

B 調 查 研 究

I 論 文

わが国における食中毒損害賠償金額からみた原因物質 (細菌及びSRSV) 別の食中毒症状の推定

The Presumption of Clinical Symptoms due to Causative Organisms (Bacteria and SRSV) from Reparation for the Damage by Food Poisoning in Japan

阿部 和男 白取 博志 宇野 和生
渡辺 丈夫

Kazuo ABE, Hiroshi SHIRATORI, Kazuo UNO,
Takeo WATANABE

キーワード：SRSV、小型球形ウイルス、食中毒、症状、損害賠償金

Key Words : SRSV, Small Round Structured Virus, Food poisoning
Clinical symptoms, Reparation

食品営業賠償共済に加入している全国の食品営業施設で1991～1997年の7年間に発生した食中毒細菌及びSRSV(小型球形ウイルス)が原因物質と推定された食中毒事例について、年別・原因物質別に食中毒事件数、患者数及び支払い賠償金額を調査し、患者1人当たり平均賠償金額を算出した。サルモネラ食中毒の1人当たり平均賠償金額が最も高く、一方、SRSV食中毒では、サルモネラや腸炎ビブリオによるものと比較して低かった。1人当たり平均賠償金額は患者の症状の強度や治療期間の影響を強く受けていると考えられることからサルモネラや腸炎ビブリオほど重くないと推定された。

1. はじめに

食中毒は被害者や食品業界をはじめとして社会に与える影響が極めて大きく、被害に対する損害賠償も社会的に大きな問題となっている。食品営業者が提供した食品が食中毒などの健康被害を起こした場合に備えて、被害者に対する損害賠償及び施設の休業によって得られなくなった利益補償を目的として、食品賠償共済(以下賠償共済と略す)の制度がある。これによって営業者から被害者に支払われる主な損害賠償金としては、患者の治療費、慰謝料及び休職補償金などがあり、患者が重症なほど高度な医療や長期間の治療を要し、また精神的・肉体的な苦痛等も考慮されて、高額な損害賠償金が支払われている。

筆者らは1991年から1995年までに全国で発生した細菌性食中毒に対して賠償共済に基づいて賠償支払いのあった事例について、原因菌種別の1人当たり平均賠償金額を算出して各菌種別による症状の強度を推定し、さらにそれに基づいて過去に発生した食中毒の社会的損失額を算出し報告した¹⁾。今回、新たに小型球形ウイルス(以下SRSVとする)の症状の強度を、1995年から1997年までの賠償共済金支払い状況に基づいて推定するとともに、新たに入手した1996年から1997年までの賠償共済支払い事例を、前報のデータに加えて、細菌性食中毒原因菌種

別の平均的症状の強度について再解析したので報告する。

2. 材料および方法

2.1 原因物質別による食中毒事件数、患者数、賠償金の支払い状況の資料

賠償共済に加入している全国の食品営業施設(以下賠償共済加入施設とする)で、1991年から1997年の7年間に発生したサルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌、病原大腸菌(腸管出血性大腸菌を除く)、ウエルシュ菌、カンピロバクター、セレウス菌、腸管出血性大腸菌の8菌種及びSRSV並びに原因物質不明による食中毒事件834件(いずれも死亡者がなかった事例)について、年別・原因物質別による食中毒事件数(以下事件数とする)、患者数及び患者への賠償金額に関する資料を(社)日本食品衛生協会から提供を受けた。なお、SRSV食中毒については、SRSVが原因物質として確定された事例の他に、“かき”が原因食品と推定され、SRSVが疑われる冬期の食中毒事例も加えて解析に供した。

2.2 原因物質別による食中毒1事件及び患者1人当たりの各平均賠償金額の算出の方法

原因物質別食中毒における事件数、患者数と支払い賠償金額の資料を基に、これらを年別に集計した。さらに以下に示す方法によって食中毒1事件及び患者1人当たり

の各平均賠償金額を求めた。原因物質別の1事件当たり平均賠償金額＝原因物質別の賠償金額の総額／原因物質別事件数、原因物質別の患者1人当たり平均賠償金額＝原因物質別の賠償金額の総額／原因物質別患者数を算出した。次に、原因物質別に、1事件の患者1人当たり平均賠償金額＝1事件で支払った賠償金額／1事件の患者数を算出した。また、原因物質不明食中毒の1事件及び患者1人当たり各平均賠償金額についても、同様に算出した。

3. 結 果

3.1 賠償共済加入施設において発生した原因物質別の食中毒に対する支払い賠償金額

3.1.1 年別及び食中毒原因物質別による事件数、患者数及び支払い賠償金額

原因物質別による食中毒及び原因物質不明食中毒に対する年別の事件数、患者数、支払い賠償金額を表1に示

す。賠償共済加入施設において1991年から1997年までに発生した細菌性食中毒及びSRSVの総件数は625件、患者数34,221人、その支払い賠償総額は1,038,674,606円であった。そのうち、SRSVについては、今回、1995年から1997年までの期間に調査を行ったが、その結果、事件数24件、患者数570人、賠償総額は8,889,290円であった。支払い賠償金額が最も多い食中毒はサルモネラ(583,109,790円)によるもので、原因不明物質を含めた賠償総額(1,140,865,357円)の51.1%、次いで腸炎ビブリオの24.4%であった。支払い賠償金額の最も多い年は1996年の総賠償金額332,277,891円で、そのうちサルモネラ食中毒に対する賠償金額が212,367,591円と多く、総賠償金額の64%を占めている。1991年では腸炎ビブリオ食中毒に対する賠償金額が57,563,032円でこの年の総支払い賠償金額の53%と最も高い割合を占めているが、その他の年ではいずれもサルモネラ食中毒に対する賠償金額が最も多い。腸炎ビブリオ食中毒に対する支払

表1 賠償共済加入施設において発生した食中毒における原因物質別による年別の事件数、患者数と支払い賠償金額

原因物質	1991年			1992年			1993年		
	事件数(件)	患者数(人)	賠償金額(円)	事件数(件)	患者数(人)	賠償金額(円)	事件数(件)	患者数(人)	賠償金額(円)
サルモネラ	18	515	17,540,490	19	1,650	80,590,871	25	2,154	104,744,233
腸炎ビブリオ	58	2,321	57,563,032	10	614	18,695,484	26	1,265	31,006,688
黄色ブドウ球菌	13	294	5,498,563	7	177	3,626,860	5	162	2,168,027
病原大腸菌*	4	977	13,813,741	3	1,054	9,097,737	9	1,368	25,472,614
ウエルシュ菌	1	197	2,109,350	1	69	378,500	4	898	5,767,612
カンピロバクター	2	89	1,862,500	2	157	1,410,804	3	847	16,676,705
セレウス菌	0	0	0	0	0	0	1	32	310,586
腸管出血性大腸菌	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S R S V	-	-	-	-	-	-	-	-	-
小 計	95	4,393	98,387,676	42	3,721	113,800,256	73	6,726	186,146,465
原因物質不明	36	860	10,271,459	18	526	8,864,587	26	627	10,261,017
合 計	132	5,253	108,649,135	60	4,247	122,664,843	99	7,353	196,407,482

原因物質	1994年			1995年			1996年		
	事件数(件)	患者数(人)	賠償金額(円)	事件数(件)	患者数(人)	賠償金額(円)	事件数(件)	患者数(人)	賠償金額(円)
サルモネラ	18	917	51,788,957	23	1,476	57,528,091	45	4,067	212,367,591
腸炎ビブリオ	33	1,038	31,946,257	40	1,126	27,134,957	59	1,793	56,891,053
黄色ブドウ球菌	11	404	5,543,472	6	188	5,073,762	4	107	3,447,935
病原大腸菌*	3	50	246,370	1	32	379,018	5	1,050	16,666,794
ウエルシュ菌	4	588	4,522,232	0	0	0	4	139	1,628,045
カンピロバクター	4	194	4,834,196	5	1,160	12,201,528	1	480	5,991,455
セレウス菌	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腸管出血性大腸菌	-	-	-	-	-	-	1	36	1,143,000
S R S V	-	-	-	3	43	325,570	13	327	6,108,927
小 計	73	3,191	98,881,484	78	4,025	102,642,926	132	7,999	304,244,800
原因物質不明	37	1,420	19,401,578	15	435	5,957,441	40	1,337	28,033,091
合 計	110	4,611	118,283,062	93	4,460	108,600,367	172	9,336	332,277,891

原因物質	1997年			合 計		
	事件数(件)	患者数(人)	賠償金額(円)	事件数(件)	患者数(人)	賠償金額(円)
サルモネラ	30	1,129	58,549,557	178	11,908	583,109,790
腸炎ビブリオ	73	1,403	55,909,828	299	9,560	279,147,299
黄色ブドウ球菌	7	97	1,879,503	53	1,433	27,238,122
病原大腸菌*	4	541	6,854,181	29	5,072	72,530,455
ウエルシュ菌	1	642	4,223,324	15	2,533	18,629,063
カンピロバクター	6	130	2,672,921	23	3,057	45,650,109
セレウス菌	1	4	156,729	2	36	467,315
腸管出血性大腸菌	1	16	1,870,163	2	52	3,013,163
S R S V	8	200	2,454,793	24	570	8,889,290
小 計	122	3,205	134,570,999	625	34,221	1,038,674,606
原因物質不明	37	1,420	19,401,578	209	6,625	102,190,751
合 計	159	4,625	153,972,577	834	40,846	1,140,865,357

* 腸管出血性大腸菌を除く

い賠償金額については、1991年、1996年及び1997年ではそれぞれ55,000,000円以上と高額であった。

3.1.2 原因物質別の患者1人当たり及び1事件当たりの各平均賠償金額

原因物質別の事件数、患者数、1事件当たり患者数、支払い賠償金額、患者1人当たり平均賠償金額、1事件当たり平均賠償金額について表2に示す。原因物質別の患者1人当たり平均賠償金は、2事例と発生件数の少なかった腸管出血性大腸菌の57,945円/人を除くと、サルモネラ食中毒の48,968円/人が最も高く、腸炎ビブリオ食中毒の29,200円/人がこれに次いでいる。SRSV食中毒では15,595円/人で、サルモネラや腸炎ビブリオ食中毒と比較するとかなり低いがカンピロバクターや病原大腸菌よりやや高い。同様に、各原因物質ごとの1事件当たり平均支払い金額については、サルモネラ食中毒の3,275,898円/件が最も高額で、事件数の少ないセレウス菌を除けばSRSV食中毒が370,387円/件と最も少なかった。

3.1.3 原因物質別の1事件における賠償金額及び患者1人当たり平均賠償金額

1事件における患者1人当たり平均賠償金額の高額支払い上位10事例を表3に示したが、最も高い事例はサルモネラによる578,264円/人(患者3人)であった。高額な順に10位までをみると、サルモネラ食中毒事例8件及び腸炎ビブリオ食中毒2件であった。1事件における1人当たり平均賠償金額の原因物質別の高額支払い上位3事例を表4に示した。SRSVによる1人当たり平均賠償金額の最も高額支払い事例は62,574円/人であり、サルモネラや腸炎ビブリオによる高額支払い事例と比較するとかなり少ない。

3.2 原因物質別の症状の強度の推定

事件数の少ない腸管出血性大腸菌及びセレウス菌を除けば、原因物質別の1人当たり平均賠償金額については、高額な順にサルモネラ>腸炎ビブリオ>黄色ブドウ球菌>SRSV>カンピロバクター>病原大腸菌>ウエルシュ菌であり、サルモネラ食中毒の賠償金額が最も高かった。

表2 賠償共済加入施設において発生した食中毒の原因物質別による患者1人当たり及び1事件当たりの各平均賠償金額

原因物質	事件数(件)	患者数(人)	1事件当たりの患者数(人)	賠償金額(円)	患者1人当たり平均賠償金額	1事件当たり平均賠償金額
サルモネラ	178	11,908	67	583,109,790	48,968	3,275,898
腸炎ビブリオ	299	9,560	32	279,147,299	29,200	933,603
黄色ブドウ球菌	53	1,433	27	27,238,122	19,008	513,927
病原大腸菌*	29	5,072	175	72,530,455	14,300	2,501,050
ウエルシュ菌	15	2,533	169	18,629,063	7,355	1,241,938
カンピロバクター	23	3,057	133	45,650,109	14,933	1,984,787
セレウス菌	2	36	18	467,315	12,981	233,658
腸管出血性大腸菌	2	52	26	3,013,163	57,945	1,506,582
S R S V	24	570	24	8,889,290	15,595	370,387
小計	625	34,221	55	1,038,674,606	30,352	1,661,879
原因物質不明	209	6,625	32	102,190,751	15,425	488,951
合計	834	40,846	49	1,140,865,357	27,931	1,367,944

* 腸管出血性大腸菌を除く

(1991年~1997年)

表3 1事件における患者1人当たり平均賠償金額の高額支払い上位10事例

順位	原因物質	発生日月日	原因食品	患者数(人)	賠償金額(円)	1人当たり平均賠償金額(円)
1	サルモネラ	H 9. 4. 18	飲食店(寿司)	3	1,734,793	578,264
2	サルモネラ	H 8. 11. 14	飲食店(鳥生レバー)	2	1,144,067	572,034
3	サルモネラ	H 8. 1. 7	仕出し(幕の内弁当)	17	8,567,401	503,965
4	腸炎ビブリオ	H 9. 8. 11	魚介類販売(刺身)	2	983,555	491,778
5	サルモネラ	H 6. 7. 12	仕出し弁当	19	8,228,734	433,092
6	サルモネラ	H 5. 11. 20	飲食店(焼肉・豚レバー)	4	1,367,067	341,766
7	腸炎ビブリオ	H 9. 7. 15	飲食店(寿司)	1	329,000	329,000
8	サルモネラ	H 8. 4. 15	飲食店(会席料理)	14	3,711,543	265,110
9	サルモネラ	H 6. 9. 24	仕出し弁当	43	10,050,706	233,737
10	サルモネラ	H 6. 6. 1	飲食店冷奴・豆腐ステーキ)	4	876,866	219,217

(1991年~1997年)

表4 原因物質別の1事件における患者1人当たり平均賠償金額の高額支払い上位3事例

順位	原因物質	発生年月日	原因食品	患者数(人)	賠償金額(円)	患者1人当たり平均賠償金額(円)
1	サルモネラ	H 9. 4.18	飲食店(寿司)	3	1,734,793	578,264
2	サルモネラ	H 8.11.14	飲食店(鳥生レバー)	2	1,144,067	572,034
3	サルモネラ	H 8. 1. 7	飲食店(幕の内弁当)	17	8,567,401	503,965
1	腸炎ビブリオ	H 9. 8.11	仕出し弁当	2	983,555	491,778
2	腸炎ビブリオ	H 9. 7.15	飲食店(寿司)	1	329,000	329,000
3	腸炎ビブリオ	H 8.11.15	飲食店(折り詰め寿司)	2	418,078	209,039
1	黄色ブドウ球菌	H 6. 2.28	旅館(おにぎり)	2	266,542	133,271
2	黄色ブドウ球菌	H 9. 7. 5	飲食店料理	4	462,212	115,553
3	黄色ブドウ球菌	H 8.12.23	旅館料理	24	2,571,999	107,167
1	カンピロバクター	H 6. 5.13	飲食店(鳥の刺身)	14	1,079,024	77,073
2	カンピロバクター	H 8. 9.12	製造食品(クリームパン)	3	207,747	69,249
3	カンピロバクター	H 9. 9.15	飲食店(地鶏定食)	8	484,826	60,603
1	病原大腸菌*	H 5. 9.25	飲食店(会席料理)	12	1,313,266	109,439
2	病原大腸菌*	H 6. 4. 4	仕出し弁当	22	752,984	34,227
3	病原大腸菌*	H 9. 3.27	病院食堂食事	44	1,329,315	30,212
1	ウエルシュ菌	H 8.12.10	仕出し料理	4	383,494	95,874
2	ウエルシュ菌	H 6. 6.16	仕出し料理(八宝菜)	44	754,162	17,140
3	ウエルシュ菌	H 8. 3. 1	旅館料理	44	666,876	15,156
1	S R S V	H 7. 2. 6	販売食品(生かき)	4	250,297	62,574
2	S R S V	H 9.12.23	飲食店(かき料理)	2	103,346	51,673
3	S R S V	H 8.12.14	飲食店(宴会料理)	20	796,500	39,825

* 腸管出血性大腸菌を除く

(1991年~1997年)

このことからSRSVによる食中毒の平均的症候はサルモネラや腸炎ビブリオ食中毒と比較すると軽いものと考えられる。また、図1に示した年別、原因物質別の1人当たり平均賠償金額は、いずれの年もサルモネラ食中毒によるものが最も高いなど、年別の集計でも各原因物質についても同様の傾向が認められる。

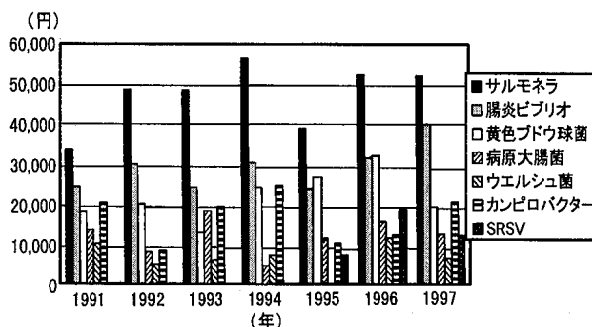
4. 考 察

1991年から1995年までの筆者らが調査した食中毒原因菌種についての1人当たり平均賠償金額の報告結果¹⁾と今回の1996年及び1997年のデータを追加・解析した結果を原因菌種別に比較したところ、前回と大きな差は認められなかった。今回の調査でもサルモネラ食中毒の1人当たり平均賠償金額が最も高かったが、この要因として、高額な治療費を要する重い症状を呈したり、治療期間が長い患者が一般的に多いことによることが考えられる。

食中毒の平均的な症候は原因物質によって特徴があり¹¹⁻¹⁷⁾、その症候の強度も原因物質により差がみられるが、今回の調査によって、このことが原因物質別の賠償金額からも確認された。1996年のサルモネラ食中毒に対する賠償金額の212,367,591円や、1996年及び1997年の腸炎ビブリオ食中毒の各賠償金額が55,000,000円以上と高額

であったことは、全国のサルモネラ及び腸炎ビブリオ食中毒がこれらの年に増加したことによる影響とその被害が大きかったことを示しているものと思われる。今回、新たに調査したSRSV食中毒に対する1人当たり平均賠償金額は15,595円であることからその平均的症候の強度はサルモネラや腸炎ビブリオによるものほど激しくないものと推定される。このことはSRSVによる食中毒では、サルモネラや腸炎ビブリオによるものと比較すると嘔吐及び下痢の平均的回数は少なく、発熱の強度も低いなど、症候の軽い事例が多いとの筆者らの報告と一致してい

図1 年別・原因物質別の患者1人当たり平均賠償金額



る²⁾。しかし、今回の調査で、SRSV食中毒はカンピロバクターや病原大腸菌による平均的な症状よりやや重いと推定されたことに注目する必要がある。

また、1事件当たり平均賠償金額については当該原因物質による症状の強度だけでなく1事件における患者数に影響される。例えば、サルモネラの1事件当たり平均賠償金額3,275,898円は、腸炎ビブリオの933,603円の約3.5倍で差が大きいのは、サルモネラの1事件当たりの患者数及び患者1人当たり平均賠償金額がそれぞれ腸炎ビブリオの2倍前後であることによるものと考えられる。

今回新たに調査した腸管出血性大腸菌の2件の賠償共済金支払い状況では、当該菌種の1人当たり平均賠償金額は57,945円と高額であった。事例数が2件と少ないので今回のデータだけでこの菌種の平均的な症状の強度を推定することはできないが、溶血性尿毒症(HUS)などの重症者への高額な治療や重症化に対する予防的治療の必要性の大きさに加えて、この疾病への不安が特に大きいなど、精神的な苦痛に対する慰謝料等によっても高額な賠償金額に及ぶことが多いものと推定される³⁾。

原因物質別の平均的な症状の強度についての調査は一般に難しいが、食品賠償共済加入施設における食中毒の被害者への賠償共済金の支払い状況について、多数の事例(支払い対象となった被害者数40,846人)を解析した今回の結果は、これらを把握するための有力な方法として参考になるものと考えられる。一方、同一原因物質による食中毒事件であっても、原因食品の汚染量や被害者の年齢の違いなどにより各事件の患者症状の強度が異なることが少なくないので、本報告については原因物質ごとの食中毒の平均的な症状を示していることを考慮の上、活用されたい。なお、これらの結果は食品営業施設におけるサルモネラ等の食中毒防止対策に要する費用の算定基礎資料としても活用できるものと思われる。今後、さらにデータを蓄積し、同一原因菌種の血清型別の症状の強度についても解析を行いたい。

謝 辞

食品営業賠償共済の情報を提供していただいた(株)日本食品衛生協会に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 阿部和男、品川邦汎：我が国における食中毒損害賠償金額からみた社会的損失額の推定 日本食品微生物学会雑誌、15(1)、p 55-60 (1998)
- 2) 阿部和男：わが国で発生したSRSVによると推定される事例の症状及び潜伏時間の解析の試み 平成10年度宮城県保健環境センター年報、p 33-36 (1999)
- 3) 阿部和男、品川邦汎：食中毒疫学データに基づく原因菌種推定の試み(1. 食中毒患者の症状及び潜伏期による推定表の作成) 日本食品微生物学会雑誌、12(3)、p 187-192(1995)
- 4) 阿部和男、品川邦汎：食中毒疫学データに基づく原因菌種推定の試み(2. 原因菌種推定表の活用・演習) 日本食品微生物学会雑誌、12(4)、p 257-260(1996)
- 5) 東京都衛生局環境衛生部食品衛生課：患者の症状より原因菌を推定する 昭和63年東京都の食中毒の概要、p 171-183(1988)
- 6) 二階堂日出伸：食中毒菌の早見表についての一考察 平成2年度全国食品衛生監視員研修会発表抄録、p 12-15、(1990)
- 7) 湯田和郎、川野みち、高橋茂人、小林妙子、木戸一博、山本仁：宮城県における下痢患者便から *Yersinia enterocolitica* の検出状況 メディヤサークル、31、p 310-313(1983)
- 8) kazuo Abe, Shikeki Yamamoto, Kunihiro Shinagawa. Estimates of Economic Impact for STEC O157:H7 Disease. Journal of Food Protection, in press.

環境情報システムとしての地理情報システムの有用性

Utility of GIS for Environmental Information System

高橋 正人 渡辺 丈夫

Masato TAKAHASHI, Takeo WATANABE

キーワード：地理情報システム、環境情報、環境行政

Key words : GIS, Environmental Information System, Policy for Environment

地理情報システムはここ数年で大きく脚光を浴びているコンピュータシステムの一形態であり、行政においても徐々にその活用が始まっている。行政における環境情報システムはパソコンの利用が盛んになった80年代から、そのふさわしい形態が検討されてきたが、豊富な機能を持つGISは環境情報システムとして必要な機能をほぼ網羅した形態であると考えられる。

1. はじめに

地理情報システム（以下GIS：Geographic Information System）は近年、コンピュータを活用した新たなシステム形態として注目されており、学術研究の場から行政における管理システムまで様々な形で活用されながら、その発展が注目を集めている。環境情報は地理情報との親和性が高く、GISを有効に活用したシステム作りは、今後のシステム整備における最重点事項ともいえる。本研究では、GISの特長を明らかにしながら、環境情報システムとしての有用性について検討を行った。

2. 結果と考察

2.1 GISの概念

2.1.1 地理情報

地理情報とは「地理的位置をキーとする情報」¹⁾のことである。具体的には緯度経度で示される地球上の一点における標高、都道府県のようにある広がりを持つもの範囲に含まれる人口など、データが位置の情報に加えて事実・事情の情報から成り立っているものをいう。したがって地理情報自体は特に新しい概念ではないが、従来はその情報が地図または図表として提示される場合が多く、コンピュータで扱う形態に整理されたものは少なかった。また、データベース化がされた地理情報はその容量が大きいことや取り扱う際には専用のソフトウェアを必要とすることから、数年前まではワークステーション等で専門の技術者が運用するに過ぎなかったが、近年ではパソコンの処理能力向上と汎用データの整備が進み、状況が大きく様変わりしつつある。

2.1.2 GISを構成するデータベース

以下のデータをキーとし、各種の属性情報が付加され

る。

①点 データ

建物位置、測定地点など。

②線 データ

道路、鉄道、河川など直線または曲線の集合体として表されるもの。

③面 データ

法令による指定地域、市町村域、国土地理院において定められた標準地域メッシュなど。

2.1.3 GISの機能

GISの持つ機能を作業の順で列記するとほぼ以下のようになる。

①地理情報入力

システム内に地理情報を入力するための機能。通常はテキストデータの取り込みを行うことが多いが、一部データの修正などシステム上でグラフィックな形で行うことも可能である。

② データベース化

入力したデータをシステム固有のデータベースとして蓄積し、システム稼働時に任意に取り出しが行える形で保存する。

③加 工

入力されたデータを元に推定値や将来予測値の算出。複数のデータによる演算、指標化など多種類の加工機能を持つ。

④解 析

さらに高度な機能として空間分析、統計解析、時系列解析が可能である。

⑤描 画

使用者の意図に応じた主題図の作成が可能である。ま

た、単一データの表示のみならず、複数のデータを重ね合わせること（オーバーレイ）も自由であり、当然ながら加工や解析結果を表示したり、図表作成機能をも併せ持つ。

2.2 GISのメリット

GISはソフトウェアの汎用化のみならず、コンピュータ処理速度の進歩、処理可能なデータ量の増加、地図データ整備、ソフト・ハードの低価格化など、諸要因が相俟ってその普及が実現しつつあるが、その機能が実際の使用においてどのようなメリットを発揮するか考察する。GISの持つ各機能を手作業で行った場合、作業自体が不可能であるか膨大な労力を費やす必要があった。作業が短時間で済むのもGISの大きなメリットであるが、GISの特質はむしろ優れた空間分析能力、多彩な表示機能に代表されるといってよい。これらに関する例を以下に列挙する。

①地図作成の簡易化

地理情報の表示はGISの性質上当然の機能ではあるが、従来、地図の作成はグラフや表と違ってデータ収集、企画、作成の各工程が相当程度の労力を必要とし、印刷物の作成など作業の一部は業者委託により行うのが通例であった。GISにおいてデータ整備が完了していれば、同様の作業を容易かつ短時間で実行することが可能である。

②自由なグラフィック表示

パラメータ設定の自由度が高いことから、ランク分けの設定、色分け、オーバーレイが任意に行え、拡大縮小も自在であることはコンピュータ上でデータを扱うことによる大きなメリットであり、他の手法では困難なものである。

③数値的情報と概況の同時理解

表は実数の把握には最適であるが、傾向や比較がしにくく、グラフは表と逆の性質を持つ。地図は図表の理解をさらに助けるが作成が困難であった。GISにおいてこれらの全てを作成するのはさほど難しいことではなく、それによって数値的情報と概況の同時理解が可能となる。（図1）

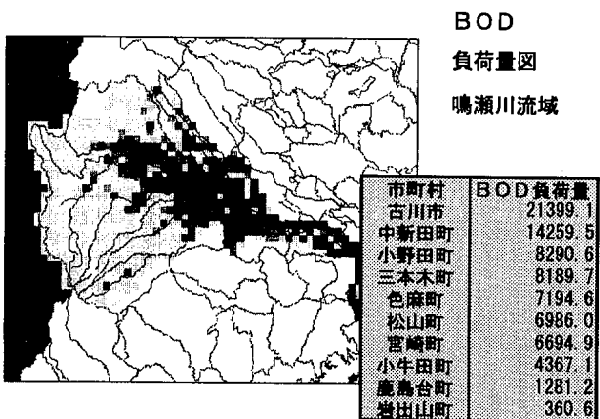


図1 地図と数表の同時表示

④データ集計

市町村別集計値など、データに関して任意範囲の集計が可能。データは元データを加工したり、データ間の演算も自由である。結果は地図として表すほか、グラフや表の同時描画も可能である（図2）。

⑤時系列分析

伸び率の算出、将来予測、経年変化地図の作成や図表化も容易である。

⑥統計解析

平均値算出のような単純なものから多変量解析まで様々な統計解析が可能である。

⑦空間分析

県域の概況把握、地域間の比較ができるほか、特定範囲を切り出し、当該範囲の持つ属性だけに絞った集計、解析、表示が可能である（図3）。これは近隣分析と呼ばれ、廃棄物最終処分場から5km範囲であるとか、ある河川の両岸1kmの範囲のように特定範囲の設定も自由である。

2.3 GISの環境行政における活用の可能性

(1) 行政資料作成

- ①図表地図の総合化による直感的な理解と数量把握を両立
- ②従来手法では作成不可能な内容の表示

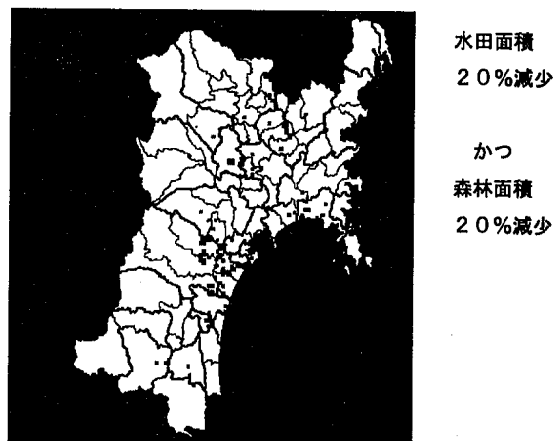


図2 データ間演算機能

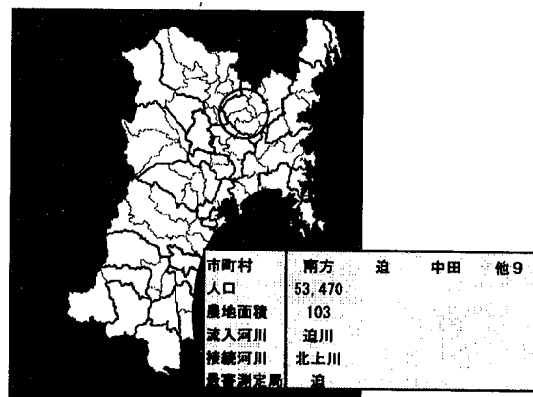


図3 空間分析機能

③パラメータ変更の自在化

という利点により状況の多面的な把握が可能になり、行政が意志決定を行う際の判断材料を豊富に提供することとなる。特に図表・地図の総合化は表による断片的な把握や図や地図による概略的な把握という欠点を克服するものである。

また、県民への情報提供も行政の大きな役割であるが、提供資料内容の拡大や資料作成の簡易化、さらに予算の低廉化というメリットも少なくない。

(2) 意志決定支援

行政が扱う情報にはコンピュータによるデータ管理の必要がないものもあるが、コンピュータのデータ処理能力によって作業の効率化につながるケースは多い。またGISは効率化のみならず、従来システムの成しえなかった意志決定システムという役割も果たすことができる。特に重要な行政課題や規模の大きなプロジェクトなど1部局での専決事項となりえないものは、関係部局への説明と意見照会等が不可欠であり、データを収集し、重ね合わせ表示や解析を行い、各種資料を作成し、複数の人間で協議ができ、最終的には政策に反映していくシステムの整備は必要であり、その支援ツールとしてはGISが不可欠である。これは多様な資料作成機能に止まらず、空間分析機能を最大限に活用することによって福祉施設やごみ焼却場の最適立地場所を決定する際に、単に感覚的な議論に終始することなく、数量的な根拠を示しながら協議が出来るという点において、行政内部に限らず、住民が意志決定に関与する場合にも効力を発揮するものと予想される。

(3) データの一元管理

行政で作成されたデータは従来、図面として保管されただけの情報もあれば、パソコンで使用できるデータベースとして管理されたものもある。しかし、これらをまとめて蓄えているシステムはなく、担当課がそれぞれにデータを保持している状態である。そのため将来必要な場合に適切な形で取り出せるかあるいは内部外部へ速やかに情報提供できるかは疑問である。そもそも県の行政においては、県土の保全という言葉にも如実に表れているとおり、地理に付随しない情報の方が少なく、これは環境行政においても同様である。

GISは従来体系的に保持されることのなかった(あるいは非意図的に廃棄された)データを1つのシステム内に持つことができるもので、その活用は限定的なものではなく、業務遂行の基礎としての意味を持つものである。

また、GIS上で作成されたデータの組織間の相互活用は、近い将来的その制度が整えられていくものと思われる。

2.4 GIS機能の環境情報システムとしての有用性

(1) 基本計画遂行支援

大気汚染・水質汚濁など環境に関連するデータは全県的な概況はもちろん、地域の個別状況を把握した上で

①概況の把握(年次推移、地域間の比較など)

②基準値の達成状況

③汚染原因の特定

④改善策の検討

等の作業が行われるべきものであり、対象となるデータは通常、地理的な情報と密接な関連性を有している。これらの作業は従来個別に図表や地図を作成しており、その労力も軽易なものではなかった。GISの特長を生かし、現況把握や各種の分析がシステム上で簡易に、かつ、意志決定からデータの保存・蓄積まで同一のシステムで行うことができるのであれば、資料作成の簡易化のみならず、問題点の抽出、政策決定内容の深化が図れることは容易に予想される。多様な主題図の作成により、従来個別に検討された問題が総合的な見地から評価される意義も少なくない。

また、県環境基本計画は環境に関するデータを組み合わせた指標値を算出するところに特徴があり、原データの種類も多く、指標値算出、各種解析、資料作成等でGIS活用の適性は高い。

(2) 環境情報提供機能強化

行政内での資料に限らず、住民への情報提供ということも、環境問題に対する意識が向上している昨今においては重要な点であり、GISの機能を生かして多種多様な資料作成が可能である。また、環境に関する行政資料として代表的なものに環境白書があるが、掲載資料の質・量とも充実が図れる。さらにコンピュータ上のデータはインターネットへの連動もスムーズとなる。

(3) 総括

環境情報システムの形態は大型コンピュータの時代から検討され、時代に応じて変遷してきたが、そこにおいて必要とされる機能は大まかにいって以下の通りである²⁾。

①データベース機能

②統計解析機能

③予測評価機能

④データ表示機能

⑤ネットワーク機能

従来はこれらの機能を実現させるため、各主体が独自に専用のプログラムを開発してきた経緯があり、その費用も数千万円に達するケースも少なくなかった。しかし、GISはこれらを機能を全てを併せ持つものであり、その上、主要な機能がシステムに標準で用意されるのは特筆すべきである。以上のことを考えるとGISは環境情報システム整備の重点であるものと位置付けてよい。

参考文献

- 1) 中村和郎他：地理情報システムを学ぶ、古今書院
- 2) 武内和彦他：環境資源と情報システム、古今書院

A型インフルエンザ迅速診断法の検討 (第2報)

Comparison of Directigen FluA with Viral Isolation
for Detection of Influenza A Virus後藤 郁男 沖村 容子 秋山 和夫*¹
野呂 知世*² 白石 廣行 堺 春美*³Ikuo GOTO, Youko OKIMURA, Kazuo AKIYAMA
Tomoyo NORO, Hiroyuki SHIRAIISHI, Harumi KUNO-SAKAIキーワード：インフルエンザA、迅速診断、ダイレクティジェンFluA、
検出感度、特異性

Key Words : InfluenzaA, Rapid Diagnosis, Directigen FluA, Sensitivity, Specificity

ダイレクティジェンFluA (抗原検出キット) の検出感度と特異性をウイルス分離培養法と比較検討した。材料は保健環境センターに搬入された165件の依頼検体 (咽頭拭い液) を用いた。ウイルス分離培養法では、Aソ連型が45件、A香港型が29件分離され、ウイルス分離に要した時間は平均5日であった。一方、ウイルス分離培養法に比較して、抗原検出キットの検出感度は54.1%、特異性は98.9%であった。検出感度が低い原因として、検体の希釈や検体採取法等が考えられた。抗原検出キットは、検出感度に問題があるものの、判定に要する時間が20分程度と非常に短時間であるため、ハイリスク患者を多く抱える老人保健施設等でのかぜの集団発生時などでは時間的メリットから非常に有用であることが示された。

1. はじめに

インフルエンザは短期間に多くの人々が罹患し、爆発的に流行が拡大するため単なる健康被害に留まらず、社会的・経済的影響も大きい。さらにインフルエンザはハイリスクグループの死亡原因の一つとして^{1,2)}、また乳幼児の突発的な脳炎・脳症の一因とされる^{3,4)} ことから、インフルエンザの流行は深刻な事態を引き起こす。従って、インフルエンザの迅速かつ正確な診断はその流行拡大防止策の一つとして重要である。

本邦において体外診断用医薬品として認可されたインフルエンザA型抗原検出キット (ダイレクティジェンFluA、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) は特異性が高くまた操作が簡便⁵⁻⁸⁾ なことから1999/2000シーズンの流行時に臨床の現場を中心に多く使用された。当センターにおいても、抗原検出キットを使用して陽性であった患者検体の精査依頼があり、その普及の様子がうかがわれた。

著者らは地方衛生研究所における抗原検出キットの使用を想定して、フリーの分離ウイルスを用いた基礎的検討を行い、4℃で72時間保存した検査材料であっても、検出限界以上のウイルス量があれば抗原検出キットによって抗原検出が可能であることを報告した⁹⁾。そこで今回、抗原検出キットの有用性についてさらに検討する

ため、感染症発生動向調査、感染症流行予測事業及び調査研究用として当センターに搬入された検体 (依頼検体) について、抗原検出キット法とウイルス分離培養法の比較を行ったので報告する。

2. 材料と方法

2.1 検体採取法

1999年10月から2000年3月までにかぜ様患者より咽頭拭い液 (0.5%ゼラチン・0.2%BSA添加MEM培地、5ml) を採取し、使用時まで4℃で保存して検査材料とした。材料の一部を抗原検出キットに供し、他はウイルス分離培養に用いた。

2.2 ウイルスの分離・同定

インフルエンザウイルスの分離はMDCK細胞を用いたマイクロプレート法で行った。2代まで継代培養して細胞変性効果 (CPE) の認められた培養上清について、国立感染症研究所より分与されたフェレット抗血清を用いた赤血球凝集抑制試験で同定を行った。

また、MDCK細胞でCPEが観察されなかった一部の検体については、Vero細胞・RD-18S細胞・HEp-2細胞・LLC-MK2細胞を使用したマイクロプレート法でインフルエンザウイルス以外のエンテロウイルスやアデノウイルス等の分離を行った。

2.3 抗原検出キットを用いた判定

添付のプロトコールに従い、遠心処理前の咽頭ぬぐい

*1 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所

*2 光ヶ丘スベルマン病院 *3 東海大学医学部

液 125 μ l を抗原検出キットに供した。搬入当日に検査が困難な場合は4℃に保存し、48時間以内に検査を行った。判定は、キット本体のナイロン膜上に紫色の三角形が少しでも確認できた検体を陽性、全く確認できない検体を陰性とした。

2.4 PCRによるインフルエンザウイルス遺伝子検出

咽頭ぬぐい液からのRNA抽出はISOGEN-LS（日本ジーン）を使用し、RT-PCRは高尾らの方法^{10）}により行った。

3. 結 果

3.1 依頼検体数及び検体保存日数

抗原検出キットとウイルス分離培養法の比較検討を165例で行った。検体保存日数は、採取当日に検査を開始した検体は94例で最も多く、次いで、採取1日目が38例、2日目が19例、3日目が10例、4日目が3例で1例が検査開始まで5日を経ていた。

3.2 ウイルスの分離・同定

散発発生で採取した135例からAソ連型38株とA香港型20株が分離された。また、学校や老人保健施設等での集団発生から採取した検体は合計30例で、Aソ連型7株とA香港型9株が分離された（表1）。なお、ウイルスの分離・同定に要した日数は最短2日、最長14日で平均4.9日であった。

一方、インフルエンザウイルス以外にコクサッキーウイルスB4型1株、エコーウイルス9型1株、17型2株及びアデノウイルス（型別未同定）2株が分離された。

表1 インフルエンザウイルス分離数

検体の由来	検体数	インフルエンザウイルス分離		
		陽 性		陰 性
		Aソ連型	A香港型	
散 発 例	135	38	20	77
集団発生例				
小 学 校	15	7	0	8
老人保健施設	5	0	3	2
開 業 医 院	10	0	6	4
合 計	165	45	29	91

3.3 抗原検出キットによる判定

抗原検出キットで陽性となった検体は散発例で135例中33例、集団発生においては30例中8例であった（表2）。

表2 迅速診断キットによる判定結果

検体の由来	検体数	迅速診断キット	
		陽 性	陰 性
散 発 例	135	33	102
集団発生例			
小 学 校	15	2	13
老人保健施設	5	2	3
開 業 医 院	10	4	6
合 計	165	41	124

一方、インフルエンザウイルス以外のウイルスが分離された検体は抗原検出キットで全て陰性であった。

3.4 抗原検出キットとウイルス分離培養の比較及びPCRによるウイルス遺伝子検出

165例の検体のうちA型インフルエンザウイルス分離陽性は74例、抗原検出キット陽性は41例で共に陽性で一致した検体は40例であり検出感度は54.1%（40/74）であった。一方、ウイルス分離陰性は91例、抗原検出キット陰性は124例で共に陰性で一致した検体は90例で特異性は98.9%（90/91）であった。（表3）。

表3 迅速診断キットの検出感度と特異性

ウイルス分離 (件数)	迅速診断キット		検出感度	特異性
	陽 性	陰 性		
陽 性(74)	40	34	54.1%	—
陰 性(91)	1	90	—	98.9%

また、抗原検出キット陽性で、ウイルス分離が陰性であった検体（1例）について、咽頭拭い液よりRNAを抽出しRT-PCRによるインフルエンザウイルスHA遺伝子の検出を行ったが陰性であった。

3.5 検体採取医療機関による比較

検体採取を行った医療機関のうち、2医療機関の検体における抗原検出キットの検出感度及び特異性を表4に示した。特異性は両医療機関とも100%であったが、検出感度は33.3%（3/9）ならびに57.1%（4/7）であった。なお、医療機関での検体採取時期はA医療機関が1999年11月16日～2000年2月4日、B医療機関が1999年11月26日～2000年2月7日で、患者の発症から検体採取までの平均日数はA医療機関が1.5日、B医療機関が2.9日であった。さらに検体採取から検査開始までの平均日数はA医療機関が2.0日、B医療機関が1.6日であった。

4. 考 察

臨床の現場における抗原検出キットの有用性については多くの報告があり、特に鼻腔洗浄液を検体とした場合は高い感度と特異性が得られるとされている^{5,7,8)}。しかし、地方衛生研究所において感染症発生動向調査などの事業で採取される検査材料は、一般的に協力医療機関等によって採取された後、連絡を受けた所轄保健所によって搬入されるケースが多く、採取の日時や交通事情により検体搬入に時間を要する場合がある。そこで今回、臨床の現場とは状況が異なる依頼検体について抗原検出キットの有用性を検討したところ、特異性はウイルス分離培養法と比較して98.9%で依頼検体においても臨床検体と同様に高い特異性が得られた。また今回インフルエンザウイルス以外のウイルスとの交差反応は認められず、抗原検出キットはA型インフルエンザウイルス以外の呼吸器系ウイルスと交差反応が無いことが報告⁷⁾されている。

表4 医療機関別にみた迅速診断キットの検出感度と特異性

医療機関 (検体数)	ウイルス分離 (件数)	迅速診断キット		検出感度	特異性
		陽性	陰性		
A 医療機関 (15)	陽性 (9)	4	6	33.3%	—
	陰性 (6)	0	6	—	100%
B 医療機関 (17)	陽性 (7)	4	3	57.1%	—
	陰性 (10)	0	10	—	100%

ることから、依頼検体においても抗原検出キット陽性例の信頼性は高いものと思われた。しかし、抗原検出キット陽性にもかかわらずウイルス分離陰性であった検体（1例）についてはRT-PCRでもインフルエンザ遺伝子は検出できず、抗原検出キット陽性となった理由は不明である。

一方、検出感度はウイルス分離培養法と比較して54.1%で、臨床の現場でのこれまでの報告^{7,8)}よりも低い結果となった。この原因として第1に、今回使用した保存培地はウイルス分離培養用に調整したもので容量が5mlと抗原検出キットのメーカーが推奨している1~2mlに比べて多く、抗原検出キットに供した材料に含まれるウイルス量が検出限界以下に希釈されたことが考えられた。実際抗原検出キットで陽性と判定した多くが、紫色の三角形と共にコントロールマークも確認できる弱陽性例であったことから、抗原検出キットに供した材料中のウイルス量が少なかったと推察される。第2に、今回医療機関によって検出感度に差が認められたが、比較を行った2医療機関は明らかにインフルエンザの流行が認められた地域にあり、検体採取期間ならびに患者の発症日から検体採取までの日数、さらに検体採取から検査開始まで要した時間には大きな違いが認められなかったことから、医療機関における咽頭ぬぐい液の採取方法が検出感度に影響するものと推察された。これらのことから、依頼検体については検出感度の向上を図るために、少容量の専用保存輸送培地の調整や検体採取法に留意する必要があると考えられた。

しかしながら、インフルエンザウイルスを検出するのに要した時間は、ウイルス分離培養法が平均5日であったのに対し、抗原検出キットは20分程度と短時間であることから、ウイルス分離培養法に比較して抗原検出キットの有用性は極めて高いと言える。

以上のことから、咽頭拭い液を依頼検体とした場合には検出感度に検討の余地があるものの、診断までの時間的なメリットから抗原検出キットは有用性が高いと考えられる。特にハイリスク患者を多く抱える老人保健施設等の集団発生例では、速やかに検査結果が得られることから、地方衛生研究所における積極的な導入も検討すべきと思われる。

1999/2000シーズンには、今回検討した抗原検出キットに加え、B型インフルエンザウイルスも検出可能なキットが発売され検討報告^{11,12)}もあることから、今後インフル

エンザウイルス抗原検出法の一つとして、これらキットがさらに普及すると予想される。このような新しい抗原検出方法の有用性に関する検討が、インフルエンザの早期診断や早期治療さらに流行拡大阻止につながることを期待したい。

5. ま と め

- 1) インフルエンザ抗原検出キットはウイルス分離培養法に比較して特異性は高いものの検出感度は低い傾向がみられ、検体の採取方法等が原因と考えられた。
- 2) ウイルス分離は平均5日を要したのに対し、抗原検出キットの判定時間は20分程度とごく短時間であるため老人保健施設など対処に緊急性を要する集団発生時には抗原検出キットの有用性は高いと考えられた。

6. 謝 辞

検体採取にご協力をいただいた下記の医療機関に深謝いたします。

仙南クリニック、ほそや小児科、塩釜市立病院、八木小児科医院、北川小児科医院、松浦小児科医院、佐々木小児科医院、古川市立病院

参 考 文 献

- 1) 稲松孝思：総合臨床、47(1)、103-106、(1998)
- 2) 加地正郎他：臨床とウイルス、27(5)、406-412、(1999)
- 3) Fujimoto S., et al：Lancet、352(12)、873-75、(1998)
- 4) 三浦大他：感染症誌、72(8)、840-844、(1988)
- 5) Wanner JL., et al：J Clin Microbiol、29(3)、479-482、(1991)
- 6) Atmar RL., et al：J Clin Microbiol、34(10)、2604-2606、(1996)
- 7) 清水英明他：感染症誌、72(8)、827-833、(1998)
- 8) 三田村敬子他：感染症誌、72(9)、883-889、(1998)
- 9) 後藤郁男他：臨床とウイルス、27(3)、173-176、(1999)
- 10) 高尾信一他：広島県保健環境センター研究報告、2、9-13、(1994)
- 11) 渡邊寿美他：感染症誌、73(12)、1199-1204、(1999)
- 12) 安倍隆他：医学と薬学、42(4)、635-639、(1999)

宮城県における19才以下女子の風疹抗体保有状況

Distribution of Rubella HI antibodies under 19years old female
in Miyagi Prefecture

沖村 容子 野池 道子 後藤 郁男
秋山 和夫* 白石 廣行

Youko OKIMURA, Michiko NOIKE, Ikuo GOTO
Kazuo AKIYAMA, Hiroyuki SHIRAIISHI

キーワード：風疹ウイルス、赤血球凝集抑制試験、抗体保有率

Key Words : Rubella Virus, Hemagglutination inhibition (HI) Test
HI Antibody Positive Rates

1994年の予防接種法改正以降、個別接種による全体の接種率の低下と、それに伴う中学生女子の抗体保有率の低下が社会問題となっている。そこで、過去15年間の風疹流行予測調査結果から19才以下女子の抗体保有状況について調査した。その結果、ワクチン接種を経験した15才以上では抗体保有率が90~100%で、ワクチンの効果は明らかであった。0~9才のワクチン未接種者では、地域によって保有率に差は認められるものの自然感染によって抗体を獲得していたが、9才以上では大流行がない限り自然感染の機会は少ないと推測された。今後、年少児の抗体保有率は上昇すると考えられることから、流行は散発的、地域的発生に止まる可能性が大きく、小学生高学年以上での抗体陰性者はそのまま成人となることが予想され、各自の認識が重要と考えられる。

1. はじめに

風疹は小児期に罹患すると比較的軽症のウイルス性疾患であるが、妊娠初期に感染した場合は、高率に胎児が難聴、白内障、心奇形等を主症状とする先天性風疹症候群(CRS)を起こすことが知られている。このCRSを防止するため、わが国では、1976年から風疹ワクチンが12~15才の中学生女子を対象に定期の集団接種で実施され、これにより15才以上の女子では80~90%の抗体保有率を維持してきた¹⁾²⁾³⁾。その後1988年~92年の5年間はMMRワクチンとして実施され、更に1994年の予防接種法改正により、流行自体を防止する目的で12~90ヶ月の男女年少児を対象にした定期の勧奨、個別接種へと接種法が変更されている。なお、男女中学生には暫定的に2003年までワクチン接種を実施することになっている。しかし、接種方法が自治体によっては個別接種で行なわれているため、接種率の低下が指摘され⁴⁾、また、中学生への接種は暫定的な経過措置で、将来、抗体陰性者の増加に伴うCRS患児の発生が予想され社会問題となっている。これまで我々は、厚生省風疹流行予測調査によりワクチンの効果を調査してきたが、今回は特に19才以下女子の抗体保有状況について報告する。

2. 材料および方法

1985年~1999年までに県内で、厚生省風疹流行予測調査を実施した13地域を図1に示した。調査を実施する際は担当課である健康対策課、各保健所と協議し、保育所、小、中、高校及び事業所の協力を得て健康人から検体を採取した。各年令群の件数を満たすために都市近郊部を対象としているが、県全体からバランスよく選定した。

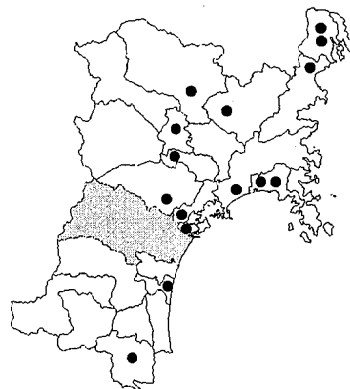


図1 風疹流行予測調査地域

また、各年令群とも25名を目標に採血しているが、年度、年令群によって若干の差がある。今回は表1に示すように0~19才の女子、1,452名を解析対象とした。

* 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所

表1 年度別・年齢群別検査件数 (1,452名)

年齢群	0~4	5~9	10~14	15~19	計
1985年度	0	29	34	49	112
1986	20	22	64	30	136
1987	25	24	26	26	101
1988	11	34	24	28	97
1989	4	18	51	25	98
1990	22	37	30	28	117
1991	7	37	27	28	99
1992	15	28	22	36	101
1993	9	41	25	23	98
1994	23	16	39	29	107
1995	9	34	22	24	89
1996	8	31	36	25	100
1997	15	16	16	14	61
1998	6	15	17	0	38
1999	28	23	26	21	98

風疹HI抗体価は流行予測調査術式に従い、図2に示すように赤血球凝集抑制(HI)試験で測定した。4倍希釈血清をカオリン及びガチョウ赤血球で処理後、その上清を8倍から512倍まで段階希釈した。次に4単位に調整した風疹ウイルスHA抗原を加え60分、室温に放置した。その後ガチョウ赤血球を加え4℃で60分静置後、室温にもどし判定した。HI抗体価8倍以上を陽性とした。

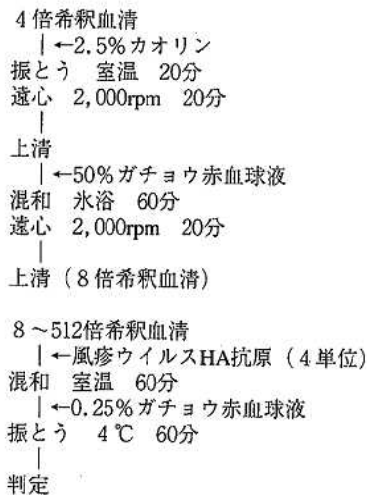


図2 HI抗体価測定法

3. 結果

3.1 風疹患者数の推移

感染症発生動向調査に基づく定点報告による風疹患者数の推移を、1981年より全国と宮城県とに分けて図3に示した⁴⁾。全国では1982年、87年、91~92年とほぼ5年

おきに流行が繰り返えされている。しかし、91~92年の流行は小規模に止まり、94年以降は目立った流行は報告されていない。宮城県でも全国の推移とほとんど同じ傾向が認められるが、91~92年の流行時には全国に先がけて流行が認められ、地域差を示していた。

3.2 各年齢群の抗体保有率

0~4才の年度別抗体保有率を図4に示した。1988年以前はワクチン接種対象者が12~15才の中学生女子であり、0~4才群の抗体陽性者は自然感染によって抗体を獲得したと推測される。1982年の大規模流行が終息した86年の保有率は0%であったのに対し、87年の流行の際には54.2%に上昇した。このように抗体獲得が自然感染に依存していた場合は、年度・地域により保有率に差が認められた。その後、MMRワクチンの実施により保有率0%の年度はなくなり、92年の流行時には自然感染に加えワクチンによる抗体獲得もあり、60.0%の抗体保有率になったと考えられる。93年にMMRは中止されたが、94年からは年少児へのワクチン接種が実施され、保有率は50~60%を維持している。特に98年は対象者全員がワクチン接種を受けており100%となった。

5~9才群の年度別抗体保有率を図5に示した。この年齢群は1~2回の流行を経験している対象者が多く、前群に比べて保有率は高く50~60%を示した。また、92年には流行の影響を受けて82.1%と高い保有率が認められた。

10~14才群の年度別抗体保有率を図6に示した。この年齢群も過去に3~5年毎の流行による抗原刺激を受けているため、更に保有率は高くなる傾向があるものの年度によっては差が認められた。特に1985、91、92、95年は対象者に一部、12~15才でのワクチン接種者を含むため保有率は高く80%以上であった。また、88年の保有率91.7%は自然感染によるものであるが、これには82年と87年の大規模流行が影響していると考えられた。このように、10~14才群は種々の要因により、1993年の48.0%から1988年の91.7%まで保有率に地域差があった。

15~19才群の年度別抗体保有率を図7に示した。この年齢群は流行に加えて12~15才を対象とした定期接種を経験しており、各年度ともに90~100%の保有率で地域差も認められず、ワクチンによる効果が十分得られていると考えられた。

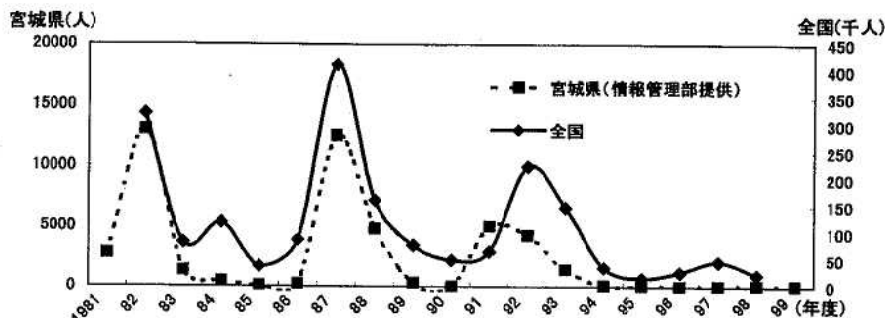


図3 風疹患者数の推移

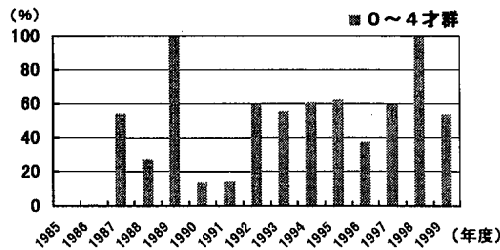


図4 年度別抗体保有率

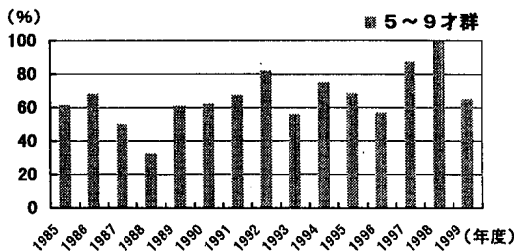


図5 年度別抗体保有率

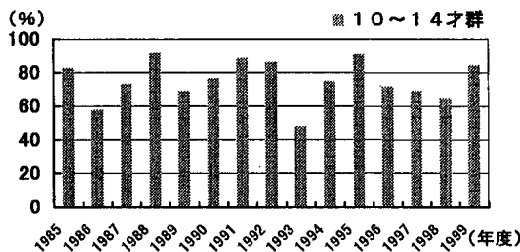


図6 年度別抗体保有率

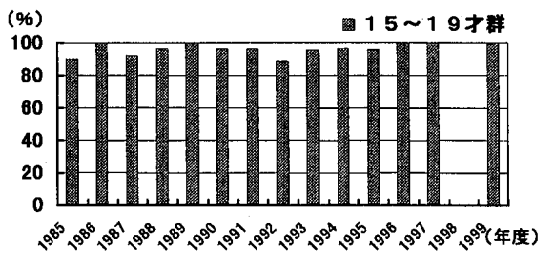


図7 年度別抗体保有率

3.3 同地区の年度別抗体保有率の比較

調査対象は異なるが、1991年と1996年の2回実施したK地域の抗体保有率を比較し図8に示した。この間に図3に示すように宮城県においても小規模な流行が報告されている。91年における0～4才群は、自然感染により抗体を獲得し14.3%の保有率であった。この年齢群の5年経過後には5～9才になっており、その保有率は57.1%に上昇した。このうち32.1%が自然感染による抗体獲得であった。これに対して、前群と同様に自然感染による抗体獲得と考えられる91年の5～9才群の保有率は67.6%であったが、5年経過後でも65.7%と変動は少なかった。なお、96年の5～9才群では21.4%が、10～14才群でも5.7%がワクチン接種により抗体を獲得していた。

同じく1995年と1999年に調査を実施したI地域の抗体保有率について図9に示した。1994年には予防接種法の改正があり、また95～99年の4年間に流行は報告されていないが、自然感染による保有率を検討した。95年の0～4才群の保有率では12.5%が自然感染によるものであったが、4年経過後の99年の5～9才群でも13.0%と変動はなかった。また、95年の5～9才群での自然感染は40.0%、4年経過後の99年の10～14才群では47.7%と数%の上昇に止まった。これに対して、ワクチン接種による保有率は、1995年の0～4才群では37.5%、5～9才群では28.6%であり、一方、99年の5～9才群では52.1%、10～14才群でも36.9%と抗体保有者の大部分を占めていた。

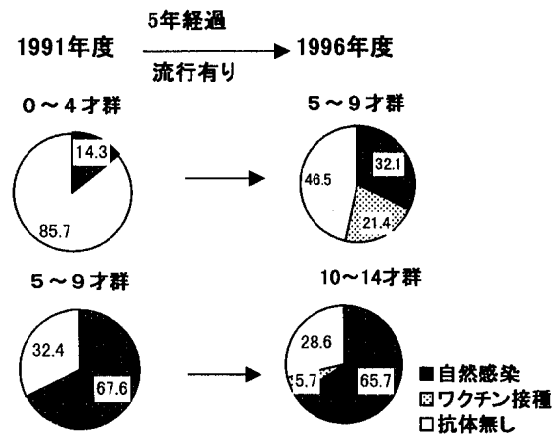


図8 K地域の抗体保有状況

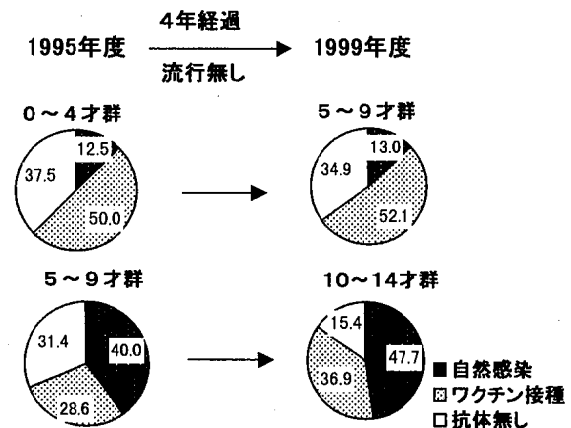


図9 I地域の抗体保有状況

3.4 抗体保有者に占めるワクチン接種者の割合

1990～99年の0～4才群、5～9才群について抗体保有者に占めるワクチン接種者の割合を図10、11に示した。0～4才群では90～93年の抗体保有者の全てが自然感染者であったが、94年以降はワクチン接種者が増える傾向となり、97年からは全員がワクチン接種による抗体保有者であった。一方、5～9才群は0～4才群と同じく93年までは全て自然感染者であったが、94年はワクチン接

種者が50%を占めた。その後、接種者が徐々に増え99年には約80%を占めるようになった。

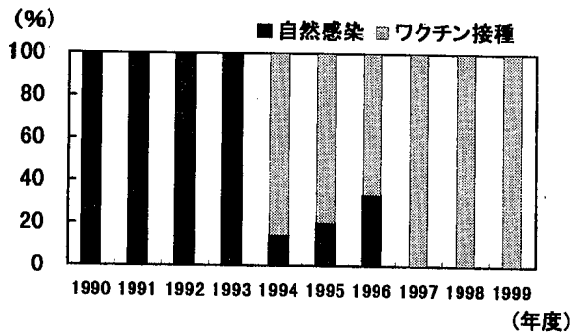


図10 抗体保有者に占めるワクチン接種者の割合 (0～4才群)

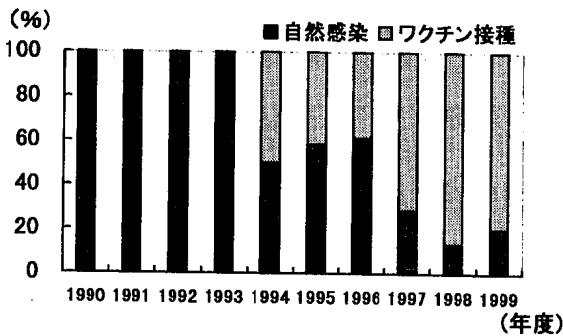


図11 抗体保有者に占めるワクチン接種者の割合 (5～9才群)

4. 考 察

1985年～99年の15年間の年齢群別の抗体保有率をみると、0～4才群では1991年まで対象者にワクチン接種者が含まれていないので、すべて自然感染により抗体を獲得していた。このように保有率が自然感染に依存している場合は、風疹流行の特徴を反映し年度・地域差が顕著であった。その後、年少児へのワクチン接種が実施され、保有率0%の年度はなくなり、その値も高くなる傾向が認められた。また、5～9才群、10～14才群では、2～3回の流行を経験し、複数の抗原刺激を受ける機会があったことや年度によってワクチン接種者が対象となったことなどの要因により年度・地域差が認められた。一方、ワクチン接種を経験した15～19才群では90～100%の抗体保有率で年度・地域差も認められず、ワクチンの効果は十分であると考えられた。しかし、12～15才でのワクチン接種が集団で実施されていた時でも、年度によっては10%程度の抗体陰性者が存在した。この10%は大規模な流行でもない限り自然感染を受ける機会ほとんど無く、そのまま成人となり妊娠中に風疹に感染する危険性は残されており注意が必要である。

また、2回の調査の間に小規模な流行のあったK地域の保有率を検討すると、0～4才群は、流行を経験した5年後には自然感染により20%程度の抗体を獲得してい

た。このことから、風疹流行の中心となる9才以下では、小規模な流行でも抗体を獲得する機会があることを示していた。しかし、5～9才群の場合はすでに60%代の抗体保有率であり、5年後でも保有率が変動しなかったことから小学生高学年では自然感染を受ける機会は少ないと推測された。

一方、流行の無かったI地域の場合は、5～9才群のみならず0～4才群でも自然感染による保有率の上昇は認められず、抗体獲得はワクチン接種に依存せざるを得ないことを示していた。

つぎに、94年から実施された年少児へのワクチン接種の影響については、94年以降の調査において、抗体保有者の80～100%がワクチン接種により抗体を獲得していた結果からも明らかであった。以上の調査成績から、風疹流行の中心となる年少児の抗体保有率は確実に上昇すると予測された。更に、県内で94年以降6年間、風疹の流行が発生していないことから明らかなように、今後は散発的ないしは地域的発生に止まる可能性が大きいと考えられる。このため小学生高学年のみならず0～4才群の40%程度の抗体陰性者も、自然感染により抗体を獲得する機会は少なくなると推測される。更に、2003年まで暫定的に実施されている12～15才でのワクチン接種が終了すれば、その恩恵を受けることなく、抗体陰性のまま成人となることが予想されCRS患児発生が危惧されるため、これら対象者への対策が必要と考えられる。

5. ま と め

- 1) 12～15才でのワクチン接種を経験した15～19才群では、抗体保有率が90～100%でワクチンの効果は明らかであった。
- 2) 自然感染による抗体獲得の場合は、保有率に地域差が認められた。特に、小学生高学年以上では、大規模な流行がない限り自然感染の機会は少ないと推測された。
- 3) 1994年の予防接種法の改正により、年少児の保有率は上昇すると予測され、流行は散発的、地域的な発生に止まる可能性が大きい。従って、年少児へのワクチン接種が終了した時点での抗体陰性者は、暫定的に実施されている12～15才でのワクチン接種を受けない限りそのまま成人となることが予想される。

参 考 文 献

- 1) 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課・国立感染症研究所感染症情報センター：平成8年度伝染病流行予測調査報告書、81～100(1998)
- 2) 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課・国立感染症研究所感染症情報センター：平成9年度伝染病流行予測調査報告書、63～82(2000)
- 3) 秋山和夫他：宮城県保健環境センター年報9、137(1990)
- 4) 病原微生物検出情報、21、1、1～7(1999)

過去4年間におけるかき及び環境水中のSRSV検出状況

Detection of Small Round Structured Viruses (SRSV) in Oyster, river and sea for past 4 years

秋山 和夫* 野池 道子 佐々木 美江
山口 友美 有田 富和 後藤 郁男
佐藤 千鶴子 畠山 敬 沖村 容子
斎藤 紀行 白石 廣行

Kazuo AKIYAMA, Michiko NOIKE, Mie SASAKI
Yumi YAMAGUCHI, Tomikazu ARITA, Ikuo GOTO
Chizuko SATO, Takashi HATAKEYAMA, Youko OKIMURA
Noriyuki SAITO, Hiroyuki SHIRAIISHI

キーワード：SRSV、かき、環境水、非細菌性胃腸炎、RT-PCR法

Key Words : SRSV, Oyster, River and Sea, Nonbacterial Gastroenteritis, RT-PCR

非細菌性胃腸炎の起因ウイルスとして知られているSRSVのかき及び環境水中での挙動を過去4年間調査した結果、かきからは海水温が15℃以下になる11月頃から検出され、検出率は1月に最も高くなることが確認された。一方環境水中からは、年度により検出状況は異なるが、かきと同様に1月以降高くなる傾向が認められた。

1. はじめに

1972年にKapikian¹⁾らは小学校において集団発生した非細菌性胃腸炎患者から新しいウイルスを発見、Norwalk Virusと命名し報告した。その後多数の類似ウイルスが発見され、その電子顕微鏡学的形態からSRSV (Small Round Structured Virus) と呼ばれてきた。SRSVは、主にかきなどの二枚貝中に存在していることが遺伝子検査法の進展で明らかになった。一方、これまで冬期に発生していた下痢・嘔吐・発熱を主症状とする原因不明食中毒の大半が、かきをはじめとする二枚貝を喫食しSRSVにより発症することが明らかになった²⁾。このような状況の中で、1997年から食品衛生法上SRSVは食中毒の病因物質として位置づけられた。

本県においては1995年にはじめて、生かき喫食による食中毒事例の病因物質がSRSVであったことを、RT-PCR法および電子顕微鏡による検索で明らかにして³⁾以来、いくつかの事例が発生している。SRSVは遺伝子が多型であることや多くの病原ウイルスと異なり細胞培養系が確立されていないため、感染症としての自然界での侵淫状況をはじめ、感染経路・発症メカニズム・感染免疫など未だ不明な点が多い。

今回我々は、かきのウイルス汚染状況及び環境中におけるウイルスの挙動を解明するため、4年間にわたり県内

* 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所

で養殖されたかき及び海水・河川水からRT-PCR法を用いSRSV遺伝子の検出を行った。併せて、遺伝子検査方法について検討を加えたので報告する。

2. 材料(表1)

表1に年度別、月別、材料別の検査件数を示した。かきは県内の養殖海域より水揚げ後むき身にし、保冷してセンターに搬入した。1996~99年度までの4年間にわたり、毎年8月から3月まで毎月採取し、合計163件のかきについてSRSVの検索を行った。また、海水は養殖海域の表層から、河川水については養殖海域に流出する河口付近の表層から、滅菌ポリバックに約20ℓ採水し、海水113件・河川水47件についてSRSVの検索を行った。さらに、一部のかき・海水・河川水については、環境水中の微生物汚染の指標として用いられている大腸菌・大腸菌群・一般細菌数・糞便性大腸菌群も併せて検査しSRSV汚染との関連を調査した。

3. 方 法

3.1 かきの前処理法(図1)

かきは滅菌済み解剖用ピンセットとハサミを用いて、外套膜や中腸腺の周囲に結合している脂質部分を除き中腸腺を取り出し、以下の3種の前処理法により得られた試料についてSRSVの検出率を比較した。

①乳剤直接法：中腸腺8gにPBS 40mlを加え、スト

マッカーで2分処理後20%乳剤とし、3,000rpm、20分遠心した上清。②超遠心法：乳剤直接法で処理したRNA抽出用材料10mlを30% sucroseに重層し、30,000rpm、180分遠心した沈渣を蒸留水500 μ lで再浮遊した液。③凍結融解法：中腸腺約0.5gをDNase・RNaseフリーの1.5ml無菌チューブに入れ-80℃で凍結後、約60℃に温めた蒸留水1mlで急速融解し、中腸腺の組織を滅菌楊枝で軽く破壊した。その後、10,000rpm、15分遠心した上清。

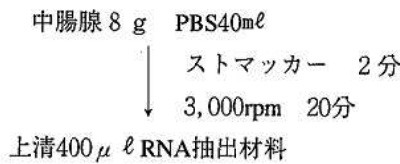
3.2 環境水（海水・河川水）の前処理（図2）

以下の3種の前処理法について比較した。

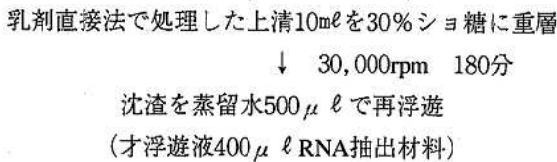
①DEAEセルロース法（DEAE法）：海水及び河川水17 ℓ にDEAEセルロースを加えウイルスを吸着後ろ過した。次に、セルロースに吸着したウイルスをアルカリ液で溶出後、3,000rpm、20分遠心した。上清を30% sucroseに重

層し、30,000rpmで180分遠心後、沈渣を蒸留水で溶解した。②ポリエチレングリコール処理法（PEG法）：海水及び河川水3 ℓ に各々ポリエチレングリコールを300g加え、さらに河川水には1MになるようにNaClを入れ、4℃、一夜攪拌後、10,000rpm、30分遠心した。沈渣を10mlの蒸留水で再浮遊させ30% sucroseに重層し、30,000rpmで180分遠心後、沈渣を蒸留水2mlに溶解した。③陽電荷フィルターろ過法（フィルター法）：海水または河川水6 ℓ を陽電荷フィルターでろ過後、フィルターに吸着したウイルスを炭酸緩衝液で溶出した。3,000rpm、20分、4℃で冷却遠心後、1N塩酸でpH7.0に調整した調整後の検体を②と同様の操作を行い、フィルター処理液とした。①から③の処理液をRNA液とした。

①乳剤直接法



②超遠心法



③凍結融解法

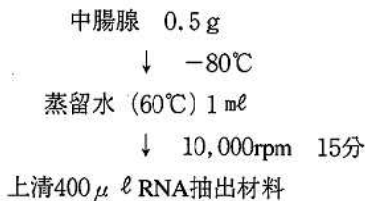
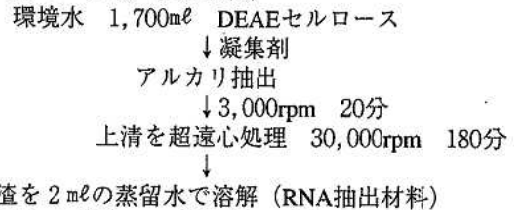
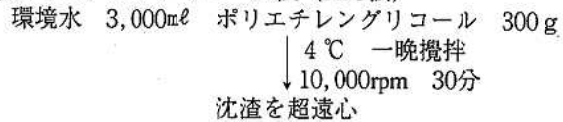


図1 かきの前処理

①DEAEセルロース法（DEAE法）



②ポリエチレングリコール法（PEG法）



③陽電荷フィルターろ過法（フィルター法）

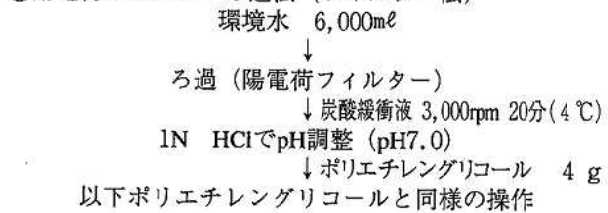


図2 環境水の前処理

表1 年度別・月別・検査材料別検査件数

年度材料 月	1996年度			1997年度			1998年度			1999年度		
	かき	海水	河川水	かき	海水	河川水	かき	海水	河川水	かき	海水	河川水
8月	4	4	NT	NT	NT	NT	1	NT	1	1	1	1
9月	4	4	NT	6	6	NT	1	NT	1	2	2	4
10月	4	4	NT	6	6	3	3	NT	2	2	2	4
11月	4	4	NT	11	11	4	6	NT	2	15	15	7
12月	4	4	NT	2	2	1	21	NT	7	9	9	7
1月	4	4	NT	12	10	5	16	NT	5	3	3	4
2月	4	4	NT	2	2	1	5	NT	2	2	2	4
3月	4	4	NT	NT	NT	NT	4	NT	2	1	2	4
合計	32	32		39	37	14	57		22	35	36	35

NT: Not tested

3.3 ウイルスRNAの抽出法 (図3)

RNAの抽出には、ガラスパウダー法及びCTAB法を用い、抽出効率の比較検討を行った。

3.3.1 ガラスパウダー法

かき及び環境水(海水、河川水)の抽出用材料と、6Mのグアニジンチオシアネートの各200 μ lを1.5mlチューブに入れ転倒混和した。次に、RNaid 6 μ lを加え10分転倒混和し10,000rpm、5分遠心した。沈渣をキット添付の洗浄緩衝液で洗浄後、1,000rpm、1分遠心(2回洗浄)し、沈渣に冷エタノール600 μ l加え十分に混和し10,000rpm、6分遠心した。沈渣を減圧乾固し30 μ lの蒸留水に懸濁した。さらに65 $^{\circ}$ C、10分加温後、12,000rpm、6分遠心し、上清をRNA液とした。

3.3.2 CTAB法

食品衛生法施行規則に準じ抽出用材料400 μ lに24%ポリエチレングリコール・4MNaClの混合液を200 μ l加え、4 $^{\circ}$ Cで一夜放置後18,000 \times g、20分遠心した。沈渣を蒸留水で再浮遊し20mg/mlのProteinase Kで37 $^{\circ}$ C、30分処理した。次に、6%CTAB 40 μ lと4MNaCl 25 μ lを加え56 $^{\circ}$ C、30分加温した。その後フェノール・クロロホルム抽出を行い、エタノール沈澱による沈渣を減圧乾固した。乾燥後、蒸留水20 μ lで溶解しRNA液とした。

3.4 RT-PCR法

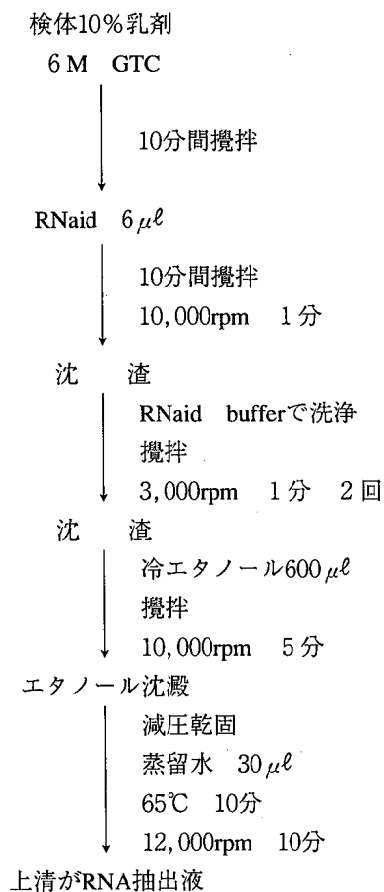
抽出したウイルス(SRSV)RNAは、アンチセンスプライマーと逆転写酵素(Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase)を用いてcDNAを作成後、nested-PCRを行いPCR産物の有無を確認した。

cDNAの作成:cDNAの作成は以下の手順に従って行った。先ず2本のチューブに蒸留水2.5 μ l、10倍濃縮反応液1.5 μ l、2.5mM dNTPs 4 μ l、RNAインヒビター0.5 μ l、逆転写酵素(MLuV Reverse Transcriptase) 0.5 μ l、抽出RNA液5.0 μ lを各々入れ、1本にはNV系、他方にはYuri系のアンチセンスプライマーをそれぞれ1 μ lずつ加えた。そして、恒温水槽で37 $^{\circ}$ C、1時間反応後、95 $^{\circ}$ Cのヒーターブロックに5分放置しcDNAを作成した。

プライマーは、SRSV遺伝子のOpen Reading Frame 1のRNA dependent RNA polymeraseの塩基配列に基づいて設計されたNV系(1st:35'/36') 2nd:NV81/NV82、SM82⁶⁾)及びYuri系(1st:MR3/MR4) 2nd:Yuri22F/22R⁸⁾)の2種類を用いて検討した。

PCR:cDNA液に蒸留水30 μ l・10倍濃縮反応液3.5 μ l・5U/ μ lのTaq polymerase 1 μ l、NV系及びYuri系のセンスプライマー1 μ lを各々に加え実施した。1st及び2nd PCRの条件は、NV系は食品衛生法施行規則・Yuri系

①ガラスパウダー法 (GP法)



②CTAB法

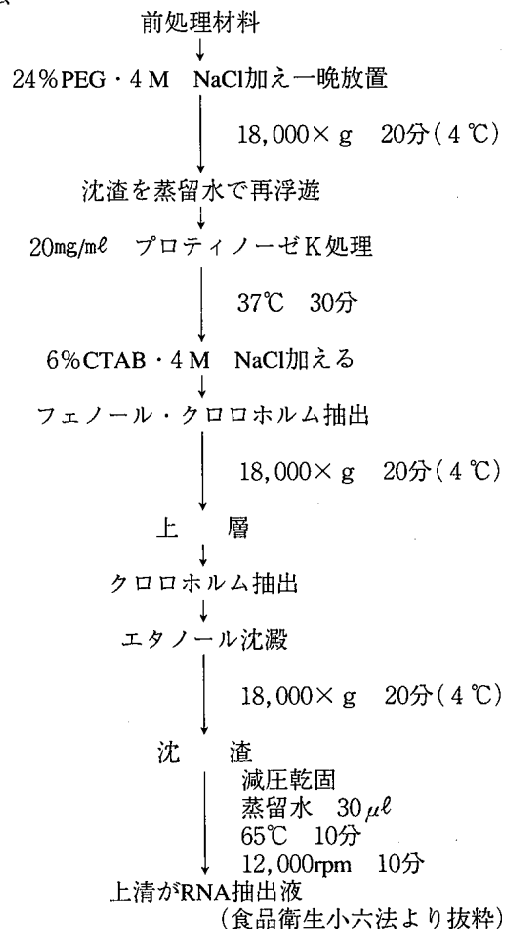


図-3 RNAの抽出方法

はSaito等⁹⁾の方法を用いた。

PCR産物の確認は産物5 μ lとloading buffer 3 μ lを混合し、2.5%アガロースゲルで電気泳動を行った。泳動後エチジウムブロマイドで染色し、280nmの紫外線照射下で産物の有無を確認した。サイズマーカーは、 ϕ X174を制限酵素Hinf Iで完全分解したMarker 9を用いた。目的のサイズにバンドが検出された検体については、SRSV遺伝子の確認を食品衛生法施行規則のサザンハイブリダイゼーションに準拠して行った。

3.5 細菌学的検査

かきのE.coli MPNと一般細菌数は、食品衛生法の食品・添加物等の規格基準「生食用かきの成分規格」、海水の大腸菌群最確数は同基準の「生食用かきの加工基準」に従って行った。また、糞便性大腸菌群数は水質汚濁防止法の海水浴場水質判定基準の測定方法に従って行った。

4. 結 果

4.1 かきの前処理法の比較(表2)

乳剤直接法と超遠心法の比較は1997年度に採取したかき39件について実施した。結果は、乳剤直接法でSRSVは3/39(7.7%)から検出されたのに対し、超遠心法では9/39(23.1%)であった。次に、超遠心法と凍結融解法の比較は1998年度に採取したかき57件を対象に行った。超遠心法では57件中4件(7.0%)からSRSVを検出したのに対し、凍結融解法では11件(19.3%)と検出率が上昇した。

4.2 環境水(海水・河川水)の前処理法の比較(表3)

海水については1996年度32件、97年度37件を対象にDEAE法とPEG法を行った。また、99年度は36件についてPEG法とフィルター法を比較した。その結果、SRSVはDEAE法とフィルター法で全く検出されず、僅かに99年度にPEG法で1件検出したのみであった。

一方、河川水は1997年度14件、98年度22件についてDEAE法とPEG法、99年度35件についてPEG法とフィルター法を比較した。その結果、PEG法によってのみSRSVが検出され、各年度の検出数は、1997年度3件(21.4%)、98年度2件(9.1%)、99年度8件(22.9%)であった。

4.3 ウィルスRNAの抽出法の比較(表4)

1997年度に採取したかき39件(前処理は超遠心法)と、98年度に採取したかき57件(前処理は凍結融解法)の中腸腺から、GP法とCTAB法によりRNAを抽出後、RT-PCR

法によるSRSVの検出率を比較した。

遺伝子が検出されたのは、GP法のみ17件、CTAB法のみ2件、両法で検出されたのは4件で、GP法では96件中21件(21.9%)とCTAB法6/96(6.3%)より高い検出率であった。

表2 かきの前処理法の比較
乳剤直接法と超遠心法の比較

方法	件数	SRSV検出数(%)
乳剤直接法	39	3(7.7)
超遠心法	39	9(23.1)

超遠心法と凍結融解法の比較

方法	件数	SRSV検出数(%)
超遠心法	57	4(7.0)
凍結融解法	57	11(19.3)

表3 環境水(海水・河川水)の前処理の比較
海水の前処理の比較

方法 年度	DEAE法	PEG法	フィルター法
1996	0/32(0%)	0/32(0%)	NT
1997	0/37(0%)	0/37(0%)	NT
1998	NT	NT	NT
1999	NT	1/36(2.8%)	0/36(0%)

検出件数/検査件数

NT: Not tested

河川水の前処理の比較

方法 年度	DEAE法	PEG法	フィルター法
1997	0/14(0%)	3/14(21.4%)	NT
1998	0/22(0%)	2/22(9.1%)	NT
1999	NT	8/35(22.9%)	0/35(0%)

検出件数/検査件数

NT: Not tested

表4 RNA抽出方法の比較

年度	件数	SRSV遺伝子検出数		
		CTAB法のみ検出	GP法のみ検出	両方(CTAB・GP)で検出
1997	36	0(0%)	7(19.4%)	4(11.1%)
1998	57	2(3.5%)	10(17.5%)	0(0%)
計	93	2(2.2%)	17(18.3%)	4(4.3%)

4.4 プライマーの検討 (表5)

1997・98年度に採取されたかき96件について、前処理法や抽出法の如何に拘わらずSRSVが検出された件数は、NV系5件・Yuri系7件・両系で検出されたのは11件であった。

4.5 SRSV汚染状況

4.5.1 かきからのSRSV検出状況

1996年度から99年度まで、計163件についてRT-PCR法によるSRSV遺伝子検出検査を行った。各年度により前処理法や抽出法は異なるが、いずれかの方法でSRSV遺伝子が検出された検体は陽性とした。163件中41件からSRSVが検出され、年度別検出状況は、96年度6% (2/32)、97年度33% (13/39)、98年度25% (14/57)、99年度34% (12/35) で、年度により検出率に差が認められた。4年間の月別検出率(検出数/検体数)は8月16.7% (1/6)、9月7.7% (1/13)、10月0% (0/15)、11月19.4% (7/36)、12月19.4% (7/36)、1月54.3% (19/35)、2月38.5% (5/13)、3月11.1% (1/9) で、1月が最も高かった。そこで、養殖海域におけるかき採取時の海水温とかきのSRSV検出数との関連について調べた結果、海水温が記録され且つSRSVが検出された40件のうち37件(92.5%)は、15℃以下の時に採取されたかきであった。水温と検出数の間には負の相関が確認された。

4.5.2 環境水からのSRSV検出状況

海水は、1996年度から99年度(98年度を除く)までに105件についてSRSV遺伝子の検出を行った。その結果、96・97年度は検出されなかったが、99年度は36件中11月に採取した1件(2.8%)から検出された。

一方、河川水については、1997年度は10から2月、98・99年度は8から3月まで延べ71件について実施した。各年度の検出率は、97年度7.1% (1/14)、98年度9.1% (2/22)、99年度22.9% (8/35)であった。3年間の月別検出率(検出数/検体数)は8月0% (0/2)、9月0% (0/5)、10月0% (0/9)、11月0% (0/13)、12月20.0% (3/15)、1月35.7% (5/14)、2月42.9% (3/7)、3月33.3% (2/6)で1月に比べ2月の方が検出率が高かった。なお、海水・河川水についても前処理法や抽出法が異なっても、いずれかの方法でSRSV遺伝子が検出された検体は陽性とした。

4.5.3 かきのSRSV検出状況と細菌学的検査との関連 (図4から図8)

E.coli MPNは1996年度から99年度までの4年間に採取したかき158件について実施した。その結果は、規格基準のE.coli MPN230以内は132件で、そのうち30件(22.7%)からSRSVが検出された。特に毎年、SRSVの検出率が高くなる12月、1月には、1件を除き規格範囲内、しかもE.coli MPNの検出限界値(1.8未満)であるかきからは34件中8件(23.5%)と検出率が高くなる傾向にあった。これに対し規格違反の231以上では26件中5件(19.2%)から検出され、E.coli MPNとSRSVの検出に

関連は認められなかった。

一方、一般細菌数は、1996年から98年まで調査した125件のうち、122件(97.6%)が規格基準の50,000個以下であり、SRSVが検出された21件は全て基準値以内で、規格違反の3件からは検出されなかった。

次に、海水の大腸菌群MPNは1996年度から99年度(97年度を除く)に採水された113件を対象に実施した。このうち109件(96.5%)が規格基準の70以下であり、同時に同一地点から採取し、SRSVが検出されたかき42件はこの範囲に含まれていた。また、検出限界である1.8未満の養殖海域から採取したかきからのSRSV検出は、42件中13件(31.0%)であった。

また、河川水の糞便性大腸菌群数は1997年と99年の2年間で47件実施した。11月以降、糞便性大腸菌群数は上昇する傾向が認められた。同時に河口付近から採取したかきからのSRSV検出数は13件で、うち12件(92%)が11月から2月までの間に検出された。

表5 プライマーの比較

年度	件数	SRSV 遺伝子 検出数		
		NV系のみ検出	Yuri系のみ検出	両系(NV・Yuri)で検出
1997	39	1/39(2.6%)	3/39(7.7%)	7/39(17.9%)
1998	57	4/57(7.0%)	4/57(7.0%)	4/57(7.0%)
計	96	5/96(5.2%)	7/96(7.3%)	11/96(11.5%)

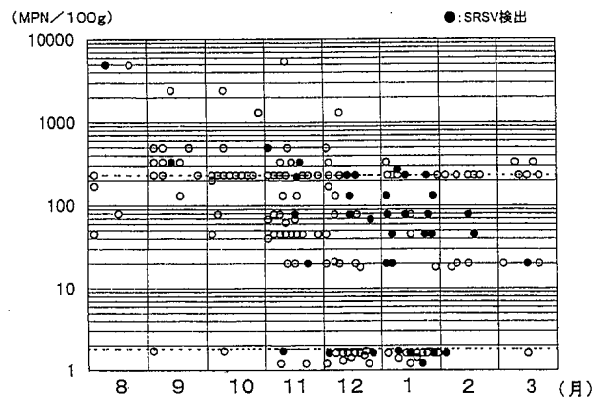


図4 カキのE.coil MPN

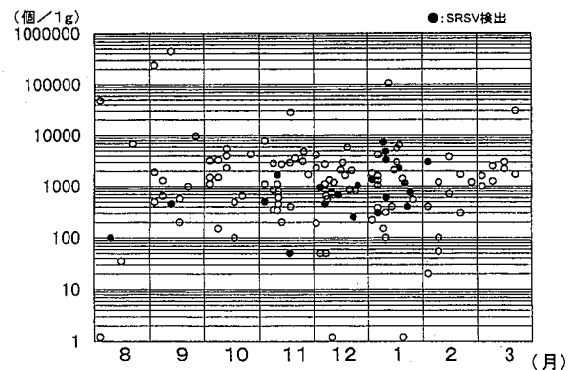


図5 カキの一般細菌数

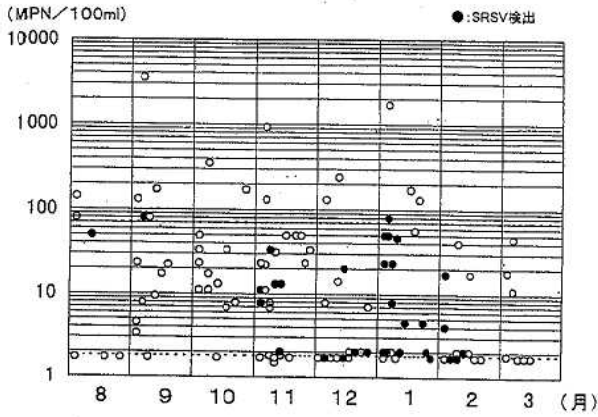


図6 海水の大腸菌群MPN

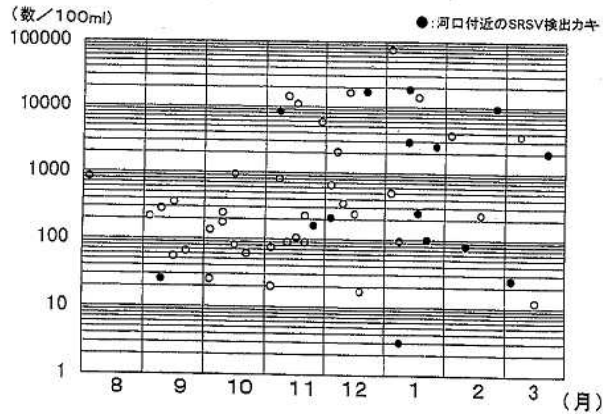


図7 河川水の糞便性大腸菌群

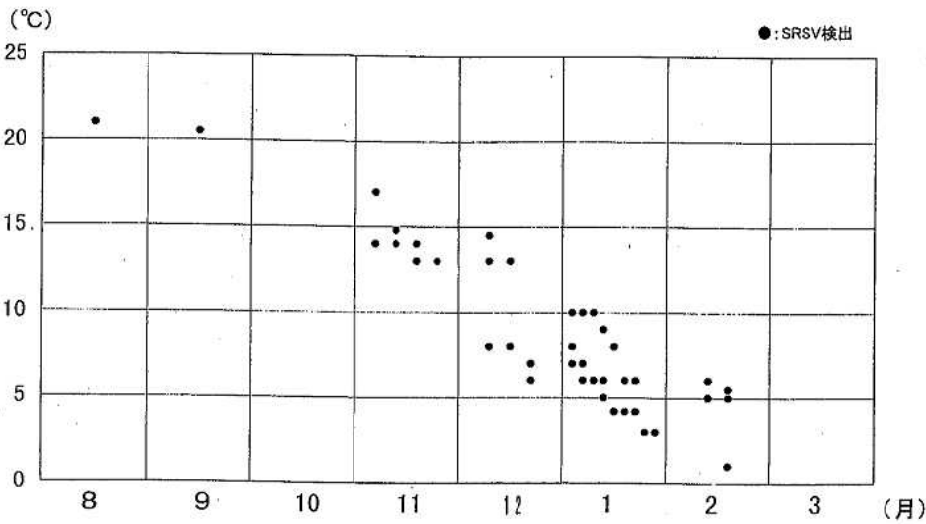


図8 SRSVが検出された海域の海水温

5. 考 察

通常、かき中腸腺からSRSVのRNA抽出用材料を得るための前処理法は、ストマッカーで乳剤としたかきを直接材料（乳剤直接法）として用いたり、その乳剤を超遠心し材料（超遠心法）とする場合が多い。この方法はかきの中腸腺に含まれる非特異的物質も一緒に処理されることや、超遠心に費やす時間が長いなどの欠点があった。今回は、これらの前処理法に加え凍結融解法についても比較した。その結果、凍結融解法は検出率が高いこと、操作が簡単であること、処理に要する時間が短いこと等、前処理法として優れていた。但し、かきの中腸腺を個々に処理するため、多量のかきを検査する場合はコストが高くなると考えられる。

環境水からのSRSV検出はPEG法で処理した場合のみ検出され、現在のところ同法は前処理法として、最も有効と考えられる。しかし、今回は検体を3ℓと多量に使用しているため、複数の検体を同時に処理する際は、遠心操作に長時間を要する欠点がある。川本らを中心とした全国ウイルス性食中毒研究班⁹⁾では40mlと少ない検体からPEG法でSRSVを検出しているため検体量を検討

する必要がある。今後環境水からのSRSV遺伝子の検索は、感染経路を解明する上で重要な鍵になると考えられ、そのためにも早急な検査法の確立が求められる。

RNAの抽出法に関しては、全国の約半数の検査機関が食品衛生法施行規則で示されているCTAB法を使用している。しかし、操作が煩雑なため上記研究班は簡潔な抽出法を市販のキットも含め検討したが、各々一長一短で特定の抽出法を決定するには至らなかった。そこで、当センターでPCR法を導入以来使用しているGP法についてCTAB法と比較検討した。その結果、GP法の感度はCTAB法に比較し約4倍高く、さらに、操作が簡単であること・抽出に要する時間が短いこと・1件あたりの単価が低いことなどすべての面でCTAB法より優れていた。このように、前処理法や抽出法はSRSVの検出率に影響を及ぼすことが明確である。

次に、使用するプライマーはYuri系の検出率がやや高かったものの、大きな差は認められなかった。しかし、SRSV遺伝子は多型のため使用するプライマーの選択が遺伝子の検出を左右する大きな要因で、使用プライマーによって検出率は低下することが指摘されている。そこ

で広範囲に検出可能なプライマーの構築が求められ、研究班では、全国から検出されたSRSV遺伝子を解析し、既存のプライマーより検出率が高いユニバーサルプライマーを設計した⁹⁾。このプライマーにより、広範囲に検出できることが報告されており¹⁰⁾、SRSVが原因と推測される食中毒検査に限らず、かき実態調査にも使用する必要があるであろう。

4年間にわたり、経時的にかきのSRSV検出状況を把握すると共にかき及び環境水中の細菌汚染状況を調査し、その関連について比較検討した。かきの月別SRSV検出状況は海水温が20℃以上の8月、9月でも検出されたが、海水温が15℃以下となる11月から検出数が増し、10℃以下の1月にその数は最多となった。このことは、かき喫食による有症苦情例が1月に多いことと一致しており、水温とかきのSRSV汚染とは何らかの関係があることが示唆された。この季節的な変動要因については、冬期に発生する感染性胃腸炎患者の発生動向も含めさらに追求する必要がある。

環境水の微生物学汚染指標及び生食用かきの成分規格としてE.coli MPN及び一般細菌数、海水の大腸菌群MPNさらに河川水の糞便性大腸菌群数とSRSVの関係を調査したが、定量限界未満でもSRSVを検出していることなどを考慮すると、微生物学汚染指標とSRSVの検出状況には明確な関係が認められなかった。

X.Jiang等によれば¹¹⁾、米国では急性胃腸炎事例のうちの約42%がSRSVに起因し、そのうち約6%がかきの喫食、約11%がヒトからヒトへの感染により発症しているといわれている¹²⁾。一方、本邦において、1997年1月から10月にかけて食品媒介性が明確であった事例の約50%はかきであったと推定されている⁹⁾。今回我々は、かき養殖海域流入河川、養殖海域の海水、かきでのSRSVの存在を確認し、県内におけるSRSV汚染状況の実態の一部を把握することができた。現在でもSRSV伝播のメカニズムに関しては、まだ未知の部分が多いが、一部の研究者は、下水処理施設の排水からSRSVを検出したと報告しており、かきの汚染経路の実態が解明されつつある。かき生産県の本県としては、基礎データを資として、さらに事実を十分に考慮しかきの浄化方法の開発を積極的に取り組むことが望まれる。

謝 辞

本調査を行うにあたり環境生活部生活衛生課、気仙沼・石巻・塩釜保健所の担当職員の方々に多大なるご協力を賜り深く感謝致します。

参考文献

- 1) A.Z.Kapikian and R.M.Chanock, et. al., : Visualization by immune electron microscopy of a 27nm particles associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J. Virol.*10, 1075, (1972)
- 2) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報、215、1-2 (1998)
- 3) 植木 洋他：宮城県保健環境センター年報、13、47-51(1995)
- 4) Moe CL, Gentsch J, Ando T, et. al., : Application of PCR to detect Norwalk virus in fecal specimens from outbreaks of gastroenteritis, *J.Clin.Microbiol.*, 32, 642-648(1994)
- 5) 厚生省生活衛生局：小型球形ウイルス (SRSV) 技術研修資料 (1997)
- 6) 林志直 (1995)：RT-PCR法による非細菌性胃腸炎集団発生からのSRSV検索、*臨床とウイルス*、23(2)
- 7) Lew JF, Petrie M, kapikian AZ, et. al., : Identification of minireovirus as a Norwalk-like virus in pediatric patients with gastroenteritis, *J. Virol.* 68, 3391-3396(1994)
- 8) Saito H, Saito S, Kamada K, et. al : Application of RT-PCR designed from sequence of the local SRSV strain to the screening in viral gastro-enteris outbreaks, *Microbiol. immuno.*, 42, 439-446(1998)
- 9) 全国ウイルス性食中毒研究班：ウイルス性食中毒原因の遺伝子検査標準法確立と全国行政対応整備に関する研究、厚生科学特別研究事業 平成11年度研究報告書
- 10) 山崎謙治他：1989年～1998年に日本国内で検出されたNorwalk-Like-Viruses (NLVs) の遺伝的特徴および統一プライマーの検討、*感染症学雑誌*、74、5、2000
- 11) X. Jiang, David Y. Graham, et. al., : Norwalk Virus Genomic Cloning and Characterization, *SCIENCE*,250, 1580-1583(1990)
- 12) Roger I. Glass, Jacqueline Noel, Tamie Ando, et. al., : The Epidemiology of Enteric Caliciviruses from Humans. *J.Infect.Dis.*, 181, 254-261(2000)

宮城県における腸炎ビブリオ調査

A study of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from marine environments, products and clinical patients in Miyagi prefecture島山 敬 山口 友美 斎藤 紀行
秋山 和夫*¹ 白石 廣行 小笠原 久夫*²Takashi HATAKEYAMA, Yumi YAMAGUCHI, Noriyuki SAITO
Kazuo AKIYAMA, Hiroyuki SHIRAI, Hisao OGASAWARAキーワード：海泥、O3:K6、*ToxR* 遺伝子、*tdh* 遺伝子、*trh* 遺伝子KeyWords：Sea Mud, O3:K6, *ToxR* gene, *tdh* gene, *trh* gene

腸炎ビブリオ発生防止対策の一助とするため、県内の医療機関の協力を得て腸炎ビブリオ食中毒患者発生動向の把握を行うとともに、宮城県沿岸の海水・海泥などの海辺環境と市販魚介類および魚介類等処理水でのビブリオ生息調査を実施した。また、PFGEにより分離菌株の遺伝子パターンを比較を試みた。

1. はじめに

夏期に集中して発生する腸炎ビブリオ食中毒は、他の原因菌による食中毒と比較し発生件数・患者数とも多く認められる。腸炎ビブリオ食中毒においては患者便からの菌の分離率がきわめて高いにもかかわらず、これまで食材や環境等からはほとんど分離されなかったことや、1996年を境として患者から分離される腸炎ビブリオ血清型がO4:K8からO3:K6に急変するなど疫学的にも不明な点が多い。

そこで今回、腸炎ビブリオ食中毒発生予測・予防対策構築の一助とすることを目的として、宮城県内の沿岸部海水・海泥などの海辺環境と市販魚介類からの腸炎ビブリオ検出による食中毒発生の背景調査、及び協力医療機関における散发患者発生動向と原因ビブリオ血清型の把握を実施した。更に、これらの調査で分離した菌株をもとに、パルスフィールドゲル電気泳動による遺伝子解析を行った。

2. 材料と方法

a) 調査地点及び検査検体

調査地点は周辺環境と海流・海底の状態を考慮して宮城県沿岸部の石巻・塩釜に観測地点を設定し、海水（4定点）と海泥（2定点）を平成11年5月から平成11年12月まで毎月1回採取した。

検査食材は仙台市内の量販店（冷蔵ケース内販売）及び塩釜の海水・海泥調査定点の魚介類販売所（環流海水

* 1 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所

* 2 現 宮城県公害衛生検査センター

内販売）を定点として県内産魚介類を定期的に購入した（表1）。

b) 検査方法

海水は100mlを食塩ポリミキシンブイオン（SPB）培地粉末3.3g入りの培養瓶に分注し、海泥は20gを180mlのSPBに懸濁した（定性試験用培養液）。更に、両検体をMPN管（各濃度3本ずつ使用）に10ml、1ml、0.1ml接種し（MPN算定用培養液）培養した。37℃で18時間培養後、定性試験用培養液1mlについてPCR法でビブリオ特異遺伝子（*ToxR*）、耐熱性溶血毒（*tdh*）、TDH様毒素（*trh*）の各遺伝子の検索を行った（定性PCR）。*tdh*、*trh*が陽性の場合、各MPN管で再度PCR法を実施し、当該遺伝子保有株のMPNを算定した。また、*tdh*、*trh*陽性株を分離するために、培養液を適宜希釈しTCBS培地に接種培養後、疑わしいコロニーについてTDHは我妻培地でTRHはクリステンセンの尿素培地で確認した。

定性試験で*ToxR*が陽性の場合には各MPN管についてPCR法で再確認し、定性培養液と陽性MPN管から腸炎ビブリオの分離を試みた。

食材は、20gを180mlのSPBに添加しホモジナイズ後、海水・海泥の場合と同様にして菌の検索を実施した。

検体からTCBS培地で分離した菌株はTSI、LIM及び食塩加ペプトン水で生化学性状試験を実施した後、ビブリオ用型別抗血清でO、K血清型を決定した。TDHは逆身ラテックス凝集法で確認した。

c) 散发患者分離菌株と海水温度

平成11年6月から12月まで、県内の協力医療機関から腸炎ビブリオ散发発生患者由来菌株（1患者1菌株）の

表1 海水・海泥及び魚介類の採材環境

採材定点	採材対象	採材環境	海流の状態	海泥の状態
石巻A	海水・海泥	外洋に面した大きな遠浅海岸	早い	砂状
石巻B	海水	埠頭奥の岸壁	遅い	なし
塩釜A	海水・海泥	砂地のある松島湾内の小湾	ほとんどなし	泥状
塩釜B	海水	外洋に面した漁港岸壁	遅い	なし
仙台市	魚介類	冷凍ショーケース内で販売		
塩釜A	魚介類	環流海水中で魚介類を陳列販売		

提供を受け、当該菌株の血清型同定とTDHの確認後、患者発生状況を医療機関での受付月日ごとに集計した。

海水温度は、宮城県水産試験所が毎日定刻に測定している石巻湾の海水温を6月から10月まで各週平均して算出した。

d) 分離菌株の遺伝子解析

環境及び患者から分離した腸炎ビブリオを制限酵素Not Iにより処理後、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)によって保有遺伝子パターンの解析を行った。

3. 調査結果

a) 海水・海泥及び食材のToxRを指標としたMPN値の変動

ToxR 遺伝子を腸炎ビブリオの指標として4定点のMPN値を求め、各定点の気温・海水温とともに表2に示した。海水中のToxRは、潮の動きの早い石巻A定点では8月から確認され、MPN値は9月以降に上昇した。しかし、潮の動きの比較的遅い石巻B・塩釜Bの各定点では、

6月から遺伝子が確認されると同時にMPNも高い値を示した。また、潮の動きがほとんどない塩釜A定点では、11月を除き調査した5月から12月までの全ての期間でToxRが検出され、更に、MPN値は5月時点で240と他の地点と比べ高く、特に6月から10月までは1,100以上の高値が継続した。

海泥のToxRは、塩釜A定点で5月から12月まで毎月確認された。MPN値は7月以降急激に上昇し、7月から9月は海水の10倍以上の値を示した。石巻A定点でのMPN値の上昇は7月以降であり、上昇の程度も塩釜A定点に比較して緩やかであった。

食材についての結果を表3に示した。仙台市の量販店から購入した宮城県産の食材のToxRは陰性か、あるいは陽性であってもMPN値は30以下と低値であったが、塩釜A定点の販売所で購入した魚介類は6月に遺伝子が確認されMPN値は7月以降急激に上昇し10月調査の時点でも高い値を示した。

表2 各採材定点の気温・海水温とToxR 遺伝子を指標としたMPN値の変化

		5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
石巻A定点	気温	20	27	24	23	25	16	13.5	3
	海水温	19	22	25	24	24	18	15	10
	海水MPN	—	—	—	<3 ¹⁾	460 ¹⁾	460	<3 ¹⁾	<3 ¹⁾
	海泥MPN	<30 ¹⁾	—	380 ¹⁾	380 ¹⁾	460 ¹⁾	<30 ¹⁾	—	<30 ¹⁾
石巻B定点	気温	21.5	21	24	23	25	14	11.5	4
	海水温	16	19	24	23	22	19	15	10
	海水MPN	—	>1,100 ¹⁾	64 ¹⁾	64 ¹⁾	460 ¹⁾	460 ¹⁾	—	—
塩釜A定点	気温	21.5	21	24	23	25	14	11.5	4
	海水温	16	19	24	23	22	19	15	10
	海水MPN	240 ¹⁾	>1,100 ¹⁾	>1,100 ¹⁾	>1,100 ¹⁾	>1,100 ¹⁾	>1,100 ¹⁾	23	<3 ¹⁾
	海泥MPN	2,400 ¹⁾	2,400 ¹⁾	>11,000 ¹⁾	>11,000 ¹⁾	>11,000 ²⁾	2,400 ¹⁾	230 ¹⁾	230 ¹⁾
塩釜B定点	気温	22	28	24	22	28	18	11.5	5.5
	海水温	14.5	21	24	25	22	18	13	8
	海水MPN	—	<3 ¹⁾	>1,100 ¹⁾	>1,100 ³⁾	460 ⁴⁾	240 ¹⁾	—	—

※1) : ToxR 遺伝子検出

2) : ToxR・tdh 遺伝子検出及びTRH陽性株分離

3) : ToxR・tdh 遺伝子検出

4) : ToxR・trh 遺伝子検出

表3 各食材のToxRを指標としたMPN値

食材名	5月	6月	7月	8月	9月	10月
(塩釜A定点で購入した食材のMPN値)						
ほ や	ND	<30	>11,000	>11,000	>11,000	3,500
あさり1	ND	<30	2,400	4,600	>11,000	2,100
あさり2	-	-	230	-	-	-
あさり3	-	-	2,400	-	-	-
あさり4	-	-	640	-	-	-
ほっき貝	-	-	-	11,000	-	3,500
つぶ貝	-	-	-	-	11,000	-
(仙台市内量販店で購入した食材のMPN値)						
あさり1	ND	ND	-	-	-	-
あさり2	<30	ND	-	-	-	-
あさり3	*	ND	-	-	-	-

* : 定性PCRでToxR陰性であったが塗抹で腸炎ビブリオが検出された食材

ND : 塗抹から腸炎ビブリオが検出されなかった食材

- : 調査せず

b) 分離菌株の血清型別

各検体についてMPNの測定と同時に腸炎ビブリオの分離培養を実施し、PCR法でToxRが陽性を示した検体から腸炎ビブリオを分離した。分離菌株についての血清型別試験の結果、血清型別不能菌株も多く認められたが最終的に45種類の血清型を分離した。OあるいはK抗原型不明の血清型を除き、検出頻度の高い血清型はO4:K34が10件、O1:K25及びO3:K33が各4件検出された(表

4)。定点別では塩釜A定点の海水・海泥及び同地点の販売所から購入した食材からの検出頻度が高く、特に同定点の海泥からは多種類の血清型が検出された。

c) *tdh*・*trh* 遺伝子の検出及び分離菌株

塩釜B定点海水(8、9月)及び塩釜A定点海泥(9月)の増菌培養液中にPCR法で*tdh*と*trh*遺伝子を確認したが、TDH陽性株は分離できなかった。しかし、塩釜A定点海泥からO3:KUTのTRH陽性株を分離した(表2)。

表4 環境から分離された腸炎ビブリオ血清型

血清型	環境からの検出回数 (延べ48件調査)	食材からの検出回数 (延べ24件調査)	合計 (72件)
O U T : K U T	14	3	17
O 1 1 : K U T	11	4	15
O 3 : K U T	9	2	11
O 4 : K 3 4	7	3	10
O 4 : K U T	5	3	8
O 1 : K 2 5	4		4
O 3 : K 3 3	2	2	4
そ の 他	31	19	50

d) 散発患者発生動向

6月から11月までの調査期間に、協力医療機関より供与された腸炎ビブリオは合計267株であった。血清型の内訳はO3:K6が79%、O4:K68が6.4%、O1:K56が3.7%で、これら3血清型で発生原因の約90%を占めていた(表5)。また、患者を年齢別に分類すると40代から50代が多く、この年齢層の患者数の全体に占める割合は45%で

あった。腸炎ビブリオ患者の散発発生は6月に始まり11月まで続いた。患者のピークは8月に認められたことから、海水温との関係に着目し、腸炎ビブリオ患者発生数を一週間ごとにまとめて県海水温観測定点での週平均の海水温度と比較した(図1)。その結果、週平均海水温度の上昇に伴い散発患者数が増加し、海水温の下降とともに患者数が減少した。

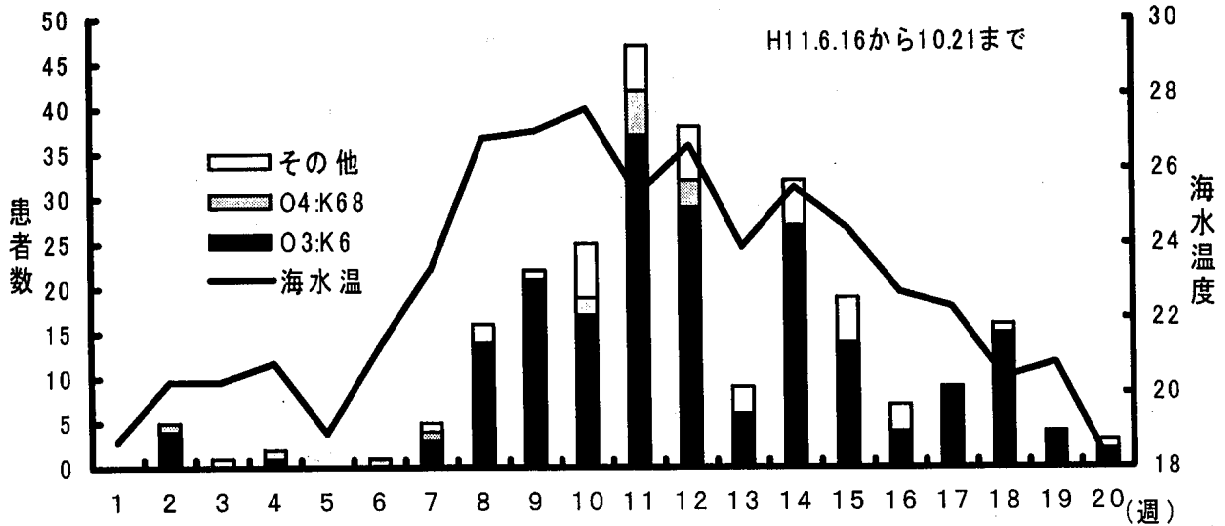


図1 腸炎ビブリオ散発患者発生数と海水温度の関係

表5 協力医療機関から供与された菌株の血清型

NT: 血清検査せず

血清型	TDH保有状況と菌株数			割合 (%)
	+	-	不明	
O 1 : K 2 5	1			0.4
O 1 : K 5 6	10			3.7
O 1 : K 5 8	1			0.4
O 1 : K 6 0	1			0.4
O 1 : K U T	4	1		1.9
O 3 : K 2 9	1			0.4
O 3 : K 4	1			0.4
O 3 : K 5 7	1			0.4
O 3 : K 6	211			79.0
O 4 : K 4	3			1.1
O 4 : K 6	1			0.4
O 4 : K 6 8	17			6.4
O 4 : K 8	5			1.9
O 4 : K 9	1			0.4
O 5 : K U T	1			0.4
OUT : K 5 7		1		0.4
OUT : K 6	1			0.4
OUT : K U T	1	2		1.1
N T			2	0.7
合計	261株	4株	2株	100.0

e) 分離菌株の遺伝子解析

分離菌株の疫学的考察を行うため、環境調査および散発患者から分離された菌株をPFGEにより比較解析したものを図2・3に示した。

患者からもっとも多く分離されるO3:K6は、制限酵素Not Iで処理した場合300kbpのfragmentの有無で2種に分類可能であった(矢印)。また、fragmentを持たないO3:K6は、最近増加傾向にあるO4:K68と非常に相同性の高いパターンを持ち、その他の血清型の病原性株2株とは明らかに異なっていた(図2)。

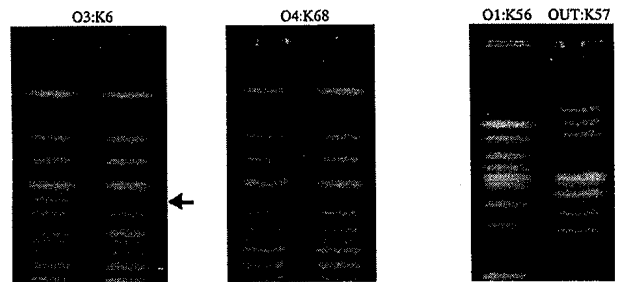


図2 散発患者由来株(臨床株)の制限酵素(Not I)を用いたPFGEパターンの比較

更に、環境から分離された病原性遺伝子非保有株のうち、患者株と同じ血清型を持つ3種類の環境株について同様に比較したところ、環境由来株間では同様なパルスパターンを示す株が存在したものの、患者株と環境株の間では、全て泳動パターンが異なっていた(図3)。

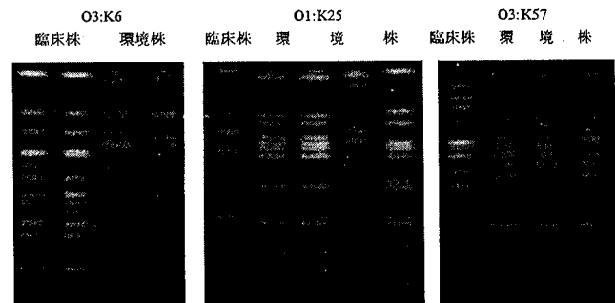


図3 環境分離株と臨床分離株のNot IによるPFGEパターンの比較

4. 考 察

腸炎ビブリオ食中毒は、自然環境に生息する腸炎ビブリオに汚染された海産物によって引き起こされるが、特に海泥中に多く生息していると思われることから、本調査において海泥の状況を考慮して調査定点を設定した。

調査の結果、海泥のない埠頭あるいは漁港近辺の海水（石巻B・塩釜B定点）では腸炎ビブリオが6月、7月から10月まで検出されたが11月以降は検出されなかった。腸炎ビブリオが検出されはじめる時期と検出されなくなる時期の海水温度は、ともに15℃から20℃の間であることからこの温度が腸炎ビブリオの海水中での増殖限界温度であると考えられた。

一方、海泥のある遠浅海岸では、海流の少ない淀んだ塩釜A定点が潮の流れの速い石巻A定点に比べて海水・海泥ともに腸炎ビブリオが早期に検出された。さらに、塩釜A定点の海泥からは腸炎ビブリオが長期間高い頻度で検出されたが、この定点の海泥は泥状で、調査期間中の周辺海水も富栄養化と思われる状態が観察された。

以上のことから、海泥が腸炎ビブリオの生息環境として重要で、淀んだ海水と海泥の相互関係が腸炎ビブリオ増殖の温床を形成していることを示すものと考えられ、海泥が近接する遠浅海岸では特に潮の流れが腸炎ビブリオの増殖に大きく影響するものと思われた。

食材についての調査では、当初、販売方法による腸炎ビブリオ分離割合の相違を期待して調査を開始したが、量販店での食材に生産地の共通性がないことから中断せざるを得なかった。しかし、塩釜A定点の販売所で、地元海水を用いた環流水中に保存した状態で販売される魚介類について継続的に調査したところ、魚介類の腸炎ビブリオは、同じ定点の海泥の菌量が急激に増加する時期と同じ時期から検出され、以降は海泥の菌量の推移と同調して変化していることが明らかになった。

今回の調査では、沿岸環境及び食材からO3：K6をはじめ多数の血清型の腸炎ビブリオが検出されたが、病原性遺伝子を保有する株はTRH陽性株1株のみであり、食中毒患者から検出されるTDH陽性株は分離されなかった。しかし、海泥や海水からPCR法で*tdh*遺伝子が確認されていることから、増菌培地、分離培地等遺伝子陽性株を分離する方法を検討し、再度詳細な調査を行う必要があると思われた。

また、協力医療機関からの腸炎ビブリオ散発患者発生動向調査の結果と石巻湾内の海水温度測定定点（県水産試験場）での海水温の推移に相関関係が認められたことから、従来から宮城県で海水温度測定点での10日間平均水温が19℃を越えた時点で「腸炎ビブリオ食中毒注意報」を発令していることの実証的根拠となり得るものと考えられた。

分離菌株のPFGE解析では、現在、臨床分離株の主流であるO3：K6（TDH保有）株と増加傾向にあるO4：K68（TDH保有）株の間で遺伝子パターンが同じかあるいは非常に高い共通性（300kbpの遺伝子バンドの有無のみ）が認められたが、供試したその他の臨床分離株（O1：K56、OUT：K57、O1：25いずれもTDH保有株）とは相関性が認められなかった。O3：K6株とO4：K68株は1996年以降ほぼ同時期に出現しており、それらの由来や

株としての類縁関係は更に詳細に検討すべきものと思われた。さらに、臨床分離O3：K6株は遺伝子パターンの保存性が非常に良いと言われているにも関わらず、今回分離された同じ血清型（O3：K6）の環境株（*tdh*遺伝子非保有）との間で共通のパターンは確認されなかった。臨床と環境の両方から同じ血清型株が分離された他の例（O1：K25、O3：K57）も同様で、このことは、血清型という表現形式が共通であっても、病原性を持つ臨床株と、環境株が違う由来を持っている可能性を示唆しているものと思われた。

5. 結 論

- (1) 海泥のない海水から腸炎ビブリオが分離可能な期間は6月から10月であったが、潮の動きの少ない沿岸海水及び海泥ではさらに長期間腸炎ビブリオが分離され、血清型の種類も多かった。
- (2) 環境から分離した菌株の中にO3：K6等の食中毒起因血清型株が存在したが、病原性遺伝子を保有していたのはO3：KUT（*tdh*遺伝子保有）のみであった。また、PCR法により8月と9月の海水及び海泥から病原性遺伝子保有菌の存在が確認されたが、その分離は困難であった。
- (3) 環流海水中で販売されている魚介類からは、7月以降腸炎ビブリオが高頻度に分離された。
- (4) 県内医療機関を受診した散発下痢症患者より分離された腸炎ビブリオの血清型はO3：K6、O4：K68、O1：K25が主流で、この3血清型で散発発生患者分離株の90%を占めていた。また、散発下痢症患者の発生は6月から11月まで確認され8月がピークで、患者発生動向と石巻湾（県海水温度測定定点）の海水温度の変化には高い相関が認められた。
- (5) PFGE解析で臨床由来のO3：K6株の中にはO4：K68と相同性の高い株が存在した。更に、同じ血清型でも環境分離株と臨床分離株ではPFGEのパターンが異なった。

（この調査は、平成11年度厚生省生活安全総合研究事業の助成を受けて東北食中毒研究会で行われたものである）

参 考 文 献

- 1) Identification of *Vibrio parahaemolyticus* Strains at the species Level by PCR Targeted to the ToxR Gene, Kim, Y.B. et. al., J. Clin. Microbiol. 37 1173-1177, 1999
- 2) ヒト下痢症由来神奈川現象陰性腸炎ビブリオの病原因子、特に神奈川溶血毒類似毒素（TRH）の検討。38-41 プロジェクト研究報告書 I 遺伝子工学的手法による病原微生物の診断法の開発 東京都立衛生研究所平成6年9月（Tada, J. et. al., Mol. Cell. Probe., 6 477-487, 1992）

パルスフィールドゲル電気泳動法によるSTECの分子疫学

Evaluation of PFGE analysis of STEC isolated in Miyagi Prefecture

山口 友美 有田 富和 畠山 敬
斎藤 紀行 秋山 和夫* 白石 廣行

Yumi YAMAGUCHI, Tomikazu ARITA, Takashi HATAKEYAMA
Noriyuki SAITO, Kazuo AKIYAMA, Hiroyuki SHIRAIISHI

キーワード：パルスフィールドゲル電気泳動法、STEC、diffuse outbreak

Key Words：PFGE, STEC, diffuse outbreak

PFGE解析の結果から牛が感染源と特定できたO26感染事例ほか、宮城県内で発生した3事例から分離されたSTECについて、PFGEパターンを比較検討した。

1. はじめに

近年、感染症あるいは食中毒の疫学調査にパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法による細菌のDNA解析が広く用いられている。昨年発生したサルモネラ・オラニエンブルグに汚染されたイカ菓子による全国規模の食中毒事件の調査¹⁾においても、散発発症事例から分離された菌のPFGE解析結果から diffuse outbreak であったことが明らかにされている。

今回は、平成11年度に宮城県（仙台市を除く）で分離された腸管出血性大腸菌（STEC）についてPFGE解析を実施し、その結果からPFGEが分子疫学の有効な手段となったので、牛が感染源と特定できたSTEC O26感染事例およびその他の2事例について報告する。

2. 材料と方法

2.1 検査材料

平成11年度に宮城県で発生したSTEC感染症事例から分離されたSTEC 53株を使用した。

2.2 薬剤感受性試験

アンピシリン、ピペラシン、セファゾリン、セフトリアキソン、セフトチゾキシム、セフメタゾール、セフトラジジム、セファクロル、ラタモキシセフ、アズトレオナム、ゲンタミシン、アミカシン、ミノサイクリン、イミペネム、オフロキサシン、ホスホマイシンの16種類の薬剤について、NCCLS法に準じ微量液体希釈法（ドライプレート：栄研化学）で実施した。

2.3 パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法

STECをHIブイオンで1晩振盪培養後、加温溶解した1%低融点アガロースと混ぜ、氷上で固化してプラグを

* 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所

作製。プラグをリゾチーム処理した後、制限酵素（XbaIまたはNotI）でDNA切断処理を行い、さらにアガロースゲルに埋め込みパルスフィールド法で電気泳動を行った。電気泳動にはBIO-RAD社製のCHEF Mapperを使用した。

2.4 ベロ毒素産生と検出法

STECをCAYE培地に接種し、37℃で18-20時間振盪培養した。培養液を遠心後、上清を用いてVT1およびVT2をRPLA法（デンカ生研）で検出した。

2.5 生化学性状試験

分離菌の性状試験は腸内細菌生化学性状試験用簡易キット（エンテオグラム：テルモ）を用い、21項目について実施した。

2.6 PCR法による病原遺伝子検出

95℃6分加熱処理したSTECをテンプレートとし、stx1、stx2、stx2vh、stx2vp、eaeおよびEAST遺伝子検出用プライマーを用いてPCR法で実施した。

3. 結果

3.1 平成11年度のSTEC検出状況

平成11年度のSTEC検出状況を表1に示した。平成11年度に検出されたSTECは53件で、内訳はO26が35件と最も多く、次いでO157が14件、O111が2件、O121およびO55がそれぞれ1件であった。11年度の特徴は、STEC全体の件数が10年度の50件とほぼ同数であったにもかかわらず、O26の割合が10年度の46%（23/50）から66%（35/53）に増え、これとは反対にO157の割合は50%（25/50）から26%（14/53）に低下したことである。また、10年度までO157はVT1、VT2両方産生株が多数を占めていたが、11年度はVT2のみ産生株が9件、両方産生の株が5件とVT2のみ産生株のほうが上回っていた。

表1 平成11年度のSTEC検出状況

	毒素	患者	保菌者	計
O157	VT1&VT2	4	1	5(9%)
	VT2	6	3	9(17%)
O26	VT1	25	10	35(66%)
O111	VT1	2	0	2(4%)
O55	VT1	0	1	1(2%)
O121	VT2	1	0	1(2%)
計		38	15	53(100%)

3.2 平成11年度STEC O157の家族内感染事例3例 (A~C家族)と散发事例2例(患者D、E)

A家族では、2歳男児が血便などの症状を呈し5月28日に発症。患児の父は無症状保菌者であった。B家族では、5歳男児が発熱・下痢・血便などの症状を呈し、9月9日に発症。無症状の母と弟からもO157が検出された。C家族では、6歳女児が腹痛・下痢・血便の症状を呈し9月29日に発症。無症状の姉も保菌者であった。患者Dは10月7日、患児Eは11月6日に発症した散发事例で、家族からは検出されなかった(表2)。

表2 STEC O157の家族内感染例

No	年齢	発症日 (検体採取日)	症状
1	患児	99/5/28	血便
2	父	(99/5/28)	-
3	患児	99/9/9	発熱、下痢、血便
4	母	(99/9/15)	-
5	弟	(99/9/16)	-
6	患児	99/9/29	腹痛、下痢、血便
7	姉	(99/10/8)	-
8	患者D	99/10/7	腹痛、下痢、血便
9	患児E	99/11/3	腹痛、血便、HUS

分離された菌株について行った薬剤感受性試験および病原遺伝子の検索の結果を表3に示した。薬剤感受性試験では、C家族と患者D、患児Eがミノサイクリンに対し中度耐性または耐性を示していた以外は、すべて感受性であった。また、病原遺伝子の保有状況はA、B、Cの家族内では同じであったが、家族間では異なっていた。しかし、C家族と患者D、E由来株はA、Bとは異なり、いずれも*stx2*バリエーション遺伝子(*stx2vh*)を保有していた。さらに、生化学的性状試験(21項目)ではラフィノース分解能以外では同じ性状を示した。AおよびB家族から分離された株はラフィノースを分解するが、C家族と患者D、E由来株は分解しなかった。また、保存O157 15株についてラフィノース分解能を調べたが、すべてラフィノース分解株であった。このことから、*stx2vh* 遺伝子保有およびラフィノース非分解という性

状はこのC、D、Eに特徴的なものであることが示唆された。

表3 分離菌株の性状

No	薬剤感受性 (16種類)	病原遺伝子			ラフィノース分解
		<i>stx</i>	<i>eae</i>	EAST	
1	患児 感受性	1, 2	+	-	+
2	A家族 父 感受性	1, 2	+	-	+
3	患児 感受性	2	+	+	+
4	B家族 母 感受性	2	+	+	+
5	患児 感受性	2	+	+	+
6	C家族 患児 中度耐性(MINO)	2vh	+	+	-
7	C家族 姉 中度耐性(MINO)	2vh	+	+	-
8	患者D 中度耐性(MINO)	2vh	+	+	-
9	患児E 耐性(MINO)	2vh	+	+	-

各分離菌株のXbaI処理によるPFGE解析(図1)ではA(レーン1、2)、B(レーン3~5)、C(レーン6、7)の3家族とも家族内ではPFGEパターンが一致しており、同一菌由来と考えられた。また、C家族と患者D(レーン8)、患児E(レーン9)は居住地が離れているにもかかわらずパターンの類似性が高いことがわかった。

このPFGE解析結果および先ほどの生化学的性状等の結果から、これらの患者は同一の汚染を原因とするdiffuse outbreakである可能性が示唆された。

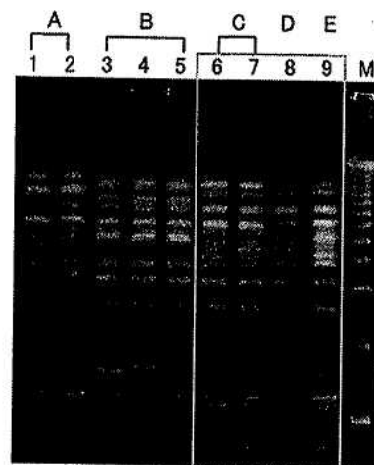


図1 STEC O157のPFGEパターン

3.3 平成11年8月末に特定の地域で多発したSTEC O26

2家族6名(うち保菌者3名)と散发患者5名からSTEC O26が検出された。患者はすべて4歳以下の乳幼児で、下痢・血便などが主な症状であった。分離菌株の血清型はすべてO26:H11、VT1産生株であった(表4)。

表4 特定地域で多発したSTEC O26散発感染例

No.	発症日 (検体採取日)	年齢	症状	備考
1	99/ 8/27	2	下痢、血便	
2	(99/ 9/ 7)	2	-	No.1のいとこ
3	99/ 9/30	4	腹痛、下痢	No.2の兄
4	(99/10/ 9)	31	-	No.2、3の母
5	99/ 8/27	2	発熱、下痢	
6	99/ 9/11	10ヶ月	下痢、血便	
7	(99/ 9/24)	56	-	No.6の祖母
8	99/ 8/29	1	発熱、下痢、血便	
9	99/ 8/31	2	下痢、血便	
10	99/ 9/28	1	下痢、血便	
11	99/ 9/ 1	1	発熱、下痢	

図2に分離菌株の制限酵素XbaIによるPFGEパターンを示した。家族内感染であったレーン1~4とレーン6、7の2家族については、バンド1~2本の相違はあるものの、ほぼ同一のパターンを示していた。また、レーン8、9は別々の家庭の患児であるにもかかわらず、パターンが一致していた。しかも両者の家が約1km以内にあり、発症日も近いことなどから、この2家庭の患児は同一菌による感染の可能性が示唆された。

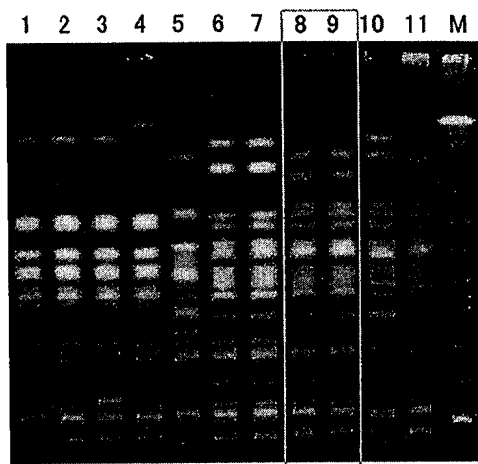


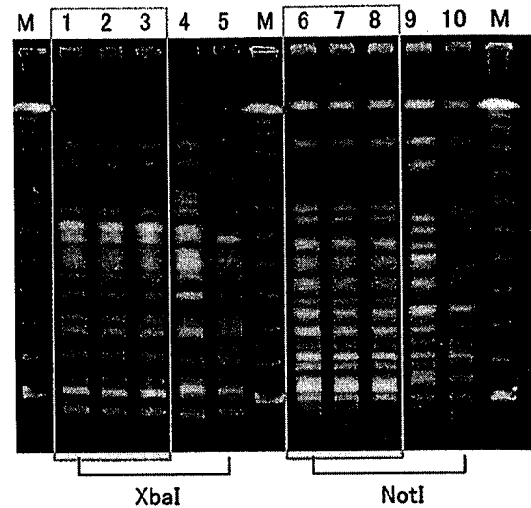
図2 STEC O26のPFGEパターン

3.4 子牛から人への感染が証明されたSTEC O26

平成11年6月に県北在住の2才男児が下痢・発熱の症状で医院を受診し、便からSTEC O26が検出された。患児の家族の検便、拭き取り材料および飼育牛5頭の糞便についてもO26の検査を行い、患児の家族からは検出されなかったが、飼育している子牛2頭からO26が検出された。

図3に分離されたSTEC O26のPFGEパターンを示した。レーン1~5までは制限酵素にXbaI、レーン6~10まではNotIを用いた。レーン1、2および6、7は子牛由来株、レーン3、8は患児由来株、レーン4、5および9、

10は平成11年度に検出された他のO26感染事例由来株である。XbaI、NotIともに患児由来株と子牛由来の2株のパターンが一致した。また生化学的性状、薬剤感受性、病原遺伝子保有状況についても全く同じであった。一方、家族からの聞き取り調査によっても患児が牛舎周辺で遊ぶ機会が多かったことが確認され、今回の感染は飼育していた子牛との接触によるものと断定された。



レーン 1,6: 子牛F由来株
 2,7: 子牛G由来株
 3,8: 患児H由来株
 4,9: 散発事例I由来株
 5,10: 散発事例J由来株

図3 子牛および患児由来株のPFGEパターン

4. 考 察

集団感染事例の疫学調査にPFGE解析が有効であることを、我々はSTEC O157家族集団感染事例²⁾およびサルモネラ集団食中毒事例³⁾で報告した。今回、PFGE法による疫学調査をSTEC散発感染事例について実施しその結果を示した。O157、O26の家族内感染等でそれぞれが共通の関係を持たない散発事例がPFGE解析により diffuse outbreak の可能性が示唆され、また子牛からの感染例では人における感染源の証明という疫学解析にPFGE法が有効な手段に成り得ることを示した。今後、集団だけでなく散発感染事例についてもPFGE解析し、パターンをコンピュータにデータとして蓄積し、感染源究明の疫学調査に役立てたいと考えている。

STEC分離は年々増加しており、また年によって分離菌株が異なっている。更に、今年度の事例からも明らかに分離菌の生化学的性状や *stx 2vh* のようなバリエーションが検出されるなど菌の性状が変化していることが明らかになった。今後、菌の多様性に対処するため培養などの従来法とPCR法を組み合わせ、正確かつ迅速に検査結果を出すようにしていかなければならない。

5. ま と め

- (1) STEC O157家族内および散発感染事例：C家族、患者Dおよび患児Eは、分離菌株の生化学的性状やPFGEパターン等から同一の汚染を原因とする diffuse outbreakの可能性が示唆された。
- (2) 特定の地域で多発したSTEC O26感染事例：2家族間において、それぞれの患児のパターンが一致していた。さらに、両者の家が約1 km以内にあることから、同一菌による感染の可能性が考えられた。
- (3) 子牛から人への感染が証明されたSTEC O26感染事例：患児由来株と子牛由来の2株のパターンが一致しており、これら3菌株は同一菌由来と考えられた。患児が牛舎周辺で遊ぶ機会が多かったことから、本事例は飼育している子牛から感染したものと推定された。

参 考 文 献

- 1) 高杉佳子他：広島市におけるSalmonella Oranienburgによる散発的食中毒事例の増加とdiffuse outbreakへの展開、病原微生物検出情報、20、113-114 (1999)
- 2) 伊藤友美他：散発下痢症患者から分離されたEHEC O157の性状、宮城県保健環境センター年報、17、51-55 (1999)
- 3) 斎藤紀行他：ウエディングケーキが原因食品となったSalmonella Tompson 食中毒事例-宮城県、病原微生物検出情報、21、119-120 (2000)

20年間（1980年～1999年）のシジミ中のCNP残留濃度の 経年変化と水田用初中期除草剤によるシジミへの汚染

Concentration of Residual Chlornitrofen in Corbiculae during 20 Years
from 1980 to 1999 and Concentration of Residual Herbicides
in Corbiculae Sprinkled over Paddy Fields

氏家 愛子 新目 眞弓 菊地 秀夫
大江 浩

Aiko UJIIE, Mayumi ARATAME, Hideo KIKUCHI
Hiroshi OOE

キーワード：除草剤、CNP、チオベンカルブ、モリネート、シジミ

Key Words : Herbicides, Chlornitrofen (CNP), Thiobencarb, Molinate, Corbicula

宮城県南産のシジミ中に残留するCNP濃度は、昭和55年に最大 $31 \mu\text{g/g}$ が検出され、水田除草剤の使用時期には高濃度で推移していたが、CNP製剤の製造・販売が自粛された平成6年には $1.1 \mu\text{g/g}$ に減少した。しかし、CNP製剤が使用自粛されて5年経過した平成11年にも最大 $0.17 \mu\text{g/g}$ が検出され、依然としてCNPによる汚染が残存している。

また、初中期除草剤として使用されているチオベンカルブ、モリネート、エスプロカルブ、ピリプチカルブも県南産のシジミではそれぞれ最大 $6.2 \mu\text{g/g}$ 、 $0.52 \mu\text{g/g}$ 、 $0.24 \mu\text{g/g}$ 、 $0.32 \mu\text{g/g}$ が検出されたが、一日摂取許容量に比較し $1/1000 \sim 1/10$ と低く、汚染期間も除草剤使用期間に限られていることが明らかとなった。

市販品のシジミ中のCNP残留濃度は、 $0.0053 \mu\text{g/g} \sim 0.0086 \mu\text{g/g}$ と県内産に比べ $1/20$ 以下と低く、他の除草剤についても県南産と比べ $1/60 \sim 1/2$ と低い値であった。

1. はじめに

クロルニトロフェン（以下CNPという）は日本で開発されたジフェニルエーテル系除草剤で、昭和40年に登録されて以来、水田初期除草剤として全国的に多用されてきた。しかし、平成6年には厚生省残留農薬安全性評価委員会が、胆のう癌死亡率との相関関係を指摘した新潟大学の研究結果¹⁾を受け、昭和52年に設定したADI値について「設定しないことが妥当」という評価結果²⁾を出したため、関係製造会社が製造、販売を自粛することで現在に至っている。当所では、昭和55年から魚介類中のCNPの検査を実施しており^{3)~6)}平成6年以前のデータの蓄積があることから、生物濃縮率の高いシジミを指標として、CNP等、初中期水田用14除草剤の残留濃度を測定し、残留農薬による汚染の経時的変化について検討を加えたので報告する。

2. 調査方法

2.1 試料

県内河川2ヶ所(県南部A地点、県東部B地点)で、除草剤使用前(4月)、使用時期(5月、6月)及び使用后(8月、9月)に採取したシジミを、それぞれ約1kg

むき身にし、5分間水切りしたものをホモジナイズして試料とした。また、対照として5月中旬～6月上旬に1週間毎に仙台市内小売店からシジミ(中国産、青森県十三湖産)を購入し、同様に試料とした。また、水田用除草剤の河川への流出状況の概要を調査するため、B河川の水をシジミ採取と同時期に採取し試料とした。B地点のシジミについては、生息量が減少し、5月30日を最後に採取不能となった。

また、除草剤は散布後の半減期が短いとされているが、米への残留を確認するため、県内5地点で収穫された玄米をブレンダーで細切し、試料とした。

2.2 分析対象農薬

モリネート、シマジン、エスプロカルブ、ベンチオカーブ、ジメタメトリン、ブタクロール、プレチラクロール、オキサジアゾン、ニトロフェン、CNP、ピリプチカルブ、クロメトキシニル、ピフェノックス、メフェナセットの14除草剤を対象とした。

2.3 試薬

農薬標準品：ベンチオカーブ；関東化学(株)、ジメタメトリン；Riedel-de-Haën、モリネート等12品；和光純薬工業(株)

アセトニトリル、アセトン、n-ヘキサン、酢酸エチル、メタノール：関東化学(株)、残留農薬分析用
 硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム：関東化学(株)、残留農薬分析用

Bond Elut SAX/PSA：Varian社製

Sep pak plus Florigil、PS-2：Waters社製

CABONGRAPH：ジーエルサイエンス(株)製

2.4 装置及び分析条件

ガスクロマトグラフ：HP6890、検出器：ECD、NPD

ガスクロマトグラフ質量分析計：HP6890/5873

カラム：HP-5 MS、5%-MethylPhenylSilicon、30m×0.25mm(0.25µm)

カラム温度：60℃(2)→20℃/min→180℃(0)→3℃/min→230℃(0)→10℃/min→300℃(2)

注入口温度：200℃

カラム流量：1.0ml/min (8.20psi)

パルスドスプリットレス注入、30psi(2 min)、2 µl

3. 結果及び考察

3.1 分析方法の検討

3.1.1 シジミ抽出液の精製

シジミ中の除草剤分析方法については、山口ら⁷⁾の精製法を更に簡便化し図1-1に示す方法で定量を行った。

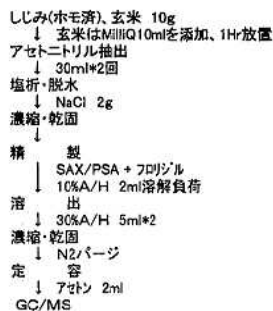


図1-1 分析方法 (しじみ、玄米)

図1-2 分析方法 (河川水)

山口らは、「SAX/PSA+Florigil」精製を行った後に、CABONGRAPHで精製を行い、GC-ECD及びGC-NPDによる定量を行っている。このCABONGRAPH精製の有効性を検討するために、「SAX/PSA+Florigil」精製後にCABONGRAPH精製をしたものとしないうで標準添加回収試験の比較を行った。表1に示したとおりCARBONGRAPH精製を行うと、シマジン、ベンチオカーブ、ジメタメトリン、メフェナセットの変動が大きくなり、回収率もCARBONGRAPH精製をしないうでより悪い結果であった。

ただし、この比較はアセトン溶液の標準液で作成した検量線で定量したため、シジミマトリックスの影響により回収率が100%を大きく上回った結果となった(特にGC-ECD感度の大きい農薬)。シジミマトリックスの影響

表1 CARBOGRAPH精製の有無によるシジミへの標準添加回収率 (n=3) 平均値±SD(%)

Pesticide	A		B
	精製有	精製無	無
モリネート	82.2±2.5	86.4±3.2	92.5±6.6
シマジン	62.8±4.9	98.1±3.1	95.4±6.6
エスプロカルブ	96.1±2.9	103±3.7	95.9±7.8
ベンチオカーブ	53.4±1.2	117±4.1	106±1.1
ジメタメトリン	86.1±1.7	102±0.3	104±4.1
ブタクロール	106±3.1	107±3.2	97.3±5.9
プレチラクロール	104±0.7	105±2.4	95.9±6.4
オキサジアゾン	100±1.3	100±2.3	96.4±6.5
ニトロフェン	144±3.2	145±8.8	91.9±9.0
クロルニトロフェン(CNP)	137±4.2	129±6.8	90.6±8.8
ピリブチカルブ	122±3.2	117±1.6	93.6±5.2
クロムキシニル(X-52)	164±6.6	142±3.0	87.2±9.4
ピフェノックス	156±9.8	129±7.0	86.0±7.6
メフェナセット	113±2.3	109±1.7	86.9±8.3

A：アセトン標準溶液による検量線、B：マトリックスの標準溶液検量線

をできるだけ少なくするため、シジミマトリックスで溶解した標準液で検量線を作成し、再定量をした回収率を表1に示した。「SAX/PSA+Florigil」精製の回収率は86.0%~106%、変動計数3.9%~11%と良好な結果が得られたため、CABONGRAPH精製を省くこととした。

シジミはホモジナイズ後冷凍保存をし、GC/MSの導入を待って分析を行った。検出下限値は、後段の玄米と同じ0.6ng/g~2.0ng/gである。

3.1.2 河川水の分析

河川水の分析については、PS-2からの溶出溶媒をメタノール、アセトン、酢酸エチル、メタノール/アセトン混合液、アセトニトリルで検討した結果、図1-2に示すとおりのアセトニトリル5mlで溶出後、アセトン5mlで溶出する方法により安定した回収率が得られた。

しかし、通水後、空気吸引を20分行ってもPS-2の脱水が不十分なため溶出液に1~2滴の水が混入して、最終乾固時の窒素吹きつけの際にモリネートが揮散してしまい回収率の低下がみられた。標準添加回収率試験結果を表2に示す。GC/MSがこの時点で導入されていなかったため、カラムの出口をスプリッターで分岐し⁸⁾、ニトロフェン、CNP、クロムキシニル、ピフェノックスはECD検出器で、その他の農薬はNPD検出器で定量を行った。

3.2 宮城県内の除草剤の出荷量

宮城県内で使用されている除草剤について、農薬要覧の製剤出荷数量⁹⁾を基に、各農薬単体の出荷数量の推移を図2に示す。

宮城県での除草剤全出荷数量は、昭和55年度を基準に

表2 Sep pak plus PS-2による河川水等の標準添加回収率 (n=3) 平均値±SD(%)

Pesticide	精製水	河川水
モリネート	31.6±4.0	23.5±1.7
エスプロカルブ	71.6±4.8	72.8±6.4
ベンチオカーブ	77.9±4.7	76.1±5.7
ジメタメトリン	83.8±2.1	86.2±4.8
ブタクロール	78.3±1.8	80.2±3.6
プレチラクロール	79.6±2.7	88.8±4.3
オキサジアゾン	75.5±2.0	79.5±2.6
ニトロフェン	84.5±4.2	85.6±3.1
クロルニトロフェン(CNP)	74.6±4.5	77.3±3.6
ピリブチカルブ	64.2±6.6	74.1±2.6
クロムキシニル(X-52)	98.1±2.6	95.6±3.5
ピフェノックス	98.5±2.6	95.4±3.4
メフェナセット	78.4±2.6	79.6±5.0

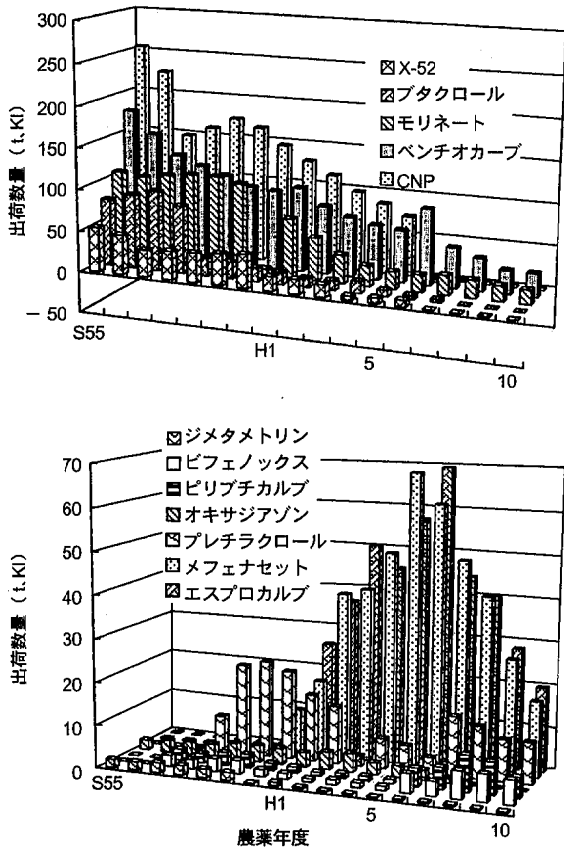


図2 除草剤(単体)出荷数量の経年変化

すると平成6年度には約1/2に、平成10年度には1/5に減少している。また、CNP製剤の製造・販売が自粛された平成6年を境にCNP、クロメトキシニル、ブタクロール、ジメタメトリン、オキサジアゾン製剤の出荷数量がゼロとなっており、新たに昭和60年代からプレチラクロール、メフェナセット、エスプロカルブ製剤等が使用されてきている。

3.3 シジミ中のCNP残留濃度の推移

A地点のシジミ中のCNP残留濃度の経年変化をみると、図3に示したとおりCNPが多用されていた平成5年度までは、水田散布時期に高濃度(最高値31 $\mu\text{g/g}$)になり、その前後の4月、7月頃には数 ng/g 程度の濃度まで低下する一山型のパターンを示している。平成11年度には、CNPが使用中止されているにもかかわらず、5月上旬か

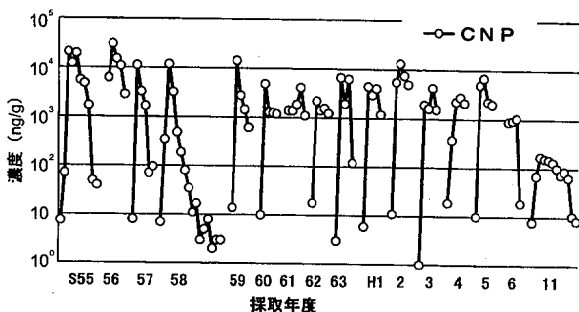


図3 CNPの経年変化(A地点)

ら濃度が高くなり5月中旬に最高値150~170 ng/g を示した。4月および9月には8 ng/g と低濃度を示していることから、5、6月には平成5年度までの1/200~1/20の濃度ではあるものの、公共用水域に流出したCNPによる汚染であることがわかる。また、S56年からのB地点のシジミ中CNP濃度の推移についても同様な傾向が認められ、H11年5月12日には150 ng/g の濃度を検出している。この原因としては、土壤に残留していたCNPアミノ体等が、水田の湛水土壤中では酸化されCNPとして流出するとの説もあるが、使用自粛後5年経過した現在でも、毎年掘り起こされている水田土壌から、どの程度CNPが溶出しシジミに濃縮されるのか、継続した調査が必要と考えられる。

また、市販の中国産、青森県十三湖産のシジミについて分析を行ったところ、A地点の除草剤を使用しない時期とほぼ同程度の値であった。

3.4 シジミ中のCNP代替除草剤残留濃度

A地点のシジミ中のCNP代替除草剤残留濃度を図4に示す。田植え後、2週間以内に使用される初期除草剤の、エスプロカルブ、ピリブチカルブ、メフェナセット、プレチラクロール、ピフェノックスが検出され、いずれも5月上旬から中旬に最高値を示した。また、初中期除草剤として使用されるベンチオカーブ、モリネートは、最高値が検出された時期が5月下旬から6月上旬とエスプロカルブ等より2週間程度遅くなっている。いずれの除草剤も、シジミへの残留は除草剤使用時期の短期間に限られている。

また、市販品のシジミは、6月上旬のものにベンチオカーブ、モリネート、メフェナセット、エスプロカルブが検出されたが、A地点の濃度と比較して1/60~1/2とかなり低い残留濃度であった。

S56年度、57年度の5月、6月の宮城県内のシジミ47検体の平均値と、平成11年度のA地点及び市販品の5月、6月の平均値の比較を図5に示す。A地点のものは、S56、57年度と比べ、CNP濃度が1/50に低下し、逆にベンチオカーブの濃度が高濃度になっており、主要除草剤が

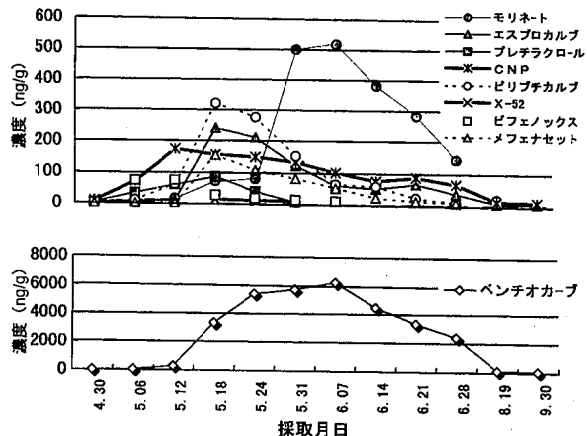


図4 シジミ中の除草剤残留濃度

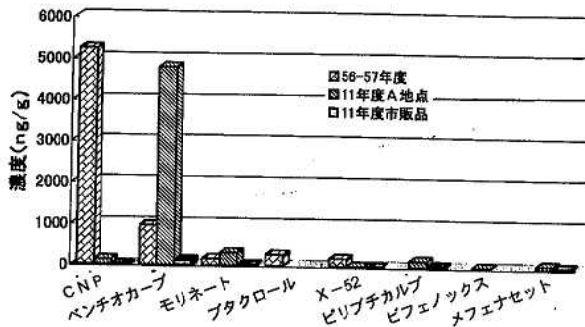


図5 市販しじみ中の除草剤残留濃度

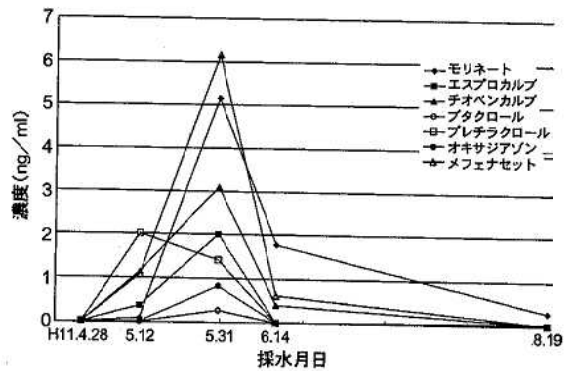


図7 河川水の除草剤濃度

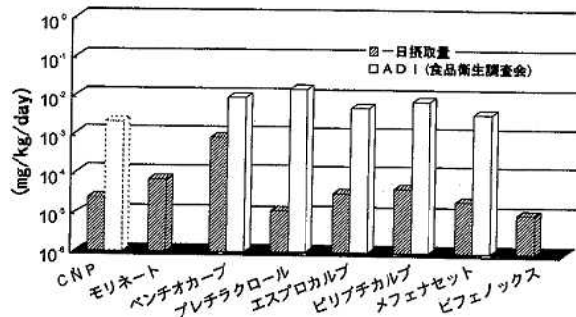


図6 一日摂取量とADI値

表3 玄米の標準添加回収率 (n=3)

Pesticide	平均値±SD (%)	
	平均値	SD
モリネート	89.8	± 2.1
シマジン	89.6	± 3.0
エスプロカルブ	97.7	± 2.4
ベンチオカーブ	85.2	± 1.9
ジメタメトリン	12.6	± 1.9
ブタクロール	99.8	± 2.5
プレチラクロール	59.7	± 2.2
オキサジアゾン	52.1	± 18
ニトロフェン	112	± 1.3
クロルニトロフェン (CNP)	88.3	± 2.8
ピリプチカルブ	68.0	± 2.3
クロメトキシニル (X-52)	86.4	± 6.8
ピフェノックス	66.1	± 10
メフェナセット	36.7	± 40

ベンチオカーブ、モリネート等に推移していることがわかる。

3.5 一日摂取許容量との比較

国民栄養調査に基づく宮城県の平均貝類摂取量6.7g、体重50kgと仮定し、A地点の最高濃度を使用して一日摂取量を計算した結果を図6に示す。

ベンチオカーブの一日摂取量は一日摂取許容量 (ADI) の約1/10、プレチラクロール等他の農薬はADIの1/1000以下でありこれらの農薬については全く問題のないレベルであった。

ADIの設定を取り消されたCNPは、製造・販売自粛後5年経過した現在でも、A、B両地点で除草剤使用時期に高くなっており、一日摂取量を平成6年以前のADI値と比較すると、約1/100の濃度となっている。

3.6 河川水中の除草剤濃度

除草剤使用による水質への汚染を調べるため、除草剤使用前、使用期間中、使用終了後の水質について検査をした結果を図7に示す。検出下限値は河川水を200倍に濃縮して0.05ng/mlとした。

CNPは期間中、5検体ともNDであったが、鈴木らの報告¹⁰⁾にあるように河川水の濃度とシジミ中の濃度の比が4100程度であると仮定し、シジミ中CNP最高濃度150ng/gが検出される河川水濃度を計算すると検出下限値未満となり、200倍の濃縮では検出されないレベルであった。

また、5月12、31日のシジミと河川水濃度の比をとると、ベンチオカーブが390、1300、エスプロカルブが100、87、メフェナセットが40、17であった。モリネートは、河川水からの回収率が50%未満であったため除外した。

3.7 玄米中の除草剤残留濃度

除草剤の米への残留を調査するために、県内5地点の玄米について分析を行った。玄米への標準添加回収率試験結果を表3に示す。

ジメタメトリン及びメフェナセットの回収率が50%以下であったが、その他の農薬の回収率は概ね満足のいくものであり、玄米中の残留は認められなかった。

4. まとめ

- 1) シジミ中のCNP残留濃度は、製造・販売自粛のあった平成6年度から5年経過した現在でも、除草剤の使用時期である5月、6月には百数十ng/gの濃度が検出され一山型のパターンを示した。CNPの由来が、土壌中の有機物と結合し残留していた代謝物が、水田の掘り起こしや湛水中にCNPに再度酸化されて溶出したことに因るものか、今後の調査が必要と考えられた。
- 2) CNP代替除草剤のシジミ及び河川水への残留、汚染については、除草剤使用時期の短期間に限られていた。シジミ中にはエスプロカルブ、ピリプチカルブ、メフェナセット、プレチラクロール、ピフェノックスがいずれも5月上旬から中旬に最高濃度が検出された。また、初中期除草剤として使用されるベンチオカーブ、モリネートは最高濃度が前述の除草剤より3週間程度遅くなる傾向が認められた。
- 3) CNPを除く除草剤残留濃度については、一日摂取量

を計算すると、ADIの1/1000～1/10程度であり、全く問題のない濃度であった。

- 4) 中国産や青森県十三湖産のしじみの市販品は、6月上旬のものにベンチオカーブ、モリネート、メフェナセット、エスプロカルブ検出されたが、A地点と比較して1/60～1/2とかなり低い残留濃度であった。
- 5) 玄米への除草剤の残留は認められなかった。

今後は、A地点に流入する農業排水の調査、過去にCNPを使用した水田土壌の溶出試験等を行い、河川に流入するCNPの汚染源についても調査を行っていく予定である。

参考文献

- 1) 山本正治：医学のあゆみ、166、839-840、1993
- 2) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課、衛乳第2号、平成6年3月14日
別添；クロルニトロフェン(CNP)に係る残留農薬安全性評価委員会評価
- 3) 石川潔ほか：食品衛生学雑誌、22(1)、56(1981)
- 4) 鈴木滋ほか：食品衛生学雑誌、24(2)、187(1983)
- 5) 鈴木滋ほか：宮城県保健環境センター年報、1、53(1983)
- 6) 鈴木滋ほか：食品衛生学雑誌、26(2)、137(1985)
- 7) 山口剛ほか：宮城県保健環境センター年報、17、79(1999)
- 8) 氏家愛子ほか：宮城県保健環境センター年報、11、133(1993)
- 9) 農薬要覧：1980～1999、日本植物防疫協会
- 10) 鈴木滋：日本農薬学会農薬環境科学研究会、第4回シンポジウム講演要旨、昭和61年10月8日

農産物中残留農薬の多成分一斉分析法の検討

A Study on Simultaneous Determination of Pesticide Residue
in Agricultural Products菊地 秀夫 氏家 愛子 新目 眞弓
大江 浩Hideo KIKUCHI, Aiko UJIIE, Mayumi ARATAME
Hiroshi OOEキーワード：残留農薬、一斉分析法、SAX/PSA二層カラム、
ガスクロマトグラフィー、質量選択検出器Key Words : Pesticide Residue, Simultaneous Determination, SAX/PSA Cartridge
Gas Chromatography, Mass Selective Detector

残留農薬の分析において、前処理及び測定各段階について、効率・迅速化を図るための検討を行った。ガスクロマトグラフと高速液体クロマトグラフ測定にいたるまでの前処理をアセトニトリル抽出後、イオン交換系の二層カラムによる精製に統一することが可能となり、添加回収試験を含め分析試料数の減少、同時処理が可能となり効率化を図ることができた。また、ガスクロマトグラフ測定において、同一カラムを分岐し電子捕獲検出器、窒素リン検出器二種類の検出器による同時測定と質量選択検出器による並行測定を行うことにより、測定結果の迅速な評価が可能となった。この結果、およそ100種類農薬の一斉分析が可能となった。

1. はじめに

食品中の農薬には食品衛生法で残留基準が設定されており、設定されている農薬の数と基準値の値の数は年々追加され、増加している。平成11年11月22日の第9次厚生省告示の時点で、残留基準設定農薬は199種、基準値数として約8300となっている。

食品衛生法に定められている分析法は、グループ化されつつあるとはいえ、個別法も多く他種類の農薬分析は不可能に近い。理化学部では、残留農薬の一斉分析法を開発し、分析法に改良を加えることにより対象農薬の増加に対応してきた。この分析方法は系列毎の系統分析法となっており複雑なものとなっている。更に、食品検査に導入されたGLP制度に伴い、検査の正当性をチェックするために行なう、農薬標準を添加しての回収試験試料数も増え、検査には多くの労力と時間を要するものとなっている。

今後の農薬検査には、従来の検査法に加えて、今後とも迅速、かつ、効率的なものであることが要求される。今回以下のテーマについて検討を加えた結果について報告する。

1) これまでの前処理は、農薬に合わせた複数の検出器を用いるガスクロマトグラフ（以下「GC」という。）で測定するものと、液体クロマトグラフ（以下「LC」

という。）で測定とするものの二方法に分けて作成されていた。これまでも前処理の整合化を意図してきたが、更に、同じ前処理にできないか検討を加える。

2) 新しく整備された質量選択検出器付きGC（以下「GC/MSD」という。）を活用することにより、農薬の定性・定量の効率化を検討する。

2. 試薬及び装置

2.1 試薬

試薬及び有機溶媒：残留農薬試験用または同等品
精製用ミニカラム：

BOND ELUT SAX/PSA (6ml/1g, Varian製)

農薬標準：標準品として入手できるもの

2.2 装置

粉砕器：松下電器製、MX-V100他

振とう器：ヤヨイ製、8-1-W、8-20-W他

遠心分離器：KUBOTA製、KN-45他

ロータリーエバポレータ：

東京理化機械製

ガスクロマトグラフ (GC)：

Hewlett Packard製 6890

検出器：ECD、NPD

質量選択検出器付きGC (GC/MSD)：

Hewlett Packard製 HP6890、HP5973
液体クロマトグラフ (LC) :

島津製 LC-10、CRB-6A

2.3 農薬及び標準溶液

検討を加えた農薬を表1に示す。対象農薬は、これまで理化学部で対象としてきたものをベースとし、新規に基準が設定された農薬の中でGC測定が可能なものを追加した。農薬物質名として99種、定性・定量のピークは110本を越えた。

農薬標準品を溶解し、GC測定用は100から1000ppm濃度、LC測定用は100ppm濃度の溶液を調製し標準原液とした。標準農薬をいくつかのグループに区分し、定量限界値の500倍から2000倍濃度の混合標準溶液を調製し保存溶液とした。使用溶媒はGC測定用にアセトン、LC測定用にはアセトニトリルを用いた。定量限界は、検査対象農産物の中で一番基準が低い値の10分の1としたが、感度がとれないときは基準の2分の1とした。定量には、測定溶液1mlあたり試料10gに相当するので定量限界値の10倍と40または50倍濃度の2点で一次式の検量線を作成した。

3. 実 験

3.1 農薬の分析フロー

分析法は前年度のものりを基本とし、GC用とLC用の前処理を同じものとするを念頭に、一般に操作が複雑である精製過程を可能な範囲で少なくすること、農薬が検出された場合その確認に関する情報が同時に得られる分析法であることを目標とした。

これまでの分析フローを図1に示す。GC測定用の前処理では、アセトニトリル抽出後に酢酸エチルに転溶しSAX/PSAとフロリジルによる二段の精製過程を行い、処

理の途中からリン (以下「P」という。) 系列、窒素 (以下「N」という。) 系列、塩素 (以下「Cl」という。) 系列とピレスロイド (以下「Py」という。) 系列に分け測定する系統分析法となっている。一方、LC測定用の前処理ではアセトニトリル抽出後SAX/PSAによる一段の精製となっている。似た前処理となっているが細部で異なる操作となっており、同時処理は難しい。

GC測定用前処理がLC測定用のものと同じとなるよう、GC用前処理から酢酸エチル転溶とフロリジル精製が省略できるか検討した。省略することにより妨害成分の除去が不十分になることが考えられるが、電子捕獲検出器 (以下「ECD」という。) と窒素リン検出器 (以下「NPD」という。) 二種類の検出器によるGC同時測定とGC/MSDの測定を並行することで精製効果の低下を補完できると考えた。MSDの検出器は四重極で選択イオンモードにより定性と定量を行なった。

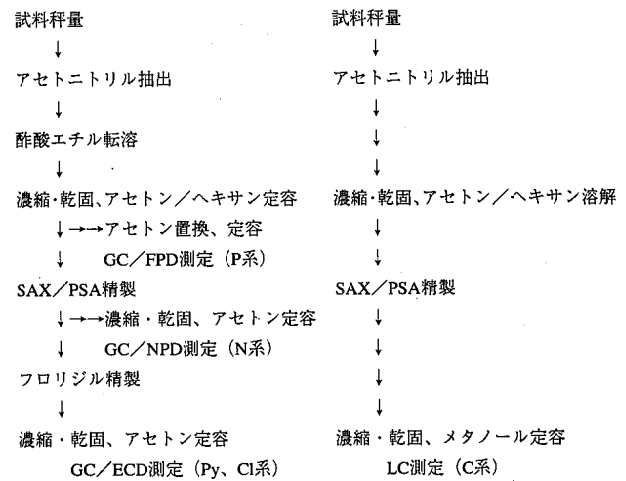


図1 残留農薬一斉分析フロー (改良前)

表1 分析対象農薬

系列名	農 薬 名	農薬数	ピーク数
有機リン系列	EPN、イソフェンホス、エトプロホス、エトリムホス、カズサホス、キナルホス、クロルピリホス、CVP (A、B)、DDVP、ジメトエート、ダイアジノン、チオメトン、トルクロホスメチル、パラチオン、パラチオンメチル、ピラクロホスメチル、ピリミホスメチル、MEP、フェンスルホチオン、MPP、PAP、ブタミホス、プロチオホス、ホスチアゼート、マラチオン、メタミドホス	27	28
有機窒素系列	EPTC、アセタミプリド、アミトラズ、アラクロール、キノメチオネート、IPC、シプロコナゾール、チオベンカルブ、テブコナゾール、テブフェンピラド、トリアジメノール、パクロブトラゾール、ピテルタノール、ピリダベン、ピリプロキシフェン、フェナリモル、フルジオキシニル、フルシラゾール、フルトラニル、ペンダイメタリン、マイクロブタニル、メトラクロール、メトリブジン、メプロニル、レナシル	25	26
有機塩素系列	DDT (op、pp)、DDD (pp)、DDT (pp)、BHC (α、β、γ、δ)、アルドリン、エンドリン、カプタホル、キャプタン、クロルフェナピル、クロルベンジレート、ジクロルアニド、ジコホル、デイルドリン、トリフルラリン、ピリフェノックス (E,Z)	20	20
ピレスロイド系列	アクリナトリン、シハロトリン、シフルトリン、シベルメトリン、テフルトリン、デルタメトリン、トラロメトリン、ピフェントリン、ピレトリン、フェンバレレート、フルシトリネート、フルバリネート、ベルメトリン	13	26
カーバメート系列	アルジカルブ、アルジカルブスルホキシド、アルジカルブスルホン、エチオフェンカルブ、エチオカルブスルホキシド、エチオフェンカルブスルホン、オキサミル、NAC、ピリミカーブ、フェノブカルブ、ペンダイオカルブ、メチオカルブ、メチオカルブスルホキシド、メチオカルブスルホン	14	14
合 計		99	114

3.2 実試料を用いた添加回収試験

開発した一斉分析法を実際の試料に適用し回収率を調べた。対象試料は、野菜として、きゅうり、トマト、大根、馬鈴薯、ほうれん草及び白菜、果実として、日本梨及びいちごの計8種類である。

4. 結 果

4.1 農薬の分析フロー

GC測定用前処理をLC測定用の前処理に統一するために、P系農薬に新たに加わるSAX/PSA精製時の回収試験を行なった。精製条件は他系列農薬と同じく、30%アセトン/ヘキサン溶液で負荷し70%アセトン/ヘキサン溶液で溶出した。結果はほぼ満足すべき回収率であった。

GC測定とLC測定の前処理が同一となった一斉分析のフローを図2に示す。試料をアセトニトリルで抽出し、溶液を30%アセトン/ヘキサン溶液に置換する。あらかじめ同組成溶液でコンディショニングしたSAX/PSAカラムに試料溶液を負荷し、70%アセトン/ヘキサン溶液で溶出し精製を行なう。負荷時と溶出時の溶液を40℃以下で蒸発・乾固後、アセトンで試料10gあたり1mlに定容し、GC測定溶液とする。LC測定には溶液をメタノール溶液に置換した。精製過程として強弱二種類の陰イオン交換体からなるSAX/PSA精製が有効であり、この精製条件は今回対象とした農薬のほぼ全てに適用が可能であった。また、GC/MSD測定による質量数情報と、ECDとNPDの同時測定による感度情報を活用することにより、酢酸エチル転溶とPy系及びCl系列農薬に採用していたフロリジル精製を省略することが可能となった。

系列毎に測定する以前の分析法では4本必要だった添加回収試験用の試料数は、前処理を統一することによりGC用とLC用の2本に減らすことが可能となった。また、分析操作も単純なものとなり、GC用とLC用の同時処理も可能となった。

4.2 クロマトグラフの測定条件

GCの測定条件を表2に示す。LCの条件は前年度²⁾と同様なので省略した。P系列、N系列、Cl系列及びPy系列農

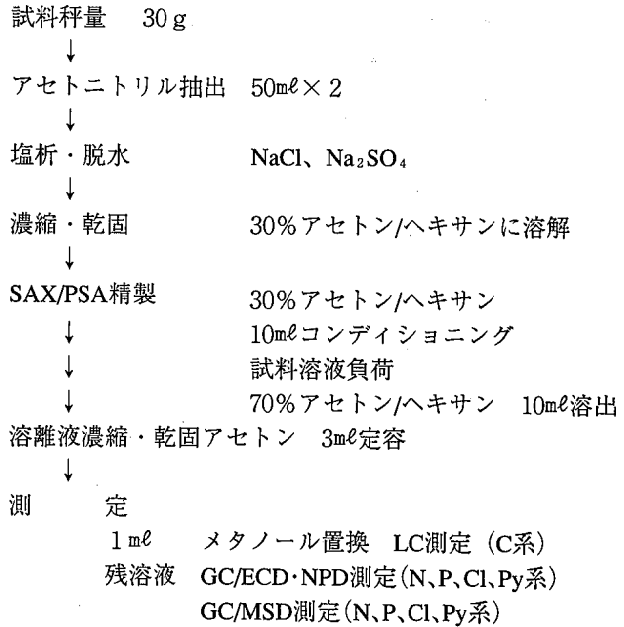


図2 残留農薬一斉分析フロー (改良後)

薬はECD、NPD及びMSDを検出器とするGC測定、カーバメート (以下「C」という。) 系列農薬はLC測定で定性・定量を行なった。

農薬数が多いため、GC測定で得られるクロマトグラムはピークの多い複雑なものとなった。定性・定量のためにGCに組み込まれたワークステーションによる解析メソッド作成は複雑になった。自動解析だけでは信頼性は少なく、マニュアルによるピーク確認、積分操作が必要不可欠であった。

どちらかの検出器で測定できればその結果は有効となるようにGC測定とGC/MSD測定で得られる結果は相互に補完できると考えられる。しかし、農薬が検出された場合には、保持時間だけの情報では十分とはいえずGC/MSDによる質量に関する情報が必要不可欠である。多種類の農薬を一斉分析するには質量選択検出器は必要不可欠で、LC測定にも早急な整備が望まれる。ECDとNPDによるGC測定から得られる感度比も農薬同定の有力な情報となった。

表2 ガスクロマトグラフ測定条件

装 置	機 種	GC/MSD	GC/ECD	GC/NPD
		HP6890/HP5973	HP6890	
カ ラ ム	μ	HP-5MS	DB-5MS	
長さ(m)×内径(mm)×膜厚(μm)		30×0.25×0.25	60×0.25×0.25	
オ ー プ ン 温 度		60℃、2min→20℃/min→ 180℃、2min→4℃/min→ 230℃、0min→10℃/min→ 300℃、10min	60℃、2min→20℃/min→ 180℃、2min→4℃/min→ 230℃、0min→5℃/min→ 280℃、10min	
流 量 、 モ ー ド		定流量、1ml/min		
注 入 口 温 度 (℃)		150		
検 出 器 温 度 (℃)		300(T.L.H.)	300	280

4.3 実試料を用いた添加回収試験結果

野菜と果実試料に農薬標準を添加して行ったGC/MSDの回収試験結果を図3及び表3に示す。試料成分に起因する影響があるため、農薬の入っていない試料を同様に処理し得られた溶液に農薬標準を添加して検量線を作成し回収率を求めた。

回収率はGLPの内部精度管理上70%から120%を目標とした。回収されないもの、範囲から外れるものもあったが、概ね範囲内に収まる結果であった。緑色の濃いほうれん草については精製が十分とはいえなかった。回収率の結果は試料毎に異なるが、回収率が悪かった農薬として以下に述べる傾向があった。カプタホールは全試料でピークが検出されなかった。キャプタン、キノメチオネートは全般的に低回収率であった。主に後半にピークが出現するピレスロイド系農薬は感度が低下する傾向があった。カプタホール、キャプタンは試料の酸・アルカリ成分による分解性やGC内での熱分解性に起因するものと考えられる。また、測定試料数が多くなると感度が低下する傾向があるので、検量線を再作成する必要があった。メーカも含め、感度低下に対する恒久的な対策が望まれる。

5. ま と め

残留農薬一斉分析法の改良をテーマとして検討した結果、以下に述べる迅速化と効率化が図ることができた。

GC測定用前処理とLC測定用前処理を、比較的単純な処理に統一したことにより、同時処理が可能となった。添加回収試験も含めると分析試料数も少なくすることができた。ECDとNPDのGC同時測定と、GC/MSD測定を並行して行うことにより、農薬が検出された場合にその確認も一緒にできるようになった。検出した場合に行なう農薬の確認、保持時間が近接した場合における農薬の確認においては、MSDの測定は欠かせないもので、今後とも増加する農薬に対する一斉測定にますます必要性は増すものと考えられる。

しかし、試料によっては今回開発した分析法で十分とはいえないものもあり、対象農産物を増やしていくことも考慮すると、今後とも精製過程を中心に分析法の改良を進める必要がある。また、多種類の農薬を一斉に測定するため定性・定量が複雑になり、解析過程にマニュアル確認が必要となっている。測定や解析に関する新しい開発技術をうまく利用していくことも必要と考えられる。

参 考 文 献

- 1) 菊地秀夫 佐藤勤 山口剛史 伊藤孝一：保健環境センター年報、14、64 (1999)
- 2) 氏家愛子 高橋紀世子 細矢義隆 伊藤孝一：保健環境センター年報、14、70 (1999)

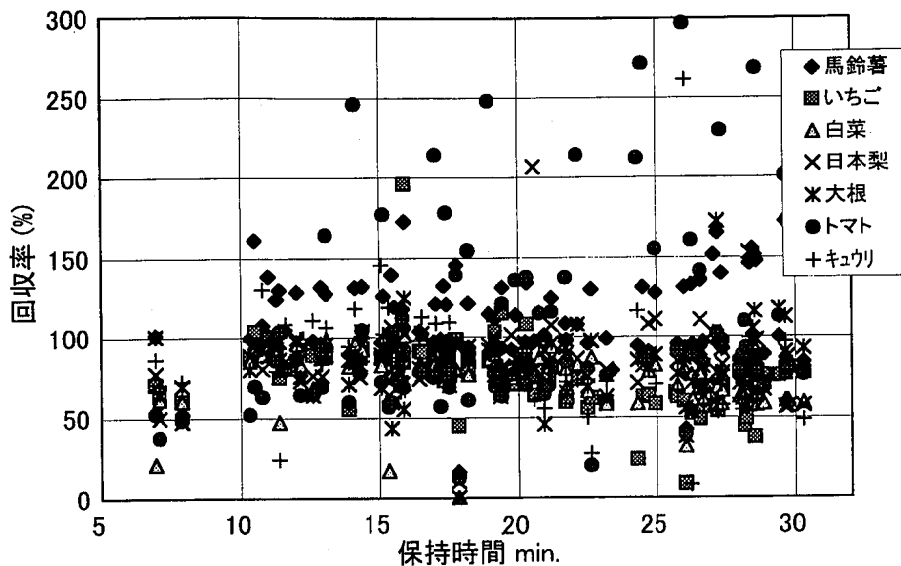


図3 農産物における農薬標準添加回収率

表3 トマトにおける平均回収率と変動係数

No.	農薬名	系列	保持時間 min.	回収率 %	変動係数 %	No.	農薬名	系列	保持時間 min.	回収率 %	変動係数 %
1	アルジカルブ	C	32.72	84.2	7.7	46	ベンティメタリン	N	16.95	88.7	4.7
2	エチオフェンカルブ	C	39.86	104.0	4.8	47	マイクロブタニル	N	19.66	71.3	8.0
3	オキサミル	C	15.18	101.0	5.0	48	メトラクロール	N	15.57	91.2	4.3
4	カルバリル	C	38.91	105.0	4.4	49	メトリブジン	N	13.79	106.9	12.6
5	ピリミカーブ	C	41.45	87.2	12.9	50	メプロニル	N	21.62	69.9	10.9
6	フェノブカルブ	C	44.83	101.0	5.3	51	レナシル	N	22.38	66.6	13.7
7	ペンダイオカルブ	C	37.19	104.0	3.4	52	EPN	P	24.41	69.8	10.7
8	メチオカルブ	C	45.08	98.0	5.1	53	イソフェンホス	P	17.33	88.6	5.4
9	α -BHC	CI	11.21	91.3	2.3	54	エトプロホス	P	10.29	94.2	2.1
10	β -BHC	CI	11.94	88.1	4.2	55	エトリムホス	P	13.00	93.0	2.4
11	γ -BHC	CI	12.09	93.2	2.8	56	カズサホス	P	10.94	93.3	1.4
12	δ -BHC	CI	12.78	87.4	4.2	57	キナルホス	P	17.40	92.2	7.0
13	pp'-DDD	CI	21.00	75.5	9.5	58	クロルピリホス	P	15.75	91.4	3.6
14	pp'-DDE	CI	19.31	83.1	5.9	59	クロルフェンビンホス(CVP)	P	16.87	86.2	8.6
15	op'-DDT	CI	21.11	78.6	7.5	60	ジクロロボス (DDVP)	P	7.04	67.9	3.9
16	pp'-DDT	CI	22.52	71.5	10.2	61	ジメトエート	P	11.52	94.1	4.6
17	アルドリノ	CI	15.45	89.1	3.1	62	ダイアジノン	P	12.54	93.4	1.4
18	エンドリン	CI	20.13	83.8	5.7	63	チオメトン	P	11.33	49.6	9.4
19	キャプタン	CI	17.21	63.6	33.7	64	トルクロホスメチル	P	14.19	91.6	2.5
20	クロルフェナビル	CI	20.48	76.3	7.7	65	バラチオン	P	15.78	91.2	4.0
21	クロルベンジレート	CI	20.66	76.1	7.9	66	バラチオンメチル	P	14.04	93.1	3.7
22	ジクロフルアニド	CI	15.25	75.2	5.3	67	ピラクロホス	P	26.64	73.6	8.3
23	ジコホール (ケルセン)	CI	15.80	252.8	33.0	68	ピリミホスメチル	P	15.07	91.5	2.9
24	ディルドリン	CI	19.28	85.6	5.1	69	フェニトロチオン (MEP)	P	14.98	92.5	3.6
25	トリフルラリン	CI	10.74	95.1	2.2	70	フェンスルホチオン	P	20.83	76.0	6.6
26	ピリフェノックス	CI	17.10	78.2	3.2	71	フェンチオン (MPP)	P	15.67	77.1	5.6
27	EPTC	N	7.85	65.3	7.7	72	フェントエート (PAP)	P	17.43	89.0	5.1
28	アセタミプリド	N	24.34	71.7	9.3	73	ブタミホス	P	18.86	84.6	6.4
29	アミトラズ	N	25.96	12.4	137.1	74	プロチオホス	P	19.06	84.9	5.3
30	アラクロール	N	14.30	92.1	3.1	75	ホスチアゼート	P	16.36	88.4	6.0
31	キノメチオネート	N	17.73	17.1	40.2	76	マラチオン	P	15.38	90.9	3.2
32	クロプロファミン (IPC)	N	10.45	97.2	6.2	77	メタミドホス	P	6.90	75.6	3.0
33	シプロコナゾール	N	20.19	72.1	5.5	78	アクリナトリン	Py	26.52	70.3	12.3
34	チオベンカルブ	N	15.35	91.1	3.6	79	シハロトリン	Py	25.91	67.9	13.9
35	テブコナゾール	N	23.08	69.0	9.9	80	シフルトリン	Py	27.92	78.8	9.9
36	テブフェンピラド	N	24.87	68.5	14.3	81	シベルメトリン	Py	28.30	74.1	21.6
37	トリアジメノール	N	17.68	85.0	9.9	82	テフルトリン	Py	12.86	94.1	1.9
38	バクロブトラゾール	N	18.10	76.8	4.8	83	デルタメトリン	Py	30.23	84.2	11.7
39	ピテルタノール	N	27.01	84.4	6.8	84	ピフェントリン	Py	24.61	69.9	12.5
40	ピリダベン	N	27.26	71.8	15.4	85	ピレトリン-I	Py	21.60	67.6	6.9
41	ピリプロキシフェン	N	25.67	66.8	14.9	86	ピレトリン-II	Py	26.58	67.2	17.5
42	フェナリモル	N	26.21	68.8	13.2	87	フェンバレレート	Py	29.36	81.8	7.1
43	フルジオキソニル	N	19.32	65.1	12.7	88	フルシトリネート	Py	28.57	81.0	8.4
44	フルシラゾール	N	19.81	72.2	5.4	89	フルバリネート	Py	29.60	86.1	6.0
45	フルトラニル	N	19.01	76.9	8.0	90	ベルメトリン	Py	27.12	70.0	14.6

(注)・添加回収試験は5試料で行った。
 ・保持時間は、LCとGC/MCDの条件での値である。
 ・複数ピークを持つ農薬については初めのピークの保持時間を記載した。

ポリカーボネート製品中ビスフェノールAの材質試験 及び溶出試験（第2報）

Results on Material Test and Migration Test of Bisphenol A from Polycarbonate Products (Report No. 2)

高橋 紀世子 石川 潔 細矢 義隆*
大江 浩

Kiseko TAKAHASHI, Kiyoshi ISHIKAWA, Yoshitaka HOSOYA
Hiroshi OOE

キーワード：ビスフェノールA、ポリカーボネート、材質試験、溶出試験、蛍光検出器

Key Words : Bisphenol A, Polycarbonates, Material Test, Migration Test
Fluorescence Detector

平成10年度に引き続き、平成11年度においてもポリカーボネート製品中のビスフェノールA（規格基準ではビスフェノールA（以下BPA）、フェノール（以下PH）及びp-tert-ブチルフェノール（以下PTBP）の合計値）の材質及び溶出試験を実施したが規格基準を超過する製品はなかった。BPAは環境ホルモンの作用が疑われている化学物質の一つであり、現段階では、可能ならば出来る限り低濃度までの測定が望まれるが、高速液体クロマトグラフィーで蛍光検出器を使用することで、検出下限値（溶出液濃度として）はBPA、PH及びPTBPの各々が0.2ng/mlとなり、電子レンジ加熱等を含めた各種溶出条件での低濃度の溶出液濃度が測定可能となった。

1. はじめに

BPAはフェノールとアセトンとの縮合反応で合成され、主な用途はポリカーボネートやエポキシ樹脂の主原料である。国内での生産量は、平成9年度で約27万トンであり、環境庁が内分泌かく乱作用が疑われる物質としてリストアップした化学物質の中でも、フタル酸エステル同様に生産量が多い物質である。ポリカーボネートは、透明性、耐衝撃性に優れ、ほ乳ビン等の食器、コンパクトディスク、OA機器等に使用されている。一方、エポキシ樹脂は耐熱性、耐薬品性および密着性等に優れ種々の塗料やコーティング剤として利用されている。

食品衛生法においては、ポリカーボネートを主成分とする合成樹脂の容器又は容器包装中のBPAの規格が定められており、重合調節剤として添加されるPH及びPTBPとBPAの合計値で規定されており、材質試験で500ppm以下、溶出試験で2.5ppm以下と定められている。

BPAの環境ホルモンの作用が疑われて以来、学校給食容器やほ乳ビン等からのBPAの溶出や缶詰から金属溶出を防ぐための内面コーティング剤から食品への移行についての多くの事例発表¹⁾があり、いずれも規格基準濃度と比較してかなり低濃度の検出量となっているので、現段階としては出来る限りでの低濃度の測定が望まれる。

* 現 気仙沼保健福祉事務所

平成10年度²⁾に引き続き平成11年度においても、ほ乳びん、計量カップ等のポリカーボネート製品について、規格基準の材質試験及び種々の溶出条件における溶出試験を実施した。材質試験では同じメーカーにおける2年間での傾向を検討した。溶出試験では、抽出や濃縮操作をせずに、分析法の高速液体クロマトグラフィーで蛍光検出器を使用して検出感度を上げることにより、種々の溶出条件での溶出液濃度についても低濃度まで測定でき、若干の知見を得たので報告する。

2. 方 法

2.1 試 料

平成11年度は県内大崎、栗原および塩釜保健所岩沼支所3保健所管内の市販品を試買し、ほ乳びん4、乳児用マグカップ3、計量カップ2、タッパー2、子供用キャラクター食器4の合計15品目を試料とした。

(平成10年度試料についても解析に利用した。)

2.2 試 薬

前報²⁾同様。

2.3 HPLC装置及び測定条件

(材質試験用)

HPLC ; Hewlett Packard社製1100シリーズ

カラム ; TSKgel ODS-80Ts (4.6mmID×150mm) 東

ソー(糊)製

カラム温度; 40℃

移動相; 25%アセトニトリルから30%アセトニトリルまで5分、その後リニアグラジェント15分間で100%アセトニトリルとした。その後10分間100%アセトニトリルでカラム洗浄。

流速; 1.0 ml/min

検出波長; UV 217nm

FLD Ex:270nm Em:313nm (UV及びFLD検出器を直列に接続)

注入量; 30μl

(溶出試験用)

移動相; 45%アセトニトリル

注入量; 100μl

その他の条件は材質試験用と同じ。

2.4 試験溶液の調整方法

食品衛生法・器具及び容器包装の規格基準及び前報²⁾による。電子レンジによる加熱は、容器に水を加え5分間加熱を行い、容器を水洗後水を加え、更に5分間加熱を繰り返した。

2.5 容器の表面積の測定方法

前報²⁾にて検討したように、計測が簡便なものは計測法、複雑なものは付着砂量による測定法とした。

3. 結果及び考察

3.1 材質試験

平成11年度に測定した15件全てが規格基準500ppm以下であったが、BPAモノマーは全ての検体から検出された(材質試験の定量下限値0.1ppm)。図1に容器種類別の材質試験結果を示した。ほ乳ビン、マグカップ、計量カップ及びタッパーの各製品については平成10年度の結果²⁾も合わせて表示した。

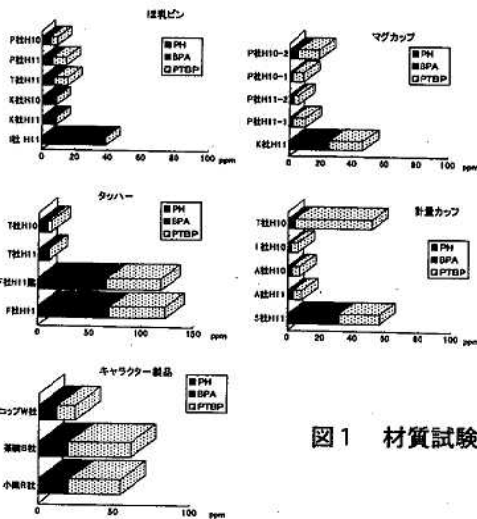


図1 材質試験

K社ほ乳ビン、T社、F社のタッパー (F社は匙と比較) 及びA社計量カップは平成10、11年度の両年でBPA、

PH及びPTBPの成分構成割合が殆ど同じである。一方、P社製品のは乳ビン、マグカップは両年の各構成成分割合が多少異なっており、原料配合や製造ライン等が影響しているものと考えられる。

キャラクター製品では、発売元と形状が異なる茶碗と小皿で、製造元が同一であるためか成分構成割合は殆ど同じであった。図1の中でキャラクター製品の茶碗と小皿及びタッパーのF社製品は白色の不透明な製品であり、他の透明製品と比較し総BPAが高い傾向にある。顔料としての酸化チタン等³⁾の金属がポリマーを切断する触媒の役目を果たすものと考えられる。

3.2 材質試験内部精度管理試料の分析

平成10年度に食品検査施設における内部精度管理の普及を目的として各地研に配布されたポリカーボネート樹脂ペレットを分析した結果を図2に示した。分析機関1~19のデータは「科学的根拠及び情報を提供する地研の試験検査機能の強化に関する研究(平成10年度)」の報告書⁴⁾からのデータをグラフ化したものであるが、各分析機関の測定値に多少のばらつきがある。我々の測定値をM(繰り返し測定数3)として示したが、全体の平均値よりやや高めである。

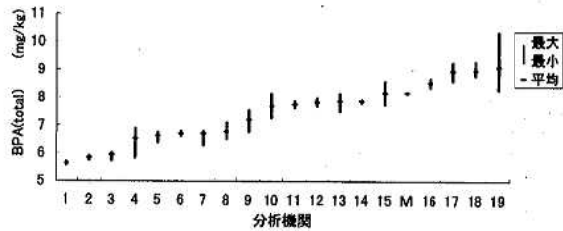


図2 内部精度管理結果

3.3 溶出試験

HPLC分析でフォトダイオードアレイ検出器と蛍光検出器を用いたが、検出感度は蛍光検出器の方が良く、図

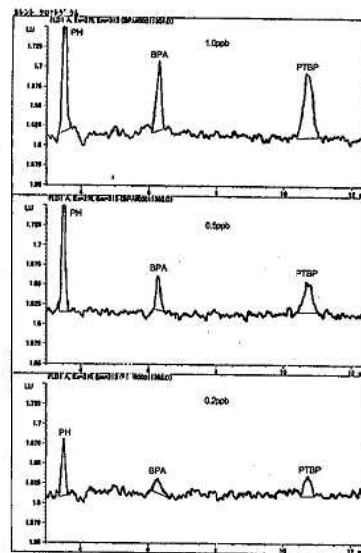


図3 標準のHPLCクロマトグラム

検出器: 蛍光検出器 Ex=270nm Em=313nm

表1 標準溶液の繰り返し測定 (n=5)

濃度 $\mu\text{g}/\ell$	標準偏差			標準偏差×3			標準偏差×10		
	PH	BPA	PTBP	PH	BPA	PTBP	PH	BPA	PTBP
0.2	0.0285	0.0211	0.0304	0.085	0.063	0.091	0.285	0.211	0.304
0.5	0.0494	0.0794	0.0563	0.148	0.238	0.169	0.949	0.794	0.563
1	0.0472	0.0804	0.0810	0.241	0.241	0.243	0.472	0.804	0.810
5	0.0571	0.0387	0.0969	0.171	0.116	0.291	0.571	0.387	0.969
10	0.0497	0.0634	0.0634	0.149	0.190	0.116	0.497	0.634	0.634

3に標準品の蛍光検出器でのクロマトグラムを示した。

また、表1に標準品の再現性試験結果を示す。標準偏差の3倍値を検出下限値、10倍値を定量下限値として、PH、BPA、PTBP共に検出下限値は0.2ppb、定量下限値は1.0ppbとした。

各未使用の製品について、規格基準の種々の溶出条件(3.4参照)にて溶出試験を実施したが、全て定量下限値以下であった。

3.4 各種溶出条件での溶出液濃度

規格基準の溶出試験では、溶出溶媒量を容器の表面積1cm²当たり2mlとして換算するため、溶出液濃度に0.5~1.0の係数を掛ける必要があるが、今回は溶出液濃度について検出下限値レベルまで求め、その結果を図4に示した。

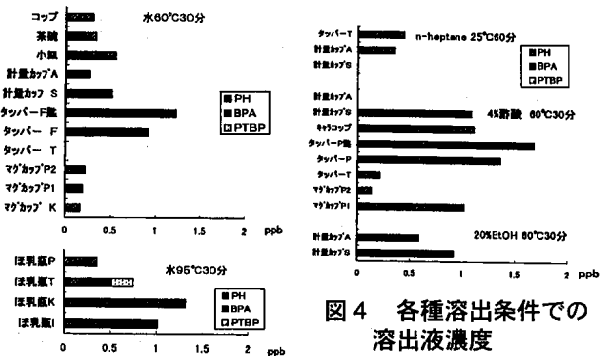


図4 各種溶出条件での溶出液濃度

PHは、微量の環境汚染があるため同条件にてブランク試験を行い補正した値であるが、殆どの溶出液から0.2~1.0ppbが検出された。また、BPAは95°C及び60°C30分の溶出条件で3分の1の検体から0.2~0.6ppb、4%酢酸60°C30分で約半数から0.3~1.0ppb、20%エタノール60°C30分では計量カップ2検体の両方から0.6~0.9ppbが検

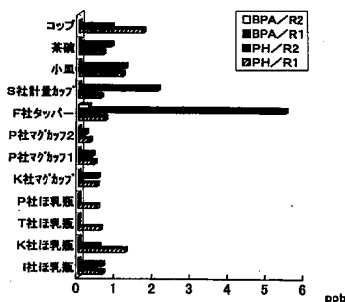


図5 電子レンジでの繰り返し溶出試験

R1 電子レンジ加熱5分1回目
R2 電子レンジ加熱5分2回目

出された。PTBPはほ乳ビン一件から0.2ppbが検出された。

3.5 電子レンジでの繰り返し溶出試験

電子レンジ(出力600W)での5分間加熱では、殆どの製品が3~4分で沸騰し、そのまま5分まで加熱を続けるという過酷な条件で溶出試験を行った。1回目の加熱でPHが0.3~1.7ppb、BPAが0.2未満~5.4ppb、PTBPが0.2未満~0.8ppb検出されたが、2回目の繰り返し加熱では1回目の半分以下、又は検出されなくなっている(図5)。これらは新品での試験であり、使用を繰り返すことにより表面構造に亀裂が入れば、また溶出が起こるものと推察される。

3.6 材質試験と溶出液濃度との関係

材質試験と95°C30分及び60°C30分での溶出液濃度との相関を各々図6、図7に示した。95°C30分での溶出液濃度と材質試験との相関が良く(BPAでR²=0.806、PHで

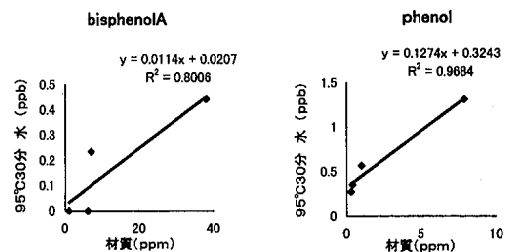


図6 材質試験と95°C 30分溶出液との関係

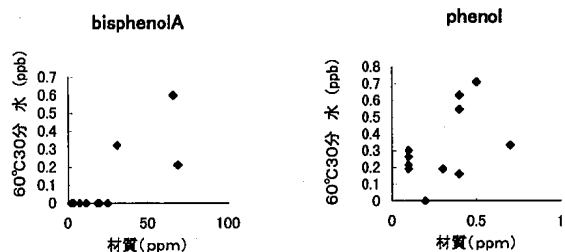


図7 材質試験と60°C 30分溶出液との関係

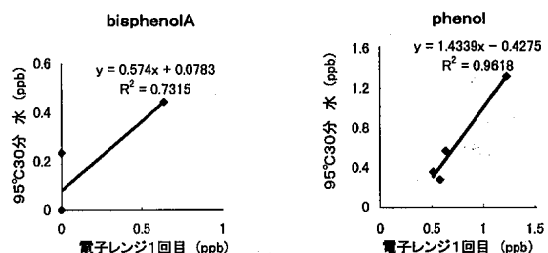


図8 95°C 30分と電子レンジ1回目との関係

$R^2=0.9684$)、 60°C 30分での相関は良くない。

また、 95°C 30分と電子レンジ加熱1回目との相関について図8に示したが、特にPHで良い相関性があった。低濃度ではあるが、高温で溶出されやすいことを示している。

4. ま と め

- (1)材質試験で規格基準500ppmを超過する製品はなかったが、全ての検体からBPAモノマーが検出された。平成10、11年度の両年共に検査した同じ会社の製品は、1社を除き構成成分割合が類似していた。
- (2)透明製品と不透明製品とでは、不透明製品の方がモノマーが多く検出された。顔料等の金属が触媒的作用を果たすと考えられる。
- (3)HPLCで蛍光検出器を使用し、抽出、濃縮操作をせずに定量下限値を1.0ppb、検出下限値を0.2ppbまで測定できた。
- (4)規格基準の種々の溶出条件での溶出試験では、定量下限値1ppbを超える製品はなかった。
- (5)表面積で換算しない溶出液濃度では、PHが $0.2\sim 1.0$ ppb、BPAが $0.2\sim 1.0$ ppb、PTBPは一件から0.2ppbが検出された。
- (6)電子レンジでの繰り返し加熱では、2回目は1回目の半分以下あるいは検出されなくなり、新品容器の表面のモノマーが1回目の溶出試験で殆ど溶出したものと考えられる。
- (7)材質試験濃度と溶出液濃度との関係では 95°C 30分での溶出と材質試験との相関が高い。また、PHは 95°C 30分と電子レンジ加熱1回目との相関が高く、高温で溶出されやすいことを示している。

参 考 文 献

- 1) 小松一裕：鳥津総合科学研究所セミナー、2000年2月
- 2) 高橋紀世子ほか：宮城県保健環境センター年報、17、129 (1999)
- 3) 松井久仁子：第35回全国衛生化学技術協議会年会講演集、72(1998)
- 4) 科学的根拠及び情報を提供する地研の試験検査機能の強化に関する研究(平成10年度)地方衛生研究所等内部精度管理調査結果について、P25

宮城県産カドミウム汚染米の分析について —平成元年～11年における推移および簡便な測定法の検討—

Analysis of Cadmium in Rice grown in Polluted Area with Cadmium
in Miyagi Prefecture
—Change of Cadmium Level from 1989 to 1999 and A Study
of simplified Method for Determination—

新目 眞弓 菊地 秀夫 氏家 愛子
大江 浩

Mayumi ARATAME, Hideo KIKUCHI, Aiko UJIIE
Hiroshi OOE

キーワード：カドミウム、カドミウム汚染米、気象要因、乾式灰化、変動係数

Key Words : Cadmium, Polluted Rice with Cadmium, Meteorological Factor
Dry Ashing, Coefficient of Variation

平成元年から11年におけるカドミウム汚染米分析値の推移をまとめ、気象要因との関係を調べたところ、降水量と日照時間について高い相関がみられた。

また、玄米を粉碎均質化することで繰り返し検査の変動係数が低く抑えられることから（平成9年C.V.(%)平均値=2.5%）、1検体あたり1個の測定試料でスクリーニングすることにより100検体を越すカドミウム汚染米の分析を簡便化することが可能であった。

1. はじめに

宮城県では、昭和46年以降カドミウムによる土壤汚染地域産出米の分離調整を行ってカドミウム汚染米の市場流出防止を図ってきた。昭和46～56年における推移と気象要因との相関については菊地らが既に報告済みであるが¹⁾、著者らは、未報告であった分析結果のうち平成元年～平成11年までの11年分の推移をまとめ、併せて気象要因との相関に検討を加えた。

また、試料の前処理法は低温灰化装置を用いた低温灰化—湿式分解法によっていたが、平成7年以降短時間で効率良く処理できる廉価なマッフル炉を用いた乾式灰化—湿式分解法に変更して分析してきた²⁾。この方法に拠る変動係数を調査したところ、測定法を迅速・簡便化することが可能であったので報告する。

2. 方 法

2.1 カドミウム含有量の推移と気象要因との関係

2.1.1 分離調整地域

県内でカドミウムによる汚染が見いだされ分離調整地域となっているのは、県北端に位置する二迫川地域、県北部・大崎平野中央部の新堀出来川地域、県南・白石市小原赤井畑地域、以上3地域である。

2.1.2 対 象 年

平成元年から平成11年（1989年から1999年）まで

2.1.3 試料採取方法

食品衛生法規格基準³⁾にもとづいて試料を採取した。

2.1.4 カドミウム分析

阿部らの方法²⁾による。

2.1.5 解析に使用した気象データ⁴⁾

平成元年から平成11年（1989年から1999年）の各年7月～9月期の降水量、日照時間、平均気温、
：築館町、古川市、白石市

2.1.6 多変量解析に使用したパソコンソフト

Microsoft Excelで用いたデータをde for Win Version 2.07(copyright (c) 1995 mikaway)で統計ソフトに対応したデータファイルに変換し統計解析ハンドブック for Windows Version 1.13により重回帰分析を行った。

2.2 簡便な測定法の検討

2.2.1 従来の定量計算の方法

1検体ごとに複数個の測定試料を平行調製しその結果を平均し、平均した結果が1.0ppm（食品衛生法規格基準）または0.4ppm（暫定基準）の付近にあり変動係数（以下、C.V.(%)と呼ぶ）が大きいとき、または、個々の値が1.0ppmか0.4ppmの両側にばらつくときには再検査を行

い、1回目と再検査の結果のデータを棄却検定し有効データで平均することで定量計算を行う。

2.2.2 カドミウム測定値のC.V.(%)の調査年
平成9年から平成11年(1997年から1999年)

3. 結果および考察

3.1 カドミウム含有量の推移と気象要因との関係

3.1.1 汚染米のカドミウム含有量の推移

県内3地域ごとのカドミウム濃度(最高値、最低値、平均値)を図1に、濃度レベル別の生産割合を地域別および3地域全体で図2に示した。全年を通じて二迫川地

域が最も高レベルで推移しており、最高値が1ppmを越えた年は平成2年、4年、6年~9年、11年となっているが、昭和年代と比較すると¹⁾低いレベルで経過している。他の2地域でも全年を通して0.4ppm未満の割合が70%~100%を占めており、昭和年代と比較すると明らかに汚染状況は改善している。これは客土等の土壌改良の成果と見てよいものと思われる。平均値をまとめて図3に示した。経年変化は3地域ともおおむね類似した挙動を示しており、これにより全地域とも年ごとに同様に変動する要因すなわち気象要因の寄与が示唆される。

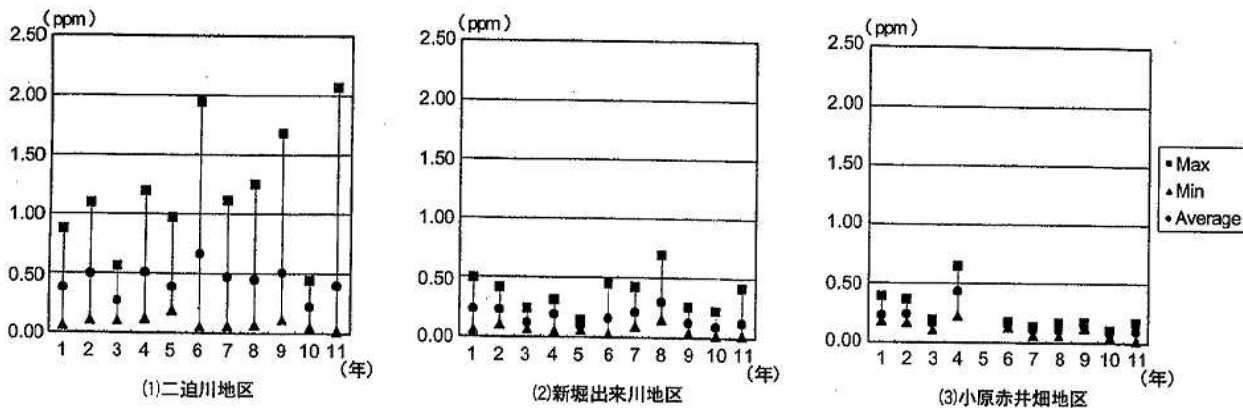


図1 汚染米中のカドミウム濃度年次推移(地域別)

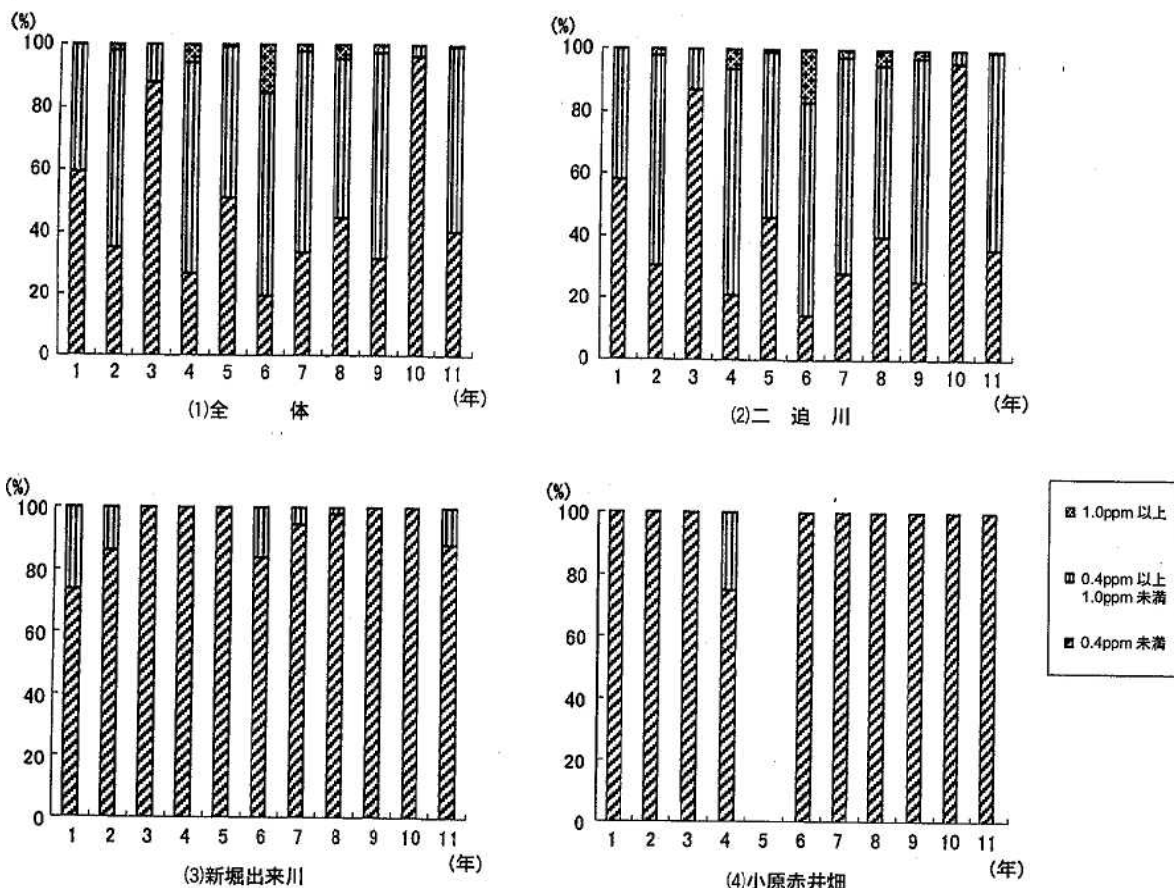


図2 汚染米のカドミウム濃度別生産量の割合

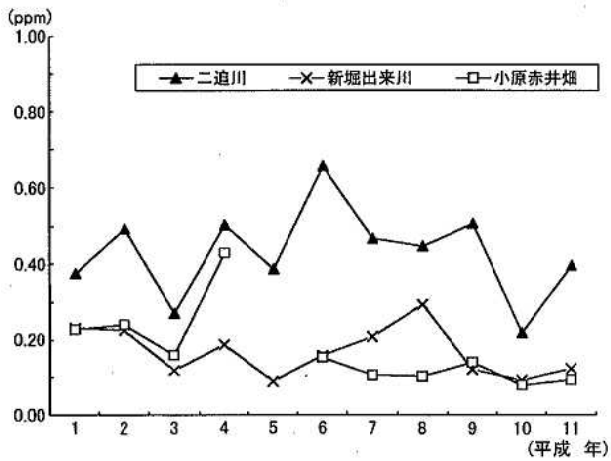


図3 玄米中Cd濃度(平均値)の経年変化

3.1.2 降水量との相関

図4に示したように降水量とカドミウム濃度の平均値、降水量とカドミウム濃度0.4ppm以上の割合との間には負の相関が認められた。平成6年と11年で平均値および0.4ppm以上の割合が共に高めているがこれらの年は日照時間が長くその影響が大きかったためと思われる。

3.1.3 平均気温との相関

平均気温とカドミウム濃度の平均値、平均気温とカドミウム濃度0.4ppm以上の割合との間には明らかな相関は認められなかった。

3.1.4 日照時間との相関

図5に示したように日照時間とカドミウム濃度の平均値、日照時間とカドミウム濃度0.4ppm以上の割合との間には正の相関が認められた。二迫川地域はデータ数が多いため地域単独でも明らかな正の相関を示している。

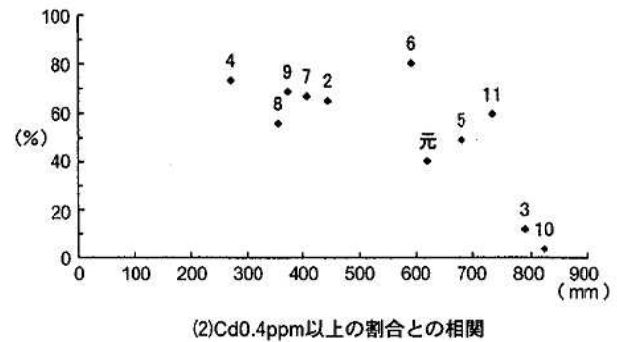
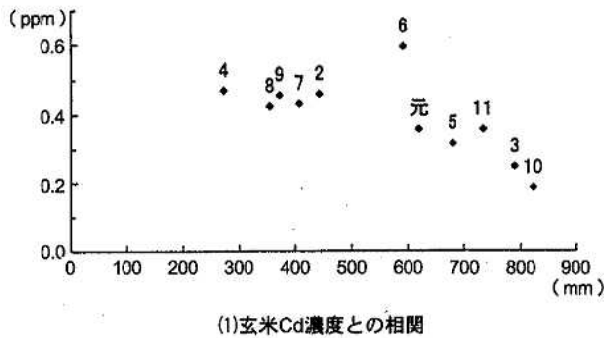


図4 降水量との相関(全体)

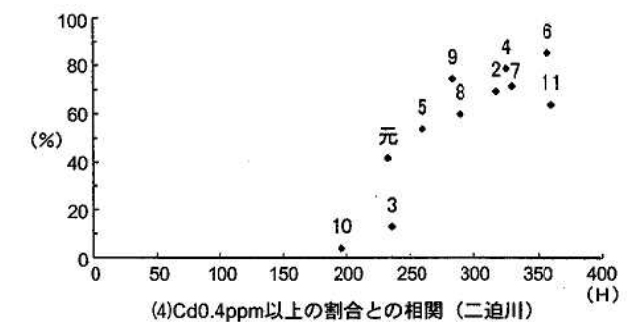
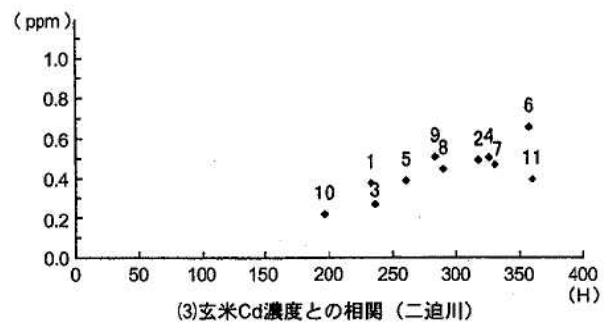
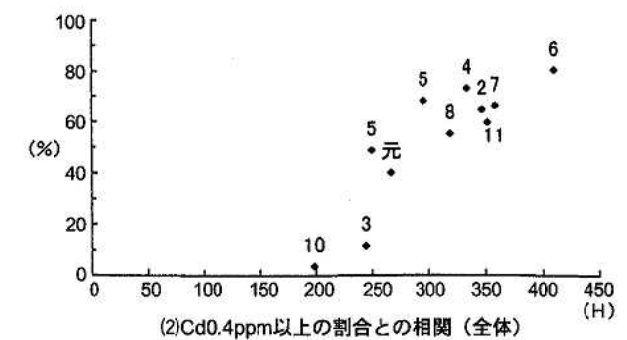
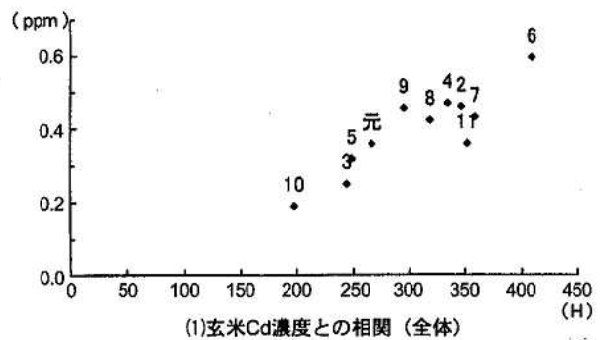


図5 日照時間との相関

3.1.5 多変量解析による相関

3地域全体のデータを用いた。目的変数を0.4ppm以上の割合とし説明変数を降水量、平均気温、日照時間として重回帰分析したところ、モデル変数が日照時間、降水量の場合には重相関係数0.9302216、決定係数0.8653121となり、日照時間と降水量に高い相関があると予測され0.4ppm以上の割合と予測値をプロットした散布図は図6のようになった。

目的変数をカドミウム濃度の平均値とし説明変数を降水量、平均気温、日照時間として重回帰分析したところ、モデル変数が日照時間、降水量の場合には重相関係数0.9262814、決定係数0.8579972となり、日照時間と降水量に高い相関があると予測されカドミウム濃度の平均値と予測値をプロットした散布図は図7のようになった。

3.2 簡便な測定法の検討

3.2.1 カドミウム測定値のC.V.(%)

平成7年以降のマッフル炉による乾式灰化-湿式分解法では玄米を粉砕均質化処理した後分析に供するため、ばらつきを低く抑えることが可能となった。そこで平成9年以降の1検体あたり3回行った繰り返し検査のC.V.(%)を調査したところ、平成9年のC.V.(%)平均値は2.5%、平成10年、平成11年はそれぞれ3.6%、3.5%となった。平成10年、11年のC.V.(%)をまとめたものが図8である。0.3~0.5ppm、0.9ppm以上の範囲でのC.V.(%)最大値はおおむね10%以下となっている。

3.2.2 検討後の定量計算の方法

1検体あたり1個の測定試料によりスクリーニングしその結果が、C.V.(%)=10%とした場合に $1.0 \pm 2\sigma$ (0.80~1.20ppm) または $0.4 \pm 2\sigma$ (0.32~0.48ppm) の範囲にある場合、更に3個の測定試料で再検査する。1回目と再検査の3個のデータをGrubbsの方法による棄却検定を行い有効データで平均する。

4. ま と め

カドミウム濃度は気象要因、特に日照時間と降水量に大きく影響されることが推定された。また、最近11年の汚染状況は昭和年代と比べて改善の様子がうかがえ新たな人為汚染がないこと、自然汚染よりも土地改良の成果が上回ってきていることなどが推察できる。

マッフル炉を用いた乾式灰化-湿式分解法の変動係数を調査したところ再現性が良好であることがわかったので測定試料を1検体1個とすることにより検体数が100件を越すカドミウム汚染米の分析を迅速・簡便化することが可能となった。

参 考 文 献

- 1) 菊地秀明ほか：宮城県衛生研究所、57、56 (1982)
- 2) 阿部祐二ほか：宮城県保健環境センター、14、108 (1996)
- 3) 厚生省環境衛生局長通知：環食第473号 昭和45年10月23日
- 4) 仙台管区气象台：宮城県気象月報

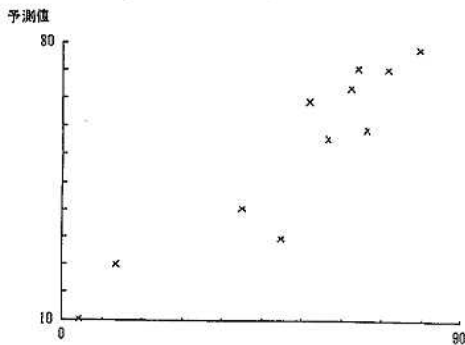


図6 散布図：0.4ppm以上の割合-予測値

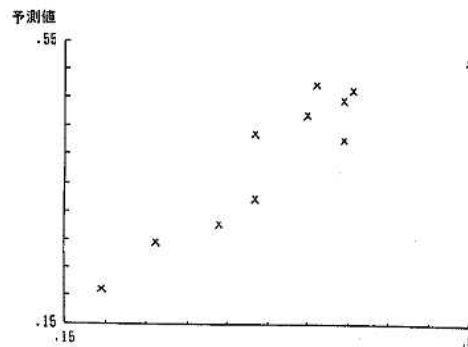


図7 散布図：Cd濃度平均値-予測値

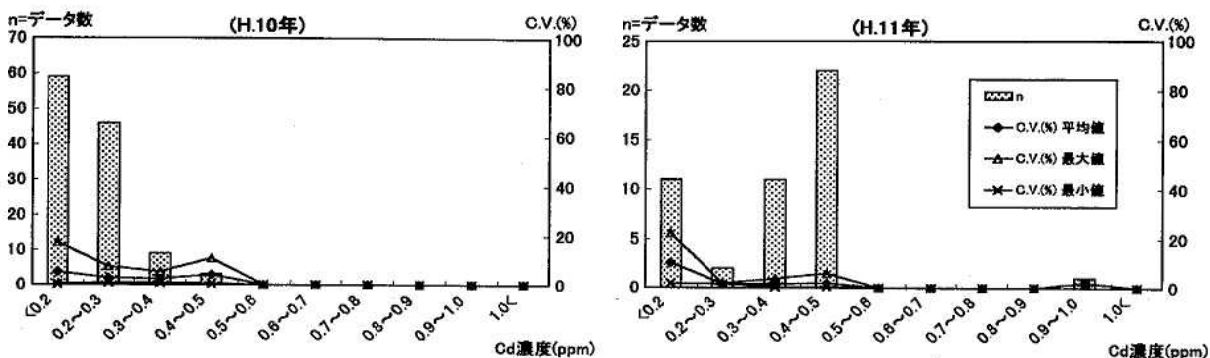


図8 濃度範囲別のC.V.(%)およびそのデータ数

ハイテク素材廃棄物からの有害物質の溶出等に関する研究

A Study on Hazardous Material-Elution from Printed Circuit Board

加藤 謙一 佐々木 ひとえ 浦山 清*¹
葛岡 勝悦 阿部 時男 嗟峨 京時
高橋 美保*² 助野 典義

Ken-ichi KATO, Hitoe SASAKI, Kiyoshi URAYAMA
Shoetsu KUZUOKA, Tokio ABE, Kyoji SAGA
Miho TAKAHASHI, Noriyoshi SUKENO

キーワード：有害物質、溶出、プリント基板、浸出水

Key Words : Hazardous Materials, Elution, Printed Circuit Board, Leachate

ハイテク素材廃棄物として、プリント基板に注目し、溶出試験を実施した。また廃棄物最終処分場の浸出水についても関連項目を分析した。溶出試験では、検出されてはいるものの問題となる値は検出されなかった。最終処分場の浸出水についてはプリント基板との関連は検討できなかったが、排出基準値を超える値が検出され今後とも注意を要する。県内事業所における廃棄物の排出状況については、主な対象業種である電子機器産業はISO14001の取得が産業界として最も進んでいることもあり、廃棄物の発生抑制管理が行き届いていることが判明した。

1. 目的

現在、廃棄物処理においては重金属などの有害物質の排出が懸念されている。特に環境への影響という点では、廃棄物の最終処分場からの環境負荷をいかに小さくするかということが要求され、実態の正確な把握のための調査が必要とされている。

本研究ではハイテク素材廃棄物の実態調査から、環境負荷に係る定量方法を検討し、環境リスク評価手法の確立と環境汚染の未然防止対策の基礎資料を得ることを目的とする。

2. 調査内容

- ① ハイテク関連廃棄物の排出実態調査
- ② 電子基板等構成材料毎の鉛等有害物質の含有量、溶出量
- ③ 廃棄物最終処分場の浸出水調査
- ④ 関連産業における排出廃棄物の管理状況調査

3. 結果

(1) ハイテク関連廃棄物の排出実態調査

イ 宮城県内の産業形態

産業分類の中ではハイテク産業なるものが分類されていないため電子機器産業を対象とし産業分類に従い県内の出荷額等の割合を統計資料（総務庁統計局「平成3年

事業所統計調査報告」）から抽出した。（図1、2）¹⁾

図1および図2では、大分類中に占める製造業の事業所数と従業者数割合を示しており、全産業約11万8千事業所中で約9千事業所（7.3%）、人員数では106万人中19万人（18%）を製造業が占めている。全産業の中で製造業は事業所数で4番目、従業者数で3番目の規模となっている。

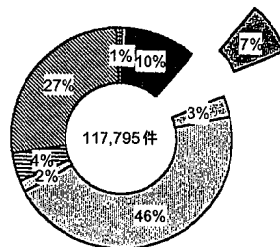


図1 事業所数

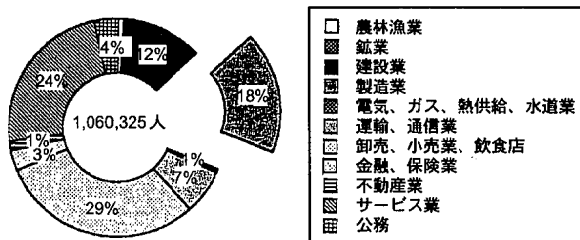


図2 従業者数

* 1 現 環境対策課 * 2 現 仙南食肉衛生検査所

□ 宮城県内の電子機器産業

今回対象とした電子機器産業はどのような位置づけとなるかを、工業統計調査 (H6 宮城県)¹⁾ から拾ってみた。出典が異なるため用語、数値の詳細などが異なるが、全体の傾向として把握した。事業所数では全体数が7千強の事業所中634件 (8.5%)、従業者数16万人中4万人 (25.2%)、製造品出荷額7,691億円 (22.1%)であった。事業所数では4番目となっているが、従業者数、製造品出荷額では第1位となっている。つまり宮城県内における製造業の基幹産業となっていることがわかる。さらに電子機器産業における県内の産業規模 (人員、出荷額等) について「宮城県工場通覧 (H8 宮城県商工労働部)」²⁾ から拾ってみた。(図3および図4)

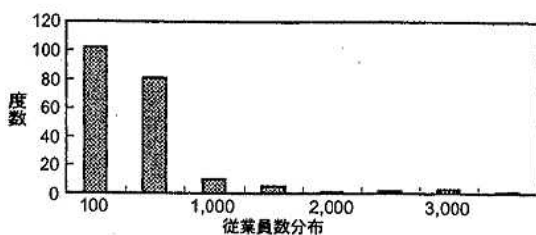


図3 電気機械工業従業者数度数分布

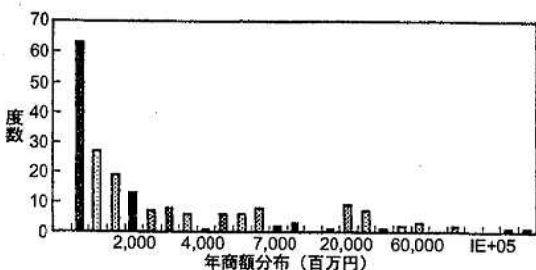


図4 電気機械工業年商額分布

表1 発生量と、排出量の比較 (業種別)

	平成9年度			平成4年度			増減量 (H9-H4)		
	発生量	有価物量	排出量	発生量	有価物量	排出量	発生量	有価物量	排出量
合 計	5,173	240	4,933	5,136	867	4,568	37	-327	365
林 業	0	0	0	0	0	0	0	0	0
漁 業	0	0	0	0	0	0	0	0	0
鉱 業	300	0	299	349	0	349	-49	0	-50
設 業	1,210	14	1,196	977	182	795	233	-168	401
製 業	2,149	223	1,926	2,547	379	2,168	-398	-156	-242
食 料 品	168	10	158	134	13	121	34	-3	37
飲 料・飼 料	101	11	90	127	3	124	-26	8	-34
織 維	0	0	0	1	0	1	-1	0	-1
衣 服	3	0	3	2	0	2	1	0	1
木 材	74	56	18	266	149	117	-192	-93	-99
家 具	3	0	3	4	1	3	-1	-1	0
パルプ・紙	1,251	7	1,244	1,468	8	1,460	-217	-1	-216
出 版・印 刷	22	2	19	14	6	8	8	-4	11
化 学	22	0	22	23	0	23	-1	0	-1
石 油・石 炭	12	0	12	10	1	9	2	-1	3
プ ラ ス チ ッ ク	15	0	14	4	1	3	11	-1	11
ゴ ム	20	0	20	15	0	15	5	0	5
皮 革	0	0	0	0	0	0	0	0	0
薬 業・土 石	113	0	113	96	34	65	14	-34	48
鉄	205	91	114	151	21	130	54	70	-16
非 鉄 金 属	10	0	10	21	1	20	-11	-1	-10
金	43	18	25	46	27	19	-3	-9	6
一 般 機 器	11	7	4	11	9	2	0	-2	2
電 気 機 器	47	3	44	136	103	33	-89	-100	11
輸 送 機 器	28	17	12	13	2	11	15	15	1
精 密 機 器	1	0	1	2	1	1	-1	-1	0
そ の 他	1	0	1	1	0	1	0	0	0
電 気・水 道 業	1,459	1	1,458	1,209	0	1,209	250	1	249
電 気 業	113	1	112	156	0	156	-43	1	-44
ガ ス 業	0	0	0	1	0	1	-1	0	-1
上 水 道 業	178	0	178	146	0	146	32	0	32
工 業 用 水 道 業	4	0	4	6	0	6	-2	0	-2
下 水 道 業	1,164	0	1,164	900	0	900	264	0	264
運 輸 業	8	0	7	8	2	6	0	-2	1
卸・小 売 業	25	1	24	24	1	23	1	0	1
サ ー ビ ス 業	23	0	22	21	3	19	2	-3	3

平成10年度宮城県廃棄物実態調査報告書

従業者数は本社ベースのものであるが100名以下が102件、101人以上500人以下が81件で小規模零細なものが多い。中には20,000人を超えるものがあったが例外的なものである。年商額では5億円以下が最も多く63件であった。

ハ 県内廃棄物の排出状況³⁾

県内産業廃棄物の排出状況を平成10年度宮城県廃棄物実態調査から見ると、発生量は、表1に見るように平成9年度で5,173千t/年であった。そのうち製造業が2,149千t/年 (43%)、ついで電気、水道業が1,459千t/年 (28%)であった。

製造業における製造品出荷額と廃棄物の発生状況は図5・6に示す通りで製造品出荷額では電気機器が平成6年と同様約22%で第1位であるが発生量では、パルプ・紙が58%と圧倒的に多い。電気機器の発生量は2%であり製造品出荷額に対する発生量の比である発生原単位は最小のグループに入る。さらに平成4年と比較すると製造品出荷額は増加しているにもかかわらず発生量は3分の1に減少しており、この分野の廃棄物発生抑制管理が行き届いていることをうかがわせる。

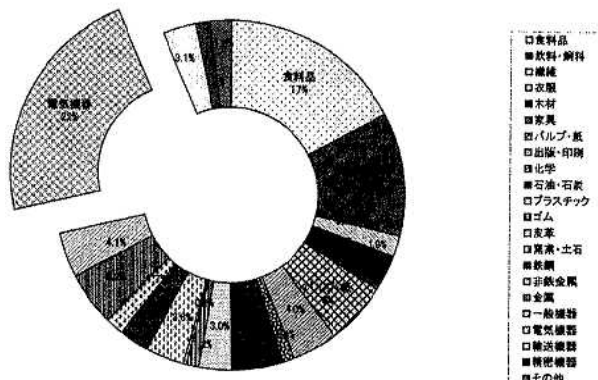


図5 出荷額等割合 (平成9年度)

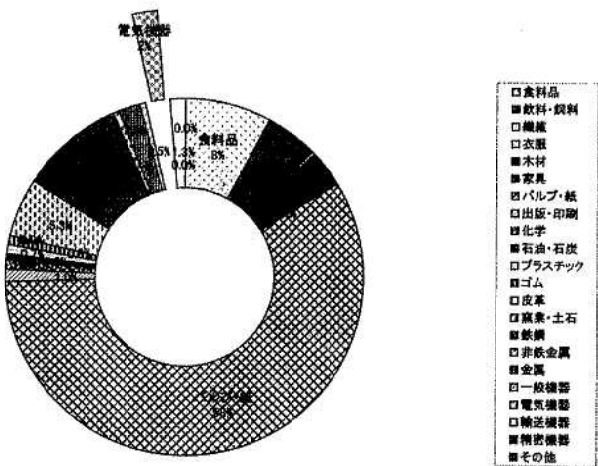


図6 製造業廃棄物発生割合 (平成9年度)

(2) 電子基板の溶出試験

入手した電子基板を用いて、コンデンサ、抵抗等のパー

ツ毎に公定法に従って溶出試験を実施した。得られた検液について陰イオン、金属成分を分析した。(表2)

表2 電子基板のパーツ毎溶出イオン分析結果

項目名	パーツ	オイルコンデンサ	集積回路(IC)	酸化被膜抵抗	セラミックコンデンサ	プリント基板
フッ素イオン	mg/l	0.025未満	0.025未満	0.025未満	0.025未満	0.06
塩素イオン	mg/l	0.05未満	5.6	0.07	0.62	1.1
亜硝酸イオン	mg/l	0.077	0.006	0.007	0.01	0.008
臭素イオン	mg/l	0.27	3.3	0.24	0.1未満	0.84
硝酸イオン	mg/l	0.35	0.056	0.031	0.056	0.033
硫酸イオン	mg/l	1.1	0.05未満	0.05未満	0.091	0.086
硫酸イオン	mg/l	230	0.62	2.0	0.87	2.6
As	mg/l	0.0003未満	0.0003未満	0.0003未満	0.0003未満	0.0003未満
Se	mg/l	0.0003未満	0.0003未満	0.0003未満	0.0003未満	0.0003未満
Cr	mg/l	0.03未満	0.03未満	0.03未満	0.03未満	0.03未満
Sb	mg/l	0.0012	0.32	0.13	0.11	0.084
Zn	mg/l	0.60	0.012	0.03未満	0.03未満	0.03未満
Ni	mg/l	0.031	0.013	0.003未満	0.006	0.003未満
Pb	mg/l	0.043	0.016	0.034	0.022	0.056
Cd	mg/l	0.03未満	0.03未満	0.03未満	0.03未満	0.03未満
Fe	mg/l	0.56	0.03未満	0.03未満	0.03未満	0.03未満
B	mg/l	6.2	0.85	0.13	0.087	0.069
Si	mg/l	0.3未満	4.3	11	3.5	2.7
Mn	mg/l	0.044	0.027	0.03未満	0.03未満	0.03未満
Mg	mg/l	2.2	0.14	0.22	0.18	0.086
Mo	mg/l	0.06未満	0.06未満	0.40	0.06未満	0.06未満
Cu	mg/l	0.19	0.058	0.055	0.034	0.052
Y	mg/l	0.03未満	0.03未満	0.03未満	0.03未満	0.03未満
Ca	mg/l	13	6.9	5.5	7.6	3.5
Al	mg/l	3.9	1.0	0.20	8.6	0.41
Na	mg/l	0.92	0.33	2.8	0.45	0.60
K	mg/l	0.12未満	1.1	1.0	0.83	0.63

金属イオンはスクリーニングのためICPによる一斉分析を行った。スクリーニングを主な目的としたため定量性は考慮していない。ただし、Pb、Ni、Al、As、Seはフレイムレス原子吸光度計を用いて再度分析し、定量した。数値として目に付くのはコンデンサの硫酸イオン、集積回路(IC)のCl、Brイオンであり、いずれも素材に由来するものと考えられる。またCa(6.9~13mg/l)が全体に高い値を示したほかコンデンサのB、IC、酸化被膜抵抗、セラミックコンデンサのSi、コンデンサ、セラミックコンデンサのAl等が、ppmレベルで検出された。

次に簡易型ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて電子基板部品の溶出液についてライブラリ検索を実施した。検出されたピーク数は49ピークであったが、同定されたものは15物質であった。

部品別にみるとオイルコンデンサから検出されたピークが最も多く21ピークであった。これはコンデンサ内に含有される絶縁油によるものと思われる。フタル酸エステル類はDiisobutyl phthalateとDi(2-ethylhexyl) phthalateが全体から検出された。

(3) 廃棄物最終処分場の浸出水調査

平成5年から11年度にかけて実施した県内の一般廃棄物、産業廃棄物最終処分場浸出水の調査結果を示した。

(表3)

有害物質についてみると、検出されたのは鉛(Pb)が10件、六価クロム(Cr⁶⁺)3件、ひ素(As)2件、及びテトラクロロエチレン、ジクロロメタン、1,1-ジクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタン、セレン(Se)が各1件であった。いずれも排水基準値を超えるものはないが鉛については環境基準値を超えるものがあった。産業廃棄物最終処分場について限ってみるとPb(4件)・Cr⁶⁺(3件)は平成5、10、11年に検出され、ひ素は10、11

表3 最終処分場浸出水調査結果(平成5~11年度)

有害物質項目	最大値	最小値	データ数	検出データ数	
カドミウム及びその化合物	mg/l	0.01未満	0.01未満	91	0
シアン化合物	mg/l	0.1未満	0.1未満	91	0
有機リン化合物	mg/l	0.1未満	0.1未満	90	0
鉛及びその化合物	mg/l	0.031	0.01未満	91	10
六価クロム化合物	mg/l	0.10	0.05未満	92	3
ひ素及びその化合物	mg/l	0.03	0.01未満	91	2
総水銀化合物	mg/l	0.0005未満	0.0005未満	92	0
アルキル水銀化合物	mg/l	0.0005未満	0.0005未満	92	0
PCB	mg/l	0.0005未満	0.0005未満	84	0
トリクロロエチレン	mg/l	0.03未満	0.03未満	90	0
テトラクロロエチレン	mg/l	0.05	0.01未満	90	1
ジクロロメタン	mg/l	0.06	0.02未満	70	1
四塩化炭素	mg/l	0.002未満	0.002未満	80	0
1,2-ジクロロエタン	mg/l	0.004未満	0.004未満	70	0
1,1-ジクロロエチレン	mg/l	0.07	0.02未満	70	1
シス1,2-ジクロロエチレン	mg/l	0.04未満	0.04未満	70	0
1,1,1-トリクロロエタン	mg/l	0.4	0.3未満	90	1
1,1,2-トリクロロエタン	mg/l	0.006未満	0.006未満	70	0
1,3-ジクロロプロペン	mg/l	0.002未満	0.002未満	70	0
チウラム	mg/l	0.006未満	0.006未満	70	0
シマジン(CAT)	mg/l	0.003未満	0.003未満	71	0
チオベンカルブ	mg/l	0.02未満	0.02未満	71	0
ベンゼン	mg/l	0.01未満	0.01未満	70	0
セレン	mg/l	0.01	0.01未満	71	1

年に、ジクロロメタンは11年に検出された。Cr⁶⁺が検出されたのは、鉍滓を処分している最終処分場であるが、水処理設備が完備しており管理上も問題はなかった。Asが検出されたのは、安定5品目を埋め立てている処分場であった。埋め立てた廃棄物中の夾雑物が原因と思われるが、受け入れ時における廃棄物展開検査体制の確立が望まれる。VOC等有機化学物質ではジクロロメタンが1件安定5品目を埋め立てている処分場から検出された。

また平成10年度にフッ素(F)、塩素(Cl)等の陰イオン項目についても分析を実施した。(表4、5)

表4 産業廃棄物最終処分場浸出水陰イオン検査結果

	最大値	最小値	平均	データ数	検出データ数	検出率	
フッ素	mg/l	3.0	1.1	2.0	7	2	28.6
塩素	mg/l	61	10	190	7	7	100.0
亜硝酸	mg/l	(0.53)	(0.53)	0.53	7	1	14.3
臭素	mg/l	3.7	1.2	2.1	7	3	42.9
硝酸	mg/l	4.4	1.6	2.6	7	4	57.1
磷酸	mg/l	0	0	0	7	0	0.0
硫酸	mg/l	620	10	210	7	7	100.0

表5 一般廃棄物最終処分場浸出水陰イオン検査結果

	最大値	最小値	平均	データ数	検出データ数	検出率	
フッ素	mg/l	0.87	0.05	0.40	11	4	36.4
塩素	mg/l	6,600	25	1,600	11	11	100.0
亜硝酸	mg/l	0.77	0.77	0.77	11	1	9.1
臭素	mg/l	20	1.5	6.8	11	4	36.4
硝酸	mg/l	480	1.9	65	11	9	81.8
磷酸	mg/l	0	0	0	11	0	0.0
硫酸	mg/l	1,100	25	270	11	11	100.0

Clに続いて硫酸(SO₄)が他の項目に比べ高い値を示し

ている。測定した陰イオン中で、臭素(Br)が全18件中7件で検出されているが、通常陸水中では検出されない項目であり、その存在が水道水中のトリハロメタンの生成に寄与^{4),5)}することから、注意を払う必要がある。

平成11年度に最終処分場3施設の地下水観測井から採水した。地下水からはPbが低濃度ながら2施設から検出され、そのうち1施設からCr⁶⁺、As、ジクロロメタンが併せて検出され、Cr⁶⁺、ジクロロメタンは地下水環境基準値を超えていた。またVOC等有機化学物質分析の際に、クロマト上に多くの未知物質ピークが認められたため、GC-MSによる同定を試みたが、結論は得られていない。

次にフタル酸エステルについて分析を実施した。(表6)

表6 産業廃棄物最終処分場におけるフタル酸エステル類の分析結果

サンプル名	検出ピーク数	Diethyl phthalate	Di-iso-butyl phthalate	Di-n-butyl phthalate	Di-heptyl phthalate	2-ethylhexyl phthalate
		μg/l	μg/l	μg/l	μg/l	μg/l
S-A	11	<0.5	<0.5	5.34	<0.5	21.8
S-B	15	0.95	<0.5	9.30	<0.5	67.4
S-C	4	<0.5	<0.5	1.55	<0.5	<0.5
S-D	48	<0.5	<0.5	4.29	<0.5	2.15
S-E	29	5.68	3.66	47.0	<0.5	2.17
S-F	16	<0.5	<0.5	7.12	<0.5	1.39
S-G	3	<0.5	<0.5	3.36	<0.5	2.66
S-H	19	<0.5	<0.5	3.78	<0.5	1.09
S-I	8	<0.5	<0.5	3.78	<0.5	2.74
S-J	11	<0.5	<0.5	6.99	<0.5	0.70
検出数		2	1	10	0	10
最大		5.68	3.66	47.0	<0.5	67.4
最小		0.95	3.66	1.55	<0.5	0.70
平均		3.31	3.66	9.25	<0.5	10.2

* 最大最小は検出されたデータから記載した

掲載しているのは数値として検出された施設のみを掲載した。S-EにおいてはDi-heptyl phthalate以外の4物質が検出され、S-Bでは2-ethylhexyl phthalateが高い値で検出された。ここでS-Eは埋立以来10年目の安定型処分場で、S-Bは埋立以来9年目の安定型シュレッダダスト処分場である。

以上のように最終処分場(産業廃棄物、一般廃棄物)からは、埋め立て経過年数が10年以上で過去の埋め立て物の分解が考えられるにもかかわらず、浸出水に対する排水基準項目の中で問題となるものはなかった。しかしながら地下水環境基準を超える数値が検出されたことや、VOC等有機化学物質、Asが検出されたこと更には他県の調査事例では100種以上の化合物が検出されていることに鑑み⁶⁾、今後も継続して分析調査を実施する必要がある。

(4) 関連企業における対応状況

企業における対応を見るため、県内のISO14001取得企業を調査したところ、自治体として仙台市が取得(平成11年)しており、そのほか50企業が平成11年12月までに取得済であった。

そのうち電子機器産業関係は28社を数え、取得割合が非常に高い。このうち2社を調査したところ、A社では廃棄物のリサイクル率が、80%を超えており、B社のリサイクル率は一般廃棄物が80%、産業廃棄物が60%を超えていた。現在もゼロエミッションの達成に向けて社内体制を整備し邁進している。

廃棄物管理のための社内体制としては、概ね以下に示すようなものである。

- 環境管理システムの維持向上
- 省エネルギー
- 環境に配慮した製品設計
- 廃棄物の削減及びリサイクル率の向上
- 関連規定の整備
- 社内体制の整備、見直し
- 対応のための責任と権限の明確化

4. 考 察

電子機器産業は産業規模からみると県内の製造業の中心となっている。従ってそこから排出される廃棄物の量もかなりの量になるものと推定されたが、電子機器産業は製造品出荷額が県内1位にもかかわらず廃棄物の発生量は製造業全体の2%にすぎず、多くの企業がISO14001取得を当然のこととしており、業種全体にわたり廃棄物の発生抑制が行き渡っていた。生産活動に伴って排出される廃棄物は十分な管理の下に減少していくと考えられるが、過去に排出されたもの、出荷されて廃棄される(ないしはされた)ものについては、産業構造審議会⁷⁾示すようなリサイクルシステムにのっとり、

- リユース
- マテリアルリサイクル
- サーマルリサイクル

のための技術開発やシステムの構築、関連施設の整備を拡充していくべきである。

たとえば日本の企業においては基板ハンダの回収装置を開発し、製品化しており⁸⁾、またハンダに変わるマウント方法も開発し実用化している。

埋め立て処分については過去7年間の最終処分場浸出水の測定結果からPb、Cr⁶⁺、Asが検出されていることなどから、基準値を超えるものではないにしても監視を要する。また地下水観測井の調査ではCr⁶⁺、ジクロロメタンが基準を超え対策がとられたが、今後とも注意を要する。

さらにフタル酸エステルやビスフェノールAのようなプラスチック関連の物質が多数検出されているため、今後、環境ホルモンの問題ともあわせて調査が不可欠である。

中間処理として、焼却減量化して埋め立てるケースでは金属成分が濃縮される形となるため焼却灰、飛灰からの重金属の溶出が懸念される。平岡⁹⁾が示した溶出試験結果では環境庁告示法(環告)はPbの溶出が目につく

が、低pHになると溶出する金属が多くなる。このことから管理型処分場での適正な維持管理のもとでの処理が必要となる。

サーマルリサイクルの場合には、最終処分の段階では焼却中間処理の場合と同様に焼却灰、飛灰等を管理型処分場で適正処理することが必要となる。

熔融スラグとして安定化し処分する方法も実用化されているが、ダイオキシンを含めた有害排ガス、二酸化炭素ガス（温暖化問題）等課題も多く、過渡的な手段としてとらえるべきと考える。行き着くべきところは発生抑制（リデュース）であるが、当面のマテリアルリサイクルについては、山元還元などにより資源を有効に活用することが、最善の方策であると考えられる。

5. ま と め

- ① 平成11年度の廃棄物最終処分場からの地下水観測井の分析結果では、 Cr^{6+} 、ジクロロメタンが1件ずつ地下水環境基準を超えて検出された。そのほか過去7年間の調査の中でも基準項目であるPb、As、1,1-ジクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエチレン等の有害物質が低濃度ではあるものの検出された。
- ② 電子基板の溶出試験では、特別管理産業廃棄物の埋め立て処分にかかる判定基準に該当する値が検出されたものはなかったが、水道法に定める快適水質項目であるMn、Alはその目標値を超えていた。同じく監視項目として定められているNi、Sb、B、Moは指針値を超える値が検出されている。現在上水道に関するこれらの項目について問題は提起されていないが、フタル酸エステル等の有機成分も含めて低濃度域での議論となるものであることから、念頭に置く必要があるものと考えられる。
- ③ 陰イオン分析の中で、廃棄物最終処分場からの浸出水や基板の溶出試験からもBrが検出されており、環境への供出源となっていることがうかがえた。特に浄水中のトリハロメタン生成への寄与の観点からは注意を要するものと思われる。
- ④ 今回の調査で対象とした電気機器製造業は製造段階での廃棄物管理はISO14001取得のからみもあり、かなりの高レベルにあり、今後の益々の進展に期待できる。
- ⑤ ただし、過去に廃棄されたもの、すでに市場に出回っているものについては多くの課題があり、処理ルート、処理設備等システムの整備、充実が待たれる。

6. 課 題

今後の資源循環型社会システムの形成に当たってリデュース、減量化が最も重要であり、リサイクルシステムについては次のような課題が考えられる。

- ① リユース
もっとも環境負荷が小さいと思われるが、循環サイ

クルの確立、老朽化による廃棄時期の到来（寿命）が問題点である。

- ② マテリアルリサイクル
分別レベルがリサイクルの課題となっている。新技術の開発、住民啓蒙が重要である。
- ③ サーマルリサイクル
熱源として化石燃料使用量の減少につながると考えられるが、その熱効率向上の課題や燃焼排ガスの管理等環境保全の問題がある。
- ④ 埋立処分
埋立処分地の逼迫、埋立物からの有害物質の溶出、埋立地の維持管理が課題である。
- ⑤ コストの適正化
これらのリサイクルシステムが円滑に稼働するためには、経済全般を見渡し、リサイクル製品も含めた製造品全体の価格設定やリサイクルコストの適正化が重要な課題である。

参 考 文 献

- 1) 宮城県：平成8年版宮城県統計年報（1996）
- 2) 工場通覧平成8年度 宮城県商工労働部
- 3) 宮城県：平成10年度宮城県産業廃棄物実態調査報告書
- 4) 上水試験方法解説編1993日本水道協会
- 5) Journal of Health Science. 45(6)344
- 6) 安原ほか（1997）：「廃棄物埋め立て地浸出水から検出された有機成分」、第8回廃棄物学会研究発表会講演要旨集19-6
- 7) 産業構造審議会：都市と廃棄物Vol.27. No8.33
- 8) NIKKEI MECHANICAL 1997. 2.17no.500
- 9) 平岡正勝ほか（1994）：「ゴミ焼却飛灰の性状と処理技術の展望」、廃棄物学会誌Vol.5、No.1、pp.3-17、1994