

水痘より Vero細胞でウイルスが分離された

Hand-Foot and Mouth Disease

秋田県衛生科学研究所細菌病理科

秋田県立中央病院 微生物検査科

須 藤 恒 久

秋田県立中央病院 微生物検査科

森 田 盛 大・藤 原 登美子

秋田県衛生科学研究所細菌病理科

坂 本 昭 男

Hand-Foot & Mouth Disease

(HFMD)は乳児から幼児が罹患し、口内及び手足などの水痘形成を主徴とする軽い病気である。これが主としてCoxsackie A-16 (CoxA-16)によるものであることは1957年CanadaのToronto周辺で流行した時Robinson¹⁾らによつて初めて明らかにされたものである。その後、米国²⁻⁴⁾や、英国⁵⁾での流行が度々報告されている。

我国では、昭和42年夏に関西地方で本症とみられる疾患の流行中に、水痘内容から、CoxA16が分離されている⁶⁾以外まだあまり報告されていないが、昭和42~3年中に我国で若干のCoxA16の分離がWHOに報告されている⁷⁾ので、我国でも最近流行していることは確かであろう。我々は昭和44年夏から秋にかけて秋田県内で臨床的に本症とみられる疾患の流行を認め、6例の患者の水痘からVero細胞を用い、全例からウイルスを分離し、同定の結果、現在迄の処、2例はCoxA16であることを確認した。更に血清学的検査によりCoxA16に中和抗体、CF抗

体の有意上昇を認めた症例もあり、HFMDが昭和44年夏~秋に本県内で流行したことを確めた。本症はCoxA16の他にCoxA5、又はA10も原因となると言われて居るので、これ迄の報告の多くは分離に哺乳マウス(SM)を使用し、血清抗体の検索もSMで行なわれている。我々は分離はSMによらず、Vero細胞を用い、高率に分離し得た。

然し乍ら、Vero細胞のみで継代した株は標準株と、性状に於て相当な差異のあることを知りつつあるが、本報では分離及び血清診断結果を主として報告したい。

被 検 症 例

我々がウイルスを分離した症例は昭和44年6月から11月迄の間に発症し、秋田県立中央病院皮膚科、或は小児科を受診した5例と、秋田市中通病院小児科を受診患者1例で、これらの症例の臨床像の概要及び、ウイルス分離結果を表1に示した。尚、症例671と、72は同胞例である。

表1 Hand-Foot & Mouth Disease 症例

症例番号	年齢・性	発病月日	臨床像	ウイルス分離 (VerO細胞)	分離株No	備考
52	6-4 ♂	6-17-69	口内, 手掌, 足底 前膝部水疱性発疹 37~38℃	6-20(4) 足底部水疱(+)	(1320)	白血球8.800 (6-20)
71	0-8 ♀	8-25-69	軟硬口蓋, 口内疹 手指, 足趾 手掌, 足底, 下腿 水疱性発疹 38℃(1日間)	8-28(+) 手背, 水疱(+) 足底水疱(+) 下腿水疱(+)	(1349) (1347) (1348)	白血球6.550 (8-28) 同 胞
72	4-4 ♂ (71の兄)	8-31-69	軟口蓋, 舌先端 手指, 足趾 水疱性発疹 平熱	9-1(2) 咽頭拭液(+) 手掌水疱(+) 足底水疱(+)	(1351) (1352) (1353)	発病間隔6日
74	0-11 ♂	9-7-69	上腿, 下肢 手指, 足趾 水疱性発疹 37℃	9-11(5) 咽頭拭液(+) 手掌水疱(+)	(1356) (1355)	
80	0-10 ♂	11-8-69	両手掌, 拇指 左足趾水疱性発疹	11-11(4) 手掌水疱(+) 咽頭拭液(+)	(1379) (1378)	
408	0-10 ♂	9-28-69	手掌, 手指 足趾, 下肢背側 水疱性発疹 口内疹, 発熱	9-80(3) 咽頭拭液(-) 手掌水疱(+) 糞 便(-)	(1364)	同胞発病せず

検査方法

ウイルス分離にはVerO細胞を用いた。細胞増殖用培養液(GM)はEagleのMEMに10%の牛血清を加えたものであり、細胞維持液(MS)には、MEMに2%仔牛血清を加えたものを用い、検体接種後33℃で回転培養を行ない、途中5日毎に液を交換し、2週間観察した。検体は主として水疱内容を0.5%牛血清アルブミン加、SLE液2~3ml中にとり、その0.2mlを1本の細胞チューブに接種した。咽頭拭い液及び糞便抽出液については、これ迄に記した常法に従った。

免疫血清

同定に用いた血清は次の通りである。

- ① 予研より分与されたSchmidt Pool血清抗CoxA 群各単味免疫家兔血清。
- ② 我々の分離株のVerO細胞培養液をDiffr-cn S-2で処理し、FreundのComplete Adjuvantと共にモルモットの筋肉内に、3及至5回注射し、3週後再接種してから1週後に採血した血清。

血清診断のためのウイルス

- 1) 予研より分与されたCoxA16標準株をSM

表2 水痘よりウイルスが分離されたHFMD症例の血清抗体価

症例 採血 50%中和抗体価 C F 抗体価

番号	病日	COX A16SMV	1352-V	COX A16SM	1352-VSM	1320-VSM
52	4	32	nt	8	< 8	< 8
	21	32		16	8	16
71	4	< 8	< 2	< 8	< 8	< 8
	19	16	< 2	8	≤ 8	≤ 8
72	2	< 8	< 2	16	< 8	8
	13	32	< 2	32	16	16
74	5	16	< 2	nt	8	< 8
	21	32	< 2		16	16
80	3	16	nt	8	< 8	< 8
	17	16		16	8	≤ 8
408	3	32	nt	8	< 8	< 8
	17	16		16	16	8

及びVero細胞で継代したもの。

- 2) 我々の分離代表株をVero細胞のみで或は、Vero-SM-Veroの順で継代したもの。

血清学的検査方法

① 中和試験

ウイルス及び血清の等量混合液を室温に1時間おき、その0.1mlをVero細胞のチューブに接種し、33℃に廻転培養した。中和抗体の検査は、Hanks液にて希釈した血清につき同様、中和試験を行ない、50%中和抗体価を算出した。

② 補体結合反応(CF)

標準株及びVero細胞分離株をSMの腹腔内に接種し、発症したSMのホモジネートを、Difronで処理したものをCF抗原として使用し、マイクロタイターを用いて行なった。

ウイルス分離の結果

ウイルス分離の結果は表1に示す通りであり、全例の水疱から少なくとも1株のウイルスが分離された。67.1例の如く、3ヶ所の水疱につき分離を行ない、全てからウイルスが分離された如く、水疱からのウイルス分離は高率であった。咽頭拭液では4例中3例から分離された。1例の糞更からのウイルス分離は不成功に終わった。

Vero細胞に見られた本ウイルスのCPEは殆んどECHO或はCoxsackieB群の示すものと類似していたが、分離の除初めてのCPEが認められたのは少なくとも接種後1週間を至てからであり、以後の液交換によりCPEは更に進行した。

分離株の同定にはやや困難があつた。即ち、分離代表株の1352株のVero細胞継代株(1352-V株)はShmidt Pool血清では中和されなかつた。又、予研で作製されたCOXA群16型の抗血清でも中和されなかつた。しかし、抗1352-V株モルモット血清は標準COXA

16のSM-Vero継代株を中和した。次に抗1352-V株モルモット血清は標準COXA16のSM継代株と1352-V株をSMに接種後の発症SMによつて作製したCF抗原に同じ価のCF抗体価を示した。

以上のことから、1352株はCOXA16と同等した。

血清診断結果

患者ベア血清についての血清学的検査結果は表2に示す如くである。注目すべきことは分離代表株の1352-V株を抗原とし、Vero細胞を用いた中和抗体価の検索では全例の回復期血清で、抗体の存在を確認することが出来なかつたことである。これに対して標準COXA16のVero細胞継代株を用いて同様に行なつた中和抗体価の検索では症例71と72は、明らかに抗体の有意上昇を確認出来たし、他の症例でも、抗体の存在を確かめた。

一方、CFではCOXA16-SM株1352-V-SM株及び1320-V-SM株を抗原として全例にベア血清間で抗体の上昇を認めた。従つてCFでやつた限りではこれら6例は少なくともCOXA群の感染を受けたと言える成績を得た。

考 察

臨床的にHFMDと思われる6例についてウイルス学的な検索を行なつた結果、種々の興味ある知見が得られた。先ず第一に、我々は症例のウイルス分離を行なう際に、手、足の水疱を主訴としたものが多かつたために、初めはHFMDと考えず、临床上、Herpes Simplex(HSV)による水疱と疑つたのであつた。それで、我々の常法によつてVero細胞に水疱内容物を接種した。もしこの水疱がHSVによるものであるならば、今迄の我々の経験では接種から1日、おそくとも3日以内に分離の判定をなし得たからである。処が、今回の症例は、何れも3日以内にはCPEが起らなかつた。従つて我々は本症は臨床的にHSVに似ているけれどもHSVによる水疱ではない

と判断した。その後、Ver o細胞のMSを交換していた処、CPEらしい像、しかも、Enter o Virus様のそれが認められたのであつた。疑問に思つてこれを継代した処、明らかなCPEが認められ、感染価も $10^{5.5}$ あることが認められたことから、同定以前に恐らく、HFMDと診断したのであつた。継代後は、接種から、2-3日で100%近くCPEが起つた。もし我々が本症を最初からHFMDと考えたならば、分離材料は当然、哺乳マウスに先ず接種したであろうが、これ程高率には分離し得なかつたかも知れない。

Magoffin²⁾らはCaliforniaの流行に於て哺乳マウスを用いた他に初代猿腎細胞(MK)を用いて分離している。又、分離材料は水疱ではなくて、糞便を用いている。Freoschle³⁾らはAtlantaの流行では種々の材料をSMやMKに接種して居り、Alsop⁴⁾らは英国のBirminghamの流行で、組織培養では全く分離出来なかつたとしている。Cherry⁵⁾らはWisconsinで多くの種類の細胞やSMを用いて分離を行なつている。

高安⁶⁾らは水疱及び糞便をSMに接種して居り、今迄の処、Ver o細胞を用いた報告はない。我々は水疱内容の他に咽頭拭い液や糞便についてもVer o細胞によつて分離を試みたが、水疱からは全例分離に成功していながら、咽頭や、糞便からは必ずしも高率な分離には成功しなかつた。このようなことからHFMDでは原因ウイルスが明らかに皮膚に於て増殖して居り、水疱内容は高い感染価のウイルスでみだされていることが推定された。一方、ウイルスが水疱中に存在した時点の急性期血清中には既に中和抗体もCF抗体も認められたものが多く、この点は免疫学的に興味深い問題として更に追求中である。

次に我々が直面した問題は分離株の同定であつた。Ver o細胞継代株はSchmidt Pool血清抗CoxA16血清の何れでも、又、Homoのモルモット抗血清でも中和されず、しかも、Homo患者のベア血清でさえも抗体価を認めなかつた。然し乍ら、Ver o細胞継代株を哺乳マウスに接種するとマウスは発症し、その発症マウスの

ホモジネート上清を抗原とし、Ver o細胞継代株で免疫したモルモット血清とで、OP反応を行なうと陽性を呈し、更に同抗原でベア血清間の抗体上昇を確認した。

今回我々がウイルスを分離した症例の臨床像については別に報告の予定であるが、今迄、本県内に於ては、このような症例は少なくとも過去5年以内には認められなかつたようであり、昭和44年に突然CoxA16が何処からか浸淫して来たものと思われる。我々の観察した以外でも同様の臨床像を呈した乳児の症例が県内及び他の東北各県にもみられたことが他の皮膚科医及び小児科医の間からもたらされている。又、他に本邦では東京地区でもHFMDの流行が報告され、CoxA16の分離もWHOに報告されていることから昭和42~44年中には或は全国的にCoxA16が撒布されたものとも考えられる。

総 括

昭和44年度から秋にかけて、秋田県内に発生したHond-Foot&Mouth Diseaseと考えられる6例につきウイルス学的に検索を行ない、次の知見を得た。

- 1) 水疱内容を分離検体とし、Ver o細胞に種した処、6例の全例からEnter o Virus様のCPEを呈するウイルスが分離され、現在迄に2例のものはCoxA16と同定された。又、咽頭拭い液よりは、3株分離された。
- 2) Ver o細胞継代ウイルスは $10^{5.5}$ の感染価を有し、CPEも強度であるが、抗血清によつて中和されないが分離株でのモルモット免疫血清は標準株のCoxA16を中和したので分離株は或る種の変異株と思われ追求中である。
- 3) 水疱内にウイルスが存在している時期に既に中和抗体は上昇して居ることが認められ免疫学的に注目すべき問題であると考えられる。
- 4) 血清中和抗体はVer o細胞継代ウイルスでは指摘出来ず標準株ウイルスによつて始めて測定し得た。

一方、CF抗体はVerro-哺乳マウスの継代ウイルスによつて認め得た。

稿を終るに当り、標準株及び抗血清を分与された予研、多ヶ谷部長、並びに種々御協力いただいた秋田県立中央病院、皮膚科、稲葉堅博士に感謝の意を表します。

- 1) Gilbert Dalldorf & Joseph L. Melnick : Viral and Rickettsial Infections Of Man (Editor, Horsfall & Tamm) 5th, Ed, P. 497, , Phila 1965
- 2) Robert L. Magoffin, et al J, A, M, A, 175, 441, 1961
- 3) James E. Eroeschle, et al, Amer, J, Dis, Child, 114, 278, 1967
- 4) James D. Cherry & Charles L. Jahn, Pediatrics, 37, 637, 1966,
- 5) J. Alsop, et al, Brit, Med, J 2 1708, 1960,
- 6) 高安進, 川津友子, 臨床皮膚科 23, 43, 1966,
- 7) WHO地域エンテロウイルスレファレンスセンター医学のあゆみ65, 196, 1968,
- 8) WHO地域エンテロウイルスレファレンスセンター医学のあゆみ67, 539, 1968,
- 9) 須藤恒久, 他, 秋田衛研所報 10, 31, 1966,
- 10) 須藤恒久, 他, 秋田県立中央病院雑誌 5, 20, 1968,
- 11) 石井慶蔵, 昭和45年防疫関係技術職員講習会

昭和44年秋田県内、ポリオの 流行予測調査結果について

秋田県衛生科学研究所細菌病理科

坂 本 昭 男

秋田県衛生科学研究所細菌病理科

秋田県立中央病院中央検査部微生物検査科

須 藤 恒 久

秋田県立中央病院中央検査部微生物検査科

森 田 盛 大

ポリオ生ワクチンの全国一斉投与が昭和36年より継続され、翌37年厚生省によつてポリオの流行予測事業が開始された事は周知のとおりである。秋田県では昭和42年度初めて本事業の指定を受けその一部を分担し、昭和43年度、昭和44年度と、従来と同様の目的でこれを継続して来た。

本年の選定地区は、2地区で、北秋田郡森吉町米内沢と、湯沢市で昭和44年度に初めて選定した地区である。

以下、この両地区で行なつたポリオ流行予測調査の結果について報告する。

A) 予測調査地区の概要

1) 森吉町米内沢地区

秋田県北秋田郡森吉町米内沢は、鷹巣保健所管内にあり、北秋田郡の中央に位置し、川は南北を縦貫している阿仁川をはじめ粒様川、小又川等がある。交通は国道105号線をはじめ一般地方道があるが、105号線については地域開発の基幹道路として、奥地開発、産業の動脈、森林資源の開発、地域住民の生活環境の改善によせる期待が大きい。鉄道は阿仁合線(鷹巣駅-米内沢

-阿仁合-比立内駅)がある。面積は341.87²km²で、総人口は13,314人である。主なる産業は農業で多くをしめている。飲料水については簡易水道が45.5%をしめている。

過去5年以内のポリオ患者発生はないが、赤痢は昭和39年6名、昭和40年には69名(この内、7月に浦田部落で32名の集団発生)の発生をみている。昭和41年には16名、昭和42年2名、昭和43年に1名となつている、その他の伝染病の集団発生はない。

ポリオ生ワクチン投与率は昭和39年93.1%、昭和40年82%、昭和41年90%、昭和42年94%、昭和43年96%と多くは90%台を越している。

2) 湯沢市地区

秋田県湯沢市は、秋田県の最南端に位置し、東部には国定公園栗駒山を控え、西部には出羽山地が連なり、数多くの名勝温泉地がある。その合間に横手盆地が開け中央を雄物川が流れており穀倉地帯を形成している。又、南北に奥羽本線並びに国道13号線が縦貫し、その他は湯沢市を起点として放射状に交通が発達している。面積は約9.4km²で総人口は39,502名である。主なる生業は農業で商業、産業、木工業、

その他である。

飲料水の状況は上水道82%, 井戸18%となつている。

過去5年間のポリオ患者発生はなく、赤痢その他の伝染病発生もない。ポリオ生ワクチンの投与率は昭和43年が79%である。

B) 採取対象と実験材料および実験方法

I) 採取対象

1) 糞便

感染源調査としての糞便採取は、厚生省指定のとおり、0~12才迄を5つの年齢区分に分け、各区分毎に9~12名より採取した。森吉町米内沢地区での第1回目採取は昭和44年9月6日に53名より、第2回目は昭和45年1月26日に42名、計95検体を採取した。

湯沢市地区では、第1回目は昭和44年9月9日に53名から、第2回目は昭和45年1月29日に42名から、計95検体を採取しウイルスの分離を行なつた。両地区とも、2回目に採取した対象は第1回目と同一個人である。

2) 血清

感受性調査としての血液採取は、森吉町米内沢、湯沢市の両地区とも8つの年齢区分に分け、各区分ごとに10~16名から採取したが、12才以下の各年齢区分とも7~16名迄は感染源調査対象者と同一個人である。

従つて採取は、1回目の感染源調査時と同時に行ない、森吉町米内沢地区では94名より、又、湯沢市地区にては98名の健康者より血液を採取した。

II) 実験材料及び実験方法

ウイルス分離方法、中和抗体測定方法は、厚生省流行予測事業ポリオ検査術式に従い¹⁾²⁾実施し、一昨年、¹⁾昨年の検査方法と同様で

ある。糞便材料からの分離には、初代カイザル腎細胞を用い、中和抗体測定にはHEP-2細胞を用いた。

C) 検査成績

1) ウイルス分離結果

両地区の第1回目採取材料106検体より、11株のウイルスが分離された〔表1〕即ち、森吉町米内沢地区53検体より7株(COXsaki B-3, 2株。COXsaki B-5, 1株。ECHO-17, 3株。未同定1株)分離され、湯沢地区の53検体よりは4株(ECHO-14, 2株。ECHO-22, 1株。未同定, 1株)分離された。第2回目採取材料84検体よりはウイルスが全く分離されなかつた。又、ウイルスの分離された被検者の年齢は、両地区とも7才以下であつた。

2) ポリオウイルス中和抗体価検査結果 (感受性調査結果)

両地区の年齢別、ポリオ型別中和抗体保有率を(4倍及び64倍スクリーニング)表2, 3及び図1, 2に示した。

森吉町米内沢地区でのポリオウイルスI型に対する抗体保有率は、0~1才群の4倍スクリーニングで33.3%, 64倍スクリーニングでは13.3%, と低値を示し、その他、4~6才群で4倍スクリーニングでは90.9%の高い値を示しながら、64倍スクリーニングでは、0%となつておりその差90%以上と開いている。

II型に対しては、4倍スクリーニングでは全般に高い保有率を示し、0~1才群は80.0%, 4~6才群と20才以上が90.9%で他の年齢群は100%となつている。特に2~3才群では、64倍スクリーニングでも86.7%と高値を示している。

III型では、4倍スクリーニングで0~1才群の53.3%に始まり、7~9才群の66.7%

図1 森吉町米内沢地区ポリオ中和抗体保有率(%)

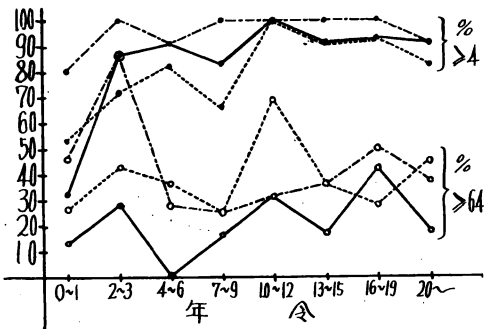


図2 湯沢地区ポリオ中和抗体保有率(%)

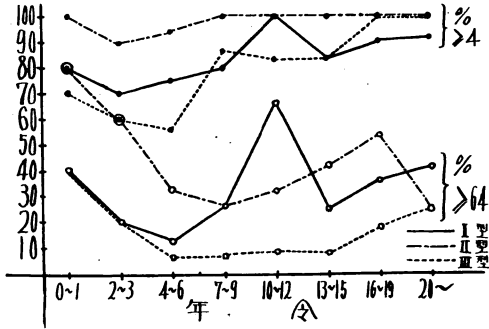


表1 森吉町米内沢地区及び湯沢市地区の分離結果

地区名 時期	森吉町米内沢地区								湯沢市地区							
	第1回S44.9.6				第2回S45.1.26				第1回S44.9.9				第2回S45.1.29			
年令	被例 検数	分陽 性 離数	ポ リ オ	ポ 外 の オ も 以 の	被例 検数	分陽 性 離数	ポ リ オ	ポ 外 の オ も 以 の	被例 検数	分陽 性 離数	ポ リ オ	ポ 外 の オ も 以 の	被例 検数	分陽 性 離数	ポ リ オ	ポ 外 の オ も 以 の
0	8	1		CB-3 1	6	0			1	0		0	1	0		
1	6	2		CB-31 CB-51	6	0			8	2		未 可 定 E-221	7	0		
2	6	0		0	5	0			2	0		0	1	0		
3	1	0		0	1	0			7	1		E-1 14	6	0		
4	3	1		E-1 17	2	0			9	1		E-1 14	8	0		
5	4	1		E-1 17	3	0			3	0		0	1	0		
6	4	1		E-1 17	3	0			3	0		0	2	0		
7	7	1		未 可 定 1	4	0			2	0		0	2	0		
8	2	0		0	2	0			4	0		0	4	0		
9	2	0		0	2	0			4	0		0	2	0		
10~12	10	0		0	8	0			10	0		0	8	0		
計	53	7		7	42	0			53	4	0	4	42	0	0	0

註, CB-3.1はCOXSakie. B群3型, 1件, E-22.1はECHO-22型, 1件の意

表2 森吉町米沢地区住民のポリオウイルスに対する中和抗体の保有状況

年齢	被検人員	4倍スクリーニング					64倍スクリーニング								
		I型	II型	III型	1つのみ (+)	2つの 型 (+)	3つの 型 (+)	3つ共 (-)	I型	II型	III型	1つの 型のみ (+)	2つの 型 (+)	3つの 型 (+)	3つ共 (-)
0~1	15	5 (33.3)	12 (80.0)	8 (53.3)	2 (13.3)	7 (46.7)	3 (20.0)	3 (20.0)	2 (13.3)	7 (46.7)	4 (26.7)	3 (20.0)	5 (33.3)	0 (0)	7 (46.7)
2~4	7	6 (86.7)	7 (100)	5 (71.4)	0 (0)	3 (42.9)	4 (57.1)	0 (0)	2 (28.6)	6 (86.7)	3 (42.9)	3 (42.9)	1 (14.3)	2 (28.6)	1 (14.3)
4~6	11	10 (90.9)	10 (90.9)	9 (82.0)	1 (9.1)	2 (18.2)	8 (72.7)	0 (0)	0 (0)	3 (27.3)	4 (36.4)	3 (27.3)	2 (18.2)	0 (0)	6 (54.5)
7~9	12	10 (83.3)	12 (100)	8 (66.7)	0 (0)	6 (50.0)	6 (50.0)	0 (0)	2 (16.7)	3 (25.0)	3 (25.0)	3 (25.0)	1 (8.3)	1 (8.3)	7 (58.3)
10~12	13	13 (100)	13 (100)	13 (100)	0 (0)	0 (0)	13 (100)	0 (0)	4 (30.8)	4 (30.8)	9 (69.2)	7 (53.8)	1 (7.7)	3 (23.1)	2 (15.4)
13~15	11	10 (90.9)	11 (100)	10 (90.9)	1 (9.1)	0 (0)	10 (90.9)	7 (63.6)	2 (18.2)	4 (36.4)	4 (36.4)	4 (36.4)	3 (27.6)	0 (0)	4 (36.4)
16~19	14	13 (92.9)	14 (100)	13 (92.9)	0 (0)	2 (14.3)	12 (85.7)	0 (0)	6 (42.9)	7 (50.0)	4 (28.6)	7 (50.0)	5 (35.8)	0 (0)	2 (14.3)
20~	11	10 (90.9)	10 (90.9)	9 (82.0)	0 (0)	2 (18.2)	9 (82.0)	0 (0)	2 (18.2)	4 (36.4)	5 (45.5)	4 (36.4)	2 (18.2)	1 (9.1)	4 (36.4)
計	94	77 (81.9)	89 (94.7)	75 (79.8)	4 (3.3)	22 (23.4)	65 (69.1)	3 (3.2)	20 (21.9)	38 (40.4)	36 (38.3)	34 (36.2)	20 (21.9)	7 (7.4)	33 (35.1)

註 ()内は%を示す。

表3 湯沢市地区住民のポリオウイルスに対する中和抗体の保有状況

年齢	4倍スクリーニング						64倍スクリーニング							
	I型	II型	III型	1つのみ 型のみ (+)	2つの 型 (+)	3つの 型 (+)	3つ共 (-)	I型	II型	III型	1つの 型のみ (+)	2つの 型 (+)	3つの 型 (+)	8つ共 (-)
0~1	8 (80.0)	10 (100)	7 (70.0)	1 (10.0)	3 (30.0)	6 (60.0)	0 (0)	4 (40.0)	8 (80.0)	4 (40.0)	1 (10.0)	6 (60.0)	1 (10.0)	2 (20.0)
2~3	7 (70.0)	9 (90.0)	6 (60.0)	0 (0)	5 (50.0)	4 (40.0)	1 (10)	2 (20.0)	6 (60.0)	2 (20.0)	3 (30.0)	2 (20.0)	1 (10.0)	4 (40.0)
4~6	12 (75.0)	15 (93.8)	9 (56.3)	1 (6.3)	7 (43.8)	7 (43.8)	1 (6.3)	2 (12.5)	5 (31.3)	1 (6.3)	2 (12.5)	3 (18.8)	0 (0)	11 (68.8)
7~9	12 (80.0)	15 (100)	13 (86.7)	1 (6.7)	3 (20.0)	11 (73.3)	0 (0)	3 (26.7)	5 (26.7)	1 (6.7)	7 (46.7)	2 (13.3)	0 (0)	6 (40.0)
10~12	12 (100)	12 (100)	10 (83.3)	0 (0)	2 (16.7)	10 (83.3)	0 (0)	8 (66.6)	4 (33.3)	1 (8.3)	9 (75.0)	2 (16.7)	0 (0)	1 (8.3)
13~15	10 (83.3)	12 (100)	10 (100)	2 (16.7)	0 (0)	10 (83.3)	0 (0)	3 (25.0)	5 (41.7)	1 (8.3)	5 (41.7)	2 (16.7)	0 (0)	5 (41.7)
16~19	10 (90.9)	11 (100)	11 (100)	0 (0)	1 (9.1)	10 (90.9)	0 (0)	4 (36.4)	6 (54.5)	2 (18.2)	4 (36.4)	4 (36.4)	0 (0)	3 (27.3)
20~	11 (91.7)	12 (100)	12 (100)	0 (0)	1 (8.3)	11 (91.7)	0 (0)	5 (41.7)	3 (25.0)	3 (25.0)	5 (41.7)	0 (0)	2 (16.7)	5 (41.7)
計	82 (83.7)	96 (97.9)	78 (79.6)	5 (5.1)	22 (22.4)	69 (70.4)	2 (2.8)	33 (33.7)	41 (41.8)	15 (15.3)	36 (36.7)	21 (21.4)	4 (4.1)	37 (36.7)

註()内は%を示す。

%で、他の年齢群で71.4%から100%になつている。64倍スクリーニングで目立つのは、10~12才群で、7~9才群の25.0%、13~15才群の36.4%に対して69.2%と高い山を示している。又、この地区での3つの型全部に対し抗体を保有している率は、4倍スクリーニングで69.1%、64倍で7.4%である。又、3つの型全部に対し抗体を保有しない率は、4倍スクリーニングで3.2%、64倍で35.1%となつている。

湯沢地区での、I型に対するポリオウイルス抗体保有率は、4倍スクリーニングで0~1才群の80.0%に始まり、2~3才群の70.0%を低とし、10~12才群の100%を頂点にして、他の年齢群はその間を流れている。64倍スクリーニングでは、0~1才群が40.0%を示し、4~6才群が最低の12.5%となり4倍との差が約60.0%の開きとなつている。10~12才群に来て、急上昇を示し66.6%と大きな山となつている。

II型の4倍スクリーニングでは今までに見られない高保有率を示した、即ち、2~3才群で90.0%、4~6才群の93.8%で、この年の年齢群すべて100%を示した。然しながら64倍スクリーニングでみると、7~9才群26.7%で70%以上の差が見られ、20才以上で25%となり75.0%の差が見られた。

III型の4倍スクリーニングを見ると、0~1才群の70.0%、4~6才群56.3%と少し下り、これより高年齢群に向つて上昇線をたどり、16才~19才群、20才以上では100%を示した。64倍スクリーニングでは、0~1才群の40.0%より下り坂を示し、4~6才群の6.3%から横這を見せ、13~15才群よりゆるい坂で、20才以上で25.0%と船型を示した。又、同地区で3つの型に対し抗体を保有している率は、4倍スクリーニングでは70.

4%、64倍では4.1%であり、3つの型に対し抗体を保有していない率は4倍スクリーニングで、2.3%、64倍で36.7%となつている。

考 察

今回行なつたポリオ流行予測事業は、本県としては3回目である。我国では最近極めて稀になつた臨床的なポリオは本県では少なくとも昭和40年以降全く発生していないし、又、ポリオワクチン服用と関係ある事故も全く起つていないのは誠に幸いなことである。

しかし、ポリオウイルス以外の腸内ウイルスによる疾患の流行は、略全国と機を一にして発生している。たとえば、昭和40年のECHO-4、6による無菌性髄膜炎の流行とか、昭和44年のHand-Foot & Mouth Diseaseの流行などである。

又、疾患としての流行は起らなくとも分離ウイルスの種類などから、全国的に広がっているウイルスの侵襲が認められた例もある。

昭和44年にはECHO-17が米内沢地区で幼稚園児~小学生群からまとまつて分離されてゐるが、この地区で、昭和44年に無菌性髄膜炎の流行は認められて居らず、他県でのECHO-17の分離は、多くは発熱、或は、無菌性髄膜炎である。こうした点から考えると、本ウイルスは昭和44年に一応県内に撒布され、次の夏に或は、疾患の流行として現われて来るのかも知れない。湯沢地区では、米内沢地区と異なり、ECHO-17は全く見られず、ECHO-14が、やはり幼児の間に侵襲していたようである。ECHO-14は我国では先に仙台で、昭和37年秋に我国初の症例が報告され、昭和38年には青森地方で同ウイルスによる無菌性髄膜炎の流行が認められている。

元来、ECHO-14にしろ、ECHO-17にしろ、あまり流行は起さない又、軽症に終るウイルスであるので、この両ウイルスが、昭和44年中に県内に撒布され、或は来年の夏の活動の下

地となつているかも知れないが、昭和40年のECHO-4.4の時のような大流行は起らないであらう。

次にポリオウイルスに対する両地区の中和抗体保有状況について考察すると、米内沢地区では、7~9才群で、又、湯沢地区では4~6才群が共にⅢ型に対する保有率が低く、前者で66.7%、後者が56.3%である。

0~1才群ではワクチンを更に服用する機会も残されているが、幼児以上ではワクチンは服用すべき時期を失っている。又、我国では最早、自然感染によるポリオの不顕性感染は起らないとみられるので、恐らくこうした年令の小児は、抗体をもたないままに成長するであらうし、従つて将来、ポリオに対する集団免疫の低下が生ずる恐れがあることは否定出来ない。

現在Ⅲ型ポリオワクチンは、Ⅰ、Ⅱ型に比して安定性が若干おちるとされている。或はこの両地区で、一定年令層だけに抗体の谷があることは、生ワクチン投与当時のワクチン自体の品質、或は投与時の管理或は、その他、何らかの原因があるかも知れないが、或る集団で、或る程度以下の抗体保有率しかなかつた場合などでは、臨時にワクチン再投与などの手段をこうずるなどすれば、流行予測事業の抗体調査結果が真に生かされうると言うべきであらう。

総 括

昭和44年度ポリオ流行予測事業として、北秋田郡森吉町米内沢地区、及び湯沢市の住民各94及び98名につきウイルス分離とポリオウイルス各型に対する中和抗体を調査し、次の結果を得た。

- 1) 感染源調査では第一回、第二回共ポリオウイルスは両地区共分離されなかつた。
- 2) ポリオ以外の腸内ウイルスが第一回の調査で11株分離された。即ち、米内沢地区ではCOXB-3, 2株。COXB-5, 1株。ECHO-17, 3株。未同定1株の計7株。湯沢地区ではECHO-14, 2株。ECHO-22, 1株。未同定1株の計4株である。

第二回の調査では両地区共全くウイルスが分離されなかつた。

- 3) ポリオウイルス各型に対する中和抗体の保有率を検索した処、米内沢地区では4~6年群が、又、湯沢地区では7~9年群がⅢ型に対して夫々56.3%及び66.7%と割合低い保有率であることが認められ、こうした低保有率の将来及びその対策について若干の考察を加えた。

引 用 文 献

- 1) 須藤, 他, 秋田衛研所報, 12, 77, 1968
- 2) 坂本, 須藤, 他, 秋田衛研所報, 13, 65, 1969
- 3) 須藤, 他, 秋田衛研所報, 10.24, 1966
- 4) 須藤, 他, 秋田衛研所報, 14,
- 5) 宮本, 他, 小児科臨床, 17, 171, 1964
- 6) 中尾, 他, 日本小児科学会雑誌, 68, 963, 1964

秋田県に於ける日本脳炎の 流行予測調査について

秋田県衛生科学研究所

小林 運 蔵

茂木 武 雄

緒 言

本県における日本脳炎の流行予測調査は、昭和40年から始めているが、昭和42年より厚生省の全国日脳流行予測事業に参加してこれまでの本県独自の調査と平行して、秋田県における豚のHI抗体保有状況を統一的方法で追跡している。

本県における日本脳炎は昭和40年以降1名の患者発生も認めず、昭和40年からの調査実績によつても本県における日脳ウイルスの侵淫は極めて少いものと想定される。

本稿では昭和44年における調査実績と、厚生省の委託事業として始めた昭和42年から本年までの3ヶ年の調査実績から、本県における日脳ウイルス侵淫の概要を次にのべる。

調査方法と結果

(1) 厚生省委託屠場のHI抗体調査

厚生省委託による屠場豚のHI抗体調査は、本県では昭和42年度より秋田市近郊の豚を処理する秋田畜公社屠場を指定して毎年5月から10月までの間調査を行つてきた、調査の方法はすべて厚生省の指定の検査方法⁵⁾に従つて実施している

昭和44年度の調査成績を表1に示したがHI抗体陽性豚は本年も非常に少く、8月初旬にはじめて1頭の出現を見たが8月中検査数80頭の内僅か5頭、陽性率5.1%にすぎなかつた、その後9月に入つて次第に増加し80頭の内28頭陽

性率35%で又10月初旬には最も多く20頭中11頭が陽性で陽性率は始めて55%に達した。

本年度の厚生省委託による本調査の検査総数は380頭でHI抗体陽性豚は44頭、陽性率は11.6%であるが初感染豚(2-ME感受性抗体保有豚)と推定するもの34頭で陽性豚の79%にあたる。

(2) 県内地域別屠場豚のHI抗体調査

人の日本脳炎流行を予測する目的で昭和40年より厚生省の委託事業とは別に県内全般について日脳ウイルスの伝播、侵淫の状態を調査しているが、昭和44年度における地域別屠場豚のHI抗体調査結果を表2に示した。

本年最も早く陽性豚の出現したのは7月29日県南地域で被検査22頭中3頭(13, 5%)であつたが、2-ME処理により初感染と推定されるのは1頭でその後の検査では9月下旬に2頭の出現を認めただのみであつた、又他の県北、男鹿の地域では8月初旬頃より陽性豚が見られ、県全般にわたり9月中旬から下旬に於て多く陽性の豚が見られた、又初感染豚と推定されるものも同じ時期に於て男鹿地域で50%、他の地域では100%の出現が見られた。

本年度の調査総数は表1, 2を合せ590で陽性豚は106(18%)でこの内初感染と推定されるもの71(67%)であつた。

昭和44年度厚生省委託日本脳炎流行予測と場豚H I抗体調査(中央地区)

秋田県衛生科学研究所

表 1

と畜場名	通報 年月	検査 件数	H I 抗体価							H I 陽性件 数(陽性率)	2-M感受性抗 体保有率(保有率)	H I 陽性豚の飼育地および頭数	
			<10	10	20	40	80	160	320				640
秋田と場	1 5.2.6	20	20								0	0	
"	2 6. 2	20	20								0	0	
"	3 6. 9	20	20								0	0	
"	4 6.1.9	20	20								0	0	
"	5 6.2.3	20	20								0	0	
"	6 7. 1	20	20								0	0	
"	7 7. 7	20	20								0	0	
"	8 7.1.4	20	20								0	0	
"	9 7.2.1	20	20								0	0	
"	10 7.2.8	20	20								0	0	
"	11 8. 4	20	18	1	1						2(10%)	0	秋田市2
"	12 8.1.1	20	19			1					1(5%)	1(100%)	南秋八郎潟町1
"	13 8.1.8	20	20								0		
"	14 8.2.5	20	18		1			1			2(10%)	1(50%)	秋田市2
"	15 9. 2	20	16			2	1	1			4(20%)	4(100%)	秋田市1 南秋昭和町2 由利郡岩城町1
"	16 9. 8	20	16					1	3		4(20%)	4(100%)	秋田市2 南秋八郎潟町2
"	17 9.1.6	20	13					1	3	3	7(85%)	6(86%)	秋田市7
"	18 9.2.4	20	7		1	1		4	2	5	13(65%)	12(92%)	秋田市6 南秋五城目町2 南秋井川5
"	19 10. 4	20	9					6	5		11(55%)	6(55%)	秋田市3 南秋五城目町5 河辺郡雄和村3
小計	1~19 5.2.6 ~10.6	380	336	1	1	3	12	11	12	3	44(11.6%)	34(79%)	

昭和44年度県内地域別日本脳炎流行予測と場豚H I抗体調査(県南・県北・男鹿地区)

と畜場名	採血 月日	検査 件数	H I 陽性件数 (陽性率%)										2-ME 感受性抗体 保有件数 (保有率%)	場性豚の飼育地および頭数		
			<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≥2560				
横手と場	7.29	22	19	1	1									3(13.5)	1(33)	平鹿町3
"	8.26	13	13											0	0	
"	9.11	20	20											0	0	
"	9.25	20	18					2						2(10.)	2(100)	大曲市1 仙南村1
小計		75	70	1	1	1		2						5(6.5)	3(60)	平鹿町3 大曲市1 仙南村1
大館と場	7.28	20	20											0	0	
"	8.4	20	18						2					2(10)	2(100)	比内町扇田1 同十二所1
"	8.29	20	14					3	2					3(50)	3(50)	大館市8 扇田1 十二所2
"	9.3	20	9					1	6	1	2	1	1	11(55)	6(54.5)	大館市4 扇田5 田代早口2
"	9.29	20	10							4	4	2		10(50)	10(100)	大館市4 十二所2 早口4
小計		100	71					1	9	7	8	4		21(72)	21(72)	扇田7 大館市11 早口6 十二所5
男鹿と場	8.15	10	6	1	1					1		1		4(40)	2(50)	脇本2 男鹿1 琴浜長根1
"	9.26	10	1							1	5	1	1	9(90)	3(33)	脇本3 五里合1 船川3 男鹿中1 船越1
"	10.6	11	0							1	6	2		11(100)	6(54)	男鹿中11
"	10.9	4	0							1	1	1		4(100)	2(50)	男鹿中2 北浦2
小計		35	7	1	1	2	3	12	5	1	3	28(80)		18(46.5)		男鹿中1 5 脇本5 船川3 北浦2 船越1 五里合1 琴浜長根1
計		210	148	2	2	3	4	21	14	9	7	62(29)		87(60)		

※ 上記は県内の日本脳炎流行を予測するため自から行つたもの

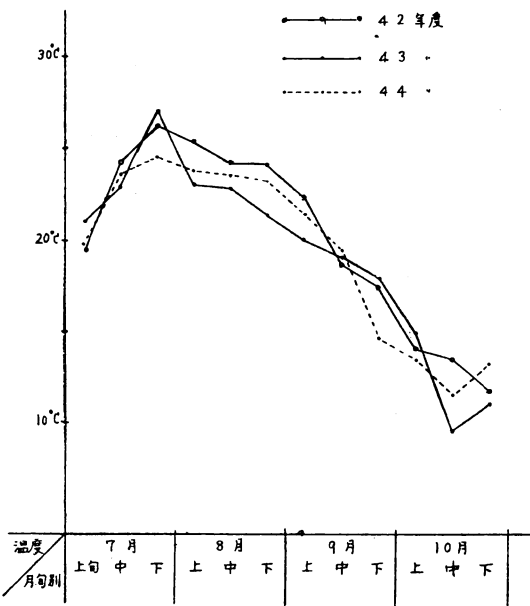
表(1)(2)の合計	590	484	3	3	1	6	4	38	25	21	10	106(18%)		71(67%)		
------------	-----	-----	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----------	--	---------	--	--

考 察 総 括

本県では従来日本脳炎の患者は昭和30年から39年までに159例の届出があり、昭和40年に1名の疑似者の届出を最後とし以後全く日脳患者の発生を見ていない。又昭和40年以降の屠場豚HI抗体調査においてもその陽性率は極めて低く西日本などの各県とは比較にならないものである。その主要原因の一つは本県の気象などが大きく左右するものと思考される。即ち日脳ウイルス伝播の主役と云われる「コガタアカイエカ」の発生に最的気温であると云われる25℃以上の気温は本県では極めて少く、真夏と云えども25℃~30℃の気温は数日にすぎないなど、前にも報告したところである。(図表参照)

豚のHI抗体価の上昇の期節も殆んど9月中旬から10月初旬に多く見られ、初感染豚もこの頃がピークであることは過去3ヶ年の調査においてもほぼ同様である。従つて日脳ウイルス保有蚊の発生は県内全般において毎年起るものと考えられるが、発生期間は短く且つその程度も極めて少ないものと思われる。

図表 秋田県気象年度別比較



我々は昭和40年から本県独自の日脳ウイルス侵淫調査及び、昭和42年よりの厚生省委託による事業として主として県内各地の屠場豚のHI抗体調査を行なつて来たが、その調査から概ね次の結果を得た。

(1) 本県における日本脳炎の患者発生は昭和41年以降一例の届出もない。本県でこのように日脳患者が少ない理由は、県内全般にわたり日脳ウイルスの侵淫は毎年行なわれているもののその濃度が西日本などの各県に比較すると、著しく低いことが屠場豚のHI抗体調査ならびに「コガタアカイエカ」の発生状態⁴、或は県内在住者のHI抗体調査⁶⁾などの結果から確認された。

(2) 人の日本脳炎の流行に先行して出現する汚染「コガタアカイエカ」の発生も、昭和42年、43年の2ヶ年の調査⁴で明らかにしたところであるが、その数は極めて少なかった、一方日脳ウイルス伝播の主役を演ずる「コガタアカイエカ」の発生に最も重要な関係を有すると云われる25℃以上の平均気温は本県では稀で、西日本などで発生ピークと云われる8月初旬において漸く数日あるだけである。その後8月中旬以降は朝夕急に涼しく次第に気温が下降するなど自然的気象条件などが本県での「コガタアカイエカ」の発生が少なからしめ、従つて日脳ウイルス侵淫が少ない最大の理由であろう。

稿を終るにあたり、屠場豚の採血について格別の御援助下されました、秋田保健所、横手保健所、大館保健所、男鹿保健所の担当各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 児玉栄一郎, 他 秋田衛研所報 10, 21
1.966。
- 2) 藤沢, 小林, 坂本, 秋田衛研所報, 11,
58, 1.967。
- 3) 須藤, 小林, 茂木, 秋田衛研所報, 12,
71, 1.968
- 4) 小林, 茂木, 須藤, 園部, 秋田衛研所報,
13, 59, 1.969。
- 5) 厚生省公衛局 昭和42年日本脳炎流行予
測事業実施要領。
- 6) 須藤, 小林, 他 秋田衛研所報, 12,
61, 1.968
- 7) 秋田県農業気象月報, 1967~1969。

腸炎ビブリオ (Vibrio Parahaemolyticus) の 分布調査について

秋田県衛生科学研究所

金 鉄 三 郎

腸炎ビブリオの研究業績については、藤野、福見編「腸炎ビブリオ」I・II集以後も数多くの研究がなされ枚挙にいとまのないほどであるが、未解決の分野も少なくなく腸炎ビブリオの秘めている謎はなお奥深いものに思える。私共もその研究に部分的ながら解決につとめようとしているものであるが、今回は資料のまとめの出来たものから一括して報告したい。

I 健康成人の腸炎ビブリオ保菌検査

下痢症患者或は生鮮魚介取扱業者等¹⁾についての腸炎ビブリオ保菌検査については、多くの資料が見られるが健康成人の腸炎ビブリオ保菌率については更に兵庫衛研西尾²⁾の報告がある。

今回私の調査対象は県立病院給食施設の勤務者、男女約50名について毎月1回の定期検便を実施した一年間にわたるものの成績結果である。

1. 実験材料

検便採取は表(1)のとおり毎月未提出の新鮮糞便で延べ男191、女344名合計535件である。

2. 実験方法

① 培地

分離培地はBTBティポール寒天培地を用い増苗培地としては2%食塩コリスチンブイオンを用いた。

② 培養方法

①被検糞便をコンラージ棒にてBTBティポール寒天平板に直接塗抹分離、37℃フラン器内で一夜培養した。

②直接培養を終えた糞便約1gを予め分注作成した2%食塩コリスチンブイオン10ml中に投入懸濁した後、37℃フラン器で8時間増苗培養後、BTBティポール寒天平板に分離37℃に

夜培養した。

3. 実験成績

表(2)のとおり4月から翌年3月まで男女延べ35名から直接法、増苗培養法いずれからも腸炎ビブリオは検出されなかつた。

(1) 検体採取表

区分 月別	検 体 数		合 計
	男	女	
4	17	30	47
5	16	28	44
6	16	32	48
7	13	31	44
8	17	31	48
9	16	28	44
10	17	28	45
11	16	26	42
12	16	29	45
1	16	24	40
2	16	28	44
3	15	29	44
計	191	344	535

(2) 成績表

月別	検体数	検査数	腸炎ビブリオ	
			直接数	増苗法 [※]
4	47	"	(-)	(-)
5	44	"	(-)	(-)
6	48	"	(-)	(-)
7	44	"	(-)	(-)
8	48	"	(-)	(-)
9	44	"	(-)	(-)
10	45	"	(-)	(-)
11	42	"	(-)	(-)
12	45	"	(-)	(-)
1	40	"	(-)	(-)
2	44	"	(-)	(-)
3	44	"	(-)	(-)
計	535	"	0	0

※ 2% NaCl 加コリスチンブイオン培地使用

II 河川水、下水における分布調査

河川水等における腸炎ビブリオの調査研究については長崎衛研安永³⁾の発表や生鮮魚介類販売店およびこれらを含むマーケット等からの洗滌水⁴⁾が注ぐ下流は可成り汚染されていることは下内らの報告で指摘されているところである。私共は1969年5月から12月にわたって秋田市繁華街を貫流する旭川、これに合流する太平川について図のとおり河川水11地点下水9地点を7回にわたって腸炎ビブリオの分布を探るべく調査を実施した。

1. 実験材料

- ① 検体採取は図(1)に示したとおり河川水11、下水9の月20件である。
- ② 検体採取数は表(3)のとおりで延140件とな

る。

③ 検査時の気温、水温は最低から最高までを示したものである。

④ 採取方法は滅菌コルベンに河川水は河のほぼ中央部の水流面10cm以下から300mlを無菌的に汲みあげたものである。下水はその排出口から汲み取り300ml以上をコルベンに移し実験室に搬入した。

2. 実験方法

① 培地

分離培地はBTBティポール寒天培地を用い増菌培地としては2%食塩コリスチンブイオン、および3% NaCl加ペプトン水を用いた。

② 培養方法

採水したコルベンを静置して汚濁物の沈降を待ちその2mlを予め分注作製した2%食塩コリスチンブイオン10mlへ注加37℃フラン器内で8時間増菌培養した後BTBティポール平板に分離培養した。同様に3% NaCl加ペプトン水にも2ml注加、37℃一夜培養後BTBティポール培地に分離培養した。

3. 実験成績

実験結果は表(3)のとおり河川水、下水延べ140件で2法の増菌検査を行なったが陰性であった。

(1) 河川水、下水採取図

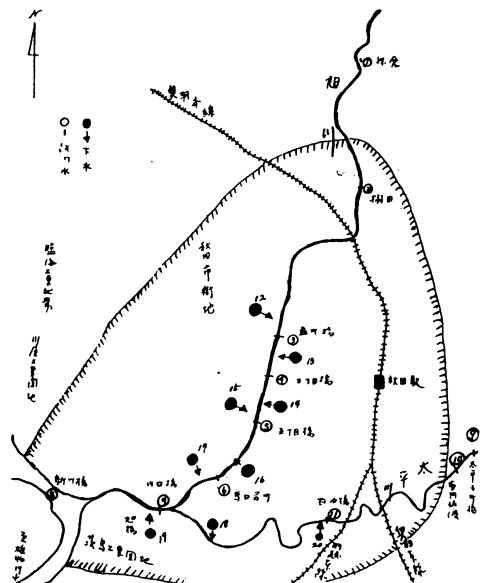


表3 昭和44年度

旭川 } 腸炎ビフリオ分布調査
 太平川 }

No.	採水場所	気温	水温	検体別	月別検査成績						
					5月	6月	7月	8月	9月	10月	12月
1	藤倉旭川上流	4.0~27.0	3.0~18.5	河川水	-	-	-	-	-	-	-
2	湯田市街	2.0~30.0	4.0~21.0	"	-	-	-	-	-	-	-
3	通町橋	4.0~30.0	6.0~21.5	"	-	-	-	-	-	-	-
4	三丁目橋	8.0~30.0	5.5~22.5	"	-	-	-	-	-	-	-
5	五丁目橋	6.5~30.0	5.0~22.0	"	-	-	-	-	-	-	-
6	馬口労橋	5.0~30.0	4.5~23.5	"	-	-	-	-	-	-	-
7	川口橋	6.0~30.0	5.0~24.0	"	-	-	-	-	-	-	-
8	新川橋	5.0~31.0	5.5~26.0	"	-	-	-	-	-	-	-
9	太平川元町	6.5~30.0	4.0~24.0	"	-	-	-	-	-	-	-
10	谷内佐渡橋	9.0~30.0	5.0~23.0	"	-	-	-	-	-	-	-
11	百石橋	9.0~29.0	4.0~24.0	"	-	-	-	-	-	-	-
12	通町橋西側	4.0~30.0	4.5~22.0	下水	-	-	-	-	-	-	-
13	名店街橋東側	8.0~30.0	7.0~23.0	"	-	-	-	-	-	-	-
14	五丁目橋東側	6.5~30.0	10.0 ~24.0	"	-	-	-	-	-	-	-
15	五丁目橋西側	6.5~30.0	8.0~24.0	"	-	-	-	-	-	-	-
16	楯山登町橋東側	6.5~30.0	8.0~24.0	"	-	-	-	-	-	-	-
17	馬口労橋西側	5.0~30.0	7.0~24.0	"	-	-	-	-	-	-	-
18	川口橋東側	6.0~30.0	5.0~24.0	"	-	-	-	-	-	-	-
19	旭橋東側	8.0~32.0	11.0 ~26.0	"	-	-	-	-	-	-	-
20	百石橋西側	9.0~29.0	5.0~24.0	"	-	-	-	-	-	-	-

◎ 検査法 ①2%食塩コロスチンブイヨン増菌後B T B テイポール培地へ分離

②3% NaCl 加ベプトン水 " "

Ⅲ 加工食品等における汚染調査

県内主要四市内の店頭販売の魚類について腸炎ビブリオ汚染調査は既報⁵⁾のごとく1966年5, 7, 9月にわたって600尾を体表, 臓器別に1,200件について検査した結果 *Vibrio alginolyticus* (従前の分類法では生物2型) が11%検出されたのみであつたが, 今回(1968年)魚類, 肉類, 野菜等の調理加工品の *C. I* ウエルシュ菌の汚染調査⁶⁾と同時に腸炎ビブリオの汚染も併せて調査した結果を述べる。

1. 検体の種類

①検体は表(4)のとおり秋田市内主要店から買い上げたものである。

②検査品目および数量は表(5)のとおり魚類加工品30件, 調理品30件, 野菜類調理品4件, 卵類加工品4件, 大豆類加工品2件, 合計70件である。

(4) 検体入手状況

月 . 日	購 入 先	主 な る 食 品
9 . 26	秋田市 . 佐 川 食 品	かまぼこ . さつまあげ
9 . 26	" . ま る み や	かまぼこ . かきふらい . さんまてんぷら . 野菜てんぷら
10 . 1	" . ト 一 屋	玉子焼 . 厚あげ . 他
10 . 1	" . な か よ し	竹輪
10 . 7	" . 木内デパート	味付かまぼこ類
10 . 7	" . マ ル ナ カ	ふらい類

2. 検査方法

①培 地

分離培地は B T B テイ ボール 平板 培地 を用い 増菌 培地 として は 3% Na c l 加 ペプトン 水 を 使用 した。

② 培 養 法

(イ) 乳鉢で細砕, 粉碎した検査材料10gを滅菌食塩水で10倍乳剤をつくり, その0.1mlを分離平板に塗沫37℃一夜培養した。

(ロ) 10倍乳剤液1mlを3%Nacl加ペプトン水10ml分注の中試験管に注加, 37℃一夜増菌後翌日その一エーゼをB T B テイ ボール 寒天 平板 に 分離 培養 した。

3. 実験成績

表(6)のとおり直接培養および増菌培養いづれからも腸炎ビブリオは検出されなかつた。

(5) 検体品目別

種別	区分	検査数	内訳
魚類	加工品	30	かまぼこ (20) 筐2 玉子巻2 テンブラ巻2 エッグ入2 板付2 鳴門巻2 袋入4 その他4
			ちくわ (2)
			さつまあげ (6) 厚あげ2 その他4
			はんぺん (2)
	調理品	30	てんぷら (4) えび4
			ふらい (24) かき2 キヌ2 さんま2 たら4 さば4 ちくわ2 あかお2 むつ2 串だんご2 ソーセージ2
			でんぶ (2)
野菜類	調理品	4	てんぷら (2) 人参・ササゲ
			煮物 (2) ササゲ豆砂糖煮・茄子肉入
卵類	加工品	4	玉子焼 (2)
			かまぼこ (2)
大豆類	加工品	2	トーフあげ (2)
合計	加工品	36	70
	調理品	34	

(6) 成績表

種別	区分	検体		数	培養成績	
		数	品名		直接法	増菌法
魚類	加工品	30	かまぼこ	20	(-)	(-)
			ちくわ	2	(-)	(-)
			さつまあげ	6	(-)	(-)
			はんぺん	2	(-)	(-)
	調理品	30	てんぷら	4	(-)	(-)
			ふらい	24	(-)	(-)
でんぶ			2	(-)	(-)	

野菜類	調理品	4	てんぷら	2	(-)	(-)
			煮物	2	(-)	(-)
卵類	加工品	4	玉子焼	2	(-)	(-)
			かまぼこ	2	(-)	(-)
大豆類	加工品	2	トーフあげ	2	(-)	(-)

加工品 36
計 調理品 34 } 70件

考 察

1. 健康成人等についての西尾²⁾の報告によれば1月から5月まで(-), 8月が最高0.6%, 他の月は0.2~0.4%の検出率となつている。その他の報告によつても腸炎ビブリオの保菌率は極めて低率であることが知られるが、私共が今回調査した同一施設に従事する健康成人延535名からは一株も分離することが出来なかつた。同時に *V. alginolyticus* に対しても注意深く検査を進めたが遂に検出するに至らなかつた。このことは対象人員が少ない故でもあろうが夏季でさえも一株も検出出来なかつたのは、腸炎ビブリオの保菌者は極めて稀れであることを確認出来るものであつた。

2. 河川水等における腸炎ビブリオの分布調査では市内繁華街を貫流する地点から、或いは下水等からいささかでも腸炎ビブリオの検出を想定したが、実際には全く陰性に終つた。この調査によつて河川水等の淡水に例えば腸炎ビブリオ混入の魚類の洗滌水が流入しても汚染するという経過をとるには相当の菌数が必要であると言えそうであり、又下水は比較的水温が高いものとなつて運ばれたとしても、河川水に至つて死滅することも考えられ増殖の可能性は薄いことが認められるようである。

3. 魚類等の調理加工品等について。

買上げ検査した70件については全く腸炎ビブリオの汚染が認められなかつた。これは検査時期が9月下旬から10月上旬で秋涼の季節であつたことによるかも知れないが、食品販売店の設備、格納等が適切に行なわれたもので腸炎ビブリオの汚染が避けられたものと考えられる。

む す び

1. 給食施設に従事する健康成人約50名について毎月1回1年間腸炎ビブリオの分離を試みたが陰性であつた。
2. 秋田市内を貫流する旭川、太平川の河川水11地点およびこれに注ぐ下水9地点について5月から12月まで7回腸炎ビブリオの分布を調べたが遂に検出出来なかつた。
3. 秋田市内の食料品売場から買い上げた魚類加工品、調理品70件について腸炎ビブリオの検査を実施したが、いずれも陰性であつた。

文 献

- 1) 善養寺浩：腸炎ビブリオ種の規定，腸炎ビブリオⅡ集，61~80. 1967。
- 2) 西尾，他：健康成人の腸炎ビブリオ保菌率，

ModernMedia 4 Vol 15, 6~8,
1.969。

- 3) 安永統男：川水から分離される好塩菌の生
態に関する若干の検討，長崎衛生研究所報，
VII(昭和40年度)38~53, 1.966。
- 4) 下内啓万，他：都市小河川における腸炎ビ
ブリオの分布，メデイヤサークルVOL 13,
NO 4, 40~44, 1.968。
- 5) 金鉄三郎：秋田県における市販魚類の腸炎
ビブリオによる汚染について。
秋田県衛生科学研究所報，№11, 43~
46, 1.967。
- 6) 金鉄三郎：魚類，肉類等の加工調理食品の
Clostridium Welchiiの汚染調査に
ついて。秋田県衛生科学研究所報。
№13, 55~58, 1.969。

土壤中の Clostridium Welchii の耐熱性菌とその Hbbs Type について (第2報)

秋田県衛生科学研究所

金 鉄 三 郎

ま え が き

ウェルシュ菌 (Clostridium Welchii) による食中毒に関心が高まりつつある今日、その原因追求のため嫌気性菌の保有母体とみられる土壤における耐熱性ウェルシュ菌分布については、山形の報告があるが筆者もその一報を前号の所載に発表したところであり、その後引き続き調査の結果若干の資料を得たので報告したい。

実 験 方 法

1. 土壤採取について

① 前回採取の温暖期を避けて10月末と2月に限つた。

② 採取地区は嫌気性菌中でも特に食中毒との関係が深いボトリヌス保有地帯と目される船越水道附近と八郎潟残存湖岸、その他の海岸線を検査の対象とした。

③ 検体採取場所は図に示したとおりで、採取数は表(1)のとおり43年10月は130件、44年10月は300件、45年2月は50件の計480件を実験材料とした。

④ 採取方法は1m間隔に地表より10cm下の土砂を数ヶ所、約200gをポリエチレン袋に採取し実験室に運び供試材料とした。

II 培養方法

1. 培 養 基

① 耐熱性菌の増菌培養基としては、前回と

同じく自家製馬肝々ブイオンを使用した。
(作製法は省略)

② 嫌気性菌分離培養基としては、前回同様、市販のCW寒天基礎培地(ニッサン)に卵黄液を加えて使用した。

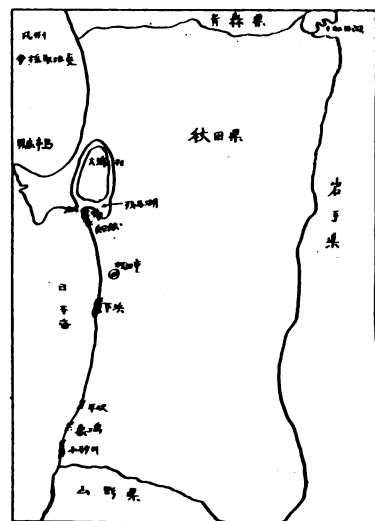
2. 嫌気性培養法

真空ポンプ吸引によるNOVysiaの方法によつた。

3. 耐熱性菌の分離法

それぞれの検体約5gあて肝々ブイオンに投入、直ちに100°C1時間加熱急冷後37°Cフラン器内で20時間以上培養観察し、明らかに増殖を示しガス発生と濁濁を認めたものについて、CW卵黄寒天平板に分離37°Cで18時間嫌気性培

図1 検体(土壤)採取地点



(1) 検体採取場所・検体数

採取年月	地区	場所	採取箇所	検体数
43.10	船越	船越水道東海岸	3	30
"	"	" 川岸	2	20
"	"	" 海水浴場	5	50
"	"	" 西側船着場	3	30
44.10	八郎潟	塩口船着場	5	50
"	"	南部開拓排水機場	5	50
"	"	天王残湖岸	5	50
"	仁賀保町	平沢海岸	5	50
"	象潟町	象潟海岸	5	50
"	"	小砂川海岸	5	50
45.2	岩城町	下浜海岸	5	50
合計		11地区	48	480

養を行ない、その發育コロニーについて諸性状を
検査しC1ウエルシユ菌と決定した。

4. 分離菌株の形態および生化学的性状の検査。

分離菌株の諸性状検査は³⁾辺野喜のテキスト、
および微生物検査必携によつたが、その主なもの
は、

- ① グラム染色陽性の大桿菌で好気性培養では
発生が認められない。
- ② 嫌気性培養のCW卵黄培地では乳光反応が
みられd抗毒素試験では抑制される。
- ③ Zeisslerの血液寒天培地でも良く発
育してそのコロニーを空気に晒すことによつて、
コロニーが緑色に変色することが著明である。
- ④ 鉄加牛乳培地では凝固 酸酵共に陽性である。
- ⑤ インドール反応で陰性である。
- ⑥ 運動性はない。
- ⑦ 炭水化物のラクトーゼ、白糖、ブドウ糖な
ど、いずれも分解する。

5. 血清型別法

分離された耐熱性ウエルシユ菌の血清学的型

別法は、市販の耐熱性ウエルシユ菌(A型)抗血
清東芝製を用いた。

方法はZeissler寒天に純培養の被検苗液を
作製し、のせガラス上にて凝集反応を実施、その
Hobbs型別を分類した。

III 実験成績

1. 実験の結果は表(2)のとおり11地区480
検体から100℃1時間の耐熱性を有する菌株9
株を分離した。

2. 100℃1時間に耐えた9株についてその
Hobbs血清型を調べたが、分類出来たのは4株
でありこれは検体480件の0.83%にあたる。

考 察

前回の土壤調査実験の結果では、100℃1時
間の耐熱性分離株は67/580でHobbs型は、
5.86%であつたが、今回は耐熱性株は9/480
C Hobbs型は0.83%に過ぎなかつた。

(2) 分離成績表

区 分	採取 個所	検体数	耐熱 性株	Hobbs型	検出 率%	型別 不能	Hobbs Type				
							1	4	6	7	計
船越水道東海岸	3	30	1								
川 岸	2	20	1	1	5		1				1
海水浴場	5	50	3	2	4	1		1		1	2
西側船着場	3	30	3	1	3.3	2			1		1
塩口船着場	5	50									
南部開拓排水機場	5	50									
天王残湖岸	5	50									
平沢海岸	5	50	1			1					
象潟海岸	5	50									
小砂川海岸	5	50	1			1					
下浜海岸	5	50									
合計 11地区	48	480	9	4	0.83	5	1	1	1	1	4

これはあきらかに採取時期の影響が考えられるもので、前回の調査の夏季および温暖の季節の海水浴場或は人口密度の高い都市部の河岸土壌は、耐熱性菌による汚染が高率であることが示唆されたが、今回実験の採取期は、10月以降のため人間との関連性が稀薄となり、更にこの点が明らかになつた。例えば、下浜海岸では42年7月の海水浴シーズンでは10%の耐熱性Hobbs型を検出したが、今回の2月の寒中では全く耐熱性菌が検出されなかつた。又船越海水浴場での10月の検査では若干の耐熱性株が検出されたもののその他の無人海岸では全く耐熱性菌の検出がなかつた。このことは1報でも指摘したとおり、ウエルシユ菌の汚染はその常在者たる人間の介在がなによりも実要な役目を果していると思えるのである。

人間の常在菌としてのウエルシユ菌については赤眞⁵⁾の報告や筆者⁶⁾の報告したように高率のHobbs

菌が健康者に認められるところである。

耐熱性ウエルシユ菌の検出率は、その採取地域の環境、採取時期に左右されることが明確といえそうである。

む す び

1. 秋冷の10月末および寒中の2月に県内海岸地帯を主とした11地区より480検体の土壌からClostridium Welchii耐熱性菌を9株分離出来た。そのHobbs型別は4株で0.83%に過ぎなかつた。

2. そのHobbs Typeは1.4.6.7.の血清型それぞれ1株ずつであつた。

文

献

- 1) 山県宏；食中毒起因嫌気性菌の土壌内分布調査に関する調査研究。山口県衛生研究所業績報告。第1号101~106, 1963。
- 2) 金鉄三郎；土壌中のClostridium Welchiiの耐熱菌とそのHobbs Typeについて。秋田県衛生科学研究所報。№13, 51~54~1969。
- 3) 辺野喜正夫；昭和40年度食品衛生特殊技術講習会（厚生省）
- 4) 微生物検査必携；日本公衆衛生協会編, 1966。
- 5) 赤真,；健康人糞便中常在菌としてのウエルシュ菌に関する研究。日本細菌学雑誌, 21, 619~624, 1966。
- 6) 金鉄三郎；健康成人糞便中のウエルシュ菌の調査。秋田県衛生科学研究所報。№12, 55~60, 1968。

健康成人糞便中の Clostridium Welchii

耐熱性菌の一考察

秋田県衛生科学研究所

金 鉄 三 郎

ま え が き

食中毒原因菌と目されるウエルシュ菌 (*Clostridium Welchii* Clostridium Perfringens)の研究発表は、最近数多く見られるが健康人の糞便に常在するウエルシュ菌とその耐熱性については、国立予研赤真ら¹⁾²⁾によるくわしい報告がある。筆者も42年度所報で健康成人の糞便についての調査成績を報告したが、今回県立A病院給食業務に従事する約50名について毎月定期検便を実施し、同一個体の耐熱性ウエルシュ菌の常在性について検討を加えることにした。

実 験 方 法

I 検体について

給食に従事する男女糞便、毎月未提出のもので、44年4月から45年3月まで12ヶ月間、その検査延数は表1)のとおり男191、女344の535検体である。

区分 月別	検 体 数		合 計
	男	女	
4	17	30	47
5	16	28	44
6	16	32	48
7	13	31	44
8	17	31	48
9	16	28	44
10	17	28	45
11	16	26	42
12	16	29	45
1	16	24	40
2	16	28	44
3	15	29	44
計	191	344	535

II 培養方法

1 培地

① 耐熱性ウエルシュ菌増菌培地として自家製の馬肝&片ブイオンを使用した。

② 嫌気性菌分離培養基としては、市販のカナマイシン不含CW寒天基礎培地(ニツサン)に卵菌液を加えて使用した。

2 嫌気性培養法

真空ポンプに吸引によるNory's jarの方法によつた。

3 耐熱性菌の分離法

自家製肝&ブイオンに糞便約1gを投入、懸濁液とした後100℃1時間加熱後急冷、37℃フラン器内で24時間~72時間培養観察を行ない、ガス発生によつてあきらかに増殖と認められるものについてCW卵黄寒天平板に分離、嫌気性培養を行ない発生聚落について諸性状を検査しCWエルシュ菌と決定した。

4 分離菌株の形態および生化学的性状

分離菌株の諸性状検査は辺野喜のテキ⁴⁾ストおよび微生物検査必携⁵⁾等によつたが、その主なものは、

① グラム染色：陽性の大桿菌である。

② 嫌気性培養のCW卵菌寒天培地では乳光反応が認められd抗毒素試験では抑制される。

③ 好気培養試験では普通寒天および血液寒天平板(Zeissler)37℃20時間培養では発生しないことが確認された。

④ 牛乳凝固試験の鉄加牛乳培地では強く牛乳を凝固すると共に著しくガスを発生する。

⑤ インドール試験は陰性である。

⑥ 運動性はない。

⑦ 炭水化物分解試験では、ラクトーゼ、白糖ブドウ糖などいずれも分解する。

5 血清型別法

分離された耐熱性ウエルシユ菌の血清学的型別法は、市販の東芝製・ウエルシユ菌(A型)抗血清を用いた。

方法は嫌気性培養によつてZeissler 血液寒天に純培養の被検菌液を作製し、のせガラス上にて凝集反応を実施・そのHobbs型を分類した。

(2) 検査成績表

III 実験成績

1 実験の成績は表2)のとおりで100℃1時間の耐熱性株は、男 $\frac{32}{191}$ の11.5%、女 $\frac{77}{344}$ の22.4%で男女平均は $\frac{109}{4635}$ の2.3%であつた。更に耐熱性109株のHobbs血清型数は男 $\frac{7}{32}$ の2.1.9%で女 $\frac{25}{77}$ の32.4%であり男女平均率は $\frac{32}{109}$ で29.3%となり、Hobbs型は検査数535件の6%の検出率となる。

月別	性別	検体数	Ce Welchii		Hobbs Type													
			耐熱性	Hobbs株	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	計
4	男	17	4	1													1	1
	女	30	6	4				1	1		1						1	4
5	男	16	5	3							1						2	3
	女	28	8	1								1						1
6	男	16	1															
	女	32	8	1													1	1
7	男	13	2															
	女	31	5	1					1									1
8	男	17	1															
	女	31	7	2			1				1							2
9	男	16	3	1				1										1
	女	28	4															
10	男	17	3															
	女	28	8	5				2		1	1						1	5
11	男	16	3	2						1							1	2
	女	26	6	3			1							2				3
12	男	16	4												1			
	女	29	7	1														1
1	男	16	1															
	女	24	4															
2	男	16	2															
	女	28	8	3	1		1										1	3
3	男	15	3											1	1			
	女	29	6	4				1									1	4
4	男	191	32	7				1		1	1						4	7
	女	344	77	25	1		3	4	2	1	3	1		3	2		5	25

2 次に同一人について耐熱性ウェルシュ菌の (表は、検体提出10回以上におよんだものを掲
 の排泄観察では、表(3)のようになる。 出した。)

(3) 一ケ年間の観察表

№	性別	月 別											
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
1	♂	○	⑬	○	○	-	○	○	⑥	○	-	○	○
2	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	♀	-	-	○	-	-	-	-	-	-	-	○	-
5	♀	-	○	-	-	⑦	○	-	○	○	○	-	-
6	♀	∇	○	○	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	♂	○	-	-	-	-	-	∇	○	○	○	-	-
9	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	♂	-	-	-	∇	-	-	-	⑬	○	○	-	-
12	♂	⑬	-	-	-	-	-	-	-	○	-	-	-
13	♂	-	○	-	-	①	④	-	-	○	-	-	-
14	♀	-	-	-	-	○	∇	∇	-	-	-	○	-
15	♂	-	-	-	-	-	○	-	-	-	-	-	-
16	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	♀	-	-	-	-	-	-	④	③	○	-	-	-
19	♀	⑬	∇	-	○	○	-	-	○	-	-	-	⑬
21	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	♀	⑦	○	-	-	-	-	-	-	-	-	○	-
23	♀	-	○	-	-	-	-	-	-	-	-	-	○
25	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	∇	∇	-
27	♀	-	-	∇	-	-	-	-	-	-	-	∇	-
29	♂	○	⑦B	-	○	-	-	○	○	-	-	-	○
31	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	∇	-	○
32	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	○	③	∇
34	♀	-	-	○	-	-	-	○	-	-	○	-	⑩
35	♀	-	-	-	○	-	-	∇	-	-	-	-	-
36	♀	-	-	-	○	-	-	∇	-	-	-	-	-
37	♀	○	-	①	-	○	○	④7	⑩	①	-	-	-
38	♀	-	○	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	♀	-	-	⑬	-	-	-	-	-	∇	-	-	⑪
41	♀	-	-	○	∇	-	-	○	-	-	-	-	-
43	♀	-	○	○	○	-	-	⑥	⑩	○	-	∇	-
45	♀	-	-	-	-	-	-	⑬	-	-	-	-	-
49	♀	-	○	-	-	-	-	-	∇	-	-	∇	-
50	♀	-	-	-	⑤	○	-	-	∇	-	-	∇	-
52	♀	-	-	○	-	-	-	-	○	-	-	○	-
53	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	∇	-	-
54	♀	○	⑧	-	○	③	○	-	-	⑪	∇	○	④

註 ○耐熱性菌陽性 ○Hobb型 ∇検体なし

表のように50余名中、1年間に10回以上検体提出者は40名であり、1年回を通じて1回も耐熱性菌が検出されなかつた者は、11名で、27.5%であつた。耐熱性菌検出の29名中、Hobbs型を検出出来た者は17名で58.6%となるが、同一人から同じTypeが毎回検出されることは全く認められなかつたことと、同一Typeが頻りに検出されることもなかつた。然し、No.29, No.32, No.37, の同一検体から同時に二つのHobbs型が検出された。

考 察

県内健康成人についてのウエルシユ菌³⁾およびその耐熱性ウエルシユ菌については、前報で一部発表したところであるが、耐熱性ウエルシユ菌分離は約21%、その中Hobbs Typeの型別出来たのは62%であつたが今回の同一施設の従業員約50名についての定期検便の結果では、ウエルシユ菌耐熱性分離は29.3% Hobbs型は6%の型別となり、前回の検出率と大差なきことを確認出来た。

又、同一人について一年間(10回以上提出者)にわたる観察では、特に顕著な耐熱性菌の常在性が認められなかつたが、40名中29名は耐熱性菌が一年間に少なくとも1回以上糞便から検出されたが11名は全く耐熱性菌が検出されなかつたことは興味が深かつた。又同一検体から二種類のHobbs型が検出された三例があつた。然し同一人から同型菌が長期に検出されることは認めることが出来なかつた。このことは赤真らの報告と同様であつた。ウエルシユ菌の消長はこのように極めて自然に行なわれるようで、その個体としての特徴が薄く、食生活や環境等の影響に左右されるものと考えられる。

む す び

1 同一施設の給食業務に従事する男女約50名について毎月耐熱性ウエルシユ菌を検査した1ヶ年間の成績は、(100℃60分に耐える菌株)29.3%の検出率であり、そのHobbs Typeは6%と従前の検出率と殆んど大差はなかつた。

終りに検体提供に格別のご配慮を頂いた県立病院中央検査部、微生物検査科の御協力に深く謝意を申し上げたい。

文 献

- 1) 赤真, 他: 健康人糞便中常在菌としてのウエルシユ菌に関する研究・日本細菌学雑誌
21・619~624・1966
- 2) 赤真, 他: 同上第2報・日本細菌学雑誌
21・645~1966
- 3) 金鉄三郎: 健康成人糞便中のウエルシユ菌の調査・秋田県衛生科学研究所報
No.12・55~60・1968
- 4) 辺野喜正夫: 昭和40年度食品衛生特殊技術講習会(厚生省)
- 5) 微生物検査必携: 日本公衆衛生協会
1966