

回覽	所長	次長	總務課長	總務係長	係員	取寄

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

岐阜県衛生研究所報

第 2 9 号

昭和 5 9 年

Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health

No. 2 9

1 9 8 4

岐阜県衛生研究所

Gifu Prefectural Institute
of Public Health

Noishiki 4 chome, Gifu, Japan



目 次

<調 査 研 究>

昭和57年岐阜県における無菌性髄膜炎の流行について	1
1983(昭和58)年岐阜県における無菌性髄膜炎の流行について	6
エコーウイルス30型の血清疫学的検索 ——昭和58年岐阜県内初発流行に関する調査から——	11

<資 料>

1983~1984年岐阜県に流行したインフルエンザについて	15
腸炎ビブリオと <i>Vibrio fluvialis</i> の混合感染と思われる食中毒事例	22
高速道路のし尿浄化槽から分離された <i>Salmonella</i> について	26
ウイルスに対するグルタルアルデヒドの不活化効果	31
地下水を水源とする県内水道原水中の遊離炭酸濃度について	34
薄層 クロマトデンシトメトリーによる外皮用薬中 トリメチルセチルアンモニウムペンタクロロフェネートの定量	41
家庭用品中のトリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンの存在状況について	46
淡水魚における除草剤の残留	50
ニジマスにおけるナリジクス酸及びその代謝物の組織内分布について	54

<他誌掲載論文>

<学 会 報 告>

題字 岐阜県知事 上 松 陽 助

CONTENTS

(ORIGINAL ARTICLE)

Epidemic of Aseptic Meningitis in Gifu Prefecture in 1982	1
Epidemic of Aseptic Meningitis in Gifu Prefecture in 1983	6
Sero-Epidemiological Investigations of Echovirus Type 30	11

(REPORT)

On the Influenza Outbreaks in 1983~1984, in Gifu Prefecture	15
An Outbreak of Food Poisoning due to <i>Vibrio parahaemolyticus</i> and <i>Vibrio fluvialis</i>	22
Studies on the Isolation of <i>Salmonella</i> from Wastewater Treatment Plants Located at Rest Places in the Expressway.....	26
Virucidal Action of Glutaraldehyde against Viruses	31
Free Carbon Dioxide Concentration in Ground Waters Used for Drinking Water in Gifu Prefecture	34
Determination of Trimethylcetyl ammonium pentachloro phenate in Dematomyctosis Preparations by Thin Layer Chromatographdensitometry	41
Trichloroethylene and Tetrachloroethylene Contents in Household Necessities	46
Herbicides Residue in Fresh Water Fishes.....	50
Distribution of Nalidixic Acid and its Metabolites in Tissues of Rainbow Trout	54
<i>Papers and Abstracts in Other publications</i>	58
<i>Presented Themes at Conferences and Society Meetings</i>	61

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.昭和57年岐阜県における無菌性髄膜炎の
流行について

三輪 智恵子*, 加藤 樹夫*, 川本 尋義*

Epidemic of Aseptic Meningitis in Gifu Prefecture in 1982.

Chieko MIWA, Mikio KATO, Hiroyoshi KAWAMOTO.

Summary

1. Epidemic of aseptic meningitis occurred in Gifu prefecture, especially at Gifu and Seino districts, from July to December in 1982. Cases involved range from 0 to 15 years of age; 41.7% of them were children under 4 years of age and 90.7% under 9 years.
2. Echovirus type 11 (ECHO-11), Coxsachievirus group B (Cox.B) type 3 and Cox.A type 4 were isolated from fifteen in 49 those patients (30.6%), but it was confirmed that the causative viruses in the epidemic of aseptic meningitis were ECHO-11 and Cox.B-3 in Gifu prefecture in 1982.
3. It was confirmed that the ECHO-11 strain isolated from the patient of aseptic meningitis in 1982 was the prime variants with lower neutralizing titer in antiserum against isolate in 1971.

総 括

1. 昭和57年7月から12月にかけて、岐阜県特に岐阜・西濃地区で無菌性髄膜炎 (AM) の流行が認められた。患者の年齢は0才から15才に分布していたが、4才以下が41.7%で、9才以下が90.7%であった。
2. これ等患者49名中15名 (30.6%) より、エコーウイルス11型 (ECHO-11) とコクサッキーウイルス (Cox.) B-3型と Cox. A-4型が分離されたが、岐阜県の AM 流行の病原ウイルスは、ECHO-11 と Cox. B-3であることが確定された。
3. AM 患者より分離された ECHO-11 の中には、1971年流行株より抗原的に変化した変異株が確認された。

序 文

昭和57年の無菌性髄膜炎の患者発生状況は、患者情報によれば、¹⁾151名であった。昨年の同疾病の患者数は80名で、²⁾昨年7月から感染症サーベイランス事業が開始されたことを考慮し、本年の同時期患者数に限ると122名となり、昨年の約1.53倍であった。著者等は7月以降の122名中49名 (40.2%) について、その病原ウイルスを検索し、多少の疫学的考察を加えたので、ここに報告する。

材料と方法

1. 分離材料：岐阜県感染症サーベイランス事業の検査定点から7月以降に検査依頼を受けた県内各地の患者49名 (40.2%) の咽頭ぬぐい液5件、髄液46件、糞便29件合計80検体について検査した。
2. ウイルス分離に使用した細胞及び動物：被検材料は HeLa 細胞と CMK1-S1 細胞及び生後24~48時間以内の哺乳マウスに接種した。ウイルス分離方法、³⁾分離ウイルスの定量は前報と同じ方法を使用した。

* 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

3. 分離ウイルスの同定：培養細胞で分離したウイルスのうち、コクサッキーウイルス B-3 は、市販抗血清の20単位を用いて中和法で同定した。エコーウイルス11は、標準株家兎免疫血清では同定出来なかったため、1971年愛知県で AM 患者ふん便より分離された O-1101/46 株の分与を受けた ECHO-11 分離株に対する家兎免疫血清 150 単位で同定した。本年分離株中には、この血清を使用して中和同定試験を行っても、細胞接種後、観察の途中で細胞変性効果 (CPE) の出現 (break through) が認められ、6 日間の最終判定まで完全に CPE を抑制しない株が認められた。しかし、ウイルス対照と比較し、CPE が抑制されていると認められた場合には、ECHO-11 と同定した。哺乳マウスからの分離株は、愛知県衛生研究所西尾博士より分与を受けた抗血清を用い、補体結合反応で同定した。

4. ECHO-11 分離株に対する免疫血清の作製：愛知県の AM 患者糞便より、1971 年分離された株 O-1101/46 と、1982 年岐阜県健康者糞便より分離された K-82-IX-7-F 株、1982 年岐阜県 AM 患者髄液より分離された 82-155-L 株に対して、家兎免疫血清を静注法により作製した。

5. ECHO-11 分離株の交差中和試験：前述の ECHO-11 免疫血清 3 種と、1971 年分離株 2 株、1982 年分離株 6 株につき交差中和試験を実施した。O-1101/46 抗血清については、1971 年分離株 1 株、1781 年分離株 12 株、1982 年分離株 15 株及び標準株の 29 株で中和能の検討をした。

成 績

1. 無菌性髄膜炎患者発生状況：岐阜県感染症サーベイランス情報によれば、図 1 に示したように、1 月から 12 月までの患者数は、151 名と報告されている。図 1 から明らかなように、7 月から患者発生は上昇をはじめ、8 月 19 名、9 月 60 名と最高となり、10 月には下降して 15 名となったが、12 月まで患者発生は持続した。これ等患者の年齢分布は、1 才未満 5 名 (3.3%)、1-4 才 58 名 (38.4%)、5-9 才 74 名 (49.0%)、10-14 才 9 名 (6.0%)、15 才以上 5 名 (3.3%) で、5-9 才が一番多く、患者の半数を占めていた。

2. ウイルス分離状況

(1) 月別ウイルス分離状況：表 1 に示した如く、被検者 49 名中 15 名 (30.6%) よりウイルスが分離された。分離ウイルス型は ECHO-11 8 名 (11 株)、Cox. A-4 1 名 (1 株) と Cox. B-3 6 名 (7 株) の合計 15 名 (19 株) であった。ECHO-11 は

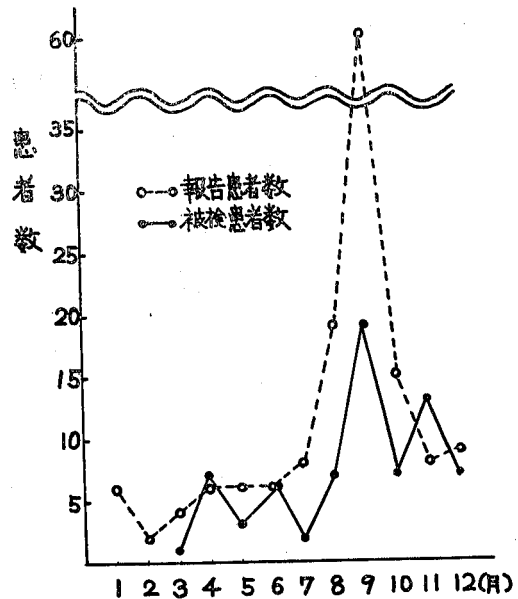


図 1 無菌性髄膜炎患者発生状況 (1982)

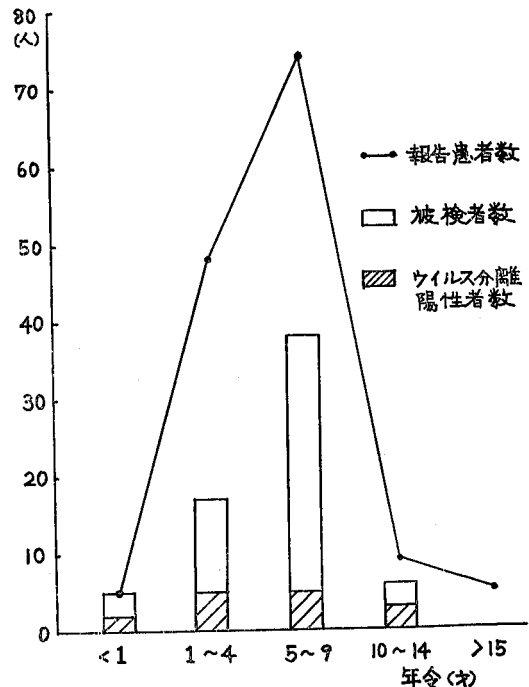


図 2 無菌性髄膜炎患者の年齢分布

8 月から 12 月にかけて 8 名より分離され、Cox. B-3 は 7 月から 9 月にかけて 6 名より分離され、Cox. A-4 は 12 月に 1 名より分離された。

(2) 年齢別ウイルス分離状況：図 3 に示した如く、49 名の被検者の年齢分布は、0 才から 12 才の範囲

表1 月別ウイルス分離状況

発病月	被検者数	ウイルス分離者数	ウイルス分離率(%)	分離ウイルス型		
				ECHO-11	Cox. A-4	Cox. B-3
7	2	1			1	
8	7	2	28.6	2		
9	17	8	47.1	3		5
10	4	0				
11	12	2	16.7	2		
12	7	2	28.6	1	1	
計	49	15	30.6	8	1	6

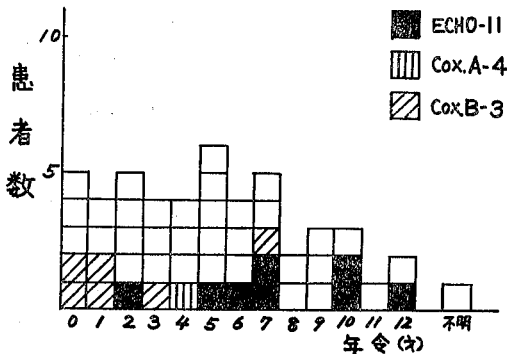


図3 被検患者の年齢分布と分離ウイルス

に分布し、5才が最も数が多かったが、4才以下の年齢では44.9%で、9才以下の年齢では83.7%を占められた。Cox. B-3は0才から7才の患者から分離され、ECHO-11は2才から12才の患者から分離された。ECHO-11はCox. B-3より高年齢患者より分離される傾向が認められた。

(3) 地区別ウイルス分離状況：表2に示した如く、岐阜県内を西濃・岐阜・中濃・東濃・飛騨地区に分けて、分離されたウイルスについて考察すると、西濃・岐阜地区ではECHO-11とCox. B-3の2つのウイルス血清型が分離されたが、飛騨地

表2 地区別ウイルス分離状況

地区	被検者数	ウイルス分離者数	ウイルス分離率(%)	分離ウイルス型		
				ECHO-11	Cox. B-3	Cox. A-4
西濃	36	10	27.8	6	4	
岐阜	5	3	60.0	2	1	
中濃	0					
東濃	0					
飛騨	7	1	14.3		1	
県外	1	1				1
計	49	15	30.6	8	6	1

区ではCox. B-3のみが分離された。Cox. A-4が分離された患者は県外者であったので、岐阜県のAM流行の病原ウイルスは、ECHO-11とCox. B-3であることが確定した。

(4) 被検材料別ウイルス分離状況：表3に示した如く、被検材料からのウイルス分離率の一番高かったのは糞便で31.0%で、次いで咽頭ぬぐい液20.0%、髄液では19.6%であった。髄液よりECHO-11、Cox. B-3及びCox. A-4が分離されたことより、これ等ウイルスがAMの病原ウイルスであることが確定した。

表3 被検材料別ウイルス分離状況

被検材料	被検体数	ウイルス分離者数	ウイルス分離率(%)	分離ウイルス型		
				ECHO-11	Cox. A-4	Cox. B-3
咽頭ぬぐい液	5	1	20.0	1		
髄液	46	9	19.6	4	1	4
ふん便	29	9	31.0	6		3
計	80	19	23.6	11	1	7

(5) 分離方法と分離ウイルス型との関係：使用した細胞培養法(HeLa細胞とCMK1-S1細胞)と乳のみマウス接種法とで、どのようなウイルス型が分離されるかを検討した。HeLa細胞のみで分離されたのは、ECHO-11が10株、Cox. B-3が1株であった。HeLa細胞とCMK1-S1細胞の両方で分離されたのは、Cox. B-3 5株であった。CMK1-S1細胞のみで分離されたのは、ECHO-11 1株、Cox. B-3 1株であった。乳のみマウスには、すべての検体を接種したが、Cox. A-4 1株が分離されたのみであった。

このことからECHO-11はHeLa細胞でよく分離され、Cox. B-3はHeLa細胞とCMK1-S1細胞の両方で分離されるが、乳のみマウスでは分離されにくいことが判明した。また当然のことではあるが、Cox. A-4は乳のみマウスによるのみ分離された。

3. 分離ウイルスの同定：分離ウイルスの中で、7株のCox. B-3分離株は、標準株抗血清の20単位でよく中和され容易に同定された。

一方、AM患者より分離されたECHO-11の11株中9株は、標準株抗血清では同定出来なかった。そこで、1971年分離株抗血清を使用して同定を試みたが、その抗血清の20単位、50単位では全然中和されなかったため、150単位を使用した結果、初めて

表4 1971年分離株抗血清での中和抗体価

No.	被検者 (年齢)	材料	ウイルス 分離年月	疾患名	中和 抗体価	中和 比*
1	KY(6y)	T S	1981年7月	ヘルパンギ ーナ	256	16
	〃	F	〃	〃	512	8
2	WH(11m)	T S	〃	〃	256	16
3	KS(4y)	F	〃	無 症 状	512	8
4	HK(8m)	F	1981年11月	上気道疾患	512	8
5	TR(3y)	F	〃	〃	512	8
6	KA(4y)	F	〃	〃	512	8
7	KS(4y)	F	〃	〃	512	8
8	ND(5y)	F	1982年9月	無 症 状	2048	2
9	NH(4y)	F	〃	上気道疾患	1024	4
10	NK(1y)	F	〃	発 疹 症	1024	4
	〃	F	1982年11月	〃	512	4
11	HS(2y)	F	〃	上気道疾患	256	8
標準株				無 症 状	2048	2
O-1101/46				無菌性髄膜炎	4096	1

T S : 咽頭ぬぐい液

F : ふん便

* 中和比 = $\frac{\text{ホモウイルスに対する抗体価}}{\text{ヘテロウイルスに対する抗体価}}$

表5 1971年分離株抗血清での中和抗体価

No.	被検者 (年齢)	材料	ウイルス 分離年月	疾患名	中和 抗体価	中和 比*
1	OT(5y)	L	1981年7月	無菌性髄膜炎	512	8
2	HM(2m)	T S	〃	〃	512	8
	〃	L	〃	〃	512	8
	〃	F	〃	〃	512	8
3	OT(41y)	L	1982年5月	〃	64	64
4	IY(10y)	F	1982年8月	〃	512	8
5	OH(12y)	F	1982年9月	〃	64	64
6	SH(10y)	L	〃	〃	32	128
7	AK(7y)	L	〃	〃	8	512
8	MT(7y)	F	1982年11月	〃	32	128
9	HN(5y)	T S	〃	〃	16	128
	〃	L	〃	〃	8	512
10	UK(4y)	F	〃	脳脊髄炎	64	64
11	KS(6y)	L	1982年12月	無菌性髄膜炎	16	128
標準株				健康者	2048	2
O-1101/46				無菌性髄膜炎	4096	1

T S : 咽頭ぬぐい液

L : 髄液

F : ふん便

* 中和比 = $\frac{\text{ホモウイルスに対する抗体価}}{\text{ヘテロウイルスに対する抗体価}}$

対照と区別出来、ECHO-11と同定出来た。しかし、観察日数を増すに従って、break through 現象が認められた。他方、健康者から分離された5株は、同じ抗血清の20単位でよく中和同定された。そこで、1981年に分離されたECHO-11ウイルスについても、このような傾向が認められるかどうかを検討した。その結果、1981年及び1982年のAM患者以外の小児からの分離株では、1971年の分離株抗血清で、ホモウイルスと分離株との中和抗体価の差は、2~16倍の差であったが、AM患者からの分離株については、1981年分離株ではホモウイルスと分離株との中和抗体価の差は前述と同様の傾向が認められたが、1982年分離株では10株中9株(90%)は中和抗体価の差は、64~512倍と著しく中和しにくくなっていることが確認された。

4. ECHO-11分離株の交差中和試験：前述のように健康者より分離されたK-82-IX-7-F抗血清での標準株を含む9株の交差中和試験では、表6に示した如く、Aグループ(1971年分離株及び1982年健康者よりの分離株)とBグループ(1982年AM患者よりの分離株)とにグループ分けすると、Aグループウイルス株は、ホモウイルス中和抗体価と6~51倍の差であったが、Bグループウイルスは、64~809倍の差を示した。1982年AM患者分離株82-155-L抗血清では、Bグループウイルスは、ホモウイルスと4~16倍の中和抗体価の差しか認められなかったのに、Aグループウイルス中和抗体価は512~1,000倍の差を示し、明らかに二つのウイルス群では中和能に差のあることが確認された。

表6 エコー11型ウイルス株の交差中和試験

ウイルス	ウイルス 分離 年	抗 血 清		
		O-1101/46	K-82-IX-7-F	82-155-L
グ ル ー プ A	ECHO-11標準株	2048	128	8
	O-1101/46	1971	4096	128
	5F0671-1	〃	2048	≥ 521
	K-82-IX-7-F	1982	2048	6472
	K-82-IX-10-F	〃	1024	1024
	K-82-IX-30-F	〃	1024	1024
グ ル ー プ B	82-123-L	〃	8	8
	82-155-L	〃	8	8
	82-505-L	〃	64	101

考 察

昭和57年(1981)全国で報告されたAM患者数は¹⁾3,347名で、昭和56年7~12月のAM患者数²⁾964名で

あった。単純に1年分として、その数を2倍すると、1.928名となり昭和56年の1.7倍であった。岐阜県でもこの傾向が認められたことは前述した。昭和57年全国AM患者から検出された主なウイルス型は、Cox. B-3, ECHO-11, ECHO-18であった。これ等3つのウイルス型は、いずれも髄液より分離されており、昭和57年AM流行の病原ウイルスと確認された。Cox. B-3は全国で386株分離されたが、そのうち183株(47.4%)は東海・北陸地方で分離された。このウイルス型は、関東・甲信越、四国等でも流行したことが判明した。⁵⁾ECHO-11は全国で227株分離されたが、そのうち82株(36.1%)は東海・北陸地方で分離された。このウイルス型は、その他に関東・甲信越、中国・四国地方でも流行したことが判明した。⁵⁾ECHO-18は全国で109株分離され、そのうち30株(27.5%)が東海・北陸地方で分離され、64株(58.7%)は中国地方で分離されたことより、その地方での流行が判明した。⁵⁾岐阜県では、昭和57年全国流行ウイルス型の中、ECHO-11とCox. B-3の2種類のウイルス型の流行が確認されたが、ECHO-18は検出されなかった。Cox. B-3は、岐阜県では、昭和47年以来、49年、51年、52年、55年、56年と分離されており、^{6,7)}常在性ウイルスであると考えられる。一方、ECHO-11は、昭和46年に全国流行があったが、⁸⁾岐阜県でもECHO-11が昭和46年、47年と続いて分離された。^{6,9)}しかしながら、その後8年間まったく分離されず、昭和56年より再び検出されるようになった。¹⁾しかし、昭和46年の流行時と同様に、58年には再び分離されなくなった。このことより、このウイルスは、岐阜県では非常在性ウイルスであったが、全国的な検出報告では、昭和51年、52年にかけて76株分離されている。

ところで、ECHO-11は変異株の出来やすいウイルスとして知られている。¹⁰⁾1971年の全国流行時に、石井は、「E-11感染が幅広い年齢層に、しかも1971年になってなぜ流行したのか説明が困難である」と述べている。¹¹⁾著者等もこの同じ年の分離株について検討し、標準株と中和抗体価が、約14~28倍の差が認められる分離株のあることを確認した。ところが、昭和57年ECHO-11分離株は、標準株抗血清で中和同定がまったく不可能なばかりでなく、昭和46年分離株抗血清でも同定しにくい変異株を分離した。そこで何時頃よりこのような株が出現しはじめたのかを検討するため、1981年と1982年分離株について検討した結果、表4、表5に示した如く、1981年分離株は1971年分離株抗血清でかなり中和され同定可能であったが、1982年分離株には、1971年分離株抗血清で中和され易い株とされにくい株があり、されにくいウイルス株は、神経系疾

患患者から分離された株に多い傾向があることを見出した。それで著者等は、1982年AM患者髄液より分離された株(82-155-L)に対する抗血清と、無症状の小児の便より分離された株(K-82-IX-7-F)に対する抗血清を作製して、交差中和試験を行った。その結果は表6の如くであり、82-155-L抗血清は中和能の広い抗血清ではなかった。しかしながら、昭和57年AM患者髄液より分離された他の2株も、この抗血清でよく中和されたが、非神経系疾患からの分離株は、1971年分離株に近い性状をもっていることが明らかとなった。

この調査研究は岐阜県感染症サーベイランス事業から更に展開され実施された。

文 献

- 1) 岐阜県衛生部：岐阜県感染症サーベイランス情報〔57年報〕No.2 (1983)
- 2) 岐阜県衛生部：岐阜県感染症サーベイランス情報〔年報〕(昭和56年7月~12月)No.1 (1982)
- 3) 三輪智恵子, 川本尋義, 吉沢邦重, 松浦章雄; 和年48年岐阜県(2地区)の小児科患者からのエンテロウイルス分離成績, 岐衛研所報, 19, 1-6(1974)
- 4) 三輪智恵子, 野田伸司, 松浦章雄, 吉沢邦重: 昭和50年岐阜県(2地区)の小児科患者からのエンテロウイルス分離成績, 岐衛研所報, 21, 1-5(1976)
- 5) 微生物検査情報のシステム化に関する研究班: 病原微生物検出情報年報 1981年 (1982)
- 6) 三輪智恵子, 川本尋義, 野田伸司, 山口順子, 松浦章雄, 吉沢邦重: 過去6年間(1972-1977)のウイルス定点観測の成績について, 岐衛研所報, 26, 1-18 (1981)
- 7) 川本尋義, 三輪智恵子, 山田不二造, 松浦章雄, 金田修幸, 渡辺昇, 交告保朗, 松田美泰: 過去3年間(1978~1980年)の岐阜県内2定点地区におけるウイルス感染症サーベイランス成績について, 岐衛研所報, 26, 19~27 (1981)
- 8) Isamu Tagaya and Yasuo Moritsugu: Epidemic of echovirus 11 infection in Japan in 1971. Jap.J.Med.Sci.Biol. 26, 149~154, (1973)
- 9) 川本尋義, 三輪智恵子, 渡辺実: 1971年, 岐阜県において分離されたEchovirus type 11の抗原性状について, 岐衛研所報, 17, 38~40 (1972)
- 10) N. J. Schmidt, E.H.Lennette and H.H.Ho: Observation on antigenic variants of echovirus type 11. Pro. Sci. Epid. Biol. Med. 123, 696~700, (1966)
- 11) 石井慶蔵: わが国におけるエンテロウイルス感染症の変遷, 臨床とウイルス, 1, 143~149 (1973)

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.1983(昭和58)年岐阜県における無菌性髄膜炎
の流行について

三輪 智恵子*, 渡辺 豊*

Epidemic of Aseptic Meningitis in Gifu Prefecture in 1983.

Chieko MIWA, Yutaka WATANABE.

Summary

During the period from June to October in 1983, an epidemic of aseptic meningitis occurred in Gifu prefecture.

Among 5 months, 62 cases were performed on epidemiological and virological investigation. Cases involved from 0 to 15 years of age, and 80.0% of them were under 9 years of age. Viruses were isolated from 22 of 62 cases (35.5%) and echovirus type 30 was recovered from 18 of 22 isolated cases (81.8%), coxsackievirus group B type 4 was isolated from 3 cases (13.6%) and echovirus type 22 was isolated from one cases (4.5%). Echovirus type 30 and coxsackievirus group B type 4 were isolated from cerebrospinal fluid of patients with aseptic meningitis.

Thus, it was confirmed that the causative agents of the epidemic of aseptic meningitis in Gifu prefecture in 1983 were echovirus type 30 and coxsackievirus group B type 4.

総 括

昭和58年6月から10月にかけて、岐阜県で無菌性髄膜炎(AM)の流行がおこった。この期間中に、62症例について疫学的・ウイルス学的に検討したのでここに報告する。

症例は0才から15才の年齢に及んでいたが、それ等の80.0%は、9才以下の子供であった。62例中22例(35.5%)よりウイルスが分離された。分離された22例中18例(81.8%)よりエコーウイルス30型(ECHO-30)が分離され、3例(13.6%)よりコクサッキーウイルスB群4型(Cox. B-4)が分離され、1例(4.5%)よりエコーウイルス22型(ECHO-22)が分離された。ECHO-30とCox. B-4は患者髄液より分離されたことより、昭和58年岐阜県の無菌性髄膜炎の流行の病原ウイルスは、ECHO-30とCox. B-4であったことが確認された。

序 文

昭和58年6月¹⁾から無菌性髄膜炎の患者報告が、急に上昇し始めた。6月から10月までの患者報告数は、83名であった。著者等は、83名中62名(74.7%)についてその病原ウイルスを検索した。その結果、岐阜県で初めてエコーウイルス30型(ECHO-30)が分離され、このウイルスが流行の主なる原因であったが、一部分はコクサッキーウイルスB-4型によるものであることが確認されたので、多少の疫学的考察を加えてここに報告する。

材料と方法

1. 分離材料：岐阜県感染症サーベイランス事業の定点医療機関より検査依頼を受けた県内各地の患者62名の咽頭ぬぐい液4件、髄液60件、糞便35件合計99検体について検査した。
2. ウイルス分離に使用した細胞及び動物：被検材料は、HeLa細胞とCMK¹-S¹細胞及び生後24~48時間以内の哺乳マウスに接種した。ウイルス分離方法、分離ウイルスの定量は前報と同じ方法を使用した。²⁾³⁾

* 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

3. 分離ウイルスの同定：ECHO-30とECHO-22は、国立予防衛生研究所腸内ウイルス部原稔博士より分与を受けたECHO-30及びECHO-22の単独抗血清の20単位を用いて、中和法で同定した。Cox. B-4は自家製家兔免疫血清の50単位で中和法で同定した。

成 績

1. 無菌性髄膜炎患者発生状況：岐阜県感染症サーベイランス情報によれば、図1に示したように、6月から10月までの患者数は83名と報告されている。報告患者数は、6月から急に上昇し始め、7月最高

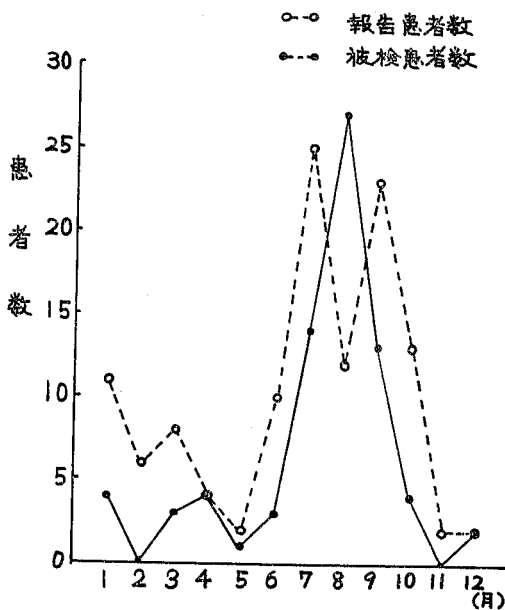


図1 無菌性髄膜炎患者発生状況 (1983)

の25名に達したが、8月は12名と減少し、9月再び23名に上昇したが、10月には再度減少し、流行はおさまった。即ち今回の流行は二峰性の流行型であった。これ等患者の年齢分布は、1才未満8名(9.6%)、1~4才24名(28.9%)、5~9才37名(44.6%)、10~14才10名(12.0%)、15才以上5名(6.0%)であった。昨年と同様、5~9才の年齢が一番多数発生した。

2. ウイルス分離状況：

(1) 月別ウイルス分離状況：表1に示した如く、被検者62名中22名(35.5%)よりウイルスが分離された。分離ウイルス型はECHO-22 1名(1株)、ECHO-30 18名(21株)、Cox. B-4 3名(4株)

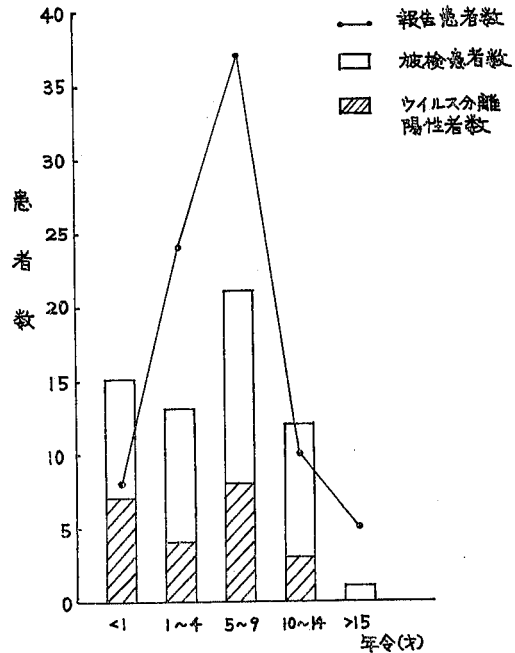


図2 無菌性髄膜炎患者の年齢分布 (1983年6月~10月)

表1 月別ウイルス分離状況 (1983)

月	被検者数	ウイルス分離者数	ウイルス分離率(%)	分離ウイルス型		
				ECHO-22	ECHO-30	Cox. B-4
6	3	0	0			
7	14	1	7.1		1	
8	28	13	46.4		13	
9	13	7	53.8	1	4	2
10	4	1	25.0			1
計	62	22	35.5	1	18	3

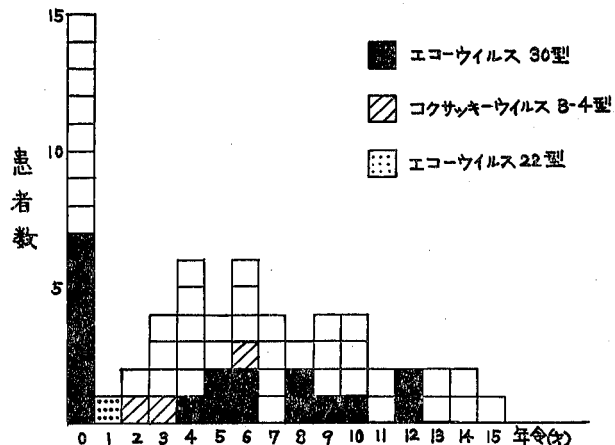


図3 年齢別ウイルス分離状況 (1983年6月~10月)

の合計22名(26株)であった。ECHO-30は7月から9月にかけて3か月にわたり分離され、ECHO-22は9月に、Cox. B-4は9月と10月の2か月にわたって分離された。即ち夏から秋にかけて、3種類のウイルスが分離された。

- (2) 年齢別ウイルス分離状況：図3に示した如く、62名の被検者の年齢分布は0才から15才の範囲に分布し、1才未満が一番多かったが、4才以下の年齢では28名(45.2%)で、9才以下の年齢で、概ろうじて79.0%を占めていた。Cox. B-4は2, 3, 6才の患者から分離されたが、ECHO-30は新生児から12才の患者より分離され、ECHO-22は1才の患者から分離された。ECHO-30は、ECHO-22やCox. B-4より高年齢の患者より分離された。
- (3) 地区別ウイルス分離状況：表2に示した如く、岐阜県内を西濃・岐阜・中濃・東濃・飛騨地区に分け、分離されたウイルスを考察すると、西濃地区ではECHO-30が主であったが、その他にCox. B-4も分離され、2つのウイルス型が分離された。岐阜地区ではECHO-22とCox. B-4の2つのウイルス型が分離された。中濃からはウイルスは分離されなかった。東濃からはECHO-30のみが分離された。飛騨地区からは、Cox. B-4のみが分離された。ECHO-22は1地区からの

表2 地区別ウイルス分離状況
(1983年6月~10月)

地区	被検者数	ウイルス分離者数	ウイルス分離率(%)	分離ウイルス型		
				ECHO-22	ECHO-30	Cox. B-4
西濃	24	10	41.7		9	1
岐阜	17	2	11.8	1		1
中濃	2	0				
東濃	11	9	81.8		9	
飛騨	8	1	12.5			1
計	62	22	35.5	1	18	3

表3 検体別ウイルス分離状況
(1983年6月~10月)

被検材料	被検体数	ウイルス分離数	ウイルス分離率(%)	分離ウイルス型		
				ECHO-22	ECHO-30	Cox. B-4
咽頭ぬぐい液	4	0				
髄液	60	9	15.0		7	2
ふん便	35	17	48.6	1	14	2
計	99	26	26.3	1	21	4

み、ECHO-30は2地区から、Cox. B-4は、3地区より分離された。

- (4) 被検材料別ウイルス分離状況：表3に示した如く、ウイルス分離率の一番高かったのは糞便で48.6%で、髄液は15.0%で、咽頭ぬぐい液からは、ウイルスは分離されなかった。ECHO-30とCox. B-4が髄液より分離されたので、これ等ウイルスが、AM病原ウイルスであることが確定した。ECHO-22はふん便より分離されたので、AMの病原ウイルスであるかどうか確定しなかった。
- (5) 分離方法と分離ウイルス型との関係：ECHO-30は、すべてHeLa細胞でのみ分離された。Cox. B-4 3株は、HeLa細胞とCMK_r-S_r細胞の両細胞で分離され、その中2株は乳のみマウスで分離された。ECHO-22はCMK_r-S_r細胞でのみ分離された。
3. 分離ウイルスの同定：分離ウイルス中、21株のECHO-30分離株及び1株のECHO-22は、標準株抗血清の20単位でよく中和され、容易に同定された。しかし、4株のCox. B-4は20単位では同定されない株があったので50単位で同定した。50単位では容易に中和された。

考 察

HCEO-30は1959年スコットランドで初めてAM患者より分離され、Frater Virusの名前で報告された⁴⁾。現在標準株のBastiani株は、1963年米国でAM患者より分離された株である⁵⁾。その後、既知抗血清で同定出来ないエンテロウイルスとして報告が続き、1967年、ヨーロッパや他の地域で大流行が報告された⁸⁾⁹⁾。1968年から1969年にかけて、米国内に異常な流行が認められた¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。

ところが日本においては、森次等は1972年(昭47)に血清疫学的検索により、日本には過去10年から20年間に、ECHO-30の存在しなかったことを明らかにしている¹³⁾。その後、1978年(昭53)愛知県でECHO-30が9株分離された¹⁴⁾。AM患者4名、不明熱2名、胃腸炎1名、痙攣1名、健康者1名等の0~14才より分離されたことを報告している。愛媛、広島でも少数検出されはじめ、更に1982年秋、鳥取県などでAM流行から分離されるに及び、夏の流行が警告されていた。1984年(昭59)4月現在、1983年内の日本でECHO-30が471例より分離されており、1983年AM起因ウイルスはECHO-30が主流と報告されている¹⁵⁾。秋田、埼玉、愛知、鳥取、山口、熊本、岩手等日本全土でECHO-30が分離されたと報告されている¹⁵⁾¹⁶⁾。

岐阜県においても1972年から1982年(昭47~昭57)まで、ECHO-30は全然分離されなかった。しかし、1983年5月岐阜県地区から1株分離され、6月、7月と10月までに飛騨を除く県下各地区の合計64名(67株)よりECHO-30が分離された。昭和47年森次等の血清疫学的検索に著者も参加し、岐阜県も調査してあるが、その時点では、10才以下はECHO-30に対する抗体を保有していなかった。¹⁸⁾その後、ウイルス定点観測事業を感染症サーベイランス事業の始まるまで継続調査し、その間ECHO-30は分離されなかったことを考えると、20年間はこのウイルス型は岐阜県で分離されなかったこととなる。それでは何故1983年に突然流行を起したのか?その原因については、現在のところまだ明確な解答を出すことは出来ない。一つ明らかかなことは、このウイルスは、これまで、一般にヒト由来細胞(初代ヒト羊膜細胞とかWI-38細胞等)は感受性にすぐれているが、HeLa, HEp-2等の株細胞の感受性はよくないので、ウイルス分離には好ましくないとされて来たが、1983年流行のECHO-30分離株は、HeLa細胞でよく分離され感受性がよかった。このことは、川名等も報告している。¹⁸⁾細胞感受性において従来のものと何らかの変化があったためかも知れない。しかし、血清学的にウイルス抗原の大きな差はなかったと考えられる。そのため、標準株抗血清で1983年分離株は容易に中和同定されたと考えたい。しかし、森田等は、標準株が抗分離株抗血清で $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{8}$ 程度しか中和されないことから、1983年流行株は変異株であると解釈しているが、このことについては更に検討する予定である。

ECHO-22は比較的分離されにくいウイルスである。岐阜県では、昭和56年9月高山市の心筋炎患者(1才、男)の糞便より分離されたが、²³⁾その後分離されなかった。昭和58年8月から11月にかけて、岐阜県中濃地区で9名のふん便より分離された。全国的にも、1980年(昭55)1例、²⁴⁾1981年(昭56)9例、²⁵⁾1982年(昭57)11例、1983年(昭58)38例の報告があり、¹⁷⁾徐々に増加傾向がみとめられた。このウイルス型はAMの起因ウイルスに分類されているが、²⁵⁾著者等が分離した材料はふん便であったのでAMとの関係は確認出来なかった。

文 献

- 1) 岐阜県衛生環境部：岐阜県感染症サーベイランス情報〔58年報〕No.3, 1984
- 2) 三輪智恵子, 川本尋義, 吉沢邦重, 松浦章雄：昭和48年岐阜県(2地区)の小児科患者からのエンテロウイルス分離成績, 岐衛研所報, 19, 1-6, 1974
- 3) 三輪智恵子, 野田伸司, 松浦章雄, 吉沢邦重：昭和50年岐阜県(2地区)の小児科患者からのエンテロウイルス分離成績, 岐衛研所報, 21, 1-5, 1976
- 4) I. B. R. Duncan : Aseptic meningitis associated with a previously unrecognised virus. *Lancet*, 2, 470-471, 1960
- 5) Plager H, Decher W A : Newly recognized enterovirus isolated from cases of aseptic meningitis. *Amer. J. Hyg.*, 77, 26-28, 1963
- 6) Cooney M K, Mc Laren L C, Baier H. : A newly recognized enterovirus, with affinity for primary human amnion cells, isolated from cases of aseptic meningitis. *Amer. J. Hyg.* 75, 301-310, 1962
- 7) Lennette E H, Schmidt N J, Magoffin R L, et al : The Price virus. An unclassified enterovirus isolated from patients with central nervous system disease. *Proc Soc Exper Biol Med*, 110, 769-775, 1962
- 8) Lennartz H, Fischer K, Höpken W, et al : Bericht über die Ätiologie der viruskrankheiten 1-3 Quartal 1967, *Zbl Bakt I. Abt Orig*, 205, 541-544, 1968
- 9) Irvine D H, Irvine A B H, Gardner P S. : Outbreak of echovirus type 30 in a general practice. *Brit Med J.* 4, 774-776, 1967
- 10) Hall C E, Cooney M K, Fox J P. : The Seattle virus watch program. I. Infection and illness experience of virus watch families during a communitywide epidemic of echovirus-type 30 aseptic meningitis. *Amer J Public Health*, 60, 1456-1465, 1970
- 11) Torphy D E, Ray C G, Thompson R S, et al : An epidemic of aseptic meningitis due to echovirus type 30 ; Epidemiologic features and clinical and laboratory findings, *Amer. J. Public Health* 60, 1447-1455, 1970
- 12) Plager H, Deibal R. : Echo 30 virus infections. Outbreak in New York State. *N Y State J. Med.* 70, 391-393, 1970
- 13) 森次保雄, 小松俊彦, 甲原照子, 多ヶ谷勇, 三木康, 吉田英一, 中尾智恵子 : エコー30型ウイルス感染の血清疫学的検索—本州中央部における調査研究から—*日本医事新報*, 2512, 45-47, 1972
- 14) Sakae K, Kuno A, Ishihara Y, Miyake T, Nishio O, Fujiura A, and Inoue H. : A small epidemic of echovirus type 30 in Aichi prefecture.

- 愛知衛研所報, 30, 9-13, 1980
- 15) 病原微生物検出情報事務局: エコー30型ウイルスによる無菌性髄膜炎の流行, 医学のあゆみ, 127, 1010-1011, 1983
- 16) 川名林治, 松本一郎, 佐藤成大, 前川裕子, 張簡俊仁, 柿沼民郎, 金生英雄, 林節, 高丸宏, その他: 本邦初の大流行をみているエコーウイルス30型による無菌性髄膜炎, 日本医事新報, 3097, 43-48, 1983
- 17) 厚生省公衆衛生局保健情報課, 国立予防衛生研究所: 病原微生物検出情報(月報) 50, 11, 1984
- 18) 三輪智恵子, 川本尋義, 野田伸司, 山口順子, 松浦章雄, 吉沢邦重: 過去6年間(1972~1977)のウイルス定点観測の成績について, 岐衛研所報, 26, 1-18, 1981
- 19) 川本尋義, 三輪智恵子, 山田不二造, 松浦章雄, 金田修幸, 渡辺昇, 交保保朗, 松田美泰: 過去3年間(1978~1980)の岐阜県内2定点地区におけるウイルス感染症サーベイランス成績について, 岐衛研所報, 26, 19-27, 1981
- 20) 岐阜県衛生部: 岐阜県感染症サーベイランス情報〔年報〕(昭和56年7月~12月) No.1, 105, 1982
- 21) 岐阜県衛生部: 岐阜県感染症サーベイランス情報〔57年報〕No.2, 142, 1983
- 22) 森田盛大, 原田誠三郎, 佐藤宏康, 安部真理子, 長沼雄峰: 秋田県におけるエコーウイルス30型による無菌性髄膜炎の流行について, 病原微生物検出情報(月報), 44, 16-17, 1983
- 23) 微生物検査情報のシステム化に関する研究班: 病原微生物検出情報年報, 1981年, 156, 1982
- 24) 微生物検査情報のシステム化に関する研究班: 病原微生物検出情報年報, 1980年, 1981
- 25) Grist N. R., Bell E. J. and Assaad F.: Enterovirus in human disease, Prog. Med. Virol, 24, 114-157, 1978

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

エコーウイルス30型の血清疫学的検索

—昭和58年岐阜県内初発流行に関する調査から—

川本 尋 義¹⁾, 渡辺 豊⁴⁾, 三輪 智恵子¹⁾, 田中 浩²⁾Sero-Epidemiological Investigations of Echovirus Type 30
in Gifu PrefectureHiroyoshi KAWAMOTO,¹⁾ Yutaka WATANABE,¹⁾ Chieko MIWA,¹⁾ and
Hiroshi TANAKA²⁾

Summary

In Gifu prefecture, through Spring to Autumn in 1983, many echovirus type 30 (echo-30) were isolated in four area of Gifu, seino, Chuno and Tono except Hida. They were primary current isolates through our viral survey in this laboratory after 1970. Hence, a seroepidemiological investigations were designed to speculate echo-30 introduction into Gifu prefecture. Virus neutralizing (VN) activities, of which sera were collected in both 1981 and 1983, were titrated against 'Bastianni' strain of echo-30 prototype. On the results, in 1981, it became clear that 37.7% of 53 persons under 20 years old already had taken antibody level of four-fold or more over, and in 1983, 29.7% of 165 persons under 15 years old also had taken. But the geometric mean of VN titers in both 1981 and 1983 showed 9.19-fold and 13.5-fold, respectively. Additionally, in an age distribution, high frequency of antibody taken showed in range of 5-9 years old age.

In a comparison of antigenicities of both prototype and current virus, no significant difference showed in this study. Hence it appears that echo-30 had already introduced into Gifu prefecture before 1981.

要 旨

岐阜県では昭和58年に初めてエコー30型ウイルス (E-30) の数多くの株を分離同定し、県内広域の流行を確認した。本報は E-30 の浸淫の経過を把定する目的で昭和56年と58年の採取血清を用い、血清疫学的検索を実施し、その成績を考察した。標準株 Bastianni に対する中和抗体価 4 × 以上の保有は昭和56年にすでに37.7% (20/53) 認められ、昭和58年には29.7% (49/155) であった。幾何平均抗体価は昭和56年に9.19 × から昭和58年の13.5 × に上昇がみられた。抗体保有年齢は20才未満が昭和56年に39% (16/41)、15才未満では昭和58年に31.5% (46/146) であった。抗体保有は何れの年度でも5~9才にピークを認め、E-30 の浸淫伝播が昭和56年にすでに今日同様であることが確認された。

-
- 1) 岐阜県衛生研究所微生物第一部, 岐阜市野一色4-6-3
 - 1) Gifu Prefectural Institute of Public Health, Department of Virology 6-3, Noishiki 4-chome, Gifu 500, Japan
 - 2) 岐阜県立岐阜病院小児科, 岐阜市野一色4-6-1
 - 2) Prefectural Gifu Hospital, Pediatrics 6-1, Noishiki 4-chome, Gifu 500, Japan

はじめに

岐阜県下で飛騨地域を除く広い地域から、エコーウイルス30型(エコー30と略す)が昭和58年春季から秋季の期間に数多く分離、同定され、県下における大規模なエコー30の浸淫流行がウイルス学的検索により確認された。これ迄、エコー30は岐阜県下で全く分離された事は無く、全国的にも分離事例は少ない。我が国では1977年以前には全くエコー30についての分離報告はなく、極少数例として愛知県内から1978年にウイルス検索の結果9例の分離事例¹⁾が有るのみであった。エコー30は1959年英国²⁾で夏季に流行した無菌性髄膜炎から最初に分離されたが、同年 New York での髄膜炎事例から分離された株が後にエコー30の標準株⁶⁾(Bastianni)とされた。1960年代を通じてアラスカを含む北米大陸や西ヨーロッパ諸国で髄膜炎との関連でエコー30の流行報告は多くみられた。しかしながら、日本国内ではエコー30が流行病因として注目される様な発生事例は極めて僅かである。国外でのエコー30による髄膜炎流行では、それら疫学的特徴の一つに流行が晩夏から初秋以降に集中する事が多いことから、感染伝播力の強い常在性エンテロウイルス感染がこれらの季節に少なくなり、非常性ウイルス感染が増加しようと推定される。エコー30は野生エンテロウイルス感染の少ない地域と常在性ウイルス感染の減少した季節に伝播し易く、他のエンテロウイルスによる感染で干渉を受け易い種類に属する可能性を森次ら⁸⁾は示唆している。

岐阜県でのエコー30による流行は今回が初めてであり、その規模の大きさに加えて季節が初夏から晩秋の長期にわたったことから、我々はエコー30についてのウイルス浸淫伝播の血清疫学的検索を試み、県民のエコー30感受性の推定把握を行った。

材料と方法

- 1) 血清：ウイルス感染症定点観測調査の為に県立岐阜病院小児科において昭和58年5月から12月までの期間に合計165名から採血した。また昭和58年と比較する為に、昭和56年5月から8月までの期間に県内の岐阜及び東濃の2地域から採血し -20°C に保存していた53名の血清を使用した。
- 2) ウイルス：実験に用いたE-30の株の内、標準株(Bastianni)は国立予防衛生研究所腸内ウイルス部から分与され、当衛研でサル腎初代細胞培養にて1代した後、 -80°C で昭和58年迄維持管理していた。今回の試験ではE-30標準株をHeLa細胞に馴化させる為に4継代を行った。また昭和58年のE-

30新鮮分離株は7月に東濃地域(恵那保健所管内)に発生した熱性胃腸炎患者(9才、男性)の糞便から分離同定された83-HD-7F株のHeLa細胞4継代株を用いた。

- 3) 細胞及びその培養液：昭和48年に北大医学部松宮教授から分与されて以来、維持継代しているHeLa細胞を用いた。なおこの細胞はE-30の分離、同定の全ての試験に用いられた。培養液はDulbecco氏処方のYLE(自家調製)とイーグルMEM(日本製薬)の2種類の培養液を等量混合したのに対して、増殖液としては新生仔牛血清NCS(FLow社)を10%、 NaHCO_3 を0.075%として加え、また維持液としてはNCSを2%、 NaHCO_3 を0.15%に加えて用いた。この維持液はウイルス力価測定並びにウイルス中和試験等の稀釈液として、また培養細胞の維持に用いた。
- 4) ウイルス中和抗体価測定：血清はその25 μl の2倍段階稀釈をトランスファープレート(Cook社)で行ない、攻撃ウイルスは25 μl あたり100TCID₅₀を含む様に稀釈準備し、夫々のwellに等量を加えマイクロミキサー(大洋)で約30秒間混和した後、5%CO₂36°C加湿下で90分間反応した。反応後、HeLa細胞を96wellに培養した培養平底プレート(Falcon社3042)を維持液交換して接種し、無毒性テープ(Scotch社)でシール後36°Cの恒温器に5日間培養した。最終中和抗体価は細胞変性(CP)が阻止された最高稀釈とした。

成 績

E-30中和抗体保有状況：標準株Bastianniに対する中和抗体保有分布は昭和58年を表1に、昭和56年を表2に示した。表1に示した如く、昭和58年の岐阜地区での抗体保有は抗体価4×以上が被検者165名中49名(29.7%)であった。保有者の年齢分布では5—9

表1 1983年現在でのエコーウイルス30型中和抗体保有状況

年 齢	ウイルス中和抗体価						保有率 %
	人数	<4×	4×	16×	64×	256×	
0	12	9	3	—	—	—	25.0
1—4	63	9	7	4	3	—	22.2
5—9	48	26	6	9	7	—	45.8
10—14	23	16	4	—	2	1	30.4
15才以上	1	1	—	—	—	—	
不 明	18	15	1	1	1	—	16.7
合 計	165	116	21	14	13	1	29.7

才に45.8%, 10-14才に30.4%が含まれ, 小学校児童と中学校生徒がその殆んどを占めた. 0才での保有者の抗体価は全て4×であり, 生後6ヶ月未満の新生児であった事から, 母親からの垂直移行抗体である可能性が高いとみられた. 表2に示した如く, 昭和56年現在の保有状況は4×以上が被検者53名中20名(37.7%)であった. 保有者の年齢分布では5-14才に保有者全体の70%が含まれた. 抗体保有者の内, 16×以上の抗体獲得の出現率は, 昭和56年の8/20(40%)から昭和58年には28/49(57.1%)に上昇している. また全体の保有者の幾何平均抗体価は昭和56年が6.19×から昭和58年には13.5×に上昇した.

標準株抗体価と新鮮分離株抗体価の比較分布: 昭和58年の被検者の内, 標準株抗体保有者48名と抗体を保有していなかった40名の計88名の血清の昭和58年新鮮

分離株 83-HD-7F に対する中和抗体価を同様の方法で測定した結果, 図1に示した如く, 74名(84.1%)には2種類の攻撃ウイルスに対する抗体価の開きが4倍以内で差の有意性は認められなかった. しかし14名(15.9%)には4倍以上の差を認め標準株に比較して新鮮分離株抗体価が高く示される傾向を認めた. これら差の有意な血清は殆んどが分離株抗体価64×以上に含まれ, 図1の破線で区切られた上位の群にあった.

考 察

E-30を病因とした髄膜炎その他疾病流行は⁸⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾北米や²⁾⁷⁾西欧諸国に多く報告されている. 岐阜県ではE-30が昭和58年の無菌性髄膜炎の髄液から多く分離同定され, その病因として確定された. 過去の森次⁸⁾の昭和44年現在における岐阜県内採取血清のE-30抗体保有状況は, 20才以下の年齢では2.7%(1/37), 20-69才では27.1%(13/48)であった. ウイルス分離報告は国内では1978年に愛知県内で分離される迄, 報告は無いけれどもE-30による浸淫は確実にあったと推定された. 今回の調査により, 昭和56年には20才未満の年齢層の抗体保有率が39%(16/41), 昭和58年には15才未満の年齢層では31.7%(46/145)と相当高く認められ, 昭和44年当時との違いを示し, 初等・中等教育就学年令層のE-30感染が近年増加している事を示唆した. E-30は他の強い感染力を示す常在性エンテロウイルスによる干渉等が考えられ, その流行伝播時期も晩夏初秋の常在ウイルス流行の弱まる時期に伝播すると考えられていた.⁸⁾しかし昭和58年のE-30流行は初夏に始まり晩秋迄続く通常のエンテロウイルスにみられる様な流行形態を示したのも今回の特徴であり, 常在性エンテロウイルスとして今後は監視とウイルス性状の検討が必要となることであろう.

文 献

- 1) Sakae, K., Kuno, A., Ishihara, Y., Miyake, T., Nishio, O., Fujiura, A., and Inoue, H.: A Small Epidemic of Echovirus Type 30 in Aichi Prefecture, 愛知衛所報, 30, 9-13, 1980
- 2) Duncan, I.B.R.: Aseptic Meningitis Associated with A Previously Unrecognized Virus, Lancet, 2, 470-471, 1960
- 3) Plagr, H. and W. Decker: A Newly Recognized Enterovirus Isolated from Cases of Aseptic Meningitis, Amer. J. Hyg., 77, 26-28, 1963
- 4) Wenner, H. A., Harmon, P., Behbehani, A. M., Rouhandeh, H., and Kamitsuka, P. S.: The

表2 1981年現在でのエコーウイルス30型中和抗体保有状況

年 齢	ウイルス中和抗体価						保有率 %
	人数	<4×	4×	16×	64×	256×	
0	0	—	—	—	—	—	
1-4	1	0	1	—	—	—	
5-9	12	5	3	2	2	—	58.3
10-14	18	11	5	—	2	—	38.9
15-19	10	9	1	—	—	—	10.0
20-49	8	4	2	2	—	—	50.0
50才以上	4	4	—	—	—	—	
合 計	53	33	12	4	4	—	37.7

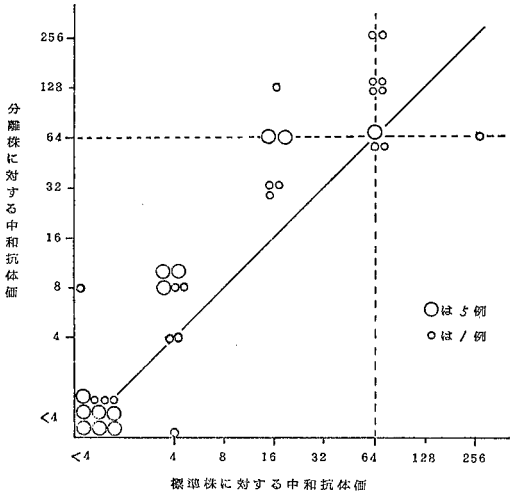


図1 昭和58年ウイルス感染症定点観測(岐阜地区)小児87血清のエコーウイルス30型(標準株, 分離株)に対する中和抗体価の比較

- Antigenic Heterogeneity of Type 30 Echoviruses, *Amer. J. Epidemiol.*, **85**, 240-249, 1967
- 5) Lewnton-Kriss, S., and M. Schaeffer: Characteristics of An Echovirus Type 30 Strain Isolated during An Epidemic of Aseptic Meningitis in New York in 1968, *Amer. J. Epidemiol.*, **93**, 281-290, 1971
- 6) Gravella, C. R., Noble, G. R., Feltz, E. T., Saslow, A. R., Clark, P. S., and Chin, T. D. Y.: An Epidemic of Echovirus Type 30 Meningitis in Arctic Community, *Amer. J. Epidemiol.*, **99**, 368-374, 1974
- 7) Keuth, U., Esser, I., Wilhelmi, J., und Wilhelmi, I.: Die Herpangina Epidemie 1967/68 (Echo 30/6/3), Bericht über 490 Klinisch Beobachtete Fälle in Säulings und Kindesate, *Deu. Med. Wscht.*, **94**, 1959-1965, 1969
- 8) 森次保雄, 小松俊彦, 田原照子, 多ヶ谷勇, 三木康, 吉田英一, 三輪智恵子: エコー8)型ウイルス感染の血清疫学的検索——本州中央部に於ける調査研究から——, *日本医事新報*, **2512**, 45-47, 昭和47年



1983~1984年岐阜県に流行したインフルエンザについて

猿渡正子*, 渡辺 豊*, 三輪 智恵子*, 山田 不二造*

On the Influenza Outbreaks in 1983~1984, in Gifu Prefecture

Seiko SAWATARI*, Yutaka WATANABE*, Chieko MIWA*,
Fujizo YAMADA*

はじめに

1977年初冬から1978年初春(1977/78年)のインフルエンザ流行のシーズンにAソ連型インフルエンザウイルスによる大流行が全国的にみられた。以来、1978年初冬から1979年初春(1978/79年), 1979年初冬から1980年初春(1979/80年), そして1980年初冬から1981年初春(1980/81年)のシーズンにもAソ連型ウイルスによる流行がみられた。

1983年初冬から1984年初春(1983/84年)の今季シーズンにみられたインフルエンザの流行は、Aソ連型インフルエンザウイルスによるものが主流であり、分離された株は大きく2種類に分けられた。A/熊本/37/79ワクチン類似株と、抗原性のかなり異ったA/Dunidin/6/83類似株¹⁾であった。1983/84年シーズンの前半の流行からはワクチン株類似株が、そして後半の流行からはA/Dunidin/6/83類似株^{1,2)}が優勢に分離され主流となった。

岐阜県においてもAソ連型インフルエンザウイルスによる流行が認められたので、その詳細をまとめてここに報告する。

材料および方法

1. 流行状況

流行状況は、岐阜県保健予防課に届出された集団かぜ患者情報をもとに、患者数、学校および施設の存在する市町村を地区および週単位に区分して行った。

地区区分は、岐阜県を5地区に分け、北部を飛騨、中央部を中濃、東南部を東濃、西南部を、西濃、南部中央を岐阜地区とした。

週区分は、集団かぜの最初の発生報告のあった週を

第1週とし、以降2~11週とした。

2. ウイルス分離

保健所から送付された97名のかぜ様患者の急性期に採取されたうがい液または咽頭ぬぐい液につき実施した。

ウイルス分離は、10日目前後の発育鶏卵を用い、33~35°Cで、3代まで盲継代して行った。その詳細はウイルス実験学³⁾に示されたのと同様の方法である。

3. 分離ウイルスの同定

分離ウイルスの同定は、赤血球凝集抑制試験(HIテスト)を用い、ウイルス実験学に示されたのと同様

表1 インフルエンザウイルス同定用抗血清

型	株	
A (H ₁ N ₁)	A/熊本/37/79	日本インフルエンザセンター
A (H ₃ N ₂)	A/Bangkok/1/79	〃
B	B/Singapore/222/79	〃

表2 インフルエンザHIテスト使用抗原

型	株	
A香港型(H ₃ N ₂)	A/石川/7/82	デンカ生研株式会社
Aソ連型(H ₁ N ₁)	A/熊本/37/79 A/岐阜/14/83 A/岐阜/5/84	武田薬品工業株式会社 今季分離株 〃
B型	B/Singapore/222/79	武田薬品工業株式会社

* 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 4chome, Gifu 500 Japan.

の方法で行った⁴⁾。使用抗血清は表1に示した。分離株の一部は、フェレット感染血清による抗原分析を行うため、日本インフルエンザセンターに送付した。

4. 血清学的検査 (H I 抗体価の測定)

保健所から送付されたかぜ様患者の急性期と回復期のペア血清91につき、マイクロ法で実施した⁵⁾。使用抗原は表2に示した。

結 果

1. 流行状況

(1) 流行期間

昭和58年12月20日から昭和59年3月1日であり、冬休みの中断を含む。

(2) 患者発生状況

届出患者数は、30,441人であった。内、欠席者7,425人、施設数141人、休校23、学年閉鎖55、学級閉鎖154であった。

週別届出患者数を図1に示した。

患者発生は、流行の始まった第5週目から急激に増加し、第6週目で2万人台の患者発生となりピークを示した。患者発生の多かった週は、5、6、7週の3週間であり、この間の患者数は、総患者数の97.1%を占めた。ピーク時の第4週は、総患者数の67.0%と半数以上の患者発生が見られた。

地区別週別患者発生 (図2) は、各地区とも第6週目にピークを示し、5、6、7週の3週で患者発生数の大半を占めた。岐阜地区100%、西濃地区77.2%、

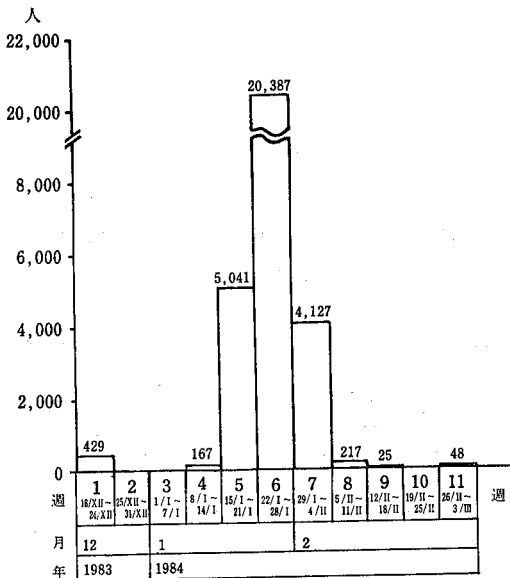


図1 岐阜県における集団かぜ週別患者発生状況 (1983/84シーズン)

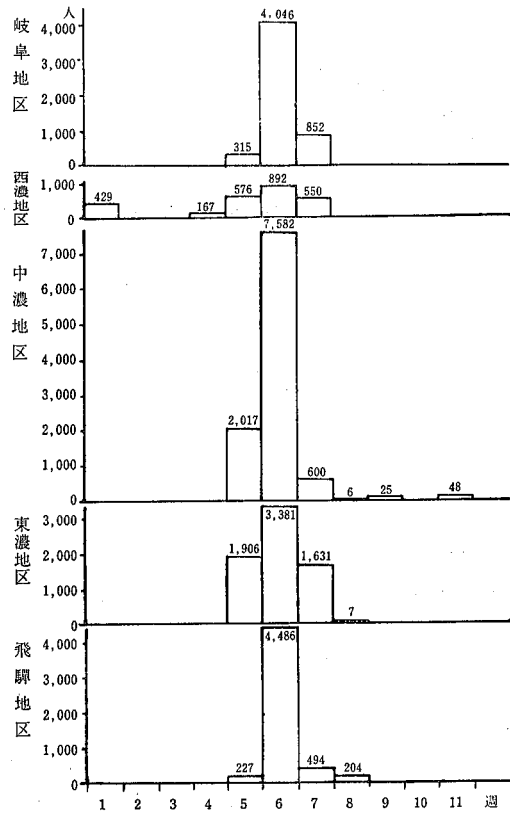


図2 地区別週別集団かぜ患者発生状況 (1983/84シーズン)

中濃地区99.2%、東濃地区99.9%、飛騨地区96.2%と患者発生が、3週間に集中した。

(3) 流行の拡大状況

岐阜県下100市町村のうち51市町村において集団かぜの届出があった。

集団かぜの初発した市町村を週を追って図3に示し、地区ごとに初発のあった市町村数を週ごとに表3に示した。

岐阜県内における集団かぜの初発は西濃地区に発生、冬休み期間の第2、第3週の間断、次いで第4週目に再び西濃地区に発生、第5週に入り全地区で発生した。

集団かぜの初発のあった市町村数を週単位で見ると、一番多かったのは第5週目(23市町村)であり、各地区とも飛騨地区(6週目)を除いて同様の傾向を示した。

最も広範にわたって集団かぜが発生した地区は東濃地区で、17市町村中13市町村(76%)で発生がみられた。

表3 週別集団かぜ初発市町村

地区 (市町村数)	週	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	集団かぜ発 生市町村数 市町村数(%)
		初 累 計	発 計										
岐 卓 (10)	初 累 計					3 3	3	3	3	3	3	3	3/10 (30)
西 濃 (28)	初 累 計	1 1	1	1	1 2	2 4	2 8	8	8	8	8	8	8/28 (29)
中 濃 (25)	初 累 計					8 8	7 15	2 17	17	17	17	17	17/25 (68)
東 濃 (17)	初 累 計					8 8	3 11	2 13	13	13	13	13	13/17 (76)
飛 騨 (20)	初 累 計					2 2	7 9	9	9	1 10	10	10	10/20 (50)
岐 卓 県 (100)	初 累 計	1 1	1	1	1 2	23 25	19 44	6 50	50	1 51	51	51	51/100(51)

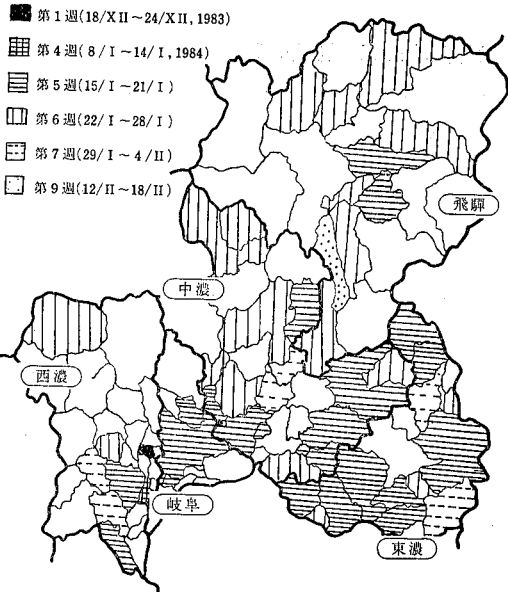


図3 集団かぜ週別初発地図 (1983/84シーズン)

表4 小・中学生の集団かぜ罹患状況 (1983/84シーズン)

地区	届出患者数 (罹患率%)			在席生徒数 (昭和58年5月) 6)		
	小学生	中学生	小・中学生	小学生	中学生	小・中学生
岐 県	3,387(4.9)	1,795(5.3)	5,182(5.0)	69,330	33,739	103,069
西 濃	1,907(4.0)	655(2.8)	2,562(3.6)	48,229	23,226	71,455
中 濃	6,599(18.3)	3,492(20.6)	10,091(19.1)	36,010	16,946	52,956
東 濃	5,707(16.6)	752(4.4)	6,443(12.6)	34,298	16,944	51,242
飛 騨	3,365(20.4)	1,780(21.5)	5,145(20.8)	16,462	8,302	24,764
岐 卓 県	20,949(10.3)	8,474(8.5)	29,326(9.7)	204,329	99,157	303,486

(4) 罹患率

届出患者のうち、母数の把握が可能であった小、中学生のみの罹患率を地区別に表4に示した。届出患者数には、園児も含まれているが、母数がつかめなかったためここでは除いた。

岐阜県の小・中学生の罹患率は9.7%であり、小学生は10.3%、中学生は8.5%であった。

小・中学生の罹患率の高い地区は飛騨地区(20.8%)と中濃地区(19.1%)であり、罹患率の最も低い地区は西濃地区(3.6%)であった。

小学生と中学生の罹患率には、各地区ともあまり大きな開きは認められなかったが、東濃地区のみ小学生16.6%に比し中学生4.4%と大きな開きが認められた。

2. ウイルスの分離同定成績

97名の患者から7株(7.2%)のインフルエンザウイルスを分離した。分離成績は表5に、抗原分析結果は表6に示した。

表 5 インフルエンザウイルス分離成績 (1983/84シーズン)

No.	検体採取 月/日/年	発 症 月 日	管 轄 保 健 所	地 区	検体数	ウイルス 分 離 数 (%)	ウ イ ル ス の 型		
							A (H ₃ N ₂)	A (H ₁ N ₁)	B
1	12/20/83	12/13~12/19	大 野	西 濃	5	2(40)	0	2	0
2	1/12/84	1/ 5~ 1/11	大 垣	西 濃	10	0	0	0	0
3	1/17/84	1/12~ 1/15	関	中 濃	10	0	0	0	0
4	1/17/84	1/10~ 1/17	伊 奈 波	岐 卓	10	1(10)	0	1	0
5	1/19/84	1/12~ 1/18	多 治 見	東 濃	9	2(22)	0	2	0
6	1/23/84	1/17~ 1/22	高 山	飛 騨	10	1(10)	0	1	0
7	1/25/84	1/19~ 1/24	郡 上	中 濃	10	0	0	0	0
8	1/25/84	1/21~ 1/23	恵 那	東 濃	11	0	0	0	0
9	1/25/84	1/19~ 1/25	益 田	飛 騨	10	1(10)	0	1	0
10	1/31/84	12月~ 1/28	岐阜市南	岐 卓	12	0	0	0	0
					97	7(7.2)	0	7	0

表 6 インフルエンザ A (H₁N₁) 型の株のHI抗原分析

抗 原	フェレット 抗血清				
	A/熊本/37/79	A/England /403/80	A/東京/103/83	A/Dunidin /6/83	A/Bangkok /103/83
A/熊本/37/79	512	128	32	128	64
A/England/403/80	128	512	256	512	512
A/東京/103/83	64	128	512	512	256
A/Danidin/6/83	64	128	512	512	256
A/Bangkok/103/83	64	256	512	256	512
A/岐阜/14/83	64	128	512	256	256

表 7 インフルエンザ血清学的検査成績 (1983/84シーズン)

No.	検 体 採 取		管 轄 保 健 所	地 区	検体数 (対)	血球凝集抑制試験 (*有意抗体上昇数)					備 考
	急性期 月/日/年	回復期 月/日/年				A/石川 /7/82	A/熊本 /37/79	A/岐阜 /14/83	A/岐阜 /5/84	B/ Singapore /222/79	
						(H ₃ N ₂)	(H ₁ N ₁)	(H ₁ N ₁)	(H ₁ N ₁)		
1	12/20/83	1/10/84	大 野	西濃	10(5)	0	3	4	3	0	小学生 4
2	1/12/84	1/30/84	大 垣	西濃	19(9)	0	3	2	3	0	中学生 3
3	1/17/84	2/ 3/84	関	中濃	19(9)	0	7	9	7	0	小学生 9
4	1/17/84	2/ 8/84	伊 奈 波	岐 卓	20(10)	0	7	6	5	0	小学生 7
5	1/17/84	2/ 8/84	多 治 見	東濃	15(7)	0	6	6	6	0	小学生 6
6	1/23/84	2/ 6/84	高 山	飛 騨	20(10)	0	5	6	5	0	小学生 6
7	1/25/84	2/ 7/84	郡 上	中濃	20(10)	0	8	8	5	0	中学生 9
8	1/25/84	2/ /84	恵 那	東濃	20(10)	0	9	9	8	0	小学生 10
9	1/25/84	2/10/84	益 田	飛 騨	20(10)	0	4	6	3	0	中学生 6
10	1/31/84	2/16/84	岐阜市南	岐阜	23(11)	0	3	1	3	0	小学生 4
					186(91)	0	55	57	48	0	

* 回復期の抗体価が急性期の抗体価の4倍以上上昇したものを有意抗体上昇とした。

ウイルスの分離された地区は、岐阜、西濃、東濃、飛騨地区の4地区であった。

抗原分析結果によると、岐阜県の分離株A/岐阜/14/83は、A/Dunedin/6/83類似であった。

3. 血清学的検査成績

HIテストの成績は表7に示した。

10ヶ所の保健所で採取した91ペア血清では、A/熊本/37/79(H₁N₁)(ワクチン株)に対して55血清(60.4%)、A/岐阜/14/83(H₁N₁)に対して57血清(62.6%)、A/岐阜/5/84(H₁N₁)に対して48血清(52.7%)に有意抗体上昇が認められた。回復期の抗体価が急性期の抗体価の4倍以上上昇したものを有意抗体上昇とした。A/石川/7/82(H₃N₂)およびB/Singapore/222/79に対しては有意抗体上昇は認められなかった。

10ヶ所、5地区の材料で、A(H₁N₁)型抗原に対

し有意抗体上昇が認められた。

急性期血清のA/熊本/37/79(ワクチン株)のHI抗体価とA/岐阜/14/83(分離株)のHI抗体価の相関をみても(図4-C)、分離株の抗体価は全体にワクチン株より低く、幾何平均抗体価では分離株

表8 被検者のインフルエンザワクチン接種状況 (1983/84シーズン)

ワクチン接種	有意抗体上昇を示した者	有意抗体上昇を示さなかった者	計
2回	60	15	75
1回	2	3	5
0回	3	9	11
計	64	27	91

1:25.7, ワクチン株1:26.5であった。

急性期の、分離株とワクチン株のHI抗体価分布を比較してみると(図4-B)ワクチン株では1:64を最頻値として大まかな正規分布したが、分離株では1:16を最頻値としワクチン株より低いHI価に多く分布した。

回復期血清で、A(H₁N₁)型の3抗原いづれかに対し有意抗体上昇を示した者(有意抗体上昇者)64人の90%が含まれるHI価ラインを、分離株およびワクチン株で求めた。分離株では1:32以下に58人(90.6%)が含まれ、ワクチン株では1:64以下に59人(92.2%)が含まれた。

かぜ様患者血清として搬入された91ペア血清のうち27ペア血清はどの抗原にも有意抗体上昇を示さず、また、咽頭材料からのインフルエンザウイルス分類もなかった。

有意抗体上昇を示さなかった者の含まれる割合を急性期の分離株の抗体価でみた(図4-C)。有意抗体上昇を示さなかった者の含まれる割合は、HI抗体価1:16以下で10%未満と非常に少なく、1:32で少し増え、1:64以上では60%以上と急増した。

4. 被検者のワクチン接種状況

ワクチン接種状況をペア血清検体採取患者91人を対象に調査し、その結果を表8に示した。調査対象91人中75人(82.4%)は、ワクチンの2回接種を実施して

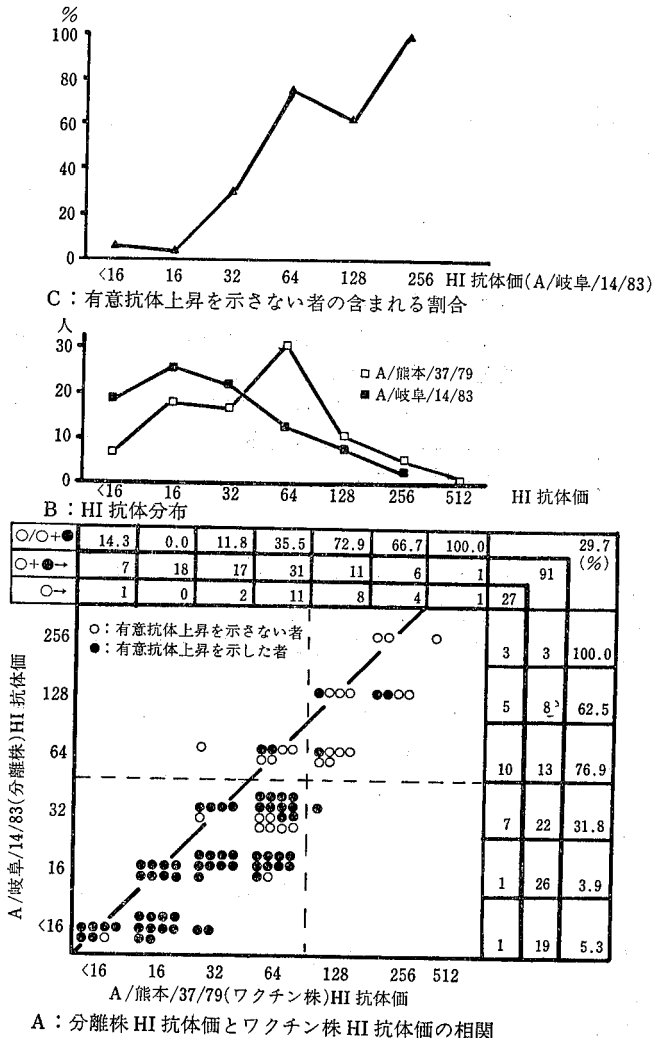


図4 急性期血清の分離株HI抗体分布

いた。

考 察

1. 集団かぜ流行状況

今季の流行は、届出患者数 30,441 人と中規模の流行であった。流行は、12月下旬西濃地区に始まり冬休みの中断後短期間に県下に広がったと思われる。集団かぜの初発のみられた市町村数は、第5週目23と最多を示し、集団かぜの発生した市町村の45%であり、第6週目までの累計は44 (86.3%)、第7週目までの累計では50 (98%) であった (表3)。しかも、患者発生も第6週目が20,387人 (67.0%) とピークを示し、第5~7週目の3週間で全体の97.4%の患者発生がみられた (図1)。以上の事から、今季の集団かぜの流行は3週間の短期集中型の流行であったと思われる。

流行の発生は、図3に見られるように、週単位で追ってゆくと、西濃地区で、そして少し遅れて他4地区で発生、流行が増幅、拡大していったと思われる。ただし、飛騨地区においては、集団かぜ初発市町村数 (表3) のピークが他地区より一週間遅れの第6週にみられた事から、第4週以降第6週までを日単位で追ってみた (図5)。その図から、まず、西濃地区で、次いで岐阜、中濃、東濃地区で、そして少し遅れて飛騨地区で流行が発生し、さらに週辺へ侵透増幅していった事が推測される。

- 初発'83.12.20 第1週
 - 1 '84.1.12 第4週
 - 2 '84.1.17 第5週
 - 3 '84.1.18
 - 4 '84.1.19
 - 5 '84.1.20
 - 6 '84.1.21
 - 7 '84.1.23 第6週
 - 8 '84.1.24
 - 9 '84.1.25
 - 10 '84.1.26
 - 11 '84.1.27
- 伝播推測方向

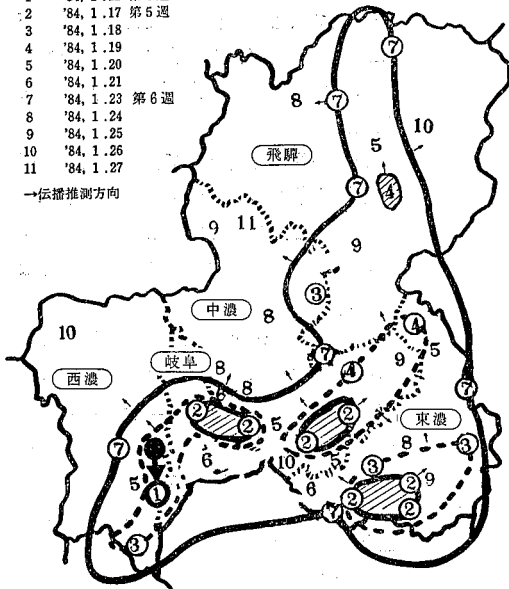


図5 集団かぜ拡大推測図

集団かぜの初発市町村に、初発のみ黒丸とし以降日を追って番号を符し地図上に表わし、週の最初の番号を■で結んだ。▨は、地区の初発を表わした。

2. インフルエンザウイルスの流行確認

97人の患者から7株 (7.2%) のインフルエンザウイルスを分離し、すべてA (H₁N₁) 型であった。インフルエンザウイルスは、中濃地区の材料からは分離されなかったが、血清学的検査では全地区においてA (H₁N₁) 型に対するHI抗体の有意上昇が認められている (表7) 事から、すべての地区でA (H₁N₁) 型インフルエンザの流行があったと思われる。

さらに、今季の分離株は、ワクチン株類似のものと、かなり抗原性の異ったA/Dunidin/6/83株類似のものとの2つのタイプの株が全国的に分離されており、岐阜県の分離株は、抗原分析結果 (表6) A/Dunidin/6/83類似株である事が認められた。抗体の面からは、A (H₁N₁) 型抗原のうち、A/岐阜/14/83 (分離株) に対する有意抗体上昇数が最も多く、急性期血清のA/岐阜/14/83のHI抗体価はワクチン株より低く、1:16を最頻値とし低いHI価に多く分布し、急性期の分離株のHI抗体価1:32以下に有意抗体上昇者の90.6%が含まれた。また、10ヶ所から搬入された血清で10ヶ所すべてにA (H₁N₁) 型ウイルスの流行確認されている事から、大部分の者が感染曝露されているとみなし、有意抗体上昇を示さなかった者の含まれる割合を急性期の分離株のHI抗体価と比較してみると、1:16以下で10%未満と非常に少なく、1:64以上で急増した。

これらの事から、抗体価測定が少数の患者の急性期血清の成績からではあるが、岐阜県における今季流行は、A/Dunidin/6/83類似株に対する抗体価の低い層に、A/Dunidin/6/83類似株により多数の罹患があった事が推測される。

ま と め

1. 岐阜県の今季インフルエンザの流行は届出患者数 30,441人、小・中学生の罹患率9.7%の中規模流行であり、患者発生97.1%が3週間に集中した短期集中型であった。
2. 集団かぜは、12月に西濃地区に初発し、1月に岐阜、中濃、東濃地区、そして少し遅れて飛騨地区で流行が発生、県下の51%の市町村に流行が広がった。
3. 流行の大きかった地区は、飛騨 (小・中学生罹患率20.8%)、中濃 (19.1%) 地区であった。
4. 今季流行は、Aソ連型インフルエンザによる流行が、ウイルス分離および血清学的検査により確認された。
5. 分離株は、ワクチン株とかなり抗原性を異にするA/Dunidin/6/83類似株であり、分離株に対する患

者の急性期の抗体価が低く、分離株による流行が主流と思われる。

本研究には調査研究費（昭和58年度）の一部を用いた。

文 献

- 1) 武内安想：インフルエンザウイルス今季分離株抗原分析速報，病原微生物検出情報，49，2
- 2) 厚生省保健情報課：昭和58年秋～59年春のインフルエンザ様疾患発生状況，病原微生物検出情報，50，2
- 3) 国立京防衛生研究所学友会：ウイルス実験学，各論，37，丸善，（1967）
- 4) 国立京防衛生研究所学友会：ウイルス実験学，総論，164-166，丸善，（1964）
- 5) 加地正郎：インフルエンザ研究の進歩，92-93，近代出版，（1976）
- 6) 岐阜県企画部統計課：学校基本調査結果，総苑，増9，16-25，（1983）

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.腸炎ビブリオと *Vibrio fluvialis* の混合感染と
思われる食中毒事例

所 光 男*, 加藤 樹 夫*, 後 藤 喜 一*, 渡 辺 実*,
山 田 不 二 造*, 長 山 千 秋**, 浅 尾 も と 子**, 佐 野 正 幸**,
清 水 義 則**, 石 原 時 雄**, 酒 向 俊 雄***, 杉 山 治***,
古 川 雅 宏***, 丹 羽 昭 司***, 大 塚 一 幸***, 後 藤 判 友***,
樋 口 行 但***, 中 村 光 孝***, 青 木 繁 夫***

An Outbreak of Food Poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus*
and *Vibrio fluvialis*

Mitsuo TOKORO*, Mikio KATO*, Kiichi GOTO*, Minoru WATANABE*,
Fujizo YAMADA*, Chiaki NAGAYAMA**, Motoko ASAO**,
Masayuki SANO**, Yoshinori SHIMIZU**, Tokio ISHIHARA**,
Toshio SAKO***, Osamu SUGIYAMA***, Masahiro FURUKAWA***,
Shoji NIWA***, Kazuyuki OHTSUKA***, Hanyu GOTO***,
Yukitada HIGUCHI***, Mitsutaka NAKAMURA***, Shigeo AOKI***

厚生省環境衛生局食品衛生課長 通達「ナグビブリオ、カンピロバクター等の食品衛生上の取扱について」¹⁾により新しく食中毒原因菌として取扱われるようになった *Vibrio fluvialis* は、腸炎ビブリオなどと並ぶ海水細菌の一種で、沿岸水など海の環境に広く分布しており、病原性を有する株が主に魚介類を介して人に感染するものと思われる。²⁾ これまで我が国における報告例は主に海外旅行者による輸入散発下痢症例³⁾で、^{4,5)} まだ確かな集団発生は知られていない。

今回、我々は患者便から腸炎ビブリオと共に *V. fluvialis* も検出された食中毒例に遭遇したのでその概要を報告する。

I. 発 生 状 況

1983年7月24日に岐阜県各務原市のH宅でお七夜の祝いが行われ、昼食時に親戚家族14名が各務原市の飲食店Tが調製した仕出し料理、各務原市の寿司店Tが調製したにぎり寿司、H宅で調製した家庭料理を摂食

表1 摂食の機会

摂食の機会	摂食者数	患者数	健康者数	発病率 (%)
祝いの席	9	4	5	44.4
祝いの席、持ち帰り料理	5	4	1	80.0
持ち帰り料理	10	8	2	80.0
計	24	16	8	66.7

したところ、表1に示したように、8名が下痢、腹痛、嘔気、嘔吐を主徴とする食中毒症状を呈した。なお、持ち帰った料理を10名が摂食していたが、うち8名も同様に食中毒症状を呈した。

II. 摂食状況と原因食品

患者24名の摂食調査を行ったところ、表2に示したように、寿司のみ食べた人、家庭料理のみ食べた人、寿司、家庭料理のみ食べた人は存在せず、患者16名は

* 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

** 岐阜県伊奈波保健所：500 岐阜市司町1番地

** Gifu Prefectural Inaba Health Center：1, Tsukasamachi Gifu 500, Japan

*** 岐阜県関保健所：501-37 美濃市生櫛1612の2

*** Gifu Prefectural Seki Health Center：1612-2, Ikushi, Mino 501-37, Japan

表2 仕出し料理, 寿司, 家庭料理の摂食状況

摂食状況	摂食者数	患者数	健康者数	発病率(%)
仕出し料理のみ食べた人	7	5	2	71.4
仕出し料理, 寿司を食べた人	4	2	2	50.0
仕出し料理, 家庭料理を食べた人	3	2	1	66.7
仕出し料理, 寿司, 家庭料理を食べた人	10	7	3	70.0
寿司のみ食べた人	0	0	0	0
家庭料理のみ食べた人	0	0	0	0
寿司, 家庭料理を食べた人	0	0	0	0
計	24	16	8	66.7

すべて仕出し料理を食べており, しかも仕出し料理だけ食べて発症した患者が5名いた。

以上のことから, 原因食品は飲食店Tが調製した仕出し料理と推定された。

仕出し料理の摂食状況は表3に示したとおりであり, 食べた人と食べない人の発症率を比較すると, 鯛の塩焼きについてのみ両者の発病率に差が認められた。X²テストを行うと鯛の塩焼きは7.57であり有意の差が認められた。

Ⅲ. 潜伏時間

祝いの席だけで食べた患者4名の平均潜伏時間は19時間50分, 持ち帰り料理のみ食べた患者8名の平均潜伏時間は14時間45分であった。

表3 原因食品の推定

献立	食べた人				食べない人				X ²
	発病者数	非発病者数	計	発病率(%)	発病者数	非発病者数	計	発病率(%)	
鯛の塩焼き	11	0	11	100	5	8	13	38.5	7.57
エビの塩焼き	4	5	9	44.4	12	3	15	80.0	
タコ・キュウリの酢物	5	4	9	55.6	11	4	15	73.3	
鰻の蒲焼き	7	4	11	63.6	9	4	13	69.2	
エビのフライ	7	3	10	70.0	9	5	14	64.3	0.02
カレイのフライ	6	4	10	60.0	10	4	14	71.4	
刺身(マグロ)	7	4	11	63.0	9	4	13	69.2	
(ガジキ)	7	4	11	63.6	9	4	13	69.2	
(ハマチ)	6	4	10	60.0	10	4	14	71.4	
バイ貝	4	3	7	57.1	12	5	17	70.6	
ゆでガニ	9	3	12	75.0	7	5	12	58.3	0.16
鮎の甘露煮	4	3	7	57.1	12	5	17	70.6	
卵焼き	10	4	14	71.4	6	4	10	60.0	0.02
とりももの唐揚げ	6	2	8	75.0	10	6	16	62.5	0.02
吸い物	6	4	10	60.0	10	4	14	71.4	

表4 臨床症状

症状	下痢	腹痛	嘔気	嘔吐	発熱	悪感	頭痛	倦怠感	脱力感
患者数	16	14	10	8	7	3	2	1	1
%	100	87.5	62.5	50.0	43.8	18.8	12.5	6.3	6.3

Ⅳ. 臨床症状

患者16名の臨床症状を表4に示した。下痢, 腹痛が最も共通した症状であり, 嘔気, 嘔吐, 発熱もそれぞれ62.5%, 50.0%, 43.8%に認められた。下痢の回数は最高15回, 平均6回であり, 嘔吐の回数は最高6回, 平均3回であった。

Ⅴ. 細菌学的検査

1. 被検材料

患者便6件, 調理者便3件, H宅に残っていた仕出し料理の残品5件, 調理器具ふき取り材料2件, 冷蔵庫ふき取り材料2件。

2. 検査方法

微生物検査⁶⁾および新細菌培地学講座^{7,8)}に準じて行った。腸炎ビブリオ分離株の血清型別には市販(デンカ生研製)の腸炎ビブリオ診断用血清を用いた。

3. 検査成績

表5に示したように, 患者便6件中5件から腸炎ビブリオが, 3件から *V. fluvialis* が検出された。しかしながら, その他の検査材料からは腸炎ビブリオおよ

表5 腸炎ビブリオ, *V. fluvialis* 検出状況

検 体	検体数	陽 性 数	
		腸 炎 ビブリオ	<i>V. fluvialis</i>
患 者 便	6	5	3
調 理 者 便	3	0	0
鯛の塩焼き	1	0	0
エビの塩焼き	1	0	0
エビのフライ	1	0	0
カレイのフライ	1	0	0
とりもの唐揚げ	1	0	0
調理器具ふき取り	2	0	0
冷蔵庫ふき取り	2	0	0

び他の食中毒起因菌は検出されなかった。

TCBS 寒天平板上の腸炎ビブリオと *V. fluvialis* の集落数を比較してみると、表6に示したようにNo. 1および2の患者は腸炎ビブリオしか分離されず、No.3の患者も培地上の集落がほとんど腸炎ビブリオで、*V. fluvialis* はわずかに分離されただけであった。しかしながら、No.4の患者は腸炎ビブリオと *V. fluvialis* がほぼ半々の割合で分離され、No.5の患者では *V. fluvialis* の集落が圧倒的に多かった。

表6 TCBS 寒天平板上の腸炎ビブリオ,
V. fluvialis の集落数

患 者 No.	TCBS 平板上の集落数	
	腸炎ビブリオ	<i>V. fluvialis</i>
1	卍	0
2	卍	0
3	卍	+
4	卍	卍
5	+	卍

患者便5件から分離された腸炎ビブリオ15株(1検体から3集落)の血清型はすべて05:K15であった。

患者便3件から分離された *V. fluvialis* 15株(1検体から5集落)の生化学的性状を表7に示した。15株ともリジンおよびオルニチンの脱炭酸が陰性でアルギニンの加水分解が陽性であり、アラビノースを分解し、8% NaCl 加ペプトン水に発育すること等から *V. fluvialis* と同定された。

V. fluvialis はブドウ糖からのガス産生によって、生物型Ⅰと生物型Ⅱに区分されているが、分離株15株は生物型Ⅰ7株、生物型Ⅱ8株に区分された。生物型Ⅰと生物型Ⅱの分離率を表8に示したが、*V. fluvialis*

表7 *V. fluvialis* 分離株15株の生化学的性状

性 状	<i>V. fluvialis</i> 分離菌株	
オキシダーゼ	+	+
カタラーゼ	+	+
インドール	+	+
V. P.	-	-
H ₂ S (TSI)	-	-
ウレアーゼ	-	-
硝酸塩還元	+	+
運動性	+	+
ONPG	+	+
リジン	-	-
オルニチン	-	-
アルギニン	+	+
ブドウ糖	+	+
ガス	-	+
白糖	+	+
乳糖	-	-
マルトース	+	+
アラビノース	+	+
キシロース	-	-
マンニト	+	+
イノシト	-	-
NaCl 濃度 0%	-	-
3%	+	+
8%	+	+
10%	-	-
分離菌株数	7	8

表8 *V. fluvialis* 分離株15株の生物型

患 者 No.	分離株数	生物型Ⅰ	生物型Ⅱ
3	5	2	3
4	5	2	3
5	5	3	2
計	15	7	8

が分離された患者3名についてはほとんど差は認められなかった。

Ⅶ. 考 察

患者が発生したお七夜の祝いには、仕出し料理、寿司、家庭料理が提供されていたが、患者の摂食状況からみて、今回の食中毒は仕出し料理が原因食の食中毒事例であることは明らかである。

マスターテーブルからは原因食品として鯛の塩焼きが浮上してきたが、患者16名中5名(31.3%)が鯛の塩焼きを摂食していなかったことから、鯛の塩焼き以外にも原因食品が存在していたと考えられる。しかし

ながら、今回の我々の調査からはその食品を推定することはできなかった。

本事例は患者便6件中5件からO5:K15の血清型の神奈川現象陽性の腸炎ビブリオが分離されたことから、腸炎ビブリオが主役をなしている食中毒であることは確かである。しかしながら、患者便3件から腸炎ビブリオと共に *V. fluvialis* も検出され、しかもその1件の集落は腸炎ビブリオが非常に少なく、主に *V. fluvialis* で占められていた。*V. fluvialis* の人に対する病原性についてはまだ十分理解されるには至っていないが、これまでの報告から *V. fluvialis* が下痢症の起原菌となりうることは立証されていることから判断すると、本事例の起原菌として *V. fluvialis* も何らかの役割を演じていたと考えられる。

V. fluvialis が原因菌と推定される食中毒例は現在までに、小田らの報告したサルモネラとの混合感染と推定される一家族内食中毒(患者2名)1例だけである。従って、本報の事例は(1)患者数が多い、(2)腸炎ビブリオとの混合感染という点で注目される事例である。

道家らは、1982年6月~10月に採取された海水および貝類からは100%、市場材料の近海魚からは86% *V. fluvialis* が分離できたと報告していることから、海産魚介類の海域での *V. fluvialis* の一次汚染は、腸炎ビブリオと同様、避えないと考えられる。従って、今後は *V. fluvialis* が原因菌として確認される食中毒事例が増加することが予想され、しかも、*V. fluvialis* 単独というよりむしろ腸炎ビブリオとの混合感染の事例が多いものと推測される。

本報の事例でも経験したように、腸炎ビブリオと *V. fluvialis* の混合感染の食中毒事例では患者によっては腸炎ビブリオに比べ *V. fluvialis* の菌数が非常に少ない場合がある。従って、腸炎ビブリオ食中毒と思われる事例でも今後は *V. fluvialis* にも十分留意して検索する必要があると思われる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御協力を頂きました岐阜

県衛生環境部環境衛生課の各位に深謝致します。

本研究は昭和58年度本県調査研究費の一部によった。

文 献

- 1) 厚生省通達(環食第59号):食品衛生研究, 32, 481-495, 1982
- 2) 道家 直, 戸泉 慧, 梅田哲也, 東 逸男, 原田七寛, 北浦敏行, 本田れい子: *Vibrio fluvialis* の環境・魚介類中分布, 熊本県衛生公害研究所, 12, 22-23, 1982
- 3) 工藤泰雄, 大橋 誠: 厚生省環境衛生局食品衛生課長通達「ナグビブリオ, カンピロバクター等の食品衛生上の取扱いについて」解説, モダンメディア, 29, 419-435, 1983
- 4) 山田澄夫, 津野正朗, 松下 秀, 太田建爾, 工藤泰雄, 坂井千三, 大橋 誠: 東京都における輸入感染性腸炎の細菌学的検討(1978~1981) —その1 病原菌の検出状況—, 感染症誌, 56, 1264-1265, 1982
- 5) 山田澄夫, 津野正朗, 太田建爾, 松下 秀, 工藤泰雄, 坂井千三, 大橋 誠: 東京都における輸入感染性腸炎の細菌学的検討(1982年), 感染症誌, 57, 136, 1983
- 6) 柳沢 謙: 微生物検査必携, 細菌, 真菌検査, 第2版, 228-240, 日本公衆衛生協会, 1978
- 7) 坂崎利一: 新細菌培地学講座, 上, 279-403, 近代出版, 1978
- 8) 坂崎判一: 新細菌培地学講座, 下, 119-133, 近代出版, 1978
- 9) Sanyal, S.C., R.K., Annapurna, E. and Lee, J.V.: Enterotoxicity of Group F *Vibrio*, Japan. J. Med. Sci. Biol., 33, 217-222, 1980
- 10) 小田隆弘, 永井 誠, 大久保順子, 菅原 誠, 村上義久, 松尾利勝: サルモネラ2種と *Vibrio fluvialis* (Group F *Vibrio*; *Vibrio*-like Group, EF-6) が検出された一食中毒事例について, 福岡市衛試報, 6, 47-50, 1981

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

高速道路のし尿浄化槽から分離された Salmonella について

加藤 樹夫*, 所 光 男*, 後藤 喜一*, 渡辺 実*,
山田 不二造*

Studies on the Isolation of Salmonella from Wastewater Treatment Plants Located at Rest Places in the Expressway

Mikio KATO*, Mitsuo TOKORO*, Kiichi GOTO*, Minoru WATANABE*,
Fujizo YAMADA*

昭和57年にNAGビブリオ、カンピロバクター等新しい菌種が食中毒原因菌に加えられたが、細菌性食中毒のうちSalmonella(以下Sal.)¹⁾を原因とする食中毒は、依然として発生頻度が高い。また、保菌者検索及び散発下痢症患者からのSal.分離件数もかなりの数に上る。^{2)~4)}これまでにSal.については、感染症や食中毒予防面から環境、食品などの汚染に関心が持たれ、河川、食品等の実態調査が多数行われ、Sal.が高率に検出されたと報告している。^{5)~14)}その汚染源として浄化槽放流水、畜舎排水、生活排水があげられる。浄化槽については、放流水に法的規制があるもの大腸菌群やSal.の分離など細菌学的検査が進められているが、その消長に関しての報告は少ない。

浄化槽のなかで高速道路のし尿浄化槽は、その性質から利用者が不特定多数であり、腹痛、下痢の有症者も緊急避難的に利用することが予想される。

そこで、我々は中央高速道路の6か所のサービスエリア(以上SA)及びパーキングエリア(以下PA)を調査地点に選び、浄化槽からの細菌汚染の実態及び浄化槽内での細菌の消長を把握するための一助とし

て、浄化槽沈殿槽から採取した上澄液(以下処理水)について、Sal.の実態調査、追跡調査を行ったので報告する。

材料及び方法

1. 供試材料

昭和56年4月から昭和57年3月の間、中央高速道路の岐阜県内に設置されたSA及びPA6か所の処理水72検体。

2. 検査方法

処理水50mlを%濃度のSBGスルファ培地150ml及び1%濃度のセリナイト培地450mlに入れ、56年10月からは1%濃度ハーナテトラチオン培地450ml、ラポポート培地450mlを併用して増菌培養を行った。

分離培地は、DHL寒天培地及びSS寒天培地を用い、1平板につきSal.を疑い集落を3~5集落ずつ釣菌し、確認培地に接種した。

菌の同定、薬剤耐性〔3濃度ディスク法(栄研化学)〕については、微生物検査必携に従って行った。

表1 月別サルモネラ検出状況

月	56年 4	5	6	7	8	9	10	11	12	57年 1	2	3	計
検査検体数	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	72
サルモネラ検出数	4	3	2	3	4	1	3	2	1	2	1	1	27
サルモネラ検出率 (%)	66.7	50.0	33.3	50.0	66.7	16.7	50.0	33.3	16.7	33.3	16.7	16.7	37.5

*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.

成 績

処理水からの月別 Sal. 検出状況を表1に示した。総検体数72件のうち27件(37.5%)から Sal. が検出され、検出率には差があるものの、調査したすべての浄化槽の処理水に Sal. の存在を認めた。月別に Sal. の検出率をみると、検出率50%以上を示すのは、4, 5, 7, 8, 10月の5か月で、冬期の検出率は16.7~33.3%であった。

6か所の採水場所より検出された Sal. 分離株40株の血清型を表2に示した。Sal. 分離株40株は、20血清型に分布しており、S. paratyphi-B, S. thompson が最も検出頻度が高く、各々5株ずつ分離された。また、同一血清型で2株以上分離されたものは9血清型であり、1株ずつ分離された血清型は11血清型であった。

人由来の Sal. 血清型と比較するために、1981年¹⁵⁾の全国集計による分離頻度の高い20血清型と岐阜県での

分離株数を表3に示した。処理水からの Sal. 分離株の血清型は、全国集計20位中に含まれる血清型のうち13血清型が含まれていた。処理水由来株と全国及び岐阜県での人由来株については同一傾向を示した。

採水場所ごとの月別 Sal. 血清型を表4に示した。2回連続で同一血清型が分離されたのは、U. PA の S. adelaide 及び E. SA_{上り} の S. tennessee であった。また、同一処理水から2血清型が分離されたのは7検体、3血清型が分離されたのは3検体であった。

採水場所別分離血清型数をみると、K. PAの2血清型からE. SA_{下り}の10血清型となっており、いずれの採水場所からも2血清型以上が分離された。月別の分離血清型数をみると、7~8月の夏期に6~8血清型が分離され、他の月に比べ多い血清型数となった。

S. paratyphi-B が分離された場所については、2~11日間隔で3~4回の処理水の採取を行い、S. paratyphi-B 追跡調査をした結果を表5に示した。

表2 採水場所別分離サルモネラの血清型

群	血 清 型	採水場所		U. PA	B. PA 上り	B. PA 下り	K. PA	E. SA 上り	E. SA 下り	計
		H抗原 I 相	II 相							
B	S. paratyphi-B	b	1, 2	1		1	1	1	1	5
	S. java	b	1, 2		1			1		2
	S. saint-paul	eh	1, 2						1	1
	S. chester	eh	eh, x			1				1
	S. typhi-mruium	i	1, 2			1			1	2
	S. haifa	z ₁₀	1, 2						1	1
C ₁	S. larochelle	eh	1, 2						1	1
	S. braenderup	eh	en, z ₁₅	1	1	1		1		4
	S. thompson	k	1, 5		2			1	2	5
	S. infantis	r	1, 5		1					1
	S. bareilly	y	1, 5	1						1
	S. tennessee	z ₂₀	—				1	2		3
C ₂	S. newport	eh	1, 2						1	1
	S. litchfield	l, v	1, 2						1	1
D ₁	S. enteritidis	g, m	—			1		1	1	3
	S. blegdam	g, m, q	—		1	1			1	3
E ₁	S. anatum	eh	1, 6		1					1
	S. london	l, v	1, 6		1					1
E ₄	S. senftenberg	g,s,t	—						1	1
O	S. adelaide	g, t	—	2						2
計				5	8	6	2	7	12	40
				%	12.5	20.0	15.0	5.0	17.5	30.0

PA=パーキングエリア, SA=サービスエリア

表 3 1981年における人由来サルモネラの全国及び岐阜県分離株数

群	血清型	分離株数	
		全 国	岐 阜 県
B	S. typhi-murium	1,016	16
	S. java	432	12
	S. paratyphi-B	249	1
	S. derby	114	1
C ₁	S. thompson	310	16
	S. infantis	277	2
	S. montevideo	241	2
	S. braenderup	206	9
	S. oranienburg	189	1
	S. bareilly	102	5
	S. tennessee	65	0
	S. isangi	54	0
C ₂	S. litchfield	475	27
	S. blockley	191	0
D ₁	S. enteritidis	132	1
	S. panama	56	0
E ₁	S. anatum	148	1
	S. london	94	1
E ₄	S. senftenberg	56	0

E. SA上り で約1か月後、4回目の検査で再び S. paratyphi-B が分離されたのみで、他には連続的に分離されたものはなかった。

これら分離された S. paratyphi-B については、国立予防衛生研究所にファージ型別を依頼した結果、すべてファージ型 3a であった。

この追跡調査で S. paratyphi-B 以外の菌も分離されたが、それらの血清型をみると、7～8月の検査で同じ E. SA上り では S. mbandaka が3日後に、S. litchfield が5日後に、S. java が15日後に分離され、E. SA下り では7日後に S. typhi-murium が連続して分離された。

薬剤耐性試験は、Chloramphenicol (CM), Colistin (CL), Aminobenzyl penicillin (PcA), Cephalothin (CET), Nalidixic acid (NA), Tetracyclin (TC), Kanamycin (KM) の7剤について3濃度ディスク法で行った。TCに関して、分離株40株のうち S. haifa 1株が強い耐性(卅)を示し、S. saint-paul 1株が弱い耐性(+)を示したのみで、残り38株は7剤についてすべてが感受性であった。

表 4 採水場所別サルモネラの血清型

採水場所	年月日	56年 4/20,21	5/18,20	6/15,17	7/20,22	8/24,26	9/7,9	10/19,21	11/4,5	12/14,16	57年 1/11,18	2/15,17	3/1,3
U. PA	S. adelaide	S. adelaide	ND	ND	ND	S. paratyphi-B	ND	ND	ND	ND	S. braenderup S. bareilly	ND	ND
B. PA上り	ND	ND	ND	ND	S. thompson	S. braenderup S. blegdam S. anatum	ND	S. london S. infantis	S. thompson	ND	ND	ND	S. java
B. PA下り	S. chester	ND	ND	S. typhi-murium	ND	S. braenderup S. enteritidis	ND	S. paratyphi-B	ND	S. blegdam	ND	ND	ND
K. PA	S. tennessee	S. paratyphi-B	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
E. SA上り	ND	S. thompson	ND	ND	S. paratyphi-B S. java	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
E. PA下り	S. typhi-murium	ND	S. haifa	S. haifa	S. paratyphi-B S. senftenberg S. thompson	S. enteritidis S. blegdam	S. litchfield	S. saint-paul S. larochelle S. Newport	S. thompson	ND	ND	S. tennessee S. enteritidis S. braenderup	ND

PA=パーキンゲンエリア, SA=サーベスエリア, ND=不検出

表5 S. paratyphi-B の追跡調査による分離株の血清型

追跡調査 採水場所	分離月日	1回目	2回目	3回目	4回目
U. PA	8月26日 S. paratyphi-B	9月7日 ND	9月9日 ND	9月16日 ND	
B. PA _下	10月21日 S. paratyphi-B	10月28日 ND	11月5日 ND	11月16日 ND	
K. PA	5月18日 S. paratyphi-B	5月28日 ND	6月2日 ND	6月8日 ND	
E. SA _上	7月20日 S. paratyphi-B S. java	8月3日 S. muenchen S. mbandaka	8月6日 S. mbandaka S. java S. litchfield S. hato	8月11日 S. litchfield S. kottbus	8月18日 S. paratyphi-B S. london
E. SA _下	7月20日 S. paratyphi-B S. senftenberg S. thompson	8月3日 S. london S. ? (B群d, ?)	8月6日 ND	8月11日 S. give S. typhi-murium	8月18日 S. enteritidis S. typhi-murium

ND=不検出, PA=パーキングエリア, SA=サービスイリア

考 察

環境からの Sal. 検索は、これまでに多数研究報告がなされており、それらの報告を通覧すると、河川水からの Sal. 検出率は20~30%、浄化槽放流水からは0~30%であった。今回の調査では、すべての浄化槽から Sal. が分離され、処理水からの検出率は37.5%であり、河川及び放流水に比べ高い検出率を示した。処理水は塩素添加後放流されるため、通常、菌がそのまま河川に流出することを予防されているが、浄化槽の管理状態によっては、これらの Sal. が河川に放流され、環境汚染源となりうる可能性が充分あると考えられる。

月別に検出率をみると、4、5、7、8、10月は高く、冬期は低い値を示した。これは中央高速道路のSA及びPAの特殊事情から春、夏、秋の観光シーズンによる利用人数の多い時期に検出率が高くなったと推察される。

Sal. 分離株の血清型は、20種類が分離された中で、S. paratyphi-B、S. thompson が高率に分離された。これら処理水由来株の血清型は、1981年の全国集計及び岐阜県での人由来の Sal. 血清型と比べ、S. typhi-murium が少なく、S. blegdam が多いもののほぼ同じ傾向を示し、全国集計による Sal. 上位20血清型と処理水からの分離株血清型20種中13種(65%)が一致した。しかしながら、1血清型1株ずつ分離されたものも11株(55%)存在し、処理水から分離された株の血清型は多彩に分布していた。このことは浄化槽の利用者が不特定であり、糞尿のみでなくSA、PAの設置施設からの生活排水など雑排水も流入する混合浄化槽であることに起因しているかもしれない。

2回連続で同じ血清型が分離されたのは2か所のみであり、同一処理水から2~3血清型が分離されたのは10検体あった。また、採水場所別血清型をみても、各々2~10血清型が分離されており、設置場所、浄化槽の規模には差があるものの浄化槽個々に特徴ある Sal. 分離は見られなかった。

月別分離血清型数をみると、7~8月が6~8血清型と多かった。これは浄化槽内への流入汚水量がこの頃1年で最高となるのに加え、人及び食品からの Sal. 分離もこの時期に最も多く、汚染量が非常に増加するためではないかと考えられる。

S. paratyphi-B が分離された場合は、追跡調査を行った。2~11日間隔で3~4回連続して処理水を採取し調査した結果、5か所から S. paratyphi-B が分離され、その中で1か所の追跡調査から29日後の4回目の調査で再び S. paratyphi-B が分離された。これら分離された S. paratyphi-B についてはファージ型別を依頼し、すべての株が同じファージ型3aであった。このファージ型3aは、ファージ型1と並び国内で高頻度に検出されるファージ型であり¹⁵⁾、追跡調査により分離された S. paratyphi-B が、最初に分離されたものと同じ由来の S. paratyphi-B であるかどうかは、ファージ型では判別できなかった。このことは、浄化槽処理水で Sal. が分離された場合、新たに Sal. が流入したのかまたは Sal. が浄化槽内で棲息あるいは長らく生残しているのかについては言及できない。しかしながら、この調査で S. paratyphi-B 以外の血清型をみると、7~8月の時期に S. paratyphi-B が4回目に分離された浄化槽で3~15日後に S. mbandaka、S. litchfield、S. java が分離され、さらにもう1か所の浄化槽においても7~8月の追跡調査で7

日後に *S. typhi-murium* が分離された。これらのことより、1か月以上経った調査では再び同じ菌が分離されなかったこと及び増菌培地を用いて *Sal.* を検出したことを考え合わせると、浄化槽内に多量の *Sal.* が流入した場合、浄化槽内で *Sal.* が棲息しないまでも1~2週間程度は十分に生き残る可能性があることを示唆していると考えられる。

これらの調査結果より浄化槽管理の重要性も同時に確認された。

謝 辞

ファージ型別下された国立予防衛生研究所中村明子博士に謝意を表す。

本研究は昭和56~58年度の調査研究費の一部によった。

文 献

- 1) 坂井千三, 伊藤 武, 丸山 務, 齊藤香彦, 善養寺 浩, 辺野喜正夫: 最近10年間に東京都内に発生したサルモネラ食中毒の疫学および細菌学的検討, 東京衛研年報, **27**, 16-23, 1976.
- 2) 船橋 満, 梅田 徹, 中村 章, 井上裕正: 愛知県において「食品取扱者」から検出されたサルモネラの菌型について, 愛知衛研所報, **31**, 1-3, 1981.
- 3) 高橋正樹, 伊藤 武, 齊藤香彦, 坂井千三: 1967年から1981年に食中毒事例, 散発下痢症患者および健康者から検出されたサルモネラの血清型およびその推移, 東京衛研年報, **33**, 1-8, 1982.
- 4) 広島県臨床細菌研究会: 広島地方のサルモネラ症: 1978~1982年の散発患者発生状況, 臨床と細菌, **10(2)**, 93-101, 1983
- 5) 村松紘一: 河川, 湖, 下水などから分離した *Salmonella* について (第1報), 日本公衛誌, **16**, 665-666, 1969.
- 6) 村松紘一: 河川, 湖, 下水などから分離した *Salmonella* について (第2報), 日本公衛誌, **18**, 741-745, 1971.
- 7) 後藤 功: *Salmonella* の生態学的研究(第1報), 日本公衛誌, **19**, 33-42, 1972.
- 8) 後藤 功: *Salmonella* の生態学的研究(第2報), 日本公衛誌, **20**, 29-36, 1973.
- 9) 森田盛大, 金 鉄三郎, 山脇徳美, 高山和子: 県内におけるサルモネラ菌の生活環境内侵襲実態調査について (第1報), 秋田県衛生科学研究所報, **20**, 37-39, 1976.
- 10) 森田盛大, 金 鉄三郎, 山脇徳美, 高山和子: 県内におけるサルモネラ菌の生活環境内侵襲実態調査について (第2報), 秋田県衛生科学研究所報, **21**, 51-54, 1977.
- 11) 後藤良一, 山脇徳美, 金 鉄三郎, 森田盛大: サルモネラ菌の生活環境汚染実態に関する調査研究 (第3報), 秋田県衛生科学研究所報, **22**, 49-54, 1978.
- 12) 後藤良一, 山脇徳美, 金 鉄三郎, 森田盛大: サルモネラの生活環境汚染実態に関する調査研究 (第4報), 秋田県衛生科学研究所報, **23**, 53-56, 1979.
- 13) 齊藤志保子, 山脇徳美, 後藤良一, 森田盛大: サルモネラ菌の生活環境汚染実態に関する調査研究 (第5報), 秋田県衛生科学研究所報, **24**, 65-69, 1980.
- 14) 後藤喜一, 松野久生, 所 光男: 河川水中のサルモネラについて, 岐衛研所報, **17**, 1-6, 1972.
- 15) 微生物検査情報のシステム化に関する研究班: 病原微生物検出情報1981年.

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.ウイルスに対するグルタルアルデヒド
の不活化効果

野田 伸司*, 渡辺 実*, 山田 不二造*

Virucidal Action of Glutaraldehyde against Viruses.

Nobuji NODA*, Minoru WATANABE and Fujizo YAMADA*

グルタルアルデヒド (GA) は多くの細菌類¹⁾に対して、強い効力を示す消毒薬として知られている。ウイルスに対しても、いくつかのウイルスを用いた不活化成績が報告されている²⁾³⁾。しかしこれらの報告は、実用濃度 (2% GA) に限ったものであり、感作条件も限定されて GA のウイルス消毒性能について必ずしも満足させていない。我々はこれまで物理化学的に抵抗力の最も強いウイルスの代表として、エンテロウイルス⁴⁾⁵⁾を用い、ウイルス不活化剤の検討を行ってきたが、今回入手可能な GA 製剤 2 種類について、アデノウイルスやニューカッスルウイルスを加えて、ウイルス不活化効果を比較検討したので報告する。

材料と方法

1) グルタルアルデヒド

GA はその活性化剤とともに丸石製薬 (GA-1) およびジョンソンアンドジョンソン (GA-2) から提供を受けた。いずれも説明書通りに活性化した後、1~2 時間経過したものを使用した。GA の希釈には pH7.2 のリン酸緩衝液 (PBS) を使用した。

2) ウィルス

エンテロウイルスとして Polio-1 (Mahoney 株), Cox. B-5 (531122 株), Echo-7 (Wallace 株), Cox. A-16 (G-10 株) および Entero-70 (G-10/72) の 5 株, Adeno-3 <以下 Ad-3> (GB 株) と Newcastle disease virus <以下 NDV> (佐藤株) の計 7 種類のウイルスを使用した。

3) 細胞

当所で保存継代している HeLa 細胞を用い、詳細は既報⁶⁾に準じた。

4) 不活化実験

(1) エンテロウイルス

供試薬品 (原液で GA 2% 含有) の原液から 100 倍液 (GA 0.02%) の各希釈液 1.8ml に 10^6 TCID₅₀/0.1ml に調整したウイルス液 0.2ml を加えて、20°C で 1, 10, 30 および 60 分間感作した。反応の停止および薬剤の細胞毒性中和は、培養維持液 (M. M.) 10ml に上記のウイルス・薬剤混合液 0.1ml 加え、100 倍希釈することにより行った。細胞への接種ウイルスは、1000 倍希釈されたことになる。

(2) Ad-3 および NDV

供試薬品の 10 倍液 (GA 0.2%) から 2000 倍液 (0.001%) の各希釈液 1.8ml に、Ad-3 は 4^5 TCID₅₀/0.1ml, NDV は 10^6 TCID₅₀/0.1ml のウイルス液 0.2ml を加え、20°C で 1, 10, 30 および 60 分間感作した。反応の停止および細胞毒性の中和は、NDV はエンテロウイルスと同様の方法で行い、Ad-3 はその性状より他のウイルスの様な高い感染価を得ることが困難なので、希釈による力価の低下を防ぐため M. M. 1.8ml に、ウイルス・薬剤混合液 0.2ml を加えて 10 倍希釈を行い、その 0.1ml を直ちに M. M. 1.0ml を含む HeLa 細胞培養試験管に加え、反応停止とウイルス接種を同時に行った。この結果 Ad-3 は 100 倍に希釈され、接種されたことになる。

5) 不活化の判定

各希釈毎のウイルス・薬剤混合液 0.1ml ずつを 4 本の HeLa 細胞試験管に接種し、Entero-70 は 33°C, その他のウイルスは 36°C で 6 日間培養し、CPE の阻止が全ての試験管に認められたものを一、試験管の全て又は一部に CPE の生じたものを + とした。即ち、4) の不活化実験条件から、Ad-3 は $\geq 10^2$, その他のウイルスは $\geq 10^3$ の感染価の低下が示された場合に有効と判定した。

* 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

表1 グルタルアルデヒド (GA-1) の殺ウイルス効果

ウ イ ル ス	感作時間 (分)	グルタルアルデヒドの濃度 (%)									
		2	1	0.5	0.2	0.1	0.05	0.02	0.01	0.005	0.002
Polio-1	1	+	+	+	+	+	+				
	10	-	+	+	+	+	+				
	30	-	-	-	+	+	+				
	60	-	-	-	+	+	+				
Cox. B-5	1	+	+	+	+	+	+				
	10	-	+	+	+	+	+				
	30	-	-	-	+	+	+				
	60	-	-	-	+	+	+				
Echo-7	1	-	+	+	+	+	+				
	10	-	-	-	+	+	+	+			
	30	-	-	-	-	-	-	+	+		
	60	-	-	-	-	-	-	+	+		
Cox. A-16	1	-	-	+	+	+	+				
	10	-	-	-	-	+	+				
	30	-	-	-	-	-	+	+			
	60	-	-	-	-	-	+	+			
Enterov70	1	-	-	+	+	+	+				
	10	-	-	-	-	+	+	+			
	30	-	-	-	-	+	+	+			
	60	-	-	-	-	-	+	+			
Adeno-3	1				-	-	+	+	+	+	+
	10				-	-	-	-	+	+	+
	30				-	-	-	-	-	-	+
	60				-	-	-	-	-	-	+
NDV	1				-	-	+	+	+	+	+
	10				-	-	-	+	+	+	+
	30				-	-	-	-	-	+	+
	60				-	-	-	-	-	+	+

+: 生残

-: 不活化

表2 グルタルアルデヒド (GA-2) の殺ウイルス効果

ウ イ ル ス	感作時間 (分)	グルタルアルデヒドの濃度 (%)									
		2	1	0.5	0.2	0.1	0.05	0.02	0.01	0.005	0.002
Polio-1	1	+	+	+	+	+					
	10	-	+	+	+	+	+				
	30	-	-	-	+	+	+				
	60	-	-	-	+	+	+				
Cox. B-5	1	+	+	+	+	+	+				
	10	+	+	+	+	+	+				
	30	-	-	-	+	+	+				
	60	-	-	-	+	+	+				
Echo-7	1	-	+	+	+	+	+				
	10	-	-	-	+	+	+	+			
	30	-	-	-	-	-	-	+	+		
	60	-	-	-	-	-	-	+	+		
Cox. A-16	1	-	+	+	+	+	+				
	10	-	-	-	-	+	+	+			
	30	-	-	-	-	-	+	+			
	60	-	-	-	-	-	+	+			
Enterov70	1	-	+	+	+	+	+				
	10	-	-	-	-	+	+	+			
	30	-	-	-	-	-	+	+			
	60	-	-	-	-	-	+	+			
Adeno-3	1				-	-	+	+	+	+	+
	10				-	-	-	-	+	+	+
	30				-	-	-	-	-	-	+
	60				-	-	-	-	-	-	+
NDV	1				-	-	+	+	+	+	+
	10				-	-	-	+	+	+	+
	30				-	-	-	-	-	+	+
	60				-	-	-	-	-	+	+

成績

1. 2種のGA製剤によるウイルス不活化効力の差について

表1, 表2にGA別の不活化成績をまとめて示したが, 製品による不活化効力の違いは認められなかった。

2. エンテロウイルスに対する不活化成績

実験に供した5種類のエンテロウイルスのいずれもが抵抗力は強く, 中でも Polio-1, Cox. B-5は原液使用(2%GA)においても, 1分感作では不活化されず, 10~30分の感作を必要とした。30分以上の感作によっては, 両ウイルスとも0.5%で不活化された。他のエンテロウイルスは, 1分感作では1~2%, 10分感作では0.2~0.5%, 30分以上の感作では0.1%と, Polio-1, Cox. B-5の $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{10}$ の濃度で不活化された。

3. Ad-3およびNDVに対する不活化成績

両ウイルスとも低濃度のGAで不活化され, 1分感作では0.1%, 10分では0.02~0.05%, 30分以上では0.005~0.01%と Polio-1, Cox. B-5の約100倍, その他のエンテロウイルスの約20倍の感受性を示した。

考察

GAは使用説明書によれば, 2%濃度で被消毒物件を30~60分浸漬するように指示されている。ポリオ, コクサッキーBのように, 短時間の感作では不活化されにくいウイルスも, 30分以上の感作により実用濃度の $\frac{1}{4}$ 以下の濃度で不活化された。GAのウイルスに対する作用力については, Borick²⁾, 栗村³⁾らにより, 2%GAが多くウイルスを不活化すると報告されている。今回の実験においても, 感作温度は20°Cと少し低いが, 10~30分感作でウイルスは検出限界以下に不活化され, GAのウイルスに対する優れた不活化効力が確認された。

エンテロウイルスとAd-3, NDVのGA感受性に違いが認められた。エンベロープをもつNDVが³⁾低濃度で不活化されることは, 日本脳炎ウイルスの成績から推察されたが, 各種消毒薬に対して, エンテロウイルスに近い高抵抗性を示すアデノウイルスの高い感受性は, 薬剤感受性の中でアデノウイルスの特徴の1つとなろう。

ウイルス消毒の際に最も問題になっているのは抵抗力の強さからB型肝炎ウイルス(HBV)である。HBVは現在までin Vitroにおける適当な実験系がなく, GAの有効性もチンパンジーによる感染実験系で証明されている。GAの他には2~3の薬剤が知られているが⁹⁾, HBVに有効な薬剤が少ない中で, 比較的手ごろに使用できるGAのHBV不活化能について, 詳細に検討できる実験系の開発が期待される。

本論文の一部は第50回日本感染症学会総会において報告した。

文献

- 1) 芝崎勲: 薬剤による殺菌, 滅菌法・消毒法第1集, 日本医科器械学会監修, p.155-158, 文光堂, 東京, 1974
- 2) Borick, P. M., Dondershine, F. H. and Chandler, V. L.: Alkalinized Glutaraldehyde, a New Antimicrobial Agent. *J. Pharm. Sci.*, **53**, 1273-1275, 1964
- 3) 栗村敬, 大津啓二, 上羽昇: Glutaraldehydeによるウイルスの不活化, 防菌防黴, **5**, 159-162, 1977
- 4) 渡辺 実, 野田伸司, 山田不二造, 藤本 進: エンテロウイルスに対する消毒薬の効果, 岐阜衛研所報, **20**, 1-5, 1975
- 5) 野田伸司, 渡辺 実, 山田不二造, 藤本 進: エンテロウイルスに対するポビドンヨードの消毒効果および有機質による消毒効果の阻害について, 岐阜衛研所報, **24**, 15-21, 1979
- 6) 野田伸司, 渡辺 実, 山田不二造, 藤本 進: アルコール類のウイルス不活化作用に関する研究, ウイルスに対する各種アルコールの不活化効果について, 感染症学雑誌, **55**, 355-365, 1981
- 7) Klein, M. and Deforest, A.: Antiviral action of gepmicides. *Soap and Chemical Specialities*, **39**, 70-72, 95-97, 1963
- 8) Buynak, E. B., Roehm, R. R., Tytell, A. A., Bertland, A. U., II, Lampson, G. P. and Hilleman, M. R.: Development and Chimpanzee testing of a Vaccine against Human Hepatitis B, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **151**, 694-700, 1976
- 9) 厚生省B型肝炎研究班: B型肝炎医療機関内感染対策ガイドライン, p. 15-16, 文光堂, 東京, 1982

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.地下水を水源とする県内水道原水中の
遊離炭酸濃度について梶 川 正 勝*, 寺 尾 宏*, 森 下 有 輝*, 日 比 誠*,
山 田 不 二 造*Free Carbon Dioxide Concentration in Ground Waters
Used for Drinking Water in Gifu Prefecture.Masakatsu KAJIKAWA*, Hiroshi TERAOKA*, Yuki MORISHITA*,
Makoto HIBI*, Fujizō YAMADA*

はじめに

県内水道水の水源は地下水利用が半数以上を占め、¹⁾ 総施設(水源)数 677 に対し 437 施設の 64.5% である。地下水は表流水に比べて遊離炭酸濃度が高いとされている。²⁾ 県内水道で遊離炭酸が原因で生じた水質問題としては、水質基準値以上の亜鉛の溶出例があり、いくつかの水道施設では遊離炭酸濃度が高いため、中和およびエアレーションによる除去対策を講じている。一般的に水中に溶解している遊離炭酸は水道施設に対し様々な障害を与える。⁴⁾ 例えばコンクリート構造物およびモルタルライニング管ならびに石綿セメント管などの水道管からセメント成分を溶出させ劣化を早めた^{5), 6)} り、亜鉛めっき鋼管、銅管等の水道管から白濁水、赤水、青水等の問題となる亜鉛、鉄、銅等の金属を溶出させ、錆の原因となっている。その結果水道水中のこれら重金属が水質基準値を超えることもあり、飲料水としての安全性にも影響を与える。⁷⁾ そこで県内地下水を水源とする水道施設を対象として、原水の遊離炭酸濃度の測定を行った。そして遊離炭酸の侵食性について、亜鉛めっき鋼板を用いて亜鉛の溶出試験を行った。

材料および方法

(1) 検体保存方法の検討——pH 値、遊離炭酸等は現地測定が原則であるが、都合により一部の検体で現地測定を略した。そこでK市上水道の原水と蒸留水に炭酸ガスを吹込んで調製した遊離炭酸水の2試料を用

いて、検体保存条件を含めた経時変化を検討した。測定項目は導電率、pH 値、遊離炭酸濃度、総アルカリ度とし、¹⁰⁾ 上水試験方法にて測定した。容器は200ml のふらんびんを用い、試料を封入(満水密栓)、室温および氷冷保存とし、経時変化は24時間とした。

(2) 遊離炭酸濃度の測定——県内地下水を水源とする水道のうち、pH 値等から遊離炭酸濃度が高いと推定した施設(26ヶ所)および無作為に搬入された63ヶ所の水源を対象とした。なお対照として表流入(木曾川、飛騨川)を水源とする2施設を加えた。測定項目はpH 値、遊離炭酸、総アルカリ度、カルシウム硬度とし、測定方法は上水試験方法¹⁰⁾ による。なお都合により現地測定ができなかった検体については、ふらんびんに封入し、氷冷、24時間以内に試験室に搬入測定した。

(3) 亜鉛めっき鋼板浸せきによる亜鉛の溶出試験

表1 試料の保存による水質の変化について

	K市上水道原水			遊離炭酸水	
	即時	24時間後		即時	24時間後
		室温 (約20°C)	氷冷		
PH 値	6.27	6.32	6.30	4.71	4.70
導電率 $\mu S/cm$	111	117	116	8.7	8.4
遊離炭酸 mg/l	22.3	19.2 (86.1%)	20.5 (91.9%)	42.9	38.0 (88.6%)
総アルカリ度 κ	30.9	30.8	30.7	0.5	0.8

保存方法：ふらんびん封入

* 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2 岐阜県内の水道原水中遊離炭酸濃度とその関連水質の測定結果

原水試料 No.	採水時	pH値	遊離炭酸 mg/ℓ	総アルカ リ度 mg/ℓ	カルシウ ム硬度 mg/ℓ	侵食性遊離 炭酸 mg/ℓ (%)	ランゲリ ア指数	井戸の深 さ m
1	58.10.25	5.9	48.5	60.8	73.5	41.7(86)	-2.3	15
2	57.10.27	5.7	39.4	62.1	63.6	34.4(87)	-2.6	30
3	〃 12. 1	5.4	35.8	10.3	13.4	34.2(96)	-4.3	8
4	58.10.25	5.8	33.2	36.7	63.8	30.5(92)	-2.7	7
5	〃 〃 〃	5.6	32.5	15.7	35.0	30.9(95)	-3.6	15
6	57.12. 6	5.9	30.9	20.4	18.9	29.3(95)	-3.4	40
7	〃 〃 23	5.9	24.5	17.7	21.1	23.4(96)	-3.4	6
8	58.10.24	6.1	20.5	11.5	12.5	19.7(96)	-3.6	8
9	57.12.16	6.1	19.3	28.1	26.9	18.2(94)	-2.9	10
10	58.10.25	5.8	19.3	11.3	12.0	18.7(97)	-4.1	5
11	〃 〃 24	6.6	18.5	74.5	63.0	15.8(85)	-1.7	60
12	〃 〃 17	5.8	18.5	27.0	25.8	17.5(95)	-3.4	39
13	〃 〃 25	6.6	17.8	26.2	23.5	16.9(95)	-2.6	50
14	57.12.24	5.8	17.8	13.2	11.3	17.2(97)	-3.9	35
15	58.10.25	6.6	16.9	43.5	40.0	15.5(92)	-2.2	15
16	〃 〃 〃	6.4	15.7	39.3	26.5	14.5(92)	-2.4	60
17	〃 〃 〃	6.0	15.4	15.5	13.5	14.8(96)	-3.5	8
18	〃 〃 〃	6.4	15.3	18.1	12.0	14.7(96)	-3.2	30
19	57.12. 1	5.7	13.8	9.6	4.7	13.4(97)	-4.5	30
20	58.10.17	6.6	13.7	51.4	44.3	12.3(90)	-1.9	150
21	57.12. 6	6.2	13.1	14.4	17.9	12.6(96)	-3.3	6
22	58.10.25	6.2	13.1	22.3	24.8	12.5(95)	-3.1	9
23	〃 〃 24	6.2	12.4	24.8	8.8	11.8(95)	-3.4	60
24	57.12. 8	6.6	10.6	30.9	27.1	9.9(93)	-2.3	40
25	58.10.16	6.7	10.3	56.3	45.5	8.9(86)	-1.7	150
26	〃 〃 〃	6.4	10.2	36.7	38.5	9.4(92)	-2.4	80
27	57.12.13	6.0	9.7	10.2	6.2	9.5(98)	-4.1	50
28	〃 〃 8	7.0	9.3	71.2	68.1	7.6(82)	-1.2	150
29	58.10.18	6.2	8.7	16.4	13.0	8.4(97)	-3.5	6
30	〃 〃 17	7.3	8.6	125	71.3	3.8(44)	-0.7	45
31	〃 〃 18	6.7	8.5	36.2	32.5	7.9(93)	-2.2	9
32	59. 2.15	6.7	8.4	39.8	42.5	7.6(90)	-2.1	80
33	〃 〃 〃	6.5	8.2	25.1	27.0	7.7(94)	-2.8	100
34	58.10.24	7.0	8.2	70.0	58.3	6.6(80)	-1.2	4
35	57.12.13	6.1	7.6	9.4	6.6	7.4(97)	-4.0	32
36	58.10.24	6.9	7.6	22.1	20.5	7.2(95)	-2.6	20

表2 (つづき)

原水試料 No.	採水時	pH値	遊離炭酸 mg/l	総アルカ リ度 mg/l	カルシウ ム硬度 ml/l	侵食性遊離 炭酸 mg/l (%)	ランゲリ ア 指 数	井戸の深 さ m
37	58.10.18	7.3	7.6	24.1	15.5	7.2(95)	- 2.1	10
38	〃 〃 24	7.1	7.6	71.5	55.0	6.0(79)	- 1.3	90
39	〃 〃 〃	6.9	6.9	24.3	20.0	6.5(94)	- 2.4	34
40	〃 〃 〃	7.0	6.2	53.3	37.0	5.2(84)	- 1.8	84
41	〃 〃 〃	7.0	5.8	67.1	51.5	4.4(76)	- 1.5	45
42	〃 〃 18	6.2	5.1	12.6	9.3	5.0(98)	- 3.7	8
43	57.12.16	6.9	4.9	19.2	2.0	4.7(96)	- 3.4	9
44	〃 〃 8	7.2	4.5	45.5	40.7	3.8(84)	- 1.4	45
45	58.10.24	7.3	4.1	82.6	68.0	2.5(61)	- 1.0	100
46	59. 2.15	6.9	4.0	22.1	21.3	3.8(95)	- 2.8	20
47	58.10.17	6.8	3.8	32.8	24.8	3.4(89)	- 2.4	80
48	〃 〃 25	7.4	3.6	53.5	45.8	2.7(75)	- 1.1	10
49	〃 〃 18	6.2	3.6	10.1	7.5	3.5(97)	- 3.8	6
50	〃 〃 〃	7.5	3.4	86.3	91.8	1.6(47)	- 0.6	63
51	〃 〃 〃	7.6	3.3	104	105	0.6(18)	- 0.4	70
52	〃 〃 〃	7.4	3.2	55.6	39.8	2.3(72)	- 1.2	150
53	〃 〃 〃	7.4	3.2	51.2	35.8	2.4(75)	- 1.3	165
54	〃 〃 17	6.9	3.0	28.4	21.0	2.7(90)	- 2.4	55
55	〃 〃 〃	7.3	2.7	52.5	42.0	1.9(70)	- 1.3	100
56	〃 〃 24	7.3	2.4	46.2	28.0	1.8(75)	- 1.6	145
57	〃 〃 〃	7.4	2.4	43.1	24.0	1.9(79)	- 1.6	184
58	〃 〃 25	7.6	2.4	71.9	58.5	1.2(50)	- 0.7	120
59	57.11. 2	7.8	2.3	46.3	31.1	1.7(74)	- 0.9	250
60	58.10.18	7.4	2.1	45.8	33.0	1.5(71)	- 1.4	250
61	〃 〃 〃	7.4	2.1	43.8	27.3	1.6(76)	- 1.6	235
62	〃 〃 25	7.6	1.9	39.3	34.3	1.4(74)	- 1.3	200
63	〃 〃 17	7.3	1.9	46.7	29.5	1.3(68)	- 1.5	113
64	〃 〃 〃	7.4	1.9	40.1	29.0	1.4(74)	- 1.5	150
65	〃 〃 〃	7.3	1.9	40.4	28.8	1.4(74)	- 1.6	130
66	〃 〃 18	7.4	1.9	46.9	32.5	1.3(68)	- 1.4	216
67	〃 〃 17	7.3	1.8	52.9	26.8	1.0(56)	- 1.5	98
68	〃 2.17	8.0	1.7	47.3	28.4	1.1(65)	- 0.8	200
69	〃 10.25	7.2	1.7	38.9	32.0	1.3(76)	- 1.8	120
70	〃 〃 24	7.4	1.7	42.8	30.8	1.2(71)	- 1.6	200
71	〃 〃 17	7.2	1.7	38.2	26.5	1.3(76)	- 1.8	240
72	〃 〃 〃	7.4	1.3	44.7	34.8	0.8(62)	- 1.3	183
73	〃 10.25	6.6	2.5	17.3	13.5	2.4(96)	- 3.1	
74	〃 〃 〃	6.9	2.1	15.1	12.0	2.0(95)	- 2.9	

表2 (つづき)

原水試料 No.	採水時	pH値	遊離炭酸 mg/l	総アルカリ度 mg/l	カルシウム硬度 mg/l	侵食性遊離炭酸 mg/l (%)	ランゲリア指数	井戸の深さ m
K-1	58.11.7	6.1	36.9	35.2	53.0	33.7(91)	-2.7	15
〳-2	〳〳〳	6.2	35.8	37.2	25.5	32.8(92)	-2.7	50
〳-3	〳〳〳	6.3	35.0	43.7	27.0	32.0(91)	-2.6	50
〳-4	〳〳〳	6.1	33.2	33.0	41.5	30.8(93)	-2.8	55
〳-5	〳〳〳	6.4	28.0	40.0	26.0	25.9(93)	-2.5	70
〳-6	〳〳〳	6.2	27.5	33.6	37.5	25.7(93)	-2.7	50
〳-7	〳〳〳	6.3	22.7	29.9	27.5	21.3(94)	-2.6	60
〳-8	〳〳〳	6.3	22.6	31.8	44.0	21.2(94)	-2.5	52
〳-9	〳〳〳	6.3	21.9	32.6	34.0	20.5(94)	-2.7	60
〳-10	〳〳〳	6.3	21.8	34.6	32.8	20.4(94)	-2.7	60
〳-11	〳〳〳	6.0	20.8	16.6	37.0	19.9(96)	-3.1	54
〳-12	〳〳〳	6.3	20.3	32.3	39.3	19.1(94)	-2.6	60
〳-13	〳〳〳	6.3	20.3	30.6	26.5	19.1(94)	-2.7	60
〳-14	〳〳〳	6.2	20.2	21.5	34.3	19.2(95)	-3.0	35
〳-15	〳〳〳	6.2	18.6	23.3	34.3	17.7(95)	-2.9	40
〳-16	〳〳〳	6.2	18.5	24.8	32.5	17.6(95)	-2.7	50
〳-17	〳〳〳	6.3	16.5	22.3	42.8	15.7(95)	-2.8	60

—遊離炭酸の水道管（亜鉛めっき鋼管）からの亜鉛の溶出に対する影響を亜鉛めっき鋼板を用いて検討した。まず亜鉛めっき鋼板を水洗、n-ヘキサンにて脱脂処理¹¹⁾し、1cm×5cmに切断し、ねじ口試験管（容量32ml）に試水とともに封入、20°C、24時間放置後、亜鉛めっき鋼板片をとり出した溶液に塩酸（1+1）1滴を添加、原子吸光法¹⁰⁾にて亜鉛量を測定。なお試水としては原水試料10検体および蒸留水に炭酸ガスを吹込み調製した遊離炭酸水を数段階に希釈した試験溶液を用いた。

成 績

(1) 検体保存方法の検討—表1に2試料の即時および室温（約20°C）、氷冷保存した時の24時間後の測定結果を示した。両試料とも導電率、pH値、総アルカリ度は室温、氷冷のいずれの条件でも24時間後の変化はほとんどなかった。しかし遊離炭酸濃度については室温放置で14%、氷冷放置で8~11%の減少を示した。

(2) 遊離炭酸濃度の測定—県内91施設（水源）の原水水質について、pH値、遊離炭酸濃度、総アルカリ度、カルシウム硬度と共に計算で求めた侵食性遊離炭酸濃度とランゲリア指数および井戸の深さを併記して表2に示した。なおK市地域の水源は1つのグループとして表わした。表2から県内の地下水を水源とする水道の遊離炭酸濃度は試料No.1の48.5mg/lから

表3 遊離炭酸の濃度分布

遊離炭酸濃度 mg/l	0 ~ 10 ~ 20 ~ 30 ~ 40 ~ 50
水 源 数	46 18 2 5 1 3(K)10(K) 4(K)

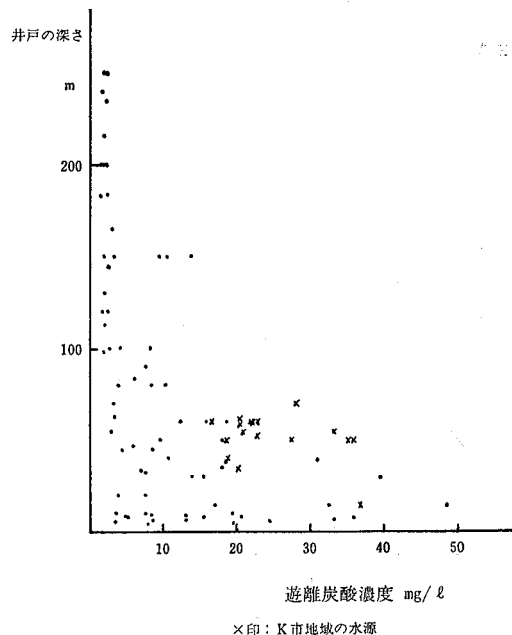


図1 井戸の深さと遊離炭酸濃度

試料 No.72 の 1.3mg/l の範囲にあった。そして遊離炭酸濃度の高い (15mg/l 以上) 水源は全県下にわたって散在していた。また遊離炭酸濃度 5 mg/l 以下の水源は西南濃地域に集中していた。K市地域の水源の遊離炭酸濃度は 36.9~20.3mg/l の範囲 (平均 24.7mg/l) と市全域に及んで高かった。対照とした表流水を水源とする 2 施設の遊離炭酸濃度は試料 No.73, 74 の 2.5~2.1mg/l と低かった。調査した表 1 の結果を濃度分布として表 3 に示したが、遊離炭酸濃度 0~10 mg/l に 46 水源と半数以上 (52%) を占め、その中でも西南濃地方の地下水が多数 (34 水源) を占めた。それらに比べ K市地域の遊離炭酸濃度は 17 水源とも 40~10mg/l の範囲にあり、県内では遊離炭酸濃度の高い地域であった。侵食性で問題となる遊離炭酸は侵食性遊離炭酸であり、表 2 から明らかなように、遊離炭酸濃度が 10mg/l 以上の試料では遊離炭酸濃度の 85% 以上が侵食性遊離炭酸濃度とみなすことができた。また水の侵食性を示す指標の一つでもあるランゲリア指数は表 2 から、試料 No.51 の -0.4 から試料 No.19 の -4.5 とすべて負であった。図 1 に遊離炭酸濃度と井戸の深さの関係を示した。遊離炭酸濃度が 20mg/l 以上の水源の井戸の深さは K市地域の水源を除いて 40m 以下と比較的浅く、K市地域の井戸の深さは 37~70m であった。井戸の深さ 100m 以上の水源の遊離炭酸濃度は試料 No.20 の 13.7mg/l、試料 No.25 の 10.3mg/l、試料 No.26 の 10.2mg/l の他はすべて 5 mg/l 以下と低かった。なおこれら深井戸のすべて (23 水源)

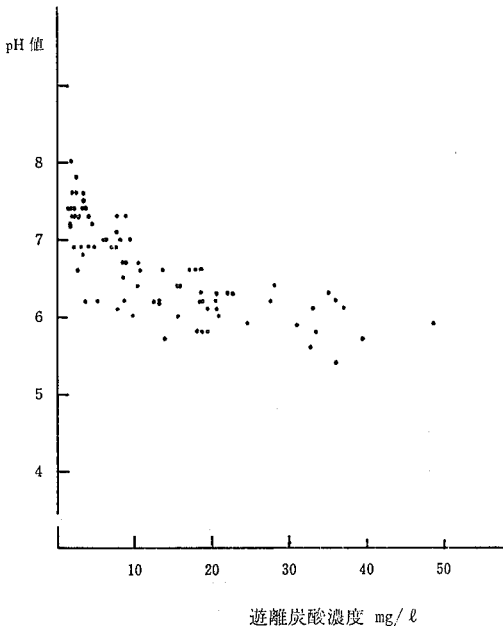


図 2 pH 値と遊離炭酸濃度

は西南濃地方に集中していた。91 水源について遊離炭酸濃度と pH 値の関係を図 2 に示した。図 2 から pH 値が低いと遊離炭酸濃度が高く、pH 値が高いと遊離炭酸濃度が低い傾向にあることが認められた。

(3) 亜鉛めっき鋼板片浸せきによる亜鉛の溶出試験—10ヶ所の原水試料に亜鉛めっき鋼板片を浸せきさせた時の亜鉛の溶出量を、原水の遊離炭酸濃度とランゲリア指数と併記して表 4 に示した。原水の遊離炭酸濃度が高い程、亜鉛めっき鋼板片からの亜鉛溶出量は増加した。一方亜鉛溶出量とランゲリア指数の間には亜鉛溶出量が高い試料ではランゲリア指数との間に相関性を示さなかったが、亜鉛溶出量の小さい試料 I と J でともに小さい傾向 (ランゲリア指数の負の絶対値) を示した。次に蒸留水に炭酸ガスを吹込んだ試料を用いた時の亜鉛めっき鋼板片からの亜鉛の溶出結果を表 5 に示した。表 4 の原水試料の場合と同じく、亜鉛めっき鋼板片からの亜鉛の溶出量は水中の遊離炭酸濃度と比例して増加した。

表 4 水道原水による亜鉛めっき鋼板片からの亜鉛の溶出と水質

試料	亜鉛溶出量 mg/l	遊離炭酸濃度 mg/l	ランゲリア 指数
A	13.5	39.4	- 2.6
B	9.2	35.1	- 2.8
C	6.7	24.5	- 3.4
D	4.5	22.3	- 2.7
E	6.3	19.5	- 2.8
F	6.1	19.3	- 2.9
G	4.5	17.8	- 3.9
H	4.3	15.7	- 2.4
I	0.9	2.3	- 0.9
J	0.6	1.7	- 0.8

表 5 遊離炭酸水を試料としたときの亜鉛めっき鋼板片からの亜鉛の溶出

遊離炭酸濃度 mg/l	亜鉛溶出量 mg/l
0.8	0.95
4.9	1.6
6.9	2.1
8.0	2.2
19.9	4.4
30.0	6.1
46.4	8.6
87.0	15.1

考 察

検体保存について検討したところ、導電率、pH値、総アルカリ度の変化は室温、水冷を問わず24時間以内では認められなかった。しかし遊離炭酸濃度は室温で14%、水冷で8~11%と減少を示した。従って遊離炭酸濃度については、試料を封入水冷して24時間以内に搬入測定する場合に最大10%の減少量を見込む必要があった。今回対象とした県内91水源の遊離炭酸濃度は最高で48.5mg/lであった。高濃度の水源を含めたことも考え合わせると、県内の水道原水中の遊離炭酸濃度はすべてこの範囲に含まれるものと思われる。そして遊離炭酸濃度と井戸の深さとの関係を見ると、遊離炭酸濃度の高い水源は比較的浅い井戸にみられ、また深井戸の遊離炭酸濃度は低いことが分かった。西南濃地方の地下水は井戸も深く、被圧面地下水といわれている。一般的に被圧面地下水は遊離炭酸濃度が低いとされているがこの事実と一致していた。一方遊離炭酸濃度の高い水源は、現地の状況から河川敷、水田、畑作地の井戸に多くみられた。遊離炭酸の生成原因としては、地中に埋没した植物等の有機質が酸素および細菌等により分解されたときに炭酸ガスを生じ、それが水に溶解して水中の遊離炭酸濃度を高くしているといわれている²⁾。また、表流水を水源とする水道の遊離炭酸濃度は試料 No.73, 74 の例および炭酸の揮散性から考えて数 mg/l の範囲にあるものと思われる。水中の遊離炭酸濃度と pH 値の関係を検討した結果、pH 値が低いと遊離炭酸濃度は高い傾向が認められたが、水中の遊離炭酸濃度は pH 値だけでなく、総アルカリ度、硬度、溶存物質等によっても左右される¹²⁾ことから、pH 値が低いからといっていちがいに遊離炭酸濃度が高いとは限らない。

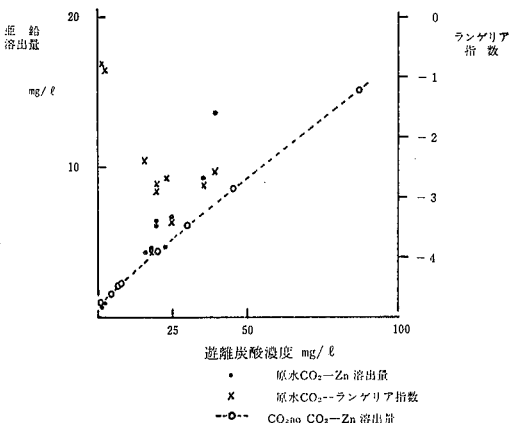


図3 遊離炭酸濃度と亜鉛溶出量、ランゲリア指数の関係

遊離炭酸の侵食性について、県内の水道水中の遊離炭酸はほぼ侵食性遊離炭酸であることが分かった。そこで水道原水と遊離炭酸水を試水として亜鉛めっき鋼板片からの亜鉛の溶出をみた表4と表5の結果を図3に示した。図3から明らかなように、原水、遊離炭酸水とも試水中の遊離炭酸濃度は、亜鉛の溶出量と良い相関関係にあることが分かった。しかし原水の遊離炭酸濃度は侵食性の1指標であるランゲリア指数とは相関性を示さなかった。県内水道原水のランゲリア指数は負と推測され、-4を示す水源も存在する。ランゲリア指数は炭酸カルシウムの被膜形成を目安とし、この被膜による防食作用を問題としている。その指数を決定する要素としてpH値、総アルカリ度、カルシウム硬度、溶存物質、水温がある。この要素の中で、遊離炭酸濃度と関係する項目はpH値である。しかし図2で示したようにpH値と遊離炭酸濃度とは良い相関関係にあるわけでない。従って遊離炭酸はランゲリア指数の中のpH値に依存する率も少なくなり、まして総アルカリ度、カルシウム硬度、溶存物質等の他の要素を考慮すると、遊離炭酸濃度とランゲリア指数の相関性を明らかにすることは困難である。なおランゲリア指数の示す侵食性については遊離炭酸も含めて別の機会に検討したい。

謝 辞

本調査は昭和58年度調査研究費および岐阜県簡易水道協会委託調査費の一部による。

文 献

- 1) 岐阜県衛生環境部薬務水道課：昭和57年度全項目調査結果一覧表，1982
- 2) 安藤武：地下水の水質（そのI）——水質の機構および成分について——，用水と廃水，3，91~96，1961
- 3) 村瀬健司：S簡易水道における亜鉛の消長及び侵食性遊離炭酸について，第27回岐阜県公衆衛生研修会講演要旨集，48~51，1982
- 4) 厚生省監修：水道維持管理指針，日本水道協会，1982
- 5) 安達吉夫訳：コンクリートと金属の腐食と防食，水道協会雑誌，555，63~64，1980
- 6) 前田稔：水道水に水酸化物が溶出する一例としての石綿セメント管の問題に就いて，水道協会雑誌，255，26~37，1955
- 7) 小瀬洋喜，赤木洋勝，白木有之，鵜飼春夫：亜鉛鍍鉄管より水道水中への亜鉛溶出，衛生化学，15，322~329，1969

- 8) 小林寅夫, 井上竜蔵, 太田隆宏: 赤水に対するpHコントロールの効果, 水道協会雑誌, **446**, 33~38, 1971
- 9) 松井和夫: 地下水中の炭酸ガスによる銅の腐食について, 用水と廃水, **6**, 573~575, 1964
- 10) 厚生省水道環境部監修: 上水試験方法 — 1978年版, 日本水道協会, 1978
- 11) 小野寺祐夫, 田畑真佐子, 石倉俊治: 水道水の衛生化学的研究, 衛生化学, **26**, 34~40, 1980
- 12) 安藤武: 地下水の水質 (そのⅡ), 用水と廃水, **3**, 181~186, 1961

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

薄層クロマトデンシトメトリーによる外皮用 薬中トリメチルセチルアンモニウムペンタク ロクロフェネートの定量

坂井至通*, 今井準三*, 日比 誠*

Determination of Trimethylcetyl ammonium pentachloro phenate
in Dermatomyces Preparations by Thin Layer Chromatograph-
densitometry.

Yoshimichi SAKAI*, Junzo IMAI*, Makoto HIBI*

はじめに

トリメチルセチルアンモニウムペンタクロクロフェネート (Trimethylcetyl ammonium pentachlorophenate, TCAP) は、有機塩素系薬剤のペンタクロクロフェノール (PCP) と第四級アンモニウムのトリメチルセチルアンモニウム基を化学結合させた皮膚浸透性の強い抗白癬菌症薬である¹⁾。

TCAP の構成成分の PCP は、経皮吸収により強い皮膚障害を起すこと²⁾から、労働安全衛生の分野でも有害物質に指定されている³⁾。また、TCAP と同じ有機塩素系医薬品の、ヘキサクロロフェン、ハロゲン化サリチルアニリド、ピチオノールなどは、かつて殺菌剤として医薬品、化粧品、沐浴剤に広く利用されていたが、その有害作用が著しいことから、現在は使用の禁止または配合の限定などの措置がとられている⁴⁾。

一方、TCAP は、水虫等の治療を目的に、大衆医薬品に配合され、現在も使用されており、TCAP による皮膚障害が懸念されるにもかかわらず、配合薬中の定量法についての報告が無い。そこで、近年、分析機器として急速に進歩した二波長クロマトスキャナーを用いた薄層クロマトデンシトメトリー (TLC-DM) による定量法を検討し、良好な結果を得たので報告する。

実験方法

1. 試料

日局10⁷⁾記載の親水ワセリン、吸水軟膏、親水軟膏、マクロゴール軟膏の4種基剤に TCAP (小林薬学工業

業) を 1 w/w %濃度になるように加え、日局10「製剤総則21軟膏剤」に従って自家試料を調製した。また、薬局より購入した TCAP 配合の水虫治療薬、軟膏剤 3、液剤 1 の合計 4 品目 (Table 1) を用いた。

2. 試薬

TCAP (小林薬学工業)、ウンデシレン酸 (丸石一大阪)、グリチルレチン酸 (丸善化成) は医薬品製造用原料規格品、その他の試薬は試薬特級品を使用した。

3. TCAP 標準品

TCAP をエタノールより 3 回再結晶し、デシケータ (酸化カルシウム) に一昼夜放置したものを標準品として使用した。(mp. 73-74°)

4. 定量法

1) 試料溶液の調製

1-i) 軟膏剤

TCAP 約 100mg に相当する量を精密に量り、遠沈管に取る。これにエタノール 50ml を加え、水浴中 (75-85°) に 20 分間入れ、ときどき振とうし加温溶解する。放冷後、氷水中に入れ約 30 分放置する。これを 3000 回転、10 分間遠心分離し上清を綿栓ろ過する。残渣にエタノール 50ml を加え、同様の操作を 3 回繰返し、上清を集めエタノールで正確に 200ml とする。

1-ii) 液剤

TCAP 約 100mg に相当する液量を取り、エタノールを加えて溶かし正確に 200ml とする。

2) 標準溶液

TCAP 標準品約 100mg を精密に量り、エタノール

* 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

Table 1 Formula of Commercial Dermatologic Preparations (Label Claim) used for Test

Ingredients	Ointment A	Ointment B	Ointment C	Liquid A
T C A P	1.5g	2g	1g	1g
Hydrocortisone acetate	0.5			0.2
Undecylenic acid	2			1
Ethyl aminobenzoate	9.5			0.4
Diphenhydramine hydrochloride	2	1	1	0.5
Salicylic acid			2.5	1.5
Glycyrrhetic acid		0.5		
Methy salicylate	1.5			
Camphor	1.5			1
Decarinium chloride			0.3	
Zinc oxide		35		
Base	polyetylene glycol	@	@	propyleneglycol EtOH
total	100g	100g	100g	100ml

@ : Not described

を加えて溶かし、正確に 200ml とする。

3) TLC-DM

試料溶液および標準溶液のそれぞれ 10 μ l (ドラモンド社, マイクロキャップ使用) をプレコートシリカゲル (メルク社, 20 \times 20cm) の下端より 3cm のところに、2.5cm 幅の間隔で順次スポットし、イソオクタン: 酢酸エチル: 酢酸 (50:50:1) の展開溶媒系を用いて約 10cm 展開する。風乾後、二波長クロマトスキャナーを用い測定する。

二波長クロマトスキャナー条件

機 器 : 津島二波長クロマトスキャナー
CS-910

測定波長: $\lambda_S=325\text{nm}$, $\lambda_R=370\text{nm}$

受 光 部 : 反射光, ジグザグスキャン

スリット幅: 1.25 \times 1.25mm²

リアライザー: 5 \times 30H

チャートスピード: 20mm/min

結果および考察

1. エタノールによる TCAP 抽出

軟膏基剤は熱エタノールには溶解するが冷エタノールには溶けにくいので冷却すれば析出する。また、TCAP は、熱、冷エタノールのどちらにも充分溶解する。そこで、親水性基剤 (乳剤性, 水溶性) 4 種類について、熱エタノール溶解—水冷を繰り返すことにより、TCAP の抽出率の検討を行った。

乳剤性のうち o/w 型に親水軟膏, w/o 型

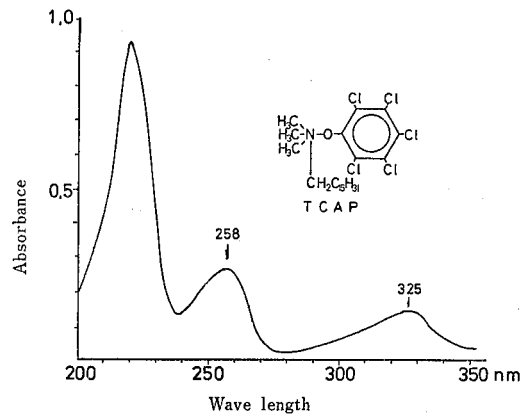


Fig 1. Absorption Spectrum of TCAP (10 μ g/ml EtOH)

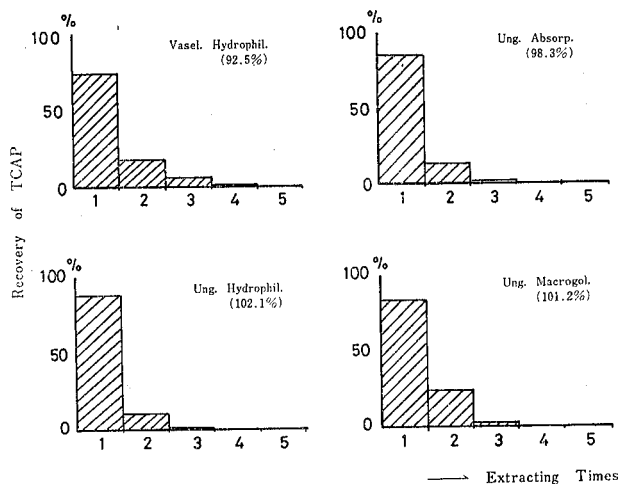


Fig. 2 Effect of Extracting Times : () Recovery

Table 2 Application form of Dermatomycosis Preparations

type	preparation numbers		total
	included TCAP	non TCAP	
Liquid type *1	17	106	123
Ointment type *2	12	93	105
Powder type	1	7	8
Other *3	0	21	21
total	30	227	257

- *1 included Tincture, Liniment and Water
- *2 included Ointment, Cream, Lotion, Jelly and Gel
- *3 included Tablet, Plasta etc

に親水ワセリン（水相を欠く）、吸水軟膏（水相を有する）を、また、水溶性にはマクロゴール軟膏を用い、それぞれ TCAP 1 w/v %含有の軟膏を調製し、抽出率検討用試料とした。なお、TCAP は、Fig. 1 に示したように、258と325 nm に吸収極大波長を有するが、測定には、325 nm を用いた。

4種基剤からの TCAP 抽出率を、抽出回数とともに Fig. 2 示した。いずれの基剤においても4回の抽出操作で、TCAP は充分抽出できた。

2. 処方配合成分と TCAP の TLC 分離

現在、医薬品製造許可を受けた市販の寄生性皮膚疾患用の外用薬は、ほとんどが液剤、軟膏剤である (Table 2)。TCAP の寄生性皮膚疾患用薬への配合は、約1割 (257品目中30品目) に達し、その配合量は、液剤で100ml 中0.45~2.0g、軟膏剤で100g 中0.3~2.5gの範囲であった。また、30品目に配合されている TCAP 以外の成分には、〔塩酸〕ジフェンヒドラミン (18品目)、サリチル酸 (17品目)、グリチルレチン酸 (7品目)、サリチル酸メチル、ウンデシレン酸 (6品目)、フェノール、アミノ安息香酸エチル (5品目)、塩酸クロルヘキシジン、ピオゾール、酸化亜鉛 (4品目)、酢酸ヒドロコルチゾン、カンフル、塩化デカリニウム (3品目) などがある。そこで、これらの配合成分と TCAP を分離するための TLC 条

Table 4 Analytical Results of TCAP in Commercial Dermatologic Preparations by TLC Densitometry

Sample	TCAP found(%) n=3
Ointment A	97.3
Ointment B	106.6
Ointment C	101.3
Liquid A	102.4

件を検討した。

展開溶媒系は、イソオクタン-酢酸エチルの混合溶媒に酢酸を0.1-10 v/v% 添加した溶媒系を用い、検出は、紫外線 (254, 365nm) 照射および4 w/v % KMnO₄ 溶液によりスポットを確認し Rf 値を測定した。各成分の1 w/v% エタノール溶液を10μl スポットした。Table 3 に示すように、塩酸クロルヘキシジン、塩酸ジフェンヒドラミン、塩化デカリニウムは原点に留まるのに対し、チモール、カンフル、メントール、サリチル酸メチルなどは、溶媒先端に移行し易く、また、イソオクタンだけで展開した場合、多くの成分は原点に留まるのに対し、酢酸エチルを用いるとこれらは溶媒先端に移行し、イソオクタンと酢酸エチルの混合化の変化に供なって同様の傾向を認める、イソオクタン-酢酸エチル混合溶媒系への酢酸の添加は、添加量の増加に供しない Rf 値の上昇が認められた。

イソオクタン-酢酸エチル-酢酸の展開溶媒系における、各成分の分離挙動を比較すると、TCAP は、サリチル酸、グリチルレチン酸、酢酸ヒドロコルチゾン、アミノ安息香酸エチル、p-ヒドロキシ安息香酸エチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピルなどと同様の分離挙動を示すが、イソオクタン-酢酸エチル-酢酸 (50:50:1) の混合比においてこれらの成分は良く分離した。

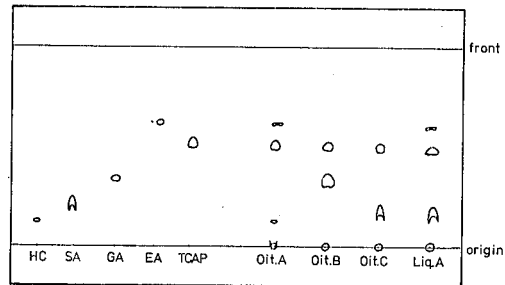


Fig. 3 Thin Layer Chromatogram of TCAP in Dermatologic Preparations

Condition : Precoated Silicagel 60 (Merck), Isooctane : Ethyl acetate : Acetic acid (50 : 50 : 1)

Spots : HC = Hydrocortisone acetate
SA = Salicylic acid
GA = Glycyrrhetic acid
EA = Ethyl aminobenzoate
Sample : Oit = Ointment Liq = Liquid

3. 二波長クロマトスキャナーによる TCAP の測定
TCAP 標準溶液10μl ずつを、定量法に従い測定したところ、変動係数は1.7% (n=6) であった。

Table 3 Rf Vaues (X100) of Ingredient in Dermatogic Preparations with Isooctane-Ethyl acetate-Acetic acid System

Ingredient	Rf Value (X100)																			
	100	75	50	25	—	100	75	50	25	—	100	75	50	25	—	100	75	50	25	—
Isooctane (ml)	—	25	50	75	100	—	25	50	75	100	—	25	50	75	100	—	25	50	75	100
Ethyl acetate (ml)	—	—	—	—	—	←	0.1	→	←	1.0	→	←	10	→	←	—	—	—	—	—
Acetic acid (ml)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
TCAP	3	20	35	50	58	6	18	38	50	61	9	50	85	98	98	17	55	85	98	98
Chlorhexidin hydrochlorate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diphenhydramine hydrochlorate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Decarinium chloride	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salicylic acid	0	0	3	5	9	0	6	20	30	35	0	18	54	70	84	10	36	64	90	94
Glycyrrhetic acid	0	0	8	30	55	0	3	25	45	60	0	12	50	75	95	0	50	80	98	98
Hydrocortisone acetate	0	3	5	35	74	0	5	10	45	74	0	7	17	70	77	7	10	50	74	81
Ethyl aminobenzoate	0	20	58	88	98	0	20	55	85	98	0	20	64	90	98	6	25	60	90	98
Ethyl p-hydroxy bezoate	0	25	63	90	98	0	25	65	90	98	0	25	78	95	98	0	30	80	98	98
Propyl p-hydroxy denzoate	0	24	61	91	98	0	26	64	90	95	0	26	78	95	98	0	33	82	98	99
Stearyl alcohol	0	31	52	87	94	0	38	65	88	95	0	42	75	98	98	7	46	85	98	98
Cetyi alcohol	0	28	50	86	95	0	40	65	92	95	0	40	74	98	98	7	46	86	98	98
Phenol	0	40	72	95	98	0	38	70	95	98	0	40	77	95	98	0	37	75	95	98
Undecylenic acid	0	40	70	90	93	0	40	68	88	90	3	40	82	97	98	22	50	85	98	98
Tymol	0	63	90	97	98	0	55	84	94	98	0	55	86	97	98	17	54	80	97	98
Menthol	0	50	82	94	98	0	45	77	95	98	0	44	85	96	97	16	45	77	87	98
Camphor	10	15	60	88	93	15	17	75	95	98	32	81	97	98	98	45	88	95	98	98
Methy salicylate	13	70	90	95	98	14	66	85	93	98	20	64	83	96	98	34	66	84	97	98
Cholesterol butylate	11	90	97	98	98	18	97	98	98	98	23	97	98	98	98	25	98	98	99	99

また標準溶液をエタノールで希釈して求めた検出限界は約 2 µg/10 µl であった。

4. 市販製剤中 TCAP の定量

TCAP 含有の市販外用薬 4 品目について含量を本法によって測定したところ Table 4 に示す結果が得られ、このときの薄層クロマトグラムは Fig. 3 に示すように良く分離した。いずれの製品も、表示量に対しほぼ 100% に近い含量であった。

ま と め

TCAP は、有機塩素系の殺菌性、皮膚浸透性の強い水虫治療薬として外用大衆薬に配合されている。有効性に富み効果が期待されるが、他の有機塩素剤にみられる皮膚への障害も充分考慮されるべきである。

製剤中の TCAP 量を測定する方法は、配合成分等の影響から、いままで報告が無かった。

今回 TLC-DM 法による簡便で精度の高い定量法を確立できたことにより、より安全な使用が可能となった。

本法を用い市販の 4 品目について試験したところ、

TCAP 含量はいずれも表示量に対しほぼ 100% の値であった。

謝 辞

本報告をまとめるのにあたり御指導をいただいた岐阜薬科大学環境衛生学教室小瀬洋喜教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 近喰秀夫, 羽生典正, 長岡怜治郎, 森岡信子, 雑賀節子, 和知信子, 高橋フヂエ: CSAP を主成分とする薬剤群の白癬性疾患に対する治療効果について, 防衛衛生, 16(10), 1-10, 1969
- 2) 後藤稔, 池田正之, 原 一郎: 産業中毒便覧, p706, 医歯薬出版, 1983
- 3) 労働科学研究所編: 新労働衛生ハンドブック, p980
- 4) Curley, A., Hawk, R.E., Kimbrough, P.D., Nathenson, G., Finberg, L.: Dermal Absorption of Hexachlorophane in Infants, Lancet, 7, 296,

1971

- 5) 厚生省薬務局長通知：ヘキサクロロフェン等を含有する医薬品の取扱いおよび使用上の注意事項について，薬発第1228号，昭和46年12月28日
- 6) 厚生省薬務局長通知：ハロゲン化サリチルアニリド系殺菌剤を含有する医薬品等の取扱いについて，

薬発第36号，昭和51年1月26日

- 7) 厚生省：第十改正日本薬局方，厚生省告示第49号，昭和56年4月1日
- 8) 日本医薬情報センター編：一般薬日本医薬品集（第4版），p302-700，薬業時報社，1983

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

家庭用品中のトリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンの存在状況について

堀 実代子*, 森下有輝*, 日比 誠*

Trichloroethylene and Tetrachloroethylene Contents in Household Necessities

Miyoko HORI*, Yuki MORISHITA*, Makoto HIBI*

トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンは親油性が大きく油よごれに対する洗浄効果が強いので、工業用の金属洗浄剤、ドライクリーニング用溶剤等に幅広く利用されており、家庭用品にも各種エアゾル製品の溶剤、洗浄剤の成分として使用されてきた。

しかし、この二物質は発癌性の疑い¹⁾もたれており、経気道吸収により体内に蓄積して肝臓、腎臓、中枢神経などに障害を起したり、接触により皮膚障害²⁾を起したりする危険性がある。そのため、工業やクリーニング業へのトリクロロエチレン、テトラクロロエチレンの使用は労働安全衛生法により規制されており、家庭用品についても昭和58年10月1日から、厚生省令により基準値0.1%以下として規制されることになった。そこで、省令に提示された試験法³⁾について若干の検討を行い、規制前後に県内に市販されていた家庭用品について試験を行ったので、その結果を報告する。

材料および方法

1. 試料

58年6月および59年1月に試買した家庭用品、および58年度の行政検査(家庭用エアゾル製品中メタノール検査、59年1月試買)のため衛生研究所に搬入された検体の一部を試料とした。

2. 試薬

トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン標準液：和光純薬試薬特級品を用いヘキサンで希釈して0.10w/v%に調製した。

1,1,1,2-テトラクロロエタン内部標準液：和光純薬試薬特級品を用いヘキサンで希釈して0.12w/v%に調製した。

3. 操作法

ドラフト内でエアゾル製品を氷冷したフラスコ中に噴出させ内容液を捕集した。得られた試料1.00gを100mlのバイアルびんに精秤し、エタノール20mlおよび内部標準液1.0mlを加えた後、セプトラムをしめ、30°Cの水浴中にバイアルびんの首まで入れて穏やかに振り混ぜながら30分間加熱した。このバイアルびんからヘッドスペースガス3μlを5μlガスタイトシリンジを用いてとり、ガスクロマトグラフに注入した。得られたクロマトグラム上に、トリクロロエチレンまたはテトラクロロエチレンの保持時間と一致する保持時間を持つピークが存在する場合は、そのピーク高さと内部標準物質のピーク高さとの比を求めた。測定は同一のびんにつき3回繰り返して行った。また、試料1.00gのかわりに標準液を0.2mlから2.0mlまで加えて同様に操作し検量線を作成した。

4. ガスクロマトグラフィー条件

島津製、GC-4 BM型、カラム：20% DC-550/Chromosorb W (80-100メッシュ) 3mmφ×3m、カラム温度：110°C、注入口および検出器温度：200°C、キャリアガス：N₂ 50ml/min、検出器：ECD ⁶³Ni、感度：10²MΩ 32×0.01V

結果および考察

1. 再現性

標準液1.0mlを用い5回繰り返して測定を行った結果

* 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

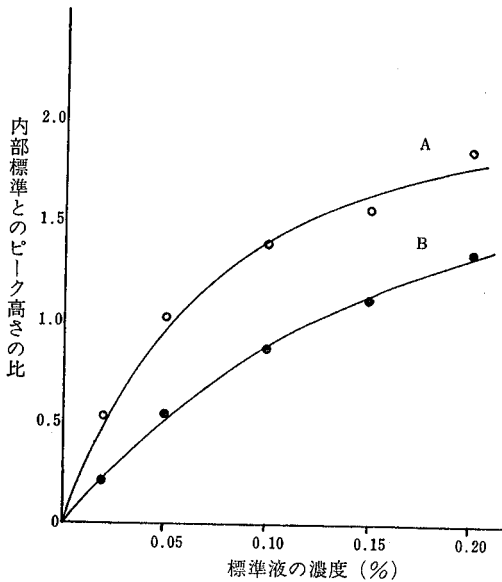
表1 繰り返し精度

繰り返し回数	内部標準とのピーク高さの比	
	トリクロロエチレン	テトラクロロエチレン
1	0.99	1.81
2	1.07	1.90
3	1.11	1.51
4	0.97	1.54
5	1.02	1.60
平均	1.03	1.67
標準偏差	0.058	0.173
変動係数	5.6%	10.3%

を表1に示した。トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンの変動係数はそれぞれ5.6%、10.3%となり、後者の方がやや大きい値を示した。このようなデータのばらつきを改善するため、省令に提示された試験法では、測定は同一のびんにつき3回繰り返し行うことになっている。ばらつきの原因は高濃度のガスを少量注入することにあると考えられる。また、シリンジの針先の目詰まりや、シリンジ内の洗浄不十分は大きなばらつきの原因となるので注意が必要であった。

2. 検量線

標準液を0.2mlから2.0mlまで加えて検量線を作成したところ、図1に示したように直線にはならなかった。したがって定量範囲はあまり広くないと考えられ



A: テトラクロロエチレン B: トリクロロエチレン

図1 検量線

る。しかし、この試験法の意義は、今後トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンを使用させないというところであり、存在の有無の確認が目的とされていることと、家庭用品中に使用される場合には数十%含まれているのが普通であると考えられることから、違反品の検出に大きな問題はないと考えられる。

3. トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンおよび関連化合物の保持時間

家庭用品中エアゾル製品には様々な有機溶剤が使用されていると考えられるため、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンおよび関連化合物について保持時間を調べた。表2に示すように、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,1,1,2-テトラクロロエタンはその他のピークと明確に区別できるピークを与えた。

表2 トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン及び関連化合物の保持時間

化合物	保持時間 (分)	相対保持時間
クロロホルム	3.9	0.25
1,1,1-トリクロロエタン	4.3	0.28
四塩化炭素	4.8	0.31
トリクロロエチレン	5.7	0.37
ブromोजクロロメタン	6.6	0.43
テトラクロロエチレン	10.8	0.70
1,1,1,2-テトラクロロエタン	15.4	1

4. 添加回収率

市販検体について試験を行ったところ、1,1,1-トリクロロエタンが多量に含まれている検体ではトリクロロエチレンとの分離が十分でなかった。そこで、1,1,1-トリクロロエタンを多量に含む検体、相対保持時間で0.10、0.15に大きなピークが認められる検体およびテトラクロロエチレンを含む検体に標準液を1.0ml添加し回収率を求めた。表3に示したように回

表3 トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンの添加回収率

市販検体 No.	回収率 (%)		その他に認められるピーク
	トリクロロエチレン	テトラクロロエチレン	
34	78	101	0.10(+), 0.15(+)
15	67	76	1,1,1-トリクロロエタン 33%
1	75	87	〃 60%
16	74	100	〃 93%
8	103	—	1,1,1-トリクロロエタン(+) テトラクロロエチレン 65%

表 4 市販家庭用品中のトリクロロエチレン、テトラクロロエチレン及び1,1,1-トリクロロエタン

No.	検 体 名	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*	その他に存在するピークの相対保持時間
規制前のエアゾル製品					
1	レザー・タイヤワックス	trace	ND	+(60%)	0.45(trace)
2	油膜とり	ND	ND	ND	
3	カーワックス a	ND	ND	ND	
4	〃 b	ND	ND	ND	
5	〃 c	ND	ND	ND	
6	ビツチクリーナー a	ND	ND	ND	
7	〃 b	ND	ND	ND	
8	〃 c	ND	65%	+	
9	防錆潤滑剤 a	ND	trace	+	
10	〃 b	trace	ND	ND	
11	〃 c	ND	ND	+	
12	〃 d	ND	ND	ND	0.10(+), 0.15(+)
13	〃 e	ND	ND	ND	
14	〃 f	trace	ND	+(40%)	0.10(+), 0.15(+), 0.45(trace)
15	〃 g	trace	ND	+(33%)	0.45(trace)
16	防水剤	trace	ND	+(93%)	0.15(+)
17	ラバーグリップ取付液	ND	76%	ND	0.10(+)
18	洗濯助剤	ND	ND	ND	
19	住宅・家具用洗剤	ND	ND	ND	
規制前のエアゾル製品以外のもの					
20	液体カーワックス	ND	ND	ND	
21	家庭用塗料	ND	ND	ND	
22	洗濯助剤	ND	ND	ND	
23	自動車用洗剤	ND	ND	ND	0.12(+)
24	靴クリーム	ND	ND	ND	
規制後のエアゾル製品					
25	レザー・タイヤワックス a	ND	ND	+	0.15(+)
26	〃 b	ND	ND	+	0.15(+)
27	〃 c	ND	ND	+	0.15(+)
28	くもり止め	ND	ND	ND	
29	家庭用塗料 a	ND	ND	ND	0.15(+)
30	〃 b	ND	ND	ND	0.45(trace)
31	〃 c	ND	ND	ND	
32	〃 d	ND	ND	ND	
33	防水剤	trace	ND	+(97%)	0.45(trace)
34	レコードスプレー a	ND	ND	ND	0.10(+), 0.15(+)
35	〃 b	ND	ND	ND	0.10(+), 0.15(+)
36	バット用オイル	ND	ND	ND	
37	グラブ・ミット用オイル	ND	ND	ND	
38	住宅・家具用洗剤 a	ND	ND	ND	
39	〃 b	ND	ND	ND	
40	住宅・家具用クリーナー・ワックス	ND	ND	+	
41	化学雑布再生剤	ND	ND	+	
42	可剥性被膜剤	ND	ND	ND	0.15(+)

ND : トリクロロエチレン0.01%, テトラクロロエチレン0.005% 未満

trace : トリクロロエチレン, テトラエチレンとも0.05% 未満

*1,1,1-トリクロロエタンは一部の検体のみ定量した.

収率は67%から103%であった。かなり低い回収率しか得られない場合があったが、まったく影響のみられない場合もあり、回収率とクロマトグラム上に大きなピークを与える成分との関連性は見い出せなかった。

5. 市販検体への適用

規制前の市販検体24件、規制後の市販検体18件、計42件について試験を行った結果を表4に示した。トリクロロエチレンを基準値以上含むものはなかった。テトラクロロエチレンは、規制前に試買したピッチクリナー (No. 8) およびラバーグリップ取付液 (No. 17) からそれぞれ65%、76%検出された。また、1, 1, 1-トリクロロエタンが、防錆潤滑剤、防水剤、レザータイヤワックス等、多数の検体から多量に検出された。これは、1, 1, 1-トリクロロエタンがトリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンと同様の性質をもつため、規制前から既に両者にかわって使用されていることを示すものであると考えられる。その他に相対保持時間で0.10, 0.15, 0.45の位置にピークを認め⁴⁾た。これらが何であるかは検討しなかったが、小嶋らの報告によればジクロロメタン、フロン類が考えられる。

以上のように、市販検体にはトリクロロエチレンを基準値以上含むものはなく、テトラクロロエチレンについては基準値を超えたものは2件のみであった。現在ではこれら二物質にかえて1, 1, 1-トリクロロエタンが幅広く使用されていることが明らかになった。

本調査は昭和58年度実態調査費の一部を用いて行った。

文 献

- 1) 佐谷戸安好, 安藤正典, 中室克彦: 低沸点有機塩素化合物の一般毒性・発癌性・突然変異性, 変異原と毒性, 7, p.74, フジテクノシステム, 1979
- 2) 後藤潤, 池田正之, 原一郎編: 産業中毒便覧 (増補版), 第2版, 617-620, 医歯薬出版, 1981
- 3) 厚生省令第28号, 昭和58年6月27日
- 4) 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠: ヘッドスペースガスクロマトグラフィーによるエアゾル製品中のトリクロロエチレン及びテトラクロロエチレンの分析, 国立衛生試験所報告, 101, 27-32, 1983

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.

淡水魚における除草剤の残留

岩田好博*, 杉谷 哲*, 山田不二造*

Herbicides Residue in Fresh Water Fishes

はじめに

昭和45年以降岐阜県内で採取された淡水天然魚のPCB, 有機塩素農薬の汚染調査を行ってきたが, 近年ナマズおよびフナからECD-ガスクロマトグラフィー(GLC)に高い感度をもつ未知物質がしばしば検出された。この物質は特に6月に採取した試料から多量に検出され, 現在よく利用されている水田除草剤と考えられた。

この未知物質について, GLCを用いて検討した結果, 除草剤中もっとも生産量が多く, 研究報告も多いCNP, NIP, およびオキサジアゾン^{1)~4)}と同定された。そこで, それらの除草剤のナマズにおける消長と, 断面的ではあるが, 数種の淡水魚における汚染実態を調査したので報告する。

材料および分析方法

1. 材 料

除草剤の経時変化の調査には, ナマズ(マナマズ: *Silurus Astous* LINNAEUS) 32尾(昭和57年5月から同年12月までに揖斐川下流で採取した)を用いた。その採取時期および体長を表1に示した。

除草剤の残留量の調査には, 淡水魚6種(天然魚: ナマズ, コイ, アユ, ウグイ。養殖魚: ウナギ, ニジマス) 70尾(昭和56年4月から昭和57年12月までに採取した)を用いた。その採取時期および採取場所を表2に示した。

試料の調製法: 経時変化を調査したナマズについては, 5尾の可食部(約1kg)をプールし, ホモジナイザーで均質化したものを1検体とし, その10gを供試した。残留量調査に用いた淡水魚については, 10尾前後の可食部(約1.5kg)をプールし, 同様に均質化したものを1検体とし, その10gを供試した。

2. 分析方法

クリーンアップには石川らの方法⁵⁾(硝酸銀フロリジルカラムクロマトグラフィー)を適用し, 図1の方法により除草剤を分析した。

すなわち, 均質化した試料をアセトニトリルおよび無水硫酸ナトリウムを加え1分間激しく振とうした。遠心分離(2000rpm, 5分間)後, アセトニトリル層を300mlの分液漏斗に移し, 残渣をさらに2回上記の操作を繰り返す, アセトニトリル層を合わせ, 蒸留水, 無水硫酸ナトリウムおよびn-ヘキサンを加えて激しく振とうした。静置後水層を捨て, n-ヘキサン層は水洗し, 無水硫酸ナトリウムで脱水後, KD-濃縮器で5mlに濃縮した。この濃縮液3mlを硝酸銀フロリジルカラムクロマトグラフィーに供し, 酢酸エチル:n-ヘキサン混液100mlで溶出し, KD-濃縮器で4mlに濃縮してGLC用検液とした。

結 果

1. GLCによる除草剤の検出

ナマズから得られた3種の未知のECD-ガスクロマトグラムを図2に示したが, これらの未知物質は, それぞれ標準物質の保持時間とまったく一致しているこ

表1 経時変化に使用したナマズの体長

採取月日	ナマズの体長	平均体長
5月20日	40cm, 38cm, 35cm, 41cm, 29cm	37cm
6月8日	41cm, 32cm, 30cm, 25cm, 24cm	30cm
6月18日	45cm, 30cm, 31cm, 30cm, 25cm	32cm
9月6日	34cm, 34cm, 31cm, 37cm, 31cm	33cm
11月5日	30cm, 30cm, 32cm, 29cm, 22cm, 26cm	28cm
12月9日	31cm, 30cm, 28cm, 27cm, 29cm, 31cm	29cm

* 1検体5~6尾(重量1kg前後)

表2 淡水魚における除草剤の残留量

	魚種	採水年月日	採取場所	除草剤		
				オキサジアゾン	CNP	NIP
天然魚	ナマズ	S56. 7.29	海津郡海津町高須(千本松)(河口域)	0.26	0.05	0.01
	ナマズ	S56. 7.29	海津郡海津町油島(河口域)	0.65	0.13	ND*
	ナマズ	S56.10.16	海津郡海津町高須(千本松)(河口域)	0.06	0.01	ND
	コイ	S56.10.19	吉城郡国府町広瀬町(上流域)	ND	0.01	ND
	コイ	S56.10.20	可児郡可児町広見(上流域)	ND	ND	ND
	コイ	S56. 8.24	中津川市落合ダム(上流域)	ND	ND	ND
	アユ	S56. 8.24	揖斐郡揖斐川町三輪(上流域)	ND	ND	ND
	アユ	S56. 8.24	美濃市立花(上流域)	ND	0.01	ND
養殖魚	ウナギ	S56. 8.24	中津川市落合ダム(上流域)	ND	ND	ND
	ウナギ	S57.10.17	海津郡海津町菅野	0.02	ND	ND
	ウナギ	S57.10.20	本巣郡穂積町(明治製菓)	ND	ND	ND
	ニジマス	S57. 7.28	郡上郡大和村落部	ND	ND	ND

* ND:不検出

1) 海津郡海津町のナマズ及びウナギは、揖斐川下流及びその付近で採取した検体。

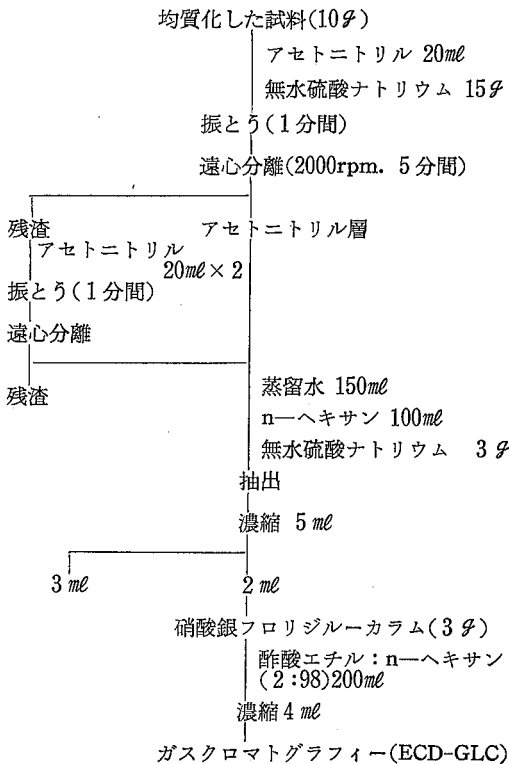


図1 魚類に残留する除草剤の分析法

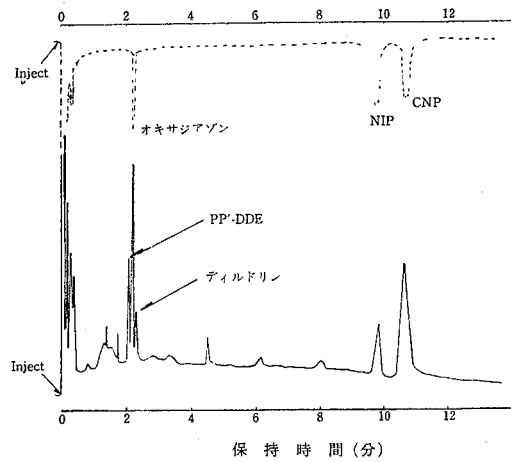


図2 ナマズ抽出物中の未知物質と除草剤のガスクロマトグラム
ガスクロマトグラフィーの条件
充てん剤: DEGS+H₃PO₄ (2+0.5%)
Chromosorb w 60~80メッシュ, カラム
度: 210°C, 注入口温度: 250°C 検出器温
度: 250°C, キャリアーガス圧(窒素ガス)
: 1 kg/cm²

とから CNP, NIP, オキサジアゾンと推定した。

2. ナマズにおける除草剤の残留性

ナマズに残留する CNP, NIP およびオキサジアゾンの経時変化を図3及び表3に示した。

残留量は, NIP, CNP, オキサジアゾンの順で, 経時的にはいずれも6月7日の試料が最高の残留量を示した。詳述すると, NIPの残留量は最高で0.18 ppmであったが, CNPは約3.5倍の0.62 ppm, オキサジアゾンは約4.5倍の0.78 ppmの残留値を示した。また経時変化では, NIPは6月7日をピークに6月18日まで, CNPでは9月6日までほとんど残留しなくなったが, オキサジアゾンは最も残留期間が長く, 12月9日でも微量(0.01 ppm)ではあるが残留していた。

3. 淡水魚における除草剤の残留量

天然魚(ナマズ, コイ, アユ, ウグイ)と養殖魚(ウナギ, ニジマス)における除草剤の残留量を調査した結果を表2に示した。

表3 ナマズにおける除草剤の経時的残留量 (ppm)

採取月日	除 草 剤		
	オキサジアゾン	CNP	NIP
5月20日	0.10	0.10	0.12
6月7日	0.78	0.62	0.18
6月18日	0.52	0.22	0.01
9月6日	0.14	0.01	ND*
11月5日	0.05	ND	ND
12月9日	0.01	ND	ND

* ND:不検出

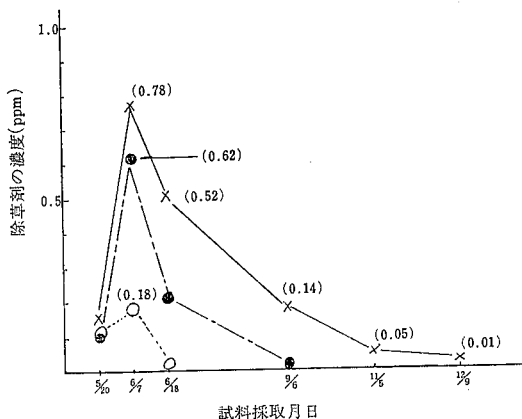


図3 ナマズに残留する除草剤の経時変化

x.....オキサジアゾン
●.....CNP
○.....NIP

表4 ナマズ採取河川域の除草剤使用状況

町名	除草剤の種類
南濃町	パラコート, ベンチオカーブ, オキサジアゾン, オキサジアゾン・ブタクロール混液, CNP
海津町	オキサジアゾン, ベンチオカーブ, オキサジアゾン・ブタクロール混液
養老町	ベンチオカーブ, CNP, オキサジアゾン・ブタクロール混液
平田町	オキサジアゾン・ブタクロール混液, ベンチオカーブ, CNP

* 各町農協の調べによる。
主な除草剤の使用順に示した。

魚種別にみると, ナマズ(3検体)がすべての除草剤において特に多く, 除草剤中オキサジアゾンが0.06 ppmから0.65 ppmまでと高く, 次いで CNP(0.01 ppmから0.13 ppm), NIP(NDから0.01 ppm)の順であった。コイ(3検体)では, 除草剤の残留量は低く, オキサジアゾン(1検体), CNP(1検体)ともにNDから0.01 ppmまでであり NIPは検出されなかった。アユでは, オキサジアゾンが不検出, CNPは2検体中1検体から0.01 ppm検出されたにすぎない。ウグイでは, すべて不検出であった。また養殖魚についてもウナギ1検体からオキサジアゾン0.02 ppmを検出した以外はすべて不検出であった。

考 察

著者らが調査により検出した未知物質は CNP, NIP, オキサジアゾンと同定された。その証明としては, 2% DEGS+0.5% H₃PO₄, OV-17 および QF-1 を充填剤とする GLC 法で, 保持時間がこれら3種の除草剤と完全に一致したことによるがこれは Imanaka⁵⁾よひ石川らが, GLC-マスマスペクトロメーターを用いて, 同類の物質を, 上述の3種の除草剤と同定したと一致している。

これら3種の除草剤を分析する上で, NIP と CNP は, 適用した DEGS+H₃PO₄, OV-17, QF-1 のどの充填剤でも容易に分離できるが, オキサジアゾンは, 他の有機塩素農薬 (PP'-DDE, デイルドリン) と保持時間が近接している (図2) ため注意が必要である。

PP'-DDE とデイルドリンのガスクロマトグラフ上のピークが高いときは, OV-17 と QF-1 のオキサジアゾン分離能が特に悪いので (図に示してない), カ

ラム充填剤として DEGS+H₃PO₄ を用いるのが望ましい。

除草剤の残留調査に用いたナマズの採取域は、揖斐川下流（河口域）である。この川に隣接している4町（南濃町、海津町、養老町、平田町）の除草剤購入状況を表4に示す。

除草剤の使用量を数値で明示できなかったが、現地の農業協同組合によれば、主な除草剤のうちオキサジアゾンがすべての町でもっとも多く使われ、次いでペンチオカーブ、CNPの順であり、NIPはあまり使われていないと言う。この使用状況と平行してナマズにおける残留量も、オキサジアゾン、CNP、NIPの順であった。さらにこの川沿の町では、5月下旬から6月上旬にかけて田植が行なわれ、同時期か少し後に除草剤を散布する。そのため6月7日に採取したナマズにおける除草剤の残留量をもっとも多かったことはいずれも、すなわち、オキサジアゾン0.78 ppm, CNP 0.62ppm, NIP 0.18ppmを記録した。しかし、その後NIP 6月18日、CNP 9月6日、いずれも0.025ppmに低下した。これら2種類の除草剤に比べオキサジアゾンは、6月18日に約0.5ppm、9月6日にほぼ0.2ppm、12月9日に0.003ppmから0.01ppmまでの残留量を示した。なお、その後の残留量については、ナマズの採取が不可能であったために12月から4月までの調査はできなかった。恐らく、次期除草剤使用までに残留量は検出できなくなると思われるが、できれば年間を通じてどのような残留性を示すかを明らかにしたいと考えている。

魚類中の除草剤の残留調査でアユとウグイ(天然魚)

は上流の清流に住む代表的な魚であるため残留量は非常に少なかった。コイについては、一般的にナマズと共通の棲息性をもっているが今回残留調査を行った検体は河川上流域で採取されたため少ない残留性を示したと思われる。

これらのことから除草剤は、魚類および棲息地、特に採取時期によって残留量が異なるので、その調査にあたっては、今回検討できなかった体長による差も含め充分考慮する必要がある。

文 献

- 1) Yamagishi T., Akiyama K., Morita M., Takahashi R. and Murakami H.: Isolation and Identification of 1, 3, 5-Trichloro-2 (4-nitrophenoxy) Benzene (CNP) in shellfish, *J. Environ. Sci. Health*, B13(4), 417-424, 1978
- 2) Yamato Y. and Suzuki M.: Occurrence of Herbicide Oxadiazon in Surface Water and Tap Water, *Water Research*, 14, 1435-1438, 1980
- 3) Imanaka M., Matsunaga K., Shigeto A. and Ishida T., Oxadiazon Residues in Fish and Shellfish, *J. Pesticide Sci.*, 6, 413-417, 1981
- 4) 佐藤信俊, 石川 潔, 鈴木 滋, 高槻圭悟, 堺 敬一: シジミからの CNP, Chlomethoxynil および TCNP の同定, *食衛誌*, 22, 50-55, 1981
- 5) 石川 潔, 鈴木 滋, 佐藤信俊, 高槻圭悟, 堺 敬一: 魚介類中ジフェニルエーテル系除草剤の分析法, *食衛誌*, 22, 56-59, 1981

岐衛研所報

Rep. Gifu
Inst. P. H.ニジマスにおけるナリジクス酸及びその
代謝物の組織内分布について春日 洋二,*1 杉谷 哲,*1 山田 不二造*1
荒井 真,*2 森川 進*2Distribution of Nalidixic Acid and its Metabolites in Tissues
of Rainbow TroutYoji KASUGA*1, Akira SUGITANI*1, Fujizo YAMADA*1,
Makoto ARAI*2 and Susumu MORIKAWA*2

緒 言

魚病治療薬であるナリジクス酸 [1-ethyl-1, 4-dihydro-7-methyl-4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylic acid (NA)] の関連化合物であるピロミド酸 (PA) をウナギに投与した研究から老田¹⁾は、生成される代謝物がもとのPAより長い間組織に残留し、その抗菌性もPAと同等もしくはそれ以上であることを明らかにした。

人においては、NAの殆んどがヒドロキシメチル体に代謝されて尿中に排泄されるが、その代謝物がもとのNAと良く似た抗菌性を示すことを Rollo²⁾は報告した。

Harrey³⁾らは *in vitro* でNAをネコ、犬、マウス及びウサギのマイクロゾームと反応させ、いずれも6-ヒドロキシナリジクス酸が生成されることを明らかにした。

以上のように哺乳動物ではNAが抗菌性をもつ7-ヒドロキシメチル体や6-ヒドロキシ体に代謝されることが明らかにされたが、魚類でのNAの代謝については全く報告されておらず、食品衛生の見地からその分布や残留性を明らかにする必要性がある。

そこで著者らはニジマスを用いてNA及びその代謝物である6-ヒドロキシナリジクス酸 [1-ethyl-1, 4-dihydro-6-hydroxy-7-methyl-4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylic acid (6-OHNA)], 7-ヒドロキシメチルナリジクス酸 [1-ethyl-1, 4-dihydro-7-hydroxymethyl-4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylic acid (7-OHNA)] の組織内分布について検討した。

実験方法

材料及び試薬：供試魚は岐阜県水産試験場で飼育さ

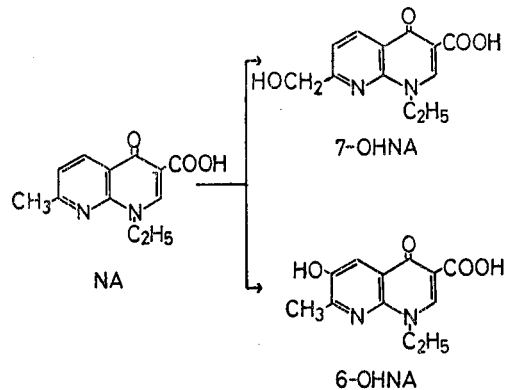


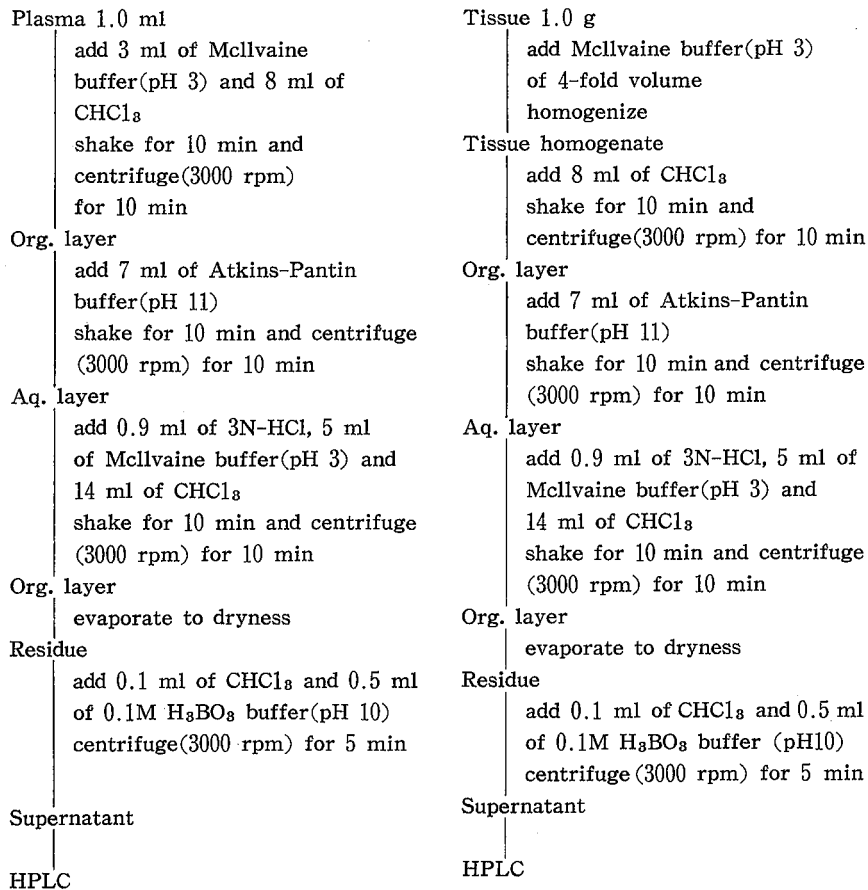
Fig. 1. Chemical structures of nalidixic acid and its metabolites

*1 岐阜県衛生研究所：500 岐阜市野一色4丁目6番3号

*1 Gifu Prefectural Institute of Public Health：6-3, Noishiki, Gifu 500, Japan

*2 岐阜県水産試験場：509-25 岐阜県益田郡萩原町羽根

*2 Gifu Prefectural Fisheries Experimental station：Hane, Hagiwara-cho, Mashita-gun, Gifu 509-25 Japan



Scheme 1. Analytical procedure for NA, 7-OHNA and 6-OHNA in tissues of fish

れた平均体重412gのニジマスを用いた。NA及び代謝物は第一製薬株式会社研究所で合成もしくは抽出、精製された標品を用いた。それらの代謝物の構造をFig. 1に示した。

NA製剤(水産用ウイントロマイロン)は第一製薬製を用いた。その他の試薬は和光純薬製試薬特級品を用いた。

投薬方法: NA製剤を丸薬とし、魚体重1kgあたりNAが50mgになるように1回強制経口投与した。なお投薬後は給餌を止めた。

試験池: コンクリート製流水水槽(自然水、平均水温18°C)

サンプリング方法: 投薬後24, 48及び72時間に各5尾取り上げ、1尾毎に筋肉、肝、腎、脾、胆汁及び血漿を採取し、分析時迄凍結保存した。

分析方法: 抽出及びクリーンアップは老田らがウナ

ギ中のPA及びその代謝物の分析に用いた方法を一部改良して行った(Scheme 1)。

測定は著者らが魚肉中のオキソリン酸(OA)、NA及びPAの同時定量に用いた条件で行った。

但し、6-OHNAのみ移動相中の硫酸ナトリウム濃度0.005Mを0.06Mに変えて行った。

結果及び考察

ニジマス組織中のNA及びその代謝物の平均濃度をTable 1に示した。

筋肉、肝、腎、脾、胆汁及び血漿でのNA濃度は投薬後24時間でそれぞれ9.38, 16.18, 6.16, 5.45, 15.50及び8.88 $\mu\text{g/g}$ であり、48時間では4.03, 14.76, 5.20, 3.75, 36.45及び7.31 $\mu\text{g/g}$ 、72時間では8.37, 8.60, 3.73, 2.15, 29.34及び3.67 $\mu\text{g/g}$ で、胆汁中の濃度が最も高く、次いで肝、筋肉、血

Table 1. Tissue Levels of Nalidixic Acid and its Metabolites in Rainbow Trout

Tissue	Time after administration	Concentration ($\mu\text{g/ml}$ or g)*		
		NA	7-OHNA	6-OHNA
Muscle	24	9.38 \pm 4.72	0.16 \pm 0.15	ND**
	48	4.03 \pm 0.72	0.50 \pm 0.59	ND
	72	8.37 \pm 2.46	0.09 \pm 0.13	ND
Liver	24	16.18 \pm 9.12	0.03 \pm 0.08	ND
	48	14.76 \pm 7.07	0.14 \pm 0.13	ND
	72	8.60 \pm 1.29	0.05 \pm 0.07	ND
Kidney	24	6.16 \pm 2.64	ND	ND
	48	5.20 \pm 1.24	0.16 \pm 0.15	ND
	72	3.73 \pm 0.94	0.06 \pm 0.06	ND
Spleen	24	5.45	ND	ND
	48	3.75	ND	ND
	72	2.15	ND	ND
Bile	24	15.50 \pm 12.02	3.55 \pm 0.64	ND
	48	36.45 \pm 13.92	0.62 \pm 0.68	ND
	72	29.34 \pm 15.82	0.99 \pm 0.89	ND
Plasma	24	8.88 \pm 6.35	0.03 \pm 0.04	ND
	48	7.31 \pm 3.65	ND	ND
	72	3.67 \pm 1.33	ND	ND

* Values are means of 5 samples

** ND : 6-OHNA < 0.05 $\mu\text{g/ml}$ or g , 7-OHNA < 0.02 $\mu\text{g/ml}$ or g

腎, 脾の順であった。

NAの経時的濃度変化は, 肝, 腎, 脾及び血漿では投薬後24時間の濃度に比べ48, 72時間は漸減傾向を示した。著者らがニジマスで行ったOAの残留試験結果*3でも肝中のOAはNA同様投薬後24時間の濃度に比べ72時間は減少した。胆汁では投薬後24時間の濃度に比べ48時間は増加し, 72時間は減少した。

又, 筋肉では投薬後24時間の濃度に比べ48時間は減少し, 72時間で増加したが, その理由は不明である。

次に 7-OHNA 濃度は, 投薬後 24 時間では筋肉, 肝, 腎, 脾, 胆汁及び血漿でそれぞれ平均0.16, 0.03, ND, ND, 3.55 及び 0.03 $\mu\text{g/g}$, 48 時間で 0.50, 0.14, 0.16, ND, 0.62 及び ND $\mu\text{g/g}$, 72 時間で 0.09, 0.05, 0.06, ND, 0.99 及び ND $\mu\text{g/g}$ で, 胆汁中の濃度が最も高かった。次いで筋肉, 肝の順であった。脾では全く検出されなかった。

胆汁における 7-OHNA は投薬後 24 時間の濃度に比べ48時間は減少し, 72時間で増加したが, これはニジ

マスの各個体間で胆汁量 (投薬後24時間 0~1.0ml 平均0.21ml, 48時間 0~0.40ml 平均0.37ml, 72時間 0.35~0.60ml, 平均0.45ml) に相当差があったこと, もしくは胆汁が閉鎖的腸肝循環することに起因することが考えられるが, 原因究明には更に詳細な検討が必要であろう。

各組織内でのNA及び7-OHNAの挙動については, 投薬後の各時間共NA濃度に対する7-OHNA濃度の比率は極めて低かった。又, 残留性については, 投薬後72時間では7-OHNAは脾及び血漿では検出されず, 他の組織でも極めて低濃度であったことから, NAより代謝物である7-OHNAの方が残留期間が短いと考えられる。

NA及びその代謝物の挙動について Cusinaud⁵⁾は, 人の血中ではNA濃度に対する7-OHNA濃度の比率¹⁾はかなり高いことを報告し, 老田らはNAの関連化合物であるPAについてウナギを用いた研究結果から, PA濃度に対する代謝物濃度の比率は投薬後48時間以

*3 春日洋二, 杉谷哲, 山田不二造, 荒井真, 森川進: 第46回日本食品衛生学会講演要旨集, p.31 (1983)

後は代謝物の方が高く、残留期間が長いことを明らかにした。

これらのことから動物種や抗菌性物質のちがいに
より、もとの物質に対する代謝物の比率やその残留性が
異なることが明らかになった。

6-OHNA は全組織から全く検出されなかった。こ
の点は Harrey³⁾らの哺乳動物での結果とは異なった。

文 献

- 1) Oida, T., Kouno, K., Katae, H., Nakamura, S., Sekine, Y. and Hashimoto, M.: Levels of Piromidic Acid and its Metabolites in Eel Tissues, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1599-1608, 1982
- 2) Rollo, I. M.: Antibacterial Chemotherapy-Naphthyridine Derivative Nalidixic Acid, *Ann. Rev. Pharmacol.*, **6**, 225, 1966
- 3) Harvey, J. and Edelson, J.: Species Differences in the Hepatic Microsomal Oxidation of Nalidixic Acid, *Arch. Int. Pharmacodyn*, **229**, 192-198, 1977
- 4) 春日洋二, 杉谷哲, 山田不二造: 高速液体クロマトグラフィーによる魚肉中オキシリン酸, ナリジクス酸及びピロミド酸の同時定量, *食衛誌*, **23**, 344-347, 1982
- 5) Cusinaud, G., Ferry, N., Seccia, M., Bernard, N. and Sasard, J.: Determination of Nalidixic Acid and its Two Major Metabolites in Human Plasma and Urine by Reversed-phase High-performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.*, **181**, 399-406, 1980

<他誌掲載論文>

東京都内における急性結膜炎患者からのウイルス検索 (1982年)

林 志直*, 矢野一好*, 藪内 清*, 岩崎謙二*, 川本尋義**

Virological Survey of Acute Conjunctivitis in Tokyo, 1982

YUKINAO HAYASHI*, KAZUYOSHI YANO*
KIYOSHI YABUCHI*, KENJI IWASAKI*
and HIROYOSHI KAWAMOTO**

東京衛研年報 Ann. Rep. Tokyo Metr. Res.
Lab. P.H., 34, 34-40, 1983

During the period from January to December in 1982, virological survey on the cause of acute conjunctivitis was performed in Tokyo. The rescue of the viruses were carried out by cultivating conjunctival swab specimens with FL, HEp2, BGM, Vero, Hela and HEL cells at 37°C. A total of 117 specimens involving 88 cases of epidemic keratoconjunctivitis (EKC), 25 cases of acute hemorrhagic conjunctivitis (AHC) and 4 cases of pharyngoconjunctival fever (PCF) were studied, and adenoviruses (17 strains) and enterovirus type 70 (10 strains) were detected from 27(23.1%) patients. In terms of isolation, a selective, enhanced sensitivity of HEp2 cells was observed for adenoviruses, and of Hela cells for enterovirus type 70.

From the results of growth experiments on enterovirus type 70, the range of permissive temperature of the current strains (T-482/82, T-678/82) was larger than the prototype J 670/71 strain. T-671/82 grew at 37°C as well as at 33°C, and was more thermostable than the prototype at the nonpermissive temperature of 39°C.

By cross neutralization tests, the current strains were neutralized by antiserum prepared against the prime strain G-2/74 as well as the prototype and the prime strain, and were neutralized by anti-prototype J 670/71 serum 4 fold lower than the prototype. It was indicated that the antigenicity of the current strains were nearly identical to the prime strain G-2/74.

沈降精製 DPT ワクチンの効果と副反応に関する調査研究

—第Ⅱ編：ワクチン接種後の百日咳抗体価—

兼村敏生, 近藤直実, 寺沢総介, 多賀俊明,
坪内肯二, 西田 隆, 折居忠夫 (岐阜大学医学部小児科学教室)
後藤喜一 (岐阜県衛生研究所)

小児科臨床 37(3), 569~572, 1984

沈降精製ジフテリア・百日咳・破傷風ワクチンを接種された幼児における血中抗 F-HA 抗体価, 抗 LPF-HA 抗体価をマイクロ ELISA 法にて測定した. 同ワクチンの1回接種量0.5ml群と0.3ml接種群とで, 同抗体価を比較した. また0.5ml 群における同抗体価の経時的推移も調査した.

抗 F-HA, LPF-HA 両抗体価とも第1期3回目接種2週後にて充分高い値が得られ, 少なくとも11週後までは両抗体価とも低下する傾向は認められなかった. 0.3ml接種群においても0.5ml接種群に比して両抗体価が低い傾向は認められなかった.

汚水処理施設内での腸管系病原細菌の消長

所 光男, 加藤樹夫, 後藤喜一, 渡辺 実,
山田不二造 (岐阜衛研)
内田千尋 (内田浸漬汚床研究所)

臨床と細菌, 10, (2), 211-214, 1983

市販のSal増菌培地, SBG, セレナイト, ハーナおよびラバポートを用い, 塩素添加前のし尿浄化槽処理

水からの Sal 検索用増菌培地の選択性について比較検討した。その結果、SBG がもっともすぐれた Sal 選択性を示し、セレナイトはし尿浄化槽水温が 10°C 以下になると SBG と同等の Sal 選択性を示した。ハーナおよびラバポートは SBG にくらべてかなり低い Sal 選択性しか示さなかった。

魚肉中オキシソリン酸及びピロミド酸代謝物の分離同定法

春日洋二, 杉谷 哲, 山田不二造 (岐阜衛研)

食品衛生学雑誌, 24(5), 484~487, 1983

著者らが既報でオキシソリン酸 (以下 OA) 及びその関連化合物の同時定量に用いたイオン交換樹脂 Zipax SAX では OA 及びピロミド酸の代謝物 (2-OHPA, 3-OHPA) の分離同定が不可能であった。そこでカラムに LiChrosorb RP-18 ($10\mu\text{m}$) を充てんしたステンレスカラム ($4\text{mm I.D.} \times 250\text{mm}$), 移動相にカウンターイオンとして 0.05% トリメチルセチルアンモニウムブロマイドを含むリン酸緩衝液 (pH 6.4)-メタノール (14:11 v/v%) を用いた逆相イオン対クロマトグラフィーで満足できる分離が得られた。また本条件下で 2-OHPA 及び 3-OHPA は $1 \sim 20\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲内で直線性を示し、定量が可能であった (検出限界はそれぞれ $0.05\mu\text{g}/\text{g}$ 及び $0.03\mu\text{g}/\text{g}$)

Reaction of Water-soluble Dyes with Ozone.

M. Matsui, T. Kimura, T. Nambu*,
K. Shibata and Y. Takase

Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, Gifu University.

*Gifu Prefectural Institute of Public Health.
JSDS, 100, 125-127, 1984

Reaction of various kinds of water-soluble dyes with ozone was examined. It was found

that the reaction of dyes with ozone improved their biodegradability, and the values of biochemical oxygen demand (BOD) and total organic carbon (TOC) of the ozonation products correlated with those of the theoretical TOC of the original dyes. In addition, the azo dyes had a tendency to be easily decomposed with ozone, and the decomposition of dyes was markedly accelerated when ozonation was accompanied by ultra-violet irradiation.

魚網を用いた接触曝気法による汚水処理に関する研究

南部敏博, 森下有輝, 日比 誠, 山田不二造
(岐阜衛研)

河村清史 (国立公衆衛生院・衛工)

金子光美 (摂南大・工)

吉川 博 (岐阜大・医・公衛)

日本公衛誌, 31(3), 125-134, 1984

魚網を接触材として用いた接触曝気法を、し尿処理に応用する目的でモデル実験を行い、BOD 除去と硝化が進行した処理水を得るためには、滞留時間が 15 時間以上必要であることが判明した。

そこで、モデルプラントをスケールアップしたパイロットプラントを作製し、長時間処理実験を行い、モデル実験の確認とその実用性を調査した。パイロットプラントへの流入水は非常に変動していたが、水量負荷 $14\text{m}^3/\text{day}$ (滞留時間 21 時間), 平均 BOD 負荷 $0.11\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{m}^3 \cdot \text{day}$ (第 1 槽には $0.33\text{kg} \cdot \text{BOD}/\text{m}^3 \cdot \text{day}$) の条件で運転したとき、処理水は流入水質の変動、季節変化に影響されず安定した良質のものであり、硝化も進行していた。しかも、維持管理はほとんど不要であった。

それゆえ、本処理装置は BOD 等有機物除去能および維持管理の容易性等より、し尿処理にきわめて有効な装置であることが明確になった。反面、脱窒を考慮

した場合における硝化の不完全さ、溶解性リンの除去の悪さ等の問題があり、今後さらに検討する余地がみとめられた。

岐阜県で発生した下痢性貝毒による食中毒事例

野々村文雄, 岩田好博, 中尾謙一, 杉谷 哲,
山田不二造 (岐阜衛研)

近藤和久, 田田辰吉 (高山保健所)

白井宗一 (岐阜県環境衛生課)

井上 睦 (岐大農, 獣医)

(食衛誌, 24(6), 573-578, 1983)

昭和57年7月7日から10日にかけて、青森県より入荷したホタテガイの販売経路にそって食中毒が発生した。調査結果の概略は、

1) 患者44名, 主な症状は, 下痢, 嘔気, 嘔吐で, 便

は水様便, 潜伏時間は患者の約90%が4~10時間であった。

2) 本事例は下痢性貝毒により毒化したホタテガイが出荷時に混入し, そのまま販売されたことにより発生したものである。

3) 食中毒の原因食品であるホタテガイから, むき身1g当り0.8~1.6MUの下痢性貝毒を検出した。この値に基づいて算出した患者の推定摂取毒量は18~164MUであった。

4) 本事例で得た毒化ホタテガイについて, 下痢性貝毒の分離, 精製を行った結果, 毒素DTXは, 約90%がDTX₈, 約10%がDTX_{1,4}の成分比であった。

5) マウス致死試験でへい死したマウス5匹について死後剖検及び病理組織学的検査を行ったところ, 全例強い全身性うっ血を示した以外, 著変は認められなかった。

学 会 報 告

○1982年岐阜県における無菌性髄膜炎の流行について

三輪智恵子, 川本 尋義 (岐阜衛研)

第31回日本ウイルス学会

昭和58年10月 大 阪 市

○エコー30型ウイルスによる新生児無菌性髄膜炎

吉尾 博之, 金本 太珍

(多治見市民病院・小児科)

長谷川幸生, 二宮 敬宇

(多治見市民病院・産婦人科)

三輪智恵子 (岐阜衛研)

第149回日本小児科学会東海地方会

昭和59年2月 名 古 屋 市

○エンテロウイルス70型分離株 (1982年, 東京) の性状

林 志直, 矢野 一好, 数内 清,

岩崎 謙二 (都衛研)

川本 尋義 (岐阜衛研)

第31回日本ウイルス学会総会

昭和58年10月, 大 阪 市

○高速自動車道のし尿浄化槽沈澱槽上清液からの
Campylobacter jejuni/coli の分離成績

所 光男, 加藤 樹夫, 後藤 喜一,

渡辺 実, 山田不二造 (岐阜衛研)

第20回日本細菌学会中部支部総会

昭和58年10月 富 山 県

○腸炎ビブリオと *Vibrio fluvialis* が検出された食
中毒事例について

加藤 樹夫, 所 光男, 後藤 喜一,

渡辺 実, 山田不二造 (岐阜衛研)

第20回日本細菌学会中部支部総会

昭和58年10月 富 山 県

○混合製剤における Acetaminophen の配合変化

坂井 至通, 今井 準三, 日比 誠

(岐阜衛研)

石川 哲也 (岐阜女短大)

小瀬 洋喜 (岐阜薬大)

58年日本薬学会東海支部総会

昭和58年6月 名 古 屋 市

○混合製剤における Acetaminophenの配合変化 (第
2報)

坂井 至通, 今井 準三, 日比 誠

(岐阜衛研)

小瀬 洋喜 (岐阜薬大)

58年日本薬学会東海支部例会

昭和58年11月 岐 阜 市

○混合製剤における Acetaminophenの配合変化 (第
3報)

坂井 至通, 今井 準三, 日比 誠

(岐阜衛研)

永瀬 久光, 川井 隋彦, 小瀬 洋喜

(岐阜薬大)

日本薬学会第104年会

昭和59年3月 仙 台 市

○農薬 EDB の地下水に及ぼす影響

寺尾 宏, 梶川 正勝, 森下 有輝

(岐阜衛研)

日本薬学会第104年会

昭和59年3月 仙 台 市

○塗装作業者の鉛中毒

今井 準三 (岐阜衛研)

河合 信 (岐大・医)

昭和58年度 日本産業衛生学会東海地方会

昭和58年10月 名 古 屋 市

○テトラヒラメによる下痢性貝毒の評価

野々村文雄, 中屋 謙一, 杉谷 哲,

山田不二造

第46回日本食品衛生学会

昭和58年10月 山 形 市

○魚組織中オキソリン酸の残留性について

春日 洋二, 杉谷 哲, 山田不二造

(岐阜衛研)

荒井 貞, 森川 進 (岐阜水産試)

第46回日本食品衛生学会

昭和58年10月 山 形 市

岐阜県衛生研究所報投稿規定

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、Kōtarō 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。英文は前置詞文、接続詞、冠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. 外来語は片かな、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., Table3.」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、冠詞以外イニシアルを大文字にし、他は小文字とする。
11. 図表および写真は、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^{(1),(2)}のように片括弧をつける）をし、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 of 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>

山 田 不 二 造

<編 集 委 員>

後 藤 喜 一, 今 井 準 三, 棚 橋 宜 康
梶 川 正 勝, 川 本 尋 義, 中 屋 謙 一

岐 阜 県 衛 生 研 究 所 報 No.29
昭 和 5 9 年 1 1 月
Report of Gifu Prefectural
Institute of Public Health No.29
1 9 8 4

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 Gifu Prefectural Institute
Office 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 〒500 ☎<0582>71-6248
