

## 4 都市河川からのウイルス分離について

【微生物科】

田中真弓・川本 歩・田川陽子  
本田達之助

### はじめに

ヒト由来の腸管系ウイルスは、糞便と共に下水に排泄され、下水処理場を経て河川や海に流出し、長期間生存しているといわれている<sup>1)</sup>。

鳥取県においては、1989年エコー30型ウイルスやエコー4型ウイルスによる無菌性髄膜炎の大流行があり、水系による感染や、流行の拡大も推測された。

そこで1991年4月より鳥取県の都市河川水のウイルス汚染調査を行ったので報告する。

### 材料と方法

- 1 調査期間：1991年4月より1992年3月まで毎月1回20lを採取し検査を行った。
- 2 調査地点：検体採取地点は(1)鳥取市旧袋川丸山橋、(2)倉吉市玉川殿城、(3)米子市加茂川旭橋の3地点を定点とし図1に示した。
- 3 限外ろ過装置：限外ろ過装置はザルトコンミニ

システム（ザルトリウス社）を使用した。ろ過装置は使用前に蒸留水20lで洗浄し、使用後は蒸留水で洗浄し、さらに3%ホルマリン液で約1時間循環洗浄した。限外ろ過膜（ザルトリウスメンブレンフィルター）は、3%ホルマリン溶液に浸し次の使用時迄冷蔵庫に保存した。

4 検体処理方法：採水した河川水は直ちに持ち帰り処理する事としたが、やむを得ない場合は冷蔵庫で保存し翌日濃縮を行った。

(1) 前処理として浮遊物質を除去するため、プレフィルター（ミリポア1.2 $\mu$ m、0.2 $\mu$ mザルトリウス社）で河川水を前ろ過し、これを限外ろ過装置にかけ、約30lまで濃縮した。

(2) 濃縮河川水を4℃4,000rpmで20分遠心した。

(3) 上清に等量の Vial Infusion Broth (0.5% Bovine Albumin、0.5% Geratin、ストレプトマイシン、ペニシリン加) と抗生物質 (ペニシリン、ストレプトマイシン混液) 1.5mlを添加し、これを検

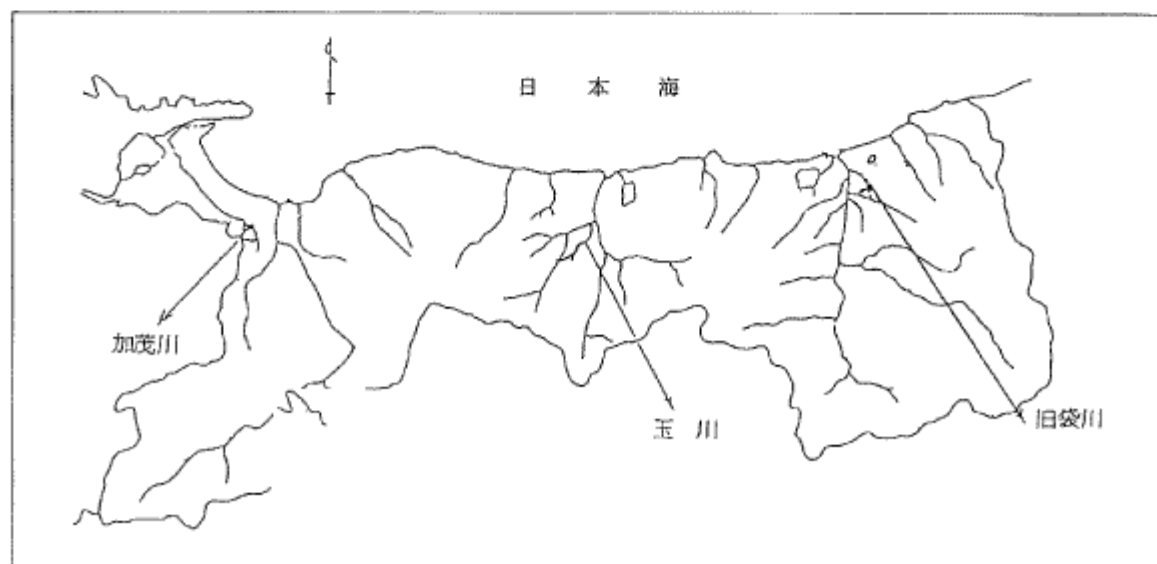


図1 調査地点位置図

体とした。検体は、細胞に接種するまでマイナス80℃に保存した。

5 ウイルス分離と同定：ウイルス分離は、容量200mlの中角ビンに、FL、Vero、RD-18Sの3種類の培養細胞を常法により3日間増殖させ、検体を20mlずつ接種し、2時間のウイルス吸着を行った後、1週間静置培養した。継代は3代まで行い細胞変性効果が認められたものについては、中和試験で同定をした。

## 結 果

ウイルス分離成績を図2に示した。河川より検出されたウイルスは、エンテロウイルス（エコー9型、

エコー30型、コクサッキーB1型、ポリオ1型、ポリオ2型）と消化器疾患の原因となるアデノウイルス（1型）であった。

エコー30型ウイルスは、7月に東部、中部で検出され始め10月までと翌年の2月、3月の長期にわたって分離されている。地点別にみると、東部定点ではエコー30型、ポリオ、アデノ1型、コクサッキーB1型ウイルスが、中部定点ではエコー30型とポリオウイルスが、西部定点ではエコー30型、ポリオ、エコー9型ウイルスが検出されている。ポリオウイルスは、生ワクチン投与開始時期の11月から2月までの長期間分離された。

| 年月<br>定点 | 検出ウイルス                              | 1991 |   |   |    |    |    | 1992 |   |   |
|----------|-------------------------------------|------|---|---|----|----|----|------|---|---|
|          |                                     | 7    | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1    | 2 | 3 |
| 東 部      | エコー30型<br>アデノ1型<br>コクサッキーB1型<br>ポリオ | ○    | ○ | ○ | ○  |    |    | ○    |   | ○ |
| 中 部      | エコー30型<br>ポリオ                       | ○    |   | ○ | ○  |    | ○  | ○    | ○ |   |
| 西 部      | エコー30型<br>エコー9型<br>ポリオ              |      | ○ | ○ | ○  |    |    |      |   | ○ |

図2 地点別検出ウイルス

## 考 察

鳥取県で行っているウイルス疫学調査における月別ウイルス分離状況によるヒトからのウイルス検出状況<sup>2)</sup>を図3-1、図3-2に示した。7月中旬から11月下旬頃まで小児の咽頭拭い液や髄液などからエコー30型ウイルスが多く検出され、鳥取県でこのウイルスによる無菌性髄膜炎の流行がみられた。また、西部地区で同時期にエコー9型ウイルスも多く検出された。

河川からのウイルス分離状況と比べて見ると、エコー30型ウイルスは7月から10月までと翌年の2月、3月に分離されており図3-1の流行と一致している。このウイルス分離状況は、ヒトからのウイルス

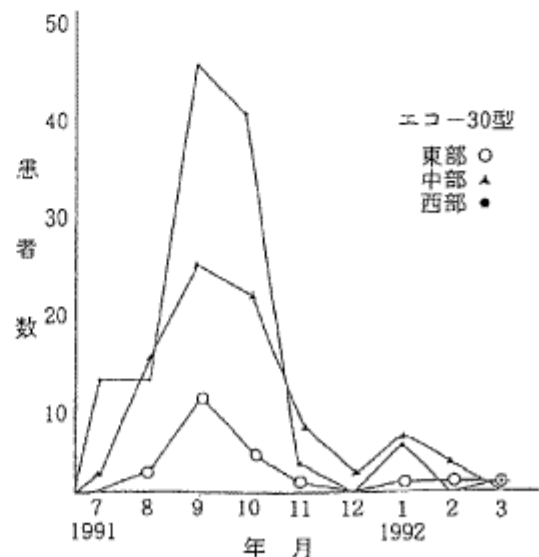


図3-1 地域別患者ウイルス分離状況

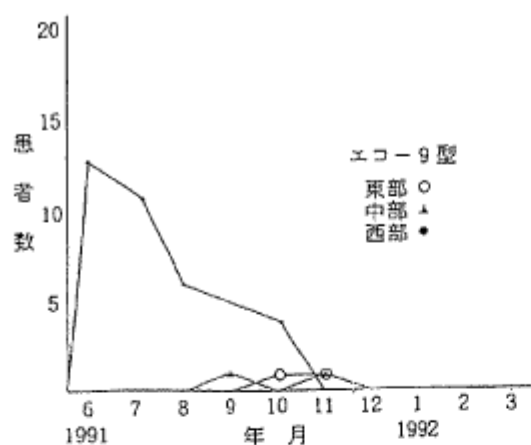


図3-2 地域患者ウイルス分離状況

検出状況とよく類似しており、河川水からのウイルス検出状況はその地域のウイルスの流行を反映しているものと考えられる<sup>2)</sup>。また西部地域で11月にエコー9型ウイルスが分離されているが、これは図3-2に示したように西部地域を中心として6月から10月まで流行したものを反映していると思われる。他種類のウイルスが検出されなかった理由として、*in vitro*でのウイルスの干渉作用または、増殖性の差が考えられる。また、河川水には多種類のウイルスが混在している事もあり、同定困難な分離株もみられた。

今回検出できなかった他の下痢症の原因ウイルス

も河川に存在している可能性もあり、今後検討する必要があると思われる。又、魚介類の体内に蓄積されヒトへの感染源と成る可能性もありヒトとの重要な関わりがある環境の水の汚染状況を知る上でも、河川水中に存在するウイルスの実態を把握しておく事は重要な事と思われる。

## まとめ

- 1 限外ろ過装置による濃縮法で、河川水中のウイルスを検出できた。
- 2 河川水からのウイルス分離状況とその地域のウイルスの流行状況は一致しており、地域により分離ウイルスの種類に差がみられた。
- 3 ポリオウイルスは、秋のワクチン投与後に集中して検出された。

## 文献

- (1) 黒田孝一、村上 司、永井正一：河川水中ウイルスの検索、日本公衆衛生学会誌、第28巻、第10号 481-485、1981
- (2) 鳥取県衛生研究所報、第32号、35-39、1992
- (3) 杉島伸禄、林 悦子：下水からのウイルス分離、日本公衆衛生学会誌、第26巻、第1号、17-23、1979