

B. 調 查 研 究

I 論 文

1. 感染症発生予測カレンダー製作の試み (第1報)

助野 典義 三浦 英美 紺野 光雄*
石田名香雄** 鈴木 宏***

1. はじめに

近年、我々を取り巻く社会環境の変化は、これまで流行を繰り返していた伝染病や感染症の発生を大きく変化させた。すなわち、指定・法定伝染病が急速に減少した反面、ウイルス性の感染症である風疹、水痘、手足口病あるいはウイルス性肝炎などの増加、さらにエイズを始めとする性行為感染症といった新しいカテゴリーの疾病が増加していることである。このように社会的不安をつのらせるような疾病流行様式の変化は公衆衛生上、あるいは保健衛生上大きな問題となってきた。これらの変化に対処するために、医療機関などの協力によって、患者の発生状況や病原体検出結果を的確にかつ迅速に把握し、集約された情報を解析し、その中で必要な情報を必要な地域に迅速に還元することが必要になってきた。また、このようにして得られた情報は保健衛生行政サイドにとっても、予防接種や保健衛生の指導教育に適切な情報を提供できるという点で大きなメリットがあることは言うまでもない。これらの目的から、厚生省では昭和61年度より結核・感染症サーベイランス事業を発足させた。各種の情報源は地域の医療機関であり、これらの情報を全国各地に存在する保健所で入力し、還元作業も結核・感染症サーベイランスのコンピューター・オンラインにより迅速に全国ネットで行われている。一方、ここで集積されたリアルなデータを還元するに当たっては、単なる数値の羅列ではなく還元先で理解し易くするため、視覚に訴えるようなグラフ化、図形化の試みがなされている¹⁾。また、これまでの積み重ねで得られたデータを統計的に処理して、各種疾病の流行予測が出来ないものかという試みもある²⁾³⁾⁴⁾。

本報では、昭和56年よりこれまでに得られた約9年間のサーベイランスのデータを基にして、東北地方における感染症発生予測カレンダーの作製を試みたので報告する。

2. 材料と方法

2.1 データの入手

昭和56年から昭和63年までの患者発生報告数のデータ

は厚生省大臣官房統計情報部より「電算処理による厚生統計等のデータ・サービス取扱要綱」に従い入手した⁵⁾。平成元年以降のデータは、結核・感染症サーベイランスオンラインシステムからの週毎のデータを用いた。

2.2 コンピュータ

使用したコンピューターは、ACOS 3400, N 6500 およびパーソナル・コンピューターPC 9801 (以上日本電気製造)である。

2.3 プログラム

プログラムの開発は自主開発とし、データの加工は主にACOSを使用した。カレンダーの作成に先立ち、年間の患者発生状況に関するグラフをACOSから移植したデータを基に、パーソナル・コンピューターのグラフ表示プログラムを用いてプロットした⁶⁾。

2.4 カレンダーの作成

今回使用したデータは、厚生省が感染症サーベイランス事業で集計している27疾病の内、週報でデータが蓄積されてデータ数が多く、その数値に比較的信頼性の高い14疾病を選んだ。すなわち、①麻疹様疾患、②風疹、③水痘、④流行性耳下腺炎、⑤百日咳様疾患、⑥溶連菌感染症、⑦異型肺炎、⑧感染性胃腸炎、⑨乳児嘔吐下痢症、⑩手足口病、⑪伝染性紅斑、⑫突発性発疹、⑬ヘルパンギーナ、⑭インフルエンザ様疾患である。これらの疾病について、昭和56年27週のサーベイランス事業開始時より平成2年の第9週までの約9年間の定点当りの報告者数を使用した。

3. 結果と考察

14疾病それぞれについて、昭和56年より平成2年度までの約9年間の東北6県の定点当りの報告数を合計し、その平均値を週単位でパーソナル・コンピューターによりプロットしたのが図1である。

麻疹様疾患では5～6月が流行のピーク、風疹では5～7月がピーク、水痘では5～7月と12～1月の二度ピーク、流行性耳下腺炎と百日咳様疾患はピークは無く単なる増減、溶連菌感染症では11～12月にかけてピークらしきものが有るが明確なものではなく、異型肺炎はピークは無い。感染性胃腸炎と乳児嘔吐下痢症は12～1月にかけてピーク、手足口病は7～9月にピーク、伝染性紅斑と突発性発疹は流行のピークが無く、ヘルパンギーナは7月がピーク、インフルエンザ様疾患は2月がピークとなっていた。これらのグラフを冬期流行型(冬型)、

* 現職(エンドーチェーン)

** 宮城県保健環境センター顧問

*** 国立仙台病院

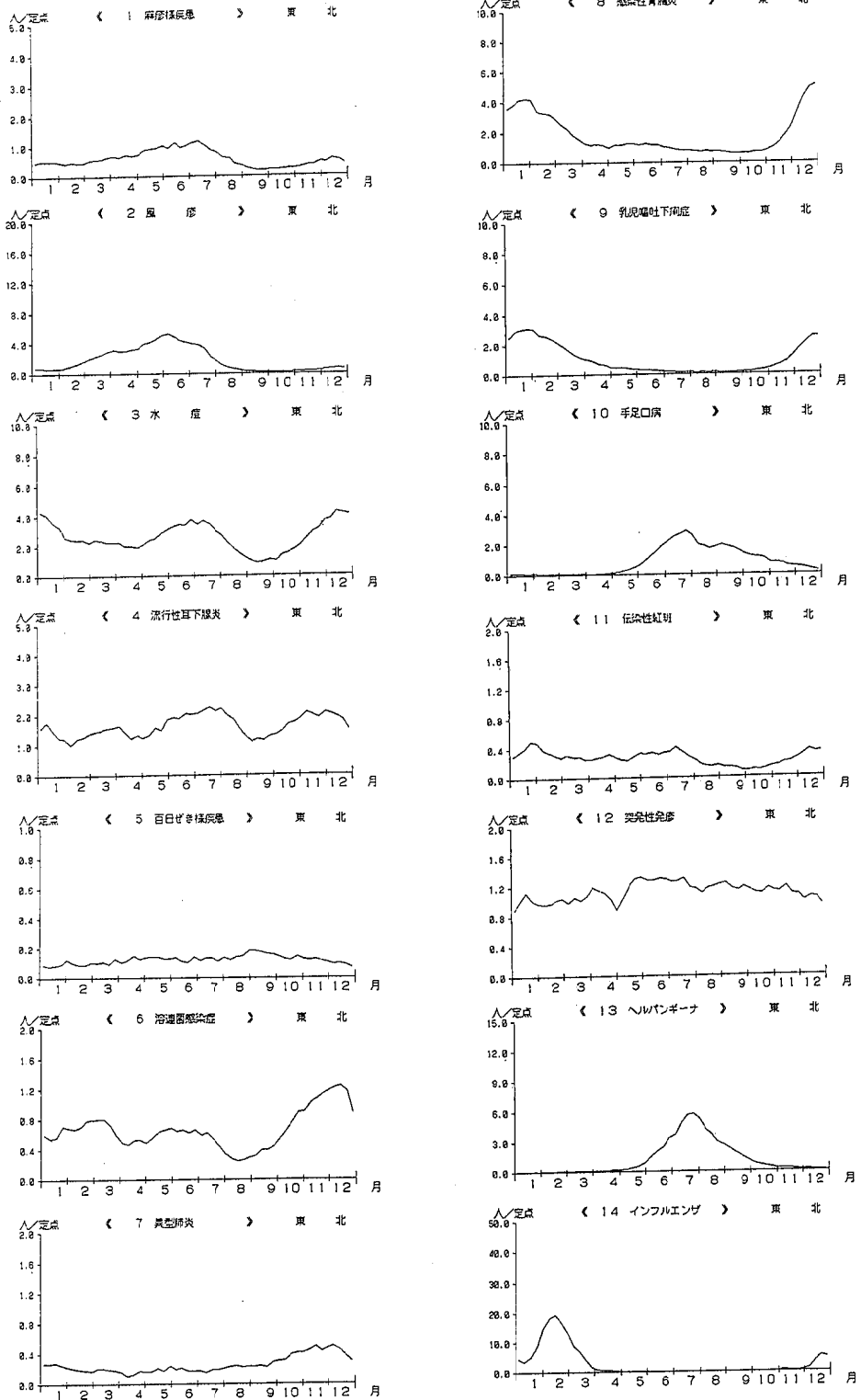


図1 月別、定点当りの患者報告数

夏型)と二度ピーク型(2ピーク型)に分類し、さらにピークをバーの厚さと長さで表現し、感染症発生予測カレンダーとして表示したのが図2である。冬型としては、感染性胃腸炎・乳児嘔吐下痢症・インフルエンザ様疾患、夏型は、麻疹様疾患、風疹・手足口病・ヘルパンギーナ、それに2ピーク型としては水痘という様に分類できた。しかし、残る流行性耳下腺炎、百日咳様疾患、溶連菌感染症、異型肺炎、伝染性紅斑、突発性発疹の各疾病は流行の連続性が無く、カレンダーを作製することは出来なかった。

4. 考 案

今回作製した感染症発生予測カレンダーは東北地方を中心に得られた感染症サーベイランスの患者発生データを統計処理したものであり、したがって感受性者の抗体の保有状況⁵⁾などその他、流行への影響を及ぼすと思われる条件はまったく加味していない。一方、現在厚生省で行っている伝染病流行予測調査⁷⁾では風疹、百日咳、インフルエンザについての抗体保有状況などの結果がデータベースとして保管されており、これらのデータがリリースされれば、より信頼度の高い感染症発生予測も可能となると思われる。今後、我々はより早い機会に

伝染病流行予測調査のデータを解放して頂くよう要望していくつもりである。

参 考 文 献

- 1) 三浦英美 他：感染症サーベイランスの精度管理，第12回東北六県防疫研究会，盛岡市，1988年
- 2) 三浦英美 他：感染症サーベイランス情報による疾病解析と発生予測，第13回東北六県防疫研究会，仙台市，1989年
- 3) 三浦英美 他：感染症サーベイランスデータ解析の試み，宮城県保健環境センター年報，7，49-53，1989年
- 4) 三浦英美 他：宮城県における疫学情報解析への新しいとりくみ方，第3回公衆衛生情報研究協議会総会及び研究会，東京都，1990年
- 5) 結核・感染症サーベイランス事業実施要領（昭和61年6月9日厚生省保健医療局長通知）
- 6) 三浦英美 他：感染症サーベイランスデータ解析の試み，宮城県保健環境センター年報，8，40-42，1990
- 7) 伝染病流行予測調査報告書（厚生省保健医療局・感染症対策室監修）

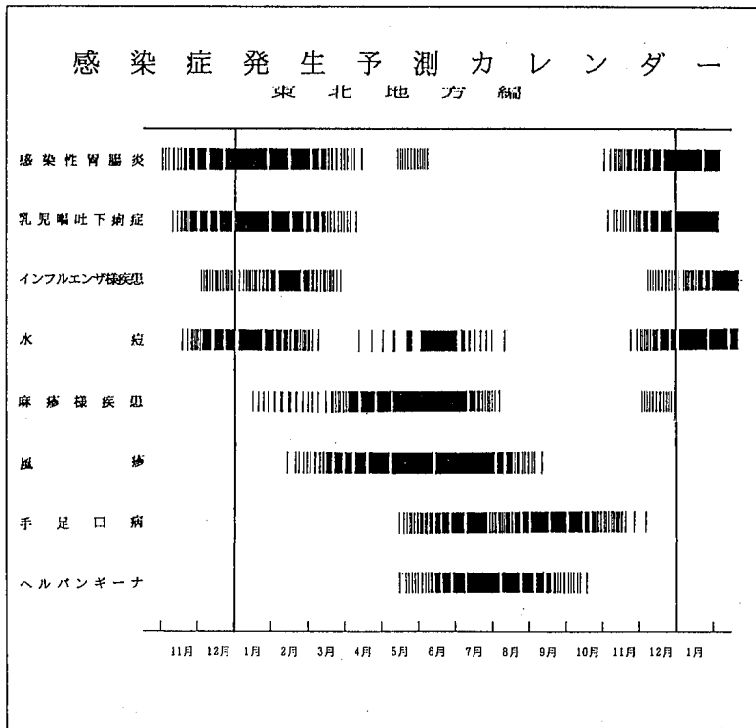


図2 感染症発生カレンダー(東北地方編)

2. 感染症サーベイランスデータ解析の試みⅡ

三浦 英美 助野 典義 紺野 光雄*

1. はじめに

感染症サーベイランス情報を分かりやすい形で保健所や医療関係機関等に提供するため、宮城県保健環境センターの汎用コンピューターを用いてグラフ表示プログラムの開発を行ってきた¹⁾。その後、それらのプログラムに幾つかの改良や追加を行い、平成2年1月からは得られたグラフ情報を東北6県防疫研究会(会長:石田名香雄)を通して月報としてとりまとめ関係者へ提供している²⁾。こうして、感染症サーベイランス情報を分かりやすいものにするという点では多少の進歩が見られたが、これらの情報を公衆衛生や医療の現場の人々に迅速に伝達できるまでには至っていない。グラフ表示の対象としている疾病は、週単位に情報をとりまとめているものであり、あらかじめ報告を依頼している内科・小児科及び眼科医院から1週間の各疾病の患者発生状況の報告を受け、当センターにてそれを集計して厚生省へ報告し、厚生省において全国の状況を集計した後、その情報を保健所まで還元するのに次の1週間を要する。汎用コンピューターによるグラフ作成の処理は1時間程の時間で終わるが、それを関係者へ提供すると印刷と郵送に数日かかり、月報として提供されている情報は6週間前からせいぜい2週間前のものである。したがって、グラフの形で分かりやすい情報の提供を行えるようになってはきたが、時間がかかり過ぎて情報としての価値が大きく失われているきらいがある。そこで、感染症サーベイランスに関する分かりやすい情報を出来るだけ早く提供する方法として、パーソナルコンピューターを用いたデータの送受信とグラフ表示の方法を試みたので報告する。

2. 方 法

グラフ表示のプログラムは当センターの汎用コンピューター(NEC-ACOS 3400)においてFORTRANで作成してきたもの¹⁾をパーソナルコンピューター(NEC, PC-9801)のN88-日本語BASIC(MS-DOS版)に翻訳し、メニュー画面プログラム、データ処理プログラム等の追加を行った³⁾⁴⁾。データは週単位で入手可能な①麻疹様疾患、②風疹、③水痘、④流行性耳下腺炎、⑤百日ぜき様疾患、⑥溶連菌感染症、⑦異型肺炎、⑧感染性胃腸炎、⑨乳児嘔吐下痢症、⑩手足口病、⑪伝染性紅斑、⑫突発性発疹、⑬ヘルパンギーナ、⑭インフルエンザ、⑮MCLS、⑯咽頭結膜熱(内

科・小児科,眼科),⑰流行性角結膜炎,⑱急性出血性血膜炎の18疾病について週単位でACOS 3400で集積し、解析を行っているが、その中から必要なデータをフロッピディスクに抽出した。また、フロッピディスクのフォーマットは汎用計算機で用いているIBMフォーマットからパーソナルコンピューターで用いているMS-DOSフォーマットに変換して用いた。(図1)

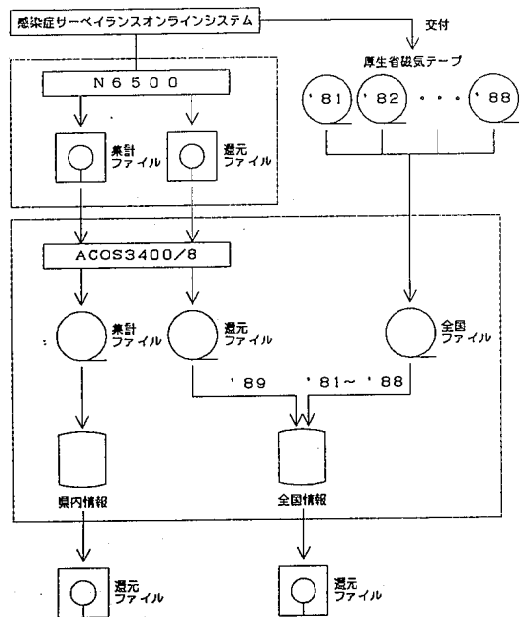


図1 感染症サーベイランス情報処理フロー

データの送信は、親局のパーソナルコンピューターに保存した1週分のデータを子局のパーソナルコンピューターからの呼び出しに応じて公衆電話回線を介して送信する方法を用いた。子局側におけるグラフの作成は、子局のパーソナルコンピューターにおいて受信した1週分のデータをそれまでのデータに追加し、このデータを基に子局側のグラフ作成プログラムを用いて作成する方法とした。(図2)

3. 結 果

(1) 今回試みた方法により、ACOS 3400による1週分のデータ処理の後、30分から1時間程度でグラフ作成のための情報の提供の準備ができ、大幅に時間の短縮が可能となった。今回行った方法では、厚生省からの還元がなされた即日のうちに子局側でも新しい還元デー

* 現職エンドーチェーン

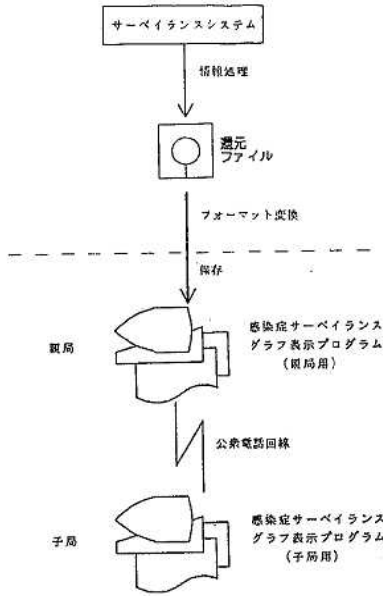


図2 感染症サーベイランスグラフ表示システムにおけるデータ送受信

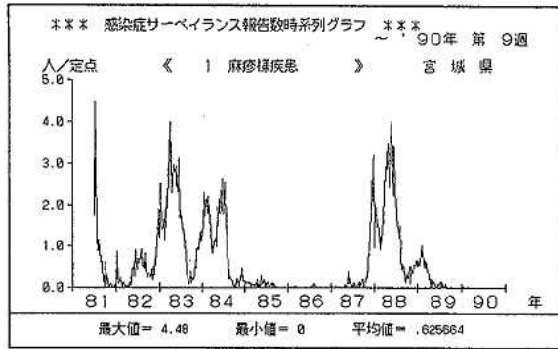


図3 グラフ表示結果の例(時系列グラフ)

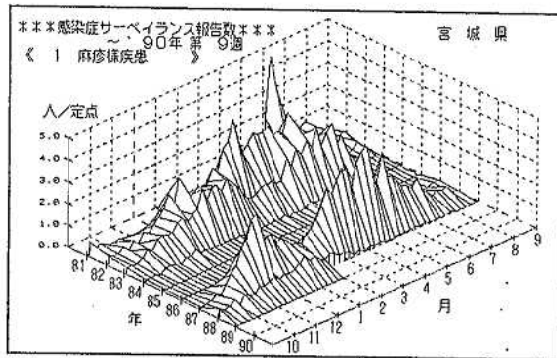


図4 グラフ表示結果の例(3次元グラフ)

タに基づくサーベイランス情報をグラフ表示により見ることができる。ここで、得られたグラフの例をハードコピーを取り図3と図4に示した。

(2) 今回作成した感染症サーベイランスグラフ表示システムのプログラム体系の概要を図5に示した。基本メニューとして地図グラフ、時系列グラフ、3次元グラフ、時系列予測グラフ、データ処理から成り、それぞれ独立したプログラムになっていて、メニュープログラムから呼び出される。疾病メニュー以降のサブメニューはそれぞれのプログラムの中で表示され、必要なメニュー項目を数字で選択することにより最終的に求めるグラフが表示される。時系列グラフにおいては、カラー表示によりいくつかのグラフを同時に表示できるようにしており、データの集計もできるようにしている。またプログラムはどの段階でも「STOP」キーを押すことで、基本メニューに戻るとともに、メニュー項目の指定の際キーボードより「Q」を入力することで1つ前の入力段階へ戻れる。

(3) 子局側におけるデータの保存は、1つの疾病に関する1週ごとのデータを図6のフォーマットに従い、5つの年齢階級、県内5地域、東北6県のデータの並びとして1MBのフロッピーディスク1枚に納まるように順編成ファイルとして保存してい

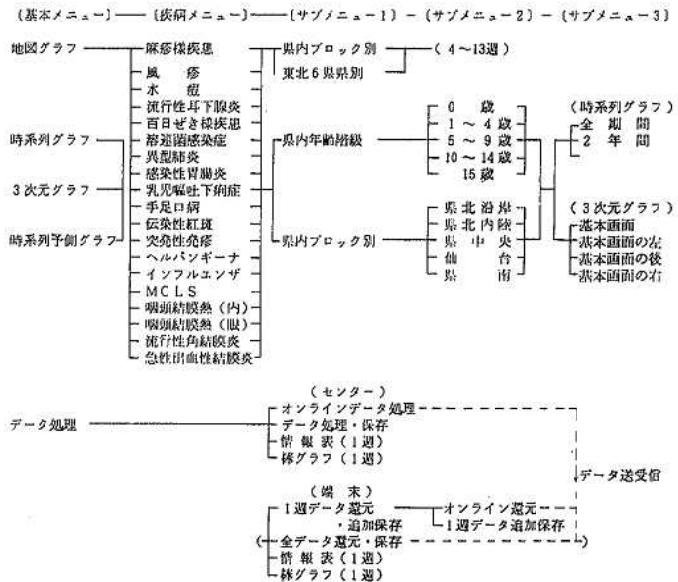


図5 感染症サーベイランスグラフ表示システムのプログラム体系の概要

る。この方法は、全国を7ブロックに分けてブロック内の都府県別のデータを含む形に変更でき、全国データを扱う場合として併せてプログラムの開発を行なっている。

0 歳	1~4歳	5~9歳	10~14歳	15歳~	
F 6.2	F 6.2	F 6.2	F 6.2	F 6.2	
県北沿岸	県北内陸	県中央	仙 台	県 南	
F 6.2	F 6.2	F 6.2	F 6.2	F 6.2	
青森県	岩手県	宮城県	秋田県	山形県	福島県
F 6.2	F 6.2	F 6.2	F 6.2	F 6.2	F 6.2

図6 感染症サーベイランスグラフ表示システムデータフォーマット

4. おわりに

データ送受信、グラフ表示のプログラムとしては、幾つもの優れたソフトが市販されているが、定型的な作業に対しては操作が複雑であることから、今回独自にプログラムを開発することとした。その際、メニュー画面からの作業項目の選択によって素早く操作できるように配慮し、プログラムは、開発が容易であることと汎用性があることからPC-9801を用いた。

しかし、保健所で本プログラムを使用する場合には、データの送受信は現行のサーベイランスオンラインシステムによって行なうことができるが、保健所においてサーベイランスオンラインシステムの端末として使用して

いる機種はN-5200である。そこで、本プログラムについてPC-9801での完動を確認した上で、メニュー及びグラフ表示のプログラムをN-5200へ移植し、まず保健所での活用を図りたい。

今回の方法では、PC-9801を使用することにより、患者発生状況の報告を依頼している内科・小児科及び眼科医院を含めて多くの医療機関等にグラフ表示のためのデータを公衆電話回線を利用して送信することができるが、このデータの送信をどの範囲までとすべきかはデータの保護も含めてむずかしい問題であり、関係機関との協議のもとに活用を図りたい。また、今回開発したプログラムがBASICで書かれており、プログラム自体も最良の書き方とは言い難く、今回の試作システムを実際の広範な使用に供すべきとは考えていない。保健所あるいは関心を持つ地方衛生研究所において試用してもらい、改善を加えるべきものであるが、パーソナルコンピュータのレベルでもこの程度までは実行できることを示すことによって、現行の感染症サーベイランスオンラインシステムの改善に寄与できるものと考えている。

参 考 文 献

- 1) 三浦英美他：宮城県保健環境センター年報，7，49-53，（1989）
- 2) 東北6県防疫月報，154-161
- 3) 日本電気編：N88-日本語BASIC（86）（Ver 6.0）リファレンスマニュアル
- 4) 日本電気編：COMSTAR 2424 AT取扱説明書

3. 環境影響評価に係る事後調査結果について

渡辺はるみ 米山 達彦 小葉松英行*
紺野 光雄**

1. はじめに

宮城県では昭和51年に、環境影響評価に係る指導要綱を制定し、開発業者に対して81件（昭和51～63年度）の環境影響評価の実施を指導してきた。しかし、開発計画は一般に終了までの期間が長いこともあり、その指導結果についての事後的な評価はこれまで実施されていない。

ところで、仙台市及びその周辺地区では住宅団地開発が活発に行われているが、東北縦貫自動車道に隣接した地区においても環境影響評価が数件実施されている。これらの事例では自動車道からの騒音の影響が大きいとされており、その対策等についての評価は既に可能な状態にある。

そこで今回は、2件の団地開発事業について環境影響評価の中で講じられることとされていた騒音に対する対策が実際に行われているか否か、あるいは対策の効果が十分であったか否か等を検証するため現地調査を実施した。ここにその結果を報告する。

2. 調査方法

2.1 調査地点

次の2事業について調査を行った。

- ①泉市（現泉区）中山土地区画整理事業
（56年度計画変更）
- ②泉パークタウン第3期開発計画
（57年度）

図1にその位置を示す。

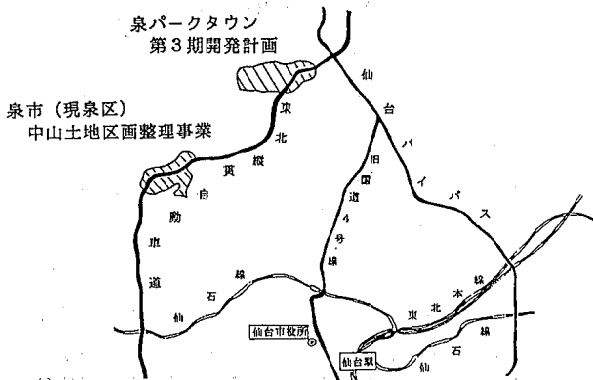


図1 事後調査対象事業位置図

* 現 宮城県塩釜保健所

** 現 ㈱エンドーチェン

2.2 調査日時

予備調査 平成元年8月10日（木）
本調査 平成元年9月5日（火）
補完調査 平成元年10月31日（火）

2.3 測定項目

騒音レベル、交通量、走行速度

2.4 測定方法

各項目の測定は、調査の中に記載されていた予測評価地点の中から、各事業3断面ずつ（計6断面）を選んで行った。

6断面（断面A～F）における測定箇所は以下の3箇所である。

- P₁：土堰堤（盛土）の上
- P₂： " と宅地との境界
- P₃： " から1区画おいた敷地境界

騒音レベルはリオン製NL01型積分騒音計とNA20型普通騒音計、LR04型高速度レベルレコーダーを用いて、JIS-Z 8731に基づき測定した。騒音計の周波数補正回路はA特性、動特性は速とし、測定時間は5分間とした。

交通量は、泉中山団地では乗用車・小型貨物車・大型車の3車種に、泉パークタウンでは小型車・大型車の2車種に区分し、上下線毎に10分間測定した。

走行速度は、上下線毎に車両各10台について100mを走行する時間を測り、平均走行速度を算出した。

3. 予測計算式

騒音の予測は日本音響学会のモデルを基本とした次式により行った。

$$L_{50} = L_w - 8 - 20 \log l + 10 \log (\pi \cdot d / l \cdot \tanh \cdot 2\pi \cdot l / d) + \alpha d + \alpha_i$$

L₅₀：自動車騒音の中央値（dB(A)）

L_w：平均パワーレベル

l：音源から受音点までの距離（m）

d：平均車頭間隔（m）

d = 1000・速度 / 交通量

α_d, α_i：補正值

4. 結果と考察

4.1 公害対策の実施状況

調査を行った泉中山団地と泉パークタウンはいずれも自動車道に隣接していることから、調査では基本的な騒音対策として、緩衝緑地帯（幅が、前者45～75m、後者

40m) が設けられることとなっている。必要な箇所については、更に3~5mの土堰堤(又は盛土)、あるいは遮音壁が設置されることとなっている。具体的には、泉中山団地B地点に5mの盛土、C地点に3mの土堰堤、泉パークタウンD、E地点に3mの土堰堤、F地点に3mの土堰堤とその上に高さ3mの遮音壁をそれぞれ宅地側に設けることとなっていた。今回の調査の結果、調査に記載されていたこれらの対策はいずれも実施されていることが確認された。

4.2 騒音の状況

表1に現地調査の結果を示す。環境基準値は60dB(A)である。

表1 騒音の実測値

単位 (dB(A))

地点	断面	実 測 値		
		P1	P2	P3
泉中山団地	断面A	50.0	43.5	45.0
	断面B	70.0	48.0	51.0
	断面C	63.0	45.0	46.0
泉パークタウン	断面D	66.0	49.0	50.0
	断面E	68.0	46.8	51.0
	断面F	66.0	46.0	50.0

予測が行われたP2の地点では全地点で60dB(A)を十分に下回っており、土堰堤・遮音壁等による減音対策の効果はそれなりに発揮されていることが確認された。しかし、土堰堤(盛土)上のP1では、ほとんどの地点で60dB(A)を上回っており、自動車道の騒音の影響が大きいことがわかる。一方、自動車道から遠いP3では全般的にP2より値が上がっている。これは土堰堤等による遮音の効果は遠い地点ほど減少することを示していると考えられる。泉中山団地のA地点については、調査の中で対策が講じられていない地点ではあるが、緩衝緑地帯側に繁茂している樹木が減音効果を発揮しているために、他の地点に比べて低い値になったと考えられる。

4.3 予測モデルの妥当性について

道路交通騒音の予測モデルとしては、一般に日本音響学会会式を基本としたものが多く用いられており、今回選んだ2事業の調査においても使用されている。ここでは、現地調査で得られた騒音の実測値と、実交通量・実速度から求めた計算値を比較して、予測モデルとしての妥当性を検証した。図2にその結果を示す。図からわかるように、予測値の関係はほぼ1:1の関係にあり、差でも-6.30~+5.75dB(A)の範囲に収まっている。これらのことから、予測値の誤差範囲を±6dB(A)程度と考慮して使用する限りにおいては、予測モデルは概ね妥当

であると見ることが出来る。

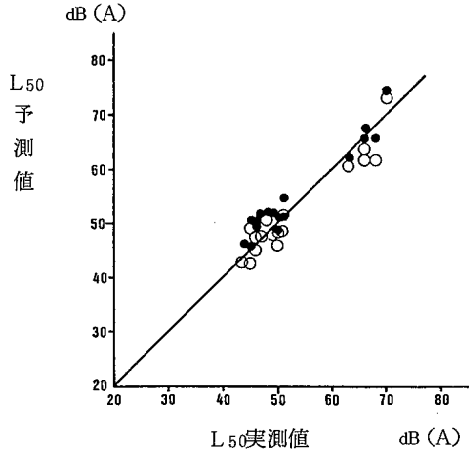


図2 騒音の実測値と予測値

- 予測値①: ●: 昭和54年度規制以前の
パワーレベル算定式
- ②: ○: 昭和54年度規制以後の
パワーレベル算定式

4.4 予測条件等について

環境影響評価では、将来の各種条件などを設定した上で予測・評価が行われ、対策が講じられることになる。従って、予測の基礎となる各種条件をいかに的確に設定しているかが重要な問題となってくる。今回取り上げている2つの事例では、騒音予測の基礎となる交通量及び速度の条件を表2に示すとおり設定しているが、両事例とも、交通量は現状より高く(1.2~1.8倍)、速度は逆に低く(0.76~0.82倍)設定している。ここで問題

表2 調査と実測値の比較

地点	断面	騒音 (dB(A))		交通量 (台/h)		速度 (Km/h)	
		調査	実測値	調査	実測値	調査	実測値
泉中山団地	断面A	45.5	43.5	2000	1110	80.0	103.1
	断面B	51.6	48.0				
	断面C	50.1	45.0				
泉パークタウン	断面D	51.3	49.0	1694	1260	80.0	100.8
	断面E	49.9	46.8				97.3
	断面F	46.8	46.0				104.5

と思われる第一の点は、速度を80Km/hと設定していることである。現実には1.2~1.3倍の100Km/h前後のスピードで交通が行われていることから考えると、現況

の値を参考にして将来値を設定するべきであると思われる。第2の点は交通量についてである。交通量は、過去の実績伸び率等を基礎として将来値を設定しているが、予測精度、ピーク時交通量の解析精度などの向上を図らなければならないと思われる。騒音の予測値は、結果的には実測値と近い値となっているが、これは交通量と速度の設定誤差が逆に作用し相殺されたためと思われる。

4.5 騒音の予測評価位置

今回取り上げた事例では、騒音の予測評価位置は、敷地境界の高さ1.2mで行われている。これは環境騒音測定の方定法であるJIS-Z 8731を参考にして評価点を設定したためと思われるが、防音対策として盛土や遮音壁の設置を行う場合は、受音点位置の高さにより騒音レベルが大きく変化することから、より広い範囲で予測評価を行うべきであると考えられる。表3は、各予測評価地点の受音点の高さを変えて騒音レベルを推計した結果である。泉中山団地の断面C及び泉パークタウンの断面D、Eの場合は7m以上の高さでは60dB(A)を上回る騒音が予想され、2階建て住宅等では対策が不十分だと思われる場合も想定される。

表3 受音点の高さを変化させて推計した騒音レベル

単位 (dB(A))

地点	受音点の高さ		1.2m	3.5m	7.0m	12.0m
	P ₂	P ₃				
泉中山団地	断面A	P ₂	42.9	45.7	50.5	61.1
		P ₃	42.7	46.0	47.8	61.7
	断面B	P ₂	50.7	53.0	56.6	63.1
P ₃		51.9	54.2	57.3	61.0	
断面C	P ₂	49.0	58.7	64.4	66.1	
	P ₃	47.5	53.0	59.7	63.5	
泉パークタウン	断面D	P ₂	48.0	55.3	61.7	65.3
		P ₃	48.3	51.1	60.8	60.6
	断面E	P ₂	47.8	58.2	63.9	65.7
P ₃		48.2	52.3	60.6	62.1	
断面F	P ₂	45.1	48.2	52.5	61.2	
	P ₃	45.8	48.2	50.9	63.7	

(注) 用いたパワーレベル算定式は昭和54年度規制

5. まとめ

今回の調査では、調書に記載されている対策が実行されていることが確認された。また、騒音の予測モデルは±5%程度の誤差で、実際の騒音を推計できることも確認した。

しかし、調書に記載されている騒音の予測条件(交通量、速度)は必ずしも精度が高いとは言えず、今後改善が必要と思われる。

また、騒音の予測評価は、従来1.2mの高さで行われていたようであるが、防音対策の内容によっては影響の及ぶ範囲を広く考え1.2m以上の高さについても予測評価することが肝要と思われる。

6. 謝辞

最後に今回現地調査を行うにあたって御協力・御指導頂いた大気部の皆様に厚く御礼を申し上げます。

4. 先天性副腎過形成症マス・スクリーニング(第2報)

沖村 容子 山田久美子 白石 廣行
山本 仁

1. はじめに

先天性副腎過形成症(CAH)は、副腎皮質におけるコルチゾール産生に関与する酵素が先天的に欠損するためにおこる疾患である。過剰な性ホルモンによる性の誤認や、腎不全による死亡など重篤な症状を示し、発生頻度も15,000人に1人と比較的高いため、全国的なスクリーニングが実施されるに至った。

宮城県では、検査法の検討や基本データの集積等の準備期間を経て、1989年1月よりスクリーニングを開始した。

今回は、1989年4月より1990年3月までの検査成績について集計し、あわせて、低出生体重児の再採血依頼率について考察を加えたので報告する。

2. 材料および方法

先天性代謝異常スクリーニング血液ろ紙を検体とし、検査法は、酵素欠損により血液中に増加する17 α ヒドロキシprogステロン(17-OHP)を酵素免疫抗体法により測定するもので、テバコーニング社製「エンザプレートN-17 α -OHP」を使用している。

また、検査法を図1に示したが、一次検査は直接法で、

二次検査はエーテル抽出法でおこなっている。反応時間は、直接法、抽出法ともに4時間で充分であるが、受付業務との関連により、通常は20時間法を採用し、必要に応じて4時間法も併用している。直接法は、3mmディスク1枚、singleで、抽出法は、3mmディスク2枚、duplicateで検査している。標準検体、コントロール検体は、直接法、抽出法ともにduplicateで検査し、プレート毎に検量線を作成している。

測定は、マイクロプレートリーダー：ダイナテック社MR 650型を使用し、J E O L社の「先天性副腎過形成症判定システム」ソフトにより、検量線の作成、17-OHP値への換算、精度管理等のデータ処理をおこない、データの保存はフロッピーディスクを使用している。

3. 検査システム

受付等の事務処理終了後、ただちに一次検査(直接法)をおこない、17-OHP値分布の上位5%値をカットオフ値として、プレート毎に高値検体を選ぶ。翌日、二次検査(抽出法)で再測定をする。二次検査のカットオフ値は、準備期間内に検査した500件の結果より得た、平均値(M)3.72 ng/ml、標準偏差値(SD)1.73 ng/mlから、 $M + 2SD = 7 \text{ ng/ml}$ と設定し、それ以上の高値を示した場合は、再採血を依頼する。また、一次検査で40 ng/ml以上を示した場合は、直ちに電話で担当医師に症状の有無等を確認し、精密検査をおこなうべきかを判断している。

再検査では、直接法で40 ng/ml以上か、または抽出法で7 ng/ml以上を示した場合に、精密検査を依頼する。(図2)

4. 結果及び考察

4.1 実施状況

1989年4月より1990年3月までの、月毎の検査成績を表1に示した。

総検体数24,361件で、再採血依頼数93件、精密検査数22件であったが、いまだ陽性者を発見するには至っていない。月毎の再採血依頼率は0.15~0.63%で、平均0.38%であった。

一次検査(直接法)24,276件による17-OHP度数分布を求め、図3に示した。平均値(M)は11.53 ng/mlであった。

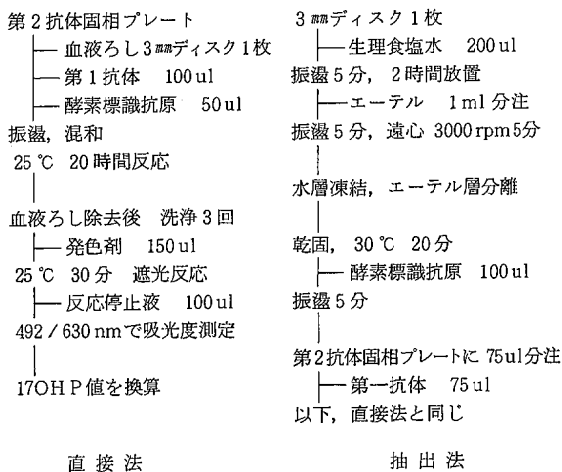


図1 検査法

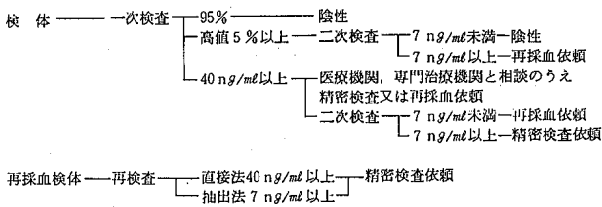


図2 先天性副腎過形成症(CAH)検査フローチャート

表1 検査成績

	計	1989年										1990年		
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3月	
総検体数	24,361	1,755	2,310	2,007	2,380	2,271	2,052	2,031	1,947	2,028	2,067	1,823	1,989	
再採血依頼率(%)	93 (0.38)	11 (0.63)	12 (0.52)	9 (0.45)	11 (0.53)	7 (0.31)	7 (0.34)	7 (0.34)	3 (0.15)	10 (0.49)	3 (0.15)	6 (0.33)	7 (0.35)	
精密検査数	22	0	7	2	3	1	2	1	1	1	2	0	2	

4.2 低出生体重児の再採血依頼率について
スクリーニング開始より、低出生体重児に一過性の17-OHP高値があるといわれ、そのため再採血依頼率が高くなる傾向がみられる。確認のため、1989年4月より12月までの一次検査数18,417件について、出生体重別の17-OHP平均値、標準偏差を求め表2に示した。出生体重が低いほど17-OHP平均値が高い傾向があり、上位5%値をカットオフ値とする判定基準では、2,000g以下の児の3%が高値となり二次検査を要した。二次検査は、エーテル抽出によって水溶性ステロイド等を除き17-OHPを正確に測定するためにおこなうが、その結果、2,501g以上の児では707件中665件、1,000g以下の児では14件中6件が陰性となり、抽出法の有用性は認められた。(表3)しかし、表4に示すとおり二次検査をおこなっても、出生体重が低いほど17-OHP平均値は高く、そのため、二次検査高値(再採血依頼)率が、2,501g以上の児では0.3%であるのに対し1,001~1,500gの児では7.5%、1,000g以下の児では21.6%と、低出生体重児ほど高率となっている。(表3)

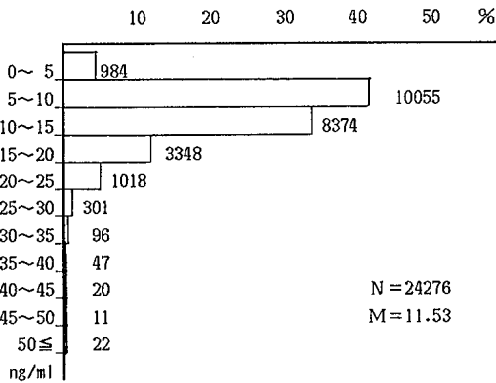


図3 17-OHP度数分布(直接法)

また、二次検査(抽出法)1,200件による17-OHP度数分布を求め図4に示したが、平均値(M)3.27ng/mlであった。

表2 出生体重別の一次検査平均値

出生体重(g)	平均±標準偏差 (ng/ml)
≤1000	24.2 ± 20.9 (n=37)
1001~1500	20.7 ± 12.3 (n=66)
1501~2000	18.3 ± 12.3 (n=166)
2001~2500	13.3 ± 7.7 (n=912)
≥2501	10.5 ± 6.5 (n=16742)
不明	(n=494)
計	11.6 (n=18417)

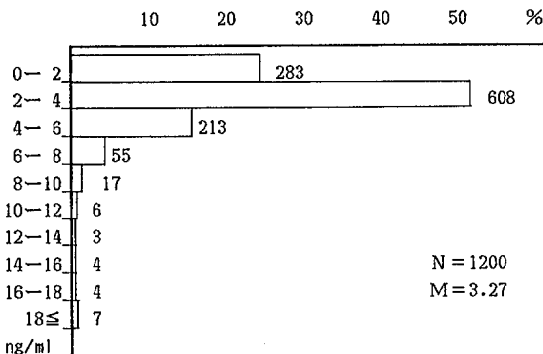


図4 17-OHP度数分布(抽出法)

表3 出生体重別の一次検査高値数、二次検査高値数

出生体重(g)	検体数	一次検査高値数	二次検査高値数
≤1000	37	14 (37.8%)	8 (21.6%)
1001~1500	66	23 (34.8)	5 (7.5)
1501~2000	166	46 (27.7)	8 (4.8)
2001~2500	912	107 (11.7)	16 (1.8)
≥2501	16742	707 (4.2)	42 (0.3)
不明	494	28	3
計	18417	925 (5.0)	82 (0.4)

表4 出生体重別の二次検査平均値

出生体重 (g)	平均±標準偏差 (ng/ml)	
≤1000	9.2 ± 6.6	(n = 14)
1001~1500	4.9 ± 4.6	(n = 23)
1501~2000	4.5 ± 3.0	(n = 46)
2001~2500	3.9 ± 2.2	(n = 107)
≥2501	3.2 ± 2.3	(n = 707)
不明		(n = 28)
計	3.5	(n = 925)

また、一次検査、二次検査の17-OHP平均値を比較すると、出生体重に関係なく、二次検査の値は一次検査の値の約1/2に減少している。(表2, 4)

このように、低出生体重児では、外界の刺激に敏感に反応して複雑なステロイド動態を示す結果、17-OHP値自体が高くなったり免疫学的に交差する水溶性ステロイド等、多種の類似物質が分泌されると考えられる。

低出生体重児は、17-OHP値が高く、したがって再採血依頼率が高いという問題について、なんらかの対策が必要であるが、出生体重別のカットオフ値を設ける等の判定基準の変更は、見逃しの危険を伴うため慎重にす

べきであると考えている。これまで、1,000g以下の児は、高度の設備をもつ特定医療機関に集中しているので、検査成績のみを報告し、再採血の時期や処置については、すべて医師の判断にまかせている。また、1,001~2,000gの児の場合は、再採血を依頼する際に「低出生体重児は、17-OHP値が高くなる傾向がある」と説明し、保護者の不安を和らげる配慮をするように指導している。

今後の課題として、低出生体重児のステロイドホルモンの分離同定を試みるための、高速液体クロマトグラフの導入と、コルチゾール検査の検討等を考えている。

5. まとめ

1989年4月より1990年3月までに、総検体数24,361件について検査し、再採血依頼数93件、精密検査数22件となったが、いまだ陽性者を発見するには至っていない。

また、低出生体重児の17-OHP値について検討し、出生体重が低いほど17-OHP平均値が高い傾向が確認された。この傾向は、エーテル抽出により水溶性ステロイド等を除いても変わらず、新生児期の複雑なステロイド動態を示す結果となった。

5. 神経芽細胞腫マス・スクリーニング

清野 陽子 加茂えり子 白石 廣行
山本 仁

1. はじめに

小児ガン的一种である神経芽細胞腫の多くは、カテコールアミン代謝産物であるバニルマンデル酸(VMA)、バニル乳酸(VLA)、ホモバニリン酸(HVA)等を尿中に排泄する。このためVMA等を指標とするマス・スクリーニングが可能であり、宮城県では昭和60年10月、生後6か月児を対象にマス・スクリーニングを開始した。開始時は1次検査はDip法(定性法)で行なっていたが、昭和63年7月、より精度の高い高速液体クロマトグラフィ(HPLC)による定量法に変更した。変更後、平成2年3月までに36,494名について検査を実施し、5名の患児を発見した。この間、細菌汚染と思われる不備検体の増加が新たな問題として生じ、これについて若干の検討を試みたので、平成元年度検査実績と併せ報告する。

2. 検査方法

検査方法、測定機器等は既に報告した¹⁾。

測定条件は、平成元年12月から島津 Shim-Pack CLC-VMAカラムに加えイナートシルODS-2も使用を開始したので、両者について図1に測定条件、図2に同一検体のクロマトグラムを示した。

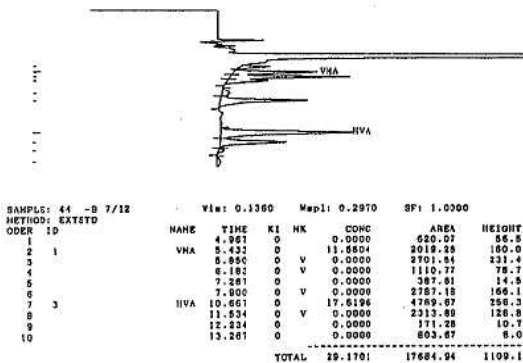
(測定条件-A)

カラム: 島津 Shim-Pack CLC-VMA 6×150mm
ガードカラム: 島津 ETH
移動相: 5mM 酒石酸:アセトニトリル (97:3)
カラム温度: 40℃
流量: 0.8-1.0 ml/min
注入量: 5 μl
分析時間: 14-20 min

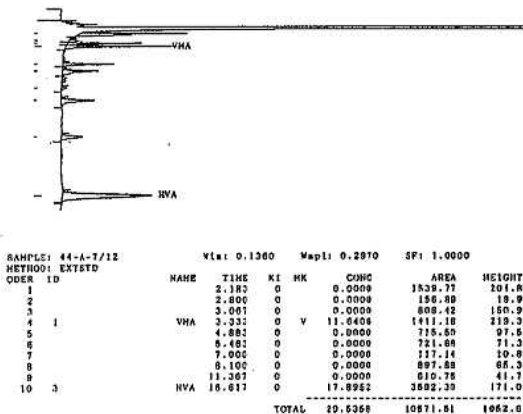
(測定条件-B)

カラム: イナートシル ODS-2 4.6×150mm
ガードカラム: イナートシル ODS-2 カートリッジガードカラム
移動相: 50mM リン酸緩衝液:アセトニトリル (50:3)
カラム温度: 50℃
流量: 1.2 ml/min
注入量: 5 μl
分析時間: 20-23 min

図1 HPLC測定条件



(島津 Shim-Pack CLC-VMAで測定)



(イナートシル ODS-2で測定)

図2 クロマトグラム

3. 結果および考察

3.1 平成元年度検査実績

表1に1次検査実績、表2に2次検査実績を示した。1次検査受付数23,193、不備数は2,138(受付数に対し9.2%)、疑陽性数は961(受付数に対し4.1%)であった。採尿日記載漏等による保健所、保護者への問い合わせは837件(受付数に対し3.6%)あり、不備数と合わせると受付数の12.8%にも相当し、事務処理の遅れの原因となっている。

2次検査受付数1,132、不備数44、再々検査依頼数183、であり、精検の結果2名の患児が発見された。

表 1 1 次 検 査 実 績

		受付数 [*] (検査実人員数)	不備数	疑陽性数(未回収数)		陰性数	問い合わせ数
仙	南	875 (776)	99	41	(2)	735	24
白	石	626 (546)	80	35	(0)	511	30
角	田	479 (437)	42	24	(0)	413	7
岩	沼	1,424 (1,292)	132	59	(1)	1,233	38
宮	黒	478 (427)	51	14	(1)	413	14
塩	釜	1,724 (1,568)	156	82	(14)	1,486	48
大	崎	1,516 (1,353)	163	56	(3)	1,297	72
岩	出 山	599 (522)	77	24	(1)	498	31
栗	原	882 (781)	101	43	(5)	738	34
登	米	962 (872)	90	40	(1)	832	54
石	巻	2,243 (2,019)	224	72	(3)	1,947	114
気	仙 沼	1,059 (982)	77	22	(2)	960	41
青	葉	1,971 (1,840)	131	87	(1)	1,753	56
太	白	2,243 (2,036)	207	101	(2)	1,935	88
若	林	1,652 (1,517)	135	66	(2)	1,451	48
宮	城 野	2,286 (2,112)	174	111	(3)	2,001	68
宮	城	410 (362)	48	22	(0)	340	14
秋	保	41 (35)	6	0	(0)	35	1
泉		1,723 (1,578)	145	62	(3)	1,516	55
計		23,193 (21,055)	2,138	961	(44)	20,094	837

* 検査実人員数は受付数から不備数を除いた数である。

表 2 2 次 検 査 実 績

		受付数	不備数	再々検依頼数 (未回収数)	精 検 数 (患児数)			受付数	不備数	再々検依頼数 (未回収数)	精 検 数 (患児数)
仙	南	56	6	10	0	石	巻	98	3	17 (1)	0
白	石	37	0	4	1	気	仙 沼	24	0	3	0
角	田	36	3	6	0	青	葉	114	9	22	3 (2)
岩	沼	61	3	7	0	太	白	121	2	18 (2)	1
宮	黒	18	0	4	0	若	林	79	2	15 (1)	1
塩	釜	80	3	15 (1)	0	宮	城 野	138	2	26	3
大	崎	52	2	4 (1)	1	宮	城	27	1	4	1
岩	出 山	29	2	4	1	秋	保	1	0	0	0
栗	原	49	3	5	0	泉		69	3	11 (1)	0
登	米	43	0	8 (2)	0	計		1,132	44	183 (9)	12 (2)

表3にマス・スクリーニングを開始してから5年間の受検率を示した。開始初年度に65.5%であった受検率は、平成元年度には86.5%に達した。

表3 1次検査受検率

年度	昭和60年	昭和61年	昭和62年	昭和63年	平成元年
届出出生数	14,542	27,509	27,030	25,589	24,339
検査実人員数	9,523	20,967	20,931	20,458	21,055
受検率(%)	65.5	76.2	77.4	79.5	86.5

届出出生数は受付日の6か月前に相当する数とした。

3.2 1次検査不備について

表4に1次検査不備内訳を示した。採尿してから受付まで10日以上経過している「日数経過」、採尿日が生まれてから6か月たっていない「生後6か月未満」時の採尿は受付数に対しそれぞれ1.25%、0.27%と低率である。これに対し、クレアチニン(Cre)値が極端に低く、HPLCのチャートにピークがない「尿濃度が薄い」が2.29%、又、何らかの汚染によりVMA, HVAのいずれかあるいは両方の値が極端に低い「細菌汚染」が5.37%と非常に高い割合を占めている。

表4 1次検査不備内訳

日数経過	生後6か月未満	尿濃度が薄い	細菌汚染	その他
291 (1.25)	63 (0.27)	531 (2.29)	1,246 (5.37)	7 (0.03)

()は受付数に対する割合 %

図3に1次検査不備の月毎の推移を示した。「日数経過」、「生後6か月未満」は季節的な変動が殆どなく、「尿濃度が薄い」は10, 11, 12月にやや多くなる傾向がある。また「細菌汚染」は4, 5, 6月に少ないのに対し、12~3月には100~200件/月と非常に多く季節による違いがみられる。

3.3 VMA, HVA値の季節変動

図4に不備の少ない月、平成元年5月の測定値分布図、図5に不備の多い月、平成元年12月の測定値分布図を示した。両者を比較すると分布図の形、VMA, HVAの標準偏差が異なり、VMA, HVA値の季節変動が示唆される。

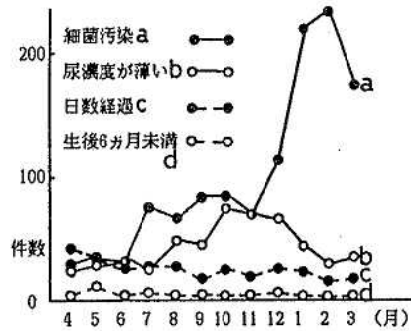


図3 1次検査不備理由(月別)

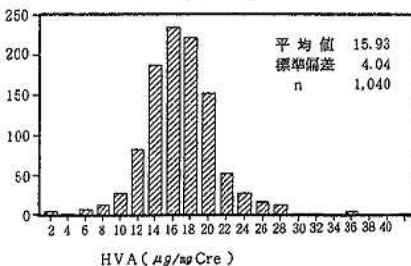
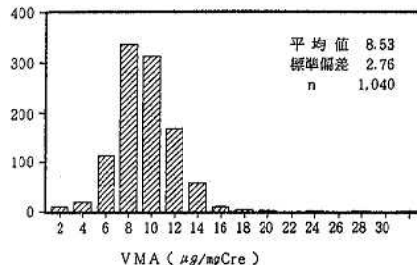


図4 VMA, HVAの測定値分布図(平成元年5月)

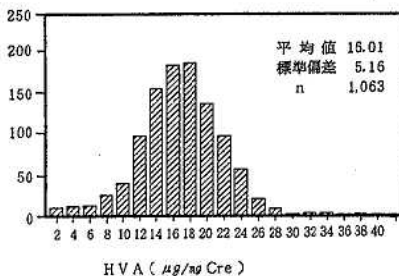
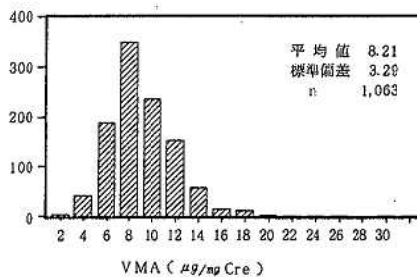


図5 VMA, HVAの測定値分布図(平成元年12月)

3.4 乾燥方法が測定値に与える影響

細菌汚染がおこる可能性として、(A)ろ紙をおむつにはさんでいる時、(B)採尿したろ紙を乾燥している時の2つが考えられる。今回は乾燥方法の違いにより測定値が変動するかどうか検討した。表5, 6, 7に市販の標準尿(オーソⅡ), 幼児尿を用いた結果を示した。

第5 乾燥方法が測定値に与える影響(I)

乾燥方法	VMA ($\mu\text{g}/\text{mg Cre}$)	HVA ($\mu\text{g}/\text{mg Cre}$)
ドラフト	12.54	3.13
室内	13.10	3.38
温風ドライヤー	13.69	3.71
ガストーブ	12.65	4.13
標準尿	12.93	3.32

表6 乾燥方法が測定値に与える影響(II)

乾燥方法	Cre (mg/dl)	VMA ($\mu\text{g}/\text{mg Cre}$)	HVA ($\mu\text{g}/\text{mg Cre}$)
室内	55.3	6.14	11.95
温風ドライヤー	58.0	6.21	12.03
戸外(2時間)	55.2	3.69	4.31
幼児尿	61.8	6.21	11.80

表7 乾燥方法が測定値に与える影響(III)

乾燥方法	Cre (mg/dl)	VMA ($\mu\text{g}/\text{mg Cre}$)	HVA ($\mu\text{g}/\text{mg Cre}$)
ドラフト	35.4	5.93	11.37
消毒用紫外線 (1時間)	34.2	6.67	11.46
幼児尿	38.5	5.96	11.99

オーソⅡは原液を5倍希釈しCre 17.8 mg/dl , VMA 12.93 $\mu\text{g}/\text{mg Cre}$, HVA 3.32 $\mu\text{g}/\text{mg Cre}$ に調整し, この溶液をNo.63(2 \times 10 cm)のろ紙に吸着させた。ドラフト内で3時間, 室内で自然乾燥4時間45分, 温風ドライヤーをろ紙から10 cm のところにあてて34分, ガストーブ上2 m のところにつるして2時間でそれぞれからからに乾燥した。通常の測定方法に従い測定した結果, 従来よくないと考えられてきた温風ドライヤー, ガストーブによる乾燥が, ドラフトでの乾燥, 室内での自然乾燥と同様の結果を与え, 乾燥方法として問題がないと思われた(表5)。

幼児(4才女児)尿はCre 61.8 mg/dl , VMA 6.21 $\mu\text{g}/\text{mg Cre}$, HVA 11.80 $\mu\text{g}/\text{mg Cre}$ のものを5倍希釈

し, No.63(2 \times 10 cm)のろ紙に吸着させた。室内で自然乾燥4時間, 温風ドライヤー40分, うす曇(平成元年6月16日)戸外に2時間置いた後ドラフトで2時間であらからに乾燥した。ろ紙は全てを細片とし, ろ紙に含まれる全Cre, VMA, HVAを測定した(全溶出測定)。Cre値はそれぞれの乾燥方法で大きな違いはなかったが, VMA, HVA値は戸外での乾燥で明らかに大きな減少があった(表6)。

戸外での乾燥によるVMA, HVAの減少は日光中の紫外線によるものではないかと考え, 殺菌灯(消毒用紫外線)に1時間あて, その効果を表7に示した。測定は全溶出により行なったが, Cre, VMA, HVA共に紫外線によって減少せず, 日光による減少は紫外線が原因ではないと思われた。

以上のことから, 乾燥方法が測定値に及ぼす影響は少なく, 細菌汚染はその前の段階, すなわちろ紙をおむつにはさんでいる時におこっていると考えられる。

3.5 食物の影響

厚生省心身障害研究マス・スクリーニングに関する研究班の「6か月乳児では離乳が始まってまだ間がなく, 食事内容によりHPLCのピーク分離に支障を来さないことから, 食事には制限を設けない」²⁾という指導に従い, 宮城県では平成元年1月に食事制限を廃止した。それ以降時折VMAに比べHVAが高すぎる検体が目につくようになった。また「バナナを食べるとHVAが上昇する」³⁾という報告があり, バナナは離乳食にもよく使われるので, バナナ摂取の影響について検討した。

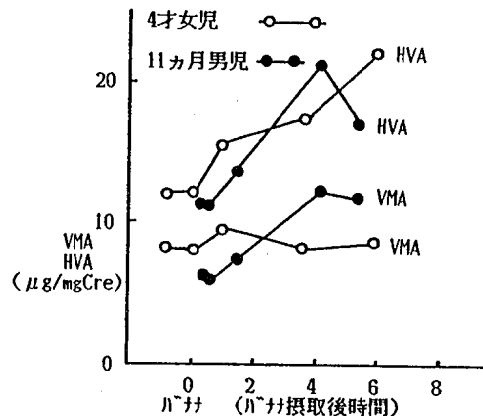


図6 VMA; HVA測定値の変動

図6に幼児(4才女児), 乳児(11か月男児)がバナナを摂取したときのVMA, HVA尿中排泄量の時間経過を示した。4才女児はVMAは殆ど変動しなかったが, HVAはバナナ摂取前の約2倍に上昇した。11か月男児はVMA, HVAともに2倍の上昇があった。検査

対象にした幼児、乳児はバナナの他にも種々の食物を摂取しているが、この結果をみるかぎりでは、検査に与える食物の影響についてさらに検討が必要であると考えられる。

4. ま と め

(1) 今年度は検査実人員21,055名についてマス・スクリーニングを実施し、2名の患児を発見した。受検率は前年度より7%増加し、86.5%であった。

(2) 1次検査不備の中で細菌汚染がもっとも多いが、汚染はる紙をおむつにはさんでいる時におこっていると示唆された。

(3) HPLCによるVMA等の測定には食物の影響は少ないと考えられていたが、バナナ摂取により測定値の上昇がみられる場合のあることを確認した。

参 考 文 献

- 1) 加茂えり子他：宮城県保健環境センター年報 7, 59 (1989)
- 2) 厚生省心身障害研究マス・スクリーニングに関する研究班報告(1988)
- 3) 長谷川喜久子：検査と技術 18(2), 131 (1990)

6. 先天性甲状腺機能低下症マス・スクリーニング

沖村 容子 白石 廣行 遠藤 善宏*
高橋 栄美* 新妻 澤夫* 山本 仁

1. はじめに

先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)は、甲状腺ホルモンが、先天的に欠乏するため発育障害や不可逆性の知能障害を生ずる疾患である。しかし早期発見、早期治療によりこれらの症状を防ぐことができる。原発性クレチン症では、新生児において甲状腺ホルモンの欠如または低下をきたし、ネガティブフィードバック機構により血中の甲状腺刺激ホルモン(TSH)が特異的に上昇する。このTSHを測定することにより早期発見が可能である。

従来クレチン症マス・スクリーニングは、ラジオアイソトープを用いたラジオイムノアッセイ法が主流であったが、放射性廃棄物の処理や施設等の問題により、近年マイクロプレートを用いた操作性の優れた酵素免疫抗体法(ELISA法)が開発され普及してきた。

宮城県におけるクレチン症マス・スクリーニングは、今年度より財団法人宮城県公衆衛生協会に委託された。これまでにELISA法で24,803件を検査し6名の患児を発見した。この一年間の概要を報告する。

2. 材料および方法

材料は、宮城県内で生まれた新生児から生後5~7日目(誕生日を0日とする)に濾紙に採取した血液を用いた。初回測定には直径3mmの血液濾紙ディスク1枚を、また再測定及び再採血検体の測定には直径3mmディスク2枚を使用した。

TSH測定用キットは、モノクローナル抗体固相化マイクロプレートに検体と酵素標識モノクローナル抗体を反応させる、ワン・ステップ・サンドイッチ法によるELISAキット(フジレビオ社製フレライザスクリーニングTSH)を用いた。標準およびコントロールの血液濾紙はキット添付品を使用した。

TSH測定の操作手順を図1に示した。マイクロプレートウェルに3mmディスク1枚と酵素標識抗体液100μlを加え4℃、18時間反応(抗原抗体反応)を行う。次にディスクおよび未反応部分を捨て洗浄液で4回洗浄後、発色液100μlを加え25℃、90分間反応(酵素反応)を行う。最後に反応停止液100μl加えて414/492nmの波長で吸光度を測定する。

マス・スクリーニングは図2に示した検査フローチャートに従い実施した。

毎回の検査におけるTSH測定値分布の95%を陰性とし、高値5%について再測定を行いカットオフ値(15μIU/ml)以上を示した場合再採血を依頼した。また50μIU/ml以上の高値を示した場合は、直ちに東北大学医学部付属病院小児科に精密検査を依頼した。

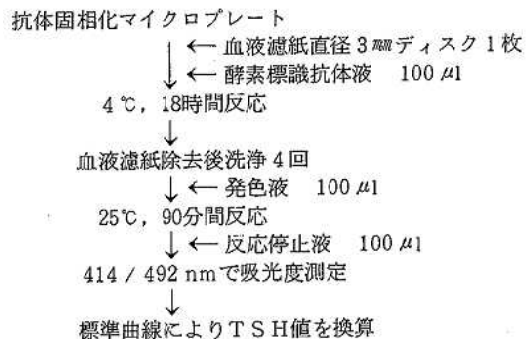


図1 TSH-ELISA操作法

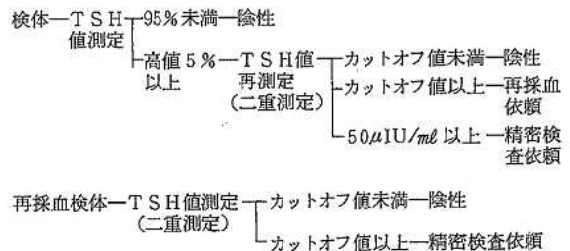


図2 検査フローチャート

3. 結果

3.1 精度管理

毎日の測定ごとに既知3濃度の血液濾紙を同時に測定し再現性を確認した。その結果は表1に示したとおり、変動係数10.0~13.9%と良好であった。また外部精度管理として、財団法人日本公衆衛生協会が母体となり杏林大学より送られてくる検体については、隔週10件づつ、延べ250件を実施し、良好な成績が得られた。

* 財団法人宮城県公衆衛生協会

表1 コントロールの再現性

濃度 (μIU/I)	測定回数 N	平均 \bar{X}	標準偏差 S.D	変動係数 C.V (%)
5.0	542	4.9	0.7	13.9
10.0	542	9.7	1.1	10.8
20.0	542	19.9	2.0	10.0

3.2 実施状況

月毎の検査結果を表2に示した。24,808件について検査し、再採血依頼数554件(再検率2.2%)、精密検査依頼数39件で6名の患児が発見された。再採血依頼数が前年度の231件(再検率0.9%)に比べ増加し、特に4月に100件と多かった。その理由は検査施設、担当者、試薬の変更に伴い、患児を見逃さないよう安全率を高く設定した結果である。

表2 検査結果内訳

月	総検体数	陰性数	再採血数(%)	精密検査数	陽性数
4	1,826	1,724	100 (5.5)	2	0
5	2,364	2,302	56 (2.4)	6	1
6	2,046	2,002	43 (2.1)	1	0
7	2,110	2,061	44 (2.1)	5	0
8	2,304	2,257	42 (1.8)	5	1
9	2,083	2,039	41 (2.0)	3	1
10	2,068	2,026	38 (1.8)	4	1
11	1,975	1,938	36 (1.8)	1	0
12	2,066	2,023	38 (1.8)	5	0
1	2,089	2,046	42 (2.0)	1	0
2	1,855	1,816	36 (1.9)	3	0
3	2,022	1,981	38 (1.9)	3	2
計	24,808	24,215	554 (2.2)	39	6

全検体についてTSH値の分布を図3に示した。0~3 μIU/ml にピークを示し、平均(\bar{X}) 4.4 μIU/ml, 標準偏差(SD) 10.6で約98%が15 μIU/ml 以下であった。

患児6名に関するスクリーニング時のTSH値は表3に示した。1名が53 μIU/ml, 5名が160 μIU/ml 以上といずれも高い値であった。しかし高TSH血症で経過観察となった症例のTSH値は15~32 μIU/ml と中程度の上昇しか認められなかった。

この高TSH血症はクレチン症に移行する例もあるといわれているため、カットオフ値付近の値に対してはこれからも慎重に対応する必要がある。

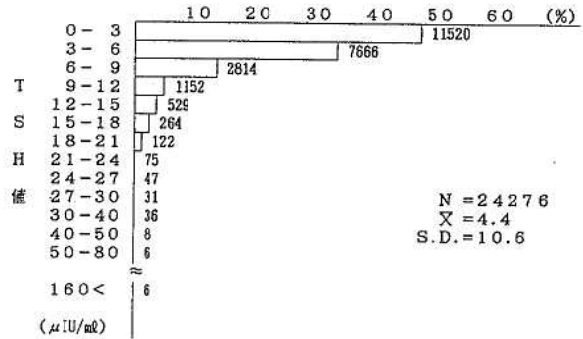


図3 TSH測定値分布

表3 陽性者の検査結果

No.	生年月日	性	検査結果	疾患名
1	89.5.9	女	TSH値 160μIU/ml以上	クレチン症
2	89.8.3	女	TSH値 52.7 μIU/ml 73.4 μIU/ml	クレチン症
3	89.9.18	女	TSH値 160μIU/ml以上	クレチン症
4	89.9.29	男	TSH値 160μIU/ml以上	クレチン症
5	90.2.25	男	TSH値 160μIU/ml以上	クレチン症
6	90.3.10	女	TSH値 160μIU/ml以上	クレチン症
I	89.3.27	男	TSH値 15.8 μIU/ml 14.1 μIU/ml	高TSH血症 経過観察中
II	89.4.15	男	TSH値 18.9 μIU/ml 28.1 μIU/ml	高TSH血症 経過観察中
III	89.8.23	男	TSH値 32.4 μIU/ml 16.7 μIU/ml	高TSH血症 経過観察中

※ 上段:再採血依頼時の測定値
下段:精密検査依頼時の測定値

4. 考察

今年度は6名のクレチン症患児が発見され早期発見、早期治療というマス・スクリーニングの目的は達成されたものと思われる。しかし検査開始年度ということもあり再採血数が前年度に比べ増加した。再採血数が多くなることは家族に心理的負担を与えるためマス・スクリーニング上好ましいことではない したがって一年間の結果を検討し、患児を確実に発見できるよう精度の高い検査を心がけていきたいと考えている。

最後にスクリーニングに関し御指導いただきました関係各位に深く感謝致します。

7. 平成元年度日本脳炎疫学調査

一 宮城県におけるコガタアカイエカの 発生消長・と殺豚H I抗体の動向お よび住民の中和抗体保有状況一

山本 仁 秋山 和夫 御代田恭子
佐久間 隆*

宮城県では、約20年にわたって日本脳炎の確認患者は1人も発生していない。しかし県内では毎年のごとく夏期には、カーブターカの日本脳炎ウイルス伝播・増幅サイクルにより、自然界のウイルス汚染が発生している。数年前には、千葉県や秋田県で日本脳炎の真性患者が発生した。本年も従来の方法に準じて、日本脳炎の疫学調査を実施した。

1. 序 文

国内の日本脳炎は戦後も猖獗を極め、昭和25年には患者数5,196名(人口10万対罹患率: 6.2)の大流行が記録されている。昭和30年代の後半に入って日本脳炎の血清学的診断法が普及し、患者数の報告も確認患者に限って行われる様になった。それでも昭和42年の全国患者数は1,028人(罹患率: 1.0)に達している。

国内の日本脳炎制圧を目ざして、厚生省が全国の地方衛生研究所に呼びかけ、と殺豚の血中抗体価の動向を指標とする、日本脳炎流行予測事業・感染源調査を開始したのは、昭和40年のことである。翌41年からは、健康な住民を対象とし、中和抗体の分布状況の把握を目的とした感受性調査が追加された。

宮城県では昭和38年から独自の日本脳炎対策事業を充足させ、ウイルスの感染源調査や感受性調査の他に、媒介蚊の生態学的調査や気象要因の影響調査等々も加えた、総合的な調査研究及び患者発生防止対策を実施してきた。

国内の日本脳炎患者発生数は、昭和55年以後ずっと年間20~40名の範囲に止まり、発生地区も、ほぼ関西地方以西の西日本に限られている。しかし、日本脳炎が世界的に見ても最も重篤なウイルス性脳炎の1つであることや、多くの野性動物や家畜が感染しウイルスの自然宿主となり得ること、日本を取りまく東南アジアや極東地域の国々では現在でも日本脳炎の大流行が発生していることなど、まだまだ監視が必要な感染症と考えられる。

2. コガタアカイエカの発生消長

2.1 調査方法

国内では、日本脳炎の主要な媒介者は、水田に発生するコガタアカイエカである。従来は調査と全く同様に、名取市下余田地区で農業を営むH氏宅を、コガタアカイエカ発生消長の調査定点とした。H氏宅では3棟の豚舎

に常時約30頭の種豚を飼育しており、調査期間中にも次々と仔豚が誕生していた。

豚舎の東側は2車線の市道を挟んで広い水田に面しており、南側は畑と水田である。3棟のうち最南側豚舎の南に面した軒下約1.5mの位置にライト・トラップ(ノザワ式NH-5型捕虫器、NEC社製BL-6Wブラックライト1灯使用)を1基設置し、原則として毎週火曜日と木曜日の18時から翌朝6時まで運転した。

2.2 調査結果

2.2.1: ライト・トラップによる蚊の採取は、7月25日に開始し9月28日に終了した。

2.2.2: この調査期間中に、7月3回、8月9回、9月7回の合計19回蚊の採取を実施した。

2.2.3: 各調査日に採取された蚊の個体数を種類別にまとめ、表1に示した。また全調査期間を通しての採取個体数を種類別にまとめて表2に、月別にまとめて表3に示した。

2.2.4: 1989年名取市下余田地区で、ライト・トラップにより観察したコガタアカイエカの発生消長を、週毎の推移(各週2回採取の平均個体数)として図1に示した。

3. と殺豚におけるH I抗体の動向

3.1 調査方法

ブタは日本脳炎ウイルスに極めて敏感であり、感染すれば高い血中抗体が産生される。即ち、抗体を保有していないブタ(と殺豚、生後約6ヶ月)の集団を監視すれば、自然界での日本脳炎ウイルスの活動状況が把握できる。

従来と同様に岩沼市営食肉処理場を調査定点とし、処理場周辺の市町村から搬入された生後6ヶ月程度の肥育豚から頸動脈血を採取し、自然分離で得られた血清を検体とした。

日本脳炎H I抗体は、予研法に準拠したマイクロタイター法により測定した。即ち、冷却アセトンで前処理し

* 現・宮城県大崎保健所

表1 蚊の発生消長 Natori : 1989 (※仙台航空測候所)

* 採取月日：天候(最低気温℃)	Culex tritaen.			C. pipiens			An. sinensis			Ae. vexans			Arm.subal			Others			Total(whole species)		
	♀	♂	Σ	♀	♂	Σ	♀	♂	Σ	♀	♂	Σ	♀	♂	Σ	♀	♂	Σ	♀	♂	Σ
	7/25~26 晴：強風 (19.7)	23	0	23	12	4	16	32	3	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	67	7
27~28 くもり：強風 (19.9)	46	0	46	21	4	25	46	0	46	1	0	1	0	0	0	0	0	0	114	4	118
31~8/1 くもり時々晴 (21.6)	254	0	254	37	2	39	253	15	268	2	0	2	0	0	0	0	0	0	546	17	563
7月小計(3回)	323	0	323	70	10	80	331	18	349	3	0	3	0	0	0	0	0	0	727	28	755
8/1~2 豪雨：雨 (21.3)	257	0	257	15	4	19	248	8	256	0	0	0	0	0	0	0	0	0	520	12	532
8 9 晴 (22.1)	851	0	851	32	6	38	479	18	497	2	0	2	5	0	5	0	0	0	1,369	24	1,393
10~11 晴 (16.2)	659	3	662	49	7	56	354	5	359	7	0	7	2	1	3	0	0	0	1,071	16	1,087
15~16 くもり～晴 (20.1)	1,191	0	1,191	39	2	41	223	2	225	2	0	2	5	0	5	1	0	1	1,461	4	1,465
17~18 くもり～晴 (18.7)	940	0	940	24	2	26	476	3	479	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,440	5	1,445
21~22 晴 (21.6)	1,303	0	1,303	54	0	54	635	2	637	2	0	2	0	0	0	1	0	1	1,995	2	1,997
22~23 晴 (22.6)	2,266	0	2,266	45	1	46	809	2	811	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,120	3	3,123
29~30 晴 (18.8)	3,347	0	3,347	89	9	98	843	10	853	5	0	5	1	0	1	1	0	1	4,286	19	4,305
31~9/1 晴 (19.5)	2,595	0	2,595	61	5	66	591	6	597	3	0	3	0	0	0	2	0	2	3,252	11	3,263
8月小計(9回)	13,409	3	13,412	408	36	444	4,658	56	4,714	21	0	21	13	1	14	5	0	5	18,514	96	18,610
9/5~6 くもり～雨 (19.4)	2,216	0	2,216	91	2	93	367	6	373	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2,676	8	2,684
7~8 雨 (19.1)	810	0	810	25	2	27	98	3	101	2	0	2	0	0	0	0	0	0	935	5	940
12~13 くもり～雨 (20.5)	1,219	0	1,219	35	2	37	126	2	128	0	0	0	5	0	5	0	0	0	1,385	4	1,389
18~19 雨～風雨 (17.3)	489	0	489	26	0	26	16	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	531	0	531
20~21 くもり (12.2)	201	0	201	15	8	23	23	2	25	0	0	0	0	0	0	2	0	2	241	10	251
26~27 晴 (13.3)	48	0	48	2	2	4	4	0	4	0	0	0	0	0	0	1	0	1	55	2	57
28~29 くもり (12.1)	61	0	61	10	4	14	2	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	73	5	78
9月小計(7回)	5,044	0	5,044	204	20	224	636	14	650	4	0	4	5	0	5	3	0	3	5,896	34	5,930
合計(19回)	18,776	3	18,779	682	66	748	5,625	88	5,713	28	0	28	18	1	19	8	0	8	25,137	158	25,295

表2 Number of Captured Mosquitoes (1989:Natori)

<Species>	<♀>	<♂>	<Total>
Culex tritaeniorhynchus	18,776	3	18,779
Culex pipiens palleis	682	66	748
Anopheles sinensis	5,625	88	5,713
Aedes vexans	28	0	28
Armigeres subalbatus	18	1	19
Othe Species			
<Total>	25,137	158	25,295

表3 Number of Female Mosquitoes (1989:Netori)

<Species>	<July> (3)	<Aug> (9)	<Sept> (7)	<Total> (19)
Culex tritaen	323	13,409	5,044	18,776
Culex pipiens	70	408	204	682
An.sinensis	331	4,658	636	5,625
Ae.vexans	3	21	4	28
Arm.subalb	0	13	5	18
Others	0	5	3	8
<Total>	727	18,514	5,896	25,137

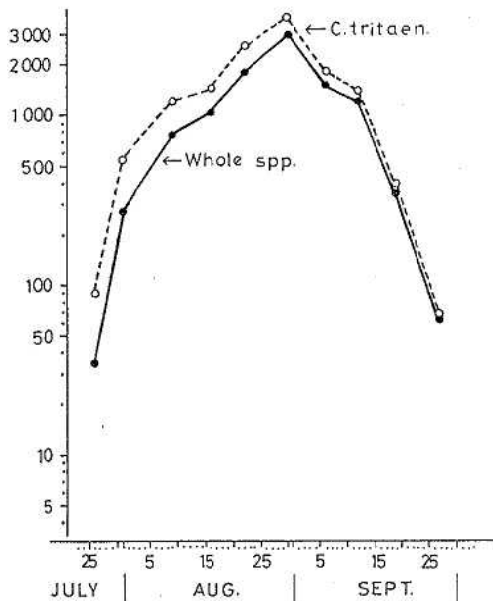


図1 Female Mosquitoes (1989:Natori)

た血清を新鮮ガチウ血球で吸収し、非特異的凝集素を除去した。また、40倍以上のHI抗体が検出された血清については、所定の方法で2-ME(2-メルカプトエタノール)の処理を行い、HI抗体価が3管(8倍)以上低下したものは、2-ME感受性抗体と判定した。

3.2 調査結果

3.2.1 :と殺豚HI抗体調査は、7月21日に開始し11月20日に終了した。

3.2.2 :この期間中に7月2回、8月4回、9月4回、10月2回、11月1回の合計13回検体採取を行い、のべ391件の血清を入手した。

3.2.3 :と殺豚血中の日本脳炎HI抗体の推移を、週毎にまとめて表4および図2に示した。図2中の折れ線グラフはHI抗体保有率(HI抗体10倍以上を陽性)を、またヒストグラムは、HI抗体陽性のうち2-ME感受性抗体の占める比率を示している。

表4 豚血中日本脳炎HI抗体調査

月日	7.21	7.31	8.7	8.14	8.21.22	8.28	9.4	9.11	9.18.19	9.25	10.2	10.16	11.20
頭数	30	31	31	33	32	30	30	30	37	30	32	20	25
HI陽性(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (2.7)	0	1 (3.1)	2 (10.0)	0
2ME感受性(%)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1/1 (100)	ND	1/1 (100)	0/2	ND

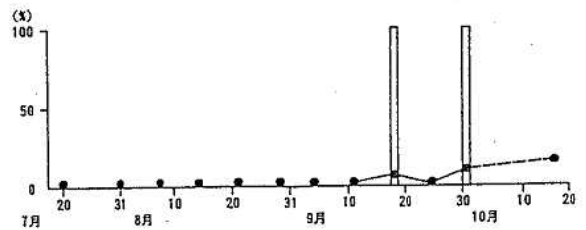


図2 平成元年度日本脳炎流行予測調査結果(感染源調査,岩沼市)

4. 健康住民の中和抗体保有状況

4.1 調査方法

1989年度は、仙台市に南接する名取市(人口約50,000人)を調査地区とし、宮城県内に継続して5年以上居住している健康住民から採血し、自然分離で得られた血清を検体とした。

中和抗体の測定は、予研法に準拠して実施した。即ち直径70mmのシャーレに10日今のニワトリ胎児細胞の単層培養を作成し、被検血清と混合(中和)されたウイルスのブラックが、コントロールに対してどの程度抑制され

るか。いわゆるチャート法で、50%に抑制する血清の稀釈濃度を算出した。

全ての測定を通して、抗原ウイルスはJaGAr # 0 1株を4日令の哺乳マウスに脳内接種し、発症マウス脳の10%乳剤を遠心後、その上清を-70℃にストックして使用した。

4.2 調査結果

- 4.2.1 : 1989年10月、表5に示すごとく9年令群182件の血清を検体として入手した。
- 4.2.2 : 表5に各年令群の中和抗体分布状況を示した。
- 4.2.3 : 中和抗体価が12倍以上を抗体保有者と考え、年令群別の抗体保有率を図3に示した。図中の折れ線グラフは、過去3年間における日本脳炎ワクチンの被接種率を示す。

表5 平成元年度日本脳炎流行予測調査結果 (感受性調査, 名取市)

年令	件数	日本脳炎中和抗体価						陽性率(%)
		<12	12~20	21~40	41~80	81~160	161~320	
総数	182	122	19	23	14	1	3	50/182 33.0
0~4	15	14		1				1/15 6.7
5~9	26	20	1	2	1		1	6/26 23.1
10~14	18	14		2	1		1	4/18 22.2
15~19	27							0/27 0.0
20~29	23	14	4	5				9/23 39.1
30~39	24	17	3	4				7/24 29.2
40~49	19	11		4	4			8/19 42.1
50~59	14	4	4	1	3	1	1	10/14 71.4
60才以上	16	1	7	4	4			15/16 93.8

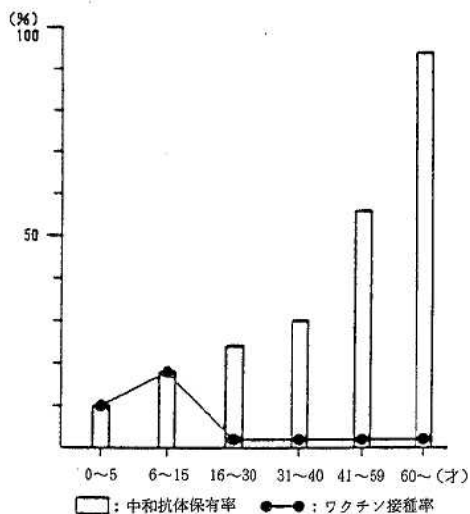


図3 年齢群別中和抗体保有率とワクチン接種率 (1989年, 名取市, 山元町, N = 177)

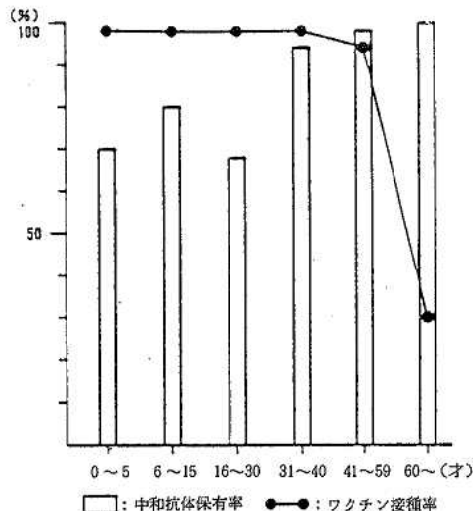


図4 年齢群別中和抗体保有率とワクチン接種率 (1966年, 名取市, N = 209)

5. 考察とまとめ

1989年の7月から9月にかけて、名取市の調査定点で採取されたコガタアカイエカ(雌)の総個体数は、18,779匹であり昨年度の約2.3倍であったものの、一昨年度の約40%にとどまった。また1晩で採取されたコガタアカイエカの個体数も、8月下旬から9月上旬の短期間に、2,000匹~3,000匹に達しただけであった。全般的な蚊発生消長の傾向は1988年の場合と類似しており、宮城県名取地区における観察としては、蚊の発生が抑制された年といえよう。図5および図6に、仙台管区気象台から発生された気象データに基づいて、半旬気温偏差、旬間累計日照時間、旬間累計降水量を示したが、いずれも1988年度の気象状況と非常に良く似ている。即ち、1989年も前年と同様に、気象要因が抑制的に作用して、コガタアカイエカの発生が小規模であった年と考えられる。

従って、宮城県における日本脳炎ウイルスの活動を反映する、と殺豚血中の日本脳炎HI抗体の上昇も極めて鈍く、10月中旬に至っても10%のブタに抗体上昇が認められただけであった。また、9月中旬と10月上旬に夫々1頭づつ、2-ME感受性抗体を保有するブタが確認されただけで、流行期が終ってしまった。以上の調査成績は、従来の調査結果即ち、「宮城県では気象要因がコガタアカイエカの発生消長に最も大きな影響を及ぼし、コガタアカイエカの発生が抑制された年には、と殺豚集団での日本脳炎流行が拡大しない」とよく一致する。

健康住民を対象とする日本脳炎中和抗体保有状況調査(感受性調査)は、名取市において実施したが、抗体保有率が50%を越したのは、50才以上の年令群のみであっ

た。名取市には現在でも広い水田が存在するが、近年は都市化が急速に進んでいる地域である。同地区での日本脳炎ワクチン接種率も非常に低くなっている(図3)。図4は約20年前に同じ名取市で行った中和抗体保育率とワクチン接種率の調査結果である。宮城県内では水田にとりかこまれた地域であっても、日本脳炎ウイルスに自然感染して免疫を獲得する機会および、ワクチンの接種により人工的に免疫を獲得する機会の、いずれもが大巾に減少していることが改めて確認されたことになる。

国内における日本脳炎患者発生は、過去10年間にわた

って、年間20人~40人のレベルで安定しており、かつての様な大流行が復活する徴候は全くない。しかし国内の過半の地域では、毎年カブターカの日本脳炎ウイルス増殖・伝播サイクルが活動しており、更に日本近隣の国々からは、日本脳炎患者の大発生が報告されている。宮城県は日本脳炎流行のほぼ北限に位置しているが、なお当分の間、自然界における日本脳炎ウイルスの活動状況を監視し、情勢に応じて個人防衛の手段を取り得る体制の維持が必要と思われる。

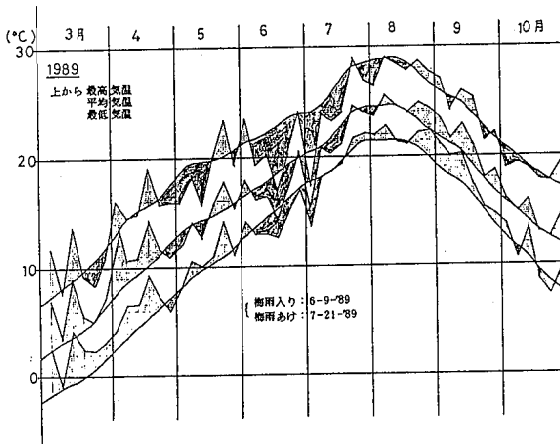


図5 半月気温偏差(仙台市)

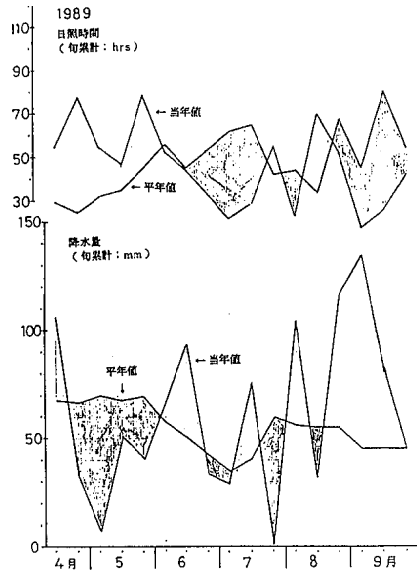


図6 旬累計の日照時間と降水量
(仙台管区气象台)

8. 1989～1990年の冬季における宮城県内のインフルエンザ流行状況

御代田 恭子 佐久間 隆* 秋山 和夫
山本 仁

1. はじめに

毎年、インフルエンザは主に12月から翌年の3月頃までの冬季に周期的な流行を繰り返している。我々は、伝染病流行予測事業、サーベイランス事業の一環として、インフルエンザウイルスの分離および血清学的調査を実施し、流行状況の把握を行っている。今期は1989年12月より散発的な発生があり、1990年1月に入り集団発生が確認された。この期間中にウイルス分離および血清診断を実施した結果、今期のインフルエンザウイルスの流行株はA(H3N2)型ウイルスとB型ウイルスによるものと判明した。今回はその概略について報告する。

2. 材料および方法

2.1 インフルエンザ様患者発生調査

県内のサーベイランス患者定点から週報として報告されたものを資料とした。

2.2 材料の採取

ウイルス分離にはMEM液に採取した咽頭ぬぐい液を用いた。急性期血清は咽頭ぬぐい液と同時に、また回復期血清は約2週間後に採取した。検体は県内9保健所管内の7協力医療機関、集団発生のあった小学校および県立病院、さらに仙台市内のサーベイランス検査定点の2医療機関より採取した。

2.3 検査方法

ウイルス分離はMDCK細胞を使用し、マイクロプレート法で実施した。

血清診断は赤血球凝集抑制試験(HI試験)で行った。使用した抗原は1989年ワクチン株のA/山形/120/86, A/四川/2/87, A/北海道/20/89, B/山形/16/88, B/愛知/5/88, さらに今期我々が分離したA/宮城/4/89, B/宮城/3/90, 併せて7株である(以下、A/山形, A/四川, A/北海道, のごとく省略する)。

3. 結果および考察

3.1 流行状況の概略

図1に1987～1988年, 1988～1989年, および1989～1990年のインフルエンザ様患者の週毎の報告数を示した。

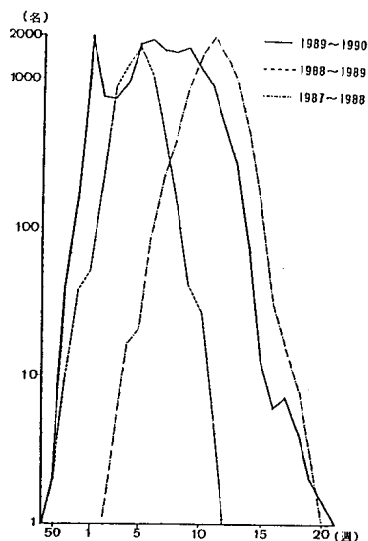


図1 インフルエンザ様患者報告数

今期のインフルエンザ様患者は1989年の第50週に最初の報告があった後、急激に増加した。1990年の第1週には1,977名に達し最初のピークとなった。第2, 3週には各々745名, 733名に減少したが第4週以降は再び増加し、第5週から第9週にかけては連続して1,300名以上が報告された。二回目のピークは第6週で1,854名であった。その後次第に減少し第21週に0となった。初発から23週間にわたり報告があり、患者総数は16,072名に達した。これに比較して昨シーズン(1988～1989年)は初発が今期とほぼ同時であったが、今期よりも上昇カーブは鈍く、ピークとなったのは8週後の1989年の第5週で1,645名あった。その後、急激に減少し、初発後13週目で0となり、患者総数は5,572名であった。また、1987～1988年のシーズンは患者発生が極めて遅く、1988年の第4週に初めて報告があった。そして8週後の11週にピークとなり1,981名の報告数となった。その後緩やかに減少し、0となったのは今期と同様に第21週であった。報告のあった期間は17週間あり、患者総数は7,922名であった。

以上のインフルエンザ様患者報告数および報告期間から今期の流行は、過去2年間と比較すると、流行期間が長期にわたり、規模も大きかったことが推察できた。

* 現 宮城県大崎保健所

3.2 ウイルスの分離状況

週別の検体数とウイルスの分離状況を図2に示した。1989年の第46週から徐々に増加し、第50週には45件に達した。以後数件から10数件の依頼が第13週まで続いた。

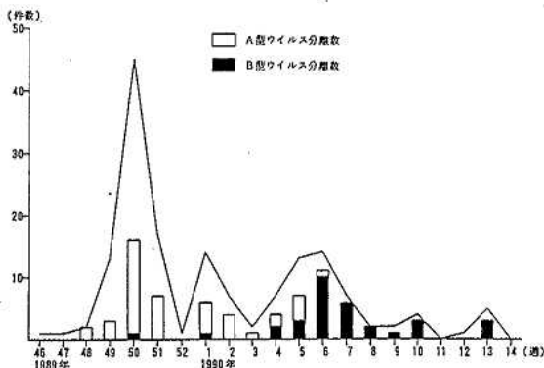


図2 週別検体数とウイルス分離数

最初のウイルス分離は第48週に依頼のあったサーベイランスの検体(4才, 男)からでA(H3N2)型ウイルスであった。その後、検体数の増加にともない分離数も増え、第50週には16件から分離された。このうち、1件(46才, 男)がB型ウイルスであった。今期のウイルス分離率は158件中76件、48.1%であり、A(H3N2)型ウイルスが44件、残り32件がB型ウイルスであった。

両ウイルスの週別分離状況を見ると、1989年の第48週から1990年の第3週まではA(H3N2)型ウイルスが37件、B型ウイルスが2件でA(H3N2)型ウイルスが約95%を占めた。また、第4週から第6週まではA(H3N2)型ウイルスが7件、B型ウイルスが15件でB型ウイルスが約70%を占めるようになった。第7週以後は全てB型ウイルスであった。これらのウイルス分離状況から、今期のインフルエンザの流行はシーズン前半がA(H3N2)型ウイルスが主流で、後半がA(H3N2)型、B型の両ウイルスによる混合流行、さらに後半はB型ウイルスが主流であったと考えられる。

今期県内で分離したA型株は血清学的に同定した結果、抗A/四川(H3N2)フェレット血清よりも抗A/北海道(H3N2)フェレット血清に反応性が高く、抗原性はA/北海道に近いウイルスであったと考えられる。また、B型株の抗原性はB/山形に近いものであった。

3.3 A型、B型両ウイルスによる集団発生と同一人からの両ウイルス分離

県北の某小学校で発生した集団かぜに罹患した5名の児童から、1月26日に検体を採取した。2名よりA(H3N2)型ウイルスが、1名よりB型ウイルスが分離され、この集団かぜはA型、B型両ウイルスによって発生したと推定された。さらに、ウイルスが検出された3名の対血清についてH1抗体を測定したところ、A型ウイルスが分離された10才の児童およびB型ウイルスが分離

された8才の児童が各々、A/北海道とB/山形の両抗原に2管以上の有意上昇が認められ、同一人が、ほぼ同時期に両ウイルスに感染したと考えられた。(表1)

表1 集団からのA型ウイルス、B型ウイルス分離

症例	年齢	H1抗体価 (急性期血清/回復期血清)					分離ウイルス
		A/四川/2/87	A/北海道/20/89	A/宮城/4/89	B/山形/15/88	B/宮城/3/90	
1	8	16/64	32/256	64/128	<16/128	<16/64	B
2	10	16/256	32/512	64/1024	32/256	<16/64	A (H3N2)
3	10	16/64	16/256	64/512	64/64	64/64	A (H3N2)

次に、サーベイランスの同一人の検体から、ある期間を置き両ウイルスが分離された例が3件あった。表2に示すように、初めにA型ウイルスに感染した後1か月〜約2か月の間隔を置いてB型ウイルスに感染したことが確認された。

表2 同一人におけるA型ウイルス、B型ウイルス感染例

症例	年齢	検体採取日	分離ウイルス	検体採取日	分離ウイルス
1	2	12. 14. 89	A (H3N2)	2. 5. 90	B
2	4	12. 16. 89	A (H3N2)	2. 9. 90	B
3	2	2. 1. 90	A (H3N2)	3. 5. 90	B

以上のように、今期のインフルエンザ流行は両ウイルスによる集団発生や同一人の2度感染が特徴であった。

3.4 対血清の抗体価の変動

A(H3N2)型ウイルスに対するH1抗体価の変動を図3に示した。B型ウイルスが分離された5件を除く23件で2管以上の有意上昇が認められたのは、A/宮城で13/23(56.5%)、A/北海道で16/23(69.7%)、A/四川で12/23(52.2%)であった。A/北海道に比較し、今期分離したA/宮城株に対する有意上昇者が少なかったのは、急性期血清ですでに128倍以上のH1価を示すのが8例あったためと考えられる。しかしながら、回復期血清について256倍以上の抗体保有者を見るとA/宮城で16/23(69.7%)で最も高く、次にA/北海道の9/23(39.1%)であり、A/四川では3/23(13.0%)と非常に少なかった。以上の結果から、県内でのA(H3N2)型ウイルス流行株の抗原性は、患者血清の抗体価からもA/北海道に類似していると考えられた。

また、B型ウイルスについて検討すると、ウイルスが分離された5名のうち4名がB/山形に有意上昇を示した。しかし、B/愛知には1名のみであり、今期のB型分離株の抗原性はB/山形に近いと考えられる。(図4)

次に、対血清とウイルス分離との関係を見ると、A/宮城に有意上昇を示した13例中10例からウイルスが分離できた。一方、有意上昇を示さなかった10例からのウイ

ルス分離は1件のみであった。今回は、病日を明らかにできなかったが急性期の検体採取時期の重要性が示唆されると考えられる。

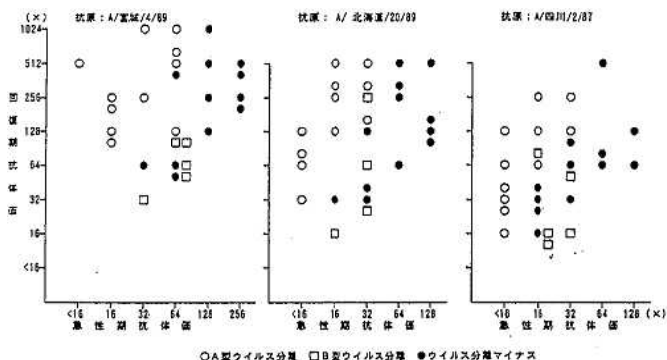


図3 対血清のA(H3N2)型に対する抗体価変動

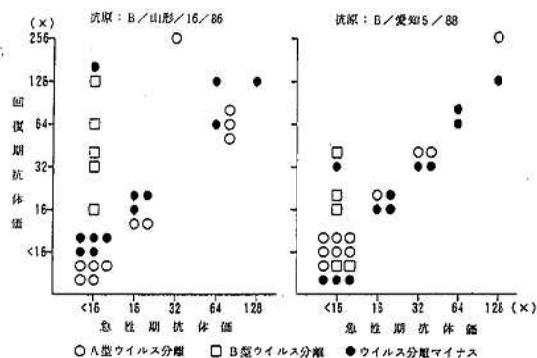


図4 対血清のB型に対する抗体価変動

4. まとめ

- (1) 今期の県内のインフルエンザ流行は1989年12月初旬から始まり1990年の3月まで長期にわたり継続し、過去2年間と比較すると大きな流行であった。起因ウイルスはシーズン前半はA(H3N2)型ウイルスが主流を占め、後半はA(H3N2)型とB型ウイルスによる混合流行となり、後半はB型ウイルスが主流であった。
- (2) 集団発生例から同時にA型とB型の両ウイルスを分離すると共に、同一人の対血清において両ウイルスに対する有意上昇を認め、混合感染を示す例を認めた。また、同一人がシーズン中に、ある期間を置いてA型とB型の両ウイルスに感染した例も認められた。
- (3) 今期、我々が分離した株はA(H3N2)型ウイルスが44株、B型ウイルスが31株であり、その抗原性はそれぞれA/北海道、B/山形に類似したウイルスであった。

5. 謝 辞

検体採取にご協力をいただいた下記の各医療機関に感謝致します。

仙南クリニック、桑嶋医院、塩釜市立病院、松浦小児科医院、八木小児科医院、北川小児科医院、佐々木小児科医院、永井小児科医院、畠山医院、県立名取病院

9. 下痢症患者からの病原菌検出

— 感染症サーベイランス事業の検査成績から —

村上 仁* 荒井 富雄 高橋 成人
山本 仁

1. はじめに

厚生省は1981年、全国の都道府県並びに政令指定都市に呼びかけて、いわゆる「感染症サーベイランス事業」を発足させた。法定伝染病は勿論のこと、届出を義務づけられていない感染症の実態を把握しようとする試みは、以前から全国各地で個別に実施されていた。然るに厚生省の新規事業は、全国共通の様式で、医療機関から週報として提供される患者発生情報と、患者から採取された検体に関する検査情報とを収集し、解析・評価を加え関連各分野に還元しようとするものである。

感染症サーベイランス事業は、患者発生情報の収集が1981年7月から、また検査情報の収集が1981年10月から開始された。その後、1986年1月からはコンピュータ・オンラインシステムが導入され、更に結核や性行為感染症が対象疾病に追加されるなど、事業内容は一段と充実し、迅速化されつつある。

当センター微生物部は、この事業が発足した当時から検査情報部門を担当してきたが、1982年から89年まで8年間に実施した感染性胃腸炎（細菌性下痢症）の検査結果の概要について報告したい。

2. 材料と方法

2.1 検査定点と検体の回収

仙台市内の開業医（内科・小児科）など数ヶ所の医療機関を検査定点として、原則的に毎週1回、検体採取器材の配付と検体の回収を行った。

2.2 検体採取

細菌に起因する急性胃腸炎が疑われる患者から糞便を採取し、検体とした。滅菌綿棒で採取した検体はシードスワブに投入し、検査を行うまで室温（できるだけ冷蔵所）に保管した。

2.3 検査方法

病原菌の検出には下記の培地を使用し、常法通りの検査を実施した。即ち、分離培養はSS寒天培地2枚（1枚はエルシニア菌用として25℃48時間培養）、DHL寒天培地、TCBS寒天培地およびビブリオ寒天培地を用い、37℃で18～24時間培養した。またカンピロバクターの分離にはスキロー培地を用い、42℃で48時間微好気培養した。

3. 結果と考察

3.1 検査総数

8年間に実施した感染症サーベイランス事業に関する検査は、4,843件であった（図1）。その内訳は、感染性

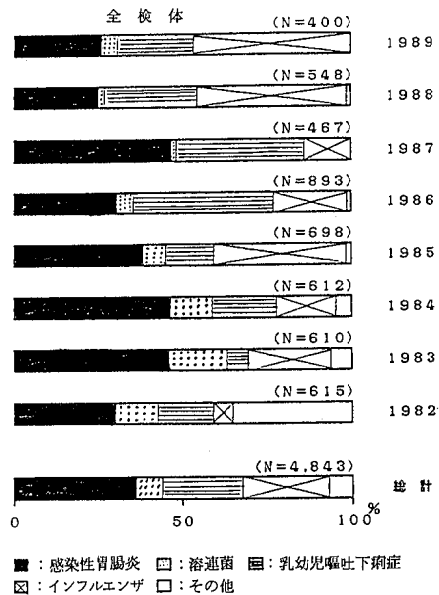


図1 感染症サーベイランス全検体年別内訳

胃腸炎：1,748件（36.0%）、溶連菌感染症：381件（7.9%）、乳児嘔吐下痢症：1,142件（23.6%）、インフルエンザ様疾患：1,261件（25.0%）、その他の感染症：311件（6.4%）であった。

3.2 病原菌検出率

感染性胃腸炎の検体1,748件から、349件（20.0%）の病原菌が検出された（図2）。

3.3 月別の検体数と検出菌

8年間をまとめた月別の感染性胃腸炎検体数と原因菌検出状況を、図3に示した。同じく月別にみた原因菌の分布を図4に示した。

検出された原因菌349件の内訳は、Campylobacter jejuni：268件（76.8%）、Salmonella spp：27件（7.7%）、Vibrio parahaemolyticus：25件（7.2

* 現・宮城県立名取病院

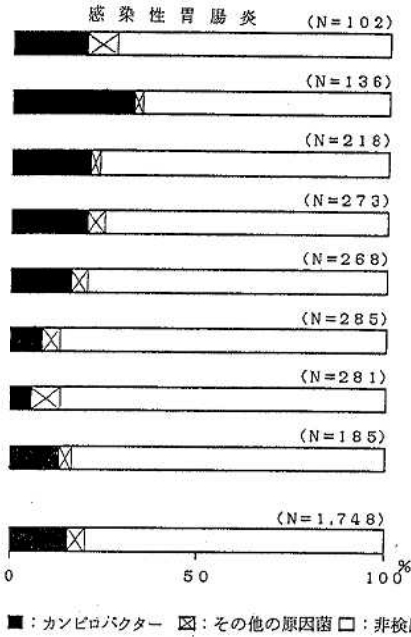


図2 感染性胃腸炎年別内訳

%), 病原性大腸菌: 20件 (5.7%), *Yersinia enterocolitica*: 8件 (2.3%), *Shigella* spp: 1件 (0.3%)であった。

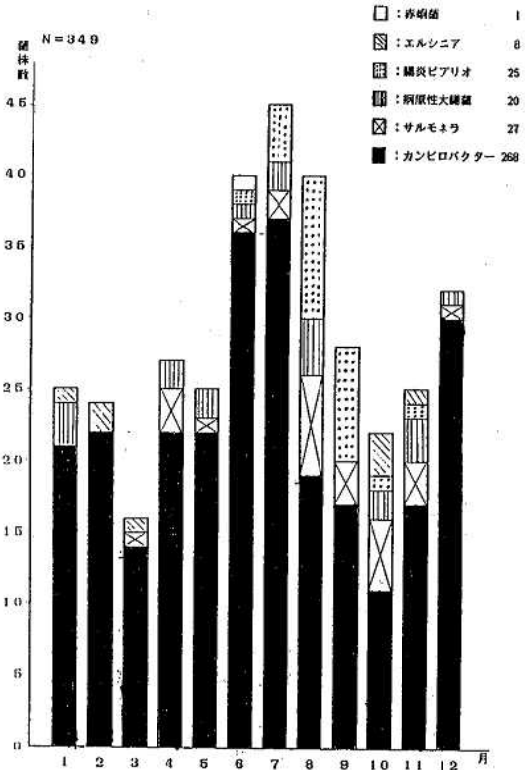


図4 月別検出菌 (1982~1989)

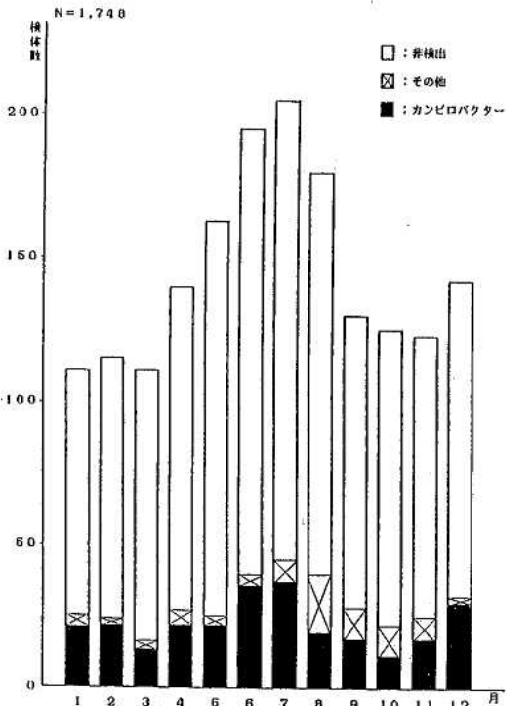


図3 月別検体数及び病原菌検出状況 (1982~1989)

カンピロバクターはいづれの年次においても検出数が最も多く、また月別に比較しても検出数にほとんど差が認められなかった。カンピロバクターによる汚染が人間の生活環境にまで広がっており、感染の機会が極めて多いことを反映しているものと考えられる。サルモネラも検出数は少ないものの、年間を通して検出される傾向がある。腸炎ピブリオは、これまで細菌性食中毒の検査成績等から指摘されていたのと同様に、7月から9月の3ヶ月間にはば集中して検出されている。

3.4 年令別検出状況

年令群別にみた病原菌の検出状況を、腸炎ピブリオ・サルモネラ・カンピロバクターについて図5に示した。カンピロバクターは検出菌数が多く、検出も全年令にわたっているが、0才から5才までに77件 (28.7%), 15才以下をまとめると193件 (72.0%)の高率を占め、本菌による食品汚染が広範囲に及んでいることをうかがわせる。腸炎ピブリオ検出のピークは30才~50才の年令群に認められ、乳幼児の年令群からは検出されなかった。腸炎ピブリオの感染機会が、魚介類の生食にあることを考えれば当然の結果といえよう。

3.5 検査実施までの経過日数

検査定点でシードスワブに採取した検体は原則として毎週1度回収している。従って通常検体採取から検査を

実施するまでの経過日数は、最も長い場合でも7日である。しかし、検査定点での手違いや、特別な輸送手段を用いた等の理由で、経過日数が7日以上であった検体が数件認められた。

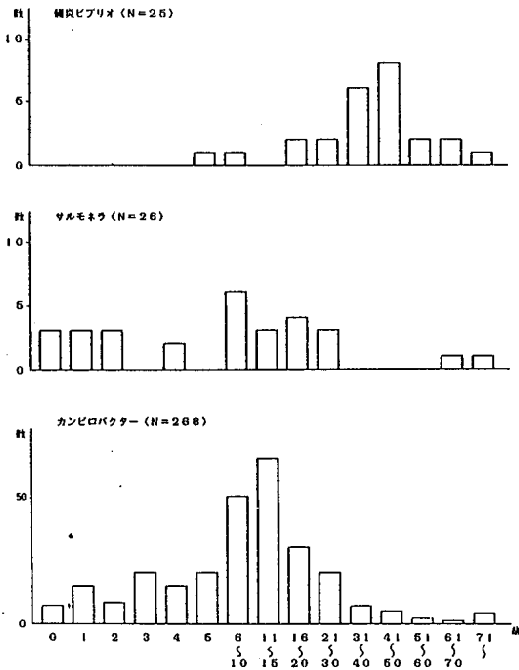


図5 病原菌の年齢別分離状況

図6は、カンピロバクターが検出された検体268例について、検体採取から検査実施までの経過日数を、月別にまとめたものである。経過日数が23日からの検体からも菌が検出できたことは注目し得る。

更に図7には、1986年度に検査した273件について、病原菌の検出状況と検査実施までの経過日数を月別にまとめて示した。感染性胃腸炎の病原菌検索のため、患者糞便をシードスワブで採取し、毎週1度回収して検査するシステムは、感染症サーベイランス事業の目的を十分に満すものと考えられる。

4. まとめ

4.1 感染症サーベイランス事業の一環として、感染性胃腸炎の起因菌検索を行い、1982年から89年までの8年間で、1,748件の検査を実施した。

4.2 カンピロバクターの検出率は、各年次とも検出病原菌の第1位を占め、検出数は8年間で268件に達した。

4.3 カンピロバクターの検出率に、月別の明らかな差は認められなかった。

4.4 検出されたカンピロバクターの約72%は、15才

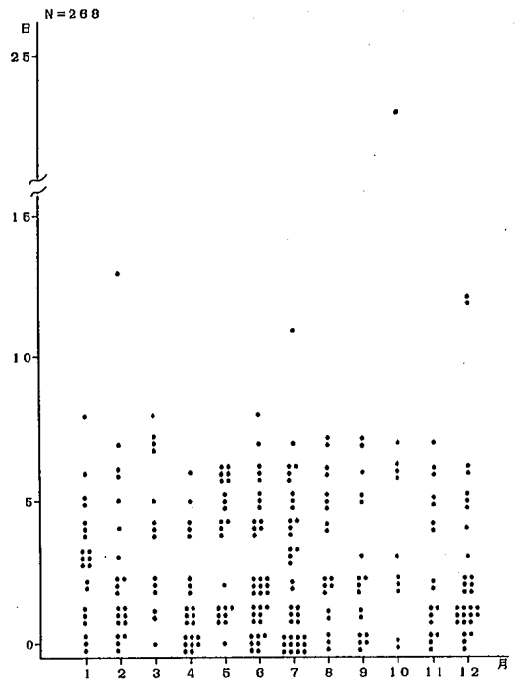


図6 カンピロバクターのシードスワブ中での月別検出状況(1982~1989)

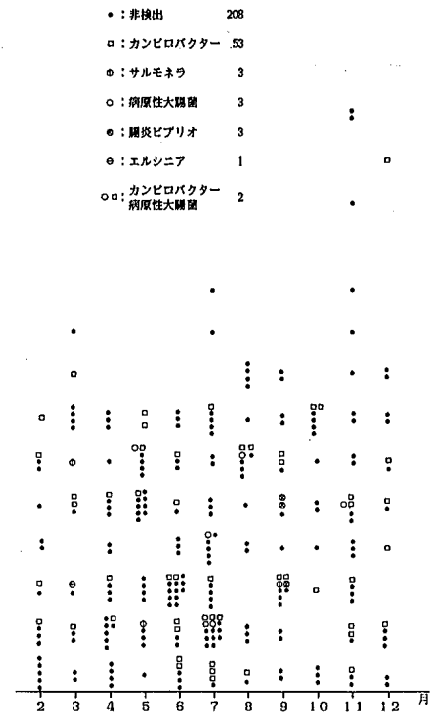


図7 感染性胃腸炎のシードスワブ中の月別保存日数(1986)

以下の年齢群に由来しており、乳幼児からの検出も稀ではなかった。

4.5 検査定点（小児科，内科開業医）で受診した感染性胃腸炎患者から検出される病原菌の動向は，生活環境の汚染状況をよく反映しているものと考えられる。

5. 謝 辞

本事業を行うにあたり，御協力いただいた関係各位に心から感謝の意を表します。

10. 食肉残留抗生物質および豚胃内容中の抗生物質

白地良一

1. はじめに

抗生(菌)物質を含有する食品を長期間継続摂取すると、これに感受性の細菌類はことごとく駆逐され、耐性菌のみが生残し、後にこれらの耐性菌が優生群となってしまうのである。耐性菌による感染症は化学療法による治療が困難なことから重篤となり易く、また自然界の耐性菌の増加は菌種を超えた耐性伝達を加速し、抗生物質耐性の強毒病原菌を出現させる可能性がある。

今回、我々は市販食肉中の抗生物質の検定を直接法³⁾と抽出法^{7・8・9)}の2法で実施し、検出率の違いを確認した。一方と殺直後の豚胃内容物から抗生物質を高率に検出したので、両抗生物質の同定を試みた。

2. 方法と材料

2.1 試薬

抗生物質の標準として次の3品を用いた。パーズニアマイシン(鍾淵化学, 640 mcg/mg), コリスチン(鍾淵化学, 1942 mcg/mg), デストマイシン(明治製菓 1,000 mcg/mg)。

2.2 検出方法

畜産食品中の残留物質検査法に概ね準じた方法で実施したが、抽出法は図1に示したとおり、細切後の肉に純水あるいは塩酸水を加え、ホモジナイズして抽出した。

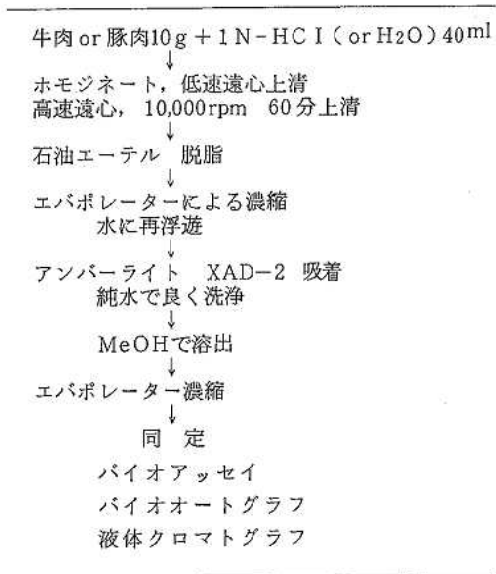


図1 肉からの抗菌性物質抽出

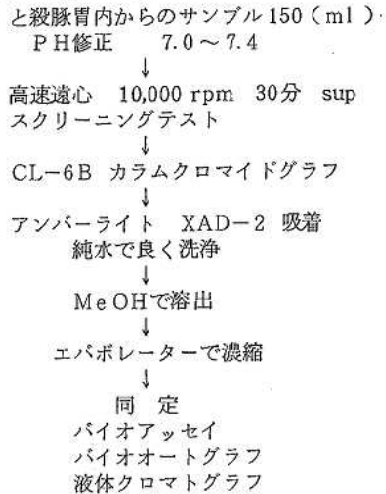


図2 豚胃内容物からの抗菌物質抽出

遠心上清はエーテルで脱脂後、イオン交換樹脂で精製、濃縮などの操作をして、バルブデスクでバイオアッセイした。

一方、豚胃内容物からの抗生物質抽出は図2に示した方法で実施した。採取した胃内容物は個体により水分含量は違うが、これを遠心にかけ上清を分離する。水酸化ナトリウムでPH 7.0~7.4に調整後、バイオアッセイでスクリーニングした。陽性のサンプルはセファローズCL-6Bによるカラムクロマトグラフ(図4)にかけ、更にイオン交換樹脂により分離、精製、濃縮などの操作を行なった後、バイオオートグラフ⁴⁾と液体クロマトグラフ⁵⁾により同定した。

2.3 液体クロマトグラフ

ウォーターズ社製45型ポンプ, U6Kユニバーサルインジェクター, 相馬光学社製波長可変紫外分光検出器S-310A, カラムはラジアルパックC-18逆相8×100mm, 粒径5μ, 流速1.5ml/分, 測定波長280nm, ABS 0.02, 溶離液はメタノール25容と0.01M(NH₄)₂HPO₄, PH 7.4, 75容の混合液である。

2.4 バイオアッセイに用いた標準細菌

2種micrococcus luteus ATCC 9341, bacillus subtilis ATCC 6633

3. 成 績

3.1 食肉中の抗生物質

市販食肉の抗生物質の残留状況は表1に示したが検査方法により陽性数は異なる。直接法では10件中1件が陽性と判定されるぐらいで、極めて低率であった。同一検体について抽出、濃縮などの操作を加えて検査をくりかえしてみると、陽性数は1件から3件に増えた。更にイオン交換樹脂を併用した濃縮、精製操作を加えると、10例中4件が陽性と判定された。同様のやり方で牛肉の抗生物質を検査しても同じ傾向を示し、最終的陽性率は25例中5件(20.0%)であった。

表1 食肉中の抗菌性物質の検出状況

動物種	検査件数	陽 性 件 数		
		直接法	濃縮パルプ法	抽出濃縮法
豚	10	1	3	4
牛	25	1	2	5

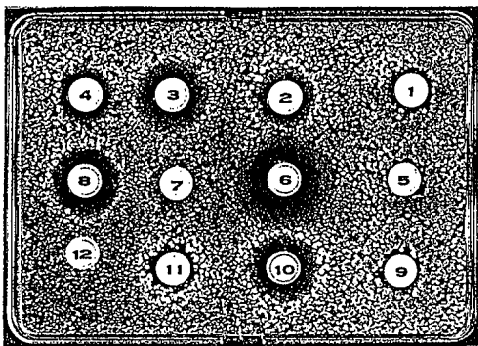
3.2 豚胃内容物の抗生物質

食肉処理場でと殺されたばかりの豚の胃から内容物を採取して、抗生物質を検査した結果、9月採取サンプルで71.4%、10月採取サンプルで66.7%の検出率を示した(表2)。スクリーニング検査は胃内容物の遠心上清を

表2 豚胃内の抗菌性物質の検出頻度

サンプリング年 月	動物種	検査件数	スクリーニング陽性数	%
1983. 9	ブタ	35	25	71.4
1983. 10	ブタ	15	10	66.7
合 計		50	35	70.0

PH修正後、パルプデスクに60~100μl浸吸させ、乾燥してからバイオアッセイにかけた(図3)。図中の番号



番号は検体を示す、周辺の黒色帯は細菌の発育阻止帯、白粒はコロニー

図3 豚胃内容物中の抗菌性物質のスクリーニング

はサンプルを示し、パルプデスク周辺の黒色帯は細菌の発育阻止帯である。検体番号2, 3, 4, 6, 8および10は陽性で、11は判定保留、1, 5, 9および12は陰性と判定した。

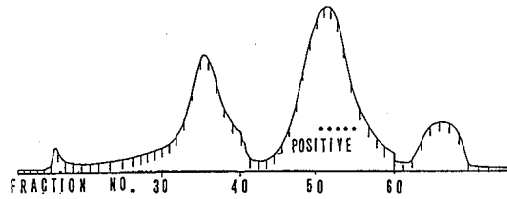


図4 Sepharose CL-6Bによる抗生物質のゲル濾化

3.3 液クロによる抗生物質の同定

食肉から抽出、精製した抗生物質はメタノールに溶解後液クロにかけた(図5左)。その結果、主なピークが5つ観察された。第3のピークが抗生物質バージニアマイシンであることが推測されるが、確認のため、標準バージニアマイシンをサンプルに混合して再度液クロにかけた。その結果、第3のピークが特異的に伸長したことが観察され、バージニアマイシンと同定した(図5右)。

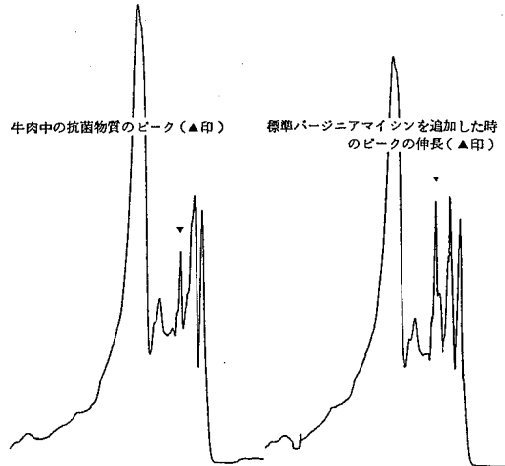


図5 牛肉中の抗菌物質の液体クロマトグラフによる同定

次に豚胃内容物から精製した抗生物質の液クロによる同定であるが、精製材料があまりにも高濃度であったので20~30倍に希釈して実施した(図6)。この材料には不純物の含有が少なく、このピークがバージニアマイシンであった。図6の右側は標準バージニアマイシンである。

なお、豚胃内容物から精製した抗生物質をバイオオートグラフによる同定を試みた。実験成績を示していないが、この精製材料にはバージニアマイシンの外に1~2種の抗生物質が共存していたことが明らかとなった。

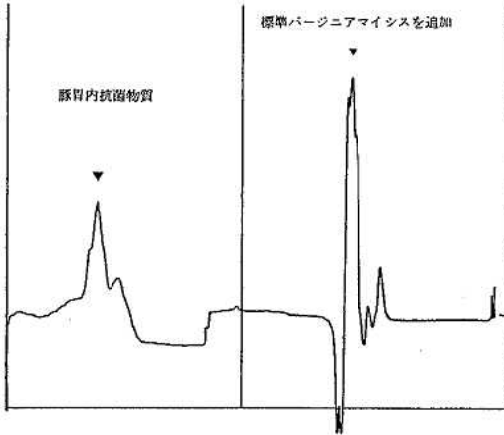


図6 胃内の抗菌物質の液体クロマトグラフィーによる同定

4. 考 察

昭和30年ごろから家畜の疾病予防と発育促進を目的として飼料に抗生(菌)物質が添加されるようになり、抗生物質の食肉残留が懸念されはじめた。抗生物質の食肉残留はやがて人の健康被害を引きおこす原因となることから、WHOは抗生物質の使用制限を勧告することとなり、農林省は使用法^{1,2)}を規制し、厚生省は食品に含有してはならないと法³⁾で定めたのである。しかし畜産は今や抗生物質なしには運営できないところまできているのである。例えば全国食肉検査所の調査によると⁶⁾、出荷頭数の1.25%から抗生物質が検出されるのである。また今回の調査結果によるとと殺豚の約70%の胃内容物から抗生物質バージニアマイシンが検出されるのである。

一般に抗生物質は経口投与後数時間で95%以上が排泄されてしまうのである。筋や臓器に残留したとしても4~5時間で消失するとされている。問題となるのは体内蓄積よりも長期間連続摂取による耐性菌の出現である。

バージニアマイシンなど現在家畜飼料に混合されている抗生物質が耐性菌出現に作用する性質を有するのかが重要なところである。また、我々の食生活の中にこの様な食肉が連続して、しかも長期間にわたって供せられているのかも重要なことである。

抗生物質と耐性菌との関係を考えるとき、現実の食生活を根拠とした抗生物質の暴露量を明らかにしておく必要があると考えるのである。

5. 謝 辞

研究協力者：菊地秀明* (理化学部)、葛岡勝悦** (現大崎保健所検査課長)、白石広行、菅野信一

* 菊地秀明研究員は平成2年4月8日悪性腫瘍のため逝去されました。生前の研究協力に感謝すると共に御冥福をお祈り申し上げます。

参 考 文 献

- 1) 米沢昭一：抗生物質の分布と残留，畜産の研究 36 (1)，147～152，1982。
- 2) 米沢昭一：同上誌 36 (2)，317～323，1982。
- 3) 厚生省環境衛生局乳肉衛生課編：畜水産食品中の残留物質検査法，第2集，1977。
- 4) 米田 豊，他：デスク法とTLCバイオオートグラフィーによる食肉中の残留抗生物質の化学系統別分類，食品衛生雑誌 22 (4)，300～306，1981。
- 5) 沖村容子，他：畜水産食品中の抗菌性物質残留に関する研究—食品中のペニシリンの残留確認，宮城県衛生研究所年報，57，43～45，1982。
- 6) 全国食肉検査所研究会微生物部会：健康畜における抗生物質の残留調査，昭和57年。
- 7) Milter,G,Lauridsen,et al.:Determination and Deleption of Residues of Carbadox, Tylosin and Virginiamycin in Kidney,Liver and Muscle of pig in Feeding Experiments, J,ASSOC,OFF.ANNL.CHEM. 71 (5)，921～925，1988。
- 8) David W,Gattschall,et al:Analysis of Tissue Residues and Comparative Metabolism of Virginiamycin in Rats,Turheys and Cattle,J.Agric.Food chem. 35，900～904，1987。
- 9) 斎藤貢一，他：高速液体クロマトグラフィーによる鶏肉，豚肉中のバージニアマイシンの残留分析。第51回食品衛生学会抄録，51，1981。

11. 有機塩素系殺虫剤エンドスルファンの食品中残留

佐藤 郁子 鈴木 滋 高槻 圭悟
菊池 格

イチゴの有機塩素系農薬について分析を行ったところ、ECD-GLC上に3種の未知ピークが検出された。この物質を精製し検討した結果、殺虫剤であるエンドスルファン(商品名:ベンゾエピン, チオダン), 及びこれらの代謝物の1つであるエンドスルファンサルフェートであることが判明した。

さらに、このエンドスルファンについて果物中、食品中の残留調査を行った。

1. はじめに

平成元年度に県内産のイチゴについて有機塩素系農薬の分析を行ったところ、ECD-GLC上に3種の未知ピーク(以下未知物質-1, " -2, " -3)を検出した。そこでこの物質を精製し検討した結果、殺虫剤として使用されているエンドスルファンの α 体と β 体(以下 α -エンドスルファン, β -エンドスルファン)及びこれらの代謝物の1つであるエンドスルファンサルフェートであることが判明した。

さらに、このエンドスルファンについて分析法を検討し、果物中、食品中の残留調査を行ったので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

イチゴ, 日本ナシ, リンゴ: 宮城県内の生産者から購入, 試料とした。

汚染物1日摂取量調査¹⁾: 国民栄養調査に基づき、我々が日常食べている食品を仙台市内のスーパーマーケットで平成元年6月に購入した。食品を13群に分類し、それぞれ1日摂取量に応じて分取し調理後、群ごとに均一化し試料とした。

2.2 試薬及び標準品

アセトニトリル, n -ヘキサン, ベンゼン, 酢酸エチル, 無水硫酸ナトリウム: 和光純薬工業(株)製残留農薬分析用

フロリジル: 和光純薬工業(株)製(60~100 mesh)を700℃で5時間, 続いて130℃で3時間活性化したもの。

α -, β -ベンゾエピン(エンドスルファン): 和光純薬工業(株)製残留農薬試験用

エンドスルファンサルフェート: 福岡県衛生公害センターより提供された。

2.3 装置

ガスクロマトグラフ(GC): ヒューレット・パッカー社製HP 5890, ⁶³Ni電子捕獲型検出器(ECD)

ガスクロマトグラフ, 質量分析計(GC/MS): ヒューレット・パッカー社製HP 5890, 日本電子社製JMS-D 300型質量分析装置

2.4 GC及びGC/MS操作条件

GC: カラムDB-5, 0.53mm ϕ ×30m, カラム温度240℃, 注入口温度260℃, 検出器温度280℃, He圧5psi

GC/MS: カラムDB-5, 0.53mm ϕ ×30m, カラム温度220℃, 注入口温度270℃, イオン化電圧70eV, イオン化電流200 μ A

2.5 分析操作

2.5.1 イチゴからの未知物質の検出

イチゴのへたを除いた可食部をミキサーで均一化し、その約200gを試料とした。試料からアセトニトリルで抽出し、水及び無水硫酸ナトリウムを加えて n -ヘキサンで再抽出し、 n -ヘキサン層を濃縮した。濃縮液をフロリジル40gを充填したカラムに付し、ベンゼン/ n -ヘキサン(4:1)200mlで未知物質-1を溶出させた。次にベンゼン300mlで未知物質-2を、その後ベンゼン300mlで未知物質-3を溶出させた。溶出液を濃縮しGC/MS用試料とした。

2.5.2 エンドスルファンの分析法

試料の可食部20gをアセトニトリル30, 15, 15mlで抽出し、抽出液を合せる。これに水150ml, 無水硫酸ナトリウム3gを加えた後、 n -ヘキサン50, 50mlで再抽出し、 n -ヘキサン層を濃縮する。

汚染物1日摂取量調査では、既法¹⁾に準じ n -ヘキサン抽出画分を得る。

これら n -ヘキサン抽出液をフロリジル5gに付し、 n -ヘキサン50mlでカラムを洗浄した後、3%酢酸エチル/ n -ヘキサン50ml, 10%酢酸エチル/ n -ヘキサン100mlで溶出し、濃縮する。前者を α -エンドスルファン, 後者を β -エンドスルファン, エンドスルファンサルフェートの試験溶液とし、ECD-GLCで定性、定量を行う。

3. 結果及び考察

3.1 未知物質の同定

イチゴの有機塩素系農薬の分析を行ったところ、10検体中4検体からECD-GLC上に3種の未知ピークが検出された(図1)。

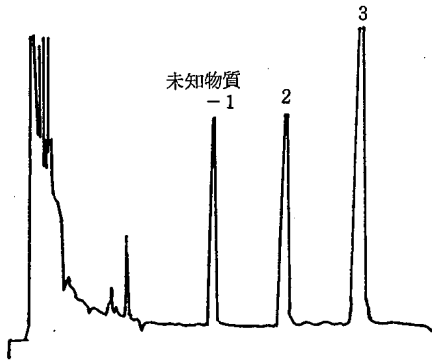


図1 イチゴ抽出物のECD-GLC
(DB-5, 30m, 220℃)

この物質はECD-GLCに高感度であることからハロゲンを持つことが予想され、新たな環境汚染物質であると思われた^{2),3)}。表1にpp'-DDE及び1, 3, 6, 8-TCDDを1とした時の相対保持時間を示したが、この物質は有機塩素系農薬の標準のいずれとも保持時間が一致しなかった。

表1 未知物質のGLCでの相対保持時間

標準	pp'-DDE=1	1,3,6,8-TCDD=1
未知物質-1	0.896	0.780
2	1.218	0.993
3	1.547	1.196

(カラム: DB-5)

そこで、この物質が検出されたイチゴ約200gを用いて精製を行った後、GC/MSにより検討した。

あらかじめ同条件で1, 3, 6, 8-TCDDを測定し表1の相対保持時間から未知物質のピークを確認し、開裂パターンを求めた。(図2-1~3)

3種の未知物質の内、未知物質-3はm/z 420に分子イオンピークが認められ、同体位存在比から塩素を6個有していることが推定された。また、未知物質-1, 2は同様な開裂パターンを示し異性体であることが示唆され、さらに未知物質-2はm/z 404に分子イオンピークが認められた。これらのことより、未知物質-3はm/z 404のエンドスルファンが酸化された形であると考えられた。

3種の標準品を入手し比較したところ、ECD-GLC, GC/MSでの挙動が一致したので未知物質-1をα-エンドスルファン、2をβ-エンドスルファン、3をエンドスルファンサルフェートと同一した。

(図-3)4)

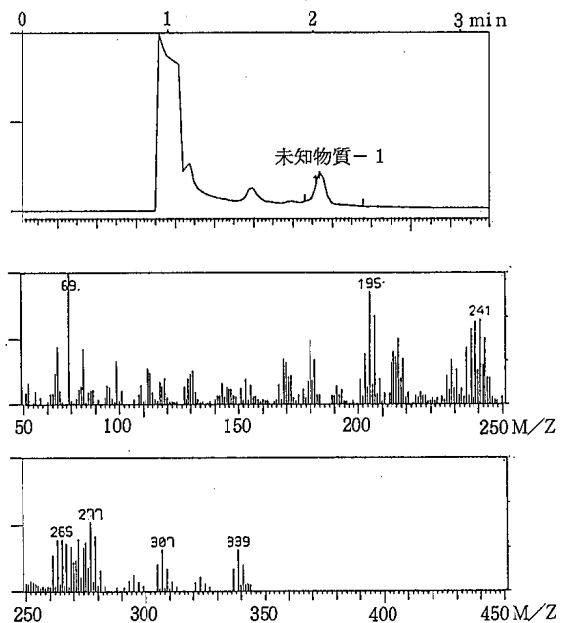


図2-1 未知物質-1のGC/MS
(DB-5, 30m, 220℃, 70eV)

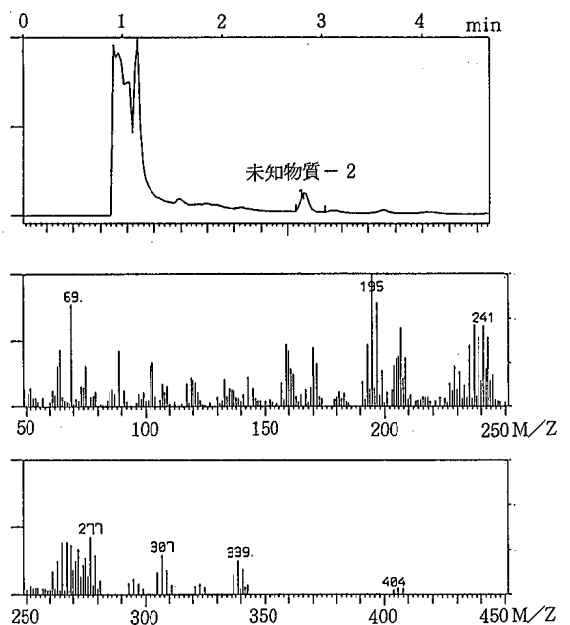


図2-2 未知物質-2のGC/MS

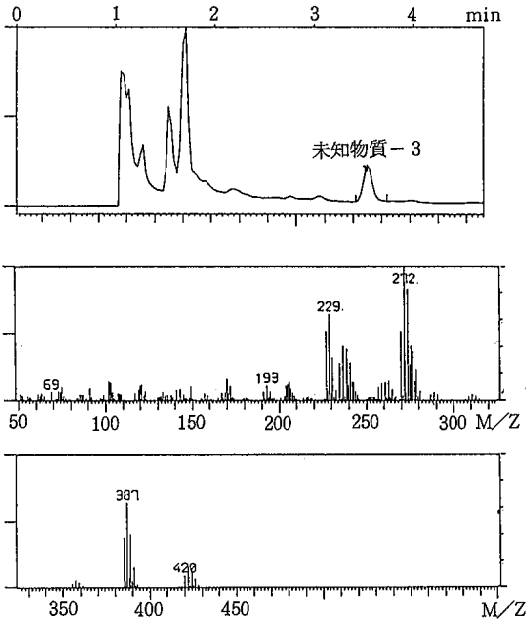


図2-3 未知物質-3のGC/MS

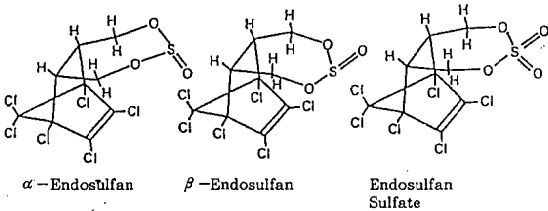


図3 エンドスルファン(α体, β体)とエンドスルファンサルフェートの構造

3.2 果物, 食品中の残留

エンドスルファンは野菜・果樹に使用され, 広範囲の害虫に有効で速効性であり, 残効性も有している。魚類に対する毒性が強いため水質汚濁性農薬に指定されており⁵⁾, また, 土壤中, 農作物中における残留性も高いことが報告されている⁶⁾ことから, 果物中の残留調査及び汚染物1日摂取量調査での試料についても分析法を検討⁷⁾⁸⁾し, 残留調査を行った。

表2にイチゴ中の残留調査結果を示した。リンゴ, 日本ナシ, 汚染物1日摂取量調査ではエンドスルファンは検出されなかった。

エンドスルファンは食品衛生法では残留基準値は設定されていないが, 農薬取締法による農薬登録保留基準では3種の和として0.5ppmを越えてはならないことになっている。1日許容摂取量(ADI)はFAO/WHOでは7.5μg/Kg⁹⁾と指定されている。

イチゴの残留調査の結果はADIと比較すると低い値

であったが, エンドスルファンサルフェートの残留値が最も高いことから, 農薬として散布されるエンドスルファンと共に代謝物のエンドスルファンサルフェートの監視も重要であろうと思われる。

表2 イチゴ中のエンドスルファン分析結果

(単位: ppm)

No.	α-エンドスルファン	β-エンドスルファン	エンドスルファンサルフェート	合計値
1	nd	nd	nd	nd
2	nd	nd	nd	nd
3	nd	nd	nd	nd
4	nd	nd	nd	nd
5	0.005	0.009	0.054	0.068
6	0.008	0.010	0.056	0.074
7	0.008	0.018	0.056	0.082
8	nd	nd	nd	nd
9	0.009	0.016	0.050	0.075
10	nd	nd	nd	nd

4. 謝 辞

今回の調査を行うにあたり, エンドスルファンサルフェートの標準品を提供していただいた福岡県衛生公害センターの桜木建治氏に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) 佐藤信俊他: 宮城衛研年報 56, 64 (1981)
- 2) 百川和子他: 宮城県保健環境センター年報 5, 66 (1987)
- 3) 鈴木 滋 : 宮城県保健環境センター年報 4, 69 (1986)
- 4) J.R.W.Miles and P.Moy: Bull. Environm. Contam. Toxicol. 23, 13 (1979)
- 5) 「農薬ハンドブック」宍戸 孝他編, 日本植物防疫協会, P125 (1989)
- 6) Donald K.R.Stewart and Kenneth G. Cairns: J.Agr.Food.Chem. 22, No.6, 984 (1979)
- 7) 福原克治他: 食品衛生学雑誌 18, No.2, 149 (1977)
- 8) 桜木建治 : 昭和57年度化学物質分析法開発調査報告書, P239
- 9) 「最新農薬データブック」富沢長治郎他編, ソフトサイエンス社, P98 (1982)

12. 市販ドリンク剤及び健康飲料中の水溶性 ビタミン等の含有量実態調査

勝倉 由美* 鈴木 滋 高槻 圭悟
菊池 格

市販のドリンク剤及び各種健康飲料中の水溶性ビタミン類のHPLCによる一斉分析法を検討し、V.B₁、V.B₂リン酸エステル、V.B₆、ニコチン酸アミド、それにカフェインの5成分の一斉分析並びにV.Cの分析をドリンク剤11件、健康飲料14件に適用した。結果はドリンク剤で表示含有量のそれぞれV.B₁91.2~103.6%、V.B₂リン酸エステル113.3~177.8%、V.B₆98.2~102.6%、ニコチン酸アミド93.7~111.7%、カフェイン96.1~106.1%であった。

健康飲料については含有する旨表示のあったものにつき1本当たりの含有量を求めたが、V.B₁の含有量は極端に低く、他の成分もドリンク剤の含有量より低めでバラツキがみられた。V.Cを含有するものは今回の検体中ドリンク剤では1件もなかったが、健康飲料14検体中13件に含有されており、1本当たりの含有量には14.9~1435.9mgと幅がみられた。

1. はじめに

近年、健康志向の高まりで、各種のビタミン類やミネラルを添加した医薬品のドリンク剤や健康飲料等が数多く市販されている。今回それらの含有実態を調べるため特に水溶性ビタミン類を中心に高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による効率的な一斉分析法を検討し、市販のドリンク剤、健康飲料に適用した。分析項目はこれらに多用されているV.B₁、V.B₂リン酸エステル、V.B₆ニコチン酸アミドV.Cそれにカフェインの6成分とした。V.B₂については併せて経時変化についても調査した。

2. 方 法

2.1 試 料

宮城県内で市販されているドリンク剤11件及び各種栄養飲料、健康飲料14件を薬局、スーパー等で購入し試料とした。ドリンク剤のビタミン類とカフェインの表示含有量、及び健康飲料のビタミン類とカフェインの含有表示成分を表1、2に示した。

2.2 標準溶液の調整

標準品として、国立衛生試験所製塩酸チアミン標準溶液及び塩酸ピリドキシン、試薬特級のリン酸リボフラビンナトリウム(関東化学)、ニコチン酸アミド、アスコルビン酸(以上和光純薬)及び日本薬局方無水カフェインを用いた。

標準溶液は各ドリンク剤の表示含有量から検討して、一斉分析に最も適当なものとしてV.B₁、100µg/ml、V.B₂-PNa 50µg/ml CF 600µg/mlとなるように混合調整した。なお、V.Cについては今回検体としたドリンク剤中には1件も含有したものがなかったことや、

表1 市販ドリンク剤のビタミン類、
無水カフェイン表示含有量

成分名	検体 No.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
V. B ₁ 塩 酸 塩			10					10		10	10
" 硝 酸 塩	3	10		10	5	5	10		5		
V. B ₂	2	5	5	5	5	5	5	1.5	2	1.5	3
V. B ₆ リン酸エステル	3	5	5	5	5	5	10	5	2	5	8
ニコチン酸アミド	10	20	10	20	20	20	20	15	20	15	50
パントテン酸ナトリウム				20							
パントテニールアルコール		10					10				
シアノコバラミン							10				
酢酸トコフェロール							10	10		10	
無水カフェイン		50	50	30	50	50	50	30		30	50
1本当たり容量(ml)	50	30	100	100	100	100	30	100	50	100	50

(単位: mg/本, シアノコバラミンのみµg/本)

表2 市販健康飲料中の表示成分

成分名	検体 No.													
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
V. B ₁ 類				○	○									
V. B ₂ 類	○	○	○	○		○								
V. B ₆ 類	○	○			○		○							
ニコチン酸アミド	○	○	○	○										
パントテン酸カルシウム			○	○	○		○							
ナイアシン					○									
V. C	○	○	○	○		1,000		○	○	○	○	○	○	100
ガラナエキス		○	○						○					
1本当たり容量 (ml, 容は?)	120	140	110	30	140	350	120	100	100	50	155	190	135	250

(○: 成分表示有るもの、数値は含有量表示有るもの、単位: mg/本)

分析法の精度から別検体で分析することとし、200µg/mlの溶液を用いた。

上記の溶液を適宜希釈し用いた。標準溶液の調整及び希釈には移動相溶液を用いた。

* 現 宮城県石巻保健所

2.3 分析方法

ドリンク剤は約2-10倍、健康飲料はV.Cを除く成分についてはそのまま、V.Cについては1-100倍になるように移動相溶液で希釈し、懸濁したものについては孔径0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し試料溶液とした。定量はウォーターズ社製液体クロマトグラフ装置を用いて行なった。V.B₁、V.B₂リン酸エステル、V.B₆、ニコチン酸アミドは同じ条件で一斉分析が可能だったが、無水カフェインはこの条件でUV感度が高すぎ同時に分析できなかつたため、検出器の感度を変えて再度注入を行なった。HPLC条件及び標準溶液のクロマトグラムを図1に示した。

V.Cについては、上記の方法では溶出が早すぎ定量の正確さに問題があると考えられ、昨年度医薬品の収去検査で用いたHPLC法¹⁾の条件で別途定量した。

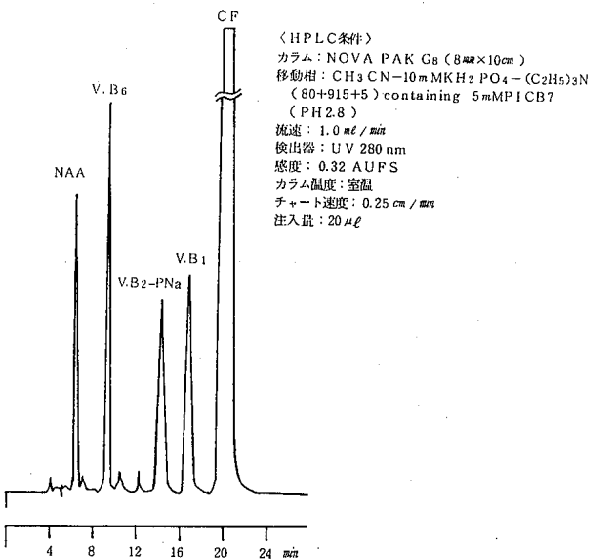


図1 ビタミン標準品の高速液体クロマトグラム

3. 結果と考察

3.1 一斉分析条件の検討

水溶性ビタミン等をHPLCで一斉分析する方法にはいくつか報告がみられるが²⁾³⁾⁴⁾、検体のドリンク剤に一般的に配合されている各成分の濃度割合のものが、一度の注入で全成分定量可能となるようなクロマトグラムが得られる条件を求め、移動相組成、検出波長等を検討し、最適のものとして図1の条件を得た。この条件ではV.B₁ 0~2 μ g、無水カフェイン0~3 μ gの範囲でそれぞれ直線性がみられた(図2)。しかし、この条件でもカフェインの含有量が他成分に比べ多いことから同程度のピーク高さが得られず、無水カフェインについてのみ

は感度を変えて再注入せざるを得なかつた。また、V.Cについては、溶出位置が溶媒ピークとほとんど重なつたため、他成分との分離自体は良かったが、定量性に問題がみられた。ドリンク剤の検体中にはV.Cを含有したものがなかつたことや、健康飲料中にV.Cを単独に含有するものが多かつたことから、V.Cは昨年度実施して精度のよい結果が得られたHPLC条件で別に定量することにした。

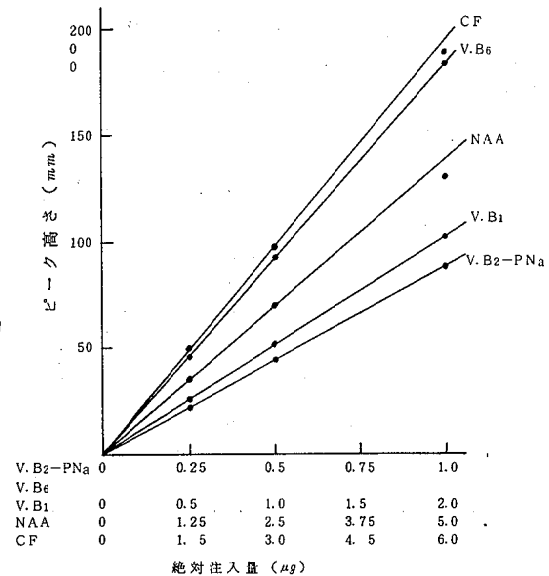


図2 ビタミン類の検量線

3.2 ドリンク剤の分析結果

ドリンク剤11検体について分析した結果を表3に示した。値は表示含有量に対するパーセントで示している。V.B₁ 91.2~103.6%、V.B₂リン酸エステル113.3~111.7%、無水カフェイン96.1~106.1%と、V.B₂リン酸エステルが高目の値が出た他は、ほぼ表示値どおりの良好な結果が得られた。

3.3 健康飲料の分析結果

健康飲料14検体について分析した結果を表4に示した。14検体の1本当たりの容量は30~350mlであり、ドリンク剤11検体の1本当たりの容量30~100mlに比べ同じかやや多目であるが、各成分の1本当たりの含有量は、ドリンク剤に比べるとV.B₁は極端に低く、他の成分も低目でバラツキも多くなっている。また、V.B₁とカフェインについて、各1検体で含有表示があつたにもかかわらず不検出のものがみられた。

V.Cについては14検体中13検体で検出され、その含有量は1本当たり14.9~1435.9mgと大きな幅がみられた。含有量表示のある検体もいくつかあり、1000mg表示のもの1435.9mg、100mg表示のものは92.9mgという結果

であった。また、「レモン〇コ分のV.C」という表示が4検体でみられたが、分析結果から逆算すると、レモン1個分のV.Cは17.0～61.7 mgというバラついた値が得られた。

3.4 V.B₁の経時変化

チアミン塩類は経時変化しやすいものとして、これを含む医薬品には使用期限表示が義務付けられている。今回のドリンク剤11検体については、半年程前に同一ロット

の別検体についてV.B₁のみの定量を実施していたため、今回の分析結果と比較検討し、経時変化の程度をみた。結果を表5に示した。1検体を除き、いずれも使用期限内のものであり、冷蔵保存していたためか、半年間の含有量の増減は-1.3～+7.3%とむしろ増加したものが多かった。これは前回と今回のHPLCの分析条件が違ったこと等による実験誤差の範囲と思われる、目立った経時変化はみられなかった。

表3 市販ドリンク剤中の各成分の定量値

検体No.	検査結果 (表示値に対する%)				
	V. B ₁	V. B ₂ -PN _a	V. B ₆	NAA	CF
1	100.3	129.1	100.2	111.7	—
2	99.6	127.3	100.6	96.9	104.0
3	95.4	126.5	100.2	103.8	103.4
4	98.8	113.3	99.8	98.1	104.3
5	91.2	116.5	99.4	96.3	106.1
6	97.4	132.9	100.9	104.1	101.7
7	98.6	177.8	99.4	110.1	105.6
8	96.4	132.1	99.8	定量不能	102.9
9	92.8	124.1	98.2	93.7	—
10	98.0	134.8	100.6	定量不能	102.9
11	103.6	118.8	102.6	99.4	96.1

表5 同一ロットの検体におけるV.B₁半年後の経時変化

検体No.	使用期限表示	V. B ₁ 定量結果の前回値との比較 (%)
1	記載なし	+ 2.3
2	1992.9	+ 1.5
3	1991.3	- 0.7
4	1992.6	+ 0.2
5	1992.12	- 1.3
6	1993.2	+ 7.3
7	1991.9	+ 4.8
8	1991.3	- 1.3
9	1991.9	+ 1.1
10	1991.3	- 1.0
11	1990.12	- 0.9

表4 市販健康飲料中の各成分の定量値

検体No.	検査結果 (mg/本)					
	V. B ₁	V. B ₂ -PN _a	V. B ₆	NAA	CF	V. C
A			6.1	13.4	18.7	249.8
B		1.9	1.4	13.2		43.8
C		4.9		9.8	32.6	145.6
D	ND	0.7		定量不能		18.2
E	0.7		0.4			14.9
F						1435.9
G			4.6			
H					ND	464.2
I						84.3
J						134.9
K						61.7
L						181.0
M						92.9
N						151.7

参 考 文 献

- 1) 勝倉由美他：宮城県保健環境センター年報，7，173（1989）
- 2) 前田有美恵他：J.Assoc.Off. Anal. Chem.，72，244（1989）
- 3) 志村恭子他：第25回全国衛生化学技術協議会講演集148（1988）
- 4) 鎌田 功他：第24回全国衛生化学技術協議会講演集144（1987）

13 高速液体クロマトグラフ法による オキシリン酸の簡易分析法

高槻 圭悟 菊池 格

A simple liquid chromatographic method for the determination of residual oxolinic acid in cultured fish tissues was developed. A sample was homogenized with phosphate buffer (pH 6) and extracted with ethyl acetate, which was separated by centrifugation. The ethyl acetate extract was evaporated and the residual orange oily substance was mixed with methanol-water (8:2). The lower undissolved orange oily substance was removed by pipetting, and the upper layer was methylated with diazomethane in ether. The reaction product was dissolved in 1ml ethanol and this is ready for liquid chromatography with UV detection at 260 and 330 nm. The detection limit is 0.05 ppm in sample.

1. 序 文

近年日本では、海水及び淡水の養殖業が盛んになり、各種魚類が大規模に養殖され、食用に供されている。これに伴い魚類に発生する各種疾病に対処するため、水産用医薬品が用いられている。これら医薬品の魚肉への残留は、人間の健康を損う虞れがあり、食品衛生上の問題となる。昭和54年には、厚生省告示により「食肉、食鳥卵及び魚介類は抗生物質のほか、化学的合成品たる抗菌性物質を含有してはならない」と規定された。¹⁾

オキシリン酸(図1)は水産用医薬品として比較的多用されている合成抗菌剤の一種である。ハマチの類結節症、マス類のせつそう病、アユのビブリオ菌症、コイのエロモナス感染症、ウナギのヒレ赤病、赤点病、パラコロ病等の治療に用いられている。

オキシリン酸の残留分析法としては、高速液体クロマトグラフ法(HPLC)による分析法が公定法として示されており、²⁾ 報告もみられる。^{3, 4, 5)} 公定法の塩化メチレンによる試料からの直接抽出や、精製法、HPLCの条件等に改良すべき点がみられた。そこでクリーンアップ操作を極く簡便にしたHPLCによる迅速分析法の開発を行った。スクリーニング法として有用であると思われる。



図1 オキシリン酸、ナリジクス酸、ピロミド酸の構造

2. 実験方法

2.1 試 薬

酢酸エチル、メタノール、エーテル、エタノール—残留農薬分析用(和光純薬)

NaH₂PO₄ · 2H₂O, KOH, NaOH — 試薬特級(和光純薬)。

N-ニトロソメチルウレア—No.N-4766(シグマ社)。
ジアゾメタンのエーテル溶液—使用直前に文献(6)に従って調製。

註 ジアゾメタンはドラフト中で防護シールドを置いて調製する。有毒かつ爆発性を有するため取扱いに注意し、全量を使いきる。残ったジアゾメタンは酢酸と反応させた後処分する。詳細は文献(7)を参照すること。

オキシリン酸—No.O-0877(シグマ社)。

標準溶液—原液：オキシリン酸10.0 mgをメタノールに溶かし、メタノールによって100 ml定容とする(100 ppm)。標準液：原液をメタノールにより希釈して1—20 ppm 溶液とする。

リン酸緩衝液—NaH₂PO₄ · 2H₂O, 31.2 gを約600 mlの水に溶かし、1 N NaOHを加えてpH 6.0に調整した後、水を加え全容を1 lとする。

2.2 装 置

ホモジナイザー—バイオトロンBT 10 20 350 D (スイス、バイオトロナ社)。

ロータリーエバポレーター—N-1型(東京理科器械)。

高速液体クロマトグラフ—M6000ポンプ、U6Kインジェクター、NOVA PAK C₁₈ カラム(径8 mm, 長さ10 cm)(以上ウォーターズ)、UV1DEC100 II紫外分光検出器(日本分光)、3066レコーダー(横河電機)。

2.3 抽出、精製とメチル化

細切した試料10.0 gを100 ml遠沈管に精秤し、リン酸緩衝液(pH 6) 20 mlを加えホモジナイズする。ホモジナイザーシャフトを酢酸エチル40 mlで洗浄し、洗浄液を上遠沈管に加える。約10分振とうした後、2000 rpmで10分間遠心分離を行う。上澄の酢酸エチル層をピペットで分取し100 mlナン型フラスコに集める。遠心管に更に酢酸エチル20 mlを加え、残渣とよく混合させた後、10分間振とうする。遠心分離後酢酸エチル層をナン型フラス

コに加える。ロータリーエバポレーターにより酢酸エチを溜去し（バス湿度40℃）、残留物にメタノール水（8：2）10mlを加えて激しく振とう混合させた後静置する。下層に橙色油状物が沈澱分離するので、これをバスタールピペットにより除去する。別にジアゾメタンのエーテル溶液を作製し^{5,6)}、この10mlを上溶液に加え、良く混合した後アルミホイルで遮光して室温で1時間反応させる。反応後過剰のジアゾメタンを減圧下加熱せずに溜去する。更にロータリーエバポレーター（40℃）を使い溶媒を溜去し、水もEtOHとの共沸により溜去する。残留物をメタノール1mlに溶解させHPLC用測定液とする。

2.4 高速液体クロマトグラフ法による定性・定量

2.3で得た試験液及び標準溶液10~20 μlを次の条件に設定した高速液体クロマトグラフに注入し、得られたクロマトグラムの保持時間から定性、ピーク高から定量を行う。

カラム：NOVA PAK C₁₈

溶離液：メタノール-水（2：3）、流速：1.0 ml/min

紫外分光検出器：波長 260 または 330 nm、感度 0.01 ~ 0.04

3. 結果と考察

オキシリン酸は図1の構造を有する両性物質である。当初このカルボキシル基をエステルに変換してガスクロマトグラフ法（GLC）を適用することを考えた。ジアゾメタンによりメチルエステルを作製し（マスペクトルにより確認、図2）、GLC測定を行ったところ、数百ppm以下の濃度になるとピークのテーリングが大きく、保持時間がずれて長くなり、微量分析には不適であることが分かった。H. Roseboomらはオキシリン酸と類似構造を有する抗菌剤ナリジクス酸（図2）のGLC分析において、メチルエステルでは良好な結果を得られず、n-ブチルエステルを用いたことを報告している⁸⁾。そこでオキシリン酸についてもn-ブタノールにオキシリン酸を溶解し、酸触媒BF₃・エーテルを加えてリフラスさせn-ブチルエステルをDB-5カラム（0.53mm×15m）260℃の条件により、イオンm/z 217（図3）を用いてガスクロマトグラフ-質量分析法（GC-MS）のSIM法分析を行ったところ、図4に示すように、1000 ng から200 ng 注入ではテーリングしたピークを示し、保持時間が長くなり、更に50 ng では保持時間が更に長くなり、テーリングも激しく、20 ng 注入では、全くピークとして観測されないという結果が得られた。以上によりオキシリン酸のエステルによるGLC微量残留分析は困難であることが分かった。そこでHPLC分析の検討を行った。

オキシリン酸自体のHPLC分析を行った報告では、イオン交換樹脂カラム³⁾、C₁₈カラムを用いたイオンペア分析⁴⁾が用いられているが、ピークがブロードまたはテー

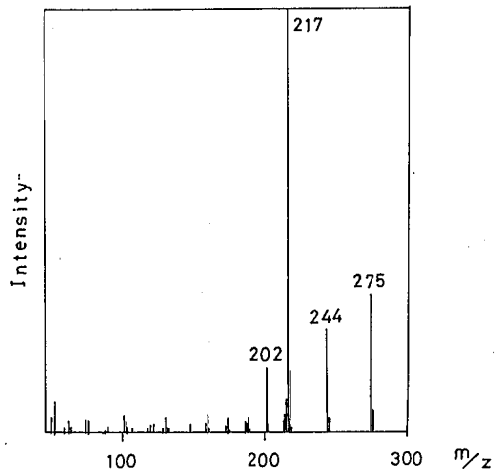


図2 オキシリン酸メチルのマスペクトル

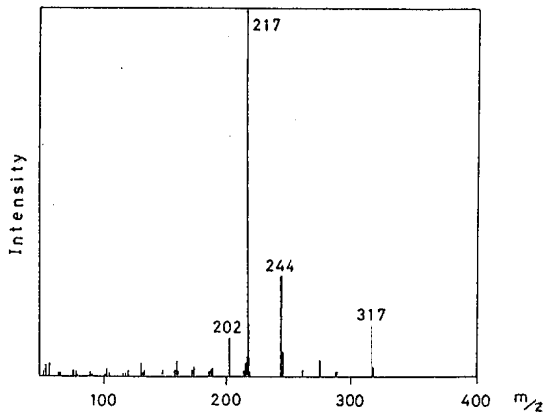


図3 オキシリン酸n-ブチルのマスペクトル

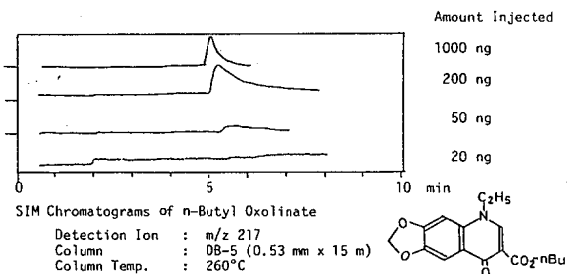


図4 オキシリン酸n-ブチルのSIMクロマトグラム

リングを示しており、蛋白・ペプチド分析用C₁₈カラム⁵⁾は一般的ではない。極性の強いオキシリン酸自体のHPLC分析では条件設定が厳しいと考えられたので、公定法²⁾に準じてメチルエステルに変換してからHPLC分析を行うこととした。ジアゾメタンにより得られたオキシリン酸メチル（図2、マスペクトル）は、C₁₈カラムにより、メタノール-水を溶離液として、シャープで対称性の良

いピークを与えた。溶離液中のメタノールの含有量と保持時間との関係は図5に示したようになり、オキシリン酸のみを目的とする場合にはメタノール-水(2:3)が最適条件であった(図6)。類似の構造を有し、水産業で使用されている抗菌剤であるナリジクス酸(図1)及びピロミド酸(図1)のメチルエステルもHPLC同時分析が可能であるが、この場合には、オキシリン酸メチルの溶離がやや早い、メタノール-水(1:1)が適当と考えられる(図7)。

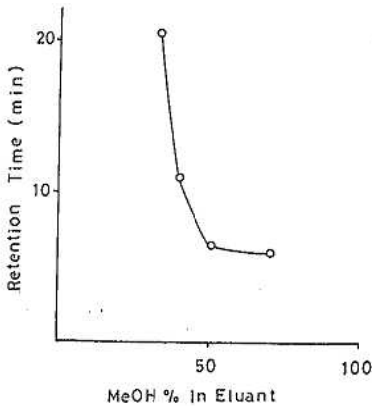


図5 オキシリン酸メチルのHPLC(C₁₈カラム)における溶離液組成と保持時間との関係

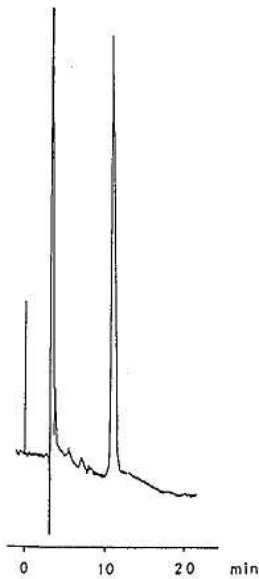


図6 液体クロマトグラム

オキシリン酸メチル: 100 ng
カラム: NOVA PAK C₁₈
溶離液: メタノール-水(2:3), 1ml/min
紫外外部検出器: 330 nm (Sens. 0.01)

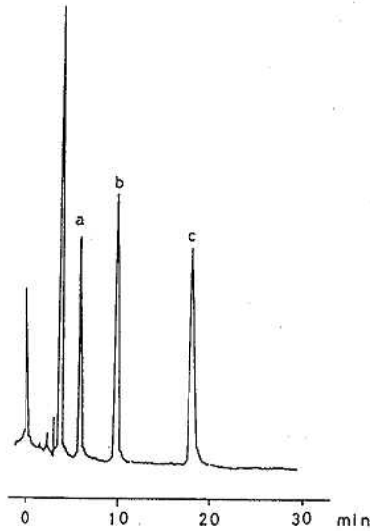


図7 クロマトグラム

a: オキシリン酸メチル 25 ng
b: ナリジクス酸メチル 50 ng
c: ピロミド酸メチル 50 ng
カラム: NOVA PAK C₁₈
溶離液: メタノール-水(1:1), 1ml/min
紫外外部検出器: 260 nm (Sens. 0.04)

HPLC検出器は紫外分光検出器を用いたが、オキシリン酸の吸収極大は260 nmと330 nm近辺の二箇所があり、双方とも使用可能であったが、260 nmによる検出感度の方が約4倍高かった。しかし、試料からの共抽出物による妨害の可能性は330 nm検出の方が少ないと考えられ、これを主に使用した。検量線は5 ngから100 ngにわたり直線関係が得られた。定量下限は、標準液では0.3 ppm可能であるが試料抽出液の場合にはベースラインのふれも考慮して0.5 ppmとした。これは試料中濃度0.05 ppmとなり公定法と同一である。

試料からのオキシリン酸の抽出に公定法では塩化メチレンの直接抽出を用いているが、オキシリン酸が両性化合物であることや、塩化メチレンが試料中への浸透性がよくないこと等のために抽出効率に問題があると考えられた。そこで酸性のカルボキシル基を利用し、pH10のホウ酸緩衝液により銀銑抽出を試みた。銀銑筋肉部とホモジナイズ後、遠心分離を行うと、上層が脂肪層、中層抽出液、下層残渣と分離し、抽出液の分取は可能であったが、濁りがみられ、0.45 μmメンブランフィルターの口過も不能であり、塩化メチレン洗浄ではエマルジョンが生成したため、この抽出法は良好ではなかった。文献(9)ではナリジクス酸の抽出に、リン酸緩衝液(pH 6)とホモジナイズ後酢酸メチル抽出を行っており、その後オキシリン酸等の抽出にも用いられている³⁾。この方法を銀銑に適用したところ、澄明な抽出液が得られ、抽出

効果も良好と報告されている³⁾ことからこの方法を用いることとした。

抽出液のクリーンアップについては、カートリッジカラムセップパックシリカの利用を考え、オキシリン酸メチルの溶離条件を検討した結果が図8である。しかし、酢酸エチル抽出液から溶媒を溜去し、残留物をメタノール水(8:2)に溶解させると橙色油状物が分離して残り、これをパスツールピペットで除去するのみで、クリーンアップは充分であり、HPLCクロマトグラム上に妨害ピークは現われないことが分かった(図9, 10)。従って操作の簡略化を計るためこの方法を用いることにした。銀鮭に1 ppm濃度に添加したオキシリン酸の回収率は91.8%であった。また、定量下限は先に記したように試料濃度として0.05 ppmである。

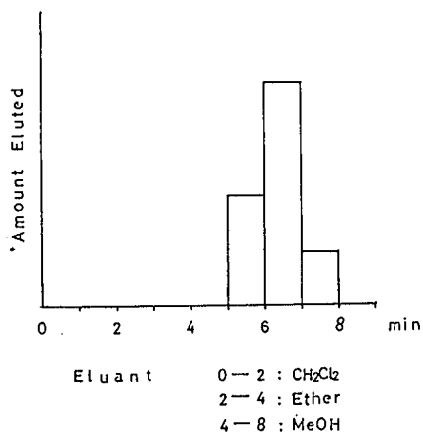


図8 セップパックシリカからのオキシリン酸メチルの溶出条件

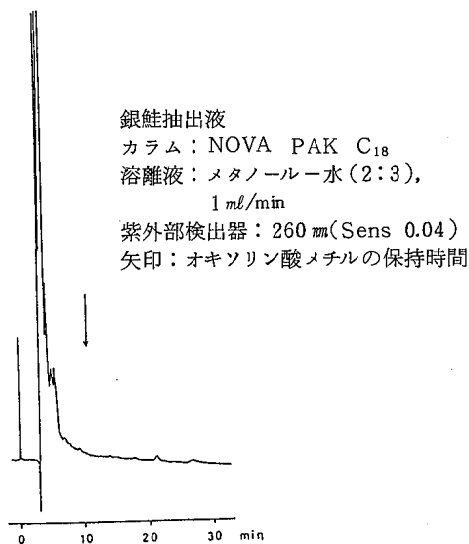


図9 液体クロマトグラム

銀鮭抽出液
 カラム: NOVA PAK C₁₈
 溶離液: メタノール水(2:3),
 1 ml/min
 紫外外部検出器: 260 nm (Sens 0.04)
 矢印: オキシリン酸メチルの保持時間

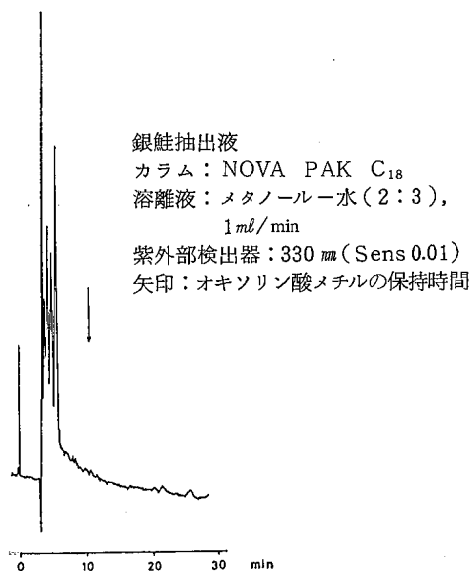


図10. 液体クロマトグラム

この分析法により、平成元年度の行政検査として養殖銀鮭10検体の検査を行い、オキシリン酸は検出されなかった。

参考文献

- 1) 厚生省告示第60号, (昭和54年4月16日)
- 2) 厚生省乳肉衛生課, 畜水産食品中の残留物質検査法第2集の5, P 9 (昭和57年3月)
- 3) 春日洋二, 杉谷哲, 山田不二造, 食衛誌 **23**, 344-347(1982)。
- 4) S. Horii, C. Yasuoka, M. Matsumoto, J. Chromatogr., **388**, 459-461(1987)。
- 5) H. Horie, K. Saito, Y. Hoshino, N. Nose, E. Mochizuki, H. Nakazawa, J. Chromatogr., **402**, 301-308(1987)。
- 6) W. E. Bachman, W. S. Struve, "Organic Reactions", Vol. 1, R. Adams, Editor-in-Chief, John Wiley & Sons, New York, P 50 (1957)。
- 7) T. de Boer, "Organic Synthesis" Col. Vol. 3, John Wiley & Sons, New York, P 250-253(1953)。
- 8) H. Roseboom, R. H. A. Sorel, H. Lingeman, R. Bouwman, J. Chromatogr., **163**, 92-95 (1979)。
- 9) R. S. Browning, E. L. Pratt, J. Assoc. Off. Anal. Chem., **53**, 464(1970)。

1.4 魚介類中のトリブチルスズオキシド (TBTO) の実態調査

佐藤真貴子* 菊地 秀明 鈴木 滋
佐藤 勤 菊池 格

漁網防汚剤として使用されたTBTO類汚染が明らかになったことから、当県産の養殖銀鮭と近海で捕獲された天然魚についてTBTOの分析を行った。養殖銀鮭は低濃度であるが全検体からTBTOが検出され、天然魚は50%の魚からTBTOが検出された。又、日常食の魚介類から、どれ位のTBTOを摂取するか調査したところ、最高値で一日4.5 μ gとなり、ADIの5.6%にすぎないことがわかった。

1. はじめに

近年、漁網防汚剤等として使用されたトリブチルスズ化合物(TBT化合物)が魚介類を広範囲に汚染している¹⁾ことが明らかとなり、1989年には5TBT化合物が難分解性であることなどから指定化学物質に指定された。

一方、当県では銀鮭の養殖が仙北の沿岸で盛んに行われている。銀鮭は四方を網で囲んだ生簀の中で養殖されており、TBTO類が漁網へ使用される可能性が高いため1986年から養殖銀鮭の実態調査を開始した。又、天然魚6件についてもTBTOを測定した。さらに、我々が日常の食事の中からどれ位のTBTOを摂取しているか、1985~1989年の魚介類について分析したので、これらの結果について報告する。

2. 方法

2.1 試料

2.1.1 養殖銀鮭

県内で養殖されている1尾2~3kgの銀鮭を1986~1989年の7月に各10件採取し、筋肉部位を試料とした。

2.1.2 天然魚

1988年1月に宮城県沿岸で採取されたスズキ、サケ、アナゴ、タラ、アオメガレイ、石ガレイをそれぞれ筋肉部、肝臓、皮、鱗、卵あるいは精巢に分別し試料とした。

2.1.3 日常食からの摂取量調査

国立衛生試験所を中心に地方衛生研究所が参加して実施されているマーケットバスケット法による「汚染物摂取量調査」²⁾の食品群のうち魚介類について5年間(1985~1989年)のTBTO分析を行った。この試料は、一般的な調理(煮る、焼く等)をしており、我々が実際に食しているものに最も近いものと考えられる。

2.2 分析法

前報³⁾に従い分析した。

3. 結果と考察

3.1 養殖銀鮭について

分析結果を表1に示した。全検体からTBTOが検出され、各年の平均値は1986年が0.175ppmと最も高い値を示したが、1987年は0.046ppmと $\frac{1}{3}$ 以下の値になり、その後、概ね横這いとなっている。これらの値は、環境庁のTBTOモニタリング調査結果¹⁾や、他の都道府県の分析結果と比較すると低レベルである。これは、銀鮭の養殖期間が約10ヶ月と比較的短期間であることが影響していると考えられる。又、1987年の減少は業界が漁網へのTBTO使用を自粛した時期と符合する。しかし、漁網にTBTOは使用しておらず、網は定期的に人の力で交換しているとのことなので、漁網からの直接的な汚染とは考えられない。

表1 養殖銀鮭のTBTO分析結果

単位:ppm

年	1986	1987	1988	1989
銀鮭の TBTO 分析値	0.047	0.034	0.019	0.055
	0.054	0.065	0.023	0.069
	0.039	0.032	0.048	0.104
	0.032	0.104	0.050	0.055
	0.028	0.012	0.025	0.064
	0.170	0.054	0.053	0.064
	0.130	0.034	0.061	0.073
	0.412	0.051	0.056	0.089
	0.559	0.070	0.125	0.054
	0.282	0.008	0.033	0.115
検出範囲	0.028~	0.008~	0.019~	0.054~
	0.559	0.104	0.125	0.115
平均値	0.175	0.046	0.049	0.074

一方、生産者の地域別に見ると、1986年はA地域がTBTO濃度0.028~0.054ppmの範囲で平均0.04ppmであるのに対し、B地域では0.130~0.559ppmの範囲で平均0.316ppmと大きな差が見られた。しかし、1987年以降はB地域のTBTO濃度はA地域と同レベルまで下降している。A、B2地域での年次推移を図1に示した。

* 現宮城県仙南仙塩広域水道事務所

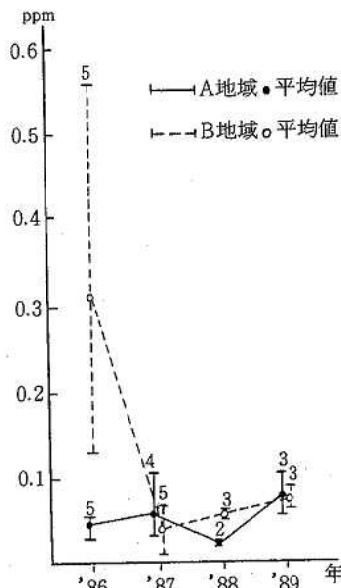


図1 2地域におけるTBTO濃度の年次推移
数字は検査件数

1987年以降は採取地域を少しずつ広げているが、同一地域内でも、低レベルではあるが、TBTO残留値に2~4倍の差が見られた。これらの原因については海流の影響等も考えられるが特定できなかった。

3.2 天然魚について

分析結果を表2に示した。天然魚6件中3件(50%)の筋肉部位からTBTOが0.01~0.06ppmの範囲で検出された。そのうちスズキ、アナゴでは肝臓、皮、精巢からもTBTOが検出されたが、いずれも筋肉部位よりも低い値であった。鱗からはTBTOは検出されなかった。

表2 天然魚のTBTO分析結果

魚種	部位				卵あるいは精巢	体長 cm	体重 g
	筋肉	肝臓	皮	鱗			
スズキ	0.06	0.04	0.02	nd	0.04 (精巢)	66	2.5
サケ	nd	nd	nd	nd	nd (精巢)	61	1.9
アナゴ	0.05	0.02	0.02	-	0.03 (精巢)	85	1.4
タラ	0.01	nd	0.01	nd	nd (卵)	74	5.2
アオメガレイ	nd	nd	nd	nd	nd (卵)	45	1.1
石ガレイ	nd	nd	nd	-	nd (卵)	53	2.6
養殖銀鮭	0.06	0.18	0.02	-	0.03 (卵)	60	3.3

単位: ppm nd: 0.01 ppm 未満

天然魚と養殖銀鮭を比較すると筋肉部位のTBTOは同レベルの残留であったが、肝臓は、養殖銀鮭が筋肉部

の約3倍の濃度であった。これは、魚種による代謝の相違の可能性もあるが、スズキ、アナゴ、タラ等の魚は海域を自由に回遊しているのに対し、養殖銀鮭は、一定の海域で養殖されるため、その海域の水質の影響を受けやすいことも一因と考えられる。

3.3 日常食からの摂取量調査について

マーケットバスケット法による魚介類(10群)の1985~1989年の構成食品を表3に示した。これらの魚介類はスーパー等の店頭から購入したもので、生産地は日本各地から海外まで多岐にわたっている。

表3 魚介類(10群)の構成食品

年	食品名	一日摂取量 (g)
1985	まぐろ、かつお、かたい、たら、にしん、さんま、ます、はまち、ほっけ、うなぎ、いか(生)、あさり、塩さけ、めざし、かつお(油漬)、えびの佃煮、笹かまぼこ、ソーセージ	110.4
1986	まぐろ、かつお、めぬけ、かれい、あじ、いわし、さけ、はまち、ぶり、とびうお、いか(生)、たこ、ほや、しじみ、塩ます、たらこ、干あじ、丸干し、さば(缶詰)、こうなご、笹かまぼこ、揚かま、ソーセージ	99.4
1987	まぐろ、かつお、かれい、ぎちじ、さば、さんま、あじ、さけ、とびうお、ほっけ、はまち、いか(生)、えび、かに、あさり、しじみ、塩さけ、たらこ、干あじ、めざし、かつお、水蒸缶、こうなご佃煮、笹かまぼこ、はんぺん、魚肉ハム	96.4
1988	まぐろ、かつお、かれい、たら、さんま、あじ、銀さけ、はまち、うなぎ、ほっけ、いか、たこ、しじみ、あさり、塩さけ、塩ます、めざし、かつおフレーク缶、こうなご佃煮、笹かまぼこ、さつまあげ、魚肉ソーセージ	100.4
1989	まぐろ、かつお、まだい、かれい、にしん、さんま、ます、うなぎ、すずき、はまち、えび、いか、はたて、しじみ、塩さけ、文化さば、しらす干し、いわし缶詰、こうなご佃煮、笹かまぼこ、魚肉ハム	108.6

分析結果を表4に示した。魚介類中のTBTO濃度は1986年が0.045ppmと最も高い値を示した後、漸減傾向を示している。魚介類の摂取量からTBTOの一日摂取量を算出すると、最高値で4.5μgとなり、これはADI(許容一日摂取量)の5.8%にすぎず、現状では問題とされないと考えられる。しかし、船底塗料のTBTOについては使用規制がなく、最近になってようやく一部禁止の動きが出たところである。その上、船底塗料に使用された場合は、長期間にわたってTBTOが徐々に海中に放出されるので、今後ともこの傾向が続くかどうか監視していかなければならない。

表4 魚介類(10群)中のTBTO分析結果

	TBTO分析結果ppm	TBTO一日摂取量 μg
1985	0.037	4.1
1986	0.045	4.5
1987	0.031	3.0
1988	0.025	2.5
1989	0.018	2.0

TBTOのADI $80 \mu\text{g}/50\text{kg}/\text{日}$

参 考 文 献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：“化学物質と環境”
- 2) 佐藤信俊他：宮城県衛生研究所年報，56，64，(1981)。
- 3) 佐藤真貴子他：宮城県保環七報，7，84，(1989)