

r 3 8 1 e

昭和56年度

創立30周年記念  
愛媛県立衛生研究所年報

第43号



愛媛県立衛生研究所

## ま え が き

昭和56年度の業務、研究成績を御報告するにあたり、当所の現状と展望について所感をのべたいと思います。

昭和54年度から始められた施設整備3ケ年計画は、本年度をもって無事完了しました。この間、保健環境部主管課をはじめ関係当局各位の先見的な深い御理解と御支援をいただきました。ここに、深く感謝いたす次第であります。この施設整備は、愛媛県の保健衛生に関連する二次試験検査機関としての当所の機能を大きく推進することになり、その成果はこの年報の諸処にみるすることができます。たとえば、電子顕微鏡を活用したウイルス性下痢症の病原検査成績は毎月2回発行されている「愛媛県感染症情報」にとり入れられ、県下各保健所、学校、医療機関へ情報還元されるようになりました。また、HLA検査法の導入は、成人病、難病対策、疾病予防に関して新しい知見と情報を提示することが可能になりつつあります。さらに、理化学試験では、ゼーマン原子吸光度計、ガスクロマトグラフを活用して、当県に湧出する温泉の成分分析のほか、飲料水・食品中の微量有害物質のモニターリングを迅速、高精度に行うことができるようになりました。

このように、施設整備の成果は当所の検査能力を大きく増進させておりますが、これらの新機器を駆使して良質の検査情報を具現化する裏方は人であります。そのために、職員の技術研修、新知識の習得は日常業務に付随して欠かすことのできない重要課題であります。幸に、当所職員はこの任務に堪え自己研鑽に努力していることは特記されるべきことであり、その成果はこの年報のなかで散見できると思います。

今後とも県民のヘルスニーズに対応した試験研究機関をめざして内容の充実をはかっていく所存ではありますが、関係各位には、当所の現状と展望に深い御理解をいただき、今後の向上のため御指導と御支援を賜りますよう御願い申し上げます。

昭和57年11月

愛媛県立衛生研究所

所 長 園 田 俊 郎

# 目 次

## I 研究報告

1. 他誌発表論文	1
2. 学会発表	3
3. レポート	
小児下痢症患者からの毒素原性大腸菌の分離の試み	5
ヒトおよび家畜に由来する非定型抗酸菌の検索	7
小児急性胃腸炎に関連して検出される種々のウイルス粒子について	11
定点観測方式による小児ウイルス性疾患の継続的調査研究(第4報)	17
コクサッキーB2によるリンパ結節性咽頭炎の流行	23
1982年の愛媛県におけるインフルエンザの流行および同時期に流行した感冒性下痢症の病原検索	27
愛媛県におけるHLA疫学	31
ゼーマン原子吸光法による温泉水中のストロンチウム測定の検討とその含量(愛媛の水 第17報)	35
合成樹脂製容器に含まれる酸化防止剤の溶出について	41

## II 資料

1. 昭和56年度伝染病流行予測調査成績	45
2. 昭和56年度先天性代謝異常検査実施状況	50
3. ヒトおよび豚のトキソプラズマ抗体保有調査	52
4. 愛媛県下の水道水中のトリハロメタン濃度	53
5. 昭和56年度松くい虫防除薬剤空中散布による薬剤の飛散状況調査	55
6. 昭和56年度温泉分析成績	57
7. 昭和56年度食品添加物使用実態調査	58
8. 愛媛県産野菜, 果実等の残留農薬分析調査成績	59

## III 機構および運営

## IV 業務実績

1. 微生物病理部の概要	65
2. 衛生試験部の概要	69

## V 技術研修指導, 研究発表等の状況

71

# I 研究報告

1. 他誌発表論文(抄録)

2. 学会発表(抄録)

3. レポート

## 1. 他誌発表論文 (抄録)

## DETECTION OF CARRIERS OF TYPHOID BACILLI BY SEWERAGE-TRACING SURVEILLANCE IN MATSUYAMA CITY

NOBUYUKI SHINOHARA, HIROSHI TANAKA, TSUYOSHI SAITO,  
JUNKO DEGUCHI, REIKO KONDO, KENJI SODA<sup>1</sup>  
and MASARU SUZUKI\*

*Department of Microbiology, Ehime Prefectural Institute of Public Health,  
and \*Matsuyama Health Center, Sanban-cho, Matsuyama, Ehime 790*

(Received April 24, 1981. Accepted September 25, 1981)

**SUMMARY:** Since periodical survey of the sewage entering the sewage-farm in Matsuyama City revealed a high incidence of *Salmonella typhi* of different phage types, attempts were made to trace the upstream reservoir. It was found that *S. typhi* was drained into a particular manhole at a distance of about 5 km from the sewage-farm. Two members of two families were found to be carriers. Further investigation detected other 25 carriers. The 27 carriers were all pupils of the same primary school. Ten of them showed mild symptoms such as fever, abdominal pain and diarrhea; the remaining 17 were asymptomatic. The phage type of 24 isolates was of Vi degraded approaching phage type A [degraded Vi(A)] and that of the other three was of type 53. The results coincided with those of the isolates from sewage. (Japan. J. Med. Sci. Biol., 34, 385-392, 1981)

## Preparation of Stable Target Cells for Anti-Herpes Simplex Virus Cytotoxic T Lymphocytes

Shunro SONODA,\*<sup>1</sup> Yasuo HITSUMOTO, Sayaka UTSUMI, Shunsai TAKAMI,  
Mitsuaki OSETO, and Yoichi MINAMISHIMA

*Department of Microbiology, School of Medicine, Ehime University, Shigenobu,  
Osen-gun, Ehime 791-02, Ehime Prefectural Institute of Public Health,  
Matsuyama, Ehime 790, and Department of Microbiology, Miyazaki  
Medical College, Kiyotake, Miyazaki-gun, Miyazaki 889-16*

(Accepted for publication, July 16, 1981)

**Abstract** Using an avirulent strain of herpes simplex virus (HSV), SKa, and a methylcholanthrene induced sarcoma cell line, Meth A cells, we have developed a reliable target cell system for detection of cell-mediated cytotoxicity directed against HSV-infected cells. SKa-infection in Meth A produced no progeny virus but induced HSV-specific surface antigens as revealed by radioimmunoassay using <sup>125</sup>I-labeled HSV antibody. Spontaneous release of <sup>51</sup>Cr from the SKa-infected Meth A cells was no more than that from uninfected control cells but a strong spontaneous <sup>51</sup>Cr release was produced in Meth A cells infected with KOS, a virulent strain which produced a progeny virus in Meth A and was lytic for the cells. When used as a target, SKa-infected Meth A cells could detect HSV-specific cytotoxicity by spleen and lymph node lymphocytes of mice immunized with SKa and KOS. This system also detected effector cytotoxic lymphocytes stimulated *in vitro* by mixed cultures of immune spleen cells and KOS-infected Meth A cells. Thus, the system should be valuable in studies of cell-mediated cytotoxicity directed against HSV-infected cells. (Microbiol. Immunol. Vol. 25 (10), 999-1010, 1981)

## 2. 学会発表（抄録）

### 小児急性胃腸炎の病原の検索

大瀬戸光明 田中博 森正俊 篠原信之  
園田俊郎(愛媛県立衛生研究所)  
石丸啓郎(石丸小児科医院)

近年, RotavirusやCampylobacter jejuniが小児急性胃腸炎の原因として確立されてきた。しかしながら, 小児胃腸炎のおよそ半数近くの原因は未だ不明であり, 今回, われわれは本疾病の病原を求めて, ウイルスおよび細菌学的同時検査体制を組み, これによる総合的な病原究明を試みた。

1980年1月から11月にかけて, 松山市内の一小児科医院における患児の糞便, 232例を採取した。

ウイルスの検索は, MK, HEK細胞を用いた分離検査とネガティブ染色法による電顕的観察を実施し, 細菌の検索は, 赤痢菌, サルモネラ, コレラ菌, 腸炎ビブリオ, エルシニア, カンピロバクターなどを対象とした培養検査を行った。

電顕法では, 232例中Rotavirus 39例(16.8%), Adeno様粒子8例(3.5%), 直径20~40nmの小型粒子16例(6.9%)が検出された。培養細胞法では97例中1例にAdeno様cpe agentが分離されたのみであった。

細菌はサルモネラが160例中10例(6.3%), Campylobacter jejuniが67例中21例(19.9%), Yersinia enterocoliticaが67例中1例検出された。しかし, これらの病原細菌とウイルスの混合感染例は見出せなかった。

患者の臨床症状は病原ウイルスおよび細菌の種類によって差異がみられ, サルモネラ, カンピロバクター検出例では38℃以上の発熱頻度が高く, Rotavirus, 小型粒子検出例では嘔吐が高頻度にみられた。

小型粒子は, その病原性がまだ明らかにされていないが, 1979年愛媛県内で集団発生した例で, 同形態の粒子が検出されており, 今回の症例も併せて, その病原的意義を免疫電顕法, IAHA法等により検討したい。

### ヒトおよび家畜に由来する 非定型抗酸菌の検索

斉藤健 篠原信之 園田俊郎(愛媛県立衛生研究所)

われわれは, 愛媛県下での結核患者の発生と結核菌

の検索を行ってきた。M. tuberculosisによる結核症の減少に比し, 非定型抗酸菌による肺結核様疾患の増加が確認された。このような状況下, 1980年秋から1981年春にかけて, 愛媛県下で飼育されている肉用豚のなかに非定型抗酸菌感染症と思われる病豚が多発した。この菌は人畜共通感染症を起こすことからその感染源, 感染経路を調査した。病豚を中心とする地域での本菌の浸淫度を飼育関係者, 豚舎周辺の環境, 飼育豚について非定型抗酸菌の分離, その菌種について比較検討した。その結果, ヒトにおける非定型抗酸菌症は二次感染の傾向が強く, 難治性であった。豚にも本菌が高率に感染していて, 豚舎周辺の環境にも汚染が広く浸淫していた。この中でM. avium-intracellulare complexが優先種で, 病豚の原因菌でもあった。この菌種の感染経路追求には, 感染菌の血清型別を導入する必要があり検討中である。

### 1981年愛媛県における CB 2 の 流 行

奥山正明 高見俊才 大瀬戸光明 小笠原  
光憲 古茂田智恵子 森正俊 園田俊郎  
(愛媛県立衛生研究所)  
石丸啓郎(石丸小児科医院)  
佐々木正光 今城巧次(愛媛県伊予三島保健所)

CB群は例年春から夏にかけて, 上気道疾患患者から分離され, しかもその型は毎年変化しているが, その流行の実態は十分に把握できていない。本年春からCB 2によるヘルパンギーナ様疾患の流行をサーベイランス定点において認めた。この流行の実態を, また心臓疾患などとの関係についても明らかにするために疫学的, ウイルス学的に検討を加えたので報告する。

5・6月の上気道疾患109例から34例(31.2%)のCB 2が分離された。分離陽性患者はアフタが小型で軟口蓋弓におけるリンパ濾胞の増殖が目立った。一方髄膜炎患者からは, E 11, E 18, CA 9が分離されたが, CB 2は分離されなかった。

また, 6月下旬にK小学校で下痢, 発熱, 咽頭症状を伴う集団発生があり, ウイルス血清学的検索によりCB 2が流行の病因であろうと思われたので, それについても報告する。



第26回四国公衆衛生学会総会(1981,高知市)

## 地下水汚染調査における トレーサーとしての塩化リ チウムの利用に関する 基礎研究

武智拓郎 田頭和恵 江口茂  
(愛媛県立衛生研究所)

地下水流動方向トレーサーとして、従来からよく利用されてきた食塩、蛍光染料(ウラニン)の塩害及び地下水着色等の問題点を解決するため、LiClを利用することに着目し、その基礎的研究を実施したところ、次の結論を得た。

- 1) 浅層地下水の場合、Li濃度は30ppbで解析可能であり、実施例によれば、Li濃度10ppmにした下水の混入により被検井戸には19時間後最高43ppb(Li)検出し、漏水箇所を発見した。
- 2) 医薬品の成人用量から検討した結果、飲料水中Li濃度は400ppbまで、また、稚鮎の72時間LC<sub>50</sub>値から魚類に対する影響は140ppbまで十分安全である。以上の結果から、地下水流動方向トレーサーとしてのLiClは、安全性・経済性・簡便性および正確性の上から非常に優れたトレーサーであり、今後、疫学調査に応用する等有益な活用が期待できるものと思われる。

第20回日本薬学会中国四国支部大会(1981,徳島市)

## ゼーマン原子吸光法による 温泉水中のストロンチウム 測定の見直しとその含量

武智拓郎 森田健基 田頭和恵 江口茂  
(愛媛県立衛生研究所)

温泉水中の微量金属の分析法として、近年フレイムレス原子吸光法は高感度で操作が簡単なため広く利用されているが、マトリックスにより種々の影響を受けることが明らかになっている。今回、愛媛県下の温鉱泉水中のストロンチウム分析にあたり、偏光ゼーマンフレイムレス原子吸光による方法について検討し、さらに松山市周辺の温鉱泉についての分析を実施した。

測定波長460.7nm, 乾燥80-120℃ 30秒, 灰化700

℃30秒, 原子化2700℃ 3秒, サンプル量10 $\mu$ lの条件下では、1) 塩化物としてNa, Kは500倍, Caは1000倍, Mgは5000倍以上の共存でSrの原子吸光に負の影響を及ぼした。2) 1)における影響を除くための硝酸, EDTA-NH<sub>4</sub>OH・MEDTA-NH<sub>4</sub>OHの添加は、B.G吸収を減少させ良好な結果を得た。3) その他マトリックスの影響について詳細に検討した。4) 本法による実試料の分析値からSrは28ヶ所の平均値が0.607 $\pm$ 1.190ppmに対し、塩類泉では高く(3.352 $\pm$ 1.021ppm, n=4)塩素イオン等と強い正の相関を示し、海水起源であることが推定できる。

第20回日本薬学会中国四国支部大会(1981,徳島市)

## 愛媛県一般住民の脂肪組織 中におけるPCB, 有機塩 素系農薬の残留性に関する 研究

森喜一 菊田正則 大倉敏裕 沖永悦子  
(愛媛県立衛生研究所)

森脇昭介(国立病院四国ガンセンター)

PCB, HCH等の難分解性化合物による人体汚染を契機に、1973年から1981年にかけて、四国ガンセンターの協力を得て、人体脂肪組織中のPCB, HCH等の経年変化を追跡し、あわせて新化合物による人体汚染を監視したところ以下の結果を得た。

1. PCB, HCH等いずれも前回より減少したが、その差は統計的に有意な差ではなかった。
2. PCB, DDTは加齢的に増加するが、HCHは60才以上でやや下降する傾向がみられた。
3. HCBは全検体から検出されたが、前回に比べ半減した。
4. Permethrinは今回調査した検体からは全く検出しなかった。
5. PCB, HCH等いずれも男性が女性を若干上回ったが、その差は統計的に有意な差ではなかった。
6. 脂肪含有量とPCB, HCH等の間には弱い逆相関がみられた。
7. ECD-GCにおける定性的なピークパターンに変化はみられなかった。

### 3. レポ ー ト

## 小児下痢症患者からの毒素原性大腸菌の分離の試み

田 中 博                      大瀬戸 光 明                      篠 原 信 之  
森 正 俊\*                      園 田 俊 郎                      石 丸 啓 郎\*\*

### はじめに

近年、毒素原性大腸菌による下痢症が東南アジア方面からの旅行者を中心に高い頻度で見られている<sup>1~2)</sup>しかしながら、国内における散発性下痢症患者からの本菌の症例報告は少なく、毒素原性大腸菌の侵淫度の把握は不十分である。我々は1980年9月から1年間、松山市内の小児科医院において、急性胃腸炎患者からサルモネラ、カンピロバクター、ロタウイルスなどの病原体の検索を行ない、その結果を報告した<sup>3)</sup>今回、これらの胃腸炎患者より分離された大腸菌から毒素原性大腸菌の検出を試みたところ、毒素性大腸菌は検出されなかった。

### 材料と方法

1980年9月から1981年3月までの間、松山市内の一小児科医院において急性胃腸炎を主徴とする小児460名から分離した大腸菌812株を検査した。

#### 大腸菌の分離

マッコンキー培地を用いて37℃、20~24時間培養後、コロニーを3個ずつ鈎菌し、TSI培地、SIM培地に接種した。培養後、硫化水素非産生でブドウ糖を分解し、インドール反応陽性、I PA反応陰性の菌株を大腸菌とみなし、毒素産生試験に供した。また、同時に病原大腸菌の診断用免疫血清(東芝化学製)を用いて血清型も試みた。

#### 毒素産生試験

試料の作製:トリプトソイブイオン(Difco製)を滅菌採血管(栄研製)に3ml分注、菌接種後、振盪培養機(New Brunswick Scientific製)を用いて37℃20時間振盪培養(300rpm)、培養後3000rpm15分間遠心沈殿し、その上清から易熱性毒素(LT)および耐熱性毒素(ST)の検出を試みた。

LTの検出法:CHO細胞法<sup>4)</sup>によった。すなわち

牛胎児血清1%、ゲンタマイシン50mcg/mlを加えたイーグルMEM培地を用いて行なった。組織培養用マイクロプレート(Falcon製)に細胞浮遊液を0.5ml分注し、試料0.01mlを加え、5%CO<sub>2</sub>下で37℃、20時間培養した。CHO細胞に形態変化が生じた菌株についてはElek変法<sup>5)</sup>で確認した。

CHO細胞:10%牛胎児血清加イーグルMEM培地で継代した。

抗LT血清:コレラトキシン(化血研製)で家兔を免疫、アフィニティークロマトグラフィーで精製した。精製された抗LT血清は濃縮(蛋白量400mg/dl)し、対照菌株を用いて沈降線の有無をElek変法で確認し試験に供した。

STの検出法:乳のみマウス胃内投与法<sup>6)</sup>に準じ、試料0.1mlを生後3日目のマウス(ddy系)に経口投与し、FA比(fluia accumulation ratio)を求めた。FA比0.09以上を陽性とした。

対照菌株:E. coli 309-2(LT, ST産生), E. coli 240-3(LT産生), E. coli 53402A-1(ST産生), E. coli 7028(毒素非産生)を対照菌株とした。各菌株はCHO細胞法, Elek変法, 乳のみマウス胃内投与法により、LTおよびSTの産生を確認した。

### 結 果

病原大腸菌、毒素原性大腸菌の検出状況は表1に示した通りである。

病原大腸菌の血清型別は460名のうち175名(菌株数417株)について行なった。その結果、17名(検出率9.7%)から病原大腸菌が検出された。また、血清型は表2に示したとおり11種類でO-6 K-15 3株、O-26 K-60 O-55 K-59 O-114 K-70 O-126 K-71各2株、O-25 K-1 O-111 K-58 O-119 K-69 O-148 K-+ O-152 K-+ O-159 K-+各1株であった。

毒素原性大腸菌の検査は460名から分離された812株について行なったが、LT産生株はまったく検出されなかった。ST産生株は1名から1株検出されたが、この菌株は詳細な生化学的検査でAeromonas属と同定された。

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

\* 現愛媛県保健環境部健康指導課 松山市一番町4丁目4

\*\* 石丸小児科医院 松山市三番町6丁目5

表1 病原大腸菌，毒素原性大腸菌の検出状況

大腸菌	検査数	検出数	検出率%
病原大腸菌	175	17	9.7
L T	460	0	0
S T	460	0	0

表2 病原大腸菌の血清型

血清型	例数	血清型	例数
O-6 K-15	3	O-119 K-69	1
O-25 K-1	1	O-126 K-71	2
O-26 K-60	2	O-148 K-+	1
O-55 K-59	2	O-152 K-+	1
O-111 K-58	1	O-159 K-+	1
O-114 K-70	2		

### 考察

小児の急性胃腸炎患者からの病原性大腸菌の検出率は前報<sup>3)</sup>で報告したように、カンピロバクター、15.4%、ロタウイルス、11.2%につぐ高値であった。また、血清型は表2に示したとおり11種類で、侵入型<sup>7)</sup>の血清型O-25 K-1、O-152が2名より検出された。しかし、毒素原性大腸菌の比較的多いとされているO-6、O-114、O-159<sup>7)</sup>には上記のとおり、毒素の産生は認められなかった。

Black<sup>8)</sup>らはバングラディッシュの小児下痢症患者の25%から毒素原性大腸菌を検出したと報告している。我国においても、主として東南アジアから帰国する下痢症患者の20~30%から検出されている<sup>1~2)</sup>が、散发性下痢症での全国的な検出状況は明らかでない。池村<sup>9)</sup>によると、1978年から79年の間、急性胃腸炎患者の散发例144例を検査したところ、LT単独産生およびST単独産生株がそれぞれ1列ずつ認められたに過ぎなかったとしている。一方、内村ら<sup>10)</sup>は散发下痢患者515名について検査を行なったところ、18名(3.5%)から毒素原性大腸菌を検出している。今回、我々の調査では毒素原性大腸菌はまったく検出されず、池村<sup>9)</sup>の報告同様、本地域での毒素原性大腸菌による小児下痢症は、現時点では非常に少ないものと推察される。しかしながら、海外旅行と関連がなく国内での2次感染が推察される毒素原性大腸菌による下痢症が京

阪神地区に比較的高頻度(96例中8例)に検出されている<sup>11)</sup>ことや、下痢症患者より分離されたAeromonasからST様毒素が検出された事例<sup>12)</sup>また、都市河川からの分離例<sup>13)</sup>などの報告があるため、今後、毒素原性大腸菌やAeromonasによる下痢症の増加が推察されるため、定点観測医院での定期的な下痢症の観察が必要と思われる。

### まとめ

- 1980年から1年間、急性胃腸炎を主徴とする小児460名から分離した大腸菌812株について毒素産生能を検出した結果、毒素原性大腸菌はまったく検出されなかった。
- 同時に血清型別により病原大腸菌の検出を試みた結果、17名(検出率9.7%)から検出された。

稿を終るにあたり、CHO細胞および毒素原性大腸菌標準株を分与して頂いた竹田美文博士(大阪大学微生物病研究所)に謝意を表します。

### 文献

- 神田輝雄他：感染症学雑誌，**55**，70~71 (1981)。
- 松下 秀他：感染症学雑誌，**55**，71 (1981)。
- 田中 博他：愛媛衛研年報，**42**，9~12 (1981)。
- Guerrant, R.L. et al.: Infect. Immun., **10**, 320~327, (1974)。
- Honda, T. et al.: J. Clin. Microbil., **13**, 1~5 (1981)。
- Giannella, R.A.: Infect. Immun., **14**, 95~99 (1976)。
- 坂崎利一：食品衛生研究，**32**，547~566 (1982)。
- Balck, R.E. et al.: Proc. 14th Joint Conf. US-Japan Cooperat. Med. Sci. Program Cholera Panel, 292-301 (1979)。
- 池村謙吾：新潟医学会雑誌，**94**，360-406 (1980)。
- 内村真佐子他：感染症学雑誌，**56**，89 (1982)。
- 竹田美文：感染炎症免疫，**12**，1~12 (1982)。
- 有田美知子他：感染症学雑誌，**55**，72 (1981)。
- 竹田多恵他：感染症学雑誌，**55**，54 (1981)。

## ヒトおよび家畜に由来する非定型抗酸菌の検索

斎藤 健

篠原 信之

園田 俊郎

### はじめに

近年、非定型抗酸菌による感染症がヒトおよび家畜に認められ、難治性感染症として問題となっている。

前報<sup>1)</sup>でも報告したように県内では、*M. tuberculosis* による結核症の減少に伴い、非定型抗酸菌による肺結核様疾患の増加が確認された。

一方、この菌は人畜共通感染症といわれているが、その感染源、感染経路は不明な点が多い。そこで、比較的り患率の高いといわれている豚について本菌の浸淫度を飼育関係者、豚舎周辺の環境および飼育豚について知るため非定型抗酸菌を分離し、本菌の検出状況、菌種分布、血清型別についてヒト由来株と比較検討したので報告する。

### 材料と方法

ヒトからの非定型抗酸菌の分離は、病豚の飼育関係者5例、非定型抗酸菌症と診定された患者由来10例を用いた。

豚からの分離は、Pと畜場において病豚および正常豚から行い、病理検査も併せて行った。

環境からの分離は、病豚が多発した養豚場内の種々

の検体(おがくず・土壌・飼料・汚水・ワラ)、病豚とは関係のない地域での一般土壌中から非定型抗酸菌をWolinsky法<sup>2)</sup>に準じて培養を行った。

分離された菌株は、いずれも1%小川培地で継代し、日本結核病学会、抗酸菌分類委員会<sup>3)</sup>による“抗酸菌の鑑別同定法”に準じて同定を行い、菌種を決定した。

また、血清型別試験は農林水産省家畜衛生試験場でAnzの方法<sup>4~5)</sup>によって行った。

### 結果および考察

#### 1 ヒトからの非定型抗酸菌検出状況

ヒト由来では、表1に示したように、10株(6.0%)の非定型抗酸菌が結核および類似様患者167例から検

表1 ヒトの非定型抗酸菌検出状況

検体数	分離数	分離率(%)
167	10	6.0

菌種: *M. avium-intracellulare complex* 5株

*M. fortuitum* 2株

*M. kansasii* 1株

表2 ヒトの非定型抗酸菌症臨床像

症 例 数		<i>M. avium-intracellulare complex</i> 症	<i>M. fortuitum</i> 症	<i>M. kansasii</i> 症
既 応 歴	結 核	7	2	1
	気 管 支 拡 張 症	5	2	1
	助 膜 炎	2		1
	糖 尿 病	1	1	
症 状	高 血 圧	1	1	
	せ き	3		1
	発 熱	1		1
予 後	呼 吸 不 全	1	1	
	良 好	1		1
	不 良 死	6	1	
			1	

出され、*M. avium-intracellulare complex*が主要な菌種であった。他に、*M. fortuitum* 2株、*M. kansasii* 1株が同定された。

非定型抗酸菌症が確認された10例について臨床像を表2に示した。既応歴では、圧倒的に結核症が多く、他に気管支拡張症などが見られ、非定型抗酸菌感染症を許す基礎疾患の存在が推定される。症状としては、せきなどが見られる程度で、予後は10例中2例が回復しているにすぎない。

## 2 豚からの非定型抗酸菌の検出状況

表3では、Pと畜場での非定型抗酸菌症をもつ有病豚の発生状況を示した。Pと畜場に搬入された豚82,463頭の解体時検査で872頭(1.0%)のリンパ節に乾酪結節を認めた。冬から春にかけて本菌による一過性の汚染があったように思われる。

乾酪結節の認められた豚203頭について、リンパ節から菌の分離を試みたところ、*M. avium-intracellulare complex*のみが、101頭(49.8%)に検出された。菌検出部位は腸間膜リンパ節が顎下リンパ節より高い検出率を示した(表4)。

そこで、非定型抗酸菌の豚体内での分布および侵入経路を推察する目的で20症例について、乾酪結節が認められる病巣部以外の10組織から検体を採取し、菌の分離を行った(表5)。剖検所見および培養検査の成績において、*M. avium-intracellulare complex*は腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、扁桃および肺門リンパ節に多く見られたことから、本菌が経口的に侵入したことが示唆された。また、病巣は主として限局

した組織にのみ見られ、全身感染はまれのように思われる。

表3 Pと畜場における豚の非定型抗酸菌症発生状況

月 別	検査頭数	有病巣頭数	有病巣率(%)
1980.12	8,581	115	1.3
1981. 1	7,012	147	2.1
2	6,807	97	1.4
3	6,912	132	1.9
4	6,821	111	1.6
5	6,262	87	1.4
6	6,301	23	0.4
7	6,351	30	0.5
8	6,225	25	0.4
9	6,540	25	0.4
10	7,281	42	0.6
11	7,370	38	0.5
計	82,463	872	1.0

表4 有症豚からの非定型抗酸菌検出状況

病巣部位	検体数	分数	分離率(%)
腸間膜リンパ	91	55	60.4
顎下リンパ	109	46	42.2
扁桃	2	0	0
肝臓	1	0	0
計	203	101	49.8

表5 豚の非定型抗酸菌体内組織分布

採取部位	症 例 番 号																				計	分離率(%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
頭 肉	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
扁桃	+	+	-	+	-	+	+	-	*	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	9	45
鼠径リンパ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	3	15
腸間膜リンパ	*+	*+	*+	+	+	-	+	*+	+	-	-	-	*+	-	-	-	-	*+	+	+	12	60
腎 臓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
顎下リンパ	-	-	-	*+	*+	*+	*+	-	-	*+	*+	*+	+	*+	*+	*+	*+	+	*+	*+	10	50
肺門リンパ	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	9	45
心 臓	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5
脾 臓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
肝 臓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1	5
肝門リンパ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0

\* 剖検所見で乾酪結節が認められたもの

+ : 培養 陽性      - : 培養 陰性

検出菌種 : *M. avium-intracellulare complex*

表6 養豚場における非定型抗酸菌検出状況

養豚場	被検材料						計	分離
	おがくず	土壌	飼料	汚水	ワラ	喀痰		
B	1/6	4/4	0/8				5/18	27.8
C	0/2	0/2	0/2		0/1		0/7	0
D	1/3	2/3	0/1				3/7	42.9
E	9/35	3/10	4/6	0/2		0/5	16/58	27.6
計	11/46	9/19	4/17	0/2	0/1	0/5	24/90	26.7

菌分離数/検体数

検出菌種：M. avium-intracellulare complex

3 環境からの非定型抗酸菌検出状況

図のように、Pと畜場に搬入される主な養豚場を見てもと集積性がみられ、A養豚場では24.7%もの高率を示し、集団発生の様相が認められた。

そこで、高い頻度で検出された養豚場において、感染源および感染経路を知る目的で、養豚場の種々の検体から菌の分離を行った(表6)。その結果、豚舎内で汚物の処理に用いられている外材のおがくず、母豚豚舎周辺の土壌、飼料からM. avium-intracellulare complexが多く検出された。このことは、非定型抗酸菌の汚染源として、柚木<sup>6~7)</sup>らが指摘するようおがくずおよび豚舎周辺部の土壌などが疑われた。しかし、養豚従事者の喀痰検査では、本菌は検出されなかった。

一方、病豚とは無関係地域の一般土壌を対象として非定型抗酸菌の検索を行ったところ、4ヶ所からM. smegmatis、2ヶ所からM. scrofulaceum、1ヶ所からM. terraeが検出されたが、M. avium-intracellulare complexは検出されなかった(表7)。このことから、養豚場でのM. avium-intracellulare complexの汚染は限定されたもので、特定の感染源による豚への感染であったように思われる。

4 分離された非定型抗酸菌の菌種別分布

本調査で分離された、ヒト、豚、環境由来の非定型抗酸菌の菌種を表8に示した。M. avium-intracellulare complexがすべてにおいて高率に検出され、汚染の規模の大きさを示している。M. kansasiiは患者から分離されているにもかかわらず豚、環境からの分離株はなかった。また、M. scrofulaceumは環境から分離されていることから、今後この菌種による感染症が予測される。

5 M. avium-intracellulare complexの血清型別

血清型別は、ヒト、豚、環境材料についてAnzの血清型別を行った(表9)。この結果、ヒト由来株と豚および環境由来株は菌種は同一でも明らかに相違がみ

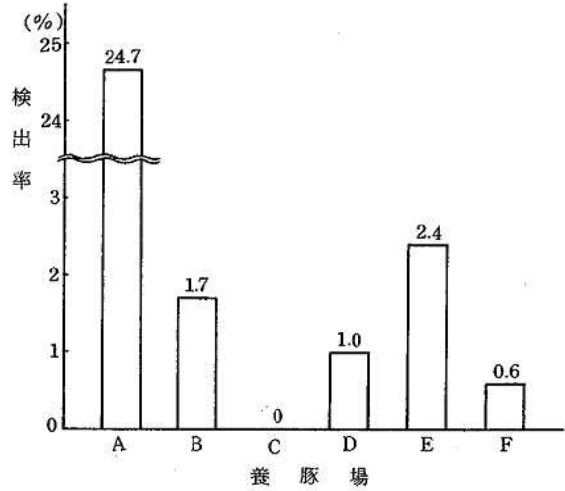


図 養豚場別発生状況

表7 一般土壌の非定型抗酸菌検出状況

検体数	分離数	分離率 (%)
46	7	15.2

菌種：M. smegmatis 4株  
M. scrofulaceum 2株  
M. terrae 1株

表8 分離された非定型抗酸菌の菌種別分布

群	菌種	ヒト	豚	環境	
				養豚場	一般土壌
I	M. kansasii	1			
II	M. scrofulaceum				2
III	M. avium-intracellulare complex	7	132	24	
	M. terrae				1
IV	M. fortuitum	2			
	M. smegmatis				4
	計	10	132	24	7

表9 M. avium-intracellulare complex  
の血清型別

菌株の由来	菌株数	血清型			
		4	8	9	un
豚	9	1	4	0	4
環境	6	1	4	0	1
ヒト	5	0	0	0	5

られた。即ち、豚および養豚場のおがくずでは8型が優占種であったのに対して、ヒト由来株では8型以外の型別不明であり、豚由来株とヒト由来株との血清型の共通性は認められなかった。しかし、豚由来株の中にも型別不明なものが含まれており、今後、ヒト由来株との関係について追求する必要があると思われる。

#### まとめ

1. ヒトにおける非定型抗酸菌症は、二次感染の傾向が強く、難治性感染症のひとつとなっている。
2. ヒト、豚、環境由来の非定型抗酸菌では、M. avium-intracellulare complex, M. kansasii, M.

scroflaceum, M. fortuitum 以外の他の菌種による感染症が予測される。

3. 豚では、M. avium-intracellulare complexが高率に感染し、人畜を含む環境に本菌の汚染が広く浸淫している。しかし、Anzの血清型別では、豚由来株とヒト由来株との共通性は現在のところ認められなかった。

#### 文献

- 1) 斉藤健他：愛媛衛研年報，**42**，7-8 (1981)。
- 2) Wolinsky, E. and Rynearson, T.K.: Amer. Rev. Resp. Dis., **83**, 1032-1037 (1968)。
- 3) 日本結核病学会抗酸菌分類委員会：結核，**51**，247-256 (1976)。
- 4) Schaefer, W.B.: Amer. Resp. Dis., **92**，85-93 (1965)。
- 5) Anx, W. et al.: Zbl. Bakteriologie. I. Orig., **211**，530-550 (1969)。
- 6) 柚木弘之：と畜検査技術研修会資料，23-44 (1981)。
- 7) 柚木弘之：食品衛生研究，**31**，323-333 (1981)。



## 小児の急性胃腸炎に関連して検出される 種々のウイルス粒子について

大瀬戸 光明                      田 中      博                      奥 山 正 明  
近 藤 玲 子                      高 見 俊 才                      園 田 俊 郎  
石 丸 啓 郎\*

### はじめに

Kapikianら<sup>1)</sup>がNorwalk agentを、Bishopら<sup>2~3)</sup>がロタウイルスを急性胃腸炎の主要な病原として確立して以来、電子顕微鏡を用いて糞便中のウイルス粒子を直接検出する方法が一般に行われるようになった。それとともに、Norwalk agentやロタウイルス以外に、多種類のウイルス粒子が急性胃腸炎の病原として提起されてきた。しかし、これらのウイルスについては、その性状のみでなく、病原性や生態についてもほとんど明らかにされていない。

我々は1980年1月から、松山市の1小児科の外来患者を対象に、小児の急性胃腸炎の病原検索を実施してきたが、現在までに得た種々のウイルス粒子検出状況について報告する。

### 材料と方法

対象：1980年1月から1982年6月までの36ヶ月間の松山市の1小児科医院外来における急性胃腸炎患児907名を対象とした。患者の年齢は0才から17才であった。

方法：糞便の電子顕微鏡検査(EM)は、Bishopら<sup>3)</sup>の方法に準じて行った。ネガティブ染色は2%リンタンクステン酸染色で行い、日本電子JEM-100Sで4万倍で観察した。1980年8月から1981年9月までの12ヶ月間の460名の糞便検体については、田中ら<sup>4)</sup>がすでに報告した方法により、ウイルス検査と細菌検査を同時に実施した。

EMで検出したウイルス粒子の形態的同定は、ロタウイルス、アデノウイルス、レオウイルスについては各々その特徴的形態観察により行い、アストロウイルスとカリシウイルスの同定はMadeley<sup>5)</sup>の記載に従った。即ち、アストロウイルスは直径26-30nmの辺縁が明瞭な球形粒子で5~6角の星状を呈する粒子とし、

カリシウイルスは、直径30-33nmの辺縁がホタテ貝状の球形粒子で、粒子中央部の陥穴とその囲りの6個の陥穴が観察される“ダビデの星”と称する特徴的形態により同定した。35-40nm粒子は、直径が35-40nmで辺縁に球状あるいは棒状の突起が並んだ球形粒子をすべてこのグループに入れた。ピコルナ/パルボウイルス様粒子群には、直径20-30nmの表面構造が不明で、辺縁が明瞭な粒子を分類した。これらの粒子については、血清学的同定は行っていない。

### 結 果

#### 1. ウイルス検出状況

1980年1月から1982年6月までの間に、907件の糞便をEMにより観察し、301例(33.2%)の糞便から、種々のウイルス粒子が330例検出された。検出ウイルスの内訳は、ロタウイルスが最も多く145例(16.0%)、ピコルナ/パルボウイルス様粒子が57例(6.3%)、アデノウイルス46例(5.1%)、35-40nm粒子39例(4.3%)、アストロウイルス29例(3.1%)、カリシウイルスとレオウイルスが各々7例(0.8%)であった。2種以上のウイルスが同時に検出されたものが22例あり、そのうちロタウイルスとアストロウイルスが同時に検出されたものが4例で最も多い組合せであった。

#### 2. ウイルス検出率の月別消長

ウイルス別の月別検出率を図1に示し、各ウイルス粒子の電顕像を図2に示した。ロタウイルスは、11月から4月の寒冷期に集中して検出され、当該地域における乳幼児嘔吐下痢症の流行時期とよく一致していた。また、ロタウイルスは1980年7月、1981年8月に1例ずつ検出されており、このウイルスが非流行期にも地域に常在していることが示唆された。

アデノウイルスと35-40nm粒子は、その季節的消長に特徴は認められず、年間を通じて散発的に流行していることが示唆された。

アストロウイルスは、1981年4・5月に多く検出

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

\*石丸小児科医院 松山市三番町6丁目5

されこの時期に地域的な流行があったことが示された。さらに、このウイルスが春から初夏にかける時期と秋に多く検出されていることから、アストロウイルスの流行には季節的要因が関与していることが推察される。

カリシウイルスについては、検出例数が少ないが、秋に多く検出されている。

ピコルナ／パルボウイルス様粒子は、1981年9月頃から多く検出されはじめ、特に1982年1・2月に

は30%を越える検出率であった。

以上のことは、多種のウイルスが、各々、固有の流行形態を持っていることを示している。即ち、ロタウイルスは従来から指摘されている如く、寒冷期に流行するが、アストロウイルスやカリシウイルスは、ロタウイルスの流行期の前後が好発時期で、夏期には流行がみられない。また、アデノウイルスや35-40nm粒子には、明らかな流行時期はないものと考えられた。

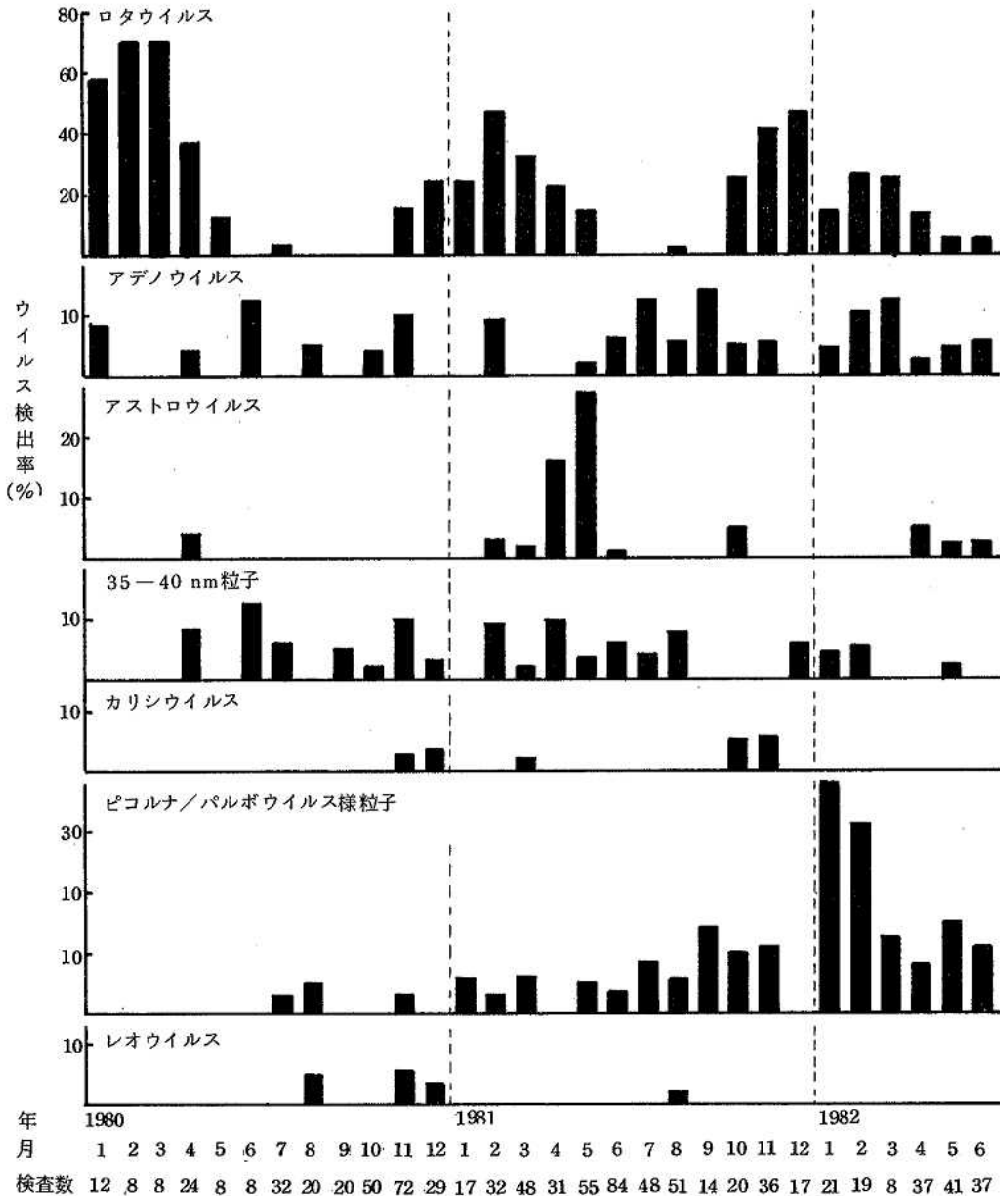
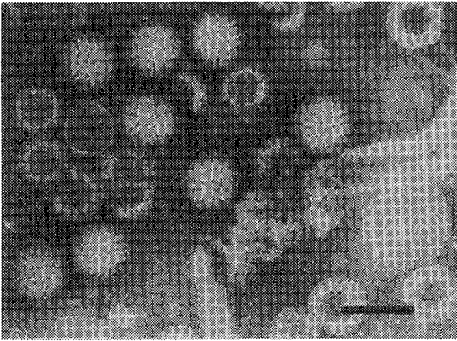
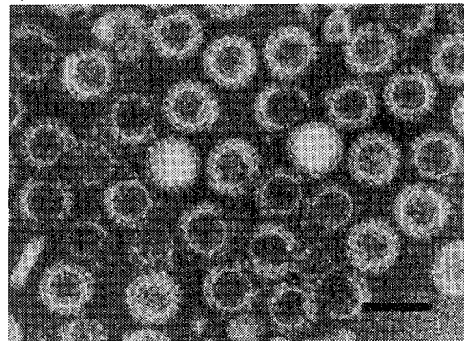


図1 小児胃腸炎患者からの月別ウイルス検出率

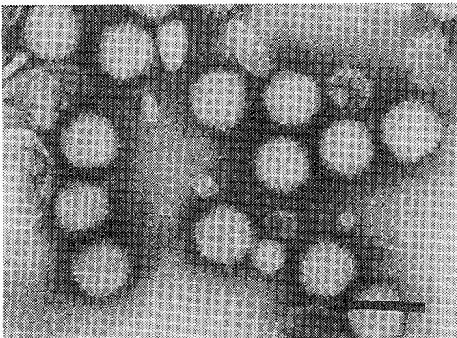
1) ロタウイルス



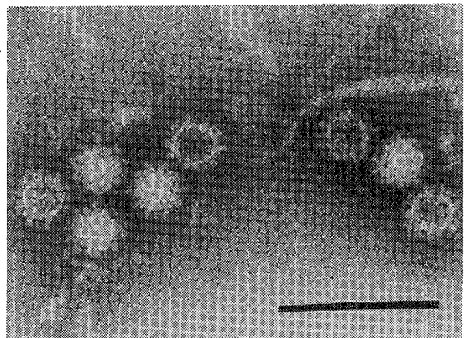
2) レオウイルス



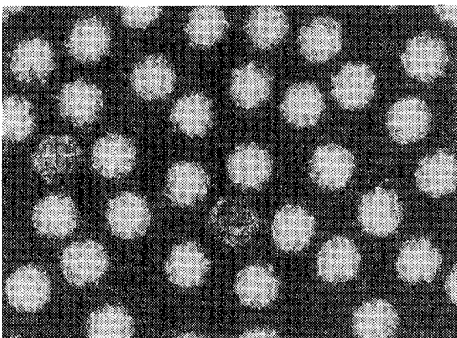
3) アデノウイルス



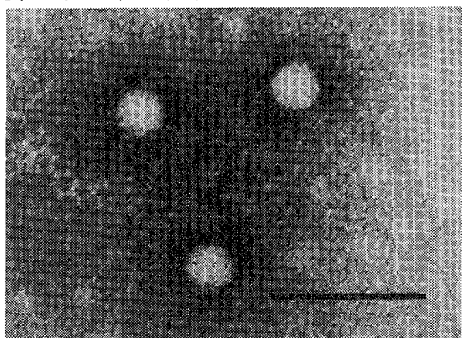
4) 35-40nm粒子



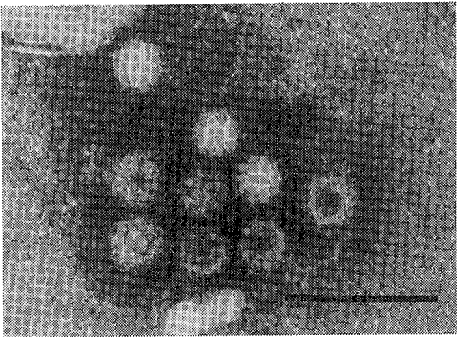
5) アストロウイルス



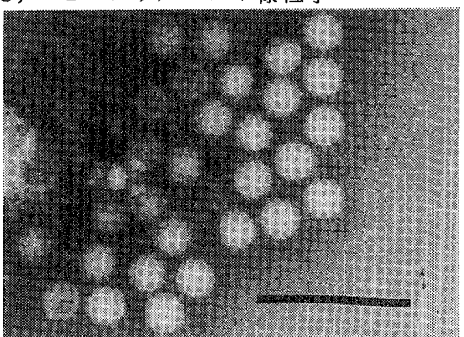
6) アストロウイルス



7) カリシウイルス



8) ピコルナ/パルボ様粒子



bar = 100 nm

図2 小児急性胃腸炎患者糞便から検出されたウイルス粒子

### 3. 年齢区分別のウイルス検出状況

年齢区分別のウイルス検出率を表1に示した。ロタウイルスは、0才と1才の年齢で検出率が最も高く、この年齢層の乳幼児におけるロタウイルスの高い浸淫度が認められた。また、高年齢小児においても、他のウイルスの検出率と比べ、ロタウイルスの検出率は高く、学童、生徒の年齢層においても急性胃腸炎の病原として重要であることが示された。

アデノウイルス、35-40nm粒子、アストロウイルス、カリシウイルスは、年齢別の検出率に明確な差異はみられず、9才以下の年齢層まで、ほぼ同様の検出率を示した。アストロウイルスとアデノウイルスでは、0才でやや検出率が高い傾向がみられたが、6ヶ月未満の乳児からは、アストロウイルスが1例検出されたのみであった。

ピコルナ/パルボウイルス様粒子は、ロタウイルスとは異り、低年齢小児よりむしろ6才以上の高年齢層に高い検出率を示した。

### 4. ウイルスと病原細菌の検出状況

1980年9月から1981年8月までの12ヶ月間の460例の糞便検体については、ウイルス検査と細菌検査を同時に行った。その結果を表2、図3に示した。ウイルスまたは細菌が検出された例数は273例(59.3%)で、ウイルスの検出率が39.8%、細菌の検出率が23.8%であった。2種以上の病原体が同時に検出された例は32例あり、そのうちウイルスと細菌の重感染例は16例、ウイルス同士、細菌同士の重感染例は、それぞれ13例と3例であった。

EMでは、ロタウイルス、35-40nm粒子、アデノウイルス、アストロウイルス、ピコルナ/パルボ様粒子、レオウイルスおよびカリシウイルスが検出された。サル腎細胞とHEK細胞を用いたウイルス分離法では、エンテロウイルスが40例、アデノウイルスが18例、レオウイルスが4例検出された。レオウイルスの血清

型はすべて1型であった。エンテロウイルスとアデノウイルスの血清型別は表3、表4に示したが、それらのウイルス型はすべて、同時期に急性気道疾患患者の咽頭拭い液からも検出されており、急性胃腸炎患者から特有のウイルス型が検出されるという傾向はみられなかった。

咽細菌では、カンピロバクター(*Campylobacter jejuni*)が最も高率に検出され、次いでサルモネラが多かった。その他には、腸炎ビブリオ、エルシニアが検出されている。毒素産生性大腸菌は、LT、ST株とも全く検出されなかった。検出されたサルモネラの菌種別例数を表4に示した。また、サルモネラ、カンピロバクターは、ウイルスに比べ比較的高年齢小児から高率に検出されており、特にカンピロバクターはその傾向が著しかった。また、細菌検出率の季節的消長は、図3に明らかなように、サルモネラは夏期に高率に検出されたが、カンピロバクターは、年間を通じて検出され、季節的特徴は認められなかった。

### 5. 臨床症状

各病原体が単独で検出された患者について、症状の発現頻度を表6に示した。一般にウイルスでは高熱が少なく、嘔吐を呈する者が多く、細菌では高熱が多く、嘔吐が低率であった。ウイルス感染例の中では、ロタウイルスや35-40nm粒子検出例で嘔吐や腹痛が多いのに比べ、アストロウイルスやアデノウイルスでは嘔吐、腹痛が比較的低率を示した。このことは、35-40nm粒子やアストロウイルスが胃腸炎の病原として固有の性質を持つことを示唆している。

### 考 察

ロタウイルス以外の急性胃腸炎の病原あるいは病原候補ウイルスとして、多種類のいわゆる小型球形粒子が報告されている。Norwalk様ウイルスとしてHawaii agent, Ditchling agent, Cockle agent等数多く

表1 小児胃腸炎患者の年齢区分別ウイルス検出状況

年齢区分(才)	検査数	ロタウイルス	35-40nm	カリシウイルス	アストロウイルス	ピコルナ/パルボ様粒子	アデノウイルス	レオウイルス
0	142	37(26.1)	5(3.5)		9(6.3)	8(5.6)	10(7.0)	1(0.7)
1	160	47(29.4)	6(3.8)	2(1.3)	5(3.1)	5(3.1)	9(5.1)	1(0.6)
2~3	187	28(15.0)	13(7.0)	4(2.1)	4(2.1)	10(5.3)	11(5.9)	3(1.6)
4~5	174	13(7.5)	6(3.4)	1(0.6)	7(4.0)	11(6.3)	9(5.2)	
6~9	148	10(7.0)	8(5.6)		3(2.1)	13(9.1)	5(3.5)	2(1.4)
10 ≤	77	6(7.8)	1(1.3)		1(1.3)	9(11.7)		
不明	19	4(21.1)				1(5.3)	2(10.5)	
計	907	145(16.0)	39(4.3)	7(0.7)	29(3.1)	57(6.3)	46(5.1)	7(0.7)

( )内の数字は百分率を示す。

表2 小児胃腸炎患者からの病原体検出状況

病原体別	検出例数	検出率(%)
ロタウイルス	51	11.1
35-40nm 粒子	27	5.9
アストロウイルス	21	4.6
ピコルナ/パルボウイルス様粒子	13	2.8
カリシウイルス	4	0.9
アデノウイルス	34	7.6
エンテロウイルス	40	8.7
レオウイルス	6	1.3
カンピロバクター	71	15.4
サルモネラ	27	5.9
腸炎ピブリオ	10	2.2
エルシニア	1	0.2
計	306	

1980年9月～1981年8月  
検査総数 460例

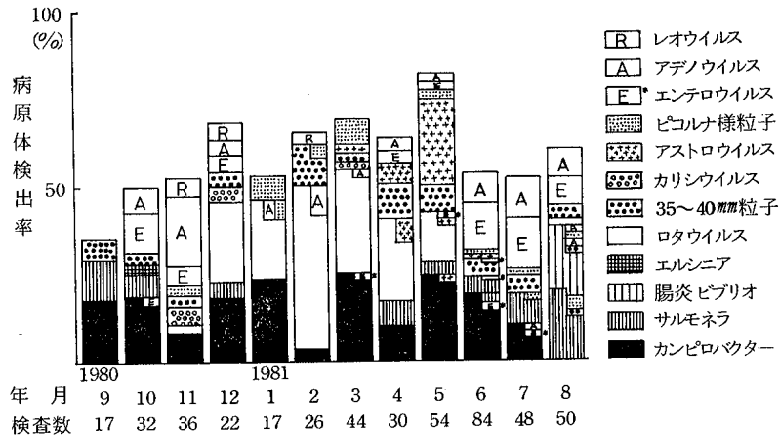


図3 小児胃腸炎患者からの病原体検出状況

表3 エンテロウイルス型別

ウイルス型	株数
ポリオ1	2
” 2	3
” 3	1
コクサッキーA9	1
” B2	11
” B5	2
” B4	2
エコー6	1
” 7	3
” 11	10
” 18	3
未同定	1
計	40

表4 アデノウイルス型別

ウイルス型	株数
アデノ 1	2
” 2	7
” 3	1
” 4	1
” 5	4
未同定	3
計	18

の報告があり少なくとも3つの血清型があると考えられている<sup>6)</sup>。その他にも、アストロウイルス<sup>7)</sup>、カリシウイルス<sup>8)</sup>、直径35-40nmのミニレオウイルス<sup>9)</sup>やミニロタウイルス<sup>10)</sup>等、多彩なウイルス粒子が提起されている。

石田ら<sup>11)</sup>が国内各地のいわゆる小型球形粒子の検出報告をまとめているが、国内においても、ほぼ同様に多種のウイルスが検出されている。これらのウイルスは、胃腸炎の集団発生に関連して検出されており、しだいにそれらのウイルスの病原としての重要性が確立されつつある。

今回我々が松山市とその周辺部の地域を患者エリアとする1小児科の外来患者を対象にして、継続的に急性胃腸炎の病原ウイルス検索を実施した。36ヶ月間に検出されたウイルスの種類は、ロタウイルスをはじめ、アストロウイルス、カリシウイルス、35-40nm粒子、ピコルナ/パルボウイルス様粒子等で、国内で検出されているウイルス粒子は、ほぼすべて検出し得た。このことは急性胃腸炎の病原ウイルスの多様性を示し、また、検出報告の少ないアストロウイルスやカリシウイルスが、地域において常在的に流行を繰返していることを示唆している。

また、今回の継続調査では、ウイルスの季節的消長に特徴が認められた。寒冷期のロタウイルス流行期の前後が、アストロウイルスやカリシウイルスの流行時期であり、アデノウイルスや35-40nm粒子では季節による差は認められず、通年的に流行していることが示された。また、アストロウイルスは1980年4・5月に、ピコルナ/パルボ様粒子は1982年1・2月に地域における流行を反映したと考えられる高い検出率を示している。これらのウイルスの流行が数年ごとの流行周期を持つか否かは、今後の継続調査により明らか

表5 サルモネラ菌種別例数

菌種名	例数	菌種名	例数
S. typhimurium	6	S. tomson	2
S. litchfield	6	S. infantis	1
S. paratyphi B	3	S. java	1
S. senftenberg	3	S. hederberg	1
S. virchow	2	計	27
S. braenderup	2		

表6 病原体別の症状発現頻度(%)

病原体別	発熱(%)				下腹嘔 痢痛吐
	<37	37~38	38~39	39~40	
ロタウイルスn=42	43	17	26	14	98 76 64
35-40nm粒子n=25	76	20	4		84 72 68
アストロウイルスn=15	52	7	27	7 7	100 40 47
アデノウイルスn=28	67	11	7	11 4	86 54 32
カンピロバクターn=61	23	8	39	28 2	95 82 25
サルモネラn=19	11	58	21	11	95 68 12
陰性者n=196	51	22	18	14 5	92 59 35

かにされるであろう。

EMでのみ検出される、いわゆる小型球形粒子は、その培養細胞における難増殖性の故に、分類が極めて困難であり、我々は形態的観察のみによる分類しかなかった。アストロウイルスやカリシウイルスは、Madeley<sup>5)</sup>の記載に従って、それらの特徴的形態により分類された。35-40nm粒子には、音更因子<sup>12)</sup>、ミネレオウイルス、ミニロタウイルス等が含まれると考えられるが、各々の血清学的類縁性は明らかにされていない。また、国内で検出された35-40nm粒子の間にも血清学的に同一でない粒子が検出されている<sup>1)</sup>。我々の35-40nm粒子がすべて同一のウイルスである証拠はないが、形態的類似性により35-40nm粒子として分類した。培養細胞で、cpeを示さない直径20-30nmの粒子をピコルナノバルボウイルス様粒子と分類したがこれらはNorwalk様ウイルスと同じグループに属するものと考えている。今回、我々が用いた便宜的な分類方法に問題点が残されているが、今後のこれらのウイルス群の培養細胞または動物での増殖系の確立により解決されるであろう。

1980年9月から12ヶ月間実施したウイルスと細菌の同時検査により、貴重な知見を得た。小児の急性胃腸炎の病原として、ウイルスと細菌は共に同程度に重要であることが示され、ウイルスでは、ロタウイルスが最も重要であるが、それ以外に種々の小型球形粒子が予想以上に大きな役割を果していると考えられた。また、細菌ではカンピロバクターが最も重要な病原であることが示された。検出された病原がウイルスであるか細菌であるかにより、臨床症状や患者の年齢分布に差異がみられたが、より確実な病原診断には、ウイルスと細菌の同時検査が効果的であることがわかった。故に、食中毒事例や嘔吐下痢症の集団発生に際しても我々は、常にウイルスと細菌の両面の検査をする体制を組んで原因究明に当たっている。

毒素産生性大腸菌の検査を含む広範な細菌検査を同時に行ったことにより、ウイルスのみが検出された例において、その検出ウイルスの病原としての重要性がより強調されている。

ピコルナノバルボウイルス様粒子は、1981年末から全国的に流行した嘔吐下痢症の病原とみなされており、特に岡山県<sup>18)</sup>では大流行したことが報告されている。また、本県においても1982年1月に病原細菌を検出し得なかった食中毒様集団発生の患者から高率にピコルナノバルボ様粒子を検出しており、さらに、同年2・3月のインフルエンザの流行期に多発した下痢、嘔吐を伴うカゼ疾患患者からも類似粒子を高率に検出している。これらのことは、このウイルスの病原とし

ての重要性を示唆しており、今後は、ピコルナノバルボウイルス様粒子についての疫学的研究を深めてゆかなければならない。

## 結 論

1. 松山市とその周辺地域の急性胃腸炎の患者から、国内で報告されているほとんどの種類の急性胃腸炎関連ウイルスが検出された。
2. 検出ウイルスの内訳は、ロタウイルス145例(検出率16.0%)、ピコルナノバルボウイルス様粒子57例(6.3%)、アデノウイルス46例(5.1%)、35-40nm粒子39例(4.3%)、アストロウイルス29例(3.1%)、カリシウイルス、レオウイルスが各々7例(0.8%)であった。
3. ウイルスにより季節的消長に差異があり、アストロウイルス、カリシウイルスは、ロタウイルスの流行時期である寒冷期の前後に流行期があることが示唆された。アデノウイルスと35-40nm粒子は通年的に流行していることが示された。
4. 細菌検査を併用することにより、ウイルスと細菌がほぼ同程度の比率で胃腸炎の病原として関与していることが示唆された。

## 文 献

- 1) Kapikian, A.Z. et al. : J. Virol., **10**, 1075-1081 (1972).
- 2) Bishop, R.F. et al. : Lancet ii, 1281-1283 (1973).
- 3) Bishop, R.F. et al. : Lancet i, 149-151 (1974).
- 4) 田中博他 : 愛媛衛研年報, **42**, 9-12 (1981).
- 5) Madeley, C.R. et al. : J. Infect. Dis., **139**, 519-523 (1979).
- 6) Kapikian, A.Z. et al. : Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infection, 927-995 (1978).
- 7) Madeley, C.R. et al. : Lancet ii, 124 (1975).
- 8) Madeley, C.R. et al. : Lancet i, 199-200 (1976).
- 9) Middleton, P.J. et al. : Am. J. Dis. Child., **131**, 733-737 (1977).
- 10) Spratt, H.C. et al. : J. Pediatr., **93**, 922-926 (1978).
- 11) 石田名香雄他 : ウイルス, **31**, 167-170 (1981).
- 12) Taniguchi, K. et al. : J. Clin. Microbiol., **10**, 730-736 (1979).
- 13) 上羽 修 : 病原微生物検出情報, 24号, 4 (1981).

## 定点観測方式による小児ウイルス性疾患の 継続的調査研究(第4報)

奥山 正明  
小笠原 光憲\*  
園田 俊郎

大瀬戸 光明  
古茂田 智恵子  
石丸 啓郎\*\*\*

高見 俊才  
森 正俊\*\*

### はじめに

我々は、県特定流行性疾患対策事業の一環として、平常時および伝染病流行時のウイルスの動態を把握するため、継続的にウイルス分離検査を実施してきた。

また、1981年10月からは厚生省感染症サーベイランス事業と関連し、定点医院が増加され、監視体制が強化された。それにより全国の状況と本県との比較が容易にできるようになった。

1978年までの成績については既に報告した<sup>1)~3)</sup>

その後、1979、80年に2年連続して流行した手足口病<sup>4)~5)</sup>、80年のインフルエンザの流行<sup>6)</sup>、81年のCB2の流行<sup>7)</sup>、などの特徴あるものについても既に報告している。

今回は、79~81年の松山市の定点医院における小児ウイルス性急性気道疾患からの分離状況を中心に述べる。

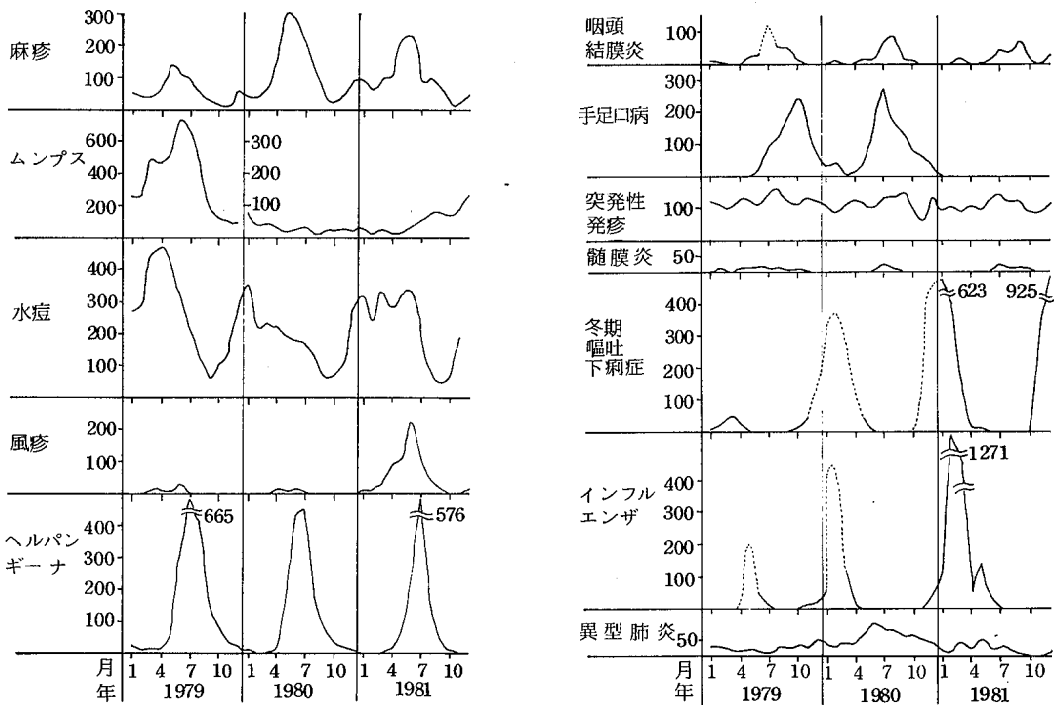


図1 愛媛県内の定点病院外来患者におけるウイルス病の動向

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

( \* 現愛媛県松山中央保健所 松山市宮西町1丁目5-11 )  
 ( \*\* 現愛媛県保健環境部保健指導課 松山市一番町4丁目4 )  
 \*\*\* 石丸小児科医院 松山市三番町6丁目5

表1 急性気道疾患小児からの月別ウイルス分離数

ウイルス型	1979年													1980年													1981年													総計																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計																		
4														3	4	1	8														8																										
コクサ ッキー A																											2														2																
6														1														1														1															
9														1														1	1														2														
1	3	3												6																											6																
2																											1	5	6	1														13													
4	2	1												3																											3																
6																											1														1																
11																																								2	5	1	1														9
18																																								1	1														2		
30	1	1												2																											2																
1	1												1	1														1														2															
2														1	3	1												4														1	1	6													
3														1	1	1												2														1	1	3	7	10											
4														1																											1																
5																											2	2	1	1														2	4												
1														2	1																									1	4																
2														1																											1																
3	1	2	1											4	2												2	2	1												3	9															
4																																								1														1			
1														2	1																									5	1														1	6	
2														1																											10	1														1	11
3	1	2	1											4	2												9	10	7	1														18	27												
4																																								1														1			
1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	10	1	1	2	1	2	1	1												9	2	1	1	1	2	1														8	27				
計	2	3	2	10	6	1	6	2	3	2	2	39	4	4	8	14	6	9	4	4	6	3	1	2	65	11	8	5	2	6	9	12	5	3	5	4	4	73	178																		

検査件数：20検体/月



## 材料と方法

### 1. 感染症発生状況調査

中四国兵庫地区臨床ウイルス懇話会で実施している喜多村らの方法<sup>8)</sup>に準じて行なった。定点医院は、東部3ヶ所、中部3ヶ所、南部2ヶ所の計8定点を設け、毎月各定点医療機関における臨床診断名別の患者数の報告をうけ集計した。

### 2. ウイルス分離

ウイルス分離法は既報<sup>2)</sup>に詳述した方法で行なった。検体は松山市内の1定点小児科医院外来の急性気道疾患小児から毎月2回定期的に10件ずつ、年間240件の咽頭拭液を採取した。細胞は初代サル腎、ヒト胎児肺、HEp#2を用い、生後24時間以内の哺乳マウスを一部併用した。

### 3. 住民の中和抗体保有率調査

血清は、毎年9・10月に採血した松山市とその周辺地区の健康者血清を用いた。中和試験はマイクロ法で行なった。

## 成績

### 1. 定点医院における疾病別患者発生状況

1979年から調査した患者数の月別の消長を図1に示した。麻疹、ムンプス、水痘、突発性発疹は患者発生の増減はみられるものの、いずれも年間を通じて多くの患者発生がみられた。特に79年のムンプスはかなりの患者報告があった。81年の風疹は77年以来の4年ぶりの流行であった。ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱は毎年夏に多発し、手足口病は79・80年と2年連続して流行した。髄膜炎は3年間を通じて少数の報告であった。冬期嘔吐下痢症、インフルエンザは冬に多発している。81年のインフルエンザは一度終息しかけたが5月に再び流行している。80年の異型肺炎の流行は

76年以来4年ぶりであった。

### 2. ウイルス分離状況

毎月20件ずつの急性気道疾患児からのウイルス分離数を表1に示した。1979年から81年までの3年間に、720件の咽頭拭液から計178株のウイルスが分離され、分離率は24.7%であった。分離株数はエンテロウイルス(EV)49株(27.5%)、インフルエンザ(Influ)44株(24.7%)、アデノウイルス(Ad)23株(12.9%)、パラインフルエンザ(Para)15株(8.4%)であった。また、第1報<sup>1)</sup>、第2報<sup>2)</sup>、第3報<sup>3)</sup>と同様のウイルス型による季節的消長がみられ、冬にInflu、春にPara、夏にEVが多く分離された。

それぞれの年度の特徴は、79年のCB1の流行、80年のAソ連型、A香港型、B型のInfluの3種混合流行、マイコプラズマ(Myco)の流行、81年のCB2、E11、B型インフルエンザの流行であった。

臨床診断名別のウイルス分離数を表2に示した。肺炎、気管支炎などの下気道炎からは、Para、Influ、Mycoが多く分離され、上気道炎からはCA、CB、エコー、Ad等が多く分離された。

年齢別ウイルス分離数を表3に示した。全検体の半数以上は3才以下の乳幼児であった。患者年齢と分離ウイルス型の関係は明確ではないが、Influ、Mycoなどが高年齢児から比較的多く分離される傾向がみられた。

### 3. 住民の中和抗体保有状況

1979～81年に分離されたウイルスのうち、比較的多数分離されたもの、近年分離されていなかったもの、次年度以後に流行が懸念されるものについて、その浸淫度を知るため住民の年齢区分別の中和抗体保有率を調査し図2に示した。CA16は80年の新分離株を用いたが、他は標準株を用いた。

表2 臨床診断名別ウイルス分離数(1979～81年)

診断名	患者数	コクサッ	コクサッ	エコー	アデノ	パ	ラ	インフル	マイコ	その他	未同定	計(%)
		キーA	キーB			インフル	インフル					
肺炎	39			1	1	1			6	1		10(25.6)
気管支炎	182	2	1	2	5	5		10	4	3	9	41(22.5)
上気道炎	304	3	10	3	10	8		32	2	3	11	82(27.0)
咽頭炎	99	7	10	5	5						5	32(32.3)
ヘルパンギーナ	19	1			2	1						4(21.1)
口内炎	9										1	1(11.1)
その他	68		1	3				2			2	8(11.8)
計	720	13	22	14	23	15		44	12	8	27	178(24.6)
型別分離率(%)		7.3	12.3	7.9	12.9	8.4		24.7	6.7	4.5	15.2	100

表3 年齢別ウイルス分離数(1979~81年)

年齢(才)	検体数	コクサッキーA	コクサッキーB	エコー	アデノ	パインフルエンザ	ラインフルエンザ	マイコプラズマ	その他	未同定	計(%)
0	94			3	1	2	2		1	6	15(16.0)
1	130	3	1		6	2	2		1	8	23(17.7)
2	96	2	6	2	8	5	3		2	2	30(31.3)
3	76		3		3	2	2	1	2	1	14(18.4)
4	91	1	5	4	2	1	8	3	1	3	28(30.8)
5	73	3	2	1	1	1	5	2	1	3	18(24.7)
6	45	1	2	2	1		6	2			14(31.1)
7	34	1	1	1		1	4	3		1	12(35.3)
8	21	1	1				1			1	4(19.0)
9	29	1					8			2	11(37.9)
10≤	31		1	1	1	1	3	1			8(25.8)
計	720	13	22	14	23	15	44	12	8	27	177(24.6)

(1) 79年について: CB1は、78年10月(流行前)の抗体保有状況から推測されるように、約10年前に流行したウイルスであり、感受性者が蓄積されており、9才以下に抗体保有者がほとんどいなかった。流行は、この9才以下に起こっている。

(2) 80年について: CA16は定点観測方式調査からは分離されていないが、サーベイランスで79・80年と2年連続して流行した手足口病から分離されたものである。75年のCA16による手足口病から4年ぶりである。

1回目の流行後(80年5月)と2回目の流行後(80

年10月)の抗体保有状況を示している。

E6は7年ぶりに分離されたが、さほど流行はしていない様子で流行後(80年10月)の抗体保有率もさほど高くなっていない。特に3才以下には、ほとんど浸淫していない

E9は4年ぶりの分離で、流行後(80年10月)は一般的に高い抗体保有率を示している。

E3は、80年に中部日本でかなり分離されたウイルスであるが、当県では分離されていない。次年度以後の流行予測のための抗体保有調査(80年10月)で全般に高い保有率を示し、かなり浸淫していたらしい

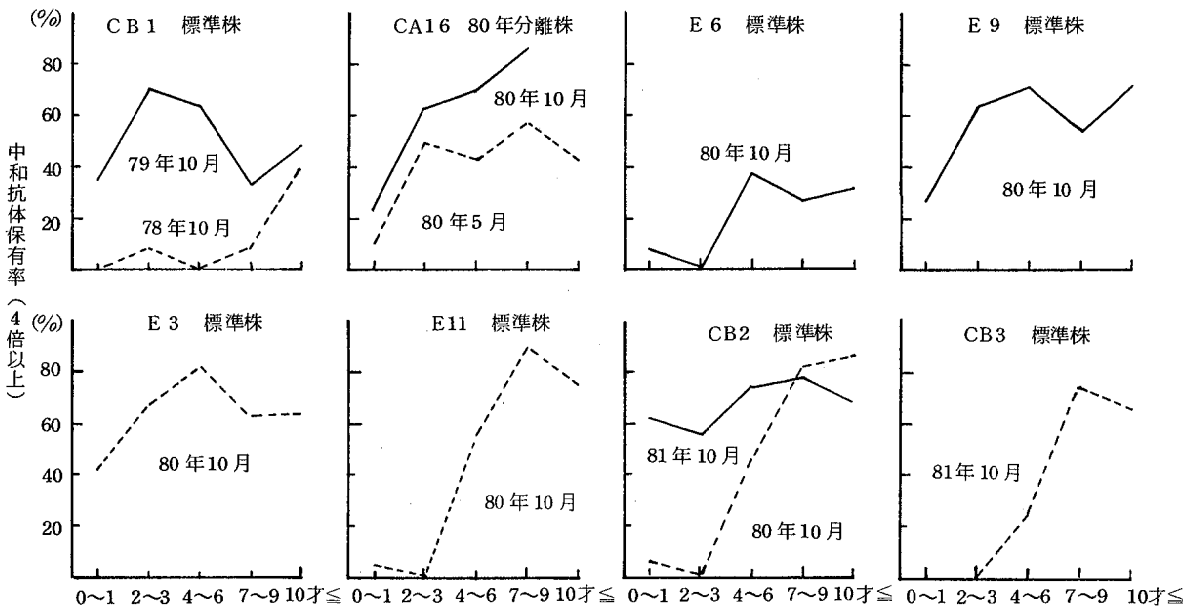


図2 松山市周辺住民の中和抗体保有状況

ことがわかった。

(3) 81年について：E11は5年ぶりに分離された。流行前（80年10月）の血清からもこのことが証明される。

CB2は6才以下の低年齢層で流行したことが、流年前（80年10月）と流行後（81年10月）の血清から推測される。またCB2は6年ぶりの流行であった。

CB3は、77年以来分離されておらず、来年度の流行が予想されるウイルスである。前述のCB2と同様のパターンを示しており、6才以下に感受性者の蓄積がみられる。

## 考 察

我々は当県のウイルス病流行の実態を把握するため長期継続的に定点観測方式による調査を行い、1975年からは定点医院における患者発生数の調査も行なってきた。また同年からは、毎年秋に各年齢層の血清を入手し各ウイルスの抗体保有状況を把握できるようになった。ここに、ウイルス分離、患者数の把握、ウイルス浸透度調査のサーベイランス3大柱が揃い、ウイルス動態の把握がよりの確になり、より良い情報が地域に還元されることとなった。

定点観測方式による毎月2回10件ずつのサンプリングで年間の主要ウイルス動向が十分把握できた。例えば、79年のCB1流行、80年のAソ連型、A香港型、B型インフルエンザの3種混合流行、81年のCB2、E11の流行などである。また、この方式と平行して、ウイルスサーベイランスで無菌性髄膜炎、ヘルパンギーナ、手足口病、下痢症等の検索も行い、流行したウイルスの実態は十分つかめるような体制を整えている。

今後残されている課題としては、これから流行するであろうウイルスを出来るだけの確につかむことであろう。しかしこの点については、特にエンテロウイルスについては全国的な情報網も出来上がり、明らかにされつつあるウイルス周期性や血清疫学などから、ある種のウイルスを予測することは可能であろう。

例えば、80年夏に中部日本で多数分離されたE3<sup>9)</sup>は当県では分離されていないが、県内住民は80年10月の時点ですでに高い抗体保有率を示しており(図2)81年の流行は、さほど懸念されなかった(実際にウイルスの流行はなかった)。

また、今まで蓄積された当県のデータでは、82年はCB3の流行する周期にあたっており、抗体保有率調査でも低年齢層で感受性者が蓄積していることがわかり、このウイルスの流行が予測されたが、はたして、

82年8月にこの予測は的中した。

このように、十分な資料さえあれば、エンテロウイルスについては流行予測が可能ではなからうか。厚生省感染症サーベイランスが実施されている現在、資料は整いつつあり活用が期待される。

また、一部地方衛生研究所において行なわれているポリオ流行予測のような、ウイルス分離、血清疫学を他のウイルスについてもより多く組織的に行なうことにより、より正確な全国レベルでの流行予測が可能になるのではなからうか。

## まとめ

1. 臨床診断別患者数、ウイルス分離、血清疫学調査からウイルス感染症の発生状況がよりの確に把握できた。
2. 1979年から81年までの定点観測で、急性気道疾患児720名の咽頭拭液から、178株(24.7%)のウイルスが分離された。
3. 79年にCB1の流行、80年にAソ連型、A香港型、B型インフルエンザの3種混合流行、マイコプラズマの流行、81年にCB2、E11の流行、B型インフルエンザの流行があった。
4. 全国情報、並びに当県の情報により次年度のウイルス流行予測を試みた。

## 謝 辞

検体採取、臨床診断患者数報告の御協力を頂いている、特定流行性疾患対策事業の各定点医院の諸先生方に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) 山岡邦夫他：四国公衛誌，20(1)，29-34 (1975)。
- 2) 大瀬戸光明他：愛媛衛研年報，39，27-32 (1978)。
- 3) 大瀬戸光明他：愛媛衛研年報，40，33-36 (1979)。
- 4) 奥山正明他：愛媛衛研年報，41，17-19 (1980)。
- 5) 高見俊才他：愛媛衛研年報，42，19-22 (1981)。
- 6) 小笠原光憲他：愛媛衛研年報，41，31-35 (1980)。
- 7) 奥山正明他：第48回西日本感染症学会抄録，(1981)。
- 8) 喜多村勇他：臨床とウイルス，6(3)，233-241 (1978)。
- 9) 病原微生物検出情報，1-9号 (1980)。

## コクサッキーB2によるリンパ結節性咽頭炎の流行

奥山正明 高見俊才 大瀬戸光明 園田俊郎  
 小笠原光憲\* 森正俊\*\* 石丸啓郎\*\*\*

### はじめに

コクサッキーB群ウイルス(CB)は、一般に春から夏にかけて流行をし、しかもそのウイルス型は毎年変化している。当県における事例では、1975年CB2、1977年CB3、1979年CB1のとおりである。

これらのCB群の流行に対応する病像は、主に非特異的な夏カゼ様で不明確であり、病因との関係が不明瞭である。

本年当県での夏カゼの流行は、ヘルパンギーナ様のリンパ結節性咽頭炎という特異な病像を呈し、主にCB2が分離された。そこで疫学的、臨床的、ウイルス血清学的検討を加え、その概要を報告する。

### 材料と方法

ウイルス分離材料：松山市内の小児科外来患者を対象に、臨床的にヘルパンギーナと診断された患者、疑いのある患者の咽頭ぬぐい液、下痢症患者の便、および無菌性髄膜炎患者の咽頭ぬぐい液、髄液を用いた。

ウイルス分離：サル腎初代細胞、人胎児肺継代細胞を用い、一部生後48時間以内の哺乳マウス(SM)を併用した。

ウイルス同定：発症したSMの同定は既報<sup>1)</sup>に従った。CA群各型抗血清は、当衛研で作成した免疫マウス腹水を用いた。細胞でCPEを示すものは、予研から分与されたシュミットプール血清および市販単味血清を用いた中和試験によって同定した。

住民の中和抗体保有率調査：血清は1980年10月と81年10月に採血した、松山市とその周辺地区の健康者血清を用いた。中和試験はマイクロ法で行ない、Vero細胞を用いた。

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

\* 現愛媛県松山中央保健所 松山市宮西町1丁目5-11

\*\* 現愛媛県保健環境部健康指導課 松山市一番町4丁目4

\*\*\* 石丸小児科医院 松山市三番町6丁目5

### 結果

#### 1. 月別ウイルス分離

CB2は3月下旬にサーベイランスの咽頭炎患者からまず分離された。5月後半から6月前半にかけて最も多く分離されたが、7月後半からは分離されなくなった。E11およびCA群はCB2より遅れて6月中旬より分離され始めた(表1)。

#### 2. 疾患別ウイルス分離

臨床像との関係でみると、CB2は5・6月を中心に咽頭炎患者から分離されているが、髄膜炎患者からは分離されなかった(表2)。E11はCB2の咽頭炎患者とほとんど同じ臨床所見の患者から分離され始め

表1 月別ウイルス分離数(患者数)

ウイルス	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月
CB-2	2	1	11	33	4		
E-11				13	17	4	1
E-18			1		4	1	
CA-5				2	1		
6				1	1		
9					3	1	
10					2		

表2 咽頭炎・髄膜炎・下痢症からのウイルス分離(患者数)

ウイルス	臨床症状	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月
CB-2	咽頭炎	1		10	24		1	
	下痢症	1	1	1	9		3	
E-11	咽頭炎				8	7		1
	髄膜炎					4	3	
E-18	咽頭炎						1	
	髄膜炎					3		
CA-9	咽頭炎				1	1		2
	髄膜炎							1 1

たが、7月後半からは髄膜炎患者から分離されるようになった。髄膜炎患者からは他に、E18, CA9が分離されている。下痢症患者からは、咽頭炎から分離されたウイルスと同じものが分離されている。

### 3. 咽頭炎について

5・6月に市内のサーベイランス1定点医院から当所に搬入された検体の咽頭炎患者の年齢分布は、4才以下が多く全体の約70%を占めている(図1)。

また、CB2に対する抗体保有状況(図2)においても、流行前の1980年10月は低年齢層で低く、流行後の81年10月はこの年齢層で抗体保有率が著しく上昇し図1の年齢構成と一致している。

CB2分離患者の臨床症状(図3)は、発熱が全員にみられた。39℃以上の高熱者は、35人中18人(51%)にあったが、40℃以上はなかった。咽頭症状は28人(80%)にみられた。

咽頭所見は、図4に示すように3種類に分類した。I型は単なる発赤である。II型は濾胞性扁桃炎である。III型は口蓋弓を中心にリンパ増殖が目立ち(大きさ2~4mm)、ヘルパンギーナ様で一部アフタ性変化があるリンパ結節性咽頭炎である。

図5に、CB2分離患者の年齢別・病型別発生率を

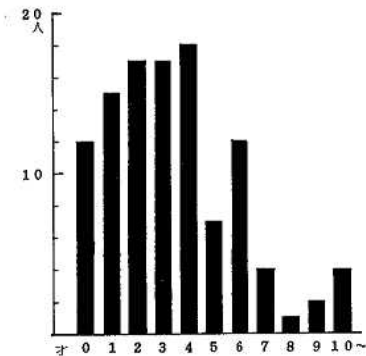


図1 咽頭炎患者の年齢分布(5・6月)

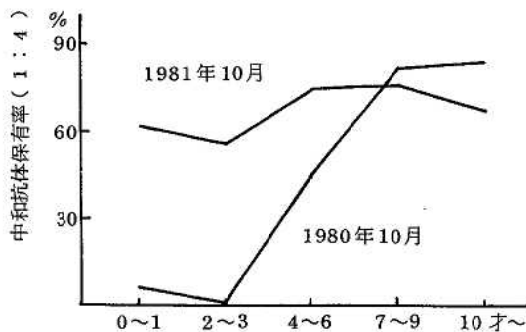


図2 一般住民のCB-2中和抗体保有率

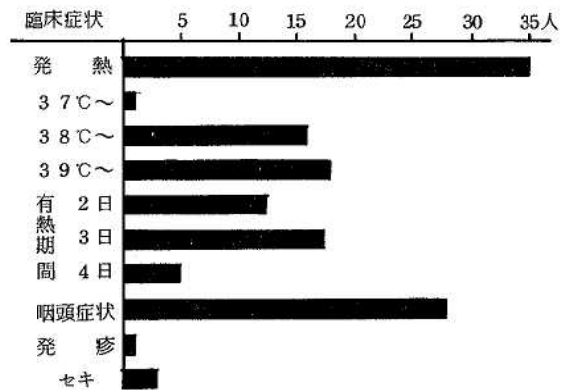


図3 CB-2分離患者の臨床症状

示した。0~2才ではIII型のヘルパンギーナ様リンパ結節性咽頭炎が58%にも認められるが、II型の濾胞性扁桃炎は一例もみられなかった。6才以上ではII型の占める割合が50%と増えたのに対し、III型は逆に10%と少なくなっている。3~5才はこれらの中間移行型のパターンを示している。

### 考察

本来ヘルパンギーナはCA群の夏季における主な臨床像であるが、ときにCB群、エコーウイルスによって起こることが知られている<sup>2,3)</sup>

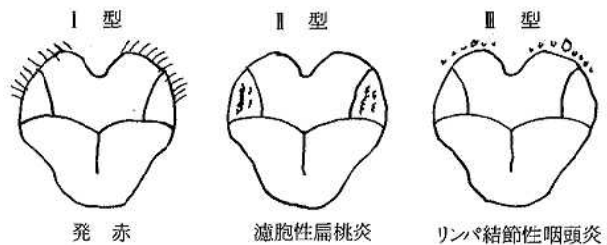


図4 咽頭所見の病型比較

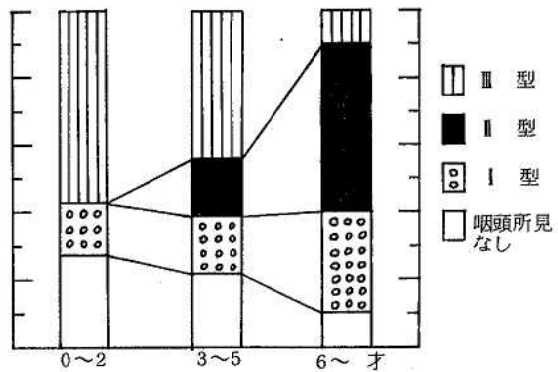


図5 CB-2分離患者の年齢別・病型別発生率

Steigmanら<sup>4)</sup>はCA10による急性リンパ結節性咽頭炎を報告し、いわゆるヘルパンギーナとは異なるとしている。

本症のヘルパンギーナ様リンパ結節性咽頭炎は、一部アフタ性変化を呈する点では、Steigmanら<sup>4)</sup>の報告とは異なるが、明らかにリンパ増殖が目立ち結節性となっていることは同じで注目すべきことである。このような症例の患者からCB2, E11が分離されている。CA10に特異とされている急性リンパ結節性咽頭炎は、他のウイルス特に水疱性口内炎やヘルパンギーナ起因ウイルスにおいても、原因となる可能性が十分あると考えてもよいのではなかろうか。

小川ら<sup>5)</sup>はCB5による急性咽頭扁桃口内炎について、年長者に扁桃炎型が多く、年少児にヘルパンギーナ型やアフタ性咽頭口内炎型が多いと報告しているが、同様なことは今回のCB2の流行においてもみられた。

すなわち、6才以上の年長者に扁桃炎型が多く、0～2才では全くみられていない。逆にヘルパンギーナ様リンパ結節性咽頭炎は0～2才に多く、6才以上に少なかった。これらの症状の年令的差異は、CB群による口内炎に特異的であるかどうかについては、今後の検討課題にしたい。

当県のCB2の流行では咽頭症状だけにとどまり、髄膜炎患者はいなかったが、英国の1981年の流行で死者の報告<sup>6)</sup>があった。このような現象は、エンテロウイルス71においても観察されており、高見ら<sup>7)</sup>は髄膜炎等の向神経性への相異を、温度感受性の相異ではなかろうかと示唆している。同様なことはCB2においても十分考えられ、表在感染だけに終わるウイルスと、身体内部に移行し臓器炎を起こすウイルスとの相異も温度感受性の面から検討すべきではなかろうか。

また、CB群感染症と心疾患との関係は鷹津ら<sup>8)</sup>が、長年にわたり研究しているが、CB群感染症は夏カゼなどの軽い症状あるいは不顕性感染として見逃すことが多く心疾患の発病時期を明確に把握しがたい。そこで今回のCB2流行中ウイルス同定が早く行なわれた20例について、心電図、GOT, GPT等の検査を実施したが異常者は一例も発見されなかった。

今回の咽頭炎とCA群によるヘルパンギーナについてのまとめを図6に示す。CB2分離患者の約40%がヘルパンギーナ様のリンパ結節性咽頭炎を呈している

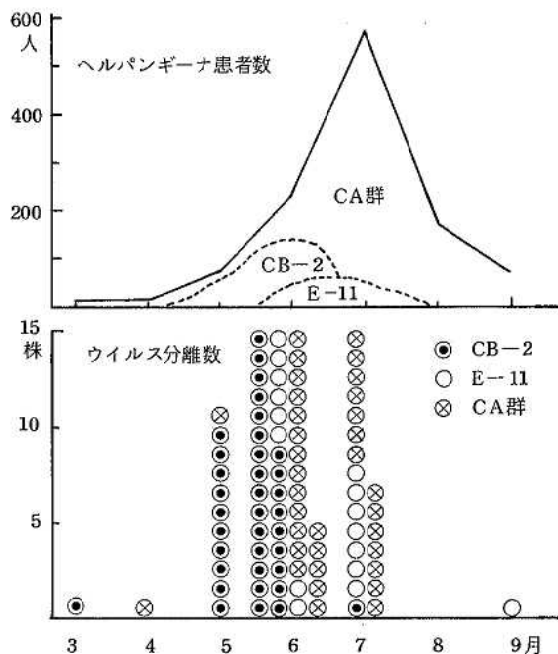


図6 ヘルパンギーナ患者数および咽頭炎からのウイルス分離

こと、ヘルパンギーナ患者数のピークとCB2分離のピークがずれていることなどから、図6に示したようにCA群に特異なヘルパンギーナの中に、5・6月に関してはかなりの割合でCB2によるものが含まれていたであろうと思われる。

#### 文献

- 1) 森正俊他：愛媛衛研年報，36，8-11 (1974).
- 2) 甲野礼作他：臨床ウイルス学講義篇，247 講談社 (1978).
- 3) 渡辺佛吉：臨床とウイルス，7，37-43 (1979).
- 4) Steigman et al.: J. Pediatr., 61, 331 (1962).
- 5) 小川英治他：第66回日本小児科学会総会抄録 (1980).
- 6) 病原微生物検出情報，28号 (1982).
- 7) 高見俊才他：臨床とウイルス，7，404-406 (1979).
- 8) 鷹津正他：小児臨，27，14 (1974).

## 1982年の愛媛県におけるインフルエンザの流行 および同時期に流行した感冒性下痢症の病原検索

小笠原 光 憲\*

大瀬戸 光 明

古茂田 智恵子

奥 山 正 明

高 見 俊 才

森 正 俊\*\*

園 田 俊 郎

菅 井 久 隆\*\*\*

片 平 和 子\*\*\*

### はじめに

今冬のわが国におけるインフルエンザの流行は、1981年11月から始まり、厚生省保健情報課調べによる届出患者数では、1977~78年にかけて大流行したソ連カゼに次ぐ大規模なものとなった。主流株はB型で、一部A香港型の混合流行がみられた。今冬のB型流行株は、B/徳賀/75/81株と類似しており、ワクチン株B/シンガポール/222/79株との間に抗原構造の大きな差異はみられていない<sup>1)</sup>

本県においては、B型が昨冬にひき続いて2年続きの流行をし、A香港型も約3分の1程度混合して流行した。流行の規模は、ほぼ昨年と同じで小流行であったが、今冬の流行では、集団発生患者のうちウイルス学的にインフルエンザ感染が確認される割合が、例年に比べ低く、インフルエンザウイルス以外の原因の関与が大きかったことが推察された。

また、インフルエンザ流行と同時期に、下痢を伴う感冒様疾患が多発していたため、その病原検索を行ったところ、患者糞便から直径25-30nmの小型球形ウイルス粒子が高率に検出され、このウイルスが下痢性感冒の原因として強く示唆される成績を得た。同時に、このウイルスが上述したインフルエンザウイルス以外の主要な原因として考えられた。今冬のインフルエンザ流行の実態を解釈する上で重要であるので、これらの概要について報告する。

### 材料と方法

1. 患者うがい水および咽頭拭液は、集団発生した10施設の幼稚園および小・中学校の患者102名、松山市

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

\* 現愛媛県松山中央保健所 松山市宮西町1丁目5-11

\*\* 現愛媛県保健環境部健康指導課 松山市一番町4丁目4

\*\*\* 菅井病院 松山市一番町3丁目

内の小児科医院と内科病院の患者151名の計253名から採取し、ウイルス分離に供した。患者ペア血清は、罹患園児・生徒から65組、内科病院の成人患者から48組を採取した。また、糞便は20名の成人患者から採取し、ウイルス分離と電子顕微鏡(EM)検査に供した。2. ウイルス分離は、小笠原ら<sup>2)</sup>がすでに報告した方法で実施し、EM法はBishopらの方法に準じた。3. HI試験およびCF試験は、常用されているマイクロ法で行った。インフルエンザHA抗原は武田薬品㈱製を用い、アデノCF抗原はデンカ生研製を、インフルエンザCF抗原は成書<sup>3)</sup>に基づいて自家作成したS抗原を用いた。免疫電顕法(IEM)は、糞便から粗精製したウイルス粒子を抗原とし、Taniguchiら<sup>4)</sup>の方法に準じて行った。

### 結果

#### 1. 流行の概況

今冬のインフルエンザの集団発生は、1982年1月22日に、越智郡吉海町の吉海小学校からの届出が最初で、同校の患者からB型インフルエンザウイルスが分離された。以後3月中旬までに51施設、患者数4553名の届出がなされた。週別の届出状況を図1に示した。

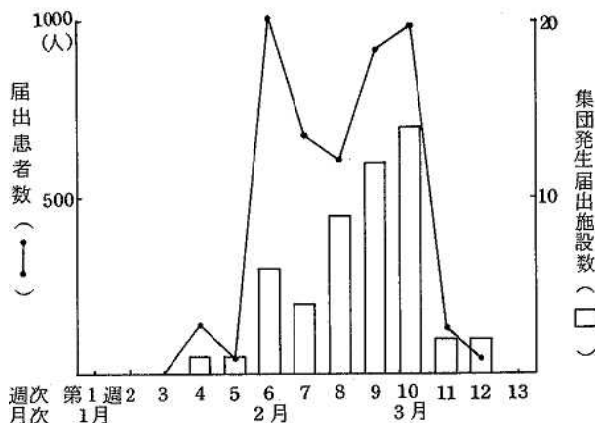


図1 インフルエンザ様疾患の週別届出状況

流行のピークは2月中旬で、流行規模は昨年とほぼ同じで比較的小流行であった。今回の流行期中に、発熱、咳、咽頭痛の上気道症状に下痢を伴う患者が多発している報告を受けており、これらの患者がインフルエンザ届出患者数を修飾していることが考えられた。

## 2. ウイルス分離

今冬、本県で初めて、インフルエンザウイルスが分離されたのは、1月20日で松山市内の小児科医院の散発患者からで、B型とA香港型ウイルスが同じ日に分離された。22日には、上述のB型インフルエンザの集団発生が届出られており、本県のインフルエンザの流行の始まりは1月下旬であった。

週別のウイルス分離状況を表1に示したが、253検体の咽頭拭液からB型が60株(分離率23.7%)、A香港型が17株(6.7%)分離された。小児科医院や内科病院の患者からは、流行期を通じてB型株とA香港型株が約2:1の割合で分離されたが、集団発生施設からはB型株のみしか分離されなかった。流行終息後の5月にはA香港型が1株分離された。

今冬のインフルエンザウイルス、特にB型株は発育鶏卵での分離が極めて悪く、2代および3代の盲継代によってもほとんど分離されなかった。また、A香港

表2 MK細胞とMDCK細胞によるウイルス分離率の比較

分離細胞系別	検査数	A香港型株 分離陽性数(%)	B型株 分離陽性数(%)	計(%)
カニクイザル 初代腎細胞	70	12(17.1)	20(28.5)	32 (45.7)
MDCK 細胞	70	3(4.2)	19(27.1)	22 (31.4)

型株は羊膜腔接種でのみ分離されたが、継代によっても漿尿膜への馴化ができなかった。そのため大部分の分離検査は、初代カニクイザル腎(MK)細胞とMDCK細胞によった。B型株ではMK細胞とMDCK細胞との感受性の差は認められなかったが、A香港型株ではMK細胞が著しく優れた感受性を示した(表2)。

## 3. B型ウイルスの血清学的性状

予研から分与されたフェレット抗血清と自家製ニワトリ抗血清を用いて分離株の抗原分析を行い結果を表3に示した。1981年の分離株はB/シンガポール/222/79株とほぼ同じ抗原構造を示し、今冬の分離株はB/神奈川/3/76株に対しては大きな抗原変異が認められたが、B/シンガポール/222/79株に対してはやや変異

表1 検体採取施設別のインフルエンザウイルス分離状況

期 間	集団発生施設		小児科医院			内科病院			計		
	検体数	AHK B型	検体数	AHK	B型	検体数	AHK	B型	検体数	AHK	B型
1982年											
1月17日-23日	12	2	5	1	1				17	1	3
24日-30日	9	4	1			10	1	4	20	1	8
31日-2月6日	30	11	14		4	8	2	3	52	2	18
2月7日-13日	9		10	1	1	21	3	6	40	4	7
14日-20日	22	2	6	2		7		3	35	2	5
21日-27日			15	1	2	15	3	2	30	4	4
28日-3月6日	10	1	2		1	6	1	3	18	1	5
3月7日-13日	10	4	10		4				20		8
14日-20日			1		1				1		1
4月			10	1	1				10	1	1
5月			10	1					10	1	1
計	102	0 24	84	7	15	67	10	21	253	17	60
(%)		(23.5)	(8.3)	(17.9)		(14.9)	(31.3)		(6.7)	(23.7)	

表3 B型インフルエンザウイルスの抗原分析表

抗 原	抗 血 清			
	B/神奈川/3/76	B/シンガポール/222/79	B/愛媛/84/80	B/愛媛/3/81
B/神奈川/3/76	512	2048	256	512
B/シンガポール/222/79	512	512	256	512
B/愛媛/84/80	256	1024	512	1024
B/愛媛/3/81	256	512	256	512
B/愛媛/1/82	<32	128	128	512
B/愛媛/2/82	32	128	128	512
B/愛媛/9/82	32	256	256	512
B/愛媛/13/82	<32	128	128	256



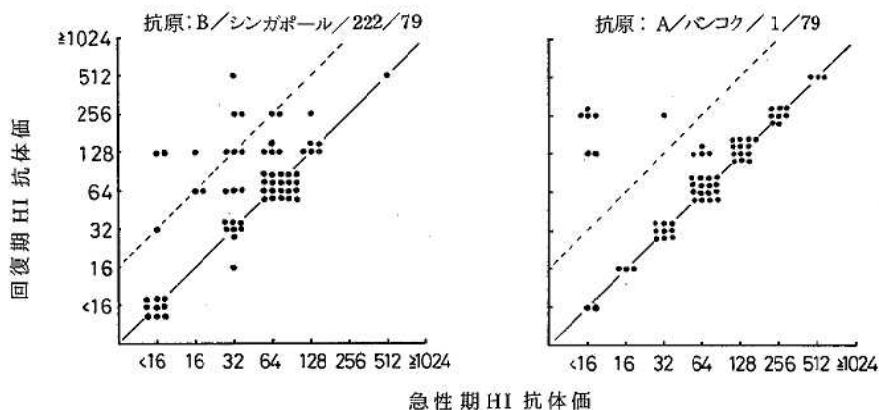


図2 インフルエンザ集団発生患者におけるHI抗体価の変動

が認められる程度であった。この結果は、予研に依頼した抗原分析結果とも、ほぼ同じで、今冬の本県の分離株はB/シンガポール/222/79株やB/滋賀/75/81株と類似の抗原構造を有していた。

#### 4. 患者ペア血清の血清診断

集団発生届出施設の罹患者ペア血清65例のHI抗体価の変動を図2に示した。B/シンガポール/222/79株に対して有意抗体上昇を示したものが14例(21%)で、A/バンコク/1/79株に有意上昇したものが7例(10%)であった。B型株とA型株の上昇例を加え合せても、インフルエンザ抗体有意上昇率は31%にすぎず、例年の罹患者群の有意上昇率が70%を越えていたことと比較すると、今冬の血清学的確認例は極めて少数であった。このことは、インフルエンザ集団発生時に、インフルエンザ以外の風邪患者が同時に多発していたことを推察させた。なお、A香港型株に有意抗体上昇をした例はすべて1幼稚園の園児であり、他の小中学校生徒罹患者には、A香港型株の感染が証明された例は全くみられなかった。

#### 5. インフルエンザと感冒性下痢症の病原検索

内科病院の成人の風邪患者76名中、25名は下痢や腹痛の胃腸症状を伴っていた。これらの患者のウイル

ス分離、血清診断およびEM検査を試み、胃腸症状の有無別にそれぞれの結果を表4に示した。血清診断は、患者のペア血清について、B/シンガポール/222/79株、A/バンコク/1/79株を抗原としたHI試験と、B型、A香港抗原によるCF試験を実施し、そのどちらかの試験で有意抗体上昇をしたものをインフルエンザ感染確認例とした。

胃腸症状「無」の群では、ウイルス分離率および血清検査ともに、インフルエンザ感染確認例は多く、B型とA型を合せると約60%がインフルエンザであったことが証明された。一方、胃腸症状「有」の群では、インフルエンザ感染確認例は極めて低率であった。糞便のEM検査では、「有」の群からロタウイルスが2例(12.5%)、直径25-30nmの小球形ウイルス粒子が9例(56.3%)検出された。糞便からのMK細胞を用いたウイルス分離は全例陰性であった。なお、ペア血清のアデノウイルスCF試験でも有意抗体上昇例は全く認められなかった。

次いで、比較的多量のウイルス粒子が検出された糞便から、25-30nm粒子を粗精製し、これを抗原としたIEMを行った。下痢を伴う患者のペア血清5例中

表4 内科病院患者の症状別インフルエンザ感染確認例数と電顕検査結果

胃腸 症状の 有無	ウイルス分離		血清検査(HIまたはCF)による感染確認例数		電顕検査	
	検査数	A型(+) B型(+)	検査数	A型 B型	検査数	ロタウイルス 25-30nm粒子
有	21	2(1)* 2(9.5) (9.5)	11	0(0) 2(18.2)	16	2(12.5) 9(56.3)
無	43	8(18.6) 18(41.9)	36	4(11.1) 19(52.7)	4	0(0) 1(25.0)
計	64	10(15.6) 20(31.3)	47	4(8.5) 21(44.6)	20	2(10) 10(50)

(\*)\*は25-30nm粒子の混合感染例数

表5 患者糞便からの25-30nm粒子を抗原としたIEM結果

No.	性別	年齢(才)	採血 病日	IEM 抗体価
1	男	21	2日 7日	1+ 2~3+
2	男	57	20日 32日	3+ 3+
3	女	20	1日 30日	0~1+ 2+
4	男	20	3日 5日	0~1+ 3+
5	男	32	6日 13日	0~1+ 0~1+

3例に有意の抗体上昇が認められ、今冬の下痢を伴う風邪の多くが同一ウイルスを原因としていたことが強く示唆された(表5)。

### 考察

今冬のインフルエンザの流行は、全国的には大規模なものであったが、本県においては、比較的小流行であった。その原因としては、昨冬の流行が全国的にはAH1N1型が主流であったが、本県ではB型が流行の主流であった<sup>2)</sup>ことと、今冬の流行株が昨冬の流行株やワクチン株から大きな抗原変異をしてなかったことなどが考えられた。

集団発生の届出られた小中学校の罹患者からは、B型株のみが分離され、小児科医院や内科医院の主に幼児または成人の患者からは、B型株とA香港型株が約2:1の割合で分離された。このことは、今冬の混合流行において、B型とA香港型の型別によって流行する対象が異っていたことを示しており、従来主に集団発生施設を重点に調査していたインフルエンザ疫学調査方法を改める必要があることを指摘している。

風邪症状に伴って嘔吐、下痢、腹痛などの胃腸炎症状を呈する疾患の臨床症候群名として、感冒性下痢症の名称が使われている。小児においては、とくに冬期の感冒性下痢症はその70~80%がロタウイルスによるウイルス性胃腸炎であることが明らかにされてきた。また、ロタウイルス以外のウイルス、パルボウイルスに類似のウイルス粒子群やアデノウイルス等もその病因としての重要性が明らかにされつつある<sup>5)</sup>。しかし、インフルエンザ流行期中の感冒性下痢症は、インフルエンザと診断され易い。

今冬の内科病院における風邪患者の原因を明らかにするため、病原検索を行ったが、胃腸炎を伴わない患者群では、インフルエンザ感染確認例が高率であったが、下痢を伴う患者群では、インフルエンザ感染確認例は極めて少なかった。また、患者の糞便からは、直径25-30nmの辺縁明瞭な小型粒子が高率に検出され、少数例ながらIEMにより、このウイルス粒子の感染が確認された。これらのことは、今冬インフルエンザと同時に流行した下痢を伴う感冒が、インフルエンザとは別の疾患であることを示唆している。また、インフルエンザでは下痢を呈することが極めて稀れであることを明らかにした。このことは、今後のインフルエンザと類似疾患の疫学や診断上非常に有益である。

糞便から検出された25-30nmのウイルスは、EMではその表面構造が不明瞭であった。直径や外形は、ピコルナウイルスあるいはパルボウイルスに類似していた。同様の形態を呈するウイルス粒子は、小児あるいは

は成人の流行性嘔吐下痢症の原因として多くの報告がなされている<sup>6)</sup>。今冬、昨年12月から本年1月にかけて、全国的に嘔吐下痢症が流行しており、その流行に関連して各地で直径25-30nmの類似のウイルス粒子が検出されている<sup>7)</sup>。本県でも、別に行っている小児の急性胃腸炎の継続的病原究明調査において、類似のウイルスが今冬1・2月に流行したことが認められている<sup>8)</sup>。

今冬、インフルエンザ様疾患の集団発生をみた小中学校生徒の患者中にも、下痢、腹痛を呈するものが約2割程度含まれており、ウイルス学的診断によるインフルエンザ感染確認例が少なかったことを考慮すると、小中学校の届出患者中には、25-30nmのウイルスによる感冒性下痢症がかなり含まれていたものと考えられた。届出患者数からは、今冬の流行が昨冬の流行とはほぼ同規模であったが、インフルエンザそのものの流行規模は、さらに小規模であったと思われる。集発患者中に混在するインフルエンザ以外の疾患は、その含まれる程度によっては、インフルエンザのワクチン効果を評価したり、流行の予測を行う上で重要な問題となるので、今後も継続的な疫学調査を行いインフルエンザの流行の実態を解明してゆきたい。

### まとめ

1. 今冬のア媛県におけるインフルエンザは、1月下旬から3月中旬に流行し、B型を主流株とするA香港型株との混合流行であった。
2. インフルエンザ流行期に下痢を伴う風邪患者が多発したが、患者糞便から高率に検出された直径25-30nmの球形ウイルスが、その病原として強く示唆された。
3. インフルエンザ患者では、下痢は極めて稀れであることが示された。

### 文献

- 1) 武内安恵：公衆衛生情報，12(2)，4-10 (1982)。
- 2) 小笠原光憲他：愛媛衛研年報，42，23-25(1982)。
- 3) 国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学各論，31-59，丸善(1967)。
- 4) Taniguchi, K. et al: J. Clin. Microbiol., 10, 730-736 (1979)。
- 5) 北山徹：小児科MOOK 10 小児の下痢症，38-45 金原出版(1980)。
- 6) Kapikian A. Z, et al: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infection, 927-995 (1978)。
- 7) 病原微生物検出情報，24号(1982)。
- 8) 大瀬戸光明他：愛媛衛研年報，43，11-16 (1982)。

## 愛媛県におけるHLA疫学

森 正 俊\*                      高 見 俊 才                      園 田 俊 郎  
井 上 博 雄\*\*                  辻 公 美\*\*

### はじめに

HLA (Human Leukocyte Antigen) は、ヒトの主要組織適合抗原の一群で、組織の細胞表面に表現されている同種抗原であり、家系、同胞間で異なる型別を示すものである。HLAの型別は、HLA-A, B, C, D, DRの5つの遺伝子座によって支配されるが、これらの遺伝子群は一括してヒトの第6染色体短腕に配座し、主要組織適合性複合系(MHC)を構成している。この遺伝子群のなかには、HLA抗原系のみならず、補体系を支配する遺伝子も含まれており、ヒトの免疫応答の機構と深いかかわりをもつことが知られている。

HLAの型別は血清学的に同定することができ、現在A, 20種, B, 42種, C, 8種, DR, 10種の組立てとなっている<sup>1)</sup>。ヒトの体細胞は原則的にA, B, C, DR抗原の各2組ずつをもち、各人のHLA型別を決定しているが、その遺伝子は第6染色体上では、(動原体) — (DR) — (D) — (B) — (C) — (A) — の順位で連鎖し、1本のハプロタイプとなり、親から子へ遺伝することが判っている<sup>2)</sup>。このハプロタイプに連鎖する遺伝子はすべてHLA抗原と共に親子間で伝承されることになるが、このなかに免疫応答を含む疾病の易罹患性が注目され、いくつかの疾病と特定のHLAハプロタイプとの関連性が問題視されてきた<sup>3)</sup>。しかし、疾病に関連する種々の形質は、第6染色体上での連鎖のみならず、他の染色体に配座する疾病感受性遺伝子が、ポリジーン系としてHLAと共に遺伝し、個体の疾病感受性を決定しているともいわれる<sup>4~5)</sup>。

われわれは愛媛県民の疾病構造の背景を遺伝疫学の立場から検索するために、HLA型別試験を導入し、愛媛県民のHLA型と住民の健康度、疾病罹患状況との関連性を明らかにするためのHLA疫学を開始することとした。

本年度はHLA検査体制の確立を重点目標として、HLAタイピング技術の標準化ならびに本県に産出さ

れるHLA抗体の検索を行った。以下にその概要を述べる。

### 材料と方法

#### 1. HLAタイピング法

ヒト新鮮ヘパリン血(20ml)から、フィコールコンレイ法<sup>6)</sup>で、リンパ球を分離し、これをナイロンウールカラム法<sup>7)</sup>で、T, Bリンパ球に分画し、HLAタイピング試験<sup>8)</sup>に供した。

#### 2. HLAタイピング用抗血清

第8回日本HLAワークショップ提出血清と市販血清(ヘキスト, シライマツ社)ならびに東海大学移植学教室(辻公美教授)より供与された血清(パネルプレート 40-1, 40-2)を用いた。

#### 3. 妊婦血清からのHLA抗体の検索

既知HLAパネルセル(一般健康人リンパ球のうち、上記標準抗血清でHLA型が決定されたもの)を用いて愛媛県在住の妊産婦の血液、分娩血に含まれるHLA抗体を検索した。既知パネルセルと強く反応する検体を選別し、そのHLA型特異性と反応強度について、R-Value, S. I.で評価した(後述)。

### 成績

#### 1. HLA抗体の検索

愛媛県在住の妊産婦の分娩血301件および静脈血602件を、既知HLAパネルセルで、HLA抗体の有無を検索した。99件(11%)に抗体が検出され、特異性の検討結果の一部を表1に示した。この他にもA2, Bw35の特異性のある抗血清が数件得られた。これらの血清のうち、R-Valueも高く、S. I. も高いEPH-8の分娩血を、第8回日本HLAワークショップ(8JW)に提出した。この血清がAS-1として登録され、表2に示すように、他のラボラトリーから提出されたAY-1と共に特異性が高く、HLA-A2のKey Serumとして登録された。

#### 2. 愛媛県民のHLA型 — Family Study

HLAハプロタイプは、両親から子へ1種ずつ伝承される。そこで健康人10家族のHLA型を Family

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234  
(\* 現愛媛県保健指導課 松山市一番町4丁目4)  
\*\* 東海大学医学部移植学 神奈川県伊勢原市望星台

表1 愛媛県のHLA抗血清の特異性

分娩血 No	抗血清型	パネル 数	+/+	-/+	+/-	-/-	R.V.	S.I.
EPH8	A2	20	11	0	0	9	1.00	82
〃14	A2	20	8	4	3	5	0.28	0
〃16	Aw24	20	8	4	5	3	0.04	0
〃18	B40(60+61)	20	6	4	2	8	0.48	40
〃29	Aw24	20	12	1	1	6	0.78	92
〃37	B5(51+52)	20	5	3	1	11	0.56	50
〃39	B40(60+61)	20	6	0	0	14	1.00	67
〃57	Cw3	20	8	4	2	6	0.48	50
〃98	B15(61+62)	20	4	6	0	10	0.45	90

R. Value : +/+(a), -/+(b), +/- (c), -/-(d)

$$N = a + b + c + d$$

$$\chi^2 = \frac{N(ad-bc)^2}{(a+b)(c+d)(b+d)(a+c)}$$

$$R.V. = \sqrt{\frac{\chi^2}{N}}$$

S.I.(Strong Index)

$$S.I. = \frac{\text{grade 8の頻度}}{\text{grade 6+8の頻度}} \times 100$$

grade 8 強陽性

grade 6 陽性

表2 第8回日本HLAワークショップ  
提出血清の特異性 (HLA-A2)

抗血清名	抗血清型	+/+	-/+	+/-	-/-	R.V.	S.I.
AS-1	A2	390	6	30	629	0.9292	0.8615
AY-1	A2	399	8	28	636	0.9301	0.8446
O-1	A2	241	4	186	641	0.6508	0.5353

表3 HLA型の家族調査

家族No	HLA 型
AS01	A2, Aw24, A26, Bw35, Bw52, Bw59, Cw1, Cw3, DR2, DR4, DRw8, MT1
AS02	A2, A11, Aw24, Aw31, B7, B13, Bw39, Bw51, Cw1, Cw3, Cw7, DR1, DR2, DRw9
AS03	A2, Aw24, A26, Bw22, Bw35, B40, Cw1, Cw3, DR4, DRw9, MT2, MT3
AS04	A2, A11, Aw24, Bw46, Bw48, Bw52, Cw1, Cw3, DR2, MT1, MT2
AS05	A2, A11, Aw24, A26, B15, Bw35, Bw52, Bw56, Cw1, Cw3, DR2, DR4, DRw8, MT1
AS06	Aw24, A26, B15, Bw35, B40, Bw52, Cw3, DR2, DR4, MT3
AS07	Aw24, Aw31, Bw22, Bw51, Bw52, Cw1, DR2, DR4, MT3
AS08	A2, Aw24, Aw31, B7, B15, B40, Cw1, Cw3, Cw7, DR1, DRw8, DRw9, MT2
AS09	Aw24, A26, Bw35, Cw3, Cw7, DRw9, MT3
AS10	A2, Aw24, B15, Bw22, Bw48, Bw61, Cw1, Cw3, MT3

Studyした。その1家族のハプロタイプを図1に示し、10家族のHLA型を表3に示した。AS04家族は第1子にHLA-A~C間に組み替えが起っていることが見いだされた。そのようにFamily Studyにより、HLA型をより確定することができる。また、Family Studyを集積し、疾病との関連を明らかにし、予防医学に役立てたい。

### 3. 愛媛県民に特徴的なHLA型 — 遺伝子頻度の解析

愛媛県民67名のHLA型から遺伝子頻度を算出し、日本人およびヨーロッパ白人のそれと比較した(表4)。愛媛県民に特徴的と思われるHLA型はHLA-A11, A

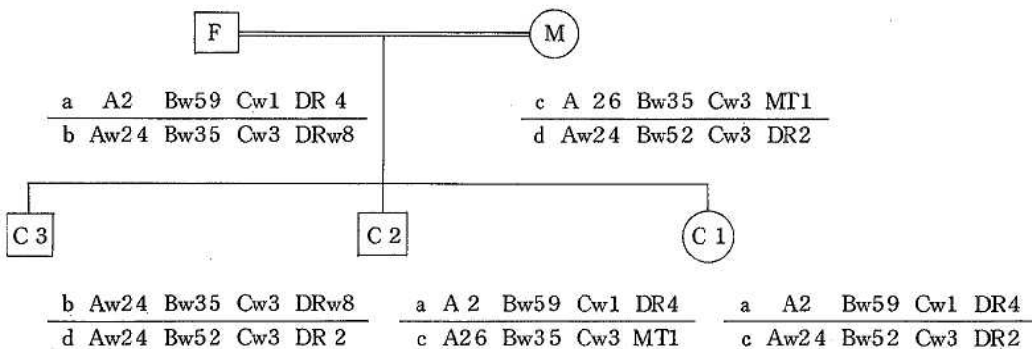


図1 AS01家族のHLAハプロタイプ

表 4 愛媛県民のHLA抗原特異性頻度

HLA型	遺伝子頻度 (%)			HLA型	遺伝子頻度 (%)			HLA型	遺伝子頻度 (%)		
	愛媛県民	日本人 <sup>1)</sup>	ヨーロッパ白人 <sup>2)</sup>		愛媛県民	日本人 <sup>1)</sup>	ヨーロッパ白人 <sup>2)</sup>		愛媛県民	日本人 <sup>1)</sup>	ヨーロッパ白人 <sup>2)</sup>
A 1	-	1.3	15.8	B 5 <sup>3)</sup>	22.8	21.2	5.9	Cw 1	19.9	13.1	4.8
A 2	19.9	21.8	27.0	B 7	7.8	6.6	10.4	Cw 2	-	2.0	5.4
A 3	-	1.2	12.6	B 8	-	0.4	9.2	Cw 3	40.2	26.6	9.5
A 11	16.4	7.7	5.1	B 12 <sup>4)</sup>	1.5	5.9	16.6	Cw 4	2.3	3.9	12.6
Aw23	1.5	0.7	2.4	B 13	2.3	1.4	3.2	Cw 5	-	1.1	8.4
Aw24	42.7	34.3	8.9	B 14	-	0.2	2.4	Cw 7	0.8	-	-
A 26	12.0	12.4	4.0	B 15	9.4	10.1	4.9				
A 29	-	0.2	5.8	Bw16	-	5.5	5.5				
Aw30	-	1.1	4.0	B 17	0.8	1.2	5.7				
Aw31	9.4	8.2	2.3	B 18	-	0.1	6.2				
Aw32	-	0.3	2.9	Bw21	0.8	0.7	2.2				
Aw33	1.5	3.1	0.7	Bw22 <sup>5)</sup>	14.5	8.5	3.6				
Aw43	-	0.1	-	B 27	-	0.5	4.6				
				Bw35	12.0	7.9	9.9	DR 1	6.2	5.0	7.1
				B 37	0.8	0.8	1.1	DR 2	18.1	17.9	11.3
				Bw38	-	1.3	2.0	DR 3	-	1.2	9.0
				Bw39	4.8	4.9	3.5	DR 4	11.1	13.8	12.3
				B 40 <sup>6)</sup>	12.0	21.0	8.1	DR 5	1.5	13.7	16.2
				Bw41	-	0.1	-	DR 6	-	6.4	9.3
				Bw46	1.5	-	-	DR 7	0.8	0.6	14.8
				Bw48	0.8	-	-	DRw8	15.4	-	-
				Bw51	4.6	-	-	DRw9	12.0	-	-
				Bw52	9.4	-	-				
				Bw54	3.1	-	-				
				Bw56	2.3	-	-				
				Bw59	0.8	-	-				
				Bw60	1.5	-	-				

1), 2) 第7回国際組織適合性Workshop dataによる。 3) Bw51, Bw52を含む。 4) Bw44を含む。 5) Bw54, Bw56を含む。 6) Bw60を含む。

w24, Bw22, Cw3 (日本人の平均より高頻度) およびHLA-B40, DR5 (低頻度)などにみられた。今後、例数を集積してゆき愛媛県民のHLA型の特徴を確証したい。また、ヨーロッパ白人の遺伝子頻度とは明らかに相異しており、愛媛県産のHLA抗血清の検索の必要性が再確認された。

### 考 察

HLAタイピングの評価は、現在、国際組織適合性ワークショップにおいて標準化され、わが国の技術水準も、そのレベルに到達したといわれている<sup>8)</sup>。しかし、関東、中部、近畿地区を除いては、必ずしもその技術水準が確立されてはいない。特に、愛媛県をはじめ四国地区においては、その技術格差が大きく、早急の改善策が望まれていた。

本研究を契機として行われたHLAタイピング技術の導入は、本県民に特徴づけられるHLA型の検索を可能とした。また本県産HLA抗体の活用も可能となった。事実、本県妊婦より得られたAS-1血清は、8JWにおいて、HLA-A2に対するKey Serumとして登録することができた(表2)。このAS-1血清の検索を通じて、8JWに参画し、HLAタイピングの基本手技と評価解析を習熟する機会が与えられ、これまで当地区に不在であったHLAタイピングラボラトリーを確立することができた。

愛媛県民のHLAタイプの特徴についてまとめると、HLA-A2, Aw24, Bw22, B40, Cw3, DR5などの抗原の遺伝子頻度が、日本人の平均値と偏差することが認められた(表4)。今後、例数を集積して、他のHLA抗原の偏在も確証していきたい。

このようなHLA型の地域格差と、地域住民に密着する疾病構造の背景を明らかにするために、図1、表3に示すようなFamily Studyを広く地区住民に拡大してゆくことにより、当地区住民の疾病を遺伝疫学的に解明し、予防してゆく展望が開かれた。

### まとめ

1. 第8回日本HLAワークショップに参加し、HLAタイピング技術の標準化を図り、HLAタイピングラボラトリーとして確立した。
2. 愛媛県産のHLA抗体の検索をし、そのうちの1つが、HLA-A2に対するKey Serumに登録された。
3. 愛媛県民のHLA型をFamily Studyすることができた。
4. 愛媛県民に特徴的なHLA型の遺伝子頻度を算出できた。

### 文 献

- 1) WHO nomenclature committee : Bull. W. H. O. 58, 945-948 (1981).
- 2) George D. Snell et al. : The HLA complex, Serology and Genetics in Histocompatibility Chapt. 9, 181-247 (Academic Press New York 1976).
- 3) J. J. van Rood et al. : Genetics and Biology of the HLA System in M. E. Dorf (ed), The Role of the Major Histocompatibility Complex in Immunobiology, Chapt. 3, 59-113 (Gorland STPM Press New York 1981).
- 4) Newton E. Morton : Outline of Genetic Epidemiology (S. Karger 1982).
- 5) 古庄敏行 : 糖尿病学, 7-59, 診断と治療社 (1981).
- 6) 辻 公美 : 免疫実験操作法 II 447 (A:362) (1972).
- 7) J. A. Danilovs et al. : Histocompatibility Testing 1980 (UCLA School of Medicine), 287-288 (1980).
- 8) 荒木千枝子他 : 臨床検査, 25, 1444-1450 (1981).

## 愛媛の水(第17報)

# ゼーマン原子吸光法による温泉水中の ストロンチウム測定の見直しとその含量

武智拓郎\* 森田建基 田頭和恵 江口 茂

### はじめに

温泉水中に含有されている微量金属濃度を把握することは、衛生学上重要な意義がある。

これら温泉水中の微量金属のうち、ストロンチウム(Sr)はカルシウムと挙動を共にし、またその起源は海水、地質等に由来することが報告される等、温泉水の成因等に関する地球化学的考察上興味ある元素の一つである。

我国の温泉水中のSrの存在については、木村ら<sup>1)</sup>により、ほとんどの温泉水中に存在することが報告されているが、Sr含量に関する報告例は少なく、県下に現存する142源泉中のSr含量についてもほとんど明らかではない。

一方、近年、微量金属の分析法として、高感度かつ迅速な分析が可能なフレイムレス原子吸光法が広く利用され、Srの分析にも応用されてきているが、マトリックスにより種々の影響を受けることが明らかにされている<sup>2-3)</sup>。

このため、今回、偏光ゼーマン原子吸光法によるSrの分析について基礎的研究を実施し、さらに県下の温泉水中のSr濃度と泉質との関係について検索し、若干の知見を得たので報告する。

## I 温泉水中のSrの分析法の見直し

### 装置および試薬

#### 1 装置

原子吸光分析装置は、日立180-70型(ゼーマン効果によるバックグラウンド補正)偏光ゼーマン原子吸光度計。Sr中空陰極ランプは同じく日立製作所(株)製。カーボンチューブへの試料注入には、エッペンドルフ社製のマイクロピペット10 $\mu$ lを用いた。

#### 2 試薬

Sr標準液は、和光純薬(株)製原子吸光分析用標準液(Sr 1000 $\mu$ g/ml, Sr(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in 1N HNO<sub>3</sub>)を原液とし、使用時必要濃度に希釈調製した。硝酸は有害金属測定用(和光純薬(株)製)を使用し、その他の試薬はすべて市販の特級品を使用した。

### 測定方法

#### 1 試料の保存および調製

試料採取用容器は、新しいポリ製容器(1 $\ell$ 用)を通常の方法で洗浄し、さらにHCL(1+1)に一昼夜浸した後、イオン交換水で洗浄したものをを用いた。温泉水採取後、直ちに硝酸を試料1 $\ell$ につき2ml添加し保存した。

Sr含量の測定には、この保存試料を硝酸濃度が0.2規定になるよう調製し、直接分析用検液として供したが、高濃度含有試料については必要に応じて希釈し、硝酸濃度を0.2規定に調製したものを検液とした。

#### 2 原子吸光測定操作

検液10 $\mu$ lをマイクロピペットでカーボンチューブに注入し、シーガスはアルゴン3 $\ell$ /min、キャリアガスはアルゴン200ml/min(インターラップモード)、スリット巾1.3nm、HCL電流10mA、波長460.7nm、カーボンチューブ温度は乾燥80-120 $^{\circ}$ C 30秒、灰化700 $^{\circ}$ C 30秒、原子化2,700 $^{\circ}$ C 3秒と段階的に上昇させ測定を実施し、測定モードはピークハイト法を採用した。

### 結果および考察

#### 1 検量線の作成

先に示した原子吸光測定条件により、標準液(Sr 0-0.5 $\mu$ M, 0.2N HNO<sub>3</sub> sol.)の検量線を求めた結果、吸光度と濃度との関係は直線性を示し、良好な結果を得た。また、Sr濃度0.2 $\mu$ Mの標準液を5

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234

( \*現愛媛県保健環境部薬務課 松山市一番町4丁目4-2 )

回測定した時の再限性（標準偏差パーセント）は1.5%であった。

灰化温度および原子化温度と吸光度の関係は図1に示すとおりであった。灰化温度については、900-1,300℃の範囲で最大かつ一定の吸光度値が得られたが、1,300℃以上では吸光度値が減少することから、灰化段階でSrが揮散することが考えられる。

硝酸濃度の影響を検討するため、Sr 0.2 ppmの標準液を硝酸濃度 0.05-2.0 規定の範囲で測定した結果（図2），吸光度は酸濃度が低い場合若干高く、0.2 規定より高濃度になるとほぼ一定値を示した。

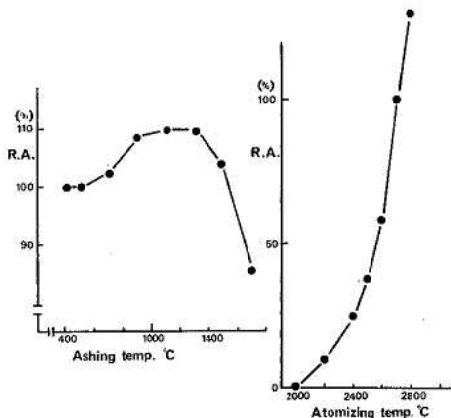


図1 灰化温度及び原子化温度と吸光度の関係

## 2 マトリックスの影響

塩類泉に多量に含まれるCa, Mg, Na, Kの塩化物をSr溶液に共存させ、これら塩化物の原子吸光に及ぼす影響について検討した。

Sr 0.2 ppm水溶液に、Ca, Mg, Na, Kの塩化物をSr水溶液に共存させ、先に示した原子吸光測定条件により測定した結果を図3に示した。

左の縦軸に相対吸光度、右の縦軸にバックグラウンド吸収値を示し、横軸に共存塩化物の濃度を示した。その結果、いずれの塩化物も高濃度になる程吸光度に負の影響が現われ、その程度はNa, K, Ca, Mgの順に大きいことが認められた。

また、特に干渉効果の大きいNa, Kの塩化物については、濃度が増すとともに塩化物の分子吸光によると考えられるバックグラウンド吸収値が大きくなり、Srの原子吸光に及ぼす負の影響も増加した。

このことから、塩化物による負の影響を除くため灰化温度の上昇により共存塩化物を揮散消失させる方法について検討した。

図4は、Sr水溶液にNaClをNaとして1,000 ppmおよび5,000 ppmを添加した溶液の灰化温度と吸光度およびバックグラウンド吸収値との関係を示したものである。

塩化ナトリウムの蒸発温度は約800℃であるが、Na 1,000 ppmでは1,100-1,500℃、5,000 ppmでは1,300-1,500℃で吸光度は一定値を示し、バックグラウンド値はいずれも灰化温度の上昇とともに減少した。しかし、これ以上の灰化温度に上昇させると、吸光度の再限性に影響があり、その変動係数は10%以上となり良好な結果は得られなかった。

## 3 昇華剤としての硝酸

昇華剤の添加により温泉水中の塩化物を揮散させる方法について検討した。

通常、塩化物を昇華させる方法として、硝酸アン

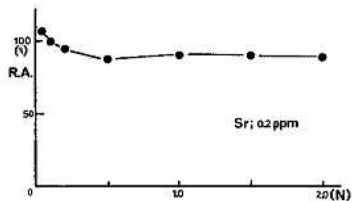


図2 硝酸濃度の影響

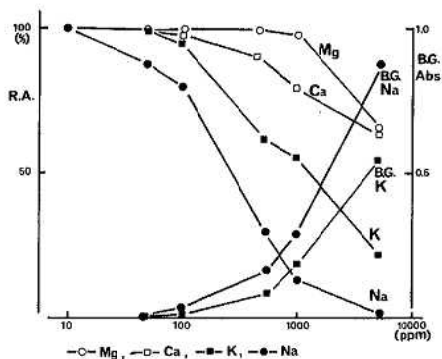


図3 吸光度及びバックグラウンド吸収値に及ぼす共存塩化物の影響

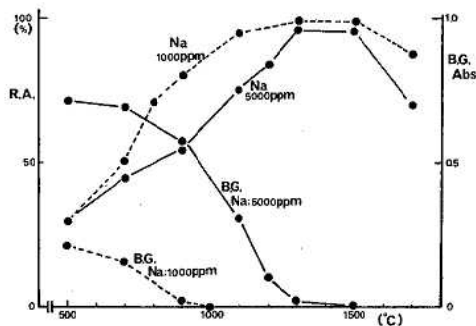


図4 灰化温度と吸光度の関係



モニウムが利用される<sup>4)</sup>が、今回は試料の保存のため予め添加している硝酸による昇華効果について検討した。

塩化ナトリウムの硝酸溶液が示すバックグラウンド吸収値と、ナトリウム濃度の関係を図5に示した。その結果、硝酸濃度が高い程バックグラウンド吸収値は低く、NaClがNaNO<sub>3</sub>に変換されることにより灰化時に蒸発揮散するものと考えられる。また、硝酸0.2規定溶液はナトリウム1,000ppmまで有効に作用し、実試料の分析に充分利用できることが判明した。

#### 4 共存イオンの影響

県下の温泉水中に共存している主要12成分の塩化物を、0.2規定硝酸溶液(Sr 0.2 ppm含有)に共存させ、各共存イオンの影響について検討した(表1)。

その結果、干渉の程度は-3.5%から+5.6%までの値を示し、実試料の分析において問題ない値であった。

#### 5 標準添加法

瀬戸内海沿岸の海水をSr含有の検体として、標準添加法を実施した。

この海水を50倍に希釈し0.2規定になるよう硝酸を添加した溶液を使用し、標準添加法を実施した(図6)。

その結果、標準検量線の傾きに比較し、96~101%を示し良好な結果を得た。なお、松崎らの報告<sup>3)</sup>によるEDTAアンモニウム塩添加法およびMEDTAアンモニウム塩添加法により、海水の標準添加法を実施したところ、硝酸溶液の場合と同様良好な結果を得た。

以上の結果から、温泉水中のSr分析用試料は、硝酸を添加し0.2規定に調製後直接法により測定可能であることが判明した。

## II 温泉水中のストロンチウム含量

### 分析対象温泉

今回調査分析した温泉およびその位置を図7、表2に示した。

NaHCO<sub>3</sub>を主成分とする松山市の道後温泉群とその周辺の温泉、NaClを主成分とする石鎚山の南側の面河鉦泉等の28カ所の源泉について、先に述べた方法により分析を実施した。

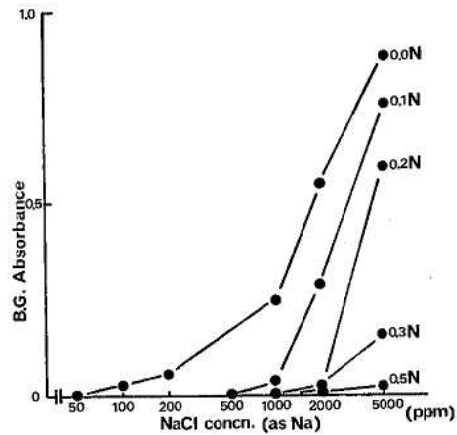


図5 バックグラウンド吸収値と硝酸濃度の関係

表1 共存イオンの影響

Element	added	ppm	found(ppm)	interference(%)
Fe	FeCl <sub>3</sub>	10	0.198	-1.1
Mn	MnCl <sub>2</sub>	10	0.211	+5.6
Zn	ZnCl <sub>2</sub>	1	0.197	-1.5
Cu	CuCl <sub>2</sub>	1	0.197	-1.5
Al	AlCl <sub>3</sub>	10	0.195	-2.7
Si	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	100	0.203	+1.6
Ba	BaCl <sub>2</sub>	5	0.200	0.0
P	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10	0.204	+2.2
Ca	CaCl <sub>2</sub>	1000	0.194	-3.0
Mg	MgCl <sub>2</sub>	1000	0.196	-2.0
Na	NaCl	1000	0.193	-3.5
K	KCl	1000	0.194	-3.0

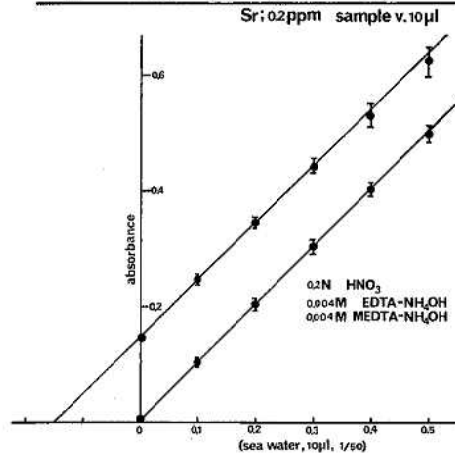


図6 標準添加法

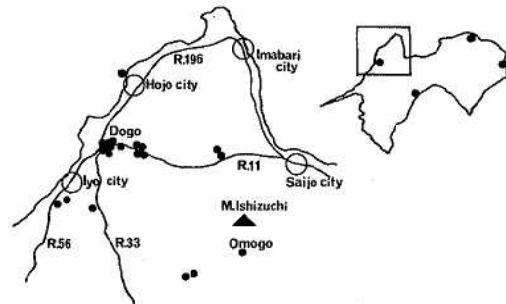


図7 調査対象温泉の地理的分布図(n=28)

表2 温泉水中のストロンチウムおよび主要成分分析表

No	温泉名称	場所	Sr(mg/kg)	陽イオン(mg/kg)							陰イオン(mg/kg)					T.R.
				Li	Na	K	Ca	Mg	F	Cl	HCO <sub>3</sub>	CO <sub>3</sub>	SO <sub>4</sub>			
1	面河 鈹 泉	面河村大字入味川字面河山	2073	9530	1234	7100	1909	1312	3220	1489	1586	0268	—	4091		
2	嵯峨 山 鈹 泉	久万町下畑野川字嵯峨山	0113	0062	1013	1097	1820	0608	0756	6320	1830	3618	—	2626		
3	古岩 尾 鈹 泉	久万町上道瀬西川	0485	0031	4800	0931	3600	0729	0946	6521	8022	3095	1342	1489		
4	武領 鈹 泉	伊予市大平武領甲783番地	0398	0351	4444	2680	6122	1264	1338	4605	3807	1644	—	1183		
5	唐川 鈹 泉	伊予市上唐川本谷	0283	0012	1430	0862	3872	3208	0900	8510	1354	0912	1613	1831		
6	川内 鈹 泉 1 号 泉	川内町大字北方字海上菜乙	0224	0263	1053	2580	2420	7555	0886	6621	3782	1610	4443	3898		
7	川内 鈹 泉 2 号 泉	川内町大字北方字段ノ菜乙	0195	0244	9920	2400	3060	4253	0899	4912	3514	1604	1680	3748		
8	鹿 島 鈹 泉	北条市辻字鹿島巽1595	4319	0119	8081	8622	8320	2566	0055	3158	1970	0357	2803	6038		
9	紙部一本松 鈹 泉	紙部町宮内字大下田甲1219	4368	1915	4658	2581	8180	1652	0220	7651	2830	0678	0482	1542		
10	伊予鉄福音寺 温 泉	松山市大字福音寺西235-3	0088	0538	1970	1258	3007	—	1303	2043	1374	6510	—	5572		
11	ニューグランド 温 泉	松山市二番町3丁目5-3	0052	0178	1140	1355	2802	—	1779	8353	1088	1680	1020	3530		
12	東道後第3 源 泉	松山市大字北久米1丁目27	0061	0238	8990	0621	2521	0571	7266	3265	1428	5372	1030	2566		
13	東道後第8 源 泉	松山市大字南久米字2丁目247-1	0075	0336	1645	1258	1002	0729	8202	1091	2119	7952	—	4639		
14	鷹ノ子 源 泉 1 号	松山市大字鷹ノ子字3丁目949	0612	1197	2952	2160	1320	0972	3427	2990	2288	5670	4214	9217		
15	鷹ノ子 源 泉 2 号	松山市大字鷹ノ子字2丁目752	0082	0269	1405	0966	0200	0729	6629	5096	1952	2340	1392	3870		
16	東道後第4 源 泉	松山市大字鷹ノ子字3丁目883-2	0102	0238	1285	1032	1000	0535	6723	3367	2152	1449	3740	3494		
17	道後第3 源 泉	松山市道後1616-4	0074	0174	6807	1030	3000	0267	7929	2552	7540	4321	2890	2223		
18	〃 第5 〃	松山市道後湯之町1612	0085	0170	7435	1070	2480	0486	1014	2623	7759	6360	2334	2281		
19	〃 第8 〃	松山市道後湯之町953-6	0064	0161	7233	1050	1803	0535	4011	2340	7527	6186	2755	2902		
20	〃 第9 〃	松山市道後湯之町953-6	0059	0167	7655	1020	2321	0292	1356	3219	8327	7052	6200	2283		
21	〃 第25 〃	松山市道後湯之町953-5	0092	0162	7134	1180	2340	0437	1250	2352	6710	8702	1968	2219		
22	〃 第11 〃	松山市道後8665-6	0086	0172	8010	1111	1520	0535	1641	3660	7930	6720	2403	2433		
23	〃 第24 〃	松山市喜多町字今市北側1018-6	0072	0148	7288	0900	2482	0659	1477	3253	6930	7920	5104	2231		
24	〃 第14 〃	松山市大字道後今市北側1018-6	0072	0148	7027	1040	1402	0659	1414	2368	6869	9122	7488	1255		
25	〃 第7 〃	松山市道後湯之町1520	0088	0183	7593	1090	2721	0292	1367	3588	8363	5072	6720	2276		
26	〃 第26 〃	松山市道後湯之町967-14	0069	0172	7575	1020	1403	0729	1500	3400	7308	8765	2592	2260		
27	〃 第28 〃	松山市道後湯之町2丁目707-1	0069	0172	8498	1280	1800	0610	1722	4282	7302	9690	—	2481		
28	国鉄前 鈹 泉	松山市宮田町9番地の8	2649	1400	1250	2380	2180	7780	5400	2481	1552	0500	—	4360		

結果および考察

1 主要成分とストロンチウム濃度との相関

温泉の泉質とストロンチウム濃度の関係について検討するため、各成分濃度とストロンチウム濃度との相関係数を求め表3に示した。

Srと各成分の関係については、太秦ら<sup>1)</sup>はカルシウムイオンと相関が強いことを報告している。本調査においても同様の結果を示した。すなわち、蒸発残留物(T.R.)、Ca、Mg、Na、Clと相関を示した。Ca、Mgと相関を示すことは、これらがSrと同様アルカリ土類金属であり、その化学的挙動が類似していることが推定され、NaおよびClと強い相関を示すことは、Srが海水起源元素であることが推定できる。

2 泉質との関係

宮久ら<sup>6)</sup>は、愛媛県下の温泉を次の4種類に分類できることを報告している。

- (1) CaCO<sub>3</sub>型
- (2) NaF+NaCl型
- (3) NaCl型
- (4) NaHCO<sub>3</sub>型

今回調査した28カ所の源泉をこの分類に基づき分類した結果、CaCO<sub>3</sub>型1カ所、NaF+NaCl型18カ所、NaCl型4カ所、NaHCO<sub>3</sub>型5カ所に分けられ、NaCl型はいずれも塩類泉であった。

図8は、縦軸にSr濃度、横軸にNa<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>をとり、各々の温泉の値をプロットした結果であるが、今回調査した源泉は、NaCl型、CaCO<sub>3</sub>型とNaF+NaCl型、NaHCO<sub>3</sub>型と大きく3グループに分類された。

一方、NaCl型は海水(Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>は0.55、Srは7.5ppm)に一番近いところに位置し、Srの平均値は全源泉(n=28)の平均値が0.607±1.190ppmに対して、3.352±1.021ppmと高い値を示している。

以上の結果から、海水の影響をうけたNaCl型源泉はSrを高濃度に含有しており、このことは海水起源によるSrを含有するためと推定できる。その他の型のSr濃度は、それぞれCaCO<sub>3</sub>型は0.283ppm、NaF+NaCl型は0.094±0.075ppm、NaHCO<sub>3</sub>型は0.326±0.190ppmを示し、今回の調査結果では地質起源によるSr濃度は、おおよそ0.5ppm以下であることが推定できる。

まとめ

ゼーマン原子吸光法による温泉水中のストロンチウム

表3 温泉水中のストロンチウム濃度と主要成分濃度間の相関係数

Total Residue 0.818○	
Li 0.379	F -0.475
Na 0.740○	Cl 0.840○
K 0.404	HCO <sub>3</sub> 0.296
Ca 0.768○	SO <sub>4</sub> 0.312
Mg 0.724○	
(ppm)	

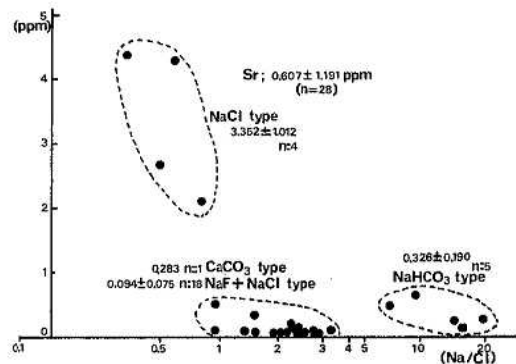


図9 ストロンチウム濃度(ppm)とNa/Clとの関係

μ測定法および温泉泉質とその含量について検討した結果、次のことが明らかになった。

- (1) Sr分析において、共存塩化物は原子吸光感度に負の影響を及ぼし、Na、K、Ca、Mgの順に影響力は強かった。
- (2) Sr分析において、共存塩化物の影響を除く方法として、灰化温度を上昇させる方法は、再限性に影響を及ぼし不適であった。
- (3) Sr分析において、試料に硝酸を添加することにより、共存塩化物は揮散蒸発することが判明し、これを応用したところ、実試料には0.2規定になるよう硝酸を添加し調製するのみで、分析が可能であることが判明した。
- (4) 今回調査した28カ所の温泉水中のSr含量は、平均0.607±1.190ppm、CaCO<sub>3</sub>型0.283ppm(n=1)、NaF+NaCl型0.094±0.075ppm(n=18)、NaHCO<sub>3</sub>型0.326±0.190ppm(n=5)、NaCl型3.352±1.020ppm(n=4)を示した。
- (5) 温泉水中のSr濃度は、蒸発残留物、Ca、Mg、Na、Kと強い相関を示した。
- (6) Srを高濃度に含有するNaCl型温泉水中のSrは

海水起源であり，その他の型温泉水中のSrは地質起源であることを推定した。

#### 文 献

- 1) 太秦康光：Chemical investigation of Hot Springs in Japan, 74-78, 築地書館.
- 2) Christine A. Helsby：Talanta, **24**, 46-48 (1977).
- 3) 松崎浩司他：日本化学会雑誌, **7**, 1126-1131 (1979).
- 4) 保田和雄他：高感度原子吸光・発光分析, 講談社.
- 5) 蓬台和紀他：和歌山県衛研年報, **26**, 79-81 (1980).
- 6) 宮久三千年他：愛媛大学紀要自然科学Dシリーズ (地学), **3**, 1-8 (1976).

## 合成樹脂製容器に含まれる酸化防止剤の溶出について

沖 永 悦 子    菊 田 正 則    森    喜 一    大 倉 敏 裕

### はじめに

合成樹脂製容器に含まれる酸化防止剤の材質からの溶出に関する報告はすでにあり、その多くはポリプロピレン製容器について確認されている<sup>1)</sup>

酸化防止剤として現在広く使用されているものの中にはBHA, BHTのように変異原性の疑いもたれているものもある<sup>2~3)</sup>われわれは合成樹脂製容器からのBHA, BTAの食品への溶出の可能性を検索したのでその結果を報告する。

### 試料と試験方法

1. 検体; 市販の清涼飲料水6検体, 乳酸菌飲料26検体, カップヌードル9検体, プリン12検体, バター3検体, 弁当容器2検体, その他10検体, 計68検体の容器を試料とした。

2. 材質中の酸化防止剤の含有量測定<sup>4)</sup>

試料を水洗し乾燥させたものをチップにしその4.0gを精秤した。これをソックスレー抽出器に入れ, アセトン120mlを加え8時間還流後, 抽出液を45℃以下で減圧濃縮し残留物にクロロホルム2mlを加えて溶かし, この液をガスクロマトグラフィー(以下GC)用試験溶液とした。

3. 酸化防止剤の溶出試験; 浸出液は水およびn-ヘプタンを用い, 次のようにGC試験溶液を調製した。

(a). 水による溶出; 被検容器に80℃の水を満たし, 80℃の恒温槽内に60分間放置する。溶液に10%硫酸5mlを加え, クロロホルムで3回抽出(50×3)した後45℃以下で減圧濃縮する。残留物にクロロホルム2mlを加えて試験溶液とする。

(b). n-ヘプタンによる溶出; n-ヘプタンを被検容器に満たし25℃で60分間放置して溶出させる。これを減圧濃縮した後クロロホルム2mlを加えて試験溶液とする。

4. 酸化防止剤の食品中への移行試験; 市販カップヌードル8検体を用いて各々の容器に直接熱湯(100℃)を注ぎ30分間放置後, 精油定量器を用いる蒸留法<sup>5)</sup>でBHA, BHTを捕集し, 上記のとおりクロロホルム溶

液としてGC試験に供した。

5. ガスクロマトグラフィーによるBHA, BHT定量 GCによる定量は次の条件により行った。

機種: 島津 GC-4CM(水素炎イオン化検出器)

充てん剤: 5% SE-30/Gas-Q

カラム温度: 150℃, 検出温度 230℃

キャリアガス流量: 40ml N<sub>2</sub>/min

### 試験結果および考察

1. 容器からのBHA, BHTの溶出試験

水80℃-60分による溶出試験ではいずれの試料からもBHA, BHTの浸出は認められなかった。

n-ヘプタン(25℃-60分間放置)による溶出試験では表1のとおりBHTのみが検出された。それらの含有量はnd-0.085µm(浸出液中の濃度)の範囲であった。

2. EPS樹脂容器ならびに内容物に含まれるBHA, BHTの分析結果

樹脂製容器中の麺, スープのBHTの含有量を表2に示した。BHTについては材質8検体中7検体に検出されたが, それらの内容物(麺, スープ)からはいずれもBHTは検出されなかった。

一方, BHAについては4検体の内容物から検出されたが, 材質中からは検出されなかった。これは麺の原料に添加されていたものではないかと推定される。

表2 発泡P.S容器包装食品のBHT, BHA含有量 (単位: µg)

試料番号	B H A		B H T	
	可食部含有量 (ラーメン スープ)	材質中の含有量 (試料4g)	可食部含有量 (ラーメン スープ)	材質中の含有量 (試料4g)
1	nd	nd	nd	680
2	nd	nd	nd	100
3	150	nd	nd	800
4	16	nd	nd	200
5	62	nd	nd	65
6	130	nd	nd	900
7	nd	nd	nd	1,200
8	nd	nd	nd	nd

表1 材質に残存する酸化防止剤の量

(n-ヘプタン溶出による) (単位:%)

材質 商品名 (容器)	ポリスチレン ( P S )						ポリプロピレン ( P P )			材質不明				
	E P S		P S		P S + 酸化チタン		BHT		BHA		BHT		BHA	
	BHT	BHA	BHT	BHA	BHT	BHA	BHT	BHA	BHT	BHA	BHT	BHA	BHT	BHA
1	nd													
2	0.85													
3	nd													
4	nd													
5	nd													
6	nd													
7	nd													
8	nd													
9	nd													
10														
11							nd	nd						
12							nd	nd						
13							nd	nd						
14							0.10	nd						
15							0.079	nd						
16							0.10	nd						
17							0.14	nd						
18							0.22	nd						
19							0.12	nd						
20							0.18	nd						
21							0.21	nd						
22							0.13	nd						
23							0.085	nd						
24							0.038	nd						
25							0.085	nd						
26							nd	nd						
27							nd	nd						
28							nd	nd						
29							nd	nd						
30							nd	nd						
31								0.5	nd					
32								nd	nd					
33								nd	nd					
34								nd	nd					
35								nd	nd					
36														
37														
38														
39														
40														
41														
42														
43														
44														
45														
46														
47														
48														
49														
50														
51														
52														
53														
54														
55														
56														
57														
58														
59														
60														
61														
62														
63														
64														
65														
66														
67														
68														

表3 合成樹脂製容器包装についての問合せ件数

相談内容 件数	安全性に関する相談
	(一般合成樹脂製食器について)
100	○ 臭気及び溶出物
3	○ プラスチックのおわんに傷が出来たが使ってよいか
	(漬物容器について)
6	○ プラスチック桶に漬物を漬けてもよいか
3	○ プラスチック製の容器に漬けた梅酢漬を食べてもよいか
	(水筒について)
2	○ 臭気があるが溶出物は安全か
	(ポリ袋の食品包装について)
3	○ 長期保存用に安全か
3	○ プラスチック製のまな板の使用は安全か
合計120	

S47～56年 愛媛県生活センター扱い

以上の結果をまとめると、今回の対象とした合成樹脂製容器のうちPP, PE, PSの材質等については、一部の検体において、n-ヘプタンでBHTが溶出したが水では溶出しなかった。しかし、容器に直接熱湯を注

ぎ食用に供する場合は、麺、スープ中に油脂分を多量に包含する場合もあり、この条件下ではBHTは食品中へ溶出する可能性が指摘されている。<sup>6)</sup> 今回のわれわれのn-ヘプタン中溶出試験の成績はこの可能性を示唆するものであるが、実際の測定値はBHT使用基準(食品添加物としての)と比較してかなり低いものであった。しかしながら食品用プラスチック容器に含有する添加物の安全性に関する不安は潜在的に一般市民に在り、表3に示すとおり当県生活センターへの問合せがあった。これら市民の不安を解消するためにも本試験結果に示唆されている有害性溶出物を常時監視する必要がある。

#### 文 献

- 1) 吉田善彦他：大阪府立公衆衛生研究所報，食品編8号，137,(1977)。
- 2) R.Djurhuus and J.R.Lillehaug：Bull. Environ. Toxicol. 29, 115,(1982)。
- 3) 辰濃隆他：食品容器包装器具衛生解説，9，日本衛生技術研究会，(1977)。
- 4) 渡辺悠二他：東京都衛生研究所年報，28-1，164,(1977)。
- 5) 丸山武紀他：食品衛生学雑誌，18，283,(1977)。
- 6) 辰濃隆他：食品容器包装材料の衛生・規格・試験法，493，衛生技術会，(1980)。