

目 次

3. 他誌掲載論文, 学会及び協議会発表	169
4. 所内セミナー	171
5. 病原微生物マンスリーセミナー	174

3. 他誌掲載論文、学会及び協議会発表

イオントラップ型 GC-MS による農産物中の残留農薬分析の検討

生活衛生部門

伴登行則, 筒井達也, 橋本貴弘, 羽室夫美子, 米田昌裕, 伴創一郎, 川勝剛志, 稲田眞之助, 永井博昭

【発表先】 第40回全国衛生化学技術協議会, 和歌山市, 2003

【抄録】 食品衛生法で残留基準が定められている農薬を中心に MS/MS 法の測定条件の検討を行い基礎的なデータを得た。実サンプルへの応用例を示し, 確実な同定に大変有効であることを示した。

Salmonella Enteritidis 集団食中毒事例

臨床部門, 調査研究部門

山野親逸, 原田保, 伊藤千恵, 小石智和, 丸岡捷治, 竹上修平

【発表先】 病原微生物検出情報 Vol. 24 No9 (No. 283) 12-13 (214-215)

【抄録】 2003年5月に下痢, 発熱等の食中毒症状を示す患者があり, 調査の結果, 学生寮の171名中17名も有症で, 共通食は寮の食事のみであることが判明した。有症者の検便14検体と, 寮の残置食18検体, 調理従事者の検便8検体, 手指および施設の拭き取り16検体について食中毒菌の検査を実施した。検査の結果有症者11名, 残置食4検, 調理従事者1名から *Salmonella* Enteritidis を検出し, 本事例の原因菌と断定された。菌の検出された調理従事者と残置食との因果関係および原因食品の特定には至らなかった。検出された16株について制限酵素 Xba I を用いてパルスフィールド・ゲル電気泳動の結果は全て同じで, 原因菌の由来は同一であることが判明した。

Aホテルを原因とする *Campylobacter jejuni* による集団発生

臨床部門

山野親逸

【発表先】 健康被害危機管理事例

【抄録】 2001年10月, 京都・奈良・大阪・東京方面に修学旅行したA県立高校の生徒209名中13名が下痢, 発熱等の食中毒様症状を示し医療機関に受診したとの連絡があり, 生徒の利用した施設の検食や残置食24, 従業員の検便5, 施設の拭き取り13の42検体について細菌検査を実施した。検査の結果, 検食の生鶏肉1検体から *Campylobacter jejuni* Penner K群を検出した。その他の食中毒原因菌は検出されなかった。また, 患者からも同一の菌が検出されていたので *Campylobacter jejuni* による食中毒事件と断定した。施設では生鶏肉を提供し各自で鍋にいれ火を通して食べる鶏鍋を提供していたので, 加熱不十分の生鶏肉を食べたか, 生鶏肉を取った箸でそのまま食事したか, 調理人や器具等を介した二次汚染であるのかは不明なため事件の原因は決定できなかった。今後, 鶏肉等を提供する場合には事前に加熱など下処理するよう指導した。

京都市内の学生寮で発生した *Salmonella* Enteritidis による食中毒の一事例について

臨床部門, 調査研究部門

山野親逸, 辻尚信, 原田保, 伊藤千恵, 小石智和, 丸岡捷治, 竹上修平

【発表先】 地研全国協議会細菌部会

【抄録】 2003年5月, 予備校の寮生171名中17名が腹痛, 下痢, 頭痛, 発熱等の食中毒症状を示しているとの連絡があった。有症者の共通食は寮の食事のみであったので, 残置食18, 調理従事者の検便8, 手指や器具の拭き取り18および有症者便14の58検体について食中毒菌の検査を実施した。検査の結果, 有症者11, 調理従事者1, 残置食4の16検体から *Salmonella* Enteritidis が検出されたので, 本菌による食中毒事例と断定した。ファージ型別は1件が4型で残りの15件は36型であった。PFGE では全てが同じパターンを示した。今回の食中毒は寮で出された食事によるものであるが, 調理従事者も同一食を食べていることから菌が検出された従事者と菌の検出された残置食との関係は不明で原因の特定は出来なかった。

餅つき大会で発生した小型球形ウイルスによる集団食中毒事件

臨床部門

山野親逸, 原田保, 伊藤千恵, 丸岡捷治

【発表先】 地研全国協議会細菌部会

【抄録】 冬季, 小型球形ウイルスによる食中毒の原因として生ガキが以前から問題視されていたが, 今回小学校の餅つき大会で小型球形ウイルスによる集団食中毒事件が発生した。2000年12月, 嘔気, 嘔吐, 下痢症状を示す患者を多数診察したとの連絡を受け調査した結果, 患者全員が前日餅つき大会に参加した児童・教職員・PTA および関係団体の参加者に限られていることが判明した。患者の検便111, 餅4, 器具拭き取り24, 水道水・吐物各1の141検体について食中毒原因菌について検査を実施した。患者便69件中29件から SRSV G-II が検出されたので SRSV による食中毒事件と断定された。患者便以外の検体からは検出されなかったため, 原因については特定できなかった。SRSV による集団発生事例については食中毒が感染症かの判断が必要と思われる。

牛海綿状脳症 (BSE) スクリーニング検査における疑陽性発生要因

病理部門

池田幸司, 田邊輝雄, 藤井三郎

【発表先】 平成15年度全国食肉衛生検査所協議会
近畿ブロック会議及び技術研修会, 奈良, 2003

【抄録】 牛海綿状脳症 (BSE) スクリーニング検査における疑陽性発生要因を調査した。ELISA 検査後の吸光度を分析したところ, 同一検査日の後半の検体ほど吸光度が高くなり, 疑陽性の発生頻度も高くなることがわかった。また, 検査機器の不調や, 試薬の誤混入などの

人為的ミスにより疑陽性が発生する可能性があることを十分に周知することにより、検査員の BSE 検査に対する意識を向上させることができた。その結果、疑陽性の発生頻度は 0.45% (調査期間中) から 0.04% (調査期間後 4 ヶ月間) へと低下した。

京都市沢の池とその集水域におけるアルカリ度の生成と消費について

環境部門

吉川俊一、中川和子、川井仁之、吉田宏三

【発表先】 第68回日本陸水学会、岡山市、2003 10月

【抄 録】 水位変動にともなう沢の池の pH 変動機構を明らかにするために、各種フラックスの物質収支を検討した。アルカリ度についての収支計算の結果、高水位期間の池のアルカリ度は集水域からのフラックスによる供給で説明が可能であり、特に伏流水の大量の流入により池水の pH が上昇すると考えられる。次に池の北部の堆積物コアとその上部の水柱からなる系で水層の循環を持続するマイクロコスム実験を行った結果、水層の pH の低下と SO_4^{2-} イオンの濃度増加が認められ、堆積物表層付近でのアルカリ度の消費により pH 低下がおこる可能性が示唆された。

京都市内における杉の生育に関する土壌調査

環境部門

山本暁人、松本正義、友膳幸典、三輪真理子、三原啓子

【発表先】 第18回全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部研究会、和歌山、2004

【抄 録】 長期的な酸性雨の土壌や樹木に対する影響をみるため、京都市内の寺社林などにおける樹木の生育とその周辺土壌の基礎調査を実施した。今回の調査では、土壌の酸性化及び土壌酸性化が原因と考えられる樹木の衰退はみられなかった。しかし、交換性 Al^{3+} 濃度が高い値を示し、樹木の生育阻害が懸念される地点があった。したがって、今後とも定期的かつ長期的に同様のモニタリングを実施して各種基礎データの蓄積を図り、土壌の特性の変化を明らかにすることが必要だと考えた。

4. 所内セミナー

日時 平成15年11月20日(木) 午前10時から
場所 京都市衛生公害研究所 本館会議室

1. 京都市の高齢者(65歳以上の者)の生活状況について —平成13年国民生活基礎調査より—

疫学情報部門 小貫良子

国民生活基礎調査データより、特に高齢者に注目し、解析を行った。

①高齢者を取り巻く状況：世帯構造では夫婦のみの世帯や単独世帯が多く、単独世帯の内訳は女の方が多い。子との同別居では、同居、別居ではあるが近くに子が居住している者を合わせると68.7%となる。

②介護の状況：高齢者の8.6%が要介護者である。介護者は同居が66.4%と多く、続柄は配偶者や子の配偶者が多い。また同別居ともに介護者の大部分が女で、同居の介護者は60歳以上が半数以上である。

③健康の状況：有訴者、通院者、日常生活に影響のある者、3つを組み合わせた健康状態をみると、「すべてあり」及び「いずれかあり」の割合は年齢とともに増加し、高齢者では約8割を占めている。一方、健康意識について有訴者や通院者に回答してもらうと、「ふつう」の回答が最も多く、意識とのずれがあることがわかる。

詳細は第6部 短報「京都市の高齢者における生活状況について」に述べる。

2. 京都市感染症発生動向調査患者定点の特性

疫学情報部門 堀場裕子

市内41箇所の小児科定点の患者報告数について定点単位に分析した。但し、患者報告数は平成11年第13週～平成15年第40週の値を用いた。対象とした感染症はA群溶血性レンサ球菌咽頭炎、感染性胃腸炎、水痘、手足口病、伝染性紅斑、突発性発しん、ヘルパンギーナ、流行性耳下腺炎の8感染症である。

①感染性胃腸炎について41定点の報告数を降順に並べたところ、累積報告数割合は上位3定点で25%を、上位18定点で75%を占めた。一方、下位23定点の累積報告数割合は25%であった。他の感染症についても同様の傾向であった。

②感染症間の相関係数は0.95～0.45と正の相関を示し、報告数の多い(少ない)定点は他の感染症の報告数も多い(少ない)傾向が見られた。

③8感染症の報告数割合について41定点を比較したところ、診療形態(内科・小児科の医院、病院の小児科、医院の小児科)による違いは認められなかった。

3. 赤痢・コレラの重複感染が判明した海外渡航者の事例について

微生物部門 平野隆

平成15年8月9日に鹿児島県へ疑似赤痢患者発生の届出があった。この患者は7月26日から8月6日までインドとネパールへ団体旅行していた。鹿児島県から通報を受けて、京都市は市内の同行者1人を調査し、当部門で8月11日から病原菌検索を開始した。

8月13日に被検者の便から赤痢菌(ボイド14型)を検出し、続いて8月15日にコレラ菌(O1・毒素+)を検出した。直ちに地域医療課から関係機関に通報され、同行者と接触者の調査がなされた結果、他県の同行者1人からコレラ菌が検出されたが、幸い二次感染はなかった。

当部門で赤痢菌とコレラ菌が重複して検出されたのは、平成5年以後初めてのケースであり、二次感染を防げたのは本市コレラ防疫対策実施要綱が効を奏したものと考えられる。

4. 神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおけるHPLC法の検査精度向上の検討について

臨床部門 木戸毅

従来、当部門での神経芽細胞腫(neuroblastoma, 以下NB)検査は、VMA、HVAをHPLC法によって測定し、クレアチニン(以下Cr)を比色法によって測定した後、濃度補正を行い判定していた。今回UV検出器により、CrをHPLCで測定する同時測定法が、検査精度の向上を図る上で有用であるかを検討したので報告する。

HPLCにおいて一部を変更した場合では、真度、精度、直線性、及び範囲をバリデーションすることが望ましい。今回の結果ではそれぞれの値とも良好な結果であった。

Cr同時測定法と従来法を比べると、Cr測定値は真度、精度ともに比色法の成績が同時測定を上回る結果であった。

しかし、VMA及びHVAの測定値(Cr比)においてはCr同時測定法の結果がより良好であった。これは、HPLCシステムの注入誤差、温度等からくる測定結果のばらつきを、Cr同時測定法では補正することができるが、従来法の場合はCrを別測定するため、この誤差を補正することはできない。よって結果的にCr補正值では同時測定系のほうがより精度の高い結果になることが示された。

5. 平成14年度検出腸管病原性大腸菌(EPEC)の付着因子保有状況について

臨床部門 原田保

病原大腸菌（下痢原性大腸菌）は発症機序によって、ETEC, EIEC, EHEC, EPEC 及び EAEC の5種類のタイプに分類されている。EPEC は血清を使った型別血清のみで同定されている。

EPEC は EHEC の様なベロ毒素産生あるいは EIEC や赤痢菌の様な腸管上皮細胞への侵入性などもなく、下痢が誘発される病原因子がよく究明されておらず、血清型別によって判定されていた。しかし、近年、EPEC は細胞に付着し、細胞膜の変性を起こした後、細胞骨格構造を破壊することが明らかになってきた。

そこで、今回当部門では平成14年度に検出された EPEC 等27検体を対象に付着因子の保有状況を調べた。

付着様式が異なる3種類の付着性関連遺伝子領域(eaeA, bfpA, aggR)と EAST1 毒素遺伝子領域(astA)を検出する Primer を使用して、PCR を実施した。

今回の調査結果では付着因子保有は1検体のみであった。EPEC の検体数が少数であるとともに、患者便でも多数が各食中毒事件（疑いを含む）の直接の原因菌でないためと思われる。

まだ全体的には正確なことは解明されてなく、EPEC は型別血清のみで判定されてきたが、発生機序や保有する付着因子を始め病原因子の解明を図り EPEC の定義をよりわかりやすくするべきであろうと考える。

6. 京都市と畜場における胆汁及び肝臓のカンピロバクター汚染実態調査

病理部門 塩田豊

わが国では牛の肝臓を生食する習慣があるが、近年胆汁及び肝臓実質にカンピロバクター属菌が高率に存在することが報告されており、公衆衛生上大きな問題となっている。

そこで当所でも胆汁及び肝臓からのカンピロバクターの検出を試みた。

検査は150頭の胆汁及び57頭の肝臓三箇所（左葉、方形葉、尾状葉）において定性検査、そのうち12頭で定量検査を行った。

その結果、定性試験では胆汁で42頭から(28%)、肝臓では13頭から(22%)カンピロバクターが検出された。定量検査では胆汁で $<3\sim 109$ MPN/10ml、肝臓で $<3\sim >1,100$ MPN/10g と算出された。

詳細は第6部 短報「京都市と畜場における胆汁及び肝臓のカンピロバクター汚染実態調査」に述べる。

7. 胎児期ウイルス感染症による先天性難聴の遺伝子学的検索

調査研究部門 寺村知子

CMV 感染は我が国では頻度の高い感染症であり、妊娠中に初感染した場合、約40%の胎児に後遺症を残すとされている。再活性、再感染が妊娠初期にあった場合、約90%の胎児は無症状であるが、そのうちの約13~24%に生後感音性難聴や精神発達遅滞などの症状を認めると報告されている。

我が国では妊婦の CMV 抗体保有率は90%以上であったが、近年、抗体保有率の減少が報告され、先天性 CMV 感染による胎児への影響が懸念されている。そこで感音性難聴と診断された患児における CMV 感染症の関与を明らかにするために、ガスリーカードの乾燥血液から CMV-DNA を検出する試みを行った。

今回の検討では、感音性難聴患児1名のみに CMV-DNA を検出した。感音性難聴には胎児期 CMV 感染が関与していることがあり、ガスリーカードの乾燥血液から CMV-DNA を検出することはその原因検索に有用な方法であると考えられる。今後は症例数を増やし、胎児期 CMV 感染の頻度を把握し、感音性難聴への関与を明らかにする必要がある。

8. 中国産冷凍ほうれん草からのクロルピリホス検出事例について

生活衛生部門 橋本貴弘

果実・野菜などの農産物については、食品衛生法で農薬の残留基準が定められている。このため生活衛生部門では市内を流通する農産物について実態の把握と違反品の除去のため、残留農薬の検査を行っている。また昨年度は中国産冷凍野菜から高濃度の残留農薬が検出される事例が相次いだため、当部門においても輸入冷凍野菜の残留農薬検査を行った。その際、中国産冷凍ほうれん草の内1検体から基準値を約5倍超えるクロルピリホスを検出した。今回はこの中国産冷凍ほうれん草からのクロルピリホス検出事例について、GC/MS 測定及び確認方法について報告を行う。

今回のケースで得られた重要な点を整理する。まず1点目は一斉分析法の解析では標準と検体の CI 法のマススペクトルは、農薬の検出濃度が高くないと完全に一致しない場合が多い。そのため農薬の標準と検体のフラグメントイオンの特徴をよく精査する点である。次の点は定性確認を高める方法として、GC/MS 測定での CI, EI, MS/MS 法の各測定データから総合判断を行う。また、検出農薬のみをターゲットとした個別分析法により再確認を行う。最後の点は、定量性の精度を高める方法として検出農薬の安定同位体があれば、サロゲートとして活用するのも有効な手法ではないかと思われる。

9. 残留農薬検査における精度管理

生活衛生部門 伴埜行則

残留農薬検査の結果の報告は法規制を遵守しているか否かを明確に示すことが求められるため、その数値は的確な精度管理の下に測定されていることが前提となる。

しかし、農薬と作物の組み合わせにより管理基準を満たさない組み合わせは珍しくない。現在の残留農薬基準は229種の農薬について定められており、測定化合物としては270種が対象となる。そのうち GC/MS, LC/MS で測定可能な化合物は225(83.3%)種ある。管理基準を満たすものは、そのうちの約50～70%である。残留農薬検査の精度管理は手間とコストがかかる上、精度を求めると際限がなく、最後は『見切り発車』的な判断を迫られるのが実情である。

本年5月の食品衛生法の改正により食品中の残留農薬等にポジティブリスト制が導入され、3年以内に実施される。施行後は、残留基準が設定されていない農薬が残留する食品の流通が原則として禁止される。「食の安全と安心」のために導入されたポジティブリスト制を機能させるには、現在の残留基準が設定された農薬だけでなく、それ以外についても検査対象にしなければならず、測定対象化合物の大幅な増加が見込まれる。その事態に対処するためには、効率の良い分析法の開発だけでなく、精度管理の方法も合わせて検討する必要がある。

10. 京都市中央卸売市場第一市場内の生食用鮮魚介類加工施設における腸炎ビブリオ対策について

生活衛生部門 梶政彦

生食用鮮魚介類の規格基準新設を受け、京都市中央卸売市場第一市場内の生食用鮮魚介類加工施設（すべてマグロ加工施設）及びせり場の夏期における衛生管理状況について調査と指導を行った。同時に、加工器具、マグロ体表や生食用鮮魚介類原料魚肉の細菌検査も実施した。

その結果、すべての施設で生食用鮮魚介類の保存基準が守られていることが確認された。また、いずれの原料魚肉からも腸炎ビブリオや *E. coli* は検出しなかったが、「弁当及びそうざいの衛生規範」の指標値を上回る一般細菌数が一部に認められた。マグロ体表からは各指標菌が一定数検出され、汚染源として注目された。また、器具ふき取り検査の結果、指導後、多くの施設で改善されたものの、なお、消毒効果の不十分な施設があった。

なお、いずれの検査においても、一般細菌、大腸菌群、腸炎ビブリオ（推）の各指標菌間には高い相関関係がみとめられた。

11. 酸性雨による土壌影響及び杉育成調査

環境部門 山本暁人

環境部門では、昭和58年度から京都市内1地点において酸性雨の常時測定を行っている。また、平成4年度から4年間、杉の育成とその周辺土壌を調査し、長期的な酸性雨の土壌や樹木に対する影響をみるための基礎データが残されている。この調査から約10年経過した平成14年度から、第2回として同様の調査を実施し、前回のデータとの比較検討を行い、更に将来の長期的な考察を得るために調査結果をまとめたので概要を報告する。

一般に、土壌酸性化の指標として、土壌溶液中の塩基性陽イオンと酸性陽イオンの存在比(Ex-BC/Al モル比)が用いられ、1.0を基準に臨界負荷量を評価している。第1回の調査では、深さ3層中2層以上が1.0以下であった所が8地点あり、第2回の調査では、7地点であった。これらの地点では、pH が3.14～4.73と低かった。一方、特定の杉についての衰退度などの調査からは酸性化を示した地点を含む全地点において特に目立った衰退は観測されなかった。以上の結果より、いくつかの地点で Al^{3+} 濃度が高い値を示し、樹木の生育障害が懸念される。

したがって、今後とも定期的かつ長期的に土壌のモニタリングを実施し、各種基礎データの蓄積を図り土壌の酸性化の実態を明らかにすることが必要であると考ええる。

詳細は第6部「京都市内における杉の生育とその周辺土壌の基礎調査」に述べる。

12. 大気中揮発性有機化合物濃度の実態調査

環境部門 三輪真理子

環境部門では平成9年10月から有害大気汚染物質モニタリングを毎月1回市内3地点で実施している。VOCs 優先取組物質9物質はキャニスター法で測定しているが、平成13年度からさらに35物質を追加し、同時分析を行っている。

テトラクロロエチレンが全国の値と比べると高かったが、京都の地形の影響及びハイテク関連の工場等が多いためではないかと考えられた。沿道でのベンゼンは毎年、環境基準値を超えているが、最近、徐々に減少の傾向がみられた。ガソリン中のベンゼン濃度等を低減化する施策が行われた効果ではないかと考えられた。

都市域と山間域のVOCs濃度の比較でフロン類等は広範囲でバックグラウンド的に存在することがわかった。PRTR法で届出の多かったトルエン、キシレンが特に高い値を示し、また、発生源の近辺で高濃度に存在することがわかった。

詳細は第6部「京都市における大気中揮発性有機化合物濃度の実態調査について」に述べる。

5. 病原微生物マンスリー・セミナー (PCR 研究会)

平成7年8月、当時急速に普及してきた遺伝子増幅法(PCR法)による細菌、ウイルスの遺伝子検出、同定をテーマに、職員の資質向上を図るため、臨床部門、微生物部門及び調査研究部門が参加して、月一回のペースで「PCR研究会」を立ち上げた。

その後、取り扱うテーマについてはPCR法に限らず、各部門の自主性にまかされるようになり、会の名称も「病原微生物マンスリー・セミナー」と改め、月1回、輪番制で開催している。

平成15年度の発表テーマ、担当部門及び発表者は以下のとおりである。

平成15年4月	遺伝子組み換え食品の検出	寺村 知子(調査研究部門)
5月	夏かぜ様疾患患者より分離されたコクサッキーA4型とA8型ウイルスの重複感染例について	近野 真由美(微生物部門)
6月	平成14年度の食中毒疑い事例のNV検査結果について	伊藤 千恵(臨床部門)
7月	RT-PCRによるHIVの検出とRNAの定量について	平野 隆(微生物部門)
8月	平成14年度パルスフィールドゲル電気泳動の結果	竹上 修平(調査研究部門)
9月	コクサッキーA型ウイルスの分離、同定について	梅垣 康弘(微生物部門)
10月	腸管病原性大腸菌(EPEC)の付着因子保有状況について	原田 保(臨床部門)
12月	分子進化学の基礎知識	平野 隆(微生物部門)
平成16年3月	夏かぜ様疾患患者より分離されたコクサッキーA4型とA8型ウイルスの重複感染例について その2	近野 真由美(微生物部門)