

第6部 報 文

目 次

1. 平成7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)	67
2. 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)	75
3. 牛の起立不能における急性相反応物質の変化と診断への応用	(病 理)	79
4. 牛枝肉の多発性出血斑（スポット）について	(病 理)	86
5. 親水性ソリッドゲルの微小酸素電極センサー部への 応用の研究について	(調 査 研 究)	90
6. 「沢の池」の水質と酸性雨の関係について	(環 境)	95

Chapter 6 Reports

Contents

1. Isolation of pathogenic agents in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 1995	(Micr) ... 67
2. Epidemiological survey of Japanese encephalitis (JE) with reference to the effect of JE vaccine to swine in Kyoto City in 1995	(Micr) ... 75
3. Acute phase reactants in downer cattles; usefulness of their diagnostic application	(Path) ... 79
4. Blood spotting(spot) in carcasses of cattle	(Path) ... 86
5. Study on the application of hydrophilic solid gel to the sensor of an oxygen micro-electrode tip	(Pub) ... 90
6. Relationship between the water quality of the Sawano-ike Pond and acid rain	(Envir) ... 95

平成7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 1995

Abstract : Virological and bacteriological tests were performed using various specimens from patients in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 1995. Of 283 patients, 119 were positive for viral and/or bacterial agents. A total of 91 strains of viruses and 38 strains of bacteria were isolated. Yearly isolation rate of the agents per patient was 42.0%. Influenza viruses were isolated from January to March and December, mainly from the patients with symptoms of influenza and acute upper respiratory tract inflammation, while enteroviruses were isolated from early summer to late fall mainly from the patients with symptoms of summer flu or hand-foot-and-mouth disease. Rotaviruses were isolated from January to March from the patients with infectious gastroenteritis or infantile vomiting and diarrhea. Various types of viruses were mostly isolated in the age groups of 1-4 years old and 5-9 years old. Some mixed infections of bacteria, such as *Streptococcus pyogenes*, and virus, such as influenza were 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7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7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、扁桃炎、腺窩性扁桃炎、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、手足口病、無菌性髄膜炎、細菌性髄膜炎、脳・脊髄炎、口内炎、溶血性連鎖球菌感染症、肝炎、リンパ節炎、発熱及びその他20疾病の計40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、患者283人から、糞便53検体、咽頭ぬぐい液200検体、髄液62検体、尿30検体、血液4検体、眼結膜ぬぐい液、皮膚病巣(口腔粘膜)、筋肉、唾液、喀痰及び胸水各1検体の計355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⁾どおり行った。

また、今年は毒素原性大腸菌、腸管出血性大腸菌の毒素遺伝子、腸管侵入性大腸菌の病原遺伝子、腸炎ビブリオ溶血毒遺伝子、黄色ブドウ球菌エンテロトキシン遺伝子の検出はPCR法により行った。

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、1月が47人と多く、2月、8月、12月が30人前後でこれに次いでいた。他の月は、

5月の10人を除き、20人前後であった。病原体検出率は1月、3月、9月、10月が50%以上の高率であった。1月、3月、6月、9月はウイルス検出率が40%台と高かった。

ウイルス検査を実施した被検患者276人中90人から計91株のウイルスを検出した。患者あたりの検出率は32.6%であった。

内訳はコクサッキーAが16株、コクサッキーBが7株、エコーが7株、ポリオが1株、ロタが4株、アデノが5株、インフルエンザA(H1N1)(=Aソ連型)が9株、インフルエンザA(H3N2)(=A香港型)が17株、インフルエンザBが13株、単純ヘルペスが9株であった。その他に未同定ウイルス3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16株中16型が5株、4型が4株であり、コクサッキーBは3型が4株で5型が3株であった。エコーは7型、16型、25型が検出され、それぞれ4株、1株、2株であった。アデノは1型が2株、3型が3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1月にA(H3N2)型、2月、3月にB型、1月と12月にA(H1N1)型を検出した。ロタは1月から3月に検出された。6月、7月にはコクサッキーA16型が検出され、6月から11月にはコクサッキーA群、コクサッキーB群、エコー群のエンテロウイルスを検出した。アデノは3月から5月にやや集中して検出された(表1)。

2. 月別病原細菌検出状況

被検患者283人中38人から計38株の病原細菌を検出し、患者あたりの検出率は13.4%であった。

内訳は、主なものではA群溶血性連鎖球菌が11株、病原大腸菌7株、黄色ブドウ球菌6株、肺炎球菌5株、インフルエンザ菌3株、クレブシエラ3株等であった。

最多検出のA群溶血性連鎖球菌は4月、6月、10月を除く9か月に検出され、病原大腸菌は1月、2月及び9月から11月に検出された(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インフルエンザ様疾患の61人で、急性上気道炎、夏かぜ様疾患、気管支炎・肺炎、ヘルパンギーナ等を加えた呼吸器感染症が、本年の総被検患者数の半数を占めた。次いで、無菌性髄膜炎が被検患者数39人で、前年並みであった。感染性胃腸炎は26人で例年より少なかった。今年の特徴は、前年被検患者数の少なかったインフルエンザ様疾患が大流行したため、これを反映し被検患者数も多くなったことである。

主な疾病別のウイルス検出率は、口内炎、手足口病、インフルエンザ様疾患、発熱(水痘後発熱を含む)、ヘルパンギーナが50%ないしそれ以上の高率であり、急性上気道炎、乳児嘔吐下痢症、腺窩性扁桃炎、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A、コクサッキーB、アデノの3種3株、インフルエンザ様疾患からインフルエンザA(H1N1)、インフルエンザA(H3N2)、インフルエンザB、コクサッキーA、コクサッキーB、アデノの7種31株、ヘルパンギーナからコクサッキーA、ヘルペスの2種4株、手足口病からコクサッキーAの1種5株、急性上気道炎からコクサッキーA、ヘルペス、アデノ、インフルエンザA(H3N2)、インフルエンザBの6種10株、無菌性髄膜炎からコクサッキーB、エコー、インフルエンザBの5種9株、感染性胃腸炎からロタ、エコー、ポリオの3種3株を分離した。乳児嘔吐下痢症からはロタ3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、感染性胃腸炎から病原大腸菌(EPEC:5株,ETEC:1株)、クレブシエラ1株を、インフルエンザ様疾患からA群溶血性連鎖球菌3株、肺炎球菌、インフルエンザ菌各2株を、急性上気道炎から、A群溶血性連鎖球菌、肺炎球菌、黄色ブドウ球菌、クレブシエラ各1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162人で最も多く、次いで5～9歳の75人であり、10～14歳及び15歳以上は各々32人、14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36.5%、1～4歳、5～9歳及び10～14歳が40%前後であった。ウイルス検出率は1～4歳及び5～9歳が40%近く、他の年齢層に比べ高かった。

検出ウイルスの種類は1～4歳が15種43株で最も多く、次いで5～9歳が12種28株、0歳では9種12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2種7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。ロタウイルスは0～4歳から検出された。インフルエンザA(H3N2)とインフルエンザA(H1N1)については、今年は0歳からの検出例が見られた(表3)。

6. 年齢層別病原細菌検出状況

検出病原細菌の種類は0歳が5種9株、1～4歳が7種14株、5～9歳が3種7株、10～14歳が4種6株、15歳

表1 月別病原体検出状況（小児科・病院定点）

平成7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	病原体検出比率 (%)
被検患者数		47	33	24	20	10	22	18	28	17	19	19	26	283	
検査材料	糞便	6	9	4	2	—	2	—	9	3	10	4	4	53	
	咽頭ぬぐい液	36	24	16	14	7	18	9	21	15	7	9	24	200	
	髄液	4	3	5	6	2	5	10	12	1	6	5	3	62	
	尿	1	1	4	1	1	2	2	8	—	4	5	1	30	
	血液	—	1	—	1	1	—	—	1	—	—	—	—	4	
	眼結膜ぬぐい液	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
	筋肉	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
	唾液	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
	皮膚病巣（口腔粘膜）	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
	喀痰	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	
	胸水	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1	
病原体検出患者数		26	14	12	6	3	10	5	8	10	10	4	11	119	患者あたりの検出率 (%)
患者あたりの検出率 (%)		55.3	42.4	50.0	30.0	30.0	45.5	27.8	28.6	58.8	52.6	21.1	42.3	42.0	
ウ	コクサッキーA4型	—	1	1	—	—	2	—	—	—	—	—	—	4	3.1
	コクサッキーA5型	—	—	—	—	—	1h	—	1j	1	—	—	—	3	2.3
	コクサッキーA6型	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	2	1.6
	コクサッキーA9型	—	—	—	1	—	—	—	—	1	—	—	—	2	1.6
イ	コクサッキーA16型	—	—	—	—	—	1	4	—	—	—	—	—	5	3.9
	コクサッキーB3型	—	—	—	—	—	3	—	—	1	—	—	—	4	3.1
	コクサッキーB5型	2	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	3	2.3
	エコー7型	—	—	—	—	—	—	—	1	—	3	—	—	4	3.1
ル	エコー16型	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1	0.8
	エコー25型	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	2	1.6
	ポリオ1型	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0.8
	ロタ	1	2b	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	3.1
ス	アデノ1型	—	—	1	—	1g	—	—	—	—	—	—	—	2	1.6
	アデノ3型	—	—	1	1	—	—	—	—	1	—	—	—	3	2.3
	単純ヘルペス1型	—	—	—	1	1	3	1i	—	1	2	—	—	9	7.0
	インフルエンザA(H1N1)型	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	9	7.0
細菌	インフルエンザA(H3N2)型	17a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	17	13.2
	インフルエンザB型	—	6cd	7ef	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13	10.1
	未同定ウイルス	1	1d	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	3	2.3
	A群溶血性連鎖球菌	1	1	2ef	—	1	—	1i	2	1	—	1	1	11	8.5
菌	G群溶血性連鎖球菌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	0.8
	肺炎球菌	1	1c	—	1	1g	—	—	1j	—	—	—	—	5	3.9
	インフルエンザ菌	—	—	1	1	—	1h	—	—	—	—	—	—	3	2.3
	ウェルシュ菌	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1.6
菌	黄色ブドウ球菌	—	1	—	—	—	—	—	2	1	1	—	1	6	4.7
	病原大腸菌	1	1b	—	—	—	—	—	—	1	3	1	—	7	5.4
	クレブシエラ	1a	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	2.3
計		27	17	14	6	4	11	6	9	10	10	4	11	129	100.0

注) a～j：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7年1月～12月

疾病名	検査材料	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	扁桃炎	腺窩性扁桃炎	気管支炎・肺炎	異型肺炎	クループ	手足口病	夏かぜ様疾患	ヘルパンギーナ	無菌性髄膜炎	細菌性髄膜炎	脳・脊髄炎	口内炎	発熱*	水痘後発熱	溶連菌感染症	肝炎	リンパ節炎	その他	計	病原体検出比率 (%)
被検患者数		26	9	61	30	1	3	10	1	1	8	13	8	39	2	5	5	18	1	11	3	1	27	283	
糞便		21	9	—	—	—	—	2	—	—	—	3	—	11	—	1	1	—	—	—	—	—	5	53	
咽頭ぬぐい液		6	1	61	30	1	3	8	—	1	8	11	8	13	—	2	4	18	1	11	—	1	12	200	
髄液		—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	1	—	39	2	4	1	—	—	—	—	—	13	62	
尿		—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	1	—	8	—	2	2	—	—	—	3	—	12	30	
血液		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
眼結膜ぬぐい液		—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	3	4	
筋肉		—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
唾液		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
皮膚病巣（口腔粘膜）		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	1	
喀痰		—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
胸水		—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
病原体検出患者数		9	6	36	13	0	1	4	0	0	5	5	5	12	0	2	4	9	1	5	0	0	2	119	
患者あたりの検出率 (%)		34.6	66.7	59.0	43.3	0.0	33.3	40.0	0.0	0.0	62.5	38.5	62.5	30.8	0.0	40.0	80.0	50.0	100.0	45.5	0.0	0.0	7.4	42.0	
ウ	コクサッキーA4型	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	4	3.1
	コクサッキーA5型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1j	—	—	—	—	—	2h	—	—	—	—	—	3	2.3
	コクサッキーA6型	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	2	1.6
	コクサッキーA9型	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1.6
	コクサッキーA16型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	3.9
イ	コクサッキーB3型	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	3.1
	コクサッキーB5型	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	2.3
	エコー7型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	3.1
	エコー16型	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0.8
	エコー25型	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1.6
ル	ポリオ1型	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1.6
	ロタ	1b	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0.8
	アデノ1型	—	—	—	1g	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	3.1
	アデノ3型	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1.6
	単純ヘルペス1型	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	2.3
ス	インフルエンザA(H1N1)型	—	—	8	—	—	—	—	—	—	—	—	2i	—	—	—	4	—	1	—	—	—	—	9	7.0
	インフルエンザA(H3N2)型	—	—	9	4a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	9	7.0
	インフルエンザB型	—	—	9cdef	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	17	13.2
	未同定ウイルス	—	—	2d	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	13	10.1
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	2.3
細菌	A群溶血性連鎖球菌	—	—	3ef	1	—	—	—	—	—	—	1	2i	1	—	—	—	—	—	3	—	—	—	11	8.5
	G群溶血性連鎖球菌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0.8
	肺炎球菌	—	1	2c	1g	—	—	—	—	—	—	1j	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	3.9
	インフルエンザ菌	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	2.3
	ウェルシュ菌	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1h	—	—	—	—	—	2	1.6
	黄色ブドウ球菌	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	6	4.7
	病原大腸菌	6b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	5.4
	クレブシエラ	1	—	—	1a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	3	2.3
計		10	6	40	15	0	1	4	0	0	5	6	6	12	0	2	4	10	1	5	0	0	2	129	100.0

注) *: 臨床症状が発熱のみ。a～j: 同一被検者

表3 年齢層別病原体検出状況（小児科・病院定点）

平成7年1月～12月

		0歳	1～4歳	5～9歳	10～14歳	15歳以上	計	病原体 検出 比率 (%)
被検患者数		53	109	75	32	14	283	
検査材料	糞便	16	20	10	5	2	53	
	咽頭ぬぐい液	29	87	52	24	8	200	
	髄液	18	16	17	7	4	62	
	尿	6	8	8	4	4	30	
	血液	1	—	—	2	1	4	
	眼結膜ぬぐい液	—	1	—	—	—	1	
	筋肉	—	—	—	—	1	1	
	唾液	—	—	—	1	—	1	
	皮膚病巣（口腔粘膜）	—	—	1	—	—	1	
	喀痰	—	—	1	—	—	1	
	胸水	—	—	—	1	—	1	
病原体検出患者数		19	52	32	13	3	119	
患者あたりの検出率（%）		36.5	46.8	43.2	39.4	23.1	42.0	
ウイルス	コクサッキーA4型	—	4	—	—	—	4	3.1
	コクサッキーA5型	1j	1h	1	—	—	3	2.3
	コクサッキーA6型	1	—	1	—	—	2	1.6
	コクサッキーA9型	—	—	2	—	—	2	1.6
	コクサッキーA16型	—	3	2	—	—	5	3.9
	コクサッキーB3型	3	—	1	—	—	4	3.1
	コクサッキーB5型	—	2	1	—	—	3	2.3
	エコー7型	—	4	—	—	—	4	3.1
	エコー16型	—	—	1	—	—	1	0.8
	エコー25型	—	2	—	—	—	2	1.6
	ポリオ1型	—	1	—	—	—	1	0.8
	ロタ	1	3b	—	—	—	4	3.1
	アデノ1型	1	1g	—	—	—	2	1.6
	アデノ3型	—	2	1	—	—	3	2.3
	単純ヘルペス1型	1	5	3i	—	—	9	7.0
	インフルエンザA(H1N1)型	1	2	6	—	—	9	7.0
細菌	インフルエンザA(H3N2)型	2a	5	5	5	—	17	13.2
	インフルエンザB型	—	6cd	4ef	2	1	13	10.1
	未同定ウイルス	1	2d	—	—	—	3	2.3
	A群溶血性連鎖球菌	1	4	5efi	1	—	11	8.5
	G群溶血性連鎖球菌	—	1	—	—	—	1	0.8
	肺炎球菌	2j	2cg	1	—	—	5	3.9
	インフルエンザ菌	—	2h	—	1	—	3	2.3
	ウェルシュ菌	—	2	—	—	—	2	1.6
	黄色ブドウ球菌	3	2	—	1	—	6	4.7
	病原大腸菌	1	1b	—	3	2	7	5.4
	クレブシエラ	2a	—	1	—	—	3	2.3
計		21	57	35	13	3	129	100.0

注)

a～j：同一被検者

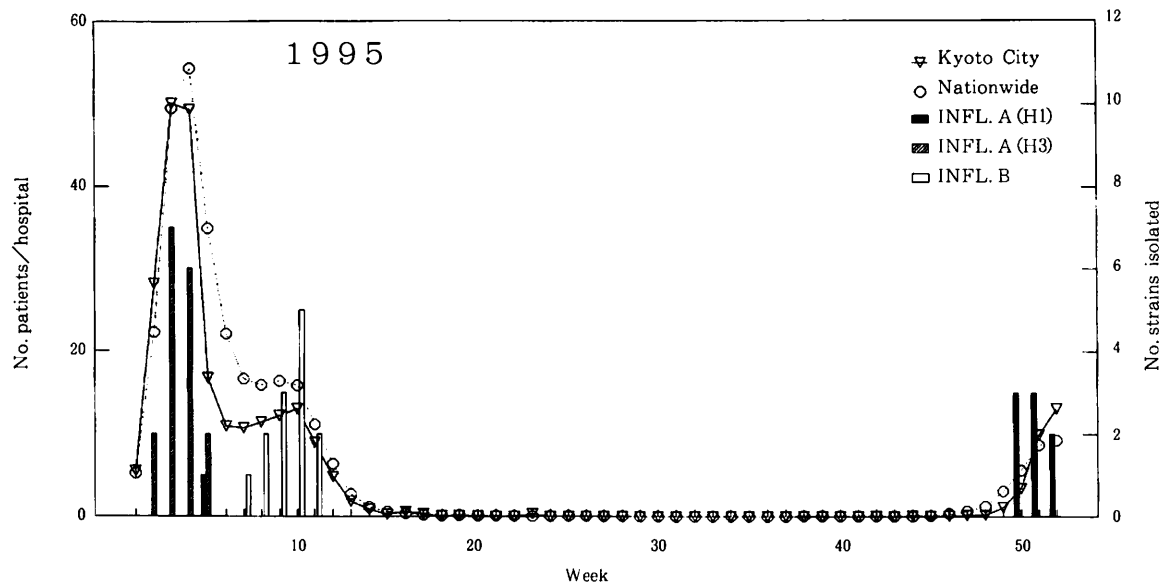


Fig.1. Seasonal prevalence of patients with influenza, and weekly isolation of influenza virus.

以上が1種2株であった(表3)。

7. 主な疾病と病原体検出状況

1) 本市感染症サーベイランス患者情報によれば、インフルエンザ様疾患は1月初頭から患者発生数が増加し、1月中旬にピークに達した後、いったん急激に減少した。その後、再び3月上旬まで緩やかに上昇したのち低下し、3月中にはほぼ終息した。この流行状況に呼応して、前者のピークの患者からはインフルエンザウイルスA(H3N2)型を、後者のピークの患者からはB型を検出した。また、第4週にはA(H1N1)型1株をも分離し、1シーズンに3型すべてが検出された。

年末の12月には再びインフルエンザの流行が起こり、この時期の患者からはもっぱらインフルエンザA(H1N1)型が検出された。

いずれの流行においても、インフルエンザウイルスはインフルエンザ様疾患、急性上気道炎等の患者から検出され、インフルエンザ様疾患患者発生状況とインフルエンザウイルス検出状況とは平行していた(Fig. 1)。

2) 本市における手足口病の流行は、今年は28週(7月)をピークとして、5月から8月に起こり、流行の規模は前年を大きく上回った。この時期の本疾患患者からはコクサッキーA16型のみが検出された(Fig. 2)。

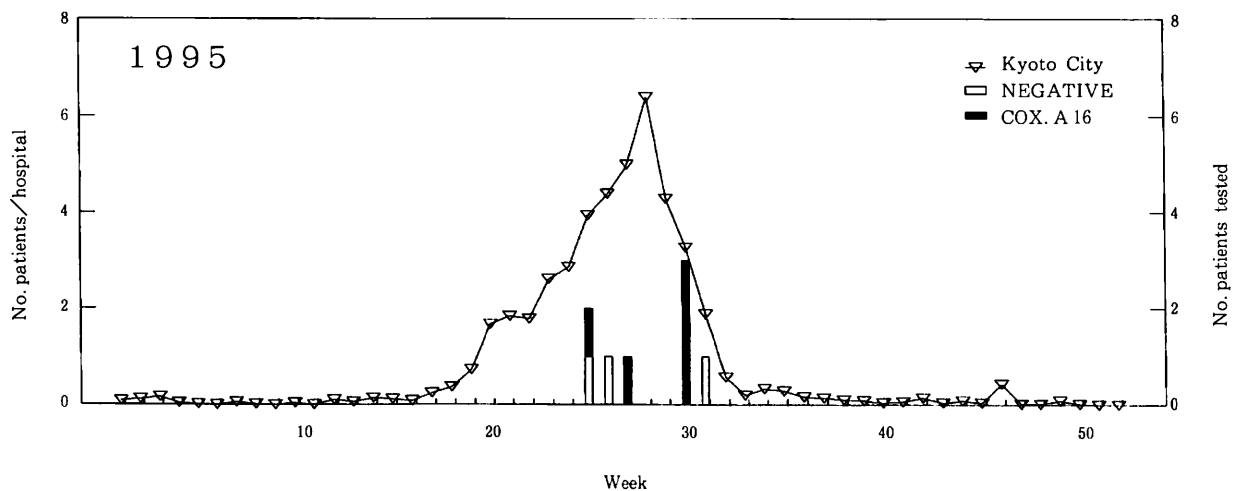


Fig.2. Seasonal prevalence of patients with hand-foot-and-mouth disease, and monthly isolation of coxsackievirus A16.

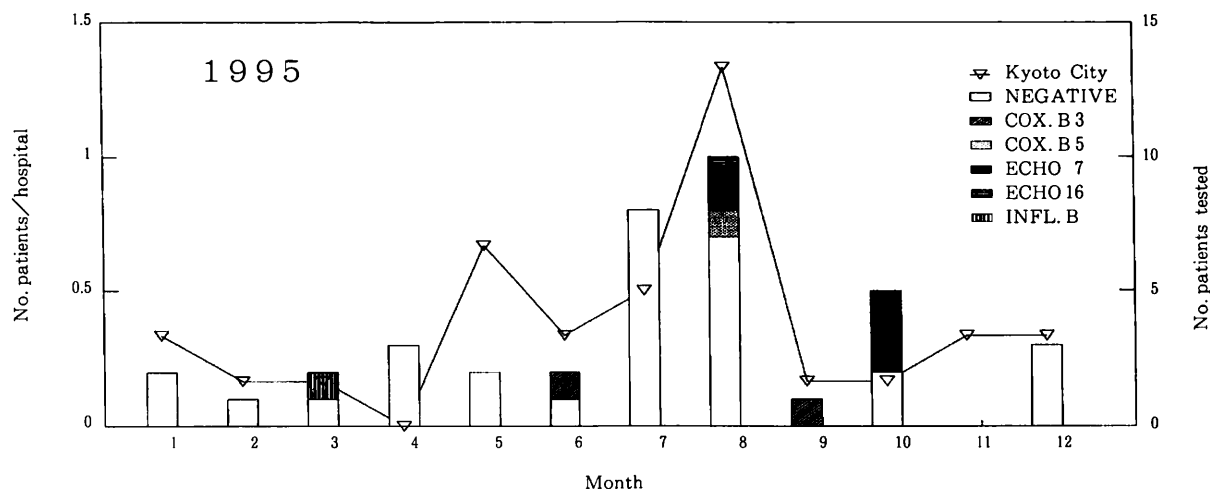


Fig.3. Seasonal prevalence of patients with herpangina, aseptic meningitis, and monthly isolation of viruses from patients with the disease.

3) 本市における今年の無菌性髄膜炎の患者発生数は5月から上昇し、8月にピークとなった。この時期を含めた年間の本疾患患者からの検出ウイルスをみると、コクサッキーB群、エコー群及びインフルエンザBと多様であった (Fig. 3)。

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A 16はVeroと一部WI-38でも検出された。コクサッキーBはFL, Veroで検出された。エコーはRD-18Sで全例検出されたほ

表4 検出方法別病原ウイルス検出状況

平成7年1月～12月

検 出 ウ イ ル ス	検 体 の 種 類							検 出 株 数	培 養 細 胞						EIA
	糞 便	咽 頭 ぬぐい液	髄 液	尿	眼 結 膜 ぬぐい液	皮 膚 病 巣	喀 痰		F L	RD-18S	WI-38	Vero	MDCK*	マウス	
コクサッキーA 4 型	—	4	—	—	—	—	—	4	—	3	—	—	—	4	—
コクサッキーA 5 型	—	3	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	3	—
コクサッキーA 6 型	—	2	—	—	—	—	—	2	—	1	—	—	—	2	—
コクサッキーA 9 型	—	2	—	—	—	—	—	2	—	2	1	—	—	—	—
コクサッキーA 16 型	—	5	—	—	—	—	—	5	—	—	1	5	—	5	—
コクサッキーB 3 型	2	—	1	1	—	—	1	5	5	—	—	2	—	—	—
コクサッキーB 5 型	—	3	—	—	1	—	—	4	4	—	—	2	—	—	—
エ コ ー 7 型	1	1	4	—	—	—	—	6	—	6	—	1	—	—	—
エ コ ー 16 型	—	1	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—
エ コ ー 25 型	—	2	—	—	—	—	—	2	—	2	1	—	—	—	—
ポ リ オ 1 型	—	1	—	—	—	—	—	1	1	1	1	1	—	—	—
ロ タ	4	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	4
ア デ ノ 1 型	—	2	—	—	—	—	—	2	2	—	1	1	—	—	—
ア デ ノ 3 型	—	3	—	—	—	—	—	3	3	—	—	—	—	—	—
単 純 ヘ ル ベ ス 1 型	—	8	—	—	—	1	—	9	9	6	7	6	—	2	—
インフルエンザA (H1N1)型	—	9	—	—	—	—	—	9	—	—	—	—	9	—	—
インフルエンザA (H3N2)型	—	17	—	—	—	—	—	17	—	—	—	—	17	—	—
インフルエンザB 型	—	13	—	—	—	—	—	13	—	—	—	—	13	—	—
未 同 定 ウ イ ル ス	—	3	—	—	—	—	—	3	—	—	2	—	1	—	—
計	7	79	5	1	1	1	1	95	24	22	14	18	40	16	4

注) *: 1月～4月, 11月～12月に使用

か一部 WI-38, Veroでも検出された。アデノはFLでの検出例が多かったが、一部 WI-38で検出された。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検出された。

インフルエンザA (H1N1) 型, A (H3N2) 型及びB型は、すべてMDCKで検出された(表4)。

IV 考 察

1. 年頭のインフルエンザは大流行となり、流行期間も長期にわたった。これは主として、流行の前半がA (H3N2) 型、後半がB型によって引き起こされた結果であることがウイルス検査成績からもうかがえる。全国的にも、A (H3N2) 型からB型に移行する流行形態を取った²⁾。また、年末の流行はA (H1N1) 型によって引き起こされた。このような複数の型による流行は今後とも起こる可能性があり、流行型に対する市民の抗体保有率が低い場合、大流行となるおそれもある。インフルエンザワクチンが法定接種対象から外れ、ワクチン接種率が低下している現状では、サーベイランスによるインフルエンザ流行の迅速かつ的確な把握が今後重要になると思われる。

2. 本年の手足口病患者からはコクサッキーA 16型のみが検出された。この型の検出状況と本市における手足口病患者発生状況とは符合しており、本市では主としてこの型による流行であったと思われる。全国の本疾患患者からの病原体検出状況をみても、コクサッキーA 16型91%、エンテロウイルス71型9%であり、前者の比率が極めて高い³⁾。

3. 今年の本市における無菌性髄膜炎の流行は夏季をピークとして起こったことが患者情報により示されている。今年の本疾患患者からは合計5種のウイルスが検出されたが、そのうち2種は髄液から検出され、これら複数のウイルスがそれぞれ髄膜炎を引き起こしていた可能性が高い。特定のエンテロウイルスによる全国的な髄膜炎流行の例は最近では1991年のエコー30型の例があるもののむしろ少なく⁴⁾、数種の異なるウイルスによって起こされる比較的小さい範囲の流行が、夏季を中心に例年起こっているとされる⁵⁾。したがって、実験室診断により髄膜炎起因ウイルスの病原体を特定することは今後重要になると思われる。

4. 分離されたA群溶血性連鎖球菌11株のT型別は、4型、11型、22型が各1株の他、型別不能株が8株であった。

5. 今年の患者あたり病原体検出率は42%であり、前年を上回った。培養細胞法などによるウイルス検査体制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、本年も過半数の患者からは病原体を検出しなかった。検出率を向上させるためには、新しい技術の導入をも含め、更に技術的検討をする必要がある。

また、本年も同定困難ウイルスが数株検出された。これらは呼吸器系ウイルスと思われるが、市販免疫血清が少ないため、ウイルス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。

V ま と め

1. 被検患者283人中119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91株と、細菌ではA群及び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、クレブシエラ、ウェルシュ菌の計38株が検出され、検出率は全体で42.0%であった。

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

3. ウイルスでは、1月から3月及び、年末の12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3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、手足口病、夏かぜ様疾患、無菌性髄膜炎等の患者から検出した。また、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) 国立予防衛生研究所：病原微生物検出情報，16 (12)：1-5 (1995)
- 3) 国立予防衛生研究所：病原微生物検出情報，16 (11)：1-2 (1995)
- 4) National Institute of Health, Japan : Jpn. J. Med. Sci. Biol., 47 (Suppl.), 1-155 (1994)
- 5) 板垣朝夫，他：日本医事新報，(3751)：47-50 (1996)

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 1995

Abstract : Epidemiological studies on Japanese encephalitis virus in Kyoto City carried out in 1995 are summarized. The numbers of *Culex tritaeniorhynchus*, a vector mosquito of JE virus, captured with light traps in a pig shed were 0.3 to 12.0 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 most of the swine did not rise significantly after the summer season, not indicating the traces of natural infection of JE virus in the city. Results on HI antibody survey against JE virus in 290 adult inhabitants showed that the positive rate of the HI antibody in the aged in 1995 was lower than that in 1983, while in pregnant women, no significant difference was shown in the positive rate between these 2 years.

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みると、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きている。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、市内で飼育されている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ともに、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. 豚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19日から9月18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19日から9月18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みるため、MY豚舎の飼育豚について抗体検査を行った。なお、MY豚舎は前年までの調査豚舎の西方約300mにある。この豚舎では、ワクチン接種を7月3日に、追加接種を7月24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17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207名であり、高齢者は老人施設の入所者83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みると、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みられた。

コガタアカイエカは発生ピークは昨年より1か月遅い8月中旬に低いピークがみられるものの、トラップあたり120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。

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)。

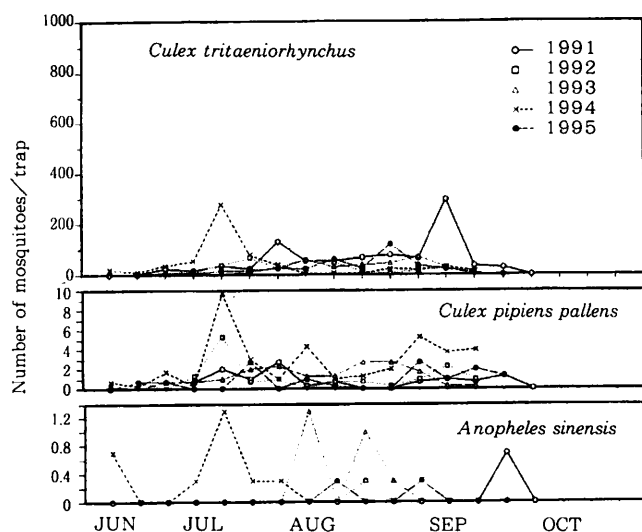


Fig.1. Number of mosquitoes collected with light traps in a pig shed situated in the suburbs of Kyoto City in 1995

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5月上旬から6月中旬は平年より低く、6月中旬から7月中旬までは平年並みであったものの、7月中旬から8月中旬は高温傾向で月平均29.9℃と昨年の記録を上回った。しかし、9月に入ると平年より低くなった。

一方、降水量については、7月はやや多かったが8月はやや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、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。

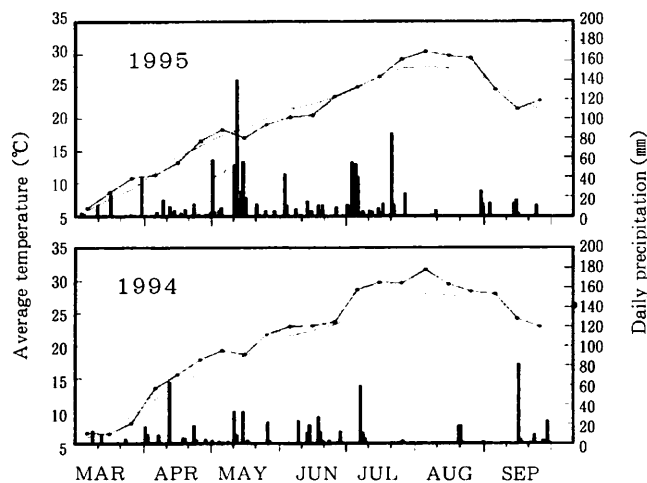


Fig.2. Seasonal changes of temperatures and precipitation in Kyoto City in 1994 and 1995

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19日から9月18日の各週1回、計14回に採集した吸血蚊 171個体、35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全く検出しなかった (表1)。

豚舎内採集吸血蚊から日本脳炎ウイルスを全く検出しなかった年は平成5年以来3年連続となった。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

MY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20頭のうちの1頭を除いて、すべての豚が抗体を保有していなかったが、接種後約半月で過半数の豚が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。

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7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19日	1	1	1	—	—
6月26日	1	1	1	—	—
7月3日	10	5	2	—	—
7月10日	11	5 6	2 1	—	—
7月17日	6	6	1	—	—
7月24日	1	1	1	—	—
7月31日	6	3	2	—	—
8月7日	29	5 4	5 1	—	—
8月14日	24	5 4	4 1	—	—
8月21日	62	10 12	5 1	—	—
8月28日	13	5 3	2 1	—	—
9月4日	4	2	2	—	—
9月11日	2	2	1	—	—
9月18日	1	1	1	—	—
計	171	—	35	—	—

7月中旬以降、自然感染によると思われる抗体上昇は認められなかった。9月から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もあわせて豚の自然感染はみられなかったものと思われる(表2)。

表2 飼育豚の日本脳炎H1抗体価推移

平成7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	6日前	20	19	—	—	—	—	1	—	—
7月18日	15日後	20	8	1	6	2	2	1	—	—
8月8日	36日後	20	1	12	4	1	1	1	—	—
8月29日	57日後	20	10	3	4	—	2	1	—	—
9月19日	78日後	20	9	4	4	2	1	—	—	—
10月17日	106日後	20	14	2	1	2	1	—	—	—

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みると、成人は51.2%、高齢者は54.2%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。

本年の成績と昭和58年の成績を比較すると、成人では差はないものの、高齢者では有意に低下していた。

表3 成人と高齢者の日本脳炎H1抗体価分布

平成7年度

対 象	施設名	計	抗 体 価							
			<10	10	20	40	80	160	320	640
成 人		207	101	43	41	16	5	—	1	—
		100.0	48.8	20.8	19.8	7.7	2.4	0.0	0.5	0.0
高 齢 者	K	53	24	9	5	11	4	—	—	—
	%	100.0	45.3	17.0	9.4	20.8	7.5	0.0	0.0	0.0
	D	30	14	3	6	5	1	—	1	—
	%	100.0	46.7	10.0	20.0	16.7	3.3	0.0	3.3	0.0
	計	83	38	12	11	16	5	—	1	—
	%	100.0	45.8	14.5	13.3	19.3	6.0	0.0	1.2	0.0

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7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) MY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) MY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月中旬以降も自然感染による抗体上昇は認められず、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みて、平成7年度本市においては

日本脳炎ウイルス汚染がほとんど起こらなかったと思われる。これは、夏季に野外のコガタアカイエカの密度が増加せず、その結果、豚の自然感染もほとんど起こらなかったためと思われる。

2. 市民の日本脳炎ウイルスHI抗体保有率をみると、成人は51.2%，高齢者は54.2%であった。昭和58年の成績と比較すると、成人では差がみられなかったが、高齢者では低下していた。

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)

牛の起立不能における急性相反応物質の変化と診断への応用

病理部門

Acute phase reactants in downer cattles; usefulness of their diagnostic application

Abstract: C-reactive protein (CRP), haptoglobin (Hp), α_1 -acid glycoprotein (α_1 -AGP) and sialic acid were estimated in 38 downer and 30 normal cattles. The assay of serum CRP concentration was not applicable to the rapid diagnosis of downer cattles, because CRP was found to be positive in 46.6% of normal cattles. The serum Hp concentrations were 338.6 ± 263.9 and $1,083.8 \pm 937.6 \mu\text{g/ml}$ in normal and downer cattles respectively ($p < 0.01$). However, only 50% of downer cattles showed a significant increase in serum Hp. There was no significant difference of serum sialic acid concentrations between downer and normal cattles, but the concentrations were relatively high for the cattles with arthritis, myositis (blood infiltration), sepsis, pyemia and edema. The serum α_1 -AGP concentrations were 273.8 ± 70.4 and $916.2 \pm 612.8 \mu\text{g/ml}$ in normal and downer cattles respectively ($p < 0.01$). Approximately 79% of downer cattles showed abnormal levels of α_1 -AGP above $450 \mu\text{g/ml}$. The serum α_1 -AGP was especially high for the cattles with paturient paresis, fracture, arthritis, myositis (blood infiltration), pyemia and sepsis, indicating that the assay of serum α_1 -AGP is most suitable for diagnosing downer cattles.

Key Words: 牛 cattle, 起立不能 downer, C-反応蛋白 C-reactive protein, ハプトグロビン haptoglobin, α_1 -酸性糖蛋白 α_1 -acid glycoprotein, シアル酸 sialic acid

I はじめに

今年度、当所には、121頭の病畜が搬入されたが、このうち83%が起立不能に陥っていた。これらの起立不能牛は、筋肉の損傷や炎症が強く廃棄になることも多い。

そこで、炎症性疾患等の病勢診断に応用される急性相反応物質（C-反応蛋白、ハプトグロビン、 α_1 -酸性糖蛋白、シアル酸）について、起立不能牛及び正常牛（と畜検査で異常の認めなかった牛）の血液を検査し、病態との関係进行分析した。また、これらの急性相反応物質が起立不能牛の診断に活用できるか検討した。

II 材料及び方法

平成7年3月～平成8年2月までに搬入された病畜の中で、起立不能であった牛38頭と正常牛30頭について放血及び頸静脈血の採血を実施し、C-反応蛋白（以下CRP）、ハプトグロビン（以下Hp）、 α_1 -酸性糖蛋白（以下 α_1 -AGP）、シアル酸を検査した（表1）。CRPはCRPスライド“栄研”を用い、Hp及び α_1 -AGPは細菌化学研究所のウシHpプレート、ウシ α_1 -AGPプレートを用いSRID法により測定し、シアル酸は極東製薬社製

“シアル酸テスト”で測定した。

起立不能牛については剖検所見により原因別の分類をした。また、起立不能に陥ってから経過日数についても調査した。

Hp、 α_1 -AGP、シアル酸における正常牛と起立不能牛の各症候群及び各疾病の値についてt-検定を行った。また、起立不能牛の各症候群、各疾病における合格と廃棄による値の差についてt-検定を行った。起立不能の発症からの経過日数とHp、 α_1 -AGP、シアル酸の各値との相関係数を求めた。また、Hp、 α_1 -AGP、シアル酸の相互の相関係数を求めた。

表1 急性相反応物質の検査頭数

正 常 牛	30			
起立不能牛	38	骨	折	10
		関	節	12
		筋	肉	8
		そ	の	8

III 結果及び考察

1. 検査した起立不能牛を乳牛に多い分娩性起立不能牛群とその他の起立不能牛に分けたのが表2である。

表2 起立不能牛の症候群別頭数

症 候 群 名	頭数	主たる原因の内訳
分娩性起立不能牛群	20	関節炎
		骨折
		筋肉炎・血液浸潤
		その他
その他の起立不能牛群	18	関節炎
		骨折
		筋肉炎・血液浸潤
		膿毒症
		水腫
		出血性腸炎
		敗血症(症状心内膜炎)

2. 分娩性起立不能牛の主な臓器別疾病件数は表3のとおりである。乳房炎, 子宮内膜炎, 子宮蓄膿症, 褪色肝等妊娠に関係ある疾病が主であった。

表3 分娩性起立不能牛の主な臓器別疾病件数

乳 房 炎	9	肝 炎	3
妊 娠	6	胆 管 炎	2
子宮内膜炎	8	富 脈 肝	1
子宮蓄膿症	1	腎 炎	3
褪 色 肝	13	膀 胱 炎	4
		肺 炎	2

3. CRP, HP, α_1 -AGP, シアル酸について起立不能牛を症候群別及び疾病別に示した検査結果が表4, 表5

及び Fig. 1~3 である。これらについて, 各症候群及び疾病の値を比較検討した。

1) CRP は陽性率が正常牛群で46.6%, 起立不能牛群で21.0%と正常牛群で高率に検出したため, 牛においては急性期蛋白とは考えられず, 炎症性疾患等の病勢診断には応用できない。文献によると, 牛ではCRPは正常血漿中に存在するが急性期には上昇しない¹⁾, 山羊でも少数の手術後例での検討結果であるが, CRPは主要な急性期蛋白ではないと考えられている²⁾。

2) HPは正常血清中には存在しないか, 存在しても極く微量(106頭中11頭³⁾または1,000血清試料中6試料⁴⁾だけがHP陽性, 0.1mg/HbBC/dl⁵⁾または0~5.1mg/HbBC/dl⁶⁾にしかすぎないと言われているが, 当所の正常牛群の結果は, $338.6 \pm 263.9 \mu\text{g/ml}$ (mean $\pm$ SD) と高値を示した。この原因は不明であるが, 正常値の範囲を mean $\pm$ 2SD とすると, 正常値の上限は $866.4 \mu\text{g/ml}$ となり, $870 \mu\text{g/ml}$ 以上を異常値とした場合, 起立不能牛群 ($1,083.8 \pm 937.6 \mu\text{g/ml}$) では50%, 分娩性起立不能牛群 ($1,198.8 \pm 904.9 \mu\text{g/ml}$) では60%, その他の起立不能牛群 ($956.0 \pm 956.6 \mu\text{g/ml}$) では38.9%が高値を示した。これら3群は, 正常牛群に比べ有意な高値を認めた。さらに, これらの3群間には平均値の差が認められなかった。

表4 起立不能牛の各症候群における Hp, α_1 -AGP, シアル酸, CRP の検査結果

症 候 群 名	例 数	Hp ($\mu\text{g/ml}$)	α_1 -AGP ($\mu\text{g/ml}$)	シアル酸 (mg/dl)	CRP (陽性件数)
正常牛群	30	338.6 ± 263.9	273.8 ± 70.4	71.1 ± 10.2	14
起立不能牛群	38	$1,083.8 \pm 937.6 *$	$916.2 \pm 612.8 *$	$88.1 \pm 22.0 *$	8
分娩性起立不能牛群	20	$1,198.8 \pm 904.9 *$	$1,053.6 \pm 579.0 *$	$85.1 \pm 20.4 *$	2
その他の起立不能牛群	18	$956.0 \pm 956.6 *$	$763.6 \pm 613.2 *$	$91.4 \pm 23.3 *$	6

注) 正常牛との有意差検定 [$*$: P < 0.01]

表5 起立不能牛の各疾病における Hp, α_1 -AGP, シアル酸, CRP の検査結果

疾 病 名	例 数	Hp ($\mu\text{g/ml}$)	α_1 -AGP ($\mu\text{g/ml}$)	シアル酸 (mg/dl)	CRP (陽性件数)
正常牛群	30	338.6 ± 263.9	273.8 ± 70.4	71.1 ± 10.2	14
骨折	10	457.8 ± 490.4	$768.7 \pm 561.4 **$	78.5 ± 20.9	2
関節炎	12	$1,465.0 \pm 996.5 *$	$877.8 \pm 514.3 *$	$85.6 \pm 16.7 **$	1
筋肉炎・血液浸潤	8	$1,274.0 \pm 757.6 **$	$1,219.9 \pm 625.7 *$	$89.8 \pm 17.7 **$	1
膿毒症	2	952.0 ± 420.0	988.5 ± 106.5	121.6 ± 6.5	1
水腫	3	566.7 ± 408.4	403.3 ± 66.5	97.8 ± 5.3	2
出血性腸炎	1	134	436	68.2	0
敗血症	1	3,460	2,560	148.2	0
その他	1	1,636	652	65.4	1

注) 正常牛との有意差検定 [$*$: P < 0.01 $**$: P < 0.05]

各疾病別に見ると骨折 ($457.8 \pm 490.4 \mu\text{g}/\text{ml}$) では10例中1例, 関節炎 ($1,465.0 \pm 996.5 \mu\text{g}/\text{ml}$) で12例中8例, 筋肉炎・血液浸潤 ($1,274.0 \pm 757.6 \mu\text{g}/\text{ml}$) は8例中6例で高値を示した。関節炎と筋肉炎・血液浸潤では有意な高値を認め, 骨折ではあまり増加しないことがわかった。また, 敗血症例では $3,460 \mu\text{g}/\text{ml}$ と著しい高値を示した。

3) α_1 -AGP は, Tamura⁷⁾によると, 健康牛の平均値は $283.2 \pm 82.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ で正常値の上限を $450 \mu\text{g}/\text{ml}$ と設定している。これと当所で検査した正常牛群の平均値 $273.8 \pm 70.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ との間には平均値の差を認めなかった。そこで $451 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上を異常値とした場合, 起立不能牛群 ($916.2 \pm 612.8 \mu\text{g}/\text{ml}$) では78.9%, 分娩性起立不能牛群 ($1,053.6 \pm 579.0 \mu\text{g}/\text{ml}$) では90%, その他の起立不能牛群 ($763.6 \pm 613.2 \mu\text{g}/\text{ml}$) では66.7%が高値を示した。これら3群は正常牛群に比べ有意な高値を認めた。しかし, これら3群間には平均値の差は認めなかった。各疾病別にみると骨折 ($768.7 \pm 561.4 \mu\text{g}/\text{ml}$) では10例中7例, 関節炎 ($877.8 \pm 514.3 \mu\text{g}/\text{ml}$) では12例中10例, 筋肉炎・血液浸潤 ($1,219.9 \pm 625.7 \mu\text{g}/\text{ml}$) では8例中8例で高値を示した。これらの疾病においては有意な高値を認めた。また, 膿毒症 ($988.5 \pm 106.5 \mu\text{g}/\text{ml}$) では2例とも高値を示し, 敗血症では $2,560 \mu\text{g}/\text{ml}$ と著しい高値を示した。以上の結果から, α_1 -AGP は分娩性起立不能牛群に高値を示し, また同様に関節炎, 筋肉炎・血液浸潤, 膿毒症, 敗血症の疾患で高値を示すことがわかった。 α_1 -AGP は妊娠時などに増加する⁸⁾と言われており, 分娩性起立不能牛群が高値を示した要因の一つだと思われる。

4) シアル酸は, 元井⁹⁾によると, 健康牛の平均値は $51.6 \pm 7.6 \text{ mg}/\text{dl}$ で飼育形態に差があり, 肥育牛では高値を示すとしている。また, 飼育環境の変化によるストレスが,

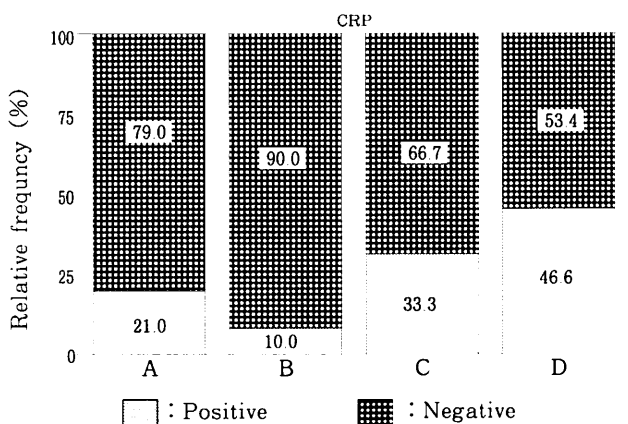


Fig.1 Relative frequency of the serum CRP in downer cattle group (A), paturient paresis group (B), others group (C), normal cattle group (D).

シアル酸の血中濃度の上昇を引き起こすとも言われている¹⁰⁾。当所の正常牛群の平均値 $71.1 \pm 10.2 \text{ mg}/\text{dl}$ と元井らのデータを比較すると両者に有意な差を認めた。当所のデータが高値を示したのは肥育牛であることや輸送等によるストレスが考えられる。元井らの健康牛のシアル酸測定値から, 正常値の上限を $70 \text{ mg}/\text{dl}$ とし, $71 \text{ mg}/\text{dl}$ 以上を異常値とした場合, 当所の正常牛群の60%が異常値となった。起立不能牛群 ($88.1 \pm 22.0 \text{ mg}/\text{dl}$) では68.4%, 分娩性起立不能牛群 ($85.1 \pm 20.4 \text{ mg}/\text{dl}$) では60.0%, その他の起立不能牛群 ($91.4 \pm 23.3 \text{ mg}/\text{dl}$) では77.8%が高値を示した。これら3群は元井らの正常値及び当所の正常牛群のデー

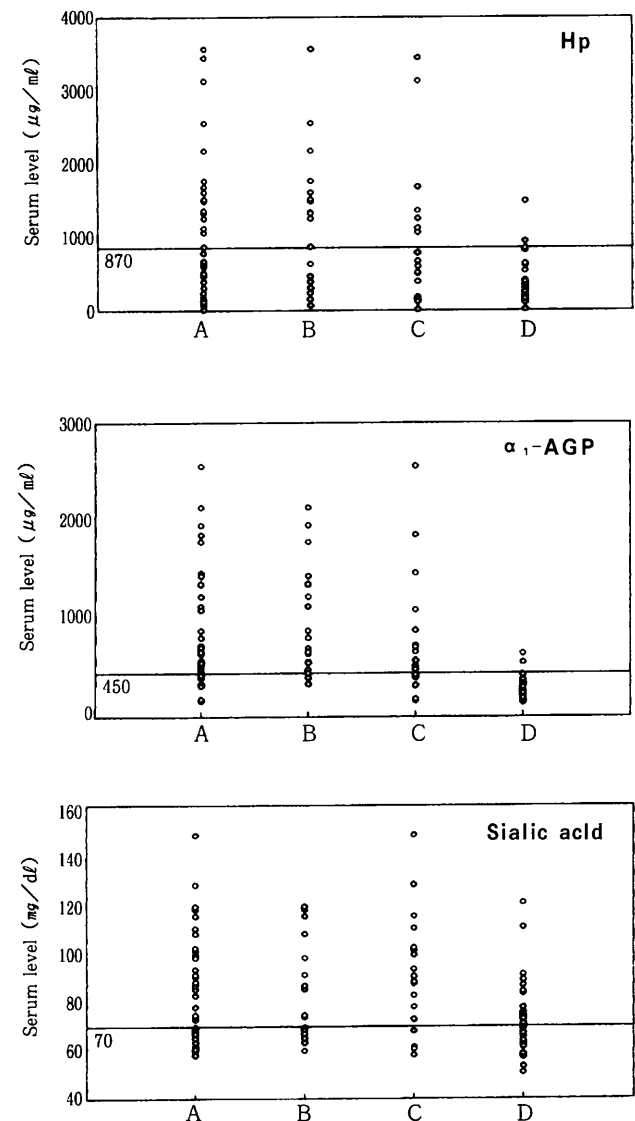


Fig.2 The concentrations of acute phase proteins in downer cattle group (A), paturient paresis group (B), others group (C), normal cattle group (D).

The normal ranges of serum Hp, α_1 -AGP and sialic acid were below $870 \mu\text{g}/\text{ml}$, $450 \mu\text{g}/\text{ml}$ ¹⁷⁾ and $70 \text{ mg}/\text{dl}$ ¹⁹⁾, respectively.

タと比べ有意な高値を認めた。当所の3群間には平均値の差は認めなかった。各疾病別にみると骨折 ($78.5 \pm 20.9 \text{ mg/dl}$) では10例中5例, 関節炎 ($85.6 \pm 16.7 \text{ mg/dl}$) では12例中9例, 筋肉炎・血液浸潤 ($89.8 \pm 17.7 \text{ mg/dl}$) では8例中6例で高値を示した。これらの疾病において, 当所の正常値とでは関節炎, 筋肉炎・血液浸潤に有意な高値を認めた。また, 水腫 ($97.8 \pm 5.3 \text{ mg/dl}$) は3例とも高値を示し, 膿毒症 ($121.6 \pm 6.5 \text{ mg/dl}$) 2例, 敗血症 (148.2 mg/dl) では著しい高値を示した。以上の結果より, シアル酸は関節炎, 筋肉炎・血液浸潤, 水腫, 膿毒症, 敗血症で高値を示し, 筋組織の損傷以外の炎症性疾患でも著増を示すことがわかった。

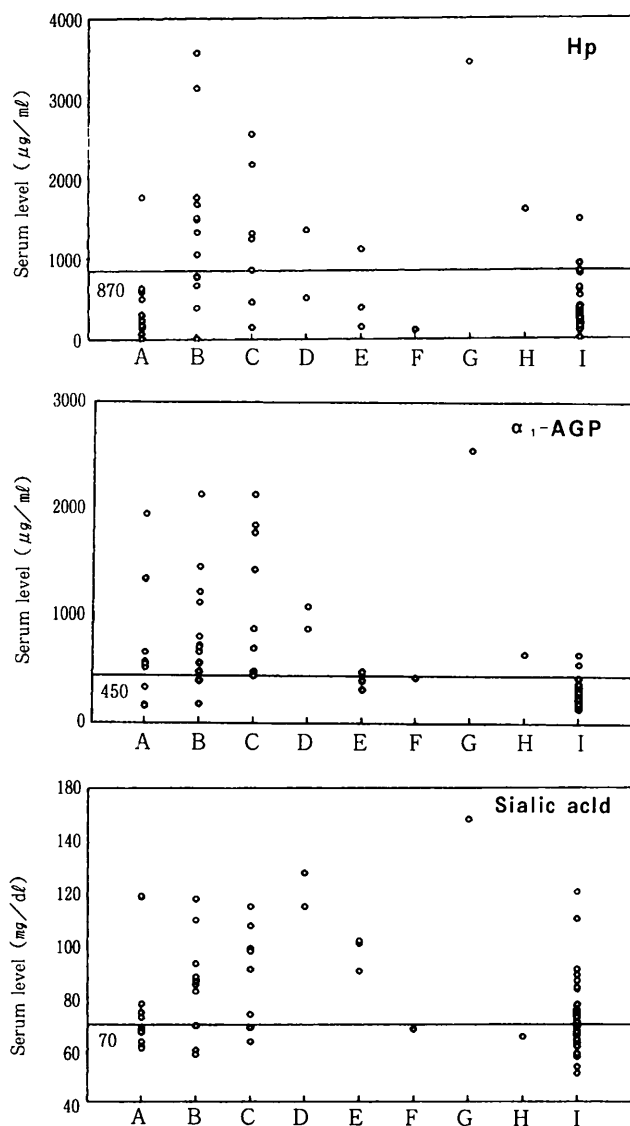


Fig. 3 The concentrations of acute phase proteins in abnormal(A~H) and normal(I) cattles.

A:fracture, B:arthritis, C:myositis-blood infiltration, D:pyemia, E:edema, F:hemorrhagic enteritis, G:sepsis, H:others

4. Hp, α_1 -AGP, シアル酸について, 各症候群及び各疾病における合否処置別の分布状況を調べた(表6, Fig. 4)。その結果, α_1 -AGPでは起立不能牛群とその他の起立不能牛群, またシアル酸ではその他の起立不能牛群において, 廃棄のものが合格のものより有意な高値 ($P < 0.05$) を認めた。 α_1 -AGPにおける起立不能牛群の廃棄頭数 22例中21例, その他の起立不能牛群の廃棄頭数 8例中8例が異常値を示した。

これら2群では高値のものに廃棄が多い傾向を認めた。そこで, 合格と廃棄のデータから起立不能牛の合否判別の基準値を求めたところ, $847 \mu\text{g/ml}$ となった。 $848 \mu\text{g/ml}$ 以上を廃棄とし $847 \mu\text{g/ml}$ 未満を合格として実際のデータをいれたところ, 誤判別率が 0.368と高い値を示したので, これを合否判定の基準値にするには不適當と思われた。

5. 起立不能牛群の発症からの経過日数がわかっているものについて, 経過日数とHp, α_1 -AGP, シアル酸の検査結果の関連性を調べた(表7, Fig 5)。

1) Hpでは, 経過日数の長いものほど低値となる傾向を示した。分娩性起立不能牛群だけを選ぶと増加傾向を示したが合否との関連性は認められなかった。骨折のものでは増加傾向を示し, 関節炎では減少傾向を示した。森松らによればHpは実験的な炎症刺激によって, 投与前には検出限界 ($20 \mu\text{g/ml}$) 以下であったのが翌日より上昇し始め, 3日後には最高値 (1 mg/ml 以上) に達し, 5日後には再び検出限界以下となり, その上昇倍率は50倍以上であるという¹⁰⁾。関節炎では, 経過日数が短く高値を示したものが枝肉合格となり, 経過日数が長く前述のものより低値を示したものが枝肉廃棄となった。すなわち, 初期には枝肉合格となるような関節炎でもHpは高値を示し, 経過日数が長く炎症はおさまりつつあるが, すでに枝肉の損傷が多く廃棄となるような場合でも経過日数が長いため, Hpが低下したものと思われる。

2) α_1 -AGPでは全体として増加傾向を示し, 分娩性起

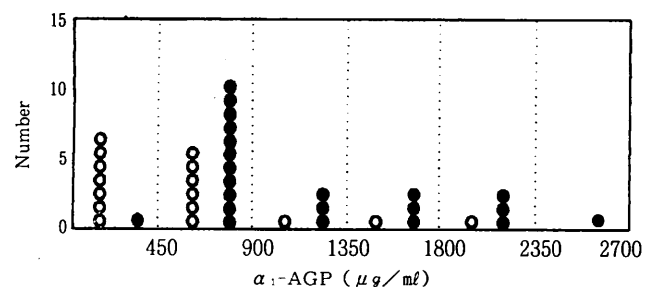


Fig. 4 The concentrations of serum α_1 -AGP in downer cattles. The carcasses passed (○) and not passed (●) inspection were plotted.

立不能牛群でも増加傾向を示し合否との関連性は認められなかった。骨折、関節炎でも増加傾向を示した。 α_1 -AGPの変動は、急性期蛋白としての反応は遅く4~7日で正常の2~3倍に達し、比較的長く高値を維持して、2週間後には正常範囲内に戻るとされている¹²⁾。この検査結果でも経過日数が2~3日のものは高値を示さず、経過日数の長いものに高値を示す傾向が認められた。関節炎に、経過日数は長い、Hpは低値を示した症例を認めたが、その検体の α_1 -AGPは高値を示した。また、逆に経過日数が短く、Hpは高値を示し、 α_1 -AGPは低値を示したものもあった。関節炎では高値を示した経過日数の長いものが

廃棄となった。骨折は合否との関連性は認められなかった。
3) シアル酸では全体として増加傾向を示し、分娩性起立不能牛群でも増加傾向を示し、合否との関連性は認められなかった。骨折でも増加傾向を示したが、関節炎では減少傾向を示した。関節炎では、経過日数が長く比較的低値のものが廃棄となり、これよりやや高値でも経過日数の短いものは合格となった。しかし、著しい高値のものは廃棄となっている。骨折は合否との関連性は認められなかった。
4) 経過日数と枝肉処置の関係は、8日以上の場合、どの検査項目においても値に関係なく廃棄となっている。経過日数が6日以内の場合、どの検査項目においても合否と

表6 起立不能牛の各症候群及び疾病におけるHP、 α_1 -AGP、シアル酸の合否別検査結果

検査項目	症候群及び疾病名	合格 (件数)	廃棄 (件数)
HP ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	起立不能牛群	936.4 $\pm$ 843.1 (16)	1,191.0 $\pm$ 987.0 (22)
	分娩性起立不能牛群	1,227.0 $\pm$ 517.6 (6)	1,186.7 $\pm$ 1,026.9 (14)
	その他の起立不能牛群	762.0 $\pm$ 946.3 (10)	1,198.5 $\pm$ 913.0 (8)
	骨折	627.7 $\pm$ 568.7 (6)	203.0 $\pm$ 88.3 (4)
	関節炎	1,358.3 $\pm$ 1,002.7 (6)	1,571.7 $\pm$ 978.6 (6)
α_1 -AGP ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	起立不能牛群	648.2 $\pm$ 472.8 (16)	1,111.1 $\pm$ 629.1 (22) **
	分娩性起立不能牛群	1,069.5 $\pm$ 514.2 (6)	1,046.7 $\pm$ 604.5 (14)
	その他の起立不能牛群	395.4 $\pm$ 169.1 (10)	1,223.8 $\pm$ 655.0 (8) **
	骨折	794.5 $\pm$ 654.8 (6)	730.0 $\pm$ 377.2 (4)
	関節炎	631.8 $\pm$ 332.2 (6)	1,123.8 $\pm$ 545.5 (6)
シアル酸 (mg/dl)	起立不能牛群	80.2 $\pm$ 18.8 (16)	93.9 $\pm$ 22.4 (22)
	分娩性起立不能牛群	79.3 $\pm$ 19.6 (6)	87.6 $\pm$ 20.1 (14)
	その他の起立不能牛群	80.7 $\pm$ 18.3 (10)	104.9 $\pm$ 21.9 (8) **
	骨折	77.9 $\pm$ 19.5 (6)	79.5 $\pm$ 22.7 (4)
	関節炎	79.8 $\pm$ 18.6 (6)	91.4 $\pm$ 12.1 (6)

注) 廃棄と合格の平均値の有意差 **: $p < 0.05$

表7 起立不能後の経過日数の判明した牛の検査結果

年月日	品種	性別	処置	判定病名	剖検所見	経過日数	HP ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	α_1 -AGP ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	シアル酸 (mg/dl)
7 3 20	乳牛	牝	廃棄	全身性筋肉炎、分娩性起立不能	褪色肝、骨折	2	160	340	63.4
7 3 20	乳牛	牝	廃棄	全身性筋肉炎、分娩性起立不能	肝炎、乳房炎、子宮蓄膿症、骨折、血液浸潤	6	84	1,350	118.6
7 5 13	和牛	去	合格	起立不能	関節炎	3	3,144	490	93.5
7 6 5	乳牛	牝	廃棄	筋肉炎、分娩性起立不能	褪色肝、妊娠、筋肉炎、血液浸潤	4	480	710	74.1
7 6 24	乳牛	牝	廃棄	筋肉炎、分娩性起立不能	褪色肝、腎炎、乳房炎、子宮内膜炎、膀胱炎、筋肉炎、関節炎、血液浸潤	2	1,504	565	118.2
7 7 3	和牛	去	合格	骨折、起立不能	骨折、筋肉炎	1	610	165	61.8
7 7 13	乳牛	牝	廃棄	筋肉炎、関節炎、起立不能	褪色肝、膀胱炎、関節炎	10	1,068	1,465	87.5
7 10 14	乳牛	牝	合格	分娩性起立不能	胸膜炎、胆管炎、子宮内膜炎	4	1,636	652	65.4
7 10 17	乳牛	牝	合格	骨折、分娩性起立不能	褪色肝、妊娠、骨折	3	646	1,360	74.6
7 10 24	乳牛	牝	合格	分娩性起立不能、心衰弱	妊娠、血液浸潤、関節炎	3	1,530	405	69.8
7 11 2	乳牛	牝	廃棄	起立不能、膿毒症	肺膿瘍、心外膜炎、リボフスチン沈着症、胃炎、腸炎、腎炎、前肢浮腫、筋肉膿瘍	14	532	1,095	115.1
7 11 21	乳牛	牝	廃棄	全身性筋肉炎、起立不能	褪色肝、子宮うっ血、関節炎、筋肉炎	8	686	713	88.3
7 11 30	乳牛	牝	廃棄	膿毒症、起立不能	乳房炎、子宮内膜炎、筋肉膿瘍、筋肉炎	13	1,372	882	128.0
7 12 1	乳牛	牝	廃棄	分娩性起立不能、全身性筋肉炎	肺炎、肝炎、脾うっ血、腎炎、乳房炎、子宮内膜炎、血液浸潤	12	884	1,788	98.1
7 12 26	乳牛	牝	廃棄	起立不能、敗血症	症状性心内膜炎、子宮内膜炎、膀胱炎	1	3,460	2,560	148.2
7 12 26	乳牛	牝	廃棄	分娩性起立不能、全身性筋肉炎	肺炎、肝炎、妊娠、膀胱炎、血液浸潤	10	2,200	882	115.3
8 1 25	和牛	牝	合格	出血性腸炎、起立不能	褪色肝、脾うっ血、出血性腸炎、血液浸潤	2	134	436	68.2
8 1 30	乳牛	牝	合格	分娩性起立不能、腰椎骨折、右枝肉廃棄	褪色肝、化膿性乳房炎、妊娠、血液浸潤	6	1,794	1,960	119.2

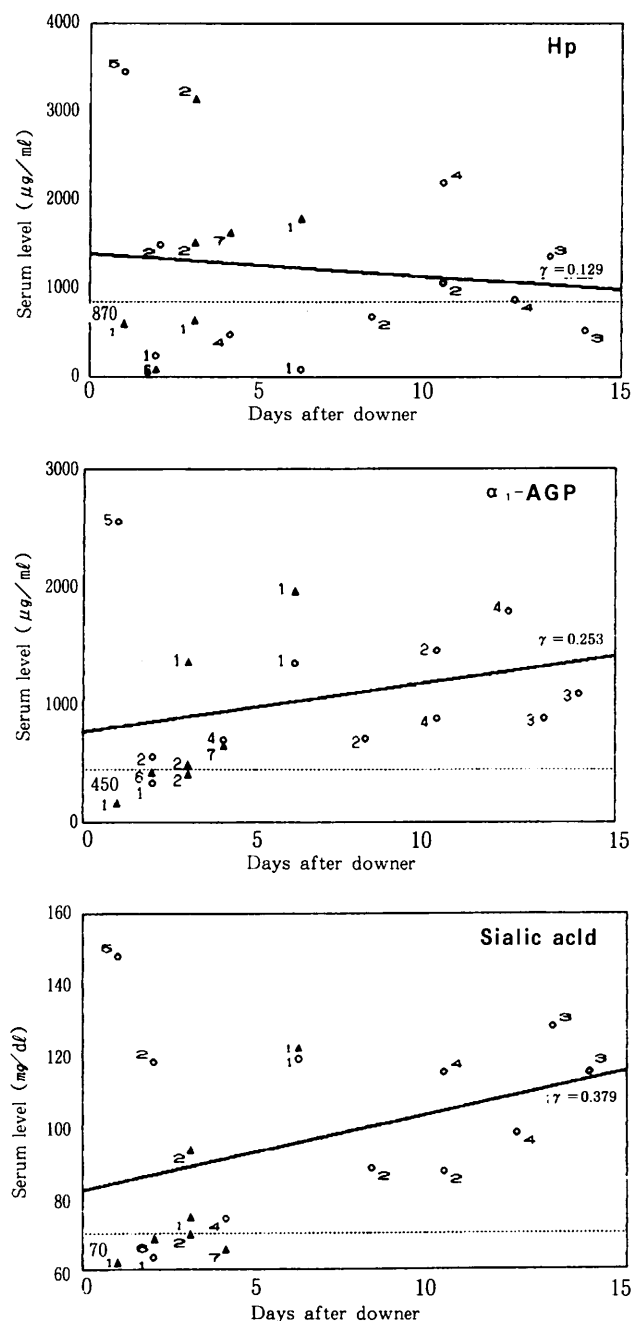


Fig.5 Correlation between the days after downer and the concentration of serum Hp, serum α_1 -AGP or serum sialic acid. The carcasses passed (▲) and not passed (○) inspection were plotted. The data of downer cattle was classified into fracture(1), arthritis(2), pyemia(3), myositis•blood infiltration(4), sepsis(5), hemorrhagic enteritis(6) and others(7). Linear regression was showed going down in Hp, up in α_1 -AGP and sialic acid.

の関連性はあまり認められなかった。敗血症（症状性心内膜炎）は起立不能に陥ってからの日数は短い、全ての検査項目において著しい高値を示した。このことは、組織の損傷をとまわらない細菌感染症等でも、急性相反応物質は増加することを示している。

6. α_1 -AGP、シアル酸及びHpの相関をFig.6にそれぞれ示した。その結果、 α_1 -AGPとシアル酸 ($\gamma = 0.469$, $p < 0.01$) の間、Hpとシアル酸 ($\gamma = 0.476$, $p < 0.01$) の間及びHpと α_1 -AGP ($\gamma = 0.325$, $p < 0.05$) の間に正の相関が認められた。

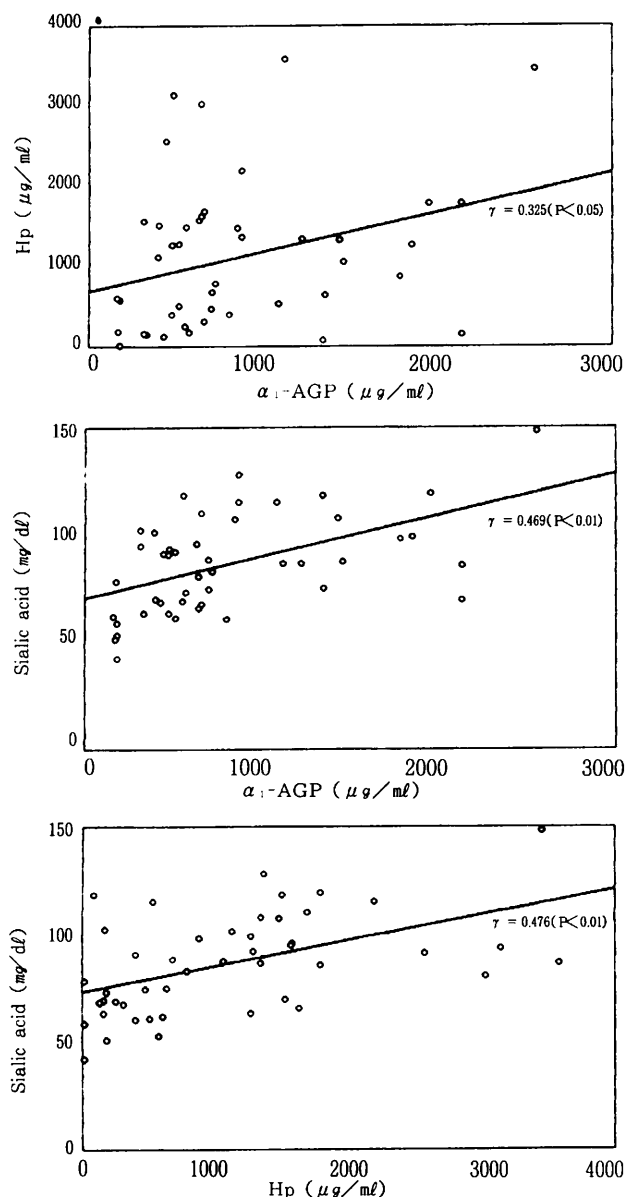


Fig.6 Correlation between serum α_1 -AGP and Hp; serum α_1 -AGP and sialic acid; serum Hp and sialic acid. Linear regression gave a correlation coefficient.

IV ま と め

1. CRPは、正常牛群の46.6%と起立不能牛群よりも高率に陽性となったため、急性期蛋白とは考えられず炎症性疾患等の病勢診断には適さない。

2. Hpは、当所の正常値から判断すると、起立不能牛群は高値を認めたが、異常値を示すものが起立不能牛群の50%とあまり多くなく、特に骨折では10例中1例だけが異常値を示したことが、一般には正常値が極めて低いと言われているにもかかわらず当所で測定した値は $338.6 \pm 263.9 \mu\text{g/ml}$ となり原因が不明であること、また起立不能になってからの日数が長いものは異常値であるが、比較的低値を示す傾向があること等により、Hpを起立不能牛の診断に応用する場合、経過日数や骨折を考慮して判断する必要がある。また、枝肉が廃棄になるような損傷の大きいものが必ずしも高値を示していないので、枝肉合否の判定には役立たない。

3. α_1 -AGPは、当所の正常値が一般に言われている正常値と差がなくバラツキも少ないので、正常値としての信頼性は高いと思われる。起立不能牛群の約80%のものが異常値を示したことが、また、水腫では高値を示さなかったが、骨折、関節炎、筋肉炎・血液浸潤、膿毒症、敗血症では高値を示したことが、分娩性起立不能牛群は90%が異常値を示したがこの場合、妊娠の影響を考慮しなければならないこと、経過日数の短いものは低値を示す傾向があること等により、 α_1 -AGPは起立不能牛の病勢診断的価値は高いと考えられ、妊娠や経過日数を考慮すれば非特異的指標として有効である。また、廃棄となったものに高値を示す傾向があり枝肉合否判定の指標となる可能性も示唆された。今後例数を増やし検討する必要がある。

4. シアル酸は当所の正常値のバラツキが大きく、正常牛群の60%が異常値を示し信頼性に欠けること、起立不能牛群は、元井らの正常値より高値を認め、68.4%が異常値を示したことが、関節炎、筋肉炎・血液浸潤、敗血症、特に膿毒症、水腫で高値を示したことが等により、起立不能牛の非特異的な指標として診断に応用できる。しかし、正常牛でも高値を示すものがあるので総合的な判断をする必要が

ある。また、合格と廃棄の判定にあまり差を認められなかったため、枝肉合否判定には役立たない。

5. 今回Hp、 α_1 -AGP、シアル酸について、枝肉の損傷の程度と検査値の関係は調査できなかったが、これらの関係が明らかになると枝肉処置の有効な指標になると考える。

6. Hp、 α_1 -AGP、シアル酸には今までに述べたように様々な特徴があるが、総合的に判断すると α_1 -AGPが起立不能牛の非特異的指標として診断に応用できると考える。今回の α_1 -AGPの検査法はSRID法により測定したが、この方法は検査に24~48時間を要する。と畜検査における病勢診断には迅速性が要求されるので、今後迅速な検査方法の検討が必要である。

V 文 献

- 1) Eckersall, P.D., et al: Animal Clinical Bio-chemistry -The Future, Cambridge Univ. Press. 225-229(1988)
- 2) Maudsley, S., et al: Immunology 62, 17-22(1987)
- 3) Minocceri, F.: Arch. Vet. Ital. 16, 433-447(1965)
- 4) Spooner, R.L. and Miller, J.K., Vet. Rec. 88, 2-4(1971)
- 5) Richter, H.: Arch. Exper. Vet. Med. 28, 505-519(1974)
- 6) Makimura, S. and Suzuki, N.: Jpn. J. Vet. Sci. 44, 15-21(1982)
- 7) Tamura, K., et al: Cancer Res. 41: 3244-3252(1981)
- 8) Schmid, K.: The Plasma Proteins Vol. 1. (Putnam, F. D. ed) Academic Press, 183-228(1975)
- 9) 元井霞子, 他: 日獣会誌 37, 643-649(1984)
- 10) 柳谷源悦, 他: 日獣会誌 48, 845-847(1995)
- 11) 森松正美, 他: 家畜生化研報 29, 61-68(1992)
- 12) 大久保英雄: 臨床病理臨時増刊特集第42号: 38-48(1980)

牛枝肉の多発性出血斑（スポット）について

病理部門

Blood spotting (spot) in carcasses of cattle

Abstract: The degree of blood spotting depends on the kind, sex, weight of cattles, livestock farmers or breeders, and season of the year. We investigated blood spotting in carcasses of cattle from livestock inspecting data and pathologic findings. From pathologic findings, a simple bleeding figure was noted in the stoma, spreaded along many blood vessels in the trunk muscles and diaphragm.

Key Words: 牛 cattle, 枝肉 carcass, 横隔膜 diaphragm, 多発性出血斑 blood spotting, スポット spot

I はじめに

牛のと殺解体処理後、枝肉の前切り部の断面やカットの工程で筋肉中にシミ、スポットなどといわれる多発性の出血斑を見ることがある。

発生原因として系統的素質やストレス、と殺放血時の神経刺激による影響などが考えられているが、明確な原因の解明はなく、その発生の予防には各所とも苦慮しているのが現状である。

当所においても、平成7年度に急激な増加がみられ、出荷者や食肉処理業関係者などから発生機序や予防法の解明が求められている。

今回、平成4年度からコンピュータに入力してきたと畜検査データを解析し、併せて横隔膜や内臓に発生したスポットを検体として病理組織検査を実施し、若干の知見を得たので報告する。

II 方 法

平成4年4月から平成7年12月までにと畜検査、せり前検査及び瑕疵検査で確認した枝肉のスポットについて解析を行った。また、平成7年度に発生し、検体として採取できた横隔膜7検体、心臓2検体、空腸1検体について、常法に従い標本を作製し、H E染色等を施し、病理学的検索を行った。

III 結 果

1. コンピュータによる解析結果

1) 年別発生状況

図1は平成4年～平成7年のスポットの平均発生率を示したものである。年々増加の傾向が認められ、せり前検査での発見率は、平成7年では平成4年の約3倍となっている。

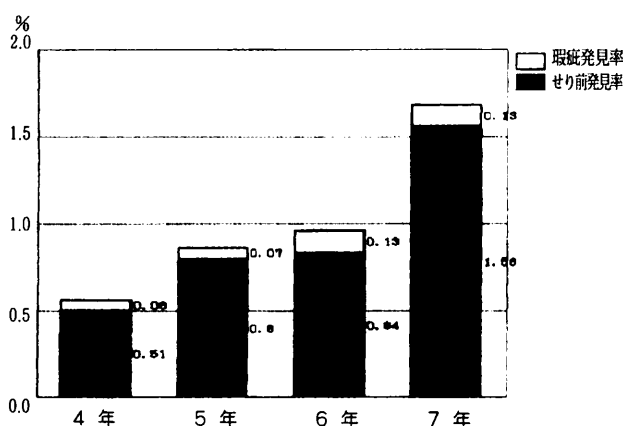


図1 年別スポット発生状況

2) 月別発生状況

図2は平成4年～平成7年のスポットの月別平均発生率を示したものである。これをみると、10月～11月、1月～2月、4月～5月に多く認められるが、6月～9月の夏期には少なく、発生に季節的変動が認められる。これらは気候などによる牛の生理的状況が影響しているのではないかと考えられる。

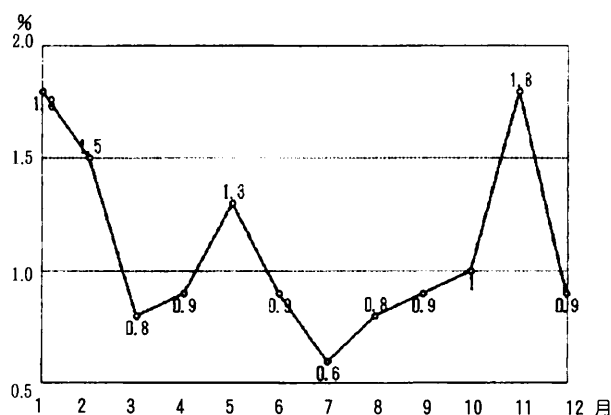


図2 月別スポット発生状況

3) 品種別、性別発生状況

図3は品種別、性別の発生率を年別に示したものである。品種別にみると、F1牛が最も多く、次いで乳牛、和牛の順となっている。

性別では、牝牛より去勢牛の方が高い発生率である。このように品種、性別による性質の違いが、スポットの発生に関係していることが考えられる。

特に、F1牛や乳牛は和牛に比べて神経質で、生体検査時においても興奮して暴れることが多い。更に、去勢牛においても牝牛に比べて神経質な性質をしているように思われる。このような、と殺前の興奮やストレスによる血圧の上昇もスポットの発生に関係しているものと推測される。

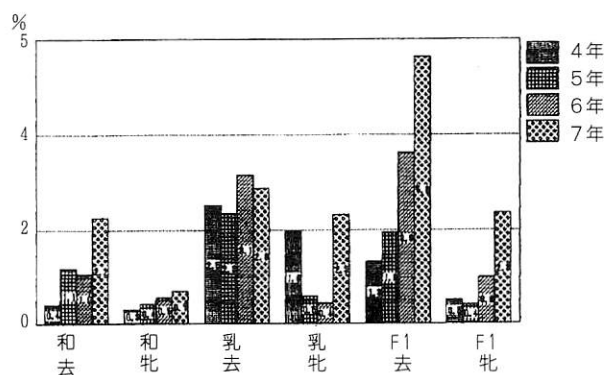


図3 品種別・性別スポット発生状況

4) 出荷者別発生状況

図4は主要な生産者の年別スポットの発生率を示したものである。

F1牛や乳牛、和牛の去勢牛を主に出荷している業者に高い発生が認められる。

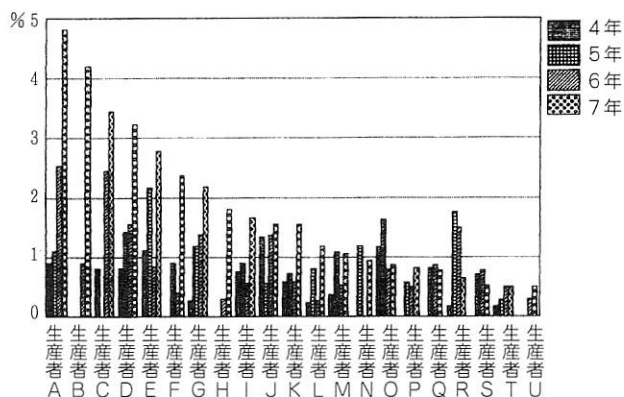


図4 出荷者別スポット発生状況

5) 体重別発生状況

図5は平成4年～平成7年に出荷された牛の体重別の発生率を示したものである。

体重 600kg台～700kg以上の牛に高い発生が認められ、体重の重い去勢牛に多いことを裏付ける結果となっている。

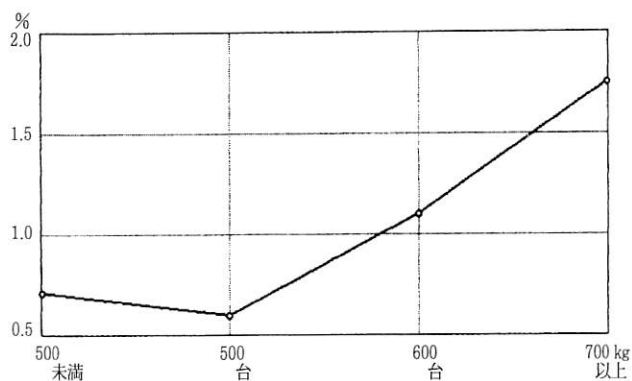


図5 体重別スポット発生状況

6) 格付別発生状況

図6は平成4年～平成7年におけるスポットの格付別平均発生率を示したものである。F1牛や乳牛の肉質等級として多い、2, 3に高い発生が認められる。

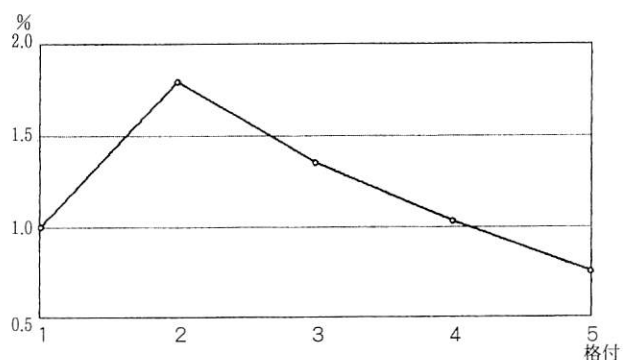


図6 格付別スポット発生状況

7) と殺頭数別発生状況

図7は平成7年4月～12月までのと殺頭数別スポットの発生率を示したものである。

と殺頭数が、25頭前後の日に多く発生していることが認められる。この結果は、解体処理時間の経過にスポットの発生が関係していることが推測され、特に打額からワイヤー挿入、放血、懸吊といった処理時間の長い方が発生率が高いことを示している。

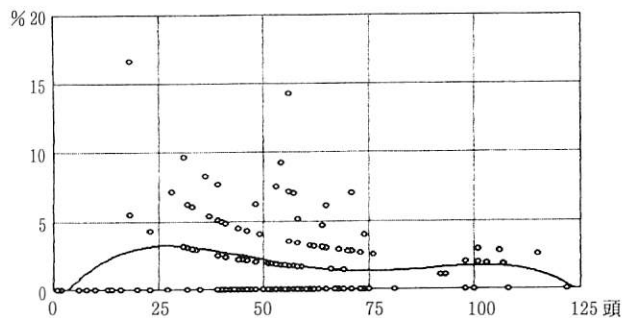


図7 と殺頭数別スポット発生状況

8) 枝肉の第6～第7肋骨間切開面における筋肉別発生状況

図8は牛枝肉の第6～第7肋骨間における切開面を示したものである。

図9は平成4年～平成7年において、せり前検査で認められたスポットを発生した筋肉別にその発生率を示したものである。これをみると、胸最長筋、頭半棘筋、背半棘筋に高い発生がみられるが、その他の筋肉では比較的低く、筋肉によってスポットの発生に差があることが認められる。



1. 広背筋
2. 僧帽筋胸部
3. 腸肋筋
4. 背半棘筋
5. 背多裂筋
6. 肋間筋
7. 菱形筋
8. 頭半棘筋
9. 胸最長筋
10. 前背鋸筋
11. 胸腹鋸筋

図8 牛枝肉の第6～第7肋骨間切開面

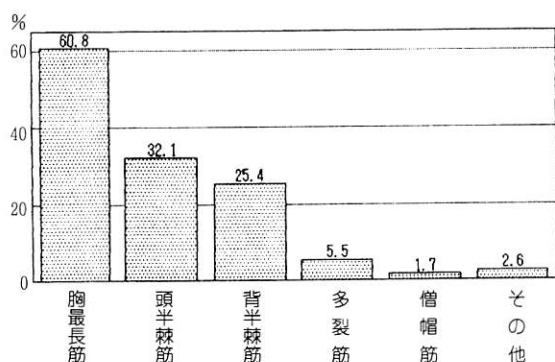


図9 体幹筋における部位別発生状況

9) 横隔膜における発生状況

図10は平成7年4月～12月に発生したスポットを部位別に示したものである。横隔膜と骨格筋の両方に認められたものは10.7%、骨格筋にのみ認められたものは39.2%、横

隔膜にのみ認められたものは50.0%であった。横隔膜におけるスポットの発生が全体の60.7%に認められることから、横隔膜がスポットの好発部位であることが認められる。

図11は平成7年における横隔膜スポットの発生率を月別に示したものである。図から11月が4.49%と最も高い発生率を示していることが認められる。

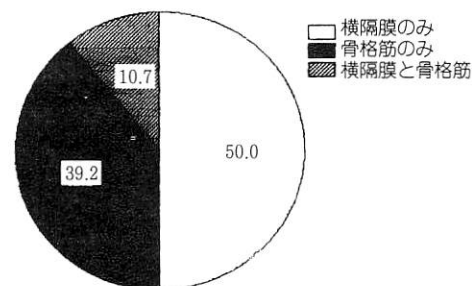


図10 横隔膜スポット発生状況

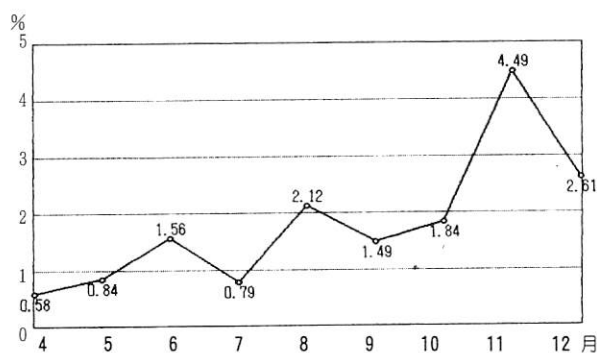


図11 横隔膜スポットの月別発生状況

2. 病理学的検索結果

1) 横隔膜における所見

横隔膜では、筋部において、微細な出血斑として筋肉の表面あるいは深部に至る筋肉全体に密発して認められるがその程度についてはさまざまで、特に、横隔膜脚部（サガリ）に発生することが多い。

組織所見では、筋束を包む結合組織（筋周膜）や、脂肪組織及び筋線維間に単純な出血像として認められ、炎症や変性などの所見は認められなかった。特に血管の走行している部位で著明に認められることから、と殺時の物理的要因を主とする血管の破綻に基づくものと考えられる。

2) 空腸における所見

空腸全面において、粘膜と漿膜の間に瀰漫性の出血斑が散在して認められる。しかし、盲腸、結腸及び直腸には認められない。空腸などの内臓に発生している場合、体幹筋や横隔膜にも認められることが多い。

組織所見では、粘膜下層の結合組織に出血像として赤血

球の浸潤を認めるに過ぎない。出血部位は、血管分布の多い粘膜下織に限局し、粘膜固有層などに認められることは少ないが、筋層間や漿膜下に軽度な出血も認められる。

3) 心臓における所見

心臓は、通常のと殺においても心内膜下に出血が認められるなど、影響を受けやすい臓器の一つである。スポットでは、心外膜下や心筋実質内に線状あるいは瀰漫性の出血斑として認められる。

組織所見では、心筋線維間の結合組織や脂肪組織内に単純な出血像として確認することができる。心筋組織の炎症像や変性像は認められない。心臓においても空腸と同様、血管の走行部位である間質においてのみ病変が確認された。

IV ま と め

今回、牛枝肉におけるスポットの発生状況をコンピュータ解析し、あわせて病理学的検査を実施した結果、

1. スポットの発生に季節的変動が認められた。特に冬期に多く、夏期に減少する傾向が認められた。
2. F1牛や乳牛に多いなど、品種により発生に違いが認められた。
3. 牝牛に比較して去勢牛に多く発生しており、性別による違いが認められた。
4. F1牛や去勢牛を主に生産している業者に発生が多かったが、特に飼育環境や飼養形態に問題があるとは考えられ

なかった。

5. 体重600kg台、さらに、700kg以上の牛に発生が多かった。

6. 格付別では、肉質等級の2, 3に高い発生率が認められた。

7. と殺頭数別発生状況では、25頭前後の場合に発生率が高く、解体処理時間などがスポットの発生に影響していることが推察された。

8. 体幹筋では、胸最長筋、頭半棘筋、背半棘筋に発生が多く、横隔膜もスポットの好発部位であることがわかった。

9. 病理学的な検索では、筋組織の間質、空腸の粘膜下織、心筋間質など血管の走行している間質に限局して認められ、組織所見としては、炎症や変性像などは認められず、単純な出血像しか確認できず、と殺時の物理的な要因により、血管が破綻して起こっているものと考えられた。

以上、スポットの発生には品種、性別、体重、生産者、などによる違いや、季節的な変動、と殺解体過程における経時的な関係、ワイヤーの材質や挿入回数、挿入の深さなど処理方法の違い、牛自身の性質や体質などが複雑に関係しているように考えられ、その発生をなくすことは非常に難しいと思われるが、今回のデータを活用し、解体処理過程における問題点を指摘、改善していく中で、少しでも発生を減少させることができればと考えている。

親水性ソリッドゲルの微小酸素電極センサー部への応用の研究について

調査研究部門

Study on the application of hydrophilic solid gel to the sensor of an oxygen micro-electrode tip

Abstract : The effect of hydrophilic solid gel 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 μm in diameter coated with urethane resin for insulation. The naked-electrode with a flat surface tip was inserted in the polyethylene tube 200 μm in I.D. and 500 μm in O.D. to make the recess 200, 250 and 300 μm in length. In the case of the electrode with the short recess of 200 μm , the oxygen diffusion current was generated in proportion to the concentration of oxygen gas. Therefore, the calibration line of the current against the oxygen gas showed a straight line. In the case of the tip with the longest recess of 300 μm , the current rate was lower at 10% than at higher oxygen gas levels. Therefore, the calibration line gradually sloped upward as the oxygen gas levels increased. In conclusion, the hydrophilic solid gel was useful to gain the preferable calibration curve of the current against the oxygen gas concentration. However, the technical difficulty in packing the recess of the electrode tip with the hydrophilic solid gel was still not solved.

Key Words : 微小酸素電極 oxygen micro-electrode, 白金線電極 platinum wire electrode, 親水性ソリッドゲル hydrophilic solid gel, 酸素拡散電流の安定化 stabilization of oxygen diffusion current

I 緒 言

神経細胞の代謝活動は、主にブドウ糖を酸化的磷酸化過程によって生産されたアデノシン-3-リン酸(ATP)を分解利用して営まれる。この時、脳は多量の酸素を消費するので、外部より酸素供給の無い閉鎖系モデルでは、代謝活動が盛んなほど、組織酸素分圧は低下する。これら代謝活動の進行している組織での組織酸素分圧は、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生体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の問題点が判明している。当部門では数年前よりこの問題の解決について、いろいろな角度から検討を試みている。

ウレタン樹脂被覆白金線(径200 μm)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、陰陽の二相性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¹⁻⁶⁾。しかし、この実験方法では、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ときと、しないときがあった。そこで次の過程として、電極先端被膜の性状や厚さの変わることによって起因する酸素拡散電流の変化に注目し、その結果

を報告した^{2, 7)}。一方、実験中の酸素電極の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は抵抗値の異なることが分かった。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分かってきた。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、そのため予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, 8)}。引き続き微小酸素電極先端のセンサー部の形について検討した。その結果、半球体型の酸素電極の較正線は拡散型を示し、円錐体型電極の較正線は収斂型を示すことが分かった^{4, 9)}。今回は、微小酸素電極先端のセンサー部に親水性のソリッドゲルを被膜として応用したところ、良い結果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 μm)の先端の切断端をサンドペーパーで磨いて平面とした(インターメディカル社製)。この白金線の酸素電極の先端にポリエチレンチューブ(外径 0.5, 内径 0.2mm)(夏目製作所)をキャップ状に挿

入して (Fig.1A), 長さ200, 250 および 300 μm の recess (へこみ) を作り, その管空の内部を少量の KCl 末を含む親水性ソリッドゲル (東洋合成工業 K.K.) で充填した。

2. 通電処置

電極作成後に後通電処置を行った^{3, 8)}。酸素電極 (陰極) に, 0.15V で約5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% および 95% であり, これに 5% 炭酸ガスと残りは窒素ガスの組成とした。

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°C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40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。実験開始以前の電極抵抗は 0.24-0.27M Ω 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約 0.3M Ω であった。写真 (Fig.1A) は電極先端の形状を示す。

III 結 果

1. 親水性ゲル被覆による酸素拡散電流の発生

センサーの部分が親水性ゲルを用いた酸素電極を使って拡散電流を測定し, その結果を Fig.2 に示した。

1) recessの長さが200 μm の電極(a-1)を用いて拡散電流を測定した。培液中に窒素ガスに代えて, 10%酸素ガスを通気し始めると拡散電流が発生し, 時間の経過とともにゆっくり増加した。約10分間の通気の後, 0.175×10^{-7} A のレベルで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しなかった。

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 0.788×10^{-7} A であった。引き続き95%酸素ガスに代えて通気すると,

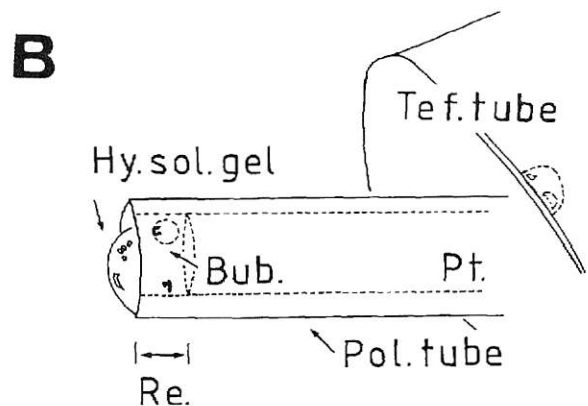
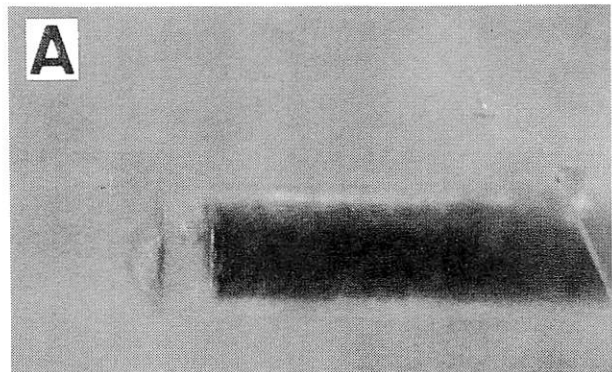


Fig. 1 The structural description of oxygen micro-electrode with recess packed with hydrophilic solid gel

A : Photograph of a tip of Pt wire oxygen micro-electrode with a polyethylene tube recess 200 μm in length packed with hydrophilic solid gel

B : Schematic drawing of the photograph

Hy. sol. gel; hydrophilic solid gel, Re; recess of polyethylene tube, Pt; platinum wire (O.D.; 200 μm), Bub; bubble, Pol. tube; polyethylene tube (O.D.; 0.5, I.D.; 0.2mm), Tef. tube; teflon tube

電流値は増加し, やがて 1.66×10^{-7} A のレベルでほぼ安定した。

2) recessが250 μm の長さの電極(a-2)を用いて, 拡散電流を測定した。この場合, 10%, 45%及び95%酸素ガスの通気下で, それぞれ 0.16×10^{-7} A, 0.72×10^{-7} A 及び 1.52×10^{-7} A の電流値を示した。

3) recessが300 μm と最も長い電極(a-3)を用いて, 拡散電流を測定した。約10分間の10%酸素ガスの通気下により, 0.23×10^{-7} A の値でプラトーに達した。約18分の45%酸素ガスの通気下では 1.32×10^{-7} A, また, 95%酸素ガスの通

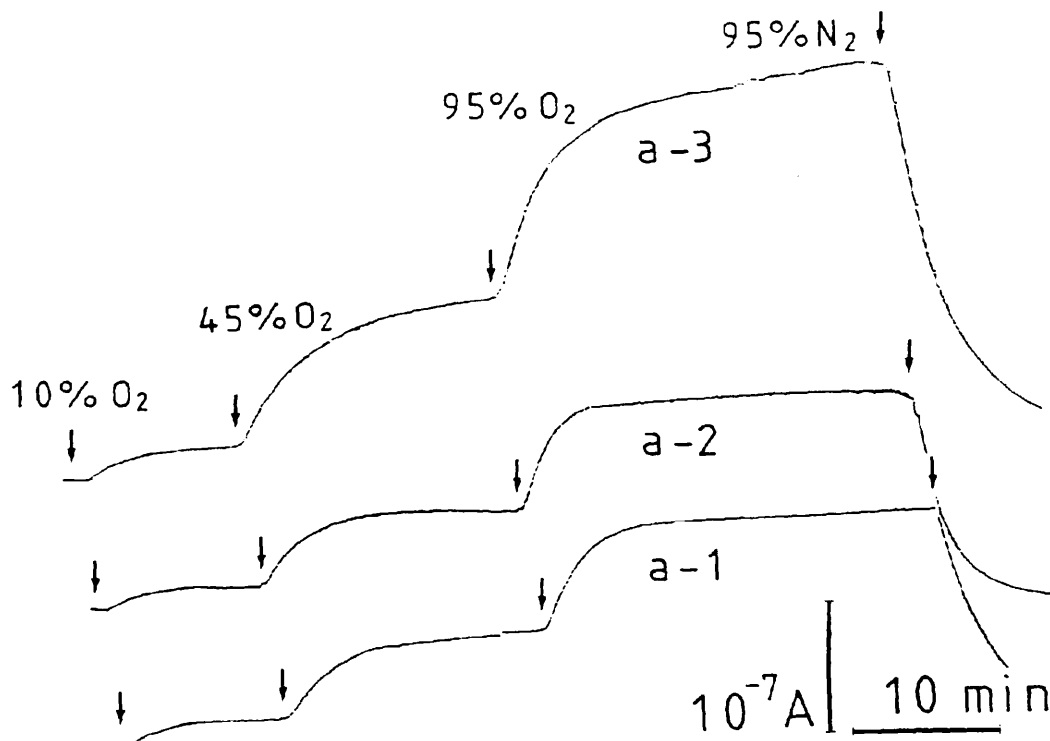


Fig. 2 Oxygen diffusion current recorded by using the oxygen micro-electrode with recess in several lengths
Oxygen diffusion currents were measured by using the a-1(recess; 200 μm in length), a-2(250 μm) and a-3(300 μm) oxygen micro-electrodes in the medium under the flow of 10, 45 and 95% oxygen gas.

気下では 3.1×10^{-7} Aの電流値を示した。しかし、電流の値はほぼ平坦化しているが、なお幾分上昇する傾向にあった。

2. 親水性ゲル被覆による酸素電極の拡散電流の校正曲線

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いてみると、電極先端のrecessの長さの違いによって、拡散電流の発生の方に違いが認められた(Fig. 3)。

recessの長さが短い方の電極(a-1, a-2)では、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、45%と95%酸素ガスの通気下で得られた電流値は、その線上にのった。すなわち、単位酸素に対する拡散電流の発生は、酸素濃度に関係なく一定であった。

一方、recessが300 μm の電極(a-3)では、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、図中に示された原点と10%値を結んだ点線の延長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。

IV 考 察

1. 被覆剤としてのソリッドゲルに対する評価

電極先端のrecessに被覆剤としてソリッドゲルを充填したが、recessの長さの違いによって、酸素拡散電流値の異なることが分かった。すなわち、校正曲線を描いてみると、recessが比較的短いとき、酸素ガス濃度の変化に対して、電流値の増加は直線性を示した。しかし、recessが長い場合には、拡散型の校正曲線を示した。これらの理由は、recessに充填された親水性ソリッドゲルの長さが短かければ、培液からゲルに溶解込んだ酸素は、時間と酸素濃度に比例しながら拡散して白金の活性面に至り、そこで酸素拡散電流を発生させたものと思われる。

一方、recessが長いとソリッドゲルの中を拡散するのに時間が長くかかるという遅延現象のために、酸素ガスの増加に拡散電流の発生が追い付かなくなって、実際の通気ガスの濃度によって発生する電流量よりも低い値が出る。しかし、引き続き微量のガス拡散の増加があるので、電流値が平坦化した後も少しずつ電流は発生し続けるので、プラ

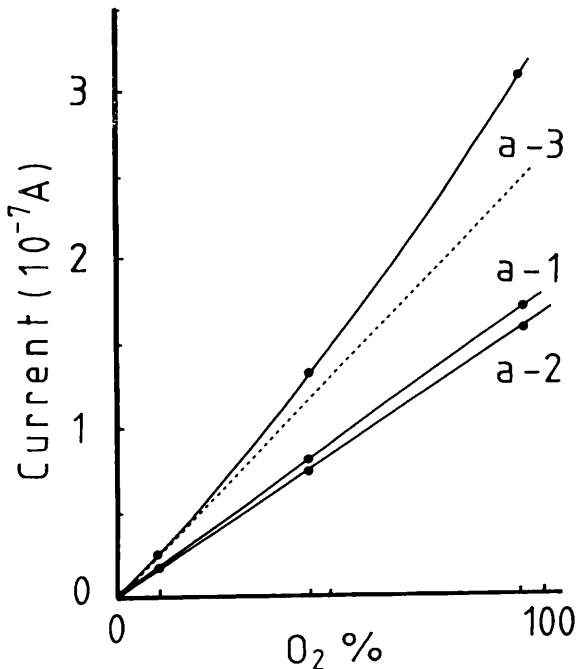


Fig. 3 Relationship between oxygen diffusion current and oxygen gas concentration

The current values gained by using the a-1 and the a-2 electrodes with 45% and 95% oxygen gas were located on the lines drawn between the origin and the current value for 10% oxygen gas on the graph. The current values obtained with 45% and 95% oxygen gas with the a-3 electrode were located over the dotted line drawn between the origin and the current value for 10% oxygen gas on the graph.

(A)。一方、エチルアルコールで希釈すると、アルコールが蒸発して乾燥したゲルは、収縮して体積を減らしている(B)。後者では被覆が不十分なので酸素電極として使用できない。したがって、問題点はいかに高濃度ゲルを、チューブ内に空気を入れずに充填出来るかである。その他の解決すべき問題点として、チューブ内のゲルの培液中へ溶出することの抑制や、90%反応時間の短縮化などがある。

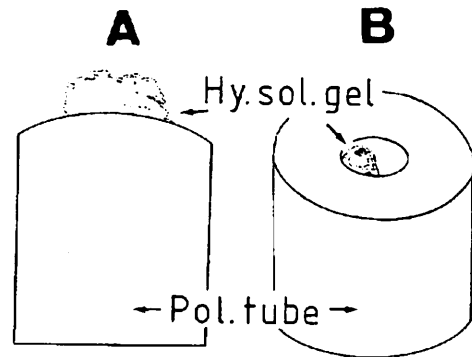


Fig. 4 Schematic drawing of polyethylene tubes (O.D.: 0.76, I.D.: 0.3mm) packed with non-diluted solid gel (A) and one diluted with ethyl alcohol (B)

After immersion into water, the non-diluted solid gel expanded, but the solid gel diluted with ethyl alcohol contracted by evaporation of alcohol in the polyethylene tube.

トーに達しにくかったと思われる。

2. ソリッドゲル使用に際しての問題点

ポリビニールアルコールを主成分とする親水性ソリッドゲルは粘性が高い。これをポリエチレンチューブのrecessに充填する際に、チューブ中の空気が邪魔になって、なかなか中に入らない。しかし、このゲルにエチルアルコールを入れて希釈すると、粘性がとれて扱い易くなる。すなわち、チューブへの充填に際して簡単に流入する。

次に原液に近い状態と希釈した状態で充填した場合を比較した。このゲルは光線に当たると硬化する性質がある。したがって、チューブ内充填後に室内光下に放置して硬化させた後、水に浸した結果の所見をスケッチして Fig.4に示した。

ゲル濃度が原液に近い場合、ゲルは水を吸ってチューブ(O.D.: 0.76, I.D.: 0.3mm)の先端より膨化突出している

V 結 論

1. 電極先端にポリエチレンチューブを挿入してrecess(へこみ)を作り、親水性のソリッドゲルを充填した。この場合、recessの長さに制限は有るが、親水性ソリッドゲルは酸素電極の被膜剤として有効であった。
2. recessの長さが比較的小さいと、酸素電極の較正線は直線性を示すが、長いと拡散型を示した。
3. recessに親水性ソリッドゲルを充填する際に、技術的な困難がある。原液のままだと充填しにくい。エチルアルコールで希釈すると充填し易いが、乾燥後に収縮する。
4. 親水性ソリッドゲルのrecessへの充填に際しては、今後一層の工夫が必要である。

VI 参 考 文 献

- 1) Fujii,T.:Jpn. J. Physiol., 42, S 293 (1992)
- 2) Fujii,T.:Jpn. J. Physiol., 43, S 337 (1993)
- 3) Fujii,T.:Jpn. J. Physiol., 44, S 300 (1994)
- 4) Fujii,T.:Jpn. J. Physiol., 45, S 270 (1995)
- 5) Fujii,T. et al.: Pflügers Arch., 393, 83-87 (1982)
- 6) 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報
No.58, 177-180 (1992)
- 7) 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報
No.59, 125-128 (1993)
- 8) 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報
No.60, 131-134 (1994)
- 9) 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報
No.61, 115-119 (1995)

「沢の池」の水質と酸性雨の関係について

環境部門

Relationship between the water quality of the Sawano-ike Pond and acid rain

Abstract : Various chemical components in the acid-sensitive Sawano-ike Pond in Kyoto were surveyed from April 1992 to March 1996 in order to estimate the influence of acid precipitation on this pond.

The results were as follows : (1) The water level of this pond depended on the amount of rainfall.

(2) The average of pH was 5.51 and decreasing trend of the value was not recognized. (3) The balance of anion and cation was well kept. (4) Hydrogen ion(H^+) correlated with SO_4^{2-} and NO_3^- . Electric conductivity(EC) correlated with Mg^{2+} and anions. (5) The pH seemed to correlate with the water quantity.

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

I はじめに

酸性雨は地球的規模の環境問題の一つであり、その与える影響については多くの報告がされている。特に北ヨーロッパやカナダでは、酸性雨による河川や湖沼の酸性化が1960年頃から観測され、その生態系にも深刻な被害が出ている。

一方、日本でも欧米並みの酸性雨が観察されている。京都市でも昭和58年度から酸性雨の調査を実施しており、全国とはほぼ同程度の、pHの年平均値が4.5～4.8の酸性雨となっている。酸性雨による顕著な影響は現在のところ現れていないが、今後同程度の酸性雨が降り続いた場合、河川や湖沼に酸性化の影響が現れる可能性のあることが懸念される。

湖沼の酸性化に対する感受性を示す指標としては、アルカリ度や電気伝導度(EC)などがある。

湖沼のアルカリ度は酸中和能力を示しており、アルカリ度の低い湖沼は酸性化しやすいと考えられている。また、ECの低い湖沼は溶存イオンが少なく緩衝能が小さいため、少量の酸性物質の負荷によっても、pHが低下することになる。

京都市右京区鳴滝にある「沢の池」はアルカリ度が低く、ECは雨水に近い $20\mu S/cm$ 付近の低い値を保っており、酸性雨による影響を受けやす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継続して水質測定を行い、降水による池沼水の影響について調査している¹⁾。今回「沢の池」の最近4年間の池沼水質の推移をまとめたので報告する。

II 調査方法

1. 調査池沼

「沢の池」の形状及び断面図をFig.1に、また北側から写した景観をFig.2に示した。

「沢の池」は、Fig.1に示したように全長約1.2kmの細長い池沼であり、平均水深は約2.5mと浅く、最大水深は約4.8mで北側の地点にある。

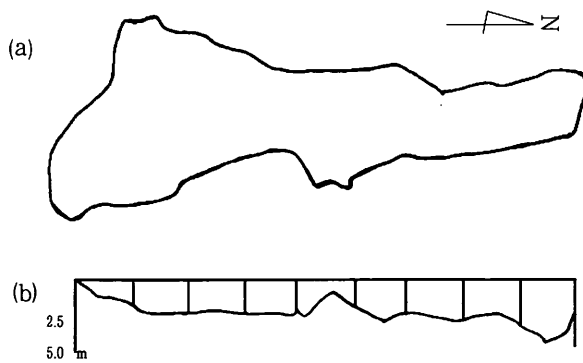


Fig.1 Map (a) and cross section (b) of Sawano-ike Pond

2. 試料の採取と測定項目

今回用いたデータは、1992年4月から1996年3月にかけて湖心に近い表層水を測定した水質検査結果である。月複数回実施した場合はその平均濃度を算出して、その月のデータとした。ただし、1993年4月及び1994年1月については悪天候等により測定出来なかった。水質測定項目及び分析方法はTable 1のとおりである。

また、水位は1993年10月から毎月「沢の池」の定点で観



Fig.2 Photograph of Sawano-ike Pond

Table 1 Water qualities, measured in this study

分析項目	分析方法
pH	ガラス電極法
EC	導電率計
アルカリ度	滴定法
Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻	イオンクロマト法
Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , NH ₄ ⁺	"

測し、流出水量は地下導管の開口部で一定時間内に流出している水量を測定した。

Ⅲ 調査結果と考察

1. 「沢の池」の水収支

「沢の池」は、周囲が松等を主体とした山林で囲まれた山間部にあり、集水域内に集落は存在しない。また、流入する河川はなく、一定の水位以上になると地中の導管を通じて南東方向に流出する。池沼水の消失としては、このほか地下水への流出や池沼面からの蒸発が考えられる。

Fig.3 に1993年10月から1996年3月までの月ごとの水位と京都市の降水量²⁾の関係及び地中導管からの流出水量を示した。「沢の池」の水位は、1993年10月からほぼ一定の値を保っているが、1994年9月から1995年5月までは、雨量の少ない月が続いたため低下している。その後1995年5月から7月にかけて多量の降雨があったため、元の水位に戻るとともに、流出する水量も一時的に急増している。

このことは、「沢の池」の水量が雨量によって増減していることを示しており、「沢の池」は主に降水により涵養されているものと考えられる。

2. 「沢の池」の pH, EC, アルカリ度

「沢の池」の pH, EC およびアルカリ度について、4年

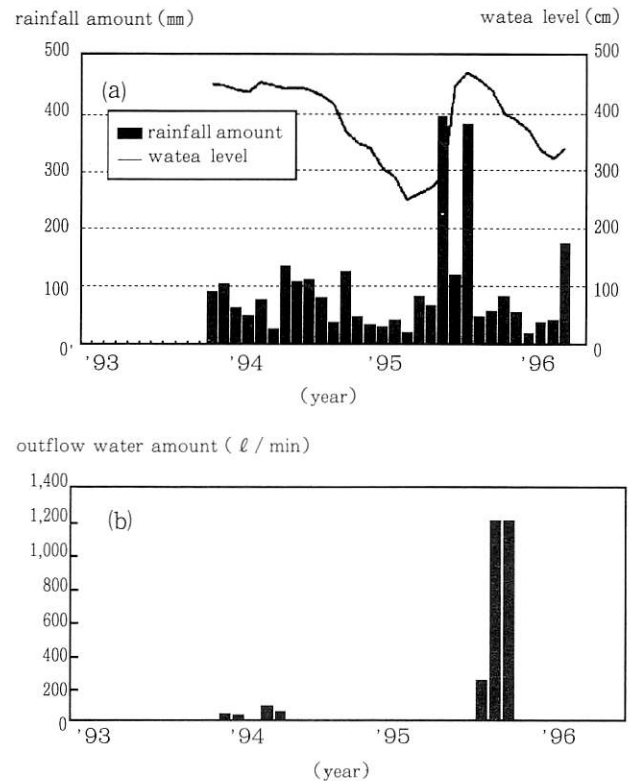


Fig. 3 (a) Relationship between the water level of Sawano-ike Pond and rainfall amount
(b) Outflow water amount of Sawano-ike Pond

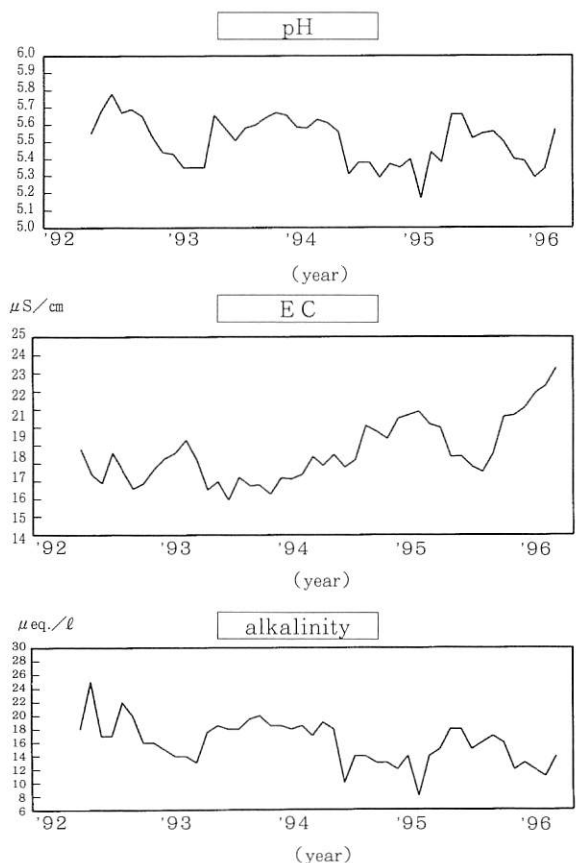


Fig. 4 Monthly variation of pH, EC and alkalinity

間の経月変化を Fig.4 に示した。pH は平均値が 5.51, 範囲 5.17~5.78 と低い値であり, 変動係数が 2.2% と安定している。Fig.4 に示すように, pH は一時的に低下傾向がみられた時期もあったが, 全体としては低い値で安定して推移しており, 低下傾向はみられない。EC も平均値が $18.6 \mu\text{S}/\text{cm}$, 範囲 $16.0 \sim 23.3 \mu\text{S}/\text{cm}$ と低い値であり, 変動係数も 7.4% と比較的安定していた。しかし, 1995 年 10 月以降は上昇傾向になっている。アルカリ度も平均値が $16.0 \mu\text{eq.}/\ell$, 範囲 $8.0 \sim 25.0 \mu\text{eq.}/\ell$ と低い値であり, 変動係数は 16.2% となっている。

次に, 各項目間の相関係数を Table 2 に示した。アルカリ度は, pH と高い正の相関が認められた。これは, 「沢の池」に溶存イオンが少ないため, アルカリ度が pH 値に依存していることを示している。また, pH と EC 及び EC とアルカリ度の間にも負の相関があった。

Table 2 Correlation coefficients among pH, EC and alkalinity

(n=46)

	pH	EC	alkalinity
pH	1.000		
EC	-0.605	1.000	
alkalinity	0.862	-0.669	1.000

3. 「沢の池」のイオン成分特性

「沢の池」の主要イオンの 4 年間の経月変化を Fig.5 に示した。

- 1) Cl^- は平均値が $3.09 \text{mg}/\ell$, 範囲 $1.99 \sim 3.99 \text{mg}/\ell$ であり, 変動係数が 9.3% と比較的安定しているが, やや上昇する傾向が認められる。
- 2) SO_4^{2-} は平均値が $1.69 \text{mg}/\ell$, 範囲 $0.83 \sim 2.81 \text{mg}/\ell$ であり, 変動係数が 20.0% となっており, Cl^- に比較すると変動している。
- 3) NO_3^- は平均値が $0.15 \text{mg}/\ell$, 範囲 $0.00 \sim 0.61 \text{mg}/\ell$ と低い値であり, 季節的な変動が認められる。
- 4) Na^+ は平均値が $1.37 \text{mg}/\ell$, 範囲 $1.06 \sim 1.85 \text{mg}/\ell$ であり, 変動係数が 10.8% と比較的安定している。
- 5) K^+ は平均値が $0.25 \text{mg}/\ell$, 範囲 $0.09 \sim 0.45 \text{mg}/\ell$ と低い濃度である。変動係数は 22.4% である。
- 6) Ca^{2+} は平均値が $0.49 \text{mg}/\ell$, 範囲 $0.25 \sim 0.84 \text{mg}/\ell$, 変動係数は 17.3% であり, やや上昇傾向となっている。
- 7) Mg^{2+} は平均値が $0.44 \text{mg}/\ell$, 範囲 $0.31 \sim 0.70 \text{mg}/\ell$ であり, 変動係数が 22.2% となっている。

イオンバランスを調べるため, 陽イオン (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ,

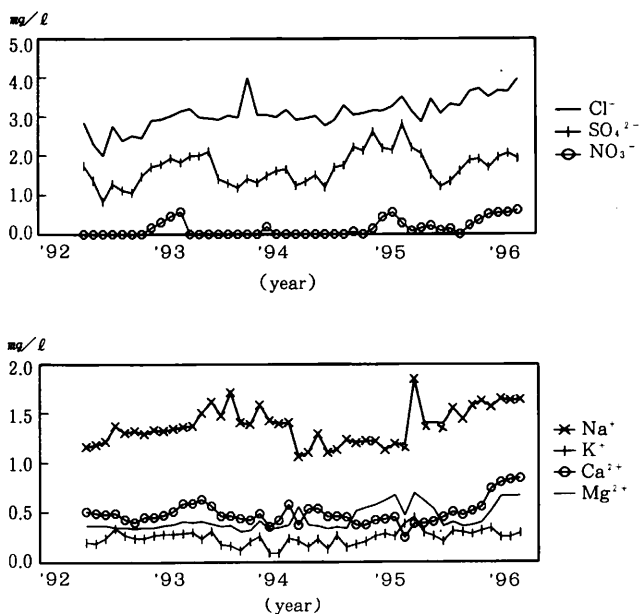


Fig.5 Monthly variation of major ion concentrations

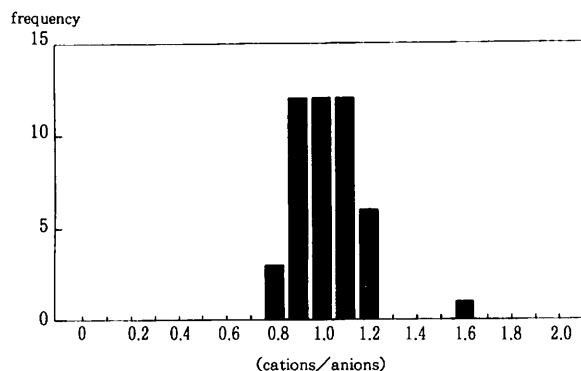


Fig.6 Frequency distribution of ratio between total equivalent of anions and cations (X軸の値 1.0は $1.0 < X \leq 1.1$ の階級を示す。)

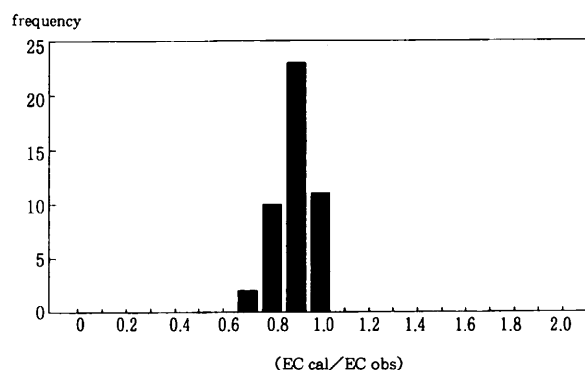


Fig.7 Frequency distribution of ratio between calculated and observed EC
EC cal; calculated EC, EC obs; observed EC
(X軸の値 1.0は $1.0 < X \leq 1.1$ の階級を示す。)

Mg^{2+} , NH_4^+) 当量濃度の合計と陰イオン (Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^-) 当量濃度の合計の比を求め, その度数分布を Fig.6 に示した。イオンバランス比は, 0.85~1.60 の範囲にあり, イオンバランスがとれている目安とされる 0.8~1.2 の範囲に 85% が含まれていた。イオンバランス比が 1 より大

き(陽イオンが過剰である)月のデータの割合は全体で67%と高かった。

また、次に各イオン成分濃度をもとに計算したECの値と実測値の比を求め、その度数分布をFig.7に示した。

ECの比は0.73~1.08の範囲にあり、同様にバランスの日安とされる0.8~1.2の範囲に96%が含まれていた。

次に、各項目間の相関係数をTable 3に示した。 H^+ は

Table 3 Correlation coefficients among major ion concentrations

(n=46)

	H^+	EC	Cl^-	SO_4^{2-}	NO_3^-	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
H^+	1.000								
EC	0.597	1.000							
Cl^-	0.337	0.613	1.000						
SO_4^{2-}	0.588	0.619	0.480	1.000					
NO_3^-	0.530	0.750	0.542	0.459	1.000				
Na^+	-0.084	0.156	0.448	0.087	0.250	1.000			
K^+	0.165	0.392	0.236	0.439	0.366	0.346	1.000		
Ca^{2+}	0.154	0.447	0.380	0.061	0.501	0.466	0.155	1.000	
Mg^{2+}	0.452	0.725	0.395	0.583	0.590	0.203	0.406	0.262	1.000

4. 水位と主要成分間の相関

池沼水の化学成分は、池沼底質の土壌特性や藻類等の生物学的影響を受けているが、その挙動は不明な点が多い。

池沼水の減少は、水分の蒸発による濃縮等の物理的現象とともに、生物活動にも影響を与え、その結果、池沼の水質成分の変化となっていると考えられる。

「沢の池」の水量と水質の関係をみるため、1993年10月から1996年3月までの月ごとの水位と主要成分間の相関係数をTable 4に示した。

H^+ は水位と低い負の相関が認められた。また、水位はECと負の相関が認められ、ECが水位により変動していると考えられた。水位と各イオン成分間では、 SO_4^{2-} 及び Mg^{2+} との間に負の相関が認められ、水位の増減がこれらの成分に影響を及ぼしていることが認められた。

Table 4 Correlation coefficients between the water level and major ion concentrations

(n=29)

	水位	H^+	EC	Cl^-	SO_4^{2-}	NO_3^-	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
水位	1.000	-0.621	-0.713	-0.167	-0.886	-0.570	-0.049	-0.508	-0.016	-0.774

次に、水量の影響を除いた場合の各成分の変化を調べるため、水位が通常状態に近い400cm以上の14データについて、pH及び主要イオンの経月変化をFig.8に示した。pHは平均値が5.57、範囲5.31~5.67と安定した値になっており、低下傾向はみられなかった。また、主要イオンでは SO_4^{2-} 、 Ca^{2+} 及び Mg^{2+} がFig.5と比較して安定した値に

SO_4^{2-} 及び NO_3^- と低い正の相関があり、これら酸性成分の増加が H^+ の増加に関係しているものと思われる。また、ECは Mg^{2+} 及び各陰イオン成分と正の相関が高かったことから、ECの変動は、主に Mg^{2+} 及び各陰イオンの濃度が影響していると考えられる。しかし、その他の各成分との相関関係は認められなかった。

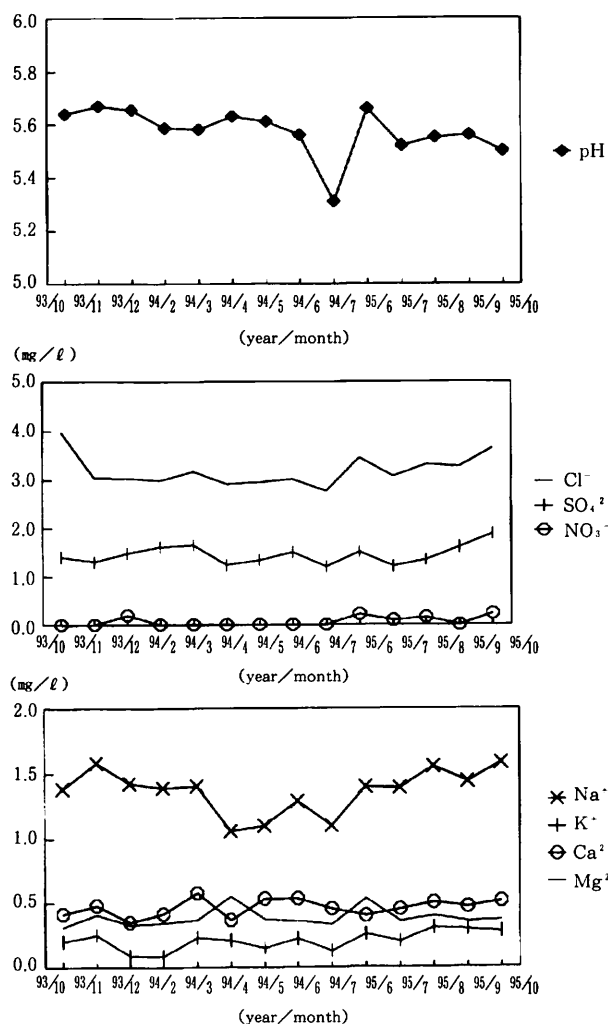


Fig.8 Monthly variation of pH and major ion concentrations when the water level was more than 400 cm

なっており、pH 及びこれらのイオン成分が水量の影響を受けていると考えられた。

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。「沢の池」の1992年4月から1996年3月にかけて調査した最近4年間の「沢の池」の水質の推移をまとめた。

1. 「沢の池」は山間部にあり、集水域内に集落は存在せず、流入する河川はない。「沢の池」の水位を定点で観測した結果、水量が雨量によって増減しており、「沢の池」が主に降水により涵養されていると考えられた。

2. pH は平均値が5.51 で低い値では安定して推移し、低下傾向はみられなかった。また、pH はアルカリ度と高い正の相関が認められた。

3. イオンバランス比を調べたところ、0.8～1.2の範囲に85%が含まれており、イオンバランスがとれていた。ま

た、各項目間においては、 H^+ は SO_4^{2-} 及び NO_3^- と低い正の相関があり、ECは Mg^{2+} 及び各陰イオン成分と高い正の相関が認められた。

4. 「沢の池」の水位は H^+ と低い負の相関が認められ、またECも負の相関が認められた。

水量が通常状態に近い時のデータをみると、pH は平均値が5.57 でより安定した値になっていた。また、 SO_4^{2-} 、 Ca^{2+} 及び Mg^{2+} についても変動が少なくなっており、pH 及びこれらのイオン成分が水量の影響を受けていると考えられた。

V 文 献

- 1) 京都市衛生公害研究所環境部門：同研究所年報，61，102-106(1995)
- 2) 京都地方気象台：京都府気象月報 4月(1995)～3月(1996)

第7部 短 報

目 次

1. マス・スクリーニングで発見された神経節芽腫の一例	(臨 床)	101
2. RT-PCRによるSRSV検出法の検討	(臨 床)	103
3. 修学旅行等にかかわる食中毒疑似例について	(臨 床)	105
4. 豚の肝細胞癌について	(病 理)	107
5. 牛枝肉の細菌学的汚染検査について	(病 理)	108
6. 京都市に居住する単独世帯員の健康状態 —平成4年国民生活基礎調査から—	(疫 学 情 報)	110
7. Nested-PCR法による黄色ブドウ球菌エンテロトキシン 遺伝子の検出	(調 査 研 究)	114

Chapter 7 Short notes

Contents

1. A case of ganglioneuroblastoma found by mass screening	(Clin) ...	101
2. Detection of SRSVs by RT-PCR	(Clin) ...	103
3. Bacterial food poisonings in school children at educational tours in Kyoto	(Path) ...	105
4. Hepatocellular carcinoma in swine	(Path) ...	107
5. Bacterial contamination in carcasses of cattle	(Path) ...	108
6. Health status of singly living citizens in Kyoto City Based on the analysis of Comprehensive Survey of Living Condition of the People on Health and Welfare 1992	(Epid) ...	110
7. Detection of <i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxin genes by using nested-PCR	(Pub) ...	114

マス・スクリーニングで発見された神経節芽腫の一例

臨床部門

A case of ganglioneuroblastoma found by mass screening

Key words: 神経芽細胞腫 neuroblastoma, 神経節芽腫 ganglioneuroblastoma, 高速液体クロマトグラフィー-HPLC, マス・スクリーニング mass screening, VMA vanillylmandelic acid, 精密検査 accurate examination

I はじめに

神経節芽腫は小児期に発症する悪性腫瘍で、神経冠から交感神経節細胞へと分化していく途中で癌化する極めて予後の悪い小児癌であるが、生後1年以内に発見し、早期に治療すると大部分が治癒する疾患である。主な好発部位は副腎交感神経節が60%で最も多く、腹部交感神経節が20～25%、胸部交感神経節が10～15%で発生すると報告されている。

当所における神経芽細胞腫検査は、昭和60年からは高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用い、尿を有機溶媒で抽出することなしに、vanillylmandelic acid (VMA), homo-vanillic acid (HVA) を直接測定している。この直接法での初回陽性後の精密検査依頼件数は過去10年間に50件であるが、追跡調査はプライバシー保護の観点から実施されておらず、真の腫瘍陽性率は当所では不明である。

今回、神経芽腫の1亜型であり、HVAがカット・オフ値以下でVMAが軽度上昇のみで発見された石灰化を伴う胸部神経節芽腫の一症例について、その後の経過を知り得たので報告する。

II 検体および方法

郵送された6か月児の尿(尿道口にあてた脱脂綿より容器2.5mlの魚型醤油用小型ポリエチレン製採尿器に吸い取ったもの)を用いて検査を行った。採尿器から3滴(約0.14ml)を0.1Mリン酸液1.4mlで希釈後、1.0mlをHPLC用オートサンプラー容器に移し、3,000rpm, 10分間遠沈しHPLC用試験溶液とした。残液はFolin-Wu法でクレアチニン濃度を測定した。HPLCによるVMA, HVAの測定はカラム切り替え法により行った。すなわち、注入した試料はプレカラム (Cosmosil 15C, ϕ 4.6mm $\times$ 5cm) を通して溶離液A (0.02M KH_2PO_4 - H_3PO_4 緩衝液 pH 3.2+0.5%アセトニトリル) によりカラムA (Shimpac-CLC-ODS, ϕ 6.0mm $\times$ 15cm) に送り、3.5分後にバルブを切り替え、以後の低極性成分を溶離液B (0.02M KH_2PO_4 - H_3PO_4 緩衝液 pH 3.3+12.5%アセトニトリル) でカラムB (YMC-AM-302-

ODS, ϕ 4.6mm $\times$ 15cm) に送り、それぞれ分離溶出させた。検出器にはアンペロメトリー電気化学検出器 (加電圧750mV) を用いた。HPLCによる測定後、対Cre(クレアチニン)比を計算し、カット・オフ値 (VMA 15 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre, HVA 30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre) 以上については再採尿を依頼し、再測定で再びカット・オフ値を超えた場合はスクリーニング陽性とした。

III 測定結果及び症状

表1 当所における症例の VMA, HVA, VLA 測定結果

	クレアチニン (mg/ml)	VMA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre)	HVA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre)	VLA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre)
初 検	142	35.7	24.2	3.0
再検①	168	28.9	20.5	0.3
再検②	151	25.8	20.6	2.2
再々検	382	27.0	16.7	0.5

カット・オフ値 (VMA: 15 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre, HVA: 30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre)

上記結果より医療機関で精密検査を受診、左顔面の無汗症でHorner症候群の疑いにより胸部レントゲンで左上縦隔にmass shadowを認め、CT, MRIの結果、頸椎C5～大動脈弓直上に径40mm大の石灰化を伴うmassが認められたが、転移を疑う所見は無かった。骨髄、髄液中にも腫瘍細胞の侵入は無くstage Iとして摘出術が施行されたが、腫瘍が左側の椎骨動脈を巻き込んでいたため、全て摘出することができず、一部腫瘍が残存したままとなった。腫瘍組織の病理診断はganglioneuroblastoma, well differentiated typeで血液検査はNSEが38.8ng/mlとやや高値を示し、他は正常であった。今後は残存腫瘍に対し、3か月間化学療法が予定されている。

本例の精密検査における尿中VMA, HVAは第一回目VMA 27.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre, HVA 29.0 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre, 第二回目がVMA 22.0 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Cre, HVA 21.6 $\mu\text{g}/\text{mg}$ CreとVMAの軽度の上昇のみであった。

IV 考 察

神経芽腫の重要なマーカーである VMA, HVA, VLA は、腫瘍の成熟度や変性(石灰化)及び発生部位、チロジン水酸化酵素活性の欠乏等により、生後6か月時点でのスクリーニングでは低値を示し発見されない場合もある。また、尿中には VMA の検出を阻害する物質が含まれており、HPLC法で尿試料調製に使用する希釈液の pH によって低 VMA 値を示すことが前年度の検討で判明している。しかし、VMA が高値となり偽陽性を示す食物もある。今回の症例は VMA 値が再測、再検を繰り返しても軽度の上昇を示すのみであったため、スクリーニングの本来の目的に沿い精密検査の対象とし後日、医療機関にその後の経過を確認して神経節芽腫であることが判明した。

厳密なカット・オフ値の設定が行われており、僅かな異常値でも繰り返し陽性であったことから本例は幸い見逃す

ことがなかったが、検査精度の向上を図るためには、スクリーニング検査機関としては技術的な改善に努力するとともに精密医療機関からの結果のフィード・バックができる体制を作り、検査に反映させることが必要である。また、経済効率や至適実施時期などの問題があるが、第一次検査(6か月)で確実に腫瘍が発見できるとは限らないことから、他府県でも実施されつつある第二次検査の導入についても今後検討を加える時期にきているものと思われる。

V 参 考 文 献

- 1) 京都市衛生公害研究所臨床部門：同研究所年報 No.61, 76-80 (1995)
- 2) 成瀬浩 他：新生児マス・スクリーニングハンドブック 143-150, 300-308 (1989)

RT-PCRによるSRSV検出法の検討

臨床部門

Detection of SRSVs by RT-PCR

Key Words: RT-PCR, 小型球形ウイルス SRSV, 塩化リチウム LiCl, 電気泳動 electrophoresis, Nested PCR

I はじめに

生かきなどを原因食品とする非細菌性胃腸炎の原因物質は、ノルウオークウイルスをはじめとする小型球形ウイルス SRSV であると言われているが、培養が困難なため、従来は電顕法、電気泳動法(WB法)等による検出例が報告されている。

最近、ウイルス由来 RNA から逆転写反応により cDNA を合成した後、これを鋳型として DNA の増幅を行う RT-PCR 法が開発され、ウイルス性胃腸炎発生時の病因物質検出に用いられるようになったので、この方法の検討を行った。

II 材料及び方法

検討のための試料は、大阪府立公衆衛生研究所より譲り受けた SRSV 陽性の糞便を用いた。方法は図 1 に示す。

糞便からの RNA 抽出には Catrimox-14 (タカラ) を用い、RNA の精製は塩化リチウム法によった。

プライマーは 1st PCR には Primer 35, 36 を用い、反応生成物に対し更に Primer 39, 69 および Primer 81, 82 を用いて 2nd PCR を行う Nested PCR を実施した(表 1)。

III 結果及び考察

糞便の 1st PCR の結果を図 2, 3 に示す。

Catrimox-14 で RNA 抽出後、精製操作を行わずに逆転写反応を行ったものは電気泳動で 470 bp にかすかに蛍光を認めた。図 2 は Catrimox-14 で抽出後 2 M LiCl 液で RNA を精製した後 RT-PCR 反応を行ったもので、妨害物質(DNA, 蛋白質, 多糖類等)を除去することにより、PCR 産物(470bp)が高濃度で得られ鮮明な蛍光を示した。

2nd PCR の結果は、Primer 39, 69 では反応生成物(158 bp)が得られたが、Primer 81, 82 では PCR 産物は得られなかった(図 3)。SRSV には複数の種類があると言われており、今回使用した以外の primer も検討する必要があると思われる。

この手法を用い、生かきを原因とする食中毒発生時に患者便より SRSV を検出した。

表 1 RT-PCR に用いた Primer の Sequence

Primer name	Position of 5' nucleotide	Polarity	Primer sequence, 5' to 3'
36	4475	+	ATAAAAGTTGGCATGAACA
35	4944	-	CTTGTTGGTTTGAGGCCATAT
69	4721	+	GGCCTGCCATCTGGATTGCC
39	4878	-	GTTGACACAATCTCATCATC
82	4544	+	CACTATGATGCAGATTA
81	4869	-	ATCTCATCATCACCATA

<Extraction of viral RNA>

- 100 μ l Stool sample (10-50% suspension)
- extracted with equal volume Daiflon
- 500 μ l Catrimox-14
- room temp. for 10min, 12,000rpm for 2min

<Purification>

- 250 μ l 3M LiCl
- 12,000rpm for 5min at 4°C
- 500 μ l cold 70% EtOH
- 12,000rpm for 5min at 4°C

<Reverse Transcription>

- 17 μ l RT buffer
- 65°C for 5min, cool in ice
- 1 μ l
- 5U AMV (Avian myeloblastosis virus) Transcriptase
- 1 μ l 50pmol Random Primer
- room temp. for 10min, 42°C for 60min,
- 99°C for 5min, cool in ice for 5min

<Nested PCR>

- 1st PCR: Primer 35, 36
- 2nd PCR: Primer 39, 69 or 81, 82

<Electrophoresis>

図 1 RT-PCR 手順

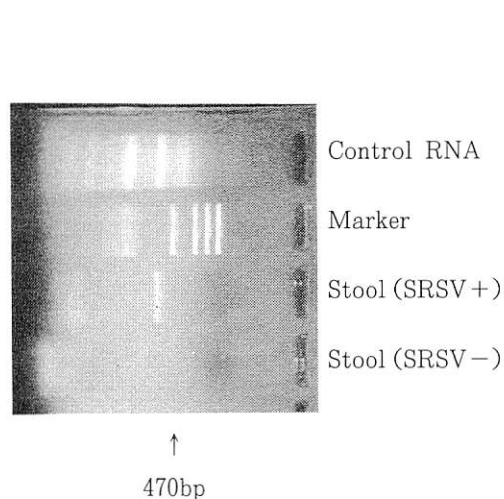


図2 1st PCR (LiCl精製後)

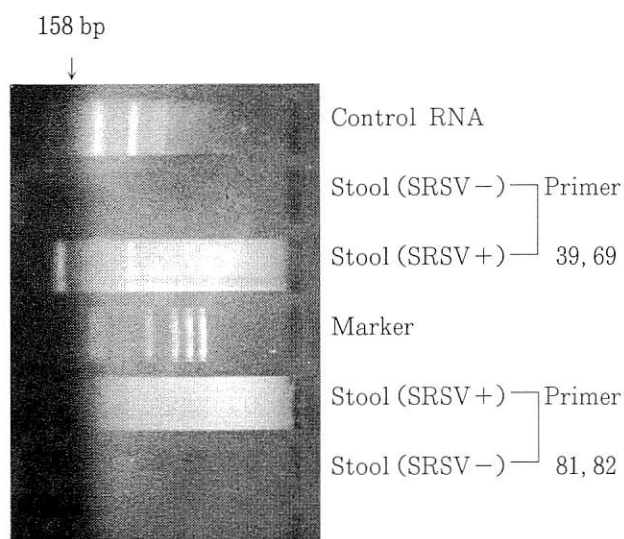


図3 2nd PCR

なお、この検討を行うに当たり、ご指導と試料の提供を頂いた大阪府立公衆衛生研究所 大石 功氏、山崎 謙治氏に深謝します。

IV 参考文献

- 1) MOE, C.L., et al.: J.Cli.Microbio., 32, 642-648 (1994)
- 2) Wang, J., et al.: J.Virology, 68, 5982-5990 (1994)
- 3) 山崎 謙治, 他: 臨床とウイルス, 23, 251-256 (1995)
- 4) 三輪谷 俊夫, 他: 生化学実験の手引き 3. 核酸の分離・分析法, 107-111, 化学同人 (1988)

修学旅行等にかかわる食中毒疑事例について

臨床部門

Bacterial food poisonings in school children at educational tours in Kyoto

Key Words : 修学旅行 educational tour, 食中毒 bacterial food poisoning, 広報 official report, カンピロバクター・ジェジュニ *Campylobacter jejuni*, 腸炎ビブリオ *Vibrio parahaemolyticus*, 黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*

I はじめに

観光都市・京都は、市内いたる所にある名所・旧跡を求めて数多くの旅行者が訪れ、特に修学旅行の数は全国随一である。しかし、このような団体旅行では、大型食中毒の起こる危険性が高く、毎年数件の食中毒疑事例が発生している。そこで、修学旅行を中心とした団体観光旅行にかかわる食中毒事例のデータをまとめたので報告する。

II 調査期間及び対象

昭和63年4月から平成8年3月までに発生した修学旅行等にかかわる食中毒疑事例

- ・中学校修学旅行 28件
- ・高校修学旅行 5件
- ・大学及び専門学校の研修旅行 4件
- ・その他の団体旅行 7件

以上、44件である。

III 結果及び考察

1. 食中毒発生の推移

年平均発生件数は5.5回であった。年々減少傾向を示すかと思われたが、猛暑だった平成4年は、件数・有症者数共に高い傾向を示した(図1)。

月別では、4～6月及び9～11月の旅行シーズンが多く(図2)、喫食者に占める有症者の割合である有症率は夏場でやや高かった。12月及び1月は旅行シーズンから外れており、かつ冬場で細菌の増殖が押さえられているためか、発生は見られなかった。

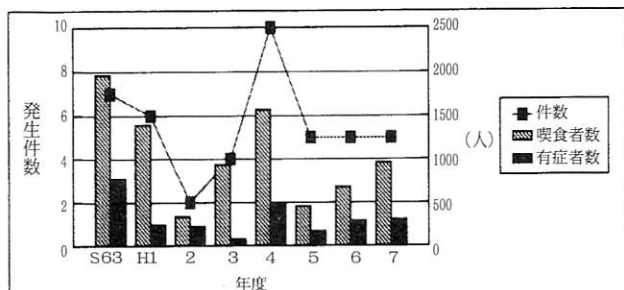


図1 年度別発生件数と喫食者数及び有症者数

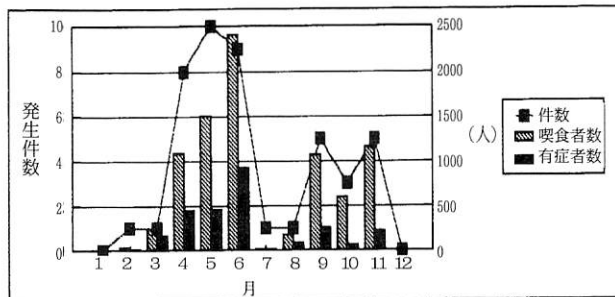


図2 月別発生件数と喫食者数及び有症者数

2. 検出菌

原因菌として一番多かったのが、カンピロバクター・ジェジュニの15件、次いで腸炎ビブリオの4件であった(図3)。

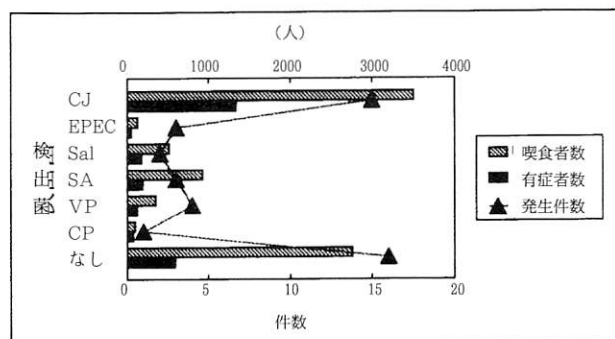


図3 検出菌別発生件数と喫食者数及び有症者数

CJ: カンピロバクター・ジェジュニ EPEC: 病原大腸菌(血清型)
Sal: サルモネラ SA: 黄色ブドウ球菌
VP: 腸炎ビブリオ CP: ウェルシュ菌

有症率では、EPEC、ウェルシュ菌が高い傾向を示したが、発生件数自体が少ないため、正確なデータとは言えない。原因と思われる菌が検出されなかった事例では、有症率が低い傾向が見られた(図4)。

京都市の行った検査の結果、食中毒の原因と思われる菌を検出した検体別の割合を図5に示す。サルモネラの「検出検体なし」は、京都市内施設調査からは原因菌が検出されなかったものの、帰宅後、患者の地元地研が検査した患者便より菌が検出されたものである。施設調査での器具拭

き取りから黄色ブドウ球菌を検出しているのは、黄色ブドウ球菌の潜伏期間が短く症状がすぐに現れるため、迅速に調査がなされた結果であろうと思われる。

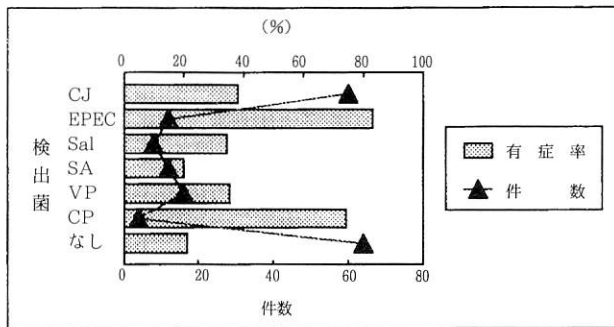


図4 検出菌別発生件数と有症率

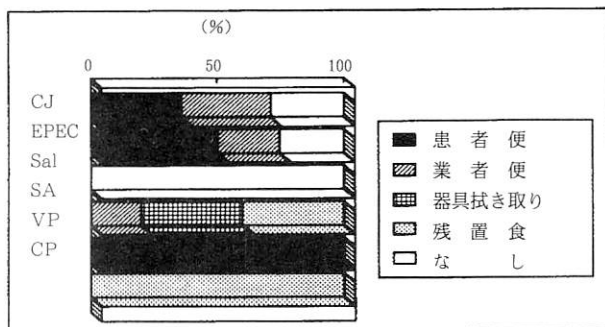


図5 検出菌別にみた検体の割合

3. 広報との関係

食中毒には、原因施設が京都市であると断定・広報されるものと、京都市以外の都道府県で広報されるものがあるが、いずれの場合も広報されなかったものに比べて有症率が高い(図6)。また、広報されなかったものは、原因菌・検出菌共に不明のものが多かった(図7)。なお広報の内訳は、京都市12件、他府県20件、広報無し12件であった。

近年、交通網の発達により、京都市のみでなく他府県にまたがり広域に観光している場合が多いため、一地研のみの調査では原因が不明となる場合が多々ある。このような場合、各衛研の間での情報交換が原因究明のために必要と考えられる。

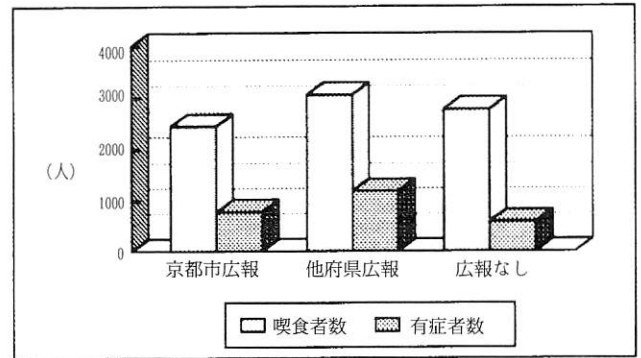


図6 広報別喫食者数及び有症者数

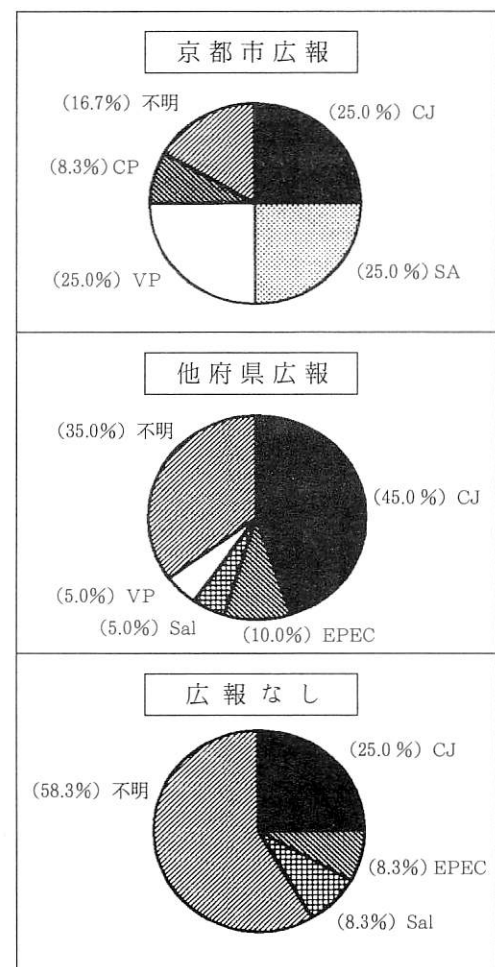


図7 広報の種類別にみた検出菌の割合

豚の肝細胞癌について

病 理 部 門

Hepatocellular carcinoma in swine

Key Words : 豚 swine, 悪性腫瘍 malignant tumor, 肝臓 liver, 肝細胞癌 hepatocellular carcinoma

I 緒 言

肝細胞腫瘍は、牛、羊には発生頻度が高い¹⁾。一方、豚では原発性の肝細胞腫瘍は少なく、大部分のものは良性で悪性のものは希とされている²⁾。

今回、京都市と畜場に搬入された豚の肝臓に悪性腫瘍が認められたので、その1症例の概要を報告する。

II 所 見

1. 検査年月日：平成8年2月27日
2. 畜種：成豚 性別：雄
3. 病歴：不明
4. 生体所見：栄養不良
5. 肉眼所見

肝臓の横隔面から臓側面にかけて、手拳大の隆起する腫瘍を認めた。剖面は髄様で充実しており、小指頭から拇指頭大の腫瘍が膨脹性に増殖していた。腫瘍部は薄い被膜につつまれ健常部との境界は明瞭であった(図1)。

他臓器及びリンパ節に著変は認められなかった。

6. 組織所見

腫瘍組織と正常組織の境界は結合組織で隔てられており、正常組織は腫瘍組織による圧迫で鬱血していた。腫瘍組織は、中心静脈やグリソン鞘などの肝小葉構造を失って、腫瘍細胞が索状に配列し、一部腺管状構造を呈していた。腫瘍細胞は類円形の核を有しており、クロマチンに乏しく核分裂像が認められ、細胞質を豊富に有していた(図2)。また腫瘍細胞による脈管内侵襲も認められた。

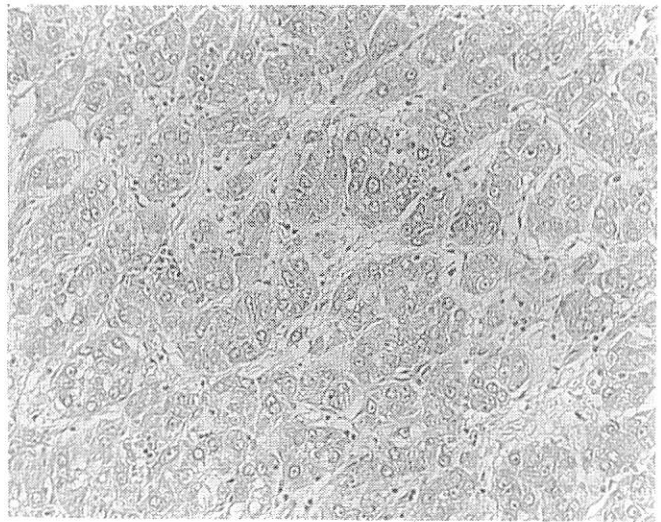


図2 組織所見 (H E 染色 × 100)

III 結 論

以上の結果から、本症例は、悪性病変の判定基準を満たしており、中分化型の肝細胞癌と診断した。

IV 参 考 文 献

- 1) 藤本胖, 他: 家畜病理学各論 (第11判), 144-158, 朝倉書店, 東京(1992)
- 2) 紺野悟, 他: 豚病学 (第3判), 626-637, 近代出版, 東京(1979)

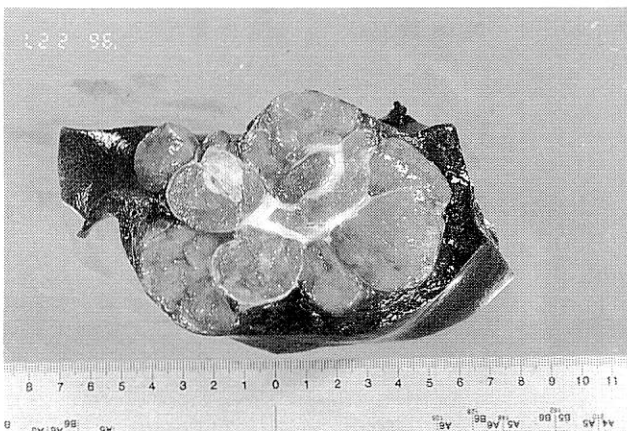


図1 肉 眼 所 見

牛 枝 肉 の 細 菌 学 的 汚 染 検 査 に つ い て

病 理 部 門

Bacterial contamination in carcasses of cattle

Key Words : 牛 cattle, 枝肉 carcass, 細菌汚染 bacterial contamination, 食中毒菌 bacteria of food poisoning

I は じ め に

京都市と畜場での牛の解体処理過程において、枝肉は、体表汚物や消化管内容物等による汚染の機会があり、食肉の食中毒菌による細菌汚染が懸念される。

そこで、これら細菌汚染状況の実態を把握し、食肉の安全性を確保するための資料作成を目的として検査を行った。

II 調 査 方 法

1. 調査期間 平成7年2月～12月

2. 検査項目

一般生菌数、大腸菌群数、黄色ブドウ球菌、カンピロバクター、エルシニア、サルモネラ

3. 検体の採取部位と採取方法

検体は、解体作業開始後11頭目以降で、洗浄後冷蔵庫に入る前の牛枝肉を対象とし、検査1回当たり5頭から10頭分ずつを、15回採取し、合計125頭についてふきとり検査

を行った。

一般生菌数及び大腸菌群数は、滅菌ガーゼタンポンで胸部及び腰部の枝肉表面100cm²の細菌数を求めた。食中毒菌については、滅菌綿棒で胸部をふきとり、原因菌の検索を行った。

4. 検査方法

1) 一般生菌数及び大腸菌群数

標準寒天及びデソキシコレート寒天培地混釈培養法により定量測定した。

2) 食中毒菌

黄色ブドウ球菌は卵黄加マンニット食塩寒天培地、カンピロバクターはスキロー培地、エルシニアはCIN培地により分離培養を行い、サルモネラはEEM培地及びラポポート培地による増菌培養後、DHL寒天培地により分離培養を行った。また、それぞれの培地に発育した疑わしい集落は生化学的性状検査等で確認を行った。

表 1 一般生菌数及び大腸菌群数の菌数分布状況

菌 数 (個/100 cm ²)	一 般 生 菌 数		大 腸 菌 群 数	
	胸 部 検 体 数 (%)	腰 部 検 体 数 (%)	胸 部 検 体 数 (%)	腰 部 検 体 数 (%)
0	0	0	0	1 (1.4)
10 ⁰ ~	0	0	0	0
10 ¹ ~	0	0	5 (7.1)	11 (15.7)
10 ² ~	0	0	40 (57.1)	35 (50.0)
10 ³ ~	0	0	25 (35.7)	23 (32.9)
10 ⁴ ~	5 (7.1)	25 (35.7)	0	0
10 ⁵ ~	37 (52.9)	38 (54.3)	0	0
10 ⁶ ~	26 (37.1)	7 (10.0)	0	0
10 ⁷ ~	1 (1.4)	0	0	0
10 ⁸ ~	1 (1.4)	0	0	0
合 計	70 (100.0)	70 (100.0)	70 (100.0)	70 (100.0)
平 均 値 (個)	2.8 × 10 ⁶	4.6 × 10 ⁵	1.1 × 10 ³	1.0 × 10 ³
	1.6 × 10 ⁶		1.1 × 10 ³	

表2 牛枝肉の食中毒菌の検出状況

検 査 項 目	検 出 数 (検査頭数)	検 出 率 %
黄色ブドウ球菌	22 (100)	22
カンピロバクター	3 (100)	3
エルシニア	0 (100)	0
サルモネラ	0 (170)	0

Ⅲ 結 果

1. 一般生菌数は、 $1.1 \times 10^4 \sim 1.1 \times 10^8$ と変動が大きく、また、 1.0×10^5 以上が胸部で92.9%、腰部で64.3%であった。平均値は全体で 1.6×10^6 であり、検査部位別にみると胸部は 2.8×10^6 、腰部は 4.6×10^5 で胸部の方が少し汚染度が高いことが認められた。

2. 大腸菌群数の範囲は 7.8×10^3 以下であり、細菌数が 1.0×10^3 以上の検体は胸部で35.7%、腰部で32.9%であった。平均値は全体で 1.1×10^3 であり、部位別にみると胸部は 1.1×10^3 、腰部は 1.0×10^3 で、差異は認められなかった。

3. 黄色ブドウ球菌は、22検体(22%)検出され、汚染度が高い数値を示した。

4. カンピロバクターは、3検体(3%)検出され、うち2検体が *C. jejuni* (2%) で1検体が *C. coli* (1%) であった。

5. エルシニア及びサルモネラは、検出されなかった。

Ⅳ 考 察

今回の牛枝肉汚染検査の結果、エルシニア及びサルモネラは検出されなかったが、大腸菌群数は平均 1.1×10^3 検出しており、また、食中毒菌である黄色ブドウ球菌及びカンピロバクターもそれぞれ検出し、枝肉の汚染が認められた。なお、黄色ブドウ球菌については、今回、検査回数10回(全体)のうち1回分において全検体(10頭分)から細菌の検出が認められ、数値が高くなったもので、当日の作業行程中何らかの原因により枝肉表面が汚染されたものと思われる。

食肉の細菌汚染に対する安全性を確保するため、と殺解体過程において、はく皮された枝肉に、と畜体表汚物の接触をなくし、また、消化管内容物による汚染を未然に防ぐ等、解体作業における枝肉汚染防止の徹底を図り、今後より一層、食肉の微生物コントロール対策を図っていかねければならない。

なお、現在、本市と畜場において、場内施設等の改善計画が進められており、今後、食肉衛生の向上が期待される。

京都市に居住する単独世帯員の健康状態

—— 平成4年国民生活基礎調査から ——

疫学情報部門

Health status of singly living citizens in Kyoto City

Based on the analysis of Comprehensive Survey of Living Condition of the People on Health and Welfare 1992

Key Words : 国民生活基礎調査1992 Comprehensive Survey of Living Condition of the People on Health and Welfare 1992, 京都市 Kyoto City, 有訴者 persons complaining of symptoms, 通院者 persons visiting medical facilities, 総合健康状態 comprehensive conditions of mental and physical health, 日常保健行動 practice of health promoting activities

I はじめに

国民生活基礎調査は、国民の保健、医療、世帯の状況等を総合的に把握することを目的に実施されている。

当部門では、厚生省より還元を受けた1992年調査の京都市分データ「世帯・健康編」の集計・解析を行い既に報告した¹⁾²⁾。今回、上記データを用いて単独世帯員について観察を行うとともに、健康状態について全世帯員を対象とした解析結果と比較検討した。

II 資料及び方法

前報で用いた1992年調査の京都市分データ（全世帯員男2568人、女2938人）から単独世帯を抽出した。解析対象は入寮者及び住み込み者を除く705人（男262人、女443人）である。

III 結果及び考察

1. 単独世帯員の一般的特徴

1) 単独世帯の割合

全世帯員に占める単独世帯員の割合（％）を年齢階級別に表1に示す。全体で12.8％、24歳以下では男女とも22％

以上、65歳以上の女では30％近い値となっているが、男は高齢でも6％前後である。

2) 年齢構成

15歳以上の世帯員の年齢階級別分布を図1に示す。単独世帯員は24歳以下の若年者と65歳以上の高齢者が多く、35～54歳の中年層が少ない特殊な構造になっている。したがって、全世帯員と単独世帯員との比較は各年齢階級ごとに行った。

3) 単独世帯の内訳

単独世帯の内訳は「未婚」60.9％、「死別」30.2％、「離別」6.4％、「夫婦別居」2.6％の順である。54歳以下では「未婚」が圧倒的に多い。男では45～64歳で「離別」が多く、65歳以上で「死別」が多数になるのに対し、女では中年での「離別」の増加は僅かで、55歳以上で「死別」が圧倒的となる。

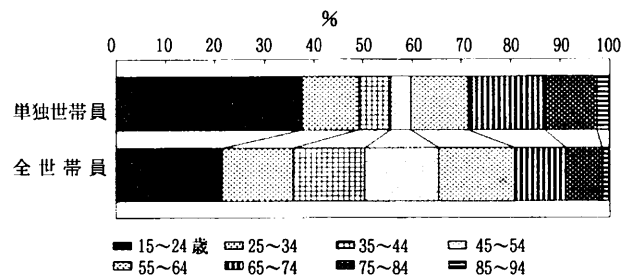


図1. 年齢階級別にみた単独世帯員及び全世帯員の構成割合

表1. 年齢階級別にみた全世帯員に占める単独世帯員の割合

(%)

年齢階級(歳)	総数	15～24	25～34	35～44	45～54	55～64	65～74	75～84	85～94
総数	12.8	22.3	10.4	5.6	3.5	9.7	19.1	18.5	21.7
男	10.2	22.1	12.3	6.4	2.4	5.7	5.9	6.4	3.8
女	15.1	22.6	8.6	4.9	4.5	12.9	28.6	26.1	29.8

4) 単独世帯員の職業

単独世帯員は「仕事有り」が41.0%、「生徒・学生」が29.2%で、「生徒・学生」の割合が高い。職種別では、「未婚者」は事務職、専門技術職が多いのに対し、「死別」及び「離別者」では技能・労務職とサービス職が多い。

2. 単独世帯員の健康状況（全世帯員との比較）

1) 健康意識

自身の健康状態について、「よい」「まあよい」「普通」「あまりよくない」「よくない」の選択肢から、「あまりよくない」又は「よくない」を選択した者の百分率を図2に示す。75～84歳を除く全ての年齢階級で単独世帯員が全世帯員を上回り、15～24歳の差は有意である。

2) 自覚症状

(1) 有訴者率

「自覚症状あり」と回答した者の率は図3に示すように、若年者と85歳以上では単独世帯員が低く、55～74歳の層では単独世帯員の方が高いが、差はいずれも有意ではない。

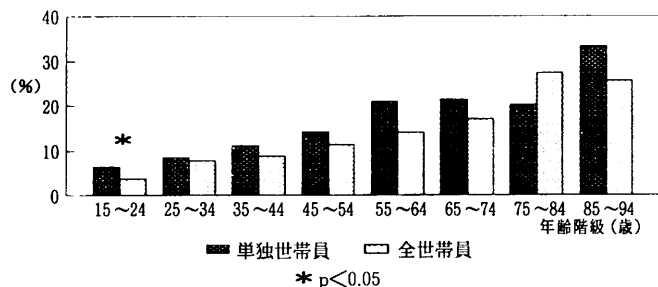


図2. 年齢階級別にみた健康意識「あまりよくない」+「よくない」の割合

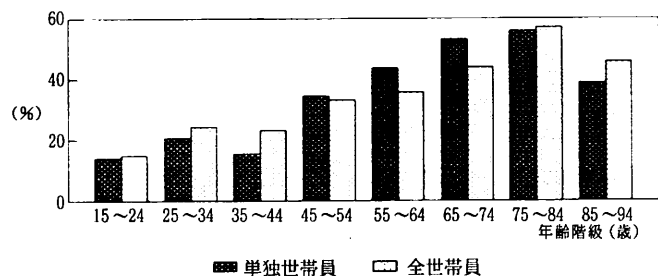


図3. 年齢階級別にみた有訴者の割合

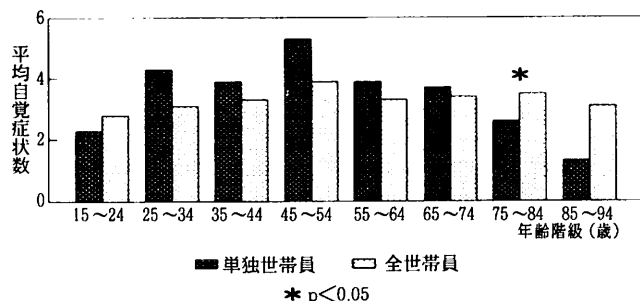


図4. 年齢階級別にみた有訴者の平均自覚症状数

(2) 平均自覚症状数

有訴者の自覚症状数は、全年齢階級平均では全世帯員と単独世帯員のいずれも3.3で差がない。図4に示すように25～74歳の広い範囲で単独世帯員のほうが多くなっているが、75～84歳では逆に有意に少なくなっている。

(3) 自覚症状の内容

単独世帯員の有訴率の高い上位5症状は「腰痛」「肩こり」「手足の関節痛」「目かすみ」「体がだるい」で全世帯員との違いは1位の「腰痛」と2位の「肩こり」の順が入れ替わっているのみである。「腰痛」の例を図5に示すが、35歳以上の年齢階級で単独世帯員が全世帯員を上回り、特に45歳から74歳までの3年齢階級では、その差も比較的大きい。また、「肩こり」「関節痛」「目かすみ」でも類似の傾向を示している。

3) 通院状況

(1) 通院者率

図6にみられるように全世帯員と比べた単独世帯員の通院者率は若年者で有意に低く、45歳以上で少し高くなる傾向がみられた。さらに、就床状況と通院の関係を検討すると、「1日中就床者」及び「少し就床者」の通院者率が単独世帯員でわずかに高い値を示した。

(2) 疾病の種類と通院者率

通院頻度の比較的高い疾病のうち、「高血圧症」「糖尿病」及び「眼疾患」については各年齢階級で両世帯員間の通院者率に差が無いのに対し、「虚血性心疾患」と「腰痛」「肩こり」では、多くの中高年齢層で単独世帯員の方が高かった。

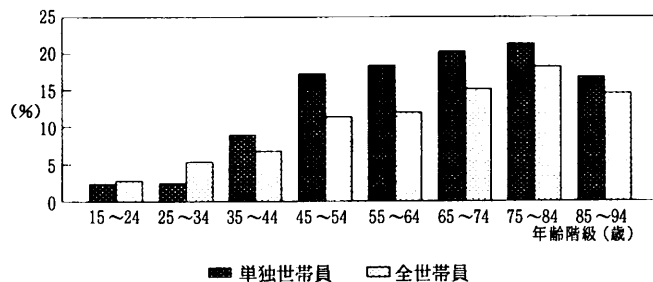


図5. 年齢階級別にみた「腰痛」を訴える者の割合

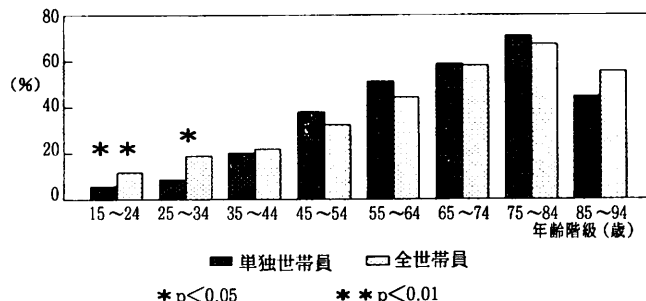


図6. 年齢階級別にみた「医療機関へ通院」している者の割合

4) 健康状態

(1) 就床率

1日以上就床した者の率を図7に示す。全年齢階級で単独世帯員が上回っていることがわかる。また、4日以上の就床者に限れば、35～74歳の各階級でその差はさらに大きい。

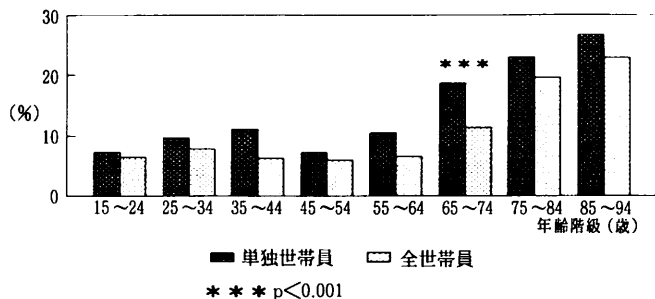


図7. 年齢階級別にみた「1日以上就床」した者の割合

(2) 生活影響

図8は健康障害のため「生活に影響ある」と訴えた者の率を示している。25歳以上の各年齢階級で単独世帯員の方が高くなっている。影響の内容では「仕事・家事」と「外出」への影響を訴える者が多く、いずれも単独世帯員が上回っている。

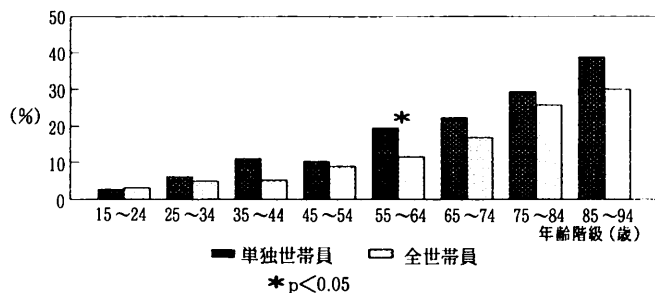


図8. 年齢階級別にみた「生活への影響あり」の者の割合

5) 健康診断の受診

種類を問わず何らかの健康診断を受診した者の率は全世帯員66.7%, 単独世帯員64.3%で、各年齢階級を通して両者の差はなかった。検査項目別にみると、若年層で単独世帯員の受診率が「血圧測定」「胃の検査」「血液検査」「心電図検査」「眼底検査」で全世帯員よりも低い、が、「尿の検査」「胸部X線撮影」では差がみられなかった。

次に、「子宮がん検査」と「乳がん検査」の受診率を表2に示す。65～74歳の年齢階級を境に、高齢層では単独世帯員が高いものの、若年層で単独世帯員が低くなっているのには留意すべきと思われる。

6) 健康のために日頃実行している事柄

食生活、運動、気分転換、睡眠のいずれかに心掛けている者は、全世帯員の89.2%に対し単独世帯員は84.0%と

表2. 「子宮がん検査」「乳がん検査」の受診率 (%)

* p<0.05

年齢階級 (歳)	子宮がん		乳がん	
	全世帯員	単独世帯員	全世帯員	単独世帯員
35～44	20.1	5.0	15.0	5.0
45～54	26.8	15.8	16.7	10.5
55～64	15.1	*5.4	11.2	7.1
65～74	6.6	6.5	8.1	9.7
75～84	3.2	6.3	2.4	4.7
85～94	1.8	7.1	1.8	7.1

有意に低い、45歳以上では両者間に差がみられない。

食生活面では「規則正しい食事」「バランスのとれた食事」「うす味の食事」「腹八分目」の全ての項目で、単独世帯員の方が大幅に下回り、特に44歳以下の3年齢階級で有意な差となっている。一例として「バランスのとれた食事」の年齢階級別グラフを図9に示す。

他方、「定期的に運動」では単独世帯員が上回り、「気分転換」「十分な睡眠時間」では両者間に差はない。

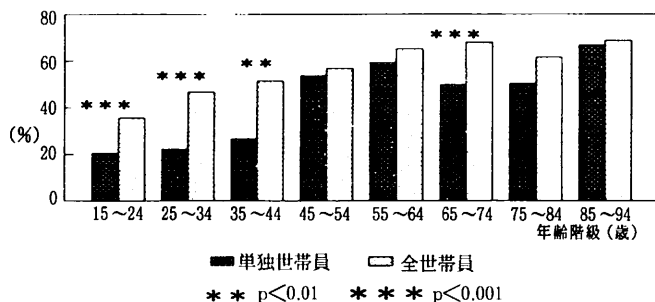


図9. 年齢階級別にみた「バランスのとれた食事」を心掛けている者の割合

IV ま と め

平成4年国民生活基礎調査をもとに、単独世帯員の健康状態を、調査対象の全世帯員と比較検討した。その結果、単独世帯員には以下の特徴が明らかになった。

- 1) 自身の健康状態の評価が悪い。
- 2) 55～74歳で自覚症状を訴える者が多い。平均自覚症状数は25～74歳で多く、75歳以上で少ない。
- 3) 45歳以上で通院者率が高い。
- 4) 就床率が高い。
- 5) 健康障害による生活への影響を訴える率が高く、その内容は「仕事・家事」と「外出」である。
- 6) 若年層の健康診断受診率が低く、また中年層の「子宮がん検査」「乳がん検査」の受診率も低い。
- 7) 食生活への配慮が低く、特に若年齢層に問題がある。

以上の結果より、健康面において単独世帯員は複数世帯

員よりも、多くの問題を抱えているものと考えられる。特に、若年者を中心に食生活への配慮が必要であろう。

V 文 献

1. 京都市衛生公害研究所疫学情報部門：同研究所年報,
No. 60, 96-101 (1994)
2. 京都市衛生公害研究所疫学情報部門：同研究所年報,
No. 60, 102-111 (1994)

Nested-PCR法による黄色ブドウ球菌エンテロトキシン遺伝子の検出

調査研究部門

Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxin genes by using nested-PCRKey Words : PCR, 黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*, エンテロトキシン enterotoxin

I はじめに

PCR法により食中毒原因菌の一種である黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) の検出法を検討した。*S. aureus*からの核酸抽出の方法としてはコレラ菌等で用いられている熱抽出法が考えられるが、*S. aureus*の場合その細胞壁はコレラ菌等のグラム陰性菌とは違いペプチドグリカン、タンパク質、リポタンパク質及び多糖体の強固なモザイク層を形成し、熱処理だけでは十分な量の核酸が回収されず、PCR法による感度はあまり良くないことが報告されている。

細菌の細胞壁破壊にはリゾチーム、アクロモバクタープロテアーゼ等の膜分解酵素による方法、SDS等のタンパク変性剤による方法、超音波による物理的破壊方法が有るが*S. aureus*に対してはいずれの方法でもコレラ菌等と比べると十分な感度を得ることができなかった。

一方、nested-PCR法を用いるとその感度は飛躍的に高まることが知られている。そこで今回*S. aureus*の早期検出のために nested-PCR法用のプライマーを新たにデザインし検出感度の改良を試みた。

II 実験方法

1. プライマー

すでに報告されている*S. aureus*の各エンテロトキシン型の遺伝子配列を参考にしてプライマーをデザインした^{1)~5)}。プライマーは塩基長が20 mer前後であり、エンテロトキシンA, B, C, D型ともA+T, G+C比をできるだけ同一にし、また増幅産物内には各型共通の同一制限酵素認識部位が存在するようにした。表1に今回デザインしたプライマーの塩基配列を示す。

2. 試料の調製及びDNA増幅条件

保存菌株をBHI培地で16~18時間培養しTE(和光純薬)で10倍希釈した後、10分間煮沸してDNAの抽出を行った。

PCR反応液の組成は表2のとおりである。

DNAの増幅は1st PCRでは変性94℃1分、アニーリング58℃1分、伸長72℃1分を30サイクル行った。ま

た、2nd PCRでは変性94℃1分、アニーリング50℃30秒、伸長72℃1分を30サイクル行った。

表1. プライマーの塩基配列

毒素型	1st	2nd
Ent A	5'-gagcagctttaggcaatctt 5'-glatgaaacacgattaatc	5'-acigaaaataaagagagtca 5'-ataacgtcttgctgaagat
Ent B	5'-tcaaccagatcctaaaccag 5'-gattgggtcaaatctctcc	5'-acaaatcgagtaaatcact 5'-atagtgacgagttaggtaat
Ent C	5'-tcaccaaagataatgtaggta 5'-ttctttgttgaagggtggac	5'-atgggaacttacaaaatgta 5'-tattgtcgttgatcatcagt
Ent D	5'-cgtacaagaattagatgcac 5'-ttgtcatcaacaaatgcat	5'-gtataataatgatactctcg 5'-ccaggtaaactactattata

表2. PCR反応液 (30 µl)

sample	1-3 µl
dNTPs ^{a)}	0.8 mM
primers	0.2 mM each
Taq-polymerase ^{b)}	0.75 U
buffer	
Tris-HCl(pH 8.8)	66.6 mM
(NH ₄) ₂ SO ₄	16.7 mM
2-mercaptoethanol	10 mM
EDTA	6.6 µM
MgCl ₂	1.67 mM
gelatin	0.001 %

^{a), b)} Takara

III 結果及び考察

Fig. 1~4に各毒素型の*S. aureus*を用いた場合の結果を示す。2nd PCRにより、Ent A型は375 bp, B型は467 bp, C型は288 bp, D型では511 bpの増幅産物が認められた。B型の場合、他の型に比べてPCRの感度は若干低かったが、各型とも1st PCRに比べて2nd PCRを行った場合、10²~10³感度の上昇が認められ検出限界の3~50 cfu/asyとほぼ満足できるものであった。

目的の遺伝子領域が増幅されたかを確認するため、制限酵素 *A* *lu* I で切断し、その大きさを検討した。A型では202, 173 bp, B型では242, 186, 39 bp, C型では174, 93,

21bp, D型では 309, 131, 71bp の塩基切断片が生じると期待される。Fig. 5, 6 にその結果を示す。21, 39, 71bp の短い切断片を除き他の切断片のバンドは全て検出され, nested-PCR 法により期待された遺伝子領域の増幅が確認できた。また, プライマーの特異性を検討するために糞便から採取した大腸菌群, *Salmonella* O4Hi. 1, *Shigella flexneri*, *Vibrio cholerae* を用いて nested-PCR を行ったが特異的な増幅産物を認めなかった。

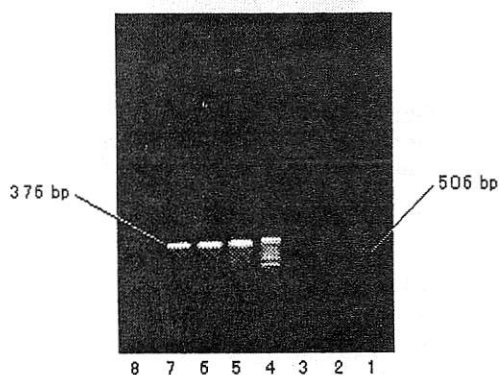


Fig.1 Detection limit of the nested-PCR assay at the first and second steps (*S. aureus* enterotoxin A)

1: 2.5×10^4 cfu/asy(1st PCR) 2: 2.5×10^3 cfu/asy(1st PCR)
 3: 2.5×10^2 cfu/asy(1st PCR) 4: Marker
 5: 2.5×10^2 cfu/asy(2nd PCR) 6: 2.5×10^1 cfu/asy(2nd PCR)
 7: 2.5×10^0 cfu/asy(2nd PCR) 8: 2.5×10^{-1} cfu/asy(2nd PCR)

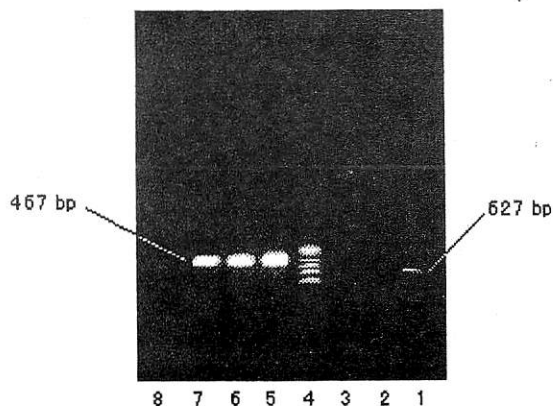


Fig.2 Detection limit of the nested-PCR assay at the first and second steps (*S. aureus* enterotoxin B)

1: 4.8×10^4 cfu/asy(1st PCR) 2: 4.8×10^3 cfu/asy(1st PCR)
 3: 4.8×10^2 cfu/asy(1st PCR) 4: Marker
 5: 4.8×10^2 cfu/asy(2nd PCR) 6: 4.8×10^1 cfu/asy(2nd PCR)
 7: 4.8×10^0 cfu/asy(2nd PCR) 8: 4.8×10^{-1} cfu/asy(2nd PCR)

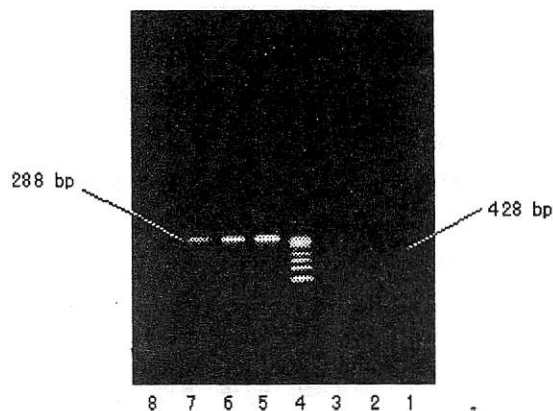


Fig.3 Detection limit of the nested-PCR assay at the first and second steps (*S. aureus* enterotoxin C)

1: 1.4×10^4 cfu/asy(1st PCR) 2: 1.4×10^3 cfu/asy(1st PCR)
 3: 1.4×10^2 cfu/asy(1st PCR) 4: Marker
 5: 1.4×10^2 cfu/asy(2nd PCR) 6: 1.4×10^1 cfu/asy(2nd PCR)
 7: 1.4×10^0 cfu/asy(2nd PCR) 8: 1.4×10^{-1} cfu/asy(2nd PCR)

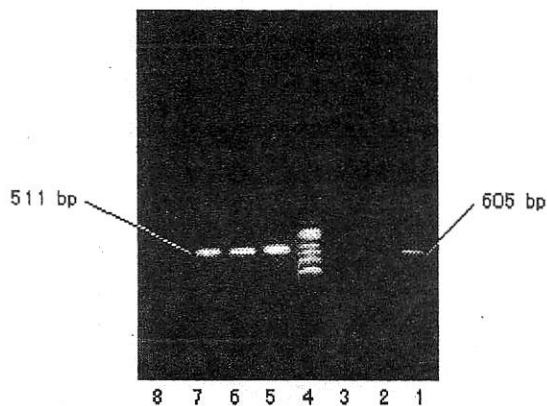


Fig.4 Detection limit of the nested-PCR assay at the first and second steps (*S. aureus* enterotoxin D)

1: 2.9×10^4 cfu/asy(1st PCR) 2: 2.9×10^3 cfu/asy(1st PCR)
 3: 2.9×10^2 cfu/asy(1st PCR) 4: Marker
 5: 2.9×10^2 cfu/asy(2nd PCR) 6: 2.9×10^1 cfu/asy(2nd PCR)
 7: 2.9×10^0 cfu/asy(2nd PCR) 8: 2.9×10^{-1} cfu/asy(2nd PCR)

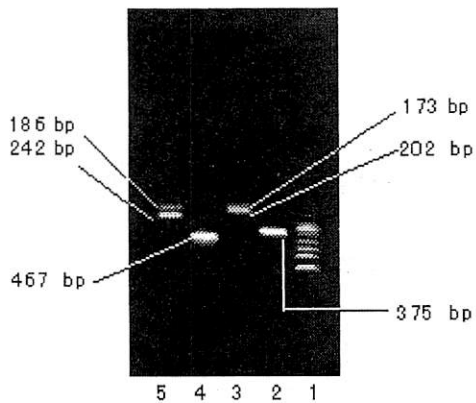


Fig.5 Restriction enzyme fragment length polymorphism of the amplified fragment from *S. aureus* enterotoxin A and B genes.

- 1: Marker
- 2: Before restriction enzyme treatment (Enterotoxin A)
- 3: After restriction enzyme treatment (Enterotoxin A)
- 4: Before restriction enzyme treatment (Enterotoxin B)
- 5: After restriction enzyme treatment (Enterotoxin B)

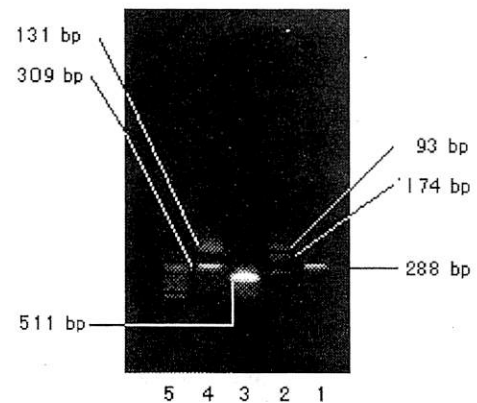


Fig.6 Restriction enzyme fragment length polymorphism of the amplified fragment from *S. aureus* enterotoxin C and D genes.

- 1: Before restriction enzyme treatment (Enterotoxin C)
- 2: After restriction enzyme treatment (Enterotoxin C)
- 3: Before restriction enzyme treatment (Enterotoxin D)
- 4: After restriction enzyme treatment (Enterotoxin D)
- 5: Marker

IV 参考文献

- 1) Bayles K.W. and Landolo J.J.: J. Bacteriol., 171, 4799-4806 (1989)
- 2) Bahach G.A. and Schlievert P.M.: Mol. Gen Genet., 209, 15-20 (1987)
- 3) Christopher L.J. and Saleem A.K.: J. Bacteriol., 166, 29-33 (1986)
- 4) Betley M.J. and Mekalanos J.J.: J. Bacteriol., 170, 34-41 (1988)
- 5) Hovde C.J. et al.: Mol. Gen Genet., 20, 329-333 (1990)

京都市衛生公害研究所年報
第 62 号

発行日 平成 8 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
