

## 第9回

# 秋田県健康環境センター調査研究発表会

## 要旨集

日時 平成26年7月9日(水) 13:30~16:30

会場 秋田県総合保健センター2階 第1研修室

秋 田 県 健 康 環 境 セ ン タ ー



# 第9回秋田県健康環境センター調査研究発表会プログラム

開催日時 平成26年7月9日(水) 13:30~16:30  
開催場所 秋田県総合保健センター2階 第1研修室

【13:30~13:40】 開 会  
所長あいさつ

## 研究発表

【13:40~14:40】 保健衛生部 (4題)

- 1 稀な血清型 Agbeni が同定された3件のサルモネラ感染事例の解析-----1
- 2 秋田県における食用牛の腸管出血性大腸菌保菌状況と分離株の -----3  
細菌学的性状に関する研究-2001~2003年と2012~2013年の調査成績
- 3 ウシ早期初乳のウイルス不活化効果に関する検討-----5
- 4 雄物川流域におけるアカツツガムシ生息状況調査:2009年~2012年 -----7

【14:40~14:50】 休 憩

【14:50~15:35】 理化学部(1題),環境保全部(2題)

- 5 マツ林に散布された農薬の挙動について-----9
- 6 田沢湖の水質の変遷-----11
- 7 未処理玉川酸性水の中和によるpH改善とそれに伴う効果 -----13

【15:40~16:30】 施設見学会 ※コース①~③の希望者

コース①保健衛生部

コース②理化学部・環境保全部

コース③保健衛生部・理化学部・環境保全部

【16:30】 閉 会

# サルモネラ菌の迅速な同定のための検出法及び血清型別法の確立（平成25～26年度）

## 1 稀な血清型 Agbeni が同定された3件のサルモネラ感染事例の解析

○今野貴之 高橋志保 熊谷優子 樫尾拓子 和田恵理子 村山力則 八柳 潤

### 【はじめに】

サルモネラに起因する健康被害の防止対策の構築には、食中毒及び感染症のサーベイランスが重要であり、それには血清型別による疫学的な解析は必須である。サルモネラの血清型は、主に菌体表面の O 抗原と 2 つのべん毛抗原の組み合わせ (O:H1:H2) で決定され、これまでに 2,500 以上の血清型が報告されている。そのうち、ヒトに病原性を示す亜種 I には、それぞれの血清型に固有の血清型名が付けられている。サルモネラの場合、この血清型名が菌種名のように使用される場合が多いのが特徴である。

ヒト由来サルモネラの検出数は、これまで Enteritidis 及び Infantis という血清型が常に 1 位、2 位を占めてはいるものの、それ以外の血清型も様々確認されている。今回、その中でも稀なサルモネラ血清型 Agbeni の感染事例を比較的短期間に 3 件確認した。極めて稀な血清型であったことから PCR 法により血清型関連遺伝子の確認を行うとともに、分子疫学的解析等により事例間の関連性について調査したので報告する。

### 【方法】

#### 1. 血清型別

O 群別は、血液寒天培地上の菌を掻き取り、スライドガラス上で各 O 群血清と混和し、特異的な凝集反応を確認した。

H 型別は、増菌した BHI 培養液に 3%ホルマリン加生理食塩水を加えた抗原液と各 H 型血清を混和し、特異的な凝集反応を確認した。2 つ目の H 抗原を誘導するため、陽性となった H 型の血清を含む相誘導培地に菌を接種し、菌の運動性を確認した。

#### 2. PCR 法によるサルモネラの確認及び抗原遺伝子の解析

サルモネラの確認は、サルモネラに特異的な *invA* 遺伝子と亜種 I 特異的とされる STM4057 遺伝子領域を対象にして、Lee ら (J Appl Microbiol, 107, 805-11, 2009) の方法を改変して行った。抗原遺伝子の解析については、Franklin ら (J Clin Microbiol, 49, 2954-65, 2011) の方法を参考に O13 群の *wzx* 遺伝子、Maurer ら (J Vis Exp., 21, 1-6, 2011) の方法を参考に H1:g,m の *fliC* 遺伝子、H2:1 complex および H2:e,n complex の *fljB* 遺伝子を検出することにより行った。

#### 3. 薬剤感受性試験

アンピシリン、ホスホマイシン、ノルフロキサシン、ゲンタマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコールの 6 剤を対象に、ディスク法による薬剤の発育阻止効果を判定した。

#### 4. パルスフィールドゲル電気泳動法による分子疫学的解析

制限酵素 *XbaI* 及び *NotI* を用いて、菌の染色体 DNA を断片化した後、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) により断片化された DNA のパターンを調べた。これにより、菌株間の関連性を推測した。

### 【結果と考察】

#### 1. 血清型 Agbeni の特定について

事例は、平成 25 年 8 月 27 日から 9 月 11 日にかけて確認された。患者は 2 歳男児、4 歳女児、4 ヶ月の乳児で、同一市内に在住していた。分離された 3 株は市販の抗血清を用いた血清型別で O13 群、H1 抗原が g,m、H2 抗原は検出されなかった。血清型を特定するため、Statens Serum Institute の抗血清を用いて O13 群の副抗原 (O22, O23) の検出を行ったところ、3 株はいずれも O23 (+) であり、血清型 Agbeni と同定された。Agbeni が確認された事例は非常に稀であり、

秋田県では今回初めて確認された。国内では、平成 21 年に東京都から 1 件報告がある。また、海外では平成 23 年にカナダで患者 8 名の感染が確認され、公衆衛生上の問題として注目された。

稀な血清型であったことから、PCR 法によるサルモネラ及び亜種 I の確認と各抗原遺伝子の確認を併せて行った（表）。3 株はいずれもサルモネラ特異的な *invA* 遺伝子 (+)、亜種 I 特異的な STM4057 (+)、O13 群 (+)、H1:g,m (+)、H2;1 及び H2:e,n についてはともに(-)であることが確認された。PCR 法でも従来の血清型別法と一致した結果が得られたことから、迅速に血清型を推定することが可能な PCR 法は、感染症の発生動向を把握する上で非常に有用であると考えられた。

表 分離株の患者情報と血清型別検査成績

菌株No. 受付日	患者情報		血清型別			PCR					
	年齢	性別	O	H1	H2	<i>invA</i>	STM4057	O13	H1:g, m	H2;1	H2; e, n
Sa2675 8/27	2	男性	O13, 23	g, m	-	+	+	+	+	-	-
Sa2680 9/5	4	女性	O13, 23	g, m	-	+	+	+	+	-	-
Sa2681 9/11	4ヶ月		O13, 23	g, m	-	+	+	+	+	-	-

## 2. 分離株の分子疫学的な解析

非常に稀な血清型が複数確認されたことから、3 株の薬剤耐性パターンと PFGE による菌の DNA パターンを比較した。薬剤感受性試験の結果、3 株は供試した 6 剤にはいずれも感受性であった。また、PFGE 法の結果、制限酵素として *NotI* を使用した場合はいずれも同一、*XbaI* を使用した場合は 1 株がバンド 1 本異なるのみであった（図）。今回、患者同士の接点については不明であったが、患者の発生地域は、地理的に近く、関連性が疑われた。

医療機関からの情報によると、初発の患者は直近にミドリガメを飼育し始めたとのことであり、感染源としてはこのミドリガメが強く疑われた。爬虫類を原因とする感染事例は国内外で散見され、特にミドリガメは子供のペットとして人気が高いが、そのサルモネラ汚染は高率で、様々な血清型のサルモネラの保菌が確認されている（黒木俊郎ら、IASR, 30, 212-213, 2009）。平成 25 年 8 月

12 日には米国での感染事例の多発を受け厚生労働省から注意喚起を促す通知が出されている。センターでは今回の事例確認後、関係機関に情報提供するとともに、感染症情報センターの感染症週報に爬虫類に起因するサルモネラ症についてトピックスを掲載し、注意喚起を行った。

サルモネラの感染源としては食肉や鶏卵がよく知られているが、牛、豚、鶏等の家畜以外にも、イヌ・ネコ等のペット、カメ・ヘビ等の爬虫類など様々な動物でサルモネラの保有が確認されていることから、動物と接触する際にはサルモネラ等への感染予防に注意を払うことが大切である。

### 【まとめ】

- ・非常に稀なサルモネラ血清型 Agbeni を確認した。
- ・PCR 法により、迅速に血清型の推定が可能であることを確認した。
- ・3 事例の関連性について推定し、週報を通じて注意喚起した。

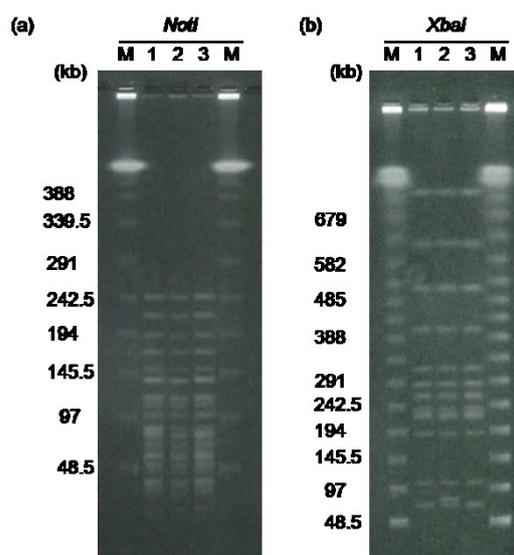


図 PFGE 法による DNA パターンの比較  
M: サイズマーカー, 1: Sa2675, 2: Sa2680, 3: Sa2681

秋田県における食用牛の腸管出血性大腸菌保菌状況と分離株の細菌学的性状に関する研究（平成24～25年度）

## 2 秋田県における食用牛の腸管出血性大腸菌保菌状況と分離株の細菌学的性状に関する研究－2001～2003年と2012～2013年の調査成績

○八柳 潤 今野貴之 樫尾拓子 高橋志保 熊谷優子 和田恵理子 齊藤志保子

### 【背景と目的】

1996年の腸管出血性大腸菌（EHEC）O157食中毒事例多発以降、種々の対策が講じられてきたにもかかわらず、2011年には富山県を中心として5名の死者を伴うEHEC O111食中毒が発生した。更に、同年、ドイツを中心とするヨーロッパで、腸管凝集付着性大腸菌（EAggEC）がベロ毒素（VT）遺伝子を獲得したとされるEHEC O104による大規模な食中毒が発生し、多くの死者が出るなど、EHECによる深刻な健康被害が依然として発生している。

牛はEHECの保菌動物であるため、種々の食肉汚染対策が講じられてきたにもかかわらず、秋田県においてもEHECによる健康被害の発生は未だに終息していない。EHEC感染予防策の構築には、食用牛のEHEC保菌実態の現状把握が第一歩となるが、当センターでは2003年以降当該調査を実施していない。一方、欧州で問題となったEHEC O104や類似株（*aggR*+VT遺伝子保有株）の県内への侵淫実態は不明である。また、O104の型別血清が市販されていないことからEHEC O104疑い株を迅速に特定することは困難であり、感染事例が発生した際の初動対応等の行政対応等に支障を来たしかねない。

このような背景に立脚し、県内の食用牛のEHEC保菌実態解明と分離株の細菌学的性状の精査及びO104型別遺伝子検査法の確立を目的として本研究を実施した。得られた結果について、2001-2003年に実施した類似の研究結果を比較しながら、秋田県におけるEHEC感染症発生状況の推移と併せて報告する。

### 【方法】

#### 1. 牛便からのEHECの分離・同定

秋田市食肉衛生検査所の協力を得て牛便211検体を採取し、EHECの検索に供した。EHEC O157, O26, O111の分離には免疫磁気ビーズを使用した。EHECの同定はVT, *eaeA*, *uidA*, *sa*, 大腸菌O抗原合成遺伝子（O157, O26, O111他）を標的とするPCR法により実施した。EHEC O104と類似株はVT, *aggR*, O104 O抗原合成遺伝子を標的とするPCR法により検索した。

#### 2. EHEC O157のClade解析

EHEC O157の病原性と関連すると報告されているClade解析を実施した。解析はManningsらの原報に従いHairpin Primer法を応用したSNP検出により実施した。解析には2001年～2003年に牛から分離された7株、ヒトから分離された29株、2012～2013年に牛から分離された7株、ヒトから分離された16株、計59株を供した。

#### 3. 薬剤感受性

2001～2003年及び2012～2013年に分離されたEHEC O157 牛由来14株、ヒト由来45株、non-O157 8株についてドライプレートDP35により18薬剤に対する感受性を検討した。

#### 4. O104 遺伝子診断法

*E.coli* O104のO antigen polymerase (*wzy*)遺伝子（Genbank Accession No.AF361371）の470 bpを増幅するプライマーを設計した。国立感染症研究所から分与された、海外旅行者下痢症患者由来 EAggEC O104の抽出DNA溶液から*E.coli* O104 *wzy*のORF全長を増幅し、大腸菌にクローニングして陽性対照株を作出し、EHEC O104の検索に供した。

#### 5. 秋田県におけるEHEC感染事例発生状況の推移

1996年から2013年のEHEC感染事例発生状況を集計した。

## 【結果】

### 1. 牛便からのEHECの分離・同定

牛便211検体中EHEC O157が7検体（3.3%）から検出された。2001～2003年の調査では452検体中7検体（1.5%）からEHEC O157が検出されており、秋田県における食用牛のEHEC O157保菌率は10年前の約2倍であった。患者由来株と同様に*eaeA*遺伝子または*saa*遺伝子を保有するEHECの保菌率も3.3%から10.0%に増加した。一方、EHEC O104やそれに類似する病原機構を有するEHEC（*aggR*+VT遺伝子保有株）は検出されなかった。

### 2. EHEC O157のClade解析

重症例との関連が疫学的に示されているClade 8が患者由来EHEC O157に占める割合は、2001～2003年に10.3%であったのに対して2012～2013年には25%となり、増加傾向がみられた。Clade 8に感染した患者全員に血便がみられた。また、2013年に横手保健所管内で死亡した女兒から分離されたEHEC O157もClade 8であった。一方、2001～2003年に約45%を占めていたClade 2は2012～2013年に全く検出されず、県内で患者から分離されるEHEC O157のClade分布に年次推移が認められた。牛由来株では2001～2003年にはEHEC O157 Clade 8が検出されなかったのに対して、2012～2013年には1株がClade 8であることが確認された。

### 3. EHECの薬剤感受性

供試した67株は全て治療の第一選択であるホスホマイシンに感受性であった。

### 4. 秋田県におけるEHEC感染事例発生状況の推移

2001年以降、EHEC感染事例発生数は年間30～40事例で推移していたが、生食用牛肉（ユッケ等）の衛生基準が厳格化された2011年は18事例、牛生レバーの提供が禁止された2012年は22事例と減少傾向がみられた。しかし、2013年には28事例となり、増加傾向がみられた。

## 【考察】

この10年間に県内で食用牛のEHEC O157保菌率が1.5%から3.3%に増加していることが明らかとなった。更に、患者由来株に占める高病原性CladeであるClade 8の比率も増加していること、牛由来株にもClade8が存在することが明らかとなった。これらの事実は、秋田県におけるEHEC O157感染リスクと重症化リスクが増加していることを示唆していると考えられる。実際、2013年に秋田県で2人目となるEHEC O157感染による死者が発生し、患者由来株はClade 8であった。今後も県内で分離されるEHEC O157のClade分布について推移を観察する必要がある。一方、治療の第一選択であるホスホマイシンに耐性を獲得したEHEC O157は認められなかったことから、抗菌剤治療におけるリスクは依然として小さいと考えられる。EAggECがVTを獲得することにより派生したEHEC O104は重症化リスクが大きい、このタイプのEHECにより食用牛を介して県内で患者が発生する可能性は非常に小さいと考えられる。食品衛生法の厳格化により県内のEHEC感染事例は一時減少したものの、2013年には増加傾向に転じており、今後の推移が注目される。県内のEHEC感染対策を一層推進するために、畜産行政と連携して牛のEHEC保菌コントロールを目指す研究を企画・立案することが今後の課題と考えられる。

## 【まとめ】

- ・秋田県における食用牛のEHEC O157保菌率がこの10年で1.5%から3.3%に増加し、患者由来株と同様に*eaeA*遺伝子または*saa*遺伝子を保有するEHECの保菌率も増加していることが明らかとなった。
- ・患者由来株に占めるClade 8の比率がこの10年で10.3%から25%に増加し、牛由来株にもClade8が存在することが明らかとなり、秋田県におけるEHEC O157感染リスクと重症化リスクが増加している可能性が示唆された。
- ・県内におけるEHEC O104とその類似株による健康被害発生リスクは小さいと考えられる。
- ・食品衛生法の厳格化により県内のEHEC感染事例は一時減少したものの、2013年には増加傾向に転じたことから、今後の推移が注目される。
- ・県内のEHEC感染対策を一層推進するために、畜産行政と連携して、感染源対策となる牛のEHEC保菌コントロールを目的とする研究を企画・立案することが今後の課題と考えられる。

### 3 ウシ早期初乳のウイルス不活化効果に関する検討

○柴田ちひろ 加藤真姫子\*<sup>1</sup> 伊藤 隆\*<sup>2</sup> 斎藤博之

\*<sup>1</sup>畜産試験場 \*<sup>2</sup>中央家畜保健衛生所

#### 【はじめに】

ウシの分娩直後の初乳には、様々な病原体に対する抗体や不活化成分が含まれていると報告がある。しかし、分娩後5日以内の早期初乳は食品衛生法により飲用が規制されているため、子ウシに給与される以外は全て廃棄処分されている。そこで、この早期初乳を手指用衛生用品に添加することで、衛生用品にウイルス不活化効果が付加され、インフルエンザウイルス等による間接触感染の予防法として活用し得る可能性を考えた。今回、インフルエンザウイルスおよびエンテロウイルスに対するウシ早期初乳の不活化効果について検討したので報告する。

#### 【対象と方法】

##### 1. 対象検体

平成23年10月～平成25年3月に分娩した畜産試験場飼養牛17頭、一般酪農農家飼養牛6頭の初乳を対象とした。分娩後24時間を1日として、1～5日目の早期初乳を各日50 mL採取し、検査実施まで-30℃で冷凍保存した。

##### 2. 検体の前処理

解凍した初乳について、10,000×g、20分の遠心を行った後、中間層の乳清を採取し0.45 μmのフィルターでろ過滅菌したものを検体とした。

##### 3. ウイルス不活化効果の検討

###### 1) インフルエンザウイルス不活化効果の検討

初乳検体に対してRDE処理とモルモット血球を用いた非特異反応成分の吸収処理を行った後、病原体検出マニュアルに従いHI試験を実施した。供試株は2012/2013シーズンに秋田県内で分離されたAH1pdm09型、AH3型、B型（Yamagata Lineage）それぞれの臨床検体由来株とした。

###### 2) エンテロウイルス不活化効果の検討

###### ①動物試験（使用ウイルス；A群コクサッキーウイルス10型）

1 LD<sub>50</sub>（50%致死量）および10 LD<sub>50</sub>に調整したウイルス溶液と乳清検体とを等量混合して1時間反応させた後、1週齢の乳飲みマウスに100 μL皮下接種し、1週間観察した。なお、本検討は秋田県健康環境センター動物実験管理要綱を遵守し、秋田県健康環境センター動物実験委員会の承認の下で実施した。

###### ②細胞培養試験（使用ウイルス；エンテロウイルス71型）

1 TCID<sub>50</sub>（50%組織培養感染量）および10 TCID<sub>50</sub>に調整したウイルス溶液と乳清とを等量混合して1時間反応させた後、HEAJ細胞をシートさせた48穴マイクロプレートに接種し、細胞変性（CPE）の有無を1週間観察した。

#### 【結果と考察】

##### 1. インフルエンザウイルス不活化効果の検討（図）

HI試験の結果、AH3型については23頭全ての分娩後1日目の検体でHI価が確認され、うち8検体は80倍とワクチン株由来抗血清に匹敵するような値を示した。一方で、AH1pdm09型については分娩後1日目では14検体がHI価を示したが、3日目以降になると23頭全ての検体が10倍未満であった。B型についてはHI価が確認されたのは4頭7検体のみであり、残り19頭は全日数をとおして全て10倍未満であった。

インフルエンザウイルスのウシに対する感染性は未だ確認されていないことから、今回得られたHI価はインフルエンザウイルスに対する抗体では無く、ラクトフェリン等の乳清成分によ

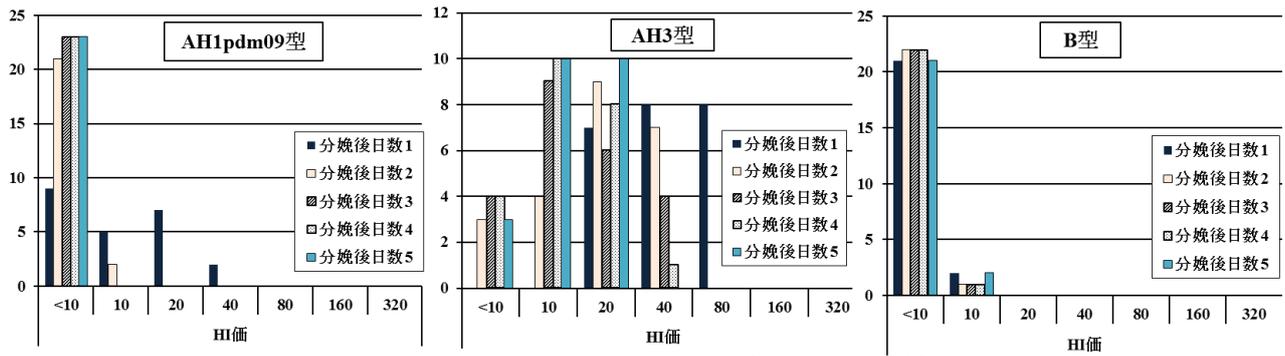


図 インフルエンザウイルスに対する HI 試験結果

るものであったと推察される。これら成分の各型に対する反応性は非特異的であると考えられるが、今回の検討では型間で著しく異なる反応性を示した。検討条件として各型の血球凝集能を16 HA単位に揃えていたが、株によって凝集能には差があることから、実際に含まれていたウイルスの量そのものは異なっていたと推測される。そのため、各型間の反応性の違いは反応対象であるウイルス量に起因したものであった可能性が高いと考える。HI試験は本来ウイルスの性状解析等に用いられる手法であるため、手指汚染の想定よりもはるかに多いウイルス量で検討を行った。それにも関わらず、型により反応性に差は見られたもののHI価が確認されたことを考えれば、手指汚染で想定されるウイルス量においては、十分に不活化効果が期待できるものと考えられた。

## 2. エンテロウイルス不活化効果の検討 (表)

マウスを用いた動物試験の結果、1 LD<sub>50</sub>における死亡率は対照群46.0% (40/87) に対して乳清添加群19.6% (18/92) , 10 LD<sub>50</sub>における死亡率は対照群89.6% (69/77) に対して乳清添加群14.8% (12/81) となり、ウイルス量を10倍にすると対照群では死亡率が上昇したのに対して、乳清添加群では変化がみられなかった。細胞培養試験についても同様に、1 TCID<sub>50</sub>におけるCPE出現率は対照群62.5% (5/8) に対して乳清添加群23.9% (22/92) , 10 TCID<sub>50</sub>におけるCPE出現率は対照群87.5% (7/8) に対して乳清添加群54.3% (50/92) となり、対照群と比較して乳清添加群でCPE出現率が低下した。これら2つの結果から、乳清のエンテロウイルスに対する不活化効果が確認された。

早期初乳を添加剤とすることで手指用衛生用品にウイルス不活化効果を付加できれば、間接接触感染に対する簡便な予防手段として活用し得るほか、現在は廃棄処分されている膨大な資源の有効活用にも繋がる。今回の検討から、ウシ早期初乳のインフルエンザウイルスおよびエンテロウイルスに対する不活化効果が確認された。今後は他のウイルスに対する効果等、実現化に向けた更なる検討を重ねたい。

表 エンテロウイルスに対する動物試験および細胞培養試験結果

対象牛	動物試験結果 (死亡数/供試数)				細胞培養試験結果 (CPE出現数/供試数)	
	1 LD <sub>50</sub>		10 LD <sub>50</sub>		1 TCID <sub>50</sub> (対照群: 5/8)	10 TCID <sub>50</sub> (対照群: 7/8)
	対照群	乳清添加群	対照群	乳清添加群		
畜産試験場飼養牛	1/4	1/4	2/3	1/3	0/4	0/4
	1/3	1/3	2/3	0/3	1/4	1/4
	1/3	0/3	1/2	0/3	1/4	1/4
	1/3	0/4	2/3	0/3	3/4	4/4
	1/4	2/4	2/4	1/4	0/4	0/4
	1/4	1/4	3/3	0/3	1/4	1/4
	2/4	1/4	4/4	3/4	1/4	3/4
	1/4	3/4	4/4	0/4	2/4	2/4
	2/4	1/4	4/4	3/4	0/4	1/4
	2/4	2/4	4/4	0/4	2/4	3/4
	3/4	3/4	4/4	0/4	0/4	2/4
	1/4	0/4	3/3	1/3	0/4	1/4
	1/3	0/4	3/3	0/3	1/4	3/4
	3/4	1/5	3/3	0/4	1/4	3/4
	3/4	0/4	3/3	1/3	2/4	3/4
2/4	1/4	3/3	1/4	0/4	1/4	
3/4	1/5	3/3	0/3	1/4	3/4	
酪農農家飼養牛	2/4	0/4	4/4	0/4	2/4	3/4
	1/3	0/4	2/3	0/3	0/4	2/4
	2/4	0/4	3/4	0/4	0/4	3/4
	1/4	0/4	4/4	0/4	2/4	4/4
	2/4	0/4	3/3	1/4	0/4	4/4
3/4	0/4	3/3	0/3	2/4	2/4	
計	40/87 (46.0%)	18/92 (19.6%)	69/77 (89.6%)	12/81 (14.8%)	22/92 (23.9%)	50/92 (54.3%)

## 厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

### 4 雄物川流域におけるアカツツガムシ生息状況調査：2009年～2012年

○佐藤寛子 柴田ちひろ 秋野和華子 斎藤博之 齊藤志保子  
門馬直太\*<sup>1</sup> 東海林彰\*<sup>2</sup> 高橋 守\*<sup>3</sup> 藤田博己\*<sup>4</sup> 角坂照貴\*<sup>5</sup> 高田伸弘\*<sup>6</sup>  
川端寛樹\*<sup>7</sup> 高野 愛\*<sup>7</sup>  
\*<sup>1</sup>福島県衛生研究所 \*<sup>2</sup>青森県環境保健センター \*<sup>3</sup>埼玉医科大学  
\*<sup>4</sup>馬原アカリ研究所 \*<sup>5</sup>愛知医科大学 \*<sup>6</sup>福井大学 \*<sup>7</sup>国立感染症研究所

#### 【背景】

現在の秋田県におけるつつが虫病患者の発生時期は春と秋がほとんどで、これはフトゲツツガムシ媒介性の新型つつが虫病と呼ばれるものである。しかし、かつて本県は雄物川流域のアカツツガムシによる夏季発生の古典型つつが虫病患者多発地帯として全国的に知られていた。有効な治療手段のなかった時代には、強毒型の古典型つつが虫病による致命率は20～30%とも言われ恐れられていたが、近年その患者数は激減し、本県においては1993年の発生を最後に患者報告は途絶えていた。そのため、アカツツガムシは絶滅したかのように思われていたが、2008年、秋田県において15年ぶりにアカツツガムシ媒介性のつつが虫病患者が発生した。2009年の当センターの調査により、アカツツガムシの生息が感染推定地である大仙市角間川地区の雄物川河川敷の他、角間川より7km下流の全国花火大会会場でも確認されたが、翌2010年、角間川から20km上流でも患者が発生した。このことを受け、我々は調査域を雄物川支流を含む上流域の約70kmにまで広げ、アカツツガムシ・ハザードマップ作成を試みた。

#### 【方法】

調査は昭和39年の患者発生記録（秋田県衛生科学研究所報，図2，表1）を参考に，雄物川上流部の湯沢市から中流部の大仙市に至る河川敷を対象地域とした。ツツガムシの採集は，黒布見取り法（図1）により実施し，地表に押しつけた黒布（25×25cm<sup>2</sup>）にアカツツガムシ付着の有無を確認した。



図1 黒布見取り法の作業風景

#### 【結果】

調査地域の最上流部にあたる湯沢市郊外では，昭和39年の記録では患者発生地とされていたが，アカツツガムシの生息は確認されず，そこから約3km下流に至ってから確認された（図3）。さらに下流の横手市を流れる支流との合流点に近づくにつれ，多くのアカツツガムシが確認されるようになった。一方で調査範囲の最下流部に位置する大仙市郊外北部の記録上の患者発生地でもアカツツガムシの生息確認が出来なかったが，そこから18kmの上流地点以南では確認されるようになり，雄物川流域における最も高密度な生息域は花火大会会場周辺にあることが推察された。また，アカツツガムシの生息環境は広い河川敷の中でも水際の砂地に，特に中州での生息数が多い傾向にあったが，河川沿いの公園や釣り場といった増水時に水没する箇所にも確認された。本調査結果を受けて，県外からの観光客対応のために日本医師会会報に注意喚起の記事が掲載された。さらに，花火大会の公式パンフレットおよび地元新聞紙上等で危険情報を提供した。

つつが虫病患者発生地とツツガムシの生態および生息域には密接な関連性がある。今後も効果的なつつが虫病対策・啓発のための情報を発信したい。

第1図 秋田県における恙虫病の発生地と河川との関係

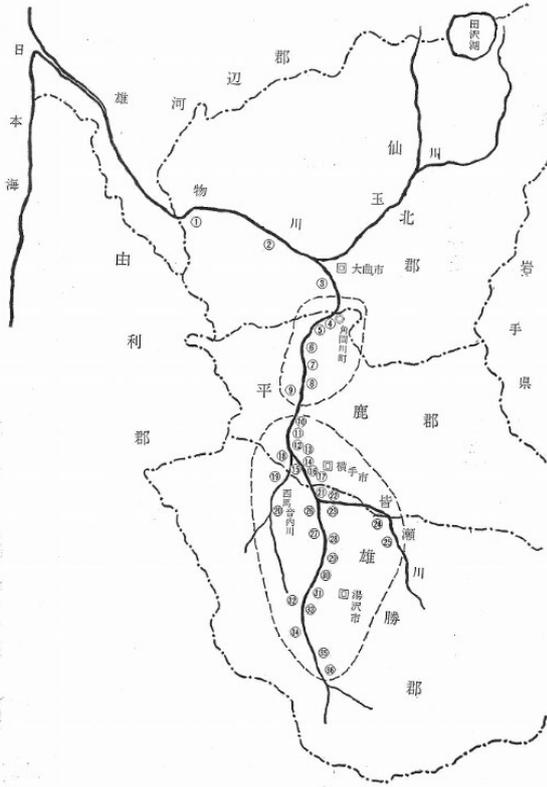


図2 1964年秋田県衛生科学研究所報

表1 1964年 秋田県衛生科学研究所報

第4表 秋田県における恙虫棲息地区

地区番号	町村名	地区名	所	在	備	要
1	仙北郡強首村	強首川原	不詳			大正14年頃まで発生限和年代の発生なし
2	〃 刈野町	三蔵川原	不詳			〃
3	〃 大曲町	中川原	大曲町南方川ノ目部落対岸内小友, 藤木両村境			附近に南中島川原接続し, 同地区出入者の罹患多し
4	平鹿郡角間川町	牛中島	角間川町西南方, 大川橋南方右岸一帯			〃
5	〃 〃	中川原	牛中島南方角間川町木内部落附近右岸一帯			同地区出入者の罹患比較的多し
6	〃 〃	川西村	唐白天			〃
7	〃 〃	角間川町	門ノ目部落附近, 支渡油川との三角地帯			附近に竜神堂川原あり
8	〃 〃	阿久村	牛中島			〃
9	〃 〃	赤内川原	隈阿久部落西方, 雄物川右岸川西村境			〃
10	〃 〃	福地村	下川原			〃
11	〃 〃	〃	大柳川原			〃
12	〃 〃	〃	上川原			〃
13	〃 〃	〃	向川原			〃
14	〃 〃	〃	藤沼川原			〃
15	〃 〃	〃	下堀川原			〃
16	〃 〃	〃	真角川原			〃
17	〃 〃	〃	福島川原			〃
18	〃 〃	〃	養蚕川原			〃
19	〃 〃	〃	支渡西馬音内川原			〃
20	〃 〃	〃	三輪川原			〃
21	〃 〃	〃	支渡及び枝渡大戸川合流地附近			〃
22	〃 〃	〃	雄物川及び支渡皆瀬川合流地一帯			〃
23	〃 〃	〃	押切川原			〃
24	〃 〃	〃	角間中川原			〃
25	〃 〃	〃	左馬渡			〃
26	〃 〃	〃	角間川原			〃
27	〃 〃	〃	雄物川及び支渡白子川合流地附近			〃
28	〃 〃	〃	大久保川			〃
29	〃 〃	〃	村西方, 三輪村大久保並びに落合, 京塚部落附近			〃
30	〃 〃	〃	落合川原			〃
31	〃 〃	〃	村西方, 倉内部落附近, 雄物川右岸			〃
32	〃 〃	〃	山田川			〃
33	〃 〃	〃	山田中川			〃
34	〃 〃	〃	町西方, 仁井田橋附近			〃
35	〃 〃	〃	村北西方, 山田村福島部落附近			〃
36	〃 〃	〃	村北西方, 役場所在地附近			〃
37	〃 〃	〃	須川村			〃
38	〃 〃	〃	須川村境, 須川村役場附近			〃
39	〃 〃	〃	〃			恙虫棲息地最南端

註 1 地区番号は恙虫棲息分布図と対照されたい。  
2 ※印は新制大曲市及び湯沢市分である。



図3 アカツツガムシの生息域 (2010年~2012年)

## 5 特用林産物の秋田ブランド化並びに機能性と安全性に関する研究（平成21～25年度） マツ林に散布された農薬の挙動について

○小林貴司 松渕亜希子 菅原冬樹\*<sup>1</sup> 阿部 実\*<sup>1</sup>

\*<sup>1</sup>秋田県林業研究研修センター

### 【はじめに】

松くい虫による松枯れ病を防止するために、秋田県日本海沿岸の松林では6月下旬から7月上旬にかけてネオニコチノイド系農薬のチアクロプリド、アセタミプリドが散布されている。これらの農薬は、急性毒性が低く、ミツバチに対する毒性も低いとされているが、自然環境中での挙動に関する知見は少ない。そこで、農薬散布後の土壌について農薬含有量を継続的に調査し、マツ林への残留状況を評価した。また、マツ林中キノコの安全性を評価するために、散布直後の初夏とキノコ狩りシーズンの秋に発生したキノコを採取し、農薬含有量を調査したので、その結果について報告する。

### 【方法】

#### 1. 土壌試料およびキノコの採取

試料採取は、チアクロプリドが散布された2か所（A：金浦，B：西目），アセタミプリドが散布された3か所（C：本荘，D：飯島，E：能代）の地点で、時間的な変動を確認するために農薬散布前から散布直後そして晩秋にかけて定期的に行った。土壌採取には、採土器（φ5 cm × 5 cm）を使用し、4～5 m 間隔の5地点混合方式で行った。また、林中土壌が落葉で被覆されている状況を考慮し、深さ別（落葉などの被覆物，表土～5 cm，5～7 cm 土壌）に3分画することで土壌試料を選別した。

キノコは、チアクロプリド散布地点では46検体，アセタミプリド散布地点では39検体を採取し、分析を行った。

#### 2. 測定方法

抽出操作は、高速溶媒抽出装置 ASE-200（DIONEX 社）で行った。均一化した試料 10 g とガラスビーズを混合し、ASEセルに充填、40 °C、2000 psi、5 %含水アセトンの条件下で、2回抽出操作を行ない、2回の抽出液をあわせ、減圧濃縮によりアセトンを留去、メタノールで希釈し、測定溶液の調製を行った。測定は、LC/MSMSにより表1の条件で行い、対象はチアクロプリド、アセタミプリドおよびそれぞれの代謝物であるチアクロプリドアミド体、IM-2-1の4項目である。

表1 LC/MSMS 測定条件

HPLC条件	
装置	Agilent 1100 (Agilent Technologies)
分析カラム	TSK gel ODS-100V (2.1mm i.d.×150mm, 粒子径5μm)
移動相	A: 0.05% 酢酸, 5mM 酢酸アンモニウム 溶液 B: 0.05% 酢酸, 5mM 酢酸アンモニウム 含有メタノール
グラジエント	0min(A:80)→16min(A:10)→20min(A:10)→20.5(A:80)→30min(A:80)
流速	0.2ml/min
カラム温度	40°C
注入量	10μl
MS条件	
装置	API 4000 (AB Sciex)
イオン化条件	Electrospray ionization (ESI), positive
分析モード	Multiple Reaction Monitoring (MRM)
イオン源温度	500°C
イオン源電圧	5500V
MRM条件	Acetamidiprid (223.1 > 125.9), IM-2-1 (209.1 > 126.1) Thiacloprid (253.1 > 125.9), Thiaclopride-amide (271.0 > 126.0)

### 【結果と考察】

#### 1. 土壌試料の深さ別での農薬分布

表2にチアクロプリドが散布されたA地点の土壌中農薬濃度(2009年)を示す。この地点でのチアクロプリドの散布は初めてであるため、散布前の試料からは、被覆物、土壌ともに全くピークは検出されなかった。測定は、被覆物、表土～5 cm，5～7 cmの土壌と3つの部位別に行ったが、チアクロプリドおよびそのアミド体ともに、ほとんどが被覆物中に残留している結果となった。これは、チアクロプリドの有機物への浸透移行性が非常に高いためである。

表2 チアクロプリドの深さ別濃度 (ng/g-dry)

部位	採取日	散布後 (日数)	チアクロプリド	アミド体
被覆物	6/8	散布前	ND	ND
	6/24	散布	540	59
	6/25	1	620	130
	6/26	2	860	140
	6/27	3	540	64
	7/1	7	850	49
	7/7	13	1000	220
	7/24	30	490	940
	8/25	62	270	540
	11/2	131	56	560
	土 (表 5 5 c m )	6/8	散布前	ND
6/24		散布	56	3.5
6/25		1	30	1.7
6/26		2	42	5.3
6/27		3	98	15
7/1		7	90	4.9
7/7		13	90	36
7/24		30	54	320
8/25		62	35	110
11/2		131	0.89	6.8
土 ( 5 5 7 c m )		6/8	散布前	ND
	6/24	散布	37	4.1
	6/25	1	42	2.1
	6/26	2	19	2.5
	6/27	3	15	3.4
	7/1	7	2.5	0.52
	7/7	13	3.5	1.4
	7/24	30	13	18
	8/25	62	1	3.7
	11/2	131	1.9	2.1

## 2. 被覆物中農薬濃度の時間的な変動

図1に、A地点での被覆物中チアクロプリド濃度の経時変化(2009年)を示す。チアクロプリドの濃度は6/24に散布された後、徐々に増加し、13日後の7/7に最大濃度1000 ng/g-dryを示した。その後、徐々に減少し、11/2には56 ng/g-dryまで減少した。

分解物であるアミド体の最大濃度は、7/24(散布30日後)の940 ng/g-dryであり、チアクロプリドよりもやや遅れて最大を示し、その後の減少は緩やかなものであった。

図2に、D地点での被覆物中アセタミプリド濃度の経時変化(2011年)を示す。散布直後に最大濃度720 ng/g-dryを示し、その後の減少はチアクロプリドとほぼ同様の速度で減少した。

分解物であるIM-2-1については、散布直後から検出はされているものの非常に低濃度であり、速やかに再分解しているものと考えられた。

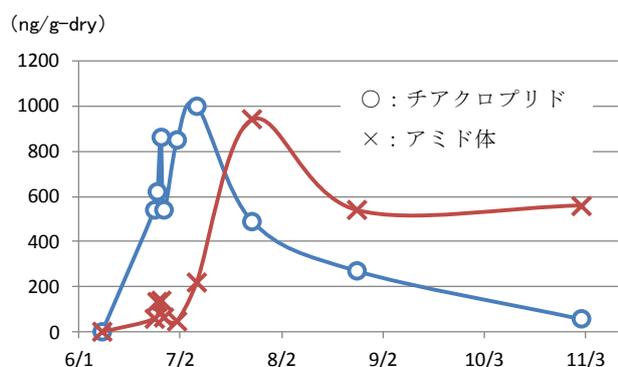


図1 被覆物中チアクロプリド濃度の変動

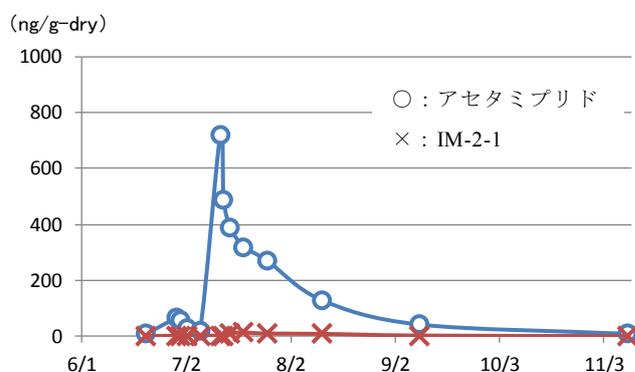


図2 被覆物中アセタミプリド濃度の変動

## 3. 採取したキノコの農薬濃度

一律基準である10 ng/gを超えた検体は、チアクロプリド散布地点のキノコ46検体のうち8検体、アセタミプリドについては39検体のうち4検体であった。基準を超えた検体のほとんどが農薬散布後1週間以内に採取されたものであり、すでに発生していたキノコに直接、農薬が付着したものと考えられた。

農薬散布の時期には初夏のキノコのシーズンがほぼ終わっているが、注意を促すために農薬散布情報の立て看板の文字を大きく見やすくする改善が行われることになった。

## 公共用水域水質調査 6 田沢湖の水質の変遷

○生魚 利治

### 【はじめに】

秋田県の仙北市に位置する田沢湖(図1)は、1940年に国策であった電源開発と農地開拓のために、用水確保を目的として強酸性の玉川源泉が流入する玉川河川水を、湖水での希釈効果を期待し導水したため酸性化した。その後1989年に、玉川上流部に中和処理施設が稼働し、田沢湖のpH(図2)は一時的に回復傾向を示したが、現在、約5.2と水質改善目標値である6.0を達成していない。また、pHが回復傾向を示した同時期に化学的酸素要求量(COD)(図3)も増加傾向を示し、2000年には75%値が1.1 mg/Lと環境基準値1.0 mg/Lを超過した。このようにpHの改善に伴い他の水質項目の変動が懸念されることから、pHとその他の項目の関係性を把握することは、今後の水質改善計画を考える上でも重要である。

そのため本報告では、秋田県が行っている田沢湖の公共用水域水質調査のデータを基に、水質の変遷について紹介し、今後の水質改善に向けた取り組みについて考える。

### 【方法】

秋田県が、田沢湖において1972年から継続して実施している公共用水域調査の結果のうち、湖心表層水のpH、透明度、COD、クロロフィル-a(Chl-a)、全窒素濃度(T-N)、全リン濃度(T-P)の計6項目の経年変化をまとめ、田沢湖の水質について考察した。

### 【結果と考察】

田沢湖のpH(図2)は、中和処理施設が稼働した1989年から玉川源泉の酸度が増加した2002年まで改善傾向にあり、1995年、1998年、2000年、2001年にはpHの最大値が6以上となった。一方、同時期のCOD(図3)にも上昇が見られ、1997年、2000年の最大値が1.0 mg/Lを越えた。また、植物プランクトンの指標となるChl-a(図4)の値でも、1989年から2002年の

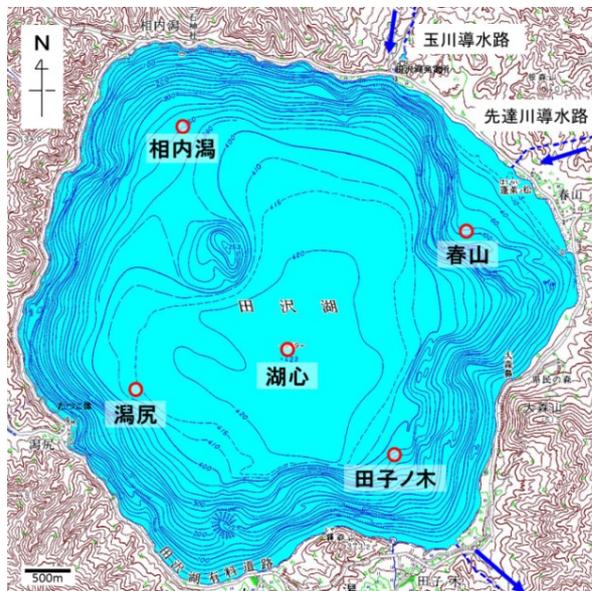


図1 田沢湖公共用水域調査地点



図2 湖心表層のpHの経年変化

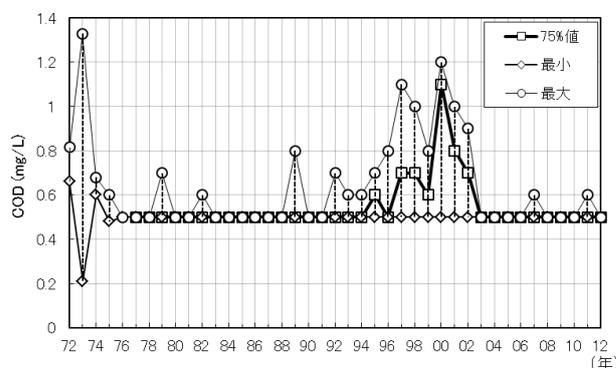


図3 湖心表層のCODの経年変化

間に6回1.0 μg/Lを越えた。これらのことから、pHが上昇し6付近になると植物プランクトンの増殖が可能となり、これに伴いCODも高くなったと推察される。現在は、再びpHが5付近まで低下したため植物プランクトンの増殖が抑制され、CODも低下したものとする。また、1989年から2002年までの透明度(図5)に明確な変動は見られないために、1 mg/L程度までCODが上昇しても透明度には影響しないと推察される。

田沢湖のT-N(図6)、T-P(図7)では、T-Nは増加傾向にあり現在は0.2 mg/L程度で推移している。T-Pは、ほぼ毎年、報告下限値0.003 mg/L未満であるため変動は不明である。

pHが6以上に改善された田沢湖の水質を、貧栄養湖として水質が比較的類似している十和田湖と比較し推測を行った。十和田湖の2012年の値は、pH:7.7~8.1, COD:1.4 mg/L(75%値), T-N:0.08 mg/L, T-P:0.004 mg/L, Chl-a:1.4 μg/Lである。十和田湖は、レッドフィールド比(C:N:P=106:16:1)からリンが植物プランクトン増殖の制限要因であると考えられており、pHが6以上に改善された田沢湖も同様にリンが制限要因になると考えられる。田沢湖では、十和田湖よりもT-Pは低いもののT-Nが約2倍であることから、リン成分の流入量が増加すると、CODが十和田湖以上に高くなる可能性がある。

田沢湖の水質改善に向け、今後も様々な項目を総合的に評価しながら水質調査を継続し、pHの中性化と平行して、リン成分の負荷源を把握し流入を未然に防ぐ必要があると考える。

【まとめ】

1. 現在の田沢湖のCODが低い要因は、pHが5付近と低いことにより植物プランクトンの増殖が抑制されているためである。
2. pHが6以上に改善された田沢湖は、植物プランクトン増殖の制限要因がリンであると推測されるが、リン成分の流入量が増加するとCODが十和田湖以上に高くなる可能性がある。
3. 田沢湖の水質改善に向け、総合的に水質項目を評価しながら水質調査を継続し、pHの中性化と平行して、リン成分の負荷について注視していく必要がある。

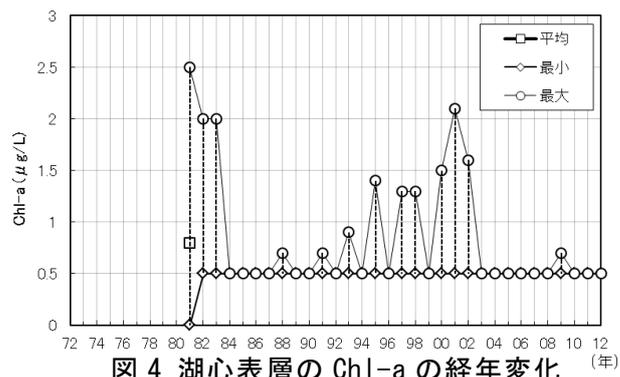


図4 湖心表層のChl-aの経年変化

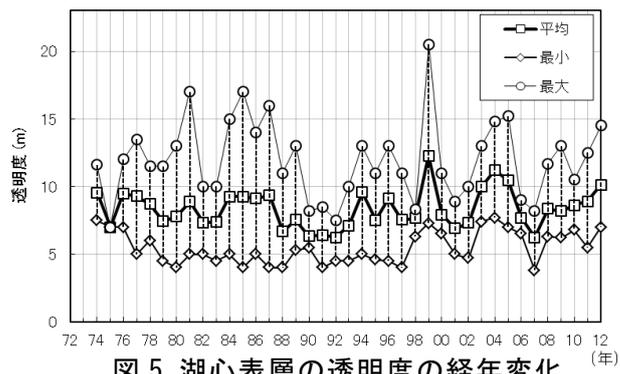


図5 湖心表層の透明度の経年変化

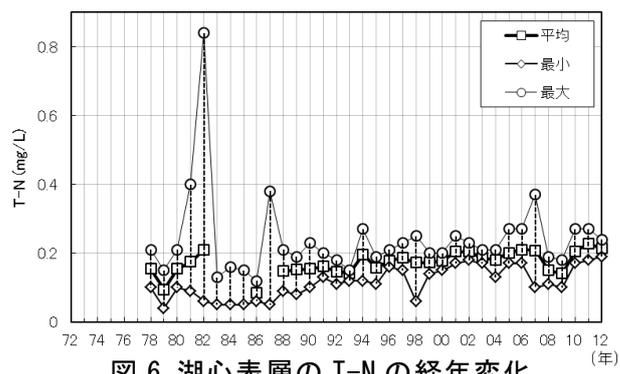


図6 湖心表層のT-Nの経年変化

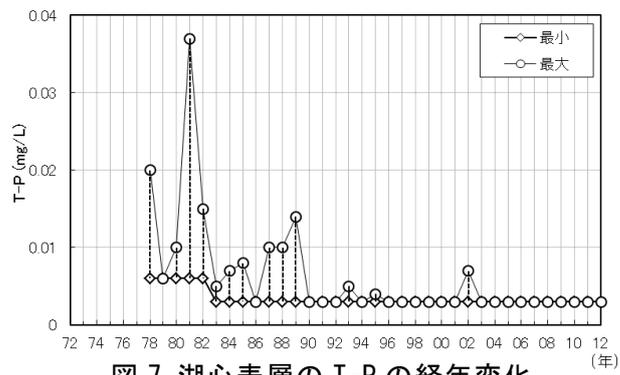


図7 湖心表層のT-Pの経年変化

## 7 玉川上流部における中和対策の効率化とpHを含む水質改善の促進（平成25～27年度） 未処理玉川酸性水の中和によるpH改善とそれに伴う効果

○成田修司 生魚利治 佐藤 健 大淵志伸 布田 潔\*<sup>1</sup> 宮田直幸\*<sup>2</sup>  
\*<sup>1</sup>秋田大学大学院工学資源学研究科 \*<sup>2</sup>秋田県立大学生物資源科学部

### 【はじめに】

仙北市の玉川温泉の源泉（大噴）は、世界的にも珍しい塩酸-硫酸、鉄（Fe）（Ⅱ）を主成分とし、pH約1.2の強酸性水9,000 L/minを湧出している。この酸性水は、玉川に流入する（図1）ことによって田沢湖の他、下流の土壌や河川に影響を与えてきた。この対策として、平成3年から玉川中和処理施設が本格稼働することにより、源泉下流域及び田沢湖の酸性が改善されてきた。同処理施設には、図1に示すように源泉湧出量の大部分が導入され、pH約3.5まで石灰中和された後、玉川支流の渋黒川に放流されている。しかしながら、源泉の一部は湯川を流下して未処理のまま、同温泉下流域に流下し、田沢湖へ流入している。このような水系においても同湖のpHは順調に改善されてきたが、平成14年頃からの玉川源泉の酸度上昇に伴い、pHが低下してきた。当センターでは、このpH低下が源泉由来の湯川を流下する未処理の強酸成分と源泉に含まれる鉄やアルミニウム等の加水分解に伴うH<sup>+</sup>の発生（式1、2）によることを報告してきた<sup>1,2)</sup>。このpH低下を改善するために、上記未処理成分を処理するための中和実証試験を行った。本発表では、同試験において玉川上流域及び下流域にもたらされた中和効果について報告する。

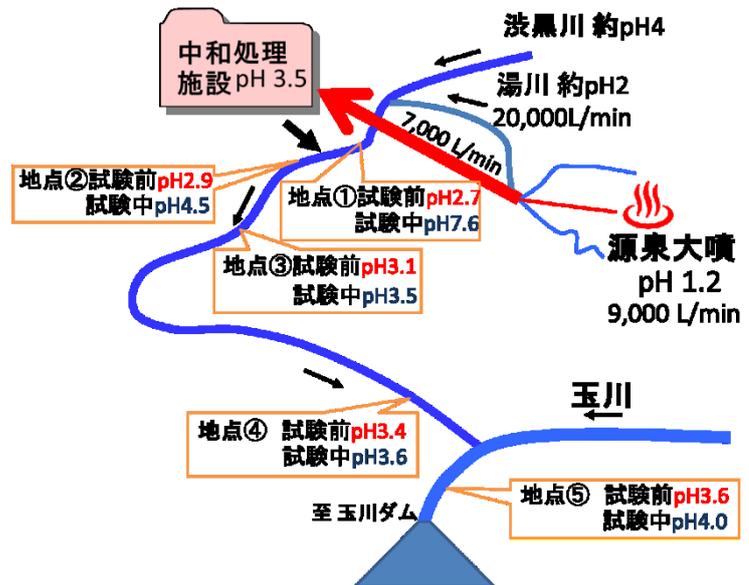
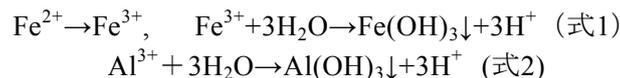


図1 玉川水系の概要と中和試験によるpH改善

このように水系においても同湖のpHは順調に改善されてきたが、平成14年頃からの玉川源泉の酸度上昇に伴い、pHが低下してきた。当センターでは、このpH低下が源泉由来の湯川を流下する未処理の強酸成分と源泉に含まれる鉄やアルミニウム等の加水分解に伴うH<sup>+</sup>の発生（式1、2）によることを報告してきた<sup>1,2)</sup>。このpH低下を改善するために、上記未処理成分を処理するための中和実証試験を行った。本発表では、同試験において玉川上流域及び下流域にもたらされた中和効果について報告する。



### 【調査・分析方法】

中和実証試験は、平成25年10月に実施した。湯川から流入する玉川源泉由来の未処理強酸成分（pH約2、流量20,000 L/min）を中和するために、地点①において酸化カルシウム（CaO）を用いpH(7±1)にコントロールした。調査では地点①～⑤（図1）において試料採取し、pH、総酸度、鉄、アルミニウム等を測定した。採取した試料は、中和生成物の混入を避けるため、適宜0.20 μmメンブレンフィルターでろ過後、「JIS K 0102 (2008) 5.1」に従い、分析試料とした。上記の処理を行った各試料溶液のFe等の成分について、それぞれICP発光分析装置を用いた定量分析を行った。

### 【結果と考察】

中和実証試験におけるpH変化を図1に示す。湯川から流入する源泉由来の未処理強酸成分が渋黒川に合流した地点①は、試験前pH2.7であったが試験中はpH7.6に改善した。中和処理施設放流水の流入する地点②では、pH3.5の処理水が流入しているにもかかわらず、湯川からの未処理酸性水の影響を受け、試験前の平常時にはpH2.9に低下していた。しかしながら、上記の未

表 1 中和実証試験における総酸度の減少挙動

地点	総酸度 (mg/L)				
	①	②	③	④	⑤
試験前	210	355	262	155	74.9
3時間後	3.0	256	231	134	67.0

処理強酸成分を地点①で処理することによって試験中はpH4.5に改善した。さらに下流の地点③, ④, ⑤においてもそれぞれ, 試験前に比べ0.2~0.4程度pHが改善した。また, 同試験における流域の総酸度の挙動について表1に示す。地点①では, 試験前210 mg/Lであった総酸度が試験中は3.0 mg/Lに減少した。地点②では試験前355 mg/Lであった総酸度が試験中は256 mg/Lに減少していた。この値は地点③における試験前の濃度 (262 mg/L) と近い値を示した。この結果は, 源泉由来の酸度成分が河川における反応により減少し, 上流にシフトしたことを意味する。

中和強化時におけるヒ素 (As) 負荷量の減少挙動について図2に示す。地点2を例示すると源泉中のAsは, 平常時に1.68 kg/hの総負荷量を有しているが, ろ過を行った液相中の負荷量は1.38 kg/hまで減少していた。この結果については, 現行の中和処理がpH約3.5で酸性を弱める過程において, 源泉中の鉄が化合物を形成しながらオキソ酸としてAsを取り込むことを当センターで明らかにしてきた<sup>3-4)</sup>。今回の中和実証試験において, 中和強化時のAs総負荷量は1.68 kg/hであったが, ろ液相の負荷量は平常時の1.38 kg/hよりさらに減少し, 0.40 kg/hまで低下していた。この大幅な減少は, 地点2における中和強化時の河川pH約4.5において上記の反応が促進し<sup>3-4)</sup>, Asが取り込まれることによって, 水質浄化機能が顕著に表れた結果と考えられる。

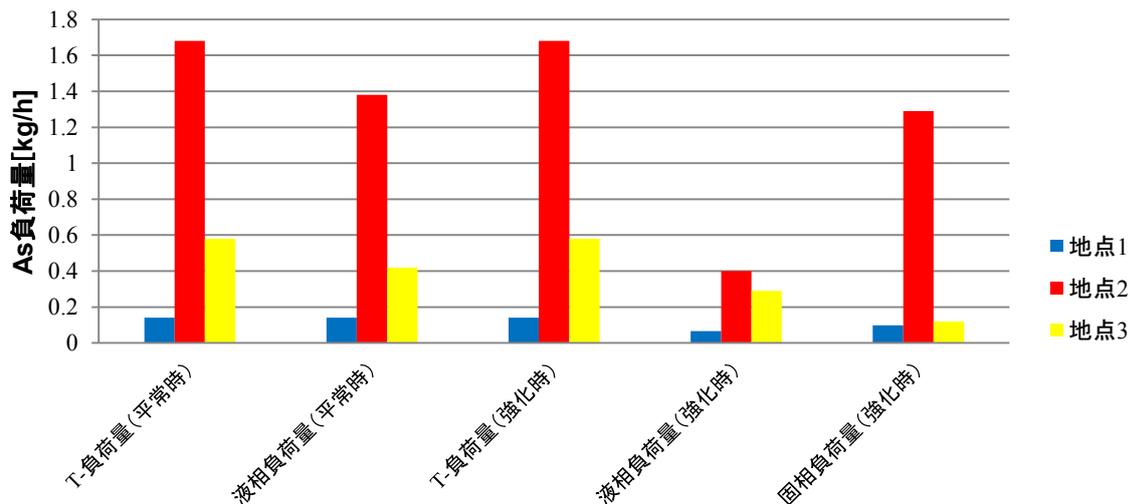


図2 中和強化におけるAs負荷量の減少挙動

【まとめ】

CaO懸濁液を連続投入する上記中和実証試験によって, 次のことが明らかとなった。

1. 未処理の強酸成分と鉄等の成分が処理され, 玉川源泉下流域のpH改善と総酸度の低下が促進された。
2. 現行の中和処理が有している水質浄化機能が, より顕著に表れ, 浄化が促進した。

【参考文献】

- 1) 成田, 佐々木ら (2011), 第45回日本水環境学会年会講演集, 20.
- 2) 成田, 佐々木ら (2012), 第46回日本水環境学会年会講演集, 531.
- 3) 第46回日本水環境学会発表 鈴木, 成田ら
- 4) 水環境学会誌 第36巻 第5号(2013) 佐々木, 成田ら

<MEMO>



# 秋 田 県 健 康 環 境 セ ン タ ー

Akita Research Center for Public Health and Environment

〒010-0874 秋田市千秋久保田町6番6号

電話 018(832)5005(代表)

FAX 018(832)5938

E-mail [b10266@pref.akita.lg.jp](mailto:b10266@pref.akita.lg.jp)