過酸化水素分析 -数の子中の残存カタラーゼ不活性化法の検討ー

衛生化学部門 〇藤本啓太

[緒 言]

食品添加物としての過酸化水素は漂白等の目的で使用され、「食品、添加物等の規格基準」では「釜揚げしらす及びしらす干しにあってはその1kgにつき0.005g以上残存しないように使用しなければならない。その他の食品にあっては、最終食品の完成前に過酸化水素を分解し、又は除去しなければならない」となっている。本研究所では本市の市場で取り扱われている数の子がこの基準を満たしていることを「第2版 食品中の食品添加物分析法(平成28年度改正)」(以下、通知法とする)に基づく酸素電極法による検査で確認している。

しかし、一般的な数の子の製造過程において、添加した過酸化水素の分解にカタラーゼが用いられ、その後、水で洗 浄しても製品にカタラーゼが残存する場合があると考えられている。この残存カタラーゼの影響により、試料に過 酸化水素を添加しても即座に分解し始めると考えられ、事実、過去の検査の添加回収試験において良好な回収率が得 られない場合があった。そのため、当該検査法は検査の信頼性確保の面で問題があった。

本研究では、この残存カタラーゼを硝酸により不活性化して前処理することで、添加回収試験及び通常検査が適切な結果となる試験法を検討した。

[方 法]

1 試 料

数の子(通知法の前処理方法で行った添加回収試験において過酸化水素が検出しなかったもの)

2 標準品、試薬及び装置

(1) 標準品

過酸化水素(特級、関東化学(株)製)を用いた。

(2) 試薬

硫酸(有害金属測定用)、硝酸(1.38)(有害金属測定用)、りん酸二水素カリウム(特級)、りん酸水素二ナトリウム・12水(特級)、よう化カリウム(特級)、0.02mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液(容量分析用)、2,2',2"-ニトリロトリエタノール(特級、以下、トリエタノールアミンとする)は富士フイルム和光純薬㈱製を用いた。臭素酸カリウム(特級)は関東化学㈱製を用いた。でんぷん(溶性)(特級)は林純薬工業㈱製を用いた。カタラーゼ、消泡シリコーンはセントラル科学㈱製を用いた。

(3) 装置

過酸化水素計はSUPER ORITECTOR MODEL 5 (セントラル科学㈱製)を用いた。

3 標準液調製

通知法に基づき、過酸化水素濃度を標定して $1000\mu g/m$ L標準液を調製後、りん酸緩衝液で0.2、0.4、0.8、 $1.0 \mu g/m$ Lの検量線用標準液を調製した。

また、水で100 μg/mLの添加回収用標準液を調製した。

なお、各標準液は1000 μg/mL標準液から用時調製した。

4 試液調製

0.1N硝酸:硝酸(1.38)を2mLとり、水で300mLにした。

0.2Nトリエタノールアミン溶液:トリエタノールアミンを6gとり、水で200mLにした。

それ以外は通知法に基づき調製した。

5 試験液調製

事前に漏斗及びひだ折りしたろ紙(ADVANTEC製 定量濾紙 No.5A)を冷凍し、0.1N硝酸、0.2Nトリエタノールアミン溶液、りん酸緩衝液を氷冷しながら1時間以上窒素ガスを通気した。以降、試料を扱う際には常に氷冷しながら前処理を行った。

細切した試料 5gを50mLプラスチック遠沈管にとり、0.1N硝酸14mLを加えて遠沈管内壁全体が硝酸で濡れるように軽く振とうした(添加回収用の試料については振とう後に添加回収用標準液を0.2mL添加した)。消泡シリコーンを1滴加えて大きな試料片がなくなる程度にシャフト式ホモジナイザーでホモジナイズ(約10000rpm、約5秒)し

た後、0.2Nトリエタノールアミン溶液7mLを加えて軽く振とうした。さらに、りん酸緩衝液で50mLに定容し、遠心分離した(3000rpm、3分、<math>4 $\mathbb{C})$ 。

冷凍したろ紙で上澄み液をろ過し、最初の約5mLを棄てた後にろ液を受けた。これを試験液として直ちに冷蔵保管し、測定直前に取り出して通知法に基づき過酸化水素計で測定した。

この操作を1日あたり標準無添加試料1本及び標準添加試料2本の計5日間行い、標準添加試料の平均回収率、併行精度及び室内精度を求めた。なお、各精度は枝分かれ実験における一元配置の分散分析を用いて解析した。

[結 果]

標準無添加試料の測定において、過酸化水素は検出されなかった。

標準添加試料の測定において、過酸化水素の平均回収率は95.2%、併行精度は7.4RSD%、室内精度は8.7RSD%だった。

[まとめ]

通知法に基づく前処理では低回収率だった試料について、本試験法により良好な回収率及び精度を得られた。

ただし、本添加回収試験では硝酸添加後に標準添加しており、一般的な添加回収試験の標準添加タイミング(前処理開始前に添加)と異なる。添加した過酸化水素が分解されないようこのタイミングで添加を行ったが、カタラーゼが残存していない数の子を用いて通常のタイミングによる添加回収試験を行い、問題なく回収されることを確認することで本試験法の妥当性を補強する必要があると考える。

明太子におけるリステリア・モノサイトゲネスの汚染実態

保健環境研究所 石打 郁代

細菌性食中毒起因菌であるリステリア・モノサイトゲネス(以下、リステリア)は、動物の腸管内や環境中に広く分布している通性嫌気性芽胞非形成グラム陽性の短桿菌であり、その他の一般的な食中毒菌が増殖できないような4℃以下の低温下でも増殖できる。また、発症した場合の致死率は約20%と高く、乳幼児や高齢者は重症化しやすく、妊婦の場合は早産や死産のリスクが高まるとされている。食中毒(以下、リステリア症)の原因となっているのが、喫食前に加熱を要さない調理済み食品(RTE食品)で比較的長期間低温保存する食品といわれている。以前より海外においてリステリア症の集団発生事例が多数報告されており、近年、国内においてもその発症の推定値は欧米の一般的な国と同程度とされ、平成26年には、食品衛生法に基づく成分規格が一部の食品で設定されたところである。本市ではこれまでリステリアの行政検査の実績はないが、リステリアの試験法が定められたこともあり、検査手法の習得も重要だと考えている。今回、RTE食品のうち成分規格の対象となっていないが、 $10 \sim 28\%$ の汚染が報告されている燻製魚介類・ネギトロ・魚卵製品に着目し、その中でも本市において製造の多い明太子を対象としたリステリアの汚染実態を調査した。

調査方法

1. 供試検体および菌株

2018年から2020年に、北九州市内で製造・販売された明太子27検体を供試した。これらの検体を入手時期 $A \sim D$ 、 検体数 $2 \sim 4$ ごとに、8回に分けて検査を行った。

対照として、国立研究開発法人理化学研究所から2020年2月に購入した標準株である、*Listeria ivanovii* JCM 7681株、*Listeria innocua* JCM 32814株、2016年に当所で分離された*Listeria monocytogenes* KCIES160032株を用いた。

2. リステリアの試験概要及び分離

供試検体は、入手後マイナス20℃で保存していたものを使用した。リステリアの分離は、通知法*の中の本試験(n=5で評価する定量試験法)で行った。はじめに、n=5で検体量10gずつをストマッキング袋に無菌的にとりわけ、90mlのBuffered peptone waterを加え、ストマッカーで均質化し、損傷菌の蘇生培養を行った。その培養液1mlを1種類の酵素基質培地(クロモアガーリステリア) 3枚に分けて塗抹し、形成集落を確認(写真1)。リステリアと思われる集落を純培養し、確認試験(カタラーゼ試験、運動性試験、 β リジンディスク法(通知法でCAMP試験の代替法として認められた方法)、糖分解試験)を行った。今回、27検体中1 検体(検体B-7)について、リステリアの分離に成功した。(下記写真参照)

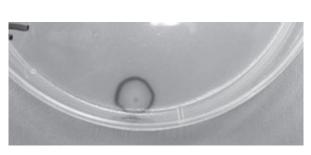
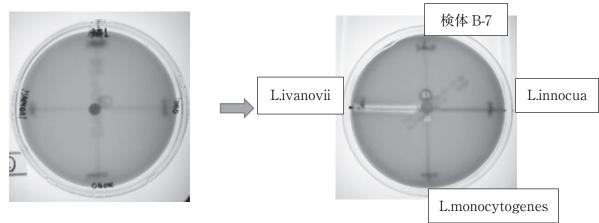


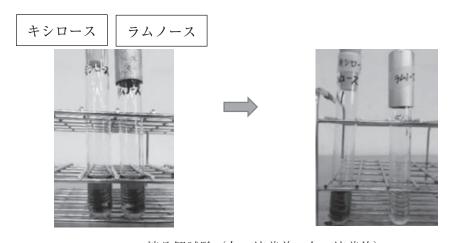
写真1



写真2 運動性試験



βリジンディスク法 (左:培養前 右:培養後)



糖分解試験(左:培養前 右:培養後)

結 果

明太子27検体から 1 検体リステリアが分離された。定量的にみると酵素基質培地上の集落は 1 集落(1 cfu/0.5g)であった。(仮に規格基準の対象食品であった場合は、集落11以上は規格基準違反、10以下は検出したが100cfu/g以下と判定。)

考 察

リステリアが分離された検体数は1検体、陽性率は3.7%であった。今回の定量的調査での汚染率は低く、陽性検体の汚染菌量も極めて低かったため、明太子の喫食による健康成人の本症リスクは高くはないと思われた。他の調査の結果では、定性的調査で10%以上の検出率が報告されており、今後は定性的な調査も含めて継続調査を行い、検査スキルの維持・向上及びリステリア汚染の情報を集積することが市民の食の安全につながると考える。

謝辞

ご助言を頂いた国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部岡田由美子先生に感謝いたします。

文 献

※厚生労働省、リステリア・モノサイトゲネスの検査について、

平成26年11月28日食安発1128第2号

北九州市内で繰り返し検出されているカルバペネマーゼ非産生Klebsiella aerogenesの 遺伝的関連性の評価

微生物部門 〇有川衣美 藤﨑道子 大羽広宣

1 はじめに

平成26年9月19日、感染症法に基づく感染症患者の届出基準の改正が行われ、全数把握対象の薬剤耐性菌感染症は、それまでのバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症及びバンコマイシン耐性腸球菌感染症に加えて、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(以後、CRE)感染症及び薬剤耐性アシネトバクター感染症となった。また平成29年3月28日付厚生労働省健康局結核感染症課長通知(健感発0328第4号)により、届出のあったこれらすべての菌株について、地方衛生検査所で試験検査を実施することとなっている。平成29年4月から令和3年3月における北九州市内CRE届出患者数/検体数は96名/113株であった。菌種別では、Klebsiella aerogenesが34.5%、Enterobacter cloacae complexが31.9%で全体の6割以上を占め、ついでKlebsiella pneumoniae 9.7%、Escherichia coli 8.8%、Serratia marcescens 3.5%、Citrobacter freundii 2.3%と続いた。このうち、臨床的に重要とされるカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌(CPE)が検出されたのは6名(6.3%)/11株(9.7%)であった。また、CPEではないものの、同一菌種によるCREの発生が同一の病院から繰り返し報告されるケースがあった。今回、本ケースを含む非CPE株のパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)を行い、バンドパターンを比較することで、それぞれの菌株の遺伝的関連性の評価を行い、実態の把握を試みた。

2 調査対象

平成29年4月から平成31 (令和元)年3月に届出が出され、当所において自動細菌同定装置(バイテック2コンパクト(ビオメリュージャパン))で*K.aerogenes*と同定され、PCR法によりカルバペネマーゼ遺伝子(IMP型、NDM型、KPC型、OXA-48型、VIM型、GES型、IMI型)を検出しなかった非CPE株27株。

3 試験条件

試験は国立感染症研究所薬剤耐性菌検査研修資料 を参考に行った。ミューラーヒントン II 寒天培地に対象菌株を画線塗抹し、濃厚に塗布した部分にセフタジジムディスクを置き、 36 ± 1 ℃で16時間培養した。コロニー周辺の菌をTEバッファーに懸濁してマックファーランド3.8(\pm 0.2)に調整した菌液300 μ Lを、1.2% SeaKem Gold Agaroseを300 μ Lに加えて混合し、プラグモールドに注入後、冷却固化したものを試験用プラグとした。これを2mg/mLのリゾチーム溶液1mLに浸漬し、37℃で一晩反応させた後、1mg/mLに調整したプロテナーゼK溶液1mLに移し、50℃で一晩反応させた。次に1mg/mLのペファブロック溶液500 μ Lに浸漬し50℃で振盪させながらプロテナーゼKの不活化を行った後、TEバッファーで1.5~2時間の振盪洗浄を2回行った。今回、制限酵素処理には Xba I とSpe I の2種類を用い、これらについてDNA切断の適性の比較を行った。各々30U/sampleに調整した制限酵素液200 μ Lにプラグを浸漬し、4℃で3時間静置した後、37℃で16時間反応させた。電気泳動はCHEF-DR II (Bio-Rad)を用い、6V・14℃・switching time12.6-40.1sec・21時間の条件で行った。泳動後のゲルをエチジウムブロミド(0.5 μ g/ml)で50分間染色した後、蒸留水で30分×3回洗浄し、Gel Doc XR+(Bio-Rad)を用いて撮影を行った。解析にはGelComper II (Applied Maths)を用い、類似性計算にDice法(Toerance;1%、Optimization;0.5%)、系統解析計算にUPGMA法を用いた。

4 結果・考察

K. aerogenesは広く腸管内に生息する腸内細菌科細菌であり、2018年度感染症発生動向調査において、E. cloacaeとともにCRE感染症の原因菌として上位2位を占めている(K.aerogenes;n=631,37.5%、E.cloacae;n=460,27.3%)。K.aerogenesの特徴としてCPEである割合が高くないことが挙げられ、同年の菌種別のIMP型検出割合は、E. coli 41.6 %,K.pneumoniae 37.5%,E.cloacae 17.8%であったのに対し、K.aerogenesでは0.3%であった。現在のところ同一地域で検出されたK.aerogenesの非CPE株相互の関連性について検討した例はほとんど報告されていない。今回、PFGEの制限酵素処理にSpe I とXba I の2 種類を用いX4、それぞれのバンドパターンついて比較検討を行ったが、今回試験に供したK.aerogenesではXba I の方がXpe I に比して良好な分離が得られ、特に高分子領域においてその傾向が顕著であった(図 1)。国立感染症研究所による病原体検出マニュアルにはX.aerogenesに使用する制限酵素としてX0、菌株によっては最適な制限酵素を適宜変更する必要があり、本市において検出されるX1、aerogenesについては、X2 を第一選択として用いる方が良好な分離が得られることが示唆された。なお、今回試験に用いた菌株はいずれも発生届が提出された患者由来であるが、X27株中21株が当所におけるディスク拡散法による届出要件の確認試験において、届出要件を満たしていなかった(表 1)。

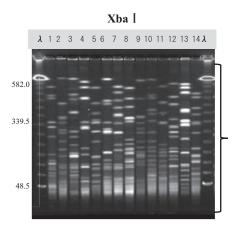
この要因として、病院と当所における検査法が異なること、各自動細菌同定装置が採用している判定基準のバラつき等が考えられるが、当試験結果を本市保健所に還元する中で、K.aerogenesが繰り返し検出されている病院を含む市内病院は、CRE届出要件の境界の株についても、CPEの見逃しを防ぐ意味で届出を行っていたことがわかってきた。このように収集された非CPE株を前述の条件でPFGEを行い解析した結果、供試菌株27株中2株のバンドパターンが完全に一致した。なお、後日行った調査の結果、この2株は同一病院から異なる時期に採取・搬入された、同一患者由来の株であることが判明した。その他の菌株については類似性が40%~75%とあまり高値を示さなかった(図2)。

本試験は北九州市内における非CPE株の発生実態の把握を目的に実施したが、全体として菌株間の遺伝的関連性は低く、北九州市内病院におけるK.aerogenesの同一菌株による伝播あるいは定着の可能性は低いと考えられた。

最後に、本稿の作成に当たり多大なるご協力とご指導を賜りました国立感染症研究所薬剤耐性研究センター松井 真理先生、本市保健所の皆様に心より御礼申し上げます。

【参考文献】

- ¹ 令和元年度薬剤耐性菌の検査に関する研修 タイピングコース Ⅰ 研修資料
- ²IASR 40:157-158,2019
- 3国立感染症研究所「病原体検出マニュアル『薬剤耐性菌』(令和2年6月改訂版Ver.2.0)」
- ⁴Fred C.Tenover et.al., J Clin Microbiol 33 (9): 2233-2239,1995



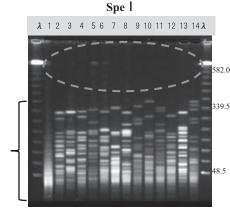


図1;制限酵素比較試験結果

- ・制限酵素; Xba I 、Spe I (各々 30U/sample)
- · PFGE 条件;6V、14℃、 switching time;12.6-40.1sec、21 時間

バンドの分離は Spe I 使用時 に比して Xba I 使用時の方が より良好かつ解析に適してい た。特に高分子領域において その傾向は顕著であった。

菌株	病院	届出	阻止円直径 (mm)			菌株	病院	届出	阻止円直径 (mm)		
No.	ID	要件	MEPM	IPM	CMZ	No.	ID	要件	MEPM	IPM	CMZ
170010		+	30	20	9	180156	F	-	33	26	6
170023	K	-	30	25	20	180167	F	-	30	25	6
170103	F	-	29	24	8	180168	F	+	10	10	6
170105	F	+	26	21	6	180176	Н	+	17	18	6
170107	F	-	30	27	6	180194	F	-	31	26	6
180070	F	-	30	25	14	180201	F	-	30	25	8
180071	F	-	31	26	13	190018	G	-	29	28	6
180072	F	-	29	26	6	190097	F	-	27	23	6
180085	D	+	26	22	7	190153	F	-	28	23	7
180086	D	-	29	23	7	190158	В	-	25	23	6
180107	А	-	34	31	6	190159	F	-	31	25	11
180124	F	-	30	25	9	190187	С	-	32	26	8
180125	F	-	31	25	9	190212	F	-	29	26	8
180151	G	+	30	22	6				_	•	_

表<u>1;感受性ディスクを用いた届出要件</u> 確認試験結果

届出要件の確認に、市内多数の病院では自動細菌同定装置による MIC 値を、当所ではディスク拡散法による阻止円直径を採用している。左表の数値は当所における各感受性ディスク使用時の阻止円直径を、またグレー網掛けは病院が届出時に確認に用いた薬剤を示す。

《感染症法上の定義 (ディスク法)》 感受性ディスク (KB) の阻止円直径が次の

- 感受性ディスク (KB) の阻止円直径が次の ①もしくは②を満たすこと。
- ①メロペネム (MEPM) **≤**22mm
- ②イミペネム (IPM)≦22mm かつ セフメタゾール (CMZ)≦12mm

届出時に確認に使用された薬剤は MEPM 単独が 1 株のみ、IPM+CMZ が 24 株、3 種すべてが 2 株であった。当所で実施した確認試験において届出要件を満たした株は 27 株中 6 株のみであった。

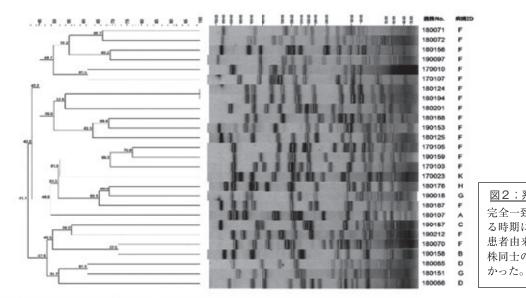


図2;系統樹解析結果 完全一致した2株(異なる時期に搬入された同一 患者由来株)を除き、菌 株同士の類似性は概ね低

北九州市内で検出されたノロウイルスの遺伝子型について(H24~H30)

微生物部門 〇木村尚志、濱田一志、菊地明日香、小畑勝也

はじめに

ノロウイルスは食中毒の主な原因物質の1つであり、2019年には事件数ではアニサキス、カンピロバクター属菌に次いで3番目に多く、患者数は最も多かった(厚生労働省「食中毒統計調査」)。

以前、平成28年度までの本市で検出されたノロウイルスの遺伝子型について中間報告としたが、今回、さらに平成30年度までの感染症サーベイランス(以下サーベイ)の感染性胃腸炎の検体及び食中毒事例の検体についてノロウイルスの遺伝子型の調査を行ったので報告する。

試料と方法

試料は平成24年度から平成30年度までにサーベイの感染性胃腸炎の検体として持ち込まれ、ノロウイルスが検出された糞便90検体及び平成25年度から30年度までに発生した食中毒事例(疑いを含む)のうち、ノロウイルスが検出され検体の残っていた17事例の検体を用いた。

遺伝子型はVP1領域についてダイレクトシークエンス法により遺伝子配列を解析し、Norovirus Genotyping Toolにより決定した。系統樹はMEGA5を用い近接結合法により作成した。

結果と考察

サーベイの検体からはGIが3つの型、GIIが7つ、計10の遺伝子型が検出された(表1)。GIは種類、検出数とも少なく、ほとんどがGIIであった。最も多く検出された遺伝子型はGII.4で42検体であった。そのうち31検体は現在主流の亜型GII.4 Sydney 2012であった。

次に多かったのはGII.3とGII.6で12検体ずつ検出された。GII.6は平成26年度に集中的に検出されその他の年度は少なかった。GII.3は平成25年度と30年度に多かった。平成25年に確認された、新型GII.P17-GII.17は平成25年度から29年度まで毎年検出された。

食中毒事例の検体からはGIが4つ、GIIが4つの遺伝子型が検出され、GI.2、GI.3、GI.6が2事例ずつ、GI.7が1事例、GII.2が4事例、GII.3が1事例、GII.4が5事例、GII.17が3事例検出され(表2)、1つの事例で複数の遺伝子型が検出された事例が3事例あった。3事例で検出されたGII.17は全てGII.P17-GII.17であった。平成25~27年度は全国的にはGII.4が多く次いでGII.3、GII.17であったが(国立感染症研究所「病原微生物検出情報」以下検出情報)、本市は平成26年度、27年度はGII.4の事例は少なかったがおおむね全国的な傾向と似ていた。平成28年度は全国的にGII.2が流行したのと同様にGII.2の事例が4/5を占めた。平成29、30年度はノロウイルスが原因の食中毒は少なかった。

検出数の多かったGIIについて見ると、サーベイ、食中毒事例ともに最も多く検出されたGII.4 (42/72)は、全国的に見ても過去10年の流行の主流であり、いくつかの亜株が存在する。平成24年には新たにSydney_2012亜株が出現している。

今回の調査で検出されたGII.4はSydney_2012亜株に属する株が2/3 (31/42) を占めた。その他はDen Haag_2006bに属する株、NewOrleans_2009に属する株で、これら3種の株がほとんどであった(図1)。NewOrleans_2009に属する株は平成25年度以降には検出されてないが、Den Haag 2006bに属する株は平成24年度と26年度に検出されている。これは

表1 サーベイの検体から検出されたノロウイルスの遺伝子型(年度別)

	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	計
GI.3	1	1		1				3
GI.6	1							1
GI.7		1						1
GII.2	5				1			6
GII.3	1	4	1	1			5	12
GII.4	16	6	10	1	4	4	1	42
GII.6		3	7		2			12
GII.13			2					2
GII.14	2							2
GII.17		2	3	1	1	1		8
GII.不明						1		1
合計	26	17	23	4	9	5	6	90

表2 食中毒事例の検体から検出されたノロウイルスの遺伝子型

たノロワイル人の退伍丁型						
日付	事例	遺伝子型				
2013.11	H25-1	GII.3				
		GII.4				
2013.12	H25-2	GII.4				
2014.2	H25-3	GII.4				
2014.4	H26-1	GI.2				
2015.2	H26-2	GII.17				
		GI.7				
2015.3	H26-3	GI.3				
2015.6	H27-1	GI.3				
2015.11	H27-2	GII.17				
2016.2	H27-3	GII.4				
2016.3	H27-4	GI.2				
		GII.17				
2016.4	H28-1	GI.6				
2016.11	H28-2	GII.2				
2016.12	H28-3	GII.2				
2016.12	H28-4	GII.2				
2017.2	H28-5	GII.2				
2017.4	H29-1	GII.4				
2018.9	H30-1	GI.6				

Sydney_2012に属する株が主流となっても消えることなく残り、時折感染をおこしていると考えられた。

平成25年に発見されたGII.P17-GII.17はKawa-saki323を含むグループと Kawasaki308を含むグループの2つのサブクラスター分けられる(検出情報)。本市でも平成25、27年度にサーベイから検出された3株と平成27年度の食中毒事例から検出された1株 (H27-2) はKawasaki323のグループに入り、平成26、28、29年度にサーベイから検出された4株と平成26、27年度に食中毒事例から検出された2株(H26-2、H27-4)はKawasaki308のグループ(Kawasaki308と100%一致)であったことから、始めにKawasaki323のグループの株が入ってきた後、Kawasaki308のグループの株が入ってきため、Cawasaki308のグループの株が入ってきため、Cawasaki308のグループの株が入った。

本市で平成28年度に流行したGII.2は同年度に流行した株とそれ以前の株との2つに分けられ(図なし)、前者は2017年に他都市で検出された株と非常に近かった。GII.2は平成28年度に流行して以来、全国的に報告数が増えており、GII.4に次ぐ報告数になっている(検出情報)。はっきりとは言えないが現在流行のGII.2はそれ以前とはやや異なっているかもしれないと思われた。またGII.3、GII.6も2つのグループに分けられた(図なし)。

今回、平成24年度から30年度までのノロウイルスの遺伝子型を調べていくつかの知見を得ることができた。遺伝子型を調べることでノロウイルスの変異を知ることや本市での流行の状況を把握し全国と比較することが可能だと思われる。近年は検出数が少ないが、必要に応じて遺伝子型を検索することによって情報を得られるようにしたい。

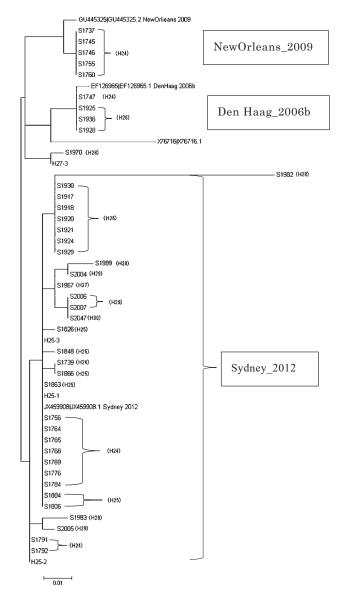


図1 GII.4の系統樹

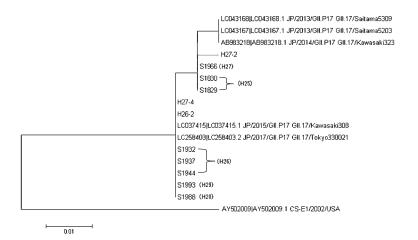


図2 GII.P17-GII.17の系統樹











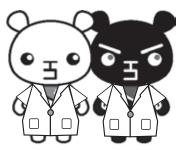


北九州市保健環境研究所報第48号(令和2年度)

₹804-0082

北九州市戸畑区新池一丁目2番1号 北九州市保健環境研究所 電話 (093) 882-0333 FAX (093) 871-2535 e-Mail ho-kenkyuu@city.kitakyushu.lg.jp

2111057A



©ていたん&ブラックていたん,北九州市