

平成8年度に秋田県内で発生した 腸管出血性大腸菌感染事例について

八柳 潤 齊藤志保子 鈴木 陽子 木内 雄 佐藤 宏康

平成8年(1996年)7月1日から平成9年(1997年)3月31日までの間に、225件の大腸菌菌株のベロ毒素(VT)検査、548件の下痢患者便からの腸管出血性大腸菌(EHEC)検索を含む、総数1409件のEHEC検査を実施した。秋田県では平成8年に14事例のEHEC散発感染事例が発生し、そのうち最も多かった事例はEHEC O26:H11による6事例であった。また、EHEC O157:H7による事例は4事例発生した。14事例中9事例に家族内感染が認められ、感染源は1事例を除き不明であった。6事例から分離されたEHEC O26:H11のパルスフィールド電気泳動(PFGE)パターンを比較したところ、家族内感染がみられた事例においては患者と家族が共通起源に由来する株に感染していることが明らかとなり、また、多様な起源に由来するEHEC O26:H11が我々の周辺に侵淫していることが示された。

VT遺伝子を標的としたPCR法により医療機関から提出された下痢患者糞便を対象としてEHECの検索を実施した結果、市販血清キットによるスクリーニングでは検出できないEHEC O103:H2とO150:H8が検出、分離・同定された。国内におけるEHEC感染実態を究明するために、地方衛生研究所は今後もPCR法により患者糞便を対象としたEHECの検索を実施する必要があると考えられた。

キーワード：腸管出血性大腸菌、Polymerase Chain Reaction、O26:H11、パルスフィールド電気泳動、O103:H2、O150:H8

I はじめに

平成2年(1990年)に埼玉県の某幼稚園で腸管出血性大腸菌(EHEC) O157:H7による集団感染事例が発生し、園児2名が死亡した。この事例を契機として、県内においてもEHECに対する関心が高まり、翌平成3年に県内で初めてEHEC O157:H7感染者が確認され¹⁾²⁾、その後平成7年までの間に県内で確認されたEHEC感染者の総数は7名であった。平成8年に入ると、突然、国内でEHEC集団食中毒が多発して社会的問題となり、県民、そして医療、行政関係者のEHEC感染症に対する意識がまだかつてない程に高まり、さらに、EHEC感染症が指定伝染病に指定され、患者発生に際して詳細な調査が実施されるようになった。このような背景から、秋田県内でも平成8年度の1年間に14事例という未曾有の件数のEHEC感染事例が確認されるに至った。

秋田県では平成8年度に血清群O157以外の、いわゆるNon-O157 EHECによる感染事例が多数発生し、O103:H2やO150:H8など、国内での分離報告がほとんどない珍しい血清型のNon-O157 EHECも分離された。これらの事例も含めて、平成8年度、秋田県におけるEHEC感染事例の発生状況について報告する。

- ① 医療機関：患者糞便採取 ⇨ 民間検査機関
菌分離 VT 検査
- ② 医療機関：患者糞便採取 ⇨ 秋田県総合保健事業団
菌分離
(VT 検査 ⇨ 衛研)
- ③ 医療機関：患者糞便採取、検査室で菌分離
(VT 検査 ⇨ 衛研)
- ④ 医療機関：患者糞便採取 ⇨ 衛研、EHEC 検索

図1 秋田県におけるEHEC初発感染者の検査経路

II 材料と方法

1. 検体

秋田県では図1に示す4つのルートにより下痢患者からEHECが検索される。当所においては、それらのうち、医療機関の細菌検査室や財団法人秋田県総合保健事業団で分離された大腸菌菌株のVT検査と、医療機関で採取した下痢患者便からのEHECの検索(3つのルート)を実施している。表1に示すように1996年7月1日から1997年3月31日までの間に、大腸菌菌株のVT検査を225件、下痢患者便からのEHEC検索を548件実施した。平成8年度7月から3月の間に実施したEHEC検索総数は1409件であった。

表1 EHEC 検索を実施した検体内訳

医療機関		行政依頼					一般依頼			合計
糞便	菌株	糞便	菌株	食品	水	他	糞便	食品	水	
548	225	361	3	135	17	28	67	13	12	1409

2. EHEC の検索、同定

既報³⁾に従い検索を実施し、Non-O157 EHEC の検索には EC 培地と DHL、EHEC O157 の検索にはノボピオシン加 mEC 培地と CT-SMAC を使用した。なお、EHEC O157 の検索には一部免疫磁気ビーズ法を併用した。Polymerase chain reaction (PCR) による Vero 毒素 (VT) 遺伝子、eaeA 遺伝子の検出は既報²⁾に従い実施した。

分離された EHEC 菌株のうち、凝集反応が市販の型別用血清キットの判定基準と一致しない株は The International Escherichia and Klebsiella Centre (WHO) (Statens Serum Institut、Copenhagen、Denmark) の Flemming Scheutz 博士に送付し、血清型の決定を依頼した。

3. パルスフィールド電気泳動 (PFGE)

(1) 菌体包埋アガロースブロックの調製と染色体 DNA の制限酵素消化

菌体包埋アガロースブロックは、ジーンパス[®]試薬キット 2 (バイオラッド) を使用し、ゲルブロックのアガロース濃度を 0.5% とした以外は取り扱い説明書に従い調製した。制限酵素には XbaI を使用して、酵素消化の反応条件は 1 プラグ当たり 30U、37°C 4 時間とした。

(2) 泳動

泳動装置には CHEF-DRII[®] システム (バイオラッド) を使用した。泳動用バッファーには 0.5×TBE を、ゲルには 1% PFC アガロース (バイオラッド) を使用した。泳動のパラメーターは国立感染症研究所が示したとおり、Block 1 : 電圧 6 V/cm、泳動時間 11 時間、パルスタイム 4-8 秒、Block 2 : 電圧 6 V/cm、泳動時間 9 時間、パルスタイム 8-50 秒とした。泳動が終了したゲルは常法によりエチジウムブロマイドで染色した後、泳動像を写真撮影した。

III 結果および考察

表 2 に平成 8 年度に発生した EHEC 感染 14 事例の一覧を示した。14 事例はすべて散発事例であり、集団事例は発生しなかった。家族内感染は 9 事例に認められた。

また、感染源は事例 2⁴⁾ 以外すべて不明であった。血清型別にみると O26 : H11 による事例が最も多く発生し、6 事例から 9 株の EHEC O26 : H11 が分離された。EHEC O26 : H11 による感染 6 事例はいずれも感染源が不明であったが、事例間の関連について検討する目的で分離株の PFGE パターンを比較した。図 2 に示すとおり、家族内感染がみられた事例において家族から分離された EHEC O26 : H11 の PFGE パターンは同一であることが判明した。このことから、家族が共通起源の株に感染したと考えられたが、家族が共通の食品を介して感染したのか、家族間で 2 次感染をしたのかは不明であった。また、異なる事例間では分離株の PFGE パターンは異なっており、このことから、EHEC O157 と同様に EHEC O26 : H11 も多様な起源に由来する株が我々の周辺に侵淫しているものと推察された。

分離された EHEC は O150 : H8 を除きすべて eaeA 遺伝子を保有していた。また、事例 2 では eaeA 遺伝子を保有している EHEC 菌株のみがヒトに感染したことが示唆され⁴⁾、eaeA 遺伝子が EHEC のヒトに対する感染成立機構の中で重要な役割を果たしていると考えられた。一方、EHEC の中で、EHEC O113 : H21⁵⁾ などは eaeA 遺伝子を保有しないがヒトに下痢症や HUS を惹起し、動物実験によって腸管定着能があることが示されている。今回、県内で発生した EHEC 感染者のうち、EHEC O150 : H8 に感染した患者は抗生物質の投与を繰り返して受けても容易に EHEC が陰性化しなかった。このことは、当該株が EHEC O113 : H21 と同様に eaeA 遺伝子を保有していないにもかかわらずヒトの腸管に定着能を有することを示していると考えられる。EHEC のヒトに対する感染成立機構を理解する上で EHEC O150 : H8 や O113 : H21 の腸管定着能を解明することが重要であると考えられる。

事例 2 の分離株は生菌では市販の型別用血清キットのいずれとも反応せず、加熱後洗浄することにより O63 群血清で弱い凝集が認められた。また、事例 5 の分離株は、加熱菌のみ O28ac 群血清で凝集が認められた。これらの成績は、いずれも血清の取り扱い説明書に示され

表2 平成8年度に秋田県内で発生した腸管出血性大腸菌感染事例一覧

事例番号	種別	発生日	患者性別・年齢	血清型	ベロ毒素型	症状
1	散発	4月	男 21才	O26 : H11	VT-1	軽症(詳細不明)
2	散発	7月	男 5才	O103 : H2 ¹⁾	VT-1	粘性下痢
			男 2才	O103 : H2	VT-1	下痢 兄弟
			男 11ヵ月	O103 : H2	VT-1	水様下痢 兄弟
3	散発	8月	女 6才	O26 : H11	VT-1	水様下痢、腹痛、発熱39.2℃
			男 83才	O26 : H11	VT-1	無症状 家族
4	散発	8月	男 42才	O25 : NM	VT-1	下痢、詳細不明、輸入事例?
5	散発	8月	男 46才	O150 : H8 ²⁾	VT-2	水様下痢、腹痛、発熱37.0℃
			女 15才	O150 : H8	VT-2	軟便、腹痛 家族
6	散発	8月	男 1才	O26 : H11	VT-1	下痢、軽症
			女 36才	O26 : H11	VT-1	無症状 家族
7	散発	9月	女 31才	O26 : H11	VT-1	水様下痢、腹痛、発熱37.2℃
8	散発	9月	男 2才	O26 : H11	VT-1	下痢
			男 10才	O26 : H11	VT-1	無症状 家族
9	散発	10月	男 1才	O26 : H11	VT-1	血便
10	散発	10月	女 2才	O157 : H7	VT-1 & 2	水様下痢、血便
			男 67才	O157 : H7	VT-1 & 2	無症状 家族
11	散発	10月	女 80代	O157 : H7	VT-1 & 2	軟便、腹痛(詳細不明)
			男 66才	O157 : H7	VT-1 & 2	無症状 家族
12	散発	10月	男 12才	O157 : H7	VT-2	血便(詳細不明)
			男 7才	O157 : H7	VT-2	無症状 兄弟
			男 3才	O157 : H7	VT-2	無症状 兄弟
13	散発	11月	女 不明	O157 : H7	VT-2	詳細不明
			女 5才	O157 : H7	VT-2	無症状 姉妹
14	散発	12月	男 38才	O111群	不明	下痢、腹痛、輸入事例?

1) : 市販型別用血清キットでは O63 : H2

1) : 市販型別用血清キットでは O28ac : Hut

1)、2) 共に The International Escherichia and Klebsiella Centre (WHO) で血清型を決定

た判定基準に明らかに適合しなかった。さらに、説明書には、当該キットを使用して得られる成績は被検株の O 群の推定の域を出ないことが明記されている。このような理由から、我々は事例2、および事例5の分離株を大腸菌の国際レファレンスセンターである The International Escherichia and Klebsiella Centre (WHO) に送付して血清型の決定を依頼した。その結果、事例2の分離株の血清型は O103 : H2、事例5の分離株の血清型は O150 : H8であることが明らかとなった。なお、O103、O150共に市販血清キットには含まれていない血清群である。このように、我々は VT 遺伝子を指標にして分離した EHEC の血清型を決定する場合、市販血清キットの性能に限界があることを経験した。しかし、国際レファレンスセンターから成績が送付されるまでには、菌株送付後1カ月から2カ月を要するため

に、行政対応は市販の血清キットにより得られた成績に基づかざるを得ない。

O103 : H2 や O150 : H8 のような EHEC は市販の病原大腸菌スクリーニング用血清キットでは検出することが不可能であることから、このような EHEC による感染者の発生状況は、従来、全く不明であったと推察される。しかし、EHEC の感染実態を究明するためには、血清キットを使用した従来法では検出できない EHEC も確実に検出、分離・同定することが必要である。地方衛生研究所は1991年以降、VT 遺伝子を標的とした PCR 法を導入しており、PCR 法によれば従来法では検出できない EHEC も VT 遺伝子を標的として迅速に分離・同定することが可能である。実際、EHEC O103 : H2 と O150 : H8 はいずれも EHEC 感染疑いで医療機関より提出された患者便から当所において PCR 法により検

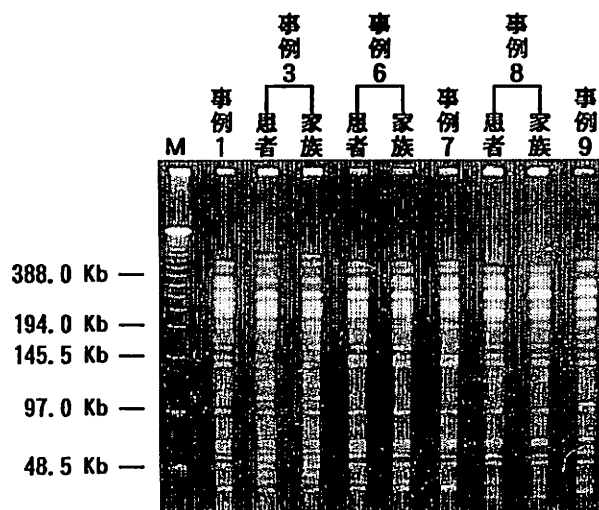


図2 平成8年に分離された EHEC O26 : H11 の XbaI PFGE パターン

出、分離・同定された。厚生省は、平成8年7月17日に各自治体等に宛てた「病原性大腸菌 O157 による食中毒について、保健所・地方衛生研究所の対応強化に関する通知」の中で医療機関に対して日本医師会等を通じ、O157感染が疑われる臨床例については地方衛生研究所に検体検査を迅速に依頼するよう指導している。地方衛生研究所は、今後も国内における EHEC 感染実態究明のために、医療機関の依頼を受け、その専門的技術を活用しながら患者糞便を対象としたEHECの検索を実施する必要があると考えられる。

IV 文 献

- 1) 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.
- 2) 八柳 潤, 他. 秋田県で散発下痢症から分離された Vero 毒素産生性大腸菌の性状. 感染症学雑誌, 1997 ; 71 : 598.
- 3) 八柳 潤, 他. 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-1 (EAST-1) 遺伝子保有大腸菌の性状. 感染症学雑誌, 1996 ; 70 : 215-223.
- 4) 八柳 潤, 他. 子牛が原因と考えられた腸管出血性大腸菌 O103 : H2 による家族内感染事例について—秋田県. 病原微生物検出情報, 1997 ; 18 : 132-133.
- 5) Dytoc, M. T. et. al, Distinct Binding Properties of eaeA-Negative Verocytotoxin-Producing Escherichia coli of Serotype O113 : H21., Infect. Immun., 1992 ; 60 : 3953-3961.

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) の Polymerase Chain Reaction (PCR) による同定、 および Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE) による型別

八柳 潤 鈴木 陽子 木内 雄 佐藤 宏康

mecA 遺伝子を標的とし、MRSA (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus) の同定を目的とした PCR (Polymerase Chain Reaction)、および MRSA の疫学解析を目的とした PFGE (Pulsed-field Gel Electrophoresis) の導入を試みた。Methicillin、Cefazolin、Ceftizoxime、Oxacillin に対する薬剤感受性試験を Kirby-Bauer法 (KB法) により測定した結果、MRSA と判定された50株中49株が mecA 遺伝子を保有していた。これに対して、前記4薬剤に感受性であることから MSSA (Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus) と判定された18株は、すべて mecA 遺伝子を保有していなかった。表現形から MRSA と判定されながら mecA 遺伝子を保有していなかった株が1株認められたが、mecA 遺伝子を標的とした PCR は MRSA 同定の迅速、簡便な同定法と考えられた。一方、制限酵素に SmaI を使用した PFGE により MRSA から生じたバンドの数は15本以下であり、DNA パターンの肉眼的観察に基づいて比較的容易に MRSA を分類することが可能であった。本 PFGE により前記MRSA50株の型別を試みたところ、13タイプに型別されることが明らかとなり、本 PFGE 法が MRSA の疫学解析法として有用であることが確認された。

キーワード：Methicillin Resistant Staphylococcus aureus、Polymerase Chain Reaction、mecA 遺伝子、Pulsed-field Gel Electrophoresis

I はじめに

MRSA (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus) は1980年以降、各地で分離頻度の増加が指摘されており、院内感染の原因菌として問題となっている¹⁾。MRSA の院内感染対策を構想するには、いかに詳細に感染源や感染ルートを解明できるかということが重要である。MRSA の感染源や感染ルートの解明を試みる場合、従来は疫学マーカーとしてコアグラゼ型、エンテロトキシン型、ファージ型等が利用されてきた。しかし、これらのマーカーを利用した解析では解析力が不十分であるなどの理由から詳細な解析は困難であった²⁾。

Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE) は1000ベースから数メガベースの DNA を効率良く分離する電気泳動技術であり³⁾、1990年以降 MRSA の分子疫学的解析手法としての応用が試みられている。PFGE によれば MRSA の詳細な分子疫学的解析が可能となり、院内感染や母児間感染事例などにおいてその有用性が報告されている⁴⁾。

今年度はこの PFGE による MRSA の分子疫学的解析手法の導入を試みた。また、MRSA の迅速同定を可能とする目的で mecA 遺伝子を標的とした PCR について検討した。

II 材料と方法

1. 菌株

MRSA と MSSA (Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus) の臨床分離株それぞれ50株および18株を秋田組合総合病院、検査科伊藤優子先生から分与を受け、供試した。

2. PFGE 法

(1) 菌体包埋アガロースブロックの調製と染色体 DNA の制限酵素消化

ジーンパス[®]試薬キット1 (バイオラッド) を使用し、取り扱い説明書に従い実施した。

(2) PFGE 装置と泳動条件

泳動装置には CHEF-DRII[®]システム (バイオラッド) を使用した。泳動用バッファーには0.5×TBE を、ゲルには1%PFC アガロース (バイオラッド) を使用した。泳動のパラメーターは満田たちの報告²⁾に従い以下のとおりとした：バッファー温度14℃、パルスタイム5-80秒 (Linier Lamp)、電圧0.6V/cm、泳動時間22時間。泳動が終了したゲルは常法によりエチジウムブロマイド染色後、写真撮影により泳動像を記録した。

3. PCR

テンプレートは、S. aureus の DNase の影響を避けるために proteinase K 処理を併用する、横山の方法⁵⁾ に準拠して調製した。mecA 遺伝子検出用プライマーに

表1 患者の所属病棟と分離株のPFGEパターン

病棟名	供試株数	PFGE パターン (株数)	病棟名	供試株数	PFGE パターン (株数)		
1 内	3	D'' (1)	耳外	1	D (1)		
		F (1)			寿	1	I (1)
		G (1)			小外	1	C (1)
2	2	A (2)	西2	6	A (6)		
6	3	A (3)	西3	6	A (2)		
E 4	6	A (2)			A' (1)		
		G' (1)			B (1)		
		G'' (1)			E (1)		
		H' (1)			H (1)		
E 5	5	J (1)	西4	5	A (1)		
		A (2)			A' (1)		
		B (1)			B' (1)		
		L (1)			B'' (1)		
外2	3	M (1)	不明	9	K (1)		
		A (3)			A (9)		

は、横山が報告した *mecA* 遺伝子のうちの316bpを増幅する *mecA* 1: 5'-GAA-GAT-GGC-TAT-CGT-GTC-AC-3' と *mecA* 2: 5'-CTG-GAA-CTT-GTT-GAG-CAG-AG-3' を0.5 μMの濃度で使用した。また、Toxic Shock Syndrome Toxin (TSST-1) 遺伝子検出用プライマーには市販品(タカラ)を0.25 μMの濃度で使用した。反応液の組成は既報(6)のとおりとし、ヒートサイクルは94°C 30秒、68°C 30秒、72°C 30秒25回とした。増幅断片の検出には3%アガロースゲルを使用した。

4. 薬剤感受性試験

供試株のMethicillin(センシディスク、BBL)、Cefazolin、Ceftizoxime、Oxacillin(KBディスク、栄研化学)に対する感受性をKB法により検討した。

III 結果および考察

1. PFGEによるMRSA臨床分離株の解析

秋田組合総合病院から分与されたMRSA供試株50株の*smal* PFGEパターンは、AからMまでの13に分類された。*smal* PFGEパターンは、レーンに存在するバンドの数が15本以下であったことから、分類作業は肉眼的な比較検討により比較的容易に実施することが可能であった。これらのパターンのうちA、B、D、G、Hのパターンを示す株には、バンドの違いが1本のみで、サブタイプと見なし得るパターンを示す株が存在し、それらには'を付してA'、B'などと標記した。また、パターンB、D、Gにはバンドの違いが1本のみパターンを示す株が複数種存在し、それらをB'、B''などと標記した。

供試した50株のうちパターンAを示した株が30株あり、最も多かった。また、パターンA'およびBを示した株

がそれぞれ2株あり、残りのパターンを示した株はいずれも1株ずつであった。表1にMRSAが分離された患者の所属する病棟と分離されたMRSAのPFGEパターンの関連を示した。2病棟、6病棟、外2病棟、西2病棟では患者から分離された株のパターンがすべてAであったが、E4病棟、E5病棟、西3病棟、西4病棟では分離株のパターンが多岐にわたっていた。このように、分離されるMRSAのPFGEパターンには病棟毎に特徴が認められる傾向があった。

今回、1病院で患者から分離されたMRSA 50株を供試してPFGEの導入を試みた。実際にDNA包埋プラグの作製、制限酵素消化、電気泳動、得られたパターンの比較検討を行った結果、市販の試薬キットを使用することにより、比較的容易にMRSAのPFGEが実施可能であることが確認された。また、得られたパターンの比較、解析は肉眼によっても比較的容易に実施可能であったが、供試株数が多い場合や菌株の近縁度を定量的に示したり系統樹を作成する場合には、市販のコンピューター解析ソフトの併用が望ましいと考えられた。本PFGE解析技術の導入により、県の医療行政が県内の医療機関のニーズに応じて院内感染対策をサポートするための基礎的技術基盤が確立したと考えられる。

2. PCRによるMRSAの同定

供試したMRSA 50株、およびMSSA 18株のMethicillin、Cefazolin、Ceftizoxime、Oxacillinに対する感受性、*mecA* 遺伝子保有状況を表2に示した。供試したMRSA 50株はすべて4薬剤に耐性を示し、その表現型からMRSAであることが確認された。これら50株のMRSAのうち49株が*mecA* 遺伝子を保有していたが、

表2 供試 MRSA、および MSSA 株の薬剤感受性、mecA 遺伝子、TSST-1 遺伝子保有状況

供試株	感受性				遺伝子保有		菌株数
	Methicillin	Ceftizoxime	Cefazolin	Oxacillin	mecA	TSST-1	
MRSA 50株	R	R	R	R	+	+	49
	R	R	R	R	-	+	1
MSSA 18株	S	S	S	S	-	-	18

R : Resistant
S : Sensitive

1株は4薬剤に耐性であるにもかかわらず mecA 遺伝子を保有していなかった。一方、供試した MSSA 18株はすべて mecA 遺伝子を保有せず、4薬剤に感受性を示した。

医療機関から MRSA として分与された50株は表現型からすべて MRSA と判定されたが、その50株中1株から mecA 遺伝子由来の増幅断片が得られなかった。この理由として、当該株が mecA 遺伝子を保有せず、mecA 遺伝子が関与する機構以外の機構で耐性を獲得していること、あるいは当該株の mecA 遺伝子のプライマーアニーリング部位に変異があり、PCR が進行しなかったことが考えられるが詳細は不明である。この事に関して、mecA 遺伝子を保有しない MRSA や mecA 遺伝子を保有しながら methicillin に感受性を示す株が存在する^{2) 8)}との報告もあり、methicillin 感受性の表現型と mecA 遺伝子の有無が完全には一致しないと考えられる。しかしながら、薬剤感受性の表現型から MRSA かどうかの判定をする場合、MRSA の耐性機構の本質が誘導耐性であることなどの理由により、判定に困難を来す場合があることが指摘されている⁹⁾。このため、MRSA の同定手段として mecA 遺伝子の有無を検出する PCR 法は、その迅速性も併せて、有用であるといえよう。

今回、疫学マーカーの一つとしての TSST-1 遺伝子の意義を検討する目的で供試株の TSST-1 遺伝子保有状況について検討したところ、MRSA 50株はすべて TSST-1 遺伝子を保有していたが、MSSA 18株はすべて TSST-1 遺伝子陰性であることが明らかとなった。このことは、MRSA と TSS の関連を示唆することとして興味を持たれる。

IV 文 献

- 1) 川上小夜子. MRSA の病棟での検出状況. 帝京医学雑誌, 1990 ; 13 : 320-324.
- 2) 満田年宏, 他. パルスフィールドゲル電気泳動法による感染症の分子疫学的解析. 日本細菌学雑誌, 1995 ; 50 : 1077-1086.
- 3) Chu, G. et al., Separation of large DNA molecules by contour-clamped homogenous electric fields., Science, 1986 ; 234 : 1582-1585.
- 4) Ichiyama S. et al., Genomic DNA fingerprinting by pulsed-field gel electrophoresis as an epidemiological marker for study of nosocomial infections caused by methicillin-resistant Staphylococcus aureus., J. clin. Microbiol., 1991 ; 29 : 2690-2695.
- 5) 横山俊伸. メチシリン耐性ブドウ球菌における mecA 遺伝子の検討. 感染症誌, 1993 ; 67 : 1203-1210.
- 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.
- 7) Murakami, K. et al., Identificatyion of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction., J. clin. Microbiol., 1991 ; 29 : 2240-2244.
- 8) Tokue, Y., et al., Comparison of polymerase chain reaction assay and by convensional microbiologic method for detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus., Antimicrob. Agent Chemother., 1992 ; 36 : 6-9.
- 9) 生田公子. MRSA の判定法と感受性測定時の留意点. MRSA 感染症のすべて (紺野昌俊 編) 1993 ; 143-162. 医薬ジャーナル社.

Polymerase Chain Reaction (PCR) による Salmonella typhi の同定

鈴木 陽子 八柳 潤 木内 雄 佐藤 宏康

チフス菌 (*Salmonella typhi*) の同定を目的とした PCR 法について検討した。プライマーには Song たちが報告した *S. typhi* の flagellin gene の343bp 断片を増幅する ST-3、および ST-4 を使用した。*S. typhi* 5 株、*S. paratyphi* A 5 株、*S. paratyphi* B 2 株、および *S. Enteritidis* 5 株を使用して PCR の反応条件と特異性について検討した結果、annealing 温度を68℃とすることで *S. typhi* が特異的に同定可能であることが確認された。また、20回のヒートサイクルで *S. typhi* の同定が可能であり、その場合 PCR がおよそ1時間で終了することから迅速同定が可能であった。

キーワード：PCR、*Salmonella typhi*、flagellin gene

I はじめに

腸チフスはチフス菌 (*Salmonella typhi*) により惹起され、階段状上昇、弛緩など特異な熱型、バラ疹、脾腫などを特徴とする全身性感染症である。国内での腸チフス患者年間発生数は終戦直後まで40,000人前後であったが、1987年以降は100人台に減少した。一方、輸入例は次第に増加し、発生数の40%前後となっている¹⁾。

我々は、法定伝染病や発生が稀となった感染症の原因細菌の同定技術の確保と迅速診断を目的として、昨年度までにジフテリア菌²⁾、百日咳菌³⁾、および髄膜炎菌³⁾ 同定用のPCRを導入した。今年度はPCRによるチフス菌の迅速同定について検討したのでその成績を報告する。

II 材料と方法

1. 菌株

特異性の検討には *S. typhi* 5 株、*S. paratyphi* A 5 株、*S. paratyphi* B 2 株、および *S. Enteritidis* 4 株を使用した。これらの供試株はいずれも県内で分離された臨床分離株である。

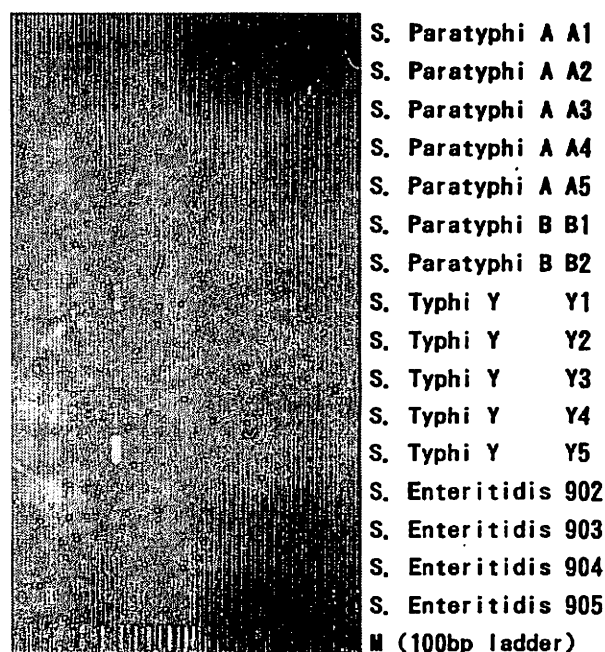
2. PCR

S. typhi の flagellin gene の343bp 断片を増幅するプライマーとして、Song ら⁴⁾ が報告した ST-3 : 5'-AGA-TGG-TAC-TGG-CGT-TGC-TC-3'、および ST-4 : 5'-TGG-AGA-CTT-CGG-TCG-CGT-AG-3' を使用した。反応液の組成は既報⁵⁾ のとおりとした。ヒートサイクルは94℃ 30秒、68℃ 30秒、72℃ 30秒20回とし、増幅断片の検出には3%アガロースゲルを使用した。なお、テンプレートには100℃ 10分間加熱した後、氷冷した被検菌の生理食塩液懸濁液を使用した。

III 結果および考察

プライマー ST-3、および ST-4 を使用した PCR による *S. typhi* flagellin gene 検出の特異性について検討した結果を図1に示した。供試した *S. typhi* 臨床分離株5株すべてから予測された343 bp の増幅断片が得られた。一方、*S. paratyphi* A、*S. paratyphi* B、*S. Enteritidis* のいずれからも増幅断片は得られず、特異性が認められた。また、ヒートサイクルを20回とした場合、PCR に要する時間は約1時間であり迅速な同定が可能であった。なお、データは示さないが、annealing 温度を57℃とし、ヒートサイクルを25回とした場合、

図1 PCR による *S. Typhi* flagellin 遺伝子検出の特異性



多数のエキストラバンドが観察され、同定は困難であった。

S. typhi は感染初期に末梢血、発病2週日以降は糞便中に証明される¹⁾。Song たちは腸チフス発病初期の迅速診断を目的として血液中の *S. typhi* を検出するための Nested-PCR について検討し、当該検出系の *S. typhi* 検出感度が約10個であることを示した⁴⁾。Song たちの Nested-PCR によると、患者の血液を検体として腸チフスの迅速同定が可能である反面、Nested-PCR では原因菌が分離されないためにフェージ型別などの疫学解析が実施できないという問題も生じる。そのため、我々は分離培養を実施して得られた分離株の同定を目的とした PCR について検討した。今回の成績からプライマー ST-3 および ST-4 を使用した PCR により *S. typhi* が特異的に同定可能であることが示された。加えて、分離平板上のコロニーからテンプレートを調製することが可能であること、さらに PCR が約1時間で終了することから、今回我々が検討した PCR 系は分離平板上に生じた *S. typhi* が疑われるコロニーを対象とした迅速同定

法として有用であるものと考えられた。

IV 文 献

- 1) 伝染病予防必携 第4版, (財)日本公衆衛生協会, 重松逸造 他 編, 1992, 194-197p.
- 2) 八柳 潤, 他. Polymerase Chain Reaction によるジフテリア毒素遺伝子の検出. 秋田県衛生科学研究所報, 1995 ; 39 : 29-30.
- 3) 八柳 潤, 他. Polymerase Chain Reaction (PCR) による百日咳菌および髄膜炎菌の同定. 秋田県衛生科学研究所報, 1996 ; 40 : 39-42.
- 4) Jae-Hoon Song et. al., Detection of *Salmonella typhi* in the Blood of Patients with Typhoid Fever by Polymerase Chain Reaction., *J. Clin. Microbiol.*, 1993 ; 31 : 1439-1443.
- 5) 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.

原因不明食中毒の解明に関する調査研究

八柳 潤 齊藤志保子 鈴木 陽子 木内 雄 佐藤 宏康

秋田県では原因不明食中毒事例の割合が全国と比較して高く、且つ、下痢原性大腸菌を病因物質とした食中毒事例が確認されていなかったことから、原因細菌が検出されなかった食中毒事例を対象として Polymerase Chain Reaction (PCR) 法により毒素原性大腸菌 (ETEC)、組織侵入性大腸菌 (EIEC)、腸管出血性大腸菌 (EHEC)、腸管凝集付着性大腸菌 (EAggEC)、接着絨毛破壊性大腸菌 (AEEC) の検索を実施した。また、原因と考えられる細菌が全く検出されなかった事例については Small Round Structured Virus (SRSV) の検索を実施した。検討した食中毒11事例のうち、7月、8月、3月に発生した事例では患者便から ETEC (O169 : H41とO6群)、EPEC (O1 : H7とO1 : NM)、EAggEC (O111 : NM) がそれぞれ分離され、秋田県においても下痢原性大腸菌による食中毒事例が発生していることが確認された。8月に発生した事例では、同一事例から複数の血清型の EPEC (O1 : H7とO1 : NM) が分離され、且つそれらの株からいずれも既知病原因子が検出されなかった。分離株のパルスフィールド電気泳動パターンを比較した結果、O1 : NM が当該事例の原因菌である可能性が分子疫学的に示唆されたが、当該株の下痢原性の有無、病原因子の詳細については今後の検討が必要であった。一方、12月から2月に発生した8事例のうち、7事例から SRSV が分離され、秋田県においても冬季に SRSV による食中毒様事例が発生していることが初めて確認された。

下痢原性大腸菌のうち、EPEC の一部を除く、病原因子が解明されている菌種はその病原因子をコードする遺伝子をターゲットとしたPCR法により迅速、且つ確実に分離・同定することが可能であることが明らかとなり、PCR 法は食中毒発生時に食品衛生行政をサポートする上で有用と考えられた。

キーワード：原因不明食中毒、下痢原性大腸菌、Small Round Structured Virus、Polymerase Chain Reaction

I はじめに

全国食中毒事件録によると、昭和60年から平成6年の10年間に全国で発生した食中毒事例のうち、原因不明となった事例は全体の16.3%であったのに対して、秋田県では21.4%と若干高率であった。同期間に全国では、毒素原性大腸菌や病原血清型大腸菌などの下痢原性大腸菌が病因物質とされた事例が細菌性食中毒の4.3%を占めているが、秋田県では下痢原性大腸菌による食中毒事例は全く報告されていない。

下痢原性大腸菌は病原機構の違いから毒素原性大腸菌 (Enterotoxigenic *E. coli* : ETEC)、組織侵入性大腸菌 (Enteroinvasive *E. coli* : EIEC)、腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *E. coli* : EHEC)、腸管凝集付着性大腸菌 (Enteraggregative *E. coli* : EAggEC) そして接着絨毛破壊性大腸菌 (Attaching and effacing *E. coli* : AEEC) に分類される。また、特定の血清群や血清型に属するが、病原機構は不明である一群が病原血清型大腸菌 (Enteropathogenic *E. coli* : EPEC) と呼ばれてきた。これらの下痢原性大腸菌を同定する場合、市販の血清キットにより1次スクリーニングを実施した後、エンテロトキシンやベロ毒素などの病原因子を検出する必要があり、EPEC の同定には O : H 血清型の決定が

必要である。病原因子の検出は下痢原性大腸菌の同定に必須であるが、その同定を繁雑にする要因でもあった。しかし、近年、Polymerase chain reaction (PCR) 法の導入により下痢原性大腸菌の同定が容易、且つ確実となった。

我々は平成7年1月に県内で発生した食中毒様事例の原因菌が EAggEC Heat-stable enterotoxin-1 (EAST-1) 遺伝子を保有する EPEC O126 : NM である事を報告した¹⁾。後に、当該株が EAggEC の凝集性付着能発現に関する regulator gene である aggR 遺伝子を保有する EAggEC であることが明らかとなり、秋田県内でも下痢原性大腸菌による集団感染事例が発生していたことが明らかになったと同時に、下痢原性大腸菌の迅速同定法として PCR 法が極めて有用であることが確認された。

このような背景から、県内で全く不明であった下痢原性大腸菌による食中毒事例の発生実態を解明する目的で、PCR 法を使用して食中毒患者便からの下痢原性大腸菌の検出を試みた。さらに、病因物質と考えられる細菌が全く検出されなかった事例については下痢原性ウイルスの検索を実施した。

表1 下痢原性大腸菌とSRVの検索成績

事例番号	発生日	検出病因物質	備考
1	7	EPEC (O169 : H41、O6群)	耐熱性エンテロトキシン陽性
2	8	EPEC (O1 : H7、O1 : NM)	既知病原因子を保有せず
3	12	SRSV	
4	12	不検出	キャリーブレイ入り糞便からSRV検出を実施
5	12	SRSV	EAggEC (O44 : NM) 混合感染
6	12	SRSV	
7	12	SRSV	
8	12	SRSV	
9	12	SRSV	
10	2	SRSV	
11	3	EAggEC (O111 : NM)	EAST-1 ²⁾ 、aggR

1) : 被験者5名中SRV陽性5名、EAggEC陽性1名

2) : EAggEC heat-stable enterotoxin-1

II 材料と方法

1. 検体

平成8年度に県内で発生した食中毒事例のうち、食中毒原因細菌が検出されなかった11事例の便を供試した。

2. 下痢原性大腸菌の検索

既報²⁾に従い検索を実施したが、Non-O157 EHECの検索にはEC培地とDHL、O157の検索にはノボピオン加mEC培地とCT-SMACを使用した。

3. SRSVの検索

食中毒患者便について、Utagawa、35/38、Yuri プライマーを使用したRT-PCR法(本誌別稿)、および電顕によりSRSVを検索した。

III 結果および考察

表1に下痢原性大腸菌およびSRSVの検索成績を示した。検討した11事例のうち、7月、8月、および3月に発生した3事例から下痢原性大腸菌が分離された。7月に発生した事例1は耐熱性エンテロトキシン陽性のEPEC(血清型O169:H41とO6群が混合感染)が病因物質であった。なお、事例1は台湾旅行者が発症した事例であり、同時期に横浜市、広島県、高知県でも台湾旅行者が発症して患者から耐熱性エンテロトキシン陽性のEPEC(O169:H41)が分離された。そこで、横浜市、広島県、高知県の衛生研究所と情報、及び分離株を交換し、患者が台湾で利用した飲食店、および分離株のパルスフィールド電気泳動(PFGE)パターンを比較検討した結果、本県を含めた3県1市で発生した患者は台湾旅行中に共通の飲食店でEPECに感染したものと推

定された³⁾。

事例2では患者が受診した医療機関の検査室で分離されたE. coli O1群5株について性状、病原因子の保有状況を調査したところ、5株の血清型はすべて同一ではなく、O1:H7が2株、O1:NMが3株であった。これらはいずれもEPECとして報告のある血清型であったが、5株はすべて既知病原因子のいずれをも保有しなかった。このように同一事例から複数の血清型のEPECが分離されたこと、および分離株が既知病原因子を全く保有していなかったことから、分離された5株については下痢原性を証明すること、および今回の事例の病因物質であると断定することができなかった。そこで、5株の分子疫学的性状を比較する目的でNotI PFGEパターンを比較したところ、データは示さないがO1:NM3株のパターンが同一であること、およびO1:H72株のパターンはお互いに異なり、O1:NMのパターンとも異なることが明らかとなった。以上の成績はO1:NMが今回の事例の病因物質である可能性を示唆していたが、その下痢原性を証明するためには今後さらに検討が必要であると考えられた。

事例11で分離されたO111:NMは既知EPECの血清型であるが、当該株はEAST-1とaggRを保有していることからEAggECであることが明らかとなった。なお、AEEC、EHEC、EIECはいずれの事例からも検出されなかった。

一方、12月から2月にかけて発生した8事例では原因と考えられる細菌が全く分離されなかった。これらについてSRSVの検索を実施したところ、7事例からSRSV

が検出された。SRSV が検出されなかった1事例についてはキャリーブレイク培地に採取された糞便を検体としたおり、アガロース中の成分により PCR が妨害されたものと推定された。なお、SRSV の検出などについては別稿に詳述してある。今回の検討により、冬季間、秋田県においても SRSV による食中毒様事例が発生していることが初めて確認された。

平成7年1月の事例¹⁾、および今回の事例11の検討結果から、血清型から EPEC と同定された菌の中に、保有する病原因子から EAggEC と同定されるものがあることを明らかにした。一方、EPEC の病原因子としては以前から eaeA が同定されており⁴⁾、eaeA を保有する大腸菌は AEEC とも呼ばれている。これらのことから、EPEC には病原機構が異なる複数の菌種が含まれているといえよう。また、EPEC の中には未だに病原機構が解明されていない菌種が存在する可能性も否定できない。実際、今回、事例2で分離された EPEC O1 : NM は疫学的に下痢原性が推定されるにもかかわらず、既知病原因子が検出されなかった。この EPEC O1 : NM のような菌が実際に下痢原性を有するかどうかについて、また、その病原機構、病原因子については今後解明される必要がある。下痢原性大腸菌のうち、EPEC の一部を除く、ETEC、EAggEC など病原因子が解明されている

菌種はその病原因子をコードする遺伝子をターゲットとした PCR 法により迅速、且つ確実に分離・同定することが可能である。実際、今回、最短では糞便を受領した翌日に原因菌の分離・同定、血清群の決定が可能であった。今後、この技術を導入することにより食品衛生行政をサポートすることが可能と考えられる。

IV 文 献

- 1) 八柳 潤, 他. 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様事例由来病原血清型大腸菌. 感染症学雑誌, 1996 ; 70 : 73-79.
- 2) 八柳 潤, 他. 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-1 (EAST-1) 遺伝子保有大腸菌の性状. 感染症学雑誌, 1996 ; 70 : 215-223.
- 3) 八柳 潤, 他. 国内多地域で同時期に発生した毒素原性大腸菌 O169 : H41による海外旅行者下痢症—秋田県. 横浜市. 広島県. 高知県. 病原微生物検出情報, 1997 ; 18 : 157-158.
- 4) Donnenberg, S. and Kaper, J. B., Enteropathogenic *Escherichia coli.*, *Infect. Immun.*, 1992 ; 60 : 3953-3961.

カンピロバクター分離株の薬剤感受性と型別について

鈴木 陽子 八柳 潤 木内 雄 斎藤志保子

カンピロバクターレファレンスセンター事業として、当所で分離または医療機関から提供された菌株（1991年から1996年の過去6年間、737株のうち58株）について、薬剤感受性試験を行った。ニューキノロン系薬剤に対して多剤耐性の株が24%認められた。また、1996年の分離された菌株（102株のうち45株）について Penner 型別を行ったところ Lior 型別で型別できない菌株については、Penner 型別を実施することにより型別可能になる可能性が高いことが示唆された。

キーワード：C. jejuni、Lior 型別、Penner 型別

I はじめに

ニューキノロン剤耐性菌の出現が報告されており、耐性菌出現の動向を監視することは重要である。そこで、カンピロバクターレファレンスセンター事業として県内で分離された菌株について薬剤感受性をディスク法で行った。また、Lior型別では同定できない株が多数存在していることから Penner 型別の検討を行ったので報告する。

II 材料および方法

1 感受性試験（ディスク法）

(1) 供試菌株

過去6年間（1991年1月から1996年12月まで）に当所で分離または医療機関から提供された株を Lior 型別に集計し、検出頻度に従って LIO 4 を19株、LIO 1 を13株、LIO 6 を11株、TCK 1 を3株、TCK12を9株選別し、また関西以南の各地で出現している LIO36については3株、計58株を用いた。菌株は検出年の偏りがないように配慮したが血清型によっては検出されない年があった。全ての株はオキシダーゼ陽性、カタラーゼ陽性、馬尿酸塩加水分解陽性、42℃発育陽性であった。

(2) 使用薬剤

使用薬剤は日本ベクトン・デッキンソンから市販されている Norfloxacin (NF)、Ofloxacin (OFLX)、Ciprofloxacin (CPFX)、Nalidixic acid (NA)、Erythromycin (EM)、Tetracycline (TC) (Sensi-Disc) の計6剤を使用した。

(3) 接種菌液の調整

Kirby-Bauer 法に準じて行い、ミューラーヒントンプロス 3 ml に菌苔を一白金耳とり Na10 Mcfarland 標準液程度に調整した。接種菌液の濁度の検討を行ったところ、Na 1 Mcfarland と Na10 Mcfarland のそれぞれの標準液の濁度の菌液を接種して阻止円を測定しても、大差は

なく結果は変わらなかった。

(4) 接種法

接種菌液に綿棒を浸し余水を管壁で取り除いた後、ミューラーヒントン寒天培地（90mmシャーレ）に接種した。この時シャーレを回転させ、異なった方向より3回均等に塗抹した。各ディスクは24mm以上離れるように配置した。微好気ジャー（BBL、Anaero Pack Campylo）を用いて42℃ 1日培養後阻止円を測定した。

2 Penner 型別

(1) 供試菌株

1996年1月から12月にかけて、当所で糞便から分離または医療機関から提供された102株のうち、Lior 型別を行って血清型の決定した株と、UT（型別不明）となった株を無作為に抽出した。45株について Penner 型別を行った。

(2) 型別

感染研（予研）から配付のあった血清型別用試薬、抗血清（デンカ生研）を使用した。型別操作は添付されている説明書に準じて行った。

III 結果及び考察

C. jejuni や C. coli は NA (30 μl) に感受性で、C. laridis や C. fetus は同薬剤に耐性とされている¹⁾。NA に感受性であることは C. jejuni の同定には欠くことのできない性状の一つである。都立衛研で行った年次別耐性菌出現頻度の報告²⁾によると1989年から1994年までのNA耐性菌の割合は、5%、3%、3%、12%、23%、16%と推移し1992年以降増加傾向にあり、同定上問題がある。これに対して、秋田県内では、1995年までNA耐性株の出現はなかったが、1996年に1株が認められた（表1）。都立衛研のNA耐性株出現頻度（16%、1994）と比較すると割合は低い（1.7%）が、今後は県内のNA

表1 年次別耐性パターンの推移

耐性パターン		供試菌株分離年					合計	
		1991	1992	1993	1994	1995		1996
単剤耐性	NA					1	1	
	EM					1	1	
	TC	2(40%)	6(46%)	4(50%)	2(29%)	2(22%)	3(19%)	19(33%)
二剤耐性	EM、TC				1		1	2
多剤耐性	NFLX、OFLX、CPFX、NA				1		3	4(7%)
	NFLX、OFLX、CPFX、NA、EM						1	2(3%)
	NFLX、OFLX、CPFX、NA、TC		1	2	2	1	3	8(40%)
ニューキノロン剤多剤耐性株数/供試菌株 (ニューキノロン剤多剤耐性株の割合)		1/13 (8%)	2/8 (25%)	3/7 (43%)	1/9 (11%)	7/13 (44%)	14/58 (24%)	
合計 (耐性株/供試菌株)		2/5 (40%)	7/13 (54%)	6/8 (75%)	6/7 (86%)	4/9 (44%)	12/16 (75%)	37/58 (64%)

耐性株増加の可能性を視野にいれ、同定を行っていく必要があると考えられる。

C. jejuni 腸炎の治療薬としては、EMをはじめとしたマクロライド系抗菌薬や、ニューキノロン系抗菌薬が用いられている³⁾。しかし、最近、ニューキノロン系抗菌薬に対して耐性の C. jejuni が出現しはじめていることが諸外国で指摘されてきている。感染性胃腸炎の治療薬として多用されているニューキノロン系抗菌薬に耐性の C. jejuni の増加は治療上問題があり、その動向の監視は重要なことである。県内のニューキノロン系抗菌薬耐性株の出現をみても、単剤耐性株は全く認められなかったが、NFLX、OFLX、CPFX の多剤耐性株が高頻度に認められ、1992年に8%であったのが、1996年には44%にまで増加していた。このことから、県内でも諸外国および都立衛研の報告²⁾同様に、ニューキノロン系抗菌薬耐性の C. jejuni が出現してきていることが明らかになった。さらにニューキノロン系抗菌薬耐性株の出

現頻度を血清型別に比較してみると、LIO 4 に耐性株が多い傾向(37%)が認められた(表2)。

TC 耐性株は1991年から1996年まで毎年出現しているが1993年の50%を最高に減少傾向にある。

カンピロバクターの血清型別には、易熱性抗原を用いた方法の代表として Lior らのスライド凝集法、耐熱性抗原を用いた方法の代表として Penner らの受身血球凝集法がある⁴⁾。二種類の型別法のそれぞれの長一短を踏まえた上で、相関性、相補性の検討をする必要がある。今回は、1996年に当所で分離または医療機関から提供された株を、無作為に45株選び Penner 型別を実施した(表3)。LIO 1 の8株のうち7株が Penner 型別でD、LIO 4 の8株のうち5株がBとなり各々88%、63%と高い相関性を示した。また、当所で1991年から1996年までに行った Lior 型別のUTの割合は各々20%、28%、38%、31%、40%、25%と推移しており、平均で30%は型別できなかった。今回の Penner 型別では、UTとなる

表2 Lior 型別耐性パターン

耐性パターン		Lior 型別					合計	
		1	4	6	36	T1		T12
単剤耐性	NA		1				1	
	EM			1			1	
	TC	7	7	1	3	1	19	
二剤耐性	EM、TC			1			1	2
多剤耐性	NFLX、OFLX、CPFX、NA	1	3				4	
	NFLX、OFLX、CPFX、NA、EM			1			1	
	NFLX、OFLX、CPFX、NA、TC	1	4			1	3	9
ニューキノロン剤多剤耐性株数/供試菌株 (ニューキノロン剤多剤耐性株の割合)		2/13 (15%)	7/19 (37%)	1/11 (9%)		1/3 (33%)	3/9 (33%)	14/58 (24%)
合計 (耐性株/供試菌株)		9/13 (69%)	15/19 (79%)	4/11 (36%)	3/3 (100%)	2/3 (67%)	4/9 (44%)	37/58 (64%)

表3 Lior 型別と Penner 型別の相関

Lior	Penner	菌株番号	Lior	Penner	菌株番号	Lior	Penner	菌株番号
1	D	2487	6	F	2486	T12	J	2495
	D	2537		D, F	2494		A, J	2529
	D	2489	7	L, Z ₂	2497	T13	K	2502
	D	2491		C, D	2504		K	2517
	D	2518	10	UT	2501	UT	UT	2505
	D	2533		UT	2510		UT	2507
	D	2534		R	2503		UT	2511
	F	2488	11	L	2527		UT	2512
2	G	2515		UT	2510		Y	2508
	G	2524	26	D	2528		L	2516
4	B	2493	27	L	2514		D, F	2520
	B	2506		UT	2513		B	2531
	B	2509	30	A	2530	F	2532	
	B	2535	39	Z	2521			
	B	2536						
	D, F	2525						
	F, K	2538						
F, K	2539							

割合が18%で、Lior 型別と比較すると有用であるといえる。45株のうちLior 型別でUTとなった9株を、Penner 型別を行ってみると、56%の5株は型別可能であった。このことによりLior 型別で型別できない菌株については、Penner 型別を実施すると型別可能になる可能性が高いことが考えられた。しかしPenner 型別でもUTとなる株が18%あり、操作法が煩雑であること、型別の抗血清が25種類で、Lior 型別の30種類よりも少ないこと等から、ルーチン検査でPenner 型別を実施するメリットは少ないと考えられた。カンピロバクターレファレンスセンターとして、血清型別を行っている衛研のなかで、山口衛研の血清型別率が95.2%と非常に高くなっている。山口衛研ではその要因として、ブロスでの継代培養を5~7回繰り返して型別を行うと型別率が向上することを報告している。そこで今回、この方法の有用性について検討した。継代にはミューラーヒントンブロスを用いた。3~4回の継代で、UTだった株のうち42.9%は型別可能になったが、他は継代するごとに多価血清への凝集性が変化、または自己凝集が認められ、型別可能とはならなかった。また、以前に7~8回の継代を行って型別を試みたことがあったが、一度決定した型が他の型へ変化することを経験した。このように、菌株により型別が可能になる継代培養の回数、培養時間が異なること、継代の過剰により血清型が変化する場合があることを考慮し、最適な継代培養条件の検討が必要である。以上より、Penner 型別、およびLior 型別を行う際の

型別率を向上させる目的で継代培養を繰り返すことは、ルーチン検査では必ずしも実施する必要はないと考えられた。しかし、これらのことは集団事例など疫学解析が必要な場合には試みる価値があると考えられ、特に継代培養の条件についてあらかじめ検討しておく必要がある。

関西以南の各地でLIO36が集団・散发事例で増加している。秋田県内での発生状況は、1991年に1株、1992年に11株、1993年に1株分離されてからは分離されていない。今後、食品の流通、人的交流等によるLIO36の出現を視野にいれ、分離菌株の動向監視を続けていく必要があると考えられた。

IV 文 献

- 1) 厚生省(監修). 微生物検査必携—細菌検査第3版. 日本公衆衛生協会, 1987; D118-D132.
- 2) 只野敬子, 他. 下痢患者由来 *Campylobacter jejuni* のニューキノロン薬に対する薬剤感受性の年次別推移. 感染症誌, 1996; 70: 1228-1233.
- 3) 小花光夫, 他. *Campylobacter* 腸炎患者の治療における問題点—特にニューキノロン剤使用後の耐性菌発現例に関しての検討. 感染症誌, 1992; 66: 923-929.
- 4) 斎藤香彦, 他. ホルマリン処理菌を用いたスライド凝集反応による *Campylobacter jejuni* の血清型別法. 感染症誌, 1987; 42: 499-511.

ツツガ虫病診断検査状況について

鎌田 和子 田中 恵子* 斎藤 博之 原田誠三郎 佐藤 宏康

平成4年度から、ツツガ虫病確定診断を血清学的検査法を用いて行っている。平成8年度までの5年間において、191名がツツガ虫病と診断され、うち4名が死亡している。患者発生数は年度により差はあるものの、いずれも5~6月に最も多かった。早期診断・早期治療や予防のために、迅速な血清診断と公表システムによる広報活動は重要なものと考えられた。

キーワード：ツツガ虫病、間接免疫ペルオキシダーゼ法（IP法）、リケッチア

I はじめに

届出伝染病であるツツガ虫病は、治療が遅れた場合死亡するおそれもあるが、初期症状はインフルエンザなどの熱性疾患と似ており、また患者は刺傷感などの自覚症状も少ない疾患である。これらのことから秋田県では、過去15年以上前から早期診断及び早期治療、適確な届出体制がとられていたが平成4年度以降当衛生科学研究所（以下、当所という。）で確定診断を行っている。平成4年度から平成8年度までに、被検者639名、検査血清1,050件について検査を行い、このうち191名がツツガ虫病と診断されたので、その概要について報告する。

II 材料及び方法

1. 検査体制、公表のシステム（図1）

秋田県では、医療機関でツツガ虫病が疑われた場合、または不明の高熱・熱性発疹症の患者が診られた場合は、県内いずれの医療機関からでも無料で確定診断を受け付

けている。当所では血清検体が届きしだい確定診断検査を行い、その結果を直ちに医療機関へ連絡している。ツツガ虫病と確定した症例については、医療機関から管轄保健所へ届出、即日、保健衛生課から報道機関へ公表される。この患者発生情報により、県民、医療関係者はツツガ虫病に対する関心を常に高めており、これが早期発見、早期治療へつながっている。

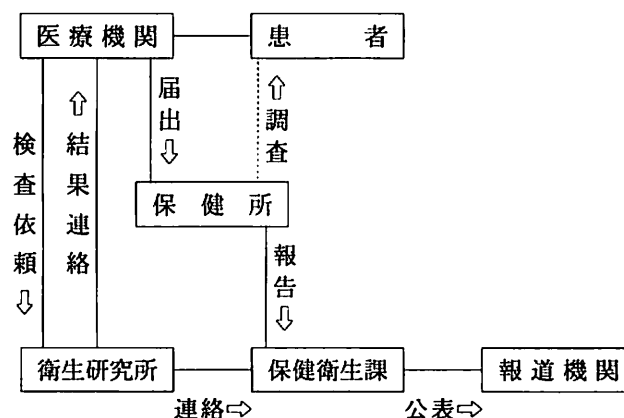
2. 検査方法

間接免疫ペルオキシダーゼ法（IP法）¹⁾に従い検査を行った。

(1) 抗原リケッチア・スライドの調整

診断用抗原としては、当所でL細胞を用い継代培養している Gilliam, Karp, Kato の3株を用いて、抗原スライドを作成した。抗原スライドは作成¹⁾後、冷アセトン固定、ポリエチレン袋に分包封入し、使用時まで-20℃で保存した。

図1 ツツガ虫病検査・公表システム



* 生活センター

(2) 対象

県内医療機関より依頼された検体について、無料で確定診断検査を行った。初回採血で判定ができない場合は、再採血を依頼しペア血清として判定を行った。

639名、このうち191名がツツガ虫病と診断され、確定率は29.9%であった。年度別で検査対象者数が最も多かったのは平成4年度の162名、少なかったのは平成6年度の100名であった。また、確定患者数も同じく平成4年度が最も多く59名、少なかったのは平成6年度の24名であり、年度により患者発生数に差がみられた。これは、気候の変動やそれに伴う人や動物の活動時期の違いなどによるものと考えられた²⁾。

Ⅲ 検査結果及び考察

1. 平成4年度から平成8年度までの5年間の検査件数を表1に、月別患者状況を表2に示した。被検者総数

表1 検査件数 (平成4年度～8年度)

年度 \ 月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
4	16	45	66	41	28	21	20	20	9	1	2	3	272
5	7	51	74	26	11	13	11	8	7	2	0	0	210
6	4	35	55	23	10	9	10	10	4	0	0	1	161
7	7	76	63	18	7	8	13	11	4	0	0	2	209
8	3	38	75	27	16	6	9	7	13	3	0	1	198
計	37	245	333	135	72	57	63	56	37	6	2	7	1050

表2 ツツガ虫病患者月別状況 (平成4年度～8年度)

年度 \ 月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
4	確定数 (名)	8	23	13	2	4	0	5	3	1	0	0	59
	検査数 (名)	16	36	35	14	19	10	14	10	4	1	1	162
	確定率 (%)	50	64	37	14	21	0	36	30	25	0	0	36
5	確定数 (名)	1	14	13	2	0	1	3	2	2	0	0	38
	検査数 (名)	5	35	44	13	8	9	7	5	4	1	0	131
	確定率 (%)	20	40	30	15	0	11	43	40	50	0	0	29
6	確定数 (名)	0	6	8	2	2	0	1	5	0	0	0	24
	検査数 (名)	3	23	31	13	7	7	7	7	1	0	0	100
	確定率 (%)	0	26	26	15	29	0	14	71	0	0	0	24
7	確定数 (名)	1	26	8	1	0	1	3	3	1	0	0	44
	検査数 (名)	5	47	33	9	5	6	9	4	4	0	0	123
	確定率 (%)	20	55	24	11	0	17	33	75	25	0	0	36
8	確定数 (名)	1	9	10	1	0	0	1	2	2	0	0	26
	検査数 (名)	3	27	39	17	11	3	6	6	8	2	0	123
	確定率 (%)	33	33	26	6	0	0	17	33	25	0	0	21
計	確定数 (名)	11	78	52	8	6	2	13	15	6	0	0	191
	検査数 (名)	32	168	182	66	50	35	43	32	21	4	1	639
確定率平均 (%)	34	46	29	12	12	6	30	47	29	0	0	0	30

2. ツツガ虫病による死亡者は5年間に4名(表3)であり、基礎疾患のためツツガ虫病の症状が明瞭でなかった場合や家族が不在で受診が遅れたことなどが原因とみられ、初回血清採取後数日以内に死亡しているが、このうち3名は既に高い抗体価を示していた。

表3 平成4年度～8年度死亡症例

年度	年齢	性別	感染推定場所
平成4年度	52	女	山地(山菜採り)
〃	82	男	河川敷
平成5年度	72	男	農地
平成8年度	84	男	山地(山菜採り)

3. 患者発生時期は、5年間では4月中旬から12月上旬であり、1～3月は発生がみられなかった。しかし、他県でツツガムシに吸着され、帰県後発病した報告例³²⁾もあり、年間を通して注意が必要と考えられた。

患者発生の最も多い時期は5月～6月、次いで10月～11月で、これは秋に孵化し吸着するか、未吸着のまま越冬して春に吸着するフトゲツツガムシの生態に起因すると考えられた²⁾。

4. ツツガ虫病患者保健所別届出(図2)は、大館、鷹巣保健所管内で5年間で30名を上回った。次いで能代、大曲保健所管内が20名以上であったが、5年間では、いずれの保健所管内でも届出があった。

届出を行った医師は5年間で124名、このうち複数の患者の届出を行った医師が38名であり、医療機関も全県にわたっていた。

5. ツツガ虫病患者の年齢群別の状況を表4に示したが、50才代以上が163名と全体の85.3%を占めた。性別では、40～50才代では男性が多く、60才代はほぼ同数、70～80才代では女性が多かった。被刺時の作業内容は、山林作業(64名)や田畑作業(74名)が多かった。

表4 ツツガ虫病 年齢群別・作業内容別患者数

年齢群	患者数	性別		推定感染時作業内容(調査票)				
		男	女	山林作業	田畑作業	魚釣り	土木作業	不明
80才以上	8	2	6	4	1			
70～79	44	19	25	15	20	1		8
60～69	68	35	33	22	30	2		14
50～59	43	27	16	19	15	1	1	7
40～49	17	12	5	3	6	1	2	5
30～39	3	2	1	1	1			1
20～29	2	2	0			1	1	
10～19	3	2	1			1		2
0～9	3	2	1		1			2
計	191	103	88	64	74	7	4	42

また、患者の臨床所見のうち、刺し口・発熱・発疹の有無は表5のとおりで、刺し口・発熱はほぼ全症例に認

図2 保健所管内別届出状況(平成4年度～8年度)

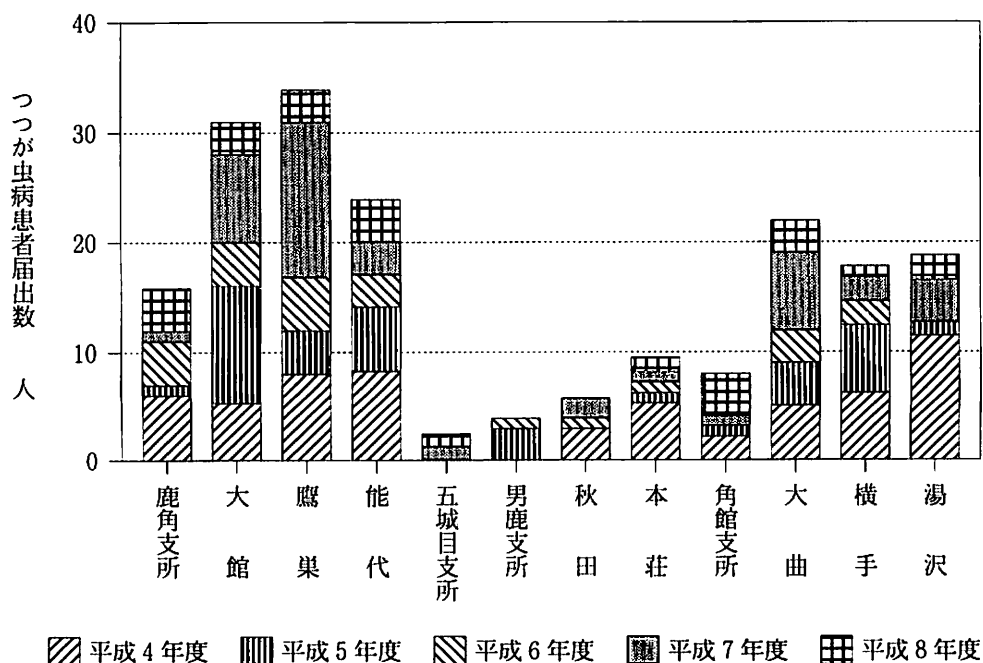


表5 臨床所見（患者調査票）

臨床所見	有	無	不明
刺し口	186		5
発熱	189		2
発疹	165	25	1

（患者数 計：191名）

められた。刺し口の部位は臀部や大腿部付近が89名（42.9%）と多かった。発疹は165名（86.4%）に認められ、25名（13.1%）では認められなかったが、発疹出現以前に早期治療された症例もみられた。

6. 初回検査を行い、抗体価が未上昇とみられる場合などは、再採血を依頼した。ツツガ虫病と確定した時点における検査回数は表6のとおりであり、2回目採血で確定したものが初回採血とほぼ同数であった。

表6 確定時の受付回数

採血回数	確定数（名）	確定割合（%）
初回	95	50.3
2回目	91	48.1
3回目	3	1.6

（臨床決定など2名を除く患者数：189名）

7. 検査結果において、IgG抗体価は高値であるがIgM抗体は全く認められない症例が13件あり、この中にはツツガ虫病的再感染のケースも含まれると考えられた⁴⁾。

8. 平成8年度（1996年）の検査対象者のなかで、ツツガ虫病が強く疑われた1例では、発病早期にIgG抗体がわずか（3株ともIgG抗体価：20）に認められた。しかしながら2回目血清においても抗体価の上昇は認められずツツガ虫病は否定されたが、患者は、昭和50年（1985年）にツツガ虫病と診断されており、当時の感染による残存抗体とみられた⁴⁾。

9. 検査は、毎回抗原スライドに陽性対象血清を置いて

判定の参考にしたが、患者血清において低希釈（1/10～1/40）の反応で、リケッチア粒子や細胞片などが褐色を呈し、判定困難なケースがあった⁴⁾。この場合は製造ロットの違う抗原スライドを複数用いることにより判定した。抗原スライドは長く凍結保存したリケッチア抗原を使用し作成した場合より、リケッチアをハーベスト後冷蔵保存、2日以内のものを使用作成した抗原スライドの方が判定が容易であった。このことから、3種類のリケッチアを常時継代培養し、維持管理する必要があると考えられた。

まとめ

1. 平成4年度から8年度までの5年間で、191名がツツガ虫病と診断された。このうちに4名の死亡例があり早期診断・早期治療のために今後も迅速な確定診断・広報活動が重要と考えられた。
2. 患者発生は、5～6月に最も多かった。患者発生地域は、保健所別届出でみると5年間では全県にわたっていた。

稿を終えるにあたり、ご指導くださいました秋田大学名誉教授須藤恒久氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生省監修. 微生物検査必携ウイルス・クラミジア・リケッチア検査. 第3版, 1987; II: 2: 187-191.
- 2) 須藤 恒久. ツツガ虫病的早期診断・早期治療に関する研究. 秋田県福祉保健部. ツツガ虫病に関する研究事業報告書. 平成3年度報告, 1992; 65-69, 94.
- 3) 須藤 恒久. ツツガ虫病的早期診断・早期治療に関する研究. 秋田県福祉保健部. ツツガ虫病に関する研究事業報告書. 平成元年度報告, 1992; 23-24.
- 4) 須藤 恒久. ワイルフェリックス反応と間接免疫ペルオキシダーゼ反応. Medical Technology, 1989; 11; 1211-1217.

平成8年の空中スギ花粉観測結果について

笹嶋 肇 原田誠三郎 佐藤 宏康 森田 盛大
 大村 達雄^{*1} 渡辺 浩志^{*2} 山田 昌次^{*3} 白鳥 浩二^{*4}
 大高詳一郎^{*5} 高橋 忍^{*6} 岩谷 金仁^{*7} 斎藤 健司^{*7}
 高山 憲男^{*8} 鈴木 忠之^{*8}

秋田県内のスギ花粉症の予防対策を目的として実施している、花粉予報作成のための空中スギ花粉観測結果について考察した。1996年は8つの全観測地点において過去最低の値となった。また、初観測日や飛散開始日が例年に比較して遅い傾向を示したのに対して飛散終了日には大きな違いがなかったことから、飛散日数は例年の平均値（56日間）より12日短い結果となった。また、Durham 法で20個/cm³/日以上観測された日がなかったことから、予報区分では全て安定日であった。

キーワード：スギ花粉、アレルギー、花粉予報

I はじめに

スギ花粉症の予防対策の一つとして、県内のスギ花粉予報の提供を目的とし、1986年からは秋田市を対象とし、また、1990年からは全県域を対象として空中スギ花粉観測調査を実施している。花粉予報の内容は、シーズンの花粉量、飛散の開始日、最多日、終了日に関する長期的予報と飛散期の毎日の予報である。毎日の予報は、全国的にはスギ花粉の飛散量を「少ない」、「多い」などの区分で提供する方法が一般的であるが、本県では、患者の症状程度により「安定日」、「注意日」、「警戒日」の3つに区分して予報を作成し、長期予報と併せて県の保健福祉医療情報システムの一環として主管課及び保健所に提供している。スギ花粉予報作成業務には、スギ花粉観測、雄花芽調査、患者調査、気象データ収集、予報解析等があるが、本報では、スギ花粉観測結果について報告する。

II 調査概要

1. 観測地点

地域別の観測点及び観測方法を表1及び図1に示した。スギ花粉観測調査は、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）、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）の8機関で2月上旬から5月上旬の間に実施した。花粉予報の作成に当たっては、過去の観測結果に基づい

表1 地域別のスギ花粉観測点と観測方法

観測地域	市町村	観測地点 ¹⁾	観測方法
県北	鹿角市	a	R ²⁾
	大館市	b	D ³⁾
沿岸	能代市	c	R
	秋田市	d	D、R
	本荘市	e	R
県南	大曲市	f	D、R
	角館町	g	R
	横手市	h	D、R

¹⁾観測地点

a：大里病院 b：大館保健所
 c：山本組合総合病院 d：衛生科学研究所
 e：由利組合総合病院 f：仙北組合総合病院
 g：菅原病院 h：横手保健所

²⁾R：Rotary 法 ³⁾D：Durham法

て予報対象地域を3つに区分し、各地域毎に毎日飛散数を観測する基準観測点（県北は大館保健所、沿岸は衛生科学研究所、県南は横手保健所）を設定した。

2. 観測結果の表示

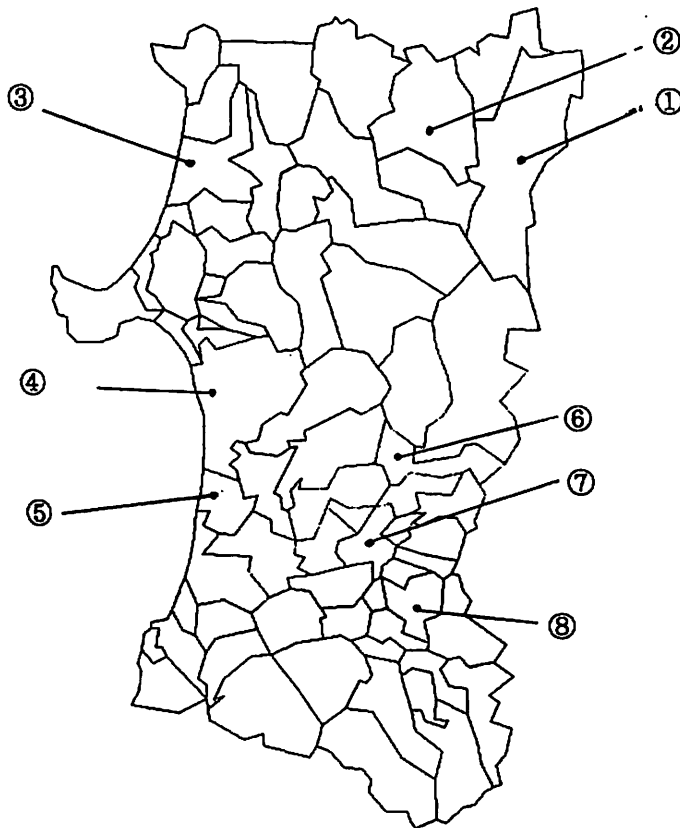
空中飛散スギ花粉の観測方法と結果の表示は、前報¹⁾に準じた。

3. 花粉予報の作成提供

前報¹⁾に準じた。

^{*1}大里病院 ^{*2}山本組合総合病院 ^{*3}由利組合総合病院 ^{*4}仙北組合総合病院 ^{*5}菅原医院 ^{*6}高橋耳鼻咽喉科気管
 食道科医院 ^{*7}大館保健所 ^{*8}横手保健所

図1 スギ花粉観測点



- ①大里病院（鹿角市）
- ②大館保健所（大館市）
- ③山本組合総合病院（能代市）
- ④衛生科学研究所（秋田市）
- ⑤由利組合総合病院（本荘市）
- ⑥仙北組合総合病院（大曲市）
- ⑦菅原医院（角館町）
- ⑧横手保健所（横手市）

Ⅲ 結 果

1. スギ花粉飛散状況

(1) 総観測数：表2に、総観測数・最大日観測数・初観測日・飛散期間（飛散開始日から飛散終了日）・飛散日数、及び表3に県全域で観測を開始した1990年から1996年までの7年間の年別地域別スギ花粉観測数を示した。1995年は各地域とも観測開始以降最大の値であったのに対し、1996年は逆に観測開始以来最低の値となった。地域別の観測結果は以下のとおりであった。

1) 県北：鹿角市が26個/cm³/年、大館市が53個/cm³/年で、地域の平均値は40個/cm³/年となり、これまでの最低観測値（1991年の497個/cm³/年）の1/10以下、過去6年間（90年から95年）の平均値の1.1%に過ぎず、7年間の平均総観測数は2111個/cm³/年であった。

2) 沿岸部：能代市が27個/cm³/年、秋田市が40個/cm³/年、本荘市は37個/cm³/年で、地域の平均値は35個/cm³/年で、これまでの最低観測値（1987年の202個/cm³/年）の1/5以下で、過去6年間（同上）の平均値の3.5%に過ぎず、7年間の平均総観測数は1013個/cm³/年であった。

3) 県南：大曲市が41個/cm³/年、角館町が180個/cm³/年、横手市が27個/cm³/年で、地域の平均値は83個/cm³/年で、これまでの最低観測値（1992年の1123）の1/13以

下で、過去6年間（同上）の平均値の2%に過ぎず、7年間の平均総観測数は3559個/cm³/年であった。

(2) 日観測数：地域単位の毎日の平均花粉観測数を県北、沿岸、県南別に図2に示した。全県的に飛散数が少なかったため、例年と比較して地域によってピーク時期が異なった。

県北は、三峰性の飛散パターンを示し、最大観測数は4月23日の8個/cm³/日であった。沿岸は、4月16日に最大観測数の10個/cm³/日を示した。また県南は、県北と同様に三峰性の飛散パターンを示したが、最大観測数は4月14日の16個/cm³/日であった。

(3) 初観測日：初観測日が最も早かった地域は、大曲市の3月3日で、昨年に比較して3日遅かった。地域別に昨年と比較すると、県北で24日、沿岸で25日、県南で19日遅かった。このことは、過去のデータからみられたように、総観測数が多い年に早く、初観測日は少ない年に遅くなる傾向を示した。

(4) 飛散開始日：飛散開始日が最も早かったのは、横手の3月16日で、昨年に比較して19日遅かった。地域別に昨年と比較すると、県北で28日、沿岸で20日、県南で23日遅かった。このことは、初観測日と同様に総観測数が多い年に早く、少ない年に遅くなる傾向を示した。

表2 スギ花粉観測結果*

地域	観測地点	総観測数* (個/cm ² /日)	最大日観測数 (個/cm ² /日)	初観測日	飛散期間	飛散日数 (日)
県北	a	26	6	3/30	4/06-5/03	28
	b	53	15	3/26	3/28-5/07	41
	平均	40	8	3/30	3/28-5/07	40
沿岸	c	27	17	3/08	4/14-5/01	28
	d	40	11	3/20	3/20-5/02	37
	e	37	13	3/07	3/20-4/25	43
	平均	35	10	3/07	3/20-5/02	43
県南	f	41	5	3/03	3/20-5/04	46
	g	180	46	3/21	3/21-5/10	51
	h	27	2	3/08	3/16-5/02	48
	平均	83	16	3/03	3/20-5/12	53

* 総観測数はD法、またはD法換算値

表3 年・地域別スギ花粉観測結果

観測年	鹿角	大館	県北	能代	秋田	本荘	沿岸	大曲	角館	横手	県南
1990	4,941	4,094	4,518	1,188	2,423	2,323	1,978	-	7,719	4,855	6,287
1991	701	292	497	310	275	374	320	572	3,039	488	1,366
1992	674	700	687	458	550	481	496	655	1,677	1,038	1,123
1993	6,291	4,477	5,384	1,010	1,142	1,030	1,061	3,375	4,806	5,042	4,408
1994	296	1,031	664	150	77	78	102	326	731	1,444	834
1995	1,849	10,433	6,141	1,954	3,579	6,964	4,166	6,662	4,333	23,293	11,429
1996	26	53	40	27	40	37	35	41	180	27	83
平均値	2,111	3,011	2,551	728	1,024	1,612	1,013	1,939	3,212	5,170	3,559

単位：個/cm²/年

(5) 飛散終了日と飛散期間：地域別の飛散終了日と飛散期間は、県北は5月7日で40日間、沿岸は5月2日で43日間、県南は、5月12日で53日間であった。これを前年と比較すると、飛散期間は、県北で32日、沿岸で8日、県南で13日短かく、飛散終了日は県北で4日短かったが、沿岸では前年と同じく、県南では逆に前年より11日長かった。

IV 考察

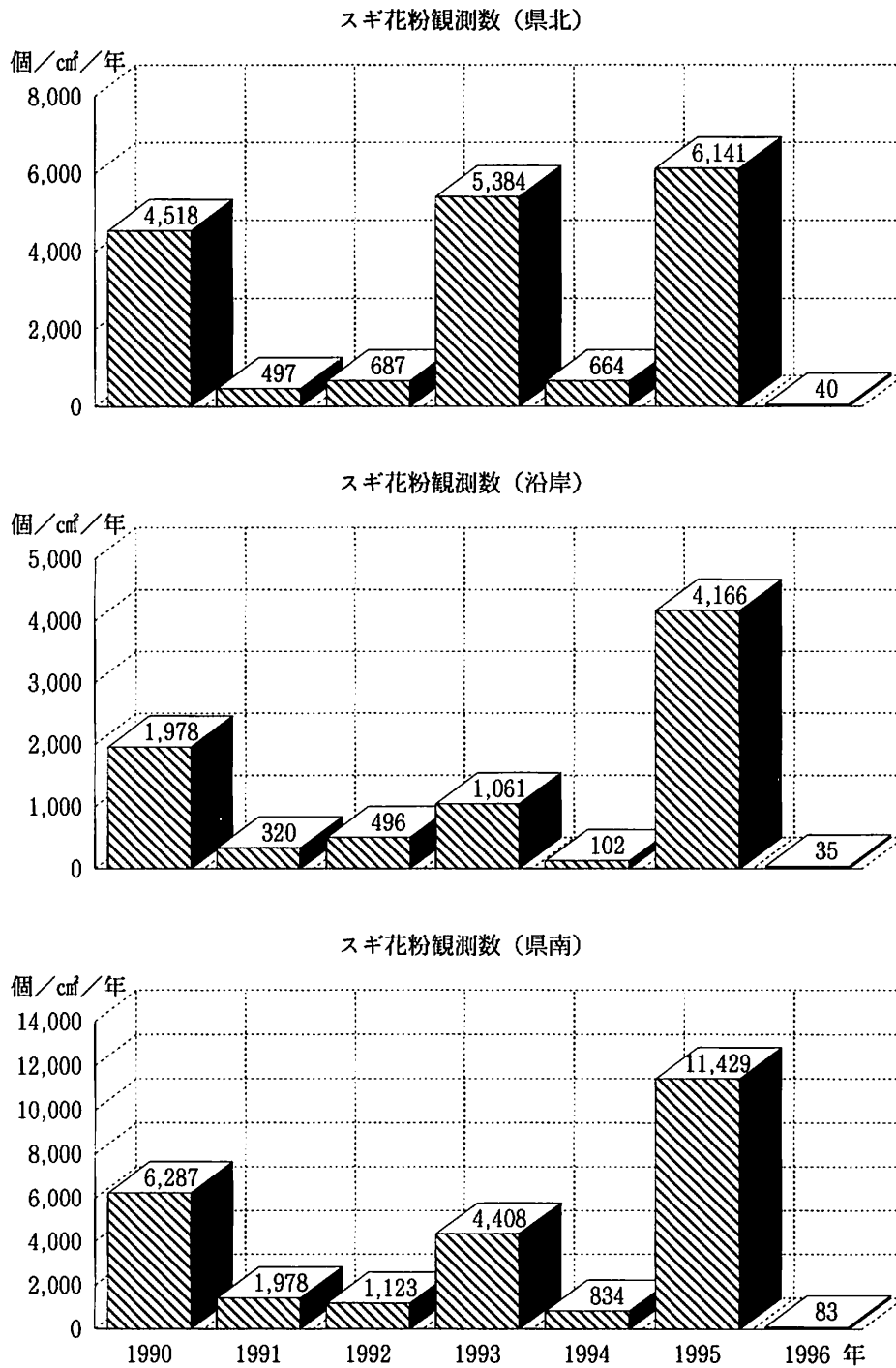
秋田県では、スギ花粉症の予防対策としてスギ花粉予報の提供を行っている。スギ花粉症患者は、スギ花粉予報を活用することによって、飛散数が多い日などには極力外出を避けるなどの防御策をとることができる。提供している予報の種類は、長期予報（当年の総観測数、花

粉開始時期、最多飛散時期）と、飛散期間の毎日の予報（安定日、注意日、警戒日）である。

スギ花粉の飛散量は、前報²⁾に準じて予測している。1996年の総観測数が少ない予想は、前年のスギ雄花芽調査から推定されていたが、実測値は予想よりはるかに少ない観測数であった。ちなみに、スギ雄花芽が少なかった理由の一つとして、前年の花粉形成期の気温が低かったこと等の気象要因や、スギ花粉の生産量に周期変動があり、連続年で多くの花粉が生産されるケースが少ない等の植物的特性などによるものと推定された（前年の1995年に多量の雄花芽が観測された。）。

また、地域別観測数を予報区分で見ると、1996年は観測数の全てが20個/cm²/日であったことから、予報区分としては全て安定日に分類される結果となった。

図2 地域別スギ花粉観測数（1990-1996）



1996年の飛散状況は、花粉の初観測日、スギ花粉の初観測日、飛散開始日とも全ての観測地点で前年より遅く、初観測日は平均23日、飛散開始日は24日遅く確認された。飛散開始前に気温が高いなどの好気象条件がそろえば、初観測日や飛散開始日が早まる傾向はあるものの、本年の場合には、過去の傾向と同様に、花粉生産量が少ないことが飛散の開始が遅い原因になったものと考えられた。

なお、本県では、観測結果の表示として「空中花粉測定と花粉情報標準化委員会」³⁾と一部異なる基準を設定

している。つまり、委員会基準では飛散開始日は、「1月1日より初めて連続2日以上1個≧ cm^3 観測された最初の日」、と定義しているが、我々のこれまでの外来患者調査等により、委員会基準で設定された日以前に、既に症状を示している患者が多く確認されることから、花粉予報の有用性を高める目的で独自に設定している。

飛散終了日は、例年と大きな差がみられなかった。飛散パターンはおおむね正規型に近似した曲線になることから総飛散数が少なければ終了時期が早まると考えられ

るが、過去6年間の飛散終了日を見てもほぼ5月上旬で一致していた。これには、総飛散数、飛散期間中の気象、観測条件の3つの要素が関与しているため、ほぼ一致した結果になったのではないかと推察された。つまり、1996年の場合には、花粉生産量は少なく、飛散期間に比較的好気象条件（高温、低湿度、風速、低降水量）が続いたため飛散終了日は早まったと推定された。

一方、県内のスギ花粉生産量は、樹齢30年以降のスギ林の面積が年々増大傾向にあることから、今後の雄花芽形成期の気象条件次第では、1995年の最大総観測数を凌ぐ飛散年があるものと推定される。

V ま と め

1. 1996年のスギ花粉の総観測数は観測開始以降最低値を示した。このことは、前年のスギ花粉の生産量が気象

的要因や植物的要因などによるものと考えられた。

2. 1996年は、初観測日、飛散開始日ともに例年より遅かったが、飛散終了日は例年とほぼ同様の時期となり、平均飛散日数は44日間短かった。

文 献

- 1) 笹嶋 肇, 他. 空中スギ花粉観測結果について (1994年から1995年). 秋田県衛生科学研究所報, 1996; 40: 65-71.
- 2) 笹嶋 肇, 他. スギ花粉日飛散数の予測方法の検討—拡散パラメータを用いた多変量時系列モデルの試み—. 秋田県衛生科学研究所報, 1992; 36: 57-64.
- 3) 佐橋 紀男. 日本における空中花粉測定および花粉情報の標準化に関する研究報告. 日本花粉学会会誌, 1993; 39: 129-134.

平成8年度のポリオ感受性調査成績について

原田誠三郎 鎌田 和子 斎藤 博之 笹嶋 肇 佐藤 宏康

秋田県では、平成8年度に国から委託された伝染病流行予測調査事業の一つであるポリオ感受性調査を県南の横手市の一般健康住民203人を対象として実施した。その結果、ポリオウイルス各型に対する4倍以上の中和抗体平均保有率では、2型が99.0%と最も高く、次いで1型の92.1%と3型の84.7%であった。また、64倍以上では、2型が80.2%、1型69.9%及び3型46.3%で、その平均保有率順は4倍以上と同様であった。次に、ポリオウイルス型別中和抗体保有者数では、1型・2型・3型の三つの型すべてに対して抗体保有がみられたのは162人（79.8%）、1型・2型の二つの型に対して24人（11.8%）及び2型・3型では10人（4.9%）であった。また、0～1歳群のポリオワクチン未接種者の一人（生後7か月）には、1型、2型及び3型に対する抗体保有は全くみられなかった。

キーワード：伝染病流行予測調査、ポリオ感受性調査、中和抗体保有率

I 目 的

秋田県では、平成8年度に国から委託された伝染病流行予測調査事業の一つであるポリオ感受性調査を横手市の一般健康住民を対象に実施したので、その成績を報告する。

(3) 培養液及び維持液

伝染病流行予測調査検査術式（一部改定）¹⁾に準じた。

(4) 被検血清

平成8年9月から10月にかけて、秋田県横手市の一般健康住民203人から採取し、使用時まで-20度に保存した。

II 材料及び方法

1. 材 料

(1) 使用細胞

当所で維持管理しているVERO細胞を使用した。

(2) 使用ポリオウイルス

国立予防衛生研究所（現国立感染症研究所）から分与された1型、2型、及び3型ポリオウイルスセービン生ワクチン株をVERO細胞に継代後に使用した。

2. 方 法

伝染病流行予測調査検査術式（一部改定）¹⁾に準じ、マイクロタイター法で中和試験を実施した。

III 結 果

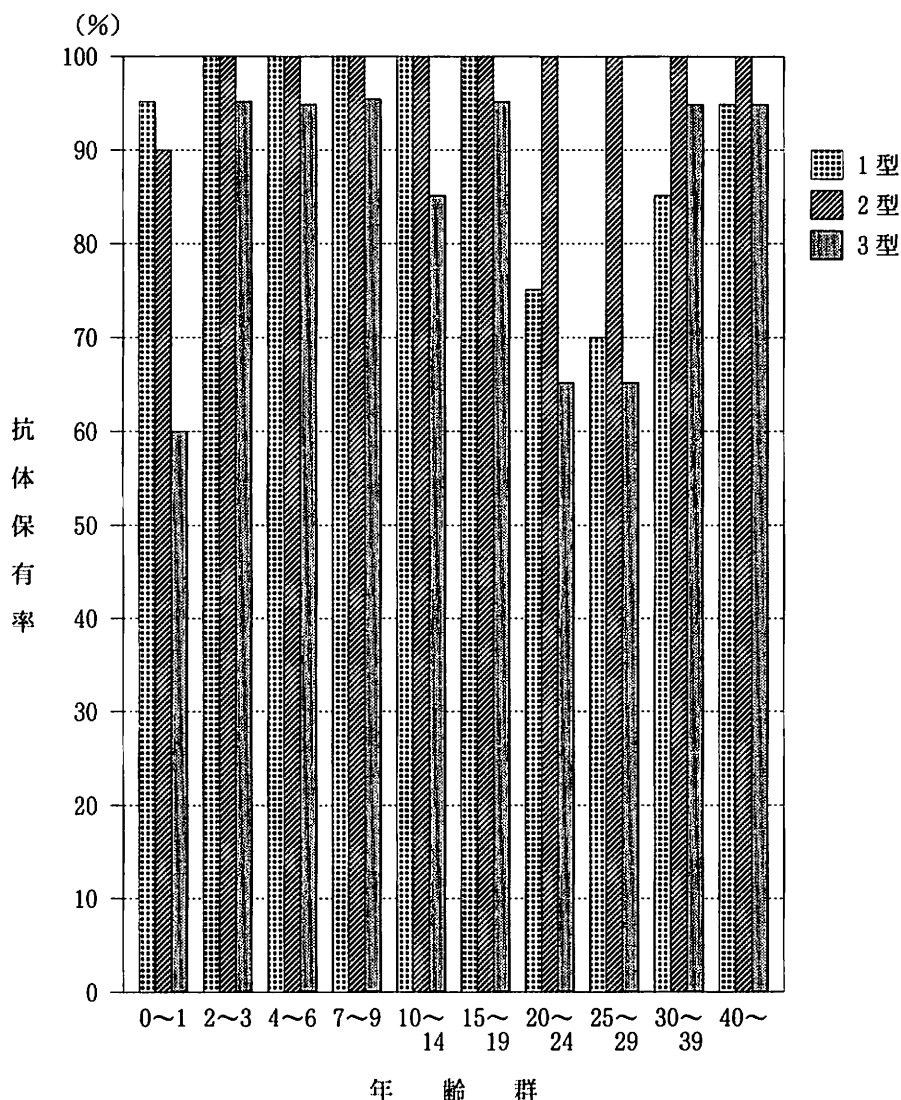
各年齢群におけるポリオウイルスの中和抗体保有状況を表1、図1、図2及び表2に示した。4倍以上のスク

表1 ポリオウイルス中和抗体保有状況

年齢群	被検者数	1 型			2 型			3 型		
		≥ 4	≥ 16	≥ 64	≥ 4	≥ 16	≥ 64	≥ 4	≥ 16	≥ 64
0～1	20	19(95) ¹⁾	19(95)	19(95)	18(90)	17(85)	17(85)	12(60)	10(50)	7(35)
2～3	21	21(100)	21(100)	21(100)	21(100)	21(100)	21(100)	20(95.2)	18(87.5)	15(71.4)
4～6	20	20(100)	20(100)	21(100)	20(100)	20(100)	18(90)	19(95)	19(95)	12(60)
7～9	22	22(100)	22(100)	22(100)	22(100)	22(100)	20(90.9)	21(95.4)	19(86.3)	10(45.4)
10～14	20	20(100)	17(85)	15(75)	20(100)	20(100)	17(85)	17(85)	14(70)	7(35)
15～19	20	20(100)	18(90)	17(85)	20(100)	20(100)	14(70)	19(95)	13(65)	9(45)
20～24	20	15(75)	9(45)	6(30)	20(100)	20(100)	16(80)	13(65)	9(45)	6(30)
25～29	20	14(70)	12(60)	8(40)	20(100)	18(90)	13(65)	13(65)	11(55)	7(35)
30～39	20	17(85)	13(65)	6(30)	20(100)	18(90)	12(60)	19(95)	18(90)	10(50)
40～	20	19(95)	15(75)	8(40)	20(100)	18(90)	15(75)	19(95)	16(80)	11(55)
合 計	203	187(92.1) ²⁾	166(81.7)	142(69.9)	201(99)	194(95.5)	163(80.2)	172(84.7)	147(72.4)	94(46.3)

()¹⁾：中和抗体保有率、()²⁾：中和抗体平均保有率

図1 ポリオウイルス中和抗体保有状況 (≥ 4倍)



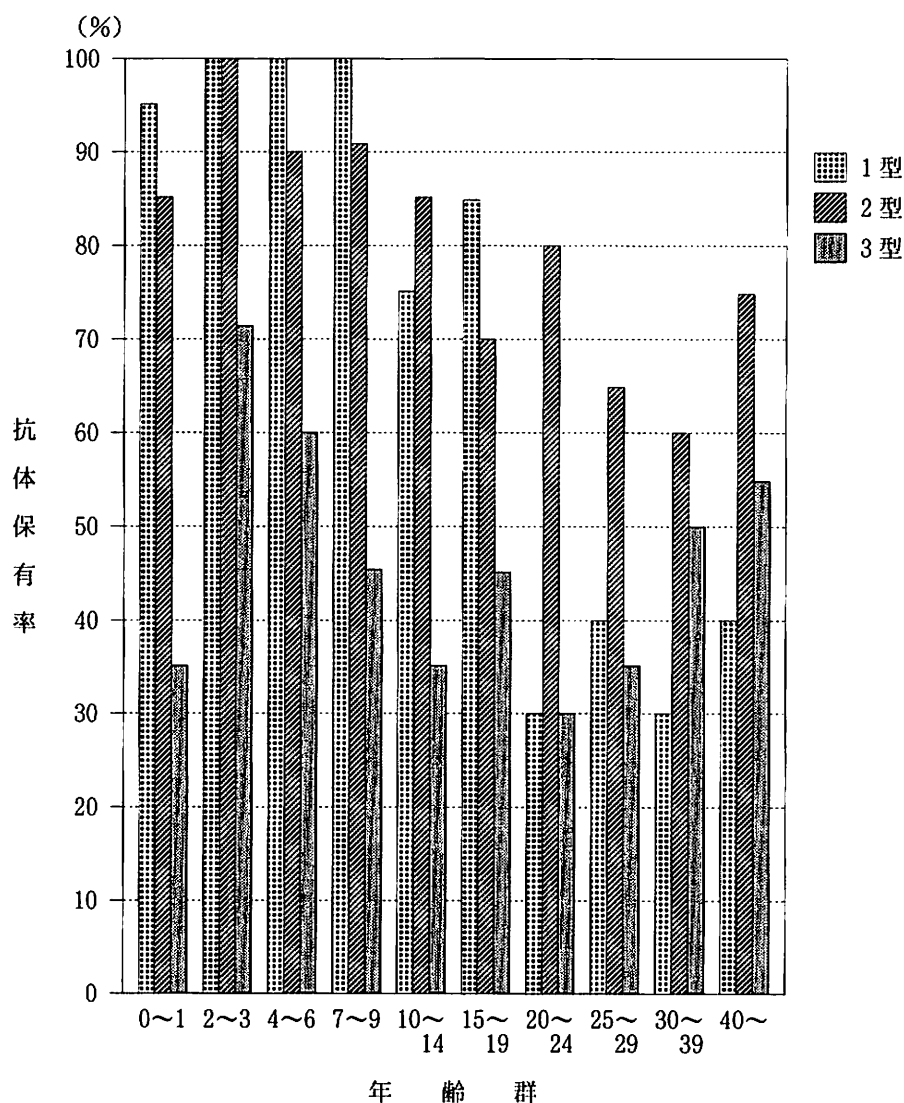
リーニングでは、1型の2～3歳群から15～19歳群までの各年齢群がともに100%の中和抗体高保有率を示すとともに、0～1歳群及び40歳以上群で95%の保有率であった。また、30～39歳群では85%、25～29歳群及び20～24歳群では70～75%であった。次に2型では、0～1歳群の90%を除くすべての年齢群が100%の高保有率を示した。また、3型の0～1歳群が60%と、4倍スクリーニングの中では最も低い保有率を示し、次いで20～24歳群と25～29歳群の65%であった。しかし、他の各年齢群は85～95.4%を示した。

また、64倍以上のスクリーニングの1型では、2～3歳群から7～9歳群までが100%の高保有率を示すとともに、0～1歳群が95%、15～19歳群が85%及び10～14歳群が75%であった。また、20～24歳群から40歳以上群では30～40%であった。2型では、2～3歳群が100%の高保有率で、20～24歳群、0～1歳群、10～14歳群、4～6歳群、7～9歳群が80～90.9%及び30～39歳群、

25～29歳群、15～19歳群、40歳以上群が60～75%を示した。3型では、2～3歳群が71.4%を示し、次いで4～6歳群の60%であった。また、20～24歳群、0～1歳群、10～14歳群、25～29歳群が30～35%及び7～9歳群、15～19歳群、30～39歳群、40歳以上群が45.4～55%の保有率を示した。

次にポリオウイルス型別中和抗体保有者数を表2に示した。0～1歳群の中のポリオワクチン未接種者の一人には、ポリオウイルス各型に対する抗体保有が全くみられなかった。また、同年齢群の他の一人は1型のみに対して、その他は1型・2型の二つの型に対して6人(30%)及び1型・2型・3型のすべての型に対しては12人(60%)に保有がみられた。2～3歳群から15～19歳群では、1型・2型・3型に対して17人～21人(85%～95.4%)に、また、1型・2型については各年齢群で保有を示した。次に20～24歳群では、2型のみが一人(5%)、1型・2型が6人(30%)、同じく2型・

図2 ポリオウイルス中和抗体保有状況 (≥64倍)



3型が4人(20%)及び1型・2型・3型の保有が9人(45%)にみられ、同様に25~29歳群でも2型のみが4人(20%)、1型・2型が3人(15%)、2型・3型が2人(10%)及び1型・2型・3型が11人(55%)であった。30~39歳群では、1型・2型が1人、2型・3型が3人(15%)及び1型・2型・3型が16人(80%)であった。また、40歳以上群では、1型・2型と2型・3型に対してそれぞれ一人ずつみられたが、1型・2型・3型では18人(90%)であった。これらの合計から、1型・2型・3型の三つの型に対する抗体保有者は162人(99.8%)で最も多く、次いで1型・2型の24人(11.8%)、2型・3型の10人(4.9%)、2型のみが5人(2.5%)、1型のみ一人(0.5%)であった。また、ポリオワクチン未接種者の一人には、抗体保有はみられなかった。

IV 考 察

今回、横手市の一般健康住民を対象として実施したポ

リオ感受性調査結果から4倍以上の中和抗体平均保有率順をみると、2型(99.0%)、1型(92.1%)、3型(84.7%)であった。これを過去に本県で実施した同調査と比較すると、平成4年度は²⁾2型が95.1%、1型が85.7%、3型が79.3%、5年度は³⁾2型が96.7%、1型が87.2%、3型が74.1%及び6年度は⁴⁾2型が98%、1型が92%、3型が79%で、平均保有率の年次推移からみると上昇傾向がみられるが、伝染病流行予測調査報告書⁵⁾に述べられている中和抗体保有率の谷が、今回調査した4倍以上の1型と3型の25~29歳群と20~24歳群の両年齢群にみられた。3型に関してはこれまでの調査^{2, 3, 4)}でも明らかなように、1型と2型に比較して抗体保有率が低い結果が得られている。また、先の報告書⁵⁾でワクチン投与歴別抗体保有状況をみると、ワクチン接種効果が1型が2回投与で98%抗体陽性、2型が2回投与で99%、3型が2回投与で87%と、3型は他の型に比較して低い傾向がみられる。また、ポリオウイルス

表2 ポリオウイルス型別中和抗体保有者数

年齢群	人数	型別中和抗体							
		陰性	1型	2型	3型	1+2型	1+3型	2+3型	1+2+3型
0～1	20	1	1			6			12
2～3	21					1			20
4～6	20					1			19
7～9	22					1			21
10～14	20					3			17
15～19	20					1			19
20～24	20			1		6		4	9
25～29	20			4		3		2	11
30～39	20					1		3	16
40～	20					1		1	18
合計	203	1(0.49) ¹	1(0.49)	5(2.46)		24(11.8)		10(4.9)	162(79.8)

()¹ : 陽性率

型別中和抗体保有者数では、1型・2型・3型の三つの型に対する抗体保有が162人(79.8%)と、これまでの報告⁵⁾にみられた69%より約10%多かった。しかし、20～24歳群の保有者数は9人(45%)で、上述した抗体保有率の谷がこの年齢群においてもみられたことから今後とも、これらの谷を視野に入れたワクチン改善が期待された。今回、抗体保有が全くみられなかった生後7か月のワクチン未接種者は、幸いにもワクチン定期接種期間内の年齢であったが、この事例からも明らかのように期間内におけるワクチン定期接種の重要性が再認識された。

一方、われわれが本県で3型の野生株を分離⁶⁾してからすでに26年を経過した。また、世界からポリオを根絶する計画⁷⁾がWHO(国際保健機構)で採択されたのは1988年5月の第41回総会である。この目標を達成するため各国で地道な努力がなされている。しかし、1993年に滋賀県では、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3型の野生株が分離⁸⁾された。また、その滋賀株の塩基配列はベトナムの野生株とホモロジーが高く、アジア地域の野生ポリオウイルスが侵入したものと考えられているが、その感染経路は不明である⁹⁾。日本国内の各地方の空港も国際化に向けて整備され、年々、地方空港から渡航者数が増加している。このような現状の中で、ポリオウイルス野生株が渡航者などによって国内へ持ち込まれる可能性が今後も否定できないと思われることから、県内においてはワクチン接種による抗体の高保有率の向上・維持、及びこれまで実施してきた感染

症サーベイランス事業の定点観測などによるウイルス分離を通して、同ウイルスに対する侵入監視をしていくことが必要と考えられた。

V まとめ

平成8年度、横手市の一般健康住民を対象として実施したポリオ感受性調査から次の成績が得られた。

1. ポリオウイルスに対する4倍以上の中和抗体平均保有率では、2型が99.0%と最も高く、次いで1型の92.1%と3型の84.7%であった。
2. 0～1歳群の中のポリオワクチン未接種者の一人(生後7か月)には、ポリオウイルス各型に対する抗体保有は全くみられなかった。
3. ポリオウイルス型別中和抗体保有者数では、1型・2型・3型の三つの型すべてに対して抗体保有者が162人(99.8%)、1型・2型の二つの型に対して24人(11.8%)及び2型・3型では10人(4.9%)、2型のみが5人(2.5%)、1型のみ一人(0.5%)であった。稿を終えるにあたり、検体採取などにご協力いただきました横手保健所及び関係機関の担当各位の皆様にご感謝を申し上げます。

VI 文献

- 1) 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流行予測事業委員会. 伝染病流行予測調査検査術式(一部改定), 平成7年5月; 2-82.

- 2) 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.
- 3) 原田誠三郎, 他. 平成5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, 1994 ; 38 : 55-59.
- 4) 田中恵子, 他. 平成6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, 1995 ; 39 : 34-36.
- 5) 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. 平成5年度(1993年度)伝染病流行予測調査報告書, 平成7年3月 ; 6-34.
- 6) 須藤恒久, 他. ワクチン株とは抗原性の異なるPoliovirus-Ⅲ型の分離された臨床的脊髄性小児麻痺の一例. 秋田県衛生科学研究所, 1972 ; 16 : 55-56.
- 7) 吉倉 広. 特集発展途上国におけるウイルス疾患の現状と対策2. ポリオ根絶計画とラボラトリーネットワーク. ウイルス, 1993 ; 43 (1) : 13-17.
- 8) 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).

1996/1997シーズンのインフルエンザの 流行状況と情報提供について

佐藤 宏康 齊藤 博之 鎌田 和子 齋藤志保子 原田誠三郎 笹嶋 肇

1996/1997シーズンのインフルエンザは1996年12月上旬から流行が始まり、1997年6月まで続いた。調査の結果、流行の前半はA香港型、後半はB型が主流であった。B型はワクチンタイプの B/Mie/1/93類似株と、同株の抗血清では同定されないB型変異株の2種類の侵襲が明らかとなった。

キーワード：A香港型、B/Mie/1/93、B型変異株、患者情報、病原体情報

I はじめに

患者発生の収集解析（患者情報）と病原体の検出状況（病原体情報）を一元化することにより、県内に発生したインフルエンザの流行状況を明らかにし、速報として情報提供できたので、その成績について報告する。

II 材料及び方法

1 患者情報の収集と作成

感染症サーベイランス協力医療機関24施設（図1）から、毎週送付されてくる調査票に記載されている患者発生数を秋田県感染症サーベイランス解析ソフトに入力し、地域別（保健所管轄地域）、週別に患者発生規模比較グラフを作成した。

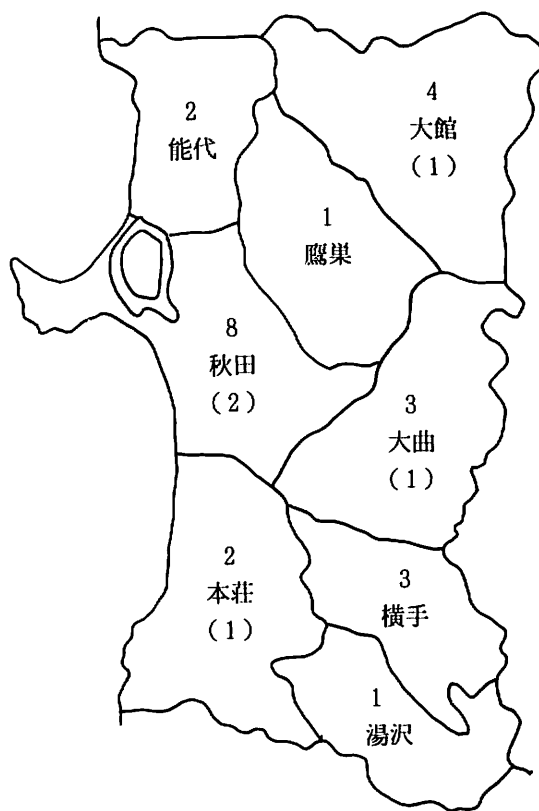
2 ウイルス分離

（1）分離材料：1996年10月から1997年3月までの急性上気道炎患者、インフルエンザ様患者などの咽頭拭い液676検体、及び1997年4月から6月末までに採取した同疾患の咽頭拭い液136検体、合計812検体を対象とした。検体採取は図1に示した分離検体採取協力5医療機関を中心に実施した

（2）分離・同定：分離はMDCK細胞を用いて実施したが、一部孵化鶏卵を併用した。同定は日本インフルエンザセンターから分与を受けたA/Yamagata/32/89（ソ連型：H1N1）、A/Wuhan/359/95（香港型：H3N2）、B/Mie/1/93フェレット血清（いずれもワクチン株）、及び（4）、2により作成した自家製のA/Akita/96/96（H3N2）、B/Akita/2/97（B/Mie/1/93タイプ）、B/Akita/75/97（B型変異株）免疫ニワトリ血清を使用した。赤血球凝集試験（HI）及び赤血球凝集抑制試験（HAI）は厚生省伝染病流行予測調査検査術式¹⁾に準じ、0.5%ニワトリ及びモルモット赤血球浮遊液を用いて行った。

（3）PCRによる同定：MDCK細胞で分離されたが

図1 患者情報収集地域と検体採取地域



図中数字は患者情報収集24協力医療機関（ ）内数字は分離検体採取5協力医療機関を示す

2、（2）で同定困難な株は山田ら²⁾に準じPCRを実施した。

（4）分離株の交差試験：

1）免疫抗原の作成：孵化鶏卵を用いて分離された株を代表株として、孵化鶏卵3代継代株を粗遠心（3,000rpm、15分間）後、超遠心（24,000rpm、60分）沈渣を

再浮遊し、免疫抗原（HA価：6～8万倍）とした。

2) 免疫血清の作成：ニワトリの腹腔に上記免疫抗原を5ml接種し、2週間後に全採血を行った。

3) 交差試験：各抗血清を4倍量のRDE（デンカ生研）と混合し、37℃18時間処理後、56℃30分間加熱、0.5%ニワトリ赤血球浮遊液用いてをHAIを実施した。

Ⅲ 結 果

定点当たりの患者発生数とウイルス分離数を週別に表1及び図2に示した。患者数は患者発生情報収集医療機関での患者数の合計であり、定点当たりの数はその患者数を収集医療機関数で除した数で示した。分離状況から、12月上旬（第49週）から2月上旬（第6週）までの流行初期はA香港型、次いで、2月下旬（第9週）から6月上旬（第23週）まではワクチン株であるB/Mie/1/93タイプが長く侵襲し、長期流行の原因はこの2種類のウイルスに起因したと推定された。一方、4月上旬（第14週）から5月中旬（第20週）までB型変異株（Bピク

トリアタイプ：VIC）、が侵襲し、B型の流行規模を拡大させたと推定された。

分離株とワクチン株の交差反応試験は表2に示した。A型分離代表株A/Akita/96/96（A香港型）はワクチン株A/Wuhan/359/95類似株であり、分離株の多くはA/Wuhan/359/95と64～128のHAI価を示した。また、第9週から第23週に流行したB型代表株B/Akita/2/97はワクチン株B/Mie/1/93類似株であった。一方、第14週から第20週に侵襲したB型代表株B/Akita/75/97は抗B/Mie/1/93、抗B/Akita/2/97とは反応せずB型変異株であった。分離当初は同定用血清の手持ちがなかったため、PCR法によりB型と同定した。PCR法は分離ウイルスのHA価が低い場合でも同定可能であり、同定手段として有用であった。

患者発生規模の推移と地域別ウイルス検出数を図3-1、3-2に示した。発生規模は地域の定点当たりの発生数で表示した。第49週での秋田AH3：5は秋田地域でA香港型が5株検出されたことを示す。

表1 週別患者発生数とウイルス分離数

年 月 日	週	秋 田 県		検 査 件 数	分 離 株 数		
		患者人数	定点当たり		AH3	B/三重	B/VIC
1996 11/24-30	48	2	0.09		0	0	0
12/1-7	49	9	0.04		7	0	0
12/8-14	50	84	4.00		23	0	0
12/15-21	51	607	27.59		40	0	0
12/22-28	52	1,618	73.54		18	0	0
12/29-1/4	1	625	39.06		2	0	0
1997 1/5-11	2	423	20.14		17	0	0
1/12-18	3	221	9.60		6	0	0
1/19-25	4	162	7.36		9	0	0
1/26-2/1	5	120	5.45		3	0	0
2/2-8	6	107	5.09		2	0	0
2/9-15	7	59	2.45		0	0	0
2/16-22	8	13	0.59		1	1	0
2/23-3/1	9	29	1.45		1	5	0
3/2-8	10	39	1.85		1	4	0
3/9-15	11	77	4.52		1	7	0
3/16-22	12	53	2.30		1	5	0
3/23-29	13	71	3.22	676	0	5	0
3/30-4/5	14	107	5.35		0	4	3
4/6-12	15	98	4.90		1	0	5
4/13-19	16	119	5.95		0	1	2
4/20-26	17	160	8.42		0	18	2
4/27-5/3	18	66	4.40		0	10	0
5/4-10	19	55	2.50		0	2	0
5/11-17	20	25	1.31		0	1	4
5/18-24	21	36	1.80		0	2	0
5/25-31	22	40	2.10		0	1	0
6/1-7	23	28	1.33		0	1	0
6/8-14	24	19	1.00	136	0	0	0
合 計				812	133	67	16

図2 週別患者発生数とウイルス分離数

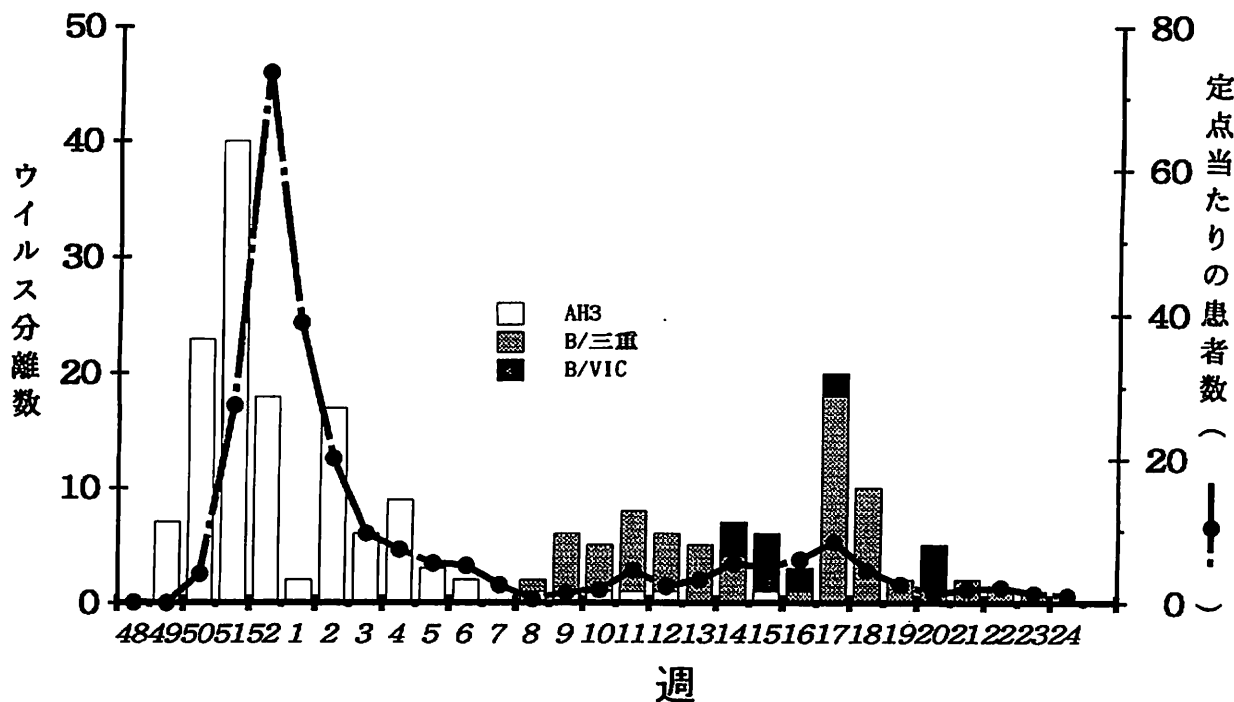


表2 交差反応試験

抗原	抗 血 清					
	A/Ymagata/32/89 (H1N1)	A/Wuhan/359/95 (H3N2)	A/Akita/96/96 (H3N2)	B/Mie/1/93	B/Akita/2/97	B/Akita/75/97
A/Ymagata/32/89	2048	<32	<32	<32	<32	<32
A/Wuhan/359/95	<32	1024	512	<32	<32	<32
A/Akita/96/96	<32	128	1024	<32	<32	<32
B/Mie/1/93	<32	<32	<32	512	1024	64
B/Akita/2/97	<32	<32	<32	128	512	64
B/Akita/75/97	<32	<32	<32	<32	<32	1024

第52週が患者発生のパークで定点当たりの発生規模は73.54を示した。この時点での検出ウイルスはA香港型であった。第8週では患者数は減少するが、大館地域ではB三重(B/Mie/1/93)タイプが出現した。次いで、秋田、本荘地域でもB三重タイプが検出されたが、湯沢地域では依然、A香港型が検出された。一方、B型変異株(B/VIC)タイプは第14週に能代地域と秋田地域に出現した。第15週には本荘地域でも検出された。第24週以降は定点当たりの患者数は1以下となりインフルエンザウイルスも検出されず、流行は終息した。

IV 考 察

感染症サーベイランスは患者発生状況を収集解析する患者情報と、患者から病原体を検出する病原体情報の2本の柱から成り立っている。従来、毎週提供される患者情報に比較して病原体情報が時間的に遅れる場合が多く、両者の一元化は困難であると考えられてきた。しかし、MDCK細胞を用いたインフルエンザウイルスの検出や同定は迅速に実施でき、未同定ウイルスの同定にPCR法を導入することにより、病原ウイルスの解析が早くなり病原体情報の迅速な提供がある程度可能となった。患者情報と一元化することにより県内に発生しているインフルエンザの流行状況を速報として週単位で情報提供が

図3-1 地域別患者発生規模の推移とウイルス検出状況
(平成8年48週～平成9年11週)

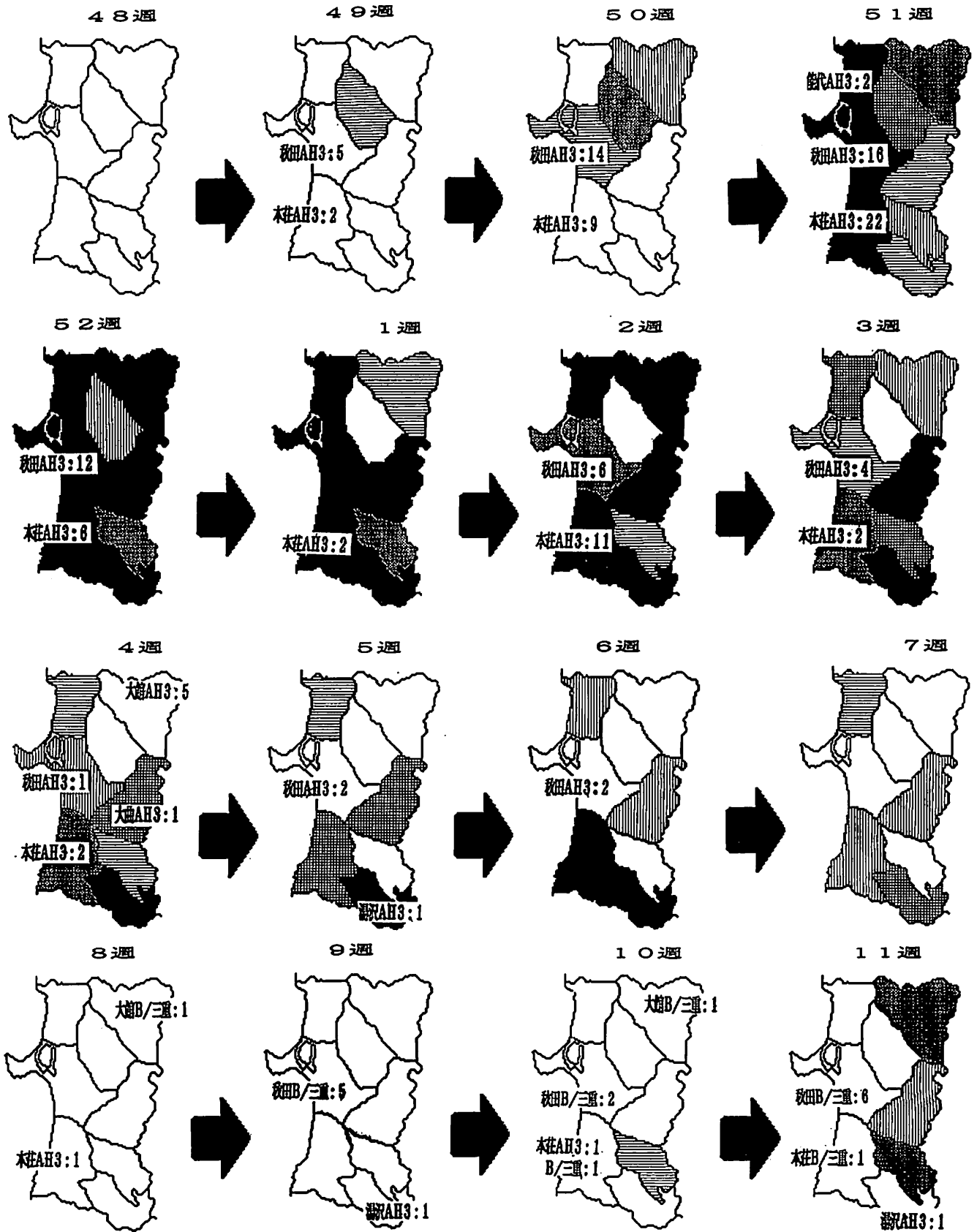
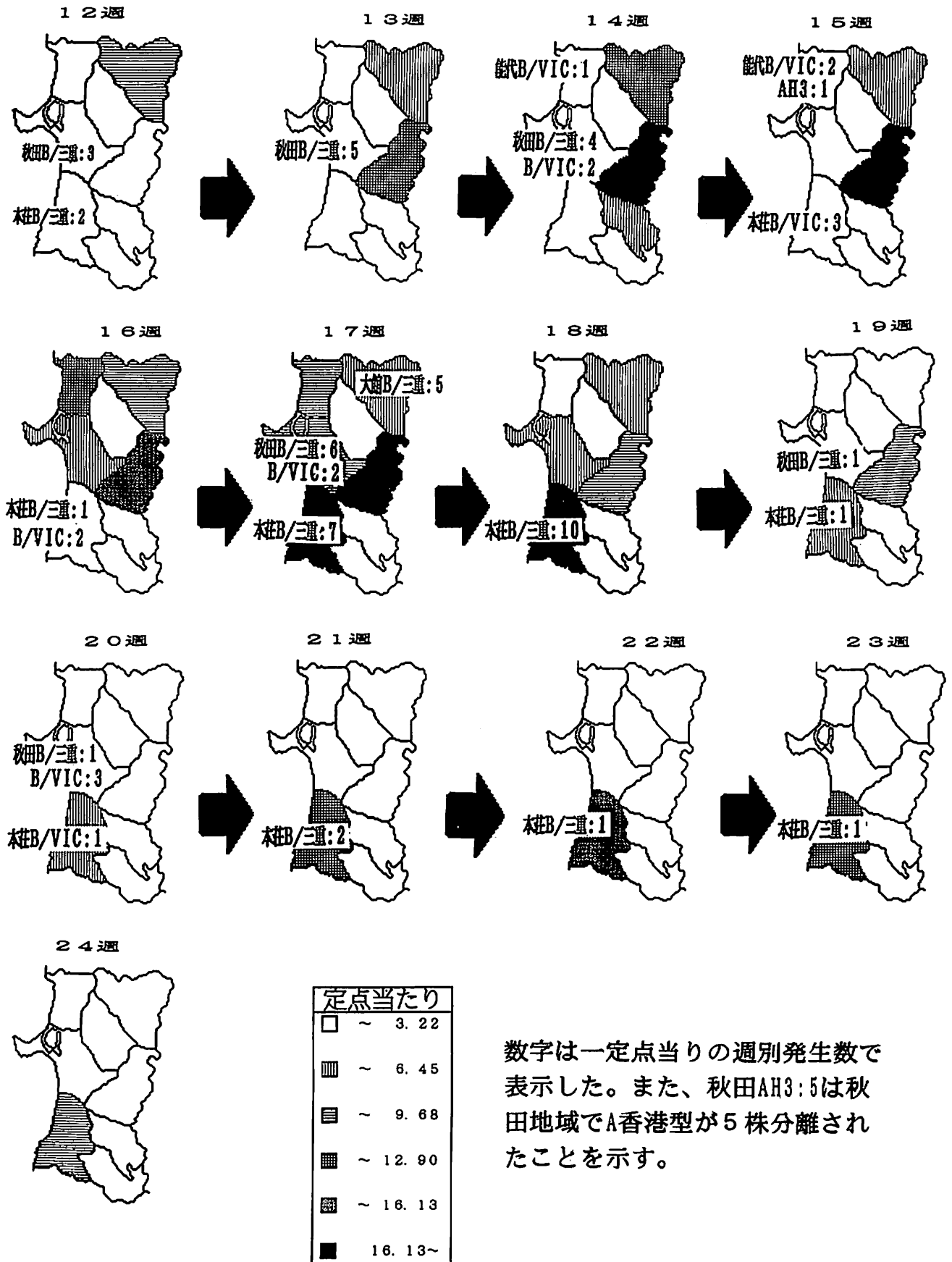


図3-2 地域別患者発生規模の推移とウイルス検出状況
(平成9年12週~24週)



可能であった。

1996/1997シーズンのインフルエンザウイルスは最終的には3種類が侵襲した。当初、A香港型の流行後インフルエンザの流行は2月中旬で終息するかに見えたが、B三重タイプの出現により流行の長期化が予測され、さらにB型変異株の出現により一層の長期化が懸念された。しかし、ウイルス分離成績から、流行の長期化はA香港型とB三重タイプ2種類のウイルスに起因し、B型変異株の侵襲はB型の流行規模を拡大させたが、長期化には影響を与えなかったと推定された。

一方、患者発生規模と検出ウイルスの種類から第52週はA香港型、第15週前後はA香港型、B三重タイプ、B型変異株の3種類、第17～20週は2種類のB型、第21週以降はB三重タイプが侵襲していたと推定された。

地域的には秋田、本荘地域ではA香港型、B三重タイプ、B型変異株の3種類が検出され、大館地域はA香港型、B三重タイプの二種類、能代地域はA香港型とB型変異株の二種類、湯沢地域はA香港型のみが検出されたが、この違いは継続的に検体採取を実施しているかどうか起因していると考えている。侵襲に時間的差があるにせよ3種類のウイルスが県内全域に侵襲したと推定し

ている。従って、本荘、秋田地域のように継続的に検体採取が実施できる地点（定点観測地点）があれば病原体情報から県内に侵襲したウイルスの種類を、また、患者情報から流行の規模などを把握できると考えられた。

また、ウイルス分離同定の迅速化推進により、迅速な情報提供が可能と考えられた。

V ま と め

- 1 流行の前半はA香港型、後半はB型が主流であった。
- 2 流行の長期化はA香港型とB三重タイプの侵襲に起因し、B型変異株は流行の規模を拡大させた。
- 3 病原体情報と患者情報の一元化にはウイルスの分離同定の迅速化が必要と考えられた。

VI 文 献

- 1) 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
- 2) 山田明, 他. PCR法によるインフルエンザウイルスの遺伝子診断. 日本臨床, 1992; 1992年特別号: 239-243.

高齢化関連指標からみた秋田県の高齢化の現状について

千葉ノリ子 高桑 克子

秋田県の高齢化の現状とその課題を探るために、秋田県の死因別死亡率の動向や受療状況をみた。さらに高齢化関連指標について健康・福祉・雇用・生涯学習・環境の5つの側面から分析し、これらについて全国や大都市（大阪府）の成績と比較したところ、本県における高齢者は、脳血管疾患による死亡が多く、さらに雇用状況や文化活動などの指標が低いことなどがわかった。

キーワード：社会生活指標、高齢化関連指標、高齢者の健康指標、死因別死亡率、受療状況

I はじめに

高齢化社会の急速な進展に対応するためには、高齢者が健康でかつ自立した生活を営めるような健康管理、寝たきり予防対策とその方法が求められている。そこで公表データを用いて、本県の高齢化の評価の検討や高齢者の死因別死亡率の動向などから、高齢者の健康指標を見いだすとともに、健康と生活・生活環境要因との関連について分析し、一律の方法で地区診断をマクロ的に見る指標を算出した。これらの結果が行政のさまざまな分野において活用できると考えられたので概要について紹介する。

II 方法

1. 秋田県における高齢者の死亡状況（全国と比較）

- (1) 主要死因別年齢調整死亡率を昭和35年～平成7年までの5年毎の推移をみる。
- (2) 平成7年の65歳以上における死因別死亡状況をみる。
- (3) 平成7年の30歳以上における主要死因別死亡率を5

歳毎の年齢区分別にみる。

2. 秋田県における社会生活指標

高齢化関連の指標（健康・福祉・雇用・生涯学習・環境）について全国を100として算出し、大阪府の成績と比較する。なお指標の構成と項目については、資料（表）に掲載する。

III 結果及び考察

1. 秋田県における高齢化の現状

秋田県と全国における総人口と65歳以上（高齢者を示す）の人口の推移をみると、図1のとおり、本県では、近年、総人口はわずかに減少傾向を示しているが、高齢者の人口が著しく増加している。その結果、総人口に対する65歳以上の割合は、図2のとおり、昭和45年以降、全国よりも高齢化が急速に進んでいる。平成7年では、その割合は20.1%と全国の14.8%より高くなっている。さらに、2025年には33.8%になり全国一の高齢県になるとの予測が厚生省から報告されている。

図1 65歳以上・総人口の推移（昭和25年=100）

—全国と秋田県—

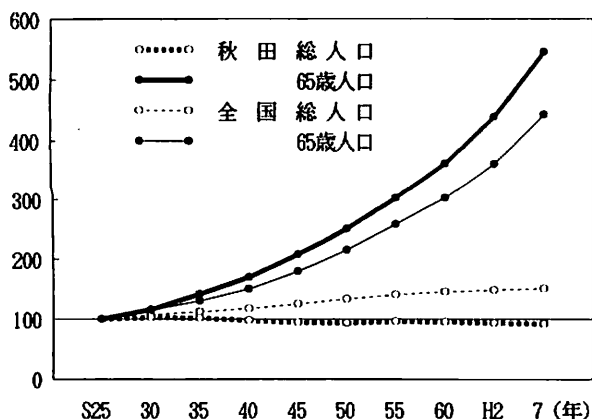


図2 高齢者（65歳以上）の割合の推移

—全国と秋田県—

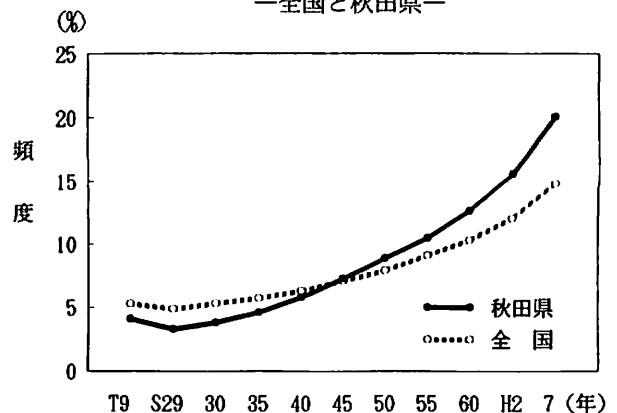
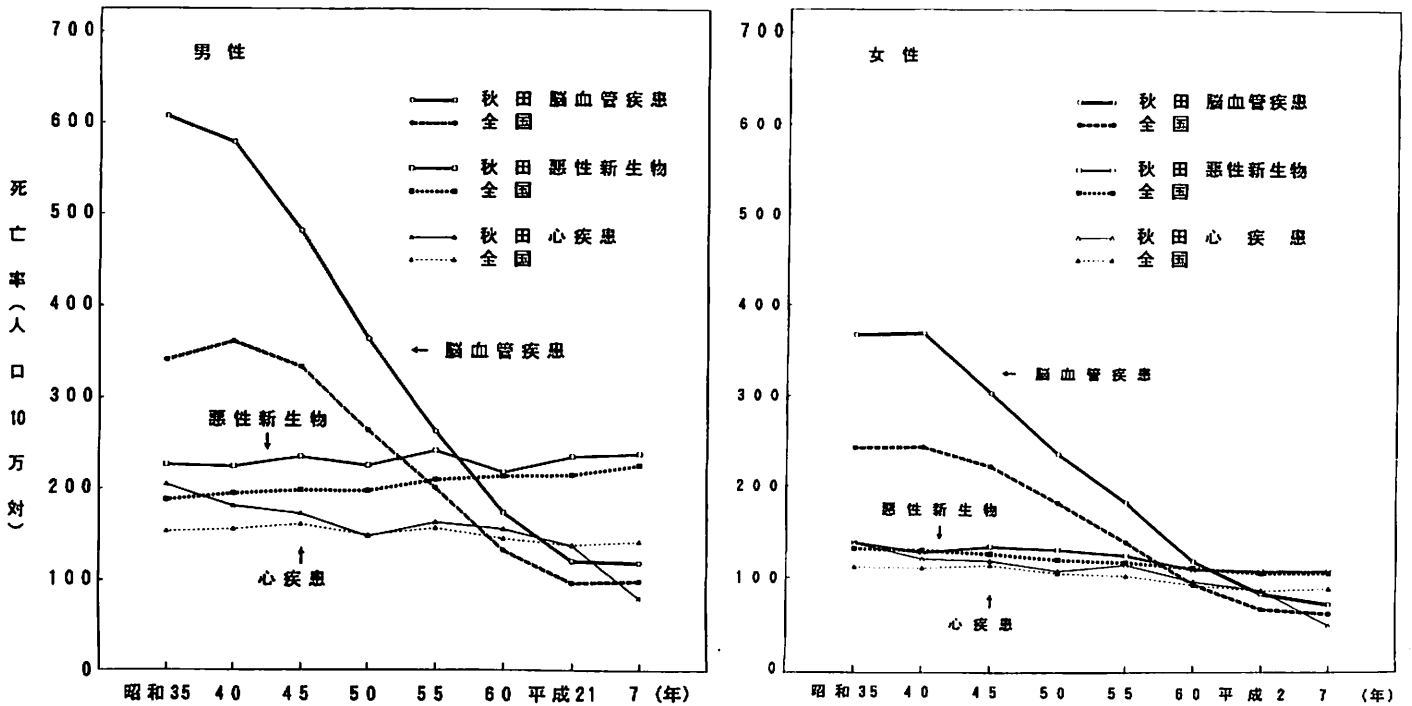


図3 秋田県と全国の主要死因別年齢調整死亡率の推移



2. 秋田県における高齢者の死亡状況

(1) 主要死因別にみた死亡率（人口10万対）の年次推移は、図3のとおりである。秋田県の脳血管疾患の死亡率をみると、男女とも昭和40年代がピークとして、その後急激に減少し、昭和50年代後半には、悪性新生物

の死亡率より低くなり第2位となっている。その後、昭和60年頃には心疾患の死亡率より低くなっているが依然、全国よりも高い率を示している。

(2) 図4は、30歳以降でどんな病気でいつ死亡しているかを主要死因別に示したものである。

図4 秋田県と全国における30歳以上の主要死因別死亡率の比較—平成7年—

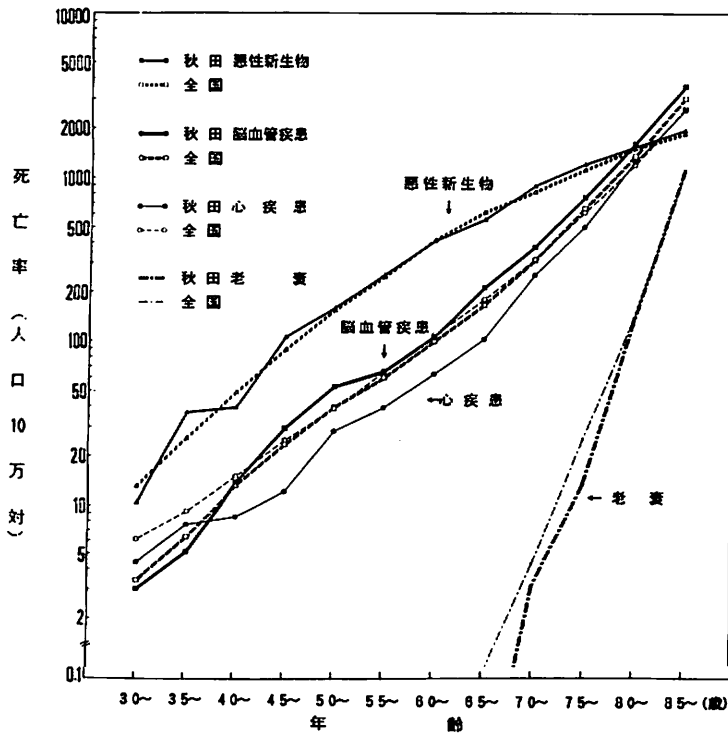


図5 65歳以上人口に対する主要死因別死亡率

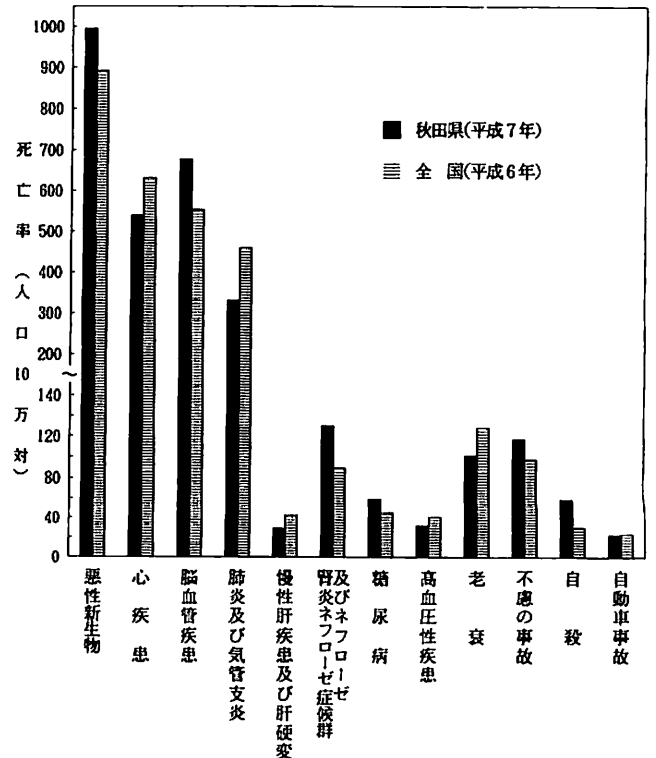


図6 一人あたり医療費の年次推移
—全国と秋田県—

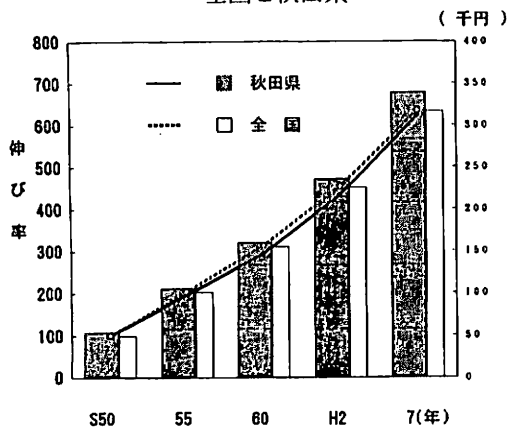
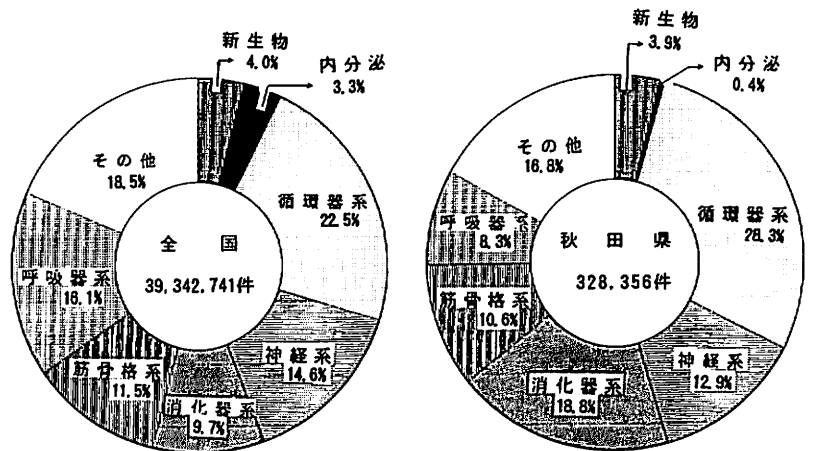


図7 件数からみた疾病割合



中年層では、悪性新生物の死亡率が第一位で次いで脳血管疾患である。脳血管疾患の死亡率は高齢になるに従い急激に高く、80歳以降では、脳血管疾患が第1位となり、心疾患が第2位となっている。脳血管疾患の死亡率が急に高くなる年齢は、全国では65歳頃であり、秋田県では60歳頃と5歳程若くなっている。

(3) 平成7年の65歳以上における主要死因別死亡率（人口10万対）は、図5に示すように、全国とは逆に脳血管疾患による死亡率が明らかに心疾患を上回っている。

3. 疾病統計

一人あたり医療費と一人あたりの医療費の伸び率の年次推移は、図6、図7（平成6年6月分）のとおりである。秋田県、全国ともに急激に伸びており、平成7年の秋田県の一人あたり医療費は、340,000円と昭和50年の6.2倍になっている。

件数から疾病割合をみると、循環器系の疾患が多い。一人による件数、点数からみても、循環器系の中で高血圧性疾患が高くなっている。特に秋田県では、循環器系の80%までが高血圧性疾患、虚血性疾患、脳梗塞で占められている。

4. 秋田県における社会生活指標（高齢化関連指標）

(1) 健康の指標

本県で全国水準より上回る指標は、図8のとおり、寝たきり老人比率と医療従事者の割合106.7であるが、医師の割合は、89.2と低くなっている。在宅寝たきり老人比率が高いことは、脳血管疾患死亡率の高いことと一致している。健康な高齢者の割合が大阪とほぼ同じ97.0であるが、在宅寝たきり者比率が大阪の1.4倍に及んでいることは注目される。本県の高齢者における自立状況を見ると、自立している数は全国とほとんど変わらない。しかし、自立していない者の中では、寝たきり者、受療件数が多いことから、症状が悪いと推測される。

また、平成7年の基本健康診査受診率が全国でも4位と高いことから、壮年期からの健康づくりにいかに結びつけていくかが今後の課題であると考えられる。

(2) 高齢者の福祉サービスの指標

福祉の三本柱といわれているショートステイ、ホームヘルプなどのサービス利用日数は、図9のとおり、全国を上回っている。これは在宅寝たきり者が多いためと推測される。

本県の高齢化の現状を反映して、老人保健施設や特別養護老人ホームの定員率（入所定数のこと）は、160.0、116.7と全国を上回っている。しかし、老人病院の病床率（成人病専門病院の病床数）は低いことから、本県の高齢化対策上高齢者のための専門的な医療の充実が望まれる。

(3) 高齢者雇用の指標

図10のとおり、本県における就業希望率は高く有業率も高い。しかし、60歳以上定年制をとる企業率は低く、55歳以上の有効求人倍率も低い。また、シルバー人材センターの普及率も83.7と低くなっている。高齢者において、就業は生きがいや健康につながることから、雇用面での対策も取り入れていく必要がある。高齢者のための仕事の拡充やシルバー人材センターの普及などが望まれる。

(4) 学習・社会参加・文化活動の指標

図11のとおり、公民館、図書館、スポーツ施設数などは、全国平均よりはるかに上回っている。また、ボランティア活動や老人クラブなどの集団的活動は活発であるが、学習・研究活動が少なく、教養・娯楽費は全国より大きく下回っている。施設面は充足されてきているが、今後、高齢者において個人による文化的活動を活発化するような環境の整備が必要と考えられる。

(5) 生活環境の指標

経済企画庁の発表によると、本県は持ち家比率も高

図8 健康の指標

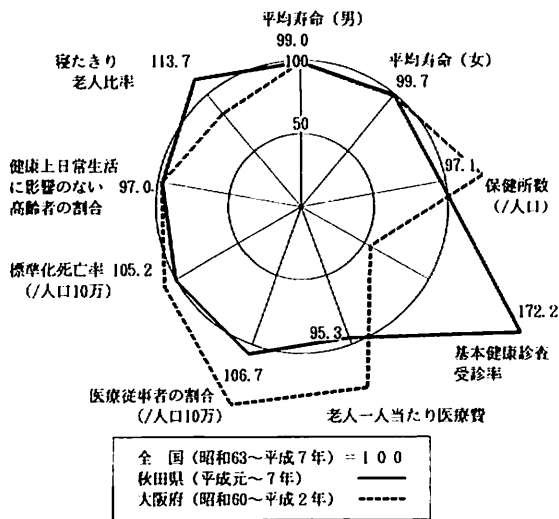


図9 高齢者福祉サービスの指標

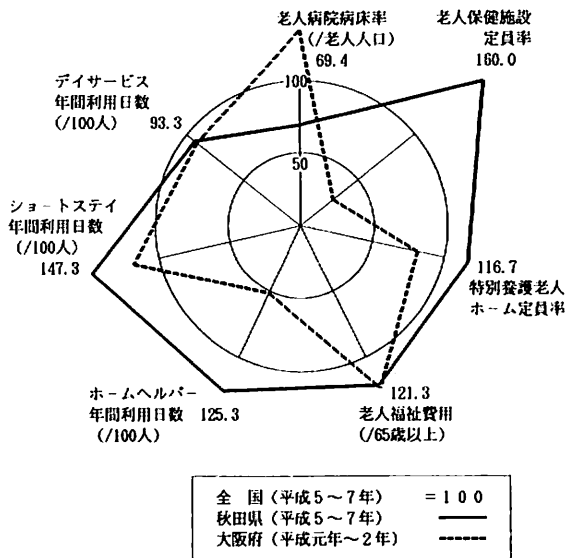


図10 高齢者雇用の指標

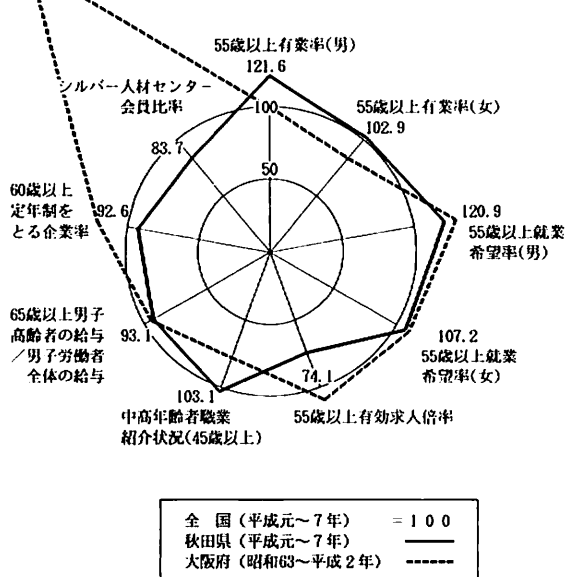


図11 学習・社会参加・文化活動の指標

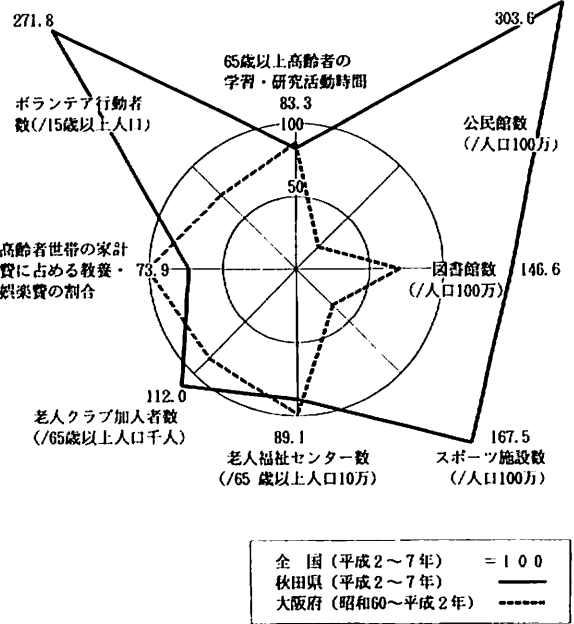
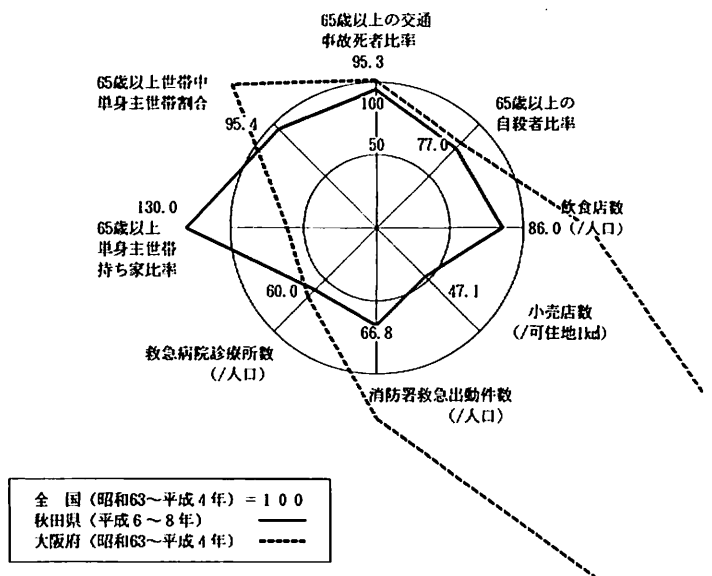


図12 生活環境の指標



く住環境は良いとされている。しかし、図12のように、飲食店、小売店などの生活の利便施設数は少ない。また、救急病院、診療所数、消防署の救急出動件数は、全国よりも大きく下回っている。交通の便や地理的なことなどの地域格差を考慮したときは、大きな課題となる。

IV まとめ

秋田県の高齢者は、脳血管疾患死亡数や受療件数が高く、在宅寝たきり者も多いことから健康状態が良好でないと伺われる。

一方、高齢者では働くことや社会活動などが生きがい

につながると言われているが、今回の調査から、高齢者における雇用面や文化的活動などで低い状況がみられた。これらから本県では精神面および社会活動に対する環境整備などの強化が必要と考えられる。

今後、ますます高齢化が進む本県において、従来型の高齢者対策にとどまらず、疾病(成人病)対策を含む抜本的な社会対策が必要と考えられる。

今回の指標は、あくまでも公表データを用いて数量的に評価している。これらの結果が、行政施策上、地域における現状把握、課題抽出および地区診断等に役立ててもらえればより有効であると考えられる。

V 文 献

- 1) 経済企画庁国民生活局. 新国民生活指標, 東京: 財団法人日本統計協会, 平成5年版.
- 2) 篠原 恒樹, 他. 老化と栄養. 東京: 第一出版K・K, 1982; 132-141.
- 3) 秋田県国民健康保険団体連合会. 国民健康保険データマップ, 平成7年度版.
- 4) 財団法人厚生統計協会. 厚生指標. 廣濟堂K・K, 1993; 40 (13).
- 5) 秋田県国民健康保険団体連合会. 国民健康保険疾病統計, 平成8年度.

指数の構成、項目及び引用資料

健康の指標	指標の構成項目	引用資料	編集・発行
<ul style="list-style-type: none"> ・平均寿命(男性、女性) ・保健所数(人口当たり) ・老人基本健康診断受診率 ・65歳一人当たり医療費 ・医師・看護婦・保健婦数(人口当たり) ・人口当たり標準化死亡率 ・健康上日常生活に影響のない高齢化の割合 ・寝たきり老人比率 	<ul style="list-style-type: none"> ・65歳以上一人当たり老人福祉費用 ・ホームヘルパー(100人当たり年間利用日数) ・ショートステイ(100人当たり年間利用日数) ・デイサービス(100人当たり年間利用日数) ・特別養護老人ホーム定員率 ・老人保健施設定員率 ・65歳以上一人当たり老人病院病床率 	<p>1996年国民衛生の動向 1991年時系列でみる県のすがた 平成4年度全国市町村別健康マップ数値表 平成6年度老人医療事業年報(抄) 県医療事業課より 1991年時系列でみる県のすがた 平成4年度国民生活基礎調査 1996年国民の福祉の動向</p>	<p>㈱厚生統計協会 総務庁統計局 ㈱健康・体力づくり事業団 県高齢福祉課 平成6年医療従事者届け 総務庁統計局 厚生省大臣官房統計情報部 ㈱厚生統計協会</p>
<p>高齢者福祉の指標</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・55歳以上有業率(男性、女性) ・55歳以上就業希望率(男性、女性) ・55歳以上有効求人倍率 ・中高年齢者職業紹介状況(45歳以上) ・65歳以上男子高齢者給与指数(男子労働者全体を100とする) ・65歳以上定時制をとる企業率 ・シニア人材センター会員比率 	<p>平成7年統計でみる県のすがた 平成6年老人福祉マップ数値表 平成6年老人福祉マップ数値表 平成6年老人福祉マップ数値表 平成6年老人福祉マップ数値表 平成6年老人福祉マップ数値表 平成6年老人福祉マップ数値表 平成6年老人福祉マップ数値表 平成4年就業構造基本調査 平成4年就業構造基本調査 平成7年統計でみる県のすがた 平成7年統計でみる県のすがた 1991年時系列でみる県のすがた 平成8年度高齢者雇用状況報告 平成6年度全国シルバーセクター事業運営 状況統計資料集</p>	<p>総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 県職業安定課</p>
<p>学習・社会参加・文化活動の指標</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・65歳以上高齢者の学習・研究活動時間 ・公民館数(人口100万人当たり) ・図書館数(人口100万人当たり) ・スポーツ施設数(65歳以上人口10万人当たり) ・老人福祉センター数(65歳以上人口10万人当たり) ・老人クラブ加入者数(65歳以上人口1千人当たり) ・高齢者世帯の家計費に占める教養娯楽費の割合 ・ボランティア活動者数(15歳以上人口当たり) 	<p>平成3年社会生活基本調査報告 平成7年統計でみる県のすがた 平成7年統計でみる県のすがた 1991年時系列でみる県のすがた 平成7年統計でみる県のすがた 1996年国民福祉の動向 平成6年度全国消費実態調査報告 県福祉企画課(市町村社会福祉協議会が把握している数)</p>	<p>総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 ㈱厚生統計協会 総務庁統計局</p>
<p>生活環境の指標</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・単身世帯割合(65歳以上高齢者がいる世帯主) ・65歳以上単身世帯の持ち家比率 ・救急病院・診療所数(人口当たり) ・消防署救急出動件数(人口当たり) ・小売店数(可住地1町当たり) ・飲食店数(人口当たり) ・65歳以上の自殺者比率 ・65歳以上交通事故死者比率 	<p>平成7年国勢調査報告 平成7年国勢調査報告 1991年時系列でみる県のすがた 1991年時系列でみる県のすがた 平成7年事業所統計調査報告 1991年時系列でみる県のすがた 平成7年人口動態統計</p>	<p>総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 総務庁統計局 厚生省大臣官房統計情報部 秋田県警察本部</p>