

(1) 報 文

- 1) 河川水中のダイオキシン類濃度について……………19
- 2) 先天性風疹症候群の2例—大分県……………23
- 3) 電子顕微鏡画像集の作成…………… 25

河川水中のダイオキシン類濃度について

上田精一郎、二村哲男、久枝和生、佐々木清

Dioxins contamination in river waters

Seiichiro Ueda, Tetsuo Futamura, Kazuo Hisaeda, Kiyoshi Sasaki

Key words : ダイオキシン類 dioxins、毒性等量 toxicity equivalency quantity、河川水 river water

要旨

河川水中のダイオキシン類濃度は、夏季（6～8月）特に6月に極大を示し、その他の時期は低濃度で推移すること、また、水中の浮遊物質（SS）と正の相関があることがわかった。さらに、極大時期における同族体組成比パターンは、環境省が2001年度に実施した田植え時期の水田排水調査の同族体組成比パターンに類似していることがわかった。これらのことから、犬丸川の水質が極大を示すのは、田植えの一時期に、過去に使われた除草剤に不純物として含まれていたダイオキシン類が流出することが原因ではないかとの示唆を得た。

はじめに

2002年度モニタリング調査において、犬丸川で他の河川より比較的高濃度を示す値が検出されたことから、河川水中のダイオキシン類濃度が年間でどのように変動するか、また、その変動の要因は何かを明らかにすることにより、行政施策を講ずるうえでの参考資料を得ることを目的として調査を行った。

方 法

1 調査地点及び頻度

1.1 2003年度調査

定点調査 犬丸川最下流の今津大橋において2か月ごとに河川水を採取し、
 面的調査 第1加来橋（犬丸川）、長生橋（犬丸川）、古川橋（犬丸川）、今津大橋（犬丸川）及び櫻洲橋（五十石川）において、8月に河川水及び底質を採取した。

1.2 2004年度調査

定点調査 犬丸川感潮域直上流の古川橋において2か月ごとに河川水を、犬丸川に流入する農業排水路流末において1回河川水及び底質を採取した。

発生源調査 犬丸川への排水量の負荷が大きいし尿処理施設の処理水を採用した。
 調査地点は図1に示した。

2 分析方法

水質及び底質のダイオキシン類は、それぞれ「工業用水・工場排水中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法」(JIS K 0312) 及び「ダイオキシン類に係る底質調査測定マニュアル」(平成12年3月環境庁水質保全局水質管理課) に定める方法で分析測定し、ダイオキシン類を定量解析した。また、併せて水質のpH、SS、電気伝導率を測定した。

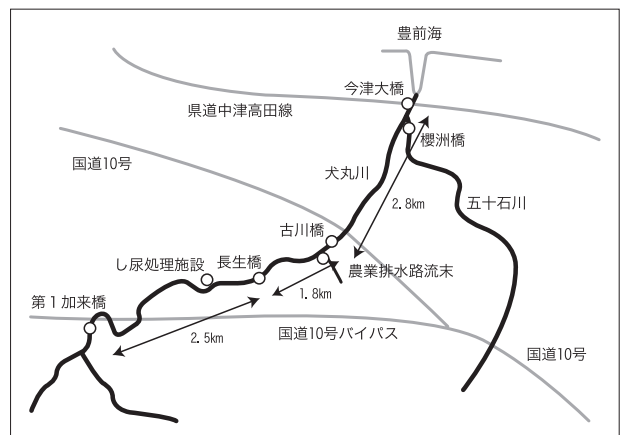


図1 調査地点図

結果及び考察

1.1 2003年度調査

犬丸川（三光村、中津市）下流部で行ったダイオキシン類水質及び底質調査結果は表1、表2及び表3に示した。年6回のダイオキシン類水質調査結果は、最大値3.7pg-TEQ/L、最小値0.16pg-TEQ/Lで（図2）、濃度の変動が極めて大きく（変動係数CV値86%）、今津大橋では、6月、8月にそれぞれ3.5、3.7pg-TEQ/Lと高濃度であった。また、2002年度モニタリング調査結果を含めたダイオキシン類濃度とSSは正の相関が見られた（図3）。

河川の下流に沿った8月の水質調査では、水路等から水の流れ込みによりダイオキシン類濃度が徐々に増加することが明瞭にみられたものの（図4）、底質とは特段の関連性は見られなかった。（図5）

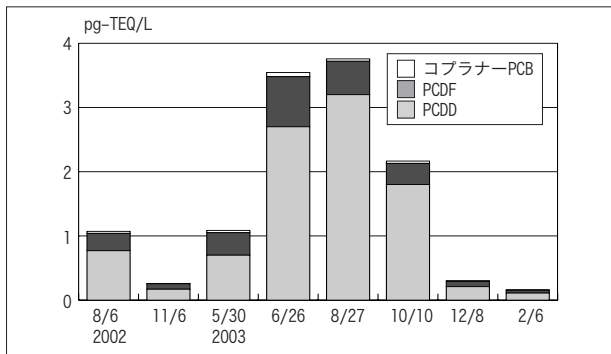


図2 水質毒性等量の推移（今津大橋）

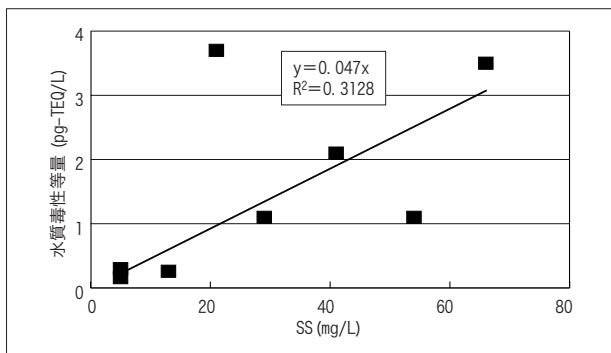


図3 水質毒性等量とSSの相関（今津大橋）

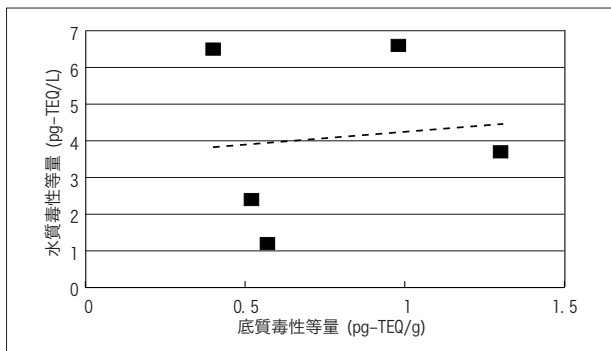


図5 水質毒性等量と底質毒性等量の相関

水質の同族体組成比パターンを見ると、一般的にいわれる農薬に起因するパターンに類似していた（図6、図7、図8¹⁾）。

表1 2003年度定点水質調査結果

採取地点	採取日	毒性等量 pg-TEQ/L	SS mg/L
今津大橋	2003/ 5/30	1.1	54
今津大橋	2003/ 6/26	3.5	66
今津大橋	2003/ 8/27	3.7	21
今津大橋	2003/10/10	2.1	41
今津大橋	2003/12/ 8	0.30	5
今津大橋	2004/ 2/ 6	0.16	5

表2 2003年度面的水質調査結果

採取地点	採取日	毒性等量 pg-TEQ/L	SS mg/L
第1加来橋	2003/ 8/27	1.2	3
長生橋	2003/ 8/27	6.5	5
古川橋	2003/ 8/27	2.4	5
今津大橋	2003/ 8/27	3.7	21
櫻洲橋	2003/ 8/27	6.6	11

表3 2003年度底質調査結果

採取地点	採取日	毒性等量 pg-TEQ/g
第1加来橋	2003/ 8/27	0.57
長生橋	2004/ 2/ 6	0.40
古川橋	2003/ 8/27	0.52
今津大橋	2003/ 8/27	1.3
櫻洲橋	2003/ 8/27	0.98

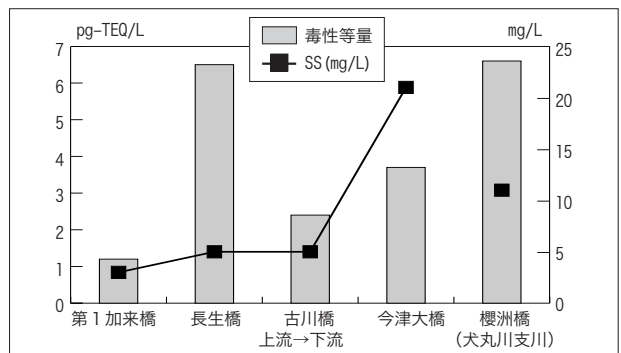


図4 水質毒性等量とSSの相関（流域調査）

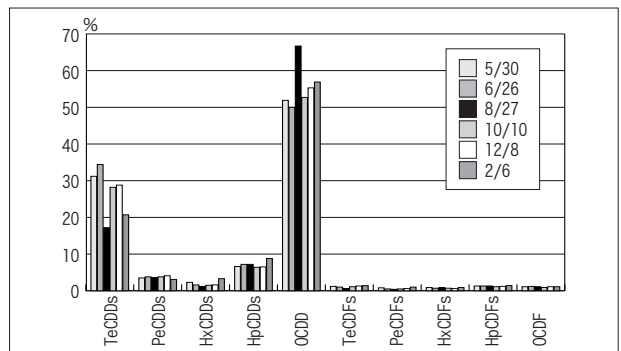


図6 水質同族体組成比パターン（今津大橋）

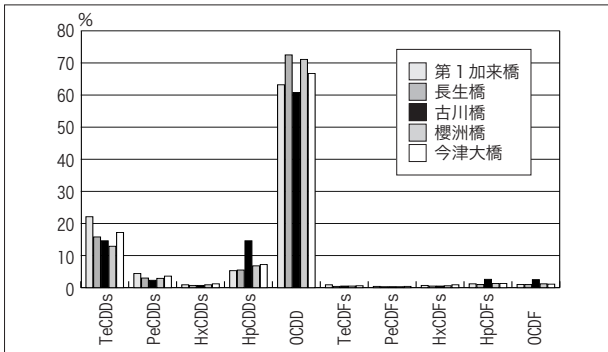


図7 水質同族体組成比パターン (流域調査)

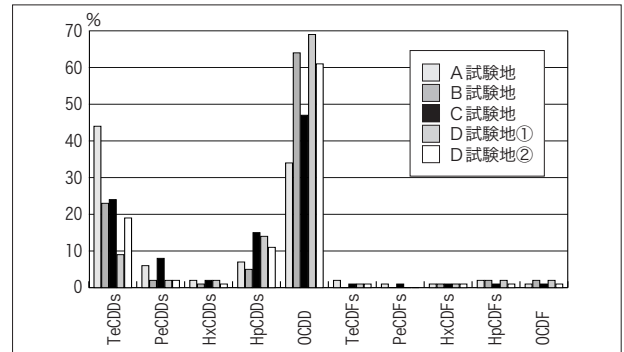


図8 平成13年度環境省調査水質同族体組成比パターン
「平成13年度水田等農用地を中心としたダイオキシン類の排出実態調査測定結果」(環境省) から作成した。

1.2 2004年度調査

犬丸川下流部で行ったダイオキシン類水質及び底質調査結果及びし尿処理施設処理水のダイオキシン類水質調査結果は表4及び表5に示した。犬丸川感潮域直上流で行った年5回のダイオキシン類水質調査結果は、最大値2.1pg-TEQ/L、最小値0.15pg-TEQ/Lで、濃度の変動が極めて大きく(変動係数CV値121%)、6月に最高値を示した(図9)。また、ダイオキシン類毒性等量とSSは強い正の相関が見られた(図10)。

6月に採取した農業排水路流末と直下流に位置する古川橋の水質のダイオキシン類同族体組成比パターンは類似していた(図11)。特にPCDFsの同族体組成比パターンは、古川橋における他の採水時期とは異なり、特徴的なパターンの類似が認められた(図12)。また、PCDDsのパターンに着目すると、農業排水路流末と古川橋における6月のOCDDの組成比は他の採取時期より20%程度低く、一方、PeCDDsとHpCDDsの組成比が高くなる傾向がそろうて顕著にみられた(図11)。農業排水路流末における底質の同族体パターンはTeCDDsが約60%を占め、OCDD(20%)より優先していた(図13)。農業排水路流末の底質の組成比が6月の古川橋の特徴的な同族体パターンの形成に影響を及ぼしていることが推定できる。

犬丸川への排水量の負荷が大きい中津市し尿処理場の処理水は、0.00044pg-TEQ/Lで犬丸川の毒性等量に影響を及ぼすようなダイオキシン類の流入負荷は認められなかった。

河川水中のダイオキシン類濃度の田植えによる一時的な上昇、または過去に使われた除草剤に不純物として含まれていたダイオキシン類が河川水のダイオキシン類濃度に寄与しているという報告は、以前からいくつもなされており²⁻⁴⁾、流域に水田のある河川では、多かれ少なかれ一般的に生じている現象と考えられる。

表4 2004年度水質調査結果

採取地点	採取日	毒性等量 pg-TEQ/L	SS mg/L
古川橋	2004/ 5/12	0.24	6
古川橋	2004/ 6/16	2.1	25
農業排水路流末	2004/ 6/16	4.2	38
古川橋	2004/ 8/18	0.57	7
古川橋	2004/10/13	0.16	2
古川橋	2005/ 2/22	0.15	2
中津市し尿処理場	2004/ 8/18	0.00044	1

表5 2004年度底質調査結果

採取地点	採取日	毒性等量 pg-TEQ/g
農業排水路流末	2004/10/13	5.0

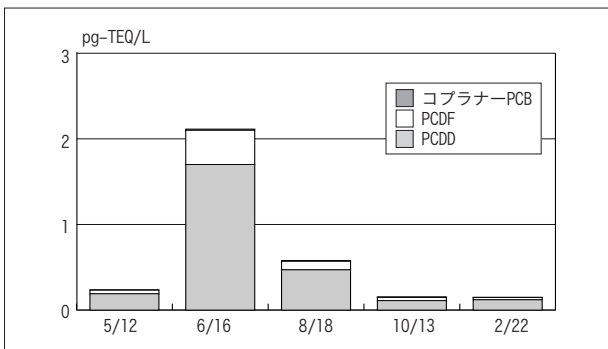


図9 水質毒性等量の推移 (古川橋)

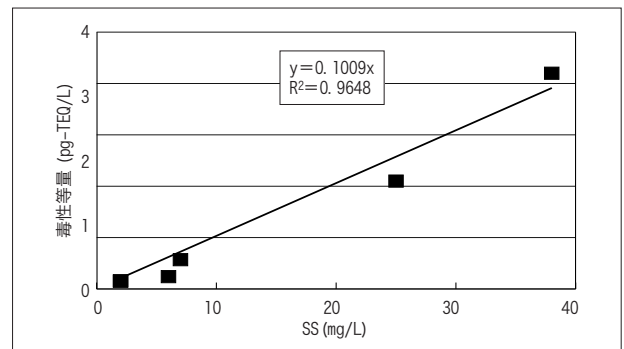


図10 水質毒性等量とSSの相関 (古川橋、水路流末)

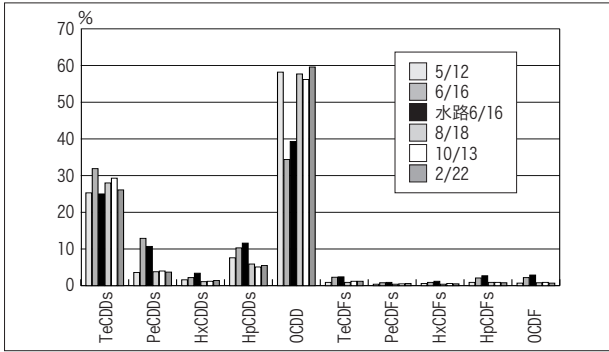


図11 水質同族体組成比パターン (古川橋、水路流末)

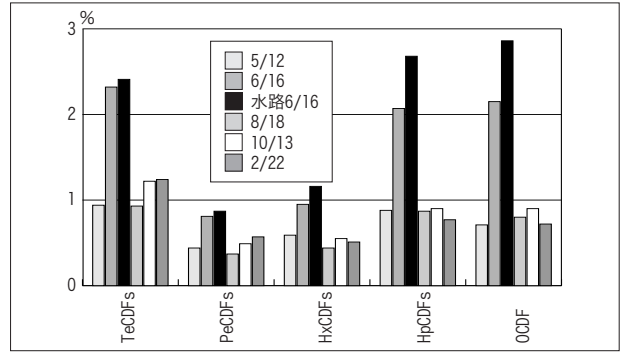


図12 水質PCDF同族体組成比パターン (古川橋、水路流末)

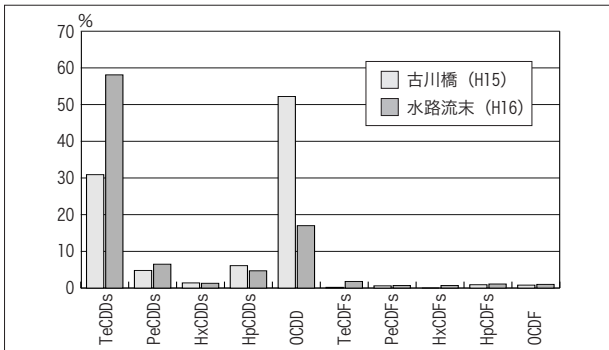


図13 底質同族体組成比パターン (古川橋、水路流末)

参 考 文 献

- 1) 環境省環境管理局水環境部土壌環境課農薬環境管理室：水田等農用地を中心としたダイオキシン類の排出実態調査結果について (2002)
- 2) 飯田勝彦、加藤陽一：水田土壌中のダイオキシン類の河川水への影響，神奈川県環境科学センター業務報告, 67-69 (2004)
- 3) 「吉澤正、山本実、石渡康尊、半野勝正、仁平雅子、依田彦太郎：千葉県公共用水域ダイオキシン類常時監視結果の特徴と問題点，千葉県環境研究センター年報, 3, 171-175 (2003)
- 4) 安田裕、村瀬秀也、大平武俊：岐阜県内河川環境中のダイオキシン類，岐阜県保健環境研究所報, 11, 9-14 (2003)

先天性風疹症候群の2例—大分県

吉用省三、小河正雄、田代潔子

2 cases of congenital rubella syndrome in Oita Prefecture

Shozo Yoshimochi, Masao Ogawa, Kiyoko Tashiro

Key words : 先天性風疹症候群 congenital rubella syndrome

要旨

2003年末から2004年初夏にかけて風疹の地域流行が大分県内で認められた。その際、妊婦が妊娠初期に風疹に罹患し、出生児が臨床的に先天性風疹症候群と診断された2症例のウイルス学的検索を行ったところ、風疹ウイルスの分離および風疹遺伝子を検出したので報告する。

はじめに

妊婦が妊娠初期に風疹に罹患すると、風疹ウイルスが胎盤を介して胎児に感染し、出生児が先天性風疹症候群 (CRS) となることがある¹⁾。CRSの症状は妊娠中の感染時期により重症度、発現部位が異なり、感音性難聴、先天性白内障または緑内障、先天性心疾患が3徴候である²⁾。今回、臨床的にCRSと診断された2症例のウイルス学的検索を行い、風疹ウイルスおよび風疹ウイルスの遺伝子を検出したので報告する。

材料及び方法

症例1：患者は2004年10月15日生まれ、女性。臨床症状・徴候等は先天性心疾患(肺動脈狭窄)、感音性難聴、不当軽量児(LFD児)、小頭症が認められた。臨床検査では血清中に風疹特異的IgM抗体の上昇が認められた。発生の状況は、母親の住居地域で風疹の流行が認められた。なお、母親の海外渡航歴およびワクチン接種歴については明らかでなかった。今回、得られた検体は13日齢に採取された咽頭ぬぐい液、脳脊髄液、尿および血清の4検体であった。

症例2：患者は2004年11月19日生まれ、男性。臨床症状・徴候等は、先天性心疾患、不当軽量児(LFD児)であった。臨床検査では血清中に風疹特異的IgM抗体の上昇が認められた。なお、母親については、IgM抗体陰性、IgG抗体陽性であった。発生の状況は、母親の住居地域で風疹の流行が認められた。母親の海外渡航歴およびワクチン接種歴はなかった。得られた検体は7日齢に採取された咽頭ぬぐい液、尿および32日齢に採取された脳脊髄液の3検体であった。なお本症例は、CRSの感染症法に基づく届出基準を病原体診断等による基準を満たしているが、臨床症状による基準を満たしていないため届出されていない。

ウイルス分離およびウイルス遺伝子の検出は、国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会発行の病原体検査マニュアルに従い実施した。ウイルス分離はRK-13細胞を用い3~4代まで継代した。ウイルスRNAの抽出は培養細胞上清からQIA ampviral RNA mini kitで行い、RT-nested PCRを行った。同定はPCR産物をABI PRISM 310を用いてシーケンスし、その遺伝子配列により判定した。なお、風疹ウイルス遺伝子の検出は検体直接からも試みた。

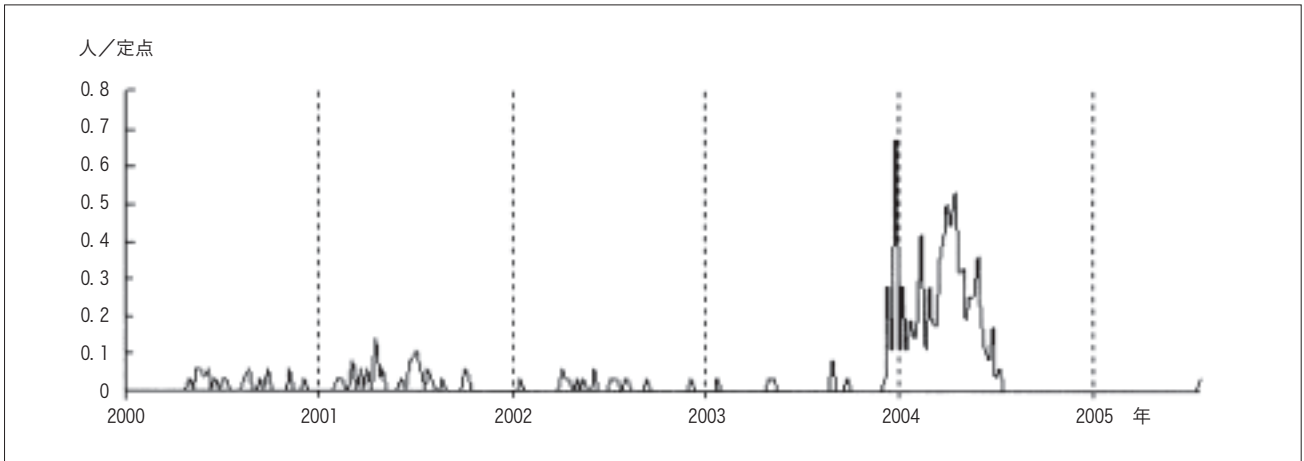


図1 大分県の風疹流行状況

結 果 考 察

症例1：培養細胞から風疹ウイルスが分離されたのは咽頭ぬぐい液、脳脊髄液および、尿の3検体で、血清からは分離されなかった。また、咽頭ぬぐい液、尿は検体直接から風疹ウイルスの遺伝子が検出された。なお、培養細胞には明瞭な細胞変性効果は認められなかった。この症例は、今シーズン全国で10例目の報告であった。

症例2：尿および脳脊髄液の2検体からウイルスが分離され、咽頭ぬぐい液からは分離されなかった。また検体直接から、風疹ウイルスの遺伝子は検出されなかった。なお、培養細胞には明瞭な細胞変性効果は認められなかった。

大分県における風疹流行状況：感染症発生動向調査・患者定点からの風疹の報告は1992年7,570人、1993年は2,572人であったが、その後大きな流行はなく、患者報告数は小規模に留まっていた。今回の流行は2003年第49週から患者が報告され始め、2003年第52週に患者報告数が最大となり、2004年第28週に終息した(図1)。患者定点からの患者報告数は283人で発生規模は中程度であったが、患者発生は地域性が認められ、臼杵保健所管内からの報告が最も多く、隣接する大分市保健所、佐伯保健所からも患者が報告された。

CRSの発症は妊娠中の初感染によるものがほとんどであるが、低い抗体価の妊婦においては妊娠中の再感染でも発症した事例が報告されている¹⁾。今回のCRS症例では、母親の居住地が流行地域であり、ワクチンおよび風疹抗体価は明らかでなく、今回の風疹流行との関連性が推測される。CRSそれ自体の治療法はなく、CRS予防のためには、妊娠可能年齢の女性は、妊娠前に予防接種を受け十分な抗体価を保有することが重要であり、妊婦や妊娠年齢の女性の管理を行う産科や婦人科においては、地域での風疹流行状況などに細心の注意を払うことが望まれる。

参 考 文 献

- 1) 病原微生物検出情報, Vol.24 No.3 (2003.3) 特集 風疹
- 2) IDWR 2002年第21週 第4巻 第21号 8-10 感染症の話 先天性風疹症候群

電子顕微鏡画像集の作成

小河正雄、金子昌代*¹、成松浩志*²

*¹財団法人西日本産業衛生会北九州産業衛生診療所、*²日田玖珠県民保健福祉センター

Creation of electron microscope photographic image database

Masao Ogawa, Masayo Kaneko, Hiroshi Narimatsu

Key words : 電子顕微鏡 electron microscope、データベース database、インターネット Internet

要旨

透過電子顕微鏡及び走査電子顕微鏡で、細菌やウイルス、カビなどの微生物、昆虫や植物、繊維などの写真を撮り、HTMLで電子顕微鏡画像集を作成した。これにより、インターネットやイントラネットで容易に画像を検索、閲覧できるようになった。食品や飲料水中の異物の検査や、衛生教育、環境教育などの教材として利用したい。

はじめに

2003年に大分県衛生環境研究センターが新築移転した際、ウイルスの検索及び食品中の異物の検査を目的に電子顕微鏡が導入された。電子顕微鏡で観察した画像は、今後のウイルス検査及び食品等の異物検査に役立つだけでなく、衛生教育や環境教育の教材としても期待される。我々は、電子顕微鏡で細菌やウイルス、カビなどの微生物、昆虫や植物、繊維などの画像を撮影し、これらの画像を利用しやすくするためHTMLに加工して、電子顕微鏡画像集を作成したので報告する。

材料及び方法

透過電子顕微鏡 (TEM) は日本電子JEM-1230を、走査電子顕微鏡 (SEM) は日本電子JSM-6360LVを用いた。

試料は、動物由来のものとしてヒト、イヌ、ネコ、ウサギの体毛を、昆虫としてアリ、アブラムシ、カ、ゴキブリ、ハエ、チョウ、ガ、ナナフシ、クモを、植物由来のものとして花粉、ジャガイモ、クローバーを、微生物としてノロウイルス、ロタウイルス、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、カビを、繊維関係としてティッシュペーパー、ストッキング、羊やアルパカの毛糸を用いた。

1 SEM (高真空) による観察

ウイルス以外の試料は、SEMを用いて観察を行った。表面が固い生物試料は約7mm角に切断し、カーボン両面テープにより真鍮製の試料載台 (φ10mm×10h) に固定した。試料をオートファインコーター (日本電子JFC-1600) の試料台に載せ、スパッタリング電流30mAで20秒ずつ3回、白金蒸着を行ったのち、SEMで観察し画像を保存した。観察条件は、倍率27~30,000倍、加速電圧15kV、スポットサイズ50nmであった。

細菌は、コロニーを生理食塩水に懸濁し、8,000rpm、5分間遠心し上静を捨てた。2%グルタルアルデヒドで30分固定したのち、8,000rpm、5分間遠心し上静を捨てた。PBS (-) 1,000μlを加え混和し、8,000rpm、5分間遠心し上静を捨てた。菌体をPBS (-) 500μlに懸濁し、フィルター状の試料載台であるSEMpore (日本電子) に滴下して水分を吸引除去した。50%、70%、90%のエタノールをそれぞれ5分間作用させ吸引除去した。100%エタノールで10分間ずつ2回作用させ吸引除去した。tブチルアルコールを20分間作用させ吸引除去する作業を2回行った。凍結乾燥装置 (日本電子JFD-310) で試料を凍結乾燥し、オートファインコーターで白金蒸着を行った後、SEMで観察した¹⁾。

2 低真空SEMによる観察

ジャガイモ、カビ、かななどの水を多く含んだ生物

試料の一部は、低真空SEMで観察を行った。試料を試料載台にでんぷん糊で固定し、超低温の冷凍庫(-80℃)で10分間凍結した。白金蒸着することなく、凍ったまま試料を素早くSEM内に入れ、低真空モードで観察した。観察条件は、倍率27~3,000倍、圧力20~30Pa、加速電圧15kV、スポットサイズ50~60nm、作動距離12~16mmであった。低真空SEMは、真空による試料の変形、電子線照射によるチャージアップ(試料に電荷が蓄積され、帯電する現象)を防ぐため、水分の多い生物試料、帯電しやすい繊維などの観察に適している。

3 TEMによる観察

ウイルス性胃腸炎の原因であるノロウイルスとロタウイルスの観察を行った。胃腸炎患者の糞便を蒸留水で10%乳剤とし、10,000rpm、20分間遠心した。上清5mlを1mlの30%ショ糖溶液に重層し、40,000rpm、120分間遠心した。上清を除き、沈渣を200μlの蒸留水に浮遊させた。これを10,000rpm、15分間遠心し、上清をウイルス液とした。ウイルス液を200メッシュ支持膜付銅製グリッド上に10μl滴下し、1分間放置した。ろ紙で余分な試料を吸い取った後、2%リンタングステン酸水溶液で30秒間ネガティブ染色を行った。ろ紙で余分な染色液を吸い取り乾燥し、TEMで観察を行った²⁾。

4 HTMLによる画像集の作成

画像はJPEG形式で保存した。保存した画像をAdobe Photoshop Elements (アドビシステムズ社)で、667×500ピクセルの大きさに縮小した。これは、画面の小さいパソコンでも画像全体を表示できるためである。フリーソフトウェアのVix (K-OKADA) のアルバムHTML作成機能を用いて、HTMLによる画像集を作成した。

結果及び考察

SEMによる顕微鏡写真91枚とTEMによる顕微鏡写真3枚の画像集を作成した。これまで、利用しにくかった顕微鏡写真が、広く普及しているInternet Explorer (マイクロソフト社)、Netscape Navigator (ネットスケープ社)などのブラウザで簡単に検索、閲覧できるようになった(図1、2、3)。当センターの施設見学者等から電子顕微鏡画像の配布の要望があっていたが、2005年7月28日より当センターのホームページで電子顕微鏡画像集(<http://www.pref.oita.jp/13002/bisei/denken/index.htm>)を公開し、この要望に応えることができるようになった。今後、衛生教育や環境教育の教材として積極的に利用したい。食品や水に混入した異物の検査をするときに参照しやすくなったが、まだ対象となる試料の種類が少ないので、今後追加してゆきたい。また、SEMでの画像で高真空のため試料が変形したものも見られる。試料の前処理、電子顕微鏡の操作技術の向上を図り、より鮮明な画像を提供してゆきたい。

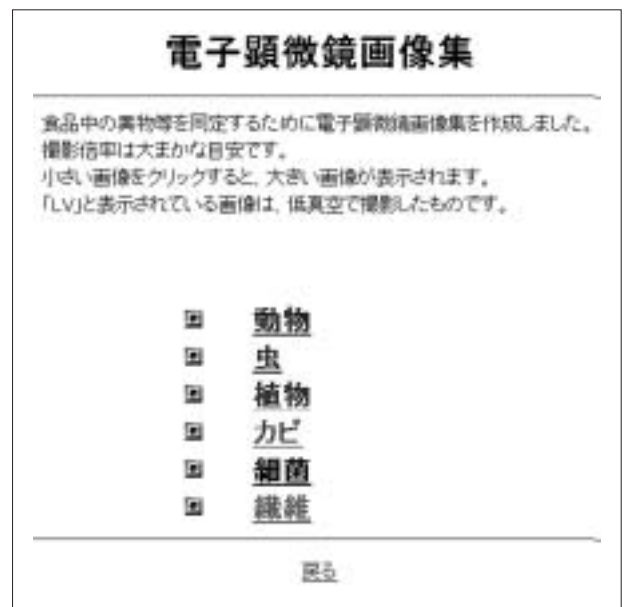


図1 電子顕微鏡画像集の索引画面

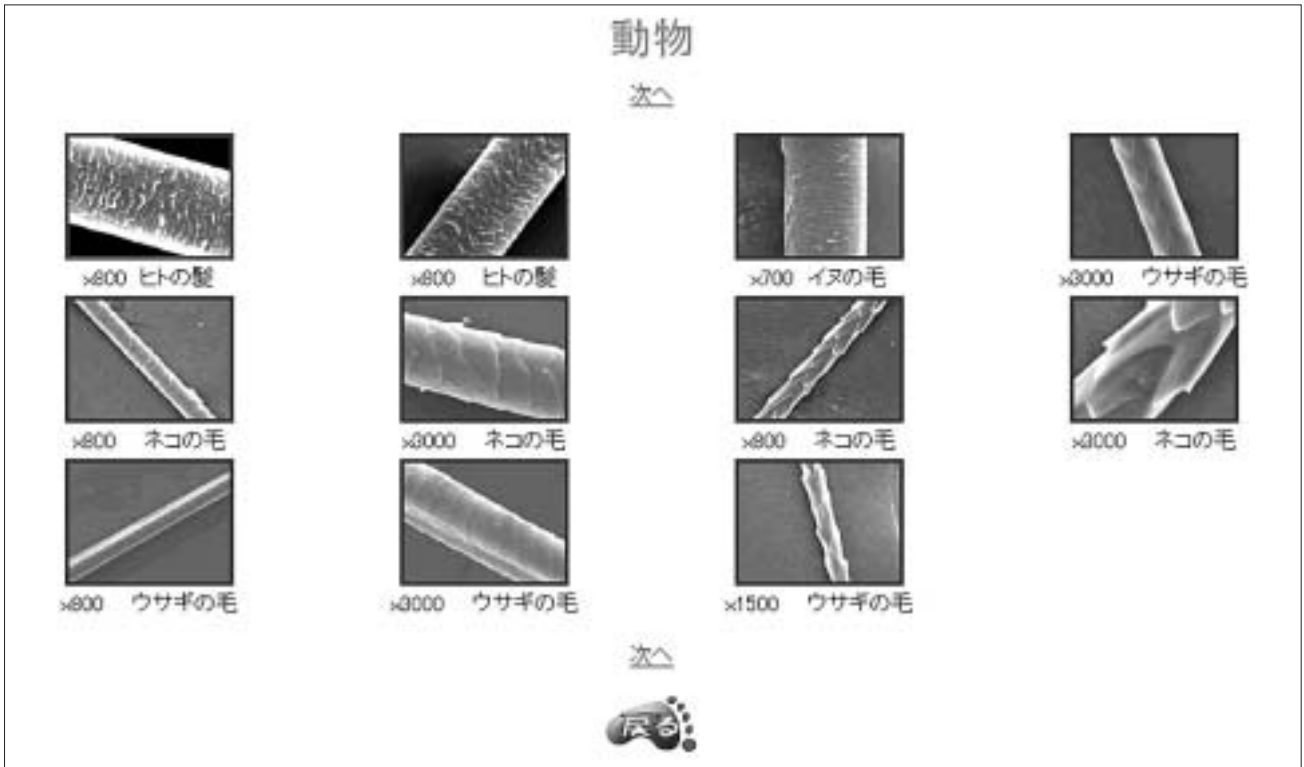


図2 電子顕微鏡画像集の縮小画像一覧

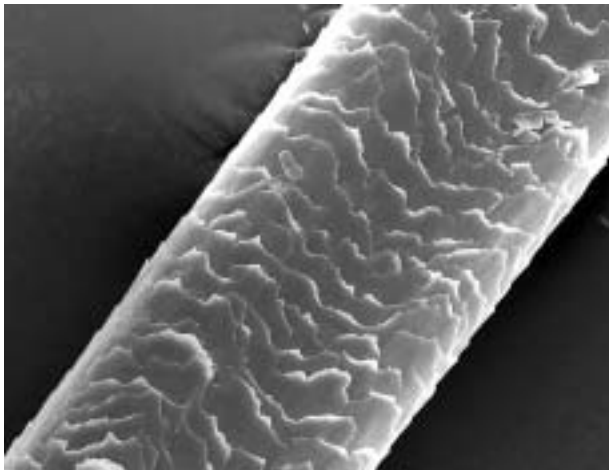


図3 電子顕微鏡画像集の拡大画像

参 考 文 献

- 1) 日本電子株式会社・日本電子データム株式会社:
「走査電子顕微鏡用生物試料作成テキスト」
(2003)
- 2) 国立感染症研究所ウイルス第2部・衛生微生物
技術協議会レファレンス委員会編:「ウイルス性
下痢症診断マニュアル (第3版)」,
p.7-10 (2003)

