

# Polymerase Chain Reaction (PCR) 法による

## つつが虫病の診断に関する基礎的検討

八柳 潤 鎌田 和子 田中 恵子 原田誠三郎  
佐野 健 須藤 恒久 森田 盛大

PCR法によるつつが虫病患者の早期確定診断の可能性について検討した。杉田たちの報告したプライマーを使用し、2段階のPCR反応により、免疫ペルオキシダーゼ法によりつつが虫病と診断された患者の急性期の検体でDNAの増幅断片が得られたが、そのときの陽性率は約28%であった。このため、R. tsutsugamusi の検出感度を向上させる目的で nested PCR 用プライマーを新たに設計し、nested PCR 法について検討した結果、R. tsutsugamusi の検出感度が著しく増加すると同時に、contamination によると思われる偽陽性反応が出現することが明らかとなった。

キーワード：つつが虫病，PCR，R. tsutsugamusi

### I はじめに

つつが虫病は県内では、とくに雄物川流域において発生する致命率の高い風土病として恐れられてきた。秋田県内においては現在もつつが虫病患者が発生しており、平成4年度は被検者数161人名、確定者58名であった<sup>1)</sup>。

つつが虫病は重篤な症状を呈するが、感染初期に的確な治療が行われれば速やかに回復する。このため、つつが虫病の治療においては早期確定診断が非常に重要である。

本県では現在、つつが虫病の確定診断に免疫ペルオキシダーゼ (IP) 法が使用されている。一方、近年、PCR法がつつが虫病の確定診断に応用する試みがなされている<sup>2) 3) 4)</sup>。PCR法は R. tsutsugamushi を直接検出するために、特に急性期において診断が容易であると言われている<sup>4)</sup>。このため、我々はつつが虫病の早期確定診断法としてPCR法を導入するための基礎的検討を実施した。

### II 方法

#### 1. PCR用試料の調製

当所に検査依頼されたつつが虫病疑い患者の血液から血清 (IP法に使用) を分離した後の血餅を凍結保存し、PCR法の検討材料とした。

凍結保存していた血餅約500 $\mu$ l にグアニジウムイソチオシアネート溶液を等量加え、室温で15分放置した。得られた溶液をフェノール/クロロホルム、クロロホルム/イソアミルアルコールでそれぞれ抽出した後、エタノール沈殿でDNAを回収した。得られたDNAを70%エタノールで洗浄した後、50 $\mu$ l の滅菌蒸留水に溶解して試料とした。

#### 2. PCRによるつつが虫病リケッチアの検出

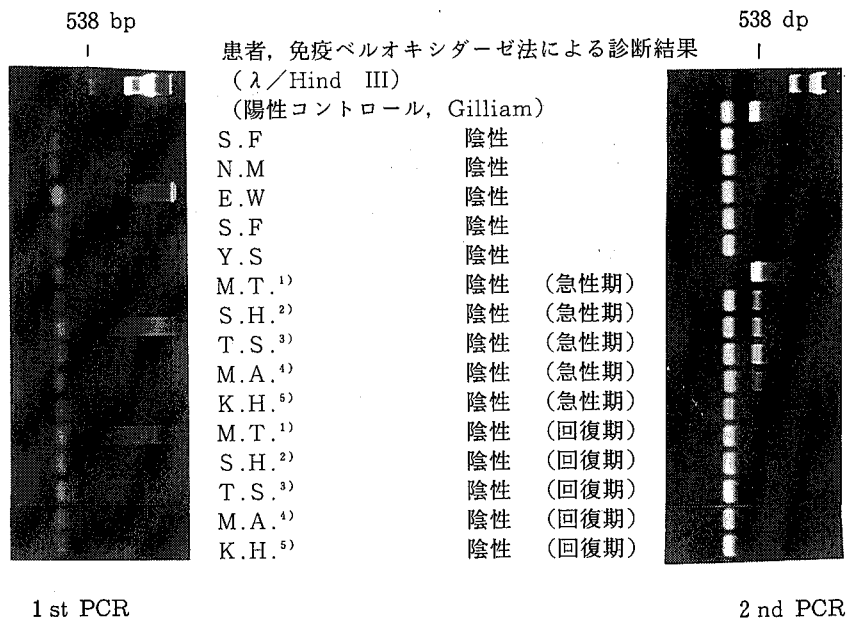
プライマーには杉田たち<sup>3)</sup>が報告した、つつが虫病リケッチアの58KD菌体タンパク質をコードする遺伝子<sup>5)</sup>をターゲットとし、538bpの増幅断片が得られる組み合わせのものを使用した。PCR反応は液量50 $\mu$ lで行い、反応液の組成は既報<sup>6)</sup>に従った。なお、増幅反応を30回実施し、得られた反応液の5 $\mu$ lを新たな反応系に加え、さらに30サイクルの増幅反応を実施するという2段階の増幅を実施した。

### III 結果および考察

免疫ペルオキシダーゼ法により、血清学的につつが虫病陰性と診断された被検者の血餅5検体、およびつつが虫病と診断された被検者の急性期、並びに当該被検者の回復期血餅それぞれ5検体づつ、計15検体を対象としてPCR法を実施した。図1に示すように、最初の30サイクルの増幅では陽性対象であるGilliam株以外は、いずれの検体においてもDNAの増幅断片は認められなかった。

一方、これらの検体についてさらに30サイクルの増幅を実施したところ、急性期血餅5検体においてDNA増幅断片が認められた。なお、陰性血餅19検体、急性期血餅25検体、回復期血餅12検体について検討した結果、陽性と判定されたのは急性期の7検体であった。

以上のように、杉田たちの報告したプライマー<sup>3)</sup>を使用して2段階のPCR反応を行うことにより、つつが虫病罹患者の急性期血餅からDNAの増幅断片が得られることが確認されたが、急性期検体の全てが本PCR法によっても陽性となるのではなく、約28%が陽性となるに過ぎなかった。また、今回検討に供した急性期検体が採血されたのは1病日から9病日であったが、病日とPC



1), 2), 3), 4), 5): 同一患者

図1 PCR法によるつつが虫病診断例

Rの結果の間に明らかな相関は認められなかった。

なお、データは示していないが、杉田たちの原報<sup>3)</sup>どおり、40サイクルのPCR反応を1段階のみ行った場合、我々はいずれの検体からもDNAの増幅断片は得られなかった。これらのことから、本PCR法のR. tsutsugamushi 検出感度が低い可能性が考えられたため、我々はR. tsutsugamushi 58KD 菌体タンパク質をコードする遺伝子<sup>5)</sup>のうち、杉田たちがターゲットとした領域において、新たに nested PCR 用の2組のプライマーを設計した。これらのプライマーを使用した nested PCR 法においては検出感度が著しく増加することが明らかになったと同時に、contaminationによる偽陽性が出現した。従って、この nested PCR 法を実用化するためには、偽陽性反応の出現を回避する手法を確立することが必須である。

今回使用した杉田たちのプライマーでは、R. tsutsugamushi の Karp, Kato, Gilliam, Kuroki, Kawasaki の各株で同じサイズのDNA増幅産物が得られることが報告されている<sup>3)</sup>。我々の nested PCR 用プライマーは杉田たちの報告したプライマーの近傍の塩基配列に従って設計したものであるが、これによっても Gilliam, Karp, Katoの株で同じサイズのDNA増幅断片が得られた。従って、いずれのPCR法によっても検出された R. tsutsugamushi の型は不明である。一方、川森たちは R. tsutsugamushi の sta56 gene を

ターゲットとした nested PCR 法において RFLP 法により R. tsutsugamushi の型別が可能であることを報告している<sup>4)</sup>。今後、われわれの反応系においても RFLP による R. tsutsugamushi の型別についても検討する必要があるものと考えられた。

#### IV 文 献

- 1) 秋田県衛生科学研究所微生物部. 秋田県衛生科学研究所報, 1993; 37: 14.
- 2) Y. Furuya et al. Specific Amplification of Rickettsia tsutsugamushi DNA from Clinical Specimens by Polymerase Chain Recation. J. Clin. Microbiol., 1991; 29: 2628-2629.
- 3) 杉田泰之, 他. Polymerase Chain Reaction (PCR) 法によるツツガムシ病のDNA診断. 日皮会誌, 1991; 101: 743-746.
- 4) 川森文彦. つつが虫病の検査法. 医学検査, 1994; 43: 715-720.
- 5) C.K. Stover et al. Molecular Cloning and Sequence Analysis of the Sta58 Major Antigen Gene of Rickettsia tsutsugamushi: Sequence Homology and antigenic Comparison of Sta58 to the 60-Kilodalton Family of Stress Protein. Infect. Immun., 1990; 58: 1360-1368.
- 6) 八柳潤, 他. 平成3年に秋田県で分離された腸管出

血性大腸菌について，秋田県衛生科学研究所報，1992；  
36：43-47.

コレラが疑われた海外旅行者下痢症患者から EAST (Enteraggregative Escherichia coli (EAggEC) Heat-Stable Enterotoxin) 遺伝子保有 EAggECおよび毒素原性大腸菌 (E T E C) が分離された 2 事例について

八柳 潤 齊藤志保子 佐野 健 森田 盛大

平成5年度に当所に依頼されたコレラ菌検査6名のうち、下痢等の症状が顕著であった2名について病原性大腸菌検査を並行して実施した結果、2名共E T E CおよびE A S T産生 EAggEC の混合感染を受けていたことが明らかとなった。なお、いずれの事例からもコレラ菌は検出されなかった。今回の事例により、秋田県内で初めてE T E Cおよび EAggEC の輸入感染症が確認された。

キーワード：輸入感染症, Enterotoxigenic Escherichia coli, Enteraggregative Escherichia coli, PCR

### I はじめに

コレラは法定伝染病であると共に検疫伝染病にも指定されており、真性患者との接触者検査等が当所においても実施されている。平成5年度は6名のコレラ菌検査を実施した。その内訳は、4名が真性患者との航空機同乗接触者であり、2名が下痢等の症状が顕著であった者であった。6名ともにコレラ菌は検出されなかったが、下痢等の症状が顕著であった2名についてコレラ菌検査と並行して病原性大腸菌検査を実施したところ、どちらの患者からもE A S T産生 EAggEC と毒素原性大腸菌 (E T E C) が検出された。EAggEC は、近年、疫学的に下痢起病性が提唱された新しいタイプの病原性大腸菌であり、最近、それらのうちにE A S Tと呼ばれる新しい耐熱性毒素を産生するものがあることが報告されている<sup>1)</sup>。

秋田県内においてE T E Cの輸入感染症が確認されたのはこの2事例が初めてであり、加えて、いずれの事例もE A S T産生 EAggEC との混合感染が認められるという特徴的なものであったので、これら2事例の概要、細菌検査の結果等について報告する。

### II 方法

#### 1. 病原性大腸菌の検出

検体からの病原性大腸菌の検出は既報のEC-PCR法<sup>2)</sup>に準じて実施し、E H E C, E T E C, E I E C, A E E C, EAggEC の検出を試みた。

- (1) スクリーニング用検体の調製：患者からの検体をEC培地に接種し、37°Cで1夜培養した。培養液の一部を遠心し、得られたペレットを洗浄、生食液にけんだくした後、5分間沸騰水中で加熱、氷冷したものをPCR用検体とした。
- (2) E H E Cの検出：既報のPCR法に従い実施し

た<sup>3)</sup>。

- (3) E T E C, E I E Cの検出：伊藤たちが確立した混合プライマー-PCR法に従い実施した<sup>4)</sup>。
- (4) A E E Cの検出：本誌別項 (P45)に記載した方法により実施した。
- (5) E A S T産生 EAggEC の検出：E A S T産生 EAggEC 検出用プライマーはSavarino たちが報告したE A S Tの構造遺伝子の塩基配列<sup>1)</sup>に基づき、106bpのDNA断片が増幅されるように設計した。PCR反応は、既報<sup>3)</sup>に従い実施したが、プライマー濃度は1.0μMとし、増幅断片の検出には4.0%ニューシーブG T Gアガロースを使用した。
- (6) スクリーニング陽性となった検体からの菌分離：上記スクリーニングで陽性となった検体のEC培地培養液について、DHL平板を使用して分離培養を実施して、生じたコロニーを今回の事例では15個釣菌した。個々の菌株について、上記各PCR法によりスクリーニングで陽性となった菌種の同定を実施した。
- (7) 分離された病原性大腸菌株の血清型別：既報の方法<sup>3)</sup>に従って実施した。

#### 2. 標準菌株

E H E Cの標準株には、東京都立衛生研究所工藤泰雄博士から分与されたEDL-931株を使用した。

E T E Cの標準株には、秋田県中央家畜保健所伊藤隆主査から分与された921130-12株 (L T, S T産生) を使用した。E I E Cの標準株には理化学研究所から分与されたJCM-8363株を使用した。A E E C, EAggECの標準株には、米国マリーランド大学 Center for Vaccine Development の James B. Kaper 博士から分与されたE2348/69株および17-2株をそれぞれ使用した。

### Ⅲ 結果

#### 1. 事例 1

患者 R. M. 23才 女性 旅行会社添乗員  
渡航先 インドネシア  
渡航月日 1994年2月13日から2月15日  
症状と経過 発症日：2月15日（帰国途中の機内）  
発症時の症状：黄色水様便性下痢，腹痛  
嘔吐  
2月16日：06：40 成田着。嘔吐，下痢  
（成田検疫所にて点滴，鎮痛  
剤投与）  
17：00 自宅着。下痢持続，  
嘔吐 消失，体温37.2度  
Y組合総合病院に入院

#### 細菌検査結果

- (1) コレラ菌：陰性であった。
- (2) 病原性大腸菌：図1に示すとおり，スクリーニングでE TECのLT遺伝子の増幅断片，およびEAST遺伝子の増幅断片が検出された。EHEC，EIEC，AEECは検出されなかった。次に，スクリーニングに供したEC培地培養液を分離培養して得た15菌株について，E TEC，EAST産生EAggECの同定を実施した結果を図2に示した。供試菌株15株のうち，菌株No. 3，4，8がLT遺伝子保有E TECであり，他12株は全てEAST産生EAggECであった。
- (3) 分離したE TEC，EAST産生EAggECの

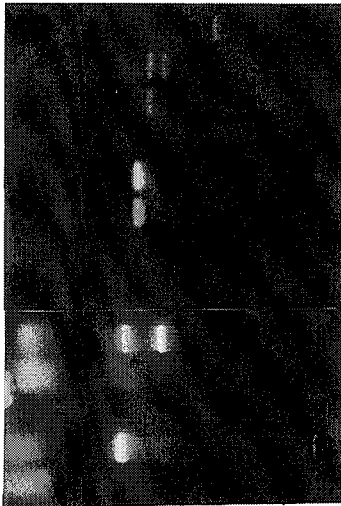


図1 患者R.M.の病原性大腸菌スクリーニング結果

EIEC JCM-8363  
ETEC 921130-12  
検体R.M

EAggEC 17-2  
検体R.M

EHEC EDL-931  
検体R.M

AEEC E2348/69  
検体R.M

血清型：分離したLT産生E TECの血清型はO18：HUTであり，市販の型別用血清キットではH型別が不能であった。また，EAST産生EAggECは市販の血清型別キットではO型別，H型別ともに不能であった。

#### 2. 事例 2

患者 Y. K. 44才 男性  
渡航先 疫学調査個人票の添付がなかったため不明  
渡航月日 上記理由により不明  
症状 下痢（経過等詳細不明）  
検体採取  
年月日 1994年1月27日  
細菌検査結果

- (1) コレラ菌：陰性であった。
- (2) 病原性大腸菌：スクリーニングによりST産生E TECとEAST産生EAggECが検出された。分離培養の結果EAST産生EAggEC（血清型OUT：NM）とST，およびEAST遺伝子を共に保有するE TEC/EAggECとみなし得る株（血清型O148：H28）が分離された。

### Ⅳ 考察

以上のように，今回我々は秋田県内において初めて病原性大腸菌の輸入感染症事例を確認した。国内におけるEAST産生EAggECの検査は，現時点では国立予防衛生研究所以外の機関では殆ど実施されていないものと推察される。我々は国立予防衛生研究所，細菌部の伊藤健一郎博士の指導により本菌のPCRによる検査法を導入し，本菌の検査に取り組んで来た。その結果，今回，本菌が秋田県内において輸入感染症の原因菌となることが初めて明らかとなった。さらに，E TECの血清型に属する株にEAST遺伝子を保有する株が存在することも初めて明らかとなった。

感染性腸炎研究会が1990年に実施した調査<sup>4)</sup>によると，都市立伝染病院に入院した症例から分離された外国由来株195株のうち，病原性大腸菌が約15%（30株）を占めており，E TECはそのうち16株（約53%）を占めている。当該調査においてはAEEC，EAggECの検査は実施されていないので，これらを含めると輸入感染症における病原性大腸菌の占める割合はより大きくなるものと推察される。秋田県においては，輸入感染症の実態は今まで調査されることがなかったことから，ほとんど明らかになっていなかった。今回の事例を契機として，今後も海外旅行者下痢症の原因菌検索に取り組み，今後，海外へ旅行する県民に対して行政が啓蒙活動を実施する際に必要となるデータを蓄積していく必要があるものと

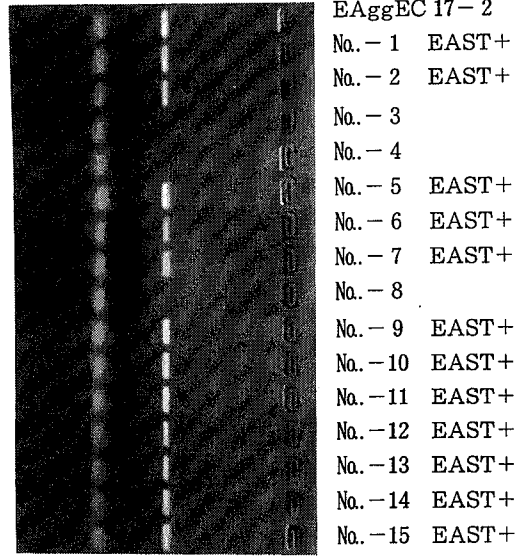
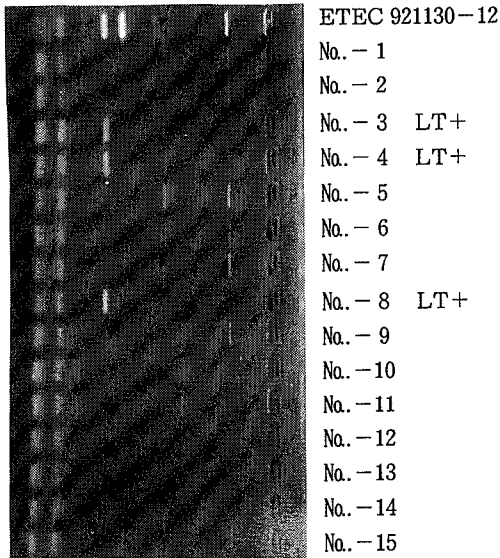


図2 分離菌株のLT遺伝子, EAST遺伝子の保有状況

考えられた。一方、今回データは示していないが、我々の予備的調査により、EAST産生 EAaggEC が県内で発生した散発下痢症、下水等の環境、さらには原因菌不明の食中毒患者から分離されるなど、本菌が下痢起病性病原菌として重要な位置を占める可能性が示唆されている。このため、今後も本菌感染症の実態について調査を継続する必要があるものと考えられた。

#### V 文献

1) S.J. Savarino et al. Enteroaggregative *Escherichia coli* Heat-Stable Enterotoxin 1 Represents Another Subfamily of *E. coli* Heat-

Stable Toxin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 3093-3097.

2) 八柳潤, 他. 秋田市内で市販されていた輸入牛肉からの腸管出血性大腸菌の分離. *秋田県衛生科学研究所報*, 1993; 37: 39-44.

3) 八柳潤, 他. 平成3年に秋田県で分離された腸管出血性大腸菌について. *秋田県衛生科学研究所報*, 1992; 36: 43-47.

4) 坂上賀洋. 輸入感染性腸炎について, *感染性腸炎研究会・1990年の調査成績, 病原微生物検出情報*, 1991; 12: 135-137.

# E. coli Attaching and Effacing Gene (eae) と Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) Adherence Factor (EAF) の PCR による同時検出

八柳 潤 齊藤志保子 佐野 健 森田 盛大

eae と EAF を同時に検出することが可能な PCR 法を開発した。散発下痢患者、下水などの環境、家畜から分離した大腸菌 31 株について本法により eae と EAF の保有状況を調査したところ、7 株が eae を保有する AEEC と同定され、うち 1 株が EAF を保有していた。さらに、医療機関の細菌検査室において、原因細菌不明と判定された散発下痢患者の直腸スワブ 50 検体を対象にして AEEC の検索を実施したところ、2 検体から AEEC が検出された (検出率 4%)。今後、原因細菌不明の食中毒事例において AEEC の関与があるかどうか検討するなど、秋田県内における AEEC 感染症の実態をさらに調査する必要があるものと考えられた。

キーワード: Attaching and Effacing Escherichia coli, E. coli Attaching and Effacing Gene (eae), E. coli Enteroadherence Factor (EAF), PCR

## I はじめに

ヒトに下痢を惹起する病原性大腸菌のうち、毒素原性大腸菌 (ETEC)、組織侵入性大腸菌 (EIEC) に関しては病原因子がほとんど明らかにされており、腸管出血性大腸菌 (EHEC) についてもベロ毒素と呼ばれる菌体外毒素を産生することが病原因子の一つとなっていると考えられている。国立予防衛生研究所、細菌部の伊藤たちは、これら 3 種類の病原性大腸菌の同定を容易かつ確実にする目的で、それらの菌が保有する病原因子をコードする遺伝子をターゲットとし、しかも混合プライマー法によりこれらの病原性大腸菌を同時に同定することが可能な PCR 法を確立し、普及させた<sup>1)</sup>。この混合プライマー PCR 法により ETEC、EIEC、EHEC の同定は極めて手軽に実施可能となったことから、これらの病原性大腸菌感染症の実態は今後急速に明らかにされていくものと考えられる。一方、病原血清型大腸菌 (EPEC) については、病原因子が最近まで明らかでなかったが、Moon たち<sup>2)</sup> により EPEC がヒトおよび動物の感染モデルにおいて Attaching and Effacing lesion (A/E) と呼ばれる特徴的な組織障害を腸管に惹起することが報告され、このことが EPEC の病原性と深くかかわっているものと考えられた。なお、A/E を惹起する大腸菌は Attaching Effacing E. coli (AEEC) と呼ばれている。Knutton たち<sup>3)</sup> は Fluorescence actin staining test (FAS) という、培養細胞を使用した A/E 形成能試験法を確立したが、比較的複雑な方法であり、手軽に実施できないという難点があった。

Jerse たち<sup>4)</sup> は、Transposon Mutagenesis の手法

を使用して EPEC の A/E 形成に関与する遺伝子をクローニング、塩基配列を決定して E. coli Attaching and Effacing gene (eae) と名付けた。さらに、Donnenberg たち<sup>5)</sup> は Positive-selection Suicide Vector を使用して、Deletion Mutant を作成する手法により、eae が A/E の形成に関与していることを確認した。

以上のように、eae が EPEC の病原性に深く関与している可能性が報告され、その塩基配列が明らかになったことから、我々は eae を検出する PCR 法を試みた。また、従来から EPEC が培養細胞に付着する際に必要であるとされていたプラスミド性遺伝子<sup>6)</sup> (EPEC Adherence Factor: EAF) を検出する PCR 法も試み、eae と EAF を混合プライマー PCR 法により同時に検出することに成功したので、その概要について報告する。また、県内の定点病院で原因細菌不明とされた散発下痢症患者の直腸スワブを対象として AEEC の検出を試みた成績について併せて報告する。

## II 方法

1. 菌株: AEEC の標準株には、米国マリーランド大学、Center for Vaccine Development の James B. Kaper 博士から分与された EPEC Strain E2348/69 (O127:H6) を使用した。EAF の陽性対照には E2348/69 に加えて、同博士から分与された EAF プローブがクローニングされたプラスミド、pJPN16 で形質転換された E. coli HB101 (HB101/pJPN16) を使用した。また、当所において保存されていた散発下痢症患者、下水などの環境、家畜から分離された各種の血清型

の大腸菌株 (表 1) 計31株を eae 保有状況調査に供した。

## 2. 混合プライマーPCRによる eae/EAF の同時検出

(1) eae 検出用プライマー: EPEC の eae の塩基配列<sup>4)</sup>, および EHEC の eae の塩基配列<sup>7)</sup> を比較したところ, オープンリーディングフレーム内で両者の塩基配列の一致率は 5' 末端から 2000bp の領域においては 98.5% であったのに対して, それ以降 3' 末端までの 823bp の領域においては 38.3% であったことから, 5' 末端から 2Kbp の領域が eae の conserved lesion であるものと考えられた。

従って, eae 検出用プライマーは eae の 5' 末端近傍の 454bp の断片が増幅されるように設計した (EA-1, EA-2)。

(2) EAF 検出用プライマー: Jerse たちが報告した EAF 検出用合成オリゴヌクレオチドプローブである EAF21, および EAF25 の塩基配列<sup>9)</sup> に従い, それぞれ 20b のプライマーを設計した (EAF-B, EAF-SR)。本プライマーペアにより, HB101/pJPN16 をテンプレートとした際, Nataro たちが報告した EAFプローブ<sup>6)</sup> に該当する約 1Kbp の増幅断片が得られた。

(3) 混合プライマー PCR法: PCRは既報の方法<sup>9)</sup> に準じて実施した。EA-1, EA-2, EAF-B, EAF-SR の各プライマーは 1.0 μM の濃度で使用し, 温度サイクルは Denature: 94°C 30sec., Annealing: 56°C 60sec., Extension:

72°C 60sec. として, 25サイクル反応を実施した。

3. 直腸スワブからの AEEC の検出: 既報の EC-PCR法<sup>10)</sup> に準じて実施したが, 直腸スワブを接種した後の EC培地の培養温度は 37°C とした。

## III 結果および考察

### 1. eae および EAF の検出

図 1 に示すように, E2348/69株をテンプレートとした場合, EA-1, EA-2 のプライマーペアでは 454bp の増幅断片が (レーン 2), また EAF-B, EAF-SR のプライマーペアでは約 1Kbp の増幅断片が (レーン 1) それぞれ得られた。さらに, これら 2組のプライマーペアを混合した系においては 454bp, および約 1Kbp の増幅断片が同時に得られた (レーン 3)。また, HB101/pJPN16 株をテンプレートにした場合には, EAF-B, EAF-SR のプライマーペアを使用した系, および混合プライマー系で約 1Kbp の増幅断片が認められた。以上の結果から, 混合プライマー PCR法により eae と EAF が同時に検出可能であることが示された。なお, データは示さないが, 本 PCR法により, 秋田県内で発生したヒトの散発事例から分離された EHEC においても eae が検出されたが, それらのうちいずれから EAF は検出されなかった。

### 2. 分離大腸菌株の eae, EAF 保有状況

表 1 に示す大腸菌 31 株のうち, eae を保有していたのは EC-18, EC-34, EC-39, EC-41, EC-43, EC-49, EC-51 の 7 株であり, EAF を保有していたのは EC-34 のみであった。これら 7 株の eae を保

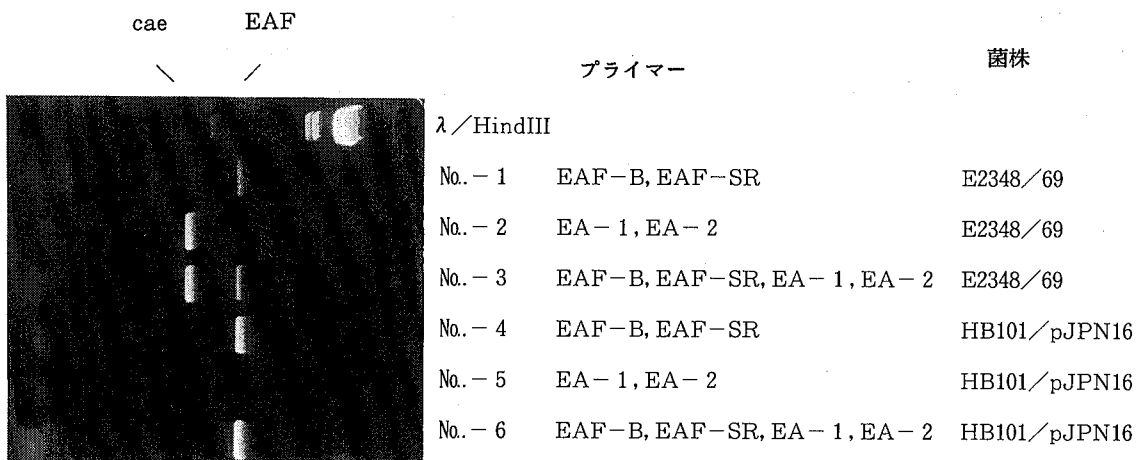


図 1 PCRによる eae と EAF の検出



表 1 供試菌株とeae, およびEAFの保有状況

菌株番号	血清型	由来	eae	EAF	菌株番号	血清型	由来	eae	EAF
EC-8	O28 : H21	環境	-	-	EC-33	O136 : H51	散発下痢	-	-
EC-10	O28 : H42	環境	-	-	EC-34	O153 : H21	散発下痢	+	+
EC-13	O159 : NM	散発下痢	-	-	EC-39	O128 : H2	散発下痢	+	-
EC-14	O111 : H21	散発下痢	-	-	EC-41	O153 : H21	散発下痢	+	-
EC-15	O115 : NM	散発下痢	-	-	EC-42	O28 : HUT	散発下痢	-	-
EC-17	O1 : NM	散発下痢	-	-	EC-43	O128 : H2	散発下痢	+	-
EC-18	O20 : HUT	散発下痢	+	-	EC-44	O126 : H27	散発下痢	-	-
EC-19	O18 : H42	散発下痢	-	-	EC-45	O126 : H21	散発下痢	-	-
EC-23	O168 : HUT	散発下痢	-	-	EC-47	O16 : HUT	散発下痢	-	-
EC-25	O18 : NM	散発下痢	-	-	EC-48	O148 : HUT	散発下痢	-	-
EC-26	O143 : HUT	散発下痢	-	-	EC-49	O26 : H11	家畜	+	-
EC-27	O20 : H11	散発下痢	-	-	EC-51	O128 : H2	散発下痢	+	-
EC-28	O20 : H11	散発下痢	-	-	EC-53	O111 : H21	散発下痢	-	-
EC-29	O18 : H5	散発下痢	-	-	EC-54	O18 : NM	散発下痢	-	-
EC-30	O111 : H11	散発下痢	-	-	EC-55	O128 : H12	散発下痢	-	-
EC-31	O126 : H12	散発下痢	-	-					

有していたAEECの血清型の内訳は、O128 : H2が3株、O153 : H21が2株、O20 : HUT、O26 : H11がそれぞれ1株であった。なお、従来EPECの血清型に属するとされていたO111 : H11、O111 : H21、O18 : NMなどはeaeを保有していなかった。

### 3. 散発下痢症患者直腸スワブからのAEECの検出

感染症サーベイランス事業において定めた定点病院において散発下痢症患者から採取した直腸スワブのうち、病院の臨床検査室で細菌検査を実施し、最終的に原因細菌不明と判定されたものを50検体分与を受け、AEECの検索を試みたところ、2検体からAEECが検出された(検出率4%)。なお、患者の年齢、性別、症状等に関する情報は入手しなかった。分離したAEECのうち、1株は血清型OUT : H21であり、市販の血清型別キットではO型別が不能であった。また、もう1株はO、Hともに市販のキットでは型別不能であった。

以上のように混合プライマーPCR法によりeae、EAFを検出することが可能となった。我々が選択したターゲットはeaeのうちConserved lesionに該当すると考えられるため、AEEC株間での塩基配列の相同性は高く、従ってeaeの検出率は高いものと推測される。しかしながら、我々のPCR法で得られた結果と表現形質との比較検討は実施していないため、今後PCRの結果とFASの結果を比較検討し、eaeの検出率を確認する必要があるものと考えられた。

Knutton たちは<sup>11)</sup> EPEC血清型に属する大腸菌のうち、FASが陽性となるのは一部の菌株であり、A/

E形成能を保有するのはそのFAS陽性の株であること、また、EAFを保有するものはFAS陽性株のごく一部であることを報告している。我々が分離株について検討した成績においても、eae陽性菌株7株のうちEAFを保有していたのはEC-34株1株のみであった。これらのことから、AEECの同定に際してはEAFではなく、eaeを検出するか、もしくはその表現形質であるFASを指標とするのが適切であると考えられた。

今回、我々が分離株で検討した成績では、従来EPECであるとされてきた血清型であるO111 : H11、H21、O18 : NMなどに属する株はeaeを保有していなかった。今回、データは示していないが、我々が検討した範囲ではこれらの株にEnterotoxigenic E. coli Heat-stable Enterotoxinを産生するものがあることが認められた。このことは、従来、血清型からEPECとされてきた1群の中に病原因子の異なる菌種が混在していることを示すものであると考えられた。さらに、EPECとされている菌群の中に、未発見の病原因子を保有する菌種が存在している可能性も否定できないなど、EPECの病原機構を理解するためには今後さらに研究が必要であると考えられた。

今回、我々は秋田県内の散発下痢症患者からAEECが分離されたことを初めて明らかにし、その分離率は4%であった。一方、我々が実施した平成2年度、および3年度の感染症サーベイランス病原検出の成績を総合すると急性胃腸炎、大腸炎、下痢症からの病原細菌分離率は約7%であった。これらのことから、下痢症などの原

因菌としてAEECが重要な位置を占めているものと推察され、さらに、病因物質不明の食中毒においてもAEECが関与する可能性が考えられるなど、今後、秋田県におけるAEEC感染症の実態についてさらに検討する必要があるものと考えられた。

#### IV 文 献

- 1) 伊藤健一郎, 他. 腸管出血性大腸菌迅速検査法技術研修マニュアル, 1991, 国立予防衛生研究所細菌部
- 2) H.W. Moon et al. Attaching and Effacing Activities of Rabbit and Human Enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and Rabbit Intestines, *Infect. Immun.*, 1983 ; 41 : 1349-1351.
- 3) S. Knutton et al. Actin Accumulation at Sites of bacterial Adhesion to tissue Culture cells: basis of a New Diagnostic Test for Enteropathogenic and Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Infect. Immun.*, 1989 ; 57 : 1290-1298.
- 4) A.E. Jerse et al. A Genetic Locus of Enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the Production of Attaching and Effacing lesions on Tissue culture cells, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 1990 ; 87 : 7839-7843.
- 5) M.S. Donnenberg and J.B. Kaper, Construction of an *eae* Deletion Mutant of Enteropathogenic *Escherichia coli* by Using a Positive-Selection Suicide Vector, *Infect. Immun.*, 1991 ; 59 : 4310-4317.
- 6) J.P. Nataro et. al., Detection of an Adherence Factor of enteropathogenic *Escherichia coli* with a DNA Probe, *J. Infect. Dis.*, 1985 ; 152 : 560-565.
- 7) J. Yu and J.B. Kaper. Cloning and Characterization of the *eae* gene of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 : H7, *Mol. Microbiol.*, 1992 ; 6 : 411-417.
- 8) A.E. Jerse et al. Oligonucleotide Probe for Detection of the Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) Adherence Factor of Localized Adherent EPEC, *J. Clin. Microbiol.*, 1990 ; 28 : 2842-2844.
- 9) 八柳 潤, 他. 平成3年に秋田県で分離された腸管出血性大腸菌について. 秋田県衛生科学研究所報, 1992 ; 36 : 43-47.
- 10) 八柳 潤, 他. 秋田市内で市販されていた輸入牛肉からの腸管出血性大腸菌の分離. 秋田県衛生科学研究所報, 1993 ; 37 : 39-44.
- 11) S. Knutton et al. Screening for Enteropathogenic *Escherichia coli* in infants with Diarrhea by the Fluorescent-actin Staining Test, *Infect. Immun.*, 1991 ; 59 : 365-371.

# カンピロバクター食中毒予防に関する調査研究（第5報）

## — 検食の保管管理方法の改善について —

齊藤志保子 八柳 潤 遠藤 守保<sup>\*1</sup> 山脇 徳美<sup>\*2</sup>

カンピロバクター・ジェジュニー（CJ）食中毒事例では食品から本菌が検出されることは少なく、原因食品が特定できないことが多い。この理由の一つとして検食の保管管理方法に問題があるのではないかと考え、食品や調味料におけるCJの生存性、食品の保存容器や接触汚染の可能性などについて検討した。その結果、PHの低い食品や調味料では早急に死滅した。保管温度は一般的に-20℃保存では一時的に菌数が減少するものの、その後は横ばい状態を示し、また、10℃より4℃保存の方が生存性が良好で食品中で長期に生存することが確認された。保存容器については密封、非密封でCJの生存性の差はなく、現行の検食容器で問題はないが、検食数が多くなる場合に保存スペースの確保などが問題となってくると考えられた。このようなことから、改善点としては以下のことが考えられた。①PHの低い食品の保管には注意が必要であり、ソース、ドレッシングなどは食品にかけずに保管することが必要。②検食の保存温度は4℃が最適。③保存期間はできるだけ長い方が望ましい。④保存スペースをとらないポリ袋などの使用の検討も必要。

キーワード：Campylobacter jejuni, 生存性, 検食, CJ食中毒, 接触汚染

### I はじめに

カンピロバクター・ジェジュニー（CJ）は学校などの集団給食施設での食中毒事例で最も多い原因であるが、食品から本菌が検出された例は非常に少なく、原因食品は推定の域を出ないのが現状である。本菌の場合、原因食品が特定できない理由の一つとして、検食の保管管理方法に問題があるのではないかと考え検討した。本報では平成2年度から5年度までの下記の検査成績をまとめて報告する。

1. 調理食品、材料食品中におけるCJの生存性（食品種、温度、一般細菌数）
2. 食品に添加される調味料におけるCJの生存性に対する影響
3. 食品の包装形態（密封性、非密封性）、保存量な

### どのCJ生存性への影響

4. 原材料保管時、食品調理時、検食保管時におけるCJの他の食品への汚染経路の検討

### II 材料と方法

食品関係の検査材料および検査方法は下記のとおりであるが、その他の検査については成績の項で記載する。

検査材料：各種食品にCJ（Lior 4型）の新鮮培養菌を接種したものを、スタマッカー用袋、プラスチック容器などに入れ、保存したものを検体とした。保存温度は10℃、4℃、-20℃。保存期間は2週間、0、1、2、3、4、7、14日目に検査を行った。

検査方法：食品検体20gに0.1%ペプトン水40mlあるいは80mlを加えスタマッカー処理後、段階希釈し、その

表1 検査食品名

食品	PH	食品	PH	食品	PH
鶏肉	—	トマト	4.22	ポタージュ	6.40
豚肉	5.69	キュウリ	6.78	タマゴサラダ	5.55
牛肉	6.08	ジャガイモ	6.00	野菜サラダ	4.92
マグロ	6.45	タマネギ	5.43	ポテトサラダ	4.66
サバ	5.88	ナガイモ	6.54	中華サラダ	4.50
鶏卵	8.21	米飯	6.92	ヨーグルト	4.35
牛乳	6.78	コロッケ	5.88	みつ豆	3.96
豆乳	6.45	チキン唐揚げ	6.20		
キャベツ	—	ハンバーグ	5.84		
レタス	—	ビーフカレー	5.37		

\*1 現 横手保健所

\*2 現 大館保健所

0.1mlをプレストン培地に接種，42°C 48時間微好気培養し，コロニー数を計測した。一部については，PH，水活性，一般生菌数を測定した。

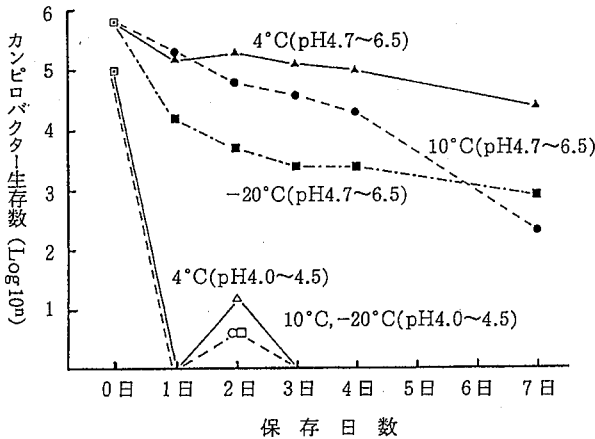
### Ⅲ 結果と考察

#### 1. 各種食品におけるC Jの生存性

食品1g当たり $10^8 \sim 10^9$ 程度にC Jを混合し，ストッカー用袋にいれ，各温度で保存し，C Jの生存数をみた結果は，食品によって差はあるが一般に以下のとおりであった。

- (1)  $-20^\circ\text{C}$ では，一時的に菌の減少が見られたが，その後は横ばい状態。

図1. 調理済み食品におけるC Jの生存性



<pH 4.7~6.5の食品>

煮物、コロッケ、トリ唐揚げ、ビーフカレー、ハンバーグ、タマゴサラダ、野菜サラダ、ポテトサラダ、ポタージュスープ

<pH 4.0~4.5の食品>

中華サラダ、プレーンヨーグルト、みつ豆

#### 2. 各種調味料におけるC Jの生存性

10種類の調味料を4段階に薄めたものにC Jを $4 \sim 7 \times 10^8 / \text{ml}$ になるように接種した。温度は $4^\circ\text{C}$ ， $10^\circ\text{C}$ で保存し，0，1，2，3，4，7日目に1mlを採取し検査を行った。また，酢酸バッファーとリン酸バッファーにおける生存性の比較も同様に行った。結果は以下のとおりであった。

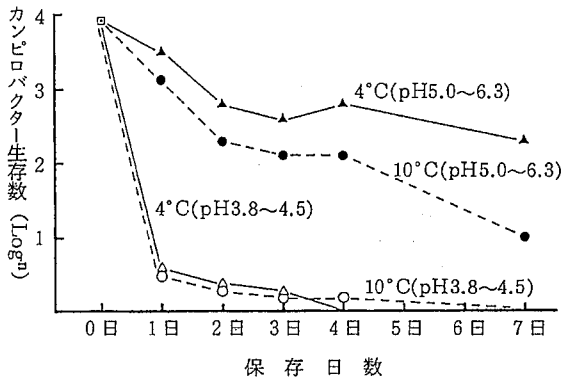
おりであった。

- (1) PHの低いソース，ドレッシングなどでは急速に死滅したが，他の調味料では通常の使用濃度では良好な生存性を示した。
- (2) バッファー中においてはPH 3，4で早急に死滅した。またPH 5，6では酢酸よりリン酸の方が生存

表2 C J生存性試験に使用した調味料とその濃度

調味料名		濃度 (PH)			
食塩		0.5%(6.3)	1%(6.2)	3%(6.2)	5%(6.1)
醤油		2.0 (5.3)	5 (5.0)	10 (4.9)	15 (4.9)
味噌		5.0 (5.1)	10 (5.1)	15 (5.0)	20 (5.0)
ウスターソース		5.0 (3.9)	20 (3.6)	50 (3.4)	100 (3.3)
ケチャップ		5.0 (4.1)	20 (3.8)	50 (3.7)	100 (3.6)
砂糖		1.0 (6.2)	3 (6.2)	5 (6.2)	20 (6.2)
食酢		2.0 (3.8)	5 (3.5)	10 (3.3)	15 (3.2)
マヨネーズ		5.0 (4.6)	20 (4.3)	50 (4.2)	100 (4.1)
フレンチドレッシング		5.0 (4.3)	20 (3.9)	50 (3.6)	100 (3.5)
中華ドレッシング		5.0 (4.4)	20 (4.3)	50 (4.2)	100 (4.2)

図2. 各種調味料におけるC Jの生存性



<pH 5.0~6.3の調味料>

食塩、醤油、味噌、砂糖

<pH 3.8~4.5の調味料>

ウスターソース、ケチャップ、食酢、マヨネーズ、フレンチドレッシング、中華ドレッシング

性が良かった。

以上の結果から、PHの低い食品は他の食品と一緒ににならないように配慮が必要であり、ソース、ドレッシングなどは食品にかけずに別に保管することが望ましいと考えられた。

3. C Jの生存性に及ぼす食品の保存量、包装形態などの影響

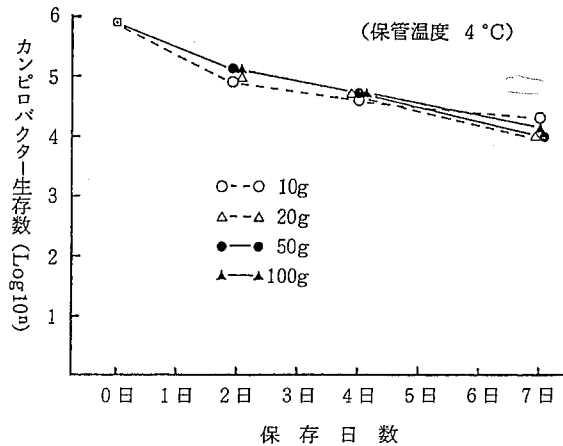
(1) 食品保存量の違いによるC Jの生存性

7種類の食品(米飯、ヤキトリ、野菜サラダ、トリ唐揚げ、ポテトサラダ、キュウリ、テリヤキハンバーグ)に1g当たり $10^5 \sim 10^6$ 個のC Jを混合し、10g、20g、50g、100gに小分けし100mlのピーカーに入れて、4°Cと-20°Cで保存し、0、2、4、7、14日目に検査を行った。

その結果、食品量による生存性の差は明かではなかった。C J接種後、菌と食品を良く混合したこと、また、C J接種食品は密封したわけではなかったが、湿度が保たれた状態であったことなどから、差が現れなかったのではないかと考えられた。

保存食品量については、現行指導どおり50g程度の保存量で支障ないと考えられるが、菌数が少ない場合や菌の汚染がかたよっている場合等を想定すると、量はできるだけ多い方が望ましいと考えられた。

図3. 食品の保存量におけるC Jの生存性



<検査食品>

米 飲  
ヤキトリ  
野菜サラダ

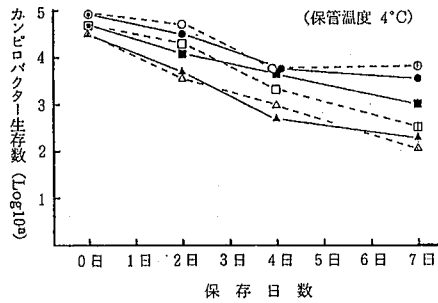
(2) 包装形態(容器)の違いによるC Jの生存性

食品(米飯、加熱済みササミ、タマゴサラダ)を10gずつ、シール付きストックバック(密封容器)およびプラスチック箱(非密封容器)に入れ、 $10^5$

個/10gになるように菌を表面に接種した。4°Cで保存し、0、2、4、7日目に検査を行った。

その結果、4、7日目にはプラスチック箱で保存した食品はかなり乾燥していたが、保存容器による

図4. 保存容器によるC Jの生存性の比較



C J生存数の差はみられなかった。

C Jは好氣的には発育できず、また乾燥に弱い菌であることから、密封容器と非密封容器ではC Jの生存性に差が出るのではないかと考えて容器の検討をしてみた。その結果は水分活性の高い食品の保存には必ずしも密封型の容器でなくともよく、現状の検査容器で問題はないと考えられた。しかし、保管期間の延長等により検査数が多くなると保管場所の確保が困難となることから、コストや手間の問題があるが、場所を取らないポリ袋等の使用の検討が必要になってくるのではないかと考えられた。

#### 4. 保管時、調理時におけるC Jの他の食品への汚染

##### (1) 汚染まな板からのC J回収について

まな板(木製、プラスチック製)にC J 0.1%ペプトン水浮遊液を塗布、あるいはC J混合トリひき肉をよく接触後、まな板を各種処理(①そのまま ②水洗洗浄 ③洗剤洗浄 ④熱湯 ⑤逆性石鹼浸漬)した後、100cm<sup>2</sup>を滅菌ガーゼでふき取り検査をした。また、C J混合ひき肉によく触れた手指について、未処理、水洗、洗剤洗浄後にふき取り検査を行った。

その結果、菌液接種では、約10<sup>8</sup>個のC Jを塗布したまな板の水洗処理では、プラスチックまな板から10<sup>8</sup>個、木製まな板からは10<sup>8</sup>個回収された。また、洗剤で洗浄しても木製まな板からは10<sup>8</sup>個回収された。

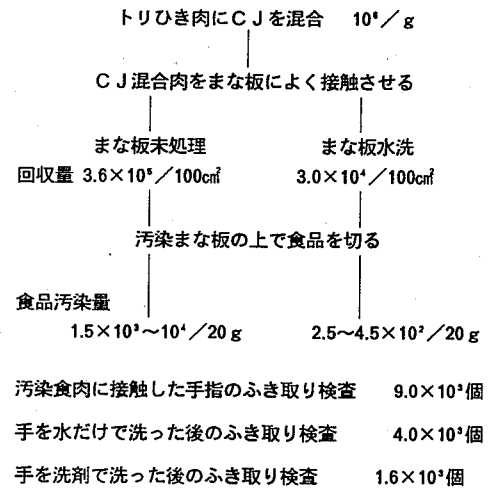
C J混合食肉からまな板と手指への移行は、洗浄操作で菌量は減少するものの、熱湯処理、消毒薬処理以外ではC Jが回収された。

##### (2) 汚染まな板を介した他の食品へのC Jの移行

C J混合挽き肉をまな板によく接触させた後、未処理および水洗したまな板の上でキャベツ、カツオを切った。その食品20gを検体としてまな板から移行した菌量を測定した。

その結果、まな板を介してのC J接種食肉から食品への移行は、未処理あるいは水洗処理では、まな板を介して食品に移行することが認められた。

図5. C Jの汚染食肉から他への移行検査成績



#### IV まとめ

1. 各種食品におけるC Jの生存性はPHの低い食品では急速に死滅した。また、保管温度は一般的に4℃で生存性が良好であった。
2. 調味料におけるC Jの生存性はPHの低いものでは急速に死滅した。
3. 食品保存量、保存容器でC Jの生存性の差は明らかではなかった。
4. C J混合食肉により汚染されたまな板、手指は水洗や簡単な洗剤洗浄ではC Jが除去できなかった。また、まな板を介してC Jは他の食品へ移行することが認められた。

#### V 文献

- 1) 齊藤志保子, 他. 検査におけるC. jejuniの生存性・増殖性と検査の保管管理方法に関する調査研究(第1報). 秋田県衛生科学研究所報, 1990; 34: 73~75.
- 2) 齊藤志保子, 他. カンピロバクター食中毒予防に関

する調査研究－食品におけるカンピロバクターの生存性（第2報）－. 秋田県衛生科学研究所報, 1991 ; 35 : 39～43.

3) 齊藤志保子, 他. カンピロバクター食中毒予防に関する調査研究（第3報）－各種調味料におけるカンピロバクターの生存性－. 秋田県衛生科学研究所報, 1992 ; 36 : 71～74.

4) 齊藤志保子, 他. カンピロバクター食中毒予防に関する調査研究（第4報）－食品や器具による接触汚染について－. 秋田県衛生科学研究所報, 1993 ; 37 : 67～69.

# 平成5年度ポリオ流行予測感受性調査成績について

原田誠三郎 田中 恵子 斎藤 博之 佐野 健

伝染病流行予測調査として、秋田県大曲市の一般健康住民243人から採取した被検血清を用いて、ポリオウイルス感受性調査（中和抗体保有調査）を実施した。その結果、抗体保有率（4倍以上）は、Ⅱ型が96.7%と最も高く、次いでⅠ型の87.2%とⅢ型の74.1%であった。また、0～1（5人）、2～3（1人）及び25～29歳群（2人）の8人は、Ⅰ～Ⅲ型のすべてに抗体保有が4倍未満であった。これらの2～3歳群以下の6人は、ポリオワクチン未接種者であった。また、今回、25～29歳群がポリオウイルスⅠ～Ⅲ型に対して全抗体が4倍未満であったことや、特にⅢ型（4倍以上）の7～9（56%）及び20～24歳群（48%）に低保有率がみられたことなどから、これらの特定年齢群への対応等が今後の課題として考えられた。

キーワード：伝染病流行予測調査、ポリオウイルス、中和試験、抗体保有率

## I はじめに

わが国のポリオウイルスによる急性灰白髄炎の届出患者数<sup>1)</sup>を昭和24年から36年にかけてみると、毎年、千人単位の届出がなされている。特に35年には、その期間中で最も多い5,606人であった。しかし、36年1月<sup>2)</sup>からのソークワクチンの接種、及び同年7月からの生ワクチンの投与実施により、37年以降の患者数は激減した。このような背景の中で、平成5年度の伝染病流行予測調査として、ポリオウイルス感受性調査（中和抗体保有調査）を実施したので、その結果を報告する。

## II 材料と方法

### 1. 材 料

#### (1) 使用細胞

当所で維持培養しているVERO（猿腎由来）細胞を用いた。

#### (2) 使用ウイルス株

国立予防衛生研究所から配布されたSabin I, Sabin II, Sabin III型ワクチン株をVERO細胞に継代後使用した。

#### (3) 培養液

VERO細胞増殖用培養液には、牛胎児血清（FCS）を5%に含むMEM培養液を用いた。また、維持培養及び被検血清の希釈には、2%のFCS加MEM培養液を用いた。

#### (4) 被検血清

平成5年9月3日から6年1月13日にかけて、秋田県大曲市の一般健康住民243人から採取した。

## 2. 方 法

伝染病流行予測調査検査術式<sup>3)</sup>に準じ、中和試験で実施した。

## III 結 果

各年齢群のポリオウイルスに対する抗体保有状況を表1及び図1、2に示した。Ⅰ型の4倍スクリーニングでは、4～6と7～9歳群が抗体保有率100%を示し最も高かった。次いで2～3、10～14、30～39及び40歳群が90.0～96.2%の保有率を示すとともに、15～29歳群まで70.0～84.0%と高かった。また、0～1歳群では65.0%であった。次にⅡ型では、4～6、7～9、10～14、15～19、20～24、30～39及び40歳群が100%の高い値を示すとともに、2～3並びに25～29歳群では90.0%台であった。また、0～1歳群では75.0%を示した。次にⅢ型では、90.0%以上が10～14及び40歳群の年齢にみられるとともに、4～6、15～19、25～29並びに30～39歳群では70.0～80.0%台を示した。しかし、0～1、7～9及び20～24歳群は、40.0～56.0%と同スクリーニングの中では最も低かった。

次にⅠ型の16倍スクリーニングでは、4～6歳群が100%と最も高かった。また、2～3、7～9及び10～14歳群では90.0%台を示し、0～1、15～19、25～29、30～39並びに40歳群では50.0～70.0%台であった。しかし、25～29歳群は45.0%と低かった。Ⅱ型では、4～6、7～9、15～19及び20～24歳群が100%であった。また、0～1歳群は55.0%であったが、その他の各年齢群は85.0～96.0%台の高い値を示した。同様にⅢ型についてみると、2～3、30～39及び40歳群で65.0～75.0%であ



た。次いで25～29と30～39歳群の50.0%～65.0%であった。しかし、その他の年齢群は38.0%以下で、特に、15～19歳群では20.0%台と最も低かった。

次にI型の64倍スクリーニングでは、2～3歳群が最も高い96.2%を示し、次いで4～6歳群の80.9%と7～9歳群の76.0%であった。また、15～19歳群以上の各年齢群では10.0～20.0%台であった。II型では、2～3から20～24歳群にかけて80.0～90.0%台がみられるとともに

に、その他の年齢群では55.0～70.0%あった。また、III型では、0～1、2～3、30～39及び40歳群に30.0～42.3%の保有がみられたが、その他の年齢群では9.5%以下と低く、特に、20～24歳群では、抗体保有者は全くみられなかった。

なお、0～1（5人）、2～3（1人）及び25～29歳群（2人）の8人の抗体保有は、I～III型の全てが4倍未満であった。

表1 ポリオウイルス抗体保有状況

年齢群	被検者数	I型			II型			III型		
		4倍	16倍	64倍	4倍	16倍	64倍	4倍	16倍	64倍
0～1	20	(65.0)	(60.0)	(55.0)	(75.0)	(55.0)	(55.0)	(40.0)	(35.0)	(30.0)
2～3	26	(96.2)	(96.2)	(96.2)	(96.1)	(96.1)	(96.1)	(88.4)	(73.0)	(42.3)
4～6	21	(100.0)	(100.0)	(80.9)	(100.0)	(100.0)	(90.4)	(80.9)	(38.0)	(9.5)
7～9	25	(100.0)	(92.0)	(76.0)	(100.0)	(100.0)	(96.0)	(56.0)	(36.0)	(8.0)
10～14	33	(93.9)	(90.9)	(39.3)	(100.0)	(96.9)	(84.8)	(93.9)	(48.4)	(9.0)
15～19	29	(75.8)	(58.6)	(13.7)	(100.0)	(100.0)	(93.1)	(72.4)	(20.6)	(3.4)
20～24	25	(84.0)	(64.0)	(12.0)	(100.0)	(100.0)	(92.0)	(48.0)	(20.0)	(0.0)
25～29	20	(70.0)	(45.0)	(15.0)	(90.0)	(90.0)	(70.0)	(70.0)	(50.0)	(5.0)
30～39	20	(90.0)	(75.0)	(25.0)	(100.0)	(85.0)	(65.0)	(85.0)	(65.0)	(30.0)
40～	24	(91.6)	(54.1)	(20.8)	(100.0)	(87.5)	(54.1)	(95.8)	(75.0)	(33.3)
抗体保有率(4倍以上)		212/243(87.2)			235/243(96.7)			180/243(74.1)		

( ) : パーセントを示す。

#### IV 考察

今回の調査結果では、ポリオウイルスに対する対象者全体の抗体保有率（4倍以上）は、II型が96.7%と最も高く、次いでI型の87.2%及びIII型の74.1%であった。これらの抗体保有状況は、これまで当所で実施した同調査結果<sup>4～8)</sup>や他県と同調査報告<sup>9～11)</sup>から同様な成績が得られている。

一方、I～III型の全てに対する抗体保有が4倍未満であった25～29歳群（2人）を除く0～1歳群（5人）と2～3歳群（1人）については、調査時に実施したアンケート結果からポリオワクチン未接種者であることが確認され、今後、同ワクチンの定期接種を受けることにより抗体獲得が可能と思われる。しかし、これまで国内でポリオ野生株の常在しない環境が維持されていると考えられていたが<sup>12)</sup>、1993年1月22日に滋賀県立衛生環境センターで毎月実施しているウイルス検出検査で、インフルエンザ様疾患の咽頭ぬぐい液からポリオウイルスIII型の野生株が分離されている<sup>13)</sup>。このようなことから今後、上記の抗体4倍未満がみられた25～29歳群や、既に述べられているI及びIII型の特定年齢群における低保有率<sup>12)</sup>

が今回の調査でIII型の0～1（40.0%）、7～9（56.0%）及び20～24歳群（48.0%）にみられ、それらへの対応等が今後の課題として考えられた。ちなみに公衆衛生審議会伝染病予防部会<sup>12)</sup>は、1988年8月、ポリオ生ワクチンについて、法律に基づく定期接種以外に海外渡航者等に、任意接種が容易に受けられるようにすることが望ましいと勧告しており、上記の今後の対応策の一つとして、同勧告が早期に実施されることが必要と考えられた。

#### V まとめ

平成5年度、秋田県大曲市の一般健康住民を対象として実施したポリオ流行予測感受性調査結果から、次の成績が得られた。

1. ポリオウイルスに対する対象者全体の抗体保有率はII型が96.7%と最も高く、次いでI型の87.2%とIII型の74.1%であった。
2. 0～1（5人）、2～3（1人）及び25～29歳群（2人）の8人の抗体保有は、I～III型の全てが4倍未満であった。

図1 ポリオ抗体保有状況（4倍スクリーニング）

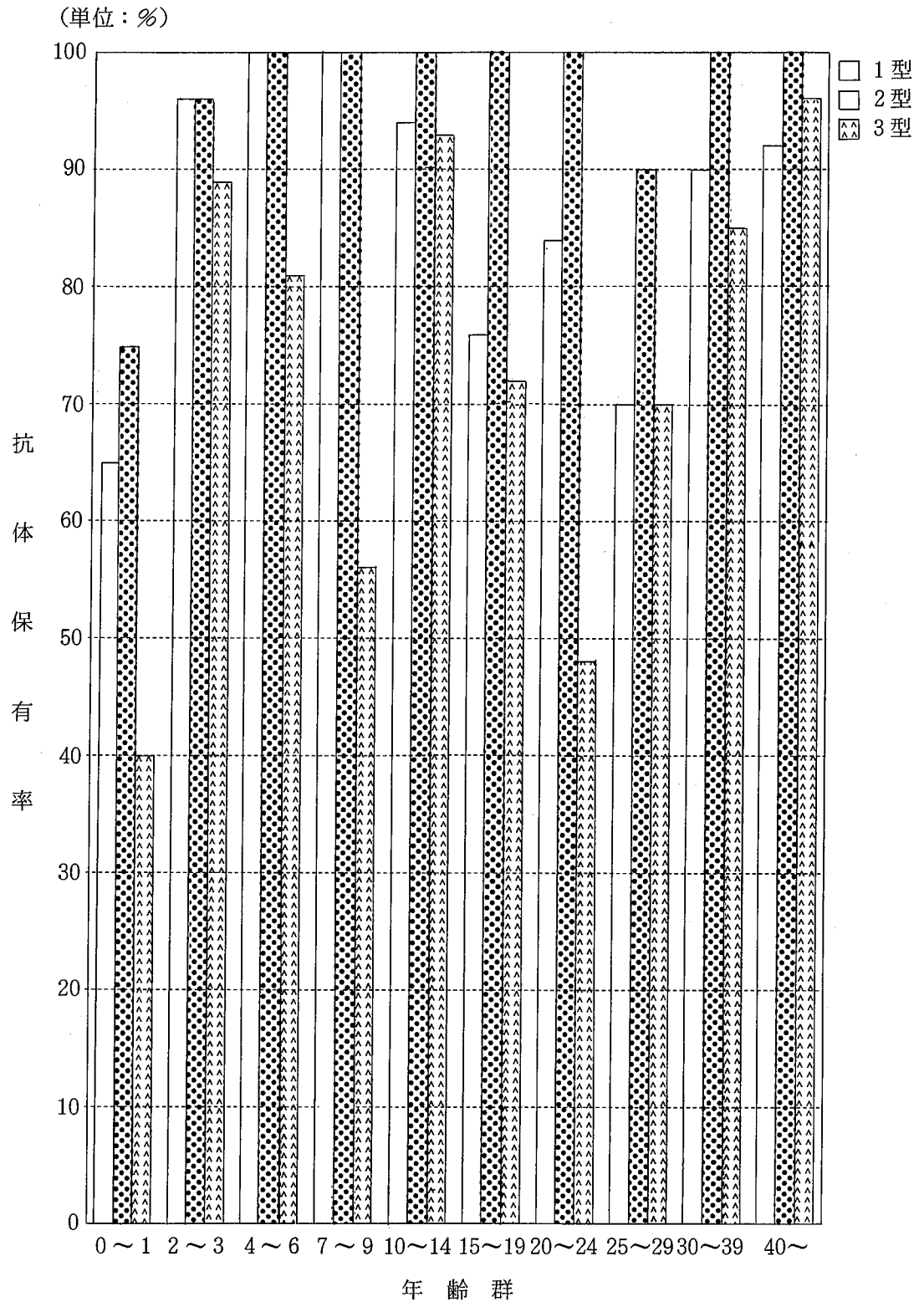
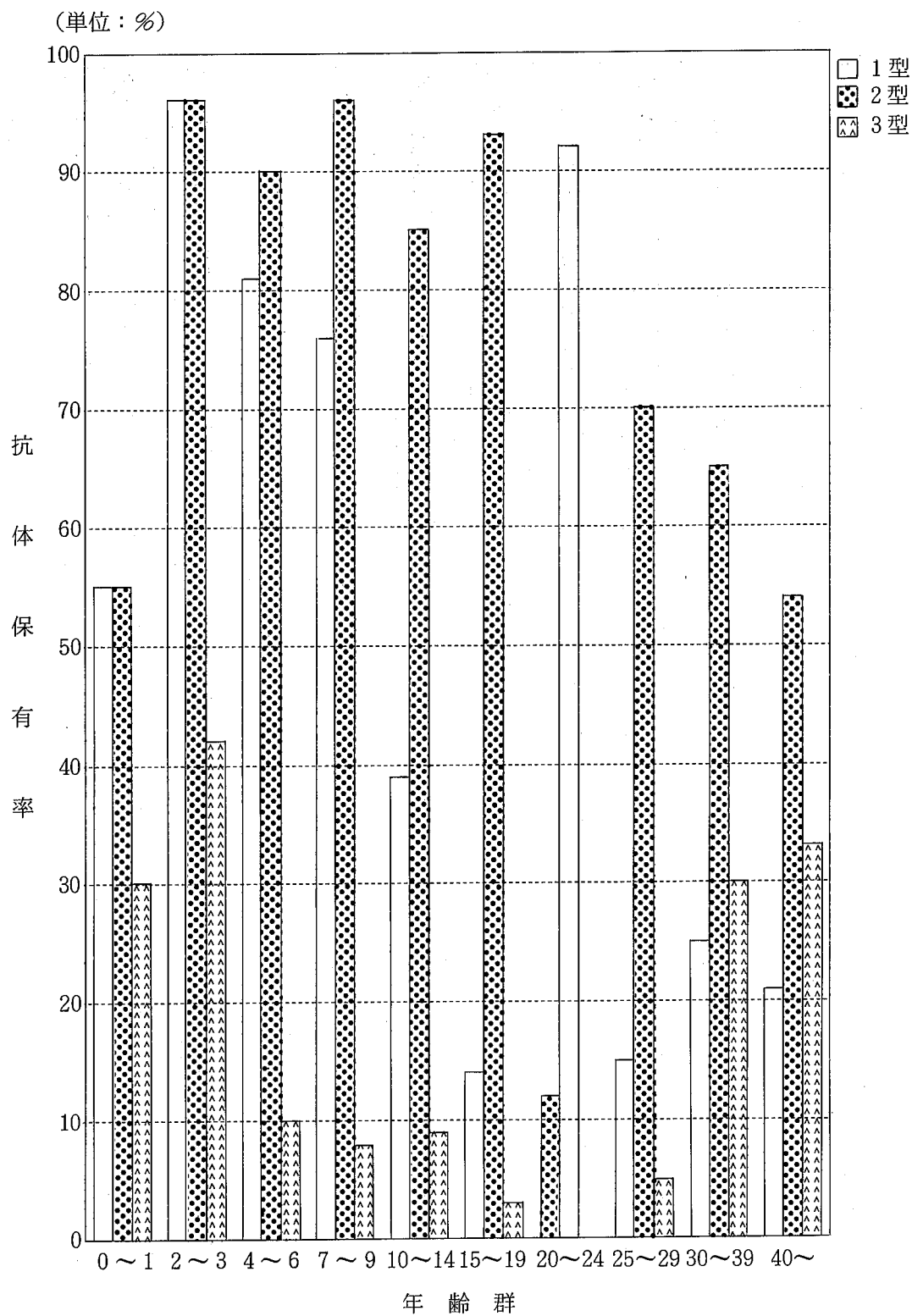


図2 ポリオ抗体保有状況 (64倍スクリーニング)



3. 0～1（5人）及び2～3歳群（1人）の6人は、ポリオワクチン未接種で、今後、同ワクチンの定期接種で抗体獲得が可能と思われた。
4. 今回の調査で、ポリオウイルスⅠ～Ⅲ型の全てに対して抗体4倍未満を示した25～29歳群や、低抗体保有率特定年齢群への対応が、今後の課題として考えられた。5. 上記の今後の対応策の一つとして、公衆衛生審議会伝染病予防部会の勧告が早期に実施されることが必要と考えられた。
- 稿を終えるにあたり、検体採取等にご協力いただきました大曲保健所及び関係機関の担当各位に謝意を表します。

## VI 文 献

- 1) 重松逸造, 小張一峰, 今川八束. 伝染病予防必携. 東京: 日本公衆衛生協会, 1985; 404-405.
- 2) 重松逸造, 小張一峰, 今川八束. 伝染病予防必携. 東京: 日本公衆衛生協会, 1985; 46-48.
- 3) 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室. 伝染病流行予測調査検査術式. 昭和61年5月
- 4) 秋田県衛生科学研究所微生物部. 秋田県衛生科学研究所報, 1987; 31: 14.
- 5) 秋田県衛生科学研究所微生物部. 秋田県衛生科学研究所報, 1988; 32: 13.
- 6) 安部真理子, 佐藤宏康, 森田盛大. 秋田県内における昭和62年度および63年度のポリオ流行予測調査成績について. 秋田県衛生科学研究所報, 1989; 33: 91-95.
- 7) 秋田県衛生科学研究所. 秋田県衛生科学研究所報, 1992; 36: 12.
- 8) 佐藤宏康, 他. 平成4年度ポリオ流行予測感受性調査成績について. 秋田県衛生科学研究所報, 1993; 37: 79-82.
- 9) 愛媛県立衛生研究所微生物病理室ウイルス科. 愛媛県立衛生研究所年報, 平成4年度; 54: 56-57.
- 10) 中尾利器, 他. 平成4年度ポリオ流行予測調査事業成績. 山口県衛生公害研究センター年報, 平成4年度; 35: 58-59.
- 11) 中山 喬, 他. ポリオ流行予測調査. 富山県衛生研究所, 1993; 16: 94-102.
- 12) 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室, 国立予防衛生研究所感染症疫学部. 伝染病流行予測調査報告書. 平成5年3月: 6-10.
- 13) 国立予防衛生研究所, 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課. 病原微生物検出情報月報, 1993; 14. 11: 4 (244).

# 平成5年の空中スギ花粉観測結果について

笹嶋 肇	和田恵理子	原田誠三郎	佐野 健
森田 盛大	大村 達雄* <sup>1</sup>	石田 弘子* <sup>2</sup>	渡辺 浩志* <sup>3</sup>
井谷 修* <sup>4</sup>	山田 昌次* <sup>5</sup>	寺田 修久* <sup>6</sup>	大高詳一郎* <sup>7</sup>
高橋 忍* <sup>8</sup>	西平 茂樹* <sup>9</sup>	斉藤 健司* <sup>10</sup>	高山 憲男* <sup>11</sup>
小柳 強* <sup>12</sup>	渡部 貢* <sup>13</sup>		

スギ花粉症の予防対策を目的として、平成5年の空中スギ花粉に関する調査を実施した結果、総飛散量は平成4年に比較して約4倍であった。飛散状況の特徴として、飛散は4月上旬にピークを示したものの、気温の低下に伴い抑制されたが、気温の上昇に伴う再飛散現象が長期的に確認された。また、時間ごとの観測により、好気象条件下においては気温の影響よりもスギの植生方向の風の寄与が大きいことが判明した。また、花粉観測数と患者発生の関連を検討した結果、県北・沿岸部・県南の各地域において、花粉飛散開始日より早期に外来患者が確認された。

キーワード：スギ花粉，スギ花粉症，花粉予報

## I はじめに

スギ花粉症の発症予防対策の一つとして、1987年から空中スギ花粉の観測を継続してきたが、スギ花粉飛散に関するこれまでの結果を地理的特性等から見ると、県内を一律に予報対象とすることは困難であったことから、観測調査地点を県北、沿岸、県南の県内数カ所に設定している。今回は、平成5年の空中スギ花粉の観測結果と期間中の外来患者の発生状況について調査したので報告する。

## II 調査概要

### 1. スギ花粉観測法

平成5年の、スギ花粉飛散観測調査は、大里病院（鹿角市）、大館保健所（大館市）、山本組合総合病院（能代市）、衛生科学研究所（秋田市）、井谷耳鼻咽喉科医院（秋田市）、大潟村農協生活センター（大潟村）、由利組合総合病院（本荘市）、仙北組合総合病院（大曲市）、菅原医院（角館町）、横手保健所（横手市）、高橋耳鼻咽喉科気管食道科医院（横手市）の県内の10機関において2月下旬から5月上旬にかけて実施した。地域別の観測点及び観測方法を表1に示した。空中飛散スギ花粉の観測は、Durham法（以下D法と略す）とIS-rotary法（以下IS法と略す）を採用し、時間ごとの観測にはBurkard法（以下B法と略す）を用いた。また、観測値の算出は前報<sup>1)</sup>に準じた。なお、初観測日は「1月1

日以降初めて0.1個/cm<sup>3</sup>以上観測された日」、飛散開始日は「1個/cm<sup>3</sup>以上の花粉が連続して2日以上観測された最初の日」、飛散終了日は「潜在量<sup>2)</sup>から判断される飛散終了時期に、好気象条件下でも飛散が観測されなくなった日の前日」と定義した。

### 2. 外来患者データ

大里病院、石田病院（大館市）、由利組合総合病院、菅原医院（角館町）、高橋耳鼻咽喉科気管食道科医院（横手市）、雄勝中央病院（湯沢市）の県内6医療機関から、スギ花粉飛散期の外来スギ花粉症患者数を毎週収集した。

## III 結果

各観測点の結果を表2に示した。

### 1. スギ花粉飛散状況

#### (1) 総飛散量

総飛散量は、前年に比較して約4倍程度と多かったが、地域別では前年比に大きな違いが見られた。地域別の総飛散量は以下のとおりである。

#### 1) 県北

大里病院、大館保健所の2カ所の平均総飛散量は5,345個/期間で、平成4年（678個/期間）に比較して7.9倍であった（大館保健所はD法換算値）。

#### 2) 沿岸部

衛生科学研究所、大潟村農協生活センター、井谷耳鼻咽喉科医院、山本組合総合病院、由利組合総合

\*<sup>1</sup>大里病院 \*<sup>2</sup>医療法人愛生会石田病院 \*<sup>3</sup>山本組合総合病院 \*<sup>4</sup>井谷耳鼻咽喉科医院 \*<sup>5</sup>由利組合総合病院

\*<sup>6</sup>仙北組合総合病院 \*<sup>7</sup>菅原医院 \*<sup>8</sup>高橋耳鼻咽喉科気管食道科医院 \*<sup>9</sup>雄勝中央病院 \*<sup>10</sup>大館保健所

\*<sup>11</sup>横手保健所 \*<sup>12</sup>大潟村農協生活センター \*<sup>13</sup>日本気象協会秋田県支部

表1 地域別のスギ花粉観測点と観測方法

地域	市町村	観測点	観測方法
県北	鹿角市	大里病院	D
県北	大館市	大館保健所	I S, B
沿岸	能代市	山本組合総合病院	D
沿岸	秋田市	衛生科学研究所	D, I S, B
沿岸	秋田市	井谷耳鼻咽喉科医院	D
沿岸	大潟村	大潟村農協生活センター	D, I S, B
沿岸	本荘市	由利組合総合病院	D
県南	大曲市	仙北組合総合病院	D, I S
県南	角館町	菅原医院	D
県南	横手市	横手保健所	I S, B
県南	横手市	高橋耳鼻咽喉科医院	D

D : Durham法  
 I S : ISロータリー法  
 B : Burkard法

表2 スギ花粉観測結果

観測点	飛散期間	初観測日	飛散日数	総飛散量(個/期間)
大里病院	3/18-5/13	3/5	57	6291
大館保健所	3/13-5/12	3/5	61	4398
山本組合総合病院	3/13-5/1	3/13	40	1010
衛生科学研究所	3/5-4/27	3/5	54	1142
井谷耳鼻咽喉科医院	3/6-4/17	3/4	43	583
大潟村農協生活センター	3/17-5/8	3/12	53	1337
由利組合総合病院	3/8-5/1	2/28	55	1030
仙北組合総合病院	3/11-4/26	3/9	47	3375
菅原医院	3/11-5/7	3/11	58	4806
横手保健所	3/5-5/10	2/27	67	5042
高橋耳鼻咽喉科医院	3/4-5/6	3/4	64	2882

(D法による結果)

病院の5カ所の平均総飛散量は936個/期間で、平成4年(573個/期間)の1.5倍であった。

3) 県南

横手保健所、高橋耳鼻咽喉科気管食道科医院、仙北組合総合病院、菅原医院の4カ所の平均総飛散量は4,026個/期間で、平成4年(1,074個/期間)の3.8倍であった。

(2) 飛散開始日

例年は沿岸部がやや早い傾向を示していたが、平成5年は、県南が最も早く、次いで、沿岸部、県北の順であった。各地域での飛散開始日は以下のとおりであった。

1) 県北

3月13日(大館市)から3月18日(鹿角市)の間であったが、1日平均値からみると、県北地域としては3月13日であった。なお、大館保健所のI S法では3月3日が飛散開始日となり、D法との差は10日であった。

2) 沿岸部

3月5日から3月23日の間で、1日平均値から見ると、沿岸部地域としては3月9日であった。秋田市(衛生科学研究所)が最も早く、次いで本荘市(由利組合総合病院)が3月8日、大潟村(大潟村生活センター)が3月17日であったが、同じ秋田市でも井谷耳鼻咽喉科では3月12日であり7日の違いがあった。

3) 県南

3月4日(横手市)から3月11日(大曲市及び角館町)の間であり、1日の平均値から見ると、県南地域としては3月5日であった。

(3) 日花粉観測数

地域単位の日平均花粉観測数と平均外来患者数を図1~図3に示した。

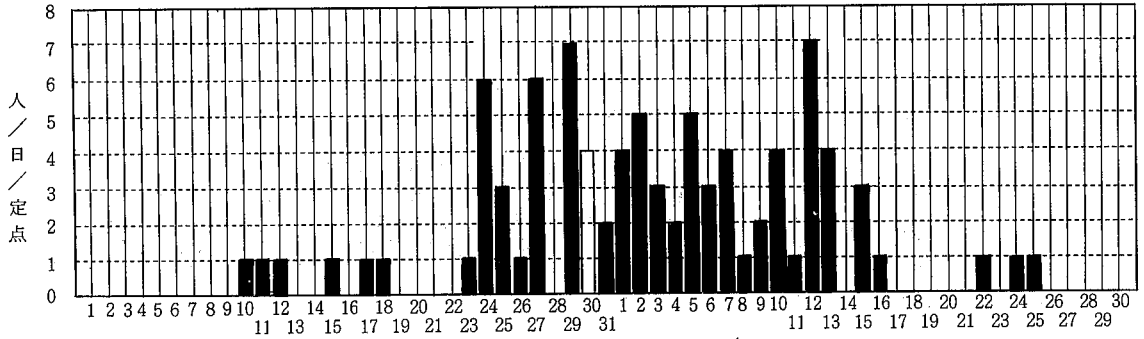
1) 県北

初観測日は3月5日で、ピークは4月5日の588個/cm<sup>3</sup>であった。その後の気温低下に伴い4月13日

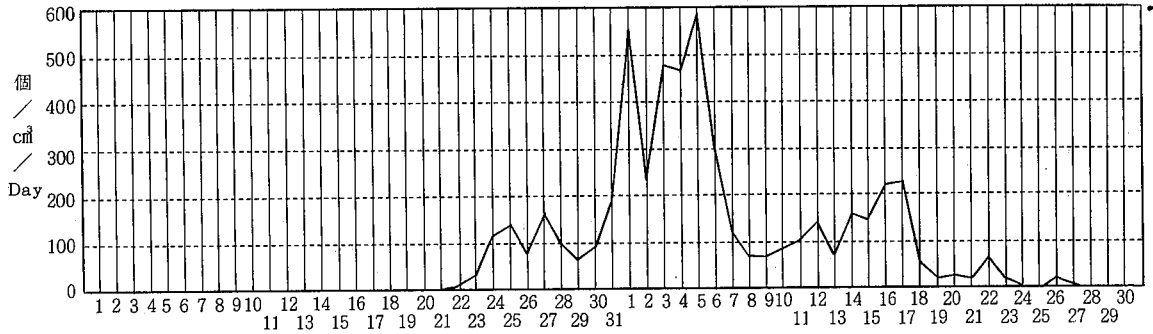
1993年3月・1993年4月分

外来患者数

地点=県北



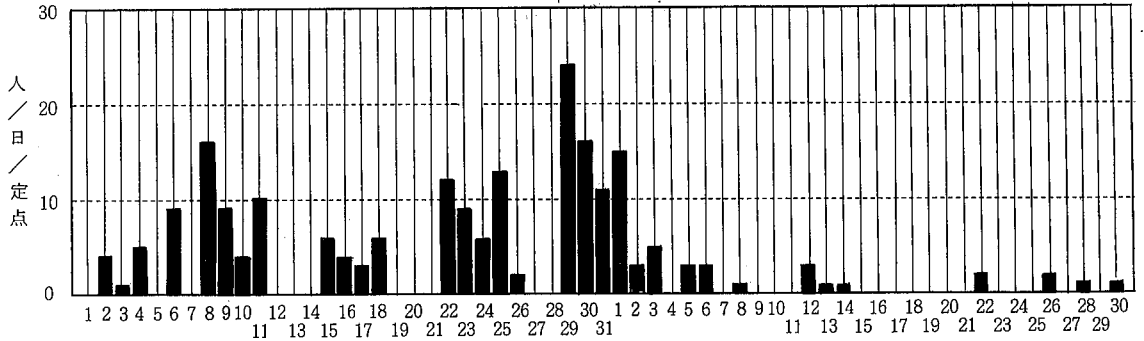
スギ花粉飛散状況



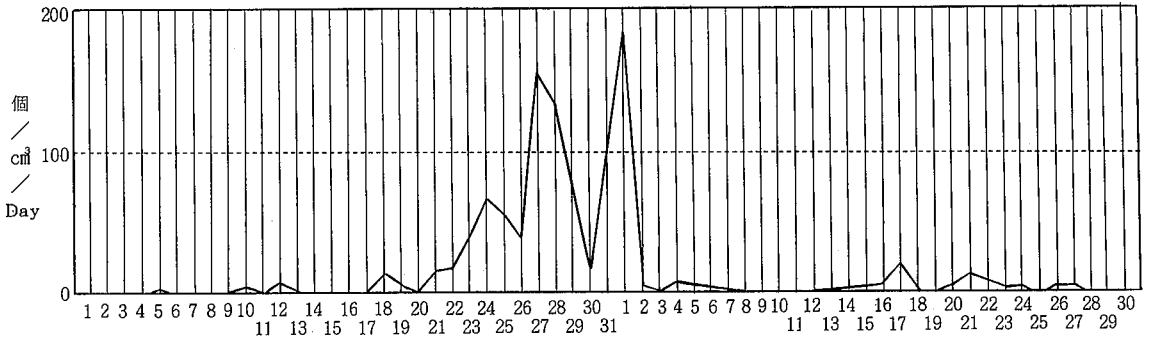
1993年3月・1993年4月分

外来患者数

地点=日本海沿岸部

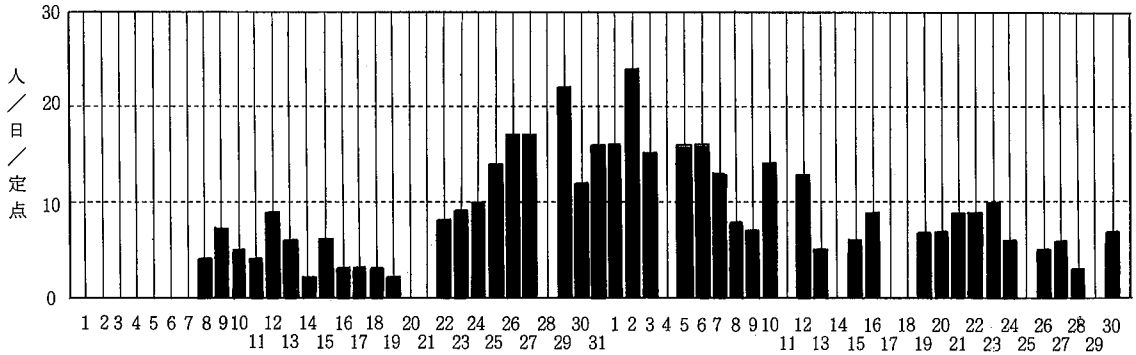


スギ花粉飛散状況

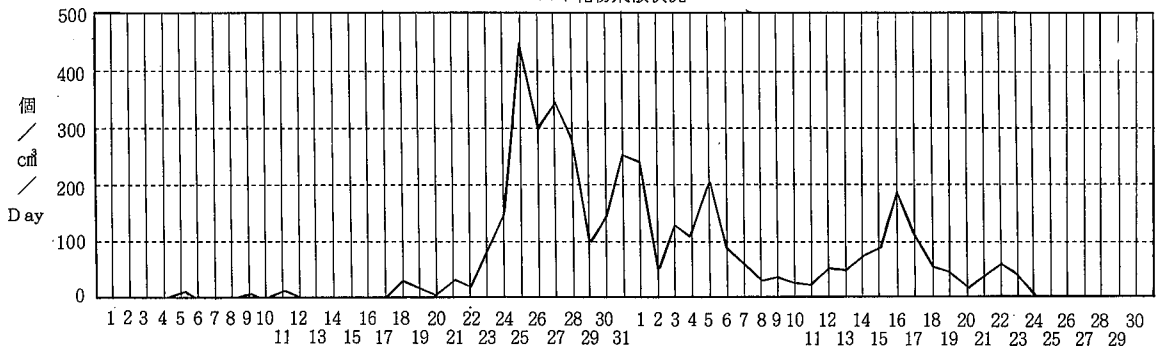


3 月

4 月



スギ花粉飛散状況



3 月

4 月

までは低レベルで推移したが、気温が上昇した4月14日以降には再び150個/cm<sup>3</sup>以上の花粉が観測された。

2) 沿岸部

初観測日は2月28日で、ピークは3月31日の167個/cm<sup>3</sup>であった。その後の気温低下に伴い4月16日までは低レベルで推移したが、気温が上昇した4月17日以降には再び20個/cm<sup>3</sup>以上の花粉が観測された。

3) 県南

初観測日は2月27日で、ピークは3月25日の448個/cm<sup>3</sup>であった。4月5日までは比較的高いレベルで推移したが、その後の気温低下に伴い4月7日から13日までは低レベルで推移したが、気温が上昇した4月15日以降には再び100個/cm<sup>3</sup>以上の花粉が連続2日観測された。

(4) 飛散終了日と飛散期間

飛散終了日は開始日と同様、県南が早く、次いで沿岸部、県北の順であった。各地域での終了月日と飛散期間は以下のとおりであった。

1) 県北

大館市(大館保健所)と鹿角市(大里病院)では、それぞれ5月12日及び13日であり、ほぼ同時期の終了であり、飛散期間はそれぞれ61日及び57日で、平均59日、差は4日であった。

2) 沿岸部

秋田市(井谷耳鼻咽喉科医院)が4月17日で最も早く、同じ秋田市の衛生科学研究所の4月27日、次いで本荘市(由利組合総合病院)、及び能代市(山本組合総合病院)の5月1日、大潟村(大潟村生活センター)が5月5日、能代市(山本組合総合病院)が5月2日で、飛散期間はそれぞれ、43日間、54日間、55日間、40日間、53日間であり、平均49日、差は20日であった。

3) 県南

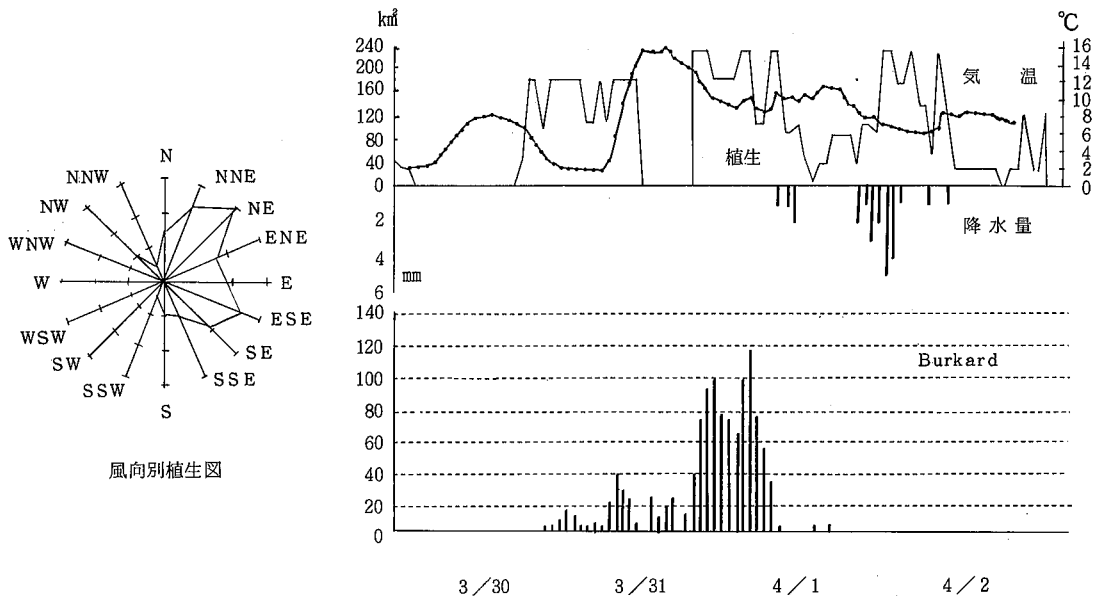
大曲市(仙北組合総合病院)が4月26日、角館町(菅原医院)が5月7日、横手市(横手保健所)が5月10日(D法換算値)、同じ横手市の高橋耳鼻咽喉科医院が5月6日で、飛散期間はそれぞれ、47日間、58日間、67日間、64日間であり、平均59日、差は20日であった。

2. スギ花粉観測数の時間的变化に及ぼす要因

B法により、秋田市(衛生科学研究所)におけるスギ花粉観測数の時間变化について検討した。対象時間帯は花粉最飛散期にあたる、3月30日から4月2日までの96時間とした。結果を図4に示した。この図には時間帯での平均の風配図、時間ごとの植生、最高気温、降水量、花粉観測値を示した。このうち植生は、秋田市周辺のスギ植生分布図に基づいて、時間風向ごとにその面積を計



図4 1時毎のスギ花粉数と植生及び気象条件



算した値である。

この結果、一般的には降水量が少なく気温が高ければ、花粉観測数が増加する傾向がみられたが、時間ごとに観測してみると花粉観測数には、好気象条件下においては、植生のある方向からの風が大きく関与することが明らかとなった。例えば、3月30日の20時から3月31日の8時までは、日中に比較して気温が低下しているが、この時間ではそれまで観測数が0個であったものが10個程度観測されていた。ところが、その後、気温は3月31日の14時のピークに向かい上昇したにも拘わらず、観測数は逆に低下した。また、4月1日の10時以降は植生のある方向からの風が主であったが、気温低下と降水によりスギ花粉はほとんど観測されなかった。

### 3. スギ花粉飛散数と予報症状区分

衛生科学研究所における観測値（前日17時～17時）と気象データを基に、秋田市周辺を対象として飛散期間に花粉予報を提供した。なお、翌日の予報にあたっては、前日17時から当日の17時までの24時間の観測値と日本気象協会秋田県支部の翌日の予測気象データを総合的に勘案し予測症状区分を決定した。

### 4. 患者データ

患者情報の対象は、耳鼻咽喉科外来におけるスギ花粉症患者である。各地域の特徴は以下のとおりであった。

#### (1) 県北

県北では飛散開始日が3月13日であったのに対して、

初発患者は3日早い月10日であった。また、外来患者数のピークは3月27日前後であり、観測数のピークの4月1日より4日ほど早かった。

#### (2) 沿岸部

沿岸部においては、飛散開始日が3月9日であったが、初発患者は2月16日に見られた。そして、患者ピークは3月29日であり、花粉観測数のピークの4月1日より2日早かった。また、飛散数が極端に低下した4月2日以降では外来患者数も低下した。4月21日前後に気温の上昇につれて、観測数は増加したが、外来患者数は少なく推移した。

#### (3) 県南

県南においては、飛散開始日が3月4日であったのに対して、初発患者は3月8日であり、飛散開始日より遅く患者が確認された。全患者数の内、3月20日までの飛散早期の患者の発生率は10%、飛散数の第1ピークの3月25日前後では16.6%、第2ピークの4月1日前後では25.1%、気温が上昇し再観測された第3ピークの4月20日前後では13%の患者が見られ、花粉観測数が低下した4月25日以降では6%の患者数で、第2ピークまでに外来患者全体の51.7%が確認された。

## IV 考察

スギ花粉症患者の予防対策として、行政的に対応可能

なものの一つとしてスギ花粉予報の提供を実施している。スギ花粉予報の持つ意味は、スギ花粉症患者に対して注意を促すことにあり、また、個人レベルの防御策を講じるための指標として機能するものと考えている。この意味で、当年の総飛散量、毎日の飛散量、花粉開始時期、最多飛散時期等の情報が提供の対象となっている。今回示した観測結果も、秋田県が県内全域を対象として予報活動を行うための基礎資料として検討した。

平成5年の特徴としては、どの地域においても概ね3月下旬から4月上旬にかけて最多飛散期であったが、その後急激に気温が低下し、最高気温が低く推移した。このためスギ花粉の飛散は一見終了したかに思われた。この傾向は東北に限らず、実際終了宣言を出した所も見受けられた。しかし、その後の気温の上昇に伴い、4月中旬から下旬にかけて再飛散した。このことは、我々が定義している潜在飛散量<sup>2)</sup>が、4月の中旬の段階ではまだ相当量が残されていたことを意味するものであり、日飛散数の予測に際して潜在飛散量を考慮することの妥当性を裏付けるものと考えられた。たとえば、気象条件が花粉飛散条件に対して極端に負に作用した場合の日飛散量の推定においては、スギ花粉生産量と推定飛散期間から求められる日潜在飛散数を補正する必要性があることが明らかにされた。

また、スギ花粉飛散量については、予報対象の同一地域内においても、観測結果に変動があることがあげられる。この変動の原因としては、地理条件などが原因で、地域的にスギ花粉の飛散量が異なることであるが、この変動には観測条件（観測器の設置基準や周囲の環境）が同一でないことによる変動も含まれている。しかし、この変動については前報<sup>1)</sup>でも述べたとおり、数年間のデータを基にして標準化を実施することで解決される点の一つである。秋田市以外においては、まだ、2年間のデータのみであるので、今後の観測結果をふまえて予報の精度向上を図る予定である。

また、スギ花粉予報は、単なるスギ花粉の飛散の多少に関する予報で良いのか否かについては意見が分かれるところであるが、我々は、スギ花粉症患者のための予報である以上、患者の発症実態を把握しながら予報の有効性を向上させるべきと考えている。たとえば、スギ花粉の飛散開始日の情報を作成したとしても、既に多数の患者が発症しているのでは、本来の予報の意味が薄れてしまうことになる。この場合には、患者と飛散に関する過去のデータを総合的に解析し、患者発症時期に照準をおいた開始日予報の作成が必要となる。この点に関しては地域ごとに検討を要する点であり、今後の継続調査結果を踏まえながら活かしていきたいと考えている。

また、毎日の飛散予報については、我々は暫定的に柴

原たち<sup>3)</sup>の予報基準に従って実施している。この方法は、スギ花粉飛散数のランクから症状ランク（安定日、注意日、警戒日）を設定しているが、秋田県内においてもこのランク基準が妥当か否かを検証するには、地域ごとにスギ花粉数と患者の症状の関係を継続調査することが必要であるので、現在検討中である。さらに、検証のもう一つの方法として、外来患者の他に対象地域別のモニターの必要性があげられる。

## 文 献

- 1) 笹嶋 肇, 他. 平成4年の空中スギ花粉と花粉アレルギー患者に関する調査結果について. 秋田県衛生科学研究所報, 1993; 37: 83-89.
- 2) 笹嶋 肇, 他. スギ花粉日飛散数の予測方法の検討ー拡散パラメータを用いた多変量時系列モデルの試みー. 秋田県衛生科学研究所報, 1992; 36: 57-64.
- 3) 柴原義博, 佐竹充章, 高坂知節. スギ花粉飛散予報(仙台地方の現況). アレルギーの臨床, 1990; 10: 102-104.

# 平成4年度および平成5年度における 年齢群別風疹HI抗体保有状況について

和田恵理子 笹嶋 肇 佐野 健

平成4年度および平成5年度に医療機関より、依頼検査として受付した妊娠可能年齢層である20～39歳までの血清705検体について、風疹HI抗体保有状況を調査した。平成4年度および平成5年度ともに抗体陰性率の高い年齢層は、ワクチン非接種年齢群の30～34歳代であった。

キーワード：風疹，CRS，HI抗体価

## I はじめに

風疹は俗に「3日はしか」と呼ばれるように、比較的軽症のウイルス疾患であるが、妊娠初期の妊婦が風疹ウイルスに感染すると、白内障、先天性心疾患、難聴等のいわゆる先天性風疹症候群（以下CRSと略す）の子供が生まれる確率が高いので、社会的に重要視されるようになった<sup>1-2)</sup>。

秋田県における近年の風疹は、概ね4年の間隔（表1）で流行しており、時には大規模な局地的発生がみられている。風疹罹患を予防すること、すなわちCRSの出生を防ぐ目的で、昭和53年から女子中学生に対しワクチン接種が実施されている。これらのワクチン接種群においてはかなり高い抗体保有率を示しているが、30歳以降のワクチン非接種群においては、依然、抗体保有率の低いことが明らかにされている<sup>3)</sup>。このようなことから秋田県では、CRSを未然に防止するため「秋田県風疹対策実施要綱」を昭和56年に作成し、風疹抗体検査を実施している。本報ではこれらに基づき、平成4年度及び5年度に県内の医療機関から依頼された被検血清について検査を行ったので、その結果を報告する。

## II 材料と方法

### 1. 材料

平成4年度及び5年度に医療機関から、依頼検査として受け付けした1,182検体のうち、妊娠可能年齢層である20～39歳までの被検血清705検体を用いた。

### 2. 方法

風疹ウイルス抗体価測定には、ガチョウ血球を用いた赤血球凝集抑制試験（以下HI試験と略す）で行い、血清中のHAインヒビター除去はアクリノール・活性炭末で行った。また、使用抗原は市販の風疹HA抗原（デンカ生研）を用い、抗体価の判定は1：8倍以上を陽性とした。

## III 結果および考察

表2に平成4年度、表3に平成5年度の20～39歳女性における風疹HI抗体保有状況を示した。まず、平成4年度についてみてみると、抗体陰性率の最も高かったのは30～34歳の33.3%で、次いで25～29歳の15.8%、20～24歳の13.6%、35～39歳の13.5%であった。次ぎに平成5年度をみてみると、抗体陰性率の最も高かったのは平成4年度と同じく30～34歳の29.7%で、次いで25～29歳の16.7%、35～39歳の14.3%、20～24歳の7.7%であった。これら抗体陰性者の30～34歳群は、幼児あるいは小学生当時であった昭和34年～36年、及び40～42年以後の風疹流行においても感染を免れるとともに、また、昭和53年から実施された風疹ワクチン接種時の対象年齢にも該当せずに同年齢まで経過してきたものと思われた。一方、20～29歳のワクチン接種年齢群の抗体陰性率は、ワクチン非接種年齢群30～39歳の約1/2であり、また、これまで当所で検査したワクチン接種対象外の20～29歳までの男性では、58.3%であることから、女子中学生時に行われたワクチンの効果によるものと思われた。

表4に4年度から5年度にかけて得られたペア血清の年齢群別風疹罹患状況を示した。ペア血清を用いた風疹抗体検査の有意上昇を見ると、30～34歳の年齢群では妊婦6名を含む10名に抗体の有意上昇がみられた。また25～29歳群でも妊婦4名を含む5名に上昇がみられるとともに、35～39歳群においても妊婦1名を含む5名が血清学的に風疹と確認された。

以上のことからペア血清の抗体検査や、風疹HI抗体保有状況から依然として30歳以上のワクチン非接種年齢群に抗体陰性率の高いことが確認された。また、ワクチン接種年齢群の29歳以下に15%前後の抗体陰性率がみられていることから、これら抗体陰性者が今後妊娠を希望する場合は、妊娠前に抗体保有検査を受けることが必要と考えられた。また、29歳以下、及び30歳以上の既に第

一子がいる抗体陰性者が妊娠した場合、その子供が他から風疹ウイルスに感染することによって、妊娠抗体陰性者への感染源となり得ることから、妊娠初期には十分な注意が必要と思われた。

表1 年次別風疹患者報告数(感染症サーベイランス情報)

年	S62	S63	H1	H2	H3	H4	H5
患者数	7257	1040	411	1710	280	2964	1755
定点当り	302	43	17	71	12	124	73

表2 20～39歳の女性における風疹HI抗体価(平成4年度)

年齢群	検体数	HI抗体価								
		<8	(%)	8	16	32	64	128	256	512
20～24	44	6	13.6	1	13	6	14	4	0	0
25～29	228	36	15.8	16	45	52	36	32	11	0
30～34	225	75	33.3	16	36	37	35	18	5	3
35～39	52	7	13.5	7	12	8	8	7	3	0
計	549	124	22.6	40	106	103	93	61	19	3

表3 20～39歳の女性における風疹HI抗体価(平成5年度)

年齢群	検体数	HI抗体価								
		<8	(%)	8	16	32	64	128	256	512
20～24	13	1	7.7	1	3	4	3	1	0	0
25～29	72	12	16.7	4	25	16	10	5	0	0
30～34	64	19	29.7	10	13	7	10	5	0	0
35～39	7	1	14.3	0	2	3	1	0	0	0
計	156	33	21.2	15	43	30	24	11	0	0

表4 血清検査による風疹罹患状況

年齢群	ペア血清数	抗体の上昇有り
20～24	6	2
25～29	20 (4)	5 うち妊婦4 (0)
30～34	23 (2)	9 うち妊婦5 (1) 妊婦
35～39	10	5 うち妊婦1

( ) 平成5年度の件数

#### IV まとめ

平成4年度及び5年度に医療機関から依頼された女性のみ血清705検体について、風疹抗体保有状況を調査した。

- 平成4年度のワクチン接種年齢群の抗体陰性率は、20～24歳代で13.6%、25～29歳代で15.8%であった。また25～29歳代の年齢群で5名が血清学的に風疹と確認され、うち4名は妊娠中であった。
- 平成5年度のワクチン接種年齢群の抗体陰性率は、20～24歳代で7.7%、25～29歳代で16.7%であった。
- 平成4年度のワクチン非接種年齢群の抗体陰性率は、30～34歳が33.3%と高く、また、この年齢群で9名が

血清学的に風疹と確認され、うち5名は妊娠中であった。35～39歳代の抗体陰性率は、13.5%であった。

- 平成5年度のワクチン非接種年齢群の抗体陰性率は、30～34歳代で29.7%であり、1名が血清学的に風疹と確認され妊娠中であった。35～39歳代の抗体陰性率は、14.3%であった。
- 妊娠可能年齢層の抗体陰性率からみて、今後まだCRSに対する高いリスクが残されているので、風疹抗体検査と抗体陰性者へのワクチン接種等の対応が必要と考えられた。

#### V 文献

- 社団法人細菌製剤協会. 第7章 風しんワクチン. 最新予防接種の知識, 1993; 82-94.
- 須藤恒久. 妊娠中の風疹感染. 産婦人科の実践, 1988; 19-25.
- 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課, 国立予防衛生研究所感染症疫学部. 第5 風疹. 平成4年度伝染病流行予測調査報告書, 1992; 97-116.

# 食品の栄養学的成分の調査研究

## —新品目野菜の栄養成分，ひ素および重金属の含有量調査—

沢部 光一 大谷 裕行 佐野 健 石塚 英馬<sup>\*1</sup>

四訂食品成分表や他の成分表等に掲載されていない新品目野菜について，国内産を中心に，三大栄養素，無機質，ビタミン等の食品栄養成分，さらに，ひ素および重金属等の微量元素類について調査を行った。試料は，新品目野菜32検体。分析法は，「加工食品の栄養成分分析法」と「衛生試験法」に基づいて行った。その結果，新品目野菜は，通常市販野菜に比べ，栄養成分値にとりわけ大きな違いを示すものはなかった。葉菜等の緑黄野菜は，根菜，茎に比べ Ca，Fe，K，Mg およびビタミン（A，B<sub>2</sub>，C）が多く含まれていた。健康被害が考慮されるひ素，鉛，カドミウム等については，特に危惧される量の値は検出されなかった。

キーワード：新品目野菜，一般栄養成分，無機質，ビタミン，重金属

### I はじめに

四訂食品成分表や他の成分表等に掲載されていない，いわゆる新品目野菜が市場に多く出回っている。そこでこれらの野菜について，本県の利用頻度が高く，生産地の明確な国内産を中心に，三大栄養素，無機質，ビタミン等の一般食品栄養成分分析，ひ素および重金属等の微量元素元素の分析を行った。以下に，その結果と特徴について報告する。

### II 方法

試料は，対象野菜は31種類32検体である。検体名，産地名および実施月については「表」に詳載した。

入手方法は，ベイナスについては直接栽培地から入手，他はすべて秋田市民市場より入手した。分析法は，「加工食品の栄養成分分析法<sup>1)</sup>」および「衛生試験法<sup>2)</sup>」に基づいて行った。検査項目は，一般食品栄養成分（栄養素）21成分，ひ素および重金属等の微量元素元素6成分である。

調査期間は，平成4年4月～6年3月である。

### III 結果

測定結果を「表」に示した（数値は全て湿重量当たりの値）結果の概要について述べると；

#### 1. 一般食品栄養成分（栄養素）

水分：水分の多い野菜は「壬生菜」，「かいわれだいこん」，「ター菜」で，94～96g/100gを示し，少ない野菜は「エシャレット」，「みずたま」，「みょうが」で，70～80gを示した。たんぱく質：たんぱく質の多い野菜は「モロヘイヤ」，「のびる」，「菜の花」，「芽キャベツ」で，

4.0～4.3gを示し，少ない野菜は「ベイナス」，「壬生菜」で，0.6～0.9gを示した。脂質：脂質の多い野菜は「モロヘイヤ」，「かいわれだいこん」，「のびる」，「菜の花」で，0.5～0.8gを示し，少ない野菜は「壬生菜」で，0.01未満を示した。炭水化物（糖質）：糖質の多い野菜は，「みょうが」，「エシャレット」で，20.0～21.1gを示し，少ない野菜は「かいわれだいこん」，「ター菜」，「壬生菜」で，0.5～0.6gを示した。炭水化物（繊維）：繊維の多い野菜は「きく」，「モロヘイヤ」で，1.9～2.1gを示し，少ない野菜は「ヤーコン」，「ズッキーニ」，「アンディープ」，「壬生菜」で，いずれも0.5g以下を示した。

#### 2. 無機質成分

カルシウム（Ca）：Caの多い野菜は「モロヘイヤ」，「つぼみ菜」，「山東菜」，「壬生菜」で，100～150mg/100gを示し，少ない野菜は「あまうり」，「チコリ」，「ズッキーニ」で，8.3～11.4mgを示した。リン（P）：Pの多い野菜は「のびる」，「菜の花」，「つぼみ菜」で，100～140mgを示し，少ない野菜は「糸かぼちゃ」，「チコリ」，「ベイナス」で，13.3～22.1mgを示した。鉄（Fe）：Feの多い野菜は「コーンサラダ」，「ター菜」，「壬生菜」で2～4mgを示し，少ない野菜は「糸かぼちゃ」，「ヤーコン」で，0.2～0.4mgを示した。ナトリウム（Na）：Naの多い野菜は「ター菜」，「山東菜」，「サニーレタス」，「壬生菜」で，30～40mg台を示し，少ない野菜は「モロヘイヤ」，「チコリ」で，0.4～1.1mgを示した。カリウム（K）：Kの多い野菜は「モロヘイヤ」，「山東菜」，「パオ」で550～626mgを示し，少ない野菜は「かいわれだいこん」の72mgで，唯一100mg以下を示した。マグネシウム（Mg）

<sup>\*1</sup> 現 秋田県大館保健所

) : Mgの多い野菜は「つばみ菜」, 「山東菜」で, 80~95mgを示し, 少ない野菜は「うるい」, 「あまうり」で, 8.8~10.2mgを示した。

### 3. ビタミン (V)

VA (カロチン) : VAの多い野菜は「モロヘイヤ」, 「コーンサラダ」で, 3900~4800  $\mu\text{g}/100\text{g}$ を示し, 少ない野菜は「みょうが」, 「チコリ」, 「アンディープ」, 「エシャレット」, 「エシャロット」で, いずれも5  $\mu\text{g}$ 以下を示した。VB<sub>1</sub> : VB<sub>1</sub>の多い野菜は「芽キャベツ」で, 0.15mgを示し, 少ない野菜は「みずたま」, 「ヤーコン」, 「ペイナス」, 「壬生菜」で, 0.03mgを示した。VB<sub>2</sub> : VB<sub>2</sub>の多い野菜は「あおな」で, 0.14mgを示し, 少ない野菜は「エシャレット」で, 0.01mgを示した。VC : VCの多い野菜は「つるな」で, 110mgを示し, 少ない野菜は「チコリ」, 「ヤーコン」, 「ペイナス」, 「アンディープ」, 「エシャレット」, 「エシャロット」で, いずれも4 mg以下を示した。

### 4. ひ素および重金属

今回の対象野菜の中で, とりわけ高濃度を示すものはみられず, マンガンで「モロヘイヤ」の15.84  $\mu\text{g}/\text{g}$ , 「ター菜」の14.73  $\mu\text{g}$ がわずかながら高い濃度を示したに過ぎなかった。

## IV 考察

近年, 野菜市場に通常野菜に加え, 目新しい野菜, いわゆる新品目野菜が出回っている。農業技術の進歩による品種改良や珍しい外国産野菜の輸入が主な理由と思われる。本県においてもこの傾向が目立ち始めている。

一方, このような新野菜についての栄養成分は, これまであまり調査されておらず, 四訂食品成分表<sup>3)</sup>にもほとんど掲載されていない。そこで, 本県で比較的多く摂取されており, 四訂食品成分表に未掲載な新品目野菜について, 平成4~5年度にわたりその栄養成分について調査した。これによると, 一般栄養成分, 無機成分, ビタミンについては, 「日本食品成分表—フォローアップ成分完全完全収載—<sup>3)</sup>」や「食品微量元素マニュアル<sup>4)</sup>」に掲載されている通常市販野菜の成分範囲と比較し, とりわけ大きな違いの見られるものはなかった。また, 葉菜等の緑黄野菜は, 根菜, 茎に比べ, Ca, Fe, K, Mg等無機質成分が多く, また, ビタミン類 (A, B<sub>2</sub>, C) も同じく緑黄野菜に多く含まれていた。一方, 微量金属について見ると, 健康被害が考慮されるひ素, 鉛, カドミウム等に, 特に危惧される量の値は検出されなかった。

野菜の分析値は, 野菜の種類, 生育環境, 天候等種々の要因から変動幅があることは一般に周知されている。四訂食品成分表等の成分表値は, 日常市場で入手し得る試料の分析値を基にし, これに文献値を考慮したもので

であり, 年間を通して普通に摂取する場合の全国的な平均に近い値とされている。しかし, われわれの分析値は断面的な調査に止まり, 季節, 地域を考慮した平均的な測定値を算出したものではなく, 他で行った分析値とは異なった成分値を示すことが予想される。前述したように, これらの成分値には変動幅があることから, 成分表値あるいは実測値を利用すること自体にはそれほど問題はないものと思われる。

四訂食品成分表に未掲載な食品の補完は, 栄養評価をする上で重要であり, さらに追加していく必要があると同時に, 野菜の成分に地域差があることから, さらに, 地域や栽培方法による栄養成分の違い, 特に, ビタミン, 無機質成分を中心に調査の必要性があると思われる。

## V まとめ

- 1) 新品目野菜は, 通常市販野菜に比べ, 一般栄養成分無機成分, ビタミンとも, とりわけ大きな違いを示すものはなかった。
- 2) Ca, Fe, K, Mgは, 「モロヘイヤ」「山東菜」等緑黄野菜に多く, VA, VB<sub>2</sub>, VCも同様に「モロヘイヤ」「つるな」等緑黄野菜に多く含まれていた。
- 3) 微量金属については, 健康被害が考慮されるひ素, 鉛, カドミウム等に, 特に危惧される量の値は検出されなかった。

## VI 文献

- 1) 厚生省. 加工食品の栄養成分分析法, 1985; 1-68.
- 2) 日本薬学会編. 衛生試験法・注解. 金原出版KK, 1990; 77-78.
- 3) 山口迪夫監修. 日本食品成分表—フォローアップ成分完全収載—, 科学技術庁資源調査会編. 医歯薬出版KK, 1993; 122-153.
- 4) 細貝裕太郎たち. 食品微量元素マニュアル第2章 必須元素—, 中央法規出版KK, 1985; 204-251.

表 新品目野菜の分析結果

No	検 査 採 集 地	可 食 部 100g 当 たり										可 食 部 1g 当 たり														
		一 般 栄 養 成 分					無 機 質 成 分					ビ タ ミ ン					ひ 素 及 び 重 金 属									
		エ ネ ルギ	水 分	た ん ぱ く 質	脂 質	炭 水 化 物 糖 質	灰 分	カ ル シ ウ ム	リ ン 酸	ナ ト リ ウ ム	カ リ ウ ム	マ グ ネ シ ウ ム	A	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C	ひ	銅	マ ン ガ ン	亜 鉛	カ ド ミ ウ ム					
																						kJ	g	g	g	g
1	さしびろ	32.5	90.2	1.6	0.3	6.4	0.9	0.6	71.4	56.3	0.85	1.3	236	15.4	ND	1300	720	0.04	0.09	35	ND	0.25	7.54	2.58	ND	ND
2	すぐりな※	20.5	93.3	1.5	0.3	3.2	0.8	0.9	80.1	58.5	0.84	2.24	354	13.6	ND	830	460	0.05	0.07	49	ND	0.36	3.79	2.29	0.166	0.096
3	うるい	40.1	88.0	1.4	0.2	8.4	1.4	0.6	55.9	49.2	0.67	1.4	241	10.2	ND	600	330	0.03	0.05	26	ND	0.52	8.78	4.26	0.130	0.090
4	あまうり	33.2	89.7	2.0	0.1	6.4	1.3	0.5	11.4	36.8	0.85	1.7	221	8.8	ND	99	55	0.05	0.03	13	0.07	0.91	4.61	3.52	ND	0.090
5	まく(もってのほか)	40.9	87.8	2.0	0.3	7.5	1.9	0.5	79.6	24.0	0.74	1.3	340	15.1	ND	19	11	0.08	0.05	20	ND	0.78	3.70	3.18	ND	0.057
6	モロヘイヤ	40.0	87.4	4.0	0.8	4.5	2.1	1.2	148.0	55.3	0.87	1.1	585	58.4	ND	4800	2700	0.08	0.20	37	ND	0.17	15.84	6.70	ND	0.240
7	つるな*	30.6	128	90.5	1.6	0.2	6.2	0.8	37.0	39.2	0.82	2.8	308	21.7	ND	650	360	0.07	0.12	110	ND	2.77	11.18	3.35	ND	0.050
8	かいわれだいこん	16.4	69	94.8	2.8	0.5	0.6	0.9	21.5	74.6	0.41	15.8	72	23.8	ND	890	490	0.11	0.09	38	ND	0.24	2.59	2.62	ND	ND
9	みずたま	75.6	316	77.4	1.9	0.2	18.3	1.1	60.6	35.5	0.74	13.9	256	63.6	ND	150	83	0.03	0.05	52	ND	0.68	5.17	5.72	ND	0.084
10	米かぼちゃ	26.4	110	91.8	1.1	0.1	5.4	1.0	19.2	16.0	0.22	3.3	295	24.4	ND	52	29	0.04	0.02	11	ND	0.37	0.79	1.01	ND	ND
11	みょうが(小舞茎)	83.1	348	75.2	2.0	0.1	20.8	0.9	46.2	30.0	0.70	8.6	384	17.3	ND	3	2	0.07	0.03	6	ND	0.35	1.92	3.19	ND	0.071
12	あおな	28.4	119	90.0	3.9	0.3	3.6	1.0	50.8	60.2	1.47	25.1	525	24.7	ND	1200	670	0.12	0.14	56	ND	0.07	3.13	1.27	0.152	0.070
13	アスパラ	21.7	91	91.4	3.2	0.3	3.2	1.0	61.8	58.2	0.82	15.1	447	28.3	ND	920	510	0.07	0.11	68	ND	1.74	3.26	7.35	ND	0.075
14	チコリ(しろ)	21.2	89	92.9	1.6	0.1	4.2	0.6	11.2	13.3	0.67	0.4	419	12.8	ND	5	3	0.08	0.03	4	ND	0.39	2.50	3.29	ND	ND
15	のびる(あお)※	47.9	200	85.0	4.3	0.5	8.2	1.1	29.2	111.4	0.72	11.8	424	25.5	ND	130	72	0.12	0.12	23	0.06	1.36	4.10	6.50	ND	0.091
16	ヤッコ	39.8	167	85.8	1.0	0.4	11.7	0.5	15.7	31.6	0.33	2.1	325	11.2	ND	60	33	0.03	0.02	2	ND	0.39	0.61	2.65	ND	ND

№	検体名	栽培地	検査実施月	可食部 100g 当たり										可食部 1g 当たり															
				一般栄養成分					無機質成分					ビタミン					ひ素及び重金属										
				エネルギー	水分	たんぱく質	脂質	炭水化物	灰	カルシウム	リン	鉄	ナトリウム	カリウム	マグネシウム	A			B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C	ビタミン	銅	マンガン	亜鉛	カドミウム			
																レチノール	チロシン	カロチン											
kcal	g	g	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	μg	μg	μg	μg	μg	μg	μg	μg	μg	μg							
1	ベイチナス	秋田県	10	89	93.9	0.6	0.2	4.3	0.6	0.4	14.2	22.1	0.92	12.7	160	14.7	ND	ND	27	15	0.03	0.02	4	ND	2.03	2.09	1.80	ND	ND
2	ズッキーニ(青)	長野県	10	58.7	84.6	1.3	0.3	12.7	0.5	0.6	15.6	40.1	1.01	17.1	272	29.8	ND	440	240	0.05	0.02	13	ND	1.06	1.37	4.19	ND	ND	
3	ズッキーニ(黄)	秋田県	10	19.4	94.3	1.3	0.2	3.1	0.4	0.7	8.3	40.6	0.44	16.1	202	19.6	ND	310	170	0.04	0.03	16	ND	0.72	0.99	3.06	ND	ND	
4	アンディープ	北海道	10	20.6	94.0	1.6	0.2	3.1	0.5	0.6	13.4	50.8	1.12	14.1	285	18.8	ND	ND	0	0.05	0.02	1	ND	2.13	1.40	1.90	0.12	ND	
5	エシヤレット	茨城県	10	93.7	75.2	2.1	0.1	21.0	0.8	0.7	18.2	68.4	1.61	16.5	271	18.0	ND	ND	0	0.04	0.01	3	ND	2.84	2.48	3.42	ND	ND	
6	エシヤレット	フランス	10	60.8	84.2	1.2	0.4	13.1	0.6	0.5	24.7	55.4	0.57	12.7	203	18.2	ND	ND	0	0.04	0.02	0	ND	1.71	0.85	2.38	ND	0.013	
7	コーンサラダ	千葉県	10	84	92.9	1.9	0.1	2.9	0.7	1.5	93.6	55.9	3.56	12.0	464	44.3	ND	3900	2200	0.07	0.04	21	ND	1.05	4.49	4.29	ND	ND	
8	茎にんにく	中国	10	34.3	143	90.0	1.9	0.3	6.0	1.3	0.5	32.9	40.5	1.25	13.3	146	16.4	ND	74	41	0.08	0.03	28	ND	1.64	1.49	3.05	ND	ND
9	菜の花	香川県	3	38.1	159	88.7	4.1	0.5	4.3	1.3	1.1	61.8	137.4	1.23	23.9	398	24.5	ND	1400	780	0.12	0.07	74	ND	0.76	3.84	9.61	ND	0.024
10	芽キャベツ※	静岡県	3	54.4	226	84.8	4.0	4.0	8.7	1.2	0.9	30.4	60.4	1.45	24.4	350	23.3	ND	620	340	0.15	0.04	72	ND	1.22	2.23	3.31	ND	0.029
11	タマネギ	静岡県	3	14.1	59	94.8	1.6	0.1	1.7	0.6	1.2	93.1	68.6	2.88	33.6	438	30.7	ND	1500	830	0.08	0.06	37	ND	0.72	14.73	7.17	ND	0.014
12	つぼみ菜	秋田県	3	29.3	121	90.7	3.2	0.1	3.9	0.9	1.2	103.0	106.0	0.90	25.7	462	94.5	ND	1700	940	0.09	0.07	41	ND	0.83	4.22	7.21	ND	ND
13	山東菜※	宮城県	3	27.1	113	91.0	2.3	0.3	3.8	0.9	1.7	170.2	68.4	1.56	38.9	626	87.4	ND	1400	780	0.09	0.07	47	ND	0.86	0.24	3.70	0.14	0.010
14	サニーレタス	愛知県	3	19.7	82	93.0	1.8	0.1	2.9	0.9	1.3	80.6	73.7	1.82	39.5	533	42.2	ND	1400	780	0.09	0.05	16	ND	0.81	2.76	5.15	ND	ND
15	パオ	千葉県	3	18.6	78	93.6	1.8	0.2	2.4	0.7	1.3	88.8	68.8	1.09	28.3	583	27.6	ND	1900	1100	0.06	0.06	27	ND	1.01	9.64	2.37	ND	0.015
16	壬生菜	埼玉県	3	10.8	45	95.7	0.8	0	1.9	0.5	1.1	111.5	33.5	2.11	42.8	356	20.1	ND	660	370	0.03	0.02	26	ND	0.63	1.69	1.95	ND	0.019

注1. レチノールND<3 μg/100g, カロチンND<6 μg/100g, ひ素(A s)ND<0.05 μg/g, 鉛(P b)ND<0.05 μg/g, カドミウム(C d)ND<0.01 μg/g  
注2. 検体名欄中※は食品成分表に掲載