

Ⅲ 学会発表・他誌掲載

1 微生物部

1) カンピロバクター菌食中毒の予防に関する調査研究 (第1報) —各種食品中でのカンピロバクター菌の生存性—

東北食中毒研究会：齋藤志保子，八柳 潤，遠藤守保，山脇徳美，和田恵理子，森田盛大
(秋田県衛生科学研究所)

近年、学校給食などにより発生する、食中毒の原因菌は、カンピロバクター・ジェジュニー（C J 菌）が最も多いが、C J 菌食中毒の70%は原因食品が不明である。これは、主としてC J 菌の食品中での生存性が低いこと、及びC J 菌食中毒の潜伏期が長いこと、検食が廃棄されてしまうことなどに起因すると考えられる。このことから、我々は今回、検食の適切な保管管理方法を確立する目的で、24種類の食品におけるC J 菌の生存性について検討した。

食品1gあたり $10^5 \sim 10^6$ 個のC J 菌(Lior4型)を接種し、 10°C 、 4°C 、 -20°C に保存した食品について、常法に従いC J 菌の定量培養を行った。

生肉、生魚では良好な生存性が認められ、食品中の菌量は2週間後でもほとんど減少しなかった。卵（全液卵）米飯も生存性が良好であった。生野菜のうち、長イモ、キュウリ、では生存性が比較的良好であったが、トマト、ジャガイモ、玉ネギではC J 菌は急速に死滅した。サラダについては、pHの低いもの程生存性が低く、ヨーグルトやみつ豆など、pHの低い食品でもC J 菌が急速に死滅した。市販の惣菜では、 4°C で保存した場合の生存性が 10°C 、 -20°C の場合より明らかに良好であった。

今後は、各種調味料と、C J 菌の生存性の関係を調査し、次いで包装形態など、実際の検食の保管管理条件について検討したい。

(第45回日本細菌学会東北支部総会，福島市，平成3年9月)

2) C. jejuni 食中毒予防のための検食の保管管理方法に関する研究 (第1報) —各種食品中におけるC. jejuniの生存性—

齋藤志保子，遠藤守保，八柳 潤
(秋田県衛生科学研究所)

カンピロバクター・ジェジュニー（C J）は下痢症の重要な原因菌であり、本菌による食中毒も数多く発生して

いる。特に学校給食などの大きな施設における細菌性食中毒の原因としてはC Jが最も多い。しかし、本菌食中毒の場合その多くの事例で原因食品が不明である。このことから、我々は、本菌による食中毒の原因解明に重要な手がかりを与える検食からの本菌検出率を高めるため、その適切な保管管理方法を検討してきた。本報ではその第一段階として24種類の食品における生存性および10種類の調味料のC J生存性に対する影響について各種温度条件下で検討した結果を報告する。

食品におけるC J生存性は、食品種によって異なるが一般に、 -20°C 保存では一時的に菌が減少するものの、その後は横ばい状態を示した。 4°C 保存は 10°C 保存に比べて生存性が良かった。pHの低い食品、調味料中では急速に死滅した。食塩、砂糖、味噌などでは通常の使用濃度では生存性は良好であった。

(平成3年度日本獣医公衆衛生学会年次大会，横浜市，平成4年2月)

3) 麻疹ウイルスの性状分析に関する研究 (継続)

斎藤博之¹⁾，佐藤宏康¹⁾，安部真理子¹⁾，原田誠三郎¹⁾，森田盛大¹⁾，天野憲一²⁾，須藤恒久³⁾
(秋田衛研¹⁾，秋田大・医・実験実習機器センター²⁾，秋田大・医・微生物学³⁾)

目的：1988年に秋田県内で分離された麻疹ウイルス株は、すでに報告(H. Saito et al Intervirology 33, 57-60 (1992))したごとく、血球凝集能を欠き、また、サル腎由来細胞に感染しないなど、従来の分離株とは異なった性状を有していたが、今後の麻疹の流行性を検討する一環として、これらの性状の違いを分子レベルで解析し、変異株HA遺伝子の全構造を決定した。

材料・方法：分離株を感染させたB95a細胞よりmRNAを調製し、Gubler & Hoffmanの方法によりcDNAを合成した。得られたcDNAはEcoRIリンカーを介して λ gt10のアームにつなぎ、in vitro packagingによってライブラリーを作製した。SSPEのHAをプローブとしたプライクハイブリダイゼーションにより変異株のHAを含むcDNAクローンを得た。インサートをpUC18にサブクローニングした後、蛍光自動シーケンサー(ABI373A型)により塩基配列を決定した。

成績：クローニングされたDNA断片は1947bp (polyA部分を除く)で、617個のアミノ酸からなるオープンリーディングフレームを含んでいた。Edmonston株との比較では、59個の塩基置換が認められ、アミノ酸

レベルでは18個のアミノ酸が置換していた。特に416番目のアミノ酸がアスパラギン酸からアスパラギンに変わっており、それによってAsn-Leu-Serからなる糖鎖付加部位が新たに生じていた。Edmonston株のHA蛋白では5カ所に糖鎖が付加していると報告されているが、この分離株では6カ所に増えていると考えられた。また、HA蛋白分子の二次構造の解析から、アミノ酸番号211-214, 474-477, 599-603, の3箇所におけるreverse turn構造が分離株で消失していることがわかった。特に、211-214の変異部分は糖鎖が集中して付加されている部分でもあった。この領域が中和抗体産性における抗原決定基となっていることを示唆する報告(Makela M.J. et al. J. Gen. Virol. 70 603-614 (1989))があることを考えれば、ワクチンの有効性を検討する上でも興味深いデータと言えよう。

1989年に米国で分離されたChicago-1株(Rota J. S. et al. Virology 188, p135-142 (1992))とのアミノ酸配列の比較では、上記18カ所の変異のうち糖鎖付加部位を含む13カ所までが一致していた。また、今回遺伝子解析を行った以外の株(1988年3株, 1990年2株, 1991年2株)も同様の生物学的性状を有していた。したがって、最近流行している麻疹ウイルスは、上記の変異を含む株が優勢ではないかと考えられた。

上記の成績は欧文専門誌に投稿中である。

4) 平成3年秋田県内に流行した無菌性髄膜炎について

佐藤宏康, 安部真理子, 斎藤博之
(秋田県衛生科学研究所)

はじめに

平成3年7月上旬、県南部から始まった無菌性髄膜炎(AM)の流行は県中央部、県北部へと拡大した。主病原ウイルスはエコー30型(E-30)であった。終息は10月下旬と推定されている。この間ウイルス学的、血清学的検査を行ったので、その成績について報告する。

材料と方法

分離材料は県内9医療施設から採取した106名の咽頭ぬぐい液、糞便、髄液、合計170検体を用いた。ウイルス分離はRD-18SとHEAJ細胞を使用し回転培養法により行った。同定はRD-18S細胞を用いマイクロプレート法で行った。血清学的検査はE-30標準株(Bastianni)を抗原として43名のペアー血清に対しマイクロプレート法で実施した。

結果及び考察

106名中63名(59%)からE-30が分離された。また2名からE-9が分離された。血清学的検査では43名中30

名(70%)にE-30に対する有意の抗体上昇が認められた。以上の成績から平成3年流行したAMの主病原ウイルスはE-30と推定された。しかし、一部にE-9に起因するAMの発生も推定された。E-30の抗原分析の結果、分離代表株(1738)と標準株では差が認められた。(平成3年度地研北海道、東北、新潟支部微生物研究部会総会、新潟市、平成3年11月)

5) 感染症サーベイランスにおけるウイルス検査の現状

佐藤宏康, 安部真理子, 斎藤博之
(秋田県衛生科学研究所)

はじめに

感染症サーベイランス情報は2本の柱から成り立っている。一方は患者発生情報、他方は病原検出情報である。情報還元を受ける側からすると、上記二つの情報が解析評価され週報として手元に届くことを期待する。患者発生情報はオンライン化され情報収集提供が迅速である。しかし、病原検出情報を提供するウイルス分離同定が追いつけないのが現状である。それ故、ウイルスの迅速診断法(いかに早く検出同定するか)がテーマとなる。当所では検体採取後分離同定も含め6日以内に成績が出るよう検討してきたが、一部について実施可能となったのでその概要を報告する。

材料と方法

定点観測調査で採取された検体を対象とした、ウイルスの流行期に対応した検出同定法を選択する必要があると考え、以下のように実施している。

月	ウイルス検出系	同定法
5~10	RD-18S, HEAJ, VERO 哺乳マウス, B95a	ドットイムノアッセイ アデノレックス, 中和
11~4	RD-18S, HEAJ, MDCK ふ化鶏卵, B95a	HI, アデノレックス RNA電気泳動, 中和

結果及び考察

手足口病、ヘルパンギーナなどの病原ウイルスは分離されてから同定までに4~5日必要とするが、当所で開発したドットイムノアッセイ法では2時間程度で同定が可能であった。11~4月はインフルエンザウイルスの検出に重点をおくため、ふ化鶏卵とMDCK(48穴プレート使用)の併用が有効と考えられた。ロタウイルスはRNA電気泳動法が簡便性、迅速性、経済面で有用であった。これらは6日以内に検査結果が判明するので病原検出情報に情報提供可能であった。麻疹ウイルスはHA活性が欠落しているため同定は中和試験法で実施し

た。ムンプスウイルスはHA 活性が高くなくいずれも7～10 日を必要とした。

(平成3 年度地研北海道, 東北, 新潟支部微生物研究部会総会, 新潟市, 平成3 年11 月)

6) 平成3 年1 月～3 月秋田県に流行したインフルエンザについて

安部真理子¹⁾, 斎藤博之¹⁾, 佐藤宏康¹⁾, 森田盛大¹⁾,
柴田吉鶴²⁾, 宮田時子²⁾
(秋田衛研¹⁾, 県保健衛生課²⁾)

「目的」平成3 年秋田県内に流行したインフルエンザ(IF) の流行状況を明らかにし病原分析を行うこと。

「方法」集団かぜ罹患患者80 名, 定点観測でIF 様患者と診断された150 名から採取した咽頭拭液を分離材料とし, ふ化鶏卵とMDCK 細胞(48 穴のマイクロプレート使用)を用いてウイルス分離を行った。同定は予研から分与された抗血清と自家製抗代表株トリ血清を用いた。血清学的検査は上記80 名のペア血清を対象に予研分与株及び分離代表株を用いて行った。

「結果」感染症サーベイランス患者情報で収集されたIF 様疾患発生状況は1 週目よりみられ, 7～9 週にピークを形成し, その後減少していった。結局この間の県内の患者数は, 4,205 人であり昨年の流行期と比較するとほぼ1/2 の患者数であった。ウイルス分離株数は, 患者発生数に平行であった。一方, 県保健衛生課に届出された集団かぜは初発が1 月28 日で, 発生施設数41 ヶ所, 罹患患者数7,779 名であり, 共に昨年の1/3 弱にすぎなかった。また, この感染症病原微生物検出定点観測及び集団かぜ検査で分離したウイルスは, A 香港型 118 株, A ソ連型7 株の計125 株であった。A 香港型は1 月28 日, A ソ連型は2 月21 日, 共に集団かぜ患者から初めて分離された。集団かぜの病原ウイルス検索するため8 施設を対象としたところ, A ソ連型は1, A ソ連型とA 香港型の混合1, 他の6 施設はA 香港型であった。次に, 分離代表株の抗原分析では, A 香港型分離株はワクチン株と抗原的に大きな差異が認められなかったが, A ソ連型分離株は予研被分与株の標準株と抗原的に差異が認められた。

(第40 回東北公衆衛生学会、青森市、平成3 年7 月)

2 理 化 学 部

1) 一滴フレイム原子吸光法による極少量体毛試料中亜鉛の定量法

小林淑子, 山本 淳*, 金田吉男*, 西野幸典**, 糸川嘉則***
(*兵庫衛研, **同志社女子大・公衆衛生, ***京大・医・衛生)

ヒゲおよび極少量の体毛を用いて、ヒト生体中亜鉛量を評価するため、極少量試料中亜鉛の分析法について検討した。小形の分解用試験管を工夫し、秤量から試験液調整までの全操作をこの試験管でおこない、汚染防止と操作性を向上させた。定量は80 μ l の試験溶液を用い、一滴フレイム原子吸光法によりおこなった。5mg のヒゲを用いて10 日間のヒゲ中亜鉛量を分析したところ、日差変動は極めて小さく、各個人特有の亜鉛排泄レベルを日単位で追跡することができた。本法は体毛試料5mg あれば適用することができ、男児のみみあげ部分の毛髪も10 日毎に測定することができた。さらに、静脈栄養投与患者の低濃度の亜鉛も、月単位で高精度に定量することができた。新生児の頭髪中亜鉛量は、成人の正常値レベルにあった。

(日本衛生学雑誌, 第46 巻, 第3 号, 762～768, 平成3

年)

2) 日常食品中の脂肪酸構成(第2 報) —疑似乳製品—

松田恵理子, 高桑克子, 沢部光一, 今野 宏

近年、市場に多く出回っている疑似乳製品の脂肪酸構成を把握するために、その脂肪酸を測定し、乳製品と比較検討した。

コーヒー用クリーム, ホイップクリームの疑似乳製品は植物性油脂の使用率が高く、なかでもヤシ油, パーム油の使用により、純乳製品に較べてラウリン酸($C_{12:0}$), パルミチン酸($C_{16:0}$)等の飽和脂肪酸が高い傾向にあり、この傾向は液体製品よりも粉末製品で強かった。コーヒー用クリーム液体製品では、大豆、とうもろこし油等を使用していると思われる3 製品を除けばP/S 比は非常に小さく、牛乳の0.05 よりも小さいものがほとんどであった。

アイスクリーム類については、アイスマルク, ラクトアイスで純乳製品よりもラウリン酸($C_{12:0}$)の割合が高く、P/S 比もアイスクリームの0.05 より小さいものが多かった。

マーガリン類は2 タイプに分けられ、紅花油(サフラ

ワー油) 添加タイプは、リノール酸 ($C_{18:2}$) が 60% 以上含まれており、P/S 比が 3.3~5.0 と非常に高かった。その他のタイプでは P/S 比はこれより低く、0.82~2.07 であったが、バターの P/S 比 0.05 に較べて高かった。

疑似乳製品全般では、その脂肪酸構成は乳脂肪と異

なっており、植物性油脂使用であってもパーム油、ヤシ油を使用していれば飽和脂肪酸の比率が増え、その比率は乳脂肪のみ使用のものより高いものも多く、結果としてマーガリン類を除く疑似乳製品の P/S 比は非常に小さくなっていた。

(日本公衆衛生雑誌 第 38 巻 5 号, 359-366, 1991)

3 生 活 科 学 部

1) 農村住民の血清脂肪酸に関する疫学的研究、一正常血圧・境界域高血圧・高血圧の 3 型におけるリノール酸 ($C_{18:2}$) の挙動一

沢部光一

秋田県の農村に居住する男子住民 (年齢 30~69 歳) 604 名を対象に、動脈硬化検診を行い、血圧値分類によ

る血清脂肪酸構成の比較を行った。その結果、高血圧群は、正常血圧群に比べ血清リノール酸、L/O 比および L/P 比が有意に低いことが観察された。この現象は血清脂質分画 (CHO, TG, PL) 中の脂肪酸構成にも共通にみられ、血圧に対してリノール酸がなんらかの役割をもっていることが示唆された。

(秋田医学 第 18 巻, 669~687, 1991)