

B/73型インフルエンザの流行と血清学的検査——特にCF法の有用性について

*森田盛大 *坂本昭男 *庄司キク
*原田誠三郎 **佐藤了三 ***須藤恒久
****石田名香雄

I 緒言

昭和48年、所謂B/73型インフルエンザが全国的に流行したが、本県における流行は、4月下旬秋田市内に初発して以来、7月下旬まで、県北の一部を除く全県に波及した。この流行パターンについてはすでに報告(森田たち, 1973¹⁾)したので、本報ではインフルエンザの血清学的検査法としての補体結合(CF)試験の有用性について述べたい。

II 実験方法

A 被検血清

被検血清は、昭和48年4月下旬より7月下旬にかけて集団かぜの発生した施設の内、23校の小、中、高等学校生220名から採取した急性期と回復期のペア血清。

B 赤血球凝集抑制(HAI)試験

HAI試験は、被検血清をRDE処理した後、16HAU/mlのHA抗原を用いて、マイクロタイター法によってすべて行なった。

使用HA抗原はB/鹿児島/1/68及び山形衛研から分与されたB/山形/73の2株で、いずれもフ化鶏卵尿膜腔で継代したものである。

C 補体結合(CF)試験

CF試験は2単位のCF-S抗原を用いてすべてマイクロタイター法によって行なった。CF-S抗原は次の如く調製した。(1)B/山形/73株の感染フ化鶏卵尿膜腔を採取しVBSで5回洗浄後凍結融解を2回反復、(2)乳鉢ですりつぶし3倍量のVBSを添加後凍結融解を3回反復、(3)10,000 r p m, 4°C, 15分遠心した上清に1/5量のpacked chicken red cellsを添加し、4°C 1時間放置、(4)3,000 r p m, 4°C, 15分間遠心した上清を粗

CF-S抗原として用いた。

III 実験成績

ペア血清間における有意上昇を試験法別一抗原別にみたのが第1表である。即ち、CF-S抗原を用いたCF法

表1 集団かぜ罹患者についてのインフルエンザ血清学的検査成績
秋田県 s 48.4~7

検査 人員数	HAI 抗原		B/鹿児島/1/68		B山形/73	
	有意 上昇	有意 上昇	+	-	+	-
220	有意 上昇	147 (66.8%)	68	79	101	46
	非 有意	73 (33.2%)	4	69	5	68
		合計	72 (32.7%)	148	106 (48.2%)	114

によって、約67%がB型のインフルエンザと診断された。これに対して、HAI法では、B/73型であるB/山形/73抗原によってすら約48%しか有意上昇せず、B/鹿児島/1/68抗原にいたっては僅か約33%しか有意上昇が認められなかった。結局、いずれかの方法によってB型インフルエンザと判定されたものは220名中152名69.1%であったが、この内容を診断率(信頼度)として再整理してみたのが第2表である。CF-S抗原を用いたC

表2 血清学的にインフルエンザB型感染と判定された152名についての検査方法別診断率

方法	抗原	診断率 %	誤診率 %
HAI	B/鹿児島/1/68	47.4	52.6
	B / 山形 / 73	69.7	30.3
CF	S (B / 山形 / 73)	96.7	3.3

*秋田県衛生科学研究所 試験検査部ウイルス科 **秋田県公衆衛生課
秋田大学医学部微生物学教室 *東北大学医学部細菌学教室

F法の診断率、換言すれば血清学的検査の信頼度は約97%で、最もすぐれた値を示した。

尚、各方法による血清抗体価の上昇比を第3表に示したが、CF-S抗原に対する上昇比が最も顕著に高く、

表3 血清学的にインフルエンザB型感染と診断されたペア血清間の抗体価比

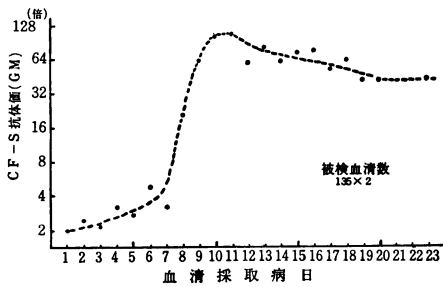
方法	抗原	急性期 (A)	回復期 (C)	C/A比
HAI	B/鹿児島/1/68	×209	×816	3.9
	B/山形/73	×1.2	×21.8	18.2
CF	S (B/山形/73)	×4.1	×76.4	18.6

註1. 被検患者は採血病日の判った135名。

2. HAI抗体価 $\times 32$, CF-S抗体価 $\times 8$ は0としてそれぞれ幾何平均。

抗体レスポンスを明瞭に観察するのに至適であることを示している。又、このCF-S抗体価上昇の病日推移を

図1 インフルエンザB型CF-S抗体価の病日推移



第1図に示したが、抗体価は1病週後から急上昇し、10~11病日でピークに達し、以後漸減していく傾向を示した。すなわち、CF-S抗体価の立ちあがりにはHAI抗体価に比して早く、この意味において、早期血清学的診断法として適していると考えられた。

IV 考 察

最初に、本県におけるB/73型インフルエンザの流行について概説しておきたい。

本流行は、4月19日、秋田市内N中学校に初発後、第3図の如く県内に波及し、7月下旬までに第2図に示すような罹患数が発生した。症状は概ね第4表に示す如きのものであり、又、流行株(B/秋田/2/73)の血清学的性状は概略第5表の如きのものであった。この発生規模は、近年では昭和43—44年のA香港かぜ以来のものであった。そして、本流行は、8月に入って一旦おさまった後、秋から冬に再燃したのである。又、本流行と同時に、極く一部の地区でB/73型出現以前のB型ウイルスによるインフルエンザの局地限定流行も観察された。

図2 秋田県における集団かぜの月別発生推移

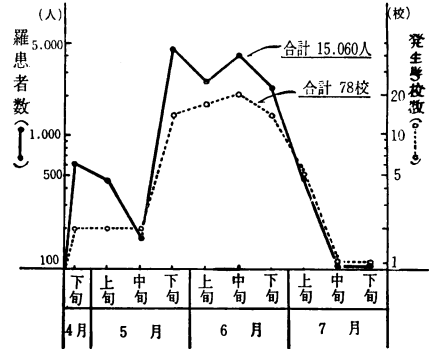
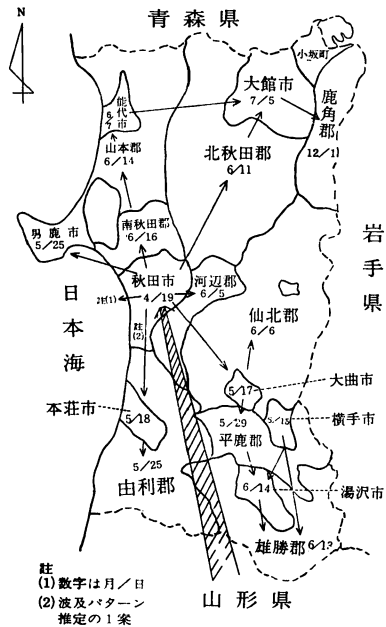


図3 県内各地におけるB/73型インフルエンザによる集団かぜの初発月日



註 (1) 数字は月/日
(2) 波及パターン推定の1案

表4 血清学的にインフルエンザB型感染と診断された患者の症状

症 状	患 者 数	発現率 %
発 熱	113	87.3
37.0~37.9°C	43	31.9
38.0~38.9°C	38	28.1
39.0~39.9°C	26	19.3
≥ 40°C	6	4.4

せき	き	111	82.2
咽頭	痛	79	58.5
頭痛	痛	75	55.6
鼻み	ず	42	31.1
鼻閉	閉	30	22.2
吐気	痛	17	12.6
胸痛	痛	10	7.4
関節	痛	9	6.7
腹痛	痛	6	4.4

(註 135名の問診表から集計)

表5 インフルエンザB型株における交叉HAI試験成績

抗原	B/夫草	B/昭島	B/札幌	B/鹿児島	B/山形	B/秋田	B/秋田
ニフトリ抗血清	/1/65	/2/64	/1/56	/1/68	/73	/1/73	/2/73
B/昭島/2/64	128	512	32	521	<32	32	32
B/札幌/1/65	256	256	512	256	<32	64	64
B/山形/73	<32	<32	<32	<32	512	256	512
B/秋田/1/73	512	512	32	512	64	512	512
B/秋田/2/73	<32	<32	<32	<32	32	64	512

さて、我々は、B/73型による集団かぜが上述のN中学校に初発した際、B/鹿児島/1/68株を用いたHAI試験によって血清学的検査を行ない、第6表に示す成績を得た。すなわち、採血間隔が1週間という短いものであったためか、全例に有意上昇が認められず、B型インフルエンザではないと判定せざるを得なかった。採血間隔2週間という原則で採血すればこの誤診をさげ得たかもしれないが、できるだけ早期に病原診断をし防疫対策をこらざる必要から、又、それまでのインフルエンザの血清学的検査結果からこの位の採血間隔でも診断可能と考えたことに誤診の第1歩があったといえよう。しかし、5月に入って、山形県に新しいB型インフルエンザが流行しているという情報を得て、直ちに山形衛研からその流行株の分与をうけ、再度HAI検査を行なった。その結果、半数にB/山形/73抗原に対して抗体価の上昇が観察され、この集団かぜが新しいB型株によるものであるということが推定された。続いて行なったCF-S抗原を用いたCF法では全例にCF抗体の有意上昇が認められ、更にその後の調査の結果から、本集団かぜは新しいB型ウイルス——B/73型ウイルス——によるものであることが確認されたのである。

従来、インフルエンザの血清学的検査法としてルーチンに愛用されているのはHAI試験であるが、今回のB/73型のような drift strain の流行時には、HAI試験

6表 県内に流行したB/73型インフルエンザの血清学的検査成績

学校別	血清抗体価 患者No.	急性期血清				回復期血清			
		採血病日	HAI価		CF価 B/73	採血病日	HAI価		CF価 B/73
			B/68*	B/73**			B/68	B/73	
秋田市立N中学校 (4月19日発生)	1	2	128	<32	8	9	256	<32	128
	2	2	128	<32	8	9	256	32	256
	3	4	64	<32	8	11	128	<32	64
	4	6	128	<32	8	13	256	<32	64
	5	5	64	<32	8	12	128	<32	128
	6	4	256	<32	8	11	512	64	256
	7	4	64	<32	8	11	128	64	128
	8	4	128	<32	8	11	256	<32	64
	9	4	128	<32	8	11	256	64	128
	10	3	64	<32	8	10	128	32	128
	11	4	<32	<32	8	11	32	<32	64
	12	6	256	<32	8	13	512	128	64
秋田市立K小学校 (5月4日発生)	1	3	64	<32	<8	10	512	64	256
	2	6	256	<32	16	13	1,024	64	64
	3	1	<32	<32	<8	8	32	<32	64
	4	3	1,024	32	16	10	1,024	128	64
	5	4	256	<32	8	11	256	<32	<8
	6	3	128	<32	8	10	256	128	32
	7	3	64	<32	8	10	512	64	128
	8	6	32	<32	≧32	13	32	<32	64
	9	3	64	<32	<8	10	128	<32	128

* B/鹿児島/1/68

** B/山形/73

のみの血清学的検査のみでは必しも確な診断をくだし得ないおそれがあるし、又、このような drift strain を直ちに HA I 試験に用い得ない場合も考慮されるので、group specific な CF (S) 法を併用し、正確な血清学的診断をする必要があると考えられる。又、CF (S) 抗体が HA I 抗体より早期に上昇することも早期診断をする上には利点であろう。

CF 法の有用性についてはこれまでに報告 (日沼たち 1958²⁾) されてきているが、HA I 法に比較して、抗原作製及び手法のわずらわしさなどの理由からあまり利用されていないような傾向がみられる。しかし、CF—S 抗原にしても、必ずしも精製 S 抗原である必要はなく我々が簡単な方法でつくった粗 S 抗原で血清学的検査には充分である。又、手法にしても、抗原、補体及び溶血素の各力価を測定した後小分け分注して -70°C にストックしておけば、少なくとも 1 シーズンは力価が低下せず容易に手軽に CF 試験を行ない得る。我々は A 型と B 型の CF セットを常備し検査をすすめるようにしている。

このように、インフルエンザの検査には、より新しい HA 抗原を用いて HA I 試験を行なうと同時に、group specific な CF (S) 法も併用して行なうことが正確な血清学的診断をする上に必要であることが改めて痛感されたのである。

V 結 論

昭和48年4—7月に県内に流行した B/73 型インフルエンザ—drift strain—に際して、CF (S) 法の有用性を HA I 法で得た成績と比較しながら検討した。又、本流行の実態についても若干概説した。

文 献

1. 森田盛大, 坂本昭男, 庄司キク, 原田誠三郎, 児島三郎, 佐藤アミ, 須藤恒久: 1973年5—6月に発生したインフルエンザ B 型の流行について, 第27回日本細菌学会東北支部総会, 福島市, 1973。
2. 日沼頼夫, 池田知行, 沼崎義夫, 須藤恒久: 小児ウイルス性急性気道感染症の血清診断, 小児科臨床, 12, 32—36, 1958

昭和48年度秋田県内、ポリオの 流行予測調査結果について

*坂本 昭男 *庄司 キク *原田 誠三郎
*森田 盛大 **須藤 恒久

昭和48年度のポリオ流行予測事業として、山本郡藤里町地区と鹿角郡小坂町地区の住民についてポリオ感染源調査と感受性調査を実施したので、その結果を報告する。

(1) 感染源調査としてのウイルス分離は、カニクイザル腎細胞を用いて、藤里町地区昭和48年7月18日採取した

56名の糞便について実施した結果、表1の如く、ポリオⅠ型1株、ポリオⅡ型1株、未同定3株の5株が分離された。

又、小坂町地区は、昭和48年8月24日に採取した54名の結果は未同定1株分離されたにすぎなかった。

表1 藤里町地区及び小坂町のウイルス分離結果

地区名 時期	山本郡藤里町地区 S. 48. 7. 18					鹿角郡小坂町地区 S. 48. 8. 24				
	被 例	検 数	分 陽 性 数	ポ リ オ Ⅰ 型	ポ リ オ Ⅱ 型	被 例	検 数	分 陽 性 数	ポ リ オ	ポ リ オ 以 外 の も の
0	6		2	1	未同定—1	4		1	0	未同定—1
1	8		2	1	未同定—1	8		0	0	0
2	7		1	0	未同定—1	4		0	0	0
3	1		0	0	0	5		0	0	0
4	6		0	0	0	3		0	0	0
5	6		0	0	0	4		0	0	0
6	5		0	0	0	3		0	0	0
7	2		0	0	0	3		0	0	0
8	1		0	0	0	4		0	0	0
9	5		0	0	0	4		0	0	0
10~13	9		0	0	0	12		0	0	0
計	56		5	2	3	54		1	0	1

(2) 次に、感受性調査は本年度よりミドリザル腎細胞を用いすべてマイクロタイター法によって行なったが、両地区のポリオ中和抗体保有率は、表2及び3、図1及び2に示す如く、両地区共にⅡ型に対する中和抗体保有率が他の型より高かった。

また、3才群以下のⅢ型に対する中和抗体保有率はい

ずれの地区においても低く、特に0~1才群において著しい低保有率を示した。

又、3つの型に対する中和抗体をまったく保有しないものが藤里地区0~1才群において2名、小坂町地区において0~1才群が4名、2~3才群に1名、4~6才群に1名認められた。

表2

山本郡藤里町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(+)	3つ共(-)
0~1	15	12 (80)	13 (86.6)	2 (13.3)	1 (6.6)	10 (66.6)	2 (13.3)	2 (13.3)	7 (46.6)	12 (80)	1 (6.6)	4 (26.6)	8 (53.3)	0	3 (20)
2~3	11	6 (54.5)	11 (100)	4 (36.3)	4 (36.3)	4 (36.3)	3 (27.2)	0	2 (18.1)	5 (45.4)	1 (9.0)	4 (36.3)	2 (18.1)	0	5 (45.4)
4~6	20	14 (70)	20 (100)	16 (80)	2 (10)	6 (30)	12 (60)	0	6 (30)	15 (75)	1 (5.0)	10 (50)	6 (30)	0	4 (20)
7~9	11	10 (90.9)	11 (100)	8 (72.7)	1 (9.0)	2 (18.1)	8 (72.7)	0	0	3 (27.2)	0	3 (27.2)	0	0	8 (72.7)
10~12	13	11 (84.6)	11 (84.6)	10 (76.9)	2 (15.3)	3 (23)	8 (61.5)	0	2 (15.3)	4 (30.7)	0	2 (15.3)	2 (15.3)	0	9 (69.2)
13~15	13	12 (92.3)	13 (100)	10 (76.9)	0	4 (30.7)	9 (69.2)	0	2 (15.3)	6 (46.1)	5 (38.4)	6 (46.1)	2 (15.3)	7 (53.8)	4 (30.7)
16~19	10	5 (50)	9 (90)	10 (100)	0	6 (60)	4 (40)	0	2 (20)	4 (40)	2 (20)	4 (40)	2 (20)	0	4 (40)
20~	14	13 (92.8)	14 (100)	14 (100)	0	2 (14.2)	12 (85.7)	0	6 (42.8)	6 (42.8)	3 (21.4)	8 (57.1)	2 (14.2)	1 (7.1)	3 (21.4)
計	107	83 (77.5)	102 (95.3)	74 (69.1)	10 (9.3)	37 (34.5)	58 (54.2)	2 (1.8)	27 (25.2)	55 (51.4)	13 (12.1)	41 (38.3)	24 (22.4)	2 (1.8)	40 (37.3)

表3

鹿角郡小坂町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(+)	3つ共(-)
0~1	16	12 (75)	12 (75)	3 (18.7)	0	9 (56.2)	3 (18.7)	4 (25)	8 (50)	10 (62.5)	1 (6.2)	4 (25)	6 (37.5)	1 (6.2)	5 (31.2)
2~3	14	11 (78.5)	13 (92.8)	6 (42.8)	2 (14.2)	5 (35.7)	6 (42.8)	1 (7.1)	3 (21.4)	13 (92.8)	0	10 (71.4)	3 (21.4)	0	1 (7.1)
4~6	15	10 (66.5)	14 (93.3)	8 (53.3)	1 (6.6)	8 (53.3)	5 (33.3)	1 (6.6)	5 (33.3)	9 (60)	0	8 (53.3)	3 (20)	0	4 (26.6)
7~9	13	10 (76.9)	11 (84.6)	10 (76.9)	1 (7.6)	6 (46.1)	6 (46.1)	0	1 (7.6)	8 (61.5)	7 (53.8)	8 (61.5)	1 (7.6)	0	4 (30.7)
10~12	19	15 (78.9)	19 (100)	19 (100)	2 (10.5)	5 (26.3)	12 (63.1)	0	6 (31.5)	13 (68.4)	3 (15.7)	7 (36.8)	6 (31.5)	1 (5.2)	5 (26.3)
13~15	10	7 (70)	10 (100)	9 (90)	0	4 (40)	6 (60)	0	2 (20)	6 (60)	2 (20)	3 (30)	2 (20)	1 (10)	4 (40)
16~19	13	13 (100)	13 (100)	11 (84.6)	0	2 (15.3)	11 (84.6)	0	2 (15.3)	9 (69.2)	3 (23)	10 (76.9)	2 (15.3)	0	1 (7.6)
20~	14	12 (85.7)	14 (100)	14 (100)	0	2 (14.2)	12 (85.7)	0	5 (35.7)	11 (78.5)	5 (35.7)	7 (50)	4 (28.5)	2 (14.2)	1 (7.1)
計	114	90 (78.9)	106 (92.9)	80 (70.1)	6 (5.2)	41 (35.9)	61 (53.5)	6 (5.2)	32 (28.0)	79 (69.2)	15 (13.1)	57 (50)	27 (23.6)	5 (4.3)	25 (21.9)

図1 藤里町地区ポリオ中和抗体保有率(%)

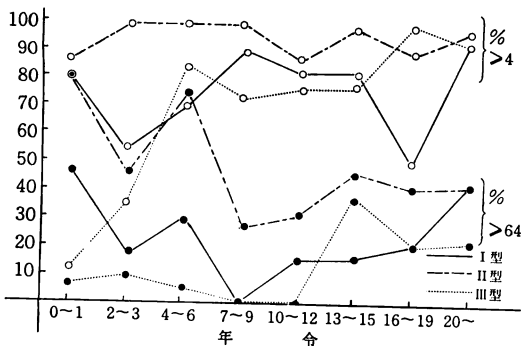
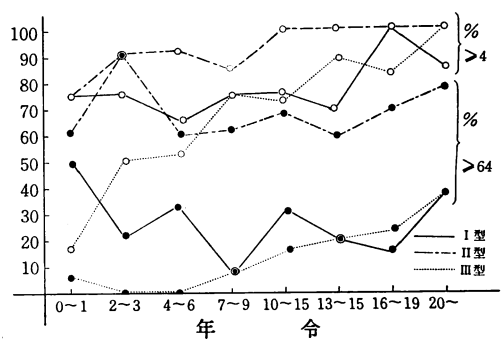


図2 小坂町地区ポリオ中和抗体保有率(%)



昭和48年度秋田県に於ける日本脳炎の 流行予測調査について

原田誠三郎* 柴田芳実**

I ま え が き

秋田県に於ける昭和48年度の日本脳炎流行予測調査は、昭和42年度(須藤ら, 1968) 1)からの継続事業である厚生省委託調査に、県単独調査を加えて実施してきたが、本報ではこれらの調査成績について報告する。

尚、昭和48年度は2名の日本脳炎疑似患者が発生したが、この内1名はヘルペスウイルスによる脳炎であった。

II 材料及び方法

A 被検豚血清

被検豚血清は、表1に示すように、県内3ヶ所の各と畜場を選定し、1回につき20頭、合計540頭の豚血清を採取した。即ち、厚生省委託調査のと場豚血清は、本県中央部の秋田畜産公社と場を選定し、昭和48年4月から昭和49年3月までの間、採取した。但し、昭和48年4月と昭和48年10月—12月の期間は県単独調査として実施した。又、県内全般の状況を明らかにするために、県南部は横手と場、県北部は大館と場の各地域を選定し、昭和48年7月から昭和48年9月までの間、県単独調査として実施した。

表1 検査材料採取表

と畜場名	区域	採血期間	採血豚数 (生後5~8ヶ月)	備考
秋田畜産公社と場	県中央部	S.48年4月—S.49年3月	420	厚生省委託調査 県単独調査
大館と場	県北部	S.48年7月—S.48年9月	60	
横手と場	県南部	S.48年7月—S.48年9月	60	

B 日本脳炎H I抗体価測定方法

日本脳炎H I抗体価測定方法は厚生省指定の方法(厚生省, 1973²⁾)に従った。

III 調査結果

昭和48年度の厚生省委託調査及び県単独調査として、日本脳炎H I抗体価測定調査を実施した結果、表2及び表3に示す調査成績が得られた。即ち、昭和48年度の日本脳炎H I陽性豚の出現率は、表2及び表3、図1及び2に示す如く、平均8.9%で、昭和47年度の平均2.3%に比較すると約4倍の高い出現率を示した。これまでのH I陽性豚の出現率は、図2に示す如く、昭和42年度をピークとして、概ね1年サイクルで変動す傾向を示してい

た。

県内におけるH I陽性豚の出現期間は、例年8月下旬から9月中旬頃であったが、本年度は7月下旬から出現し9月3週目に第1のピークを作った後、一旦低下し、10月3週目より再び陽性豚の出現が増加し、49年5週目に第2のピークを形成し、例年のない異例の出現パターンを示した。この原因については現在解析を加えており別途報告する考えである。

次に県内3ヶ所の各と場におけるH I陽性豚の平均出現率を比較すると、県中央部の秋田畜産公社と場が11.2%と県南部及び県北部のと場よりも高い傾向を示した。又、県南部と県北部のと畜場間では大差はみられなかった。

*秋田県衛生科学研究所 試験検査部ウイルス科

**秋田県衛生科学研究所 試験検査部細菌科

表2 昭和48年度日本脳炎流行予測調査（と畜場豚のH I 抗体価測定）—厚生省委託事業

と畜場名	採血検査 年月日	検査 頭数	H I 抗体価													H I 陽性 数 ≥ 10 (陽性率)	2ME感 受性抗体 保有数 (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	1280	≥ 2560						
秋田畜産 公社と場	S.48 4.16	20	20													0		※
〃	5.14	20	20													0		
〃	6.11	20	20													0		
〃	7.2	20	20													0		
〃	7.9	20	20													0		
〃	7.16	20	20													0		
〃	7.23	20	20													0		
〃	7.30	20	18	2												2 (10%)		南秋田郡井川町—2
〃	8.6	20	20													0		
〃	8.20	20	19					1								1 (5%)	1 (100%)	南秋田郡昭和町—1
〃	8.27	20	20													0		
〃	9.1	20	20													0		
〃	9.10	20	13	3								3	1	7 (35%)	4 (100%)		秋田市—7	
〃	9.17	20	15				1					4		5 (25%)	5 (100%)		南秋田郡五城目町—4 〃 昭和町—1	
〃	9.26	20	20													0		
〃	10.15	20	15	2								3		5 (25%)	3 (33%)		南秋田郡八郎潟町—4 秋田市—1	
〃	11.12	20	13								3	4		7 (35%)	7 (100%)		秋田市—3南秋田郡—4※	
〃	12.11	20	14	1	1			1		1	2			6 (30%)	4 (100%)		秋田市—4鹿角市—2※	
〃	S.49 1.21	20	11			1	1	2	2	3				9 (45%)	0		秋田市—9	
〃	2.18	20	19					1						1 (5%)	0		秋田市—1	
〃	3.18	20	16					1	1	1	1			4 (20%)	0		秋田市—4	
計		420	373	8	1	1	2	6	3	8	17	1	47(11.2%)	24 (51%)				

※厚生省委託事業以外の調査

図1 昭和48年度日本脳炎HAI抗体および2メルカプトエタノール(2ME)感受性抗体調査成績

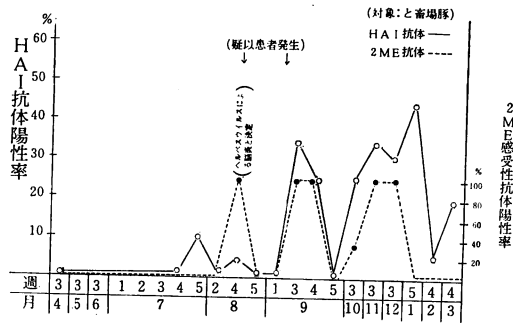
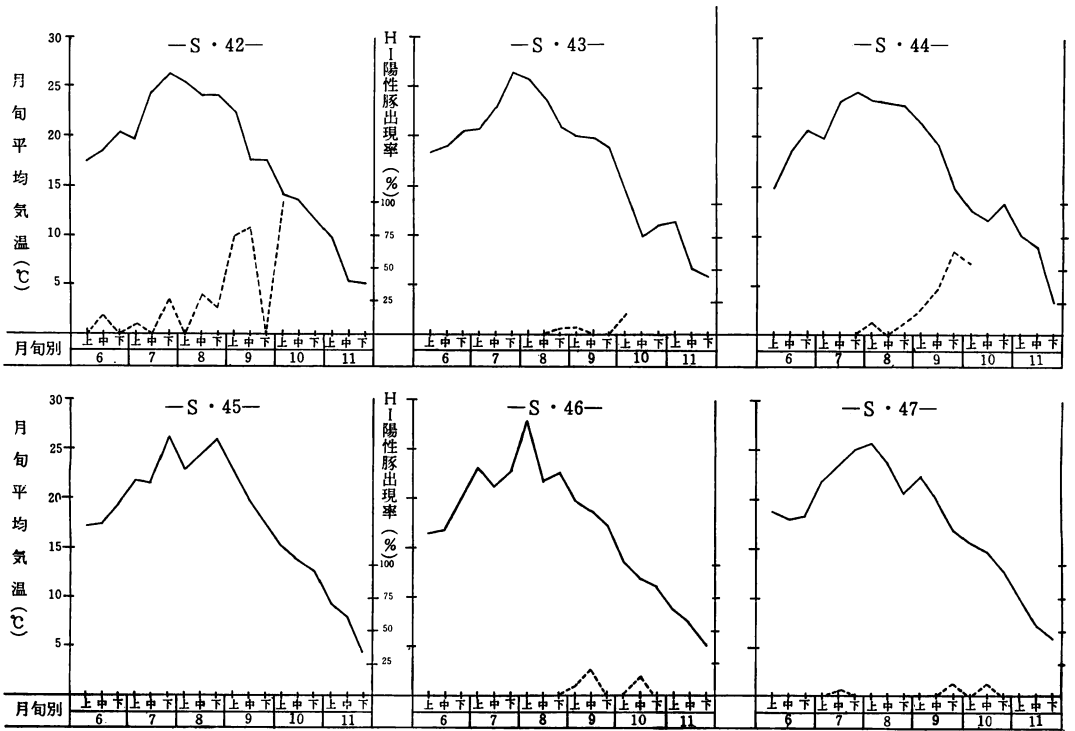


表3 昭和48年度日本脳炎流行予測調査(と畜場豚のHI抗体価測定)

と畜場名	採血年月日	検査頭数	H I 抗体価										HI陽性数 ≥10 (陽性率)	2ME感受性抗体保有数(保有率)	HI陽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	昭.48 7.24	20	19	1										1 (5%)		雄物川町—1
〃	8.21	20	20											0		
〃	9.18	20	20											0		
小計		60	59	1										1 (1.7%)		
大館と場	昭.48 7.23	20	20											0		
〃	8.21	20	20											0		
〃	9.17	20	20											0		
小計		60	60											0		
計		120	119	1										1 (0.8%)		

第1表	合計	540	492	9	1	1	2	6	3	8	17	148(8.9%)	24 (50%)	
第2表														

図 2



IV まとめ

昭和48年度の厚生省委託及び県単独の日本脳炎流行予測調査成績は次のとおりであった。

- (1) 県中央部（秋田畜産公社と場）におけるHI陽性豚の出現率は平均11.2%と、例年より高く、又、出現時期のパターンも、49年1月に最も高い出現率が観察されるなど例年ないパターンを示した。
- (2) 2ME感受性抗体の出現率からみると、8月4週9月3—4週、11月及び12月の第3週においてそれぞれ100%の出現率を示し、特に、11月及び12月に2ME感受性抗体が検出されたことは、陽性豚の出現が例年ない異常パターンを示した原因の1つとなっているものと考えられた。
- (3) 県北部（大館と場）及び県南部（横手と場）におけるHI陽性豚の出現率は、県南部と県北部とでは

大差がなく、1.7%~0%であった。

- (4) 尚本年度は2名の日本脳炎疑似患者が発生し、この内1名はヘルペスウイルスによる脳炎であることがウイルス学的に明らかにされた。

稿を終るにあたり、と場豚採血に御協力を戴いた秋田保健所、大館保健所、横手保健所、秋田畜産公社の担当各位に、深く謝意を表します。

文 献

- 1) 須藤恒久, 小林運蔵, 茂木武雄, 児玉栄一郎, 園部寿昭: 秋田県に於ける日本脳炎ウイルスの侵淫について昭和42年日本脳炎流行予測事業を中心として, 秋田衛研所報, 12, 71—76, 1968.
- 2) 厚生省公衆衛生局防疫課: 昭和48年度伝染病流行予測調査実施要領。

トキソプラズマ侵淫実態に関する調査研究

庄司 キク* ・坂本 昭男* ・原田誠三郎*
森田 盛大* ・児島 三郎**・今野 等***
佐藤 了三****・大山 鉦一*****

I 緒 言

我々は、脳水腫、脈絡膜網膜炎、脳内石灰化巣等の先天性疾患やリンパ腺炎、脈絡膜網膜炎等の後天性疾患を若起するトキソプラズマ原虫の県内における侵淫実態を明らかにするを目的として、一般住民及びトキソプラズマと密接に関係のある職業に従事していると畜場関係者及び畜産関係者を対象として調査したので、その結果を概略報告する。

A 栄研法とマイクロタイター法の比較成績

マクロ法の栄研法による IHA 抗体価と本調査に用いたマイクロタイター法による IHA 価を 63 例の血清について比較した結果、第 1 図の如き成績が得られた。即ち、直線上にプロットされたのが 34 例、栄研法が 2 倍高かったのが 16 例及び 4 倍高かったのが 2 例であったのに対して、マイクロタイター法が 2 倍高かったのが 13 例、4 倍高かったのが 5 例及び 8 倍高かったのが 1 例であった。

II 調査方法

A 被検血清

被検血清は(1)昭和46年1～7月、県立中央病院で梅毒検査のため377名から採取した血清(一般住民群)(2)昭和48年1～2月、県内各と畜場関係者294名より採取した血清(と畜場関係者)(3)並びに昭和49年2月、県内各家畜保健衛生所及び畜産試験場の畜産関係84名より採取した血清(畜産関係者)で、いずれも検査時迄 -20°C に保存した。

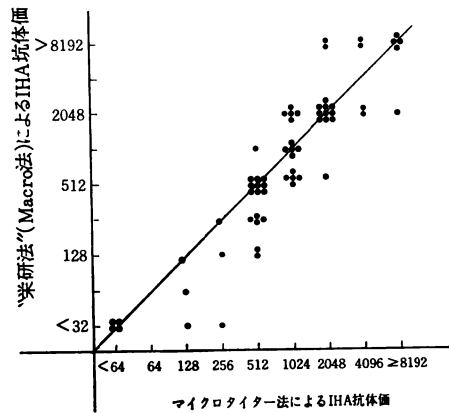
B. トキソプラズマ間接赤血球凝集抗体価測定法 (IHA)

IHA 価は栄研製の感作抗原をマイクロタイター法 (U プレート) 用に調製後、次の様に測定した。

被検血清 0.05ml を 56°C 、30分不活化した後、希釈溶解液 0.05ml と 10% 吸収血球液 0.2ml を添加し、 4°C 1夜放置後 $2,000\text{rpm}$ 、5分遠心した上清を IHA 価測定に供した。

抗体価の測定は、U プレートをを用いて、(1)血清を希釈液で 2 倍希釈、(2)希釈液を 0.25ml 追加、(3)栄研製の標準感作血球液を 8.3% (この抗原濃度による陽性対照血清 IHA 価はマクロ法と一致) に希釈したものを 0.05ml 添加し、(4)室温 1 夜放置後判定した。判定は 1 以上の凝集像を示す血清希釈倍数の逆数をもって IHA 抗体価とした。

図 1 栄研法とマイクロタイター法による IHA 抗体価の比較



栄研法による測定値の幾何平均値は 535 倍であるのに対して、マイクロタイター法による幾何平均値は 696 倍であった。このように、栄研法とマイクロタイター法の測定値間に若干のぶれがみられたが、ほぼ許容可能な範囲と考え、本調査ではマイクロタイター法を採用した。尚、栄研製の感作抗原には Lot 差がみられたので、後述する測定値はすべて 2 回以上測定して得られたものである。

B. 年令別トキソプラズマ IHA 抗体保有状況

一般住民、と畜場関係者、畜産関係者の年令別抗体保有率を第 1 表及び第 2 図に示した。

III 調査成績

*秋田県衛生科学研究所 試験検査部ウイルス科 **秋田県衛生科学研究所所長 ***環境保健部 環境衛生課
****環境保健部 公衆衛生課 *****農政部 畜産課

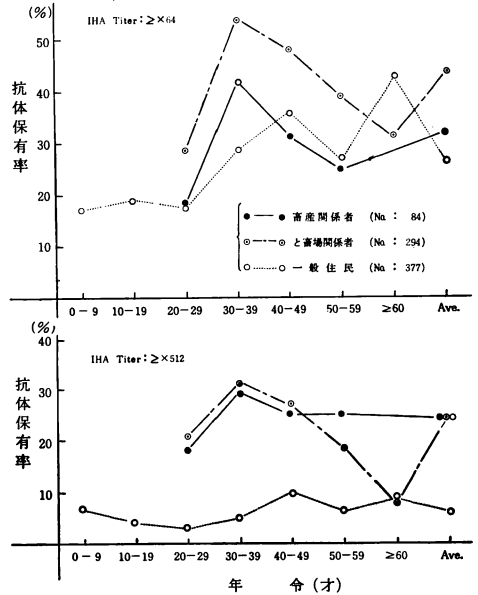
表1 年令別トキソプラズマ IHA 抗体保有率

年令別 (才)	被検 数	IHA 抗体保有率 %					計
		×64 ~ 256	×512	×1024	≧×2048		
0—9	一般住民	47	10.6	6.4	0	0	17.0
	と畜場関係者	0					
	畜産関係者	0					
10—19	一般住民	52	15.4	3.8	0	0	19.2
	と畜場関係者	1	0	0	0	0	
	畜産関係者	1	0	0	0	0	
20—29	一般住民	69	14.5	2.9	0	0	17.4
	と畜場関係者	49	8.2	8.2	12.2	0	28.6
	畜産関係者	17	0	11.8	5.9	0	17.6
30—39	一般住民	63	23.8	3.2	1.6	0	28.6
	と畜場関係者	80	22.5	15.0	6.3	10.0	53.8
	畜産関係者	24	12.5	4.2	25.0	0	41.7
40—49	一般住民	50	26.0	6.0	2.0	2.0	36.0
	と畜場関係者	102	21.6	12.7	4.9	8.8	48.0
	畜産関係者	32	6.3	6.3	15.6	3.1	31.3
50—59	一般住民	49	20.4	4.1	2.0	0	26.5
	と畜場関係者	49	20.4	8.2	6.1	4.1	38.8
	畜産関係者	8	0	0	12.5	12.5	25.0
≧60	一般住民	47	34.1	4.3	2.1	2.1	42.6
	と畜場関係者	13	23.1	0	7.7	0	30.8
	畜産関係者	2	0	0	0	0	
計	一般住民	377	20.4	4.3	1.1	0.5	26.3
	と畜場関係者	294	19.4	11.2	6.8	6.5	43.9
	畜産関係者	84	6.0	6.0	15.5	2.4	29.8

まず、一般住民でみると、1:≧64抗体分布では、0~9才ですでに約17%が抗体を保有し、且つ、この保有率は加齢と共に漸次上昇し、60才以上群の約43%がピークであった。1:≧512の抗体保有率レベルでは3~10%といずれも低率であった。

このような一般住民の、1:≧64及び1:≧512抗体保有率を、と畜場関係者及び畜産関係者のそれらと比較すると、と畜場関係者ではいずれの抗体保有率も一般住民より有意(1%危険率)に高かったが、畜産関係者では1:≧64レベルでは大差なく、1:≧512レベルにおいて

図2 職種別及び年令別トキソプラズマ IHA 抗体保有率



のみ有意差であった。即ち、と畜場及び畜産という特定職種、特に前者におけるトキソプラズマ汚染が一般住民に比して著しいことが示唆された。

次に年令別に見てみると、と畜場関係者及び畜産関係者の両群とも30~39才においてピークを示し、一般住民のパターンと相異していた。

C. と畜場関係者、畜産関係者における経験年数別トキソプラズマ IHA 抗体保有状況

と畜場関係者及び畜産関係者の経験年数別トキソプラズマ抗体保有率を第2表、第3図に示した。

と畜場関係者でみると経験年数が多くなるにともない、抗体保有率が漸増する傾向がみられたが顕著なものではなかった。

即ち、各経験年数の群間には有意差はなく、例えば、1~5年群と20年以上群との群間には有意差は認められず、従って顕著な差とはいえなかった。

畜産関係者においても同様であり、いずれの群間においても有意差は認められなかった。

D. 職種別トキソプラズマ IHA 抗体保有状況

と畜場関係者をと畜検査員、と畜場従事者、と畜業者及び食肉店舗従事者に、畜産関係を獣医師、飼育従事者及びその他に分類してトキソプラズマ感染の実態を観察

表2 経験年数別トキソプラズマ IHA 抗体保有率

経験年数別	被検数	IHA 抗体保有率 %					
		×64 ~256	×512	×1024	≥×2048	計	
1—5	と畜場関係者	62	19.4	11.3	6.5	1.6	38.8
	畜産関係者	16	0	6.3	12.5	0	18.8
6—10	と畜場関係者	57	12.3	10.5	3.5	8.8	35.1
	畜産関係者	16	18.6	6.3	18.6	0	43.5
11—15	と畜場関係者	54	24.0	13.0	7.4	5.6	50.0
	畜産関係者	19	5.3	10.5	15.8	0	31.6
16—19	と畜場関係者	41	22.0	14.6	7.3	4.9	48.8
	畜産関係者	8	0	0	25.0	0	25.0
≥20	と畜場関係者	80	20.0	7.5	10.0	10.0	47.5
	畜産関係者	25	4.0	4.0	12.0	8.0	28.0

図3 経験年数別トキソプラズマ IHA 抗体保有率

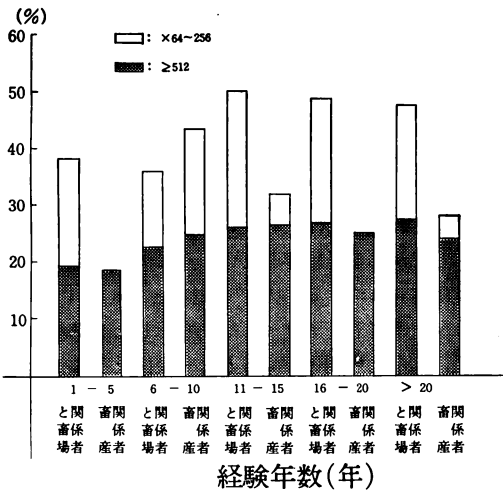
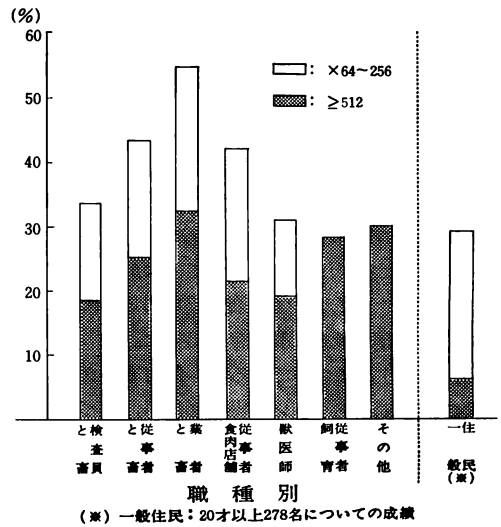


表3 職種別トキソプラズマ IHA 抗体保有率

職種別	被検数	IHA 抗体保有率 %				
		×64 ~256	×512	×1024	≥×2048	計
と畜検査員	51	15.6	5.9	5.9	5.9	33.3
と畜従事者	88	18.2	18.2	2.3	4.5	43.2
と畜業者	31	22.6	6.4	12.9	12.9	54.8
食肉店舗従事者	124	20.6	11.7	10.8	7.8	41.9
獣医師	42	11.9	4.8	11.9	2.4	31.0
飼育従事者	32	0	9.4	15.6	3.1	28.1
その他	10	0	0	30.0	0	30.0
一般住民 (≥20才)	278	23.0	4.0	1.4	0.7	29.0

図4 職種別トキソプラズマ IHA 抗体保有率



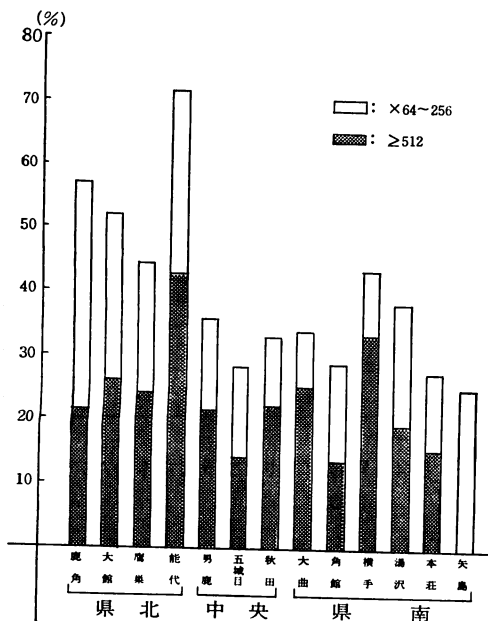
F. 地域別トキソプラズマ IHA 抗体保有状況

と畜場関係者294例、畜産関係者84例計378例の成績を県北区、中央区及び県南区と3群に大別してみると第5図の如くであった。

県北区では、1: ≥64 (55.2%) 及び 1: ≥512 (28.8%) 共に最とも保有率が高く、次に、県南、中央の順であった。

してみたのが第3表、第4図である。即ち、一般住民(20才以上)と比較すると、と畜検査員、獣医師、飼育従事者及びその他の場合では、1: ≥64抗体保有率では有意差でないが、1: ≥512では明らかに有意差で高率であった。この傾向はと畜場従事者、と畜業者及び食肉店舗従事者でより顕著になり、1: ≥64及び1: ≥512のいずれの抗体保有率においても有意に高かった。

図5 地域別トキソプラズマ IHA 体保有率



IV 考 察

本県におけるトキソプラズマの汚染状況についてはこれまでいくつか報告（児島たち，1966¹⁾，田口たち，1961²⁾，伊藤たち，1971³⁾）されてきたが，我々も，県内におけるトキソプラズマ感染実態を明らかにすべく調査いくつかの興味ある事実を見出した。

まず，一般住民についてみると，保有率パターンは加令と共に漸増するパターンが得られたが，いづれの保有率レベルも新潟（鈴木たち，1971⁴⁾），東京（常松，1967⁵⁾），福岡（鬼木たち，1968⁶⁾）などのそれらと比較すると明らかに低い傾向がみられた。

この傾向は県内平鹿地方の住民を対象とした伊藤らの調査成績（伊藤たち，1971³⁾）と同様であった。しかし，帯広（長田たち，1969⁷⁾）より高い保有率である。このように，抗体保有率には北低南高の傾向がみられるようであるが，この成因を解析することは，今後のトキソプラズマ対策を考究する上に重要と考えられるので検討されていく必要がある。

いづれにせよ，比較的低率とはいへ一般住民の中でトキソプラズマの侵淫が行なわれている以上，トキソプラズマ問題は軽視できず，特に妊娠との関連の中で或いは後述の特定職種との関連の中で重視されていかねばならない。従って，予防衛生或いは公衆衛生面からの対策の積極的な具体化が必要であろう。

このように，本県におけるトキソプラズマの侵淫は西

日本における成績に比して比較的低率であり，しかも陽性者の大半は64～256倍の低い抗体価しか示さなかったわけであるが，これらの陽性者の多くは抗体価レベルからみて不顕性感染の状態にあると考えられる。

次に，所謂感染免疫と考えられているトキソプラズマの場合，感染の起始点から終結点までの期間（抗体産生持続期間）は一般的にはどのくらい持続するのであろうか。七山ら（1972⁸⁾）の調査では，3年間で抗体が消失したのは約18%にすぎなかったし，また，長田ら（1969⁷⁾）も16ヶ月間に抗体価の下降を認めたのは僅か7%しか認めなかったが，この点からみても，トキソプラズマの生体内における持続期間はかなり長期的である可能性が十分に推測されるのである。トキソプラズマの場合，高い液性抗体産生にもかかわらず，細胞内の原虫，特にシストは液性抗体の作用をうけたいという可能性も示唆されているが，トキソプラズミン反応のアレルギー反応が認められる以上，細胞性免疫も明らかに関与しており，従って両者の免疫との関連の中で，トキソプラズマの感染と防禦を考慮しなければならない。

次に，と畜場関係者や畜産関係者などの動物と密接に接触している特定職種におけるトキソプラズマの感染実態であるが，一般住民と比較して，明らかに高い抗体保有率と高抗体価レベルが観察され，高密度のトキソプラズマ汚染と感染の機会にさらされている可能性が強く示唆された。特に一般住民では僅か約6%しか認められなかった所謂512倍以上の抗体価の陽性者が，と畜場関係者では約25%及び畜産関係者では約24%も観察されたことは留意されなければならない。しかし，これらの職種に従事してからの経験年数という点についてみると，顕著な差はみられず，経験年数の増加とともに1：≥512の抗体保有率が若干漸増する傾向を示したにすぎなかった。又，加令との関係のみでみると，一般住民とはやや趣を異にして，いづれの職種においても，30～39才群が最も高率であった。これらの職種にあってはトキソプラズマの感染密度が一般住民に比較して高く，従って，一定の従事期間があればトキソプラズマに感染する可能性が高い従事環境であることを間接的に示唆しているものと考えられる。

このように，と畜場関係や畜産関係者などの職種がトキソプラズマ感染を常に考慮しなければならない環境に従事していることは軽視できず，健康管理を含めたトキソプラズマ汚染防止のための具体策を可能な範囲から検討していく必要がある。

V 結 論

本県におけるトキソプラズマ感染実態を調査した結果

(1) 本県のトキソプラズマに対する I H A 抗体保有率は、加令と共に漸増するパターンを示し、平均26.3%であったが、これは東北以南における保有率より小さく、感染密度がそれらより小さいことが推定された。

(2) これに対して、と畜場関係者及び畜産関係者では、平均抗体保有率がそれぞれ43.9%及び29.8%であり、特に高値の抗体保有者が一般に比して多数検出され、これらの職域におけるトキソプラズマ感染の密度が高いと推定された。

最後に、本調査に御協力下さいました県環境衛生課、公衆衛生課、畜産課、各保健所並びに各家畜保健衛生所の方々に深謝します。

文 献

- 1) 児島三郎, 桜井尚, 松井タカ, 細部弘, 児玉栄一郎 藤沢宗一: 秋田県におけるトキソプラスミン皮内反応実施成績について, 秋田衛研所報, 10, 22—23, 1966
- 2) 田近早苗, 伊藤富美雄, 大山鉦一, 塩地謙: 豚トキソプラズマ病皮内反応抗原の野外応用調査報告書(秋田県中央家畜保健衛生所), 1961。
- 3) 伊藤昭一, 渡辺和弘, 佐々木四郎: 秋田県南地方におけるトキソプラズマ症の疫学的研究, 秋田県農村医学会雑誌, 18, 13—17, 1971。
- 4) 鈴木俊夫, 米谷武士, 大鶴正満: 新潟県における *Toxoplasma* 症の疫学, *Acta Medica et Biologica* 18, 261—268, 1971。
- 5) 常松之典: トキソプラズマ感染症の研究, 日本細菌学雑誌, 22, 179—190, 1967。
- 6) 鬼木信乃夫: トキソプラズマ性網脈絡膜炎⁸⁶症例についての臨床的考察, 臨床眼科, 22, 137—148, 1968
- 7) 長田富香, 白坂竜曠, 弥吉真澄, 中野寿夫, 江成由紀子: トキソプラズマ赤血球凝集反応の抗体価の消長とその意義について, 日本細菌学会雑誌, 24, 562—563, 1963。
- 8) 七山悠三, 佐々木照夫, 島田順子, 滝口栄一, 本田作爾, 井筒繁: ヒトのトキソプラズマ血球凝集反応抗体調査, 日本獣医学雑誌, 25, 440—443, 1972。

森吉地方に流行した *M. pneumoniae* による 下気道炎と *M. pneumoniae* の血清疫学

森田 盛大* • 庄司 キク* • 原田誠三郎*
坂本 昭男* • 佐藤 了三** • 柿崎 善明***
須藤 恒久**** • 石田名香雄*****

I はじめに

昭和47年11月～48年1月、北秋田郡森吉地方に *M. pneumoniae* (MP) による下気道炎が多発流行した。このような多発流行が認められたのは県内では最初であるが、本報では、MPの血清疫学調査を中心に本流行の概要について報告したい。

II 実験方法

A 被検血清

被検血清は次の1697名から採取したもので、検査時まで -20°C に保存した。

(1) 昭和47年11月～48年2月、公立米内沢総合病院で受診した下気道炎患者90名及び上気道炎患者66名から採取したペア血清及び一部単一血清、(2) 昭和43年～48年にかけて県内一般住民1,095名から採取した血清、(3) 昭和44年ポリオ流行予測調査で森吉地方一般住民103名から採取した血清、(4) 昭和48年2～3月公立米内沢総合病院で呼吸器疾患以外の疾患で受診した患者312名から採取した血清、及び、(5) 昭和48年5月森吉小、中学校生徒187名から採取した血清。

B. *M. pneumoniae* の分離

下気道炎患者21名から採取した咽頭拭い液について石田ら(1966¹⁾)の方法によってMP分離試験を行なった。

C. 補体結合(CF)抗体価の測定

補体結合抗体価は、被検血清をVBSで $1/4$ に稀釈し 56°C 30分非働化後、栄研製のCF抗原2単位を用いて、すべてマイクロタイター法で測定した。

III 実験成績

A 患者のMP病原検索成績

患者156名のペア血清及び単一血清についてMPに対するCF抗体価を測定した結果、下気道炎患者90名中64名(71%)及び上気道炎患者66名中2名(3%)にCF抗体価の有意上昇又は64倍以上の高抗体価が認められ、MP感染と診断された。

又、下気道炎患者21名から採取した咽頭拭い液から11株のマイコプラズマが分離され、この内5株はコロニーの性状及び生物学的性状などからM・Pと同定された。

M・P感染と診断された患者の月別及び年齢別発生分布は、第1図に示す如く、12月をピークとして7～9才に多発したことを示した。又、家族内発生は、調査票から、13家族に発生していることが推定された。

又、これらの病原確定患者数から森吉地区におけるM・Pによる下気道炎の罹患率(対人口1万)は39.1であった。

*秋田県衛生科学研究所試験検査部ウイルス科

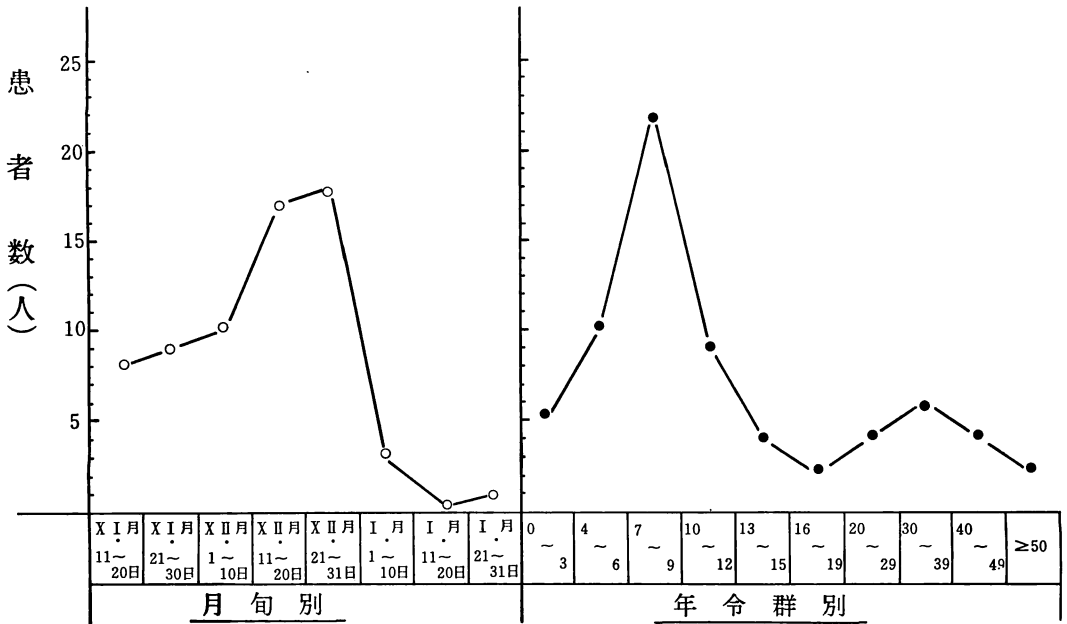
**秋田県公衆衛生課

***公立米内沢総合病院

****秋田大学医学部微生物学教室

*****東北大学医学部細菌学教室

図1 血清学的に診断されたマイコプラズマ患者の月旬別及び年齢別発生状況



B. CF抗体価と寒冷凝集素 (CA) 価の病日推移

MP 感染と診断された66名の CF 抗体価と CA 価の病日推移をみたのが、第2及び3図である。

CF 抗体価は発病初期より認められ、10病日から急上昇し、ピークは28—30病日の223倍であった。

CA 価はすべて公立米内沢総合病院で行なわれたものであるが、MP 患者は非MP 患者に比較して高い CA 価を示した。しかし、MP 患者であっても低い CA 価や CA 価の上昇がみられないものも認められ、必ずしも適当ではなかった。

図2 マイコプラズマ患者のマイコプラズマに対する補体結合抗体価の病日推移

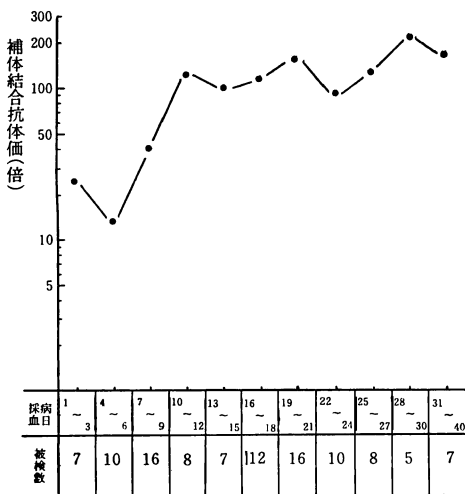
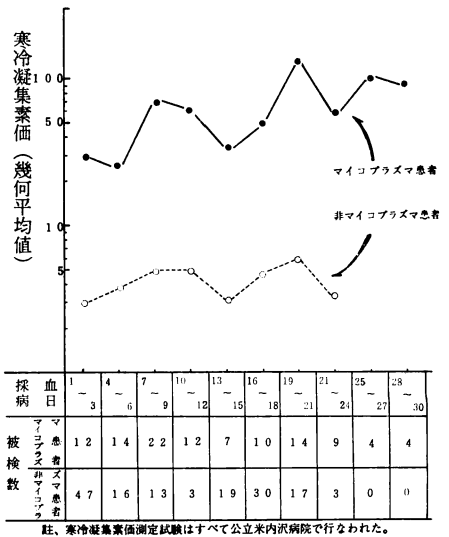


図3 寒冷凝集素価の病日推移



註、寒冷凝集素価測定試験はすべて公立米内沢病院で行なわれた。

C. CF抗体産生の持続性

CF 抗体産生の持続性について追跡したのが、第4及び5図である。すなわち、患者3名について長期観察した結果が第4図で、約1/2年~3/2年で抗体価は1/8~1/32に減少した。又、流行後の48年5月に採取した森吉小、中学生の血清で64倍以上の高い抗体価を示したものの内15例について、304日後(49年3月)再採血し調べた結果、第5図に示す如く、約1/6に減少し

平均13.3倍のCF価を示した。上述のMP患者のピーク時のCF抗体価223倍(28~30病日)と比較すると、約1/17に低下していた。

図4 マイコプラズマ患者のCF抗体価の下降

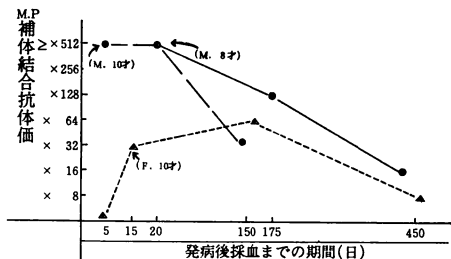
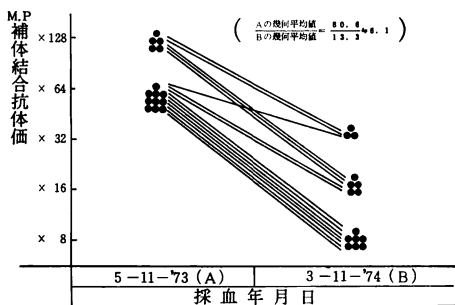


図5 マイコプラズマ感染者のCF抗体価の下降



D. MPの血清疫学調査成績

1. 県内住民のMPに対するCF抗体分布

昭和43年~48年にかけて県内各地の一般住民1,198名から採取した血清のCF抗体保有分布をしらべ、第6図に示す成績を得た。即ち、平均抗体保有率は約20%で加齢と共に僅かに上昇するパターンを示したが、抗体価は平均12倍で年齢群間における変動は小さかった。

2. MP流行前後の森吉地方住民のMP・CF抗体保有分布の変動

流行前後(昭和44年及び昭和48年2~5月)の森吉地方住民から採取した血清602例についてMPに対するCF抗体分布をしらべた結果第7図に示す如き成績が得られた。すなわち、流行前に採取した血清の平均CF抗体保有率は約33%で、第6図の県内平均CF抗体保有率約20%と比較して有意に高く、この地区におけるMPの侵襲が県内の他地区に比してやや顕著な傾向を示唆した。更に、流行後になると、流行前をさらに有意に上廻り、平均51%の抗体保有率を示したが、特に19才以下の年齢群において顕著であった。本流行時におけるMP侵襲年齢層は流行前後の抗体保有率パターンの差(第7図斜線部)と推定された。

図6 秋田県内住民のマイコプラズマ補体結合抗体保有状況

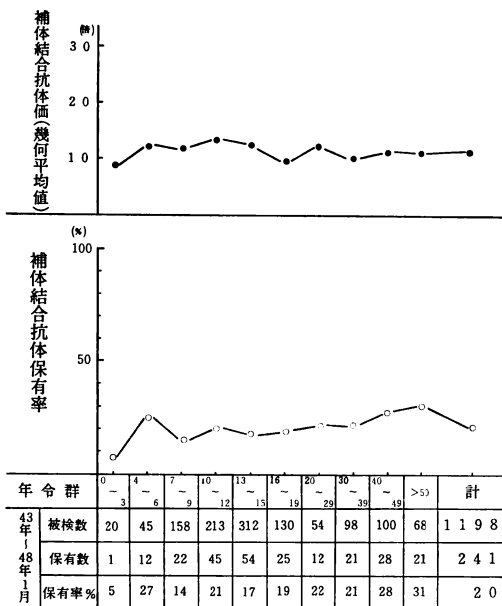
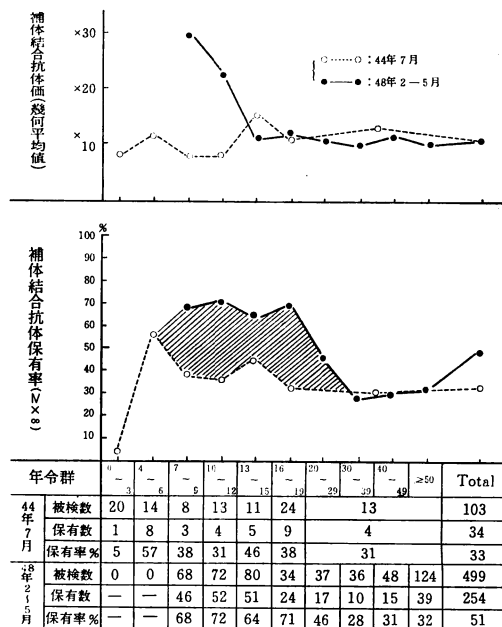


図7 森吉地区住民のマイコプラズマに対するCF抗体保有状況



しかし、流行後の保有抗体価をみると、7-9才群及び10-12才群において著しい上昇がみられること並びに患者の多発年齢が7-9才にピークがあることから、主たるMPの侵襲は7-9才をピークとしたものであると考えられた。

3. 流行時の森吉小、中学生集団におけるM・Pの侵襲率と発病率の推計

流行地区の森吉小、学校児童127名及び森吉中学校生徒60名から流行後の48年5月に採血し、これらの集団におけるMPの侵襲率と発病率を推計したのが第1表である。推計方法は第1表及び次の如くである。(1)昭和44年の流行前C F抗体保有分布(第7図)からこれらの小、中学生の抗体無保有率を算出し、この数値から流行前の両集団におけるC F抗体無保有者数を推計。そして、このC F抗体を保有しないものを仮にMP感受性者と設定した。

表1 森吉小、中学校におけるMPの侵襲率と発病率の推計

学 校	森吉小学校		森 吉 中 学 校
	1～3	4～6	1～3
A. 在 籍 者 数	215	288	338
B. M・P 患者 発生数	14	4	3
C. 流行前(44年)C F抗体 ($< \times 8$)無保有率(%)	62	69	54
D. M・P 感受性者推定数 ($A \times C / 100$)	133.3	198.7	182.5
E. 流行後(48年2～5月) C F抗体価1 : ≥ 32 陽 性率(%) (陽性数/ 被検数)	39 (25/64)	38 (24/63)	5 (3/60)
F. 流行時のM・P感染者 推定数 ($A \times E / 100$)	83.9	109.4	16.9
G. M・P 侵 襲 率 (%) ($F / D \times 100$)	62.9	55.1	5.0
	58.2		
H. 発 病 率 (%) ($B / F \times 100$)	16.7	3.7	17.8
	11.4		

(2)、県内一般住民のC F抗体保有状況を見ると、7—15才の年令層の平均C F抗体価が約12—14倍で且つ32倍以上の抗体価を示すものは3.4%にすぎないこと、同地区の流行前の同年令層の抗体価は8—16倍で且つ32倍以上の抗体価保有者は6.3%にすぎないこと並びに、第4及び5図の如く、感染後約1年前後の抗体価の最頻値が8—16倍にあることから、流行後の48年2—5月に採取した血清の抗体価が32倍以上示したものを本流行時におけるMP感染者とみなした。

すなわち、流行期間2—3ヶ月の期間内に、小学校に存在していた推定感受性者332人を含む503人の集団にMPが侵襲して約193人が感染し、この内約11%が下気道炎で発病した。これとは対照的に、中学校では約183人の感受性者を含む338人の集団にMPが侵襲したが、感染をうけたのは僅かに17人前後にすぎないと推定され

た。しかし、発病率は約18%で3名の下気道炎患者が発生し、小学校集団の平均11%と大差なかった。但し、算出基礎とした患者数は公立病院で受診したものしか明らかでなかったため、発病率の実数値はこれを上廻るものと考えられる。いずれにしても、今回の流行では、小学生間で最も頻度の高い侵襲が行なわれたと推定されたことは、単に家族内ということだけではなく、学校という集団生活の場が地域流行を起したMPの伝播の場になった可能性を強く示唆したものと考えられる。

IV 考 察

本県においてMPによる下気道炎(異型肺炎)の多発流行が認められたのは今回が最初と考えられる。新津(19692)の内外の報告例を集約したものによれば、下気道炎に占めるMPの割合は、10—30%であるが、今回の地域的流行例の場合には、下気道炎患者の71%がMP感染によるものであった。しかし、上気道炎患者では僅かに3%にすぎなかった。又、伝播の場としては、一般には学校などよりは密接に接触する家庭とか軍隊などのような環境で特に伝播を起し、流行しやすい傾向にある(新津, 19692)といわれているが、本流行例では、森吉地方という一地域の中で、しかも約2—3ヶ月という期間内で、39.1という罹患率で多発流行を起したことは興味もたれるのである。そして、元来この地区は県内の他地区に比較してMP侵襲が高い傾向にあるが、MP流行に関与する生活環境因子や感染防禦免疫等を含めて、流行の成因をより詳細に解析していく必要がある。

特に、後者の感染と免疫獲得そして再感染防禦という点については興味もたれ、例えば、新津ら(19673)は血中 Fermentation Inhibition 価がMP感染防禦に重要な役割を荷っている可能性を示唆しているが、我々も、H. Brunner らの Mycoplasmacidal Test (H. Brunner et al, 19724)も含めて、検討していく考えである。

さて、我々が本流行時におけるMPの小、中学生集団への侵襲率を推計した時、MPの侵襲は小学生の年令層において最も著しかったと推定されたが、このことはMP伝播の場として小学校が大きな役割を果たした可能性を強く示唆し、従って、家族とか軍隊などのような close contact の可能性の高い集団ばかりでなく、学校のような比較的 broad な集団の場においても、地域的な流行を起し得る伝播が行なわれ得るという可能性が示されたわけである。又、発病率は、得られた患者数に限れば、感染者の約11—17%と推定されたが、換言すれば、MPの不顕性感染率が80%前後とかなり高率であることを示している。このような不顕性感染者が流行を

ひろめていく伝播の荷い手になっているものと考えられる。

次に、C F抗体産生の上昇と下降についてみると、C F抗体価は比較的発病初期から上昇し、4病週前後でピークに達するが、約1年前後すると、約1/17に低下する。この傾向は中村らの成績(中村たち, 1968 5)とほぼ同様であり、従って、MP感染を疑わせる患者血清が特に単一血清しか得られない場合、32倍以上の抗体価を示した時、MP感染と判定してよいと考えられる。又、血清疫学調査などで、8—16倍のC F抗体価を示した場合には、比較的近年(例えば1—2年)のMP感染と推定してよいのではないかと考えられる。

V 結 論

昭和47年11月～48年1月、県内北秋田郡森吉地方に発生したMPによる下気道炎(異型肺炎)の多発流行について調査し、次の如き成績を得た。

1. 流行のピークは11—12月で、この間下気道炎患者90名中64名及び上気道炎患者66名中2名がMP感染と診断されたが、多発年齢は7—9才であった。又、家族内発生は13家族と推定された。
2. MP感染者のC F抗体価は4病週で223倍のピークに達したが、約1年前後で1/17に抗体価は減少した。
3. C F抗体を指標とした血清疫学調査によって、流行地の森吉小学校における感受性者へのMPの侵襲率は約58%であり、又、感染者の約11%が発病し、MPの地域流行を惹起した主たる伝播場の1つとして小学校内という環境が推定された。又、MP感染では高率の不顕性感染が発生することが推定された。

最後に、本調査に御協力くださいました鷹巣保健所に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 石田名香雄, 荒井澄夫: 原発性非定型肺炎(マイコプラズマ肺炎)の検査法, 臨床検査, 10, 1219—1224, 1966。
- 2) 甲野礼作, 石田名香雄: ウイルスと疾患, 第1版, 朝創書店, マイコプラズマ感染症(新津泰孝), 297—312, 1969。
- 3) 新津泰孝, 長谷川純男, 末武富子, 久保田秀雄, 堀川雅浩, 小松茂夫: *Mycoplasma pneumoniae* 肺炎ウイルス, 17, 239—240, 1967。
- 4) H. Brunner, W. D. James, R. L. Horswood & R. M. Chanock: Measurement of mycoplasma pneumoniae mycoplasma-cidal antibody in human serum, *J. Immunology*, 108, 1491—1498, 1972。
- 5) 中村昭司, 海老沢功: マイコプラズマ・ニューモニエ肺炎の診断について, ウイルス, 18, 53—56, 1968。

ブドウ球菌エンテロトキシンBの精製法と検出法

*柴田 芳実 *金 鉄三郎 *高山 和子
*森田 盛大 **藤宮 芳章 ***天野 保二
****石田 名香雄

I はじめに

細菌性食中毒の中でブドウ球菌による中毒は、いわゆる毒素型食中毒として、ブドウ球菌の産生する腸管毒素(エンテロトキシン)によって起こる。この毒素は、現在、血清学的にA, B, C, D, Eの5型に分類されている。

このブドウ球菌食中毒は、年々増加の傾向を示しているにも拘わらず、現在の検査法では結果の判明する迄少なくとも48時間要し、スピードと的確性の要求される衛生行政にとって、必ずしも最適であるとはいえない。又、耐熱性というエンテロトキシンの性質上、一旦ブドウ球菌の増殖を許した食品を煮沸などの加熱処理としても、エンテロトキシンの活性は残存し、食中毒を起こし得る。その意味でも、推定原因食品から直接エンテロトキシンを検出することが必要であろう。

本報では、このようなエンテロトキシンを原因食品から迅速且つ的確に検出することを目的として、先ずB型エンテロトキシン(ETB)の精製法及び検出法について検討したので報告したい。

II 実験材料と実験方法

A ETBの精製法と抗毒素血清作成

1. 使用菌株: 都立衛研より分与された S. aureus C-243株。菌株は半流動寒天培地に接種し、4°Cに保存。供試する場合はハートインフュージョンブロス(HIB)で18時間培養後、スタヒロ110寒天平板で48時間培養し、S状コロニーを選択分離し、タネ培養に供した。タネ培養はHIBで37°C18時間静置培養。

2. ETB産生培養とETB精製法: 使用培地は3%ポリペプトン(大五栄養化学)、3%ラクトアルブミン水解物(和光)、0.0001%thiamin、0.00005%niacinの液体培地(pH6.8)である。ETB産生培養は液体培地1,500mlにタネ培養菌液10mlを接種し、37°C24時間、振巾5cm、振盪回数110~120回/分の条件で振盪培養し

た。培養後、4°C、5,000 r.p.m., 30分間遠心した上清をザイツ汙過器で汙過滅菌し、これをETB精製の出発材料とした。

精製は三つのステップで行なった。すなわち、ステップIはAmberlite CG-50によるカラムクロマトグラフィー、ステップIIはセファデックスG-75によるゲル汙過、ステップIIIはcarboxy methyl (CM)-セルローズによるカラムクロマトグラフィーである。最終ステップで得られた精製毒素は2mgずつ凍結乾燥保存し、以後の実験に供した。

3. 紫外線連続吸収スペクトルの測定: 東洋科学ユビコン540M型を用い、280m μ で測定した。

4. タンパク質の定量: Kabat, E, A, et al(1967¹⁾)のビュレット法によって555m μ で比色定量した。

5. B型抗毒素血清: 都立衛研より分与されたB型毒素家免疫血清1mlを標準抗血清として用いた。自家製の抗ETB血清は次の如く二種類作成した。

a) ETB精製の出発材料(粗毒素)に対する抗血清の作成を以下の方法で行った。粗毒素2mlを Freund の complete adjuvant 2ml でエマルジョン化したものを家兎(体重2.5kg)の皮下に注射し、2, 3, 4週間目に粗毒素2mlずつ皮下に追加免疫した。最終免疫後1週間目に採血し、この抗血清を精製純化の指標に用いた。

b) 前述の方法で精製したETBに対する免疫血清を作製した。すなわち、最終ステップで得た精製ETB 1ml (0.2mg/ml) を Freund の complete adjuvant 1ml でエマルジョン化したものを家兎(体重2.5kg)の足蹠及び皮下に1mlずつ接種後、更に2, 3, 4, 5, 6, 及び7週間目に1ml (0.2mg/ml) ずつ皮下に追加免疫した。最終免疫後1週間目に採血した。抗血清はすべて使用時迄、-20°Cに保存した。

6. 寒天ゲル内沈降反応: Ouchterlony法で行なった。ペロナール緩衝液(pH8.6, $\mu=0.05$)にSpecial Nobel Agar (Difco)を1.5%加えた寒天ゲルを6×7.5cmのスライドガラスに6mlのせて寒天プレートを作っ

*秋田県衛生科学研究所 試験検査部 細菌科
***秋田大学医学部中央機器センター

**秋田大学医学部微生物学教室
****東北大学医学部細菌学教室

た。ウェル間隔は3mm。ゲル内沈降反応は、37°C、24時間及び4°C、72時間行ない、経時的に沈降線を観察した。

7. 免疫電気泳動法：上述の方法で調整した寒天プレートを用いて行なった。泳動条件は2mA/cm、1時間泳動後、37°C、24時間及び4°C、72時間、経時的に沈降線を観察した。

B ETB感作赤血球調製法

Avrameas S. et al (1967²) の方法に従った。すなわち、アルセー液保存の羊赤血球をリン酸緩衝食塩水 (PBS, pH7.2) で3回遠心洗浄した沈渣血球0.8mlをPBS (pH7.2) 10mlに再浮遊し、2.5% glutaraldehyde溶液0.7mlを加え、室温でゆるやかに攪拌。

つづいて、ETB 1ml (2mg/ml) を加え、更に1時間攪拌後、牛血清アルブミン (BSA) を0.1%に添加したPBS (pH7.2) で2,000 r.p.m (670×g)、5分間ずつ3回遠心洗浄。最終遠心後、上清を捨て、0.1%BSA-PBS 10mlに再浮遊し、窒化ナトリウムを終末濃度0.01%にして加えたものをETB感作血球として、4°C、-20°C凍結、又は凍結乾燥状態で保存し以下の実験に供した。

C 間接赤血球凝集 (PHA) 試験法 と間接赤血球凝集阻止 (PHAI) 試験法

1 PHA試験法

すべてマイクロタイター法に従って行なった。すなわち、 Δ U、プレートを用い、0.1%BSA-PBSで抗ETB血清0.025mlを2倍系列希釈した。この抗ETB血清はA-5-b項で作製した、精製ETBに対する抗血清である。続いて、0.1%BSA-PBSを0.025ml添加し、更に1%ETB感作血球液0.05ml加えて振盪し、37°C、2~3時間静置後、PHA価を判定した。

2 PHAI試験法

PHA試験法と同様、 Δ U、プレートを用い、先ず、0.1%BSA-PBSでETB 0.025ml (20 μ g/ml) を2倍系列希釈し、PHA抗体4単位/mlの抗ETB希釈血清を0.025mlずつ添加。振盪後、37°C、1時間放置してから1%ETB感作血球液を0.05ml加えて、振盪し、37°C、2~3時間静置後、PHAI価を判定した。

又、このPHAI試験に用いたETB希釈液と抗ETB血清とで、Ouchterlony法によるゲル内沈降反応を行ない、その力価を比較した。

以上の方法に従って、供試検体 (種々の培地で培養し

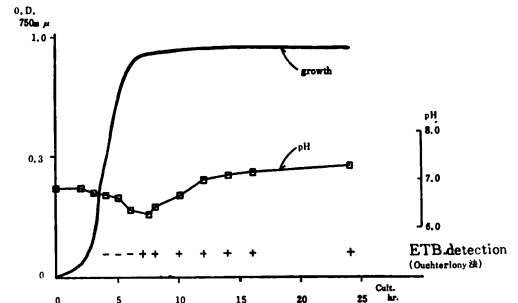
たETB産生培養液) 中からのETBの検出を検討した。

III 実験成績

A ETBの精製

S. aureus C-243株の増殖曲線とETB産生との相関

図1 S. aureus C-243株の増殖曲線とETB産生

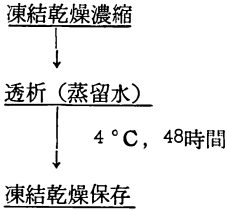


を図1に示した。すなわち、対数増殖期から静止期に入る培養7時間目からETBが検出され始め、少なくとも24時間目まで検出されたので、24時間培養のものを毒素精製の出発材料とした。pHは培養6~7時間後に最も低下し、この時点からETBが検出され始めた。

次にETBの精製ステップは表1に示す如くである。

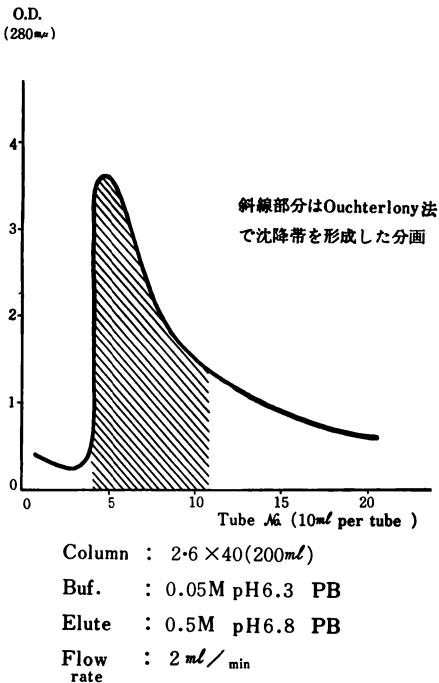
表1 プドウ球菌エンテロトキシンBの精製過程

ステップ I	S. aureus C-243株培養液 ↓ 同量の蒸留水を添加 ↓ H ₃ PO ₄ でpH6.3に調整 ↓ Amberlite CG-50 ↓ 1) 0.05M, リン酸緩衝液 (pH 6.3) で吸着 ↓ 2) 0.25M NaCl 加 0.5M, リン酸緩衝液 (pH6.8) で溶出 ↓ 凍結乾燥濃縮
ステップ II	蒸留水添加 ↓ セファデックスG-75 ↓ 0.01M, リン酸緩衝液 (pH6.2) で溶出
ステップ III	CM-セルロース ↓ 1) 0.01M, リン酸緩衝液 (pH 6.2) で吸着 ↓ 2) 0.1M, リン酸緩衝液 (pH6.8) Linear gradient elution



ステップ I : C243株の培養液1,000mlに蒸留水1,000mlを加え, 1 Nリン酸でpH6.3に調整した後, 20gのAmberlite CG-50を0.05M, pH 6.3のリン酸緩衝液(PB)で平衡化したレジンに加え, 室温で30分間攪拌し, ETBをレジンに吸着させた。これを2.6×40cmカラムに充填して, 400ml蒸留水で洗浄し, その後, 0.25 M NaClを含む0.5MPB (pH6.8)で溶出し, 10mlずつフラクションを採取した結果, 図2に示す如きパターンが得られた。図の斜線部分はOuchterlony法で抗原の

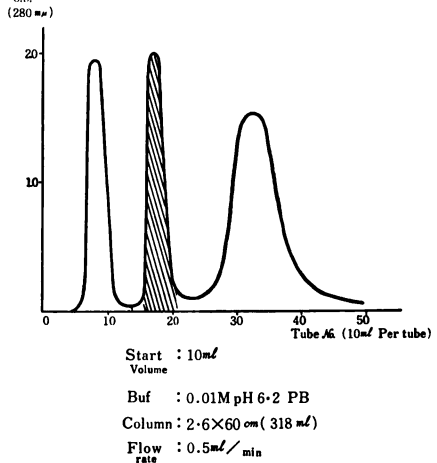
図2 ステップ I Amberlite CG-50カラムクロマトグラフィー



検出されたフラクションであるが, これをステップ I 精製として採取した。このステップで出発材料中のETBの約80%は回収された。採取画分は混合して, 凍結乾燥した後, 10mlの蒸留水に溶解した。

ステップ II : 2.6×60cmカラムにPBS 0.01 M, pH 6.2で平衡化したセファデックスG-75をつめ, これにステップ I の画分を添加後, 同緩衝液でゲル濾過し, 10mlずつフラクションを採取した。溶出曲線は図に示す如

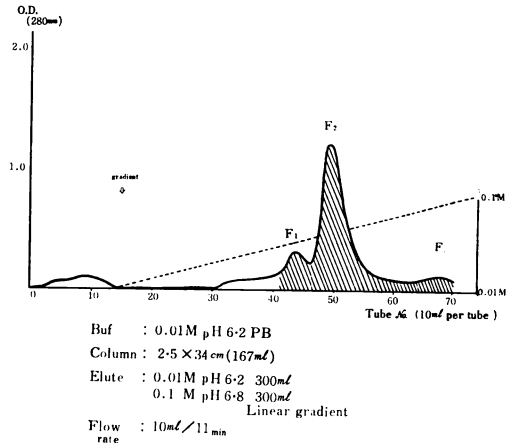
図3 ステップ II セファデックスG-75ゲル濾過



くであるが, このステップで, ETBは約60%回収された。得られた画分はA-5-a項の粗毒素抗毒素血清に対して2~3本の沈降線を形成した。

ステップ III : 2.5×34cmカラムにPB (0.01M, pH

図4 ステップ III CMセルローズカラムクロマトグラフィー



で平衡化したCM-セルローズを充填し, ステップ II 画分の試料を流して, ETBを吸着させ, 同緩衝液で洗い, 280mμによる紫外線吸収が0になったところで, 0.01M, pH6.2のPB 300mlと0.1 M, pH 6.8のPB 300mlとでLinear gradient elutionを行なうと, 図4の画分が得られた。三つの画分(F₁, F₂, F₃)をそれぞれ標準抗血清を用いて免疫電気泳動を行なった結果, いずれもわずかず極側にずれて, 1本の沈降線を形成した。又, Ouchterlony法ではこれら画分のバンドは連結した。又, A-5-a項の粗毒素抗毒素血清とのゲル内沈降反応でも1本の沈降線のみを形成した。そこで, 三つの画分をプールし, 凍結乾燥した後, 蒸留水9mlに溶解し, 続いて蒸留水で4 °C, 48時間透析した後, 再

び凍結乾燥して、4°Cに保存した。最終標品のETB回収率は出発材料に対して約36%であった。

B PHA及びPHAI試験成績

まずETBの至適感作濃度は表2に示す如くであった

表2 [ETB感作濃度によるPHAパターン]

抗体希釈 抗原濃度/2.5ml	×1,600	3,200	6,400	12,800	25,600	51,200	食塩水
1.2 mg	+	+	-	-	-	-	-
0.8	+	+	+	-	-	-	-
0.4	+	+	+	+	+	-	-
0.2	+	+	+	-	-	-	-
0.08	+	+	+	-	-	-	-
0.0	-	-	-	-	-	-	-

すなわち、ETB0.4mg (per 2.5ml) で羊赤血球を感作した場合、25,600倍のPHA抗体価を得たので、この抗原濃度の感作血球を以後の試験に供した。

次に、ステップⅢで得られたETBとB型抗毒素血清(A-5-6項)とによるPHAIボックスパターンを表3に示した。すなわち、ETB409,600倍希釈液は25,

表3 [PHAI法によるETB検出パターン]

抗原希釈 (※) 抗体希釈	×3,200	6,400	12,800	25,600	51,200	102,400	204,800	409,600	対照 (食塩水)
× 800	-	-	-	+	+	+	+	+	+
1,600	-	-	-	-	+	+	+	+	+
3,200	-	-	-	-	-	+	+	+	+
6,400	-	-	-	-	-	-	+	+	+
12,800	-	-	-	-	-	-	-	+	+
25,600	-	-	-	-	-	-	-	-	+
51,200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
対照 (食塩水)	-	-	-	-	-	-	-	-	-

※(抗原原液：精製エンテロトキシンB 2mg/ml)

600倍の抗血清のPHAを完全に阻止し、直線的なPHAIパターンが得られた。すなわち、PHAI法による

ETBの最小検出濃度は409,600倍であり表4に示すOuchterlony法によるETBの最小検出濃度1,600倍と比較

表4 [ゲル内沈降反応(Ouchterlony)によるETB検出パターン]

抗原希釈 抗体希釈	× 100	200	400	800	1,600	3,200	対照 (食塩水)
× 10	+++	++	+	-	-	-	-
20	+++	++	+	-	-	-	-
40	++	+	+	+	-	-	-
80	+	+	+	+	+	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-
160	-	-	-	-	-	-	-
対照 (食塩水)	-	-	-	-	-	-	-

抗原原液：2mg/ml精製エンテロトキシンB

すると、PHA I 試験による E T B の検出感度は明らかに鋭敏であった。

そこで、試料中の E T B 検出を 4 単位の PH A 抗体を用いた PH A I 試験と Ouchterlony 法との二方法で比較検討した結果、表 5 の成績が得られた。すなわち、PH A I 法による E T B の検出感度は Ouchterlony 法より 8~16 倍高かった。

表 5 ゲル内沈降反応法及び PH A I 法による培養液中の E T B 検出感度の比較

試料	Ouchterlony (A)	凝集阻止反応(B)	感度比(B/A)
A	× 80 *	× 1,280 **	16
B	160	2,560	16
C	40	640	16
D	20	160	8
E	40	320	8

* 第 3 表で最適比を示した抗 E T B 血清(×80)に対して沈降線を形成する培養液の最高希釈倍数の逆数

** 4 単位の PH A 抗体を含む抗 E T B 血清に対して PH A I 陽性を示した培養液の最高希釈倍数の逆数

V 考 察

E T B 産生培地について、Schantz, E. J. et al (1965³) は 1% NZ—Amine (Sheffield Chem., Co) と 1% PHP (Meade Johnson & Co.) の液体培地 (pH 6.5), 又, Reiser, R. F. and Weiss, K. F. (1969⁴) は 3% NZ—Amine と 3% PHP の液体培地 (pH 6.8) を報告しているが、我々は上述の方法で E T B の産生を試みた結果、これらに匹敵し得る E T B が産生された。そして、対数増殖期から静止期に移項する時期に E T B が検出され且つこの時期に pH が最も低下した事は Mclean, R. A. et al (1968⁵) や Morse, S. A. et al (1969⁶) の報告と一致していた。また、この培養液中の E T B の量 (85 μ g/ml) は Reiser, R. F. et al (1969⁴) の報告するものに近い値を示した。

E T B 精製方法についてみると、Schantz, E. J. et al (1965³) はクロマトグラフィー法による精製方法を報告しているが、我々はこの方法に若干の改良を加えて行なった結果、上述の如く物理化学的に差異を示す三つの分画 (F₁, F₂, F₃) が得られたが、これらは免疫学的 (免疫電気泳動法及び Ouchterlony 法) には同一と考えられた。この様な事象は寺山 (1971⁷) の報告にも見られ、いわゆる charge isomer と考えられる。

次に E T B の検出方法についてみると、抗原蛋白の赤血球感作方法は、Boyden, S. V. (1951⁸) 等のホルマリン、タンニン酸処理方法や Avrameas et al (1969²) の glutaraldehyde の処理方法など、数多く報告されているが、我々は glutaraldehyde 法を用いて、簡便に、安定した感作血球を作製し得た。この感作血球液は長期的な凍結保存や凍結乾燥保存が可能であり、この間の力価の変動はみられなかった。

PH A I 試験の検出感度は表 5 に見られる様に、Ouchterlony 法と比較して 8~16 倍高かったが、ブロック用の PH A 抗体を 4 単位/ml のかわりに 2 単位で使用すると更に感度が高まる可能性が表 3 に示す PH A I ボックスパターンから示唆された。PH A I 法による E T B の最小検出量は約 0.01 μ g/ml と計算されるが、これは Morse, S. A. and Mah, R. A. (1967⁹) の PH A I 試験成績で得た 0.4 μ g/ml よりも高感度であった。このように PH A I 法はゲル内沈降反応による検出方法 (Fungy, D. Y. C. et al, 1971¹⁰) よりも、迅速且つ鋭敏性という点において優れていることが再確認されたことから、我々は今後実際の食中毒原因食品からの E T B 検出を試みると共に他の A, C, D, E 型エンテロトキシンについても検討していく考えである。

VI ま と め

ブドウ球菌 E T B の精製法と検出法について検討し、次の結論を得た。

1. S. aureus C—243 株の培養液から Amberlite CG 50 カラムクロマトグラフィー法、セファデックス G—75 のゲル過渡法及び CM セルローズのカラムクロマトグラフィー法によって免疫学的に同一な E T B を抽出精製し得た。E T B の最終ステップでの回収率は約 36% であった。

2. 精製 E T B を家兎に免疫し PH A 抗体価 25,600 倍の抗 E T B 家兎免疫血清を作成し得た。

3. PH A 及び PH A I 試験に用いる E T B 感作血球は glutaraldehyde 処理方法の場合、0.4mg/2.5ml の精製 E T B を赤血球に感作して調製する方法が至適であった。又、この感作血球液は凍結あるいは凍結乾燥で長期間保存しても力価は殆んど低下しなかった。

4. PH A I 試験の E T B 最小検出量は約 0.01 μ g/ml で Ouchterlony 法より 8~16 倍高感度であり、本法によって食中毒原因食品中の E T B を検出することが可能と考えられた。

VI 文 献

1. Kabat, E.A. and Mayer, M.M. : Experimental Immunochemistry, 2nd. Ed., Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Illinois, U.S.A., Chap. 27, 559, (1967) .
2. Avrameas, S., Taudou, B. and Chuilon, S. : Glutaraldehyde, cyanuric chloride and tetraazotized o-dianiline as coupling reagents in the passive hemagglutination test, Immunochemi., 6, 67, (1969) ,
3. Schantz, E.J., Roessler, W.G., Wagman, J., Spero, L., Dunny, D.A. and Bergdoll, M. S. : Purification of staphylococcal enterotoxin B, Biochem., 4, 1011, (1965) .
4. Reiser, R.F. and Weiss, K.F. : Production of staphylococcal enterotoxin A, B, and C in various media, Appl. Microbiol., 18, 1041, (1969)
5. Mclean, R.A., Lilly, H.D. and Alford, J.A. . : Effects of meat-curing salts and temperature on production of staphylococcal enterotoxin B, J. Bacteriol., 95, 1207, (1968) .
6. Morse, S.A., Mah, R.A. and Dobrogosz, W. J. : Regulation of staphylococcal enterotoxin B, J. Bacteriol., 98, 4, (1969) .
7. 寺山武 : ブドウ球菌エンテロトキシンに関する最近の知見, 日本細菌学雑誌, 26, 611, (1971) .
8. Boyden, S.V. : The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by anti-protein sera, J. Exp. Med., 93, 107, (1951)
9. Morse, S.A. and Mah, R.A. : Microtiter hemagglutination-inhibition assay for staphylococcal enterotoxin B, Appl. Microbiol., 15, 58, (1967)
10. Fung, D.Y.C. and Wagner, J. : Capillary tube assay for staphylococcal enterotoxin A, B, and C, Appl. Microbiol., 21, 555, (1971) .

角館町に発生したT/12型菌による猩紅熱の流行とその血清疫学

*森 田 盛 大 *金 鉄三郎 *高 山 和 子
*柴 田 芳 実 *戸 田 千賀子 **佐 藤 了 三
高 橋 久 二 *藤 宮 芳 章 ****須 藤 恒 久

I 緒 言

昭和47—48年は全国的にT12型菌による猩紅熱が流行したといわれているが、本県でも昭和48年10月～昭和48年12月にかけて角館町で流行した。

本報では、この流行の概要を述べると共に、T凝集素を指標としたT12型菌の血清疫学調査結果について報告したい。

II 材 料 と 方 法

A, 被検対象者と被検材料

被検対象者は角館町の中心部にある角館幼稚園児 124名及び角館保育園児215名の計339名(同町3—6才人口の33.9%)並びに町立角館病院に入院した10名の猩紅熱患者である。

被検材料は流行中期の11月中旬に採取した咽頭拭液と血清、及び流行後の49年2月に採取した血清である。

B, A群溶連菌の分離と型別方法

咽頭拭液をpike培地で採取し24時間培養後、血液寒天に塗抹培養(40時間以上)。 β 溶血のコロニーをTodd-Hewitt 培地で1夜培養後、染色鏡検してグラム陽性連鎖球菌を確認してバントラニン感受性試験に供し、バントラニン感受性菌であったものをA群溶連菌推定として宮本ら(1969¹⁾)のT凝集反応法によって型別をした。

尚、薬剤感受性試験は感受性デスク(栄研)法によって行なった。

C, ASLO価測定方法

ASLO価の測定はすべて栄研製のASLOキットを用いマイクロタイター法によって行なった。

D, T凝集素価の測定法

T凝集素価の測定は、O.D. (550 $m\mu$) 0.35の濃度の抗原を用いてすべてマイクロタイター法(森田たち, 1972²⁾)によって行なった。

表1 マイクロタイター法によるT凝集素価測定法

A T凝集抗原

宮本らの方法(臨床検査, 13, 12, 1969)で調製したトリプシン消化菌をOD (550 $m\mu$) 0.35の濃度にしたものをT凝集抗原とした。

B 被検血清のA群特異凝集素の吸収除去

1. 5倍稀釈被検血清0.5 ml に50% T6&25型加熱菌液0.05 ml を添加し攪拌。
2. 37°C, 60分→4°C, 1夜放置後遠心し、上清を採取。

C T凝集素価測定—マイクロタイター法, Uプレート

1. 0.1%牛血清アルブミン(BSA)加生食水を稀釈液として0.025 ml ずつ分注。
2. B項の被検血清0.025 ml を2倍系列稀釈。
3. 稀釈液を0.025 ml 追加。
4. T凝集抗原を0.05 ml 添加後振盪。
5. 37°C, 60分→4°C, 1夜静置後、75~100%凝集像を示す最高血清稀釈倍数の逆数を以ってT凝集素価とした。

III 成 績

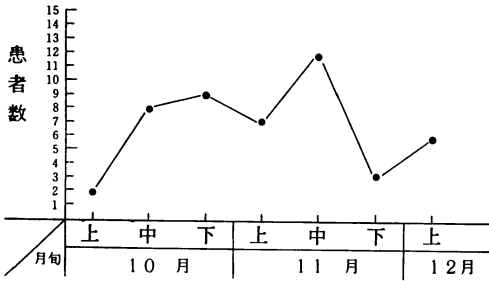
A, 猩紅熱流行の概要

昭和48年10月初旬に初発猩紅熱患者が発生以後、町の中心部を主体に1図に示すパターンで猩紅熱が流行した。すなわち、10月下旬～11月をピークとして、3~6才の年齢層に多発したのであるが、49年1月からは主に町の周辺部に移行し散發程度にとどまった。48年12月迄

*秋田県衛生科学研究所 試験検査部 細菌科
***秋田県角館保健所

**秋田県公衆衛生課
****秋田大学医学部微生物学教室

図1 昭和48年、角館町における猩紅熱患者の月旬別及び年令別発生数



の届出患者についてみると、罹患率（対人口1万）は27.95であり、特に3—6才人口の4.7%が猩紅熱として罹患した。

B A群溶連菌の分離、薬剤感受性および型別成績

猩紅熱患者13名から10株のA群溶連菌が分離され、この内7株はT12型及び3株はT22型と型別された。7株のT12型菌の薬剤感受性は、表2に示す如く、エリスロマイシン及びテトラサイクリンに耐性の傾向を示し、47年までに検出されたA群溶連菌の感受性試験成績（白取たち、1973³⁾）と異なる感受性傾向を示した。

角館幼稚園及び角館保育園260名について保菌検査をした結果は、表3に示す如く、21.2%にA群溶連菌が検出され、我々が健康小児について調査（白取たち、1973³⁾）して得た3—12%の保菌率より高い保菌率を示した。そして、分離株の83.6%がT12型と型別された。

C ASLO価測定成績

流行開始後45日目に両施設の幼児から採取した血清のASLO価の最頻価は、第4表に示す如く、320~960倍

表2 昭和48年、猩紅熱患者から分離したT12型A群溶連菌の薬剤感受性

薬 剤 名	薬 剤 濃 度	感受性菌株検出率%	薬 剤 名	薬 剤 濃 度	感受性菌株検出率%
ペニシリン	0.5 u	100	スルフイソキサゾール	50 mcg	0
	2 u			150 "	
	10 u			300 "	
アミノペンジル	2 mcg	100	ジヒドロストレプト	2 mcg	71.4
	5 "			10 "	
	20 "			50 "	
ペニシリン	20 "		マイシン	50 "	100
エリスロマイシン	0.5 mcg	0	ロイコマイシン	2 mcg	0
	2 "			5 "	
	10 "			15 "	
クロラムフェニコール	5 mcg	0	コリスチン	50 u	0
	10 "			100 "	
	30 "			300 "	
テトラサイクン	5 mcg	0	カナマイシン	5 mcg	71.4
	10 "			10 "	
	30 "			30 "	
オレアンドマイシン	2 mcg	14.3			100
	10 "	0			
	15 "	0			

感受性菌株検出率 = (感受性菌株数 / 被検株数) × 100, 被検株数 7株

表3 T12型菌猩紅熱流行中期の幼稚園におけるA群溶連菌保菌率及び菌型（昭和48年11月、角館町）

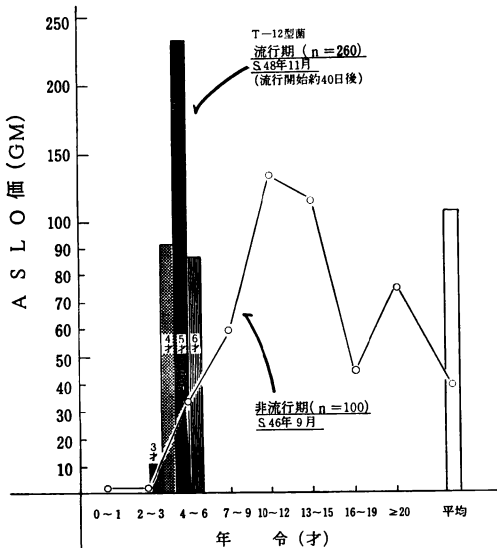
施 設		角館幼稚園	角館保育所	合 計
保菌率	被 検 数	88	172	260
	保 菌 数	21	35	56
	保 菌 率 %	23.9	20.3	21.5
菌型 (T)	被 検 菌 株 数	21	34	55
	T—12型菌株数	18	28	46
	T—22型菌株数	0	2	2
	不 明	6	1	7

表4 T12型菌流行中期及び流行後のASLO価分布百分率

		(秋田県角館町)		
ASLO価		施設 角館幼稚園	角館保育園	合計
流行中期 (48年11月)	被検数	88	172	260
	≤ × 20	44.3	19.8	28.1
	× 40~120	15.9	23.2	20.8
	× 160~240	12.5	15.1	14.2
	× 320~960	18.2	36.2	30.0
≥ × 1280	9.1	5.8	6.9	
流行後 (49年2月)	被検数	106	162	268
	≤ × 20	26.2	11.1	17.0
	× 40~120	26.2	29.0	27.9
	× 160~240	16.5	20.4	18.9
	× 320~960	27.3	35.8	32.5
≥ × 1280	3.8	3.7	3.7	

であった。又、図2の如く46年9月採取した血清のASLO価の幾何平均と比較すると、明らかに高く、流行期

図2 秋田県角館町住民における猩紅熱流行期及び非流行期のASLO価(幾何平均値)

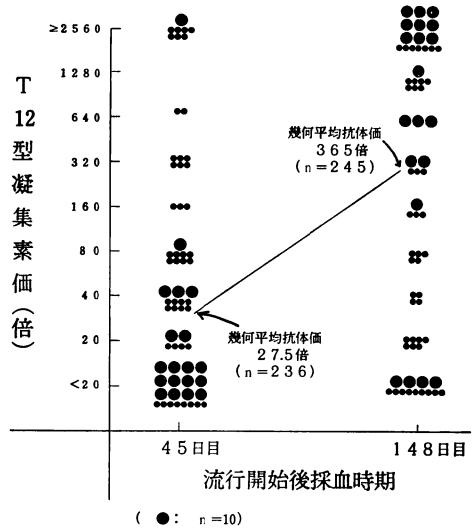


における溶連菌の侵襲の著しかったことが推定された。これに対して流行開始後148日目の血清のASLO価は、流行中期と大差がなく、僅かに上昇の傾向を示したにすぎなかった。

D T12型凝集素価測定成績

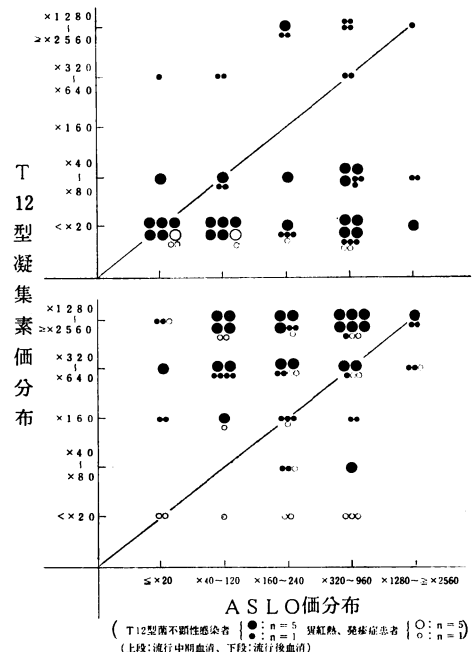
流行中期及び流行後の幼稚園児及び保育園児のT12型凝集素価を測定した成績が図3である。流行中期にお

図3 T12型菌猩紅熱流行中期及び流行後の健康小児におけるT12型凝集素価保有分布—48.10~49.1 角館町流行例—



いて20倍以上のT12凝集素価を示したものは236例中108

図4 猩紅熱患者、発疹症患者及びT12型菌不顕性感染者のT型凝集素価とASLO価



例(45.8%)又320倍以上のものは25例(10.6%)であった。これに対して流行後では20倍以上のものが245例中196例(80%)及び20倍以上のものが167例(68.1%)と夫々保有率が上昇し同時に幾何平均値の凝集素価も27.5倍から365倍と有意に上昇した。このようにT凝集素価は、図4に示す如く、上述のASLO価とは対照的に著しい変動が観察され、T12型菌の侵襲を最も明確に反映しているものと考えられた。このような健康小児に対して、ペア血清の得られた猩紅熱患者及び発疹症患者のT12型凝集素の産生をみると、第5図の如く、猩紅熱患者では約半数以上においてT凝集素の産生が認められなかった。しかし、発疹症患者では図に示されなかった1例を除き全例に有意上昇が観察された。すなわち、猩紅熱患者の場合には薬剤による除菌が効果的に行なわれ従って抗体産生に必要な抗原刺激が欠如したためと考えられる。これに対して発疹症患者の場合には多くが風疹と診断されており、従って、抗菌療法が不徹底だったためにT凝集素産生が明瞭に観察されたのではないかと考えられる。風疹などと診断された発疹症患者はすべてウイルス学的には風疹ではなく、従って、T12型凝集素の産生パターンをみる限りにおいては溶連菌感染症と推定された。

E T12型菌の侵襲規模の推定

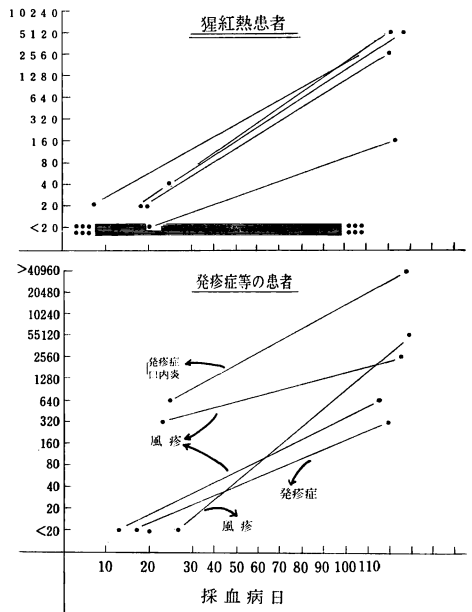
第5表に示す如きT12型感染指標をもって流行期間に

表5 T12型菌猩紅熱流行集団におけるT12型菌感染規模の推定 (48年, 秋田県角館町)

施設		角館幼稚園		角館保育園		合計	
		例数	%	例数	%	例数	%
決定	1) ペア血清T価, 8倍以上有意上昇	2(13)	67 (28)	82(13)	141 (26)	124(26)	208 (49)
	2) ペア血清又は単一血清T価, 1: ≧ × 1280	9(0)		37(3)		46(3)	
	3) 猩紅熱患者	10(4)		15(3)		25(7)	
	4) 1~3項以外でT12型菌保菌	6(6)		7(7)		13(13)	
推定	1) ペア血清T価, 4倍上昇	1	6	4	27 (3)	5	33 (3)
	2) 単一血清T価, 1: × 320~× 640	5		10		15	
	3) 発疹症などと診断された患者	0(0)		13(3)		13(3)	
否定	ペア血清又は流行後血清T価, 1: ≧ × 20	22	19.3	22	10.1	44	13.3
保留	1) 流行中期血清T価 1: ≧ × 8, 流行後血清なし	16	19	25	16.7	41	13.9
	2) ペア血清T価, 共に 1: × 40~× 80	3		1		4	
	3) T価未測定	0		1		1	
合計		114(28)	100.0	217(29)	100.0	331(52)	100.0

註 () の数値はT12型保菌数。

図5 猩紅熱又は発疹症などと診断された患者T12型凝集素産生 —48.10~49.1 秋田県角館町, T12型菌猩紅熱流行—



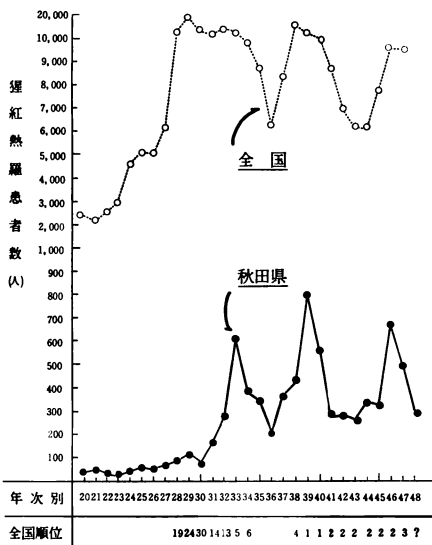
おける幼稚園及び保育所でのT12型菌の侵襲規模を推定した結果、少なくとも幼稚園では約59~64%及び保育所では約65~77%が48年10月~49年1月までの約4ヶ月間

でT12型菌に感染したと推計された。全く感染の否定されたものは10%前後にすぎず、大半のものが本菌の侵襲をうけたことが推定されたのである。この侵襲をうけて顕性感染を示したものは、発疹症と診断されたものも含めると、38名であり、顕性感染率は推計感染者数241名に対して15.8%であった。

IV 考 察

我々は、本県における猩紅熱が全国的にみて多発していること(図6)から、47年度からこの多発要因の疫学

図6 年次別猩紅熱罹患者発生数推移



的及び免疫学的解析をすすめてきた(白取たち, 1973²⁾) が、T12型菌は47年秋から49年の前半を通じてほぼ継続的に分離され、検出A群溶連菌の8~47%を占めていた。角館町における流行はこのようなT12型菌の侵襲を背景に発生したわけであるが、流行菌が47年に検出されたT12型菌と同一のものであるか否かは現在検討を加えているところである。しかし、流行菌の薬剤感受性が47年の検出菌と異なるパターンを示したことから、全国的に流行したエリスロマイシン及びテトラサイクリン耐性T12型菌と同一のT12型菌の侵襲によるものと考えられる。次に、本流行例におけるT12型菌の侵襲像を幼稚園という幼児集団レベルでみた結果、約3ヶ月間で少なくとも集団の70%以上が感染をうけ、この内約16%が顕性感染を示したことが明らかになったが、我々は流行中期も含めて更に詳細に解析すべく検討している。いずれにせよ、このような解析は溶連菌の動態を考察する上には必要であり、又、このような具体的な数値を各流行毎に

積み重ねていくことは具体的な防疫対策を考察する上にも必要であろうと考えられる。

次に我々が本流行例で採用したT凝集素の検出は、従来流行実態の推計基礎とした保菌調査などと比較して、はるかに高率の推計値を与え、しかも免疫学的な特異性を有するが故に信頼度も高く、感染を明確に証明し得るものと考えられる。しかし、T凝集素は猩紅熱患者の如く抗菌療法が徹底されると産生されないことから、患者の血清学的病原診断としては必ずしも適当ではなくむしろ疫学的調査に至適であると考えられる。このような意味において、我々はT凝集素指標を重視して本流行例を解析するとともに、今後T凝集素価と所謂感染防禦抗原であるM蛋白に対する抗体価との相関についても検討し、流行の発生する免疫学的なバックグラウンドを明らかにしていきたい。

次に、猩紅熱流行後に発生するリウマチ熱や腎炎などの続発疾患についてであるが、今回流行を起したT12型菌は、腎炎のみならず、本邦では40, 6, 3型につづいてリウマチ熱を惹起しやすい(京極たち, 1971⁴⁾)といわれている。このようなことから、我々は角館町における猩紅熱の流行例についても続発疾患の発生をfollow upすべく調査をすすめているが、このことについては別途報告したい。厚生省では49年度から小中学生等の心疾患及び腎疾患に対する検査要項を改正したが、この背景の支柱に溶連菌感染があることはまず間違いなからう。この意味においても、抗菌剤の発達に伴って、とかく軽視されがちな溶連菌感染を我々地研サイドでも再考し新しい手法を用いて調査—例えば溶連菌の血清疫学や感染と免疫の関係—していく必要があるのではなからうか。

また、公衆衛生サイドにおける猩紅熱の防疫対策も単に伝染病という領域内のみとらわれることなく、一歩すすんで続発疾患の発生予防対策にまで領域を拡大し、腎疾患や心疾患の発生を未然に防止していく必要があるのではなからうか。

V 結 論

昭和48年10—49年1月、秋田県角館町に発生したT12型菌による猩紅熱の流行について、角館町幼稚園児及び角館保育園児を対象に調査した結果次の如き成績を得た。

- 1, 猩紅熱患者は10月下旬~11月をピークとして3~6才児に多発し、罹患率(対人口1万)27.95であった。
- 2, 流行菌型はT12型でエリスロマイシンとテトラサイクリンに耐性の傾向を示した。
- 3, 両園児のA群溶連菌の保菌率は21.5%であったが、この内T12型菌は83.6%を占めた。

4, T12型凝集素を主たる指標としてT12型菌の侵襲状況を推計した結果, 両園の幼稚園児集団は流行期間3ヶ月で少なくとも70%以上が感染をうけ, 15.8%が猩紅熱等の顕性感染を示した。

5, これに若干の考察を加えた。

文 献

1. 宮本 泰: レンサ球菌—A群レンサ球菌の凝集反応による型別法一, 臨床検査13, 1085—1091, 1961。
2. 森田盛大, 金鉄三郎, 高山和子, 藤宮芳章, 柴田芳実, 白取剛彦, 須藤恒久, 石田名香雄: A群溶連菌感染時におけるT凝集素産生, 感染症学雑誌, 投稿中
3. 白取剛彦, 森田盛大, 茂木武男, 金鉄三郎: 猩紅熱に関する疫学的研究, 感染症学雑誌, 47, 510—513, 1973。
4. 畔柳武雄, 大高裕一, 松橋直編: 感染の免疫病理, 第1班, 医学書院, 感染症と心臓における免疫過程(京極方久), 160—196, 1971。