

ウイルス性食中毒事件について（行政対応）

齋藤 博之

衛生微生物技術協議会第 19 回研究会

講演抄録 1998：62

平成 9 年 5 月末日の食品衛生法改正により、ウイルスが食中毒原因物質として指定されてから 1 年が経過した。これまでは「食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生事例」と遠回しに呼称せざるを得なかった事例に対して、正式に「ウイルス性食中毒」という用語を使用できるようになった意義は大きい。反面、これまでは調査研究の一部として、ある意味では地研の自由裁量で行ってきた原因ウイルスの検査を、正式な行政依頼検査として位置付けるに当たって様々な問題点が浮上してきている。本演題では、ウイルス性食中毒原因の大部分を占めると考えられている SRSV に関わる諸問題について、以下の点を中心に検査室の立場から考察を加える。

1. 迅速性：保健所の細菌検査と同じスケジュールで成績を出せなければ、行政に役立つとは言えない。研究の場合とは異なったコンセプトで試験プロトコルを検討する必要がある。
2. 採便法：直採便やキャリーブリアに入った細菌検査の残存検体では正確な検査結果を期待できない。行政サイドと協議の上で適切な検体を採取できる体制を整える必要がある。
3. PCR の適用：プライマーの選択に成否がかかるが、万能プライマーは未だ存在しないので、複数種類を用いて総合判定することになる。その中でも当所で開発した Yuri 系プライマーによる検出効率は高いので第一選択として推奨する。また、逆転写反応直前に DNase I 処理を行うことで判定の際に障害となるエキストラバンドを完全に除去することができる（糞便のみならずカキにも有効）。
4. 疫学調査：SRSV による下痢症は具体的な食中毒の形態をとることもあるが、一般の感染症としての側面も併せ持っている。行政上はどちらのケースに分類するかで対応が異なってくるので、判断の助けとなるような何らかの疫学的指標を導入することは意義がある。塩基配列を決定して系統樹を作成するのは疫学的データとしては理想的であるが、現段階において全ての検査室でそれも迅速に行い得るかどうかは疑問である。当所では多検体の遺伝子情報を迅速に比較検討するために SSCP 法を実施している。例えばカキ由来の食中毒の場合は、同じ事件の患者であっても人によって検出される SRSV の SSCP パターンは異なる。細菌性食中毒では同じグループから検出された菌は原則として同じ血清型を示すのと比べると対照的である。

一方、カキとは無関係の施設内発生事例では患者間の SSCP パターンが同一である。これは、SRSV の出所は 1 つで、2 次感染によって広がっていったことを示唆している。同様に一般の飲食店のケースでも、調理人由来の場合（握り寿司やサラダ）はパターンが揃うことが予想される。このように SSCP 法は、初期の段階で流行形態を把握するのに有効であると考えられる。

SRSV に起因する食中毒における疫学指標としての SSCP 解析の検討

齋藤 博之 原田誠三郎 佐藤 宏康

第 46 回日本ウイルス学会学術集会

講演抄録 1998：234

【目的と意義】

冬季に多発する SRSV による集団下痢症は、具体的な食中毒の形態をとることもあるが、一般の感染症としての側面も併せ持っている。行政上はどちらのケースに分類するかで対応が異なってくるため、初期の段階で流行形態を把握する方法を確立しておくことは意義がある。本研究では迅速簡便な手法として SSCP 法によるパターン解析を検討した。

【材料と方法】

研究材料として平成 8～9 年に秋田県内で発生した SRSV が原因と考えられる集団事例 7 件において採取した糞便を用いた。抽出した RNA サンプルを鋳型とし、プライマー Yuri 52 F/R と Yuri 22 F/R による nested PCR (Hiroyuki Saito et al., Microbiol. Immunol., Vol.42, No.6, 439-446, 1998) により SRSV の遺伝子を検出した。このとき Yuri 22 F/R のプライマーの 5' 末端をあらかじめビオチンで標識したものを使用した。得られた 373bp の DNA 断片を SSCP 仕様の 4% アクリルアミドゲルで泳動し、検出には化学発光検出キット（東洋紡）を用いた。

【結果】

カキが原因食品であったケースに関しては、同一集団であっても患者によって異なる SSCP パターンを示す SRSV が検出された。一方、カキが原因でない施設内発生例では、同一施設内の患者は同じ SSCP パターンを示しており明らかに流行形態が異なることがわかった。また、SSCP 解析のためには PCR におけるエキストラバンドを極力抑える必要があるが、逆転写反応直前の DNase I 処理が極めて効果的であった。

【考察】

細菌性食中毒では同じ集団の原因菌は同一性状を有す

る場合が多いが、上記の成績はカキ由来ウイルス性食中毒の特徴と言えよう。これは、海水中の雑多な SRSV をランダムに濃縮したカキを食するためと考えられる。カキとは無関係の施設内発生事例では、同一施設内では同じ SRSV が検出されていることから、感染源は 1 人で 2 次感染によって広がっていったことが考えられる。同様の理由で、一般飲食店において調理人の手指が汚染していたことが原因の場合（にぎり寿司やサラダなど）は SSCP パターンが同一になると考えられる。疫学調査としてはシーケンスを決めて系統樹を作成するのが最も理想的であることは言うまでもない。しかし、時間的制約の大きい事件初動時の行政依頼検査において、一定の疫学的情報を得る手段として SSCP 解析は意義があると考えられた。

スギ花粉症に対するアンケート及び患者モニター調査による花粉飛散量と症状の関係について

笹嶋 肇 原田誠三郎 佐藤 宏康
宮島 嘉道 石川 馨¹⁾ 高橋 和子²⁾
山田 昌次³⁾

第 48 回日本アレルギー学会総会
講演抄録 1998 : VOL.47, 1055

【目的】一般集団のスギ花粉症の発症実態を調査し、受診歴の無い者の症状を把握する。また、患者に対する花粉予報の有効性を検討する。

【方法】1) スギ花粉症の一般集団の実態を把握する目的で、約 1,000 名を対象に症状発現状況について調査した。2) 外来患者約 90 名について服薬後のアレルギー日記によるモニター調査を実施した。

【結果】1) スギ花粉症と診断された者は約 5%であったが、スギ花粉飛散の多い日に症状が悪化しても受診しない者が約 7%存在した。2) 受診後の患者モニター調査結果の期間平均症状スコアを指標として患者重症度を軽度群、中等度群、重度群に区分し、地域の日花粉飛散数との関係を検討した結果、全体では症状スコアと花粉数に相関があり、最飛散期では中等度群の交差相関が高かった。花粉飛散終期においては、重度群と中等度群の症状スコアは、ロータリー法で 1 個/cm³以下の日飛散数でも高かったことから、この時期の予報内容の検討が必要とされた。

¹⁾石川耳鼻咽喉科医院 ²⁾高橋耳鼻咽喉科医院

³⁾由利組合総合病院

ヤマビルが吸血した血液から媒介動物を同定する検査法の開発

斎藤 博之 齊藤志保子 八柳 潤
佐野 健 佐藤 宏康 森田 盛大
宮島 嘉道

第 47 回東北公衆衛生学会
講演抄録 1998 : 30

近年になって秋田県の林業関係者に甚大な被害を及ぼしているヤマビルの生息域拡大には何らかの動物が介在していることが予想され、いくつかの状況証拠も見つかっている。しかし、それらが媒介動物であることを証明するためには、ヤマビル体内に残留している血液から動物種を特定する作業が不可欠となる。これまで、未知の血液から動物種を同定する方法は知られていなかったが、本研究では、残留血液から 28s リボゾームの遺伝子を PCR で増幅し、さらにその増幅 DNA を SSCP 法によって対照動物の遺伝子と照合することで動物種の同定に成功した。

1994~1997 年に採取されたヤマビル 395 個体内の、吸血していると思われる 61 個体を本法を用いて調べたところ、36 個体でカモシカの血液が認められた。以下はノウサギが 8、タヌキとクマが 4、ヒトと鳥類（キジあるいはヤマドリ）が 2、アカネズミが 1 であった。また、単一動物種の血液のみが検出された個体はむしろ少なく、量的な違いはあるものの複数種類の動物の血液が同時に検出された個体が多かった。以上の結果から、少なくとも調査地域においてはカモシカがヤマビルの媒介に強く関与していることが示唆された。

平成 9 年 7 月に秋田県内で分離された腸管出血性大腸菌 (EHEC) O121 : H19 2 株の性状

八柳 潤 木内 雄 齊藤志保子
佐藤 宏康

第 72 回日本感染症学会総会学術講演会
第 3 回腸管出血性大腸菌シンポジウム
感染症誌 1998 : 84

【目的】秋田県では Non-O157 EHEC の分離頻度が高いが、Non-O157 感染者に血便や HUS の発症は認められなかった。しかし、平成 9 年 7 月、秋田県 A 市と Y 市で血便と強い腹痛を呈した患者からこれまでに国内での分離報告がほとんどない EHEC O121 : H19 が分離された。分離株の性状について比較した成績を報告する。

【材料と方法】ベロ毒素 (VT) 遺伝子の型別は小林ら、*eaeA* 遺伝子の検出は我々が報告した PCR により実施

した。

VT 産生性は市販 RPLA キット、生化学的性状は Ewing らの方法、薬剤感受性は KB 法により検討した。PFGE パターンの比較には Not I と Xba I を使用した。**【結果と考察】** Y 市で発生した患者は 15 才の女性で 7 月 15 日に発症、18 日に血便が出現、腹痛が増強して近医を受診した後総合病院に入院した。一方、A 市で発生した患者は 20 才の男性で 7 月 19 日に発症、21 日に血便が出現、22 日に腹痛が増強して総合病院を受診、入院した。両者から分離された 2 株の EHEC はいずれも VT-2 と eaeA 遺伝子を保有し、RPLA により VT-2 の産生性が確認された。血清型はいずれも国際大腸菌クレブシエラセンター (WHO) により O121:H19 と決定された。2 株の Xba I、および Not I PFGE パターンにはわずかな違いが認められた。以上の成績から非常に近縁な 2 株の EHEC O121:H19 が同時期に県内に侵淫していたことが示された。EHEC O121:H19 は比較的重篤な症状を惹起したことから、注目すべき Non-O157 EHEC である。しかし、本菌は生菌では市販 O 群別用血清のいずれとも反応しなかったことから、血清によるスクリーニングでは検出困難と考えられた。このような EHEC を確実に検出する方法を確立し、今後もその動向を監視する必要があると考えられた。

秋田県における腸管出血性大腸菌分離状況

八柳 潤 齊藤志保子 木内 雄
鈴木 陽子 佐藤 宏康 宮島 嘉道
第 46 回東北公衆衛生学会

【はじめに】

平成 2 年 10 月に埼玉県の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、秋田県においても臨床医の EHEC 感染症に対する関心が高まり、平成 3 年に初めて散発下痢患者から EHEC O157:H7 が分離された。以後、平成 10 年 3 月までに秋田県では EHEC O157 感染事例が 22 事例、血清群 O157 以外の EHEC、いわゆる Non-O157 EHEC 感染事例が 26 事例確認された。今回、我々は秋田県における EHEC 分離状況、分離された EHEC のパルスフィールド電気泳動 (PFGE) パターンの比較成績などについて報告する。

【方法】

1. EHEC 検査実施状況：平成 3 年以降、当所では医療機関などからの EHEC 検査依頼に積極的に対応してきた。平成 8 年以降も①医療機関で分離した EHEC 疑い株のベロ毒素 (VT) 検査、②医療機関で採取した

下痢患者便の EHEC 検索、③秋田県総合保健事業団で分離した EHEC 疑い株の VT 検査を実施して EHEC 感染の診断を支援した。なお、防疫活動に係る EHEC 検査も、県の要綱・要領に従い、当所で実施した。

2. EHEC 分離株の血清型の決定：分離株の血清型別は市販血清キットにより実施した。市販キットで型別不能な株は The International Escherichia and Klebsiella Centre, Copenhagen に送付し、血清型の決定を依頼した。

3. EHEC 分離株の PFGE パターン：染色体 DNA 包埋アガロースプラグは Bio Rad 製キットを使用して調製し、PFGE は国立感染症研究所が示したパラメーターにより実施した。制限酵素には XbaI を使用した。

【結果と考察】

1. 秋田県における EHEC 分離状況：平成 3 年から 9 年の間に秋田県で O157 感染事例が 22 事例、Non-O157 感染事例が 26 事例発生し、感染事例の発生は 6 月から 9 月の夏季に集中する傾向が認められたが、2 月と 3 月にも発生した。O157、および Non-O157 感染者数はそれぞれ 43 人と 39 人であった。O157 感染者 43 人のうち血便と HUS を発症したのはそれぞれ 11 人 (25.6%) と 5 人 (11.6%) であったのに対して、Non-O157 感染者 39 人のうち血便と HUS を発症したのはそれぞれ 4 人 (10.2%) と 1 人 (2.5%) であり、Non-O157 感染者は、O157 感染者と比較して軽症に推移する傾向がみられた。秋田県では EHEC O157 よりも Non-O157 EHEC が多く分離された。最も多く分離された Non-O157 EHEC の血清群は O26 であったが、O103、O121、O150 など国内での分離報告が殆どない Non-O157 EHEC も分離された。これらの血清群は市販の病原大腸菌スクリーニング用血清キットには含まれていないために、市販キットを使用した従来の検査法ではこれらの血清群の EHEC を検出することは不可能である。我々は VT 遺伝子を指標とした PCR 法によりこれらの EHEC を検出、分離・同定した。地方衛生研究所で今後とも患者糞便を対象として、VT 遺伝子を指標とした方法により EHEC の検索を実施することが Non-O157 EHEC 感染症の実態を解明する上で有効と考えられた。

2. EHEC 感染事例の感染源：平成 8 年 7 月に発生した EHEC O103:H2 感染事例では、患者とその兄弟計 3 人が EHEC O103:H2 に感染し、保健所で実施した感染源調査により、患者家庭の牛舎で飼育されていた子牛の糞便から EHEC O103:H2 が分離された。これら、ヒト由来株と子牛由来株の PFGE パターンが同

一であったこと、および疫学調査の成績から、本事例の感染源は当該子牛であると推測された。48事例のEHEC感染事例のうち感染源に関する知見が得られたのはこの事例のみであり、EHEC感染症の感染源特定は困難であるということがあらためて確認された。

3. 秋田県で分離されたEHEC O157のPFGEパターン解析：秋田県で平成3年から9年に分離されたEHEC O157のうち、VT-1&2産生株と平成8年夏、堺市で分離された株のPFGEパターンを比較した結果、秋田県には平成7年に堺株に近縁なEHEC O157が侵淫していたことが明らかとなった。一方、平成9年に発生したEHEC O157：H7 VT-1&2+を原因とする8事例のうち、7月から8月に発生した4事例に由来する株のPFGEパターンが完全に同一であることが明らかとなった。このことは、同一起源から派生したEHEC O157が7月から8月にかけて相次いで感染事例を惹起したことを示唆しており、いわゆるDiffused Outbreakが県内で発生していたものと考えられた。Diffused Outbreakにおいては、詳細な疫学調査を実施することにより感染源が解明され得る場合があることから、今後も分離株のPFGEパターンの解析を継続する必要がある。

ホタテ及び下痢症患者由来腸炎ビブリオ分離株(O3：K6 TDH+)のパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)による解析

齊藤志保子 八柳 潤
東北獣医公衆衛生学会 1998

【はじめに】秋田県において、平成9年夏期は腸炎ビブリオによる集団食中毒事例及び散発事例が数多く発生し、分離された菌のほとんどがO3：K6 TDH+だった。平成10年もその傾向が続いていることから、腸炎ビブリオ感染症多発の原因究明のため、市販の各種海産物について汚染状況調査を行った。その結果、ボイルホタテから腸炎ビブリオ(O3：K6 TDH+)が検出された。下痢症患者由来株とホタテ由来株の関連について、パルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)により検討したのでその成績を報告する。

【方法・材料】散発下痢症患者由来便はTCBSでの直接分離のみ実施した。ホタテなどの海産物は10倍量の食塩ポリミキシンブイオンで一夜培養後、その培養液についてPCR法により、TDHとTRH遺伝子の有無をスクリーニングした。スクリーニングでTDH遺伝子が確認された場合は、我妻寒天上の溶血環を指標にし、TRH遺伝子が確認された場合はウレアーゼを指標にして菌の

分離を試みた。得られた菌株についてPCR法でそれぞれの遺伝子を確認すると同時に血清型別、性状検査を実施し、腸炎ビブリオを同定した。スクリーニング陽性検体についてはMPNで菌数を測定した。PFGEはCHEF DR II (BIORAD)を用い、制限酵素にNot Iを使用し て実施した。泳動パラメーターは、6V/cm 4-8Sec. 11hr →6V/cm 8-50Sec. 7hrとした。

【結果・考察】平成9年は海産物各種50検体について検査したところ、アザリ及びコタマガイから腸炎ビブリオ(O4：Kut TRH+)が分離されたが、O3：K6 TDH+は全く分離されなかった。平成10年はボイルホタテ19検体、生ホタテ2検体、計21検体について検査したところ、ボイルホタテ6検体から腸炎ビブリオ(O3：K6 TDH+)が分離された。そのMPNは、<30から230であった。ホタテ由来株のPFGEパターンは6検体とも一致していた。平成10年に発生した2事例の食中毒由来株(O3：K6 TDH+)のPFGEパターンはホタテ由来株のパターンと一致していた。また、平成9年に発生したO3：K6 TDH+による6事例の食中毒由来株、および散発下痢症由来23株のPFGEパターンはホタテ由来株とよく類似しており1~2本バンドが異なるだけであった。以上のことから少なくとも平成10年の腸炎ビブリオ感染症の原因の一つはホタテの汚染に関係があると考えられた。

腸管出血性大腸菌(O157を除く)の散発例

八柳 潤

シンポジウムI「腸管出血性大腸菌の現状と検査法、これからの予防策」
衛生微生物技術協議会第19回研究会
講演抄録 1998

1. はじめに

腸管出血性大腸菌(EHEC) O157は1996年に国内で大規模な集団食中毒を惹起したことから重要視されている。一方、腸管出血性大腸菌感染症が指定伝染病となって以来、血清群O157以外のEHEC、いわゆるNon-O157 EHECによる感染事例も少なからず報告されるようになった。ここでは1991年から1997年の「病原微生物検出情報」のEHEC/VTEC情報に基づき、国内で発生したNon-O157 EHEC散発事例を対象として、Non-O157 EHECの分離状況、分離株の血清型・VT型、感染者の血便・HUS発症状況について報告する。また、秋田県で分離されたNon-O157 EHECのパルスフィールド電気泳動(PFGE)による解析事例を紹介する。

2. Non-O157 EHEC の年別分離状況、分離株の血清型と VT 型 (1991-1997)

1991年から1997年にEHEC/VTEC情報に報告されたNon-O157 EHECの総数は521株であった。年別分離数は1991年6株、1992年3株、1993年2株、1994年4株、1995年4株、1996年131株、1997年366株であり、1996年以降分離報告数が急増した。報告されたNon-O157 EHECの血清群はO1、O6、O8、O18、O25、O26、O28ac、O103、O111、O114、O115、O119、O121、O128、O145、O150、Outの17種類、血清型は27種類であった。最も多く報告された血清群はO26(354株)、次いでO111群(86株)、O128群(14株)、O114群(13株)の順であった。また、血清型ではO26:H11が最も多く(226株)、次いでO26:NM(66株)、O111:NM(63株)の順であった。VT型ではVT-1単独産生株が419株と最も多く、VT-1、VT-2両毒素産生株が63株、VT-2単独産生株が34株であった。

3. Non-O157 EHEC 感染者の血便・HUS 発症状況

Non-O157 EHEC 感染者の血便発症率は15.9%であり、EHEC O157 感染者の発症率(32.3%)の約1/2であった。血便発症率を原因菌のVT型別にみると、VT-1単独産生株では14.3%、VT-2単独産生株では20.6%、VT-1,2両毒素産生株では23.5%であり、VT-1単独産生株の血便発症率が若干低い傾向が認められた。また、1991年から1997年の間に、EHEC/VTEC情報の臨床症状欄にHUSを発症した旨が示されている事例は1996年に報告された2事例のみであり、原因菌はO26:H11(VT-1&2+)、O114:NM(VT-2+)であった。

4. PFGE による Non-O157 EHEC の解析例

秋田県において1996年に発生した6事例の感染事例から分離されたEHEC O26:H11 9株、ヒトと子牛から分離されたEHEC O103:H2 4株、1997年に2事例発生した感染事例から分離されたEHEC O121:19 2株についてPFGEパターンを比較検討し、EHEC O157と同様にPFGEがNon-O157 EHECの解析に有用であることが示された。

【他紙掲載】

Application of RT-PCR designed from the Sequence of the local SRSV strain to the screening in viral gastroenteritis outbreaks

Hiroyuki Saito, Shioko Saito, Kazuko Kamada, Seizaburo Harata, Hiroyasu Sato, Morihiro Morita and

Yoshimichi Miyajima

Microbiology and Immunology, 1998; 42: 133-137

Yuri strain of small round structured virus (SRSV) was cloned from a fecal specimen in which virus particles were observed by electron microscopy. The most common RT-PCR protocol using 35/36 and 81/82 nested primer pairs, however, could not detect the SRSV genome in this specimen. Nucleotide and amino acid sequence analysis revealed that the Yuri strain is genetically close to the genotype II. A novel procedure using primer sets designed from the nucleotide sequence of the Yuri strain was applied to the screening of 119 stool samples obtained from subjects with sporadic diarrhea and 46 samples obtained during seven food-borne gastroenteritis outbreaks. Using the novel procedure the Yuri strain was detected in 44% and 52% of samples, respectively. These detection rates were approximately twice those obtained with the 35/36 and 81/82 nested primers. In particular, over 40% of positive samples could be detected using only the Yuri primer sets. Furthermore, three improvements were made to the RNA preparation, cDNA synthesis and amplification step in order to save materials and times. Background or extra band in the amplification reaction resulting from DNA in the fecal specimens were completely removed by DNase I treatment just prior to cDNA synthesis. Random nonamers were used as universal primers in the reverse transcription. There was no difference in sensitivity or specificity in the final results when either random nonamers and specific primers were used. Use of a pre-amplification step under low stringent conditions prior to the standard amplification under highly stringent conditions compensated for any mismatched bases in the primers with respect to the target sequences. Thus, our novel procedure using Yuri primer sets may be useful for the screening of SRSV in the recent SRSV outbreaks in Japan.

1997年7月に秋田県で分離された Vero 毒素産生性大腸菌 O121:H19 2株の疫学性状と Virulence factor

八柳 潤 木内 雄 齊藤志保子
鈴木 陽子 佐藤 宏康 宮島 嘉道
感染症学雑誌 Vol.73 (3) p218-224 1999

平成9年7月、血便と強い腹痛を呈した秋田県内在住の15才女性と20才男性の糞便から分離されたVTEC O121:H19の疫学的性状とVirulence factorについて検討した。2株のVTEC O121:H19は検討した範囲で同一の生化学的性状、薬剤感受性、プラスミドプロフィールを示したが、Xba I および Not I PFGE パターンはわずかに異なっており、非常に近縁な2株のVTEC O121:H19が秋田県内に侵淫して感染事例を惹起したことが示唆された。一方、2株のVTEC O121:H19はVTEC O157:H7と同様にeaeA遺伝子、およびCVD419プローブとハイブリダイズする約60MDaプラスミドを保有し、エンテロヘモリジンを産生した。また、in vitroにおけるVT-2産生能も検討した範囲でEHEC O157:H7と同程度であった。これらのことは、VTEC O121:H19がVTEC O157:H7と検討した範囲では同等のVirulence factorを保有していることを示すものと考えられた。VTEC O121:H19は成年に比較的重篤な症状を惹起したことが注目された。国内におけるVTEC O121:H19の分離実態は明らかではなく、今後、O121群別用血清の市販が望まれる。

牛が感染源と考えられた Vero 毒素産生性大腸菌 O103:H2 による家族内感染事例

齊藤志保子 八柳 潤 木内 雄
佐藤 宏康 宮島 嘉道 森田 盛大
感染症学雑誌 Vol.72 (7) p707-703 1999

秋田県内で発生した家族内感染事例において患者、および牛から分離されたVTEC O103:H2の性状について比較検討した。平成8年7月、下痢症状を呈し、医療機関を受診した6歳男児からVT-1、及びeaeA遺伝子を保有するVTECが2株分離された。2株のVTECは市販型別用血清によりそれぞれO18:H2とO63:H2に型別された。患者家族の保菌調査、および感染源調査を実施した結果、患者の弟2名と当該家庭で飼育されていた子牛からVT-1とeaeA遺伝子を保有し、市販血清によりO63:H2と型別されるVTECが分離された。市販血清によりO63:H2と型別された、6歳男児由来VTEC (EC-281) は The International Escherichia and Klebsiella Centre によりO103:H2と型別された。

EC-281株に対する抗血清を調製し、定量凝集試験、および吸収試験を実施した結果、6歳男児の弟2名、および子牛由来で、市販血清によりO63:H2と型別された3株の血清群もEC-281株と同様にO103であることが明らかとなった。4株のVTEC O103:H2は共通のプラスミドプロフィール、薬剤感受性パターン、パルスフィールドゲル電気泳動パターンを示したことから、4株が共通の起源に由来する同一株であることが明らかとなり、本事例の感染源が子牛である可能性が示された。

秋田県におけるジフテリア検査体制—集団事例発生(1992年)のその後

齊藤志保子 八柳 潤 佐藤 宏康
宮島 嘉道

病原微生物検出情報月報 Vol.19 No.10 p.225 1998

1992年に秋田県の知的障害児施設でジフテリア患者が発生した。その検査に際して、検査用標準株を当所で保有していなかったこと、検査用培地が入手困難であったこと、およびジフテリア検査経験を持つ技術者が当所にいなかったことが問題点として認識された。その後、これらの問題点解決のために、標準株と現在入手可能な分離培地を入手し、鑑別培地調製用培地素材を購入、常備した。また、ジフテリア菌同定のキー性状となるジフテリア毒素の検査目的で、ジフテリア毒素の構造遺伝子を標的とするPCR法を導入し、迅速同定を可能とした。

1997年7月に秋田県で分離された腸管出血性大腸菌 (EHEC) O121:H19の性状

八柳 潤 木内 雄 齊藤志保子
佐藤 宏康 宮島 嘉道

病原微生物検出情報月報 Vol.19 No.10 p.226 1998

1997年7月に秋田県のA市とY市で、それまで国内における分離報告例がほとんどない、EHEC O121:H19に感染した患者が確認された。患者はいずれも強い腹痛と血便を呈するなど比較的重篤な症状を示した。分離株はいずれも市販血清によりO114:H19と型別されたが、国際大腸菌・クレブシエラセンター (WHO) において血清型がO121:H19であることが明らかとなった。2株はいずれもVT-2遺伝子とeaeA遺伝子、CVD419プローブとハイブリダイズする約60MDaプラスミド、エンテロヘモリジン産生能を保有していた。また、in vitroにおいてEHEC O157と同等のVT-2産生量を示したことから、EHEC O121:H19はO157と同等のVirulence

factor を有するものと考えられた。一方、2 株のパルスフィールドゲル電気泳動パターンは非常に類似していたが同一ではなかったことから、1997 年 7 月の同時期に近縁な EHEC O121 : H19 が秋田県に侵淫したものと考えられる。

中国へ修学旅行した高校生の EHEC O26 : H11 と Salmonella Albany 等集団混合感染事例 - 秋田県

齊藤志保子 八柳 潤 鈴木 陽子
安部真理子 佐藤 宏康 宮島 嘉道

病原微生物検出情報月報 Vol.19 No.10 p.227 1998

1998 年 4 月に中国へ修学旅行した秋田市内の高校生が EHEC O26 : H11 や Salmonella Albany 等に集団で混合感染した。本事例の検査の過程で、PCR による VT 遺伝子のスクリーニングとセフィキシム・テルライト加ラムノースマッコンキー平板による直接分離培養の組み合わせが EHEC O26 : H11 の分離・同定検査に非常に有用であった。一方、我々は当初、本事例が EHEC O26 のみを原因とする集団事例と考えたことから、Salmonella Albany などを検出するまでに若干の時間を要した。集団感染事例においては、混合感染を視野に入れた検査を実施することが非常に重要であると考えられる。

給食従事者からの志賀毒素産生性大腸菌分離状況 (1997 年～1998 年 9 月) - 秋田県

八柳 潤 木内 雄 齊藤志保子
鈴木 陽子 安部真理子 佐藤 宏康
宮島 嘉道 斎藤 敦* 広島 順子*
片岡 敏子*

病原微生物検出情報月報 Vol.19 No.11 p.256 1998

秋田県では志賀毒素 (Stx) 遺伝子を検出する PCR 法を応用して給食従事者の法定志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 検査が実施されており、1997 年～1998 年 9 月にかけて給食従事者の STEC 感染事例が 11 事例確認された。分離株の血清型には本邦初である OX3 : H21 の他、市販血清キットに含まれない O103、O91、O145 が含まれており、Stx 遺伝子を指標とする検査方法が STEC の分離・同定手法として非常に有用であることが確認された。一般的な検査機関における STEC 検出率向上のために、これらの血清を市販する必要があるものと考えられる。

*秋田県総合保健事業団

志賀毒素産生性大腸菌 O121 と大腸菌 O114 群免疫血清の反応の解析 - 秋田県

八柳 潤 齊藤志保子 安部真理子
佐藤 宏康 宮島 嘉道

病原微生物検出情報月報 Vol.19 No.12 p.280 1998

1997 年 7 月に志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) O121 : H19 感染者の検査を実施した際、我々は STEC O121 : H19 が市販血清により O114 群に群別されることを経験した。このことから、E. coli O114 と O121 の Standard O Group Strain を入手して免疫血清を自家調製し、O114 群と O121 群の抗原関係について検討した結果、市販 O114 血清が大腸菌 O121 群と交差凝集反応を示すことが明らかとなった。従って、市販血清により O114 に群別される STEC が分離された場合には、O121 群の確認のためにレファレンスセンターに型別を依頼する必要があると考えられる。

秋田県における腸炎ビブリオ分離状況および分離株 (O3 : K6 TDH+) のパルスフィールド・ゲル電気泳動による解析

齊藤志保子 八柳 潤 安部真理子

病原微生物検出情報月報 Vol.20 No.1 p.9-10 1999

秋田県においても 1996 年以降腸炎ビブリオ O3 : K6 による散発・集団感染事例が急増している。このことから、腸炎ビブリオ感染症多発の原因を究明するために、市販の各種海産物の汚染状況調査を実施した。さらに、患者由来株のパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) パターンの年次推移について検討すると共に、食品由来株と患者由来株の PFGE パターンを比較した。その結果、下痢患者由来腸炎ビブリオ O3 : K6 の PFGE パターンはお互いに非常に類似しているが、約 300Kb にバンドがみられるグループ (A 型) とみられないグループ (B 型) が存在し、1997 年から 1998 年にかけて分離株のパターンが B 型から A 型に推移したことが明らかとなった。一方、1998 年に市販のボイルホタテから腸炎ビブリオ O3 : K6 が分離され、分離株のパターンがヒト由来株と同様に A 型であったことから、ボイルホタテの汚染とヒトの散発感染・食中毒事例の発生の関連が示唆された。

東北地方で分離された志賀毒素産生性大腸菌 O121 : H19 と O103 : H2 の解析 (1996 年～1998 年)

八柳 潤 齊藤志保子 佐藤 宏康
宮島 嘉道 熊谷 学¹⁾ 小林 良雄¹⁾
玉田 清治¹⁾ 対馬 典子²⁾ 筒井 理華²⁾
大友 良光²⁾ 大谷 勝実³⁾ 村山 尚子³⁾
片桐 進³⁾ 小黒美舎子⁴⁾

東北食中毒研究会・大腸菌研究班

病原微生物検出情報月報 Vol.20 No.1 p.10-11 1999

血清群 O157 以外の志賀毒素産生性大腸菌 (Non-O157 STEC) の感染疫学の解明は STEC O157 と比較して遅れている。Non-O157 STEC の中で、STEC O121 : H19 は感染者が重篤となる場合があることから、その感染疫学の解明が望まれる。これらのことから、東北地方で分離された STEC O121 : H19 7 株と STEC O103 : H2 3 株についてパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) パターンを比較検討した。その結果、STEC O121 : H19 感染事例においても、STEC O157 感染事例と同様に家族内感染事例では同一の PFGE パターンを示す菌が分離されることが明らかとなった。また、1997 年から 1998 年にかけて東北地方に侵淫した STEC O121 : H19 は近縁度が高く、いくつかのサブタイプに区分されると考えられた。一方、わずか 3 株の検討成績であるが、STEC O103 : H2 には明らかに起源が異なる系統が存在することが明らかとなった。今後、全国的な規模で Non-O157 STEC の感染疫学の調査を実施する必要があると考えられる。

¹⁾岩手県衛生研究所 ²⁾青森県環境保健センター

³⁾山形県衛生研究所 ⁴⁾仙台市衛生研究所

新血清型赤痢菌 *Shigella flexneri* 89-141 感染 2 事例の概要と分離株の性状 - 秋田県

八柳 潤 齊藤志保子 安部真理子
佐藤 宏康 宮島 嘉道 森田 盛大

病原微生物検出情報月報 Vol.20 No.1 p.12 1999

秋田県において 1995 年 7 月と 1998 年 11 月に *Shigella flexneri* 89-141 の散発感染事例が発生した。感染者はいずれも粘血便など赤痢に特有の症状を呈した。また、2 事例共に感染者に渡航歴はなかった。分離株 2 株はいずれも *Shigella flexneri* の多価血清にのみ明瞭な凝集がみられ、いずれの型・群血清にも凝集がみられなかった。しかし、いずれも InvE 遺伝子を保有する病原株であること、および、Ewing の常法により検討した結果、*Shigella flexneri* と一致する生化学的性状を示すこ

とが明らかとなった。これらのことから、当該 2 株を *Shigella flexneri* 血清型不明と同定した。さらに、都衛研に 2 株の抗原分析を依頼したところ、2 株がいずれも *Shigella flexneri* 89-141 であることが明らかとなった。*Shigella flexneri* 89-141 以外の新血清型赤痢菌に遭遇した場合も同様のプロセスで同定可能と考えられる。

小児の咽頭ぬぐい液から分離された A 群溶レン菌の T 型の年次推移 - 秋田県

高橋 義博 太田 和子 (大館市立総合病院)
八柳 潤 齊藤志保子 安部真理子
佐藤 宏康 宮島 嘉道

病原微生物検出情報月報 Vol.20 No.2 p.37 1999

秋田県内の 1 定点病院 (小児科) において、1996 年 6 月から 1998 年 12 月までに咽頭ぬぐい液から分離された A 群溶レン菌 206 株の T 型の年次推移について検討した。最も多くみられた T 型は T-1 であり、T-6、T-3、T-12 がそれに次いだ。また、T-3、T-6、T-12 の分離頻度は、それぞれ 1996 年 6 月、1997 年 3 月、1998 年 12 月に最大となり、ある期間に特定の T 型が主流株となる傾向がみられた。1996 年に劇症溶レン菌感染症からの分離頻度が高いとされる T-3 が多数分離されたが、本菌型を原因とする劇症溶レン菌感染症は確認されなかった。

医療機関などで分離された下痢原性大腸菌疑い株の病原因子保有状況 - 秋田県

八柳 潤 齊藤志保子 安部真理子
佐藤 宏康 宮島 嘉道

病原微生物検出情報月報 Vol.20 No.3 p.62-63 1999

1991 年以降、医療機関などにおいて市販スクリーニング用血清キットを使用して分離された下痢原性大腸菌疑い株、計 1,271 株について PCR 法により病原遺伝子の保有状況を調査した。1,271 株中、294 株 (23%) が病原遺伝子を保有し、下痢原性大腸菌と同定された。同定された下痢原性大腸菌のうち、最も多かった菌種は STEC であり、EAggEC、AEEC、ETEC がそれに次いだ。STEC が最も多かった理由は、STEC 疑い株のみを当所に同定目的で送付する医療機関が多いことであると考えられる。病原因子保有率が高い血清群は O157、O26、O111、O126 などであった。また、O157 群、O128 群、O26 群には STEC と AEEC、O25 群には ETEC、STEC、EAggEC が含まれるなど、異なる菌種の下痢原性大腸菌が同一血清群に属する例があった。一方、O1 群は供試

株の20%以上、O18群は10%以上を占めていたが病原因子の保有状況から下痢原性大腸菌と同定された株はなかった。今後、O1群とO18群の大腸菌の下痢原性の有無について、病原機構の解析や感染症学の解析により解明を試みる必要があると考えられる。

デストシルピラゾレート（ダイアゾール系除草剤）の分析について

小林 淑子 松田恵理子 小沢喬志郎*
佐野 健*

第47回東北公衆衛生学会

講演抄録 1998:31

水田除草剤として使用されるピラゾレートは、水中で徐々に加水分解を受け、除草活性のあるデストシルピラゾレート(DTP)を生成する。そのため、作物残留検査ではピラゾレートとDTPの両方を分析しなければいけない。しかし、環境庁告示試験法にはピラゾレートのみで、DTP分析法は記載されていない。そこで、ソフトサイエンス社のDTP残留農薬分析法を用いて、コメのDTP分析について検討した。

検討に用いた試料は平成9年度産あきたこまちの玄米、使用装置は柳本G-3800、カラムは2%GS-210である。

ソフトサイエンス社の残留農薬分析法に記載されているDTP分析では、10%アルミナカラム法を使用している。しかし、この方法はばらつきが大きく(回収率22.6~44.2%、平均値37.4%、CV%19.3)高精度な分析はできなかった。環境庁告示試験法のピラゾレート分析に採用されている分析法をDTPに適用した。ケイソウ土・シリカゲル混合担体(1:3)カラムで精製し、シリカゲルTLCによるかき取り分離を行った。その結果、回収率87.7%、平均値90.6%、CV%2.6と満足すべき成績が得られた。

*横手保健所

秋田県八幡平トロコ地すべり地における地熱水の地下水への混入

小林 勝人* 松葉谷 治* 川原谷 浩*
武藤 倫子

地球化学, 第33巻, 第1号, 45~53, 1998

秋田県八幡平のトロコ地すべり地は、温泉活動により岩石が変質することで形成された地すべり地である。本地すべり地の地下水は大きく分けて4種類の端成分が混

合した地下水である。

これらの各端成分が地すべり地内で混合したとき、地すべり地の地層中でどのような化学反応が起こっているのかを知ることは地すべりの形成に関して重要である。

そこで、地下水中の酸素と水素の同位体比や化学成分等を調査した結果をもとに検討したところ、以下のことが判明した。

1. トロコ地すべり地内の地下水には中性のNaCl型地熱水とSO₄型地熱水が混入している。NaCl型地熱水は銭川温泉と同質のものであり、その一部は二酸化炭素に富む水蒸気を含む。SO₄型地熱水は澄川温泉酸の湯と同質の火山ガス起源の可能性が高い。
2. これらの地熱水の混合の割合は、場所及び時期により様々に変化する。このことから、これらの地熱水は各々独立した鉛直方向の割れ目を上昇してくるものと推察された。
3. SO₄型地熱水及びHCO₃型については、岩石との反応が十分に進み、pHは弱酸性からアルカリ性となり温度は浅層の地温で規制されているものと推察された。

*秋田大学

温泉の効能に関する一考察

—血液成分量の変化とその要因について—

武藤 倫子 黒沢 新 小沢喬志郎
宮島 嘉道

温泉科学, 第48巻, 第3号, 110, 1998

温泉の浴用や飲用の効果が医学的に検証されることは、県民の健康増進や疾病予防に果たす温泉の役割の拡大に結びつく。

当所では平成6年度から「温泉の浴用(飲用)効果に関する医学的調査研究」を開始した。温泉入浴(飲泉)による効果を血液成分量の変化でみようとするものである。

これまでの対象者119名の血液成分量の変化をみると総コレステロール値やヘマトクリット値等で比較的大きな変化を示す者がいた。温泉の効果を論ずる場合、これらの変化やその差がどのような要因によるものかを解明することが重要である。

そこで、血液成分量の変化の要因を探る手がかりとして行った実験結果をもとに、平成9年度に行った調査結果を考察した。

血液成分量の変動に関する報告は数多く、例えば総コレステロール値については同一人であっても比較的大きな変動のあることが報告されている。今回の入浴(飲泉)

調査の前後における血液検査結果でも比較的大きな変化を示した者が約半数いたが、日内変動や経日変動の実験結果と比較検討した結果、それらを越える変化を示した者はごく少数であった。

秋田県八幡平の地すべり・土石流災害

武藤 倫子

温泉科学, 第47巻, 第4号, 179~180, 1998

1997年5月、秋田県八幡平地域で起こった地すべり・土石流災害は、澄川温泉の南側斜面で起こった約35ヘクタールもの大きな地すべりに端を発した。融雪時期であったことや豪雨の影響で現場の土塊が水に飽和状態であったと考えられている。

地すべりによってもたらされた膨大な量の土砂は、澄川温泉の建物全てを崩壊し、さらにその後土石流となって澄川、赤川に流れ込み、赤川温泉を呑み込み、約2キロメートル下流の国道341号を越えて熊沢川に流れ込んだ。この災害により、歴史のあるこれら2温泉が消失した。

このような大規模な災害はまれにみるものであることから、地元新聞の報道をもとにその経緯を報告した。

秋田焼山地域における火山性地熱水の地球化学的モニタリング

松葉谷 治* 根本 匠* 川原谷 浩*

武藤 倫子

日本火山学会秋季大会 講演抄録 1998:120

秋田県焼山では、1997年5月に山腹北側の澄川温泉で大規模な地すべりが発生し、また8月には山頂付近で小規模の噴出があり、火山活動が活発化したことが懸念された。

そこで、この地域の玉川温泉、山頂噴気、叫沢噴湯、澄川温泉などの火山性地熱水の水素と酸素の同位体比及び塩化物イオンと硫酸イオン濃度の変化を手がかりに、火山活動の変動について検討した。

その結果、焼山地域では火山ガスと天水の混合で生じるCl-SO₄型の起源地熱水については、1990年初めに火山ガスの混入の割合が増加したと判断される。しかし、その変化の要因として火山ガスの混入量の増加と、天水の流入量の減少の2つの可能性が考えられ、いずれかの判断は現在のところ難しい。しかし、1990年初めの変化以後ほぼ一定な状態が保たれていることは天水の混入量の減少の可能性を示唆すると考えられる。

*秋田大学

ライフステージ別にみた摂食パターン（献立）と栄養摂取について

古井美和子 高桑 克子 石田あや子*¹

千葉ノリ子*² 大平 俊彦 宮島 嘉道

第47回東北公衆衛生学会

講演抄録 1998:11

県民の食習慣改善を行うために摂食パターンや食習慣に関連づけた食生活を把握することが必要と考えた。そこで、18歳~29歳の若い年代に注目し、平成8年度に実施された県民健康食生活実態調査結果を用いて献立分類から摂食パターンを分析した。

その結果、今回の調査では「エネルギー供給は主食、主菜、副菜の順に多く、たんぱく質と脂質は主菜、副菜から多い」ことが全年代でみられ、従来から言われてきたことが検証された。

18歳~29歳の若い年代では、エネルギー、カルシウム、鉄に不足状況がみられ、脂質の摂取は特に女性で適正範囲を超え、男女ともP/S比が低かった。また、摂取食品数、献立の組み合わせの出現数が少なく、外食率、欠食率も他の年代より高かった。摂食パターンでは、主食兼主菜のカレーライス、丼もののような一皿料理からのエネルギー、脂質摂取比率が高かった。さらに、主菜に近い副菜を重ねて摂取しているものがみられた。主菜に占める肉類の割合が他の年代よりも高く、男性で食事の飲み物に嗜好品が多いなど食事が偏っていることが伺えた。

*¹大曲保健所角館支所

*²秋田県立大学