

第6部 報 文

目 次

1. 平成9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) -----	71
2. 平成9年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) -----	81
3. 京都市の池沼の酸性化調査について -----	(環 境) -----	85
4. 沢の池堆積物中の珪藻類のpH適応性に関する予備的検討に ついて -----	(環 境) -----	89

Chapter 6 Reports

Contents

1. Isolation of pathogenic agents in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 1997 ----- (Micr) -----	71
2. Epidemiological survey of Japanese encephalitis (JE) with reference to the effect of JE vaccine to swine in Kyoto City in 1997 ----- (Micr) -----	81
3. Survey of pond water acidification in Kyoto City ----- (Envir) -----	85
4. Estimation of pH preferences of sedimentary diatoms appeared in Sawanoike Pond ----- (Envir) -----	89

平成9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 1997

Abstract : Virological and bacteriological tests were performed using various specimens from patients in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 1997. Of 238 patients, 95 were positive for viral and/or bacterial agents. A total of 90 strains of viruses and 14 strains of bacteria were isolated. Yearly isolation rate of the agents per patient was 39.9%. Influenza viruses were isolated from January to July, mainly from the patients with flu-like symptom, while enteroviruses were isolated from early summer to late fall mainly from the patients with summer flu symptoms, herpangina or aseptic meningitis. Rotaviruses were isolated from March and November from the patients with infectious gastroenteritis. Various types of viruses were mostly isolated in the 2 age groups of 1-4 years and 5-9 years. Some mixed infections of bacteria, such as group G *Streptococcus*, and virus, such as influenza virus, 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、流行疾病的病原体検索を行い、検査情報の作成と還元を行うとともに、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9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9年1月から12月までに病原体検査を行った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、喉頭炎、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、百日せき様疾患、感染性髄膜炎、脳・脊髄炎、口内炎、発疹症、溶血性链球菌感染症、ミトコンドリア異常症、出血性膀胱炎、先天性免疫不全、肝炎、水痘及び、その他12疾病の計35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238人から糞便93検体、咽頭ぬぐい液184検体、髄液58検体、尿59検体、皮膚病巣4検体、血液1検体、歯肉ぬぐい液1検体、眼結膜ぬぐい液2検体の計402検体が採取された。

ウイルス検査には全検体を、また、細菌検査にはこれらのうち、患者145人より糞便52検体、咽頭ぬぐい液121検体、尿19検体、皮膚病巣2検体、眼結膜ぬぐい液1検体、計195検体を供した。

3. 検査方法

1) ウィルス検査

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、同定は前報¹⁾どおりで行った。

III 成績

1. 月別病原ウイルス検出状況

各月の受付患者数をみると、冬季の1月、夏季の7月～

9月及び11月が20人以上であり、特に7月、8月は28人で最多であった。その他の月は11~19人で、月平均受付患者数は19.8人であった。

年間の被検患者238人のうち95人(39.9%)から104株の病原微生物を検出した。検出率は5月、6月及び7月が50%以上の高率であり、これに次いで、1月、2月、8月、11月及び12月が40%前後であった。

被検患者238人中83人から計90株のウイルスを検出した。患者あたりのウイルス検出率は34.9%であった。ウイルス検出率をみると、5月、7月が50%以上と高く、これに次いで1月、6月、8月、11月及び12月が30~40%台であった。

内訳はコクサッキーAが20株、コクサッキーBが3株、エコーが12株、ロタが4株、アデノが20株、インフルエンザA(H3N2) (= A香港型) が1株、インフルエンザBが10株、単純ヘルペスが1株、サイトメガロが15株、RSが3株であった。

検出ウイルスの主な型は、コクサッキーAは20株中4型が12株、2型が5株、10型が2株、5型が1株であり、コクサッキーBは2型、3型、5型を各1株検出した。エコーは30型が9株、1型、18型、25型が各1株ずつ検出され、アデノは1型、7型が各3株、2型、3型、5型が各2株、19型が1株、40/41型が2株、35型が5株検出された。単純ヘルペスは1型のみを2株、インフルエンザはA(H3N2) (= A香港型) 1株、B型(ワクチン株のB/三重/1/93様株) 3株、B型(B/ピクトリア/2/87様変異株) 7株を検出した。なお、アデノ35型5株は同一被検患者から数回にわたり検体採取し、検出したものである。

検出ウイルスの季節推移をみると、1月にインフルエンザA(H3N2)型、B型(ワクチン様株)を各1株、4月にB型(ワクチン様株)2株、4月~7月の4か月間にB型(変異株)を7株検出した。ロタは3月、11月に各2株検出された。コクサッキーA2型、4型、5型、10型は5月~8月に検出され、コクサッキーBは7月、8月に検出された。エコーは8月~12月に検出された。特にエコー30型は、9月~12月に検出された。コクサッキーA群、コクサッキーB群、エコー群などのエンテロウイルスが夏季を中心に検出される傾向は本年も認められた。アデノは2月、3月及び7月~12月に散発的に検出された(表1)。

2. 月別病原細菌検出状況

被検患者145人中14人から計14株の病原細菌を検出し、患者あたりの検出率は9.7%であった。

内訳は、主なものでは病原性大腸菌4株、黄色ブドウ球菌3株、A群溶血性連鎖球菌3株であった。

最多検出の病原性大腸菌は、6月、7月及び9月に検出された。A群溶血性連鎖球菌は1月、3月、6月に検出され、黄色ブドウ球菌は1月、6月、9月に検出された(表1)。

3. 疾病別病原ウイルス検出状況

受付患者数の多かった上位3疾病は感染性髄膜炎の39人、感染性胃腸炎、夏かぜ様疾患の各33人、次いでインフルエンザ様疾患の28人であった。インフルエンザ様疾患に夏かぜ様疾患、急性上気道炎、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、本年の受付患者数の約45%を占めた。

主な疾病別のウイルス検出率は、インフルエンザ様疾患、ヘルパンギーナ、口内炎、出血性膀胱炎等が50%以上の高率であり、感染性胃腸炎、感染性髄膜炎、夏かぜ様疾患、扁桃炎、急性上気道炎、脳・脊髄炎が30~40%台でこれらに次いでいた。

主な疾病についてウイルス検出状況をみると、夏かぜ様疾患からコクサッキーA、エコー、アデノの7種11株、インフルエンザ様疾患からインフルエンザA(H3N2)、インフルエンザB、コクサッキーA、アデノ、サイトメガロ、RSの6種14株、ヘルパンギーナからコクサッキーA、コクサッキーBの4種9株、感染性髄膜炎からコクサッキーA、コクサッキーB、エコー、サイトメガロの6種15株、感染性胃腸炎からコクサッキーB、エコー、ロタ、アデノ、サイトメガロ、インフルエンザBの8種12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、乳児嘔吐下痢症から病原性大腸菌3株を、インフルエンザ様疾患からB群及びG群溶血性連鎖球菌各1株、緑膿菌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142人で最も多く、次いで5~9歳の67人であり、10~14歳及び15歳以上は各々21人、8人と少なかった。

病原体検出率を年齢層別にみると、0歳が30.0%、1~4歳が42.9%、5~9歳が41.8%、10~14歳が33.3%、15歳以上が37.5%であった。

ウイルス検出率は0歳が23.3%、1~4歳が38.4%、5~9歳が40.3%、10~14歳が19.0%、15歳以上は25.0%であった。

検出ウイルスの種類は1~4歳が17種50株、5~9歳が11種27株と多く、0歳では3種7株でこれらに次ぎ、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

平成9年1月～12月

表1 月別病原体検出状況(小児科・病院定点分)

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 (%)	
受付患者数	23	11	19	12	12	18	28	28	27	15	26	19	238		
糞便	11	7	6	4	1	3	9	10	15	8	14	5	93		
咽頭ぬぐい液	21	10	18	10	12	15	23	21	19	9	14	12	184		
膿液	5	5	4	2	1	1	3	6	9	4	10	8	58		
尿	12	7	3	4	1	2	3	4	7	5	6	5	59		
皮膚病巣	1						1			1	1		4		
歯肉ぬぐい液	1							1					1		
眼結膜ぬぐい液				1				1					2		
血液													1		
病原体検出患者数	9	4	3	3	9	11	16	10	6	4	11	9	95		
患者あたりの検出率(%)	39.1	36.4	15.8	25.0	75.0	61.1	57.1	35.7	22.2	26.7	42.3	47.4	39.9		
被検患者数	23	11	19	12	12	18	28	28	27	15	26	19	238		
検出患者数	7	3	2	3	8	7	15	10	4	4	11	9	83		
患者あたりの検出率(%)	30.4	27.3	10.5	25.0	66.7	38.9	53.6	35.7	14.8	26.7	42.3	47.4	34.9		
ウイルス	コクサッキーA2型					1	2e	2					5	4.8	
	コクサッキーA4型					4	4	4					12	11.5	
	コクサッキーA5型								1				1	1.0	
	コクサッキーA10型						1	1					2	1.9	
	コクサッキーB2型							1					1	1.0	
	コクサッキーB3型						1						1	1.0	
	コクサッキーB5型							1g					1	1.0	
	エコー1型								1				1	1.0	
	エコー18型							1					1	1.0	
	エコー25型							1					1	1.0	
	エコー30型								1	2	4h	2	9	8.7	
	アデノ1型		1					1					3	2.9	
	アデノ2型							1d	1				2	1.9	
	アデノ3型							2e					2	1.9	
細菌	アデノ5型							1f					2	1.9	
	アデノ7型							1					2	2.9	
	アデノ19型									2			1	1.0	
	アデノ35型									1			5	4.8	
	アデノ40/41型					1c		1					2	1.9	
	単純ヘルペス1型		1					1f					2	1.9	
	サイトメガロ	3	1	1b		2		2g	1		3h	2i	15	14.4	
	口タ				2bc						2		4	3.8	
	インフルエンザA(H3N2)型	1											1	1.0	
	インフルエンザB型(ワクチン株)	1a				2							3	2.9	
	インフルエンザB型(変異株)					1	3	1	2				7	6.7	
R.S	R.S	1								1		1i	3	2.9	
	小計	7	3	4	3	8	7	17	11	4	4	12	10	86.5	
	被検患者数	17	9	18	5	10	17	20	9	15	5	13	7	145	
	検出患者数	3	1	1	0	1	4	2	0	2	0	0	0	14	
	患者あたりの検出率(%)	17.6	11.1	5.6	0.0	10.0	23.5	10.0	0.0	13.3	0.0	0.0	0.0	9.7	
	A群溶血性連鎖球菌	1					1						3	2.9	
	B群溶血性連鎖球菌							1					1	1.0	
	G群溶血性連鎖球菌	1a											1	1.0	
	黄色ブドウ球菌	1						1					3	2.9	
	肺炎球菌								1d				1	1.0	
細菌	糸胞菌					1							1	1.0	
	病原性大腸菌(EPECなど)							2	1	1			4	3.8	
	小計	3	1	1	0	1	4	2	0	2	0	0	0	14	13.5
	合計	10	4	5	3	9	11	19	11	6	4	12	10	104	100.0

注) a～i:重複検出例
*:同一人

表2 疾病別病原体検出状況(小児科・病院定点分)

疾 病 名		平成9年1月～12月																								
		感染性胃腸炎	乳児嘔吐下痢症	急性上気道炎	喉頭炎	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	発疹症	感染性結膜炎	脳・脊髄炎	口内炎	肝炎	溶連菌感染症	百日咳様疾患	ミトコンドリア異常症	かぜ様疾患	先天性免疫不全	その他	水疱	計	
	受付患者数	33	1	28	8	2	5	7	2	3	3	33	15	6	39	3	3	6	2	11	1	1	1	23	238	
検査	糞便	27	1	2	1		6	1		2	2	1	6	18	1	2	2	5	1	1	1	1	12	93		
	咽頭ぬぐい液	13	28	8	2	5	7	3	3	3	33	15	6	18	3	2	6	2	1	4	1	1	1	18	184	
	唾液	5	1	1			1		2	1		1	37	3								1	5	58		
材	尿	5	2			6	1		1			4	10	1	1		2	10	1	1	1	1	12	59		
料	皮膚病巣											2										2	4			
	歯肉ぬぐい液																						1			
	眼結膜ぬぐい液																						1			
	血液																						1			
	病原体検出率(%)	13	1	16	3	0	2	4	1	0	0	11	10	2	13	1	2	3	1	7	1	1	0	95		
	患者あたりの検出率(%)	39.4	100.0	57.1	37.5	0.0	40.0	57.1	50.0	0.0	0.0	33.3	66.7	33.3	33.3	33.3	66.7	50.0	50.0	100.0	63.6	100.0	100.0	100.0	39.9	
ウ	被検患者数	33	1	28	8	2	5	7	2	3	3	33	15	6	39	3	3	6	2	11	1	1	1	23	238	
	検出患者数	10	0	14	3	0	2	4	1	0	0	10	9	1	13	1	2	1	0	7	1	1	1	0	83	
	患者あたりの検出率(%)	30.3	0.0	50.0	37.5	0.0	40.0	57.1	50.0	0.0	0.0	30.3	60.0	16.7	33.3	33.3	66.7	16.7	50.0	0.0	63.6	100.0	100.0	100.0	0.0	34.9
イ	コクサッキーA2型																						5	4.8		
	コクサッキーA4型	2																					12	11.5		
	コクサッキーA5型																						1	1.0		
	コクサッキーA10型																						2	1.9		
	コクサッキーB2型																						1	1.0		
	コクサッキーB3型																						1	1.0		
	コクサッキーB5型	1																					1	1.0		
ス	エコー1型																						1	1.0		
	エコー18型																						1	1.0		
	エコー25型	1																					1	1.0		
	エコー30型																						9	8.7		
ル	アデノ1型																						3	2.9		
	アデノ2型	1																					2	1.9		
	アデノ3型		1																				2	1.9		
	アデノ5型	1																					2	1.9		
	アデノ7型		1																				3	2.9		
	アデノ19型																						1	1.0		
	アデノ35型																						5	4.8		
	アデノ40/41型	2c																					2	1.9		
ス	単純ヘルペス1型																		2f				2	1.9		
	サイトメガロ	1b	1								3	1							1	1	11	1	1	15	14.4	
	ロタ		4bc																				4	3.8		
	インフルエンザA(H3N2)型		1																				1	1.0		
	インフルエンザB型(ワクチン株)	1		1a																			3	2.9		
	インフルエンザB型(変異株)	7																					7	6.7		
	RS	1		1																			3	2.9		
	小計	12	0	14	3	0	2	4	1	0	0	11	9	1	15	1	3	1	1	0	7	1	1	90		
細	被検患者数	31	1	23	7	2	3	5	0	3	2	24	12	5	3	0	2	6	1	1	1	2	11	145		
	検出患者数	3	1	3	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0	2	0	0	1	0	0	14		
	患者あたりの検出率(%)	9.7	100.0	13.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	8.3	8.3	20.0	0.0	0.0	0.0	33.3	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	9.7		
茵	A群溶血性連鎖球菌											1							2				3	2.9		
	B群溶血性連鎖球菌											1a											1	1.0		
	G群溶血性連鎖球菌																						1	1.0		
	黄色ブドウ球菌																		1				3	2.9		
	肺炎球菌																		1d				1	1.0		
	緑膿菌																						4	3.8		
	病原性大腸菌(EPECなど)	2	1	3	0	0	0	0	0	0	0	13	10	2	15	1	0	2	3	0	1	0	0	14	13.5	
	小計	3	1	3	0	0	0	0	0	0	0	13	10	2	15	1	0	3	3	1	0	0	0	104	100.0	
合	計	15	1	17	3	0	2	4	1	0	0	13	10	2	15	1	0	3	3	1	0	0	0	104	100.0	

注) : 重複検出例
 * : 同一人

2種4株、15歳以上は2種2株であった。

エンテロウイルス群は0～4歳から26株と最も多く検出された。ロタウイルスはすべて1～4歳から検出された。一方、アデノウイルス群は0～4歳と5～9歳の検出率が同程度であった。サイトメガロウイルスは0～4歳でやや多く検出された。インフルエンザBは0～4歳では検出がなく、5～9歳及び10～15歳から検出された（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2種2株、1～4歳が5種6株、5～9歳が2種2株、10～14歳が2種3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) 本市感染症サーベイランス患者情報によれば、前年末に急増してピークを形成したインフルエンザ様疾患は、1月中旬までピーク時の患者発生数を維持した後急激に減少した。その後再びやや上昇し、3月中旬に再び小さなピー

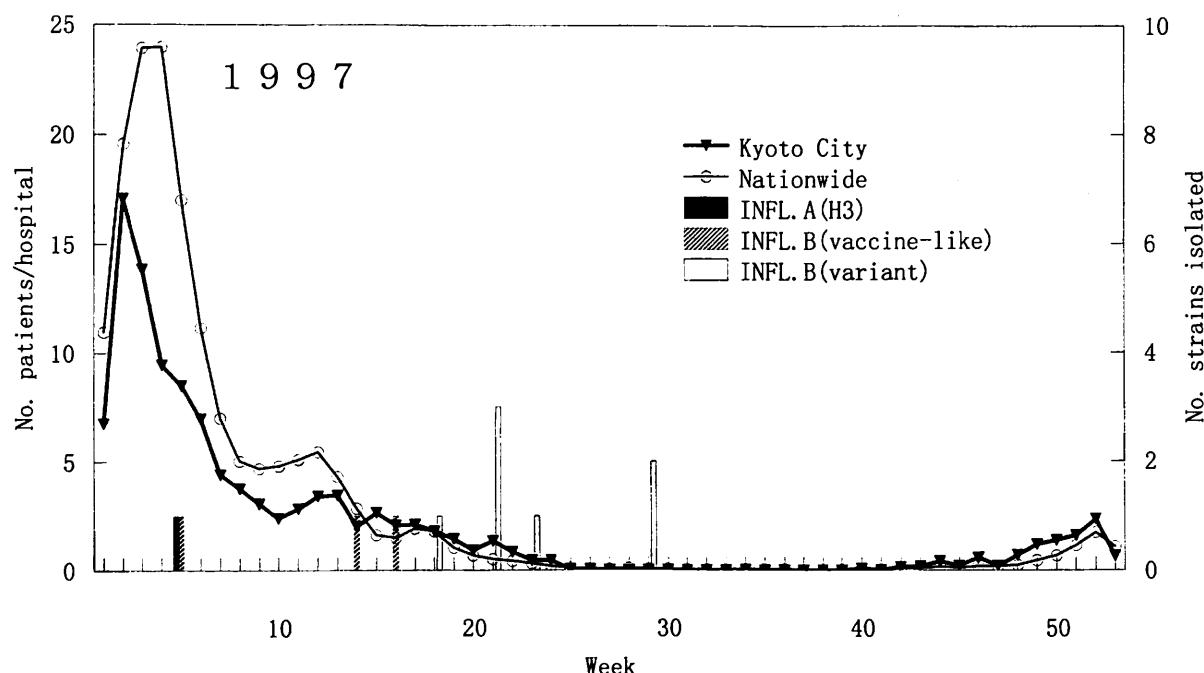


Fig.1. Seasonal prevalence of patients with influenza, and weekly isolation of influenza virus.

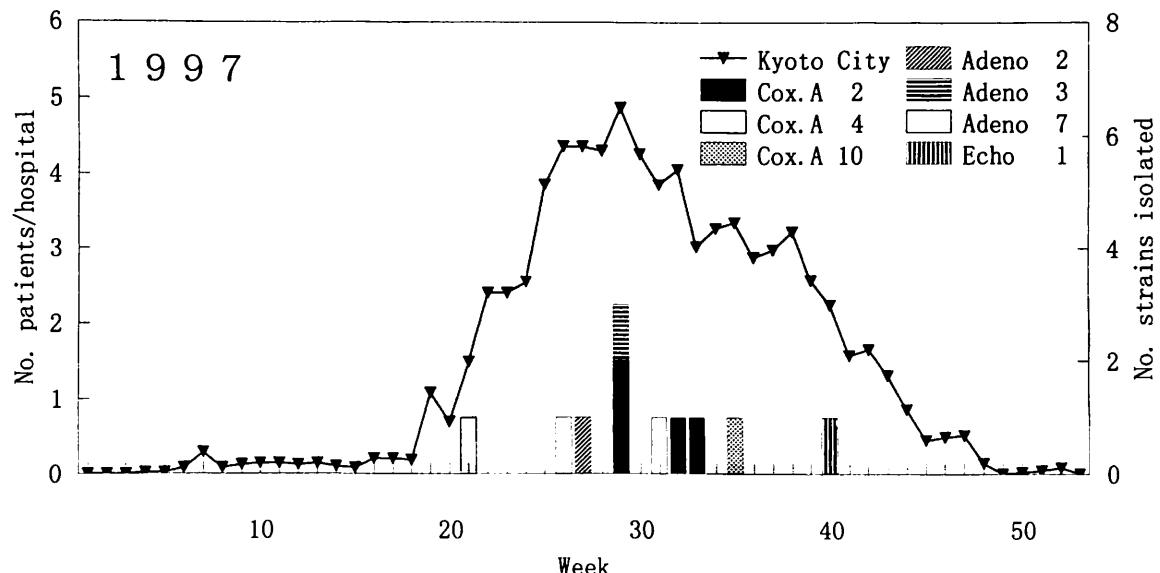


Fig.2. Seasonal prevalence of patients with summer flu, and weekly isolation of viruses from patients with the disease.

表3 年齢層別病原体検出状況(小児科・病院定点)

平成9年1月～12月

月	0歳	1～4歳	5～9歳	10～14歳	15歳以上	計	病原体検出比率 (%)
受付患者数	30	112	67	21	8	238	
糞便	22	45	14	8	4	93	
咽頭ぬぐい液	23	91	48	18	4	184	
膿液	11	29	16	2		58	
尿	13	18	16	5	7	59	
皮膚病巣	1	2			1	4	
歯肉ぬぐい液		1				1	
眼結膜ぬぐい液		2				2	
血液			1			1	
病原体検出患者数	9	48	28	7	3	95	
患者あたりの検出率(%)	30.0	42.9	41.8	33.3	37.5	39.9	
被検患者数	30	112	67	21	8	238	402
検出患者数	7	43	27	4	2	83	
患者あたりの検出率(%)	23.3	38.4	40.3	19.0	25.0	34.9	
コクサッキーA2型		4e	1			5	4.8
コクサッキーA4型		11	1			12	11.5
コクサッキーA5型		1				1	1.0
コクサッキーA10型		2				2	1.9
コクサッキーB2型			1			1	1.0
コクサッキーB3型		1				1	1.0
コクサッキーB5型		1				1	1.0
エコー1型			1			1	1.0
エコー18型			1			1	1.0
エコー25型		1				1	1.0
エコー30型		5h	3		1	9	8.7
ウイルス	アデノ1型	1	2			3	2.9
	アデノ2型	1	1			2	1.9
	アデノ3型		2d			2	1.9
	アデノ5型		2ef			2	1.9
	アデノ7型			3		3	2.9
	アデノ19型		1			1	1.0
	アデノ35型			5*		5	4.8
	アデノ40/41型		2c			2	1.9
	単純ヘルペス1型		2f			2	1.9
	サイトメガロ	5	7bshi	2	1	15	14.4
	ロタ		4bc			4	3.8
	インフルエンザA(H3N2)型			1		1	1.0
	インフルエンザB型(ワクチン株)			2		2	1.9
	インフルエンザB型(変異株)			5a	3	8	7.7
	R.S		3i			3	2.9
	小計	7	50	27	4	90	86.5
細菌	被検患者数	18	75	31	17	4	145
	検出患者数	2	6	2	3	1	14
	患者あたりの検出率(%)	11.1	8.0	6.5	17.6	25.0	9.7
	A群溶血性連鎖球菌		2	1		3	2.9
	B群溶血性連鎖球菌				1	1	1.0
	G群溶血性連鎖球菌			1a		1	1.0
	黄色ブドウ球菌	1	1			3	2.9
	肺炎球菌		1d			1	1.0
	綠膿菌		1			1	1.0
	病原性大腸菌(EPECなど)	1	1		2	4	3.8
	小計	2	6	2	3	1	14
	計	9	56	29	7	3	104
							100.0

注) a～i：重複検出例

*：同一人

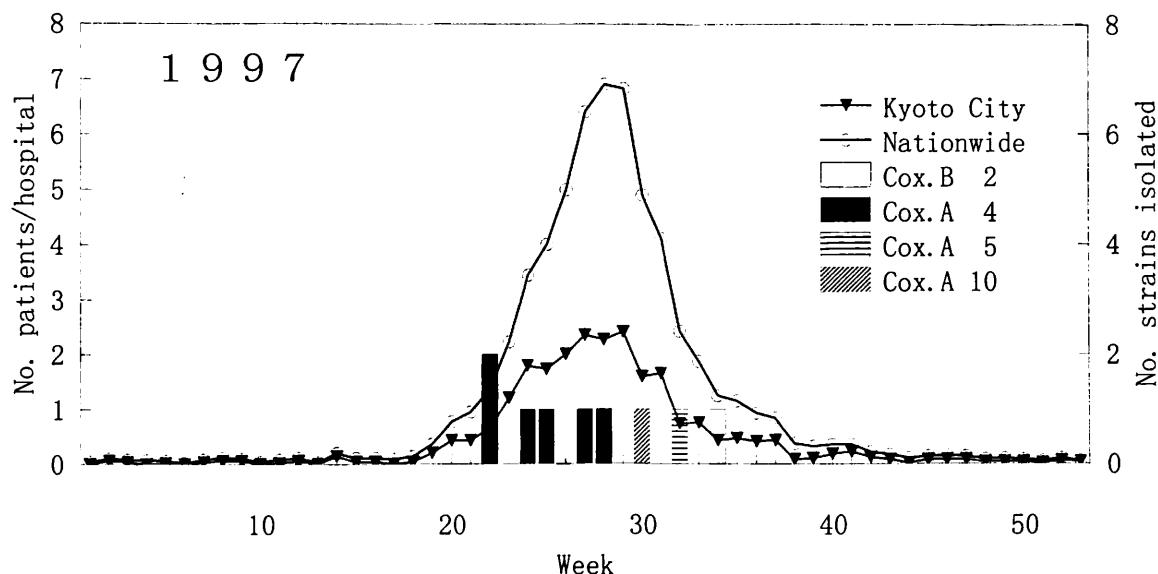


Fig.3. Seasonal prevalence of patients with herpangina, and weekly isolation of coxsackieviruses.

クを形成した後、緩やかに減少した。この流行状況に呼応して、1月には前年末に引き続いてA(H3N2)型を検出した他、B型をも検出し、更に4月以降7月に至るまでB型の検出が続いた。ただし、4月末以降のB型ウイルスは、それまでのワクチン様ウイルスと異なり、すべてB／ビクトリア株類似の変異株であった。1月から7月の長期にわたりインフルエンザウイルスが検出されたのは、これら3種類が順次流行したためと考えられる。ウイルスはインフルエンザ様疾患患者から多数が検出されたが、そのほかに感染性胃腸炎、溶連菌感染症患者からも各1例検出された。年末の12月には再びインフルエンザの流行が開始したが、この時期の患者からはウイルスが検出されなかった(Fig. 1)。

2) 本年の夏かぜ様疾患患者発生数は、5月から上昇し始め、29週(7月)にピークを形成した後下降し続け、11月にはほぼ終息した。ピークを中心として、コクサッキーAの3型(2型、4型及び10型)、アデノの3型(2型、3型及び7型)及びエコー1型と、多様なウイルスが検出された(Fig. 2)。

3) 本市におけるヘルパンギーナの流行は、今年は28週(7月)をピークとして、5月から9月に起こり、流行の規模も前年なみであった。この時期の本疾患患者からはコ

クサッキーA 4型、コクサッキーA 5型、コクサッキーA 10型、コクサッキーB 2型が検出された(Fig. 3)。

4) 本市における本年の無菌性髄膜炎の患者発生数は7月に急上昇し、8月にピークに達した後減少し続け、12月には終息した。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A群、コクサッキーB群、エコー群及びサイトメガロと多様であるが、特にエコー30型は検出数が最多で、ほとんど患者髄液からの検出であり、後半の流行の起因ウイルスだったと思われる(Fig. 4)。

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、全例が哺乳マウスで検出されたほか、一部はRD-18Sでも検出された。コクサッキーBはFLの他にVeroやHEp-2でも検出されたが、本年は哺乳マウスからの検出例はなかった。エコーは全例がRD-18Sで検出されたが、30型はFLでも多数検出された。アデノは全例FLで検出されたが、一部RD-18S、HEp-2、Veroでも分離された。単純ヘルペスはFL、RD-18S、WI-38、HEp-2、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、B型は、すべてMDCKで分離された。RSはFLのほか、1例はVeroでも検出された。サイトメガロはPCR法による遺伝子検出であり、培養細胞からは分離されなかつた。ロタはすべてEIAにより抗原検出された(表4)。

平成9年1月～12月

表4 検出方法別病原ウイルス検出状況

検出ウイルス	検体の種類						検出 株数	培養細胞					哺乳 マウス			
	糞便 ぬぐい液	咽頭 ぬぐい液	膣液	尿	歯肉	皮膚病巣 ぬぐい液		F L	RD-18S	WI-38	HEp-2	Vero	MDCK	E I A	P C R	
コクサッキーA 2型	4		1			1	5		2					5		
コクサッキーA 4型	1	11	1	1		1	15		4					15		
コクサッキーA 5型	1	1					2							2		
コクサッキーA10型	2						2							2		
コクサッキーB 2型		1					1	1				1				
コクサッキーB 3型	1						1	1			1					
コクサッキーB 5型	1						1	1			1					
エコー1型		1					1		1							
エコー18型			1				1		1							
エコー25型	1						1		1							
エコー30型	3	3	7	1			14	11	14							
アデノ1型	2	1					3	3			1	2				
アデノ2型	1	1					2	2			1					
アデノ3型		2					2	2			1					
アデノ5型	2	1					3	3			1					
アデノ7型		3					3	3								
アデノ19型		1					1	1								
アデノ35型			5				5	5	2		1					
アデノ40/41型	2						2	1						2		
単純ヘルペス1型		1		1			2	2	2	1	1	2		2		
サイトメガロ			15				15							15		
ロタ	4						4							4		
インフルエンザA (H3N2)型		1					1					1				
インフルエンザB型(ワクチン様株)	3						3					3				
インフルエンザB型(変異株)	7						7					7				
R S		3					3	2			1					
合計	19	47	9	23	1	1	100	38	27	1	8	6	11	26	6	15

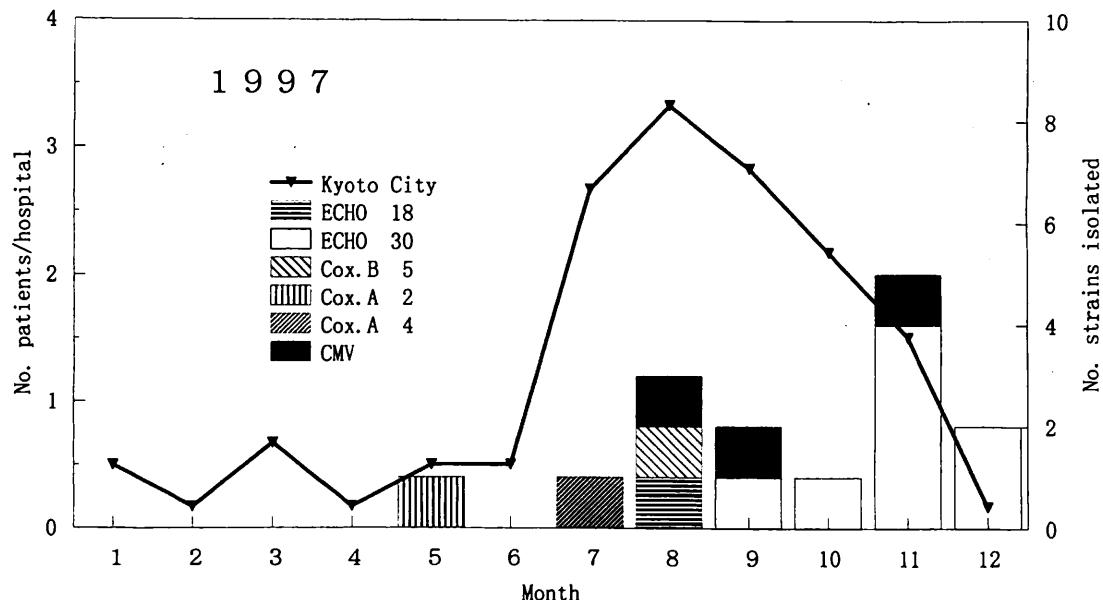


Fig.4. Seasonal prevalence of patients with aseptic meningitis, and monthly isolation of viruses from patients with the disease.

IV 考察

1. 年頭のインフルエンザ流行は前年末に引き続いた形で、A (H3N2)型にB型が混合した流行であった。この流行が2月にいったん急減した後、再びB型の小さな流行がみられ、その後も徐々に減少しながら長期にわたって流行が長引いた。これは、この時期にワクチン株と異なるB型の変異ウイルスが流行していたため、この変異型は4月から7月に至るまで検出された。

インフルエンザワクチンが予防接種法の対象疾病から外れ、ワクチン接種率が極端に低下している現状では、各流行型に対する市民の抗体保有率は低いと考えられ、本年のような複数の型による長期にわたる流行は今後も起こる可能性が高い。このような状況下で、インフルエンザウイルスに起因する脳症や、インフルエンザが引き金となる肺炎等の重篤な疾患の発生が報道され、インフルエンザウイルスが危険な病原体であるという認識がようやく一般に定着しつつある。更に、新型インフルエンザウイルスの出現に対する危惧は、香港におけるA (H5N1)型の出現とヒトへの感染（死亡例を含む）により現実となった感がある。

したがって、インフルエンザ患者発生と流行ウイルス型とを、迅速かつ的確に把握するサーベイランス体制は、インフルエンザの流行を阻止するために、今後ますます重要なになる。

2. 本市独自の対象疾患の一つである夏かぜ様疾患は7、8月をピークとして長期にわたり流行した。本年も同疾患患者からはコクサッキーA、アデノ及びエコーといった多種類のウイルスが検出された。主流ウイルスは年毎に異なり、病原性の高いウイルスの場合は、髄膜炎など重症の疾患に至る可能性もあり、流行時のウイルス学的検索は重要な情報を与える。

3. 本年のヘルパンギーナ患者からはコクサッキーA 4型、A 5型、A 10型、B 2型の4型が検出された。これらの検出状況と本市におけるヘルパンギーナ患者発生状況とはよく符合しており、本市ではこれら複数のウイルスによる流行があったと思われる。全国の本疾患からの病原体検出状況をみても、コクサッキーA 4型、A 2型、A 10型、A 5型、コクサッキーB 2型の報告例が上位を占め²⁾、本市同様、複数のウイルスによる流行の起こったことがうかがえる。

4. 本年の本市における無菌性髄膜炎の流行は7月に急増し、8月をピークとして11月まで引き続いたことが患者情報により示されている。本年の本疾患患者からは合計6種のウイルスが検出されたが、そのうちエコー30型が最も多かった。エコー30型はほとんどが髄液から検出され、ウイルス検出状況から、同型による流行は秋季を中心に起こったと判断される。前回のエコー30型の流行は、平成2年を中心とした3年間の全国的大流行であった。本年の全国の

無菌性髄膜炎からのエコー30型検出数も極めて多く³⁾、したがって、今回の流行に対しても今後の推移を監視する必要がある。

5. 腸管出血性大腸菌O157の全国的な流行の中で、法定伝染病事例としては大量の検査を実施したが、サーベイランスとしては下痢症患者は例年と比較して特に多いことはなかった。病原性大腸菌検査の重要性を考慮するならば、今後、より多くの下痢症患者検体を入手できるよう努めたい。

6. 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る。また、感染症サーベイランスにおいても、迅速な実験室診断が要請される傾向は年々強まっている。本年は検出率と迅速性の向上をめざして、一部の病原体についてPCR法による病原体遺伝子検出技術を導入した検査を行った。患者あたり病原体検出率は約40%で前年と同程度であったものの、従来法に比べ迅速性が極めて向上した検査もあり、治療や防疫に寄与できると思われる。したがって、病原体検出率と迅速性を向上させるため、PCR法をはじめとした技術的検討を更に推進する必要がある。

V まとめ

1. 被検患者238人中95人(39.9%)から病原体を検出した。ウイルスでは被検患者238人中83人から、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、RS、ロタ、ヘルペス、サイトメガロの計90株が検出され、検出率は34.9%であった。

細菌では被検患者 145人中14人から、病原性大腸菌、

A群、B群及びG群溶血性連鎖球菌、綠膿菌、黄色ブドウ球菌及び肺炎球菌の計14株が検出され、検出率は9.7%であった。

2. 疾病別病原体検出率は、疾患の種類により違いがみられた。インフルエンザ様疾患、ヘルパンギーナ、溶連菌感染症、気管支炎・肺炎、出血性膀胱炎等で50%以上と高く、感染性胃腸炎、夏かぜ様疾患、感染性髄膜炎、扁桃炎、急性上気道炎等ではこれらに次いで高かった。

3. ウィルスでは、1月から7月の長期にわたって、インフルエンザ様疾患等からインフルエンザウイルスA(H3N2)型及びB型を、また、3月及び11月に感染性胃腸炎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、ヘルパンギーナ、夏かぜ様疾患、感染性髄膜炎等の患者から検出した。特に、秋季のエコー30型の流行が著しかった。アデノは散発的に検出されたが、夏季及び冬季にやや多くみられた。

4. 年齢層別のウイルス検出率は1～4歳、5～9歳が40%前後で、他の年齢層は20%台とやや低かった。検出ウイルスの種類も1～4歳が17種50株、5～9歳が11種27株と多かった。検出ウイルスが3種7株と比較的少なかった0歳を除けば、低年齢層から多様なウイルスが検出された。

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，(60)，65-74 (1994)
- 2) 木村三生夫：臨床とウイルス 26(1), 61-74 (1998)
- 3) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，19(5):21 (1998)

平成9年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 1997

Abstract : Epidemiological studies on Japanese encephalitis virus in Kyoto City were carried out in 1997. Number of *Culex tritaeniorhynchus*, a vector mosquito of JE virus, captured with light traps in a pig shed was 68 per trap at most in the summer season. JE virus could not be isolated from the mosquitoes. The swine reared in the pig shed were confirmed to have acquired HI antibody with vaccination conducted prior to the epidemic season. HI antibody titers 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. A survey on HI antibody against JE virus in 330 adult inhabitants showed that the positive rate of HI antibody was 70.3 %.

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。

京都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. ウィルス侵襲状況調査
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、市南部鴨川下流域の養豚場の多い地域で各種野外調査を継続実施しており、平成9年についてもこ

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16日から9月16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16日から9月16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。この豚舎では、ワクチン接種を7月2日に、追加接種を7月28日に実施している。そこで、接種前の7月1日から接種後約3か月の10月10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246名であり、高齢者は老人施設の入所者84名である。

抗体価測定方法は前報^{1,2}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数が少ないと見られた。

コガタアカイエカは7月下旬、8月中旬及び9月上～中旬に低いピークがみられるものの、最高でも9月中旬のトラップ当たり68個体であり、シーズンを通じて低密度のまま推移した。総採集数は、最近5年間で見ると最も少なかった。

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)。

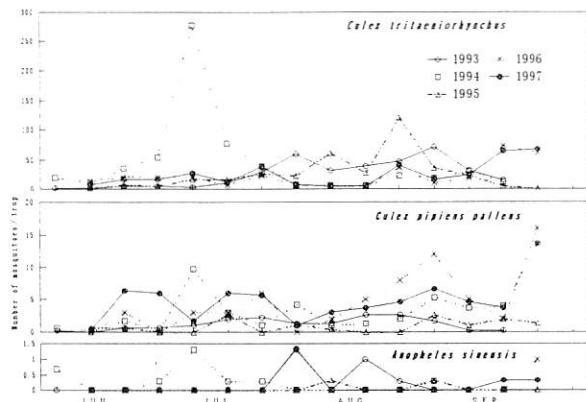


Fig.1 Number of mosquitoes collected with light traps in a pig shed situated in the suburbs of Kyoto City in 1997

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。

本年夏季の気温についてみると、6月は高温であったが、7月中・下旬から低温傾向が続き、8月中旬以降再び高温傾向となった。一方、降水量は、6月下旬の季節はずれの台風に伴う風雨、7月中旬の長雨及び、7月下旬の再度の台風による風雨が目立っている。更に8月5日には173.5 mmという大量の日降水量が記録されている。7月～8月の低温傾向は、蚊の発生を遅らせる方向に働いたと考えられ、また、蚊の増殖期である6月、7月の強い風雨や、8月の大暴雨は、むしろ蚊の増殖にマイナス要因として働いたと思われる。

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ことが知られている³。本市農林

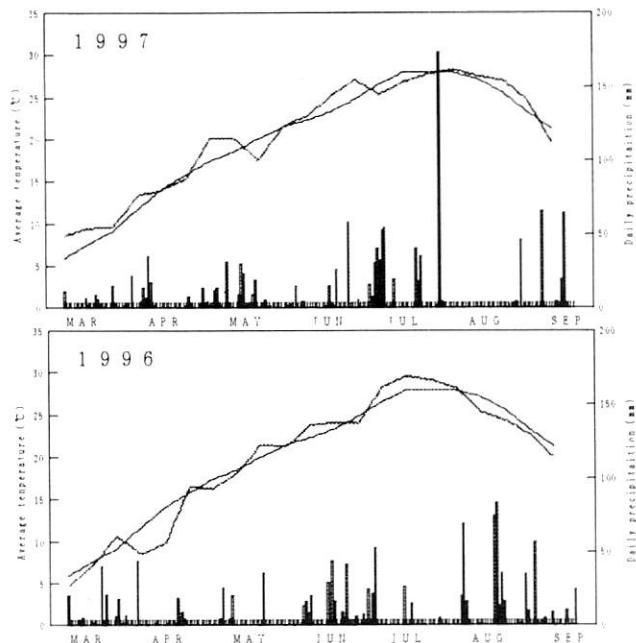


Fig.2 Seasonal changes of temperatures and precipitation in Kyoto City in 1996 and 1997

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.

統計資料によれば、伏見区及び南区の水稻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。

したがって、主としてこれら人為的変化に伴う蚊発生環境の減少と気象要因とが複合して作用した結果、蚊の発生は盛夏に至っても増加せず、低調のまま推移したものと思われる。

2. 豚舎内採集吸血蚊のウイルス感染率

6月16日から9月16日の毎週1回、計14回に採集した吸血蚊277個体、56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5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。

表1 豚舍内採取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9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16日	18	5 3	3 1	0 0	0.0
6月23日	14	5 4	2 1	0 0	0.0
6月30日	11	6 5	1 1	0 0	0.0
7月7日	29	5 4	5 1	0 0	0.0
7月14日	1	1	1	0	0.0
7月22日	38	10 8	3 1	0 0	0.0
7月28日	13	5 3	2 1	0 0	0.0
8月4日	13	5 3	2 1	0 0	0.0
8月11日	4	4	1	0	0.0
8月18日	43	5 3	8 1	0 0	0.0
8月25日	15	5	3	0	0.0
9月1日	17	5 2	3 1	0 0	0.0
9月8日	8	4	2	0	0.0
9月16日	53	5 3	10 1	0 0	0.0
計	277	-	56	0	0.0

3. 飼育豚の抗体

MY豚舍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頭のうち多くの豚が抗体陰性であった。接種後約1か月で多くの豚が20~40倍の抗体を保有する傾向にあり、ワクチン抗体が獲得されていた。しかしながら、これ以降9月中旬に至っても多数の豚はワクチン抗体のレベルのままであり、自然感染によると思われる抗体上昇は9月下旬以降に一部の豚でようやく認められたのみであった。京都府内では9月中旬に日本脳炎汚染地域となっているものの、京都市においては豚に広く自然感染を起こさせるに十分なウイルス保有蚊の発生はなか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9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≤
7月1日	1日前	20	16	2	2	-	-	-	-	-
7月10日	8日後	5	3	-	1	1	-	-	-	-
7月17日	15日後	5	4	1	-	-	-	-	-	-
7月24日	22日後	5	4	-	-	1	-	-	-	-
7月31日	29日後	5	1	-	2	2	-	-	-	-
8月7日	36日後	5	2	-	2	1	-	-	-	-
8月14日	43日後	5	3	-	1	1	-	-	-	-
8月21日	50日後	5	-	-	3	2	-	-	-	-
8月28日	57日後	6	1	-	3	2	-	-	-	-
9月4日	64日後	5	2	1	-	2	-	-	-	-
9月11日	71日後	5	3	2	-	-	-	-	-	-
9月18日	78日後	5	1	-	2	2	-	-	-	-
9月25日	85日後	5	2	-	1	-	2	-	-	-
10月3日	93日後	5	1	2	-	-	1	1	-	-
10月10日	100日後	5	-	-	1	2	-	-	-	2

表3 成人と高齢者の日本脳炎HI抗体価分布

平成9年度

対象	施設名	計	抗 体 価							
			<10	10	20	40	80	160	320	640
成人		246 100.0	70 28.5	44 17.9	51 20.7	43 17.5	23 9.3	9 3.7	6 2.4	- 0.0
	K %	44 100.0	14 31.8	4 9.1	9 20.5	8 18.2	5 11.4	1 2.3	3 6.8	- 0.0
高齢者	R %	40 100.0	14 35.0	4 10.0	8 20.0	3 7.5	6 15.0	3 7.5	1 2.5	1 2.5
	計 %	84 100.0	28 33.3	8 9.5	17 20.2	11 13.1	11 13.1	4 4.8	4 4.8	1 1.2

注) 上段は人数を、下段は割合(%)を示す

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71.5%，高齢者は66.7%であり、成人、高齢者ともに比較的良好な抗体保有状況であると言える（表3）。

過去の調査結果³によると、高齢者は成人よりも常に高い抗体保有率を示していたが、平成7年以降、両者の間に、抗体保有率に差がなく、今回も同様な結果が得られた。これは高齢者が近年ほとんどワクチンを接種しないために抗体保有率が低下する傾向にあるのに対して、成人は小児時にワクチンを接種していることが多く、成人の抗体保有率は一定の水準を保つ傾向にあり、この両者の保有率の推移が今回の結果に影響しているものと思われる。

また、高齢者の施設別の抗体保有率には差がみられなかった。

IV まとめ

1. 京都市における平成9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、全般に低レベルで推移し、総採集数はここ5年間で最も少なかった。
- 2) MY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。その後遅い時期に一部の豚で自然感染による抗体上昇がみられたものの、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9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、豚のウイルス感染もほとんど起こらなかつたためと思われる。

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71.5%，高齢者は66.7%，平均すれば70.3%と良好であり、前年の成績と同様なレベルにあった。

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. Publ. Health 7, 61-71 (1976)
- 3) 京都市衛生公害研究所 微生物部門：同研究所年報，No. 61, 89-92 (1995)

京都市の池沼の酸性化調査について

環境部門

Survey of pond water acidification in Kyoto City

Abstract : Variations in the water acidity were surveyed in 16 ponds including Sawanoike in Kyoto in order to estimate the effect of acid rain on the pond water quality.

The results were as follows;

- (1) The pH values of several ponds were relatively low. However, their RpH (Reserve pH) values were stable at approximately 7, except for Sawanoike.
- (2) There was little difference in the concentration of Cl⁻ in most of the ponds surveyed, but the concentration of Ca²⁺ and SO₄²⁻ varied remarkably among these ponds.

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

I はじめに

酸性雨が河川や湖沼に及ぼす影響については、特に北ヨーロッパやカナダで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測されているが、酸性雨による顕著な被害は現在のところ現れていない。

しかし、栗田等¹⁾は、中部山岳地域の酸性岩を基盤とする河川の上流域で河川、湖沼のpHが経年的に低下の傾向にあると報告している。

したがって、酸性雨による陸水の酸性化は、今後顕在化していく可能性もある。

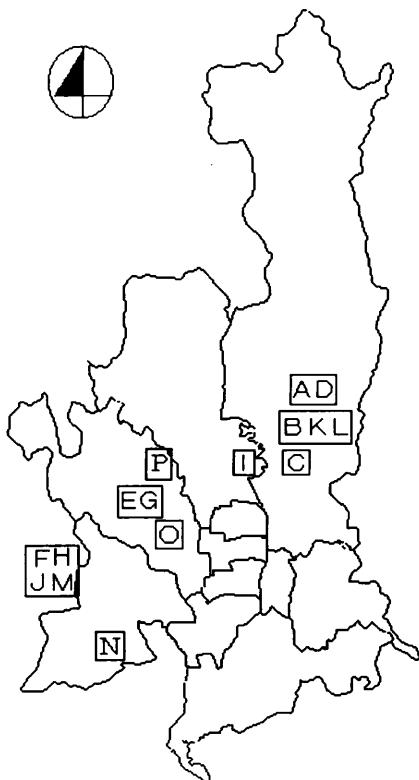
当所では、酸性雨の池沼に与える影響を調べるため、京都市右京区にある「沢の池」において継続して水質およびプランクトンのモニタリング調査を実施してきた^{2), 3)}。

その結果、「沢の池」は低緩衝能の集水域を持ち、pH、電気伝導度(EC)、アルカリ度が低い池沼であることが判明した。

一般に、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、酸性化しやすいと考えられている。

今回あらたに、ECが100 μS/cm以下と低く、人為汚染の少ない池沼を対象とし、酸性雨による影響の実態調査を行い、「沢の池」と比較検討を行ったので報告する。

深泥池、宝ヶ池、菖蒲谷池(菖蒲谷小池を含む)は、京都市を代表する池沼である。それ以外の池沼は比較的山間部にあり、灌漑用水池として造られた池沼が多い。



II 調査方法

1. 調査池沼

図1は調査池沼の位置を京都市の区分地図上に示したものである。また、これらの池沼の概要を表1に示した。

図1 調査池沼の位置

(ただし、A～Pは表1の池沼名を示す。)

表1 調査池沼の概要

池記号	池沼名	池面積 (ha)	深さ (m)	代表的地質
A	八幡池A	0.1	2.7	チャート, 砂岩
B	下はぶ池	0.4	3.1	チャート
C	宝が池	7.6	3.0	チャート
D	八幡池B	0.1以下	1.7	チャート, 砂岩
E	菖蒲谷池	3.4	5.1	頁岩
F	上寒谷池B	0.9	4.1	砂岩
G	菖蒲谷小池	0.3	5.4	頁岩
H	上寒谷池A	0.8	4.8	砂岩
I	深泥池	9.0	2.3	チャート
J	奥の谷池	0.3	5.5	チャート, 砂岩
K	上はぶ池	0.2	0.5	チャート
L	中はぶ池	0.1	1.6	チャート
M	中畑池	0.1	5.0	チャート, 砂岩
N	薬師谷池	0.3	5.0	疊, 砂, シルト
O	井上造園池	0.1以下	2.5	チャート, 砂岩
P	沢の池	4.1	4.3	チャート

2. 調査期間

調査は1997年10月から1998年6月にかけて行い、比較的天候の安定している時期に、各1~2回湖心に近い表層水を採取した。なお、2回測定した池沼については、その平均値を調査結果として用いた。

また、沢の池については毎月1回採水した。

3. 調査方法

測定項目は、pHとイオン組成である(表2)。分析方法は既報³⁾による。なお今回新たに測定項目に加えたRpHは、検水を10~15分間通気した後に測定したpHの値である。

表2 測定項目一覧

測定項目
pH, RpH, 電気伝導度 (EC), アルカリ度
Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^-
Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}

III 調査結果と考察

1. 京都盆地を中心とする地質

陸水域の酸性雨による影響は、その流域や池沼の地質や土壤の性質が大きく影響している。京都盆地の周辺部の東山、北山、西山には主に丹波層群の砂岩、頁岩、チャート、緑色岩等が分布している。花崗岩類は大文字山等に見られるが、全体としては少ない。それらを覆うように南西部の

西山丘陵、南東部の深草地域や宇治丘陵等では、大阪層群と呼ばれる第四紀の地層がある。

今回調査を行なった深泥池は、氷河時代以来の動植物が現在でも存在することで貴重な存在であり、国の天然記念物に指定されている。

2. pHとRpH

地下水には、その形成される過程で、土壤中の微生物の活動で生じた二酸化炭素が過剰に溶け込んでいるため、pHが低く測定されることがある。したがって、池沼のpHが低く測定された場合であっても、湧水(地下水)の影響のある池沼では、大気中の二酸化炭素と平衡にあるpH(RpH)を測定することによって、酸性雨の影響による酸性化であるのかどうかを知ることができる。

図2に調査池沼のpHとEC、アルカリ度の関係を示した。この図から、EC、アルカリ度が低い池沼ほどpHも低くなる傾向のあることが分かる。図3は、調査池沼をpH値の高い順に並べ、それぞれのpHとRpHを直線で結んだものである。これを見るとpHが低い値であっても、RpHは沢の池以外の池沼では中性近くになっており、これらの酸性化は酸性雨ではなく二酸化炭素によるものであると考えられる。

沢の池の1997年度のpHおよびRpHの経月変化を図4に示した。図3および図4から、沢の池は他の池沼と異なり、そのpHとRpHの差が少ないと特徴として認められる。

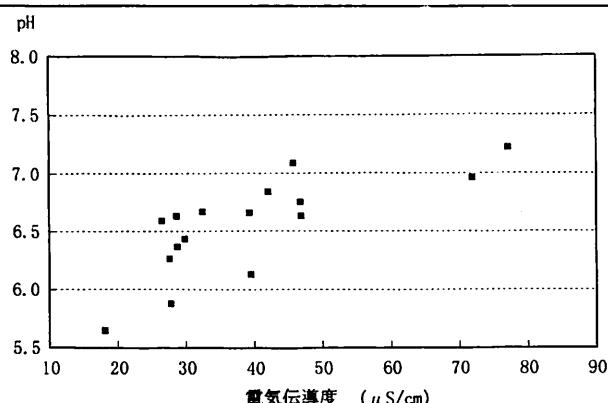


図 2-1 pHとECの関係

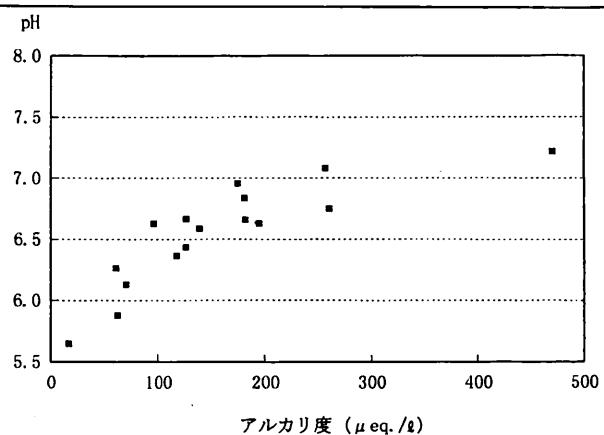


図 2-2 pHとアルカリ度の関係

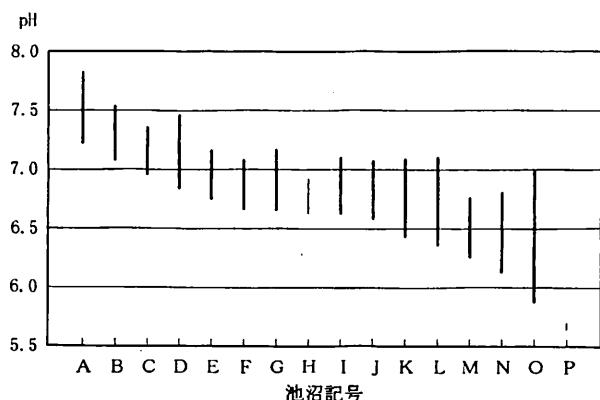
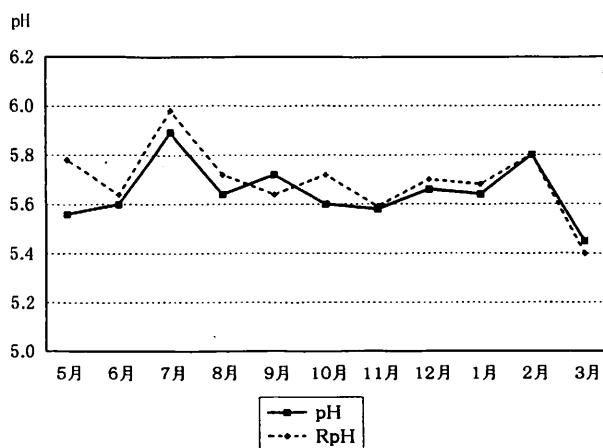


図 3 調査池沼のpHとRpH

図 4 沢の池のpHとRpH
(測定期間：1997年5月～1998年3月)

3. 調査池沼のイオン組成

調査池沼は人為的な汚染要因が少なく、それぞれの池沼の地質や土壤の性質がイオンの濃度に大きく影響しているものと考えられる。

今回の調査池沼の主要イオンの濃度をイオン別にプロットして示したのが図5である。この図から、調査池沼ごとの値のばらつきの小さいイオンは Cl^- であり、大きいイオンは、 Ca^{2+} 、 SO_4^{2-} の各イオンであることが認められる。また、いずれの池沼でも NO_3^- および K^+ の濃度は低かった。

鶴見等⁴⁾によると Cl^- はその主な起源が海塩であり岩石中にはわずかしか含まれず、 SO_4^{2-} は岩石の風化に由来する。特に、大阪層群の海成粘土は SO_4^{2-} を溶出し酸性を示す⁵⁾。

調査池沼のうち、N（薬師谷池）は大阪層群に位置している。この池沼の SO_4^{2-} の濃度は、 6.15mg/l と他の池沼と比較して高く、地質の影響を受けているものと考えられる。

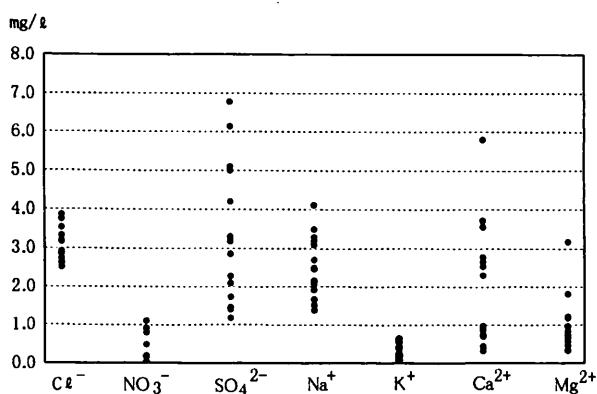


図 5 主要イオンの濃度分布 (mg/l)

IV まとめ

湖沼の酸性化の要因には、①火山性、②腐食性、③酸性雨の影響などが考えられるが、このほか、二酸化炭素が過剰に溶け込んでいることで酸性化している場合も認められる。

今回、人為汚染が少なく、ECが低くなおかつ火山性または腐食性による酸性化のない池沼を対象に選び、酸性雨による影響の実態調査を行った。調査池沼の中にはpHの低い池沼が存在したが、Rphは沢の池を除き、ほぼ中性近くになっており、その酸性化は二酸化炭素によるものと考えられる。沢の池は、pHとRphの差が小さかった。

イオン組成は、 Cl^- については池沼ごとの値の差が小さく、 Ca^{2+} 、 SO_4^{2-} についてはその値にばらつきが認められた。

V 文献

- 1) 粟田秀美、堀順一、浜田安雄、植田洋匡：
大気汚染学会誌、No.28、308-314 (1993)
- 2) 京都市衛生公害研究所 環境部門：同研究所年報、
No.60、125-130 (1994)
- 3) 京都市衛生公害研究所 環境部門：同研究所年報、
No.62、95-99 (1996)
- 4) 鶴見実、一國雅巳：環境科学会誌、2, 9 - 16(1989)
- 5) 市原実：大阪層群、280、創元社

沢の池堆積物中の珪藻類のpH適応性に関する予備的検討について

環境部門

Estimation of pH preferences of sedimentary diatoms appeared in Sawanoike Pond

Abstract : The relation between relative abundance of surface sediment diatoms and pond-water RpH (air equilibrated pH) was preliminarily studied in 49 ponds around Kyoto. The ponds ranged in RpH from 5.09 to 7.83. The pH categories determined for most of diatom species appeared in Sawanoike Pond agreed fairly well with those reported from Europe and North America. However, *Fragilaria cf. nanana* which occurs in the literature as pH indifferent species, was categorized as acidophilous in this study. *Cymbella palustris*, ecological characteristics of which were not reported to our knowledge, was also assigned to acidophilous species. It is considered to be valuable to prepare diatom/lake-water chemistry data-set to infer past water pH for Japanese lakes and ponds.

Key Words : 硅藻 diatom, pHカテゴリー pH category, 堆積物 sediment, 沢の池 Sawanoike Pond

I はじめに

欧米では、酸性化した湖沼のpHの変遷を推定する目的で、湖沼堆積物中の珪藻種組成とpHとの関係に基づいた各種のpH推定方式が提案されてきた。当所では沢の池について、堆積物中の珪藻種組成の変遷についての予備的な調査を行い、出現珪藻類のpH適応性に関する各カテゴリーの構成比率の変遷についても報告した¹⁾。出現珪藻の各pHカテゴリーは欧米の文献から判断したが、その帰属が不明の種が多くあった。また何よりも、参考にしたデータが、沢の池の集水域の環境と類似した日本の湖沼群を用いて作成されたものでないために、pH自体の変化を推定することはとうてい不可能であった。ところで、近畿東海地方には非常に多くのため池があり、特に水生植物についての詳しい報告^{2) 3)}がある。それらの文献には、導電率が低く、かなり広いpH範囲の池沼群の例が紹介されている。

この報告では、京都市域を中心とした池沼群について堆積物表層の珪藻類の種組成と水質とのデータセットを作成し、沢の池のpHの変遷を推定する方式を構築するための、予備的な検討を行った結果について述べる。

II 方法

1. 調査対象池沼と試料の採取

Table 1に示した池沼は、標高500m以下の低地、丘陵地にあり、10ha以下の面積の、近畿東海地方に典型的なため池である。水田からの流入や若干の施設が集水域周辺に

見られる地点も一部にあるが、いずれも山林が主体であり全体として汚染の流入が少ない池沼が選択されている。

試料は、平成9年4月から平成10年5月の期間に、各池から1回採取した。京都市域の池沼の表層水（水深30cm）については、最深部付近で採取し、堆積物については、その地点でエクマンバージ採泥器を用いて得た試料から、厚さ約1cmの表泥を採取した。その他の地点では、岸から約5m付近の表層水、および岸付近の約50cmの深さの部分の砂泥を採取した。

2. 分析

珪藻分析は試料をNagumo⁴⁾の方法に基づき前処理をした後、1000倍の倍率で検鏡して行った。種の同定は、Krammer & H. Lange-Bertalot⁵⁾、Cleve-Euler A.⁶⁾に基づいた。各水質項目はpH、空気平衡pH（RpH）、アルカリ度、導電率の測定を行った。これまで報告された珪藻類のpH適応性については、Dixit A.S. et al.⁷⁾、Findlay D.L. et al.⁸⁾、Van Dam H. et al.⁹⁾、Stevenson A.C.¹⁰⁾、Hakansson S.¹¹⁾、渡辺仁治等¹²⁾、Dixit S.S¹³⁾を参考にした。

III 結果および考察

Table 1に池沼群の水質とその平均値、最大値、最小値を示した。調査の目的が珪藻類のpH適応性を明らかにすることであることから、pH、アルカリ度以外の測定値の変動幅はなるべく小さくなるように、対象池沼を選択する必要がある。ここで示した試料群では、導電率は平均値

Table 1 Selected geographical and physical data with water chemical characteristics of 49 study ponds

Pond No.	Location of ponds Longitude (E), Latitude (N)	Surface Area (ha)	Elevation (m)	Water Depth (m)	pH	RpH	Alkalinity (μeq/l)	Conductivity (μS/cm)
1	Kyoto : 135° 42' , 35° 3'	4.1	371	4.8	5.52	5.60	16	19
2	Kyoto : 135° 48' , 35° 5'	0.1	178	2.7	7.22	7.82	470	77
3	Kyoto : 135° 48' , 35° 5'	0.1	176	1.5	6.84	7.46	181	42
4	Kyoto : 135° 48' , 35° 4'	0.4	136	3.1	7.26	7.42	123	47
5	Kyoto : 135° 48' , 35° 4'	0.1	138	1.6	6.58	7.13	58	31
6	Kyoto : 135° 48' , 35° 4'	0.2	140	0.7	6.55	7.15	67	31
7	Kyoto : 135° 47' , 35° 3'	7.1	98	3.5	6.96	7.36	175	72
8	Kyoto : 135° 46' , 35° 3'	9.0	79	1.5	6.63	7.10	195	47
9	Kyoto : 135° 41' , 35° 2'	3.4	175	5.1	6.75	7.16	261	47
10	Kyoto : 135° 40' , 34° 56'	0.3	110	5.0	6.04	6.48	45	40
11	Kyoto : 135° 36' , 34° 58'	0.1	405	5.0	6.25	6.99	47	25
12	Kyoto : 135° 36' , 34° 58'	0.3	371	5.0	6.47	6.73	158	37
13	Kyoto : 135° 36' , 34° 58'	0.8	260	4.8	6.63	6.92	96	29
14	Kyoto : 135° 36' , 34° 58'	0.9	270	4.1	6.67	7.08	127	33
15	Kyoto : 135° 41' , 35° 2'	0.1	64	2.5	5.93	6.57	55	26
16	Kyoto : 135° 39' , 34° 57'	1.5	85		7.55	7.76	685	103
17	Kyoto : 135° 42' , 34° 58'	0.2	60		6.06	6.12	75	91
18	Kyoto : 135° 42' , 34° 58'	0.2	60		6.03	6.21	83	97
19	Aichi : 137° 7' , 35° 16'	0.2	225		6.45	6.32	62	24
20	Aichi : 137° 7' , 35° 16'	0.1	215		6.05	6.18	35	28
21	Aichi : 137° 7' , 35° 16'	0.1	210		6.40	6.60	88	32
22	Aichi : 137° 6' , 35° 16'	0.1	195		6.25	6.55	85	21
23	Aichi : 137° 4' , 35° 16'	0.1	75		5.87	5.99	30	32
24	Aichi : 137° 4' , 35° 16'	0.1	90		5.32	5.32	13	30
25	Aichi : 137° 7' , 35° 16'	0.05	125		5.90	6.50	119	37
26	Aichi : 137° 5' , 35° 18'	0.1	275		5.68	6.45	43	24
27	Aichi : 137° 1' , 35° 20'	0.1	155		6.07	6.46	45	24
28	Aichi : 137° 1' , 35° 20'	0.1	170		5.98	6.23	35	21
29	Aichi : 136° 59' , 35° 21'	0.3	90		4.97	5.09	6	23
30	Aichi : 136° 59' , 35° 21'	0.1	80		5.18	5.26	11	17
31	Aichi : 136° 59' , 35° 21'	0.1	80		5.49	5.76	23	24
32	Aichi : 136° 59' , 35° 22'	0.1	85		5.12	5.33	13	50
33	Aichi : 136° 59' , 35° 22'	0.1	105		4.83	5.17	2	19
34	Aichi : 137° 0' , 35° 22'	0.1	130		5.13	5.63	13	16
35	Aichi : 137° 0' , 35° 22'	0.1	130		5.08	5.37	11	16
36	Aichi : 136° 59' , 35° 23'	0.1	100		5.14	5.58	13	28
37	Aichi : 136° 59' , 35° 24'	0.1	120		5.74	6.54	75	25
38	Aichi : 137° 7' , 35° 16'	0.1	125		5.82	6.17	31	17
39	Aichi : 137° 7' , 35° 16'	0.1	135		6.05	6.38	42	17
40	Aichi : 137° 7' , 35° 16'	0.1	145		5.62	5.87	25	17
41	Aichi : 137° 11' , 35° 23'	0.3	285		6.19	6.40	38	18
42	Aichi : 137° 11' , 35° 27'	0.2	380		6.51	6.54	63	19
43	Aichi : 137° 11' , 35° 16'	0.2	485		6.60	6.89	65	18
44	Hyogo: 135° 9' , 34° 56'	0.1	230		6.30	6.89	105	57
45	Hyogo: 135° 2' , 34° 54'	0.1	130		6.05	6.23	62	28
46	Hyogo: 135° 13' , 34° 56'	0.1	215		6.41	6.83	129	40
47	Hyogo: 135° 0' , 34° 56'	0.1	85		6.68	6.80	152	86
48	Hyogo: 135° 4' , 34° 53'	1.1	150		5.86	6.31	67	43
49	Hyogo: 135° 10' , 34° 58'	0.1	220		6.38	6.84	137	38
Average		0.5	172		6.10	6.44	93	36
Max.		9.0	485		7.55	7.82	685	103
Min.		0.05	64		4.83	5.09	2	16

Note: Samples of surface water and surface sediment were collected from the point of max. water depth for the ponds numbered 1 to 16. For other ponds, water samples were collected at the point about 5m from the shore, whereas sediments samples were collected at the shore side of about 50cm depth. Samples were collected once between April 1997 and May 1998.

32 μS/cm、最大値で103 μS/cmであり、全体として低レベルである。一方RpHは5.09から7.83までの広い範囲（水素イオン濃度で約560倍の格差）であり、沢の池より低いpHの例も少なくなく、適切な水質分布域を有する試料群であると考えられる。なお、pHとRpHの差は平均で0.34、最大で0.80であり、沢の池など数池沼を除いてかなり大きかった。これは欧米から報告されたデータセットの例と比べた、この地域の池沼の特徴の一つと考えられる。

Fig. 1は、各池沼の堆積物に出現する珪藻類のなかで、沢の池に出現する主要な種のみについて、その出現頻度をそれぞれの池沼のRpHに対してプロットしたものである。湖沼のpHは溶存する遊離炭酸によりかなり低下する例が多いので、酸性雨による湖沼酸性化の研究ではその影響を除いたRpHを用いることが多い。Fig. 1から分かるようにそれぞれの珪藻類の出現頻度は、RpHに対して特徴的な分布を示した。

これまで珪藻類は、pHに対する適応性に基づいて次のようにグルーピング（pHカテゴリー）されてきた。

Acidobiontic species(ACB)：分布が最適pH5.5以下で、

出現する種

Acidophilous species(ACP)：pH7から酸性環境まで広く、
出現する種

Circumneutral species(CIR)：pH7付近で出現する種

Alkaliphilous species(ALP)：pH7からアルカリ環境まで広く出現する種

Indifferent species(IND)：出現する水域のpHが広範囲にわたる種

以下に各カテゴリー毎に、検討した珪藻類の出現状況を述べる。

(1) ACB種

Fig. 1に示した珪藻類の中で、*Navicula subtilissima* (Fig. 1-1: 以下1-1と表記し、他の種についても同様)、*Anomoeoneis serians v. acuta* (1-2)は最も低いpH範囲に分布域があり、欧米で報告されているように、ACB種としてよいと思われる。*Stenopterobia delicatissima* (1-3)はACP種とする報告もあるが、そのプロファイルから、同じくACB種と判断される。他にいくつかの*Eunotia*属の種もACB種とみられるが沢の池では出現頻度が低い。

(2) ACP種

欧米の調査でACPと報告される例が多い*Navicula heimansii* (1-4)、*Anomoeoneis brachysira* (1-8)、*Frustaria rhomboidea* vars. (1-5)、*Eunotia rhomboidea* (1-10)、*Aulacoseira nygaardii* (1-15)、*Aulacoseira alpigena* (1-14)、*Neidium iridis* (1-6)、*Fragilaria exigua* (1-17)など多くの種は、この調査からも

ACPと判断される。*Fragilaria cf. nanana* (1-7)は、沢の池の比較的新しい年代の堆積物中に非常に多い種であるが、これまでの報告ではIND種とされ、最適pHも7以上と報告されることが多い。しかし、沢の池に出現するこの種はFig. 1から明らかにACP種と判断される。L-Bertalot⁵⁾に記載のある*Fragilaria nanana*とくらべこの種は殻長がかなり短く、殻の両端がより明瞭な乳頭状形態を有する。この種については分類学的な詳しい検討と、それぞれの形態による生態学的特質の究明が求められる。沢の池の古い年代の堆積物に多い*Cymbella palustris* (1-9)については、これまで生態学的な特質についての報告に接していなかったが、調査結果からはRpH6.3付近に生育最適域がある(ACP種)と思われる。生態学的な特質の報告に乏しい*Melosira arentii* (1-16)は、この調査でも出現池沼は希である(3池沼)。この種は沢の池の古い堆積層に非常に多く、生態学的な特質の解明が望まれる種である。現時点ではこの種についてはStevenson¹⁰⁾、南雲、小林¹⁴⁾の報告に基づいてACP種とする。

(3) IND種、ALP種

Aulacoseira ambigua (1-19)はALP、IND両方の記載があり、前者の報告が多い。しかし、この調査からはIND種とするのが適切と思われる。*Aulacoseira distans v. tenella* (1-18)は文献にあるようにIND種とするのが妥当と思われる。*Aulacoseira granulata* (1-21)、*Cyclotella stelligera* (1-20)は、IND種、ALP種の判別がFig. 1のプロファイルからは難しい。RpH7.5以上の池沼例が少ないためと思われるが、ここでは文献に従い、前者をALP種、後者をIND種とする。沢の池の主要な出現珪藻類の中では、CIR種と判断される種は見あたらない。

以上述べた珪藻類のpHカテゴリーの判定結果は、欧米から報告された結果と比べて大きく相違するものではない。しかし、沢の池には、*Fragilaria cf. nanana* (1-7)、*Cymbella palustris* (1-9)、*Melosira arentii* (1-16)の例のように、欧米の湖沼ではあまり出現しない、あるいはpH適応性に差異があるかがわれる種も出現する。また、古い年代の沢の池に比較的多く出現するが、この調査では出現例がほとんど無く、欧米からの生態学的な知見の報告も見られない種として*Aulacoseira crassipunctata*がある。これら欧米の文献に記載の少ない珪藻種の光学顕微鏡写真をFig. 2に示した。

Fig. 1のプロファイルの中で、沢の池の珪藻の出現状況(プロット記号: ●)は、同程度のRpHの他の池沼の出現状況とよく似ている。しかし、*Aulacoseira ambigua* (1-19)についてはRpH6.0以下の池沼の中で沢の池が最もその出現

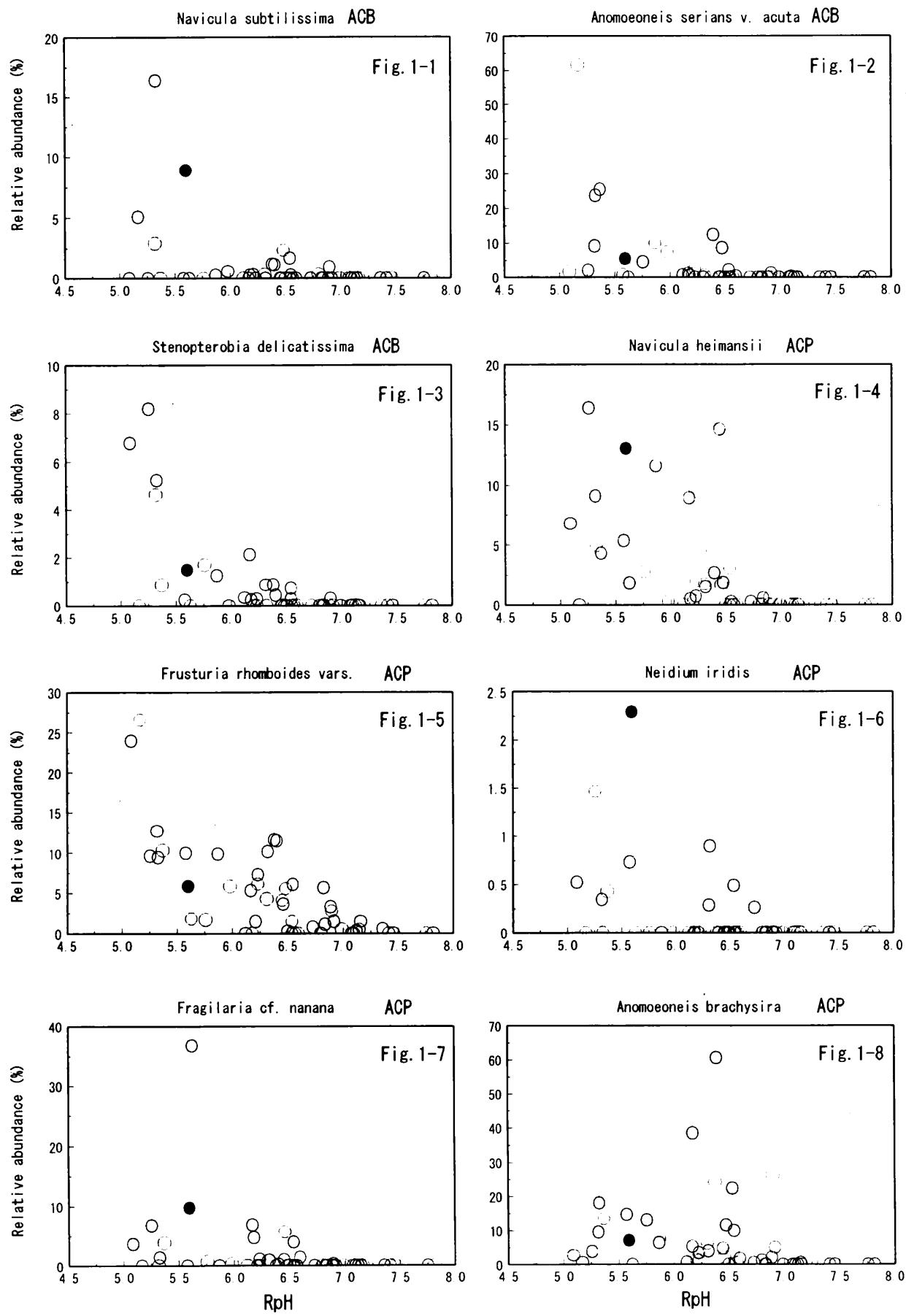
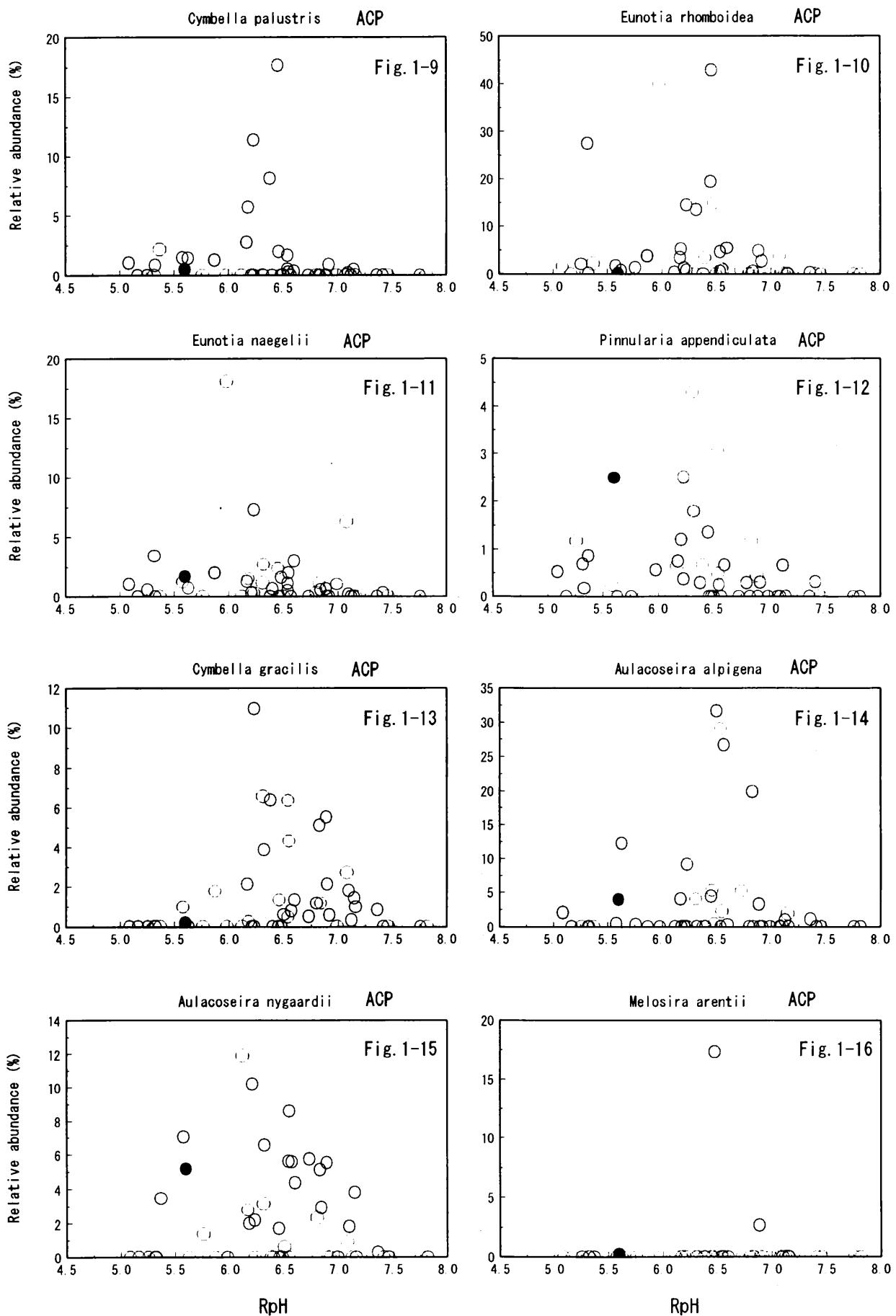
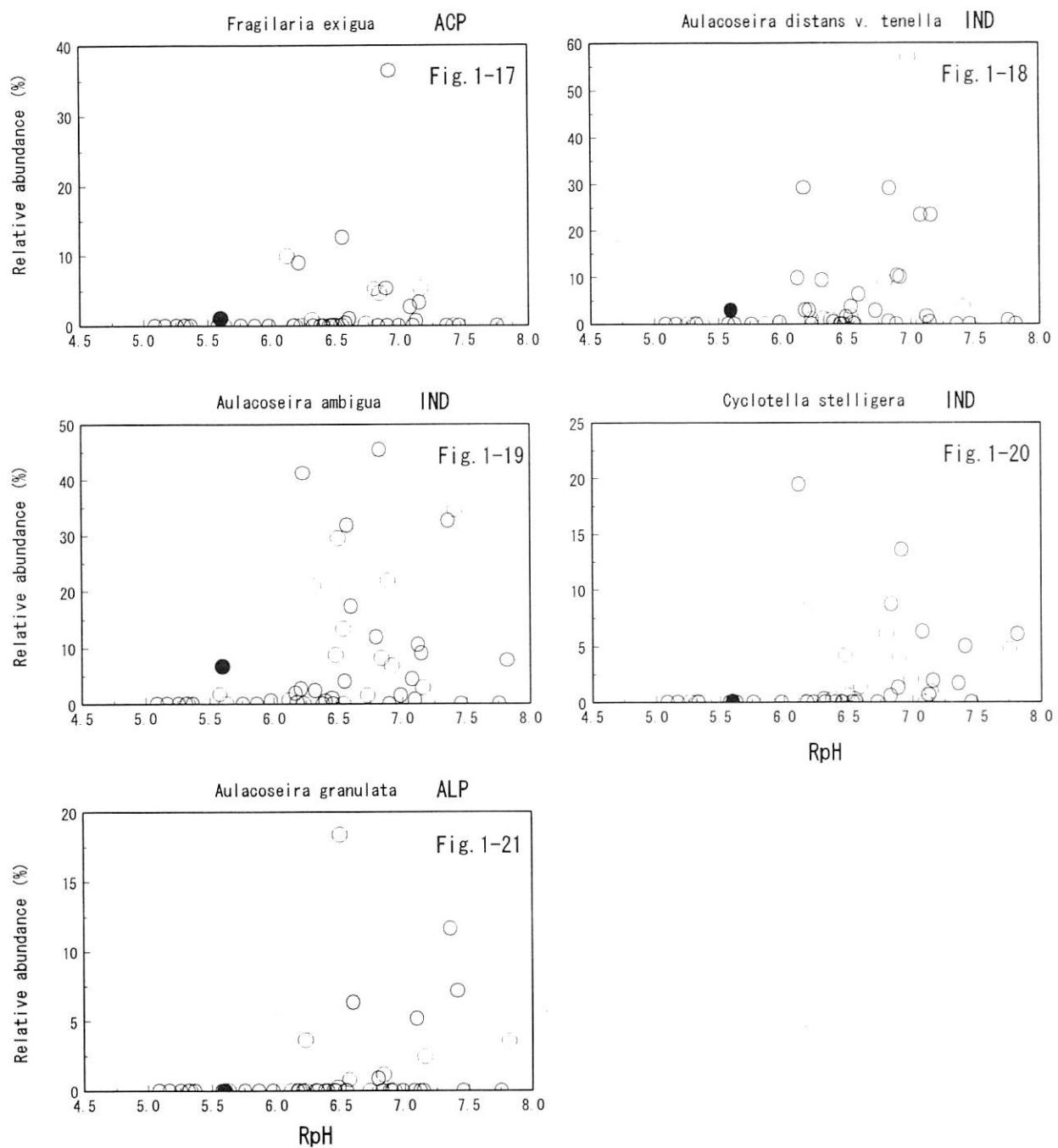


Fig. 1 Scatter plots of selected diatom taxa showing their relative abundances in relation to air equilibrated pH (RpH)

● : Sawanoike Pond

○ : other pond





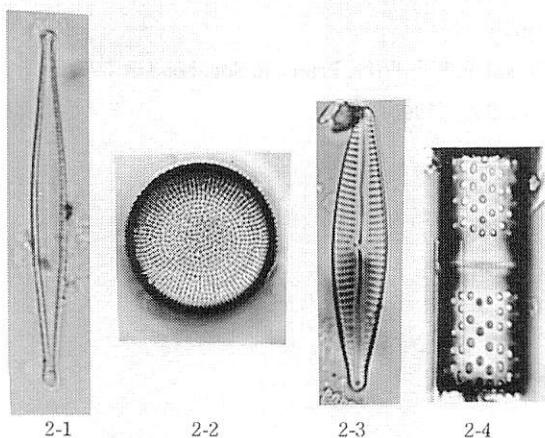


Fig. 2 Light micrographs of selected sedimentary diatoms from Sawanoike Pond. Ecological characteristics of these species are scarcely reported.

- 2-1 : *Fragilaria cf. nanana*
- 2-2 : *Melosira arentii*
- 2-3 : *Cymbella palustris*
- 2-4 : *Aulacoseira crassipunctata*

頻度が高い。ALP種とされることも多いこの種の出現頻度が、ACB種である *Navicula subtilissima* (1-1), *Anomoeoneis serians v. acuta* (1-2) と同程度であることは不自然と思われる。*Neidium iridis* (1-6) が沢の池で特に出現頻度が高い点も特徴的である。これらは、沢の池におけるpH以外の自然環境の特質によると思われる。

各珪藻種について判定したpHカテゴリーはFig. 1に付記した。このデータセットから、出現頻度で重みづけしたそれぞれの珪藻種についての最適pH値を算出することは勿論可能である。しかしこの調査では、池沼で産生する珪藻類を総合的に把握できる地点であるところの、池沼最深部の堆積物表層の珪藻について分析したのは、49例中の16例のみである。また、*Fragilaria exigua*(1-17)のように湖沼の深部でより多く出現するとされる例¹⁵⁾もある。また、水質も多くは1回の分析であり、結果としての最適pH値は十分に正確とはいえない。

沢の池に出現する珪藻類の中では、種類数、出現頻度とともにACP種が最も多いが、Fig. 1のプロファイルから明ら

かのように、同じACP種でもその種類によって最適pH域にかなりの違いが認められる。すなわち、*Navicula heimansii* (1-4), *Frustaria rhomboides* vars.(1-5), *Fragilaria cf. nanana*(1-7) はACP種の中でもより低いpH範囲に、また、*Fragilaria exigua* (1-17), *Cymbella gracilis*(1-13), *Aulacoseira alpigena*(1-14) などは比較的高いpH領域が、それぞれの最適生息域であると思われる。一方 *Anomoeoneis brachysira*(1-8)などは酸性領域の広い範囲に適応する種と判断される。これから明らかなように、pHカテゴリーに基づいたpH推定方式は正確性において十分なものではない。欧米では1990年代以降は、pHカテゴリーではなく、各珪藻それぞれについての最適pH値が、地理学的な特徴に基づくそれぞれの地域単位ごとに作成されたデータセットから、統計学的な解析をふまえた上で導き出されている。しかし、今回の調査結果を踏まえて判定された、沢の池で出現する珪藻類についてのpHカテゴリーを、これまで報告されている欧米の湖沼におけるpHカテゴリーを補う方式で活用し、現時点で、沢の池の酸性度の変遷をより正確に推定するためには有効であろう（別に結果を投稿中）。

今回の予備的調査の結果、低い導電率と広い範囲のpH値を有する対象池沼群には、欧米の酸性化湖沼と共に通の珪藻種も多く認められるとともに、日本の湖沼に特徴的な耐酸性の種も確認された。したがって、湖沼の酸性度の変遷を推定する方式を構築するための基礎資料として、湖沼最深部の堆積物表層の珪藻種組成と広範囲の水質項目についてのデータセットを日本の湖沼群について作成することは、酸性雨による影響を明らかにする観点から有効であると考えられる。

V 参考文献

- 1) 京都市衛生研究所環境部門：同所研究所年報，63, 102-107 (1997)
- 2) 浜島繁隆：陸水学雑誌， 44 (1) , 1-5 (1983)
- 3) 角野康郎：中西哲博士追悼植物生態・分類論文集， 165-173 (1987)
- 4) Nagumo T. : Jpn. J. Diatomol., 10, 88, (1995)
- 5) Krammer K. & H. Lange-Bertalot:Süßwasserflora von Mitteleuropa: Bacillariophyceae, (1986-1991)
- 6) Cleve-Euler A. : Die Diatomeen von Schweden und Finnland, (1951-1956)
- 7) Dixit A.S., et al. : J. Paleolim., 1, 23-38(1988)
- 8) Findlay D.L. & J.A. Shearer. :J. Paleolim., 7, 145-156 (1992)

- 9) Van Dam H. et al.: Neth. J. Aquat. Ecol., 28 (1), 117-133 (1994)
- 10) Stevenson A.C., et al.: The Surface Water Acidification Project Paleolimnology Programme. Ensis Ltd, 86 pp (1991)
- 11) Hakansson S.: Diatom Research, 8(2), 349-370 (1993)
- 12) 渡辺仁治, 安田郁子: 陸水学雑誌 43, 237-245 (1982)
- 13) Dixit S.S., et al.: J. Paleolim. 8, 27-47 (1993)
- 14) 南雲徹, 小林弘: 日本藻類学雑誌, 25, 182-188 (1977)
- 15) Round F.E.: Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 327, 243-249 (1990)

第7部 短報

目 次

1. 魚肉中の一酸化炭素自然含有量 -----	(生活衛生) -----	97
2. 平成9年度の京都市のサルモネラ食中毒における分離株と その薬剤感受性について -----	(臨 床) -----	101
3. 平成9年度当所で検出した腸管出血性大腸菌の薬剤感受性に について -----	(臨 床) -----	103
4. と畜場搬入牛からのクリプトスボリジウムの検出 -----	(病 理) -----	105
5. 牛枝肉の細菌汚染検査について -----	(病 理) -----	107
6. 牛の悪性リンパ腫について -----	(病 理) -----	109
7. 京都市における感染症サーベイランス情報の溶連菌感染症の 解析 -----	(疫学情報) -----	111
8. 腸管出血性大腸菌O157のP F G Eによる遺伝子解析 -----	(調査研究) -----	114

Chapter 7 Short notes

Contents

1.	Natural content of carbon monoxide in fish	-----	(Food)	-----	97
2.	Drug-susceptibility of <i>Salmonella</i> strains isolated from cases of Salmonella food poisoning in Kyoto City in 1997	-----	(Clin)	---	101
3.	Drug-susceptibility of enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> in Kyoto City in 1997	-----	(Clin)	---	103
4.	Detection of <i>Cryptosporidium</i> from the feces of slaughtered cattle	---	(Path)	---	105
5.	Bacterial contamination in the carcasses of cattle	-----	(Path)	---	107
6.	Report of malignant lymphoma in cattle	-----	(Path)	---	109
7.	Analysis of streptococcal infection in Infectious Diseases Surveillance in Kyoto City during 1982-1997	-----	(Epid)	---	111
8.	DNA analysis of enterohemorrhagic <i>E. coli</i> O157 using pulsed-field gel electrophoresis	-----	(Pub)	---	114

魚肉中の一酸化炭素自然含有量

生活衛生部門

Natural content of carbon monoxide in fish

Key Words :魚肉 fish, 一酸化炭素 carbon monoxide, 自然含有量 natural content,

FID-ガスクロマトグラフィー FID-gas chromatography, メタナイザー methanizer

I はじめに

マグロ、カツオなどの赤身魚に多く含まれる筋肉色素ミオグロビンは、色素タンパクの一種でヘモグロビンとともに肉の赤色を形成し、酸素や一酸化炭素(CO)と結合してオキシミオグロビンやカルボニルミオグロビンとなり鮮やかな赤色を示す。このうちカルボニルミオグロビンは酸化に対して安定性が高いため、CO処理された魚は実際の鮮度に関係なく色の変化が起こりにくい。このため、たとえ腐敗していても鮮やかな赤色を保ち、消費者に鮮度判断を誤らせ、衛生上の危害が発生する可能性があるとして、食品衛生法第6条に違反する旨(指定外添加物の使用)の通知が出されている¹⁾。

マグロについては平成9年5月21日付け²⁾で、またブリについては9月19日付け³⁾で、故意のCO処理がされたものかどうかの判定基準値が示された。すなわち、マグロについては500 μg/kg以上のCOが検出されたものや、それより少ない200 μg～500 μg/kgであっても検査の翌日以降明らかにCO量が減少したもの、また、ブリ真空パック品ではパック中のCO量が100 μl/l以上、それ以外のブリ製品では350 μg/kg以上のCOが検出されたもの、とされた。

ところで魚肉中のCO含有量はこれと結合するミオグロビンの量の多寡に影響を受け、魚種によって自然含有量に差があることが報告されている^{4, 5)}。今回、故意にCO添加をされた商品との差異を見極めるための基礎データを得る目的で、京都市中央卸売第一市場を流通する鮮魚(52検体)及び冷凍魚(10検体)について魚肉中の自然含有量とともに、ホモジネートを2日間5°Cで放置したときの変化を調査したので報告する。

II 実験方法

1. 試料

京都市中央卸売第一市場を流通する鮮魚及び冷凍魚(サケ類6検体、白身魚21検体、マグロ類20検体、青背魚15検

体)

2. 期間: 平成9年8月～12月

3. 検査方法

CO含有量測定方法については、平成7年1月30日付け、衛乳第10号及び衛化第7号通知¹⁾(以下通知という)に準じて行った。

(1) 器具: ホモジナイザー、122ml容アルミシールバイアル、2mlガストライドシリジ

(2) 試薬: 通知と同じ

(3) ガスクロマトグラフィー測定条件

FID検出器付ガスクロマトグラフ: Yanaco GC G-180

メタナイザー(還元温度 400°C): Yanaco CH-10

カラム:SUSカラム(3mmi.d.×2.3m),

充填剤:Molecular Sieve 13X,60-80mesh

カラム温度: 70°C, 注入口温度: 150°C,

検出器温度: 150°C

キャリアガス: 窒素(0.95kg/cm²)

(4) 試料液、試験溶液の調製

各々の試料を、冷凍されたものは解凍した直後、切り身については皮をむき、また、生鮮魚については三枚におろして皮をむく。これを細切し、その100gに2倍量の水を加え、ホモジナイザーを用いて氷冷下で1分間ホモジナイズし、試料液とする。試料液の全量を遠沈管にとり、10°Cで遠心分離(3,000rpm, 10分)し、上清を試験溶液とする。

(5) CO含有量の定量

試験溶液50mlを122ml容アルミシールバイアルにとり、消泡剤(オクチルアルコール)5滴、水5ml、20%硫酸20mlを加え蓋をして2分間強く振とうする。これを10分間静置した後、再び1分間強く振とうし直ちにボトル中の気体相をガストライドシリジで1ml採取し、メタナイザー付きFID-GCで測定したものを0日目のCO含有量とする。また、この試験溶液を5°Cで2日間保存し、上記と同様に操作をして得た値を2日目のCO含有量とする。この方法の検出下限値は2 μg/kgでこれ以下のものをNDとした。

III 結果

1. サケ類の0日目、2日目のCO含有量

サケ類のCO含有量は、0日目ではND～13 μg/kg、2日目では7～43 μg/kgで、6検体中5検体が増加を示し、1検体がわずかに減少した(Table 1)。

Table 1 サケのCO含有量の推移

検体の種類	0日目 μg/kg	2日目 μg/kg	増減
サケ(生)	ND	43	増加
サケ(生)	ND	7	増加
サケ(生)	8	10	増加
サケ(生)	9	7	減少
トラウトサーモン(生)	ND	22	増加
トラウトサーモン(冷凍)	13	26	増加

2. 白身魚の0日目、2日目のCO含有量

タイ、スズキ、ヒラメ、タラなどの白身魚のCO含有量は、0日目ではND(養殖ダイ、スズキ)～24 μg/kg(カマス)、2日目ではND(養殖ダイ、スズキ)～106 μg/kg(カマス)であった。

2日目における増減では、21検体中14検体が最大20倍の増加を示し、4検体がわずかに減少した。また、3検体(養殖ダイ1検体、スズキ2検体)で、0日目、2日目の両測定結果ともNDで変化はみられなかった(Table 2)。

3. マグロ類の0日目、2日目のCO含有量

マグロ、カツオなどの赤身魚のCO含有量は、0日目では11 μg/kg(キハダマグロ生)～175 μg/kg(ジャンボ本マグロ生)、2日目で12 μg/kg(キハダマグロ生)～220 μg/kg(ヨコワ生)であった。

2日目における増減では、20検体中15検体が増加を示し、中でも本マグロ(養殖本マグロ、本マグロ、ヨコワ)で2日目に大きく増加(1.5倍～5.8倍)するものが多くみられた。一方、5検体がわずかに減少を示し、このうち測定初日で無処理と判断される200 μg/kg未満(175 μg/kg)ではあったものの、特に肉色の赤いジャンボ本マグロで2日目に減少するものがみられた(Table 3)。

4. 青背魚の0日目、2日目のCO含有量

アジ、サバ、ブリ(ハマチ)などの青背魚のCO含有量は、0日目では11 μg/kg(シマアジ)～191 μg/kg(ハマチ)、2日目では31 μg/kg(ハマチ)～271 μg/kg(ハマチ)であった。

Table 2 白身魚のCO含有量の推移

検体の種類	0日目 μg/kg	2日目 μg/kg	増減
アマダイ(生)	5	8	増加
アンコウ(生)	13	13	微減
イサキ(生)	18	16	微減
イトヨリ(生)	ND	99	増加
カマス(生)	6	5	微減
カマス(生)	24	106	増加
スズキ(生)	ND	ND	変化なし
スズキ(生)	ND	ND	変化なし
スズキ(生)	ND	58	増加
スズキ(生)	12	20	増加
タチウオ(生)	4	90	増加
タチウオ(生)	5	28	増加
タラ(生)	ND	27	増加
タラ(生)	5	14	増加
タラ(生)	17	22	増加
ニギス(生)	8	13	増加
ヒラメ(生)	6	21	増加
養殖ダイ(生)	ND	ND	変化なし
養殖ダイ(生)	ND	8	増加
養殖ダイ(生)	7	30	増加
養殖ダイ(生)	8	6	微減

Table 3 赤身魚のCO含有量の推移

検体の種類	0日目 μg/kg	2日目 μg/kg	増減
カツオ(生)	35	122	増加
ヨコワ(生)	17	19	微増
ヨコワ(生)	53	220	増加
キハダマグロ(生)	23	35	増加
キハダマグロ(生)	11	12	微増
キハダマグロ(生)	40	41	微増
キハダマグロ(冷凍)	20	15	微減
キハダマグロ(冷凍)	22	21	微減
キハダマグロ(冷凍)	36	99	増加
キハダマグロ(冷凍)	49	54	微増
キハダマグロ(冷凍)	74	56	微減
メバチマグロ(生)	32	34	微増
メバチマグロ(生)	38	36	微減
真カジキマグロ(冷凍)	21	51	増加
インドマグロ(冷凍)	106	138	増加
本マグロ(生)	58	165	増加
本マグロ(冷凍)	68	167	増加
養殖本マグロ(生)	26	115	増加
養殖本マグロ(冷凍)	14	93	増加
本マグロ(ジャンボ、生)	175	144	微減

2日目における増減では、15検体中13検体が増加(最大11倍)を示し、2検体(養殖ハマチ)がわずかに減少した(Table 4)。

Table 4 青背魚のCO含有量の推移

検体の種類	0日目 μg/kg	2日目 μg/kg	増減
シマアジ(生)	11	41	増加
サバ(生)	25	238	増加
サワラ(生)	11	121	増加
サワラ(生)	12	151	増加
サワラ(生)	34	180	増加
サワラ(生)	101	124	微増
サンマ(生)	21	154	増加
サンマ(生)	68	110	増加
ブリ(生)	110	245	増加
マアジ(生)	13	114	増加
マアジ(生)	48	194	増加
養殖ハマチ(生)	27	109	増加
養殖ハマチ(生)	42	31	減少
養殖ハマチ(生)	159	271	増加
養殖ハマチ(生)	191	131	減少

5. マグロ類の血合いにおけるCO含有量

通常食用には供されないが、マグロ類の血合いにおけるCO含有量は0日目では750 μg/kg(カツオ)～1620 μg/kg(養殖本マグロ)、2日目では813 μg/kg(カツオ)～1577 μg/kg(養殖本マグロ)と高い値を示した。

2日目における増減では、カツオ血合いでわずかに増加した他は、やや減少傾向にあった(Table 5)。

Table 5 血合い(赤身魚)のCO含有量の推移

検体の種類	0日目 μg/kg	2日目 μg/kg	増減
カツオ(生)	750	813	微増
ヨコワ(生)	1,306	1,150	微減
メバチマグロ(生)	1,410	1,340	微減
キハダマグロ(生)	1,562	1,490	微減
養殖本マグロ(生)	1,620	1,577	微減

IV まとめ

1. 魚種別のCO含有量の推移をみると、Fig. 1に示すように、アジ、サバ、サンマ、サワラ、ブリ、ハマチなどの青背魚にCO含有量が高いものが多く、検査初日では11～191 μg/kg、次いで、カツオ、マグロなどの赤身魚で11～175 μg/kgであった。これらの魚種は活動性の高いものが多く筋肉中のミオグロビン含有量が高いためと考えられる¹¹⁾。

一方、サケ類の赤い色は脂溶性赤色カロチノイドであるアスタキサンチンと水溶性黄色色素サルモン酸に由来し、

ミオグロビン含有量は低い⁷⁾。このためCO含有量は白身魚類とほぼ同じオーダーであった。

Ishiwataら⁵⁾は市販魚(切り身を含む30種類)についてCO含有量を調査し、白身魚で3 μg/kg(タラ、ヒラメ)～19 μg/kg(タチウオ)、マグロ類で30 μg/kg(カツオ)～44 μg/kg(メバチマグロ)、青背魚で27 μg/kg(サワラ)～142 μg/kg(イワシ)を報告しており、今回我々が得た値とほぼ一致していた。

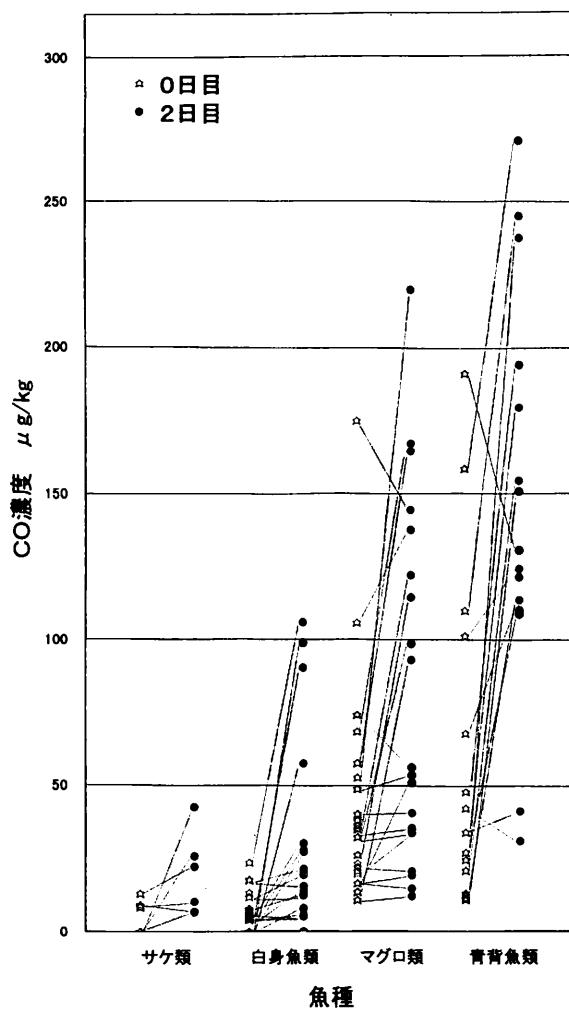


Fig. 1 魚種別CO含有量の推移

2. ホモジネートを2日間5°Cで放置したときの変化を調べたところ、ほとんどの魚種で2日目の値の方が高くなつたが、一部に減少を示すものがみられた。特に血合い部分はミオグロビン含有量が高いため故意のCO処理がされていない場合でも漸減する傾向がある。マグロでは血合い肉は一般に食用には供されないが、他の魚種では血合い肉の混入割合により定量値が大きく変動する可能性がある。

これらのことと踏まえ、定量値が判定値を上回った場合

でも一概に食品衛生法6条違反と判断するには、慎重を期す必要があると考えられる。

V 参考文献

- 1) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長・食品化学課長通知：“鮮魚中の一酸化炭素の検査の実施について”平成7年1月30日、衛乳第10号・衛化第7号(1995)
- 2) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長・食品化学課長通知：“マグロへの一酸化炭素の使用について”平成9年5月21日、衛乳第146号・衛化第68号(1997)

- 3) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長・食品化学課長通知：“ブリへの一酸化炭素の使用について”平成9年9月19日、衛乳第263号・衛化第124号(1997)
- 4) 宮崎仁志、他：食品衛生学雑誌、38(4)233-239(1997)
- 5) Ishiwata, H., et. al.: J. Food. Hyg. Soc. Japan 37(2), 83-90(1996)
- 6) 岡弘康：食品工業、38(20), 41-47(1995)
- 7) 化学大辞典編集委員会編：化学大辞典、共立出版株式会社 東京(1987)

平成9年度の京都市のサルモネラ食中毒における分離株とその薬剤感受性について

臨床部門

Drug-susceptibility of *Salmonella* strains isolated from cases of *Salmonella* food poisoning in Kyoto City in 1997

Key Words : サルモネラエンテリティディス *Salmonella* Enteritidis, 薬剤感受性 drug-susceptibility, ファージ型 phage type

I はじめに

ここ数年、京都市においてもサルモネラ菌属による食中毒事例が多く発生している。当部門では、検出された菌株を用いて、各事例の薬剤感受性及びファージ型を比較検討してきた。平成9年度に京都市で発生した食中毒事例は16事例で、そのうちサルモネラ菌属によるものが8事例あつた。これらの事例より検出されたサルモネラ菌属について、得られた結果を報告する。

II 調査期間及び方法

平成9年度に京都市で発生した食中毒事例(8事例)において、*Salmonella* Enteritidis 25株(7事例より)を検出した。

検査は微生物検査必携に準じて行った。また、薬剤感受性試験はK-B法(Disk法)にて行った。ファージ型別は感染症研究所へ分析を依頼した。

III 結果及び考察

1. 検出菌株について

京都市における、昨年度のサルモネラ菌属による事例は9事例で、ここ数年サルモネラ菌属による事例が多発する傾向にある。

今年度検出された菌株は、7事例すべて *Salmonella* Enteritidis であった。また、人由来の検出が多かった(表1)。

表1 平成9年度に検出されたサルモネラ菌属

事例番号	菌名	検出数	由来等
2	S.Enteritidis	3	人・食品
3	S.Enteritidis	2	人
5	S.Enteritidis	4	人
6	S.Enteritidis	0	他機関
8	S.Enteritidis	2	人
9	S.Enteritidis	3	人
10	S.Enteritidis	6	人
11	S.Enteritidis	6	人・器具

2. 薬剤感受性試験(K-B法)について

当部門で検出した25株を用い、薬剤感受性試験(薬剤種類は表2を参照)を行った。

表2 薬剤感受性試験に用いた薬剤

抗菌剤名称	化学略号	抗菌剤名称	化学略号
アンピシリン	A B P C	クロラムフェニコール	C P
セファゾリソ	C E Z	コリスタン	C L
セファロチ	C E T	ナジクス酸	N A
セフボドキシム	C P D X	オフロキサン	O F L X
カナマイシン	K M	ノルフロキサン	N F L X
ゲンタマイシン	G M	ホスピマイシン	F O M
ストレptomycin	S M	スルファトキサゾール	
テトラサイクリン	T C	トリメトブリム	S T

集団事例ごとに、薬剤感受性試験結果はほぼ同じであった。

今回検査に用いた薬剤に耐性を示す菌株はほとんどなかった。

3. ファージ型について

感染症研究所へ分析依頼の結果は図1のとおりであつた。

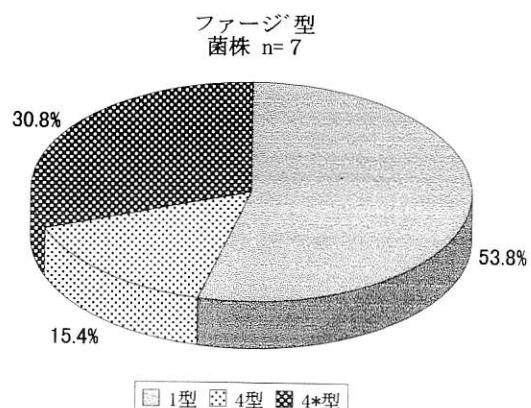


図1 S. Eのファージ型別頻度

検出菌株のファージ型は、1型と4型及び4*型(4型の亜型)が検出された。

各事例ごとに、ファージ型のほぼ一致することが確認された(表3)。

表3 事例とファージ型の関係

ファージ型	事例数	株数
1	4	13
4	1	4
4*	1	6
1 & 4*	1	3

4. 考察

平成9年度において京都市で発生したサルモネラ関連事例では、原因菌は *Salmonella Enteritidis* であった。

各事例からの検出菌は、今回の分析からほぼ各事例ごとに同一株に属するものと思われる。

平成9年度検出サルモネラ菌属は、薬剤感受性試験とファージ型とを組み合わせた判定により数種類存在していると思われる。

今後、食中毒事例が発生した場合、検出菌株について薬剤感受性、ファージ型等を組み合わせて検討することは食中毒原因の疫学的解明に役立つものと思われる。

IV 文献

- 1) 坂崎利一編：食水系感染症と細菌性食中毒、中央法規出版株式会社、東京(1991)
- 2) (財)日本公衆衛生協会：微生物検査必携 細菌・真菌検査 第3版 (1987)

平成9年度当所で検出した腸管出血性大腸菌の薬剤感受性について

臨床部門

Drug-susceptibility of enterohemorrhagic *Escherichia coli* isolated in Kyoto City in 1997Key Words : 腸管出血性大腸菌 enterohemorrhagic *Escherichia coli* : EHEC, 薬剤感受性 drug-susceptibility

I はじめに

平成9年度の腸管出血性大腸菌の薬剤感受性試験を実施することにより耐性菌の出現や薬剤パターンによる菌の同一性をみるため、検出された菌株に対する薬剤感受性試験を行った。

平成9年度、京都市衛生公害研究所において集団事例を含み腸管出血性大腸菌を77株検出した。

K-B法(Disk法)によりそれらの薬剤感受性を調べたのでここに報告する。

II 方法及び材料

平成9年度京都市衛生公害研究所において分離、保有する菌株を対象に検査を行った。

検査は厚生省通達の方法にて行った。また、薬剤感受性試験はK-B法(Disk法)にて行った。

III 結果及び考察

1. 集団事例別薬剤感受性の比較(薬剤名は化学略号により示す。表1参照。)

集団事例として、I保育園、S保育所、幼稚園の3事例についての薬剤感受性試験を行い、以下の結果を得ることができた。

I保育園事例由来の検出菌は、血清型、ベロ毒素型とも、同一のO157:H7 VT1(+).VT2(+)であった。

薬剤感受性は、I保育園事例由来のすべての検出菌がKM、SMに耐性を示した。

I保育園事例は、PFGEの結果とあわせて考慮すると同一菌による集団事例であることが推測された。

S保育所事例由来の検出菌は、血清型、ベロ毒素型とも、同一のO157:H7 VT1(-).VT2(+)であったが、その薬剤感受性はKMとCETに耐性を持つ2タイプが存在した。また、幼稚園事例由来の検出菌は、血清型、ベロ毒素型とも、O157:H7 VT1(+).VT2(+)の菌を検出したが、薬剤感受性において、SMに対しては感受性が異なる株が存在した。

以上の3事例とも、そのPFGEによる遺伝子パターンは同一か極めてよく似ていた。

しかし、I保育園事例を除き他の2事例は薬剤感受性パターンに若干の違いが認められた。

通常、薬剤感受性に関する遺伝子はプラスミド上に存在しており、その大きさは染色体に比べてはるかに小さく、PFGEによる遺伝子パターンでは区別出来ない可能性も考えられ、薬剤感受性試験は菌の特性を決定する上で1つの指標になる可能性がある。

表1 薬剤感受性試験に用いた薬剤名

抗菌剤名称	化学略号	抗菌剤名称	化学略号
アンピシリン	A B P C	クロラムフェニコール	C P
セファゾリン	C E Z	コリスチン	C L
セファロチン	C E T	ナリジクス酸	N A
セブボドキシム	C P D X	オフロキサシン	O F L X
カナマイシン	K M	ノルフロキサシン	N F L X
ゲンタマイシン	G M	ホスホマイシン	F O M
ストレプトマイシン	S M	スルファメトキサゾール	
テトラサイクリン	T C	・トリメトプリム	S T

2. 血清型別比較

平成9年度に検出された腸管出血性大腸菌の種類は、(O157:H7)(O157:NM)(O26:H11)であったが、散発事例として検出された3種類の血清型の菌株(図1)について、薬剤感受性を調べた。

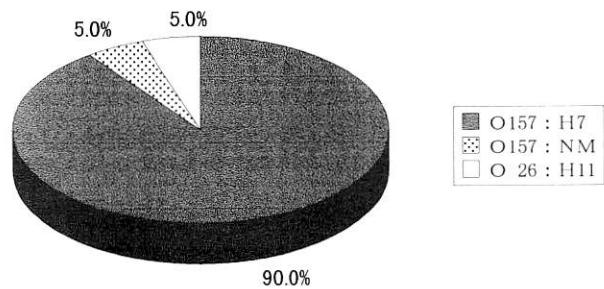


図1 EHECの血清型別検出状況(平成9年散発事例, n=40)

(O157:H7)の36株については、すべての菌株はFOM, ST, OFLXに対して感受性を示した。CP, TC, KM, ABPCについては感受性の菌株が大半であったが、耐性を示す菌株もあった。SMについては、菌株によって感受性の違いがみられた。

(O157:NM)の2株については、CETを除いた薬剤(表1)に対して、感受性を示した。

(O26:H11)の2株については、CETに耐性を示し、CP, GM, CEZ, ST, OFLX, NFLXに対して感受性を示した。試験した表1の他の薬剤については、感受性に差がみられた。

3. おわりに

平成9年度に本所で検出された腸管出血性大腸菌について、薬剤感受性試験をおこなった。PFGE等の検査結果と薬剤感受性試験を総合的に考慮することは感染状況や感染ルートの疫学調査の一助となるものと思われた。

IV 文献

- 1) 坂崎利一編：食水系感染症と細菌性食中毒，中央法規出版株式会社，東京(1991)
- 2) (財)日本公衆衛生協会：微生物検査必携 細菌・真菌検査 第3版 (1987)

と畜場搬入牛からのクリプトスパリジウムの検出

病理部門

Detection of *Cryptosporidium* from the feces of slaughtered cattle

Key Words :牛 cattle, クリプトスパリジウム *Cryptosporidium*, 粪便 feces, オーシスト oocyst

I はじめに

Cryptosporidium は、動物の消化管粘膜上皮細胞に寄生するコクシジウム類に属する原虫で、宿主特異性がなく、ヒトをはじめイヌやネコ、ウシ、ブタなどの哺乳類やニワトリなどの鳥類からも分離例が報告されている。

国内では1994年に神奈川県、1996年に埼玉県において、大規模な水系感染が発生し、公衆衛生上一躍注目されるようになった。

そこで今回、と畜場に搬入された成牛を対象にして、*Cryptosporidium* の保有状況を調査したので報告する。

II 材料および方法

1. 供試材料

1997年9月～1998年3月の期間に京都市と畜場に搬入された牛のうち、無作為に選んだ300頭の糞便を採取し、供試検体とした。対象牛はすべて成牛で、品種は黒毛和種261頭（牡129頭、母132頭）、交雑種（F1牛）20頭（牡10頭、母10頭）、ホルスタイン種19頭（牡11頭、母8頭）であった。糞便の性状は、固形便253検体、泥状便33検体、水様便12検体、血便2検体であった。

2. オーシストの検出方法

全300検体について、遠心沈殿法（ホルマリン・酢酸エチル法）とショ糖遠心浮遊法の併用を行って分離し、ニューメチレン青染色を施して観察した。検出手順は以下の通りである。

1) 第1ステップ：遠心沈殿法（ホルマリン・酢酸エチル法）

(1) 粪便約1gに10%ホルマリン水（約7ml）を加えてよく攪拌し、20～30分間静置する。

(2) ガーゼ瀘過し、瀘液に約3mlの酢酸エチルを加えて強く振盪、混和する。

(3) 2,500rpmで10分間遠心沈殿する。

(4) 酢酸エチル、糞便層、およびホルマリン水層を捨て沈渣を得る。

2) 第2ステップ：ショ糖遠心浮遊法

(1) 遠心沈殿法により得た沈渣にショ糖液（比重1.20）を3mlほど加えて十分攪拌する。

(2) 全量が10ml前後となるようにショ糖液を加えて再度十分に攪拌する。

(3) 2,000rpm、5分間遠心分離する。

(4) ショ糖液の表面層を直径5mmのエーゼで回収し、スライドグラスに移す。

3) 染色法（ニューメチレン青染色法）

ショ糖遠心浮遊法で得た検体をスライドグラスに採り、検体より多めのニューメチレン青染色液（ニューメチレン青2.5g、シュウ酸カリウム・1水塩8gを蒸留水500mlに溶解、瀘過後、試薬瓶に保存する）を加えて攪拌し、カバーグラスをかけ、200～1,000倍で鏡検する。

4) 判定方法

直径5～8μmの円形ないし梢円形で特有のピンク色を呈し、内部に大小の顆粒が認められ、Kinyoun抗酸染色変法により抗酸染色性が確認できたものを陽性と判定した。

III 結果

検査した300頭中1頭（0.3%）から*Cryptosporidium* のオーシストが検出された。検出されたオーシストは、5×8μmの梢円形で、Kinyoun抗酸染色において抗酸染色性が確認された。

今回検査した牛は、産地が群馬県、京都府、鹿児島県、兵庫県、佐賀県、長野県、沖縄県、三重県、宮崎県、香川県の10府県で、経済連等の19団体および26個人出荷者より搬入されたものであったが、オーシストが検出されたのは長野県内の個人出荷者より搬入された黒毛和種の1頭だけであった。検出率は0.3%で、他府県の検査所等の検出状況に比べると低率であった。

哺乳類に感染する*Cryptosporidium* には主として小腸に寄生し、人に対して強い病原性を示す*C.parvum* と、胃腺に寄生する*C.muris* の2種が知られているが、今回検出したオーシストについて種を確定することはできなかった。

Cryptosporidium は特定の農場に集中して検出される傾向があるとされているが、陽性牛の認められた出荷者から搬入され、調査した他の牛（18頭）からは検出されなかつた。

陽性牛の便の性状は固形便を呈しており、下痢症状との強い関連性は認められなかつた。

今回の調査の結果、非常に低率ではあったものの *Cryptosporidium* が検出されたことから、腸管出血性大腸菌 O157 と同様に、牛の消化管内に保有しているものと認識し、糞便による直接あるいは間接的な枝肉汚染を防ぎ、衛生的な食肉処理が行なわれるよう指導していきたい。

IV 参考文献

- 1) 遠藤卓郎、八木田健司：検査と技術、25（3）、215-220（1997）
- 2) 鈴木覚、佐原啓二、仁科徳啓、他：獣会誌、51（3）、163-165（1998）
- 3) 黒木俊郎：臨床獣医、15（9）、13-17（1997）
- 4) 今井壯一：獣医畜産新報、47（9）、753-757（1994）

牛枝肉の細菌汚染検査について

病理部門

Bacterial contamination in the carcasses of cattle

Key Words : 牛 cattle, 枝肉 carcass, 細菌汚染 bacterial contamination

I はじめに

平成 8 年度の腸管出血性大腸菌 O157 の集団発生以来、京都市と畜場では HACCP の概念に基づいた衛生対策を進め、枝肉の微生物汚染制御に努めてきた。牛枝肉の衛生状態を客観的に把握する方法として、細菌汚染検査が有効であり、継続的に数値の変化を追うことにより、衛生的な施設や作業工程のための改善を行った時の枝肉細菌汚染の変化の指標となる。また、全国の食肉検査所で同様の検査が行われていることから、他のと畜場と本市と畜場の衛生管理水準を比較することができ、衛生対策、衛生指導のための重要な資料となる。そこで今回、牛枝肉の細菌汚染検査を実施したので報告する。

II 調査方法

1. 調査期間 平成 9 年 4 月～平成 10 年 3 月

2. 検査項目 一般生菌数、大腸菌群数

3. 検体の採取部位と採取方法

(作業工程)

打額→放血→頭部切り離し→胸・腹部一部剥皮→前後肢剥皮→懸吊→背部剥皮→胸割→尾部切り離し→内臓摘出→背割り→水洗→整形・枝肉検査→最終洗浄→冷蔵庫入庫

検体採取は枝肉最終洗浄後、冷蔵庫入庫直前に行った。検査 1 回あたり 5 頭の採取を一般生菌数では計 42 回 (210

回)、大腸菌群数では 40 回 (200 回) 実施し、原則的にその日の先頭から 5 頭についてふきとり検査を行った。検査方法は滅菌ガーゼタンポンで胸部と肛門周囲の枝肉表面 100cm^2 をふきとり、希釈液を等量混合し、その細菌数を求めた。

4. 検査方法

一般生菌数は標準寒天培地を、大腸菌群数についてはデソキシコレート寒天培地を用い、混釀培養法により定量測定した。大腸菌群数は実数で計測した。

III 結果

一般生菌数は枝肉で 100cm^2 あたり $3.8 \times 10^3 \sim 5.9 \times 10^6$ で、平均値は 4.1×10^5 であった。大腸菌群数は 100cm^2 あたり $0 \sim 1.4 \times 10^4$ で、平均値は 6.1×10^2 であった (表 1)。

表 1 牛枝肉における細菌汚染状況

			個/ 100cm^2	
		最大値	最小値	平均値
一般生菌数		5.9×10^6	3.8×10^3	5.9×10^5
大腸菌群数		1.4×10^4	0	6.1×10^2

1 頭目から 5 頭目までの生菌数の平均値はそれぞれ 4.1×10^5 、 4.1×10^5 、 4.8×10^5 、 3.6×10^5 、 4.2×10^5 で、大腸菌群数はそれぞれ 6.0×10^2 、 7.1×10^2 、 4.9×10^2 、 9.2×10^2 、 3.4×10^2 であった (表 2)。

表 2 1 頭目から 5 頭目までの牛枝肉における細菌汚染状況

頭数	1	2	3	4	5	個/ 100cm^2
一般生菌数	4.1×10^5	4.1×10^5	4.8×10^5	3.6×10^5	4.2×10^5	
大腸菌群数	6.0×10^2	7.1×10^2	4.9×10^2	9.2×10^2	3.4×10^2	

IV 考察

平成8年度から枝肉細菌汚染に対する衛生対策として食道、直腸の結紮、ゴム手袋の着用の徹底を段階的に行い、平成9年度には剥皮工程中の枝肉接触防止を行った。その結果、平成8年度の枝肉の一般生菌数の平均値の 1.6×10^6 と比べて平成9年度には1オーダー減少し、微生物汚染対策の効果が認められた。

また、先頭から5頭について細菌汚染検査を行い、当初の予想として先頭の枝肉は手指、器具類の汚染が少ないことから細菌汚染が少なく、解体頭数が進むにつれて枝肉が汚染されることが推測された。しかし、検査の結果1頭目から5頭目まで一般生菌数、大腸菌群数ともに菌数の平均値に大きな変化が認められなかつたことから、1頭目から既に解体作業従事者の手指、施設器具類が汚染されていることが示唆された。また、検査日によっては1頭目から菌

数の値が高いものなどばらつきがあり、その日の作業条件で汚染の程度が異なることがわかった。

このように、解体作業工程が改善され、枝肉細菌汚染の減少が期待されるが、今後の問題点として解体作業従事者の衛生教育と牛の生体時の体表汚染対策がある。解体作業中に設置されている手洗機、消毒槽は実際にはあまり使用されておらず、ゴム手袋も着用はしているが汚染のたびに洗浄する習慣がついていないのが現実である。平成10年度からは牛の解体作業のハード面の改善が行われるので、と畜検査員の指導のもとに解体作業従事者のソフト面の充実を図ることが重要である。また、牛の体表の汚れは解体作業時に枝肉細菌汚染の大きな原因となることから、出荷者に搬入牛の生体洗浄を徹底させる必要がある。

今後もさらに枝肉細菌汚染の原因を追求し、安全な食肉を供給できるよう微生物汚染制御に努めたい。

牛の悪性リンパ腫について

病理部門

Report of malignant lymphoma in cattle

Key Words : 牛 cattle, 悪性リンパ腫 malignant lymphoma, リンパ肉腫 lymphosarcoma

I はじめに

リンパ系細胞の腫瘍であるリンパ腫は各種動物にみられるが、牛において、全身性にみられる悪性リンパ腫の発生は比較的少ない。本年度、京都市と畜場に搬入された牛で、悪性リンパ腫と疑われる症例が2例認められたので、その病理学的検査結果の概要を報告する。

II 病理所見

症例 1

1. 検査年月日 平成9年5月10日

2. 生体所見

1) 品種、性別、年齢：ホルスタイン、牝、5歳

2) 体重：418kg

3) 臨床所見：著しい削瘦

3. 肉眼所見

1) 心臓：心筋内に小豆大の出血部位を認めるが、その他著変なし

2) 第四胃：粘膜はやや褪色調を呈し、線状の出血痕を認める。

3) 肝臓：包膜面及び割面ともに褪色し小葉構造が明瞭。

その他著変なし

4) 脾臓：割面が煮小豆様で脆弱

5) リンパ節：腸間膜リンパ節、肺門リンパ節、肝門リンパ節及び第四胃リンパ節はそれぞれ最大のものでハンドボール大、 $20 \times 6 \times 4\text{ cm}$ 、 $10 \times 10 \times 8\text{ cm}$ 、 $14 \times 10 \times 5\text{ cm}$ に著しく腫大し、リンパ節の割面は髓様を呈している。そ径リンパ節、腎門リンパ節、頸部リンパ節、その他の体幹リンパ節にも腫脹が認められる。

6) 枝肉：左枝肉の下腹部に、腹膜下から筋肉内まで広範囲に浸潤性に増殖する、20cm四方で数cm隆起する腫瘍が認められる（図1）。

4. 血液所見

枝肉残血の塗抹標本から白血球の増殖は認められない。

5. 組織所見

1) 心臓：心筋内にリンパ球性腫瘍細胞の浸潤増殖が認められる。

2) リンパ節：髓索や濾胞及び濾胞間のリンパ組織やリンパ洞などがリンパ球性腫瘍細胞によって占められ、リンパ節の正常構造は認められない。また、リンパ節周囲組織にも腫瘍細胞の増殖、浸潤が及んでいる。

3) 腹部腫瘍では腹膜下織から筋肉内に著しい腫瘍細胞の増殖が認められる（図2）。

4) その他の臓器：腫瘍細胞の増殖は認められない。

症例 2

1. 検査年月日 平成10年1月13日

2. 生体所見

1) 品種、性別、年齢：黒毛和種、牝、5歳

2) 臨床所見：栄養状態不良で貧血、流涎を認め、泡を吹いている。

3. 肉眼所見

1) 胃（第一～四胃）：腫瘍化したリンパ節が台状、帯状に癒合増殖し、粘膜下織にもび漫性に浸潤している（図3）。

2) その他のリンパ節：腸間膜リンパ節、縦隔部リンパ節の腫脹を認める。また、内腸骨下リンパ節にも腫脹が認められ、骨盤腔内に帶状に浸潤増殖している。体幹リンパ節の腫脹は認められない。

3) 他臓器：肝臓実質及び心筋がやや褪色調を呈する。その他主要臓器に結節状病変は認められない。

4. 血液所見

枝肉残血の塗抹標本から白血球の増殖は認められない。また、異型リンパ球もほとんど認められない。

5. 組織所見（IIE染色、鍍銀染色）

リンパ節は正常構造が消失して腫瘍細胞に置換されている。第一～四胃のリンパ節周囲にも、胃壁の粘膜固有層から粘膜下層に至ってび漫性に腫瘍細胞が浸潤している



図1 腹膜下に腫瘍が認められる

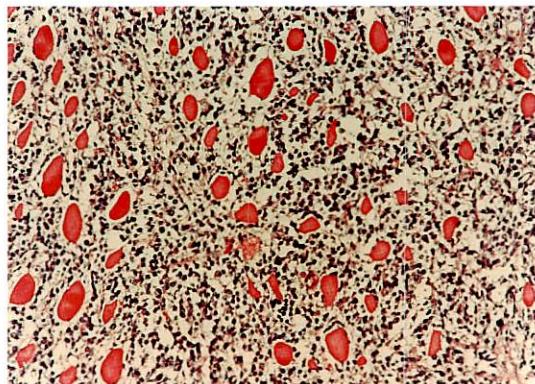


図2 筋肉内にリンパ球性腫瘍細胞の浸潤を認める

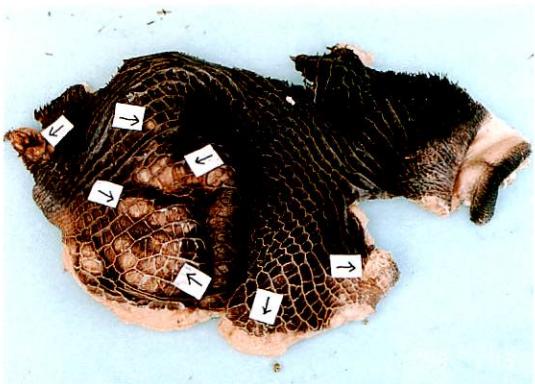


図3 第二胃のリンパ節が腫脹し癒合している

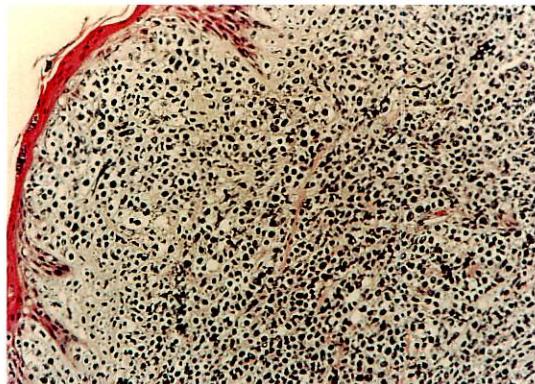


図4 胃壁の粘膜固有層から粘膜下層にいたって腫瘍細胞がび漫性に浸潤増殖している

(図4)。腫瘍細胞は多形、不整形を呈しているが、核に対する細胞質の割合は小さい。鍍銀染色からは、腫瘍細胞の増殖に伴う細網線維の発達が認められる。肝臓、腎臓、脾臓、心臓などの実質臓器内への腫瘍細胞の浸潤は認められない。

III まとめ

症例1では系統的に全身性のリンパ節の腫脹がみられる。また、心筋及び腹部の筋肉内にも腫瘍細胞が浸潤増殖

しており、生体所見に削瘦が認められることから、地方病性牛白血病（E B L）の病態と類似している。E B Lは牛白血病ウイルスに起因し、感染牛の診断にはウイルス抗原によるゲル内沈降反応が、発病牛の診断には末梢血中の異型リンパ球の検出が有力な手段となるが、本例においてはウイルス検査は実施せず、末梢血中にも異型リンパ球は認められなかった。症例1、2でみられた腫瘍細胞はリンパ球様を呈し、周囲の組織に浸潤性に増殖していることから、病理組織学的には2例ともリンパ肉腫と診断した。

京都市における感染症サーベイランス情報の溶連菌感染症の解析

疫学情報部門

Analysis of streptococcal infection in Infectious Diseases Surveillance in Kyoto City during 1982-1997

Key Words : 溶連菌感染症 streptococcal infection, 定点当たり報告数 incidence per sentinel clinic,

A群レンサ球菌 Streptococcus A, 感染症サーベイランス Infectious Diseases Surveillance

I はじめに

感染症サーベイランス事業では、週単位で市内の小児科・内科の患者定点から患者数が保健所へ報告され、さらに京都市結核感染症情報センターを経て、厚生省に報告される。逆に、厚生省からは全国のデータが還元される。また、市内の検査医療定点から検体の提供を受け、当研究所で流行菌型の検査をし、国立感染症研究所情報センターへ報告している。一方、情報センターからは、定期的に全国の検査情報が還元される。

溶連菌感染症は感染症サーベイランス事業の対象疾病¹⁾であり、京都市においては1985年をピークにその前後の数年にわたって大流行した。その後、定点当たり報告数は半減したが、1994年にやや増加し、1997年にはさらに増加したため、流行が懸念された。

そこで京都市の溶連菌感染症の発生状況を把握するため、感染症サーベイランス事業が開始された1982年から1998年3月までの感染症サーベイランスの還元情報の、主として患者情報のデータを集計、解析し、溶連菌感染症の定点当たり報告数の推移、年齢構成、行政区別の特徴について考察したので報告する。

II 方法

1. 患者情報のうち、1982年から1993年までのデータは「京都市感染症サーベイランス事業実施報告書」¹⁾によった。1994年以降は京都市感染症情報センターから提供されたデータを使用した。A群レンサ球菌の検出データは検査情報オンラインシステムから還元したものである。

2. 使用したコンピュータはPC9821Xa13/K16(NEC製)とFMV SV237(FUJITSU製)である。1994年以降のデータは、前者のコンピュータのハードディスクの所定のディレクトリに蓄積保存しており、必要に応じて取り出し、利用できるようにしている。

3. データの解析にはLotus1-2-3 R5J, Lotus 97, Microsoft Excel 97を使用した。

III 結果

1. 1982年から1997年の定点当たり年間報告数の推移

1982年から1997年までの京都市における溶連菌感染症の定点当たり年間報告数を図1に示す。最も高い定点当たり年間報告数は1985年の29.3人で、以後21.4人、18.1人と減少した。1988年から1993年にかけては12.7~10.8人/定点であった。しかし、1994年は14.3人、1997年には18.2人と増加している。

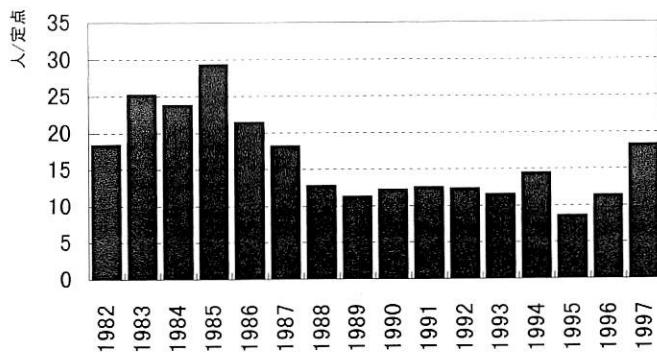


図1 溶連菌感染症の定点当たり年間報告数の推移

2. 1997年1月から1998年3月の定点当たり報告数及びA群レンサ球菌の検出数

1997年1月から1998年3月の、全国と京都市の定点当たり報告数を月別に、全国のA群レンサ球菌の検出数の推移を月別に、図2に示す。

全国の定点当たり報告数は1月~3月、5月~7月に低い山と10月~12月にかけて高い山を示し、溶連菌感染症特有の3峰性のパターン²⁾を示した。また、溶連菌感染症の主な原因菌であるA群レンサ球菌の全国の検出数は、定点当たりの報告数と同様の消長を示した。

一方、京都市では全国で見られる程明確ではないが、2月から3月にかけて低い山があり、3月から4月の学期休

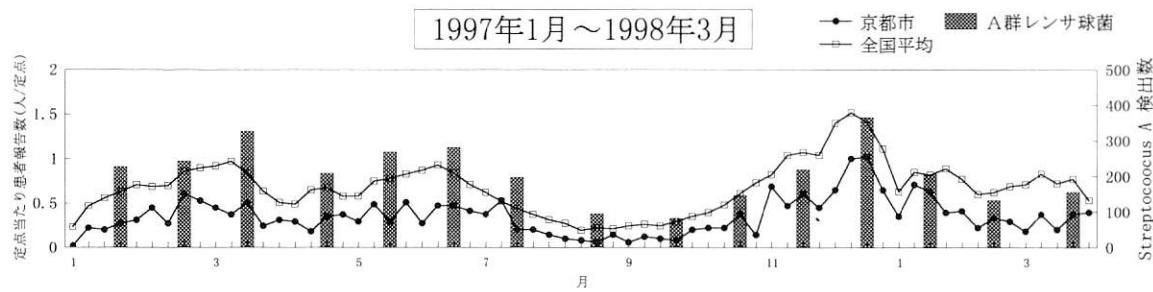


図2 溶連菌感染症の定点当たり報告数とA群レンサ球菌の検出数
(A群レンサ球菌の検出数は病原微生物検出情報 平成10年5月20日現在)

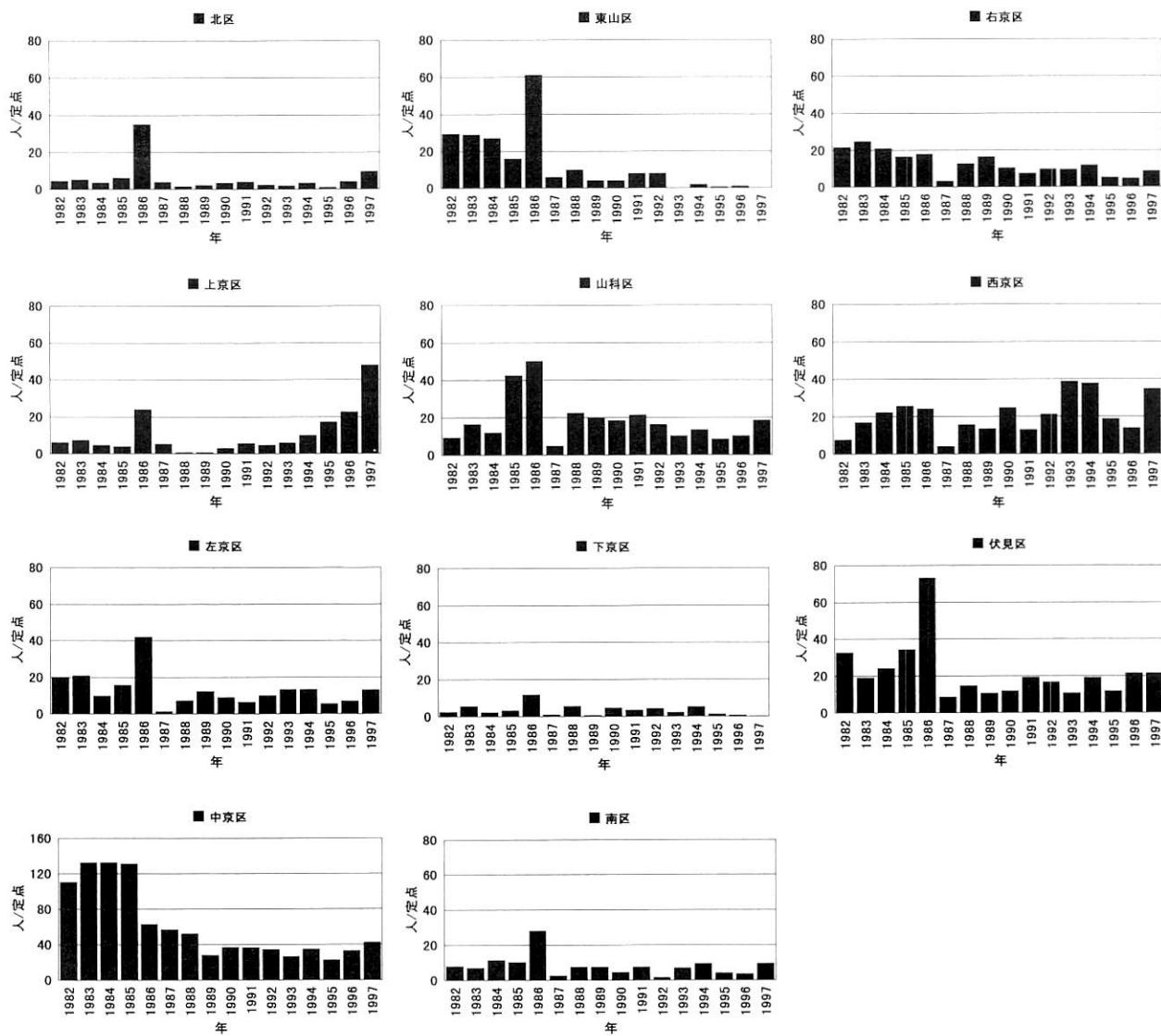


図3 行政区分溶連菌感染症の定点当たり報告数の年次推移

みにやや低下し、5月から6月にかけても低い山があった。8月から9月の定点当たり報告数は少なく、10月以降、特に11月から翌1月にかけて高い山を示した。

3. 1997年から1998年の患者の年齢構成

1997年に報告された患者の年齢構成は、0歳が0.3%、1歳が1.5%、2歳が4.2%、3歳が10.0%、4歳が17.3%、5～9歳が54.0%、10～14歳が7.5%、15歳以上が5.2%であった。5～9歳の患者が全体の50～60%、次いで4歳が15～20%を占めた。1998年の1月から3月においても同様の傾向であった。

4. 行政区における発生状況

1982年から1997年の定点当たり年間報告数の推移を行政区単位で図3に示す。ただし、中京区のみ縦軸スケールを他の区の2倍(0～160人/定点)としている。

1. 定点当たり報告数の1982年から1998年3月までの総和は中京区が最も多く、全体の32.2%を占めた。ついで、伏見区(11.6%)、西京区(11.2%)、山科区(9.7%)、上京区(6.9%)の順であった。下京区(1.8%)が最も少なかった。

中京区は市の中心にあり、1982年から1985年の定点当たりの年間報告数は100人を超えていた。1986年以降は半減し、この10年は35人前後で推移している。

伏見区では1986年にピーク(73.1人)を示し、1987年に一旦減少した。しかし、1997にかけて漸増の傾向にある。

西京区では1982年から1992年に比べ、1993年(38.7人)、1994年(37.7人)、1997年(34.8人)と、ここ最近報告数の多い年がみられた。

山科区では1985年、1986年にピーク(42.6人、50.2人)を示し、1988年から1992年は20人前後であった。最近はやや少ない。

上京区では1982年から1989年(1986年を除く)は4.5人前後であったが、1994年頃から次第に増加し、1997年は48.0人であった。

2. 1997年の定点当たり年間報告数は上京区、中京区、西京区で約40人と高く、次いで山科区、伏見区で約20人、北区、左京区、南区、右京区で約10人、東山区、下京区では1人未満で、区により患者の発生数に差があった。

3. 月別では、1997年の定点当たり報告数を見ると、前半では上京区、中京区が多く、後半は中京区、西京区が多かった。特に西京区の12月の定点当たり報告数は12.8人と際だって多かった。また、それに引き続き、中京区、西京区の1998年の1月から3月の定点当たりの報告数はそれぞれ13.3人、9.0人で、他の区に比べて多かった。

IV まとめ

京都市における1997年の溶連菌感染症の週別定点当たり報告数は学期休みを底とする3峰性に近い推移をし、患者は4～9歳の年齢層に多かった。行政区別に1982年から1997年の定点当たりの年間報告数を見ると、行政区により様々な流行のパターンを示した。このことから、溶連菌感染症は幼稚園児、保育園児、小学校低学年の児童を中心に集団生活の中で感染し、比較的狭い範囲で流行する傾向があるように見受けられる。ただし、このパターンの違いは行政区の人口、年齢構成、指定医療機関などの影響も受けていると考えられるが、今回は検討していない。また、1997年に統いて1998年に入ってからも西京区、中京区を中心に行ながれ、今後も引き続き注目していく必要があると思われる。

IV 参考文献

- 1) 京都市衛生局：京都市感染症サーベイランス事業実施報告書(1982-1993)
- 2) 国立予防衛生研究所：病原微生物検出情報(月報)，18(2)，1-2(1997)

腸管出血性大腸菌O157のP F G Eによる遺伝子解析

調査研究部門

DNA analysis of enterohemorrhagic *E.coli* O 157 using pulsed-field gel electrophoresis

Key Words : 遺伝子 gene, 制限酵素 restriction endonuclease

I はじめに

1996年5月に岡山県で腸管出血性大腸菌O157による集団感染が発生したのを初めとし、その後、全国各地においてO157による集団感染が報告され、社会的に大きな問題となった。同年12月末までに全国都府県で死者11名を含む9,432名の被害者を出すパニックを引き起こした。O157による食中毒は他の食中毒菌と異なり、数十個の菌数で感染が成立し、発症すると下痢、血便症状を呈し、合併症として溶血性尿毒症症候群（HUS）を引き起こす。1996年8月、厚生省は腸管出血性大腸菌を指定伝染病に指定した。

京都市におけるO157等感染事例は、1996年8月以降、死者1名を含む39件、1997年度77件の感染事例が発生した。

予防対策はO157に対する食品衛生監視体制の強化、飲食店取扱施設をはじめ、各家庭での衛生管理の注意喚起が必要である。O157食中毒が発生した場合、蔓延防止のため、迅速な疫学的調査による感染経路の特定及び感染源の把握が肝要である。

感染経路解明については、従来から行われている菌の生化学的性状、免疫学的特性の調査に加えて、近年開発されたフィンガープリンティング法として、パルスフィールドゲル電気泳動法（P F G E）による遺伝子解析が、疫学的に有効と検討されている。¹⁾

当部門では、昨年に続き、今年度も京都市内で分離された腸管出血性大腸菌の73株を使用し、P F G E法を用いて遺伝子の解析を検討したので報告する。

II 調査方法

当研究所が分離した患者由来O157の63株、O26の11株を使用し、遺伝子解析の比較検討を試みた。

ランダムP C R多形解析法（R A P D）及びパルスフィールドゲル電気泳動法（P F G E）の検査方法は、前回報告したとおりである。²⁾

III 調査成績及び考察

図1に平成9年度の腸管出血性大腸菌検出状況を示す。今年度の発生件数は、4月の5件に始まり、7月の18件をピークとして、10月以降は散発的な発生が見られた。

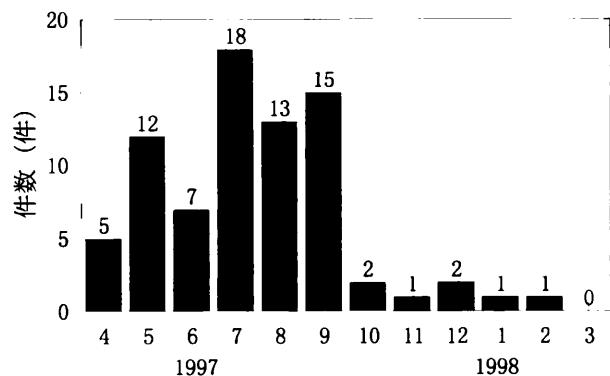


図1 平成9年度腸管出血性大腸菌の検出状況

今年度の集団感染事例は、保育園3例、保育所1例、家族内感染3例と散発感染事例が見られた。

京都市の感染患者77名の年齢分布を見ると、0～5歳児の感染事例が46.8%と高い比率を占めた（図2）。

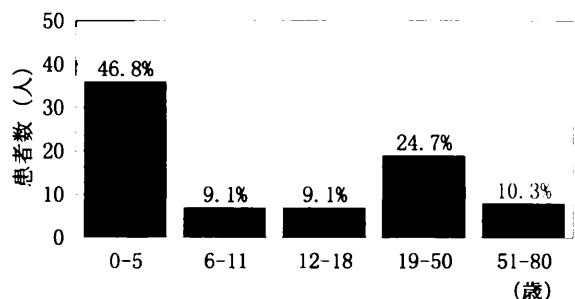


図2 年齢別患者数

次に、男女別では、男性47名、女性30名で、男性がやや多かった。

P C R検査の結果、O157の21株がV T 2型、41株がV T 1、V T 2型であった。O26では、11株全てが毒素型V T 1であった（表1）。

表1 PCR毒素型別(73株)

血清型	毒素型			分離株
	V T 1	V T 2	V T (1, 2)	
O157	0	21	41	62
O26	11	0	0	11

R A P D - P C R 検査結果では、O157の63株はI, II, II j (国立感染研の型別による)に型別された。また、O26の11株は、O157とは違うパターンを示し、全株同じA 1型(京都市衛公研の型別による)のパターンを示した(表2)。

表2 主なXba I-P F G E型とR A P D-PCR型

毒素型	R A P D	Xba I	P F G E	主な分離株数
O157	VT1, 2	I	I a I I	8
	VT1, 2	II	K O 1 8	7
	VT1, 2	II	K O 2 0	7
	VT 2	II	V a V III	3
	VT 2	II j	K O 1 1	8
O26	VT1	A1	A 0 0 1	1
			A 0 0 2	1
			A 0 0 3	1
			A 0 0 4	5
			A 0 0 5	1
			A 0 0 6	2

試験分離株73株をXba I 制限酵素切断後、パルスフィールドゲル電気泳動法(P F G E)で解析した結果、染色体DNAは、20Kbから600Kb以上の20本以上の切断片に分けられ、分離菌は様々なパターンを示した(Fig. 3)。

また、O26は、O157とは違う遺伝子パターンを示した(Fig. 4)。

P F G E検査の結果、V a, V, III型の3例は、5月の大学生1名、6月の大学生1名と12月に分離された8歳の男児から、型別されたものである。

平成8年度の堺市の集団感染事例のII a, II b, I型は、今年度は1例で、近縁型のII a, II c, I型が2例見られた。福岡県、広島県の集団感染事例で見られたI a, I, I型のパターンを示す型は、西日本を中心に多くの地域で分離されているが、京都市においても、8症例(11.0%)が分離された。今後、I a, I, I型は分離頻度の多い型と推察される。

P F G E法は、腸管出血性大腸菌による集団感染、散発事例の遺伝子型の科学的根拠の解明に有効な方法であると

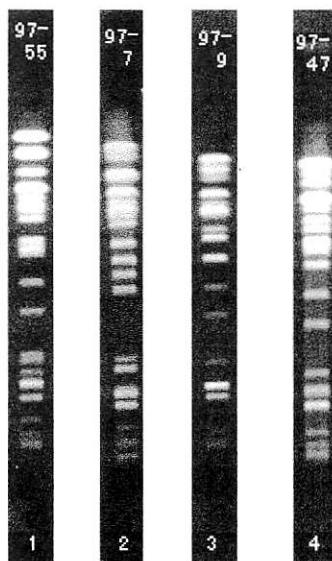


Fig.3 Comparison of PFGE profiles of *E.coli* O157 isolates from patients in Kyoto City(lanes 1 ~ 4)

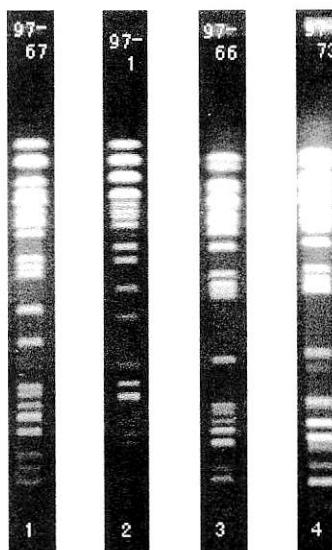


Fig.4 Comparison of Xba I digests of genomic DNA of *E.coli* O157(lanes 1 ~ 2)and O26(lanes 3 ~ 4)from patients

思われる。しかし、全国的に統一された型決めが難しいため、この方法に代わる新しい検査法の検討が必要である。

IV 参考文献

- Meng, J, et al, : J.Med.Microbiol., 42, 258-263(1995)
- 京都市衛生公害研究所調査研究部門：同研究所年報 63, 122-124(1997)

京都市衛生公害研究所年報

第 64 号

発行日 平成 10 年 9 月 1 日

編集 京都市衛生公害研究所

発行 〒604-8845

京都市中京区壬生東高田町1-2

☎ (075) 312-4941

印刷所 サンケイデザイン株式会社

☎ (075) 441-9125

(この年報の本文用紙は、再生紙を使用しています。)

