

# 広島県衛生研究所研究報告

## 第 36 号

1989 年 11 月

### 目 次

#### 原 著

- 広島湾におけるかき衛生調査データ処理システム (Ver. 2) の検討  
小川 博美, 福田 伸治, 岸本 敬之…………… 1

#### 資 料

- B型肝炎ワクチン接種者の免疫抗体獲得状況  
徳本 静代, 武井 直巳…………… 13
- 広島県内医療機関における病原菌検出状況〔1987—1988年〕  
宮崎佳都夫…………… 19
- 広島県における日本脳炎中和抗体保有状況調査—1988年  
高尾 信一, 妹尾 正登, 徳本 静代  
武井 直巳…………… 31
- 広島県における神経芽細胞腫マス・スクリーニングについて (第3報)  
—昭和59～63年度の成績—  
水田 満里, 瀬川 和幸, 武井 直巳  
横山 幸枝, 海佐 裕幸…………… 37
- 油脂加工食品中の脂肪酸組成  
穂下 誠彦, 坂本 征則…………… 43
- 広島県で発生した *Klebsiella pneumoniae* (O2a : K27) によると  
推定された集団食中毒事例  
小川 博美, 得能 弘志, 佐々木実己子  
岸本 敬之…………… 47
- 他誌掲載論文要約 (1988年11月—1989年10月)…………… 55

広島県衛生研究所

〔〒734〕 広島市南区宇品神田1丁目5—70

原 著

## 広島湾におけるかき衛生調査データ処理 システム (Ver. 2) の検討

小川 博美\* 福田 伸治\*\* 岸本 敬之\*

### Development of a Computerized Data-processing System (Ver. 2) of Sanitary Survey of Oyster-growing Area in Hiroshima Bay

HIROMI OGAWA\*<sup>1</sup>, SHINJI FUKUDA\*<sup>2</sup>  
AND TAKASHI KISHIMOTO\*<sup>1</sup>

(Received Oct. 31, 1989)

#### Summary

The Hiroshima Bay oyster Sanitary program was initiated in 1962, and a bacteriological survey has been continued there after to determine and evaluate the sanitary condition of the sea area periodically. In the present study an attempt was made to develop an information-processing system (Ver. 2) using personal computers in order to make effective use of the survey data accumulated over the past 27 years.

The problems that needed to be studied in developing the system were: (1) filing of survey data, (2) retrieval and processing of data file, (3) various sanitary evaluations of the sea area, (4) graphic processing of the sanitary evaluation of the sea area, and (5) purpose-specific statistical processing.

By developing the present system, filing of the sample collecting condition and bacteriological data (coliform MPN, fecal coliform MPN, and counts of bacteria) has been completed for 320 points established in 1 km<sup>2</sup> meshes of the Hiroshima Bay area, comprising data of 7,209 points in total for seawater and of 992 points in total for oysters collected over 27 years from 1962 to 1988.

Use of this data file has made it possible to evaluate the sanitary condition of the sea area by numerical processing of point-specific data (M, Me, range, pollution ratio) and, at the same time, to make a plane sanitary evaluation of Hiroshima Bay by graphic processing of the results.

Furthermore, it was possible by the purpose-specific statistical processing system to

---

\*広島県衛生研究所: Hiroshima Prefectural Institute of Public Health

\*\*広島県海田保健所: Hiroshima Prefectural Kaita Community Health Center

clarify: (1) the correlation between the extent of pollution of seawater and the bacteriological quality of the oysters cultivated in the sea area, (2) the secular change of pollution of Hiroshima Bay by time series analysis, and (3) the change of the pollution pattern of Hiroshima Bay by using the pattern classification method.

## 緒 論

海の幸“かき” *Crassostrea gigas* は、内臓を含め生食されることが多く、その衛生対策は重要である。かきの衛生的品質は養殖海域の細菌汚染レベルに一次的な影響を受けることから、養殖海域の細菌汚染実態を把握、評価、区分し、その衛生対策を実施することが最も重要とされている [1]。

近代のかき衛生プログラムは、1929年米国において始められた。これは1924～1925年の冬ニューヨークを中心に下水で汚染されたかきにより腸チフスの大流行があり、1,500人の患者発生をみたことで公衆衛生局がこれを契機に貝類衛生協同計画 (Shellfish Sanitation Cooperative Program) を作成し、実施に移したものである。その後、部分改訂が加えられながら今日に至っている [2-4]。

このプログラムによる、かきをはじめとする貝類の養殖海域水質基準をみると、汚染指標菌の汚染レベルにより、許可海域、条件海域、制限海域及び禁止海域に区分されている。

ところで我国におけるかき衛生対策は、こうした米国やヨーロッパ諸外国の衛生対策の成果を受けて、1958年 (S33) 「かきに関する衛生上の指導について」 (要綱) が定められた [5]。この要綱で初めてかき養殖海水等についての衛生基準 (養殖海水: 大腸菌群最確数300以下/100 ml, かき浄化用水: 大腸菌群最確数70以下/100 ml) が示され、同時に米国方式に準じた試験法が提示された。これを受けて広島県をはじめかき生産県では、かき衛生対策に関する規制、指導についての各種条例や要綱が制定され体系的な衛生対策が始まった。

ついで、1962年 (S37年) 「生食用冷凍かきの規格基準」 [6] の制定がなされ、冷凍かきに限定したものではあるが、はじめてかきの成分規格 (一般細菌数50,000以下/g, 大腸菌群最確数16,000以下/100 g) が定められた。養殖海水についても大腸菌群最確数70以下/100 mlと基準が設定され、細菌学的試験法についても最確数に基づいて APHA 法 [7] に準じた公定法が定められ、我国における貝類衛生プログラムの確立をみた。

しかし、1966年 (S41年) 環境汚染の進行に伴い、12月中旬から下旬にかけて広島県産かきによると推定される食中毒が多発し、その規模は発生件数129件、患者数1,596名に及んだ。この事件を契機として、1967年 (S42年) 生食される全てのかきを対象とした「生食用かきの成分規格、保存基準及び加工基準」 [8] が定められ、生産から流通までの一貫した衛生対策が確立された。これにより、生食用かきの成分規格は「一般細菌数50,000以下/g, 大腸菌群最確数230以下/100 g」と定められ、従来の大腸菌群に替えて糞便性大腸菌群 (Faecal coliform) を汚染指標菌に採用、同時に加工基準として「原料用かきは、大腸菌群最確数70以下/100 mlの海域で採取されたもの」と定め、さらに市販かきの表示についても「生食用」、「加工用」に区分し明示することとされた。

こうした中で広島湾におけるかき養殖海域の衛生調査システムは、米国へのかき輸出の開始もあって、すでに1962年 (S36年) 米国公衆衛生局調査団による「広島県の貝類衛生管理に関する報告」 [9] をもとに、広島湾を中心に調査海域を格子区分した調査定点が設定された。ついで、1963年 (S37年) 「日米貝類衛生取り決め」締結により、輸出向けかきの養殖指定海域調査が始まり、以来同一の採取方法、試験方法に基づく調査システムが確立され今日に至っている。この間蓄積された海水及びかきについての調査データは膨大となり、体系的な海域評価及び、それに基づく効果的かき衛生対策の推進には、これら調査情報の有効な処理方法の開発が緊急な課題となってきた。

このことから著者らは、すでにパーソナルコンピュータを用いた広島湾衛生情報処理システムの開発を試み、それを活用した広島湾の衛生評価に関する種々の検討を行いその結果を報告 [10-14] してきたが、今回このシステムを上位機種への移植、高速化及び日本語処理を中心にバージョンアップを試みたので報告する。

## 材料及び方法

本システムで処理対象とした情報は、1962～1988年の間、次の方法により得られたデータである。Fig. 1 に示すように、広島湾を東経132°20′, 北緯34°20′を軸に

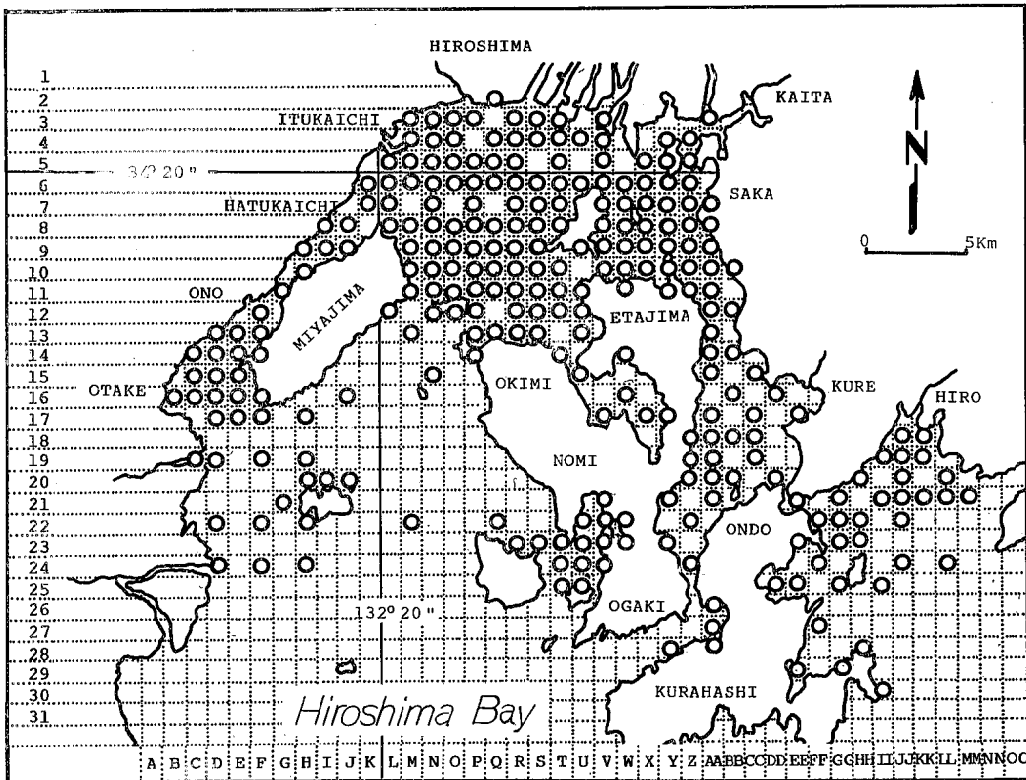


Fig. 1 Sampling Points Map in Hiroshima Bay for Sanitary Survey of Oyster-growing Area.

○: sampling point for survey.

1 km毎の格子区分(メッシュ)を設定し、湾内かき養殖海域を中心として毎年実施する衛生調査(定期・部分)により得られた海水7,209ポイント、かき992ポイントのデータである。

各調査データの内容は ①採取年月日・時刻, ②採取ポイント, ③海水温度, ④海水比重(塩分濃度), ⑤大腸菌群最確数(以下 TC MPN), ⑥大腸菌最確数(以下 FC MPN), ⑦一般細菌数(以下 SPC)である。

海水及びかきの採取方法は、いずれの年も11月から2月のかき収穫期、干潮時を中心に水深1 mより採取し速やかに細菌学的検査に供した。試料採取時の海水温度及び海水比重は、7.1~24.0°C, 1.0196~1.0275の範囲であった。細菌学的検査法は、いずれも APHA 法〔7〕に従った。

情報処理項目は、①データファイルの作成と保存, ②データ検索と目的別処理ファイルの作成, ③海域の各種衛生評価, ④海域評価の図形処理, ⑤必要な統計処理等

について検討した。

使用したハードウェアは、CPU: NEC PC 9801 RA 2, ディスプレー: PC-KD 854 n (640×400), プリンター: PC-PR 201 で使用言語は NEC N<sub>88</sub> 日本語 Disk BASIC (86) Ver. 6.0 である。

## 結 果

作成した本システム (Ver. 2) は21種のプログラム群で構成され、自動立上げにより Fig. 2 に示すメニュー画面が出力され、必要な作業メニューを選択することにより起動する。主要なプログラム内容は次のとおりである。

### 1. データファイルの作成と保存

本プログラム("DFILES. n88") は、各年度毎に集積される海水、かきの細菌学的調査データを有効に保存、活用するためのデータファイルに作成することにある。

調査データの構造は、検体採取年度及び採取ポイント

【 海水データ処理システム Ver.2 】

No	作業内容	プログラム名
1	データファイルの作成	(DFILES. n88)
2	データファイルの検索・加工	(PINSTR. n88)
3	海域評価 (3、5、10年)	(S3Y-20. n88)
4	かき評価 (3、5、10年)	(O3Y-20. n88)
5	海域の細分評価 (9)	(HONCHO. n88)
6	評価結果の画像処理 (9)	(SCREEN. n88)
7	評価結果の画像処理 (1)	(SCREEN. S3Y)
8	単一ポイントの検索	(POINTT. n88)
9	汚染指標菌の相関	(Mediak. n88)
10	統計処理プログラム	(STATIS. n88)
11	データファイルの転送	(TRANCE. n88)
12	ファイルコンバーター (Se-Ra)	(SRconv. n88)
13	2D/2HDコンバーター	(DHconv. n88)
14	ページスクロールの設定	(PAGSCL. n88)
15	ファイルのコピー	(XFILES. n88)

《 ↑キー、↓キーで選択してRETキーを押すと起動します。 》

Fig. 2 System (Ver. 2) Menu for Processing the Survey Data of Sea Water.

- Program 1 (DFILES. n88): Filing of survey data of seawater and oyster.
- Program 2 (PINSTR. n88): Searching and processing of data files.
- Program 3 (S3Y-20. n88): Classification of sampling points by 3, 5, and 10 years periods in sea water.
- Program 4 (O3Y-20. n88): Classification of sampling points by 3, 5, and 10 years periods in harvested raw oyster.
- Program 5 (HONCHO. n88): Classification of each sampling points by 3, 5, and 10 years periods with nine criteria in sea water.
- Program 6 (SCREEN. n88): Graphic processing of oyster-growing area classification with nine criteria.
- Program 7 (SCREEN. S3Y): Graphic processing of oyster-growing area classification with one criterion.
- Program 8 (POINTT. n88): One point searching and processing of data files for 25 years.
- Program 9 (Mediak. n88): Regression and correlatten of indicator bacteria of survey data.
- Program 10 (STATIS. n88): Programs for statistical estimation.
- Program 11 (TRANCE. n88): Transportation of data file to many devices.
- Program 12 (SRconv. n88): Converting from sequential data file to random file.
- Program 13 (DHconv. n88): file converting from 2D type to 2HD type.
- Program 14 (PAGSCL. n88): Setting printer on page schroll.
- Program 15 (XFILES. n88): Copy tool of file.

を文字変数配列 P \$ に格納(例 採取年1988年, 採取ポイント縦08, 横 f の場合 “8808f”)し, 以降のデータ検索, 選別処理の利便性を図った. 細菌学的データは, 対数変換の必要から TC MPN, FC MPN, SPC 値は倍精度数値配列 X, Y, S にそれぞれ格納した.

本プログラムの構造を Fig. 3 のフローシートに示した. 主な作業ルーチンは次の通りである.

- 600—890行 Key 入力 (N=16,000, 4 配列変数)
- 900—1100行 配列データ修正ルーチン
- 1110—1270行 データファイル作成 (年度毎のシーケンシャル)
- 1740—1890行 データファイル読み込みルーチン
- 1900—2180行 プリンター出力ルーチン
- 2550—3630行 ファイルアベンド, 修正, コンバート
- 4000—5010行 作業用親ファイル (3年, 5年, 10年) 作成

本プログラムにより1962~1988年の海水及びかき調査データを, 年度毎にファイル化した.

## 2. データ検索と目的別処理ファイルの作成

本プログラム (“PINSTR. n88”) の目的は, 1. で作成された年度毎のデータファイルから, 処理目的に応じて, ポイント別, 年度別等の文字列検索や測定レベルの数値選別を行い処理用データファイルの作成にある.

本プログラムの構造を, Fig. 4 のフローシートに示した. 主なサブルーチンは次のとおりである.

- 160—260行 作業メニュー選択
- 300—440行 選択又は除去するキーワード入力
- 500—620行 一次処理ファイル読み込みと該当ファイル作成
- 880—890行 選別するデータ値入力
- 900—970行 二次処理ファイル読み込みと該当ファイル作成
- 3700—3770行 検索(除去)ルーチン
- 4000—4060行 選別ルーチン

本プログラムの実行により, 一次処理で変数 P \$ をキ変数として必要に応じて, 河口からの距離別や 4 km<sup>2</sup> メッシュ毎に選別出し, 二次処理で細菌学的データ (X, Y, S) の汚染レベルで数値選別する等, 目的に応じた処理用ファイルの作成が可能となった.

## 3. 海域(海水・かき)の各種衛生評価

本プログラム (“S3Y-20. n88”, “O3Y-20. n88”) の目的は, 2. で作成した目的別処理ファイル (w 3年, w 5年, w10年) を用い過去 3年, 5年, 10年のプールデータを Table 1 に示す基準により各ポイント (320) 毎に検索, 演算, 評価, 印刷処理を行うものである.

本プログラムの構造は, Fig. 5 のフローシートに示した. 特徴は一次検索 (20ポイント毎) で非該当ファイル (A) と二次処理用該当ファイル (C) を作成し, 次行程ではファイル名を変更し (A) ファイルを読み込みファイルとすることにより処理時間の短縮化を図ったことである. 主な

Table 1 Sanitary Classification of Sea Water and Oyster by Bacterial Criteria

Classification	Bacterial criteria	
	Sea Water	Oyster
○	(A) the coliform MPN does not exceed 70/100 ml and	
	(B) not more than 10% of the samples exceed an MPN of 230/100 ml in the point	(A) the SPC median does not exceed 50,000/l g and
	(C) the fecal coliform MPN does not exceed 14/100 ml and	(B) the fecal coliform median does not exceed 230/100 g
	(D) not more than 10% of the samples exceed an MPN of 49/100 ml in the point	
●	(A) or (B), (C) or (D)	(A) or (B)
x	others	others

Classification of point: ○ Approved, ● Restricted, x Prohibited

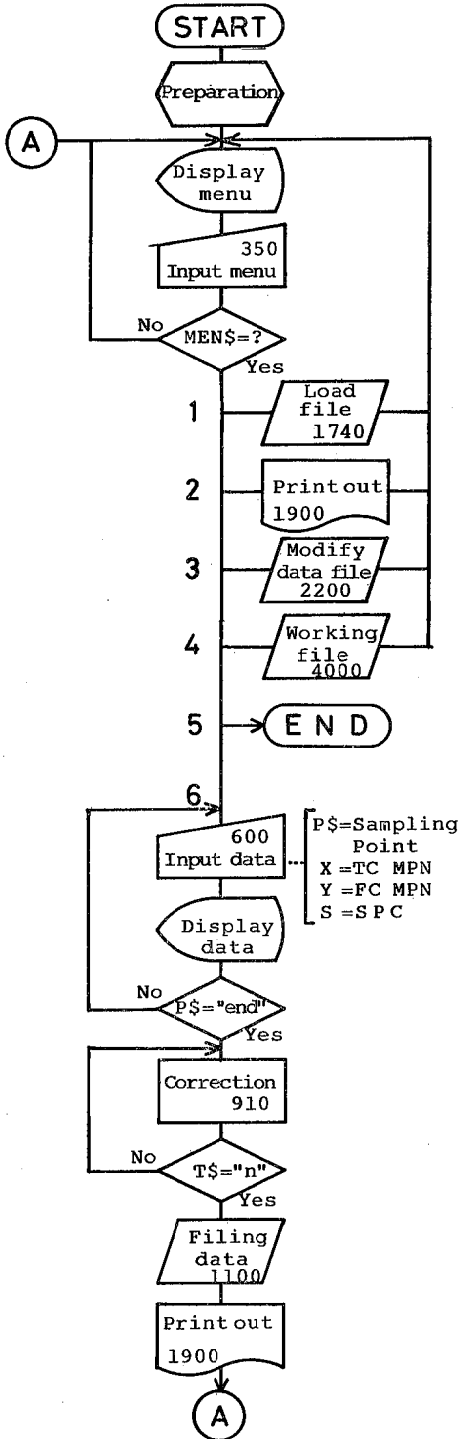


Fig. 3 Flow Chart of Program "DFILES. n 88"

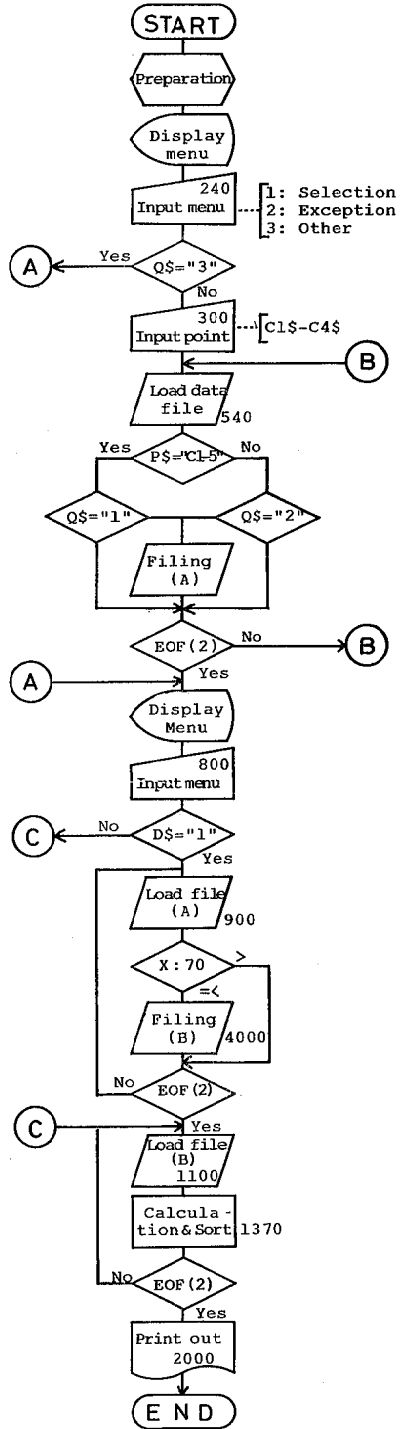


Fig. 4 Flow Chart of Program "PINSTR. n 88"



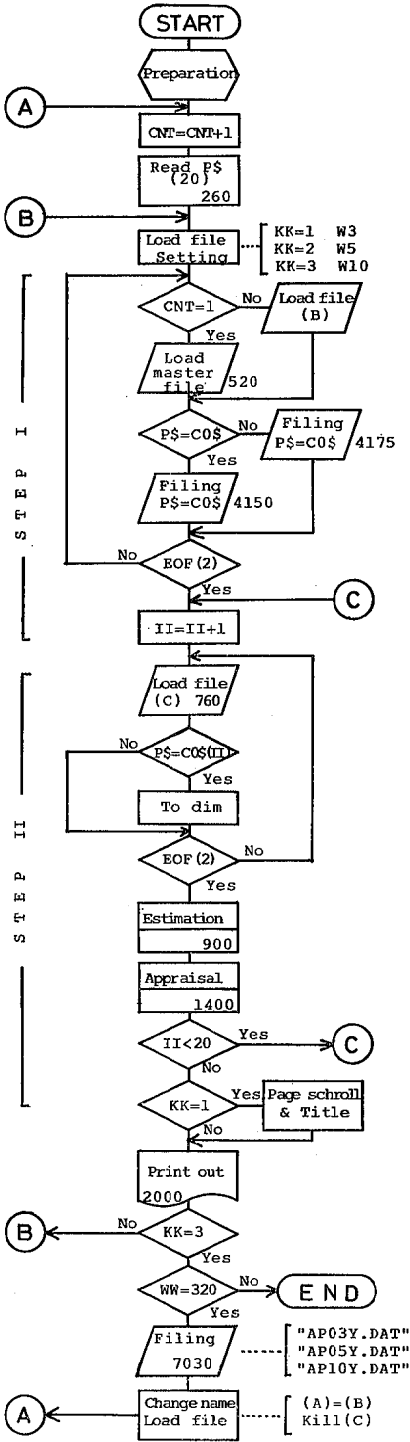


Fig. 5 Flow Chart of Program "S3Y-20. n 88"

Section No.						
Station		* 06k	* 07k	* 08i	* 08j	* 09h
No. of Samples		12	9	0	12	3
Total Range	Max.	1100.0	240.0	0.0	790.0	1600.0
	Min.	4.5	4.0	0.0	4.5	33.0
Median		350.0	79.0	0.0	12.0	170.0
> 230	No. of	7	1	0	1	1
	%	58.3	11.1	0.0	8.3	33.3
Range	Max.	350.0	49.0	0.0	49.0	49.0
	Min.	0.9	0.9	0.0	0.9	2.0
Median		7.8	7.8	0.0	2.0	4.5
> 49	No. of	2	1	0	1	1
	%	16.7	11.1	0.0	8.3	33.3
Appraisal		X	X	-	o	X
Section No.						
No. of Samples		17	15	0	20	5
Total Range	Max.	1100.0	540.0	0.0	790.0	1600.0
	Min.	4.5	2.0	0.0	0.9	13.0
Median		170.0	79.0	0.0	25.0	110.0
> 230	No. of	8	3	0	1	1
	%	47.1	20.0	0.0	5.0	20.0
Range	Max.	350.0	49.0	0.0	49.0	49.0
	Min.	0.9	0.9	0.0	0.9	0.9
Median		4.5	11.0	0.0	3.0	4.5
> 49	No. of	2	1	0	1	1
	%	11.8	6.7	0.0	5.0	20.0
Appraisal		X	•	-	o	X
Section No.						
No. of Samples		26	21	3	29	12
Total Range	Max.	1100.0	540.0	490.0	790.0	1600.0
	Min.	2.0	2.0	13.0	0.9	11.0
Median		87.0	79.0	110.0	33.0	94.5
> 230	No. of	10	3	1	3	2
	%	38.5	14.3	33.3	10.3	16.7
Range	Max.	350.0	49.0	130.0	330.0	70.0
	Min.	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
Median		4.5	7.8	6.8	2.0	4.3
> 49	No. of	3	1	1	2	2
	%	11.5	4.8	33.3	6.9	16.7
Appraisal		X	•	X	•	X

Fig. 6 A Presentation of Evaluation of Oyster-growing Area by Program "S3Y-20. n 88"



処理ルーチンは次のとおりである。

- 260— 280行 一次処理するポイントデータ (20) の読み込み
- 480— 630行 親ファイル読み込みと一次処理ファイル、非該当ファイル作成
- 700— 870行 二次処理用ファイルの読み込みと単一ポイントデータの配列読み込み
- 930—1170行 TC MPN の計算ルーチン(Me, Max, Min, >230 汚染比)
- 1180—1390行 FC MPN の計算ルーチン(Me, Max, Min, >49 汚染比)
- 1400—1460行 処理結果と判定基準の照合
- 2000—2410行 評価結果のプリンター出力 (Fig. 6)
- 3030—3050行 次処理用ファイル名の設定と処理済ファイル削除
- 4000—4170行 20ポイントデータ検索ルーチン
- 7000—7120行 結果の自動ファイル化 (“AP 03 Y. DAT”, “AP 05 Y. DAT”, “AP 10 Y. DAT”)
- 8000—8300行 検索処理ポイントのデータ文 (海水 320)

実行結果は Fig. 6 に示すように 320ポイントについて過去 3 年, 5 年, 10 年間のブールデータを 20 ポイント毎, 各期間毎に一括処理を可能とし, Ver. 1 では 12 時間を要した処理を 2 時間に短縮した。また評価結果の自動ファイル化機能 (“AP 03 Y. DAT”, “AP 05 Y. DAT”, “AP 10 Y. DAT”) の付加により, 次項で述べる評価結果の図形表示を可能とした。本プログラムを一部変更した “HONCHO. n 88” は, 9 種の細分基準設定による評価が可能であり, 評価結果の自動ファイル化 (“APPRw 3 年”, “APPRw 5 年”, “APPRw 10 年”) により図形表示も可能である。

4. 海域評価の図形処理

本プログラム (“SCREEN. n 88”) の目的は, テンキーによる作画 (1 ドット単位) 機能とあわせて, 前述した “S3 Y-20. n 88”, “HONCHO. n 88” で処理した数値情報をサンプリング地図上に図形情報として表示させ, 数値と図形情報の組み合わせにより, 結果の理解を容易にすることにある。特徴は採取ポイントが格子 (メッシュ) 方式で設定されているため, 容易に画像出力が可能である。

本プログラムの構造は, Fig. 7 のフローシートで示した。主なルーチン内容は次の通りである。

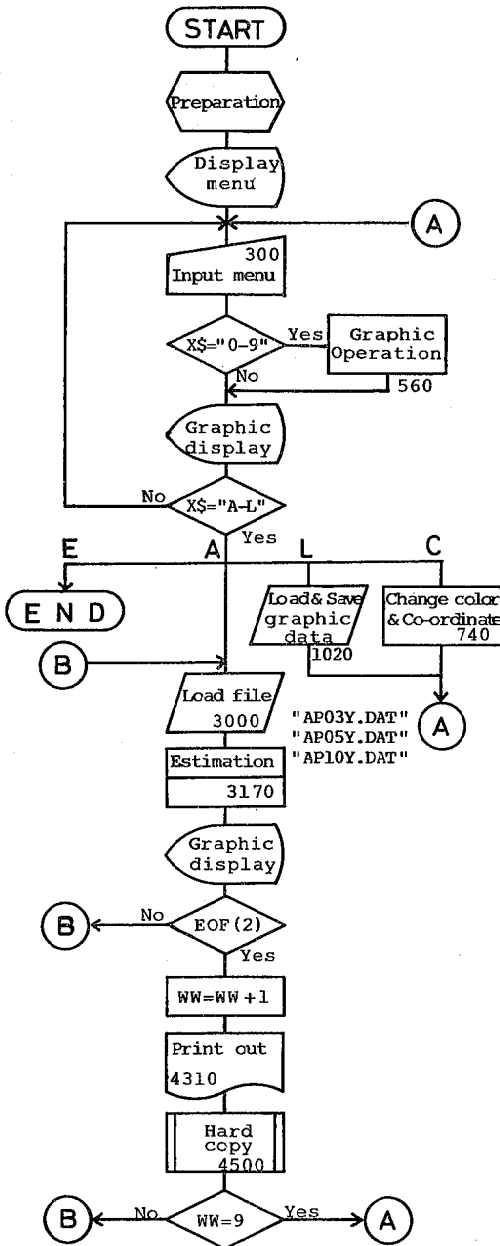


Fig. 7 Flow Chart of Program “SCREEN. n 88”

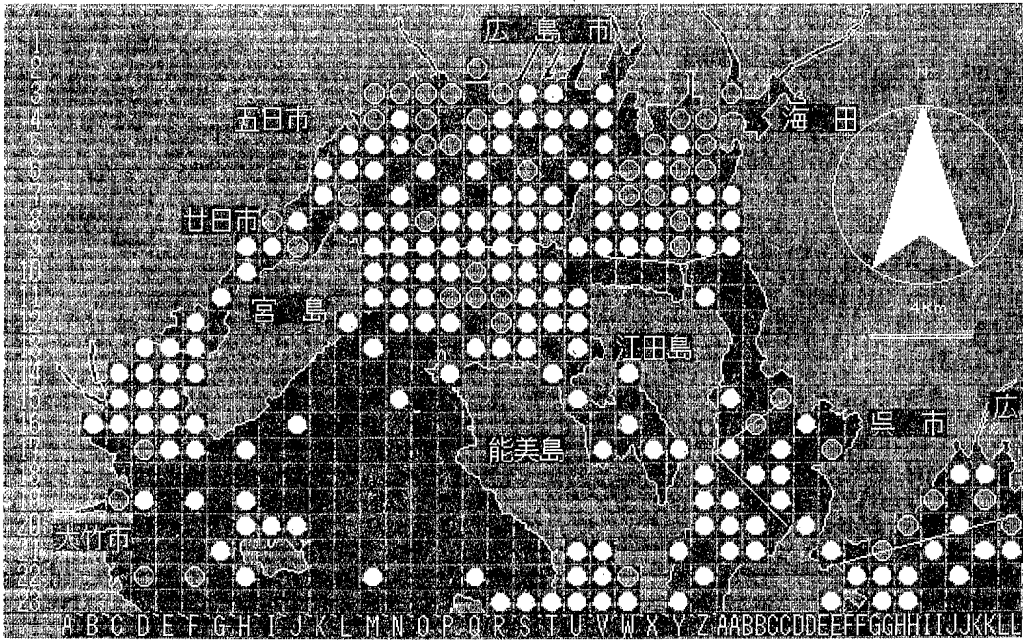


Fig 8 Graphic Representation of Evaluation of Oyster-growing Area by Program "SCREEN. n 88"

- 300— 550行 作業メニュー選択
- 570— 710行 メイン作画ルーチン (640×400)
- 1200—1420行 グラフィック画面の録画, 再生ルーチン
- 3000—3090行 評価結果ファイルの読み込み
- 3170—3560行 画面座標の計算と画像出力
- 4000—4310行 作業メニュー説明ルーチン
- 4500—4530行 グラフィック画面のハードコピー

本プログラムを実行すると, 事前に本プログラムで作画した広島湾地図ファイル ("BASE-2") をロード後, 3.で作成した結果を読み込むと, 各評価方法別にループ作業を行い, Fig. 8 の出力例に示すように図形処理したハードコピーが出力される。

#### 5. 単一ポイントの検索と処理評価

本プログラム ("POINTT. n 88") は, 1962~1988年の全てのデータファイルから必要な期間を選び, その期間中における特定のポイント群 (1~5) を検索し, 該当データをファイル化, 印刷後数値処理と評価を行うものである。主な作業ルーチンは次のとおりである。

- 100— 130行 検索期間の設定
- 170— 310行 検索ポイント群の入力 (1~5ポイント)
- 340— 490行 指定ポイント群の検索とファイル化

- 600— 720行 検索ポイントデータの出力 (プリンター)
  - 740—1420行 数値処理と評価
  - 1440—1830行 評価結果の出力
  - 1850—2100行 データファイル名リスト (データ文)
- #### 6. 汚染指標菌間の相関性解析プログラム ("MediaK. n 88")

本プログラムはすでに報告 [12] したように1962年~1988年における河口河川水, 養殖海水及びかきの調査データを用い, 河川水, 海域別の各汚染指標菌間の相関性の検討や養殖海水と同一場所で採取されるかきにおける相互の指標菌分布の関係について明らかにするものである。プログラムの内容は, 通常回帰分析計算に相関図の作成, 回帰ライン及び信頼幅曲線の作画, 回帰式による推定値の計算及び統計学的検定機能を付加したもので, Fig. 9 にその出力例を示した。主なルーチン構造は次のとおりである。

- 160— 250行 変数 (X, Y) の対数変換の選択
- 270— 460行 データファイルの読み込み
- 470— 960行 計算ルーチン
- 980—1650行 相関図表の表示
- 1660—2600行 回帰直線, 信頼幅曲線及び推定ライン

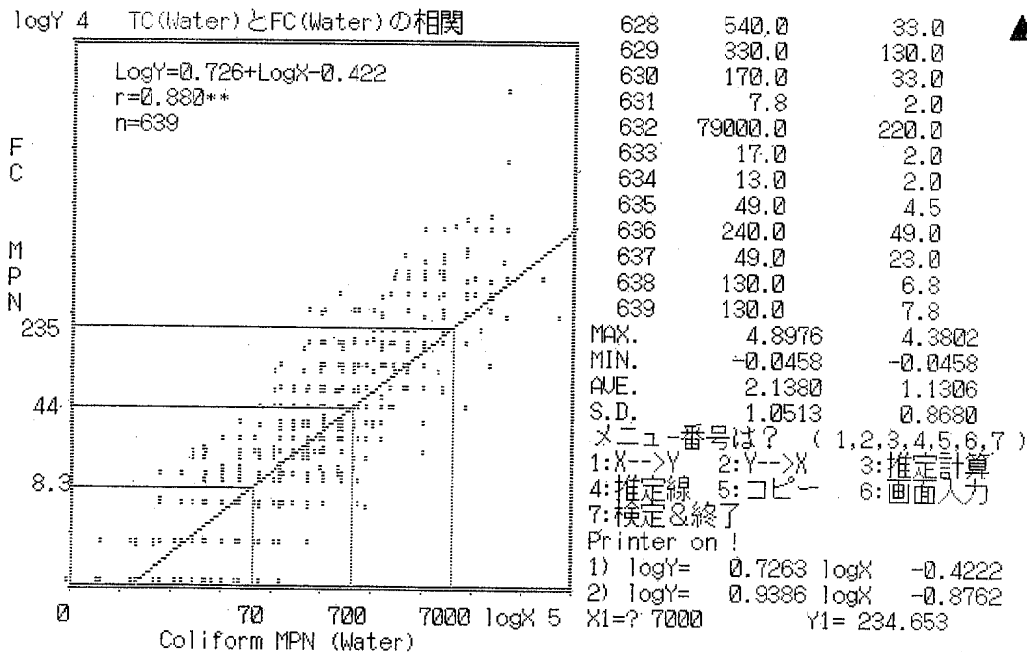


Fig. 9 The Presentation of Regression and Correlation by Program "MediaK. n 88"

の計算と表示

2610—4480行 統計学的検定ルーチン (r の検定, ANOVA, 95%信頼幅)

7. 目的別統計処理プログラム

細菌学的データの特殊性から測定値を常用対数変換 ( $X = \log(X)/\log(10)$ ) し, 汎用されている種々の統計プログラム [15-18] を参考に数種の目的別統計処理プログラムを作成した. 主なプログラムは次のとおりである.

(1) 広島湾汚染の経年的推移検討プログラム ("PLOT 24. n88")

本プログラムはすでに報告 [11] したように1962～1985年の24年間にわたる広島湾の年次の汚染推移について, 河口から2km毎の海域別, 期間別(5年毎)に各指標菌を用いた時系列解析法により検討するものである. 本プログラムの内容は, 各年度毎のデータの中央値(Me)を算出しその値を用いて移動平均(3年)及び傾向線の作画を行い, さらに検定(Z, F検定)機能を付加したものである.

(2) 広島湾の汚染パターン分類プログラム ("CLUST-. n88")

本プログラムもすでに報告 [13] したように, 1962～1986年の25年間にわたる調査データにより, 湾内を4km<sup>2</sup>

毎の115区画に区分し, TC法, FC法, クラスタ法を用いてパターン分類を行い5年毎の汚染パターン変化について検討するものである. 本プログラムの内容は, 5年毎のデータファイルから4km<sup>2</sup>(4ポイント)毎のデータを選び出し, その区画内データのTC, FC, SPCのMe,  $\bar{M}$ , Min, Max, 汚染Ratio(%)を用いたパターン分類化を行い, 同時にその結果を広島湾地図上に画像出力するものである.

(3) その他

以上の他に最確数値の計算プログラムとして"MPN-LP. n88", パーセンタイル及びソーティングプログラムとして"SORT-XYS", 重相関分析プログラムとして"MULT-R. n88", 時系列分析プログラムとして"TIME-A. n88"等の作成を行った.

考 察

今日, 調査データの集積に伴いこれら情報の効率的な保存, 加工による迅速な処理活用が必要となってきた. これにあわせて, 情報処理としてのパーソナルコンピュータの普及が進み, すでに水質汚濁を中心とした環境衛生分野においても多くの情報処理法や各種シュミレーションシステムの開発 [19-23] が進められてきた. また微生物関係情報の処理システムについても, 近年多く

の報告〔24-26〕がみられる。

今回著者らの試みた方法は、すでに汎用されているハードウェアと BASIC 言語を用いてシステム改良を行い、広島湾の衛生調査データの保存、加工及び必要な情報の高速処理を可能とした。これにより本システムは体系的なデータ処理にとどまらず、かき養殖海域の総合的な衛生評価、解析とそれに基づいた効果的なかき衛生対策への基礎資料作成に大いに活用し得るものと考えられる。

今後の課題は、本システムで処理した海域別の水質汚染情報と、生産地における市販かきの収去検査情報とを結合、比較処理することにより、一層精度向上をはかった海域評価法の確立にあると考えられる。

### 要 約

広島湾のかき衛生プログラムは、1962年に始まり、以来定期的な海域の衛生実態の把握と評価のための細菌学的調査が継続されてきた。本研究では27年間にわたる調査データを有効に活用するために、パーソナルコンピューターを用いた情報処理システム (Ver. 2) の開発を試みた。

システム開発に要求された検討課題は、①調査データのファイル化、②データファイルの検索、加工処理、③海域の各種衛生評価、④海域評価結果の図形処理、⑤目的別統計処理である。

本システムの開発により、広島湾の1km<sup>2</sup>メッシュ単位に設けた320ポイントの調査データを対象に1962年～1988年の27年間、延べ海水7,209ポイント、かき992ポイントについて、採取条件及び細菌学的データのファイル化を完了した。この作成したデータファイルを活用して、各ポイント別のデータを数値処理し衛生評価を行い、その結果を図形処理することにより、広島湾の平面的衛生評価を可能とした。

さらに目的別の統計処理により、①海水の汚染とその海域で養殖されているかきの細菌学的品質の相関性、②広島湾の経年的汚染推移、③広島湾の汚染パターン分類による年次変化等について明らかにすることができた。

### 文 献

- [1] U.S. Food and Drug Administration (1970): Shellfish growing area survey precedures. U.S. Publ. Health Service, Washington, D.C.  
 [2] U.S. Public Health Service (1966): Depuration plant design. U.S. Publ. Service,

Washington, D.C.

- [3] U.S. Public Service (1986): National shellfish sanitation program manual of operation. Part I. Sanitation of shellfish growing areas., U.S. Publ. Health Service, Washington, D.C.  
 [4] U.S. Food Drug Administration (1987): National shellfish sanitation program manual of operations. Part II. Sanitation of the harvesting, processing and distribution of shellfish., U.S. Publ. Service, Washington, D.C.  
 [5] 厚生省 (1958): 「かきに関する衛生上の指導について」. 厚生省衛発第96号, S 33年2月1日付.  
 [6] 厚生省 (1962): 「食品, 添加物等の規格基準の一部改正」. 厚生省告示第192号, S 37年6月30日付.  
 [7] American Public Health Association (1985): Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th ed., American Public Health Association, D.C.  
 [8] 厚生省 (1967) 「食品, 添加物等の規格基準の一部改正」. 厚生省告示第349号, S 42年8月2日付.  
 [9] C.B. ケリー, W.A. フェルソング (1962): 広島県の貝類衛生管理に関する報告書. 米国保健教育福祉省公衆衛生局, 環境衛生および食品保護部, 10-11.  
 [10] 小川博美, 福田伸治, 岸本敬之 (1989): 広島湾におけるかき衛生調査データ処理システムの検討. 広島県獣医学会誌, No. 4, 66-74.  
 [11] 小川博美, 岸本敬之, 得能弘志, 佐々木実己子 (1985): 細菌学的汚染の経年推移からみた広島湾の衛生学的評価. 広島県衛研所報, 33, 17-24.  
 [12] 小川博美, 岸本敬之, 得能弘志, 佐々木実己子, 福田伸治 (1986): カキ養殖海水とカキにおける大腸菌群MPNと糞便性大腸菌群MPNの相関性. 食品と微生物, 3, 87-94.  
 [13] 小川博美, 岸本敬之, 得能弘志, 佐々木実己子 (1988): 広島湾の衛生指標菌による汚染パターン分類. 広島県獣医学会誌, 3, 54-63.  
 [14] 広島県環境衛生課 (1962~1981): 広島湾の衛生調査.  
 [15] 脇本和昌, 垂水共之, 田中 豊編 (1984): パソコン統計ハンドブック I. 25-28, 共立出版株式会社, 東京.  
 [16] 伊藤樹史 (1984): マイクロコンピュータプログ

- ラムによる医学統計的方法. 214—225, 医学書院, 東京.
- [17] 田中 豊, 垂水共之, 脇本和昌編 (1984): パソコン統計解析ハンドブックⅡ. 226—252, 共立出版株式会社, 東京.
- [18] Hurley, M.A. and Roscoe, M.E. (1983): Automated statistical analysis of microbial enumeration by dilution series. *J. Appl. Bact.*, **55**, 159—164.
- [19] 山下 悟, 中島純夫, 横田秀幸他 (1980): マイクロコンピュータによる水質データのファイル化について. *札幌市衛研年報*, **8**, 95—108.
- [20] 広中博見, 藤本和司, 高野昭男他 (1982): パーソナルコンピュータによるデータ処理. *福岡市衛試所報*, **7**, 116—155.
- [21] 薬師寺 積, 田中涼一 (1984): N<sub>8</sub>BASIC による汎用統計解析プログラムの検討. *大阪府立公衛研所報*, **15**, 37—46.
- [22] 矢鋪満雄 (1987): 水質汚濁機構の数理モデル解析. *石川県衛公研年報*, **24**, 58—76.
- [23] 岡本 拓 (1983) パーソナルコンピュータによる統計処理のための測定データファイル管理システムの開発. *広島県環境センター研究報告*, **5**, 86—93.
- [24] 津野正朗, 工藤泰雄, 大橋 誠 (1987): パーソナルコンピュータを用いた腸管感染症検査室情報処理・解析システムの開発. *東京都衛研年報*, **38**, 1—12.
- [25] 津野正朗, 工藤泰雄, 大橋 誠 (1988): パーソナルコンピュータを用いた海外旅行者下痢症の細菌検査成績処理システム(第4報). *東京都衛研年報*, **39**, 1—8.
- [26] Gavini, F., Oger, C., Lefebver, B. et al (1982): Development of a computer identification system for coliform strains. *J. Appl. Bact.*, **52**, 329—332.

## B型肝炎ワクチン接種者の免疫抗体獲得状況

徳 本 静 代\* 武 井 直 巳\*

Antibody response to plasma-derived hepatitis  
B vaccines in healthy persons

SHIZUYO TOKUMOTO\* AND NAOMI TAKEI\*

(Received, Nov. 13, 1989)

## はじめに

B型肝炎ウイルス (HBV) 感染の予防は、現在ではB型肝炎ワクチン (HBワクチン) の実用化によりいわゆるHBV感染ハイリスクグループ (主にHBVキャリアの家族, 医療従事者, 医療器具試薬等の処理にかかわる人等) に対するHBワクチンの接種が可能になり, その成果をより具体的に期待できるようになった。しかしながら, 現行のヒト血漿由来HBワクチンの接種者のなかにはHBワクチン低あるいは無反応者といわれる例が存在すること, また産生されたHBs抗体の持続期間が比較的短いことなどの問題が残されていることなどから [1], HBワクチン接種 (ワクチン接種) による抗体の獲得状況についてはその実態を詳細に調査検討する必要があると考える。

広島県においてはHBV感染予防対策の一環として昭和62年度より医療従事職員を対象にしたHBワクチンの接種が開始された。今回これらワクチン接種職員の中で協力の得られた59名についてワクチン接種期間中の抗体獲得状況について詳細に追跡調査することが出来たのでその結果について報告する。

## 対象と方法

## 1. HBワクチン接種のプロトコール

接種に用いられたHBワクチンはK社製ヒト血漿由来

ワクチンである。接種方法はわが国で通常実施されている方法で, HBs抗原 (RPHA法)・HBs抗体 (PHA法) 陰性者を対象に, 0.5 ml (20 µg) を初回, 1カ月目, 6カ月目の3回皮下に接種された。したがって, 初回で20 µg, 2回で計40 µg, 3回で計60 µgの抗原量が接種されたことになる。

## 2. 被検血清

HBワクチン被接種者からはワクチン接種終了までの経過観察をするためにワクチン接種2回目と3回目の直前及び3回目のワクチン接種1カ月後の計3回の血清を各被接種者から採取することとした。計画通り採取されたのは59名中23名であるが, 初回; 55例, 2回; 42例, 3回; 29例, 延べ126例の血清が得られた。

## 3. 検査方法

HBs抗原をRPHA法とEIA法で, HBs抗体をPHA法とEIA法で, PreS2抗体及びHBc抗体をEIA法でいずれも市販 (特殊免疫研究所製) のキットを使用してそれぞれ検索した。なお, RPHA法での抗原検出とPHA法による抗体検出はいずれも血清希釈 $\geq 1:8$ を陽性とし, 抗体価はPHA法のそれを用いた。EIA法における吸光度の測定はコロナ社, マイクロプレートリーダー-MTP-32によった。

## 4. 統計的処理

統計ソフト "文楽堂, 獣医一般統計解析 Ver. 2.1" を使用した。HBs抗体PHA価は2を底とする対数に

\*広島県衛生研究所: Hiroshima Prefectural Institute of Public Health

変換し、 $<1:8$ は $1:4$ として処理した。

結 果

1. HBワクチン接種期間中のHBs抗体獲得状況

延べ126例のHBs抗体獲得状況についてワクチン接種のプロトコールに従い図1にはHBs抗体陽性率の推移を、表1にはワクチン接種回数と検査法によるHBs抗体陽性率の比較検討( $\chi^2$ 検定)の結果を、図2にはワクチン接種回数とPHA法によるHBs抗体価の推移についてそれぞれ示した。

HBs抗体陽性率はPHA法、EIA法ともに、ワクチン接種回数に応じて直線的な増加勾配を呈し、接種抗原量と極めて高い相関(PHA法; $t=0.999$ , EIA法; $t=0.985$ )を示した。

また、ワクチン接種3回終了後のHBs抗体陽性率を100%としてそれまでのHBs抗体陽性率を換算すると、

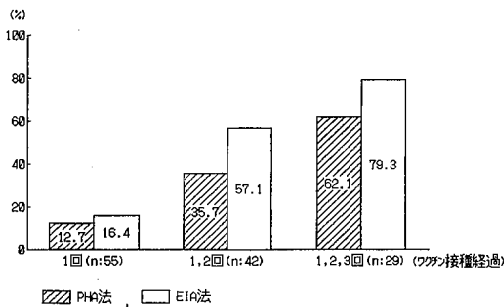


図1 HBワクチン接種期間中のHBs抗体陽性率の推移

表1 図1のHBs抗体陽性率の比較( $\chi^2$ 検定)

検査方法	ワクチン <sup>1)</sup> 接種	PHA法			EIA法		
		1	2	3	1	2	3
P H A	1	**	**	ns			
	2		*			*	
	3						ns
E I A	1				**	**	
	2					ns	
	3						

1) 1:1回, 2:2回, 3:1, 2, 3回

\* : 危険率5%で有意差有り

\*\* : 危険率1%で有意差有り

ns : 有意差無し

PHA法では初回で20.5%, 2回で57.0%, EIA法では同様に20.7%, 72.0%となり、HBs抗体陽性者の約20%は初回接種で、これらを含む約60%(PHA法)~70%(EIA法)が接種2回目でHBs抗体の出現をみたことになる。しかし、ワクチン接種2回での検出率を検査法別にみるとPHA法とEIA法間のそれには有意差( $\chi^2$ 検定)が認められた。このことは接種2回でみた場合PHA法ではHBs抗体陰性として扱われる例が有意の差で存在することを意味するものであるが、この違いは産生抗体が微量なため、PHA法とEIA法の感度の差によるものと考えられる。

HBs抗体価の分布パターンはワクチン接種2回までは抗体価 $<1:8$ を頂点とするL字型に近似した分布を

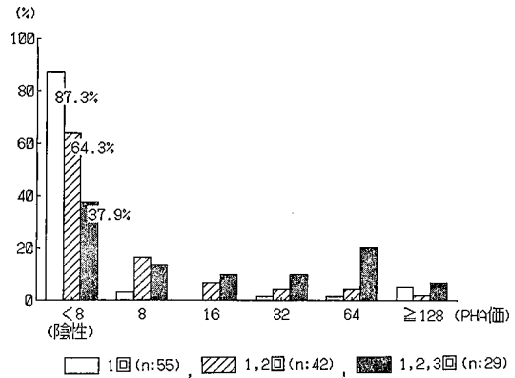


図2 HBワクチン接種期間中のHBs抗体価の推移, HBワクチン接種経過

示した。しかし、ワクチン接種3回終了後には抗体価 $<1:8$ の例が著しく減少すると共に高い抗体価を示す例が増加して、抗体陽性域では抗体価 $1:64$ をピークとする対称型分布を示した。HBs抗体価の幾何平均値(G.M.)は初回; $1:5.4$ , 2回; $1:6.7$ , 3回; $1:14.2$ であり、G.M.のうえではワクチン接種3回目でははっきりした抗体価の上昇を認めた。

2. HBワクチン接種後のHBs抗体とPreS2抗体保有状況

図3に全供試血清126例のHBs抗体価とPreS2抗体保有状況ならびにPreS2抗体陽性例中のHBc抗体の有無について示した。

全体ではPreS2抗体陽性例は14例であったが、それらはHBs抗体にかかわりなく検出されて、 $<1:8$ の血清中(86例中1例)にも検出された。しかし、これら14例のうちでワクチン接種によってPreS2抗体を獲得



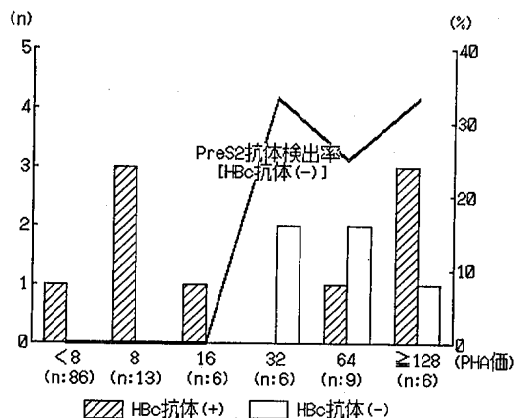


図3 HBワクチン接種後のHBs抗体価とPreS2抗体分布状況

したと考えられるのはHBc抗体陰性の5例で、それらとHBs抗体価との関係は抗体価1:32; 2名(33.3%), 1:64; 2名(25%),  $\leq 1:128$ ; 1名(33.3%)であった。PreS2抗体の獲得例は供試例中HBs抗体価が $\geq 1:32$ を示した例の平均30%に検出された。

### 3. 追跡調査によるHBワクチン接種効果判定

図4には3回採血することのできた23名のHBs抗体価の推移とHBc抗体の検出状況について示した。

23名は、ワクチン接種回数とHBs抗体出現状況から、それらはワクチン接種終了後もHBs抗体陰性であった例(A群)及びワクチン接種3回(B群), 2回(C群), 1回(D群)でそれぞれHBs抗体陽性をみた例に区分された。ワクチン接種初回でHBs抗体陽性を示したD群は3名検出されたが、この内初回の接種でHBs

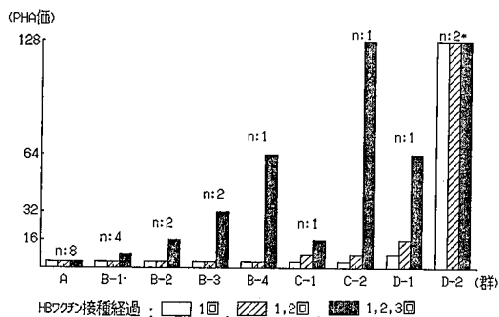


図4 HBワクチン接種者23名のワクチン接種期間中のHBs抗体価の推移  
\*: HBc抗体陽性者

抗体価 $\geq 1:128$ を示した2名は同時にHBc抗体陽性であったことから、いずれも過去にHBVの自然感染を受けていた例であると推測された。HBc抗体陽性例はこの他にはみられなかったため、前記HBc抗体陽性の2名を除く21名については過去のHBV感染は一応否定できるものと考えられる。したがって、ワクチン接種効果のみられなかったのはPHA法, EIA法ともに陰性であったA群の5名(5/21, 23.8%)と推測された。

### 考 察

HBワクチンの有効性と安全性についてはヒト及びパンパンジーへの感染実験で証明されているが[2, 3], 獲得抗体の防御能を越えた抗原が侵入した場合や、抗体価が極端に低下を示した場合にはHBV感染は起こり得ると考えられている。しかしながら、HBV感染ハイリスクグループといわれている対象者にとってはHBワクチン接種によりあらかじめ抗体を獲得しておくことは重要なことと考える。

わが国では、通常HBワクチンは20 $\mu$ g(10歳未満は10 $\mu$ g)を初回, 1ヵ月目, 6ヵ月目の3回皮下に接種しているが、この接種方法で約90%にHBs抗体が獲得されるとされ、一般に女性は男性より、若年者は高齢者より反応性が良いとされている[1]。

今回の調査対象は59名に過ぎなかったため性別, 年齢別までの検討は無理と考えるが、全体としてはワクチン接種終了後のHBs抗体陽性率は約80%であった。残りの約20%はHBワクチンに対する低あるいは無反応者としてその後もHBs抗体未保有の状態におかれるものと推測される。HBワクチンに対して低あるいは無反応者の存在する理由については一定の見解はないようであるが、今回の調査結果からみるとワクチン接種量とHBs抗体陽性率には極めて高い相関関係(PHA法;  $t=0.999$ , EIA法;  $t=0.985$ )が認められているので、追加接種を繰り返すことによりHBs抗体を獲得しうるものと推測される。しかし、HBワクチン接種対象者のなかにはHBVキャリアでありながらRPHA法ではHBs抗原を検出できない例の存在も考えられるので、追加接種の前にこの点の確認をすることは当然必要であろう。

HBV感染防御のためのHBs抗体量についてはPHA法で確実に陽性(抗体価 $\geq 1:8$ )であれば針事故程度の微量のウイルスの侵入であれば十分防御可能といわれている[4, 5]。しかしながらワクチン接種により獲得されたHBs抗体については、HBVの自然感染の場

合〔6〕と異なり、いったん獲得された HBs 抗体価が時間の経過と共に低下し陰性化する例もみられている〔1〕。この陰性化までの期間は獲得された最高の抗体価に規定されるとされ〔1〕、したがって、HBs 抗体は可及的により高い抗体価で獲得されることが望まれている。そのためにワクチン接種は最後まで完了することが勧められている。今回の調査においてもワクチン接種期間中の HBs 抗体価はワクチン接種の経過につれて抗体価  $\geq 1:8$  の保有例が増加し、ワクチン接種3回終了後の保有抗体の分布パターンは抗体価  $1:64$  にピークを示す対称型分布を呈し、3回目接種には強いブースター効果があることが推測された。このことは、HBs 抗体陽性者の約60~70%はワクチン接種2回で HBs 抗体を獲得していると考えられるもののその抗体価 (G.M.) は接種1回 ( $1:5.4$ ) と2回 ( $1:6.7$ ) では殆ど変わらずワクチン接種3回目 ( $1:14.2$ ) で抗体価の上昇が認められたことから伺われる。したがって今回の調査結果はワクチン接種により確実に HBs 抗体を獲得するためには、ワクチン接種期間中に HBs 抗体の出現が認められたとしても、HB ワクチン接種はプロトコール通り最後まで終了する必要があることを支持するものである。

今回の調査でわれわれは PreS2 抗体の獲得状況についても触れた。HBV の肝細胞への感染機序の解明により PreS2 抗原がそれに関与していることが示唆され〔7〕、そのことから HBV 感染防御に関して PreS2 抗体の有無についても関心がもたれるようになった。仮に HBV 感染防御には HBs 抗体のみでなく PreS2 抗体も保有していたほうがより確実であるとしてワクチン接種により両抗体を獲得しようとするれば、今回の調査結果からすると両抗体を同時に保有する例は約30%に過ぎなかったが、それらにしても PreS2 抗体が認められるのは HBs 抗体価  $\geq 1:32$  の保有例であり、PreS2 抗体獲得のうえからもワクチン接種はプロトコールに従い最後まで完了する必要があることを示唆するものである。

しかしながら一般的にはそれで問題がないわけであるが、通常 HB ワクチン被接種者のプレスクリーニングとして HBc 抗体の検索まではなされていないので被接種者の中には HBc 抗体 alone の存在することが当然考えられる。この場合少し問題が残ると思われる。つまり HBc 抗体 alone の例については HBV キャリアでありながら HBs 抗原不検出の HBc 抗体 alone と、一過性の HBV 感染後の HBs 抗体不検出の HBc 抗体 alone の2通りのケースが考えられるが、前者に対するワクチン接種は当然不必要である。また、後者に対しても今回

の調査ではワクチン接種初回で高い HBs 抗体価 ( $\geq 1:128$ ) を示した2例 (D群) がそれと推測されるが、このような例については初回のワクチン接種が十分なブースター効果を示しているのその後のワクチン接種は必要ないものとする。このように、HBc 抗体 alone の例には不必要な HB ワクチン接種も考えられるので、その度毎に抗体応答をみながら進めることも必要であると同時にワクチン接種のプレスクリーニングで HBc 抗体について検討することも必要であろう。

HB ワクチン接種による抗体反応性は接種抗原量や接種経路によっても異なるようである。例えば、接種抗原量が増えれば抗体出現時期は早まり、最終的な HBs 抗体陽転率には有意差は認められないものの抗体価が高まること〔9〕や、また、皮内、筋肉内、皮下接種の順で高い免疫原性が得られること〔10, 11〕などが知られている。

いわゆる HB ワクチン無反応者といわれる例の中には HBV キャリアの存在する可能性がまったくないわけではなく、それらに対しては HB ワクチンによって HBs 抗体の出現は期待できないので、それらは見かけ上無反応者として取り扱われることになる。また、ワクチンの種類、接種抗原量、接種方法を考慮すればほぼ100%に HBs 抗体は出現するものとする〔8〕ならば、HB ワクチン接種に対する真の無反応者はほとんどないと言えなくもない。ワクチンの接種方法には固定したものがあるわけではなく、ワクチン接種の際には最も効果のあがる接種方法が選択されることが望ましているというまでもない。

いずれのワクチンにしてもそれぞれのプロトコールに従って終了することが重要ではあるが、HB ワクチンの場合は HBs 抗体 alone の存在を考慮にいれながら経過観察をすることも必要であることが今回の調査から考えられた。

## 結 語

HB ワクチン接種者59名について HB ワクチン接種期間中の HBs 抗体獲得状況について調査検討した。

1) HB ワクチン接種完了後の HBs 抗体陽性率は約80%を示し、HB ワクチン低あるいは無反応者と考えられる者が約20%検出された。

2) HB ワクチン接種量と HBs 抗体陽転率の間で極めて高い相関 (PHA法;  $t=0.999$ , EIA法;  $t=0.985$ ) がみられた。

3) HB ワクチン接種により獲得したと考えられる

PreS2 抗体は HBs 抗体価 $\geq 1:32$  の例で約30%に検出された。

4) HBワクチン接種期間中の HBs 抗体は接種2回目で約60~70%の者が HBs 抗体陽転を示すが、抗体価は接種3回目で大きく上昇した。

5) 一過性の HBV 感染後と考えられる HBc 抗体 alone の例では HB ワクチン接種初回で高い免疫応答がみられた。

6) HBワクチン接種期間中に HBs 抗体陽転がみられたとしても HB ワクチンの接種は完了することが必要であると考えられた。

稿を終えるに臨み、本調査にご協力を賜った関係各位に深謝いたします。

#### 文 献

- [1] 鈴木 宏 (1984): 胆肝睪, 9, 141—150.
- [2] 宮村達夫 (1986): 胆肝睪, 13, 575—577.
- [3] Karasawa, T., Shikata, T., Abe, K., Horiuchi, R., Takahashi, T., Yoshida, N., Mayumi, M., Suzuki, H. & Oda, T. (1983): J. Infect Dis, 147, 327—335.
- [4] 清水 勝 (1988): Medical Practice, 5, 577—583.
- [5] 高嶋清次, 井上恭一, 樋口清博, 紺田健彦, 佐々木博 (1988): 肝臓, 29, 864—872.
- [6] Seeff LB., Beebe GW., Hoofnagle JH., Norman JE., Buskell-Bales Z., Waggoner JG., Kaplowitz N., Koff RS., Petrini JL., Schiff ER., Shorey J. & Stanley MM. (1987): New Engl J. Med, 316, 965—970.
- [7] 町田篤彦, 真弓 忠 (1983): 治療学, 11, 627—636.
- [8] 飯野四郎 (1988): 臨床とウイルス, 16, 275—281.
- [7] 吉川 明 (1987): 肝臓, 28, 1413—1422.
- [10] 清水 勝 (1986): ウイルス肝炎予防ハンドブック, p. 113—200, 財団法人ウイルス肝炎研究財団編, 東京, 社会保険出版社.
- [11] Yamamoto S., Kuroki T., Kurihara K. & Iino S. (1986): J. Infect, 13 (Supple A), 53—66.

## 広島県内医療機関における病原菌検出状況 〔1987—1988年〕

宮崎 佳都夫\*

### Surveillance for Bacterial Infection in Hiroshima District During 1987—1988

KAZUO MIYAZAKI\*

(Received Nov. 10, 1989)

#### 緒 言

「微生物検査情報システム化に関する研究班」の研究  
成果である「病原微生物検出情報(月報)第1号」が1980  
年3月に発行されて以来〔1〕, 各地の衛生研究所におけ  
る病原菌検出情報が国立予防衛生研究所血清情報管理室  
に集約され, 全国規模での実態把握が可能となった。そ  
の後, 病原微生物検出情報は医療機関, 検疫所及び伝染  
病院における菌検出情報も包括し, 当初からの地研・保  
健所分とともに各区分ごとの全国集計データが関係機関  
に還元されるようになり, さらに報告様式の改正等も行  
われるなどして情報網の綿密で広範な整備がなされてき  
た〔2-4〕。

広島県では産院における新生児の院内感染事例の発生  
〔5〕やサルモネラ症 散発患者の実態把握の必要性が指  
摘された〔6〕ことにより, 本事業を開始する以前の  
1978年から既に県衛生研究所と医療機関の共同事業とし  
て県内におけるサルモネラ症散発患者の実態調査を継続  
して行っていった。収集した患者情報と菌株は菌種別,  
年齢別の患者発生状況等に解析し, 「サルモネラ症情報」  
として協力医療機関, 医師会, 行政諸機関等に月報形式  
で還元してきた〔7〕。病院検査室及び医師会臨床検査セ  
ンターを主体とする医療機関分の病原菌検出情報の収集  
・還元事業は, 前述の「サルモネラ症情報」の実態調査

の情報組織網を基盤にして実施され, 1982年1月の開始  
から既に7年が経過した。本情報網における1986年まで  
の過去5年間の病原菌検出状況の概要は既に集約されて  
いる〔8-9〕が, 今回はその後の1987年と1988年の2年  
間に収集, 蓄積された情報を菌種別の検出頻度や主要菌  
種の季節変動等により解析し, 一部の菌種に関しては臨  
床情報(感染症)との関連等について若干の検討を行っ  
たのでその成績も併せて報告する。また, 本調査の現状  
における問題点についても言及したい。

#### 病原菌検出情報の収集と解析

##### 1. 病原菌検出情報の収集

病原菌検出情報の収集は, サルモネラ症散発患者の実  
態調査に協力を得ている病院検査室及び各地区の医師会  
臨床検査センターを定点として実施した。

対象とした病原菌は, 「病原菌検出状況報告書(病原  
微生物検出報告書, 書式3-B)」〔4〕に指定されてい  
る菌種(指定菌種)であるが, それ以外の菌種に関しても  
検出報告のあった事例は集計した。前記書式に準拠し  
て各定点から広島県衛生研究所に送付された検出数は,  
広島県内医療機関分の検出情報として集約し, 国立予防  
衛生研究所血清情報管理室の病原微生物検出情報事務局  
まで送付した。同時にその情報に包括されている *Sal-*  
*monella* と *Campylobacter* に関しては, 別途に収集した

\*: 広島県衛生研究所: Hiroshima Prefectural Institute of Public Health

患者情報と菌株の型別成績によって作成した「サルモネラ症情報」及び患者情報のみを解析した「Campylobacter 腸炎情報」としてそれぞれ再編し、県内分病原菌検出状況の集計報告書とともに各定点、関係諸機関に還元した。

2. 病原菌検出状況

1987年と1988年に県内の医療機関で検出された指定菌種、菌型及びそれらの事例数を表1に示した。表中の数値は原則として患者からの検出例であるが、Salmonella については、極く僅かであるが健康保菌者の事例を含んでいる。年間の報告数は13,000例を凌ぎ、月々の報告数でも1987年の1月、2月を除く他の月では1,000例以上に達した。

これらを菌種別に観察すると、腸管系病原細菌では Campylobacter (3,008例) が第2位の Salmonella (法定伝染病菌を除く、805例) と第3位の Vibrio parahaemolyticus (314例) を大きく凌駕した。Vibrio 属ではこの他に V. fluvialis, V. mimicus, V. cholerae non 01 及び V. cholerae 01, Eltor, Inaba が小数例ながら検出された。Aeromonas はほぼ毎月検出され、合計91例が報告された。

急性胃腸炎の原因菌と考えられた場合に限定して収集がなされている菌種(表1の脚注参照)では、Escherichia coli (127例) が最多であり、そのほとんどが病原大腸菌血清型に分類される菌として報告されている。他には Staphylococcus aureus (18例)、Clostridium perfringens (81例) も報告されている。

呼吸器系病原細菌では Klebsiella pneumoniae が1986年までと同様に圧倒的に多く報告されて首位の座を占めたが、今回は第2位以下の検出順位に変動が認められた。すなわち、本検出情報の収集開始以来 Haemophilus influenzae に次いで第3位に位置していた Streptococcus pneumoniae は大幅な増加を来して1988年に第2位となった。これら3菌種に次いで検出数の多いA群 Streptococcus とB群 Streptococcus に関しても同様の現象が観察され、それまで主要5菌種の中において最少の検出数であったB群 Streptococcus は、対前年比の増加率が上昇して1987年にA群 Streptococcus を凌駕するに及んだ。また、1988年には Streptococcus 全検出数の中に群不明株の占める割合が3.3%まで減少したのに対し、G群に群別される事例数が増加して4.6%となった。

性病の主要起因菌の一つである Neisseria gonorrhoeae は1986年まで年間200~400例が報告されていたが、1987年以降はそれまでの半数以下に激減した。

腸管系法定伝染病細菌の検出事例を表2に示した。赤痢事例ではA~Dのすべての群が分離され、4菌種6菌型(29株)に及んだ。この内、輸入事例と推定されたのは S. dysenteriae 2の1例、S. flexneri 2aの1例、S. boydii 10の1例及び S. sonnei の2例であった。2年間に21例が確認された S. flexneri 2aについては、輸入事例と推定された1例を除く他のすべてが国内における発生事例であるにもかかわらず、その感染源ならびに感染経路を明らかにすることができなかった。腸チフス事例は16例認められたが、その多くが県内島しょ部の特定地区に発生した事例である。また、パラチフス事例は S. paratyphi A が2例報告され、その内の1例が輸入事例であった。1982年の情報収集開始以来、報告のなかった V. cholerae 01は Eltor, Inaba が1987年と1988年に各1例ずつ輸入事例として報告された。その他に赤痢アメーバが1例報告されたが、海外との関連性は明らかにされていない。この他に輸入事例と推定されたのは、E. coli の組織侵入型と毒素産生型の各1例ずつであった。

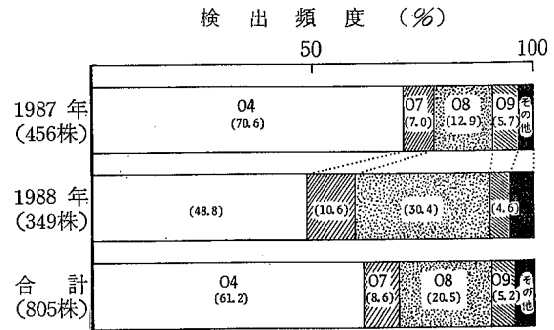


図1. Salmonella のO群別検出頻度 (1987-1988年)。

検出された Salmonella のO群別の検出頻度を図1に示した。1987年に全体の70.7%を占めていたO4〔B〕群が1988年に48.8%まで減少したのに対し、O8群〔C2, C3〕が12.9%から30.4%に倍増し、さらにO7〔C1, C4〕群も7.0%から10.6%に増加した。これらの3群のみで全検出事例の約90%を占めた。このO8群 Salmonella の急増は、病原菌検出情報の基盤となっている「サルモネラ症情報」での血清型の型別成績によれば S. hadar による散発患者の多発に起因するものである。

前記の指定菌種以外の報告事例を表3に示した。1987年には僅か15菌種以上、362例の報告に過ぎなかったが、1988年には36菌種以上、668例に増加して2年間の総計

表1. 広島県内医療機関における病原細菌検出状況 (1887年—1988年)

菌 種・群・型	1987年	1988年	合 計
<i>Escherichia coli</i> *	52	75(2)	127(2)**
<i>Shigella</i> (Total)	12(2)	17(3)	29(5)
<i>Salmonella typhi</i>	5	11	16
<i>Salmonella paratyphi A</i>	1(1)	1	2(1)
<i>Salmonella</i> O4(B) a)	322	170	492
<i>Salmonella</i> O7(C1, C4)	32	37	69
<i>Salmonella</i> O8(C2, C3)	59	106	165
<i>Salmonella</i> O9(D1)	26	16	42
<i>Salmonella</i> O9, 46(D2)	—	—	—
<i>Salmonella</i> O3, 10(E1, E2, E3)	8	9	17
<i>Salmonella</i> O1, 3, 19(E4)	1	3	4
<i>Salmonella</i> O13(G1, G2)	2	1	3
<i>Salmonella</i> O18(K)	—	—	—
<i>Salmonella</i> その他	—	5	5
<i>Salmonella</i> 群不明	6	2	8
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4	9	13
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	3	1	4
<i>Vibrio cholerae</i> , O-1: Classical, Ogawa	—	—	—
<i>Vibrio cholerae</i> , O-1: Classical, Inaba	—	—	—
<i>Vibrio cholerae</i> , O-1: Eltor, Ogawa	—	—	—
<i>Vibrio cholerae</i> , O-1: Eltor, Inaba	1(1)	1(1)	2(2)
<i>Vibrio cholerae</i> , O-1 以外	2	—	2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	250	64	314
<i>Vibrio fluvialis</i>	5	3	8
<i>Vibrio mimicus</i>	5	—	5
<i>Aeromonas hydrophila/sobria</i> b)	63	28	91
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	—	2	2
<i>Campylobacter jejuni/coli</i> c)	1,602	1,406	3,008
<i>Staphylococcus aureus</i> *	10	8	18
<i>Clostridium perfringens</i> *	81	—	81
<i>Clostridium botulinum</i> , E	—	—	—
<i>Clostridium botulinum</i> , E 以外	—	—	—
<i>Bacillus cereus</i>	4	—	4
<i>Nisseria gonorrhoeae</i>	145	144	289
<i>Nisseria meningitidis</i>	1	—	1
<i>Streptococcus</i> , A	1,112	1,196	2,308
<i>Streptococcus</i> , B	1,292	1,345	2,637
<i>Streptococcus</i> , C	40	26	66
<i>Streptococcus</i> , G	101	129	230
<i>Streptococcus</i> , 群不明	210	92	302
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,868	2,465	4,333
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	—	—	—
<i>Bordetella pertussis</i>	—	2	2
<i>Legionella pneumophila</i>	—	—	—
<i>Haemophilus influenzae</i>	2,281	2,159	4,440
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,955	3,409	7,364
<i>Leptospira</i>	—	—	—
<i>Entamoeba histolytica</i>	—	1	1
<i>Malaria</i>	—	—	—
その他の菌種***	362	668	1,030
合 計	13,923(4)	13,611(6)	27,534(10)

a) : *S. paratyphi B* は取扱い変更 (厚生省保健医務局長 健医発1359号, 1985年) により *Salmonella O4(B)* とした。

b) : *Aeromonas hydrophila* と *Aeromonas sobria* は一括して *Aeromonas hydrophila/sobria* で記載した。

c) : *Campylobacter jejuni* と *Campylobacter coli* は一括して *Campylobacter jejuni/coli* で記載した。

\* : 急性胃腸炎の原因と考えられる事例のみを対象とした。 \*\* : 輸入事例を括弧に再掲した。

\*\*\* : 病原微生物検出報告書書式 3-B (1986.1 改正7) に記載指定された菌種以外。

表2. 広島県内医療機関における指定菌種以外の病原細菌検出状況 (1987年—1988年:再掲)

菌 種*	1987年	1988年	合 計
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	13	9	22
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	—	6	6
<i>Alcaligenes</i> sp.	—	1	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	269	354	623
<i>Bcteroides valgatus</i>	—	1	1
<i>Bcteroides fragilis</i>	—	7	7
<i>Bordetella parapertussis</i>	—	1	1
<i>Campylobacter fetus</i>	1	—	1
<i>Clostridium difficile</i>	—	1	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1	8	9
<i>Citrobacter</i> sp.	—	1	1
<i>Cryptococcus neoformans</i>	—	1	1
<i>Candida tropicalis</i>	—	1	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	13	14
<i>Enterobacter agglomerans</i>	—	6	6
<i>Enterobacter</i> sp.	—	1	1
<i>Hafnia alvei</i>	1	—	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	60	101	161
<i>Klebsiella ozanae</i>	—	2	2
<i>Klebsiella</i> sp.	—	4	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	2	2	4
<i>Moraxella</i> sp.	1	—	1
<i>Morganella morgani</i>	—	3	3
<i>Neisseria</i> sp.	—	3	3
<i>Pasteurella multocida</i>	2	2	4
<i>Proteus mirabilis</i>	1	11	12
<i>Proteus vulgaris</i>	—	3	3
<i>Pseudomonas cepacia</i>	—	7	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	61	61
<i>Pseudomonas putida</i>	—	6	6
<i>Pseudomonas</i> sp.	—	3	3
<i>Propionibacterium acnes</i>	—	1	1
<i>Serratia marcescens</i>	—	1	1
<i>Serratia liquefaciens</i>	—	1	1
<i>Serratia</i> sp.	1	1	2
<i>Streptococcus mitis</i>	—	2	2
<i>Streptococcus sanguis</i>	—	1	1
<i>Streptococcus viridans</i>	—	1	1
<i>Streptococcus faecalis</i>	—	17	17
<i>Streptococcus faecium</i>	—	8	8
<i>Streptococcus avium</i>	—	1	1
<i>Streptococcus</i> sp.	—	1	1
<i>Trichosporon cutaneum</i>	1	6	6
<i>Vibrio vulnificus</i>	6	2	8
<i>Vibrio alginolyticus</i>	2	2	4
<i>Xanthomonas</i> sp.	—	4	4
合 計	362	668	1,030

\*: 病原微生物検出報告書書式3—B (1986.1 改正7) に記載指定された菌種以外。



表3. 腸管系法定伝染病細菌等の検出状況 (1987—1988年)

菌種・血清型	検出菌株数 <sup>a)</sup>		
	1987年	1988年	合計
<i>S. dysenteriae</i> 2	1(1)	—	1(1)
<i>S. flexneri</i> 1b	—	1	1
<i>S. flexneri</i> 2a	9	12(1)	21(1) <sup>b)</sup>
<i>S. flexneri</i> var. X	—	1	1
<i>S. boydii</i> 10	1(1)	—	1(1)
<i>S. sonnei</i>	1	3(2)	4(2)
<i>Shigella</i> [Total]	12(2)	17(3)	29(5)
<i>S. typhi</i>	5	11	16
<i>S. paratyphi</i> A	1(1)	1	2(1)
<i>V. cholerae</i> O1, Eltor, Inaba	1(1)	1(1)	2(2)
<i>Entamoeba histolytica</i>	—	1	1
合計	19(4)	31(4)	50(8)

a) : 輸入事例を括弧に再掲.

b) : 1例を除き国内感染事例であるが感染源, 感染経路は不明.

では39菌種以上, 1,030例に達した. このうち *Branhamella catarrhalis* が全体の60.5%を占め, 次いで *Klebsiella oxytoca* (15.6%), *Pseudomonas aeruginosa* (5.9%) の順に報告頻度が高かった. この他には *Listeria monocytogenes*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* も少数例ながら報告されている. なお, *V. alginolyticus* は耳漏に由来するものであった.

### 3. 病原菌検出事例数の季節変動

腸管系病原細菌の主流を占める *Campylobacter*, *Salmonella* 及び *V. parahaemolyticus* の検出状況について, その季節的な変動を観察した. 図2は, それらの過去2年間における月別の検出事例数の推移を示したものである.

*Salmonella* は気温に並行して推移し, 7月あるいは8月の最高温期に多発して鋭角的なピークを示す季節分布が認められた. *V. parahaemolyticus* についても同様の傾向が観察されたが, *Salmonella* 以上に尖鋭的なピークが夏期に出現し, 冬期にはほとんど検出されることがなかった. この2菌種に関しては1986年以前のパターンと酷似するものであったが, *Campylobacter* はこれらと様相を異にするのみならず, 1986年以前と比較しても検出状況に変動を生じた. 従前は5~6月と10~11月の二

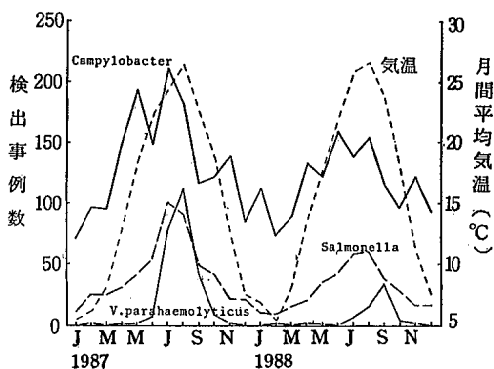


図2. *Campylobacter*, *Salmonella* 及び *Vibrio parahaemolyticus* の月別分離状況 (1987—1988年).

つのピークの間には顕著な減少期を伴うパターンが観察されていたが, 本調査期間中には増減を幾度も繰り返す多峰性のパターンが出現し, 春~夏期の幅広い期間に患者が多発して大きなピークを形成した. また, *Campylobacter* の月間検出数の最少値は *Salmonella*, *V. parahaemolyticus* の最大値とほぼ同等あるいはそれ以上であった.

呼吸器系病原細菌のうち検出頻度の高い5菌種について季節的な変動を図3に示した. *K. pneumoniae* は気温の変動に並行しながら推移し, 盛夏を中心とする6~9月の高温期に大きなピークを形成して冬期に減少するパターンが観察された. これに対して *H. influenzae* 及び

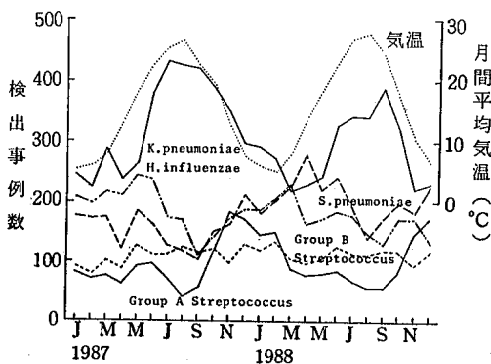


図3. *Streptococcus pneumoniae*, group A *Streptococcus*, group B *Streptococcus*, *Haemophilus influenzae* 及び *Klebsiella pneumoniae* の月別分離状況 (1987—1988年).

*S. pneumoniae* は *K. pneumoniae* の検出数の推移とは逆に、盛夏から初秋にかけて減少し、初冬から増加傾向に転じて春にピークに達するパターンとなった。A群 *Streptococcus* は減少期が *H. influenzae* 及び *S. pneumoniae* と酷似するものの、冬期に検出数が急増するパターンとなり他の2菌種との差異が認められた。

一方、B群 *Streptococcus* は前記の4菌種とは異なり、気温の変動による大規模な増減がほとんど観察されず、季節的な特性を認めなかったが、検出数の確実な増加傾向が示された。

4. 病原菌検出情報と感染症情報の関係

病原菌検出情報の指定菌種の内、A群 *Streptococcus* と腸管系病原細菌の検出数に関して、県内の61医療機関(71定点)をモニターとする感染症情報(広島県感染症サーベイランス事業)における溶連菌感染症及び感染性下痢症(乳児冬期おう吐下痢症を除く)のそれぞれの患者数〔10—11〕を対比させた。図4はA群 *Streptococcus* の検出数と感染症情報における溶連菌感染症の患者数の推移を月別に観察したものである。菌検出数と臨床診断数はほぼ近似の値を示し、両者とも初冬に急増して盛夏に激減するパターンを示し、年間の気温変動と逆の推移が確認された。

一方、図5は *Salmonella*, *Campylobacter*, *V. parahaemolyticus* を主体にして *Vibrio*, *Plesiomonas*, *Aeromonas* 属等の腸管系病原細菌を合算した検出総数と感染性下痢症(乳児おう吐下痢症を除く)として臨床診断された患者数の月別推移を対比したものである。腸管系病原細菌の検出数は前述のごとく気温とほぼ並行して推移する夏期多発型のパターンであったが、感染性下痢症患者数の推移は菌検出状況と対照的な冬期多発型のパターンとなることが確認された。また、菌検出数の最大値と患者数の最少値はほぼ同等のレベルにあり、冬期のピー

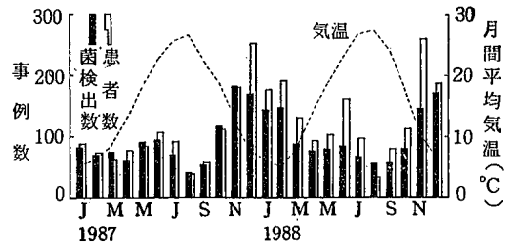


図4. 溶連菌感染症の患者(臨床情報)数とgroup A *Streptococcus* の分離状況(1987—1988年)。

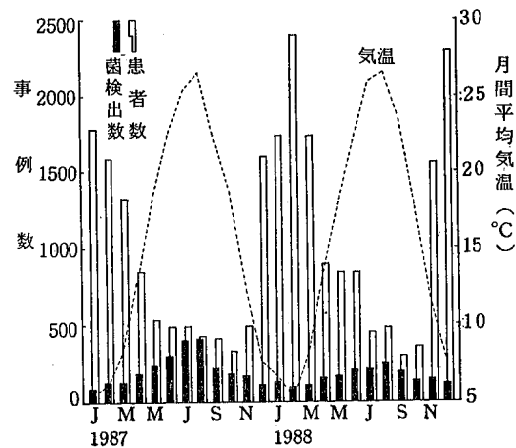


図5. 感染性下痢症の患者(臨床情報)数と腸管系病原細菌の分離状況(1987—1988年)。

ク時における患者数は膨大な数値を示している。

5. 病原菌検出情報と届出食中毒の比較

食中毒起因菌のうち、主要な地位を占める *Salmonella*, *V. parahaemolyticus* 及び *Campylobacter* の3菌種

表4 病原菌検出情報と届出食中毒における *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* 及び *Campylobacter* による患者数と事例数(1987—1988年)

起 因 菌	1987年		1988年		合 計	
	検出情報 <sup>a)</sup>	届出食中毒 <sup>b)</sup>	検出情報	届出食中毒	検出情報	届出食中毒
<i>Salmonella</i>	456	0( 0)	349	377( 3)	805	377( 3)
<i>V. parahaemolyticus</i>	250	91( 4)	64	139( 4)	314	230( 8)
<i>Campylobacter</i>	1,602	122( 2)	1,406	365( 1)	3,008	487( 3)
合 計	2,308	213( 6)	1,819	881( 8)	4,127	1,094(14)

a) : 病原菌検出情報の患者数(届出されない散发患者で、この数が把握された発生事例の概数となる)

b) : 届出食中毒事例の患者数(括弧内は届出された集団発生の事例数: 各年の環境衛生業務概況より)

に関し、病原菌検出情報において収集される散発事例と食中毒として届出される集団発生事例の両者について、過去2年間に県内で把握された発生事例数ならびに患者数〔12—13〕を表4に示した。菌検出情報による *Campylobacter* の把握患者数は兩年とも届出食中毒患者数より格段に多く確認され、その差は合計数で約6.2倍と算出された。また、*Salmonella* と *V. parahaemolyticus* においても菌検出情報の把握患者数が届出食中毒患者数をはるかに上まわった。さらに把握事例数の比較では、3菌種とも菌検出情報が届出食中毒を大きく凌駕し、殊に *Campylobacter* における両者の差が著しいものとなった。

## 考 察

医療機関における病原菌検出情報の全国集計が開始されて7年が経過し、その間に広島県内で収集された情報量はおびただしい数にのぼっている。それらの解析結果は、県内における患者発生の実態を広範かつ詳細に反映しているものと考えられる。

サルモネラ症に関しては1978年以降、散発患者の実態把握を継続実施している〔8—9〕が、今回も例年〔14—15〕とほぼ同様に夏期に患者の多発するパターンが観察されている。また、*V. parahaemolyticus* による急性胃腸炎散発患者も例年のごとく *Salmonella* 以上の先鋭なピークとなって盛夏に集中し、冬期にはほとんど確認されることがなかった〔8—9〕。この2菌種に関しては調査開始以来、夏期多発型の同一パターンが定着しており〔8—9〕、届出食中毒事例の発生パターンとも極似している〔12—13, 16—17〕。

一方、*Campylobacter* 腸炎は従前と同様に *Salmonella* や *V. parahaemolyticus* を圧倒する数の患者が年間を通じて発生したが、その季節的な推移に変化が認められた。1986年までは5～6月と9～10月の二つのピークが明瞭に認知されていたが〔8—9〕、1987年以後はピークの分散傾向が出現して二峰性から多峰性への移行過程とも推察される短期的な増減を繰り返すパターンとなり、概ね気温の推移に連動する傾向が観察された。しかし、この患者発生パターンが *Salmonella* や *V. parahaemolyticus* と類似の夏期多発型に移行するのか、あるいは一時的な現象で止るかは今後の情報収集により動向を監視して判断せざるを得ないが、その要因の解析は詳細に行う必要があるものと判断される。

病原菌検出情報によって把握された *Salmonella*, *V. parahaemolyticus* 及び *Campylobacter* の急性胃腸炎患者

事例がいずれも届出食中毒の患者数及び事例数を大きく凌いでいる事実は、「届出食中毒として決して把握されることのない急性胃腸炎患者」が県内全域で多発している実態を証明するものである。また、これら以外の食中毒起因菌の指定菌種も検出され、それらによる多数の事例も報告されている現実には、届出集団食中毒事例の集計のみでは急性胃腸炎の患者発生状況や起因菌の実相を把握し得ない事実を明示しているものと判断される。菌検出情報における散発患者の調査成績と届出集団食中毒事例の両者を総合的に解析することによって明らかにされる詳細な全体像は、今後の感染予防対策の確立や衛生対策の推進に寄与し得ると考えられる。

病原菌検出情報における腸管系病原細菌の検出総数と感染症情報での感染性下痢症の患者数の対比で両者がまったく逆の季節的推移を示したことから、夏期における感染性下痢症は *Salmonella*, *Campylobacter* 及び *Vibrio* 属等を主流とする腸管系の病原細菌に起因するものと考察される。また腸管系病原細菌の検出数が減少する冬期に報告される莫大な数の感染性下痢症患者のほとんどは、各種ウイルスに起因する〔18—21〕可能性を示唆するものである。

腸管系伝染病の患者発生は近年顕著な減少傾向にある。赤痢事例においても同様な状況にあり、細菌性赤痢の届出患者数は1970年代の中期以降は1,000名前後で推移し、その半数が国外での感染事例とされている〔22〕。過去2年間に本県において集団事例は確認されていないが、1987年から1988年にかけての冬期に *S. flexneri 2a* による患者が多発した。この一連の事例は、輸入事例と推定される1例を除く他の総てが県内医療機関で菌検出された国内感染事例であるにもかかわらず、感染源、感染経路が不明であった。その疫学調査においては輸入水産物の関与の可能性が推察されたに過ぎなかった。本調査期間中に確認された海外からの輸入事例は、*Shigella* の5例、*S. paratyphi A* の1例及び *V. cholerae* の2例の計8例のみである。しかし、このような国外での感染によって国内に持ち込まれる輸入事例のみならず、今やヒト以外の動物や物流に関連して輸入される病原菌を問題視すべき現況〔23—26〕にある。わが国の食料供給の海外依存度は年々高まっており、殊に病原菌に汚染された生鮮あるいは冷凍の魚介類や畜産物並びにそれらの加工食品等の輸入による潜在的な感染源の増加が今後予測される場所である。このような輸入食品を感染源とする患者の日常化や輸入病原体の国内での常在化が今後の重要な課題になるものと考えられる。

腸チフス事例は年間の全国集計で 200 名を下まわる現状 [27] にあるが、県内からは 16 例の報告が届いている。その大半が島嶼部の特定地区における事例であることから、その撲滅には地道な感染源対策を基本とする総合的、継続的な対策が必要と考えられる。

このような各種法定伝染病の現況を考慮すれば、医療機関がそれらの患者の早期発見に果たすアンテナの役割は極めて大きくかつ重要である。今後は検査対象菌種がさらに増加して対応も複雑多岐にわたることが予測されることから、より迅速な菌検出と鑑別・同定精度の向上が期待される場所である。

呼吸器系病原細菌ではこれまでと同様に *K. pneumoniae* が首位の座を占めたが、*S. pneumoniae* と *H. influenzae* の検出順位が逆転した。また、それらの季節的変動も菌種によってそれぞれ異なることが認められた。しかし、個々の事例の詳細な情報が収集されていない現状では、これらの莫大な数の分離事例が総て小児科や内科領域の呼吸器系疾患に由来したものと推察し難く、むしろ日和見感染の患者に関連する事例が相当数含まれているものと推察される。菌検出数の累計やその推移の観察のみに限定されている現在の情報収集システムでは、分離株の検出材料やその患者情報の把握による詳細な実態の究明や発生要因の解析を困難なものにしている。

本県の感染症情報で溶連菌感染症として臨床診断された患者数と病原菌検出情報での A 群 *Streptococcus* の検出数がほぼ一致し、その両者の年間推移がともに 8 月に最低となって秋～冬期に増加するパターンが観察されたことは、感染症サーベイランスにおける溶連菌感染症の大部分が A 群 *Streptococcus* に起因することの証明であろうと判断された。この A 群 *Streptococcus* に関しては、本県では現在一部の分離株について T 抗原型の疫学マーカーの解析が実施されており [28]、患者発生要因の究明がより進展するものと思われる。

一方、B 群 *Streptococcus* は年々大幅な検出数の増加傾向が認められて 1987 年に A 群 *Streptococcus* を凌駕するに至ったが、単に菌種別の検出数を収集する現在の情報システムでは、累計数の把握とその季節的な推移の観察に止って詳細な解析が困難な状況にある。しかし、本県での一部の機関を対象に実施した菌の分離材料等の調査 [29] では、大多数の A 群 *Streptococcus* が咽頭粘液に由来するのに対し、B 群 *Streptococcus* では必ずしもすべてが呼吸器系疾患に関連する事例とは限らず、非呼吸器系の各種疾患の尿や分泌物等に由来する事例も数多く認められた。このことが、大きな季節的変動を示すこ

となく B 群 *Streptococcus* の検出数を増大させた要因の一つとして考えられた。

G 群に群別される事例数の増加と群不明株の占める割合の減少は、各医療機関における診断用群別血清による群別が一般化したことを示すものである。また、これらの *Streptococcus* 検出総数の増大は、各種の検体を菌検索に供試する頻度の増加とともに迅速性に優れる簡易同定用キットが着実に普及している実態を伺わせるものである。

病原菌検出情報 (書式 3-B) の指定菌種以外の事例も多数報告されているが、その多くは日和見感染であろうと推察される。しかし、現状では患者情報が得られる極一部の事例以外は菌検出数の累計のみである。前述のような菌の分離材料等を詳細に把握し得る情報収集システムへの改善が図られなければ、指定菌種以外の事例の情報を収集する意義は半減するものと思われる。

医療機関分の病原菌検出情報は 1982 年に全国の情報収集が開始されて以来、幾多の問題点を提起しながらも順調に情報収集システム機能が整備されてきた。しかし、より詳細な実態の把握と精密な解析が可能となる情報収集システムに改善する必要性が指摘された結果、1989 年 1 月からは一部の菌種に関する報告書 (書式 3) の変更が行われた [30]。さらに 1990 年 1 月からは病原菌検出情報の収集方式 (書式 3-B) が材料別の菌検出数を報告するシステムに変更される予定となっている [31]。当衛生研究所に収集された菌検出情報の解析結果は、県内における細菌感染症の概要を把握しているものと判断されるが、今後は法定伝染病菌や各種病原細菌のみならず、日和見感染に関連する菌種についても詳細な情報収集が可能となる機能の整備に務め、蓄積・解析された情報が臨床分野のみならず公衆衛生分野へも広範に活用される態勢の確立が重要な課題になるものと考えられる。

## 要 約

医療機関分の病原菌検出情報の収集・還元事業は開始以来既に 7 年間に経過した。今回の 2 年間は医療機関における対象菌種の拡がりや検査供試頻度の高まり等から報告数がさらに増加し、ほとんどの月で分離数が 1,000 件以上に達した。

腸管系病原細菌では前回までと同様に *Campylobacter*, *Salmonella* および *V. parahaemolyticus* が主流菌種であり、殊に *Campylobacter* は他の 2 菌種を圧倒する分離数となった。*Salmonella* と *V. parahaemolyticus* は過去の調査結果と同じく夏期多発型のパターンを示した。

*Campylobacter* は依然として年間を通して多数分離されたものの、明瞭な二峰性から多峰性への移行過程とも判断されるパターンが観察された。これらの検出実態を解析した結果、届出食中毒事例を大きく凌駕する散发胃腸炎患者が県内全域で多発している実相が示された。この菌検出総数と感染症情報での感染性下痢症患者数の対比により、夏期の患者は腸管系病原細菌が主流をなし、冬期の莫大な数の患者は各種のウイルス等に起因している可能性が示唆された。

呼吸器系病原細菌では *K. pneumoniae* が従前と同様に首位の座を占めたが、*H. influenzae* は第3位に後退して *S. pneumoniae* が第2位に躍進した。これらに次いで検出頻度の高かったA群 *Streptococcus* は、B群 *Streptococcus* の検出数が増大したことによって第5位に位置した。一部の報告事例の精査から、A、B群の検出順位の逆転現象は、B群 *Streptococcus* が小児科や内科の呼吸器系疾患のみならず広範な診療領域の非呼吸器系疾患の検査材料から多数分離されたことと菌検索への供試頻度も高くなったことが要因であろうと推察された。感染症情報における溶連菌感染症の患者数と検出情報のA群 *Streptococcus* の分離数がほぼ一致し、両者の年間の推移も酷似するパターンが確認されたことから、溶連菌感染症の大部分はA群 *Streptococcus* に起因するものと判断された。

書式記載指定外の菌種を含めた莫大な数の検出情報には日和見感染に関連する事例が多数存在するであろうと推察されるが、菌検出数の累計と推移の観察のみの現状では日和見感染症等の詳細な解析や要因の追究までに至らない。今後は従来の菌検出数のみならず、その検査材料や患者情報を組み込んだ情報収集機能の一層の改善が要望されるところである。

本事業は、県内の病院及び臨床検査センターの検査担当者で構成する広島県臨床細菌研究会との共同研究体制にあるが、検出情報の収集、解析、還元及び蓄積の担当機関となっている広島県衛生研究所の研究業務として報告させていただいた。全面的な協力を賜った細菌担当者各位の氏名を末尾にまとめて記載し、併せて深甚なる感謝の意を表します。

## 文 献

- [1] 微生物検査情報システム化に関する研究班(1980) : 病原微生物検出情報 (月報), 1, 1—12.
- [2] 微生物検査情報システム化に関する研究班(1981) : 病原微生物検出情報 (月報), 22, 18—19.
- [3] 微生物検査情報システム化に関する研究班(1983) : 病原菌検出状況報告書書式3の変更について.
- [4] 国立予防衛生研究所・病原微生物検出情報事務局 (1987) : 病原微生物検出報告書記入の手引き (改正4).
- [5] 西尾隆昌, 中森純三, 宮崎佳都夫, 松尾権一, 小玉大, 土井秀之 (1976) : *Salmonella havana* : その産院関連新生児集団感染症. 広島県衛生研究所・公害研究所研究報告, 23, 29—36.
- [6] 西尾隆昌, 中森純三, 宮崎佳都夫, 相坂忠一, 榎坪慎一, 渡辺陽子, 梶山啓子, 土井秀之, 矢口博美, 阿津地秋子, 横田和子, 浜中美紗子 (1978) : 広島地方のサルモネラ症: 散发患者の急増とその実態把握の必要性. 臨床と細菌, 5, 169—177.
- [7] 広島県臨床細菌研究会 (1983) : 広島地方のサルモネラ症: 1978—1982年の散发患者発生状況. 臨床と細菌, 10, 227—235.
- [8] 広島県臨床細菌研究会 (1984) : 広島県内医療機関における病原細菌検出状況(1982—1983年). 広島県衛生研究所研究報告, 31, 25—30.
- [9] 宮崎佳都夫 (1987) : 広島県内医療機関における病原細菌検出状況(1984—1986年). 広島県衛生研究所研究報告, 34, 17—25.
- [10] 広島県環境保健部 (1987) : 広島県感染症サーベイランス事業報告書, 5, 20—25.
- [11] 広島県環境保健部 (1988) : 広島県感染症サーベイランス事業報告書, 6 (印刷中).
- [12] 広島県環境保健部環境衛生課 (1987) : 環境衛生業務概況 (昭和62年度), 74—90.
- [13] 広島県環境保健部環境衛生課 (1988) : 環境衛生業務概況 (昭和63年度), 74—93.
- [14] 宮崎佳都夫, 中森純三, 西尾隆昌 (1979) : サルモネラ症散发患者の実態把握. 日本公衛誌, 26 (10 : 特別付録), 478.
- [15] 宮崎佳都夫, 中森純三, 西尾隆昌 (1980) : サルモネラ症散发患者の実態把握(II). 日本公衛誌, 27 (10 : 特別付録), 557.
- [16] 西尾隆昌 (1979) : 細菌性食中毒20年の軌跡. 広島大学医誌, 27, 217—234.
- [17] 厚生省生活衛生局食品保健課 (1986) : 昭和60年食中毒発生状況. 食品衛生研究, 36, 61—88.
- [18] Maddeley, C.R., Cosgrove, B.P. (1986) : Calicivirus in man. Lancet, 1, 199—200.

- [19] 大瀬戸光明, 田中 健, 奥山正明, 近藤玲子, 高見俊才, 園田俊郎, 石丸啓郎 (1982): 小児の急性胃腸炎に関連して検出される種々のウイルス粒子について. 愛媛県衛生研究所年報, 43, 11-16.
- [20] 春日邦子, 山辺靖子, 酒井利郎, 海保郁男, 時枝正吉, 内村真佐子. 市村 博, 福田トヨ子, 鈴木和夫, 太田原美作雄 (1986): 急性胃腸炎患者からのロタウイルスの検出. 千葉県衛生研究所研究報告, 8, 1-5.
- [21] 国立予防衛生研究所・厚生省保健医療局疾病対策課結核感染症対策室 (1989): 病原微生物 検出情報 (月報), 110, 1, 20.
- [22] 国立予防衛生研究所・厚生省保健医療局疾病対策課結核感染症対策室 (1989): 病原微生物 検出情報 (月報), 114, 1, 20.
- [23] 西尾隆昌, 国本幹雄, 菅波真次, 辻徹太郎, 小玉大 (1975): 輸入サルを介しての赤痢罹患: その疫学的背景と細菌学的解析. 広島県衛生研究所・公害研究所研究報告, 22, 17-21.
- [24] 中森純三, 宮崎佳都夫, 西尾隆昌, 辻徹太郎, 松尾権一, 小玉 大, 土井秀之, 田村和満, 坂崎利一 (1976): 愛玩“ミドリガメ”関連サルモネラ症一わが国初の確認事例とその疫学的背景一. 臨床と細菌, 3, 88-94.
- [25] 西尾隆昌, 宮崎佳都夫, 中森純三 (1979): 愛玩用ヤドカリの *Salmonella* の排出. メディアサークル, 24, 139-143.
- [26] 春日 斉 (1986): 輸入魚介類のコレラ菌汚染. 食品衛生研究, 36(9), 47-53.
- [27] 国立予防衛生研究所・厚生省保健医療局疾病対策課結核感染症対策室 (1989): 病原微生物 検出情報 (月報), 111, 1, 24.
- [28] 国立予防衛生研究所・厚生省保健医療局疾病対策課結核感染症対策室 (1989): 病原微生物 検出情報 (月報), 116, 1, 24.
- [29] 国立予防衛生研究所・厚生省保健医療局疾病対策課結核感染症対策室 (1989): 病原微生物 検出情報 (月報), 114, 3-4.
- [30] 国立予防衛生研究所病原微生物検出情報事務局 (1989): 病原菌検出状況報告書(書式3)の変更について.
- [31] 国立予防衛生研究所病原微生物検出情報事務局 (1989): 病原微生物検出報告書・書式3-B (医療機関集計)改定「案」および書式3作成要領「案」.

共同研究機関および担当者  
(広島県臨床細菌研究会)

マツダ株式会社マツダ病院臨床病理研究検査科  
山田純子, 宇野正昭, 有馬愛子, 直良有美,  
中村峰子, 山本富士子  
広島大学医学部附属病院中央検査部  
板羽秀之, 石田昌子, 小野寺一, 小田サキ子  
広島赤十字病院検査部  
西村昭一, 小原忠博  
県立広島病院第1研究検査科  
池田美佐子, 室木邦生, 桑原正雄  
社会保険広島市民病院臨床検査部  
浜中美紗子, 熊谷和子, 佐々木恵美, 小山秀樹  
広島市立安佐市民病院臨床検査部  
重光昌信, 沖土井道栄, 永富陸美  
広島市立舟入病院検査科  
楨坪慎一, 兼丸幸典, 古谷和男  
広島鉄道病院中央検査室  
鬼村賢太郎, 羽原富夫  
広島市医師会臨床検査センター  
山崎雅昭, 松本道雄, 三浦辰三郎  
広島医療生活共同組合広島共立病院臨床検査科  
香西幸恵  
広島県厚生農業共同組合連合会 広島総合病院臨床検査科  
林田静枝, 長尾幸江  
安芸地区医師会臨床検査センター  
倉内和子  
国立療養所広島病院臨床検査科  
寺谷一男  
国立療養所賀茂病院研究検査科  
楠田雅夫  
国立呉病院臨床検査科  
土井秀之, 河野通子, 下中秋子  
国家公務員共済組合連合会総合病院呉共済病院中央検査科  
藤原由紀子, 青木洋二, 神田鈴子  
労働福祉事業団中国労災病院中央検査科  
松原 薫, 小河直子, 赤沢富士男, 川本君恵,  
鈴置聖美, 山口邦夫, 片岡美由紀  
呉市医師会臨床検査センター  
神田洋子, 中本千代美, 和田真由美  
三原赤十字病院臨床検査部  
沢田淳子, 三藤 孝

広島県衛生研究所研究報告 No.36 (1989)

総合病院三菱三原病院臨床検査科

渡辺孝好

三原市医師会臨床検査センター

奥野敏子, 山下美枝, 中島久美子

広島県厚生農業共同組合連合会尾道総合病院臨床検査科

開原碩士

尾道市市民病院

堀井寿子, 村上多弘

公立学校共済組合中国中央病院臨床検査科

池田妙子

国立福山病院研究検査科

福永政司

福山市市民病院臨床検査科

山村めぐみ, 三甲野久美子, 栗原俊雄, 増田恵子,  
林加代子

福山市医師会臨床検査センター

後藤 正, 山本幸治, 寺岡尚美

日本鋼管福山病院臨床検査科

小倉康晴, 佐々木善宏, 池田洋子

広島県厚生農業共同組合連合会府中総合病院臨床検査科

久保井範幸, 池上ミキ

公立みつぎ病院

国友孝幸, 山内 誠

双三中央病院検査科

佐々木隆義

広島県衛生研究所生物学部

宮崎佳都夫, 柳 美代子, 武井直己



## 広島県における日本脳炎中和抗体 保有状況調査—1988年

高尾 信一\* 妹尾 正登\* 徳本 静代\*  
武井 直巳\*

### Seroepidemiological Survey of Neutralizing Antibody Against Japanese Encephalitis Virus in Hiroshima Prefecture—1988

SHINICHI TAKAO\*, MASATO SENO\*, SHIZUYO TOKUMOTO\*  
AND NAOMI TAKEI\*

(Received Nov. 6, 1989)

#### はじめに

厚生省の日本脳炎流行予測調査は、1965年に全国的規模で開始されて以来、短期的な流行予測を目的として、肥育豚を用いた感染抗体保有状況や新鮮抗体出現を追跡する感受性調査が、また長期的なそれとしては、日本脳炎ウイルス感受性者の動向の把握を目的として、ヒトの抗体保有状況を測定する感受性調査が、それぞれ継続して実施され、わが国における日本脳炎対策に重要な役割を果している。

本県においては、感染源調査を厚生省の流行予測事業の一環として毎年7～9月に実施し、県内住民を対象とした感受性調査(中和抗体保有状況調査)については、県独自の調査事業として1974年から開始し、1982年以降は隔年ごとに実施して感染源や感受性者の動向を監視している。1988年は感受性調査の年に当たり、県内住民の感受性調査を実施した。また1989年からは、1954年の日本脳炎ワクチン開始以来一貫して用いられて来た中山-予研株ワクチンが、Beijing-1株ワクチンへと変更されることになった〔1〕ので、一部の血清については、従来か

ら感受性調査に用いて来た JaGAR#01株に対する中和抗体価(抗体価)とともに、この Beijing-1株に対する抗体価も測定し、両株に対する抗体価を比較したので、その成績も含めて1988年の本県における日本脳炎中和抗体(抗体)保有状況について報告する。

#### 材料および方法

1. 血清：前回の調査〔2〕と同様に、県内の三つの地区(西部：音戸町・倉橋町、東部：沼隈町、北部：君田村)ごとに、同一地区に3年以上在住している住民について、20～29歳(20歳代)、30～39歳(30歳代)、40～49歳(40歳代)、50～59歳(50歳代)、60歳以上の各年齢層から20名ないしそれ以上を対象に合計311名から1988年5～6月に採血した。

2. 抗体価の測定：中和試験は、これまでと〔2〕同様に、予研法〔3〕に従って鶏胎児初代細胞を用いた50%ブラック中和法を実施した。抗原として JaGAR#01株を全ての被検血清に用い、さらに一部の血清についてはウイルス株間による抗体価の相異をみる目的で、Beijing-1株に対する抗体価も測定した。抗体価の算定に際しては、チ

\* 広島県衛生研究所：Hiroshima Prefectural Institute of Public Health

ヤート法〔4〕により各血清1希釈について中和を行い、プラック減少率が10~90%にあるものについて抗体価を算定した。減少率90%以上のものは、希釈を変えて再試験を行い、また抗体価10倍未満(<1:10)のものについても再試験を行って、それを確認した。抗体価 $\geq$ 10のものを抗体陽性として取り扱った。

実験成績

1. 抗体保有状況および平均抗体価の推移：地区別、年齢層別の JaGAR#01 株に対する抗体保有率(抗体価 $\geq$ 1:

10 $\cdot$  $\geq$ 1:40) および全例の平均抗体価(幾何平均値: G.M.)について、それぞれ表1と図1に一括して示した。

抗体価 $\geq$ 1:10での保有率をみると、東部では20歳代および30歳代が、西部・北部では20歳代~50歳代が、いずれも70%以下と低く、特に西部の30歳代と北部の40歳代では、ともに40%と他の年齢層に比べて極めて低率であった。東部では20歳代の60%が最低で、加齢とともに高い抗体保有率を示した。

同様のことを抗体価 $\geq$ 1:40でみると、西部の30歳代や北部の40歳代でみられた抗体保有率の谷は、より明瞭

表1 地区別、年齢階層別日本脳炎中和抗体保有状況および平均抗体価

年齢階層(歳)	西部				東部				北部				合計			
	検査数	抗体保有率(%)		G.M.	検査数	抗体保有率(%)		G.M.	検査数	抗体保有率(%)		G.M.	検査数	抗体保有率(%)		G.M.
		$\geq$ 1:10	$\geq$ 1:40			$\geq$ 1:10	$\geq$ 1:40			$\geq$ 1:10	$\geq$ 1:40			$\geq$ 1:10	$\geq$ 1:40	
20~29	24	50.0	41.0	16	20	60.0	35.0	13	20	50.0	40.0	12	64	53.1	39.1	13
30~39	20	40.0	10.0	6	20	70.0	45.0	20	20	65.0	35.0	14	60	58.3	30.0	12
40~49	27	63.0	40.0	23	20	75.0	65.0	55	20	40.0	30.0	8	67	59.7	44.8	21
50~59	20	65.0	60.0	41	20	95.0	85.0	94	20	70.0	55.0	38	60	76.7	66.7	52
$\geq$ 60	20	80.0	65.0	61	20	100.0	100.0	244	20	80.0	75.0	85	60	86.7	80.0	108
計	111	59.5	43.2	22	100	80.0	66.0	50	100	61.0	47.0	21	311	66.6	51.8	28

G.M.: 抗体価の幾何平均値(抗体価10倍未満の例も含めて算出)

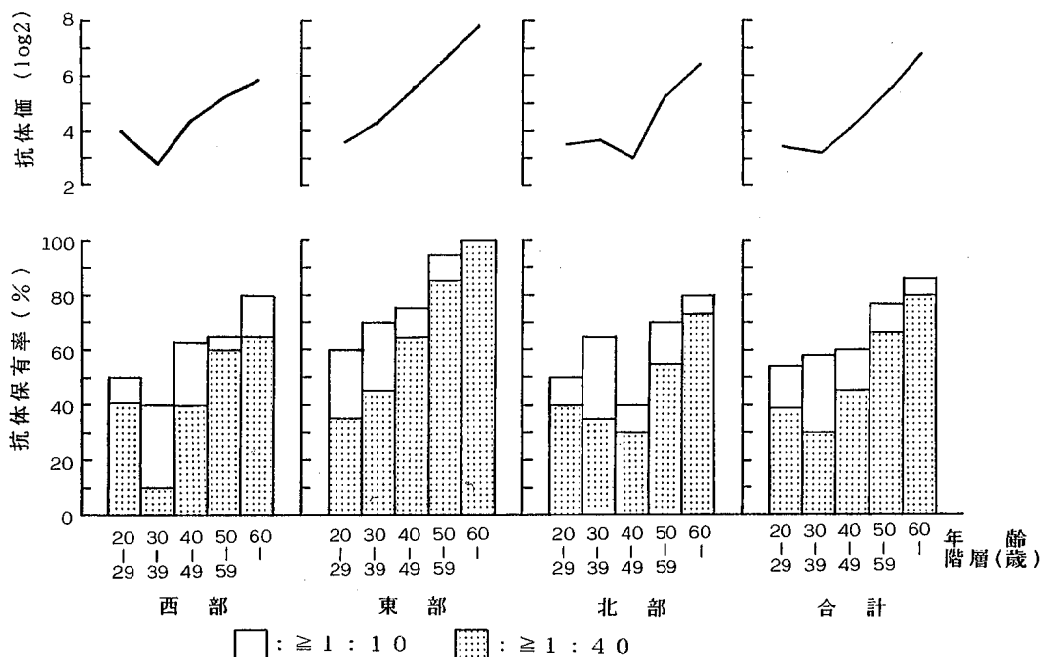


図1 地区別、年齢階層別日本脳炎中和抗体保有状況および平均抗体価

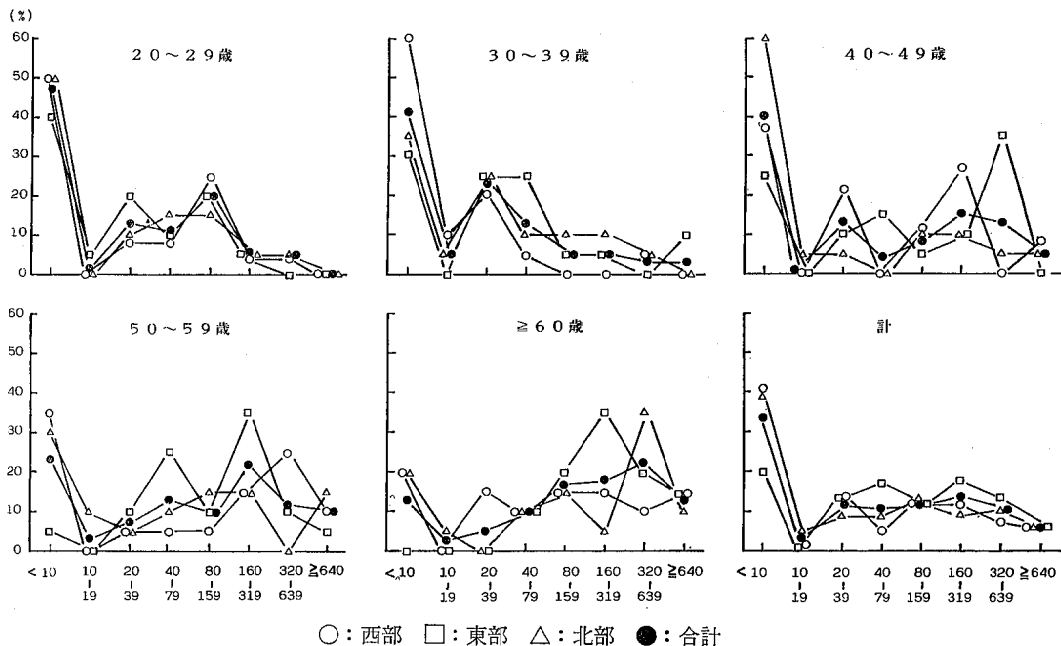


図2 年齢階層別中和抗体価分布状況

となった。また西部の30歳代および40歳代，東部の20歳代および30歳代，北部の30歳代では $\geq 1:10$ での抗体保有率に比べて $\geq 1:40$ での抗体保有率が大幅に低く，このことからこれらの年齢層においては， $\geq 1:10$ の抗体保有者であっても $\geq 1:40$ を保有する者の割合は少ないことが示された。

G.M. の推移に関しては $\geq 1:40$ でみた抗体保有率の推移とよく相関しており，西部の30歳代，北部の40歳代では，いずれも G.M. が10以下と極めて低かった。

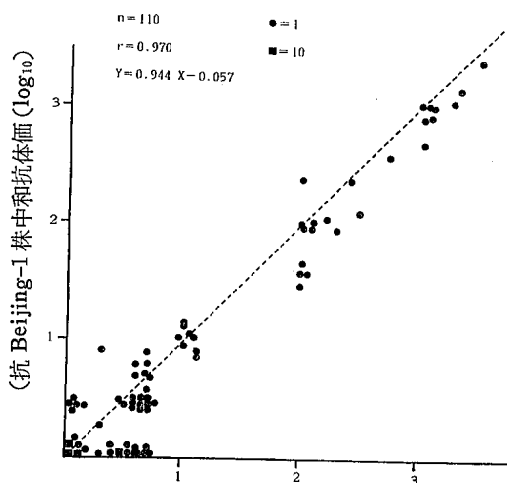
各地区を合計した県内全体（合計）では，20歳代および30歳代が抗体保有率，G.M. とともに最も低かった。

2. 抗体価の分布状況：JaGAR#01株に対する抗体価の分布状況を，各年齢層ごとに地区別に図2に示した。

これから年齢層別の抗体価分布パターンをみると，特に40歳以上の年齢層では地区によって抗体価の分布状況に若干のばらつきは認められるものの，各年齢層でそれぞれ異なる分布パターンを示した。すなわち20歳代では，抗体陽性者の抗体価は，抗体価1:80~1:159をピークとして，その前後に分布し，30歳代では，この分布のピークは1:20~1:39で，20歳代のそれと比べて，より低い価の側へと移動した。一方40歳代では，抗体価1:20~1:39のところにな小さなピークを作る他に，1:160~1:319の高い抗体価のところにもピークが認めら

れ，50歳代，60歳代以上の年齢層では，1:160~に319，あるいはそれ以上の高い抗体価を中心とした分布パターンを示した。

3. JaGAR#01株とBeijing-1株に対する抗体価の比較：JaGAR#01株とBeijing-1株とを，それぞれ抗原とし



抗 JaGAR#01株中和抗体価 (log<sub>10</sub>)  
 図3 JaGAR#10株とBeijing-1株に対する中和抗体価の比較

た場合の抗体価を比較する目的で、各地区、各年齢層の血清のうちで、JaGAR<sup>#01</sup>株に対する抗体価が： $<5$  79検体、 $\geq 1 : <5 \sim 1 : 15$  8検体、 $\geq 1 : 100 \sim < 1 : 1000$  14検体、 $\geq 1 : 1000$  9検体の合計110検体について、Beijing-1株に対する抗体価を測定し、JaGAR<sup>#01</sup>株のそれと比較した成績を図3に示した。

その結果、両株に対する抗体価の間には、有意の相関が認められた(相関係数  $r = 0.970^{**}$  ( $p < 0.01$ ), 回帰直線  $Y = 0.944X - 0.057$ )。また抗体価  $1 : 100 \sim 1 : 1000$ 前後の高い抗体価の域では、JaGAR<sup>#01</sup>株の方が Beijing-1株より、やや高め抗体価を示す傾向がみられたものの、両株に対する抗体価には大きな差は認められなかった。

## 考 察

わが国における日本脳炎患者の発生は、1967年頃から急激に減少し始め、1977年には過去最低の5名となった[5]。1978年以後は再び西日本を中心に増加の傾向が認められたものの大きな流行には至らず、その後の患者発生は毎年20~80名程で小康状態を保っている[5, 6]。

一方感受性者の動向については、1988年の厚生省伝染病流行予測調査報告書(報告書)[7]によると、日本脳炎ウイルスに対して相対的に免疫の低い年齢層は、1970年代には15~19歳であったものが、1985年には20~29歳に、さらに1987年の調査では30~39歳へと移行し、年々20歳代および30歳代での免疫低下が顕著になっていることが指摘されている。本県における今回の調査でも20歳代および30歳代での抗体保有率や保有抗体価は、他の年齢層に比べて低く、前記報告書[7]にある全国的な傾向と一致し、本県でもこれらの年齢層が日本脳炎ウイルスに対する免疫の谷となっていることは間違いない。

抗体価の分布状況を見ると、20歳代、30歳代では  $1 : 80 \sim 1 : 159$  ないしそれ以下の比較的低い抗体価の域に分布ピークがあるのに対し、40歳代以上の年齢層では  $1 : 160 \sim 1 : 319$  ないし、それ以上の高い抗体価の域に分布ピークがみられた。さらに20歳代、30歳代での抗体価の分布状況には、地区によるばらつきが少ないのに対し、40歳代以上では、地区によりかなりばらつきがみられることからみて、20歳代、30歳代が保有している低い価の抗体は、主としてワクチン接種によって獲得したものであり、40歳以上の年齢層が保有している高い価の抗体は、主として過去における自然感染によって獲得、あるいはその後の追加ワクチン接種によって修飾されたものと考えられる。しかしいずれの方法で獲得した抗体であ

っても、現在のように日本脳炎ウイルスの散布が希薄化している状況下では[5]ワクチンの追加接種が無い限り、一度は獲得した抗体も徐々に低下することは避けられず[8]、ますます20歳代、30歳代における日本脳炎ウイルスに対する免疫低下が進むものと予想される。これらの年齢層における免疫低下は、当人のみの感染の危険にとどまらず、これらの年齢層が出産の主たる年齢層であるために、母親からの移行抗体を持たない新生児の数が増加することも予想され、その児らは生後直後から感染の危険にさらされる可能性もある[9, 10]。実際に本県においても1987年には1歳の幼児に真性患者の発生をみている[7]。これらの問題を解決する手段としては、千々和[11]や馬場[9]らが指摘するように、ワクチン接種年齢の再検討を行い、母親となる年齢層へのワクチン接種率を上げる予防策も重要と考えられる。

一方このワクチン接種に関しては、近年国内各地で分離される日本脳炎ウイルスの野生株が、1954年の開発当初からワクチン株として用いられて来た中山-予研株とは、抗原的にかかなりな違いがあることが判明し[12]、そのため1989年からは Beijing-1株が新たなワクチン株として使用されることになった[1]。この Beijing-1株ワクチンは、これまでの中山-予研株ワクチンに比べて、より交叉反応性が強く、かつ高い抗体価を獲得できるとされている[1, 13]ので、Beijing-1株ワクチン接種によって、先に指摘した20歳代および30歳代での免疫低下の進行が、いく分かでも鈍化することが期待される。

今回一部の血清については、従来から実施している JaGAR<sup>#01</sup>株に対する抗体測定に加えて、Beijing-1株に対する抗体価についても、同様の50%ブランク中和法で測定したが、両株に対する抗体価には大きな差は認められなかった。このことは、JaGAR<sup>#01</sup>株と Beijing-1株との抗原性が比較的類似しているためなのか、あるいは今回の調査対象はすべて20歳以上であることから、ワクチン接種や過去の自然感染によって、一度は何らかの基礎免疫は獲得していると考えられるので、ウイルスの反復抗原刺激により、異なる抗原性を有するウイルス株に対する抗体も共上がりし、その結果株間の抗体価に差がみられなくなったことも考えられるので、この点はさらに検討が必要と思われる。

日本脳炎ウイルスの拡がりやコントロールする実施可能な手段は未だに見出されていない[7]ので、一時期希薄となったウイルスが将来再び活発な動きを見せる可能性も否定できない。その兆候を確認する手段としては、

現在のところ媒介蚊の発生状況と感染源の監視以外にはないが、媒介蚊については薬剤耐性の獲得によってユガタアカイエカの発生が急増していると言われており〔14〕、また感染源となるブタの汚染も全国的に拡大しつつある〔6, 15〕。さらに海外でも最近東南アジアの各地では、大きな流行が毎年繰り返されている〔16〕。このような状況からみて、わが国においても今後日本脳炎の流行が再び活発化し、大きな流行につながる恐れもあるので、媒介蚊の発生やブタ汚染状況の推移等を監視するとともに、より長期的な観点からの感受性者の動向を把握しておくことは、今後ますます重要になるものと考えられる。

### ま と め

広島県の日本脳炎中和抗体保有状況調査計画に基づいて1988年に県内三地区（西部、東部、北部）の住民311名を対象として、50%ブラック中和法によって中和抗体保有状況を調査した。

1. 抗体価 $\geq 1:10$ での保有率では、西部の30歳代、北部の40歳代が、ともに40%と低く、東部では20歳代が60%で、それぞれの地区における保有率の谷を形成していた。県全体の合計では20歳代および30歳代で保有率が低かった。
2. 抗体価のG.M.でも、20歳代および30歳代での価が低かった。
3. 抗体価の分布状況では、20歳代が抗体価 $1:80 \sim 1:159$ に分布ピークがあるのに対し、30歳代ではこれより低い $1:20 \sim 1:39$ にピークがみられた。40歳代以上では再び $1:160 \sim 1:319$ ないしそれ以上の高い抗体価へとピークが移動した。
4. 一部の血清について、JaGAr<sup>#01</sup>株とBeijing-1株に対する中和抗体価を比較したが、両株間の抗体価には大きな差はみられなかった。

### 文 献

- 〔1〕 厚生省保健医療局疾病対策課(1986)：〈情報〉日本脳炎ワクチン株の変更。病原微生物検出情報，10(6)，3—4。
- 〔2〕 高尾信一，妹尾正登，瀬川和幸，徳本静代，武井直巳(1987)：広島県における日本脳炎中和抗体保有状況調査—1986年。広島県衛生研究所研究報告，34，7—11。
- 〔3〕 水谷裕油(1967)：ウイルス実験学各論。P. 147—154，国立予防衛生研究所学友会編，東京，丸善。
- 〔4〕 日本脳炎ワクチン研究会(1967)：日本脳炎ワクチン研究会報告集(2)，5—10。
- 〔5〕 大谷 明(1979)：日本脳炎の最近の趨勢。小児科，20(7)，665—669。
- 〔6〕 厚生省公衆衛生局保健情報課(1984)：〈特集〉最近の日本における日本脳炎。病原微生物検出情報，50，1—20。
- 〔7〕 厚生省保健医療局結核・感染症対策室，国立予防衛生研究所血清情報管理室(1988)：昭和62年度伝染病流行予測調査報告書，76—81。
- 〔8〕 武井直巳，徳本静代，瀬川和幸，寺上正人(1982)：高等学校生徒における日本脳炎中和抗体の維持状況について。感染症学雑誌，56(11)，1003—1011。
- 〔9〕 馬場純一，門司慶子，佐藤泰敏，精松洋一，石原理生，吉本雅彦，坂本雅子，西岡和男(1988)：日本脳炎ワクチン未接種児における中和抗体保有状況，福岡市衛生試験所報，13，31—36。
- 〔10〕 中山哲夫，浦野 隆，小佐野満，渡辺浩志，巖小傑，牧野 慧，吉岡勇雄，相沢主税(1987)：東京都心部住民における日本脳炎ウイルス中和抗体保有状況。感染症学雑誌，61(7)，802—809。
- 〔11〕 千々和勝己，武原雄平，高橋克己，森良一(1982)：日本脳炎ウイルスの中和抗体の年齢層別分布について。臨床とウイルス，10(1)，75—78。
- 〔12〕 小林 譲，長谷川均，小山 孝，玉井伴範，城口朝雄(1983)：モノクローナル抗体による日本脳炎ウイルスの免疫学的性状の解析。感染症学雑誌，57(6)，519—530。
- 〔13〕 北野忠彦，大谷 明，深井孝之助，南谷幹夫，竹内可尚，植田浩司，喜多村勇，中村 健，木村三生夫(1986)：日本脳炎中山株ワクチン，Beijing-1株ワクチンのマウス免疫血清による抗体産生能の比較とBeijing-1株ワクチンの野外試験。1986年ウイルス学会抄録(福岡)，79。
- 〔14〕 渡辺 護，上村 清(1984)：最近のコガタアカイエカの多量発生と殺虫剤抵抗性について。富山県衛生研究所年報，7，33—37。
- 〔15〕 中村 肇(1984)：近年の日本脳炎ウイルスの動向。日生研だより，30，6。
- 〔16〕 福永利彦(1985)：東南アジアにおける日本脳炎の疫学，臨床とウイルス，13(2)，135—143。

## 広島県における神経芽細胞腫マス・スクリーニングについて (第3報)

—昭和59～63年度の成績—

水田 満里\* 瀬川 和幸\*\* 武井 直巳\*  
積山 幸枝\* 海佐 裕幸\*

### Mass Screening of Neuroblastoma in Hiroshima Prefecture

MARI MIZUTA, KAZUYUKI SEGAWA, NAOMI TAKEI,  
SACHIE TSUMIYAMA AND HIROYUKI UMISA

(Received Nov. 14, 1989)

#### はじめに

神経芽細胞腫は小児悪性腫瘍の中でも白血病に次いで多く、そのうえ極めて予後の悪い疾病である。しかし1歳くらいまでに発見し、治療を行えば大部分治癒できると言われている。

この腫瘍はカテコールアミン産生腫瘍であるため、尿中にこの終末代謝物であるバニールマンデル酸(VMA)やホモバニリン酸(HVA)等が多量に排出される。これらを指標として本症の早期発見のマス・スクリーニング法が沢田[1]らによって開発され、昭和60年1月からは、厚生省の行政施策として、ほぼ全国的規模で実施されるようになった。

広島県でも、神経芽細胞腫検査事業実施要領に基づき、昭和60年1月からスクリーニングを開始した。マス・スクリーニングの方法は、初回検査でVMAの定性法を実施し、再検査でVMA、HVAを高速度液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定する定量法を実施した。その結果、昭和63年度までの4年3か月の間で、本症の患者が11名発見された。

なお、全国的なマス・スクリーニング結果の集計が行われるにつれて、定性法と定量法で患者の発見率に違いがあることが指摘されるようになった[2]。そのため、最近では初回検査からHPLCによる定量法を実施する方向に変わりつつある。広島県でも、平成元年5月から全検体をHPLCによる定量法でスクリーニングをおこなうようになったので、昭和60年1月から昭和63年度までの検査実施状況と問題点を報告する。併せて、正常児のVMA、HVA値について知見を得たので報告する。

#### 材料および方法

##### 1. 検査対象児および採尿・送付方法

広島市を除く県内に在住する乳幼児を対象として、各市町村で実施される3～4か月検診時に、検査セット(ろ紙3枚、検体送付用ビニール袋、検査票、説明書、封筒)が保護者に配布される。生後6か月の時点で、保護者がオムツの間に挟んで採尿したろ紙(東洋ろ紙No. 63, 1.5×5 cm)尿が検査機関に送付された。ろ紙尿の送付方法は昭和60年度までは湿ったままを送付する方法によったが、昭和61年度から、乾燥させて送付する方法

\*: 広島県衛生研究所: Hiroshima Prefectural Institute of Public Health

\*\*現在広島県可部保健所: Present address: Hiroshima Prefectural Kabe Community Health Center

を採用した。

2. 検査機関

初回検査は、昭和59年度から昭和60年度まで、県内の12保健所（海田、廿日市、可部、東広島、竹原、三原、尾道、福山、府中、三次、庄原、呉市は昭和60年度から）でおこなったが、昭和61年度からは当県衛生研究所と3保健所（呉西保健所、海田保健所、福山保健所）で実施した。

再検査はすべて当県衛生研究所で実施した。

3. 検査方法およびスクリーニング方法

検査のフローチャートを図1に示した。初回検査はDIP法〔3〕を行った。DIP法ではVMAが10 μg/ml

以上を疑陽性とした。判定には必要に応じて、ろ紙尿の尿濃度簡易チェック法〔4〕を併用した。なおDIP法で疑陽性と判定されたものの一部はスポットフィルムを用いる薄層クロマトグラフィー法(TLC)〔5〕による定量法を実施した。その結果、疑陽性と判定されたものについては再採尿を依頼し再検査を行った。

再検査はHPLC法によるVMA、HVAの定量検査を行った。HPLC法の測定方法は表1に示した。クレアチニンの測定はFolin-Wu法に従った〔6〕。再検査の結果、カットオフ値を超えて疑陽性と判定されたものは、専門医療機関での精密検査を要請し、患者の確認をおこなった。

結果および考察

1. 地域別受検状況と患者数

保健所管内別の対象者数（前年度出生数）および検査数は表2に示した。昭和59年度の県域全体の受検率は60%であったが、63年度は78%となり受検率は年々上昇した。しかしながら、地域別（保健所管内）にみると、受検率は昭和63年度においても、66%の低い地域から92%の高い地域まで差がみられた。受検率の低い地域では、できるだけ受検してもらいように、保護者への啓蒙活動を行う必要がある。

患者は13地域のうち7地域で発見されたが、検査総数が少ないので、地域別の患者の発見率に差があるとは言えなかった。

2. 検査結果

昭和60年1月から平成元年3月末までの年度別の検査結果を表3に示した。

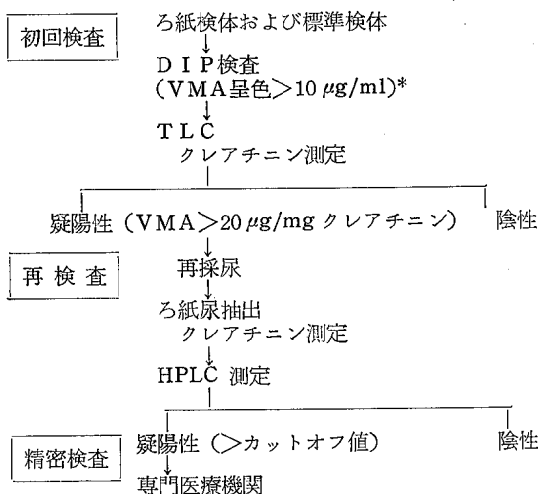


図1 検査のフローチャート

\* 必要に応じて尿濃度簡易チェック法併用

表1 HPLCによる測定条件

	測定法 1	測定法 2
カラム	Yanapak ODS-A(4.6 mm φ × 250 mm)	島津 Shim-Pack CLC-VMA
移動相	0.02 M リン酸-カリウム溶液 (pH 3.1, 0.05 mM EDTA 含む) : メタノール=(80:20)	5 mM 酒石酸:アセトニトリル=(97:3)
検出器	ヤナコ VMD-501 (アンペロメトリック)	ESA クーロケム Model 5100 A (クーロメトリック)
設定加電圧	+800 mV V.S.Ag/AgCl	Det. 1: 0.2V Det. 2: 0.25V
注入量	10 μl	10 μl
前処理	酢酸エチル抽出	直接法*
検査期間	昭和60年度-昭和62年度	昭和63年度

\* 蒸留水で超音波溶出



表2 地域別受検状況と患者数\*

年度	保健所	呉市	海田市	廿日市	大井	可部	東広島	竹原	三原	尾道	福山	府中	三次	庄原	総計
S59	対象者**	512	765	100	169	364	239	405	479	1,423	297	168	137	5,058	
	検査数	397	474	76	156	273	165	449	440	269	180	62	105	3,046	
	受検率(%)	78	62	76	92	75	69	111	92	19	61	37	77	60	
S60	対象者	2,434	1,974	1,625	360	662	1,432	930	1,581	1,783	5,611	1,100	682	492	20,666
	検査数	2,211	1,408	1,198	253	553	1,170	585	1,179	1,187	1,768	592	386	371	12,861
	受検率(%)	91	71	74	70	84	82	63	75	67	32	54	57	75	62
S61	対象者	2,323	1,856	1,541	320	631	1,417	876	1,504	1,795	5,472	1,030	651	520	19,936
	検査数	2,180	1,529	1,131	239	476	1,240	616	1,042	1,123	2,657	716	397	308	13,654
	受検率(%)	93	82	73	75	75	88	70	69	63	49	70	61	59	68
S62	対象者	2,241	1,914	1,498	331	631	1,438	868	1,425	1,617	5,136	1,027	696	457	19,279
	検査数	2,073	1,373	1,096	244	568	1,227	541	1,002	1,111	3,067	718	464	367	13,851
	受検率(%)	93	72	73	74	90	85	62	70	69	60	70	67	80	72
S63	対象者	2,196	1,842	1,361	304	641	1,380	788	1,437	1,523	5,013	1,001	657	425	18,568
	検査数	2,015	1,536	1,137	230	508	1,250	584	1,108	1,150	3,329	724	499	323	14,393
	受検率(%)	92	83	84	76	79	91	74	77	76	66	72	76	76	78
	対象者	9,194	8,098	6,790	1,415	2,734	6,031	3,701	6,352	7,197	22,655	4,455	2,854	2,031	83,507
	検査数	8,479	6,243	5,036	1,042	2,261	5,160	2,491	4,780	5,011	11,090	2,930	1,808	1,474	57,805
	受検率(%)	92	77	74	74	83	86	67	75	70	49	66	63	73	69
	患者	1	0	0	1	1	2	2	0	2	2	0	0	0	11
	発見率(1/人)	8,479	1,042	2,261	2,580	1,246	2,506	5,545							5,255

\*公衆衛生課母子保健係資料 \*\*前年度出生数

表3 神経芽細胞腫マス・スクリーニング検査結果

年 度	初回検査 数(人)	再検査者 数(人)	再検査率 (%)	精密検査 (人)	患者数 (人)
昭和59年度*	3,046	180	5.9	7	0
昭和60年度	12,861	851	6.6	6	1
昭和61年度	13,654	236	2.0	2	1
昭和62年度	13,851	137	1.0	2	2
昭和63年度	14,393	87	0.6	12	7
総 計	57,805	1,491	2.6	29	11

\* S60.1~S60.3 (患者発見率 5,255人に一人)

初回検査総数57,805人で、再検査率は2.6%であった。経年的に再検査率をみると、開始当初は再検査率(5.9%)は高かったが、年度を経るにつれて低くなり、63年度は0.6%であった。

このことは、検査機関の判定の精度が上がったことに加えて、DIP法は濃縮尿が疑陽性と判定されやすいので、再チェックにTLCによる定量検査を併用したことが再検査率の低下となったと考えられる。

再検査の結果、要精密検査者数は29人(0.05%)で、そのうち神経芽細胞腫と確認された患者は11人(0.019%；以上いずれも総数に対する割合)であった。年度別の発見数をみると、63年度がとくに多く、7名の患者が発見された。

### 3. 乾燥紙尿のVMA, HVA値とカットオフ値

正常児の乾燥ろ紙尿について、表1のクロマトリック検出器を使用して測定したVMA, HVA値のヒストグラムを図2に示した。クレアチニン補正したVMA,

HVA値の頻度分布は、ともに正規分布を示した。それぞれの平均値と標準偏差(S.D.)はVMAは11.2±2.6 μg/mgクレアチニンであり、HVAは17.9±4.6 μg/mgクレアチニンであった。平均値に2.5S.D., 3S.D.を加えた値はそれぞれVMAが17.7 μg/mgクレアチニン, 19 μg/mgクレアチニンで、HVAが29.4 μg/mgクレアチニン, 31.7 μg/mgクレアチニンであった。

スクリーニングでは一般的に平均値+2.5S.D.以上を異常値とするのが妥当であるとされているので〔7〕, それに従って、異常値としてのカットオフ値は平均値に2.5S.D.を加えた値を用いたが、発見された患者(表4)の中で低い値のVMA値は20 μg/mgクレアチニンであり、平均値+3S.D.よりも高い値であった。

乾燥したろ紙尿の測定値の頻度分布(図2)は変異の小さい分布型を示したが、これに比べて、前報〔8〕の湿ったろ紙尿を検体とした頻度分布は変異の大きい分布型であった。この分布型の違いは検体集団の良否によると思われる。

カットオフ値は検体集団の平均値や標準偏差値によって決まるので、検体集団の正規分布は尖度の高い分布型、すなわちS.D.が小さいほうが、false positiveも少なく、見逃しも少ないと考えられる。とくに、採尿方法や送付方法が悪いと、クレアチニンやVMAやHVAが低下することがあるので、このような検体は不良検体として排除しなければならない。しかしながら、不良検体が否かが判別出来ないケースも多いので、このような検体が含まれるとS.D.が大きくなるので注意しなければならない。

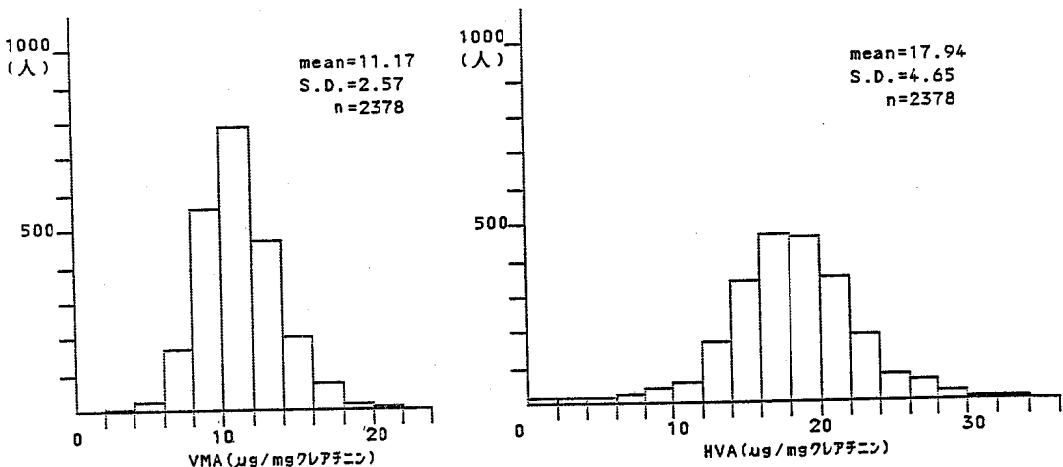


図2 乾燥ろ紙尿中のVMA, HVAのヒストグラム

表4 発見された患者のVMA, HVA値

症 例	スクリーニング時 月 齢	住 所	検査値*		病 期	
			VMA ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン)	HVA		
1**	男	7	福山市	75	75	ステージ III
2	女	7	因島市	128	64	ステージ III
3	男	7	呉市	83	66	ステージ I
4***	女	6	尾道市	282	218	ステージ III
5	男	7	福山市	58	66	ステージ I
6	女	7	賀茂郡	24	10	ステージ I
7**	女	7	竹原市	22	22	ステージ I
8	女	6	安芸郡	27	37	ステージ I-II
9	男	7	東広島市	57	76	ステージ I
10	男	8	豊田郡	20	14	ステージ II
11**	男	6	高田郡	20	20	ステージ III

\*精密検査依頼時の検査値 \*\*経過観察中腫瘍発見 \*\*\*術後9か月で死亡

#### 4. 発見された患者のVMA, HVA値と病期

再検査の結果、要精密検査者は29人であった。病院での精密検査の結果11人が神経芽細胞腫と診断され、全員が手術を受けた。患者の再検査時のVMA, HVA値と手術時の病期を表4に示した。11例の患者の内5例はVMA値が低い値の20-30  $\mu\text{g}/\text{mg}$  クレアチニン内であり、4例が50-100  $\mu\text{g}/\text{mg}$  クレアチニン内で2例が100  $\mu\text{g}/\text{mg}$  クレアチニン以上であった。11例の患者の病期はステージIが5例、ステージIからIIおよびIIが2例、そしてステージIIIが4例であった。ステージIVの患者はいなかった。このうち症例1, 7, 11は初回の精密検査時には腫瘍がみつからず、経過観察中に腫瘍が発見された。また、症例4はスクリーニング時および手術時の月齢が6か月の早期発見、早期治療の例であったがVMA, HVA値ともに高い値であり、術後9か月で死亡した。

#### 5. スクリーニング上の問題点

初回検査のDIP法はVMAの呈色反応であり、発色させた紫色の濃さを肉眼的にみて判定する方法である。検査法は簡便であるが、呈色反応は飲食物等の影響を受けやすく、ろ紙に含まれる尿量や尿の濃さに大きく影響される。すなわち、正常児でも尿が濃いものは疑陽性と判定されるケースが多く、反対にろ紙に尿が十分ついていないものや尿が薄い場合は患者でも見逃す危険性が高い等の欠点がある。

このDIP法の欠点を補うために、DIP法で判定した後、ろ紙中の尿の濃さを測定する尿濃度簡易チェック法を併用し、ろ紙に十分尿がついていないものや薄い尿の発色を見逃さないように注意した。また、尿が濃い

ために疑陽性と判定されるケースを防止するために、再チェックにTLCによる定量法を併用した。これらの検査を補足しても、DIP法による定性法は感度が低いことや判定が主観的であるなど検査法に限界があると思われる。

定量法では正常児の尿中のVMA, HVA量はクレアチニン量に比例することから、尿中にこれらが増量しているか否かを判定するために、クレアチニンで補正した値が使用される[9]。従って、採尿されてから検体が届くまでにVMA, HVAやクレアチニンが安定していることが必須条件であるが、中でもクレアチニンは判定を大きく左右する。これらの測定物質の安定性を保つために、ろ紙尿は乾燥して送付するようになっているが、湿ったままや生乾きで送付されるものもかなりあり、そのような検体では細菌によってクレアチニン値が低下していることが多かった[10]。また、乾燥ろ紙尿でも、クレアチニン値が低下していることがあるが、腐敗した尿を乾かしたことが原因であると思われる。これらは、尿で湿ったおしめに長い時間ろ紙をはさんでいたり、乾くまでに時間が経ったりしたことが、腐敗の原因と思われる。

尿が腐敗してクレアチニンが低下した検体では、クレアチニンの補正の誤差が生じて、VMA, HVAが異常高値となった[11]。クレアチニンの分解の程度は様々で、クレアチニン値が異常に低いものはクレアチニンの分解を推測できるので再採尿等の対応ができる。しかし、なかには分解しているか否かが不明のものもあり、精密検査を要請したが患者ではなかったものに、このような例が多く含まれていたと思われる。

採尿方法や送付方法の如何によって検査結果が左右されることのないスクリーニング方法を今後も探索していく必要がある。とくに、再検査のための検体は、ろ紙尿ではなく、新鮮な生尿を得ることができるようなシステムを考えることが必要である。

### ま と め

広島県における神経芽細胞腫のマス・スクリーニングの結果、過去4年3カ月の間に57,805人の検査が行われ、11人の患者が発見された。患者発見率は5,255人に1人の割合であった。全国的な患者発見率は初回検査が定性法で20,308人に1人、HPLCによる定量法で7,660人に1人であったと報告されている[12]。本県の発見率は定量法の発見率に近かったが、これは昭和63年度に7人が発見されたことで数値的に高くなったものと思われるので、患者の発見率と発生については今後の長期的なスクリーニング結果から考察する必要がある。

最近では全国的に初回検査からHPLCによる定量法を導入する方向に変わりつつあるので、今後はより精度の高いスクリーニングの成果が期待される。

稿を終えるにあたり、このスクリーニングに御尽力いただきました各保健所等の関係の方々および資料の提供をして頂いた本庁公衆衛生課母子保健係の皆様へ深謝いたします。

### 文 献

[1] 沢田 淳, 戸沢隆彦, 東道伸二郎, 天野忠温, 田

- 井純子, 高田 洋, 今宿晋作, 楠智一(1978):日本小児外科雑誌, 14, 25—31.
- [2] 菊池和男, 土田泰雄(1987):小児科診療, 50, 1526—1531.
- [3] 母子愛育会編(1984):神経芽細胞腫マス・スクリーニング, P. 103—105. 東京, 大門出版.
- [4] 水田満里(1986):広島県衛生研究所年報, 21, 27.
- [5] 川上圭子, 中山年正(1984):臨床検査, 28, 491—497.
- [6] 恩賜財団母子愛育会編(1989):神経芽細胞腫マス・スクリーニング, P. 145, 東京, 恩賜財団母子愛育会.
- [7] 沢田 淳(1988):日本医事新報, 3350, 29—31.
- [8] 水田満里, 海佐裕幸(1986):広島県衛生研究所研究報告, 33, 41—44.
- [9] 高杉信男, 佐藤泰昌, 花井潤師, 辻 慶子, 田口武, 前田博之, 青木 環, 武田武夫(1985):日本医事新報, 3216, 28—32.
- [10] 水田満里, 海佐裕幸(1988):日本公衆衛生雑誌, 35, 179—183.
- [11] 水田満里, 瀬川和幸, 海佐裕幸(1988):広島県衛生研究所研究報告, 35, 19—23.
- [12] 恩賜財団母子愛育会編(1989):神経芽細胞腫マス・スクリーニング, P. 58, 東京, 恩賜財団母子愛育会.

## 油脂加工食品中の脂肪酸組成

穂下 誠彦\* 坂本 征則\*

## Fatty Acid Composition in "Oily Health Foods"

NOBUHIKO HOSHITA\* AND IKUNORI SAKAMOTO\*

(Received Nov. 20, 1989)

## はじめに

生体内の脂肪酸は高エネルギー源としての脂肪組織を形成しているばかりでなく、生体膜の構成成分であるリン脂質の成分として重要な生体機能に参与している。従って生体内の脂肪酸のバランスがくずれるといろいろな疾患が生じる。近年、食生活の西欧化に伴い血拴性疾患や動脈硬化症等が増加しているが、Dyerbergら〔1〕によりグリーンランドエスキモーに血拴症が少ないとの報告がなされて以来、魚油に含まれているエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) 等の高度不飽和脂肪酸に関心が寄せられている。これらの脂肪酸を含有する加工食品が市販されるようになり、食品中の脂肪酸組成を把握することが重要視されるようになってきた。

脂肪酸の分析はメチルエステルとしたのちガスクロマトグラフィ (GLC) により行なわれるのが一般的である。エステル化は従来よりジアゾメタン (DZM) による方法〔2〕、三フッ化ホウ素—メタノール (BF<sub>3</sub>) 法〔3〕及びナトリウムメチラート (NAM) 法〔4〕により行なわれているが、最近、DZM にわかるエステル化剤として市販されたトリメチルシリルジアゾメタン (TMSD) 〔5〕を用いたエステル化法により良い結果を得ることが出来た。又、GLC の分離管としてワイドボアキャピラリーカラムを用いて良好なガスクロマトグラムを得ることが出来た。この方法により市販の油脂加工食品及び食

用油中の脂肪酸分析を行ったので報告する。

## 実験方法

油脂約 500 mg に 10 ml の 2 N KOH/EtOH を加え 90°C で 1 時間ケン化を行った後、10 ml の蒸留水を加え室温で放冷した。この水溶液を 20 ml の n-ヘキサンで 2 回抽出した後、水層を 5 N HCl で酸性とし、n-ヘキサン 20 ml で 3 回抽出した。ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、減圧下で濃縮乾固し、次の方法でメチルエステル化を行った。i) ベンゼン:メタノール (7:2) 1 ml に溶解し、市販の TMSD (10% n-ヘキサン溶液) を 0.5 ml 加え室温に 30 分間放置した〔5〕。ii) エーテル 10 ml に溶解し、DZM のエーテル溶液を加え室温に 30 分間放置した後、窒素気流中で濃縮乾固し、酢酸エチルに溶解した〔2〕。iii) 市販の BF<sub>3</sub> (約 14% メタノール溶液) を 2.5 ml 加え 90°C で 2 分間還流した後、n-ヘキサン 5 ml を加えて更に 1 分間還流し室温で放冷した。この溶液に 10 ml の飽和食塩水を加え、n-ヘキサン 30 ml で 2 回抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、減圧下で濃縮乾固し酢酸エチルに溶解した〔3〕。iv) ベンゼン 1 ml に溶解し、市販の 0.5 N NAM を 2.5 ml 加え 80°C で 20 分間還流した後、室温で放冷した。この溶液に水酢酸 0.1 ml と蒸留水 5 ml 加え n-ヘキサン 30 ml で 2 回抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、減圧下で濃縮乾固し酢酸エチルに溶解した〔4〕。

\*広島県衛生研究所: Hiroshima Prefectural Institute of Public Health

GLC の分析条件は次のとおり，カラム：DB-WAX (φ 0.53 mm×30 m, J&W Sci. 社製)，カラム温度：150→230°C (5°C/min 昇温)，N<sub>2</sub>：7 ml/min，スクャベンジガス (N<sub>2</sub>)：30 ml/min，注入温度 260°C，ガスクロマトグラフは Yanaco G-3800 型 (FID 付) を使用した。

EPA 及び DHA のメチルエステルはシグマ社製，他の脂肪酸メチルエステルはガス工業社製の標準試料を購入して用いた。TMSD (10% n-ヘキサン溶液)，BF<sub>3</sub> (14% メタノール溶液) 及び NAM (0.5N) はガス工業社製を購入しそのまま使用した。他の試薬は片山化学の特級品を使用した。

### 結果及び考察

脂肪酸の定量分析はメチルエステルとしたのちに GLC により行なわれるのが一般的であるが，エステル化法にはいろいろな方法がありそれぞれに長所短所がある〔2～6〕。すぐ使用出来るように調整されている市販の三種のエステル化剤，TMSD，BF<sub>3</sub> 及び NAM，と DZM による方法との比較検討を行った。DZM 法〔2〕，BF<sub>3</sub> 法〔3〕及び TMSD 法〔5〕による食用油中の脂肪酸の分析値には殆んど差がなかった。しかし，BF<sub>3</sub> 法は抽出，脱水及び濃縮，又，DZM 法は未反応の試薬を除去し濃縮する操作を必要とするのに比べ，TMSD 法は未反応の試薬を除去する必要がなく，反応終了後すぐ GLC による分析が可能であり，DZM のように変異原性や爆発性の危険もなく，TMSD は簡便で有用なエステル化剤であった。又，BF<sub>3</sub> 法は前述のように操作が煩雑ではあるが，メチルエステル以外のエステル化剤，例えば BF<sub>3</sub>/EtOH や BF<sub>3</sub>/PrOH 等が市販されており，エチルやプロピルエステル等を必要とする時には有用な方法であろう。NAM 法は前記三法に比べ回収率が悪く再検討の必要があった。

二種の油脂加工食品中の脂肪酸の DB-WAX キャピラリーカラムによるガスクロマトグラムを図 1 に示した。A (下段) は魚油を，又，B (上段) は月見草をそれぞれ原料とした製品 (試料 A 及び B) である。C<sub>18</sub> の異性体相互の分離，又，EPA と C<sub>22:1</sub> の分離は非常に良好で，ベースラインの安定したクロマトグラムが得られた。又，unisole 3000 や PEG-20M 等のカラムを用いた分析時間より少なくして C<sub>12</sub>～C<sub>24</sub> の脂肪酸の分析を行うことが出来た。従って本報告では，TMSD 法によりメチル化を行ったのち DB-WAX カラムで分析を行った。

四種の油脂加工食品 (A～D) 及び二種の食用油 (E，

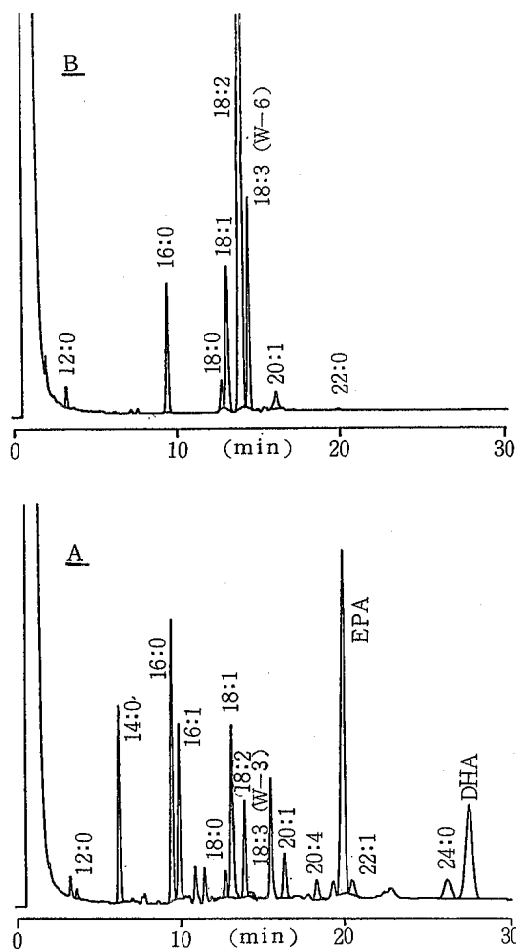


図 1 油脂加工食品のガスクロマトグラム  
A (下段)：表 1 の試料 A, B (上段)：表 1 の試料 B GLC 条件はテキスト参照。

F) の脂肪酸の分析結果を表 1 に示した。試料 A は魚油を原料とした製品で，EPA 及び DHA の組成比はそれぞれ 28.1% 及び 14.0% であった。EPA は伊予田ら〔7〕の報告したイワシ油やタラ油等より 2～3 倍多く含有されていた。又，DHA は若干多く，飽和脂肪酸含有量が約 1/2 であることから，精製・調整された製品であると思われる。なお，EPA 及び DHA の含有量は表示値のそれぞれ 81% 及び 95% であった。

試料 B は月見草油を原料とした製品で， $\gamma$ -リノレン酸 (C<sub>18:3(ω6)</sub>, GLA) を 9% 含有しており，原料油の脂肪酸組成比〔8〕と殆んど同じであった。又，主成分であるリノール酸 (LA) 及び GLA の含有量は表示値のそれぞれ 88% 及び 98% であった。試料 C 及び D は紅花

表1 各種油脂中の脂肪酸組成 (%)

脂 肪 酸	A	B	C	D	E	F
C <sub>12:0</sub>	0.4	0.7	0.2	0.2	—	—
C <sub>14:0</sub>	8.7	0.1	0.1	0.1	—	—
C <sub>16:0</sub>	14.0	5.8	7.0	6.2	9.1	10.1
C <sub>16:1</sub>	8.8	—	—	—	—	—
C <sub>18:0</sub>	1.2	1.3	2.0	1.5	5.7	3.0
C <sub>18:1</sub>	11.3	7.4	13.1	9.3	39.4	81.2
C <sub>118:2(LA)</sub>	4.8	74.2	74.6	80.5	45.6	5.7
C <sub>18:3(ω3)</sub>	0.5	—	0.4	0.2	—	—
C <sub>18:3(ω6)(GLA)</sub>	—	9.0	—	—	—	—
C <sub>20:0</sub>	—	—	—	—	0.3	—
C <sub>20:1</sub>	0.3	1.4	1.9	1.9	—	—
C <sub>20:4</sub>	1.4	—	—	—	—	—
C <sub>20:5(EPA)</sub>	28.1	—	—	—	—	—
C <sub>22:0</sub>	—	0.1	0.3	0.1	—	—
C <sub>22:1</sub>	1.0	—	0.2	—	—	—
C <sub>22:6(DHA)</sub>	14.0	—	—	—	—	—
C <sub>24:0</sub>	2.7	—	0.1	0.1	—	—

試料Aは黒油, Bは月見草, C及びDは紅花油を原料とした製品, 又, E及びFは食用油のゴマ油及びオリーブ油.

油を原料とし, 主成分であるLAのそれぞれの組成比は74.6%及び80.5%で, 文献値(74.2%)〔9〕と大差ない値であった. 試料B, C及びDの三種の製品はいずれも報告された原料油中の脂肪酸組成比と殆んど同じであり, 人為的に精製調整されていない製品であると思われる.

試料E及びFは市販の食用油のゴマ油及びオリーブ油の分析結果で, 両油とも原料油の組成比〔10, 11〕とほぼ同じであった.

ま と め

1. 油脂加工食品中の脂肪酸を測定するための分析法に

ついて検討を行った. 試料のメチルエステル化法としてはTMSDを用い, ワイドボアキャピラリーカラムDB-WAXを用いることにより, 簡易で精度良く脂肪酸を定量することが出来た.

2. 魚油を原料とした加工食品中のEPA及びDHAは28.1%及び14.0%(表示値の81%及び95%)であり, 人為的に精製調整された製品と推察された.

3. 月見草を原料とした製品中のLA及びGLAは74.2%及び9%で, GLAは表示値の98%であった. 紅花油を原料とした製品中のLAは74.6%及び80.5%であり, これら植物油を原料とした三種の製品は原料油の脂肪酸組成比とほとんど差はなかった.

文 献

- 〔1〕 J. Dyerberg, H.O. Bang, and N. Hjorne: Am. J. Clin. Nut., 28, 958 (1975).
- 〔2〕 H. Schlenk and J.L. Gellerman: Anal. Chem., 32, 1412 (1960)
- 〔3〕 日本油化学協会編: 基準油脂分析試験法(1978).
- 〔4〕 日本薬学会編: 衛生試験法注解(1980).
- 〔5〕 N. Hashimoto, T. Aoyama, and T. Shioiri: Chem. Pharm. Bull., 29, 1475 (1981).
- 〔6〕 D.R. Knapp, Handbook of Analytical Derivatization Reaction: John Wiley & Sons, (1979). p. 151.
- 〔7〕 伊予田潤子, 野口 駿: 家政学雑誌, 23, 452 (1972).
- 〔8〕 J.H. Lee, S. Taguchi, I. Ikeda, and M. Sugano: Agric. Biol. Chem., 52, 3137 (1988).
- 〔9〕 ガスクロデータ小委員会編: 油化学, 28, 433 (1979).
- 〔10〕 同上 : 同上, 27, 264 (1978).
- 〔11〕 同上 : 同上, 28, 378 (1979).

## 広島県で発生した *Klebsiella pneumoniae* (O2a:K27) によると推定された集団食中毒事例

小川 博美\* 得能 弘志\*  
佐々木 実己子\* 岸本 敬之\*

### An Outbreak of Diarrheal Disease Caused by *Klebsiella pneumoniae* (O2a:K27) in Hiroshima Prefecture.

HIROMI OGAWA, HIROSHI TOKUNO, MIKIKO SASAKI  
AND TAKASHI KISHIMOTO

(Received Oct. 4, 1989)

#### 諸 論

食中毒発生時の原因物質検索における細菌学的検索は、細菌学の進歩と共に対象細菌も増加し、1962年腸炎ピブリオ、1963年病原大腸菌、さらに1982年カンピロバクター等の5菌種がそれぞれ食中毒指定菌として追加された〔1〕。このように対象菌種の拡大が、食中毒原因菌究明の高率化をもたらした事は、その後の我国食中毒統計をみても原因不明率が急激に減少していることから明らかである〔2〕。しかし、それ以後においても食中毒指定菌以外の、いわゆる「その他の細菌」による集団食中毒事例の報告も多くみられる〔3-6〕。

私達は1985年5月に小、中学校の共同給食による集団食中毒事例で、その疫学調査、細菌学的及び血清学的調査結果から *Klebsiella pneumoniae* (O2a:K27) によると推定される事例に遭遇した。

*Klebsiella* 菌属とりわけ *K. pneumoniae* の食中毒起因菌としての腸炎起病性については、最近、数々の事例報告と細菌、毒素学的基礎研究によって、従来の“日和見感染菌”としての考え方にとどまることなく、再検討の気運が高まっている。そこで、本事例は患者数467名(発

症率32.7%)に及ぶ集団食中毒で、また患者糞便、血清及び原因食品等全ての検体について細菌学的、血清学的検査が実施できた事例であり、*Klebsiella* の一次的腸炎起病性の検討材料とすべくとりまとめ報告する。

#### 疫学調査の概要

##### 1. 患者の発生状況

1985年5月31日(金)PM4時、国立H病院からの連絡で調査が開始された結果31日現在、I中学校で教職員9名を含む448名が発症し51名が欠席、K小学校においても教職員8名を含む113名が発症し10名が欠席していることが判明した。

発生状況は30日午後4時頃初発患者がみられ、大部分の患者発生は31日午後3時頃に集中してみられた。初発症状は腹痛、下痢で、発症者数は摂食者1,456名中476名(発症率32.7%)にのぼり、学校別にみるとI中学校622名中363名(発症率58.4%)、K小学校899名中114名(発症率12.7%)であった。

##### 2. 主要症状及び潜伏時間

患者476名の主要症状及び潜伏時間について図1に示した。下痢は水様便366名(77.1%)、粘液便100名(22.9

\*広島県衛生研究所: Hiroshima Prefectural Institute of Public Health



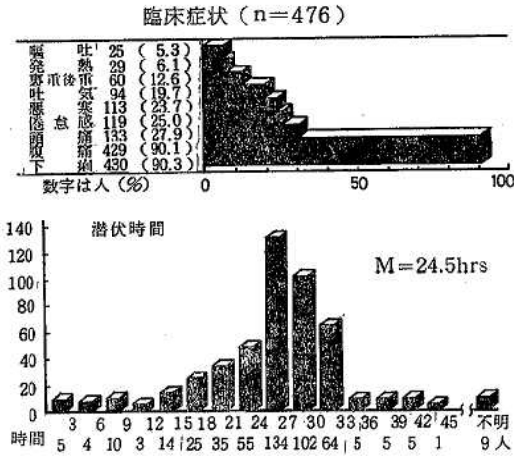


図1 臨床症状及び潜伏時間  
(加重平均による平均潜伏時間24.5)

%)で血便、粘液便の報告は認められなかった。下痢回数(有症期間中)は1~12回で、2~4回(72.7%)が最も多く平均3.3回であった。腹痛は下腹部224名(52.5%)、上腹部85名(19.9%)、臍部60名(14.1%)、腹部全体58名(13.6%)であった。

潜伏時間は3~49時間で、その大部分は24~27時間に集中し平均では24.5時間を示した。

### 3. 原因食の推定

疫学調査の結果、給水施設は各学校毎に別系統であり、共通点は共同給食であることから集団食中毒として調査が進められた。

当該共同給食施設で配食された5月27, 28, 29日及び30日の献立22品目についての $\chi^2$ 検定の結果は、発症率の高かったI中学校において5月30日の冷むぎ(Boiled Hiyamugi)のみが $\chi_0^2=6.56$ ( $p \leq 0.05$ )で原因食として最も疑われた。原因食品と推定された冷むぎの調理工程は、①冷むぎ(麵)は5月30日市内業者より納品、配送。②出し汁は5月29日午後4時に作製し室温(20°C)に放置。③出し汁に入れるキュウリ、卵及びカマボコは5月30日洗浄調理し配送された。

### 試験材料及び方法

#### 1. 細菌分離材料

分離材料は、Carry Blair 培地で低温輸送された患者便(2病日)34検体、調理者便22検体の他、冷蔵保存されていた5月29, 30, 31日分給食の検食及び原材料25検体、並びに冷蔵庫、マナ板等の調理器具及び調理者の手

指ふきとり33検体(5月31日採取)の総計114検体である。それぞれ分離材料は常法〔7〕に従って、腸炎ビブリオ、サルモネラ等の既知13菌種について原因菌検索を実施した。

#### 2. 患者血清の採取

患者12名からそれぞれ急性期及び回復期の血清を採取し、血清学的診断に供した。

#### 3. 毒素の検出

*Clostridium difficile* 産生毒素についてトキシン検出キット(三菱化成工業 CDO1-K)を使用し、患者糞便から直接毒素の検出を試みた。

#### 4. Sakazaki らの希釈培養法による分離再検

以上の原因物質検索にもかかわらず原因物質と確定しうる結果が得られなかったことから、原因不明食中毒の検査法として有効な、Sakazaki ら〔8〕の希釈培養法を用い患者、調理者便を中心に再分離を行った。図2に示すように希釈培養には、DHL寒天培地(日水)、SS寒天培地(日水)及びBHI寒天培地(Difco)の各平板

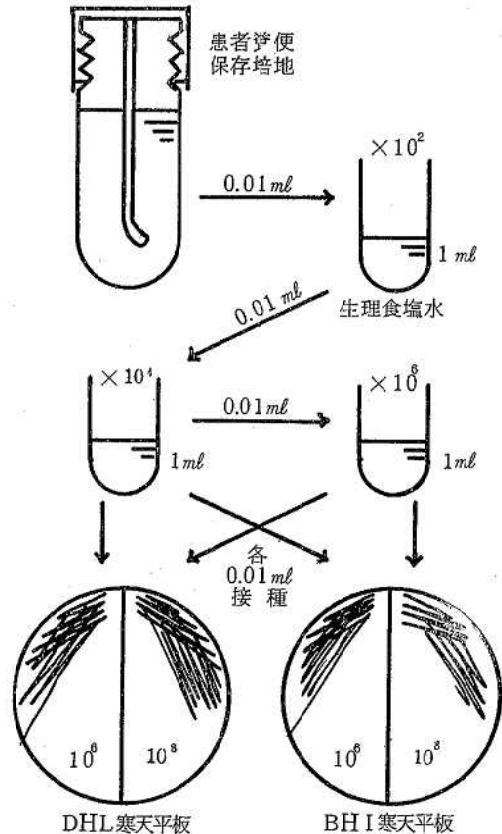


図2 原因不明食中毒事例における希釈培養法

培地を使用し、試料の $10^2 \sim 10^6$ 各希釈倍液の0.01宛を画線培養した。

### 5. 分離菌株の同定

Sakazaki らの希釈培養法で $10^4 \sim 10^8$ に発育をみた優勢集落の5個をTSI寒天培地(日水)及びLIM培地(日水)に釣菌し、 $35^\circ\text{C}$  24時間培養後、運動性、リジン脱炭酸、インドール産生性等による共通性状を示す菌群を集め、ついでVP, KCN, マロン酸塩, シモンズクエン酸塩利用等の一次鑑別試験を行った。本事例における各患者及び食品間で共通な優勢菌群は、運動性(-), リジン脱炭酸(+), インドール(-), VP(+), KCN(+), マロン酸塩(+), シモンズクエン酸(+)(+)の性状を示し、*Klebsiella* 属と同定された。そこでこれら分離菌株についてEwingら[9]の方法により32項目の生化学性状検査を行った。

*Klebsiella* 抗原型別は、市販莢膜型別血清K1~K6(デンカ社)を用いた。

### 6. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験はDISPENS-O-DISC(Difco社)を使用し、Penicillin, Ampicillin等の15剤について実施した。

### 7. 患者血清の分離菌に対する抗体価の測定

患者ペア血清によるO抗体価の測定は、代表分離株(H-86)を使用し、BHI寒天平板上で無莢膜変異集落を選び出し、その加熱処理( $100^\circ\text{C}$  60分)抗原を用いて常法による試験管内凝集反応により行った。

## 結 果

### 1. 細菌学的検査結果

患者糞便を中心に食中毒及び下痢原因菌検索を行った結果、患者5名より*Bacillus cereus*, 調理者1名より*Salmonella* serovar Thompsonが分離された以外、赤痢菌, 病原大腸菌, 腸炎ビブリオ, サルモネラ, カンピロバクター等の原因菌は分離されなかった。そこで、希釈培養を行ったところムコイド型の中集落で、運動性(-), ガス産生(+TSI寒天培地), インドール(-), リジン脱炭酸(+), マロン酸塩(+)(+)の共通性状を示す菌株が、高頻度に、高希釈で分離された。

分離株数は、患者由来150株, 調理者由来20株, 原因食品及び器具由来15株の計185株であった。

本菌の分離率は、患者糞便で32/34(94.1%), 調理者便で20/22(90.9%)と高率を示し、その分離菌量は、患者便では $\leq 10^2/\text{g}$  15/32(46.9%),  $\geq 10^3/\text{g}$  17/32(53.1%)で、この内 $10^8/\text{g}$ を超えるもの6/32(18.8%)であった。調理者便においても $10^4/\text{g}$ 以上のものが10/20

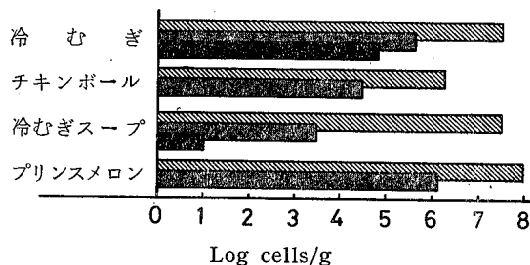


図3 保存検食(5月30日)の細菌学的品質

■ : *K. pneumoniae*    ▨ : Coliform  
▩ : 細菌数

(50.0%)であった。一方、検食の検査結果では、30日の「冷むぎ」からは、 $8 \times 10^4/\text{g}$ , 冷むぎスープから $10^3/\text{g}$ の本菌が分離された。暴露日と推定された30日の保存検食の細菌学的品質についての検査結果を図3に示した。なお調理者3名(3/18)の手指ふきとりからも本菌の分離をみた。

分離菌株185株について詳細な生化学的性状検査を行った結果、ウレアーゼ(+), KCN(+), シモンズクエン酸塩(+), マロン酸塩(+), リジン脱炭酸(+), ブドウ糖からのガス産生(+)(+)等の性状を示し、定型的な*K. pneumoniae*(狭義)と同定された。その生化学的性状結果をEwingら[9]の報告した705株の性状と対比し表1に示した。表1以外の性状としては、マルトース(+), トレハロース(+), ソルボース(+), マンノース(+), メルビオース(+), アミグダリン(+), ONPG(+),  $10^\circ\text{C}$ 発育(+), EC試験(-)を示した。

抗原型別試験では、いずれの菌株もK1~K6の診断用血清で型別されず、原因食品及び患者由来の20株について、O型別を金沢大学医学部 藤田信一博士に、K型別をInternational Escherichia Klebsiella CenterのDr. I.F. Ørskovにそれぞれ依頼した。その結果は、冷むぎスープ及び患者由来株の各1株がO1aに型別された以外は全てO2a:K27に型別された。

### 2. 分離 *K. pneumoniae* の薬剤感受性検査

薬剤感受性試験では、いずれの菌株とも同一の感受性パターンを示し、Penicillin(P10), Ampicillin(AM10), Erythromycin(E15), Vancomycin(VA30), Novobiocin(NB30)に耐性を、Streptomycin(S10), Kanamycin(K30), Amikacin(AN30), Neomycin(N30)に中等度耐性, Chloramphenical(C30), Gentamicin(CM10), Nalidixic Acid(NA30), Cephalothin(CR30), Polymyxin B(PB300),

表1 分離菌株の生化学的性状

Test of substrate	Ewing et al (705)*		Isolates (185)	
	Sign	+ (%)	Sign	
Hydrogen sulfide	-	0.0	-	
Urease	+	94.5	+	
Indol	-	6.0	-	
Methyl red (37°C)	-or+	13.3	-	
Voges-Proskauer	+	91.1	+	
Citrate (Simmons')	+	97.7	+	
Tartrate (Jordan's)	+	94.4	+	
KCN (growth)	+	97.9	+	
Nitrite from nitrate	+	99.9	+	
Motility	-	0.0	-	
Gelatin (22°C)	-	3.3	-	
Lysine decarboxylase	+	97.2	+	
Arginine dihydrolase	-	0.9	-	
Ornithine decarboxylase	-	0.0	-	
Phenylalanine deaminase	-	0.0	-	
Glucose acid	+	100.0	+	
gas	+	96.5	+	
Lactose	+	98.2	+	
Sucrose	+	98.9	+	
Mannitol	+	100.0	+	
Dulcitol	-or+	31.5	-	
Salicin	+	99.7	+	
Adonitol acid	+or-	87.7	+	
gas	d	83.4	+	
Inositol acid	+	97.9	+	
gas	+	91.9	+	
Sorbitol	+	99.4	+	
Arabinose	+	99.9	+	
Raffinose	+	99.7	+	
Rhamnose	+	99.3	+	
Malonate	+	92.5	+	
Mucate	+	92.8	+	
Xylose	+	99.5	+	
Cellobiose	+	99.9	+	
Glycerol	+	97.2	+	
Esculin	+	98.7	+	
Erythritol	-	0.0	-	

\* Edwards P.R. and Ewing W.H. [9]

Tetracycline (TE 30) に感受性を示した。

### 3. 血中抗体価の測定

抗体価の測定結果は、得られた12名のペア血清のうち1名を除き、いずれも抗体価の上昇が認められ、図4に示すように9名(75.0%)では2管以上の抗体価の上昇が認められた。

## 考 察

食中毒指定菌としての13菌種以外の、いわゆる「その他の細菌」による食中毒事例の報告は、*Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Bacillus subtilis* 等多くみられる [3-6]。これらの事例報告

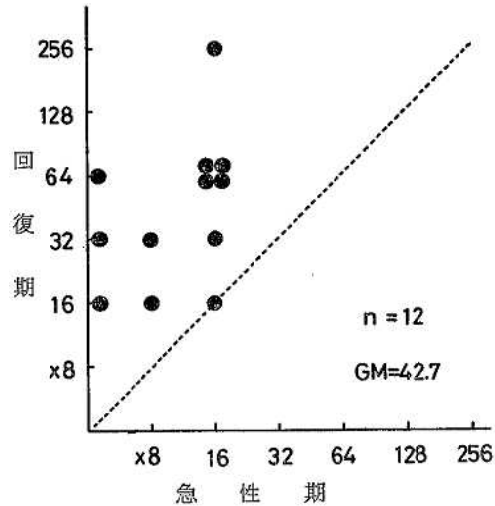


図4 ペア血清による分離 *Klebsiella pneumoniae* (O2a: K27) に対するO凝集抗体価

はいずれも、患者糞便及び原因食品等についての原因菌検索条件を満し、かつ既知原因 (Virus を含む) の検出を認めず、その分離菌によるものと結論し得る十分な客観的データが得られた事例である。

*Klebsiella* 属はヒト、動物の腸管や呼吸器の常在菌であると同時に、自然界に広く分布し各種食品への汚染も多くみられる [10-14]。本菌の病原性については、抗菌剤の長期投与、免疫不全等の何らかの要因が関与した場合異常増殖し、呼吸器、泌尿器、胆嚢、腸管等に各種感染症を惹起する、いわゆる“条件つき”病原細菌あるいは“日和見感染菌”と考えられ、とりわけ一次的腸炎起病性については不明な分野とされてきた [15]。

しかし、1966年 Karpas [16] は死の転帰を取った散发性の重症腸炎7事例から *K. pneumoniae* を純培養状に分離し、その腸炎起病性を報告し、ついで1975年 Klipsstein ら [17] は、熱帯地方でみられる無熱性慢性疾患である Tropical sprue 患者から分離した *K. pneumoniae* の Heat Stable Toxin (ST) 産生性を報告、さらに1979年 Danielsson ら [18] は食中毒事例の原因食(冷むぎ)から本菌を  $5 \times 10^4$ /g 分離し Heat Labile Toxin (LT) の産生を報告している。また、1984年 Yamamoto ら [19] はヒト毒素原性大腸菌の Colonization Factor Antigen Type I (CFA/I) や ST 産生を支配するプラスミドの *Klebsiella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* 菌属への伝達を報告し、また、1987年 Clegg ら [20] も *K. pneumoniae*, *Serratia*, *Salmonella* から CFA/I を証明し報告してい

る。

本事例の特徴は、発症率が32.7%と低く、また小学校(12.7%)、中学校(58.4%)と発症率に差が認められたことであるが、この発症率の低さや差異は、摂取菌量の差異によるものと考えられる。主要症状もその大部分が水様性下痢、下腹部腹痛で、頭痛(27.9%)、発熱(6.1%)、嘔吐(5.3%)は低率となっている。潜伏時間も平均24.5時間と一峰性で、症状も早期に回復をみている。これらの特徴は、Danielssonら〔18〕や浅川ら〔4〕の*Klebsiella*や*Enterobacter*食中毒事例の報告と類似している。

本事例では、既知原因菌が全て検出されず、*K. pneumoniae*が、患者及び原因食品から高濃度、高率に回収され、これらの菌株の血清型別も一致したことから、本菌による集団食中毒と推定された。

汚染経路については、冷むぎ( $8 \times 10^4$ /g)から患者由来株と同一血清型(O2a:K27)が分離されたことから、30日朝納品、配送された冷むぎの製造、保存中に汚染、増殖したものと考えられる。

分離菌株の生化学的性状検査結果は、Ewingら〔9〕の分類による狭義の*K. pneumoniae*と同定されたが本菌についてSilvaら〔21〕は臨床由来295株を用いて更に詳細な生物型別を行っているが、本事例からの分離菌は、この分類で最も検出頻度の高い生物型(APIコード5 215 773)に一致した。

*Klebsiella*属の型別法には、K抗原型別、O抗原型別、フェージ型別、バクテリオシン型別等が開発されている〔22—25〕。しかし、K抗原型別用血清はK1~K6が市販されているのみで、その他の型別法も一般的には普及、応用されるには至っておらず、疫学的調査を困難としている。今回、O及びK型別により、患者及び原因食品由来株について型別を試み、O2a:K27で一致をみたことは、疫学的にも本菌の発症への関与を裏づけたものと考えられる。O2a及びK27の分布について、Pennieら〔26〕は、臨床由来の270株中K27は6%であったと報告し、また舟田ら〔27〕は臨床由来株409株中O1、O3についてO2aが多く分布し12.7%であったと報告している。

薬物感受性について、Matsenら〔12〕はAmpicillin、Penicillin Gに79~84%耐性を示し、これらの薬剤に自然耐性であると報告している。また、斉藤ら〔28〕も臨床由来4,805株の90%以上がPenicillin系薬剤に耐性を示したと報告しており、本分離菌株もこれと同様の感受性パターンを示した。

患者血清のO抗体価の上昇についての報告例はみられないが、今回2管以上の抗体価上昇が認められたことは、分離した*K. pneumoniae*が単なる腸管通過細菌でなく、腸炎発症に関与したことを示唆したものと考えられる。

本事例は、疫学的、細菌学的調査結果から*K. pneumoniae*による事例と推定され、冷むぎの製造、保存中に10°C発育可能な本菌が汚染、増殖し、1人約 $10^6 \sim 7$ の菌量を摂取し発症したものと考えられる。すなわち、本菌によると推定される根拠は、患者便及び原因食品について、①既知原因菌が検出されない。②原因食品(冷むぎ)から高濃度( $8 \times 10^4$ /g)で回収された。③患者糞便から高率(32/34)かつ高濃度( $10^4 \sim 10^8$ /g)に分離された。④原因食品及び患者由来株の生化学的性状、薬剤感受性、抗原型別で全て一致した。⑤患者ベア血清においてO抗体価の上昇が認められた。⑥症状が比較的軽症で既知原因菌の症状とやや異なる等により、単なる腸管通過細菌とは考え難く本菌が発症に関与したものと考えられる。

本分離株の腸炎起病性については、現在検討中であるが、すでに*Klebsiella*の腸炎起病性についてKlipsteinら〔17〕はSTの産生を、またJiwaら〔29〕はLT産生の報告をしている。さらに、前述したようにYamamotoら〔19〕は、CFA/I及びST産生性を支配するプラスミドが腸内細菌科の各菌種間で伝達されることを報告している。

国内での*Klebsiella*による食中毒事例の報告は、小川ら〔29〕の*Salmonella* serovar Nagoyaと*Klebsiella oxytoca*の混合汚染による症例報告が見られる程度であるが、潮田ら〔14〕の報告によれば、各種市販食品や健康人での本菌の分布が高率にみられることから、原因不明事例に際しての検索対象菌とすべきと考えられる。

## 要 約

1985年5月30~31日、県内F保健所管内の小、中学校において*Klebsiella pneumoniae* (O2a:K27)によると推定された集団食中毒が発生した。

発症者数は1,456名中476名(発症率32.7%)で、主要症状は下痢(90.3%)、腹痛(90.1%)、頭痛(27.9%)で発熱(6.1%)及び嘔吐(5.3%)は低率で全体的に軽症であった。潜伏時間は24~27時間に集中し平均24.5時間であった。原因食品は疫学調査では「冷むぎ」が $\chi^2$ 検定で有意的に疑われた。

細菌学的検査結果では、いずれの既知食中毒原因菌も

分離されず、希釈培養法を用いた検査で、患者糞便の34名中32名、調理者便の20名中10名より $10^2 \sim 10^8/g$ の濃度で *Klebsiella* が分離され、また原因食品(冷むぎ)からも  $8 \times 10^4/g$  分離された。

分離菌株の生化学的性状は、運動性(-)、インドール(-)、ウレアーゼ(+)で、狭義の *Klebsiella pneumoniae* と同定された。薬剤感受性試験では、同一パターンを示し、P, AM, E, VA, NB に耐性を、C, GM, NA, CR, PB に感受性を示した。OK抗原型別では、いずれの由来株とも O2a : K27 に一致して型別された。

O抗原を用いた患者12名のペア血清による抗体価の測定では、16~256倍(幾何平均42.7倍)のO抗体価の上昇が認められた。

以上のことから、原因不明食中毒事例では、本菌を対象とした検索も重要と考えられる。

稿を終るに当り、抗原型別について格段の御協力を頂きました金沢大学医学部 藤田信一博士ならびに Int. Escherichia Klebsiella Center の Dr. I.F. Ørskov に謝意を表します。

## 文 献

- [1] 厚生省環境衛生局 (1982): ナグビブリオ, カンピロバクター等の食品衛生上の取扱いについて. 環食第59号 (昭和57年3月11日).
- [2] 厚生省環境衛生局 (1982~1988): 食中毒発生状況 (年度報告). 食品衛生研究, 32~38.
- [3] 木戸慎蔵, 戸田武夫 (1967): *Proteus mirabilis* によると思われる食中毒事例について. 食品衛生研究, 17, 875~878.
- [4] 浅川 豊, 赤羽荘資, 塩沢寛治, 阪崎利一, 田村和満 (1979): エンテロトキシン産生の *Enterobacter cloacae* による集団食中毒. 静岡県衛研所報, 22, 37~42.
- [5] 岡野幸司 (1982): 枯草菌による食中毒. 食衛学誌, 23, 215~216.
- [6] 松崎静枝, 片山 淳 (1982): *Citrobacter* によると推定される食中毒. 食衛学誌, 23, 208~213.
- [7] 厚生省環境衛生局 (1973): 食品衛生検査指針 I. 日本食品衛生協会, 東京.
- [8] Sakazaki, R., Tamura, K. and Prescott, L.M. et al (1971): Bacteriological examination of diarrheal stools in Calcutta. Indian J. Med. Res., 59, 1025~1034.
- [9] Edwards, P.R. and Ewing, W.H. (1972): Identification of enterobacteriaceae. 291, Burgess Pub., Minnesota.
- [10] Dancun, D.W. and Razzell, W.E. (1972): *Klebsiella* biotypes among coliforms isolated from forest environments and farm produce. Appl. Microbiol., 24, 933~938.
- [11] Seidler, R.J., Knittel, M.D. and Brown, C. (1975): Potential pathogens in the environment: Cultural reactions and nucleic acid studies on *Klebsiella pneumoniae* from clinical and environmental sources. Appl. Microbiol., 29, 819~825.
- [12] Masten, J.M., Spindler, J.A. and Blosser, R.O. (1974): Characterization of *Klebsiella* isolates from natural receiving waters and comparison with human isolates. Appl. Microbiol., 28, 672~678.
- [13] Knittel, M.D., Seidler, R.J. and Eby, C. et al (1977): Colonization of the botanical environment by *Klebsiella* isolates of pathogenic origin. Appl. Environ. Microbiol., 34, 557~563.
- [14] 潮田 弘, 新垣正夫, 寺山 武他 (1978): 市販食品からの *Klebsiella* の検出ならびに食品および健康人ふん便由来の種と生物型の比較. 東京都衛研年報, 29, 163~166.
- [15] 阪崎利一 (1975): *Klebsiella* の分類とその病原的意義. 臨床と細菌, 2, 151~156.
- [16] Karpas, C.M. and Boman, I (1966): The significance of *Klebsiella* enteritis. Am. J. Clin. Pathology, 46, 632~640.
- [17] Klipstein, F.A. and Engert, R.F. (1975): Enterotoxigenic intestinal bacteria in tropical sprue. III. Preliminary characterization of *Klebsiella pneumoniae* enterotoxin. J. Infect. Dis., 132, 200~203.
- [18] Danielsson, M.L., Mollby, R. and Brag, H. et al. (1987): Enterotoxigenic enteric bacteria in foods and outbreaks of foodborne diseases in Sweden. J. Hyg., Camb., 83, 33~39.
- [19] Yamamoto, T., Honda, T., Miwatani, T. and Yokota, T. (1984): A virulence plasmid

- in *Escherichia coli* enterotoxigenic for humans : Intergenetic transfer and expression. J. Infect. Dis., 150, 688—698.
- [20] Clegg, S., Purcell, B.K. and Pruckler, J. (1987): Characterization of genes encoding type 1 fimbriae of *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, and *Serratia marcescens*. Infect. Immun. 55, 281—287.
- [21] Silva, M.I. and Rubin, S.J. (1977): Multiple biotypes of *Klebsiella pneumoniae* in single clinical specimens. J. Clin. Microbiol., 5, 62—65.
- [22] Edmondson, A.S. and Cooke, E.M. (1979): The production of antisera to the *Klebsiella* capsular antigens. J. Appl. Bact., 46, 579—584.
- [23] Fujita, S. and Matubara, F. (1984): Latex agglutination test for O serogrouping of *Klebsiella* species. Microbiol. Immunol., 28, 731—734.
- [24] Rennie, R.P., Nord, C.E. and Duncan I.B.R. (1978): Comparison of bacteriophage typing, serotyping, and biotyping as aids in epidemiological surveillance of *Klebsiella* infections. J. Clin. Microbiol., 8, 638—642.
- [25] Edmondson A.S. and Cooke E.M. (1979): The development and assessment of a bacteriocin typing method for *Klebsiella*. J. Hyg., Camb., 82, 207—223.
- [26] Rennie, R.P. and Duncan, I.B.R. (1974): Combined biochemical and serological typing of clinical isolates of *Klebsiella*. Appl. Microbiol., 28, 534—539
- [27] 舟田 久, 藤田信一, 丹羽和夫他 (1978): *Klebsiella* の菌体抗原による群別. 検査と技術, 6, 564—572.
- [28] 齊藤 厚, 那須 勝 (1975): *Klebsiella* の菌型の分布とその臨床的意義. 臨床と細菌, 2, 165—172.
- [29] Jiwa, S.F.H., Krovacek, K. and Wadstrom, T. (1981): Enterotoxigenic bacteria in food and water from an Ethiopian community. Appl. Env. Microbiol., 41, 1010—1019.
- [30] 小川博美, 岸本敬之, 得能弘志他 (1984): *Salmonella nagoya* と *Klebsiella oxytoca* の混合汚染による食中毒事例. 広島県衛研所報, 31, 35—43.

## 他誌掲載論文要約(1988年11月～1989年10月)

大橋 誠\*<sup>1</sup>, 伊藤 武\*<sup>1</sup>, 斎藤香彦\*<sup>1</sup>, 高橋正樹\*<sup>1</sup>, 新垣正夫\*<sup>1</sup>, 森田盛大\*<sup>2</sup>, 斎藤志保子\*<sup>2</sup>, 船橋 満\*<sup>3</sup>, 石原政光\*<sup>3</sup>, 小林一寛\*<sup>4</sup>, 田口真澄\*<sup>4</sup>, 仲西寿男\*<sup>5</sup>, 貫名正文\*<sup>5</sup>, 西尾隆昌, 佐々木実己子, 片山 淳\*<sup>6</sup>, 松崎静枝\*<sup>6</sup>, 梅田哲也\*<sup>7</sup>, 戸泉 慧\*<sup>7</sup>, 道家 直\*<sup>7</sup>: *Campylobacter jejuni/coli* の血清型別に関する研究: 全国レファレンス・システム設立の試行. 感染症学雑誌, 62: 818-825, 1988.

我が国におけるカンピロバクター血清型別のレファレンス・システムを確立することを目標に, 国際統一法が開発されるまでの間国内で利用すべき型別法を得るため, 8地方衛生研究所の協同作業を開始した. 本報では, 東京都立衛生研究所で開発されたスライド凝集反応(TCKシステム)によって全国各地で得られたヒト由来 *Campylobacter jejuni* 分離株を血清型別した成績を記載した.

全国各地で発生した *C. jejuni* による下痢集団発生37事例由来の335株について, TCK1からTCK33までの33型の型別用血清を用いて, 型別した結果は, 282株(84.2%)が型別され, 53株(15.8%)が型別不能であった. 前者の内242株は単一の型別用血清とのみ反応し, 40株は2種或いはそれ以上の型別用血清と反応した.

集団事例ごとにみた場合, すべての分離菌株の血清型が一致したのが14事例であった. 2種類の血清型の菌株が分離されたのが10事例, 3種以上の血清型が分離されたのが13事例であった.

散发下痢症患者から検出された1,064株では, 714株(67.1%)が型別され, 340株(32.0%)が型別不能であった. 残りの10株はR型であるために型別出来なかった. 最も高頻度に認められた血清型はTCK1(12.8%), 20(12.3%), 4(8.2%), 7(6.8%), 24(6.6%)などであり, これらの分布に地域的な偏りはなかった. 次いで普遍的に認められた型はTCK26, 6, 12, 10などであった. 型別された714株の内95株(13.3%)は2種以上の型別用血清と反応した.

以上の結果から, 本血清型別システムは, 国際統一型別法が確立されるまでの間の実用に充分耐え得るものであろうと考える.

\*<sup>1</sup>東京都立衛生研究所

\*<sup>2</sup>秋田県衛生科学研究所

\*<sup>3</sup>愛知県衛生研究所

\*<sup>4</sup>大阪府立公衆衛生研究所

\*<sup>5</sup>神戸市環境保健研究所

\*<sup>6</sup>山口県衛生研究所

\*<sup>7</sup>熊本県衛生公害研究所

小川博美, 得能弘志, 岸本敬之, 福田伸治\*<sup>1)</sup>, 梅村幸平\*<sup>2)</sup>, 高田三千人\*<sup>2)</sup>: 広島湾における腸炎ビブリオの生態. 広島県獣医学会雑誌, 4: 47-57, 1989.

1987年7月～1988年6月の一年間, 広島湾6定点から海水(72), かき(72), 泥土(24), 魚類(18)の計186試料による通年的な腸炎ビブリオの生態調査を行い次の結果を得た.

1) 月別, 試料別分離率は, 全試料で54.3%(101/186), 月別では5～10月(水温19.3～22°C)が最も高く68.8～100%, 11～4月(水温10.2～18°C)では0～37.5%を示した. 試料別では海水で55.6%(40/72), かきで50%(36/72), 泥土では83.3%(20/24)を示した.

2) 月別分布菌量の消長は, 海水では5～8月 $10^2/100$  ml レベルとピークを示し, 9～10月 $10/100$  ml, その他の月では $<10/100$  ml を示した. かきでは6～7月 $10^2/100$  g レベル, 5月, 8～9月 $10^2/100$  g を示し, 他の月では $<100/100$  g を示した. 泥土では7月 $10^4/100$  g, 5～12月 $10^{2-3}/100$  g. 1～4月 $<100/100$  g を示した.

3) 海水温度(X)と菌量(Y)の関係は,  $r=0.506^{**}$  ( $P<0.01$ ),  $\log_{10}(Y)=0.103(X)-0.934$  で示された. また塩分濃度(X)と菌量(Y)の関係は,  $r=-0.694^{**}$  ( $P<0.01$ ),  $\log_{10}(Y)=-0.674(X)+3.448$  と逆相関を示した.

4) 海水菌量(X)とかき菌量(Y)の関係は,  $r=0.667^{**}$  ( $P<0.01$ ),  $\log_{10}(Y)=0.900 \log_{10}(X)+1.232$  で示された. また両者の平均値比較では海水に比較し, かきでは11.1倍濃縮(100 g/100 ml 比)を示した.

5) 分離株の62.1%(786/1,266)がK抗原型別され, 全試料では50のK抗原型数に及び, 優勢分布K抗原型はK42, K49, K57, K29, K34, K53であった.

6) 神奈川現象陽性株は0.31%(4/1,266)の分離率を示した.

\*<sup>1)</sup>広島県海田保健所

\*<sup>2)</sup>広島県環境保健部環境衛生課

佐々木実己子, 岸本敬之: 広島県下で発生した *Yersinia pseudotuberculosis* 3型感染症例. 広島県獣医学会雑誌, 4: 58—65, 1989.

1987年5月下旬から6月上旬にかけて, 広島県御調郡久井町と同じ井戸水を利用する2家族に *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症が発生した. 患者は2家族の子供4人(3~13歳), 大人1人(24歳)の5人で, 患者の症状は発熱, 腹痛, 下痢, 関節痛, 扁桃炎が共通しており, 苺舌, 腎炎症状, 落屑が一部に見られ, 1人は虫垂炎摘出術を受けた. 患者糞便と井戸水から同菌型の *Yersinia pseudotuberculosis* serotype 3 が検出され, 感染源は2家族が共同で使用する井戸水であることが証明された.

ついで, その町内の井戸水の *Yersinia* 汚染について調査し, 62.5%の井戸水から菌検出をみた. これを菌種別にみると *Y. enterocolitica* (25.0%), *Y. kristensenii* (37.5%), *Y. frederiksenii* (4.2%), *Y. intermedia* (8.3%) で, *Y. pseudotuberculosis* は検出されなかった. *Y. enterocolitica* の中には病原菌型として近年話題になっている生物型3, 血清型O3が1株, 生物型3, 血清型O1, 2, 3が1株含まれている. なおこれら *Yersinia* 属の検出された井戸水の水道法による飲適試験結果はいずれも適であり, この種井戸水の未殺菌使用は *Yersinia* 症感染の危険性を有することが示唆された.

小川博美, 福田伸治\*, 岸本敬之: 広島湾におけるかき衛生調査データ処理システムの検討. 広島県獣医学会雑誌, 4: 66—74, 1989.

広島湾のかき衛生プログラムは, 1962年に始り, 以来定期的な海域の衛生把握・評価のための細菌学的調査が継続されてきた. 本研究では25年間にわたる調査データを有効に活用するために, パーソナルコンピュータを用いた情報処理システムの開発を試みた.

システム開発に要求された検討課題は, ①調査データ

のファイル化, ②データファイルの検索・加工処理, ③海域の各種衛生評価, ④海域評価の図形処理, ⑤目的別の統計処理である.

本システムの開発により, 広島湾の1 km<sup>2</sup>メッシュに設けた320ポイントのデータを対象に1962~1988年の25年間, 延べ海水6,836ポイント, かき948ポイントについて, 採取条件及び細菌学的データ (Coliform MPN, Fecal Coliform MPN, 一般細菌数)のファイル化を完了した.

このデータファイルを活用して, 各ポイント別のデータを数値処理 ( $\bar{M}$ , Me, Range, 汚染 Ratio)し海域評価を行い, 同時にその結果を図形処理することにより, 広島湾の平面的衛生評価を可能とした.

さらに, 目的別の統計処理システムは, ①海水の汚染程度とその海域で養殖されているかきの細菌学的品質の相関性, ②時系列解析による広島湾の経年的汚染推移, ③パターン分類手法を用いた広島湾の汚染パターンの推移について明らかにすることができた.

\*広島県海田保健所

水田満里・神経芽細胞腫のマス・マクリーニングにおける湿ったろ紙尿の細菌汚染による問題点. 医学のあゆみ, 148: 412, 1989.

神経芽細胞腫マス・スクリーニングの検体として, 湿ったろ紙尿の細菌汚染による問題点を明らかにし, 乾燥したろ紙尿によるスクリーニングの必要性を示した.

水田満里: 採尿方法・輸送方法; 神経芽細胞腫マス・スクリーニング, 恩賜財団母子愛育会編, 117—123, 1989.

神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおける定量検査のための検体の採尿方法・輸送方法について, 現状を紹介するとともに注意点等について記述した.





編 集 委 員 会

武 井 直 巳 (委員 長)  
天 川 充 弘 (総 務 部)  
高 尾 信 一 (生物 学部)  
水 田 満 里 (病理 学部)  
中 村 寿 夫 (理 化 学 部)  
佐々木 実己子 (食品 衛生 部)

広島県衛生研究所研究報告

第 36 号

1989年11月発行

発行所 広島県衛生研究所  
広島市南区宇品神田1丁目5-70  
〒734・電話(082)251-4371

印刷所 (株)柳盛社印刷所  
広島市中区東白島町8-23  
〒730・電話(082)221-2148