

k211

ISSN 0385-1575

岐衛研所報

Rep. Gifu  
Inst. P. H.

# 岐阜県衛生研究所報

第 3 4 号

平成元年

Report of Gifu Prefectural  
Institute of Public Health

No. 3 4

1 9 8 9

岐阜県衛生研究所

Gifu Prefectural Institute  
of Public Health

# 目 次

## <調査研究>

岐阜県の恙虫病の血清学的検査における <i>Rickettsia tsutsugamushi</i> 分離株 抗原使用の有用性について.....	1
銅・亜鉛，水素化ホウ素ナトリウム還元による水中の硝酸性窒素の定量.....	7

## <資 料>

岐阜県の日本脳炎流行予測事業 24年間のまとめ.....	11
コアグラゼIV型によるブドウ球菌食中毒について.....	15
比色法による飲料水の pH 測定の問題点の検討.....	18
二波長クロマトスキャナーによるリン酸リボフラビン分解物の測定.....	22
神経芽細胞腫マスキリングの精度向上に関する研究 — VMA, HVA 溶液の安定性 — .....	27
穀物および市販食品中の <i>Fusarium</i> マイコトキシン汚染.....	31

## <他誌掲載論文>..... 35

## <学会報告>..... 37

# CONTENTS

## <ORIGINAL ARTICLE>

- Use of the Isolated Strain Antigens on Serological Diagnosis  
of Tsutsugamushi Disease in Gifu Prefecture ..... 1
- Determination of Nitrogen Nitrate in Water with Copper,  
Zinc and Sodium Borohydride Reduction ..... 7

## <REPORT>

- Survey for Hemagglutination Inhibition Antibody Possessing Rate against  
Japanese Encephalitis among the Slaughtered Swine Bred in Gifu Prefecture  
in 1965—1988 ..... 11
- An Outbreak of Food Poisoning Caused by *Staphylococcus aureus*  
of Coagulase Type IV ..... 15
- Study of Some Problems on the pH Measurement of Drinking Water by  
Colorimetric Method. .... 18
- Determination of Decomposed Products in Riboflavin Phosphate by  
Dual-wave-length Chromatoscanner ..... 22
- Study on Improvement of Precision for Neuroblastoma Mass-Screening  
— Stability of VMA and HVA solution — ..... 27
- Survey of Fusarium Mycotoxins Contamination in Cereals and Foodstuff ..... 31
- Papers and Abstracts in Other Publications* ..... 35
- Presents Themes at Conferences and Society Meetings* ..... 38

岐衛研所報

Rep. Gifu  
Inst. P. H.岐阜県の恙虫病の血清学的検査における  
*Rickettsia tsutsugamushi* 分離株抗  
原使用の有用性について

野田 伸 司\*, 渡 辺 実\*, 粕 谷 志 郎\*\*

## Use of the Isolated Strain Antigens on Serological Diagnosis of Tsutsugamushi Disease in Gifu Prefecture

Nobuji NODA\*, Minoru WATANABE<sup>†</sup> and Shiro KASUYA<sup>‡</sup>

## Summary

*Rickettsia tsutsugamushi* were successfully isolated from the four Patients of Tsutsugamushi fever occurred in Kamo district of Gifu Prefecture, 1984. The antigenicities of the 4 strains were examined by indirect immunofluorescence (IF) with guinea pig antisera against 3 prototype strains of Karp, Kato and Gilliam and the isolated strains. One of them, Ogata strain, resembled Karp strain in their reaction patterns, and the other 3 strains (Isogai, Iwai and Taguchi) showed reactivity similar to Gilliam strain.

Antigens of two strains (Iwai and Ogata) were used in IF test of 121 patients sera during 1984 to 1988.

In serological reaction againsts prototype strains, sera of 75 patients (62%) showed the highest antibody titers againsts Gilliam strain and 38% of 121 patients had four fold higher titers against Gilliam strain. IF titers of sera of 41 (89%) out of 46 patients against Iwai strain were indicated still four fold higher than against Gilliam strain.

Although IF titers against the standard strains were less than 1:10 in the early phase, antibodies of 9 patients were in the range of 1:40 to 1:160 against Iwai strain.

It is suggested that an addition Iwai antigen to prototype ones is useful for early serodiagnosis of tsutsugamushi fever in Gifu Prefecture.

## 総 括

1984年に岐阜県の可茂地区で発生した4名のつつが虫病患者より分離したリケッチアの抗原性を、免疫モルモット血清による間接蛍光体法 (IF法) により調べ、Karp型1株とGilliam型3株の結果を得た。更に標準株 (Karp, Kato, Gilliam株) に分離株のうちOgata株 (Karp型) とIwai株 (Gilliam型) を加えて、最近5年間 (1984~1988年) の患者のうち121名の血清抗体価を、IF法で測定し分離株の血清診断用抗原としての有用性を検討した。

標準株による患者血清検査では、75名 (62%) がGilliam株に最も高い抗体価を示し、4倍以上高

\* 岐阜県衛生研究所 : 500 岐阜市野一色4丁目6番3号

\* Gifu Prefectural Institute of Public Health : 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

\*\* 岐阜大学寄生虫学教室 : 500 岐阜市司町40番地

\*\* The Department of Parasitology, Gifu University School of Medicine : 40 Tsukasamachi, Gifu 500, Japan

い例も38%認められた。

46名は Gilliam 株に対して他の2株より4倍以上高い抗体価が示されたが、この中41名(89%)の Iwai 株抗体価は、更に4倍以上高く示された。又、9名が標準株に対する抗体が陰性時に、Iwai 株抗体は陽性ないしかなりの値が示された。

以上の成績より、岐阜県におけるつつが虫病患者血清検査において、Iwai 株抗原の使用は早期血清診断上有用と考えられた。

## 序 文

全国のつつが虫の患者発生は、昭和40年代には一桁にまで低下していたが、昭和50年代の半ばから急激に上昇し、59年の957人をピークにその後毎年700～800人が届出られている。

岐阜県においても、57年の第一症例以来毎年30人余の患者発生が続いており、現在までに県内推定感染者は200人を超えている。又、地域的には県西部、中濃、飛騨北部の3地域から、東濃を除く県下全域に拡大する傾向が見られている。

著者らはこれらの実態究明の一手段として、患者および住民サイドからの血清疫学的研究および野ネズミからのリケッチア分離や抗体検索等のフィールドサイドからの研究を行ってきた。この過程において、昭和60年以降の患者血清で抗体上昇の悪いケースを経験することが多くなり、岐阜県においても標準株と性状の異なるリケッチアによる流行が示唆された。

又、新潟県の Shimokoshi 株、宮崎県の Kawasaki 株に代表される患者由来株が標準株と差のある分離株として報告され、これら分離株を検査用抗原に用いることが、その地方の患者血清診断に有用である

ことが知られるようになってきた。そこで、著者らは県内の患者から分離されたリケッチアについていろいろな角度から研究を進めているが、今回は患者の血清検査用抗原としての有用性を検討した結果について報告する。

## 材 料 と 方 法

### 1) リケッチア

標準3株(Karp, Kato, Gilliam)は富山衛研より分与後、当所で保存されたもの。分離株(Isogai, Iwai, Taguchi, Ogataの4株)は表1に示した患者の血液より得た。

### 2) リケッチアの継代および分離法

標準株はL細胞で5～7日間隔で継代し検査用抗原を作製した。分離は概ね前報で示した方法により、患者血液0.5 mlを5～6週齢の ddY マウスの腹腔に接種した。分離された4株の内、Ogata 株は有毛マウスでの継代が容易であったので感染 BALB/C マウスの脾臓を、他の3株は感染ヌードマウスの脾臓をホモジネートし、S-PG液で20%浮遊液を作製した。

表1 リケッチア分離に供した患者データ

株 名	分離用血液の採取年月日	氏 名	年令	性	推定感染地	臨床所見 刺口, 発熱, 発疹	血清検査成績 検定時の最低抗体価と抗原名
Isogai	昭和 59.11. 1	磯○供○	56	女	加茂郡 坂祝町	左前胸部 39.0℃ 発疹	1 : 320 (Karp)
Iwai	59.11.19	岩○政○	75	男	加茂郡 八百津町	右下腿 39.0℃ 発疹	1 : 1280 (Gilliam)
Taguchi	59.11.10	田○幸○	60	女	加茂郡 八百津町	右大腿部 39.3℃ 発疹	1 : 320 (Gillial)
Ogata	59.11.18	尾○福○	40	男	可児市 土田	右前胸部 38.0℃ 発疹	1 : 40 (Karp)

表2 免疫モルモット血清による分離株の交差 I F 試験

抗原 抗血清	Karp	Kato	Gilliam	Isogai	Iwai	Taguchi	Ogata
Karp	1280	160	80	40	20	40	640
Kato	160	640	80	40	20	20	160
Gilliam	80	80	640	320	160	160	80
Isogai	40	40	320	320	320	160	40
Iwai	40	20	320	320	640	640	40
Taguchi	20	40	160	320	640	640	40
Ogata	640	80	40	20	20	20	640

これらに4倍量のイーグル MEM 培地の維持液を加え、ホモジナイズした後1000 rpm で5分間遠心した。この上清を BS-C-1 細胞 (FLOW LABO. より購入) に接種した。37°C で10日間培養し、CPE が認められない時は細胞ごとかきとって次に継代した。5~8代継代し CPE が認められたならば、一部をギムザ染色してリケッチアの増殖を確認した後、更に5~6代継代し検査用抗原とした。

### 3) 免疫血清の作製

細胞で十分増殖していることを確認した7株のリケッチアを250~300g のモルモットの脳内に0.1mlづつ接種し、4週間後に全採血して免疫血清を得た。

### 4) 被検血清

昭和59年~63年の5年間に当所で血清学的に確認した121例の患者血清 (ベアー71例, シングル50例) を対象とした。

### 5) 検査法

上記のリケッチアを抗原として間接蛍光抗体法 (IF法) により血清中の抗体価を測定した。詳細は前報に準じたが、FITC ラベル血清はカッペル社製の抗モルモット Ig-G (H+L), 抗ヒト Ig-G (H+L) および Ig-M のヤギ血清を使用し、落射型蛍光顕微鏡 (ニコン製) の UV 励起法で判定した。

## 成績

### 1. 分離株の細胞での増殖性と抗原性状

分離株の BS-C-1 細胞での増殖性は少し異なり、Ogata 株は最も早く5代で CPE が認められたが、Isogai 株は7代、Iwai, Taguchi の両株は8代を必要とした。Iwai 株は CPE の進みが悪く更に3代継代

したが、他の3株はそれ以後の増殖は順調であった。免疫モルモット血清による交差 I F テストの成績を表2に示した。標準株および分離株の7株の血清は、それぞれホモの抗原に対して最も高い値 (1:320~1280) を示した。標準3株では他の2株より4倍以上の差が認められたが、分離株のなかでは Ogata 株と他の3株の2グループに分けられた。Ogata 株はその反応性から Karp 株に近い性状を有することが示され、他の3株は Gilliam 株に近いものの少し異なる成績が得られた。又、この3株のなかでは Iwai 株と Taguchi 株は非常に近い性状を有する結果であった。

これら細胞での増殖性と抗原分析の結果から、標準3株に Iwai 株と Ogata 株を加えた5株を抗原として、患者血清の抗体価を測定しその差を比較した。

### 2. 患者の血清学的検査成績

#### (1) 標準3株に対する成績

重複例35例を除いた86例の患者血清について標準3株に対する検査結果で最高抗体価を示した株別にまとめたのが表3である。他の2株より抗体価が高い倍数

表3 標準3株に対して最高抗体価を示した株別の患者数

株名	抗体価が他の2株より高い倍数 (%)	
	≥ 2	≥ 4
Karp	7 <sup>1)</sup> (6)	4 (3)
Kato	4 (3)	
Gilliam	75 (62)	46 (38)
全患者数	121	

(注1) 数字は患者数, なお, 同抗体価35例は省く

ごとに示されているが、75例(62%)が Gilliam 株に最も高い成績を示し、Karp 株に最高抗体価を示したのも7例認められた。又、4倍以上高いケースがそれぞれ46例と4例認められた。

(2) Gilliam 型の患者血清46例の Iwai 株に対する抗体価との比較

Gilliam 株に対する抗体価が、Karp, Kato の2株による成績より4倍以上高い患者血清46例の Iwai 株抗体価との比較を図1に示した。Gilliam 株抗体価

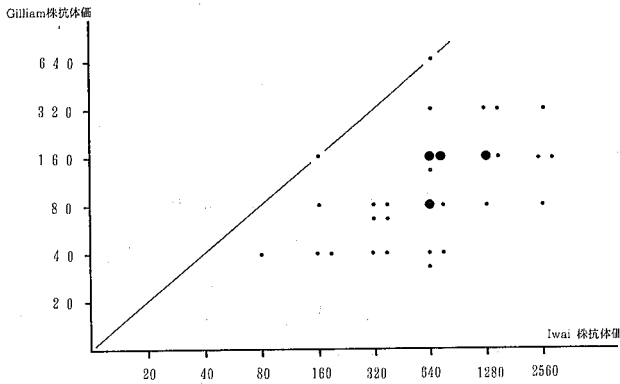


図1 46例の Gilliam株と Iwai株抗体価の関係

Gilliam 株に対する抗体価が Karp, Kato の両株に対するより4倍以上高かった例数

●は5人 ●は1人を示す

表4 急性期に Iwai 株に対してのみ陽性を示した9例の検査成績

患者名	病日	抗 体 価			
		Karp	Kato	Gilliam	Iwai
T. M. 41才 男	15	< 10	< 10	< 10	40 (40)
	23	< 10	< 10	80	640
H. E. 57才 男	8	< 10	< 10	< 10	40 (40)
	27	< 10	< 10	40	320
Y. A. 44才 女	12	< 10	< 10	< 10	80 (40)
	24	< 10	< 10	40	320
S. M. 65才 男	7	< 10	< 10	< 10	40 (40)
	20	10	20	80	640
A. M. 32才 女	19	< 10	< 10	< 10	160 (80)
	27	10	10	40	640
M. K. 34才 女	8	< 10	< 10	< 10	40 (40)
	15	40	40	160	1280
S. N. 62才 女	9	< 10	< 10	< 10	80 (80)
	19	< 10	< 10	80	1280
T. T. 23才 男	11	< 10	< 10	< 10	80 (40)
	18	20	40	160	2560
H. W. 12才 男	11	< 10	< 10	< 10	40 (40)
	19	< 10	< 10	80	640

<10 は 1 : 10以下, ( ) の中はIg-M抗体価を示す

は1:160を中心に1:40~640と上下4倍以内に納まっているが、Iwai 株抗体価は1:80~2560と広い範囲に分布し、中心抗体価も1:640~1280と Gilliam 株に対するよりも4倍以上高い成績が得られた。

(3) Karp 型の患者血清4例の Ogata 株に対する抗体価との比較

4例の患者血清の成績は Karp 株に対して1:320~640の抗体価であったが、Ogata 株ではいずれも1:640を示し両株間に差は認められなかった。

(4) Iwai 株に対してのみ陽性を示した9例の検査成績

表4はペアーで得られた血清の内、急性期における成績が標準3株に対して<1:10の時に、Iwai 株に対してのみ陽性の結果が得られた9例の検査成績を示したものである。急性期では7~19病日と比較的日数が経過していたが、標準株に対する抗体は認められず Iwai 株に対してのみ1:40~160の値が得られた。又、これらの Ig-M 抗体価は1:40~80で Iwai 株抗体のほとんどは Ig-M 抗体であった。

回復期血清は急性期の1~2週間後に採血されているが、標準株に対する成績では Gilliam 株には1:40~160で各血清とも抗体が認められたが、Karp, Kato の両株には4例の1:10~40の低抗体価以外は陰性であった。しかし、Iwai 株に対する成績は Gilliam 株抗体価の8~16倍と有意に高い結果が示された。

考 察

つつが虫病の確定診断は、リケッチアの分離・同定と免疫血清学的検査がある。しかし、前者は長時間が必要なことやバイオハザードの面から、実際には行なわれることは少なく、専ら後者によることが一般的である。

検査法としては、感度および特異度の点からIF法と間接ペルオキシダーゼ法があるが、開発が少し早く熟練者も多い

せいか、IF法を用いる検査機関のほうが多いようである。<sup>10)</sup>

患者の血清検査を行なうにあたり、最も考慮しなければならないのは、いかにして早期に確定的な診断結果を出すかであり、検査法がほぼ確立された現在では、抗原つまり *R. tsutsugamushi* の株特異性に関することである。

著者らは昭和57年以来、標準3株によるIF法によって患者の血清診断をおこなっていたが、59~60年頃より抗体上昇の悪いケースを経験するようになり、<sup>2)</sup> 抗原の検討が必要と考え、59年の患者から分離したリケッチアを抗原として患者血清検査への応用を試みた。

その結果、標準3株間では抗体価が他の2株より4倍以上高く、明らかに Gilliam 型と考えられた検体の89% (41/46) が Iwai 株に対して更に4倍以上高い結果を示した。即ち、Gilliam 型血清の大多数が実は Iwai 型であり、全体でも34% (41/121) を占めていることは注目すべき結果であった。このような Iwai 株優位の現象は感染初期の抗体上昇期には更に顕著で、標準株による抗体が認められない時期に1:40~160の陽性あるいはかなりの高値を示しており、標準株のみによる検査では、病目的にも発病後かなりの日数が経過した血清での陰性成績により、つつが虫病罹患が否定されかねないケースを、確定診断に導き得た意義は大きいと考える。このように Iwai 株を抗原に加えることにより、岐阜県のつつが虫病患者血清診断に貢献しうるものと思われる。

患者血清診断における分離株使用の有用性については、<sup>6) 11)</sup> 宮崎地方の分離株で検討され、ここ数年間100人を超す患者が発生している宮崎県では、標準株のなかでは Gilliam 株に近い Kawasaki 株と Karp, Kato 両株の性状を持つ Kuroki 株に集約されることや地方分離株活用の重要性が報告されている。

今回検討した分離株は、いずれも岐阜県の可茂地区で感染したと推定される患者から分離された株で、リケッチアとツツガムシの共生関係、ツツガムシの普遍的な吸血源である野鼠の生活圏を考えれば、これによって流行の全体像が把握できるとはとうてい考えられず、今後更に分離株を増やして研究を進めなければならない。しかし Iwai 株を検査用抗原に加えることにより、岐阜県のつつが虫病患者血清診断において株特異性の

問題解決の一步前進と、検査精度の向上に資することが可能になったと思われる。

## 謝 辞

患者からのリケッチア分離に御協力いただいた東濃病院の先生方に深謝いたします。

本研究の一部は第34回東海公衆衛生学会(岐阜)および第32回日本感染症学会中日本地方会(富山)で報告した。なお、本研究は衛生研究所の調査研究テーマ「岐阜県におけるつつが虫の血清学的研究」の一部として行われた。

## 文 献

- 1) 佐々寛己, 柴田哲男, 大場みどり, 大久保満, 丹羽豊郎, 松井永二: 岐阜県ではじめての発生をみた恙虫病—DIC で死亡した1剖検例を中心に—, 日内会誌, **73**, 401~407, 1984
- 2) 野田伸司, 渡辺実, 交告保郎, 可児敏彦, 渡辺昇, 田中一夫: 岐阜県における恙虫病の血清学的・疫学的研究, 岐衛研所報, **31**, 1~6, 1986
- 3) 粕谷志郎, 日置敦己, 伊藤亮, 大友弘士, 野田伸司, 渡辺実, 山田不二造, 岩佐光啓: 岐阜県における恙虫病の研究 第3報 野鼠の *Rickettsia tsutsugamushi* および抗体保有の年内変化と患者発生状況, 感染症誌, **60**, 1022~1026, 1986
- 4) Tamura, A., Takahashi, K., Tsuruhara, T., Urakami, H., Miyamura, S., Sekikawa, H., Kenmotsu, M., Shibata, M., Abe, S., and Nezu, H.: Isolation of *Rickettsia tsutsugamushi* antigenically different from Kato, Karp, and Gilliam strains from Patients. Microbiol. Immunol. **28**, 873~882, 1984
- 5) Yamamoto, S., Kawabata, N., Tamura, A., Urakami, H., Ohashi, N., Murata, M., Yoshida, Y. and Kawamura, A. Jr.: Immunological properties of *Rickettsia tsutsugamushi*, Kawasaki strain, isolated from a patient in Kyushu. Microbiol. Immunol. **30**, 611~620, 1986
- 6) 橘宣祥, 楠根英司, 横田勉, 志々目栄一, 岡山昭彦, 津田和矩: つつが虫の血清学的診断における



- Rickettsia tsutsugamushi* 弱毒株抗原の有用性, 感染症誌, **58**, 583~589, 1984
- 7) Yamashita, T., Kasuya, S., Noda, N., Nagano, I., Ohtsuka, S. and Ohtomo, H., : Newly isolated strains of *Rickettsia tsutsugamushi* in Japan identified by using Monoclonal Antibodies to Karp, Gilliam, and Kato strains. J. Clin. Microbiol, **26**, 1859~1860, 1988
- 8) 粕谷志郎, 野田伸司, 日置敦巳, 長野功, 山下照夫, 大友弘士 : 恙虫病患者より分離したリケッチアの実験感染, 感染症誌, **61**, 133, 1987
- 9) 須藤恒久 : 間接免疫ペルオキシダーゼ反応によるつつが虫病の血清学的診断. 臨床病理. **30**, 10~17, 1982
- 10) 須藤恒久, : 本邦における最近の恙虫病の疫学及びその臨床像と病原診断体制の現況について, ウイルス, **36**, 55~70, 1986
- 11) 山本正悟, 川畑紀彦, 大野恭子, 村田道里, 南嶋洋一 : 宮崎県における恙虫病患者由来の *Rickettsia tsutsugamushi* の抗原型とその分布, 感染症誌, **63**, 109~117, 1989

岐衛研所報

Rep. Gifu  
Inst. P. H.

## 銅・亜鉛，水素化ホウ素ナトリウム還元による水中の硝酸性窒素の定量

森 仁\*，今井 準三\*

Determination of Nitrogen Nitrate in Water with Copper,  
Zinc and Sodium Borohydride Reduction

Hitoshi MORI\* and Junzo IMAI\*

## Summary

The analytical method currently in extensive use for the determination of nitric or nitrous nitrogen is a cadmium-copper reduction column method. The method, though simple and highly sensitive, is limited in its usefulness by time-consuming for the column preparation and by requiring treatment of harmful wastes from column treatment.

We have developed a new spectrophotometric method without use of column-through process. The technique utilizes the reduction of nitric ions to nitrous ions by sodium borohydride in the presence of copper and zinc.

This new technique is simple and rapid, and gives satisfactory accuracy and reproducibility even in the coexistence of other ions. This method thus, can find wide application in the routine measurement of nitrogen nitrate in water.

## 総 括

硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の測定法として汎用されているカドミウム-銅カラム還元法（公定法）は，定量操作が簡易で分析感度が優れているが，カラム処理及び廃液処理に問題点を有していることが指摘されている。

そこで，水試料中の硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の簡易測定法として，カラム処理を必要としない銅・亜鉛，水素化ホウ素ナトリウム還元による吸光光度法を検討した。

その結果，本法は共存イオンの影響も少なく，操作が簡易で多数の検体の同時分析が可能であり，実試料を用いた分析結果も公定法とよく一致することを認めたことから，ルーチン検査として利用できるものと思われる。

## はじめに

水試料中の硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の測定法として，汎用されているカドミウム-銅カラム還元法は，定量操作が簡易で分析感度が優れていることから，水道水の試験法として厚生省令等にも採用されている<sup>1-3)</sup>。

しかし，この方法はカラム処理に長時間が必要で迅

速性に欠けること，廃液中に高濃度のカドミウム等の有害金属及び EDTA を含有するため，廃水の処理が必要であるとともに，処理が極めて困難であること等が指摘されている<sup>4)</sup>。

このため，カドミウム等の有害金属を用いない方法として，硫酸ヒドラジン還元法，亜鉛還元チモール吸

\* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

\* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

光光度測定法等が検討されている。<sup>5, 6)</sup>

著者等は、水試料中の硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の簡易試験法の確立を目的として、有機化合物の還元剤に用いられている水素化ホウ素ナトリウムにより金属銅・金属亜鉛共存下において、硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元することに着目し、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の測定法について検討を試みた。その結果、操作が簡易で多数の検体の同時分析が可能であり、また、実試料を用いた公定法との測定値の比較を行ったところ、良好な関係が認められたので報告する。

## 実 験 方 法

### 1 試薬及び装置

金属銅・金属亜鉛：金属標準試薬（削状）の銅及び亜鉛を用いた。

2% EDTA 溶液：エチレンジアミン四酢酸四ナトリウム 2g を蒸留水に溶かして 100ml とした。

0.5% 水素化ホウ素ナトリウム溶液：水素化ホウ素ナトリウム 0.5g を蒸留水に溶かして 100ml とした（用時調製）。

1% スルファニルアミド溶液：スルファニルアミド 5g を塩酸 50ml と蒸留水 300ml との混合液に溶かし、蒸留水を加えて 500ml とした。

N-(1-ナフチル)-エチレンジアミン溶液：N-(1-ナフチル)-エチレンジアミン塩酸塩 1g を蒸留水に溶かして 100ml とした。

硝酸性窒素標準液：硝酸カリウム（105℃ 4 時間乾燥）0.722g をとり、蒸留水に溶かし全量を 1ℓ とし、硝酸性窒素 0.1mg/ml 溶液を調製した。この溶液を適宜希釈して用いた。

亜硝酸性窒素標準液：亜硝酸ナトリウム（硫酸デシケーターで 20 時間乾燥）0.500g をとり、蒸留水に溶かして全量を 1ℓ とし、亜硝酸性窒素 0.1mg/ml 溶液を調製した。この溶液を適宜希釈して用いた。

### 2 分析操作

金属銅・亜鉛各 1g を入れた還元用試験管（10ml）に検水 5ml 以下（硝酸性窒素として 2μg 以下）をとり液量を 5ml とし、2% EDTA 溶液 1ml、0.5% 水素化ホウ素ナトリウム溶液 0.5ml を添加、沸騰水浴中に 60 分間放置する。冷却後、水相を別の発色用の試験管（10ml）に移し入れ、少量の蒸留水を用いて金属銅・

亜鉛及び試験管を洗浄し、先の発色用試験管に合わせて全量を 10ml とする。（金属銅・亜鉛は、蒸留水で洗浄しておけば数回使用が可能である）

次に 1% スルファニルアミド溶液 1ml を添加し混合した後、N-(1-ナフチル)-エチレンジアミン溶液 1ml を添加、室温に 20 分間放置後 540nm の吸光度を測定し、あらかじめ作成しておいた検量線から硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素量を求める。なお、硝酸性窒素のみを定量する場合は、あらかじめ亜硝酸性窒素量を求めておき、その量を本法の測定値から差し引いて求める。

## 結果及び考察

### 1. 還元条件の検討

#### 1) 水素化ホウ素ナトリウムの添加量の影響

硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元するため、水素化ホウ素ナトリウムの最適添加量を調べた。硝酸性窒素 1μg/ml 溶液 1ml をとり、0.5% 水素化ホウ素ナトリウム溶液の添加量を 0~1.0ml と変化させ分析操作に従って吸光度を測定した。その結果は、図 1 に示したように添加量 0.4ml 以上において吸光度はほぼ一定を示したので添加量を 0.5ml とした。

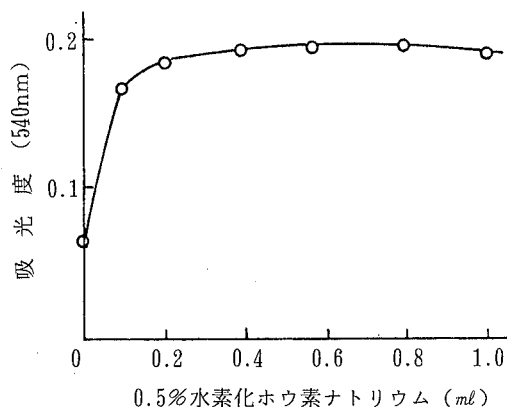


図 1 0.5% 水素化ホウ素ナトリウムの添加量の影響

硝酸性窒素 1μg/10ml

#### 2) 金属銅・金属亜鉛の添加量の影響

金属銅・金属亜鉛の最適添加量を求めるため、硝酸性窒素 1μg/ml 溶液 1ml をとり、金属銅・金属亜鉛の添加量をそれぞれ 0~2g と変化させ吸光度の変化を調べた。吸光度は、図 2 に示したように添加量の増

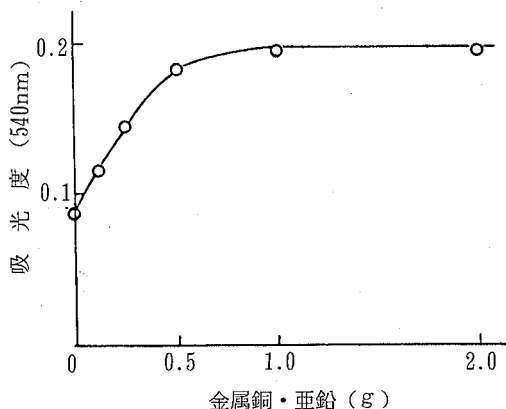


図2 金属銅・亜鉛の添加量の影響  
硝酸性窒素 1 $\mu$ g/10ml

大とともに上昇し1g以上で一定となった。従って金属銅・金属亜鉛の添加量をそれぞれ1gとした。

3) 加熱時間の影響

金属銅・金属亜鉛、水素化ホウ素ナトリウム共存下における硝酸イオンの亜硝酸イオンへの還元は、沸騰水浴中の加熱時間の影響を受ける可能性がある。そこで、硝酸性窒素1 $\mu$ g/ml溶液1mlをとり、沸騰水浴中の加熱時間を0~90分間と変化させ吸光度を調べた。その結果、吸光度は図3に示したように加熱時間が長くなるほど上昇し、60分間以上で一定を示した。従って加熱時間を60分間とした。

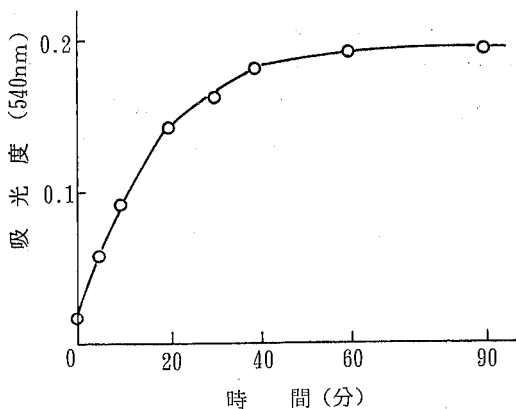


図3 加熱時間の影響  
硝酸性窒素 1 $\mu$ g/10ml

2. 亜硝酸イオンの影響

水試料中には硝酸イオンと亜硝酸イオンとが共存する検体が存在することから、それらが共存した場合の

測定値に及ぼす影響を調べるため、以下の検討を行った。すなわち、硝酸性窒素1 $\mu$ g/ml溶液1mlをとり、亜硝酸性窒素を0.25~2.0 $\mu$ gを添加し回収実験を行った。その結果、表1に示したように硝酸性窒素

表1 亜硝酸性窒素の添加回収実験

硝酸性窒素・亜硝酸性窒素添加量		硝酸性窒素検出量 ( $\mu$ g)	回収率 (%)
NO <sub>3</sub> -N ( $\mu$ g)	NO <sub>2</sub> -N ( $\mu$ g)		
0	0.25	0.23	92
1	0.25	1.21	97
0	0.50	0.49	98
1	0.50	1.48	99
0	1.0	0.98	98
1	1.0	2.05	103
0	2.0	2.02	98
1	2.0	2.98	99

と亜硝酸性窒素が共存した場合の回収率は、98~103%、亜硝酸性窒素のみでは98~102%であった。これらのことから過剰還元による亜硝酸性窒素のアンモニア態窒素への移行は少ないものと思われる。

3. 共存イオンの影響

水試料中に共存すると思われる陰イオン、陽イオンについて、硝酸性窒素1 $\mu$ g/ml溶液2mlをとり、表2に示した各イオンを100 $\mu$ gを添加し共存イオンの影響を調べた。その結果は表2に示したように、アルミニウムイオンが93%と-7%の妨害を示したが、そ

表2 共存イオンの影響

イオン	添加物質	添加量 ( $\mu$ g)	硝酸性窒素検出量 ( $\mu$ g)	回収率 (%)
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	100	1.95	98
Cl <sup>-</sup>	NaCl	100	2.03	102
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	100	2.05	103
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> Cl	100	2.04	102
Fe <sup>3+</sup>	FeCl <sub>3</sub>	100	1.95	98
Al <sup>3+</sup>	AlCl <sub>3</sub>	10	1.96	98
Al <sup>3+</sup>	AlCl <sub>3</sub>	100	1.85	93
Ca <sup>2+</sup>	CaCl <sub>2</sub>	100	2.06	103
Mg <sup>2+</sup>	MgCl <sub>2</sub>	100	1.95	98
Mn <sup>2+</sup>	MnSO <sub>4</sub>	100	1.98	99

硝酸性窒素 1 $\mu$ g/ml溶液を2ml添加

の他のイオンについては妨害は認められなかった。なお、妨害を示したアルミニウムについては、添加量を $10\mu\text{g}$ としたときの回収率は98%であり、実試料中のアルミニウム濃度を考えた場合、実用上影響が少ないものと考えられる。

#### 4. 検量線、定量下限及び分析精度

検量線は、硝酸性窒素 $0\sim 2\mu\text{g}/10\text{ml}$ の範囲において良好な直線を示し、定量下限は、吸光度0.05のとき硝酸性窒素 $0.03\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。硝酸性窒素 $1\mu\text{g}$ を添加した場合の繰り返し実験における変動係数は、4.5% ( $n=10$ )であった。

#### 5. 本法とCd・Cu還元カラム法との測定値の比較

本法の実試料への適用性を調べるため、水道水を用いて公定法との測定値の比較を行った。その結果を表3に示した。本法と公定法との相関係数は0.998と有意水準1%で有意であり、本法の測定値をY、公定法による測定値をXとしたとき、 $Y=0.980X-0.069$

表3 本法とカドミウム・銅還元法との測定値の比較

検体種別	本 法 ( $\mu\text{g}$ )	Cd・Cu還元 カラム法 ( $\mu\text{g}$ )
1	0.1	0.1
2	0.2	0.3
3	0.4	0.5
4	1.9	2.1
5	4.0	4.0
6	4.5	4.6
7	6.4	6.6

( $n=7$ )の関係式が得られ、両法の測定値の間には良好な関係が認められた。

### む す び

水試料中の硝酸性窒素の簡易測定法として、金属銅・亜鉛、水素化ホウ素ナトリウム還元による吸光光度法を検討したところ、操作が簡易で共存イオンの影響も少なく、多数の検体を同時に測定することが可能であることから、ルーチン検査等の分析法として十分利用できるものと思われる。

(第25回全国衛生化学技術協議会年会で発表)

### 文 献

- 1) 厚生省令：水質基準に関する省令。厚生省令第56号，昭和53年8月31日
- 2) 厚生省生活衛生局水道環境部監修：上水試験方法，225～260，1985
- 3) 日本工業規格：工場排水試験方法，143～145，1986
- 4) 山本淳，橋本清澄，畑中久勝，金田吉男，大路正雄，日笠譲：水道水の硝酸塩分析における銅化カドミウムによる迅速化と排液中の重金属処理の検討，分析化学，**28**，T-5，1979
- 5) 松浦洋文，奥山栄，姫野隆，西田恵子：水中の硝酸性窒素の分析法の検討—硫酸ヒドラジン還元法—，奈良衛研年報，**20**，52～55，1985
- 6) 橋谷博，奥村稔，福田敬志：銅・亜鉛還元—チモール吸光光度法による水中硝酸・亜硝酸態窒素の定量，第49回分析化学討論会要旨，155～156，1988

岐衛研所報

Rep. Gifu  
Inst. P. H.岐阜県の日本脳炎流行予測事業  
24年間のまとめ

渡辺 豊\*, 三輪 智恵子\*

Survey for Hemagglutination Inhibition Antibody Possessing  
Rate against Japanese Encephalitis Virus among the Slaugh-  
tered Swine Bred in Gifu Prefecture in 1965—1988.

Yutaka WATANABE\* and Chieko MIWA\*

## はじめに

過去において日本脳炎（以下「日脳」と略記）は、発生患者数の多さ、症状の重篤さ、予後の悪さなどから人々に恐れられた感染症の一つであった。昭和21年には、法定伝染病に指定され、昭和29年には、不活化ワクチンによる予防接種が開始された。更に、昭和40年には、日脳ウイルスの増幅動物である豚の血清中の抗体を測定して、日脳ウイルスの浸淫を追跡し、流行を推定するという調査目的で、日脳感染源調査が全国的に開始された。当所においても、開始当初から本事業に参加し、豚血清中の日脳ウイルスに対する抗体価測定を毎年実施してきた。今回、過去24年間に蓄積された成績をまとめ解析を行った。

## 材料および方法

毎年7月から9月の間に県内屠場1ヶ所で県内産6ヶ月齢の豚から採血した。

血清をアセトンで処理し、予研法により日脳ウイルス赤血球凝集抑制（以下「HI」と略記）抗体価を測定した。HI抗体価10倍以上の検体を抗体陽性とした。

HI抗体価が40倍以上を示す検体については、これが新鮮感染抗体かどうかを判別するため血清を2-メルカプトエタノール（以下「2-ME」と略記）で処理したのちHI抗体価を測定、その値が非処理の値の1/8以下の場合に2-ME感受性抗体（IgM抗体）陽性とした。

抗原はJaGAr 01株を用いた。

## 結 果

## 1. 年次別日脳患者および死者の発生状況

岐阜県保健予防課業務資料（昭和21年度—昭和62年度版）を基に、日脳が法定伝染病に指定された昭和21年から昭和63年までの43年間の全国および岐阜県の日脳患者と死者の発生状況を表1にまとめた。

全国の日脳患者発生数は昭和42年までは毎年1,000人を越え、死者数も毎年500人以上で最高時は2,600人にも及んだ。岐阜県でも昭和36年（5人）、38年（8人）は少ないが、例年20人以上の患者が発生し、昭和23、31年には107人、196人の患者が発生した。

昭和43年に患者数は全国で292人、岐阜県で7人と激減した。昭和47年に全国の患者数は2桁に昭和51年には遂に7人、昭和52年には4人となった。この間、岐阜県の患者数は1—2年間隔で1人か2人であった。昭和53、54年の全国患者数はそれぞれ75人、61人と再流行の兆しが見られたが、昭和55年以降は21人から44人の間に落ち着いている。岐阜県では昭和57年の1人を最後に患者、死者の発生はない。

## 2. 豚血清中の日脳抗体陽性率の年次別推移

日脳感染源調査が開始された昭和40年からの成績を採血した週別にまとめた（表2）。患者発生が多く見られた昭和40、41、42年の3年間は、7月上旬より抗体陽性豚が見られ、7月下旬には全ての豚が抗体陽性

\* 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

\* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

表 1 年次別日本脳炎患者および死者の発生状況

年次 昭和	全 国		岐 阜		年次 昭和	全 国		岐 阜	
	患者	死者	患者	死者		患者	死者	患者	死者
2 1	201	99			4 3	292	238	7	4
2 2	263	228	1	1	4 4	230	205		
2 3	4757	2620	107	45	4 5	145	147		
2 4	1284	1177	56	23	4 6	138	103	2	1
2 5	5195	2430	44	19	4 7	37	32		
2 6	2188	956	46	16	4 8	70	64	2	1
2 7	3545	1437	30	7	4 9	11	29		
2 8	1729	720	50	17	5 0	21	25	2	
2 9	1758	732	66	23	5 1	7	19		
3 0	3699	1373	77	27	5 2	4	9		
3 1	4538	1600	196	51	5 3	75	49	1	
3 2	1763	715	53	26	5 4	61	42	1	
3 3	3900	1302	59	18	5 5	28	20		
3 4	1979	715	42	20	5 6	21	10	1	
3 5	1607	637	29	9	5 7	25	8	1	1
3 6	2053	800		5	5 8	27			
3 7	1349	522	23	9	5 9	32	6		
3 8	1205	544	8	6	6 0	39	8		
3 9	2683	1344	44	15	6 1	28	6		
4 0	1179	613	29	7	6 2	44	7		
4 1	2301	1442	44	12	6 3	28	4		
4 2	1028	659	26	11					

注) 死者数には疑似症の死亡も含む。

表 2 採血週別豚の抗体陽性率の年次別推移

月日	年次	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	
7	1~7	2.7	3.9	2.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0			
	8~14	0.0	8.6	9.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	15~21	4.7	16.7	65	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	22~28	65.0	45.2	80	0.0	25.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	*15.0	0.0
	29~4	100	100	100	5.0	25.0	0.0	0.0	0.0	40.0	0.0	0.0		5.0
8	5~11	100	100		40.0		0.0	0.0	40.0	0.0	5.0	0.0	15.0	
	12~18	100	100		80.0	80.0	0.0	5.0	75.0	0.5	0.0	70.0	30.0	
	19~25	100	100	100	100	100	9.5	9.5	100	0.0	0.0			
	26~1	100	100				52.3	0.0	70.0	10.0	0.0	100		
9	2~8	100	100	100			61.9	0.0	100	90.0	0.0	95.0	85.0	
	9~15	100	100	100			76.2	75.0	95.0	25.0	0.0			
	16~22	100	100				70.0	0.0	95.0	10.0	5.0	70.0	25.0	
	23~30	100										65.0	15.0	
陽性率	434	300	216	45	46	56	18	123	28	3	83	35		
件数	548	424	315	161	140	249	240	240	240	240	180	160		
陽性率	79.2	70.8	68.6	28.0	32.9	22.5	7.5	51.3	11.7	1.3	46.1	21.9		

※ ゴシック体数字：2ME感受性抗体が初めて検出された時点

月日	年次	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
7	1~7												
	8~14	0.0			0.0		13.6	26.1					
	15~21		0.0	10.0		0.0	57.1		5.0	18.5		20.0	18.1
	22~28	0.0		4.0	0.0	0.0		35.0	20.0		21.7	45.8	22.7
	29~4	4.5	16.0		10.0	0.0	0.0	33.0	34.0	30.4	22.7	82.6	27.3
8	5~11		92.0				91.3	86.4	52.4	86.4	44.0	58.3	36.4
	12~18	19.0	90.0	8.0	20.0	0.0		100		100	100	58.3	45.5
	19~25	9.0		21.0	100	90.0	68.2		100	95.5	96.6	79.2	36.4
	26~1		100		86.0		72.7	100	95.8	95.7	69.2	70.8	36.4
9	2~8	22.0	100	79.0		100		100	78.3	95.8	73.3	87.5	27.3
	9~15		86.0	33.0	90.0		100	100	90.0	95.7	70.8		
	16~22	52.0			70.0	100	100						
	23~30	60.0	55.0	54.0		95.0							
陽性率	43	128	50	77	79	111	121	108	141	136	120	55	
件数	183	190	189	162	143	178	170	179	186	209	192	176	
陽性率	23.5	67.4	26.5	47.5	55.2	62.4	71.2	60.3	75.8	65.1	62.5	31.0	

となり、年間陽性率もそれぞれ79.2%、70.8%、68.6%と非常に高かった。この3年間は、2-ME感受性抗体の測定は実施されていないので、その出現時期は不明である。

患者数が激減した昭和43年の抗体陽性豚の出現は7月下旬迄見られず、8月中旬にやっと陽性率50%を越えた。昭和44年も43年と同様な傾向であった。また兩年とも抗体陽性率が100%に達した8月中旬に打ち切られている事もあり年間陽性率はそれぞれ28.0%、32.9%と前3年に比べ低下した。

昭和49年の抗体陽性豚の出現は非常に特徴的であった。年間240頭のうち僅か3頭のみが抗体陽性であった。このことは全国的な傾向であり、全くウイルスの動きが観察されなかった地域は、全国で1道、1都、21県にも及んだ。

全国的に再流行の兆しが見られ、岐阜県でも3年ぶりに患者が報告された昭和53年の抗体陽性率は、8月上旬に92%に達し、新鮮感染抗体もその前週に見られた。年間陽性率は昭和47年以来50%を越えていなかったが、昭和53年には67.4%に達した。

昭和56年以降62年まで7年間は8月中旬迄に抗体陽性率が50%に達し、新鮮感染抗体もそれ以前に見られ

た。また、毎年年間陽性率が50%を越え、昭和40年から43年の流行期に似たウイルスの浸淫状況であったが、発生患者数は全国でも21人から44人の間であった。

### 3. 年代別、HI抗体価別にみた豚の抗体保有状況

昭和40年から5年毎に成績を集計しHI抗体価別に件数と率を表3に示した。最初の5年間は日脳流行期であり、抗体保有率も65.5%と高く、抗体価別にみると、高抗体価の検体が多く、抗体価10倍以上の抗体陽性検体1040件のうち320倍以上の検体が949件と91.3%を占めた。

45-49、50-54の年代は抗体保有率は低く18.9%、37.6%ではあったが、抗体価別には320倍以上が95.2% (217/228)、87.3% (296/339) と高抗体価に偏っていた。

55-59、60-63の年代は抗体保有率が再び上昇し59.6%、59.2%であった。しかし、それ以前の流行期とは異なり320倍以上の検体は減少し、37.5% (186/496)、19.9% (90/452) であった。これに反して、40倍以下の抵抗抗体価の検体が多くなり、前3年代にはそれぞれ3.2%、2.2%、7.4%であったものが、55-59年代26.2% (130/496)、60-63年代43.4% (196/452) になった。



表3 年代別, HI抗体価別, 抗体保有状況

年 代 昭 和	件 数 率	HI 抗 体 価						合 計
		< 1 0	1 0	20~40	80~160	320~640	640 <	
4 0 4 4	1583 %	547 34.6	9 0.6	24 1.5	54 3.4	220 13.9	729 45.9	1040/1588 65.5
4 5 4 9	1209 %	981 81.1	3 0.2	2 0.2	6 0.5	56 4.6	161 13.3	228/1209 18.9
5 0 5 4	902 %	563 62.4	13 1.4	12 1.3	18 2.0	116 12.9	180 20.0	339/902 37.6
5 5 5 9	832 %	366 40.4	46 5.5	84 9.0	180 21.6	79 9.5	107 12.9	496/832 59.6
6 0 6 3	763 %	311 40.8	103 13.5	93 12.2	166 21.8	84 11.0	6 0.8	452/763 59.2

## 考 察

日脳患者発生数の多かった昭和40年から43年の抗体陽性豚の出現状況と、昭和57年以降のそれとは表2でみる限り似通ってみえる。つまり、抗体調査開始時から抗体陽性豚が見られ、比較的早い時期に陽性率50%を越え、日脳ウイルス汚染地区に指定されてきた。年間抗体陽性率も昭和40—43年次は68—79%で、昭和57—62年次は60—76%であった。しかし、表3でみたように、HI抗体価別にみると大きく異なり、昭和40—44年代が高抗体価の検体が91.3%を占めるのに対して、昭和55—59年代は37.5%、昭和60—63年代は19.9%と少ない。これに反して40倍以下の低抗体価の検体が占める割合は高くなってきた。

京都府では、昭和52年から豚にワクチン投与を開始しており40倍以下の低抗体価の豚はワクチンの影響によるものであることを報告している<sup>3)</sup>。岐阜県においても同時期に母豚に対するワクチン投与が開始されたと思われ、昭和55年以降の低抗体価保有豚の増加は、母豚からの移行抗体を含むと思われる。以上の点を考慮すると、昭和55年以降の日脳ウイルスの浸淫状況は、かつての流行期ほど深刻ではないと考えられる。しかし、昭和55年以降も毎年、新鮮感染抗体を意味する2-ME感受性抗体が観察されている。これは、日脳ウイルスが現在も活動していることを意味し、条件さえ揃

えば日脳が再流行する可能性がある。したがって、今後とも本事業によりウイルスの散布状況を把握し、それに応じたワクチン接種等の対策が必要であろう。特に近年、免疫能力の低下した高齢層に患者が多発している<sup>4)</sup>。高齢化社会に向けて老後の健康確保の観点から、現行の日脳流行予測事業を含めて、日脳対策にきめ細かな施策が望まれる。

本報告は、過去24年間に本事業に携わられた先輩方の成績を現担当者である著者がまとめさせていただいたものである。

検体採取に当たり、大垣食肉衛生検査所および岐阜市中央保健所食肉検査課の職員の方々にお世話になったことを記し深謝します。

## 文 献

- 1) 国立予防衛生研究所学会編：ウイルス実験学，各論，132～146，丸善（1967）
- 2) 厚生省公衆衛生局保健情報課：伝染病流行予測調査報告書，70～97（1976）
- 3) 江崎久夫，石崎徹，藤田宣哉，上村紀子，ブタの抗日本脳炎ウイルス抗体による流行予測，京都府衛公研年報，33，146～147（1988）
- 4) 社団法人細菌製剤協会：最新予防接種の知識，52～63（1989）

岐衛研所報

Rep. Gifu  
Inst. P. H.コアグララーゼIV型によるブドウ球菌  
食中毒について長野 功\*, 所 光男\*, 後藤 喜一\*, 酒向 俊雄\*\*,  
奥村 直尊\*\*, 田中 一夫\*\*, 堀 実代子\*\*An Outbreak of Food Poisoning Caused by *Staphylococcus aureus* of Coagulase Type IVIsao NAGANO\*, Mitsuo TOKORO\*, Kiichi GOTO\*, Toshio SAKOU\*\*,  
Naotaka OKUMURA\*\*, Kazuo TANAKA\*\*, Miyoko HORI\*\*

ブドウ球菌（以下ブ菌）食中毒は岐阜県において、毎年3—4件の発生がみられ、腸炎ビブリオ食中毒について多い発生件数であり、また、全国的に見ても同様の傾向にある<sup>1)</sup>。

ブ菌は自然界に広く分布するため、本菌による食中毒と決定するには、食中毒発生時の疫学的調査に加えて、検出されたブ菌の型別がきわめて重要な検査となっている。ブ菌の型別は主にコアグララーゼ型別とエンテロトキシン型別が行われており、両型別ともに操作は比較的容易であるが、エンテロトキシン型別用キットはかなり高価であるため、我々は通常の食中毒の検査に際してはコアグララーゼ型別のみを行っている。

現在、コアグララーゼ型はI—VIII型の8種類に区別されているが<sup>2)</sup>、食中毒事例よりのブ菌はII, III, VI, VIIの4型にほとんどが集中し、その他の型はきわめてまれであると報告されている<sup>3) 4)</sup>。

今回、我々はコアグララーゼIV型によるブ菌食中毒を経験したのでその概要を報告する。

## 材料および方法

## 1. 被検材料

患者便3件、摂食者（健康者）便3件、調理従事者便3件、残品3件（うなぎの蒲焼き、魚肉ねり製品の煮物、冷やっこ）、拭き取り4件（まな板、包丁、冷蔵庫内の棚、冷蔵庫の取っ手）、使用水1件。

## 2. 検査法

ブ菌を含めた食中毒菌の検査は微生物検査必携<sup>5)</sup>に準じて行った。ブ菌のコアグララーゼ型別はブ菌コアグララーゼ型別免疫血清（デンカ生研製）を用い、潮田らの方法<sup>6)</sup>に従って行った。エンテロトキシン型別はSET-R PLA 生研（デンカ生研製）を用い、逆受身ラテックス凝集反応にて行った。

## 成 績

## 1. 疫学調査

表1に示したように、1988年10月21日、岐阜県揖斐郡大野町の一家庭において3名が食中毒症状を呈した。3名の共通食は当日の夕食のみであり、摂食者8名のうち3名が発症し、発病率は37.5%であった。発症者3名の夕食の摂食共通食品はうなぎの蒲焼き、煮物の2種の献立であった。うなぎの蒲焼きはスーパーにて当日11時から12時30分の間に調理されたものであり、

\* 岐阜県衛生研究所 : 500 岐阜市野一色4丁目6番3号

\* Gifu Prefectura Institute of Public Health : 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

\*\* 岐阜県大野保健所 : 501-05 揖斐郡大野町黒野塚廻り191

\*\* Gifu Prefectural Ohno Health Center : 191, Tsukamawari, Kurono, Ohno-cho, Gifu 501-05, Japan

表 1 食中毒発生概要

発生年月日	1988年10月21日
原因施設	家庭
原因施設所在地	岐阜県揖斐郡大野町
摂食者数	8名
患者数	3名
発病率	37.5%
推定原因食品	うなぎの蒲焼き
潜伏時間	4時間

表 2 臨床症状

症 状	下痢	発熱	嘔気	嘔吐	悪寒	倦怠感
患者数(人)	2	1	3	3	1	3
発現率(%)	66.7	33.3	100	100	33.3	100

症 状	裏急後重	臥床	頭痛	戦慄	脱力感
患者数(人)	1	3	2	1	3
発現率(%)	33.3	100	66.7	33.3	100

再加熱することなく18時の夕食に提供されていた。煮物は17時ごろより加熱調理を行い、提供されていた。

潜伏時間は平均4時間で、患者の症状は表2に示したように嘔吐、嘔気が必発症状であり、発熱は3名中1名のみ認められた。

## 2. 細菌学的検査

表3に示したように、ブ菌は患者3名中3名、無症状の摂食者3名中2名より分離され、分離率は83.3%であった。しかし、患者便中のブ菌数は直接分離で1平板に1-2個と、極めて少なかった。また、食品のうなぎの蒲焼きから約

表 3 ブドウ球菌検出状況

検 体	検体数	陽性数(菌数)
患者	3	3
摂食者便		
健康者	3	2
調理従事者便	1	0
残 品		
うなぎの蒲焼き	1	1(1×10 <sup>7</sup> /g)
煮物	1	0
冷やっこ	1	0
拭き取り	4	0
使用水	1	0

10<sup>7</sup>/gのブ菌が検出されたが、他の食品、拭き取りおよび使用水からは分離されなかった。なお、ブ菌以外の既知食中毒菌はどの検体からも分離されなかった。

患者便については1-2株、その他の検体については5株ずつコアグラゼ型別およびエンテロトキシン型別を実施した(表4)。計19株のうち17株がコアグラゼIV型でエンテロトキシンA型を産生した。型が異なる2株は1人の患者からの分離株で、1株がコアグラゼIII型でエンテロトキシンA型産生菌、他の1株はコアグラゼVII型でエンテロトキシンB型産生菌であった。

表 4 ブドウ球菌のコアグラゼ型およびエンテロトキシン型

検 体	菌株数	コアグラゼ型	エンテロトキシン型
摂食者便(患者)	1	III(1※), VII(1)	A(1), B(1)
	2	IV(1)	A(1)
	3	IV(1)	A(1)
摂食者便(健康者)	1	IV(5)	A(5)
	2	IV(5)	A(5)
うなぎの蒲焼き	5	IV(5)	A(5)

※ 菌株数

## 考 察

ブ菌食中毒事例において分離されるブ菌のコアグラ<sup>3)</sup>ゼ型は、II, III, VI, VII型に限られることが善養寺<sup>4)</sup>ら、また寺山<sup>7)</sup>らによって報告され、1981年の全国的調査においても確実にその他の型のブ菌が原因となったものは1例もなかったと報告されている。しかし、品川<sup>8)</sup>らの報告をはじめとして、他のコアグラ<sup>9),10)</sup>ゼ型によると思われるブ菌食中毒事例も数例が報告されており、I, IV, V, VIII型での食中毒発生の可能性も考えられるようになってきた。

今回の事例においては、臨床症状、潜伏時間および細菌学的検査より典型的なブ菌食中毒と考えられ、患者1人を除いて分離されたブ菌がすべてIV型であったことよりIV型菌による食中毒と決定した。II, III, VI, VII型菌以外のブ菌による食中毒は本県においてははじめての事例である。

原因食品は疫学調査および細菌学的調査より、うなぎの蒲焼きと推定され、調理後何らかの機会にブ菌に汚染されたうなぎの蒲焼きを長時間室温にて放置したため、発症菌量に至ったものと考えられる。しかし、原因食品のうなぎの蒲焼きからかなりの数のブ菌が検出されているにもかかわらず、患者便の菌数は少なく、またIV型菌が分離されなかった検体もあった。このことについては、ひとつには患者に抗生剤等が投与されていた可能性が考えられる。また、検体の採取時期の遅れなどの問題があったのかもしれない。

また、ブ菌食中毒事例において分離されるブ菌のエンテロトキシン型はそのほとんどがA型またはA型と他の型との混合型<sup>7)</sup>であり、今回の事例においても1株以外はすべてA型であった。

ヒト、食品などにおけるブ菌の分布はエンテロトキシンA型産生菌または特定のコアグラ<sup>11)</sup>ゼ型の菌が多いわけではない。しかし、食中毒事例からの分離株が特定の型に偏っているのは、今後、食中毒事例の集積などにより解決されねばならない問題点であろう。

## 文 献

- 1) 厚生省生活衛生局食品保健課：昭和63年食中毒発生概要，食品衛生研究，39，61-88，1989.
- 2) 潮田 弘，寺山 武，新垣正夫，坂井千三，善養寺浩：黄色ブドウ球菌の新抗原型コアグラ<sup>7)</sup>ゼVIII型の同定，東京都衛研年報，27，1-4，1976.
- 3) 善養寺浩，寺山 武，潮田 弘，五十嵐英夫：ブドウ球菌食中毒に関する研究（第1報）東京都において発生した本食中毒の原因食品の種類と原因菌のコアグラ<sup>7)</sup>ゼ型について，食衛誌，12，311-331，1971.
- 4) 寺山 武，潮田 弘，新垣正夫，稲垣美佐子，甲斐明美，坂井千三：最近10年間に東京都で発生したブドウ球菌食中毒原因菌のコアグラ<sup>7)</sup>ゼ型と原因食品，東京都衛研年報，28，1-4，1977.
- 5) 厚生省監修：微生物検査必携，細菌・真菌検査，第3版，日本公衆衛生協会，東京，1987.
- 6) 潮田 弘，寺山 武，坂井千三，善養寺浩：黄色ブドウ球菌のコアグラ<sup>7)</sup>ゼ型簡易法とその応用，東京都衛研年報，26，1-6，1975.
- 7) ブドウ球菌エンテロトキシン研究会：ブドウ球菌食中毒におけるエンテロトキシン検査および原因菌の型別成績，食品衛生研究，31，193-201，1981.
- 8) 品川邦汎，中原正良，國田信治：コアグラ<sup>7)</sup>ゼタイプIV型によるブドウ球菌食中毒例について，大阪府公衛研所報，6，13-16，1975.
- 9) 吉田幸紀，品川邦汎，武政二郎：コアグラ<sup>7)</sup>ゼV型によるブドウ球菌食中毒について，日防菌防衛誌，11，3-7，1983.
- 10) 中菌加奈，安形則雄，森 正司，金田誠一：コアグラ<sup>7)</sup>ゼタイプIV型によるブドウ球菌食中毒例について，名古屋市衛研所報，34，88-90，1988.
- 11) 寺山 武：ブドウ球菌食中毒，食衛誌，28，142-148，1977.

岐衛研所報

Rep. Gifu  
Inst. P. H.比色法による飲料水の pH 測定の  
問題点の検討

寺 尾 宏\*, 森 仁\*, 今 井 準 三\*

Study of Some Problems on the pH Measurement of Drinking  
Water by Colorimetric Method.

Hiroshi TERAO\*, Hitoshi MORI\*, Junzo IMAI\*

## はじめに

我々を取り巻く環境レベルで起きる自然の化学反応、あるいは人体内部で起きる生化学反応も大部分が水の共存下で起こり、これらの反応に pH が重大な役割を演ずることが知られている。pH は水の性質を表す最も基本的な項目の1つであり、pH の1の違いは水質を大きく異にし、まったく別の水質となってしまう。pH は常識的には水素イオン濃度、あるいは水素イオン活量の常用対数の逆数と定義されている。しかし、現実的にはこれらの測定はできないので、決められた組成をもった緩衝液を代用標準として pH のスケールが決められており、日本では日本工業規格 (J I S Z 8802-1981 など) によって測定法と共に規格化されている。

水道法に基づく水質基準では pH 値は 5.8 以上、8.6 以下と定められているが、さまざまな要因で基準外の数値となることもある。特に、地下水やそれを水源とする水道水では溶存二酸化炭素 (遊離炭酸) の影響で低い値となる傾向がみられ、水源の選定などに対して pH の測定結果は遊離炭酸濃度とともに選定基準の1つとなり、施設、配管などの機材の選定、場合によっては遊離炭酸除去装置の設置の必要もでてくる。

pH の測定は、ガラス電極 (pH メータ) による方法が一般に用いられているが、水道法に基づく省令の方法では比色法が採用されている。比色法は、「適当

な pH をもつ標準溶液中の指示薬の色調と等しい色調をもつ溶液は、標準溶液の pH と等しい値をもつ。」という仮定の上に成り立っている。比色法は、比較的操作が簡単で、現場での使用が容易であり、指示薬を添加した試料と標準液の色調を肉眼で比較するため機器を用いる方法に比べ大きな誤差が生じにくい。しかし、試料に濁り、着色がみられたり酸化還元物質を含んでいる場合などは測定が困難であり、また谷川水のような緩衝作用が小さい試料の場合には、ガラス電極法に比較して正確な測定ができないことも考えられ、十分な注意が必要である。

今回、日常の水質検査における精度向上を目的として、水道法に採用されている比色法による pH 測定について、いくつかの問題点を取り上げ検討を行った。

## 方 法

検討の対象とした指示薬は省令の方法に採用されている BCP, BTB, PR, TB の4種類である。それぞれ省令の方法によって調製したもの (希薄な水酸化ナトリウム溶液)、および市販品 (東洋科学製・アルコール溶液) を使用し、0.2 単位の比色列と比較することにより 0.1 まで目視した。なお、比較のためにガラス電極法 (岩城硝子製 M-13D 型 pH メータ) による測定も行った。

また、導電率の測定も導電率計 (電気化学計器製 ACO-10) を使用して必要に応じて行った。

\* 岐阜県衛生研究所 : 500 岐阜市野一色 4 丁目 6 番 3 号

\* Gifu Prefectural Institute of Public Health : 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

## 結果および考察

## 1. 指示薬の添加による pH の変動

指示薬自身のもつ液性 (pH) のために、指示薬の添加によって測定試料の pH が変動することも考えられるので、その影響について検討を行った。そこでまず指示薬自身 (原液) の pH を pH メータで測定し、蒸留水の pH と比較した。

また実際には、試料 5 ml に対し 0.25 ml の割合で指示薬が添加され、約 20 倍に指示薬が希釈されるので、緩衝作用のほとんどない蒸留水で 20 倍に希釈した指示薬の pH についても pH メータで測定を行った。

表 1 に結果を示したように、指示薬自身の pH (原液) は、省令の方法で調整したものが、蒸留水と比較していずれも高い値を示し、特に TB、BTB では 2 以上の大きな差がみられた。これは省令の方法で調製

表 1 指示薬自身の pH の測定結果

指示薬		原液	$\Delta$ pH	20倍希釈液	$\Delta$ pH
BCP	省令	5.90(56)	0.63	5.53(4)	0.26
	市販品	4.78(44)	-0.49	5.18(5)	-0.09
BTB	省令	7.70(52)	2.43	5.94(3)	0.67
	市販品	5.34(37)	0.07	5.21(4)	-0.06
PR	省令	6.92(46)	1.65	5.43(3)	0.16
	市販品	5.23(63)	-0.04	5.13(7)	-0.14
TB	省令	8.83(73)	3.56	5.90(4)	0.63
	市販品	7.06(50)	1.79	5.34(5)	0.07

\* 希釈に使用した蒸留水の pH は 5.27,  $\Delta$  pH は蒸留水の pH との差を示す。( ) は導電率  $\mu\text{S}/\text{cm}$  を示す。

した指示薬が希薄な水酸化ナトリウム溶液であることが影響していると考えられる。

この傾向は、20 倍希釈液にもみられた。省令の方法で調整した指示薬の 20 倍希釈液は、指示薬自身の pH の影響を受けており、BTB、TB では蒸留水と比較して 0.6 以上の差が認められた。これに対して、アルコール溶液は各指示薬とも蒸留水と比較して 0.1 程度の差しかなく、指示薬自身が小さいことが明らかになった。

以上の結果から、溶存成分の少ない緩衝作用の小さい試料の測定では指示薬の影響が出る可能性も考えら

れるが、水酸化ナトリウム溶液よりアルコール溶液の方が影響が少ないと考えられる。

以下の検討はアルコール溶液である市販品 (東洋科学製) を使用して行った。

## 2. 残留塩素を含む試料 pH の測定

省令の測定法では、強い酸化剤である残留塩素の分解除去のために、指示薬を加える前に 0.3% チオ硫酸ナトリウム溶液を添加するが、この添加により試料の pH をシフトさせる可能性も考えられるので、その影響について検討した。

0.3% チオ硫酸ナトリウム溶液の pH、導電率の測定を行ったが、それぞれ 5.84、2570  $\mu\text{S}/\text{cm}$  であった。調製に使用した蒸留水の pH は 5.41 であり、これと比較すると 0.4 程度アルカリ側に傾いている。また、導電率は通常の飲料水と比較すると 10 倍以上の値を示した。

表 2 にチオ硫酸ナトリウム溶液の添加による pH の変化を示した。試料は蒸留水 (A) と溶存成分量の異

表 2 pH に対するチオ硫酸ナトリウム溶液の影響

希釈水	A	5.43(0.7)	B	6.45(23)	C	6.49(72)
希釈倍率						
$\times 10$		5.76(296)		6.57(309)		6.54(339)
$\times 50$		5.60(65)		6.54(87)		6.53(121)
$\times 100$		5.51(32)		6.53(54)		6.54(98)
$\times 500$		5.40(8)		6.47(51)		6.48(76)

\* ( ) 内は導電率  $\mu\text{S}/\text{cm}$  を示す。

なる 2 種類の水道水 (B、C) を用いた。省令の方法では試料 5 ml に対して 1 滴 (約 0.05 ml) の割合で添加し約 100 倍に希釈されるが、10 倍から 500 倍の範囲で検討を行った。その結果、希釈倍率が大きくなるに従って pH への影響は小さくなるが 100 倍希釈液では A、B で 0.08 の差が認められた。

また、導電率は 100 倍液で約 30  $\mu\text{S}/\text{cm}$  程度上昇することも考え合わせると緩衝能の小さい試料の場合 pH に影響が出る可能性も十分考えられる。

試料の pH を正確に測定するためには、指示薬以外の添加はできるだけ避けたい。上水試験方法ではチオ

硫酸ナトリウム溶液の添加は残留塩素を含む場合に限っている。そこで、残留塩素を含むチオ硫酸ナトリウム溶液を添加せずに測定を行うと pH にどの程度影響があるか検討を行い、その結果を表3に示した。

表3 残留塩素を含む試料のpH測定結果

	残 Cl <sub>2</sub>	pH (C)	pH (G)		残 Cl <sub>2</sub>	pH (C)	pH (G)
B C P	0	6.0	6.06	B T B	0	6.4	6.37
	0.4	6.0	6.03		0.4	6.3	6.30
	1.0	6.1	6.09		1.0	6.2	6.27
	1.5	6.1	6.18		1.5	6.2	6.36
	2.0	6.1	6.21		2.0	6.3	6.42
	2.5	6.1	6.26		2.5	6.2	6.38
P R	0	7.7	7.68	T B	0	8.5	8.58
	0.4	7.7	7.64		0.4	8.5	8.58
	1.0	7.7	7.70		1.0	8.6	8.61
	1.5	7.7	7.72		1.5	8.9	8.63
	2.0	7.7	7.74		2.0	8.9	8.66
	2.5	7.7	7.70		2.5	9.0	8.68

\* pH(C), pH(G)は各々比色法, ガラス電極法で測定した pHを示す。

表4 比色法とガラス電極法のpHの比較 (42試料)

pH (C)	pH (G)	△ pH	E C	pH (C)	pH (G)	△ pH	E C
6.1	6.1(6.12)	0	15	6.5	6.6(6.58)	- 0.1	190
5.7	5.7(5.72)	0	89	6.6	6.6(6.60)	0	136
5.8	5.7(5.73)	+ 0.1	97	6.4	6.4(6.38)	0	210
5.9	6.0(5.98)	- 0.1	71	7.2	7.1(7.14)	+ 0.1	88
7.3	7.3(7.26)	0	126	6.8	6.8(6.79)	0	83
6.1	6.2(6.16)	- 0.1	133	7.1	7.0(7.03)	+ 0.1	213
6.1	6.1(6.08)	0	215	7.0	6.9(6.93)	+ 0.1	72
7.4	7.5(7.48)	- 0.1	132	6.4	6.4(6.42)	0	176
6.1	6.1(6.12)	0	127	5.6	5.7(5.68)	- 0.1	214
6.1	6.1(6.13)	0	129	6.5	6.6(6.55)	- 0.1	126
6.1	6.1(6.13)	0	147	6.7	6.6(6.56)	+ 0.1	81
7.2	7.2(7.18)	0	151	6.3	6.3(6.33)	0	200
7.3	7.4(7.40)	- 0.1	92	7.3	7.4(7.39)	- 0.1	99
6.6	6.6(6.63)	0	195	6.6	6.7(6.69)	- 0.1	82
8.6	8.5(8.53)	+ 0.1	156	7.0	7.0(6.98)	0	75
6.7	6.7(6.68)	0	179	6.6	6.6(6.58)	0	187
6.6	6.6(6.58)	0	176	5.9	5.9(5.93)	0	224
7.1	7.1(7.07)	0	40	6.5	6.6(6.58)	- 0.1	137
6.5	6.6(6.62)	- 0.1	166	6.7	6.7(6.68)	0	84
6.7	6.8(6.78)	- 0.1	88	6.4	6.4(6.42)	0	203
7.1	7.0(7.04)	+ 0.1	222	6.7	6.7(6.68)	0	176

\* pH(C), pH(G)は各々比色法, ガラス電極法で測定したpHを示す。

E C (導電率)の単位は  $\mu S/cm$

測定試料は水道水(導電率 $27\mu S/cm$ )に指示薬の変色領域のほぼ中間のpHになるように水酸ナトリウム溶液を添加して調製した。残留塩素濃度は次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加してコントロールしたが、

濃度によってわずかにpHに差がみられたのは次亜塩素酸ナトリウム溶液がアルカリ性のため影響を受けたと思われる。4種類の指示薬について比色法とガラス電極法のpHを比較すると、通常の水道水中の残留塩素濃度レベルである $0.4\text{ mg}/\ell$ , さらに $1.0\text{ mg}/\ell$ でも差が認められなかった。しかし、 $1.5\text{ mg}/\ell$ ではBTB, TBで差がみられ、残留塩素が指示薬の色調に影響を与えていることを示唆した。

以上の結果から、通常残留塩素の濃度レベルでは、必ずしも添加の必要はないことが明らかになった。

### 3. 比色法とガラス電極法の比較

比色法の信頼性をみるために、同一試料を比色法とpHメータで測定を行い比較検討を行った。

測定は水道水, 飲用井戸水合わせて42試料について行い、比色法で測定したpHと、pHメータで小数2けたまで計測し四捨五入して求めたpHの比較を行い、結果を表4に示した。その結果、過半数を超える23試料で測定値が一致し、+0.1の差が7、-0.1が12試料であり、0.2以上の差はみられなかった。各試料の導電率も測定したが

表5 異なる指示薬による比色列境界領域のpHの測定

	BCP	BTB	PR	電極
1		7.0	7.0	6.96
2		7.0	7.0	6.98
3		7.1	7.1	7.04
4		7.4	7.3	7.48
5		7.2	7.1	7.18
6		7.3	7.3	7.40
7		7.0	7.0	7.07
8	6.2	6.1		6.16
9	6.0	5.9		5.93
10	6.6	6.5		6.58
11	6.8	6.7		6.68
12	6.6	6.4		6.42
13	6.6	6.6		6.60
14	6.4	6.4		6.38
15	6.8	6.7		6.78

pH との関連性はみられなかった。

以上のように、両者の間で良い一致がみられた。比色法は測定時に機器の調整をする必要がなく簡便な測定法であるが、水道水を対象とした場合、十分注意して用いればガラス電極法に匹敵する正確さが得られると思われる。

しかし、pH が5以下の酸性水の測定では、両方法で差がみられ、比色法が過小にでる傾向があるといわれている<sup>3)</sup>。また、海水、あるいは塩類濃度の高い温泉水などでは、指示薬の解離状態が変化して誤差が大きくなることも指摘されている<sup>4)</sup>。

#### 4. 比色列境界域における pH

pH 指示薬は、一般に変色領域の中間部分で最も大きな変化を示し、両端では色の変わり方が不明瞭で、正確な判断がつきにくい。省令の方法ではそれぞれの指示薬について測定範囲が決められているが、市販の標準比色列（東洋科学製）では、各指示薬とも省令の方法と比較してより広い範囲がカバーされ別の指示薬と測定範囲がオーバーラップしている。

従って、境界領域付近の pH をもつ試料は使用する指示薬によって pH に違いが認められる可能性も考え

られるので、境界域の pH をもつ試料を2種類の指示薬を使って測定し比較を行い、結果を表5に示した。BCP と BTB の間では BCP で測定した pH がわずかに高い値を示す傾向が認められたが、ガラス電極法の値と比較すると三者で明確な差はみられなかった。ただし、BCP は 6.6~7.0 の範囲は変色が分りにくかった。一方、BTB と PR との間には明確な差はみられなかった。7.0~7.4 付近は両指示薬とも比較的変色が明瞭である。

試料をどの指示薬で測定するかは、省令の方法によって測定範囲を区別してもよいが、一連の測定を行っているときは同一指示薬を使用したほうがよいことも考えられる。例えば、経時的な pH 変動を測定する場合など途中で指示薬が変わると誤差を生む要因となる可能性も考えられ、また、測定値とともに使用した指示薬名も記録しておくことも大切である。

#### ま と め

指示薬を用いる比色法による pH 測定の問題点について検討を行った。飲料水を対象とした場合ガラス電極法に匹敵するような正確さで測定が可能であることが確認できた。

#### 謝 辞

本研究は、昭和63年度岐阜県簡易水道協会の委託研究として行った。研究の機会をいただいた同協会、および県業務水道課の方々に感謝致します。

#### 文 献

- 1) 佐藤 弦, 本橋亮一: pH を測る. 2~5, 丸善, 1987
- 2) 日本化学会・編: 新実験化学講座 基礎操作 I, 204~213, 丸善, 1975
- 3) 半谷高久, 小倉紀雄: 水質調査法 (2版), 188~198, 丸善, 1985
- 4) 三宅泰雄, 北野 康: 新水質化学分析法, 47~59, 地人書館, 1976



岐衛研所報

Rep. Gifu  
Inst. P. H.二波長クロマトスキャナーによるリン酸  
リボフラビン分解物の測定

坂井至通\*, 堀実代子\*\*, 今井準三\*

## Determination of Decomposed Products in Riboflavin Phosphate by Dual-wave-length Chromatoscanner

Yoshimichi SAKAI\*, Miyoko HORI\*\*, and Junzou IMAI\*

## はじめに

リン酸リボフラビン (FMN) およびリボフラビン (RF) は, 注射剤, 散剤, 錠剤として医療用に, また保健栄養剤として一般用医薬品に広く配合されている。FMN および RF は光に対して敏感で, 分解物としてルミフラビン (LF), ルミクローム (LC) などを生成することが知られており, 医薬品としての品質を保証する上でこれら不純物の測定が必要である。

医薬品製剤中の FMN および RF の定量法としては, 一般にルミフラビンケイ<sup>5, 6)</sup>光法が利用されているが, 近年は HPLC 法も多く用いられている。しかし, RF や FMN の分解物を測定する時, ルミフラビンケイ<sup>7~9)</sup>光法では, 分解物の分離定量はできず, また HPLC 法を適用する場合も他の有効配合成分や製剤化に使用された賦形薬の妨害によって, 困難な場合が多い。そこで混合製剤中の FMN 分解物を容易に同時測定する方法として二波長クロマトスキャナーの応用を検討したので報告する。

## 実験方法

## 1. 試薬

RF 標準品: 国立衛生試験場より日局11標準品を購入した。

試薬: FMN は局方品を保栄薬品, LC は東京化成, LF は Sigma 社よりそれぞれ購入した。FMN は, Cairns<sup>4)</sup>らの方法によって RF より合成した。

試料: 医薬品製造用 FMN 原料 4 検体 (いずれも局方品), FMN を含有した市販のビタミン主薬製剤 (以下ドリンク剤と略す) 10 検体およびモデル処方 1 検体を調製し, 配合成分名および配合量を表 1 に示した。標準溶液の調製: FMN および RF は, 約 10 mg を精密に量り, 蒸留水に溶かして 100 ml とした。LC および FMF は, 約 5 mg を精密に量り n-ブタノールに溶かして 100 ml とし, さらに n-ブタノールで 10 倍希釈した。LF は, 約 5 mg を精密に量りアセトニトリルに溶かして 100 ml とし, さらにアセトニトリルで 10 倍希釈した。

## 2. 試験方法

モデル処方およびドリンク剤溶液 5 ml (RF または FMN の 0.5~2 mg) を正確に取り, 予めメタノール 10 ml, 蒸留水 10 ml で順次洗浄した Sep-pak C18 に通して吸着させ, 25%アセトニトリル水で, 5 ml のメラフラスコに溶出させた。Sep-pak C18 からの溶出液 5  $\mu$ l をプレコートシリカゲル 60F254 (20 $\times$ 10 cm) 上にスポットし, n-ブタノール-酢酸-水 (4:1:5, 上層) を展開溶媒とし, 約 10 cm 展開した。試料溶液の調製から展開までの操作は, すべて暗室内で行った。分離した各スポットは, 二波長クロマトスキャナー (島津 CS-900) により, 励起波長 365 nm, 測定ケイ光波長 550 nm および 450 nm, リニアスキャン法, スリット幅 10.0 mm の条件で測定した。標準溶液は, 試料からの分解物のスポットの大きさに合わせ適宜希釈して用いた。

\* 岐阜県衛生研究所: 500 岐阜市野一色 4 丁目 6 番 3 号

\* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

\*\* 現在, 岐阜県消費生活センター: 500 岐阜市佐久間町 4 番地

\*\* Gifu Consumers Life Center: 4, Sakuma-cho, Gifu 500, Japan

表 1 市販ドリンク剤およびモデル処方 of 配合成分処方

constituent	marketed drinkable preparations								model preparation	
	A	B	C	D	E	F	G	H		
FMN	5 <sup>mg</sup>	5	4	4	5	5	5	5	2	3
Thiamin nitrate	10	10	6	10	10	5	5	10	10	10
Pyridoxine · HCl	10	5	6	4	5		5	2	1	10
Nicotine amide	40	20	20	40	20	20	20	5		20
Caffein	80	50			30	50	50		30	50
Aminoethyl-sulfonate	3000	2000	1500			1000	1000	1000	1000	1000
Carnitine chloride					100		100	100	60	
Ninjin-extract	84	90	28		10				10	1.8 <sup>ml</sup>
Goo-tincture	0.1 <sup>ml</sup>									0.6 <sup>ml</sup>
Ikariso-extract									10	20
Hanpi-tincture									0.2 <sup>ml</sup>	
Garana-extract					0.5 <sup>ml</sup>			50	20	
Kukoshi-extract									20	
Inositol	200	100			50					
Royal jelly	400		200					50	50	
Honey								2000	2000	
Ethanol	< 0.4 <sup>ml</sup>	< 0.7 <sup>ml</sup>	< 0.6 <sup>ml</sup>	< 1.1 <sup>ml</sup>		< 1.3 <sup>ml</sup>		0.8 <sup>ml</sup>	0.8 <sup>ml</sup>	

結果および考察

1. FMN, RF およびこれらの分解物の分離定量  
RF, FMN およびこれらの分解物 FMF, LF, LC

(以下, RF に関連したこれらの化合物を RF 関連化合物とする) の各構造式を図 1 に示した. FMN は, RF のリン酸エステルで RF に比べ水溶性が高い

ので, ドリンク剤の多くは FMN として配合している.

そのため FMN は, 加水分解して RF となる. また, RF および FMN は光に対して不安定であり, 中性および酸性条件下で光分解によって FMN, LC を生じ, 塩基性条件下では, LF を生じることが知られている. RF および FMN の定量法として利用されているルミフラビンケイ光法は, RF 関連化合物を塩基性条件下で光分解させ, 最終的に LF とし, LF のケイ光強度を比較定量することによっている. これらの RF 関連化合物をペーパークロマトグラフ法によって分離確認する方法が報告されているが,

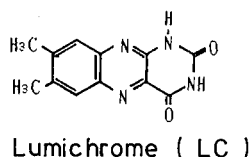
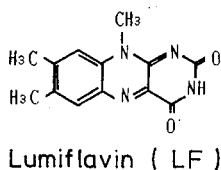
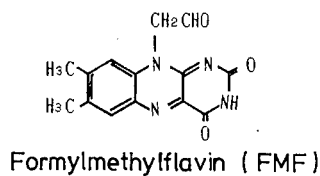
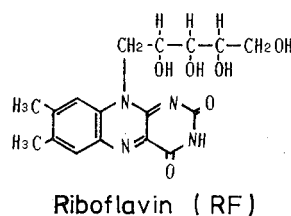
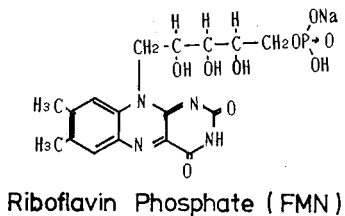


図 1 リン酸リボフラビンおよびリボフラビン関連化合物の構造

分別定量は困難である。

RF 関連化合物の薄層板上での分離状況を Rf 値で示すと、FMN 0.15, RF 0.40, LF 0.50, FMF 0.70, LC 0.85 であった。露光下と暗室内で展開した場合を比較すると、露光下では標準の FMN や RF から展開中に分解したと考えられる FMN, LF, LC などを認めることから、試料溶液の調製から展開まで操作は、暗室内で行った。二波長クロマトスキャナーによって薄層板上の各化合物を測定する場合の測定ケイ光波長は、図 2 に示したように、励起波長を 365 nm とし

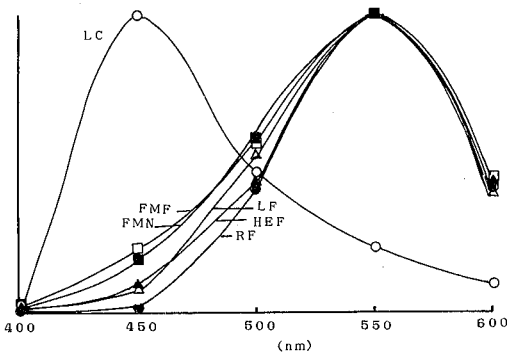


図 2 リン酸リボフラビンおよびリボフラビン関連化合物のケイ光スペクトルグラフ

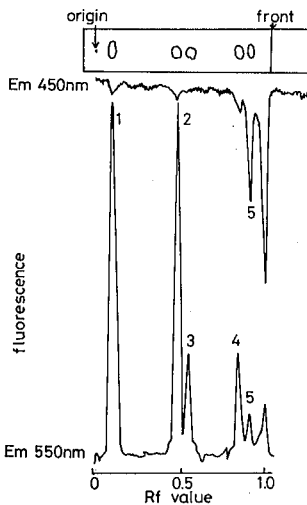


図 3 リン酸リボフラビンおよびリボフラビン関連化合物の二波長クロマトスキャナによる測定例

1 : FMN 2 : RF 3 : LF 4 : FMF 5 : LC

た時、FMN, RF, FMF, LF は 550 nm にケイ光波長があるのに対し、LC は 450 nm にケイ光波長が計測された。そこで二波長クロマトスキャナーでの測定条件は、励起波長は 365 nm、測定波長は、450 nm および 550 nm とした。この時の測定例を図 3 に示した。

2. Sep・pak C18 による前処理法の検討

試料溶液中の RF 関連化合物を Sep・pak C18 に吸着させた後、アセトニトリル水で溶出する場合の混合率の影響を検討し図 4 に示した。試料は、モデル処

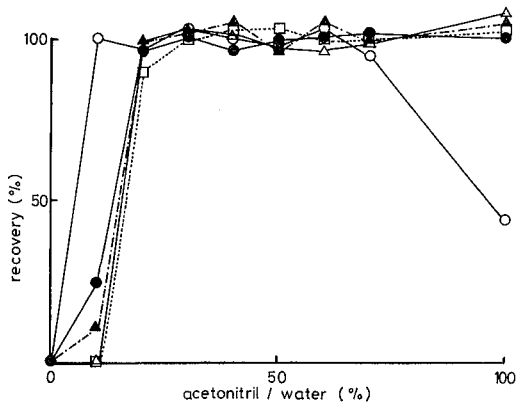


図 4 Sep・pak C18 からのリン酸リボフラビンおよびリボフラビン関連化合物の溶出

—○— : FMN, —●— : RF, —△— : LF,  
—▲— : FMN, —□— : LC

方に RF 0.1mg, LF 0.04 mg, FMF 0.2 mg および LC 0.34 mg を添加し使用した。FMN は、10~70% のアセトニトリルの混合率で、RF, LF および FMF は 20% 以上のアセトニトリルの混合率で、ほぼ 100% の回収率を得た。LC は 20% 以下 75% 以上のアセトニトリル混合率で回収率の低下が認められた。そこで、RF 関連化合物の Sep・pak C18 からの溶出には 25% アセトニトリル水を用いた。

また、試料溶液中の RF 関連化合物の Sep・pak C18 への吸着および溶出は、表 2 に示したようにほぼ 100% の回収率が得られ、変動係数は 1.4-5.8% と良好であった。二波長クロマトスキャナーでの検出限界は、それぞれ FMN 0.02 μg, RF 0.03 μg, FMF 0.02 μg, LF 0.07 μg, LC 0.15 μg であった。

表 2 モデル処方中に添加したリン酸リボフラビンおよびリボフラビン関連化合物の回収率

compound	Rf value	amount		recovery (%)				mean	SD	CV
		(mg/100 ml)								
FMN	0.15	3	100.1	103.4	105.8	107.1	109.5	105.2	3.6	3.4
RF	0.40	0.1	100.8	97.9	98.6	100.9	100.3	99.7	1.4	1.4
LF	0.50	0.04	96.4	91.4	98.4	107.2	97.8	98.2	5.7	5.8
FMF	0.70	0.2	106.4	94.3	95.4	99.3	106.1	100.3	5.7	5.7
LC	0.85	0.34	103.7	106.1	104.9	102.3	104.9	104.4	1.4	1.4

## 3. 市販試料への応用

表1に示した市販ドリンク剤A-Iの組成表では、チアミン、ピリドキシン、ニコチン酸、アミノエチルスルホン酸などが共通して配合されており、一般用医薬品集<sup>11)</sup>を調査した結果も、同様の傾向が認められた。また、ニンジンエキス、ゴオウチンキ、ガラナエキスなどの生薬エキスを配合したドリンク剤もあり、モデル処方は、これら市販ドリンク剤の組成を参考にして調製した。

FMN以外のチアミン、ピリドキシン、ニコチン酸アミドなどの水溶性ビタミンは、RF関連化合物を測定する条件下ではケイ光を発せず、また、生薬エキスも二波長クロマトスキャナで測定する場合に妨害とならなかった。しかし、矯味薬として大量に(主薬に対し、約 $10^3 \sim 10^4$ 倍)配合される白糖、蜂蜜、有機酸などが、試料溶液を直接薄層板に塗布すると、展開溶媒

の浸透や移動に影響し、Rf値が標準品より低くなったりスポットが変形し測定が困難となる試料があった。この妨害は、Sep-pak Cl8処理することによって除去することができた。

市販ドリンク剤中のRF関連化合物の定量結果を表3に示した。FMNは、98.1-112.2%、RF 2.1-4.4%、LF、FMFおよびLCは検出されなかった。各ドリンク剤の医薬品製造承認書のFMN含量規格は、表示量に対し90-115%となっており、FMN含量の過不足による不良検体は検出されなかったが、FMNの一次分解物のRFが、FMNに対し1.89~4.26%量あったことから、保存によるFMNの分解が危惧された。そこで、ドリンク剤HとIについて同一製品の過去4年間の保存検体を入手し、二波長クロマトスキャナでRF関連化合物の定量を行った。その結果、図5に示したようにドリンク剤H中のFMN含

表 3 市販ドリンク剤中のリン酸リボフラビンおよびリボフラビン関連化合物の含量

preparation	content (% for labeled FMN)				
	FMN	RF	LF	FMF	LC
A	98.1	3.7	*	n.d.	n.d.
B	103.4	4.4	n.d.	n.d.	n.d.
C	107.2	4.2	n.d.	n.d.	n.d.
D	112.2	3.5	n.d.	n.d.	n.d.
E	106.2	3.2	n.d.	n.d.	n.d.
F	105.5	2.8	n.d.	n.d.	n.d.
G	108.2	2.9	n.d.	n.d.	n.d.
H	99.8	2.6	n.d.	n.d.	n.d.
I	111.2	2.1	n.d.	n.d.	n.d.

\* n.d. : not detected

量は安定しており、RFの多いものでも5%以下であった。他方ドリンク剤Iは、保存の長い検体ほどFMN含量が低下する傾向にあり、それに伴ってRF含量が増加していることから、保存中の経時的なFMNの加水分解が示唆された。これらいずれの試料からもFMF、LF、LCは検出されず、FMNからRFへの分解は認められるが、更にFMF、LFへの分解の進行は少ないものと思われた。

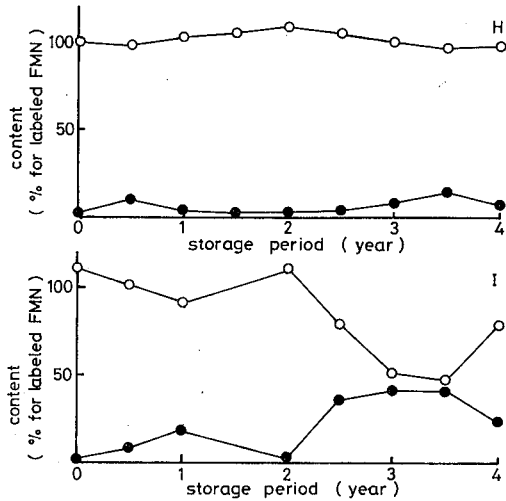


図5 保存ドリンク剤中のリン酸リボフラビンおよびリボフラビン関連化合物の含量変化

—○—: FMN, —●—: RF

また、ドリンク剤HとIで、FMNの安定性に大きな違いがあるのは、配合成分の相互作用による可能性があり、今後この点につき更に検討が必要と思われる。

#### 謝 辞

本研究を進めるに当たり、ご指導頂いた、岐阜薬科大学小瀬洋喜教授（現在 岐阜市立女子短期大学学長）に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 深町千晴, 桜井芳人: ビタミンB<sub>2</sub>の光分解に関する研究 (V), ビタミンB<sub>2</sub>の光分解による 6, 7-Dimethylflavin-9-acetic ester の生成について, ビタミン, 7, 939~942, 1954
- 2) E. D. Smith and D. E. Metzler: The Photochemical Degradation of Riboflavin, J. Am. Chem. Soc., 85, 3285~3288, 1963
- 3) G. E. Treadwell, W. L. Cairns and D. E. Metzler: Photochemical Degradation of Flavins (V) Chromatographic Studies of the

Products of Photolysis of Riboflavin, J. Chromatog., 35, 376~388, 1968

- 4) W. L. Cairns and D. E. Metzler: Photochemical Degradation of Flavins. (VI) A New Photoproducts and Its Use in Studing the Photolytic Mechanism, J. Am. Chem. Soc., 93, 2772~2777, 1971
- 5) 日本薬学会編: 衛生試験法注解, 233~236, 金原出版, 1980
- 6) 大石誠子: ビタミンB<sub>2</sub>の定量法, ビタミン, 57, 139~146, 1983
- 7) V. J. Gatautis and H. K. Naito: Liquid-Chromatographic Determination of Urinary Riboflavin, Clin. Chem., 27, 1672~1675, 1981
- 8) R. P. Kwok, W. P. Rose, R. Tabor, T. S. Pattison: Simultaneous Determination of Vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, and Niacinamide in Multivita Pharmaceutical Preparations by Paired-Ion Reversed-Phase High-Pressure Liquid Chromatography, J. Pharm. Sci., 70, 1014~1017, 1981
- 9) C. P. Terweij-Groen, S. Heemstra, J. C. Kraak: Distribution Mechanism of Ionizable Substances in Dynamic Anion-Exchange System Using Cationic Surfactants in High-Performance Liquid Chromatography, J. Chromatogr., 161, 69~82, 1978
- 10) S. Svobodova-leblova, J. V. Kostir and I. M. Hais: Paper Partition Chromatography of Riboflavin Decomposition Products. The Action of some Reducing and Oxidizing Agents on Riboflavin Solutions, J. Chromatog., 14, 451~455, 1964
- 11) 日本医薬情報センター編: 一般薬日本医薬品集第6版, 薬時時報社, 1987

岐衛研所報

Rep. Gifu  
Inst. P. H.

# 神経芽細胞腫マススクリーニングの 精度向上に関する研究

— VMA, HVA 溶液の安定性 —

大平 恵美子\*, 岩田 久子, 今井 準三\*,  
後藤 喜一\*, 河合 信\*

## Study on Improvement of Precision for Neuroblastoma Mass-Screening

— Stability of VMA and HVA solution —

Emiko OHIRA\*, Hisako IWATA\*, Junzo IMAI\*, Kiichi GOTO\*,  
and Makoto KAWAI\*

### はじめに

神経芽細胞腫マススクリーニングに用いる検体尿のクレアチニン (Cre), ホモバニリン酸 (HVA) 時にはバニルマンデル酸 (VMA) が, 尿の細菌 (Cre 分解菌)<sup>1~3)</sup> 汚染により低下することを明らかにしてきた。

しかし, Cre は, アルカリ性領域では, クレアチンに平衡が傾くことが知られており<sup>4)</sup> 細菌汚染以外の要因で測定値が変動することが, 考えられる。そこで著者らは, VMA, HVA, Cre について物理的及び化学的要因による低下の有無, 程度について検討したので報告する。

### 材料および方法

#### 1. 試薬, 標準溶液

(1) VMA 標準液: VMA 10mg を滅菌水 100ml に溶かし, 0.2m $\mu$  メンブランフィルターで, 無菌的にろ過した。

(2) HVA 標準液: HVA 15mg を滅菌水 100ml に溶かし, 0.2m $\mu$  メンブランフィルターで, 無菌的にろ過した。

(3) Cre 標準液: Cre 300mg を滅菌水 100ml に溶かし, 0.2m $\mu$  メンブランフィルターで, 無菌的にろ過

した。

(4) 緩衝液 (pH 1~12): pH 1, 2 は, 0.2M HC1-0.2M KC1, pH 3, 4 は, 0.1M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-0.1M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, pH 5, 6, 7, 8 は, 0.1M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-0.1M NaOH, pH 9 は, 0.1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-0.1M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 10, 11, 12 は, 0.1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-0.1M NaOH で調製した。

(5) TS 寒天培地 (栄研)

その他の試薬は試薬特級を用いた。

#### 2. 装置

高速液体クロマトグラフ (HPLC): 日立 655-A  
分光光度計: 日立 200-20

紫外線照射器: 大澤紫外線工業研究所 LS-D 1

#### 3. 測定法

各標準液を Cre 0.3mg/ml, VMA 20 $\mu$ g/ml, HVA 30 $\mu$ g/ml になるように, 緩衝液 (pH 1~12) (予め 121°C, 15分滅菌したもの) で希釈した。それぞれを小試験管 (13 $\times$ 150mm) に 2ml ずつ分注し密栓した。

この操作はすべて無菌的に実施した。

これらを 4°C, 20°C, 30°C (いずれも遮光) 室温 (遮光せず), 紫外線照射 (波長 254 nm および 365 nm

\* 岐阜県衛生研究所: 500 岐阜市野一色 4 丁目 6 番 3 号

\* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

m 同時照射温室温) の条件で, 2, 4, 7日静置後それぞれの残存量を Cre は jaffe 反応で, VMA, HVA は, HPLC 法で測定した。

細菌の有無を TS 寒天により後培養で確認した。

#### HPLC 条件

カラム : Nucreosil 5 C<sub>18</sub> (内径 4 mm×150mm)

溶離液 : VMA 0.03M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 3.0, EDTA 2 Na 10<sup>-4</sup>M 加) + CH<sub>3</sub>CN (925+75)

HVA 0.03M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 3.0, EDTA 2 Na 10<sup>-4</sup>M 加) + CH<sub>3</sub>CN (900+100)

流 速 : 0.7ml/min.

クーロメトリー電解電圧 : +0.60V

カラム温度 : 40°C

#### 結果および考察

結果を表-1 に示した。なお後培養ではすべて細菌

表-1 Cre, VMA, HVA 溶液の安定性 (残存 %)

		pH												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
4 °C	Cre	4日	98.5	99.1	100	99.4	99.1	100	98.4	99.7	102	98.5	99.4	98.8
		7日	99.5	97.9	105	100	98.9	96.6	102	99.5	105	100	99.8	96.8
	VMA	4日	96.5	100	100	102	101	100	100	102	101	101	100	102
		7日	96.7	100	101	102	102	102	101	102	102	101	100	102
	HVA	7日	103	96.8	100	98.6	99.5	102	100	99.6	101	102	99.9	103
	20 °C	Cre	2日	97.9	97.9	100	98.8	97.8	94.5	97.5	96.7	103	96.4	98.1
4日			98.5	98.5	102	97.8	95.7	95.7	95.3	98.2	99.4	97.0	99.1	85.0
VMA		2日	96.1	100							99.7	98.4	91.6	84.6
		4日	102	102	103	101	102	103	102	100	96.2	96.0	94.8	89.1
		7日	92.6	101	101	101	101	102	99.1	99.1	96.9	91.8	74.2	89.8
HVA		2日	101	100							99.9	99.8	100	99.8
		4日	101	100	101	99.7	101	102	101	100	94.4	97.4	100	98.6
		7日	99.4	99.0	98.7	99.1	99.8	99.6	97.9	99.8	101	97.0	95.4	95.9
30 °C		Cre	2日	95.2	96.7	98.1	96.6	94.5	93.8	98.1	98.5	101		99.4
	4日		99.7	102	102	102	94.5	94.5	105	98.2	101	101	97.5	59.2
	7日		100	100	102	88.2	86.1	88.4	95.8	96.0	100	96.0	96.2	63.1
	VMA	2日	81.8	96.1	98.4	99.6	99.2	99.3	97.9	98.2	94.2	95.7	89.8	98.6
		4日	62.0	101	100	101	102	102	99.8	99.3	94.2	95.1	87.5	97.9
		7日	56.7	98.7	99.4	100	101	101	99.1	98.9	93.6	92.2	80.2	94.7
	HVA	2日	99.0	101	96.2	95.6	99.7	98.9	97.3	96.0	99.4	96.8	94.4	96.8
		4日	98.7	100	93.9	93.6	96.7	103	97.4	92.9	95.8	92.3	90.2	92.7
		7日	102	101	98.9	98.6	100	100	98.6	97.0	97.0	94.6	90.9	91.2
室 温	Cre	4日	94.9	98.5	100	94.5	94.8	94.5	98.4	100	102	96.7	97.8	83.2
		7日	98.9	100	104	94.0	96.1	94.7	99.6	98.5	102	99.1	100	71.1
	VMA	2日	89.9	98.7							97.3	98.7	91.1	90.1
		4日	96.6	98.5							91.5	95.4	85.1	85.0
		7日	80.5	99.1	101	100	101	101	101	99.3	96.7	94.5	77.5	79.2
	HVA	2日	99.0	99.1							98.4	99.3	99.8	98.2
4日		99.5	99.1							91.5	98.1	98.8	99.2	
7日		102	102	102	101	101	102	102	100	99.1	98.4	97.9	102	
光	Cre	4日	101	98.5	102	97.2	96.9	95.7	101	99.1	103	97.0	102	77.3
		7日	99.1	98.5	103	93.7	90.8	91.6	98.5	100	101	96.0	95.0	60.5
	VMA	2日	0	51.4	76.1	99.0	103	101	99.3	97.6	83.9	77.4	36.2	44.1
		4日	0	0	52.8	78.7	100	92.2	97.4	87.4	83.0	80.5	42.1	21.7
		7日	0	0	30.2	77.8	95.6	90.1	106	82.8	74.4	64.0	29.8	14.6
	HVA	2日	96.5	99.6	96.9	96.8	97.9	98.8	92.6	81.8	78.2	80.7	79.7	69.5
		4日	93.3	92.7	95.7	96.1	97.3	90.9	83.4	72.1	58.0	49.1	66.8	40.1
		7日	99.3	102	96.7	96.2	98.4	97.4	95.6	75.5	65.0	60.6	67.2	46.3

は陰性であった。したがって、以下に述べる成績はすべて細菌の影響は、考慮に入れる必要がないものと考えられる。

4℃においては、Cre, VMA, HVAとも安定であった。

20℃では、CreはpH12で(4日後85.0%), VMAは、pH1と11で若干低下した。(7日後それぞれ92.6% 74.2%), HVAは7日後でも安定であった。

30℃では、CreはpH12で低下が顕著となった(2日後76.9%, 4日後59.2%, 7日後63.1%)他に、pH4, 5, 6, でも低下することが認められた。(7日後86.1~88.4%) VMAは、pH1で低下が著しかった。(2日後81.8%, 4日後62.0%, 7日後56.7%), HVAは、

アルカリ性側で低下することが認められた。(pH8~12, 7日後75.5~46.3%)

強い影響の認められた、30℃と紫外線照射の結果を図-1に示した。

このように、至近距離での強い紫外線照射により、VMA, HVAの低下が見られたので、実際に起こり得る室内での自然露光の影響を調べた。その結果、Cre, VMA共に、20℃と30℃の中間の値が得られ、室内光程度の光暴露の影響はほとんど無いものと考えられた。

このように、CreではpH4, 5, 6および12以上の強アルカリ性と温度、VMAではpH1と11と温度および紫外線、HVAではpH8以上と紫外線の組み合

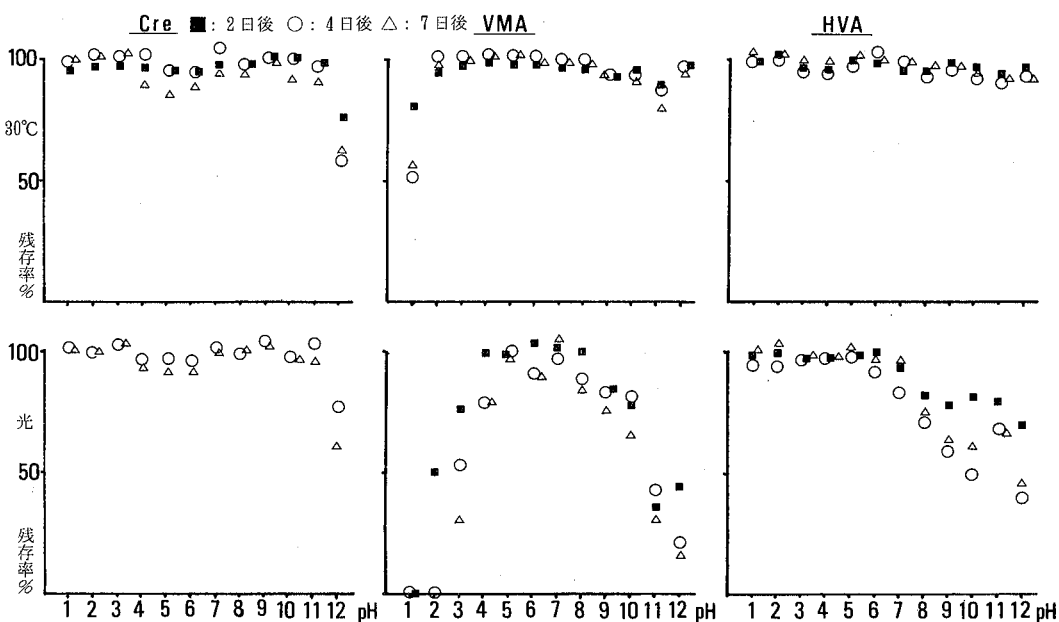


図-1 Cre VMA, HVA 溶液の安定性(残存%)

7日後でもほぼ安定であった。

紫外線照射下では、Creは、20℃, 30℃の場合とほぼ同様の傾向が認められ、低下の程度は、20℃と30℃の中間であった。したがって、Creに対しては紫外線の影響はないと結論された。VMAに対する紫外線の影響は極めて大きく、アルカリ性側(pH9~12, 7日後74.4~14.6%), 酸性側(pH1~4, 7日後0~77.8%)共に著しい低下が見られた。HVAでは、

わせに注意する必要がある。

特に、標準溶液の保存管理についてもpH, 温度, 光について注意を払う必要を示すものである。

尿の高pHはほとんどすべてが細菌増殖の結果と考えられるので、検体尿扱いでは、細菌汚染防止対策と採尿後の温度管理が重要と考えらる。

本マスキリングに用いるる紙尿でみられるCre, HVAの低値現象は、尿のpH等の要因よりも



細菌汚染によると考えられる結果と言えよう。

#### 文 献

- 1) 今井準三, 田中久子, 後藤喜一, 坂井至通, 森下有輝, 河合信: 神経芽細胞腫マスキリーニングにおけるろ紙尿のクレアチニン異常低下の解析, 日本公衛誌, **35** (9), 521~525, 1988
- 2) 後藤喜一, 田中久子, 今井準三, 河合信: 神経芽細胞腫マスキリーニングにおけるろ紙尿の細尿汚染に関する研究, (第1報) クレアチニン分解菌の分離とその汚染状況について, 日本公衛誌 **36**(9), 645~651, 1989
- 3) 今井準三, 田中久子, 大野勝弘, 坂井至通, 後藤喜一, 河合信: 神経芽細胞腫スキリーニング検査におけるろ紙尿の細菌汚染に関する研究, (第2報) クレアチニン分解菌汚染防止についての検討, 第46回日本公衆衛生学会総会抄録, pp, 447, 1987.
- 4) 斎藤正行, 北村元仕, 丹羽正治 編: 臨床化学分析II - 含窒素成分 - pp, 85, 東京化学同人 (東京) 1968

岐衛研所報

Rep. Gifu  
Inst. P. H.穀物および市販食品中の Fusarium  
マイコトキシン汚染

中屋 謙一\*, 白木 康一\*

Survey of Fusarium Mycotoxins Contamination in Cereals  
and Foodstuff

Ken-ichi NAKAYA\* and Koh-ichi SHIRAKI\*

## はじめに

小麦を初めとする穀物に発生するいわゆる赤かび病は、数年あるいは数十年の間隔で穀物に多大の被害を与え、過去、国家生産量の<sup>1)</sup> 1/3ないしはそれ以上の被害を被った年が出現した。

一方、この赤かびに罹病した穀物による中毒例は、わが国では1940年代より報告されており、嘔吐、下痢、悪感、頭痛等の症状を呈する。この赤かび病々原菌には、数種のものが知られているが主となるのは、*Fusarium graminearum* であり、近年、このかびの代謝産物中に Deoxynivalenol, Nivalenol および T-2トキシン等のトリコテセン系マイコトキシンをはじめ Zearalenone などのマイコトキシンが発見されるに至り、食品衛生学的見地からこれらマイコトキシンの自然汚染実態の把握が必要となってきた。

今回、県下の1986年および1987年産小麦および米、市販麦製品について Deoxynivalenol (DON), Nivalenol (NIV), Zearalenone (ZEN) の汚染実態調査を行ったので報告する。

## 材料および方法

## 1. 試料

## 1-1 小麦

農林省岐阜食糧事務所の集計より、作付け面積の大きい市町村順に県下21地点(1986年11地点, 1987年10地点)を選定し、各地点より5試料採取した。いずれも玄麦である。

## 1-2 米

県下より1988年産米6試料を採取した。いずれも玄米である。

## 1-3 麦製品

小麦粉6種類, うどん25種類, スパゲッティ, マカロニ15種類, 大麦, えん麦製品4種類で、いずれも市販品を購入して試料とした。

## 1-4 試薬

カラムクロマトグラフィー用フロリジル: 和光純薬(株)製 100-200メッシュ

トリメチルシリルイミダゾール (TMSI): 東京化成(株)製

トリメチルクロロシラン (TMCS): 東京化成(株)製

その他の試薬は、いずれも市販特級品を用いた。

## 1-5 装置

ガスクロマトグラフ: (株)島津製作所製 GC-4 BM  
ECD 検出器付

## 2. 方法

## 2-1 試験溶液の調製

図1に示す豊田らの方法<sup>2)</sup>に従った。

\* 岐阜県衛生研究所: 500 岐阜市野一色4丁目6番3号

\* Gifu Prefectural Institute of Public Health: 6-3, Noishiki 4 chome, Gifu 500, Japan

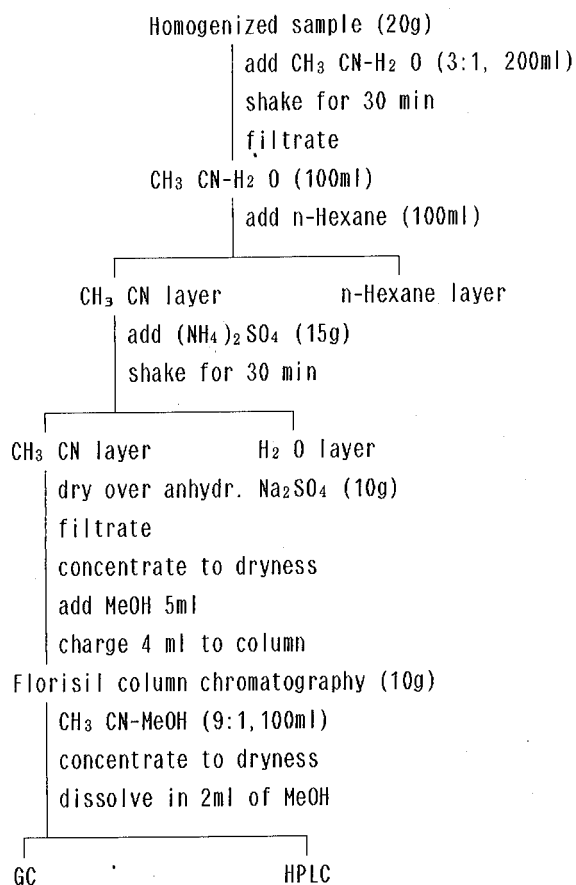


図1 試験溶液の調整

## 2-2 DON, NIV の定量

豊田らの方法<sup>2)</sup>に従った。つまり試験溶液 1 ml を減圧下留去し、残留物に TMSI-TMCS-酢酸エチル (1:0.2:8.8) 0.5 ml を加え密栓攪拌し、15分間室温放置しシリル化した。ついで酢酸エチル 4.5 ml を加え遠心分離後 ECD-GC で定量した。充填剤は、2% OV-17 2 m を使い、カラム温度 230°, 注入口および検出器温度 250°, N<sub>2</sub> 40 ml/min の条件で測定した。

## 2-3 ZEN の定量

試験溶液 10 μl を液体クロマトグラフィーに注入し定量した。充填剤は TSK gel ODS 120 T または TSK gel ODS 80 TM を使い、移動相はメタノール水 (70:30)、励起波長 270nm, 蛍光波長 465nm, 流速 1 ml/min の条件で測定した。

## 結果および考察

## 1. 1986年産小麦の汚染状況

県下西南濃および岐阜地区を中心に調査し、その結果を表 1 に示した。

DON, NIV とも、検出率はほぼ 100% を示したことから、この地域の小麦には全て Fusarium 属かびが着生していたものと推定された。全平均値は、DON 223 ppb, NIV 1097 ppb, ま

表1 小麦の汚染状況 (1986年産)

Locate No. of sample	Deoxynivalenol (ng/g)		Nivalenol (ng/g)		Zearalenone (ng/g)		
	Range	Average	Range	Average	Range	Average	
上石津	5	0- 154	46	20- 84	52	0	0
安 八	5	21- 83	41	148- 346	217	0	0
関ヶ原	5	27- 288	121	467- 917	685	1- 220	59
南 濃	5	24- 87	44	229- 581	408	0	0
海 津	5	11- 154	52	274- 636	398	44- 99	77
羽 島	5	4- 906	282	55- 788	531	6- 57	29
神 戸	5	173-4642	1679	4729-11413	7869	741-6923	2733
高 富	5	55- 97	71	908- 1221	1098	0- 969	201
平 田	5	17- 32	27	206- 460	315	0	0
大 垣	5	26- 36	29	81- 161	124	0	0
岐 阜	5	24- 184	58	115- 500	364	0	0
Total	55	0-4642	223	20-11413	1097	0-6923	282

たその範囲は DON 0~4642 ppb, NIV 20~11413 ppb であり, 国内でなされた調査の範囲内にほぼ収まっている<sup>3, 4, 5, 6)</sup>。しかしながら, このうち最高値を示した試料では今回調査した 3 マイコトキシンでは最も毒性の高いといわれる NIV が 11413 ppb 検出された。これは, 通常の摂取量では急性中毒発症量に達しないとは考えられるが, 継続的な摂取がなされた場合には, 骨髄細胞に与える影響あるいは免疫系への影響が考えられ<sup>1)</sup>,

DON, NIV の検出率は, 前年度と同様ほぼ 100% を示したが, 全平均値は各々 19 ppb, 51 ppb であり, また, その範囲は 4~54 ppb および 0~146 ppb であった。前年度の調査結果と比較すると, DON, NIV とともに 1~2 オーダー低い成績を示した。この原因は, 地域的な差と考えるよりむしろその年の気象条件に起因すると考えるほうが妥当であろう。

また, ZEN の検出率, 平均値とも前年度と比較べか

表 2 小麦の汚染状況 (1987年産)

Locate	No. of sample	Deoxynivalenol (ng/g)		Nivalenol (ng/g)		Zearalenone (ng/g)	
		Range	Average	Range	Average	Range	Average
白川	5	13-36	26	8-34	21	0-8	2
富加	5	11-26	18	10-36	23	0	0
美濃加茂	5	11-36	17	17-65	32	0	0
関	5	10-40	20	17-46	37	0	0
美濃	5	21-28	24	9-59	30	0	0
武芸川	5	8-17	13	0-58	23	39-237	88
揖斐	5	10-54	32	103-140	122	0	0
池田	5	9-26	17	68-146	111	0	0
大野	5	4-5	4	34-121	67	0	0
北方	5	14-26	18	3-62	43	0	0
Total	55	4-54	19	0-146	51	0-237	9

注意を要するものと思われる。

また, DON, NIV の生理作用とは異なり, ホルモン様作用を示す ZEN の検出率は, 45% 程度であり DON, NIV に高濃度に汚染された小麦からの出現率が高い傾向が認められた。

## 2. 1987年産小麦の汚染状況

前年度末調査の県下中東濃および西南濃地域を中心に調査し, その結果を表 2 に示した。

なり低値を示した。

## 3. 1988年産米の汚染状況

米からの NIV の検出率は 14% であったが, いずれも低濃度であり最高値でも 28 ppb であった。また, DON, ZEN はいずれも検出されなかった。

## 4. 市販麦製品の汚染状況

市販麦製品の調査結果を表 3 に示した。

表 3 市販麦製品の汚染状況

Food	No. of sample	Deoxynivalenol (ng/g)		Nivalenol (ng/g)		Zearalenone (ng/g)	
		Range	Average	Range	Average	Range	Average
小麦粉	6	0-31	6	0-12	2	0	0
うどん	25	0-54	10	0-22	2	0	0
スパゲッティ	15	2-49	7	0-7	1	0	0
マカロニ							
大麦, えん麦	4	0-3	2	0-5	1	0	0

小麦粉, うどん, スパゲッティ, マカロニ等小麦を主原料とする製品での DON, NIV の平均値は, 10 ppb 以下であった。また, 最高値でもうどんより DON が 54 ppb, NIV が 22ppb 検出された程度であり, 他の調査結果とよく一致したが<sup>6, 7, 8)</sup>, 県下の小麦の汚染実態と比較すると, 低濃度である。これは精麦, 精粉等製品化の過程でかなりのマイコトキシンが除去された<sup>6)</sup>結果とも考えられる。しかしこれらマイコトキシンは化学的に比較的安定なため, いったん最終製品中に混在したならば, 調理後にもその減少率はわずかである<sup>6, 8)</sup>とされておりヒトおよび家畜がこれらマイコトキシンを摂取する機会が充分考えられる。

#### ま と め

1986, 1987年県下で生産された小麦, 米および市販麦製品の DON, NIV, ZEN の自然汚染実態調査を実施したところ, 以下の結果が得られた。

- 1) 県下主要生産地の小麦には, 満遍なく Fusarium 属かびが着生していると考えられ, DON, NIV, ZEN の自然汚染が認められた。
- 2) 自然汚染の程度を経年的にみると, 平均値的には10~20倍の差がみられたが, その原因は収穫年の気象条件に因るものと考えられた。
- 3) 3種のマイコトキシンのうちでは, 最も毒性の高いと言われる NIV の汚染が顕著であった。
- 4) 米, 市販麦製品の汚染レベルは低かった。

#### 文 献

- 1) Kenji URAGUCHI and Mikio YAMAZAKI : TOXICOLOGY biochemistry and Pathology of mycotoxin, KODANSHA, 1978
- 2) 豊田正武, 一戸正勝, 斎藤行生 : デオキシニバレノールおよびニバレノールの汚染実態について, 第

24回全国衛生化学技術協議会年会, 昭和62年9月 (長崎)

- 3) 黒田弘行, 毛利孝明, 西岡千鶴, 岡崎秀信, 西樹正浩 : 食品中のトリコテセン系マイコトキシンのガスクロマトグラフィーによる分析法, 食衛誌, **20**, 137~142, 1979
- 4) 土肥祥子, 四月朔日富司子, 北井博, 小坂菊江, 一戸正勝, 大場邦弘 : 陰イオン交換セファデックスによる穀類中のトリコテセン系マイコトキシンの精製法及び大麦における自然汚染例について, 同上, **25**, 1~9, 1984
- 5) Toshitugu TANAKA, Akihiko HASEGAWA, Yukio MATSUKI, Yukio MATSUI, Ung-Soo LEE and Yoshio UENO : Co-contamination of Fusarium Mycotoxins, Nivalenol, Deoxynivalenol and Zearalenone in Scabby Wheat Grains Harvested in Hokkaido Japan. 同上, **26**, 519~522, 1985
- 6) Toshitugu TANAKA, Akihiko HASEGAWA, Susumu YAMAMOTO, Yukio MATSUKI and Yoshio UENO : Residues of Fusarium Mycotoxins, Nivalenol, Deoxynivalenol and Zearalenone in Wheat and Processed Food After Milling and Baking, 同上, **27**, 653~655, 1986
- 7) 陰地義樹, 宇野正清, 永美大志, 土肥祥子, 森山忠重 : キャピラリーガスクロマトグラフィーによるデオキシニバレノール及びニバレノールの微量分析と穀類加工食品への応用, 同上, **28**, 50~54, 1987
- 8) 上村 尚, 田端節子, 田村行弘, 安田和男, 牛山博文, 橋本秀樹, 西島基弘, 二島太一郎 : 市販食品中の Fusarium マイコトキシン汚染及び調理加工による挙動, 同上, **28**, 322~329, 1987

## 〈他誌掲載論文〉

カドミウム連続経口投与によるラット肝臓、  
腎臓中カドミウムの細胞内での動態

渡 辺 豊

岐阜大学医学部紀要, 37(1), 94~105, 1988

低濃度の Cd を長期間経口投与した後、肝臓と腎臓中 Cd の細胞および細胞質内での Cd の分布を比較して以下の結論を得た。

1. 細胞内分布は、肝臓では Cd 濃度が低い時点からその約70%が上清中に存在し、他の分画（核、ミトコンドリア、ミクロソーム）の Cd 濃度は低かった。一方、腎臓では Cd 投与 6 箇月の時点では、腎臓中 Cd 濃度の如何にかかわらず約50%が上清中に存在し、Cd 投与12箇月後には70%以上に増加した。このため、上清以外の分画での Cd 濃度の増加は抑えられその割合は低下した。

2. 上清中 Cd の分布は、肝臓では Cd 濃度に比例して Cd 毒性中和型であると言われるメタロチオネイン (MT) 区分の Cd 濃度が増加し、その占める割合も約80%に達したのに対し、腎臓中では MT 区分中 Cd 濃度の著しい増加と共に、高分子量区分 (Fr-I) での増加も見られ MT 区分が占める割合は40%に満たなかった。

3. 両臓器での MT 誘導能に大きな差がみられ、肝臓では低濃度の Cd ( $7.2 \mu\text{g/g}$ ) に対し MT を誘導して対処しているのに対し、腎臓では高濃度 ( $34.1 \mu\text{g/g}$ ) に至るまで MT の誘導は見られず、又、MT 誘導後も高濃度の Cd が Fr-I 区分に存在した。

4. 腎臓中高分子量区分 (Fr-I) の Cd が、腎臓中  $\gamma$ -GTP, GP-DAP 両酵素活性低下の原因と考えられ、腎障害発現には Cd 濃度だけでなく Cd の存在形、特に、MT 以外の形態の Cd が関与していることが示唆された。

最近経験した小児髄膜炎菌性髄膜炎の5症例

長澤宏幸, 西田 隆, 山崎嘉久

(大垣市民病院小児科医員)

近藤富雄 (大垣市民病院小児科医長)

石郷潮美 (大垣市民病院中央検査室)

藤岡敬止 (東海中央病院小児科部長)

山本善史, 榊原吉峰 (東海中央病院小児科医員)

安田寛二 (中濃病院小児科医長)

現・大垣市民病院小児科医長)

小林裕子 (中濃病院小児科医員)

末松寛之 (中濃病院中央検査室)

後藤喜一 (岐阜県衛生研究所)

小児科診療, 51(3), 464~470, 1988

最近経験した小児髄膜炎菌性髄膜炎の5症例を報告した。いずれも感受性のある抗生剤の投与にて後遺症なく治癒した。MIC を測定し、菌は PCG をはじめほとんどの抗生物質に対し強い感受性を示した。2症例の家族内に健康保菌者を認めた。中学1年生53人に咽頭培養を施行し、うち3名(5.7%)が健康保菌者であった。健康保菌者に対する扱いに関し、関係する法の運用経験を述べた。

### Newly Isolated Strains of *Rickettsia tsutsugamushi* in Japan

Identified by Using Monoclonal Antibodies to Karp, Gilliam, and Kato Strains

TERUO YAMASHITA<sup>1)</sup>, SHIRO KASUYA<sup>2)</sup>,  
NOBUJI NODA<sup>2)</sup>, ISAO NAGANO<sup>2)</sup>,  
SETSUKO OHTSUKA<sup>1)</sup>, AND HIROSHI  
OHTOMO<sup>2)</sup>

1) 岐阜大学・寄生虫 2) 岐阜県衛生研究所

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 26(9), 1859~1860, 1988

Four isolated strains of *Rickettsia tsutsugamushi* from patients in a new endemic area of Japan were tested for antigenicities by using

12 monoclonal antibodies to Karp, Gilliam, and Kato strains. It was suggested that one isolated was Karp related and the others were two independent strains.

神経芽細胞腫マスキリーニングにおけるろ紙尿のクレアチニン異常低下の解析

今井準三\*, 田中久子\*, 後藤喜一\*,  
坂井至通\*, 森下有輝\*\*, 河合 信\*  
(\* 岐阜衛研, \*\* 岐阜公研)

日本公衛誌, 35(9), 521~525, 1988

神経芽細胞腫マスキリーニングにおけるろ紙尿のクレアチニン (Cre), HVA が異常に低い値を示す検体に遭遇した。その低下の原因について検討したところ細菌汚染による場合があることが明らかとなった。Cre, HVA の異常に低い値を示した尿をろ過滅菌したプール尿に接種したところ, Cre, HVA が, さらには VMA が異常に低下するのが再現された。この尿より Cre を低下させる細菌 3 株を分離した。そのうちの 2 株について温度勾配培養を行い, 菌発育と Cre 分解の関係について検討を加えたところ, どの菌も幅広い発育温度範囲 (18~43°C, 19~40°C) を示し, 発育と Cre 低下, pH 上昇はよく対応した。また, 1 株 (UR-7) は貧栄養下でもよく発育し, O<sub>D</sub><sub>660</sub> あたりの Cre 消費量は富栄養下よりも高かった, また, この 2 株は, Cre よりアンモニアを生成することを認めた。

網状充填材を用いた接触ばっ気法による都市下水中の窒素除去に関する研究

南部敏博 (岐阜衛研)  
河村清史 (国立公衆衛生院)  
金子光美 (摂南大学, 工学部)

下水道協会誌, 26(297), 10~15, 1989

接触材として魚網を用いた接触ばっ気法に脱窒プロセスを組入れ, 生物学的硝化・脱窒について都市下水のパイロットプラントによる実証実験を行った。硝化槽から脱窒槽への循環水量を流入水の 4 倍量に設定して装置を運転すると, 適正な処理条件 (水温と処理時

間の積が400以上) が整えば80%以上窒素除去率を得ることができた。しかも, 脱窒プロセスの追加は BO D, SS 等の除去能への影響も及ぼさなかった。

魚網を用いた接触ばっ気法による汚水処理に関する基礎的研究 (第 2 報)

南部敏博 (岐阜衛研), 森下有輝 (岐阜公研)  
河村清史 (国立公衆衛生院)  
金子光美 (摂南大学, 工学部)  
吉川 博 (岐阜大学, 医学部)

日本公衛誌, 35(7), 349~355, 1988

魚網を用いた接触ばっ気法による窒素除去および負荷変動や流入停止が処理水へ及ぼす影響を研究し, 次の結論を得た。

1) 一過式の接触ばっ気法の処理装置を用い, 第 1 槽を機械攪拌により嫌気性槽とし, 第 2, 第 3 槽を空気によるばっ気で好気槽とし, さらに第 3 槽混合液を循環することにより, 流入水中の有機物質の効率的除去に加え生物学的脱窒素により窒素を除去できた。

窒素除去率は循環比により変化したが, 流入水量に対する処理時間30時間, 循環比4.3で処理装置を運転したとき, 82%の窒素除去率が得られた。

2) 流入水の時間変動が及ぼす処理水への影響は, 窒素除去率にあらわれ, 1 日当たりの負荷を均一に与えた場合 (Run 4) に比べ除去率が10%低下した。しかし, 有機物除去には全く影響しなかった。

3) 流入水の停止が及ぼす処理水への影響は, 長時間になると大きい, 1 週間程度では, 有機物, 窒素除去にはほとんど影響を及ぼさないと推測された。

Effects of medicinal plant extracts from Chineseherbal medicines on the mutagenic activity of benzo (a) pyrene.

Yoshimichi Sakai, Hisamitsu Nagase,  
Youki Ose, Takahiko Sato, Makoto  
Kawai and Mizuo Mizuno

Mutat. Res., 206, 327~334

The effects of medicinal plants on the mutagenicity of benzo (a) pyrene were studied with *Salmonella typhimurium* tester strains. Cin-

*namomi cortex*, *Rhei rizoma*, *Scutellariae radix* and *Rehmanniae radix* were found to decrease the mutagenic activity of benzo (a) pyrene. *Atractylodishizoma* also reduced the mutagenicity of benzo (a) pyrene, but this was not certain, because it showed a killing effect. *Bupleuri radix* and *Aurantii Nobilis percarpium* had an enhancing effect, but then neither of these extracts is itself mutagenic. These effects were classified into 5 types:

(I) Decreasing effect, (II) Killing effect, (III) Enhancing effect, (IV) Enhancing and decreasing effect and (V) Inactive

#### 防黴剤のテトラヒメナに対する併用毒性

大塚 公人

岐阜大学医学部紀要, 37(2), 247~255, 1989

テトラヒメナの増殖率を指標にして DP, TBZ 及び OPP の併用投与について調べ, 下記の結果を得た.

1. DP と TBZ, OPP と TBZ の併用投与では相加作用あるいは弱い拮抗作用がみられた.
2. DP と OPP の併用投与では相乗作用のあることが示唆された.
3. DP はテトラヒメナ細胞中で OPP と 4-ヒドロキジフェニルに代謝された. その生成割合はほぼ 1:1 であり, いずれの代謝物も DP より強い増殖抑制

作用をもっていた.

4. OPP によって DP 代謝酵素が活性化されて, より強い毒性を持つ代謝物が生成されるため, DP と OPP の併用投与で相乗作用が現われると推定された.

#### 岐阜県女子平均寿命についての一考察

—平均寿命の改善を図るために—

森 洋 隆, 河 合 信 (岐阜衛研)

厚生指標, 36(2), 21~25, 1989

昭和60年の岐阜・静岡両県の女子平均寿命(静岡>岐阜)の差は1.06年である. この差が両県間の, どのような年齢階級の死亡確率の差によって, またどのような主要死因の死亡率の差によって生ずるか小林および南条の方法により検討した.

その結果, 平均寿命の差に最も寄与している年齢階級は65~84才(寄与率47%), 次いで85才以上(寄与率20%), 45~64才(寄与率16%)の順であった. また平均寿命の差に特に大きく寄与している死因は脳血管疾患(寄与率26.4%)と心疾患(寄与率14.3%)であった.

以上のことから, 平均寿命の差の主因は中高年齢における成人病, 特に脳血管疾患と心疾患による死亡率の差にあると認められた.



## 学 会 報 告

## ◦ 生薬および中草药中の抗変異原物質に関する研究

坂井至通, 河合 信 (岐阜県衛研)

孟 正木 (中国薬科大学)

永瀬久光, 小瀬洋喜, 佐藤孝彦, 犬飼昭俊,

水野瑞夫 (岐阜薬大)

日本薬学会第108年会 昭和63年4月 広島市

## ◦ Effects of Chinese herbal medicines on the mutagenic activity of benzo (a) pyrene

Y. Sakai, M. Kawai (Gifu Prefectural Institute of Public Health),

H. Nagase, Y. Ose, T. Sato, and

M. Mizuno (Gifu Pharmaceutical University)

16th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (IUPAC), May, 1988. Kyoto (Japan)

◦ 神経芽細胞腫マスキリーニング用紙尿から分離された *Arthrobacter* sp の VMA, HVA の分解能について

後藤喜一, 田中久子, 今井準三,

河合 信 (岐阜衛研)

日本防菌防黴学会第15回年次大会 名古屋市

## ◦ 本邦7地域における下痢症患者便中ヒトロタウイルスの血清型別試験成績

浦沢正三, 浦沢价子, 谷口孝喜  
(札幌医大・衛生)

千葉峻三 (札幌医大・小児科)

桜田教夫 (北海道衛研)

森田盛大 (秋田衛研), 森田修行 (富山衛研)

時枝正吉 (千葉衛研), 川本尋義 (岐阜衛研)

峰川好一 (大阪公衛研)

大瀬戸光明 (愛媛衛研)

第29回 臨床ウイルス学会 昭和63年6月 箱根

## ◦ 秋から冬に流行した手足口病について

三輪智恵子, 渡辺 豊 (岐阜衛研)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市

## ◦ 今冬季の小児急性胃腸炎, 下痢症の特徴とそのウイルス検索

—昭和62年度岐阜県ウイルス定点観測調査から—

川本尋義, 三輪智恵子 (岐阜衛研)

北村政和, 田中 浩, 久野保夫

(県立岐阜病院小児科)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市

## ◦ 昭和63年岐阜県におけるインフルエンザの流行について

渡辺 豊, 猿渡正子, 三輪智恵子 (岐阜衛研)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市

## ◦ ブドウ球菌選択培地における被損傷コグラーゼ陽性ブドウ球菌の発育態度の比較

所 光男, 長野 功, 後藤喜一 (岐阜衛研)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市

## ◦ 岐阜県のつつが虫病

—分離株による血清検査成績—

野田伸司, 渡辺 実 (岐阜衛研)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市

## ◦ 水道水検査結果からみた岐阜県内の飲料水の水質

寺尾 宏, 森 仁, 今井準三 (岐阜衛研)

有川幸孝 (岐阜県衛生環境部)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市

- 1, 4-ジアミノ-4-ニトロベンゼンを用いた水中のセレンの吸光光度定量

森 仁, 今井準三 (岐阜衛研)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市

Y. Sakai, M. Kawai (Gifu Prefectural Institute of Public Health)  
H. Nagase, Y. Ose, H. Kito,  
M. Mizuno (Gifu Pharmaceutical University)  
Z. Meng (China Pharmaceutical University)
- 神経芽細胞腫スクリーニング検査におけるろ紙尿の細菌汚染に関する研究 (第4報) クレアチニン分解性 *Arthrobacter* の血清型別の試みと岐阜県内の血清型別分布

後藤喜一, 所 光男, 長野 功, 田中久子,  
今井準三, 河合 信 (岐阜衛研)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市

12th Federation of Asisan Sep. 14, 1988  
Bali Pharamacutical Association (Indonesia)
- 神経芽細胞腫スクリーニング検査におけるろ紙尿の細菌汚染に関する研究 (第4報) Cre 分解菌の血清型別の試みと尿中 Cre 等の分解性

田中久子, 今井準三, 後藤喜一,  
河合 信 (岐阜衛研)

第47回日本公衆衛生学会総会 昭和63年9月  
札幌市
- 神経芽細胞腫スクリーニング検査におけるろ紙尿の細菌汚染に関する研究 (第5報) クレアチニン分解菌汚染防止目的のヒビデン添加ろ紙の試用成績

田中久子, 今井準三, 後藤喜一, 河合 信  
(岐阜衛研)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市

第47回日本公衆衛生学会 昭和63年9月 札幌市
- 接触ばっ気法による上水臭気物質の生分解性

南部敏博, 森 仁 (岐阜衛研)  
金子光美 (摂南大学・工学部)

第47回日本公衆衛生学会 昭和63年9月 札幌市
- 学校給食油中におけるエルカ酸含量について

大塚公人, 春日洋二, 杉谷 哲 (岐阜衛研)  
堀部京子 (岐阜県伊奈波保健所)

第34回東海公衆衛生学会 昭和63年6月 岐阜市
- 銅・亜鉛・水素化ホウ素ナトリウム還元による水中の硝酸性窒素の定量

森 仁, 今井準三, 河合 信 (岐阜衛研)

第25回全国衛生化学技術協議会年会 昭和63年9月  
札幌市
- 芍薬エキスの抗変異原性作用 - S9 mix に対する影響

坂井至通, 河合 信 (岐阜衛研)  
永瀬久光, 小瀬洋喜, 鬼頭英明, 佐藤孝彦,  
水野瑞夫 (岐阜薬大)

日本薬学会東海支部大会 63年 昭和63年7月  
名古屋市
- DETERMINATION OF DIARRHETIC SHELLFISH TOXINS BY MEASURING 50% ACID PHOSPHATASE ACTIVITY INHIBITORY CONCENTRATION

Koichi SHIRAKI, Akira SUGITANI,  
Makoto KAWAI and Takeshi YASUMOTO\*, Gifu Prefectural Institute of Public Health, Gifu; \*Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai,
- Inhibitory factors in Paeony root extract for the mutagenicity of benzo (a) pyrene

## Japan

7th International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. 昭和63年9月 東京都

◦ 岐阜県における地下水、河川水の主要化学成分

寺尾 宏, 森 仁 (岐阜衛研)

加藤喜久雄 (名大水圏研)

日本陸水学会第53回大会 昭和63年10月 松山市

◦ 岐阜県各務原台地における地下水のかん養源について

寺尾 宏 (岐阜衛研)

加藤喜久雄 (名大水圏研)

1988年度日本地球化学会年会 昭和63年10月

広島市

◦ 単クローン抗体を用いる ELISA 法による本邦7地域のヒトロタウイルス血清型の検索

浦沢正三, 浦沢价子, 若槻富美代,

谷口孝喜, 小林宜道 (札幌医大・衛生)

千葉峻三 (札幌医大・小児科)

桜田教夫 (北海道衛研), 森田盛大 (秋田衛研)

森田修行 (富山衛研), 時枝正吉 (千葉衛研)

川本尋義 (岐阜衛研), 峰川好一 (大阪公衛研)

大瀬戸光明 (愛媛衛研)

第36回 日本ウイルス学会総会 昭和63年11月

東京都

◦ 冬季型乳幼児胃腸炎下痢症のA群ロタウイルス (HRV) 感染源調査と HRV 血清型の変遷

北村政和, 田中 浩, 市橋 寛, 久野保夫

渡辺宏雄 (県立岐阜病院・小児科)

川本尋義, 三輪智恵子 (岐阜衛研)

浦沢正三 (札幌医大・衛生)

第20回 日本小児感染症学会 昭和63年12月

福岡市

## 岐阜県衛生研究所投稿規定

1. 投稿者は当所職員であることを原則とする。
2. 投稿の区分は次の通りとする。
  - 研究（調査）報告（原稿用紙20枚以内）
  - 資料（ 〃 15 〃 ）
  - 研究速報（短報とする）（ 〃 10 〃 ）
  - 他誌掲載論文抄録（ 〃 2 〃 ）
3. 原稿は、定められた期日までに学術委員会に提出すること。
4. 原稿はB5版400字詰横書き原稿用紙を用いる。
5. 研究報告、表題、著者名、英文表題（前置詞、接続詞、冠詞、動詞以外、イニシアルを大文字、他は小文字、著者名は、本人が常用しているローマ字を用いて、名、苗字の順とし、Kōtaro TAKAMURAのようにする）、英文抄録、総括、序文、材料および方法、成績、考察、謝辞、文献の順とする。
 

所属、住所は和文、英文の順に欄外に入れる。英文は前置詞、接続詞、冠詞、動詞以外イニシアルを大文字、他は小文字とする。
6. 資料および研究速報、研究報告に準ずるが、英文抄録は特に必要としない。
7. 他誌掲載論文抄録、表題、著者名、掲載雑誌名（巻、頁、年号）および抄録とする。
8. 表題は簡潔にし、続報のものは必ず副題をつけ、その前にアラビア数字で1.2.などの番号をつける。
9. 外来語はカタカナ、外国人名は外国語（タイプ又はブロック体）とする。
10. 表は方眼紙または同型の白紙を用い、表の上には「表1., Table 3」などの番号と表題を明瞭に書く。
 

図（写真を含む）は、他の方法で表わし難いもののみとし、1報につき5図以内とする。1図1枚とし、そのまま製版できるように墨書（黒インキでもよい）する。図の下に「1., Fig. 1」などの番号と表題および図中の文字（数字を含む）を鉛筆で明瞭に書く。

英文抄録を付した報告については原則として表、図共に英文とし、標題は前置詞、接続詞、冠詞、動詞以外イニシアルを大文字にし、他は小文字とする。
11. 表、図および写真は、本文とは別にして本文中挿入すべき場所の欄外に赤色でその位置を明示する。
12. 文献は本文中引用個所右肩に小さく番号<sup>(1) 2)</sup>のように片括弧をつける）を付し、最後にまとめて次の方式に従って記載する。
  - 雑誌の場合
 

著者名：表題、雑誌名、巻（ゴジックにする）、頁、年号（西歴）（例：Stark, R. L. and Duncan, C. L. : Purification and Biochemical Properties of Clostridium perfringens Type A Enterotoxin, Infect. Immunity, 6, 662-673, 1972）
  - 単行本の場合
 

著者名：書名、版数、頁、発行所、年号（西歴）ただし、頁については、全内容を総括的に引用した場合は不要とする。（例：Conn, E. E. and Stumpf, P. K. : Outlines Biochemistry, 1st ed., 83-85, John Wiley & Sons, Inc., 1963）
13. 著者校正は初校のみとする。その際新たな追加あるいは変更をしないこと。
14. その他所報編集に関し、必要な事項は学術委員会において決定する。

<監 修>

河 合 信

<編 集 委 員>

後 藤 喜 一, 川 本 尋 義, 寺 尾 宏  
中 屋 謙 一

---

岐 阜 県 衛 生 研 究 所 報 No. 34  
平 成 元 年 1 2 月  
Report of Gifu Prefectural  
Institute of Public Health No. 34  
1 9 8 9

---

編 集 発 行 岐 阜 県 衛 生 研 究 所  
岐 阜 市 野 一 色 4 丁 目 6 番 3 号 〒 5 0 0  
TEL <0582> 46-1 1 0 1  
Editorial Office Gifu Prefectural Institute  
of Public Health :  
6-3, Noishiki 4 chome,  
Gifu 500, Japan  
印 刷 所 水 野 印 刷 紙 工 株 式 会 社  
岐 阜 市 下 川 手 413 ☎ <0582> 71-6 2 4 8

---