

平成14年度京都市衛生公害研究所セミナー

日時 平成14年11月14日(木) 午後1時から
場所 京都市衛生公害研究所 本館会議室

1. 京都市における小児感染症の年齢階級別動向
(感染症発生動向調査患者情報より)

疫学情報部門 堀場裕子

感染症発生動向調査で指定された小児感染症(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, 突発性発疹, ヘルパンギーナ, 流行性耳下腺炎)の最近(平成11年第13週～平成14年第38週)の年齢分布を調べたところ, ①0歳前半～1歳に多い感染症: 突発性発疹, ②1歳～4歳に多い感染症: 感染性胃腸炎, 水痘, 手足口病, ヘルパンギーナ, ③4歳～7歳に多い感染症: A群溶血性レンサ球菌咽頭炎, 伝染性紅斑, 流行性耳下腺炎の3群に分類された。

また, 全年齢階級報告数に対する最大の年齢階級報告数の寄与率は週別報告数の多い感染症や夏季に流行のある感染症では0.8以上と高く, 週別報告数が少ない感染症では誤差変動の影響が大きく, 寄与率は0.6以下と低かった。中間の寄与率(0.7)である水痘の1歳の報告数と全年齢階級の報告数の4, 5週程度の短期間の増減傾向は, 各々の週別データの2～3項の移動平均を求め, その傾きから見ることができた。

2. 食中毒分離菌の解析(平成元年度～平成13年度)

臨床部門 後藤裕子

冷暖房機や大型冷蔵庫普及による生活環境の変化, 輸入食品の増加などの要因により, 食中毒の原因食品も年々多様化しつつある。臨床部門では, 食中毒の原因を早急に究明し, 被害の拡大を防止することを目的として, 食中毒発生時には原因菌検出の検査を行っている。

食中毒菌検査の取扱件数は, 平成8年度のO157による大型食中毒の発生に伴い急激に増加した後, 大きな減少はみられない。月別にみると, 毎年7月～9月にかけてサルモネラや腸炎ビブリオを原因菌とする食中毒が多発している。さらに, 平成9年度よりNLVが食中毒の病因ウイルスに加えられ, 本格的な検査が実施される様になり, 1月～3月にかけて小さなピークが見られるようになった。

また, 平成11年度～平成13年度の原因菌の判明率は91.6%であり, 原因菌別にみると, サルモネラによるものが最も多く, ついで腸炎ビブリオとなっている。また, カンピロバクター・ジェジュニによる食中毒がここ数年増加している。原因菌としてはサルモネラ, カンピロバクターは卵や鶏肉とその加工品が, 腸炎ビブリオでは魚介類によるものが多い。

検査技術等の向上でより多くの病因菌の特定ができるようになったため, 原因菌の不明は年々減少傾向にある。

3. 10歳男児髄液からのコクサッキーA16型ウイルスの検出

微生物部門 近野真由美

2002年1月, 府内の10歳男児が急性脳症と診断され, 入院4日目の髄液を採取, ウイルス分離はFL, RD-18S, Vero, MDCKの細胞及びddY系ほ乳マウスを用いてウイルス分離を行った。細胞ではウイルスは分離されず, ほ乳マウスでは継代2代目で全発症した。このマウスをトルソーにして定法により処理し検液とした。

補体結合試験(CF)を, コクサッキーA群(1～7型, 10型, 12型, 16型)に対するCF抗血清を用いて行ったが同定できなかった。

そこで, 同検液をMDCKを除く細胞に接種したところ, Veroでのみウイルスを分離, 中和抗血清(Cox. A群及びEV71)による中和では同定できなかった。このため, Vero細胞ウイルス液について遺伝子検査を行うこととし, 大阪府立公衆衛生研究所に依頼した。

汎エンテロプライマー(012, 040: 上流, 011: 下流)を用いRT-PCRを行うと, 増幅産物が得られ, ダイレクトシーケンシングを行った。

結果はCox. A16型と塩基配列で97%のホモロジーがあり, Cox. A16型と同定した。

4. 牛海綿状脳症 (BSE) スクリーニング検査について

病理部門 大石浩之

平成13年9月10日、日本国内で BSE 感染牛が初めて確認された。この事態をふまえ、国産牛肉の安全性を確保するとともに国民の不安を解消する対策の一つとして、と畜場で処理される全ての牛を対象に BSE スクリーニング検査が行われることになり、同年10月18日から当所を含む全国の食肉衛生検査所において検査が開始された。

検査はプラテリア BSE キット (BIO-RAD 社) を用いた ELISA 法により、厚生労働省の BSE スクリーニング検査要領に基づいて行われている。

検査は4名体制のローテーションで実施し、平成14年9月末までの約1年間で検査頭数は8,193頭、検査実施は173日であった。1日あたりの平均頭数は47.4頭で、平均所要時間は6時間11分であった。

再検査が行われたのは20回 (37検体) であった。そのうちの2検体がスクリーニング検査陽性と判定され、確認検査にまわされたが、最終的に BSE 陰性と判定された。

詳細は報文「牛海綿状脳症 (BSE) スクリーニング検査について」に述べる。

5. Real-time PCR による移植後アデノウイルス (AdV) 感染症の早期診断の試み

調査研究部門 寺村知子

Real-time PCR を使用して、移植患者血清および尿中の AdV ゲノムをモニターし、この方法による早期診断の有効性を検討した。

<方法> 検体：造血幹細胞移植患者7名の血清59検体及び尿48検体。対象には、健康3歳児随時尿75検体、臍帯血血清7検体、健康乳幼児血清8検体を使用した。定量 PCR:Hexon 領域を増幅した。その検出感度は血清200コピー/ml、尿50コピー/ μ gCre。AdV3.7.11.34.35型の検出が可能。

<結果>

1. 移植後患者血清および尿中に有意に高く AdV ゲノム数が検出された。
2. 移植前血清中に 10^3 コピー/ml 以上 AdV ゲノムが検出された2/5検体は、移植後 AdV 出血性膀胱炎を発症した。尿中では、移植後1-2週の時点で3検体にウイルスゲノムが検出された。これらの症例もまた AdV 出血性膀胱炎を発症した。

<考察> 血清および尿中の AdV ゲノム定量 PCR は、AdV 感染症の早期診断に有効である可能性が示唆された。

6. LC/MS/MS による農産物中残留農薬の一斉分析法

生活衛生部門 小谷野貴文

食品衛生法では平成14年3月末現在、農産物の残留農薬基準として229農薬が示されており、また農薬別の分析法としては123の試験法が示されている。しかし、個別の分析法で検査するのは人手や時間の面から難しく、多くの種類の農薬を一度に分析する方法が必要になってくる。生活衛生部門で行われている一斉分析法は旧厚生省の示す方法に準じており、分析装置として GC/MS と HPLC/UV を使用してきた。

一方、残留農薬検査の公定法に LC/MS が採用されたのにもない、当部門にも LC/MS が導入された。LC/MS は GC/MS では分析できない不揮発性物質や熱に不安定な物質の測定が可能のため、検査対象農薬を広げることができるというメリットがある。またこのたび導入された LC/MS は MS/MS 機能を備えているので、その優れた選択性を生かして確実な同定が期待できる。公定法に LC/MS が採用されている農薬や GC/MS での測定が難しい農薬などを対象として、一斉分析法が LC/MS に適用できるかどうか検討を行った。

その結果、残留農薬一斉分析法が LC/MS にも適用できることがわかった。

詳細は「LC/MS/MS による農産物中残留農薬の一斉分析法」京都市衛生公害研究所年報 (68), 90-100 (2002) に述べる。

7. 牛乳の保存温度における低温細菌数の変化

生活衛生部門 新美達也

低温で保存管理されている牛乳の品質劣化の原因の一つに、低温細菌の関与が指摘されている。そこで、市販牛乳から低温細菌の検出、及び管理温度における低温細菌数の変化について実験を行った。

超高温短時間殺菌乳と低温殺菌乳を5℃、10℃、20℃、35℃で保存し、低温細菌数を測定した。保存後72時間を経過しても低温細菌は確認されなかった。また、低温細菌 (*Pseudomonas fluorescens*) を LL 牛乳に添加し、品質保持期限内における細菌数の変化を調べた。5℃の保存では細菌数の増加は抑えられていたが、10℃以上では明らかな増加が確認された。

牛乳の保存基準は10℃以下となっているが、低温細菌の増殖を抑制し、牛乳の品質を保つためには5℃以下で温度管理することが、より好ましいと考えられる。

8. 水質モニタリング結果に現れた沢の池の pH 変動の要因について

環境部門 吉川俊一

京都市域山間部に位置する沢の池について、酸性降下物の負荷による池沼生態系への影響を11年間モニタリングしたが、この期間を通して池水 pH には特別の変動傾向は認められなかった。

しかし、池水の H^+ 濃度は水位と反比例しながら変動する傾向が認められた。

池の最深部では、夏季にアルカリ度の上昇が見られたが、年間を通した全層平均値の変化は小さく、池内部でのアルカリ度生成量は大きくないと推定される。アルカリ度が高い伏流水の成分濃度は高水位時の池水の成分濃度の特徴によく類似しており、その多量の流入により、池水 pH が上昇すると考えられる。

また、池に出入する各フラックスの水量と Cl^- , Ca^{2+} 量についての収支バランスの計算の結果、伏流水と湧水(同じくアルカリ度が高い)が主要な流入フラックスと推定された。

さらにそれらの流入水がもたらす池水のアルカリ度予測値が、その実測値を上回るほど高いことから、池水のアルカリ度は主として集水域からもたらされると判断できる。

9. 市内多地点における降水成分の比較

環境部門 山本暁人

環境部門では、降水の酸性化の状況を長期的に把握することを目的とし、昭和58年度から京都市内1地点(衛生公害研究所)において常時測定を行っている。この結果によると、近年、降水の pH は緩やかな上昇傾向がみられ、従来の4.5前後から5.0前後へと変化している。

今回、この傾向が市内全域に共通した現象であるかを確

認し、衛公研が酸性雨の測定地点として京都市内の地域代表性があるかを検討し、また、今後定期的に行う予定である市内各地の酸性雨による土壤被害調査計画等に資することを目的とした調査を次のように実施した。市内5地点(中京区;衛生公害研究所,左京区;岩倉出張所,山科区;山科保健所,西京区;榎原小学校,伏見区;伏見区役所)において、平成13年3月26日から平成14年3月25日までの1年間、ろ過式採取装置を用いて1週間ごとに採取し、降水中の pH やイオン成分の組成調査等を測定した。

その結果、pH の上昇は市内全域に共通した現象であると考えた。また、衛生公害研究所の測定値は京都市内における降水成分の平均値に類似した偏りの少ない地域代表性のある測定地点であると考えた。

10. フタル酸エステル類の抽出方法について

環境部門 中川和子

プラスチックの可塑材として使用されているフタル酸エステル類は、外因性内分泌攪乱物質として危惧されている物質である。この分析法として、現在、環境省の暫定マニュアルがあるが、抽出時間、攪拌時間、攪拌速度などが確定したものではなく、抽出時間も長い。試料によっては、エマルジョンの形成により、後操作が困難となり、また、それは回収率の低下も招く。そこで、フタル酸エステル類(フタル酸ジ-2-エチルヘキシル,フタル酸ジエチル,フタル酸ジ-n-ブチル,フタル酸ブチルベンジル,フタル酸ジシクロヘキシル)の一斉分析について、簡便で満足のいく回収率が得られるように、溶媒抽出法を検討し、添加回収実験を行った。その結果、回収率もよく、問題となるブランク値も低い方法として、ヘキサン量が暫定マニュアルの4倍量(10ml)ヘキサンで振とう抽出、遠心分離を行うこととした。