

微生物部

特集『レンサ球菌感染症の変遷—劇症型の出現』

：A群レンサ球菌感染症と疫学

森田 盛大

臨床と微生物, 23巻, 1996; 1: 35-42.

A群レンサ球菌の疫学像, 特に感染動向, 溶連菌感染症の発生動向, 菌型動向, 薬剤耐性動向について述べた.

ワクチン株様のRFLPを示したムンプスウイルスの追跡調査成績 (第2報)

森田 盛大 斎藤 博之 原田誠三郎

山田 章雄 山崎 修道

平成7年度厚生省予防接種研究班報告書, 1996: 317-321.

秋田県大館地域で1993年に多発した占部株(ワクチン株)様のムンプスウイルス(MV)の動向を追跡調査するため, 秋田県内で1995年に分離されたMVについてRFLP解析したが, 占部株様のMVは検出されなかった. また, 占部株様MV(大館株), 占部株および宮原株のNP~HN遺伝子を比較した結果, 占部株様MVは占部株から派生したものではないと推定された. しかし, 占部株様MVが1994年2月以降大館地域から消失した理由は解析できなかった.

秋田県における地域保健情報と衛研の役割

森田 盛大

第9回公衆衛生情報研究協議会研究会

講演抄録 1996: 3-4.

衛生科学研究所が公衆衛生情報に関する情報センター的役割を目指した背景, 地域保健に資するために開発してきた情報ソフトの概要, 情報センター的機能の推進を障害する問題点などを中心に述べた.

ワクチン株様のRFLPを示すムンプスウイルス野生株の全国調査成績について

斎藤 博之 原田誠三郎 須藤 恒久

森田 盛大 山田 章雄*1 山崎 修道*1

第43回日本ウイルス学会総会

講演抄録 1995: 213

目的と意義: 昨年の本学会において, 自然罹患の患者からワクチン株様のRFLPを示すムンプスウイルス野生株が分離されたことについて報告した. 今回は全国の地方衛生研究所から分離株を募り, この型のウイルスの年代的, 及び, 地域的な出現状況を調査したので報告する.

材料と方法: 全国23カ所の地方衛生研究所から分与された自然感染患者由来のムンプスウイルス分離株182株について, RT-PCRによりP遺伝子内の判定領域を含む199bpの断片を増幅した. これらのRFLP解析を行う一方, 代表株について塩基配列を決定した.

結果: ワクチン株様のRFLPを示すムンプスウイルスが初めて確認されたのは1993年1月に福島県で採取された検体からであった. これ以降, 福島県では13株中8株がワクチン株様のRFLPを示し, 同様に秋田県(18/32), 静岡県(7/7), 栃木県(1/1)と続いた. 1994年に入ると, 山梨県(4/4), 栃木県(1/1), 神奈川県(7/9), 新潟県(2/6), 静岡県(2/4)であった. 1992年以前の73株は全て従来型であった. また, ワクチン株様の野生株の内, 各県で最初に分離されたものを代表株として塩基配列を比較したところ, 判定に用いられるBamHI切断部位の置換は全ての県において占部株と同一(A→G)であった. しかし, 福島県, 静岡県, 栃木県, 山梨県, 新潟県の株は, 占部株に比して判定領域内に3カ所の塩基置換が認められ, 秋田県と神奈川県の株ではこれらに加えてさらに1カ所(両者は異なる)の塩基が置換していた.

考察: ワクチン株様のRFLPを示すムンプスウイルスは, 1993年以降7県において確認されている. また, 地域的には東日本に集中しており, 西日本では110株(14府県)について検討したが全て従来型であった. このウイルスの各県における流行状況を見ると, いずれも特定の市町村に限定されており, 広域に拡大する傾向は認められない. さらに, このウイルスが検出される期間が半年~1年以内で, それ以降は従来型のウイルスと置き換わる点でも共通している. 塩基配列の上では, 福島県をはじめとした5県の株で認められた塩基置換に追加する形で変異が起こっていることから, 秋田県と神奈川県の株はそれぞれこれらから分岐した可能性が高いと考えられる.

謝辞: 調査に御協力いただいた地方衛生研究所の皆様

に深謝致します。

本研究は、高橋義博（大館市立総合病院・小児科）との共同研究である。

*¹ 国立予防衛生研究所

Isolation and Characterization of Mumps Virus Strains in a Mumps Outbreak with High Incidence of Aseptic Meningitis

Hiroyuki Saito, Yoshihiro Takahashi*¹, Seizaburo Harata, Keiko Tanaka, Tsuyoshi Sano, Tsunehisa Suto, Akio Yamada*², Shudo Yamazaki*² and Morihiro Morita

Microbiology and Immunology, 1996 ; 40 : 271-275

In 1993, mumps with high incidence of aseptic meningitis became prevalent in Akita prefecture, Japan. Three mumps virus isolates obtained from the non-vaccine-associated cases lacked the BamHI restriction cleavage site of the P gene like the Urabe strain (Yamada, A. et. al., Vaccine. 8 : 553-557). However, four additional nucleotide substitutions were found in the determined region of 157 bp. Fourteen of 19 cases from which mumps virus showing the Urabe-like RFLP profile was detected were complicated with symptomatic meningitis, whereas there were only four cases of meningitis among 23 individuals infected with the wild type showing no Urabe-like RFLP profile (non "Urabe-like" wild type). The incidence of meningitis was over 70% among patients infected with the "Urabe-like" wild type virus. The "Urabe-like" wild type disappeared after February, 1994 in the epidemic area and was replaced by the non "Urabe-like" wild type. Patients infected with the "Urabe-like" wild type lived in a closed colony, in which there were two instances of transmission between siblings. Thus, this outbreak was transient and closely localized.

*¹ 大館市立総合病院 *² 国立予防衛生研究所

散発下痢症患者から分離された EAST-1 遺伝子保有大腸菌の細菌学的性状

木内 雄 八柳 潤 齊藤志保子
佐藤 宏康 森田 盛大

第49回日本細菌学会東北支部総会
講演要旨集 1995 : 23

目的：最近、腸管集合性大腸菌（EAggEC）が耐熱性毒素（EAST-1）を産生する事が報告された。しかし、EAST-1 産生大腸菌と散発下痢症との関連についての詳細は明らかにされていない。我々は散発下痢症患者の便を対象に EAST-1 遺伝子保有株の検索を実施し、分離株の性状について検討したので報告する。

方法：秋田県内の2病院から分与された散発下痢症患者便134検体を対象として、PCR法により EAST-1 遺伝子保有株を検索した。分離株の生化学的性状は Edward & Ewing の方法に従い検討した。EAST-1 遺伝子の局在は Kado 法により抽出したプラスミドと EAST-1 プローブのサザンブロットハイブリダイゼーションにより検討した。

結果および考察：134名の直腸スワブのうち、4 検体から5株の EAST-1 遺伝子保有株が分離された。分離株5株のうち1株の血清型が既知 EPEC の血清型である O127a : NM であった。生化学的性状は1株を除き定型的な大腸菌の性状であった。分離株はいずれも aggA と aggR を保有していなかったことから、EAggEC とは異なると考えられた。また、2株はプラスミドを保有していなかったことから、染色体上に EAST-1 遺伝子が存在すると推定され、残り3株はプラスミド上に EAST-1 遺伝子が存在することが確認された。以上のことより、EAggEC 以外の大腸菌にも EAST-1 遺伝子を保有するものがあることが初めて明らかとなった。このような株の下痢原性については更に検討していきたいと考えている。

県内で発生した水系感染集団事例から分離された毒素原性大腸菌（ETEC）および EAggEC Heat Stable Enterotoxin-1（EAST-1）遺伝子保有大腸菌の性状

八柳 潤 木内 雄 齊藤志保子
佐藤 宏康 森田 盛大

第49回日本細菌学会東北支部総会
講演要旨集 1995 : 23

目的：1995年3月、県内某町宮住宅で水道水による集団食中毒事例が発生し、患者便や水道水から ETEC と EAST-1 遺伝子保有大腸菌が分離された。この分離株の性状について検討したので報告する。

方法：本事例で分離された ETEC 7株、および EAST-1 遺伝子保有株6株を供試した。供試株の耐熱性毒素（ST）遺伝子、EAST-1 遺伝子、aggR 遺伝子、EAF 遺伝子の検出はPCR法によった。EAST-1、ST のDNAプローブには E. coli 17-2 株、および本事例

から分離された ETEC 3a 株から PCR により増幅した DNA 断片をビオチン標識したものを使用した。

結果および考察：7 株の ETEC はいずれも ST 遺伝子に加えて EAST-1 遺伝子を保有し、血清型は O148 : H28 であった。サザンブロットハイブリダイゼーションの結果から、ST 遺伝子は 7 株とも染色体上に存在すること、また、EAST-1 遺伝子は 5 株がプラスミド上に、2 株が染色体上に存在することが明らかとなった。一方、EAST-1 遺伝子保有株はいずれも血清型は Ouk : H14、プラスミドプロファイルと生化学的性状が共通しており、EAST-1 遺伝子は染色体に存在していた。また、いずれの株も aggR 遺伝子を保有していなかったことから、EAggEC とは異なると考えられた。今回、EAST-1 遺伝子を保有する ETEC が存在し、EAggEC 以外の大腸菌も EAST-1 遺伝子を保有することが明らかとなった。

今後、EAggEC とは異なる EAST-1 遺伝子保有大腸菌の下痢原性大腸菌としての意義についてさらに検討する必要があると考えられた。

秋田県で散発下痢症から分離された Vero 毒素産生大腸菌の性状

八柳 潤 齊藤志保子 森田 盛大

感染症学雑誌, 69巻, 1995 : 1286-1293.

秋田県で1991年6月から1994年11月の間に6事例の散発的 VTEC 感染事例が確認された。これらの事例から分離された VTEC O157 : H7 5株, O26 : NM 1株を対象として VT型, eae 遺伝子と 60MDa プラスミド保有状況, CVD419 プローブ反応性について検討し、秋田県内に VT-2Vh を保有する VTEC が侵淫していること、検討した6株が全て eae 遺伝子、およびサザンブロットハイブリダイゼーションにより CVD419 プローブと反応する 60MDa プラスミドを保有することを明らかにするとともに、これらの株が全て異なる起源に由来する可能性を指摘した。

腸管集合性大腸菌耐熱性エンテロトキシン-1 (EAST-1) 遺伝子を保有する、食中毒事例由来病原血清型大腸菌

八柳 潤 木内 雄 齊藤志保子

佐藤 宏康 森田 盛大

感染症学雑誌, 70巻, 1996 : 73-79.

1995年1月、秋田県南秋田郡G町において Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) O126 :

NM によると考えられる食中毒事例が発生した。分離株の疫学性状は、これらの株が共通の起源に由来することを示していた。一方、分離株は EPEC の下痢原性機構に密接に関与しているとされている eae 遺伝子を保有せず、EAST-1 遺伝子を保有していたが、集合性付着能の発現に関与するとされている aggA 遺伝子は保有していなかった。これらの結果から、EAST-1 がヒトに対して実際にエンテロトキシン活性を示す可能性とともに、EPEC が異なる下痢原性機構を保有する複数の菌種から構成されており、EAST-1 が eae と共にその機構に関与している可能性が示された。

水系感染集団事例から分離された毒素原性大腸菌および腸管集合性大腸菌耐熱性エンテロトキシン (EAST-1) 遺伝子保有大腸菌の性状

八柳 潤 齊藤志保子 木内 雄
佐藤 宏康 森田 盛大

感染症学雑誌, 70巻, 1996 : 215-223.

1995年3月、秋田県のA町で飲料水を原因とする食中毒事例が発生した。患者糞便および飲料水から毒素原性大腸菌 (ETEC) O148 : H28 が、また、患者糞便および浄化槽内の糞便から EAST-1 遺伝子保有大腸菌 Out : Hut が分離された。分離された ETEC は耐熱性エンテロトキシン (ST) 遺伝子に加えて EAST-1 遺伝子を保有していた。ST 遺伝子は全ての株が染色体上に存在していたが、EAST-1 遺伝子は染色体上に存在する株とプラスミド上に存在する株が認められた。EAST-1 遺伝子保有大腸菌 (Out : Hut) の EAST-1 遺伝子は染色体上に存在していたが、これらの株は集合性付着能の発現に関与する aggA 遺伝子を保有していなかった。これらの結果から、EAST-1 遺伝子が腸管集合性大腸菌だけではなく ETEC にも分布していることが明らかとなり、また、EAST-1 遺伝子が ST 遺伝子と同様にトランスポゾンとなっている可能性が示された。

④ジフテリアの発生事例報告 1) 秋田県の事例 — シンポジウム3「最近話題にのぼる感染症」—

八柳 潤

衛生微生物技術協議会第16回研究会

講演抄録 1995 : 43

【はじめに】ジフテリアは以前、乳幼児の重要な伝染病であったが、近年はその発生が減少し、1991年の全国の

患者届け出数は2名にすぎなかった。秋田県においても1986年以来ジフテリアの発生報告がなかったが、1992年8月に6年ぶりで患者が発生した。この事例の概要と検査経過について報告する。

【事例の概要】秋田市内の某社会福祉施設の園生Aが1992年7月21日に発病、入院し26日に肺炎により死亡した。剖検時、ジフテリアが疑われたが、ジフテリア菌は分離陰性であった。一方、26日同園の園生BがAと同様の症状を呈して発病した。そして、8月3日にジフテリア菌が分離され、Bはジフテリアと診断された。このため、園生、職員、家族などの健康調査、保菌調査、予防投薬、未接種者への予防接種、および施設内消毒などの防疫活動が実施され、9月1日に終息宣言が出された。

【材料と検査方法】

保菌検査：第1次保菌検査は8月4日～8月7日に園生、職員、家族など計115名、第2次保菌検査は21日に園生、職員計88名（総計212名）の咽頭スワブを対象としてそれぞれ実施した。

分離・同定：咽頭スワブを変法荒川培地に塗抹し、37℃で48時間培養した。黒色コロニーをDSS培地でスクリーニングし、ジフテリア菌が

疑われる菌株について異染小体染色（ナイセル法）、毒素原性試験（ウサギ皮内反応、Vero細胞変性試験）、生化学的性状試験を実施、同定した。

【検査経過】秋田市内の病院の検査室で園生Bから分離され、当所に搬入された株は異染小体を保有し、毒素活性がジフテリア毒素で中和され、生化学的性状からgravis型ジフテリア菌と同定された。

第1次保菌検査では園生59名中3名からgravis型ジフテリア菌が分離された。そのうち2名は1度発熱が見られたものの健康状態は良好であり、加えてすでに予防投薬が実施されていたことから病院に収容されなかった。残り1名は症状がなかったものの、予防投薬が実施されていなかったことから、大事をとり病院に収容された。第1次保菌検査では陰性とされた家族が8月11日に至って発病し、13日にジフテリアと臨床診断され、病院に収容された。なお、この患者からは17日にgravis型ジフテリア菌が分離された。

その後実施された第2次、第3次保菌検査では全員が陰性となり、加えて検査後に予防投薬も実施されたことから、今後新たな患者発生はないものと判断され、9月1日に終息宣言が出された。

理 化 学 部

GC/MSによる農作物中のダラポンの分析法について

松田恵理子

第32回全国衛生化学技術協議会年会

講演集 1995: 134

ダラポンはイネ科植物に選択的に殺草性を示す浸透移行性の脂肪酸系除草剤で、ナトリウム塩の形で使用される。

ダラポンは水溶性が高く、高感度で残留分析を行うのは困難であり、誘導体化して分析する方法を検討した。メチル化とベンジル化について検討を行った結果、GC/MSで分析する場合、分子量の大きいベンジル化が最適であった。

抽出法については、リン酸三ナトリウムを加えて水抽出し、リン酸とリンタングステン酸を加えて遊離のカルボン酸としてからエーテル抽出する方法を行ったが、りんご、レモン、穀類、種実類で低い回収率を示した。りんご、レモンについては、リン酸とリンタングステン酸を加えて45分間振とうする操作を省くことで、良好な回

収率が得られた。穀類については、 α -アミラーゼ処理し、でんぷんを分解してからエーテル抽出することで良好な回収率が得られた。種実類については、 α -アミラーゼで処理した後、さらにプロテアーゼ、アミログルコシダーゼ処理し、エーテル抽出することで良好な回収率が得られた。

また、併せて水蒸気蒸留による抽出方法も試みたが、小麦で回収率が115.7%と高くなる傾向を示したが、その他については良好な回収率が得られた。

八幡平トロコ地すべり地における地下水の起源及び混合について

小林 勝人* 川原谷 浩* 松葉谷 治*
武藤 倫子

1995年度 日本地球化学会年会

講演要旨集 1995: 80

秋田県八幡平に位置するトロコ地すべり地内の地下水

は周辺の沢水に比べ SO_4^{2-} 濃度が高く、安定同位体比が異なることが報告されてきた。本研究では、その原因を考察する目的で、トコロ地すべり地内にある地すべり抑止用水抜き井から得られた地下水、周辺の沢水及び降水を1カ月毎に採取し、酸素及び水素の安定同位体比、陰イオン濃度、PH、水温の測定を行った。

測定された安定同位体比と陰イオン濃度の関係から、次の傾向を示す4種類の地下水が認められた。

- (1) 水素、酸素同位体比ともに付近の沢水より高く、高 SO_4^{2-} 濃度、低 Cl^- 濃度であり、PHが5~6程度の弱酸性を示すもの。
- (2) 水素同位体比は(1)の地下水よりも沢水の値に近く、酸素同位体比は沢水よりも高い。 SO_4^{2-} 、 Cl^- 濃度が高く、PHは6~7の中性を示すもの。
- (3) SO_4^{2-} 、 Cl^- 濃度は(2)と類似しているが、水素、酸素同位体比が沢水より低いもの。
- (4) SO_4^{2-} 、 Cl^- 濃度が低く、水素、酸素同位体比が沢水に近いもの。

以上の傾向は浅層地下水に他の起源の水が混入した結果と考えられた。

* 秋田大学 鉱山学部

温泉の泉質、泉温変動についての地球化学的考察 —秋田県八幡平地区の温泉について—

武藤 倫子 松葉谷 治*

第32回全国衛生化学技術協議会年会

講演集：1995, 162-163

秋田県北部の八幡平地域では、様々な泉質の温泉が存在しているが、一部の源泉で泉質が年々変化したり、湧出が止まったり、あるいは噴気活動に変化が見られたりしている。このような変化が自然の消長のある一時期にあたるのか、あるいは地熱発電所、ダム、道路の建設などのような開発行為によるのかは議論の分かれるところである。

開発行為の温泉への影響を論じる場合、泉質、泉温、湧出量などの変化の開始時期および経年変化を明らかにすると同時に、変化の様子を詳しく解析することにより、変化の実態を正しく把握することが重要である。

このような観点から、最近、温度や化学成分の変化が著しい銭川温泉と玉川温泉について、温泉水の化学成分値などの結果にもとづき泉質の経年変化を解析し、その実態を明らかにするとともに、変化の要因について考察した。

その結果、銭川温泉(岩の湯)の変動は、2種類の水と CO_2 を含む水蒸気の3成分の混合割合が変化していることによるものであり、玉川温泉(大噴)の変動は、浅層地下水と火山ガスの混合割合が変化していることによるものと考えられた。

* 秋田大学 鉱山学部