

東京都立衛生研究所

研究年報

ANNUAL REPORT
OF
TOKYO METROPOLITAN RESEARCH
LABORATORY OF PUBLIC HEALTH



22

1970

目 次

1	E. coli 06 : K ? (L) : H — によると推定された 2 事例の集団…… 下痢症について	善養寺 浩 伊藤 武 齊藤 クラ	坂井 千三… 1 丸山 務 岡沢久美子
2	E. coli 027 : K ? (B) : H 7 によると推定された 3 事例の集団…… 下痢症について	善養寺 浩 伊藤 武 齊藤 クラ	坂井 千三… 7 丸山 務 津野 正朗
3	腸炎ビブリオ食中毒の発生状況と出現 (K 抗原型の年次別推移) …	工藤 泰雄 池島 伸至 善養寺 浩	太田 建爾…15 伊藤 武
4	過去 6 ケ年間に於ける結核菌の薬剤耐性傾向……………	大久保暢夫 堀 幹郎 村田以和夫	柏木 義勝…21 柴田 実
5	梅毒血清反応 (I) …………… 1967 年から 1970 年までの都内における梅毒の実態について	大久保暢夫 平岡陸左右 山田 ひさ 安部 昭子	小林 文次…25 落合 泰隆 平良 富美
6	梅毒血清反応 (II) …………… 1970 年度 (昭和 45 年) における梅毒の生物学的偽陽性の実態に ついて	大久保暢夫 宮沢 貞雄	堀 幹郎…29 村田以和夫
7	梅毒血清反応 (III) …………… R P R 法の検討	大久保暢夫 平岡陸左右 宮沢 貞雄 村田以和夫	小林 文次…31 落合 泰隆 堀 幹郎 安部 昭子
8	腸内ウイルス感染症の実態は握に関する研究 (第 3 報) ……………	岩崎 謙二 柳沢 靖子	山田 澄夫…35 佐々木憲子
9	1970 年東京都内の, Hand, Foot and Mouth Disease 流行時…… に行なったウイルス検索成績	岩崎 謙二 佐々木憲子	山田 澄夫…41 柳沢 靖子
10	1970 年東京都民の風疹 H I 抗体保有状況について……………	山田 澄夫 柳沢 靖子	岩崎 謙二…47 佐々木憲子
11	1970 年秋東京都内に発生したアデノウイルス感染症の検索成績……	坂井富士子 山田 澄夫 佐々木憲子 藪内 清	岩崎 謙二…51 柳沢 靖子 伊藤 忠彦 佐々木路子
12	1970 年度東京都における疑似日本脳炎患者の血清学的検索成績…… および疫学的研究	藪内 清 坂井富士子 岩崎 謙二 渡辺 賢哉 加藤 孝雄	佐々木路子…57 伊藤 忠彦 根津 尚光 森脇 康一
13	電頭写真の表面現像法 (I) ……………	前木 吾市	……………63
14	電頭写真の表面現像法 (II) ……………	前木 吾市	……………67
15	豚丹毒菌に関する研究…………… 各種食品ならびに環境における豚丹毒菌の分布状況	梅木富士郎	……………73
16	肉種鑑別に関する研究 (I) …………… 種属特異抗原および抗体の性質	村上 一 梅木富士郎 辺野喜正夫	神崎 政子…79 春田三佐夫

17	肉種鑑別に関する研究（Ⅱ） 加工食肉製品からの種属特異抗原の検出	村上 一 梅木富士郎 辺野喜正夫	神崎 政子 春田三佐夫	83
18	食品中のマイコトキシンに関する研究（第1報） ピーナツ，ピーナツ製品中からアフラトキシンの検出	木村 康夫 友松俊夫 風間栄治 江口良子	直井家寿太 小川仁志 斉藤和夫	87
19	缶詰食品中の重金属に関する研究（第1報） 乳児用缶詰開缶後のスズおよび鉛の溶出変化について	木村 康夫 西島基弘 和田隆操 山田昭智 植松之	上田 工 真木俊夫 高橋尚子 荒井宗勝	95
20	食品添加物用リン酸カルシウム塩類中のカドミウムについて	遠藤 英美子 境野米子 安野哲子	広門 雅子 田村光惠 大和修	101
21	原子吸光法によるストロンチウムの定量法の検討 そのⅠ カルシウムおよび塩酸の影響	遠藤 英美子 境野米子 安野哲子	広門 雅子 田村光惠 大和修	105
22	食品添加物用カルシウム塩類中のストロンチウム含量について	遠藤 英美子 境野米子 安野哲子	広門 雅子 田村光惠 大和修	109
23	ティーバッグの衛生化学的研究	藤居 瑛 圓山皋	柴 英子 大和修	117
24	陶磁器製食器の重金属溶出について	藤居 瑛 圓山皋	柴 英子 青柳健太郎	123
25	東京都および近郊在住女性の体脂肪中の有機塩素系農薬蓄積量	道口 正雄 庭山邦子	牛尾 房雄 西田甲子	131
26	乳蛋白に混在する異質蛋白の検出法の検討	道口 正雄		135
27	生薬の試験方法に関する研究（Ⅱ） 朮類生薬の識別法について（その2）	西川 洋一	風間 成孔	141
28	発熱性物質に関する研究（Ⅲ） 輸血セット類の発熱性と理化学試験	下平 彰男 松本茂	風間 成孔	147
29	有害性元素に関する衛生化学的研究（第2報）	鈴木 助治 原田裕文 戸谷哲也	小泉清太郎 伊藤弘一	153
30	フェノール化合物のブロム誘導体とそのガスクロマトグラフィー	原田 裕文 鈴木助治 戸谷哲也	観 照雄 水石和子	159
31	煙草およびその煙中の有機塩素系農薬の残留量について	観 照雄 伊藤弘一 戸谷哲也	原田 裕文 山添律子	167
32	江戸川区水田性皮膚炎調査研究報告	野牛 弘 松本浩一	中田 英吉 松本昌雄	177
33	東京都民の血中および尿中鉛量について	野牛 弘 秋山和幸 山田真悟 池田進 新保年子 木塚	橋爪 六郎 高橋利恵子 高崎護 有働亮二	187

34	Behaviors of various Parameters of Lead Poisoning in Rabbits	大井 玄 前田ヒロ子 秋山和幸	関比呂伸 加納多加子 野牛弘	193
35	室内の温熱条件について	佐藤 泰仁 両角 清	野牛 弘 青木 実	199
36	オキシダントと他の大気汚染物質および気象要素との相関性について (第1報)	溝口 勲 大沢 誠喜 野牛 弘	佐藤 泰仁 牧野 国義	207
37	都区内および三多摩地区における井水の水質について	三村 秀一 樋口 育子 藤沢 正吉	中村 弘 会田 朋子 押田 裕子	213
38	スライムに関する研究 (1)スライムの構成微生物について	松本 淳彦		221
39	Butylhydroxyanisol および Dlibutylhydroxytoluene の 毒性に関する研究 (第1報)	平賀 興吾 市川 久次 藤井 孝 矢野 範男	林田 志信 米山 允子 池田 虎雄	231
	他誌に発表した論文および著書等			251

CONTENTS

- 1 OUTBREAKS OF ACUTE ENTERO-COLITIS ASCRIBED TO THE INFECTION OF ESHERICHIA COLI 06 : K ? (L) : H-STRAINS Senzo SAKAI, Takeshi ITOH, Tsutomu MARUYAMA, Kura SAITOH and Hiroshi ZEN-YOJI... 1
- 2 OUTBREAKS OF ACUTE ENTERO-COLITIS ASCRIBED TO THE INFECTION OF ESHERICHIA COLI 027 : K ? (B) : H7 STRAINS Senzo SAKAI, Takeshi ITOH, Tsutomu MARUYAMA, Kura SAITOH and Hiroshi ZEN-YOJI... 7
- 3 EPIDEMIOLOGICAL STUDIES ON VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS, PARTICULARLY ON ANNUAL ALTERNATION OF MAJOR CAUSATIVE STRAINS...Yasuo KUDOH, Kenji OHTA, Nobuyuki IKEJIMA, Takeshi ITOH and Hiroshi ZEN-YOJI...15
- 4 DETECTION OF DRUG-RESISTANT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS STRAINS IN LAST SIX YEARS IN TOKYO Nobuo OHKUBO, Yoshikatsu KASHIWAGI, Mikio HORI, Minoru SHIBATA and Iwao MURATA...21
- 5 SERO DIAGNOSIS ON SYPHILIS (I)
Incidence of syphilis antibody in Tokyoites in last 4 years..... Nobuo OHKUBO, Bunji KOBAYASHI, Rikuzo HIRAOKA, Yasutaka OCHIAI, Hisa YAMADA, Fumi TAIRA and Akiko ABE...25
- 6 SERO DIAGNOSIS ON SYPHILIS (II)
Ratio of biological false positive cases detected in 1970..... Nobuo OHKUBO, Mikio HORI, Sadao MIYAZAWA and Iwao MURATA...29
- 7 SERO DIAGNOSIS ON SYPHILIS (III)
Evaluation of a rapid plasma reagin card test.....Nobuo OHKUBO, Bunji KOBAYASHI, Rikuzo HIRAOKA, Yasutaka OCHIAI, Sadao MIYAZAWA, Mikio HORI, Iwao MURATA and Akiko ABE...31
- 8 EPIDEMIOLOGICAL SURVEY ON ENTEROVIRUS INFECTIONS (III)
Virus isolation made at two sewage treatment plants in Tokyo in 1970Kenji IWASAKI, Sumito YAMADA, Yasuko YANAGISAWA and Noriko SASAKI...35
- 9 VIRUS ISOLATION MADE AT PREVALENT PERIOD OF HAND-FOOT AND MOUTH DISEASE IN TOKYO 1970.....Kenji IWASAKI, Sumito YAMADA, Noriko SASAKI and Yasuko YANAGISAWA...41
- 10 INCIDENCE OF HI ANTIBODY AGAINST RUBELLA VIRUS AMONG INHABITANTS OF TOKYO IN 1970.....Sumito YAMADA, Kenji IWASAKI, Noriko SASAKI, and Yasuko YANAGISAWA...47

- 11 MASS OUTBREAKS OF TYPE 3 ADENOVIRUS INFECTION OCCURED ON
FALL 1970 IN TOKYO Fujiko SAKAI, Kenji IWASAKI, Sumito
YAMADA, Yasuko YANAGISAWA, Noriko SASAKI, Tadahiko
ITO, Kiyoshi YABUUCHI and Michiko SASAKI...51
- 12 ECOLOGICAL SURVEY OF JAPANESE ENCEPHALITIS VIRUS AND SEROLOG-
ICAL CONFIRMATION OF ITS INFECTION ON SUSPECTED PATIENTS IN
TOKYO IN 1970 Kiyoshi YABUUCHI, Michiko SASAKI, Fujiko
SAKAI, Tadahiko ITO, Kenji IWASAKI, Naomitsu NEZU, Kenya
WATANABE, Yasukazu MORIWAKI and TaKao KATO...57
- 13 COMPENSATING DEVELOPMENT IN ELECTRON MICROSCOPY (I)
.....Goichi MAEKI...63
- 14 COMPENSATING DEVELOPMENT IN ELECTRON MICROSCOPY (II)
.....Goichi MAEKI...67
- 15 STUDIES ON *ERYSIPELOTHRIX INSIDIOSA*, WITH SPECIAL REFERENCE TO
ITS DISTRIBUTION IN VARIOUS FOODS AND IN OTHER ENVIRONMEN-
TAL MATERIALS Fujio UMEKI...73
- 16 STUDIES ON SERO-DIFFERENTIATION OF SPECIES ORIGIN OF HOUSEHOLD
MEAT (1) Characteristics of species specific antigen and of antibody.....
.....Hajime MURAKAMI, Masako KANZAKI, Fujio UMEKI,
Misao HARUTA and Masao BENOKI...79
- 17 STUDIES ON SERO-DIFFERENTIATION OF SPECIES ORIGIN OF HOUSE HO-
LD MEAT (II) A survey made on the detectabilities of species specific antigen
from heat processed meat products Hajime MURAKAMI, Masako
KANZAKI, Fujio UMEKI, Misao HARUTA and Masao BENOKI...83
- 18 STUDIES ON MYCOTOXINS IN FOODS (1)
Detection of Aflatoxins in peanuts and peanut products..... Ysuo KIMURA,
Yasuta NAOI, Toshio TOMOMATU, Hiroshi OGAWA,
Kazuo SAITO and Yoshiko EGUCHI...87
- 19 STUDIES ON EXTRACTABLE HEAVY METALS IN CANNED FOODS (1)
Detection of tin and lead from various sort of canned baby foods after their
opening.....Yasuo KIMURA, Koo UEDA, Motohiro NISHIJIMA, Toshio
MAKI, Misao WADA, Shyoko TAKAHASHI, Takaaki YAMADA,
Munekatsu ARAI and Tomohiro UEMATSU...95
- 20 CADMIUM CONTENTS IN CALCIUM PHOSPHATES FOR FOOD ADDITIVES
.....Fusayoshi ENDO, Masako HIROKADO, Komeko SAKAINO,
Mitsue TAMURA, Tetsuko YASUNO and Osamu YAMATO 101
- 21 STUDY ON THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF STRONTIUM BY ATOMIC
ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY (I)
The Effect of Calcium and Hydrochloric acid..... Fsayoshi ENDO,
Masako HIROKADO, Komeko SAKAINO, Mituse TAMURA, Tetsuko
YASUNO and Osamu YAMATO 105

- 22 STUDY ON THE STRONTIUM IN CALCIUM SALTS FOR FOOD ADDITIVES
.....Fusayoshi ENDO, Masako HIROKADO, Komeko SAKAINO,
Mistue TAMURA, Testuko YASUNO and Osamu YAMATO 109
- 23 HYGIENIC CHEMICAL STUDIES ON TEABAG MATERIALS.....Teru FUJII,
Hideko SHIBA, Takashi MARUYAMA and Osamu YAMATO 117
- 24 DETECTION OF EXTRACTABLE HEAVY METALS FROM CERAMIC AND
PORCELAIN TABLEWARES Teru FUJII, Hideko SHIBA,
Takashi MARUYAMA and Kentaro AOYAGI 123
- 25 PESTICIDE CONTENT OF HUMAN FEMALE FAT IN METROPOLITAN AREA
.....Masao DOGUCHI, Fusao USHIO, Kuniko NIWAYAMA
and Kouko NISHIDA 131
- 26 PRELIMINARY REPORT ON THE DETECTION OF HETEROGENEOUS PROT-
EIN MIXED INTENTIONALLY IN MILK PRODUCTS BY MEANS OF DISC
ELECTROPHORESIS AND POLAROGRAPHY Masao DOGUCHI 135
- 27 STUDIES ON EXAMINATION METHOD OF CRUDE-DRUGS (II)
Differentiation of the Crude-drug Zhu (part 2)
.....Yoichi NISHIKAWA and Masayoshi KAZAMA 141
- 28 STUDIES ON FEVER-PRODUCING SUBSTANCES (III)
Pyrogenicity and physical chemical experiments on disposable transfusion asse-
mblies..... Akio SHIMOHIRA, Masayoshi KAZAMA and Shigeru
MATSUMOTO 147
- 29 HYGIENIC CHEMICAL STUDIES ON HARMFUL ELEMENTS (II)
Selenium content of foods, soil and waterSukezi SUZUKI, Seitaro
KOIZUMI, Hirofumi HARADA, Koichi ITO and Tetsuya TOTANI 153
- 30 BROMINATION OF PHENOL COMPOUNDS AND GAS CHROMATPGRAPHY
OF THE BROM-DERIVATIVESHirofumi HARADA, Teruo KAN,
Sukezi SUZUKI, Kazuko MIZUISHI and Tetsuya TOTANI 159
- 31 RESIDUAL LEVELS OF CHLORINATED HYDROCARBON PESTICIDES IN CIGA-
RETTE AND IN ITS SMOKE.....Teruo KAN, Hirofumi HARADA,
Koichi ITO, Ritsuko YAMAZOE and Tetsuya TOTANI 167
- 32 THE RESEACH REPORT OF THE PADDY-FIELD DERMATITIS IN EDOGAWA-
KU OF TOKYO Hiroshi YAGYU, Eikichi NAKADA, Koichi
MATSUMOTO and Masao MATSUMOTO 177
- 33 LEAD CONTENTS OF BLOOD AND URINE SAMPLED FROM THE RESIDENTS
IN TOKYO METROPOLITAN AREA Hiroshi YAGYU, Rokuro
HASHIZUME, Kazuyuki AKIYAMA, Rieko TAKAHASHI,
Shingo IKEDA, Mamoru NAGASAKI, Susumu SHINBO,
Ryoji UDO and Toshiko KIZUKA 187

Escherichia coli O6:K? (L):H- によると推定された2事例の集団下痢症について

坂井 千三*, 伊藤 武*
丸山 務*, 斉藤 クラ*
善養寺 浩*

OUTBREAKS OF ACUTE ENTEROCOLITIS ASCRIBED TO THE INFECTION OF *ESCHERICHIA COLI* O6:K? (L):H-

Senzo SAKAI, Takeshi ITOH, Tsutomu MARUYAMA,
Kura SAITOH and Hiroshi ZEN-YOJI

(Department of Bacteriology I, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of
Public Health)

During the period from September 1966 to September 1967, 2 outbreaks of acute enterocolitis, in which no known pathogens such as *Shigella*, *Salmonella*, known enteropathogenic *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, heat resistant *Cl. perfringens* and *S. aureus* were recovered, had occurred in Tokyo. Etiological agent of these cases was ascribed to be the organism belonging to *E. coli* O6:K? (L):H-, because in every case, the organisms were isolated in the state of pure culture, while detection rate of this organism from the feces of healthy people was 0.13% (4/3,000)

Followings are outline of the cases:

Case 1. On 26~29th of September 1966, 176 out of 244 students (72.1%) at the dormitory of a certain women's university in Tokyo developed diarrhea (100%), abdominal pain (64.8%), nausea (24.2%) and headache (21.7%). Detection rate of the organism was 72.2% (52/72), although failed to point out any incriminated food.

Case 2. On 14~24th of September 1967, 127 out of 350 students (36.3%) at the men's dormitory of a certain university in Tokyo developed diarrhea (100%) and abdominal pain (12.6%) without nausea, vomiting and fever. Detection rate of the organism from patients with symptoms was 47.6% (20/42) and was 17.3% (40/231) from patients at risks (without any symptom), although failed to point out any incriminated food.

1. 緒 言

正常大腸菌と乳幼児あるいは成人の腸炎起病性を有する病原大腸菌との鑑別に, Kauffmann¹⁻³⁾による大

腸菌の血清学的分類に関する研究が有効な手がかりになって, 特定な抗原構造を示す大腸菌がヒトに対して腸炎起病性を有することが明らかにされてきた。

* 東京都立衛生研究所 細菌第一部

現在, ヒトの下痢症に関係を有すると確認されてい

る大腸菌は18種知られている⁴⁻¹¹⁾。しかし、18種以外の大腸菌についても、腸炎起病性が疑われているものも少くない。

そこで著者らは、既知病原大腸菌に含まれない大腸菌の腸炎起病性を明らかにする目的で研究を進めている。

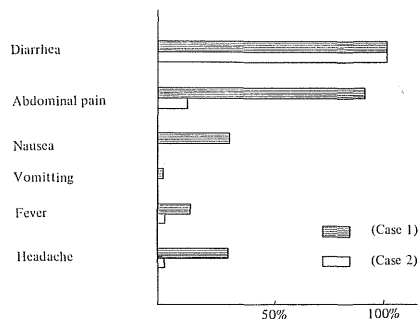
本報では、1966年と1967年にそれぞれ1例ずつ発生した2つの集団下痢症の原因が、既知病原大腸菌に含まれない *E. coli* O6 : K ? (L) : H- に起因すると推定された興味ある事例を認めたので、その事件の概要と細菌学的検索成績について報告する。

2. 事件の概要

1) 事例1

1966年9月26日、東京都世田ヶ谷区の某女子大学学生寮の寮生約70名が腹痛、下痢、嘔吐の症状を訴え、医師の診療を求めた。医師は患者の症状、稟告から食中毒と診断し、保健所に届出がなされた。ただちに調査を行なったところ患者は9月26日午前8時の初発から9月29日の4日間にわたって続発し、寮生244名中、9月26日75名、27日68名、28日20名、29日13名の計176名(発病率72.1%)の発生がみられた。

Fig. 1 Clinical symptoms manifested by the patients



患者176名の臨床症状は図1に示すごとく、下痢(176名、100%)、腹痛(158名、64.8%)を主症状とし、他に嘔気(59名、24.2%)、頭痛(53名、21.7%)、発熱(24名、9.8%)もみられている。嘔吐は3名(1.2%)とわずかであった。

下痢は1日2～5回程度で大部分が水様便であり、発熱を訴えた患者は、いずれも37.5°C以下の微熱程度であった。

原因食品については、患者がすべて寮生に限られていたことから寮の食事が疑われた。しかし、喫食調査が十分でなく、検食の保存もなかったため明らかにすることができなかった。

2) 事例2

1967年9月22日、医師より東京都世田ヶ谷区内の某大学男子寮の学生の中から下痢を主訴とする患者発生の届出があった。調査の結果、患者の発生は9月14日より9月22日にかけて毎日9～14名あり、23日5名、24日の1名をみて終息したことが判明した。患者数は寮生350名中9月14日から24日の11日間で合計127名(発病率36.3%)であった。

疫学調査の結果、寮生以外の発病者はみられなかったことから、寮の食事が、また患者の発生状況から常時飲用に供している寮の自家井戸水が、感染源として疑われた。しかし事例1と同様、喫食調査が十分でなかったため、原因食を明らかにすることはできなかった。

患者127名の主な臨床症状を、図1に示した。必発症状は下痢で127名(100%)、その他少数例に腹痛(16名、12.6%)、発熱(4名、3.1%)、頭痛(3名、2.3%)などもみられた。嘔気、嘔吐は全くみられなかった。

便性状は水様ないし粘液様であって血便は1例も認められていない。1日の排便回数は患者127名中1回45名、2回39名、3回29名、4回7名、5回4名、6回以上3名であって、それほど頻回の下痢ではなかった。なお、裏急後重を訴えたものはない。

3. 検査対象および方法

1) 検査材料

被検材料は主として患者、ならびに同時喫食の非発病者のふん便である。ただ、いずれの事件例においても、患者発生調査と検体採取とに時間を要し、発生直後に対象者全員から同時に検体を採取することはできなかったため、患者および非発症者ふん便とも採取期間は発生認知日より数日間にわたっている。

また、対照として、乳幼児117名、飲食物取扱者2,883名、計3,000名の健康人ふん便についても同様に検査した。

2) 方法

ふん便からの腸管系病原菌検査は、善養寺・坂井¹²⁾の方法に準じた。

分離菌の同定は、Edward and Ewing⁴⁾の方法に準拠した。ただし、生化学的性状検査のうちVP試験は篠川・池村のVP半流動寒天培地¹³⁾、酢酸塩利用性試験はTrabulsiらの方法¹⁴⁾、β-ガラクトシダーゼ試験はLoweの方法¹⁵⁾に従った。

病原大腸菌の血清型別はEwingら⁴⁾がしめした13菌型とScholtens⁵⁾が明らかにしたO28、さらに我が国で

追加されたO136⁷⁾, O143⁸⁾, O144⁹⁾, O146¹⁰⁾の計18菌型, および4菌型の Alkalescens-Dispar を対象とし, 診断血清はすべて市販のものを用了。

患者由来株のO, およびOK血清の作製は Edward and Ewingの方法⁴⁾によった。

4. 細菌学的検査成績

1) 病原菌の検索

事例1では患者176名のうち, 検体採取が可能であった1~4病日の72名のふん便について病原菌の検索を行なった。しかし, 赤痢菌をはじめこの事例と関連づけられるような既知病原菌は検出されなかった。

事例2の場合は, 患者ふん便76件, 同時喫食の非発病者231名についても既知腸管系病原菌の検索を行な

ったが, 全例陰性であった。

しかし, 事例1および2について, 逐的に検査した患者ふん便のDHL寒天¹¹⁾には, 大腸菌を疑わせる均一形状集落がほぼ純培養状に発育しているのが認められた。これらの全平板について1寒天平板から5~10個の集落を釣菌して, TSI, SIM, VP半流動およびシモンズのクエン酸塩培地の各培地で予備同定試験を行なった結果, すべて同一性状を示す大腸菌と推定された。

2) 分離菌株の生化学的性状

各事例より任意に選んだ上述の推定大腸菌各10菌株についてさらに詳細な生化学的性状について検討した。

Table 1 Biochemical Characteristics of Isolates

Characteristics	Case 1	Case 2
Indole	+ (10/10)	+ (10/10)
Methyl red	+ (10/10)	+ (10/10)
Acetoin	- (0/10)	- (0/10)
Nitrate reduction	+ (10/10)	+ (10/10)
H ₂ S (TSI)	- (0/10)	- (0/10)
Urease	- (0/10)	- (0/10)
Geratin	- (0/10)	- (0/10)
Phenylalanin deaminase	- (0/10)	- (0/10)
Utilization of :		
Simmons' citrate	- (0/10)	- (0/10)
Christensen' citrate	+ (10/10)	+ (10/10)
Jordan' tartrate	+ (10/10)	+ (10/10)
KP-mucate	+ (10/10)	+ (10/10)
Acetate	+ (10/10)	+ (10/10)
Malonate	- (0/10)	- (0/10)
Decarboxylation of :		
Lysin	+ (10/10)	+ (10/10)
Ornithin	- (0/10)	- (0/10)
Arginine dihydrolase	+ (10/10)	+ (10/10)
Gas from glucose	+ (10/10)	+ (10/10)
Fermentation of :		
Glucose	+ (10/10)	+ (10/10)
Lactose	+ (10/10)	+ (10/10)
Sucrose	- (0/10)	- (0/10)
Mannitol	+ (10/10)	+ (10/10)
Dulcitol	- (0/10)	- (0/10)
Xylose	+ (10/10)	+ (10/10)
Adonitol	+ (10/10)	+ (10/10)
Rhamnose	+ (10/10)	+ (10/10)
Inositol	- (0/10)	- (0/10)
Raffinose	+ (10/10)	- (0/10)
Salicin	+ (10/10) *	+ (10/10) *
KCN	- (0/10)	- (0/10)
β -galactosidase	+ (10/10)	+ (10/10)
Cytochrome oxidase	- (0/10)	- (0/10)
Motility	- (0/10)	- (0/10)

Note : + = Positive, - = negative.
 * = In this test the majority were negative
 within 24 hrs and positive after 2-7 days.

表2に示すごとく、事例1および事例2の患者由来株はラフィノース利用性を除いては同一性状菌で、乳糖分解、運動性陰性の大腸菌と同定された。

3) 患者由来大腸菌の血清学的検討

2事例の患者から別々に分離された同一性状の大腸菌は、いずれも既知18菌型の病原大腸菌、Alkalescens

-Dispar の4菌型に該当しなかった。

事例1よりFE909株、事例2よりFE1608株を任意に選び、O抗原の抗原型決定を国立予防衛生研究所に依頼した。その結果いずれの菌株もO群がO6であることが明らかにされた。

Table 2 Characteristics of K Antigen of Isolates

Antigen	OK antiserum (FE 909)	
	Unabsorbed	Absorbed by FE 909 100 C, 1 hr.
FE 909 (Case 1)	Unheated	2,560
	100 C, 1 hr.	5,120
FE1608 (Case 2)	Unheated	2,560
	100 C, 1 hr.	5,120

K抗原型については検討中である。K抗原の耐熱性をFE909株、およびFE1608株について検討した。その結果は表2に示したごとく、FE909株のOK抗血清は当該株の100°C、60分加熱菌によってO凝集素は吸収されたが、K凝集素は吸収されなかった。また、表示しなかったが、100°C、60分加熱抗原で調製されたO抗血清は生菌との凝集を認めないことから、本菌のK抗原の性状はL抗原⁴⁾であると考えられた。また、本菌は運動性試験は陰性であり、H抗原は認められなかった。

事例2のFE1608株についても、FE909株と全く同様の成績が得られた。

以上の成績から、FE909およびFE1608の両株の抗原型はO6:K?(L):H-と決められた。

4) 事件例よりの *E. coli* O6:K?(L):H- の検出状況

患者ふん便:表3に示すごとく、事例1では1~4病日の患者72件について検査を行なった結果、52件(72.2%)が陽性であった。

Table 3 Recovery of *E. coli* O6:K?(L):H- from Fecal Specimens

Outbreak	Specimens obtained from	No. of specimens tested	No. of positive (%)
Case 1	patients at 1-4 th day of the illness	72	52 (72.2)
Case 2	patients at 7-9 th day of the illness	42	20 (47.6)
	person without symptoms	231	40 (17.3)

事例2では7~9病日の患者42件中20件(47.6%)が陽性であった。その後さらに10~14病日の患者34件について検査した成績では3件(8.8%)が陽性であった。

非発病者群231件からの検出は40件(17.3%)が陽性であった。

排菌状態:*E. coli* O6:K?(L):H-が陽性であった事例1の1~4病日患者ふん便20件を任意に選び、本菌の排菌状態を検討した。

DHL寒天および血液寒天にふん便を直接塗株して1平板から10個の集落を無作為に釣菌して、当該菌とそれ以外の菌との比率をみた。

非選択培地である血液寒天上では、20件中14件は、10集落中8集落以上が当該菌であった。選択培地であるDHL寒天上ではこの14件は10集落のすべてが当該菌によって占められていた。他の6件についても該菌の排菌状態は、血液寒天上で10集落中5集落が1件、3集落が2件、2集落、1集落が各々1件であった。DHL寒天では5件が10集落中5～9集落が該菌によって占められていた。また、DHL寒天上で10集落中1集落のみが当該菌であった1件は血液寒天からは検出されなかった。

なお、事例2の場合は、採便が発病後7～9日と遅れ、発病初期の排菌状態を検討するには不適当と考えられたため実施していない。

以上の成績から、*E. coli* O6:K?(L):H-は患者群から高率に分離され、患者個人の排菌状態も発病初期では当該菌によってその大部分が占められていた。

対照健康人における保菌状況：乳幼児117件、飲食物取扱者2,883件、計3,000件からわずかに4件(0.13%)検出されたに過ぎなかった。

5. 考 察

大腸菌は現在までに149のO群と、91のK抗原、および49のH抗原に分類されている¹⁶⁾。そのなかで、乳幼児あるいは成人に対して、腸炎起病性を有することが確認されている血清型は18種である。しかし、この18種のほかにも起病性が疑われ、関心がもたれている大腸菌も少なくない。

一方、わが国に発生する散発、ならびに集団食中毒の原因究明に藤野ら¹⁷⁾の腸炎ビブリオの発見は多大の貢献をした。しかし、なお依然として、全国に発生する食中毒の約30%は原因不明とされている¹⁸⁾。この原因不明のなかには、もちろん原因調査が不十分なものも否定できないが、未知の病原菌によるものも存在すると推定されよう。

著者らは、都内発生の集団食中毒で、その原因として既知の腸管系病原菌が否定された事件を対象に、その原因究明を進めているが、本報の2事例の集団下痢症は、既知の病原大腸菌に含まれない*E. coli* O6:K?(L):H-によると推定された興味ある事例であった。

この2事例は、いずれも大学の学生寮に発生したもので、患者数は100名を越える大規模なものであった。

患者の主症状は、両事例とも、1～5回程度の水様下痢と腹痛で、概して軽症であった。粘血便、裏急後重などの赤痢様症状は認められていない。

原因菌の検索結果からは、未知の病原大腸菌が疑われ、患者ふん便から高頻度に検出された均一性状を示す大腸菌について血清型が検討された。その結果、該菌の血清型はO6:K?(L):H-と決定された。

ところで、腸炎起病性が確認されていない大腸菌の起因性を究明するためには、該菌のヒト経口投与実験によるのが最も有力な手段であろう。しかし、ヒト投与実験を行なわなくとも、須知ら¹⁹⁾が病原大腸菌のえん下実験で認め、またTaylor²⁰⁾も指摘しているごとく、病原大腸菌の下痢症であれば、発病初期の患者ふん便中に該菌の優位性排菌が認められることを述べている。また、Hobbs²¹⁾らがウェルシュ菌の食中毒では、集団発生の例の場合、該菌の検出率が特異的に高いことを報告している。こうした事実の確認は、未知病原大腸菌の腸炎起病性を推定するうえでの重要な参考になるであろう。

著者らの経験した集団下痢症は既述のごとく前述の条件に合致する事例であることから、2事例はいずれも*E. coli* O6:K?(L):H-に起因する下痢症であると推定された。

なお、*E. coli* O6:K?(L):H-の健康人における保菌率は、乳幼児、成人あわせて3,000名のふん便について調査したが、4名から検出されたに過ぎず、本菌の健康人保菌率はきわめて低いことが確認された。

E. coli O6の腸炎起病性は、Nestorescu et al²²⁾およびEwing²³⁾の報告があるが、未だ一般に承認されていない。それらの報告例では該菌のK抗原およびH抗原が不明で、したがって著者らの血清型と全く同一であるか否かは不明であるが、いずれにしても、著者らの今回の報告は*E. coli* O6の起病性を喚起したものと考ええる。

6. 結 論

1966年9月から1967年9月にかけて東京都内で発生した2事例の集団下痢症は、赤痢菌、サルモネラ、病原大腸菌、腸炎ビブリオ、耐熱性ウェルシュ菌および黄色ブドウ球菌の因果性がすべて否定された事件例であった。

患者ふん便から同一性状を示す大腸菌が高率に分離された。この大腸菌は抗原分析の結果、既知の病原大腸菌に含まれない*E. coli* O6:K?(L):H-であった。

発病初期の患者では、ふん便の排菌状態はほとんどが純培養状に本菌によって占められていた。

一方、健康人における本菌の保菌率を調査したところ3,000件からは、わずかに4件(0.13%)検出され

たにすぎなかった。

以上の成績から2事例の集団下痢症は、いずれも *E. coli* O6:K7(L):H-によるものと推定された。

2事例の発生概況は以下の通りである。

事例1： 1966年9月26日から29日にかけて都内某女子大学学生寮で244名中176名(発病率72.1%)が発病した。患者の主症状は下痢(100%)、腹痛(64.8%)、嘔気(24.2%)、頭痛(21.7%)であった。原因食品は不明であった。

起因菌の検出率は患者72件中52件(72.2%)であった。

事例2： 1967年9月14日から24日にかけて都内某大学男子寮で350名中127名(発病率36.3%)が発病した。患者の主症状は、下痢(100%)、腹痛(12.6%)、嘔気、嘔吐、発熱はみられなかった。原因食品は不明であった。

起因菌の患者からの検出率は42件中20件(47.6%)、同時喫食の非発病者群では231件中40件(17.3%)であった。

終りにのぞみ、大腸菌の血清型別をしていただいた国立予防衛生研究所坂崎利一博士に深謝します。

文 献

1. F. Kauffmann : Acta path. microbiol. scand., 20, 21, (1943).
2. F. Kauffmann : Acta path. microbiol. scand., 21, 46, (1944).
3. F. Kauffmann : J. Immunol., 57, 71, (1947).
4. P. R. Edward and W. H. Ewing : Identification of Enterobacteriaceae, Burgess Publishing Co. Minneapolis, Minn. U. S. A., (1955).
5. R. T. Scholtens : Ned. Tsch. Geneesk., 84, 4613, (1940).
6. 原誠基, 松本顕樹 : 日本伝染病学会雑誌, 32, 35, (1958).
7. R. Sakazaki and S. Namioka : Jap. J. Exp. Med., 27, 411, (1957).
8. 原誠基, 松本顕樹 : 日本伝染病学会雑誌, 33, 19, (1959).
9. 山形操六他 : 第11回日本公衆衛生学会総会(札幌), (1956).
10. 坂崎利一, 村田行夫 : 第15回日本細菌学会関東支部総会(東京), (1963).
11. 坂崎利一 : 食品衛生研究, 16, 18, (1966).
12. 善養寺浩, 坂井千三 : 腸管系病原菌の検査法, 医学書院, 東京(1967).
13. 池村謙吾 : モダンメディア, 12, 37, (1966).
14. L. R. Trabulsi and W. H. Ewing : Publ. Hlth. Lab., 20, 137, (1962).
15. G. H. Lowe : J. med. Lab. Technol, 19, 21, (1962).
16. I. Ørskov et al : Acta path. microbiol. scand., 75, 491, (1969).
17. 藤野恒三郎他 : 日本伝染病学会雑誌, 25, 11, (1951).
18. 厚生省環境衛生局食品衛生課 : 食品衛生研究, 21, 44, (1971).
19. 須知仁 : 日本伝染病学会雑誌, 33, 661, (1959).
20. J. Taylor : J. Appl. Bact., 29, 1, (1966).
21. B. C. Hobbs et al. : J. Hyg., 51, 75, (1953).
22. N. Nestorescu et al. : Peditria, Bul., 3, 214, (1956).
23. W. H. Ewing : C. D. C. Publication C. D. C. Atlanta, Ga., (1963).

Escherichia coli O 27 : K ? (B) : H 7 によると推定された 3 事例の集団下痢症について

坂 井 千 三* 伊 藤 武*
丸 山 務* 齊 藤 ク ラ*
善 養 寺 浩*

OUTBREAKS OF ACUTE ENTEROCOLITIS ASCRIBED TO THE INFECTION OF *ESHERICHIA COLI* O 27 : K ? (B) : H 7

Senzo SAKAI, Takeshi ITOH, Tsutomu MARUYAMA,
Kura SAITOH and Hiroshi ZEN-YOJI

(Department of Bacteriology I, Tokyo Metropolitan Research Laboratory
of Public Health)

During the period from May to September 1967, 3 outbreaks of acute enterocolitis, in which no known pathogens such as *Shigella*, *Salmonella*, known enteropathogenic *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, heat resistant *Cl. perfringens*, *S. aureus*, coxsackie viruses, echoviruses and adenoviruses were recovered, had occurred in Tokyo. Etiological agent in these cases was ascribed to be the organism belonging to *E. coli* O 27 : K ? (B) : H 7, because in every case, the organisms were isolated in the state of pure culture, while detection rate of this organism from the feces of healthy people was 0.13% (4/3,000).

Followings are outline of the cases :

Case 1. On 8th of September 1967, 645 out of 991 school children (65.1%) of an elementary school manifested abdominal pain (92.1%), diarrhea (64.9%) and nausea (25.1%). *E. coli* O 27 : K ? (B) : H 7 was isolated in the state of pure culture from 94 of 108 patients (87.0%) on the 1~5th day of the illness, although failed to point out any incriminated food.

Case 2. On 18th of September 1967, 175 out of 720 students (24.3%) of a high school complained diarrhea (100%), abdominal pain (97.3%), nausea (33.7%) weariness (35.4%) and headache (30.3%). Fourteen of 15 feces (93.3%) of the patients, collected on the 1~3rd day of the illness, had involved *E. coli* O 27 : K ? (B) : H 7 in the state of pure culture, although the incriminated food was not clarified.

Case 3. On 22nd of May 1967, 15 out of 25 persons (60.0%) who took "Sushi" (one of the Japanese meal) for their lunch at the "Sushi" shop complained diarrhea (100%) and abdominal pain (53.3%). *E. coli* O 27 : K ? (B) : H 7 was isolated from 5 of 9 patients (55.5%) on the 1~3rd day of the illness and the organism was also isolated from the well water used at the shop simultaneously.

1. 緒 言

現在、乳幼児あるいは成人に対して腸炎起病性を有するとされている大腸菌は、Ewing¹⁾らが記載している13菌型と、それに加えて、Scholtens²⁾が報告している O28 a, c: K73 並びに我が国で発見された O136: K78³⁾, O143: K?⁴⁾, O144: K?⁵⁾ および O146: K?⁶⁾ の18菌型である。

しかし、著者らは前報⁷⁾において、この18菌型のはかに O6: K? (L) も下痢症の原因となることを報告し、また、原因不明とされる下痢症の原因として、未知の腸炎起病性大腸菌の重要性を指摘した。

著者らはその後、さらに都内発生集団下痢症について検討したところ、前述の O6: K? (L) と同様に病原大腸菌に含まれない *E. coli* O27: K? (B) によると推定された3事例の集団下痢症を認めた。本報では、その3事例の疫学的調査並びに細菌学的検討を加えた成績について報告する。

2. 事件の概要

1) 事例1

1967年9月11日、都内大田区某小学校において、平常欠席者数の約6倍に達する102名の集団欠席者があることが、区教育委員より保健所に連絡された。直ちに調査が行なわれ、全校児童991名のうち645名(発病率65.1%)、また同校教職員50名のうち4名(発病率8.0%)計649名の発病者のあることが判明した。その日別発生状況は、9月9日午前3時頃2名が発症し、その後続発し、9日に発病したものが137名、10日435名、11日75名であった。発病者のピークは10日の午前4～8時頃にみられた。

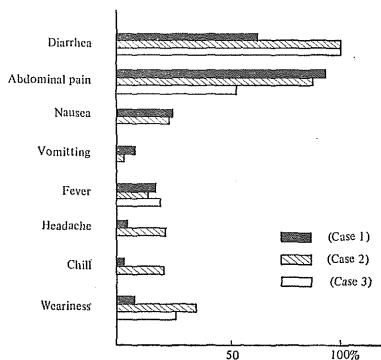
原因食品については、喫食調査を行なったが明らかでなく、また、患者が発生した前日と2日前の給食が検食として冷蔵庫に保管されていたので、それについて原因菌の検索を行なったがすべて陰性であった。しかし患者の発生はすべて同校の児童もしくは教職員に限られていること、また家族発生が認められないことから、本事件の感染源は学校給食に関係すると考えられた。

患者の臨床症状は図1に示すごとく、主症状は腹痛と下痢である。患者649名中腹痛598名(92.1%)、下痢421名(64.9%)で、嘔気(163名)、発熱(121名)を伴ったものもかなり認められた。そのほか少数例に嘔吐(52名)、倦怠感(43名)、頭痛(26名)、などもみられた。

下痢は1日5回以上のものも28名みられたが、大部分は1～3回で、また、便性状は水様便が250名、粘液便が171名であった。発熱は顕著でなく39°C以上のものがわずか1名で、その他はすべて37°～38°Cであった。

なお、予後は良好で1～5日で全員回復した。

Fig. 1 Clinical symptoms manifested by the patients



2) 事例2

1967年9月18～19日、都下西多摩郡の都立某高等学校に集団下痢症が発生した。同校は全寮制で、在籍者数720名に完全給食を実施していることから給食による食中毒と考えられた。

9月19日午前11時頃、校医から保健所に下痢と腹痛を主訴とする多数の患者が発生していることの通報があり、直ちに調査が開始された。9月18日午後4時頃から4名の患者発生があり、続いて同日午後12時までに11名、19日160名計175名(発病率24.3%)が発病した。発生のピークは19日の午前6～10時に認められた。患者は高校生のほか同校教職員4名が含まれていた。

患者の発生は寮の給食を摂食した者に限られていることから、給食関係を中心に、喫食調査が行なわれた。しかし全寮制でつねに全員が同じ食事をとっているため、喫食調査から原因食品を推定することはできなかったが、特殊例として教職員の患者4名はいずれも18日の昼食と夕食のみを喫食していることから、それらの食事が疑われた。

症状の発現状況は、患者175名を対象に調査した結果、図1に示すごとく、下痢(175名、100.0%)、腹痛(158名、90.3%)、倦怠感(62名、35.4%)、嘔気(59名、33.7%)、頭痛(53名、30.3%)、悪感(39名、22.2%)、発熱(24名、13.7%)で、その他嘔吐を訴

* 東京都立衛生研究所 細菌第一部

えた者が少数例あった。

下痢は1日5回以内であって、多くは1～2回程度であった。便性状は大部分のものが水様便で、少数例に粘液便を認めた。

3) 事例3

某大学の山岳部員が1967年5月21日18時頃から、都内豊島区内のすし店で会食を行ない、出席者25名中15名(発病率60.0%)が5月22日～24日にかけて下痢、腹痛を主徴として発病した。15名の患者は5月21日のすし店での会食以外に共通食品がないことから、その会食が原因食と推定された。会食の献立内容は「生魚の盛合せ」と「にぎり寿司」であった。

患者15名の日別発生は22日3名、23日5名、24日に7名が発病した。すし店舗での会食時を基点とした潜伏時間は最短18時間、最長68時間で、平均潜伏時間は47.4時間であった。

患者の臨床症状は図1のごとく、水様性の下痢(15名, 100.0%)、腹痛(8名, 53.3%)、倦怠感(4名, 27.0%)、37～37.5°Cの発熱(3名, 20.0%)であって、嘔気、嘔吐は認められなかった。

3. 検査対象ならびに方法

1) 検査対象

原因菌の検査は主に採便が可能であった発病者のふん便を対象に行なった。ただし、同時喫食者で非発病者のふん便あるいは調査時に原因として疑わしい食品の残品がある場合には、それらについても菌検索を行なった。ふん便はグリセリン保存液に入れ、直ちに送付されたものである。

感染源として井戸水が疑われた場合は、チオ硫酸ナトリウム 0.05g を入れた減菌コルベンに井戸水を1,000ml採水した。

健康人の保菌状況調査は乳児院に収容されている乳幼児117名および飲食店従事者2,883名計3,000名の健康人ふん便を対象に検査を行なった。

2) 病原菌検査法

患者あるいは同時喫食者で非発病者のふん便、食品および健康人のふん便からの腸管系病原菌の検査法は前報⁷⁾に順じて行なった。

飲料水からの病原菌検査は著者らの報告したメンブランフィルター集菌法⁸⁾に従って行なった。

患者ふん便からのエコーウイルス、コクサッキーウイルスおよびアデノウイルスの分離方法は予研学会編ウイルス実験学各論⁹⁾の記載に従って行なった。使用細胞はFL, HeLa, Hep2細胞およびMK初代培養細胞である。

病原大腸菌の血清型別はEwing¹⁾によって報告された13種およびScholtens²⁾が明らかにしたO28 a, c: K73, さらに我が国で発見されたO136: K78³⁾, O143: K?⁴⁾, O144: K?⁵⁾, およびO146: K?⁶⁾の計18種の病原大腸菌のOK抗血清を用いて、前報に従って行なった。

前記の18種の血清型に該当しない大腸菌のO群およびH抗原の分析は、国立予防衛生研究所坂崎利一博士に依頼した。

K抗原の耐熱性は前報⁷⁾と同様な方法によって検討した。

4. 細菌学的検査成績

1) 事例1

(1) 病原菌の検索状況 発生状況ならびに臨床症状から細菌性食中毒が疑われたので、発病1日前と2日前の昼の給食の検食ならびに患者ふん便および非発病者のふん便を対象に腸管系病原菌の検索を行なった。その結果、給食の検食からは既知の病原菌は検出されなかった。

患者の場合は、総数649名のうち、採便が可能であった108件のふん便について調べたところ、*Salmonella azteca* および *Salmonella blockley* がそれぞれ各1件から、3件から病原大腸菌O144: K?, 2件からO125: K70, 1件からO128: K67が検出された。以上のごとく、患者便の検査で、8名から既知の病原大腸菌あるいはサルモネラが検出されたが、検査対象の患者のふん便はいずれも発病初期の薬剤投与前に採取されたものであって、検出された病原大腸菌やサルモネラを本集団下痢症の原因と考えるのには余りにもその陽性例が少なく、他の原因が推測された。

また患者ふん便20件について、腸管系病原菌の検索と併行して行なったウイルス検査でも、エコーウイルス、コクサッキーウイルスおよびアデノウイルスは検出されなかった。

一方、前述の既知病原大腸菌を検査する目的で行なった確認培養で、DHL寒天に出現した大腸菌様集落の大部分は、極めて均一な性状を示す菌であることが認められた。すなわち、使用した鑑別培地は、TSI寒天、SIM培地、VP半流動培地およびシモンズのクエン酸塩培地であるが、乳糖、白糖、ブドウ糖を分解し、H₂S非産性、インドールおよびVP反応陰性、IPA反応陰性、クエン酸塩を利用発育しない菌であり、これらの性状から大腸菌と推定された。

また、この同一性状を示す菌株は既知の病原大腸菌に該当しないことから、本事例はあるいは未知の病原

大腸菌によるものではないかと考えられた。そこで、分離株について、さらに諸性状を詳細に検討した。

(2) 分離菌株の生化学的性状 上述のごとく起因性が疑われた分離菌株のうち、任意に選んだ10菌株について、前報と同一方法によって、生化学的性状をし

らべた。表1の成績から明らかなように、供試10菌株はすべて同一性状を示す大腸菌であることが判明した。なおこの大腸菌はインドール反応陰性である特徴を示した。

Table. 1 Biochemical Characteristics of Isolates

Characteristics	Case 1	Case 2	Case 3
Indole	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Methyl red	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Acetoin	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Nitrate reduction	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
H ₂ S (TSI)	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Urease	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Gelatin	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Phenylalanine deaminase	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Utilization of :			
Simmons' citrate	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Christensen' citrate	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Jordan' tartrate	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
KP—mucate	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Acetate	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Malonate	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Decarboxylation of :			
Lysine	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Ornithine	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Arginine dihydrolase	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Gas from glucose	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Fermentation of :			
Glucose	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Lactose	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Sucrose	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Mannitol	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Dulcitol	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Xylose	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Adonitol	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Rhamnose	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Inositol	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Raffinose	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Salicin	+ (10/10) *	+ (10/10) *	+ (6/ 6) *
KCN	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
β-galactosidase	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)
Cytochrome oxidase	— (0/10)	— (0/10)	— (0/ 6)
Motility	+ (10/10)	+ (10/10)	+ (6/ 6)

Note : + = Positive, — = negative.

* = In this test the majority were negative within 24 hrs and positive after 2-7 days.

(3) 患者由来大腸菌の血清型 患者から高頻度に検出されたインドール陰性、その他の性状も均一性がみられた大腸菌はいずれも既知病原大腸菌に該当しなかった。そこで患者からの検出菌株のうち、任意に選

んだ FE1722 と FE1748 の両菌株を国立予防衛生研究所の坂崎博士に送付し、抗原型別を依頼した。その結果、両菌株はともに K 抗原型は不明であるが、O 群は O 27, H 抗原は H 7 であることが明らかにされた。

つぎに、本菌のK抗原の耐熱性を明らかにするため、前述のFE1722菌株の121°C 2時間30分加熱菌とホルマリン死菌とをそれぞれ家兎に接種し、O抗血清とOK抗血清を作成した。このOK抗血清を用いて、該菌の加熱菌液で吸収試験を行なった。その成績は表2に示すごとく、FE1722のOK抗血清は、同菌の100°C 1時間の加熱菌で、OおよびK凝集素が完全に吸収され、また100°C 2時間30分の加熱菌でも、OおよびK凝集素が完全に吸収された。本菌のK抗原の抗体結合力は加熱処理によって、不活化されないことが明らかにされた。

つぎに、O抗血清に対しては生菌で160倍、100°C 60分加熱菌では2,560倍の凝集素価を示した。すなわちO抗血清に対して、生菌ではO凝集性を示したが、100°Cの加熱処理によって、K抗原によるO凝集反応抑制が除去され、凝集性となった。

以上の成績から本菌株のK抗原はBと決定された。

したがって、分離菌株の抗原型はO27:K?(B):H7であることが明らかにされた。

(4) ふん便からの *E. coli* O27:K?(B):H7

Table 2. Characteristics of K Antigen of Isolates

Antigen	Unabsorbed	OK antiserum (FE1722)		O antiserum (FE1722)
		Absorbed by FE 1722		Unabsorbed
		100°C 1 hr	100°C 2.5hr	
Unheated	640	—	—	160
FE1722 (Case 1) 100°C, 1hr	5,120	—	—	2,560
Unheated	640	—	—	80
FE1668 (Case 2) 100°C, 1hr	2,560	—	—	2,560
Unheated	640	—	—	80
FE1052 (Case 3) 100°C, 1hr	5,120	—	—	2,560

の検出状況 患者ふん便および非発病者ふん便からの *E. coli* O27:K?(B):H7の検出頻度は表3に示すごとくである。すなわち、1～5病日の患者ふん便からは108件中94件が陽性で、その検出率は87.0%であった。また同時喫食者で非発病者ふん便48件中33件(68.0%)から本菌が検出された。

Table 3. Recovery of *E. coli* O27:K?(B):H7 from Fecal Specimens

Outbreak	Specimens obtained from	No. of specimens tested	No. of positives (%)
Case 1	patients at 1—5th day of the illness	108	94 (87.0)
	person without symptoms	48	33 (68.0)
Case 2	patients at 1—3rd day of the illness	15	14 (93.3)
	patients at 7—9th day of the illness	85	38 (44.7)
Case 3	patients at 1—3rd day of the illness	9	5 (55.6)

つぎに、前報²⁾と同様に、陽性者患者ふん便について、当該菌の排菌状況をしらべた。直接塗沫分離培養を行なったDHL寒天上に出現した集落10個を釣菌して検討した結果、15件中9件は純培養状に *E. coli* O27:K?(B):H7が検出され、また4件は釣菌した10個の集落の半数以上、2件は4個の集落が当該菌であった。この成績から、患者の腸管内では *E. coli* O27:K?(B):H7が特異的な増殖をしていたものと推察された。

2) 事例2

(1) ふん便の病原菌検索 本事例では、事件に関

連すると考えられる食品の残品は全くなかったため、病原菌の検索はもっぱら患者ふん便が対象となった。表3に示したごとく、採便が可能であった病日の異なる患者ふん便100件について病原菌の検索を行なったが、本事例に関連づけられる既知腸管系病原菌は検出されなかった。

しかし、直接培養を行なったDHL寒天上に多数の大腸菌様集落を認めたので、その集落についてまず、簡易性状検査を行なったところ、大部分が同一性状を示す大腸菌と推定された。

しかも、簡易性状検査の段階で、該菌は、インドー

ル反応陰性で、その他の性状も事例1の起因菌と推定された *E. coli* O27 の性状と全く一致するものであった。

そこで、確認培養を行なった TSI 培地斜面菌と *E. coli* O27 の OK 抗血清とのセガラス上ためし凝集反応を行なったところ、検出菌株の大部分に強い凝集を認めた。

前述の事実から、本事例も、事例1と同様に *E. coli* O27 によるものではないかと疑われたので、患者由来株について、さらに詳細な生化学的性状検査と血清学的検査を進めた。

(2) 分離菌株の生化学的性状 患者ふん便から検出された菌株のうち、任意に選んだ10株について諸性状を検査した。

供試菌株はいずれも、表1に示すごとく、事例1と全く同一の性状を示すインドル反応陰性の大腸菌であることが確認された。

(3) 患者由来大腸菌の血清型 生化学的性状検査を行なった10菌株について、既知病原大腸菌18種の診断用血清を用いて、O群およびK抗原を検討したが、いずれもその血清型に該当しないことが再確認された。

一方、供試菌株10株とも事例1の患者由来菌株 FE 1722 の OK 抗血清に著明な凝集を認めたので、10菌株のうち任意に選んだ2菌株についてさらに抗原型別を行なった。そのうち FE1668 株についての成績のみ表2に示した。O群およびK抗原は、事例1の患者由来 FE 1722 菌株に共通であることが認められた。また、他の1株 FE 1670 株もこれとまったく同じ態度であった。

また、H抗原についても、供試両菌株とも FE 1722 菌株の H 抗原と共通であった。

以上の血清学的検討から、本事例の患者由来菌株 FE 1668、FE1670 の2菌株は事例1の FE1722 菌株の抗原構造と同じ *E. coli* O27 : K? (B) : H7 と同定された。

(4) 患者ふん便からの *E. coli* O27 : K? (B) : H7 の検出状況 患者ふん便からの *E. coli* O27 : K? (B) : H7 の検出頻度は表3に示すごとくである。

すなわち、1～3病日の発病初期の患者ふん便からは15件中14件 (93.3%) から、また7～9病日のふん便の場合は85件中38件 (44.7%) から本菌が検出された。

つぎに、本事例の場合は、事件発生4ヵ月後に、患者175名全員について *E. coli* O27 : K? (B) : H7 の再検査を実施したが、全例とも陰性であった。

3) 事例3

(1) 病原菌の検索状況 本事例の原因食は、患者が会食したすし店のすしと魚の盛合せと推定されたが、その残品はなく、食品からの病原菌検索は行なわれなかった。

検査対象はすし店で使用していた自家用井戸水と、患者15件中採便が可能であった9件のふん便について腸管系病原菌の検索を実施した。

本例も事例1および2と同様に、患者ふん便および井戸水からは事件と関連づけられる既知病原菌は検出されなかった。

しかし、病原大腸菌を検査する目的で行なった D HL 寒天上の大腸菌様集落の確認培養で、9件中5件は均一性状を示す大腸菌を認め、本菌と事件との関連を疑ったが、既知の病原大腸菌に該当しなかったもので、後日検討するため5件から分離された菌株が保存された。

前述の事例1および2の集団下痢症が *E. coli* O27 : K? (B) : H7 に起因すると推定されるに及んで、この事例もあるいは O27 によるものでないかと考え、保存されていた菌株について再検討がなされた。

保存されていた菌株は簡易性状検査で均一性状を示した患者5人のふん便由来10菌株と井戸水からの1菌株計11菌株であった。

この患者由来10菌株のうち患者から1菌株あて計5菌株と、井戸水由来1菌株についての生化学的性状検査の成績は表1に示すとおりである。供試菌株6株ともに、事例1と事例2の患者由来菌株と全く同一性状を示す大腸菌であることが確認された。

また、患者由来の1菌株 (FE1052) について事例2の場合と同様に抗原構造とK抗原の耐熱性 (表2) を検討し、その成績から、この菌株も *E. coli* O27 : K? (B) : H7 と決定された。

本事例における患者ふん便からの本菌検出状況は、患者9件中均一性状を示した5件の保存菌株のすべてが *E. coli* O27 : K? (B) : H7 であることが確認された。すなわち患者ふん便9件中5件が陽性であった。

また、井戸水から検出された1菌株は、被検水 500 ml についてミリポアフィルター集菌法で検出されたものであった。

以上の成績から、本事例も *E. coli* O27 : K? (B) : H7 による集団下痢症と推定され、その汚染源は自家井戸水と考えられた。

4) 健康人における *E. coli* O27 : K? (B) : H7 の保菌状況

調査対象は乳幼児117名、飲食店従事者2,883名、計

3,000名のふん便である。

菌の検出方法は事例1～3の患者ふん便の場合と同様にふん便をDHL寒天に直接分離培養を行ない、ふん便1件につき、5個の大腸菌様集落をえらび、確認培養と血清学的検査を行なった。

E. coli O27:K?(B)の検出頻度は、3,000件中4件が陽性で、検出率は0.13%であり、健康人における本菌の保菌率は極めて低いことが判明した。

5. 考 察

著者らは、都内発生が集団下痢症のなかで、既知腸管系病原菌が検出されない事例を対象に、さらに原因究明に関する研究を進めている。

前述の不明下痢症のなかには、Hobbsらの血清型に該当しない耐熱性ウェルシュ菌による食中毒例¹⁰⁾、また、前報⁷⁾で明らかにしたごとく、既知病原大腸菌に含まれない大腸菌O6:K?(L):H-によると推定される事例の存在を認めた。

今回の3事例の集団下痢症は、前報の場合と同様に腸炎起病性が明らかにされていない*E. coli* O27によると推定された興味ある事例であった。

腸炎起病性の不明な大腸菌の起因性を究明するためには、病原大腸菌の初期の研究段階でKirbyら¹¹⁾、Fergusonら¹²⁾、Juneら¹³⁾および福見ら¹⁴⁾が行なっているように、ヒトに経口投与して起病性を判定する方法が最も確実な方法であることは違いない。

しかし、それによらなくても、つぎに述べるような条件が満たされれば、該菌の起因性の推定は可能であろう。

すなわち、その条件として須知¹⁵⁾が*E. coli* O111のヒト経口投与実験で明らかにしているように、発病初期患者ふん便中における該菌の優位性。Hobbs¹⁶⁾らが耐熱性ウェルシュ菌の集団食中毒例で認めているごとく健康人に比して該菌の特異的に高い検出率と菌型の均一性。これらの確認に加えて、同じ血清型菌による患者発生事例の集積などが上げられよう。

今回、著者らが経験した3事例の集団下痢症は既述のごとくいずれも前述の条件に合致するもので、その原因菌として*E. coli* O27:K?(B)H7が推定された。

原因食品は、事例1および2については明らかにすることができなかったが、事例3では大学の山岳部員が会食したすし店の“生魚の盛合せ”と“にぎりずし”を喫食して発病したもので、しかもすし店の自家使用井戸水から*E. coli* O27が検出されていることから、事例3の感染経路は水→調理食品→人と考えられる。

3事例の共通主症状は下痢と腹痛で、下痢は1日1

～5回程度の水様便であるが、しかし事例1の小学校児童の場合は、患者の約26.4%に粘液便が認められたことは注目すべき点であろう。

なお、*E. coli* O27の腸炎起病性については、1954年、Andreoniら¹⁷⁾の報告があるがその後全く該菌による発生例はないことから、一般に承認されていない。しかし、今回の著者らの3事例、またそれと相前後して、新潟県下の高等学校に著者らの血清型と全く同一のO27:K?(B):H7の発生例を篠川ら¹⁸⁾も認めている事実から、本菌の腸炎起病性は疑うべくもないといえよう。

6. 結 論

1967年、東京都に発生した腹痛、下痢を主徴とする3事例の集団下痢症はその病因として赤痢菌、サルモネラ、既知病原大腸菌、腸炎ビブリオ、耐熱性ウェルシュ菌、黄色ブドウ球菌ならびにコクサッキーウイルス、エコーウイルスおよびアデノウイルスが否定され、既知の病原大腸菌に含まれない*E. coli* O27:K?(B):H7によると推定される下痢症であった。3事例の事件の概要と細菌学的検討を加えた成績は以下のとおりである。

1. 事例1は、9月8日、小学校に発生し、患者は学童645名、教職員4名計649名(発病率63.9%)であった。主症状は腹痛(92.1%)、下痢(64.9%)、嘔気(25.1%)である。1～5病日の患者便108件中94件(87.0%)から*E. coli* O27:K?(B):H7が検出され、しかも菌陽性患者便の直接培養平板に純培養状に該菌を認めた。

2. 事例2は、9月18日、高等学校に発生した集団下痢症で、患者は生徒171名、教職員4名計175名(発病率24.3%)であった。主症状は下痢(100.0%)、腹痛(90.3%)、嘔気(33.7%)、倦怠感(35.4%)、頭痛(30.3%)である。1～3病日の患者便15件中14件(93.3%)から本菌が検出され、菌陽性患者便の直接分離培養平板上には、純培養状に*E. coli* O27:K?(B):H7が認められた。

3. 事例3は、5月22日に成人22名がすしを喫食して15名(発病率60.0%)が発病した。主症状は下痢(100.0%)、腹痛(53.3%)であった。1～3病日の患者便9件中5件およびすし店舗で使用していた自家井戸水から*E. coli* O27:K?(B):H7が検出された。

4. *E. coli* O27:K?(B)の健康人ふん便からの検出頻度は、ふん便3,000件中4件が陽性であり、その検出率は僅かに0.13%であった。

終りにのぞみ、大腸菌の血清型別をしていただいた

国立予防衛生研究所坂崎利一博士に深謝します。

文 献

- 1) W. H. Ewing : J. Infec. Dis., 110, 114 (1962).
- 2) R. T. Scholtens : Nederl. Tijdschr. Geneesk., 84, 4613 (1940).
- 3) R. Sakazaki and S. Namioka : Jap. J. Exp. Med., 27, 411 (1957).
- 4) 原誠基, 松本顯樹 : 日伝誌., 33, 19 (1959).
- 5) 山形操六, 谷藤勝雄, 伊田 勝, 福見秀雄, 中谷林太郎 : 第11回日本公衛学会総会演説要旨, 80 (1956).
- 6) 河島俊一, 渡辺昭宣 : 食品衛生研究, 11, 77 (1961).
- 7) 坂井千三, 伊藤 武, 丸山 務, 齊藤クラ, 善養寺浩 : 都衛研研究年報 (22) 1 (1970).
- 8) 善養寺浩, 坂井千三, 工藤泰雄, 伊藤 武, 齊藤クラ, 丸山 務 : 日伝誌., 43, 175 (1969).
- 9) 国立予研学友会 : ウイルス実験学各論, 丸善, 東京 (1967).
- 10) 善養寺浩, 坂井千三, 伊藤 武, 丸山 務, 工藤泰雄 : 食衛誌., 11, 282 (1970).
- 11) A. C. Kirby, E. G. Hall and W. Coackleg : Lancet, ii, 201 (1950).
- 12) W. W. Ferguson and R. C. June : Am. J. Hyg., 55, 155 (1952).
- 13) R. C. June and W. W. Ferguson : Am. J. Hyg., 57, 222 (1953).
- 14) 福見秀雄, 小酒井望 : 日本医事新報, No. 1506, 914 (1954).
- 15) 須知仁 : 日伝誌., 33, 661 (1959).
- 16) B. C. Hobbs, M. E. Smith, C. L. Oakley, G. H. Warrack and J. C. Cruickshank : J. Hyg., 51, 75 (1953).
- 17) O. Andreoni and E. Grosso : Boll. 1 st. Sieroter. Milan., 36, 659 (1957).
- 18) 篠川 至, 大科達, 池村謙吾, 浅野由紀, 皆川清人, 田中長光, 関沢資朗, 伊藤 武, 内藤卓司, 石原武治 : 新潟県衛研業報., (119), 1 (1968).

腸炎ビブリオ食中毒の発生状況と出現 K抗原型の年次別推移

工 藤 泰 雄* 太 田 建 爾*
池 島 伸 至* 伊 藤 武*
善 養 寺 浩*

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES ON *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS*, PARTICULARLY ON ANNUAL ALTERNATION OF MAJOR CAUSATIVE STRAINS

Yasuo KUDOH, Kenji OHTA, Nobuyuki IKEJIMA,
Takeshi ITOH and Hiroshi ZEN-YOJI

(Department of Bacteriology I, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of
Public Health)

During the period from 1964 through 1970, a total of 397 outbreaks of food poisoning caused by *Vibrio parahaemolyticus* occurred in Tokyo. These cases were studied epidemiologically by analyzing the results of serological typing of the representing 3,739 isolates, those obtained from typical food poisoning cases or from sporadic enteritis cases throughout the survey.

Results obtained are summarized as follows:

- 1) In most of the year, prevalent period of the food poisoning was confined from June through October, and it was most prevalent in August in each year excluding a few exception.
- 2) Occurrence of different K type strains implicated to the food poisoning cases in each year had varied from 18 to 41 K serotypes.
- 3) Annual alternations on major causative strains were observed, viz.; in 1964, 42.2% of the isolates were occupied by K 3; in 1965, 41.3% were K33; in 1966, 36.2% were K13 and 18.9% were K33; in 1967, 46.7% were K7 and 21.6% were K38; in 1968, 29.8% were K38 and 23.0% were K 7; in 1969, 26.2% were K 7; and in 1970, 23.2% were also K 7 respectively.
- 4) After K 7 had emerged in 1967, it maintained as major causative agent until 1970, although the portion occupied by this type of organism had decreased gradually, and replaced by others scattering into variety of K serotypes.

1. 緒 言

腸炎ビブリオの血清学的分類は、主要特異抗原としてOおよびK抗原の存在を明らかにした坂崎¹⁾により確立されて以来、本菌食中毒の疫学調査あるいは本菌

の生態調査に広く応用されるようになった。腸炎ビブリオの血清型は、当初坂崎によりO1~12のO群と、K1~32のK抗原型が明らかにされていたが、その後善養寺ら^{2) 3)}により既知K抗原に一致しない菌型が報告され、これら新K抗原型を統一するために結成された

* 東京都立衛生研究所 細菌第1部

本菌血清型別委員会⁴⁾⁵⁾の検討を経て、1971年現在O1～12のO群とK1～57の血清型が認められている。

我々は腸炎ビブリオ食中毒の疫学ならびに本菌の生態学に資する目的で、この血清学的分類に基づいて、昭和36年(1961年)以降、都内に発生した腸炎ビブリオ食中毒患者あるいは推定原因食等から分離した腸炎ビブリオについて、K抗原あるいはO群による型別を行ないその成績の一部についてはすでに報告した^{2) 6) 7) 8)}。本報では1964年以降1970年までの7年間にわたる本菌食中毒の発生状況ならびに、同年次における本菌食中毒患者あるいは散発下痢患者から分離した腸炎ビブリオのK抗原型の年次別推移について報告する。

2. 実験材料および方法

1) 供試菌株

1964年から1970年の7年間に当部で検査した集団発生事例および散発下痢患者由来株である。分離菌株は1検体から5～50個の集落について血清型別を行ない、同一血清型だけが得られた場合は1株とし、いくつかの異なった血清型が得られた場合には、血清型を異にするごとに1株とした。

2) 分離および同定法

Zen-Yoji et al⁹⁾ およびLe Clair et al¹⁰⁾の方法に従って分離同定した。

3) 血清型別法

a), K抗原型はスライド凝集反応により行なった。それに用いた抗K血清のうちK1～47までは市販(東

芝化学工業KK)のもの、K48～57は自家製の特異吸収血清である。

b), O群別はMiwatani et alの方法¹¹⁾によって作製したO群特異血清を用い、試験管法によって行なっ

Table 1. Antigenic schema of *Vibrio parahaemolyticus*

June, 14, 1971

O group	K type
1	1, 25, 26, 32, 38, 41 and 56
2	3 and 28
3	4, 5, 6, 7, 29, 30, 31, 33, 37, 43, 45, 48, 54 and 57
4	4, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 34, 42, 49, 53 and 55
5	15, 17, 30 and 47
6	18 and 46
7	19
8	20, 21, 22 and 39
9	23 and 44
10	24
11	36, 40, 50 and 51
12(10+)	52

Note : K4 has been shared with both groups of O3 and O4, and K30 with both groups of O3 and O5.

Table 2. Monthly incidence of *Vibrio parahaemolyticus* from food poisoning in Tokyo from 1964 through 1970

Year		Month						Totals
		June	July	August	September	October	November	
1964	Outbreaks	2	6	33	18			59
	Patients	14	204	684	336			1,238
1965	Outbreaks	1	20	16	9	1	1	48
	Patients	8	488	947	147	23	58	1,671
1966	Outbreaks		5	22	14			41
	Patients		96	671	281			1,048
1967	Outbreaks	1	18	26	19			64
	Patients	15	185	318	589			1,107
1968	Outbreaks		5	25	29	7		66
	Patients		55	226	537	174		992
1969	Outbreaks		13	41	15	1		70
	Patients		320	461	239	14		1,034
1970	Outbreaks	1	6	25	12	5		49
	Patients	187	244	460	102	187		1,180

た。なお、表1に現在の腸炎ビブリオの血清型を示した。これは1971年6月の本菌血清型別委員会において承認されたものである。

3. 結 果

1) 腸炎ビブリオ食中毒の発生状況

東京都において1964年から1970年の7年間に発生した腸炎ビブリオ食中毒事件の年次別、月別発生状況を表2に示した。

事件の発生期間は、各年ともおおむね6月から10月であったが、初発が7月初旬の年も一部認められた。11月初旬に1例の発生があった1965年を除いて、各年

とも11月～5月の期間には全く発生をみていない。発生のピークは8月が最も多く、一部の年では9月の年もあった。これら事件発生の期間およびピークの年次による若干の差異は、この菌による食中毒が夏季の海水温および気温に強く影響されることによるためと思われる。各年次の患者数は、1968年の990名から1965年の1671名にわたり、平均1200名前後であった。

2) 食中毒患者由来株のK抗原型の年次別推移

1964年から1970年までの7年間に食中毒患者ふん便から分離した腸炎ビブリオのK抗原型の年次別出現頻度を表3に示した。

Table 3. Serological typing of *Vibrio parahaemolyticus* from food poisoning cases in Tokyo from 1964 through 1970

K type	1964		1965		1966		1967		1968		1969		1970	
	No. of isolates (%)		No. of isolates (%)		No. of isolates (%)		No. of isolates (%)		No. of isolates (%)		No. of isolates (%)		No. of isolates (%)	
1	—		—		—		7 (1.3)		—		7 (1.1)		—	
3	206 (42.2)		49 (8.1)		4 (1.1)		11 (2.0)		14 (2.8)		19 (3.0)		8 (1.4)	
4	—		—		5 (1.3)		1 (0.2)		—		11 (1.8)		1 (0.2)	
5	35 (7.2)		—		37 (9.8)		13 (2.3)		5 (1.0)		9 (1.4)		7 (1.2)	
6	4 (0.8)		7 (1.2)		8 (2.1)		—		2 (0.4)		9 (1.4)		12 (2.1)	
7	—		14 (2.3)		—		261 (46.7)		116 (23.0)		165 (26.2)		133 (23.2)	
8	60 (12.3)		5 (0.8)		8 (2.1)		22 (3.9)		46 (9.1)		17 (2.7)		20 (3.5)	
9	62 (12.7)		—		—		6 (1.1)		3 (0.6)		1 (0.2)		5 (0.9)	
10	1 (0.2)		2 (0.3)		—		—		1 (0.2)		3 (0.5)		2 (0.3)	
11	20 (4.1)		1 (0.2)		—		—		49 (9.7)		3 (0.5)		16 (2.8)	
12	16 (3.3)		30 (4.9)		13 (3.5)		3 (0.5)		19 (3.8)		51 (8.1)		6 (1.0)	
13	38 (7.8)		9 (1.5)		136 (36.2)		1 (0.2)		1 (0.2)		9 (1.4)		18 (3.1)	
15	1 (0.2)		—		—		8 (1.4)		12 (2.4)		24 (3.8)		71 (12.4)	
17	5 (1.0)		4 (0.7)		—		—		15 (3.0)		7 (1.1)		10 (1.7)	
18	5 (1.0)		17 (2.8)		14 (3.7)		3 (0.5)		1 (0.2)		2 (0.3)		1 (0.2)	
19	1 (0.2)		1 (0.2)		—		—		—		1 (0.2)		2 (0.3)	
20	—		—		1 (0.3)		—		—		1 (0.2)		1 (0.2)	
21	—		1 (0.2)		—		1 (0.2)		—		—		—	
22	—		1 (0.2)		—		—		—		9 (1.4)		—	
23	9 (1.8)		2 (0.3)		—		—		—		—		1 (0.2)	
24	—		—		—		—		—		5 (0.7)		—	
25	—		1 (0.2)		—		—		—		1 (0.2)		—	
26	—		—		1 (0.3)		—		—		—		—	
28	4 (0.8)		2 (0.3)		3 (0.8)		—		1 (0.2)		3 (0.5)		5 (0.9)	
29	2 (0.4)		—		1 (0.3)		1 (0.2)		1 (0.2)		55 (8.7)		5 (0.9)	
30	1 (0.2)		—		—		1 (0.2)		—		2 (0.3)		—	
31	—		—		—		2 (0.4)		—		1 (0.2)		1 (0.2)	
32	1 (0.2)		1 (0.2)		—		—		—		15 (2.4)		2 (0.3)	
33	—		251 (41.3)		71 (18.9)		48 (8.6)		—		7 (1.1)		7 (1.2)	
34	—		—		—		—		1 (0.2)		8 (1.3)		4 (0.7)	
36	—		23 (3.8)		—		—		—		—		—	
37	—		—		—		—		2 (0.4)		—		1 (0.2)	
38	—		15 (2.5)		1 (0.3)		121 (21.6)		150 (29.8)		—		17 (3.0)	
39	—		—		—		—		2 (0.4)		—		—	

40	—	—	—	—	—	1 (0.2)	1 (0.2)
41	—	—	—	—	—	—	—
42	—	—	—	—	—	4 (0.6)	1 (0.2)
43	—	—	—	—	17 (3.4)	2 (0.3)	—
44	—	93 (15.3)	—	—	—	34 (5.4)	—
45	—	—	—	—	—	1 (0.2)	—
46	—	50 (8.2)	—	—	—	6 (1.0)	—
47	—	—	—	—	1 (0.2)	—	—
48	—	—	—	—	—	3 (0.5)	—
49	—	—	—	—	—	2 (0.3)	—
50	—	—	—	—	—	1 (0.2)	—
51	—	—	—	—	—	1 (0.2)	—
52	—	—	—	—	—	6 (1.0)	11 (1.9)
53	—	—	—	—	—	3 (0.5)	—
54	—	—	—	—	—	48 (7.6)	54 (9.4)
55	—	—	—	—	—	31 (4.9)	80 (13.9)
56	—	—	—	—	—	—	29 (5.1)
57	—	—	—	—	—	—	23 (4.0)
UT*	17 (3.5)	29 (4.8)	73 (19.4)	49 (8.8)	46 (9.1)	41 (6.5)	19 (3.3)
Totals	488(100)	608(100)	376(100)	559(100)	505(100)	629(100)	574(100)

Note : * = untypable.

1964年には488株の腸炎ビブリオが分離され、その96.5%は既知K抗原に型別された。この年の主要起因菌型はK 3で206株(42.2%)と分離株の約半数を占め、このほかにK9, K8が多く分離された。なお、この年にはK抗原型はK1~32に分けられていた。

1965年は608株が分離され、主起因菌型は前年のK3から今迄認められなかった新K抗原型のK33およびK44に大きく変わり、両K抗原型で全体の約57%を占めた。なお、この年に我々が報告²⁾したK33, 36, 38, 44および46の5種の新K抗原型を含むK33~46までの14種のK抗原型が追加された。

1966年には、376株が分離され、既知K抗原に型別されたものは約80%と7年間で最も低い値であった。この年の主起因菌型はK13(36.2%)およびK33(18.9%)で、前年の主起因菌型であったK44は全く認められなかった。

1967年には559株が分離され、主起因菌型はK7(46.7%)およびK38(21.6%)と大きく交代したが、K33(8.9%)は主起因菌型の1つとして引き続き認められた。

1968年には505株が分離され、主起因菌型は前年と同じくK7(23.0%)およびK38(29.8%)であった。このほかに、K8およびK11が約10%ずつ出現し、1965年からの主起因菌型の1つであったK33は全く認められなくなった。なお、この年に新K抗原として

K47が追加された。

1969年には629株が分離され、出現K抗原型は41菌型と著しい増加が認められた。主起因菌型は前年に引き続きK7(26.2%)であったが、1菌型の占める割合が以前に比して減少し、K29(8.7%), K12(8.1%), K54(7.6%), K44(5.4%)と起因菌型の多様化の傾向が認められた。この年にはK48~52の5種の新K抗原型が追加されたのに、なお型別されない株が123株(19.5%)存在した。これらの型別不明株のうち82株(13.0%)は我々の提案により1970年に新たに追加されたK53, 54および55に型別され、このうちK54は前述の如く起因菌型の1つであった。

1970年には574株が分離され、前年同様起因菌型の多様化が認められた。主体は引き続きK7(23.2%)であり、このほかK55(13.9%), K15(12.4%)さらに1971年に追加されたK56および57が、新たに起因菌型として認められた。

考 察

腸炎ビブリオが夏季に多発する食中毒の原因の大半を占めることは、藤野ら¹²⁾の発見以来、滝川¹³⁾、善養寺ら^{6) 14)}をはじめ多くの研究者により明確にされている。

すでに我々^{2) 6) 8) 14)}は、1961年から1963年までの東京都内における腸炎ビブリオ食中毒の発生状況を報告している。本報では引き続き1964年以降1970年までの

7年間の発生状況を述べた。記述のごとく、本菌食中毒は6月から10月にかけて多発し、1964年以前に比し事件の発生規模の縮小が認められてきてはいるにしても、なお細菌性食中毒においてきわめて重要な位置を占めている。

これら本菌食中毒の疫学調査と併行して行なった食中毒患者ふん便から分離した腸炎ビブリオのK抗原型別の成績では、記述のごとく主起因菌型は年次により大きく変動することが認められた。1964～1967年まではK 3 (42.2%)、K 33 (41.3%)、K 13 (36.2%)、K 7 (46.7%)とそれぞれ1つの菌型が起因菌型の主体を占めていたのに対し、1968年からは1菌型の占める割合はいずれも30%以下となり、主起因菌型の多様化の傾向がうかがわれた。

1971年は、現在までに約350株について検討しているが、その成績では主起因菌型として過去4年間つづいたK 7に代ってK 4、K 8、K 56が多く出現しており、また起因菌型が大きく入れ替ることが推測される。

西尾¹⁵⁾は1965年から1969年の5ヶ年間について、東京都を除く全国の本菌食中毒事例のK抗原型の分布を東日本および西日本両地区に分けて調査している。この調査の結果では我々の成績と同様に主起因菌型の大きな移り変わりがあるだけでなく、同年次においても東日本と西日本地区でかなり菌型を異にしていることが明らかにされている。このように本菌食中毒の患者ふん便から検出される腸炎ビブリオのK抗原型の年次あるいは地域による大きな入れ替えが何にもとづいているのかは、現在なを不明である。しかし、この事実は、すでに我々の⁸⁾が明らかにした本菌食中毒のさいに検出される腸炎ビブリオのK抗原型が、同一集団事例さらには同一患者においても1菌型に限定されることが少なく、むしろ数種の菌型が認められることの特徴とあわせて、本菌の生態を知るうえに極めて示唆に富むものであろう。

結 論

1964年から1970年の7年間の東京都内における腸炎ビブリオ食中毒の発生状況ならびに本菌食中毒の患者あるいは散発下痢患者由来株3739株のK抗原型出現頻度を検討した結果、以下の成績をえた。

1. 腸炎ビブリオ食中毒は1964年から1970年の間に397事件、患者数8340名の発生があった。本食中毒の発生時期は年次により若干の差異が認められるが、多くは6月から10月の間に発生し、そのピークは8月であった。

2. 本菌食中毒の患者あるいは散発下痢患者由来株の出現K抗原型は1964年の18菌型から1969年の41型菌にわたっており、その主要起因菌型は年次により著しい変動が認められた。

3. 1964年から1967年までの主起因菌型は、それぞれK 3 (42.2%)、K 33 (41.3%)、K 13 (36.2%)、K 7 (46.7%)と1つの菌型が主体であった。

1968年から1970年にかけては、1967年に引き続きK 7が主起因菌型であったが、漸次K 7の占める割合は減少し、起因菌型はいくつもの抗原型に分散する傾向がうかがわれた。

文 献

- 1) R. Sakazaki : Proc. Cholera Res. Symp., Honolulu, Hawaii, p. 30-34, U. S. Govt. Printing Office, Washington, D. C. (1965)
- 2) 善養寺浩, 坂井千三, 工藤泰雄, 伊藤武, 斉藤クラ, 寺山 武, 寺田友次, 橋本治雄, 馬場貞義 : 都衛研年報, (18), 47-51 (1966)
- 3) 善養寺浩, 寺山 武, 工藤泰雄, 太田建爾, 坂井千三 : 日本細菌学雑誌, 26, 298-302 (1971)
- 4) The Committee on the Serological Typing of *Vibrio parahaemolyticus* : Japan. J. Microbiol., 14, 249-250 (1970)
- 5) 腸炎ビブリオ血清型別委員会 (1971. 6, 東京)
- 6) 善養寺浩, 坂井千三, 寺山 武, 工藤泰雄, 一言 広 : 日本伝染病学会雑誌, 37, 195-204 (1963)
- 7) 善養寺浩, 坂井千三, 寺山 武, 工藤泰雄, 伊藤武, 斉藤クラ, 長崎 護, 伊藤多美夫, 畑野逸与 : 都衛研年報, (15), 31-35 (1965)
- 8) H. Zen-Yoji, S. Sakai, Y. Kudoh, T. Itoh and T. Terayama : Hlth Lab. Sci., 7, 100-108 (1970)
- 9) H. Zen-Yoji, Y. Kudoh, K. Ohta, S. Sakai and R. A. Le Clair : Appl. Microbiol. (in press)
- 10) R. A. Le Clair, H. Zen-Yoji, and S. Sakai : Publ. Hlth Lab., 28, 82-92 (1970)
- 11) T. Miwatani, S. Shinoda, T. Tamura, H. Nishimune, A. Tomaru, Y. Yoshihara and T. Fujino : Biken J., 12, 9-15 (1969)
- 12) T. Fujino, Y. Okuno, O. Nakada, A. Aoyama, K. Fukui, T. Mukai and T. Ueno : Med. J. Osaka Univ., 4, 299-304 (1953)
- 13) 滝川 巖 : 日本伝染病学会雑誌, 33, 1087-1098 (1960)

14) H. Zen-Yoji, S. Sakai, T. Terayama, Y. Kudoh,
T. Itoh, M. Benoki and M. Nagasaki : J. Infect.
Dis., 115, 436-444 (1965)

15) 西尾隆昌 : メディヤサークル, 15, 533-538
(1970)

過去6か年間に於ける結核菌の薬剤耐性傾向

大久保 暢 夫* 柏 木 義 勝*
堀 幹 郎* 柴 田 実*
村 田 以和夫*

DETECTION OF DRUG-RESISTANT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS STRAINS IN LAST SIX YEARS IN TOKYO

Nobuo OHKUBO, Yoshikatsu KASHIWAGI, Mikio HORI,
Minoru SHIBATA and Iwao MURATA

(Department of Bacteriology II, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health)

During the Period 1965~70, a total of 419 strains of *Mycobacterium tuberculosis*, which had been sent from various hospitals and health centers in Tokyo, was tested for their drug-resistance against several chemotherapeutic agents, such as, INH, SM, PAS, KM, TH, CS, VM, TBI, Sulfa, PZA, EB and CpM.

Results obtained are summarized as follows:

- 1) Throughout the 6 years of investigation, 23.6% of the isolates were resistant against the 3 first choice agents (INH, SM, PAS), and there was a tendency that the detection rate of this group of organism are slightly increasing lately.
- 2) Detection rate of the organism which had been resistant against single agent was 47.0% to INH, 42.2% to SM and 41.6% to PAS respectively, and almost same results were obtained throughout the 6 years of investigation period.
- 3) Detection rate of the organism resistant to the second choice agents was 67.3%, while the one resistant to the first choice agents was 43.7%.

1. 緒 言

結核菌の耐性検査は化学療法を行なう上で欠く事ができないと同時に、公衆衛生上、その傾向を長期にわたって追跡する事は有意義であると思われる。そこで今回、過去6か年間に当所で実施した耐性検査成績から、結核菌の薬剤耐性獲得傾向をまとめてみた。

2. 材料ならびに方法

1) 材料 1965年1月から1970年12月末日までの6か年間に都内の保健所および病院等より当所あてに送付された菌株または喀痰。

2) 耐性培地 市販の絶対濃度法培地, INH, SM, PAS, KM, TH, CS, VM, TBI, スルファチアゾール (Sulfa), PZA, EB, カプレオマイ

シン (CpM)。

3) 方法 厚生省監, 結核菌検査指針にもとづき, 主として間接法により行なった。

3. 成 績

表1は結核菌の一次抗結核剤 (INH, PAS, SM) に対する耐性傾向を示したものである。これらの一次抗結核剤に対して耐性検査を行なったものは、6か年間に360例あって、その総平均と比較すると、3剤耐性のパターンを示すものは85例で最も多く、23.6%の耐性獲得率を示している。次に高いのは、二剤耐性型であって、INH・SMが7.5%, INH・PASが7.2%の耐性獲得率であった。単剤耐性型は少なく、PAS—5.6%, INH—5.0%, SM—4.7%の順であった。また、SM・PAS 2剤耐性型のものは最も

* 東京都立衛生研究所 細菌第2部

少なく、耐性獲得率は3.6%と最低であった。3剤ともに感受性のものは、42.8%で、半数以上のものは3剤のいずれかに耐性を獲得している事が明らかとなった。

年次別に見ると、3剤耐性のパターンを示すものは、1965年に30.7%あったのに比べ、1966年には13.5

%と最も低率を示し、その後1967年、1968年とやや上昇し、1970年には再び33.3%と増加している。

単剤および2剤耐性型には3剤耐性型にみられる様な著明な変化は認められなかったが、3剤感受性型のものは1965年に29.3%にすぎなかったのに比べ、1970年には58.9%と増加している。

Table 1. Resistant Patterns on INH, SM, PAS of Myco. tuberculosis

Resistant Pattern	Drugs	1965	1966	1967	Year 1968	1969	1970	Total
1 Drug	INH	1 (1.3)	6 (11.5)	2 (3.3)	3 (5.3)	6 (7.7)	0 (0.0)	18 (5.0)
	SM	5 (6.7)	1 (1.9)	1 (1.7)	3 (5.3)	7 (8.9)	0 (0.0)	17 (4.7)
	PAS	6 (8.0)	1 (1.9)	2 (3.3)	2 (3.6)	8 (10.3)	1 (2.6)	20 (5.6)
2 Drugs	INH, S M	6 (8.0)	7 (13.5)	5 (8.3)	4 (7.2)	4 (5.1)	1 (2.6)	27 (7.5)
	INH, PAS	4 (5.3)	5 (9.6)	4 (6.7)	8 (14.3)	4 (5.1)	1 (2.6)	26 (7.2)
	S M, PAS	8 (10.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (3.6)	3 (3.9)	0 (0.0)	13 (3.6)
3 Drugs	INH, S M, PAS	23 (30.7)	7 (13.5)	7 (21.7)	13 (23.2)	16 (20.5)	13 (33.3)	85 (23.6)
All Sensitive		20 (29.3)	22 (48.1)	33 (55.0)	21 (37.5)	30 (38.5)	23 (58.9)	154 (42.8)
Total		75 (100)	52 (100)	60 (100)	56 (100)	78 (100)	39 (100)	360 (100)

Notice (%)

Table 2. Resistant rate on Various Chemotherapeutics of Myco. Tuberculosis

Drugs		1965	1966	1967	Year		1970	Total	
1 st choice	INH	52/101 (51.5)	32/62 (51.6)	26/65 (40.0)	33/64 (51.6)	37/86 (43.0)	17/41 (41.5)	197/419 (47.0)	531 1216 (43.7)
	S M	51/91 (56.0)	15/55 (27.3)	22/66 (33.3)	26/62 (41.9)	41/89 (46.1)	15/40 (37.5)	170/403 (42.2)	
	PAS	43/83 (51.8)	15/57 (26.3)	22/65 (33.8)	29/62 (46.8)	39/87 (44.8)	16/40 (40.0)	164/394 (41.6)	
2 nd choice	K M	13/32 (40.6)	14/24 (58.3)	4/23 (17.4)	3/9 (33.3)	11/22 (50.0)	2/5 (40.0)	47/115 (40.9)	200 297 (67.3)
	T H	9/9 (100.0)	5/5 (100.0)	4/6 (66.7)	3/3 (100.0)	7/8 (87.5)	4/4 (100.0)	28/31 (90.3)	
	C S	16/17 (94.1)	15/16 (93.8)	3/4 (75.0)	7/7 (100.0)	12/12 (100.0)	5/5 (100.0)	53/61 (86.9)	
	V M	4/5 (80.0)	7/7 (100.0)	1/1 (100.0)	1/1 (100.0)	5/5 (100.0)	1/2 (50.0)	19/21 (90.5)	
	TB1	1/3 (33.3)	0/1 (0.0)			1/1 (100.0)	1/1 (100.0)	3/6 (50.0)	
	Sulfa	4/5 (80.0)	4/4 (100.0)	5/5 (100.0)	2/2 (100.0)	2/2 (100.0)	1/2 (50.0)	18/20 (90.0)	
	PZA	5/5 (100.0)	2/4 (50.0)	3/4 (75.0)	5/5 (100.0)	6/9 (66.7)	2/2 (100.0)	23/29 (79.3)	
	E B					1/3 (33.3)	4/5 (80.0)	3/5 (60.0)	
	CpM					1/1 (100.0)		1/1 (100.0)	

Notice (%) Total Samples 1513

表2は結核菌の単剤に対する耐性傾向を示したものである。

一次抗結核剤3剤の総検査数1216例のうち、いずれかに耐性のものは531例あって、43.7%の耐性率を示すのに比べ、二次抗結核剤9剤の総検査数は297例で、そのうち200例はいずれかに耐性であり、耐性獲得率は67.3%と高かった。

一次抗結核剤では、INHが47.0%と最も耐性獲得率が高く、次いでSM—42.2%、PAS—41.6%の順であった。二次抗結核剤では、CpM—100%、VM—90.5%、TH—90.3%、Sulfa—90.0%ときわめて高い耐性獲得率を示し、次いで、CS—86.9%、PZA—79.3%、EB—60.0%、TB1—50.0%の順であった。

年次別推移を見ると、SMが1965年に56%もの耐性獲得率を示しながら、1966年には—24.3%と低率でその後やや増加傾向が認められる程度で、INHはほぼ横ばい、PASは1966年、1967年と低率であったが、その後横ばいの様相を呈している。二次抗結核剤では例数も少なく、年次毎に多少の変動はあっても明確な耐性傾向を把握する事はできなかった。

4. 総括ならびに考察

1. 一次抗結核剤INH、SM、PAS3剤について同時に耐性検査を行なったものでは、過去6ヶ年間の平均耐性獲得率は3剤耐性型が最も高く23.6%を示し、次いで2剤耐性型のうち、INK・SMが7.5%、INH・PASが7.2%の順であった。さらに、一剤耐性型のもものでは、PASが5.6%を示し、次いでINH—5.0%、SM—4.7%の順であった。また2剤耐性型のうちSM・PASの耐性獲得率は最も低く3.6%であった。3剤耐性型に耐性獲得率が最も高いということは、現在の結核治療方針では3剤併用が一般的であることを考えると、当然の結果と思われる。

2. 一次抗結核剤に対する年次別耐性獲得率の推移をみると、1966年に3剤耐性型の出現率が13.5%と最低値を示した後、やや上昇傾向が認められる。しかし

ながら米谷ら²⁾の報告では3剤耐性型が5ヶ年平均で47%と高く、しかも年次別にはほぼ横ばい状態であることからして、特に極だった上昇傾向とは思われない。また一方では、3剤感受性型も1965年が29.3%であったのに比べ、1970年には58.9%と2倍程度まで増率しているが、上記の報告から試算した5ヶ年平均の3剤感受性率が40.4%であった事と比較すると、むしろ1965年の感受性率の著しい低さを指摘すべきであろう。他のパターンを示すものでは年次毎の変動はあっても著明な傾向は認められなかった。

3. 単剤に対する耐性菌の出現率は、一次抗結核剤のうち、INHが6ヶ年平均47.0%と最も高く、次いでSM.42.2%、PAS—41.6%の順であった。二次抗結核薬では、CpM、VM、TH、Sulfaがそれぞれ6ヶ年平均で90%以上の耐性獲得率を示し、次いでCS—86.9%、PZA—79.3%、EB—61.5%、TB1—50.0%、KM—40.9%の順であった。年次別推移をみると、SM、PASがそれぞれ1966年に最低の耐性率を示し、その後増加の傾向が認められるが他は年次毎に多少の変動はあっても、ほぼ横ばいの状態を保っている。

4. 一次抗結核剤INH、SM、PAS3剤の平均耐性率は43.7%で米谷ら²⁾の報告に比べ、20%以上低い。このことは、療養所検査室と当所との違い、とりわけ明確な数字がつかめないにせよ、未治療患者数の相違を示しているものと思われる。また、一次抗結核剤と二次抗結核剤とを比較すると、二次薬9剤の平均耐性率は薬剤によりかなりの差があり、総平均67.3%と他の報告²⁾より20~30%程度高い。この事は、例数が少ないことと、一次薬高度耐性のものに二次薬の耐性検査依頼が集中したためと思われる。

文 献

1. 厚生省監修：結核菌検査指針，1964.
2. 米谷 孝，森沢孝子：衛生検査，19，11
724—726，1970.

梅毒血清反応

1. 1967年から1970年までの都内における梅毒の実態について

大久保 暢 夫* 小林 文 次*
平 岡 陸左右* 落 合 泰 隆*
山 岡 ひ さ* 平 良 富 美*
安 部 昭 子*

SERO DIAGNOSIS ON SYPHILIS INCIDENCE OF SYPHILIS ANTIBODY IN TOKYOITES IN LAST 4 YEARS

Nobuo OHKUBO, Bunji KOBAYASHI, Rikuzo HIRAOKA,
Yasutaka OCHIAI, Hisa YAMADA, Fumi TAIRA and Akiko ABE

(Department of Bacteriology II, Tokyo Metropolitan Research Laboratory
of Public Health)

During the period 1967~70, a total of 265,800 specimens, which had been sent from various hospitals, health centers and other institutions in Tokyo, was examined for the presence of syphilis antibody, by means of Wassermann and VDRL procedures. The sera exhibit positive reaction both on these two procedures were colculated as positive case of syphilis infection. As a consequence, the sera obtained from Tokyo Medical Examiners Office, those had been taken from the corpse of unnatural death and suspected of syphilis infection from their autopsy findings, showed highest positive rate (22.4%), and then the one from prostitutes (13.1%), while the sera obtained from general hospitals (4.4%), health centers (4.1%) and other institutions (0.8~2.1%) had remained relatively low level.

1. 緒 言

1958年(昭和33年)売春防止法が発令されて以来、梅毒の届出患者数は漸減の一途を辿り、1948年(昭和23年)までに梅毒の届出数が21万強であったものが、1964年(昭和39年)には約5,000名となり、最高時の40分の1まで減少した。

以後、1966年(昭和41年)の法改正による届出の簡素化という要因も含まれるものとは考えられるが、梅毒患者数は増加の傾向に転じ、1970年(昭和45年)には

1964年(昭和39年)の45%増の約7,500名強となった。

これらの届出患者について検討すると早期および2期梅毒の増加が目立ち、年令的には20才代の比較的若年者層の罹患率が高くなっている。これらはセックスに対する解放的な考え方と、海外旅行ブーム等によるもので世界的な傾向と考えられる。

我々は今回過去4カ年にわたる東京都の梅毒の実態を検体由来別に調査したので報告する。

2. 材料と方法

都内の保健所、病院、産院等より当研究所に送付さ

* 東京都立衛生研究所 細菌第2部

れた血清を検体とした。

なお、方法は梅毒血清反応検査指針¹⁾にしたがった。

3. 成 績

過去4カ年間の梅毒血清反応成績を由来別に表に示した。表中の陽性数はガラス板法、緒方法共に陽性になったものを掲げ、この両反応の間に不一致の成績を

STS Positive rate for the Last 4 Years

Source	Year	Total Samples	Positive	Negative	Positive rate (%)
Unnatural Corpse	1967	91	16	52	17.6
	1968	64	18	44	28.1
	1969	82	18	57	22.0
	1970	66	17	49	25.7
Total		303	69		* 22.4
Prostitute	1967	992	140	818	14.1
	1968	857	140	683	16.3
	1969	872	108	747	12.4
	1970	840	** 92	748	10.9
Total		3,661	480		* 13.1
Hospital	1967	8,024	345	7,609	4.3
	1968	10,781	604	10,055	5.6
	1969	10,606	432	10,069	4.1
	1970	12,545	459	12,086	3.6
Total		41,956	1,840		* 4.4
Health Center	1967	18,358	951	17,173	5.2
	1968	18,883	769	17,897	4.1
	1969	12,921	480	12,311	3.7
	1970	17,889	607	17,282	3.3
Total		68,051	2,807		* 4.1
Maternity Hospital	1967	1,978	52	1,923	2.6
	1968	883	25	842	2.8
	1969	3,698	64	3,620	1.7
	1970	1,095	16	1,079	1.4
Total		7,654	157		* 2.1
Group Examination	1967	15,886	203	15,601	1.3
	1968	18,252	252	17,911	1.4
	1969	42,664	450	41,997	1.1
	1970	29,295	*** 257	29,038	0.8
Total		107,097	1,162		* 1.1
Medical Examination (Pre-Marriage)	1967	9,644	81	9,535	0.8
	1968	10,439	97	10,316	0.9
	1969	7,951	57	7,873	0.7
	1970	9,044	**** 62	8,982	0.6
Total		37,078	298		* 0.8
Notice	*	: Average			
	**	: 134 (APR. -MAR.)			
	***	: 533 (APR. -MAR.)			
	****	: 170 (APR. -MAR.)			

示したものは除外してある。表中不明死亡者は監察医務院由来の検体で陽性率はきわめて高く4カ年平均22.4%であった。

街娼は予防部菊屋橋分室由来のもので陽性率は平均13.1%を示した。また産院由来の妊婦の陽性率は平均2.1%、一般事業所の集団血液検査、婚前の血液検査はそれぞれ1.1%、0.8%で各年度共陽性数は低率であ

った。

4. 考 察

近年のWHOの報告で早期顕症梅毒の増加が世界的傾向にあることが指摘されているが、上記に我国の東京都の過去4年間の実態を示した。

監察医務院由来の不明死亡者の陽性率がきわめて高いが、これは監察医が剖検時に梅毒性病変を肉眼的に

認めたもののみを選択的に血液を採取して送付してくるからであろう。

この陽性率からみて不明死亡者の死因に梅毒が一つの大きな要素になっていることが考えられ、成人病対策の今後のあり方が示唆されるところである。

予防部由来の街娼の陽性率が高いことは当然であるが、警視庁菊屋橋婦人房に拘置される街娼は同一人の累犯が考えられるので実際の陽性率はこの実数を下廻るものと考えられる。

しかし、一方このように表面に現れない潜在的売春が行なわれている現況では売春常習者の梅毒陽性率はいっと高率であるのかもしれないが、現在の人権優位の検診方法からはその実態をうかがい知ることは困難である。

保健所、病院由来のもの検査成績は中等度の陽性率を示しているが、基礎疾患等との結び付きを追跡調査できないため陽性率を掲げるだけにとどめたい。

我々がいわゆる健康者と考えている産院、集団、婚前検診についての成績では各年度とも特に陽性率に大きな変動はみられていないが、妊娠時にウイルス性疾患に対する予防接種によって、しばしば一過性の生物学的偽陽性がみられるところから、これら比較的若い世代を対象とした検査成績の真の陽性率は表に示した実数を下廻ることが考えられる。このことに関しては梅毒血清反応(2)、1970年度

の梅毒の生物学的偽陽性の実態についての項で詳述する。

5. 結 論

過去4年間の都内における梅毒の実態を調査し、次の結論を得た。

1. 不明死亡者、街娼の陽性率は高くそれぞれ22.4%、13.1%であった。

2. 病院，保健所由来の検体の陽性率は4.4%，4.1%であったが，基礎疾患等の追跡調査ができない現況では成績の詳細な考察はできなかった。

3. 健康者と考えられる婚前検診等は各年度共大きな変動はみられず，この値が我国における比較的若い世代の梅毒陽性率の実態であると考えられるが，さらにこの中から生物学的偽陽性を検討除去する必要があるものと考えられた。

文 献

1. 日本公衆衛生協会：梅毒血清反応検査指針，1969.
2. 富沢孝之：メデイヤサークル，14, 37, 1969.
3. 岡本昭二：モダンメデイア，10, 20, 1964.

梅毒血清反応

2. 1970年度（昭和45年）における梅毒の生物学的偽陽性の実態について

大久保 暢 夫* 堀 幹 郎*
宮 沢 貞 雄* 村 田 以和夫*

Sero Diagnosis on Syphilis

Ratio of Biological False Positive Cases Detected in 1970

Nobuo OHKUBO, Mikio HORI, Sadao MIYAZAWA,
and Iwao MURATA

(Department of Bacteriology II, Tokyo Metropolitan Research Laboratory
of Public Health)

It is well known that the nontreponemal tests for syphilis are nonspecific and have a definite limitation in the diagnosis of syphilis. Thus in this experiments, a total of 837 specimens consisted of 134 sera from prostitutes and 703 sera from healthy people, from those syphilis antibody was detected by the Serological Test for Syphilis (STS), were selected at randomly, and tested by *Treponema pallidum* hemagglutination test (TPHA) and fluorescent treponemal antibody absorption test (FTA-ABS). As a consequence, 12.7% of the sera obtained from prostitutes and 39.7% of the one from healthy people were found out to be the cases of the biological false positive.

1. 緒 言

1941年Pangborn¹⁾によってカルジオライピンが分離精製され、これが梅毒抗原としてすぐれていることが立証されてから梅毒血清反応は特異性および鋭敏性の点で長足の進歩を遂げた。

しかし、この抗原は梅毒患者血清にだけ特異的に反応するとは限らず、ときには健康者やまったく梅毒と関係のない各種疾患にもしばしば反応が陽性に出現する弱点、すなわち生物学的偽陽性（以下BFPと略）という問題点を残している。

そのため、このBFPを除く目的で梅毒の病原体であるトレポネーマそのものないしは菌体成分を抗原とした新しい血清診断法すなわち梅毒 TP 感作血球凝集反応（以下 TPTA と略）と梅毒蛍光抗体吸収法（以下

FTA-ABSと略）が開発された。

我々は1970年度（昭和45年）1年間の梅毒陽性血清の一部についてこれらの特異反応で再検査し、BFPの実態について検討を加えた。

2. 材料と方法

1970年度（昭和45年）に都内各所より送付された血清のうち、ガラス板法および緒方法（以下STSと略）が共に陽性、ないしはいずれか一方が陽性になったものの中から無作為に、街娼134例と一般健康者703例をえらび検体とした。

なおTPHAおよびFTA-ABSは梅毒血清反応検査指針²⁾に準じておこなった。

3. 成 績

1970年度（昭和45年）の街娼と一般健康者の梅毒血清反応4法の成績を反応様式別に表に示した。

* 東京都立衛生研究所 細菌第2部

BFP Appearance rate in 1970

Source	Samples	VDRL W-R TPHA FTA-AB	Reaction									
			+	+	-	+	+	-	+	+	+	-
			+	-	+	AbR	+	+	-	+	+	+
			+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
			+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
Prostitute	134 (%)		91 (67.7)	23 (17.2)	1 (0.8)	1 (0.8)			1* (0.8)	7 (5.2)	9 (6.7)	1 (0.8)
Total						117 (87.3)					17 (12.7)	
Medical Examination	703 (%)		355 (50.3)	68 (9.7)		1 (0.1)	1* (0.1)	1* (0.1)		104 (14.8)	160 (22.7)	5 (0.8)
Total						424 (60.3)					279 (39.7)	10 (1.4)

Notice AbR : Abnormal Wassermann Reaction (Ogata Method)

* : Disagreement between TPHA and FTA-ABS

特異反応の間に不一致がみられる場合があるが、今回はいずれか一方が陽性を示したのも梅毒陽性群に入れたが、街娼 134 例中 117 例 87.3% が梅毒、一般健康者 703 例中 424 例 60.3% が梅毒であった。

一方、特異反応が両者共陰性であるものを非梅毒群、すなわち BFP とすると、街娼では 134 例中 17 例 12.7%、一般健康者では 703 例中 279 例 39.7% が BFP であった。

4. 考 察

Nelson, Mayer³⁾ によって TPI が開発されてからトレポネーマそのものないしは菌体成分を梅毒血清反応の抗原に使用する試みがなされ、以後 TPIA, RPCF, FTA, TPHA が開発され一部実用化された。なかでも TPHA と FTA、特に FTA-ABS は特異性がきわめて高いところから現在多くの検査機関で実用化されているが、我々もこの 2 つの特異的方法で 1970 年度 (昭和 45 年) の梅毒陽性血清の一部について BFP の実態を検討した。

Moore, Mohr⁴⁾ らは BFP をきたし易い疾患として各種伝染性疾患を挙げているが、彼等の記載した表の中、マラリヤは現在の精製されたカルジオライピンには殆んど反応しないといわれている。

それよりもむしろ日本脳炎、インフルエンザ等の各種ウイルス性予防接種の際に一過性に、それも 50~80% と比較的高率に BFP が出現すると指摘されている。

一般に BFP の出現率は 10~20% といわれているが、今回の我々の調査では健康者全体で 39.7% と高いが、これは STS 不一致例をも含むからで、一致例の BFP は 14.8% で諸家の報告と一致している。

この検査対象の一般健康者は婚前検診、一般事業所の健康診断血清であるところから、予防接種等による

一過性の BFP が十分に考えられるところである。

街娼の BFP は全体で 12.7% であるが、性病感染源の一大要因と考えられる街娼の中にも BFP が存在することは興味深いところであろう。ヒロポン中毒後、数年を経ると BFP の出現頻度が高くなるといわれているが、累犯者の多い街娼の中にはこれらによる BFP の存在が当然考えられるところである。

この報告では街娼に 1 例、健康者に 2 例計 3 例の特異反応不一致が認められ、今回は一応梅毒例中に入れたが、現在我々が広尾病院と協同研究中の成績からみて、これら 3 例は数回の追跡調査が必要であると考えている。

5. 結 論

1970 年度の梅毒陽性血清の一部について、TPHA, FTA-ABS の 2 法の特異反応で再検査をおこない次の結論を得た。

1. BFP は街娼で 12.7%、一般健康者では 39.7% であった。
2. 2 つの特異反応の間に 3 例の不一致例が認められたが、現在進行中の研究から、この 3 例については十分な追跡調査が必要であると思われる。

文 献

1. 水岡慶二：モダンメディア，10，8，1964
2. 日本公衆衛生協会：梅毒血清反応検査指針，1969.
3. Nelson, R. A., Jr., and Mayer, M. M. : J. Exp. Med., 89, 369, 1949.
4. Moore, J. E. and Mohr, C. F. : J. A. M. A., 150, 467, 1952.

梅毒血清反応

3. RPR法の検討

大久保 暢 夫* 小林 文 次*
平 岡 陸左右* 落 合 泰 隆*
宮 沢 貞 雄* 堀 幹 郎*
村 田 以和夫* 安 部 昭 子*

Sero Diagnosis on Syphilis

Evaluation of a Rapid Plasma Reagin Card Test

Nobuo OHKUBO, Bunji KOBAYASHI, Rikuzo HIRAOKA, Yasutaka OCHIAI,
Sadao MIYAZAWA, Mikio HORI, Iwao MURATA and Akiko ABE

(Department of Bacteriology II, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of
Public Health)

For an evaluation of the clinical usefulness, a simple and macroscopically visible rapid plasma reagin card test (RPR) which used for the detection of syphilis antibody, was compared with the other three laboratory techniques, i. e., Wassermann, VDRL and TPHA procedures. As a consequence, when 490 reference sera selected at randomly were tested by these 4 techniques, RPR card test showed high levels of specificity at 5% ratio of risk comparing with that of VDRL, although it was less sensitive than that of VDRL. The same tendency was observed on the test when the sera which had been considered to be manifesting biological false positive were tested.

1. 緒 言

近年開発されたRPRカードテスト（以下RPRと略）の特徴はカルジオライピン抗原が炭素粒子に吸着されているので、検査術式が簡単で肉眼的に容易に判定できる点にある。したがって、設備器材の不足している遠隔地や島部で本法が実用化されうならば好都合であろう。しかし、梅毒のスクリーニング法としてRPRが実用化されるのには少くとも現行のガラス板法程度の特異性と鋭敏性が要求される。そこで我々はRPRとガラス板法、緒方法、梅毒TP感作血球凝集反応（以下TPHAと略）4法（490例）と、さらに蛍光抗体法（以下FTA-ABSと略）を加えた5法（内159例）を用いて、RPRの特異性と鋭敏性とを比較検討

したので報告する。

2. 材料および方法

1970年（昭和45年）以降、都内の保健所、病院、産院等各施設より当研究所に送付された血清のうち、現行の脂質抗原を用いた2法（以下STSと略）陽性一致例314、陽性不一致例108、陰性一致例68を無作為に選んで被検血清とした。

RPR (Kit. No. 104) は使用説明書に従い、他法は梅毒血清反応検査指針¹⁾に準じて行なった。

3. 実験結果

TABLE I. はSTS陽性血清における4法を比較したもので、314例中85.4%のものがRPR, TPHA共に陽性を示し、3.5%のものが共に陰性を示した。RPR陽性、TPHA陰性のものは9.2%あり、RPR陰性、

* 東京都立衛生研究所 細菌第2部

Table 1. Comparison of 4 Methods in STS Positive serum

VDRL	W-R	RPR	TPHA	Samples	%
+	+	+	+	268	85.4
		-	-	11	3.5
		+	-	29	9.2
		-	+	6	1.9
Total				314	100.0

TPHA陽性のものは1.9%であった。

Table 2. は S T S 不一致血清における 4 法の比較を示している。ガラス板法（表中VDRL）陽性、緒方法（表中WR）陰性のものは93例、緒方法異常反応（表中AbR）のものは1例あり、そのうち、RPR, TPHA

Table 2. Comparison of 4 Methods in STS Disagree serum

VDRL	W-R	RPR	TPHA	Samples	%	
+	-	+	+	43	45.7	
		-	-	14	14.8	
		+	-	26	27.7	
		-	+	10	10.6	
		AbR	-	+	1	1.1
Total				84	100.0	
-	+	+	+	3	21.5	
		-	-	5	35.9	
		+	-	4	28.2	
		AbR	-	+	2	14.4
		Total				14

Notice AbR : Abnormal Reaction, Total Samples 108

ともに陽性のものは45.7%，2法ともに陰性のものは14.9%，RPR陽性，TPHA陰性のものは27.7%，RPR陰性，TPHA陽性のものは10.6%を示した。また緒方法異常反応の1例はRPR陰性，TPHA陽性で1.1%であった。一方，ガラス板法陰性，緒方法陽性のものは12例，緒方法が異常反応のものが2例あって，そのうち，RPR，TPHA陽性のものは21.5%で，2法ともに陰性のものは35.9%，RPR陽性，TPHA陰性のものは28.2%を示した。また，緒方法異常反応の2例はRPR陰性，TPHA陽性で14.4%を示した。

STS不一致血清と，STS一致陽性血清とを比較すると，不一致血清のうち，RPR，TPHAともに陽性となったものの合計は108例中46例で，陽性血清の場合より50%程度低い。また陽性者を見逃す率（RPR陰性，TPHA陽性）はSTS陽性血清で1.9%であるのに比べ，不一致血清では全部で11.7%と約6倍に増加している。

Table 3. Comparison of 4 Methods in STS Negative serum

VDRL	W-R	RPR	TPHA	Samples	%
—	—	—	—	65	95.5
		+	—	3	4.5
Total				68	100.0

Table 3. は STS 陰性血清における 4 法の比較成績である。4 法とも陰性のものは68例中95.5%を示し，RPRのみが陽性となったものは4.5%であった。

Table 4. は RPR とガラス板法との特異性および鋭敏性について比較したものである。TPHAを規準にした場合，特異性ではガラス板法が49.7%であるのに比

Table 4. Comparison of RPR and VDRL on Specificity and Sensibility

Specificity				Sensibility			
RPR	TPHA	Samples	%	RPR	TPHA	Samples	%
-	-	95	60.5	+	+	314	94.0
+	-	62	39.5	-	+	19	6.0
Total		157	100.0	Total		333	100.0
				Total Samples 490			
VDRL	TPHA	Samples	%	VDRL	TPHA	Samples	%
-	-	77	49.7	+	+	328	98.5
+	-	80	50.3	-	+	5	1.5
Total		157	100.0	Total		333	100.0

べ、RPR は60.5%と10.8%高い。すなわち、非特異反応の出現率はガラス板法では50.3%あるのに比べ、RPRでは39.5%と低い。この成績は5%の危険率で有意であった。一方鋭敏性では、RPRが94.0%であるのに比べ、ガラス板法では98.5%と4.5%高い。すなわち、陽性者を見逃す率はガラス板法が1.5%であるのに対して、RPRは6.0%と4倍程度高いことが判った。またこの成績は1%以下の危険率で有意であった。

Table 5. は生物学的偽陽性（以下 B.F.P と略）と考えられるものに対する RPR の反応を示している。

Table 5. RPR Reaction of BEP Samples

BFP			Samples (%)	RPR			
VDRL	W-R	TPHA		+		-	
				Number	%	Number	%
+	+	-	40(100)	29	72.5	11	27.5
+	-	-	40(100)	26	65.0	14	35.0
-	+	-	9(100)	4	44.4	5	55.6
Total			89(100)	59	66.3	30	33.7

ガラス板法，緒方法共に陽性のBFP40例のうち27.5%，ガラス板法のみ陽性のもの40例のうち35.0%，緒方法のみ陽性のもの9例のうち55.6%のものがRPR陰性を示した。全BFP89例のうち，RPR陰性のものは33.7%でSTS2法に比べ，RPRはBFPの面からも特異性が高いことが判った。

なお，490例のうち159例についてFTA-ABSを加えた5法により比較検討を行なった結果，FTA-ABSはTPHAの成績とまったく同一であった。

3. 総括ならびに考察

1. STS一致陽性血清とSTS不一致血清とを分けて比較すると，RPR，TPHAともに陽性の一致率は約50%程度不一致血清の方が低下する事が判明し，また陽性者を見逃がす率も不一致血清では陽性血清の約6倍に増加する事が判った。したがって，スクリーニン

グ法としてのRPRを検討する場合には，陽性検体のみで一致率を比較するのは問題があるう。

2. RPRとガラス板法との特異性および鋭敏性について比較すると，RPRはガラス板法に比べ特異性は10%程度高く，このことはBFPと考えられるものに対するRPR陰性率からも考察された。逆にRPRの鋭敏性はガラス板法に比べ4.5%低いことが判った。

3. 特異性と鋭敏性をともに向上させることはかなり困難な仕事であり，現在でもこの両者は常に逆比例的な関係にあると思われる。

RPRが梅毒のスクリーニング法として実用化されるには，簡便にして迅速であると同時に，多少の特異性を犠牲にしても，鋭敏性の向上をいかにして図るかが今後に残された問題であろう。この実験では，説明書の判定規準にしたがって肉眼的に判定を下したが，反応が微弱な場合には判定にかなりの困難を経験している。鈴田は²⁾RPRの顕微鏡判定のすぐれている点を指摘し，疑わしい場合にはその併用をすすめている。し

たがって，弱拡大の顕微鏡下で判定する規準を設定するか，もしくは公衆衛生的な見地からして，完全な陰性のみを肉眼的に判定し，陰性以外のものはすべて他の検査法を試みるようにする必要があるう。そうすることによって，鋭敏度の向上はある程度まで期待されるものと考察されるが，現段階では正規な検査機関での正式な検査成績を得るまでの一つの便法にすぎないと思われる。

なお，本報の概要は第47回東京都衛生局学会で発表したものである。

文 献

1. 日本公衆衛生協会：梅毒血清反応検査指針，1969。
2. 鈴田達男：臨床検査，11, 83-86, 1967。

腸内ウイルス感染症の実態は握に関する研究 (第3報)

—1970年1～12月における東京都内2下水処理場

からのウイルス分離について—

岩崎 謙二* 山田 澄夫*
柳 沢 靖子* 佐々木 憲子*

Epidemiological Survey on Enterovirus Infections (III).

Virus Isolation Made at Two Sewage Treatment
Plants in Tokyo in 1970

Kenji IWASAKI, Sumio YAMADA, Yasuko YANAGISAWA
and Noriko SASAKI

(Department of Virology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of
public Health)

The significance of infective viral agents in waste water was studied at the 2 sewage treatment plants in Tokyo in 1970, since much epidemiological information was available on the frequency of recovery of enteric viruses or other viral agents from the sewage as it was reported in the previous paper. Isolation attempts were made on raw sewage, activated sludge and treated sewage simultaneously, by the use of FL, HeLa, Hep2, Vero and MK cells.

The results obtained are summarized as follows:

- 1) Highest recovery rate of viruses was observed on the activated sludge, 40 of 55 (72.7%); and then the raw sewage, 31 of 61 (49.7%); followed by the treated sewage of 41 (31.7%) respectively.
- 2) Nineteen strains of polio viruses, 60 strains of B group coxsackie viruses, 2 strains of echo viruses, 5 strains of reoviruses and 14 strains of adenoviruses were recovered throughout the year, and the highest frequency of the recovery of B group coxsackie virus types 3 and 4 had correlation with the incidence of the infections occurring in the community. Twice a year appearance of polioviruses in the sewage were observed on the post-vaccination period of the administration of attenuated live virus vaccine to the community, while adenoviruses were recovered throughout the year.
- 3) Highest recovery rate of the viral agents was observed by FL cell, followed by Hep2, HeLa, Vero and MK cells used, and FL and Vero cells were likely to be suitable for the detection of B group coxsackie viruses, Hep2 cell for adenoviruses and MK cell for reoviruses respectively.

* 東京都立衛生研究所, ウイルス部

1. 緒 言

われわれは1967年6月より都内における腸内ウイルスの感染実態を間接的には握しようとする意図から、都内新宿区内に位置する落合下水処理場を Station としてウイルス分離試験を行ない、その実態を推測してきた。

本報においては、さらに1970年4月より都内江東区内に位置する砂町処理場からもウイルス分離を試み、都内における腸内ウイルスの感染実態を広域的に検討した。

2. 実験材料および方法

検体採取場所：1967年以来検索を続けてきた新宿区内にある東京都下水道局落合処理場のほかに、1970年4月より江東区内にある東京都下水道局砂町処理場からも検体を採取した。また、1970年6月より砂町処理場にて処理されるために送られてくる荒川区内にある東京都下水道局三河島処理場からの沈澱汚泥も検体として採取した。落合、砂町、三河島処理場の所在位置および排水区域は Fig 1 に示した。

Fig. 1. Locations of the sewage treatment plants, and of their sampling areas in Tokyo.

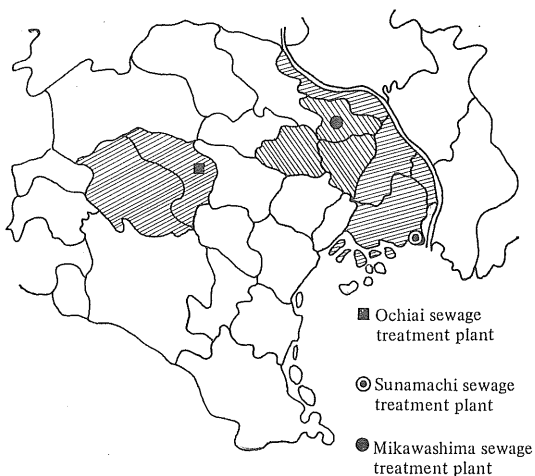
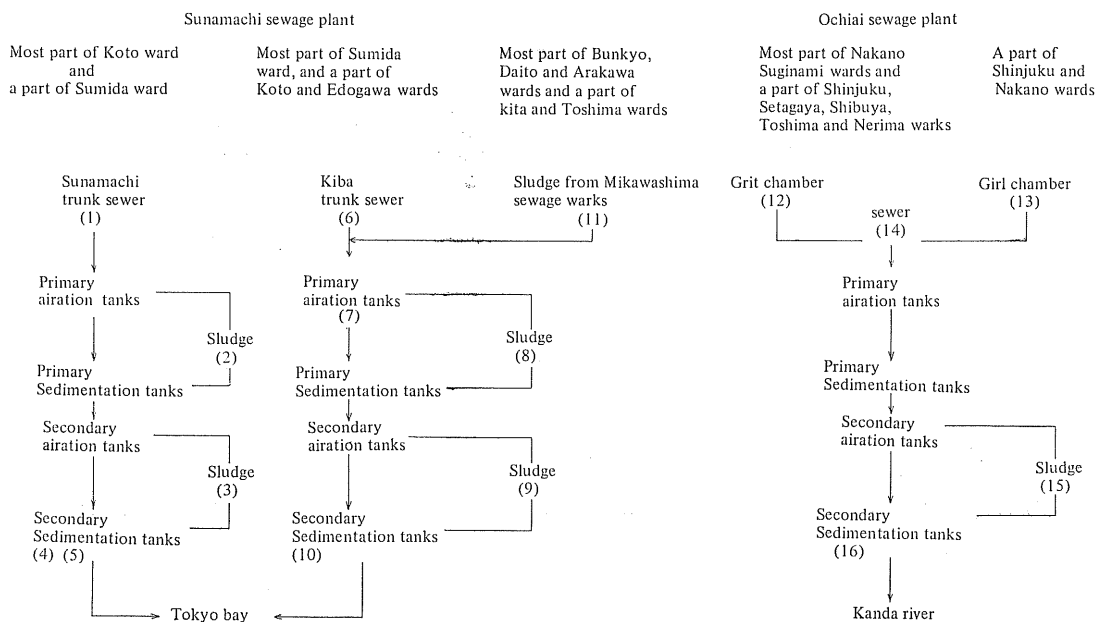


Fig. 2. Service areas of the plant, and sampling points on the section of Sunamachi and Ochiai sewage plants.
note : parenthesis indicates the sampling point.



下水検体採取方法：採取地点が増加したほかは前報^{1) 2)}と同様である。

毎月1回、同時期に落合、砂町処理場から定期的に検体を採取した。

麻紐をつけた滅菌綿タンポンをFig 2の下水処理場内の検体採取地点に設置し、2日間下水の流れに浸漬したのち、引き上げたタンポンより絞り出した下水を検体素材とした。沈澱汚泥は両処理場とも沈澱池底から逆送されるものを採取した。

下水検体処理方法：前報^{1) 2)}と同様に処理した。

ウイルス分離および同定：培養細胞としてFL, He La, Hep 2, Veroの各継代細胞とサル腎細胞の初代培養を使用した。

検体を接種した細胞培養試験管は37°Cのフラスコ内で回転培養を行なった。

ウイルス検出の有無はCPEを指標とし、3～4代

まで継代培養した。

分離ウイルス株中、腸内ウイルスおよびレオウイルスはSchmidtのプール血清を用い、中和試験によって同定した。アデノウイルスはまず補体結合試験によってアデノウイルス群に属することを確認したのち、単味の免疫血清を用いて中和試験によって型を同定した。

3. 実験成績および考察

1) 下水からのウイルス検出状況

1970年1～12月までの落合処理場下水検体59件、1970年4～12月までの砂町処理場下水検体89件、1970年6～12月までの三河島汚泥検体7件からのウイルス検出状況と都衛研に病原ウイルス検索を依頼された原因不明疾患々々材料からのウイルス検出状況をTable 1に示した。

Table 1. Comparisons of the results of viruses recovered from sewages and from unknown fabrile disease patients.

Place of sampling	No. of sampling point	Specimens collected											
		Jan.	Feb.	March	April	May	June	July	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
Sunamachi trunk	1	ND	ND	ND	—	CB3	CB3	—	—	—	—	—	—
	2	ND	ND	ND	P3, CB3	—	CB3	CB3	—	P2	P2	—	—
	3	ND	ND	ND	CB3, CB4	CB3	CB3	CB3	—	—	—	—	—
	4	ND	ND	ND	—	CB3	CB3	—	—	—	—	—	—
	5	ND	ND	ND	—	CB3	—	CB3	—	—	—	—	—
Kiba trunk	6	ND	ND	ND	—	CB3	CB3	—	CB3	—	AD3	AD3	—
	7	ND	ND	ND	P2	CB3	CB3	—	ND	—	CB3, E7	P2	—
	8	ND	ND	ND	—	—	CB3	CB3	CB3	CB3	—	—	—
	9	ND	ND	ND	P2	P2	P2, CB3	CB3	—	CB3	—	—	—
	10	ND	ND	ND	—	—	CB3	CB3	CB3	CB3	P1	—	—
Mikawashima	11	ND	ND	ND	ND	ND	CB3	CB3, CB4	—	CB3	—	—	P ₃
	12	—	—	—	P2, AD, Reol	CB3, CB4	CB3, CB4	CB3, CB4, AD	CB3	E7	P2, AD3	—	—
Ochiai	13	—	—	—	P2, CB4	CB4	P1, CB3, CB4	—	CB3	CB3	—	AD	ND
	14	—	—	—	P1, P2, AD, Reol	—	CB3, AD	CB3	CB3, AD3	CB3	—	—	P2, AD
	15	—	Reol, AD	—	P1, P2, Reol	CB3	CB3, CB4	CB3, CB4	CB3	AD3	—	—	AD
	16	Reol	AD	—	—	—	CB3	—	CB3	—	—	—	—
Unknown fabrile disease patients			AD	CB4	AD, AD3		CB3, AD3	CB4, AD3	CB4	AD3, * AD7, CB3	CB3, AD		

Keys for abbreviation: P1 = polio type 1, P2 = polio type 2, P3 = polio type 3, CB3 = coxsackie B3, CB4 = coxsackie B4, AD = adenovirus, AD3 = type 3 adenovirus, Reol = type 1 reovirus, and E7 = echo type 7. * indicates the agent caused mass outbreak in the community.

落合処理場においては、処理前の生下水（検体採取地点12, 13, 14）35件中19件から、沈澱汚泥（15）12件中8件から、処理下水（16）12件中4件からウイルスを検出した。

砂町処理場においては、処理前の生下水（1, 6, 7）26件中12件から、沈澱汚泥（4, 5, 9, 10）36件中18件から、処理下水（2, 3, 8）27件中9件からウイルスを検出した。

また、三河島汚泥（11）7件中4件からウイルスを検出した。

われわれは第1報において、落合処理場の処理下水からウイルス検出例が少ないのは、ウイルスが汚泥に

吸着されたまま沈澱するためであろうことを考察した。今回の砂町処理場における検索成績からも同様のことが考えられた。したがって、下水からのウイルス検出を目的とする場合、検体として沈澱汚泥を使用するのが最も簡単で有利な方法と思われる。

検出ウイルスを種別にみると、落合処理場からは、ポリオウイルス1型3株、2型6株、コクサッキーB群ウイルス3型17株、4型8株、エコーウイルス7型1株、レオウイルス1型5株、アデノウイルス12株計52株であった。

砂町処理場からは、ポリオウイルス1型1株、2型7株、3型1株、コクサッキーB群ウイルス3型30株、

4型1株, エコーウイルス7型1株, アデノウイルス3型2株計43株であった。

また, 三河島汚泥からは, ポリオウイルス3型1株, コクサッキーB群ウイルス3型3株, 4型1株計5株であった。

2) 月別にみた下水からのウイルス検出状況について

落合, 砂町処理場および三河島汚泥からのウイルスの月別検出状況をTable 2. に示した。

落合, 砂町処理場および三河島汚泥からのウイルス検出状況はよく類似している。また, 患者からの分離状況とも密接な関連があるように考えられる。

下水から最も高頻度に検出されたコクサッキーB群3型ウイルスは, 落合処理場からは5~9月まで, 砂町処理場からは4~10月まで毎月分離され, 三河島汚泥からは6~7月, 9月に分離された。

われわれは前報²⁾において, 下水からウイルス分離状況および健康都民血清の中和抗体価測定による血清

Table 2. Recovery of Viruses from Sewage

(1970)

Viruses detected	Sewage treatment plants	Specimens collected											
		Jan.	Feb.	March	April	May	June	July	Aug.	Sept	Oct.	Nov.	Dec.
Polio virus	O	—	—	—	+	—	+	—	—	—	+	—	+
	S	ND	ND	ND	+	—	+	—	—	+	+	+	—
	M	ND	ND	ND	ND	ND	—	—	—	—	—	—	+
Coxsackie B 3	O	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—
	S	ND	ND	ND	+	+	+	+	+	+	+	—	—
	M	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	—	+	—	—	—
Coxsackie B 4	O	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	S	ND	ND	ND	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	M	ND	ND	ND	ND	ND	—	+	—	—	—	—	—
Adenovirus	O	—	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+
	S	ND	ND	ND	—	—	—	—	—	—	+	+	—
	M	ND	ND	ND	ND	ND	—	—	—	—	—	—	—
Echovirus	O	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
	S	ND	ND	ND	—	—	—	—	—	—	+	—	—
	M	ND	ND	ND	ND	ND	—	—	—	—	—	—	—
Reovirus	O	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	S	ND	ND	ND	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	M	ND	ND	ND	ND	ND	—	—	—	—	—	—	—

Note: ND=not done

O : Ochiai sewage treatment plant

S : Sunamachi sewage treatment plant

M : Sludge from Mikawashima sewage works

疫学的角度から, 1970年の流行の主体をなす腸内ウイルスはコクサッキーB群3型ウイルスであろうことを考察した。今回の下水からのウイルス分離状況と患者からの分離状況を対比させてみても, 1970年の流行の主体をなした腸内ウイルスはコクサッキーB群3型ウイルスであろうと考えられる。

コクサッキーB群4型ウイルスは, 落合処理場から4~7月まで毎月, 砂町処理場から4月, 三河島汚泥から7月に検出した。患者からも同群3型ウイルスと同程度の頻度で分離されており, 1970年に同群4型ウイルスは同群3型ウイルスに比較すると流行範囲は小さいながらもある程度都内において流行していたものと思われる。さらに, 前年度の落合処理場からの調査²⁾において12月にコクサッキーB群4型ウイルスが分離された事実を思うと腸内ウイルスの流行予測という観点から興味のある事実である。

エコーウイルス7型は落合処理場から9月, 砂町処理場からは10月に検出された。次年度に流行の主体をなすであろう株が前年度に先行して検出された過去の事実を思うと, エコーウイルス7型の71年における流行が注目される。

かなりの頻度に検出されたポリオウイルスは, 前回と同様に4~6月と9~12月に限って検出された。これは春秋2回の生ワクチン投与時期と一致していた。検出ウイルスはワクチン由来のものと考えられる。

アデノウイルスは, 落合処理場から1, 3, 5月を除いて高頻度に検出された。このことは, アデノウイルスは都内において季節的変動にかかわらず絶えずある程度の浸淫を繰り返しているものと推測される。

また, 患者の届出状況上では9月に都内学童間に集団発生例をひきおこしたアデノ3型ウイルスが, 落合処理場の下水中に8~10月にかけて検出され, 砂町処

理場では10月、11月に検出された。

患者届出のなかった8月および10、11月に下水からアデノ3型ウイルスが検出されたことは、同ウイルス感染実態を究明するのに下水ウイルス検索の有用性を示唆するものであろう。

3) 下水からのウイルス検出率と培養細胞との関係
前回の調査²⁾の際に用いたFL, HeLa, Hep2, サル腎細胞のほかに、今回新たにVero細胞を加えて試験を行ないその結果はTable 3に示した。

ウイルス検出率は前回同様にFL細胞が最も高率で次いでHep2, HeLa, Vero, サル腎細胞の順であった。

検出ウイルスを細胞種類別にみると、前回同様にFL細胞はポリオ, コクサッキーB群ウイルスの検出に適し、Hep2はアデノウイルスの検出に、Vero細胞はFL細胞と同様にポリオ, コクサッキーB群ウイルス検出に適していた。

この結果から、前回²⁾われわれが考察した数種類の

Table 3. Virus Isolation from Sewage by The Use of Several Cell Lines

	Cell lines used	Virus detected						Sum
		Polio Virus	Coxsachie B group virus	Adeno virus	Echo virus	Reo virus	Untyped	
Ochiai sewage treatment plant	FL	4/59	16/59	1/59	0/59	0/59		21/59
	HeLa	0/59	6/59	2/59	0/59	0/59		8/59
	Hep-2	3/59	4/59	10/59	1/59	0/59		18/59
	MK	1/59	0/59	0/59	0/59	5/59	3/59	9/59
	Vero	3/59	7/59	0/59	0/59	0/59		10/59
Sunamachi sewage treatment plant	FL	5/96	25/96	0/96	0/96	0/96	1/96	31/96
	HeLa	1/96	11/96	0/96	0/96	0/96		12/96
	Hep-2	2/96	12/96	2/96	1/96	0/96		17/96
	MK	1/96	3/96	0/96	0/96	0/96	3/96	7/96
	Vero	3/96	2/96	0/96	0/96	0/96	5/96	10/96

Note : Numerator indicates the number of virus strains isolated, and denominator indicates the number of samples inoculated.

培養細胞使用による分離試験法は、混在ウイルスを単離して検出するのに都合のよい方法であることが確認された。

4. 結 論

1970年1～12月の1年間の落合処理場、4月からの砂町処理場、6月からの三河島汚泥からの下水ウイルス検索結果を比較し広域的に都内の腸内ウイルス感染実態を検討した。

1) 落合処理場において、生下水検体35件中19件から、沈澱汚泥12件中8件から、処理下水12件中4件からウイルスを検出した。

砂町処理場において、生下水検体26件中12件から、沈澱汚泥36件中18件から、処理下水27件中9件から、三河島汚泥7件中4件からウイルスを検出した。

2) 1970年の下水からのウイルス検索の結果、ポリオウイルス19株(1型4, 2型13, 3型2), コクサッキーB群ウイルス60株(3型50, 4型10), エコーウイルス2株(7型), レオウイルス5株(1型), アデノウイルス14株計100株を検出した。

3) 下水から最も高頻度に検出されたコクサッキーB群3型ウイルスが、1970年の都内における腸内ウイルスの流行の主体をなしていたと思われる。

コクサッキーB群4型ウイルスも同群3型ウイルスに比して流行範囲は小さいながらある程度流行していたと思われる。

ポリオウイルスは落合、砂町処理場および三河島汚泥から春秋2回の生ワクチン投与時期のみ検出された。

アデノウイルスは年間を通して高頻度に検出された。

4) 培養細胞中最も高率にウイルスを検出したのはFL細胞で、次いでHep2, HeLa細胞, Vero細胞, サル腎細胞の順であった。

ウイルス種類別にみると、ポリオ, コクサッキーB群ウイルスの検出には、FL, Vero細胞が、アデノウイルス検出にはHep2細胞が、レオウイルス検出にはサル腎細胞が適していた。

謝 辞

本研究に御援助いただいた東京都下水道局落合処理場、砂町処理場の皆様方に深謝する。

文 献

- 1) 岩崎謙二, 他: 東京都立衛生研究所年報, (20), 35 (1969)
- 2) 岩崎謙二, 他: 東京都立衛生研究所研究年報,

(21), 9 (1970)

3) 岩崎謙二, 他: モダンメディア, 16, 60 (1970)

4) 柏木義勝, 他: 東京都衛生局学会誌, 42, 50,
(1969)

5) H.H. Bloom, et al: J. Infect. Diseases, 105,
61, (1959)

6) H. Pittler, et al: Zntbl, Bakt., I, Abt, Orig.
204, 33, (1964)

7) E. Lund, et al: Water Research, 3, 823,
(1969)

1970 年東京都内の Hand, Foot and Mouth Disease 流行時に行なったウイルス検索成績

岩 崎 謙 二* 山 田 澄 夫*
佐々木 憲 子* 柳 沢 靖 子*

VIRUS ISOLATION MADE AT PREVALENT PERIOD OF HAND- FOOT AND MOUTH DISEASE IN TOKYO IN 1970

Kenji IWASAKI, Sumio YAMADA, Noriko SASAKI and Yasuko
YANAGISAWA

(Department of Virology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public
Health)

During the period May-July 1970, a serial outbreaks suspected of hand-foot and mouth disease were occurred in Tokyo, rampant among the children between 8 months to 5 years of their age, who have been attending several baby farms (day nurseries) and kindergartens. In this laboratory, 54 specimens consisted of 21 throat swabs and 33 feces obtained from 39 patients were tested for the presence of viral agents, by means of the subcutaneous inoculation test with suckling mice and the tissue culture techniques with FL, HeLa and Hep-2 cell lines.

Results obtained are as follows :

- 1) By the mouse inoculation test, coxsackie A 16 virus was recovered from 22 specimens, 5 throat swabs and 17 feces, obtained from 16 individuals.
- 2) On the other hand, by the tissue culture technique, 3 viral agents, i. e., coxsackie B 3 virus from case 22, adenovirus type 6 from case 37 and coxsackie B 4 virus from case 39 were recovered in association with coxsackie A 16 virus in the specimens.
- 3) It was concluded that the principal agent of the prevalence of hand- foot and mouth disease was coxsackie A 16 virus.

* 東京都立衛生研究所 ウイルス部

1. 緒 言

Hand, Foot and Mouth Disease (H.F.M. 病) は 1958 年 Robinson ら¹⁾ によってはじめて記載された。その後、欧米各地でその流行例²⁻⁶⁾ が報告された。病因として、Coxsackie A 群ウイルス (CA) の型 4^{3,7,8)}, 5⁵⁾, 6^{8,9)}, 8⁹⁾, 9¹⁰⁾, 10¹⁾ などが関連づけられた報告もみられるが、一般には CA16 が主因であると考えられている。

わが国における本症の報告は、1963 年ごろからみられる^{9,11-14)} が、それらはいずれも散発例であった。1969 年から 1970 年にかけて本症は全国的な規模での流行が発生した^{15,16)}。

われわれは 1970 年 5～7 月に、東京都内各地で発生した本症患者からのウイルス分離試験を試みたのでその検索成績を報告する。

2. 実験材料および方法

ウイルス分離用検体： H・F・M・病患者から採取した咽頭ぬぐい液および糞便をもちいた。咽頭 Swab は約 3 ml の YLE 液に浸出し、3000rpm 30 分遠心沈澱後、その上清にペニシリン (PG) 100 単位/ml、ストレプトマイシン (ST) 100r/ml を加え接種材料とし

た。糞便は YLE 液で 10% 乳剤をつくり、遠心沈澱上清に Pc, St を加えて接種材料とした。接種材料は -80℃ の冷凍庫内に凍結保存した。

ウイルス分離と分離ウイルスの同定： ウイルス分離は、乳のみマウスおよび培養細胞をもちいて行なった。

乳のみマウスは生後 24 時間以内のものをもちい、0.1 ml/マウスの割合で検体を背部皮下に接種し、2 週間観察をつづけた。1 検体につき 5～10 匹のマウスをつかった。発症マウスは軀幹筋肉の 10% 乳剤をつくり、中和試験法によってウイルス型を同定した。CA16 抗体は同型ウイルス標準株で免疫したマウス腹水をもちいた。同免疫腹水およびウイルス標準株は神奈川県衛生研究所小川博士らの御好意により分与された。

検体接種後 2 週間発症しなかったマウスは殺し軀幹筋肉の乳剤をつくり、次代継代を行なった。

細胞系としては FL, HeLa, Hep 2 の 3 細胞をもちいた。ウイルス分離法および分離株の同定は前報¹⁷⁾ に同じである。

3. 実験成績および考察

表 1 は 1970 年 5～7 月の間に、東京都内各地で発生した H・F・M・病患者材料からのウイルス分離試験

Table 1. Virus Isolation Made from Specimens of Suspicious Patients of Hand-Foot and Mouth Disease

Health center	Place of occurrence	Case No.	Age	Sex	Days of onset	Date of sampling and results of virus isolation	
						Throat swab	Feces
Tanashi	Kiyose baby farm	1		m	Apr. 27,	May 4,	—
		2		m	Apr. 27,	May 4,	—
		3		f	Apr. 24,	May 4,	—
		4		f	Apr. 23,	May 2,	—
		5		f	Apr. 23,	May 2,	—
Kojiya	Nishi-kojiya baby farm	6	2	m		June 1,	—
		7	2	f		June 1,	+
		8	2	f		June 1,	+
		9	3	f		June 1,	—
	Moriga-saki baby farm	10	2	m		June 1,	+
		11	2	m		June 1,	—
		12	3	m		June 1,	—
		13	4	f		June 1,	—
	The 3rd Kamata	14	1	f		June 1,	—
		15	4	f		June 1,	—

	baby	16		f			June 3,	—	
	farm	17		f			June 3,	—	
		18		f			June 3,	—	
Edogawa		19		m		June 8,	—		
Senju	Mitsu-	20	2	m	June 18,	June 25,	—	June 25,	—
	boshi	21	4	m	June 18,	June 25,	+	June 25,	+
	baby	22	4	f	June 18,	June 25,	+	June 25,	+
	farm	23	4	m	June 21,	June 25,	—	June 25,	+
		24	5	m	June 21,	June 25,	—	June 25,	—
Kanda		25	2	m				June 29,	+
	Kanda	26	2	m				June 29,	—
	baby	27	1	m				June 29,	+
	farm	28	2	m				June 29,	+
		29	1	m				June 29,	+
chuo		30	5	f				June 30,	+
	St.	31	4	m				June 30,	—
	Joseph	32	4	f				June 30,	—
	kinder-	33	4	f				June 30,	—
	garten	34	3	m				June 30,	—
Bokuto Hospital		35	1	m	July 12,			July 15,	+
								July 16,	+
		36	1	m	July 10,			July 15,	+
								July 16,	—
		37	0.11	f	July 13,			July 16,	+
								July 17,	+
								July 18,	+
		38	0.8	m	July 13,			July 16,	+
								July 17,	—
		39	1	f	July 11,			July 16,	—
								July 18,	—
								July 21,	—
								July 22,	+
								July 24,	+
								July 27,	—

Note : sign indicates the isolation of coxsackie A 16 virus, and the parenthesis indicate the isolation of other viruses. Keys for abbreviations ; m=male, f=female, CB 3=coxsackie B 3, CB 4=coxsackie B 4 and AD 6=adenovirus type 6.

成績であを。患児はいずれも就学前のものであった。

乳のみマウスをもちいた分離試験では、39症例54検体中16症例22検体からウイルスが検出され、同定試験の結果すべてがCA16であることが判った。検体種別にみると咽頭ぬぐい液では21検体中5検体から、糞便では33検体中17検体からCA16が検出された。

細胞培養試験では、39症例54検体中3症例5検体からウイルスを検出したが、CA16は検出されなかった。

症例22は Coxsackie B 群ウイルス (CB) 型3が、症例37は Adeno ウイルス型6 (AD6) が、症例39はCB4が検出された。これら3症例は乳のみマウスの試験でCA16を検出しているので混合感染の症例である。

症例37で、CA16は3日間連続して採取した検体のすべてから検出されたが、AD6は中1日の検体のみから検出された。

症例39では、CA16は3～4日間にわたって検出されたが、CB4は約1週にわたって検出された。

39症例中16症例からCA16が検出され、CB3、CB4、AD6は各1症例から検出されたが、いずれも上記の16症例中に含まれたことから主病因ウイルスはCA16であったと考える。われわれは都民間の腸内ウイルス汚染状況の変せんを追求する目的で、下水に出現するウイルスの逐月消長調査をつづけてきたが、その結果

からCB3、CB4両ウイルスによる汚染が4～10月にかけて濃厚であったので、H・F・M・病と関連づけられないCB3ないし4の感染症例が、これらの症例に混在しても不思議ではない。AD6についても下水中に出現したADの消長状況から同様の考察が成立つ。

39症例のウイルス検出陽性例について、ウイルス検出状況を、乳のみマウス、FL、HeLa、Hep2各細胞の培養系別にまとめると表2のようになる。

Table 2. Precise Results of Virus Isolation

Case No.	Specimen	Date of sampling	Virus isolations succeeded in, and at the passage of									
			Suckling mice			FL cells				HeLa cells		
			1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd	4th	1st	2nd	3rd
7	Throat swab	June 1	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
8	Throat swab	June 1	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
10	Throat swab	June 1	- + (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
21	Throat swab	June 25	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
	Feces	June 25	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
22	Throat swab	June 25	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
	Feces	June 25	- + (CA 16)			-	+	(CB 3)		-	-	+
23	Feces	June 25	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
25	Feces	June 29	- + (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
27	Feces	June 29	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
28	Feces	June 29	- + (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
29	Feces	June 29	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
30	Feces	June 30	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
35	Feces	July 15	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
	Feces	July 16	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
36	Feces	July 15	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
37	Feces	July 16	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
	Feces	July 17	+ (CA 16)			-	-	-	+	(AD 6)	-	-
	Feces	July 18	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
38	Feces	July 16	+ (CA 16)			-	-	-	-	-	-	-
39	Feces	July 18	- - -			-	+	CB 4)		-	+	(CB 4)
	Feces	July 22	+ (CA 16)			-	-	+(CB 4)		+	(CB 4)	-
	Feces	July 24	+ (CA 16)			-	-	+(CB 4)		+	(CB 4)	+

Keys for abbreviations; CA 16=coxsackie A 16, CB 3=coxsackie B 3, CB 4=coxsackie B 4 and AD 6=adenovirus type 6.

CA16は乳のみマウスの培養によってのみ検出され、FL、HeLa、Hep2の細胞培養では検出されなかった。CA16陽性検体22例中18例はマウス培養1代で、残りの4例は2代で検出された。

CB3、CB4およびAD6は細胞培養によって検出された。使用細胞種別にみると、FL細胞ではCB3 1株、CB4 3株、AD6 1株計5株が、HeLa細胞ではCB4 3株計3株が、Hep2細胞ではCB3

1株、CB4 3株計4株が検出された。継代数別にみるとCB3および4は培養1～3代で検出されたが、AD6は4代で検出された。

われわれは今回のウイルス分離試験において、CAウイルスは乳のみマウスの培養で、それ以外のウイルスを細胞培養系で検出しようと計画したため、CAウイルス検出に感度のよい細胞系を使用しなかった。したがって細胞培養によって主病因ウイルスであった

C A 16の検出は出来なかったが、検体の中に混在していたC B 3, C B 4, A D 6の各ウイルスを単離して検出するには好都合であった。

4. 結 論

1970年5～7月に、東京都内各地で発生したHand, Foot and Mouth Disease 患児からのウイルス分離試験を行なった。結論は次のとおりである。

- (1) 保育園ないし幼稚園児39症例中16症例からCoxsackie A型ウイルス型16を、検出した。16症例中に各1症例ずつのCoxsackie B群ウイルス型3, 同型4, Adens ウイルス型6の混合感染があった。今回の流行の主病因はCoxsackie A群ウイルス型16と考える。
- (2) ウイルス検出に、乳のみマウスおよびFL, HeLa, Hep 2の細胞培養をもちいたが、Coxsackie A群ウイルス型16は乳のみマウスによって、Coxsackie B群ウイルス型3, 同型4およびAdenoウイルス型6は培養細胞によって検出された。

文 献

- 1) G. R. Robinson, et al.: Canad. Med. Ass. J. 79, 615, (1958)
- 2) J. Alsop, et al.: Brit. Med. J. 5214(2), 1708,

(1960)

- 3) J. Russel, et al.: J. Pediat. 63, 508, (1963)
- 4) K. R. Clarke, et al.: Brit. Med. J. 5374(1), 58, (1964)
- 5) T. H. Flewett, et al.: J. Clin. Path., 16, 53, (1963)
- 6) N. Hijorth, et al.: Hautarzt, 17, 533, (1966)
- 7) 永井武夫, 他: 小児科診療., 30(3), 389, (1967)
- 8) 渡辺悌吉, 他: 日本小児科学会雑誌, 70 (10), 1005, (1966)
- 9) 布上 董, 他: 日本伝染病学会雑誌, 42(12), 354 (1969)
- 10) 新海 滋, 他: 皮膚臨床, 10, 363, (1968)
- 11) 中村兼次, 他: 小児科診療, 28, 1004, (1963)
- 12) 沢田啓司, 他: 日本小児科学会雑誌, 72(10), 1596 (1968)
- 13) 市川哲郎, 他: 小児科診療, 32, 161, (1969)
- 14) 渡辺三郎, 他: 小児科臨床, 20(1), 92, (1967)
- 15) 西脇宗一, 他: 日本都市医学会誌, 1～3, 15, (1971)
- 16) 本藤 良, 他: 臨床病理, XIX(6), 373, (1971)
- 17) 岩崎謙二, 他: 東京都立衛生研究所年報, 20, 35, (1968)

1970年東京都民の風疹 HI 抗体保有状況について

山 田 澄 夫* 岩 崎 謙 二*
柳 沢 靖 子* 佐々木 憲 子*

INCIDENCE OF HI ANTIBODY AGAINST RUBELLA VIRUS AMONG INHABITANTS OF TOKYO IN 1970

Sumio YAMADA, Kenji IWASAKI, Noriko SASAKI and Yasuko
YANAGISAWA

(Department of Virology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of public
Health)

Surveys were made on the incidence of circulating antibody against rubella virus among the healthy inhabitants of Tokyo. A total of 337 specimens collected on June 1970, at 3 different areas, 2 densely populated areas and 1 suburban area, each one of them had been consisted of 6 different age groups, were tested for the presence of rubella HI antibody by means of the microtiter procedure. Subsequently, the data obtained were compared with those of the previous year's one.

Results obtained are summarized as follows:

- 1) Incidence of rubella HI antibody which manifested by the 6 different age groups had indicated that the existence of the newly infected population among the age groups of less than 15 years of their age.
- 2) Geographical areal difference on the incidence of rubella HI antibody had indicated that the existence of the previous mass outbreak of rubella infection at 5 or 6 years interval, among young people who had been living in densely populated areas. On the contrary, in suburban area, it was likely that, there was a mild and gradual invasion of the virus among the young.
- 3) Difference observed on the data obtained in 1970, in comparison with that of 1969, had clearly indicated that the increase of the newly infected population, between the period of June 1969 and June 1970, among the age group of 13~15 years of their age.
- 4) No difference was observed on the incidence of rubella HI antibody by their sex, and more than 90% of the female population, between 20~49 years of age had had the antibody titer greater than 1:8.

* 東京都立衛生研究所 ウイルス部

1. 結 言

我々は前報において1969年における健康都民の風疹に対するHI抗体保有状況を調査し、風疹の流行実態解明への血清疫学的アプローチを試み興味ある知見を得た。

ひきつづいて、1970年における健康都民の風疹に対するHI抗体価を調査し分析検討したので以下報告する。

2. 実験材料および方法

被検血清：1970年6月に東京都内城南地区、江東地区、多摩地区の健康都民から採取した血清337件を試験に供した。城南、江東の両地区は都心である区部に

属し、多摩地区は都心を離れた郊外である。

採取血清は-20℃のデープフリーザ内に凍結保存した。

HI試験：前報と同様に昭和44年度厚生科学研究費、風疹の疫学研究班の検査術式にしたがって、マイクロタイター法によって実施した。HA抗原は市販品（東芝化学工業KK）を使用した。

3. 実験成績および考察

1) 年次別、地区別、年令階層別HI抗体保有状況について

HI価を測定した都民血清337件について、地区別および年令階層別に抗体価別の累積抗体保有率（陽性率）を整理するとTable1のようになる。

Table 1. Incidence of HI Antibody Against Rubella Virus in Healthy Tokyoites

	Age	No. of sera tested	Cumulative positive rate at the titer of greater than									
			1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096
Southern part of Tokyo	4—6	20	15.0%	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	10.0	5.0	0	0
	7—9	19	47.4	47.4	47.4	47.4	26.3	21.1	15.8	15.8	0	0
	10—12	15	66.7	66.7	66.7	60.0	60.0	53.3	46.7	46.7	33.3	6.7
	13—15	5	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	20.0	0
	20—30	20	85.0	85.0	80.0	80.0	55.0	35.0	25.0	20.0	15.0	10.0
	31—40	13	100.0	100.0	84.6	76.9	53.8	38.5	30.8	7.7	0	0
	41—50	8	100.0	100.0	100.0	75.0	25.0	12.5	12.5	12.5	0	0
	51—	15	93.3	86.7	80.0	73.3	73.3	46.7	33.3	26.7	13.3	13.3
Eastern part of Tokyo	4—6	20	25.0	25.0	25.0	25.0	20.0	15.0	10.5	5.0	5.0	0
	7—9	18	44.4	44.4	44.4	44.4	44.4	44.4	38.9	16.7	5.6	5.6
	10—12	17	52.9	52.9	52.9	52.9	52.9	41.2	23.5	11.8	11.8	11.8
	13—15	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20—30	22	90.9	90.9	86.4	63.6	54.5	36.4	18.2	4.5	4.5	4.5
	31—40	6	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	33.3	16.7	16.7	16.7	0
	41—50	9	100.0	100.0	88.9	66.7	44.4	33.3	22.2	0	0	0
	51—	24	100.0	100.0	87.5	83.3	58.3	41.7	25.0	16.7	12.5	8.3
Western part of Tokyo	4—6	10	20.0	20.0	20.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	0	0
	7—9	13	15.4	15.4	15.4	15.4	15.4	15.4	7.7	0	0	0
	10—12	19	31.6	31.6	31.6	31.6	21.1	21.1	15.8	10.5	5.3	0
	13—15	8	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	50.0	50.0	25.0	0
	20—30	17	94.1	94.1	94.1	88.2	70.6	52.9	47.1	17.6	5.9	5.9
	31—40	8	100.0	100.0	87.5	62.5	50.0	37.5	25.0	12.5	12.5	12.5
	41—50	6	100.0	100.0	100.0	100.0	66.7	16.7	0	0	0	0
	51—	22	100.0	95.5	86.4	81.8	59.1	40.9	27.3	13.6	9.1	4.5

表1の成績から年令階層別に3地区の抗体価別抗体保有率の平均値を算出して、正規確率紙上にプロット

し、それぞれの傾向線を画ぐとFig.1のようになる。

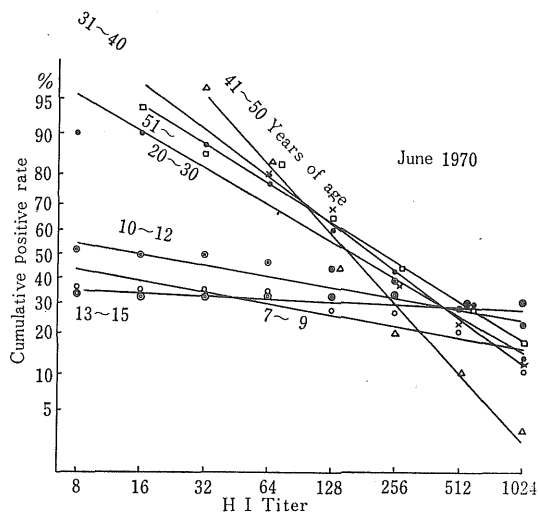


Fig. 1. Different in incidence of rubella HI antibody observed on healthy Tokyoites by their age groups.

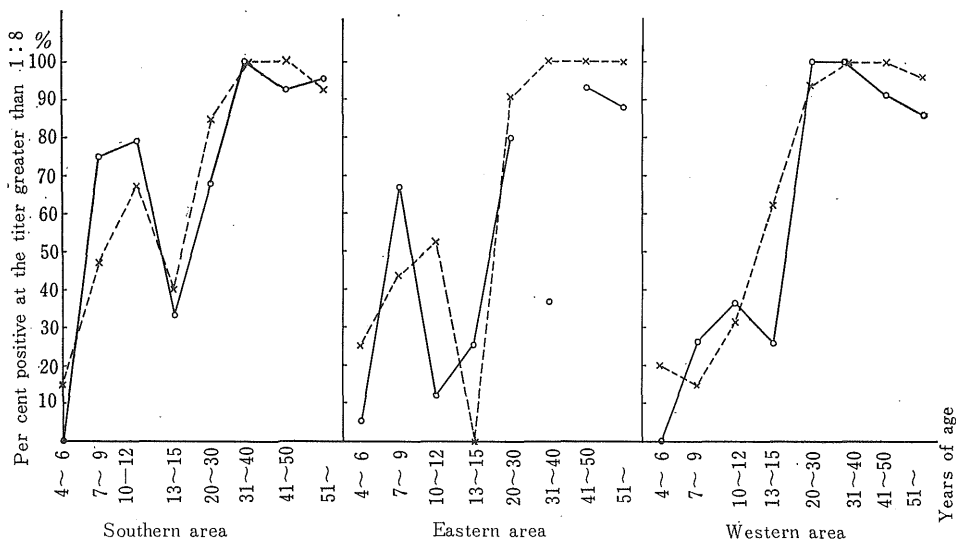


Fig. 2. Different incidence of rubella HI antibody observed on healthy Tokyoites, by their residential area and their age.

Note: ○——○ indicates the results of survey on June 1969, and ×——× indicates the one on June 1970.

都心に属する城南、城東の両地区では69年、70年とも2峰性を示し、郊外の多摩地区では70年は69年と異なって1峰性を示した。

地域差は70年も69年と同様に20才以上ではほとんど認められないが、7~9才と10~12才の年齢群に顕著に認められた。

すなわち、城南、江東地区の7~9才の抗体保有率

前年と同様に、年齢別抗体保有状況は内容的に15才以下のグループと20才以上のグループの2つに大別された。

すなわち、15才以下の各群は陽性例中高い抗体価を示した例数のしめる比率が高く、これに反して20才以上の各群ではその比率が低率であった。

この質的变化は最近の風疹感染者が15才以下の年齢層に集中していることを示したものと思う。

69年には7~9才、10~12才、13~15才の各群の抗体保有率の間にはかなりの量的な差がみられるが、70年になるとその差はなくなっている。これは経年的なずれによる被検者層の入れかわりによる変化のほか、69年6月以降の風疹ウイルス感染対象者の年齢移動も含んでいるものと思われる。

1969年および1970年における都民のHI抗体保有状況を地区別、年次別に考察するため抗体価 $\geq 1:8$ の年齢階層別抗体保有率を地区別にグラフ紙上にプロットすると、Fig. 2のようになる。

は47.4%、44%であり、10~12才は66.7%、52.9%であった。これに対し多摩地区の7~9才の抗体保有率は15.4%、10~12才は31.6%であった。

69年、70年の地区別抗体保有状況を比較すると大きな差は認めないが、69年の15才以下の第1のピークが70年になると各地区ともわずかながら高年齢層よりに移動している。

風疹流行の地域差はかなり顕著にでている。これは人口密度、交通事情、生活環境等による日常生活行動、患者との接触頻度等環境要因によってうける影響が大きいためであろう。そこで風疹の血清疫学を解析検討するときは比較的細かな地域差を充分考慮する必要のあることが確認された。

2) 性別の抗体保有状況について

男 169 例, 女 166 例の試験成績から抗体価 $\geq 1:8$ の保有率をグラフ紙上にプロットして性別の抗体保有傾向線を画がくと Fig. 3 のようになる。

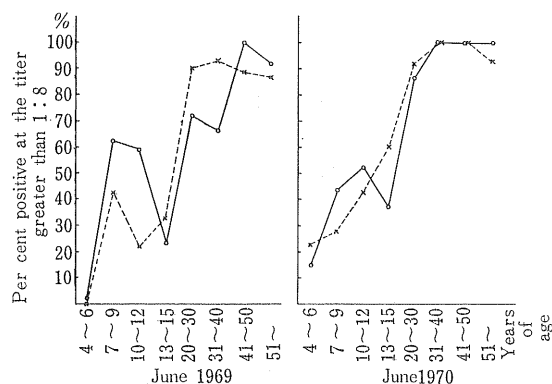


Fig. 3. Different incidence of rubella HI antibody observed on healthy Tokyoites by their sex and age.

Note: ○——○ indicates the results of survey on male, and ×——× indicates the one on female.

前年と同様に性別による顕著な差は認められなかった。また、各年齢層においても統計的に有意な差は認められなかった。

妊娠可能な年齢層における抗体保有率(陽性率)は90%以上を示し、前年と変らなかった。

4. 結 論

著者らは、1970年6月に採取した東京都内城南、江東、多摩3地区の健康都民血清例について、風疹ウイルスに対するHI抗体価を測定し、血清疫学的な角度から都内における風疹の流行実態解明へのアプローチを試みた。

1) 年齢階層別抗体保有状況は、69年と同様に70年においても15才以下と20才以上の間に内容的に明らか

な差が認められ、若年令層では陽性例中高い抗体価を示したものの比率が高かったが、20才以上では低い抗体価の比率が大であった。この内容的変化は最近の風疹感染対象者は15才以下に集中していることを示していると考ええる。

また、69年の調査時に15才以下の各年齢層間にみられた量的な変化が、70年にはみられなくなった。このことは69年調査時以降の風疹感染は対象者の年齢が高くなっていることを示しているものと思う。

2) 抗体保有状況の地域差は、69年と同様に15才以下で顕著であった。区部に属する城南、江東地区は都市型で抗体保有率は高く、郊外である多摩地区は低かった。

3) 抗体価 $\geq 1:8$ の年齢別抗体保有傾向線を画がくと、区部では2峰性、多摩では1峰性であった。また、69年の7~9才ないし10~12才にあったピークは、70年にはわずかながら高年齢層よりに移動しており、感染対象者の移動も含んでいるものと思われる。

4) 性別差は顕著な差が認められなかった。妊娠可能な年齢層における抗体陽性率は各地区とも90%以上を示した。

文 献

- 1) 岩崎謙二, 他: 東京都立衛生研究所研究年報, 21, 31 (1975)
- 2) 川上勝朗, 他: ウイルス, 16, 329 (1966)
- 3) 太田原美作雄, 他: 日伝染会誌, 41, 412 (1968)
- 4) 同 上 : 同 上, 41, 417 (1968)
- 5) 同 上 : 同 上, 41, 434 (1968)
- 6) 早川 泰, 他: 医学のあゆみ, 61, 227 (1969)
- 7) 平山宗宏, 他: 同 上, 61, 331 (1969)
- 8) 厚生科学研究費風疹の疫学班: 風疹HI試験の術式 (1969)
- 9) 吉川ひろみ, 他: 日伝染会誌, 44, 165 (1970)
- 10) 甲野礼作, 他: 麻疹, 風疹, 朝倉書店, 東京, 141, (1969)
- 11) 甲野礼作, 他: 麻疹, 風疹, 朝倉書店, 東京, 206, (1969)
- 12) 永山徳郎, 他: 麻疹, 風疹, 朝倉書店, 東京, 161, (1969)

1970年秋東京都内に発生したアデノウイルス感 染症の検索成績

坂 井 富士子* 岩 崎 謙 二* 山 田 澄 夫*
柳 沢 靖 子* 佐々木 憲 子* 伊 藤 忠 彦*
藪 内 清* 佐々木 路 子*

MASS OUTBREAKS OF TYPE 3 ADENOVIRUS INFECTION OCCURED ON FALL 1970 IN TOKYO

Fujiko SAKAI, Kenji IWASAKI, Sumio YAMADA, Yasuko YANAGISAWA,
Noriko SASAKI, Tadahiko ITO, Kiyoshi YABUUCHI and Michiko SASAKI

(Department of Virology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of public Health)

Summary

Results of laboratory diagnosis made on the specimens obtained from 77 patients, belonging to 14 primary schools, who had been involved in a mass outbreak of summer gripe which occurred on September 1970 in Tokyo are discussed, in comparison with the results of the sero-epidemiological studies made on the sera obtained from the inhabitants of Tokyo. At the same time, the results of the virus isolation made on the specimens obtained from the two sewage plants at certain intervals are also discussed.

Conclusions obtained are as follows:

- 1) Forty-six strains of type 3 adenovirus were isolated from the throat washings of the 77 patients consisted of 14 groups, which had been brought in to the laboratory between the period of 14-26th of September.
- 2) It was found out that most suitable cells for the isolation of type 3 adenovirus was Hep2 cells, and followed by FL and HeLa cells.
- 3) Retrospective sero-diagnosis made on the individuals by means of CF, HI and NT techniques revealed, that 12 out of 14 groups were type 3 adenovirus infections.
- 4) Results of the sero-epidemiological surveys made on the sera collected from the inhabitants of Tokyo, at the period of May-June and September-December, highly supported the above mentioned consequences, that there was a relatively large scale of epidemic due to type 3 adenovirus infection, particularly among young people, some around the period of latter sampling.
- 5) Dissemination of type 3 adenovirus in Tokyo was proved by the isolations of the virus from the sewages collected on August, September and October at Ochiai Sewage Plant and from the sewages collected on October and November at Sunamachi Sewage Plant respectively.

* 東京都立衛生研究所 ウイルス部

1. 緒 言

1970年9月に東京都内において主として学童間に咽頭、結膜に症状を呈する集団かぜが流行した。われわれは患者うがい水よりのウイルス分離試験および血清学的検査の結果、本流行の主因はアデノ3型ウイルスによるものであることを確認した。以下この流行を中心にウイルスおよび血清疫学的背景についても調査し、若干の考察を加えたので報告する。

2. 検査材料および方法

1) 患者材料についての検査

ウイルス分離のためのうがい水および血清学的検査のための急性期、回復期のペア血清の処理および検査術式はすべて著者ら⁽¹⁾がおこなっているインフルエンザ等呼吸器系ウイルス疾患を対象とした場合に準じたのでその詳細については省略するが、ウイルス分離試験はHep 2, F L, HeLaの各継代細胞、サル腎初代細胞およびふ化鶏卵培養法によりおこなった。血清学的検査については補体結合（以下C Fと略す）反応はインフルエンザA型、B型およびアデノウイルスのS抗原についておこない、赤血球凝集抑制（以下HIと略す）反応はアデノ3型、7型ウイルスおよびパラインフルエンザ1, 2, 3型ウイルスについておこなった。アデノウイルスに対するHI反応の術式については次項2の血清疫学的検査における方法に述べるのと同じである。中和（以下NTと略す）試験はアデノ3型と7型ウイルスに対しておこない。10TCID₅₀のウイルス量の50%感染阻止をおこす血清希釈倍数をもってNT抗体価とした。すべての血清学的検査の診断基準は回復期血清の抗体価が急性期血清の抗体価の4倍以上を示した場合を抗体の有意上昇（陽性）と判定した。

2) 血清疫学的検査

都内数か所の保健所を通じて年令別に集められた血清で1970年5～6月に採血したもの220例、同年9～12月に採血したもの151例についてそれぞれアデノ3型および7型ウイルスに対するアフリカミドリザル赤血球によるHI反応をおこなった。HI反応の方法は豊島⁽²⁾の記載に準じたが、若干異つた点もあるので術式について述べる。抗原はアデノ3型および7型ウイルスをHeLe細胞に培養し、CPEが充分起った時点で1回凍結融解をしたのち培養液を集め、遠心して細胞成分を除いたものを用いた。抗原は同一Lotのものを少量づつ分注、密栓して-20°Cに保存し使用の都

度必要量のみ取り出し、凍結融解の繰返しをさけた。被検血清中の非特異抑制物質の除去はカオリン処理によった。すなわち血清0.1mlに生食水0.4mlを加えさらに25%カオリン加生食水0.5mlを加えてよく混和し、室温に60分放置したのち3,000 r/m 20分遠心しその上清を56°C 30分加温非働化した。さらに50%アフリカミドリザル赤血球0.1mlを加えて混和し氷水中に1時間放置後遠心して血清中の赤血球に対する凝集素を除き、その上清をもって10倍希釈血清として本試験に使用した。なおアフリカミドリザル赤血球のアデノウイルスに対する凝集価はサルの個体差があるので、あらかじめ凝集価の高いものをえらんで使用した。HI本試験はmicro tray (Linbro社製96穴)でおこなった。すなわちあらかじめ別に10～160倍まで2段階希釈した血清を0.02mlのduopperでmicro trayに1滴宛滴下し2列の血清希釈列を作り、8凝集単位に調製した3型および7型ウイルス抗原をそれぞれの血清希釈列に1滴づゝ加え、マイクロミキサーで混和、室温で30分間反応させたのち1%サル赤血球浮遊液2滴宛を加えて混和し37°Cに1時間放置後管底像により凝集の有無を判定し完全凝集阻止を示した血清の最高希釈倍数をもってその血清のHI価とした。

3) 下水サンプルよりのウイルス分離試験

検体採取場所は東京都下水道局落合処理場および同砂町処理場で、それぞれ毎月1回一定時期に下水サンプルを採取した。ウイルス分離、同定法は既報^(3,4)の通りであるので省略するが、本報では生下水よりのアデノウイルス検出に関してのみ報告する。

3. 実験成績および考察

Table 1は1970年9月14日より同26日までの間に当研究所に送付された集団かぜ患者材料の検査成績の概要である。期間中14集団（小学校13、中学校1）計77例のうがい水よりアデノ3型ウイルス46株、同7型ウイルス1株、その他コクサツキーB群3型ウイルス6株を分離した。インフルエンザウイルスは1例も分離されなかった。患者ペア血清の血清学的検査ではインフルエンザ、パラインフルエンザウイルスに対する抗体の有意上昇を認めたものは1例もなかったが、アデノウイルスに関しては群共通のC F、3型に対するHIおよびNT試験で多くの抗体の有意上昇例を認めており、ウイルス分離試験および血清学的検査の成績を総合すると検査対象とした患者77例のうち54例がアデノ3型ウイルス感染症と診断された。また集団としては14集団中12集団がアデノ3型ウイルスによるもの

Table 1 Results of Laboratory Test Made on the Specimens Obtained from the Patients, Who Had Been Involved in the Mass Outbreaks of Summer Grippe on September 1970 in Tokyo

Group No.	Specimens recieved on	Place of occurrence	No. of Throat Washings recieved	No. of positives by virus isolation test			No. of individuals serologically confirmed as adenovirus infection by				
				type 3	type 7	type B-3	CF	HI		NT	
				adeno.	adeno.	coxsakie		type 3	type 7	type 3	type 7
1	Sep. 14	Shibuya	5	5	0	0	5/5	4/4	0/4	4/5	0/5
2	17	Itsukaichi	5	3	1	0	3/4	3/3	1/3	2/4	0/4
3	17	Honjo	5	3	0	0	2/5	3/3	0/3	4/4	1/4
4	17	Koishikawa	6	4	0	0	4/5	3/4	0/4	3/4	0/4
5	17	Fuchū	8	5	0	0					
6	17	Nakano	6	4	0	0	4/6	5/6	0/6	5/6	1/6
7	18	Umegaoka	2	2	0	0	3/4	4/4	0/4	4/4	1/4
8	15-20	Suginaminishi	12	8	0	1					
9	21	Hachioji	5	5	0	0	5/5	4/5	1/5	5/5	2/5
10	21	Edogawa	5	3	0	0	4/5	5/5	1/5	4/5	0/5
11	21	Takaido	3	2	0	0					
12	24, 25	Takaido	6	0	0	5					
13	26	Toshima nagasaki	5	0	0	0	0/4	0/5	0/5	1/4	0/4
14	26	Machida	4	2	0	0	2/4	3/4	0/4	2/4	1/4
sum			77	46	1	6	32/47	34/43	3/43	34/45	6/45

であり、1 集団はコクサツキー B 群 3 型ウイルスによるものであることが確認できた。残りの 1 集団についてはわれわれが検査した範囲ではその原因を明らかにすることができなかった。

Table 2. Differences Observed on the Recovery of Adenovirus from the Throat Washings by 3 Cell Lines Used

Virus isolation succeeded by			No. of virus strains isolated
Hep-2	FL	HeLa	
+	+	+	16
+	+	-	6
+	-	+	0
+	-	-	24
-	+	+	0
-	+	-	0
-	-	+	0
Total			46

Table 2 は今回の集団発生より分離した 46 株のアデノ 3 型ウイルスの検出率を使用した細胞の種類別に比較したものである。すなわち Hep 2, FL, HeLa 細胞

の 3 者を比較すると、Hep 2 細胞では 46 株すべてが分離されている。しかもそのうち 24 株（約 52%）は FL, HeLa 細胞では分離できず、Hep 2 細胞でのみ分離され、Hep 2 細胞が最も検出率の高かったことを示している。次いで FL 細胞, HeLa 細胞の順となっている。

Table 3. Evaluation of the Diagnostic Value of 3 Different Serological Procedures Used for the Detection of Specified Antibodies Against Type 3 Adenovirus

Serological procedures used			Results of virus isolation	No. of Cases diagnosed
CF	HI	NT		
+	+	+	+	22
+	+	-	+	3
+	-	+	+	1
+	+	+	-	1
-	+	+	-	3
-	+	-	-	2
-	-	+	-	2
Total specimens tested				34

Table 3 はアデノ 3 型ウイルス感染症と診断されたもののうち、うがい水よりのウイルス分離試験と同時にペア血清について群共通の C F 反応および 3 型に対する HI, NT 反応を共に起こない得た患者 34 例について、この 3 血清反応の診断的価値を比較したものである。C F 反応陽性例は 27 例(約 80%)で、そのすべてが 3 型に対する HI または NT 反応の両方があるいはいずれか一方が陽性であって、今回の様に多数のアデノ 3 型ウイルスが分離されているような集団発生の場合は、最も手軽な群共通の C F 反応のみで一応判定してさしつかえないと云えよう。しかしながら C F 反応で有意上昇を認められない例でも HI あるいは N

T 反応で明らかに上昇しているものがあり、また散発例の場合も考えれば 3 血清反応を共に起こなうことが理想的ではある。しかし NT 反応は手数がかり、また判定までかなりの日時を要するので、まず C F 反応とあわせて手技も比較的簡単な HI 反応で、しかもアデノでは最も普遍的な 3 型ウイルスで一応チェックすることは大いに有効な手段と云えよう。また C F 反応で有意上昇を示さなかった 7 例中 5 例は急性期と見なされた時期においてすでに 32 倍以上の C F 価を有しておりこのことから C F 抗体は HI あるいは NT 抗体よりも早期に上昇することが推測できよう。

Table 4. Surverys Made on the Incidence of HI Antibody Against Type 3 Adenovirus, in the Sera of Inhabitants of Tokyo (1970)

Grouping made by their ages	May~June					Sept. ~Dec.				
	Cumulative incidence at the titers of greater than					Cumulative incidence at the titers of greater than				
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160
0.1~6 years of age	13/57 (22.8)	5/57 (8.8)	3/57 (5.3)	1/57 (1.8)	1/57 (1.8)	18/46 (31.1)	16/46 (34.8)	12/46 (26.1)	9/46 (19.6)	3/46 (6.5)
7~15 years of age	37/116 (31.9)	26/116 (22.4)	16/116 (13.8)	11/116 (9.5)	2/116 (1.7)	18/62 (29.0)	11/62 (17.7)	6/62 (9.7)	2/62 (3.2)	
16~30 years of age	3/47 (6.4)	2/47 (4.3)	1/47 (2.1)	1/47 (2.1)		13/43 (30.2)	11/43 (25.3)	2/43 (4.7)		
Average	53/220 (24.1)	33/220 (15.0)	20/220 (9.1)	13/220 (5.9)	3/220 (1.4)	49/151 (32.5)	38/151 (18.5)	20/151 (13.2)	11/151 (7.2)	3/151 (1.3)

Note: Parenthesis indicates per cent positive.

Table 5. Surveys Made on the Incidence of HI Antibody Against Type 7 Adenovirus, in the Sera of Inhabitants of Tokyo (1970)

Grouping made by their ages	May~June					Sept. ~Dec.				
	Cumulative incidence at the titers of greater than					Cumulative incidence at the titers of greater than				
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160
0.1~6 years of age	7/57 (12.3)	2/57 (3.5)	1/57 (1.8)	1/57 (1.8)		8/46 (17.4)	2/46 (4.3)			
7~15 years of age	13/116 (12.2)	6/116 (5.2)	2/116 (1.7)			18/62 (29.0)	4/62 (6.5)	2/62 (3.2)		
16~30 years of age	6/47 (12.8)	3/47 (6.4)				11/43 (25.3)	7/43 (16.3)	2/43 (4.7)	1/43 (2.3)	
Average	26/220 (11.8)	11/220 (5.0)	3/220 (1.4)	1/220 (0.4)		37/151 (24.5)	13/151 (8.6)	4/151 (2.7)	1/151 (0.7)	

Note: Parenthesis indicates per cent positive.

Table 4 および Table 5 はこの間の血清疫学的背景を調べるためアデノ 3 型および 7 型ウイルスに対する都民の HI 抗体価を測定したもので累積陽性率をもってあらわしたものである。すなわち Table 4 の 3 型についてみると各年令平均してみても流行前とみなされる 5～6 月に採取した血清よりも 9～12 月に採取した血清の方が抗体の陽性率が高くなっているが、年令階層別にみると特に 0～6 才の階層において高い抗体価における陽性率の上昇が著しい。このことからわれわ

れの検査対象となった患者は殆んどが学童であったが実際にはさらに低い年令層により多くの患者の発生があったのではないかと推測される。これに反して対照の意味で測定した 7 型ウイルスに対する抗体保有率 (Table 5) の場合は、低抗体価においては後期の血清の方が若干陽性率が高くなっているが高い抗体価に関しては各年令層共、前後の血清の間に著明な差は認められなかった。

Table 6. Isolation of Adenoviruses from the Specimens of Patients and the Sewage

(1970)

		Type of adenovirus isolated	Time of sampling											
			Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
Throat washings of patients		type 3	0/56	0/12	0/1	3/16	0/1	2/22	2/25	0/19	46/87	0/9	0/15	0/17
		type 7	0/56	0/12	0/1	0/16	0/1	0/22	0/25	0/19	1/87	0/9	0/15	0/17
Sewage samples	Ochiai Sewage Plant	type 3	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—
		type 7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		miscellaneous	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	+	+
	Sunamachi Sewage Plant	type 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—
		type 7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		miscellaneous	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—

Note: Denominator indicates the number of samples, and numerator indicates number of positives.
Sewage samples were taken at the plants once a month interval.

Table 6 は1970年における患者うがい水よりのアデノ 3 型および 7 型ウイルスの検出状況と下水サンプルよりのアデノウイルス検出状況とを月別に対比させたものである。患者うがい水よりのアデノ 3 型ウイルスは 9 月における集団発生多発時以外すなわち 4 月, 6 月, 7 月にも散発例の患者より検出されているが, 下水サンプルよりは落合処理場の場合は 8 月, 9 月, 10 月に, また砂町処理場の場合は 10 月および 11 月に限って同ウイルスが検出されている。下水サンプルよりのウイルス分離陽性ということは現在われわれがおこなっている方法では厳密には定性的な意味しかもたないわけであるが患者の多発とあわせて考えるとこの時期にはアデノ 3 型ウイルスのかなり濃厚な分布のあったことの一つの裏付になるものと考えられよう。なおアデノ 7 型ウイルスは患者うがい水 1 例より検出されているが, 下水サンプルよりは 1970 年には一度も検出し得なかった。

4. 結 論

1970 年 9 月に東京都内に集団かぜが多発し, 患者材料についてウイルス学的, 血清学的検査をおこない, また一方下水サンプルおよび年令別都民血清についてウイルス学的ならびに血清学的疫学調査をおこなった結果次の結論を得た。

1) 9 月 14 日より 26 日までの間に 14 集団計 77 例の患者うがい水よりアデノ 3 型ウイルス 46 株を分離し, また血清学的試験によっても同ウイルスに対し多くの抗体の有意上昇例を認め, 12 集団はアデノ 3 型ウイルスによる集団かぜであることが確認された。なお残り 2 集団中 1 集団はコクサツキー B 群 3 型ウイルスによるものであることが判明した。

2) 当研究所でおこなった細胞種類別アデノウイルス検出率は Hep 2, FL, HeLa の各細胞を比較すると Hep 2 細胞が最も高く, 次いで FL, HeLa 細胞の順であった。

3) 1970年5～6月と9～12月に採血した都民血清のアデノ3型ウイルスに対するHI抗体の保有率は後期の方が全般的に高く、特に0～6才の年齢層において高い抗体価の陽性率の上昇が著明であった。

4) 1970年における下水サンプル中のアデノ3型ウイルスは落合処理場では8月、9月、10月に、また砂町処理場では10月、11月に限って検出された。

文 献

- 1) 柏木義勝, 他: 都衛研年報 (19), 67 (1967)
- 2) 豊島久真男: ウイルス実験室診断法臨床ウイルス談話会編 栄研学術叢書第Ⅲ集 109 (1964)
- 3) 岩崎謙二, 他: 都衛研年報 (20), 35 (1968)
- 4) 岩崎謙二, 他: モダンメディア (16), 60 (1970)

1970年度東京都における疑似日本脳炎患者 の血清学的検索成績および疫学的研究

藪 内 清* 佐々木 路子* 坂 井 富士子*
伊 藤 忠 彦* 岩 崎 謙 二* 根 津 尚 光*
渡 辺 賢 哉** 森 脇 康 一** 加 藤 孝 雄**

ECOLOGICAL SURVEY OF JAPANESE ENCEPHALITIS VIRUS AND SEROLOGICAL CONFIRMATION OF ITS INFECTION ON SUSPECTED PATIENTS IN TOKYO IN 1970

Kiyoshi YABUUCHI, Michiko SASAKI, Fujiko SAKAI,
Tadahiko ITO, Kenji IWASAKI, Naomitsu NEZU,
Kenya WATANABE, Yasukazu MORIWAKI and Takao KATO

(Department of Virology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health.)

(Metropolitan Tama Meat Inspection Station.)

(Received Aug. 31, 1971)

Summary

A total of 42 sera obtained from 15 suspicious patients of Japanese encephalitis (JE) were studied serologically by means of CF and HI techniques. On the other hand, ecological survey of JE virus and of its mode of dissemination in Tokyo district were made by setting mosquito traps and sentinel rabbits at several stations. Simultaneously, observations were made on the appearance of JE HI antibody in swine sera collected at the slaughter house at a week interval.

Results obtained are summarized as follows :

- 1) None of the suspected patients were diagnosed as JE infection throughout the investigation period.
- 2) Appearance of JE HI antibody in swine sera was first observed on the specimens collected at 14th of September, and it was a latest record throughout the past 8 years investigation. A total of 8 strains of JE virus were isolated from the sera.
- 3) All the sentinel rabbits placed at several stations had not show any response against JE virus, and no JE virus was isolated from the mosquito trapped at the stations.
- 4) Remarkable decrease was observed lately in the number of human JE infection, however, continuous effort should be paid for the control of the disease, if there is some evidence on the dissemination of JE virus in the district.

* 東京都立衛生研究所ウイルス部

** 東京都多摩食肉衛生検査所

1. 緒 言

ここ数年来、東京都における日本脳炎（以下日脳と略す）患者の発生は激減の一途をたどっているが、本1970年は昨年にひきつづき真性患者の発生は皆無であった。

このことは、1965年以降厚生省を中心とした疫学的研究が全国的規模で統一して実施され、その疫学の実態がある程度明らかにされ、これにもとづいて、各種の防疫対策を推しすすめた結果であろう。しかし、日脳という疾患の性質上、その流行は自然界の諸要因に左右されることが多く、また流行のメカニズムについてもいまなお不明の点が多いので、今後も厳重に監視を続ける必要がある。

われわれは、1962年以来、本都における日脳の疫学的研究¹⁻⁸⁾を実施してきたが、本1970年も疑似日脳患者血清について血清学的検査をおこなうと共に、と場ブタの日脳抗体保有状況ならびにコガタアカイエカの消長およびおとり動物などについて調査したので、その概要を報告する。

2. 材料および方法

1) 患 者 血 清

1970年7月1日から12月8日までの間に、都内各伝染病院から送付された、疑似日脳患者血清15名分延42件で、検査を実施するまで-20℃に凍結保存した。

2) ウ イ ル ス 抗 原

すべて前報⁹⁾に準じた。

3) CF 反応, 血球凝集抑制(HI)反応およびブタ血清

すべて既報⁷⁾に準じた。

4) コガタアカイエカの採集

当研究所鶏舎と上野動物園でライトトラップを用いて採集した。すなわち、6月上旬から10月上旬まで毎週1回（7月、8月は週2回）夕方17時から翌朝7時まで運転し、採集したカはクロロホルム麻酔したのち、分類し-70℃に保存した。

5) お と り 動 物

上記のカ採集場所にウサギを、都下武蔵野市にウサギ、ブタおよびウシをそれぞれおとり動物として飼育し、6月上旬から10月中旬まで毎週1回採血して、HI抗体価を測定した。

なお、これらのおとり動物には、すべてあらかじめ日脳HI抗体を保有しないことを確かめた個体を使用した。

6) 日脳ウイルス分離同定試験

と場ブタ血清の一部（7月下旬から11月下旬までに採血したものの中で、HI抗体価10倍以下のもの）、およびコガタアカイエカの雌について、乳のみマウスを使用して日脳ウイルス分離試験をおこなった。分離・同定試験は大谷ら⁹⁾の方法に準じた。

3. 検査成績および考察

1) 疑似日脳患者の血清学的検索成績

成績はTable 1の通りである。これを日脳研究会の診断基準⁷⁾に従って判定した結果、被検査者15名すべて日脳罹患は否定された。また、当部保有のウイルス抗原を使用し、無菌性髄膜炎を起す可能性のあるものについてCF反応を実施したが、これらに対してもいづれも血中抗体の有意上昇はみとめられず、その病因を明らかにすることはできなかった。

2) と場ブタのHI抗体保有状況

1970年度立川と場において採血した都内産のブタの経時的日脳HI抗体保有状況はTable 2の通りである。すなわち、8月31日採血分の中からはじめて2ME感受性抗体保有ブタが1頭検出され、東京地区のブタ社会での汚染開始が示唆された。それ以後、次第に抗体保有率が上昇し9月14日には50%となったが、一気に100%近くになる様な急激な上昇はみられず、常に30~55%を上下するに止まった。

また、9月7日、14日、21日採血分のブタ血清からそれぞれ2株、9月28日、10月12日採血分からそれぞれ1株、計8株の日脳ウイルスを分離同定した。

東京都におけると場ブタのHI抗体保有状況を年次別に比較するため、JaGA¹⁰⁾01株に対するHI価 $\geq 1:10$ の陽性率について図示すると、Fig 1の様になる。これをみると、本1970年は過去8ケ年の中で最も上昇時期がおそかった。

また、本都におけると場ブタのHI抗体保有状況は1967年を境として大きく変化していることがわかる。すなわち、1967年までは抗体保有率の上昇は遅速の差こそあれ、約1~2週間で100%近くに急激に上昇し、以後常に90%前後の高い保有率を維持し続けた。しかし、1968年以降になると、上昇時期も非常におそくなり、その上昇程度も緩慢で、かつ低率をしめし、上下の変動が著しくなっている。

このことから、真性患者発生数の激減と考えあわせると、最近の本都における日脳ウイルスの散布が希薄になっていると推測される。

Table 1. Results of Serological Test Made on JE Suspected Patients (1970)

No. (1970)	Name	Age	Sex	Date of bleeding (1970)	Days after onset	Antibody titers															
						JE			GF												
						HI		CF	Polio			Coxsackie B					mumps	Adeno	ECHO-6	Herpes	
						Naka- yama	JaGA Ar ol		1	2	3	1	2	3	4	5					
534	M. K	20	f	Apr. 24	12	<10	<10	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	
535	"	"	"	June. 15	64	<10	<10	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	
536	O. Y	23	m	May. 28	6	<10	<10	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	
537	"	"	"	June. 2	11	<10	<10	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	
538	"	"	"	" 6	15	<10	<10	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	
539	"	"	"	" 16	25	<10	<10	< 4	AC												
540	T. M	2	f	June. 9	3	<01	<10	< 4	ND												
541	"	"	"	" 22	16	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	
542	"	"	"	" 29	23	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	
644	S. H	8	m	July. 20	16	80	80	< 4	< 8	< 8	< 8	16	< 8	< 8	< 8	16	< 8	< 8	< 8	< 8	
645	"	"	"	Aug. 5	32	80	80	< 4	< 8	< 8	< 8	16	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	
646	"	"	"	" 14	41	80	80	< 4	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	
638	M. T	33	m	July. 21	10	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	16	< 8	< 8	
639	"	"	"	" 31	20	<10	<10	< 4	< 8	8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	16	< 8	< 8	
640	"	"	"	Aug. 17	37	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	16	< 8	< 8	
798	Y. K	4	m	Sep. 8	6	80	320	< 4	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	
799	"	"	"	" 14	12	80	320	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	
800	"	"	"	" 24	22	80	160	< 4	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	
823	N. M	42	m	July. 28	9	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	
824	"	"	"	Aug. 7	19	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	8	
825	"	"	"	" 15	27	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	8	
827	M. M	27	f	Aug. 20	11	<10	20	< 4	< 8	8	8	16	< 8	< 8	< 8	8	< 8	16	< 8	8	
828	"	"	"	Sep. 7	29	<10	20	< 4	< 8	< 8	< 8	16	< 8	< 8	< 8	8	< 8	16	< 8	16	
830	K. N	23	m	Sep. 11	13	40	160	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	
831	"	"	"	" 22	24	40	160	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	
888	T. S	13	m	Oct. 25	4	10	80	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	8	
889	"	"	"	Nov. 7	17	10	80	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	16	
890	"	"	"	" 26	26	10	80	< 4	AG												
891	M. N	21	m	Oct. 29	26	<10	40	< 4	AG												
892	"	"	"	Nov. 7	35	<10	40	< 4	"												
893	"	"	"	" 26	54	<10	20	< 4	"												
603	S. H	10	m	July. 27	11	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	16	< 8	8	
604	"	"	"	Aug. 3	16	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	16	< 8	8	
605	"	"	"	" 10	23	<10	<10	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	16	< 8	16	
568	※ K. M	26	m	Aug. 23	6	<10	20	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	
503	U. M	1.2	f	June. 19	16	<10	<10	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	
504	"	"	"	" 23	20	<10	<10	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	
576	M. T	7	m	July. 29	6	<10	<10	< 4	8	8	8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	8	< 8	< 8	< 8	

* Virus isolation made from patient brain showed negative result.

Keys for abbreviation : AG=Anticomplemental reactions, ND=Not done, m=male, f=female.

Table 2. Distribution of JE JaGAR 01 Antibody in Swine Sera, Collected at Tachikawa Slaughter House (1970)

Date of bleeding	HI antibody titer										Sum	Positive rate($\geq 1:10$)	2ME-Sensitive rate	Virus * isolation
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≥ 2560				
Jan. 12	12	1	1	3	1		1			4	23	48(%)	0(%)	
Feb. 2	16	2		1	1	1		1			22	27	0	
Mar. 1	12			1			1		1	7	22	46	0	
Apr. 13	19		1	1						1	22	14	0	
May 4	22										22	0	0	
25	22										22	0	0	
June 8	18							2		2	22	18	0	
22	22										22	0	0	
29	22										22	0	0	
July 6	22										22	0	0	
13	21						1				22	5	0	
20	22										22	0	0	0/22
27	22										22	0	0	0/22
Aug. 3	22										22	0	0	0/22
10	22										22	0	0	0/22
17	19					1				2	22	14	0	0/19
24	22										22	0	0	0/22
31	21								1		22	5	100	0/21
Sep. 7	22										22	0	0	2/22
14	11							2		9	22	50	55	2/11
21	14						1	1		6	22	36	38	2/14
28	14								2	6	22	36	38	1/14
Oct. 5	12									10	22	45	20	0/12
12	20									2	22	9	0	1/20
19	10							1	2	9	22	55	25	0/10
26	10				1	1	5	4	1		22	55	0	0/10
Nov. 2	17						1	3	1		22	23	0	0/17
30	9						1	5	5	2	22	59	0	0/9

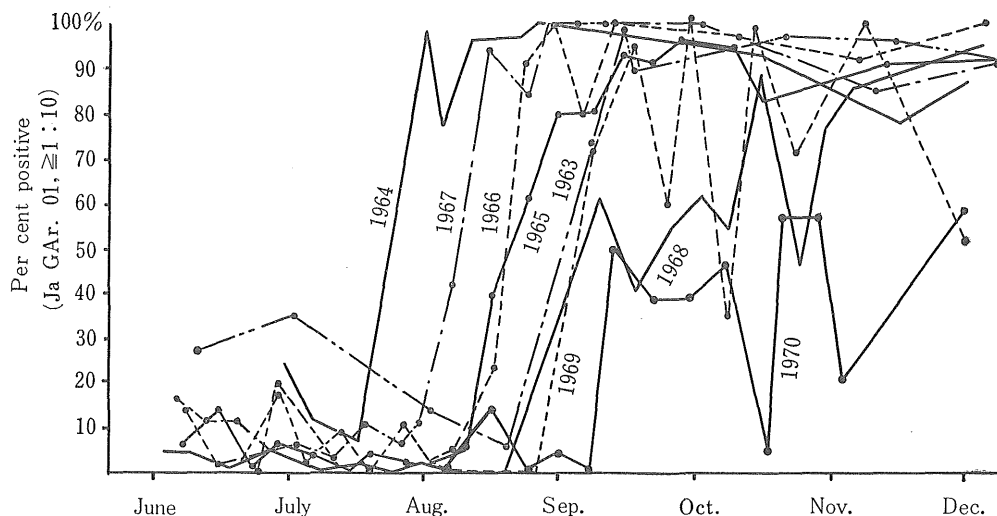
* Virus isolations were limitedly made on the specimen which showed less than 1 : 10 in their HI titer.

この傾向は全国的にもみられる。すなわち、厚生省は1966年から、伝染病流行予測事業の一環として、と場ブタのHI抗体保有率を基礎とした一定の基準¹⁰⁾に従い、日脳汚染警報を出して、当該地区の防疫強化を促してきたが、1969年度はこの汚染警報の発令されなかった所は、北海道、青森、岩手、山形の4道県のみであったが、本1970年度は、北海道、青森、岩手、秋田、山形、福島、群馬、埼玉、東京、神奈川、新潟、富山、石川、長野、島根、岡山の16都道府県におよんだ。

3) コガタアカイエカの消長およびおとり動物の調査

前述のように、と場ブタのHI抗体保有状況を経時的に調査することは、その地域における日脳ウイルスの侵いんをは握する上に重要なことである。しかし、東京都の場合三多摩地区はこれによりは握できるが、飼育ブタの全く存在しない都心部の状態はつかめない。そこで、都心のウイルス散布状態を調査する目的で当研究所構内および上野動物園で、コガタアカイエカを採集すると共に (Table 3), おとりウサギをお

Fig. 1 Comparison of yearly incidence of JE HI antibody in swine sera collected at a slaughtered house.



いてHI抗体出現状況を調査した。また、都下武蔵野市におとり動物を飼育してあわせ調査した。特に上野動物園は一般とは全く異なった特異な環境にあるので、興味をもって実施した。

その結果、力からは全期間にわたって日脳ウイルスは分離できなかったし、おとり動物についても全例共抗体価の上昇をみとめなかった。なお、力についての詳細は別に報告^{11,12)}したので省略する。

都心におけるおとり動物については、既報⁷⁾のごとく、1968年までは毎年HI抗体の上昇をみとめていたが、1969年からは抗体上昇がみられず、また、コガタアカイエカの採集数も年毎に減少している。

最近のように真性患者の発生が極端に減少してくると、ただ単に患者数だけをみていたのではあたかもその地域にはもはやウイルスが存在しないのではないかという錯覚におちいる危険がある。しかし、以上述べた実験成績からみると、東京地区における日脳ウイルスの浸いんは、ここ数年来その散布が希薄になっていることは事実であるが、ヒトにおける患者発生には関係なく、毎年確実に存在していることが判る。従って、今後も従来おこなってきたような、都民の感受性調査¹³⁾、感染源対策、力の徹底的駆除、予防接種などの防疫対策をゆるめることなく強力におしすすめ、厳重に監視してゆく必要があると考える。

4. 結 論

1970年度東京都における疑似日脳患者の血清学的検

索および疫学的調査をおこない、次の結論を得た。

1) 被検査者15名中血清学的に真性日脳と診断されたものは皆無であった。

2) と場ブタ血清の日脳HI抗体保有率の陽転時期は過去8ケ年の中で最もおそく、9月14日であった。また、ブタ血清より8株の日脳ウイルスを分離同定した。

3) おとり動物については、全例全期間にわたって日脳HI抗体の上昇はみられず、またコガタアカイエカからもウイルスは分離されなかった。

4) 最近東京都における真性日脳患者は激減しているが、種々の疫学的調査の結果、東京地区における日脳ウイルスの浸いんは、患者数とは関係なく毎年確実に存在しているので、今後もこのような疫学的調査を続け、厳重に監視してゆく必要がある。

謝辞： 本調査をおこなうに当り、多大のご援助とご協力を賜った、東京都衛生局防疫課、東京都上野動物園飼育課の関係各位に深甚の謝意を表する。また、おとり動物については日本獣医畜産大学安藤泰正博士のご協力によった。記して謝意を表する。

文 献

- 1) 根津尚光, 他: 都衛研年報, (15), 160 (1963)
- 2) 根津尚光, 他: 都衛研年報, (16), 52 (1964)
- 3) 根津尚光, 他: 都衛研年報, (17), 76 (1965)
- 4) 村上 一: 都衛研事業報告, (204), 1 (1966)
- 5) 根津尚光, 他: 都衛研年報, (18), 59 (1966)

Table 3. Number of *Culex tritaeniorhynchus* Giles Trapped and of its Results of JE Virus Isolation at the Stations

Date of collection		Station 1		Station 2					
		a		b		c		d	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
June	8	0	0	0	0	0	0		
	22	0	0	0	0	0	0	0	0
July	6	0	4 (—)	0	1 (—)	0	0	0	0
	17	0	0	0	1 (—)	0	3 (—)	0	0
	20	0	0	0	0	0	14 (—)	0	0
	23	0	6 (—)	0	0	0	3 (—)	0	0
	27	0	19 (—)	0	5 (—)	0	9 (—)	0	0
	30	1	27 (—)	0	6 (—)	0	5 (—)	0	0
Aug.	3	1	55 (—)	0	0	1	117 (—)	0	0
	7	0	39 (—)	1	3 (—)	0	67 (—)	0	0
	11	0	114 (—)	0	1 (—)	0	101 (—)	1	1 (—)
	13	1	41 (—)	1	0	0	48 (—)	2	4 (—)
	17	0	90 (—)	1	2 (—)	2	54 (—)	0	0
	20	4	57 (—)	0	2 (—)	1	42 (—)	0	1 (—)
	24	4	56 (—)	0	0	0	8 (—)	0	0
	27	0	24 (—)	1	3 (—)	0	9 (—)	0	0
	31	4	12 (—)	0	4 (—)	0	29 (—)	0	0
	31	4	12 (—)	0	4 (—)	0	29 (—)	0	0
Sep.	7	7	23 (—)	5	0	2	6 (—)	0	0
	14	4	4 (—)						
	21	0	2 (—)	0	0	0	2 (—)	0	1 (—)
Oct.	28	0	0						
	5	0	0	0	0	0	0	0	0

Note : Station 1, a=this laboratory's chicken en; Station 2, b=Ueno zoo's rabbit pen, c=horse pen, d=animal hospital. Parenthesis indicate the result of virus isolation.

- 6) 根津尚光, 他: 都衛研年報, (19), 57 (1967)
- 7) 藪内 清, 他: 都衛研年報, (20), 39 (1968)
- 8) 藪内 清, 他: 都衛研研究年報, (21), 19(1969)
- 9) 国立予研学会: ウイルス実験学各論, 100, (1967)
- 10) 厚生省防疫課: 日本脳炎流行予測事業結果報告 (1967)
- 11) 東京都衛生局防疫課: 東京都防疫情報, 7(1969)
- 12) 東京都衛生局防疫課: 東京都防疫情報, 18(1970)
- 13) 東京都衛生局防疫課: 東京都防疫情報, 19(1970)

電 顕 写 真 の 表 面 現 像 法 (I)

前 木 吾 市*

COMPENSATING DEVELOPMENT IN ELECTRON MICROSCOPY (I)

Goichi MAEKI

(Virology Department, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of
Public Health)

In the course of research into fine-grain developers, a curious fact was noticed. It had often been believed that the finer the grain, the sharper the image would necessarily be. It appeared however, that many fine-grain developers caused these images to be noticeably less sharp than normal development.¹⁾

The acutance of an emulsion seems to depend less on the size of the grains than on reducing the thickness of the emulsion: apparently in a thick coating, scattering of light by the individual grains causes adjacent grains to become developable, forming larger images of points. So far maximum detail in a photographic image-- and sharpness too, incidentally-- a fine-grain, thinly coated film should be used; it should be developed in a normal developer, not in one of the so-called ultra fine-grain types.

The recent introduction of the thinly coated, high-resolution films has revived interest in the compensating type of developer. A small amount of potassium bromide is used as the restrainer in most developing formulae. It protects the unexposed silver halides from the action of the developing agent and helps to avoid fog. Some developing agents, such as catechol, p-aminophenol and photographic glycine, are very sensitive to bromide ion, and any more than the minimum amount causes a considerable decrease in the activity of the developer.

Now, we make a catechol or glycine developer which is very dilute, and therefore quite sensitive to additions of bromide, and if we use this developer completely without bromide so that it retains its maximum energy in developing shadow details, we can secure some compensating actions. As the film starts to develop, the darker or more heavily exposed areas will contain many grains of silver

* 東京都立衛生研究所 ウイルス部

bromide, and as each grain is reduced to silver it releases a certain amount of bromide ion into the developer. In the darker areas, then, a good deal of bromide is liberated, and the developer in these areas is therefore restrained. In the less exposed parts, however, few grains are developed, little bromide is released, and the developer maintains its activity.

This compensating action is most strikingly shown when developing the thinly coated fine-grain films of extremely high resolving power such as Fuji Minicopy RH and Neopan F²⁾, but its possibilities in electron microscopy appear to have been overlooked. The Writers have found that the compensating development also affords excellent results when used for electron microscopy and usually more satisfactory than ordinary routine procedure as D-19 (Figs. 1 & 2).

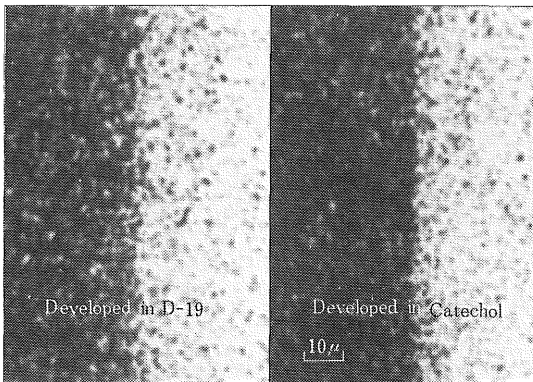


Fig. 1 Photomicrographs ($500\times$) of edges of images formed by a sharp edge in contact with Fuji FG film.

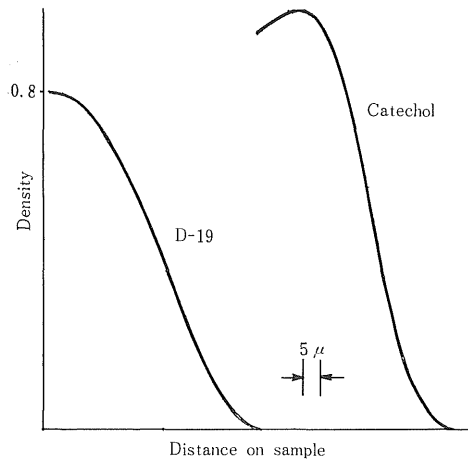


Fig. 2 Microdensitometer traces across knife-edge images printed onto Fuji FG film exposed in electron microscope.

In this way, development is automatically slowed down in the denser parts of the negative, while it continues at its full rate in the shadows, or lighter parts. This tends to produce a negative with a somewhat compressed range of tones in the highlights and brilliant gradation in the shadows, with as much details as possible in both (Fig. 3).

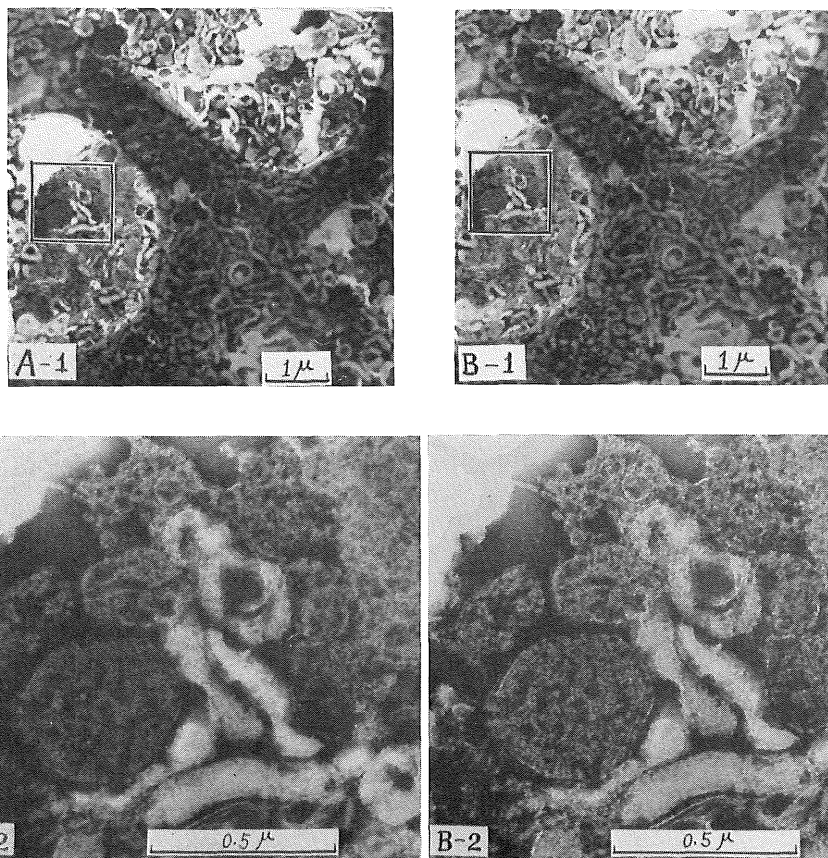


Fig. 3 HVJ negative stained in phosphotungstic acid. Fuji FG negatives were developed in D-76 mod. by Tamuma (A), and in Catechol (B). Original magnification $\times 8,000$; magnification as printed $\times 2$ (1), and $\times 13.5$ (2).

Modified Windisch Catechol Compensating Developer

A. Basal Stock Solution

Sodium Sulphite, anhydrous 5.0g
 Catechol, Eastman Kodak Co. 10.0g
 Add cold water to make 500ml

B. Accelerator Solution

Sodium Hydroxide 5.0g
 Add cold water to make 500ml

For development of Fuji FG film, take about 100 ml of water, 10 ml of Solution A and 10 ml of Solution B, and then add water to make 300 ml. Develop 10 minutes at 20°C with constant stirring. Depending of film type, it is important to adjust the proper concentration of the developer in minimum to falls short somewhat in threshold energy. And the maximum density in the denser parts

of the negative should be entirely unchanged, if exposure and the time of development will be increased. It is additional advantage for the electron microscopy that the optimum exposure can be determined in the clear areas of the specimen, or the denser parts of the film.

This developer keeps fairly well in stock solution, but deteriorates very rapidly when diluted for use. This mixed solution is used only once and discarded, since the developer is highly diluted and catechol is susceptible to other silver halide solvents, including ammonia and its salts, hypo and the thiocyanates.

The author is indebted to professor keiichi Ishii of Hosei University for his invaluable suggestions and guidance on making this manuscript.

References

- 1) Mees, C. E. K.: The Theory of the Photographic Process, Rev. ed., The Macmillan Co., New York, 1954, p. 1019
- 2) Ishii, K.: Kagaku no Ryoiki, 24, 34 (1970)

要 約

著者は鮮鋭度のより優れたネガを得る目的で、表面現像法を電顕写真分野に応用し、その効果を認めたので理論と実験結果のあらましについて報告する。表面現像法の現像主薬としてカテコールを用い、現像時に乳剤層から遊離する臭素イオンの現像抑制効果（表面現像の基本作用）が、最も効果的になるような条件を追究した。電顕用として国産唯一のフジFGフィルムと組合せ、次の結果を得た。

- 1) 最適希釈濃度は
A液10+B液10+水300
20°C, 10分間, 連続水平攪拌現像による。
- 2) ネガの鮮鋭度はD-19より優れている。
(Fig.1, 2 参照)
- 3) 階調の著しく豊富なネガが得られる (Fig.3参照)
- 4) フィルムの感度低下も少く (D-19の $\frac{1}{2}$), 他に
実用上の支障が殆どなく有用である。
以上の要旨は第26回日本電子顕微鏡学会に報告した。

電 顕 写 真 の 表 面 現 像 法 (Ⅱ)

前 木 吾 市*

COMPENSATING DEVELOPMENT IN ELECTRON MICROSCOPY (Ⅱ)

Goichi MAEKI

(Department of Virology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health)

Application of the compensating development procedure was made on the field of electronmicroscopy, and succeeded in making a sharp negatives and a plenty of gradations comparing with teose of the hitherto used developing procedure.

Results obtained are summarized as follows:

- 1) The prints on the microorganisms' specimens, made by the compensating development procedure with catechol, were proved to be more useful than that of the one made by the hitherto existed procedure.
- 2) The sharpness of the prints were proved by photographing the micrographs of knife-edge images, and by making cross-sectional traces of the negatives drawn by a microdensitometer.
- 3) Usefulness of the procedure was also proved by obtaining characte ristic curves made by electron beam on the gradation, sensitiveness and fog of th e negatives.

1. 緒 言

著者は前報¹⁾においてカテコール表面現像法を初めて電顕写真の分野に応用し、従来の現像法に比べ鮮鋭度の高いネガが得られることを報告した。

本篇では更に具体的作例をふやすと共に、電子線における特性曲線^{2)~11)}を独自の方法で求め、カテコール表面現像法の写真的諸特性を詳細に検討したので報告する。

2. 表面現像法の原理と特長

わが国において科学写真の分野に表面現像法を唱えたのは石井^{12), 13)}が初めてである。著者ら⁽⁴⁾も追試を行なっている。以下に石井の解説を要約する。

表面現像法とは、主として乳剤表層面を現像することにより、鮮鋭度の高いネガを得る現像法のこと、臭素イオンの現像抑制効果に応用した方法である。すなわち、現像された画像部分の乳剤から遊離する臭素イオンは、その部分の現像による黒化が更に進むのを

抑制する。これだけが基本作用である。したがって現像液は臭素イオンを含まず、臭素イオンにできるだけ鋭敏な主剤を最低量含み、溶銀性のある亜硫酸ソーダを余分に含まねることが必要である。カテコールは臭素イオンに最も鋭敏な現像主剤で、表面現像効果が大きい。

特長 可視光線の下でミニコピー、F級フィルムと組合わせた場合の特長を列記すると次のようになる。

- ① 現像が深部まで及びにくいので高解像である。深部のハレーションによる鮮鋭度の低下も少い。
- ② ネガ濃度は稍淡いが現像カブリが少く、微粒子で赤っぽく仕上がる。
- ③ 特性曲線の肩と足の部分がかかなり長く、軟調で露光域の広いネガが得られる。又、ネガの露出寛容度が広がる。
- ④ 感度は殆ど変わらず、試料の最明部で露光量の決定ができる。
- ⑤ 常に新しい液で現像するため再現性がよい。

3. 実 験 方 法

- 1) カテコール表面現像液処方 (二液式, CNと略記)

* 東京都立衛生研究所 ウイルス部

A 液：無水亜硫酸ソーダ 5 g，カテコール
($C_6H_4-1, 2-(OH)_2$, O—dihydroxybenzene) 10gに
蒸留水を加えて 500ml の保存液とする。

B 液：1%NaOH

使用前に下記割合を標準にして混合。液温 20°C ，
連続振盪により現像する。

(例) 電顕用フィルムはフジ FG タイプ

A 液10+ B液10+水300 10分

使用上の要点：使用液は1回限りで棄てる。

カテコールは純度の高いものが得難く，不良品は酸化し易い。使用したカテコールは，コダック製(6g)，メーカー不詳の不良品(50g)，スイス・フルカ社製(現在使用中)。

現像方法は血現像であるが，装置は独自に工夫したものを使用した。水平振盪器(梅毒血清検査用)上にプラスチック製現像用バットを載せ，スライダックを使用して1分間30～40回転に調節する。1回にキャビン半載のフィルム4枚をムラなく現像し得る。

2) 対照用現像液の処方

i) D—19 (中間調)

電顕用に広く用いられているコダック処方

メトール 2g，無水亜硫酸ソーダ 90g

ハイドロキノン 8g，無水炭酸ソーダ52g

ブロムカリ 5g 水を加えて 1000cc

20°C 4分

ii) D—76系 (軟調)

写真家 田村栄氏の「処方1」

メ ト ー ル 4 g，無水亜硫酸ソーダ 37.5g

ハイドロキノン 2 g，無水炭酸ソーダ 6 g

硼 砂 3 g，水を加えて 600cc 20°C 5分

3) 使用写真感光材料及び機器

電顕用フィルムとしてはフジ FG タイプだけを使用した。現在国内で市販されているフィルムはこの一種類だけである。

電顕は日本電子KK製 JEM 6 C を加速電圧 80KV で使用した。この電顕には蛍光板上の視野の明るさを CdS で測定し，直読式露出計で読取れる装置が付属している。

4. 実験の順序と方法

カテコール現像液と対照群の D—19，D—76系三者間の鮮鋭度，階調性，感度等の特性を比較するため次の実験を行なった。

その第1は具体的な被写体についてプリントを作製し優劣を判定する方法である。HVJ ウイルスのネガ

ティブ染色試料及び各種細菌のシャドウ試料を撮影対象とした。一枚のフィルムに同一視野を数千倍の倍率で続けて2コマ撮影し，2ツに切断した後一方をカテコール現像液で，他を対照の D—19又は D—76系で現像する。夫々のネガから拡大プリントを作製し，鮮鋭度，階調性を比較する。

第2の比較方法は本格的なセンシトメトリーによるものである。鮮鋭度の比較にはナイフエッジ法からスプレッド曲線を求める解析手段を用い，階調性，感度の比較には電子線による特性曲線を作製して行なった。これらの基礎データを，一枚の FG フィルム上に一挙に記録する手段として，写真1の結果で判るような

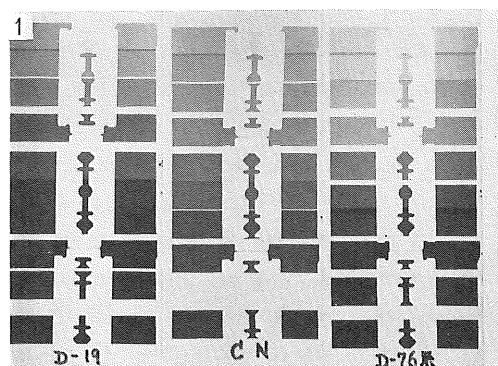


写真1：電子線によるセンシトメトリーで得た基礎データ

方法を独自に考案した。具体的な作成手続きを次に述べる。

- ① ナイフエッジ用に安全カミソリ刃3枚を用意し，一枚の長方形 FG フィルム上に並べ，セロファンテープで貼付したものを作る。電顕内カメラ室に装填し，真空を引くとカミソリ刃はフィルム乳剤面に完全に密着する。
- ② 電顕内の蛍光板の下側に，巾約7mmのブリキ製スリットを固定する。
- ③ フィルム送り機構を調節し，一枚のフィルム上に等間隔に10段階の階段露光ができるよう，送りダイヤル上に分割目盛りをつける。
- ④ 電顕に付属した直読式露出計の目盛り(単位は秒で10～1秒まで不等間隔)を，FG フィルムの感度特性に合せて校正する。
- ⑤ 蛍光板上の明るさを，露出計の所定の目盛り位置でストップさせながら順次増加させてゆき，対応して送りをかけたフィルム上に各2秒間づつ露出をかける。巾7mmのスリットを通った電子ビームは，FG フィルム上に巾10mmに拡大され，10段階の階段露光済

みの潜像ネガが出来上る。写真1は上記の方法により、同一条件で連続3枚の潜像ネガを得た后、カテコール現像液、D-19、D-76系により夫々所定の条件で現像したものである。

5. 実験結果

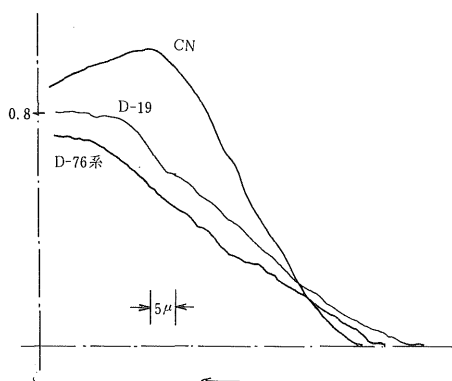
写真1のネガについて写真用濃度計により黒化度を測定した結果を表1に示す。黒化度の数字はカブリを夫々差引いた値である。

Table. 1 Comparison of resolving power measured by microdensitographs on knife-edges

フィルム上の分画	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	カブリ
(秒)											
直読露出計の読み	10	8	6	5	4	3	2.5	2	1.5	1	
カテコールネガの黒化度	0.36	0.44	0.48	0.55	0.67	0.76	0.91	0.95	/	1.09	0.16
D-19 ネガの黒化度	0.38	0.44	0.54	0.73	0.80	1.21	1.59	2.13	2.30	2.58	0.15
D-76系 ネガの黒化度	0.22	0.28	0.38	0.44	0.65	0.82	1.01	1.27	1.42	1.68	0.14

1) カテコール現像法の鮮鋭度について

第2図は各現像液の鮮鋭度を示すスプレッド曲線で



ある。これは表1において黒化度が夫々0.8付近のナイフエッジの相当箇所について、マイクロデンストメーターで走査して求めた代表的カーブで、スリット巾は $2 \times 10 \mu$ である。傾斜の急峻なもの程鮮鋭度の良好なことを示しており、カテコールがとりわけ優れていることが判る。

写真2 は各ネガの等濃度部のナイフエッジ境界部

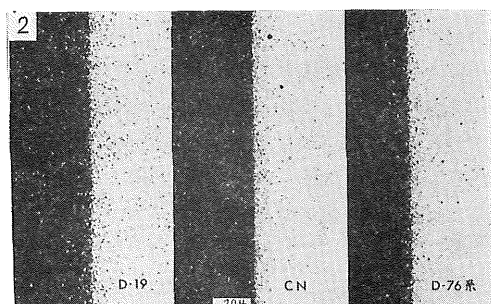


写真2：写真1の夫々 Density 0.8 付近におけるナイフエッジの光顕拡大像。中央のカテコール (CN) の鮮鋭度が最良

を光顕拡大した像で、鮮鋭度が直接比較できる。透過光照明で直接 ($\times 100$) 撮影し、引伸しプリントを並べてあるが、中央のカテコールのものが際立った鮮鋭さを示している。

写真5, 6 は現像処理だけが異なる同一フォーカスの

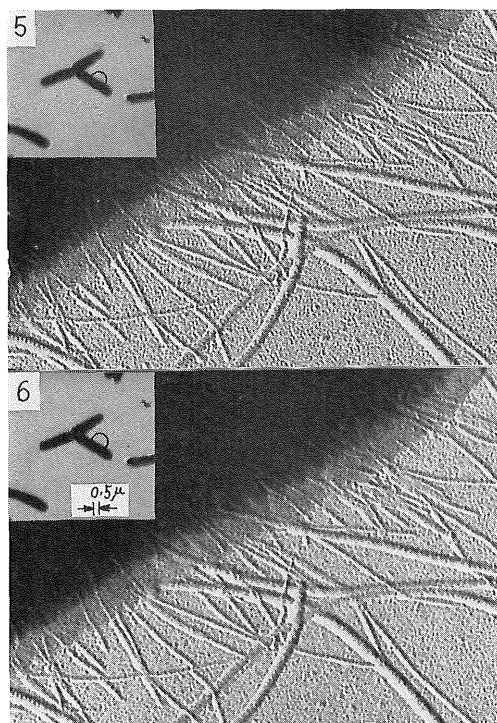
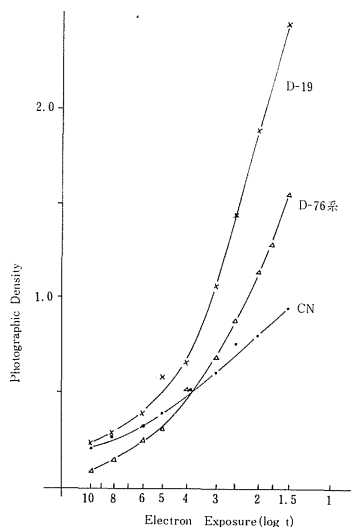


写真5, 6：鮮鋭度の比較作例、内容は大腸菌の Cr シャドウ像。上がカテコール現像液、下は D-19 による。直接 ($\times 4,000$) のネガから夫々20倍引伸し。総合倍率 ($\times 80,000$)

ネガから超拡大プリントを作製し、カテコールとD-19の鮮鋭度比較を試みた作例で、上がカテコール、下がD-19による。内容はE. coliのCrシャドウイング像で、左肩の(×4,000)ネガよりフジA69引伸機により20倍拡大を行った。太い鞭毛、細いフィムブリエ及びbackgroundの像の細部の見え方から、カテコールの方がシャープなことが窺える。

2) カテコール現像法の階調性及び感度

第1図は表1から求めたカテコール及び対照現像液



の電子線における特性曲線で、写真1の階段濃度差をグラフ化したものに相当する。カテコールのカーブに注目すると、対照に比べ軟調で、印画紙焼付けに必要な濃度域における直線性の良好なことを示しており、豊富な階調表現性を裏付けている。

写真3, 4は階調表現性の比較を試みた具体例で、上がカテコール、下がD-76系による。内容は深見のトリヤホール製マイクログリッド支持膜上におけるHVJウイルスのネガティブ染色像である。総合倍率(×7,000)と低い、対照例ではつぶれている支持膜上のウイルス像が、カテコールの例ではよく表現されている。

感度は特性曲線からみて、高濃度部(ハイライト)で低下しているが、低濃度部(シャドウ)でかなり高いという特異性を示している。

カブリは表1から最も大きい値が出ており、表面現像法本来の特長と背反した結果が出ている。

6. 考 察

可視光線下において優れた諸特性を示したカテコー

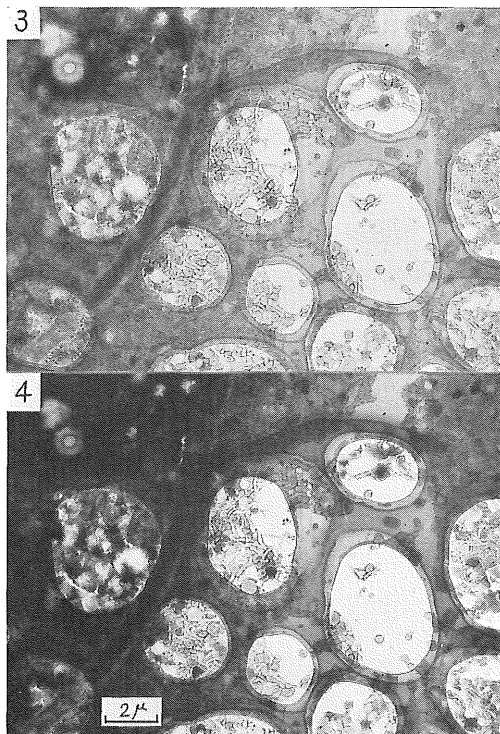


写真3, 4: 階調表現性の比較作例。内容はマイクログリッド上のHVJウイルス。上がカテコール現像液, 下はD-76系による。直接(×1,400)のネガより引伸したもの。総合倍率(×7,000)

ル表面現像法が、電子線下において実用上どの程度役立ち得るか、実験結果及び使用経験に照らして考察してみたい。

① 鮮鋭度について

カテコール現像法では実験結果が示すように、高解像のネガが得られる。しかし電顕においては現像方法の改良によってネガの解像力を向上させる必要性は特別の場合を除きあまり重視されない。電顕における焦点合せの正確さ、精度を保つことが一般に不安定で、バラツキがあまりに大きいためである。

② 階調表現性について

カテコール現像法の豊富な階調表現性は、電子線の方野でも遺憾なく発揮されたが、このことは電顕関係者にとって大きな福音である。作例写真で示したように従来現像法ではつぶれてしまった厚い試料中の微細構造、あるいはコントラストに著しい差のある被写体が混在する視野のように、従来は分割焼付けか救済手段のない試料などが、カテコール現像法でその処理が容易になることなど挙げられる。

③ 感度について

第1図の特性曲線にみるように、あまり感度低下のみられないのが特色で、実用上支障のない感度を保有している。印画紙焼付の場合、フジプロ F-3 でネガの Density 0.9 以上は白になることから考えて、高いネガ濃度は不必要と考えられる。カテコール現像においては見かけのネガ濃度はうすく感じられる場合でも、焼力は意外に強いのが特長の一つである。

④ カブリについて

今回までの実験条件ではカブリが意外に大きいことが判明した。FG フィルムと組合せ使用する限り、カテコール現像液は (10: 10: 300) の混合割合が一番無難である。

⑤ 現像ムラについて

軟調現像液なのでよく攪拌しないとムラが生じ易い。現在は振とう式と攪拌式を兼ねた現像法を採用しているのでむらは少いが、現像作業能率が低い点の一つの課題である。

7. 総 括

カテコール表面現像法を電顕写真の分野に応用し、鮮鋭度および階調性の優れたネガを得る方法を確立した。

① カテコール現像法により微生物標本の電顕プリントを作製し、従来法による対照例と比較して、鮮鋭度階調性の良さを認めた。

② 鮮鋭度、階調性、感度等の諸特性を客観的に比較するため、独自の方法で電子線によるセンシトメトリー

を行なった。ナイフエッジ拡大像、スプレッド曲線及び特性曲線を基礎データから解析して求め、カテコール現像法の優れていることを裏付けた。

③ デリケートな表面現像法をルーチン化するため、振とう攪拌式の現像方法を開発した。又カテコール現像液の濃度は 10: 10: 300, 10分現像が妥当である。

終りに御助言賜った法政大学生物学教室、石井圭一教授に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 前木吾市：東京都立衛生研究所研究年報 (22), 63, (1950)
- 2) 田島又一：電子顕微鏡, 1, 86 (1950)
- 3) 四本晴夫：電子顕微鏡, 3, 81 (1953)
- 4) 丸山秀一：電子顕微鏡, 3, 81 (1953)
- 5) 田島・深見・四本：電子顕微鏡, 3, 104 (1954)
- 6) 田島又一：電子顕微鏡, 4, 110 (1955)
- 7) 明石和彦, 他：電子顕微鏡, 8, 177 (1959)
- 8) 日比忠俊, 矢田慶治：電子顕微鏡, 8, 181 (1959)
- 9) 清水康男：J. Electronmicroscopy 10, 268 (1961)
- 10) 清水康男：J. Electronmicroscopy 11, 157 (1962)
- 11) 清水康男：J. Electronmicroscopy 11, 199 (1962)
- 12) 石井圭一：科学写真, 14, 2 (1960)
- 13) 石井圭一：化学の領域, 24, 34 (1970)
- 14) 前木吾市, 他：東京都立衛生研究所年報 (19), 75 (1967)

豚丹毒菌に関する研究
各種食品ならびに環境における豚丹毒菌の分布状況

梅 木 富士郎*

STUDIES ON ERYSIPELOTHRIX INSIDIOSA, WITH SPECIAL
REFERENCE TO ITS DISTRIBUTION IN VARIOUS FOODS AND
IN OTHER ENVIRONMENTAL MATERIALS

Fujio UMEKI

(Department of Milk and Meat Sanitation, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

During the period from January 1969 to December 1970, a total of 2,751 specimens consisted of 1,449 livestock industrial product, 557 marine products including their immersed water, 615 packed frozen foods, 105 sewage water and 15 sea water samples were studied for the presence of *erysipelothrīx insidiosā*.

Result obtained are summarized as follows:

- 1) Throughout the survey, 557 strains of presumptive *erysipelothrīx insidiosā* were isolated from various specimens, by the use of a specific selective media.
- 2) More than 80% of the waste water samples obtained from a fish market had been harbored *erysipelothrīx insidiosā*, and then 80% of the immersed waters of raw fish, 37% of raw fish, 32% of household meat, 100% of sewage waters of an abattoir, 7% of packed frozen foods and 3% of sliced ham respectively, while none of the raw oyster and sea water samples had been contained detectable quantity of the organism.
- 3) Recovery rate of the organism from various specimens had indicated that the abundance of the organism in marine products or of their Related materials, particularly the ones obtained in summer were significant comparing with the ones obtained in other season. Same tendency was observed on the livestock industrial products or of their related materials.
- 4) All the representative strains derive from variety of sources showed completely the sam biochemical characteristics with those of the pilot strains.

* 東京都立衛生研究所 乳肉衛生部

1. ま え が き

豚丹毒菌は元来、豚¹⁾に急性敗血症あるいは皮ふ、心、関節における限局性病変形成などの疾患を惹起する病原菌であるが、人の疾病とも深い関係を有することがいくつかの報告例によって示唆されている。たとえば、山岸²⁾らはアンギーナと診断された患者の血液から本菌を分離しており、杉村³⁾は静岡県獣医師および家畜商における感染例、鹿児島県における食肉販売業者および農夫などの感染例について報告している。また、本菌によると推定される食中毒例が上田⁴⁾あるいは佐々木⁵⁾らによって報告されている。これらの報告は本菌が人畜共通の疾患の原因菌として公衆衛生上重要な意義を有する存在であることを物語っている。たしかに本菌が健康豚からはもちろん、魚類からもしばしば分離されることは、一般によく知られているところであるが、自然界における本菌の分布の実態については十分あきらかにされていないのが現状である。

そこで著者は本菌の分布の実態解明へのアプローチを意図し、1969年1月から1970年12月にいたる間に当研究所に搬入された畜産食品、包装冷凍食品、海産魚介類などの食品、東京湾内および江之島付近で採取した海水、と畜場で採取した汚水、魚市場で採取した魚漬水および汚水など計2751例の検体を調査対象として、豚丹毒菌とみなしうる菌の検索を試み、食品別による本菌の分布、月別の消長ならびに分離菌株の生物学的性状などを観察し、あわせて標準菌株と分離菌株の生物学的性状を比較検討した。以下それらの成績について報告する。

2. 材料および方法

1) 試 料

試料の採取および調製は下記のとおりである。魚類はえらの部分を滅菌ガーゼで拭きとったものを試料とし、生肉、スライスハム、ソーセージ、生乳、生かき、包装冷凍食品などは約2gをとり試料とした。汚水などについては遠心分離(3,500 r.p.m. × 15分間)した沈渣物をそれぞれ試料とした。

2) 使用培地

a) 増菌用培地

Difco製のTryptose Phosphate proth. (bactotryptose 20g, bacto-dextrose 2g, Sodium chloride 5g, Disodium phosphate 2.5g)を水1,000mlに溶解、PH 7.3に調整)を基礎培地とし121°、15分間滅菌後、

50~60°に保温して馬血清50ml、カナマイシン400mg、ネオマイシン50mg、ノボピオシン50mgを加えた。

b) 分離用培地

Difco製のPPLO broth with cv (bacto-beef heart infusion 50g, bacto-peptone 10g, sodium chloride 5g, bacto-crystal violet 0.01g, Sodium azide 和光1g, bacto-agar 15g)を水1,000mlに溶解PH 7.8に調整)を基礎培地とし、121°、15分間滅菌後、50~60°に保温したものに馬血清50mlを加えた。

c) 確認用培地

(1) TSI 培地(栄研)：肉エキス栄研4g、ペプトン栄研15g、乳糖10g、白糖10g、ブドウ糖1g、塩化ナトリウム5g、チオ硫酸ナトリウム0.08g、亜硫酸ナトリウム0.4g、硫酸第一鉄0.2g、フェノールレッド0.02g、寒天栄研15g、を水1,000mlに溶解、PH 7.6±0.2に調整、121°、15分間滅菌した。

(2) SIM (栄研)：肉エキス栄研3g、ペプトン栄研30g、チオ硫酸ナトリウム0.05g、塩酸シスチン0.2g、クエン酸鉄アンモニウム0.5g、寒天栄研5g、を水1,000mlに溶解、PH 7.3±0.1に調整、121°、15分間滅菌した。

(3) 5%馬血清加ブドウ糖リン酸ペプトン水培地、ブドウ糖リン酸ペプトン水栄研：(ペプトン栄研7g、ブドウ糖5g、リン酸水素カリウム5g、を水1,000mlに溶解、PH 6.8~6.9に調整)を基礎培地とし121°、15分間滅菌後、これを50°以下にしたものに馬血清50mlを加えた。

(4) ゼラチン培地

bacto-beef extract 3g, bacto-peptone 5g, bacto-gelatin 120g、を水1,000mlに溶解、PH 7.0に調整、121°、15分間滅菌した。

(5) リトマス牛乳(Difco)：bacto-skimmilk 100g, bacto-litmus 0.75g、を水1,000mlに溶解、PH 6.8に調整、121°、15分間滅菌した。

(6) 5%馬血液加寒天培地

ハートインヒュージョン培地栄研：(ウシ心臓浸出液栄研500g, ペプトン栄研10g, 塩化ナトリウム5g, 寒天栄研15g、を水1,000mlに溶解、PH 7.4±0.2に調整)を基礎培地とし、121°、15分間滅菌後、これを50~60°に保温したものに馬血液50mlを加えた。

(7) 5%馬血清加ヒューレイソン培地

ヒューレイフソン培地(bacto-peptone 2.7g, ブドウ糖和光10g, 塩化ナトリウム5g, リン酸1水素カリウム和光0.3g, フェノールレッド武田0.018g, bacto-agar 3g、を水1,000mlに溶解、PH 7.3に調整)を基礎

培地とし、121°、15分間滅菌後、50~60°に保温したものに馬血清50mlを加えた。

d) 糖分解用培地

Difco製のphenol-red broth base (bacto-beef extract 1g, proteose-peptone No. 3 10g, Sodium chloride 5g, bacto-phenol red 0.018gを水1,000mlに溶解、PH7.4に調整)を基礎培地とし、121°、15分間滅菌後、50°以下にし馬血清50mlを加え、さらに各種の糖類を1%の割合にそれぞれ加えた。

e) 各種糖類の調製

糖類は10%水溶液を作り、121°、10分間滅菌しそれぞれ目的に応じて使用した。

3) 分離法

試料はまず増菌用培地に接種し、37°、48時間培養後、培地が混濁を生じたものを分離用培地の平板に塗抹し、37°、48時間培養後平板上に発育した定型的集落を分離し、さらにTSI高層斜面培地に接種し、37°、48時間培養した。豚丹毒菌の確認は斜面、高層部とも無変化で、凝固水より下方の高層部に硫化水素の産生がみられるものを一応豚丹毒菌とみなした。

4) 分離菌株の形態学的ならびに生物学的性状の検査法

グラム染色法はHuckerの方法で、抗酸性はziehl-Neelsen法、芽胞染色はMoeller法、運動性はSIM培

地を用いて37°、72時間培養によって観察した。カタラーゼは3% H_2O_2 を用いる方法で、オキシダーゼはチトクロームオキシダーゼ試験用紙(ニッサン)によるディスク法で、インドールはSIM培地を用いた(37°、48時間培養)kovacs法により、メチルレッド試験は5%馬血清加ブドウ糖リン酸ペプトン水を用いて37°、5日間培養後メチルレッド試薬を滴下して判定した。アセチルメチルカルビノールの試験は5%馬血清加ブドウ糖リン酸ペプトン水を用いて30°、5日間培養によるGoblentz法を採用した。ゼラチンの液化性はゼラチン培地を用いて25°、14日間観察した。硝酸塩の還元能はビオテスト(栄研)硝酸塩を用いるディスク法で行ない、溶血性は5%馬血清加寒天培地を用いて、37°、5日間観察した。O-F試験は5%馬血清加ヒューレイフソン培地を用いて37°、72時間観察した。

糖分解能については5%馬血清加phenol red brothに、乳糖、白糖、マルトース、メリビオース、メリチトース、トレハロース、セロビオース、ラフィノース、アラビノース、キシロース、ラムノース、ブドウ糖、ガラクトース、フラクトース、マンノース、デンプン、デキストリン、イヌリン、ソルビット、イノシット、ズルシット、マンニット、アドニット、サリシン、エスクリンをそれぞれ1%に加えた培地を用いて37°、14日間観察した。

Table 1. Distribution of *Erysipelothrix insidiosa* in Various Food and in Its Related Materials (1969~70)

	Specimens	No. of tested	No. of positives	per cent positive
Live-stock industrial products	Raw meat	687	219	31.9
	Sliced hams and sausages	754	19	2.5
	Raw milk	18	0	0
	Sewage water of an abattoir	10	10	100
Marine products	Marine fish	354	132	37.3
	Raw oyster	109	0	0
	Waste water of a fish market	95	75	83.2
	Immersed water of raw fish	94	73	77.7
	Sea water	15	0	0
Packed Frozen Foods	Precooked fish and its products	262	21	8.1
	Precooked meat and its products	131	24	18.4
	Cooked fish and its products	68	0	0
	Cooked meat and its products	154	0	0
Total		2,751	577	21.0

3. 試験成績

1) 食品ならびに汚水の豚丹毒菌の分布

各種の食品ならびに汚水 2,751 例について本菌の検出を試みたところ、21%に相当する 577 例から本菌を検出した。その内訳は Table 1 に示すとおりである。

すなわち、生肉32%，スライスハム，ソーセージ 3%，と畜場汚水100%，海産魚類 37%，魚市場汚水 83%および魚漬水78%であった。また、水産、畜産の両食品が含まれる包装冷凍食品では 7%であった。生乳、生かき、海水からは全く検出されなかった。

Table 2. Monthly incidence of *Erysipelothrix insidiosa* in various Food and in its related materials

Samples		Jan.	Feb.	March	April	May	June	July	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
Live-stock industrial Products	Raw Meat	10/34	1/7	11/54	17/17	0/10	9/24	37/38	—	21/129	—	86/287	27/87
	Slice hams and Sausages	0/28	0/31	0/45	—	1/7	5/143	0/3	3/32	5/159	4/106	1/137	—
	Raw Milk	0/3	—	—	—	—	0/4	0/3	0/4	—	—	—	0/4
	Sewage Water of an Abattoir	—	2/2	1/1	1/1	—	1/1	1/1	—	1/1	1/1	1/1	1/1
Marine Products	Marine fish	—	19/26	6/38	10/34	4/32	21/50	18/27	17/29	23/33	7/32	3/31	4/22
	Raw oysters	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/70	0/39
	Waste water of fish market	—	—	5/10	4/5	7/10	8/10	9/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10
	Immersed water of raw fish	—	—	5/10	4/8	6/10	7/10	8/10	5/6	8/10	7/10	8/10	8/10
	Sea water	—	—	0/5	—	0/2	0/2	—	0/2	—	0/2	0/2	—
Packed Frozen Foods	Precooked Fish and its Products	—	8/183	0/37	—	—	0/2	13/40	—	—	—	—	—
	Precooked Meat and its products	—	7/72	0/7	—	—	—	17/52	—	—	—	—	—
	Cooked Fish and its products	—	0/30	0/5	—	—	—	0/33	—	—	—	—	—
	Cooked Meat and its products	—	0/106	0/11	—	—	—	0/37	—	—	—	—	—

Note : Numerator indicates No. of Positives and denominator indicates No. of samples tested.

— Indicates no sample was tested.

2) 月別による消長

本菌の月別消長については Table 2 に示すとおりである。まず生肉についてみるとその検出率は、春期から夏期にかけて非常に高くなる傾向にあったが、冬期では低い値を示した。しかし 5 月の成績では少数例のためか検出されなかった。すなわち 4 月が 17 例中 17 例 (100%)、7 月が 38 例中 37 例 (95%) と高い値を示したが 6 月、11 月、12 月、1 月が 30~40% 程度であった。スライスハム、ソーセージにおける検出率は生肉と同様に夏期に高く、冬期に低くなる傾向を示した。また、海産魚類についても同じような傾向であったが、2 月が 26 例中 19 例 (73%) で最高値を示し、11 月が 31 例中 3 例 (10%) で最低値であった。また、魚市場汚水、魚漬水は各月とも 50% 以上の検出率を示し

た。

包装冷凍食品については 7 月の調理未加熱食品の魚類から 40 例中 13 例 (33%)、肉類 52 例中 17 例 (33%) であった。なお調理加熱済食品からは全く検出されなかった。

3) 分離菌株の形態学的ならびに生物学的性状

性状については Table 3 に示すとおりである。水産食品由来株 25 株、畜産食品由来株 25 株について調べた結果、いずれも標準菌株と一致した。すなわち、グラム陽性の桿菌で、芽胞、抗酸性、運動性がなく、メチルレッド反応陰性、カタラーゼ、オキシダーゼ、インドール、アセチルメチルカルビノールはいずれも産生せず、硫化水素を産生し、37°、48 時間培養で血液寒天平板上に弱い溶血性がみられ、ゼラチン培地を液

Table 3. Morphological and Biochemical Characteristics of The Isolates

Characteristics	Pilot strains Serotypes A-F	Marine isolates	Swine origin isolates
Gram stain	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (25/25)
Form	Rod (7/7)	Rod (25/25)	Rod (25/25)
Spore	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Acid-fast	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Motility	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Catalase	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Oxidase	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Indole	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Methyl red	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Acetylmethyl carbinol	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Hydrogen sulfide	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (25/25)
Liquefaction of gelatin	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Reduction of nitrate	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Hemolysis	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (25/25)
Litmus milk	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
O-F test	Fer. (7/7)	Fer. (25/25)	Fer. (25/25)
Lactose	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (25/25)
Sucrose	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (25/25)
Maltose	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (24/25)
Melibiose	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Melezitose	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Trehalose	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Cellobiose	+ (6/7)	+ (24/25)	+ (23/25)
Raffinose	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Arabinose	- (7/7)	- (23/25)	- (24/25)
Xylose	- (7/7)	- (24/25)	- (25/25)
Rhamnose	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Glucose	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (25/25)
Galactose	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (25/25)
Fructose	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (25/25)
Mannose	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (23/25)
Starch	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Dextrin	+ (7/7)	+ (25/25)	+ (25/25)
Inulin	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Sorbitol	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Inositol	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Dulcitol	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Mannitol	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Adonitol	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Salicin	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)
Esculin	- (7/7)	- (25/25)	- (25/25)

Note: Fer. = Fermented. Destruction of carbohydrates were observed for 2weeks at 37°C.

化せず、穿刺線に添って典型的なブラン状の発育を示した。また硝酸塩の還元能がなく、リトマス牛乳の凝固もみられなかった。

糖分解能については、ブドウ糖を発酵し、乳糖、白糖、マルトース、セロビオース、ガラクトース、フラクトース、マンノース、デキストリンを分解し、メリビオース、メリチトース、トレハロース、ラフィノース、アラビノース、キシロース、ラムノース、デンプン、イヌリン、ソルビット、イノシット、ズルシット、マンニット、アドニット、サリシン、エスクリンは

非分解であった。

考 察

豚丹毒菌の分離には従来から動物接種による増菌法が広く採用されているが、この方法で多数の検体を処理する場合は技術や人手を要するなどの難点がある。Wood⁶⁾ は病豚からの豚丹毒菌の検出に抗生物質含有の培地を用い、Vicker⁷⁾ らは TSI 培地を用いて豚丹毒症の診断の補助手段としている。著者は培地のみを用いる分離を試みた。すなわち、抗生物質含有増菌培

地により、豚丹毒菌を選択的に増菌し、つぎに分離用平板培地として5%馬血清加 PPLO with cv agar を用いて定型的集落を分離し、TSI培地で確認する方法を採用した。この方法によれば多数の検体を対象に比較的簡易に本菌を分離することができると考える。なお、畜産食品中でもっとも高い検出率を示したものは生豚肉であったが、これとは畜場汚水から本菌が高率に分離された事実とあわせて豚由来の菌による汚染と推測される。加熱済のスライスハムから本菌が検出されている事実はおそらく器具器材からの二次汚染に起因するものと推測される。一方、魚類については2月に73%という高い検出率をみているものの、全般的には7~8月の夏期に59~70%という高い値で検出されている。このような高い検出率を示した理由として、今回の調査で海水15例からは本菌が全く検出できなかったことと村瀬⁸⁾ら、村上⁹⁾らの釣揚げ直後の魚類、釣揚げ場所の海水や海砂から本菌が検出できなかった事実などからみて、市場搬入後の2次汚染に起因するものと考えたい。生かきから本菌が全く検出されなかった事実については、それが人為的な浄化操作を経たことによるものか、あるいはかき自体の消化管内における浄化作用¹⁰⁾の結果によるものかは全く不明で、この問題については今後の検討にまつものがある。つぎに包装冷凍食品の未加熱食品から本菌が検出されたが、このことは、これらの食品が本菌によって汚染されたままの状態で凍結されたためと考えられる。

要 約

畜産食品、水産食品、と畜場汚水、魚市場の汚水、海水など2,751例の検体を対象に豚丹毒菌の分布状況を調査したところつぎのような結果を得た。

1) 試料の2,751例中21%にあたる、557例から豚丹毒菌を検出した。そのうち、と畜場汚水はもっとも高い検出率を示した。ついで魚市場の汚水、魚漬水が同様に高い検出率であった。しかし海水ならびに生かきか

らは全く検出されなかった。

包装冷凍食品では未加熱食品から本菌が検出されたが、加熱済食品からは全く検出されなかった。一方、畜産食品は水産食品と比較してやや低い検出率であった。

2) 月別による検出率の消長は、畜産食品および水産食品は7~8月の夏期にその検出率が高く、10~12月に低い値を示した。また、魚市場汚水および魚漬水でも同様に夏期に高くなる傾向を示した。

3) 分離された豚丹毒菌の生物学的性状については由来による差異はみられなかった。

謝 辞

終りにご指導、ご校閲を戴いた部長春田三佐夫博士ならびに種々協力、ご助言を戴いた村上一、山岸達典、両博士に深謝する。

IV) 文 献

- 1) 村瀬信雄：獣医微生物学 第2版，平戸勝七編，養賢堂，東京，1965，335~340
- 2) 山岸嘉雄，他：細菌学雑誌 573，734 (1940)
- 3) 杉村克治：日本獣医協会雑誌 3，16，8 (1950)
- 4) 上田貞善，他：日本細菌学雑誌 4，1 (1959)
- 5) 佐々木諭，他：日本獣医師会雑誌 17，27 (1964)
- 6) Richard, L, Wood. : Am, J. Vet. Res. 26, 1303 (1965)
- 7) G, L, Vicker et al : J. Am. Vet. Med. Aso. 133, 543 (1958)
- 8) 村瀬信雄，他：日本獣医学雑誌 21，215 (1959)
- 9) 村上正博，他：日本獣医師会雑誌 15, 372 (1962)
- 10) 中村 浩：微生物学ハンドブック 微生物学ハンドブック編集委員会編，技報堂，東京，1957，p 610~621

本論文の概要は第20回日本食品衛生学会学術講演会（昭和45年10月23日松江）において報告した。

肉種鑑別に関する研究(I)

種属特異抗原および抗体の性質

村上 一* 神崎 政子* 梅木 富士郎*
春田 三佐夫* 辺野喜 正 夫*

STUDIES ON SERO-DIFFERENTIATION OF SPECIES ORIGIN OF HOUSEHOLD MEAT (I)

Characteristics of species specific antigen and of antibody

Hajime MURAKAMI, Masako KANZAKI, Fujio UMEKI,
Misao HARUTA and Masao BENOKI

(Department of Milk and Meat Sanitation, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

Studies were made on the characteristics of partially purified raw meat extract antigen and of the antibody which would react species specifically by micro-gel-diffusion technique, and behaviors exhibited by the urea treated meat protein and heat processed one were also studied.

Results obtained are summarized as follows:

- 1) Two principal fractions of horse meat protein obtained through Sephadex G-200 column, showed species specific antigenicity against corresponding antibody.
- 2) Second peak of γ -globulin fraction of anti-pig rabbit immune serum, obtained through Sephadex G-200 column, which have been considered to be 7S γ -globulin, showed species specific activity by the precipitation.
- 3) Reversible denaturation of pork protein was observed when it was treated by 8M urea, while all the saline extracted meat antigen lost their antigenicity irreversibly when they were heated at 80°C for 15 minutes.

緒 言

さきにわれわれは Gulliford が開発した微量電気泳動法¹⁾および Argaman らの微量ゲル内沈降反応²⁾の2方法が、生肉の肉種鑑別法としてすぐれた方法であることを報告し、^{3,4)}既に多くの挽肉検体その他について鑑別検査を実施してきたが、今回は肉種鑑別の際に種属特異反応に関与する生肉浸出抗原および沈降抗体の部分精製を試み、その性質を調べると同時に、生肉浸出粗抗原の変性に関する基礎的な検討を行ったので報告する。

材料および方法

1) 既知動物肉 実験に用いた動物肉は牛、馬、豚、羊、家兎および鶏の6種類で、これらは使用するまで-20°Cに凍結保存した。

2) 種属特異抗血清 既に前報^{3,4)}に述べた市販の(Burroughs - Wellcome) 種属特異抗血清の内から抗牛、抗馬、抗豚、抗山羊、抗家兎および抗鶏の6種類を選び用いた。

3) 寒天ゲル作成用緩衝液 Gulliford¹⁾によって提案されたもので、ジエチルバルビツール酸1.106g、溶性バルビツール7.006g、乳酸カルシウム1.024gを蒸留水2.000mlに溶解したものである。

* 東京都立衛生研究所 乳肉衛生部

4) pH 12.0 ホウ酸-苛性ソーダ緩衝液 1.5 M NaCl 80mlに 0.5M H_3BO_3 100mlを加え, 1.0M NaOHを加えてpHを 12.0 $\pm$ 0.1 に調整後蒸留水を加えて全量を1.000mlとした。

5) 微量ゲル内沈降反応 水平に保持したスライドガラス (28 $\times$ 76mm) 上に融解した1% 寒天ゲル (Special agar noble Difco) 3.3mlを静かに表面張力を利用して重層し, 寒天が凝固したのち, 直径2mmの孔を中心に1個, その孔から3mmはなれた円周上に等間隔に3~4個あけ, 中心の孔に種属特異抗血清を, 周囲の孔にそれぞれ目的に応じた抗原5 μ lづつを注入し, 湿度保持箱中に収め, 18~24時間室温に放置したのち, 特異的な沈降バンドの有無により判定を行った。

実験成績

I 抗原抗体反応に關与する生肉抽出抗原の性質: 馬内の20%生理食塩水乳剤を東洋ろ紙No. 5Aでろ過し, 得られたろ液100mlに対して, 硫酸アンモニウム54.3gを4 $^{\circ}$ Cの水室中で徐々にかくはんしながら加え, 1時間放置したのち, 生じた析出物を10,000rpm 10分間遠心し, その沈渣を100mlの蒸留水に再浮遊させた。この操作を5回くり返したのち, 最後の沈渣にTris-HCl 緩衝液15mlを加え, 12,000rpm 10分間遠心し, 得られた上清を部分精製抗原として Sephadex G-200 カラムによるゲルろ過の出発材料とした。試料の一部で蛋白濃度を測定したのち, その13mlをSephadex G-200カラムを用いて分画し, 得られた各分画の蛋白濃度を280m μ における紫外部吸収により調べたところ, Fig. 1に示したように生馬肉浸出液から

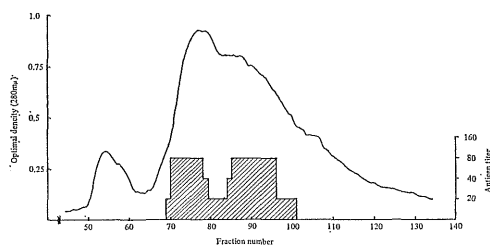


Fig. 1 Gel filtration of horse meat protein on Sephadex G-200 Buffer: 1.0M NaCl in 0.05 M Tris-HCl buffer (pH8.0) Flow rate: 1.5~2.5ml/10min.

得た部分精製抗原は4つの大きさの蛋白分子から成立っており, それらの内の中位の大きさの2種類の水溶性蛋白が, 対応する抗体と特異的に反応することがわ

かった。

II 抗原抗体反応に關与する種属特異抗体の性質: 正常豚血清に対する家兎免疫血清10mlに飽和硫酸アンモニウム10mlを, 4 $^{\circ}$ Cの水室中で徐々にかくはんしながら加え, 1時間放置したのち生じた析出物を10,000rpm 10分間遠心し, 沈渣を10mlの蒸留水に再浮遊させた。この操作を5回くり返したのち, 最後の沈渣にTris-HCl 緩衝液10mlを加え, 12,000rpm 10分間遠心し, 得られた上清を前記抗原の場合と同様に Sephadex G-200 のカラムを通して分画を行った。得られた各分画の蛋白濃度を280m μ における紫外部吸収により調べたところ, Fig. 2に示したような連続した3つの大き

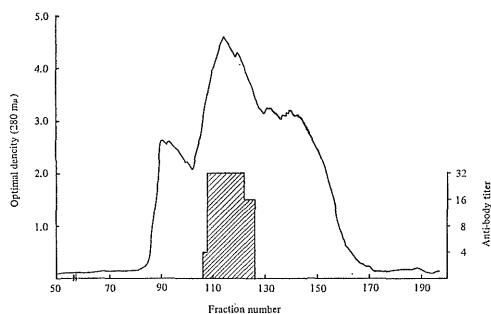


Fig. 2 Gel filtration of anti-pig serum on Sephadex G-200 Buffer: 1.0M NaCl in 0.05M Tris-HCl buffer pH 8.0 Flow rate: 1.5~2.5ml/6~7min.

な山からなる曲線を得た。これらの内, 第2峰を形成した分画にのみ抗体活性が認められた。

III 肉浸出抗原の尿素による変性: 豚肉40gに160mlの生理食塩水を加えて Fig. 3に示したような順

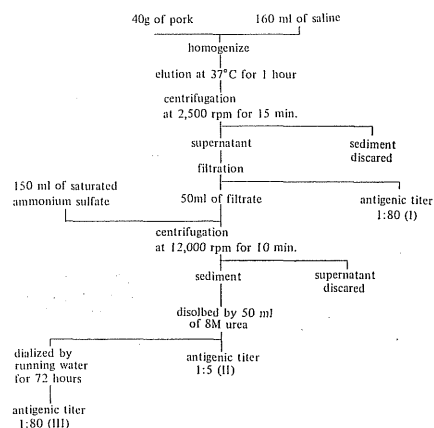


Fig. 3 Procedure used for the experiments on the reversion of 8M urea treated pork protein

序で①生理食塩水浸出抗原, ②8M尿素浸出抗原, お

よび③8M尿素浸出抗原を3日間水道水中で透析し尿素を除いた抗原の3種類を作り、Wellcome社製の抗豚血清と反応させたところ、抗原①および③はそれぞれ抗原希釈1:80まで反応したのに対し、抗原②は抗

原希釈1:5で疑わしい沈降バンドが認められたのみであった。

IV 生肉浸出抗原の加熱による変性: 各種生肉の20%生理食塩水乳剤から得た抗原はTable 1に示した

Table 1 Degradation of meat antigenicity by heating

Temperature	Time	Meat extract antigen					
		Beef	Horse	Pork	Mutton	Rabbit	Chicken
60°C	15min.	160	160	160	160	160	160
	30 "	160	160	160	160	160	160
	45 "	160	160	160	160	160	80
	60 "	160	160	160	160	160	80
70°C	15 "	160	80	160	160	160	80
	30 "	160	80	160	160	160	80
	45 "	160	40	160	160	80	80
	60 "	160	20	160	160	80	80
80°C	15 "	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
	30 "	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
	45 "	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
	60 "	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
raw meat extract		160	160	160	160	160	160

Note: Figures indicated are reciprocal of highest dilution of antigen

ようにすべての抗原が80°C15分間の加熱で完全に、対応する特異抗体との結合力を失い、しかもこの変性は通常考えられている通り、不可逆的なものでPH12.0ホウ酸一苛性ソーダ緩衝液を生じた析出物に加えて浸出を行っても抗原性の回復は認められなかった。

考 察

種属特異抗血清と特異的に反応する肉浸出液中の抗原物質の性質については、さきにわれわれが牛肉浸出抗原について報告³⁾したように、血清アルブミンと同じ性質を持っていることが判明しているが、微量ゲル内沈降反応によって肉種の鑑別を行う際に、1本の沈降バンドを形成するものと、2本以上の沈降バンドを形成するものがあることはしばしば経験するところである。今回はしばしば2本の沈降バンドを形成する馬肉の浸出抗原から得られた水溶性肉蛋白の部分精製抗原の2つの分画がそれぞれ同じように特異免疫血清と反応することをたしかめ得たが、これがただちに馬肉の場合には、分子量の異なる2つの抗原物質が存在するというのではなく、むしろたまたま抗原性のある水溶性馬肉蛋白が、今回用いた実験条件のもとで2つに

分画されたと考えた方が妥当であるのかも知れない。

一方、抗原として働く水溶性肉蛋白の変性と種属特異抗体との結合能の問題であるが、成田⁵⁾によれば、蛋白質の二次、三次構造は、その蛋白質中のアミノ酸の並び方、すなわち、その一次構造によって規制されており、これらがSS結合によって安定化されているにすぎないとされており、蛋白質が変性するというこは、この結合が切断されたり、不安定化されたりして、もとは異った場所にSS橋が形成されるため、この反応は必ずしも通常考えられているような不可逆的な反応のみではなく、適当な処理がなされるならば、異った場所に形成されたSS橋を解いて元の場所にSS橋を結ばすことができることを示唆している。これはわれわれが今回行った8M尿素処理によって変性させた肉蛋白抗原から透析によって尿素を除去した場合に種属特異抗体との結合能が回復した事実からもうなずける理論である。しかし、Table 1に示したように80°C15分以上の加熱によって失われた各種肉抗原の抗原性は、加熱によって析出した析出物を単にPH12.0ホウ酸一苛性ソーダ緩衝液で浸出しただけでは抗原性の回復は認められず、熱変性肉蛋白のSS

橋を解いて元の場所にSS橋を結ばせる方法を発見することは非常に困難な作業かも知れない。

結 論

以上肉種鑑別の際に微量ゲル内沈降反応で特異的に沈降バンドを形成する抗原物質および抗体の性質を解明するために、馬肉蛋白の部分精製抗原および抗豚免疫血清の部分精製抗体の性質を調べると同時に、8M尿素処理によって変性させた豚肉抗原および種々の温度をかけた場合の各種の家庭用肉の変性を起す限界およびその性質について調べたところ次のような結論を得た。

1) 生馬肉浸出液から得た部分精製抗原は4つの大きさの蛋白分子から成立っており、それらの内の中位の大きさの2種類の水溶性蛋白が、対応する抗体と特異的に反応することが判った。

2) 抗豚免疫血清の部分精製 α -グロブリンは、セファデックスG-200で分画した時に第2峰を形成する分画に抗体活性があることが判明した。

3) 実験に用いた6種の肉の生理食塩水抽出抗原は

80°C15分の加熱でその抗原性を失いその変性は現在までに検討した範囲では不可逆的であったのに対し、8M尿素で豚肉蛋白を処理した場合には、可逆的変性が起っていることをたしかめた。

終りに臨み、抗原および抗体のゲルろ過実験について、種々御指導、御助言を戴いた当所細菌第一部食品細菌研究室の五十嵐英夫氏に深謝する。なお、本研究は当所の方針に基づく研究費により実施されたものである。

文 献

- 1) Culliford, B.: Nature 201, 1092 (1964)
- 2) Argaman, M. and Razin, S.: J. Gen. Microbiol. 55, 45 (1969)
- 3) Murakami, H. Umeki, F. Nakamura, T. and Haruta, M.: J. Food Hyg. Soc. 10, 434 (1969)
- 4) 村上 一, 春田三佐夫: モダンメディア 16, 204 (1970)
- 5) 成田 耕造: タンパク質の構造, 現代化学シリーズ22, 東京化学同人, 1963, b 81

肉種鑑別に関する研究(Ⅱ)

加工食肉製品からの種属特異抗原の検出

村 上 一* 神 崎 政 子*
梅 木 富士郎* 春 田 三佐夫*
辺野喜 正 夫*

STUDIES ON SERO-DIFFERENTIATION OF SPECIES ORIGIN OF HOUSE HOLD MEAT (II)

A survey made on the detectabilities of species specific antigen
from heat processed meat products

Hajime MURAKAMI, Masako KANZAKI, Fujio UMEKI,
Misao HARUTA and Masao BENOKI

(Department of Milk and Meat Sanitation, Tokyo Metropolitan
Research Laboratory of Public Health)

Denaturation of soluble meat proteins on heating is a phenomenon familiar to all. In this change, it was believed that the soluble meat proteins lose their original water solubility and ability to combine with a corresponding species specific antibody. However, detection of species specific antigen from some heat processed meat products, which supposed to had been treated by the relatively mild temperature, could be made in some extent by the use of commercial species specific antisera (Barroughs-Wellcome). In this survey, a total of 838 heat processed meat products, consisted of 243 pressed hams, 522 Vienna sausages, and 73 Frankfurters and others were examined by means of micro-geldiffusion technique.

Results obtained are summarized as follows:

- 1) PH12.0 H_3BO_3 -NaOH buffered saline(12.0 BS) extracted antigen showed superior reactivity with species specific anti-serum, when mutton emulsion was heated experimentally at various temperatures.
- 2) Slight superiority of 12.0 BS extracted antigens, made from commercial heat processed meat products, were also observed on their reactivity with corresponding species specific antisera, when they were compared with those of the saline extracted antigens.
- 3) Detection rates of species specific antigen, extracted by 12.0 BS from heat processed meat products, were varied according to the sort of products tested, i.e., 67.4% on Vienna sausages, 53.4% on Frankfurters and others, and 46.0% on pressed hams respectively. These differences might be caused by the different heating temperatures and duration of the process of the products.

* 東京都立衛生研究所 乳肉衛生部

結 言

加工食肉製品の多くは、その製造過程において熱処理がなされているので、原料肉の蛋白が水に不溶性になっており、単に生理食塩水で抽出した抗原と種属特異抗血清を反応させる沈降反応に期待するのは不適當であるとして、窪田¹⁾は熱変性全血清に対する家兔免疫血清と苛性ソーダ抽出加熱肉抗原を反応させる方法を提案している。一方、Karpas ら²⁾は部分精製した熱変性血清グロブリンに対する抗血清と、加熱肉抗原を吸着させたタンニン酸処理綿羊赤血球の間接赤血球凝集反応を提案しているが、いずれも日常検査法として採用するまでには未だ解決しなければならない多くの問題点が残されている。

著者らは比較的緩慢な熱処理がなされていると考えられる市販の加工食肉製品の原料肉の種類を、現在生肉の鑑別に使用している種属特異抗血清によってどの程度鑑別し得るものか、また、それらの製品からの抗原抽出の条件を検討することにより種属特異抗原の検出率を上げることができるとかについて、200 例の市販加工肉製品を用いて検討を試みた。すなわち、単に生理食塩水で抽出した抗原と、pH12.0H₃BO₃—NaOH緩衝食塩水(12.0BS)で抽出した抗原の2種類を作り、両者の間に種属特異抗原の検出率に差があるかどうかを調べた。一方、1970年10月から1971年6月までの間に都内の小売店から収去された838件の加熱食肉加工品の製品別の種属特異抗原の検出率の調査も併せ行なったので報告する。

材料および方法

1. 市販の加工食肉製品 1970年10月から1971年6月の間に、都内の小売店から保健所の食品衛生監視員により収去されたもので、その製造工程中に加熱処理がなされているプレスハム、ウィンナーソーセージお

よびフランクフルトソーセージ等計838件を選び用いた。

2. 種属特異抗血清 前報³⁾に述べた Burroughs-Wellcome 社製の動物種属特異抗血清の内から、抗牛、抗馬、抗豚、抗綿山羊および抗家兎の5種類を選び用いた。

3. 寒天ゲル作製用緩衝液 Culliford⁴⁾によって提案されたもので、デエチルバルビツール酸、1,106g 溶性バルビツール7,006g、乳酸カルシウム1,024gを蒸留水2,000mlに溶解した。

4. pH 12.0 ホウ酸・苛性ソーダ緩衝液 加熱加工食肉製品からの抗原作成の際に用いるもので、1.5M 食塩 80ml、0.5M ホウ酸 100ml に 1.0M 苛性ソーダを加えてpHを12.0±0.1に調整後、蒸留水を加えて全量を1,000mlとした。

5. 微量ゲル内沈降反応 水平に保持したスライドガラス(28×76mm)上に融解した1%寒天ゲル(Special agar noble Difco) 3.3mlを静かに表面張力を利用して重層し、寒天が凝固したのち、直径2mmの孔を中心に1個、その孔から3mmはなれた円周上に等間隔に3～4個あけ、中心の孔に種属特異抗血清を、周囲の孔に市販加工肉製品から抽出した抗原をそれぞれ5μlづつ注入し、湿度保持箱中におさめ、18～24時間室温に放置したのち、特異的な沈降バンドの有無により判定を行なった。

検 査 成 績

1. 使用抗原抽出用溶媒の影響 加熱処理をされた肉から抗原を抽出する際に、用いる溶媒の種類によって種属特異抗原の検出能に差があるかどうかを調べるために、実験的にマトンの20%乳剤を3種類の溶媒で作成(Table 1)、80°Cで5分、10分、15分、20分、25分および30分間それぞれ水浴中で加熱し、4°Cに一夜放置

Table 1. Influence of The Solvent On The Detection of Species Specific Antigen

Solvent	Mutton emulsion heated at 80°C for						
	0 min.	5 min.	10 min.	15 min.	20 min.	25 min.	30 min.
Saline	160	20	—	—	—	—	—
12.0 BS	160	20	5	—	—	—	—
0.2M NaOH	160	—	—	—	—	—	—

Note: Figures are indicating reciprocal of highest dilutions of antigen which gave positive results.

Table 2. A Comparison of Two Kinds of Solvent, Used for the Extraction of Species Specific Antigens from Heat Processed Meat Products

Test antigens extracted by	Species specific antigens detected			No antigen detected	Total
	One kind of antigen	Two kinds of antigens	Three kinds of antigens		
Saline	64	29	8	99	200
12.0 BS	66	32	8	94	200

Note: Figures are indicating number of specimens

Table 3. Detection of Species Specific Antigen from Heat Processed Meat Products

Specimens	No. of tested	Species Specific antigens detected																No. of negative	
		B	E	P	O	L	B P	B E	B O	E P	E O	P O	P L	O L	B P O	B P L	E P O		P O L
Pressed Ham	243	1	3	19	61	6	2	1	2		1	7		7		2			131
Vienna sausage	522	4		195	1	4	16			1		84	26		2	1	2	16	170
Frankfurters and others	73		1	14			3	1				16		1	1		1		34

Note: Figures are indicating the number of specimens. Keys for abbreviations: B=Bovine, E=Equine, P=Porcine, O=Ovine and L=Lapine.

したのち、その上清をろ過して抗原性の有無をそれぞれの2倍段階希釈について微量ゲル内沈降反応により調べたところ、12.0BSで浸出した抗原が、10分間加熱後に1:5の抗原性を示し、用いた3つの溶媒中で最もよい成績を示した。

2. 市販加工食肉製品からの種属特異抗原の検出
加工食肉製品の原料肉の種類を、生血清に対する種属特異抗血清で調べる際に、前述の実験結果で認められたような溶媒の種類による差が、製品からの種属特異抗原の検出率の差として認められるか否かを200例の検体について調べたところ、Table 2に示したように、あまり著明な差は認められず、いくつかの検体で、12.0BS抽出抗原が生理食塩水抽出抗原より鮮明な沈降バンドを形成したとこと、総体的にみて種属特異抗原を検出できた検体数が5例(2.5%)多かったのみにとどまった。次に、12.0BSで抽出した抗原を用いて実施した市販食肉加工製品の検査成績を、製品の種別別に分類してみると、Table 3に示したように、プレスハムの場合は243例中112例(46.0%)から、ウィナーソーセージの場合は522例(67.4%)から、フランクフルトソーセージおよびその他の場合は73例中39例(53.4%)からそれぞれ主たる使用原料肉由来の種属

特異抗原を検出することができた。

考 察

加熱変性した肉蛋白が水に不溶性になり、種属特異抗血清と反応する能力を失うことは古くから知られている事実であるが、一方、ハムやソーセージ類のごとく比較的緩慢な熱変性を受けている製品の原料肉の種類を全生血清に対する種属特異抗血清である程度まで判別できることもまた事実である。また、比較的緩慢な熱変性を起した肉蛋白は必ずしも不可逆的な変性のみを起すものでもなく、Table 1の成績から明らかに、変性直後の肉蛋白に適当な条件を与えてやれば一部の変性肉蛋白は水に溶ける性質をとりもどし、種属特異抗血清と反応する性質も回復するものと考えられる。しかし、市販の加工食肉製品200例について行なった生理食塩水抽出抗原と12.0BS抽出抗原の比較試験においては、抗原性の検出率に期待したような大きな差が認められず、わずかに2.5%後者がよい成績を示したのみに止った。これは市販の肉加工品の場合、蛋白変性後の保存期間が抗原性の回復に影響しているのかも知れない。

市販の加工食肉製品からの抗原性検出率が、製品の種類によって異なる現象は、それぞれの製品ごとに加

熱の方法，時間等が異なるためであると考えられる。要するに，加工食肉製品の原料肉の種類を血清学的に検査するためには，従来用いてきた沈降反応による抗原性の検出に限界があり，抽出条件を変化させても大幅に検出率を上げることはあまり期待できず，むしろ Karpas^らが提案している方法を実用化する努力をする方が期待が持てるかも知れない。

結 論

プレスハム 243 件，ウィンナーソーセージ 522 件，フランクフルトソーセージおよびその他 73 件からなる総計 838 件の市販加工食肉製品の原料肉の種類を市販の種属特異抗血清でどの程度まで判別できるか，また，抗原の抽出条件を変えることにより検出率を引き上げることができるかどうかを微量ゲル内沈降反応を用いて調べるこべたところ次のような成績を得た。

1) 実験的に種々の温度で加熱したマトンからの種属特異抗原の検出は，12.0BS を用いて抽出を行なった場合に最もよい成績を示した。

2) 市販加工食肉製品から 12.0BS で抽出した抗原

を用いた場合，食塩水抽出抗原を用いた場合に比して，種属特異抗原の検出率がわずかに優れていた。

3) 市販加工食肉製品から 12.0BS で抽出した抗原を用いて検査した種属特異抗原の検出率はウィンナーソーセージが 67.4% と最も高く，次いでフランクフルトソーセージおよびその他の 53.4%，プレスハムは 46.0% と最も低い検出率を示した。これは製品の種類ごとにその加工工程での加熱温度およびその時間が異なることに起因しているのかも知れない。

なお，本調査は本所の方針に基く研究費により実施されたものである。

文 献

- 1) 窪田 譲：長野県衛生研究所調査研究報告 75, 1 (1967)
- 2) Karpas A.B., Myers W.L. and Segre D.: J. Food science 35, 150 (1970)
- 3) Murakami H., Umeki F., Nakamura T. and Harta M.: J. Food Hyg. Soc. 10, 434 (1969)
- 4) Culliford B.: Nature 201, 1092 (1964)

食品中のマイコトキシンに関する研究 (第一報)

ピーナツ, ピーナツ製品中からアフラトキシンの検出

木村康夫* 直井家寿太* 友松俊夫*
小川仁志* 風間栄治* 斎藤和夫*
江口良子*

STUDIES ON MYCOTOXINS IN FOODS (I)

Detection of Aflatoxins in Peanuts and Peanut Products

Yasuo KIMURA, Yasuta NAOI, Toshio TOMOMATU, Hiroshi OGAWA
Eiji KAZAMA, Kazuo SAITO, Yoshiko EGUCHI

(Department of food hygiene, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

Detection of Aflatoxin in raw and process peanuts was performed by modification of the method Ⅲ specified in A.O.A.C (1971). As a result of test on 30 samples of them, it was found that 8 samples contain aflatoxin B₁.

However, aflatoxin B₁ was not detected from Miso, bean paste used daily in Japan.

1. 緒 言

我が国においては戦前に三宅により台湾産米の中に発生する黄変米についての研究がなされ、この黄変米から分離したカビ *Penicillium toxicarium* Miyake が有毒物質を産生することが報告^①されている。米を主食とする日本人の間には国民病といわれた脚気、脚気衝心があり、古く江戸病などと呼ばれ、長い間日本人の健康を蝕んできた。この原因がビタミンB₁の欠乏症といわれて久しいが、三宅らはすでに前記報告の中で *P. toxicarium* の人工培養米を用いて動物飼育実験をおこない、脚気衝心様症状をおこすことを確認している。更に浦口は脚気とマイコトキシンの問題をとらえ詳細な研究をおこなっており、現在ではこの疾病の原因については、黄変米毒素が一役買っていたのではないかという見解が支配的となっている。現に米を主食とする東南アジア地域では、今日なお多数の脚気症患者が存在するといわれており、この疑いは極めて濃厚である。戦後の食糧難時代に世界各地から米が輸入

されたが、南方産米などの中に黄変米の混入がひどく多量の米が廃棄された。この黄変米の中から検出される有毒成分の研究^②が活発におこなわれ、イスランジトキシン、ルテオスカイリン、ルグロシンなどが分離同定されていった。又我が国および欧米諸国の麦生産国では古くから赤カビ病になやまされている。食品衛生上でも食品中の異物として赤カビや麦角の検出がおこなわれるが、赤カビ病の原因菌として知られる *Fusarium* 属菌による麦類の汚染によって、人および動物に食中毒をおこした事例^③は本邦のほかソビエトなどでも報告されており、又麦角による中毒例^④も更に古くから知られている。我が国では昭和7年北海道で一大被害があり、赤カビ病有害麦を用いた動物実験で中毒症状が確認された^{⑤⑥}。更に昭和28年、38年には我が国産麦の大部分が赤カビ病の被害をうけたが、28年には三宅(市)、浦口、三宅(仁)による協同研究班が組織され、菌学的、病理学的研究がなされた。更に角田、諸岡、辰野^{⑦⑧}らによって分離された *Fusarium* 属菌の菌学的研究、および産生する毒素の

* 東京都立衛生研究所 食品部

る化学的研究がなされ、特に *Fusarium nivale* の産生する Fusarenon について現在までに詳細な報告^⑧がある。このように我が国におけるカビ毒 Mycotoxin の研究は多くの成果を上げ、その業績は国際的にも高く評価されている。一方1960年に英国において七面鳥が短期間に大量斃死するという事件がおこり、その原因について究明をおこなった結果、英国の Tropical products Institute の研究グループにより、飼料のピーナツミール中より青紫色螢光物質が検出された。この物質がアヒルヒナに対して七面鳥を斃した時と同じ症状をおこすことを確認し Aflatoxin と命名した。同時にピーナツミールよりこの物質を産生するカビも分離され、*Aspergillus flavus* Linkex Fries と命名された。有毒物質 Aflatoxin が分離されるとその強力な発癌性により、たちまち全世界で注目され、現在までに多数の研究結果が報告^{⑨⑩⑪⑫⑬⑭⑮⑯}されている。

我が国では古来食生活の中で醸造食品の占める割合は高く、カビの生理活性を利用することを自然の経験の中で行なってきたことから、宮木、栗飯原^⑩らは早くから、Mycotoxin、特に Aflatoxin による食品汚染に対して警告を発し、衛生化学分野での調査研究の必要性を強調した。1971年3月栗飯原は市販ピーナツ製品中より Aflatoxin を検出したため、厚生省は急遽ピーナツ、ピーナツ製品中の Aflatoxin 試験法を作製全国に通達^⑰した、我々はこの通達にもとづき、早速ピーナツ及びピーナツ製品について Aflatoxin の試験を実施し、若干の知見を得たので報告する。

2. 実 験

Aflatoxin は現在までに B_1 , B_2 , G_1 , G_2 , M_1 , M_2 , B_{2a} , G_{2a} の8種類が確認されており、これらの化学的性状、構造については詳細な報告^{⑱⑲⑳㉑㉒}がある。A. O. A. C (1971) に Natural Poisons の項が設けられ、この中に Aflatoxin の試験法^㉓が制定された。この試験法のうち第3法を基礎としてつくられたものが厚生省通達による試験法で、ピーナツ、ピーナツ製品中の Aflatoxin 試験法として現在全国的に統一された唯一のものである。

〔1〕ピーナツ、ピーナツ製品中の Aflatoxin の試験

1. 検体；ピーナツ11種、ピーナツ製品19種
2. 試薬；メタノール、n-ヘキサン、クロロホルムエチルエーテル、ベンゼン、アセトニトリル、無水硫酸ナトリウム（いずれも特級品）
シリカゲル（ADSORBOSIL—1）

3. 標準品 (aflatoxin) ；

USDA 標準試料 $B_1 : B_2 : G_1 : G_2$ (31 : 10 : 17 : 2)

aflatoxin B_1 (MAKOR BIOCHEMICALS FOR RESEARCH)

4. 試験法 (A) 第一法 (method I)

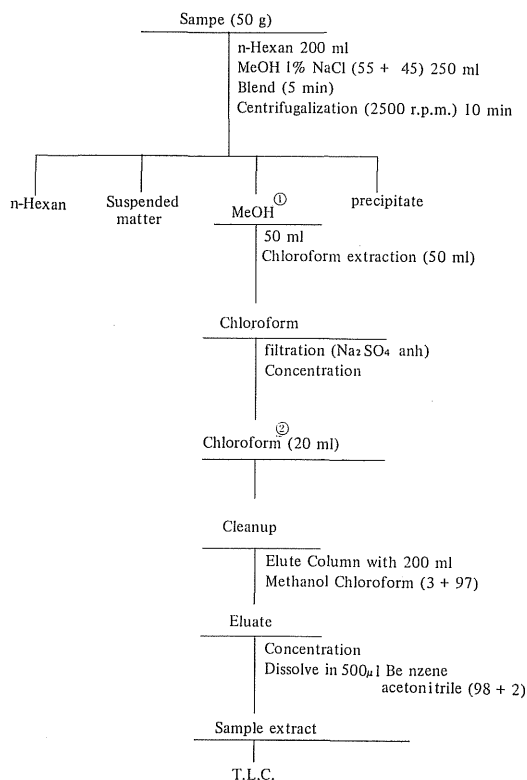


Table I

抽出法；第一表のとおり、検体は50 g を精秤する。

ホモジナイザーで攪拌抽出後遠沈すると抽出液は4層に別れる。(n-ヘキサン—浮遊物—メタノール混液—残渣) 最上部のn-ヘキサン層は吸引除去、次の浮遊物は注意して除去、必要なメタノール混液層が濁るのを防ぐ。やむをえない場合は汚過又は再度遠沈する。次にピーナツ、ピーナツ製品は脂肪が多いので①のメタノール混液は再びn-ヘキサン100 ml と振盪し脱脂を完全にすると以後の操作が楽になる場合がある。メタノール混液50 ml からクロロホルムに転溶した後、クロロホルムを無水硫酸ナトリウムを通して汚過し脱水することが指示されているが、クロロホルム抽出液に無水硫酸ナトリウム10~15 g を投じて攪拌後静置し、次の濃縮に移った方がよい。

クリーンアップおよび試験溶液の調製；一般に食品中には有機溶媒可溶の蛍光物質が多いと考えられるが、カビ汚染のあるもの、又脂肪の多いものは特に精製操作が必要であり、クリーンアップは必ずおこなうべきである。

クロマトカラム管(22 mm×500 mm)にクロロホルムを約半分まで満たし、Na₂SO₄ (anh) 10 g、次にシリカゲル20 gを常法どおり徐々に加え、最後にNa₂SO₄ (anh) 10 gを積層する。クロロホルムを流下させた後、②のクロロホルム抽出液を静かに加え、溶媒を殆んど流出させた後、n-ヘキサン、エチルエーテル各150 mlを流してカラムを洗滌する。つぎにメタノール、クロロホルム(3+97)混液200 mlを流して(10~15 ml/min) aflatoxinを溶離する。溶離液を減圧濃縮した後、ベンゼン、アセトニトリル混液(98+2)500 μlを加え、ミキサーで激しく混和溶解させる。これを試験溶液とする。

分離検出；薄層クロマト用プレート20 cm×20 cm

(ADSOLBOSIL—1, 厚さ 0.25 mm) に試験溶液およびaflatoxin混合標準液各10 μl およびaflatoxin B₁ 標準液5 μl をスポットし、クロロホルム、アセトン(9+1)を展開溶媒として約10 cm展開する。終了後プレートは風乾し、紫外線灯下 aflatoxinの有無を検する。

aflatoxin は R_f の大きい順に B₁, B₂, G₁, G₂ と並び B₁, B₂ は青紫色、G₁, G₂ は緑青色の美しい蛍光を発して確認出来る。

(B) 第二法 (method II)

以上が厚生省通達による試験法であるが、この方法は一応精製操作を加えているといっても、最終的にはTLC上のスポットを標準品と比較してその位置を確認し aflatoxin としているにすぎない。我々は日常食

品中の添加物、有害性物質の化学試験において、薄層クロマトグラフィ、ペーパークロマトグラフィ等の方法をおこなっているが、その経験から考えた時、すべて衛生化学試験においては2種以上の試験方法を実施して結果を出すことが必要である。特にカビは食品に寄生した時特有の色素をはじめ、多種の蛍光物質を産生することが知られており、又食品に aspergillus flavus が繁殖する状態では、他のカビの繁殖も当然考えられるわけであってMycotoxinの検査に当っては、これらの条件を充分に考えて試験法を作成しなければならない。国立衛試田辺らは前記の試験法を第一法とし、aflatoxinを検出したものについては、Andrellos® および Stoloff® の研究をもとにして、次の方法を第二法(確認法®)としている。

〔Aflatoxin B₁ の確認試験〕

(1) 試験溶液を薄層クロマト用プレートの左から5 cm, 手前から4 cmの位置にスポットし、プレートを温めて溶媒を除いたのち、クロロホルム、アセトン(9+1)で約10 cm展開する (Fig.1)。プレートを風乾後 aflatoxin B₁ が検出された位置から1~1.5 cmの間隔においてB₁ 標準液を2ヶ所にスポットする。溶媒除去後 B₁ とと思われるスポットと標準液のスポットのうち1個にのみ、無水トリフルオロ酢酸 (CF₃CO)₂O を各々 6 μl 注意して滴下した後、裏面から加温してトリフルオロ酢酸を完全に除き、二次展開を行なう。展開溶媒はメタノール、クロロホルム (5+95) を用い10 cm 展開する。終了後プレートは風乾し、紫外線灯下で薄層クロマトグラムを検する。本法ではアフラトキシン B₁ はトリフルオロ酢酸の附加体ができ、二次展開後は、R_f 0.3~0.4附近に青紫色のスポットとして確認出来る。なおトリフルオロ酢酸を滴下しなかったB₁標準液のスポットとB₂ G₁, G₂のスポットはすべて溶媒先端に展開する (Fig.2)

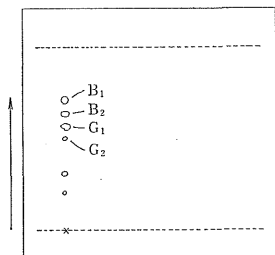
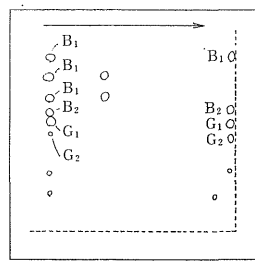


Fig. 1. developer : Chloroform-Aceton (9+1)



aflatoxin B₁ Derivate

Fig. 2. developer : Methanol-Chloroform (5+95)

TLC Chromatogram of aflatoxin B₁ B₂ G₁ and G₂ (method II)

田辺らは確認試験の(2)としてギ酸と塩化チオニールを用いる方法も推奨しているが、我々の試験では B₁, B₂, G₁, G₂ の4種が検出されたことが多いので、(1)の方法のみをおこなった。以上の方法で市販品30種について試験をおこなったところ、ピーナツより1件、ピーナツ製品中の7件より aflatoxin B₁ を検出した。

〔2〕みそ中の aflatoxin 試験法の検討

Aflatoxin の試験をおこなう場合、食品中に含有する蛋白の質および量、又脂肪の量、種類によっても抽出法が多岐の影響を受けることが判っていたが、みその場合にピーナツ製品の試験法を応用しても aflatoxin は殆んど抽出されない。そこで第一表に示した方法に若干の改良を加えて(第二表)回収実験を行なったところ良好な結果が得られた。

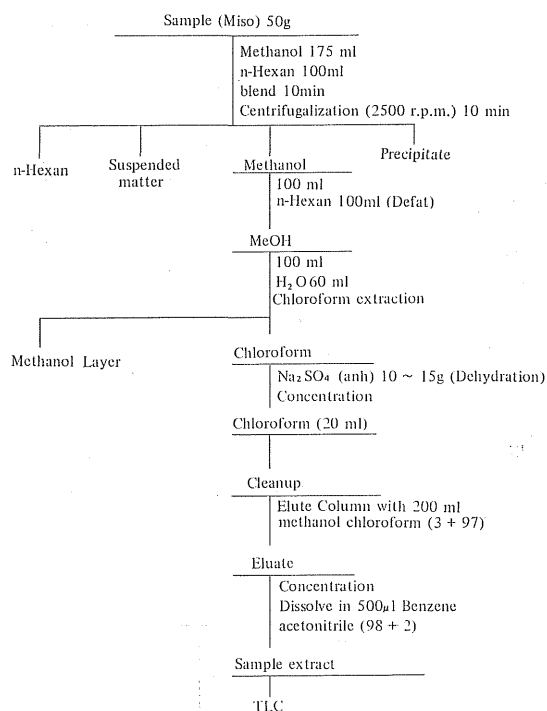


Table II

抽出法；みそは水分が約50%含まれるので1%食塩メタノール混液で抽出するより、メタノールと高速攪拌したほうがよい。n-ヘキサンによる脱脂も2回おこなう必要がある。ホモジナイザー後遠心分離すると、4層に別れる。注意してメタノール層をとり、(必要あれば汙過又は遠沈)うち100

mlに蒸留水60mlを加えたのち、クロロホルムで2回抽出する。クロロホルム抽出液は無水硫酸ナトリウムで脱水後減圧濃縮し、約20mlとする。次にクリーンアップをおこなう。

クリーンアップおよび試験溶液調製；みそは *aspergillus oryzae* を種麹として作られた醸造食品であるので、特有の色素や各種の蛍光物質を含有している。従って我々の実験では、ピーナツ製品の試験法におけるシリカゲルカラムだけのクリーンアップでは後のTLCの時に多種の蛍光物質によって妨害され、添加実験においても、まったく判別不能であった。そこでシリカゲルの上に更に酸性アルミナを積層したカラムを用いた。すなわちクロマト用カラム(22mm×500mm)にクロロホルムを注ぎ、無水硫酸ナトリウム10g次にシリカゲル20gをつめ、更に無水硫酸ナトリウム10gを積層したのち、酸性アルミナ5gをつめ、最後に無水硫酸ナトリウム10gを積層する。下部のcockを開いてクロロホルムを流下した後、クロロホルム抽出液(約20ml)を入れ、溶媒を殆んど流出した後、n-ヘキサン150ml、エチルエーテル150mlで洗滌する。洗滌終了後メタノール-クロロホルム(3+97)300mlで溶離する。(5~10ml/min)溶離液は減圧濃縮後、ベンゼン-アセトニトリル(98+2)500μlを加え、ミキサーで激しく攪拌溶解させる。これを試験溶液とする。

分離検出；TLC上でピーナツ製品の場合と同様に実施する。以上の方法によって添加実験を行なったところ、B₁量において、66%、80%、81%、90%の回収率を示した。

TLC蛍光デンシトメトリー；

Ayres および Sinnhuber[®]によってTLCプレートを直接蛍光デンシトメーターにかけて aflatoxin スポットの蛍光強度を測る方法が考案された。その実験によると $2.5 \sim 15 \times 10^{-4} \mu g$ の範囲で B₁ の濃度と蛍光エネルギーとの間に直線関係があるという。更に Pons[®] らは aflatoxin 類を展開したTLCプレートを展開方向に移動させて、蛍光デンシトメトリーを行なった。その結果ピーク面積と蛍光強度の間に $2 \sim 105 \times 10^{-4} \mu g$ の間で直線関係が成立することを報告している。我々はこれらのデータを参照し、TLC蛍光デンシトメトリーを行なったところ、スポット当りB₁量として 3.1ng~13.2ng の範囲で検量線が得られた。(Fig. III)

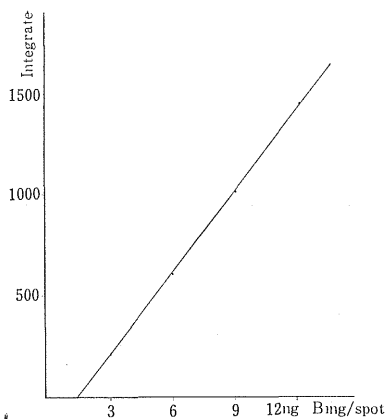


Fig. III

第3図に検量線を示したが、検量線の再現性については、期待した結果が得られず、理由については目下検討しているが、測定のつど作製すべきものと考ええる。デンストグラム第4図、第5図はみその添加実験をおこなった時のものであるが、TLC上の各スポットは肉眼的にも分離がよく、実際にデンストメトリーをおこなうと、図のとおりピークがはっきりわかれる。第6図はピーナツ（スーダン産）から検出した aflatoxin のTLCデンストグラムで、G₁、G₂ は紫外線灯下に僅かに確認できたが、デンストメトリーではピークとして出てこない。この検体は B₁ が圧倒的に多くその量は 383ppb に達する。第7図はピーナツクリームから検出した aflatoxin のTLCデンストグラムで、プレート上で肉眼的に確認（紫外線照射）で

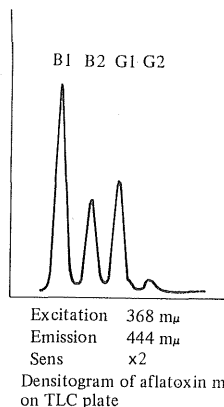


Fig. IV

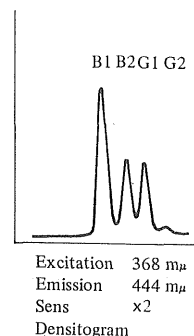


Fig. V

きた B₁、B₂、G₁、G₂ の4個のスポットがデンストグラム上でもとらえることが出来た。第8図はライマ豆に添加実験をおこなった時のTLCデンストグラムである。分離は非常によいが B₁ 量に比べて B₂ 量が多く出ていること、G₁、G₂ の量にあまり差のないことがみその場合 (Fig. 4 Fig.5) と異なる点である。回収率への影響も含めて目下検討中である。

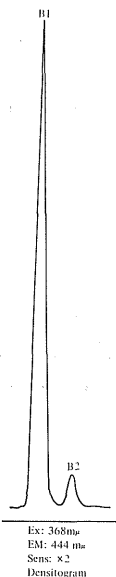


Fig. VI

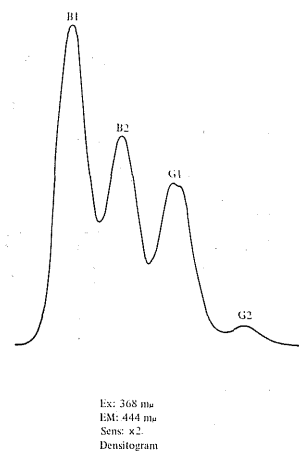


Fig. VII



Fig. VIII

第9図は市販みそ4種について、我々の考案した上記の方法で試験をおこなった時のTLCプレートを紫外線照射したもので、これだけ精製をおこなってもなお多くの蛍光物質がみられる。これらのスポットの蛍光色は、白緑色、緑青色、黄緑色、青紫色、青色、青白色などさまざま色を呈し又極めて強い。特に標準液スポットのうち B_1 の位置の上に B_1 の蛍光と同一の蛍光を示すスポットが存在することもあり、みその試験には慎重さとかなりの熟練度を要することを痛感した。我々は本法におけるクリーンアップ法で略目的を達したものと考えているが、添加実験例が少数に止まったので、更に自家醸造みそも使ってひきつづき本法の改良を試みている。

試験結果；上記の試験法により市販みそ7種について aflatoxin の検出をおこなったが、いずれも検出されなかった。

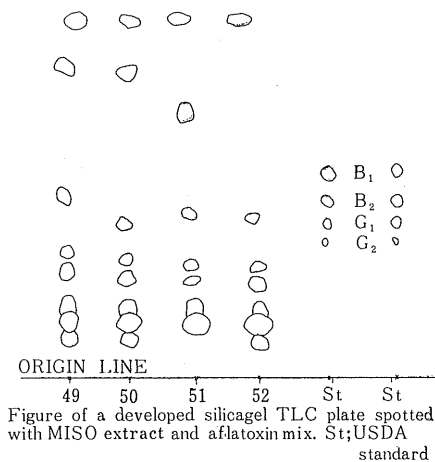


Fig. IX

〔3〕 雑豆中の aflatoxin 試験法の検討

我が国には製あん原料として南方地域より各種のいわゆる雑豆が多量に輸入されている。これらが熱帯地方に産することから、当然の事ながらカビの汚染が考えられる。そこで輸入雑豆について aflatoxin の検出をおこなった。試験法についてはピーナツの場合と同様に考えて実施したが、豆の種類によって必ずしも操作が順調にゆくとは限らず抽出操作を妨害するものが多い。そこで急ぎ試験法を検討したが南方産ライマ豆、コロンビア産小豆について添加実験をおこなった結果では50～60%の回収率しか得られず、なお試験法全般について検討中である。以上のような経過であるが一応雑豆28種について慎重に試験を実施したところ、いずれも aflatoxin を検出しなかった。

3. 結 論

現在までに65種の市販品について aflatoxin の検出を試みたが、ピーナツから1件、ピーナツ製品から7件について aflatoxin B_1 が検出された。aflatoxin の試験法はピーナツ製品のみについて確立された状態であるので、今後はカビ汚染原料を使用してつくる可能性のある市販製品について細かく試験法を作製する必要がある。特に菓子原料として輸入されるココナツ類、雑豆については早急に試験法を作りたい。又醸造食品についてはみそ他に、醤油、酒、甘酒などもそれぞれ別の試験法が必要になってくるものと思う。これらについても目下鋭意作業を進めている。その他 aflatoxin 汚染の甚しいといわれる輸入飼料で大量育成している食用動物や鶏の肉、特に肝臓について B_1 の検出を、又牛乳についても M_1 の検出をおこなう必要がある。

現在早急に試験法を確立しなければならない mycotoxin は20種ほどあるが、標品の得られるものは aflatoxin のほかに4種程度である。これらのうち人に肝癌をおこす Sterigmatocystin、肝障害をあたえる Ochratoxin A、Rubratoxin B について試験法作製の作業を進めて居るので次の機会に報告したい。

本研究を進めるにあたり、多大の御協力をいただいた衛生局公衆衛生部食品監視課々長山海保氏ほか課員の方々に深謝する。又、種々御教示賜わった国立衛生試験所田辺博士、五十畑技官、竹田技官、及び予防衛生研究所栗飯原博士に感謝致します。

参 考 文 献

- ①三宅一郎，他，農林省米穀利用研究，1，1，(1940)
- ②厚生省，黄変米研究報告Ⅰ～Ⅳ
- ③小笠原和夫，北海道立衛生研究所，2，35 (1951)；西門義一，農学研究，46，1 (1958)；平山重勝他，衛試彙報，66，85 (1948)
- ④G. Barger, "Ergot and Ergotism," Guernsey and Tachson, Edinburgh, 1931
- ⑤枘内吉彦：病虫雑，20(2)，106，20(3)，179 (1933)
- ⑥卜蔵梅之丞：病虫雑，20 (53)，(1933)
- ⑦角田広，他：食糧研究所研究報告，23，89 (1968)
- ⑧諸岡信一，他：農芸化学会誌，45，4，151～155，(1971)
- ⑨Sargeant, K. et al.: Vet. Record, 73, 1219～1223, (1961)
- ⑩K. Sargeant, et al.: Nature, 192, 1096～1097, (1961)
- ⑪G.N. Wogan, : Mycotoxins in Food stuffs. MIT

- ⑫E. Boker E., et al.: Advan. Appl. Microbiol., 8, press, Cambridge, Massa-chusetts, (1965)
315~351, (1966)
- ⑬J.M. Barnes: Trop Sci., 9, 64~74, (1967)
- ⑭J. Fogacs & W.T. Carll: Advan. Vet, Sci., 7, 237~242, (1962)
- ⑮R.D. Coveney, H.M. Peck & R.J. Townsend: Recent Advances in Mycotoxicoses. Microbiological Deterioration in the Tropics., Society of Chemical Industry: Monograph, No. 23, 31~43, (1966)
- ⑯H.F. Kraybill & M.B. Shimkin: Advan. Cancer Res., 8, 191~246, (1964)
- ⑰宮本高明, 他: 食品衛生学雜誌, 6, 1~9, (1965)
- ⑱厚生省; 環食第 128 号, (1971)
- ⑲G. Buchi & D. Rae: Aflatoxin (ed. L.A. Goldblatt) pp. 55~75, (1969)
- ⑳T. Asao, et al.: J. Am. Chem. Soc., 85, 1706~1707, (1963)
- ㉑T. Asao, et al.: J. Am. Chem. Soc., 882~886, (1965)
- ㉒S.B. Chang, et al.: Science, 142, 1191~1192, (1963)
- ㉓K.K. Cheung & G.A. Sim: Nature, 201, 1185~1188, (1964)
- ㉔Official Methods of Analysis of the Association of Official analytical chemists, 426~438 (1971)
- ㉕厚生省食品衛生特殊技術講習会
- ㉖P.J. Andrellors, & G.R. Reid: J. Assoc, Offic. Anal. Chemists, 47, 801, (1964)
- ㉗L. Stoloff: J. Assoc. Offic. Anal. Chemists, 50, 354, (1967)
- ㉘J.L. Ayres & R.O. Sinhuber: J. Am. Oil. Chemists' Soc., 43, 423~424, (1966)
- ㉙W.A. Pons Tr., et al.: J. Am. Oil Chemists' Soc., 43, 665~669, (1966)

缶詰食品中の重金属に関する研究（第1報）

乳児用缶詰開缶後のスズおよび鉛の溶出変化について

木村康夫* 上田 工* 西島基弘*
真木俊夫* 和田 操* 高橋尚子*
山田隆昭** 荒井宗勝** 植松智之**

STUDIES ON EXTRACTABLE HEAVY METALS IN CANNED FOODS (I)

Detection of tin and lead from various sort of canned baby foods after their opening.

Yasuo KIMURA*, Kou UEDA*, Motohiro NISHIZIMA*, Toshio MAKI*,
Misao WADA*, Shyoko TAKAHASHI*, Takaaki YAMADA**, Munekatsu
ARAI** and Tomoyuki UEMATSU**.

*(Department of Food Hygiene, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

** (Food Inspection Section, Tokyo Metropolitan Government)

Summary

Many reported on the detection of tin from canned foods immediately after their opening. However, no one reported on the amount of heavy metals which would be dissolved into the contents of the can after its opening. In this investigation, a total of 90 commercial canned baby foods were used for the detection of heavy metals. After the opening of the can, all of them were tested, at 24 hour interval, for the consecutive 3 days of their strage both in a refrigerator and at room temperature. Determination of the sort of heavy metals detected were made by means of polarography and atomic spectrophotometry techniques.

Results obtained are summarized as follows:

- 1) A large amount of tin was easily dissolved into the contents from a plain can, within a short period of time after its opening, and an amount of lead dissolved into the contents of the can also increased during its strage after opening.
- 2) A large amount of lead was detected from a certain brand of canned tomato juice, which presumably extracted from the welded part of the can.
- 3) There was a tendency that a larger amount of tin or lead had dissolved into the contents of the can, when they were kept at room temperature after opening, while the ones kept in a refrigerator extracted relatively smaller amount of them.
- 4) On the basis of our observation, it is better to transfer the contents of a canned baby foods to an another vessel, such as a glassware, immediately after the opening for the prevention of food poisoning.

* 東京都立衛生研究所 食品部

** 東京都衛生局公衆衛生部食品監視課

1. はじめに

近年、罐詰のスズの異常溶出が、原因と見られる食中毒が発生している。

これに関連して、開罐時におけるスズの溶出量については、いくつかの発表が行なわれている。一般に、家庭において、罐詰食品を一度に食べ切れなかった場合に、罐のまま冷蔵庫に保存しておくことが、しばしばおこなわれている。その際、スズについては、特に、無塗装罐（以下白罐と云う）の場合、開罐後は短期間に溶出することが、予想される。

また、通常、罐の巻締部分に加鉛ハンダを使用するため、鉛の溶出も考えられる。

乳児用罐詰食品のラベルには“開罐後は蓋をして冷蔵庫に入れ、2日～3日以内に与えること”“開罐後は蓋をして、冷蔵庫が涼しい所におき、3日以内に与えること”“開罐後は、なるべく他の清潔な容器に移しかえて、冷蔵庫に入れ、2日以内に与えること”等いずれも極く小さい文字で書かれている。

また、同一会社の同一製品のものでも、白罐、塗装罐等、いろいろの罐を使用している場合があるため、一般の人が、その都度、用法を確認して、その指示通りに保存しているとは思えない。且つ、指示通りの保存法であれば、安全であるとの実験的報告もされていない。

そこで我々は、本年2月～5月に市販されていた乳児用罐詰食品について、開罐後の、スズ、鉛の経時変化について調査を行なったので、その結果を報告する。

2. 実験の部

1. 試料

(Table 1) に示したとおり、国産5社の製品および米国1社の製品、49種(90罐)について調査を行なった。

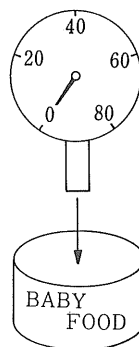
(Table 1) Kind of tested samples

Manufactory	Coated cans	Plain cans ※
MEIDI-YA	12	5
MEIJI	1	1
Q. P	16	0
WAKODO	5	0
NICHIRO-HEINZ	1	4
BEECH-NUT	0	4

※ Shows can coated head and bottom inside.

2. 真空度、pH の測定および放置条件

開罐時、真空度を真空検罐器（菊地科学器械KK）



(Fig. 1) で測定したのちに、家庭用罐切りで開罐する。

内容物に空気が混入しないように注意しながら混和し、pH試験紙（東洋沄紙KK）でpHを測定したのち、試料を秤取する。

秤取後の罐は蓋をして冷蔵庫（ $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ）または室温（昼間 $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、夜間 $8^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ）に放置したのち、24時間、48時間および72時間

後に、各試験罐詰より試料を秤取して、スズ、鉛の含量を測定する。

3. 試薬

3—(1) スズ定量用試薬

- イ. 硝酸（特級）
- ロ. 硫酸（特級）
- ハ. 過塩素酸（特級）
- ニ. シュウ酸アンモニウム（特級）
- ホ. 支持電解液；

2M塩酸と2M塩化アンモニウムの等量混液

ヘ. スズ標準原液；

金属スズ 1.000 g を白金ルツボ上で塩酸に溶解し乾固したのち、支持電解液で溶かし 100 ml とする。

3—(2) 鉛定量用試薬

- イ. 塩酸（精密分析用）
- ロ. 硫酸アンモニウム（精密分析用）
- ハ. アンモニア水（精密分析用）
- ニ. メチルイソブチルケトン—MIBK（特級）
- ホ. 25%ロッセル塩；

試薬特級のロッセル塩に水を加えて溶かし 100 ml とする。

ヘ. 1%ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム（DDTC—Na）；

試薬特級のDDTC—Na 1 g を水に溶かし 100 ml とする。

ト. 0.1%ブロムチモールブルー（BTB）；

試薬特級のBTB 0.1 g にエチルアルコールを加えて溶かし 100 ml とする。

チ. 鉛標準原液；

試薬特級の硝酸鉛 159.8 mg を正確に量り10%硝酸10 mlを加えて溶かし、メスフラスコに移し、水で100 ml とする。

4. スズの定量試験

4—(1) 試料の調製

試料10gを精秤し、分解フラスコ(300ml)にとり、衛生試験法の有害性金属試験法、各個試験、ヒ素の項、硫酸法に従って分解したのち、分解液を25mlのメスフラスコに移し、分解フラスコは少量の支持電解質液で洗い、洗液をメスフラスコ中に合せ、支持電解質液で25mlとし、試験溶液とする。

4—(2) 定量操作

試験溶液を電解ビンにとり、 $-0.3V \sim -0.8V$ のポーログラムを作成する。

$-0.475V$ 附近にあらわれるスズの還元波高を求め、あらかじめ作成した検量線により定量する。

4—(3) ポーログラム測定条件

High sens. polaro 柳本 P—8

Time constant 50—5

S.W. Volt 20 Sens 20

Mechanical Scanner

Time/Full Span 3.3

Drop Controller

Drop Time 0.96 Vibrate 4

Recorder Controller

Sens $\times 1$, 20 Damping 4

Span 2

5. 鉛の定量試験

5—(1) 試料の調製

試料10gを精秤し、衛生試験法の有害性金属試験法、各個試験、鉛の項、③乾式法により灰化したのち、塩酸5mlを加え、水浴上で乾固したのち、10%塩酸10mlを加え、ときどき振り混ぜながら1時間放置したのち、これを試験溶液とする。

5—(2) 定量操作

試験溶液を水、約80mlを用い、あらかじめ硫酸アンモニウム30gを入れた分液ロートに洗い流す。

BTB指示薬2—3滴を加えたのち、液が緑色を呈するまでアンモニア水を加える。さらに25%ロッセル塩10ml、1%DDTC—Na、10mlを加え、振り混ぜたのち5分間放置し、MIBK 10mlを正確に加え、5分間振盪器で振り混ぜたのち静置し、MIBK層を原子吸光により測定する。あらかじめ作成した検量線により定量する。

5—(3) 原子吸光測定条件

パーキンエルマ 303型

Light Source (Pb 283.3m μ)

Lamp Current (パーキンエルマ) 8mA

3. 結果および考察

現在、罐詰食品については、清涼飲料水にのみ成分規格(鉛については0.4ppm以下、容器包装に由来する

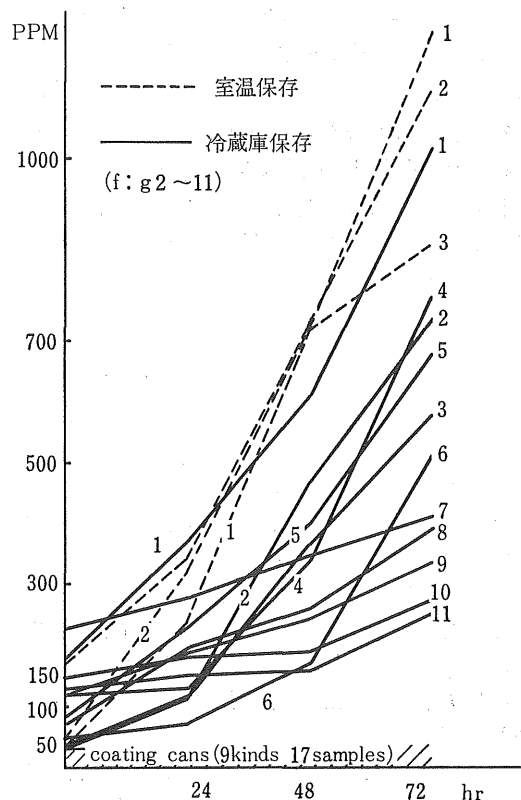


Fig. 2. Change of tin contents after opening of canned baby foods. (Soft drinks)

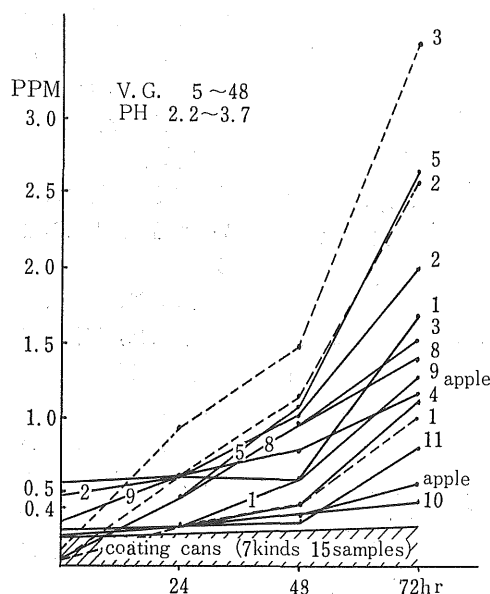


Fig. 3. Change of lead contents after opening of canned baby foods. (soft drinks)

スズについては 150ppm 以下) が定められているため、その製品が、清涼飲料水に該当するものについては (Fig. 2, 3) に示した。19種 (31罐) 中、開罐時にスズが規格基準を超えていたものは、2種 (3罐) であるが、他の白罐、上下塗装罐については、24時間では約半数の罐、48時間では、全ての罐が規格基準を超えてしまう。鉛については、開罐時に規格基準を超えたものは、2種 (2罐) であるが、48時間では、11種 (14罐) 中 9種 (12罐) のものが規格基準を超え、3 ppm を超えるものもあった。

室温で保存した場合は、冷蔵庫で保存した場合よりもスズ、鉛の溶出が、より著しかった。塗装罐については、りんご果汁2種 (2罐) を除き72時間以内では、特に変化は見られなかった。

なお、試験後に罐を解体したところ、白罐、上下塗装罐については (Fig. 4) の様な、空気酸化によると思われる腐蝕の断層がみられた。塗装罐については (Fig. 5) のように、特に変化はみられなかった。また、pH、内容物の差により、スズ、鉛等の溶出変化に多少の差はあると思われるが、空気酸化に比べ、その影響は少ないと思われる。

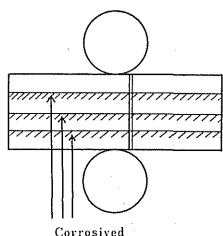


Fig. 4. Plain cans dis-jointed after the experiment

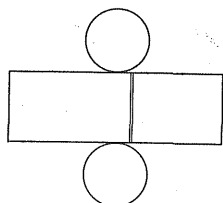


Fig. 5. Coated cans dis-jointed after the experiment

変化はみられなかった。

清涼飲料水に該当する白罐について、8時間以内における、スズ、鉛の溶出変化を見るため、9時、13時、

一方、清涼飲料水に該当しないものについては (Fig. 6, 7) に示したとおりで26種 (42罐) 中、上下塗装罐のものは、2種 (3罐) あったが、スズについては、清涼飲料水の規格基準に適合していたものでも、48時間では、いずれも超過してしまう。

また、鉛についても48時間では、規格基準を著るしく超えるものもあった。

また、塗装罐については、トマトのうらごし1罐を除きスズ、鉛とも72時間では、特に

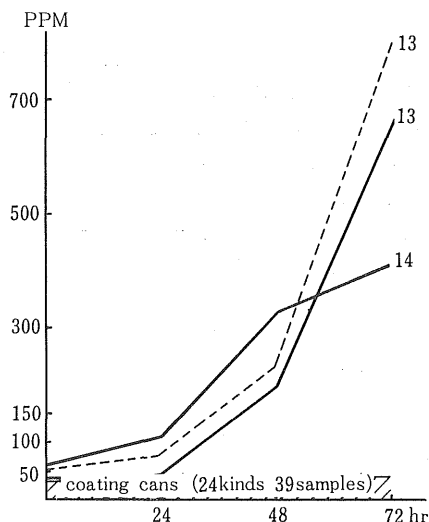


Fig. 6. Change of tin contents after opening of canned baby foods except soft drinks

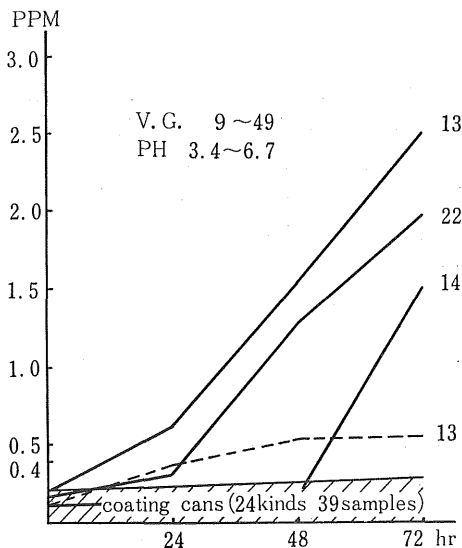


Fig. 7. Change of lead contents after opening of canned baby foods except soft drinks

17時の4時間毎に測定した結果は (Fig. 8, 9) に示したとおりである。スズについては、朝 (9時) に開罐したものが、夕方 (17時) には、2倍以上に増加しているものもあり、スズは短時間に溶出することが認められる。また、鉛についても増加の傾向を示した。

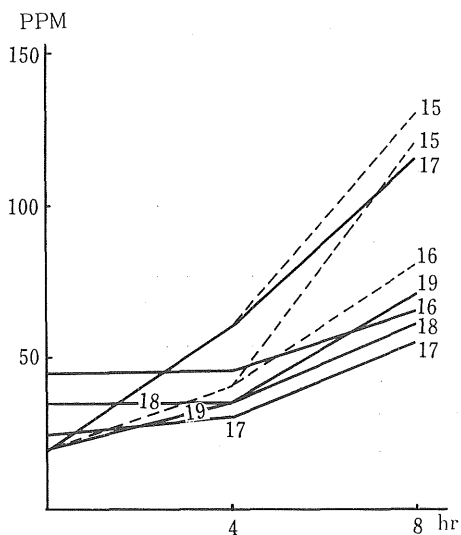


Fig. 8. Change of tin contents after opening of canned baby foods. (plain cans)

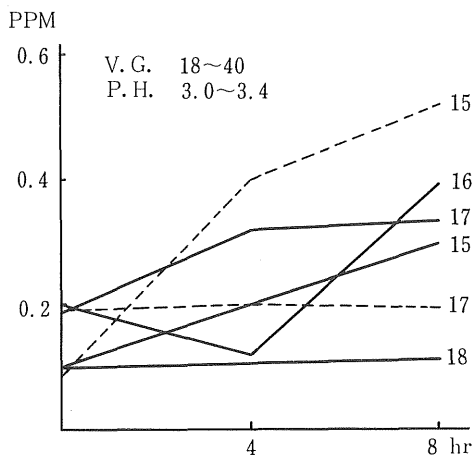


Fig. 9. Change of lead contents after opening of canned baby foods. (plain cans)

塗装罐の中で、鉛の溶出してきた“トマトのうらごし”について製造年月日の異なる3罐について調査した結果は (Fig. 10, 11) のとおりであり、鉛の含有量は、清涼飲料水の成分規格に準じた場合、48時間では大幅に上回るものがあった。

3日間の試験後に罐を解体したところ (Fig. 12) のように巻締の部分に腐蝕されていたことから、鉛の異常溶出は、巻締の部分の腐蝕が原因と推定される。

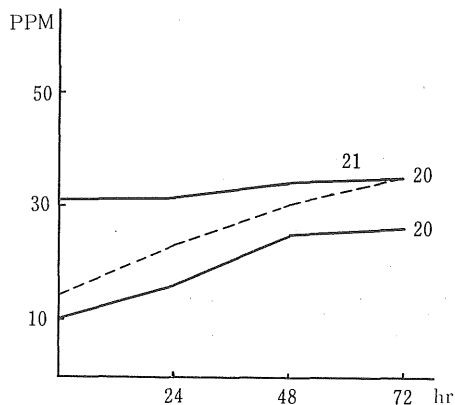


Fig. 10. Change of tin contents after opening of canned baby foods. (strained tomatoes)

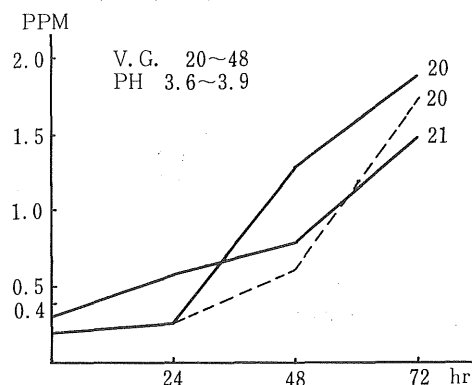


Fig. 11. Change of lead contents after opening of canned baby foods. (strained tomatoes)

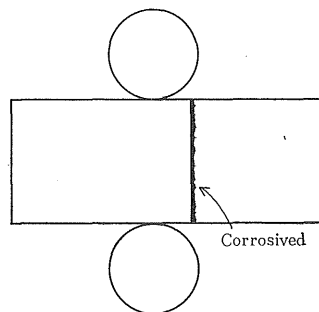


Fig. 12. Corrosioned parts of an abnormal can.

4. おわりに

以上の結果、開罐後のスズ、鉛の溶出変化は、特に、白罐、上下塗装罐の場合は、たとえ冷蔵庫で保存しても、短時間でスズ、鉛が異常溶出するため、事故の発生が予想されるものもあった。特に、飲食する対象が

乳幼児であるため、ただちに罐の材質を、スズ、鉛等が、溶出し難いものに改良する必要があったため、本調査をもとに、ただちに行政指導をおこなった結果、46年8月現在、都内には、不良乳児用罐詰は市販されていないものと思われる。

なお、7月以後に発売された新製品7種について同様の試験を行なった結果、いずれも、スズ、鉛が溶出し難いものに改良されていたことからして、本調査が非常に大きな行政効果を上げ得たと考える。

なお、本報は第47回東京都衛生局学会に発表したものである。

参 考 文 献

1. 日本薬学会協定衛生試験法注解
P283～317 (1965) 金原出版株式会社

2. 水池敦 トレースアナリシス P73
分析ブライラリー (1968)
3. 堀尾嘉友, 岩本喜伴, 小田久三
食品衛生学雑誌 6 353 (1965)
4. 堀尾嘉友, 岩本喜伴, 小田久三
食品衛生学雑誌 6 358 (1965)
5. 岩本喜伴, 堀尾嘉友, 小村祥子, 前田琇子
食品衛生学雑誌 8 492 (1967)
6. 堀尾嘉友, 岩本喜伴, 小村祥子
食品衛生学雑誌 9 132 (1968)
7. 堀尾嘉友, 岩本喜伴, 小村祥子
食品衛生学雑誌 11 147 (1970)
8. 衛生化学 12 118 (1966)
9. 衛生化学 16 173 (1970)

食品添加物用リン酸カルシウム塩類

中のカドミウムについて

遠藤 英美*, 広門 雅子*
境野 米子*, 田村 光恵*
安野 哲子*, 大和 修*

CADMIUM CONTENTS IN CALCIUM PHOSPHATES FOR FOOD ADDITIVES

Fusayoshi ENDO, Masako HIROKADO, Komeko SAKAINO,
Mitsue TAMURA, Tetsuko YASUNO and Osamu YAMATO

(Department of Food Additives, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

Summary

Determination of Cadmium in Calcium phosphates for food additives was made by means of atomic absorption spectrophotometry using the DDTC (sodium diethyl dithio carbamate)-MIBK (methyl isobutyl-ketone) extraction system.

It was found that Cadmium in food additives contains less than that in chemical fertilizer (15 ppm), and it will be safety on sanitation in this respect.

1. ま え が き

食品添加物に用いられるリン酸カルシウムには、化学的合成品と天然物によるものが現在使用されている。天然物は、リン鉱石によるものが多く、これらは海鳥類の排泄物が堆積したものである。化学的合成品の場合にもそのCa塩の起源は、火成性のものと動物性のものとが考えられ、したがって動物性に起因する場合には、生物学的濃縮も考えられるので、当所にある各種リン酸塩についてCdの含有量を測定したので、その結果を報告する。

2. 試料の調製

2. 1. 試料の種類

- 1) フィチン酸カルシウム (植物性)
- 2) リン酸カルシウム (合成品)
- 3) リン酸カルシウム (リン鉱石)

- 4) 第二リン酸カルシウム (リン鉱石)

- 5) ポリリン酸カルシウム (合成品)

- 6) 酸性ピロリン酸カルシウム (合成品)

2. 2. 試料溶液の調製

1) No.1 フィチン酸カルシウム 試料9.9962 gをひょう取し、希硝酸 60mlを加え熱板上で50分間蒸発する水をおぎないながら加熱して溶かし、冷後ろ過し、水を加えて全量を100mlとし、その10mlをひょう取し、試料溶液とした。

2) No.2 リン酸カルシウム 試料9.9387 gをひょう取し、希硝酸60mlを加え、熱板上で、蒸発する水分をおぎないながら30分間加熱して溶かし、以下No.1の試料と同様に操作して、試料溶液を作製した。

3) No.3 リン酸カルシウム 試料10.0425 gをひょう取し、550°で一夜灰化したのち、以下No.1の試料と同様に操作して試料溶液を作製した。

- 4) No.4 第二リン酸カルシウム 試料9.9647 gを

* 東京都立衛生研究所 食品添加物部

ひょう取し、塩酸70mlおよび硝酸20mlを加え、熱板上で加熱して溶かし、冷後水を加えて全量を100mlとし、よく振りまぜたのち放置し、その上澄液10mlをひょう取し、試料溶液とした。

5) No.5 ポリリン酸カルシウム 試料9.951gをひょう取し、No.1の試料と同様に操作して、試料溶液を作製した。

6) No.6 酸性ピロリン酸カルシウム 試料 9.9971gをひょう取し、No.4の試料と同様に操作して、試料溶液を作製した。

3. 装置および試薬の調製

3. 1. 装 置

日立 Perkin—Elmer 303型原子吸光分光光度計。
カドミウム中空陰極ランプ (Ransley Glass社製)
アセチレンガス

3. 2. 試薬の調製

塩酸、硝酸およびアンモニア水は和光純薬精密分析用特級試薬を用いた。

25% ロッシェル塩試液 酒石酸カリナトリウム (試薬特級) 125gをとり、水を加えて500mlとした。

飽和塩化アンモニウム試液 塩化アンモニウム (試薬特級) 150gをとり、水500mlを加え、加温して溶かし、冷後その上澄液を用いる。

BPB指示薬 ブロムフェノールブルー (試薬特級) 0.1gをひょう取し、水50mlおよびアルコール50mlを加えて溶かす。

1% DDT C 試液 ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (特級試薬) 5gをひょう取し、水を加え500mlとし、溶かしたのち、試液とした。

MIBK メチルイソブチルケトン 精密分析用試薬

3. 3. カドミウム標準溶液

金属カドミウム (試薬特級) をガラス片を用いてけずり取り、その0.100gをひょう取し、希硝酸を加え溶かし、水を加えて全量1000mlとした。この溶液 1ml = 1μg Cd を含む。

4. 測定法 (原子吸光法)

4. 1. 測定条件

光源としてカドミウム中空陰極ランプを用い、波長 = 2288Å の共鳴線により、最大吸光度を測定した。

4. 2. 操作法

試料溶液 10ml に25% ロッシェル塩試液 5ml, BPB指示薬5滴、飽和塩化アンモニウム試液を液の色が青色になるまでよく振りまぜながら加えて約pH 8に調整

し 1% DDT C 試液 10ml を加えてよく振りまぜたのち、30分間放置し、MIBK 10ml を加えて、振とう機を用いて5分間振とうしたのち、しばらく放置し、MIBK層を分けとり、MIBK液を用いて上記測定条件で吸光度を測定した。別にカドミウム標準溶液を1, 2, …5, 8ml とり試料溶液と同様に操作して検量線を作成し試料中のカドミウムを定量した。

5. 結 果

5. 1. カドミウム標準溶液の吸光度

カドミウム標準溶液 1ml, 2ml, 3ml, 4ml, 5ml, 8ml, の各濃度溶液の吸光度は Table I のごとくであった。

Table I Absorbance of Cd Standard Solns.

Cd (μg/10ml)	Absorbance			
	I	II	III	Means
1	0.0630	0.0605	0.0580	0.0605
2	0.0996	0.0995	0.0997	0.0996
3	0.1337	0.1397	0.1367	0.1367
4	0.1925	0.1930	0.1935	0.1930
5	0.2581	0.2503	0.2328	0.2471
8	0.3852	0.3848	0.3850	0.3850

各濃度における3回繰返し測定した吸光度の平均値をグラフにとった結果は Fig. 1 のごとくである。

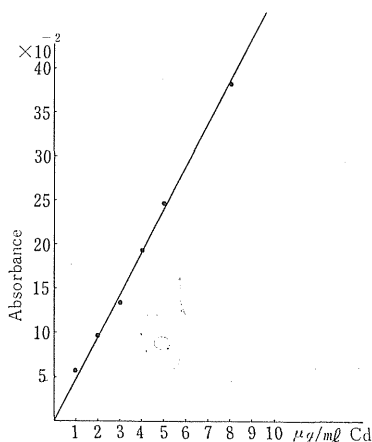


Fig. 1. Calibration curve for Cd

5. 2. 試料中の Cd

4.1および4.2に従って、各試料溶液につき、3回づつ吸光度を測定した結果は、Table II のごとくであった。

Table II Determination of Cd in the Samples

Sample No.	Absorbance			
	I	II	III	Means
1	0.0132	0.0114	0.0128	0.0125
2	0.1118	0.0985	0.1002	0.1033
3	0.3851	0.3716	0.5421	0.4329
4	0.0079	0.0088	0.0066	0.0078
5	0.0057	0.0066	0.0088	0.0070
6	0.0155	0.0173	0.0141	0.0156

この結果得られた各試料の吸光度の平均値を Fig. 1 の標準カドミウム溶液の吸光度グラフを用いて、各試料中の Cd を定量すると Table III のごとくであった。

Table III Cd Contents in Samples

Sample	Contents (ppm)	Sample	Contents (ppm)
No. 1	0.26	No. 4	0.20
No. 2	2.10	No. 5	0.15
No. 3	7.98	No. 6	0.33

6. 考 察

食品添加物用リン酸カルシウム塩中の Cd は No. 1 ~No. 3 の試料については、Table III より

No. 1 植物性 0.26 ppm

No. 2 合成品 2.10 ppm

No. 3 リン鉱石 7.98 ppm

となり、天然リン鉱石は合成品、植物性由来のもの

よりも多く、生物学的濃縮が懸念される結果となった。

No. 4~No. 6 の試料については、Table III より

No. 4 リン鉱石 0.20 ppm

No. 5 合成品 0.15 ppm

No. 6 合成品 0.33 ppm

となり、これらは No. 2 および No. 3 のごとき起源と同様のものであるので No. 2 および No. 3 の含量と同じくらいでなければいけないはずであるが、No. 2 および No. 3 に比し、微量であるのは、加工工程中に Cd が除去されることが考えられる。

7. 結 論

以上の結果から、食品添加物用のリン酸カルシウム塩中の Cd 含量は、最高 8 ppm 位であり、46年3月18日夕刊紙上で報道された肥料用過リン酸石灰中の Cd は平均が 15 ppm もあり、これが土壌汚染の一役を担うものではないかといわれたのに比して、少ないといえる。

カルシウム塩については、食品衛生法では一般食品への使用は 1 % 以下と規定されているので、この点も考慮すると衛生上あまり問題にならない。

参 考 文 献

- 1) 石崎有信：日衛誌，24，375，(1969)
- 2) 石崎有信：日衛誌，25，207，(1970)
- 3) 石崎有信：日衛誌，15，269，(1969)
- 4) 管野三郎：分析化学，19，878，(1970)
- 5) 大八木義彦：分析化学，19，879，(1970)
- 6) 河野隆年，小林重雄：分析化学，19，1491，(1970)
- 7) 永田正，志村博，寺島敏雄：食衛誌，11，(1)，41，(1970)

原子吸光法によるストロンチウムの定量法の検討

その 1 カルシウムおよび塩酸の影響

遠藤 英 美*, 広 門 雅 子*
境 野 米 子*, 田 村 光 恵*
安 野 哲 子*, 大 和 修*

STUDY ON THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF STRONTIUM BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY

1 The Effect of Calcium and Hydrochloric acid.

Fusayoshi ENDO, Masako HIROKADO, Komeko SAKAINO, Mitsue
TAMURA, Tetsuko YASUNO and Osamu YAMATO.

(Department of Food Additives, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

Summary

Effect of various ions on the additive test was investigated when the determination of Strontium in Calcium Salts for food additives was made by atomic absorption spectrophotometry.

Especially, it has been performed that a large amount of Calcium and Hydrochloric Acid influence over.

The results obtained showed that there is scarcely effect under 0.2% Calcium and 5% Hydrochloric Acid.

1. ま え が き

食品添加物用カルシウム塩中のストロンチウムの定量に際し、標準添加法を用いた場合の原子吸光分析におよぼす多量のカルシウムの影響および塩酸の影響について検討したので報告する。

2. カルシウムの影響

試料はすべてカルシウム塩であるので、カルシウムがストロンチウムの測定におよぼす影響を検討する必要がある。大八木氏の研究によると、カルシウムの存在は、ストロンチウムの検量線の直線性には影響を与えないが、こう配を左右するといわれているが、我々はカルシウムが標準添加法にかなる影響をおよぼすかを、検討することとした。

2.1. 標準原液の調製

ストロンチウム標準原液、硝酸ストロンチウム（試薬特級 和光）を 110° 、4時間乾燥したのち、 0.2415 g をひょう取し、少量の塩酸を加えて溶かし、水で全量を 1000 ml とした。この液 1 ml は、ストロンチウム $100\text{ }\mu\text{ g}$ を含む。

カルシウム標準原液、原子吸光分析用を使用した。この液 1 ml は、カルシウム $1000\text{ }\mu\text{ g}$ を含む。

炭酸カルシウム原液、炭酸カルシウム（ストロンチウム $=0.05\%$ 含有） 10.0060 g をひょう取し、塩酸 20 ml を加えて、熱板上で蒸発乾固したのち、塩酸 10 ml を加えて溶かし、水で全量を 1000 ml とした。この液 1 ml は、カルシウム $4000\text{ }\mu\text{ g}$ 、ストロンチウム $5\text{ }\mu\text{ g}$ を含む。

2.2. 測定条件

光源ランプとしてストロンチウム中空陰極ランプを

* 東京都立衛生研究所 食品添加物部

用い、つぎの条件下で日立—Perkin-Elementer 303 型を用いて、4607Å の共鳴線で吸光度を標準添加法で測定した。

Range	vis
Wave length	230.7
Slit width	4 mm
Source	14 mA
Aspirating (air)	8 L/Min
Fuel (Acetylene)	8.5 L/Min

2.3. 試験溶液の調製

A液 ストロンチウム標準原液 1, 2, …10ml を各々 100ml メスフラスコに取り、炭酸カルシウム原液 10ml ずつを加え、水を加えて全量を 100ml とする。

この液 1ml はカルシウム 400μg を含む。

B液 ストロンチウム標準原液 1, 2, …10ml を各々 100ml メスフラスコに取り、炭酸カルシウム原液およびカルシウム標準原液各 10ml ずつを加え、水を加えて全量を 100ml とする。

この液 1ml はカルシウム 500μg を含む。

C液 カルシウム標準溶液 50ml を用い、以下 B液と同様に作る。

この液 1ml はカルシウム 900μg を含む。

D液 A液と同様に作る。ただし炭酸カルシウム原液 20ml を用いる。

この液 1ml はカルシウム 800μg およびストロンチウム 1μg を含む。

E液 A液と同様に作る。ただし炭酸カルシウム原液 50ml を用いる。

この液 1ml はカルシウム 2000μg およびストロンチウム 2.5μg を含む。

2.4. 測定法および結果

A液、B液、C液を試料溶液として 2.2 の条件下で

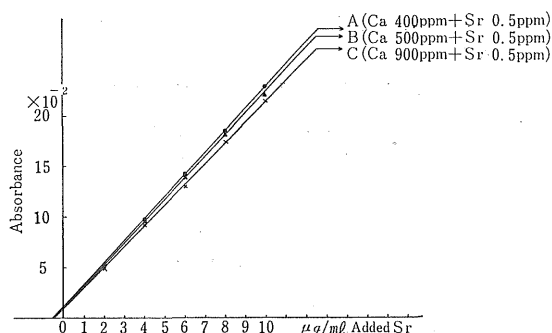


Fig. 1. Effect of Ca on the Additive Test

原子吸光スペクトル波長 4607Å で吸光度を測定した。測定は各液とも 3 回繰返して行いその平均値を求めた。結果は Fig. 1 のごとくである。

また A液、D液、E液を用いて同様に操作して測定した結果は Fig. 2 のとおりである。

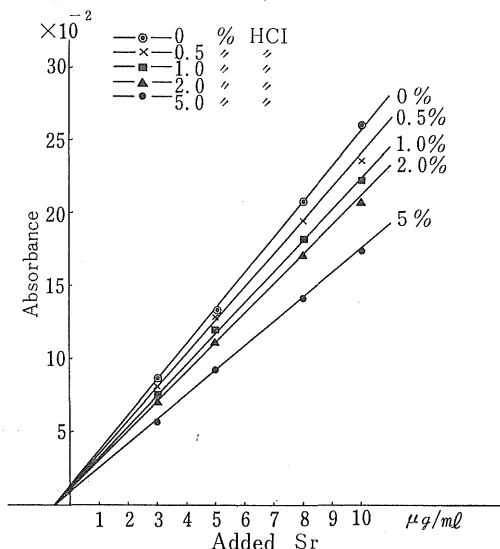


Fig. 2. Effect of Ca on the Additive Test

2.5. 考察

標準添加法においては、各カルシウム濃度が 400, 500, 900ppm と変化しても炭酸カルシウム原液は 10ml ずつ加えてあるので、A液、B液、C液ともにストロンチウム含量は同じである。Fig. 1 より各検量線のこの配変化は認められるが、検量線と χ 軸との交点が一ヶ所に集中することが示され χ 軸 0 より交点までの距離が試料中のストロンチウム量を示すことになり定量に影響しないことがわかった。

また Fig. 2 よりカルシウム濃度に関係なくストロンチウム濃度が 0.5, 1, 2.5ppm と増すにつれて検量線の χ 軸との交点も左に定量的に移動することが示され、標準添加法においては試料中のカルシウム濃度が 0.1% 以下となるのでカルシウムの影響は考慮する必要がないことがわかった。

3. 塩酸の影響

試料を調整する際、各種カルシウム塩を可溶性の塩化カルシウムとするために塩酸を使用するので検討を行った。

3.1. 試験溶液の調製

0% 塩酸溶液 ストロンチウム標準原液各 1, 2, …10 ml をとり、炭酸カルシウム原液 10ml ずつを加え、それぞれに水を加えて全量を 100ml とする。

0.5%塩酸溶液 塩酸2.5mlずつを用い、以下0%塩酸溶液と同様に操作して溶液を調製する。

1%塩酸溶液 塩酸5mlずつを用い、以下0%塩酸溶液と同様に操作して溶液を調製する。

2%塩酸溶液 塩酸10mlずつを用い、以下同様である。

5%塩酸溶液 塩酸25mlずつを用い、以下同様である。

3.2. 測定法および結果

0, 0.5, 1, 2, 5% 塩酸溶液を用いて2.2の条件下で原子吸光スペクトル波長4607Åで吸光度を測定した。測定は各塩酸溶液につき3回繰り返し行い、その平均値を求めた。その結果は Fig. 3 のとおりである。

3.3. 考 察

Fig. 3 より、吸光度は塩酸濃度が増すにつれて低下するけれども、5% 濃度以下ならば定量に関係しないことがわかった。

したがって、試料を溶かす濃度約1% では塩酸の影響を考慮する必要がないといえる。

4. 結 論

カルシウムおよび塩酸の存在は、標準添加法で定量を行なう場合にはカルシウム0.2%および塩酸5%の範囲内で影響しないことがわかった。

このほかカルシウム塩中の硫酸根およびリン酸根の影響や、ケイ素、アルミニウム、リン酸などの陰蔽剤として用いられるランタンの効果について目下検討中である。

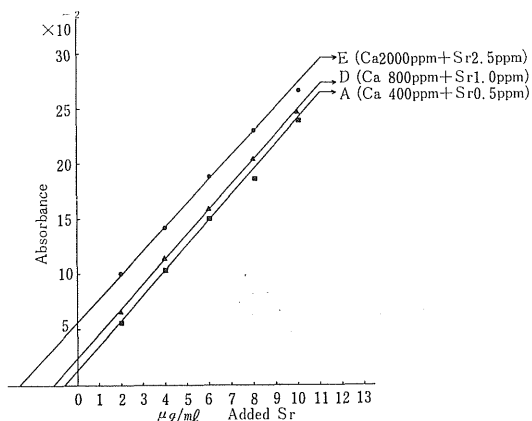


Fig. 3. Effect of the Various Concentration of HCl on the Additive Test

参 考 文 献

- 1) 田中義一郎, 富川昭男, 河村日佐男, 大八木義彦: 日本化学雑誌, 89, 2, (1968)
- 2) 武者宗一郎, 宗森信, 細垣隆一: 分析化学, 19, 1618, (1970)
- 3) D. Trent & W. Slavin: Perkin-Elmer Atomic Absorption Newsletter, 3, 53, (1964)
- 4) ibid, 7, 45, (1968)
- 5) J.J. Diamond: Anal. Chem., 27, 6, 18, (1955)
- 6) T.J. Chow & T.G. Thompson: ibid., 27, 6, 913, (1955)
- 7) Bowman & J.B. Willis: ibid, 39, 11, (1967)
- 8) D.J. David: Analyst, 87, 576, (1962)

食品添加物用カルシウム塩類中の ストロンチウム含量について

遠藤 英美* 広門 雅子*
境野 米子* 田村 光恵*
安野 哲子* 大和 修*

STUDY ON THE STRONTIUM IN CALCIUM SALTS FOR FOOD ADDITIVES

Fusayoshi ENDO, Masako HIROKADO, Komeko SAKAINO,
Mitsue TAMURA, Tetsuko YASUNO and Osamu YAMATO

Summary

Strontium and Calcium belong to a homologous element and it is widely known that they are coexistent with Barium as impurity Calcium salts.

Accordingly, our investigation has been performed on Strontium in Calcium salts for Food Additives.

The detection of Strontium in Calcium salts was made by means of emission spectrophotometry and atomic absorption spectrophotometry for qualitative and quantitative determination respectively.

The results indicated against expectation that Calcium salts contained 90~3200 ppm of Strontium, i.e, marine products contained 700~3200 ppm, biological products 480~1300 ppm and synthetic products 90~450 ppm of Strontium respectively.

As to impurity in Calcium, Barium contents are regulated limit of 300 ppm by specification of the Standard of Japanese Food Additives, but Strontium contents are not regulated.

As a result, we ought to set up the regulation of Strontium contents to be limited.

1. ま え が き

ストロンチウムはカルシウムの同族元素であり、その存在もカルシウム、バリウムとともに混在している。

現在、食品添加物公定書では、バリウムの混入は300 ppm以下と規格が定められているものもあるが、ストロンチウムについては規格が定められていない。しかしストロンチウムの混入は衛生的にはバリウム同様考慮されなければならないものである。

土壌中¹⁾、セメント中²⁾および海水中³⁾などのストロンチウム含量については報告が見られるが、食品添加物用カルシウム塩中のストロンチウムについては、調査報告がないので各種カルシウム塩中のストロンチウムについて含有量を調査したので報告する。

定性的には、発光分光光度法によって概略的にその存在を確認し、ついで添加標準法による原子吸光法を用いて代表的な14試料について定量を行なった。

2. 定 性 試 験

原子吸光法で定量を行なう前に、あらかじめ発光分光分析法によって定性試験を行なった。

* 東京都立衛生研究所 食品添加物部

Table I Samples

	Sample	Constituent	Remarks
1	Fossil coral	$\text{CaCO}_3 + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Okinawa-ken
2	"	"	"
3	Sand of a coral-reef	"	"
4	Kenkōcal A (Shiraishi calcium Co.)	CaCO_3 (Precipitatus)	
5	" B (")	" (")	
6	Fossil scallop	$\text{CaCO}_3 + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Aomori-ken
7	"	"	
8	Calcium carbonate	CaCO_3	
9	"	"	
10	"	"	
11	"	"	
12	"	"	
13	"	"	
14	"	"	
15	Calsite (Tōhō chem. Co.)	"	Okayama-ken
16	" B (")	"	
17	" S (")	"	
18	Minehomāl	$\text{CaCO}_3 + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Powder of the whale born
19	Gypsum (Yoshino Co.)	CaSO_4	Egypt
20	Calcium sulfate (Mukōjima Co.)	"	Co-Product of salt
21	Gypsum A (Yoshino Co.)	"	Egypt, building materials
22	" B (")	"	" "
23	" C (")	"	" the raw ore
24	Calcium sulfate (Nissan chem. Co.)	"	the synthesis,
25	" (Mizunami chem. Co.)	"	" dental materials
26	" (")	"	" made from the useless sulfate
27	" (")	"	"

2. 1. 試 料

実験に使用した試料は当所にあるもので、種類は Table I のごときものを用いた。

2. 2. 装 置

島津万能発光装置

島津水晶分光写真機を用い

光源はスパーク型放電を使用

2. 3. 試 薬

標準鉄棒

フィルム プロセスタイプ (ガラス板型)

現象液 コピナール, スーパージフィックス

2. 4. 測 定 法

試料粉末を受け棒 (炭素棒) 中に入れ、試料支持台に固定したのち、スパーク放電により 90 秒間発光させ、その時発する電弧スペクトルを乾板上に感光させ、乾板を現像したのち乾板上のストロンチウム特有

の輝線スペクトル 4607Å の共鳴線を標準鉄棒を同様に操作して得た鉄の標準輝線スペクトルを基準として捜査し、ストロンチウムの定性を行なった。

2. 5. 結 果

2. 5. 試料 No. 1~27 についての輝線スペクトルは Fig. 1 のごとくである。

Fig. 1 の輝線スペクトル中、ストロンチウムの特有輝線スペクトル 4607Å の共鳴線の有無およびその強度は Table II のごとくである。

十はわずかに認められるもの

卅は中等度のもの

卅はかなり認められるものである。

2. 6. 結 論

Table II より食品添加物用のカルシウム塩類中すべてに検出され、また輝線の強さから相当量の存在が予想される。

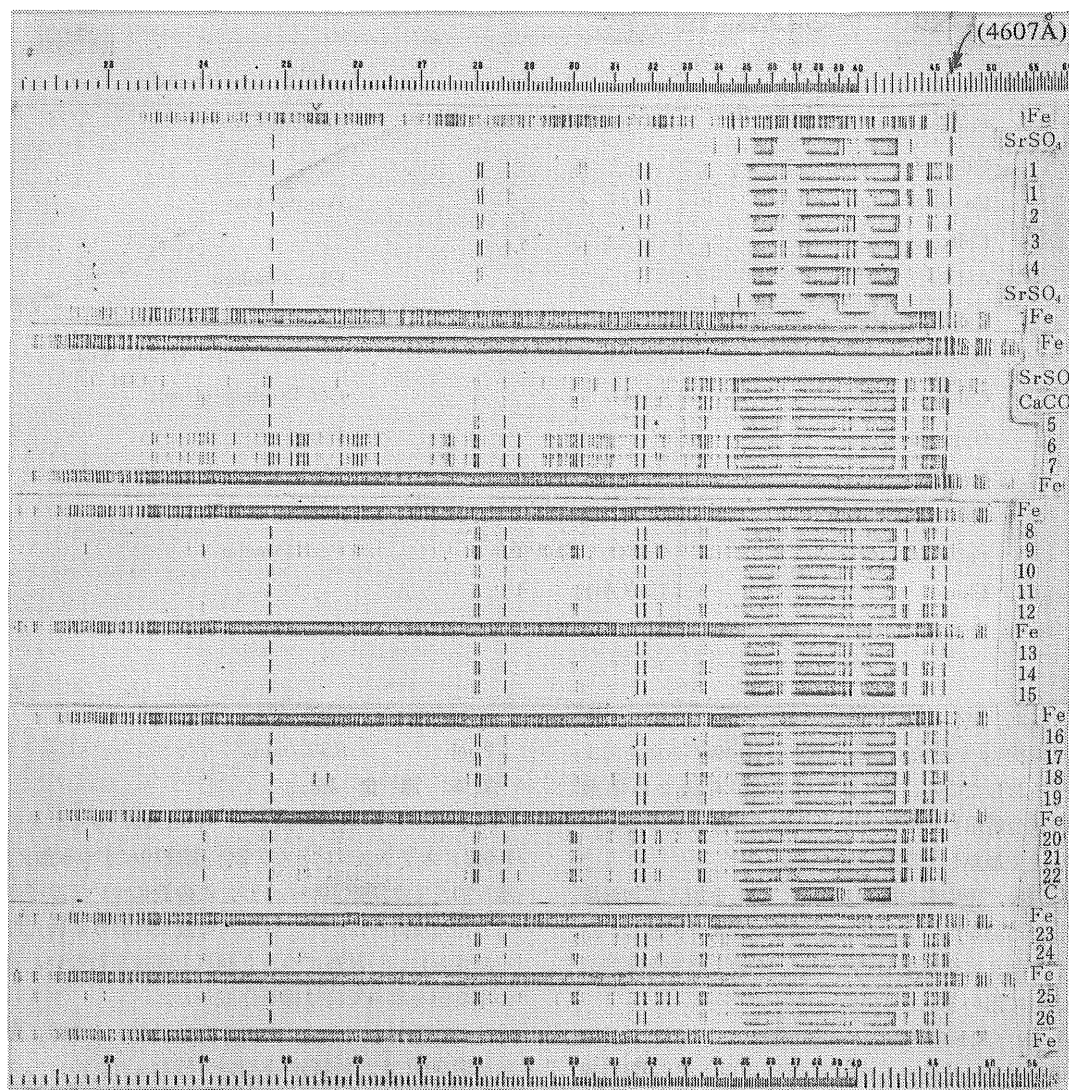


Fig. 1. Photogram of Sr. by Emission Spectrometry

Table II The Intensity of 4607 Å Line

Sample	Results	Sample	Results
1	+++	15	+
2	+++	16	+
3	+++	17	+
4	++	18	+++
5	+	19	+
6	+++	20	+++
7	+++	21	++
8	+	22	+++
9	+++	23	+++
10	+	24	++
11	+	25	+++
12	+++	26	+
13	+	27	+
14	+		

3. 定量試験

発光分析法の定性結果からかなりのストロンチウムが認められたので、前記試料中代表的なものを選びストロンチウム中空陰極ランプを用いて4607Åの波長において原子吸光分析を行ない、ストロンチウム標準溶液添加法でその含量を測定した。

3. 1. 試料および試料溶液の調製

3.1.1. 試料

試料は定性試験に用いた代表的なもの10種さらにリン酸塩および水酸化物 (No. 11~No. 14) を追加した。試料の種類は Table III のごとくである。

Table III

No.	Name	Constituent	Remarks
1	Fossil Coral	$\text{CaCO}_3 + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Okinawa-ken
2	Sand of Coral-reel	//	//
3	Fossil Scallop	//	Aomori-ken
4	Calcium Carbonate	CaCO_3	
5	Calsite	//	Okayama-ken
6	Calsite	//	
7	Minehomāl	$\text{CaCO}_3 + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Powder of the Whale born
8	Calcium Sulfate	CaSO_4	CO Product of salt
9	Gypsum	//	Egypt
10	Gypsum	//	Made from the unless sulfate
11	Calcium Phosphate	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	
12	Parl Calcium	$\text{CaCO}_3 + \text{Ca}(\text{PO}_4)_2$	Parl Powder
13	Lime	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	
14	Sepecial Lime	//	

3.1.2. 試料溶液の調製

試料約1gを精密にひょう取し、水10mlを加えてよくうるおしたのち、よくかきまぜながら徐々に塩酸（精密分析用）10mlを加えたのち、しばらく放置し、熱板上で加熱して蒸発乾固する。

乾固後、希塩酸10mlおよび水10mlを加えて加温溶解し、温湯を用いて100mlのメスフラスコに移し、冷後水を加えて全量を100mlとし、その上澄液を試料溶液として用いる。

3.2. ストロンチウム標準原液

硝酸ストロンチウム（試薬特級 和光）を110°4時間乾燥したのち、0.2415gをひょう取し、少量の塩酸を加えて溶かし、水を加えて全量を1000mlとした。

この液1mlはSr. 100μgを含む。

3.3. 装置および測定条件

3.3.1. 装 置

日立—Perkin-Elmer 303 型

ストロンチウム中空陰極ランプ 4607Å

(Ransley Glass 社製)

燃料ガス 空気—アセチレン

3.3.2. 測定条件

Range vis

Wave length 230.7

Slit width 4 mm

Source 14 mA

Aspirating 8.0 L/min.

Fuel 8.5 L/min.

3.4. 測 定 法

ストロンチウム標準原液 2, 4, 6, 8ml をそれぞれ100mlメスフラスコにとり、試料溶液10mlずつを加え、水を加えて全量を100mlとし、この液について原子吸光分光光度計を用いて、4607Åの波長における吸光度を測定した。一試料につき3回以上測定を行ない、その平均値を求めて検量線を作成した。

また、試料中ストロンチウム含量の少ないものは、試料溶液20mlまたは50mlを用いて行なった。

3.5. 測 定 結 果

各試料につき吸光度を測定した結果は Fig. 2-1~2-14のごとくである。

Fig. 2-1~2-14より得られた値a (Fig. 3) より次式によって含量Aを定量した。

$$A \text{ (ppm)} = a \times 100 \times \frac{100}{\text{試料溶液量 (ml)}} \times \frac{1000}{\text{試料採取量 (mg)}}$$

各試料中のストロンチウム含量は Table IV のごとくであった。

3.6. 考 察

ストロンチウムについて原子吸光法によって定量した結果と、発光分光分析法で定性した結果とを比較し

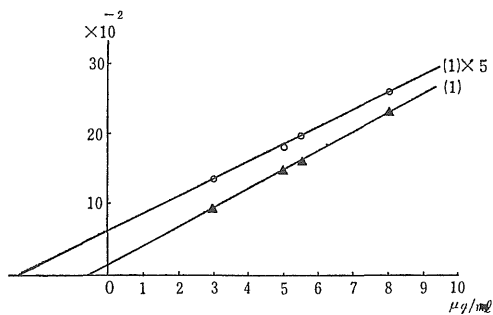


Fig. 2-1 Sample No. 1

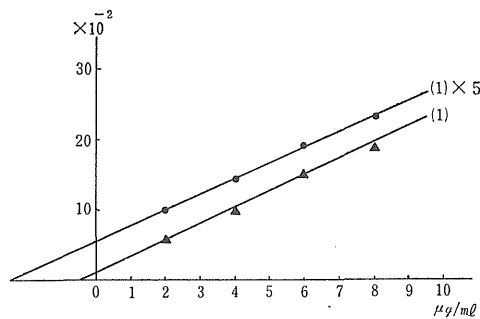


Fig. 2-2 Sample No. 2

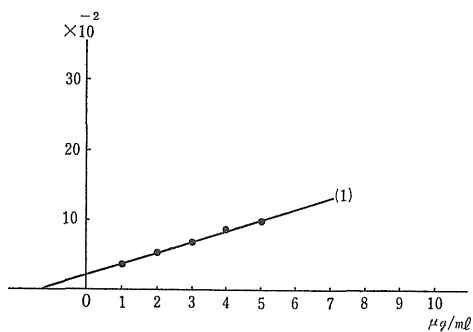


Fig. 2-3 Sample No. 3

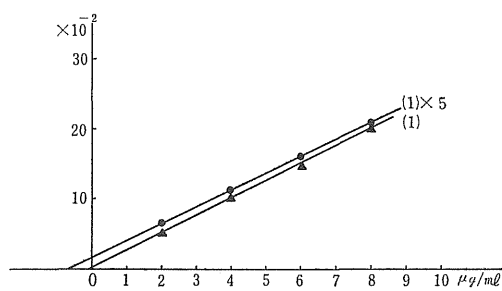


Fig. 2-4 Sample No. 4

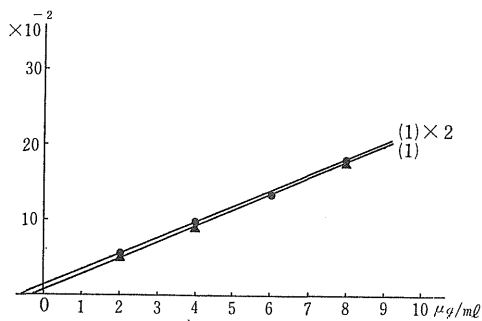


Fig. 2-5 Sample No. 5

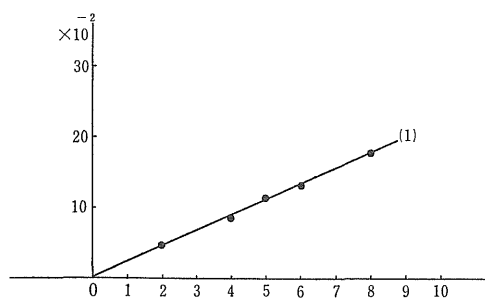


Fig. 2-6 Sample No. 6

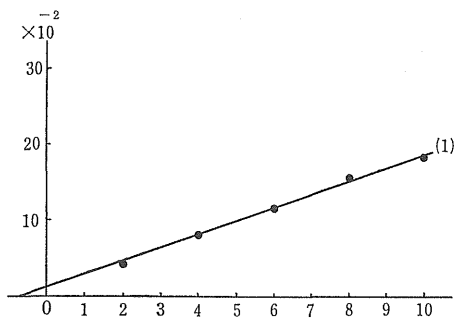


Fig. 2-7 Sample No. 7

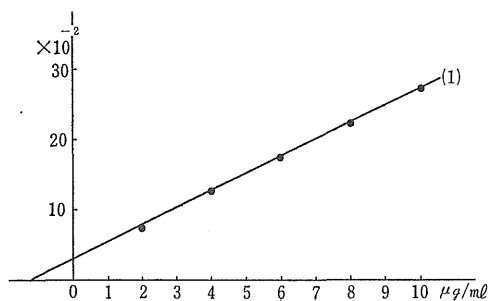


Fig. 2-8 Sample No. 8

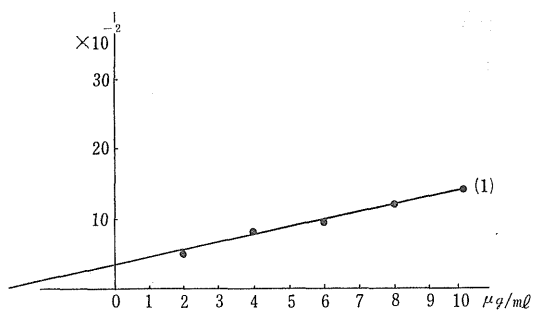


Fig. 2-9 Sample No. 9

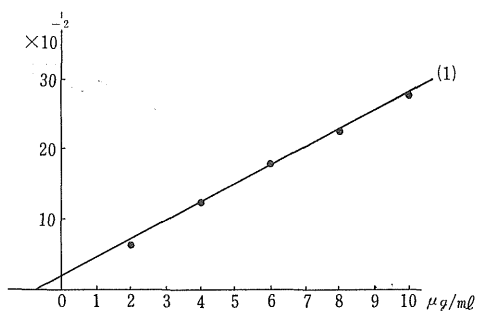


Fig. 2-10 Sample No. 10

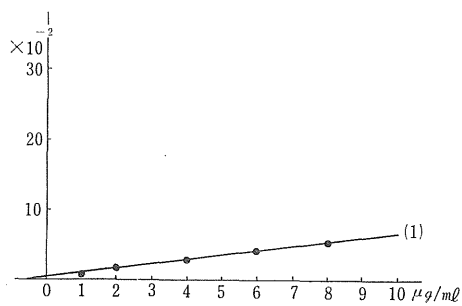


Fig. 2-11 Sample No. 11

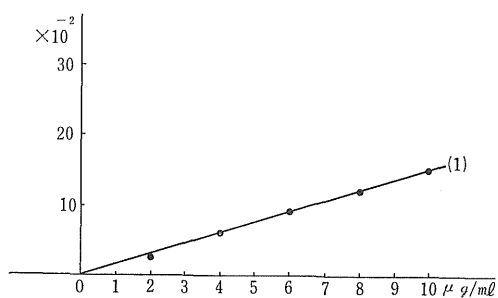


Fig. 2-12 Sample No. 12

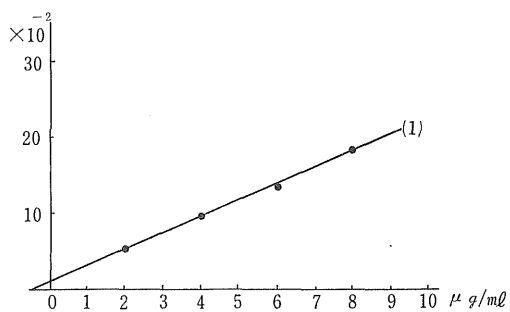


Fig. 2-13 Sample No. 13

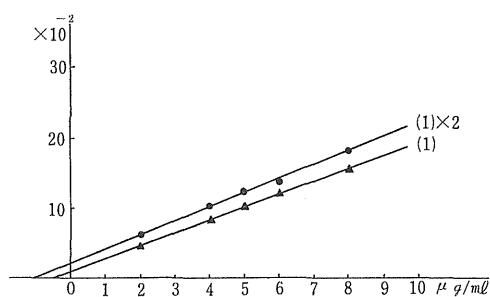


Fig. 2-14 Sample No. 14

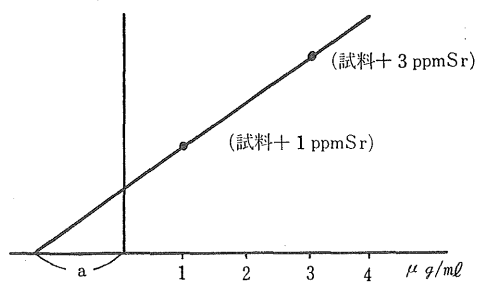


Fig. 3 Value of a

Table IV Determination of Sr in the Sample

Sample No.	Value from graph ($\mu g/ml$) ⁽¹⁾	Content (ppm)
1	0.5	500
2	0.48	480
3	1.3	1300
4	0.15	150
5	0.3	300
6	0.1	100
7	0.65	650
8	0.7	700
9	3.2	3200
10	1.3	1300
11	0.6	600
12	0.09	90
13	0.45	450
14	0.45	450

てみるとTable V のごとくになり、よく一致している。

結果を塩類別にみると

炭酸塩……100~300 ppm

水酸化物……450 ppm

リン酸塩……90~1300 ppm

硫酸塩……700~3200 ppm

であり、リン酸塩および硫酸塩に多く含まれている。

起源別にみると、サンゴ、帆立貝、鯨骨などの生物系のものは 480~1300 ppm となり、骨との間に何らかの関係がありそうである。

また海水濃縮物と考えられる硫酸カルシウムは 700~3200 ppm であった。

3. 7. 結 論

カルシウム塩中に含まれるストロンチウムは予想していたよりもはるかに多く含まれていることがわかった。

現在、カルシウム塩中のバリウムについては300ppm以下と規格で定められているものもあるが、ストロンチウムについては規格が定められていないので衛生上問題があると考えられる。

Table V Sr Contents in the Samples

No.	Sample Name	Qualitative	Quantitative (ppm)	Remarks
1	Fossil Coral	+++	500	N Z
2	Sand of Coral-reef	+++	480	N Z
3	Fossil Scallop	+++	1300	N Z
4	Calcium Carbonate	+	150	S
5	Calsite	+	300	NM
6	“	+	100	NM
7	Minehomal	+++	650	N Z
8	Calcium Sulfate	+++	700	NM
9	Gypsum	+++	3200	NM
10	“	+++	1300	S
11	Calcium Phosphate		600	S
12	Perl Calcium		90	N Z
13	Lime		450	NM
14	Special Lime		450	S

N……Nature, Z……Zoo, M……Mineral, S……Synthesis

参考文献

1) D.J. David: Analyst, 87, 576, (1962)

2) T.J. Chow and T.G. Thompson: Anal.

Chem., 27, 6, 913, (1955)

3) J.J. Diamond: Anal. Chem., 27, 6, 18, (1955)

ティーバッグの衛生化学的研究

藤 居 瑛* 柴 英 子*
圓 山 泉** 大 和 修*

HYGIENIC CHEMICAL STUDIES ON TEABAG MATERIALS

Teru FUJII, Hideko SHIBA, Takashi MARUYAMA and Osamu YAMATO

(Department of Food Additives, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

Paper-bag products containing certain seasonings or other favorite drinkings which originally known as teabag are now being widely used in Japan. At the use, these products are supposed to be dipped into hot water or even into boiling water, possibly the components of the paper used in these products might be eluted out into the water. In this investigation, 8 kinds of paper materials used to making paper-bag products were extracted by the use of distilled water and 4 % acetic acid solution. All the extracts obtained had contained neither formaldehyde nor fluorescence substance. In addition to this result, none had contained greater than 0.05 ppm of heavy metals, such as copper, lead, tin and cadmium. Maximum quantity of the evaporated residue was calculated as 15 ppm in the eluate of distilled water and as 28.3 ppm in that of 4 % acetic acid solution. The value of the eluate of the sample No. 1 in Chloroform had indicated about 23 times greater value comparing with that of the other samples. Maximum consumption value of Potassium permanganate in samples extracted by distilled water for 30 min. at 100° was 6.6 ppm.

1. ま え が き

ティーバッグ製品は、はじめ紅茶にみられたが、最近では、その便利さのためにむぎ茶、緑茶などの嗜好飲料用に、またかつおぶし、昆布などだしの素用にも使用されるなど、その用途は激増してきている。ティーバッグの生産は年間10億袋といわれ、原料紙は、米国のデキスター社製品が60~70%を占め、残部は国内の日本紙業および南国パルプなどで製造されている。

一般に紙製の包装材料は、熱時に使用される場合は少ないのであるが、ティーバッグは、熱時に食品を浸出ろ過するものであり、時としては煮沸浸出されるので、原料紙の成分が溶出する可能性も大きく、衛生上

の問題が重要である。45年度厚生科学研究の分担研究を行なった結果について報告する。

2. 試 料

厚生省から送られた試料 No. 1~No. 4 および市販品 No. 5~No. 8 の 8 種について試験を行なった。

試料 No. 1 南国パルプ：ヒートロンH-E

No. 2 デキスター社

No. 3 日本紙業：チーバッグK (ロール No. Q0046)

No. 4 日本紙業：ヒートバッグM (ロール No. R-1)

No. 5 リプトン紅茶バッグ

No. 6 麦茶バッグ (熊本安永商会)

No. 7 煎茶バッグ (東京茶問屋商事)

No. 8 煎茶バッグ (山本山)

* 東京都立衛生研究所 食品添加物部

** 愛知県衛生研究所

製品の包装形体についてみると、折たゝみ方式で包装したものと、ヒートシールを行なって包装したものとがあり、製品1個に使用されている紙の大きさは、大体巾9.3—9.4cm、長さ15cmである。麦茶バッグは、ヒートシールがしてあり、その大きさは、10×16cmである。No. 5 については、原紙が得られたので溶出試験を行なうことができたが、No. 6—No. 8 については内容食品を完全に取り除くことが困難であり、また試料の量も十分でなかったため、材質試験だけを行なった。

各試料の巾、厚さ、重さは Table I のとおりである。

Table I Detail of Samples

No.	Weight mg/100cm ²	Width mm	Thickness mm
1	0.1715	110	0.075~0.080
2	0.1211	94	0.065~0.075
3	0.1324	94	0.055
4	0.1672	100	0.060~0.090
5	0.1220	93.5	0.060~0.070
6	0.1914	100	0.100~0.110
7	0.1228	93	0.065~0.070
8	0.1251	93.5	0.065~0.075

3. 試験（溶出試験）

ティーバッグは、いずれも熱湯で浸出して飲むものであり、ときに麦茶などは沸騰中で煎じる場合もあり得るので、熱時の溶出物が衛生上の問題となる。

試験法については、厚生省告示による合成樹脂製器具容器包装の規格試験に準拠して行なった。

3. 1. 試験溶液の調製

ティーバッグ1個は、9.4×15cmで約140cm²あり、これを150ml 前後の熱湯で浸出して飲むのが普通であるので、試料1cm×1cm について浸出用液1ml の割合で浸出を行なうこととする。

浸出用液としては、蒸留水および4%酢酸溶液を用いる。

浸出時間としては、

- 沸騰した浸出用液を注いで室温放置10分間
- 室温で試料を入れ加熱して、沸騰持続10分間
- b と同様にして沸騰持続30分間、の3条件により試験を行なう。

3. 2. 1. ホルムアルデヒド

合成樹脂の規格試験法に準じて、アセチルアセトン法により試験を行なった結果は、蒸留水および4%酢酸溶液による浸出液から、a, b, c いずれの条件によ

っても、ホルムアルデヒドを検出ししない。（検出限度0.1ppm）

3. 2. 2. 重 金 属

水および4%酢酸溶液を用いて浸出した試験溶液200ml を水浴上に蒸発して、105°で2時間乾燥後蒸発残留物を測定したのち、塩酸5ml を加えて水浴上で乾固したのち、電解支持質（2M-HCl+2MNH₄Cl₁:1）10ml に溶解し、柳本P 8 形により、く形波ポーラログラフイーを行なったところ、銅、鉛、スズ、カドミウムを検出ししない。（試験溶液中 0.05ppm 以下）

また強熱残留物を測定したのち、残留物についてDDTC 試薬およびMIBK で抽出ののちパーキンエルマー原子吸光度計 303 型を用いて原子吸光法により鉛を測定した結果は、Table II のとおりである。

Table II Amounts of Ignition Residue and Lead Detected

Sample No.	Ignition Residue %	Lead ppm
1	0.59	0.20
2	0.38	0.61
3	0.73	0.60
4	0.47	0.36
5	0.40	0.55

3. 2. 3. 過マンガン酸カリウム消費量

過マンガン酸カリウム消費量過マンガン酸カリウム消費量について試験を行なった結果は、Table III Fig. 1, Fig. 2 に示すとおりである。

Table III Potassium Permanganate Consumed Expressed in ppm

Eluant Condition Sample No.	Distilled Water			4% Acetic Acid		
	a	b	c	a	b	c
1	3.8	4.7	6.6	4.2	7.3	7.7
2	2.8	4.9	6.6	5.2	15.0	21.3
3	1.7	1.8	4.0	2.4	6.1	8.6
4	2.6	3.8	5.6	3.9	6.3	6.4
5	2.5	3.8	4.7	4.0	10.2	16.7

Note: a = Extracts were prepared by the eluant warmed at 100° and left at room temp. for 30 min.

b = The same eluant was used and left at boiling temp. for 10 min.

c = The same eluant was used and left at boiling temp. for 30 min.

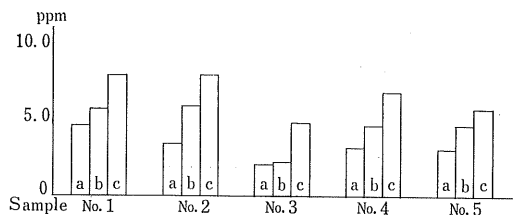


Fig. 1. Consumed (in Distilled Water)
Potassium Permanganate

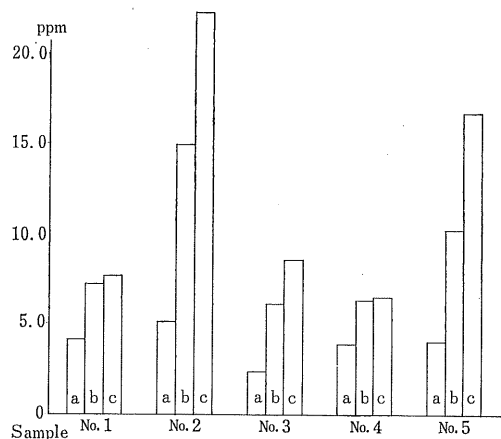


Fig. 2. Consumed (in 4% Acetic Acid)
Potassium Permanganate

3.2.4. 蒸発残留物

蒸発残留物について、蒸留水および4%酢酸溶液により、a, b, cの3条件で試験を行なった結果は、Table IV, Table V, Fig. 3, Fig. 4 に示すとおりである。

Table IV Residue on Evaporation
(Distilled Water)

Sample No.	ppm (mg/liter)			mg/5 g		
	a	b	c	a	b	c
1	10.5	11.8	13.0	29.8 (0.59%)	33.5 (0.67%)	36.9 (0.74%)
2	4.3	5.0	7.5	17.6 (0.35%)	20.5 (0.41%)	30.7 (0.61%)
3	5.3	10.5	14.0	15.4 (0.31%)	37.5 (0.75%)	50.0 (1.0%)
4	4.3	8.8	9.3	11.9 (0.24%)	24.4 (0.49%)	25.8 (0.51%)
5	5.0	9.3	10.5	19.5 (0.39%)	36.3 (0.73%)	40.2 (0.80%)

Table V Residue on Evaporation
(4% Acetic Acid)

Sample No.	ppm (mg/liter)			mg/5 g		
	a	b	c	a	b	c
1	14.3	17.0	21.5	40.6 (0.81%)	48.3 (0.96%)	61.1 (1.22%)
2	10.0	17.8	25.5	41.0 (0.82%)	72.9 (1.46%)	104.5 (2.09%)
3	21.5	23.0	26.3	76.8 (1.53%)	82.1 (1.64%)	93.9 (1.88%)
4	12.8	15.5	17.3	35.6 (0.71%)	43.1 (0.86%)	48.1 (0.96%)
5	11.3	17.3	28.3	44.1 (0.88%)	67.6 (1.35%)	110.5 (2.21%)

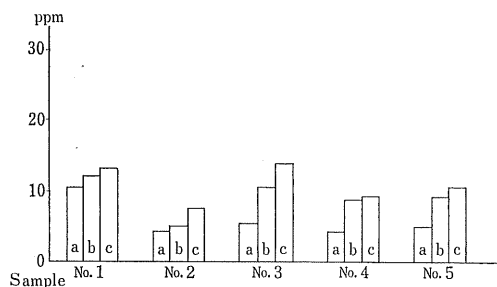


Fig. 3. Evaporated Residue (in Distilled Water)

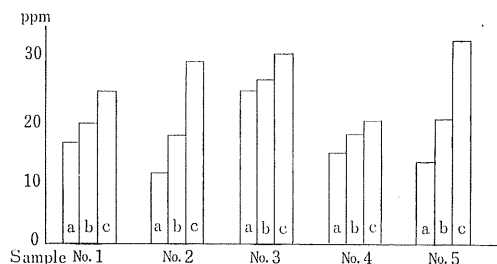


Fig. 4. Evaporated Residue (in Acetic Acid)

3.2.5. けい光物質

紫外線照射により、いずれの試料もけい光を認めない。また念のため、0.1%アンモニア水および50%エタノールによる浸出を行なったのちけい光物質の溶出移行を検査したところ、いずれも陰性であった。

3.2.6. クロロホルム溶出物

試料について、クロロホルムによる溶出物量を測定した。すなわちクロロホルムの沸点温度で1時間還流浸出を行ない、熱時ガラスろ過器を用いて吸引ろ過した後クロロホルム10mlで2回洗滌し、洗液を合わせて、エバ

ポレーターで溶媒の大半を留去し、石英蒸発皿にとり水浴上で蒸発したのち、105°で2時間乾燥し、デシケーター中に放冷後ひょう量する。クロロホルムは高純度スペクトル用を使用した。

Table VI Extracted Amount in Chloroform
 (at boiling point 1 hr.)

Sample No.	mg/dm ²	mg/inch ²
1	30.85	1.940
2	0.20	0.013
3	0.08	0.005
4	1.30	0.081
5	0.25	0.015

4. 材質試験

4. 1. 赤外線吸収スペクトル

日本分光IRG型により、透過法、反射法、KBr法により、試料そのままのものおよび濃硫酸に浸漬したのち水洗した硫酸残留物について試験を行なった。その結果の赤外吸収スペクトルを Fig. 5—Fig. 6 に示す。

4. 2. 濃硫酸による変化と燃焼試験

試料を濃硫酸に浸漬してセルロースを分解して残留物を水洗し、乾燥したのち炎に近づけて燃焼させ、炎の色と臭気について観察した。試料1およびNo. 6は硫酸で直ちには変化がみられず5分後に淡褐色となった。残留物について燃焼試験を行なうと、塩素の臭気と、緑色の炎色反応が認められ、塩化ビニルの存在を推定した。No. 2, 5, 7, 8は、硫酸によって直ちに形がくずれ褐色から黒褐色となり、水洗すると残留物は認められない。

No. 3 は、硫酸に浸漬すると、微褐色から黄色となり、やわらかくて、うすい、とろりとしたゴム様の残留物が認められる。燃やすと特異な臭気があり、KBr錠剤をつくり、赤外吸収スペクトルを測定した結果アクリル系の物質を認める。No. 4 は硫酸に浸漬するとすぐには変化なく、1時間後に淡黄褐色となり、水洗後は透明なしっかりとした繊維を残した。燃焼試験でポリプロピレンの反応を認める。IRと一致する。

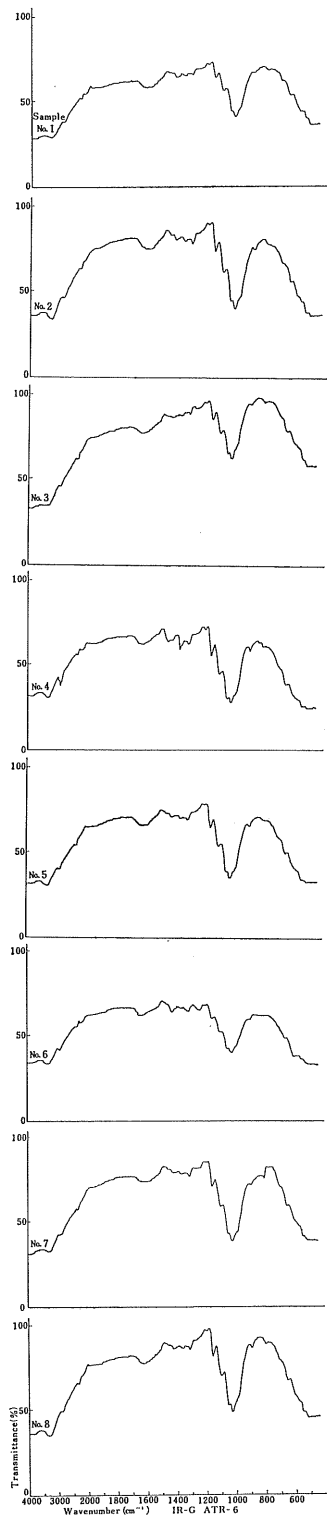


Fig. 5. Infrared Spectra of the Tea-bag Materials (ATR-6)

4. 3. ヨウ素試液による呈色試験

第7改正日本薬局方「脱脂綿の純度試験(7)」に準じて、試料をN-ヨウ素試液に1分間浸漬したのち水洗して、ヨウ素試液による着色について試験を行なった。ビスコース、レーヨンパルプは、濃青色に着色する。

ティーバッグ試料について試験を行なった結果は、試料

- No. 1. 一部に黒紫色に着色した丸く曲った繊維を認めるが、暫時にして消失する。
- No. 2. 全く着色しない。
- No. 3. 全く着色しない。
- No. 4. 淡黄褐色に着色する繊維を認める。
- No. 5. 着色しない。
- No. 6. 紫黒色に着色し、漸時青色となる短かい繊維を認める。
- No. 7. 着色しない。
- No. 8. 着色しない。

4. 4. 染料による染色試験

繊維鑑別用染料による染色を試みたところ、材質の異なるものについては明らかな差違が認められた。

繊維鑑別用染料の配合

Pontamin Fast Scarlet 4BS	0.2 g
Celliton Fast Yellow G	0.2
Acilan Brill Blue FFR 35/100	0.2
Na ₂ SO ₄ (無水)	0.6
水	150ml

上記の染料溶液を加温して、試料を浸漬し1~2分ののちとりだしてよく水洗する。その結果試料No. 2, 5, 7, 8 は同色を示すので同質のもののである。

染料による染色試験の呈色

- No. 1. 黒小豆色
- No. 2. 暗桃色 (青色繊維混在)
- No. 3. 暗桃色
- No. 4. 赤 色 (染色しない光った繊維がある)
- No. 5. 暗桃色 (青色混在)
- No. 6. 褐赤色
- No. 7. 暗桃色 (青色混在)
- No. 8. 暗桃色 (青色混在)

5. 考 察

ティーバッグについて溶出試験を行なった結果を考察すると、紙製の包装材料についてしばしば問題となるホルムアルデヒドおよびけい光物質を検出するものはなかった。

重金属については、鉛としての限度規定のある飲料水、0.1ppm、清涼飲料水0.4ppmに比べて問題となるほど検出されたものはない。

過マンガン酸カリウム消費量は、蒸留水による溶出では、いずれも煮沸10分間で5ppm以下であった。煮沸30分間の浸出でも10ppmを越えるものはなかった。4%酢酸溶液による浸出では、No. 2 および No. 5 が他の試料に比して消費量の増大が目立っている。

蒸発残留物については、蒸留水では、最高15ppm、4%酢酸溶液では28.3ppmが検出された。合成樹脂の規格限度は30ppmであるが、かなりの量が検出されていることは問題であろう。またクロロホルム溶出量が試料No. 1 が特に大きいことも注目しなければならないと考える。

以上の試験結果を総合してみると、特に有害物質のおそれはないようであるが、合成樹脂製繊維の混抄や、原料パルプを保存する時の保存料、スライム防止剤、防カビ剤および抄紙のときの結着剤などについてポジティブに規制されていくことが望ましいと考えるものである。

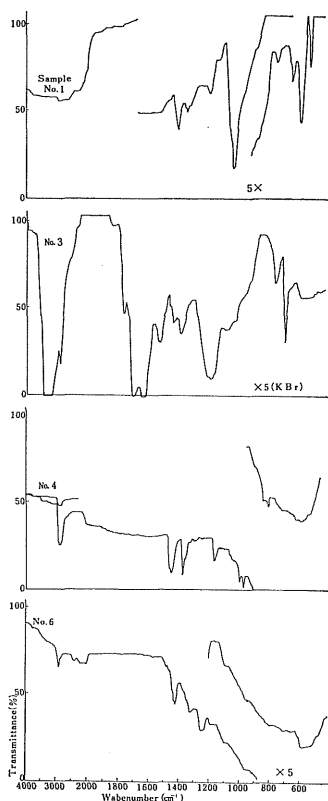


Fig. 6. Infrared Spectra of the Tea-bag Materials, Treated by Concentrated Sulfuric Acid.

陶磁器製食器の重金属溶出について

藤 居 瑛* 柴 英 子*
圓 山 泉** 青 柳 健太郎***

DETECTION OF EXTRACTABLE HEAVY METALS FROM CERAMIC AND PORCELAIN TABLEWARES

Teru FUJII, Hideko SHIBA, Takashi MARUYAMA
and Kentaro AOYAGI

(Department of Food Additives, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

During the period from September to October 1970, a total of 448 ceramic and porcelain tablewares were examined for the presence of several extractable heavy metals. In this experiments, 4 different elution procedures were adopted simultaneously, for the extraction of heavy metals from the products. As a results, quantities of lead detected from the products were varied according to the elution procedures used, e.g., one sample in which 1.5 ppm of lead was detected by the standard elution method had yield 12.5~220.0 ppm of lead by other elution procedures. Maximum yield of lead was 250 ppm (50 mg/ware), and no other heavy metals was detected throughout the investigation. These results suggest us that more strict countermeasures to control these products, as well as the revision of the standard elution procedure for the heavy metals are required for the safty of consumers.

ま え が き

陶磁器製の食器から溶出する鉛の試験法は、食品衛生法に基づく規格試験として、食品添加物等の規格基準第3のAの5に定められているが、この現行の規格試験は、浸出条件においても室温10分間であり、使用条件に見合っていない。また鉛の試験法も定量法ではなく、感度もよくないので識者の間では、しばしば検討すべき問題であるとされ、二、三の報告もある。

東京都において、昭和45年9月—10月に行なった陶磁器製食器の一斉検査にあたり、規格試験を行なったあとの試料について、さらに浸出条件をきびしくして

鉛の溶出量を比較し、その他ヒ素、アンチモン、カドミウム、銅、亜鉛について試験を行なったので、その結果を報告する。

1. 試 料

非煮沸用器具である皿、丼などについて、中華用食器41種137件、和風食器63種178件、洋風食器20種47件、子供向食器9種23件、合計133種448件の試験を行なった。

2. 試験溶液の調製

試料をよく水洗したのち、下記のa) b) c) d)の条件で浸出し、試験溶液とする。いずれの場合も浸出用液として4%酢酸溶液を用いる。

a) 規格試験法による室温で10分間放置：試験溶液aとする。

* 東京都立衛生研究所 食品添加物部

** 愛知県衛生研究所

*** 東京都衛生局薬務部

b) 予め 80° に加温した浸出液を用いて室温30分間放置：試験溶液 b とする

c) 予め 60° に加温した浸出液を用いて 60°30 分間保温放置（合成樹脂製器具の規格試験法）：試験溶液 c とする。

d) 室温24時間放置（スイス，ドイツ規格）：試験溶液 d とする。

同種試料が2個あるものについては，第1に a) 規格試験を行ない，次に b) の浸出を行なった。別の試料について c) の浸出を行ない，次に d) の浸出を行

なった。試料が1個だけのものは，a) のつぎに d) の浸出を行なった。これを d (i) とし，c) の次に d を行なったものを d (ii) として示してある。

3. 試験法

規格試験によるクロム酸カリウム反応および硫酸鉛の沈澱生成反応を行なうとともに，食品添加物一般試験法による重金属試験法に従って鉛標準液を用いて比色定量を行ない，さらに 2M-HCl, 2M-NH₄Cl(1:1) を支持電解質液として，く形波ポーラログラフィーによって鉛を定量する。機器は柳本 P₈ を用いた。

Table I Effect of Lead Extracted by the Four Different Elution Precidues

Sample No.	Diameter cm	Capacity ml	Lead Extracted (ppm)				Lead Extracted mg/ware			
			a	b	c	d	a	b	c	d
1	18.9	730	0	0	0.75		0	0	0.548	
2	19.4	780	0	0	0.5	(1.0)	0	0	0.39	(0.78)
3	19.6	740	0	0.75	0.5		0	0.555	0.37	
4	19.0	750	0	0	7.5		0	0	5.625	
5	19.2	780	0.5	0.75	2.0		0.39	0.585	1.56	
6	19.5	800	0.5	2.0	6.0		0.4	1.6	4.8	
7	19.0	770	0.3	0.5	0.5		0.231	0.385	0.385	
8	19.0	870	0	0.5	0.5		0	0.435	0.435	
9	21.0	900	0.2	2.0	2.0		0.18	1.8	1.8	
10	16.0	715	0.5	3.2	1.2		0.358	2.288	0.858	
11	18.8	700	0.1	4.0	2.4	(0.5)	0.07	2.8	1.68	(0.35)
12	19.0	750	0.2	1.0	1.0		0.15	0.75	0.375	
13	19.3	720	0	1.0	0.5		0	0.72	0.36	
14	19.0	800	0.5	0.5	0.3		0.4	0.4	0.24	
15	20.0	140	0.5	12.5	10.0		0.07	1.75	1.4	
16	20.5	600	4.0	5.0	25.0	(4.0)	2.4	3.0	15.0	(2.4)
17		230	1.5	3.4	4.5	(3.5)	0.345	0.782	1.035	(0.805)
18		230	1.5	3.0	5.0		0.345	0.69	1.15	
19		220	1.0	3.5	2.0	(0.8)	0.22	0.77	0.44	(0.176)
20	18.2	320	0.7	2.5	3.0	(0.5)	0.224	0.8	0.96	(0.16)
21	18.2	320	0.8	2.5	3.5		0.256	0.8	1.12	
22	16.3	280	1.0	2.5	2.0	(5.8)	0.28	0.7	0.56	(1.624)
23	14.5	200	15.0	220	180		3.0	44.0	36.0	
24	14.5	200	30.0	250	200		6.0	50.0	40.0	
25	18.0	370	0.1	1.5	1.0	(1.5)	0.037	0.555	0.296	(0.555)
26	16.0	300	0.3	1.5	1.0		0.09	0.45	0.3	
27	20.6	250	12.0	28.0	50.0	(35.0)	3.0	7.0	12.5	(6.25)
28	20.6	500	0.3	0.3	0.3		0.15	0.15	0.15	
29	8.8	35	3.0	18.0	25.0	(200.0)	0.10	0.63	0.875	(7.00)
30	20.8	500	0.5	5.0	3.0	(9.0)	0.25	2.5	1.5	(4.50)
31	8.7	40	1.5	7.0	4.0	(40.0)	0.06	0.28	0.16	(1.60)
32		180	0.5	2.5	3.0	(5.0)	0.09	0.45	0.54	(0.90)

Sample No.	Diameter <i>cm</i>	Capacity <i>mℓ</i>	Lead Extracted (ppm)				Lead Extracted mg/ware			
			a	b	c	d	a	b	c	d
33	20.7	500	1.5	11.0	48.0	(8.0)	0.75	5.5	2.4	(4.00)
34	11.0	85	0	0.3	0.8		0	0.026	0.068	
35	12.0	100	0	0	0		0	0	0	
36	12.0	100	0	0.5	1.0		0	0.05	0.1	
37	15.0	200	0.2	1.0	3.0		0.04	0.2	0.6	
38		100	0.3	0.5	0.5		0.03	0.05	0.05	
39		25	0.3	1.0	2.0		0.008	0.025	0.05	
40		100	20.5	150	140		2.05	15.0	14.0	
41		100	1.0	7.0	5.5		0.1	0.7	0.55	
42	13.7	300	0	0	0.25		0	0	0.075	
43	9.3	50	0	1.5	4.0		0	0.075	0.2	
44	11.5	120	0.5	0.7	3.2	(2.0)	0.06	0.084	0.384	(0.24)
45	10.2	50	0	0	0		0	0	0	
46	11.2	65	3.0	2.5	5.0	(3.0)	0.195	0.065	0.325	(0.195)
47	9.1	35	5.2	15.0	37.0		0.177	0.525	1.295	
48	18.3	70	1.0	0.8	5.0		0.07	0.056	0.35	
49	15.8	200	45.0				9.0			
50	15.2	100	0.7	0.9	2.0		0.07	0.09	0.2	
51	15.0	100	0.5	0.8	0.8		0.05	0.08	0.08	
52	12.0	140	0.3	1.0	7.5	(150.0)	0.042	0.14	1.05	(21.0)
53	12.0	140	0.3	2.0	6.5		0.042	0.28	0.91	
54	15.0	180	0.3	0.5	3.0		0.054	0.09	0.54	
55	6×9.8	20	1.7	10.0	22.5		0.034	0.2	0.45	
56	9.0	40	0.3	0.5	1.0		0.012	0.02	0.04	
57	10.5	60	0.3	2.6	10.0		0.018	0.156	0.6	
58	14.5	145	0.8	2.3	5.5		0.116	0.334	0.798	
59	10.0	200	0	0	0		0	0	0	
60	10.5	40	0	0	0		0	0	0	
61	12.0	80	0	0	0		0	0	0	
62	12.0	70	2.0	15.0	20.0	(7.0)	0.14	1.05	1.4	(0.49)
63	12.0	100	1.0	5.0	5.0		0.1	0.5	0.5	
64	7.5	25	0.5	0.5	1.0		0.013	0.013	0.025	
65	13.0	100	0.5	4.5	4.0		0.05	0.45	0.4	
66	10.2	60	0	0	0		0	0	0	
67	11.0	50	0	0	0		0	0	0	
68	12.0	85	0	2.8	3.0		0	0.238	0.255	
69	11.5	260	0	0.1	0.5		0	0.026	0.13	
70	14.5	260	0	0	0		0	0	0	
71	10.3	40	10.0	30.0	30.0		0.4	1.2	1.2	
72	12.3	65	1.0	6.0	10.0		0.065	0.39	0.65	
73	11.9	70	0.3	0.3	0.3		0.035	0.021	0.021	
74	7.0	45	0	0.3	1.0		0	0.014	0.045	
75	13.0	100	0	3.6	9.0		0	0.36	0.9	
76	10.8	65	0.2	3.0	3.0		0.013	0.195	0.149	
77	9.5	35	10.0	40.0	80.0		0.35	1.4	2.8	

Sample No.	Diameter <i>cm</i>	Capacity <i>ml</i>	Lead Extracted (ppm)				Lead Extracted mg/ware			
			a	b	c	d	a	b	c	d
78	15.7	280	27.0	100	90.0		7.56	28.0	25.2	
79	15.7	280	36.0	110	100		10.08	30.8	28.0	
80	15.7	280	38.0	120	100		10.64	33.6	28.0	
81	10.0	45	22.0	100	100		0.99	4.5	4.5	
82	10.6	55	0	0	0		0	0	0	
83	12.0	90	0	0	0		0	0	0	
84	10.4	65	0	0	0		0	0	0	
85	13.0	95	0	0.8	1.0	(3.3)	0	0.076	0.095	(0.313)
86	10.3	65	0	0	0		0	0	0	
87	9.7	60	0.5			1.0	0.03			0.06
88	10.8	50	0.5			0.5	0.025			0.015
89	13.1	80	0.5			90.0	0.04			7.20
90	10.2	40	10.0			80.0	0.40			3.20
91	12.9	95	12.5			100.0	1.188			9.50
92	10.0	60	3.0			20	0.18			1.20
93	9.2	60	0.5			0.5	0.03			0.03
94	10.0	80	0			0.7	0			0.056
95	19.0	200	1.0			80.0	0.2			16.00
96	15.0	110	0.2			0.5	0.022			0.055
97	6.5	45	0.5			36.0	0.023			1.62
98	11.0	160	1.8	1.5	1.0		0.288	0.24	0.16	
99	11.8	200	0	0	0		0	0	0	
100	11.0	210	0	0	0		0	0	0	
101	11.0	180	0	0	0		0	0	0	
102	6.0	200	0	0	0		0	0	0	
103	7.0	135	0	0	0		0	0	0	
104	6.0	170	0	0	0		0	0	0	
105	14.4	240	1.0	11.0	12.5	(4.0)	0.24	2.64	3.0	(0.96)
106	15.5	120	0	0.2	7.5	(1.0)	0	0	0.9	(0.12)
107	16.0	140	0	0	0.25		0	0	0.035	
108	26.0	500	1.8	13.0	20.0	(100.0)	0.9	6.5	10.0	(50.0)
109	14.0	200	0.3	0.5	0.5		0.06	0.1	0.1	
110	10.0	35	0	0	0		0	0	0	
111	14.0	215	0.8	5.6	2.8	(8.0)	0.172	1.204	0.602	(1.72)
112	15.8	270	0.25			5.0	0.068			1.35
113	10.2	65	0.5			2.8	0.033			0.182
114	23.0	700	0.5			0.8	0.35			0.56
115	16.7	95	0.25			1.3	0.024			0.124
116	14.5	200	0.25			1.0	0.05			0.20
117	20.0	510	0			0	0			0
118	16.0	110	0			0	0			0
119	19.5	515	0.2			8.0	0.103			4.12
120	14.0	190	0.2			2.0	0.038			0.38
121	13.0	175	0			0	0			0
122	14.0	270	0			0.5	0			0.135

Sample No.	Diameter <i>cm</i>	Capacity <i>ml</i>	Lead Extracted (ppm)				Lead Extracted mg/ware			
			a	b	c	d	a	b	c	d
123	15.0	270	0			9.0	0			2.43
124	14.0	破損	0			0	0			0
125	19.0	200	1.5	8.0	12.5	(220.0)	0.3	1.6	2.5	(44.0)
126	15.1	100	0.5	1.0	2.5	(2.8)	0.05	0.1	0.25	(0.28)
127	10.5	40	0.5	1.0	3.0	(1.5)	0.02	0.04	0.12	(0.06)
128	14.0	200	0.2	0.5	0.7		0.04	0.1	0.14	
129	16.1	150	0	1.0	0.5	(1.0)	0	0.15	0.075	(0.15)
130	11.1	190	0.25			0.25	0.048			0.048
131	9.9	140	1.25			8.0	0.18			1.15
132	14.0	240	1.5			50.0	0.365			12.15
133	14.0	240	1.5			45.0	0.365			10.8

Note a = Extracts were prepared by 4% acetic acid at room temp. for 10 min. (Standard procedure)
b = 4% acetic acid warmed at 80° was placed on the ware and remained at room temp. for 30min.
c = The same solvent warmed at 60° was used and left at 60° for 30 min.
d = The same solvent was used and left at room temp. for 24 hrs.

Table II Effect of Lead Extracted by Standard (a), b, c and d Test Solution

	Lead Extracted ppm	Table wares used for the following dishes				Total
		Chinese	Japanese	Occidental	Children	
(a)	0 ~ 0.50 %	26 (63.4) %	42 (66.7) %	17 (85) %	5 (55.5) %	90 (67.7) %
	0.51 ~ 1.0	5 (12.2)	6 (9.5)	2 (10)	0 (0)	13 (9.8)
	1.01 ~ 10.0	6 (14.6)	9 (14.3)	1 (5)	4 (44.5)	20 (15.0)
	10.01 ~ 20.0	2 (4.9)	1 (1.6)	0 (0)	0 (0)	3 (2.3)
	>20.01 ~	2 (4.9)	5 (7.9)	0 (0)	0 (0)	7 (5.2)
	total	41	63	20	9	133
(b)	0 ~ 0.50	11 (26.8)	24 (47.1)	4 (57.1)	1 (20)	40 (38.5)
	0.51 ~ 1.00	6 (14.6)	6 (11.8)	0 (0)	3 (60)	15 (14.4)
	1.01 ~ 10.0	17 (41.5)	13 (25.5)	1 (14.3)	1 (20)	32 (30.8)
	10.01 ~ 20.0	3 (7.3)	2 (3.9)	2 (28.6)	0 (0)	7 (6.7)
	>20.01	4 (9.8)	6 (11.7)	0 (0)	0 (0)	10 (9.6)
(c)	0 ~ 0.50	9 (22.0)	20 (39.2)	3 (42.9)	1 (20)	33 (31.7)
	0.51 ~ 1.00	6 (14.6)	6 (11.8)	0 (0)	1 (20)	13 (12.5)
	1.01 ~ 10.0	19 (46.3)	16 (31.4)	3 (42.9)	2 (40)	40 (38.5)
	10.01 ~ 20.0	0 (0)	1 (2.0)	1 (14.2)	1 (20)	3 (2.9)
	>20.01	7 (17.1)	8 (15.6)	0 (0)	0 (0)	15 (14.4)
(d) (i)	0 ~ 0.50		3 (27.3)	4 (33.3)	1 (25)	8 (29.6)
	0.51 ~ 1.00		2 (18.2)	2 (16.7)	0 (0)	4 (14.8)
	1.01 ~ 10.0		0 (0)	6 (50.0)	1 (25)	7 (25.9)
	10.01 ~ 20.0		1 (9.1)	0 (0)	2 (50)	3 (11.2)
	>20.01		5 (45.4)	0 (0)	0 (0)	5 (18.5)
(d) (ii)	0 ~ 0.50	2 (14.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (7.4)
	0.51 ~ 1.00	2 (14.3)	0 (0)	1 (25)	1 (25)	4 (14.8)
	1.01 ~ 10.0	7 (50.0)	4 (80)	2 (50)	2 (50)	15 (55.6)
	10.01 ~ 20.0	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	1 (3.7)
	>20.01	3 (21.4)	0 (0)	1 (25)	1 (25)	5 (18.5)

Table III Amount of Lead Extracted from One Ware

test solution Lead mg tipe	a					b					c					d				
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
0 ~ 0.10	20	47	15	5	87	8	31	4	3	46	4	24	3	1	32	0	5	4	1	9
0.11~ 0.50	16	10	4	4	34	8	12	0	1	21	15	12	0	3	30	1	4	6	2	13
0.51~ 1.00	0	1	1	0	2	13	1	0	0	14	6	6	2	0	14	6	0	2	0	8
1.01~ 5.00	4	1	0	0	5	7	4	2	1	14	10	6	1	1	18	4	3	4	1	12
5.01~10.0	1	2	0	0	3	2	0	1	0	3	1	0	1	0	2	3	2	0	0	5
>10.01	0	2	0	0	2	3	3	0	0	6	5	3	0	0	8	0	2	1	3	3
Total	41	63	20	9	133	41	51	7	5	104	41	51	7	5	104	14	16	17	7	54

Note (1)=Chinese (2)=Japanese (3)=Occidental (4)=Children (5)=Total

4. 試験結果

中華食器41種の試験結果は、Table I の No. 1~No. 41に示されている。浸出条件により、温度、時間が大きくなるほど当然のことながら、鉛の溶出が大きくなり、No. 16, 23, 24, 27, 29, 33, 40 は特にはなはだし。No. 24の八角皿と No. 40 のれんげが規格試験において不適となった。しかし規格試験溶液について、鉛20ppm 以上を検出するものは4.9%であるが、室温24時間の浸出であるdについてみると21.4%のものに20ppm 以上の鉛の溶出があった。

和風食器63種は Table I の No. 42—104 に示されるとおりである。No. 49, 78, 79, 80, 81が規格試験で不合格となった。和風食器では絵付の釉薬をデコ盛りしているものが規定以上の鉛を検出して不適となっている。

洋食器20種の試験結果は Table I No. 105—124 に示されるとおりである。洋風食器は一般に磁器が多く、絵付もプリント絵付であり、わりあい高温で焼成されているので、鉛の溶出が少ない。No. 108 のスペイン製皿は、規格試験で1.8ppmであったが、室温24時間の浸出で100ppmの鉛を検出した。

子供向きの絵付けをした食器は、No. 125—133に示す成績である。規格試験では、いずれも1.5ppm以下で合格しているが、No. 125, 132, 133は、24時間の浸出で、220ppm, 50ppm, 45ppmと多量の鉛が溶出している。

浸出条件によって鉛の溶出量に大きな差が認められる。規格試験で1ppm以上検出するものが特に増大する傾向がある。

なおヒ素、アンチモン、カドミウム、銅、亜鉛は今回の検体から検出されなかった。

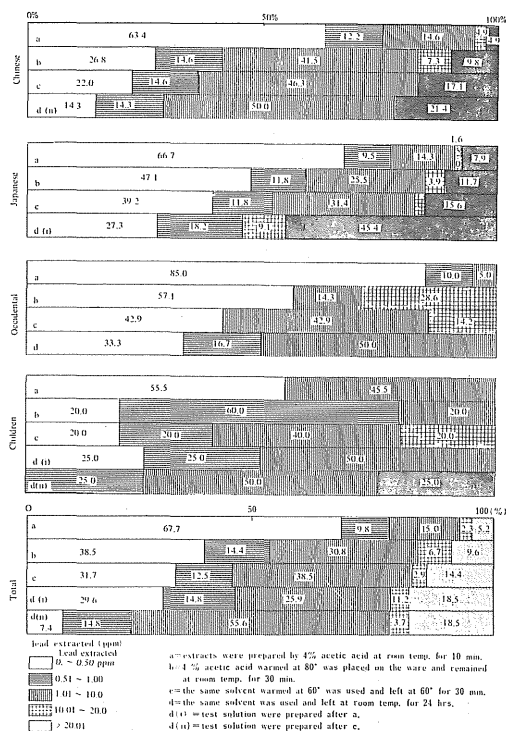


Fig. 1. Comparison of lead extracted by the four different elution procedures from ceramic and porcelain table wares.

5. 考 察

規格試験を行なって判定した結果は、検体133件中、中華食器2種2件、和風食器3種5件が不適であった。しかし規格試験には合格であるが、規格試験溶液中から1ppm以上の鉛を検出しているものが23件ある。規格試験での鉛の溶出濃度の最高は、No.49 和皿の45,0ppmである。また食器1個あたりから溶出した鉛の総量の最高は、No.80の10.64mgである。

参考試験として行なった試験溶液 b, c, d の試験結果をみると、b の場合は、わんや井類の場合は、しばらく温度が保たれるが、皿類では表面積が広いので浸出液が冷えるのが早くこの方法は、実際の使用状況にみ合っているが、同じ絵付けでも形によって浸出温度に差ができて、鉛の溶出量も変り、不確実な感があ

る。規格試験による室温10分の浸出で1ppm以上の鉛を検出するものは、時間の経過とともにいちぢるしい増加をみている。たとえばNo.29は、規格試験で3.0ppmであるが室温24時間では200ppmを検出した。No.125は規格試験で1.5ppm、80°を満して室温30分放置では8.0ppm、60°恒温30分では12.5ppm、室温は220ppmの鉛が検出されている。これは、子供向き24時間での食器であり、時間の経過とともに多量の鉛が溶出することは心配されるべきことである。

消費者の安全性の上に立って考えると、規格試験法の適格な改正と、陶磁器製造上時の適切な焼成温度と時間の管理および上絵付粘薬の改善を強く要望するものである。

東京都および近郊在住女性の体脂肪中の有機塩素系農薬蓄積量

道 口 正 雄* 牛 尾 房 雄*
庭 山 邦 子* 西 田 甲 子*

PESTICIDE CONTENT OF HUMAN FEMALE FAT IN METROPOLITAN AREA

summary

Masao DOGUCHI, Fusao USHIO, Kuniko NIWAYAMA and Kouko NISHIDA
(Department of Nutrition, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health)

A total of 21 samples of human abdominal fat tissues collected from the females residing in Metropolitan Tokyo were analyzed by gas chromatography on two columns of different polarity.

The following substances were traced: α -BHC, β -BHC, γ -BHC, op' -DDT, pp' -DDT, pp' -DDE, Dieldrin and Heptachlor epoxide.

A quantitative analysis yielded the following averages in ppm: 0.14 α -BHC, 2.92 β -BHC, 0.13 γ -BHC, 2.53 pp' -DDE, 0.96 pp' -DDT, 0.11 op' -DDT, 0.33 Dieldrin and 0.04 Heptachlor epoxide.

Approximately 92% of the BHC was present in the form of β -BHC and 70% of the DDT as pp' -DDE.

1. 緒 言

現今母乳中の有機塩素系農薬含量に大きな社会的関心が寄せられているが、母乳中の農薬は母体の農薬汚染の帰結である。諸外国においては1961年頃より人体の農薬汚染についての報告があるが、我国においてはようよう1970年頃より四国¹⁾、九州²⁾、長野³⁾および愛知⁴⁾における人体脂肪組織中の有機塩素剤含量が報告されるにいたり、その結果西部および中部日本における人間の農薬汚染の実態が或程度明らかにされた。しかし東京都およびその近郊における人体の汚染状況に関してはいまだ詳細な報告をみない。昭和46年より有機塩素系殺虫剤の使用制限がおこなわれることになったが、その効果を判定するためにも、東京都在住の女性の汚染実態を把握しておくことは目下の急務であると考えられるので、本調査に着手し或程度の知見をえたので報告する。

2. 試料および実験方法

試料 昭和46年3月より5月まで都内の数病院より、開腹手術の際切除した女性の体脂肪の分与をうけ供試した。供試21試料中18試料は東京都および近郊(市川、浦和、横浜、各一例)、他の3試料は、甲府、静岡、鳥羽市在住者のものであり、供試者の年齢は14才より69才までであった。

実験方法 試料体脂に無水硫酸ナトリウムを加え、ソックスレー装置を用いヘキサンで抽出後、AOAC法⁵⁾に従って Acetonitrile Partitioning, Florisil Cleanup を行い、2% DEGS-0.5% H_3PO_4 , 2% OV-17 の2つのカラムを用いたガスクロマトグラフィーによって同定、定量を行った。使用装置は島津GC-5A型ガスクロマトグラフ、電子捕獲型検出器、線源はトリチウムであり、カラム、注入口および検出器温度はそれぞれ190°C、200°Cおよび220°C、ガス流量120ml/minである。

* 東京都立衛生研究所 栄養部

Table 1. Pesticide content of human female fat in Metropolitan area,
1971, 21 subjects (ppm on fat basis)

	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	Total BHC	pp'- DDE	pp'- DDT	op'- DDT	Total DDT	Dielt. rin	Hept. Epox.
Arithmetic mean	0.14	2.92	0.13	3.19	2.53	0.96	0.11	3.60	0.33	0.04
Range										
Max.	0.44	6.30	1.37	6.57	4.43	1.75	0.90	6.62	0.80	0.14
Min.	0.05	1.23	0.02	1.31	0.91	0.52	0	1.41	0	0
SD				1.27				1.69	0.23	
95% confidence limits for A. M.				3.77 ~2.61				4.37 ~2.83	0.43 0.23	

3. 結果および考察

供試体脂中には、 α 、 β 、 γ -BHC、op'-DDT、pp'-DDE、pp'-DDT、Dieldrin、Heptachlor epoxide が検出され、また3例について δ -BHCを検出した。pp'-DDD はまったく検出されなかった。

表1に示されるように、総BHCの平均値は3.19ppmであり、 β -BHCがそのうちの92%ほどしめる。このような β -BHCの極度の濃縮は、数種のBHC異性体の混合物であるTechnical BHCの散布を長年月にわたって許可したがため、排泄速度⁶⁾⁷⁾の遅い β 異性体が食物連鎖をへて濃縮され、人間が肉や乳製品のような連鎖の最終段階のものを摂取するためと考えられる。 δ -BHCを検出した3例では、総BHCに対する β -BHCの比率は78~84%と比較的低く、また他に γ -BHCが総BHCの34%にもなるもの一例を認めたが、これらは食物連鎖以外、または散布後まもない食物によるBHC汚染に近い過去に受けたことを示唆するものとする。Secretary's Commission¹²⁾の報告によると、人体中のDieldrinの主要経路は食物と考えられるが、DDTについては必ずしもそうでなく、食物経由のDDTはその一部にすぎず、その他の因子が考えられ、その一つとして家庭で散布されたDDTが塵によって媒介される可能性を指摘している。

総DDTの平均値は3.60ppmで、そのうちの70%がpp'-DDEである。甲府、静岡および鳥羽市在住者3例を除くと、総BHCおよび総DDTの平均値は、それぞれ3.10ppm、3.43ppm、標準偏差はそれぞれ1.02、1.58となりさしたる差異はない。また年齢の高低と農薬蓄積量とは関係がないようである。

女性体脂中からこれら有機塩素系殺虫剤が検出されたことは、昭和46年の時点において、これらの物質が東京都および近郊の女性体中に貯留されているという

ことである。これらの物質は胎盤を通過し⁸⁾、胎児に蓄積⁹⁾されることが知られており、胎児は胎生期からすでに母体からの農薬にさらされ、成人と同レベル⁹⁾の汚染を受け、さらに出生後も母乳や人工乳に含まれる農薬を摂取しつづけることを考えると、望ましくぬことである。

第2表に示されるように、高知¹⁾の女性体脂中の総BHCは東京の2.7倍、総DDTは1.5倍ほどであり、Dieldrinも高い。北九州の総BHC²⁾は約7倍、愛知³⁾では総BHC3.8倍、総DDT5.4倍、また長野⁴⁾ではそれぞれ1.3倍、2.3倍であり、どれも本調査の数値より高い。

しかし高知以外については供試試料の性別は不明である。性別によって農薬レベルに差異があるか否かについては、いまだ不明であるが、Secretary's Commission¹³⁾は、或報告は差異ありとし、他の報告は無しとしているのは試料数例が少いためであろうと述べており、多数例について検討した結果では、DDTとDieldrinについては性による差異はないと結論している。

諸外国における人体汚染と対比した場合、総BHC量が欧米人の6~10倍と著しく高いことが認められ、特に β -BHCの高度汚染は他に類をみぬところであり、今後の推移の追跡調査の要があろう。

謝辞 本研究の供試試料を収集し、有益かつ適切な助言をたまわった当所環境衛生部公害第2研究室大井玄主任研究員に深甚なる謝意を表する。

参考文献

- 1) 西本孝男, 上田雅彦, 田植栄: 医学のあゆみ, 73, 275 (1970)
- 2) 立川涼, 三谷恵子: 日本農芸化学会, シンポジ

Table 2. Pesticide residues in human fat in Japan and Various Country
(ppm on fat basis)

Province, Country	year	No. of Samples	B H C				D D T				Dieldrin	Hept. Epox.
			α	β	γ	Total BHC	pp'- DDE	pp'- DDT	op'- DDT	Total DDT		
Kochi ¹⁾	1969/1970	38 (males)	15.35	0.05		15.63	5.55	2.51		8.20	0.51	
		36 (females)	8.17	0.12		8.56	3.54	1.90		5.57	0.42	
Nagano ³⁾	1971	30	0.15	4.08	0.04	4.27	5.79	2.42		8.21	0.07	
Aichi ⁴⁾		23	0.66	10.37	0.32	11.98	12.62	4.09		17.16	0.49	
Northern ²⁾ kyusyu	1968/1970	23	0.75	21.8	0.31	22.8						
German ¹⁰⁾	1970	20	0.45				2.2	1.1		3.3		
U. K. ¹¹⁾	1965/1967	248	0.28				2.0	0.78		3.0	0.21	0.04
*U. S. A ⁹⁾	1969	10	0.14	0.26	0.11	0.51	1.22	0.88	3.39	8.66	0.24	0.32
" 14)	1967	457	0.00	0.22	0.01	0.23	2.88	0.85	0.01	4.17	0.12	0.02
" "	"	89	0.00	0.45	0.00	0.45	5.78	2.03	0.03	8.80	0.07	0.09
" "	"	164	0.02	0.36	0.03	0.41	7.01	2.15	0.20	10.54	0.31	0.11
" "	"	24	0.05	0.00	0.00	0.05	6.92	1.58	0.02	9.54	0.00	0.02

* Pesticide residues in the fat from Stillborn infant

- ウム食品と公害講演要旨 (1970)
- 3) 松島松翠：臨床栄養，39，19 (1971)
 - 4) 榎府直大：同 誌，39，26 (1971)
 - 5) official Methods of Analysis of A.O.A.C
Eleventh Edition, 481 (1970)
 - 6) 堀伸二郎，福島成彦等：日本食品衛生学会第21
回学術講演会講演要旨 (1971)
 - 7) 大柴恵一，川北兵蔵：同講演会講演要旨
 - 8) 林路彰：臨床栄養，38，120 (1971)
 - 9) A. Curley, M. F. Copeland et al : Arch.
Environ. Health, 19, 628 (1969)

- 10) L. Acker, E. Schulte : Devtsche Lebensmi-
ttel rundschau : 66, 385 (1970)
- 11) D. C. Abbott, R. Goulden et al. : Brit.
Med. J. : 3, 146 (1968)
- 12) U. S. Department of Health, Education
and Welfare : Report of the Secretary's
Commission on Pesticides and their Rela-
tionship to Environ mental Health, Part I
and II, 326 (1969)
- 13) 同報告 322
- 14) 同報告 331

乳蛋白に混在する異質蛋白の検出法の検討 (乳および大豆蛋白の電気泳動的, ポーラログラフ的特性)

道 口 正 雄*

PRELIMINARY REPORT ON THE DETECTION OF HETEROGENEOUS PROTEIN MIXED INTENTIONALLY IN MILK PRODUCTS BY MEANS OF DISC ELECTROPHORESIS AND POLAROGRAPHY

Masao DOGUCHI

(Department of Nutrition, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health)

The effectiveness of disc electrophoresis and polarography for identifying the soybean protein mixed in the milk casain was investigated.

The soybean protein is thought to be the most possible protein mixed in the milk products as a substitute of the milk casein.

It was shown that disc electrophoresis was not available for this purpose. No specific electrophoresis pattern for the milk casein and the soybean protein was observed.

No attempt to identify the soybean protein in the milk casein was also successful by means of polarographic protein wave. The addition of the same amount of the soybean protein to the casein did not show any significant effect on the polarographic behaviour which was specific for the milk casein. The successful identification could not be expected even when the concentration of the soybean protein increased to the double amount of the casein.

The specific polarographic behaviour shown by the milk casein may present the possibility to reveal the absence or presence of the milk protein in the marketed milk products.

1. 緒 言

ここ数年特に食品についての関心が高まり正しい食品のあり方について広く議論されつつある現状である。食品の摂取によって、人間がその生命現象を維持している以上、そして食品の大部分が、特に都市生活者においてはその 100 % を市販製品に頼り、そのままもしくは幾分の加工をほどこして摂取しているのだから、食品のあるべき姿については十分なる検討がなさるべきである。

現在食品に関しての問題点は、大別すれば食品添加

物の問題であり、他の一つはいわゆる偽和食品の問題であろう。ひき肉に別種の肉を混入するとか、牛乳に異種脂肪を混合するとかいうのが後者の例である。

近年製油工程の改善により熱変化を受けない脱脂大豆の量産が可能になり、この脱脂大豆は醸造原料にとどまらず、水産練製品に対して蛋白原料として利用する道がひらけ、さらにまたアイスクリーム、乳酸飲料にも一部脱脂粉乳の代替として利用されつつあるとのことである¹⁾。

本研究は乳製品中に大豆蛋白が混入された場合、その混入の有無を検出する方法を確立することを目的として、大豆蛋白および数種の乳製品について、ディスク電気泳動並びにポーラログラフ蛋白波によって、そ

* 東京都立衛生研究所 栄養部

これらの蛋白の特性を、またさらにそれらの蛋白を混合した場合の特性ないしは特徴を検討したものである。

Brdika²⁾ が 1933 年にコバルトアミン溶液に血清を添加すると、2 つの極大波を生じこれが -SH 基の接触還元波であることを見出してから、この方法が蛋白質の研究に広く利用されている。乳蛋白の特性の検討にもこの方法が導入され、人乳と牛乳蛋白の差異や異常乳の蛋白のポーラログラフ的研究^{3)~6)} などの報告がみられる。また乳蛋白の研究に電気泳動法^{7)~9)} も広く利用されており、それぞれ興味ある成果を上げている。

2. 試料および実験方法

試料

牛乳 G 社製市乳および加工乳、蛋白質それぞれ 3.1% および 3.0%。

乳カゼイン (1) 和光純薬製、蛋白質 79.2%，(2) ハーマステイン、蛋白質 90.3%，(3) G 社製市乳に IN 塩酸を滴加し、PH 4.6 に調製し、沈でんした蛋白を遠沈により回収し 3 回水洗してえた粗カゼイン、(4) G 社製加工乳を上記と同様に処理してえた粗カゼイン。

乳ホエー蛋白 市乳および加工乳より粗カゼインを除去した上清液。

スキムミルク 市販スキムミルク、蛋白質 35.0%

アイスクリーム中の粗カゼイン 市販アイスクリーム 3 種を購入し、室温に放置、解凍し以下牛乳に準じてえた粗カゼイン。

大豆蛋白 A A 社製粉末大豆蛋白、蛋白質 54.9%

大豆蛋白 B A 社製粉末大豆蛋白、蛋白質 83.1%

3. 実験方法

ディスク電気泳動

供試蛋白溶液 供試全試料とも、0.02N 水酸化ナトリウム溶液に分散溶解せしめ、供試検液とした。

電気泳動 ディスク電気泳動の操作法は菊谷¹⁰⁾の記述した方法に従って行った。

ポーラログラフ蛋白波

供試蛋白溶液 乳カゼイン(1)、(2)および大豆蛋白 A、B は 300mg を、スキムミルクは 1g を 200ml の 0.3M アンモニア溶液に溶解定容した。乳カゼイン(3)、(4)およびアイスクリーム中の粗カゼインはディスク電気泳動用供試検液をそのまま使用した。

蛋白波の測定

電解液組成は、 CoCl_2 10^{-3}M 、 NH_4OH 0.5 M、N

H_4Cl 0.1M であり、電解温度は $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 、加電圧範囲 $-0.4 \sim -1.9\text{ V}$ において電解しポーラログラフを記録した。使用装置は柳本ポーラログラフ PB-105 型である。

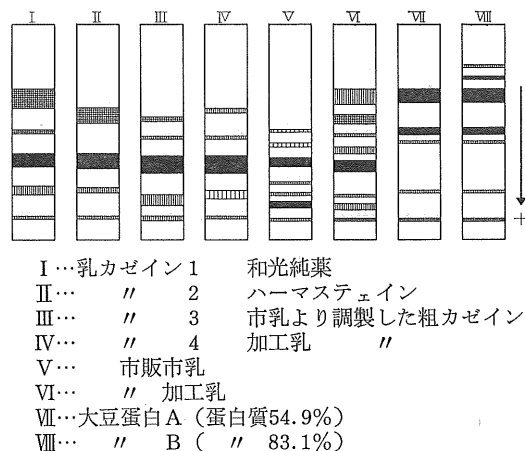
蛋白質の測定

マイクロケルダール法により窒素を測定し、牛乳および乳カゼインには 6.38、大豆蛋白には 5.71 の蛋白係数を用いた。

4. 結果および考察

第 1 図に示されるように、4 種の乳カゼインについて得られた泳動図は必ずしも同じようなパターンを示さないが、これらの間に共通に認められるものは易動度の高い 3 つのバンドである。また大豆蛋白 A および

第 1 図 乳カゼインおよび大豆蛋白のディスク電気泳動図



I…乳カゼイン 1 和光純薬
II… " 2 ハーマステイン
III… " 3 市乳より調製した粗カゼイン
IV… " 4 加工乳 "
V… 市販市乳
VI… " 加工乳
VII…大豆蛋白 A (蛋白質 54.9%)
VIII… " B (" 83.1%)

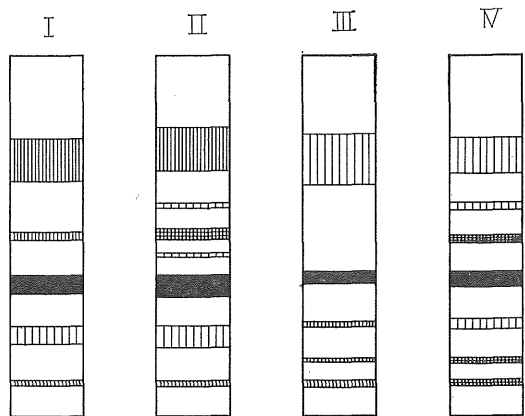
B では陽極側より 5 番目までの 5 つのバンドはまったく同じであるが、大豆蛋白 B では更に陰極側に明確に認められる 2 つのバンドが存在する。乳カゼインと大豆蛋白では明らかに異なった泳動パターンを示すものと認められる。

また市乳と加工乳では全然異った泳動パターンが得られ、それらのホエー蛋白についても同様の結果がえられた。

第 2 図に認められることは、乳カゼイン (I) と大豆蛋白 B の蛋白等量混合液の泳動パターンは乳カゼイン (I) のパターンに類似したものであり、大豆蛋白が 3 倍になると、そのどちらの蛋白のパターンとも異ったものとなることである。しかし 1 : 3 の混合比においてもなお乳カゼインの特徴が残されているようである。

市乳と大豆蛋白 B について、それぞれの蛋白量が 1

第2図 大豆蛋白添加による乳カゼインおよび牛乳のディスク電気泳動図の変化



- I ……乳カゼイン I と大豆蛋白 B の等量混合試料
(蛋白比 1 : 1)
II ……乳カゼイン I と大豆蛋白 B の 1 : 3 混合試料
III ……市販市乳と大豆蛋白 B の等量混合試料
(蛋白比 1 : 1)
IV ……市販加工乳と大豆蛋白 B の等量混合試料
(“ ”)

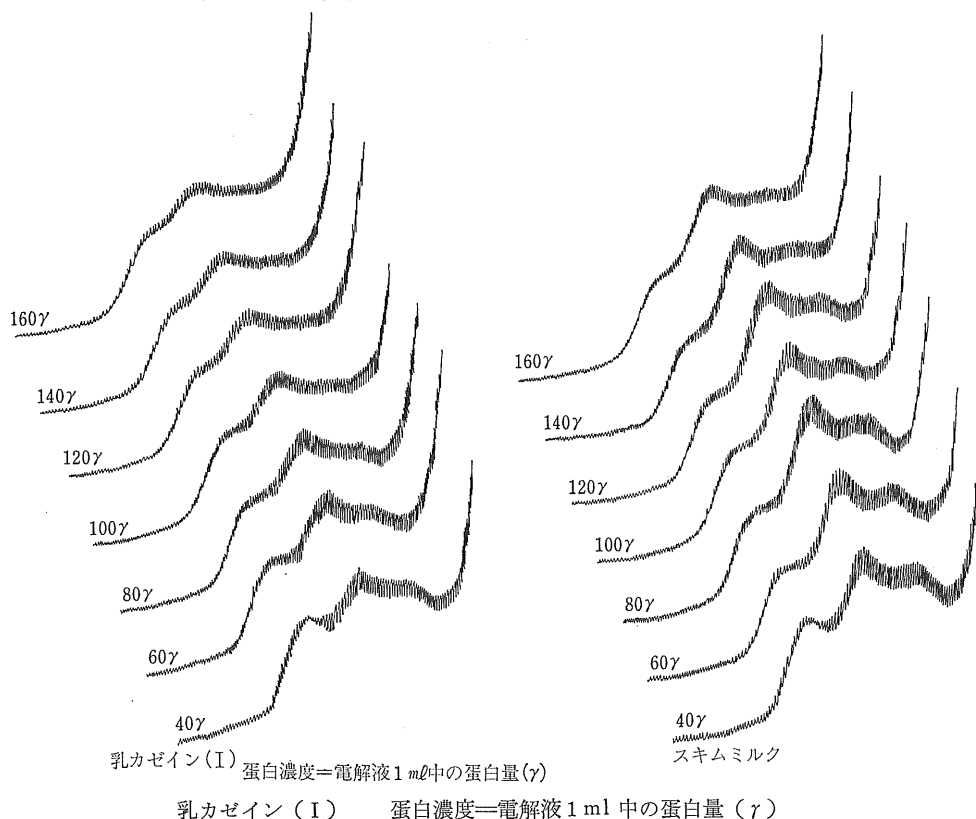
：1 になるように混合した液では、それぞれの蛋白の一部のフラクションは消滅し、どちらの蛋白とも異なるパターンを示すようになった。このことは加工乳の等量混合液についても認められた。

乳カゼイン(1)について電解液組成、電解温度および感度などの条件を一定とし、蛋白濃度だけを変化させた時のポーラログラフ蛋白波の変化を示したのが第3図である。乳カゼインの蛋白波の特徴は、波の巾が狭くまた蛋白濃度を変化させても第2波は常に第1波より低く、さらに第2波が明瞭に表われないことである。これらの特徴は乳カゼイン(2)についてもまったく同様である。

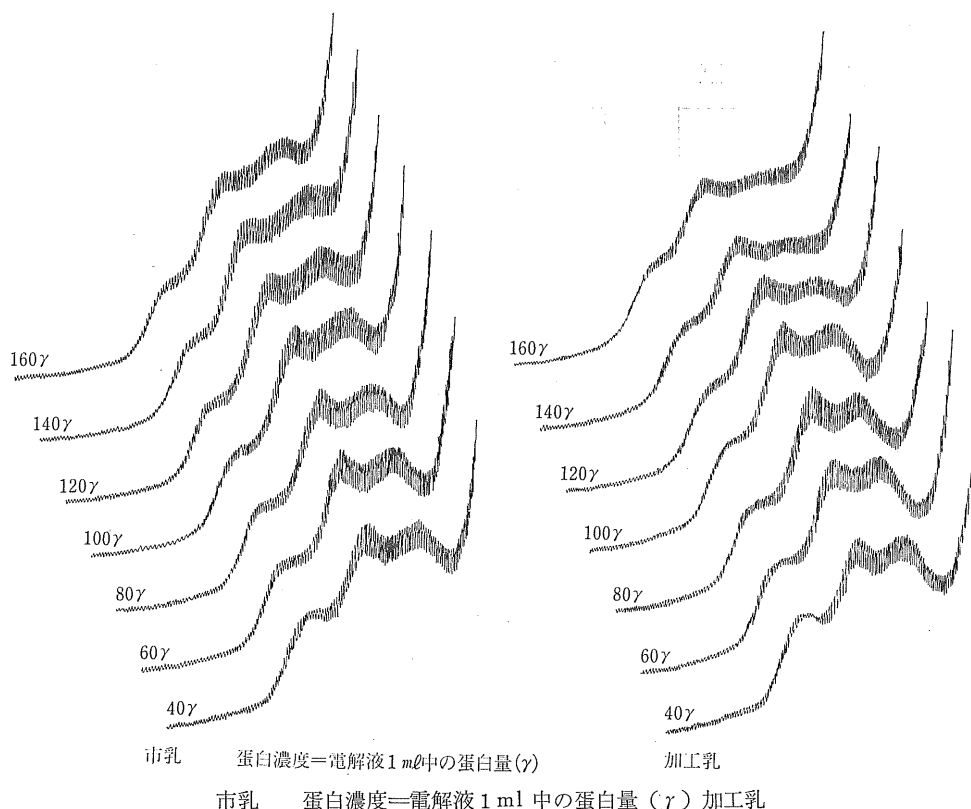
スキムミルクについては、比較的低濃度において第2波が明確に表われる点をのぞいては、そのポーラログラフ的挙動は乳カゼインの挙動と著しく類似している。また市乳および加工乳より調製した粗カゼインの各蛋白濃度における蛋白波の波形はスキムミルクのそれに類似している。

第4図は市乳および加工乳の蛋白波を示したものであり、牛乳の種類によって蛋白波に明らかに差異を生

第3図 乳カゼイン (1) およびスキムミルクの各蛋白濃度における蛋白波



第4図 市乳および加工乳の各蛋白濃度における蛋白波



ずることが知られる。加工乳の蛋白波はスキムミルクのそれと類似した挙動を示し、スキムミルクより還元されたことを示唆する。

市乳および加工乳の蛋白波のパターンが乳カゼインと明らかに異っているのは、乳中のホエー蛋白によると考えられ、またこれらの牛乳から得た粗カゼインの蛋白波並びにスキムミルクの蛋白波も乳カゼインの蛋白波と差異のあることは、残存するホエー蛋白の影響によると解釈される。

第5図に示されるように、大豆蛋白も製品によって必ずしも同じ蛋白波を示さないが、乳カゼインと比較して、同一蛋白濃度では著しく高い波高を示し、第2波が明瞭に表われさらに波の巾が広いというのが特徴である。

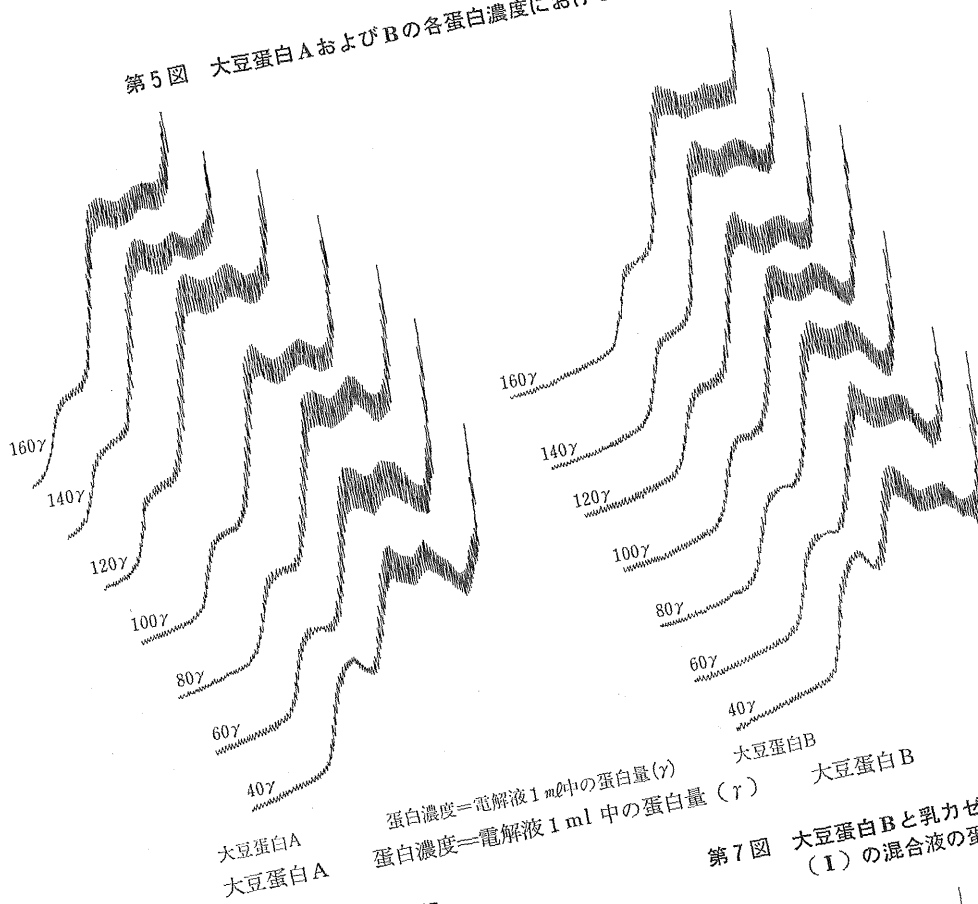
市販アイスクリーム3種よりえた粗カゼインの蛋白波が第6図である。試料カゼイン量が少く、蛋白濃度の測定は不能であったが、試料2は典型的な乳カゼインの蛋白波を示し、試料1および3の蛋白波はスキムミルク乃至は牛乳よりえた粗カゼインのそれとよく一致する。一方試料1および3の波形は大豆蛋白Bの低

蛋白濃度(40γ/ml)の波形とも類似しているが、そのような濃度ではコバルトの極大波が抑制されず、大豆蛋白AおよびBにおいてコバルト極大波が表われなくなるには80γ/ml以上の濃度を必要とする。しかしそのような高濃度では明らかにアイスクリーム1および3の波高より高い波高を示すことになるので、アイスクリーム中の蛋白は乳蛋白であると判定するのが妥当である。これらの結果は試料1および3はスキムミルクまたは牛乳を、試料2は乳カゼインを原料の一部に使用していることを示唆する。

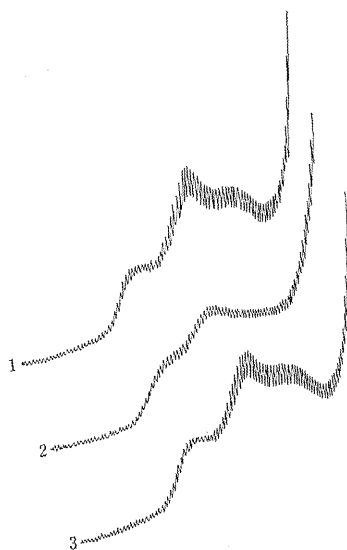
第7図に大豆蛋白Bの蛋白波に及ぼす乳カゼインの影響を示す。乳カゼインと大豆蛋白が等量混合された場合は乳カゼイン特有の蛋白波が示され、倍量の大豆蛋白が存在しても蛋白波にはなお乳蛋白の特徴が失われない。このことは蛋白波の測定によって、大豆蛋白に乳蛋白が混入されている時はその事実を推定しえても、その逆の場合は不可能なることを示す。

乳製品中に混在する大豆蛋白を検出するための試みは、すでに述べたようにポーラログラフ蛋白波にせよ、ディスク電気泳動にせよ乳蛋白の特徴が強く表わ

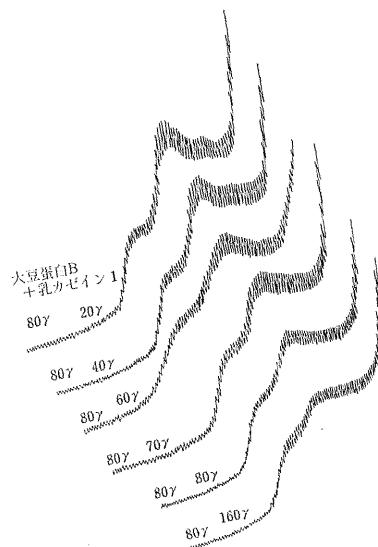
第5図 大豆蛋白AおよびBの各蛋白濃度における蛋白波



第6図 アイスクリーム中の粗
カゼインの蛋白波



第7図 大豆蛋白Bと乳カゼイン
(I)の混合液の蛋白波



れ、そのため乳蛋白に混入された大豆蛋白の検出は不能である。

特にディスク電気泳動法は同種蛋白間に共通のパターンが認め難く、この目的には不適である。しかし乳製品と称する製品中に、はたして乳蛋白が含有されているか否かを判定するための手段としては、ポーラログラフ蛋白波は或範囲内では利用しうるものとする。

要 約

乳および乳製品に混入された異質蛋白の検出を目的として、最も混入される可能性の強い大豆蛋白をとりあげ、これらの蛋白並びに両蛋白を混合した場合の特性をディスク電気泳動およびポーラログラフ蛋白波によって検討した。

乳カゼインや大豆蛋白は、製法並びに処理条件によって必ずしも同じ蛋白波や泳動パターンを示さず、それらを明確に同定するための基準を確立しえなかったが、乳カゼインの蛋白波には共通した特徴が認められた。

乳カゼインと大豆蛋白を混合した時は、電気泳動パターンおよび蛋白波に乳カゼインの特徴が強く表われ、大豆蛋白の存在を検出しえなかった。しかし乳製品と称するものの中に乳蛋白が含まれるか否かを判定するための手段としては、ポーラログラフ蛋白波は或

程度有用であることを認めた。

謝 辞 本研究の遂行に、終始献身的に協力いただいた、郭淑恵、渡辺洋子および小泉道子の諸嬢に深甚なる謝意を表する。

参 考 文 献

- 1) 食糧—その科学と技術—, 9, 102 (1966)
- 2) 館勇: ポーラログラフィー, 385頁, 岩波書店 (1954)
- 3) 前野正久, 清沢功, 桑原邦介: 農化誌, 36, 710 (1962)
- 4) 前野正久, 両木岱造, 清沢功, 桑原邦介: 同誌, 37, 296 (1963)
- 5) 前野正久, 両木岱造, 清沢功, 桑原邦介: 同誌, 38, 18 (1964)
- 6) 中西武雄, 伊藤敏敏: 同誌, 38, 10, (1964)
- 7) 中西武雄, 伊藤敏敏: 同誌, 41, 130, (1967)
- 8) 中西武雄, 伊藤敏敏: 同誌, 43, 866, (1969)
- 9) C. Chen & K. yamauchi: Agri. Biol. Chem., 33, 1751 (1969)
- 10) 菊谷元資: 化学と生物, 7, 545, (1969)

生薬の試験方法に関する研究 (II)

朮類生薬の識別法について (その 2)

西 川 洋 一* 風 間 成 孔**

STUDIES ON EXAMINATION METHOD OF CRUDE-DRUGS (II)

Differentiation of the Crude-drug Zhu (Part 2)

Yoichi NISHIKAWA and Masayoshi KAZAMA

(Department of Pharmaco-chemistry, Tokyo Metropolitan Research
Laboratry of Public Health)

summary

The rhizome of *Atractylodes* species (Compositae) is generally known as Chinese Crude-drug Zhu.

Zhu specified in Japanese Pharmacopoeia are stated two articles, i, e, ATRACTYLODES LANCEA RHIZOMA (Cang-zhu) and ATRACTYLODES RHIZOMA (Bai-zhu). Although these Zhus belong to the category of the stomachic and diuretic, pharmacological action is sweating at Cang-zhu and anhidrotics at Bai-zhu. All of Zhu in Japanese market is imports from abroad and the nomenclature is in disorder, because the original plant can not be distinguished.

This experiment on differentiation of Zhu was performed with thin layer chromatography (TLC) and gas-liquid chromatography (GLC).

Consequently, chinese Cang-zhu and Bai-zhu were distinguished from products of North Korea and Japan. Moreover, it was found that Cang-zhu and Bai-zhu of North Korea were identified with rhizome of *Atractylodes japonica* KOIDZUMI by means of TLC, GLC and colour reaction with vanillin-hydrochloride reagent.

1. 緒 言

漢薬「朮」はきく科の *Atractylodes* 属植物を基原とする生薬の総称で、古代中国 (後漢 25~220) の神農本草経上品に収載されて以来現在に至るまで漢方薬物療法において日常繁用される要薬である。

Atractylodes 属植物は日本、朝鮮、中国等の東亜地域に分布する多年生草本で、朮類は古来その基原植物、採取時期、用部、調製法などにより種々の名称がつけられてきた。

日本に自生する *Atractylodes* 属はオケラ *A. japonica* KOIDZUMI 一種のみで、従来その肥大した若い根茎のコルク層を除いて乾燥したものを白朮と呼び、細い繊維性の根茎をそのまま乾燥したものを蒼朮と呼んでいたが、現在はほとんど市場性がない。このほか中国原産のホソバオケラ *A. lancea* DC. が享保年間に日本に渡来して佐渡で栽培され、江戸時代に佐渡蒼朮と称して産出されたが、現在はわずかに標本植物として保存されているにすぎない。このように日本産の朮は農村経済の変化により價格的に引きあわないことから市場性を失い、現在の市場品は総て輸入品である。

日本では従来基原植物的区別より外観的にコルク層を除去して調製し外面が類白色のものを白朮、コルク

* 東京都立衛生研究所 医薬品部

** 東京都立衛生研究所 微量分析部

層をつけたものを蒼朮とする習慣があり、また輸入品の基原植物が判然としなかったことから市場品の名称がかなり混乱していた。

しかしながら、白朮と蒼朮とは本来基原植物を異にするもので、薬理作用も異なるものであるから、その識別を明らかにして使用されなければならない。

文献上朮類を分別したのは六朝時代(420~588)の陶弘景が最初で、本草経集注で白朮と赤朮(蒼朮)を記載している。その後明代(1368~1644)に至り多くの文献で薬名として白朮と蒼朮とに区別され、その薬効が水毒を去り脾胃を健やかにする点は同一であるが、白朮は止汗に、蒼朮は発汗に作用することから両者を同一薬方に薬名を別にして処方するようになった¹⁾。その意味から中薬志²⁾ および葯材学³⁾ など近代の文献でも禁忌として、白朮は陰虛燥渴者に、蒼朮は陰虛有熱及燥結多汗者に使用を禁じている。

中国および朝鮮産の朮類は高橋^{1,4,5)}、難波⁶⁾によれば、中国産の白朮(冬朮)はオオバナオケラ *A. ovata* DC., 蒼朮はホソバオケラ *A. lancea* DC. (南蒼朮, 漢蒼朮, 茅朮, 古立蒼朮) およびシナオケラ *A. lancea* DC. var. *chinensis* KITAMURA (北蒼朮, 津蒼朮, 山蒼朮), 関蒼朮はオケラ *A. japonica* KOIDZUMI を主とし、シナオケラ およびナンマンオケラ *A. lancea* DC. var. *simplicifolia* KITAMURA を混じ、中国東北地方に産する東北大個朮はオケラとシナオケラの交配種、韓国産の蒼朮および白朮はオケラ、北朝鮮産の蒼朮はナンマンオケラを基原としている。

日本にはこれら各種の朮類が輸入されたが現在の市場品は中国産蒼朮(南蒼朮)、北朝鮮産蒼朮および白朮を主とし、わずかに中国産白朮があるようである。

朮類生薬の識別法としては高橋、難波^{1,3,7)}らの剖見的研究および atractylone のバニリン・塩酸試液による呈色反応を応用する研究がある。

atractylone は白朮系の *A. ovata* および *A. japonica* の精油主成分で、蒼朮系の *A. lancea* および *A. lancea* var. *chinensis* には微量に含有されているが、*A. lancea* var. *simplicifolia* には全く含有されていないことから、日本薬局方⁸⁾ 白朮の確認試験および蒼朮の純度試験として記載されている。しかし、この反応は精油含量とかなり関係があり、市場のカット品および粉末に应用する場合に若干の問題点がある。そこで、前報⁹⁾ で日本薬局方白朮の確認試験の参考試験法として薄層クロマトグラフィーを応用し 市場の主としてカット品の識別について報告したが、本報告では実験材料として東京市場の中国産蒼朮(古立蒼朮)、中

国産白朮、北朝鮮産蒼朮、北朝鮮産白朮、日本産白朮、東京近郊に野生および栽培されたオケラより調製した生薬を用い、これらのエタノール温浸液および精油について薄層クロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィーを実施し、北朝鮮産朮類の基原植物および各朮類の識別法について知見をえたので報告する。

2. 実験の部

I 実験材料とその性状

- 1) 中国蒼朮 (chinese Cang-zhu) 中国より輸入され東京市場で古立蒼朮と称される生薬で、不規則に屈曲し、ときに分岐する円柱形~塊形で、長さ4~7 cm, 径1~3 cmである。外面は暗かっ色のコルク皮をつけ、質は硬く、横断面は類白色で、これをルーペ視するとき黄かっ色~暗かっ色の著明な油点を認める。特異のにおいがあり、味はやや苦い。切片を放置するとき白色綿状の結晶を析出する。
- 2) 中国白朮 (chinese Bai-zhu) 中国より輸入され東京市場で漢白朮~唐白朮と称してわずかに流通する生薬で、上部は細く下方に向かって不整に肥大した塊状をなし、上端に短い茎の残基をつけ、所々にこぶ状~瘤状の小突起がある。長さ4~8 cm, 径2~4 cmで、外面は暗かっ色を呈し、しばしば縦にしわがある。質は堅硬で折りにくく、横切面は淡かっ色角質ようである。特異のにおいがあり、味はやや甘く、のちわずかに苦い。本品は性状から中国の烘朮と推定される。
- 3) 北朝鮮蒼朮 (northern Korean Cang-zhu) 東京市場で北朝鮮蒼朮と称される生薬で、不規則に屈曲し、ときに分岐する円柱形~連珠形を呈する。長さ4~8 cm, 径1~2 cmで、外面は暗かっ色のコルク皮をつけ、所々表皮がはがれている。質は硬く、破折面は繊維性である。横切面は類白色で、これをルーペ視するとき、淡黄かっ色の細点を認める。特異のにおいがあり、味はやや苦い。
- 4) 北朝鮮白朮 (northern Korean Bai-zhu) 東京市場で北朝鮮白朮と称される生薬で、ほぼ球形~連珠形の不整塊で、外面は類白色を呈し、コルク皮を除いたものである。長さ4~5 cm, 径1~3 cmで質は硬く、横切面は類白色で、これをルーペ視するとき、淡黄かっ色の細点を認める。特異のにおいがあり、味はやや苦い。
- 5) 和白朮 (Japanese Bai-zhu) 群馬県妙義山産の和白朮と称する生薬で、不規則に屈曲した結節状の円柱形で、ときに分岐する。長さ5~10 cm, 径1.5

～2.5cmの大形根茎で、暗かっ色のコルク皮をつけ、くぼみ状の茎跡がある。質は硬く、破折面は繊維性である。横切面は類白色で、これをルーベ視するとき、淡黄かっ色の細点を認める。特異のにおいがあり、味はやや苦い。別に都下五日市市郊外山地の野生および東京都薬用植物園で栽培されたオケラの根茎より自製した生薬を用いた。

II パニリン・塩酸反応

細切した試料 0.5g にエタノール 5 ml を加え、水浴中で 2 分間温浸し、放冷したのちろ過した液 2 ml を試験管にとり、パニリン・塩酸試液 (JPⅧ) 0.5ml を注意して加え、下層の試液層の呈色を観察したのち、振り混ぜて放置し、10 分後の呈色を観察した。

呈色は Table 1 に示す如く全試料の試液層が赤色を呈するが、振り混ぜて 10 分後には中国蒼朮のみが陰性であった。一般にこの呈色は振り混ぜると薄くなり、

時間の経過とともに精油含量に比例して濃くなり、30～60 分後には紫赤色となる。そこでこの反応を精油含量の少ない生薬に応用する場合には試料の秤取量を増加しなければならない。

Table 1. Colour reaction of Vanillin-HCl to the ethanolic extract.

colour reaction sample	lower layer	10' after shake
chinese Cang-zhu	pale red	—
" Bai-zhu	red	red
northern Korean Cang-zhu	red	red
" Bai-zhu	red	red
Japanese Bai-zhu	red	red

Table 2. Colour and Rf value of spots by Vanillin-HCl reagent.

sample No.	benzene	chloroform
1	※(d) 0.15	※(d) 0.53
2	purple.	purple.
3		
4		
5		
6	(d) 0.1	(d) 0.5
7	purple	purple.
8	(d) (p) (p) (p) 0.16, 0.22, 0.3, 0.35	(p) (p) (p) 0.1, 0.18, 0.2
9	purple	purple

Plate: Kieselgel G

※ colour after heating

(d): deep, (P): pale.

III 薄層クロマトグラフィー (TLC)

1. 条件

プレート: Kieselgel G (Merck), Wakogel B-5

UA. (100×200×0.275mm) 110°-1 時間乾燥

展開溶媒: ベンゼン, クロロホルム

上昇法, 10cm 展開

検出: 短波長紫外線 (254mμ)

パニリン・塩酸試液 (JPⅧ)

10% 硫酸—加熱

2. 試料溶液の調製

1) 細切した試料 2 g にエタノール 5 ml を加え、5

分間水浴中で温浸し、冷後ろ過した液を試料溶液とする。

2) 試料から水蒸気蒸留して分離した精油をキシレンで正確に 20 倍に希釈して試料溶液とする。

3. 展開と検出

試料溶液 15 μl ずつを薄層プレートにスポットし、前記の条件で展開したのち、プレートを風乾し、スポットを検出する。

展開像は Fig 1～5 に、スポットの色は Table 2. に示す通りである。Fig および Table 中の sample No. を次に示す。

No. sample

1. chinese Cang-zhu
2. essential oil of chinese Cang-zhu
3. chinese Bai-zhu
4. northern Korean Cang-zhu
5. " " Bai-zhu
6. Japanese Bai-zhu
7. essential oil of northern Korean Cang-zhu
8. " of northern Korean Bai-zhu
9. " of japanese Bai-zhu

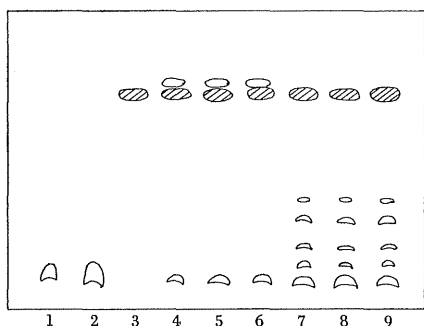


Fig 1. plate : Kieselgel G
Solvent : benzene
Colour reagent : vanillin-HCl

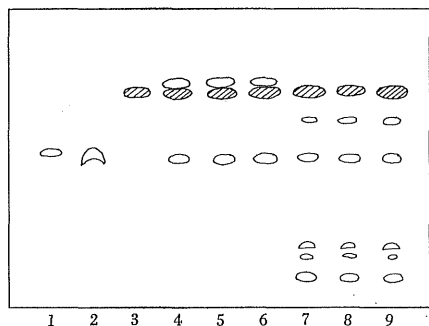


Fig 2. Plate : Kieselgel G
Solvent : chloroform
Colour reagent : Vanillin-HCl

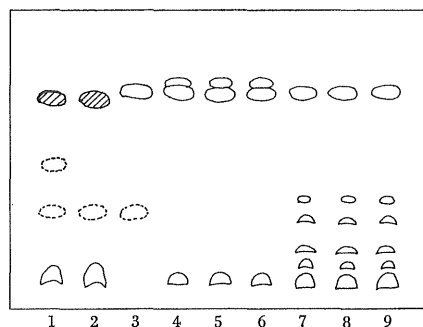


Fig 3. Plate : Kieselgel G
Solvent : benzene
Colour reagent : 10% H₂SO₄.

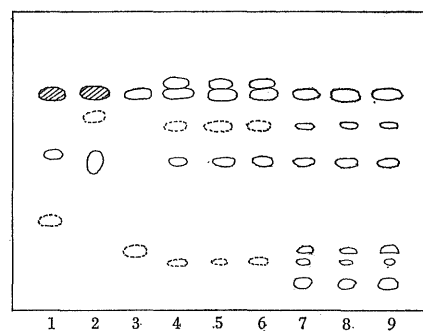


Fig 4. Plate : Kieselgel G
Solvent : chloroform
Colour reagent : 10% H₂SO₄

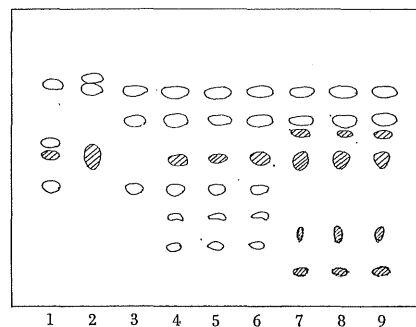


Fig 5. Plate : WakogelB-5 UA
Solvent : chloroform
Detection : ○ ultraviolet rays,
▨ Vanillin-HCl

Carrier gas : He 35 ml/min, 2.3 kg/cm²

Injection Temp. : 200°

Oven Temp : 180°

TCD pipe Temp : 230°

クロマトグラムは Fig 6~9 に示す通りである。中国白朮は試料不足のため精油がえられなかった。

IV ガスクロマトグラフィー (GLC)

試料から水蒸気蒸留して分離した精油を脱水芒硝にて脱水したのちヘキサンで20倍に正確に希釈し、試料液として、次の条件でガスクロマトグラフィーを行なう。

Appar. : Yanaco G 8

Column : Silicone DC 550, 25% Shimalite,
60~80 mesh, φ 4 mm, L 1.5 m,
stainless column

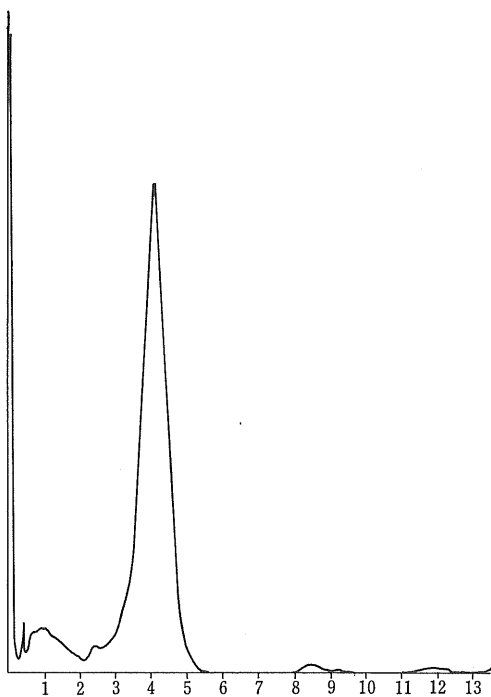


Fig 6. Gas-liquid chromatogram of essential oil of Chinese Cang-zhu

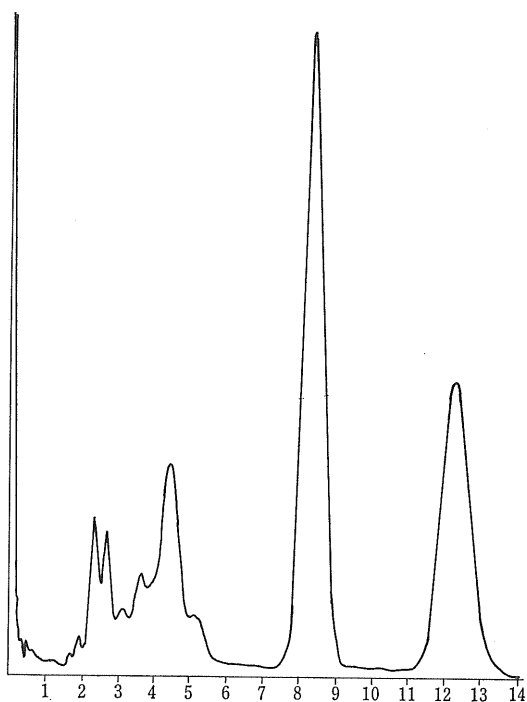


Fig 8. Gas-liquid chromatogram of essential oil of northern Korean Bai-zhu

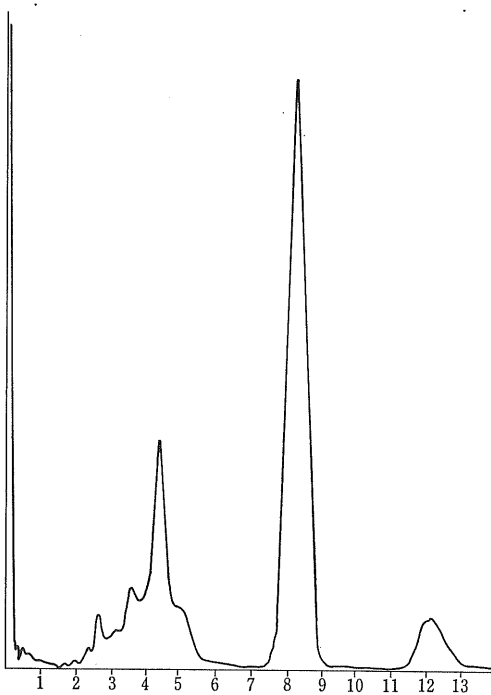


Fig 7. Gas-liquid chromatogram of essential oil of northern Korean Cang-zhu

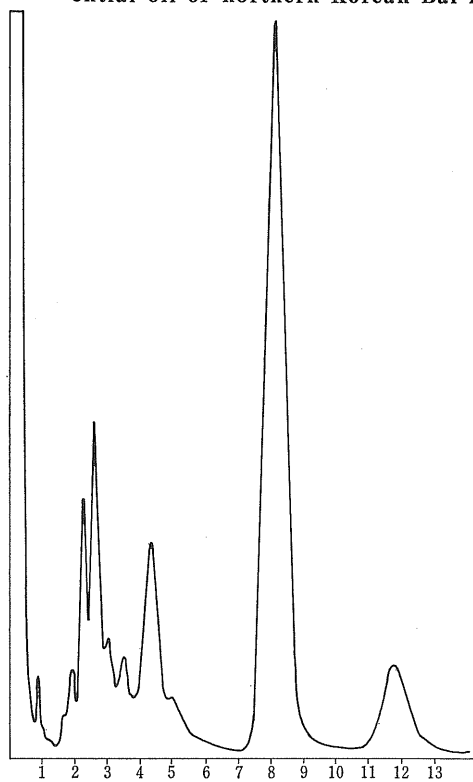


Fig 9. Gas-liquid chromatogram of essential oil of Japanese Bai-zhu

結果と考察

TLC プレートにバニリン・塩酸試液をスプレーするとき、中国白朮、北鮮蒼朮、北鮮白朮およびこれらの精油は上部に著明な赤色スポット (atractylone) を認め、北鮮蒼朮、北鮮白朮、和白朮は下方に紫色のスポット (精油では5ケのスポット) を認める。さらにこのプレートを加熱するとき中国蒼朮およびその精油は下方に大形の紫色スポットを認める。このスポットは中国蒼朮の横切面から析出する白色綿状品を同条件で展開したスポットと同一 *Rf* 値を示すことにより、いわゆる atractylol (β -eudesmol と hinesol の分子化合物) と推定される。

10%硫酸をスプレーし加熱するとき認められるスポットはバニリン・塩酸試液の場合とほとんど同一 *Rf* 値であるが、中国蒼朮およびその精油は atractylone スポットとはほぼ同位置に緑色のスポットを認める。

Wakogel B-5 UA のプレートに短波長紫外線 (254 $m\mu$) を照射するとき中国蒼朮および中国白朮はその他の朮と異なるスポットが認められた。なお短波長紫外線によるスポットはバニリン・塩酸試液によるスポットと無関係である。

以上の TLC 結果から中国蒼朮および中国白朮はそれぞれ他の朮類と識別が可能である。

Kieselgel G (Merck) と Wakogel B-5 UA との比較では、分離とテーリングにおいて、わずかに前者が勝れているが、本研究においては有意の差を認めなかった。

展開溶媒としてのベンゼンとクロロホルムの比較では、atractylone を確認する点では全く同一であるが、他のスポットおよびプレートの風乾においてクロロホルムが勝れている。

北鮮蒼朮、北鮮白朮および和白朮はエタノール浸液がバニリン・塩酸で陽性であり、TLC で全く同一の

スポットを認めた。また、それぞれの精油について GLC データを比較検討するとき、各成分の量的関係において多少の差が認められるが、保持時間から同一成分組成と考えられる。

高橋^{1,3)}らは朝鮮産朮の基原植物として、朝鮮全域に分布するオケラ *A. japonica* と北西部に極限して分布するナンマンオケラ *A. lancea* var. *simplicifolia* の2種を報告しているが、著者等の取扱った実験材料は *A. japonica* を基原とするもので、北鮮白朮と称するものは肥大した根茎のコルク皮を除いて調製したもので、北鮮蒼朮は細い根茎をそのまま乾燥したものと推定する。

謝 辞

本研究に当り、御指導、御鞭撻を賜った当所松本茂医薬品部長、標品の鑑定および御助言を賜った富山大学難波恒雄教授、貴重な実験材料を分与された東京都薬用植物園、内田商店および志平商店に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) 高橋真太郎、丸山修三：生薬学雑誌，15，239 (1961)
- 2) 中薬志Ⅱ：145，311
- 3) 薬材学：429，434
- 4) 高橋真太郎：薬学研究，29，134
- 5) 高橋真太郎、難波恒雄：生薬学雑誌，15，246 (1961)
- 6) 難波恒雄：詳解古方薬品考，17
- 7) 高橋真太郎：生薬学雑誌，15，255 (1961)
- 8) 日本薬局方第Ⅱ部（公定書協会編）：189，240
- 9) 西川洋一：東京都立衛生研究所年報，20，223 (1969)

発熱性物質に関する研究 (Ⅲ)

輸血セット類の発熱性と理化学試験

下 平 彰 男* 風 間 成 孔**
松 本 茂*

STUDIES ON FEVER-PRODUCING SUBSTANCES (III)

Pyrogenicity and physical chemical experiments on disposable transfusion assemblies

Akio SHIMOHIRA, Masayoshi KAZAMA and Shigeru MATSUMOTO

(Department of Pharmaco-chemistry, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health)

(received August 31, 1971)

summary

Disposable medical supplies made of plastic, such as syringes, transfusion assemblies, infusion assemblies, catheters, artificial lung, heart and kidney, surgical knives and ligatures, have come to be widely used in medical treatments. These disposable products dispense with much labor and give no care of contamination because they are ready-sterilized. Such useful medical supplies, being in great demand, have been regulated in Official Standard by Ministry of Health and Welfare of Japan since 1970. Our laboratory investigation on disposable medical supplies has been carried out previous to 1970 and it was found in the recent investigation that several samples of disposable transfusion and infusion assemblies were positive of pyrogens. Pyrogenic substances, as described in the previous report, are derived from microorganisms or chemical substances. And it has been known for long that natural rubber also has pyrogenicity. Disposable transfusion and infusion assemblies examined in this study were connected with rubber tubes about 2 inches long. In this study, such tests as pyrogen test, pH value, reducing substances, TBP reaction(explained later), and UV absorption spectra were applied to the water-soluble extractives of the rubber tubes disconnected from the assemblies.

The experiment results were as follows;

- 1) 2 samples of transfusion assemblies and 9 of infusion assemblies were Pyrogen Positive and the average rise of temperature $\pm$ S. E. was $0.86 \pm 0.15^{\circ}\text{C}$.
- 2) After disassembling each of pyrogenic assemblies into five parts i. e. a needle, a filter, a dropping cylinder, a joint tube and a rubber tube, each part was immersed

* 東京都立衛生研究所 医薬品部

** 東京都立衛生研究所 微量分析部

into pyrogen-free physical saline solution at 37-40 °C for 30 min. As a result of pyrogen test on each of extractives, only an extractive of the rubber tube showed remarkable temperature rise, $1.13 \pm 0.14^{\circ}\text{C}$, but other extractives had no response.

3) After disconnecting the rubber tubes from 15 samples of disposable transfusion and infusion assemblies, 1.5 gm of each rubber tube was immersed into 150 ml of distilled water and boiled for 30 min. Then 15 extractives of the rubber tube were measured in terms of the pH value. As a result, each of them passed the Standard specified by Ministry of Health and Welfare of Japan, that is, difference of pH value between the sample and the blank was less than 2.0. Secondly, as a result of the reducing substances test of the rubber tube with Kalium Permanganate in accordance with the Requirement of the rubber tube on Disposable transfusion and infusion assemblies Notification of Ministry of Health and Welfare of Japan, each extractive of the rubber tubes conformed to the requirement with showing below 2.0 ml. In the next place, TBP reaction test (detection on protein with Tetrabromo-phenolphthaleinethylester Kalium Salt) was carried out, and the extractives were positive or false positive and nothing was negative. However, it was found by the measurement of UV absorption spectra and thin layer chromatography that most of water-soluble extractives of rubber tubes contained 2-Mercaptobenzothiazole (MB) or 2-Methylthiobenzothiazole (MTB).

In conclusion, pyrogenicity of transfusion and infusion assemblies are due to the rubber tube, but pyrogenicity on watersoluble extractives of pyrogenic rubber tubes has no relation with reducing substances, TBP reaction, MB and MTB in this experiment. It is considered, however, that MB or MTB may be poured into blood through the disposable transfusion and infusion assemblies on the medical treatments. Therefore, we ought to control the quality of the rubber tubes connected transfusion and infusion assemblies.

1. 緒 言

医療用具のうちでそのまま直ちに使用できるいわゆるディスポーザブル製品が近年、広く使用されるようになり、その種類も巾広く注射器具類、輸液輸血採血セット類、各種カテーテル、人工心肺、人工腎臓などの回路、縫合糸、メス類などに及んでいる。これらの製品は滅菌済みであるから人手が節約できかつ器体を媒体とする感染の心配がないので、救急用、集団治療用などにも繁用されますその需要が増加している。このような事態によりこれら製品の品質を確保するため、それぞれの製品基準は昭和45年以降厚生省告示により制定されている。筆者らはそれ以前から品質試験を行なっているが、最近発熱性物質試験陽性と判定されるものが輸血セットおよび輸液セットにみられた。発熱性物質は前回の報告¹⁾の緒言で述べたように微生物

物に由来するものと化学的物質とに大別され、古くからゴム質にも発熱性があるといわれている¹¹⁾。上記 Pyrogen Positive のセット類はいずれもゴム管部を有しており、筆者らはそれらのゴム管部をとり、その水浸液について Pyrogen Test pH 値測定、過マンガン酸カリウム還元性物質試験、TBP 反応(後述)および紫外外部吸収測定を行なった結果、若干の知見を得たので報告する。

2. 実験材料

検体 滅菌済みのディスポーザブル輸液セット、輸血セットおよび採血セット

実験動物 ウサギ白、雄、体重1.8~2.0 kg を試験前7~10日間、固型飼料および水を与えて飼育し体重増加と正常体温 $39.0 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ を示すものを選定し、首架式固定法により体温を測定した。なお試験前飼育から

試験終了まで室内は温度 $24 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、湿度55~65%に保った。

体温測定機 12点式自記サーミスター（飯尾電機 Ep-670型）、感熱部は予め恒温水槽と標準温度計により検定した。

ガラス器具類 注射器具、フラスコ、ピーカー等は使用前に 250°C で30分間加熱して Pyrogen free とした。

薬品類 すべて特級試薬を用い、溶媒として用いる水は Pyrogen free の再蒸留水を使用した。

〔実験1および結果〕

ディスプレイザブル輸血セット、輸液ストおよび採血セットについて厚生省告示の基準にもとづいて発熱性物質試験を行なった結果、Table 1 に示したように輸血セット2件、輸液セット9件が発熱性物質陽性と判定され、採血セットはすべて陰性であった。発熱性物質陽性と判定された輸液セットによる体温上昇の平均値 $\pm$ S. E. は $0.86 \pm 0.15^\circ\text{C}$ で Fig 1 に示したように注射後2時間にピークがみられた。

Table 1. Pyrogenicity on three kinds of Assemblies

Kind of Assembly	Pyrogenicity	Numbers	Temp. Rise $^\circ\text{C}$	
			Min.	Max.
Trans-fusion	+	2	0.65	1.55
	—	13	0.00	0.35
Infusion	+	9	0.75	1.60
	—	23	0.05	0.20
Suction	+	0	0.05	0.30
	—	7	0.10	0.25

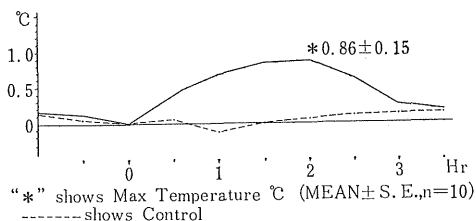


Fig 1. Rectal Temperature Changes on Pyrogenic Transfusion Assemblies

〔実験2および結果〕

実験1によって発熱性物質陽性と判定された輸液セットと同一のロットのものを新たに用意し、針管部、ろ過器、点滴筒、連絡管およびゴム管部の5つの区分に切断し、それぞれ Pyrogen free の生理食塩液 300

ml に浸し、 $37 \sim 40^\circ\text{C}$ で30分間加温したのち、その浸出液を検液として Pyrogen Test を行なった。その結果 Table 2. に示したようにゴム管部の浸出液のみに発熱性がみられ、最高体温上昇は 1.85°C を示した。その時の平均体温上昇 $\pm$ S. E. は $1.13 \pm 0.14^\circ\text{C}$ で Fig 2 に示したように注射後2時間にピークがみられた。

Table 2. Pyrogenicity on five parts disassembled pyrogenic assemblies

Part	*Number/300ml	Max. temp. rise $^\circ\text{C}$	Pyrogenicity
Needle	30	0.10	—
Filter	10	0.05	—
Dropping cylinder	10	0.15	—
Joint tube	10	0.20	—
Rubber tube	2	1.85	+
Control	—	0.10	—

*The number immersed into 300ml of pyrogenfree saline solution

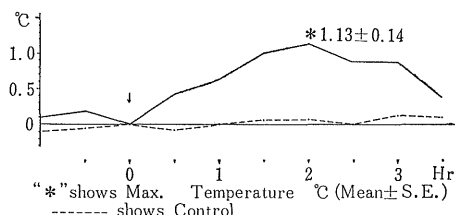


Fig 2. Rectal Temperature Changes on Pyrogenic Rubber Tubes

〔実験3および結果〕

実験1に使用したそれぞれ同一ロットの輸液セットのゴム管部をはずし Sample A~0 の15種類を用意した。そしてそれら15種のゴム管部をそれぞれ1.5gをとり約2mmに輪切りに細切し150mlの水を加え30分間煮沸したのち室温に放冷し、ゴム管をとり除き、水を加えて正確に150mlとし検液とした。次にその検液15種について pH 値測定、Pyrogen Test、過マンガン酸カリウム還元性物質試験、TBP 反応および紫外外部吸収測定を行なった。すなわち pH 値測定はガラス電極による常法にしたがい行なった結果、盲検との差はいずれも2.0以下で厚生省告示による基準に適合している。また Pyrogen Test の結果は Sample A~H および M の9件が陽性で実験1による厚生省告示の基準で発熱性物質試験不合格となった検体と一致した。その平均体温上昇 $\pm$ S. E. は Sample H がもっとも高い値、 1.02 ± 0.22 を示した。次に過マンガン酸カリ

Table 3. Pyrogen Test and Chemical Determination on the Extracts of the Rubber Tubes

Sample	pH	Pyrogen Test		Chemical Reaction & UV Absorption				
		Temp. Rise °C±S.E.	Result	Redc. Subs.	T B P	MTB	MB	(TLC)
A	5.62	0.80 ± 0.15	+	0.95	+	+	—	MTB
B	6.00	0.68 ± 0.06	+	0.70	±	—	—	—
C	6.02	0.70 ± 0.04	+	0.70	±	—	+	MB
D	6.00	0.77 ± 0.10	+	0.90	+	+	—	MTB
E	5.78	0.71 ± 0.08	+	0.50	+	—	—	—
F	5.93	0.63 ± 0.11	+	0.50	±	—	+	MB
G	5.77	0.75 ± 0.02	+	1.10	+	—	+	MB
H	5.73	1.02 ± 0.22	+	1.05	+	+	—	MTB
I	5.83	0.13 ± 0.05	—	1.05	+	—	+	MB
J	6.03	0.13 ± 0.03	—	1.75	±	+	—	MTB
K	5.74	0.20 ± 0.07	—	1.20	+	+	—	MTB
L	6.02	0.13 ± 0.03	—	0.75	±	+	—	MTB
M	5.81	0.83 ± 0.06	+	1.55	±	+	—	MTB
N	5.86	0.08 ± 0.03	—	0.90	+	—	+	MB
O	5.83	0.17 ± 0.07	—	1.00	±	—	—	—
blank	5.24	0.15 ± 0.02	—	—	—	—	—	—

ウム還元性物質試験を行なった。すなわち、検液15種を10ml ずつそれぞれ別の三角フラスコにとり、0.01 N過マンガン酸カリウム液20ml および希硫酸1.0mlを加え、3分間煮沸し、冷後、これにヨウ化カリウム0.1 g およびデンプン試液5滴を加え、0.01N チオ硫酸ナトリウム液で滴定した。control は検液調製に用いた水10ml について同様に操作した。その結果、過マンガン酸カリウム液の消費量はcontrol との差が最高のもの Sample J の1.75ml で、いずれも厚生省告示の基準すなわち2.0ml 以下で合格している。次にTetrabromophenolphthalein ethylester Kalium Salt (TBP) による蛋白反応を行なった。すなわち検液15種をそれぞれ9.5ml ずつをそれぞれ別の試験管にとり0.5% TBP 試液(アルコール溶液)0.1ml ずつを加え、よくふりまぜたのち、0.2 N-酢酸試液0.4 mlを加えてふりまぜて室温に15分間放置したのち日立自記分光光度計 EPS-3 T を用いて波長595m μ における吸光度を測定した。この際、別の試験管に1ml あたり1 μ g の Albumine Bovine Crystal No 1359

を含有する液9.5 ml をとり上記同様に操作し吸光度を測定し control とした。そして、検液と control の595 m μ における吸光度を比較し、検液の方が大であれば TBP 反応+とし、殆んど同じであれば±、見出せない場合は—とした。その結果、—はなく+の検液8種、±の検液7種であった。最後に検液15種について日立自記分光光度計を用い紫外外部吸収を測定した。

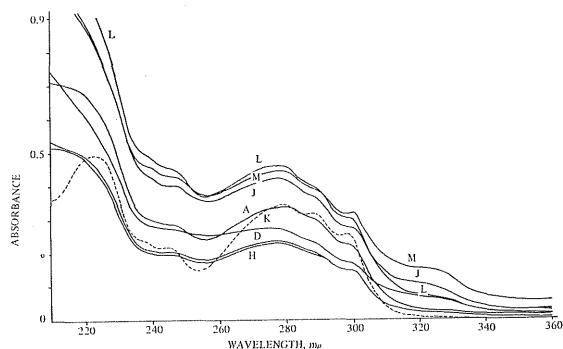


Fig 3-a. Ultraviolet absorption spectra of the extractives of the rubber tube

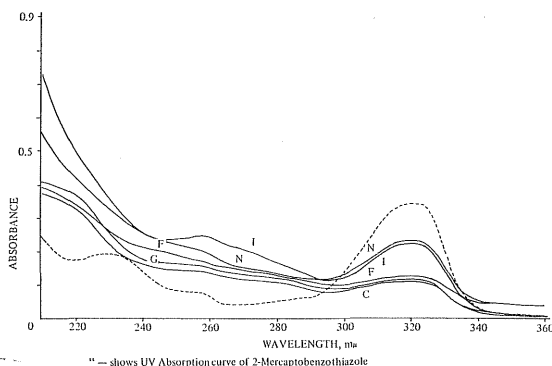


Fig 3b. Ultraviolet absorption spectra of the extractives of the rubber tube

その結果, Fig 3a および Fig 3b に示したように検液から 2-Methylthiobenzothiazole (MTB) および 2-Mercaptobenzo-thiazole (MB) と同様のスペクトルが得られた。以上実験 3 の結果をまとめて Table 3 に示した。

〔実験 4 および結果〕

輸血セットおよび輸液セットに用いられるゴム管は天然ゴムが主成分といわれており, これらゴム管の製造の際加えられる加硫促進剤には, Diphenylguanidine, Di-o-tolylguanidine, Zinc diethyldithio carbamate, Dibenzothiazyl disulfide, Tetramethyl thiuram disulfide, Tetramethyl thiourea, 2-mercapto benzothiazole などがあり, これらの物質についてウサギに対する発熱性および紫外外部吸収スペクトルを測定した。すなわちこれら 7 種の加硫促進剤それぞれ約 50mg をとり水 100ml を加えて 5 分間よくまぜたのち, 汙過あるいはピペットで不溶分を取り除いた, 液について pyrogen test および紫外外部吸収スペクトルを測定した。その結果, それら 7 種の液の発熱性はすべて陰性で, 紫外外部吸収のスペクトルは Fig. 4

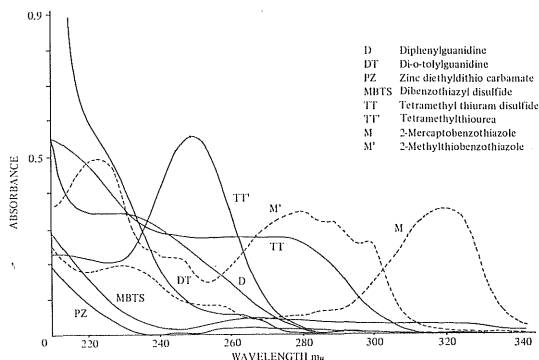


Fig 4. Ultraviolet absorption spectra of Accelerators

に示した。この図における M' は実験 3 で行われた Fig. 3-a の 2-methylthiobenzothiazole を再び示したもので, 同じく実験 3 における M と共に破線でえがいた。

〔実験 5 および結果〕

今までの実験では主として輸血輸液セットのゴム管部について行なったが, ゴム製の食道カテーテル (輸入品) の水浸液について, 実験 3 と同様な実験を行なった。すなわち上記カテーテルを切断し実験 3 と同様な水浸液をつくりこれを Sample U とし, ゴム製造の際老化防止剤としてよく用いられる N-phenyl β -naphthylamine (phe) および aldol- α -naphthylamine (Ald) を実験 4 と同様に水と ふり まぜた液を調製した。まずこれら 3 種の水浸液について pyrogen test を行なった。その結果いずれも発熱性がみられ, 最高体温上昇は Sample U で 1.45, phe で 1.70, Ald で 1.90°C を示し, 体温上昇のピークは注射後 1 ~ 2 時間であった。次にこれら 3 種の水浸液について紫外外部吸収測定を行なった結果 Fig. 5 に示したスペクトルが得られた。

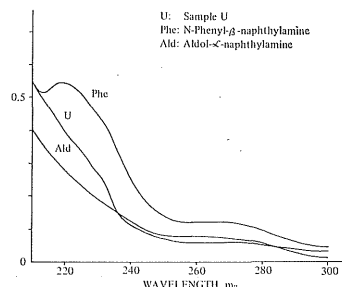


Fig 5. UV absorption spectra of the extractives of Sample U

最後に Sample U, Phe, Sample U に phe を添加したもの, Ald, Di-o-tolyl guanidine (DT), 実験 3 で行なったゴム管の Sample J, M, N および室温で保存中変色したゴム管 X, Y 以上 10 種について薄層クロマトグラフィーを行なった。すなわち, 上記 10 種の中, phe, Ald, DT はそれぞれ 100mg を 10ml のヘキサンに溶かし, 他のゴム管は実験 3 における水浸液の調製と同じ方法で調製したものを更に減圧濃縮し約 $1/10$ 量とし検液とした。次にこれら 10 種の検液それぞれ 20 μ l をプレート (Wakogel B5-UA, 200 $\times$ 100 $\times$ 0.25 mm) にスポットし室温で, クロロホルム:ベンゼン (10:9) の溶媒を用いて, 高さ 13cm まで展開した。次にプレートを室温で乾燥したのち, 紫外線 254 m μ を照射してスポットを観察確認した。その結

果, Fig 6. に示したように Sample M, N, X および DT のスポットは原点にとどまり, 他のスポットの Rf 値は Sample J は 0.41, Y は 0.28, Ald は 0.55, Sample U は 0.65 で, Phe および U に Phe を添加したものは 0.65, 0.60 および 0.09 に認められた。

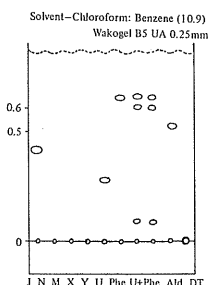


Fig 6. TLC of the extractives of the rubber tubes

3. 考察および結語

ディスポーザブル輸血, 輸液および採血セットの発熱性物質試験は Table 1. にみられるように, 輸血セットおよび輸液セットのみに陽性例がみられており, ゴム管を使用していない採血セットは発熱性がない。これによりゴム管の発熱性に着目し実験 2 における針管部, ろ過器, 点滴筒, 連結管およびゴム管の発熱性物質試験の結果, ゴム管部の発熱性を明らかにした。なおゴム管以外の他の部分は主として塩化ビニール製で可塑剤, 安定剤などを用いて製造されており, 可塑剤の多くはフタル酸エステルで, 安定剤は金属セッケン類であり, カドミウムが検出された報告もあるⁱⁱⁱ⁾。これら可塑剤および安定剤は微量とはいえ, 輸液あるいは血液中に溶出されるおそれはあり, 注意を要するがこれらの物質自体の発熱性はない。さて, 実験 3 で行なわれた 15 種のゴム管の水浸液の pH 値, 還元性物質試験および TBP 反応は Table 3 に示されたように

発熱性との関係は全くみられなかった。しかし MB および MTB が紫外外部吸収スペクトルで明らかに検出されている。これについてはディスポーザブル注射筒のプランジャー(内筒)の水浸液から紫外外部吸収スペクトル測定によって, MTB を検出した報告^{iv)}があり, プランジャーの先端のゴム質に問題があるとしている。また MB の検出については Leon Lachman らの報告^{v)}によるとゴム栓水浸液の UV 吸収スペクトルは, Fig. 3-b のスペクトルと似ておりチアゾール系の加硫促進剤として検出している。また草野^{vi)}は同様な方法でゴム栓から MB を検出し, その毒性を報告している。実験 4 の加硫促進剤 7 種の紫外外部吸収スペクトル測定結果は, ゴム管水浸液 15 種中それらと一致するものは MB を除いてはなく, 発熱性もなかった。しかしながら食道カテーテル(ゴム)の水浸液からは発熱性のある phe を実験 5 によって検出している。

以上, 今回の実験ではディスポーザブル輸血輸液セットの発熱性はゴム管部にあると思われるが, 化学的発熱性物質は検出されなかった。しかし MB および MTB が明らかに検出され, また食道カテーテル用のゴムからは強力な化学的発熱性物質 Phe が検出されており, 直接体内に注入される医療用具として, 品質の安全性の問題が考慮されるべきである。筆者らはひきつづき医療用ゴムの溶出物の研究を進めている。

参 考 文 献

- i) 下平彰男他: 東京都立衛生研究所年報 20, 219 (1968)
- ii) 喜谷市郎右衛門: 日本薬剤師協会誌 1957, 1 月
- iii) 田村健夫: 月刊薬事, 9, 1488 (1967)
- iv) Mario A. INCHIOSA: J. Pharm. Sci., 54, 1379 (1965)
- v) Leon LACHMAN: J. Pharm. Sci., 53, 211 (1964)
- vi) 草野倫祐: 薬剤学, 29, 9 (1969)

有害性元素に関する衛生化学的研究 (第2報)

食品, 土壌および水中のセレン含有量について

鈴木 助 治* 小泉 清 太 郎* 原 田 裕 文*
伊 藤 弘 一* 戸 谷 哲 也*

HYGIENIC CHEMICAL STUDIES ON HARMFUL ELEMENTS (II) Selenium content of foods, soil and water

Sukezi SUZUKI, Seitaro KOIZUMI, Hirofumi HARADA,
Koichi ITO and Tetsuya TOTANI

(Department of Microanalysis, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of
Public Health)

Summary

The selenium content of 106 samples of foods, 23 samples of soil and 37 samples of water was determined fluorometrically by using 2,3-diaminonaphthalene with the purpose of obtaining data on the distribution of selenium in these materials.

The results obtained are summarized as follow:

1) The selenium content of 30 samples of fishes and shellfishes ranged from 0.05 to 3.64 ppm of selenium. Half-dried strip of shipjack contained 3.64 ppm of selenium, which was the largest value in examined foods. Dried strips of shipjack contained from 1.46 to 2.9 ppm, dried sardine from 1.15 to 2.1 ppm of selenium. It was noted that canned fishes, viz., shipjack, bluefin tuna and sardine, contained from 0.78 to 1.36 ppm of selenium.

2) The selenium content of 12 samples of meats ranged from 0.01 to 0.5 ppm of selenium, 5 samples of eggs from 0.12 to 0.26 ppm, 13 samples of cereal from 0.02 to 0.87 ppm. 59 samples of other foods, which was make up of seaweeds, vegetables, milk and fruits, contained less than 0.1ppm of selenium. No values exceeding the 5 ppm of chronic toxicity level of selenium were found in examined foods.

3) The selenium content of 2 samples of field soil, 10 samples of river bed sludge and 11 samples of sea bed sludge ranged from 0.02 to 0.21 ppm of selenium.

4) The selenium content of 3 samples of well water, 23 samples of river water and 11 samples of industrial waste water ranged from 0.02 to 0.91 ppb of selenium and was not exceeded the 10 ppb limit of drinking water standards set by the US Public Health Service.

1. 緒 言

前報 (本年報, Vol 21, p 93) にひきつづきセレン

の分布量を調査するために, 今回はけい光分光光度法によってセレンの測定を行なった。本法は C. A. Parker¹⁾ あるいは J. H. Watkinson²⁾ によって検討された方法で, キレート試薬として 2, 3-diaminonaphthalene を用い, デカリンまたはシクロヘキサンで抽

* 東京都立衛生研究所 微量分析部

出したのち、けい光強度を測定する方法である。前報において報告した 0-phenylenediamine を用いる紫外外部吸収法に比べて検出感度が約 100 倍以上も高く、従って実際の試料中の微量セレンの測定に適している。一方、試料を湿式灰化する場合にセレンの揮散性が問題になるが、J. H. Watkinson らが行なった湿式灰化法によると、硝酸および70%過塩素酸を用いて灰化したのち、硝酸を除く目的で加熱濃縮を行なっても、過塩素酸の存在によって強い酸化状態にあるので亜セレン酸に還元されずにセレン酸として残存し揮散しないことが認められている。前報においては多量の試料を灰化する必要から、揮散してくるセレンをアンモニア水中に捕捉しながら硫酸を用いて灰化を行なうなどかなり複雑な方法によった。今回セレンの測定に適用したけい光分光光度法によると、1 g 程度の試料を灰化すれば十分セレンの測定が可能であったため、J. H. Watkinson らの湿式灰化法に従って、硝酸、過塩素酸を用いて灰化し、試験溶液の調製を比較的簡単に行なうことができた。けい光分光光度法についても若干の検討をくわえ、あわせて食品、土壌および水中のセレン量を測定したので、その結果について報告する。

2. 実験の部

1. 2,3-diaminonaphthalene によるセレンの定量法

1-1 試薬 セレン標準溶液；金属セレン（米山薬品 K.K.）100mg に少量の70%過塩素酸と硝酸を加えて溶かし水浴上で硝酸を除去したのち、塩酸 1 ml を加え、さらに水を加えて 100ml にする。1 ml 中セレン（IV）0.1 μ g は 0.1N 塩酸で希釈して調製する。

0.1% 2,3-diaminonaphthalene 溶液；本試薬（東京化成 K. K.）50mg に 0.1N 塩酸 50ml を加え、暗所にて 50 $^{\circ}$ C、20 分間放置し、冷後、シクロヘキサン 10 ml で 2 回洗浄し水層を分取する。つぎに水層をろ紙でろ過する。用時調製し暗所に保存する。

0.1 M EDTA 溶液；EDTA-2 Na $\cdot$ 2 H₂O 37.2g を水に溶かして 1000ml にする。

Amberlite IR-120 A. G. (H⁺型)；IR-120 A. G.（米国ローム・アンド・ハース社）を IN 水酸化ナトリウムおよび IN 塩酸で洗浄したのち、水洗して H⁺ 型として保存する。

その他使用した試薬はすべて特級品である。

1-2 装置 けい光分光光度計；日立製作所製、M PF-2A 型

pH メータ；Bechman Expandomatic pH メータ

1-3 試料の湿式灰化法 ケルダールフラスコに試料 1 g をとり硝酸 10 ml を加えて 4 時間以上室温に放置したのち、15分間弱く加熱し、さらに10分間比較的強い炎で加熱する。放冷したのち、70%過塩素酸 5 ml を加えて再び加熱し、過塩素酸の白煙が認められるまで濃縮し、さらに15分間加熱する。放冷のち、水 1 ml を加えて過塩素酸の白煙が認められるまで再び濃縮し、1~2 分間加熱をつづける。さらに水 1 ml を加えて同様に操作する。放冷のち、10%塩酸 1 ml を加えて沸とう水浴中で30分間加熱しセレン酸を亜セレン酸に還元する。ここに得られた溶液を試験溶液とする。

1-4 2,3-diaminonaphthalene 法 (DAN 法)

試験溶液(セレン 0~0.3 μ g を含むように調製する)を 100ml のビーカーにとり、0.1M EDTA 2 ml を加え希塩酸および希アンモニア水を用いて pH 1~1.5 に調製し、0.1 N 塩酸を加えて全量約 50 ml にする。つぎにビーカーを時計皿でおおい水浴中で 50 $^{\circ}$ C に保ちながら、0.1% 2,3-diaminonaphthalene 溶液 5 ml を加え20分間放置する。冷後、100ml の分液ロートに移し、シクロヘキサンを正確に 10 ml 加え振とう器（240回/1 分間）を用いて 5 分間振とうし、静置のちシクロヘキサン層を分取する。つぎにシクロヘキサン層に移行した過剰の試薬を除く目的で 0.1N 塩酸 25ml を加えて、15秒間軽くふりまぜ洗浄を行なう。さらにこの操作をくりかえしたのち、シクロヘキサン層を分取し乾燥ろ紙を用いてろ過して水分を除き、励起波長 378m μ 、けい光波長 520m μ でけい光強度を測定する。別にセレン標準溶液を用いて同様に操作して得た検量線 (Fig 1) からセレンの含有量を求める。セレンと

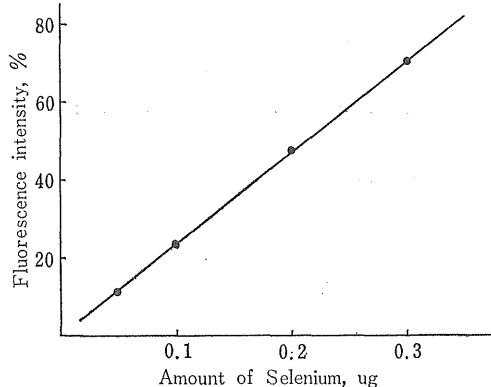


Fig 1. Calibration Curve for Selenium

2,3-diaminonaphthalene のキレートは紫外線によって分解を受けるため、本試薬を加えたのちの操作は暗所にて行なう必要がある。またけい光強度の測定にはセティング剤としてフルオレッセインナトリウム水溶液を用いる。

2. DAN法における障害イオンとその除去ならびにセレンの回収率

2-1 障害イオンの検討 一般に食品中には Ca^{2+} , Mg^{2+} が多く含まれており、また排水、土壌およびヘドロ中にも Pb^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} などの重金属がかなり多量に含まれている。従ってこれらの金属イオンがDAN法によるセレンの測定を障害することも十分に考えられるので、この点について検討を行なった。

(実験方法)

セレン $2\mu\text{g}$ に対し約 5000 倍量に相当する Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Sn^{4+} , Te^{4+} , Zn^{2+} , No_3^- および No_2^- の各イオンをそれぞれ 10 mg づつ添加したのち、前記 1—4 に示したDAN法に従って操作してセレンを定量し、その回収率を求めた。

Table 1. Effect of Diverse Ions

Ions	Amounts of ion, mg	Selenium added, $2\mu\text{g}$	
		Found, μg	Recovery, %
Ca^{2+}	10	1.875	93.8
Cu^{2+}	10	1.937	96.9
Fe^{3+}	10	1.870	93.1
Fe^{2+}	10	0.300	15.0
Hg^{2+}	10	1.887	94.4
Mg^{2+}	10	1.912	95.6
Pb^{2+}	10	1.950	97.5
Sn^{4+}	10	0.075	3.8
Te^{4+}	10	2.060	103.0
Zn^{2+}	10	1.762	88.2
No_3^-	10	1.900	95.0
No_2^-	10	0.050	2.5

(結果)

Table I に示されたセレンの回収率からみると、明らかに Fe^{2+} , Sn^{4+} および No_2^- の各イオンがセレンの定量値に著しい障害をおよぼすことが認められた。しかし No_2^- イオンについては試料を湿式灰化する場合に硝酸を除去する目的で濃縮操作を行なっているため、この時 No_2^- イオンも同時に除去されるので、何ら問題にならない。 Fe^{2+} , Sn^{4+} につ

いてはイオン交換樹脂による除去を検討した。

2-2 イオン交換による障害イオンの除去 セレンは湿式灰化によって調製された試験溶液中に亜セレン酸の型として存在する。従って強酸性樹脂のカラムにどうしても、亜セレン酸は吸着されないが Fe^{2+} などの陽イオンは吸着されることから、亜セレン酸のみが流出し陽イオンは除去される。今回、強酸性樹脂として Amberlite IR-120 を用いて、これらの条件を検討した。

(実験方法)

セレン $2\mu\text{g}$ に対し Fe^{2+} および Sn^{4+} 10mg を加えたのち、希水酸化ナトリウムあるいは希塩酸を用いて pH 1 に調製し、あらかじめ Amberlite IR-120, 10ml を内径 2.2 cm の管に充填したカラム柱に流しこみ、1 分間 3 ml の流速で流出させる。さらに 0.1N 塩酸 10~20ml でカラム柱を洗浄し、流液と洗液を合せる。この溶液を前記 1—4 のDAN法に従って操作してセレンを定量し、その回収率を求めた。

(結果)

Fe^{2+} 10mg を共存させた時のセレン $2\mu\text{g}$ の回収率は92.5%を示し、 Fe^{2+} の障害は Amberlite IR-120 の処理によって完全に除去することができた。しかし Sn^{4+} の場合はセレン $2\mu\text{g}$ の回収率が4%で全く効果が認められなかった。これは酸性溶液においては Sn^{4+} が還元性を有するため、 Sn^{4+} の存在によって亜セレン酸が金属セレンにまで還元されてしまい、結果的に 2,3-diaminonaphthalene とキレートを形成することができなかったものと推定される。実際の試料においては一般に Sn^{4+} の共存は考えられないので、土壌、底質およびヘドロなどの Fe^{2+} を含む可能性の多い試料については Amberlite IR-120 によって処理して試験溶液の調製を行なうことにした。

2-3 DAN法によるセレンの回収率の検討 DAN法による実際試料中からの回収率を検討する目的で水、原乳、米、人参、サケ、牛肉の各試料にセレン $0.2\mu\text{g}$ および $2\mu\text{g}$ をそれぞれ添加し、前記 1—3 の方法に従って試験溶液を調製したのち、DAN法に従って操作しセレンを定量し、その回収率を求めた。

その結果は Table 2. に示すようにほぼ満足すべき回収率を得ることができた。従ってDAN法は食品あるいは水中の微量のセレンを測定する方法として十分適用することができるし、さらに土壌などの障害イオンを含有する試料についても、試料を湿式灰化したの

Table 2. Recovery of Selenium Added to Various Materials

Material	Weight, g	Selenium			Rec. of added Se, %
		Present, μg	Added, μg	Found, μg	
			2.0 0.2 0.2	1.880 0.199 0.196	93.8 99.3 96.5
Beef, lean	1	0.183	2.0	2.050	93.4
	1		2.0	2.075	94.6
	1		0.2	0.350	83.5
	1		0.2	0.357	87.0
Dog salm- on, fresh	1	0.170	2.0	2.050	94.0
	1		2.0	1.875	85.3
	1		0.2	0.341	85.4
	1		0.2	0.328	79.0
Rice	1	0.030	2.0	2.000	98.5
	1		2.0	1.925	94.8
	1		0.2	0.215	92.5
	1		0.2	0.203	86.5
Carrot	1	0.020	2.0	1.900	94.5
	1		2.0	1.950	96.5
	1		0.2	0.210	95.0
	1		0.2	0.204	92.0
Milk, fresh	1	0.026	2.0	1.920	94.7
	1		2.0	2.160	106.7
	1		0.2	0.207	90.5
	1		0.2	0.215	94.5
Water	100	0.050	2.0	2.040	99.5
	100		2.0	1.640	79.5
	100		0.2	0.232	91.0
	100		0.2	0.225	87.5

ち、Amberlite IR-120 のイオン交換処理によって障害イオンを除去し、DAN法でセレンを測定することができるものと考えられる。つぎに実際試料中のセレンの測定を行なってみた。

3. 食品、土壌および水中のセレンの測定

3-1 試料 蒐集食品は肉類5種12検体、魚介類12種30検体、海藻類2種5検体、穀類3種13検体、卵類2種5検体、原乳(牛)11検体、野菜類13種25検体、果実2種5検体の計106検体からなり、昭和45年12月から昭和46年3月までの間に東京都内において購入した市販食品である。土壌は水田土壌2検体、河川底質10検体、ヘドロ11検体の計23検体、また水は井戸水3検体、河川水21検体、工場排水11検体の計37検体を昭和45年10月から昭和46年3月までの間に採取し試料として供し、総計166検体について検討した。

3-2 試験溶液の調製 食品試料はそのまま1gを30mlのケルダールフラスコにとり、1-3の方法に従って湿式灰化を行ない試験溶液を調製する。水試料

は100mlをとり水浴上で約10mlまで濃縮したのち30mlのケルダールフラスコを用いて1-3の方法に従って操作し試験溶液を調製する。土壌試料は5g(湿潤重量)を100mlのケルダールフラスコにとり、1-3の方法に従って湿式灰化したのち、不溶物をろ過して除き残渣を少量の水で洗浄する。ろ液と洗液を合せ、さらに加水して全量50mlにする。この10mlをとって10%塩酸1mlを加え30分間沸とう水浴中で加熱したのち、希水酸化ナトリウムおよび希塩酸を用いてpH1に調製する。つぎにAmberlite IR-120、10mlを内径2.2cmの管に充填したカラム柱に1分間3mlの流速でとうし、カラム柱を0.1N塩酸10~20mlで洗浄し、流出液と洗浄を合せて試験溶液とする。

3-3 測定 試験溶液を前記1-4のDAN法に従ってセレンを定量し、試料中のセレン含有量を測定した。

3. 結果および考察

セレンは牛あるいは羊などの家畜の成長促進剤として用いられている。セレン摂取量が異常に少なくしてセレンが欠乏すると筋ジストロフィー(White muscle disease)になることが知られている。また一方では家畜の飼料中のセレン含有量が5ppm以上に達するとセレン中毒症になると云われているので、家畜の飼料中に適量のセレンを添加している。実際にニワトリと乳牛の飼料についてセレン量を測定したところ、ニワトリの飼料から0.22~0.26ppm、乳牛用の飼料から0.45~1.02ppmのセレンが認められた。そこで今回の実験に肉類、卵類、原乳(牛)などの酪農食品をとりあげて検討したところ、その結果はTable 3.に示すように肉類、卵類および原乳のいずれにもセレンが認められた。特に豚レバーに0.26~0.5ppm、鶏卵にも0.22~0.26ppmと比較的多くのセレンが認められた。このことからセレンの体外排泄は良好であると考えられているが、家畜の種類によってはある程度蓄積され残留するものと考えられる。

つぎに魚介類中のセレン量を測定したところ、なましかつおから3.64ppmのセレンが検出され、また花かつおから1.46~2.90ppm、煮干(いわし)から1.15~2.1ppmのセレンが認められた。更にかつお、まぐろ、いわし、あかがいの缶詰類から0.42~1.36ppmのセレンが検出されたのが注目された。Table 3.に示すように、魚介類中のセレン量は他の食品よりも比較的高い値を示したが、このことは海水中に存在するセレンが魚介類によって濃縮されたものと考えられ

Table 3. Selenium Content of Foods

Material	Number of samples	Selenium, ppm in wet material	Material	Number of samples	Selenium, ppm in wet material
Meats			Squid, dried	3	0.47~1.02
Porks, lean	3	0.11~0.22	Dogsalmon, fresh	2	0.13~0.17
Porks, liver	3	0.26~0.50	Common octopus	1	0.09
Chicken, young	2	0.14~0.22	"Chikuwa" fishjelley	2	0.12~0.15
Beef, lean	3	0.01~0.18	"Hampan" fishjelley	2	0.05~0.16
Whale, meat	1	0.13	"Naruto" fishjelley	2	0.11~0.16
Eggs			Clam, fresh	2	0.17~0.18
Hen's egg	3	0.22~0.26	Arkshell(canned)	1	0.42
Guail's egg	2	0.12~0.24	Seaweeds		
Milk			Tangle	2	0.03~0.04
Cow's milk, fresh	11	0.02~0.08	Purple laver	3	0.03~0.06
Fishes and Shellfishes			Cereals		
Shipjack,			Rice	6	0.02~0.12
half-dried strip	1	3.64	Wheat flour	4	0.03~0.17
dried strips	5	1.46~2.90	White, dried crumbs	3	0.12~0.87
flake (canned)	1	1.24	Vegetables		
Sardine,			Cucumber, Carrot,		
dried	4	1.15~2.10	weish onion, etc.	25	0.001~0.02
boiled(canned)	1	0.78	Fruits		
Bluefin tuna			Lemon, fresh	3	0.003~0.004
flake(canned)	1	1.36	Grape, raisin	2	0.01~0.02

る。

穀類中のセレン量はあまり高い値を示さなかったが、パン粉中に 0.87ppm、米中にも 0.02~0.12 ppm のセレンが認められた。その他、海藻類、野菜、果実のセレン量はいずれも低値で 0.1 ppm 以下であった。

F. J. Tagwerker³⁾ はセレンの 1 日摂取量が 5 ppm 以上に達すると慢性中毒症になると報告している。また Trelease S.F.⁴⁾ らは主食に 5 ppm 以上含まれていると人体に有害な影響を与えると報告している。今回検討した範囲ではほとんどすべての食品にセレンを認めることができたが 5 ppm をこえる試料は認められなかった。従って魚介類などに 3 ppm 前後のセレンを検出したが、人体に対して有害な影響を与えるものと

Table 4. Selenium Content of Soil

Material	Number of samples	Selenium, ppm in wet material
Paddy soil	2	0.02~0.13
Riverbed sludge	10	0.02~0.17
Seabed sludge	11	0.03~0.21

Table 5. Selenium Content of Water

Material	Number of samples	Selenium, ppb
Well water	3	0.06~0.16
River water	23	0.02~0.63
Industrial waste water	11	0.02~0.91

は考えられない。

土壌については主に河川底質とヘドロ中のセレン量を測定したところ、Table 4. に示すように河川底質から 0.02~0.17ppm、ヘドロから 0.03~0.21ppm のセレンを検出し、その平均値は底質で 0.07ppm、ヘドロでは 0.08 ppm と差がみられず、天然に存在する範囲のセレン量と考えられる。

水試料については Table 5. に示すように主として河川水と工場排水について検討したが、河川水は多摩川、相模川、利根川、江戸川の各河川より採取したもので、0.02~0.63ppb、平均 0.11ppb のセレンが認められ、また工場排水では 0.02~0.91 ppb、平均 0.29 ppb と工場排水の方がやや多くのセレンを含有してい

た。しかし US Public Health Service が規定した米国の水質基準⁵⁾ 10ppb を越える試料は認められなかった。

4. 結 論

- 1) 食品、土壌および水中の微量セレンの測定に 2,3-diaminonaphthalene を用いるけい光分光光度法を適用することができた。
- 2) 食品に関しては肉類、卵類、原乳、魚介類、海藻類、穀類、野菜、果実の40種 106 検体の試料について測定したところ、ほとんどすべての試料中にセレンを認めることができたが、セレンの1日摂取限度 5 ppm をこえるものは認められなかった。
- 3) 魚介類中のセレン量は他の食品よりも比較的高い値を示し、なましかつおに 3.6 ppm、花かつおに 1.46~2.9 ppm、煮干(いわし)に 1.15~2.1 ppm のセレンを認めた。かつお、まぐろ、いわし、あかがいの缶詰類にも 0.42~1.36 ppm のセレンを検出した。
- 4) 土壌に関しては河川底質およびヘドロなどの3種

23検体の試料について測定したところ、底質に0.02~0.17ppm、ヘドロにも 0.03~0.21ppm のセレンを検出した。

- 5) 水に関しては河川水、工場排水などの3種37検体の試料について測定したところ、河川水に 0.02~0.63ppb、工場排水に 0.02~0.91ppb のセレンを検出したが、いずれも米国の水質基準 10ppb をこえるものは認められなかった。

なお、本研究は日本薬学会第91年会(1971)福岡において発表したものである。

参 考 文 献

- 1) C. A. Parker and L. G. Harvey: Analyst, 87, 558 (1962)
- 2) J. H. Watkinson: Anal. chem., 38, 92 (1966)
- 3) F. J. Tagwerker: Agric. Vet. Chem., I, 23 and 78 (1960)
- 4) S. F. Trelease and O. A. Beath: Selenium, Published by the authors, New York, 1949
- 5) 衛生試験法注解(日本薬学会編) 718 (1965)

フェノール化合物のブロム誘導体とそのガスクロマトグラフィー

原 田 裕 文* 観 照 雄* 鈴 木 助 治*
水 石 和 子* 戸 谷 哲 也*

BROMINATION OF PHENOL COMPOUNDS AND GAS CHROMATOGRAPHY OF THE BROM-DERIVATIVES

Hirofumi HARADA, Teruo KAN, Sukezi SUZUKI,
Kazuko MIZUISHI and Tetsuya TOTANI

(Department of Microanalysis, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of
Public Health)

summary

A simple and accurate detection method for testing antiseptics or bactericides which principally composed of phenol compounds was developed, wherein bromine derivative of phenol compound made by the bromination of the products were used as the test specimen. Separation and identification of the component of the phenol compound was easily made by the use of gas liquid chromatography with electron capture detection.

Followings are advantageous point of this procedure :

- 1) It is 2,000 times sensitive than that of the ordinary procedure and the accuracy of the results obtained were proved by their relative retention time comparing with that of the standard phenol compounds and of their bromine derivatives.
- 2) It is more simple and time saving procedure than that of the pre-existed procedure in which chlorination of the phenol compound was adopted.
- 3) It is conceivable that the procedure is ideal for the analysis of cosmetics or processed foods in which more than 5 or 6 phenol compounds (including perfumes) had been added simultaneously.

1. 緒 言

フェノール系の防腐剤,あるいは殺菌剤は,その種類も多く,化粧品や食品などには数種類が同時に使用されたり,また香料成分中のフェノール化合物などの影響もあって,ガスクロマトグラフィーによっても試料を直接分離同定することは容易ではない。そのためこれらのフェノール化合物をクロル化したのち,その生成物についてガスクロマトグラフィーを行ない,分離あるいは同定する方法¹⁾²⁾などの報告もあるが,クロル化はその操作が必ずしも簡単ではなく,日常の試

験には不便である。そこで今回同じハロゲン化でも操作の簡単なブロム化を行ない,ここに生成したブロム誘導体についてガスクロマトグラフィー³⁾を行い,つぎの2つの点について検討した。すなわち,

- (1) フェノール化合物のブロム化による保持時間の変化から,もとのフェノール化合物の同定が容易になる。
- (2) ブロム基の有する高い電子親和性により,ECデテクターを用いた場合,極めて微量のフェノール化合物でも,ブロム誘導体とすることにより,その同定ができる。

以上の点について検討したところ,若干の知見が得られたので報告する。

* 東京都立衛生研究所 微量分析部

2. 実験の部

フェノール化合物のブロム化には四塩化炭素などの疎水性有機溶媒中で反応させる方法と、含水状態で反応させる方法が知られている。反応生成物は両者間にある程度の差異が認められることもあり、たとえば最も単純なフェノールでは、前者は2,4,5-トリブロムフェノールを生成するが、後者はテトラブロム体まで反応することが知られている⁴⁾。今回は50% v/v エタノールにフェノール化合物を溶解し、ブロム・ブロムカリ溶液を添加してブロム誘導体を調製⁵⁾した。なお本方法によれば、再現性よく、常に各フェノール化合物固有の附加数を有するブロム誘導体の得られることが後述の分析によって確認できた。

1. ブロム誘導体の合成

1-1 試料および試薬

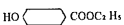
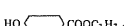
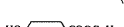
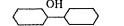
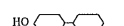
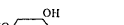
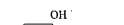
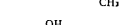
1) 試料

試料は Table I に示したフェノール化合物 27 種を用いた。

2) 試薬

ブロム・ブロムカリ溶液：ブロムカリ 16 g を 100ml の水に溶かし、これに 10 g のブロムを加える。

Table I. Structural Formula of 27 Phenol Compounds

1. Phenol		15. p-Hydroxybenzoic acid ethyl ester	
2. o-Cresol		16. p-Hydroxybenzoic propyl ester	
3. m-Cresol		17. p-Hydroxybenzoic butyl ester	
4. p-Cresol		18. Guaiacol	
5. p-Chlorophenol		19. Ethyl vanillin	
6. p-Chloro-m-cresol		20. α-Naphthol	
7. 4-Chloro-m-xyleneol		21. β-Naphthol	
8. 2,4,5-Trichlorophenol		22. o-Hydroxydiphenyl	
9. 3,5-Dimethylphenol		23. p-Hydroxydiphenyl	
10. Thymol		24. Resorcinol	
11. Salicylic acid		25. Hexylresorcinol	
12. o-Cresotic acid		26. Orcinol	
13. p-Hydroxybenzoic acid		27. Hydroquinone	
14. p-Hydroxybenzoic methyl ester			

1-2 操作

試料のフェノール化合物 100 mg に無水エタノール 1 ml を加えて溶かしさらに水 1 ml を加え、室温においてかきまぜながら、ブロム・ブロムカリ溶液を液が黄色を呈するまで加える。さらに水 40~50 ml を加えてはげしく振りまぜ、ここに析出したブロム誘導体をろ取り、無水エタノール、あるいは稀エタノールから再結晶を行なう。

上記の方法で結晶の析出したフェノール化合物は今回の 27 種の試料中 16 種で、残りの 11 種は結晶として得ることができなかったため、つぎの方法によりブロム誘導体を調製した。

すなわち、試料 10mg に無水エタノール 1 ml を加えてとかし、さらに水 1 ml を加え室温においてかきまぜながら、ブロム・ブロムカリ溶液を試料溶液が黄色を呈するまで加え、10~15 分間放置したのち、送風によって溶剤を除去した。

1-3 ブロムの附加数および位置

上記の操作によって 16 種のフェノール化合物が結晶として得られ、そのほとんどが 95% 以上の回収率でブロム誘導体を生成した。これらについて融点測定、元素分析、NMR 等を行ない、ブロム誘導体の生成を確認するとともに、附加されたブロムの数および、その位置の確認も行なった。融点は日本薬局方、一般試験法によって測定したが、同時に行なったメトラの自動融点測定器を用いた結果とよく一致した。

これらの結果を Table II に示す。

1-3-1 ブロムの附加数

Table II において各フェノール化合物とそれらの誘導体の融点を比較すると、いずれも異った値を示しており、ブロムの附加が推定されるが、さらに元素分析の結果によって、この事実が確認され、またその附加数も知ることができた。そして興味のあることは、フェノールから 3,5-ジメチルフェノールまでの 9 種はブロム誘導体の方がもとのフェノール化合物に対して融点の上昇がみられるのに反してサリチル酸から p-ヒドロキシ安息香酸プロピルエステルまでの 6 種は融点の下降がみられることである。これらのブロム誘導体のうちその融点が文献によって知ることのできたもの 6 種について実験値と文献値を Table III に示したが、ここにみられるようにそれぞれ近い値を示しており、ブロム附加数が推定でき、このことは元素分析の結果と一致した。

Table II Melting Point And Elemental Analysis of Brom-derivatives

Sample Name	Melting Point		Elemental Analysis			Empirical Formula
		Br-Deriv.	C %	H %	Br %	
1. Phenol	40.9	92.6	20.48	0.81	72.39	C ₆ H ₃ OBr ₃
2. o-Cresol	30.0	54.3	32.86	2.30	60.91	C ₇ H ₆ OBr ₂
3. m-Cresol	11.5	81.2	24.46	1.43	69.54	C ₇ H ₅ OBr ₃
4. p-Cresol	35.5	55.5	31.35	2.19	60.53	C ₇ H ₆ OBr ₂
5. p-Chlorophenol	43.0	90.5	25.28	1.05	55.97	C ₆ H ₃ OBr ₂ Cl
6. p-Chloro-m-cresol	66.0	70.9	28.03	1.66	53.46	C ₇ H ₅ OBr ₂ Cl
7. 4-Chloro-3,5-dimethyl-phenol	115.5	156.1	30.53	2.23	51.02	C ₈ H ₇ OBr ₂ Cl
8. 2,4,5-Trichloro phenol	67.0	100.7	26.29	0.71	24.46	C ₆ H ₂ OBrCl ₃
9. 3,5-Dimethyl phenol	64.0	164.4	26.76	1.94	66.10	C ₈ H ₇ OBr ₃
10. Salicylic acid	158.0	93.1	26.66	1.18	54.03	C ₇ H ₃ O ₃ Br ₂
11. o-Cresotic acid	165.5	55.6	35.29	2.51	34.67	C ₈ H ₆ O ₃ Br
12. p-Hydroxybenzoic acid	213.5	92.5	21.03	0.79	71.40	C ₆ H ₃ OBr ₃
13. " methyl ester	131.0	94.2	29.46	2.08	53.11	C ₈ H ₆ O ₃ Br ₂
14. " ethyl ester	116.0	98.0	31.85	2.32	50.28	C ₉ H ₈ O ₃ Br ₂
15. " propyl ester	96.5	90.3	35.64	2.96	48.16	C ₁₀ H ₁₀ O ₃ Br ₂
16. " butyl ester	68.5	87.5	37.02	3.36	45.29	C ₁₁ H ₁₂ O ₃ Br ₂

Table III Melting Point of 6 Brom-derivatives

Sample	Br-deriv. m. p. °C	Lit. m. p. °C	
1. Phenol	92.6	2,4,6-Tribromophenol	95.0
2. o-Cresol	54.3	4,6-dibromo-o-cresol	56.0
3. m-Cresol	81.2	2,4,6-Tribromo-m-cresol	82.0
4. p-Cresol	55.5	2,6-Dibromo-p-cresol	49.0
5. p-Nitrophenol	139.2	2,6-Dibromo-4-nitrophenol	141.0
6. 3,5-Dimethylphenol	164.4	2,4,6-Tribromo-3,5-dimethylphenol	166.0

今回元素分析を行なった16種のブロム誘導体のブロム附加数をみると、フェノール、m-クレゾール、3,5-ジメチルフェノール、p-ヒドロキシ安息香酸がそれぞれ3つのブロムを有し、o-クレソチック酸、トリクロロフェノールが1つ、その他のものが2つのブロムを有することが認められた。さらにその附加位置を確認し、上記附加数の信ぴょう性を高めるためにNMRを各ブロム誘導体について測定した。その代表的なスペクトルを Fig 1. に示した。

1-3-2 ブロムの附加位置

Fig 1. には p-ヒドロキシ安息香酸とそのエステルのブロム誘導体のスペクトルを示してあるが、最下段のスペクトルは p-ヒドロキシ安息香酸のもので、700 近辺にあるべき COOH 基のピークはみられず、フェノールのブロム誘導体であるトリブロム

フェノールのスペクトルに全く一致している。このことは前記の融点測定および元素分析の結果ともよく一致しており、p-ヒドロキシ安息香酸はブロム化に際して脱炭酸をおこし、COOH基が失われ、その位置にブロムが附加されてトリブロムフェノールになることが明らかになった。一方 p-ヒドロキシ安息香酸のエステルは OH 基に対して2つの o-位にのみブロムが附加され、COOH基はエステル化されているため安定性が増し、脱炭酸はおこしていないことが認められた。

以上の元素分析およびNMRの結果から、今回結晶として得られた16種のフェノール化合物のブロム誘導体の構造式は Table IV に示すように推定される。

Table IV から明らかなように、ブロムの附加す

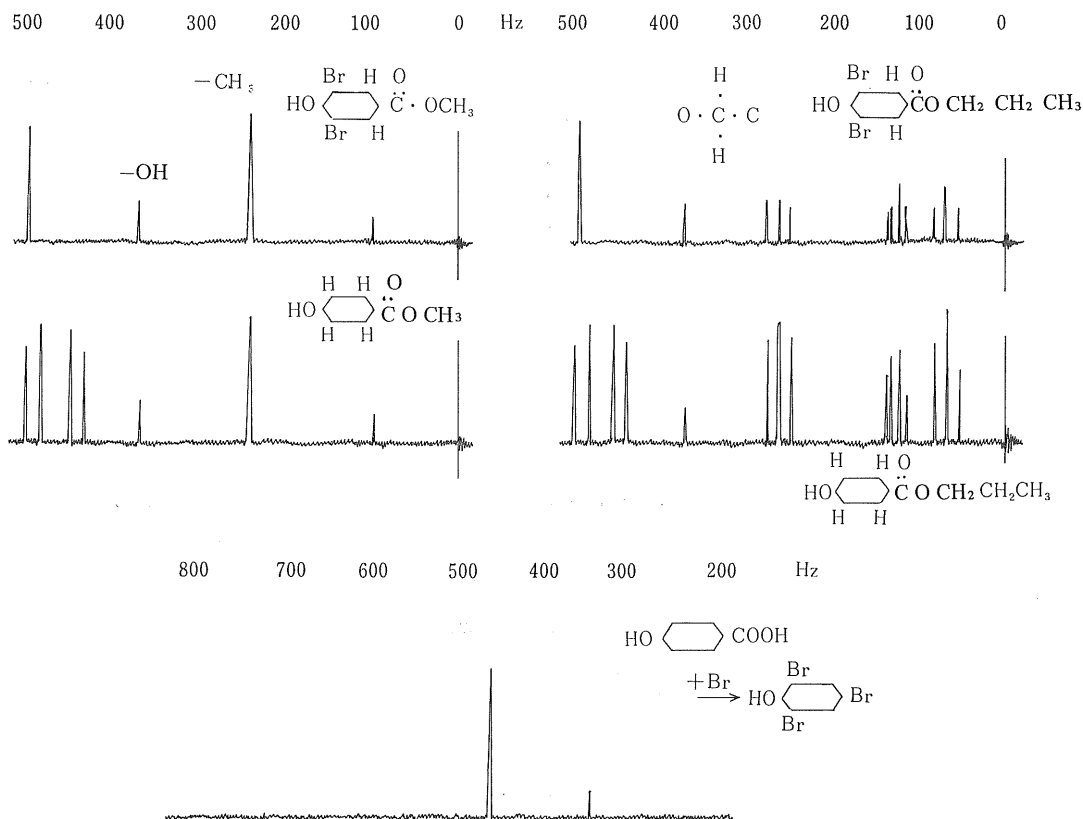


Fig 1. NMR-spectra of Phenol Compounds and Brom-derivatives

Table IV Structural Formulas of Brom-derivatives of Phenol Compounds

1. Phenol		9. 3,5-Dimethylphenol	
2. o-Cresol		10. Salicylic acid	
3. m-Cresol		11. o-Cresotic acid	
4. p-Cresol		12. p-Hydroxybenzoic acid	
5. p-Chlorophenol		13. p-Hydroxybenzoic acid methyl ester	
6. p-Chloro-m-cresol		14. p-Hydroxybenzoic acid ethyl ester	
7. 4-Chloro-3,5-dimethylphenol		15. p-Hydroxybenzoic acid propyl ester	
8. 2,4,5-Trichlorophenol		16. p-Hydroxybenzoic acid butyl ester	

る位置は OH 基に対して o-位および p-位である。たとえば, No. 1 のフェノール, No. 3 の m-クレゾール, No. 9 の 3,5-ジメチルフェノールなどは o-位が 2 つともあいていると同時に, p-位もあいているため, 3 個のブロムが附加され, o-位のみ 2 つあいている No. 4 の p-クレゾール, No. 5 の p-クロ

ロフェノール, No. 6 の p-クロ-m-クレゾールは 2 個のブロムが附加されることになる。また, さきに述べたとおり p-ヒドロキシ安息香酸は脱炭酸がおこり, p-位があくためフェノールと同様にトリブロムフェノールが生成することになる。

今回検討したブロム誘導体の合成法によって, フェノール化合物をブロム化し, 結晶として得られたブロム誘導体からブロムの附加する位置とその数の確認ができた。そしてこの結果から, 今回結晶としてとりだせなかったブロム誘導体の附加数および位置を推定することができた。

2. ブロム誘導体のガスクロマトグラフィー

前述の方法によって得られたブロム誘導体と, その母核であるフェノール化合物の両者についてガスクロマトグラフィーを行ない, 保持時間の变化および ^3H 電子捕獲型検出器を用いたときの感度の上昇について検討した。

2-1 装 置

島津製作所製ガスクロマトグラフ装置GC-ICに水素炎イオン化検出器を装備したもの、および同所製3AE型に³H電子捕獲型検出器を装置したものをを用いた。

2-2 カラム

カラム充填剤はつぎの3種類を用い、これらはいずれもヘキサメチルジシラザンによって完全にシリル化処理を施した固定相を用いてコーティングを行ない使用した。

- 1) 1.5% SE-30/クロモソルブW60~80メッシュ,
3 mm×1875mm
- 2) 3.0% OV-17/クロモソルブW80~100メッシュ
4 mm×2625mm
- 3) 5.0% DEGS/クロモソルブW60~80メッシュ,
4 mm×1875mm

2-3 測定条件および操作

今回、検討を行なったフェノール化合物およびそのブrom誘導体は低沸点のものから、かなり高沸点のものまであり、これらの分離同定をそれぞれのカラムにおいて同一条件で行うために、それらのカラムにおける最もよい温度条件を設定する必要がある。そこでまずこの点について検討を行なった。すなわち上記3種のカラムについて、カラム温度をそれぞれ100°, 150°, 200°および250°の4段階に設定し、各種フェノールおよびブrom誘導体についてクロマトグラムを測定したところ、その分離能あるいは測定所用時間等において、十分満足できるカラム温度は1.5% SE-30が150°, 3% OV-17と5% DEGSは共に200°であった。以上の測定条件をTable Vに示す。

Table V Operating Conditions

	1.5% SE-30	3 % OV-17	5 % DEGS
Column Temp.(°C)	150	200	200
Detector	FID	FID	FID
Detector Temp. (°C)	330	330	330
Injection	On Column	On Column	On Column
Carrier Gas	N ₂	N ₂	N ₂
flow rate (ml/min.)	58	62	60
Range (V)	0.8	0.8	0.8
Sensitivity	10	10	10
H ₂ flow rate(ml/min.)	41	45	42
Air flow rate (l/min.)	1.1	1.1	1.1

Table I に示した各フェノール化合物は、0.2% アセトン溶液とし、また前記1-2のブrom誘導体の合成操作の項において合成したブromフェノール化合物のうち、結晶として得られた16種は0.2% アセトン溶液とし、結晶として得られなかった11種はそれぞれ全量を5 mlのアセトンに溶かして試験溶液とした。Table V に示す条件にガスクロマトグラフ装置を設定し、水素炎イオン化型検出器を用いて各試験溶液について、フェノール化合物とそのブrom誘導体の保持時間を測定した。但し内部標準としてフェノールを用いて行なった。

各フェノール化合物の保持時間(R₀)および、それらのブrom誘導体の保持時間(R₁)、ならびに各保持時間の相対比(R₁/R₀)をTable VIに示す。

2-3 測定結果

Table VI に示すように、フェノール化合物とそのブrom誘導体のそれぞれの保持時間を比較してみると、ブrom化による保持時間の延長が検討したすべてのフェノール化合物にみられ、またもとのフェノール化合物に対するブrom誘導体の保持時間の比(R₁/R₀)をとっても、例えばフェノールでは、カラムが1.5% SE-30の場合には38.5倍、3% OV-17で18.5倍、5% DEGSで10.8倍、またm-クレゾールもそれぞれ34.0倍、14.8倍、11.7倍となり、3種類のいずれのカラムを使用しても、ブrom誘導体はもとのフェノール化合物に対して保持時間の延長が認められた。このことは、保持時間が近似し、分離の困難なフェノール化合物が混在しても、ブrom化によって保持時間を変化させ、ガスクロマトグラフィーによるフェノール化合物の分離を可能にするものと考えられる。

たとえばTable VIにみられるように、No. 1~No. 4のフェノールおよび、o, m, p-クレゾールの4者の保持時間は非常に接近しており、そのままでは分離が困難であるが、ブrom化によってそれぞれ異った保持時間に延長され、分離が極めて容易になることが認められた。またNo. 5~8のハロゲン化フェノールもブrom化によって保持時間の延長がみられ、3種のカラムのいずれによってもその判別が可能であった。またp-ヒドロキシ安息香酸のブrom誘導体については、いずれのカラムの場合にもフェノールのブrom誘導体と一致した保持時間を示し、ガスクロマトグラフィーによっても脱炭酸にともなってブrom化されることが確認された。一般に保持時間はガスクロマトグラフの設定条件のわずか

Table VI Retention Time of Phenol Compounds and Brom-derivatives

Sample	Column	1.5% SE-30			3 % OV-17			5 % DEGS		
		R ₀	R ₁	R ₁ /R ₀	R ₀	R ₁	R ₁ /R ₀	R ₀	R ₁	R ₁ /R ₀
1. Phenol		0.2	7.7	38.5	0.4	7.4	18.5	0.7	7.6	10.8
2. o-Cresol		0.3	3.4	11.3	0.5	3.0	6.0	0.7	2.1	3.0
3. m-Cresol		0.4	13.6	34.0	0.6	11.9	19.8	0.7	8.2	11.7
4. p-Cresol		0.33	3.4	10.3	0.56	3.1	5.5	0.7	2.0	2.8
5. p-Chlorophenol		1.1	5.0	4.5	0.46	4.6	10.0	2.2	4.1	1.8
6. p-Chloro-m-cresol		1.9	8.8	4.63	1.5	7.6	5.06	3.0	5.2	1.7
7. 4-Chloro-m-xylene		2.5	13.3	5.3	2.2	12.6	5.7	3.7	6.8	1.8
8. 2,4,5-Trichloro phenol		2.2	7.9	3.6	2.0	7.1	3.5	2.7	7.4	2.7
9. 3,5-Dimethyl phenol		0.78	18.5	23.7	0.96	19.8	20.6	1.3	10.4	8.0
10. Thymol		0.9	4.4	4.88	1.2	6.9	5.7	1.0	1.0	1.0
11. Salicylic acid		1.2	7.36	6.13	1.5	7.4	4.9	1.3	7.0	4.6
12. o-cresotic acid		2.5	3.2	1.28	2.1	3.0	1.4	2.0	3.4	1.7
13. p-Hydroxybenzoic acid		1.8	7.7	4.27	1.7	7.4	4.3	1.7	7.6	4.47
14. // methyl ester		2.6	12.5	4.8	2.2	10.4	4.7	2.3	12.3	5.3
15. // ethyl ester		4.6	21.0	4.56	4.08	15.9	3.9	13.1	15.4	1.17
16. // propyl ester		5.8	26.4	4.55	5.3	21.5	4.05	16.2	19.3	1.19
17. // butyl ester		9.2	40.4	4.39	8.8	31.5	3.57	19.6	25.2	1.3
18. Guaiacol		0.65	8.7	13.38	0.7	8.1	11.5	0.76	9.54	12.5
19. Ethyl vanillin		3.3	11.9	3.6	3.4	11.2	3.3	4.7	13.2	2.8
20. α -Naphthol		4.5	9.2	2.0	4.6	10.8	2.3	2.5	8.2	3.28
21. β -Naphthol		5.9	7.4	1.25	4.7	7.3	1.5	12.0	22.28	1.8
22. o-Hydroxydiphenyl		4.6	40.3	8.7	8.0	36.8	4.6	4.5	25.28	5.6
23. p-Hydroxydiphenyl		10.8	45.6	4.2	11.2	42.5	3.8	12.0	48.2	4.0
24. Resorcinol		1.5	17.0	11.3	1.6	17.1	10.7	1.9	19.5	10.3
25. Hexylresorcinol		19.6	60.6	3.09	11.6	32.5	2.8	2.4	7.4	3.1
26. Orcinol		2.2	29.8	13.5	2.4	28.0	11.6	3.5	34.0	9.7
27. Hydroquinone		1.6	2.7	1.68	1.7	3.8	2.2	16.5	16.8	1.0

R₀; Retention time of Phenol Compound (min.)R₁; Retention time of Brom-derivative (min.)

な変化によっても影響を受け、常に一定した保持時間を得ることは困難である。そのため、前述のように保持時間の接近したフェノール化合物でもブロム化によって分離することが可能であるが単にブロム誘導体の保持時間のみをもって、フェノール化合物を同定することは再現性の面で問題がある。そこで Table IV に示すフェノールのブロム誘導体であるトリブロムフェノールを内部標準として用い、その保持時間 (R_P) に対する他のブロム誘導体の保持時間 (R_I) の比 (R_I/R_P) を、3 種のカラムについてそれぞれもとめ、Table VII に示した。

この R_I/R_P を比較することによりフェノール化

合物の同定が容易となると同時にガスクロマトグラフの測定条件による保持時間の変動も R_I/R_P の比をとれば、打消されるので、同定上の再現性が高まる。たとえば、未知の試料のブロム誘導体についてガスクロマトグラフィーを行ない、R_I/R_P を求め 3 種のカラムのいずれともその R_I/R_P が合致するフェノール化合物を検索することによって同定できる。従って今回検討したフェノール化合物は、27 種類であるがさらに多くのフェノール化合物のブロム化を行い、R_I/R_P のデータを集積すれば、さらに多くのフェノール化合物も分離同定が可能であると考えられる。

Table VII Retentions Relative to Tribromophenol of Brom-derivatives of Phenol Compounds

	1.5% SE-30	3 % OV-17	5 % DEGS
1. Phenol	1.00	1.00	1.00
2. o-Cresol	0.44	0.41	0.28
3. m-Cresol	1.76	1.61	1.08
4. p-Cresol	0.44	0.42	0.26
5. p-Chlorophenol	0.65	0.62	0.54
6. p-Chloro-m-cresol	1.14	1.03	0.68
7. 4-Chloro-m-xlenol	1.72	1.7	0.89
8. 2,4,5-Trichlorophenol	1.02	0.96	0.97
9. 3,5-Dimethylphenol	2.4	2.68	1.37
10. Thymol	0.57	0.93	0.13
11. Salicylic acid	0.96	1.00	0.92
12. o-Cresotic acid	0.42	1.41	0.45
13. p-Hydroxybenzoic acid	1.00	1.00	1.00
14. " methyl ester	1.62	1.41	1.62
15. " ethyl ester	2.73	2.15	2.03
16. " propyl ester	3.43	2.91	2.54
17. " butyl ester	5.25	4.26	3.32
18. Guaiacol	1.13	1.09	1.26
19. Ethyl vanillin	1.55	1.51	1.74
20. α-Naphthol	1.19	1.46	1.08
21. β-Naphthol	0.96	0.99	2.93
22. o-Hydroxydiphenyl	5.23	4.97	3.33
23. p-Hydroxydiphenyl	5.92	5.74	6.34
24. Resorcinol	2.21	2.31	2.57
25. Hexylresorcinol	7.87	4.39	0.97
26. Orcinol	3.87	3.78	4.47
27. Hydroquinone	0.35	0.51	2.21

次にブロム化による検出感度の上昇について検討するため、フェノール化合物は水素炎検出器を用いて前記 Table V に示した測定条件で測定し、ブロム誘導体は³H 電子捕獲型検出器を用いて、次の測定条件で測定した。すなわちカラムは3 mm×1000 mmを用い、充填剤はFIDの場合と同じ5%DEGSで、カラム温度200°, キャリヤガスN₂, 流速60ml/minに設定し、注入量を5μlとした。

フェノール化合物とブロム誘導体の感度の比較は1 ml中のμg数で表わしTable VIIIに示した。この表から明らかなように、当然のことではあるが、いずれのフェノール化合物についてもブロム化によって約2000倍前後の検出感度の上昇が認められた。従って微量のフェノール化合物もブロム化することによって容易に検出できる。更に前項までに検討した

Table VIII Comparison of Sensitivity Between FID and ECD

	FID μg/ml	ECD μg/ml
1. Phenol	200	0.12
2. o-Cresol	250	0.1
3. p-Chlorophenol	330	0.3
4. p-Chloro-m-cresol	500	0.3
5. 2,4,5-Trichloro phenol	1000	0.5
6. Salicylic acid	500	0.3
7. p-Hydroxybenzoic acid methyl ester	1000	0.5

分離同定法に³H 電子捕獲型検出器を適用すれば、試料中に含有される、ごく微量のフェノール化合物でも分離、あるいは同定が可能であると云える。

3. 要 結

ガスクロマトグラフィーによるフェノール化合物の分離あるいは同定は保持時間の接近したものが多いため、かならずしも容易ではない。そこで今回フェノール化合物をブロム化し、生成したブロム誘導体について、水素炎イオン化型検出器、あるいは³H 電子捕獲型検出器を用いてガスクロマトグラフィーを行いフェノール化合物の分離同定を検討した。

- 1) 試料として用いたフェノール化合物は殺菌剤などを含めて27種類である。これらを50%アルコールに溶かし、ブロム・ブロムカリ溶液を用いてブロム化した。今回検討した27種のフェノール化合物中16種類のブロム誘導体が、それぞれ95%以上の高い回収率を示し、結晶として得ることができた。
- 2) 今回のブロム化の実験条件によって、フェノール化合物固有のブロム附加数を有するブロム誘導体が再現性よく得られることが認められ、またOH基に対してO位およびP位が空位であれば必ずその位置にブロムが附加されることが認められた。p-ヒドロキシ安息香酸はP位にCOOH基があるにもかかわらず、ブロム化の際に脱炭酸を受けCOOH基が失われて、その結果ブロムが附加され、トリブロムフェノールとなることが見出された。
- 3) フェノール化合物とそのブロム誘導体について、水素炎イオン化型検出器を用い、またカラムは1.5%SE-30, 3.0%OV-17, 5.0%DEGSを充填剤として、ガスクロマトグラフィーを行なったところ、いずれのカラムを用いてもブロム誘導体の方が、もとのフェノール化合物より保持時間の延長されることが認められた。その結果、保持時間が接近

していて分離の困難であったフェノール化合物，たとえばフェノール，o-クレゾール，m-クレゾールの3種あるいは，p-クロロ-m-クレゾール，p-クロロ-m-キシレノール，2,4,5-トリクロロフェノールの3種等は，それぞれブロム化によって容易に分離することができた。

- 4) フェノールのブロム誘導体であるトリブロムフェノールを内部標準として用い，その保持時間に対する他のブロム誘導体の保持時間の比を，それぞれのカラムについて求め，その値を比較することによって，もとのフェノール化合物の同定が可能であることが認められた。
- 5) ブロム化によるフェノール化合物の分離同定に³H電子捕獲型検出器を適用することによって，著しい感度の上昇がみられ，微量のフェノール化合物

の分離同定が可能であることが認められた。

なお，本研究は日本薬学会第90年会にて発表したものである。

文 献

- 1) C. Karr, P. M. Brown; Anal. Chem., 30, 1413 (1958)
- 2) M. J. Bastin-Merkeman; Chem. Anal., 42, 493 (1960)
- 3) 舟阪渡，池川信夫：最新ガスクロマトグラフィー（II応用編）広川書店
- 4) 水野義久：有機定性分析法 共立全書
- 5) N. D. Cheronis, J. B. Entrikin; Semimicro Qualitative Organic Analysis, 517 (1957)

煙草およびその煙中の有機塩素系農薬の残留量について

観 照 雄* 原 田 裕 文* 伊 藤 弘 一*
山 添 律 子* 戸 谷 哲 也*

RESIDUAL LEVELS OF CHLORINATED HYDROCARBON PESTICIDES IN CIGARETTE AND IN ITS SMOKE

Teruo KAN, Hirofumi HARADA, Koichi ITO,
Ritsuko YAMAZOE and Tetsuya TOTANI

(Department of Microanalysis, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of
Public Health)

summary

Seventeen brands of domestic cigarettes and 20 brands of foreign ones were examined for the study of residual levels of chlorinated hydro-carbon pesticides in their chopped leaf and smoke. Detection of the insecticides was made by means of A. O. A. C. procedure, and for the trapping of the insecticides in the smoke was made by the use of the smoking machine.

Results obtained are summarized as follows:

1) All of the brands tested were found to be containing β - and γ -BHC, pp'-DDT, pp'-DDE, pp'-DDD and op'-DDT, and these pesticides were also detectable from the smoke when they were burned.

2) The mean amounts of the DDT compounds, detected from the tobacco leaf were about 130 times greater amounts than that of the BHC compounds detected from same specimen, viz., the mean amounts of pp'-DDT and total DDTs detected were 79.2 μ g and 131.1 μ g per 20 pieces of domestic cigarettes, and 104.3 μ g and 305.1 μ g in the same quantity of foreign cigarettes respectively.

3) The mean amounts of pp'-DDT detected from a cubic meter of the smoke from domestic cigarettes was 1.09 mg, while the one from foreign cigarettes was 1.38 mg, i. e., 6 brands of the domestic ones (35.5%) and 16 brands of the foreign ones (80.0%) had contained greater than 1 mg of pp'-DDT in a cubic meter of the smoke, which listed as limit level in the A. C. G. I. H. standards.

4) The mean amounts of the γ -BHC, detected from the leaf of domestic ones, was 0.61 μ g per 20 pieces of cigarettes, while the one detected from same quantity of foreign one was 0.75 μ g.

5) The mean amounts of the γ -BHC, detected from a cubic meter of the smoke from domestic cigarettes, was 0.026 mg, while the one from foreign cigarettes was 0.025 mg.

6) The smaller amounts of the insecticides were detected from the fume obtained from the cigarettes with filter tip, comparing with that of the one obtained from the cigarettes without filter tip.

* 東京都立衛生研究所 微量分析部

1. 緒 言

近年、食品をはじめ、水あるいは土壌などに対する残留農薬の汚染が重大な社会問題として注目されてきたが、現在までに、タバコ特にタバコの煙中の有機塩素系残留農薬に関する報告例はほとんどみられていない。タバコの葉の栽培は厳重に規制されているので、高い収穫量を維持するために、防虫あるいは害虫駆除にはかなり考慮がなされている。従ってタバコの栽培中に散布される農薬の使用量は一般の農作物栽培に比べて相当多いものと考えられる。そのため、タバコ中に農薬が残留することは当然推定されるところであるが、タバコの喫煙時における燃焼部分の温度は 800~900°にも達し、タバコ中の残留農薬は相当高い温度で熱せられることになり、ほとんど分解消失してタバコの煙中にあらわれないものと予測されてきた。しかし喫煙時の状態によってはかならずしも完全に燃焼するとはかぎらないし、不完全燃焼してタバコ中の農薬が熱分解されずに煙中に混入し、それが喫煙によってヒトの肺中に吸入されることも十分考えられる。したがってタバコの煙中の残留農薬を測定することは衛生化

学的意義が大きいものと考え、今回は市販の国産紙巻タバコ17銘柄および外国産紙巻タバコ20銘柄をとりあげ、AOAC¹⁾の残留農薬試験法に従って、タバコ、およびスモッキングマシンを用いて捕集したタバコの煙中の有機塩素系残留農薬、特に β -BHC、 γ -BHC、pp'- または op'-DDT、pp'-DDE および pp'-DDD について測定したところ、たばこはもちろん煙中にもかなり多量の有機塩素系農薬が検出されることが認められたので報告する。

2. 実験の部

1. 試 料

試料は17銘柄の市販の国産紙巻タバコについて、ロットの異なるものを含めて21検体および市販の外国産紙巻タバコのうち米国産の14銘柄、英国産の4銘柄、ドイツおよびオーストリア産の各1銘柄、計20検体、総計41検体を昭和45年12月から昭和46年3月の間に東京都内において購入し試験に供した。Table I に各紙巻タバコの名称、製造番号、フィルターの有無およびフィルターを除いた本体の長さを示した。

Table I Samples of Domestic and Foreign Cigarettes

Domestic Cigarettes				Foreign Cigarettes			
Name			Length mm	Name			Length mm
1. Shinsei	Nonfilter	2727	69	1. Gelbe Solte	Nonfilter	Hamburg	67
2. AAA	Nonfilter	1207	69	2. Chesterfield	Nonfilter	U.S.A	84
3. Peace	Nonfilter	0128	69	3. Senior Service	Nonfilter	England	70
4. Peace	Filter	1144	63	4. Pall Mall	Nonfilter	U.S.A	73
5. Seven Stars	Filter	0617	63	5. Pall Mall	Filter	U.S.A	73
6. Hope	Filter	0701	52	6. Old Splendor	Filter	Austria	66
7. Hope (Long)	Filter	3131	62	7. Kent	Filter	U.S.A	62
8. hi-lite	Filter	0408	62	8. Dunhill	Filter	London	85
9. echo	Filter	0864	52	9. Kool	Filter	U.S.A	63
10. Wakaba	Filter	2629	62	10. Lacky Strike	Filter	U.S.A	63
11. Cherry	Filter	1215	62	11. Viceroy	Filter	U.S.A	63
12. Hibiki(Long)	Filter	1909	62	12. Paxton	Filter	U.S.A	63
13. Ran (Long)	Filter	1227	62	13. Benson and Hedges	Filter	London	68
14. luna	Filter	0267	63	14. Marlboro	Filter	U.S.A	64
15. Epoch	Filter	1520	62	15. Rothmans (King)	Filter	London	69
16. mf(menthol)	Filter	3722	62	16. Philip Morris	Filter	U.S.A	64
17. hi-lite (De luxe)	Filter	3101	62	17. Lark	Filter	U.S.A	64
18. hi-lite	Filter	0445	62	18. Saiem	Filter	U.S.A	64
19. hi-lite	Filter	0633	62	19. Winston	Filter	U.S.A	64
20. hi-lite	Filter	0407	62	20. L & M	Filter	U.S.A	59
21. hi-lite	Filter	0625	62				

2. 試 薬

γ -BHC 標準溶液；

γ -BHC (和光純薬 K. K.) の原末 10mg を正確に秤り n-ヘキサンに溶かして 100ml とし標準原液とする。さらにこの標準原液 1 ml をとり n-ヘキサンを加えて 100ml とし標準溶液を調製する。(この液 1 ml は 0.1 μ g の γ -BHC を含有し、用時調製する。)

α , β , δ -BHC 標準溶液；

α , β および δ -BHC (和光純薬 K. K.) 各 10mg を正確に秤り、以下 γ -BHC 標準溶液の項に従って調製した。

pp'-DDT 標準溶液；

pp'-DDT (和光純薬 K. K.) 10mg を正確に秤り、n-ヘキサンに溶かして 100ml とし、さらに n-ヘキサンで 10 倍に希釈し、10ppm 標準溶液とした。

op'-DDT, および pp'-DDE の各標準溶液；

op'-DDT (和光純薬 K. K.) および pp'-DDE (和光純薬 K. K.) の各 10 mg を正確に秤り、以下 pp'-DDT 標準溶液の項に準じて調製した。

pp'-DDD 標準溶液；

pp'-DDD (ANALYTICAL STANDARDS 社製 NANOGEN®TDE) 10 ppm ベンゼン溶液を使用した。

Hepta chlor epoxide 内部標準溶液；

Hepta chlor epoxide (和光純薬 K. K.) 10 mg を正確に秤り、n-ヘキサンに溶かして 100ml とし、

さらに n-ヘキサンで 500 倍に希釈し、0.20 ppm 内部標準溶液とした。

フロリジール；

フロリジール(合成ケイ酸マグネシウム) 60~100 mesh 和光純薬 K. K. 製を用いた。

ベンゼンおよび n-ヘキサン；

残留農薬分析用試薬(和光純薬 K. K.) を用いた。

3. 装 置

ガスクロマトグラフ装置；

島津製作所製 GC-3 AE 型, ^3H 150mc を線源とした電子捕獲型検出器 (ECD) 付ガスクロマトグラフを用いた。

スモーキングマシン；

タバコの喫煙時と同一の状態における煙を捕集する目的で荒牧²⁾らの装置とほぼ類似した実験装置を用いた。その概略は Fig 1. に示す通りである。

Kunderna-Danish (K-D) 濃縮器；

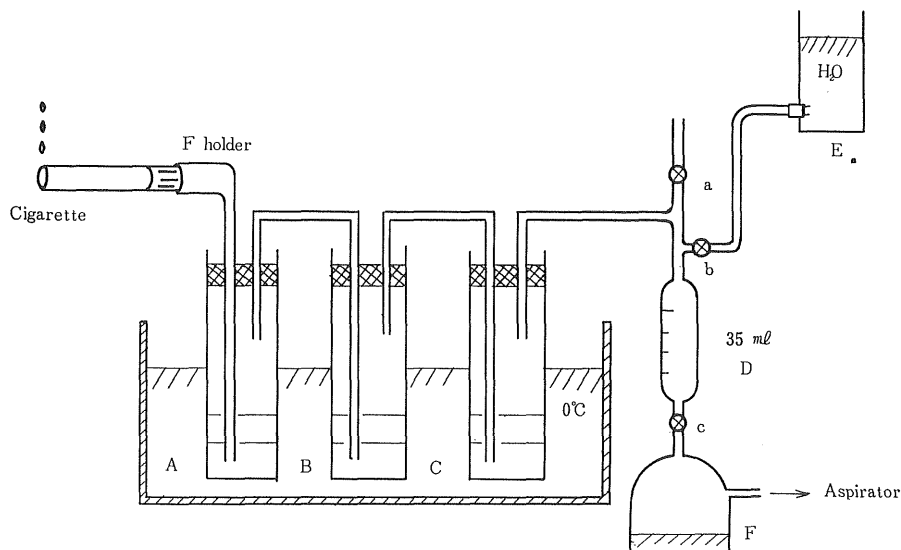
AOAC の規格に準じた装置を使用した。

4. 試験溶液の調製

4-1 タバコの煙の場合

Fig 1. に示すように、スモーキングマシンの A, B, C にそれぞれ希硫酸 20ml およびベンゼン 20ml を入れ、氷水中に浸漬して約 0° に保持する。つぎにコック a, b を開き、D に約 35ml の水を満してからコック a, b を閉じて点火したタバコを F に装填する。コック C を開いて、アスピレーターを用い D 中の水 35

Fig 1. Apparatus of Smorking Machine



ml を約3秒間で排出する。つまりこの場合一回の煙の吸入量は35mlに相当する。再びコックを閉じて1分間放置する。この操作をくりかえして、燃焼部位がタバコの根もとから1cm（フィルター付のタバコの場合にはフィルターの部分から1cm）到達したとき、これを取り除いて新しいタバコに交換し再び吸引する。タバコ5本を吸引するごとにA, B, Cの希硫酸、ベンゼンの吸収層を新たに交換し、同一検体のタバコ20本まで吸引操作を行なったのち、希硫酸およびベンゼン層を合せる。つぎにベンゼン層を分取し、さらに希硫酸層に少量溶存する農薬をベンゼン50, 20, 20mlを用いて3回抽出し、先に得られたベンゼン層と合せて無水硫酸ナトリウムで脱水する。つぎにK-D濃縮器を用いて20mlまで蒸発濃縮したのち、少量のベンゼンを用いてK-D濃縮器内を洗浄し、洗液をベンゼン溶液と合せ、ふたたび無水硫酸ナトリウムで脱水し試験溶液とした。

4-2 タバコの葉の場合

タバコの根もとから約1cmの部分（フィルター付のタバコの場合にはフィルターの部分）を切り捨てさらに紙をとりのぞいた20本分のタバコの葉にベンゼン200mlを加え室温で5日間浸漬したのち、ろ過し、残渣をベンゼン50mlで2回洗浄する。洗液を抽出液に合せ、K-D濃縮器を用いて約20mlまで蒸発濃縮し、K-D濃縮器内を少量のベンゼンを用いて洗浄しベンゼン溶液と合せて無水硫酸ナトリウムで脱水して試験溶液とした。

（但し、ベンゼンの代りに抽出溶媒をn-ヘキサン、アセトン、石油エーテルなどを用いて抽出しても測定値の変動はみとめられなかった。）

5. 実験方法

フロリジルカラムによるクリーンアップおよびGC付ガスクロマトグラフの操作は、AOAC¹⁾法に準じて行った。

5-1 クリーンアップ

前項4-1および4-2において調製した試験溶液を内径10mm長さ155mmのカラム管にフロリジル2.5gをn-ヘキサンに含浸させて充填したカラム柱に、1分間5mlの割合で通してから、n-ヘキサン10mlでカラム柱を洗浄する。洗液を流出液に合せ、冷風で溶媒を除き、残渣をHepta chlor epoxide 内部標準溶液4mlにとかして、GC用試験溶液とした。

5-2 GCの測定条件

カラム充填剤はThompson³⁾らが報告している

1.5% OV-17/1.95% QF-1の混合液相（Unport KS, 100/120 mesh, 日本クロマト工業製）を島津製作所製ガラスカラム4mmφ×1mに充填して使用した。測定条件はpp'-DDTの保持時間が、約18分前後に検出できるようにするため、カラム温度、186°C、キャリアーガス、N₂, 60ml/min atomに設定し、感度はAOACによるHepta chlor epoxideを用いて調製した。試験溶液の注入は、ハミルトンマイクロシリンジ（10μl）を用い、On column injectionによった。

5-3 GCによる測定

前記5-2に従って設定した測定条件において、5-1の項で調製した試験溶液2μlを注入して得られたクロマトグラムからβ, γ-BHC, Hepta chlor epoxide, pp'-DDE, op'-DDT, pp'-DDD, pp'-DDTの順位の各保持時間に該当するピーク高を測定し、Hepta chlor epoxide 内部標準検量線法により、次にあげた式から、タバコ20本あたりの残留農薬の含有量（μg数）を求めた。

$$\beta\text{-BHC } \mu\text{g} = 3.586 \times \frac{\beta\text{-BHC 波高 (mm)}}{\text{hepta. epo. 波高 (mm)}}$$

$$\gamma\text{-BHC } \mu\text{g} = 0.777 \times \frac{\gamma\text{-BHC 波高 (mm)}}{\text{hepta. epo. 波高 (mm)}}$$

$$\text{pp}'\text{-DDE } \mu\text{g} = 20.212 \times \frac{\text{pp}'\text{-DDE 波高 (mm)}}{\text{hepta. epo. 波高 (mm)}}$$

$$\text{pp}'\text{-DDD } \mu\text{g} = 10.721 \times \frac{\text{pp}'\text{-DDD 波高 (mm)}}{\text{hepta. epo. 波高 (mm)}}$$

$$\text{op}'\text{-DDT } \mu\text{g} = 12.830 \times \frac{\text{op}'\text{-DDT 波高 (mm)}}{\text{hepta. epo. 波高 (mm)}}$$

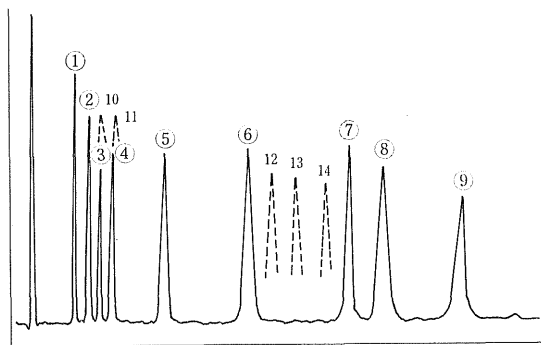
$$\text{pp}'\text{-DDT } \mu\text{g} = 7.909 \times \frac{\text{pp}'\text{-DDT 波高 (mm)}}{\text{hepta. epo. 波高 (mm)}}$$

なお検量線の作成にあたってβ, γ-BHCは、0.05, 0.02, 0.01, 0.005, 0.001 ppmの濃度のものを用い、またpp'-DDE, pp'-DDD, pp'-, op'-DDTは、1.0, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1 ppmの濃度について、それぞれ波高を求めたところ、直線性のある検量線を得ることができた。GC用試験溶液中の残留農薬の濃度が高すぎる場合には、検量線の範囲に入るまでn-ヘキサンで試験溶液を希釈した。

6. 実験結果

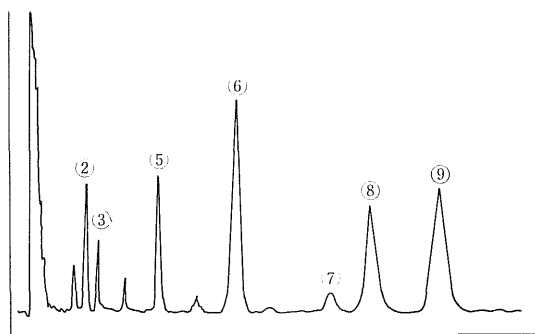
紙巻タバコの煙、および葉から得られたガスクロマトグラムの代表例（ルナ、フィルター付）をChart 1に示す。

国産ならびに外国産の紙巻タバコにおける残留農薬の分析結果をTable II および Table III に示したが、日本専売公社の発表によれば、1969年度の日本人男子の平均喫煙本数は1日あたり20本とされていることか

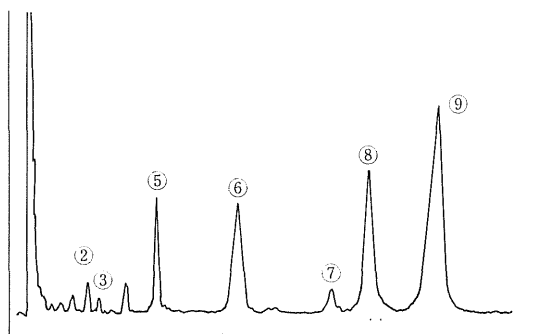


Chromatogram of Standard Mixture of Pesticides

No. Pesticides	RT minutes	No. Pesticides
1. α -BHC	1.7	10. Heptachlor
2. γ -BHC	2.3	11. Aldrin
3. β -BHC	2.8	12. Dieldrin
4. δ -BHC	3.3	13. o,p'-DDD
5. Hept. Epoxide	5.4	14. Endrin
6. p,p'-DDE	8.8	
7. o,p'-DDT	13.0	
8. p,p'-DDD	14.5	
9. p,p'-DDT	17.6	



Chromatogram of Extract of Cigarettes(hi-lite)



Chromatogram of Smokes of Cigarettes(hi-lite)

Chart 1. Gas Chromatogram of Chlorinated Hydrocarbon Pesticides in Cigarettes

ら、本実験の測定値はタバコ20本あたりの μg 数で表わした。

残留農薬は BHC 系と DDT 系の2つについて検討したが、BHC 系は γ -BHC と総 BHC、DDT 系は pp'-DDT と総 DDT を中心としてタバコ、およびその煙中に含有されるそれらの測定値を μg 数で表わした。また煙については後述の農薬の空气中許容濃度と比較する目的で、上記4種の農薬についてそれぞれ次式により 1 m^3 中の mg 数を求め、これを Table II および Table III に併記した。

$$I = a \times \frac{100^3}{b} \times \frac{1}{1000}$$

I : 1 m^3 中の含有量 (mg)

a : 20本あたりの煙中の含有量 (μg)

b : 20本分の煙の吸入量 (ml)

但し総 BHC は γ -BHC および β -BHC のそれぞれの含有量を加算した値であり、総 DDT は pp'-DDT および op'-DDT、さらにその分解産物である pp'-DD と pp'-DDE の測定値をすべて加算した μg 数で

ある。さらに Table II および Table III において煙 1 m^3 中の mg 数をヒストグラムとして表わし Fig 2 および Fig 3 に示した。

Fig 2 および Fig 3 に示された () 内の数値は煙中の農薬含有量のタバコの葉中の含有量に対する割合を%で表わしたものである。

6-1 BHC系農薬の残留量

Table II および III に示したように、 γ -BHC は国産で平均 $0.61\text{ }\mu\text{g}$ 、外国産で平均 $0.75\text{ }\mu\text{g}$ と低値であった。これらのうちでゲルベゾルテが最高値を示し、 $2.13\text{ }\mu\text{g}$ の γ -BHC が検出された。煙中の γ -BHC 含有量はタバコの含有量の $\frac{1}{4} \sim \frac{1}{5}$ 程度となり、また 1 m^3 中に換算した値は国産で平均 0.026 mg 、外国産で 0.025 mg と差がみられず、米国の空气中許容濃度 1 m^3 中の γ -BHC 量 $0.5\text{ mg}^{4)}$ をこえるタバコは、測定した41例のタバコには全くみられなかった。

総 BHC 量は γ -BHC の場合とは逆に国産タバコの方が外国産タバコよりも2倍も高い値を示し、平均値は国産 $2.06\text{ }\mu\text{g}$ 、外国産 $1.09\text{ }\mu\text{g}$ であった。

Table II Contents of BHC and DDT in Various Commercial Cigarettes and Smokes

Domestic Cigarettes	γ -BHC per 20 pieces			Total BHC per 20 pieces			p,p'-DDT per 20 pieces			Total DDT per 20 pieces		
	Ciga- rettes		Smoke	Ciga- rettes		Smoke	Ciga- rettes		Smoke	Ciga- rettes		Smoke
	μg	μg	mg	μg	μg	mg	μg	μg	mg	μg	μg	mg
(A) Cigarettes												
1. Shinsei	0.68	0.37	0.076	6.98	1.77	0.36	72.9	12.6	2.57	97.9	31.0	6.32
2. AAA	0.31	0.08	0.016	1.77	0.23	0.047	62.7	5.14	1.05	100.0	12.6	2.58
3. Peace	0.59	0.28	0.050	1.78	0.88	0.16	42.3	16.6	2.96	90.8	25.9	4.63
Average (Cigarettes)	0.526	0.243	0.047	3.51	0.96	0.081	59.3	11.4	2.19	96.2	23.2	4.51
(B) Filter Cigarettes												
4. Peace	1.55	0.25	0.051	2.91	0.58	0.12	39.8	1.36	0.28	88.5	6.41	1.31
5. Seven Stars	0.54	0.16	0.033	0.90	0.30	0.062	97.0	3.64	0.74	146.3	13.16	2.61
6. Hope	0.66	0.083	0.018	1.86	0.14	0.029	51.8	4.03	0.89	90.3	9.16	2.01
7. Hope (Long)	1.31	0.26	0.050	3.83	0.70	0.13	74.3	4.00	0.76	115.7	9.13	1.74
8. hi-lite	1.05	0.17	0.035	3.61	0.77	0.16	50.5	3.76	0.77	109.9	11.77	2.40
9. echo	0.13	0.02	0.005	0.42	0.06	0.015	53.9	3.18	0.76	68.9	6.53	1.56
10. Wakaba	0.20	0.07	0.014	2.15	0.79	0.16	75.0	3.79	0.77	94.1	7.78	1.59
11. Cherry	0.15	0.01	0.002	0.15	0.05	0.092	77.0	4.53	0.92	119.0	12.5	2.55
12. Hibiki	0.55	0.10	0.020	0.68	0.10	0.02	53.4	4.05	0.83	67.2	7.52	1.54
13. Ran	0.46	0.03	0.006	1.49	0.15	0.03	130.4	6.61	1.35	350.9	25.9	5.28
14. luna	0.0	0.008	0.002	0.0	0.028	0.006	124.7	6.24	1.19	159.4	22.5	4.28
15. Epoch	0.40	0.19	0.039	1.31	0.19	0.039	175.7	11.8	2.41	271.7	26.1	5.32
16. mf	1.21	0.031	0.003	3.32	0.035	0.007	113.9	2.94	0.60	167.3	6.95	1.42
17. hi-lite (Deluxe)	0.66	0.083	0.017	1.86	0.14	0.028	51.8	4.03	0.82	90.3	9.16	1.87
Average(Filter Cigarettes)	0.634	0.103	0.021	1.75	0.288	0.064	83.5	4.57	0.94	138.5	12.5	2.53
18. hi-lite		0.083	0.017		0.27	0.056		2.75	0.56		6.80	1.39
19. hi-lite		0.12	0.024		0.46	0.093		4.37	0.89		9.68	1.98
20. hi-lite		0.15	0.031		0.71	0.15		3.58	0.73		8.51	1.74
21. hi-lite		0.14	0.029		0.40	0.082		5.17	1.05		11.93	2.44
Average	0.61	0.03	0.026	2.06	0.42	0.088	79.2	5.44	1.09	131.1	13.38	2.09

6-2 pp'-DDT の残留量

国産タバコの葉に含まれる pp'-DDT 量はタバコの種類によって大きな差がみられ、最少値はロングピースの 39.8 μg 、最高値はエポックの 175.7 μg を示し、平均 79.2 μg であった。一方外国産では LARK の 68.9 μg が最少値で SENIOR SERVICE は 224.0 μg と最高値を示し、平均 104.3 μg であった。

国産タバコの煙に含まれる pp'-DDT 量についてみるとフィルターのないタバコ、すなわちしんせい、スリーエー、ピースの 3 検体の平均値が 11.44 μg を示し、またハイライトなどのフィルター付のタバコは 14 検体で、これらの pp'-DDT 量は平均 4.57 μg であった。煙を 1 m^3 に換算した場合の mg 数は前記フィルターなしのタバコで平均 2.19 mg、フィルター付では平均 0.94 mg で 1 m^3 中 1 mg をこえる検体は 17 例

中 6 例 (35.3%) もあり、特にショートピースの 2.96 mg が最高値を示した。外国産のフィルターなしの 4 検体は平均 11.54 μg 、フィルター付では 0.96~8.42 μg の pp'-DDT がみとめられ平均 6.38 μg であった。煙を 1 m^3 に換算した場合の mg 数では、フィルターなしで平均 1.89 mg、フィルター付で平均 1.26 mg で 1 m^3 中 1 mg をこえる検体は 20 例中 16 例 (80%) もみられ、さらに 1 m^3 中 2 mg 以上の値を示したものが 2 例認められた。

6-3 総 DDT の残留量

国産のタバコの場合、葉の中の総 DDT 量は平均 131.1 μg で、煙中のそれは平均 13.38 μg であった。このうちフィルターのない、しんせい、スリーエー、ピースの煙中に含有される総 DDT の平均値は 23.2 μg で、フィルター付のものは 12.5 μg であり、さらに煙

Table III Contents of BHC and DDT in Various Commercial Cigarettes and Smokes

Foreign Cigarettes	γ -BHC per 20 pieces			Total BHC per 20 pieces			p,p'-DDT per 20 pieces			Total DDT per 20 pieces		
	Ciga- rettes		Smoke	Ciga- rettes		Smoke	Ciga- rettes		Smoke	Ciga- rettes		Smoke
	μ g	μ g	mg	μ g	μ g	mg	μ g	μ g	mg	μ g	μ g	mg
(A) Cigarettes												
1. Gelbe Solte	2.13	0.35	0.055	3.83	0.60	0.094	105.2	9.56	1.52	150.9	22.1	3.51
2. Chesterfield (King)	0.60	0.16	0.025	0.80	0.24	0.037	85.6	10.2	1.62	233.2	57.9	9.20
3. Senior Service	0.72	0.0	0.0	0.94	0.0	0.0	224.0	10.8	1.93	593.4	44.1	7.88
4. Pall Mall	0.32	0.19	0.03	1.73	0.24	0.037	132.1	15.6	2.47	411.8	68.7	10.90
Average (Cigarettes)	0.94	0.18	0.028	1.88	0.27	0.042	136.7	11.5	1.89	347.3	48.2	7.87
(B) Filter Cigarettes												
5. Pall Mall	1.35	0.36	0.064	1.46	0.36	0.064	105.4	8.27	1.48	311.0	37.0	6.60
6. Old Splendor	1.02	0.11	0.022	1.98	0.19	0.038	75.7	0.96	0.20	155.4	3.95	0.81
7. Kent	0.99	0.17	0.034	1.87	0.29	0.058	82.9	4.04	0.82	313.2	19.4	3.95
8. Dunhill	0.89	0.48	0.062	1.27	0.67	0.086	100.1	4.44	0.58	428.6	15.7	2.04
9. Kool	0.62	0.14	0.033	0.85	0.20	0.048	108.0	7.09	1.69	333.9	27.7	6.59
10. Lucky Strike (King)	0.69	0.21	0.051	0.76	0.24	0.058	114.7	8.42	2.00	330.9	38.2	9.10
11. Viceroy	0.09	0.05	0.01	0.09	0.05	0.01	89.4	6.50	1.33	257.2	29.2	5.96
12. Paxton	0.51	0.09	0.018	0.53	0.18	0.036	113.1	6.99	1.43	338.1	13.7	2.79
13. Benson and Hedges	0.51	0.046	0.007	0.51	0.046	0.007	112.7	8.64	1.37	383.4	38.6	6.13
14. Marlboro	0.70	0.00	0.00	0.89	0.00	0.00	102.5	6.10	1.09	333.5	26.3	4.70
15. Rothmans (King)	0.59	0.069	0.011	0.62	0.13	0.021	84.1	6.50	1.03	223.3	24.6	3.90
16. Philip Morris	0.93	0.099	0.02	1.12	0.16	0.032	95.5	7.09	1.45	315.8	32.9	6.70
17. Lark	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	68.9	4.48	0.91	175.6	18.6	3.79
18. Salem	0.90	0.046	0.008	0.99	0.15	0.027	73.0	7.09	1.35	176.3	34.5	6.56
19. Winston	1.03	0.18	0.036	1.11	0.18	0.036	102.1	8.30	1.69	283.3	38.0	7.76
20. L and M	0.35	0.058	0.014	0.37	0.13	0.03	111.8	7.09	1.69	353.7	34.6	8.23
Average (Filter Cigarettes)	0.70	0.13	0.004	0.90	0.186	0.034	96.24	6.38	1.26	294.6	27.1	5.25
Average	0.75	0.14	0.025	1.09	0.20	0.03	104.34	7.41	1.38	305.1	31.29	5.85

を 1 m^3 に換算した場合の mg 数はフィルターなしの煙では平均 4.51 mg , フィルター付のそれは 2.53 mg であった。外国産タバコの葉には平均 $294.6 \mu\text{g}$ の総 DDT が含有され, また煙中にはフィルターなしで平均 $48.2 \mu\text{g}$, 1 m^3 に換算した値は平均 7.87 mg であった。これに対しフィルター付では, それぞれ平均 $27.1 \mu\text{g}$, 1 m^3 中平均 5.35 mg の含有量を示した。 1 m^3 中に換算した場合の mg 数は Pall Mall が最も高く 10.9 mg も含有し, 米国の空気許容基準 1.0 mg をこえるものは, Old Splendor 1 例をのぞいた全例であることが認められた。

煙中の総 DDT 平均含有量に対する pp'-DDT の平均含有量の百分率を求めると, 国産では 40.7% , 外国産では 23.7% となり, 外国産の方が国産のものより pp'-DDT を含有する割合の小さいことが認められた。このことは pp'-DDT 以外の DDT 系農薬すなわち

pp'-DDT の分解によって生成される pp'-DDE あるいは pp'-DDD などの含有する割合は外国産の方が高い値を示している。

7. 考 察

今回検討した国産紙巻タバコ 17 銘柄および外国産紙巻タバコ 20 銘柄について分析した結果, すべてのタバコの葉から予想されたとおり, かなり大量の DDT 系農薬および若干の BHC 系農薬が検出されたが, タバコのきびしい栽培の規制という特殊事情からみて当然のことと考えられる。しかしスモークキングマシンを使用して喫煙時とほとんど同じ条件で吸入を行ない捕集した煙中からもこれらの農薬が検出された。これら塩素系農薬の毒性および, その残留性については広く知られているところであるが, 特に今回のようなタバコの場合には, その習慣性により長期間にわたって吸入

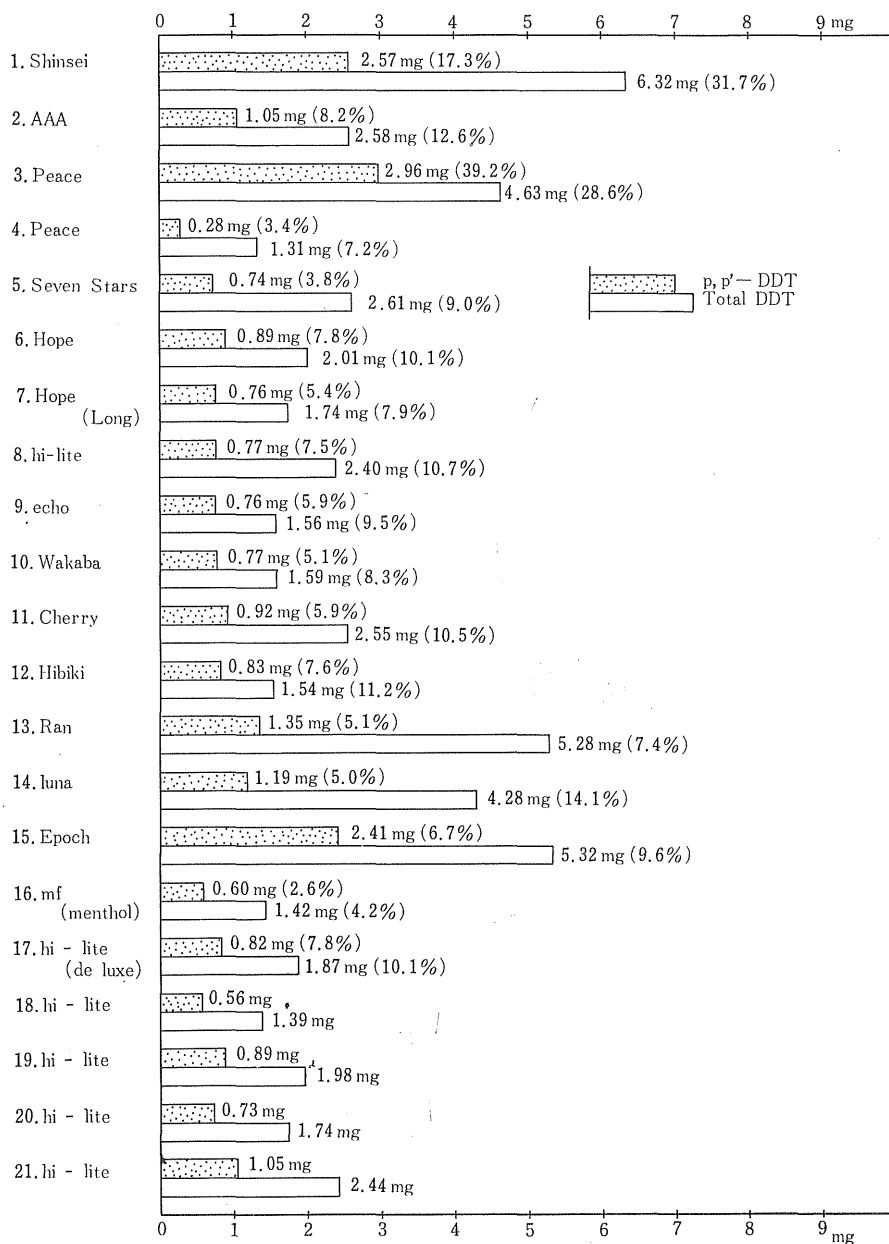


Fig 2. Contents of p,p'-DDT and Total DDT in Smokes of Domestic Cigarettes (mg/m³)

され、煙中の残留農薬は微細な粒子となって直接呼吸器を通し体内に取り込まれると同時に蓄積されることも充分考えられる。しかしながら我国をはじめ、他の国においてもタバコ中の残留農薬に関する規制は全くなく、当然許容量も規定されていない。そこで、今回得られた分析結果の判定の指標とするために、米国空気許容基準を用いた。これによれば pp'-DDT の許容量は空気 1 立方メートル中 1.0 mg と規定されており、この基準を越える pp'-DDT をその煙中に含有す

るタバコは、Fig 2. および Fig 3. に示すとおり、国産で 17 銘柄中 9 銘柄 (35.3%)、外国産では 20 銘柄中 16 銘柄 (80%) にも達したことが認められた。

日本専売公社はタバコの栽培において現在まで使用されてきた BHC, DDT の使用量を昭和 46 年度からきびしく規制することになったが、収穫されたタバコが製品として市場へ出るまでには、2 年間に要するといわれており、また現在まで長期にわたって汚染された土壌の影響もあり、このような理由から、有機塩素系

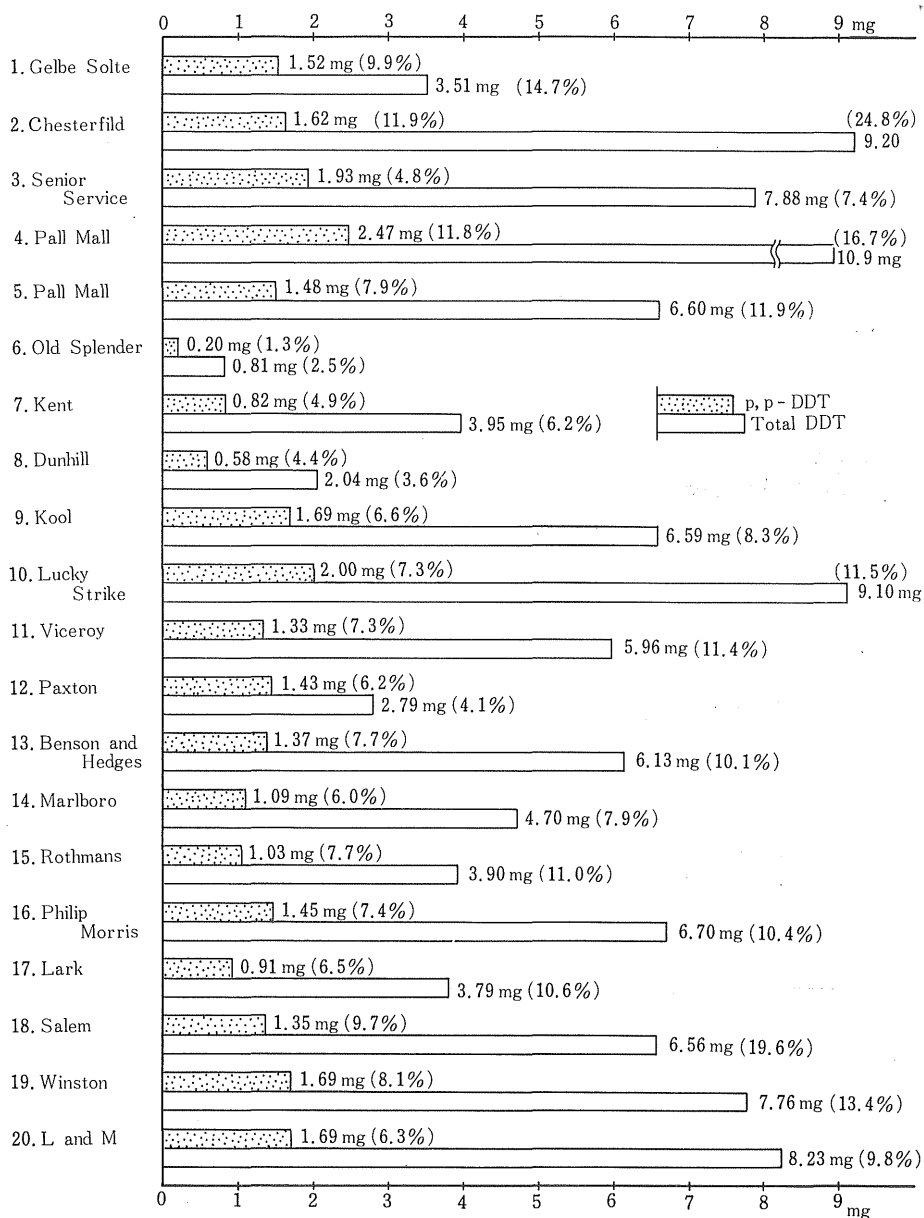


Fig 3. Contents of p,p'-DDT and Total DDT in Smokes of Foreign Cigarettes (mg/m³)

農薬に汚染された市販タバコが今後引き続いて市場に出回ることが当然考えられる。また今回の実験において、BHC、DDTのいずれもその含有量は、外国産の方が国産のものより多く、輸入品についても厳重に監視する必要を認めた。

つぎにフィルターの有無と煙中の農薬との関係についてみるため、Fig 2. および Fig 3. の () の数値を比較すると、p,p'-DDT については国産および外国産を含めたフィルターなしのタバコの平均値は14.7%

を示し、フィルター付の場合の平均値は6.2%で、フィルターなしの1/2以下となっている。

また総DDTについても、フィルターなしの平均値は19.5%、フィルター付では9.4%とこれも1/2以下を示している。このことから考えると、フィルターの効果はかならずしも否定できず、ある程度農薬の吸入を抑えることが認められた。

8. 結 論

試料は昭和45年12月から46年3月までに東京都内において購入した紙巻タバコで、国産品は、ロットを異にするものを含めて17銘柄21検体、外国産は20銘柄20検体で、総計41検体を用いた。

タバコの葉およびスモーキングマシンを用いて捕集した煙に含有する β -、 γ -BHC, pp'-DDE, pp'-DDD, op'-, pp'-DDTなどの有機塩素系残留農薬をA. O. A. C. 法に準じ、EC付ガスクロマトグラフィーによって分離定量を行なった。測定値については、日本人男子の1日平均喫煙本数が20本であるところから、すべて20本中の含有量として求めた。

1. タバコの葉に含有される BHC および DDT について検討したところ、 α - および δ -BHC を検出した試料は皆無であった。しかし γ -および β -BHC はわずかに検出され、 γ -BHC の平均値は、国産で $0.61 \mu\text{g}$ 、外国産で $0.75 \mu\text{g}$ を示し、さらに総 BHC の平均値は国産 $2.06 \mu\text{g}$ 、外国産で $1.09 \mu\text{g}$ であった。つぎに pp'-DDT の平均値は国産で $79.2 \mu\text{g}$ の外国産で $104.3 \mu\text{g}$ を示し、総 DDT の平均値は国産で $131.1 \mu\text{g}$ 、外国産で $305.1 \mu\text{g}$ であり、外国産タバコの農薬残留量は国産タバコより高い値を示すことが認められた。
2. タバコの煙に含有される BHC および DDT について検討したところ、 γ -BHC の平均値は国産で $0.13 \mu\text{g}$ 、外国産で $0.14 \mu\text{g}$ 、また総 BHC の平均値は国産で $0.42 \mu\text{g}$ 、外国産で $0.20 \mu\text{g}$ を示し、米国の空気許容基準に規定された 1 m^3 中の γ -BHC 量

0.5 mg を越えるものはみられなかった。

つぎに煙中に含有される pp'-DDT の平均値は、国産で $5.44 \mu\text{g}$ 、外国産で $7.41 \mu\text{g}$ 、また総 DDT の平均値は国産で $13.38 \mu\text{g}$ 、外国産で $31.29 \mu\text{g}$ と比較的高い値を示し、前記基準に規定された 1 m^3 中の pp'-DDT 量 1.0 mg を越えるタバコは国産の17銘柄中6銘柄、外国産の20銘柄中16銘柄認められた。

3. タバコはその習慣性により長期間にわたって吸入されるため、残留農薬も、ニコチン、タールと同様に体内にとりこまれ、人体に有害な影響を及ぼす恐れがあると考えられる。日本専売公社はタバコの栽培におけるDDTおよびBHCの使用制限を昭和46年度より施行しているが、今後も残留農薬に汚染された紙巻タバコが市販されるものと当然考えられるので、ひきつづきタバコ中の残留農薬を監視する必要があると云える。

文 献

- 1) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical chemists (1970)
- 2) 荒牧, 他: 衛生化学, 14, 262 (1968)
- 3) J. F. Thompson, A. C. Walker and B. F. Moseman: J. of Assoc. Offic. Anal. Chemists, 52, 1263 (1969)
- 4) Am. Conf. Governm. Industrial Hygienists: Arch. Environmental Health, 9, 545 (1964)

江戸川区水田性皮膚炎調査研究報告

野 牛 弘* 中 田 英 吉*
松 本 浩 一** 松 本 昌 雄**

The Research Report of the Paddy-Field Dermatitis in Edogawa-ku of Tokyo

Hiroshi Yagyū, Eikichi Nakada
Koichi Matsumoto, Masao Matsumoto

During two years from 1969 to 1970, the research on causative agents of paddy-field dermatitis in Edogawa-ku of Tokyo were carried out by the research team of Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health.

In 1969, several patients were examined and several kinds of shellfishes in the paddy-field were studied in search of their pathogenicity, and in 1970, shellfishes, sanitary insects and rats were studied. The protective means against these insects and animals were taken by the farmers prior to their work time, resulting in the eradication of incidence of the dermatitis in 1970.

We propose that the paddy-field dermatitis is not only caused by the skin penetration of cercaria, but also by the biting of horsefly larvae and by the contact with *Paederus fuscipes* Curtis.

I 緒 言

昭和43年4月公害研究所が設立され、東京都から公害追放を行うのにあたって科学的な調査データを提供することとなった。発足早々の公害研究所水質部に調査が命ぜられたのは、都下日野市万願寺付近に42年頃より発生している水田性皮膚炎の原因究明であった。この疾病は日野用水を使用している水田に入った人達の中から発生したものであり、また、この用水の流域には近年中小工場が多数建設せられ、この用水に排水を流し込み、用水汚染の恐れが多分にあると考えられた。そこで水田性皮膚炎を發した水田耕作者は各種工場から排出される不明の化学物質によって起こるもの

ではないかと考え、都に調査を要求したものである。公害研究所兼務であった著者らの一人である野牛は本調査の計画に参画し、まづ、水質検査を衛生研究所に依頼した。その結果は予期した用水の水質汚濁は否定され、その付近の他の用水に比してかえって良質の水であることが判明し、農薬等の使用量の減少から、水中生物の棲息が予想され、これらによる皮膚炎が考えられた。著者らの一人である松本は水中生物の調査を実施し、鳥型住血吸虫の中間宿主である巻貝の採集につとめたが、二枚貝のみの棲息を認めた。そして住血吸虫のセルカリアは発見出来なかった。しかし、この水田性皮膚炎は水中の物理化学的原因によるものではなく、水中生物によって引き起こされるものであろうと推定した。

この事件の翌年の44年5月に再び江戸川区松本町および南篠崎町に原因不明の水田性皮膚炎が発生した¹⁾。隣接県である埼玉県においても数百名の患者発生をみ、また鴨型住血吸虫岐尾セルカリアの検出をみている²⁾ので、衛生局予防部防疫課と合同で調査を開始し

*Environmental Health Department

**Water Microbiological Laboratory, Water Test Department
Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

* 東京都立衛生研究所 環境衛生部

** 東京都立衛生研究所 水質試験部水中微生物研究室

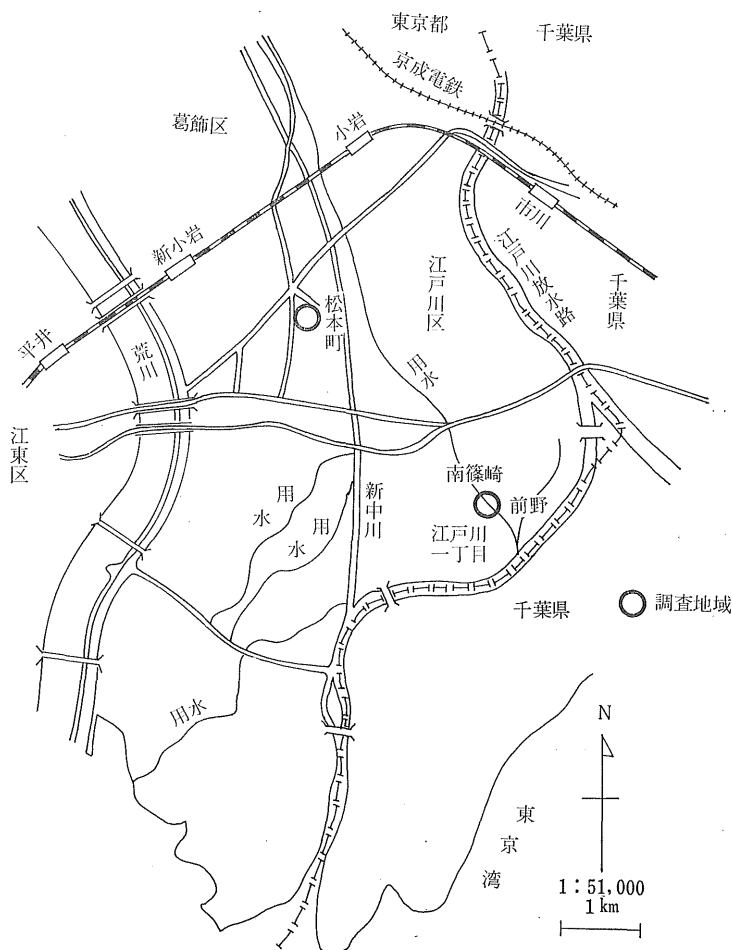


Fig 1. Research Area in Edogawa-ku

た。以後2年間にわたる調査の結果からは、この水田性皮膚炎が埼玉県のような単一の原因によるものではなく、いくつかの原因による皮膚炎が混存すると思われる。いづれにしてもそれらが水質汚濁による水質汚染物質の物理化学的刺戟によるものではなく、水中生物によるものであろうと結論づけざるを得なかった。

以下2年間の調査結果を報告する。

II 調査の概要

調査は江戸川区松本町及び南篠崎町の水田について水田性皮膚炎患者の視診、問診及び水田中の区動物の採集を、昭和44年と45年の二年にわたり実施した。

1. 調査回数

- 44年度第1回：6月11日：患者観察 貝類採集
 第2回：7月11日：患者観察 貝類採集
 第3回：9月19日：患者観察 貝類採集

第4回：9月22日：

患者観察 貝類採集

45年度第1回：5月12日：

昆虫・貝類採集 捕鼠

第2回：5月19日：

昆虫・貝類採集

第3回：6月23日：

同 上

第4回：7月20日：

同 上

第5回：8月25日：

同 上

第6回：9月30日：

同 上

2. 44年第1回調査結果

- (1) 調査の場所；江戸川保健
 所管内2ヶ所
 松本町及び南
 篠崎町
 (2) 調査日時；6月11日午
 前11時～後3
 時30分
 (3) 調査内容；ア、江東地
 区農業普及所
 長（近藤）現
 状説明
 イ、松本町発生田
 の視察、患者
 症状観察、採

水、貝類採集

ウ、南篠崎町 A1 氏より発病症状の聴取と発生田の説明及び採水、貝類採集

(4) 現地の人説明

ア、農業普及所長（近藤）談

南篠崎には数年来、水田性皮膚炎の発生がある。原因は江戸川から取っている用水の汚染度が高くなったためと考えられている。最近起った例は一昨年からではじまったもので、水田に入ると水にぬれたところに皮膚炎を起し、痒痒がはげしく、約一ヶ月間にわたり継続する。

季節は田植の時期と8月頃（正月に使うしめかざりの稲かり）に多く、中には稲たばをかかえて運んだため全身に痒痒疹を出した人もいる。特に天気の良い日に発病が多い。発疹の箇所は足のふくらはぎに多い。又水の落ちない田に多い。エビガニ、ドジョーなどは

いないようだ。ももひきはぬれるとその部分がかぶれる。

松本町のY氏は1週間前の6月5日に水田に入って2分位でカブレ、家に帰ってからはますますひどくなった。江戸川区には下水道はない。ムクドリ、カモの類はいいないようだ。農薬としては、バイジット粉剤(有機燐)、ガンマードル(BHC)、PCP(除草剤)等を使用しているが、農薬をまく前から発生する。従って農薬の影響ではない。

イ、松本町Y氏談

6月5日はじめ田に入って、2分もしないうちに右足関節部外側をさされた。そこから痒痒は次第にひりひり足首をとりまくようになる。右足のみ、この人は1人だけ素足で田に入った。田植時間は3~4時間、家に帰り風呂に入ったところ痒痒は一段とはげしくなった。痒痒部は水泡が出来、まもなく潰瘍となる。6月11日現在は足関節部をとりまいて発疹あとの落屑をみる。左足は異常なし。鳥はムクドリ、白さぎ、カモなどが時おり来る。

ウ、南篠崎 A₁ 氏談。田植で水田に入ると起る。

6月11日現在も田植時の皮膚炎あとが残っている。搔くと痒痒ははげしくなる。秋口になるとますますひどくなる。皮膚炎を起す水田は特定の箇所である。住宅にとりかこまれた500坪位の水田である。原因としては近くの住宅や商店から流す下水が用水に入り、その中の石鹼等のアルカリが皮膚について、痒痒を発するものかと考えている。

6月11日の A₁ 氏の発疹は両足関節部にあり、散在性の発赤疹でかけばかゆくなる。

南篠崎町の南の江戸川一丁目は南篠崎町よりはやく住宅商店街が出来て、その近辺の水田ではこのような皮膚炎が早くから起った。この南篠崎ではここ1~2年で周辺が開け、そして皮膚炎が起るようになった。

昔はここらは水田ばかりで、A₁ 氏の父親から水田に入る前には、よく皮膚をぬらして水田に入ることを注意されたものである。その当時は、肥料として人糞を使い、こえまけと言われたものである。鳥はまだ相当いる。

(5) 結 果

ア、症状 (ア)痒痒疹である。

(イ)足関節部に発疹する。

(ウ)時には全身に出る事がある。(秋稲かりの時)水のかかった所に痒痒疹が出来る。

(エ)松本町Y氏の場合は、はじめは1ヶ

所をさされ、それが広がった。

しかも片足のみ。

(オ)A₁ 氏の場合は両側である。

イ、発症原因；水田に入る事。水にぬれる事。

ウ、好発季節；5月~9月

エ、好 発 日；気温の高い日

オ、発症の特徴；

(ア) 住宅に囲まれた500~3000坪の水田である。

(イ) 水の落ちない水田である。

(ウ) サカマキガイ、ヒメモノアラガイが生息している(松本町の場合は死んでいた。)

(エ) 時にカモ、ムクドリ、白サギの飛来はある。

(オ) 住宅に囲まれてきたのはこの2~3年である。

カ、発症田植時の服装；(ア)Y氏は素足である。

(イ)A₁ 氏は地下足袋。

3. 44年第2回調査結果

(1) 調査場所；第1回と同一地点2ヶ所及び江戸川区教育委員会、区民部保健衛生係

(2) 日 時；44年7月11日 11.00~15.00

(3) 内 容；ア、発症田におけるサカマキガイ、ヒメモノアラガイの採取、松本町南篠崎町症状の聴取
イ、教育委員会給食保健係にて小中学校虫卵検査結果データ入手
ウ、区民部管理課保健衛生係にて鼠族対策の聴取。

(4) 細 部

ア、サカマキガイ、ヒメモノアラガイ；2地点において多数採集。南篠崎の貝と共に採取された水田水より有尾仔虫を発見。尾部は一本であるから日本住血虫鳥型吸虫のセルカリアとは異なる。

イ、症状の聴取；

(ア) A₂ 氏(主婦)談

水田性皮膚炎は9月頃稲かり頃が最もひどく農村婦人会等では9月頃になると会合の時には足の掻き合である。御主人(A₁氏)は田圃の周囲の家からの洗剤等のアルカリが田圃に残るのでそれにかぶれると言ってはいるが婦人会側では田圃に鼠が多いので鼠のシラミによる痒痒であると冗談を言い合っていると。A₂ 氏の意見では鼠による何かが原因と思うとの事である。

(イ) S 氏(主婦)談

南篠崎発生田の傍にあるS氏に鼠の発生状況を聴取する。鼠の発生はまわりに田畑があるので極めて多いものと思う。過日ねずみ取りをかけたところ一晚に8匹もとれ、内7匹は小型で10～15cm体長で灰色、1匹はドブネズミで大型であったと。

(ウ) H氏(主婦)談

また南篠崎発生田すぐ傍の農家H氏に皮膚炎について聴取、H氏水田は調査発生田の北側にあり、早稲であり9月に刈り入れを行う。刈り入れの際にはゴム長、地下タビを着用する。従って最近では皮膚炎を起さない。皮膚炎は秋口に多く、痒痒がひどく、下腿がはれ上って堅くなる。水ぶくれとなり、びらん面を作る。南篠崎より前野町の方が早くから発生したと。

ウ、小中学校虫卵検査データ

(ア) 表 1

小学校	蟻 虫 検 査		糞便虫卵検査	
昭和42年	受検者数 31,914	寄生率 12.0%	受検査数 31,502	寄生率 1.8%
" 43年	" 32,940	" 9.1%	" 32,779	" 0.7%
中学校				
昭和42年	受検者数 12,873	寄生率 2.2%	受検者数 13,874	寄生率 1.3%
" 43年	" 13,712	" 1.9%	" 13,146	" 0.5%

鞭虫寄生率は小学校0.5%、中学校1.0%で糞便虫卵検査寄生率の大半をしめる。

(イ) 横川吸虫

- a. 昭和42年 4名発見 一小岩第2小学校 1名
小松川中学校 2名
小岩2中 1名
- b. 昭和43年 2名発見 一西小松川小学校 1名
葛西小学校 1名
- c. 昭和44年 4名発見 一小松川小学校 1名
篠崎小学校 1名
" 中 " 2名

(ロ) その他の寄生虫

広節裂頭条虫 1名 二之江小学校

(ハ) その他皮膚炎の届出は1名位のものである。

エ、江戸川区鼠族対策

(ア) 農 協

年二回位野鼠退治を行う。

(イ) 区役所区民部保健衛生係

- a. 年二回位町会を通じて殺鼠剤を住民に配布
- b. 年1回2～3月頃に捕鼠器(パチンコ式)に

より捕鼠、分類を行なっている。

c. 43年2～3月の分類成績

- 2月 2,133箇所, 配置数 4710, 捕鼠数 898,
(どぶ856, くろどぶ0, くま40, くろくま2)
- 3月 3,850箇所, 配置数 4060, 捕鼠数 610,
(どぶ593, くま17)

4. 昭和44年第3回調査結果

(1) 発生田; 南篠崎町4丁目 所有者 I氏

発生田の特徴; ①500坪位の水田

②東西二方は道路, 北側はネギ畑。

南側機械工場。

③水はけ悪く, くるぶしまでぬかる。

④水温25°C

⑤サカマキガイ, オカモノアラガイ
ヒメモノアラガイ生息

(2) 発生患者; 3名いづれも30才代の女性。

症例 B₁; 両手背が腫張している。腫張のため皮膚は緊張し発赤を失って白くなっている。手背全体に痒痒が甚しい。さされたと思われる粟粒大の発赤丘疹1～2ヶ所を手背部位に認める。さされたのは3日前。足は膝までのゴム長靴をはいているので何の異常もない。

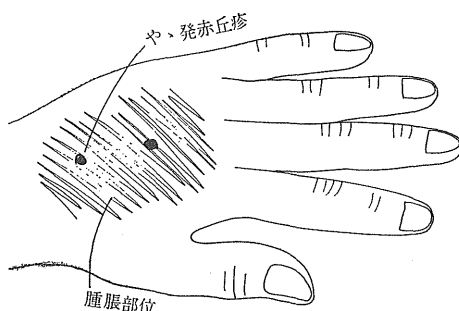


Fig 2. Case B₁

症例 B₂; 両足首から下腿全般に十数ヶ所の散在性発赤(小豆大)とそれを取りまく diffuse なうづら豆大腫張部分あり, 痒痒はなはだしい。

発疹の周囲には表面搔爬部位あり, さされたのは3日前である。

足首までのゴム足袋をはいているので足首から下は何ともない。

症例 B₃; 両足甲部に7～8ヶ所の米粒大の発疹丘



Fig 3. Case B₂



Fig 4. Case B₃

疹。かけば痒痒がひどくなる。

さされてから4日経過、発症田は症例B₁~B₂とは異なる。足袋は普通の地下足袋を使用した。

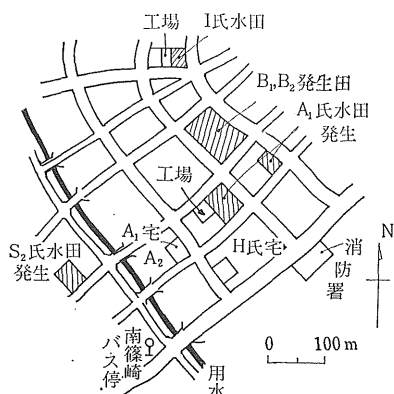


Fig 5. Research Area

(3) 発生原因

- ア. 田圃の水のついた処がかゆくなる。
- イ. 水がよくおちない田圃に発生。
- ウ. 発生する田圃は周囲に住宅、工場によりとり囲まれる。
- エ. 排水がわるい。
- オ. 田圃の周囲が土もりされ高くなっている。
- カ. 春夏秋にかけて発生する。
- キ. 10月になると少くなる。
- ク. 鼠が沢山おりネズミの糞を多くみかける。糞に白いカビがはえている。
- ケ. サカマキガイ、ヒメモノアラガイが多い。

(4) 病 因

- ア. 水につかった部位に出来るから水虫生物が原因であろう。
- イ. 空中をとび歩く昆虫類ではない。
- ウ. さし口らしいものは見られないが発疹は独立散在性丘疹。
- エ. 免疫はみとめられない。
- オ. 経過は1週間位。

カ. ゴムを通過しないが厚布地は通過する。

5. 昭和44年第4回調査結果

(1) 発生田水中生物採集

- ア. A₁ 氏北方水田
- イ. S₂ 氏 水田
- ウ. I 氏 水田 (南篠崎4丁目)

(2) 発生患者

症例 C₁; 前腕部に1ヶ所米粒大の丘疹(35才位女性)

" C₂;

"

症例 S₂; 45才位男性

ア. S₂ 氏水田は発生田1ヶ所をのぞいて土を入れて水はけをよくしてある。9月19日(金)今回は他の水田を終って最後に発生田が残ったが、発生田はほんの50坪位なので、わざわざゴム長をはくのが面倒とそのまま普通の地下足袋で入り稲刈りを行なった。仕事ですんで家に帰り風呂に入ったところ、次第に左足の甲がかゆくなった。しまったと思ったが痒痒は日々ひどくなり2~3日で膝下まで及んだ。現在(9.22)も非常にかゆい。

症状; 左下腿に線状に何本も連続的な発赤腫張硬結を示し痒痒はなはだしい。発赤腫張面をよくみると辺縁はギザギザがあり不正であり数本と思われる線状皮膚炎はいずれも連続していて1本からなっているようである。

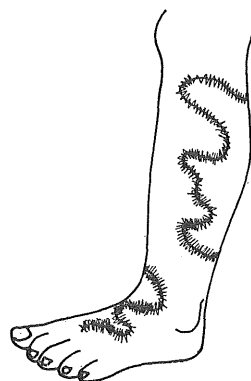


Fig 6. Case S₂ 線状皮膚炎

- ・ 病因; ①アオバアリガタハネカクシの幼虫が皮膚をはいまわったと考えてはどうか?
- ②線状皮膚炎は日々ひどく足首の方から膝下に進んできたのをどのように解釈するか?
- ③左足のみさされたのは左足から水田を歩くので左足がさきにさされるのであると。

6. 昭和45年第1回調査結果

(1) 昆虫捕捉

① S₂氏宅北側水田傍空地

5.12.17.00~5.13.07.30までブラックライト6W
扇風機付捕虫機(袋採集)により捕虫実施。

アオバアリガタハネカクシ2匹草叢において捕捉
した。

ブラックライトではアオバアリガタハネカクシは
捕捉出来なかった。

(2) 捕 鼠

S₂地区

A₁ // { パチンコ式捕鼠器60をかけ、B地区で3
C // { 匹のドブ鼠を捕捉した。
I // {

ネズミ No. 1, 330 g 肝腫大、肝寄生虫多数、腸
管寄生虫を認める。

No. 2, 195 g 脾腫大、腸管膜淋巴線腫
大、右腎寄生虫を認める。

No. 3, 115 g 肝寄生虫2種を認める内1
種は糸虫。

(3) 貝 類

A₁ } サカマキガイ }
C } ヒメモノアラガイ }
I } 地区、オカモノアラガイ }

単尾セルカリヤ数匹を認める。

手背にのせるも痒痒を生じない。

7. 45年度調査に際しては患者は一名の発生もせ
ず、専ら昆虫採集と水中貝類の採集に終始した。これ
は防護処置として、ゴム手袋、ゴム長靴の使用が徹底
したことが原因と考えられる。

III 水田性皮膚炎患者の症状分析

皮膚炎患者の発生は44年度に限られ、45年度には一
名も患者の発生がなかった。44年度に認められた症例
を分類すると次の三型に分けられる。

第I型 6月から9月にかけて発症し、特に稲の刈
り入れ時の9月が最もひどく、発疹は足首、着衣のぬ
れた部位(手背)に発生する。散在性発赤丘疹、痒痒
強く、特に入浴後は甚しい。搔爬によって水泡形成
し、二三日後には糜爛、潰瘍面をつくる。二三日して
痂皮を作り治癒に向う。搔爬しなければ、水泡形成は
ないが、痒痒は数日にわたって存在し、軽度の落屑を
おこして、1週間位で治癒する。潰瘍糜爛面を生じ、
細菌感染をうけた時には経過は長びく。ゴム長、ゴム
製地下タビをはけば発症をふせげる。この型にあたる

症例は A₁, B₁, B₂, B₃, C₁, C₂ である。

第II型 6~8月頃特定の水田に素足で入った時、
一侧の足首にチクリと軽い刺し感あり。脚絆を使用し
たものは刺されない。間もなく刺されたあたりに痒痒
感が出るが、一日の作業を終り、入浴すると痒痒感
はますますはげしくなる。痒痒部位は1側の足首に限局
し搔爬によって水泡形成し間もなく潰瘍が出来る。数
日にして潰瘍治癒し発疹あとは落屑をおこして治癒す
る。経過は約1週間である。この型にあたる症例はY
である。

第III型 地下足袋脚絆にて水はけの悪い皮膚炎好発
の特定水田に入る。一日の作業を終り、家に帰って、
風呂に入った後一足の足背が痒痒を感じず。痒痒は日々
ひどくなり、2~3日で膝下まで及んで、発疹は線状
にして、連続した発赤腫脹硬結で痒痒が甚だしい。発
疹線の辺縁はギザギザであり不整である。数本と思わ
れる線状皮膚炎はいずれも連続の一線と考えられる。
痒痒は約一週間継続して自然に治癒した。この型にあ
たる症例はS₂である。

以上の3型を認めることが出来たが、第I型に属す
るのが最も多く6名、第II型、第III型はそれぞれ1
名にすぎなかった。

IV 水田生息貝中のセルカリアの検査

1. 貝の採集場所および種類

イ) 日野市万願寺付近の水田(昭和44年7月8日)

ドブシジミ *Sphaerium lucustre japonicum*
(WESTERLUND)と思われる二枚貝数個体を採集
したのみで、巻貝類は認めなかった。

ロ) 江戸川区松本町の水田(昭和44年6月11日、7
月11日)

付近の水田には多数のサカマキガイ *Physa acuta*
(DRAPANAUD) およびヒメモノアラガイ *Bakerl-*
ymnaea nireidis (QUOY et GAIMARD) を認めた
が、皮膚炎発生の水田ではこれらの死殻を数個認
めたのみであった。

ハ) 江戸川区南篠崎町の水田(昭和44年6月11日、
7月8日、11日、9月19日、22日、昭和45年5月
12日、19日、6月23日、7月20日、8月25日、9
月30日)

皮膚炎発生の水田には多数のサカマキガイ、ヒメ
モノアラガイのほかかなりのオカモノアラガイ
Succinea lauta GOULD を認め、採集個体数はい
つも500~1,000を容易に採集できた。

2. セルカリアの検出

中試験管に清浄な井水約 10ml を注加し、その中にヒメモノアラガイまたはサカマキガイ、3～5頭ずつを入れ、綿栓をして室温に放置し、3～12日間セルカリアの游出を観察した。セルカリアの検出率はきわめて低く、南篠崎町産のもののみ11回の採集のうち、昭和44年7月11日(580頭中1頭)、14日(870頭中2頭)、昭和45年7月20日(710頭中3頭)の3回のみであった。1頭の貝からのセルカリアの游出は30～100尾であり、ほとんど試験管に投入直後に游出をみとめた。

3. セルカリアの形態

検出したセルカリアは写真に示したように単尾で、肝蛭 *Fasciola hepatica* (LINNAEUS) のセルカリアに類似した *Gymnocephalous type* であり、日本住血吸虫 *Schistosoma japonicum* KATSURADA、棕鳥住血吸虫 *Gigantobilharzia turniae* TANABE などの岐尾セルカリアとは明らかに異なる。

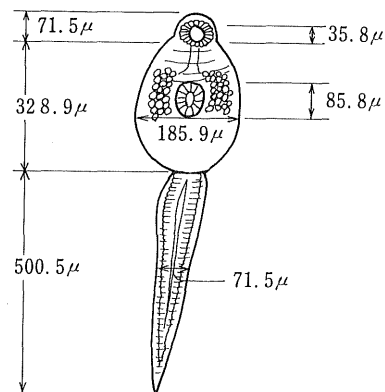


Fig 7. 単尾セルカリア

ホルマリン固定のセルカリア体各部の測定値は図のとおりである。

4. セルカリアの感染実験

イ) 昭和44年7月14日採取のセルカリアを5尾ずつ、固定した無毛マウス5頭の背面に水滴とともに滴加し、乾燥するまで静置し、マウスを飼育した。
ロ) 昭和45年7月20日採取のセルカリアを約50尾水槽中の水深約1cmの水の中に入れ、その中に無毛マウス5頭を一夜設置した後飼育をした。

以上、イ)、ロ) は動物舎にて約6～12ヶ月飼育したが、管理不充分のためほとんどが死亡後廃棄され、1頭のみしか剖検できなかった。死後剖検した1頭については特別な異状はみとめられなかった。
ハ) 昭和44年7月14日採取のセルカリアを人体の手背面に水滴とともに滴下し乾燥するまで観察したが皮膚炎の症状はみとめられなかった。

V 水田内および付近生息昆虫採集

水田性皮膚炎患者の中には、昆虫の刺口によって起るもの、又は昆虫の接触によって起るものもあるやに考えられるので、昆虫の採集を行った。

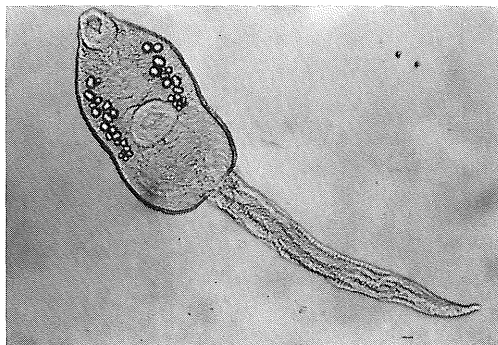


写真 1

昭和44年7月20日江戸川区南篠崎の水田産のサカマキガイから游出させたセルカリア(ホルマリン固定)

1. 採集の場所; 前記 A₁ 氏水田に限定
2. " 月日; 45年5月～9月までの間毎月1回実施
3. 採集方法; 昼間15,00～17,00の間水田のあぜ



写真 2

を中心に草叢中のアオバアリガタハネカクシ、アブの幼虫の採集につとめ、日没後ブラックライト(6W)、水銀燈(40W東芝)を点燈した。

写真2の如く採取を行った。

ブラックライト、水銀燈の直下には水盤をおき、水盤の中には中性洗剤0.1%水溶液を入れて、水中に落ちた昆虫を溺死せしめて採集した。昆虫採集成績は表2の通りであるが、全般的傾向として、水銀燈の方が数倍捕虫率が高いが、蚊の捕捉数はブラックライトの方が多い。アオバアリガタハネカクシの捕虫率はその他の昆虫と同様な傾向で水銀燈の方がブラックライト

表 2 ライトトラップ及び人によるアオバアリガタハネカクシその他の採集成績 江戸川区南篠崎, 1970

採 集 方 法	採集した昆虫の種類	5/12~13	5/19~20	6/23~24	7/20~21	8/25~26	9/30~10/1
ブ ラ イ ツ ク ト	(a)アオバアリガタハ ネカクシ	0*	0	0	2 $\left\{\begin{smallmatrix}\text{♀}1\\ \text{♂}1\end{smallmatrix}\right\}$	6 $\left\{\begin{smallmatrix}\text{♀}2\\ \text{♂}4\end{smallmatrix}\right\}$	0
	蚊 (Culex 属)	5*	不明	54	65	33	37
	その他の衛生害虫	(b)スカカ186*					
	総 計	(1230)*	(153)	(918)	(1380)	(1720)	(202)
水 銀 燈	(a)アオバアリガタハ ネカクシ			1	6 $\left\{\begin{smallmatrix}\text{♀}5\\ \text{♂}1\end{smallmatrix}\right\}$	22 $\left\{\begin{smallmatrix}\text{♀}15\\ \text{♂}7\end{smallmatrix}\right\}$	0
	蚊 (Culex 属)			11	16	28	51
	その他の衛生害虫					(c)ホルバトア ブ $\left\{\begin{smallmatrix}\text{♀}1\\ \text{♂}1\end{smallmatrix}\right\}$	
	総 計			(2570)	(6940)	(8510)	(682)
付近を 人の手 で採取	(a)アオバアリガタハ ネカクシ	成虫 2	成虫 2	0	♀1	0	0
	そ の 他		アブ幼虫 1	(c)ホルバトアブ幼 虫 (飼育羽化♀ と判明)			

注：数字は採集した昆虫の数を現わす

() はおよそその数を現わす

* 袋で採集したもの、その他 (ライトトラップ) は中性洗剤 0.1% の水溶液をタライに入れたもので採集

(a) *Paederus fuscipes* Curtis, 1826 アオバアリガタハネカクシ(b) *Culicoides arakawae* (Arakawa, 1910) ニワトリヌカカ ♀84, ♂5*Culicoides circumscriptus* Kieffer, 1918 イソヌカカ ♀57, ♂30*Culicoides pulicaris* (Linné, 1758,) ヨーロッパヌカカ ♀2 を含む(c) *Atylotus horvathi* (Szilady, 1926) ホルバトアブ (キイロアブとも言う)

よりも高くなっている。またアオバアリガタハネカクシは5月頃には草叢に認められたが6, 7, 8月と次第に夜間捕虫数が増加した。5月12日夜間捕捉されたスカカ186カのうちニワトリヌカカ♀84, ♂5, イソヌカカ♀57, ♂30, ヨーロッパヌカカ♀2の計178を東京医科歯科大学加納六郎教授に同定していただいた。

ホルバトアブの同定は、成虫で行ない、高橋³⁾の文献によった。なお、確認のため陸上自衛隊衛生学校高橋弘博士に標本を見ていただいた。

VI 考 察

44年度には水田性皮膚炎と思われる患者8名を観察した。これらの患者の症状分類を行うと3型に分けることが出来る。このうち第1型は既知水田性皮膚炎のセルカリア皮膚炎によく似ている。即ちセルカリア皮膚炎は、特定の水域に入ると一種の発疹性の皮膚炎を発する疾患で、動物寄生性吸血虫類のセルカリアの皮膚侵入によるものである。現在までに報告のあった地区は、島根県、隠岐島、山口県、広島県、岡山県、滋賀県、岐阜県、三重県、愛知県、福井県、長野県、神奈川県、埼玉県、青森県、北海道⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾など日本各

地である。主なセルカリア皮膚炎の症状はつぎのとおりである。皮膚炎の発生は水温17°C~23°Cになる頃に起り、セルカリアは湿った皮膚が乾くに従って侵入するのが普通である²⁾⁶⁾⁸⁾。すなわち、セルカリアの腹吸盤で皮膚に付着し、約5分で侵入を開始するが、4~10分すると痒痒感が始まり、セルカリアが侵入し終ると、侵入部に一定の皮膚反応が現われる。ついで浮腫を伴う急性炎が起こり、好中球および淋巴球、後に好酸球の浸潤が見られる。水が蒸発してしまうと、刺すような感じがあり、続いて急速にじんましん様の小疹が生じ、約30分で消失し、後に少数の小斑点を残す。然るに数時間経過すると、痒痒、浮腫が再び現われ、斑点は丘疹となり、時には膿疱に変ずる。このような症状が2日乃至3日で頂点に達し、1週間またはそれ以上かかって治癒するのであるが、屢々搔爬によって二次的感染をうけて、症状が複雑化することがある。また反覆感染の場合には反応が強いといわれている。

罹患時期は5月上旬より10月下旬までであるが、特に5月下旬から6月上旬の田植時期に多く、発症部位は下肢では膝関節より下方約3分の2の範囲の伸側および屈側の皮膚、上肢では主として、手背の皮膚に多

くは孤立した2mmから15mm位の丘疹が生ずる。中間宿主であるモノアラガイのセルカリア寄生率は、隠岐島の例では0.02~0.1%で作業者の罹患率は平均28.5%であり、モノアラガイを完全に殺滅したところでは、罹患者の発生がなかったとのことである。モノアラガイは乾田法で5万倍PCP-Na溶液で7日目には100%死滅するといわれている⁹⁾。

以上のセルカリア皮膚炎の記載症状は江戸川区水田性皮膚炎の第Ⅰ型に酷似する。ただし、江戸川水田性皮膚炎は、秋口に多いのにくらべて、セルカリア皮膚炎は、5月下旬から6月上旬の田植時に多いといわれている。セルカリア皮膚炎には大別すると二種類があり、一は鴨型住血吸虫セルカリアによるものであり、他は棕鳥住血吸虫セルカリアによるものである。前者は田植時に非常に多いと言われており、また春、夏、秋を通じて発生するのは棕鳥型住血吸虫セルカリアによるものといわれている⁹⁾。以上よりして、江戸川区水田性皮膚炎の第Ⅰ型は、発生部位、発生時期、散在性丘疹、瘙痒がはげしいこと、経過が長期にわたること、刺された時を意識しないことなどより、棕鳥型住血吸虫セルカリアによるものではないかと、推測するものである。

第Ⅱ型に類似するものとして、小川¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾らの記載による水田中のアブの幼虫による皮膚炎が考えられる。アブの幼虫の刺咬症は、素足で水田に入るとまづ、刺し口に電撃痛を感じ、或いは灼熱した金属が皮膚に触れたような感じがするなどの訴えが多く、思わず手や足を泥中から引き抜いてみると、稀に虫が皮膚に喰い付いたままぶらさがっていることもあるという。そして局所には小さな刺口や小溢血点を残し、間もなくそれを中心に丘疹、発赤、腫脹などを生じ、やがて強い瘙痒感に変る。瘙痒感は5分から15時間にはげしく瘙痒感の消失までの時間は30分から7日間にわたると。また掻爬のため各様の皮膚症を招来した例もあるという。実験的には、症状や経過に、かなり個人差があることも明らかで、個人の感受性あるいは免疫性などの外に、本幼虫から注入されるある種の毒液の質や量などが、種類によって異なることも考えられる。アブの幼虫は一般に土の硬い本田より、一年を通じて、泥深い苗代の方に多発し、従って本刺咬症の発生は苗代の方に高い頻度で発生すると。この江戸川区水田性皮膚炎の発生田はいずれも泥深い水田であり、年中水はけの悪い水田である。第Ⅱ型は素足で水田に入って、数分で刺された。一方脚絆、地下足袋を着用したものは刺されなかった。また片足のみさされたこ

とも、セルカリアの数に比べてアブの幼虫は、数少いであろうし、両足をさすよりも、片足をさすことが起こりうることである。たださされた時の痛みの強さは電撃的といわれるほどのものではなかったようである。しかし著者らは発生田の近くの水田のあぜでホルバトアブ幼虫を採集したことはアブ幼虫の刺咬症を否定することが出来ないものとした。

第Ⅲ型に類似するものとして、アオバアリガタハネカクシによる皮膚炎が報告されている¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾。アオバアリガタハネカクシは、1917年九大旭教授により九州地方独特の風土病的未知の特殊昆虫性皮膚疾患として初めて臨床面から取り上げられ、線状皮膚炎と命名された。

川島¹³⁾の報告によれば、1962年~1963年に関東地方に異常大発生をしたが、その翌年には天敵緑蘗菌のため「ア」は激減し平年並となった。

「ア」は¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾、水田、小川、川岸などの湿地帯を好み、1年に1世代乃至3世代で越冬は多数の成虫が集って集団で行なう。成虫は地表および雑草上で生活する。成虫は5月から10月頃まで燈火に飛来し、6、7月に最も多い。飛来時間は前夜半に多い。有毒物質は体液中含まれ、卵、幼虫、蛹、成虫のいずれの期にも存在し、皮膚炎を起しうる。皮膚炎は虫体を潰し、その体液が皮膚に付着した場合にのみ発生する。付着後2時間(潜伏期)で痒みを覚え、続いて発赤、小水疱を生じ、更らに化膿疹となり、疼痛、熱感を伴い、治癒には2週間を要し、色素沈着が長く残る。毒成分はPedrinである。川島¹³⁾は皮膚炎は虫体を潰さずとも発生すると述べており、虫が危険を感じると体のどこからか毒液(体液)を分泌するとしか考えられないとしている。それ故に虫のはったあとに線状の皮膚炎も起り得よう。45年度第1回の現地調査の際、水田のあぜの草叢の中にアオバアリガタハネカクシを発見したこと、片足のみ刺されたこと、線状皮膚炎であること、刺された時がはっきりしないこと、夜になって入浴後から激しい瘙痒感が起ったことなどは江戸川区水田性皮膚炎第Ⅲ型がアオバアリガタハネカクシの皮膚炎であると推測される。

また45年第1回調査に際し、ブラックライトにヌカカが相当多数採取された。ヌカカは、加納、田中¹⁰⁾によれば、吸血性ヌカカは、一般に昼間活動性で人家内に常住する種類は殆んどなく、野外において、その被害は甚しい。中には夜間活動性の種類もあり、蚊帳の目をくぐって激しく人を悩ます例が知られている。ヌカカは地方的に大発生して、人畜を刺し、野外での労

働が不能になったり、夜間睡眠が出来なくなったりすることが知られている。即ち肌着の下や毛髪の中えも潜入して刺咬し、刺咬時の痛みは少いが、後遺症、痒みが強いといわれる。江戸川区水田性皮膚炎は水にぬれた部分に主として生ずることから、採集されたイソヌカカ、ニワトリヌカカが吸血性であっても、特に関係がないと考えてよいのではなからうか。

今回の調査に際して、水田性皮膚炎の発生が、緒言で述べたごとく最初は工場からの化学的排棄物質、或いは家庭汚水の石鹸等の水質汚濁による。公害と考えられたのであるが、水質検査によって、すぐに化学的物質によるものではないことが判明している。即ち、その周辺の皮膚炎発生のない水田の水質に比して、皮膚炎発生の水田の水質は良質であって、水中医動物の棲息が予想されたのである。そして著者らは、この医動物が何であるかを追求することを重点として調査を進めた。その結果発症患者の症状から3型を分類し、最も多い第Ⅰ型は棕鳥型住血吸虫セルカリアによる皮膚炎であろうと推定した。そしてこの住血吸虫は、中間宿主として、ヒメモノアラガイを選んでいるものとする。また第Ⅱ型はアブの幼虫による刺咬症と推定し、第Ⅲ型はアオブアリガタハネカクシによる接触線状皮膚炎と推定するものである。本来ならば、もっと確証を握って推定しなければならないのであるが、44年の調査の結果より、江戸川地区水田性皮膚炎の原因が、主として水中医動物による皮膚刺戟であることを推定し、防護措置として、次のような通達が都衛生局によりなされた。即ち、ゴム手袋、ゴム長靴、ゴム地下足袋の使用が推称されしかも、田植、除草、稲かり作業前に、水田の水温を下げるよう、水を流しながら作業すること。ヒメモノアラガイを殺すために、作業前日にBHC10%乳剤を水深3cmを基準にした場合3.3m²当り2.5g(10坪当り25g)を適当にうすめて、あぜにまき、1日間水を落とさないこと。乾田直播栽培を行うこと。陸苗代にすること。などが示された。この指示はよく実行されたことにより45年度には1名の患者の発生もなかった。しかも、調査中の水田も日々周囲から埋め立てられ、宅地化しつつあり、いまや、これ以上調査を続け、その原因を確認する衛生行政上の意味がなくなってしまった。従って著者らも推定の段階で調査研究を終らざるを得なかった。

VII 結 論

44年、45年の2年間にわたり江戸川地区水田性皮膚炎を調査した結果、本症の原因は医動物によるものと

断定する。防護措置は著効を示し、45年度には患者は1名も発生しなかった。44年度に認められた8名の患者中6名はセルカリア皮膚炎と推定し、1名はアブの幼虫の刺咬症、他の1名はアオブアリガタハネカクシ接触線状皮膚炎と推定する。

付記 本研究は当研究所所内研究課題に指定され、所長辺野喜正夫博士の御指導を得たほか、衛生局予防部前防疫課長斎藤誠博士、埼玉県衛生研究所環境衛生部長小津茂弘博士その他の方々の御援助をたまわったことを厚く感謝する。

参 考 文 献

- 1) 水田性皮膚炎 (Cercarial dermatitis) について 東京都防疫情報(2), 21 (1969)
- 2) 加藤敏忠, 小津茂弘: 埼玉県の水田性皮膚炎—セルカリアによる感染実験— 防疫情報(8), 8 (1969)
- 3) 高橋弘: Tabanidae, Fauna Japonica, p. 63, 1962, Biogeograph. Soc. of Japan
- 4) 佐々学: 人体害害動物学, 3版, 152 (1969) 医学書院
- 5) 長谷川恩: 北海道における水田性皮膚炎の研究 (Ⅰ), 分布発生期および症状について, 北海道衛研報 (11), 57 (1960)
- 6) 水田性皮膚炎 (Cercarial dermatitis) の都の現状について, 東京都防疫情報(3), 36 (1969)
- 7) 長谷川恩: 北海道における水田性皮膚炎の研究 (Ⅱ), 分布発生期について (その2) 北海道衛研報 (12), 184 (1961)
- 8) " : " (Ⅲ), 病原体について, 北海道衛研報 (13), 218, (1962)
- 9) " : " (Ⅵ), 予防に関する基礎実験, 北海道衛研報 (13), 233 (1962)
- 10) 大鶴正満: 水田における虻幼虫刺咬症, 日本医事新報 (1695), 30, (昭31)
- 11) 小川滋夫: 水田アブ幼虫刺咬症の研究, 新潟医学雑誌, 74, (9), 1210 (昭39)
- 12) 大鶴正満, 小川滋夫: 水田アブ幼虫刺咬症について, 衛生動物 10, (1), 27, (1959)
- 13) 川島恂二: アオブアリガタハネカクシに関する知見, 環境衛生, 17, (1), 22, (1970)
- 14) 加納六郎, 田中寛: 新版医動物学, 187, 續文堂 (昭41)
- 15) 鈴木猛, 緒方一喜: 日本の衛生害虫, 新思潮社 (1968)
- 16) 黒佐和義: アオブアリガタハネカクシの生活史に関する研究 (有毒甲虫の研究Ⅲ) 衛生動物, 9, (4), 245, (1958)
- 17) 加納六郎, 田中寛: 新版医動物学, 231, 續文堂 (昭41)

東京都民の血中および尿中鉛量について

野牛 弘* 橋爪 六郎* 秋山 和幸*
高橋利恵子* 池田 真悟* 長崎 護**
新保 進** 有働 亮二** 木塚 年子**

LEAD CONTENTS OF BLOOD AND URINE SAMPLED FROM THE RESIDENTS IN TOKYO METROPOLITAN AREA

Hiroshi YAGYU*, Rokuro HASHIZUME*, Kazuyuki AKIYAMA*,
Rieko TAKAHASHI*, Shingo IKEDA*, Mamoru NAGASAKI**,
Susumu SHIMBO**, Ryoji UDO** and Toshiko KIZUKA**

*Department of Environmental Health, Tokyo Metropolitan Research Laboratory
of Public Health

**Environmental Health Section, Disease Prevention Division, Bureau of Public
Health, Tokyo Metropolitan Government

Summary

In 1970, Bureau of Public Health, Tokyo Metropolitan Government carried out the screening for the detection of lead poisoning for the residents in the metropolitan area, The number of examined residents was over two thousands, but neither symptomatic nor asymptomatic lead poisoning was uncovered.

In the screening procedure, lead contents were determined by an atomic absorption spectrophotometric method coupled with wet ashing and dithizone-MIBK extraction.

The obtained data were computed and it was demonstrated that the median value and 95% upper limit were 11.9 and 29.2 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ of blood, and 9.1 and 28.3 $\mu\text{g}/\text{l}$ of urine. The median value of blood lead level of man was 4 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ greater than that of woman, but 95% upper limit of man and woman was identical, approximately 30 $\mu\text{g}/100\text{ g}$.

I 緒 言

昭和45年5月東京都新宿区牛込柳町において、民間団体の実施した集団健診により、鉛中毒と診断されたものが多数発生した。この原因として、牛込柳町が凹地であること、しかも自動車の交通渋滞が四六時中起こっていることから、自動車の加鉛ガソリン排気中の

鉛が大気中にこもり、鉛中毒を起こしたものと考えられた。

もし、加鉛ガソリンの排気中の鉛が原因であるとするれば、牛込柳町のみならず、都内全域、いや日本全国や世界の各都市に起こっていることとなる。文献¹⁾によれば、都市に限らず、文化の進んだ地球北半球の大気中には鉛が多く、グリーンランドの永久氷中の年代別鉛含有量は1940年以後急速に増加しつつあることが認められているし、また堀内等²⁾は、都市在住健康日本

* 東京都立衛生研究所 環境衛生部

** 東京都衛生局予防部 公害保健課

人の血中尿中の鉛量が増加していると、鉛公害の存在を暗示した。しかし、一方 Goldwater⁸⁾ は、世界15箇国の住民の血中尿中鉛量を測定し、正常人の血液中鉛量は 100 ml 中 15~40 μg であり、95% 上限界値は 50 μg 以下であるとし、平均値は 17 μg 、標準偏差値は 11 μg とした。また尿中鉛量は尿 1 l について 35 μg 、95% 上限界値は 65 μg と報告し、しかも国によって鉛量の増減はあるが、ニューギニアの原住民でも工業国の住民と同程度の鉛量であったと WHO に報告している。

都衛生局は都民の要望により、都内各地において、鉛害健診を希望者について実施し、受検査者は45年5月より46年2月までに延2,000名以上にも達した。しかし、各種の鉛中毒臨床検査にもかかわらず1名の鉛中毒患者も発見されなかった。

従って、この健診に際して測定された血中尿中の鉛量は正常人（鉛中毒でないもの）の生理値を示すものと考えるので、そのデーターを解析し、いわゆる健常都民の血中尿中鉛量の算出を試みた。

II 実験方法

1. 試験材料

血液は Disposable 注射器でヘパリンコーティング試験管に採血し、尿は一時尿を用いた。採尿ビン等は全て硝酸で脱鉛処理をして使用した。

検体の測定時には毎回標準検体2本を無作為に分析し、精度の管理をおこなった。

2. 血中尿中鉛定量法

鉛の微量測定法には、ジチゾン比色法⁴⁾⁵⁾、ポーログラフ法⁶⁾、原子吸光法⁹⁾ 等があるが、原子吸光法は比較的簡単な操作で測定できることから、これを検討した。

血液、尿の場合は灰化しないで溶媒抽出をおこなったり⁷⁾⁸⁾、あるいは高感度装置⁹⁾による直接分析は、未だ充分に検討されたとは言い難く、従って確立された方法により湿式灰化をおこない、松本ら¹⁰⁾の多量の鉄共存時の鉛定量法を準用し、ほぼ満足すべき結果を得た。

(1) 試 薬

硫酸、硝酸、過塩素酸および強アンモニア水：和光純薬高純度特級または鉛定量用を用いた。

30%クエン酸アンモニウム液：クエン酸ニアンモニウム（試薬特級）300 g を水に溶かして 1 l とする。

20%トリエタノールアミン液：トリエタノールアミン（同仁薬化製、いんべい用）20 g を水に溶かして

100 ml とする。

0.2% ジチゾン-メチルイソブチルケトン液（ジチゾン-MIBK）：ジチゾン（試薬特級）2 g をメチルイソブチルケトン [MIBK（和光純薬原子吸光用）] に溶かして 1 l とする。

チモールブルー試液：チモールブルー（試薬特級）100 mg をエタノール 100 ml に溶かす。

(2) 操 作

血液 10 ml を 200 ml のケルダールフラスコにとり、硝酸 15 ml、硫酸 2 ml および過塩素酸 2 ml により常法通り湿式灰化をおこなう。

尿の場合は 100 ml をとり、まず1/10量まで濃縮後同様処理する。

灰化液を 100 ml の分液ロートに移し、水約 10 ml ずつで数回洗い洗液を合せる。

30%クエン酸アンモニウム液 5 ml、20% トリエタノールアミン液 2.5 ml、チモールブルー試液3滴を加え、液が青色を呈するまで強アンモニア水を加え、全液量を約 50 ml とする。次に 0.2% ジチゾン-MIBK 2.5 ml を加えよく振りまぜた後、有機層を遠心分離し、原子吸光測定をおこなう。

別に鉛標準溶液（鉛 0~10 μg ）を用いて同様に操作して（灰化省略）得た検量線から鉛の量を求める。

(3) 原子吸光測定条件

装置：Perkin-Elmer 303 型原子吸光分析装置

波長：2170 Å

スリット：4 (1 mm)

燃料：アセチレン、圧力 0.56 kg/cm²、流量 5.5 (2.3 l/分)

空気：圧力 2.1 kg/cm²、流量 9 (28.1 l/分)

バーナー：Three-slot-burner, 10 cm

(4) 本法による鉛の回収率

血液および尿に鉛を添加してその回収率を求めたところ、平均98.2%の回収率であった。(Table 1)

Table 1. Recoveries of Added Lead

Sample	Lead added (μg)	Found (μg)	Recovery (%)
Blood 1 (10 g)	0	0.40	—
	0	0.47	—
	1.0	1.39	89.6
	1.0	1.41	94.3
	3.0	3.45	100.5
	3.0	3.38	98.1
Blood 2 (10 g)	0	0.75	—
	0	0.74	—

Sample	Lead added (μg)	Found (μg)	Recovery (%)
Urine 1(100ml)	1.0	1.81	106.5
	1.0	1.70	95.5
	3.0	3.51	92.1
	3.0	3.78	101.1
	0	0.42	—
	0	0.40	—
	1.0	1.47	106.0
	1.0	1.37	96.0
Urine 2(100ml)	3.0	3.50	103.0
	3.0	3.45	101.3
	0	1.20	—
	0	1.28	—
	1.0	2.18	94.0
	1.0	2.16	92.0
	3.0	4.32	102.9
	3.0	4.20	98.6
Average			98.2

Ⅲ 血中尿中鉛量測定値

1. 血中鉛量 45年7月より11月までに著者らの行った血中鉛量検査件数 704 例の鉛濃度度数分布は Table 2, Fig. 1 のとおりである。平均値は $13.80 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, 標準偏差値は $7.18 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ であるが、分布は対数正規分布を示している。従って血中濃度を対数で表わし横軸に、一方累積度数を求めて Probit⁽¹⁾ 表により Probit 変換を行い縦軸にとれば、測定値はほぼ直線に配列する。この測定値の回帰直線を求め

Table 2 Lead Content of Blood

$\mu\text{g}/100\text{g}$	Total	Male	Female
1	5	1	4
2	14	4	10
3	0	0	0
4	20	4	16
5	18	7	11
6	33	8	25
7	44	18	26
8	0	0	0
9	57	27	30
10	55	27	28
11	59	26	33
12	59	23	36
13	57	32	25
14	0	0	0
15	47	31	16
16	42	26	16
17	29	14	15
18	33	21	12
19	0	0	0
20	19	13	6
21	23	18	5
22	14	10	4
23	10	7	3
24	8	5	3
25	0	0	0
26	6	5	1
27	10	9	1
28	8	7	1
29	4	3	1
30	5	5	0
>30	25	16	9
Total	704	367	337

る。この回帰直線より求められた期待値から測定値の修正値を推定し、これについて回帰直線を再び求めれば $Y=4.23X+0.45\cdots(1)$ となる。(Fig. 2)

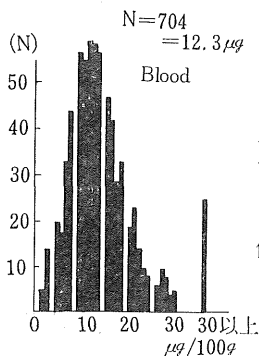


Fig. 1 Observed Distribution Curve Lead Content

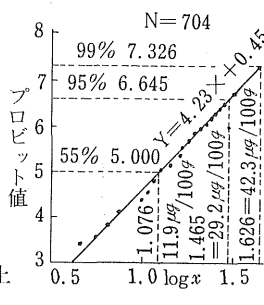


Fig. 2 Adaptation Test Log. Normal Distribution

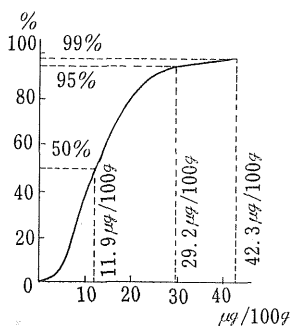


Fig. 3 Expected Accumulation Curve, Blood

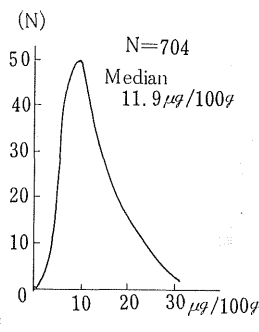


Fig. 4 Expected Distribution Curve, Lead Content

中央値 (50%, Probit 値 5.000) のX値は1.076 となり、この真数は11.9となる。つまり50%値は血中鉛量 11.9 $\mu\text{g}/100\text{g}$ である。

同様にして 95 %上限値を求めれば、血中鉛量 29.2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ となり、また 99% 上限値は 42.3 $\mu\text{g}/100\text{g}$ となる。

(1)の回帰直線より理論累積分布曲線を求めれば Fig. 3 となり、また理論分布曲線を求めれば、Fig. 4 となり、測定分布曲線と理論分布曲線はよく適合している。

同様にして、男性の血中鉛量の理論中央値は、13.9 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 95%上限値は 26.2 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 99% 上限値は 34.1 $\mu\text{g}/100\text{g}$ と求められた。

女性の血中鉛量の理論中央値は 10.1 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 95%上限値は 25.1 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 99% 上限値は、36.6 $\mu\text{g}/100\text{g}$ である。

2. 尿中鉛量 45年7月より11月までの間の測定値 639 例の鉛濃度別度数分布は Table 3, Fig. 5 のとおりである。平均は 11.28 $\mu\text{g}/\text{l}$, 標準偏差は 7.77 $\mu\text{g}/\text{l}$ である。

尿中鉛量も血中鉛量と同様に対数正規分布しており、血液と同様に Bliss の方法¹¹⁾により、理論中央値を求めれば 9.1 $\mu\text{g}/\text{l}$ となり、95 % 上限値は 28.3 $\mu\text{g}/\text{l}$, 99%上限値は 45.1 $\mu\text{g}/\text{l}$ である。(Fig. 6, 7, 8)

男性の理論中央値は 9.9 $\mu\text{g}/\text{l}$, 95% 上限値は 29.0 $\mu\text{g}/\text{l}$, 99%上限値は 45.3 $\mu\text{g}/\text{l}$ である。

女性の理論中央値は 8.2 $\mu\text{g}/\text{l}$, 95% 上限値は 28.2 $\mu\text{g}/\text{l}$, 99%上限値は 46.9 $\mu\text{g}/\text{l}$ である。

3. 血中尿中鉛量性別比較 性別により血中尿中鉛

Table 3 Lead Content of Urine

$\mu\text{g}/\text{l}$	Total	Male	Female
1	35	15	20
2	26	17	9
3	0	0	0
4	46	16	30
5	43	16	27
6	55	30	25
7	37	18	19
8	0	0	0
9	46	19	27
10	58	30	28
11	48	24	24
12	48	29	19
13	23	17	6
14	0	0	0
15	32	19	13
16	12	8	4
17	22	12	10
18	21	12	9
19	0	0	0
20	12	11	1
21	12	9	3
22	10	5	5
23	6	3	3
24	6	3	3
25	0	0	0
26	6	3	3
27	3	3	0
28	2	1	1
29	3	3	0
30	1	0	1
>30	26	12	14
Total	639	335	304

量には相違が認められる。即ち血中鉛量については、男性の平均値 $\pm$ 標準偏差値は $15.60 \pm 7.36 \mu\text{g}/100\text{g}$ であるのに、女性のそれは $11.84 \pm 6.43 \mu\text{g}/100\text{g}$ で

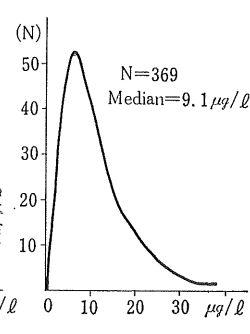
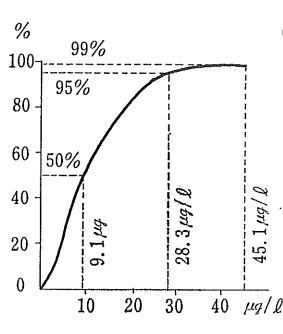
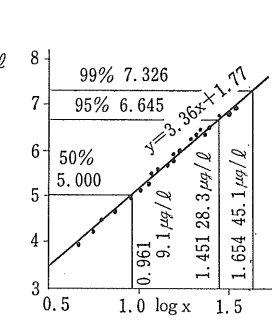
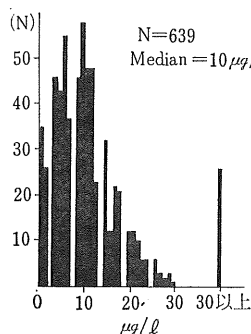


Fig. 5 Distribution of Lead Content in Urine

Fig. 6 Adaptation Test Log. Normal Distribution

Fig. 7 Expected Accumulation Curve

Fig. 8 Expected Distribution Curve

Table 4. Lead Content of Blood and Urine, Determinated by Bliss's Method

	Lead Content of Blood $\mu\text{g}/100\text{ g}$				Lead Content of Urine $\mu\text{g}/\text{l}$		
	Median	95%	99%		Median	95%	99%
All	11.9	29.2	42.3	All	9.1	28.3	45.1
Male	13.9	26.2	34.1	Male	9.9	29.0	45.3
Female	10.1	25.1	36.6	Female	8.2	28.2	46.9

Table 5. Comparison of Lead Content of Male and Female

	Lead Content of Blood $\mu\text{g}/100\text{ g}$				Lead Content of Urine $\mu\text{g}/\text{l}$		
	All	Male	Female		All	Male	Female
Mean	13.80	15.60	11.84	Mean	11.28	11.91	10.59
S. D.	7.18	7.36	6.43	S. D	7.77	7.66	7.83

ある。平均値の差の検定¹²⁾を行えば、t 検定により平均値は危険率 1% 以下で有意の差があり、男性の血中鉛量は女性のそれより高いことが推測される。さらに尿中鉛量については、男性の平均値 $\pm$ 標準偏差値は $11.91 \pm 7.66 \mu\text{g}/\text{l}$ であるのに、女性のそれは $10.59 \pm 7.83 \mu\text{g}/\text{l}$ である。平均値の差の検定を行えば、t 検定により平均値は危険率 5% 以下で有意の差があり、尿中鉛量も男性の方が高いことが推測される。

IV 考 察

ここに使用した原子吸光法は比色法やポーログラフ法よりも簡易化され、また第 2 鉄イオンの妨害も受けない。Selander ら⁷⁾は湿式灰化後ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム (APDC)-MIBK 抽出をおこなっているが、われわれの実験では鉄の妨害および、キレート剤としてジチゾンを使用した方が、APDC やジエチルジチオカルバミン酸ナトリウムよりも感度が高い傾向が認められた。

検査試料の血液・尿のいずれも可能なかぎり大量を使用することとして、血液では 10 g、尿では 100 ml を使用した。血中鉛量は平均 $14 \mu\text{g}/100\text{ g}$ 尿中鉛量は

平均 $11 \mu\text{g}/\text{l}$ であるから、検体試料中に含有される鉛総量は、血液では $1.4 \mu\text{g}$ 、尿では $1.1 \mu\text{g}$ と極めて微量である。鉛の 1% 吸収率濃度は水溶液で $0.45 \sim 0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり、また精度よく測定するためには 2 ml 以上の液量を必要とし、これだけの検体採取量では水溶液中に濃縮する方法は採用できない。そこで MIBK 抽出法により、1% 吸収率濃度 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の感度が得られ、誤差は 20% 以下と期待される。

以上は原子吸光分析装置のみの誤差であるが、この他に数多くの測定上の誤差が上積みされる。実際に標準血液試料を 2 本ずつ無作為に毎分析時に測定した結果は、ほぼ平均の鉛レベルにおいて変動率 19.8% であり (Table 6)、また Blank の値は約 $2 \mu\text{g}/100\text{ g}$ (1 l) であった、本法において大きな誤差を起し得るのは、操作中のほこり等による汚染、試薬や器具等から溶出する鉛、原子吸光装置の測定誤差であった。

さて現在の段階では、血中尿中の鉛量の測定はどのような方法でも相当な誤差が存在するので、健診時に鉛高濃度が検出されても再度の精密検査を実施し、鉛中毒と最終診断するには充分慎重な配慮が必要と考える。

Table 6. Reproducibility (for standard blood sample)

Date	1	2	3	4	5	6	Average
Lead found (x)	10.6	15.0	15.6	13.8	20.2	13.3	14.82
($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	12.6	17.8	19.2	12.2	17.2	12.1	
Average ($\bar{x}$)	11.6	16.4	17.4	13.0	18.7	12.7	
Range (R)	2.0	2.8	3.6	1.6	3.0	1.2	
Standard deviation : 2.94 $\mu\text{g}/100\text{ g}$							
Coefficient of variation : 19.8%							

45年度鉛害健診では幸いなことに鉛中毒と診断されたものが一名もなかったで、受検者全員は鉛汚染を特に受けていない健常人と考えてよいものと思う。従ってこの健診時の測定データより中央値および95%上限値を求めれば、これは健常人の生理値である。血中尿中鉛量の中央値および95%上限値は、血液は11.9 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, 29.2 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, 尿は9.1 $\mu\text{g}/\text{l}$, 28.3 $\mu\text{g}/\text{l}$ である。この値は堀内²⁾, 高田¹³⁾, 岡田¹⁴⁾, Goldwater³⁾あるいは1930年~1940年頃⁵⁾に求められた値よりやや低濃度になっているが、小松¹⁶⁾, 多田¹⁷⁾, Donovan¹⁸⁾の値に近似している。これら前者の諸賢が原子吸光法によって測定していないこと、またガラス器具・試薬等の精製が現在ほど充分でなかったであろうことから、極微量の鉛測定に際しては誤差を充分に修正しえなかったのではないかと考えたい。

最近血中尿中鉛量の測定は一般に原子吸光分析によっており、検出される鉛濃度も昔より低い値が各所で報告されている。このような現況から考えて、現在まで示されている平常値がやや高濃度であると思われるので、修正が必要と考える。この意味で著者らの東京都民鉛害健診結果より算出した正常値はこの修正値であるとする。

性別による血中鉛量の相違は著明であるが、理論分布曲線より求められた95%上限値、99%上限値は男女いずれも同程度の濃度となっている。即ち男女とも正常鉛濃度上限値は同様と考えてよく、血中鉛量は30 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, 尿中鉛量は同じく 30 $\mu\text{g}/\text{l}$ と言えよう。

V 結 言

著者らの試みた方法は、現行の血中尿中鉛量測定法としては、すぐれた方法と考えるが、測定誤差はまだ充分満足すべきものではない。しかし、これを上まわる測定操作間の鉛汚染があり得るので、血中尿中鉛量の測定法は試験操作過程の極めて簡単なものが好ましい方法と考える。

健診に際しての鉛高濃度検出は不測の鉛汚染によることが多いので、再度の検査が必要であり、また鉛中毒の診断には血中尿中鉛量以外の臨床検査結果を総合して慎重に判定すべきである。

東京都在住健常人の血中鉛量中央値・95%上限値は11.9 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ・29.2 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ であり、尿中鉛量中央値・95%上限値は 9.1 $\mu\text{g}/\text{l}$ ・28.3 $\mu\text{g}/\text{l}$ である。

性別による鉛量の相違が血中鉛量に認められるが、これは中央値が男性において 4 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 高いのであって、95%上限値には相違はなく、いずれも約 30 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ である。

文 献

- 1) 和田攻: "公害による疾患", 194, 南山堂(1971)
- 2) 堀内一弥, 堀口俊一, 石井順太郎: 日衛誌, 24, 145 (1969)
堀内一弥, 堀口俊一, 石井順太郎: 同上, 23, 134 (1968)
- 3) L. J. Goldwater, A. W. Hoover: Arch. Environ. Health, 15, 60 (1967)
- 4) 日本薬学会協定: 衛生試験法, 297 (1965)
- 5) 日本化学会編: 防災指針, 58 (1968)
- 6) 日本薬学会昭和46年度衛生試験法原案: 衛生化学, 17, 178 (1971)
- 7) S. Selander, K. Crammer: Brit. J. Industr. Med., 25, 139, 209 (1968)
- 8) 例へば
E. Bermann: Atomic Absorption Newsletter, 3, 111 (1964)
D. W. Hessel: ibid, 7, 55 (1968)
R. O. Farrelly, J. Pybus: Clin. Chem., 15, 566 (1969)
- 9) H. T. Delves: Analyst, 95, 431 (1970)
D. C. Manning, F. Fernandez: Atomic Absorption Newsletter, 9, 65 (1970)
- 10) 松本勲, 高林稔雄, 中村烈: 分析化学, 19, 771 (1970)
- 11) C. I. Bliss: Quart. J. Pharm. Pharmacol., 11, 192 (1938)
- 12) 福井三郎: "推計学入門演習". 117, 産業図書 (1960)
- 13) 高田勇: 阪市大医誌, 2, 26 (1952)
- 14) 岡田彰: 同上, 6, 992 (1957)
- 15) 小松富美男, 本田貞義, 清水健吉: 労働科学, 29, 446 (1953)
- 16) 多田治: 同上, 35, 401 (1959)
- 17) P. P. Donovan, D. T. Feeley: Analyst, 94, 879 (1969)

ウサギにおける種々鉛中毒のパラメター動向

大 井 玄* 前 田 ヒロ子*
加 納 多加子** 関 比呂伸*
秋 山 和 幸* 野 牛 弘*

BEHAVIORS OF VARIOUS PARAMETERS OF LEAD POISONING IN RABBITS

Gen OHI, Hironobu SEKI, Hiroko MAEDA, Takako KANO,
Kazuyuki AKIYAMA and Hiroshi YAGYU

(Department of Environmental Hygiene, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

要 約

家兎に種々の量の鉛を投与された場合の δ -アミノ
レブリン酸脱水酵素活性度、血中鉛濃度、および好塩
基性斑点赤血球の動態を調べた。

微量の鉛が投与された場合、もっとも敏感に反映さ

れるのは δ -アミノレブリン酸脱水酵素活性度の低下
においてみられる。またこの活性度は微量の鉛が体内
に存在する限り鋭敏に低下しつづける。第2に敏感な
パラメターは血中鉛濃度であった。好塩基性斑点赤血
球は、鉛中毒において鋭敏な方法とは認められなかつ
た。

Introduction

The incidence of acute lead poisoning in the industrially advanced countries has been greatly reduced in the wake of successful control of working conditions in the factories, improvement of living conditions and application of screening check for a community populace.

Presently our main concern is directed rather to the more chronic and insidious influence on the regional and general population because of progressively increasing contamination by this metal of global scale.¹⁾ Thus sophistication of method which can detect the presence of lead regarded as more than physiologic amount in the body has become of paramount importance. In this context the introduction of the most sensitive method so far discovered—activity of δ -amino-levulinic acid dehydrase (ALA-D)—to our armamentarium has urged to reexamine the concept of “lead poisoning”.

We attempted to observe the behaviors of various indices—activity of ALA-D, lead level of whole blood (Blood- P_b), counts of basophilic stippled red blood cells—of the rabbits which were administered various amounts of lead. Our study was designed to compare the sensitivity and specificity of these parameters in the two experiments: In

* 東京都立衛生研究所 環境衛生部

** 東京都立衛生研究所 細菌第二部

the first dosage varied from a small amount to a relatively large one, and in the second the effect of much less dosage was followed in the hope that infinitesimal amount of lead might accentuate the difference of the sensitivities of the adopted parameters.

The First Experiment

Method & Materials

Seventeen rabbits weighing from 2.8 kg to 3.8 kg were divided into four groups (Group A, B, C, D, Average weight 3.3 kg) and no manipulation was made until all of them started gaining weight 5 weeks after the purchase. A single shot of lead acetate was given subcutaneously in the following dosages : (Group A : 150 mg Pb/kg, B : 50 mg Pb/kg, C : 10 mg Pb/kg, D : 0 mg Pb/kg). An activity of ALA-D, B-Pb, counts of basophilic stippling were measured on days 0, 1, 3, 5, 7, 15, 22, 29, 35 and 43. Measurement of ALA-D activity was done according to "the simplified method" of Wada, et al.²⁾ Blood Pb was determined with Dithizone-Atomic absorption spectrometric method.³⁾ Basophilic stipplings were counted both coarse and fine type under the fluorescent light microscope following the staining with Acridine Orange.⁴⁾ A count was expressed in the grades ranging from— to + + + +.

Results

- 1) The ALA-D activity : The fall was already precipitous within 24 hours following the injection and the depression came to a level in 3 weeks. The speed and extent of the fall appeared dose dependent (Fig. 1). Within 24 hours the average ALA-D activity of A group rabbits came down to 10% of initial value, B group 13% and C group 23%.

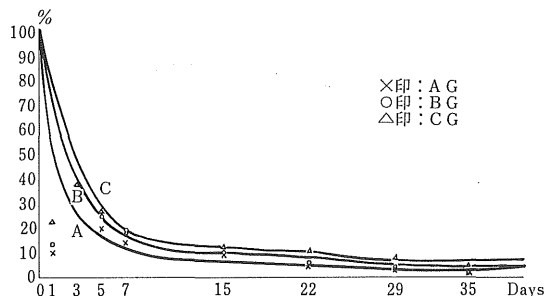


Fig. 1 δ ALA Dehydrase Activities

- 2) Blood Pb : The elevation of lead concentration began in 2 days following the injection and reached a plateau in 2~3 weeks. At the time of the peak elevations, the levels were again dose dependent : (A group : 79.8 $\mu\text{g/dl}$, B group 66.9 $\mu\text{g/dl}$, C group 28.7 $\mu\text{g/dl}$, D-control-group 1.7 $\mu\text{g/dl}$). (Fig. 2)
- 3) Basophilic stippling : Grading was given according to the following standard : 0 to 10 basophilic stippled RBC/10,000 RBC : —, 10 to 50/10,000 RBC : +, 50 to 100/10,000 RBC : ++, 100 to 150/10,000 RBC : ++++. Appearance of stippled cells was noted within 24 hours and a greatest count (++++) was noted in the subject # 1 of group A. Much less count of stippled cells appeared in

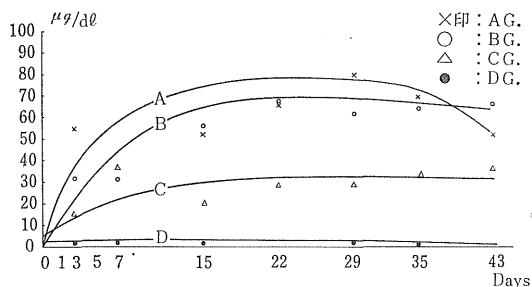


Fig. 2 Blood Pb Concentrations

Table 1 Basophilic Stippings

Days		0	1	3	5	7	15	22	29	35	43
Group & No.	1	—	≡	≡	+	—	—	+	≡	≡	≡
	5	—	—	≡	≡	+	+	+	≡	—	—
	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	6	—	+	—	—	—	—	+	≡	—	+
	14	—	—	+	+	—	+	—	+	+	+
C	3	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
	15	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+
D	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

groups B and C (Table 1).

The Second Experiment

The second experiment was carried out with an assumption obtained from the results of the first one that the difference of sensitivity of each index could be further obviated if much smaller amount of lead was given. Divided dose of lead stearate was orally administered for this purpose though an absorption rate of lead through the gastro-intestinal tract of the rabbits is not known. *(In human being, the absorption rate through G-I tract is approximately from 5 to 10%.)

METHOD AND MATERIALS.

Twelve rabbits weighing from 3.0 kg to 4.2 kg (Average weight 3.5 kg) were divided to 3 groups (group A', B', C', each group includes 4 rabbits). Five equally divided doses of lead stearate (total dose 100 mg Pb/kg for A' group, 20 mg Pb/kg for B', 0 mg Pb/kg for C') were administered over 5 consecutive days. The same Parameters as the first experiment were measured with the equivalent method on days 0, 1, 3, 5, 10, 17, 24, 31 and 38.

Results

1) The ALA-D Activity: The average fall of activity was as low as 21% of initial

*

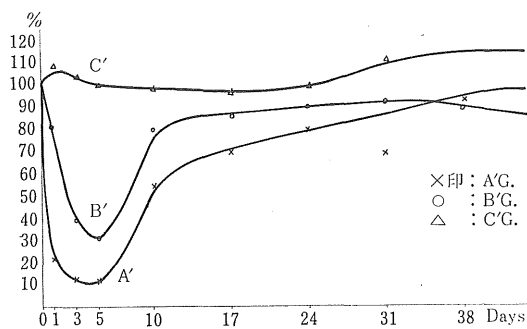


Fig. 3 δ ALA Dchydase Activities

value in group A', 80% in B' 24 hours after the first dose (A' : 20 mg Pb/kg B' : 4 mg Pb/kg) and reached the bottom on 5th day (A' : 11%, B' : 30%). A rapid recovery transpired thereafter and the activities were back to approximately 90% in both A' & B' group on 38th day. (Fig. 3)

2) Blood Pb : The level rose significantly following the first dose. However, the elevation was much less impressive compared to the fall of ALA-D activity : A' group rose from the initial level of 11.3 $\mu\text{g/dl}$ to 32.8 $\mu\text{g/dl}$ & B' group from 3.8 $\mu\text{g/dl}$ to 21.2 $\mu\text{g/dl}$ on 3rd day. (Fig. 4)

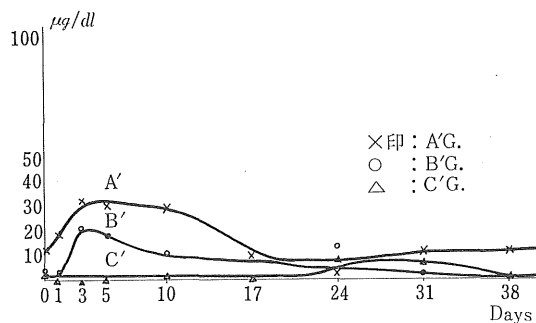


Fig. 4 Blood Pb Concentrations

Table 2 Basophilic Stippings

Days		0	1	3	5	10	17	24	31	38
A'	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	+	—	+	—	—
	14	—	—	—	—	—	—	+	—	—
B'	3	—	—	+	—	—	—	—	—	—
	7	—	+	—	—	—	+	+	—	—
	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C'	8	—	—	—	—	—	—	+	—	—
	12	—	—	—	—	+	+	+	—	—

BaSo/Ery.

— : 10/10000 > + : 50/10000 > ++ : 100/10000 >

The lead concentration came back to its initial level in 2 weeks in contrast to the ALA-D activity which was still significantly depressed at that time.

3) Basophilic Stippling : There was no significant elevation in counts. (Table 2)

Discussion

Hernberg observed in five men who had been previously unexposed to lead and undergone an occupational lead exposure that a rapid fall of ALA-D activity was followed by a gradual elevation of blood lead level.⁵⁾ When the equilibrium was reached, the two parameters showed precise reverse parallel relationship.⁵⁾ Our experiments confirmed in the rabbits that the invasion of infinitesimal amount of lead can be most sensitively noted in the fall of the ALA-D activity. The elevation of lead bloodlevel appears also sensitive. However if the amount of lead administered was minute enough, the elevated value itself falls within "a normal range".

In man, the absorption rate of lead orally taken is estimated as approximately 5 to 10%. If the effect on the parameter is assumed as proportional to the absorption rate, the absorption rate of the rabbit comes to the similar order : namely the fall of the ALA-D activity was roughly equal in the case that 10 mg of Pb was subcutaneously injected and in the case that 200 mg was orally administered.

The recovery of the activity began immediately following the termination of the oral administration. However, the activity was persistently depressed after subcutaneous injection and there was no sign of recovery except for one after 5 weeks elapsed. This could be accounted for by the fact that a subcutaneous injection caused tissue necrosis and frequently abscess which hindered rapid distribution, therefore excretion of lead.

It is notable that the blood lead level returns to the "normal level" in much earlier phase of the second experiment than the activity of ALA-D. A real explanation is yet unknown but presumably the ALA-D activity continues to be affected by an infinitesimal amount of lead which does not cause the appreciable elevation of blood Pb level but still is continuously released into the blood stream out of the tissue pool.

As already noted by other workers, the sensitivity of basophilic stippling for lead invasion is clearly inferior to the other two parameters.⁶⁾ The appearance of stippling is also known to depend on multiple factors ; staining method, drugs, time of drying slides, etc. We have noticed that male rabbits tend to have higher counts than the female even before lead administration. The statistical significance, however, cannot be proved out of this limited number of the materials.

Though the ALA-D activity is a sensitive indicator of saturnine influence, a comment should be made on its specificity. Nakao et al measured the ALA-D activity in a variety of diseases but found no inhibition except in lead poisoning.⁷⁾ Nikkanen found that mercury and copper are markedly inhibitive in vitro but manganese is not. Other metals such as calcium and magnesium are slightly inhibitive in vitro.⁵⁾

Conclusion

When a minute amount of lead was administered to the rabbits, an activity of δ

amino-levulinic acid dehydrase was most sensitively inhibited and the recovery transpired most slowly. The elevation of blood lead concentration was next sensitive and appearance of basophilic stippling is not a reliable index. We believe that the ALA-D activity can be used as a valuable method to screen and follow the influence of minute amount of lead.

References

- 1) 室住正世 : 化学の領域, 23, (4) 75-80 (1970)
- 2) Wada, O. et al : Asian Medical Journal, 13, 581 (1970)
- 3) In Press, Annal Report of Tokyo Metropolitan Research Laboratories : 22 (1971)
- 4) Keller, C. J. et al : Folia Haematologica, 52, 241 (1934)
- 5) Hernberg, S. et al : International Conference on Chemical Pollution and Human Ecology Prague, Oct. (1970)
- 6) Rennert, S. et al : Asymptomatic Lead Poisoning in Chicago Clinical Ped., 9, 9-13 (1970)
- 7) Nakao, K. et al : Cli. Chim. Acta., 19, 319 (1968)

室内の温熱条件について

佐藤 泰 仁* 野 牛 弘*
両 角 清* 青 木 実*

THERMAL CONDITIONS IN THE INDOOR ENVIRONMENT

Yasuhito SATO, Hiroshi YAGYU, Kiyoshi MOROZUMI
and Minoru AOKI

*(Department of Environmental Hygiene, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

Summary

The optimum temperature for workers depends on metabolic rate of work, race, sex, age, clothing, climate of the districts and state of acclimatization.

Then we investigated the subjective-optimum temperature of indoor from the questionnaire of office workers. The results are as follows.

In summer, the effective optimum temperature ranges from 22°C to 23°C, while the optimum room-temperature remains between 25°C and 26°C.

In winter, the both optimum temperature are somewhat lower than in summer: from 19°C to 20°C and from 22°C to 23°C respectively.

When the floor temperature is higher than the room temperature, the effective optimum temperature especially for women tends to be lower the afore-mentioned ranges. It seems that many of workers at present would prefer Somewhat higher temperature than a decade ago.

There is general tendency that room temperature cooled too much in summer, it warmed too much in winter, again air current is little.

1. 緒 言

最近では超高層ビル等、数多くのビルが建設され、外観からみる印象は近代的で立派な様相であるが、人々がそこを人工の居住空間としても使用している空気調和と完備の事務所等がどういった環境状態を保ち、そこに勤務している人々がどういった自覚感をもっているかについては我々の関心のもとところであったので、ビル環境の実態調査と併行してアンケート調査を実施し、その温熱条件について若干の考察を得たので報告する

* 東京都立衛生研究所 環境衛生部

次第である。

また、昨年よりいわゆる「ビル管理法」が制定され、法的にも環境状態が注目されている今日である。

2. 調査方法

調査の対象は、仕事量中等度の事務作業従事者を無作為に選びアンケートに記入させた。夏期について男子 368 名、女子 212 名で、冬期は男子 399 名、女子 303 名である。調査時期は夏期（冷房期）として昭和 44 年の 6～7 月であり、冬期（暖房期）として昭和 44 年 12 月～昭和 45 年 1 月である。尚、実態調査は衛生試

験法の中の空気試験の方法による。

3. 調査結果及び考察

I 夏期について

室内の実態をみてみると表 1 の如くであり、それに

Table 1 Selected environmental conditions indoor and outdoor in Summer

		month	7	8	Average
		Condition			
Indoor	Temperatuue	°C	25.4	25.9	25.6
	Humidity	%	54.0	48.3	51.2
	Aircurrent	m/s	0.094	0.102	0.098
	Effective temp	°C	22.4	22.8	22.6
Out-door	Temperature	°C	30.3	30.4	30.4
	Humidity		60.3	58.1	59.2

対しての訴え考（温熱感）は表 2 である。室内は外気に比べ温度湿度とも 2 割程小さくなっている。これは 6 年前と比べると 1 割小さくなっており以前にまして室内が低温度になっていると思われる。表 2 より、男女共低湿度含めて約 40% の人が平均値 25.5°C を丁度よいと答えており、平均値に 0.5~1°C プラスすると約 40% の人が「やや暑い」と答えている。男女別にみると丁度よい 40% のうち男子が 26% 女子が 14% であるが、「やや暑い」の答えになると男子が約 30% を占め、女子は 10% 以内であり、男女差をみいだすとすればこの辺にあるものと思われる。

次に感覚温度（温度、湿度、気流により左右される）よりみてみると温熱感および快適度との関係は図 1、図 2 の如くである。温熱感では、男子は 22°C (ET)(21.5°C~22.4°C の範囲) は約 50% の人が「丁度よい」と答えているが 23°C (ET) になると逆に

Table 2 The relation ship between the subjective sensation and the average of thermal conditions in the cooling room

thermal Condition	Subjective Sensation		Cold		Cool		Comfortable		warm		hot	
	Sex		male	female	male	female	male	female	male	female	male	female
Total percentage %			2.1		15.5		39.0		37.2		6.0	
Sex percentage %			0.2	1.9	6.2	9.3	25.5	13.6	28.0	9.1	3.4	2.6
Dry temperature °C			22.6	24.7	24.7	24.9	25.4	25.5	26.1	26.7	27.4	27.7
Wet temperature °C			18.2	17.9	18.6	17.8	18.6	18.4	19.0	19.2	20.0	20.7
Air current m/s			0.160	0.105	0.118	0.098	0.085	0.085	0.095	0.090	0.092	0.118
Effective temperature °C			20.7	21.7	21.9	21.9	22.4	22.3	22.8	23.2	23.8	24.2

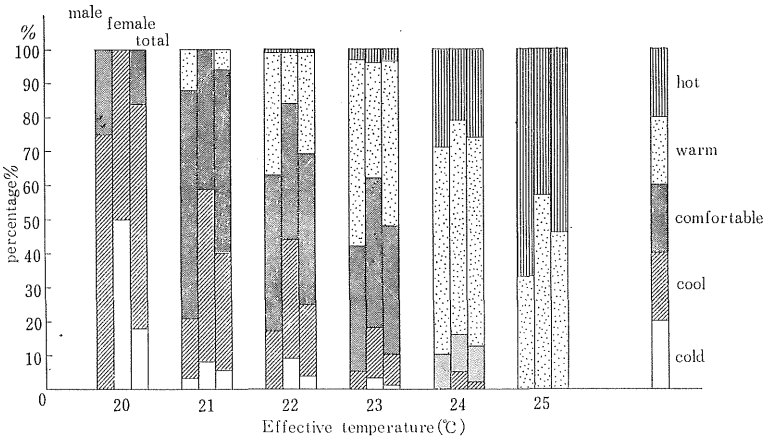


Fig. 1 Distribution of the thermal Sensation in the effective temperature

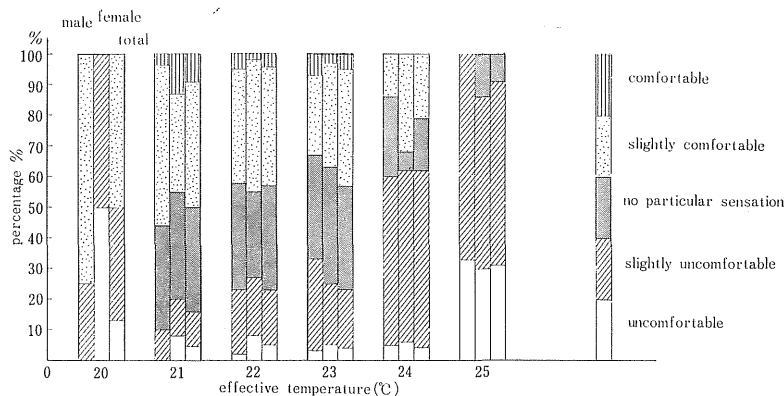


Fig 2 Distribution of the comfortable Sensation in the effective temperature

50%の人が「やや暑い」と答え、「丁度よい」という答は37%に減る。そして「丁度よい」との答40%のうち8割以上が22~23°C (ET) の範囲となっている。女子についても約8割が22~23°C (ET) であるが男子が22°C, 23°C とほぼ同じ比率であるのに対して、女子は22°Cが23°Cの約半分の比率となっている。次に快適度との関係では、快適度「普通以上」という答えは約70%あり、その中で22~23°Cが54%, ほぼ8割を占めている。男女別にみると両者共50%以上の人が22~23°Cを「普通以上」としているが、その比率は温熱感と同様である。

次に床上温と顔, 手, 足の感覚についてみると表3の如くである。顔についてみると, 564名のうち「ほてる」, 「ほてらない」の割合は1:5であるが, 「ほてる」という答えの床上温(累積の中点)は26°Cで, 「ほてらない」という答えの時の床上温は25°Cで1°Cの違いがみられる。

手について同じような見方をすると, 26°Cで「冷える」25°Cで「何ともない」と逆な現象であるが, これについてはそう感覚的にはっきりした自覚がないため, 何ともいえない回答と思われる。足についての「ほてる」, 「ほてらない」の割合は1:3で最も敏感な

Table 3 The floor temperature and Subjective sensation of the face, hands, and foots

floor temp. °C		22	23	24	25	26	27	28	29	30	Total
Face	Subjective Sensation										
	"hot"	0	0	9	25	21	33	8	0	1	97
	"not hot"	6	20	69	140	114	91	21	3	3	467
Total		6	20	78	165	135	124	29	3	4	564

floor temp. °C		22	23	24	25	26	27	28	29	30	Total
Hand	Subjective Sensation										
	"Cold"	2	7	9	22	31	39	8	0	2	120
	"not cold"	4	13	68	143	103	81	21	3	2	438
Total		6	20	77	165	134	120	29	3	4	558

floor temp. °C		22	23	24	25	26	27	28	29	30	Total
Foot	Subjective Sensation										
	"Cold"	3	7	18	31	29	24	2	0	0	114
	"not cold"	3	13	57	130	103	92	26	3	4	431
Total		6	20	75	161	132	116	28	3	4	545

Unit : Person

Table 4 Subjective sensation associated to the interrelationship between room temperature and floor temperature

	Subjective Sensation Condition	“ hot ”	“ not hot ”	Total
Face	Room tempera- ture> floor temp.	52	222	274
	Room = floor	9	44	53
	Room < floor	36	200	236
	Total	97	466	563

	Subjective Sensation Condition	“ Cold ”	“ not cold ”	Total
Hand	Room tempera- ture> floor temp.	29	237	266
	Room = floor	7	46	53
	Room < floor temp	30	210	240
	Total	66	493	559

	Subjective Sensation Condition	“ Cold ”	“ not cold ”	Total
Foot	Room tempera- ture> floor temp.	57	210	267
	Room = floor	7	46	53
	Room < floor	57	179	236
	Total	121	435	556

Unit: Person

反応を示しており、25°C では「冷える」と答え、26°C になると「何ともない」と答えており、手は別として顔および足において何ともないという状態におく床上温とすれば26°C ± 0.5 が望ましいと思われる。

表4は床上温と室温の正負に対する手顔足等の感覚を分類した表であるが、これをみると、床上温と乾球温が同じ位であるものは、全体の1割にすぎず、他は床上温室温、室温 > 床上温が同じ比率である。そして顔、手、足の順に「ほてる」、「何ともない」という比率をみてみると1/5 ~ 1/6, 1/7 ~ 1/8, 1/8 ~ 1/4 と足、顔、手の順にその比が大きくなっている。つまりこの順にひえる（ほてる）という回答が多い。そして乾球温と床上温がどちらかが高くても低くても、等しくても、この割合および順序は変わらないということがいえる (χ^2 テストより)。

次に室温と床上温の大小による温熱感、快適度をみると (図3, 図4, 図5), 温熱感ではあまり明確に

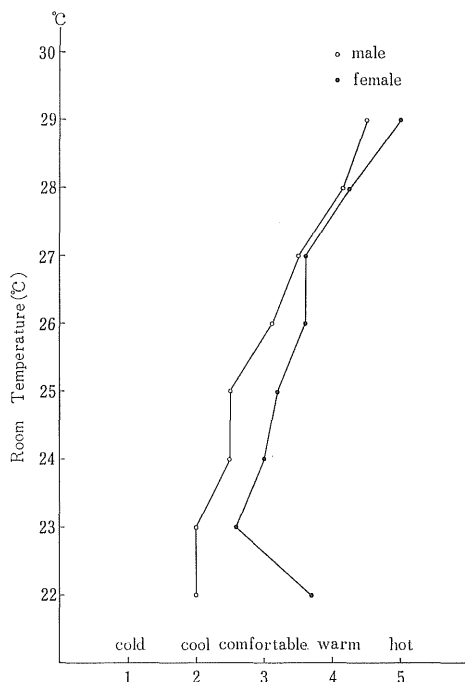


Fig. 3 Relationship between the thermal feeling and Room temperature

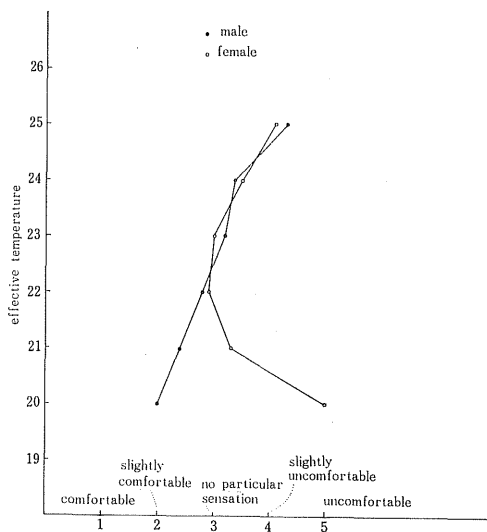


Fig. 4 Relationship between the subjective Sensation and effective temperature when the room temperature is higher than the floor temperature

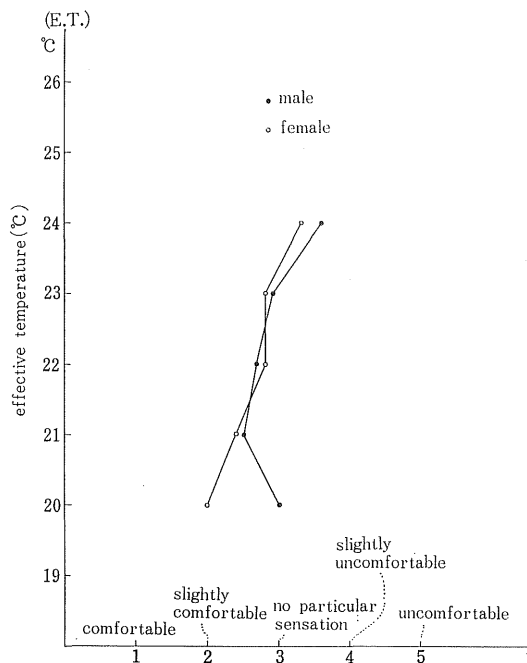


Fig. 5 Relationship between the subjective Sensation and effective temperature when the floor temperature is higher than the room temperature

男女差はみられなかったが、快適度では特に女子の感覚温度範囲が変わり、床上温が高ければ 20～21°C (ET) でも「普通以上」になるようである。

II 冬期について

まず室内条件としては表 5 の如くである。また、自覚感の性別調査と平均温熱条件については表 6 である。これをみると回答 702 名のうち「丁度よい」という答えは 41% あり (男 25%, 女 16%) その値は男子が

Table 5 Selected environmental conditions indoor in winter

month	1	2	Average
Condition			
Temperature °C	24.4	24.3	24.3
Humidity %	31.4	36.9	34.1
Air current m/s	0.077	0.087	0.082
Effective Temp. °C	20.5	20.6	20.5

乾球温 23.8°C 感覚温度 20.1°C であり、女子は 24.1°C, 20.4°C であつた。また、「丁度よい」と「やや暑い」の温度差は 1.1°C であり「丁度よい」と「やや寒い」の温度差は 0.5°C である。これより 0.5°C 低いと 2% の人が寒いと訴え、0.5°C 高いと 10% の人が暑いと訴えている。

次に温熱感および快適度と感覚温度との関係は図 6, 図 7 に示してある。温熱感をみると「丁度よい」という回答の多いのは男女共 19°C であり男子は女子に比べ 10% 多くなっている。18°C になると女子に「やや寒い」、「寒い」という訴えがふえている。更に快適度「普通以上」の割合は、男子は 18, 19°C に多いが女子は 18°C が 75%, 19°C が 69% である。20°C になると男子が 67% に対して、女子が 51% であり、これ以上になると女子の「普通以上」の割合は減ってくるが男子は 22°C まで同じ割合を保っている。また温熱感、快適度と乾球温の関係は図 8, 9 である。「丁度よい」という回答は 21～24°C に分布しており、その中で 22～23°C は男女共同 50% である。21°C になると女子の半数が「やや寒い」以下を訴え、25～26°C になると男女共「やや暑い」以上を訴えている。一方快適度は「普通以上」の回答が最も多いのは男子が 22°C, 女子は 21°C と 22°C が同じ割合を示してい

Table 6 The relationship between the subjective sensation and the average of thermal Conditions in the heating room

Subjective Sensation thermal Condition	hot		warm		Comfortable		Cool		Cold	
	male	female	male	female	male	female	male	female	male	female
Sex										
Total percentage %	9.5		36.2		41.0		11.5		1.7	
Sex percentage %	5.8	3.7	18.4	17.8	25.1	16.0	6.8	4.7	0.7	1.0
Dry temperature °C	25.3	25.3	24.9	24.9	23.8	24.1	23.3	23.6	22.6	23.4
Wet temperature °C	15.2	15.3	15.2	15.3	14.2	15.0	14.2	14.8	12.2	14.3
Air current m/sec	0.077	0.069	0.077	0.078	0.085	0.095	0.095	0.086	0.065	0.075
Effective temperature °C	21.2	21.1	20.9	21.0	20.1	20.4	19.9	20.3	19.0	20.1

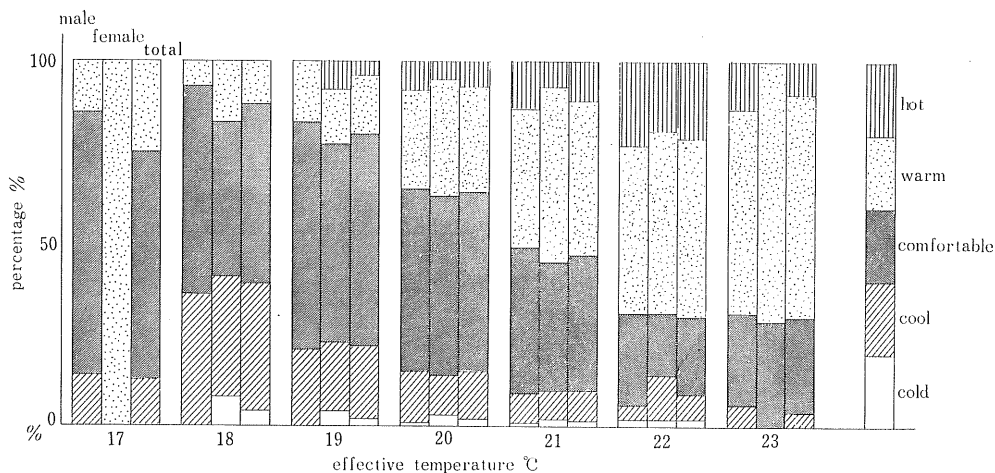


Fig. 6 Distribution of the thermal Sensation in the effective temperature

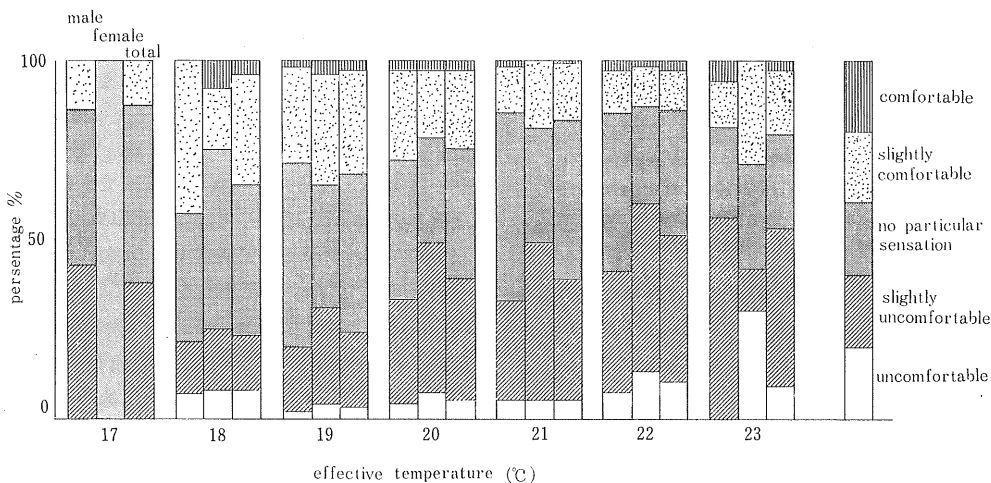


Fig. 7 Distribution of the comfortable Sensation in the effective temperature

る。23°C になると女子の半分が不快となるが、男子は¼の訴えしかなく、この辺にも男女の差があるものと思われる。

次に快適度「普通以上」の時の床上温をみると 21.2°C で乾球温に比べ3°C 低く20~23°C に大半が分布している。また温熱感「丁度よい」時の床上温についても 21~23°C に50%以上が入っており男女の差はみられない。湿度との関係はどうであるかをみると、温熱感「丁度よい」の時の一番多い範囲は 30~40%で全体の50%を占め、そのうち30~35%の方がよいというのが36~40%に比べ男子で2倍、女子で1.5倍あった。快適度「普通以上」においても同じ範囲が一番多く、他の範囲に比して倍以上である。

次に乾球温と顔が「ほてる」、「ほてらない」の関係

をみると、男子は43%が「ほてる」という回答をし、その値は 25.0°C で「ほてらない」の値は 23.8°C であった。女子については66%が「ほてる」といい、その値は24.6°Cで「ほてらない」は24.2°Cであった。これより男女による「ほてる」、「ほてらない」の温度差は認められないが、男子においては、「ほてる」、「ほてらない」には有意差がみられる。また、衣服についてみると、男子は背部、腰部とも平均3枚で、女子は背部3枚、腰部が3枚と4枚が同じ割合である。年代による差異は男子にはみられないが、女子の腰部において、10~20代と30代以上では有意の差がみられたが、衣服の枚数と「ほてる」、「ほてらない」の関係については明らかなる差がみられなかった。

室内の気流は夏期、冬期とも全般的に小さく、両季

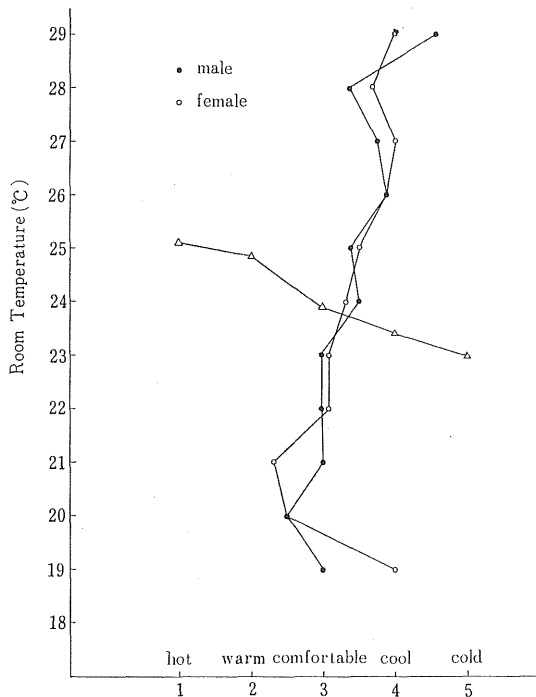


Fig. 8 Relationship between the thermal Sensation and Room temperature

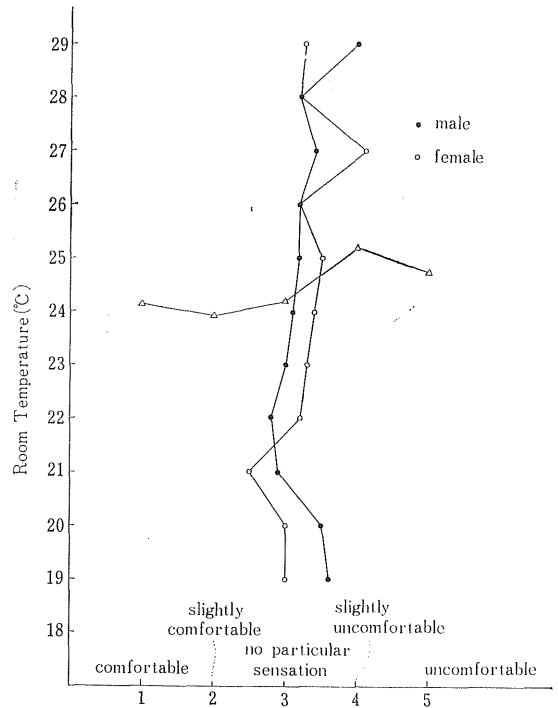


Fig. 9 Relationship between the comfortable Sensation and Room temperature

とも平均 0.1 m/s 前後であり、これは感覚温度を左右する要因でもあるので軽視できない。また冬期は夏期にみられた床上温>乾球温という状態がなかった。

以上述べてきたものについて6年前の調果と比べてみると、冬期の男子において温熱感「丁度よい」時の平均感覚温度が 0.7°C 今回の方が高くなっている。更に夏冬の差は男子2.3°C、女子1.9°Cで、その開きが少なくなっている。室内気流については6年前よりも5~10割も少なくなっている。

50%以上の人が「丁度よい」「快適度普通以上」としている快適温度範囲の変化はみられなかった。

結 語

夏期の室内気温としては25~26°Cが望ましく、感覚温度とすれば22~23°Cが適当である。そして感覚温度において男子と女子では0.5~1°Cの感じ方の違いがみられる。室内は全般に気流が小さいので、もう少し大きくすれば室内気温が1~1.5°C高くなっても

快適さがあるものと思う。最近衣服および栄養等の変化により室内として以前より暑くてもよいような傾向がみられる。

一方冬期の室内気温としては22~23°Cが、感覚温度では19~20°Cが望ましく、夏期にみられた男女による違いはみられなかった。また室内は上下による温度差はなく、全て乾球温>床上温であつた。また夏期に比して顔が「はてる」という回答が多かった。また室内湿度としては50~60%が理想であるが、その6割程度でも「丁度よい」、「快適度普通以上」という自覚感を示している。夏期同様気流が小さく、熱気が停滞しているところが多いので、もう少し循環させる工夫が必要である。一般に夏期は冷やしすぎ、冬は暖めすぎる感がある。室内環境の良し悪しは作業能率等に著しく影響をおよぼすので今後の結果を考慮されて改善されたい。

おわりに

なお、今度の調査に際しては茨城県衛生研究所長斎

藤功博士の御指導および御助言を戴いたことを深く感謝いたします。

参 考 文 献

1) 脇坂一郎，他：東京都立衛生研究所年報，(15)

p. 72～78 (1963)

2) 三浦豊彦：労働科学，44，(8)，p. 431～453
(1968)

3) 野牛弘，他：日本公衆衛生雑誌講演集，p. 137
(1970)

オキシダントと他の大気汚染物質および気象 要素との相関性について（第一報）

溝口 勲* 佐藤 泰仁* 大沢 誠喜*
牧野 国義* 野牛 弘*

CORREATION OF OXIDANTS CONCENTRATIONS WITH OTHER AIR POLLUTANTS AND METEOROLOGICAL FACTORS IN TOKYO (1 ST REPORT)

Isao MIZOGUCHI, Yasuhito SATO, Masanobu OSAWA,
Kuniyoshi MAKINO and Hiroshi YAGYU

(Department of Environmental Hygiene, Tokyo Metropolitan Research
Laboratory of Public Health)

Summary

Average oxidants concentrations in Tokyo Metropolitan Area, from 1967 to 1971, showed a gradual rise and reached presently 0.04 ppm. Seasonal variation of average and peak concentrations were noted: the concentrations during spring and summer were higher than those during autumn and winter. Temporary rise at night was noted in winter whereas during summer high concentrations were limited to during daytime.

Our study on the correlation between oxidants levels and other air pollutants (and meteorological factors) suggested that the separate procedure in daytime and at night was necessary. About correlation coefficients in daytime, oxidants concentrations to wind velocities were negative significant and to temperatures were positive significant. At night, those to wind velocities and temperatures were positive significant. During the daytime of 5 days in July of 1970, when oxidants concentrations were consecutively above 0.1 ppm, correlation coefficients of oxidants concentrations with carbon monoxide concentrations were positive significant.

Further researches in this field are necessary: that is, the studies through correlation coefficients from more time length and multiple correlation coefficients.

1. はじめに

1970年7月18日、杉並区にある立正高校の女子高校生が水泳練習中に、眼結膜の刺激症状、気道粘膜の刺激症状さらには若干の神経症状を集団的に示した。当

* 東京都立衛生研究所 環境衛生部

日、都立衛生研究所にあった国設東京大気汚染測定所のオキシダント測定器は第一表に示すような濃度であり、午前11時には0.255 ppmに達していた。このことから立正高校生徒の症状はオキシダントによるものと推定され、日本におけるオキシダントによる最初の集団被害としてその後大きな注目を集めた。1970年末

Table 1 Average Oxidants Concentrations per hour in July, 1970. From data of the Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

18	day	23	24	25	26	27
Sat.	days of week	Thur.	Fri.	Sat.	Sun.	Mon.
	time					
1.3	1	1.3	0.9	1.4	2.0	1.3
1.3	2	1.3	0.7	1.5	1.8	1.1
1.5	3	1.2	0.6	1.5	1.2	1.2
1.3	4	1.1	0.8	1.3	1.3	1.6
1.2	5	1.2	0.8	1.4	1.3	1.8
1.6	6	1.3	0.8	1.8	1.4	2.1
2.4	7	2.0	1.5	2.8	2.0	3.0
5.5	8	3.0	4.0	6.2	3.9	4.8
9.0	9	8.4	10.5	12.0	9.8	9.6
16.8	10	14.0	16.0	13.8	18.3	12.5
25.5	11	19.5	22.0	24.0	34.0	14.0
23.5	12	23.5	20.0	28.0	24.0	27.0
23.0	13	10.0	15.2	24.5	13.3	20.5
9.3	14	7.5	13.1	13.5	8.3	11.7
9.2	15	7.0	9.1	10.9	6.9	6.8
11.2	16	6.0	5.5	8.1	5.3	3.3
10.5	17	3.5	4.7	6.0	4.8	2.2
8.5	18	2.1	2.5	3.8	3.3	1.3
5.5	19	1.1	1.3	1.2	2.2	1.4
4.2	20	0.8	0.6	0.7	1.0	1.7
4.0	21	0.7	0.8	0.8	1.0	1.5
3.3	22	0.8	0.9	1.7	1.0	1.7
3.3	23	1.0	0.8	1.7	0.8	0.8
1.8	24	1.1	1.2	1.8	1.3	0.9
25.5	Max.	23.5	22.0	28.0	34.0	27.0
1.2	Min.	0.7	0.6	0.7	0.8	0.8
7.7	Av.	5.0	5.6	7.1	6.3	5.6

pphm.

よりは東京におけるオキシダント測定は10ヶ所にふえたが、当時、オキシダント測定は東京においては唯一つ都立衛生研究所におかれ、環境衛生部で管理していたもののみであって、データも集積されており、緊急の事態に対応し得たことはさいわいであった。

これ以来、オキシダントによる大気汚染が日本でも大きな問題となって来た。すでに20年まえからロスアンゼルス型大気汚染の主たる汚染物質としてのオキシダントについては、その発生のメカニズム、発生源としての自動車排気ガスなどが追求されてきていた。ま

たそれによる被害も調査され、実験報告も相当数あるが、オキシダントの単独の濃度として杉並立正高校生の被害を説明することはいささか困難である。従ってロスアンゼルス型と異なる東京型とも云うべき大気汚染の型があるのかどうか今後の調査研究が要請されている。

われわれは、1967年3月から1971年3月まで国設東京大気汚染測定所で管理集積してきた大気汚染測定データにもとづいて、オキシダントの濃度の推移ならびにオキシダントと他の汚染物質および気象要素との相関について検討した。昨1970年筆者らの一人、野牛らは一酸化炭素に注目し、一酸化炭素 30 ppm 以上の高濃度発生時の各汚染物質、気象要素との相関を因子分析の手法によって解析し、報告しているが、オキシダントは単独群として他の汚染物質から引き離される結果を得ている。今回は光化学スモッグ発生時、オキシダント高濃度発生時の検討から二、三の知見を得ることができたので報告する。

2. オキシダント濃度の推移

1967年3月より1971年3月までの測定の期間、測定器の調整や事故などで欠測が生じたが、測定時間の各月別、各年度別は第二表に示す通りであり、1月をこえる長期の欠測を考慮に入れても全時間中70.9%の時間をカバーしている。

Table 2 Total Hours of Oxidants Measuring Apparatus at Work

	1967	1968	1969	1970	1971
Jan.	—	522	—	731	672
Feb.	—	—	—	445	619
Mar.	652	706	—	737	705
Apr.	630	678	—	—	—
May.	594	727	131	676	—
Jun.	639	529	563	666	—
Jul.	737	741	698	710	—
Aug.	740	737	732	705	—
Sept.	630	713	702	552	—
Oct.	407	731	662	730	—
Nov.	—	175	632	479	—
Dec.	267	—	648	662	—
Total	5,296	6,259	4,768	7,093	1,996

測定結果を月平均濃度および月間最高濃度にかけてまとめたのを第一図に示す。各年度を通じて月間平均濃度では4月、5月、6月が高く、月間最高濃度にお

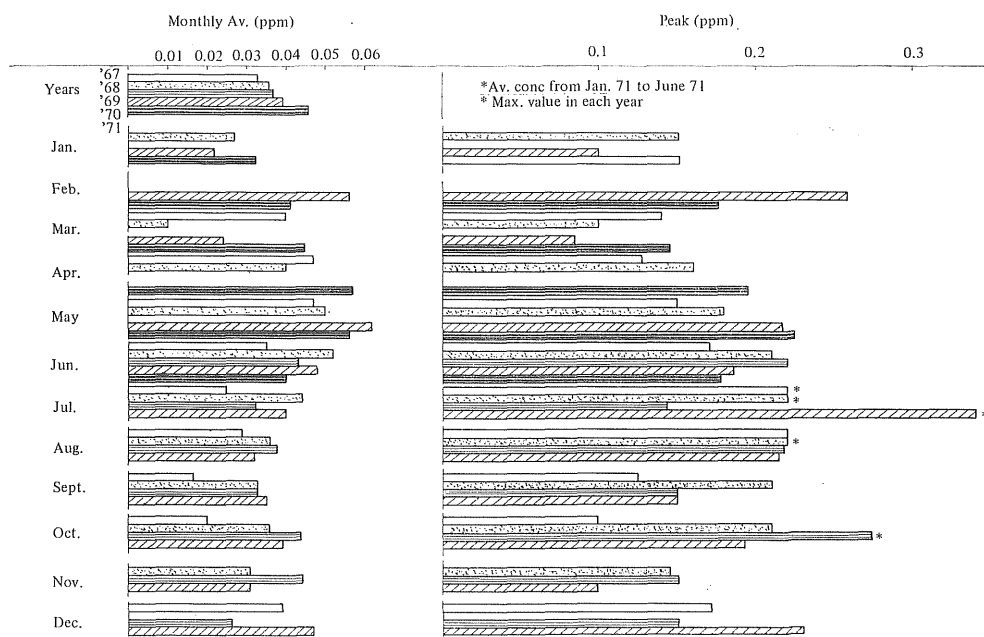


Fig. 1 Monthly and Annual Variation of Oxidants Concentrations in Tokyo From March, 1967 to March, 1971

Table 3 Monthly Time Length of the Oxidants Concentration above 0.1 ppm or 0.15 ppm and Rate per monthly total Measuring Time

years		1967			1968			1969			1970			1971		
month	day-time or night	conc.		%	conc.		%	conc.		%	conc.		%	conc.		%
		above 0.1 ppm	above 0.15 ppm		above 0.1 ppm	above 0.15 ppm		above 0.1 ppm	above 0.15 ppm		above 0.1 ppm	above 0.15 ppm		above 0.1 ppm	above 0.15 ppm	
Jan.	daytime				8	(1)	1.9	—					0	10		1.5
	night				2									5	(2)	
Feb.	d.				—		—	—			8		7.0	10		2.4
	n.										23	(8)		14		
Mar.	d.	4		1.8	2		0.3	—					0	4		2.6
	n.	8														
Apr.	d.	22		4.3	21	(2)	3.5	—			—		—			
	n.	5			3											
May.	d.	36	(1)	6.1	42	(2)	6.5	1	0.8		84	(11)	12.9			
	n.				5						3					
Jun.	d.	31	(5)	4.9	55	(9)	11.5	26	(9)	4.6	23	(5)	3.6			
	n.				6						1					
Jul.	d.	25	(7)	3.4	31	(6)	4.2	17		2.6	47	(18)	6.6			
	n.							1								
Aug.	d.	44	(4)	6.1	41	(12)	6.0	48	(6)	9.0	20	(8)	2.8			
	n.	1			3			18	(1)							
Sept.	d.	4		0.6	16	(3)	2.4	18	(1)	2.6	18	(1)	3.3			
	n.				1											
Oct.	d.	1		0.2	6		2.2	18	(2)	3.9	23	(4)	4.0			
	n.				10	(2)		8	(3)		6					
Nov.	d.	—		—	2		1.1	3	(1)	2.1			0			
	n.							10								
Dec.	d.	5			—		—	2	(1)	0.3	9		5.9			
	n.	15	(6)	7.5							30	(9)				
Total	daytime	172	(17)		222	(35)		130	(19)		232	(47)		19	(2)	
	night	29	(6)		32	(2)		40	(5)		63	(17)		24	(0)	
	total	201	(23)	3.8	254	(37)	4.1	170	(24)	3.6	295	(64)	4.2	43	(2)	2.2

いては5月，6月，7月，8月に高濃度が出現していることを示すものである。また東京におけるオキシダント濃度が徐々にではあるが，この5年間を通じて一貫して増加傾向にあることもこの図から読みとることができる。ただし1971年度は半年のデータからの平均であり，一般的傾向としての秋の低下を考慮に入れるなら，図1の年間平均濃度は多少低下して 0.04 ppm に近づくことが予想される。

3. オキシダント高濃度発生分布

オキシダントの約90%をしめるといわれるオゾンは産業医学の立場から40～50年前からその人体影響が研究されてきた。10数年前，アーク溶接の際に発生するオゾンの労働者への影響の研究から，ACGIH ではオゾンの許容量として 0.1 ppm を採用している。現在東京では 0.15 ppm をこえると注意報を発しているが，われわれはこれらの研究の歴史に鑑みて，オキシダント濃度 0.1 ppm をこえた時間を高濃度発生と規定した。さらに 0.15 ppm をこえた時間も注目してぬき出してみた。その分布状態が第三表である。月間を通じて1時間も 0.1 ppm をこえる時間がなかったのは，3ヶ月のみであり，70年5月，68年6月には全測定時間の12.9%，11.5%が 0.1 ppm をこえている。年間では 3.6%～4.2% におよぶ時間が 0.1 ppm をこえている。0.15 ppm をこえる時間は71年3月までで延150 時間である。

第二図は，オキシダント濃度 0.1 ppm をこえた時間の各年度，各月別の分布を，日中および夜間にわけて示したものである。この図からあきらかなように，高濃度発生時間は季節によって変わっており，昼型すなわち夏型和夜型すなわち冬型と特徴づけることがで

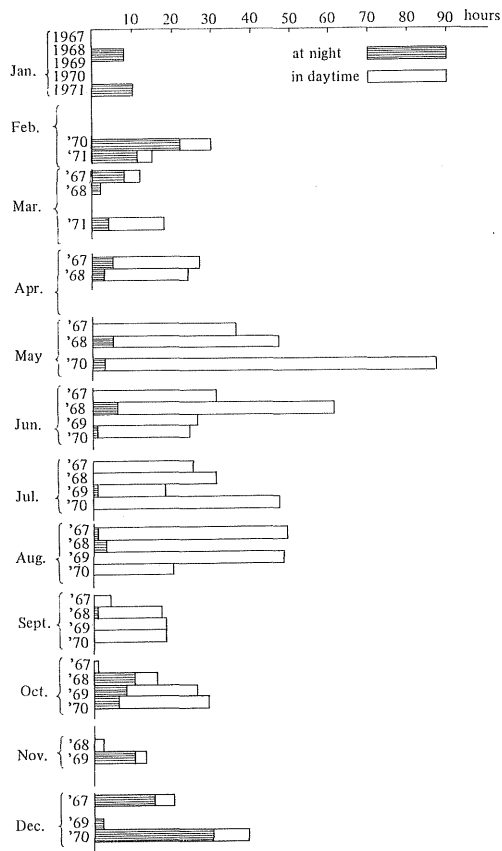


Fig. 2 Monthly Time length of the Oxidants Concentration above 0.1 ppm from March, 1967 to March 1971

きよう。また高濃度発生時間は月間平均濃度とは直線的には関係を示さず5月，6月，7月，8月の4ヶ月間が長い時間数を占めることが知られる。

Table 4 Correlation coefficient of Air Pollutants and Meteorological Factors in the Photochemical Smog in Tokyo

[1970, 7.23～7.27]

	TEMP	HUMI	W.V.	SO ₂	NO ₂	NO	Oxid	CO
TEMP	—	—	—	—	—	—	—	—
HUMI	** -0.701	—	—	—	—	—	—	—
W.V.	*0.372	-0.175	—	—	—	—	—	—
SO ₂	**0.484	* -0.337	**0.381	—	—	—	—	—
NO ₂	*0.357	0.184	0.377	0.274	—	—	—	—
NO	-0.200	**0.644	0.067	**0.551	0.261	—	—	—
Oxid	-0.162	0.181	** -0.469	-0.171	-0.051	-0.094	—	—
CO	-0.093	*0.371	-0.055	*0.363	**0.430	**0.487	*0.380	—

r (35, 0.10)=0.2746<* r (35, 0.02)=0.3810<**
r (35, 0.05)=0.3246 r (35, 0.01)=0.4182

Table 5 Correlation Coefficient between Air pollutants and Meteorological Factors and Oxidants during daytime and at Night. (Oxidants Concentrations were above 0.1 ppm)

	TEMP	HUMI	W.V.	SO ₂	NO ₂	NO	Dust	H.C.	CO
DAY TIME	**0.33	-0.17	** -0.31	0.11	-0.08	-0.04	0.07	0.07	-0.13
NIGHT TIME	*0.38	0.16	0.33	0.20	0.07	-0.28	-0.09	0.17	-0.04

$r(60, 0.05) = 0.250$ $r(20, 0.05) = 0.4227$

$r(60, 0.10) = 0.211$ $r(20, 0.10) = 0.3598$

4. 高濃度発生時のオキシダントと各要素との相関

高濃度発生時のオキシダントと他の汚染物質、気象要素との相関をみるのに二つの別個な時間帯を選んだ。一つは1970年7月23日から7月27日までの5日間、連続して高濃度が発生したのは第一表で示した通りであるが、この5日間の時より15時まで延35時間各々の各要素の相関係数を計算した。結果は第四表である。二つ目は第五表に示したが、1969年5月より1971年3月までのオキシダント 0.15 ppm をこえた時間 90 時間中、すべての測定項目がそろっている 80 時間を、昼60時間、夜20時間のそれぞれについてオキシダントと他の各要素との相関係数を計算した。

はじめの結果についてはオキシダントと有意の相関を示したものは風速は負、一酸化炭素は正であったが、他の要素は有意の相関を示さなかった。昼型（夏型）、夜型（冬型）別では気温は両型とも正の相関、風速は昼型では負の相関、夜型では正の相関と正反対の結果を示している。

5. 考 察

大気汚染物質の一般環境濃度が、労働衛生における最大許容量をしばしばこえるのは、現在オキシダント以外には見当たらない。たとえば硫黄酸化物は、ACGIH で 5 ppm、一酸化炭素は 100 ppm にたいして環境では最大になっても数分の一あるいは十数分の一にしか達していない。鉛については空气中で最大許容量は $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であるのに環境では数十分の一である。オキシダントは 0.1 ppm をしばしばこえるのみならず、最高では 0.34 ppm にも達したことがあった。オキシダント発生メカニズムを明らかにし、その発生を抑止することは緊急の課題であろう。オキシダント年間平均濃度が漸増傾向にあることも硫黄酸化物、降下煤塵等の低下傾向と異なるものとして注目しなければならない。

オキシダント高濃度出現時に昼型（＝夏型）、夜型

（＝冬型）の二型のあることが明らかとなったが、この二型は風速との相関が逆であることから、その発生要因が異なることが推定される。夜型（冬型）のオキシダントの発生はロスアンゼルス型として究明されつつある光化学反応では説明し得ず、この発生要因の追求も必要である。

われわれの行なった二つの相関係数による検討では、オキシダントと一酸化炭素、気温が正の相関を示し、風速が負または正の相関を示すが、相関係数の計算を行なう時間帯の選び方で差が出てくる。第一の相関係数表の時間帯はまさしく昼型の一部分であるのに、ここでは気温との相関は有意ではなく、この表で有意とされる一酸化炭素は昼型60時間の相関係数では有意ではないという結果になっている。したがって発生要因が異なるとみられる昼型、夜型をわけ、時間数をより増加させて相関係数を計算してみることが今後必要とされる。また残念なことに昼型で決定的な要素ともいうべき紫外線量の連続測定データがなく、気象要素の中から抜け落ちている。光化学スモッグの被害が、かつて大気汚染が比較的ひどくないといわれた都周辺区に多いことと考え合せるなら、今後紫外線量の連続測定データを欠かすわけにはゆかない。

さらに、これらの多数の要素間の関係を考察する場合、単に相関係数のみならず、重相関係数によつての解析も試みる必要がある。

6. 要 約

1967年3月から1971年3月までの東京におけるオキシダント濃度の推移をみると漸増傾向があり、約 0.04 ppm に達している。季節的には春から夏にかけて高い値をとる。高濃度発生も5月から8月までが多い。冬期には夜間に高濃度発生が見られ、夏期の昼間と対照的である。

高濃度発生時のオキシダントと他の汚染物質および気象要素との相関については、昼型和夜型をわけて検討することが必要である。昼型では風速に負の相関、気温に正の相関が有意に認められ、夜型では風速と気

温に正の相関が有意に認められた。1970年7月の連続して高濃度が発生した5日間延35時間の場合には一酸化炭素と正の相関があった。

なお今後、さらに時間数を多くして各汚染物質、気象要素間の相関を検討すること、および重相関係数による検討も必要とされている。

参考文献

- 1) 野牛弘, 他: 東京都立衛生研究所研究年報 (21), p. 115~127 (1969)
- 2) C. Stern: Airpollution I, II, III ACADEMIC PRESS (1968)
- 3) 山岡昭美ら編: 推計学入門演習, 産業図書(41)

都区内および三多摩地区における井水の水質について

三 村 秀 一* 中 村 弘*
樋 口 育 子* 会 田 朋 子*
藤 沢 正 吉** 押 田 裕 子**

STUDIES ON THE QUALITY OF WELL WATERS IN THE METROPOLIS OF TOKYO

Shuichi MIMURA, Hiroshi NAKAMURA, Yasuko HIGUCHI
Tomoko AIDA, Masayoshi FUJISAWA and Hiroko OSHIDA

(Department of Water Analysis, Tokyo Metropolitan Research Laboratory
of Public Health)

Summary

More than twenty thousand samples of well waters in the seven wards of Tokyo and the Tama District were examined according to the Japanese Standard Method for the Examination of Drinking Water, in order to survey the condition of underground water pollution, during the period of August 1970 to March 1971.

The well water qualities in the areas surveyed are shown in Fig. 1 and Fig. 2. The histograms of chlorine-ion, KMnO_4 -consumed and total hardness are shown in Fig. 3, 4 and 5, respectively. Percentages of samples unfitted for the drinking water standard are shown in Fig. 6.

These results show that 50.3% of the samples examined did not fit for the drinking water standard. 78.6% of unfitted samples were proved to be undesirable by the presence of bacterial contamination, and 10.7% by appearance, 5.5% by both of bacterial contamination and appearance.

Namely, these results suggest that if 94.8% of unfitted well waters were treated by chlorination or/and filtration, they would fit for the standard. Remaining 5.2% of samples did not fit for the standard because of odor, taste, pH value, chlorine-ion, KMnO_4 -consumed or/and total hardness. It would be very difficult to find a domestic countermeasure for these well water.

1. まえがき

近年大都市に人口が集中し、過密化により生活環境の劣悪化が叫ばれている。その中で井水を家庭用水と

して使用している地域、都区内では世田谷区、杉並区、練馬区、板橋区、足立区、葛飾区、江戸川区内の各一部、北多摩地区の府中、調布、狛江、立川、昭島、国立、東大和、武蔵村山、三鷹、保谷、田無、清瀬、東久留米、小平、東村山、小金井、国分寺の各市、南多摩地区では八王子、日野、町田の各市および

* 東京都立衛生研究所 水質試験部
** 同 多摩支所

多摩町，稲城町，西多摩地区における青梅市，福生市，羽村，瑞穂，秋多，五日市の各町，日の出村並びに松原村の井水を，昭和45年8月より昭和46年3月末にわたりその水質の状況を，家庭下水及び尿尿性汚染による汚濁の状態を中心に調査した。

2. 調査項目および集計

通常行なっている家庭用飲料水の検査項目と同様に，外観，臭味，pH（BTB 比色による），亜硝酸性窒素（GR 法），アンモニア性窒素（ネスラー試薬による）の定性試験と，塩素イオン（モール法），過マンガン酸カリウム消費量（酸性法），総硬度（EDTA 法），の定量などの理化学的試験，細菌学的試験とし

ては，大腸菌群試験（10 ml×5，24時間培養，LB 培地使用），一般細菌数（普通寒天培地，24 時間培養）についておこない，その結果を総合的にみて，飲料水判定基準により，その適，否を判定し，各自自治体ごとに集計し，各項目の最高，最低，その平均値，外観および臭味の異常率，または pH の傾向，亜硝酸性窒素，アンモニア性窒素，大腸菌群の陽性率，並びに一般細菌数の水質基準（1 ml 中に集落数 100 個を超えてはならない）超過率およびその不適率を一覧表にした。また，各自自治体ごとに塩素イオン，過マンガン酸カリウム消費量，総硬度につきその含有量および消費量をヒストグラムで示した。

Test Items Locality	Number of Samples	Appearance (% of contaminated samp.)	Odor & Taste (% of abnormality)	pH value pH 5.8-7.0 (%) pH 7.1-8.6	Nitrite Nitrogen (% of detected samples)	Ammonia Nitrogen (% of detected samples)	Chlorine-ion (average, mg/l)	KMnO ₄ -consumed (average, mg/l)	Total Hardness (average, mg/l)	Coli-Aerogenes Group (% of positive samp.)	Total Colonies (% of over 100/ml samp.)
Sengaya-ward	2442	5.1	0.5	98.9	17.6	4.8	35.4	1.6	86.7	55.6	14.1
Suginami-ward	1170	6.5	1.2	99.1	11.6	3.5	30.5	1.1	79.1	53.2	7.4
Nerima-ward	2853	5.6	0.1	98.0	10.4	2.3	34.3	1.0	85.5	19.0	3.9
Itabashi-ward	1089	11.3	0.6	83.9	24.4	2.4	36.8	0.9	99.6	36.4	3.0
Adachi-ward	29	27.6	0.0	0.0	82.8	62.1	28.1	3.3	75.2	10.3	0.0
Kastushika-ward	49	26.5	12.2	6.1	26.5	59.2	64.6	4.5	167	16.3	0.0
Edogawa-ward	189	3.5	0.5	1.0	8.6	48.0	59.9	6.5	165	37.9	17.2
Ward district	7830	6.5	0.5	93.1	15.1	5.0	35.3	1.4	89.3	38.4	7.8

Fig. 1 Well Water Qualities in the Seven Wards in Tokyo

Test Items Locality	Number of Samples	Appearance (% of contaminated samp.)	Odor & Taste (% of abnormality)	pH value pH 5.8-7.0 (%) pH 7.1-8.6	Nitrite Nitrogen (% of detected samples)	Ammonia Nitrogen (% of detected samples)	Chlorine-ion (average, mg/l)	KMnO ₄ -consumed (average, mg/l)	Total Hardness (average, mg/l)	Coli-Aerogenes Group (% of positive samp.)	Total Colonies (% of over 100/ml samp.)
Omori-city	836	2.7	0.4	96.5	8.0	5.1	17.4	0.7	68.2	56.8	6.1
Fussa-city	9	0.0	12.5	100.0	12.5	12.5	24.9	1.2	72.9	55.6	0.0
Hamura-town	55	3.6	1.8	98.2	20.0	7.3	28.0	1.0	103	67.3	20.0
Mizubo-town	55	7.3	1.8	100.0	25.5	14.5	27.2	0.8	101	89.1	23.6
Akita-town	57	3.5	5.3	100.0	14.0	8.8	16.5	0.9	73.3	75.4	10.6
Hinode-village	110	1.8	1.8	93.6	6.4	3.6	7.0	0.8	77.6	65.5	3.6
Istokuchi-town	7	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	5.6	0.8	58.1	71.5	0.0
Hoshara-village	3	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	8.6	0.8	36.6	66.7	0.0
NISITAMA district	1132	2.8	1.0	96.7	9.5	5.7	17.3	0.7	72.5	60.8	7.5
Hachioji-city	4009	6.9	7.1	96.4	16.6	10.3	10.5	1.2	64.7	54.1	11.5
Hino-city	1064	7.1	1.4	83.5	11.2	4.1	15.8	1.3	94.3	54.4	11.4
Tama-town	37	2.7	0.0	94.6	2.7	5.4	10.6	0.7	70.8	51.4	5.4
Inagi-town	427	5.9	3.3	95.3	26.5	6.8	15.6	0.8	83.1	65.3	84.5
Machida-city	2299	19.1	1.2	69.4	30.0	13.2	19.7	0.6	83.0	10.0	7.3
MINAMITAMA district	7836	10.4	4.3	86.6	20.3	10.1	14.2	1.0	75.0	41.8	10.5
Fuchu-city	106	2.8	4.7	99.1	11.3	3.8	24.0	0.9	105	18.9	1.9
Chofu-city	93	3.2	5.4	89.2	28.0	8.6	21.3	0.7	104	25.8	3.2
Kome-city	78	0.0	3.8	100.0	14.1	9.0	26.9	1.0	129	14.1	3.8
Tachikawa-city	36	5.6	0.0	100.0	16.7	8.3	15.5	0.5	92.9	25.0	0.0
Akishima-city	124	0.8	0.8	96.0	9.7	1.6	18.9	0.7	91.2	39.5	4.8
Kunitachi-city	65	0.0	0.0	98.5	7.7	9.2	17.7	0.7	93.7	41.5	1.5
Higashiyamato-city	63	4.8	0.0	96.8	15.9	12.7	26.5	0.7	82.2	88.9	15.9
Musashimurayama-city	215	4.2	1.4	99.5	14.0	11.6	28.0	1.0	102	59.5	13.5
Mitaka-city	37	2.7	0.0	100.0	27.0	2.7	23.1	0.9	100	29.7	0.0
Hoya-city	155	0.6	0.0	100.0	32.9	1.9	26.8	0.3	81.3	52.9	0.6
Tama-shi-city	28	10.7	7.1	89.3	25.0	10.7	19.6	0.3	79.4	32.1	0.0
Kiyose-city	20	0.0	0.0	100.0	15.0	30.0	24.7	0.4	76.2	50.0	0.0
Higashikurume-city	608	2.1	0.3	100.0	11.5	12.3	23.2	0.5	77.6	56.6	1.3
Kodaira-city	682	34.9	1.8	96.5	32.4	6.2	20.1	0.4	78.0	7.2	1.2
Higashimurayama-city	1214	12.2	2.1	99.4	34.1	7.1	26.4	0.8	88.1	44.9	7.1
Koganei-city	68	5.9	0.0	100.0	22.1	11.8	22.0	0.6	98.1	35.3	1.5
Koshujou-city	26	0.0	0.0	100.0	7.7	0.0	20.9	0.7	79.7	34.6	3.8
KITATAMA district	3628	11.7	1.6	98.5	22.1	7.9	23.8	0.6	87.0	40.4	4.4
TAMA district	12586	10.1	3.2	91.0	19.8	9.1	17.3	0.9	78.2	43.1	8.4

Fig. 2 Well Water Qualities in the Tama District

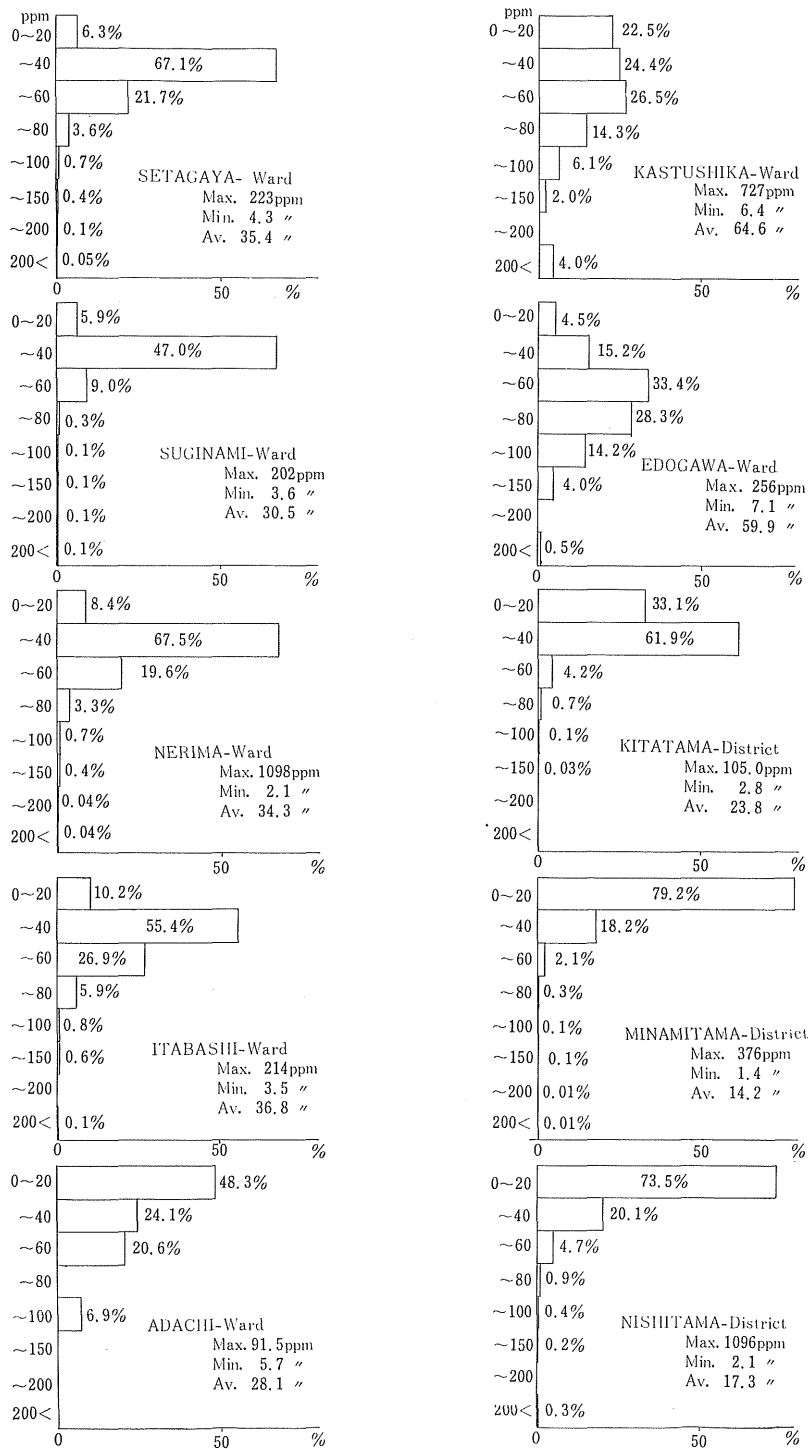


Fig. 3 Histograms of Chlorine-ion in the Well Waters Examined

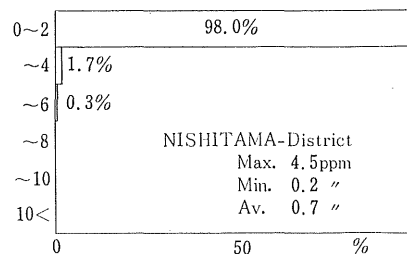
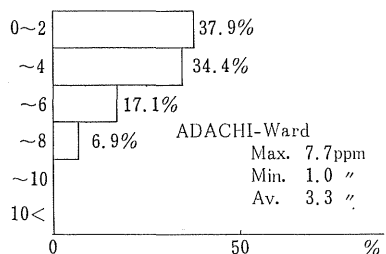
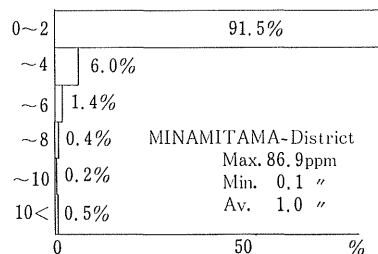
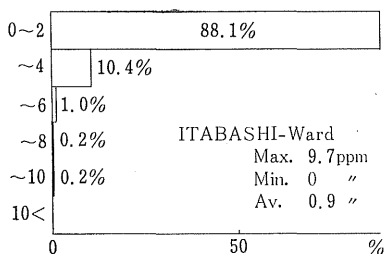
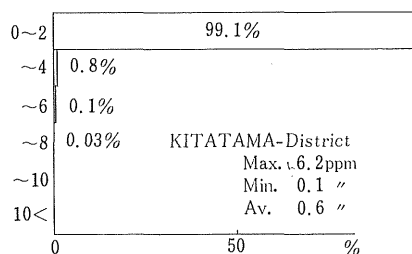
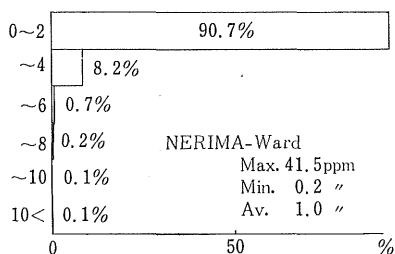
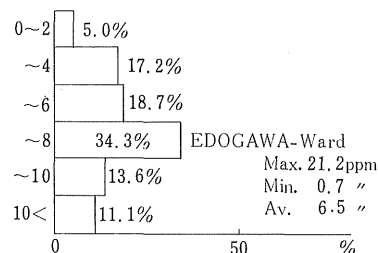
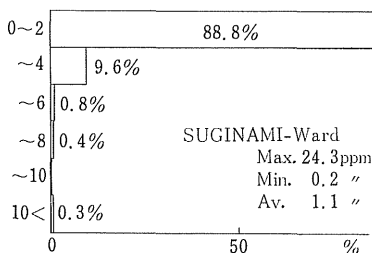
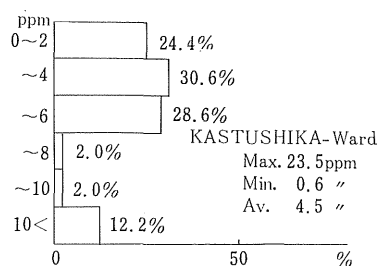
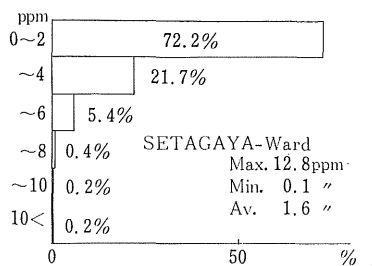


Fig. 4 Histograms of KMnO_4 -consumed in the Well Waters Examined

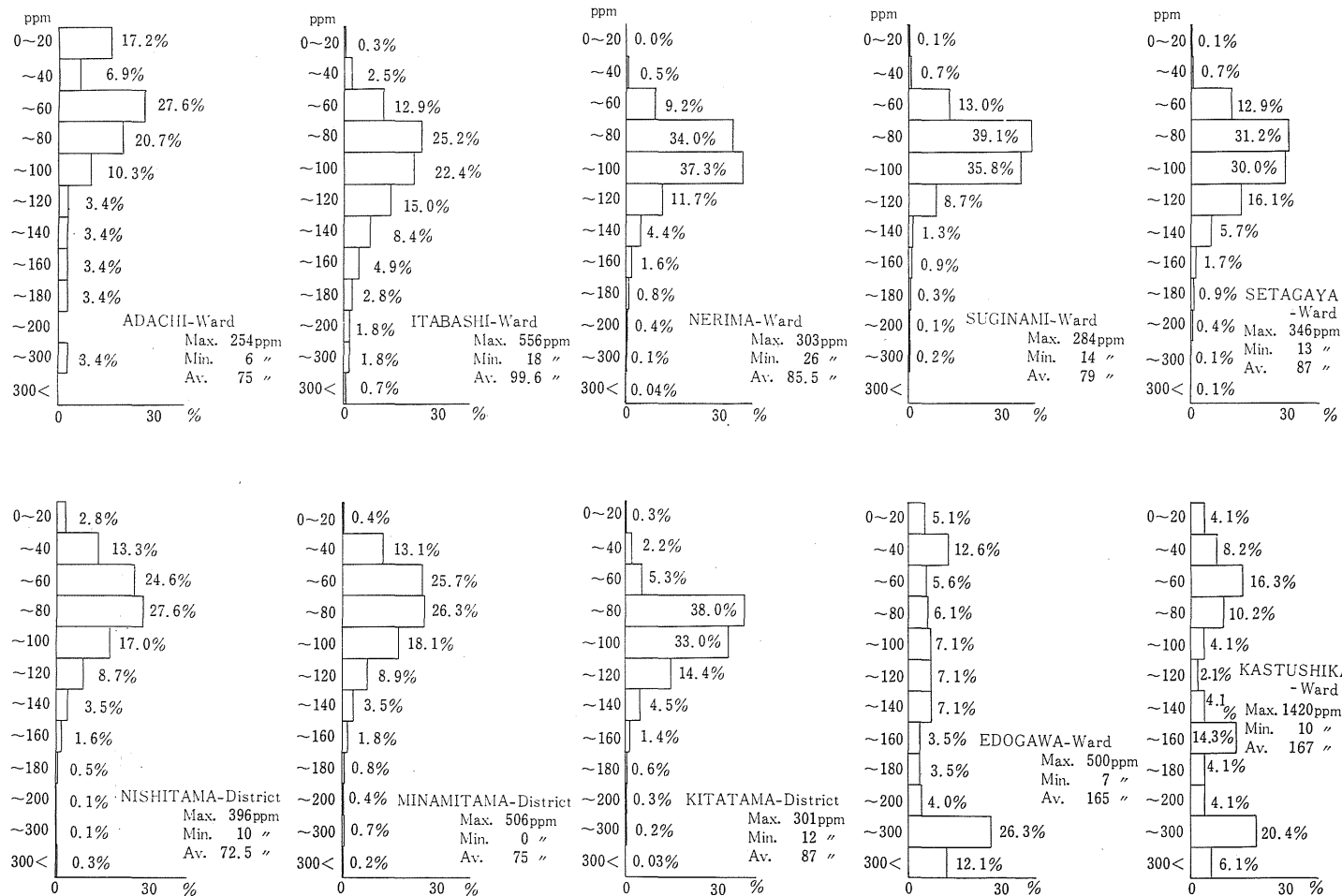


Fig. 5 Histograms of Total Hardness in the Well Waters Examined

3. 考 察

(1) 外観 調査した都内7区のうち荒川、中川、江戸川に囲まれる足立区、葛飾区は、他地区に比して、外観による不適率が27.6%、26.5%と高く、板橋区、杉並区が続いており平均異常率は6.5%である。三多摩地区においては小平市の34.9%、町田市19.1%、東村山市12.2%、田無市の10.7%が平均の10.1%を上まわっている。

(2) 臭味 葛飾区12.2%、杉並区1.2%の異常率を示し、三多摩地区においては、福生市の12.5%、田無市、八王子市7.1%、調布市、秋多町は5.3~5.4%、府中市4.7%、狛江市3.8%とつづき稲城町3.3%などが地区平均の3.2%を上まわっている。

(3) pH、亜硝酸性窒素、アンモニア性窒素 足立区においてはpH値7.1~8.6のものが全例を占め、葛飾区では、それが93.9%、江戸川区、99.0%で他地区においてはpH値が5.8~7.0が大部分であるのと、対照的である。ヒストグラムに示す様に亜硝酸性窒素、アンモニア性窒素の陽性率もこの地区が、きわめて高い。三多摩地区については、町田市、調布市、田無市、日野市で微アルカリ性(7.1~8.6)を呈した井水が、三多摩平均の9.0%をわずかに上まわっているにすぎない。亜硝酸性窒素、アンモニア性窒素の陽性率の地区平均は、それぞれ19.8%、9.1%で、町田市、保谷市、小平市等で、亜硝酸性窒素の陽性率が30%台を示しているにもかかわらず、上記区内の如く、両者共にその陽性率が高いという現象は見あたらない。

(4) 塩素イオン ヒストグラムで示すように、練馬区、世田谷区、板橋区、杉並区においては、塩素イオンの含有量は20.1~40.0ppmの間に上記4区の総件数の59.3%が集中し、その平均値は30.5~36.8ppmであるが、足立区では、その含有量は5.7~20.0ppmの範囲に48.3%と多く見られ、平均値は28.1ppmである。しかし、江戸川区、葛飾区においては、塩素イオンの平均値が、それぞれ59.9ppm、64.6ppmと前出の4区に比較し、ほぼ2倍の値を示すが、飲料水判定基準を超えるものは、上記都区内全件数のうち0.1%にすぎない。三多摩地区では、上記7区における塩素イオンの含有量の平均値35.3ppmに対し、南多摩地区14.2ppm、西多摩地区では17.3ppmと約半分、その含有量の最頻帯は0~20.0ppmのところに見われている。北多摩地区は平均値が23.8ppmで、最頻帯は20.1~40.0ppm、ついで多いのは、0~20.0ppmで33.1%である。塩素イオン含有量は、三多摩

地区よりも、都区内に高く、ことに葛飾区、江戸川区にその傾向が強いが、これは地質によるものと思われる。

(5) 過マンガン酸カリウム消費量 塩素イオンと同様に、その平均値が江戸川区で6.5ppm、葛飾区4.5ppm、足立区の3.3ppmとなっており、その消費量の最頻帯は江戸川区で6.1~8.0ppmで34.3%、葛飾区では2.1~6.0ppmが59.2%と多く、足立区においては、その消費量が4ppm以下のものが72.3%と大部分を占める。この項目が基準を超えて飲料不適と判定されるものは、上記7区内全件数の0.6%であり、三多摩地区では、その総件数の96.2%が、過マンガン酸カリウム消費量2.0ppm以内であり、西多摩および、北多摩地区においては、その異常率は0%であるが、南多摩地区では同地区件数の0.5%である。

(6) 総硬度 飲料水判定基準による限度、300ppmを超えるものは、江戸川区で12.1%、葛飾区では6.1%ときわ立ち、他の5地区においては、その地区内全件数の0.2%である。総硬度の平均値は前出の両区共160ppm合で、ほとんど差は見られないが、他5区および三多摩地区の70~90ppm合に比較すれば、約2倍の含有量にあたる。また、総硬度が基準を超える件数は、三多摩地区において0.14%と都内5区とほとんど差はない。江戸川区、葛飾区の総硬度が他地区にくらべ多いのは、塩素イオンと同様に地質によるものと思われる。

(7) 大腸菌群および一般細菌数 大腸菌群の陽性率は、西多摩地区において60.8%、ついで、世田谷区、杉並区の50%台、南多摩、北多摩地区の40%台と高率で、30%台の江戸川区、板橋区がこれにつぎ、練馬区および葛飾区の陽性率は20%台に近く、足立区のみが、約10%台であった。しかし一般細菌数の集落数が基準を超える井水は、10%台が江戸川区、世田谷区、南多摩地区で、7%台が西多摩、杉並区で、3~4.4%の陽性率を示すものは、北多摩、練馬、板橋の3地区であるが、葛飾区、足立区においては0%となっている。この様に、大腸菌群の陽性率と一般細菌数の基準超過率は必ずしも一致しない。

(8) 不適率 飲料水判定基準(抜粋)は下記の通りである。

(イ) 外観 無色澄明であること。

(ロ) 臭味 異常な臭味があってはならない。

(ハ) pH 5.8~8.6の範囲内。

(ニ) 亜硝酸性窒素 } 定性試験によって検出され
(ホ) アンモニア性窒素 } てはならない。ただしその

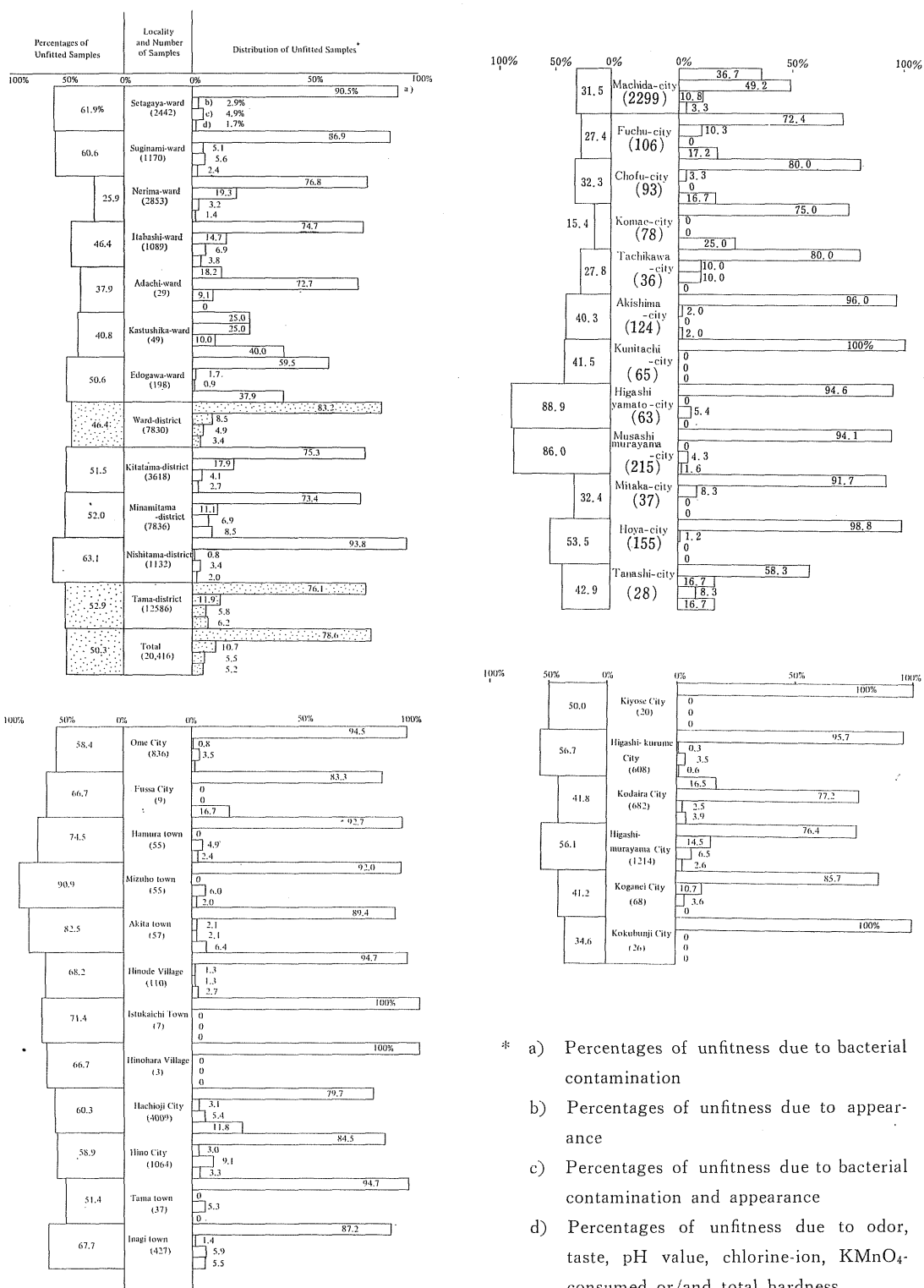


Fig. 6 Percentages of Samples Unfitted for the Drinking Water Standard

成因が汚染によると認められない場合、または十分に消毒された場合は差支えない。

- (ケ) 塩素イオン 200 ppm を超えてはならない。
- (ク) 過マンガン酸カリウム消費量 10 ppm を超えてはならない。
- (コ) 総硬度 300 ppm 以下
- (カ) 大腸菌群試験 検出してはならない。
- (キ) 一般細菌数試験 集落数が 1 ml 中 100 個を超えてはならない。

上記水質基準に合致しない井水は飲料不適と判定するが、西多摩、世田谷、杉並の各地区において、その不適率が60%台を示し、ついで江戸川、南多摩、北多摩地区の50%台、足立区、葛飾区、板橋区は、それぞれ37.9%、40.8%、46.4%である。不適率の低い地区は、練馬区の25.9%という結果が出た。都区内7区の全件数の不適率は46.1%で、三多摩においては52.9%と、やや高い率を示した。なお、飲用不適と判定されたもののなかにも、原因は様々で、なんらかの方法を講じれば、大部分の井水は飲用する事が出来ると思われるが、汚染の進行、あるいは地質的に飲用に不向きな水質の井水、たとえば塩素イオン、過マンガン酸カリウム消費量、総硬度の水質基準を超えるもの、臭味などの異常（下水臭、藻などの植物系臭気、ガソリン、灯油などによる石油系臭気など）が原因となっているもので、環境調査を行ないその改善に着手しなければならないものなど、問題が多い井水も存在する。飲料不適の場合でもこの調査の結果、都区内7区の全不適井戸を100として、次亜塩素酸ナトリウム、または煮沸による消毒により、その83.2%が飲料水などの家庭用水として使用可能となり、あるいはろ過して濁り、沈でんなどを除き、外観を無色澄明にすれば飲用適とすることが出来る井水が8.5%、ろ過と消毒を併

用し飲料水となるものが4.9%、即ち、96.6%の井水が使用可能と思われる。三多摩地区においては、消毒すれば飲用適となる井戸が三多摩地区全不適件数の76.1%、ろ過をすればよいのが11.9%で、2者併用の処置を行なえば、その5.8%が使用する事が出来る。即ち、三多摩地区の全不適井水の93.8%は消毒またはろ過、あるいは消毒とろ過の2者併用により家庭用水として使用出来ると思われる。成分超過、臭味、その他の理由で、これらいずれの方法を用いても使用出来ないものが、区内7区において3.4%、三多摩地区における6.2%と極少数ながら見ることが出来る。

(9) むすび 調査の結果によれば、不適の原因は大腸菌群の陽性率に負う所が大であるが、一般細菌数が基準を超えることに起因するものもあり、成分超過による不適率は、まことに微々たるものである。また不適の原因が重複する事もある。亜硝酸性窒素並びに、アンモニア性窒素の検出が、尿索性汚染、あるいは家庭排水による汚染の目安とされているが、その検出と大腸菌群および一般細菌数の陽性率とは平行していない。これらの結果から都区内7区のうち江戸川区、葛飾区における井水の水質は良質とはいえない。三多摩地区においても、近年人口が急増し、都市化が進むにつれて、水の使用量が激増し、地下水位の低下をまねき、あわせて井水の水質も汚濁が進行しつつあると思われるので、井水を飲料水として使用する場合は、利用者自身の注意が望ましいと思う。

なお、48回衛生局学会に、本研究年報の1部を発表した。

謝辞 調査試料作成にあたり、衛生局公衆衛生部環境衛生課、ならびに関係各保健所の方々に御協力いただいた事を深謝いたします。

スライムに関する研究

(1) スライムの構成微成物について

松 本 淳 彦*

STUDIES ON THE BIOLOGICAL SLIMES IN WATER SUPPLY SYSTEMS

(1) SLIME-FORMING ORGANISMS AND CO-EXISTING ORGANISMS FOUND IN THE SLIMES FROM DRINKING WELL WATERS AND INDUSTRIAL WATER SYSTEMS

Atsuhiko MATSUMOTO

(Department of Water Analysis, Tokyo Metropolitan Research Laboratory
of Public Health)

Summary

The biological slimes, various slimy films and flocks developing inside of water pipes and water tanks, have been known to deteriorate the water quality and to fall markedly the economical values since long ago. These slimes are known to be composed of the masses of many kinds of microorganisms, such as zoogloeal bacteria, iron bacteria, sulphate-reducing bacteria, fungi and algae. Further, various protozoan and metazoan members, such as ciliates, flagellates, rhizopods, rotifers, nematodes and acari are known to co-exist with them. A lot of mineral materials such as iron hydroxide, muddy particles and fine sandy granules are also often deposited on them. Many works have been done in the fields of industrial water supply and many kinds of slime controlling chemicals have been developed. Notwithstanding the fact, as to the slime problems of drinking well waters, our knowledges are extremely limited.

The writer examined microscopically about 100 slime samples and cultured some of them. After the examination, it was revealed that most of the slimes are mainly composed of zoogloeal bacteria and iron bacteria. The biological constituents of the sixty samples from drinking well water supplies are shown in Table 1 and those of the forty samples from industrial water systems in Table 2. Iron bacteria were found in forty-five of sixty samples of drinking water supplies, but only in twelve of forty samples of industrial water systems. *Leptothrix* were commonly found in eleven samples, *Sphaerotilus* in nine samples, *Gallionella* in eight samples and *Crenothrix* in two samples respectively. Fungal hyphae were observed in ten samples (16.6%) of sixty well water samples and in thirteen (32.5%) of forty industrial water samples. Algae

* 東京都立衛生研究所 水質試験部

were found in twenty samples of industrial water systems, but rarely found in the well water supplies. Anaerobic sulphate-reducing bacteria were detected in eight samples of industrial water supplies.

On the whole, flora and fauna of the slime-forming organisms and their co-existing organisms in the well water systems seem to be distinctly different from those in the industrial water systems in having rather simple constituent, such as iron bacteria, but in lacking algal members and sulphate-reducing bacteria.

1. 緒言

人口の集中、生活様式の近代化、工業の発達などによる上水や工業用水などの用水使用量の増大にともない、種々の水質障害が問題になっている。なかでもスライムによってひき起こされる障害例が非常に多く、ことに工業用水では重大問題としてその障害微生物や防除対策のため多くの研究が行なわれている。¹⁾²⁾³⁾⁴⁾しかし、上水のスライムに関しては、その構成内容や防除法などに対する研究報告はいまだ少なく、⁵⁾⁶⁾試験法も確立されていない実状にある。

スライムとは、水が停滞あるいは一方向に流れているような送水管、貯水槽などの内壁に着生する微生物を主体とする粘質性の膜 (Slime film)⁷⁾ のことである。これは増殖しながら内壁に付着しているが、しばしば水流によって剝離し運び出されるようになる。またその増殖の著しいときは、送水管の流量を低下し、ときに閉塞を起こすこともある。場合によっては管材の腐蝕原因となったり、水に着色、異臭味をきたして水の利用価値の低下、水質の悪化をまねくなどさまざまな被害を与えている。⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾このように用水中にスライムが発生していることは、水の使用時に異物が吐出することによってはじめて気がつく場合が多いものである。

現在、我々の研究室に多くの依頼試験検体が持込まれているが、これらスライムの構成主体は細菌類や糸状菌類などの微生物から形成されているものがきわめて多い。都留¹²⁾によると、これら微生物の活動によってある物質に望ましくない変化をもたらす現象を微生物劣化と定義しており、これに関連ある微生物として、セルロース分解菌、スライム形成菌、鉄細菌、イオウ細菌、硫酸還元菌、炭化水素資化細菌および木材腐朽菌をあげている。著者は、これら多くのスライムがどのような微生物群から形成されているものかを、上水、工業用水別に調査し、スライム障害を防止する一対策として本研究に着手した。

なお、本研究は当所の方針にもとずく研究費により実施されたものである。

2. 材料と方法

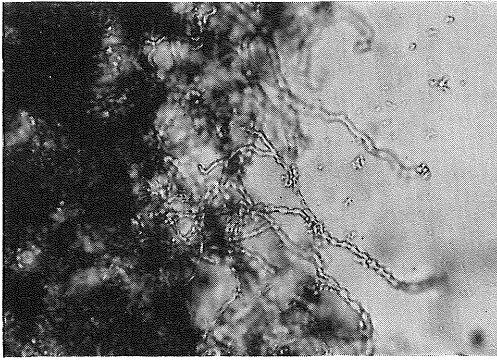
昭和43年から主として試験依頼された試料を用い、上水の給水系統 (送水管や貯水槽内など) に発生したもの60例、および工業用水の給水系統 (冷却塔など) に発生したもの40例、合計100例のスライム試料について調査を実施した。駒込ピペット (0.5 ml) で少量の試料をスライドガラス上にとり、カバーガラス (24×50 mm) をかけて顕微鏡観察を行ない、スライム中の構成主体や混在している微生物を調べ、さらに必要に応じて培養試験を行なった。スライムを形成する微生物のなかには、鉄細菌類、糸状菌類、藻類などのように、糸状または綿状の集落を形成するものが多いが、細胞の型や配列、鞘の有無、分枝状態などを観察してその類別を行なった。

培養操作は、鉄細菌ことに *Gallionella* sp. については Kucera & Wolfe の改良培養法¹³⁾を使用した。すなわち 10 ml の液体培地を入れた綿栓試験管 (15×180 mm) に試料を接種し、炭酸ガス培養を行なった。20°C にて7~10日間培養後、試験管の内壁に付着増殖した綿状の集落を駒込ピペットで少量とり、顕微鏡によって典型的なりボン状の柄部を観察した。

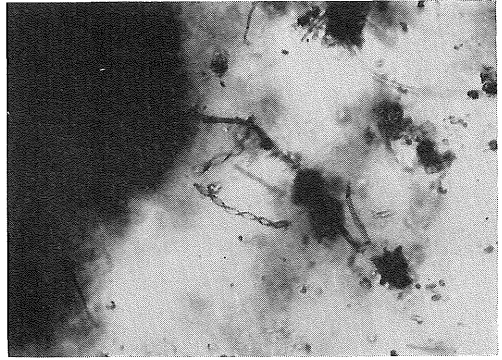
硫酸塩還元菌については、佐藤、服部法¹⁴⁾の培地に還元物質として、あらかじめ、ほぼ中性に調整したチオグリコール酸ナトリウムおよびアスコルビン酸を 0.1 g/l の割合で加えた液体培地を使用した。本培地は pH 7.2~7.5 に調整後、小試験管 (10×125 mm, ステンレス製キャップ) に約 6 ml 分注した。高圧蒸気滅菌後、ただちに冷水中で急冷したものに試料を少量接種し、培地の上に硫磺パラフィン層を約 1 cm の厚さに重層した。そして 30~32°C で5~7日間培養後、培地の黒色化 (黒色化は下層部に著しい) を呈したものを陽性とし、同時に、この培養液の少量について顕微鏡観察を行ない、運動性のあるビブリオ状の桿菌を

Plate (I~III)
Microorganisms in the Slime Samples
(photographed 100 x or 400 x and enlarged 4 x)

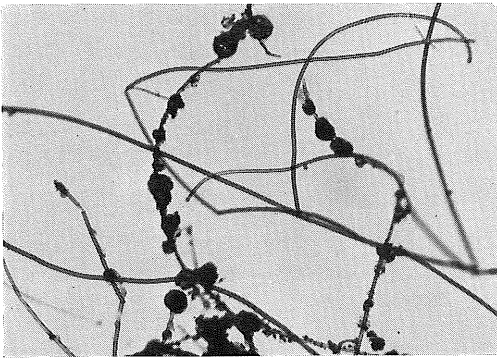
Plate I



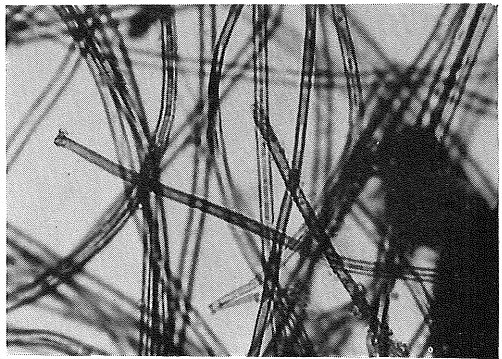
(1) *Gallionella* sp.



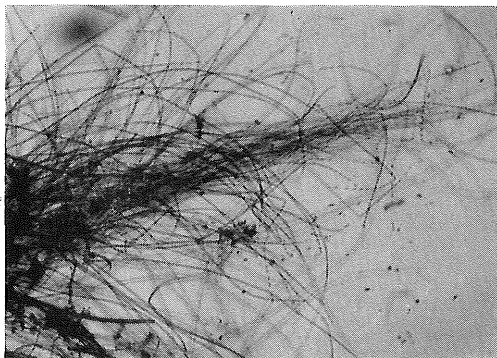
(2) *Gallionella* sp.



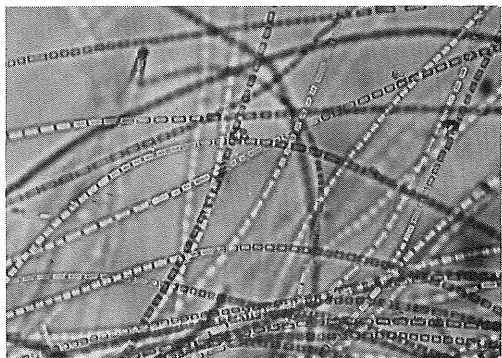
(3) *Leptothrix* sp.



(4) *Leptothrix* sp.

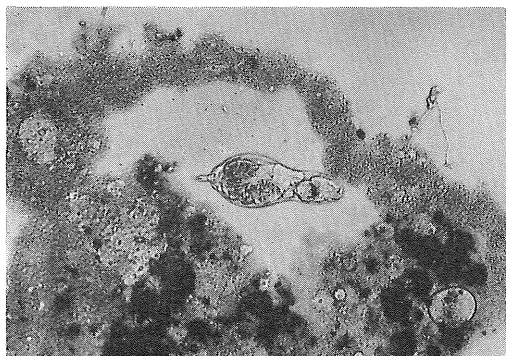


(5) *Sphaerotilus* sp.

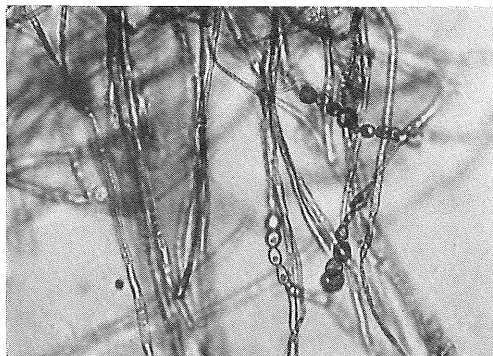


(6) *Sphaerotilus* sp.

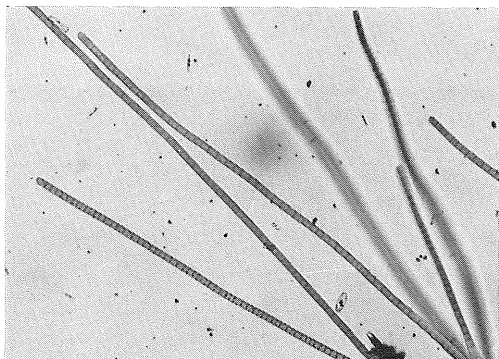
Plate II



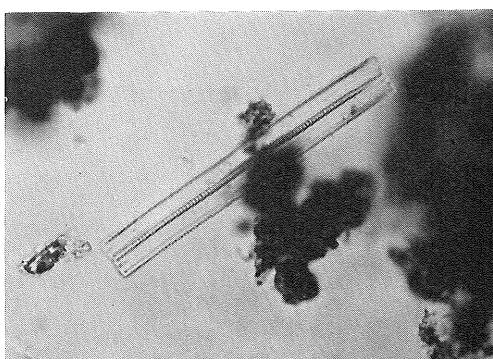
(7) Zoogloal bacteria and a *Rotatoria* sp.



(8) Fungal hyphae



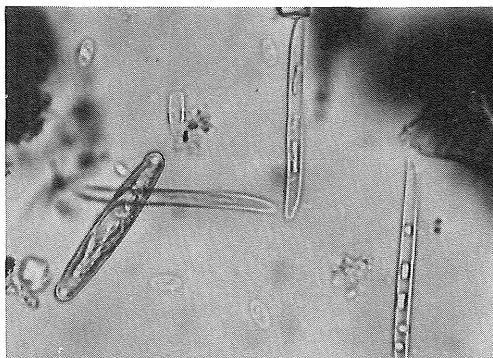
(9) *Oscillatoria* sp.



(10) *Synedra* sp.

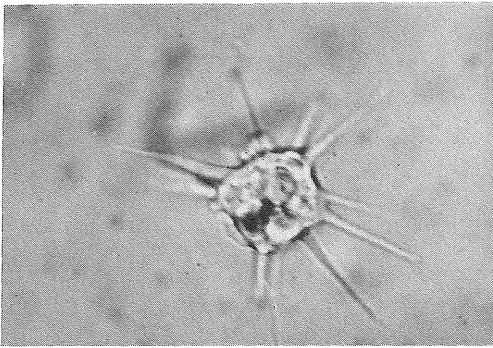


(11) *Ulothrix* sp.

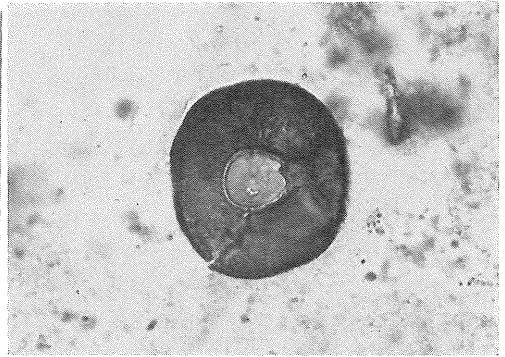


(12) *Nitzschia* sp. and *Pinnularia* sp.

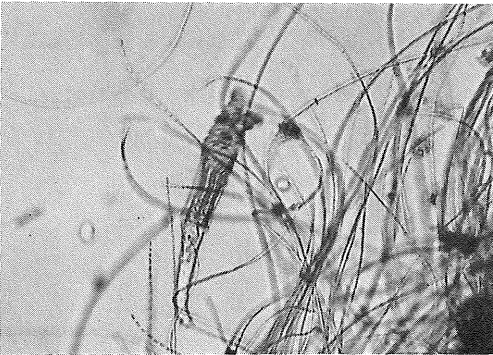
Plate III



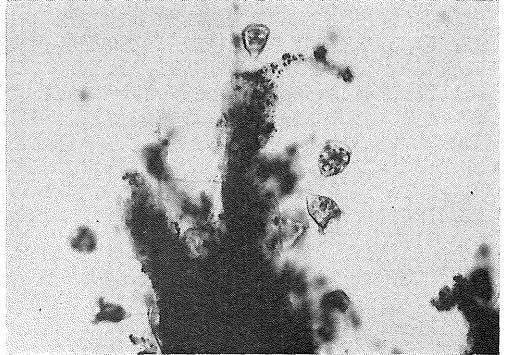
(13) *Amoeba* sp.



(14) *Arcella* sp.



(15) *Rotatoria* sp. on *Sphaerotilus*



(16) *Vorticella* sp.



(17) *Nematoda* sp.

確認した。

3. 結果および考察

スライムは用水の水源やその使用法、使用過程によって、送水管、高架水槽、地下貯水槽、沈砂槽、除鉄装置、冷却管、冷却塔、温水器管、イオン交換樹脂塔など配水系統の多方面にわたって発生していることがわかった。一概にスライムといってもその肉眼的形状はふわふわした綿状のものから、コロイド状、粘液状、糸クズ状、木材繊維状などさまざまであり、その構成によって色相も灰白色、緑褐色、茶褐色、黒色などかなりの変化がみられた。また構成内容は、単純なものから多種多様の微生物類および無機物質などが混在しているのはなほだ複雑なものまであって、その主要な構成生物は現在不明なものも多い。

スライム中にみられる微生物としては、各種の鉄細菌, Zoogloea 状および連鎖状の桿菌などの細菌類, 糸状菌, 藻類, 原生動物, 後生動物などその種類と数は非常に多い。やはり主体となっているものは Zoogloea 状を呈する細菌類で、これらのフロックを中心

にして他の微生物が混在した微生物集団をつくっており、さらに土壤や砂粒、水酸化鉄などの鉱物片を沈着して形成されている場合がきわめて多かった。一般に、上水（地下水を水源とする）の給水系統に発生したスライムの組成（表—1）は、比較的単純なものから形成されている場合もあるが、一度貯水槽などに貯水してから給水している系統になると、そのタンク内に二次的に藻類や鞭毛虫類、纖毛虫類、線虫類などが発生して混在してくる例が多くなるようであった。鉄細菌は単一種あるいは二、三のものが共存しているものもしばしばあり60例中14例（23%）にみられた。このうち単一種の *Gallionella* sp. および *Leptothrix* sp. から成っているものが8例みられ、またこの両者が共存しているものが3例、さらに *Crenothrix* sp. あるいは *Sphaerotilus* sp. の加わったものが各1例みとめられた。一方、これら鉄細菌が構成主体ではなくスライム中に混在している場合の方が多く、45例（75%）にみられており、地下水特に深井戸からは、かなりの鉄細菌が検出された。その構成は

Gallionella sp. : 8例, *Leptothrix* sp. : 11例

Table 1 Occurrence of Microorganisms in the Sixty Slime Samples from Drinking Water Supply Systems

No. of Samples In. 1968 (Aug. 1971)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
Name of Organisms																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
BACTERIA																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
IRON BACTERIA																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
Gallionella sp.																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									</

Zoogloea と称しているのは、特定の細菌を指しているのではなく、細菌類が集まって作る細菌集塊 (Zoogloal form) として判別を行なった¹⁷⁾。実際にいろいろなスライムを検鏡してみると、この Zoogloea が構成主体になっている場合が非常に多く、60 例中 32 例 (53%) の試料にみられている。糸状菌類もスライムの構成主体となったり、混在している例が少なくなく、10 例の試料にみられている。そして蛇口に連結していたビニールホース内に増殖して黒色の斑点を形成したり、ハネヨケ器の水の出を悪くしていた例があった。藻類がみつめられた試料は少なく、わずかに 7 例にすぎなかったが、これらは貯水槽などの不完全さから二次的に発生したものが混在してきたものであろうと考えられた。その他、スライム中に附随的に共存している微生物類も多く、鞭毛虫類が 22 例、絨毛虫類が 10 例、根足虫類 11 例、輪虫類 10 例、線虫類 10 例、そして水ダニ類が 1 例、それぞれみられた。

一方、工業用水を使用している給水系統に発生したスライムの組成は、上水の場合に比べて複雑なものが多く、その構成も微生物ばかりではなく、土壌、砂粒、あるいは水酸化鉄などの無機物質を多量に沈着しており、なかには腐敗臭や硫化水素臭を発するものもあった。工業用水ではその多くが冷却水として使用されるので、特別な用途以外は水温と水量に重点がおかれている。水温の高くなった用水は冷却塔によって水温降下をはかり、循環使用する場合が多いが、このような水系では水中の栄養濃度が高まり、水温もほどよい状態となるので微生物が繁殖するのに都合のよい環境となりやすい。¹⁸⁾ 40 試料を調査したスライム中の微生物を表 2 に示した。鉄細菌がみられたものも多少あったが、それも *Sphaerotilus* が殆んどで 9 例にみられ、典型的な *Gallionella* や *Leptothrix* などが検出されたものはわずかに 3 例にすぎなかった。主体となっているのはやはり Zoogloea であり、大半の 19 例 (47.5%) の試料にみられている。嫌気性菌の硫酸塩還元菌は、硫化水素を生成して鉄管などを腐蝕するので、古くから障害細菌として研究が行なわれている。¹⁹⁾ 20) 本菌はスライム中でもよく発育することができ、発生した硫化水素はスライム中に吸着されて腐蝕を促進するといわれている。実際に硫化水素臭を発するような試料を顕微鏡で観察すると、しばしば運動性のあるビブリオ状の桿菌を認めることができる。これらについて嫌気培養をしたところ、8 例の試料から本菌を検出することができた。糸状菌類は冷却系統中では多く発生してスライムの主要微生物となることが少

なくなく、13 例 (32.5%) の試料にみられている。藻類の共存しているものは、上水の場合に比べて非常に多く、20 例 (50%) にみられ、なかでも藍藻類の *Oscillatoria* sp. 珪藻類の *Synedra* sp. *Cyclotella* sp. *Navicula* sp. そして緑藻類の *Ulothrix* sp. *Scenedesmus* sp. などが比較的多く認められた。これら藻類は原水中に混在していたものか、冷却塔あるいはタンク内に発生したものが水流とともに混入してきたためであろうと考えられた。そして配水管内では積極的なスライム形成生物とはならなくても、沈着や蓄積したものを栄養として、二次的に細菌類が繁殖してスライムを形成することがあるといわれている。²¹⁾ スライム中に共存している原生動物や後生動物のスライム形成に対する関係あるいは役割などについては研究報告もみあたらず、不明な面が多い。活性汚泥の場合とは違った生態学的問題を含んでいるものと考えられるので本文ではこれらの構成についてのみ表示した。以上、上水および工業用水の給水系統内に発生したスライムの構成微生物について大要を記した。工業用水の場合では、スライム防止剤を使用してその発生防止や除去に対して多くの研究が行なわれており、大きな効果をあげている。^{22) 23) 24)} しかし、上水のスライムに対しては薬品を使用するにしても問題が多く今後の研究に待つところが大きい。

4. 要 約

上水 (地下水源) および工業用水 (主に地表水) の給水系統に発生した 100 例のスライム試料について試験した結果、その大要は次のごとくであった。

(1) 肉眼的の外観は水源の種類、発生場所によって綿状や糸状、顆粒状などを呈し、色相も灰白色、茶褐色、緑褐色、黒色などさまざまな様相を呈していた。

(2) 上水系と工業用水系に発生したスライムの構成微生物にはかなりの相違がみつめられた。

(3) 鉄細菌は上水系では 75% の試料にみられ、*Leptothrix*, *Gallionella*, *Sphaerotilus* などが比較的多かったが、工業用水系からはわずかの 30% で、しかも *Sphaerotilus* がほとんどを占めていた。

(4) Zoogloea は両系統ともおよそ 50% の検出率であった。

(5) 上水系にはみられなかった硫酸塩還元菌は、工業用水系の 8 例 (20%) の試料から検出された。

(6) 糸状菌類は上水系では 16.6% であったが、工業用水系からは 32.5% と約 2 倍の試料からみつめられ

た。

(7) 藻類の共存は上水系では11.6%にすぎなかったが、工業用水系には種類数もかなり多く50%の試料中にみられた。

参考文献

- 1) 豊田環吉：用水と廃水，1，(7)，1-10 (1959)
- 2) 鈴木静夫，辰野高司：工業用水，(83)，2-30 (1965)
- 3) 豊田環吉：用水と廃水，7，(12)，11-20 (1965)
- 4) 鈴木静夫，辰野高司：冷却水の障害と処理，コロナ社，東京 (昭43)
- 5) 小島貞男：用水と廃水，9，(11)，1-15 (1967)
- 6) J. W. Grainge and E. Lund： Jour. AWWA，61，(5)，242-245 (1969)
- 7) 小島貞男：工業用水，(112)，26-33 (1968)
- 8) 中島文夫：用水と廃水，8，(11)，11-18 (1966)
- 9) 近藤正義：用水と廃水，3，(11)，1-7 (1961)
- 10) 小島貞男：水，12，新年号，53-60 (1970)
- 11) 小島貞男：用水と廃水，1，(7)，19-26 (1959)
- 12) 都留信也：化学と生物，9，(6)，392-395 (1971)
- 13) 松本昌雄：水道協会雑誌，(414)，36-41 (昭44)
- 14) 佐藤匡，服部勉：用水と廃水，3，(9)，21-29 (1961)
- 15) 盛下勇：用水と廃水，3，(9)，57-65 (1962)
- 16) 八木正一：用水と廃水，3，(11)，9-14 (1961)
- 17) 津田松苗：污水生物学，北隆館，東京 (1968)
- 18) 豊田環吉：用水と廃水，2，(8)，27-37 (1960)
- 19) 菅野照造：用水と廃水，3，(9)，14-20 (1961)
- 20) 洞沢勇：用水と廃水，3，(11)，15-17 (1961)
- 21) 小島貞男：工業用水，(83)，71-80 (1965)
- 22) 百瀬精三：水処理技術，11，(4)，51-60 (1970)
- 23) 竹内康三：工業用水，83，(8)，56-59 (1965)
- 24) 豊田環吉：用水と廃水，8，(2)，8-17 (1966)

食品添加物の相乗毒性に関する研究 (I)

Butylated hydroxy anisole, Butylated hydroxy toluene

ならびに両者併用の急性および亜急性毒性について

平賀 興吾* 林田 志信* 市川 久次*
米山 允子* 藤井 孝* 池田 虎雄*
矢野 範男*

TOXICOLOGICAL POTENTIATION STUDIES ON FOOD ADDITIVES (I)

ACUTE AND SUBACUTE ORAL TOXICITIES OF BUTYLATED
HYDROXY ANISOLE, BUTYLATED HYDROXY TOLUENE AND
THEIR COMBINATION IN RATS AND MICE

Kogo HIRAGA, Shinobu HAYASHIDA, Hisatsugu ICHIKAWA,
Masako YONEYAMA, Takashi FUJII, Torao IKEDA and Norio YANO

(Department of Toxicology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health)

Summary

Acute and subacute toxicities of butylated hydroxy anisole (BHA), butylated hydroxy toluene (BHT) and their combination, using as antioxidants, were studied in male (M) and female (F) mice and rats.

1. LD₅₀ (g/kg, p.o.) values in rats were: BHA 2.00 (M), 2.00 (F); BHT 2.00 (M), 2.00 (F); BHA·BHT (1:1) 2.20 (M), 2.20 (F) and in mice: BHA 1.10 (M), 1.32 (F); BHT 2.40 (M), 2.40 (F); BHA·BHT (1:2) 1.35 (M), 1.53 (F). As a result, in mice, potentiation on acute toxicity was estimated.

2. In the subacute toxicity study, rats were administered diets containing 0.05%, 0.15%, 0.45% and 1.35% BHA, BHT and BHA·BHT (1:1) for 110 days respectively.

1) Weight gain were inhibited in the groups received the diets containing 1.35% in concentration respectively, particularly in BHT received groups, 30% (M) and 70% (F) of the group was dead during this experiments.

2) Effects of the test compounds on hematological and clinical chemical values were found slightly.

3) There was a significant increase in the weight of liver (M and F) and thyroid (F) associated with increasing dosage closely, particularly in BHT received remarkable.

4) Histological changes in kidney and liver were found, particularly in the kidney in 1.35% BHT received remarkable.

5) No potentiation toxicity was observed in the combination of BHA and BHT.

* 東京都立衛生研究所 毒性研究部

1. 緒 言

食品添加物の安全性に関する研究の一環として、butylated hydroxy anisole (以下 BHA) および butylated hydroxy toluene (以下 BHT) と両者併用の場合の急性毒性試験をラットおよびマウスを用い、亜急性毒性試験をラットを用いて行った。

BHA および BHT は油脂等の酸化防止剤として広く使用され¹⁾ 昭和42年の調査によると日本人 1 人 1 日当りの推定平均摂取量は BHA 23 mg, BHT 27 mg である²⁾。

これらの安全性については、FAO/WHO の食品添加物専門委員会の総括的報告があり、1 日許容摂取量は BHA 0-0.5 mg/kg (条件付 0.5-2.0 mg/kg), BHT 0-0.5 mg/kg としている³⁾。しかし同委員会も指摘しているように安全性については一層の研究を要するところであり、更に食品添加物は多数同時に摂取される点より、添加物の併用による毒性の変化、特に相乗的毒性の強化を考える必要がある。よって今回は BHA および BHT 単独の毒性とともに両者併用による毒性についても検討した。

亜急性毒性試験における用量は、これらの毒性の質を知り、慢性毒性試験に有用な知見を与えるため、使用基準¹⁾ にかかわらず、急性毒性試験の結果等を考慮して決定した。

2. 実験材料および実験方法

BHA は和光純薬製 Lot. No. DG 105 の結晶性粉末で m. p. 64.1° のものを、BHT は和光純薬製 Lot. No. DG 1870 の結晶性粉末で m. p. 69.5° のものを使用した。

動物は船橋農場生産の Wistar 系ラット雌雄と静岡県実験動物農業協同組合生産の ddY/S 系マウス雌雄を用い、ラットは 5 匹づつ、マウスは 10 匹づつ同一ケージにて船橋農場製ラット・マウス用固型飼料 (FII-水分 6.6, 粗蛋白質 21.3, 粗脂肪 6.0, 粗繊維 4.2, 粗灰分 6.0, 可溶無窒素物 55.9, ビタミン A 950 IU, D200 IU, E 7.4 mg/100 g) および水道水を自由に摂取させ、室温 25±1°C, 湿度 55~65%, 照明, 午前 6 時から午後 6 時に制御した環境下で 3 週間以上飼育し、発育経過の良好な 7-8 週令のものを実験に供した。

急性毒性試験は、試料を局方オリブ油に溶解、各投与量が 15 ml/kg 体重となるように用時調製し、胃ゾンデにより経口投与した。

動物は実験前日の午後 5 時より絶食せしめ、午前 10

時より投与を開始した。観察期間は 10 日とし、50% 致死量 (LD 50) の算定は Litchfield-Wilcoxon 法⁴⁾ によった。使用動物、動物数、性別および投与量は Table I に示した。

亜急性毒性試験は雌雄のラットを用い、BHA, BHT および BHA と BHT を 1:1 に併用したものをそれぞれ 0.05%, 0.15%, 0.45% および 1.35% の割合に飼料に混合して 110 日間にわたって摂取させた。各試料を飼料に混合する際は、1.35% のものを除き、飼料への添加量が 1% になるように試料を可溶性デンプンにて希釈した。対照として、通常飼料と可溶性デンプン 1% 添加飼料とを用いた。

なお、110 日間の投与終了時に飼料中の BHA, BHT をそれぞれエタノールで抽出し、292 mμ ないし 279 mμ における UV 吸収にて測定したところ、BHA は平均 26.0%, BHT は平均 2.2% の含有量の低下が認められた。即ち BHT 含有量は殆んど変化なかったのに対して BHA 含有量は調製時の 3/4 となっていた。

ラットは雌雄それぞれ 1 群 10 匹とし、5 匹づつ同一ケージにて飼育し、毎週 1 回体重、飼料 (試料) 摂取量、飲水量を測定し、一般症状を観察した。飼料摂取量および飲水量はケージ毎の消費量よりコボシ量を差引き一匹当りの平均摂取量をもとめた。

110 日間の投与終了時に次の諸項について検索を行った。

1) 血液学的検査 (赤血球数、ヘモグロビン量 [シアンメトヘモグロビン法], ヘマトクリット, 白血球数, 白血球百分比)

2) 血清生化学検査 (血清総蛋白量 [エルマ蛋白計], GPT [Reitman-Frankel 法])

3) 剖検 (肉眼的所見観察)

4) 臓器重量測定 (脳, 下垂体, 甲状腺, 唾液腺, 胸腺, 心, 肺, 肝, 腎, 脾, 副腎, 前立腺, 睪丸, 子宮, 卵巣)

5) 病理組織学的検索 (重量測定臓器のほか胃, 腸, 血管, 脾, 骨髄, 眼球, 皮膚を 10% 中性ホルマリン固定, パラフィン切片につきヘマトキシリ・エオジン染色, 必要に応じ特殊染色, 鏡検)

以上の諸検査のうち 1) 2) および 4) の一部は 1 群 10 匹中の 5 匹についてのみ施行した。

実験結果はすべて推計学的検討を加え、その対照値は可溶性デンプン 1% 添加飼料のもの (S-Control) とした。

3. 実験結果

I 急性経口毒性試験：

BHA は、ラット、マウスとも投与10分頃より歩行失調（ヨタヨタ歩く）があらわれ、次いで体を伸ばして腹臥、呼吸促迫、不動となり2時間頃より死亡が始まった。死亡時の剖検で胃腸の出血、潰瘍、肝の暗赤色調が認められた。

BHT 投与による主症状は歩行失調（はねるように歩く）と振せんで、死亡開始はラットで24時間頃、マウスで12時間頃であった。

死亡時の剖検所見は BHA の場合と同様であった。

致死時間および LD 50 値は Table II に示す通りであった。

BHA および BHT の LD 50 値にもとづき、BHA・BHT の混合比を、ラットの場合 1:1 とし、マウスの場合 1:2 として急性毒性試験を行なった結果、ラット、マウスとも急性症状は BHT の場合と類似し、死亡開始は1~2時間であった。

死亡時の剖検所見も BHT の場合と同様であった。死亡時間および LD 50 値は Table II に示す通りであった。

ラットにおいて、BHA と BHT との致死時間に著明の差があったが、LD 50 値はいずれも 2.00 g/kg 体重であり、BHA・BHT (1:1) 併用の LD 50 は雌雄とも 2.20 g/kg 体重で、相乗毒性効果を示さなかった。

マウスにおいて、BHA の致死時間は早く、LD 50 は雄 1.10 g/kg 体重、雌 1.32 g/kg 体重で、ラットの場合より毒性が強く、しかも雌雄間に有意の差が認められた。BHT の致死時間は BHA より遅く、LD 50 は雌雄とも 2.40 g/kg 体重で、ラットの場合と大体同値であった。BHA・BHT (1:2) 併用の LD 50 は雄 1.35 g/kg 体重、雌 1.53 g/kg 体重であり、相乗毒性効果を認めた ($P < 0.05$)。

II 亜急性毒性試験：

1. 体重、飼料摂取量、飲水量、一般症状の推移
体重は BHA, BHT, BHA・BHT の 1.35% 群を除いて、いずれの群も対照 (S-Control) と同等ないし以上の増加を示した。BHA の 1.35% 群はやや抑制がみられ、BHA の 1.35% 群は投与開始の初期において体重は激減し、以降あまり増減なく推移した。BHA・BHT の 1.35% 群は可成り発育の抑制がみられた (Fig. 1~6, Table III)。

飼料摂取量は、BHT の 1.35% 群雌雄において小で

あったが、ほかはいずれも対照と殆んど差を示さなかった (Fig. 1~6, Table III)。

飲水量は、BHT および BHA・BHT の 1.35% 群雌雄において多量であったが、ほかはいずれも対照と殆んど差を示さなかった (Fig. 1~6, Table III)。

試料摂取量は Table III 右端に示す通りで、体重 kg 当りの摂取量は、各試料の対応用量および雌雄間に殆んど差が認められなかった。

一般症状としては BHT 1.35% 群を除いて、認むべきものはなかった。BHT 1.35% 群において試験開始まもなく尿が餌料コボシ測定用濾紙を桃色に染めることを認めた。はじめは尿を凝ったが、その後排尿直後には着色なく、一定時間後に着色することを知り現在その本態について追究中である。BHT 1.35% 群は削瘦顕著で歩行の異常と緩慢、被毛の粗剛、脱毛がみられ、尿着色物質と関連して下腹部および口周辺の被毛が赤褐色に汚染された。また全期間中雌 7 匹、雄 3 匹が死亡した (Fig. 2 および 5 の†印)。雌の死亡 7 例中 3 匹に 1 側腎の腎水腫化が認められた。

2. 血液学的・血清生化学的検査 Table IV, V に示すように、いずれの検査においても、全群著明な変化は認められなかったが、BHA, BHT, BHA・BHT の 1.35% 群雌のヘモグロビン量が低値を示した ($P < 0.01$)。また血清総蛋白量には推計学的に有意な増加を示す群が多かった。

3. 剖検所見 BHT 1.35% 群特に雌は削瘦顕著で皮下、腹腔内とも脂肪はみられず、臓器所見では腎臓が帯黄褐色を呈し、表面に小さな凹凸がみられ剖面では皮質部の幅が狭く皮髄境界部が少々不鮮明となっていた。また所々にケシ粒大の水胞がみられた。肝臓は少々大きさを増した感があったが剖面が膨隆することとはなかった。

ほかは対照群と比較して特別の異常を認めなかった。

4. 臓器重量 各臓器の絶対重量と体重比重量とは Table VII~IX に示す通りであった。

肝臓は、BHA, BHT, BHA・BHT のいずれにおいても用量増加に伴う絶対重量および体重比重量の増加が認められ、その程度は BHT が最大で、次いで BHA・BHT であった。

甲状腺も BHA, BHT, BHA・BHT の雌において絶対重量および体重比重量の増加を示し、ある程度用量との関係がうかがわれ、その程度は BHT が大で、次いで BHA・BHT であった。BHT は雄においても 0.05% 群より絶対重量の増加 ($P < 0.05$) と 0.45% 群

の体重比重量の増加($P < 0.05$)が認められた (1.35%群は測定しなかった)。

腎臓も BHA, BHT, BHT の雄において絶体重量ないし体重比重量に有意な増減を示したものが多かったが、用量との関係は認められず、体重の増減に関係あるものようであった。

その他の臓器にも有意な増減を示すものが散見されたが、これも体重の増減に関係するものと考えられた。

5. 組織学的所見 BHA, BHT, BHA・BHT のすべてにわたって特に変化が顕著であったのは腎臓であり、次いで肝臓で、殊に BHT に目立った。その他の臓器組織、特に重量増加の認められた雌甲状腺においても、現在の検索段階では特別な組織変化を殆んど認めていない。

腎臓：BHT 1.35% 群では尿管腔の拡張と尿管上皮細胞の扁平化が全例に顕著にみられた (Photo 2)。また尿管上皮細胞の枝の膨化、細胞質の膨化、空胞化、その周囲の間質への細胞浸潤も認められた (Photo 3)。その他、尿管の壊死、組織間隙の拡張、尿管腔中に変性した上皮細胞を含む蛋白円柱の出現、尿管上皮細胞内に黄褐色顆粒が小塊状に存在する像などがみられた。

BHT 0.45% 群では尿管上皮細胞の変化像も軽度であり、変化を示す部分も少なかった。

BHT 0.15% 群, 0.05% 群では間質への軽度な細胞浸潤が認められたほかに著変はなかった。

以上の変化は皮髄境界部から被膜直下まで一定の幅をもって帯状にあらわれており、高度の場合は被膜部位の陥没がみられた。

なお、雌の1.35%群で試験中死亡した7例中3例の1側腎が水腎化していたことは前述の通りで、一般に組織像の変化は雌の方が激しかった。

BHA 1.35% 群でも BHT 1.35% 群と同様な変化を生じているが程度も軽く例数も少なかった (Photo 4, 5)。0.45%群では一部の尿管の変性、細胞浸潤が2, 3みられた程度であり、0.15%群, 0.05%群では著変はなかった。

BHA・BHT 1.35% 群でも BHT 1.35% 群と同様な変化であるが軽度で、BHA 1.35% 群と比較すると雌において少々変化が強くあらわれているようであった (Photo 6・7)。0.45%群雌では細胞浸潤が軽度ではあるが多数例に出現しているのが目立つ程度で、雄には著変なかった。0.15%群, 0.05%群では殆んど変化を認めなかった。

肝臓：BHT 1.35% 群では全例に小葉周辺部 (門脈

周囲)の肝細胞が中等度に膨化を示していた (Photo 9)。また一方では中心静脈周囲の肝細胞がエオジンに濃染し、核も濃縮し、萎縮の傾向をみせているのが認められた (Photo 10)。0.45% 群では肝細胞の膨化は軽度で例数も少く、0.15%群, 0.05%群では認められなかった。しかし萎縮像は0.15%群, 0.05%群でも散見された。

BHA 1.35% 群では BHT 1.35% 群でみられた肝細胞の膨化は雌雄各1例で、それも極く軽度なものであった (Photo 11)。0.45%群, 0.15%群, 0.05% 群では1例も認めなかった。しかし萎縮像は軽度ではあるが多数に認められた。

BHA・BHT 1.35% 群では肝細胞の膨化は BHA 1.35%群よりも強く例数も多かった (Photo 12)。特に雄では顕著にその傾向があった。しかし0.45%群, 0.15%群, 0.05%群ではその変化像は皆無に等しく、0.45%群雄の1例に軽度のみであった。萎縮像は BHA と大差なかった。

Table X に腎臓および肝臓の主変化とその出現数を一括表示した。

4. 総括ならびに考案

酸化防止剤の BHA および BHT と両者併用の急性毒性試験をラットおよびマウスについて、亜急性毒性試験 (110 日) をラットを用いて行なった。

急性毒性試験における LD 50 値 (g/kg 体重、経口) は雄、雌それぞれのラットで BHA, 2.00, 2.20 BHT 2.00, 2.00, BHA・BHT (1:1) 併用 2.20, 2.20であり、マウスで BHA 1.10, 1.32, BHT 2.40, 2.40, BHA・BHT (1:2) 併用 1.35, 1.53であった。即ちラットにおいては BHA と BHT との症状および致死時間に明らかな差を認めたが slope function も LD 50 値にも差がなく、また併用による毒性の変化も認めなかった。これに対しマウスにおいては BHA は性差が認められるとともにラットの約2倍の毒性を示した。BHT はラットと大体同値で、種属差は認めなかった。また BHA・BHT (1:2) 併用で相乗的毒性の強化が認められた。BHA, BHT の LD 50値は文献値¹⁾³⁾⁵⁾⁶⁾と大体一致するもので、急性毒性は小 (slightly toxic) であると判定した。

亜急性毒性試験は7—8週令の雄 180 g, 雌 140 g 前後のラットを用い、BHA, BHT, BHA・BHT (1:1) 併用のものを0.05%, 0.15%, 0.45%および1.35%の割合に飼料に添加し、110 日間摂取させた。

体重は各試料の1.35%群がいずれも抑制され、特に

BHT 1.35% 群は初期より体重の減少を示したほかは対照と同等あるいは以上の増加であった。

飼料摂取量は BHT 1.35% 群が対照の約 3/5 であった以外は対照と差を示さなかった。BHT 1.35% 群は飼料摂取量が少く体重の減少を示したが、BHT 1.35% 飼料の味は対照飼料と大差なく、むしろ BHA 1.35% 飼料は非常に刺激的であったにもかかわらず摂取量は対照群と差のなかった点より BHT 1.35% 群の飼料摂取量が少く体重が減少したことは飼料の味によるのみではなく BHT の直接作用も関与していると考えられる。

飲水量は BHT 1.35% 群および BHA・BHT 1.35% において大であった。これが BHT の腎障害作用その他の関係は不明である。

BHT 1.35% 群では試験の初期より排尿後の尿が桃色に変色した。この本態については現在追 究 中 である。

BHT 1.35% 群は試験中雄 3 匹、雌 7 匹のラットが死した。いずれも特別の感染等によるものでなく、雌の死亡 7 例中 3 例の 1 側腎が水腎化しており、また、その他も腎に異常を認めた。

試料投与終了時の血液学的検査および血清総蛋白量、GPT 検査で特に有意と考えられる変化は各試料の 1.35% 群雌のヘモグロビン量の低下のみであった。

臓器重量の変化で最も著なもののは肝臓で各試料において用量と重量増加の関係が認められ、BHT において特に著しく、次いで BHA・BHT であった。次いで甲状腺の重量増加が各試料の雌と BHT の雄に認められ、雌では BHT が最も大で、次いで BHA・BHT であった。その他にも有意な重量増加を示す臓器もあったが、いずれも体重（発育）の増減と関係するものようであった。肝臓重量増大については多数の報告があり機能的な検討も可成りなされているが、なお不明な点も多く、⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾ 本試験において GPT の有意な変化は認めなかった。今後詳細な研究が必要である。甲状腺重量増加についても機能検査を行なっておらず、また組織学的に著明な変化を認めないので単純な腫大か、また機能亢進或いは低下か不明であるが、性と関係のあることは確かのように思われる。

臓器の組織学的所見で特に変化が認められたのは、各試料を通じ腎臓で、次いで肝臓であり、BHT 特に 1.35% 群において顕著であった。ほかは BHT 1.35% 群と比較して軽度であった。

BHA は試験期中飼料中の含有量が漸減し、終了時には開始時の 3/4 まで低下していた。この点を考慮に

入れても以上の成績より考察すると BHA と BHT の毒性の質は似ているが、その程度は BHT の方が格段に強いと考えられた。BHT の毒性は 0.45% 群と 1.35% 群との間に確たる差があり、急激な毒性の上昇が認められた。また、この毒性は雌性の方に強くあらわれるようであった。BHT は 0.05% 群においても肝臓重量の増加、甲状腺腫大、極めて軽度ではあるが腎臓組織の障害を認めており、この投与量を完全な安全量とはいいい難く、この群の 1 日平均 BHT 摂取量は約 30 mg/kg 体重であった。BHT の安全性は今後の慢性毒性試験等による詳細な検討の結果より論じなければならないが、本試験結果より BHT 摂取の安全量は、100 倍の安全率¹⁵⁾をとって、0.3 mg/kg 体重以下ということになる。BHT は飼料中の脂肪量によって毒性が強化されるという報告¹³⁾がある。この点について本試験では考慮していないが、使用した飼料中の脂肪含有率は粗脂肪として 6% であった。

BHA と BHT の併用 (1:1) による毒性については、どの検査における値ないし所見も BHA と BHT の中間的であり、相乗毒性は認められなかった。

文 献

- 1) 第二版食品添加物公定書注解、金原出版(1968) pp. 390-392, 756-758
- 2) 科学技術庁資源調査会編、食品添加物の現状と問題点、(1970)、pp. 103-104
- 3) Sixth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1962) pp. 41-49
- 4) J. T. Litchfield and F. W. Wilcoxon, J. Pharmacol exp. Ther., **96**, 99 (1949)
- 5) 中尾健、慈恵医大薬理論文プリント、(1955)
- 6) I. A. Karplyuk, Voprosy Pitaniya, **18**, 24 (1959) [C. A. **54**, 14479 (1960)]
- 7) G. Feuer, L. Golberg and J. R. Le Pelley, Fd Cosmet Toxicol., **3**, 235 (1965)
- 8) G. Feuer, L. Golberg and J. R. Le Pelly, *ibid*, **3**, 251 (1965)
- 9) D. Gilbert and L. Golberg, *ibid*, **3**, 417 (1965)
- 10) I. F. Gaunt, G. Feuer, F. A. Fairweather and D. Gilbert, *ibid*, **3**, 433 (1965)
- 11) I. F. Gaunt, D. Gilbert and D. Martin, *ibid*, **3**, 445 (1965)
- 12) G. Feuer, I. F. Gaunt, L. Golberg and F. A. Fairweather, *ibid*, **3**, 457 (1965)
- 13) W. D. Brown, A. R. Johnson and M. W. O'Halloran, Aust. J. exp. Biol., **37**, 533 (1959)
- 14) 高仲正、藤加隆一、大森義仁、食衛誌, **10**, 260 (1969)
- 15) 池田良雄：化学と生物, **8**, 225 (1970)

Table I Dosing Schedule for Acute Oral Toxicity Tests

Animal	Material	Vehicle	Vol.	Sex	Dose g/kg B. W.										
Rats	BHA	Olive oil (J. P.)	15 ml per kg B.W.	M	3.00 (10)	2.31 (10)	1.78 (10)	1.37 (10)	1.05 (10)						
				F	3.00 (10)	2.31 (10)	1.78 (10)	1.37 (10)	1.05 (10)						
	BHT			M	4.50 (10)	3.46 (10)	2.66 (10)	2.05 (10)	1.57 (10)	1.21 (10)	0.930 (10)	0.715 (10)			
				F	4.50 (10)	3.46 (10)	2.66 (10)	2.05 (10)	1.57 (10)	1.21 (10)	0.930 (10)	0.715 (10)			
	BHA•BHT (1 : 1)			M	2.51 (10)	2.24 (10)	2.00 (10)	1.78 (10)	1.59 (10)						
				F	2.51 (10)	2.24 (10)	2.00 (10)	1.78 (10)	1.59 (10)						
	Mice			BHA	Olive Oil (J. P.)	15 ml per kg B.W.	M	2.08 (10)	1.74 (10)	1.45 (10)	1.20 (10)	1.00 (10)	0.84 (10)		
							F	2.50 (10)	2.08 (10)	1.74 (10)	1.45 (10)	1.20 (10)	1.00 (10)	0.84 (10)	
BHT		M	4.50 (10)	3.75 (10)			3.13 (10)	2.60 (10)	2.17 (10)	1.81 (10)	1.51 (10)	1.26 (10)			
		F	4.50 (10)	3.75 (10)			3.13 (10)	2.60 (10)	2.17 (10)	1.81 (10)	1.51 (10)	1.26 (10)			
BHA•BHT (1 : 2)		M	2.50 (10)	2.08 (20)			1.73 (20)	1.44 (20)	1.20 (20)	1.00 (10)	0.837 (10)	0.698 (10)			
		F	3.00 (10)	2.50 (10)			2.08 (20)	1.73 (20)	1.44 (20)	1.20 (20)	1.00 (10)	0.873 (10)			

() no. of animals

Table II LD 50 of BHA, BHT and their Combination

Animal	Material	Sex	Death Time (hr.)			Slope Function (Confidence Interval at P=0.05)	LD 50 g/kg (Confidence Interval at P=0.05 %)
			Onset	Peak	Last		
Rats	BHA	M				1,310 (1,191~1,441)	2.00 (84.4~119)
		F	2	6	140	1,310 (1,191~1,441)	2.00 (84.7~118)
	BHT	M				1,328 (1,218~1,448)	2.00 (85.5~117)
		F	24	40	210	1,328 (1,218~1,448)	2.00 (85.5~117)
	BHA•BHT (1:1)	M				1,217 (1,068~1,387)	2.20(1.10+1.10) (91.7~109)
		F	1	20	70	1,217 (1,068~1,387)	2.20(1.10+1.10) (91.7~109)
Mice	BHA	M				1,235 (1,135~1,343)	1.10 (88.5~113)
		F	2	3	46	1,235 (1,133~1,346)	1.32 (88.5~113)
	BHT	M				1,418 (1,254~1,602)	2.40 (86.2~116)
		F	12	20	70	1,418 (1,254~1,602)	2.40 (86.2~116)
	BHA•BHT (1:2)	M				1,208 (1,152~1,267)	1.35(0.45+0.90) (92.2~109)
		F	2	20	48	1,210 (1,159~1,263)	1.53(0.51+1.02) (92.0~109)

statistical significance : Mice, LD 50, BHA, M vs F P<0.05

Mice, LD 50, BHA vs BHT P<0.05

Mice, LD 50, BHA vs BHA•BHT P<0.05

Table III Body Weight Increase, Food, Water and Material Intake

Sex	Dose		No. of Rats	Body Weight Increase (110 days)		Food Intake g/day/rat	Water Intake ml/day/rat	Material Intake mg/day	
				g	% ¹⁾			/ rat	/ kg
M	Control		10	182±10.6 ²⁾	98±5.8	17.0	23.4	—	—
	S-Control		10	175±15.2	93±7.1	16.7	22.9	—	—
	BHA	0.05%	10	213±12.6	115±6.0*	18.4	23.8	9.2	28.4
		0.15%	10	194±7.1	105±3.0	18.6	22.3	27.9	88.7
		0.45%	10	192±13.3	106±7.3	17.9	22.4	80.5	262.4
		1.35%	10	166±12.1	94±6.5	16.7	22.9	225.2	804.8
	BHT	0.05%	10	202±6.4	111±5.3	17.8	21.8	8.9	28.4
		0.15%	10	173±8.7	94±4.4	17.1	20.2	25.7	87.2
		0.45%	10	194±14.5	105±7.1	17.9	24.3	80.5	273.3
		1.35%	10	-24±8.9***	-14±5.2***	10.6	29.5	142.5	902.8
	BHA	0.05%	10	202±8.3	108±4.5	18.6	22.8	9.2	29.4
		0.15%	10	188±7.6	101±4.6	17.5	22.6	26.3	86.1
	BHT	0.45%	10	187±9.5	107±8.1	17.7	22.4	79.4	259.2
		1.35%	10	131±10.3*	71±5.1*	16.3	26.3	220.2	883.9
F	Control		10	79±5.3	56±3.7	11.7	17.0	—	—
	S-Control		10	75±4.3	53±2.7	11.5	15.4	—	—
	BHA	0.05%	10	80±6.6	58±4.6	11.8	14.4	5.9	30.9
		0.15%	10	74±3.8	54±2.7	11.7	15.1	17.6	93.6
		0.45%	10	69±4.0	49±3.0	11.7	15.2	52.5	279.6
		1.35%	10	56±3.9**	40±2.3**	11.2	16.7	150.2	849.6
	BHT	0.05%	10	82±4.3	59±3.6	11.8	15.4	6.0	30.1
		0.15%	10	78±4.9	56±3.4	12.1	15.7	18.1	94.0
		0.45%	10	63±4.3	45±3.1	11.4	17.4	51.4	278.6
		1.35%	10	-39±5.2***	-28±3.7***	6.9	22.1	93.0	805.5
	BHT	0.05%	10	75±5.2	53±3.4	12.6	15.9	6.3	31.7
		0.15%	10	73±4.9	53±3.2	11.2	14.3	16.9	89.3
	BHT	0.45%	10	72±5.3	51±3.9	11.9	16.2	53.5	281.3
		1.35%	10	42±3.5***	30±2.6***	11.6	24.1	156.3	961.9

1) (Final B.W./Initial B.W.-1)×100. 2) S. E. = $\sqrt{\frac{\sum(X-\bar{x})^2}{N(N-1)}}$

* P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

Table IV Hematology and Serum Chemistry

Sex	Dose	RBC ×10 ⁴	Hb g/dl	Hematocrit %	WBC ×10 ²	Serum		
						Total Protein g/dl	GPT Units/ml	
M	Control	820±20(5)	18.2±0.19(5)	55.2±0.66(5)	118±4.5(5)	6.7±0.33(5)	30.4±1.65(5)	
	S-Control	779±17(5)	17.2±0.19(5)	54.2±0.80(5)	105±3.7(5)	6.4±0.14(5)	27.0±3.19(5)	
	BHA	0.05%	784±24(5)	17.3±0.40(5)	53.4±0.87(5)	126±6.8 [*] (5)	7.4±0.19 ^{**} (5)	32.4±4.08(5)
		0.15%	790±10(5)	17.6±0.22(5)	52.8±0.58(5)	126±8.0 [*] (5)	7.2±0.15 ^{**} (5)	31.6±2.47(5)
		0.45%	817±32(5)	17.6±0.31(5)	54.6±0.40(5)	115±3.1(5)	7.0±0.19 [*] (5)	28.7±1.31(5)
		1.35%	812±17(5)	17.4±0.27(5)	53.8±1.32(5)	106±3.8(5)	7.4±0.27 [*] (5)	31.4±2.71(5)
	BHT	0.05%	816±5(5)	17.7±0.15(5)	54.0±0.71(5)	110±5.1(5)	6.8±0.05 [*] (5)	27.6±1.43(5)
		0.15%	793±14(5)	17.6±0.47(5)	54.5±0.87(5)	104±4.8(5)	6.9±0.12(5)	28.8±1.50(5)
		0.45%	821±20(5)	17.1±0.39(5)	53.4±0.60(5)	118±11.8(5)	7.5±0.19 ^{**} (5)	24.7±1.62(5)
		1.35%	787±17(5)	14.3±1.32(5)	45.8±5.05(5)	103±6.5(5)	6.3±0.18(5)	27.2±2.44(5)
	BHA • BHT	0.05%	780±18(5)	18.6±0.44(5)	56.7±0.85(5)	114±3.2(5)	6.8±0.18(5)	26.7±1.80(5)
		0.15%	807±16(5)	17.7±0.27(5)	54.6±0.51(5)	111±3.5(5)	7.5±0.14 ^{***} (5)	33.0±4.16(5)
		0.45%	786±17(5)	17.9±0.34(5)	54.2±1.02(5)	110±4.4(5)	7.6±0.40 [*] (5)	27.0±2.27(5)
		1.35%	779±21(5)	17.0±0.54(5)	54.8±0.37(5)	109±2.7(5)	7.8±0.09(5)	22.8±2.32(5)
F	Control	776±20(5)	17.5±0.38(5)	52.8±1.16(5)	113±8.3(5)	7.6±0.41(5)	27.5±1.88(5)	
	S-Control	770±16(5)	17.3±0.31(5)	51.8±1.02(5)	107±4.5(5)	7.3±0.25(5)	23.8±3.10(5)	
	BHA	0.05%	777±22(5)	17.4±0.30(5)	53.2±1.03(5)	116±6.7(5)	7.5±0.17(5)	26.4±1.37(5)
		0.15%	785±25(5)	16.9±0.22(5)	52.4±1.12(5)	111±6.5(5)	8.0±0.19(5)	27.7±3.18(5)
		0.45%	775±23(5)	16.7±0.36(5)	51.4±1.33(5)	103±2.4(5)	7.8±0.19(5)	26.2±2.67(5)
		1.35%	783±11(5)	16.1±0.14 ^{**} (5)	49.6±0.60(5)	107±2.0(5)	8.2±0.12 [*] (5)	27.7±1.91(5)
	BHT	0.05%	767±17(5)	16.7±0.32(5)	51.2±0.86(5)	105±2.7(5)	7.2±0.14(5)	26.1±2.19(5)
		0.15%	749±18(5)	17.0±0.38(5)	51.2±0.92(5)	109±2.9(5)	7.6±0.18(5)	28.3±2.51(5)
		0.45%	754±20(5)	16.5±0.45(5)	51.2±1.16(5)	111±1.9(5)	7.9±0.04 [*] (5)	23.3±1.18(5)
		1.35%	817±35(2)	13.6±1.40 ^{**} (2)	53.0(1)	91±10.3(2)	6.1±0.10 [*] (2)	32.6±6.36(2)
	BHA • BHT	0.05%	756±21(5)	16.8±0.18(5)	51.8±1.16(5)	102±9.0(5)	7.6±0.08(5)	24.2±1.46(5)
		0.15%	757±11(5)	17.0±0.34(5)	51.4±1.08(5)	107±3.7(5)	7.4±0.15(5)	25.6±2.52(5)
		0.45%	791±26(5)	16.4±0.28(5)	50.8±0.73(5)	113±2.8(5)	7.7±0.26(5)	24.9±2.77(5)
		1.35%	775±18(5)	15.3±0.46 ^{**} (5)	51.4±1.57(5)	109±3.1(5)	7.8±0.20(5)	25.7±1.45(5)

$$1) \text{ S. E.} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{x})^2}{N(N-1)}}$$

() no. of rats

* P<0.05

** P<0.01

*** P<0.001

Table V Percent Differential Formula of Leucocytes

Sex	Dose		Neutrophils	Large Lymphocytes	Small Lymphocytes	Monocytes	Eosinophils
M	Control		13.4±1.68 ¹⁾ (5)	15.1±1.46 (5)	63.8±1.19 (5)	4.1±0.76 (5)	2.1±0.24 (5)
	S-Control		13.6±2.44 (5)	13.3±1.60 (5)	66.2±1.97 (5)	5.6±1.04 (5)	2.2±0.37 (5)
	BHA	0.05%	16.0±3.41 (5)	14.3±2.34 (5)	65.6±4.52 (5)	3.4±0.46 (5)	2.7±0.34 (5)
		0.15%	13.3±1.10 (5)	12.3±1.64 (5)	68.2±1.65 (5)	3.7±0.60 (5)	2.5±0.32 (5)
		0.45%	14.5±0.95 (5)	13.0±1.36 (5)	66.6±1.00 (5)	3.4±0.33 (5)	2.6±0.48 (5)
		1.35%	11.1±0.87 (5)	12.6±1.58 (5)	69.8±3.42 (5)	3.8±0.93 (5)	2.7±0.54 (5)
	BHT	0.05%	14.4±1.76 (5)	15.3±1.01 (5)	64.8±0.93 (5)	3.8±0.34 (5)	2.6±0.43 (5)
		0.15%	10.9±1.07 (5)	14.6±1.86 (5)	67.2±1.88 (5)	4.0±0.84 (5)	3.3±0.37 (5)
		0.45%	11.1±1.54 (5)	12.8±1.93 (5)	70.4±3.20 (5)	3.4±0.29 (5)	2.3±0.41 (5)
		1.35%	10.9±1.53 (5)	17.9±2.37 (5)	63.8±2.27 (5)	4.9±0.56 (5)	2.9±0.29 (5)
	BHA BHT	1.05%	13.1±2.56 (5)	17.1±1.09 (5)	63.4±2.55 (5)	4.5±0.52 (5)	3.1±0.43 (5)
		0.15%	13.0±0.74 (5)	15.1±1.74 (5)	63.5±2.40 (5)	5.1±0.24 (5)	3.3±0.46 (5)
		0.45%	8.3±0.64 (5)	16.6±0.33 (5)	66.8±0.82 (5)	5.5±0.69 (5)	2.8±0.49 (5)
		1.35%	12.7±1.10 (5)	13.9±1.50 (5)	67.1±2.05 (5)	5.2±0.87 (5)	2.1±0.19 (5)
F	Control		13.4±0.94 (5)	14.6±1.61 (5)	64.7±2.59 (5)	5.0±0.95 (5)	2.1±0.33 (5)
	S-Control		13.0±1.52 (5)	13.6±1.22 (5)	65.5±2.22 (5)	5.2±0.97 (5)	2.9±0.51 (5)
	BHA	0.05%	9.7±1.03 (5)	13.9±2.37 (5)	67.9±1.78 (5)	4.8±0.12 (5)	3.7±0.56 (5)
		0.15%	13.8±1.07 (5)	11.7±1.79 (5)	66.7±1.62 (5)	4.5±0.35 (5)	3.3±0.25 (5)
		0.45%	14.3±1.07 (5)	13.8±1.59 (5)	66.3±1.83 (5)	4.2±0.54 (5)	2.4±0.19 (5)
		1.35%	12.6±1.24 (5)	13.6±2.22	66.2±2.04 (5)	4.3±0.73 (5)	4.5±0.82 (5)
	BHT	0.05%	10.5±2.09 (5)	14.0±2.29 (5)	68.5±3.23 (5)	4.4±0.68 (5)	2.8±0.72 (5)
		0.15%	14.7±1.23 (5)	15.2±1.77 (5)	62.2±2.06 (5)	4.8±0.34 (5)	3.3±0.54 (5)
		0.45%	10.5±1.36 (5)	16.1±1.73 (5)	65.1±1.76 (5)	4.8±0.46 (5)	3.4±0.29 (5)
		1.35%	18.0±1.00 (2)	13.1±6.00 (2)	61.3±4.25 (2)	4.5±1.50 (2)	3.3±0.75 (2)
	BHA BHT	0.05%	13.6±1.70 (5)	15.0±2.47 (5)	64.1±2.61 (5)	3.8±0.44 (5)	3.5±0.71 (5)
		0.15%	12.8±1.38 (5)	15.3±1.57 (5)	66.3±1.19 (5)	4.7±0.49 (5)	2.9±0.24 (5)
		0.45%	9.5±0.88 (5)	12.5±0.72 (5)	70.9±1.33 (5)	5.0±1.43 (5)	3.1±0.19 (5)
		1.35%	13.2±1.22 (5)	17.0±0.94 (5)	62.6±0.86 (5)	6.8±1.07 (5)	3.4±0.56 (5)

1) S. E. = $\sqrt{\frac{\sum(X-\bar{x})^2}{N(N-1)}}$ () no. of rats

Table VI Organ Weight (Male)

Dose	Brain	Pituitary	Thyroid (L+R)	Thymus (L+R)	Heart	Lung (L+R)
	mg ¹⁾ mg/100 g	mg mg/100 g	mg mg/100 g	mg mg/100 g	mg mg/100 g	mg mg/100 g
Control	1,892±32 ²⁾ 520±11 (5)	10.6±0.6 2.9±0.2 (5)	15.0±0.6 4.1±0.3 (5)	153±5.9 42±1.3 (5)	988±30 270±8 (10)	1,283±31 352±12 (5)
S-Control	1,889±35 571±31 (5)	9.3±0.8 2.8±0.3 (5)	13.8±0.6 4.1±0.3 (5)	154±11.1 47±4.0 (5)	986±35 273±7 (10)	1,188±68 361±35 (5)
BHA	0.05% 1,886±55 506±19 (5)	10.1±0.8 2.6±0.2 (5)	15.3±1.3 4.1±0.4 (5)	207±35.2 56±10.1 (5)	1,082±34 286±12 (10)	1,396±38 [*] 394±14 (5)
	0.15% 1,880±35 515±17 (5)	11.5±0.6 3.1±0.2 (5)	12.7±1.1 3.5±0.2 (5)	197±25.6 53±5.7 (5)	1,036±22 272±8 (10)	1,388±65 379±16 (5)
	0.45% 1,926±30 531±29 (5)	11.0±0.3 3.0±0.1 (5)	14.9±0.8 4.1±0.4 (5)	186±16.3 51±4.6 (5)	1,054±51 280±7 (10)	1,260±76 343±33 (5)
	1.35% 1,882±48 592±19 (5)	10.4±1.1 3.2±0.4 (5)	13.3±1.0 4.2±0.4 (5)	138±15.8 44±5.5 (5)	977±34 284±10 (10)	1,264±89 391±10 (5)
BHT	0.05% 1,937±35 496±14 (5)	11.1±1.1 2.8±0.2 (5)	18.8±1.2 [*] 4.8±0.2 (5)	152±19.2 39±5.7 (5)	1,056±22 272±4 (10)	1,460±39 ^{**} 374±15 (5)
	0.15% 1,832±27 530±17 (5)	11.4±0.7 3.2±0.2 (5)	17.2±1.1 [*] 5.0±0.4 (5)	161±15.4 46±10.2 (5)	977±33 270±7 (10)	1,398±83 402±21 (5)
	0.45% 1,872±50 536±30 (5)	12.1±0.7 [*] 3.4±0.3 (5)	18.8±1.5 [*] 5.3±0.4 (5)	216±22.4 [*] 61±5.2 (5)	1,065±47 285±12 (10)	1,397±51 398±18 (5)
	1.35% —	—	—	—	544±63 ^{***} 291±36 (5)	—
BHA • BHT	0.05% 1,928±23 489±15 (5)	11.7±0.6 2.9±0.2 (5)	17.2±1.4 4.3±0.3 (5)	162±10.0 41±1.3 (5)	1,090±37 292±17 (10)	1,429±66 [*] 360±8 (5)
	0.15% 1,921±39 518±12 (5)	12.1±1.1 3.2±0.3 (5)	14.0±1.9 3.7±0.4 (5)	207±24.4 55±5.6 (5)	1,077±32 287±5 (10)	1,335±58 359±10 (5)
	0.45% 1,887±32 489±32 (5)	11.4±1.0 2.9±0.2 (5)	17.1±0.9 [*] 4.4±0.3 (5)	162±15.1 42±4.7 (5)	1,086±47 280±6 (10)	1,436±95 367±14 (5)
	1.35% 1,898±24 605±20 (5)	11.4±0.9 3.6±0.3 (5)	14.1±0.9 4.5±0.3 (5)	139±7.6 44±2.3 (5)	975±33 306±6 (10)	1,206±38 385±15 (5)

1) absolute weight 2) $S.E. = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{x})^2}{N(N-1)}}$

() no. of rats

* P<0.05

**P<0.01

*** P<0.001

Table VII Organ Weight (Male)

Dose	Liver	Spleen	Adrenal $\left(\frac{L+R}{2}\right)$	Kidney (L)	V. Prostate	Testis (L)
	mg ¹⁾ mg/100 g	mg mg/100 g	mg mg/100 g	mg mg/100 g	mg mg/100 g	mg mg/100 g
Control	12,709±433 ²⁾ 3,463±52 ⁽¹⁰⁾	556±23 152±7 ⁽¹⁰⁾	22.7±0.73 6.2±0.20 ⁽¹⁰⁾	965±32 263±5 ⁽¹⁰⁾	321±19 88±5.1 ⁽⁵⁾	1,423±20 391±11 ⁽⁵⁾
S-Control	12,633±523 3,486±87 ⁽¹⁰⁾	513±32 141±5 ⁽¹⁰⁾	21.7±0.93 6.0±0.28 ⁽¹⁰⁾	932±37 258±7 ⁽¹⁰⁾	275±22 82±3.5 ⁽⁵⁾	1,341±60 403±16 ⁽⁵⁾
BHA	0.05% 14,634±720 [*] 3,673±94 ⁽¹⁰⁾	546±25 138±4 ⁽¹⁰⁾	24.1±1.14 6.1±0.15 ⁽¹⁰⁾	1,107±40 ^{**} 279±4 ^{*(10)}	316±19 85±6.0 ⁽⁵⁾	1,366±64 366±16 ⁽⁵⁾
	0.15% 14,583±536 [*] 3,810±97 ^{*(10)}	509±24 133±5 ⁽¹⁰⁾	22.8±1.22 6.0±0.36 ⁽¹⁰⁾	1,005±28 263±7 ⁽¹⁰⁾	278±39 71±8.7 ⁽⁵⁾	1,490±73 407±17 ⁽⁵⁾
	0.45% 14,853±642 [*] 3,945±73 ^{*** (10)}	493±28 132±6 ⁽¹⁰⁾	23.4±1.04 6.2±0.20 ⁽¹⁰⁾	1,074±63 285±11 ⁽¹⁰⁾	330±54 92±17.5 ⁽⁵⁾	1,452±39 400±20 ⁽⁵⁾
	0.35% 14,828±566 [*] 4,306±105 ^{*** (10)}	464±16 135±3 ⁽¹⁰⁾	20.5±0.77 6.0±0.35 ⁽¹⁰⁾	950±41 275±8 ^{*(10)}	265±39 83±12.4 ⁽⁵⁾	1,463±78 458±9 ^{*(5)}
	0.05% 14,500±381 ^{**} 3,730±78 ^{*(10)}	561±23 144±5 ⁽¹⁰⁾	22.6±1.13 5.8±0.25 ⁽¹⁰⁾	1,064±31 [*] 274±6 ⁽¹⁰⁾	311±17 80±4.3 ⁽⁵⁾	1,560±31 [*] 399±11 ⁽⁵⁾
BHT	0.15% 15,136±460 ^{**} 4,178±56 ^{*** (10)}	507±19 140±4 ⁽¹⁰⁾	21.1±0.31 5.9±0.14 ⁽¹⁰⁾	993±22 275±5 ⁽¹⁰⁾	323±31 93±6.8 ⁽⁵⁾	1,375±19 398±14 ⁽⁵⁾
	0.45% 19,054±956 ^{***} 5,091±214 ^{*** (10)}	527±32 140±6 ⁽¹⁰⁾	22.6±1.20 6.0±0.25 ⁽¹⁰⁾	1,101±43 ^{**} 293±6 ^{*** (10)}	234±20 64±4.4 ⁽⁵⁾	1,488±34 446±8 ^{*(5)}
	1.35% 14,281±785 ^{***} 7,553±240 ^{*** (5)}	370±34 [*] 199±26 ^{*** (5)}	16.9±0.37 ^{**} 9.0±0.44 ^{*** (5)}	820±18 [*] 438±26 ^{*(5)}	—	—
	0.05% 14,304±530 [*] 3,646±64 ⁽¹⁰⁾	589±33 150±6 ⁽¹⁰⁾	22.0±0.81 5.6±0.21 ⁽¹⁰⁾	1,043±32 [*] 266±3 ⁽¹⁰⁾	370±55 92±11.0 ⁽⁵⁾	1,446±54 365±7 ⁽⁵⁾
BHA	0.15% 14,979±454 ^{**} 3,995±82 ^{*** (10)}	527±30 140±6 ⁽¹⁰⁾	22.1±0.96 5.9±0.17 ⁽¹⁰⁾	1,055±32 [*] 282±6 ^{*(10)}	302±36 82±10.3 ⁽⁵⁾	1,385±28 374±5 ⁽⁵⁾
BHT	0.45% 17,702±797 ^{***} 4,561±105 ^{*** (10)}	511±20 132±3 ⁽¹⁰⁾	20.3±1.03 5.2±0.19 ⁽¹⁰⁾	1,040±43 268±5 ⁽¹⁰⁾	275±27 70±3.5 ⁽⁵⁾	1,454±44 363±8 ⁽⁵⁾
	1.35% 19,153±744 ^{***} 5,994±99 ^{*** (10)}	443±27 138±6 ⁽¹⁰⁾	20.4±0.75 6.4±0.26 ⁽¹⁰⁾	936±31 293±5 ^{*** (10)}	230±24 73±6.0 ⁽⁵⁾	1,393±33 444±14 ⁽⁵⁾

1) absolute weight 2) S.E. = $\sqrt{\frac{\sum(X-\bar{x})^2}{N(N-1)}}$

() no. of rats

* P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

Table VIII Organ Weight (Female)

Dose	Brain	Pituitary	Thyroid (L+R)	Thymus (L+R)	Heart	Lung (L+R)
	$\frac{\text{mg}^1}{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$
Control	1,774±42 ²⁾ 840±9 (5)	10.6±1.2 5.0±0.6 (5)	10.4±0.4 4.9±0.2 (5)	168±36.8 79±17.1 (5)	695±19 313±4 (10)	905±32 428±16 (5)
S-Control	1,738±22 846±25 (5)	11.3±0.3 5.5±0.3 (5)	9.0±0.4 4.4±0.3 (5)	159±13.7 71±10.3 (5)	678±18 313±10 (10)	930±51 451±23 (5)
BHA	0.05% 1,781±47 887±31 (5)	11.7±0.6 5.8±0.3 (5)	11.2±1.1 5.9±0.6 (5)	114±9.4* 57±5.1 (5)	669±21 308±7 (10)	950±43 475±18 (5)
	0.15% 1,766±11 861±33 (5)	10.3±0.8 5.0±0.4 (5)	11.5±1.0** 5.5±0.3 (5)	150±9.2 73±3.0 (5)	650±24 308±10 (10)	964±47 471±35 (5)
	0.45% 1,751±19 841±27 (5)	12.3±0.6 5.9±0.3 (5)	11.8±0.6** 5.7±0.2 (5)	167±23.5 80±11.9 (5)	668±17 317±7 (10)	1,023±53 489±17 (5)
	1.35% 1,701±41 929±20 (5)	10.6±0.4 5.7±0.1 (5)	12.0±0.5* 6.6±0.3 (5)	137±23.1 74±11.6 (5)	669±27 338±5 (10)	823±23 452±23 (5)
	0.05% 1,702±98 775±31 (5)	12.6±0.6 5.7±0.2 (5)	14.1±1.4* 6.2±0.5 (5)	156±28.3 72±14.6 (5)	687±17 304±6 (10)	995±36 454±30 (5)
BHT	0.15% 1,759±34 829±29 (5)	12.1±0.9 5.6±0.4 (5)	13.6±0.5*** 6.4±0.3 (5)	187±19.6 89±11.5 (5)	682±17 312±9 (10)	988±62 467±36 (5)
	0.45% 1,750±26 878±18 (5)	19.8±1.2* 4.8±0.5 (5)	14.8±0.7** 7.4±0.3 (5)	128±15.5 64±8.1 (5)	641±24 318±10 (10)	844±22 422±8 (5)
	1.35% —	—	—	—	396±36 351±10 (5)	—
BHA • BHT	0.05% 1,786±47 844±11* (5)	11.3±1.1 5.3±0.5 (5)	13.1±0.8* 6.2±0.4 (5)	188±25.2 88±9.8 (5)	714±19 323±7 (10)	977±25 460±16 (5)
	0.15% 1,798±50 868±20 (5)	11.7±0.8 5.7±0.5 (5)	11.8±0.7*** 5.7±0.4 (5)	175±28.5 86±15.9 (5)	635±21 302±7 (10)	918±28 447±30 (5)
	0.45% 1,724±19 842±22 (5)	14.9±1.0** 7.2±0.6 (5)	14.1±1.1** 6.9±0.2 (5)	181±20.4 88±8.9 (5)	683±16 323±7 (10)	904±42 440±18 (5)
	1.35% 1,779±47 976±26** (5)	11.6±0.7 6.3±0.3 (5)	14.3±1.1** 7.8±0.4 (5)	128±18.6 70±9.2 (5)	634±16 343±8 (10)	880±40 484±29 (5)

1) absolute weight 2) $S.E. = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{x})^2}{N(N-1)}}$ () no. of rats

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

Table IX Organ Weight (Female)

Dose	Liver	Spleen	Adrenal $\left(\frac{L+R}{2}\right)$	Kidney (L)	Uterus	Ovary (L)
	$\frac{\text{mg}^{1)} }{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$	$\frac{\text{mg}}{\text{mg}/100 \text{ g}}$
Control	8,047±305 ²⁾ 3,630±129 ⁽¹⁰⁾	399±26 178±8 ⁽¹⁰⁾	30.7±1.11 13.9±0.64 ⁽¹⁰⁾	665±21 300±9 ⁽¹⁰⁾	717±29 340±15 ⁽⁵⁾	138±2.7 65±1.4 ⁽⁵⁾
S-Control	7,621±272 3,507±90 ⁽¹⁰⁾	366±20 168±6 ⁽¹⁰⁾	27.4±0.88 12.6±0.37 ⁽¹⁰⁾	641±14 296±9 ⁽¹⁰⁾	641±54 312±28 ⁽⁵⁾	136±1.4 66±2.3 ⁽⁵⁾
BHA	0.05% 8,173±357 3,747±40 ^{*(10)}	382±20 175±7 ⁽¹⁰⁾	30.2±1.69 13.9±0.77 ⁽¹⁰⁾	639±17 294±5 ⁽¹⁰⁾	605±42 301±20 ⁽⁵⁾	141±1.8 70±1.4 ⁽⁵⁾
	0.15% 8,365±300 3,961±113 ^{** (10)}	365±16 172±6 ⁽¹⁰⁾	27.3±0.83 12.9±0.39 ⁽¹⁰⁾	615±14 292±5 ⁽¹⁰⁾	618±57 299±23 ⁽⁵⁾	140±1.6 68±3.1 ⁽⁵⁾
	0.45% 9,096±390 4,312±156 ^{*** (10)}	377±14 179±6 ⁽¹⁰⁾	30.3±1.24 14.3±0.39 ⁽¹⁰⁾	649±25 307±8 ⁽¹⁰⁾	616±54 295±24 ⁽⁵⁾	149±4.2 71±1.7 ⁽⁵⁾
	1.35% 10,588±572 5,340±183 ^{*** (10)}	336±17 169±5 ⁽¹⁰⁾	27.4±1.70 13.8±0.61 ⁽¹⁰⁾	654±33 331±11 ⁽¹⁰⁾	442±42 240±21 ⁽⁵⁾	139±2.8 76±0.5 ^{*** (5)}
BHT	0.05% 8,461±262 3,741±96 ^{*(10)}	405±25 179±10 ⁽¹⁰⁾	33.0±1.30 14.6±0.46 ⁽¹⁰⁾	676±17 299±6 ⁽¹⁰⁾	556±27 252±23 ⁽⁵⁾	146±3.6 66±3.1 ^{*(5)}
	0.15% 9,234±166 4,223±105 ^{*** (10)}	372±19 169±7 ⁽¹⁰⁾	30.7±0.82 14.1±0.68 ⁽¹⁰⁾	649±13 297±8 ⁽¹⁰⁾	621±57 294±31 ⁽⁵⁾	142±2.6 67±2.1 ⁽⁵⁾
	0.45% 9,950±332 4,922±109 ^{*** (10)}	319±17 158±6 ⁽¹⁰⁾	29.6±1.12 14.6±0.46 ⁽¹⁰⁾	617±14 305±5 ⁽¹⁰⁾	603±41 301±19 ⁽⁵⁾	142±2.2 71±0.4 ⁽⁵⁾
	1.35% 9,283±1,948 7,996±896 ^{*** (3)}	278±40 220±32 ^{*(3)}	14.0±2.75 13.1±4.04 ⁽³⁾	570±24 521±83 ⁽³⁾	—	—
BHA • BHT	0.05% 9,114±232 4,118±82 ^{*** (10)}	388±28 175±11 ⁽¹⁰⁾	31.6±1.06 14.5±0.46 ⁽¹⁰⁾	679±15 307±7 ⁽¹⁰⁾	652±115 312±60 ⁽⁵⁾	143±0.9 68±2.4 ^{*** (5)}
	0.15% 8,746±447 4,177±257 ^{*(10)}	350±28 165±5 ⁽¹⁰⁾	29.5±0.99 14.0±0.32 ⁽¹⁰⁾	618±23 293±7 ⁽¹⁰⁾	679±68 331±40 ⁽⁵⁾	142±2.4 69±3.3 ⁽⁵⁾
	0.45% 10,322±424 4,853±124 ^{*** (10)}	357±30 168±13 ⁽¹⁰⁾	29.4±1.01 13.9±0.44 ⁽¹⁰⁾	640±16 302±5 ⁽¹⁰⁾	565±41 275±19 ⁽⁵⁾	139±2.4 68±3.2 ⁽⁵⁾
	1.35% 13,217±610 7,149±268 ^{*** (10)}	312±16 169±7 ⁽¹⁰⁾	25.8±1.18 14.0±0.37 ⁽¹⁰⁾	650±34 352±18 ⁽¹⁰⁾	510±56 278±28 ⁽⁵⁾	140±1.9 77±2.0 ^{*** (5)}

1) absolute weight 2) $S.E. = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{x})^2}{N(N-1)}}$ () no. of rats

* P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

Table X Summary of Microscopic Changes

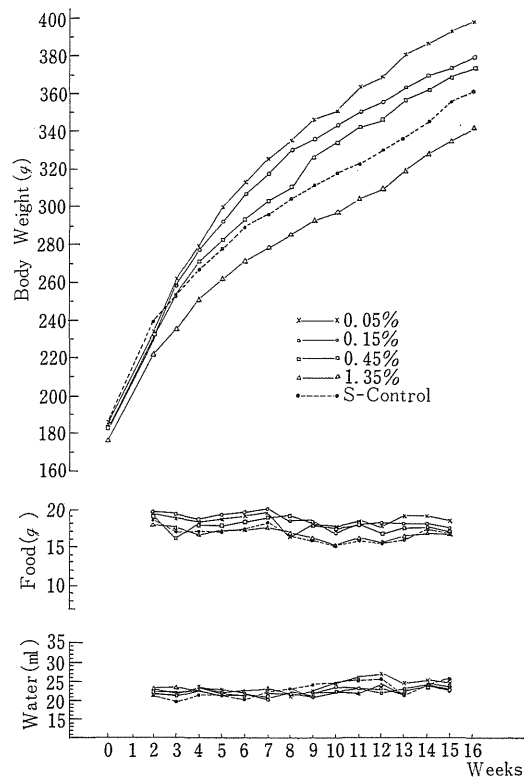
Sex	Organ.	Microscopic Findings	*	C**	SC***	BHA				BHT				BHA•BHT			
						0.05%	0.15%	0.45%	1.35%	0.05%	0.15%	0.45%	1.35%	0.05%	0.15%	0.45%	1.35%
M	Kidney	expansion in renal cavity	SE MO SL			1/10	1/10	3/10	1/10 2/10 4/10	1/10	3/10	8/10	3/6 3/6		1/10	2/10	1/10 5/10
		swelling in epithelium of renal tubles	SE MO SL					2/10	3/10	2/10	3/10	4/10	4/6 2/6	1/10		2/10	2/10 3/10
		necrosis in renal tubles	SE MO SL				1/10	2/10	2/10		1/10	1/10 4/10	3/6 3/6			2/10	1/10 4/10
		cell infiltration in cortex	SE MO SL	2/10	1/10	1/10	1/10	3/10	2/10 2/10 2/10	4/10	1/10 3/10	2/10 3/10	3/6 3/6	1/10	1/10	2/10	1/10 2/10 3/10
	liver	swelling in liver cells	SE MO SL						1/10		1/10	2/10	4/6 1/6 1/6			1/10	1/10 3/10 2/10
		atrophy in liver oells	SE MO SL	2/10	2/10	2/10	1/10	3/10	6/10	2/10	3/10	1/10 4/10	5/6 1/6	1/10	1/10	3/10	2/10 5/10
F	Kidney	expansion in renal cavity	SE MO SL				1/10	3/10	1/10 2/10 4/10		2/10	1/10 4/10	2/3 1/3		1/10	3/10	1/10 1/10 3/10
		swelling in epithelium of renal tubles	SE MO SL				1/10	2/10	2/10 3/10	1/10	2/10	4/10	2/3 1/3		1/10	3/10	1/10 2/10 2/10
		necrosis in renal tubles	SE MO SL			1/10	2/10	1/10 2/10	3/10 2/10			3/10	1/3 2/3		2/10	5/10	1/10 2/10 5/10
		cell infiltration in cortex	SE MO SL	2/10	2/10		1/10	4/10	3/10 2/10	4/10	1/10 4/10	1/10 5/10	2/3 1/3	2/10	4/10	7/10	1/10 1/10 4/10
	liver	swelling in liver cells	SE MO SL						1/10			2/10	1/3 2/3				1/10 2/10
		atrophy in liver cells	SE MO SL	2/10	3/10			1/10	3/10		1/10	1/10	1/3 2/2		1/10	1/10	1/10 8/10

* SE: Severe Mo: Moderate SL: Slight

** C: Standard diet (Control)

*** SC: Containing 1% soluble starch in standard diet (S—Control)

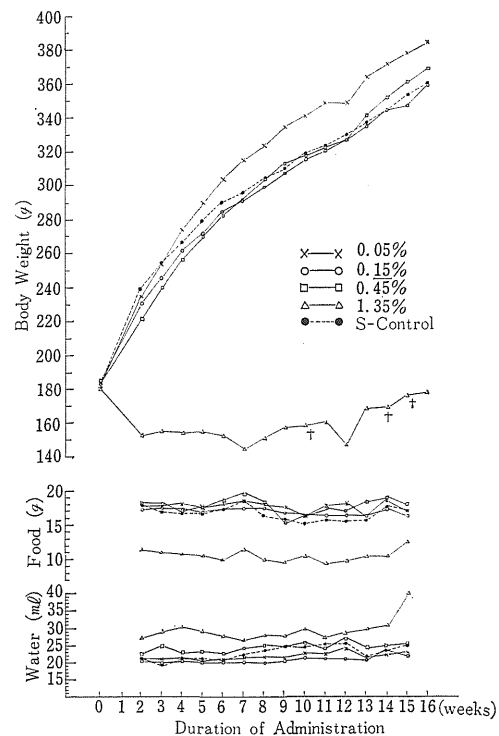
**Fig. 1 Mean Weekly Body Weight, Food Intake and Water Intake
BHA-Male Rats**



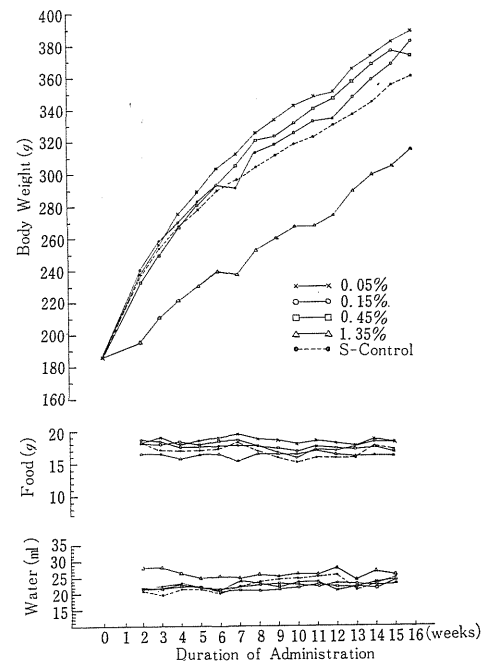
Duration of Administration

S-Control: Containing 1% soluble starch in standard diet

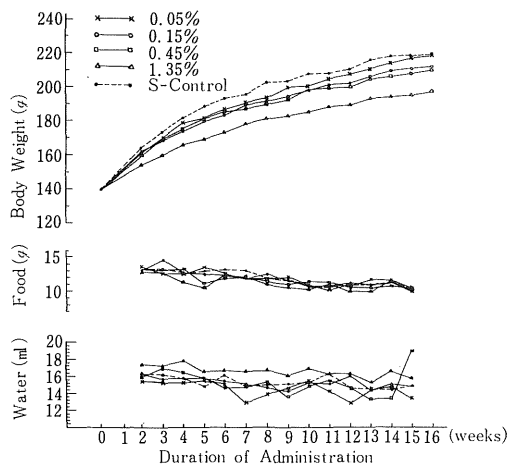
**Fig. 2 Mean Weekly Body Weight, Food Intake and Water Intake
BHT-Male Rats**



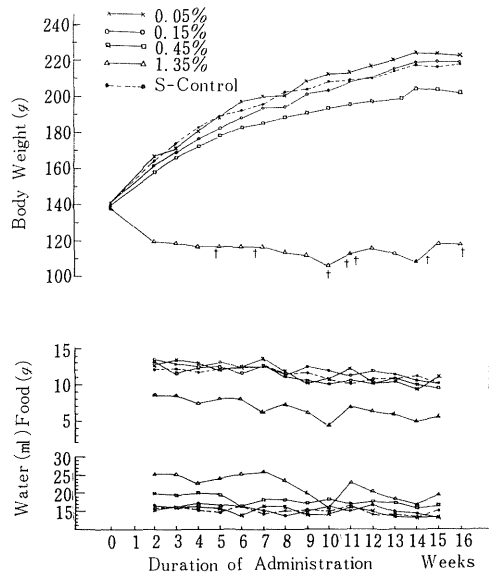
**Fig. 3 Mean Weekly Body Weight, Food Intake and Water Intake
BHA·BHT-Male Rats**



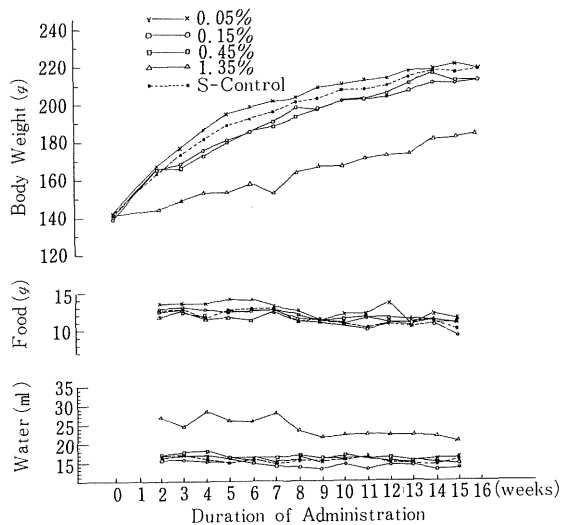
**Fig. 4 Mean Weekly Body Weight, Food Intake and Water Intake
BHA-Female Rats**



**Fig. 5 Mean Weekly Body Weight, Food Intake and Water Intake
BHT-Female Rats**



**Fig. 6 Mean Weekly Body Weight, Food Intake and Water Intake
BHA·BHT-Female Rats**



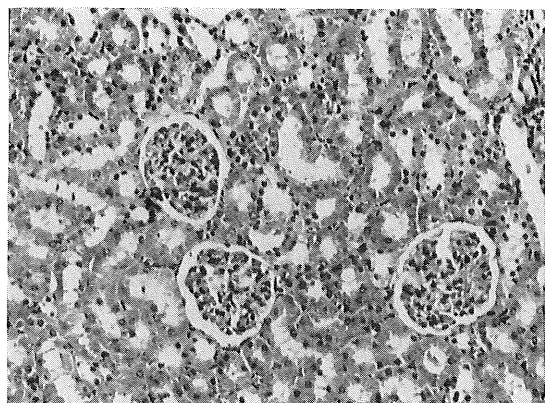


Photo 1. Kidney of control rat H.E. 10×10

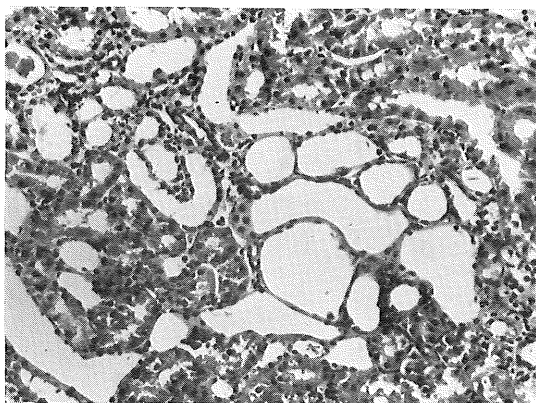


Photo 2. Kidney of 1.35% BHT H.E. 10×10
Note : the expansion of renal cavity and decrease in cell height of epithelium

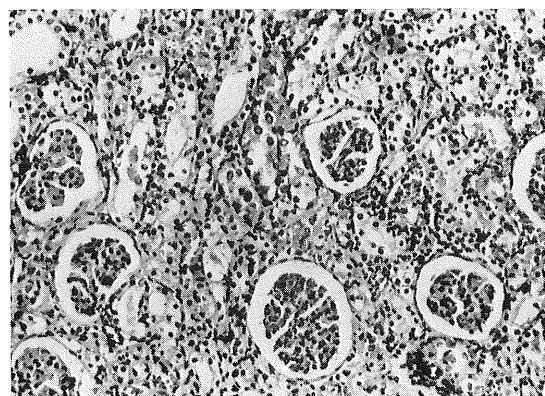


Photo 3. Kidney of 1.35% BHT H.E. 10×10
Note : the swelling in epithelium of renal tubules and cell infiltration in stroma

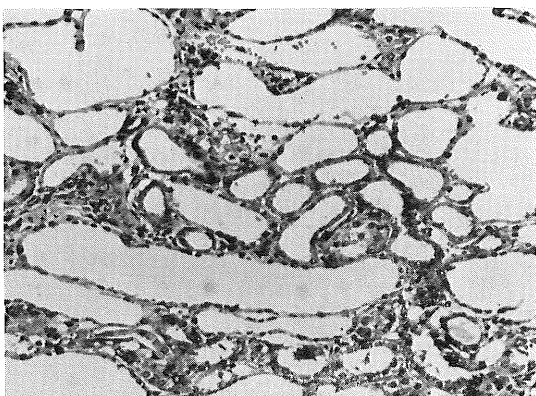


Photo 4. Kidney of 1.35% BHA H.E. 10×10
Note : the expansion of renal cavity and decrease in cell height of epithelium

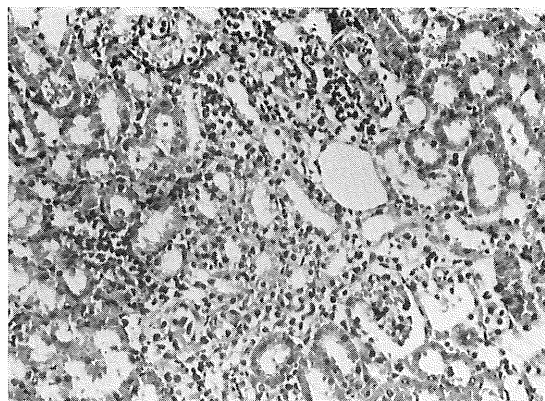


Photo 5. Kidney of 1.35% BHA H.E. 10×10
Note : the swelling in epithelium of renal tables and cell infiltration in stroma

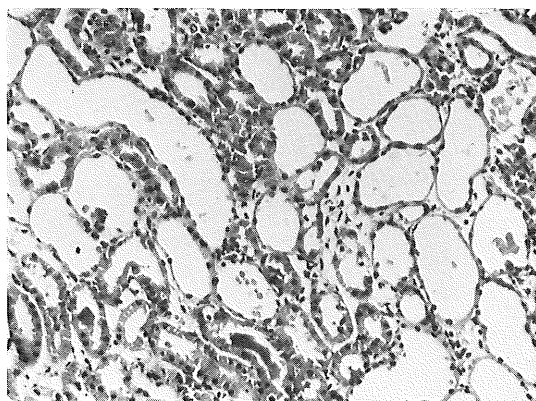


Photo 6. Kidney of 1.35% BHA•BHT H.E. 10×10
Note : the expansion of renal cavity and decrease in cell height of epithelium

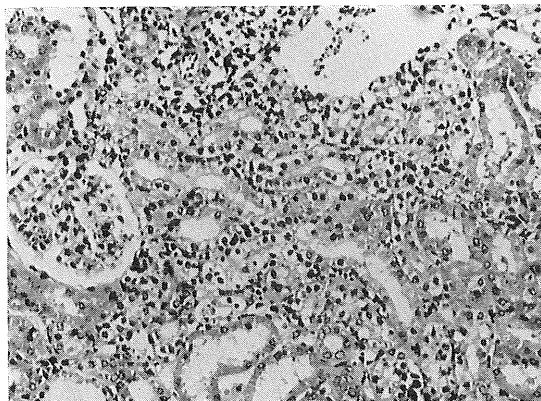


Photo 7. Kidney of 1.35% BHA+BHT H.E. 10×10
 Note : the swelling in epithelium of renal tubules
 and cell infiltration in stroma

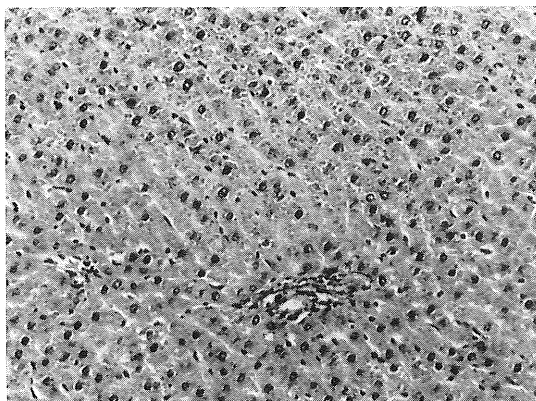


Photo 8. Liver of control rat H.E. 10×10

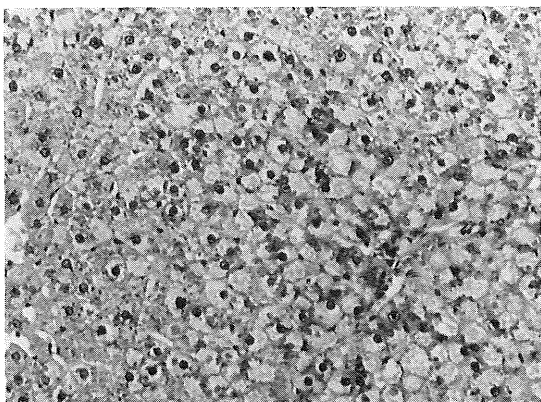


Photo 9. Liver of 1.35% BHT H.E. 10×10
 Note : the swelling of liver cells

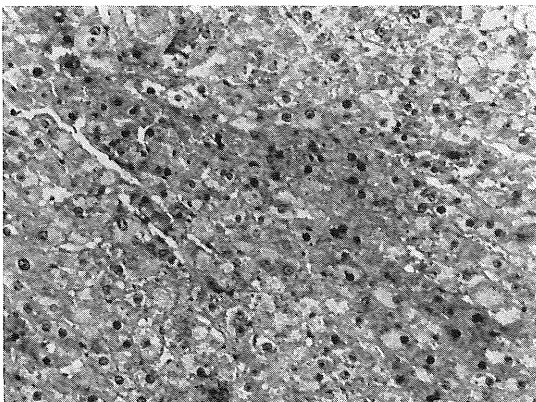


Photo 10. Liver of 1.35% BHT H.E. 10×10
 Note : the atrophy of liver cells

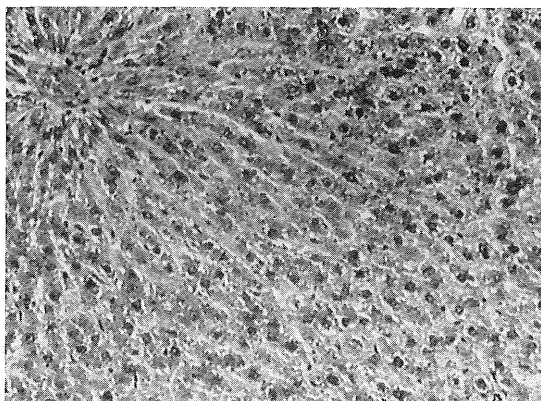


Photo 11 Liver of 1.35% BHA H.E. 10×10
 Note : the swelling of liver cells

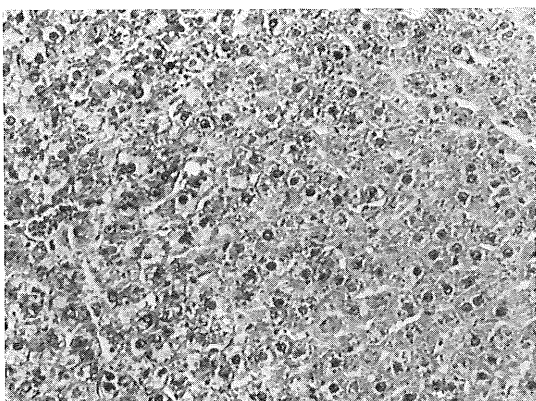


Photo 12. Liver of 1.35% BHA+BHT H.E. 10×10
 Note : the swelling of liver cells

他誌に発表した論文

Antigenic Schema and Epidemiology of *Vibrio parahaemolyticus*

Hiroshi ZEN-YOJI, Senzo SAKAI, Yasuo, Yasuo KUDOH,
Takeshi ITOH, and Takeshi TERAYAMA

Health laboratory Science, 7, 100-108, 1970

Summary

The current status of the antigenic schema for the serological typing of *V. parahaemolyticus* is presented. Strains of the organism derived from food poisoning patients have been classified into 12 groups according to the O antigen and into 52 types according to the K antigens. About 90 per cent of the isolates obtained from food poisoning patients have been typable by means of the slide agglutination test and according to the schema. Since the number of untypable strains has been increasing, however, new O and K antigens may be added to the schema in the future. Although the incidences of outbreaks as well as sporadic cases of enteritis caused by the organism have occurred primarily from June to November, there is an annual variation in the most prevalent period even within these months. Furthermore, the results of serological typing of the isolates from food poisoning cases in Tokyo during the period from 1964 through 1969 have revealed that there is a conspicuous annual replacement in the principal prevalent causative strains and that there may be a sudden appearance of new type strains yearly. Finally, it was observed that various types of strains could be isolated from a single outbreak. These observations have been discussed in relationship to the ecology of the organism.

Isolation and Identification of *Vibrio parahaemolyticus* from Clinical Specimens

Ronald A. Le Clair, Hiroshi ZEN-YOJI, and Senzo SAKAI

Public Health Laboratory, 28, 82-92, 1970

Summary

Bacteriologic and serologic procedures for the isolation and identification from clinical specimens are outlined. Criteria for the differentiation of *V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* are presented.

東京都に発生した耐熱性ウェルシュ菌食中毒事例
の疫学と細菌学的検討

善養寺 浩, 坂井 千三, 伊藤 武

並山 務, 工藤 泰雄

食品衛生学雑誌, 11, 282-291, 1970

Epidemiological and Bacteriological Examination on Nine Outbreaks of Food Poisoning due to Heat-resistant *Clostridium perfringens* in Tokyo

Hiroshi ZEN-YOJI, Senzo SAKAI, Takeshi

ITOH, Tsutomu MARUYAMA and

Yasuo KUDOH

1963年～1969年に東京都に発生した9事例の耐熱性ウェルシュ菌食中毒について疫学ならびに細菌学的検討を行なった。

これらの事例は概して規模は大きく、多量の食事を扱う場所に発生がみられた。原因食品の大半は食肉を原料とした調理食品で、しかも調理後長時間室温に放置されたものであった。

耐熱性ウェルシュ菌は正常人からもしばしば検出されるためこの食中毒の原因決定を困難にしているが、今回の9事例の耐熱性ウェルシュ菌食中毒の経験を通じて本菌食中毒決定の細菌学的重要事項について論じた。さらに、9事例のうちの1事例は、Hobbs型以外の耐熱性ウェルシュ菌食中毒で、その原因菌の菌型は著者らの血清型分類のTW4であることを認めた。

神奈川現象陰性腸炎ビブリオ O4:K12 によると推定された食中毒について

善養寺 浩, 坂井 千三, 工藤 泰雄

伊藤 武, 並山 務

メデイヤサークル, 15, 82-89, 1970

Outbreaks of Food Poisoning Caused by Kanagawa phenomenon Negative *Vibrio parahaemolyticus* (O4:K14)

Hiroshi ZEN-YOJI, Senzo SAKAI, Yasuo

KUDOH, Takeshi ITOH and

Tsutomu MARUYAMA

我々は、すでに神奈川現象陰性腸炎ビブリオ O6:K46 による集団食中毒事例を報告している。1969年に都内に発生した腸炎ビブリオ食中毒のなかに、新たに神奈川現象陰性の O4:K12 菌によると推定された5例の集団発生例と1例の散発例を認めた。本報では、これら食中毒事例の疫学的、細菌学的調査成績を報告するとともに、神奈川現象陰性腸炎ビブリオの腸

炎起病性を論じた。

乳・乳製品に関連したサルモネラおよびサルモネラ症、総説

善養寺 浩

メデイヤサークル, 15, 179-194, 1970

” 15, 233-244, 1970

” 15, 277-291, 1970

Salmonella and Salmonellosis associated with Milk and Milk Products. A review

Hiroshi ZEN-YOJI

食肉等の食品のサルモネラ汚染は、食品衛生さらには食中毒との関連においてきわめて大きな問題となっている。ここでは、特に問題となる乳・乳製品ならびに酪農製品におけるサルモネラの分布を中心にその実態を述べた。

細菌性食中毒

特に腸炎ビブリオ食中毒について

善養寺 浩

Medical corner, 15, 14-20, 1970

On the Food Poisoning due to *Vibrio parahaemolyticus*

Hiroshi ZEN-YOJI

細菌性食中毒は、集団給食等の普及により大きな社会問題となっている。ここでは、特に腸炎ビブリオ食中毒を中心にその臨床、疫学、生態ならびに予防の概要を紹介し、本食中毒の重要性を強調した。

ブドウ球菌の臨床細菌学

一とくに型別について一

善養寺 浩

臨床雑誌「内科」26, 467-469, 1970

Staphylococcus in Clinical Bacteriology Field

—On Its Typing—

Hiroshi ZEN-YOJI

黄色ブドウ球菌の型別は、本菌の疫学的な追跡方法として重要な武器となっていながら、現状ではその普及は十分にすすんではない。そこで、ここでは現在知られている3種の型別法の概要を紹介し、臨床応用の参考に供した。

免疫抑制と肺原虫 *Pneumocystis carinii* 感染による間質性肺炎

善養寺 浩

メデイヤサークル, 15, 375-387, 1970

Pneumocystis carinii and Interstitial Plasma

Cell Pneumonia: A review

Hiroshi ZEN-YOJI

臓器移植, アレルギー症の治療などの必要性から免疫抑制剤が多用されるようになった。それに伴って肺原虫 *Pneumocystis carinii* による感染症が注目されてきている。ここでは、この関連について概要を述べ、その診断および治療法を紹介した。

乳・乳製品に関連したサルモネラおよびサルモネラ症 綜説

善養寺 浩

乳技協資料, 20, (2), 2-17, 1970

“ , 20, (3), 15-28, 1970

Salmonella and Salmonellosis associated with Milk and Milk Products. A review

Hiroshi ZEN-YOJI

乳・乳製品のサルモネラ汚染による危害の歴史的背景から、その疫学、生態ならびに特性を中心に紹介し、現在のサルモネラの危険性を指摘した。

腸炎ビブリオ食中毒の実態と予防

善養寺 浩

学校の食事, 3, (6), 26-28, 1970

Epidemiology and Prevention of *Vibrio parahaemolyticus* Food Poisoning

Hiroshi ZEN-YOJI

学校給食など、集団給食における食中毒発生の予防は重要な課題であろう。

ここでは、夏季に多発する腸炎ビブリオ食中毒の実態を述べ、予防の概要を紹介した。

東京都におけるインフルエンザの血清疫学的研究

岩崎 謙二, 坂井富士子, 藪内 清

柏木 義勝, 中村 義, 根津 尚光

辺野喜正夫

感染症学雑誌, 44, 361, 1970

Sero-epidemiological Survey on Influenza in Tokyo

Kenji IWASAKI, Fujiko SAKAI, Kiyoshi YABUUCHI, Yoshikatsu KASHIWAGI, Tadashi NAKAMURA, Naomitsu NEZU and Masao BENOKI

限られた一部の患者材料の検索成績のみから東京都全体の流行実態を把握することは困難であるので、都民血清のインフルエンザ HI 抗体保有状況の逐月変

更調査から全都の流行動向を考察した。被検血清は都内各地区から偏りなく集められた成人血清で、毎月約100件ずつ常法にしたがって、インフルエンザ各型ウイルスに対する HI 抗体価を測定した。これらの血清はすべて単一血清であったため試験結果の分析は個人レベルでは行なわず採血時点でのサンプル全体の比較という形で検討せざるを得なかった。

縦軸に陽性率を、横軸に抗体価を目盛った正規確率紙または等目盛グラフ紙上に、各抗体価別に算出した累積陽性率を順々にプロットし、それらの各点を通る線分によって集団の抗体保有状況を内容的に表現させ、線分の位置、傾きの変化から流行推移を分析した。

分析の結果は次のごとくであった。

1968年秋~1969年初頭の都内のインフルエンザ流行は A2 香港型および B 型ウイルスの混合流行であった。又流行期間中 B 型ウイルスは大した山もなく流行しつづけたが、香港型ウイルスの流行ピークは1969年1~2月にあった。1969年秋~1970年初頭の都内の流行は香港型ウイルスの流行であり、B 型ウイルスの流行様相はみられなかった。流行のピークは1969年12月~1970年1月にあった。非流行期であった1969年4~8月における A2 香港型および B 型ウイルスに対する都民の HI 抗体保有状況は一般に低く、その間ほとんど変化がなかった。これらの結論は、同時に行なった患者材料の検索結果とも矛盾しなかった。

1969年末以降の東京都内におけるインフルエンザの検索状況

坂井富士子, 岩崎 謙二, 藪内 清

柏木 義勝, 中村 義, 根津 尚光

辺野喜正夫

感染症学雑誌, 44, 361, 1970

Virological and Immunological Observations on The Prevalence of Influenza in Tokyo in 1969

Fujiko SAKAI, Kenji IWASAKI, Kiyoshi YABUUCHI, Yoshikatsu KASHIWAGI, Tadashi NAKAMURA, Naomitsu NEZU and Masao BENOKI

今冬期は東京都においては2回目の A2 香港型ウイルスによるインフルエンザの流行を経験した。すなわち、1969年11月より1970年2月までに22集団227例の患者について検査し、52株の本型ウイルスを分離し、またこのほか血清学的 (CF-S) に A 型は上昇したも

のが30例あったが、前回の流行期と異り、B型の混在は認め得なかった。その他のウィルスとしては、インフルエンザ流行以前にアデノ3、14型、コクサツキーB群1型、ポリオⅡ型などのウィルスが分離され、流行中にもコクサツキーB群3型ウィルスが分離されている。剖検例の肺からは前流行期同様にA2香港型ウィルスが分離されているが、前回の23例中4例の陽性に比し今回は22例中11例で、かなり高率になっている。また今回の流行においてA2香港型ウィルスを分離した患者43例につき、急性期血清のA2/愛知2/68株に対するHI価を測定し、併せてワクチン接種歴との関係を調べた。血清はウィルス分離用のうがい水と同時に採取した。その結果、総体的には22例が<32倍で、HI価の上では全く抗体をもっておらず、かつ残りの21例中13例は64倍または32倍で、特にワクチン未接種、1回のみ接種の者はすべて64倍以下の中に入ってしまう。そこで個人のレベルでは一応128倍のHI価があれば罹患を免かれるであろうことが推測出来る。しかしこれはあくまで自然感染によって得られたと思われるHI価で、ここで特に注目したいのはワクチン2回接種を完了している15例の中には512倍1例、256倍2例、128倍が4例とかなり高いHI価の持主でも明らかに感染発病が証明されていることである。HI価と感染防御の関係については種々論議のあるところであるがワクチン接種によって得られた高いHI価は必ずしも感染防御に結びつかないものがあることを少数例ながら示した。

風疹の血清疫学的研究

一健康都民のHI抗体保有状況について

山田 澄夫, 岩崎 謙二, 坂井富士子
藪内 清, 柳沢 靖子, 佐々木憲子
伊藤 忠彦, 佐々木路子, 根津 尚光

東京都衛生局学会誌, 46, 61 (1971)

Seroepidemiological Survey on Rubella, Particularly on The Incidence of Rubella HI Antibody in Healthy Tokyoites

Sumio YAMADA, Kenji IWASAKI, Fujiko SAKAI, Kiyoshi YABUUCHI, Yasuko YANAGISAWA, Noriko SASAKI, Tadahiko ITO, Michiko SASAKI, and Naomitsu NEZU

風疹の流行を防止するには、まず流行実態を正確には握ることが必要である。風疹そのものは比較的軽症に経過する疾患であって、法定伝染病にも届出伝染

病にもなっていないので患者発生状況を正確につかむことは不可能である。そこで血清疫学的な角度からアプローチを試みた。

1969年6月、1970年6月に城南、江東、多摩の各地区から集められた健康者血清についてHI抗体価を測定した。

年齢階層別に抗体保有状況をみると15才以下と20才以上の各群間に明らかな差があった。若年層の陽性例中には最近の感染を示唆する高い抗体価を示したものが多く、20才以上は反対に低い抗体価のものが多かった。

抗体保有の年齢推移パターンをみると、7～9才または7～12才を第1のピーク、20才以上を第2のピークとした2峰性であった。第1のピークは70年になると若干高年齢側に移動しており、69年6月以降の風疹感染対象者の年齢がいくぶん高くなったことを示唆していると考ええる。

15才以下の抗体保有状況は地区差が顕著で、都心の城南、江東両地区の抗体保有率は高く、郊外の多摩地区は低かった。20才以上になると地区差はみとめられなかった。

性別による抗体保有率の差異は顕著ではなかった。

都内におけるポリオ免疫度および感染源に関する研究

〔中川 喜幹, 中西 弘毅, 川原田貞子(予防部)〕

根津 尚光, 岩崎 謙二, 坂井富士子
藪内 清, 山田 澄夫, 柳沢 靖子
佐々木憲子, 伊藤 忠彦, 佐々木路子
(都衛研)

東京都衛生局学会誌, 46, 57 (1971)

Studies on Immunization Level of The Community Against Poliomyelitis and on The Dissemination of The Viruses

Yoshimasa NAKAGAWA, Koki NAKANISHI, Teiko KAWAHARADA, Naomitsu NEZU, Kenji IWASAKI, Fujiko SAKAI, Kiyoshi YABUUCHI, Sumio YAMADA, Yasuko YANAGISAWA, Noriko SASAKI, Tadahiko ITO and Michiko SASAKI

1965～69年の都内における感染源および免疫保有度の推移を、国の委託事業としてつづけてきたポリオ検査の結果およびわれわれが開発してきた下水からのウィルス検出調査の結果から分析考察した。

国の実施要領にしたがって上記の5年間に、健康児

糞便 994 例からウィルス検出を行なった。ポリオウィルスは66年に 1, 2, 3 の各型が 1 株ずつ検出されただけで、65年にはエコー 6 型ウィルスが、67年にはエコー 7 型が、68年にはコクサツキー B 群 1 型が主として検出された。これらの成績は、各年とも 9~10 月と 2~3 月に限って行なった断面調査であり、年間を通した都民間の腸内ウィルス感染の動態をとらえるには不十分である。

そのような欠点を補なう簡便な手段としてわれわれは毎月 1 回、下水処理場において下水サンプルを採取して、感染者から排便とともに排出され終局的に下水に入りこんだ腸内ウィルスの検出をつづけてきた。このような調査の結果、ポリオはもちろん他の腸内ウィルスの感染実態、その変せんが明らかになった。

下水から検出されたポリオウィルスは 2 型が最も多く、ついで 1 型、3 型は最も少なかった。この検出状況は、都民のポリオ抗体保有状況とも大いに関連があった。

1966~69 年の 4 年間に、健康都民 715 名についてポリオ中和抗体価を測定した。

都民の中和抗体保有状況は 2 型を除き、1, 3 型が年々低下の傾向にある。海外には現在なお数多くのポリオ患者発生の報告があるので、楽観は許されない。

今冬流行したインフルエンザ A 2 香港型ウィルスおよびその他の電子顕微鏡による研究

前木 吾市, 根津 尚光, 岩崎 謙二

坂井富士子, 藪内 清

東京都衛生局学会誌, No. 45 171-173(昭45.6.26)
Electron Microscopic Studies on A 2 Hongkong
Type Influenza Virus and on Other Viruses

Goichi MAEKI, Naomitsu NEZU, Kenji

IWASAKI, Fujiko SAKAI

and Kiyoshi YABUUCHI

本研究は電顕のネガティブ染色法という試料作製技術を用いて、形態学的に二、三のウィルス粒子を識別する試みに成功した実験報告である。

対象としたウィルスは、当所で分離した昭和45年冬流行のインフルエンザ A 2 香港型ウィルスが中心であり、対照として他の機関から分与された HVJ ウィルス（高度に精製濃縮）およびアデノウィルスを用いた。

識別の指標として、ミキソウィルス（インフルエンザウィルスおよび HVJ ウィルス）については、粒子の表層部に密に存在するスパイクと呼ばれる微小針状

突起を検出することが目標であり、対照のアデノウィルスは20面体の構造と 252 個におよぶキャプソメアの存在が指標となる。従来のシャドウ法ではスパイク、キャプソメア共に観察不可能である。

A 2 香港ウィルスの精製は、最も簡略な条件を知る目的で段階を思い切って省略した。すなわち培養済みの鵜化鶏卵漿尿膜液を 3000 rpm, 10', 次で上清を 1 万 rpm 1 時間遠心しその沈渣を試料に用いた。使用電顕は JEM 6 C (80 kV) で、撮影倍率は直接 1 万倍前後とし、ネガおよび10万倍の引伸プリントを判定資料とした。撮影は試料汚染防止装置（液体 チ ュ ー ン 使用）なしで行なつたため、直接撮影倍率は最高 1 万倍が限度である。

実験結果（供覧スライド14枚）は

- ① 前記条件でスパイクの存在は確認できることが判明した。すなわち試料精製の程度は比較的粗精製で足りる。
- ② 本来 A 2 香港ウィルスのスパイクと、HVJ のスパイクは形状が違うのであるが、本実験ではその差違は区別ができなかった。
- ③ アデノウィルスの外形が六角形を示すことを証明できたが、キャプソメアの規則正しい配列を見出すことはできなかった。

今回の実験で、ネガティブ染色がほぼルーチンに行える見通しが得られたことは大きな収穫で、ウィルス感染症の電顕検査へのアプローチとして意義があると思う。

成功原因として、ウィルス試料の低温保存（-20°C）に留意したこと、染色手技およびマイクログリッド支持膜の自製等が挙げられる。

カテコール表面現象法の得失と解析

前木 吾市

昭和46年 2 月

日本医学写真学会, 第12回定例会学会講演要旨

Advantageous Points of The Compensating
Development Procedure with Catechol and of
Its Analysis

Goishi MAEKI

内容は当研究報告に掲載した「電顕写真の表面現象法」において、実験中たまたま発見したトラブルを対象として、そのシュミレーションを行つて原因を探索した中間報告である。

発見した欠陥の内容は、厚い乳剤のフィルムにカテコール表面現象を施すと、フィルム表面にちりめん皺

に似たひび入り模様が現れる症状を指す。

このひびの性状は、フジA69引伸機で強拡大プリントを作ると、僅かなコントラストであるが、本来の被写体には存在しないパターンを形成してしまう。ネガ上におけるこのひびの存在は、ルーペ又は弱拡大の顕微鏡で検査しても、殆ど認められない程微弱なコントラストに過ぎないが、これを位相差顕微鏡でカラーフェーズ像として捕捉したのが本研究の端緒である。最初のケースは電顕における初期の実験中専用フィルム上になりに顕著に起り、ネガの透明な部分程大きなひび入りを形成した。実験回数が度重なるにつれて、ひび入りは少なくなった。ひび発見後のシュミレーションでは、種々な角度から乱暴な処理を施したにも拘らず明瞭なひび入りは再現できなかった。だがその萌芽とも云うべき極く僅かなひび入りは僅かに残存している。

原因について「乳剤層の厚いフィルムとカテコール現像液の組合せの不適合」と推定し、可視光線下で次の実験を行なった。

- ① 乳剤層の厚い SS フィルムの場合……ひび入り (卅), SS と対照現像液 (MQ) では (-)。
- ② 乳剤層の稍薄い F 級の場合……ひび入り (+), MQ で (-)。
- ③ 乳剤層の極く薄いミニコピイの場合……ひび入り (-), MQ で (-)。

以上により、ひび入りは電子線、可視光線を問わず、乳剤層の厚いフィルムにカテコール現像を施すと生ずることが判明した。

ひび入りの起る機序については、未だ確実な証拠は解っていない。古い定着液の使用とか、処理液間の温度差との諸説も、実験の結果何れも該当しなかった。カテコール同様に表面現像効果の高いグリシンを SS に用いた実験でもひび入り (+) であった。カテコール、グリシン何れも 1% NaOH と使用直前混合して用いる二液式で現像を行なっている。ひび入りはカテコール、NaOH および乳剤三者間の化学作用が複雑にからみ合って起る症状ではないかと想像される。SS フィルムにはインスタントな表面現像液ロジナルがひび入りもなく結果が良い。

演者の見出した位相差顕微鏡 (カラーフェーズ現象を利用) によるネガの鑑別法は、ひび入りの程度、銀粒子の凝集性およびマッキーラインの度合等がよく鑑察でき、「表面現像したネガの何処にその証拠があるか?」という専門家各位の疑問に一つの解答を与えるものとする。

インフルエンザ流行株予測と流行状況および予防接種の効果

増野 進, 寺島 詹 (下谷病院)

根津 尚光 (東京都立衛研)

日本公衆衛生雑誌, 17巻: 12号, 923頁, 1970 (昭和45年)

インフルエンザワクチンの効果は、ワクチン含有株と流行株が一致した場合に大きいので次期流行株の予測は極めて重要なことである。昭和45年初頭の冬季の流行は、前年度以来の新しい A 2 株、即ち A 2 香港株が流行株になることが充分予測される状況下にあった。このような理想的状況におけるワクチンの効果を小学児童 435 名および幼稚園児 178 名の家庭を対象として調査し、予防接種を受けても約半数は罹患したが、その 77%, 85% は軽症に終った。また各家庭の成人層特に父親および低年齢者が家庭内にインフルエンザを持ち込むことが多く、その 60~70% はワクチン未接種者であったことは、ワクチンの効果をうかがわしめるものであった。

動物性食品中の残留抗生物質の検出法に関する研究 (第 1 報)

簡易阻止円法による抗生物質の推定

村上 一, 神崎 政子, 藤本 千鶴

春田三佐夫

食品衛生学雑誌, 12, 86~94 (1971)

Detection of Residual Antibiotics in Food (1)

A Simple Zone Inhibition Method with Tissues

Hajime MURAKAMI, Masako KANZAKI

Chizuru FUJIMOTO and Misao HARUTA

抄 録

動物組織中に残留した抗生物質の種類を、パルプディスク阻止円法によって推定し、以後の系統的検索の手がかりとすることを考え、既知抗生物質に対する感受性の異なる *Bacillus stearothermophilus* var *B. calidolactis* C-953, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Escherichia coli* NIHJ, および同 TC 耐性株の 6 種類の抗生物質検定用標準菌株を選び、それらに対する各抗生物質の抗菌限界のパターンを描いてみたところ、2, 3 の例外を除いて、それぞれ抗生物質ごとに特徴のあるパターンを示し、本法により、ペニシリン、テトラサイクリン、クロラムフェニコールおよびエリスロマイシン等の種類の推定が可能であることが判明した。

豚生肉を汚染する低温細菌に関する研究
小久保弥太郎, 梅本富士郎, 春田三佐夫
日本食品衛生学雑誌, 12, 3, 164~169 (1971)
Studies on the Psychrotrophic Bacteria Con-
taminating Raw Pork

Yataro KOKUBO, Fujio UMEKI
and Misao HARUTA

J. Food Hyg. Soc. 12, 3, 164-169 (1971)

Microbiological studies were made on the muscle tissue of 10 swine obtained at an abattoir. Serial psychrotrophic bacterial counts were made at regular intervals on the specimens kept at 5 and 10°C for a period of 10 days. The methods adopted for the enumeration of psychrotrophic organisms were those widely used by the dairy microbiologists, and the determination of proteolytic and lipolytic activities of the isolates were made by the use of milk agar and Crossley agar plates, respectively.

The results obtained are summarized as follows:

1) Psychrotrophic bacterial counts obtained by the use of several different determination methods agreed well one another.

2) Serial psychrotrophic bacterial counts in the specimens had indicated the gradual propagation of the organisms at 5°C, i.e., the counts reached at the order of 10^8 organisms per gram of meat after 7 days of the storage, however, the meat stored at 10°C for 3 days was found to have already involved about 10^9 organisms in one gram of sample, and the increase in pH value and rotten odors were also observed.

3) About 70% of the initial isolates of the meat were comprised in gram-negative bacteria, such as *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* and others, however, after the 7 days of storage at 5°C, more than 90% of the isolates were found to have been replaced by *Pseudomonas*.

4) Most of the initial isolates grew well between 10-35°C. However, gram-negative strains tended to grow better at or below 30°C and gram-positive strains at or above 35°C. Most of *Pseudomonas* isolated from the meat stored at 5°C grew well between 0-30°C, but not at 35°C.

5) About 25% of the psychrotrophic isolates manifested proteolytic activities. On the other hand, about 31% of the isolates exhibited weak lipolytic activities, while 14% showed both proteolytic and lipolytic activities.

大便汚染指標菌に関するシンポジウム

I 乳および乳製品の大腸菌群

春田三佐夫

日本獣医学雑誌, 32, 学会号, 154 (1970)

モダンメディア, 16, 6, 259~267 (1970)

Coliform, E. coli and Enterococci as an Indicator for Fecal Contamination I. The Significance and Detection of Coliform Organisms in Milk and Milk Products

Misao HARUTA

従来、食品衛生の分野では、大腸菌群をもって personal health control の立場から、これを人畜の大便汚染指標菌としてとりあげ、かつ食品媒介腸管系病原菌との関連において、食品中における存在意義が重視されてきた。しかし、牛乳衛生面では、当初はたしかに上述の考え方から出発したものではあるが、現時点では単に personal health control のための指標とする狭い考え方から脱して、より良い環境下で安全かつ良質の製品の生産、確保に必要な衛生管理度を推測する尺度、すなわち environmental health control のための指標として本菌群をとりあげている。この思想にもとづいて今日では大便汚染と全く関係のない、しかも環境に広く分布する低温性大腸菌群などをあわせて検出し、環境からの汚染の有無、程度を推測する目的で、検査の場合の培養温度を 30°C 付近に設定することが要請されている。このような考え方からすれば、医学細菌学でいう腸内細菌としての大腸菌と衛生指標菌とされている応用細菌学でいう大腸菌群との間に不一致なり矛盾があるにしても、後者には environmental health control の指標としての意義は失なわれるものでなく、またそれなりの取り扱い方がなされてよいと考える。

食品と微生物に関するシンポジウム

2. 乳および乳製品の衛生細菌、特に低温細菌について

春田三佐夫

日本細菌学雑誌, 25, 12, 653-654 (1970)

メデイヤサークル, No. 131, 13~22 (1970)

では Re 処置によりウサギでは体温上昇を示さなかったが、ラットでは Re 処置しない場合と同様な体温上昇を示した。以上の結果から、ウサギとラットでは体温調節機序が異なっているものと推察された。

薬物の経皮吸収に関する衛生化学的研究(第1報)

鉛の経皮吸収における蓄積および排泄について

戸谷 哲也, 原田 裕文, 山添 律子

伊藤 弘一, 水石 和子

昭和46年4月

日本薬学会第91年会, 講演要旨集, 359 (1971)

Hygienic Chemical Studies on Percutaneous Absorption of Chemical Compounds (1)

Accumulation and Excretion of Lead Absorbed Percutaneously

Tetsuya TOTANI, Hirofumi HARADA,

Ritsuko YAMAZOE, Koichi ITO and

Kazuko MIZUSHI

目 的

薬効を目的とする物質の経皮吸収に関する報告は少なくないが、安全性の面からの報告は少ない。化粧品のように長期連用されるものにあっては、含有される有害性金属がたとえ微量ずつでも経皮的に体内にとり込まれれば、その蓄積によって障害をもたらすことが考えられる。今回は鉛の経皮吸収について検討した。

実 験

鉛化合物としては酢酸鉛およびステアリン酸鉛の2種類をえらび、Carbo Wax 400 と 4000 の等量混合物を基剤として、それぞれ鉛5%を含有するように調製して試料とした。実験動物としては体重約3kgの家兎9匹を用い、動物用バリカンで背部を約12cm²除毛し、これらを3群に分け、10cm²の面積に試料1gを塗布した。また対照としては基剤のみを塗布し、塗布面をガーゼで覆い、テープで固定し、動物の経口的摂取を防いだ。塗布は隔日に行ない、連日の尿を採取しつつ14日間飼育後屠殺し、肝、腎をはじめ14の臓器を採取して尿と共に鉛の含有量を測定した。鉛の定量方法は各試料を硫酸を用いた湿式灰化を行ない、pH 6.5-7.5 領域でDDTC-MIBKにより溶媒抽出し、原子吸光分析法によった。

結 果

鉛化合物を塗布した家兎の尿および血液中の鉛量は実験開始時および対照と比較してほとんど増加が認められなかった。しかし肝および腎の鉛量は対照のものより約5倍多いことが認められ、微量の鉛は経皮的に

吸収されるが、それらはほとんど排泄されず、主として肝、腎などに蓄積されると思われる。なお人体における尿中排泄量等についても検討中である。

キレート形成薬物投与時における生体中金属に関する衛生化学的研究(第1報)

キノホルムおよびオキシソ投与時における生体金属の分布変動

戸谷 哲也, 山添 律子, 観 照雄

鈴木 助治, 伊藤 弘一

昭和46年4月

日本薬学会第91年会, 講演要旨集 366 (1971)

Hygienic Chemical Studies on Chemical Compounds having Ability of Forming Chelate (1) Effect on the Distribution of Essential Metals of Animals by Administration of Chinoform and Oxine

Tetsuya TOTANI, Ritsuko YAMAZOE

Teruo KAN, Sukeji SUZUKI and

Koichi ITO

目 的

Chinoform はスモン病の一因であるといわれているが、その薬理作用は明らかにされていない。しかし構造上その単純母核である Oxine (8-Hydroxyquinoline) が金属キレート剤として各種金属の抽出分離に用いられているところから、生体にとり込まれた Chinoform (5-Chloro-8-Hydroxy-7-iodo-quinoline) はキレート剤として作用することにより、生体金属の分布に変動を与えることが考えられる。そこで今回は Chinoform (以下 CH) および Oxine (以下 OX) が生体金属にそれぞれ如何なる影響をおよぼすかを知らる目的で実験を行なった。

実 験

CH および OX をそれぞれ 0.7%, 2% 含有するようにでん粉液にけん濁させて試料とした。実験動物は体重約3kgの家兎9匹を用い、これらを3匹ずつ3群に分け、1群には対照としてでん粉液のみを5ml、CHは30mg/kg、OXは75mg/kgをそれぞれ10日間連日カテーテルを用いて強制投与を行なった後これらをと殺し、各臓器を採取した。この臓器を硫酸により湿式灰化を行ない、原子吸光法によって、Fe(III), Cu(II), Zn(II), Mg(II)およびMn(II)の定量を行なった。

実験結果

約14種の臓器について各金属を定量したところ、

OX 投与群は対照群と比較してほとんど有意の差はみられなかったが、CH 投与群の腎臓中の Zn 量のみが前 2 群のそれより約 30% 高い値を示すことが認められた。今回検討した 5 種の生体金属の分布量にはほとんど影響がみられなかったが、これら金属が臓器中においてキレートを形成し、本来の働きを失っていることも考えられ、検討中である。いづれにしても CH は OX に比し、著しく毒性の高いことが認められた。

有害性元素の混合摂取時における衛生化学的研究 (第 1 報)

カドミウムおよびタリウムの混合摂取による

その蓄積と生体金属の分布変動

戸谷 哲也, 原田 裕文, 観 照雄

鈴木 助治, 伊藤 弘一

昭和 46 年 4 月

日本薬学会第 91 年会, 講演要旨集 385 (1971)

Hygienic Chemical Studies on Harmful Elements Adminstrated by Mixture (1)

Effect on the Distribution of Essential Metals of Animals by Administration of Mixture of Cd and Tl, and Accumulation of these Adminstrated Metals

Tetsuya TOTANI, Hirofumi HARADA,

Teruo KAN, Sukeji SUZUKI and

Koichi ITO

目 的

有害性金属として注目されているカドミウムをはじめタリウムについての単独毒性はしばしば報告されているが、混合摂取した場合の生体内分布量の報告は少ない。カドミウムとタリウムが混合摂取された場合のラット臓器中の両金属の分布量と、銅、亜鉛、鉄のような生体内金属分布量について測定し、カドミウムあるいはタリウムが単独で投与された場合のそれとを比較検討した。

実 験

ウィスター系雄ラットを Cb(II), Tl(I) 各単独ならびに混合、対照の 4 群に分け、1 群 5 匹計 20 匹に対し 1 日量として Cd (0.4 mg), Tl (0.1 mg), 両金属の混合した水溶液をそれぞれに約 90 日間経口投与したのち屠殺し、肝、腎をはじめとする約 15 種の臓器を硫酸湿式灰化後、pH 6.5-7.5 領域で DDTC-MIBK 溶媒抽出し、原子吸光分析法によって各金属の分布量を測定した。

結 果

単独摂取の場合の Cd(II) のとりこみは肝が 24ppm と高値を示し、腎、腸の順に低値となる。Tl(I) では毛が最も高く、腎は 14 ppm で、骨は比較的少ない。また各金属の総蓄積量であるが、Tl(I) の場合は混合より単独投与の方が多いことがみられたが、Cd(II) では混合、単独投与の両者間に著しい差は認められなかった。生体内金属の銅、亜鉛、鉄の分布量の変動は複雑で、銅の総検出量は対照が最も低く、腎、毛、骨などにこの差が大きく、肝では有意差が認められない。Tl(II) 単独投与の大腦、小脳中の亜鉛、鉄の増加が認められるが、混合摂取の場合はその増加はほとんど認められなかった。

東京都における光化学スモッグについて

佐藤 泰仁*, 野牛 弘*

東京都衛生局学会誌 No. 46, p. 163~165 (1970)

Photochemical Smog in Tokyo

Yasuhito SATO* and Hiroshi YAGYU*

* Department of Environmental Health, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health.

要 旨

1970 年の 7 月 18 日、日本において初めて光化学スモッグの被害が都内に発生した。当時我々は国設東京大気汚染測定所を管理していたのでその状況解析を試みたわけである。当日は前日来の雨が上がり、風もほとんどなく高温高湿の気象状態であった。オキシダント濃度は午前 7 時頃より増加を示し、11 時には最高値 25.5 pphm を示し以後減少している。NO₂ と SO₂ はオキシダントと同じような動き方をし、NO および CO は逆の動き方をしている。また、Haggen-Smitt 説を裏づける現象も生じている。SO₂ は夏期としては高濃度を示している。その後、オキシダント濃度と紫外線量の関係をみたが、両者には高い相関がみられるが気象要素（特に風速）が変れば低くなる。また、落葉より硫酸イオンをみると対照に比して 3 倍強の検出があった。既存の資料よりオキシダント高濃度発生を調べると年々増加傾向にある。今度の光化学スモッグ事件を契機により充実した調査研究体制が整えられ、成果の期待される今日である。

環 境 保 全

溝口 勲

医学のあゆみ 75 巻 5 号 280-281 p 1970

Enuironmental Conservation

Isao MIZOGUCHI

70年医学のトピックス特集の一項目として環境保全のもつ意義を考察した。環境汚染の現段階の特徴——その激化と広域化および多様化——を述べ、環境保全への各国およびわが国の動きを概説した。健康の今日的概念にふれて、健康保持のために学際的協力の必要性を説き、特に生態学的、中毒学的、臨床的、疫学的アプローチの必要性を強調した。

都市の大気中のアスベストについて

溝口 勲

労働の科学 26, 3, 34-37, 1971

On the asbestos fibers in urban atmosphere

Isao MIZOGUCHI

アスベスト繊維の人体影響について主として労働衛生学的立場からの業績を中心に歴史的な総説を試みた。それを基礎に一般環境におけるアスベスト繊維検出の方法と汚染度の評価を行った。労働環境基準として最もきびしいイギリス産業医学会の基準 100 Fibers Years/cc の100分の1の程度であった。

発癌性物質の作用メカニズムが不明である現在、産業的ではなく一般住民もアスベストに曝露されていることに注目すべきことを述べている。

昭和46年12月20日 発行

December, 1971

規格表第2類

印刷番号(46)1551

刊行物番号(H)24

東京都立衛生研究所研究年報22

編集発行：東京都立衛生研究所

所在地 東京都新宿区百人町3の24の1

電話 363—3 2 3 1 (代)

印刷所 有限会社 佐竹印刷所

東京都墨田区向島3の33の5

電話 625—7 4 8 1 (代)