トリブチル錫化合物	160	14	174
BDBPP	73	—	73
ディルドリン	73	—	73
ホルムアルデヒド	178	—	178
メタノール	—	14	14
有機水銀化合物	160	14	174
漏水試験	—	9	9
落下試験	—	12	12
圧縮変形試験	—	9	9
計	804	147	951

3 疫学情報関連業務

公衆衛生情報の有効な活用を図るため、情報の収集及び解析提供に関する業務を行った。

(1) 公衆衛生情報の解析提供

a 情報の収集整理

試験研究機関からの研究報告書等の情報交換資料をはじめ、当所の試験検査・調査研究業務に必要な技術資料等 844点を収集し、効果的な利用に供するため分類整理を行い、蓄積を図った。

b 文献、資料等の提供

衛生関係部局等からの要請により、行政対応に必要な各種の文献や技術資料24件74点を提供した。国立感染症研究所感染症情報センターから毎月、集計・解析、還元される病原微生物検出情報は、その都度保健所、保健センター等21か所の関係機関に提供した。また、厚生省汚染物質研究班に対し、平成11年度分析試料 128検体についての試験検査データ13,333件を食品汚染物モニタリングデータとして提供した。

c 刊行物による情報提供

平成11年度における当所の事業概要と調査研究等を収録した「広島市衛生研究所年報第19号(平成11年度)」を刊行し、関係部局及び全国の試験研究機関等に配布した。

(2) 衛生研究所情報管理システムの整備・運用

a システムの整備及び管理運用

平成9年度から試験成績書の処理、所内各部の共用情報の整備活用等を行うため、各部研究室間をオンライン化するとともに、衛生研究所情報管理システムとして整備を行っている。

情報管理システムのデータベースを構成する主なファイルを表18に示した。文献情報については、従来から実施している文献データベースの構築と並行しながら、依頼に基づく検索出力等を行った。12年度の検索件数は延べ 750件であった。その他、図書管理システム等についても、引き続きデータ登録を行い、ファイル更新を行った。

また、サーバー、クライアント機器及び各データベースファイルについては、定期的な保守点検とファイル管理を行った。

b システム開発等に関する技術支援

統計解析ソフトなどの利用方法や所員によるソフトウェアの自主開発等については、その技術的な支援を行い、利用技術の向上を図った。

c インターネット及びパソコン通信システム

インターネットによる保健・環境関連の情報収

表17 平成12年度刊行物

発行年月	刊行物名	判 部数
H12. 12	広島市衛生研究所年報第19号 A4 (平成11年度)	400

表18 情報管理システムの主要ファイル構成
(平成13年 3月末)

区 分	データ格納件数
文献情報ファイル	59,526
図書管理データファイル	2,361
新聞記事データファイル	13,997
地方衛生研究所業績ファイル	25,554
技術資料データファイル	6,845
食品苦情事例データファイル	871

集や関係機関との情報交換は、欠かせないものとなっており、12年度においても民間プロバイダとインターネット接続契約(5アカウント)を結び、所内の各部での利用に供した。

厚生行政総合情報システムについては、WISH-NETにより厚生省や全国の地方衛生研究所の間で情報交換、情報収集を行った。

環境分野では、環境庁環境安全課の委託業務に関し、関係機関との情報交換や関連技術情報の入手のため、同環境安全課の運営するパソコン通信ネットワーク「環境情報フォーラム」に参加し、所員の利用に供した。また環境分野での研究情報の入手、交換に資するため、環境情報普及センターの運営する環境情報システム「EICネット」に、また全国公害研協議会会員機関等の連絡等に同システム内に設置されている全公協CUGに参加し、所員の利用に供した。

(3) 保健所等情報システムの運営

保健所等情報システムは、平成10年1月の更新時に衛生研究所に所管替えされ、システム全般の管理運営を行っている。衛生研究所にサーバーを設置し、本庁保健医療課、保健所、保健所分室、各区の保健センター、衛生研究所にクライアント計24台を配備している。

各課をオンラインで結ぶとともに、衛生研究所情報管理システムと接続することにより、相互シ

システムとしての活用を図っている。WWWブラウザを用いた文献等のデータベース検索システムは、保健所、各保健所分室及び所内各部から利用可能となっており、11年度に引き続き試験運用を行った。

(4) 図書室

a 図書室の管理運営

逐次刊行物、研究報告書の分類整理に重点を置き、所内の図書管理委員会と連携をとりながら図書室を運営した。

12年度の定期講読雑誌及び図書の受け入れ数量は、それぞれ43種、141冊であった。所蔵雑誌については、受け入れ状況を整理した「図書室雑誌受入リスト(平成12年版)」を作成し、近着資料については、毎月1回コンテンツサービスを行った。また、1999年版逐次刊行物の製本(34種、60冊)を行った。

b 文献の収集調査

試験検査や調査研究業務に欠かせない文献の収集調査のため、科学技術振興事業団オンライン情報システム(JOIS)を導入し、所員の利用に供した。

(5) 厚生科学研究事業への参画

平成12年度健康科学総合研究事業「地方衛生研

究所の機能強化に関する総合的研究」(主任研究者 加藤一夫福島県衛生公害研究所長)に係る分担研究課題「地方衛生研究所の情報ネットワークの構築等による情報関連機能の強化に関する研究」(分担研究者 荻野武雄広島市衛生研究所長)について、地研7機関の協力を得て分担研究を行った。

(6) その他

a 各種照会等に係る連絡調整

地方衛生研究所、地方公害研究所など関係機関からの研究所運営等に関する各種照会、調査依頼などの窓口として所内各部の連絡、調整等の対応を行った。12年度の取扱件数は61件であった。

b 地方感染症情報センター移管計画

本市では従来から本庁に結核・感染症情報センターを置き、結核・感染症発生動向調査事業が実施されてきたが、感染症情報センターの13年度衛生研究所への移管計画に添って、所内及び関係課との調整等を行った。また感染症情報センター運営に関する具体的方法の検討とあわせ、新たに作成する週報の検討、11年4月以降の感染症発生情報の整理、専用ファクシミリの導入等、所要の準備を行った。

生物科学部

生物科学部の主要業務は、衛生微生物に関する試験検査ならびに感染症予防などに関する調査研究で、細菌病理関連業務、ウイルス関連業務および食品細菌関連業務に大別される。

細菌病理関連業務では、感染症予防法、結核予防法に基づく病原細菌などの検査および梅毒血清反応検査、感染症発生動向調査事業に基づく各種検査ならびに調査研究を実施している。

ウイルス関連業務では、感染症発生動向調査事業、感染症予防法に基づくウイルス学的、血清学的検査、感染症流行予測のための感受性検査、エイズ予防対策の一環としての HIV 抗体確認検査などの各種検査ならびに調査研究を実施している。

食品細菌関連業務では、食品衛生法に基づく食品の成分規格検査、食中毒病原検索、食品などの細菌、真菌検査などの各種検査ならびに調査研究を実施している。

また、各々の業務に遺伝子検査などの先端技術を導入して検査体制の強化を図り、病原体の検査ならびに調査研究を実施している。

平成12年度の業務概要を以下に報告する。

1 細菌病理関係業務

保健所および保健センターからの行政検査なら

表1 細菌病理関連業務検査件数

区分	保健センター	衛生研究所	計
行政検査			
腸管系病原菌	1,135 (31)	-	1,135 (31)
菌株検査	27	283	310
感受性検査	1,454	1,174	2,628
梅毒検査	100 (2)	-	100 (2)
発生動向調査	51 (25)	-	51 (25)
結核菌検査	10	-	10
環境調査	-	17	17
原虫検査	36 (18)	-	36 (18)
食中毒(再掲)	707 *	-	707
小計	3,520 (76)	1,474	4,994 (76)
依頼検査			
腸管系病原菌	-	105 (1)	105 (1)
梅毒検査	132	-	132
血液型検査	22	-	22
原虫検査	-	5	5
小計	154	110 (1)	264 (1)
計	3,674 (76)	1,584 (1)	5,258 (77)

!(): 陽性者数

*: 食品保健課の食中毒病原検索(患者便など)

表2 腸管系病原検索

区分	保健センター (行政)	衛生研究所 (依頼)	計
赤痢菌	105(1)	47	152(1)
チフス菌	94	-	94
コレラ菌	-	-	-
EHEC	603(30)	58(1)	661(31)
病原大腸菌	1	-	1
その他の菌	332	-	332
計	1,135(31)	105(1)	1,240(32)

(): 陽性者数

びに市民・事業者からの依頼検査を行った。なお検出した病原菌や医療機関から提供された菌株について、遺伝子検査などの疫学解析を行った。

平成12年度は、行政検査4,994件、依頼検査264件、計5,258件、病原菌を検出した陽性者数は77人で、内訳を表1に示す。

なお、平成12年度から食中毒病原検索のうち、患者便、従事者便の検査を実施したので、食品細菌関係業務から再掲した。

(1) 腸管系病原検索

感染症の予防対策として、患者発生時に各種の病原菌の検索を行った。検査区分別の内訳を表2に示す。行政検査1,135件、依頼検査105件、計1,240件で、陽性者の内訳は、赤痢菌1人(1.0%)、腸管出血性大腸菌(EHEC)30人(5.0%)であった。

(2) 菌株検査

感染症の患者発生時に各種の菌株の分与を受け病原性の確認検査を行った。検査区分別の内訳を表3に示す。保健センターが医療機関から搬入した菌株は27株、当所が他機関から分与を受けた菌株は283株、計310株について病原菌の確認検査を行った。

(3) 感受性試験・遺伝子検査

腸管系病原検索および菌株検査において、感受

表3 菌株検査

区分	保健センター (行政)	衛生研究所 (行政)	計
赤痢菌	4	-	4
病原大腸菌	21	-	21
腸炎ビブリオ	-	77	77
サルモネラ	-	63	63
カンピロバクター	2	143	145
計	27	283	310

表4 感受性検査・遺伝子検査

区分	保健センター (行政)	衛生研究所 (行政)	計
感受性検査	-	707	707
遺伝子検査			
PCR	1,454	-	1,454
RAPD	-	467	467
計	1,454	1,174	2,628

性試験・遺伝子検査を行った。検査区分別の内訳を表4に示す。腸管系病原検索におけるスクリーニングおよび病原性確認のためのPCR検査は、1,454件、RAPD-PCRは467件行った。検出した病原菌の疫学マーカーとしての薬剤感受性試験を707件行った。

(4) 梅毒検査

性病予防のための梅毒血清学的検査を行った。検査区分別の内訳を表5に示す。行政検査100件依頼検査132件、計232件のうち、陽性者は2人(0.9%)であった。

(5) 感染症発生動向調査

感染症発生動向調査事業に基づく感染症の細菌学的検査を行った。すべて行政検査で、陽性者は淋菌の25人(100%)であった。

(6) 結核菌検査

結核予防のための結核菌検査を行った。行政検査10件で、すべて陰性であった。

(7) 血液型検査

保健センターの一般健康診断に伴う血液型検査を行った。すべて依頼検査で、ABO式型別11件Rh式型別11件、計22件であった。

(8) 環境調査

下水処理場の放流地点付近の河川水17件について、病原大腸菌、サルモネラなどの細菌検査を行った。

(9) 原虫などの検査

患者発生時における臨床病理検査を行った。つが虫36件、ぎょう虫5件を検査した。

つが虫の陽性者は、18人(100%)であった。

(10) 食中毒病原検索

表5 梅毒検査

区分	保健センター (行政)	保健センター (依頼)	計
ガラス板法	50(1)	66	116(1)
TPHA	50(2)	66	116(2)
計	100(2)	132	232(2)

() : 陽性者数

食中毒発生時の患者便421件、原因施設の従事者便286件、計707件を検査した。

2 ウイルス関連業務

行政検査として集団発生事例および感染症発生動向調査事業の病原検索、ウイルス感染症流行予防のための感受性調査、エイズ予防対策事業のHIV抗体確認検査、かき衛生対策としてのウイルス検査などを行った。また、市民からの依頼検査としてB型肝炎の検査を行った。平成12年度に取り扱った主な事業別検査数を表6に示す。

(1) 集団発生事例

保健所および各保健センターからの依頼に基づく集団発生事例の検体別検査数を表7に示す。

平成12年度は食中毒3事例、有症苦情14事例、市外での発生に関連した調査15事例、計32事例について検査依頼があった。検査の結果、患者および喫食者便148検体中88検体、従事者便100検体中8検体、食品52検体中23検体からSRSVまたはノーウォーク様ウイルス遺伝子が検出された。

なお、平成12年度には集団かぜの届出はなかった。

(2) 感受性調査

主なウイルス感染症の流行予防のために市民の抗体保有状況について調査した。平成12年度に実施した感受性調査の検査数を表8に示す。

a 風疹

18~79歳の男女血清182検体についてHI抗体価を測定した。HI価8倍以上の抗体保有率は86.8%であった。

b 麻疹

18~79歳の男女血清182検体についてELISA法によりIgG抗体を測定した。ELISA法による抗体陽性率は96.7%であった。

表6 ウイルス関連業務検査件数

区分	分離	血清
集団発生など	311	0
感受性調査	0	1,310
感染症発生動向調査	1,365	0
依頼検査(B型肝炎)	0	212
エイズ予防対策	0	210
かき衛生対策	24	0
その他の感染症	9	0
血清疫学調査	0	112
その他の調査	88	0
計	1,797	1,844

表7 食中毒、有症苦情などの検査数

区分	事例数	検体名*	検体数	陽性数
食中毒	3	患者便	40	23
		従事者便	36	5
		食品	8	2
		スワブ	4	0
		小計	88	30
有症苦情	14	患者便	101	60
		従事者便	51	3
		食品	8	3
		スワブ	7	0
		小計	167	66
廻り調査	15	患者便	7	5
		従事者便	13	0
		食品	36	18
		小計	56	23
全体	32	患者便	148	88
		従事者便	100	8
		食品	52	23
		スワブ	11	0
		計	311	119

*: 患者便には無症状の喫食者が含まれる。

c ムンプス

18~79歳の男女血清 182 検体について ELISA 法により IgG 抗体を測定した。ELISA 法による抗体陽性率は 91.8%であった。

d 日本脳炎

16~79歳の男女血清 162 検体について HI 抗体価を測定した。HI 価 10 倍以上の抗体保有率は 52.5%であった。年齢群別では 10 歳代が 50.0%, 20 歳代が 81.5%, 30 歳代が 41.7%, 40 歳代以上は 20.0%であった。

e インフルエンザ

18~44歳の女性血清 92 検体について HI 抗体価を測定した。99/2000 シーズンのワクチン株に対する HI 価 10 倍以上の抗体保有率は、A/北京/262/95(H1) が 16.6%, A/シドニー/5/97(H3) が 34.6%, B/山東/7/97 が 56.4%であった。一方、今シーズンの分離株に対する抗体陽性率は A/広島/C5/2000(H3) が 100%, A/広島/C14/2000(H3) が 93.6%, A/広島/C27/2000(H1) が 18.0%であった。なお、2000/2001 シーズンのワクチン株 B/山梨/166/98 に対する抗体保有率は 69.2%であった。

f ポリオ

18~79歳の男女血清 62 検体についてワクチン株に対する中和抗体価を測定した。4 倍以上の中

表8 感受性調査の検査数

検査項目	検査法	検体数
風疹	HI	182
麻疹	ELISA	182
ムンプス	ELISA	182
日本脳炎	HI	162
インフルエンザ	HI	92
ポリオ	NT	62
B型肝炎	EIA	182
ヘルペス	ELISA	182
オウム病	CF	84
計	—	1,310

和抗体保有率は 1 型が 75.8%, 2 型が 88.7%, 3 型が 66.1%であった。

g B型肝炎

18~79歳の男女血清 182 検体について、EIA 法により HBs 抗原および HBs 抗体測定を行った。HBs 抗原陽性率は 1.1%, HBs 抗体陽性率は 12.6%であった。

h 単純ヘルペス

18~79歳の男女血清 182 検体について ELISA 法により IgG 抗体を測定した。ELISA 抗体陽性率は 54.4%であった。

i オウム病

18~65歳の女性血清 84 検体について CF 試験により抗体測定を行った。CF 抗体価 16 倍以上の抗体保有率は 11.9%, 32 倍以上は 4.8%であった。

(3) 感染症発生動向調査事業

市内 12 か所の検査定点医療機関において採取された検体について、ウイルス分離同定検査ならびにクラミジア・トラコマチス抗原検査を行い、検査結果は定点医療機関に還元するとともに、毎月広島市感染症情報センターへ月報として情報提供した。

12 年度には 1,097 人から 1,365 検体の検査材料が採取された。その臨床診断別検査数を表 9 に示す。検査の結果、355 人から 40 種類 393 株のウイルスが分離同定され、6 株のクラミジア・トラコマチスが検出された(表 10)。

(4) 依頼検査

市民の依頼により各保健センターにおいて実施している健康診断のうち、B 型肝炎の抗原・抗体について検査した(表 11)。

(5) エイズ予防対策

HIV 抗体スクリーニング検査は民間検査機関

表9 感染症発生動向調査事業の検査数

臨床診断名	患者数	検体数
百日咳	7	8
A群溶血性連鎖球菌咽頭炎	6	8
異型肺炎	37	45
感染性胃腸炎	90	119
乳児嘔吐下痢症	12	19
手足口病	11	17
ヘルパンギーナ	11	15
インフルエンザ	109	116
咽頭結膜熱	73	85
流行性角結膜炎	19	19
急性出血性結膜炎	2	2
無菌性髄膜炎	101	153
細菌性髄膜炎	6	12
脳・脊髄炎	18	28
性器クラミジア感染症	5	5
麻疹	8	9
水痘	3	3
流行性耳下腺炎	7	8
伝染性紅斑	4	5
川崎病	19	22
ウイルス肝炎	9	12
アフタ性口内炎	1	1
伝染性単核症	9	10
その他の呼吸器疾患	310	347
その他の消化器疾患	18	26
その他の神経系疾患	14	21
その他の発疹性疾患	17	24
その他の眼疾患	10	13
その他の泌尿生殖器疾患	11	12
性感染症検査希望者	44	44
その他の循環器疾患	8	14
その他の疾患	88	132
不詳	10	11
計	1,097	1,365

に委託しており、一次スクリーニング検査で、陽性または判定保留とされた検体について確認検査を行うこととしているが、平成12年度には確認検査の依頼はなかった。

一方、検査委託機関の協力により、HIV抗体スクリーニング検査終了後の血清210検体を用い、各種のHIV抗体検査方法について検討するとともに、スクリーニング検査の精度管理を行った。

(6) かき衛生対策

食品媒介性ウイルス性胃腸炎の主要な病原であるノーウォーク様ウイルスの汚染状況調査の一環として、広島湾北部海域で養殖されているかき24検体について検査した。

表10 ウイルス、クラミジア検出数

病原体名	患者数	検体数
コクサッキーA2型	1	2
コクサッキーA4型	11	12
コクサッキーA5型	1	1
コクサッキーA8型	2	3
コクサッキーA9型	2	2
コクサッキーA10型	1	1
コクサッキーB3型	15	17
コクサッキーB5型	9	11
エコー3型	7	8
エコー6型	3	3
エコー9型	13	13
エコー22型	1	1
エコー25型	4	4
エンテロ71型	5	5
ポリオ1型	1	1
ポリオ2型	3	3
ポリオ3型	1	1
インフルエンザA(H1)型	20	20
インフルエンザA(H3)型	6	6
インフルエンザB型	8	8
パラインフルエンザ2型	2	2
RS	3	3
ムンプス	9	10
麻疹	3	3
ロタ(A群)	16	16
ロタ(C群)	3	3
ノーウォーク	12	12
小型球形ウイルス様粒子	8	8
アデノ未型別	1	1
アデノ1型	16	16
アデノ2型	31	31
アデノ3型	111	129
アデノ4型	1	1
アデノ5型	4	4
アデノ6型	2	3
アデノ19型	4	4
アデノ22型	2	2
アデノ37型	3	3
アデノ40/41型	3	3
単純ヘルペス1型	15	16
クラミジア・トラコマチス	6	6
計	369	398
陽性数	361	394

(7) その他の感染症

市内の医療機関からウイルス検査依頼があり、9月に高校運動部員から採取された咽頭ぬぐい液8検体中7検体から、コクサッキーウイルスB3

表11 B型肝炎の検査数

検査項目	検査法	検体数
HBs 抗原	EIA	125
HBs 抗体	EIA	87
計	-	212

型が分離された。また、3月にウイルス性脳炎の疑いの検査依頼があり、髄液1検体についてウイルス分離を行ったが、分離陰性であった。

(8) 血清疫学調査

市内の准看護学院の協力により、学生112人を対象に風疹、麻疹、およびムンプスの抗体、ならびにHBs抗原、抗体の保有状況を調査した。

(9) 厚生科学研究事業

平成12年度は(エイズ対策研究事業)「HIVの検査法と検査体制を確立するための研究」に係る研究に協力した。

(10) その他の調査研究

「アデノウイルスの分子疫学的解析」として、昭和63年～平成9年に分離されたアデノウイルス8型130株について制限酵素切断パターンにより解析した。

「新型インフルエンザウイルス系統調査・保存事業」としてブタの鼻腔ぬぐい液88検体について調査した。

3 食品細菌関連業務

保健所における収去、有症苦情・食中毒調査で搬入された検体の細菌検査、医療機関の届出による患者菌株および保健所検体から分離された菌株の疫学検査、苦情処理などによる食品関連施設の衛生指導に伴う食品の細菌検査を行った。また、食品営業者の自主検査などで持ち込まれた検体の依頼検査を行った。総検体数は5,942検体で、検査件数としては6,760件であった。その内訳を表12に示す。

(1) 収去検査

収去検査としては、成分規格の定められた食品の規格検査、その他の食品での大腸菌群などの一般細菌検査や食中毒菌検査を行った。収去食品の検査数を表13に示す。

収去検査の検体数は669検体、検査件数としては1,213件であった。

食品別にみると、弁当・そうざい類が184検体と最も多く、以下、魚介類が130検体、肉・卵類及びその加工品104検体、野菜・果物及びその加

表12 食品細菌関連業務検査件数

区分	検体数	規格検査	一般細菌	食中毒菌	計
行政検査					
収去検査	699	62	647	504	1,213
病原検索	2,870	3	236	2,746	2,985
疫学検査	1,986	0	0	1,986	1,986
衛生検査	142	3	98	120	221
小計	5,681	68	981	5,356	6,405
依頼検査	261	9	257	89	355
計	5,942	77	1,238	5,445	6,760

工品65検体、菓子類54検体の順であった。

検査区分別にみると、規格検査では乳類・乳製品・乳加工品が81件と主な検査食品であった。なお、規格検査をした食品は全て成分規格に適合した。

食中毒菌検査では、魚介類及びその加工品は主として腸炎ビブリオを260件、肉卵類及びその加工品は主としてサルモネラ、カンピロバクターを93件実施した。これらは、保健所の重点検査項目によるものである。菓子類・弁当・そうざい類の食中毒菌項目229件は、主として衛生規範に基づく黄色ブドウ球菌である。

収去食品の生菌数検査を583検体実施した。その菌数分布を表14に示す。

収去食品の42.9%が 10^2 オーダー以下、53.2%が $10^3 \sim 10^5$ オーダーであったが、 10^6 オーダー以上の食品が3.9%あった。肉卵類及びその加工品

表13 収去食品検査数

区分	検体数	規格検査	一般細菌	食中毒菌	計
乳類	36	23	34	13	70
魚介類	130	2	129	61	192
魚介加工品	42	3	38	27	68
肉卵類及びその加工品	104	9	92	93	194
乳製品	15	9	13	7	29
乳類加工品	3	2	3	1	6
アイスクリーム・氷菓	6	6	6	0	12
穀類及びその加工品	20	0	20	20	40
野菜類・果物及びその加工品	65	0	65	53	118
菓子類	54	0	54	53	107
弁当・そうざい類	184	0	184	176	360
その他	10	7	10	0	17
計	669	61	648	504	1,213

表14 収去食品の生菌数分布

区分	検体数	<300	$\times 10^2$	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$	$\times 10^7$	$\times 10^8$
乳類	26	26	0	0	0	0	0	0	0
魚介類	120	18	27	41	25	9	0	0	0
魚介加工品	27	12	1	5	6	3	0	0	0
肉卵類及びその加工品	74	13	7	18	12	12	12	0	0
乳製品	9	9	0	0	0	0	0	0	0
アイスクリーム・氷菓	6	6	0	0	0	0	0	0	0
穀類及びその加工品	20	9	2	7	1	1	0	0	0
野菜類・果物及び その加工品	64	16	5	21	7	7	3	3	2
菓子類	53	15	10	15	11	2	0	0	0
弁当・そうざい類	184	56	18	47	47	13	3	0	0
計	583	180	70	154	109	47	18	3	2
(%)		(30.9)	(12.0)	(26.4)	(18.7)	(8.1)	(3.1)	(0.5)	(0.3)

と野菜及びその加工品の菌数が高く、20 検体が 10^6 オーダー以上であった。その主な食品は、食肉(9 検体)、液卵(3 検体)および野菜(7 検体)であった。

収去食品での E.coli, 大腸菌群, 黄色ブドウ球菌の検出状況を、表 15 に示す。

E.coli は 10.3%, 大腸菌群は 11.9%, 黄色ブドウ球菌は 7.4% の陽性率であった。

(2) 食中毒病原菌検索

食中毒および有症苦情での検体別病原菌検索の件数を表 16 に示す。なお、患者便および従事者便については細菌病理担当で検査した。

総検体数は、食中毒によるもの 1,395 検体、有症苦情によるもの 1,475 検体計 2,870 検体と、ほぼ同程度の比率であった。

検体の区分では食品が 1,473 検体と最も多く、拭取り 674 検体、患者便 421 検体の順であった。食中毒と比べて有症苦情は拭取り、従事者便の比率が高い傾向にあるが、検査事例数が多いことによる。

平成 12 年度の食中毒発生状況を表 17 に示す。総事件数は 632 件で、細菌性 619 件、ウイルス性 3 件、自然毒 3 件、不明 7 件で患者数は 1,080 名であった。集団事件は 14 件、患者数 425 名であり、そのうち、患者数 20 名以上の事件は 7 件、患者数 354 名であった。

表15 E.coli, 大腸菌群および黄色ブドウ球菌の検出状況

区分	検体数	陽性数	(%)
E.coli	301	31	(10.3)
大腸菌群	253	30	(11.9)
黄色ブドウ球菌	230	17	(7.4)

原因物質の内訳は、事件総数でカンピロバクター 229 件、サルモネラ 113 件、病原大腸菌 110 件、腸炎ビブリオ 80 件の順であるが、集団事件では、腸炎ビブリオ 3 件、サルモネラ 2 件、カンピロバクター 1 件、セレウス菌 1 件、ウエルシュ菌 1 件、SRSV 3 件であった。

(3) 疫学検査

食中毒病原菌検索での分離菌株および医療機関から届出された菌株について、血清型別、薬剤感受性、病原因子などを確認する菌株検査を行い、集団事例での分離菌株についてはパルスフィールド電気泳動検査(PFGE)などの遺伝子検査を行った。その疫学検査の検体数を表 18 に示す。

病原菌検索および医療機関届出の菌株のうちサルモネラ 55 株、カンピロバクター 67 株、腸炎ビブリオ 71 株、その他の菌株 19 株計 212 株について、血清型別、薬剤感受性検査を行った。

遺伝子検査は食中毒病原菌検索検体および医療機関届出菌株 1,774 検体について行った。病原因子確認のための PCR は 1,295 検体を検査した。食中毒事例分離菌株などの分子疫学として、過去の対照菌株を含め PFGE は 273 株、RAPD は 164 株、Plasmid は 42 株を検査した。

表16 食中毒病原菌検索

区分	食品	拭取り	患者便	従事者便	水	計
食中毒						
広島市	779	283	188	99	1	1,350
他都市	17	4	7	17	0	45
小計	796	287	195	116	1	1,395
有症苦情	677	387	226	170	15	1,475
計	1,473	674	421	286	16	2,870

表17 平成12年度食中毒発生状況(患者20名以上)

発生日	原因施設	喫食者数	患者数	原因食品	原因物質
7月7日	仕出屋	115	82	会席料理(煮物)	腸炎ビブリオ(O8:K41)
11月3日	飲食店	1,165	44	寿司	<i>Salmonella</i> Enteritidis
2月4日	飲食店	139	64	鶏肉の生姜煮	ウエルシュ菌(Hobbs1)
3月3日	飲食店	104	47	披露宴の食事(推定)	SRSV
3月9日	学校(調理実習室)	153	86	実習の調理品(推定)	<i>Campylobacter jejuni</i>
3月10日	飲食店	41	31	会席料理	SRSV

総事件数632件, 患者数1080名(死者なし): 集団事件14件(患者数425名), 散発事件618件(患者数655名)

原因物質: カンピロバクター229件, サルモネラ113件, 病原大腸菌110件, 腸炎ビブリオ80件, その他93件, 不明7件

(注) 平成12年(1~12月)集計では, 事件数661件, 患者数833名(死者なし)

血清検査・病原因子検査で判明したサルモネラ 55 株, カンピロバクター61 株, 腸炎ビブリオ 57 株の菌型・菌種を表 19 に示す。

サルモネラは 7 種の菌型を認めた。*S. Enteritidis* が 30 株 (54.5%), *S. Schwarzengrund* が 19 株 (34.5%), その他の菌型が 6 株であった。*S. Schwarzengrund* は天ぷら料理を原因食品とした飲食店での食中毒事件によるものである。

カンピロバクターは 61 株が分離され, 菌種はすべて *C. jejuni* であった。

溶血毒素遺伝子 (*tdh/trh*) を保有する腸炎ビブリオは 6 種の菌型を認めた。O3:K6(*tdh+*) が 30 株 (52.6%), O8:K41(*tdh+*) が 15 株 (26.3%), O4:K88(*tdh+*) が 6 株 (11.0%), その他の菌型が 6 株であった。いずれも食中毒患者から分離された菌型であるが, O8:K41 を原因物質とした食中毒事件では O3:KUT(*trh+*) を検出した患者が 3 名みられ, そのうち 1 名は 2 種類の菌型を同時に検出した。

(4) 衛生検査

収去検査, 食中毒病原検索以外に, 市民から寄せられた異味異臭・腐敗変敗・カビ発生などの食品苦情, 食品製造施設, 旅館ホテル, 病院給食施

設などの衛生指導および保健所の実態調査などに伴う細菌検査を行った。表 20 に衛生検査の検査数を示す。

検体数は 142 検体, 検査件数として 221 件を検査した。主な検査項目は一般細菌および腸炎ビブリオと黄色ブドウ球菌であった。

保健所のアサリの腸炎ビブリオ汚染実態調査に伴うアサリ漬け水などを 48 検体, 旅館ホテル, 病院給食の衛生指導に伴い弁当・そうざい類 45 検体を検査した。

(5) 依頼検査

食品製造業者などからの依頼による食品検体を

表19 サルモネラ・カンピロバクター・腸炎ビブリオの菌型・菌種分布

区分	食品	患者	その他	計
サルモネラ				
Agona	0	1	0	1
Enteritidis	0	22	8	30
Infantis	1	0	0	1
Schwarzengrund	1	11	7	19
Stanley	0	2	0	2
Typhimurium	0	1	0	1
Virchow	0	1	0	1
計	2	38	15	55
カンピロバクター				
<i>C. jejuni</i>	9	51	1	61
計	9	51	1	61
腸炎ビブリオ				
O1:KUT(<i>tdh+</i>)	0	1	0	1
O3:K6(<i>tdh+</i>)	0	29	1	30
O3:KUT(<i>trh+</i>)	1	2	0	3
O3:KUT(<i>trh+</i>) & O8:K41(<i>tdh+</i>)	0	1	0	1
O8:K41(<i>tdh+</i>)	0	15	0	15
O4:K8(<i>tdh+</i>)	0	6	0	6
O4:K68(<i>tdh+</i>)	0	1	0	1
計	1	55	1	57

表18 疫学検査

	区分	検体数
菌株検査	サルモネラ	55
	カンピロバクター	67
	腸炎ビブリオ	71
	その他の菌株	19
	小計	212
遺伝子検査	PCR	1,295
	PFGE	273
	RAPD	164
	Plasmid	42
	小計	1,774
	計	1,986

表20 衛生検査検体数および検査件数

区分	検体 数	規格 検査	一般 細菌	食中 毒菌	計
乳類	4	2	4	2	8
魚介類	13	0	9	9	18
肉卵類及びその 加工品	1	0	0	1	1
乳製品	4	1	4	3	8
乳類加工品	7	0	7	0	7
アイスクリーム・ 氷菓	1	0	0	1	1
穀類及びその加工品	3	0	3	3	6
野菜類・果物 及びその加工品	6	0	6	6	12
菓子類	1	0	1	0	1
弁当・そうざい類	45	0	45	42	87
水	48	0	10	44	54
拭取り	9	0	9	9	18
計	142	3	98	120	221

261 検体, 件数として 355 件を検査した。

魚介類が 97 検体と多く, 野菜類・果物及びその加工品 40 検体, 肉・卵類及びその加工品 39 検体, 魚介加工品 27 検体の順であった。

検査区分では, 食中毒菌検査の依頼が魚介類, 肉卵類及びその加工品および野菜類が多かった。

(6) 腸管出血性大腸菌検査

腸管出血性大腸菌衛生対策事業に伴う検査(再掲)を食品 489 検体, スワブ 45 検体の検査を行ったが, 陽性の検体はなかった。

(7) マウス接種試験

貝毒・フグ毒の検査に伴うマウス接種試験を 76 検体行った。貝毒対策実施要領に基づく麻痺性・下痢性貝毒検査は 49 検体, 食中毒調査でのフグ毒検査は 27 検体行った。

環 境 科 学 部

環境科学部の主要業務は、環境に関する試験検査ならびに調査研究であり、水質関連業務、大気関連業務及び特殊公害関連業務に大別される。

水質関連業務では、水質汚濁防止法に基づく公共用水域（河川）の水質試験、地下水質の調査、工場・事業場等の排水試験、環境の生物学的調査、土壌や産業廃棄物に関する試験検査及びこれらに関する調査研究を行っている。

大気関連業務では、大気汚染防止法及び悪臭防止法に基づく煙道排ガス、悪臭、環境大気中の有害大気汚染物質等の調査・測定、環境放射能に関する試験検査及びこれらに関する調査研究を行っている。

特殊公害関連業務では、農薬に関する試験検査及び調査研究を行っている。

平成 12 年度に実施した業務概要を以下に報告する。

1 水質関連業務

公共用水域における水質調査、地下水調査、環境の生物学的調査、洗剤残存調査、有害化学物質調査、規制対象事業場調査、土壌・廃棄物試験及び窒素・磷排出状況調査を行政依頼試験として実施した。また、環境省委託化学物質環境汚染実態調査を受託して調査を行った。その他、苦情等に伴う調査及び一般依頼による試験検査を行った。

表 1 は、平成 12 年度に実施した各区分ごとの試験検査件数及び延項目数である。

(1) 河川水調査

水道水源を保全するという必要性から、太田川、八幡川の上水取水口より上流域の常時監視地点 17 地点において、毎月 1 回、pH、BOD などの生活環境項目とカドミウム、シアンなどの健康項目について試験を実施した。

健康項目については、全ての地点の全ての項目で環境基準を満足していたが、生活環境項目では大腸菌群の基準を超えている地点があった。

(2) 地下水調査

地下水質の経年変化を把握するため、定期モニタリング地点 7 か所において、年 2 回、有害化学物質の試験を行った。

(3) 環境の生物学的調査

水質の汚染を、生息する生物によって評価している。

表 1 水質関連業務検査件数

区 分	件数	延項目数
河川水調査	262	1,518
地下水調査	14	84
環境の生物学的調査	32	64
洗剤残存調査	15	15
有害化学物質調査	597	1,164
規制対象事業場調査	566	2,292
土壌・廃棄物調査	12	75
窒素・磷排出状況調査	122	244
環境省委託調査	11	23
苦情・依頼調査	365	766
一般依頼調査	34	81
計	2,030	6,326

平成 12 年度からは、太田川、八幡川、三篠川、瀬野川の 4 地点を定点に定め、経年変化を把握していくこととした。

平成 12 年度の調査結果では、太田川と三篠川はきれいであったが、八幡川と瀬野川はやや汚れ気味であった。

(4) 洗剤残存調査

市内河川 15 地点において、現在、広く使用されている洗剤の主成分である、直鎖型陰イオン界面活性剤（LAS）について、残留状況を調査した。

15 地点のうち、住宅地を流れる小河川 8 地点において LAS が検出されたが、太田川などの流量の多い河川では検出されなかった。

(5) 有害化学物質調査

公共用水域、地下水について、人の健康の保護に関する環境基準に規定された、低沸点有機化合物の調査を実施した。また、水質汚濁防止法に基づき、事業場排水中のトリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタン、四塩化炭素の調査を実施した。

(6) 規制対象事業場調査

水質汚濁防止法、瀬戸内海環境保全特別措置法、広島県公害防止条例等に基づき、本市環境企画課職員が採取した工場・事業場の排水について、pH、BOD などの生活環境項目、カドミウム、シアンなどの有害物質についての試験を行った。

平成 12 年度は 13 件の基準違反があり、改善勧告や改善命令の処分がされている。

(7) 土壌・廃棄物調査

行政依頼及び一般依頼により、土壌環境基準、農用地の土壌の汚染防止等に関する法律、廃棄物の処理及び清掃に関する法律に基づき、12件75項目の溶出試験を行った。

(8) 窒素排出状況実態調査

広島県の定めた「窒素及びその化合物並びに燐及びその化合物に係る削減指導方針」に基づき、法律による排水規制のない事業場を含めて調査を実施した。

(9) 環境省委託調査

環境省委託化学物質環境汚染実態調査を受託した。この調査では、指定化学物質等検討調査として、水質・底質中の1,4-ジオキサン、TBT、TPTの調査を実施するとともに、生物モニタリング調査として、広島湾周辺産のスズキ中の化学物質調査を(財)日本食品分析センターと共同で実施した。

(10) 苦情・依頼調査

市民からの苦情や、行政上必要と認められた依頼調査に基づく試験検査を行った。

平成12年度は、365件、766項目の試験検査を行った。

(11) 一般依頼試験

市内の工場・事業場及び市民からの依頼に基づき有料の試験を行った。

平成12年度は、34件、81項目の依頼があった。

2 大気関連業務

環境企画課からの行政依頼検査をしており、一般からの依頼検査は受けていない。

業務の内容としては、煙道測定、悪臭測定、燃料中の硫黄分の測定等規制基準が定めてある行政検査と、浮遊粉じん、降下ばいじん、酸性雨等の環境大気の調査を行った。

表2は平成12年度に実施した各項目の検査実績である。

(1) 煙道測定

大気汚染防止法(第26条)に基づき、事業場の煙道から排出される排ガスに含まれるばいじん、塩化水素などの有害物質を測定した。

ダイオキシン問題が発生して以降、休止している焼却炉があり、測定施設数は下降傾向にある。

測定した施設については基準値以下であった。

(2) 測定

悪臭防止法(第8条)では機器分析による物質(22物質)濃度が、人間の嗅覚による臭気濃度が

表2 大気関連業務試験件数

区分	調査項目	件数	検体数	延項目数
行政	煙道測定	2	4	4
	悪臭測定	23	46	916
	燃料測定	10	10	10
環境調査	浮遊粉じん調査	4	4	52
	降下ばいじん調査	36	36	864
	アスベスト調査	16	31	31
	フロン調査	8	8	24
	放射能調査	50	50	94
その他	酸性雨調査	24	48	816
	有害大気汚染物質	48	48	888
	環境省委託調査	4	4	62
計		225	287	3,761

(注) 苦情は各々の項目に含む

のどちらかによって規制するよう定められているが、本市では機器分析による物質の規制を行っている。

最近の苦情の傾向として、臭気の原因物質が特定できないと申出人等からなかなか納得が得られず、規制物質以外の物質についても検討することがある。

そうした背景から、苦情のある事業所については極力22物質を測定する方向で進めている。

(3) 燃料測定

大気汚染防止法(15条)に基づき、冬期(12月1日から翌年3月31日)の間、暖房等による硫黄酸化物汚染の増加を防止するために、燃料規制地域を設け、燃料の使用制限を行っている。

期間中、使用されている燃料の硫黄成分を測定しているが、各事業所とも良質な燃料が使用されており、規制基準値以下であった。

(4) 浮遊粉じん調査

佐伯・安佐南の両区にまたがる地区で大規模土地開発事業が行われ、この事業が環境にどのような影響を及ぼすか、昭和63年度「ひろしま西風新都環境管理指針」を策定し、それに基づき調査をしている。

現在、伴小学校(安佐南区沼田)に測定局を設け、年4回10 μ m以下カットの大気中粉じん量及びその中に含まれる重金属類の測定を実施している。

現在のところ目立った変化は見られてない。

(5) 降下ばいじん調査

本市の大気汚染状況を監視するため、環境省指定の「ろ過式採取器」を市内3カ所に設置し1カ

月間採取した降水試料について降下ばいじん量、重金属類、pH、陽イオン、陰イオン等を測定している。今のところ目立った変化は見あたらないが、他都市の解析方法を参考にしながら、酸性雨の調査と合わせて本市の状況をまとめていきたいと考えている。

(6) アスベスト調査

アスベストは建物の断熱・防音材等として広く使用されていたが、発ガン性物質があることから平成元年大気汚染防止法で基準が定められ、飛散防止対策や除去作業が行われた。

その後「広島市環境管理計画」に基づき実態を把握するため代表地点(5 地点)で継続的に調査しているが、いずれも基準の10分の1以下である。

(7) フロン調査

昭和 63 年特定物質の規制等によるオゾン層の保護に関する法律が制定され、オゾン層を破壊するフロンが規制されてきた。本市も「広島市環境計画」に基づき平成3年から実態を把握するため代表地点(4 地点)で継続的に調査しているが、目立った減少傾向が見られないのが現状である。

今後、順次フロンを使った機器が更新されていく中でどのような傾向を示すか注視していきたい。

(8) 環境放射能調査

環境中(浮遊粉じん、雨水、底質等)の放射能汚染状況の調査で、 γ 線核種分析、全 β 放射能、トリチウムの測定を行った。

現在のところ汚染された状況は発生していない。

(9) 酸性雨調査

大気汚染は広範囲で境がないため、平成2年全公研(現全環研)協議会の理事会で全国一斉調査に向けて準備が進められた。本市も「広島市環境管理計画」の中で重要な調査として位置づけ平成3年度から調査を実施している。

平成11年度からは第三次調査に入り、3か年計画で雨水の調査に加えて、大気中に浮遊している酸性雨関係物質を把握する調査をしている。

(10) 有害大気汚染物質モニタリング

大気汚染防止法(第18条)に基づき平成8年「有害大気汚染物質モニタリング指針」が示され、汚染物質として234種がリストアップされた。その中の22物質については優先的に調査するように指示が出され、本市では平成9年度からモニタリングを開始した。当初、市内4地点で6物質から始めたが、12年度現在、酸化エチレンを加えて19物質について毎月調査している。

現段階では、交通量の多い国道沿いが比較的高い数値を示している。

(11) 環境省委託調査

化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律に基づき環境省から毎年委託を受けて化学物質環境汚染実態調査のための測定や試料採取を行った。

3 特殊公害関連業務

環境企画課からの行政依頼により、農業による公共用水域等の水質汚染を防止するために、農業に関する試験検査を行った。表3は、平成12年度に実施した各区分ごとの試験検査件数及び延項目数である。

また、有害化学物質対策を推進するために、底質中の外因性内分泌攪乱化学物質の分析法について検討を行うとともに、ダイオキシン類分析を行うためにケミカルハザード対策施設の整備を行った。

(1) 公共用水域等農業調査

水質汚濁防止法に基づき、農業による公共用水域等の水質汚染の実態を把握するために、河川の環境基準点7地点及び地下水調査定点7地点で、環境基準が設定されているチウラム、シマジン、チオベンカルブの農業3物質について2回調査を行い、すべて検出されなかった。

また、要監視項目のうちの農業12物質についても、2回調査を行った。調査結果は、資料に掲載した。

(2) 特定事業場農業試験

水質汚濁防止法に基づき、市内の特定事業場の排水水について、チウラムの検査を行った。すべて検出されなかった。

(3) ゴルフ場農業汚染実態調査

ゴルフ場で使用される農業による公共用水域等の汚染を防止するために、「ゴルフ場で使用される農業による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針」に基づき、ゴルフ場7か所の排水水について、暫定指導指針項目35物質の農業の調査を実施した。

表3 特殊公害関連業務検査件数

区 分	件数	延項目数
公共用水域等農業調査	28	420
特定事業場農業試験	10	10
ゴルフ場農業汚染実態調査	12	455
計	50	885

指針値を超えて検出された農薬はなかった

また、ゴルフ場排水が流入する河川の下流5地点において、環境基準項目3物質、要監視項目12物質、水質評価指針項目27物質の計42物質の農薬について調査を行った。調査結果は、資料に掲載した。

(4) 外因性内分泌攪乱化学物質分析方法の検討

底質中の外因性内分泌攪乱化学物質の分析法について、次のテーマで検討を行った。検討結果は、調査研究報告に記載した。

- a 底質中のアルキルフェノール類、2,4-ジクロロフェノール、ビスフェノールA、アジピン酸ジエチルヘキシル及びフタル酸エステル類の分

析法の検討

- b 底質中の4-ニトロトルエン、ベンゾフェノン、¹オクタクロロスチレン、ベンゾ[a]ピレン、スチレン2量体及びスチレン3量体の同時分析法の検討

(5) ダイオキシン類分析施設の整備

ダイオキシン類対策特別措置法が制定されたのに伴い、ダイオキシン類による環境汚染の実態把握及び削減対策の推進を図るため、平成11年度からダイオキシン類の分析が可能なケミカルハザード対策施設の整備を行ってきたが、3月末に施設整備が完了した。施設の名称は「化学物質安全実験施設」とした。

調 査 研 究 報 告

I 調査研究

広島湾周辺水域魚介類中の環境汚染物質残存調査

山名 正史 舟越 敦司*1 小串 恭子 佐々木珠生
 中島 三恵 福田 裕 萱島 隆之 山本 修
 沖西 紀男*2

環境汚染物質であるポリ塩化ビフェニール(PCB)、ヘキサクロロベンゼン(HCB)、水銀(Hg)、ベンゾ a ピレン(BaP)、トリブチルスズ化合物(TBTO)、トリフェニルスズ化合物(TPTC)の6種の化学物質について、魚介類中の残存濃度を測定したところ、水域により汚染形態が異なる傾向があった。

キーワード: PCB, HCB, 有機スズ, ベンゾ a ピレン, 水銀

はじめに

古くから人間の活動に伴い、様々な化学物質が、すなわち、化学工場などから排出される PCB, HCB, および水銀、焼却工場からの煙に含まれるベンゾ a ピレン、船底塗料や魚網から溶出してくる有機スズ化合物などが、環境を汚染してきた。これらの使用および排出に対して規制がかけられた現在においても、なお多くが残存し、魚類などの生体内に取りこまれ健康被害の危険性を残している。

そこで、広島湾周辺水域の汚染・蓄積状況を把握するために魚介類中の環境汚染物質を調査したところ、若干の傾向が見られたので報告する。

方 法

1 試料

平成10年度および11年度に広島市中央卸売り市場において購入した魚類4種21検体および生産者から収去した貝類(カキ)1種26検体について調査を行った。

魚類は1匹を1検体とし、三枚に下ろし、筋肉部について細切後フードカッターで摩砕した。貝類は剥き身500gをフードカッターで摩砕した。これらの試料は-23℃のフリーザー内で保存した。

2 検査方法及び装置条件

衛生試験法に準拠した。

(1) PCB, BaP

別図1の検査台帳のとおり

*1: (財)広島市学校給食会

*2: 退職

(2) Hg

別図2の検査台帳のとおり

(3) HCB, TBTO, TPTC

別図3の検査台帳のとおり

結 果

1 分析結果総括

魚類についての分析結果を表1に、貝類についての分析結果を表2に示す。

その結果として、

- (1) TBTO および Hg はほとんど全ての検体から検出されている。
- (2) HCB は養殖マダイ以外からは検出されていない。
- (3) BaP は貝類からは検出されるが魚類からは検出されない。
- (4) TPTC は天然チヌが高い傾向にある。
- (5) PCB の検出状況に顕著な傾向は無い。

が挙げられる。

2 水域別比較

貝類について産地ごとに測定範囲を図示すると、図4のTBTOについては金輪が、図5のHgについては阿多田が、図6のBaPについては江波および似島が高い傾向にある。その他の項目については顕著な差異は認められない。

考 察

1 魚類

(1) TBTO および Hg

広い範囲で汚染されており生体内にも取りこまれやすいと考えられるため、継続調査が必要と考えられる。

表1 魚類検査結果一覧表

検体種	産地	重量 (g)	長さ (cm)	TBT0 ($\mu\text{g/g}$)	TPTC ($\mu\text{g/g}$)	HCB (ng/g)	PCB ($\mu\text{g/g}$)	Hg ($\mu\text{g/g}$)	BaP ($\mu\text{g/g}$)
1 養殖マダイ	宇和島	1,007	37	0.016	0.008	0.4	ND	0.073	ND
2 養殖マダイ	宇和島	983	36	0.045	0.007	0.3	ND	0.084	ND
3 養殖マダイ	宇和島	1,182	39	0.005	0.006	0.5	ND	0.054	ND
4 天然チヌ	坂	952	39	0.005	0.011	ND	0.03	0.173	ND
5 天然チヌ	坂	940	36	0.007	0.015	ND	ND	0.059	ND
6 天然チヌ	坂	1,044	39	0.012	0.034	ND	0.02	0.106	ND
7 天然チヌ	由宇	1,205	38	0.005	0.015	ND	0.01	0.162	ND
8 天然チヌ	由宇	932	37	0.004	0.018	ND	0.05	0.039	ND
9 天然チヌ	由宇	749	34	0.004	0.011	ND	0.05	0.015	ND
10 天然チヌ	能美島	1,054	40	0.004	0.016	ND	0.03	0.039	ND
11 天然チヌ	能美島	1,036	37	0.006	0.018	ND	0.05	0.106	ND
12 天然チヌ	能美島	988	38	0.017	0.023	ND	0.09	0.059	ND
13 養殖マダイ	阿多田	835	39	0.011	ND	0.4	ND	0.430	ND
14 養殖マダイ	阿多田	819	37	0.007	ND	0.4	ND	0.093	ND
15 養殖マダイ	阿多田	895	38	0.010	0.002	0.4	0.01	0.079	ND
16 養殖はまち	阿多田	3,000	53	0.014	ND	ND	0.05	0.030	1.3
17 養殖はまち	阿多田	2,960	51	0.018	ND	ND	0.05	0.040	ND
18 養殖はまち	阿多田	2,940	51	0.008	ND	ND	0.05	0.030	ND
19 天然すずき	鞆	1,345	51	0.027	ND	ND	0.02	0.080	ND
20 天然すずき	鞆	1,150	46	0.013	ND	ND	0.04	0.050	ND
21 天然すずき	鞆	1,360	47	0.012	ND	ND	0.04	0.140	ND

(2) HCB

異なる産地で養殖されたもので検出されていること、および、同一産地で養殖された他の魚種で検出されないことから、マダイが特異的に取りこむことも考えられるため、天然マダイおよび他水域のマダイについて調査する必要がある。

(3) BaP

貝類に特異的に蓄積されると考えることができるが、移動範囲の広い魚類で検出されず、移動範囲の狭い貝類で検出されていることから、汚染地域が限定されていることも推測される。

(4) TPTC

マダイとチヌは同じタイの仲間ではあっても生息環境が異なるためと考えられるが、養殖チヌおよび天然マダイを調査する必要がある。

2 貝類

(1) TBT0

金輪周辺は広島港入航待ちの貨物船舶が多く、また、船舶用ドックも多数存在しているため、それらの影響が考えられる。

(2) Hg

阿多田は広島湾内有数の工業地帯である大竹市沖合いの島であるため、その影響が考えられる。

(3) BaP

江波および似島ともに焼却工場が沿岸に存在するため、その影響が考えられる。

3 まとめ

広島湾周辺水域の魚介類について環境汚染物質残存調査を行った結果、ある程度の傾向が見とめられた。

この傾向を確認するために、対照となりうる検体の分析、統計処理を行うための追加調査、採取地点への影響を確認するための海流調査および採取地点の詳細化などが必要と考える。

表2 貝類検査結果一覧表 (Dry)

検体種	産地	TBT0 ($\mu\text{g/g}$)	TPTC ($\mu\text{g/g}$)	HCB (ng/g)	PCB ($\mu\text{g/g}$)	Hg ($\mu\text{g/g}$)	BaP ($\mu\text{g/g}$)	
1	カキ	江波	0.273	ND	ND	0.24	0.098	1.46
2	カキ	江波	0.299	0.022	ND	0.11	0.054	2.72
3	カキ	江波	0.430	ND	ND	0.16	0.104	1.04
4	カキ	江波	0.068	ND	ND	0.05	0.045	0.90
5	カキ	江波	0.134	ND	ND	ND	0.039	2.76
6	カキ	江波	0.137	ND	ND	ND	0.044	3.54
7	カキ	阿多田	0.272	ND	ND	0.10	0.524	0.52
8	カキ	阿多田	0.201	ND	ND	0.05	0.251	1.01
9	カキ	阿多田	0.162	ND	ND	ND	0.046	ND
10	カキ	阿多田	0.108	ND	ND	ND	0.130	1.30
11	カキ	阿多田	0.204	ND	ND	ND	0.174	1.30
12	カキ	阿多田	0.142	ND	ND	ND	0.137	0.91
13	カキ	金輪	0.588	ND	ND	0.23	0.045	1.81
14	カキ	金輪	0.396	0.014	ND	ND	0.094	1.42
15	カキ	金輪	0.291	ND	ND	ND	0.043	ND
16	カキ	金輪	0.287	ND	ND	0.09	0.090	2.69
17	カキ	金輪	0.463	ND	ND	0.04	0.088	0.44
18	カキ	金輪	0.262	ND	ND	0.05	0.090	1.81
19	カキ	似島	0.241	ND	ND	0.09	0.045	0.45
20	カキ	似島	0.310	ND	ND	0.09	0.044	1.33
21	カキ	似島	0.172	ND	ND	0.04	0.043	3.02
22	カキ	似島	0.289	0.018	ND	ND	0.089	1.78
23	カキ	観音沖	0.233	ND	ND	0.09	0.043	1.29
24	カキ	切串	0.245	ND	ND	0.43	0.043	0.43
25	カキ	絵ノ島	0.143	ND	ND	ND	ND	0.45
26	カキ	高田灘	0.235	ND	ND	ND	0.098	0.49

PCB・BaP 検査台帳		検査担当者	区分責任者
番号		収去年月日	年 月 日
品名		産 地	

試料採取量 g <5g> (月 日 am・pm :) ☐

←1N KOH-エタノール溶液 50ml

丸底フラスコ (300ml)

加熱還流 (95℃) (時間)

放 冷

底の固形分は入れない (デカンテーション)

分液ロート (300ml) ←水 50ml

←エーテル:ヘキサン(15:35) 50ml で洗い込み (デカンテーション)

振とう 10分間

水相分取

分液ロート (300ml)

←エーテル:ヘキサン(15:35) 50ml

振とう 10分間

水相廃棄→酸・アルカリ廃液

有機相集積

←5%食塩水 50ml

ゆるく洗浄 (エマルジョンに注意)

水相廃棄

←蒸留水 50ml

ゆるく洗浄 (エマルジョンに注意)

水相廃棄

共栓付き三角フラスコ (200ml) (月 日 am・pm :) ☐

←無水硫酸ナトリウム 脱水 (1時間)

KD濃縮 (5ml程度)

セップパックカラムに負荷

クリーンアップ ヘキサン 20ml ☐

注射筒 20ml → Sep-Pak Dry → Sep-Pak Silica Bag (5g) → フラスコ

PCB (第一画分)

サンプル+洗い 10ml程度

ヘキサン 25ml

KD濃縮 (乾固可)

ヘキサン 1ml にメスアップ

(月 日 am・pm :) ☐

GC-ECD分析

(月 日 am・pm :) ☐

ベンゾ [a] ピレン (第二画分)

10%エーテル・ヘキサン 25ml

KD濃縮

乾固

アセトニトリル 1ml にメスアップ

(月 日 am・pm :) ☐

HPLC分析

(月 日 am・pm :) ☐

GC条件

GC; Shimadzu GC-9A

カラム; DB-5 (0.25×30m (0.25um))

キャリアガス He 50ml/min

カラム温度; 220→280℃ (2℃/min)

検出器; ECD メイアップガス N2 3.0ml/min

検出器温度; 280℃ インジェクション温度; 280℃

注入量; 2μl カレント; 2 V_{pp}; 10¹ 77N; 3

HPLC条件

HPLC; Shimadzu LC-10A

カラム; Mightysil RP-18 GP 150-4.6(5um)

液 相; アセトニトリル:水 (10:1)

検出器; RF-10A ex 365nm em 405nm

レスポンス; 1.5 スキャンスピード; 高速

ゲイン; ×4 感度; 中 注入量 10μl

PCB定量採用ピークデータ

時間	試料ピーク高さ	STDピーク高さ
和		

チャート番号

PCB	STD	[]
試 料	[]	[]
ベンゾ [a] ピレン	STD	[]
試 料	[]	[]

PCB 検査結果

STD(ug/ml)	試料ピーク和	標準ピーク和	サンプル量	μg/g	結果(μg/g)
0.4×	÷	÷	=		

ベンゾ [a] ピレン 検査結果

STD(ng/ml)	試料ピーク	標準ピーク	サンプル量	ng/g	結果(ng/g)
20×	÷	÷	=		

図1 PCB・BaP 検査方法

重金属類(Hg)検査台帳

検査担当者

区分責任者

番 号		収去年月日	年 月 日
品 名		産 地	

検体採取量

g <3g> (月 日 am・pm :) ☐

←硝酸 15ml

←硫酸 7ml

還流分解 (2時間)

分解終了判断=褐色煙発生無:無色~淡黄色澄明 ☐

放 冷

←20%尿素溶液 5ml

加 熱 (30分)

放 冷

←過マンガン酸カリウム 1g

加 熱 (30分)

放 冷

←フラスコ内固形分に20%塩酸とロキシアミン溶液1,2滴を加えて溶かす

100ml 比色管=試料溶液 (月 日 am・pm :) ☐

←20%塩酸とロキシアミン溶液を加えて、液を透明にする

←蒸留水でメスアップ

50ml分析管に20ml分取

☐検量線作成(標準液: $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$)

標準液 (1+14) 硫酸 20%塩酸とロキシアミン

0ml 20ml 1滴

0.5ml 19.5ml 1滴

1.0ml 19.0ml 1滴

←10%塩化第一スズ溶液 2ml

吸光度測定

(月 日 am・pm :) ☐

検査結果

検量線(グラフ)

別紙のとおり

吸 光 度

相 関 式 $ng =$

$\times$ 吸光度 +

測 定 値

測 定 値	計 算 式	分 取 量	サ ン プ ル 量	ng/g	結 果 ($\mu g/g$)
	$\times 100$	$\div 20$	$\div$	$=$	

図 2 水銀検査方法

HCB・有機スズ(TBT, TPT) 検査台帳		検査担当者	区分責任者
番号		収去年月日	年 月 日
品名		産 地	

試料採取量 g (10g) (月 日 am・pm :) ☐

ホモカップ
←0.1N 塩酸:アセトン(1:120)溶液 30ml

ホモジナイズ
↓
テフロン遠沈管(250ml)
←食塩 10g
←20% エーテル・ヘキサン 30ml

振とう 5分間
↓
遠心分離3500rpm 10分間
↓
撥水性ろ紙
(Whatman 1PS) 残留物
エーテル・ヘキサン層
共栓三角フラスコ 200ml=有機層集積
←無水硫酸ナトリウム 脱水(1時間)
KD濃縮(1ml程度)
↓
Sep-pak フロリジル 5g (月 日 am・pm :) ☐
←50% エーテル・ヘキサン 20ml

HCB
KD濃縮(3ml程度)
↓
ヘキサン 4mlにメスアップ
(月 日 am・pm :) ☐
←硫酸 4ml
一晩放置
(遠心分離)
GC-ECD分析
(月 日 am・pm :) ☐

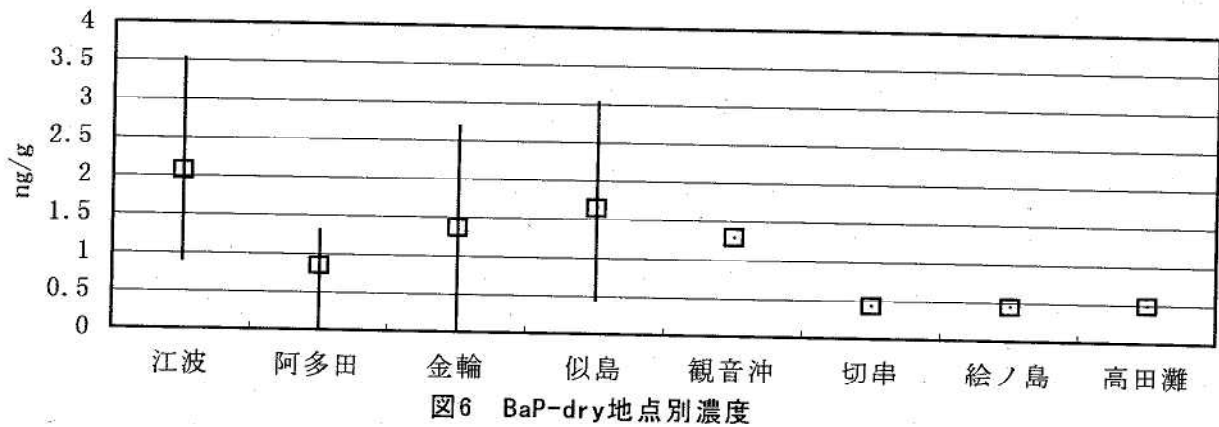
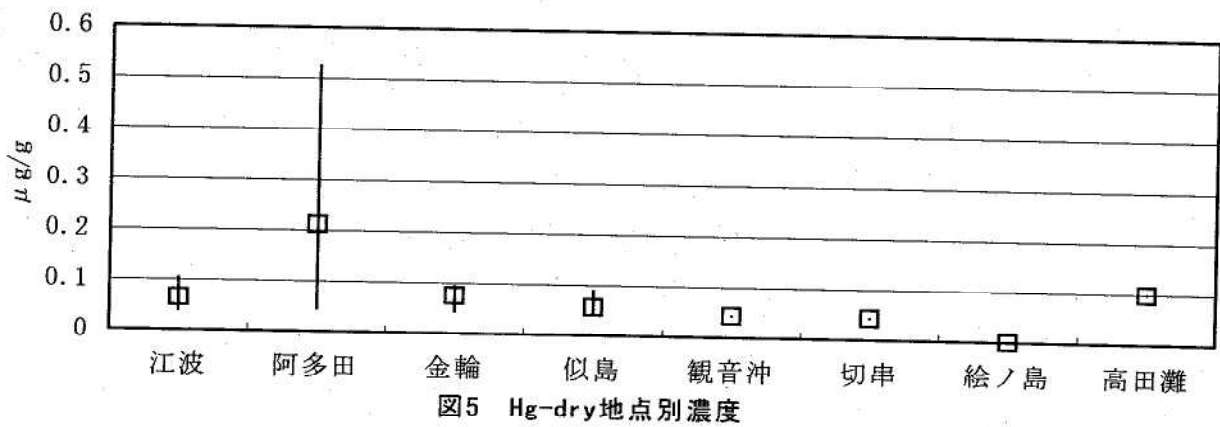
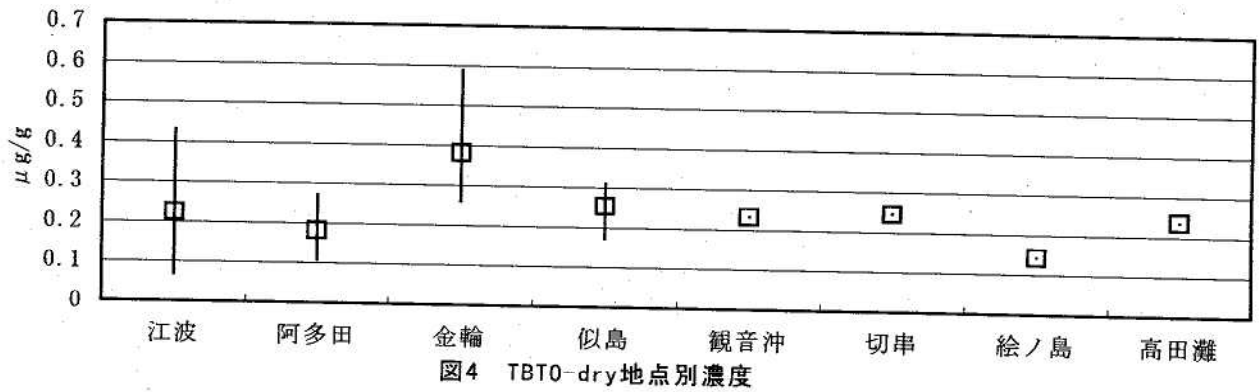
有機すず ←エーテル・酢酸・ヘキサン(25:1:75) 40ml
KD濃縮(1ml程度)
↓
Sep-Pak DRYに負荷
50ml 共栓試験管
プロピル化 ←0.2ppmベンチルス 1ml
←2M PMB溶液 1ml
室温 30分静置
水冷 ←0.5M硫酸 10ml
←水 10ml
←ヘキサン 5ml 2回
ヘキサン層分取
↓
KD濃縮(1ml弱)
↓
ヘキサン1mlにメスアップ
(月 日 am・pm :) ☐
GC-FPD分析
(月 日 am・pm :) ☐

GC条件 GC; Shimazu GC-9A カラム; Benton34+DC200(5+5%) キャリアガスHe カラム温度; 180℃ 検出器; ECD 検出器温度; 250℃ インジェクション温度; 250℃ 注入量; 5μl 流速; 4		GC条件 GC; Shimazu GC-14A カラム; DB-1701 カラム温度; 160(2min)→20/min→260(10min) キャリアガスN2 25ml/min 検出器; FPD Snフィルター Air: 0.6kg/cm2 H2: 0.5 kg/cm2 程度 検出器温度; 280℃ インジェクション温度; 280℃ 注入量; 5μl 流速; 32	
チャート番号	検体 STD(10ng/ml)	チャート番号	検体 STD(50ng/ml) STD(100ng/ml) STD(200ng/ml) STD(400ng/ml)

HCB 検査結果

STD(ng/ml)	試料ピーク	標準ピーク	サンプル量	ng/g	結果(ng/g)
10×		×	4	÷	=
有機スズ 検査結果 (検量線および濃度計算は別紙)					
		ng	サンプル量	ng/g	結果(μg/g)
TBT (TBTとして)		×	0.92	÷	=
TPT (TPTとして)		×	1	÷	=

図3 HCB・有機スズ(TBT, TPT)検査方法



食品中の有機リン系農薬 56 種の迅速一斉分析法

福田 裕 佐々木珠生 中島 三恵 小串 恭子
山名 正史 萱島 隆之 山本 修 沖西 紀男*

食品による健康被害の発生また苦情等に迅速に対応するため、有機リン系農薬 56 種(57 物質)についての迅速一斉分析法の検討を行った。4 種類のキャピラリーカラムを用いることで、各農薬の分離が可能であり、定性信頼性を増すことができた。DB-1 カラムを用いた各農薬の保持時間の再現性は相対標準偏差 0.1%以内であり、信頼性の高い結果であった。本法によるほうれんそうを実試料とした添加回収実験結果はモノクロトホス 52.6%及びフェナミホス 68.9%を除いて 85~110%であり、良好であった。抽出及び精製操作を簡略化することで分析時間の短縮化ができた。

キーワード：食品、有機リン系農薬、固相カラム、ガスクロマトグラフィー

はじめに

近年、食品への毒物混入等、食の安全性を脅かす事件が多発しており、危機管理体制の整備が求められている。厚生労働省においては「地域保健対策の推進に関する基本的な指針」¹⁾の改正²⁾(平成 12 年 3 月)が行われ、地域における健康危機管理の基本的な方針が示され、平成 13 年 3 月「地域における健康危機管理について～地域健康危機管理ガイドライン～」³⁾がとりまとめられた。このガイドラインに沿って当所においても未知の原因物質の分析・特定を迅速かつ精確に実施するためのマニュアルの作成が必要であり、また同時に種々の化学物質に対応できるように分析法の開発が重要である。

今回、農薬の中でも比較的使用頻度の高い有機リン系農薬 56 種について迅速一斉分析法の検討を行ったので報告する。

方 法

1 試料

添加回収実験用試料としてほうれんそうを使用した。

2 試薬

今回、検討した農薬は食品衛生法で基準のある農薬 29 種(30 物質)を含む 56 種(57 物質)である。農薬名は表 1 のとおりであり、すべて市販の農薬標準品を使用した。

3 装置

ガスクロマトグラフ(GC)：

島津製 GC-17A(検出器 FPD-P)

4 キャピラリーカラム(GC カラム)

J&W 社製① DB-1(0.32mmφ×30m 膜厚 0.25 μm)

② DB-210(0.32mmφ×30m 膜厚 0.25 μm)

③ DB-1701P(0.25mmφ×30m 膜厚 0.25 μm)

④ DB-5(0.25mmφ×30m 膜厚 0.25 μm)

5 GC 分析条件

[DB-1] 気化室温度：250℃

カラム槽：初期温度 50℃(保持時間 2min)

温度プログラム

レート(℃/min)	温度(℃)	時間(min)
20	120	0
6	276	0

フローコントローラ：スプリットレス

キャリアガス圧力 96kPa(保持時間 2min)

圧力プログラム

レート(kPa/min)	圧力(kPa)	時間(min)
2	136	9.5

検出器温度：ベース部 290℃

ヘッド部 180℃

[DB-210] 気化室温度：230℃

カラム槽：初期温度 50℃(保持時間 1min)

温度プログラム

レート(℃/min)	温度(℃)	時間(min)
20	140	0
6	230	6.5

フローコントローラ：スプリットレス

*：退職

表1 分析対象農薬名一覧

No.	農薬名	*1	*2	No.	農薬名	*1	*2	No.	農薬名	*1	*2
1	EPN	○	○	20	シアノホス(CYAP)		○	39	フェンクロルホス		
2	アジンホスエチル			21	ジクロフェンチオン(ECP)		○	40	フェンスルホチオン	○	○
3	アジンホスメチル			22	ジクロルホス	○	○	41	フェンチオン	○	○
4	イソキサチオン		○	23	ジメチルビンホス	○	○	42	フェントエート	○	○
5	イソフェンホス	○	○	24	ジメトエート	○	○	43	ブタミホス	○	○
6	イプロベンホス(IBP)		○	25	スルプロホス		○	44	プロチオホス	○	○
7	エチオン		○	26	ダイアジノン	○	○	45	プロパホス		○
8	エチルチオメトン		○	27	チオメトン	○	○	46	プロフェノホス		○
9	エディフェンホス	○	○	28	テトラクロルビンホス		○	47	プロモホス・エチル		
10	エトプロホス	○	○	29	テルブホス	○	○	48	プロモホス・メチル		
11	エトリムホス	○	○	30	トリアゾホス			49	ホサロン	○	○
12	カズサホス	○	○	31	トルクロホスメチル	○	○	50	ホスチアゼート	○	○
13	キナルホス	○	○	32	パラチオン	○	○	51	ホスメット(PMP)		○
14	クロルピリホス	○	○	33	パラチオンメチル	○	○	52	ホルモチオン		
15	クロルピリホスメチル		○	34	ピラクロホス	○	○	53	マラチオン	○	○
16	α-クロルフェンビンホス	○	○	35	ピリダフェンチオン		○	54	メタクリホス		
17	β-クロルフェンビンホス	○	○	36	ピリミホスメチル	○	○	55	メチダチオン		○
18	サリチオン			37	フェナミホス			56	メビンホス		
19	シアノフェンホス(CYP)			38	フェントロチオン	○	○	57	モノクロトホス		○

*1 食品衛生法における基準設定農薬

*2 環境庁の登録保留基準農薬(1999)

キャリアガス圧力 91kPa(保持時間 1min) レート
圧力プログラム

レート(kPa/min) 圧力(kPa) 時間(min)
2 136 3.5

検出器温度: ベース部 235℃
ヘッド部 150℃

[DB-1701P] 気化室温度: 250℃

カラム槽: 初期温度 50℃(保持時間 1min)
温度プログラム

レート(℃/min) 温度(℃) 時間(min)
20 150 0
6 276 5

フローコントローラ: スプリットレス

キャリアガス圧力 96kPa(保持時間 1min)

圧力プログラム

レート(kPa/min) 圧力(kPa) 時間(min)
2 136 11

検出器温度: ベース部 275℃
ヘッド部 150℃

[DB-5] 気化室温度: 290℃

カラム槽: 初期温度 50℃(保持時間 2min)

温度プログラム

レート(℃/min) 温度(℃) 時間(min)
20 120 0
7 290 6.2

フローコントローラ: スプリットレス

キャリアガス圧力 68kPa(保持時間 2min)
圧力プログラム

レート(kPa/min) 圧力(kPa) 時間(min)
3 150 6.7

検出器温度: ベース部 290℃
ヘッド部 180℃

6 固相カラム

ウォーターズ社製: Sep-Pak Plus Silica

7 試験溶液の調製

細切した試料 5g に塩化ナトリウム 2g 及び酢酸エチル・ヘキサン(1:1)20ml を添加し, 10 分間振とう抽出した。その後, 遠心分離を行い, 有機溶媒層を分取し, 適当量の無水硫酸ナトリウムで脱水を行った。有機溶媒層を約 1ml まで濃縮を行い, あらかじめアセトン 5ml 及びヘキサン 5ml でコンディショニングした Sep-Pak Plus Silica に全量を負荷した。その後, アセトン・ヘキサン(1:1)20ml を注入した。両流出液を合わせて, 約 0.5ml まで濃縮を行い, アセトンを用いて 1ml に定容し, 試験溶液とした。

分析方法のフローチャートを図1に示した。

結果及び考察

1 各 GC カラムにおける農薬の保持時間

今回, 液性の異なる4種類のGCカラムを用いて, 各農薬の保持時間の検討を行った。その結果を

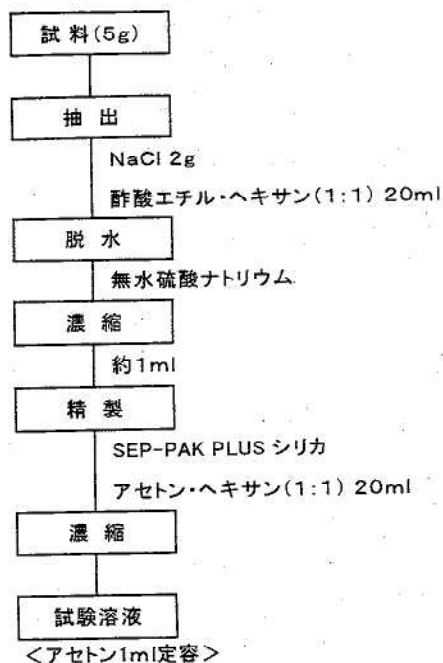


図1 分析方法のフローチャート

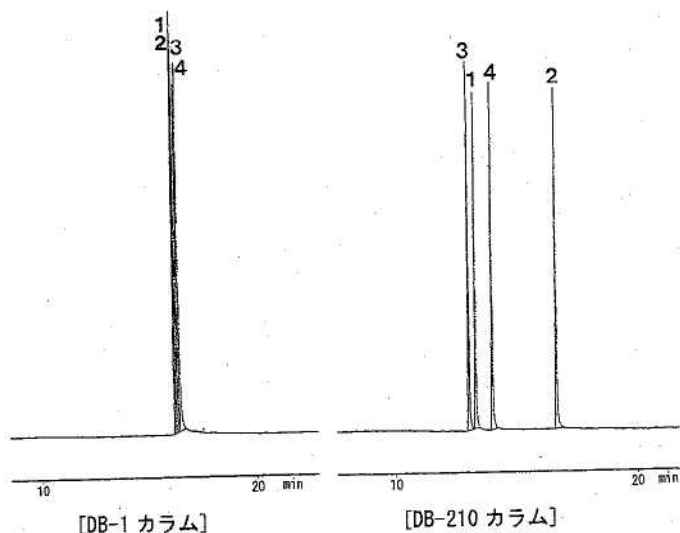


図2 DB-1 カラム及びDB-210 カラム
での4農薬のクロマトグラム

表2に示した。各GCカラムでの農薬の保持時間は35分以内にすべて溶出した。しかし、農薬によっては保持時間が近接したものがあつた。DB-1カラム16組32農薬、DB-210カラム17組34農薬、DB-1701Pカラム9組18農薬、DB-5カラム12組24農薬の保持時間が近接していた。1種類のGCカラムだけでは56農薬57物質の定性は困難であるが、数種類の液性の異なるGCカラムを併用することで各農薬の分離は可能であり、分析結果の信頼性も増すものと考ええる。また、DB-1カラムで

表2 各GCカラムでの各農薬の保持時間

農薬名	DB-1	DB-210	DB-1701P	DB-5
ジクロロボス	7	7.6	9.7	8.6
メビンボス	9.2	10.6	12.7	11.2
メタクリボス	10.4	9.5	13.3	12.3
エトプロボス	12.3	11.1	15.3	14.4
サリチオン	12.5	12.1	17.1	15.0
モノクロトボス	12.7	15.9	19.1	15.1
カズサボス	13.3	11.2	15.8	15.2
ジメトエート	13.3	15.0	19.5	15.8
チオメトン	13.4	11.2	17.0	15.7
シアノボス(CYAP)	14.2	15.4	19.3	16.5
テルブボス	14.6	11.6	17.4	16.5
エチルチオメトン	15	12.1	18.2	17.0
ホルモチオン	15.2	11.3	17.3	16.7
ダイアジノン	15.1	16.8	21.2	17.6
イプロベンボス(IBP)	15.6	13.9	18.8	17.4
エトリムボス	15.5	12.1	18.1	17.2
クロルビリボスメチル	16.2	13.0	18.9	17.9
パラチオンメチル	16.1	16.7	21.0	18.2
ジクロフェンチオン(ECP)	16.1	13.3	19.4	18.0
トルクロボスメチル	16.3	14.0	19.9	18.2
フェンクロルボス	16.8	13.6	19.8	18.5
フェントロチオン	17	17.1	21.6	18.9
ピリミボスメチル	17.3	13.7	20.0	18.9
ジメチルビンボス	17.6	16.5	21.3	19.2
マラチオン	17.5	16.7	21.6	19.4
フェンチオン	17.6	14.9	21.3	19.5
パラチオン	17.7	17.7	22.2	19.6
ボスチアゼート	17.9	14.2	20.6	19.4
クロルビリボス	17.8	18.8	23.3	20.0
プロモボス・メチル	18.3	14.8	21.4	19.9
α-クロルフェンビンボス	18.8	17.1	22.1	20.3
イソフェンボス	19.1	16.5	22.8	20.7
フェントエート	19	16.5	22.5	20.5
β-クロルフェンビンボス	19	16.2	22.6	20.7
キナルボス	19	17.5	22.6	20.6
メチダチオン	19.2	18.8	24.0	21.1
プロバボス	19.6	18.5	23.5	21.2
プロモボス・エチル	19.7	15.6	22.5	21.1
テトラクロルビンボス	19.8	18.3	23.7	21.2
フェナミボス	20.1	18.7	24.4	21.6
ブタミボス	20.1	19.2	24.5	21.7
プロチオボス	20.4	16.2	23.4	21.9
プロフェノボス	20.4	17.8	24.0	22.0
イソキサチオン	21	19.6	25.5	22.6
フェンシルボチオン	21.3	23.5	27.3	23.0
エチオン	21.9	19.6	25.8	23.2
トリアゾボス	22	20.5	27.4	23.6
エディフェンボス	22.3	18.4	26.0	23.6
スルプロボス	22.2	20.2	27.0	24.0
シアノフェンボス(CYP)	22.4	21.9	27.7	24.0
ボスメット(PMP)	23.8	24.0	30.3	25.4
ビリダフェンチオン	23.9	24.6	29.6	25.2
EPN	24.2	23.7	29.7	25.5
アジンボスメチル	24.9	25.2	32.2	26.5
ボサロン	25.2	25.5	31.7	26.4
アジンボスエチル	26.1	26.3	33.5	27.3
ピラクロボス	26.5	26.0	33.2	27.5

表3 DB-1カラムにおける各農薬の保持時間、ピーク高さ及びピーク面積

No.	農薬名	保持時間(min)			ピーク高さ			ピーク面積		
		平均	標準偏差	相対標準偏差 (%)	平均	標準偏差	相対標準偏差 (%)	平均	標準偏差	相対標準偏差 (%)
1	ジクロロボス	7.01	0.0042	0.060	219351	6115	2.79	570506	12495	2.19
2	メビンホス	9.21	0.0044	0.048	162475	5729	3.53	641174	6413	1.00
3	メタクリホス	10.35	0.0047	0.046	307644	6664	2.17	1159570	23698	2.04
4	エトプロホス	12.30	0.0043	0.035	130304	5355	4.11	626552	16083	2.57
5	モノクロトホス	12.66	0.0055	0.044	46832	1754	3.75	284589	15168	5.33
6	ジメトエート	13.34	0.0046	0.035	174441	8555	4.90	885941	20135	2.27
7	シアノホス(CYAP)	14.24	0.0041	0.029	248188	8642	3.48	1150674	27915	2.43
8	ダイアジノン	15.10	0.0050	0.033	183195	2810	1.53	880465	19687	2.24
9	イプロベンホス(IBP)	15.55	0.0044	0.028	65967	4771	7.23	350957	13000	3.70
10	パラチオンメチル	16.09	0.0035	0.022	246528	7165	2.91	1132998	30995	2.74
11	フェニトロチオン	16.99	0.0045	0.027	214048	6276	2.93	992584	30404	3.06
12	マラチオン	17.49	0.0040	0.023	126628	3362	2.66	645100	12059	1.87
13	パラチオン	17.74	0.0041	0.023	178036	4885	2.74	872857	29185	3.34
14	プロモホス・メチル	18.29	0.0051	0.028	181022	4371	2.41	858758	19782	2.30
15	フェントエート	19.02	0.0050	0.026	108821	4471	4.11	505338	13722	2.72
16	メナダチオン	19.20	0.0045	0.023	118733	3684	3.10	594698	18382	3.09
17	テトラクロロビンホス	19.75	0.0041	0.021	82794	2414	2.92	476265	9512	2.00
18	プロチオホス	20.42	0.0043	0.021	161772	4143	2.56	793773	25430	3.20
19	イソキサチオン	21.04	0.0048	0.023	39758	2510	6.31	165789	9715	5.86
20	エチオン	21.91	0.0043	0.020	205484	7775	3.78	1107887	28764	2.60
21	スルプロホス	22.20	0.0048	0.022	122083	3982	3.26	646968	24062	3.72
22	ホスメット(PMP)	23.75	0.0051	0.022	74762	2989	4.00	447185	17088	3.82
23	EPN	24.17	0.0055	0.023	95147	4913	5.16	506290	27925	5.52
24	ホサロン	25.16	0.0033	0.013	58515	3137	5.36	385764	20886	5.41
25	アジンホスエチル	26.05	0.0039	0.015	42649	2369	5.56	302960	20756	6.85
26	ピラクロホス	26.47	0.0063	0.024	7600	766	5.16	38562	5202	13.49
27	サリチオン	12.52	0.0076	0.061	363105	7966	2.19	1489897	19450	1.31
28	カズサホス	13.25	0.0077	0.058	93368	2712	2.91	582281	22279	3.83
29	テルブホス	14.63	0.0081	0.055	140386	2800	1.99	593782	15517	2.61
30	エチルチオメトン	15.03	0.0074	0.049	228047	3662	1.61	1063553	22741	2.14
31	エトリムホス	15.52	0.0085	0.055	296238	1810	0.61	1381259	24061	1.74
32	ジクロフェンチオン(ECP)	16.13	0.0068	0.042	219230	3794	1.73	1033405	11830	1.14
33	フェンクロホス	16.78	0.0085	0.051	219028	5149	2.35	1024451	15682	1.53
34	ビリミホスメチル	17.32	0.0082	0.047	177805	3202	1.80	869672	19785	2.27
35	クロルビリホス	17.81	0.0081	0.045	203655	2160	1.06	962787	18756	1.95
36	α -クロルフェンビンホス	18.76	0.0073	0.039	45636	1724	3.78	260765	12466	4.78
37	β -クロルフェンビンホス	19.00	0.0082	0.043	41863	2098	5.01	266084	15511	5.83
38	プロバホス	19.55	0.0073	0.037	27050	1661	6.14	175052	13487	7.70
39	ブタミホス	20.11	0.0088	0.044	73357	1919	2.62	370002	8773	2.37
40	フェンスルホチオン	21.32	0.0076	0.036	27175	1090	4.01	246922	19637	7.95
41	トリアゾホス	21.96	0.0083	0.038	38409	1341	3.49	242350	11114	4.59
42	シアノフェンホス(CYP)	22.40	0.0079	0.035	121818	2430	1.99	698610	21079	3.02
43	ビリダフェンチオン	23.94	0.0097	0.040	24955	970	3.89	194566	9087	4.67
44	アジンホスメチル	24.88	0.0092	0.037	55404	1863	3.36	338577	12091	3.57
45	チオメトン	13.43	0.0046	0.034	277799	2897	1.04	1223629	14229	1.16
46	ホルモチオン	15.20	0.0047	0.031	127417	4077	3.20	615517	16726	2.72
47	クロルビリホスメチル	16.22	0.0051	0.032	217443	3743	1.72	999907	12340	1.23
48	ジメチルビンホス	17.59	0.0055	0.031	75350	2583	3.43	434899	13399	3.08
49	ホスチアゼート	17.91	0.0029	0.016	11569	615	5.32	36742	1951	5.31
50	イソフェンホス	19.10	0.0034	0.018	90681	2980	3.29	515149	12447	2.42
51	プロモホス・エチル	19.69	0.0046	0.023	155415	2361	1.52	748563	11113	1.48
52	フェナミホス	20.09	0.0105	0.052	14827	766	5.16	86966	9624	11.07
53	エディフェンホス	22.34	0.0049	0.022	21716	1370	6.31	117516	10516	8.95
54	トルクロホスメチル	16.29	0.0044	0.027	226085	4062	1.80	1049407	13566	1.29
55	フェンチオン	17.62	0.0049	0.028	197182	2076	1.05	940198	9674	1.03
56	キナルホス	19.02	0.0052	0.027	135024	2397	1.78	687610	17825	2.59
57	プロフェノホス	20.40	0.0071	0.035	30420	1226	4.03	165645	7059	4.26

近接した4農薬(クロルピリホスメチル, ジクロフェンチオン, パラチオンメチル, トルクロホスメチル)についてDB-1カラム及びDB-210カラムでのクロマトグラムを図2に示した。

2 再現性

GC分析におけるデータの信頼性を確認するため、DB-1カラムを用いて各農薬の保持時間、ピーク高さ及びピーク面積についての再現性試験(n=6)を行った。その結果を表3に示した。各農薬の保持時間の相対標準偏差は0.1%以内であり、保持時間のずれ幅はすべて0.03分以内であった。ピーク高さ及びピーク面積の平均相対標準偏差は3.3%及び3.6%であり、ピーク高さの方が若干再現性が良好であった。ピラクロホス及びフェナミホスのピーク面積の相対標準偏差は13.5%及び11.1%と他の農薬に比べ再現性が劣っていた。これは感度が低いことも影響していると考えられる。

3 精製方法

試料中のきょう雑物の影響を抑えるため、カラムでの精製条件の検討を行った。分析時間の短縮化を図るため市販の固相カラムを用いた。フロリジルではジクロロボスの回収率(61%)が低下した

ため、シリカゲルを用いた。溶出溶媒は、モノクロトホスを完全に溶出するためアセトン・ヘキサン(1:1)20mlを用いることとした。

4 添加回収実験

実試料としてほうれんそうを用い、ジクロロボス0.5 μ g, モノクロトホス2 μ g, ホスチアゼート2 μ g, フェナミホス2 μ g, ピラクロトホス2 μ g, その他の農薬1 μ g添加し、その回収率(n=3)を求めた。その結果を表4に示した。モノクロトホス(52.6%)及びフェナミホス(68.9%)を除いて各農薬の平均回収率は85-110%であり、良好な結果であった。

本法は、抽出及び精製操作を簡略化することで分析時間の短縮化ができ、緊急時に迅速に対応できると考える。

文 献

- 1) 厚生省告示: 第374号, 平成6年12月1日
- 2) 厚生省告示: 第143号, 平成12年3月31日
- 3) 厚生労働省健康局総務課長通知: 健総第17号, 平成13年3月30日

表4 各農薬の添加回収実験結果 (単位: %)

農薬名	平均	相対標準偏差	農薬名	平均	相対標準偏差
ジクロロボス	87.2	5.79	エチルチオメトン	91.6	1.41
メビンホス	93.3	5.32	エトリムホス	93.9	2.11
メタクリホス	91.7	2.07	ジクロフェンチオン(ECP)	93.0	3.86
エトプロホス	92.4	3.11	フェンクロルホス	90.9	2.81
モノクロトホス	52.6	12.22	ピリミホスメチル	93.4	0.71
ジメトエート	91.8	1.98	クロルピリホス	89.7	2.44
シアノホス(CYAP)	91.7	1.13	α -クロルフェンビンホス	87.4	3.58
ダイアジノン	90.6	2.13	β -クロルフェンビンホス	88.1	2.08
イプロベンホス(IBP)	95.1	5.60	プロバホス	86.2	0.41
パラチオンメチル	91.9	3.02	プタミホス	88.7	3.45
フェニトロチオン	88.7	2.75	フェンシルホチオン	99.6	1.96
マラチオン	98.8	2.67	トリアゾホス	95.7	1.89
パラチオン	87.3	1.01	シアノフェンホス(CYP)	87.1	3.58
プロモホス・メチル	87.8	2.86	ピリダフェンチオン	98.4	1.15
フェントエート	92.5	2.31	アジンホスメチル	95.3	1.03
メチダチオン	93.7	1.58	チオメトン	92.7	0.77
テトラクロルビンホス	91.3	3.85	ホルモチオン	93.9	1.44
プロチオホス	89.9	3.15	クロルピリホスメチル	92.7	2.07
イソキサチオン	109.5	4.40	ジメチルビンホス	89.6	2.92
エチオン	89.9	2.97	ホスチアゼート	102.5	2.30
スルプロホス	87.5	6.12	イソフェンホス	95.2	0.88
ホスメット(PMP)	99.8	3.20	プロモホス・エチル	90.7	0.55
EPN	88.0	2.82	フェナミホス	68.9	6.76
ホサロン	99.6	2.69	エディフェンホス	93.7	1.90
アジンホスエチル	104.3	4.64	トルクロホスメチル	85.8	4.23
ピラクロホス	109.3	5.86	フェンチオン	87.1	2.52
サリチオン	93.9	4.33	キナルホス	87.2	4.85
カズサホス	88.5	1.67	プロフェノホス	98.3	1.58
テルブホス	91.3	1.86			

平成 12 年度の胃腸炎集団発生事例のウイルス学的 検査結果について

野田 衛 阿部 勝彦* 上村真由美 藤井 彰人
池田 義文 山岡 弘二 荻野 武雄

平成 12 年度に広島市内で発生した食中毒および有症苦情ならびに遡り調査のうち 32 事例についてウイルス学的検査を実施した結果、25 事例 (78.1%) から小型球形ウイルス (SRSV) が検出された。供試 311 検体中 119 検体 (38.3%) が SRSV 陽性で、検査材料別の検出率は患者便 59.5%、食品 44.2%、従事者便 8%、施設のふき取り 0%であった。SRSV 陽性事例のうち 24 事例はノーウォーク様ウイルス (NLV) が関与し、遺伝子群 G2 の NLV を伴う事例が多数を占めた。1 事例はサッポロ様ウイルスの関与が示唆された。多くの NLV は通常の検査に使用しているプライマーで検出可能であったが、1 事例では Y1/Y2 系が有用であった。既知のプライマーを混合した PCR は比較的高感度に NLV を検出した。NLV 検出 ELISA の検出率は PCR 法と比較し 64.2%であり、検出陽性例の 89.2%で遺伝子群別が可能であった。

キーワード：ELISA, NLV, PCR, SRSV, 胃腸炎, 集団発生

はじめに

平成 9 年の食品衛生法施行規則の一部改正により小型球形ウイルス (SRSV) およびその他のウイルスが食中毒病因物質に追加されて以来、ウイルスによる食中毒、食品媒介性胃腸炎集団発生事例の報告が増加傾向にある¹⁾。特に、その原因の大半を占めるノーウォーク様ウイルス (NLV) を代表とする SRSV の多くは未だその培養系が確立されていないこともあり、ウイルス学的、疫学的な様相は不明な部分が多く、その究明は公衆衛生上重要な課題のひとつとされている。これらのウイルス性胃腸炎の発生を防ぎ、適切な予防措置を講ずるためには、検出ウイルスのウイルス学的解析とともに発生事例についての疫学的検討の蓄積が重要である。

一方、ウイルス性胃腸炎の検査は電子顕微鏡検査 (EM) が基本であるが、遺伝学的方法、免疫学的方法など様々な方法が開発され、実用化されつつある²⁾。NLV については逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) が主体である²⁾³⁾が、その遺伝学的多様性から未だ開発途上にあり、より検出率の高いプライマーの検索が行われている³⁾⁴⁾。一方、バキュロウイルスで発現したウイルス様粒子を抗原として作成された抗体を用いる酵素

免疫吸着測定法 (NLV-ELISA) が開発され⁵⁾、実用化が期待されている。これらの新しい検査法は多くの野外検出ウイルスに対しその有用性を評価するとともに、より正確、簡便、高感度な方法への改良が必要である。

本報告では平成 12 年度の食中毒、有症苦情事例などのウイルス検査結果について取りまとめるとともに、NLV 検出法について検討を加えた。

方 法

1 検査材料

平成 12 年 4 月 1 日から平成 13 年 3 月 31 日までの 1 年間に広島市内で発生した食中毒および有症苦情ならびに他の自治体の依頼に基づく調査 (遡り調査) のうちウイルス検査が依頼された 32 事例からの患者、喫食者などの糞便 (患者便) 148 検体、従事者、関係者などの糞便 (従事者便) 100 検体、食品 52 検体および施設のふき取り (スワブ) 11 検体の計 311 検体を検査材料とした。

2 検体の前処理

糞便およびカキ以外の食品は 10%乳剤を、カキは中腸腺の 10%乳剤を遠心分離後、その上清を 40%ショ糖に重層し超遠心分離を行い、沈渣をジエチルピロカーボネート (DEPC) 処理蒸留水 500 μ l に再浮遊した⁶⁾。スワブは採取液 (Pro-media ST-15, ELMEX) にポリエチレンゲ

*：(財)広島市農林業振興センター

リコール 6000 (最終濃度 8.5%) および塩化ナトリウム (最終濃度 0.5M) を添加し 4℃で一夜放置後, 10,000rpm, 30 分遠心分離した沈渣を DEPC 処理蒸留水 500 μ l に再浮遊した。処理検体はただちにもしくは -80℃に凍結保存後検査に供した。

3 検査方法

検査は EM および NLV を対象とした RT-PCR または逆転写二段階ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-nested PCR) を基本として, NLV-ELISA, サッポロ様ウイルス (SLV) 検出 RT-PCR または RT-nested PCR, ロタウイルス検出 ELISA (ロタクロン®, TFB), アデノウイルス検出 ELISA (アデノクロン®, TFB), アデノウイルス 40/41 型検出 ELISA (アデノクロン E®, TFB), C 群ロタウイルス検出逆受身赤血球凝集反応 (C 群ロタウイルス検出用キット, デンカ生研) を併用または単独で実施した。

(1) RT-PCR

RT-PCR は既報⁸⁾に準じた。すなわち, SV Total RNA Isolation® (プロメガ) キットを用いて濃縮検体 100 μ l から RNA を抽出した。RT-PCR は M-MLV Reverse Transcriptase RNaseH⁻ (東洋紡) および EX Taq® (宝酒造) を用いた同一反応系

または Ready-To-Go RT-PCR® (ファルマシア), 二回目の PCR は Kod Dash® (東洋紡) を用いた。反応系または Ready-To-Go PCR® (ファルマシア) をそれぞれ使用した。アニーリング温度は一回目の PCR が 45℃, 二回目が 50℃とし, 全て同一条件で実施し, プライマーは表 1 に示したものをを用いた。PCR 産物はエチジウムブロマイド加トリスほう酸緩衝液 (0.0445M Tris-borate, 0.045M Boric acid, 0.001M EDTA) 中でアガロースゲル電気泳動後, 紫外線照射下で写真撮影を行い, 目的 DNA の増幅の有無を確認した。

(2) NLV-ELISA その他

NLV-ELISA はデンカ生研分与の ELISA キット (試作試供品) を用い, 濃縮検体 50 μ l を検体として使用説明書に従い実施した。EM は既報に準じ¹²⁾, その他の各種検出キットは使用説明書に従った。

結 果

1 検査実施状況

期間内に発生した 32 事例についてウイルス検査を実施した (表 2)。依頼区分別にみると市内で発生した食中毒 3 事例および有症苦情 14 事例,

表 1 使用プライマーリスト

対象 病原体	増幅系の 名称	プライマー の名称	塩基配列	位置*1	極 性	増幅 サイズ	文*2 献
NLV	36/35'	NV36	5'-ATAAAAGTTGGCATGAACA-3'	4487-4505	+	470	9
		NV35'	5'-CTTGTTGGTTTGGAGGCCATA-3'	4956-4937	-		
	82/81	SM82	5'-CCACTATGATGCAGATTA-3'	4555-4572	+	330	
		NV82	5'-TCATTTTGTATGCAGATTA-3'	4555-4572	+		
		NV81	5'-ACAATCTCATCATCACCATA-3'	4884-4865	-		
		MR3/4	5'-CCGTCAGAGTGGGTATGAA-3'	4485-4503	+	470	10
		MR-4	5'-AGTGGGTTTGGAGGCCGTA-3'	4954-4937	-		10
		YuriF/R	5'-ATGAATGAGGATGGACCCAT-3'	4505-4524	+	373	4
		Yuri22R	5'-CATCATCCCCGTAGAAAGAG-3'	4877-4858	-		4
		P1/P2	5'-GCTGATTACTCT(C/G)G(C/G)TGGGA-3'	4565-4584	+	237	6
		P2	5'-ACACAGAGTGAG(C/G)A(A/G)CCAGTG-3'	4801-4780	-		6
		P1/P3	5'-GCTGATTACTCT(C/G)G(C/G)TGGGA-3'	4565-4584	+	326	6
		P3	5'-GT(A/G)(C/G)TCACAAT(C/T)TCATCATC-3'	4890-4871	-		6
		Y1/Y2	5'-TGGGACTCAACACA(A/G)CAGAG-3'	4580-4599	+	233	6
		Y2	5'-TCAGA(A/C)AG(G/T)GCACA(C/G)AGAGT-3'	4812-4793	-		6
SLV	SR80/JV33	SR80	5'-TGGGATTCTACACAAAACCC-3'	4366-4385	+	320	11
		JV33	5'-GTGTA(A/G/C/T)ATGCA(A/G)TCATCACC-3'	4685-4666	-		11
	S1/A1	S1	5'-GTTGCTGTTGGCATTAAATGGA-3'	4273-4295	+	915	本研究
		A1	5'-GGAGCCATTGCCCTCCATCTCA-3'	5187-5166	-		本研究
	S2/A2	S2	5'-TCCAAATGGGATTCCACACAAAA-3'	4360-4382	+	743	本研究
		A2	5'-CA(A/G)GC(A/G)TTGTAGGTGGCGA-3'	5102-5084	-		本研究
	4490/4485	4490	5'-ACACGTGGTGGTCTACCATCTGG-3'	4510-4532	+	180	
		4485	5'-CACACTGTACATGCA(A/G)TCATCACC-3'	4689-4666	-		

*1: NLV 用プライマーは Norwalk virus (Accession No. M87661), SLV 用プライマーは Manchester virus (Accession No.

X86560)における位置で示した。

*2: 記載のないものは私信による。

表2 平成12年度における胃腸炎集団発生ウイルス検査結果の概要

事例番号	受付日	検査区分	発生場所 ^{*1}	施設等	糞便		食品	スワブ	検出ウイルス	備考 ^{*2}
					患者・喫食者	従事者等				
0012	H12.4.17	有症苦情	安芸区	飲食店	2/2 ^{*3}				SLV	
0013	H12.5.3	有症苦情	東区	寮	0/12					Camp. ^{*4}
0014	H12.5.24	有症苦情	佐伯区	小学校	20/29	0/20	0/3		NLV	G1,G2
0015	H12.6.20	遡り調査	広島県		0/1					
0016	H12.10.19	遡り調査	山口県		1/1				NLV	G2
0017	H12.12.4	遡り調査	兵庫県				0/1			
0018	H12.12.13	有症苦情	安佐北区	家庭内	1/1				NLV	
0019	H12.12.21	遡り調査	福岡県				4/13		NLV	
0020	H12.12.22	遡り調査	福岡県		2/2				NLV	G2
0021	H12.12.25	有症苦情	東区	飲食店	5/5				NLV	
0022	H12.12.29	有症苦情	中区	旅館	4/7	1/5			NLV	
0101	H13.1.15	遡り調査	千葉県				3/3		NLV	
0102	H13.1.18	遡り調査	神戸市				0/1			
0103	H13.1.24	遡り調査	広島県			0/4	3/3		NLV	
0104	H13.1.26	遡り調査	福岡市				7/8		NLV	
0105	H13.1.26	有症苦情	中区	飲食店	8/9	1/6	1/1		NLV	G1,G2
0106	H13.1.30	遡り調査	埼玉県				1/1		NLV	
0107	H13.2.1	食中毒	中区	飲食店	5/5	0/20	2/4		NLV	G2
0108	H13.2.2	有症苦情	佐伯区	家庭内	3/3		2/2		NLV	
0110	H13.2.6	有症苦情	中区	飲食店	3/3				NLV	G2
0111	H13.2.7	遡り調査	京都府				0/3			
0112	H13.2.8	遡り調査	大阪府		1/2				NLV	
0113	H13.2.16	遡り調査	兵庫県		1/1				NLV	G2
0114	H13.2.17	遡り調査	静岡県			0/9				
0115	H13.2.20	遡り調査	和歌山県				0/3			
0116	H13.2.27	有症苦情	中区	飲食店	3/3	0/4			NLV	G2
0117	H13.3.2	有症苦情	西区	飲食店	4/5	0/5			NLV	
0118	H13.3.5	食中毒	中区	旅館	11/23	0/10	0/4	0/4	NLV	G2
0119	H13.3.11	有症苦情	中区	飲食店	3/5	0/7	0/1	0/7	NLV	G1,G2
0120	H13.3.13	有症苦情	南区	飲食店		1/4	0/1		NLV	
0121	H13.3.13	食中毒	南区	飲食店	7/12	5/6			NLV	G1,G2
0122	H13.3.16	有症苦情	安佐南区	高校	4/17				NLV	G2
計					88/148	8/100	23/52	0/11		
検出率					59.5%	8.0%	44.2%	0%		

*1: 遡り調査では調査依頼元の自治体を示す。

*2: 判明した NLV の遺伝子群別を示す。

*3: ウイルス陽性数/検査数

*4: カンピロバクター検出。

遡り調査に基づくもの 15 事例であった。市内事例の発生場所は飲食店 (10 事例), 学校, 家庭内および旅館 (2 事例), 寮 (1 事例) で, 発生月は 27 例 (84.4%) が 12 月から 3 月に集中した。細菌検査により 1 事例 (0013) からカンピロバクターが検出された以外は有意な病原細菌が検出されなかった。

2 ウイルス検査結果

32 事例, 311 検体のうち, 25 事例 (78.1%), 119 検体 (38.3%) から SRSV が検出された (表 2)。検査材料別にみると, 患者便 88/148 (59.5%), 従事者便 8/100 (8.0%), 食品 23/52 (44.2%), スワブ 0/11 (0%) で, 患者便および食品の検出率が高かった。食品からは 8 事例 (遡り調査 5 事例, 有症苦情 2 事例, 食中毒 1 事例) から SRSV

が検出され, 検出事例は 12 月から 2 月に集中し, すべてカキからの検出であった。従事者便からの SRSV 検出は 4 事例で, 事例番号 0121 が 5/6 (83.3%) と高率に検出された以外は, いずれも 1 名からの検出であった。

16 事例の 87 検体について NLV-ELISA を実施した結果, 8 事例は遺伝子 2 群 (G2) の NLV が, 4 事例は遺伝子 1 群 (G1) と G2 の NLV が検出された。

3 検出 SRSV の分類と特徴

SRSV 陽性 25 事例のうち 23 事例は 36/35', 82/81 あるいは MR3/4, YuriF/R を用いる RT-nested PCR または 82/81 あるいは YuriF/R を用いる RT-PCR で陽性になり, 検出 SRSV はノーウオーク様ウイルス (NLV) と同定された。検出 NLV

表3 主要PCR増幅系別NLV検査結果

	RT-PCR		RT-nested PCR		全体
	82/81	YuriF/R	36/35'-82/81	MR3/4-YuriF/R	
陽性数/検査数	28/133	19/133	49/150	53/143	107/267
検出率	21.1%	16.7%	32.7%	37.1%	40.1%

の一部について NLV-ELISA を行った結果、19 例は G2、14 例は G1 に遺伝子群別され、4 例は群別不能であった。

他の 2 事例のうち 1 事例 (0121) は EM で 18 例中 4 例 (22.2%) が SRSV 陽性であったにもかかわらず、上記の系を用いた PCR では MR3/4-YuriF/R を用いる RT-nested PCR で 12 例中 1 例が陽性になったのみで、多くは検出できなかった。そこで、MR3/4 による RT-PCR 産物について Y1/Y2 を用いて二回目の PCR を実施した結果、12 例中 7 例が陽性となり、また、他の 1 検体は MR3/4-Y1/Y2 では検出されず、Y1/Y2 の RT-PCR で陽性となった。同事例の一部の NLV について NLV-ELISA を実施した結果、5 例が G1、1 例が G2 に遺伝子群別された。

他の 1 事例 (0012) は 2 例中 2 例から EM で典型的な SLV が観察された。NLV 用 (36/35', 82/81, MR3/4, YuriF/R) および表 1 に示す SLV 用の各増幅系を用いて RT-PCR または RT-nested PCR を実施したが、いずれも陰性であった。

4 PCRによるNLV検査結果

通常の検査に使用している 82/81, YuriF/R による RT-PCR および 36/35'-82/81, MR3/4-YuriF/R による RT-nested PCR について検出率を比較した (表 3)。増幅系別の検出率は MR3/4-Yuri22F/R が最も高く 37.1%、以下 36/35'-82/81 が 32.7%、82/81 が 21.1%、Yuri22F/R が 16.7%

で、全体の検出率は 40.1% であった。

5 混合プライマーによるNLV検出法の検討

逆転写反応および最初の PCR に MR3, MR4, NV36, NV35' の 4 種類のプライマーをそれぞれ 20pmol 加えた混合系 (Mix1)、二回目の PCR に P1, P3, NV82, SM82, NV81, Yuri22R の 6 種類のプライマーをそれぞれ 20pmol 加えた混合系 (Mix2) による RT-nested PCR を構築し、36/35'-82/81 および MR3/4-YuriF/R の系と検出率を比較した (表 4)。供試 114 例中 Mix1-Mix2 で 37 例、MR3/4-YuriF/R で 36 例、36/35'-82/81 で 28 例がそれぞれ陽性となり、Mix1-Mix2 系が最も検出率が高かった。いずれかの方法で陽性となったものは 48 例であった。

6 NLV-ELISAによるNLVの検出

NLV-ELISA と RT-PCR (RT-nested PCR を含む) を併用した 76 例について検出率を比較した結果、NLV-ELISA は 34 例 (44.7%)、RT-PCR は 53 例 (69.7%) が陽性で、RT-PCR に対する NLV-ELISA の検出率は 64.2% であった。それらのうち両者とも陽性は 31 例、RT-PCR のみ陽性は 22 例、ELISA のみ陽性は 3 例、両者とも陰性は 20 例であった。一方、NLV-ELISA 陽性 (単独実施を含む) 37 例のうち 33 例 (89.2%) は G1 または G2 に遺伝子群別され、4 例 (10.8%) は両者に反応し群別不能であった。

表4 各PCR増幅系のNLV検出の比較

	増幅系			例数	%*1
	36/35'-82/81	MR3/4-Yuri22F/R	Mix1-Mix2		
結果の組み合わせ	+	+	+	18	37.5
	+	+	-	2	4.2
	+	-	+	2	4.2
	-	+	+	13	27.1
	+	-	-	6	12.5
	-	+	-	3	6.3
	-	-	+	4	8.3
	-	-	-	66	
増幅系別陽性数 (%*2)	28 (58.3)	36 (75.0)	37 (77.1)		

*1: いずれかの方法で陽性となった 48 例に対する各例数の百分率。

*2: いずれかの方法で陽性となった 48 例に対する増幅系別陽性数の百分率。

考 察

平成 12 年度に発生した胃腸炎集団発生など 32 事例の 311 検体についてウイルス検査を実施した結果、25 事例 (78.1%)、119 検体 (38.3%) から SRSV が検出された。多くは患者便、食品からの検出で 50%前後の検出率を示した。SRSV はヒトでは不顕性感染が認められ¹³⁾⁻¹⁵⁾、市場に流通している二枚貝からも検出される¹⁶⁾¹⁷⁾ことから、同ウイルスの検出をもって各事例の原因とは必ずしもいえない。しかし、有意な病原細菌が検出されなかったこと、患者の臨床症状や推定される潜伏期が一般的な SRSV 感染症¹⁸⁾の場合とほぼ一致 (データ示さず) したことなどから、これらの事例への SRSV の関与は強く示唆される。一方、従事者便からは 4 事例の 8 名から検出された。後述のように事例番号 0121 では従事者の食中毒原因への関与が示唆されているが、他の事例における意義は不明であり、今後詳細な疫学解析が必要である。スワブから SRSV は検出されなかった。

SRSV 陽性 25 事例のうち 23 事例は NLV 検出用として我が国で汎用されている¹⁹⁾36/35', 82/81, MR3/4, YuriF/R を用いた PCR 増幅系で陽性となり、それらの事例は NLV が関連していたことが明らかになった。NLV-ELISA を実施した 16 事例のうち 8 事例は G2 のみが、4 事例は G1 と G2 の NLV が検出され、G2 を主流とするこれまでの我が国の報告⁴⁾¹⁹⁾²⁰⁾と一致した。

事例番号 0121 では EM で 12 例中 4 例から SRSV が検出されたが、通常の検査に使用している 36/35'-82/81, MR3/4-YuriF/R では検出困難で、MR3/4-Y1/Y2 または Y1/Y2 で陽性となった。一部について NLV-ELISA を実施した結果、5 例は G1, 1 例は G2 と判定され、G1 に属する NLV が主流であったと考えられる。本事例は原因食品が特定されなかったものの、その詳細な疫学解析から調理従事者の手指を介しての食品汚染が原因と推定されている²¹⁾。なお、36/35', 82/81, MR3/4, YuriF/R を用いた PCR では検出困難な G1 に属する NLV による集団嘔吐下痢症が兵庫県の中学校で報告されており²²⁾、本事例のウイルスとの異同が注目される。

NLV 検出用 PCR 増幅系のうち 36/35'-82/81 および MR3/4-YuriF/R は比較的高感度に検出できる系とされ、我が国で広く使用されている¹⁹⁾。一方、Kawamoto らが開発した P1/P3, P1/P2, Y1/Y2 の各増幅系は、国内で検出された NLV の

ポリメラーゼ領域の塩基配列を基に設計され、その有用性が示されている⁶⁾。しかし、いずれのプライマーもすべての NLV を検出することはできず、より高感度に NLV を検出するためには複数の増幅系の併用が必要である¹⁹⁾。そこでこれらのプライマーのうち、増幅産物の大きさを考慮し、RT-PCR に MR3, MR4, NV36, NV35' の 4 種類のプライマーを用いた混合系 (Mix1)、二回目の PCR に P1, P3, NV82, SM82, NV81, Yuri22R の 6 種類のプライマーを用いた混合系 (Mix2) による RT-nested PCR を構築し、その有用性を検討した。その結果、Mix1-Mix2 は 36/35'-82/81 および MR3/4-YuriF/R よりも高い検出率を示したものの、両者の併用よりは低い検出率であった。今後、さらに高感度なプライマーの検索および増幅系の構築が必要である。

今回用いた NLV-ELISA は組換えバキュロウイルスで作製された 14 種類 (G1 4 株, G2 10 株) の NLV に対する抗体を用いたもので、本 ELISA の評価の一環として実施した。検出率は PCR と比較し低いものの、遺伝子群別が可能であり、迅速、簡便な糞便のスクリーニング検査法として有用と考えられた。

文 献

- 1) ウイルス性胃腸炎集団発生 1997.10～1999.9, 病原微生物検出情報, 20, 1～2 (1999)
- 2) 長谷川斐子: 食品媒介感染ウイルスの検出法, 食品衛生研究, 45, 49～63 (1995)
- 3) Atmar RL et al: Diagnosis of noncultivable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses, Clin Microbiol Rev, 14, 15～37 (2001)
- 4) Saito H et al: Application of RT-PCR designed from the sequence of the local SRSV strain to the screening in viral gastroenteritis outbreaks, Microbiol Immunol, 42, 439～446 (1998)
- 5) Honma S et al: Evaluation of nine sets of PCR primers in the RNA dependent RNA polymerase region for detection and differentiation of members of the family *caliciviridae*, Norwalk virus and Sapporo virus, Microbiol Immunol, 44, 411～419 (2000)
- 6) Kawamoto H et al: Nucleotide sequence analysis and development of consensus primers of RT-PCR for detection of Norwalk-like viruses prevailing in Japan, J Med Virol, 64, 569～576

(2001)

- 7) 名取克郎 他：小型球形ウイルス中空粒子の産生と応用，病原微生物検出情報，19，250 (1998)
- 8) 池田義文 他：広島市におけるNLV感染症の分子疫学的研究，厚生科学特別研究事業平成11年度研究報告書，51～58 (1999)
- 9) Moe CL et al: Application of PCR to detect Norwalk virus in fecal specimens from outbreak of gastroenteritis, J Clin Microbiol, 32, 642～648 (1994)
- 10) Lew JF et al: Identification of minireovirus as a Norwalk-like virus in pediatric patients with gastroenteritis, J Virol, 68, 3391～3396 (1994)
- 11) Vinje J et al: Molecular detection and epidemiology of Sapporo-like viruses, J Clin Microbiol, 38, 530～536 (2000)
- 12) 野田 衛 他：広島市における小児下痢症のウイルス学的病原検索，臨床とウイルス，14，210～214 (1986)
- 13) Davidson MM et al: Small round virus excretion in long-stay geriatric patients, J Med Virol, 41, 256～259 (1993)
- 14) Graham DY et al: Norwalk virus infection of volunteers: new insights based on improved assays, J Infect Dis, 170, 34～43 (1994)
- 15) Gray JJ et al: Detection of immunoglobulin M (IgM), IgA, and IgG Norwalk virus-specific immunosorbent assay with baculovirus-antibodies by indirect enzyme-linked expressed Norwalk virus capsid antigen in adult volunteers challenged with Norwalk virus, J Clin Microbiol, 32, 3059～3063 (1994)
- 16) 杉枝正明 他：市販生食用カキ中腸腺におけるSRSV遺伝子の検出，静岡県環境衛生科学研究所報告，39，1～6 (1997)
- 17) 速水淳一 他：市場に流通する生食用カキのSRSV汚染調査，全国食品衛生監視員研修会研究発表等抄録，65～68 (2000)
- 18) Kapikian AZ et al: Norwalk group of viruses, Fields Virology, 2nd eds., 671～693 (1990)
- 19) 全国ウイルス性食中毒研究班：ウイルス性食中毒原因の遺伝子検査標準法確立と全国行政対応整備に関する研究，厚生科学特別研究事業平成11年度研究報告書，1，1～132 (2000)
- 20) Ohyama T et al: Detection and nucleotide sequence analysis of human caliciviruses (HuCVs) from samples in non-bacterial gastroenteritis outbreaks in Hokkaido, Japan, Microbiol Immunol, 43, 543～550 (1999)
- 21) 石村智加子 他：小型球形ウイルス食中毒事例における汚染経路の推定について，平成13年度食品衛生監視員等業績発表会抄録 (広島市) 1～4 (2001)
- 22) 近平雅嗣 他：ノーウォーク様ウイルス (Genogroup 1) による集団嘔吐下痢症，病原微生物検出情報，21，13 (2000)

水中農薬分析におけるディスク型固相抽出法の検討

小中ゆかり 馬部 文恵 常政 典貴 橋本 和久
佐伯 彩路 関川 恵子 尾川 健 世良 勝利

水中農薬分析において、環境基準項目、要監視項目および排水基準項目のうち、GC/MS法で測定している13農薬について、ディスク型固相抽出の適用について検討を行った。ジクロロボスを除く12農薬について適用可能であった。

ディスク型固相抽出法は、ディスク固相の取り扱いなどその一連の抽出操作の変動が、結果に大きな影響を及ぼし、コンスタントな結果を得るためには、技術を要する。一方、ディスク固相は、SS分の多い試料水でも目詰まりを起こしにくく、その除去用のろ紙との併用、目詰まり防止剤の使用も可能である。また、通水時間が短縮され、粒径の揃った充填剤が均一に固定されているため、抽出効率が高く、今後広範囲での使用が期待される。

キーワード：ディスク型固相、固相抽出、農薬

はじめに

農薬による水環境汚染については、水質汚濁に係る環境基準、要監視項目、排水基準および「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針」による監視・指導等が行われてきたところである。

また、近年では、生物の内分泌作用を攪乱する化学物質について、社会的関心が高まってきているが、これらの内分泌攪乱物質には、農薬類も多く含まれている。

各方面で、分析対象農薬は増加傾向にあり、多成分同時分析が要求される。その分析方法として近年では、溶媒使用量の少ない固相抽出法が注目されており、当所でもカートリッジ式の固相を利用して分析を行っているところである。

今回、カートリッジ式のものに比べて、目詰まりを起こしにくく、通水速度に制限がなく、乾燥が容易だとされている、ディスク型固相の適用について検討を行ったので報告する。

方 法

1 対象物質

分析対象農薬は、以下に示す環境基準項目、要監視項目および排水基準項目の計13物質とした。(HPLC法で測定しているチウラム、オキシ銅は除く。)

シマジン(CAT)、チオベンカルブ、イソキサチオン、ダイアジノン、フェニトロチオン(MEP)、イソプロチオラン、クロロタロニル(TPN)、プロピザ

ミド、EPN、ジクロロボス(DDVP)、フェノブカルブ、イプロベンホス(IPB)、クロロニトロフェン(CNP)

2 標準溶液と内部標準溶液の調整

農薬標準品：和光純薬工業(株)製

内部標準物質(アントラセンd-10、フルオランテン d-10、クリセン d-12)：CIL製

各標準物質の500 μ g/mlヘキサン溶液を作成し、標準原液とする。この標準原液を等量混合した標準混合溶液(10 μ g/ml)を作成し、多段階希釈し、検量線作成用の標準液(0.1~2.0 μ g/ml)とした。

各内部標準物質の100 μ g/mlのヘキサン溶液を作成し、検量線作成用の標準液及び測定用試料に1 μ g/mlになるように添加した。

3 器具及び装置

(1) 固相抽出用ディスク

3M社製 Empore SDB-XD 47mm (ポリスチレンジビニルベンゼン系)¹⁾

(2) 抽出・溶出装置

ジーエルサイエンス社製 エムポア TM ディスク用吸引マニホールド (6連式)

(3) GC/MS

ガスクロマトグラフはHP5890 IIを、質量分析装置は日本電子Automas50を使用した。

4 分析条件

GC/MS分析は、SIM法で行い、内標準法により測定を行った。GC/MS測定条件を表1に、その条件下におけるTICを図1に示す。なお、各物質のモニターイオンを表2に示す。

表1 GC/MS測定条件

カラム	SGE 社製 BPX5 (長さ 25m, 内径 0.22mm, 膜厚 0.25 μ m)
昇温条件	70°C (1min) - 30°C/min - 130°C - 10°C /min - 200°C - 5°C/min - 280°C (5min)
注入口温度	250°C
注入方式	スプリットレス (1分間パージオフ) 2 μ l 注入
流量制御	EPC 定流量モード, 1ml/min (He)
イオン化法	EI
イオン化電流	3 mA
イオン化電圧	70 eV
温度制御	イオン源 210°C, インターフェース 250°C
スキャン	50~350a. m. u. 0.4sec/scan

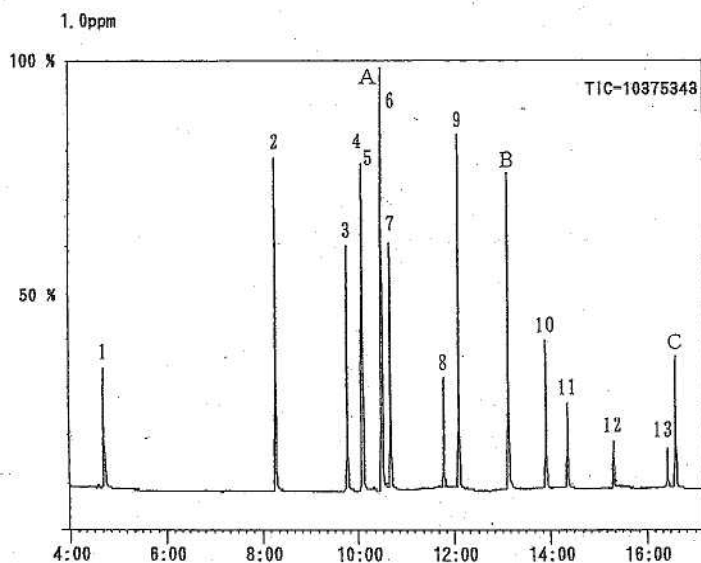


図1 対象物質のTIC

表2 測定対象物質のモニターイオン

対象物質	M.W.	モニターイオン	参照i.s.
1 ジクロロベンズ	220.0	185 109	A
2 フェノールカルブ	207.3	150 121	A
3 シマジン	201.7	186 201	A
4 ダイジン	304.4	137 179	A
5 プロピザミド	256.1	145 173	A
6 クロロクロニル	265.9	264 266	A
7 イプロペンホス	288.4	204 91	A
8 フェニトロチオン	277.2	125 109	A
9 チオベンカルブ	257.8	72 100	B
10 イプロチオン	290.4	189 118	B
11 イキチオン	313.3	177 105	B
12 クロロニトロフェン	318.6	319 236	C
13 EPN	323.3	185 157	C
A アントラセン d-10		188	i.s.
B フルオランテン d-10		212	i.s.
C クリセン d-12		240	i.s.

5 ディスク型固相抽出法²⁾⁻⁶⁾

ディスク固相を吸引マニホールドに乗せ、メタノール2~3mlで潤した後、減圧しシワがよらないようにセットする。ディスク固相は溶出溶媒 10mlで洗浄した後、メタノール 10ml, 蒸留水 20ml でコンディショニングを行う。ディスク固相に試料液を通水し、蒸留水 20ml で洗浄したのち、ディスク固相を乾燥させる。乾燥させたディスク固相から、吸引マニホールドを使用して、有機溶媒で目的物質を溶出させ、試験管にうつける。これに窒素ガスを緩やかに吹き付け濃縮し、測定用内部標準混合液 (1 μ g/ml) で 0.5ml にメスアップし、GC/MS の試験液とした。

6 添加回収試験

蒸留水 500ml に各標準物質 0.5 μ g を添加し、1 μ g/l の試料液を作成し、その濃度を測定して回収率を求めた。

7 検討事項

- (1) ディスク固相の乾燥方法について、吸引乾燥と乾熱器での乾燥の比較検討
- (2) ディスク固相から目的物質を溶出するための、適切な有機溶媒と溶出溶媒量の検討
- (3) 溶出方法として、Forward Flush 法と Backward Flush 法との比較検討

結果と考察

1 ディスク固相の乾燥方法の検討⁷⁾⁻⁸⁾

ディスク固相の乾燥方法について、①吸引マニホールドに設置して30分間吸引乾燥した場合と②乾熱器 50°C で30分間⁸⁾乾燥した場合を、添加回収試験によって比較検討した。その結果を表3に示す。

ディスク型固相抽出を利用するうえで、試料液通水後の固相の乾燥は、添加回収率に影響を与える要素として極めて重要である。今回は、2通り乾燥方法を検討したのみであるが、吸引乾燥の方が良好な回収率であった。ただし、この結果は、ディスク固相自体の乾燥状態の差よりも、乾燥方法によるディスク固相の取り扱いの違いによるところが大きいと考えられる。乾熱乾燥の場合、乾熱器を使用することにより単位操作が増加し、また加熱によりディスク固相がひわり、溶出のためにマニホールドに再設定する際、しわを生じやすく、溶出効率が低下し回収率の差として現れたと推定される。当所の乾熱乾燥器には、通風機能がなく乾燥が充分でない。さらに、専用でないため、

表3 乾燥方法別回収率

対象物質	①吸引乾燥		②乾熱乾燥	
	アセトン	ジクロロメタン	アセトン	ジクロロメタン
ジクロロベンズ	14	63	20	25
フェノールカルブ	76	86	50	56
シマジン	91	93	91	78
ダイジノ	75	82	58	61
プロピザミド	89	84	73	66
クロロピリ	76	77	57	53
イプロベンホス	93	89	72	67
フェトリオン	95	88	76	74
チオベンカルブ	85	89	77	69
イプロチオン	85	82	84	69
イキサチオン	109	96	83	73
クロロピリフェン	88	88	82	59
EPN	93	87	83	71

(単位: %, 各n=1)

他からの汚染の可能性も考えられる。よって吸引乾燥を採用し、今後の検討を吸引乾燥で行っていくこととした。

2 溶出溶媒と溶出溶媒量の検討

溶出溶媒を検討するため、ディスク型固相抽出に関する文献²⁾⁶⁾を参考に、①アセトン、②ジクロロメタンおよび③アセトン:酢酸エチル=1:1の3種類の有機溶媒について添加回収試験を行った。なお、溶出溶媒量として、0~10ml, 10~20ml および 20ml~30ml の3フラクションで分取し測定を行った。20~30ml のフラクションからは、3種類の溶媒とも、いずれの物質も検出されなかった。

0~20ml までの添加回収試験結果を表4に示す。

0~10ml と 10~20ml の2つのフラクションを合わせた Total の回収率を比較すると、ジクロロベンズを除く12物質は、①ジクロロメタンと③アセトン:酢酸エチル=1:1での回収率がいずれの物質とも70%以上で良好である。しかし、各フラクションごとの回収率では、①ジクロロメタンは最初の10ml でほとんど溶出されている一方、③アセトン:酢酸エチル=1:1では、10~20ml のフラクションからもかなりの率で回収されており、溶出溶媒量としては20mlを要する。

3 溶出方法の検討

「2 溶出溶媒と溶出溶媒量の検討」では、溶出溶媒としてジクロロメタンが最適であった。しかし、ジクロロメタンは有害な物質として、環境・排水基準項目に指定されており、その使用は好ましくない。他の溶媒での溶出効率をあげるため、使用したディスク固相を裏返し、上下を逆にして

溶出する Backward Flush 法を検討した。同様に、①アセトン、②ジクロロメタンおよび③アセトン:酢酸エチル=1:1の3種類の有機溶媒について、Backward Flush 法で添加回収試験を行った。その結果を表5に示し、表4と表5の結果をあわせて図2に示す。

②アセトンについては、Backward Flush 法により回収率・効率が上昇し、必要な溶出溶媒量も少なくて済み、10ml で可能と考える。しかし、回収率70%を下回る農薬もあり、現段階で適用は難しい。①ジクロロメタンと③アセトン:酢酸エチル=1:1については、ジクロロベンズを除く12物質はいずれも回収率70%を超えたが、Backward Flush 法による効果はほとんど見られず、逆に変動係数が高くなった。

今回の検討の結果、ディスク固相を用いた水中農薬の抽出法として、図3に示す方法で、GC/MS法で測定している環境基準項目・要監視項目および排水基準項目のうち、ジクロロベンズを除く12物質は、測定可能である。ジクロロベンズについては、いずれの溶媒でも回収率が低く、その変動係数が非常に大きいことが問題である。ジクロロベンズには揮発性があり、長時間の吸引乾燥や窒素吹き付けによる濃縮操作での飛散など、ディスク固相自体の問題とは別の要素が原因と考えられる。

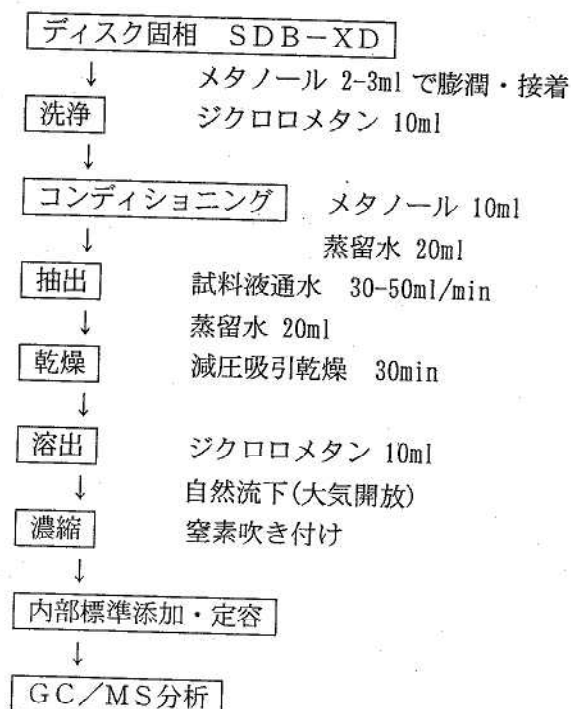


図3 ディスク型固相抽出操作

表4 溶出溶媒別回収率 [Forward Flush 法]

溶出溶媒 対象物質	①ジクロロタン			②アセトン			③アセトン酢酸=1:1		
	0~10ml	10~20ml	Total	0~10ml	10~20ml	Total	0~10ml	10~20ml	Total
ジクロロタン	58	1	59	11	1	12	26	5	31
フェノールカルブ	87	1	88	53	6	58	78	8	86
シマジン	88	1	89	81	9	90	83	10	93
ダイアジン	81	1	82	49	7	56	73	8	81
プロピザミド	84	1	85	69	9	77	78	9	86
クロロピリ	78	1	79	48	7	54	75	7	82
イプロピル	91	1	91	64	8	72	79	8	87
フェニトロチオン	89	1	90	60	10	69	73	9	82
チオベンカルブ	80	1	81	53	7	59	70	7	77
イソプロチオン	79	1	80	70	10	80	67	6	74
イキチオン	82	1	83	69	10	79	73	8	81
クロロピロフェン	74	2	76	60	12	72	72	10	82
EPN	75	1	75	69	12	81	73	9	82

(単位: %, 各n=3)

表5 溶出溶媒別回収率 [Backward Flush 法]

溶出溶媒 対象物質	①ジクロロタン			②アセトン			③アセトン酢酸=1:1		
	0~10ml	10~20ml	Total	0~10ml	10~20ml	Total	0~10ml	10~20ml	Total
ジクロロタン	54	1	55	17	—	17	43	4	47
フェノールカルブ	87	1	88	71	—	72	74	6	79
シマジン	93	1	94	99	—	100	84	6	90
ダイアジン	86	1	87	65	—	65	73	5	78
プロピザミド	89	1	90	88	—	89	79	6	85
クロロピリ	87	1	88	77	—	78	74	6	76
イプロピル	91	1	93	83	1	84	80	7	87
フェニトロチオン	87	2	89	84	—	84	79	7	86
チオベンカルブ	83	1	84	70	—	71	71	4	75
イソプロチオン	77	1	80	84	—	84	71	4	74
イキチオン	83	1	84	88	1	89	75	6	80
クロロピロフェン	81	2	83	81	1	82	73	7	80
EPN	76	2	78	82	1	83	69	6	76

(単位: %, 各n=3)

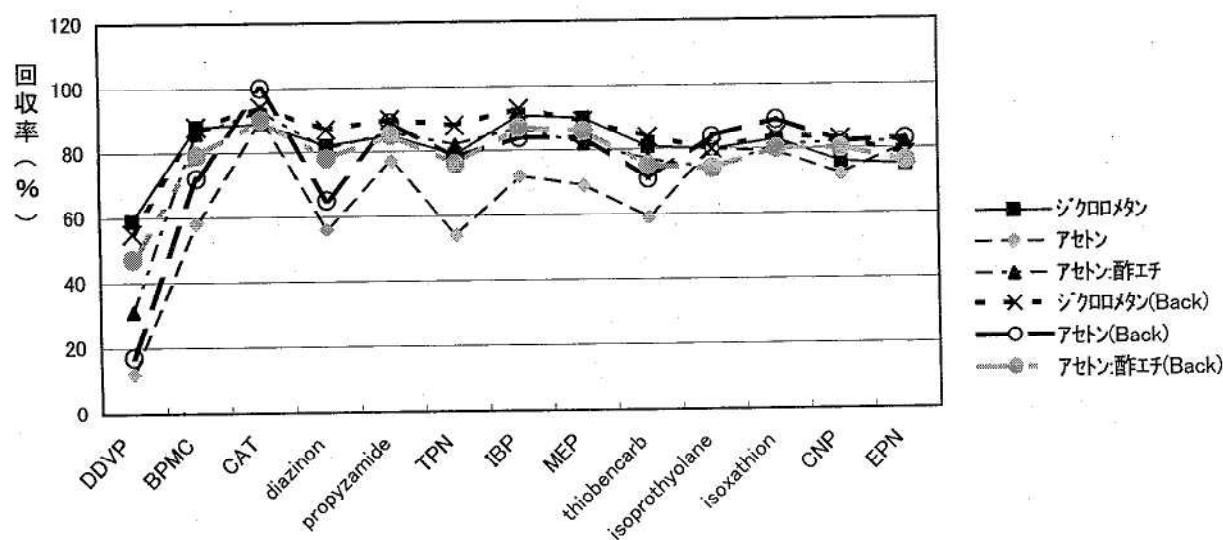


図2 溶出溶媒別回収率

ジクロロメタンにかわる他の溶出溶媒の検討、ジクロロボスの一連のディスク固相抽出操作での挙動の解明が今後の課題である。

お わ り に

今回の検討において、ディスク固相の取り扱い、吸引マニホールドの使用法など、不慣れなことが多く、一連の固相抽出操作のいかんにより、その結果に大きな影響を及ぼすことを実感した。その要素として①ディスク固相(SDB-XD)に膨潤・伸縮性があり、洗浄-コンディショニング-抽出-乾燥-溶出の一連の過程におけるマニホールドへの接着に技術を要する。②ディスク固相への通水あるいは目的物質を溶出する際の溶出溶媒の流量調整が現有機器では難しい。③多連のマニホールドを使用した場合、使用するマニホールドの数・場所等の使用条件により、各マニホールドの減圧吸引の度合いが異なり、各ディスク固相の乾燥の度合いや固相への通水あるいは目的物質の溶出速度等の一連の抽出条件が均一化されない。などが挙げられる。

現在、「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針」による農薬についても、検討中である。メタミドフォス・アセフェートなど水溶解性の高い極性物質に対するカーボン系のEmpore Carbon Diskの使用、およびEmpore Carbon Disk と SDB-XD との二枚併用しての一括分析など解決すべき課題は多い。また、HPLC法を使用して測定する物質も含めて、今後も検討を続けていきたい。

文 献

- 1) 剣持堅志 他：環境ホルモン関連物質の多成分分析とその問題点，第2回日本水環境学会シンポジウム講演集（平成11年），114～117，（1999）
- 2) 田辺 薫 他：ディスク型固相抽出による農薬一斉分析の検討，環境と測定技術，23-2，20～24，（1996）
- 3) 鈴木 雄二 他：52 農薬の一斉分析における固相抽出剤の検討，秋田県環境技術センター年報，24，76～82，（1998）
- 4) 柴田幸雄 他：ディスク型固相による水中の農薬分析法の検討(1)，川崎市公害研究所年報，25，49～55，（1999）
- 5) 木口 倫 他：ポリスチレンゲルと活性炭系ディスクを多層化した固相抽出/ガスクロマトグラフィー/質量分析法による水中の親水性及び疎水性農薬の同時定量，分析科学，49(8)，575～582（2000）
- 6) 関 昌之 他：ディスク型固相による水中の農薬分析法の検討(2)，川崎市公害研究所年報，26，33～35，（2000）
- 7) 吉田政治 他：水中農薬のディスク型固相抽出法による迅速分析-乾燥器によるディスク固相の乾燥-，大阪府公害監視センター所報，18，37～41，（1997）
- 8) 岡田一郎 他：農薬分析の固相抽出法における固相乾燥方法に関する基礎的検討，大阪府公害監視センター所報，19，111～120，（1999）

底質中のアルキルフェノール類, 2,4-ジクロロフェノール, ビスフェノールA, アジピン酸ジエチルヘキシル及び フタル酸エステル類の分析法の検討

村上 加枝* 竹井 秀夫 下田 喜則 松木 司
矢野 泰正 世良 勝利

環境庁がまとめた「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」に基づきアルキルフェノール類7物質, 2,4-ジクロロフェノール, ビスフェノールA(以下, アルキルフェノール類群9物質)と, アジピン酸ジエチルヘキシル, フタル酸エステル類8物質(以下, フタル酸エステル類群9物質)について, 各々の群別による底質における同時分析を行った。その検討結果は以下のとおりである。

- 1 アルキルフェノール類群9物質のシリカゲルカラムでの溶出は, 夾雑物の混入が少ない20%アセトン-ジクロロメタンを使用することとした。
- 2 2,4-ジクロロフェノール, ビスフェノールAは, アルキルフェノール類を測定した試料を翌日に誘導体化して測定することで, 分析の簡素化が図れた。
- 3 フタル酸エステル類群9物質の5%含水フロリジルカラムでの溶出は, 回収率が良好で, 少量の溶媒で溶出できる2%アセトン-ヘキサンを使用することとした。
- 4 フタル酸エステル類群9物質の減圧濃縮は目的物質, サロゲート物質が損失するため, 濃縮操作はガラス蒸発皿を用い, 常圧40℃の湯浴上で濃縮することとした。

キーワード: 環境ホルモン, アルキルフェノール類, 2,4-ジクロロフェノール,
ビスフェノールA, アジピン酸ジエチルヘキシル, フタル酸エステル類

はじめに

アルキルフェノール類は界面活性剤などの原料, 2,4-ジクロロフェノールは染料の中間体, ビスフェノールAはポリカーボネート樹脂の原料, また, アジピン酸ジエチルヘキシル, フタル酸エステル類は合成樹脂の可塑剤として大量に生産され, 広範囲に使用されている。

これらの化学物質は内分泌機能を攪乱させる可能性があることから, 外因性内分泌攪乱化学物質(以下, 環境ホルモン)¹⁾として挙げられ, 環境庁が報告した「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」(以下, 暫定マニュアル)²⁾に分析法が記載されている。

しかし, 環境ホルモン分析は試験環境に影響されるものがあるため, 各試験機関での分析方法の検討が必要である。

今回, 暫定マニュアルを基に検討を重ね, 問題

点を改善し, さらに, 今回の対象物質をアルキルフェノール類群9物質と, フタル酸エステル類群9物質の2群に分けて, 各々の群で底質における同時分析を試み, 分析法を検討した。

方 法

1 試薬

(1) アルキルフェノール類群(9物質)

a 標準物質

2,4-ジクロロフェノール
4-*t*-ブチルフェノール
4-*n*-ペンチルフェノール
4-*n*-ヘキシルフェノール
4-*t*-オクチルフェノール
4-*n*-ヘプチルフェノール
4-*n*-オクチルフェノール
ノニルフェノール(Mixture)
ビスフェノールA(BPA)

これら標準物質は関東化学㈱製を用い, ノニ

*: 環境局環境企画課

ルフェノール以外のアルキルフェノール類、2,4-ジクロロフェノール、ビスフェノールAは、ヘキサンで5.0 μ g/mlの混合標準溶液を作製した。また、ノニルフェノールは、ヘキサンで55 μ g/mlの標準溶液を作製した。これらの標準溶液を、多段階希釈して使用した。

b サロゲート物質

ビスフェノールA-d₁₀

関東化学(株)製でジクロロメタンで10 μ g/mlの標準溶液を調製した。

c 内部標準物質

アセナフテン-d₁₀、フェナントレン-d₁₀

これら内部標準物質は和光純薬(株)製を用い、ジクロロメタンで10 μ g/mlの混合標準溶液を作製した。

d その他の試薬

- ・アセトン、ヘキサン、ジクロロメタン
 - 和光純薬(株)製残留農薬試験用
- ・試験水 - Volvic社製ミネラルウォーター
- ・塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム
 - 和光純薬(株)製PCB・残留農薬試験用

(2) フタル酸エステル類群9物質

a 対象物質

フタル酸ジエチル(DEP)
 フタル酸ジプロピル(DPrP)
 フタル酸ジブチル(DBP)
 フタル酸ジペンチル(DPP)
 フタル酸ブチルベンジル(BBP)
 フタル酸ジヘキシル(DHP)
 フタル酸ジシクロヘキシル(DCHP)
 フタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)
 アジピン酸ジエチルヘキシル(DEHA)

これら標準物質は関東化学(株)製を用い、DEP, DPrP, DPP, BBP, DHP, DCHP, DEHAについては、ヘキサンで2.5 μ g/mlの混合標準溶液を作製した。また、DBP, DEHPについては、ヘキサンで5.0 μ g/mlの混合標準溶液を作製した。これらの標準溶液を、多段階希釈して使用した。

b サロゲート物質

フタル酸ジエチル-d₄(DEP-d₄)
 フタル酸ジブチル-d₄(DBP-d₄)
 フタル酸ジペンチル-d₄(DPP-d₄)
 フタル酸ブチルベンジル-d₄(BBP-d₄)
 フタル酸ジシクロヘキシル-d₄(DCHP-d₄)
 フタル酸ジエチルヘキシル-d₄(DEHP-d₄)
 アジピン酸ジエチルヘキシル-d₈(DEHA-d₈)

これらサロゲート物質は関東化学(株)製で、アセトンでDEP-d₄, DPP-d₄, BBP-d₄, DCHP-d₄については25 μ g/ml, DBP-d₄, DEHP-d₄については50 μ g/ml, DEHA-d₈については20 μ g/mlの混合標準溶液を作製した。また、サロゲート物質のない物質については、DPrPにはDBP-d₄を、DHPにはBBP-d₄を代用した。

c 内部標準物質

フルオランテン-d₁₀

和光純薬(株)製で、アセトンで10 μ g/mlの標準溶液を作製した。

d その他の試薬

- ・アセトン、ヘキサン
 - 関東化学(株)製フタル酸エステル試験用
- ・アセトニトリル-和光純薬(株)製残留農薬試験用
- ・試験水-Volvic社製ミネラルウォーター
- ・食卓塩-(財)塩事業センター製
- ・無水硫酸ナトリウム
 - 和光純薬(株)製フタル酸エステル試験用
- ・塩酸-関東化学(株)製有害金属測定用

2 装置

GC/MS分析計は島津GC-17A(MS検出器付き)を使用した。

結果と考察

1 アルキルフェノール類群

(1) GC/MSの測定条件の検討

各々の標準溶液を用いて、SCAN測定で得られたマススペクトルにより、モニターイオンを選択した。同時分析の測定条件を検討した結果を表1に、各物質の保持時間(RT)とモニターイオンを表2に示した。

表1 アルキルフェノール類群のGC/MSの測定条件
アルキルフェノール類

GC	GC-17A
カラム	J&W DB-5MS (0.25mm×30m×0.25 μ m)
カラム温度	60°C(1min)-20°C/min-100°C-5°C/min-170°C-3°C/min-200°C-20°C/min-280°C
気化室温度	280°C
キャリアーガス	He 圧力68kPa
注入方式	スプリットレス(パージオフ時間2分)
MS	QP-5000
イオン化方式	EI
イオン化電圧	70eV
イオン化電流	300 μ A
検出器電圧	1.5kV
インタフェース温度	280°C

2,4-ジクロロフェノール, ビスフェノールA

GC	GC-17A
カラム	J&W DB-5MS (0.25mm×30m×0.25μm)
カラム温度	50°C(2min)-20°C/min-120°C-10°C/min-280°C (5min)
気化室温度	250°C
キャリアーガス	He 圧力68kPa
注入方式	スプリットレス(パージオフ時間2分)
MS	QP-5000
イオン化方式	EI
イオン化電圧	70eV
イオン化電流	300μA
検出器電圧	1.5kV
インタフェース温度	290°C

表2 GC/MSにおけるRTとモニターイオン
アルキルフェノール類

	RT(min)	定量イオン	確認イオン
4-tert-ブチルフェノール	9.50	135	107
4-n-ペンチルフェノール	13.00	107	164
4-n-ヘキシルフェノール	15.30	107	178
4-tert-オクチルフェノール	16.20	135	107
4-n-オクチルフェノール	17.50	107	192
ノニルフェノール(Mixture)	18.40 -19.45	135	107
4-n-オクチルフェノール	19.91	107	77*, 206
アセナフテン-d ₁₀	13.60	162	-
フェナントレン-d ₁₀	20.10	188	-

*4-n-オクチルフェノールは206では濃度が低いものについては感度がとれなかったため77も確認イオンとして測定した。

2,4-ジクロロフェノール, ビスフェノールA

	RT(min)	定量イオン	確認イオン
2,4-ジクロロフェノール	9.65	219	234
ビスフェノールA	18.60	357	372
アセナフテン-d ₁₀	11.20	162	-
フェナントレン-d ₁₀	14.60	188	-
ビスフェノールA-d ₁₀	18.51	362	-

(2) 分析法の検討

a シリカゲルカラムでの溶出溶媒の検討

底質のシリカゲルカラムによる精製にどの溶出溶媒が適切かを検討した。

5%含水シリカゲルカラム(15g, 内径2cm, 長さ30cm, 上部に無水硫酸ナトリウム2cm)にノニルフェノールは1.1μg/mlの混合標準溶液を, その他の物質は0.1μg/mlの混合標準溶液を1ml負荷して, ヘキサン50mlを流して捨て, アセトン, ジクロロメタン, 20%アセトン-ジクロロメタン, 40%アセトン-ジクロロメタンの4種類を100ml流した時の各物質の溶出率を表3に示す。

表3 シリカゲルカラムでの溶出溶媒検討

	溶出率(%)			
	A	B	C	D
2,4-ジクロロフェノール	70	74	77	77
4-tert-ブチルフェノール	67	82	72	82
4-n-ペンチルフェノール	69	82	66	82
4-n-ヘキシルフェノール	68	70	69	70
4-tert-オクチルフェノール	82	77	67	77
4-n-オクチルフェノール	77	58	64	58
ノニルフェノール	71	60	66	75
4-n-オクチルフェノール	75	68	64	68
ビスフェノールA	110	0	62	140

A アセトン

B ジクロロメタン

C 20%アセトン-ジクロロメタン

D 40%アセトン-ジクロロメタン

暫定マニュアルに記載されているのはアセトン100mlでの溶出である。表3の結果を見ても良好な回収率で対象物質を回収できている。しかし, 底質試料でアセトン溶出すると底質の夾雑物が溶出し, 溶出液の着色が著しいため, アセトンは使用しないこととした。

ジクロロメタンは, アセトンより緩やかに対象物質が溶出し, 底質の夾雑物が溶出することはないが, ビスフェノールAが回収できなかった。

20%アセトン-ジクロロメタンと40%アセトン-ジクロロメタンを比較すると, 回収率がほぼ同じであったので, 底質の夾雑物が溶出しにくい20%アセトン-ジクロロメタンを使用することとした。

b 誘導体化について

暫定マニュアルでは, 2,4-ジクロロフェノールとビスフェノールAは誘導体化を行うが, アルキルフェノールは行わない。この違いを除けば, 分析法は同様である。したがって, アルキルフェノールを測定し終えた試料を誘導体化し, 2,4-ジクロロフェノールとビスフェノールAを測定できれば, 効率的である。

そこで, 2,4-ジクロロフェノールとビスフェノールAについて, アルキルフェノール類を測定しないで操作法どおり誘導体化したものと, アルキルフェノール類をGC/MSで測定した試料を翌日に誘導体化したものの回収率を表4に示す。

2,4-ジクロロフェノールは変化がなかった。ビスフェノールAは, 回収率が減少するもののビスフェノールA-d₁₀も同様の挙動を示し, 補正が可能のため, アルキルフェノール類を測定した後,

表4 誘導体化時期の違いによる回収率の比較

	当日の 回収率	翌日の 回収率	増減率
2,4-ジクロロフェノール	89	89	0
ビスフェノールA	120	97	-19
ビスフェノールA-d10	110	90	-19

単位: %

翌日誘導体化して測定を行うこととした。

c アルキルフェノール類群の同時分析法

分析方法は、環境庁の「暫定マニュアル」に準拠し、これまでの検討を基に改良を加え、以下のとおりとした。

湿泥10gとサロゲート物質(ビスフェノールA 1 μ g)、濃塩酸2.5mlを50ml共栓付遠沈管に入れてよく混合し、アセトン25mlを加えて10分間振とう抽出し、さらに10分間超音波抽出を行う。3000rpmで10分間遠心分離して上澄み液を取り出す。この抽出操作を3回行う。

これらの上澄み液を合わせて5%塩化ナトリウム水溶液250mlを入れた分液漏斗に加える。これにジクロロメタン25mlを加え10分間振とう抽出する。この操作を計2回行い、合わせたジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーターと窒素吹き付けで約1mlに濃縮し前処理液とする。

前処理液を5%含水シリカゲルカラム(15g, 内径2cm, 長さ30cm, 上部に無水硫酸ナトリウム2cm)に負荷し、前処理液の容器を少量のジクロロメタンで洗い洗液もカラムに負荷後、液面をカラムヘッドまで下げる。

それから、ヘキサン50mlを流し、溶出液は捨てる。次に20%アセトン-ジクロロメタンを流し、溶出液100mlを取る。溶出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーターで数mlに濃縮し、ジクロロメタン15mlを加え転溶し、ロータリーエバポレーターと窒素吹き付けで1mlとする。

これに内部標準物質(アセナフテン-d₁₀, フェナントレン-d₁₀) 100ngを添加し、GC/MSで測定する。

測定後、2,4-ジクロロフェノール、ビスフェノールAについてはBSTFA150 μ lを試料液に加えて誘導体化する。1時間半以上(通常2時間)室温放置した後、GC/MSで再度測定する。

(3) 装置検出限界(IDL)

装置検出限界は、ノニルフェノールは標準溶液 50ng/ml, その他の物質は標準溶液5ng/mlをGC/MS

表5 装置検出限界(n=7)

	平均 ng/ml	標準偏差 ng/ml	IDL(A) pg	IDL(B) μ g/kg
2,4-ジクロロフェノール	4.6	0.25	0.49	0.10
4-tert-ブチルフェノール	3.6	0.31	0.60	0.12
4-n-ペンチルフェノール	2.9	0.82	1.5	0.32
4-n-ヘキシルフェノール	2.8	0.46	0.89	0.18
4-tert-オクチルフェノール	2.3	0.52	1.0	0.20
4-n-ブチルフェノール	2.5	0.22	0.42	0.084
ノニルフェノール	31	3.5	6.7	1.4
4-n-オクチルフェノール	3.8	0.30	0.58	0.12
ビスフェノールA	6.1	0.95	1.8	0.37

・IDL(A) → 装置検出限界

・IDL(B) → 底質試料(10g, 水分含量 50%)で換算した時の装置検出限界

表6 ブランク試験(n=6)

	平均	標準偏差	変動係数 (%)
2,4-ジクロロフェノール	0.0	0.0	0
4-tert-ブチルフェノール	0.0	0.0	0
4-n-ペンチルフェノール	1.0	0.79	76
4-n-ヘキシルフェノール	0.0	0.0	0
4-tert-オクチルフェノール	0.20	0.26	130
4-n-ブチルフェノール	0.0	0.0	0
ノニルフェノール	1.4	1.6	110
4-n-オクチルフェノール	0.0	0.0	0
ビスフェノールA	0.0	0.0	0

単位: μ g/kg

で7回測定し(1 μ l注入), その標準偏差値により, 検出限界を求めた。この結果を表5に示す。

(4) 操作ブランク試験

操作ブランク試験として、操作方法どおりに6回測定を行い、底質試料(10g, 水分含量50%)に換算した結果を表6に示す。

(5) 検出限界³⁾

添加回収試験(添加量はノニルフェノール1.1 μ g, その他は0.1 μ g)の結果から、検出値の標準偏差(s)を求めて、①式から検出限界を算出した。

$$DL = t(n-1) \times s \quad \text{①}$$

$t(n-1)$: 自由度n-1, $\alpha=0.05$ の片側分布から得られた値

操作ブランクから対象物質が検出されるものについては、操作ブランク試験の結果からブランク値の平均(x)及び標準偏差(s)を得て、②式から検出限界を算出する。

$$DL = x + t(n-1) \times s \quad \text{②}$$

しかし、操作ブランクから検出されるもののうち4-tert-オクチルフェノール、ノニルフェノールは②式より①式の値が高かったので、①式での値を採用した。

表7 検出限界値(n=6)

	検出限界値	目標検出限界値
2,4-ジクロロフェノール	4.5	5
4-tert-ブチルフェノール	2.2	5
4-n-ヘキシルフェノール	2.6	5
4-n-ヘキシルフェノール	3.5	5
4-tert-ブチルフェノール	2.5	5
4-tert-ブチルフェノール	3.4	5
ノニルフェノール	31	50
4-n-オクチルフェノール	4.8	5
ビスフェノールA	4.9	5

単位: $\mu\text{g/kg}$

底質試料(10g, 水分含量50%)に換算した検出限界を表7に示す。

これより, すべての物質において「暫定マニュアル」の目標検出限界を達成できた。

(6) 検量線

ノニルフェノールは $55\mu\text{g/ml}$ 標準溶液を0.275, 0.55, 1.1, 2.2, 4.4 $\mu\text{g/ml}$ の5段階に希釈し, その他のアルキルフェノール類は $5.0\mu\text{g/ml}$ 標準溶液を25, 50, 100, 200, 400 ng/ml の5段階に希釈した。

内部標準物質はアセナフテン- d_{10} とフェナントレン- d_{10} を用い濃度を100 ng/ml とし, 標準物質と内部標準物質の比により検量線を作成した。2,4-ジクロロフェノール, ビスフェノールAは $5.0\mu\text{g/ml}$ 標準溶液を25, 50, 100, 200, 400 ng/ml の5段階に希釈したものを, BSTFAで誘導体化し測定した。2,4-ジクロロフェノールは内部標準物質フェナントレン- d_{10} との比により, ビスフェノールAはビスフェノールA- d_{10} (1.0 $\mu\text{g/ml}$)との比により検量線を作成した。ノニルフェノールの検量線を図1に示した。

(7) 実試料による添加回収試験

底質試料10gに, ノニルフェノールは1.1 $\mu\text{g/ml}$, その他の物質は100 ng/ml の混合標準溶液(アセトン溶液)を1ml添加して, 分析フローに従って3回測定し, 添加回収試験を行った。

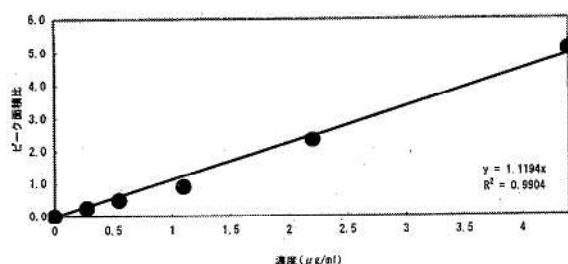


図1 ノニルフェノール検量線

表8 実試料による添加回収試験(n=3)

	回収率	変動係数
2,4-ジクロロフェノール	49	31
4-tert-ブチルフェノール	47	30
4-n-ヘキシルフェノール	47	27
4-n-ヘキシルフェノール	59	28
4-tert-ブチルフェノール	67	27
4-tert-ブチルフェノール	71	32
ノニルフェノール	61	30
4-n-オクチルフェノール	99	15
2,4-ジクロロフェノール	40	29

単位: %

その結果を表8に示した。

2 フタル酸エステル類群

(1) GC/MSの測定条件の検討

各々の標準溶液を用いて, SCAN測定で得られたマススペクトルにより, モニターイオンを選択した。同時分析の測定条件を検討した結果を表9に, 各物質の保持時間(RT)とモニターイオンを表10に示した。

(2) 分析法の検討

a 抽出段階での回収率

DBP, DEHPは500 ng/ml , その他の物質は250 ng/ml の標準溶液1mlに, サロゲート物質 DEHA- d_8 200 ng , DBP- d_4 , DEHP- d_4 500 ng , その他のサロゲート物質250 ng を添加して, 抽出, ヘキサン転溶, 濃縮の操作を行い窒素吹き付けで1mlに濃縮し測定を行った。

その回収率を算出し表11に示した。アセトンとアセトニトリルで対象物質の回収率は, ほとんど差がないが, アセトン抽出ではDEHPが添加量を超えて検出されたので, 抽出液にはアセトニトリルを使用することとした。

表9 フタル酸エステル類のGC/MSの測定条件

GC	GC-17A
カラム	J&W DB-5MS(0.25mm×30m×0.25 μm)
カラム温度	50°C(2min)-20°C/min-120°C-10°C/min-240°C-5°C/min-290°C(2min)
気化室温度	250°C
キャリアーガス	He 圧力68kPa
注入方式	スプリットレス(パージオフ時間2分)
MS	QP-5000
イオン化方式	EI
イオン化電圧	70eV
イオン化電流	300 μA
検出器電圧	1.5kV
インタフェース温度	290°C

表10 GC/MSにおけるRTと定量モニターイオン

	RT(min)	定量イオン	確認イオン
DEP	12.55	149	177
DEP-d ₄	12.54	153	-
DrP	14.58	149	209
DBP	16.55	149	223
DBP-d ₄	16.55	153	-
DPP	18.45	149	237
DPP-d ₄	18.44	153	-
DHP	20.50	149	251
BBP	20.65	149	206
BBP-d ₄	20.63	153	-
DEHA	21.02	129	147
DEHA-d ₈	20.99	137	-
DCHP	22.65	149	167
DCHP-d ₄	22.64	153	-
DEHP	22.76	149	167
DEHP-d ₄	22.75	153	-
フルオランテン-d ₁₀	17.86	212	-

表11 溶媒別回収率

	アセトニトリル	アセトン
DEP	78	68
DEP-d ₄	74	84
DPrP	85	71
DBP	90	87
DBP-d ₄	80	90
DPP	86	73
DPP-d ₄	82	94
DHP	92	79
BBP	89	75
BBP-d ₄	81	88
DEHA	87	49
DEHA-d ₈	78	95
DCHP	88	74
DCHP-d ₄	82	94
DEHP	116	455
DEHP-d ₄	82	100

単位：%

b フロリジルカラムでの溶出溶媒の検討

DBP, DEHPは500ng, その他の物質は250ng, サロゲート物質については, DEHA-d₈200ng, DBP-d₄, DEHP-d₄500ng, その他のサロゲート物質250ngを添加したヘキサン溶液10mlを5%含水フロリジルカラム(2g, 内径1cm, 長さ30cm, 上部に無水硫酸ナトリウム1cm)に付加し, 溶出液を0.5%アセトニトリル-ヘキサン, 1%アセトン-ヘキサン, 2%アセトン-ヘキサンの3種類で検討した。

目的物質の溶出率の結果を表12に示す。AとBのアセトニトリル-ヘキサン系では, 第1分画のヘキサンに目的物質が溶出したため, ヘキサン量を

表12 フロリジルカラムでの溶出溶媒の検討

	溶出率(%)			
	A	B	C	D
DEP	30	75	66	82
DEP-d ₄	29	53	59	94
DPrP	27	60	67	83
DBP	24	84	71	88
DBP-d ₄	22	40	62	94
DPP	20	44	64	83
DPP-d ₄	20	36	60	95
DHP	23	45	64	85
BBP	22	73	61	87
BBP-d ₄	24	56	54	100
DEHA	7.5	23	51	83
DEHA-d ₈	8.0	17	48	92
DCHP	19	51	60	83
DCHP-d ₄	21	40	55	95
DEHP	41	69	80	87
DEHP-d ₄	11	15	51	91

A 溶出液 0.5%アセトニトリル-ヘキサン

ヘキサン30mlを捨て, 0.5%アセトニトリル-ヘキサン50mlを採取した時の溶出率

B 溶出液 0.5%アセトニトリル-ヘキサン

ヘキサン15mlを捨て, 0.5%アセトニトリル-ヘキサン50mlを採取した時の溶出率

C 溶出液 1%アセトン-ヘキサン

ヘキサン10mlを捨て, 1%アセトン-ヘキサン60mlを採取した時の溶出率

D 溶出液 2%アセトン-ヘキサン

ヘキサン10mlを捨て, 2%アセトン-ヘキサン30mlを採取した時の溶出率

10mlにしてアセトン-ヘキサン系の溶出率をとってみた。この結果より, 回収率も良好で, 少量の溶媒で溶出できる2%アセトン-ヘキサンを使用することとした。

c 濃縮操作方法的の検討

DBP, DEHP200ng, その他の物質100ngを添加したヘキサン溶液50mlをロータリーエバポレーター, またはウォーターバスで10mlまで濃縮し, N₂ガスで1mlに濃縮して測定した結果を表13に示した。

このように, ロータリーエバポレーターでの濃縮は, 目的物質が損失されるため, 濃縮操作は40℃湯浴中(試料をガラス製蒸発皿に入れ, ウォーターバスで40~50℃)で10mlまで濃縮し, N₂ガスで1mlまで濃縮することとした。

d フタル酸エステル類群の同時分析法

分析方法は, 環境庁の「暫定マニュアル」に準拠し, これまでの検討を基に改良を加え, 以下の

表13 濃縮操作での目的物質の増減について

	ウォーターバス 回収率	ロータリーエバポレーター 回収率
DEP	68	23
DPrP	75	30
DBP	78	33
DPP	79	36
DHP	78	39
BBP	60	13
DEHA	70	18
DCHP	40	12
DEHP	108	53

単位: %

とおりとした。

湿泥10gとサロゲート物質(DEP-d₄, DPrP-d₄, DPP-d₄, BBP-d₄, DHP-d₄, DCHP-d₄ 250ng, DBP-d₄, DEHP-d₄ 500ng, DEHA-d₅ 200ng)を50ml共栓付遠沈管に入れてよく混合し、アセトニトリル15mlを加えて5分間振とう抽出し、さらに10分間超音波抽出を行う。3000rpmで10分間遠心分離して上澄み液を取り出す。

この抽出分離操作を計2回行い、上澄み液のアセトニトリル抽出液を合わせる。

アセトニトリル抽出液の1/2量を、5%塩化ナトリウム水溶液100ml入れた分液漏斗に加える。これにヘキサン25mlを加え5分間振とう抽出する。この操作を計2回行い、合わせたヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水後、40℃湯浴中で約10mlに濃縮し(約3時間)、前処理液とする。

前処理液を5%含水フロリジルカラム(2g, 内径1cm, 長さ30cm, 上部に無水硫酸ナトリウム1cm)に負荷し、前処理液の容器を少量のヘキサンで洗い、洗液もカラムに負荷後、液面をカラムヘッドまで下げる。

それから、ヘキサン10mlを流し、その溶出液は捨てる。次に、2%アセトン-ヘキサン溶液を流し、溶出液30mlを取る。溶出液を40℃湯浴中で約10mlに濃縮し(約2時間)、窒素吹き付けで1mlとする。

内部標準物質(フルオランテン-d10) 200ngを添加し、GC/MSで測定する。

(3) 装置検出限界(IDL)

装置検出限界は、DBP, DEHPについては10ng/ml, その他の物質は5ng/ml混合標準溶液を作製し、これをGC/MSに1μl注入して7回測定し、標準偏差法により計算した結果を表14に示す。

(4) 操作ブランク試験

操作ブランク試験として、操作方法どおりに5

表14 装置検出限界(n=7)

	平均 ng/ml	標準偏差 ng/ml	IDL(A) pg	IDL(B) μg/kg
DEP	5.8	0.18	0.35	0.14
DPrP	5.5	0.12	0.23	0.09
DBP	12	0.30	0.58	0.23
DPP	5.5	0.18	0.34	0.14
DHP	5.2	0.17	0.32	0.13
BBP	5.4	0.45	0.86	0.34
DEHA	5.4	0.20	0.38	0.15
DCHP	6.6	0.31	0.60	0.24
DEHP	13	0.63	1.2	0.49

・IDL(A) → 装置検出限界

・IDL(B) → 底質試料(10g, 水分含量50%, 1/2分取)で換算した時の装置検出限界

表15 操作ブランク試験(n=5)

	平均	標準偏差	変動係数 (%)
DEP	1.2	1.3	110
DPrP	0	0	0
DBP	20	15	76
DPP	0	0	0
DHP	0	0	0
BBP	0	0	0
DEHA	1.8	0.88	50
DCHP	0	0	0
DEHP	82	60	73

単位: μg/kg

回測定を行った。

これを分析法による底質試料(10g, 水分含量50%, 1/2分取)に換算した結果を表15に示す。

(5) 検出限界

操作ブランク試験と添加回収試験(添加量はDBP, DEHPが500ng, その他は250ng)の結果から、検出値の標準偏差(s)を求めて、アルキルフェノール類群(1-5 検出限界値 参照)と同じように、検出限界を算出した。

しかし、DEP, DBP, DEHA, DEHPはブランクから検出されるため、②式によって算出しなければならないが、DEP, DBP, DEHAは①式による検出限界の方が高いため、①式での値を採用した。

底質試料(10g, 水分含量50%, 1/2分取)に換算した検出限界を表16に示す。

これより、DEP, DPrP, DBP, DEHPにおいては、「暫定マニュアル」の目標検出限界を達成できなかった。

(6) 検量線

DBP, DEHPについては、5.0 μg/mlの混合標準溶液を希釈して50, 100, 250, 500, 1000ng/mlの

表16 検出限界 (n=3)

	検出限界	目標検出限界
DEP	21	10
DPrP	14	10
DBP	59	25
DPP	9.6	10
DHP	10	10
BBP	9.6	10
DEHA	9.6	10
DCHP	10	10
DEHP	210	25

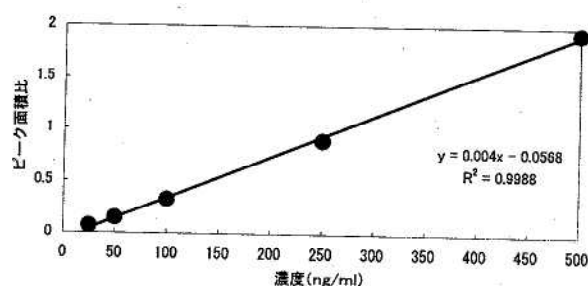
単位: $\mu\text{g/kg}$ 

図2 DCHPの検量線

混合標準溶液を, その他の物質は, $2.5 \mu\text{g/ml}$ の混合標準溶液を希釈して25, 50, 100, 250, 500ng/mlの混合標準溶液を作製した。

サロゲート物質の濃度はDBP- d_4 , DEHP- d_4 500ng/ml, DEHA- d_8 200ng/ml, その他のサロゲート物質250ng/mlとして, 標準物質とサロゲート物質との比により検量線を作成した。また, サロゲート物質のない物質については, DPrPにはDBP- d_4 を, DHPにはBBP- d_4 を代用した。DCHPの検量線を図2に示す。

表17 実試料による添加回収試験 (n=3)

	回収率	変動係数
DEP	40	8.3
DPrP	52	4.1
DBP	72	34
DPP	60	3.5
DHP	81	4.1
BBP	82	2.3
DEHA	52	3.6
DCHP	69	3.7
DEHP	120	23

単位: %

(7) 実試料による添加回収試験

底質試料10gにDBP, DEHPについては500ng/ml混合標準溶液, その他の物質については250ng/ml混合標準溶液を1 ml添加して, 分析フローに従って3回測定し, 添加回収試験を行った。その結果を, 表17に示す。

DBPとDEHPの変動が著しく, DEHPは添加量を超えて高い回収率であった。このことは, 両物質とも操作ブランク試験で検出値が高いことから, コンタミネーションが原因と思われる。

文 献

- 1) 環境庁: 外因性内分泌攪乱科学物質問題に関する研究班中間報告書(1998)
- 2) 環境庁: 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(1998)
- 3) 環境庁: 環境調査における検出限界値の算出について(1998)

底質中の4-ニトロトルエン、ベンゾフェノン、オクタクロロスチレン、ベンゾ[a]ピレン、スチレン2量体及びスチレン3量体の同時分析法の検討

下田 喜則 竹井 秀夫 村上 加枝* 松木 司
矢野 泰正 世良 勝利

内分泌攪乱化学物質の疑いのある物質として、底質中における4-ニトロトルエン、ベンゾフェノン、オクタクロロスチレン、ベンゾ[a]ピレンに加え、スチレン2量体及びスチレン3量体について分析法の検討を行った。「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル¹⁾」によると、これらの物質は分析法が3系統に分かれているが、室温アルカリ分解法により同時に分析できることが示唆された。

キーワード：室温アルカリ分解法、内分泌攪乱化学物質、底質

はじめに

近年、内分泌攪乱化学物質による環境汚染が問題視されているが、環境省が現時点において、内分泌攪乱作用を有すると疑われているものとして65物質を挙げている。また、スチレン2量体及びスチレン3量体については、平成12年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会において「リスクが低く今後行政施策としての試験は行わないが、今後研究的・学問的に追求していくこと」とされている。

これらの物質はそれぞれ分析法がマニュアル化されているが、物質が多様にあるため、その分析法も多岐にわたっている。そのため、これらの物質をマニュアルに従って調査する場合、前処理などが煩雑となり分析技術の確保の面も問題となってくる。

今回、既存の多成分一斉分析法の操作を一部加え、適用物質について検討を行ったので報告する。

方 法

1 対象物質

4-ニトロトルエン
ベンゾフェノン
オクタクロロスチレン
ベンゾ[a]ピレン
スチレン2量体 《4異性体》
1,3-ジフェニルプロパン (DPP)
cis-1,2-ジフェニルシクロブタン (cis-DPCB)

trans-1,2-ジフェニルシクロブタン (trans-DPCB)

2,4-ジフェニル-1-ブテン (DPB)

スチレン3量体 《7異性体》

2,4,6-トリフェニル-1-ヘキセン (TPH)

1a-フェニル-4a-(1'-フェニルエチル)テトラリン (aaPPET)

1a-フェニル-4e-(1'-フェニルエチル)テトラリン (aePPET)

1e-フェニル-4a-(1'-フェニルエチル)テトラリン (eaPPET)

1e-フェニル-4e-(1'-フェニルエチル)テトラリン (eePPET)

1e,3e,5a-トリフェニルシクロヘキサン (eeaTPCH)

1e,3e,5e-トリフェニルシクロヘキサン (eeeTPCH)

2 サロゲート物質

前処理段階において、対象物質と同様の挙動を示すかについて調べるため、以下のサロゲート物質を使用した。

対象物質	サロゲート物質
4-ニトロトルエン	ニトロベンゼン-d ₅
ベンゾフェノン	ベンゾフェノン-d ₁₀
スチレン2量体	1,2-ジフェニルエタン-d ₁₄
スチレン3量体	1,2-ジフェニルエタン-d ₁₄
ベンゾ[a]ピレン	ベンゾ[a]ピレン-d ₁₂

3 前処理方法

前処理方法は、「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル」²⁾、「環境ホルモン関連物質の多成分分析法²⁾」及び「平成10年度化学物質分析法開発調査報告書³⁾」をもとに行なった。ただし、前述の対象物質のうち、分析の困難なものがあったため、アルカリ分解の前段階でヘキサン転溶を行った。分析フローは、図1に示す。

*：環境局環境企画課

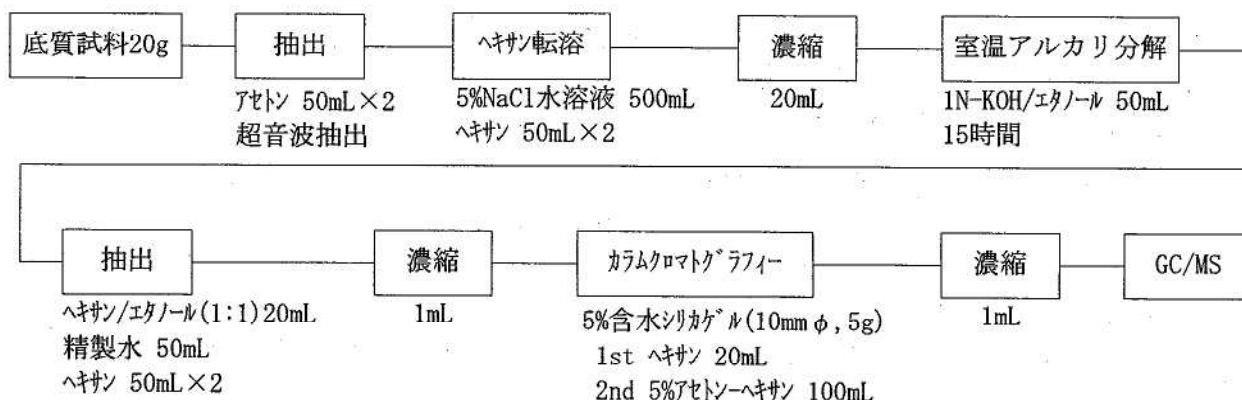


図1 分析方法のフロー

4 GC/MS測定方法

GC/MS測定は表1の条件で行った。注入量は2 μ Lとした。

カラムの昇温条件については、スチレン2量体の異性体を分離するために昇温速度を2 $^{\circ}$ C/minと緩やかにしている。(なお、4-ニトロトルエンについて、カラムにDB-17を使用することによりマトリクスとの分離状況が良くなることもある)

結果と考察

1 室温アルカリ分解時における溶媒の検討

「環境ホルモン関連物質の多成分分析法」では、アセトン抽出の後に濃縮し、室温アルカリ分解することとしている。しかし、本検討での対象物質のうちGC/MS測定での保持時間が短い物質、特に

4-ニトロトルエンなどはマトリクスの影響を顕著に受け、定量が困難であった。

このマトリクスの要因を段階的に追求した結果、アルカリ分解時における溶媒に起因することが判明した。アルカリ分解時の溶媒の比較を行うため、アセトン及びヘキサン20mLにそれぞれ1N-KOH/エタノール50mL加え、15時間室温中で放置した後に抽出し、1mLに濃縮したものをGC/MSにてスキャン測定した。

TICについては図2のとおりであり、アルカリ分解においてヘキサン溶媒を使用することにより、夾雑物の影響を軽減することができた。

2 シリカゲルクロマトグラフィーの分画状況

シリカゲルカラムによるクリーンアップ操作での対象物質の回収率をみるため、0.1 μ g/mLの混合標準溶液(ヘキサン溶液)1mLを負荷し、その分画状況をみた。

溶出条件は、5%含水シリカゲル(5g、内径10mm)を用いてヘキサン20mLで溶出した後、5%アセトン-ヘキサン100mLを使用した。分画状況は表2のとおりとなった。

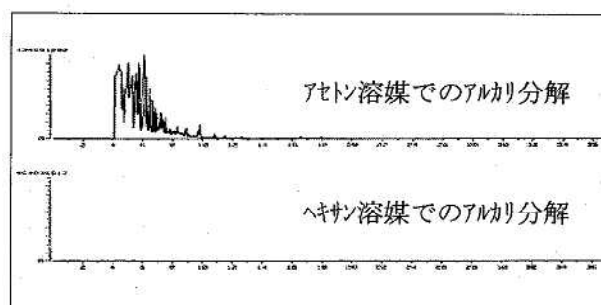


図2 アルカリ分解時における溶媒の比較

表1 GC/MS測定条件

GC	HP 5890 SERIES II
カラム	J&W DB-5MS (30m×0.25mm, 膜厚0.25 μ m)
カラム温度	50 $^{\circ}$ C(1min)-30 $^{\circ}$ C/min-200 $^{\circ}$ C- 2 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C-10 $^{\circ}$ C/min- 300 $^{\circ}$ C(5min)
注入口温度	250 $^{\circ}$ C
注入方式	スプリットレス (パージオフ時間1min)
キャリアーガス	He 100kPa
MS	日本電子AX-505WA
イオン化方式	EI
イオン化電圧	70eV
イオン化電流	300 μ A
導入部温度	250 $^{\circ}$ C
イオン化室温度	250 $^{\circ}$ C

表2 シリカゲルカラムの分画状況

Compounds	Hexane	5% Acetone-Hexane				
	0-20ml	0-20ml	20-40ml	40-60ml	60-80ml	80-100ml
4-ニトロトルエン	0	0	93	0	0	0
ベンゾフェノン	0	0	95	0	0	0
オクタクロロスチレン	93	0	0	0	0	0
ベンゾ[a]ピレン	0	60	18	0	0	0
DPP	0	87	6	0	0	0
cis-DPCB	0	80	14	0	0	0
trans-DPCB	0	91	4	0	0	0
DPB	0	79	7	0	0	0
TPH	0	0	85	0	0	0
eeaTPCH	0	0	82	5	0	0
eeeTPCH	0	0	82	5	0	0
aaPPET	0	0	87	0	0	0
aePPET	0	0	88	0	0	0
eaPPET	0	0	88	0	0	0
eePPET	0	0	89	0	0	0
ニトロベンゼン-d ₅	0	0	81	0	0	0
ベンゾフェノン-d ₁₀	0	0	96	0	0	0
1,2-ジフェニルエタン-d ₁₄	0	86	8	0	0	0
ベンゾ[a]ピレン-d ₁₂	0	52	26	0	0	0

単位: %

表3 底質試料における添加回収試験結果(n=3)

	回収率	変動係数
4-ニトロトルエン	64	16
ベンゾフェノン	73	3.6
オクタクロロスチレン	72	5.6
ベンゾ[a]ピレン	128	4.1
DPP	85	4.3
cis-DPCB	84	1.5
trans-DPCB	84	1.3
DPB	88	2.3
TPH	80	3.0
eeaTPCH	67	5.1
eeeTPCH	64	3.0
aaPPET	59	4.4
aePPET	66	16
eaPPET	63	3.4
eePPET	67	10
ニトロベンゼン-d ₅	24	28
ベンゾフェノン-d ₁₀	85	1.1
1,2-ジフェニルエタン-d ₁₄	80	2.8
ベンゾ[a]ピレン-d ₁₂	110	3.3

単位: %

3 底質試料における添加回収試験

底質試料20gに対し、ベンゾ[a]ピレンについては1 μ g, その他の標準物質及びサロゲート物質については0.1 μ g添加した。3検体平均の回収率は表3のとおりとなった。対象物質については良好な結果が得られており、室温アルカリ分解法で同時に分析できることが示唆された。

サロゲート物質については、ニトロベンゼン-d₅の回収率が24%と低く4-ニトロトルエンと挙動が異なることから、現在の検討段階での方法ではニトロベンゼン-d₅をサロゲート物質として適用するのは不適切といえる。

文 献

- 1) 環境庁水質管理課: 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(1998)
- 2) 剣持堅志: 環境ホルモン関連物質の多成分分析法, 第15回全国環境公害研究所交流シンポジウム予稿集(2000)
- 3) 環境庁環境安全課: 多環芳香族炭化水素類の分析法, 平成10年度化学物質分析法開発調査報告書(その2), 1~70(1998)

II 資料

平成12年度広島湾内産かきの重金属試験結果

生 活 科 学 部

は じ め に

昭和49年度から継続している広島湾内産かきの重金属試験を、平成12年度も11～3月に12件行った。

検査項目は、総水銀、カドミウム、鉛、亜鉛、銅、マンガン、鉄、コバルト、ニッケル、ひ素、スズである。

方 法

試料の調整および分析は、既報¹⁾に準じて行った。

結 果

平成12年度の試験結果を表に示した。各金属とも例年の結果と比べ著しい差は見られなかった。

文 献

- 1) 松井俊治 他：広島市における食品中の微量重金属含有量(第1報)，広島市衛研年報，2，31～35(1982)

表 平成12年度広島湾内産かきの重金属含有量

(湿重量：ppm)

No.	T-Hg	Cd	Pb	Zn	Cu	Mn	Fe	Co	Ni	As	Sn
1	0.01	0.34	0.12	330	27	11	29	ND	0.05	1.4	ND
2	0.01	0.43	0.14	420	33	11	28	ND	0.06	1.9	ND
3	0.03	0.50	0.10	320	16	10	23	ND	ND	1.7	ND
4	0.02	0.41	0.14	520	42	16	33	ND	0.08	1.6	ND
5	0.04	0.45	0.12	340	19	9.7	26	ND	0.06	2.0	ND
6	0.02	0.37	0.13	580	56	15	43	ND	0.09	2.0	ND
7	0.02	0.32	0.17	270	27	10	35	ND	0.08	1.9	ND
8	0.03	0.30	0.14	140	10	7.0	26	ND	ND	1.7	ND
9	0.01	0.26	0.18	350	26	9.6	58	0.05	0.07	2.3	ND
10	0.02	0.33	0.22	330	30	12	58	0.05	0.07	2.1	ND
11	0.01	0.23	0.21	270	25	8.1	38	ND	ND	2.0	ND
12	0.02	0.22	0.16	270	21	7.4	30	ND	0.05	1.8	ND
Max.	0.01	0.22	0.10	140	10	7.0	23	<0.05	<0.05	1.4	<0.05
Min.	0.04	0.50	0.22	580	56	16	58	0.05	0.09	2.3	<0.05
平均	0.02	0.39	0.13	370	28	11	30	<0.05	0.06	1.9	<0.05
過去 平均*	0.02	0.31	0.17	320	27	8.1	29	<0.05	0.06	1.6	<0.05

*：10年間(平成2～11年度)171検体の平均値

ポリスチレン製容器のスチレンダイマー等について

花尾香奈恵 北吉 陽子*¹ 細末 次郎 高垣 昌明
沖西 紀男*²

はじめに

ポリスチレンは、スチレンを重合させることにより得られ、スチレンモノマーの単独重合体である一般用ポリスチレン、合成ゴム成分で補強された耐衝撃性ポリスチレン、一般用ポリスチレンを発泡させた発泡ポリスチレン等があり、多くの食品用容器として使用されている。このポリスチレンの中には重合せずに残ったスチレンモノマーや製造時の副反応により生成するスチレンダイマー、スチレントリマーなどのスチレンオリゴマーが存在する¹⁾。ポリスチレンは、食品衛生法で器具容器包装の規格基準が設定されており、スチレンモノマーについては、揮発性物質として規制されている²⁾。スチレンダイマー、トリマーについては規制がないが、容器から溶出し、食品へ移行することも懸念されている¹⁾。そこで、ポリスチレン製容器のスチレンモノマー、ダイマー、トリマーについて、実態調査を行った。

方 法

1 試料

市内の弁当業者等が使用している弁当、総菜容器等7検体(No1~7)、コンビニエンスストアで使用されているおでん容器2検体(No8, 9)、市販されている弁当、総菜容器5検体(No10~14)、計14検体を試料とした。

2 対象物質

スチレンモノマー

スチレンダイマー

1,3-diphenylpropane(D1)

2,4-diphenyl-1-butene(D2)

trans-1,2-diphenylcyclobutane(D3)

スチレントリマー

2,4,6-triphenyl-1-hexene(T1)

1e-phenyl-4e(1'-phenylethyl)tetralin(T2)

1a-phenyl-4e(1'-phenylethyl)tetralin(T3)

1a-phenyl-4a(1'-phenylethyl)tetralin(T4)

1e-phenyl-4a(1'-phenylethyl)tetralin(T5)

3 装置および測定条件

(1) モノマー

GC/MS HP5890 シリーズII, JMS-AM50

カラム HP-WAX

(長さ 30m, 内径 0.25mm, 膜厚 0.25 μ m)

昇温条件 50 $^{\circ}$ C(5分) $\rightarrow$ 5 $^{\circ}$ C/分 $\rightarrow$ 120 $^{\circ}$ C(0分)

$\rightarrow$ 20 $^{\circ}$ C/分 $\rightarrow$ 230 $^{\circ}$ C(0分)

注入口温度 250 $^{\circ}$ C

(2) ダイマー, トリマー

GC/MS HP5890 シリーズII, JMS-AM50

カラム HP-5MS

(長さ 30m, 内径 0.25mm, 膜厚 0.1 μ m)

昇温条件 120 $^{\circ}$ C(5分) $\rightarrow$ 10 $^{\circ}$ C/分 $\rightarrow$ 250 $^{\circ}$ C(10分)

注入口温度 250 $^{\circ}$ C

4 試験溶液の調製

(1) 材質試験

スチレンモノマーについては、食品衛生法の規格基準の試験法²⁾に準じて行い、試料 0.5g にジメチルホルムアミドを加えて溶解し、試験溶液とした。また、スチレンダイマー、トリマーについては、金子らの方法³⁾に準じて行った。すなわち試料 0.25g にクロロホルム 5ml を加えて溶解し、メタノール 25ml を加えてポリマーを再沈殿させた後、遠心分離を行い、上澄液をクロマトディスク(0.45 μ m)でろ過し、試験溶液とした。

(2) 溶出試験

試験は金子らの方法³⁾に準じて行った。次の①~⑤の条件で試料に溶出液を満たし、恒温槽で一定時間、温度を保持した。

①水, 60 $^{\circ}$ C, 30分

②水, 95 $^{\circ}$ C, 30分

③20%エタノール, 60 $^{\circ}$ C, 30分

④4%酢酸, 60 $^{\circ}$ C, 30分

⑤n-ヘプタン, 室温, 1時間

①~④の条件については、溶出液 100ml を n-ヘキサン 50ml で 2 回抽出し、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、⑤の条件については溶出液をその

*1 : 保健所環境衛生課

*2 : 退職

ままスチレンモノマーの試験溶液とした。また、それらをロータリーエバポレーターで2mlに濃縮し、さらに窒素気流下で1mlに濃縮したものをスチレンジイマー、トリマーの試験溶液とした。ただし、②の条件についてはおでん容器でのみ行った。

結 果

1 材質試験

材質試験の結果を表1に示す。スチレンモノマーは、平均290ppm、ダイマーは240ppm、トリマーは4000ppm検出された。いずれの容器にもスチレンモノマー、ダイマー、トリマーが残留し、その量はトリマーが最も多かった。スチレンジイマー

の中では、D2とD3がD1に比べて多く存在していた。また、スチレントリマーでは、T2、T3が多く、次いでT1が多く存在していた。容器別では、No13の総菜トレーが最も多く、No1の丼容器、No2の総菜トレーは少なかった。容器の用途と含有量には特に関連はみられなかった。

2 溶出試験

溶出試験の結果は、①～④の条件ではすべてNDとなった。条件⑤の結果を表2に示す。スチレンモノマーは、14検体中4検体で検出され、その平均は0.32ppmであった。ダイマーは、14検体中8検体で検出され、平均0.14ppm、トリマーは、14検体中13検体で検出され、平均1.4ppmであった。

表1 材質試験結果

No	用途	モノマー (ppm)	ダイマー(ppm)				トリマー(ppm)					
			D1	D2	D3	計	T1	T2	T3	T4	T5	計
1	丼容器	140	7	45	83	140	45	440	770	250	250	1800
2	総菜トレー	140	4	14	76	94	290	290	500	170	160	1400
3	魚トレー	540	15	100	83	200	690	510	900	230	250	2600
4	すし容器	310	8	58	200	270	780	870	1500	520	440	4100
5	弁当トレー	240	4	18	130	150	640	800	1300	480	390	3600
6	弁当トレー	330	13	110	81	200	1100	780	1300	160	390	3700
7	揚げ物トレー	360	12	100	56	170	1100	560	1000	310	290	3300
8	おでん容器	280	10	83	100	190	930	750	1400	460	400	3900
9	おでん容器	330	14	68	54	140	750	530	990	370	280	2900
10	弁当トレー	290	19	170	100	290	1200	840	1300	320	500	4200
11	弁当トレー	300	23	170	210	400	1300	1300	2100	820	750	6300
12	総菜トレー	200	16	140	110	270	1100	650	980	250	370	3400
13	総菜トレー	270	10	66	400	480	1100	2100	2600	1400	1200	8400
14	丼容器	320	23	210	140	370	1200	1200	1900	740	670	5700

表2 n-ヘプタンによる溶出試験結果

No	モノマー (ppm)	ダイマー(ppm)				トリマー(ppm)					
		D1	D2	D3	計	T1	T2	T3	T4	T5	計
1	0.34	0.011	0.056	0.11	0.18	0.61	0.41	0.56	0.12	0.34	2.0
2	0.32	0.006	0.013	0.066	0.085	0.084	0.075	0.14	0.025	0.067	0.39
3	ND	ND	0.005	0.005	0.010	0.005	0.018	0.033	0.008	0.012	0.076
4	0.07	ND	0.012	0.038	0.050	0.038	0.17	0.23	0.054	0.12	0.61
5	0.54	0.028	0.081	0.56	0.67	0.56	3.2	4.0	1.0	2.2	11
6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.047	0.072	0.017	0.032	0.17
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	ND	ND	0.027	ND	0.027	ND	0.12	0.16	0.043	0.076	0.40
9	ND	ND	ND	ND	ND	0.006	ND	0.008	ND	ND	0.014
10	ND	ND	ND	ND	ND	0.061	ND	ND	ND	ND	0.061
11	ND	0.008	0.035	0.056	0.099	1.1	0.59	0.92	0.30	0.33	3.2
12	ND	ND	ND	ND	ND	0.058	0.009	0.015	0.005	0.005	0.092
13	ND	ND	ND	0.017	0.017	0.11	0.10	0.16	0.054	0.062	0.49
14	ND	ND	ND	ND	ND	0.045	0.009	0.014	ND	0.005	0.073

ND: モノマー0.05ppm未満, ダイマー0.005ppm未満, トリマー0.005ppm未満

ダイマーでは、検出された量はD3が多く、次いでD2、D1となり、材質試験の結果とほぼ一致した。トリマーでは、T2、T3が多く検出され、これも材質試験の結果とほぼ一致した。容器別では、モノマー、ダイマー、トリマーともNo5の弁当トレーから最も多く検出された。No7の揚げ物トレーからは、いずれも検出されなかった。溶出量は製品ごとに大きく違いがみられた。また、材質試験によるスチレンの残留量と溶出量には相関はみられなかった。

文 献

- 1) 河村葉子 他：食品用ポリスチレン製品に残存する未知物質の同定，食品衛生学雑誌，39，110～119(1998)
- 2) 食品衛生研究会編集：食品衛生関係法規集1，中央法規，2000，3434～3451
- 3) 金子令子 他：食品用ポリスチレン製器具・容器包装のスチレンダイマー，トリマー残留量及び溶出量調査，東京都立衛生研究所研究年報，50，208～214(1999)

二次感染が多発した腸管出血性大腸菌感染症事例について

生 物 科 学 部

は じ め に

腸管出血性大腸菌は、食品衛生法(昭和22年)において食品の取扱い施設等に対する行政措置が定められるとともに、感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律(平成10年)において患者発生後の患者と濃厚接触者に対する行政措置が定められている。

平成12年9月、5家族10人の患者が特定の地区で集中的に発生した。感染症の病原体は、腸管出血性大腸菌 O157:H7(VT1&2)であった。この事例は、濃厚接触による二次感染により多数の患者が発生した事例と考えられるので報告する。

方 法

1 情報の収集

患者を調査した保健センターの資料、当所の検査結果および国立感染症研究所の遺伝子解析結果を収集した。

2 情報の解析

患者の5家族(W家,S家,N家,K家,T家)および保育園等のクラス別の発生状況について解析した。

(1) 患者の発生時期

10人の患者を、発症した時期の順に並べて、初発患者と二次感染の順位を考察した。

(2) 家族内の二次感染

5家族ごとに患者と他の家族を発症順に並べて、家族内の二次感染を考察した。

(3) 保育園等での二次感染

保育園等のクラスごとに患者を年齢順に並べて、年齢別の二次感染を考察した。

結 果 と 考 察

1 検査結果

当所において、患者および家族42検体(再検査を含む)、家族が所属する保育園等の児童、職員329検体、保育園の検食163検体を検査した。

医療機関から届出のあった患者は、当初3人であったが、家族の検便で更に7人の二次感染患者が発見された。食品等からは菌が検出されず、飲食物を介しての感染の可能性は否定的であった。

2 患者の発生時期

表1に患者の発生状況(発生順)を示した。10人のうち最初の患者(W1:1歳)は、9月中旬に発症し、ついでその兄(W2:5歳)、S家次男(S1:1歳)、N家長男(N1:10歳)、K家長男(K1:1歳)と10日間の短期間に連続して発症していた。

最初に発症した5人のうち、3人は保育園が同クラスであり、この4家族の生活圏は非常に近接したものであった。他の5人は、年齢もやや高く健康保菌的に感染したと考えられ、S家長男(S2:3歳)は、更に1週間後に発症していた。T家の母(T1:32歳)は、W家と隣どうしであった。

もとの感染源は不明であるが、最初、3人の1歳児が発症して、新たな感染源となり、その後、生活圏の近接した7人に二次感染していったものと考えられた。

3 家族内の二次感染

表2に家族内の発生状況(5家族)を示した。W家では7人中2人が発症、5人が菌陽性となった。他の4家族でも、W家の患者と同年齢または年齢の近い小児、児童および母親が発症または菌陽性となっていることが分かった。

保育園や小学校において、他の児童、生徒に発症者や菌陽性者がいないこと、1家族の中でも菌陰性の小児もいることから、主として、生活圏の近い5家族の中で、低年齢層を中心として水平(同年齢)の二次感染が発生したと考えられた。

4 保育園等での二次感染

表3に保育園等における年齢別の患者の発生状況を示した。3人の1歳児、2人の10歳児は、保育園等のクラスが一緒であるが、それと同時に生活圏も隣接していることにより、互いに二次感染していったと考えられた。残りの3人(S2, W2, W3)は、家族内の二次感染と考えられた。

分離した菌の遺伝子パターン分析を国立感染症研究所に依頼した結果では、10人中、7人と3人の2グループに分かれたが、環境中での微少な遺伝子変異の範囲であり、10人はほぼ同一の遺伝子パターンであると考えられた。

表1 患者の発生状況(発症順)

No	家族	年齢	発 症	菌陽性	治療開始	菌陰性	備 考
1	W1	1才	9/中	9/28	不明	11/7	保育園 1-A
2	W2	5才	9/19	9/27	9/28	10/2	保育園 5-C
3	S1	1才	9/25	10/6	10/10	10/20	保育園 1-A
4	N1	10才	9/26	9/27	9/30	10/2	小学校 4-E
5	K1	1才	9/28	10/2	10/2	10/10	保育園 1-A
6	W3	8才	無し	9/28	9/29	10/4	小学校 3-D
7	W4	10才	無し	10/7	不明	10/10	小学校 4-E
8	W5	30才	無し	9/28	10/2	10/10	T1 と隣の家
9	S2	3才	10/6	10/10	不明	10/19	保育園 3-B
10	T1	32才	無し	9/29	10/2	10/6	W5 と隣の家

表2 家族内の発生状況(5 家族)

No	家族	年齢	発 症	菌陽性	治療開始	菌陰性	備 考
1	W1	1才	9/中	9/28	不明	11/7	保育園 1-A
2	W2	5才	9/19	9/27	9/28	10/2	保育園 5-C
6	W3	8才	無し	9/28	9/29	10/4	小学校 3-D
7	W4	10才	無し	10/7	不明	10/10	小学校 4-E
8	W5	30才	無し	9/28	10/2	10/10	T1 と隣の家
	(その他 2 人)		無し	無し	無し	無し	7 才, 9 才
3	S1	1才	9/25	10/6	10/10	10/20	保育園 1-A
9	S2	3才	10/6	10/10	不明	10/19	保育園 3-B
	(その他 5 人)		無し	無し	無し	無し	両親, 祖父母ほか
4	N1	10才	9/26	9/27	9/30	10/2	小学校 4-E
	(その他 3 人)		無し	無し	無し	無し	1 才, 両親
5	K1	1才	9/28	10/2	10/2	10/10	保育園 1-A
	(その他 6 人)		無し	無し	無し	無し	両親, 祖父母ほか
10	T1	32才	無し	9/29	10/2	10/6	W5 と隣の家
	(その他 2 人)		無し	無し	無し	無し	5 才, 7 才

表3 年齢別の発生状況(保育園, 小学校)

No	家族	年齢	発 症	菌陽性	遺伝子パターン (Xba I)	備 考
1	W1	1才	9/中	9/28	IIc, ND, I	保育園 1-A
3	S1	1才	9/25	10/6	IIb, ND, I	保育園 1-A
5	K1	1才	9/28	10/2	IIc, ND, I	保育園 1-A
9	S2	3才	10/6	10/10	IIb, ND, I	保育園 3-B
2	W2	5才	9/19	9/27	IIc, ND, I	保育園 5-C
6	W3	8才	無し	9/28	IIc, ND, I	小学校 3-D
4	N1	10才	9/26	9/27	IIc, ND, I	小学校 5-E
7	W4	10才	無し	10/7	IIc, ND, I	小学校 5-E
8	W5	30才	無し	9/28	IIb, ND, I	T1 と隣の家
10	T1	32才	無し	9/29	IIc, ND, I	W5 と隣の家

病原細菌検出情報(1993~1998)

生 物 科 学 部

は じ め に

本事業は、平成2年(1990)にはじまり、広島市の3病院において検出された病原細菌の情報を衛生研究所が毎月収集し、集計、解析した結果を病院に還元していくものである。

この度、平成5年(1993)~平成10年(1998)の6年間に、3病院から収集した検出情報を取りまとめたので報告する。

方 法

1 実施体制

(1) 情報の提供

社会保険広島市民病院、広島市立安佐市民病院、舟入病院の広島市の3病院から、病原細菌の検出情報を、衛生研究所に毎月、送付する。

(2) 情報の集計解析

広島市衛生研究所生物科学部において、3病院の検出情報を集計解析し、病院に還元する。

2 実施期間

平成5年(1993)1月~平成10年(1998)12月

3 対象菌種

情報を収集する菌種は、厚生労働省病原微生物検出情報システムで取り扱う菌種とする。

結 果 と 考 察

1 病原細菌検出状況

表に広島市の3病院における6年間の病原細菌の検出状況を示した。

材料全体では総数 16,787 株の病原細菌が分離され、糞便からは 2,751 株が分離された。糞便から分離された主要なものは、カンピロバクター属 850 株、サルモネラ属 725 株、病原大腸菌 462 株、ビブリオ属 433 株であった。

その他の材料で主要なものは、咽頭からインフルエンザ菌 1,054 株、尿から病原大腸菌 1,052 株、喀痰から緑膿菌 1,490 株および黄色ぶどう球菌 2,347 株、陰部擦過物からカンジダ属 1,390 株であった。

2 糞便からの検出状況

(1) カンピロバクター

総数 850 株のうち、*C. jejuni* は 78 株で、残り

772 株は種名未決定であるが、当所の分離状況から殆どが *C. jejuni* であると考えられる。

(2) サルモネラ

総数 725 株のうち、*Salmonella* 09 は 495 株、そのほか 04 が 101 株、07 が 83 株、08 が 25 株分離された。

病院では菌型までは決定していないが、09 の殆どが *S. Enteritidis* と考えられる。

(3) 病原大腸菌

総数 462 株のうち、毒素原性大腸菌(ETEC)が 139 株、組織侵入性大腸菌(EIEC)が 20 株、腸管出血性大腸菌(EHEC)が 12 株(0157 は 9 株)分離された。

菌型では病原性を判別できない病原大腸菌血清型(EPEC)が 290 株分離された。

(4) ビブリオ

総数 433 株のうち、腸炎ビブリオ(*V. parahaemolyticus*)が 417 株(96%)と、圧倒的に多数、分離された。そのほかコレラ菌が 5 株分離された。

3 年月別検出状況

(1) カンピロバクター

年別では、1996 年に 216 株、1997 年に 204 株と他の年の約 2 倍分離された。

月別では、6 月に 103 株、7 月に 118 株、8 月に 120 株と、夏季に集中して分離された。

(2) サルモネラ

年別では、09(*S. Enteritidis*)が 1997 年に 173 株、特に多数分離された。

月別では、6~11 月に 39~106 株と、夏季を中心として 09 が多数分離された。

(3) 病原大腸菌

毒素原性大腸菌が 1996~1998 年に多数分離され、6~10 月に集中していた。

(4) ビブリオ

腸炎ビブリオが 1996、1997 年に多数分離され、7~9 月の夏季に集中していた。

表 病原細菌検出状況 (1993.1~1998.12)

	糞便	穿刺液	髄液	咽頭	尿	血液	喀痰	陰部	計
<i>Acinetobacter</i> spp.					26				26
<i>Aeromonas</i> spp.	34								34
<i>Anaerobes</i> spp.		98				25	2		125
<i>Campylobacter</i> spp.	850								850
<i>Candida albicans</i>				11	460		41	1,390	1,902
<i>Entamoeba histolytica</i>	15								15
<i>Enterobacter</i> spp.				1	233				234
<i>Enterococcus</i> spp.				17	705				722
EPEC	290	72	4		1,052	62			1,190
EIEC	20								20
ETEC	139								139
EHEC	12								12
<i>Haemophilus influenzae</i>			10	1,054		9	416		1,489
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		38			247		467		752
<i>Plesiomonas</i> spp.	21								21
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		89		9	543	50	1,490		2,181
<i>Salmonella</i> 04	101								101
<i>Salmonella</i> 07	83								83
<i>Salmonella</i> 08	25								25
<i>Salmonella</i> 09	495								495
<i>S. paratyphi</i> A	1					1			2
<i>S. typhi</i>	1					2			3
<i>Salmonella</i> spp.	19					4			23
<i>Shigella boydii</i>	1								1
<i>Shigella dysenteriae</i>	1								1
<i>Shigella flexneri</i>	12								12
<i>Shigella sonnei</i>	44								44
<i>Staphylococcus aureus</i>	152	115	21	2	409	145	2,347		3,191
<i>Staphylococcus</i> spp.		33			255	128			416
<i>Streptococcus</i> A			3	293			21		317
<i>Streptococcus</i> B			2			7	81	458	548
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		5	8	551		15	495		1,047
<i>Vibrio cholerae</i> 01	5								5
NAG <i>Vibrio</i>	5								5
<i>Vibrio fluvialis</i>	6								6
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	417								417
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1								1
その他の菌	1			2			4	8	15
計	2,751	450	48	1,940	3,930	448	5,364	1,856	16,787

注) 分離材料略名

穿刺液: 胸水, 腹水, 関節液など

咽頭: 咽頭および鼻咽頭からの材料

喀痰: 喀痰, 気管吸引液および下気道からの材料

陰部: 陰部尿道頸管擦過(分泌)物

広島市の感染症発生状況(2000)

生 物 科 学 部

平成12年度の広島市内における感染症(2, 3類)の発生状況は、つぎのとおりです。

表1 細菌性赤痢

No	届出日	性別	年齢	住所	渡航歴	血清型	備 考
1	12. 4. 2	男	20	中 区	インド	ゾンネ I 相	入院
2	12. 4. 26	男	27	安佐北区	ラオス	(擬似届出)	入院(0169)
3	12. 6. 1	男	28	安佐北区	カンボジア	フレキシネル 3a	
4	12. 6. 5	女	61	佐 伯 区	スペインほか	ボイド	
5	12.10.20	女	27	東 区		ゾンネ I 相	入院(寿司)
6	12.10.25	男	61	安佐北区		ゾンネ I 相	(寿司)
7	12.10.27	女	53	安佐北区		ゾンネ I 相	保菌者(6の妻)
8	13. 1. 9	女	75	南 区		フレキシネル 2a	
9	13. 1.11	女	33	東 区		フレキシネル 2a	
10	13. 3.14	男	22	東 区	タイほか	ゾンネ I 相	

表2 腸管出血性大腸菌

No	届 出	性別年齢	区	血清型	VT	備 考	No	届 出	性別年齢	区	血清型	VT	備 考
1	4. 5	女 5	AS	0157:H7	2	HUS	25	9.29	女 10	西	0157:H7	1&2	
2	5. 8	男 21	SA	0157:H7	1&2		26	9.30	女 8	西	0157:H7	1&2	24の姉
3	5.12	女 49	AN	0157:H7	2		27	10. 1	女 30	西	0157:H7	1&2	24の母
4	5.12	女 10	南	0157:H7	2		28	10. 1	女 32	西	0157:H7	1&2	
5	5.17	女 35	南	0157:H7	2	4の母	29	10. 4	男 1	西	0157:H7	1&2	24の弟
6	5.19	女 4	東	0157:H7	2		30	10. 5	男 1	西	0157:H7	1&2	
7	5.22	男 60	東	0157:H7	2	6の親戚	31	10. 9	男 1	西	0157:H7	1&2	
8	6. 7	男 5	AN	0157:H7	1&2		32	10.10	女 11	西	0157:H7	1&2	24の姉
9	6.23	男 1	AS	0157:H7	2		33	10.12	男 3	西	0157:H7	1&2	31の兄
10	6.23	男 8	AS	026:H11	1		34	11. 7	男 49	西	0157:H7	2	
11	7. 2	男 30	中	0157:H7	1&2		35	12.12	女 5	西	0157:H7	1&2	
12	7. 5	女 34	AN	0157:H7	1&2		36	12.15	女 17	SA	0157:H7	1&2	
13	7. 8	女 5	AS	0157:H7	2		37	12.18	男 50	SA	0157:H7	1&2	36の父
14	7.12	男 7	AS	0157:H7	2		38	12.21	男 20	AN	0157:	-	
15	7.17	男 1	南	0157:H7	2		39	12.31	女 7	A	0157:H7	1&2	
16	7.17	女 6	AS	0157:H7	2		40	12.31	男 5	A	0157:H7	1&2	39の弟
17	7.19	女 43	AN	0157:H7	-		41	1. 4	男 5	A	0157:H7	1&2	
18	7.20	女 33	AS	0157:H7	2	16の母	42	1. 4	女 7	A	0157:H7	1&2	
19	8.12	女 18	南	0157:	-		43	1. 4	女 2	A	0157:H7	1&2	42の妹
20	9.12	女 4	西	0157:H7	1&2		44	1. 5	男 5	A	0157:H7	1&2	
21	9.22	男 4	西	0157:H7	2		45	3.19	男 7	A	0157:H-	1&2	
22	9.25	女 1	西	0157:H7	2	21の妹	46	3.22	男 42	A	0157:H-	1&2	45の父
23	9.26	男 33	西	0157:H7	2	21の父	47	3.23	男 9	A	0157:H-	1&2	45の兄
24	9.27	女 5	西	0157:H7	1&2		48	3.23	男 11	A	0157:H-	1&2	45の兄

注) 区の略号

AS:安佐南, AN:安佐北, A:安芸, SA:佐伯

感染症発生動向調査事業におけるウイルス・クラミジア検出状況 (平成12年)

生 物 科 学 部

は じ め に

感染症発生動向調査事業の目的は、患者発生状況、病原体検索により流行の実態を迅速かつ的確に把握し、関係機関に情報を提供することにより、感染症の流行を防止するものである。

平成12年の広島市感染症発生動向調査の病原体検索結果についてまとめたので報告する。

方 法

広島市感染症発生動向調査検査定点において1,284人から採取された咽頭拭い液、髄液、糞便、尿など1,572検体を検査材料とした。

ウイルスの分離は細胞培養法により行った。使用した培養細胞は主に HE, HEP-2, RD-18S, VERO を用い、インフルエンザウイルス(インフル)には MDCK, 麻疹ウイルスには B95A を追加して使用した。また、胃腸炎および肝炎の患者から採取された糞便については分離培養の他に、電子顕微鏡, E LISA, および R-PHA を併用して検査した。クラミジア・トラコマチス(クラミジア)の検出は蛍光抗体法を用いた。

結 果 と 考 察

1 月別検出状況

平成12年の月別ウイルス・クラミジア検出数を表1に示した。

インフルは1~3月まで検出され、1月はA(H1)とA(H3)型の両方が流行し、2月はA(H1)型を中心に、3月は検出数が減少したがA(H3)型を中心に流行した。4月以降12月末まで検出されなかった。

アデノウイルス(AD)は10種類のウイルスが187人から検出された。血清型別では3型が一番多く、各月に計110人から検出され、平成11年(前年)¹⁾と比べ39人増加した。次いで2型が42人から9月と10月を除く各月に検出された。

ロタウイルス(ロタ)は前年¹⁾と同様2~5月の間にA群ロタ40人、C群ロタ2人の計42人から検出され、特にA群ロタは前年の4倍と多かった。

RSウイルス(RS)は1~4月と9月に10人から検出され、前年¹⁾の5倍であった。

エンテロウイルス71型(E71型)は6~8月に

5人から検出され、前年¹⁾の1人と比べて多かった。

クラミジアは前年¹⁾の13人から4人へと減少した。

2 臨床診断名別検出数

臨床診断名別ウイルス・クラミジア検出数を表2に示した。

(1) 百日咳

8人の患者から採取された咽頭拭い液8検体、糞便1検体の計9検体を検査し、2人からウイルスが検出された。内訳は、パラインフルエンザウイルス2型(パラインフル2型)、RSが各1人ずつであった。

(2) A群溶血性レンサ球菌咽頭炎

5人の患者から採取された咽頭ぬぐい液5検体、糞便2検体の計7検体を検査し、1人からAD3型が検出された。

(3) 感染性胃腸炎

120人の患者から採取された糞便103検体、咽頭拭い液56検体、髄液4検体の計163検体を検査し、54人からウイルスが検出された。内訳は糞便からA群ロタが30人、ノーウォーク様ウイルスG2型(NLV-G2型)が6人、SRSV、ポリオウイルス2型(ポリオ2型)、AD2型、コクサッキーB群ウイルス3型(CB3型)が各2人、CB5型、ポリオ1型、AD-NT、AD5型、AD40/41型が各1人であった。このうち3人からは2種類のウイルスが検出された。1人からは糞便からSRSV、咽頭ぬぐい液からAD1型、また1人からは糞便からポリオ2型、咽頭ぬぐい液からポリオ1型、残り1人からは糞便からはA群ロタ、咽頭ぬぐい液からAD5型が検出された。

(4) 手足口病

11人の患者から採取された咽頭拭い液10検体、糞便および髄液各2検体の計14検体を検査し、咽頭拭い液および糞便各1人ずつの計2人からE71型が検出された。

(5) ヘルパンギーナ

11人の患者から採取された咽頭拭い液11検体、糞便2検体の計13検体を検査し、6人からウイルスが検出された。その内訳はコクサッキーA群4

表1 月別ウイルス・クラミジア検出数

検出病原体	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
コクサッキーA2型								1					1
コクサッキーA4型					2	5	4						11
コクサッキーA5型								1					1
コクサッキーA8型					1		1						2
コクサッキーA9型									1				1
コクサッキーA10型							1						1
コクサッキーB3型	1	1		1			5	6	1	2			17
コクサッキーB5型							2	2	3		1		8
エコー3型					1	1	5						7
エコー6型							3						3
エコー9型	1					2	7	1	1		2		14
エコー25型							1	2	1				4
エンテロ71型						1	3	1					5
ポリオ1型				1									1
ポリオ2型				1	1						1		3
ポリオ3型					1								1
インフルエンザA(H1)型	26	25	1										52
インフルエンザA(H3)型	24	11	5										40
パラインフルエンザ2型								1				1	2
RS	1	4	2	2					1				10
ムンプス	1			2		1	1			1		1	7
麻疹				1		1							2
ロタ (A群)		7	22	6	5								40
ロタ (C群)				2									2
ノーウォーク様ウイルスG2群				1							1	4	6
SRSV				2	2						1		5
アデノNT									1				1
アデノ1型		2	3	3	3	3	1	1		1			17
アデノ2型	8	8	4	2	7	3	3	1			2	4	42
アデノ3型	1	1	3	12	8	19	35	6	7	6	5	7	110
アデノ4型										1			1
アデノ5型			2	1	2						1		6
アデノ6型											1		1
アデノ19型									1	1		1	3
アデノ22型										2			2
アデノ37型											1	1	2
アデノ40/41型				1					1				2
単純ヘルペス1型	2	4	2	1	3	2	1				2	1	18
クラミジア・トラコマチス						2		1			1		4
計	65	63	44	39	36	40	73	24	18	15	18	20	455
陽性患者数	64	62	44	36	35	40	72	23	18	15	18	20	447
検査患者数	161	151	142	136	127	106	142	61	81	55	57	65	1284

型 (CA4 型) と AD3 型が各 2 人, CB3 型と単純ヘルペス 1 型 (HSV1 型) が各 1 人ずつであった。

(6) インフルエンザ様疾患

178 人の患者から採取された咽頭拭い液 175 検体, 糞便および髄液の各 7 検体, 尿 3 検体, 気管吸引液 1 検体の計 193 検体を検査し, 89 人からウイルスが検出された。その内訳は, 咽頭拭い液お

よび気管吸引液からインフル A(H1) 型 42 人, インフル A(H3) 型 31 人, AD が 13 人, E9 型およびムンプスが各 1 人ずつであった。このうち 1 人は咽頭ぬぐい液からインフル A(H3) 型とムンプスの 2 種類のウイルスが検出された。

(7) 咽頭結膜熱

63 人の患者から採取された咽頭拭い液 56 検体,

表2 臨床診断名別ウイルス・クラミジア検出数

検出病原体	百日咳	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	感染性胃腸炎	手足口病	ヘルパンギーナ	インフルエンザ	咽頭結膜熱	流行性角結膜炎	急性出血性結膜炎	無菌性髄膜炎	性器クラミジア感染症	麻疹	流行性耳下腺炎	その他の呼吸器疾患	その他の消化器疾患	その他の眼疾患	その他	計
コクサッキーA2型														1				1
コクサッキーA4型					2					1				4			4	11
コクサッキーA5型														1				1
コクサッキーA8型														1			1	2
コクサッキーA9型										1								1
コクサッキーA10型																	1	1
コクサッキーB3型			2		1					6				3			5	17
コクサッキーB5型			1							5				2				8
エコー3型							1			1				3			2	7
エコー6型										2							1	3
エコー9型							1			6				6			1	14
エコー25型										1				2			1	4
エンテロ71型				2						2				1				5
ポリオ1型			1															1
ポリオ2型			2											1				3
ポリオ3型														1				1
インフルエンザA(H1)型						42								5			5	52
インフルエンザA(H3)型						31								6	1		2	40
パラインフルエンザ2型	1																1	2
RS	1													9				10
ムンプス						1				5			1					7
麻疹													2					2
ロタ (A群)			30											4	6			40
ロタ (C群)			2															2
ノロウイルスG2型			6															6
SRSV			3													2		5
アデノNT			1															1
アデノ1型			2			1	1			1				7	1		4	17
アデノ2型			3			8	4							24			3	42
アデノ3型		1	2		2	4	36	3		1				50	2	2	7	110
アデノ4型							1											1
アデノ5型			1				2							2			1	6
アデノ6型														1				1
アデノ19型								2	1									3
アデノ22型								1	1									2
アデノ37型								2										2
アデノ40/41型			1				1											2
単純ヘルペス1型					1	2								5	1		9	18
クラミジア・トラコマチス										2						2		4
計	2	1	57	2	6	90	46	8	2	32	2	2	1	139	13	4	48	455
陽性患者数	2	1	54	2	6	89	46	8	2	32	2	2	1	136	12	4	48	447
検査患者数	8	5	120	11	11	178	63	16	2	79	4	8	3	443	30	10	293	1284

糞便 15 検体、結膜拭い液 6 検体、尿 1 検体の計 78 検体を検査し、46 人からウイルスが検出された。その内訳は、AD3 型 36 人、AD2 型 4 人、AD5 型 2

人、AD1 型、AD4 型、AD40/41 型および E3 型が各 1 人でほとんどが AD であった。AD40/41 型は糞便から検出された。

表3 検体別ウイルス・クラミジア検出数

検出病原体	咽頭拭い液	髄液	糞便	尿	気管吸引液	結膜拭い液	皮膚病巣	陰部擦過物	その他	計
コクサッキーA2型	1		1							2
コクサッキーA4型	11		1							12
コクサッキーA5型	1									1
コクサッキーA8型	2		1							3
コクサッキーA9型		1								1
コクサッキーA10型	1									1
コクサッキーB3型	7	7	5							19
コクサッキーB5型	3	5	2							10
エコー3型	7		1							8
エコー6型		3								3
エコー9型	7	6	1							14
エコー25型	3	1								4
エンテロ71型	3		2							5
ポリオ1型	1									1
ポリオ2型	1		2							3
ポリオ3型	1									1
インフルエンザA(H1)型	51				1					52
インフルエンザA(H3)型	39									39
パラインフルエンザ2型	2									2
RS	10									10
ムンプス	4	4								8
麻疹	2									2
ロタ (A群)			40							40
ロタ (C群)			2							2
ノロウイルスG2群			6							6
SRSV			5							5
アデノNT			1							1
アデノ1型	15		2							17
アデノ2型	37		8							45
アデノ3型	99		22			6				127
アデノ4型						1				1
アデノ5型	6									6
アデノ6型	1		1							2
アデノ19型						3				3
アデノ22型						2				2
アデノ37型						2				2
アデノ40/41型			2							2
単純ヘルペス1型	16						3			19
クラミジア・トラコマチス						2		2		4
計	331	27	105		1	16	3	2		485
陽性検体数	327	27	104		1	16	3	2		480
検査検体数	1008	158	292	28	7	33	4	40	2	1572

(8) 流行性角結膜炎

16人の患者から採取された結膜拭い液14検体、咽頭ぬぐい液2検体の計16検体を検査し、8人からウイルスが検出された。その内訳はAD3型3人、AD19型およびAD37型が各2人、AD22型1人ですべてADであった。

(9) 急性出血性結膜炎

2人の患者から採取された結膜拭い液2検体を

検査し、2人からウイルスが検出され、AD19型およびAD22型が各1人であった。

(10) 無菌性髄膜炎

79人の患者から採取された髄液76検体、咽頭拭い液27検体、糞便16検体、尿1検体の合計120検体を検査し、32人からウイルスが検出された。その内訳は、CB3型とE9型が各6人、CB5型とムンプスが各5人、E6型とE71型が各2人、CA4型、

CA9 型, E3 型, E25 型が各 1 人ずつであった。

(11) 性器クラミジア感染症

4 人の患者から採取された陰部擦過物 4 検体を検査し, 2 人からクラミジア・トラコマチスが検出された。

(12) 麻疹

8 人の患者から採取された咽頭拭い液 8 検体, 尿 1 検体の計 9 検体を検査し, 2 人から麻疹ウイルスが検出された。

(13) 流行性耳下腺炎

3 人の患者から採取された髄液 2 検体, 咽頭拭い液 1 検体の計 3 検体を検査し, 1 人からムンプスが検出された。

(14) その他の呼吸器疾患

443 人の患者から採取された咽頭拭い液 423 検体, 糞便 47 検体, 髄液 7 検体, 気管支吸引液 4 検体, 尿 1 検体の計 482 検体を検査し, 136 人から 22 種類のウイルスが検出された。その内訳の主なものは AD3 型 50 人, AD2 型 24 人, RS9 人, AD1 型 7 人, インフル A(H3) 型と E9 型が各 6 人, インフル A(H1) 型 5 人であった。この内の 3 人からは 2 種類のウイルスが検出され, 1 人は咽頭拭い液からポリオ 2 型とポリオ 3 型, 1 人は咽頭拭い液から CB3 型と AD3 型, 1 人は咽頭拭い液から CA2 型と AD2 型, 糞便から CA2 型であった。

(15) その他の消化器疾患

30 人の患者から採取された糞便 21 検体, 咽頭拭い液 18 検体, 髄液 3 検体, 尿 2 検体の計 44 検体を検査し, 12 人からウイルスが検出された。その内訳は, A 群ロタ 6 人, SRSV と AD3 型が各 2 人, AD1 型, インフル A(H3), HSV1 型が各 1 人ずつであった。この内の 1 人の糞便から A 群ロタと AD1 型の 2 種類のウイルスが検出された。

(16) その他の眼疾患

10 人の患者から採取された結膜拭い液 10 検体, 糞便 2 検体の計 12 検体検査しクラミジアと AD3 型が各 2 人ずつから検出された。

(17) その他の疾患

293 人の患者から採取された咽頭拭い液 189 検体, 糞便 70 検体, 髄液 55 検体, 陰部擦過物 36 検体, 尿 18 検体, 皮膚病巣 4 検体, 結膜拭い液 2 検体, 気管吸引液, 血液とその他各 1 検体の計 377 検体を検査し, 48 人からウイルスが検出された。その内訳は, AD3 型 7 人, CB3 型とインフル A(H1) 型が各 5 人, CA4 型と AD1 型が各 4 人, AD2 型各 3 人, E3 型とインフル A(H3) 型が各 2 人, CA8 型, CA10

型, E6 型, E9 型, E25 型, パラインフル 2 型, AD5 型が各 1 人ずつであった。

3 検体別検出件数

検体別ウイルス・クラミジア検出数を表 3 に示した。

咽頭拭い液は 1,008 検体を検査し, 327 検体から 331 株のウイルスが検出された。最も多いのは AD で 158 株 (AD3 型 99 株), 次いでインフルが 90 株, 以下エコーが 17 株, CA と HSV1 型が各 16 株, CB と RS が各 10 株, ムンプス 4 株, エンテロ 71 型とポリオウイルスが各 3 株, パラインフル 2 型と麻疹が各 2 株であった。前年¹⁾と比べて増加したものは, AD, エコー, CA, CB, ポリオ, E71 型, 麻疹であった。逆に減少したものは, インフルとパラインフル 2 型であった。

糞便は 292 検体を検査し, 104 検体から 105 株のウイルスが検出された。最も多かったのはロタが 42 株, 次いで AD36 株, 以下 NLV-G2 型と SRSV11 株, CB7 株, CA3 株, エコー, E71 型, ポリオが各 2 株であった。特に A 群ロタは前年¹⁾の 4 倍と多く検出された。

髄液は 158 検体を検査し 27 検体から 27 株のウイルスが検出された。多い順に CB12 株, エコー 10 株, ムンプス 4 株, CA9 型 1 株であった。前年¹⁾と比べ CB が増加し CA が減少した。

陰部擦過物は 40 検体検査し, 2 検体からクラミジアが検出されたが前年¹⁾と比べると減少した。

結膜拭い液は 33 検体検査し, 16 検体から AD14 株とクラミジア 2 株が検出された。

皮膚病巣は 4 検体検査し, 3 検体から 3 株の HSV-1 が検出された。

尿 28 検体とその他の 2 検体からはウイルスおよびクラミジアは検出されなかった。

ま と め

前年¹⁾と比べて, 検査検体数は 17.6% 減少したが, ウイルスおよびクラミジアの検出数はほぼ同数であった。

ウイルス型別で, 前年¹⁾と比べて著しく増加したものは A 群ロタ, AD3 型および RS であった。逆に著しく減少したものは, インフル A(H3) 型, クラミジア, CA2 型で, インフル B 型は検出されなかった。

文 献

- 1) 広島市衛生研究所年報, 19, 69~73 (2000)

astA 遺伝子保有大腸菌 0166 : H15 が原因菌 と考えられた集団食中毒事例

石村 勝之	児玉 実	橋渡 佳子
山本美和子	佐々木敏之	毛利 好江
山岡 弘二		河本 秀一
		笠間 良雄

は じ め に

下痢原性大腸菌の分類は、現在のところ、その病原性発現機序の違いから、大きく5種類のカテゴリーに分けられている。近年の研究により、腸管粘膜上皮細胞への付着様式が異なる3種類の大腸菌(限局付着性大腸菌(LAEC), 分散付着性大腸菌(DAEC), 凝集付着性大腸菌(EAggEC))が知られ、この付着に関与する遺伝子として *eaeA*¹⁾, *bfpA*²⁾, *aggR*³⁾, 毒素遺伝子として *astA*⁴⁾などが明らかにされてきた。しかし、これらの遺伝子が各カテゴリーの大腸菌に重複して認められることが明らかとなり、各遺伝子およびその産物の病原的役割に関しては一層の検討が必要となっている⁵⁾。中でも *astA* 遺伝子を単独保有する大腸菌に関しては、健康者および下痢症患者から同様な率で認められており、その病原性についての評価は定まっていない。しかし、1998年に広島市で発生した集団食中毒事例において、原因菌と考えられた大腸菌0166は、4種類の遺伝子のうち、*astA* 遺伝子を単独保有する大腸菌であった。このことから、この種類の大腸菌の中に下痢を惹起する能力のある菌が存在することが示唆された。そこで、本事例の発生概要と分離菌株の性状について報告する。

方 法

1 検査材料

採取された患者糞便 67 検体、従事者糞便 25 検体、食品 68 検体、環境スワブ 25 検体について食中毒菌の検索を行った。

2 分離方法

食中毒起因菌の検査法は常法に準じて行った。大腸菌に関しては、食品およびふきとり材料については DHL 寒天培地(日水製薬)を用い、患者糞便および従事者糞便は DHL 寒天培地および GN ブロス(Difco) 10ml に接種し、37℃、一夜培養後、DHL 寒天培地の大腸菌を疑うコロニーを TSI および LIM 培地に釣菌し、37℃、一夜培養後、スクリ

ーニングした。

3 大腸菌の同定・血清型別

スクリーニングで大腸菌の性状を示した菌について、市販病原大腸菌抗血清(デンカ生研製)で O 抗原を凝集反応で決定した。H 抗原は市販抗血清(デンカ生研製)で検討するとともに、東京都立衛生研究所(都衛研)へ依頼した。

4 大腸菌の病原因子確認試験

糞便の GN ブロス増菌液については、既報⁶⁾により LT, ST, *stx* および *invE* の病原性遺伝子の有無を PCR 法で検討した。

分離大腸菌 0166 については、上記遺伝子の他、*eaeA*, *bfpA*, *aggR*, *astA* の各病原性遺伝子を PCR 法⁷⁾で検討した。対照菌株として *astA* 保有大腸菌 2 株を用いた。

5 薬剤感受性試験

分離大腸菌 0166 に対して、AM, SM, CP, TC, NA, EM の 6 薬剤に対する感受性を、1 濃度ディスク法で測定した。

結 果

1 食中毒発生状況

1998 年 9 月 21 日、市内の医療機関から、食中毒症状(腹痛、水様性下痢)を呈している患者を診察した旨の連絡が広島市保健所にあった。保健所の調査の結果、患者は市内の某飲食店で喫食しており、当該施設で 19 日に喫食した 13 グループ 126 名および 20 日の 29 グループ 46 名、計 172 名が食中毒症状を呈していることが判明した。22 日、当該施設を原因施設と断定し、営業禁止の措置がとられた。潜伏時間は 10~32 時間であった。

2 糞便の病原検索

事件初期に採取された患者便 11 検体の GN ブロス増菌液について、PCR 法により LT, ST, *stx*, *invE*, 各遺伝子を検討したが検出されなかった。しかし、DHL 寒天培地に画線培養した患者糞便 67 検体中 54 検体(81%)、調理従事者糞便 25 検体中 4 検体(1

表1 食中毒菌検索状況

検査材料	検査数	大腸菌O166検出数(%)	その他の菌検出数
患者糞便	67	54(81)	9(黄色ブドウ球菌) 4(セレウス)
従事者糞便	25	4(16)	7(黄色ブドウ球菌)
食品	68	0(0)	5(黄色ブドウ球菌) 7(セレウス)
環境フキトリ	25	0(0)	7(セレウス)

6%)より市販病原大腸菌抗血清 O166 に凝集する大腸菌が分離され、この菌が原因菌として疑われた(表1)。その他の食中毒菌は、黄色ブドウ球菌とセレウスが一部の検体より分離されたが、潜伏時間および症状等から原因菌とは考えにくかった。

3 食品・スワブの病原検索

採取した検食および環境スワブから大腸菌 O166 は検出されなかった。その他の食中毒菌として、一部食品から黄色ブドウ球菌、セレウスが、環境スワブからセレウス菌が分離された(表1)。

4 分離大腸菌 O166 の H 抗原・薬剤感受性

分離された大腸菌 O166 の H 抗原は市販抗血清に該当する型がみられなかった。そこで、都衛研へ型別を依頼した結果、H15 と確定された。一方、薬剤感受性もすべての分離菌株が AM 耐性を示し、同一菌と考えられた(表1)。

5 分離大腸菌 O166 の病原遺伝子検索

分離大腸菌 O166 の病原性遺伝子の有無を PCR 法で検討した結果、*eaeA*, *bfpA*, *aggR*, *astA* のうち、*astA* 遺伝子のみが検出され、本菌が既知の遺伝子配列のうち、*astA* 遺伝子のみをもつことが考えられた(表2)。

以上の疫学的調査および細菌学的検査結果から、この大腸菌が本食中毒事例の原因菌であると考えられた。この血清型の大腸菌による食中毒事例は1996年に大阪市⁸⁾で、97年に福井県⁹⁾での発生が

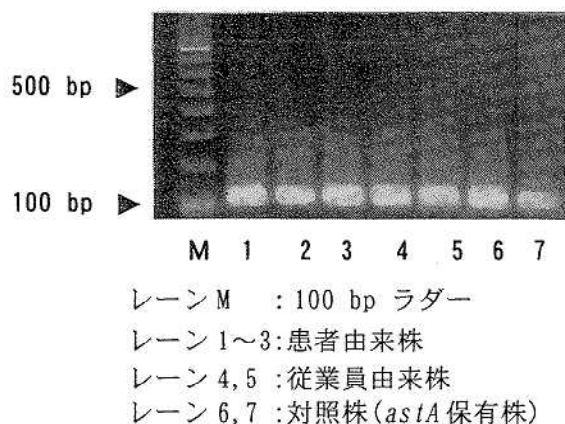


図1 分離大腸菌 O166:H15 の *astA* 遺伝子の PCR 増幅結果

表2 分離大腸菌 O166 の細菌学的検討結果

項目	結果
H抗原型	15
薬剤感受性	AM耐性
病原性遺伝子	
LT遺伝子	-
ST遺伝子	-
<i>stx</i>	-
<i>invE</i>	-
<i>eaeA</i>	-
<i>astA</i>	+
<i>aggR</i>	-
<i>bfpA</i>	-

報告されている。すなわち、現在のところ、既報の PCR 検出系で *astA* のみが検出される大腸菌の中にも、ヒトに食中毒症状を引き起こす可能性のある菌が存在することを3事例は示しており、その他の病原因子の存在も含め、今後の下痢原性大腸菌の新しい分類体系および概念の構築において考慮に入れておく必要がある事例と考えられた。

謝 辞

分離大腸菌 O166 の H 抗原型を決定していただいた、東京都立衛生研究所細菌第一研究科甲斐明美先生、並びに諸先生に対し深謝いたします。

文 献

- 1) Jerse AE : A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production attaching and effacing lesions on tissue culture cells, Proc Natl Acad Sci USA, 87, 7839~7843(1990)
- 2) Giron JA et al : Distribution of the bundle-forming pilus structural gene (*bfpA*) among enteropathogenic *Escherichia coli*, J Infect Dis, 168, 1037~1041(1993)
- 3) Nataro JP et al : AggR, a transcriptional activator of aggregative adherence fimbria I expression in enteroaggregative *Escherichia coli*, J Bacteriol, 176, 4691~4699(1994)
- 4) Savarino SJ et al : Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 represents another subfamily of *E. coli* heat-stable toxin, Proc Natl Acad Sci USA, 90, 3093~3097(1993)

- 5) 森屋一雄 他：散発下痢症患者及び健常乳幼児由来大腸菌における局在性及び凝集性付着大腸菌(EPEC, EAaggEC)関連遺伝子, *eaeA*, *aggR*, *astA* の保有状況について, 感染症学雑誌, 74, 134~141(2000)
- 6) 伊藤文明 他：混合プライマーを用いた PCR 法による下痢原性大腸菌の病原遺伝子の同時検出法, 日本臨床, 50, 343~347(1992)
- 7) 伊藤健一郎：平成 12 年度新興再興感染症技術研修テキスト 大腸菌の PCR, 国立公衆衛院(2000)
- 8) 西川禎一 他：腸管凝集粘着性大腸菌耐熱性腸管毒素(EAST1)遺伝子保有大腸菌 0166:H15 による集団食中毒事例, 日本細菌学雑誌, 55(2), 229(2000)
- 9) 石畝 史 他：福井県における下痢原生大腸菌と衛生動物類の関係について(第 2 報)-特に EAST-1 遺伝子を保有する野鼠類由来大腸菌の性状について-, 福井衛研年報, 37, 53~55(2000)

広島市の *Salmonella* Enteritidis の疫学的解析(1998-2000)

佐々木敏之 石村 勝之 橋渡 佳子 児玉 実
河本 秀一 山本美和子 毛利 好江 笠間 良雄
山岡 弘二

はじめに

Salmonella Enteritidis(S.E)は、1985年頃に欧米で多発するようになり、わが国では、1989年から顕著な増加が認められはじめた¹⁾²⁾。本市でも1990年のティラミスSE事件以来³⁾、毎年、集団食中毒発生数の1位を占め、食品衛生上大きな問題となっている。予防対策の一環として、各事例の発生状況等を解析するとともに、検出された病原微生物の菌学的特性をモニターし、マクロな疫学を把握することも必要である。そこで、広島市における過去3年間のS.E食中毒および下痢症由来菌株の推移を検討し、疫学情報を引き出すことを目的として、分離菌株の一部に対して、薬剤感受性試験、ファージ型別およびパルスフィールド電気泳動(PFGE)を用いた分子疫学的解析による遺伝子型の比較を行ったので報告する。

方 法

1 供試菌株

1998年から2000年までの3年間に広島市で発生した集団事例31事例の菌株、散発事例の患者から分離された42株の合計73株を供試した。

2 サルモネラの同定、血清型別、薬剤感受性試験

サルモネラの同定は、TSI,LIM培地で1次性状を確認後、API20E(バイオメリュー製)で性状確認し、同定した。

血清型別は、サルモネラ免疫血清(デンカ生研製)を用いて行った。

薬剤感受性試験は、Sensi-Disk(BBL製)を用いてNational Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)法に準拠し、1濃度ディスク法で行った。供試薬剤は、Chloramphenicol (CP),

Tetracycline(TC), Streptomycin(SM), Kanamycin(KM), Ampicillin(AM), Nalidixic acid(NA)の6薬剤を使用した。S.E菌株のファージ型別は、国立感染症研究所に依頼した。

3 PFGE 解析

Izumiyamaら⁴⁾の方法に準じて行った。LBブロス培地(Gibco社製)で37℃、18時間培養した菌液100μlをGenePath Reagent Kit(Bio-Rad社製)を使用して溶菌などの菌体処理を行った後、2種類の制限酵素BlnI(宝酒造製)、XbaI(宝酒造製)により染色体DNAを切断した。泳動は、GenePath電気泳動装置(Bio-Rad社製)を用い、泳動バッファー0.5×TBE下、1%アガロースゲル(Bio-Rad社製)で行った。泳動条件は、既存プログラムNo.1(電圧6V/cm, パルスタイム5.3~34.9秒, 泳動時間19.5時間, ランプリニア)で泳動し、エチジウムブロマイドなどで染色後、紫外線照射下で写真撮影し、比較解析した。

結 果

1 集団事例株の薬剤感受性, PTの年別推移

1998年は、5月から10月にかけて14事例発生した(表1)。1997年以前の発生状況と同様の傾向で[薬剤感受性, PT 4]が7事例, [薬剤感受性, PT 1]が6事例, [SM耐性, PT 34]が1事例発生した。

1999年は、6月から11月にかけて15事例発生した。[薬剤感受性, PT 4]が7事例, [薬剤感受性, PT 1]が2事例, [SM耐性, PT 34], [SM耐性, PT 1]が1事例みられた。また、この年に、広島市で初めて[SM・AM耐性]が4事例出現した。これらのファージ型(PT)は、いずれも、既知の型にあてはまらないRDNC(Reaction Does Not Conform)型であった(表2)。

表1 集団事例および散発事例 S.E の疫学的解析結果(1998 年)

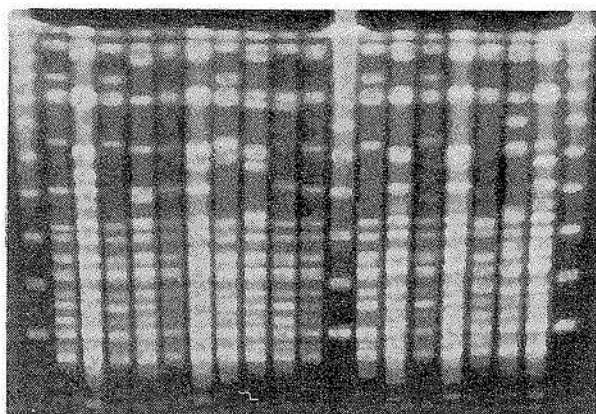
集団事例			散発事例		
発生日	薬剤感受性	PT	発生日	薬剤感受性	PT
5.27	感受性	1	4.17	感受性	4
6.11	感受性	4	5.1	感受性	1
7.22	感受性	1	5.21	NA 耐性	4
7.28	感受性	1	6.10	感受性	4
8.20	感受性	4	7.5	SM 耐性	34
8.20	感受性	1	7.15	感受性	1
8.24	感受性	4	8.17	感受性	1
8.27	感受性	1	8.23	感受性	4
8.27	SM 耐性	34	9.2	SM 耐性	34
9.11	感受性	4	9.8	感受性	4
9.15	感受性	4	9.18	感受性	4
9.24	感受性	1	10.8	感受性	4
10.2	感受性	4	10.17	感受性	4
10.16	感受性	4	10.24	感受性	4

2000 年の集団事例は、5 月と 11 月の 2 事例のみで、前年までと比べて大幅に減少し、その菌型は[薬剤感受性, PT 4], [薬剤感受性, PT 6]であった(表 3)。

2 散発事例株の薬剤感受性, PT の年別推移

散発事例株のうち、国立感染症研究所にファージ型別を依頼した 42 株 (1998 年 14 株, 1999 年 16 株, 2000 年 12 株) の菌型は、1998 年は集団事例と同様に、[薬剤感受性, PT 4] が 8 株と多く(表 1), 1999 年は集団事例と同様に、[SM・AM 耐性, PT RDNC] が新しく出現し(表 2), 2000 年に入っても、[SM・AM 耐性, PT RDNC] は続いて検出された(表 3)。

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 M 11 12 13 14 15 16 17 M



レーン 1~4:1999 年集団事例 5~12:1999 年散発事例
13~17:2000 年散発事例 M: λ マーカー

図1 制限酵素 *BlnI* による [SM・AM 耐性, PT RDNC] 菌の PFGE 泳動パターン(1999~2000 年)

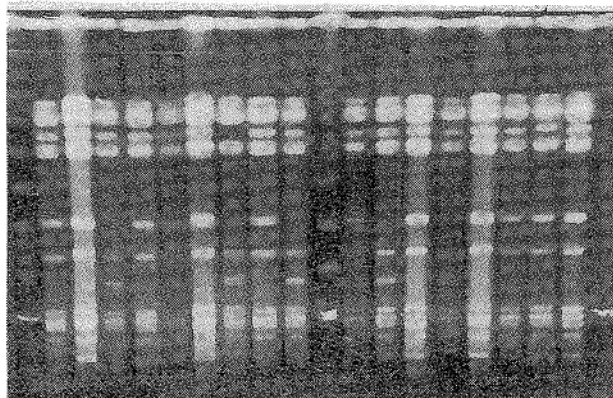
表2 集団事例および散発事例 S.E の疫学的解析結果(1999 年)

集団事例			散発事例		
発生日	薬剤感受性	PT	発生日	薬剤感受性	PT
6.15	SM・AM 耐性	RDNC	1.4	SM・AM 耐性	RDNC
7.2	SM 耐性	1	2.8	SM 耐性	34
7.4	感受性	4	3.1	感受性	4
7.6	SM 耐性	34	7.1	感受性	4
8.2	感受性	4	7.26	SM・AM 耐性	RDNC
8.10	感受性	4	8.19	SM・AM 耐性	RDNC
8.13	感受性	4	8.23	感受性	4
8.24	感受性	1	9.2	感受性	4
8.25	SM・AM 耐性	RDNC	9.20	SM・AM 耐性	RDNC
8.27	SM・AM 耐性	RDNC	9.27	SM・AM 耐性	RDNC
9.2	感受性	1	10.28	SM・AM 耐性	RDNC
9.13	感受性	4	10.28	感受性	4
10.4	感受性	4	11.1	SM・AM 耐性	RDNC
11.8	SM・AM 耐性	RDNC	11.22	SM・AM 耐性	RDNC
11.4	感受性	4	12.2	SM・AM 耐性	RDNC
			12.13	感受性	1

3 PFGE による遺伝子型解析

1999 年から新しく出現した [SM・AM 耐性, PT RDNC] 型菌を、より詳しく解析するため、制限酵素 *BlnI*, *XbaI* により DNA を切断し、PFGE で遺伝子型解析を実施した(表 4, 図 1, 図 2)。その結果、*BlnI* では 14 種類に、*XbaI* では 3 種類の遺伝子型に区分され、[SM・AM 耐性, PT RDNC] 型菌は、遺伝子型においては多様性がみられた。このなかで、集団 1 事例(レーン 3)と散発 2 事例(レーン 11, 13)の遺伝子型が一致し、散発事例間では、2 株(レーン 5 と 10)の遺伝子型が一致し、当該事例間の関連性が疑われた。

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 M 10 11 12 13 14 15 16 17 M



レーン 1~4:1999 年集団事例 5~12:1999 年散発事例
13~17:2000 年散発事例 M: λ マーカー

図2 制限酵素 *XbaI* による [SM・AM 耐性, PT RDNC] 菌の PFGE 泳動パターン(1999~2000 年)

表3 集団事例および散发事例 S・E の疫学的解析結果(2000年)

集団事例			散发事例		
発生日	薬剤感受性	PT	発生日	薬剤感受性	PT
5.8	感受性	4	1.13	SM・AM 耐性	RDNC
			2.3	感受性	4
			3.23	AM 耐性	4
			5.17	SM・AM 耐性	RDNC
			5.30	SM・AM 耐性	RDNC
			8.25	SM・AM 耐性	RDNC
			9.20	感受性	4
			10.3	感受性	4
11.10	感受性	6	10.25	感受性	6
			11.21	感受性	6
			12.4	AM 耐性	4
			12.29	SM・AM 耐性	RDNC

考 察

S・E のファージ型は、世界的には地域的な特徴があることが報告され²⁾、SE クローンの拡散経路をマクロに推定する疫学解析手法としてその価値が認められてきた。

わが国では、1989 年以降の初期には、[SM 耐性, PT 34] の菌型が主流であったが、その後[薬剤感受性, PT 4]、[薬剤感受性, PT 1] の菌型へと主流型の変遷がみられ、最近では両型が混在している。広島市でも、同様の動きがみられるが、1999 年から[SM・AM 耐性, PT RDNC] 型菌が新たに出現し、2000 年に波及してきた。

この[SM・AM 耐性, PT RDNC] 菌型は、同一のように見受けられるが、*BlnI* および *XbaI* による PFGE では、14 種類の遺伝子型に分けられたことから、この間に発生した[SM・AM 耐性, PT RDNC] 菌による集団および散发事例のすべてが、同一菌によって引き起こされているものではないことが明らかとなった。

しかしながら、なかには、集団発生事例と同じ遺伝子型を示す散发事例がみられたり、散发事例間で同じ遺伝子型を示すものもみられ、感染源・感染経路の関連を疑わせる事例も存在することから、この菌型の今後の動向には注意が必要と思われる。

これらの結果から、広島市における過去3年間に発生した SE 事例の菌学的な特徴を知ることができたが、これらの事例が、どのような疫学的な

表4 [SM・AM 薬剤耐性; PT RDNC] 菌の PFGE による遺伝子型(1999~2000年)

集団事例				散发事例			
№	発生日	<i>BlnI</i>	<i>XbaI</i>	№	発生日	<i>BlnI</i>	<i>XbaI</i>
1	99.6.15	Aa	A	5	99.1.4	Bc	A
				6	99.7.26	Bd	A
				7	99.8.19	Ac	B
				8	99.9.20	D	A
2	99.8.25	Ba	A	9	99.9.27	E	Ab
				10	99.11.1	Bc	A
3	99.8.27	Ab	Ab	11	99.11.22	Ab	Ab
				12	99.12.2	Be	A
4	99.11.8	C	A	13	00.1.13	Ab	Ab
				14	00.5.17	Bf	A
				15	00.5.30	Bg	A
				16	00.8.25	Bh	A
				17	00.12.29	Bi	A

背景(感染源・感染経路)から発生に至っているのか、今後はより具体的な調査・解析(遡り調査など)に結び付けていくことが発生予防の見地から重要と思われる。

謝 辞

ファージ型別を実施していただいた国立感染症研究所 細菌部の先生方に深謝いたします。

また、検体・菌株および疫学情報を収集していただいた広島市保健所職員の方々に謝意を表します。

文 献

- 1) 小沼博隆 他：卵の加工・流通段階におけるサルモネラの動態とその制御，モダンメディア，40(7)，315~328(1994)
- 2) 中村明子：Salmonella Enteritidis の疫学，モダンメディア，40(7)，301~307(1994)
- 3) 広島市衛生研究所生物科学部：S. Enteritidis による集団食中毒事例，広島市衛生研究所年報，10，79~80(1991)
- 4) Izumiya H et al：Molecular typing of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 isolates in Japan using pulsed-field gel electrophoresis and phage typing, J Clin Microbiol, 35, 1675~1680(1997)

収去食品の細菌学的検査結果(1998~2000)

生 物 科 学 部

はじめに

当市では、過去3年間(1998年~2000年)に、市内で流通する食品の安全性を確保するため各種の食品1,985検体の収去検査を実施し、業者等の指導を行った。

今回、この間の細菌学的検査結果について報告する。

方 法

1 検体

平成10年4月から平成13年3月までの3年間、広島市保健所が収去した食品24種類1,985検体について検査を実施した。

2 方法

食品衛生法により成分規格のある食品は公定法、その他の食品については食品衛生検査指針¹⁾、腸管系病原菌の検査法²⁾などに準拠し、一般生菌数、大腸菌群、E.coli(糞便系大腸菌群)、および黄色ブドウ球菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ、カンピロバクターについて実施した。また、分離した食中毒菌の一部については、血清型別、病原性の確認を行った。

結 果

1 検体数および検査件数

収去検体数および検査件数を表1に示した。3年間の収去総検体数は1,985検体で、検査件数は3,400件であった。食品別にみると惣菜が389検体と最も多く、以下、鮮魚介類が266検体、生菓子214検体、生カキ201検体などの順であった。

2 検査結果

(1) 一般生菌数

収去食品1,672検体に実施した一般生菌数の菌数分布を表2に示した。収去食品1,672検体中89.9%が生菌数 10^4 オーダー以下であった。しかし、 10^6 オーダー以上の食品も全体の4.0%みられた。生菌数の高い食品としては、野菜が88検体中34検体(38.6%)、肉類38検体中10検体(26.3%)が 10^6 オーダー以上であった。特に、野菜については、 $10^7 \sim 10^8$ オーダーを示すものが野菜全体の26.1%みられた。

表1 収去検体数および検査件数

収去食品分類名	検体数	検査件数			計
		規格	一般細菌	食中毒菌	
鮮魚介類	266	19	218	232	469
生カキ	201	49	167	0	216
魚介類加工品	94	0	53	91	144
肉類練り製品	17	3	15	3	21
肉類	65	0	59	51	110
卵類	77	21	54	58	133
肉卵類加工品	8	0	7	8	15
食肉製品	16	15	7	6	28
乳類	135	85	104	13	202
乳製品	96	72	81	7	160
乳類加工品	3	2	3	1	6
アイスクリーム類・氷菓	17	17	6	0	23
穀類加工品	8	0	8	7	15
生あん	6	0	6	0	6
豆腐	45	0	45	40	85
野菜	98	0	90	92	182
野菜果物加工品	16	0	16	16	32
惣菜	389	0	375	381	756
弁当調理パン	113	0	113	113	226
菓子類	27	0	25	25	50
生菓子	214	0	185	213	398
清涼飲料水	27	21	18	2	41
めん類	21	0	19	21	40
その他の食品	26	2	21	19	42
計	1985	306	1695	1399	3400

(2) 大腸菌群

大腸菌群の検査を22食品768検体に実施した結果98検体(11.3%)の食品が陽性であった。陽性率の高い食品は、肉類5検体中3検体(60%)、野菜68検体中26検体(38.2%)、以下、卵類、生あんなどが高い値を示した。

(3) E.coli(糞便系大腸菌群)

E.coliの検査を16食品656検体に実施した。その結果、E.coli陽性となったものが38検体(5.8%)みられた。食品別では、肉類が32検体中21検体(65.6%)と陽性率が高く、その他、野菜が20検体中4検体(20%)、卵類36検体中7検体(19.4%)が陽性であった。

(4) 黄色ブドウ球菌

惣菜を中心に16食品712検体について、黄色ブドウ球菌の検査を実施した。その結果、検査した食品の49検体(6.4%)から黄色ブドウ球菌が検出された。陽性率の高かった食品は、鮮魚介類33検体中6検体(18.2%)、調理パン97検体中10検体(10.3%)、生菓子178検体中15検体(8.4%)であった。

(5) サルモネラ

サルモネラの検査を生菓子を中心に12食品375

表2 収去食品の生菌数分布

収去食品分類名	<300	$\times 10^2$	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$	$\times 10^7$	$\times 10^8$	計
鮮魚介類	49	13	47	73	14	3	0	0	199
生カキ	63	86	45	7	0	0	0	0	201
魚介類加工品	20	2	11	12	7	0	0	0	52
魚肉練り製品	4	0	1	0	0	0	0	0	5
肉類	4	3	4	7	10	10	0	0	38
卵類	16	4	15	5	3	3	0	0	46
肉卵類加工品	2	2	1	2	0	0	0	0	7
食肉製品	0	1	0	0	0	0	0	0	1
乳類	125	0	0	0	0	0	0	0	125
乳製品	85	1	0	0	0	0	0	0	86
アイスクリーム類・氷菓	17	0	0	0	0	0	0	0	17
穀類加工品	4	2	0	1	0	0	0	0	7
生あん	0	0	3	1	1	0	0	0	5
豆腐	20	4	17	2	1	1	0	0	45
野菜	7	3	11	23	10	11	15	8	88
野菜果物加工品	4	0	5	4	3	0	0	0	16
惣菜	131	47	94	69	26	8	0	0	375
弁当調理パン	20	7	35	37	12	2	0	0	113
菓子類	6	7	8	2	2	0	0	0	25
生菓子	51	16	53	46	13	6	0	0	185
めん類	8	2	8	1	0	0	0	0	19
その他の食品	10	1	3	3	0	0	0	0	17
計	646	201	361	295	102	44	15	8	1,672

検体を実施した結果, 7 検体(1.9%)からサルモネラが検出された。サルモネラの検出された7 検体中5 検体は魚介類加工品であったが, これは乾燥イカ菓子による *Salmonella* Oranienburg 食中毒事件³⁾に関連し, 収去された検体であった。この収去検体からは, *S. Oranienburg* とリジン脱炭酸陰性の *S. Chester* が分離された。また, 卵類56 検体中液卵1 検体から *S. Infantis*, 生菓子147 検体中洋生菓子1 検体から *S. Enteritidis* が分離された。

(6) 腸炎ビブリオ

腸炎ビブリオの検査を鮮魚介類を中心に7 食品271 検体を実施した結果, 32 検体(11.8%)から腸炎ビブリオが検出された。腸炎ビブリオが検出された食品は, すべて鮮魚介類であり, 特に赤貝や生ウニから分離されたものが多かった。

また, これらの分離した腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒(TDH)および耐熱性溶血毒類似毒素(TRH)産生性の検査の結果では, メキシコ産の生ウニ1 検体から, TDH 陽性の腸炎ビブリオ(OUT:K53)が分離された。

(7) カンピロバクター

肉類と惣菜を中心に5 食品57 検体について, カンピロバクターの検査を実施した。その結果, 鶏肉27 検体中12 検体(44.4%)より *Campylobacter jejuni* を検出した。しかし, このカンピロバクターが検出された検体は, すべて市内2ヶ所の小規模食鳥処理場で処理された検体であった。検出された *C. jejuni* のLior 型別では, Lior1, Lior4, Lior27 などの血清型がみられた。また, 一部の菌株は, ナリジクス酸に耐性を示した。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局監修: 食品衛生検査指針, 日本食品衛生協会, 東京(1990)
- 2) 善養寺 浩他: 腸管系病原菌の検査法, 第4版, 医学書院, 東京(1985)
- 3) サルモネラ・オラニエンブルグ食中毒事件原因究明検討委員会: サルモネラ・オラニエンブルグ食中毒事件原因究明検討委員会報告書, (1999)

ふっ素及びその化合物分析法の検討

常政 典貴 馬部 文恵 小中ゆかり 橋本 和久
佐伯 彩路 関川 恵子 尾川 健 世良 勝利

はじめに

今年、水質汚濁防止法施行令が改正され、工場・事業場の排水基準に、有害物質としてふっ素が追加された。そのため、水質汚濁防止法の対象となる工場・事業場のすべての排水に、ふっ素の排水基準が適用されることとなった。そこで今回、排水基準が適用される前に、工場・事業場排水中のふっ素分析法の検討を行った。

方 法

ふっ素の排水基準に係る検定方法は、排水基準を定める総理府令の規定に基づく、環境庁長官が定める排水基準に係る検定方法により、JISK0102の34に定める方法と規定されている。

JISK0102の34に定める試験方法は、34.1のランタン-アリザリンコンプレキソン吸光光度法及び34.2のイオン電極法の2方法である。

今回は、前処理として水蒸気蒸留を行い、定量方法としてランタン-アリザリンコンプレキソン吸光光度法を用いて検討を行った。

1 器具及び装置

(1) 蒸留装置

株式会社 杉山元医理器製 自動温調式ふっ素蒸留装置(P-341ELC)を用いた。

(2) 光度計

株式会社 島津製作所製 UV-2450を用いた。

2 蒸留操作

(1) 試料の適量を500ml ビーカーに取り、フェノールフタレイン溶液2,3滴を加え、水酸化ナトリウム溶液(20g/l)を滴加して微アルカリ性とした後、ホットプレート上で加熱して約30mlに濃縮した。

(2) 蒸留フラスコ中に水約10mlで洗い移し、次に、二酸化けい素約1g、りん酸1ml、硫酸銀約1g、過塩素酸40mlを加えた。受器の全量フラスコ250mlには水20mlを加え、水酸化ナトリウム溶液(20g/l)を滴加して微アルカリ性とし、逆流止めの先端は水面下に保った。

(3) 蒸留フラスコを直接加熱し、蒸留フラスコ内の液温が約140℃に達してから、水蒸気を通し

た。

(4) 蒸留温度を $145 \pm 5^\circ\text{C}$ 、留出速度を3~5ml/minに調節し、受器の液量が約220mlになるまで蒸留を続けた。

(5) 冷却器と逆流止めを取り外し、冷却器の内管及び逆流止めの内外を少量の水で洗い、洗液も受器に加えた後、留出液に硫酸(1+99)を微紅色が消えるまで滴加し、さらに水を標線まで加えた。JISの規定には、硫酸銀を加えることは書かれていないが、留出液が強酸性になるのを防ぐために、今回すべての試料に加えた。また、蒸留フラスコ中の試料溶液に過塩素酸40mlを加える時に、激しく発熱して、ヘキサフルオロけい酸が急激に生成して揮散するおそれがあるため、素早く器具を組み立てて蒸留を行った。

3 定量操作

(1) 蒸留操作で得た留出液から30ml以下の適量を比色管50mlに分取した。

(2) アルフッソン溶液5mlとアセトン10mlを試料溶液に加えた後、水を標線まで加えて振り混ぜ、約1時間放置した。

(3) 別に、水30mlを比色管50mlに取り、(2)の操作を行った。

(4) 試料について、(2)で得た溶液の一部を吸収セルに取り、(3)の溶液を対照液として波長620nm付近の吸光度を測定した。

(5) 検量線からふっ化物イオンの量を求め、試料中のふっ化物イオンの濃度を算出した。

4 検討事項

(1) 標準サンプルを使った回収率の検討

蒸留水500mlにふっ素をそれぞれ500 μg 、1000 μg 加えた試料を、500mlのビーカーに取り、フェノールフタレイン溶液2,3滴を加え、水酸化ナトリウム溶液(20g/l)を滴加して微アルカリ性とした後、加熱して約30mlに濃縮した。その後、蒸留操作、定量操作を行い、回収率を求めた。

(2) 蒸留後のふっ素濃度減少についての検討

留出液を常温に放置し、時間の経過による濃度の減少を調べた。また留出液に水酸化ナトリウム溶液(20g/l)を滴加して、微アルカリ性における、

濃度の減少の抑制についても調べた。

(3) 事業場排水を使った回収率の検討

事業場で採取した排水 500ml に、ふっ素をそれぞれ 250 μ g 又は 500 μ g 加えてサンプルとし、その後、濃縮、蒸留操作、定量操作を行い、回収率を求めた。

結 果

(1) 標準サンプルを使った回収率の検討

結果は表 1 のとおりで、いずれの試料とも回収率が 90% を越え、良好な結果となった。したがって、妨害物を含まない試料の場合は、先に示した分析方法が適切であることが確かめられた。

(2) 蒸留後のふっ素濃度減少についての検討

結果は表 2 のとおりで、いずれの場合も濃度の減少が見られた。減少の割合は、濃度が薄いほど大きくなる傾向となった。

また、留出液をアルカリ性に pH 調整することによる、ふっ素濃度減少抑制効果の結果は表 3 のとおりで、Sample B では効果が見られたが、Sample A ではほとんど効果が見られなかった。この場合も先の結果同じく、濃度が薄いほど減少抑制の効果が小さいことが認められた。

(3) 事業場排水を使った回収率の検討

結果は表 4 のとおりで、いずれの試料の場合も回収率は 70% 前後に留まった。重金属による発色の妨害の可能性が考えられたので、留出液中の重金属を ICP で測定してみたが、蒸留水を用いたブランク試験の場合とほとんど差がない程度しか検出されなかった。

表 1 標準サンプルを使った場合の回収率

	ふっ素添加量	回収量	回収率
Sample A	500 μ g	450 μ g	90%
Sample B	1000 μ g	920 μ g	92%

表 2 蒸留後のふっ素濃度減少 (mg/l)

	直後	2 日後	7 日後
Sample A	3.8	3.5	3.3
Sample B	4.8	4.6	4.0
Sample C	0.26	0.16	—

表 3 ふっ素濃度減少抑制効果 (mg/l)

	直後	4 日後
Sample A	0.91	pH 調整なし 0.80
		pH 調整あり 0.84
Sample B	1.8	pH 調整なし 1.5
		pH 調整あり 1.8

表 4 事業所排水を使った場合の回収率

	ふっ素添加量	回収量	回収率
A 事業所	250 μ g	170 μ g	68%
B 事業所	500 μ g	360 μ g	72%
C 事業所	500 μ g	340 μ g	68%
D 事業所	250 μ g	160 μ g	64%

考 察

今回、ふっ素分析法について検討した結果、蒸留水を使った添加回収実験では、90% 以上の回収率が得られ、JIS 解説書に書かれている数値を確認することができた。しかし事業場排水を使った添加回収実験では、受器の水をアルカリ性にした、塩酸成分の留出を防ぐために硫酸銀を加えるなど改善を施したにもかかわらず、いずれの試料の場合も回収率は 70% 前後に留まった。原因としては、排水中に含まれるアルミニウム、カドミウム、ニッケル、鉄、鉛などの陽イオンによる四ふっ化けい素生成反応の妨害が考えられる。この分析法が、液温 145℃ 前後の過塩素酸又は硫酸の強酸性溶液に、二酸化けい素を加えて、四ふっ化けい素を生成させるという複雑な行程を含んでいることから、改善法を見つけだすのは容易でないと思われる。今後は、錯化剤や脱錯化剤などを用いて、問題の解決を図りたい。

文 献

- 1) (財) 日本規格協会 : 34. ふっ素化合物, JIS K0102 工場排水試験法, 106~111 (1998)
- 2) (財) 日本規格協会 : 34. ふっ素化合物, 詳解工場排水試験法改訂 3 版, 196~207 (1999)

広島市における環境放射能調査結果

環 境 科 学 部

は じ め に

放射能には、地球に降り注ぐ宇宙線・地殻・水および家屋の建材などから放出される自然放射能と、大気圏内核実験やチェルノブイリ原子力発電所の事故など、人為的な要因により発生する人工放射能がある。私たちは、これらの放射線に絶えず暴露されている。

当所では昭和57年度から環境放射能調査を行ってきた。今回、平成12年度の調査結果について報告する。

方 法

1 調査対象

全ベータ放射能およびゲルマニウム半導体検出器による γ 線核種分析の調査対象は、降下じん、浮遊じん、水道水、地下水、河川水、海水および海域の底質である。トリチウムの調査対象は、雨水、水道水、地下水、河川水、海水である。

2 試料の採取および測定方法

放射能測定用試料の採取、調整および測定は、原則として、科学技術庁編「全ベータ放射能測定法：昭和51年」，「ゲルマニウム半導体検出器等を用いる機器分析のための試料の前処理法：昭和57年」および「トリチウム分析法：昭和52年」

によった。

なお、試料採取装置など詳細については、既報¹⁾のとおりである。

3 測定装置

- (1) 全ベータ放射能：富士電機製造製
低バックグラウンド β 線スペクトロメータ
- (2) γ 線核種分析：Canberra 製
検出器：Model GC 2518
- (3) トリチウム：アロカ製 LSC-LBIII

結 果

表1 に全ベータ放射能調査結果を、表2にゲルマニウム半導体検出器による γ 線核種分析調査結果を、表3 にトリチウム調査結果をそれぞれ示した。

これらの調査結果はおおむね前年度までの結果と同程度であった。また、 γ 線核種分析で検出した人工放射能核種は ^{137}Cs のみであった。

なお、平均値を求める際、N.D.を0として、扱った。

文 献

- 1) 広島市衛生研究所：広島市の環境放射能調査報告書(1993)

表1 全ベータ放射能測定結果

試料名	件数	最小値～最大値	平均値	単位
降下じん (6時間値)	12	N.D. ～ 23	6.0	MBq/km ²
〃 (72時間値)	12	N.D. ～ 15	5.3	〃
浮遊じん (6時間値)	12	0.061 ～ 0.16	0.10	Bq/m ³
〃 (72時間値)	12	N.D. ～ 0.0040	0.0018	〃
水道水	1	N.D.	-	Bq/l
地下水	1	N.D.	-	〃
河川水	4	N.D. ～ 0.049	N.D.	〃
海水	4	N.D.	N.D.	〃
底質(海域)	4	0.76 ～ 0.99	0.88	Bq/g乾土

表2 ゲルマニウム半導体検出器による核種分析測定結果

試料名	件数	⁷ Be 最小値～最大値(平均値)	⁴⁰ K 最小値～最大値(平均値)	¹³⁷ Cs 最小値～最大値(平均値)	単位
降下じん	12	20±0.5～170±1.3(84)	N.D. ～3.3±0.7 (0.47)	N.D.	MBq/km ²
浮遊じん	12	0.80±0.1～6.6±0.6(3.8)	N.D. ～1.5±0.4 (0.13)	N.D.	mBq/m ³
水道水	1	N.D.	N.D.	N.D.	Bq/l
地下水	1	N.D.	N.D.	N.D.	〃
河川水	4	N.D.	N.D.	N.D.	〃
海水	4	N.D.	0.60±0.2～3.4±0.4(2.0)	N.D.	〃
底質(海域)	4	N.D.	470±20～610±20(550)	3.6±1.0～7.6±1.0(6.0)	mBq/g乾土

表3 トリチウム測定結果

試料名	件数	最大値～最小値	平均値	単位
雨水	12	N.D. ～ 0.73±0.17	0.26	Bq/l
水道水	1	0.21±0.15	-	〃
地下水	1	0.16±0.14	-	〃
河川水	4	0.10±0.15 ～ 0.27±0.17	0.22	〃
海水	4	0.03±0.14 ～ 0.14±0.15	0.09	〃

広島市の大気中における酸化エチレン調査

渡邊 進一 松尾 愛子^{*1} 松室 康子 山水 敏明^{*2}
堂道 和彦 佐伯 彩路 上本 宗祥 世良 勝利

はじめに

酸化エチレンは化学合成の原料、各種溶剤、殺菌剤等の用途で広く利用されており¹⁾、毒性が高く、平成9年の大気汚染防止法の一部改正で有害大気汚染物質の中の優先取組物質としてリストアップされている²⁾。

平成11年に環境庁(現 環境省)から酸化エチレンに関する有害大気汚染物質測定方法マニュアルが示され³⁾、本市においてもその方法によって平成12年10月から市内4か所で毎月測定を行っている。

今回その調査結果をとりまとめたので報告する。

方 法

1 調査地点

有害大気汚染物質モニタリング地点(4か所)で実施した。

- ・井口小学校 (住宅地域)
- ・安佐南区役所 (住宅地域)
- ・比治山測定局 (幹線国道沿い)
- ・楠那中学校 (自動車工場周辺)

2 調査期間

平成12年10月～平成13年3月。各月1回(24時間採取)。いずれも平日である。

3 調査方法

環境庁発行の『有害大気汚染物質測定方法マニュアル(酸化エチレン)』によった。

(1) 予備試験

a GC-MS 測定条件の検討

2-プロモエタノールと内部標準である 2-プロモエタノール d4 をトルエン/アセトニトリル(1:1)に溶解した溶液で最適測定条件を検討した。

最初一定昇温で測定したら、ピークの分離が不十分であったので、ピークの現れる12分付近でカラム槽の昇温を緩やかにしたら両者のピークは分離した。

以降、次に示す条件で測定した。

分析装置 : 島津 GCMS-QP5050
使用カラム : J&W 社 DB-WAX
内径 0.25mm, 長さ 30m,
膜厚 0.25 μ m
カラム温度 : 40℃→(20℃/分)→80℃,
80℃→(5℃/分)→90℃,
90℃→(2℃/分)→110℃,
110℃→(20℃/分)→200℃(3分)
注入口温度 : 200℃
インターフェイス温度 : 200℃
キャリアガス : ヘリウム, 70kPa
検出法 : SIM
検出器電圧 : 1.1kV
質量数 : 2-プロモエタノール
定量用 : 31, 確認用 : 45
2-プロモエタノール d4
定量用 : 49

b 流量による捕集効率の検討

使用するポンプの能力範囲内で、サンプリング流量(700mL/分)とその前後の流量(約400mL/分, 約840mL/分)で大気中のサンプリングを行い、濃度比較したところ、差は見られなかったが、流量を1100mL/分まで上げると捕集量は低下した。

c 添加回収試験

窒素を入れた真空ガラス瓶で酸化エチレンを希釈し、テフロンバックに一定量注入したものを捕集剤(ORB078(SPELCO社製))に捕集したのと、ガスを直接捕集剤に注入したのとを比較した。

いずれの測定結果も添加量より低く、ばらついており、安定した回収は得られなかった。

この原因は不明であるが、酸化エチレンは反応性が高く捕集するまでに化学反応して他の物質に変化したか、容器壁に付着し捕集できなかった等のことが考えられる。

d 妨害物質の検討

酸化エチレンの測定で正の誤差を与える 2-プロモエタノールを吸着捕集する Carboxen564(SPELCO社製)と ORB078 を用いて大気を同時採取し比較した。

*1 : 生活科学部

*2 : 環境局環境企画課

表 酸化エチレンモニタリング結果

	10月	11月	12月	1月	2月	3月	平均
天候	曇	曇	晴	晴時々曇	曇時々雨	晴	
井口小学校	69	78	51	72	39	73	64
安佐南区役所	110	210	140	64	61	100	110
比治山測定局	52	250	200	77	49	98	120
楠那中学校	160	87	68	60	41	59	78

単位: ng/m³ 定量下限値 6 ng/m³

その結果、2-プロモエタノールはORB078からは検出されたが Carboxen564 からは定量下限値以下しか検出されず、大気中には測定に影響を与えるほど存在してないと考えられる。

これらの結果をふまえ、大気の測定を行った。

(2) 大気の測定

a 捕集方法

地上 2~10 メートルの高さで捕集管(ORB078)に 700mL/分で連続 24 時間大気を通して、2-プロモエタノールとして捕集した。

b 前処理

大気を捕集した捕集剤を抽出瓶(1.5mL 容バイアル瓶)に移し、トルエン/アセトニトリル(1:1)を 1.0mL 加えて振とうし抽出した後、炭酸ナトリウム 100mg を加えて 2 時間以上放置し、内標準溶液(2-プロモエタノール d4, 0.1 μg/μL) 1 μL を加えたものを試験液とした。同時に捕集剤の空試験も行った。

結 果

測定結果を表に示す。この中で 2 月の測定値が各地点とも最も低かった。原因は不明であるが採

取の途中から降雨があったこと気温が低かったことが他と異なったくらいで、今後の測定を通じて比較し解明していきたい。

地点間の比較では付近に幹線道路が走っている場所が高い値を示すことが多かった。

また、自動車工場の周辺では、酸化エチレンを使用する施設は確認されておらず住宅地と同じような数値を示した。

以上のことから本市における大気中の酸化エチレン濃度は発生源からの影響を受けない地域の値と思われる。

今後、測定を継続する傍ら、添加回収試験、妨害物質の把握等の問題点も検討し別の機会に報告したい。

文 献

- 1) (財)東京連合防火協会:第2版 危険物データブック, 249(1993)
- 2) 環境庁大気保全局長通知:有害大気汚染物質モニタリング指針について, (1997)
- 3) 環境庁大気保全局大気規制課:有害大気汚染物質測定マニュアル(酸化エチレン), (1999)

河川からの農薬検出状況

竹井 秀夫 村上 加枝* 下田 喜則 松木 司
 矢野 泰正 世良 勝利

はじめに

農薬は植物や土壌に直接散布されるため、水系に流出し、汚染する可能性が高い。

環境庁は水質汚濁防止に係る環境基準、要監視項目の中に農薬項目を定め、公共用水域等における農薬の水質評価指針も示している。

当所でも平成6年度から、これらの項目について公共用水域における水質調査を行ってきた。今回、平成12年度の調査結果について報告する。

方法

1 調査地点

広島市内の公共用水域12地点において調査を実施した。調査地点を図1に示す。

2 調査農薬と調査時期

調査地点12地点中のAの5地点では、環境基準項目、要監視項目及び水質評価指針項目の43物質に対して、年1回調査を実施した。Bの7地点では、要監視項目12物質を夏期、冬期の年2回調査を実施した。

3 分析方法

1,3-ジクロロプロペンは、ヘッドスペース法でGC/MSを用いて分析を行った。チウラム、オキシ銅、ベンスリド、イミダクロプリド及びエトフェンプロックスは固相抽出法によりHPLCで分析を行った。また、その他37物質は固相抽出法により抽出しGC/MSで分析を行った。

結果

Aの5地点での農薬の検出状況を表1に示す。

3地点で43物質中チオベンカルブ、ダイアジノン、フェニトロチオン、フェノブカルブ、エスプロカルブ、シメトリン、プレチラクロール、メフェナセットの8物質が検出されたが、水質汚濁に係る環境基準値と要監視項目の指針値、及び公共用水域等における水質評価指針値を超えるものはなかった。

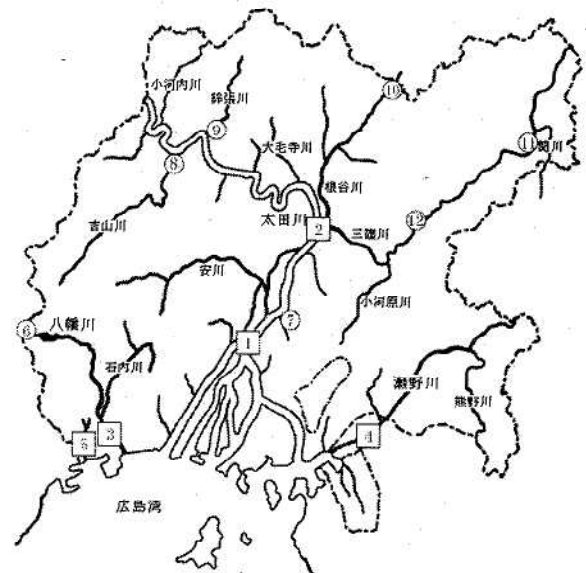
検出された農薬はいずれも、稲に使用されている殺虫剤あるいは殺菌剤である¹⁾。

また、Bの7地点での検出状況を表2に示す。

吉山川で、夏期に殺虫剤のイプロベンホスが、冬期に除草剤のプロピザミドが検出されたが、いずれも指針値を超えていなかった。

文献

- 1) 上杉 康彦 他：第3版最新農薬データブック，ソフトサイエンス社，(1997)



	河川名	地点名
A	太田川	① 大芝水門
		② 太田川橋
	八幡川	③ 泉橋
	瀬野川	④ 日浦橋
	岡の下川	⑤ 岡の下川
B	八幡川	⑥ 魚切貯水池上流
	太田川	⑦ 戸坂上水道取水口
	吉山川	⑧ 吉山川
	鈴張川	⑨ 宇津橋
	根谷川	⑩ 人甲川合流前
	三篠川	⑪ 関川下流
		⑫ 狩留家

図1 調査地点

*：環境局環境企画課

表1 河川からの農薬検出状況(A)

単位: mg/l

	農薬名	基準値 指針値	定量限界	太田川		瀬野川	八幡川	岡の下川
				大芝水門	太田川橋	日浦橋	泉橋	岡の下川
				12. 6. 21	12. 6. 21	12. 6. 21	12. 6. 21	12. 6. 21
環境基準項目	1,3-ジクロロプロベン	0.002	0.0002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	チウラム	0.006	0.0005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	シマジン	0.003	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	チオベンカルブ	0.02	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	0.0007	0.0005
要監視項目	イソキサチオン	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ダイアジノン	0.005	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	0.0001	N.D.
	フェントロチオン	0.003	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	0.0001	0.0001
	イソプロチオラン	0.04	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	オキシ銅	0.04	0.001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	クロロタロニル	0.05	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	プロピザミド	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	EPN	0.006	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ジクロルボス	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	フェノプカルブ	0.03	0.0001	N.D.	N.D.	0.0001	N.D.	N.D.
	イプロベンホス	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	クロルニトロフェン	—*	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	クロルピリホス	0.03	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	トリクロルホン	0.03	0.0005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ピリダフェンチオン	0.002	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	イプロジオン	0.3	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	トルクロホスメチル	0.2	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	フルトラニル	0.2	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ペンシクロン	0.04	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
水質評価指針項目	メプロニル	0.1	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ブタミホス	0.004	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ベンスリド	0.1	0.0005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ペンディメタリン	0.1	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	イミダクロプリド	0.2	0.001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	エトフェンプロックス	0.08	0.0005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	カルバリル	0.05	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ジクロフェンチオン	0.006	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ブプロフェジン	0.01	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	マラチオン	0.01	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	エディフェンホス	0.006	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	トリシクラゾール	0.1	0.0005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	フサライド	0.1	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	プロベナゾール	0.05	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	エスプロカルブ	0.01	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	0.0001	N.D.
	シメトリン	0.06	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	0.0003	0.0002
	プレチラクロール	0.04	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	0.0001	0.0001
	プロモブチド	0.04	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	メフェナセツト	0.009	0.0001	N.D.	N.D.	0.0003	0.0001	0.0008
	モリネート	0.005	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

*クロルニトロフェンの指針値は定められていないが、検出された場合には原因究明を行うなど、何らかの対策を講じることとされている。

表2 河川からの農業検出状況(B)

(1) 夏期調査

単位: mg/l

農薬名	指針値	定量限界	太田川		三篠川		根之谷川	八幡川	
			戸坂上水道 取水口	宇津橋	吉山川	狩留家	関川下流	人甲川 合流前	魚切貯水池 上流
			12.7.5	12.7.5	12.7.5	12.7.5	12.7.5	12.7.5	12.7.12
イソキサチオン	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
ダイアジノン	0.005	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
フェニトロチオン	0.003	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
イソプロチオラン	0.04	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
オキシ銅	0.04	0.001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
クロタロニル	0.05	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
プロピザミド	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
EPN	0.006	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
ジクロルボス	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
フェノブカルブ	0.03	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
イプロベンホス	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	
クロルニトロフェン	—	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

(2) 冬期調査

単位: mg/l

農薬名	指針値	定量限界	太田川		三篠川		根之谷川	八幡川	
			戸坂上水道 取水口	宇津橋	吉山川	狩留家	関川下流	人甲川 合流前	魚切貯水池 上流
			13. 1. 10	13. 1. 10	13. 1. 10	13. 1. 10	13. 1. 10	13. 1. 10	13. 1. 17
イソキサチオン	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ダイアジノン	0.005	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
フェニトロチオン	0.003	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
イソプロチオラン	0.04	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
オキシ銅	0.04	0.001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
クロタロニル	0.05	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
プロピザミド	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	0.0004	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EPN	0.006	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ジクロルボス	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
フェノブカルブ	0.03	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
イプロベンホス	0.008	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
クロルニトロフェン	—	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Ⅲ 抄 録

他誌掲載論文

地研と国立試験研究機関との公衆衛生情報
に関する役割分担と連携

荻野武雄

公衆衛生, 64(6), 393~398, 2000

地研が情報活動の地方拠点として機能していくには地域内のみならず、地域外の関係機関との連携も強めていくことが必要である。特に地域保健対策の科学的、中核的機関と位置付けられている地研にとって国研との機能分担・連携は極めて重要である。このことから、①地研業務としての情報活動の位置づけ、②日常業務での公衆衛生情報の生産と収集、③地研における情報基盤の整備、④地研協議会における活動の面から地研における公衆衛生情報の現状を整理するとともに、①病原体検出情報を例に地研・国研各々の機能と役割、②連携の接点としての3協議会などの活動、③アンケート調査の面から、地研と国研との公衆衛生情報に関する役割分担と連携についてまとめた。

地方衛生研究所の情報ネットワーク構築等による
情報関連機能の強化に関する研究

荻野武雄

平成12年度厚生科学研究費補助金(健康科学総合研究事業)地方衛生研究所の機能強化に関する総合的研究, 研究報告書, 31~40, 2001

地研における情報提供に関する検討を行い、以下の結果を得た。①地研提供情報所在案内システムを構築し、研究班Webサイトの今後の運営の方向性を検討した。②インターネット研究会を開催し、地研、国研等による討議を行った。③地研共有データベース構築の一方策としてLinux, PostgreSQL, PHP4によるシステムを検討した。④初等環境教育支援のための情報提供を試行し、アンケート調査等に基づき検討した。⑤データベースからホームページ上に自動的にグラフ表示等が可能なシステム開発を行った。⑥地域住民への情報提供のあり方をアンケート調査、広報紙等から分析し、検討した。⑦Pearson系系統的分布判別法等を用いて効率的に複数の分布を検討する方法を開発した。⑧ネットワークシステムのセキュリティ教育の実態等を調査し、セキュリティ対策のあり方を検討した。

アデノウイルス7型再興感染症

荻野武雄 池田義文

医学のあゆみ, 195(5), 345~349, 2000

アデノウイルス7型が日本で突然、再興感染症として流行した。あらたな遺伝子型の流行で、死亡例を含む重症感染例も報告され、アデノウイルス感染症の重要性を再認識させた。

広島市でのアデノウイルス7型分離状況および分離株の遺伝子解析結果を中心に、今回の流行状況について概説した。

アデノウイルス7型による岡山市内の保育園に
おける急性胃腸炎の流行拡大

横山俊之* 池田義文 荻野武雄

臨床とウイルス, 28(3), 155~161, 2000

1998年、岡山市内の保育園でアデノウイルス7型(Ad7)の胃腸炎集団発生が認められた。ウイルス分離の結果、6名中5名からAd7が分離された。園児60名について症状の有無、症状等を調査した。罹患率は30%、有症者の臨床症状は発熱89.5%(最高体温の平均39.3℃、持続日数平均5.4日)、腹痛58.3%、嘔吐47.4%、下痢73.7%、結膜炎63.2%、咽頭痛41.7%であり、重症度は高くなかった。流行は4月下旬から7月初旬まで続いた。

*: 岡山市立市民病院小児科

ウイルス感染症における血清アミロイド A 蛋白 (SAA) 値の検討

石井祥子*¹ 岡崎富男*¹ 山口和誠*¹ 土岐珠理*¹
岡本吉生*¹ 金光美和*¹ 荒木 徹*¹ 小川和則*¹
鎌田政博*¹ 吉光千記*¹ 桐谷未希*³ 阿部勝彦*²
池田義文 山岡弘二 荻野武雄

小児科臨床, 63 (9), 1441~1448, 2000

各種ウイルス感染症入院患者 193 例を対象に、血清アミロイド A 蛋白 (SAA) の感染症の指標としての有用性を検討した。急性期の SAA は CRP および白血球数と有意に相関した。SAA はアデノ、インフルエンザ、RS で中程度の増加、エコー、ロタで軽度の増加を示し、下気道感染で高値になる傾向にあった。SAA、CRP は急性期から回復期にかけ速やかに低下し、病状を反映していると考えられた。急性期に SAA と CRP が解離する例が存在し、CRP 陰性、SAA 陽性が全体の 9.8% で、逆の例より多い傾向にあった。

*1: 広島市民病院小児科

*2: (財) 広島市農林業振興センター

*3: 退職

広島市域におけるイカ菓子の原因とした *Salmonella* *Oranienburg* および *Salmonella* *Chester* による Diffuse Outbreak への分子疫学的アプローチ

高垣紀子*¹ 橋渡佳子 伊藤文明*² 児玉 実
石村勝之 毛利好江 河本秀一 笠間良雄
山岡弘二 荻野武雄

日本食品微生物学会雑誌, 17 (3), 171~180, 2000

1998 年末より広島市域において散発食中毒患者の *Salmonella* 07 群の増加傾向が認められ、ほとんどが *S. Oranienburg* であった。この菌株の異同を RAPD 法および PFGE 法で分析した結果、差異は認められず、同一菌と考えられた。1999 年 4 月の川崎市のイカ菓子食中毒を契機とする全国的な Diffuse Outbreak 事例の兆候を、本市でも患者分離菌株の解析により早期に把握できた。RAPD 法は迅速、簡易な分子疫学的解析法として実用であった。

*1: 環境局環境企画課

*2: 保健所食品保健課

広島市における散発食中毒事例の疫学解析 - *S. Oranienburg* と *S. Chester* による diffuse outbreak の究明 -

児玉 実 橋渡 佳子 高垣 紀子*¹ 石村 勝之
毛利 好江 伊藤 文明*² 河本 秀一 笠間 良雄
山岡 弘二 荻野 武雄

広島県獣医学会雑誌, 15, 102~106, 2000

当市では、散発食中毒菌株を収集し、市内での潜在的食中毒発生動向の把握に努めている。

今回、98 年末から *Salmonella* (S) 07 群の発生増加がみられ、同時期にリジン陰性の *S. 04* 群も検出された。これらの菌株の血清型別等を実施した結果、*S. 07* 群の殆どは *S. Oranienburg* (S.O) で、*S. 04* 群は *S. Chester* であった。その後、川崎市でイカ菓子による S.O の食中毒が明らかとなり、当市での、散発的サルモネラ症増加の解明のきっかけとなった。また、イカ菓子および患者由来菌株等を詳細に解析検討した結果、S.O と S.C の増加はイカ菓子を原因とした全国的な diffuse outbreak であったことが判明した。

*1: 環境局環境企画課

*2: 保健所食品保健課

学会発表

胃腸炎由来 NLV の分子疫学的解析 (1992-1999)

阿部勝彦* 池田義文 山岡弘二 荻野武雄
野田 衛

第 41 回日本臨床ウイルス学会

2000. 5. 25~26 広島市

1992 年 12 月~99 年 12 月に広島市内で発生した散発性胃腸炎患者の糞便ならびに胃腸炎集団発生の患者便および食品から検出されたノーウォーク様ウイルス (NLV) についてポリメラーゼ領域 285bp の塩基配列を決定した。解析した NLV は遺伝子群 G1 と G2 に大別され、さらに 15 亜群に細分化された。多くの流行期で主流となる NLV が、同一亜群、異なる亜群に属する他の NLV とともに検出された。97~99 年は食品媒介性集団発生の患者便および食品から同一の NLV が多数検出されたが、同時期の非食品媒介性集団発生例および散発例からは異なる NLV が検出され、両者の原因が異なる傾向が認められた。

*: (財)広島市農林業振興センター

広島市におけるポリオウイルス (ワクチン株) の
分離結果について

藤井彰人 上村真由美 阿部勝彦* 池田義文
山岡弘二

第 46 回広島県獣医学会

2000. 8. 25 広島市

広島市感染症発生動向調査事業により 1982 年~99 年の間に 12,338 例の患者 (咽頭拭い液、髄液、糞便、尿、計 17,022 検体) のうち 55 例からポリオウイルス 1 型 29 株、2 型 21 株、3 型 15 株が分離された。9 例からは複数の型のポリオウイルスが分離された。分離陽性者の検体別結果は糞便 39/41、咽頭拭い液 30/40 が分離陽性で、髄液 6 検体および尿 4 検体は全て陰性であった。分離率は経日的に低下したが、糞便からはワクチン接種後約 1 か月後の検体からも分離された。患者の主症状は発熱 30 例、上気道炎、下気道炎各 18、下痢、嘔吐各 17、胃腸炎、発疹各 8、痙攣 5、肝炎 4、その他 16 で、年齢別では 1 歳未満が大半を占め、月別では 4、5、10、11 月が多かった。

*: (財)広島市農林業振興センター

広島市域における散発食中毒由来菌株の
疫学的解析

石村勝之 橋渡佳子 高垣紀子*¹ 毛利好江
児玉 実 伊藤文明*² 河本秀一 笠間良雄
山岡弘二 荻野武雄

第 21 回日本食品微生物学会学術総会

2000. 10. 11~12 東京都

1997 年 9 月以降広島市の散発食中毒事例が急増した。1998、99 年に医療機関から収集された菌株 1,295 株の疫学的解析を実施した。原因菌別ではサルモネラ、カンピロバクター、腸炎ビブリオ、病原性大腸菌の順で多かった。サルモネラは Enteritidis が 82% を占め、カンピロバクターは jejuni が 94%、coli が 6% で、Lior7 および 4 型が多かった。腸炎ビブリオは 29 血清型が認められ、O3:K6 (tdh+, trh-) が 66% を占めた。病原性大腸菌は血清群 O1、O18 が多く、ST 遺伝子保有の O169:H41、O25:H- が 3% 程度認められた。

*¹: 環境局環境企画課

*²: 保健所食品保健課

広島市の河川水のアルキルフェノール類と
ビスフェノール A の同時分析

関川恵子 尾川 健 世良勝利

第 27 回環境保全・公害防止研究発表会

2000. 11. 21~22 静岡市

環境ホルモン様物質とされているアルキルフェノール類 7 物質とビスフェノール A について同時分析法を検討し、広島市の河川水について調査を行った。その結果、フェノール分析用キャピラリーカラムを用いることにより、ビスフェノール A を誘導体化することなく分析することができ、検出限界値も環境省の示す目標検出限界値を満たすことができた。

また、河川水 29 地点について調査したところ、4-tert-ブチルフェノール、4-tert-オクチルフェノール、ノニルフェノール、ビスフェノール A は半数以上の地点で検出され、その検出濃度は低濃度であった。その他の物質は、全地点において検出限界値未満であった。

広島市の公共用水域における栄養塩類の推移

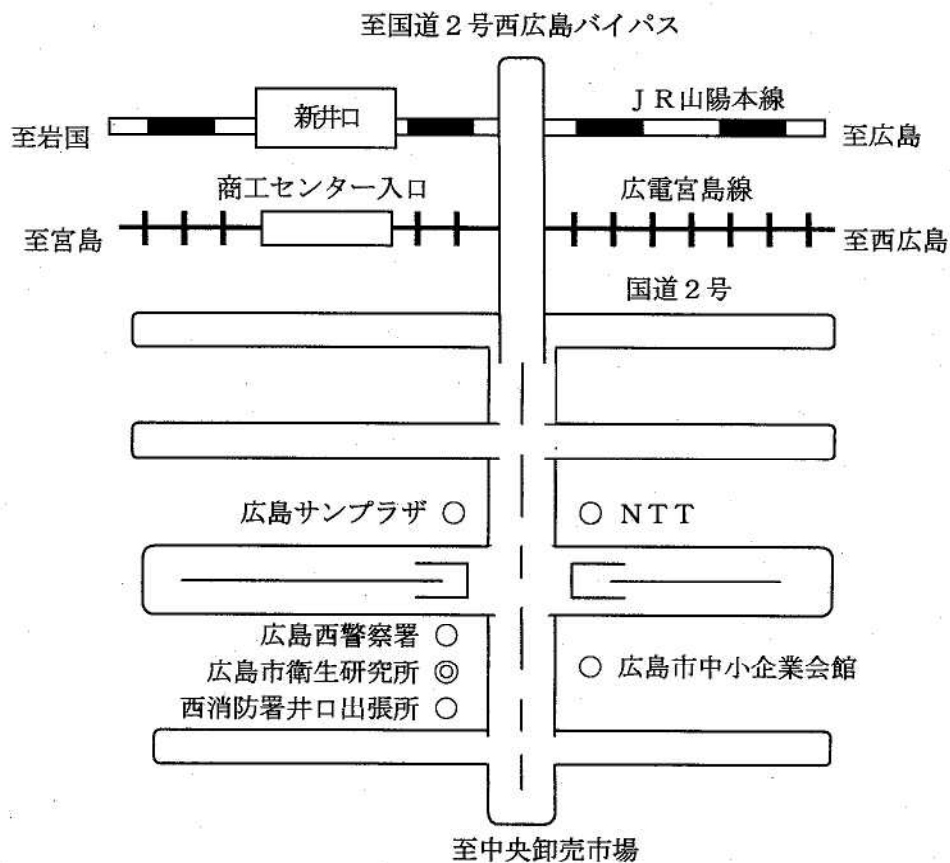
橋本和久 尾川 健 世良勝利

全国公害研協議会中国四国支部

第27回水質部会

2000.10.26~27 松山市

1982年度から1999年度までの過去15年間の窒素、リンの経年推移を太田川、瀬野川および八幡川の3水系別にまとめた。その結果、市周辺部の都市化が進むにつれて、3水系に流入する中小支川の汚濁が進み、本川に影響を与えている事がわかった。特に人口の増加の著しい地域では、都市基盤整備の基幹である下水道整備が都市化に追いついていない状況であり、徐々に整備されているものの、生活雑排水に由来する汚濁が漸次増加傾向にあることが伺われた。中小河川からの栄養塩類の負荷量の減少を図るため今後、下水道の整備と生活雑排水対策が急務と考えられた。



交通	J R 西日本	山陽本線新井口駅下車 徒歩 10 分
	広島電鉄	宮島線商工センター入口下車 徒歩 10 分
	広島バス	J R 広島駅発 商工センター行 (25 番路線)
		商工センター三丁目下車 徒歩 2 分

分類登録番号 広H0-2001-231

広島市衛生研究所年報	
第 20 号	
(平成12年度)	
発行日	平成 13 年 12 月 1 日
編集発行	広島市衛生研究所
	〒733-8650 広島市西区商工センター四丁目 1 番 2 号
	TEL (082) 277-6575
	FAX (082) 277-0410
印刷所	株式会社 耕文社