

第6部 報 文

目 次

オープン型ゲル浸透クロマトグラフィーを用いた多種類の残留農薬の 一斉分析法について	(生 活 衛 生)	67
生尿を使用した神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおいて 低VMA値を示す尿と希釈液 pH との関係について	(臨 床)	76
平成6年京都市結核・感染症サーベイランス事業における病原体 検査成績	(微 生 物)	81
日本脳炎流行予測調査及び日本脳炎ウイルス増幅抑制効果調査成績	(微 生 物)	89
皮はぎによる豚枝肉の細菌学的汚染検査について	(病 理)	93
京都市における高血圧症患者の受療実態 — 平成2年京都市患者調査結果から —	(疫 学 情 報)	96
池沼水質の降水による影響について — 「沢の池」の水質調査(平成6年度) —	(環 境)	102
沢の池の浮遊性及び底性珪藻について	(調 査 研 究)	107
微小酸素電極センサー部の形と酸素拡散電流の関係	(調 査 研 究)	115

Chapter 6 Reports

Contents

1. Simultaneous determination of pesticides residues by open gel permeation chromatography	(Food) ...	67
2. Effect of diluent pH on VMA and HVA recovery in mass-screening of neuroblastoma using raw urine samples	(Clin) ...	76
3. Isolation of pathogenic agents in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 1994	(Micr) ...	81
4. Epidemiological survey of Japanese encephalitis (JE) with reference to the effect of JE vaccine to swine in Kyoto City in 1994	(Micr) ...	89
5. The status of adherent bacteria flora in swine carcass	(Path) ...	93
6. Status of access to medical services for hypertensives in Kyoto City based on patients' survey in 1990	(Epid) ...	96
7. Influence of rainfall on the quality of water in the Sawano-ike pond in 1994	(Envir) ...	102
8. Planktonic and benthic diatom communities in the Sawano-ike pond	(Pub) ...	107
9. Relation between the tip shape and the oxygen diffusion current of an oxygen micro-electrode under the direct current flow	(Pub) ...	115

オープン型ゲル浸透クロマトグラフィーを用いた 多種類の残留農薬の一斉分析法について

生活衛生部門

Simultaneous determination of pesticides residues by open gel permeation chromatography

A method for simultaneous determination of 99 kinds of organonitrogen, organophosphorus, organochlorine, pyrethroid and other pesticides in agricultural products by open gel permeation chromatography and GC/MS was developed. The recoveries of pesticides added to 5 agricultural products were found to be more than 50% except for several pesticides.

Key Words: 一斉分析 simultaneous determination, オープン型ゲル浸透クロマトグラフィー open gel permeation chromatography, 質量分析計付きガスクロマトグラフィー gas chromatography - mass spectrometry (GC/MS), ピレスロイド系農薬 pyrethroid pesticide, 含窒素農薬 organonitrogen pesticide, 有機塩素系農薬 organochlorine pesticide, 有機リン系農薬 organophosphorus pesticide

I はじめに

わが国の農産物の残留農薬基準は、平成4年の改正¹⁾以後次々と追加改正され、平成6年6月告示分で103種の農薬について設定された。更に、数年のうちに200種以上の設定をめざしているといわれている。ところが、改正時に示されたこれらの分析方法は、そのほとんどが単成分分析法であり、操作時間などの点で日常の検査には適用し難い。

異なった系統の多種類の農薬を一斉に分析することは難しいだけに、これに関する報告^{2), 3), 4)}は少なく、また、その適用農薬の範囲も狭く、今後の開発が待たれるところである。

最近になって、ゲル浸透クロマトグラフィー（以後GPC）をクリーンアップに使用する方法が報告⁵⁾されるようになってきた。この方法は、極性や溶解性には基本的には支配されず、主として分子サイズによって分画できるため、異なった系統の農薬の同時クリーンアップ法として適した方法である。

そこで、我々は簡素化した直接抽出法とこのGPCの原理を応用した手軽なオープン型ゲル浸透クロマトグラフィー（以後open-GPC）を用いて、異なった5系統以上、150種以上の農薬を数種の一斉分析法で行うことを目指して検討中であるが、これまでに得られた結果について報告する。

II 実験方法

1. 試料

玄米、葉菜類、根菜類、果実類

2. 試薬

農薬標準溶液：ピレスロイド系農薬10種、含窒素農薬32種、有機塩素系農薬20種、有機リン系農薬32種及びその他の農薬5種、計99種について、残留農薬標準品から、それぞれの農薬の溶解性を考慮して、*n*-ヘキサン、トルエン、アセトンまたはメタノールを用い、1,000 µg/ml 標準溶液を調製し、冷暗所に保存した。この標準溶液から、添加回収実験用、機器分析標準用等の目的に応じて20~0.01 µg/ml の標準液及びいくつかのグループに分けた混合標準溶液を調製した。なお、濃度の薄い溶液については、用時調製した。

有機溶媒：*n*-ヘキサン、エチルエーテル、酢酸エチル、ジクロロメタン及びメタノールは、残留農薬試験用を用いた。トルエンは残留PCB試験用を用いた。シクロヘキサンは、分析に支障がないことを確認の上、同一メーカーの試薬特級を用いた。

その他の試薬：無水硫酸ナトリウムは、残留農薬試験用又は試薬特級をいずれも使用溶媒で洗浄した後用いた。

3. 装置

ガスクロマトグラフ：電子捕獲型検出器（以後ECD）、フレイムフォトリック型検出器（以後FPD）、窒素リン検出器（以後FTD）及び水素炎型検出器（以後FID）のうちの2種又は3種を搭載させた多段昇温式、キャピラリーカラム対応タイプのガスクロマトグラフ（以後GC）を用いた。

質量分析計付きガスクロマトグラフ：質量分析計付きガスクロマトグラフ（以後GC/MS）は、整数マス対応、イオントラップタイプ、クールオンカラムインジェクト式のものをを用いた。

4. 分析方法

1) 抽出

冷却し、素早く細切均一化した試料を遠沈管に秤量採取し、冷却した酢酸エチル及び飽和食塩水を加えディスペルスミキサーにかけた。柑橘類等については、この時点で炭酸ナトリウムを用いて pH 7 付近に調整した。遠沈後有機溶媒層を分取し、芒硝脱水カラムを通した後、クデルナーダーニッシュ型濃縮器 (KD濃縮器) で濃縮した。

2) open-GPC

(1) 溶出パターン表の作成

open-GPC は、内径 22mm×長さ 600mm のガラスカラムに Bio-Rad 社の Bio-Beads S-X 3 (200-400mesh) をジクロロメタン：シクロヘキサン=1:1(V/V)混液で、ゲルろ過剤の高さが 580mm になるよう気泡を発生させないように湿式充填した (約 53g)。このカラムに、農産物由来の脂質及び数グループに分けた農薬標準混液を静かにのせ、充填と同じ混液で毎分 2~3ml の流速で展開させた。試料をのせた時点を起点とし、脂質及び農薬の溶出する分画を 5ml ずつ分取し、脂質については重量法で、農薬については GC または GC/MS で定量し、溶出パターン表を作成した (Fig.3-1, Fig.3-2)。

(2) 実試料の open-GPC

実試料の場合は、4ml の試料溶液 (展開溶媒系に置き換え) を同様に展開させ、起点から 110~240ml を目的に応じていくつかの分画に分取し、必要な濃度になるように濃縮した。 (Fig. 1)

3) 定性及び定量

2) で得られた試料溶液を GC/MS (主にメタンを用いた化学イオン化法: CI 法) 及び各種 GC を用いて定性及び定量を行った。それらの条件は Table1-1, Table1-2 に示した。

III 結果及び考察

1. 抽出

極性、溶解性、安定性等が異なった多種の農薬を、数通りの抽出法で行うことは困難である。したがって、いくつかの農薬の抽出率の許容範囲を少し下げても、より多くの種類の農薬を同時に抽出し、かつ、操作中に分解を起こさせないために手順を短くする必要がある。このような観点から、低温下で直接、酢酸エチルで抽出する方法をとった。また、試料の種類によっては起こりうるゲル化を防ぎ、かつ、抽出率を上げる目的で、試料量に対して通常より多めの溶媒を使用した。

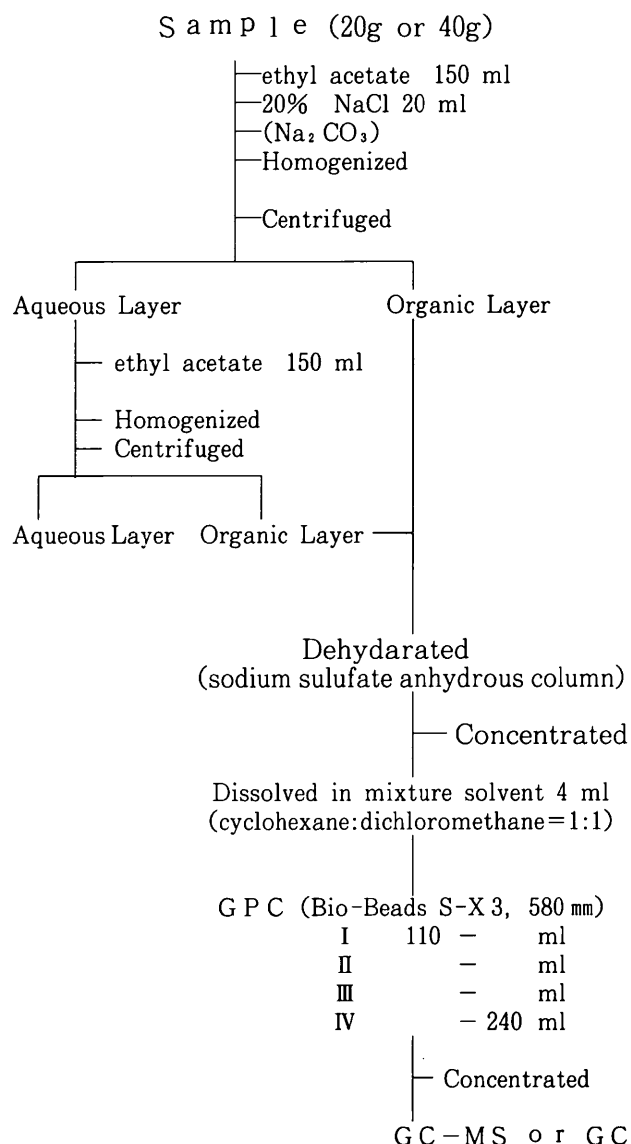


Fig. 1 Analytical procedure for 99 kinds of pesticides

今回示した抽出方法による抽出率は、クリーンアップを行わなくても少ない検体数であれば測定可能な有機リン系及び一部の含窒素系のデータから、また、それ以外の農薬については操作全体の回収率などから、ほとんどの農薬については良好と思われる。ただし、エチオフェンカルブ、プロバモカルブ、バミドチオンなど、特に極性の高い数種の農薬については、異なった溶媒系の抽出方法を併用する必要があると考えられる。

2. open-GPC による脂肪分、クロロフィル、色素などの除去と open-GPC 操作段階の各農薬の回収率

脂肪分、クロロフィルなどと農薬との分子サイズの差を利用する open-GPC を、いくつかのゲルろ過剤を用いてガラス製のオープンカラムで検討したが、これまでのとこ

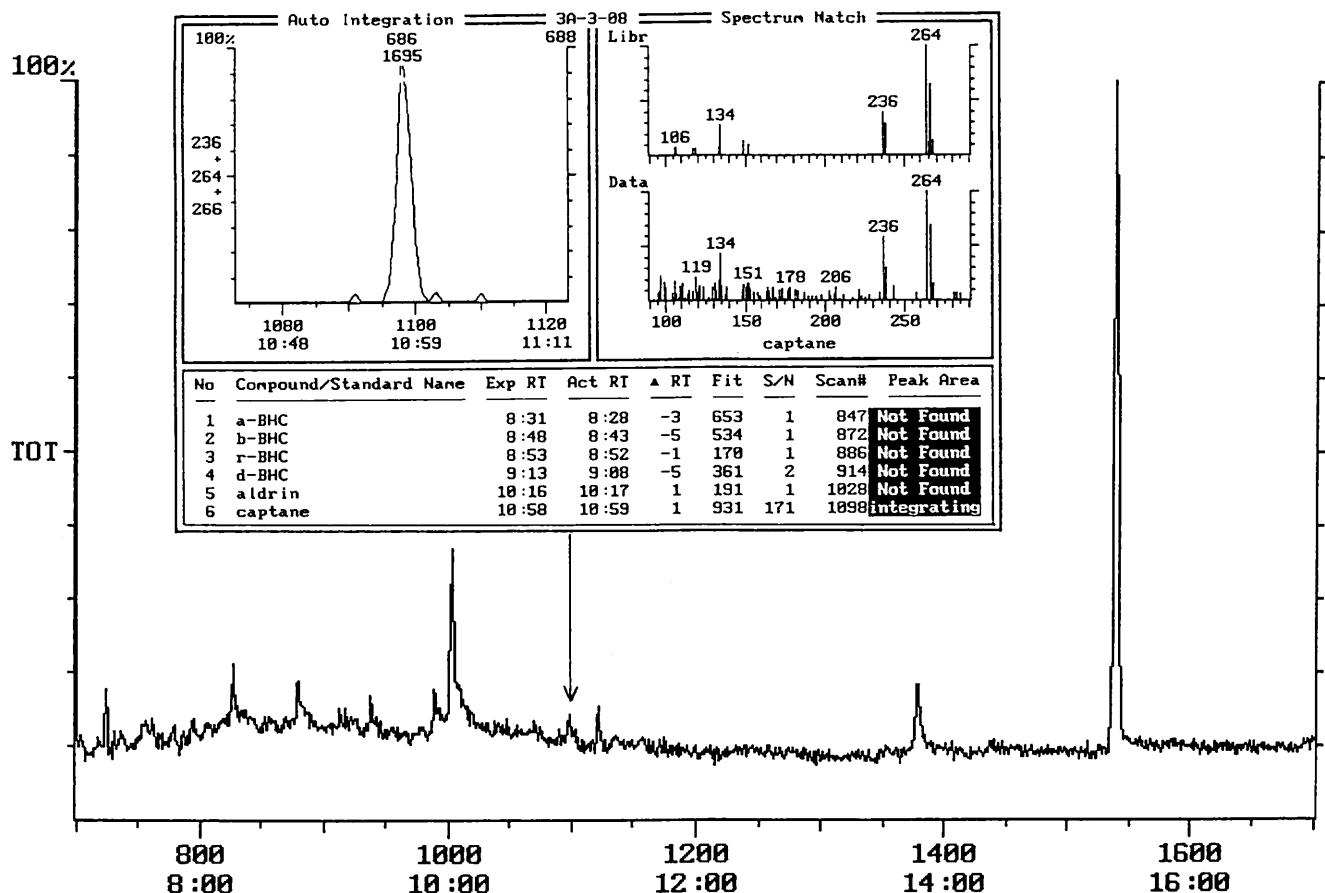


Fig. 2 Mass chromatograms and mass spectra of apple extract by CI-GC/MS auto integration

ろ、分離度及び溶出パターンの再現性等の点で、Bio-Rad社のBio-Beads S-X 3 (200-400 mesh) が最も目的に合致していた。当初、ゲルろ過剤の高さを280mmで検討したが、脂肪分と一部の農薬との分離が不十分であったので、580mmと長くすることによって分離の改善を試みた。現在までに検討した脂溶性農薬の中では、シハロトリン、フルバリネート、プレチラクロール、メトブレン及びカルボスルファンなど、いずれも長く広がった分子構造(分子量だけではない)を持つ農薬は、ゲル浸透の確率が低く、2～15%の脂肪分と重なって溶出してくる。その他の農薬は、ほぼ完全に分離できた (Fig. 3-1, Fig. 3-2)。柑橘類については、皮の精油の一部が農薬の分画に溶出する。

open-GPC操作段階の各農薬の回収率をTable 2の1列目に示した。ジクロロメタン：シクロヘキサン=1：1混液に溶解しにくい一部の農薬以外は、良好な回収率が得られた。農薬のタイプに関係なく、それぞれの分子サイズの差によってゲルの隙間に拡散を繰り返しながら移動しているものと思われる。

今回使用した open-GPCの充填剤の Bio-Beads S-X 3は、加圧状態で展開している間に10～20mm短くなり、静置しておくで回復する。また、充填したカラム間でも若干の溶出パターンのずれが生じる場合もある。このような現象は好ましいことではないが、素材の性質上やむをえない。しかし、変動を考慮してやや広めに分画することで対処できる。また、この充填剤は、100gあたり35,000円前後と安くはないが、時々取り出してメタノール等で洗浄しながら、かなりの頻度で一年以上使用してきたが、溶出パターンが変わってきた様子はなく、結果的には経済的な素材といえる。

3. 操作全体の添加回収率

玄米、ホーレン草、人参、りんご及びグレープフルーツの均一化した試料に、残留基準及び個々の農薬の分析機器の感度を考慮し、0.1～4.0 μg/gの農薬を添加して回収率を求めた (Table 2)。

エチオフェンカルブ、プロバモカルブ、など、特に極性の高い数種の農薬については、回収されないか、極めて低

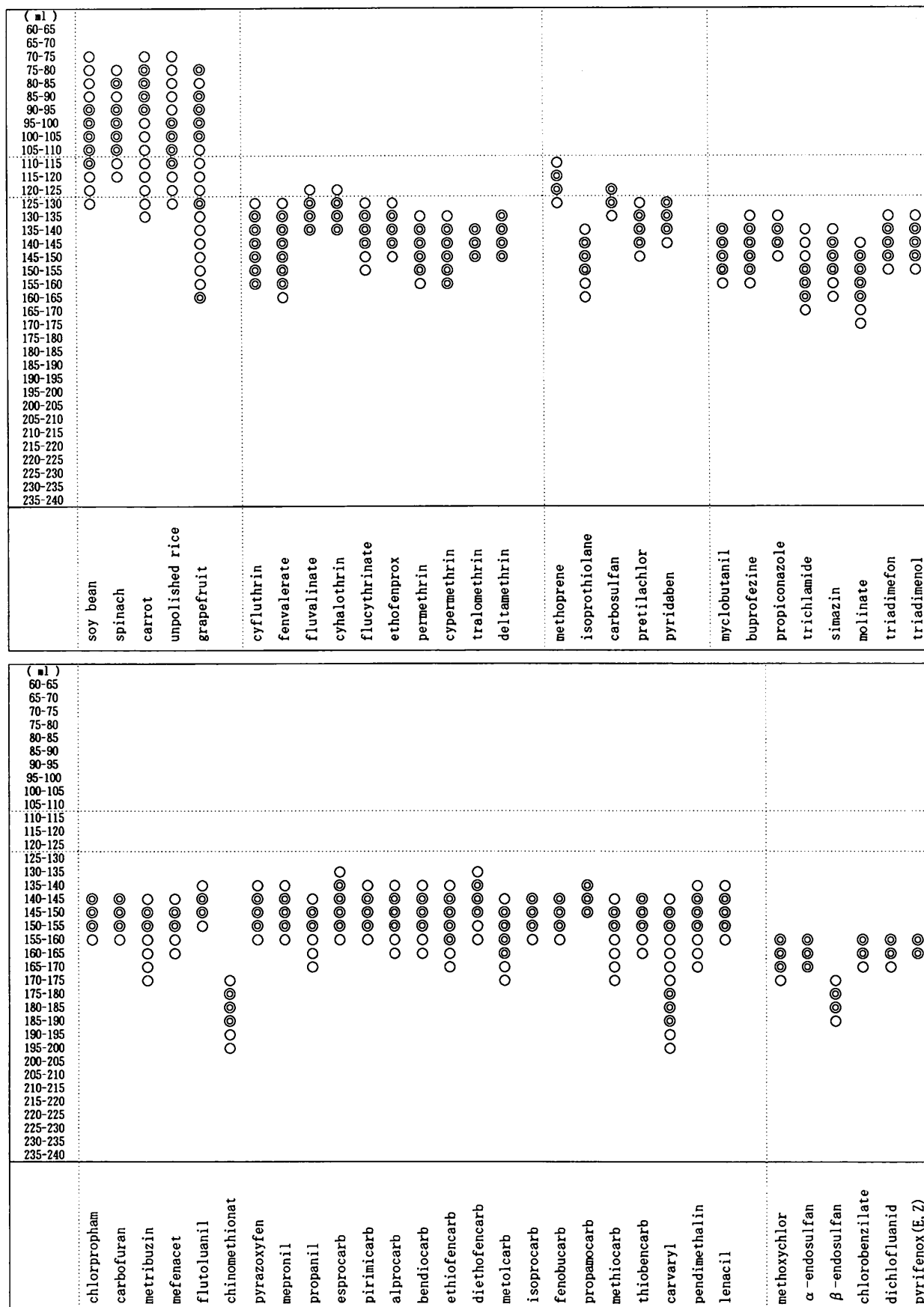


Fig. 3-1 Elution patterns in open gel permeation chromatography of 113 pesticides and vegetable lipids

Column : 22mmx600mm, Glass column

Gel for permeation : Bio-beads S-X3, 580mm high (ca. 53g)

Eluent : cyclohexane:dichloromethane = 1:1

○ : 1.0-9.9 % , ⊙ : over 10.0 %

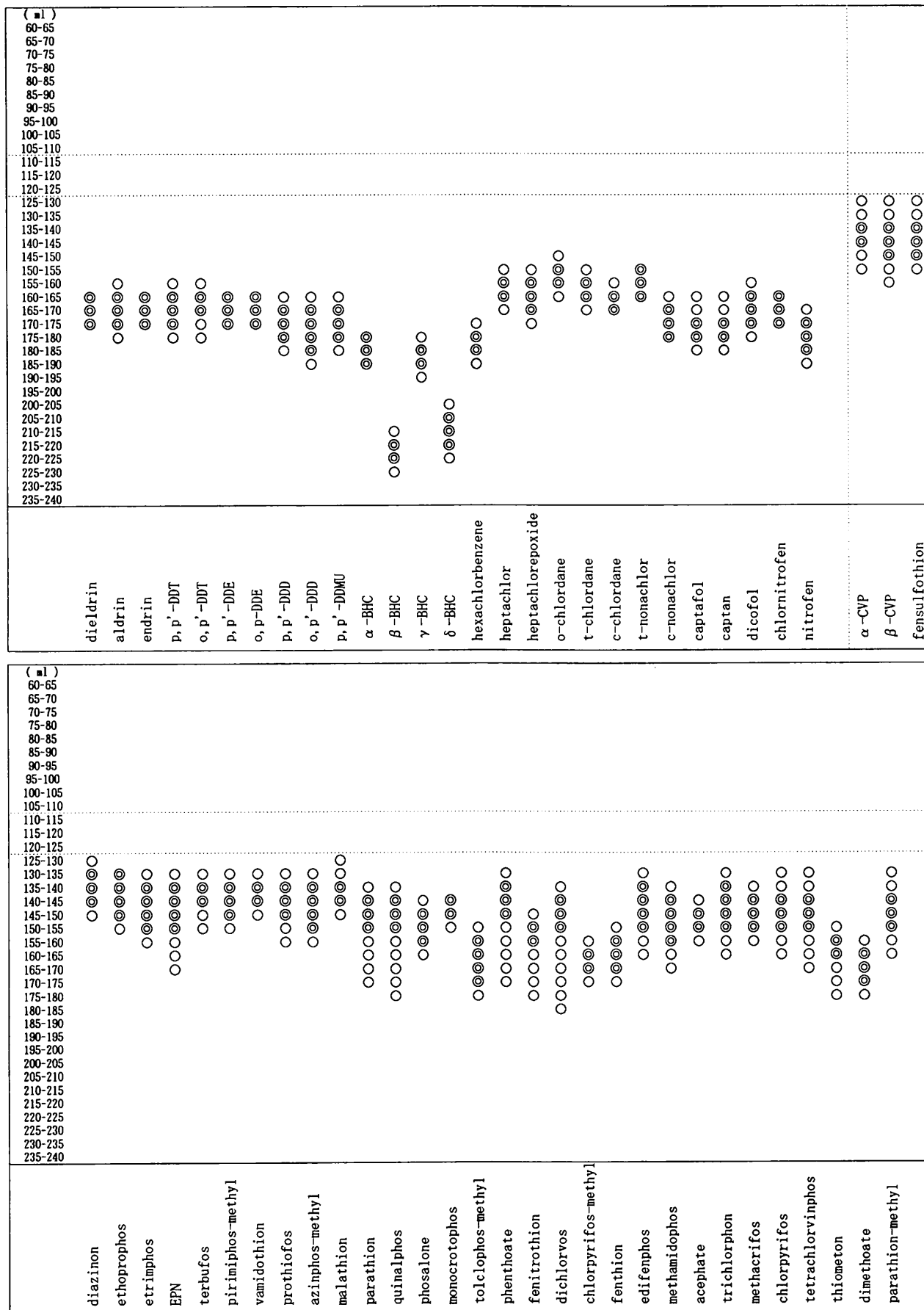


Fig. 3-2 Elution patterns in open gel permeation chromatography of 113 pesticides and vegetable lipids (continued)

Table 1-1 Comparison of fragment pattern by CI/GC/MS and relative retention times by GC

No.	Pesticides	Molecular formula	Molecular weight	Target ions	Relative retention times			
					GC/MS p, p'-DDE = 1.00 *1	GC-FTD pirimicarb = 1.00 *2	GC-FPD parathion = 1.00 *3	GC-ECD p, p'-DDE = 1.00 *4
1	cyfluthrin	C ₁₂ H ₁₈ ClFNO ₂	434.3	191, 193, 226	1.55, 1.57, 1.57, 1.58			
2	fenvalerate	C ₂₂ H ₂₈ ClNO ₄	419.9	167, 169, 208	1.73, 1.76			
3	fluvalinate	C ₂₂ H ₂₈ ClF ₂ N ₂ O ₄	502.9	208, 250	1.75, 1.77			
4	cyhalothrin	C ₂₂ H ₂₈ ClF ₂ NO ₂	449.9	208, 225	1.34, 1.37			1.36
5	flucythrinate	C ₂₂ H ₂₈ F ₂ NO ₄	451.5	199, 208	1.66, 1.68			1.68, 1.72
6	ethofenprox	C ₂₂ H ₂₈ O ₄	360.5	135, 177, 183	1.64			
7	permethrin	C ₂₂ H ₂₈ Cl ₂ O ₂	391.3	183, 211	1.47, 1.49			1.50
8	cypermethrin	C ₂₂ H ₂₈ Cl ₂ NO ₂	416.3	191, 193, 208	1.60, 1.61, 1.62, 1.63			1.69
9	tralomethrin	C ₂₂ H ₂₈ Br ₂ NO ₂	665.0	208, 281, 458	1.84			
10	deltamethrin	C ₂₂ H ₂₈ Br ₂ NO ₂	505.2	208, 281, 298	1.84			2.11
11	methoprene	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	310.5	191, 219, 237	0.94			
12	isoprothiolane	C ₁₂ H ₁₈ O ₂ S ₂	290.4	231, 291	0.99			
13	carbosulfan	C ₁₂ H ₁₈ O ₂ S	380.6	160, 381	1.22	1.47		
14	pretilachlor	C ₁₂ H ₁₈ ClNO ₂	311.9	252, 312	0.99	1.28		
15	pyridaben	C ₁₂ H ₁₈ ClN ₂ OS	364.9	147, 309, 365	1.49	1.63		
16	myclobutanil	C ₁₂ H ₁₈ ClN ₂	288.8	289, 291	1.01	1.28		
17	buprofezine	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ OS	305.4	191, 306	1.01	1.29		
18	propiconazole	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₂	342.2	256, 258, 342	1.13, 1.14	1.39, 1.40		
19	trichlamide	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ NO ₂	340.6	121, 148	0.96			
20	simazin	C ₁₂ H ₁₈ ClN ₂	201.7	202, 166	0.74	0.91		
21	molinate	C ₁₂ H ₁₈ NOS	187.3	188, 126	0.64	0.71		
22	triadimefon	C ₁₂ H ₁₈ ClN ₂ O ₂	293.8	197, 225, 294	0.87	1.13		
23	triadimenol	C ₁₂ H ₁₈ ClN ₂ O ₂	295.8	168, 227, 296	0.93	1.20		
24	chlorpropham	C ₁₂ H ₁₈ ClNO ₂	213.7	172, 200, 213	0.69	0.82		0.29
25	carbofuran	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂	221.3	165, 193, 222	0.74	0.90		
26	metribuzin	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ OS	214.3	198, 215	0.81	1.02		
27	mefenacet	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₂ S	298.4	148, 192, 299	1.34	1.55		
28	flutoluanil	C ₁₂ H ₁₈ F ₂ NO ₂	323.3	282, 324	0.98	1.26		
29	chinomethionat	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ OS ₂	234.3	175, 207, 235	0.95	1.22		
30	pyrazoxyfen	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₂	403.4	173, 175, 403	1.81	1.83		
31	nepronil	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂	269.4	228, 270	1.09	1.36		
32	propanil	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ NO	218.1	162, 190, 218	0.80	1.03		
33	esprocarb	C ₁₂ H ₁₈ NOS	265.4	196, 222, 266	0.85	1.10		
34	pirimicarb	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₂	238.3	166, 195, 239	0.78	1.00		
35	alprocarb	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂	209.3	153, 168, 210	0.67	0.78		
36	bendiocarb	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂	223.2	151, 167, 224	0.70	0.84		
37	ethiofencarb	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂ S	225.3	107, 164, 226	0.79	1.01		
38	diethofencarb	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂	267.3	226, 267	0.86	1.12		
39	metolcarb	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂	165.2	109, 137, 166	0.59	0.63		
40	isoprocarb	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂	193.3	137, 152, 194	0.63	0.71		
41	fenobucarb	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂	207.3	151, 152, 208	0.67	0.78		
42	propamocarb	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₂	188.3	129, 144, 189	0.55	0.56		
43	methiocarb	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂ S	225.3	149, 169, 197, 226	0.84	1.08		
44	thiobencarb	C ₁₂ H ₁₈ ClNOS	257.8	100, 125, 258	0.86	1.10		
45	carvaryl	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂	187.2	145, 173, 202	0.82	1.06		
46	pendimethalin	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₂	281.3	212, 282	0.90	1.17		
47	lenacil	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₂	234.3	153, 235	1.13	1.19		
48	methoxychlor	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ O ₂	345.7	237, 239, 309, 345	1.25			
49-a	α-endosulfan	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ O ₂ S	406.9	277, 343, 407	0.97			0.97
49-b	β-endosulfan	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ O ₂ S	406.9	277, 343, 407	1.06			1.08
50	chlorobenzilate	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ O ₂	325.2	251, 307, 309	1.05			1.06
51	dichlofluanid	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ FN ₂ O ₂ S ₂	333.2	126, 224, 226	0.85			0.80
52-a	pyrifenoxy(E)	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O	295.2	295, 297	0.95			
52-b	pyrifenoxy(Z)	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O	295.2	295, 297	0.92			
53	dieldrin	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ O	380.9	243, 245, 279	1.01			1.02
54	aldrin	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂	364.9	263, 293, 329	0.87			0.83
55	endrin	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ O	380.9	279, 281, 283	1.05			1.06
56-a	p, p'-DDT	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂	354.5	241, 243, 245, 319	1.14			1.16
56-b	o, p'-DDT	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂	354.5	241, 243, 245, 319	1.08			1.09
56-c	p, p'-DDE	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂	318.0	281, 283, 319	1.00			1.00
56-d	o, p'-DDE	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂	318.0	281, 283, 319	0.95			0.94
56-e	p, p'-DDD	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂	320.1	207, 209, 283	1.07			1.08
56-f	o, p'-DDD	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂	320.1	207, 209, 283	1.01			1.01
56-g	p, p'-DDMU	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂	283.5	171, 247, 283	0.95			0.93

Table 1-2 Comparison of fragment pattern by CI/GC/MS and relative retention times by GC (continued)

No.	Pesticides	Molecular formula	Molecular weight	Target ions	Relative retention times			
					GC/MS p, p'-DDE = 1.00 *1	GC-FTD pirimicarb = 1.00 *2	GC-FPD parathion = 1.00 *3	GC-ECD p, p'-DDE = 1.00 *4
57-a	α -BHC	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.9	181, 183, 217, 219, 221	0.72			0.60
57-b	β -BHC	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.9	181, 183, 217, 219, 221	0.74			0.64
57-c	γ -BHC	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.9	181, 183, 217, 219, 221	0.75			0.65
57-d	δ -BHC	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.9	181, 183, 217, 219, 221	0.78			0.68
58	hexachlorbenzene	C ₆ Cl ₆	284.8	283, 285, 287	0.73			0.62
59	heptachlor	C ₁₀ H ₆ Cl ₇	373.3	335, 337, 339	0.83			0.76
60	heptachlorepoxyde	C ₁₀ H ₆ Cl ₇ O	389.3	253, 287, 289	0.92			0.89
61-a	o-chlordane	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ O	423.8	151, 153	0.92			0.90
61-b	t-chlordane	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂	409.8	263, 301, 337, 373	0.94			0.94
61-c	c-chlordane	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂	409.8	263, 301, 337, 373	0.95			0.96
62-a	t-nonachlor	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂	444.2	135, 137, 169, 407, 409	0.95			0.97
62-b	c-nonachlor	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂	444.2	135, 137, 169, 407, 409	1.04			1.10
63	captan	C ₈ H ₈ Cl ₂ NO ₂ S	349.1	278, 312, 314	1.18			
64	captan	C ₈ H ₈ Cl ₂ NO ₂ S	300.6	152, 264, 266	0.93			
65	dicofol	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ O	370.5	195, 257, 259	1.26			0.84, 1.27
66	chlornitrofen	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ NO ₂	318.6	218, 320	1.11			1.14
67	nitrofen	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ NO ₂	284.1	238, 248, 246	1.04			1.07
68	dichlorvos	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₂ P	221.0	109, 221, 223	0.47		0.28	
69	terbufos	C ₄ H ₉ O ₂ PS	288.4	103, 231, 233	0.75		0.73	
70	monocrotophos	C ₇ H ₁₁ NO ₂ P	223.2	98, 127, 193, 224	0.70		0.84	
71	chlorpyrifos-methyl	C ₈ H ₁₀ Cl ₂ NO ₂ PS	322.5	125, 322, 324	0.81		0.84	
72	pirimiphos-methyl	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₂ PS	305.3	125, 306	0.84		0.88	
73	fenthion	C ₁₀ H ₁₁ O ₂ PS ₂	278.3	125, 153, 279	0.86		0.95	
74	vamidothion	C ₈ H ₁₁ NO ₂ PS ₂	287.3	146, 147, 288	0.95		1.21	
75	edifenphos	C ₁₀ H ₁₁ O ₂ PS ₂	310.4	201, 283, 311	1.12		1.25	
76	metacrifos	C ₈ H ₁₁ O ₂ PS	240.2	209, 210	0.61		0.50	
77	diazinon	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₂ PS	304.4	277, 305	0.76		0.73	
78	dimethoate	C ₈ H ₁₁ NO ₂ PS ₂	229.3	199, 230	0.73		0.85	
79	chlorpyrifos	C ₈ H ₁₀ Cl ₂ NO ₂ PS	350.6	153, 350, 352	0.86		0.91	
80	methyl parathion	C ₈ H ₁₀ NO ₂ PS	263.2	125, 264	0.81		0.93	
81	malathion	C ₁₀ H ₁₁ O ₂ PS ₂	330.4	127, 173, 331	0.85		0.95	
82	phenthoate	C ₁₀ H ₁₁ O ₂ PS ₂	320.4	163, 275, 321	0.92		1.03	
83	tetrachlorvinphos	C ₁₀ H ₆ Cl ₄ O ₂ P	366.0	127, 365, 367	0.95		1.08	
84	ethoprophos	C ₈ H ₁₁ O ₂ PS ₂	242.4	139, 167, 243	0.68		0.62	
85	etrimfos	C ₈ H ₁₁ N ₂ O ₂ PS	292.3	265, 293	0.77		0.77	
86	tolclophos-methyl	C ₈ H ₁₁ Cl ₂ O ₂ PS	301.1	125, 301, 303	0.81		0.87	
87	fenitrothion	C ₈ H ₁₁ NO ₂ PS	277.2	125, 137, 278	0.84		0.96	
88	parathion	C ₁₀ H ₁₁ NO ₂ PS	291.3	264, 292	0.87		1.00	
89	quinalphos	C ₁₀ H ₁₁ N ₂ O ₂ PS	298.3	243, 271, 299	0.92		1.02	
90	EPN	C ₁₀ H ₁₁ NO ₂ PS	323.3	185, 296, 324	1.24		1.37	
91	methamidophos	C ₈ H ₁₀ NO ₂ PS	141.1	112, 125, 142	0.45		0.36	
92	acephate	C ₈ H ₁₀ NO ₂ PS	183.2	125, 143, 184	0.57		0.59	
93-a	α -CVP	C ₁₀ H ₁₁ Cl ₂ O ₂ P	359.6	155, 183, 359	0.90		1.07	
93-b	β -CVP	C ₁₀ H ₁₁ Cl ₂ O ₂ P	359.6	127, 155, 359	0.92		1.02	
94	prothiofos	C ₁₁ H ₁₁ Cl ₂ O ₂ PS ₂	345.3	183, 345, 347	0.98		1.06	
95	fensulfothion	C ₁₀ H ₁₁ O ₂ PS ₂	308.4	293, 309	1.06		1.27	
96	azinphos-methyl	C ₁₀ H ₁₁ N ₂ O ₂ PS ₂	317.3	160	1.40		1.50	
97	thiometon	C ₈ H ₁₁ O ₂ PS ₂	246.4	90, 91, 125, 157	0.73		0.71	
98	phosalone	C ₁₀ H ₁₁ ClNO ₂ PS ₂	367.8	153, 182, 184	1.31		1.44	
99	trichlorfon	C ₃ H ₂ Cl ₃ O ₂ P	257.4	111, 221, 257, 259	0.59		0.14	

*1 pp'-DDE retention time : 11.97min.

*2 pirimicarb retention time : 11.48min.

*3 parathion retention time : 13.99min.

*4 pp'-DDE retention time : 17.81min.

GC/MS : Finnigan MAT MAGNUM

MS system : Ion trap type, Chemical ionized by methane, Inject system : Cool on column
 Carrier gas (He) : 10.0psi, GC temp.program : 60°C(1min.)-20°C/min. to 220°C-5°C/min. to 300°C
 Column : DB-5. 625(0.32mm*30m, 0.25 μ m)

GC-FTD : YANACO G3810

Carrier gas (He) : 20ml/min., Make up gas (He) : 1.2kgf/cm² at 70°C, Air : 0.5kgf/cm², H₂ : 0.5kgf/cm²
 Inject temp. : 260°C, Detector temp. : 280°C, GC temp.program : 80°C-10°C/min. to 280°C
 Column : DB-5(0.53mm*30m, 1.5 μ m)

GC-FPD : SHIMADZU GC-7AG(splitless)

Carrier gas (N₂) : 46ml/min., Make up gas (N₂) : 20ml/min., Air : 1.3kgf/cm², H₂ : 0.88kgf/cm²
 Inject temp. : 280°C, Detector temp. : 280°C, GC temp.program : 120°C-8°C/min. to 280°C
 Column : DB-1701(0.53mm*30m, 1 μ m)

GC-ECD : SHIMADZU GC-15A

Carrier gas (N₂) : 0.5kg/cm², Make up gas (N₂) : 30ml/min.
 Inject temp. : 280°C, Detector temp. 300°C, GC temp.program : 60°C-20°C/min. to 200°C-5°C/min. to 280°C
 Column : DB-5(0.53mm*30m, 1.5 μ m)

Table 2 Recoveries of various pesticides

Pesticides	Recovery (%)					
	(*)	(**)	(**)	(**)	(**)	(**)
		Unpolished	Spinach	Carrot	Apple	Grape-fruit
		rice				
cyfluthrin	92.4	108.9	101.3	100.9	103.9	107.5
fenvalerate	112.4	97.7	107.1	102.8	108.7	115.9
fluvalinate	100.0	105.9	108.4	91.2	104.4	107.7
cyhalothrin	104.0	97.6	92.7	82.7	96.3	93.1
flucythrinate	103.4	101.2	90.9	87.5	128.0	89.5
ethofenprox	102.6	96.7	99.2	101.7	99.0	96.0
permethrin	110.0	102.6	104.3	103.8	109.7	113.9
cypermethrin	108.0	113.2	106.5	89.8	118.5	97.3
tralomethrin	102.8	72.1	97.7	76.0	71.7	124.0
deltamethrin	118.7	95.3	104.2	102.2	97.2	102.6
methoprene	88.8	109.4	114.9	111.3	107.5	102.6
isoprothiolane	86.5	100.7	94.8	103.8	103.2	100.3
carbosulfan	96.7	30.9	36.3	99.7	24.2	46.7
pretilachlor	101.0	89.1	90.9	94.7	95.8	94.1
pyridaben	101.7	91.2	93.0	73.7	91.0	100.5
myclobutanil	95.2	63.3	89.2	65.3	68.9	107.0
buprofezine	90.3	103.8	100.8	112.7	99.1	104.2
propiconazole	82.1	80.1	72.8	89.2	74.9	56.1
trichlamide	126.3	168.0	144.4	117.3	149.9	117.9
simazin	100.7	101.3	105.4	105.3	102.2	99.5
molinat	81.5	89.4	109.0	76.4	96.0	82.3
triadimefon	111.0	103.2	99.9	102.1	108.3	86.0
triadimenol	114.3	85.5	126.9	79.6	81.4	64.3
chlorpropham	76.2	108.7	92.1	80.9	82.7	106.2
carbofuran	88.8	116.7	143.7	99.1	88.2	133.0
metribuzin	89.3	95.0	110.6	74.2	86.7	101.0
mefenacet	84.0	79.0	75.7	94.9	77.9	72.9
flutoluanil	97.3	79.9	143.3	92.6	93.8	160.7
chinomethionat	82.1	91.2	80.5	68.1	87.7	90.4
pyrazoxyfen	80.1	57.9	127.3	61.2	121.7	123.3
mepronil	84.9	115.3	118.0	121.3	119.9	124.0
propanil	110.2	146.6	172.2	132.4	132.4	108.5
esprocarb	104.8	94.0	117.0	97.2	100.9	94.0
pirimicarb	85.9	102.9	111.0	76.5	84.4	114.9
alprocarb	97.4	102.4	109.1	114.4	113.6	104.2
bendiocarb	104.4	110.4	103.3	119.3	114.7	107.4
ethiofencarb	57.0	23.8	0.0	10.5	3.7	16.9
diethofencarb	99.8	110.1	96.8	101.7	100.3	75.5
metolcarb	55.2	108.2	90.0	96.3	91.3	164.1
isoprocarb	58.5	104.1	100.5	102.2	80.3	98.5
fenobucarb	66.8	106.8	99.3	89.6	78.7	101.2
propamocarb	33.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
methiocarb	110.1	110.8	102.1	93.1	88.7	115.0
thiobencarb	83.4	93.6	87.5	107.2	83.0	108.1
carvaryl	122.3	109.4	105.0	87.7	104.3	144.3
pendimethalin	84.5	95.0	99.0	110.5	79.2	100.3
lenacil	106.7	94.5	114.6	91.8	113.9	90.9
methoxychlor	115.3	101.4	97.3	105.7	98.2	100.8
α -endosulfan	100.6	132.8	132.1	111.0	92.7	111.4
β -endosulfan	80.4	100.1	115.4	98.5	84.6	76.3
chlorobenzilate	115.2	47.3	69.4	56.0	55.2	99.5
dichlofluanid	101.0	95.7	103.9	103.8	123.8	106.5
pyrifenox(E)	103.8	106.6	117.2	113.0	110.8	110.6
pyrifenox(Z)	141.4	113.9	116.6	109.0	110.0	102.5
dieldrin	99.9	90.3	102.4	100.4	101.2	98.4
aldrin	97.0	104.1	94.7	91.0	84.1	91.2

Pesticides	Recovery (%)					
	(*)	(**)	(**)	(**)	(**)	(**)
		Unpolished	Spinach	Carrot	Apple	Grape-fruit
		rice				
endrin	93.9	98.0	98.3	89.1	95.4	98.1
p, p'-DDT	111.4	96.3	95.8	100.5	95.8	103.5
o, p'-DDT	91.5	104.0	104.7	82.1	95.1	102.1
p, p'-DDE	110.4	99.2	91.5	96.6	99.4	98.0
o, p'-DDE	84.1	99.3	111.5	97.6	93.9	97.3
p, p'-DDD	89.3	100.5	101.4	95.9	98.9	87.0
o, p'-DDD	105.3	94.0	96.9	79.4	97.0	100.5
p, p'-DDMU	102.3	103.7	96.5	100.7	100.5	103.8
α -BHC	87.3	94.9	87.3	80.2	96.7	78.1
β -BHC	107.2	71.7	94.0	94.7	102.2	88.9
γ -BHC	88.5	85.7	88.5	105.4	100.8	89.2
δ -BHC	97.3	98.7	85.6	78.9	101.5	70.2
hexachlorbenzene	85.1	93.1	99.5	98.6	90.1	89.0
heptachlor	94.9	102.0	70.3	34.1	75.9	83.4
heptachlorepoxyde	105.7	127.6	63.5	45.8	63.9	91.1
o-chlordane	96.0	57.8	57.4	50.0	68.1	33.7
t-chlordane	94.9	92.4	95.6	88.5	95.2	109.8
c-chlordane	87.3	100.3	96.8	93.2	91.4	95.6
t-nonachlor	68.6	60.5	84.1	77.6	76.4	46.0
c-nonachlor	50.9	57.3	74.3	50.9	45.0	35.3
captafol	137.7	133.7	132.0	121.8	140.0	105.7
captan	90.3	115.6	98.8	111.3	128.3	97.3
dicofol	94.8	96.0	115.5	102.8	112.2	110.1
chlornitrofen	116.9	98.9	92.1	92.7	103.8	97.9
nitrofen	108.5	89.8	90.6	113.3	109.6	126.1
dichlorvos	85.3	84.3	104.1	106.2	72.4	72.2
terbufos	88.6	75.9	98.6	97.4	60.9	83.7
monocrotophos	113.1	106.8	102.3	93.6	111.9	60.0
chlorpyrifos-methyl	78.4	88.1	101.1	85.4	107.9	91.4
pirimiphos-methyl	100.7	105.2	90.4	99.0	92.3	94.2
fenthion	94.1	74.7	96.2	100.3	66.9	86.7
vamidothion	91.5	58.9	82.6	77.3	0.0	77.3
edifenphos	105.0	102.0	99.1	99.5	91.8	100.7
metacrifos	95.9	86.0	90.6	98.5	111.1	102.7
diazinon	96.2	90.9	104.9	110.7	85.1	106.4
dimethoate	94.0	90.0	114.5	119.6	126.8	96.2
chlorpyrifos	96.6	90.9	104.6	116.8	108.0	112.4
methyl parathion	89.4	93.0	110.2	112.4	105.7	109.0
malathion	96.6	90.1	103.5	114.2	108.4	110.1
phenthoate	93.1	93.1	105.4	114.1	108.4	112.1
tetrachlorvinphos	103.1	94.6	111.4	109.8	108.0	112.4
ethoprophos	95.1	98.8	97.6	96.7	105.4	99.2
etrimfos	94.3	93.9	92.5	91.2	106.7	97.2
tolclophos-methyl	92.6	93.3	98.2	92.5	96.7	89.4
fenitrothion	102.2	92.7	101.2	94.4	97.1	93.9
parathion	101.5	93.8	101.3	93.2	97.5	98.2
quinalphos	101.7	96.9	101.9	92.8	100.7	95.4
EPN	106.4	95.8	98.5	92.6	96.0	95.1
methamidophos	89.5	88.4	76.7	78.0	50.0	36.1
acephate	105.8	93.2	76.9	72.5	48.6	40.6
α -CVP	95.6	80.5	98.8	122.4	106.3	89.3
β -CVP	91.0	89.8	100.6	118.8	105.6	103.5
prothiofos	87.5	81.1	119.7	118.4	109.0	105.9
fensulfthion	97.7	80.4	101.6	116.6	108.4	101.0
azinphos-methyl	98.7	83.7	102.1	116.6	105.6	98.9
thiometon	49.4	19.0	61.5	23.2	19.0	78.9
phosalone	92.9	91.7	96.0	78.2	99.1	85.8
trichlorfon	98.2	109.6	82.5	110.0	106.8	85.8

*: Values indicates the recoveries (%) of 4 μ g various pesticides after gel permeation chromatography

**: Amount (0.2-4ppm) of various pesticides to the agricultural products is added.

Values indicates the recoveries (%) after extract with ethyl acetate and purification using gel permeation chromatography

い結果であったが、ほとんどの農薬については、一斉分析法としては満足すべきものであると考える。

GC/MSによる定量値を採用すると、一部の農薬の回収率が100%をはるかに越える場合があるため、GCと併用して回収率を求めた。GC/MSによる一部の農薬の定量方法については、さらに検討が必要である。

Fig. 2 に実分析例として、当方法で処理したりんごから検出された captan(0.04ppm) のマスクロマトグラム及びマスフラグメントを示した。

IV ま と め

1. 有機塩素系農薬、含窒素系農薬、有機リン系農薬、ピレスロイド系農薬及びその他、計99種について酢酸エチル抽出、オープンタイプのゲル浸透クロマトグラフィーを用いた方法で一斉分析法を検討した。
2. 極性の高い一部の農薬を除いて、良好な結果が得られ、

回収率50%前後のものも含めて93種(うち残留基準設定農薬67種)の農薬の一斉分析が可能であることが判った。

3. この方法は、操作時間、経費などの点で優れており、また、適応範囲も更に広げることが可能であることが判った。

V 文 献

- 1) 平成4年10月27日, 厚生省告示239号
- 2) 後藤真康, 加藤誠哉: 残留農薬分析法, 増補残留農薬分析法 ソフトサイエンス社(1987)
- 3) 三好智子, 他: 食衛誌 36, 274-282 (1995)
- 4) 松本正義: 食衛誌 25, 410-417 (1984)
- 5) 堀伸二郎, 他: 平成5年度及び6年度地研全国協議会近畿理化学部会講演要旨集

生尿を使用した神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおいて 低VMA値を示す尿と希釈液pHとの関係について

臨床部門

Effect of diluent pH on VMA and HVA recovery from raw urine samples in the mass-screening of neuroblastoma

In our laboratory, a simple HPLC method with raw urine has been used for mass-screening of neuroblastoma(NB), where urine specimens were directly applied on HPLC-columns for measuring VMA and HVA after dilution with 0.1M-phosphoric acid. With this procedure, it was found that in some urine samples, VMA was not or scarcely detected in contrast to the presence of HVA and creatinine at normal concentration. As a cause of this peculiar phenomenon, we found that pH of the solution used for diluting samples has an essential influence on the appearance of such urine metabolites.

Key Words: 神経芽細胞腫 neuroblastoma, マス・スクリーニング mass-screening, VMA vanillylmandelic acid, 高速液体クロマトグラフィー HPLC

I はじめに

神経芽細胞腫のマス・スクリーニングは高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用い、生後6ヵ月児の尿中vanillyl-mandelic acid(VMA), homovanillic acid(HVA)を測定する方法(HPLC法)によって行われている。当所においても、昭和60年からこのHPLC法を用いた神経芽細胞腫のマス・スクリーニングを行ってきた。当所では生尿を用い0.1Mリン酸水溶液で希釈した後、溶媒による抽出操作を行わずHPLCによる測定を行う直接法を用いている¹⁾。この方法は、濾紙尿を用い、酢酸エチルを用いてVMA, HVAの抽出操作を行う抽出法に比べて簡便であり、また、抽出法の場合問題となる回収率を考慮せずにすむという長所を持つ。しかし、抽出法では通常のVMA値を示すにもかかわらず、直接法では低VMA値を示す尿があることが指摘されている。尿中には蛋白、核酸代謝物あるいは多種にわたる有機及び無機塩類等が含まれており、低VMA値を示す尿中には直接法によるVMAの検出を妨害するなんらかの物質が含まれていると考えられる。

そこで、今回従来の直接法を再検討し、尿試料調整の際用いる希釈液pHがこの低VMA値の出現に対する大きな要因となっていたことを見い出したので報告する。

II 材料及び方法

1. 試料と前処理法

尿試料としては6ヵ月児の尿を用いた。尿の前処理法と

しては3種の方法を用いた。

1) 従来法

尿0.15mlを採り、1.35mlの0.1Mリン酸水溶液で10倍希釈した後、その1mlを採り、3,000rpmで10分間遠心分離を行い不溶物を遠沈し、HPLC試料とした。残りの0.5mlはFolin-Wu法によるクレアチニンの測定に用いた。

2) クエン酸緩衝液法

クエン酸(和光純薬、特級)及びクエン酸ナトリウム(関東化学、特級)を用いて、pH 3~6の0.1Mクエン酸緩衝液を作成し、各々1.35mlを用いて尿を10倍希釈した後、上記と同様の操作を行った。

3) 抽出法

尿0.1mlを採り、1mlの7.5%食塩水を加えた後、更に0.4N塩酸を加えpHを約1に調整した。この溶液に酢酸エチル2mlを加え10分間攪拌した後、酢酸エチル層を採取する抽出操作を3回繰り返した。採取した酢酸エチル層は減圧下、50℃で溶媒を蒸散させた後、残渣を0.1Mクエン酸緩衝液(pH5.0)1mlで溶解しHPLC試料とした。

2. HPLC分析法

HPLCとして島津高速液体クロマトグラフシステム(LC-10AD, SCL-10A, SIL-10A, CTO-10A, クロマトパック-C-R4A)を用いた。VMA, HVAの分離はプレカラム(Cosmosil5C, 4.6mm×5cm, Nacalai tesque Inc.)を使用し、VMA測定用にShim-pac CLC-ODSカラム(6.0mm×15cm, Shimadzu Co., Ltd.), HVA測定用にYMC-AM302-ODS(YMC Co., Ltd.)を用いたカラムスイッ

ング法によって行った。移動層としてはVMA用として0.5%アセトニトリル含有0.02Mリン酸緩衝液(pH3.2), HVA用として12.5%アセトニトリル含有0.02Mリン酸緩衝液(pH3.3)を用いた。流速は1ml/分, カラム温度は55℃に調整した。

検出器としてはアンペロメトリー電気化学検出器(IRICA, Σ985)を用い, 加電圧750mVで測定した。

Ⅲ 結果及び考察

図1にVMA, HVAピーク高に対する希釈液pHの影響を示す。標準のVMA, HVAピーク高は希釈液pHの影響を受けなかったが, 従来法でVMAピークを検出しない尿検体の場合, 希釈液のpH2~3ではほとんどVMAピークを認めなかったが, pHの上昇と共にピーク高が増加し, pH5で最大となった。一方, HVAのピーク高はVMAほどpHの影響を受けなかった。

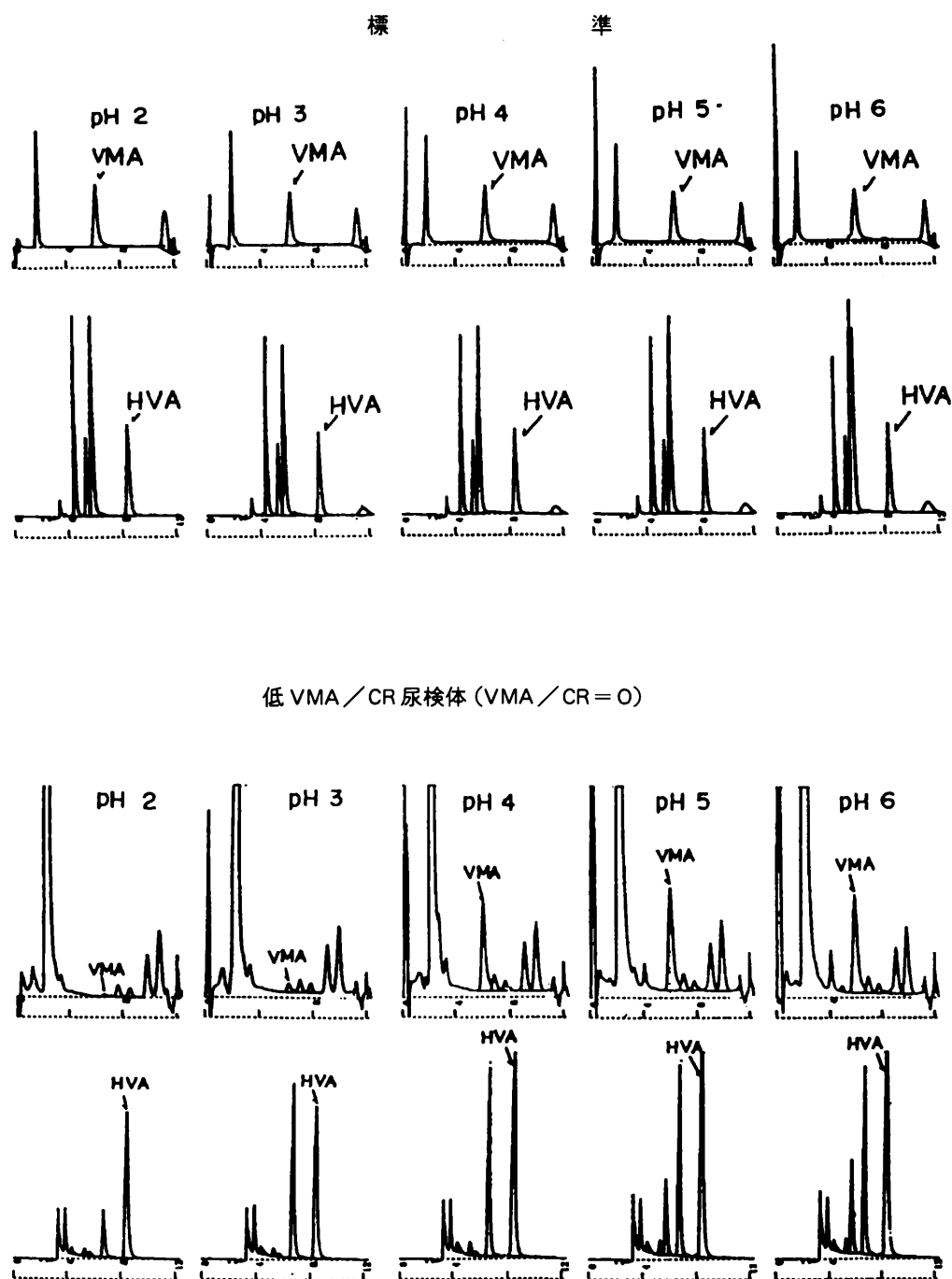


図1 希釈液pH値の違いによるクロマトグラム・パターンの変化

表1に従来法でVMAピークを検出しなかった尿検体に標準を添加した場合の回収率を示す。

VMAの場合、pH2~3ではその回収率は5.0~3.5%とほとんど回収されなかったが、pHの上昇と共に回収率は

急激に増加しpH5では99.5%と良好な回収率を示した。一方、HVAではVMAほどpHによってその回収率は変化しなかったが、pH5で最も良い回収率(97.9%)を示した。以上の結果はVMA、HVAはpH2~6の間で構造的に安

表1. 従来法でVMAを検出しない原尿に標準を添加した場合の回収率

pH	原 測 定 値 ^{b)}		原 尿 + 標 準 ^{a)} 期 待 値 ^{b)}		原 尿 + 標 準 ^{a)} 測 定 値 ^{b)}		回 収 率 (%)	
	VMA	HVA	VMA	HVA	VMA	HVA	VMA	HVA
2 ^{c)}	0	2,426	2,670	6,426	118	4,361	5.0	72.0
3	97	2,453	2,767	5,453	96	2,544	3.5	40.0
4	2,004	3,267	4,674	7,267	3,267	5,919	68.0	73.1
5	3,546	4,097	6,216	8,097	6,191	7,931	99.5	97.9
6	3,640	4,168	6,310	8,168	6,202	7,790	98.3	95.4

a): 原尿にVMA、HVA標準を各々2,670 $\mu\text{g}/\text{l}$ 尿、4,000 $\mu\text{g}/\text{l}$ 尿を添加した。

b): $\mu\text{g}/\text{l}$

c): pH2は希釈液として0.1Mリン酸水溶液を用いた。他は0.1Mクエン酸緩衝液で各々のpHに調整したものを希釈液として用いた。

定であることを示し、一部の尿検体で認められるVMA不検出の原因は、希釈液pHによるVMAの分解、変成に起因するものでなく、なんらかの妨害物質が生成されたためであることを示唆する。

表2に従来法、改良法(希釈液としてpH5の0.1Mクエン酸緩衝液を用いた)及び抽出法でVMA、HVAを測定

した場合のVMA、HVAの保持時間の変動を示す。

保持時間の変動幅は抽出法で最も小さく、従来法がこれに続いた。

一方、改良法の場合、VMA保持時間の変動は1.0%、HVA保持時間の変動は0.4%と最も大きく変動した。

表2. 従来法、改良法及び抽出法におけるVMA、HVA 保持時間の変動

	VMA(n=75)			HVA(n=75)		
	平均 値	標 準 偏 差	C. V.	平均 値	標 準 偏 差	C. V.
従 来 法	100.29	0.616	0.6	100.01	0.153	0.2
改 良 法	99.38	1.035	1.0	100.01	0.360	0.4
抽 出 法	99.92	0.234	0.2	100.00	0.164	0.2

保持時間 : 標準の保持時間を100とした場合の%を示す

従 来 法 : 希釈液として0.1Mリン酸水溶液を使用

改 良 法 : 希釈液として0.1Mクエン酸緩衝液 (pH=5.0)を使用

図2は一般尿検体を従来法、改良法及び比較的尿中の夾雑物質の影響を受けず、より正確な測定値を得られると考えられる抽出法でVMA/クレアチニン比、HVA/クレアチニン比を求めた場合の相関を示す。

従来法-改良法、従来法-抽出法及び改良法-抽出法のVMA/クレアチニン比の間において、改良法-抽出法が $r=0.794$ と最も良い相関を示した。

一方、図3のHVA/クレアチニン比の場合、従来法、

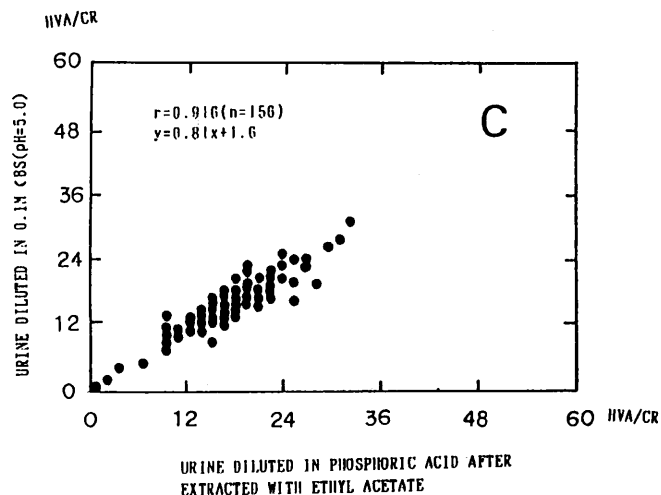
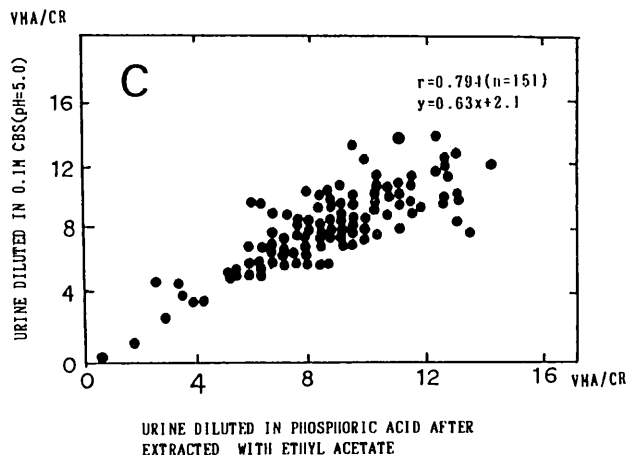
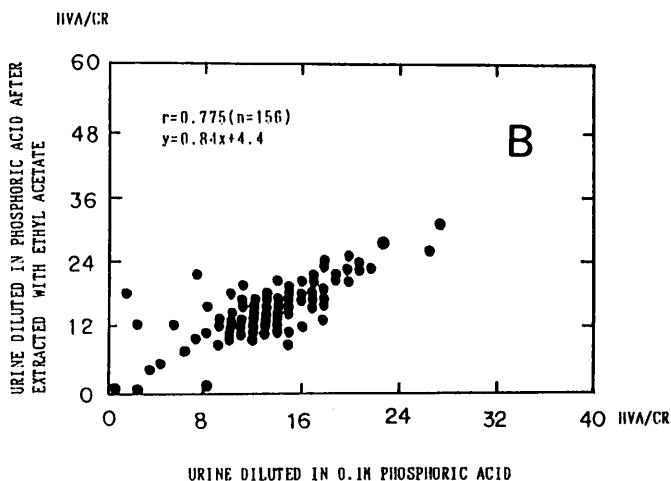
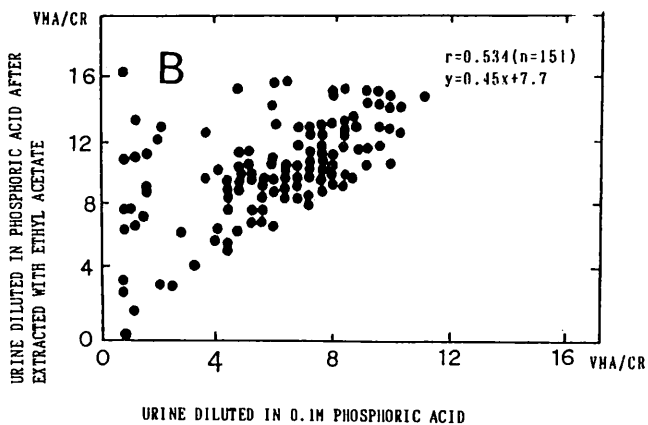
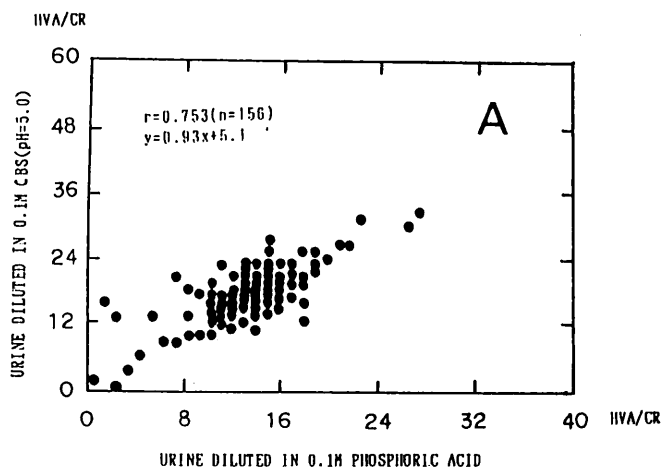
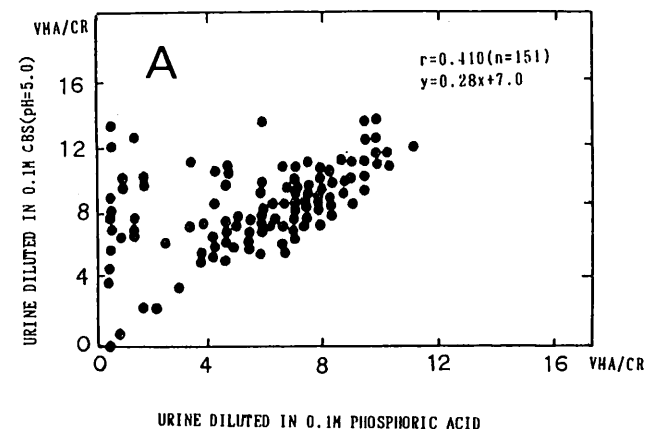


図2. 従来法、改良法及び抽出法間におけるVMA/クレアチニン比の相関

図3. 従来法、改良法及び抽出法間におけるHVA/クレアチニン比の相関

改良法，抽出法の間に良い相関を認めたものの，やはり改良法－抽出法が最も良い相関を示した ($r=0.916$)。

生尿を用いたNBマススクリーニングではHVAあるいはクレアチニンの値は正常にもかかわらずVMAがほとんど検出されない尿検体が散見される。今回，このVMA低値を示す尿検体について検討し，その原因および対策について検討した。

その結果，従来尿希釈液として用いる0.1Mリン酸水溶液に替えて，pH5～6のクエン酸緩衝液を用いることにより，ほぼ満足できる結果を得ることが明らかになった。

しかし，改良法でVMA,HVAを測定した場合，その保持時間の変動が従来法に比べて大きく，VMA，HVAピークの同定には注意が必要である。今後，HPLCカラムあるいは緩衝液の種類の検討が必要であろう。

IV 参考文献

- 1) Yoshikawa, S. et al.: J.Chromatography, 721,111-116 (1987)

平成6年 京都市結核・感染症サーベイランス事業における 病原体検査成績

微生物部門

Isolation of pathogenic agents in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 1994

Virological and bacteriological tests were performed using various specimens from patients in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 1994. Of 461 patients, 151 were positive for viral and/or bacterial agents. A total of 106 strains of viruses and 59 strains of bacteria were isolated. Yearly isolation rate of the agents per patient was 32.8%. Influenza viruses were isolated from February to April, mainly from the patients with influenza and acute upper respiratory tract inflammation, while enteroviruses were isolated from early summer to late fall mainly from the patients with summer flu or aseptic meningitis. Rotaviruses were isolated from January to June from the patients with infectious gastroenteritis and with infantile vomiting and diarrhea. Various types of viruses were mostly isolated in the age ranges of 1-4 years old and 5-9 years old. Some mixed infections of bacterial, such as *Haemophilus influenzae*, and viral, such as influenza virus were also observed.

Key Words: 感染症サーベイランス infectious disease surveillance, エンテロウイルス enterovirus, インフルエンザウイルス influenza virus, 病原細菌 pathogenic bacteria, ロタウイルス rotavirus

I はじめに

京都市は昭和57年度から京都市感染症サーベイランス事業を行っている。当所では本事業のうち、流行疾病の病原体検索を行い、検査情報の作成と還元を行うと共に、各種疾病と検出病原体との関連について解析を行っている。

なお、昭和62年度より本事業に性行為感染症(STD)サーベイランスが加えられた。本報告では、平成6年1月から12月までに実施した小児科検査定点及び病院検査定点の検査成績について述べる。

II 材料と方法

1. 検査対象疾病

平成6年1月から12月までに病原体検査を行った対象疾病は、感染性胃腸炎、乳児嘔吐下痢症、インフルエンザ様疾患、急性上気道炎、急性咽頭炎、扁桃炎、腺窩性扁桃炎、急性気管支炎・肺炎、夏かぜ様疾患、異型肺炎、クループ、ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、手足口病、無菌性髄膜炎、細菌性髄膜炎、脳・脊髄炎、口内炎、敗血症、溶血性連鎖球菌感染症、発熱及びその他17疾病の計38疾病であった。

2. 検査材料

検査材料は、市内3か所の検査医療定点(小児科定点・病院定点)の協力により採取されたもので、患者461人から、糞便99検体、咽頭ぬぐい液343検体、髄液67検体、尿16検体、眼結膜ぬぐい液2検体、皮膚病巣及びリンパ組織各1検体の計529検体が採取された。

3. 検査方法

1) ウイルス検査

検査材料の前処理、検査方法、検出ウイルスの同定は、前報¹⁾どおりである。

2) 細菌検査

病原細菌の分離法、同定法は、前報¹⁾どおりである。

III 成績

1. 月別病原ウイルス検出状況

各月の被検患者数をみると、6月及び7月が50～60人と多く、10月が44人でこれに次いでいた。他の月は、9月の27人を除き、30人台であった。病原体検出率は3月が50%以上の高率で、同月はウイルス検出率も47.4%と高かった。

被検患者461人中104人から計106株のウイルスを検出した。患者あたりの検出率は22.6%であった。

内訳はコクサッキーAが11株、コクサッキーBが10株、エコーが17株、ポリオが4株、ロタが16株、アデノが22株、インフルエンザA(H3N2)(A香港型)が15株、単純ヘルペスが4株であった。その他に未同定ウイルス7株を検出した。

検出ウイルスの主な型は、コクサッキーAは11株すべてが10型であり、コクサッキーBでは1型が10株中6株、エコーでは25型が17株中6株、アデノでは3型が22株中10株検出された。単純ヘルペスはすべて1型であった。

検出ウイルスの季節推移をみると、1月から3月にはインフルエンザとロタが主流であった。インフルエンザは2月から4月にA(H3N2)型のみを検出した。ロタは1月から4月まで3～4株ずつ検出されたが、5月及び6月にも検出された。5月から7月にはコクサッキーA10型の検出が続いた。この時期はコクサッキーB、エコーなど多種類のエンテロウイルスも検出した。アデノはほぼ全年にわたって6種類のいずれかが検出された(表1)。

2. 月別病原細菌検出状況

被検患者461人中59人から計59株の病原細菌を検出し、患者あたりの検出率は12.8%であった。

内訳は、主なものではインフルエンザ菌、A群溶血性連鎖球菌が各々14株、肺炎球菌9株、病原大腸菌7株等であった。

最多検出のインフルエンザ菌を主として2月から6月に、A群溶血性連鎖球菌を1月から3月、5月から7月、11月に、肺炎球菌を1月から4月、11月、12月に検出した(表1)。

3. 疾病別病原ウイルス検出状況

被検患者数の多かった疾病は急性上気道炎が106人と圧倒的に多く、夏かぜ様疾患、気管支炎・肺炎、急性咽頭炎等を加えた呼吸器感染症が、本年の総被検患者数の半数近くを占めた。次いで、感染性胃腸炎が61人で例年並であった。無菌性髄膜炎は被検患者数33人で、前年並であった。また、前年被検患者数の多かったインフルエンザ様疾患は、本年の低流行を反映して23人と少なかった。

主な疾病別のウイルス検出率は、手足口病、ヘルパンギーナ、乳児嘔吐下痢症、感染性胃腸炎が高率であり、インフルエンザ様疾患、気管支炎・肺炎がこれに次いで高かった。

主な疾病について同定済みウイルスの検出状況をみると、夏かぜ様疾患からコクサッキーB、エコー、アデノの5種6株、インフルエンザ様疾患からインフルエンザA(H3N2)、コクサッキーBの2種6株、ヘルパンギーナからコクサッキーA、コクサッキーB、アデノ、ヘルペスの5種11株、手足口病からコクサッキーA、エコーの2種5株、急

性上気道炎からコクサッキーA、コクサッキーB、エコー、アデノ、インフルエンザA(H3N2)の10種21株、無菌性髄膜炎からコクサッキーB、エコー、ポリオ、アデノの7種7株、感染性胃腸炎からロタ、エコー、ポリオ、アデノ、インフルエンザA(H3N2)の6種19株を分離した。乳児嘔吐下痢症からはロタ4株を分離した(表2)。

4. 疾病別病原細菌検出状況

主な疾病からの病原細菌検出状況をみると、急性上気道炎からA、B群溶血性連鎖球菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌の4種11株、感染性胃腸炎からサルモネラ、病原大腸菌、ウェルシュ菌等の4種11株、夏かぜ様疾患からA群溶血性連鎖球菌、インフルエンザ菌、黄色ブドウ球菌の3種8株、溶連菌感染症からA群溶血性連鎖球菌、インフルエンザ菌の2種6株を分離した(表2)。

5. 年齢層別病原ウイルス検出状況

被検患者の年齢層別分布をみると、0～4歳が340人で最も多く、次いで5～9歳の86人であり、10～14歳及び15歳以上は各々32人、3人と少なかった。

病原体検出状況を年齢層別にみると、患者あたりの検出率は0歳が28%、1～4歳、5～9歳が30～40%台で、他の年齢層に比べ高かったが、ウイルス検出率は1～4歳、5～9歳が25～28%であった。

検出ウイルスの種類は1～4歳が18種68株で最も多く、次いで5～9歳が11種22株、0歳では12種15株で、比較的低年齢層から多様なウイルスが検出された。10～14歳は1種1株であった。

エンテロウイルス群やアデノウイルス群については各年齢層の検出数が患者数に平行していたが、ロタについては1～4歳の検出数が多く、インフルエンザA(H3N2)については0歳の検出例がなかった(表3)。

6. 年齢層別病原細菌検出状況

検出細菌の種類は0歳が5種14株、1～4歳が8種32株、5～9歳が5種10株、10～14歳が2種2株、15歳以上が1種1株であった(表3)。

7. 主な疾病と病原体検出状況

1) インフルエンザ様疾患は1月から患者発生数が増加し、3月上旬にピークを示した後、急激に減少した。一方、インフルエンザウイルスA(H3N2)型は5週(2月上旬)から14週(4月上旬)まで毎週、インフルエンザ様疾患、急性上気道炎、気管支炎・肺炎、感染性胃腸炎などの患者から検出された。インフルエンザ様疾患患者発生状況とウイルス検出状況とは平行していた。

今年のインフルエンザ様疾患は、前年と異なり、低流行であり、A(H3N2)型のみにより引き起こされたものの、

表1 月別病原体検出状況（小児科定点分）

平成6年1月～12月

月		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計	病原体検出率 (%)
被検患者数		33	37	38	36	35	53	60	34	27	44	31	33	461	
検査材料	糞便	17	11	10	9	11	7	9	5	4	5	6	5	99	529
	咽頭ぬぐい液	24	29	28	25	22	44	44	28	20	28	24	27	343	
	髄液	3	1	3	4	1	3	12	5	5	18	6	6	67	
	尿	4	—	—	2	1	1	1	2	—	2	1	2	16	
	眼結膜ぬぐい液	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	2	
	皮膚病巣	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	
	リンパ組織	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
病原体検出患者数		12	14	20	10	15	21	22	10	6	7	7	7	151	32.8
患者あたりの検出率 (%)		36.4	37.8	52.6	27.8	42.9	39.6	36.7	29.4	22.2	15.9	22.6	21.2	32.8	
ウイルス	コクサッキーA10型	—	—	—	—	2	3h	6	—	—	—	—	—	11	6.7
	コクサッキーB1型	—	—	3	—	—	—	2	1	—	—	—	—	6	3.6
	コクサッキーB3型	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0.6
	コクサッキーB4型	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	0.6
	コクサッキーB5型	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	2	1.2
	エコー3型	1	—	1	—	—	1f	1	—	—	—	—	—	4	2.4
	エコー7型	—	—	—	—	—	—	2	—	1	—	—	—	3	1.8
	エコー11型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	0.6
	エコー18型	—	—	—	—	—	2i	—	—	—	—	—	—	2	1.2
	エコー25型	—	—	—	—	—	1	2	—	2	1	—	—	6	3.6
	エコー型別不能	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	0.6
	ポリオ1型	—	—	—	—	2	—	—	—	—	1	—	—	3	1.8
	ポリオ3型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1L	—	1	0.6
	ロタ	3	4	3b	4	1	1f	—	—	—	—	—	—	16	9.7
	アデノ1型	—	—	—	—	1	1	1	—	—	—	1m	—	4	2.4
	アデノ2型	—	—	—	1	1	—	—	—	—	1	—	—	3	1.8
	アデノ3型	—	—	—	—	—	—	2k	5	2	—	1L	—	10	6.1
	アデノ4型	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	0.6
	アデノ5型	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1n	2	1.2
	アデノ6型	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	2	1.2
細菌	単純ヘルペス1型	1	—	—	—	—	—	—	2	—	—	1	—	4	2.4
	インフルエンザA(H3N2)型	—	4a	10cd	1	—	—	—	—	—	—	—	—	15	9.1
	未同定ウイルス	—	—	—	—	2e	4gj	—	—	—	1	—	—	7	4.2
	A群溶血性連鎖球菌	2	3a	1	—	3e	1g	1	—	—	—	3	—	14	8.5
	B群溶血性連鎖球菌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1n	1	0.6
	G群溶血性連鎖球菌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	0.6
	肺炎球菌	1	1	2d	1	—	—	2	—	—	—	1m	1	9	5.5
	インフルエンザ菌	—	1	1c	3	3	5h	—	—	—	—	1	—	14	8.5
	サルモネラ	3	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	5	3.0
	ウェルシュ菌	—	—	—	—	—	—	1k	—	—	1	—	—	2	1.2
	黄色ブドウ球菌	—	—	—	—	—	3j	1	1	—	—	—	1	6	3.6
	病原大腸菌	1	1	1b	—	—	3i	—	—	—	—	—	1	7	4.2
計		12	15	23	10	16	26	23	10	6	7	9	8	165	100.0

a～n：同一被検者

表2 疾病別病原体検出状況（小児科・病院定点）

平成6年1月～12月

疾 病 名		感染性胃腸炎	乳児嘔吐下痢症	インフルエンザ様疾患	急性上気道炎	急性咽頭炎	扁桃炎	腺窩性扁桃炎	気管支炎・肺炎	異型肺炎	クループ	敗血症	夏かぜ様疾患	ヘルパンギーナ	咽頭結膜熱	手足口病	無菌性髄膜炎	細菌性髄膜炎	脳・脊髄炎	口内炎	発熱*	溶連菌感染症	その他	計	病原体検出比率 (%)
被検患者数		61	11	23	106	25	3	7	13	3	4	1	48	23	9	12	33	2	17	5	22	11	22	461	
検査材料	糞便	58	10	1	—	—	—	—	1	—	3	1	5	—	—	—	8	1	4	—	—	—	7	99	529
	咽頭ぬぐい液	6	4	23	106	25	3	7	13	3	4	1	44	23	8	12	9	—	5	5	21	11	10	343	
	唾液	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	5	—	—	—	32	2	16	—	1	—	9	67	
	尿	1	—	1	—	—	—	—	—	—	2	1	2	—	—	—	1	1	4	—	—	—	3	16	
	眼結膜ぬぐい液	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2	
	皮膚病巣	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	
	リンパ組織	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	
病原体検出患者数		26	6	7	30	6	0	2	6	2	2	0	15	12	2	7	6	1	0	3	8	7	3	151	32.8
患者あたりの検出率 (%)		42.6	54.5	30.4	28.3	24.0	0.0	28.6	46.2	66.7	50.0	0.0	31.3	52.2	22.2	58.3	18.2	50.0	0.0	60.0	36.4	63.6	13.6	32.8	
検出ウイルス	コクサッキーA10型	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	5h	—	4	—	—	—	—	—	—	—	11	6.7
	コクサッキーB1型	—	—	2	1	—	—	1	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	6	3.6
	コクサッキーB3型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	0.6
	コクサッキーB4型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0.6
	コクサッキーB5型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	2	1.2
	エコー3型	2f	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	4	2.4
	エコー7型	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	3	1.8
	エコー11型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	0.6
	エコー18型	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1i	2	1.2
	エコー25型	—	—	—	3	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	6	3.6
	エコー型別不能	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	0.6
	ポリオ1型	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	3	1.8
	ポリオ3型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1L	—	—	—	—	—	—	1	0.6
	ロタ	12bf	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16	9.7
	アデノ1型	—	—	—	—	—	—	—	1m	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	4	2.4
	アデノ2型	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	1.8
	アデノ3型	2k	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	2	1	1	—	1L	—	—	—	—	—	—	10	6.1
	アデノ4型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0.6
	アデノ5型	—	—	—	1n	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1.2
	アデノ6型	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1.2
	単純ヘルペス1型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	2	—	—	—	—	4	2.4
	インフルエンザA(H3N2)型	1d	—	4	7c	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	15	9.1
	未同定ウイルス	—	—	—	1e	1	—	—	—	—	1	—	2g	1j	—	1	—	—	—	—	—	—	—	7	4.2
細菌	A群溶血性連鎖球菌	—	—	1	2e	2	—	—	1	—	—	—	2g	—	—	—	—	—	—	1	—	5a	—	14	8.5
	B群溶血性連鎖球菌	—	—	—	1n	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0.6
	G群溶血性連鎖球菌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	0.6
	肺炎球菌	1d	—	—	2	—	—	—	1m	1	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	2	—	—	9	5.5
	インフルエンザ菌	—	—	—	6c	—	—	—	1	—	—	—	3	2h	—	—	—	—	—	1	—	1a	—	14	8.5
	サルモネラ	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	3.0
	ウェルシュ菌	2k	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1.2
	黄色ブドウ球菌	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	3	1j	—	—	—	—	—	—	—	—	1	6	3.6
	病原大腸菌	3b	2	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1i	7	4.2
計		30	6	7	33	6	0	2	7	2	2	0	16	14	2	7	7	1	0	3	8	8	4	165	100.0

*：臨床症状が発熱のみ

a～n：同一被検者

表3 年齢層別病原体検出状況（小児科定点分）

平成6年1月～12月

年 齢 (歳)		0	1～4	5～9	10～14	15 以上	計		病 原 体 検 出 比 率 (%)
被 検 患 者 数		100	240	86	32	3	461		
検 査 材 料	糞便	28	49	11	10	1	99	529	
	咽頭ぬぐい液	66	187	69	20	1	343		
	髄液	31	17	9	9	1	67		
	尿	7	6	2	1	—	16		
	眼結膜ぬぐい液	—	2	—	—	—	2		
	皮膚病巣	—	1	—	—	—	1		
	リンパ組織	—	1	—	—	—	1		
病原体検出患者数		28	93	27	2	1	151		
患者あたりの検出率（％）		28.0	38.8	31.4	6.3	33.3	32.8		
ウ イ ル ス	コクサッキー A 10 型	1	6	4 h	—	—	11		6.7
	コクサッキー B 1 型	2	3	1	—	—	6		3.6
	コクサッキー B 3 型	—	—	1	—	—	1		0.6
	コクサッキー B 4 型	1	—	—	—	—	1		0.6
	コクサッキー B 5 型	1	1	—	—	—	2		1.2
	エコー 3 型	—	4 f	—	—	—	4		2.4
	エコー 7 型	—	2	1	—	—	3		1.8
	エコー 11 型	1	—	—	—	—	1		0.6
	エコー 25 型	—	1	—	1 i	—	2		1.2
	エコー 30 型	1	3	2	—	—	6		3.6
	エコー 型別不能	1	—	—	—	—	1		0.6
	ポリオ 1 型	2	1	—	—	—	3		1.8
	ポリオ 3 型	—	1 L	—	—	—	1		0.6
	ロ タ	2	13 f	1 b	—	—	16		9.7
	アデノ 1 型	1	3	—	—	—	4		2.4
	アデノ 2 型	—	3 m	—	—	—	3		1.8
	アデノ 3 型	—	7 kL	3	—	—	10		6.1
	アデノ 4 型	—	—	1	—	—	1		0.6
	アデノ 5 型	—	2 n	—	—	—	2		1.2
	アデノ 6 型	1	1	—	—	—	2		1.2
	単純ヘルペス 1 型	—	3	1	—	—	4		2.4
	インフルエンザ A (H3N2) 型	—	10 d	5 c	—	—	15		9.1
	未同定ウイルス	1 e	4 j	2 g	—	—	7		4.2
細 菌	A 群溶血性連鎖球菌	2 e	9	3 a g	—	—	14		8.5
	B 群溶血性連鎖球菌	—	1 n	—	—	—	1		0.6
	G 群溶血性連鎖球菌	—	—	—	1	—	1		0.6
	肺炎球菌	3	5 d m	1	—	—	9		5.5
	インフルエンザ菌	3	7	4 a c h	—	—	14		8.5
	サルモネラ	1	2	1	—	1	5		3.0
	ウェルシュ菌	—	2 k	—	—	—	2		1.2
	黄色ブドウ球菌	5	1 j	—	—	—	6		3.6
	病原大腸菌	—	5	1 b	1 i	—	7		4.2
	計	29	100	32	3	1	165		100.0

注) a～n: 同一被検者

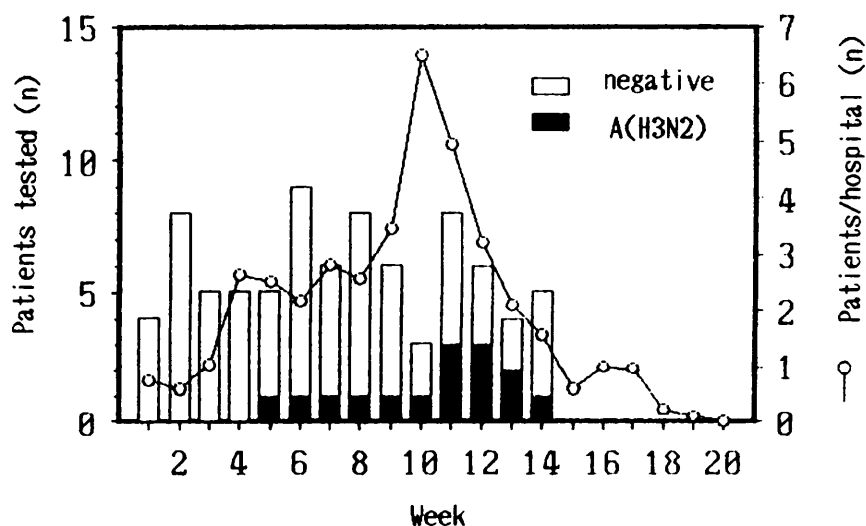


Fig.1. Seasonal prevalence of patients with influenza, and weekly isolation of influenza virus.

2か月以上にわたってウイルスが検出され続け、流行期間の長かったことが特徴であった (Fig. 1)。

2) ロタウイルスは1月から4月の各月3～4件検出されたほか、5月及び6月にも各1件検出された。検出された患者のほとんどが0～4歳であり、その疾患は感染性胃腸炎が12件、乳児嘔吐下痢症が4件であった。

感染性胃腸炎の患者発生状況とロタウイルス検出状況を見ると (Fig. 2), 患者発生の前半の山とロタウイルス検出状況は平行していたが、後半の山 (11～12月) の時期はロタウイルスは検出されなかった。この傾向は乳児嘔吐下

痢症でも同様であった。

今年は、ロタウイルスの検出期間が長びき、春から初夏にかけても検出されるという全国的傾向²⁾が、本市でも明瞭に認められた。

3) コクサッキーA群ウイルスとして、本年は10型のみが5月から7月の、主としてヘルパンギーナと手足口病患者から検出された。検出のピークは7月であった。

コクサッキーA群が1シーズンに1種しか検出されなかったのは本市の感染症サーベイランス事業開始以来初めてのことであった。

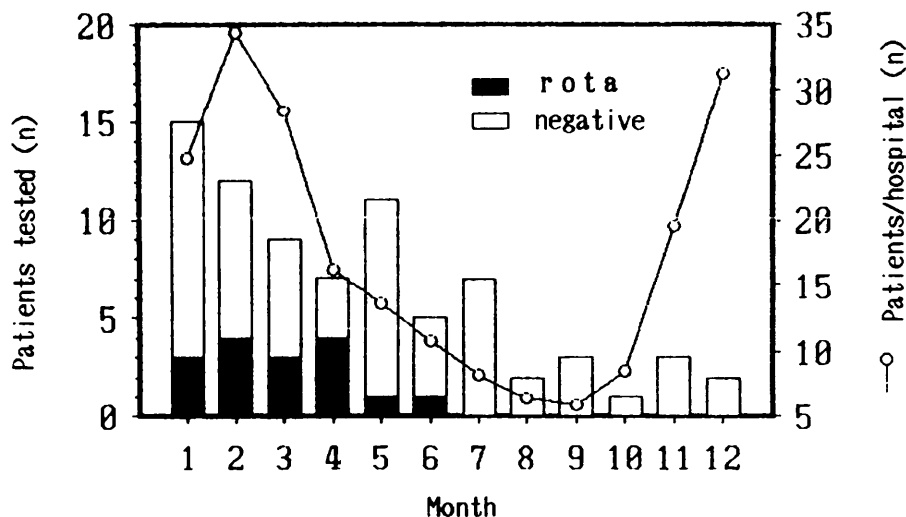


Fig.2. Seasonal prevalence of patients with infectious gastroenteritis, and monthly isolation of rotavirus.

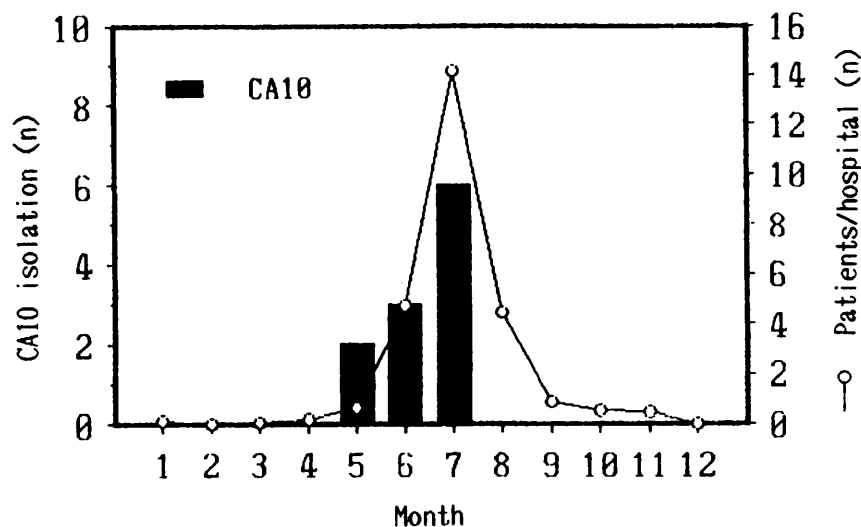


Fig.3. Seasonal prevalence of patients with herpangina, and monthly isolation of coxsackievirus A10.

ヘルパンギーナ患者発生状況とコクサッキーA10型検出状況とを比較すると (Fig. 3), 患者は7月をピークに6月～8月に発生数が多く, ウイルス検出状況と平行していた。また, 手足口病の流行状況もヘルパンギーナと同様であった。これらの成績から, コクサッキーウイルスA10型

が本市における本年の上記2疾患の主要な起因病原体であったと推測された。

8. 検体別・検出方法別病原ウイルス検出状況

コクサッキーAは, 哺乳マウスで全例が検出されたほか, RD-18Sでも約半数が検出された。コクサッキーBはFL,

表4 検出方法別病原ウイルス検出状況

平成6年1月～12月

検出ウイルス	検体の種類				検出株数	培養細胞					哺乳マウス	EIA
	糞便	咽頭ぬぐい液	髄液	尿		FL	RD-18S	WI-38	Vero	MDCK*		
コクサッキーA10型	—	11	—	—	11	—	7	—	—	—	11	—
コクサッキーB1型	—	4	1	1	6	4	—	—	5	—	—	—
コクサッキーB3型	—	1	—	—	1	1	—	—	1	—	—	—
コクサッキーB4型	—	1	—	—	1	1	—	—	1	—	—	—
コクサッキーB5型	1	1	—	—	2	2	—	—	1	—	—	—
エコー3型	2	2	—	—	4	1	4	2	—	—	—	—
エコー7型	1	2	—	—	3	—	3	1	2	—	—	—
エコー11型	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—
エコー18型	1	1	—	—	2	—	2	—	—	—	—	—
エコー25型	1	6	—	—	7	—	7	5	—	—	—	—
エコー型別不能	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—
ポリオ1型	2	—	—	1	3	2	2	1	3	—	—	—
ポリオ3型	1	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—
ロタ	16	—	—	—	16	—	—	—	—	—	—	16
アデノ1型	—	4	—	—	4	4	—	1	—	—	—	—
アデノ2型	—	3	—	—	3	3	—	2	—	—	—	—
アデノ3型	3	7	—	—	10	7	—	10	—	—	—	—
アデノ4型	—	1	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—
アデノ5型	—	2	—	—	2	2	—	—	—	—	—	—
アデノ6型	—	2	—	—	2	2	—	1	—	—	—	—
単純ヘルペス1型	—	4	—	—	4	3	3	3	3	—	2	—
インフルエンザA(H3N2)型	—	15	—	—	15	—	—	—	—	15	—	—
未同定ウイルス	—	7	—	—	7	1	6	6	—	—	—	—
計	30	74	1	2	107	34	36	32	17	15	13	16

注) *: 1月～4月に使用

Veroで分離された。エコーはRD-18Sで全例検出されたほか、一部WI-38, FL, Veroでも分離された。アデノはFLでの検出例が多かったが、WI-38等で分離されたものも多く、いずれか一方の細胞のみで検出された例も見られた。単純ヘルペスはFL, RD-18S, WI-38, Veroのほか、一部は哺乳マウスでも分離された。

インフルエンザA(H3N2)型は、すべてMDCKで分離された(表4)。

IV 考 察

1. 患者あたり病原体検出率は、約33%と必ずしも高くはなかった。培養細胞法などによるウイルス検査態勢はほぼ確立されているが、これらの方法では検出感度の低いウイルスや検出困難なウイルスもあり、検出率を向上させるため、更に技術的検討が必要である。

また、本年も同定困難ウイルスが数株検出された。これらは呼吸器感染ウイルスと思われるが、市販免疫血清がほとんどないため、血清学的同定は困難な状況にあり、これらウイルスの同定のための技術的検討も今後必要と思われる。

2. インフルエンザA(H3N2)型は、定型的インフルエンザ様疾患患者以外に、各種の呼吸器感染症患者からも検出された。これはインフルエンザの臨床症状の多様性を示すものであろう。近年、インフルエンザウイルスに起因する脳症等のケースも見られることから²⁾、検査対象を広げ、必要な場合、鼻咽頭ぬぐい液だけでなく髄液などについても検査を実施する必要もあると思われる。

3. 1月以降6月まで引き続いたロタウイルスの検出は、この時期の感染性胃腸炎及び乳児嘔吐下痢症の起因病原体としてロタウイルスが高い比重を占めることを示している。

一方、11～12月の流行期のこれら2疾患患者からはロタウイルスを検出しなかった。下痢症ウイルスは多種知られており、感染性胃腸炎及び乳児嘔吐下痢症に対するこれらウイルスの関与を検討する必要がある。現在確立されつつあるC群ロタウイルス、一部の小型球形ウイルス等の抗原検出法³⁾が早期に商品化されることが望まれる。

4. コクサッキーA10型は主としてヘルパンギーナ及び手足口病患者から検出された。手足口病の主要な起因病原体とされるコクサッキーA16型及びエンテロウイルス71型²⁾が検出されなかったことから、本年の本市における手

足口病はコクサッキーA10型が主要な起因病原体であったと考えられる。

5. 分離されたA群溶血性連鎖球菌14株のT型別は、12型が4株、4型、1型が3株の他、9型、T5/27/44型等であった。

V ま と め

1. 被検患者461人中151人から、ウイルスではコクサッキーA、コクサッキーB、エコー、ポリオ、ロタ、アデノ、ヘルペス、インフルエンザ及び未同定ウイルスの計106株と、細菌ではA、B、G群溶血性連鎖球菌、インフルエンザ菌、肺炎球菌、病原大腸菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、ウェルシュ菌の計59株が検出され、検出率は全体で32.8%であった。

2. 疾病別病原体検出率は、感染性胃腸炎、乳児嘔吐下痢症、ヘルパンギーナ、手足口病等で高く、無菌性髄膜炎、夏かぜ様疾患、インフルエンザ様疾患等ではやや低かった。

3. ウイルスでは、2月から4月にはインフルエンザ様疾患等からインフルエンザウイルスを、また、1月から6月には感染性胃腸炎と乳児嘔吐下痢症患者からロタウイルスを検出した。夏季から秋季にかけコクサッキーA群、コクサッキーB群、エコー群を主としたエンテロウイルスを、急性上気道炎、夏かぜ様疾患、無菌性髄膜炎等の患者から検出した。また、夏かぜ様疾患、急性上気道炎等の患者からアデノウイルス群を検出した。

4. 年齢層別のウイルス検出率は0～4歳から5～9歳まで大差なかった。検出ウイルス種数は被検患者数の多少にほぼ比例し、0～4歳で最も多く、5～9歳がこれに次いでいた。

VI 文 献

- 1) 京都市衛生公害研究所微生物部門：同研究所年報，No.60, 65-74 (1994)
- 2) National Institute of Health, Japan: Annual report on findings of infectious agents in Japan, 1992, Jpn. J. Med. Sci. Biol., 46(Suppl.), 1-155(1993)
- 3) Jiang, Xi, et al.: Detection of Norwalk virus in stool using polymerase chain reaction, J. Clin. Microbiol., 30, 2529-2534 (1992)

日本脳炎流行予測調査及び日本脳炎ウイルス増幅抑制効果調査成績

微生物部門

Epidemiological survey of Japanese encephalitis (JE) with reference to the effect of JE vaccine to swine in Kyoto City in 1994

Epidemiological studies on Japanese encephalitis virus in Kyoto City were carried out in 1994. The numbers of *Culex tritaeniorhynchus*, vector mosquito of JE virus, captured with light traps in a pig shed were 15 to 547 per trap throughout the summer season. No JE virus could be isolated from these mosquitoes. The swine reared in the pig shed were confirmed to have acquired HI antibody with vaccination conducted prior to the epidemic season. Titers of HI antibody in the most of the swine did not rise significantly after the summer season, indicating a few traces of natural infection of JE virus in the city. Positive rate of HI antibody to JE virus in 274 adult citizens in a separate survey was 56.9 %, which showed no significant difference with that in 1983.

Key Words : 日本脳炎ウイルス Japanese encephalitis virus, コガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus*, 日本脳炎ワクチン Japanese encephalitis vaccine, HI 抗体 HI antibody

I はじめに

全国の日本脳炎に関する調査成績を見ると、ここ数年の日本脳炎ウイルス汚染は西日本偏在型から再び東日本へも拡大し、広範囲の地域で認められるようになっている。更に、近畿は九州と共に汚染開始が最も早いことから、依然として警戒が必要である。

本市は、日本脳炎予防対策の一環として、市内全豚に対するワクチン接種を実施している。そこで、ワクチン接種による日本脳炎ウイルスの増幅抑制効果を検討すると共に、蚊とウイルスの動向を的確に把握して流行形態の変化を速やかに察知することを目的に、以下の調査を実施した。

1. 蚊の季節消長調査
2. ウイルス侵襲状況調査
3. ブタに対するワクチン接種によるウイルス増幅抑制効果の調査
4. 市民の抗体保有状況調査

II 調査方法

1. 野外調査

1) 調査地

昭和40年以来、市南部の鴨川流域にある養豚場の多い地域で各種野外調査を継続実施しており、本年もここを調査地に選定した。調査地の概要は前報¹⁾のとおりである。

2) 蚊の消長調査

媒介蚊であるコガタアカイエカの季節消長を6月13日から9月12日まで、前報¹⁾の方法により調査した。

3) 豚舎内採集吸血蚊のウイルス感染率調査

豚集団のウイルス感染状況及び、感染豚から吸血した蚊の感染状況を把握するため、6月13日から9月12日まで、前報¹⁾の方法により、吸血コガタアカイエカを採集、飼育し、ウイルス分離を行い、野外蚊のウイルス感染率を推定した。

4) 飼育豚の抗体調査

本年も7月上旬に調査地域の飼育豚に日本脳炎生ワクチン(m株)が接種されたので、ワクチン接種による豚集団の免疫獲得状況と、その後の自然感染の推移を見るため、MK豚舎の飼育豚について抗体検査を行った。この豚舎では、ワクチン接種を7月1日に、追加接種を7月25日に実施している。そこで、接種前の6月27日から接種後約3か月の10月7日まで、前報¹⁾の方法により採血し、抗体価を測定した。

2. 市民の抗体調査

本市市民の日本脳炎に対する抗体保有状況を把握する目的で、成人及び高齢者の2年齢層を対象に、HI抗体価の測定を行った。成人は保健所の母親教室参加者186名であり、高齢者は老人施設の入所者88名である。

抗体価測定方法は前報¹⁾のとおりである。

Ⅲ 調査成績及び考察

1. 蚊の季節消長

豚舎内ライト・トラップ採集蚊の6月中旬から9月中旬までの季節消長を見ると、いずれの種類も調査期間を通じて採集蚊が少ない傾向が見られた。

コガタアカイエカは7月中旬に低いピークがみられるものの、トラップあたり278個体であり、その後低密度のまま推移した。採集数は、最近5年間で最も少なかった前年度と比較すればやや多い程度であった。

アカイエカとシナハマダラカも、調査期間を通じて極めて採集数が少なく、いずれも目立ったピークを形成しないまま終息した (Fig.1)。

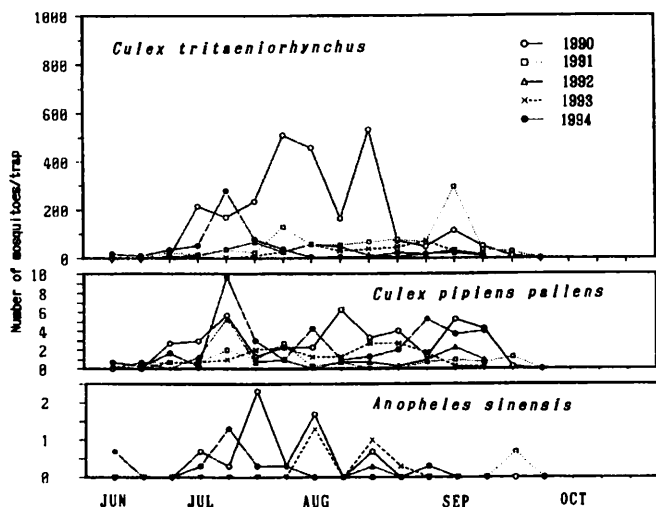


Fig.1. Number of mosquitoes collected with light traps in a pig shed situated in the suburbs of Kyoto City in 1994

本年の蚊の発生に影響を及ぼしたと思われる要因のうち、気温と降水量の季節変動をFig.2に示した。気温についてみると、本年はここ数年の低温傾向と対照的にほぼ年間を通じて高温傾向が続き、特に7月上旬から9月中旬にかけて記録的に長い高温期が続いた。一方、降水量については、全国的に例年になく程の降水不足であり、本市でも梅雨期から9月まで極端に少ない降水量で経過した。蚊の増殖期である6月～8月が高温であったものの、極端な降水不足で推移したことは、蚊の発生にマイナス要因として働き、盛夏に至っても蚊は増加しなかったものと思われる。

蚊の発生数は、気象要因のほかに多様な人為的環境要因によっても影響を受ける²⁾ことが知られている。本市農林統計資料によれば、伏見区及び南区の水稲作付面積は過去数年間にさほど減少していないが、野外調査地から鴨川を隔てた南側の水田は地下鉄施設の完成に伴い大幅に減少し

ており、更に、鴨川河川敷の整備により、蚊成虫の休止場所となる雑草地も減少している。

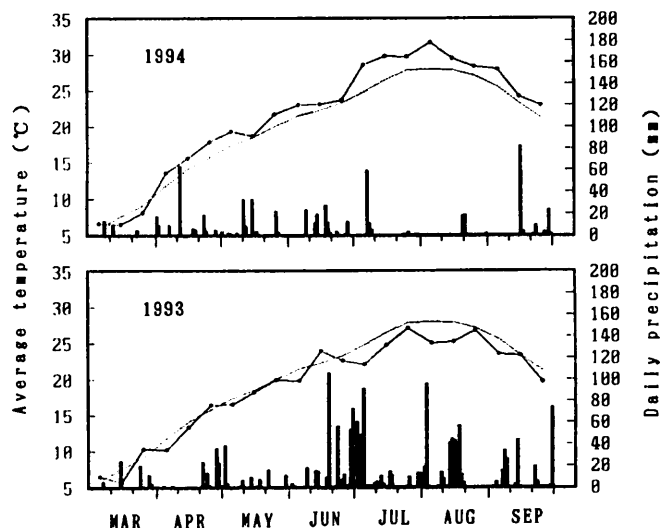


Fig.2. Seasonal changes of temperatures and precipitation in Kyoto City in 1993 and 1994

Bold and thin lines indicate the average temperatures of every 10 days in each year and those in the normal year, respectively. Vertical bars show the daily precipitation. Meteorological data were supplied by the Kyoto Local Meteorological Observatory.

したがって、主としてこれら人為的環境の変化に伴う蚊発生数の減少に気象要因が複合して作用した結果、蚊の発生が低調のまま推移したと思われる。

2. 豚舎内採集吸血蚊のウイルス感染率

6月13日から9月12日の各週1回、計14回に採集した吸血蚊1,828個体、114プールについてウイルス分離を試みた結果、全期間を通じて日本脳炎ウイルスをまったく検出しなかった (表1)。

豚舎内採集吸血蚊から日本脳炎ウイルスをまったく検出しなかった年は昨年につき2度目であるが、これには、調査期間を通じて蚊の密度が低かったことのほか、豚へのワクチン接種も奏功したものと思われる。

3. 飼育豚の抗体

MK豚舎飼育豚のワクチン接種による免疫抗体獲得と、その後の自然感染状況を見ると、ワクチン接種前は検査に供したすべての豚が抗体を保有していなかったが、接種後約半月で多くの豚が10～40倍の抗体を保有しており、ワクチン抗体が獲得されている。7月中旬以降、自然感染によると思われる抗体上昇が少数の豚で認められたが、9月か

表1 豚舎内採集吸血コガタアカイエカからの
日本脳炎ウイルス分離状況

平成6年度

採集月日	供試蚊数	プール サイズ	供試 プール数	陽性 プール数	ウイルス 感染率 (%)
6月13日	74	10 4	7 1	—	—
6月20日	25	10 5	2 1	—	—
6月27日	190	10	19	—	—
7月4日	216	50 16	4 1	—	—
7月11日	547	50 47	10 1	—	—
7月18日	272	25 22	10 1	—	—
7月25日	104	10 4	10 1	—	—
8月1日	15	5	3	—	—
8月8日	35	5	7	—	—
8月15日	11	6 5	1 1	—	—
8月22日	109	10 9	10 1	—	—
8月29日	124	10 14	11 1	—	—
9月5日	50	10	5	—	—
9月12日	56	10 6	5 1	—	—
計	1,828	—	114	—	—

ら10月に至っても多数の豚はワクチン抗体のレベルであった。したがって、本年も野外のウイルス感染蚊数が少なかったことにより、少数の豚でのみ自然感染が起こったものと思われる(表2)。

表2 飼育豚の日本脳炎HⅠ抗体価推移

平成6年度

採血月日	ワクチン 接種前後 の 日 数	検体 数	抗 体 価							
			<10	10	20	40	80	160	320	640≤
6月27日	4日前	20	20	—	—	—	—	—	—	—
7月15日	14日後	20	7	3	4	5	—	1	—	—
8月5日	35日後	20	3	2	8	5	1	1	—	—
8月26日	56日後	20	8	—	9	3	—	—	—	—
9月16日	77日後	20	9	1	4	2	2	—	2	—
10月7日	98日後	20	3	2	10	1	2	—	2	—

本年は自然感染の時期は早かったものの、その規模が小さかったため、多くの豚ではワクチン抗体のレベルのままで推移している。

4. 市民の抗体保有状況

成人及び高齢者の抗体保有状況を見ると、成人は52.7%、高齢者は65.9%であった(表3)。

昭和58年に同じ中山予研株で測定した市民の抗体保有率は成人で40.7%、高齢者で71.0%であった。

この成績と本年の成績との間に有意差はなく、この間、市民の日本脳炎抗体保有状況に顕著な変化がなかったことを示唆している。

表3 成人と高齢者の日本脳炎HⅠ抗体価分布

平成6年度

対 象	施設名	計	抗 体 価							
			<10	10	20	40	80	160	320	640
成 人		186	88	22	43	24	7	2	—	—
		100.0	47.3	11.8	23.1	12.9	3.8	1.1	—	—
高 齢 者	H	50	17	5	9	11	6	2	—	—
	%	100.0	34.0	10.0	18.0	22.0	12.0	4.0	—	—
	S	38	13	4	7	10	4	—	—	—
	%	100.0	34.2	10.5	18.4	26.3	10.5	—	—	—
	計	88	30	9	16	21	10	2	—	—
	%	100.0	34.1	10.2	18.2	23.9	11.4	2.3	—	—

注) 上段は人数を、下段は割合(%)を示す

IV ま と め

1. 本市における平成6年度の日本脳炎調査成績を要約すると以下のとおりである。

1) MK豚舎においてライト・トラップ採集により調査したコガタアカイエカの季節消長は、全般的に低レベルで推移し、採集数もここ数年で最も少なかった前年度よりやや多い程度であった。

2) 豚舎内でライト・トラップにより採集した吸血蚊からは全期間を通じて日本脳炎ウイルスが検出されなかった。

3) MK豚舎飼育豚のHI抗体調査の結果、ワクチン接種により豚は抗体を獲得したことが認められた。その後、7月中旬以降に自然感染による抗体上昇が一部の豚で見られたものの、大多数においてはワクチン抗体のレベルで推移した。

4) 以上の調査結果から見て、平成6年度の本市における日本脳炎ウイルス汚染は極めて小規模であったと思われる。これは、夏期に野外のコガタアカイエカの密度が増加せず、その結果、豚の自然感染が部分的に起こったためと思われる。

2. 市民の日本脳炎ウイルスHI抗体保有率を見ると、成人は52.7%、高齢者は65.9%であり、昭和58年の抗体保有率と差は見られなかった。

V 文 献

- 1) 京都市衛生公害研究所 微生物部門：同研究所年報，
No. 60, 75-78 (1994)
- 2) Reisen, W., et al.: Southeast Asian J. Trop.
Med. Public Health 7, 61-71 (1976)

皮はぎによる豚枝肉の細菌学的汚染検査について

病理部門

The status of adherent bacteria flora in swine carcass

The bacterial contamination of swine carcass was studied during the procedure of new stripping. Bacteria flora was detected from all the materials with an average of 1.7×10^5 . Among them, *Escherichia coli* was commonly detected but minimal with an order of 3.8×10^2 , associated with *Staphylococcus aureus* in 10% with less than 3×10^2 , and no *Salmonella*. The comparison of these data with those of previous stripping method showed better results.

Key Words : 皮はぎ処理方法 skinning operation, 豚枝肉 swine carcass, 細菌汚染 bacterial contamination

I はじめに

本市と畜場における豚の解体処理工程は、従来湯はぎ処理を行っていたが、全国的に皮はぎ処理が圧倒的に多く、本市においても平成5年度から自動皮はぎ機を導入し、皮はぎ処理へと移行してきている。

この検査は、皮はぎによる豚枝肉の汚染状況を把握し、食肉の安全性を確保するための資料にすることを目的として行った。

II 調査方法

1. 調査期間

平成6年9月～11月

2. 検体の採取部位と検体数

検体の採取部位は、解体洗浄後冷蔵庫に入る前の豚枝肉の頸部外側面及び後肢（大腿部）外側面の2か所で、検査1回当たり5頭分ずつ、6回採取し、合計30頭（延検体数60検体）について検査を行った。

なお、皮はぎによる豚の処理方法は、放血後、刀により胸腹部の皮をはぎ（前処理）、内臓摘出及び頭部切除後自動皮はぎ機により皮を除去し、背割りを行い、最後に自動洗浄機で洗浄され、冷蔵庫に入り枝肉として搬出される（図1）。

3. 検体の採取方法

検体採取は、ふきとり法で行った。滅菌綿棒各々2本を使用し、枝肉表面100cm²を上記綿棒で30秒間加圧しながらふきとった。ふきとり後、綿棒は滅菌生理食塩水10mlの入った中試験管に入れ、これを試料として枝肉100cm²当りの菌数を求めた。

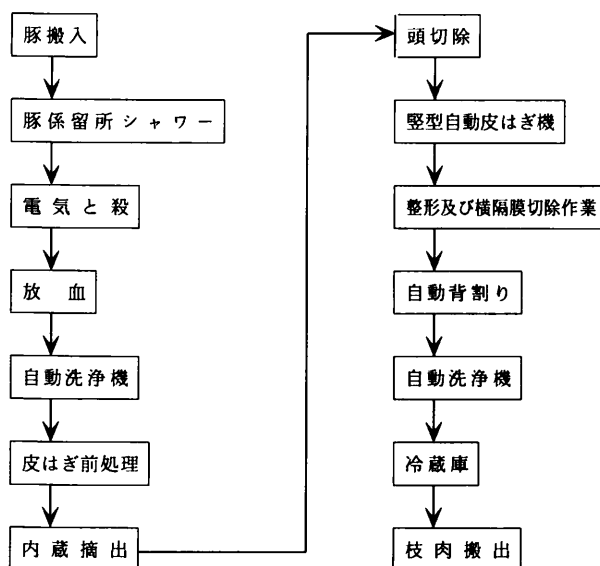


図1 豚解体処理工程（皮はぎ）

4. 検査項目

1) 一般生菌数

標準寒天平板培養法による定量。

2) 大腸菌群数

デソキシコレート寒天平板培養法による定量。

3) 黄色ブドウ球菌数

エッグヨーク食塩寒天培地（卵黄加マンニット食塩寒天培地）に試料0.1mlを塗布し、マンニット分解、卵黄反応陽性の集落数を測定した。その集落5個についてコアグラゼ試験を実施した。

4) サルモネラ

ラパポート培地による増菌培養後、SS寒天培地により分離し、疑わしい集落はTSI寒天培地で確認を行った。

表 1 豚枝肉の細菌検査結果 (ふきとり法)

検 査 項 目	平 均 値	(最 小 ~ 最 大)
一般生菌数		
頸 部 (n=30)	1.8×10^5	$(7.1 \times 10^3 \sim 1.6 \times 10^6)$
大腿部 (n=30)	1.6×10^5	$(3.7 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^6)$
平 均	1.7×10^5	$(3.7 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^6)$
大腸菌群数		
頸 部 (n=30)	4.2×10^2	(0 ~ 2.7×10^3)
大腿部 (n=30)	3.3×10^2	(0 ~ 2.7×10^3)
平 均	3.8×10^2	(0 ~ 2.7×10^3)
黄色ブドウ球菌数		
頸 部 (n=30)	<1	(0 ~ 300)
大腿部 (n=30)	<1	(0 ~ 300)
平 均	<1	(0 ~ 300)
サルモネラ		
頸 部 (n=30)	陰 性	
大腿部 (n=30)	陰 性	

単位: 個/100 cm²

III 結 果

豚枝肉の細菌検査の結果は表1及び表2のとおりである。

1. 一般生菌数は、 $3.7 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^6$ と非常に変動が大きい。この平均値は 1.7×10^5 であり、検査部位別にみると頸部は 1.8×10^5 、大腿部は 1.6×10^5 で差異はほとんど認められなかった。

2. 大腸菌群は3検体を除く57検体(95%)から検出され、菌数の範囲は 2.7×10^3 以下であった。また、菌数が300以下の検体が62%あった。平均値は 3.8×10^2 であり、部位別にみると頸部は 4.2×10^2 、大腿部は 3.3×10^2 で、あまり差異は認められなかった。

3. 黄色ブドウ球菌は、頸部が4検体、大腿部が2検体の計6検体(10%)から検出されたが、菌数は全て300以下であった。

4. サルモネラは、全く検出されなかった。

表 2 一般生菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌の菌数分布割合 (%)

菌 数 (個/100 cm ²)	一般生菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌
総 数	100	100	100
300以下	0	62	100
301 ~ 1,000	2	28	0
1,001 ~ 10,000	13	10	0
10,001 ~ 100,000	50	0	0
100,001以上	35	0	0

IV 考 察

1. 表3は、今回の検査結果を、過去行われた従来の湯はぎによる豚枝肉の汚染調査結果¹⁾と比較して示したものである。

一般生菌数の平均値は、皮はぎ 1.7×10^5 、湯はぎ 7.8×10^5 、大腸菌群数の平均値は、皮はぎ 3.8×10^2 、湯はぎ 1.5×10^3 で、ともに皮はぎの方が菌数は若干低い数値であった。黄色ブドウ球菌についても、皮はぎの方が菌の検出率が少し低いことが認められた。

サルモネラは、皮はぎ、湯はぎともに検出されなかった。

2. 当と畜場における豚枝肉の細菌汚染状況は、皮はぎの方が湯はぎに比べ汚染の度合いが若干低い様に思われる。これは、湯はぎの場合、既に豚の皮膚、被毛等の細菌による汚染が考えられ、また、皮はぎの場合は、比較的内臓や内容物等の接触による体表面の汚染の機会(可能性)が少なく、解体処理工程上、皮はぎの方が幾分衛生的であると言えるかも知れない。

しかし、依然、枝肉体表が汚染されていることを再認識し、解体処理方法、特に内臓摘出時の胃腸の取扱い及び器具類を含めた場内の洗浄、清掃等に注意し、と畜場の衛生

表 3 豚枝肉の処理工程別細菌の汚染状況の比較

	検 査 数	一般生菌数	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ
	頭 数	検 体 数	(平均値)	(平均値)	菌 数 検出率(%)
皮 は ぎ	30	60	1.7×10 ⁵	3.8×10 ²	300以下 (100) 陰 性
湯 は ぎ	40	40	7.8×10 ⁵	1.5×10 ³	300以下 (85) 陰 性 301~1,000 (10) 1,001以上 (5)

単位: 個/100 cm²

面の向上を図る必要があると考えられる。

なお、今回、一般生菌、大腸菌群、黄色ブドウ球菌、サルモネラについて検査を行ったが、今後はカンピロバクター等、その他食肉衛生上問題となる細菌についても検査していく必要があると考える。

V 参 考 文 献

- 1) 京都市衛生公害研究所病理部門：同研究所年報, No. 54, 119-122 (1987)

京都市における高血圧症患者の受療実態

— 平成2年京都市患者調査結果から —

疫学情報部門

Status of access to medical services for hypertensives in Kyoto City based on patients' survey in 1990

Patients' survey data were analyzed to clarify the status of hypertensives in 11 wards of Kyoto City. The gross number of patients were estimated and the status of access to medical services in these patients were compared for sexes and for wards. The results showed that the most were out-patients who receive treatments constantly over long intervals. The patients preferred to visit clinics rather than hospitals, and women visited clinics more frequently than men. The status of access to medical services differed variously among 11 wards. The patients living in the central wards seemed to be able to have more chances of medical care.

Key Words: 患者調査1990 patients' survey in 1990, 京都市 Kyoto City, 高血圧症 hypertensive, 受療行動 access to medical services, 総患者数 estimated gross number of patients, 性差 sex differentials, 行政区間差 ward differentials

I はじめに

平成2年京都市患者調査結果¹⁾によれば、「高血圧性疾患」(傷病大分類)は、歯科関連疾患を除けば、最も患者数が多く、患者数全体の7.7%を占めている。この高血圧性疾患が、死亡原因の2位と3位を占める虚血性心疾患と脳血管疾患²⁾の有力な誘因となっている事実と合わせて考えると、市民の健康にとって、この疾患は極めて重要である。

そこで、「高血圧性疾患」の京都市における実態を把握するために、平成2年京都市患者調査データを用いて、入院患者と継続的に医療機関を受診している外来患者の合計である「総患者数」の推計を行うとともに、行政区ごとに患者の受療実態について若干の検討を行った。

II 方 法

1. 総患者数と総患者率の推計

解析対象は全年齢階級とし、総患者数の推計は近藤らの方法³⁾を用い、下記の推計式により算出した。

総患者数=入院患者数+初診患者数

+ {再来患者数×平均診療間隔×(6/7)}

(ただし、平均診療間隔は診療間隔が31日以上のもので除いた平均であり、診療間隔が31日以上の患者は「平均診療間隔の再来患者」として扱う。)

総患者率=総患者数/人口×1,000

2. 年齢調整の方法

京都市の平成2年の人口を基準人口にして、各行政区ごとに調整した。

III 結 果

1. 高血圧症の基本分類別患者数

表1に基本分類別患者数を示す。大分類による高血圧性疾患に属する7傷病中、「高血圧本態性 明示なし(傷病番号4019)」の総患者数が50,558で全体の97.9%を占め、次いで多い「高血圧性心疾患 明示なし(傷病番号4029)」の1,033を合わせると99.9%に達した。したがって、以降は小分類せずに7傷病を合わせて「高血圧性疾患」として集計

表1 高血圧症の患者数・平均診療間隔・総患者数(傷病別)

傷病符号	傷 病 名	患者数			平均 診療間隔	総患者数
		入 院	初 診	再 来		
4010	高血圧 本態性 悪性	0	0	1	4.0	3
4011	高血圧 本態性 良性	0	0	2	11.0	9
4019	高血圧 本態性 明示なし	422	190	6,266	9.3	50,558
4020	高血圧性心疾患 悪性	0	0	1	1.0	1
4029	高血圧性心疾患 明示なし	18	1	120	10.0	1,033
4039	高血圧性腎疾患 明示なし	2	0	7	9.2	57
4059	二次性高血圧 明示なし	1	0	2	2.0	4
	総 数 (平均)	443	191	6,399	9.3	51,665

した。

2. 平均診療間隔（日）

図1に性・年齢階級別の平均診療間隔を示す。年齢が高くなるに従い平均診療間隔は短縮する傾向があり、特に70歳以上で著しい。男女別では、55～64歳以外の年齢階級で女が男よりも短く、全市平均では、男の10.1日に対し女が8.9日と1.2日短くなっている。

表2と図2に性・行政区別の年齢調整平均診療間隔を示す。西京区(10.6)、山科区(10.0)、北区(9.8)、伏見区(9.3)、左京区(9.7)、東山区(9.7)が長く、中京区(8.4)、上京区(8.7)、下京区(8.6)、南区(8.6)が短い。すなわち、東山区を除いて周辺部の区で長く、中心部の区で短くなっている。この傾向は男女ともに同じである。

表2 年齢調整した平均診療間隔（日、性・行政区別）

行政区	北	上京	左京	中京	東山	山科	下京	南	右京	西京	伏見	全市
総数	9.8	8.7	9.7	8.4	9.7	10.0	8.6	8.6	9.0	10.6	9.3	9.3
男	10.4	10.1	10.2	9.0	10.2	10.2	9.2	8.9	10.0	11.2	10.7	10.1
女	9.4	8.0	9.4	8.1	9.5	10.0	8.3	8.5	8.6	10.3	8.6	8.9

表3 年齢調整した総患者率（人口千対、性・行政区別）

行政区	北	上京	左京	中京	東山	山科	下京	南	右京	西京	伏見	全市
総数	42.6	36.0	33.9	30.4	37.4	36.5	40.6	34.4	29.7	36.5	36.4	35.4
男	34.7	29.4	25.3	24.6	26.7	26.9	31.6	23.3	24.1	27.5	28.3	27.2
女	50.1	42.2	41.9	35.8	46.2	45.7	49.0	45.2	35.0	45.2	44.1	43.1

表4 年齢調整した外来受診率（初診+再来）（人口千対、性・行政区別）

行政区	北	上京	左京	中京	東山	山科	下京	南	右京	西京	伏見	全市
総数	5.16	4.92	4.15	4.28	4.50	4.31	5.55	4.72	3.91	4.11	4.60	4.51
男	3.97	3.48	2.94	3.27	3.09	3.08	4.09	3.07	2.87	2.93	3.14	3.22
女	6.28	6.26	5.28	5.22	5.69	5.48	6.92	6.33	4.89	5.27	5.98	5.72

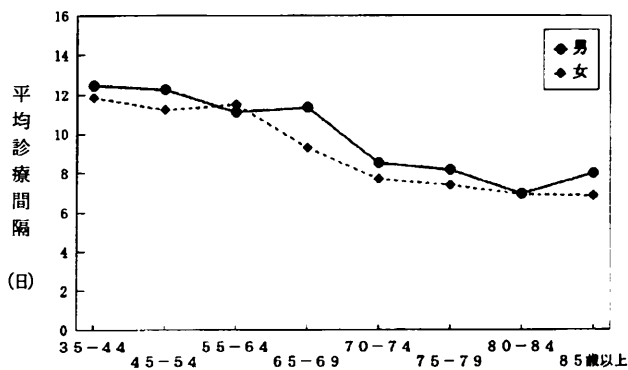


図1 平均診療間隔（性・年齢階級別）

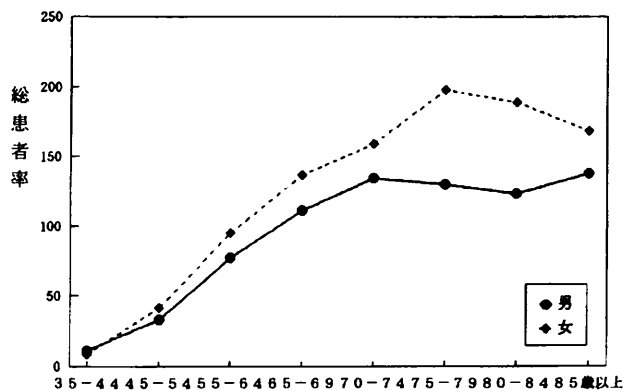


図3 総患者率（人口千対、性・年齢階級別）

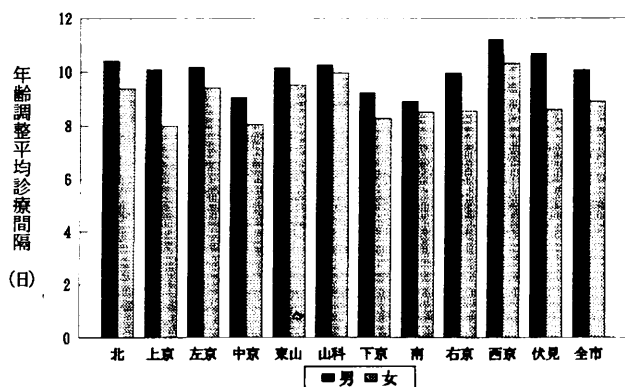


図2 年齢調整した平均診療間隔（性・行政区別）

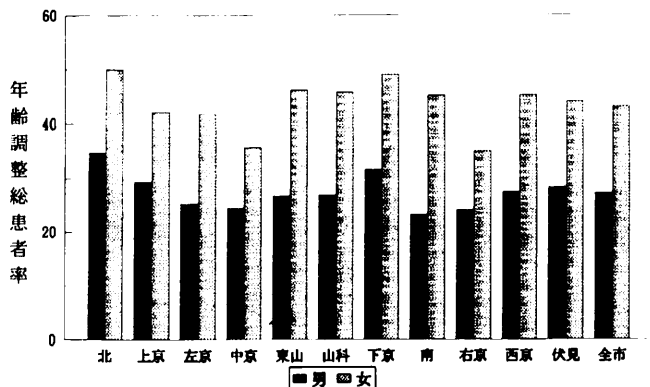


図4 年齢調整した総患者率（人口千対、性・行政区別）

3. 総患者率 (人口千対)

図3に全市の性・年齢階級別の総患者率を示す。男女とも加齢に伴って増加するが、男では75歳以上、女では80歳以上で増加は停止する。44歳以下では男の方が高いが、45歳以上では女が高くなり、75～84歳でその差は66～67に達している。表3及び図4に性・行政区別の年齢調整総患者率を示す。全市では35.4であるが、北区(42.6)と下京区(40.6)が高く、中京区(30.4)と右京区(29.7)が低い。また、南区以外の行政区では男女が同じ傾向を示している。

4. 入院率 (入院数/総患者数)

図5に性・行政区別の年齢調整入院率を示す。絶対値が全市で0.9%と低いが、区別にみると南区、伏見区、山科区、東山区が高く、上京区、西京区、下京区の約2倍になっている。年齢との関係では、加齢とともに徐々に増加して、75歳以上で急上昇している。また、ほぼすべての年齢階級で女が男を上回る傾向を示している。

5. 外来受診率 (人口千対)

図6に性・年齢階級別の外来受診率を示す。すべての年齢階級で女が男を上回り、男では74歳まで、女では79歳まで増加する。表4と図7に行政区別年齢調整外来受診率を示す。下京区(5.55)と北区(5.16)が高く、右京区(3.91)、左京区(4.15)、中京区(4.28)が低い。中京区を除き男女は平行した関係にある。

6. 外来受診者に占める病院の比率

調査当日に外来を受診した患者(初診者及び再来者)のうち、病院外来を受診した者の百分率を表5と図8に示す。南区(36.0%)と伏見区(31.0%)が男女ともに高く、上京区(18.6%)と右京区(20.9%)が男女ともに低い。西京区を除く全区で男が女を上回り、左京区、山科区、下京区、南区で男女差が大きい。

7. 居住区内の医療機関利用率

表6と図9に外来受診者の居住区内医療機関の利用者を、病院・診療所別及び性別に示した。病院の1部に例外はあるが、女の居住区内受診率が男を上回っている。病院は中京区(46.9%)、右京区(45.8%)、北区(51.3%)で低く、伏見区(83.1%)、山科区(76.6%)、上京区(76.0%)で高いが、区間のバラツキが大きいのにに対し、診療所は全区で区内機関の利用率が高く、また区間のバラツキも82.7%の右京区から92.6%の伏見区まで10%の範囲内に収まっている。

8. 居住区外の病院利用

表7と図10より北区、中京区、右京区で居住区外病院利用率が高く、逆に上京区、山科区、伏見区で低い。

また、上京区、中京区、東山区では男女差が無いのに対し、右京区と西京区では10%以上の男女差がある。区外利

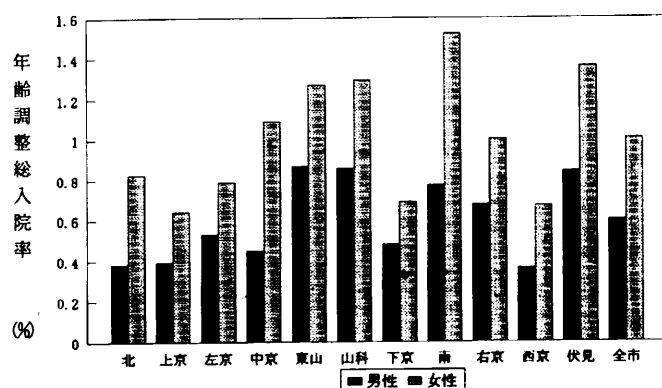


図5 年齢調整した入院率 (性・行政区別)

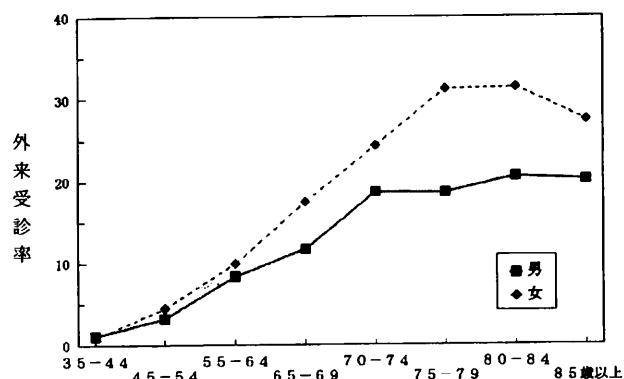


図6 外来受診率 (人口千対, 性・年齢階級別)

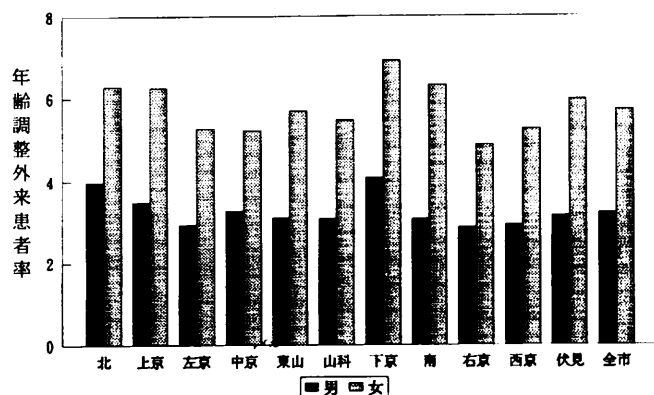


図7 年齢調整した外来受診率 (人口千対, 性・行政区別)

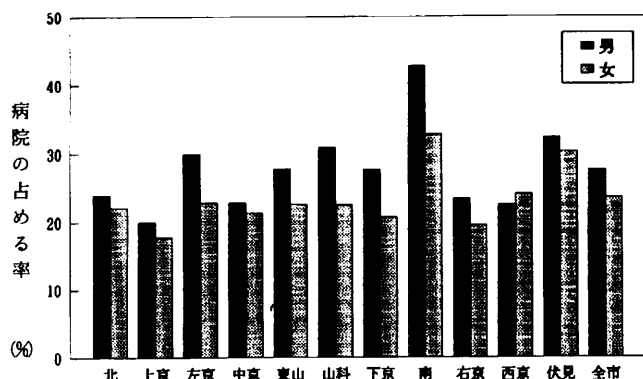


図8 外来受診件数に占める病院の比率 (性・行政区別)

表5 外来受診件数に占める病院の比率(初診・再来)(%, 性・行政区別)

行政区	北	上京	左京	中京	東山	山科	下京	南	右京	西京	伏見	全市
総数	22.8	18.6	25.2	21.9	24.2	25.4	23.1	36.0	20.9	23.5	31.0	25.0
男	23.9	20.0	29.9	22.9	27.8	30.9	27.7	42.7	23.4	22.6	32.3	27.6
女	22.1	17.8	22.9	21.4	22.7	22.5	20.7	32.8	19.5	24.1	30.3	23.6

表6 外来受診者の居住区内医療機関利用率(%, 病院・診療所別及び性別)

行政区	北	上京	左京	中京	東山	山科	下京	南	右京	西京	伏見
病院											
総数	51.3	76.0	61.8	46.9	62.8	76.6	63.8	61.7	45.8	71.6	83.1
男	46.8	75.7	60.0	46.5	63.0	72.2	60.4	65.1	36.8	56.8	81.7
女	54.1	76.1	62.9	47.1	62.7	79.7	66.2	59.6	51.7	80.0	83.8
診療所											
総数	88.4	83.3	88.7	90.6	87.7	90.1	87.3	87.6	82.7	90.3	92.6
男	85.3	79.1	85.4	89.7	84.3	85.1	81.9	77.9	80.5	81.6	85.9
女	90.1	85.3	90.3	91.2	89.1	92.5	89.8	91.7	83.8	95.6	96.0

表7 外来受診者の居住区外医療機関利用率(%, 病院・診療所別及び性別)

行政区	北	上京	左京	中京	東山	山科	下京	南	右京	西京	伏見
病院											
総数	48.7	24.0	38.2	53.1	37.2	23.4	36.2	38.3	54.2	28.4	16.9
男	53.2	24.3	40.0	53.5	37.0	27.8	39.6	34.9	63.2	43.2	18.3
女	45.9	23.9	37.1	52.9	37.3	20.3	33.8	40.4	48.3	20.0	16.2
診療所											
総数	11.6	16.7	11.3	9.4	12.3	9.9	12.7	12.4	17.3	9.7	7.4
男	14.7	20.9	14.6	10.3	15.7	14.9	18.1	22.1	19.5	18.4	14.1
女	9.9	14.7	9.7	8.8	10.9	7.5	10.2	8.3	16.2	4.4	4.0

表8 外来受診者の居住区内医療機関利用率(%) 全疾患と高血圧症との比較

行政区	北	上京	左京	中京	東山	山科	下京	南	右京	西京	伏見
病院											
全疾患	43.6	65.6	64.7	48.4	64.5	64.4	53.8	42.9	32.5	66.7	68.8
高血圧症	51.3	76.0	61.8	46.9	62.8	76.6	63.8	61.7	45.8	71.6	83.1
診療所											
全疾患	82.3	79.9	84.5	80.5	76.0	86.5	88.2	76.6	79.6	80.1	87.4
高血圧症	88.4	83.3	88.7	90.6	87.7	90.1	87.3	87.6	82.7	90.3	92.6

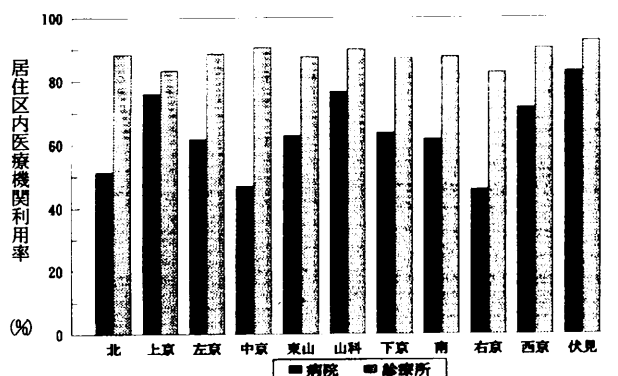


図9 外来受診者の居住区内医療機関利用率(行政区別)

用率の高い区の利用先を見ると、北区は上京区(35.6%)と左京区(12.9%), 中京区は下京区(20.4%)と上京区(15.0%), 右京区は上京区(15.3%)と中京区(11.1%)が多い。区外利用率の低い区は上京区を除いて、山科区、伏見区、西京区とも市の中心部から遠い地域である。

Ⅱ 考 察

1. 一般的傾向

全疾患平均では入院率が5.0%¹⁾, 外来受診者中の初診者率が15%¹⁾であるのに対し、高血圧性疾患は入院率が0.9%, 外来受診者中の初診者率が約3%(表1)といずれも低く、大部分の患者が継続して通院している状態である。また、平均診療間隔も全疾患平均の7.0日¹⁾に比べて9.3日(表2)と長い。

2. 総患者率から見た特徴

1) 男女間比較

45歳以上のすべての年齢階級で、女の総患者率が男よりかなり高い(図3)ことから、この総患者率に影響する因子について検討する。

男女別の平均診療間隔は多くの年齢階級で女が男よりも短く、その差は平均で1.2日となっている(表2, 図1)が、これは女の総患者率を低くする方向に作用する。他方、男女別の外来受診率(当該人口1,000人に対する調査当日の外来受診者数)は45歳以上のすべての年齢階級で女が男を上回り、その

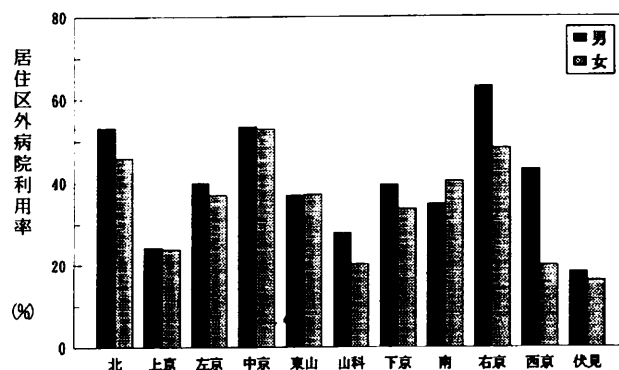


図10 外来受診者の居住区外病院利用率(性・行政区別)

差は加齢に伴って増加して(図6) 平均で男の1.8倍となっている。これは女の総患者率を高くする。したがって、分析結果から判断して、平均診療間隔よりも外来受診率が総患者率の高低を支配していると考えられる。すなわち、外来受診率の差が、男女の総患者率の差に反映していると思われる。

2) 行政区間の比較

総患者率は、年齢調整をしても行政区間差が大きく、最大の北区は最小の右京区の1.4倍となっている(表3)。

年齢調整外来受診率の区間変動パターンが年齢調整総患者率のそれと類似している(図7)ので、大筋では先の性差の場合と同様に、外来受診率の差が総患者率の差に最も関与しているものと思われるが、詳細に見ると上京区、中京区、西京区では他の要因の影響が考えられる。すなわち、上京区と中京区では短い平均診療間隔の影響が、西京区では長い平均診療間隔の影響が強く出ているのが特徴である(図2)。

3. 外来患者の居住区内医療機関利用率

全疾患平均と高血圧性疾患を比較すると(表8)、病院では左京、中京、東山の3区で、診療所では下京区のみで全疾患平均がわずかに上回っている以外は、高血圧性疾患が大きくなっている。すなわち、高血圧性疾患では、より身近な機関を受診している傾向が強いといえる。

4. 行政区別の受療行動

行政区ごとで受療行動に差のあることが明らかとなったので、少し詳細に検討した。年齢調整平均診療間隔、年齢調整総患者率、年齢調整外来受診率(以下、平均診療間隔、総患者率、外来受診率と略す)、外来の病院率と人口千人あたりの病院・診療所数²⁾の各行政区間相対比較(全市平均との差を%で表示)を図11に示す。

医療機関数が比較的多いのは中心部の上京、中京、東山及び下京区であるが、その中でも下京と中京区は多い。他方、周辺部の区では、医療機関数が全市平均を下回る傾向があり、中心部から遠い山科、西京区で顕著である。ところが、患者の受療行動の面からみると、必ずしも中心部の区と周辺部の区に類型化できないことがわかる。例えば、外来受診率の高い区は中心部の下京区と周辺部の北区であり、中京区は中心部の区でありながら低くなっている。すなわち、医療機関の数が多からといって、必ずしも区民が高頻度に受療しているとは限らない側面がある。

また、山科、西京及び伏見区は病院と診療所のいずれにおいても、区外の施設利用率が他区よりも低く(表7)、区内完結的である。これらの区が交通事情から他区へのアクセスに制約があることの反映ではないかと考えられる。

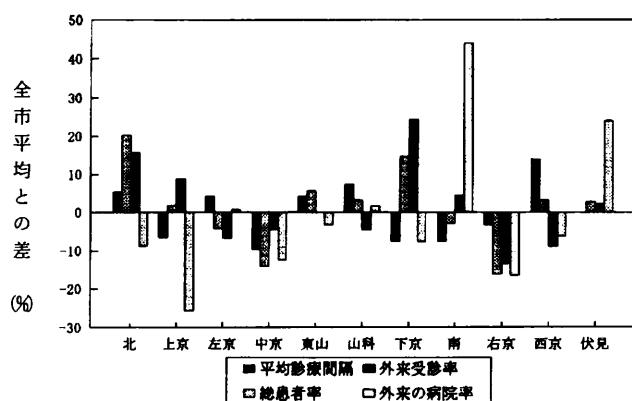


図11-1 各種指標の行政区間比較(1) 全市平均との差を%で表示

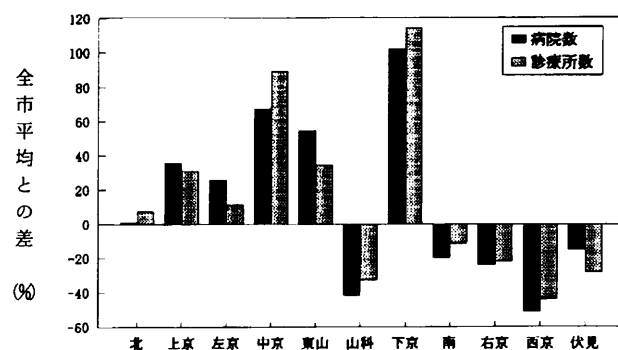


図11-2 各種指標の行政区間比較(2) 全市平均との差を%で表示

更に、山科及び西京区で外来受診率が低く、平均診療間隔が長いのは、全市平均に比べて少ない医療機関数の影響の可能性も考えられる。伏見区では医療機関数は前2区と同様の状況であるが、外来受診率は高く、平均診療間隔は長くないという違いがみられる。

先に、中京区は同じ中心部の下京区と同様に医療機関数は多いが、受療パターンが異なることを述べたが、医療機関数の少ない周辺部の右京区と類似した受療パターンを示す点が興味深い。すなわち、両区では外来受診率、外来の病院率が低く、平均診療間隔が短いため、総患者率が低くなっている。このことは、両区では受診している患者は頻繁に受診しているが、相対的に医療機関を受診する高血圧症患者が少ないことを意味している。

下京区と上京区は外来の病院率が低く、外来受診率が高く、平均診療間隔が短いところから、身近な診療所を頻繁に受診しているものと思われる。

また、南区では外来の病院率と入院率が他区に比べて高いのが特徴的である。

左京区においては、医療機関数は全市平均を少し上回っているが、受診者数は少なく、また受診間隔も長い。この

現象は、この区が中心部と周辺部の特徴を併せ持っていることの反映ではないかと考えられる。

以上、高血圧症患者の受療行動を医療機関数や市中心部へのアクセスの面から、各区ごとに考察したが、受療行動は複雑であり、これらの要因だけでは十分に説明できないことがわかった。市民の受療行動をさらに解析するためには、他の要因についての検討が必要と思われる。

V. ま と め

1. 高血圧性疾患の受診者は、大部分が継続して通院している患者である。
2. 外来受診率は、性別では45歳以上で女が男を上回り、平均で男の1.8倍になっている。行政区別では、最高の下京区は、最低の右京区の1.4倍である。
3. 平均診療間隔は、多くの年齢階級で女が男より短く、その差の平均は1.2日である。行政区別では差が大きく、最

長の西京区に比べ最短の中京区は2.2日短い。

4. 総患者率は平均診療間隔よりも外来受診率の影響を強く受け、性別と行政区別のいずれにおいても、外来受診率と類似の傾向を示している。

5. 患者の受療実態は、行政区により多様な違いがあり、中心部の上京区や下京区では頻繁に主として診療所を受診しているのに対し、医療機関の少ない山科区や西京区では受療回数が少なくなっている。

VI. 文 献

1. 京都市衛生局：平成2年 京都市患者調査結果報告書, 52 (1992)
2. 京都市衛生局：京都市衛生統計年報 平成5年版, 66 (1994)
3. 近藤俊之, 藤本真一, 大久保一郎：総患者数の推計とその分析, 厚生指標 32 (12), 31-38 (1985)

池沼水質の降水による影響について —「沢の池」の水質調査（平成6年度）—

環境部門

Influence of rainfall on the quality of water in the Sawano-ike pond in 1994

The chemical properties of the acid-sensitive Sawano-ike pond in Kyoto were investigated during 1992-1994. A gradual decrease in pH level was observed from summer in 1994, in association with decreased ratios of alkalinity to $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ and increased ratios of SO_4^{2-} to $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$. Although progression of acidification in this pond is suggested in the above data, long-term monitoring is necessary to correctly estimate the influence of acid precipitation on the pond, because it is possible that a decrease in pH level may have been related to a decreased quantity of pond water.

Key Words: 酸性雨 acid rain, 湖沼酸性化 lake acidification

I はじめに

近年、欧米諸国においては、酸性雨により湖沼が酸性化し、生態系に対する悪影響が深刻な社会問題となっている。

一方、日本でも欧米並みの酸性雨が観察されているが、現在のところ酸性雨による顕著な影響は現れていない。

しかし、今後同程度の酸性雨が続いた場合、陸水に影響が及ぶことが懸念されている^{1, 2)}。

京都市右京区にある「沢の池」は、年間を通してpHが低くアルカリ度も低い。また、その原因は火山性もしくは腐食性によるものではない。したがって、酸性雨による影響を調査するのに適した数少ない池沼の一つである。

そこで、当所では「沢の池」を調査対象池沼として、平成3年度から継続して水質を測定し、降水による池沼水の影響について調査を実施している³⁻⁵⁾。本年度も引き続き水質検査を実施し、池沼水質の推移を調査したので報告する。

II 調査方法

1. 調査池沼

「沢の池」の位置及び概要を図1及び表1に示した。

この池沼は山間部に位置し、集水域内は杉、アカマツ等の山林で集落は存在しない。また、流入河川がなく池沼の主な涵養源は降水のみである。

2. 試料の採取と測定項目

平成6年度に実施した水質測定項目及び分析方法是昨年度と同じである⁵⁾。池沼水は湖心に近い表層水を月2回採水し、pH、電気伝導度（EC）、アルカリ度、溶存酸素量（DO）については月2回、全窒素、全リン、クロロフィルa

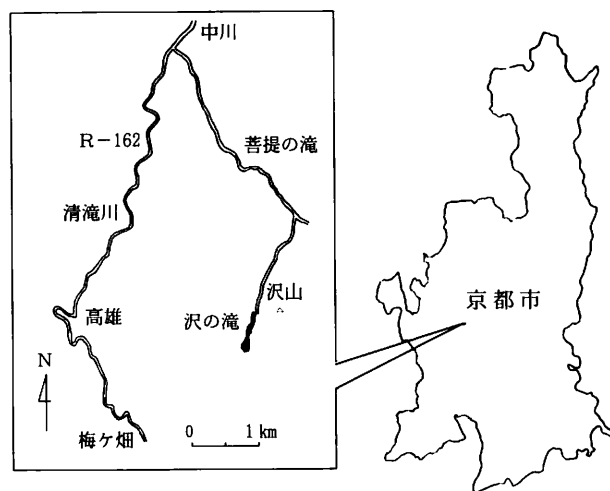


図1 「沢の池」の位置

表1 「沢の池」の概要

成因	江戸時代に農業用ため池として作られた堰止湖	
標高	371	m
池面積	0.041	km ²
最大水深	4.8	m
流域面積	0.435	km ²
代表的な地質	チャート	
河川数	流入	0
	流出	0

については年4回測定し、その他の項目については月1回測定した。また、湧水については数カ所の湧出地点のうち、湧水量の比較的多い池南西部の岸から年8回採水した。

Ⅲ 調査結果と考察

1. 「沢の池」の水質

平成6年度の水質検査の結果を表2に示した。「沢の池」は比較的水深が浅く、風により絶えず攪拌されているため、地点もしくは鉛直間の差は少なく水質は均質化されている。

水質汚濁成分の結果を見ると、「沢の池」は非常に清澄な水質を維持していた。しかし、平成6年度は降雨量が少なく、年間を通して池水位の低下が継続して認められたため、COD、SSは前年までの値と比較するとやや高くなる傾向が認められた。

pH、EC、アルカリ度および主要イオンについて平成4年度から平成6年度までの各月の測定値を4半期ごとに区切り、その最大値、最小値、平均値として図2(図2-1、図2-2)に示した。

pHは常時5.5前後であったが、平成6年度夏以降はやや酸性側になる傾向が認められた。ECは $20\mu\text{S}/\text{cm}$ 付近の雨水に近い低い値を保っているが、平成6年度は上昇傾向になっている。また、アルカリ度は平成6年度夏以降pHが酸性側になるとともに低くなっている。pH、EC、アルカリ度のこのような傾向は平成4年度冬期にも認められる。

主要イオンについては、カチオンでは Mg^{2+} 、アニオンでは SO_4^{2-} が平成6年度秋以降増加傾向が認められるのに対し、他のイオンはほぼ一定の水準で推移している。

また、 NO_3^- は低濃度であるが、他のイオンと異なり季節的な変化が認められ、図3に示すように夏期は検出されず冬期に高くなる特徴がある。一方、 NH_4^+ は NO_3^- のような特徴的な変化は認められなかったが、表3に示したように、一時的に高濃度で検出されることがあった。これらは自然的要因以外に林業活動によるものが考えられるが、今後検討が必要である。

表2 「沢の池」の水質検査結果

水質汚濁成分

項 目	単 位	最低値 ~ 最高値	平 均 値
DO	mg/ℓ	7.5 ~ 12.0	9.6
COD	mg/ℓ	1.6 ~ 5.5	3.6
SS	mg/ℓ	3.0 ~ 9.5	5.5
全窒素	mg/ℓ	0.23 ~ 0.40	0.30
全リン	mg/ℓ	0.00 ~ 0.01	0.01
クロロフィルa	mg/ℓ	0.000 ~ 0.008	0.003

水質主要成分

項 目	単 位	最低値 ~ 最高値	平 均 値
pH		5.17 ~ 5.63	5.41
EC	$\mu\text{S}/\text{cm}$	17.8 ~ 20.9	19.4
アルカリ度	$\mu\text{eq}/\ell$	8.0 ~ 19.0	13.8
Na^+	mg/ℓ	1.06 ~ 1.29	1.17
Ca^{2+}	mg/ℓ	0.25 ~ 0.54	0.42
Mg^{2+}	mg/ℓ	0.34 ~ 0.67	0.47
K^+	mg/ℓ	0.13 ~ 0.39	0.23
NH_4^+	mg/ℓ	0.00 ~ 0.49	0.04
Cl^-	mg/ℓ	2.77 ~ 3.51	3.09
SO_4^{2-}	mg/ℓ	1.20 ~ 2.81	1.90
NO_3^-	mg/ℓ	0.00 ~ 0.56	0.13
PO_4^{3-}	mg/ℓ	0.01 ~ 0.09	0.04
Fe	mg/ℓ	0.00 ~ 0.13	0.06
Mn	mg/ℓ	0.00 ~ 0.08	0.05

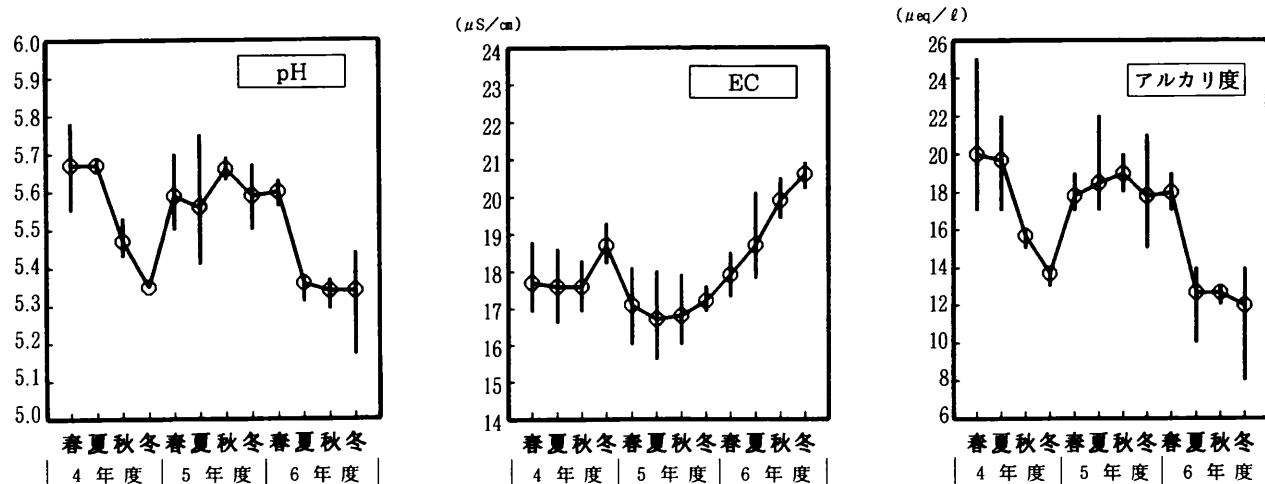


図2-1 「沢の池」の pH、EC、アルカリ度の4半期ごとの変化(最大値、最小値、平均値)

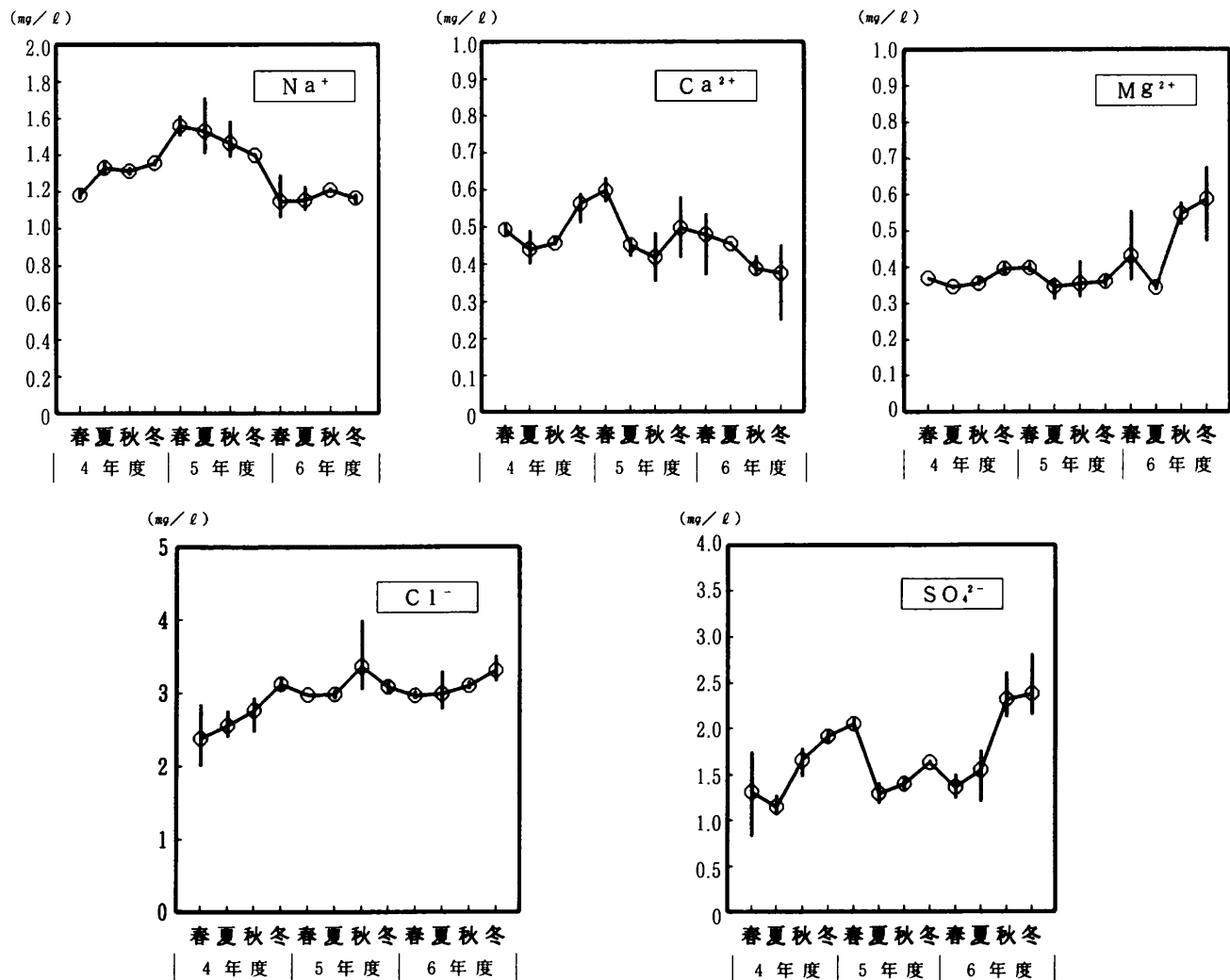


図2-2 「沢の池」の主要イオン(Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-})の4半期ごとの変化(最大値, 最小値, 平均値)

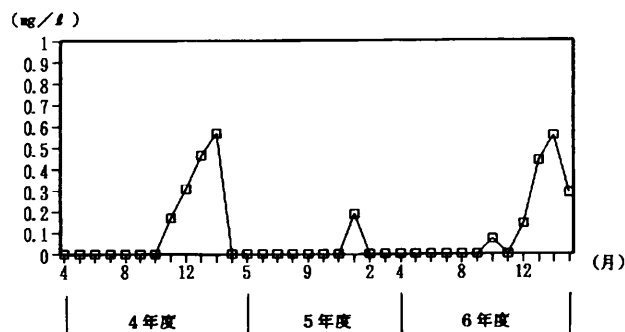


図3 「沢の池」の NO_3^- の経時変化

注) 平成5年度4月及び1月は測定していない

表3 NH_4^+ の測定値の濃度分布

濃度範囲 (mg/L)	4年度	5年度	6年度
0.00 ~ 0.05	9	7	11
0.051 ~ 0.10	2	2	—
0.101 以上	—	1	1
測定件数	11	10	12

平成4, 5, 6年度におけるFe, Mnの測定値の濃度分布を表4に示した。Mnについては顕著な変化は認められないが, Feについては平成4, 5年度に比較すると, 平成6年度はやや高い測定値となっている。

吉永らは, 福岡市の湖沼を分析し, 湖沼水が酸性化すると湖沼底質からの溶出によりFe, Mnが高濃度で検出されると報告しており⁶⁾, 池沼の酸性化との関係で今後の推移が注目される。

表4 Fe・Mnの測定値の濃度分布

濃度範囲 (mg/L)	Fe			Mn		
	4年度	5年度	6年度	4年度	5年度	6年度
0.00 ~ 0.03	2	9	5	—	9	2
0.031 ~ 0.06	1	1	1	2	1	4
0.061 ~ 0.09	—	—	3	1	—	6
0.091 ~ 0.13	—	—	3	—	—	—
測定件数	3	10	12	3	10	12
平均値	0.03	0.02	0.06	0.06	0.02	0.05

クロロフィル a の平成 4, 5, 6 年度の測定値を表 5 に示した。クロロフィル a は低い濃度で推移しているが、平成 5 年度 2 月と平成 6 年度 10 月に高くなっている。これは植物プランクトンが常時は少ないが、一時的に増加することを示している。しかし、池沼の pH には光合成の影響による目立った変化は現れていなかった。

表 5 クロロフィル a の測定結果

4 年 度		5 年 度		6 年 度	
測定月	濃 度 (mg/ℓ)	測定月	濃 度 (mg/ℓ)	測定月	濃 度 (mg/ℓ)
8 月	0.003	8 月	0.002	5 月	0.000
9 月	0.003	10 月	0.003	8 月	0.002
10 月	0.002	2 月	0.012	10 月	0.008
1 月	0.002	—	—	1 月	0.001

2. 湧水の水質

主な池沼水の涵養源である湧水の水質検査結果を表 6 に示した。また、その右欄に京都市山間部(京都市右京区水尾)の雨水成分の年加重平均値(平成 3 年度測定)⁷⁾を示した。

表 6 から湧水は降水が地下浸透した後、岩石、土壌等と接触して各種の成分供給を受けていることがわかる。

湧水は池沼水と比較すると、その水質にばらつきが見られる。これは湧水の水質が降雨量や、降水が地下水となつてから池沼に流出するまでの期間等に影響されていると考えられる。

表 6 湧水の水質検査結果と雨水可溶性成分の加重年平均値

項 目	単 位	測定 回数	最低値～最高値	平均値	雨 水 年平均値
pH		8	5.14 ~ 5.53	5.38	4.66
EC	μS/cm	8	21.9 ~ 24.3	23.1	17.6
アルカリ度	μeq/ℓ	8	19.0 ~ 32.0	27.9	—
Na ⁺	mg/ℓ	5	1.04 ~ 1.38	1.18	0.40
Ca ²⁺	mg/ℓ	5	0.54 ~ 0.76	0.60	0.25
Mg ²⁺	mg/ℓ	5	0.37 ~ 0.82	0.66	0.05
K ⁺	mg/ℓ	5	0.11 ~ 0.32	0.21	0.04
NH ₄ ⁺	mg/ℓ	5	0.00 ~ 0.70	0.17	0.24
Cl ⁻	mg/ℓ	5	2.53 ~ 3.39	2.79	0.81
SO ₄ ²⁻	mg/ℓ	5	2.74 ~ 3.17	3.01	1.42
NO ₃ ⁻	mg/ℓ	5	0.00 ~ 0.88	0.24	0.98

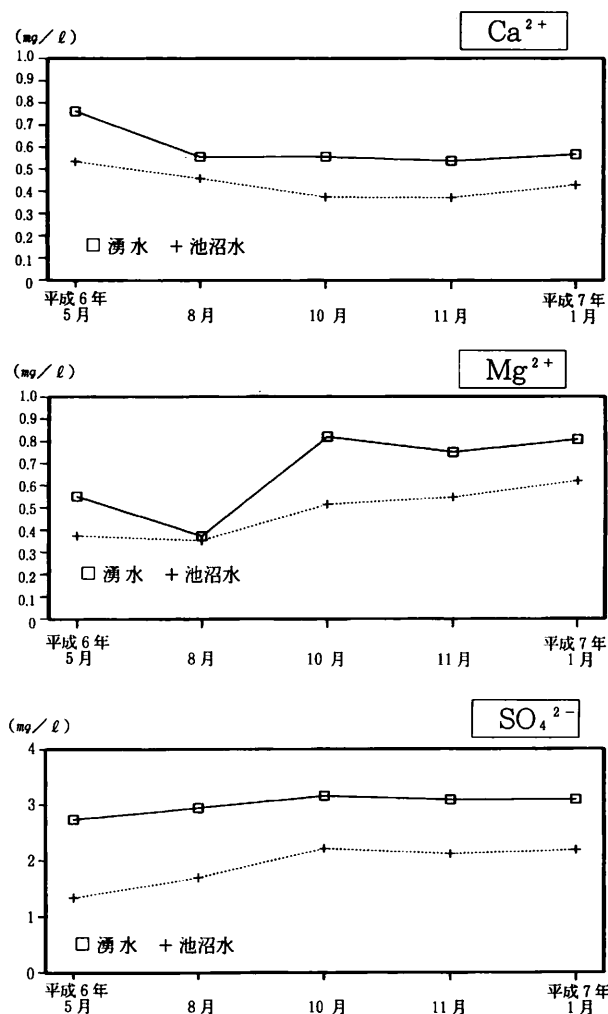
湧水と池沼水の水質を比べると、pH には大きな差はなかったが、EC、アルカリ度では湧水が高い値を示していた。

また、水質成分について見ると、カチオンでは Ca²⁺,

Mg²⁺, アニオンでは SO₄²⁻ が池沼水より高濃度であった。

図 4 にこれらのイオン成分の測定月ごとの濃度変化を示した。

湧水は池沼水に各種のイオン成分を供給している。図 4 から、池沼水の Mg²⁺, SO₄²⁻ については湧水によりゆるやかに増加していくことが認められる。

図 4 「沢の池」の湧水と池沼水の Ca²⁺, Mg²⁺, SO₄²⁻ の経時変化

3. 酸性化指標への当てはめ

池沼の酸性雨に対する感受性はアルカリ度の低い池沼ほど高い。一方、酸性雨による集水域からの塩基供給の促進で池沼中の Ca²⁺, Mg²⁺ 濃度は増加するので、池沼水のアルカリ度と Excess [Ca²⁺ + Mg²⁺] (風送塩由来の成分量を海水から算出し、それを差し引いた値) との比は池沼の酸性化のよい指標となる。カナダ東南部地域の酸性雨を受ける湖沼では、この比は 0.2 以下となっている⁸⁾。

「沢の池」の水質について、アルカリ度/Excess [Ca²⁺ + Mg²⁺] の関係を図 5 に示した。4 半期ごとの平均値で見ると、平成 4 年度夏期から冬期及び平成 5 年度秋期

以後下降していることがわかる。これは池沼水のpH値の傾向と良く一致している。

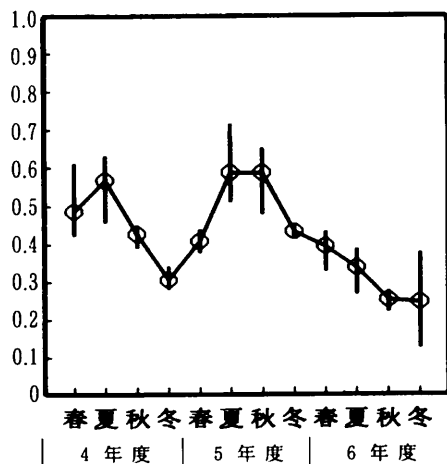


図5 「沢の池」のアルカリ度/Excess[Ca²⁺+Mg²⁺]
の4半期ごとの変化(最大値, 最小値, 平均値)

また、人為起源のSO₄²⁻は降水酸性化の主要因であるので、[SO₄²⁻]と[Ca²⁺+Mg²⁺]の比をとると、酸性化の頻度の高い湖沼では、この比が大きくなるといわれている⁹⁾。

同様に、今回の検査結果について図6に[SO₄²⁻]/[Ca²⁺+Mg²⁺]の関係を示した。この比は平成6年度について4半期ごとの平均値で見ると上昇傾向にあり、冬期には1以上になる月もあった。

しかし、今年度の「沢の池」には池水量の減少による影響もあったと考えられるため、pHの低下傾向が降水の影響によるものかどうか、今後、継続して調査していく必要がある。

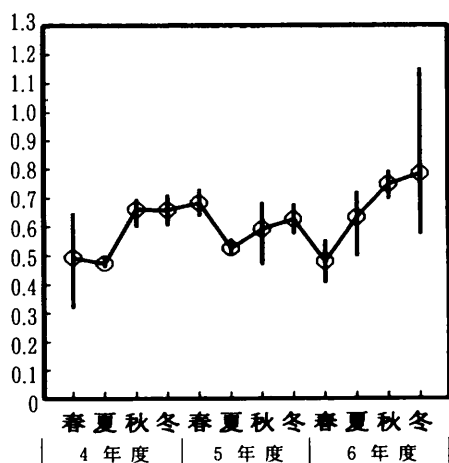


図6 「沢の池」の[SO₄²⁻]/[Ca²⁺+Mg²⁺]
の4半期ごとの変化(最大値, 最小値, 平均値)

IV ま と め

京都市右京区にある「沢の池」は、EC及びアルカリ度が低く酸性雨に対する感受性が高い。このため継続的なモニタリングを行い酸性雨の影響を調査している。

1. 平成6年度については、pHは夏以降やや酸性側になる傾向が認められ、ECは上昇傾向、アルカリ度は下降傾向になっていた。主要イオンについては、Mg²⁺、SO₄²⁻に増加傾向を認めたが、他のイオンはほぼ一定の水準で推移していた。また、NO₃⁻は、夏期は検出されず冬期に高くなるという季節的な変化が認められた。

Feについては、前年度に比較するとやや高い測定値となっていたが、Mnについては顕著な変化はなかった。

クロロフィルaは低い濃度で推移しているが、一時的に増加することがある。しかし、池沼のpHには、光合成の影響による目立った変化は現れていなかった。

2. 池沼水の涵養源である湧水は池沼水と比べると、pHには大きな差はなかったが、EC、アルカリ度は高い値を示していた。主要イオンについては、Ca²⁺、Mg²⁺、SO₄²⁻が池沼水より高濃度であった。

3. 池沼水の調査結果について、アルカリ度とExcess [Ca²⁺+Mg²⁺]の関係及び[SO₄²⁻]/[Ca²⁺+Mg²⁺]の関係を検討したところ、今年度の「沢の池」は酸性化の傾向が現れていた。しかし、pHの低下傾向が池水量の減少によることも考えられるため、降水の影響については、今後も継続して調査していく必要がある。

V 文 献

- 1) 須藤隆一, 叙開欽: 資源環境対策, 29 (2), 119-130 (1993)
- 2) 小林規矩夫, 他: 山梨衛公研年報, 35, 42-45 (1991)
- 3) 京都市衛生公害研究所環境部門: 同研究所年報, 58, 151-159 (1992)
- 4) 京都市衛生公害研究所環境部門: 同研究所年報, 59, 145-148 (1993)
- 5) 京都市衛生公害研究所環境部門: 同研究所年報, 60, 143-145 (1994)
- 6) 吉永俊一, 他: 水処理技術, 36(2), 31-34 (1995)
- 7) 京都市衛生公害研究所環境部門: 同研究所年報, 59, 135-144 (1993)
- 8) Schindler, D.W.: Science, 239, 149-157 (1988)
- 9) 坂本充: 水質汚濁研究, 14(9), 599-606 (1991)

沢の池の浮遊性及び底生珪藻について

調査研究部門

Planktonic and benthic diatom communities in the Sawano-ike pond

Seasonal and spatial variations in planktonic and in benthic diatom communities in the Sawano-ike pond were studied from April 1994 to March 1995. Diatom samples from water and mud in the pond were treated with acid fuchsin to discriminate live diatoms. In water samples, benthic diatoms such as *Navicula heimansii*, *Navicula subtilissima* and *Frustulia rhomboides* were present abundantly throughout the year except in July. In water, the ratios of live diatoms to total ones appeared to be very low. In July, *Aulacoseira pfaffiana* increased remarkably in the water, which should be considered to be genuine planktonic species in the pond. As for diatom communities in mud, the ratios of live diatoms were high, and there was much difference in the composition of diatom assemblages among samples from each sampling site. Especially at the northern coast of the pond, *Anomoeoneis brachysira* was dominant for all seasons. The epilithic or epiphytic communities from stones, woods and waterplants were dominated by *Eunotia naegeli*, the relative frequency of which was low in the community from the uppermost sediment core in the pond. In conclusion, the habitat most productive of diatoms in the Sawano-ike pond should be mud. It is important to continue monitoring benthic diatom communities together with planktonic.

Key Words: 浮遊性珪藻 planktonic diatom, 底生珪藻 benthic diatom, 池沼 pond

I はじめに

平成5年度に、酸性雨による陸水生態系調査の一環として、沢の池のプランクトンの季節変動調査¹⁾を行った。

調査の結果、珪藻は他の藻類と比較して、それぞれの種の密度の季節変動が少ないこと、出現した種の多くは、本来は浮遊性の種（プランクトン）ではなく、底泥やれきなどの表面に付着生活するといわれる種（底生珪藻）であることが明らかとなった。その理由として、沢の池では底泥中の珪藻遺骸が、風波により巻き上げられ、浮遊状の個体として計数されているものと推定した。この場合、調査結果は真のプランクトンの季節変動を把握したことにはならない。

沢の池の酸性雨による生態系影響調査の目的の一つは、化学的、生物学的なモニタリングの継続を通じて、酸性雨の影響の兆候をとらえることである。同時に、酸性度や各種のイオン濃度などの水域環境の特性と、そこに生育する生物の種組成との関係を明らかにすることを通して、酸性雨による影響の化学的、生物学的過程を解明し将来予測に役立てることも重要であろう。

水域における藻類の調査では、水中のプランクトンのみを取り扱うことが多い。しかし珪藻の場合、酸性水域では

底生種が多く出現することから、上記のいずれの目的においても、底泥、れき等の基質を試料とする調査は不可欠であると考えられる。

平成6年度は、珪藻の季節変動調査として、水試料中の珪藻に加えて、底泥など付着基質についても、珪藻を計数し、沢の池の珪藻の出現状況の全体像を明らかにしていく試みに着手した。また、そのための有効な手法として、試料中の珪藻の中で葉緑体を有する個体（生珪藻）を計数する方法の検討を行った。調査にあたっては、試料中の総珪藻とともに、生珪藻を計数し、それぞれの試料中の珪藻の消長をより直接的な形で把握することを試みた。

II 方 法

1. 調査地点及び調査期間

1) 浮遊珪藻

Fig.1のA（池心部）地点の表層及び水深4m部分の水層、B（流入側）、C（流出側）地点の表層を、平成6年4月から平成7年3月までの各月に採取し、モニタリング試料とした。

2) 底生珪藻

Fig.1に示す池沿岸部の各調査地点で、水深約30cmの部

分の底泥を約1cmの厚さで約300 ml採取した。調査地点のうちst-1, st-3, st-4, st-8では、平成6年7月より平成7年3月までの各月に採取した。また、st-1からst-9までの全地点(9地点)について、平成6年8月及び11月に底泥を採取した。なお、st-7では5月に、水底に沈んでいる朽ち木、朽ち葉、れき及び水生植物としてヒルムシロについても、底泥と同時に採取し酸分解法によって総珪藻を調査した。

各調査地点の特徴は以下の通りである。

st-1: 堰堤のある池の北岸であり、れきが多い。

st-2: 斜面の傾斜が大きく、急に深くなり、れきが多い。樹木が池面に近い。

st-3: 小さな湾状に入り込んだ地点。行楽客が多い。池の底から南東方向に池水が流出する。

st-4: 直線状に広がる沿岸の地点。

st-5, st-6: いずれも遠浅の地点。st-6は雨量の多い時期に伏流水が流入する。

st-7: 数カ所から伏流水が流入する地点。

st-8: 直線的に広がる遠浅の地点。背後の山地は杉の植林地。

st-9: st-2ほどでないが、斜面の傾斜が大きい地点。れきが多い。

泥は東側の地点では粒子が細かく、深く堆積している。

一方、北岸から西岸、特にst-1は泥の粒子が荒い。

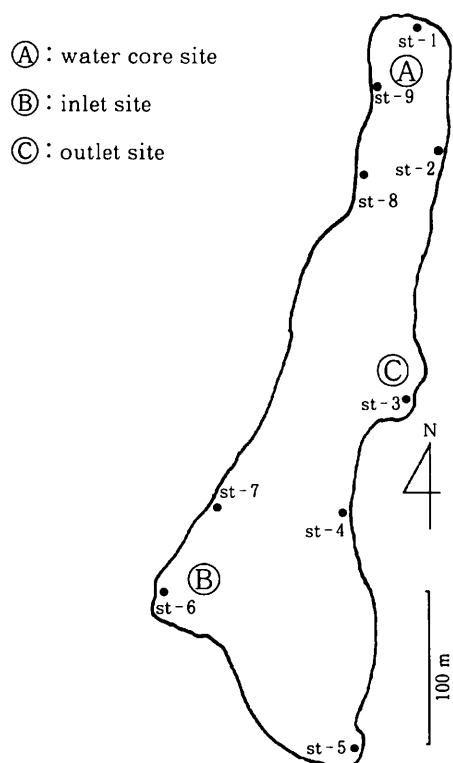


Fig.1 A map with sampling sites for the Sawano-ike pond

2. 試料の処理、生珪藻、総珪藻の計数方法

水試料については、採取後、グルタルアルデヒドで固定し、静置及び上澄の除去を繰り返した後、500~1,000倍まで濃縮し、その0.5mlに1%酸性フクシン、10%酢酸(8:5)混液80 μ lを加え、5分間70℃に加温後、2,000rpm、10分間の遠心分離を行い、沈渣について0.01%酸性フクシン、0.1%酢酸(1:2)混液(希釈液)で1.0mlにメスアップする。この試料液0.5mlを風乾し、封入剤MGK-S(松浪硝子工業株式会社)を用いて、プレパラートを作成した。

底泥試料については、その約0.5mlに対して1%酸性フクシン、10%酢酸(20:5)混液0.25mlを加え、同様に加温、遠心分離する。沈渣に対し上記希釈混液で適量まで希釈し、水試料の場合と同様に処理し、プレパラートを作成した。

プレパラートを鏡検し、葉緑体が赤く染色された珪藻細胞を生きた珪藻(生珪藻)として計数した。また、染色されていない細胞のうち、被殻が破損していない細胞を生珪藻と合わせて計数し、合計数を総珪藻とした。珪藻の種の同定は、Bertalot²⁾に基づいた。また計数は、総珪藻数が400を超えるまで行った。

III 結果及び考察

1. 生珪藻の判別計数について

珪藻の同定と計数に際して、通常の前処理方法では、試料の種類を問わず強酸による加熱処理を行い、生きた珪藻の細胞内容物、及び試料中の狭雑有機物を分解除去する段階を設けることが一般的である。珪藻の種の判別は細胞の被殻の形態に基づくので、上記の分解処理を行うのであるが、その結果、計数された細胞が生きた状態で存在したのか、既に死んだ過去の細胞なのかについては情報が得られない。珪藻の被殻は細胞が死んでも長期間存在するので、生物による環境のモニタリングの目的からすれば、これは望ましいことではない。

平成6年度の沢の池の珪藻調査は、酸処理による常法で行ったが、それぞれの珪藻の水中密度の季節変動が珪藻以外の藻類と比べて小さく、採取地点間の差異も少ない傾向であることが明らかになった。その理由として、沢の池では微細な底泥とともに底生珪藻遺骸が巻き上げられ、プランクトンとして計数されるためであると考察した。そしてこの計数結果には、沢の池における、相異なる生活の場に生息する珪藻の種組成が、総合的に反映されていると理解できると指摘した。しかし、本来は他の藻類と同様に水層の生きた状態の珪藻を正確に計数する事が、モニタリングの主旨に沿うものと考えられる。

染色した細胞を計数して珪藻の調査を行った例として、酸性フクシンを用いた報告³⁾がある。これは試料をろ過し、ろ紙上で酸性フクシン染色を行い、油浸液でろ紙を透明化し、そのまま検鏡する方法である。この方法を試行してみたが、ろ紙上の試料のムラが大きく、介在するろ紙も検鏡には不都合であった。そこでいくつか検討した結果、実用に耐えると思われる酸性フクシン染色法を確立した。本法では、珪藻の中で染色されない個体については、常法によるマウントメディア封入試料と、大きくは変わらない解像度が得られる。ただし、当然ながら生きた細胞では、葉緑体により被殻の微細な構造が分かりにくい。しかし、沢の池における個々の珪藻について、既に常法によるプレパラートで十分に観察した経過を踏まえているので、生珪藻でも種類毎の計数結果に大きな誤差を生じることは無いと考えられる。それでも例えば *Anomoeoneis brachysira* と *Caloneis sp.* の小型種など、互いに判別しにくい例があるが、*Caloneis sp.* の個体数は少ないので、結果を左右する要因とはならなかった。また、底泥試料は水試料と比べ夾雑物が多くなるが、鏡検に際して光量の調節などを行いつつ、種の判別と計数を行うことは可能であった。

2. 調査結果

沢の池の水層及び底泥など付着基質中に出現する珪藻の主要種を以下に示す。

Navicula heimansii (*N. heimansii*)
Navicula subtilissima (*N. subtilissima*)
Anomoeoneis serians (*A. serians*)
Anomoeoneis brachysira (*A. brachysira*)
Eunotia naegelia (*E. naegelia*)
Frustulia rhomboides (*F. rhomboides*)
Fragilaria nanana (*F. nanana*)
Aulacoseira ambigua (*A. ambigua*)
Aulacoseira pfaffiana (*A. pfaffiana*)
Aulacoseira distans (*A. distans*)
Peronia fibula (*P. fibula*)

池の水層に見られる主要な8種の珪藻についての結果を Fig.2, Fig.3, Fig.4 に示した。

3地点の生珪藻の密度は、*A. pfaffiana*を除いて非常に低い (Fig.2)。Fig.3に示すところの、総珪藻個体数に対する生珪藻の比率 (生珪藻比率) も、特に *Navicula* 属の2種、*F. rhomboides* では非常に低い。この結果は、後述する底

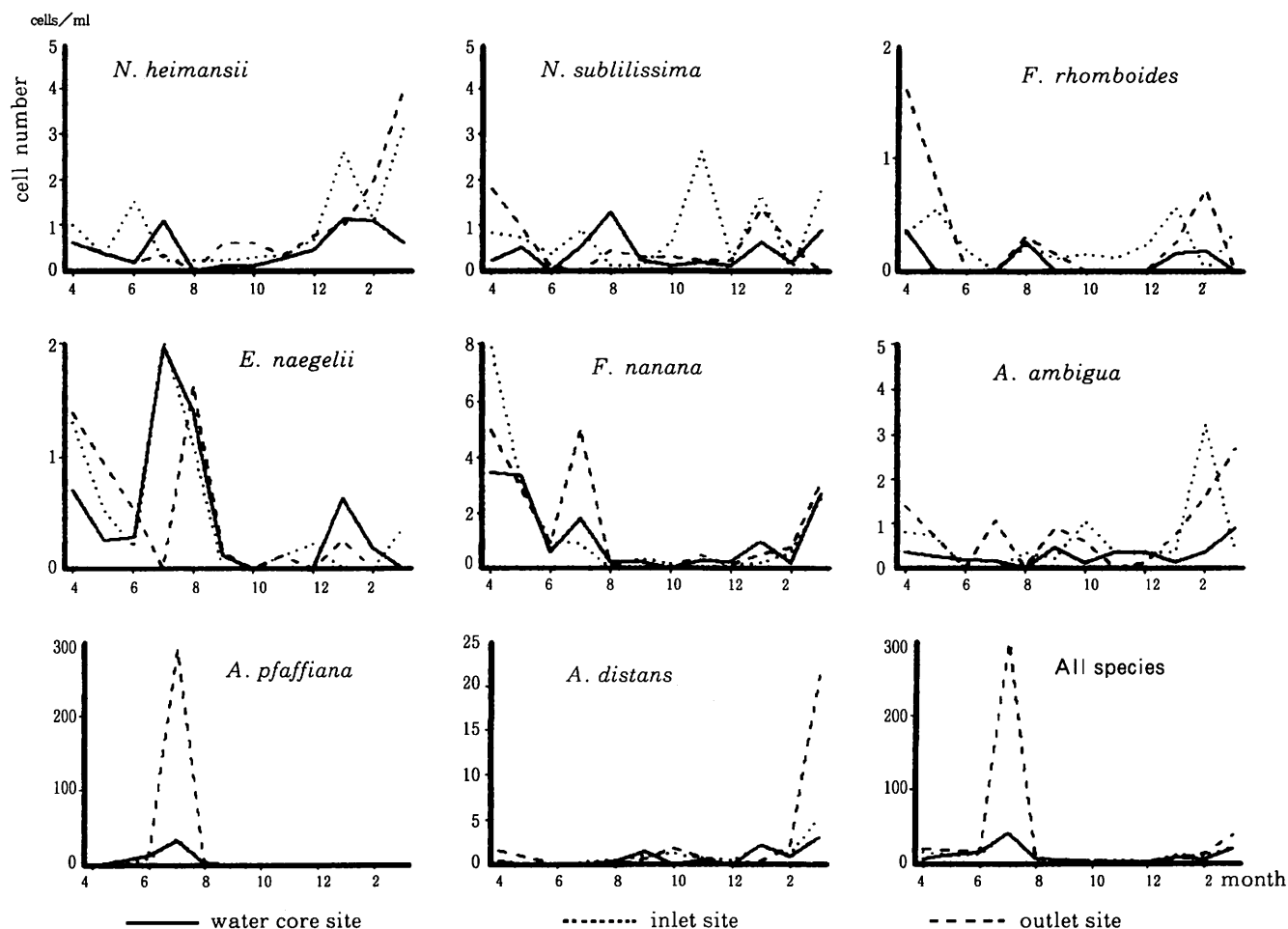


Fig.2 Seasonal variations in planktonic live diatom numbers

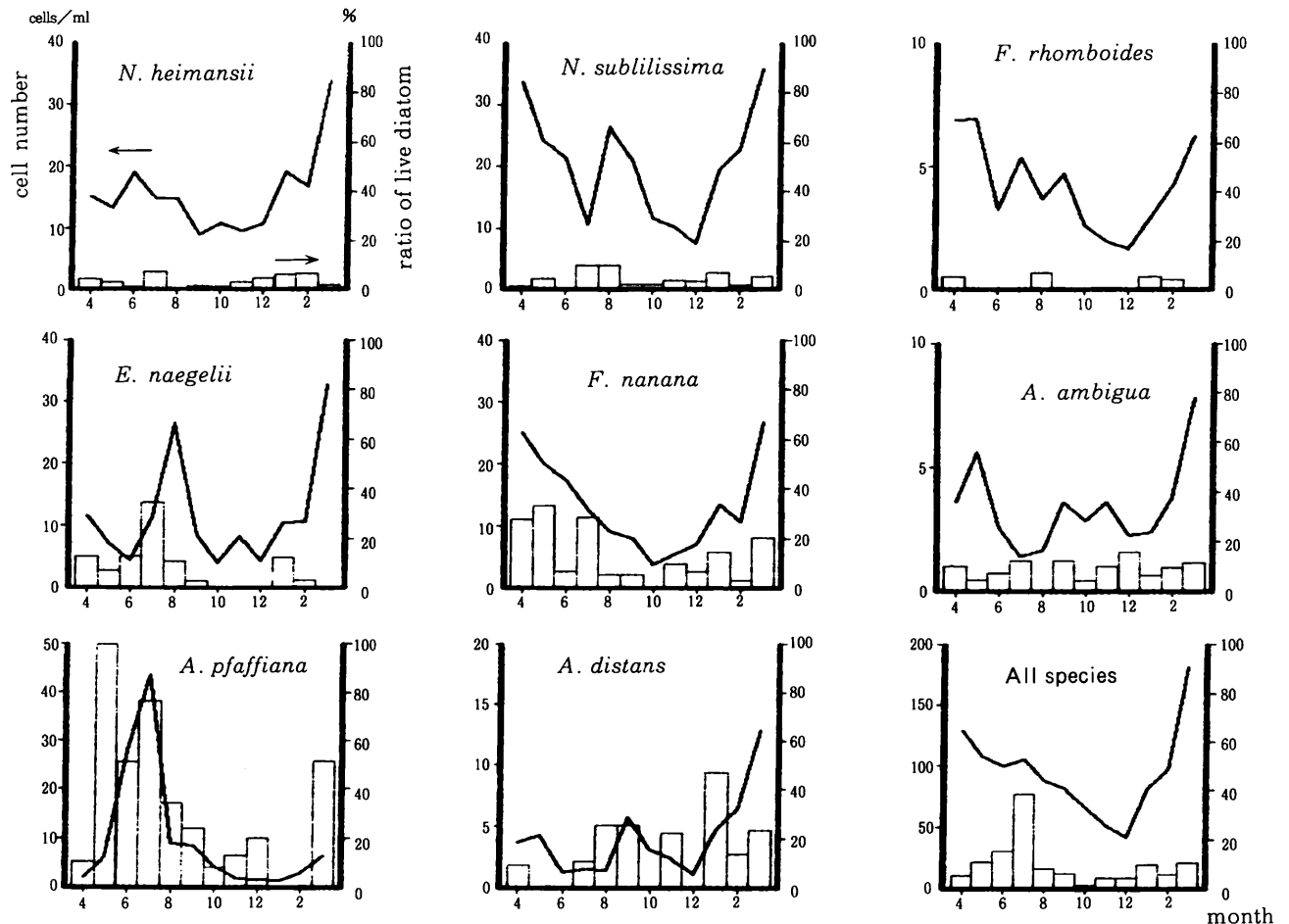


Fig. 3 Seasonal variation in planktonic total diatom numbers and ratios of live diatoms

泥試料についての結果と併せ、これらの種が底生種であり、多くはその遺骸を計数していることを裏付けるものである。*E. naegeli*の生珪藻比率は7月には比較的高い。しかし、本種は水沈朽木やヒルムシロなどの水生植物に非常に多く付着していることが観察されており、一般的に認められているように、付着性の種であると考えられる。*F. nanana*は4月、5月には生珪藻比率が30%程度に達している。後述するように、本種は地点によっては、底泥中でも比較的生珪藻比率が高いので、浮遊性、底生性の両面を有する種かもしれない。

Aulacoseira 属3種の中で、典型的に浮遊性種の特性を示した種は *A. pfaffiana* のみであった。本種は、7月には流出口側で特に生珪藻密度が高く、珪藻全体の消長をも左右している。*A. ambigua*、*A. distans*も浮遊性の種とされているが、生珪藻比率はそれほど高くない。

7月に見られる *A. pfaffiana* の著しい増殖は当然総珪藻の密度でも確認できる。常法を用いて総珪藻密度の調査を行った昨年度は、このような特定の種の著しい増殖は認められず、明らかに本年度の特徴と言える。*A. pfaffiana*

以外の生珪藻密度は小さいが、生珪藻、総珪藻ともに、秋期には更に密度が低下する傾向がある。更に、*F. nanana*は春期に、*N. heimansii*、*A. ambigua*、*A. distans*は1～3月に密度が増大した。

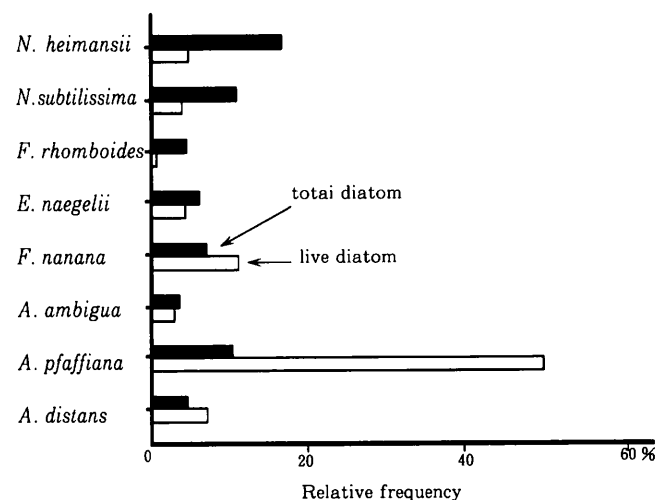


Fig. 4 Relative frequencies of planktonic diatom species from a water core site on the average 1994

Fig.4には、池心部水層中の主要種の相対出現頻度を年間の平均として示した。出現頻度は、生珪藻、総珪藻間で差異があり、浮遊性とされる *Aulacoseira* 属の種は、生珪藻が総珪藻と比べ出現頻度が高い傾向にある。逆に、底生種とされる種では、前述のように底泥上の個体の遺骸が、水層に浮遊し、それを含めて計数されるので、総珪藻の出現頻度が高くなる。このことから、沢の池のプランクトンとしての珪藻のモニタリング調査は、総珪藻の計数による方法では不十分であることがわかる。

湖沼の生態系において、藻類の生活の場は、水層と底泥などの付着基質の表面とに大別される。前述したように沢の池では水層中では一部を除き生きた珪藻は非常に少なく、黄色鞭毛藻、渦鞭毛藻などがプランクトンの中心である。それに対して、底泥試料を鏡検してみると、珪藻が非常に多く、かつ酸性フクシンに染色される生きた珪藻の比率が高い。したがって、湖沼の生態系を研究する際に、底泥の珪藻の種組成、密度についての調査は不可欠と考えられる。

各地点で採取した底泥中の珪藻は、単位面積あるいは重量当たりの密度ではなく、相対頻度で評価した。これは底泥を、一定の面積あるいは厚さで採取することが難しい

からであるが、モニタリングの立場からは密度で評価することが望ましく、今後の課題である。

平成6年8月及び11月に行った、9地点全てについての調査結果をFig.5 (A, B) に示した。更に、珪藻の出現頻度に関して、それぞれの地点の特徴をTable 1にまとめた。

その中で、*N. heimansii*, *N. subtilissima*, *A. brachysira*, *F. rhomboides* は比較的出現頻度の高い種であるが、生珪藻については、それぞれst-2, st-8, st-1, st-4で特に高い。総珪藻についても類似の傾向が見られるが、*N. heimansii*, *F. rhomboides* では地点間の差異がより少ない傾向である。*A. brachysira* は、生珪藻、総珪藻共に地点間での出現傾向の違いが最も大きく、池の西岸から北岸にかけて多く、逆にst-3, st-4, st-5の各地点での出現頻度は非常に低い。*A. seriens* は11月は少ないが、8月にはst-4, st-9で比較的多い。*N. iridis* は池の南部と比べ、北部の各地点では出現頻度が低い。*F. nanana* はst-2で幾分出現頻度が高く、st-3, st-4, st-5では低い。本種は*N. heimansii* とともに、池の最深部で採取した堆積物コアの上部において、出現頻度の高い種である。これら2種の出現頻度が高いst-2は、コア採取地点に最も近い位置にあ

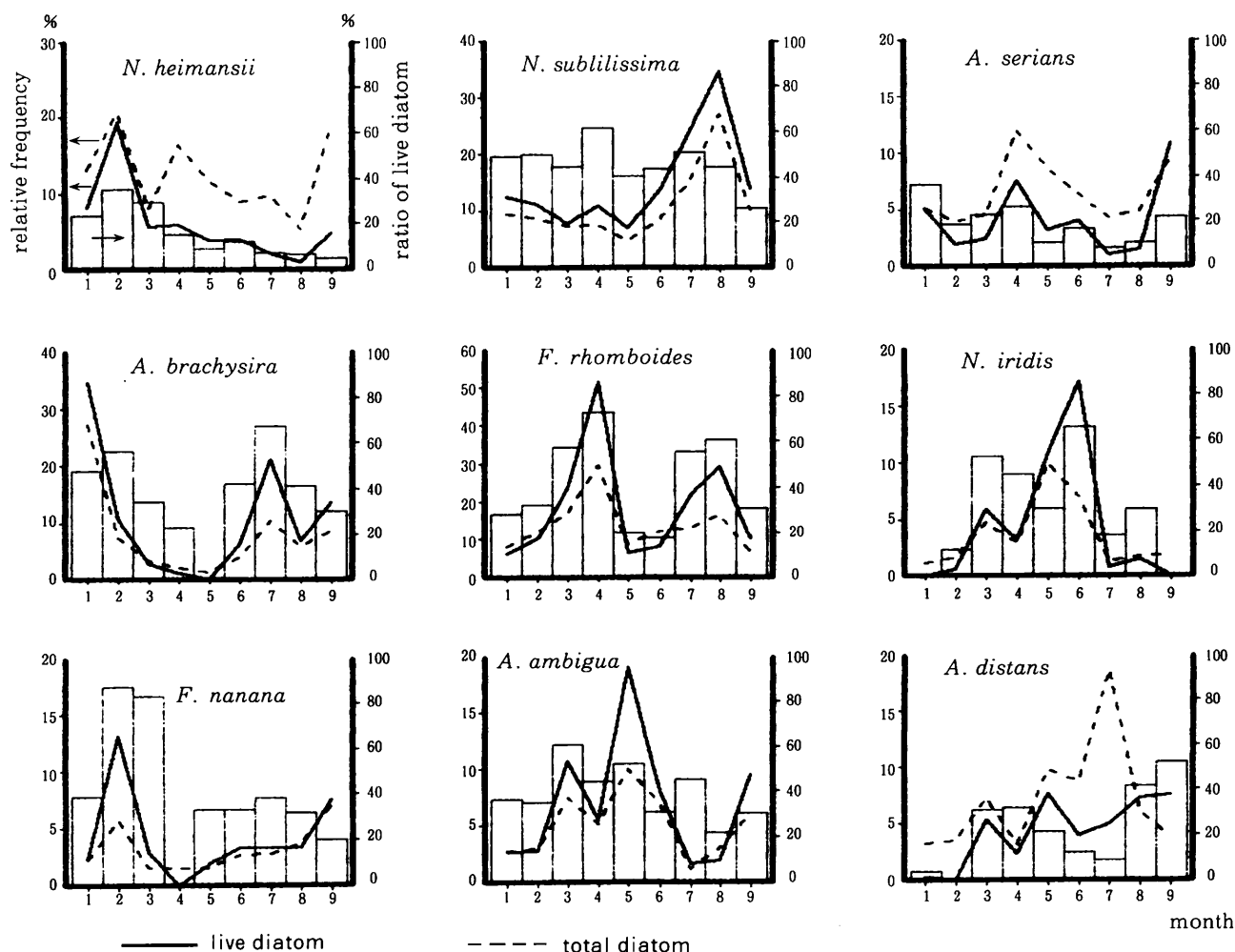


Fig.5 A Spatial variations in relative frequencies of epipellic diatom species in August

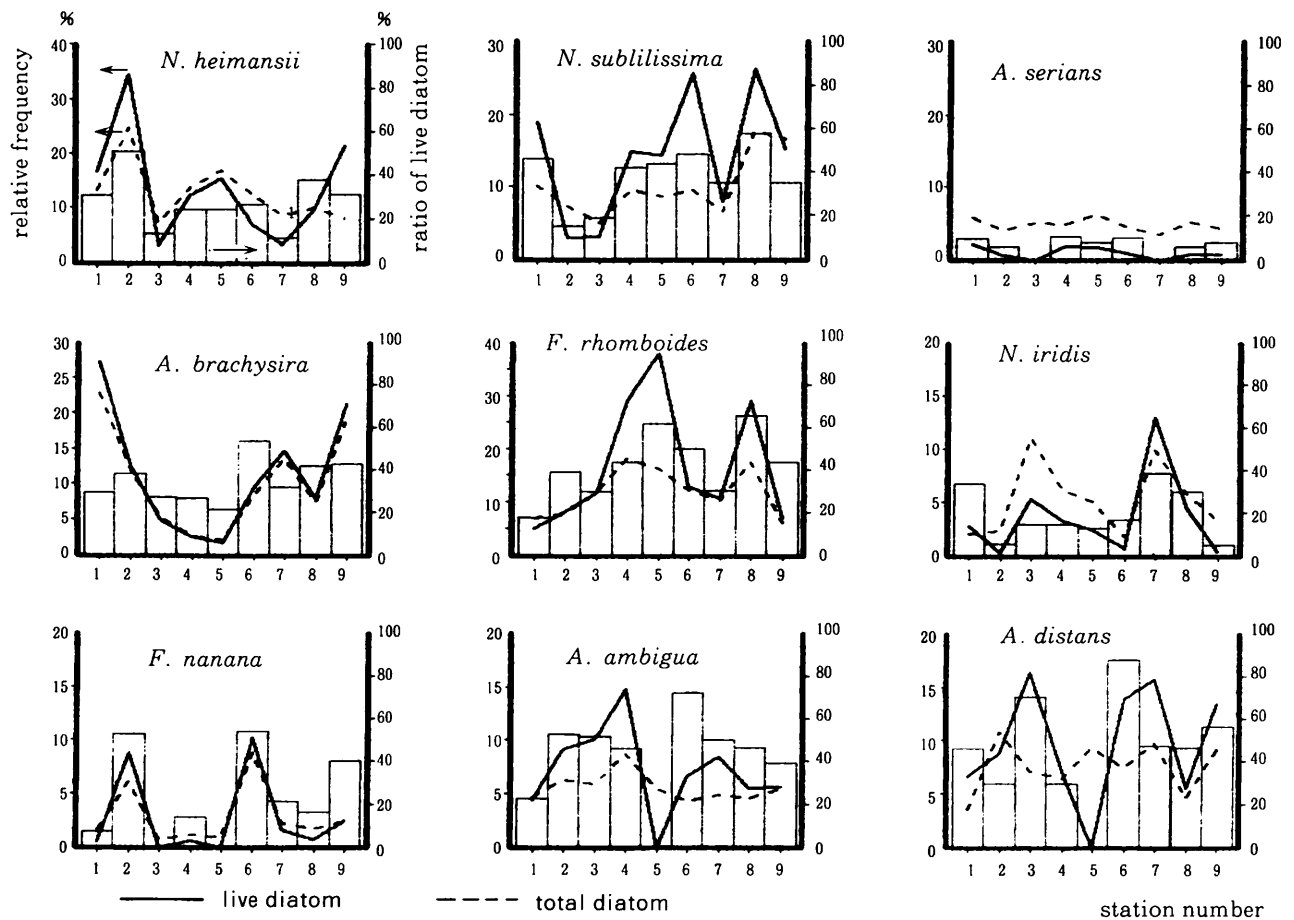


Fig.5 B Spatial variations in relative frequencies of epipellic diatom species in November

Table 1 Spatial characteristics of relative frequency of benthic diatom species

SPECIES	st-1	st-2	st-3	st-4	st-5	st-6	st-7	st-8	st-9
<i>N. heimansii</i>		◎							○
<i>N. subtilissima</i>	○			○				◎	
<i>A. seians</i>				○					○
<i>A. brachysira</i>	◎						○		○
<i>F. rhomboides</i>				○					
<i>N. iridis</i>						○	○		
<i>F. nanana</i>		◎				○			
<i>A. ambigua</i>				○	○				
<i>A. distans</i>			○				○		

◎: high relative frequency both in August and in November

○: high relative frequency in either month

り、コアの珪藻種組成に大きな影響を与えた可能性がある。*Aulacoseira*属の2種には、2回の調査に共通した、地点間の出現傾向の特徴は見られない。

前述した水層の*A. pfaffiana*の例を除いて、底泥中では水層中と比べて、総珪藻に占める生珪藻の比率はるかに高い。予想外の結果は、一般的には浮遊性珪藻とされている*Aulacoseira*属の2種でも生珪藻比率が高いことである。これらは水層中と比べてもその比率がむしろ高い。こ

れが生態学的な特質に基づくものか、たまたま沈降した個体を計数したのか不明である。

Fig.6は4地点における生珪藻の出現頻度を、月毎に調査した結果である。経月的な変動傾向の特徴はあまり明瞭でないが、*A. serians*, *F. rhomboides*, *N. subtilissima*は冬に出現頻度が低く、一方、*Aulacoseira*属の2種、*N. iridis*は秋から冬にかけて出現頻度が高い傾向がうかがわれる。

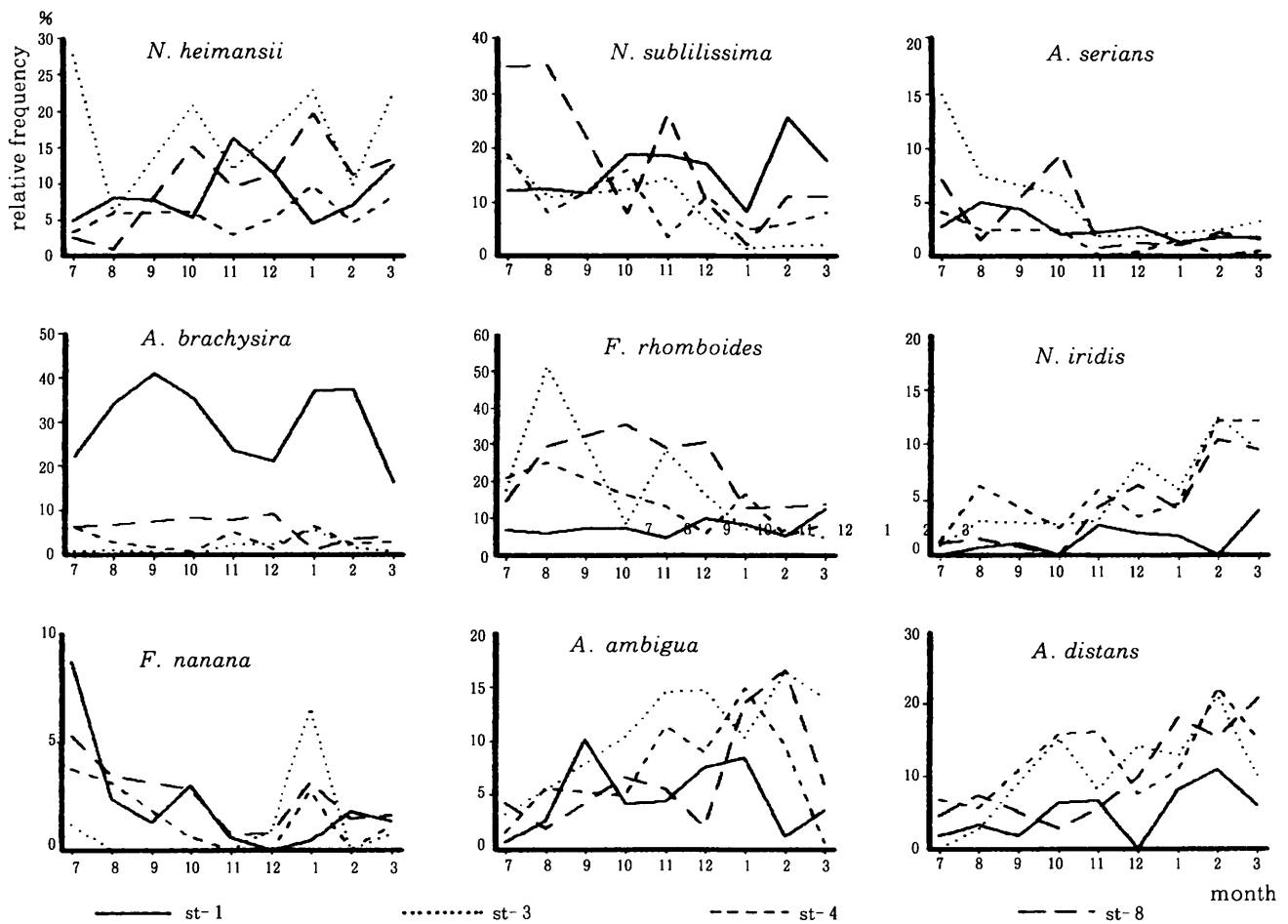


Fig.6 Seasonal variations in relative frequencies of epipellic species of live diatoms from four sampling sites

しかし、st-1では特定の傾向は見られない。年間の出現頻度の傾向を知るためには、珪藻の生産量が高い春期の調査結果を待たなければならない。

4地点における9か月間の、主要な珪藻出現頻度の地点

毎の平均をFig.7に示した。st-1は*A. brachysira*が多い点で際立っており、st-4は*N. heimansii*, *F. rhomboides*が、st-8では*F. rhomboides*, *N. subtilissima*が多い。st-3では、図に示していない種で、他の地点ではあまり見

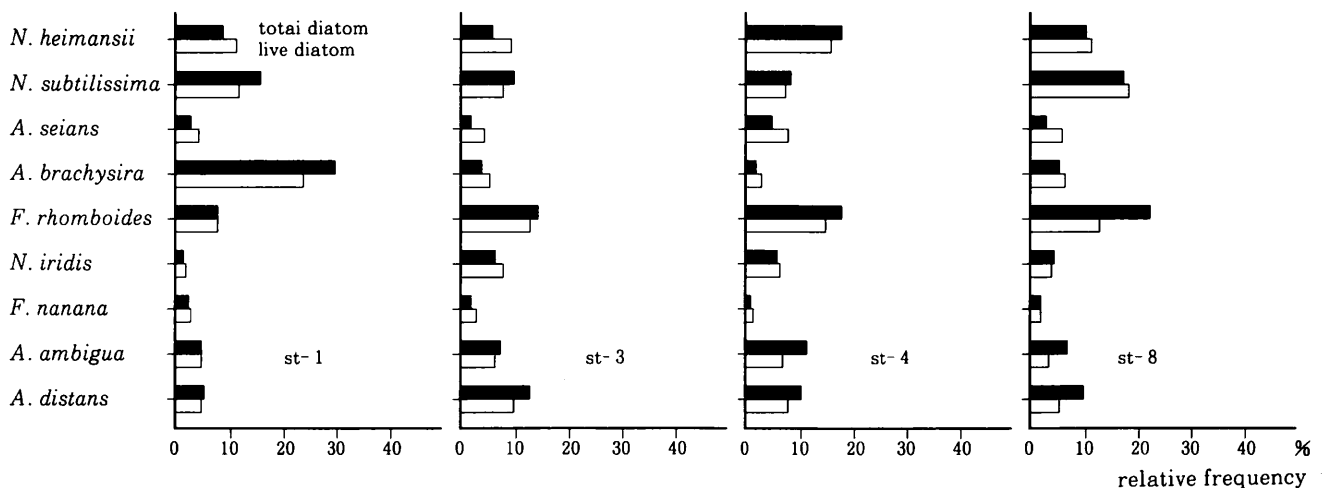


Fig.7 Relative frequencies of epipellic diatom species from four sampling sites on the average July 1994 to March 1995

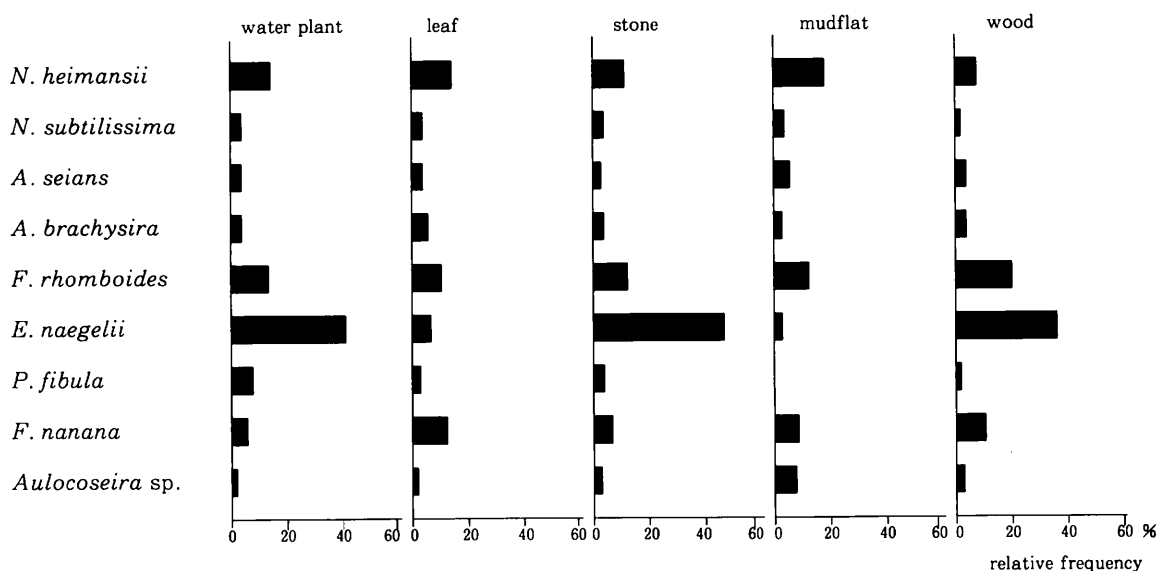


Fig.8 Relative frequencies of diatom species in each substratum from st-7, May 1994

られない*Navicula notha*, *Navicula riparia*の出現頻度が高かった。更に、いずれの地点でも、生珪藻、総珪藻の出現頻度の違いが、浮遊状珪藻の場合 (Fig.4) と比べて少ないことがわかる。

st-7では、種類の異なる付着基質を採取し、それぞれに付着している総珪藻の出現頻度の特徴を調査した (Fig.8)。これより、*E. naegeli*の出現頻度が基質によって非常に異なることがわかる。すなわち、ヒルムシロ、朽ち木、れきで非常に高く、底泥、朽ち葉では低い。採取地点あるいは採取時期によっては、朽ち木からは*A. brachysira*や*P. fibula*が高頻度に出現することもある。一般に、植物質の基質に*Eunotia*属の種が多く付着することは、既に認められている。れきの場合、既に付着しているところの糸状緑藻類に、二次的に*E. naegeli*が高密度に付着している様子が観察され、やはり植物質が介在していると言える。

ところで、その湖沼に産する珪藻の全体像は、最深部の堆積物表層の珪藻種組成に反映されると言われる。沢の池最深部堆積物表層には、*Eunotia*や*Pelonias*属の珪藻は少なく、Epipelagicな種が多い。したがって、底泥が沢の池の珪藻の最大の生産の場と考えられる。

以上に述べたように、酸性の湖沼で多くなるとされる底生珪藻類が、底泥中では生珪藻としても高い頻度で見いだされたことから、酸性雨による生態系影響調査にとって、底泥など付着基質上の珪藻のモニタリング調査は、不可欠の課題と考えられる。また、各地点の底泥、れき、水生植物、朽ち木などの付着基質の珪藻の調査は、堆積物コア中の珪藻の種組成に基づく沢の池の過去の水質、環境の変遷についての推定⁹⁾に対しても有益な知見を与えるものと思われる。今後、各地点の水質、底泥の理化学的な分析を行

い、それぞれの珪藻の生育の場としての、各地点の環境の特質を明らかにする必要がある。

IV ま と め

1. 水層及び底泥試料中の珪藻を酸性フクシン染色することにより、黄緑体を有する珪藻を生珪藻として、それが消失した珪藻遺骸と区別して計数する方法を検討し、モニタリング調査に用いた。
2. 沢の池の水層中で、生珪藻の密度が高く、総珪藻に対する生珪藻の比率が高い種は、7月に高密度で出現する*A. pfaffiana*のみであった。他の*Aulocoseira*属の2種及び*F. nanana*については浮遊性かどうかの判断は難しいが、その他の多くの種は底泥上で繁殖する種であり、プランクトン調査では、その遺骸を計数していることが確認された。
3. 地点別の底泥試料の調査からは、*A. brachysira*がst-1で、*N. subtilissima*がst-8で出現頻度が高いなど、珪藻の種組成について、それぞれの地点に特性が認められること、また、沢の池における珪藻の最大の生産の場は底泥であることが推定された。

V 文 献

- 1) 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報，No.60, 125-130 (1994)
- 2) Bertalot, H.L., et al.: Süsswasserflora von Mitteleuropa, Gustav Fischer Verlag, Jena (1986-1991)
- 3) Denicola, D.M.: Diatomeen and Lake Acidity, 73-85, Dr W. Junk Publisher (1986)
- 4) 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報，No.60, 116-124 (1994)

微小酸素電極センサー部の形と酸素拡散電流の関係

調査研究部門

Relation between the tip shape and the oxygen diffusion current of an oxygen micro-electrode under the direct current flow

The effect of the tip shape on the diffusion current from an oxygen micro-electrode was studied using a medium containing 2.4mM Ca ion under the application of -0.6V DC. The electrode was a platinum wire 200 μ m in diameter coated with urethane resin for insulation. The naked-electrode was covered with a teflon membrane, and two different tip shapes were tested; circular corn and hemisphere (hyperboloid). With the circular corn type, a higher rate of current was generated at 10% than at 45% or 95% oxygen gas. Therefore, the calibration line of the current against the oxygen gas gradually sloped as the oxygen gas level increased. With the hemisphere tip, the rate was lower at 10% than at higher oxygen gas levels. Therefore, the calibration line gradually sloped upward as the oxygen gas level increased. In conclusion, another shape of electrode tip, between the shape of hemisphere and that of circular corn type, should be used for a more preferable calibration curve.

Key Words: 微小酸素電極 oxygen micro-electrode, 白金線電極 platinum wire electrode
電極先端の形 shape of electrode tip, 半球体型と円錐体型電極 hemisphere and circular corn type electrodes, 酸素拡散電流の安定化 stabilization of oxygen diffusion current

I 緒 言

ニューロンの生命維持活動は、主にブドウ糖を酸化的磷酸化過程により生産したアデノシン・トリフォスフェイト(ATP)を分解利用して営まれる。このATPの生産過程で脳は多量の酸素を消費する。したがって、外部より酸素供給の無い閉鎖系組織では、脳の組織酸素分圧はATP生産の代謝活動により低下することが判る。これら脳組織における組織酸素分圧は、局所に微小酸素電極を用いて計測することができる¹⁾。しかし、実際に微小酸素電極を脳組織に応用してみると、組織の酸素分圧を表す酸素拡散電流のシグナルは、培養中に含まれるカルシウムイオンにより経時的に劣化現象を起こすなど、なお解決すべき問題点がある。当研究部門では数年前よりこの問題の解決について、以下のようにいろいろな角度から検討している。

ウレタン樹脂被覆白金線(径200 μ m)の先端を露出し、テフロンで被膜した微小酸素電極を用いた実験において、陰陽の矩形波状の交番電圧を加えることによって酸素拡散電流の劣化現象を防ぐ方法を報告した^{1, 5)}。しかし、この方法による実験において、交番電圧や直流通電に関係なく酸素拡散電流が経時的に劣化する時と、しない時があった。そこで次の過程として、被膜の性状や厚さの変化によって

影響される酸素拡散電流の変化に注目し、その結果を報告した^{2, 6)}。一方、実験中の電極抵抗の変化を測ってみると、拡散電流測定実験の開始前と終了後とでは抵抗値の異なることが判った。特に被膜作成直後では電極の抵抗値は高いが、実験終了後ではその値は大きく低下していることが判ってきた。これらのことから酸素拡散電流の不安定性を引き起こす原因の一つに、通電中に発生する抵抗値の経時的な変化も考えられ、そのためあらかじめ微弱電流を通電することで酸素電極抵抗値を安定化させる問題について検討した^{3, 7)}。今回は、微小酸素電極先端のセンサー部の形の変化と酸素拡散電流の関係に注目したところ、興味ある知見を得たので報告する。

II 方 法

1. ニードル型微小酸素電極の形状

ウレタン樹脂被覆の白金線(径200 μ m)の先端を露出させ、半球体と円錐体とし、酸素電極の先端にはテフロン被膜を行った(インターメディカル社製)。

2. 通電処置

購入した電極に後通電処置を行った^{3, 7)}。ここでは酸素電極側を陰極として、0.15Vで約10時間の連続通電を行っ

た。この場合、クレブス・リンゲル液からカルシウムイオンを除いた培養液を用いた。対極には白金線（直径1mm）を用いて陽極とした。

3. 酸素拡散電流の測定法

1) 印加電圧と校正ガス

酸素拡散電流の測定は酸素電極を陰極とし、銀-塩化銀電極棒（直径1mm）を陽極として、両電極の間に-0.6Vを印加した。使用した校正ガス中の酸素ガス成分は10%、45%及び95%であり、これに5%炭酸ガスと残りは窒素ガスとした。

2) 培液

測定用の培液は、通常のクレブス・リンゲル液を使用した。この培液は約80mlの実験槽に入れ、拡散電流の測定中はスターラーで常時攪拌し、液温は37℃に保った。

3) 酸素拡散電流の測定

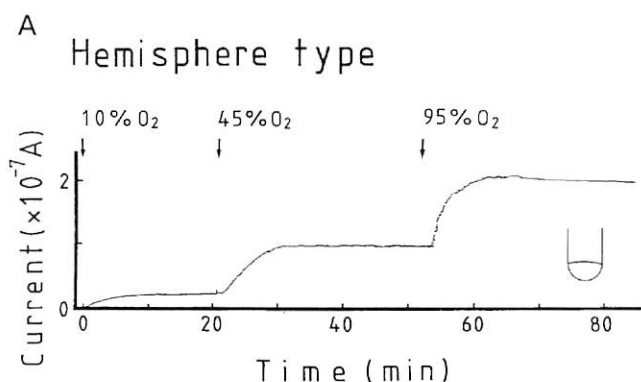
酸素拡散電流の電気的シグナルは、ペンレコーダーの記録紙上に描記した。電極の先端の形状は、実験の前後に実体顕微鏡下で観察し、写真撮影を行った。使用した倍率は63倍である。

電極抵抗値は、微小電極測定計(MZZ-1100)（日本光電）を用いて計測した。

III 結 果

1. 半球体型酸素電極の拡散電流の変化

センサーの部分の半球体型になっている酸素電極を用いて測定し、得られた拡散電流の結果を Fig.1A に示した。



培液中に窒素ガスに代わって、10%酸素ガスを通気し始めると拡散電流が発生し、時間の経過と共にゆっくり増加した。10分間の通気の後、ほぼプラトーに達した。引き続き酸素ガスを流してもプラトーのレベルはほとんど変化せず、約20分間通気した時の電流値は $0.2 \times 10^{-7} \text{ A}$ であった。次に、45%の酸素ガスを通気すると電流値は増加し始め、15分間通気の後にはプラトーに達し、その値は $0.98 \times 10^{-7} \text{ A}$ であった。

B Hemisphere type

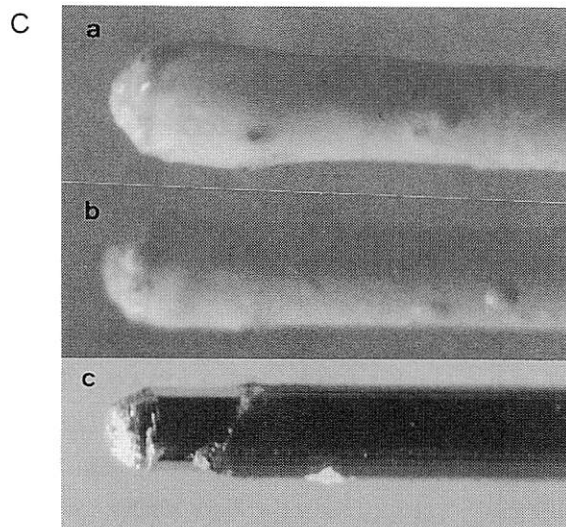
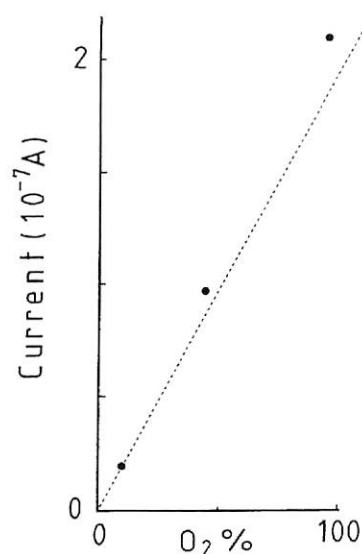


Fig.1 The experiment with hemisphere type electrode

- A: Experiment in the measurement of oxygen diffusion current was carried out by using the hemisphere type oxygen micro-electrode.
 B: Relation between oxygen diffusion current and oxygen gas; The current values at 45% and 95% oxygen gas were located over the dotted line drawn between the origin and the current value at 10% oxygen gas on the graph.
 C: Photographs of hemisphere type oxygen micro-electrode tips of platinum wire ($\phi:200 \mu\text{m}$) used in experiment
 a. Before experiment; b. After experiment; c. Naked electrode tip after removal of teflon membrane after experiment

引き続き95%酸素ガスに代えて通気すると、電流値は増加しやがて 2.1×10^{-7} Aのレベルで安定した。

記録されたプラトーの酸素拡散電流値のデータから、電流-酸素ガス校正線を描くことにより、次の特徴が分かった (Fig. 1 B)。

原点と10%酸素ガスの時の電流値を直線で結んで延長線を描くと、10%酸素ガスの通気中に得られた単位酸素に対する拡散電流の比率（以下拡散電流の比率のこと）の大きさは、45%や95%酸素ガスの通気中に得られた比率に比べて小さかった。したがって、45%や95%酸素ガス時の電流値は、この直線より上に分布した。すなわち、校正線は上方拡散型の曲線となった。

なお、実験開始以前の電極抵抗は $0.1 \text{ M}\Omega$ であり、酸素ガスの通気実験の終了後に窒素ガスを10分間通気した時の値は $0.3 \text{ M}\Omega$ であった。

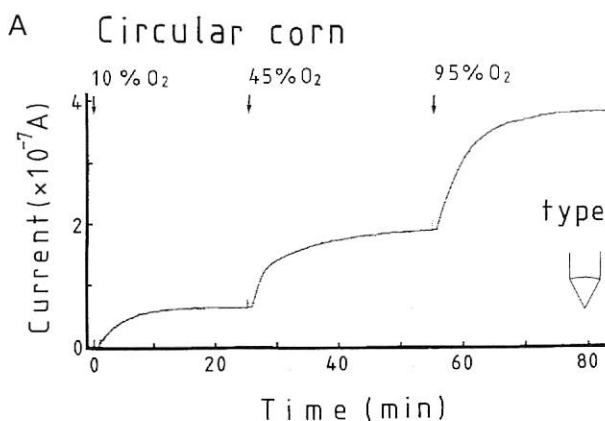
写真 (Fig. 1 C) は電極先端の形状を示す。実験終了後の膜を剥離すると、先端が半球形になっていることが分かる。ここでは剥離操作の際、外側のレジン（褐色）の一部が破損された。

2. 円錐体酸素電極の拡散電流の変化

センサー部が円錐体酸素電極のうち、ほぼ正三角錐型（タイプ 1）とこの電極よりセンサー部の長さが 2 倍の二等辺三角錐型（タイプ 2）の二種類の円錐体酸素電極を試みた。

1) タイプ 1 型

Fig. 2 A は円錐体酸素電極のタイプ 1 型を用いて測定した際に、得られた酸素拡散電極のシグナルである。



培液内に10%酸素ガスの通気を行うと、酸素拡散電流は発生し始め、25分間の通気によって 0.6×10^{-7} Aのレベルに達した。45%酸素ガスに切り替えると、初めは急激に上昇したが、やがて穏やかな上昇に転じ、ほぼ 1.88×10^{-7} Aの値のプラトーに達した。次に95%酸素ガスに切り替えて通気すると、初期にはやはり急激に増加したが、やがて増加率は減少し、ほぼ30分後にプラトーに達した。

この電極を用いて記録された酸素拡散電流のデータから、電流-酸素ガス校正線を描いた (Fig. 2 B)。すなわち、原点と10%酸素ガスの時の電流値を直線で結んだとき、10%酸素ガスの通気下の拡散電流の比率の大きさは、45%や

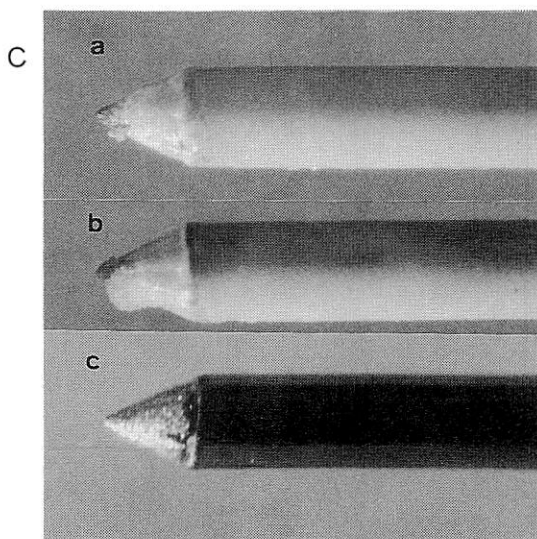
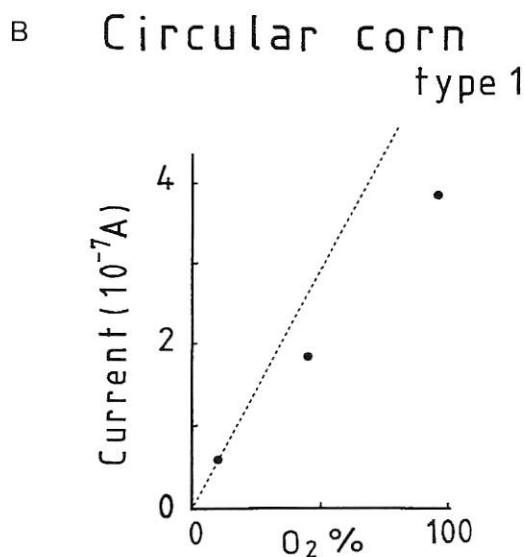


Fig.2 The experiment with circular corn type 1 electrode

A: Experiment in the measurement of oxygen diffusion current was carried out by using the circular corn type 1 oxygen micro-electrode.

B: Relation between oxygen diffusion current and oxygen gas; The current values at 45% and 95% oxygen gas were located under the dotted line on the graph. Aging of electrode was recognized in this case.

C: Photographs of circular corn type 1 electrode tips; a. Before experiment; b. After experiment; c. Naked electrode tip after removal of teflon membrane after experiment

95%酸素ガスの通気下で得られた比率より大きいので、高濃度酸素ガス下での電流値はこの直線より下に来た。したがって、校正線は高い濃度の酸素ガス通気下ほど頭打ちとなる。すなわち、劣化現象が起きたことを示している。

一方、電極抵抗については、実験前は $0.3\text{M}\Omega$ であったが、実験終了後に窒素ガスを10分間通気した後に測定して見ると、ほとんど変化なく $0.4\text{M}\Omega$ になっていた。

写真 (Fig. 2 C) は電極先端の形状を示す。それぞれ実験前、実験後、および被膜を剥離した後の像を示している。

2) タイプ2型

Fig. 3 A はタイプ2型の円錐体型酸素電極を用いて実験した時の酸素拡散電流を示している。

25分間の10%酸素ガスの通気によってプラトーに達し、その値は $1.28 \times 10^{-7}\text{A}$ であった。次に、ほぼ30分間の45%酸素ガスの通気によって $4.02 \times 10^{-7}\text{A}$ のレベルに達した。95%酸素ガスに代えて通気すると一過性に $7.26 \times 10^{-7}\text{A}$ のレベルに達したが、その後拡散電流は直ちにゆっくりと減少し始めた。すなわち、電極のセンサー部の劣化が始まっている。

この電極から記録されたプラトー値のデータより電流-酸素ガス校正線を描いた (Fig. 3 B)。原点と10%酸素ガス時の電流値を結んで直線を引き延長した。拡散電流値の比率は10%酸素ガス下では大きく、45%や95%ガス下では小さくなっているため、これら高い濃度の酸素ガス下での

電流値はすべて直線より下に位置した。すなわち、プラトーに到達した時にすでに劣化していることが分かった。その上、95%酸素ガスの通気下でピーク値を示した電流値は、プラトーを保つことなく減少し始めた。

この酸素電極の抵抗値は、実験前で $0.17\text{M}\Omega$ 、実験後で $0.18\text{M}\Omega$ であり、ほとんど変化は認められなかった。

写真 (Fig. 3 C) はそれぞれ実験前、実験後、および被膜剥離後の電極の形状を示している。被膜剥離後の円錐体型(2)では、円錐体型(1)に比べて鋭利さがよく表れている。

B Circular corn type 2

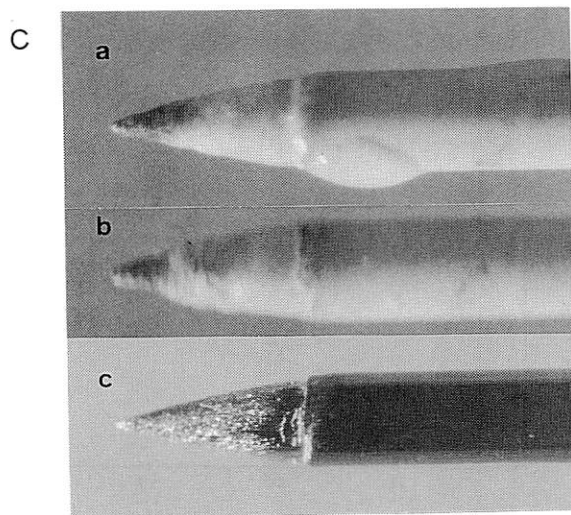
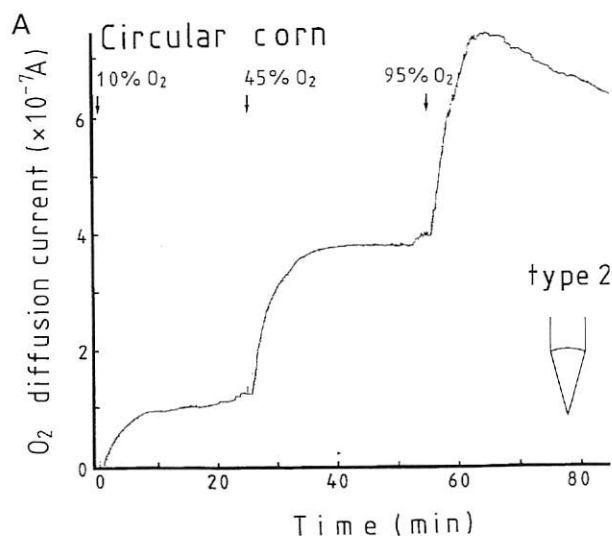
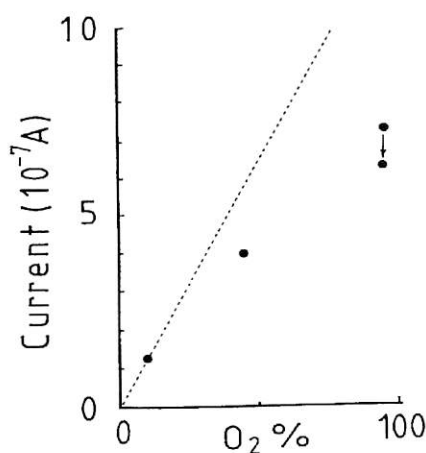


Fig.3 The experiment with circular corn type 2 electrode

- A: Experiment in the measurement of oxygen diffusion current was carried out by using the circular corn type 2 oxygen micro-electrode.
- B: Relation between oxygen diffusion current and oxygen gas; The current values at 45% and 95% oxygen gas were located under the dotted line on the graph. Aging of electrode was highly recognized in this case.
- C: Photographs of circular corn type 2 electrode tips; a. Before experiment
b. After experiment c. Naked electrode tip after removal of teflon membrane after experiment

IV 考 察

実験に使用した電極より記録された酸素拡散電流の記録を利用して、縦軸を電流値とし横軸を酸素濃度とした校正線を描くと、センサー部である電極先端が半球体型ないし双曲面体型（実験結果は示されていない）の酸素電極の校正線は上方に拡散型を示す傾向が認められた。この場合、酸素ガス濃度の低い時の電流値は比較的小さく、高濃度での電流値は比較的大きいために、このような現象が観察された。一方、大部分の円錐体型電極の校正線は経時的に減少したので収斂型を示した。これは初期の電流値が相対的に大きく、高い酸素濃度領域では低下したためである。

この原因の機構は、電極の形によって電極表面に発生する電流密度に部位差が生じるので、センサー表面の活性部の反応能の劣化にも部位差が生じたためと考えられる。すなわち、先端が鋭利なほどその部位の電流密度が高くなり、その結果、そこへのCaイオンの沈着がより多く起こったためと考えられる。このことは、半球体型よりも円錐体型電極のほうに酸素拡散電流の劣化（経時的減少）が観察されたことや、また、円錐体型電極の中でも、タイプ1型におけるシグナルの劣化の程度よりも、先端のより鋭利な円錐体電極のタイプ2型で観察された劣化の程度がより大きいことから理解できる。

V 結 論

1. 電極先端の形状の違いによって、拡散電流と酸素濃度の

関係を示す校正線を描くと、拡散型と収斂型に分けられた。

2. 半球体型の酸素電極の校正線は拡散型を示した。円錐体型電極の校正線は収斂型を示した。

3. 円錐体型のうちでも、正三角錐体（タイプ1）とセンサー部の長さが2倍の二等辺三角錐体（タイプ2）の酸素電極を比較すると、先端が鋭利なタイプ2型がより早く劣化した。

4. しかし、実際に直径200 μm の白金線の先端を、望みの形に製作することは容易ではない。引き続きこれらの形状の電極先端を製作して、酸素濃度に対する拡散電流値が直線性になる可能性をさらに検討したい。

VI 参考文献

- 1) Fujii, T. : Jpn. J. Physiol., 42, S293 (1992)
- 2) Fujii, T. : Jpn. J. Physiol., 43, S337 (1993)
- 3) Fujii, T. : Jpn. J. Physiol., 44, Suppl. 1, S300 (1994)
- 4) Fujii, T. et al. : Pflügers Arch., 393, 83-87 (1982)
- 5) 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報 Na58, 177-180 (1992)
- 6) 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報 Na59, 125-128 (1993)
- 7) 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報 Na60, 131-134 (1994)

第7部 短 報

目 次

牛の起立不能症における血液生化学的性状検査の評価	(病 理)	121
豚に認められた囊虫症について	(病 理)	123
V e r o毒素産生性大腸菌の実態調査について	(病 理)	125

Chapter 7 Short notes

Contents

1. The valuation of blood biochemical examination for downer syndrome
in cattle (Path) 121
2. A case of bladderworm disease in swine liver (Path) 123
3. Studies on Verocytotoxin-producing *E. coli* with cattle carcass (Path) 125

牛の起立不能症における血液生化学的性状検査の評価

病 理 部 門

The valuation of blood biochemical examination for downer syndrome in cattle

Key Words : 牛 cattle, 起立不能症 downer syndrome, 血液生化学的検査 blood biochemical examination

I はじめに

今年度、当所に持ち込まれた病畜牛は 98頭あり、このうち75頭(77%)は起立不能である。これらの起立不能牛は筋肉の損傷や炎症が強く廃棄(35%)になることも多い。そこで、これらの牛の病理所見と血液の生化学的性状から起立不能牛の病態を把握するため調査した。

II 材料および方法

平成6年4月～12月までに搬入された病畜で、起立不能であった牛41頭について、剖検所見と放血を使用し、血液の生化学的性状16項目(BUN, T-Bil, GOT, GPT, LDH, CPK, ALP, T-Pro, Alb, A/G比, T-Cho, Glu, TG, Cre, UA, Ca)を検査した。

III 結 果

1. 起立不能牛の種別、性別頭数は表1のとおりである。

表1 起立不能牛の種別、性別頭数

乳牛牝	28 頭
乳牛去	2 頭
和牛牝	6 頭
和牛去	5 頭

2. 起立不能の原因と思われる疾病別頭数は表2のとおりである。

表2 起立不能牛の原因疾病別頭数

関節炎	8 頭	熱射病	2 頭
脱臼	2 頭	腐蹄病	1 頭
骨折	4 頭	原因不明	21 頭
水腫	3 頭		

3. 起立不能牛の剖検所見は表3のとおりである。

表3 臓器別疾病件数

肺	肺気腫 2(1), 肺炎 3(1)
心臓	心外膜炎 1(1), 心鬱血 1
肝臓	褪色肝 12(7), 胆管炎 4(2), 肝炎 2
脾臓	脾鬱血 2(1)
胃	胃炎 2(2), 胃潰瘍 1, 胃鬱血 1(1)
腸	腸炎 2(1), 脂肪壊死 2(2), 腸鬱血 1(1)
腎臓	腎炎 3(2), 脂肪壊死 2(1), 腎不全 1, 腎鬱血 1
乳房	乳房炎 9(5)
子宮	子宮内膜炎 3(2), 子宮蓄膿症 2(1)
膀胱	膀胱炎 6(3), 膀胱結石 1

() 内は原因不明の起立不能牛の臓器別疾病件数

4. 起立不能牛の血液生化学的性状は表4のとおりである。

表4 起立不能牛の血液生化学的性状

検査項目	平均値	最大値	最小値	正常値
BUN (mg/dl)	16.6	49	5	20～30
T-Bil (mg/dl)	1.1	4.7	0.3	0.01～0.47
GOT (IU/l)	407	1,000	49	37.6～63.6
GPT (IU/l)	71	436	10	6.7～18.3
LDH (IU/l)	3,266	4,000	1,727	84.8～176
CPK (IU/l)	1,642	2,000	212	4.8～12.1
ALP (IU/l)	103	534	50	0～269
T-Pro (g/dl)	8.0	11.8	4.7	6～8
Alb (g/dl)	3.3	4.8	1.8	3～3.6
A/G 比	0.78	1.41	0.39	0.84～0.94
T-Cho (mg/dl)	85	176	50	80～120
Glu (mg/dl)	101	256	20	45～75
TG (mg/dl)	42	259	25	3～10
Cre (mg/dl)	2.5	13.4	0.3	1～2
UA (mg/dl)	1.7	8.3	1	0～2
Ca (mg/dl)	10.3	11.8	5.5	9.7～12.4

正常値は獣医ハンドブックを参照

IV 考 察

起立不能牛の臨床所見を調べた結果、原因不明のものが非常に多かった。これらのものは、ほとんどが経産の乳牛であった。そして剖検所見では、褪色肝が多いが、これは妊娠によるサフラン肝であると思われる。また乳房炎も多く認められた。以上のことから総合判断すると、起立不能の原因不明なものは、ほとんどが産後の予後不良によると思われる。

血液の生化学的性状をみると、GOT(グルタミン酸-オキザロ酢酸トランスアミナーゼ)、LDH(乳酸デヒドロゲナーゼ)、CPK(クレアチンホスホキナーゼ)が非常に高い値を示した。これらは、筋肉系の血清酵素で、高値を示すと筋肉になんらかの損傷や炎症を起こしていることが考えられる。起立不能牛の原因は、関節炎や骨折等は言うに及ばないが、原因不明の牛も筋肉に損傷や炎症が起きていると思われるので、これらの血清酵素の値は筋肉の損傷や炎症の病勢判定に役立つと思われる。

豚に認められた囊虫症について

病理部門

A case of bladderworm disease in swine liver

Key Words: 豚 swine, 肝臓 liver, 胞状条虫 *Taenia hydatigena*, 細頸囊虫 *Cysticercus tenuicollis*

I はじめに

細頸囊虫 *Cysticercus tenuicollis* は、犬を終宿主とする胞状条虫 *Taenia hydatigena* の幼虫である。

中間宿主として豚、緬羊、牛などが知られ、人も中間宿主になるといわれている。囊虫の寄生部位は主に腹腔臓器の漿膜面であるが、日本での発生は比較的少ない。

今回、豚における寄生例と思われるものに遭遇したので報告する。

II 所 見

1. 検査年月日

平成6年7月29日

2. 生体所見

京都市内産、推定生後6か月の肥育豚で著変を認めない。

3. 肉眼検査

肝臓の横隔面に12~15mmの半透明な囊胞が3個観察された(図1)。内部は透明でやや粘稠な液体で満たされ、白色半透明の長径6~7mmの虫体が認められた(図2)。なお、他の臓器には何ら著変を認めなかった。

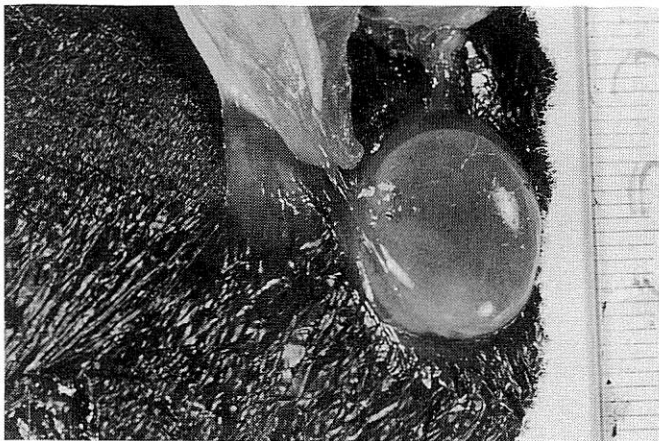


図1 肝臓横隔面に認めた囊胞

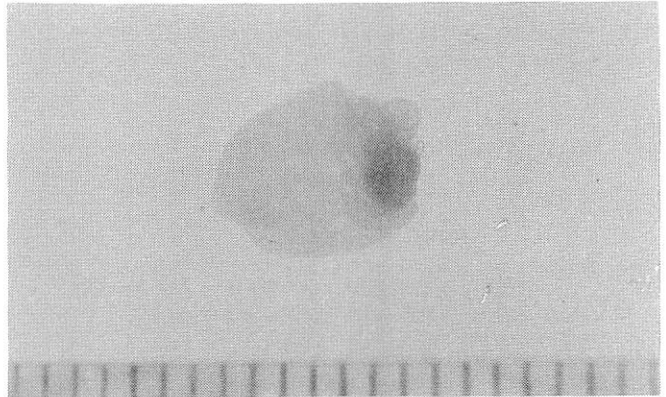


図2 囊胞内に認めた虫体

4. 病理組織検査

囊胞は2層よりなり、外層は薄いクチクラ層、内層はやや疎な網目状の構造を取り、内面にはPAS陽性の球状物を認めた。

囊胞周囲の組織には炎症反応が乏しく、周囲の肝細胞には著変を認めない。

5. 寄生虫学的検査

虫体を1%中性ホルマリンにて固定後、ヘマトキシリン染色を施し顕微鏡観察したところ、頭節部は囊胞内に陥入して存在し、この部に約30の大小の鉤及び4個の吸盤を認めた(図3)。大鉤の長さは約170μm、小鉤は約120μmであった。

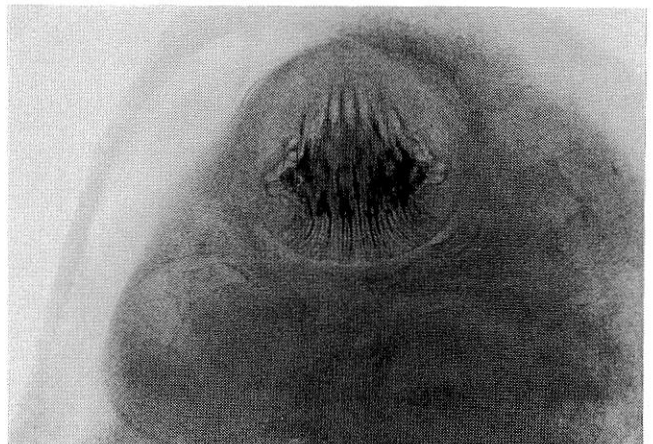


図3 虫体の頭節

4つの吸盤と約30の鉤がある

IV 考 察

と畜検査において豚に囊虫が観察されることはまれで、京都市と畜場においては10年以上発生が確認されなかった。

また、囊虫の同定においては、これを動物実験により発

育させた成虫の形態学的観察が重要であるが、本症例では実施できなかった。しかし、囊虫の形態的特徴及び寄生部位などにより細頸囊虫と推定した。

細頸囊虫は、重要な人畜共通感染症を起こす単胞囊虫や有鉤囊虫などと外形的に類似しているため、その鑑別が重要であり、今後とも注意が必要である。

Vero毒素産生性大腸菌の実態調査について

病理部門

Studies on Verocytotoxin-producing *E. coli* with cattle carcass

Key Words : Vero毒素 Verocytotoxin, 大腸菌 *Escherichia coli*, 牛枝肉 cattle carcass

I はじめに

細菌汚染の中で、激しい腹痛や下痢等、人体に悪影響を及ぼすVero毒素産生性大腸菌について、本市と畜場に搬入された牛枝肉の汚染実態調査を実施したので報告する。

II 所 見

1. 調査期間

第1期(夏期) 平成6年7月～8月

第2期(冬期) 平成6年12月～平成7年1月

2. 検体の部位と検体数

最終洗浄後、冷蔵庫搬入前までの牛枝肉の頸部体表面1か所を1期間中で25検体(25頭)について検査を行った。

3. 検体の採取方法

検体採取は、ふきとり法で行った。100cm²の滅菌ガーゼタンポンで枝肉表面100cm²を30秒間ふきとった。

4. 検査方法(図1)

増菌：ふきとったガーゼタンポンをmECブイヨン5mlに接種し、42℃24時間培養した。

分離：SIB寒天培地2枚に塗抹し、35℃24時間培養した。

凝集反応：疑わしい集落を、TSI培地に純培養後、O血清型(O26, O111, O128, O143, O157)により、のせガラス凝集反応を実施した。更に、凝集した菌株について、大腸菌の性状確認を実施した。

確認：TSI, LIM, VP及びシモンズのクエン酸培地により大腸菌の確認をした。

III 調査結果

第1期及び第2期の各25検体、合計50検体について検査した結果、Vero毒素産生性大腸菌はすべて検出されなかった。

なお、SIB寒天培地では疑わしい集落を確認したが、O血清型による凝集反応は認められなかった。

IV 考 察

今回、Vero毒素産生性大腸菌の検出は認められなかったが、牛枝肉の一般的な細菌汚染検査においては、一般細

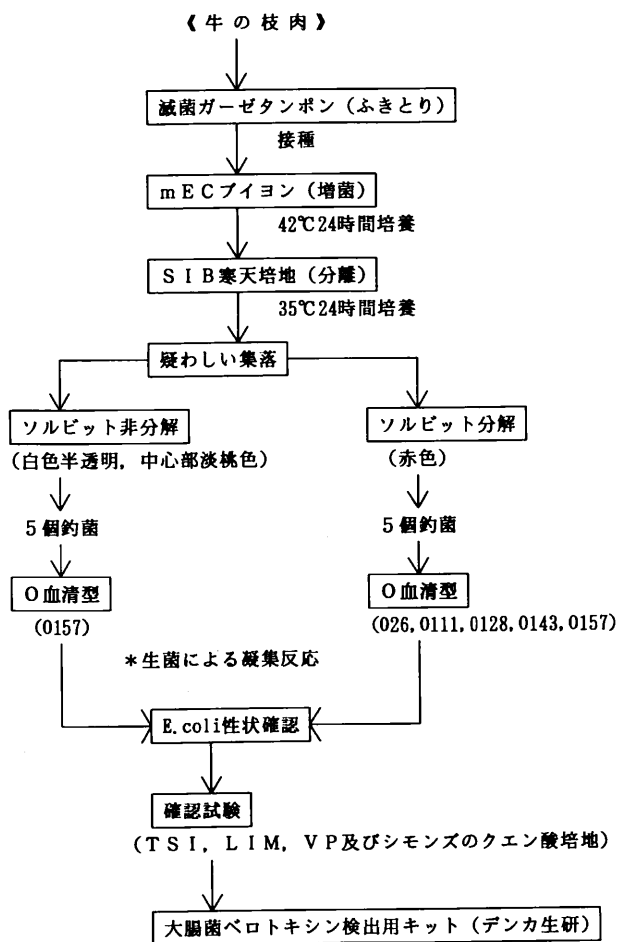


図1 Vero毒素産生性大腸菌の検査手順

菌や大腸菌は常時かなり検出されていることから、Vero毒素産生性大腸菌の汚染の危険性は高いものと考えられる。したがって、牛内臓摘出時に腸内容物で枝肉を汚染させない等、今後、一層汚染防止対策の強化を図り、かつ汚染実態を把握するため、継続して本調査を行う必要があると思われる。

V 参考文献

- 1) Dorn R., et al.: J.Clin. Microbiology, 29 (6), 1225-1231 (1991)
- 2) 田中博 他: モダンメディア, 39 (7), 40-46 (1993)
- 3) 早矢仕裕子 他: 食品衛生研究, 43 (5), 74-79 (1993)

京都市衛生公害研究所年報
第 61 号

発行日 平成 7 年 9 月 30 日

編集 京都市衛生公害研究所
発行 〒604 京都市中京区壬生東高田町1-2
☎ (075) 312-4941

印刷所 橋 本 印 刷
☎ (075) 311-2372
