

研 究 報 告

第27号

1980年12月

目 次

総 説	
サルモネラ症 — 西ドイツの現状とわが国における問題点	西尾隆昌 1
報 文	
新生児およびその哺育環境からの分離緑膿菌の protease と elastase の産生性	西尾隆昌, 中森純三, 宮崎佳都夫 15
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> 分離用培地の性能の比較	金本康生, 西尾隆昌 23
下痢症患者からの <i>Vibrio</i> 様菌群 EF-6 (Group F) の分離	中森純三, 鬼村賢太郎, 羽原富夫 29
コプロスタノールを指標とする広島湾のし尿汚染	
特にコプロスタノールとし尿汚染指標菌との関係	岡本 拓, 岸本敬之 33
資 料	
1978年および1979年広島県において分離されたA型インフルエンザウイルスの抗原分析	武井直巳, 徳本静代, 瀬川和幸 39
都市下水の <i>Salmonella</i> : 患者株との血清型およびフェージ型の比較	宮崎佳都夫, 中森純三, 西尾隆昌 47
<i>Salmonella typhi</i> の生態学的研究 : 都市大規模河川・河口域ならびに沿岸海域についての <i>Salmonella typhi</i> の検索成績	宮崎佳都夫, 中森純三, 西尾隆昌 53
流通段階における医薬品の安全性に関する調査研究 (第Ⅱ報)	
アセトアミノフェン配合剤の経時変化について	金森久幸, 山本博文, 本田茂樹 59
他誌掲載論文 (1979. 1 ~ 1980. 9) 61
雑 報 62

広島県衛生研究所

(734) 広島市南区宇品神田1丁目5-70



サルモネラ症——西ドイツの現状とわが国における問題点

西 尾 隆 昌*

Current Status of Human Salmonellosis in
West Germany and Urgent Problems in Japan

TAKAMASA NISHIO

(Received August 28, 1980)

緒 言

西ドイツではイギリスやアメリカとともに、古くからヒトのサルモネラ症を届出感染症に指定し、散発、集発の規模を問わず、全国レベルでの実態把握の努力がなされてきた。とくに西ドイツでは1960年代に入ってから年々ヒトサルモネラ症事例の激増を来し、1970年代後半の罹患率は1965年のその5倍を越えた事実が報告¹⁾されている。このように、サルモネラ症はまさに「文明の悪疫」²⁾と認識され、これへの対処の重要性がたびたび指摘されている。¹⁻⁶⁾

サルモネラ症の重大性については西ドイツのみならず、欧米開発国の共通の難問であり、WHO⁷⁻⁹⁾も食品衛生、動物管理等の観点から真剣にこれをとりあげるべきであると勧告している。欧米開発国では第2次大戦直後頃からすでにこのサルモネラ症に取り組んでおり、現在までに患者の発生状況や感染源、感染経路に関する莫大な知見の蓄積をみている。そして予防対策を樹立する基礎資料および提言もおびただしい数にのぼっている。とはいえ、今日なおこのサルモネラ症の抑圧に成功したという国はひとつだにみあたらない。確かに現在の食生活に幅広く密着した難病というべきである。

わが国においても近年、このサルモネラ症は注目を浴び、感染事例、各種動物の保菌状況、あるいはヒトの生活環境の汚染状況等に関する知見が数多く得られている。しかし欧米開発国とは異なって、ヒトのサルモネラ症事例については食中毒としての届出のあった場合にはこれが事件数および患者数として統計に計上されるが、医院、病院、臨床検査機関等での菌分離確認散発事例については、現在のところ国レベルではまったく把握されていない。前記の欧米開発国ではこのような散発患者が大部分を占めており、わが国においてもおそらく例外ではなからうと推察されていたところであるが、著者らによる広島県下での患者実態調査の結果では、予想どおり散発患者が食中毒届出患者を大きく凌駕している事実が明らか

にされた。¹⁰⁻¹²⁾ しかもこれらの散発患者のほぼ半数は1歳未満の乳児を含む幼児である事実も判明した。しかしながら、全国規模での文明の悪疫の実態把握が行われていない現状では、毎年毎年、患者の発生を座して見るのみであり、厚生省の発行する全国食中毒事件録に何件、何名の発生があったと目にするのみである。

30年間にわたる貴重な研究成果をもとに真剣に予防対策を考え、いまやその実施の段階に入りつつある諸外国に比して、わが国のサルモネラ症対策はまったく問題にならない状態にあるのは確かである。今後ますます増大が予測されるサルモネラ症の現状をまずは正しく認識し、それへの効果的な対処を考えるうえからも、欧米開発国におけるサルモネラ症の現状の展望を試みるのは決して無意味なことではなからう。アメリカにおける現状は最近稲葉¹³⁾によってCDC報告が翻訳されており、またイギリスにおける状況もかつて天野¹⁴⁻¹⁶⁾によって数年間にわたってPublic Health Laboratory Serviceの年次報告が和訳されているので、ここでは主として西ドイツの現状を紹介し、アメリカやイギリスの状況をも考慮に入れてわが国におけるサルモネラ症対策の必要性を強調する資料としたい。

サルモネラ症事例の把握

西ドイツにおいては1961年に連邦保健省によってヒトへの感染源としてとくに重視されていた家畜のサルモネラ症の抑圧を目的として、“Programm zur Überwachung der Salmonellainfektionen bei Tieren”が設立、実行にうつされ、さらに1973年にはこれがヒト、家畜(動物)、飼料、食品等のヒトサルモネラ症に関連のあるものすべてを対象とした“Das Zentrale Überwachungsprogramm des Bundesgesundheitsamtes für Salmonellosen (einschl. Typhus und Paratyphus)”¹⁷⁾に拡大実施されて今日にいたっている。いうならば中央サルモネラ調査計画である——英語での表現は“Central Salmonella Surveillance

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

Programme”となっている。これによる調査研究結果は詳細に解析され、ヒトに関する部門とそれ以外の部門に分けて毎年年度報告が出されている。

この西ドイツ保健省による腸チフス、パラチフスを含めてのサルモネラ症全般に関する全国的な調査活動が開始される以前から、西ドイツではサルモネラ症の届出が義務づけられていたが、1973年からは従来の届出患者の集計にとどまらず、その患者の家族や側近者、食品取扱関係者、さらには外国人労働者についても徹底的な *Salmonella* 検索が実施されている。このようにして把握された1977年の *Salmonella* 分離事例（再非菌例を除く）は患者、保菌者合せて36,596名¹⁾に及んでいるが、有症者からの分離事例20,751例(58.1%)のほか、25.5%に相当する9,085名は患者周辺の検便での発見事例であり、また16.4%に相当する5,856名は食品関係者や外国人労働者についての検索での発見事例となっている。なおこの年のサルモネラ胃腸炎患者（腸チフス、パラチフスおよび胃腸炎以外のサルモネラ症患者を除く）としての確認届出事例は28,772例（罹患率46.9%）¹⁾となっている。

このような全国レベルでの患者、保菌者の把握、調査研究にはすべての衛生研究所およびその他の細菌研究所が *Salmonella* の分離および菌株の収集にあたっており、それらについての血清型別試験はベルリンの Robert Koch-Institut とハンブルグ衛生研究所の各サルモネラセンターが担当し、ボン、フランクフルト、キール、ベルリンの各大学の付属細菌学研究機関とミュンヘンの国立細菌学研究所は腸チフス菌とパラチフス菌のフェージ型別試験を担当し、またベルリンの Robert Koch-Institut とボン大学の医学細菌学・免疫学研究所は *S. typhimurium* のフェージ型別試験を担当している。これらの各機関からの情報はすべて連邦保健省へ報告され、コンピュータを駆使して解析に供されている。

患者発生状況

現在までに連邦政府から公表されているサルモネラ胃腸炎患者の年次別発生数および罹患率の推移を表1に示した。年次報告として公式に発表されているのはいまのところ1977年分¹⁾までであるが、連邦保健省の編集になる Bundesgesundheitsblatt (編集長: Hans-Joachim Weise,

Institut für Sozialmedizin und Epidemiologie, Abteilung Öffentliches Gesundheitswesen, Statistik, Reichpietschufer 72-76, 1000 Berlin 30.) に遇および月単位の事例数が掲載されているので、1978～1979年の2年間の患者数は

これから集計し、またおよその罹患率を求めて表示した。

表1に示すごとく、1960年代にも年々患者数は増加し続けていたが、1970年代に入ってからにはまさに驚異的な激増といえる。その罹患率は最近では50あるいはそれを越える高値となっている。これに反し、腸チフスとパラチフスは近年激減し、いずれも年間ほぼ250例程度の発生にとどまっている（罹患率: 0.4～0.5）。このようなサルモネラ症患者の激増にともない、人口100,000あたりの死者数（死亡率）も腸チフスの0.007、パラチフスの0.005を大きく上回る0.1という値が示されている。

Das Zentrale Überwachungsprogramm des Bundesgesundheitsamtes für Salmonellosen (以下 ZÜBS と略す)で把握された1974～1977年の4年間のサルモネラ症患者数は表2に示すとおりであるが、例年、全患者のほぼ70～77%までが散発事例である。これに反し、家庭内複数発症事例（家庭内集発事例）はほぼ16～20%程度であり、家庭以外の施設での集団発生患者はわずかに10%程度に過ぎない。このようにサルモネラ症患者の大部分が散発事例である点はアメリカ¹³⁾においてもまたイギリス^{18,19)}においてもまったく同様である〔イギリス: 70.4% (1973～1975年)¹⁹⁾〕。

表1. サルモネラ胃腸炎患者数および罹患率の年次推移——西ドイツ

年	患者数	罹患率
1962	2254	3.9
1963	5118	8.8
1964	4020	6.9
1965	5913	10.0
1966	7189	12.0
1967	8240	13.7
1968	6926	11.5
1969	6213	10.2
1970	12410	20.3
1971	10617	17.8
1972	13842	22.5
1973	15986	25.9
1974	22243	35.9
1975	30728	49.7
1976	32262	52.3
1977	28772	46.9
1978	33246	(54) ^{a)}
1979	40715	(66) ^{a)}

a) 西ドイツ保健省の公式年次報告は現時点では1977年分までであるが、1978年以降の数値については週報あるいは月報（本文参照）から著者が集計し、算出した。

表 2. サルモネラ症患者発生状況(事例規模)——西ドイツ

事例区分	菌分離陽性者数 (%)			
	1974年	1975年	1976年	1977年
散発事例	16760 (71.9)	25102 (69.3)	26815 (72.6)	25593 (76.5)
家族内集発事例	4810 (20.6)	6877 (19.0)	6405 (17.4)	5449 (16.3)
施設集発事例	1750 (7.5)	4255 (11.7)	3695 (10.0)	2426 (7.2)
合計	23320 (100)	36234 (100)	36915 (100)	33468 (100)

表 3. 月別患者発生状況——西ドイツ
(1976~1979年)^{a)}

月	患者数 (%)		
	サルモネラ 胃腸炎	腸チフス	パラチフス
1	5542 (4.1)	48 (4.5)	37 (3.9)
2	5256 (3.9)	61 (5.7)	60 (6.4)
3	5418 (4.0)	48 (4.5)	35 (3.7)
4	6160 (4.6)	51 (4.8)	40 (4.3)
5	7015 (5.2)	49 (4.6)	42 (4.5)
6	13276 (9.8)	73 (6.8)	91 (9.7)
7	15120 (11.2)	62 (5.8)	66 (7.0)
8	19629 (14.5)	148 (13.9)	124 (13.2)
9	20885 (15.5)	211 (19.8)	175 (18.7)
10	15075 (11.2)	155 (14.5)	132 (14.1)
11	12891 (9.6)	93 (8.7)	89 (9.5)
12	8663 (6.4)	67 (6.3)	46 (4.9)
合計	134930 (100)	1066 (100)	937 (100)

a) Bundesgesundheitsblatt, 20 (1977) ~ 23(1980) に掲載された週報および月報から著者が集計した(表1の註および本文参照のこと)。

このように西ドイツにおけるサルモネラ症は散発患者が主体となっているが、これらの患者は表3にみられるように、6~11月の間に集中しており、とくに7~10月はこれが顕著である。この表3は Bundesgesundheitsblatt に連載された週報あるいは月報から著者が集計したものであるが、上述のごとく、例年、晩夏に発生のピークがみられている。すなわち9月に患者がもっとも多発している。なおこのパターンは腸チフスおよびパラチフスについてもまったく同様である(表3)。西ドイツのこのような9月をピークとするサルモネラ症患者の発生状況はアメリカにおいても同様であることが10年以上にわたって観察されている。^{20,21)} 欧米開発国ではこのように晩夏から初秋に散発患者がもっとも多発しているが、わが国においては全国レベルでの散発患者の把握がまったく

表 4. 集団発生事例の月別頻度分布——西ドイツ、日本

月	事件数 (%)	
	西ドイツ (1975~1977年)	日本 ^{22,23)} (1970~1978年)
1	5 (2.6)	9 (1.2)
2	7 (3.6)	11 (1.5)
3	19 (9.8)	15 (2.0)
4	12 (6.2)	33 (4.4)
5	23 (11.9)	77 (10.3)
6	17 (8.8)	118 (15.7)
7	24 (12.4)	128 (17.0)
8	21 (10.8)	153 (20.4)
9	20 (10.3)	113 (15.0)
10	17 (8.8)	49 (6.5)
11	21 (10.8)	29 (3.9)
12	8 (4.1)	16 (2.1)
合計	194 (100)	751 (100)

行なわれていないので、実状は不明である。しかし著者らが広島県下で実施している散発患者についての実態調査の成績からすれば、西ドイツやアメリカと同様に夏期に患者が頻発するものの、そのピークはほぼ1カ月早い8月に認められている。¹²⁾

しかしながら集団発生事例となるとやや様相が異なり、西ドイツにおいては表4に示すごとく、厳寒期を除いては初夏の候から初冬にかけて発生頻度に顕著な差が認められない。これに反し、わが国における届出食中毒事例では腸炎ビブリオによる事例ほどではないにしろ、典型的な夏型を示しており^{22,23)}、著者らが広島県下で把握した散発患者の月別発生頻度¹²⁾とよく並行しているといえる(表4)。

つぎに西ドイツの患者における年齢分布を眺めた場合、何よりもまず1歳未満児の353~464という罹患率の高さに驚かされる(表5)。5年単位での年齢階層別事例数では0~4歳の事例が最多となっており、ほぼ8,000

表 5. 年齢階層別罹患率——西ドイツ

年	年齢	全事例数(%)	罹患率 ^{a)}	<i>S. typhimurium</i>		<i>S. panama</i>		<i>S. infantis</i>		<i>S. enteritidis</i>	
				事例数	罹患率	事例数	罹患率	事例数	罹患率	事例数	罹患率
1976年	< 1	2727 (7.2)	463.9	928	157.9	675	114.8	88	15.0	62	10.5
	1~4	6291 (16.6)	234.7	3935	146.8	512	19.1	166	6.2	229	8.6
	5~9	3439 (9.1)	73.4	1968	42.0	273	5.8	145	3.1	246	5.3
	10~19	5205 (13.7)	53.6	2183	22.5	492	5.1	305	3.1	349	3.6
	20~59	16774 (44.2)	53.1	5657	17.9	1735	5.9	1361	4.3	765	2.4
	≥60	3535 (9.3)	28.6	1263	10.2	356	2.9	252	2.0	217	1.8
合計 ^{b)}		37971 (100)	61.8	15934	25.9	4043	6.6	2317	3.8	1869	3.0
1977年	< 1	2034 (6.0)	353.3	845	146.8	107	18.6	73	12.7	60	10.4
	1~4	5904 (17.3)	247.1	3973	166.3	366	15.3	125	5.2	246	10.3
	5~9	2792 (8.2)	68.1	1705	41.6	209	5.1	56	1.4	199	4.9
	10~19	4530 (13.3)	45.2	2176	21.7	468	4.7	174	1.7	295	2.9
	20~59	15724 (46.0)	48.7	5432	16.8	1865	5.8	843	2.6	982	3.0
	≥60	3180 (9.3)	26.5	1126	9.4	367	3.1	174	1.4	259	2.2
合計 ^{b)}		34164 (100)	(55.7) ^{c)}	15257	(24.9) ^{c)}	3382	(5.5) ^{c)}	1445	(2.4) ^{c)}	2041	(3.3) ^{c)}

- a) 人口 100000 あたりの菌分離陽性事例数。
- b) 年齢不明事例を除いた菌分離陽性事例数の合計。
- c) 公式発表はないが、著者が概算によって求めた。

～9,000例(23～24%)を数えている。しかしながらこの中の1歳未満の乳児は2,000～2,700名にも達しており、0～4歳児の事例数の1/5をはるかに越えている。1～4歳児の罹患率(235～247)に比していちじるしく高率な所以はここにあるといえる。このように乳幼児の罹患率はとくに高率であるが、加齢とともに順次低下し、全体としては56～62という数値が得られている。表5に示す数値は1976年と1977年の値であるが、西ドイツにおいては近年、例年このようなパターンが認められている。

表5には頻度分布(後述)1～4位の血清型別の罹患率も同時に記載してある。頻度分布第1位の*S. typhimurium*の感染事例における罹患率はおおむね全事例の場合のそれと並行しているといえるが、とくに注目されるのは、1976年に頻度分布第2位の*S. panama*による事例が1歳未満児に集中しているという事実である。この場合の115という罹患率は同年の*S. infantis*および*S. enteritidis*のその8～11倍もの高値となっている。しかしこの*S. panama*の1歳未満の乳児感染は前年(1975年)は23.9という罹患率⁴⁾となっており、また1977年には18.6と低下している。いずれにしても1976年には乳児の間にこの*S. panama*による異常な流行があった

ことを物語っている。今後の推移に注目したい。

乳幼児のサルモネラ症罹患率の高い点はアメリカでも確認されており、年齢階層別のそれは西ドイツと同様の傾向にあることが報告されている²⁴⁻²⁷⁾。アメリカの場合は西ドイツの罹患率に比して全体的に低値となっている(0～4歳:50～60, 5～9歳:9～12, 10歳以上:<10～10)が、月齢2～3カ月の乳児では300近い罹患率となっている^{26,27)}。このような乳幼児の高い罹患率については、感受性が大であり、しかも重症例の多いこととともに、受診率が成人層に比してきわめて高く、したがって患児の絶対数の多いのは事実であるが、これに加えて上述の理由から患児の把握精度の高い点もその1因として考慮されている²⁵⁾。表6は著者らが実施している広島県下におけるサルモネラ症実態調査の成績にもとづいて、同様に年齢階層別罹患率を算出して示したものである。この数値は西ドイツのそれよりもはるかに低値であるが、アメリカ^{26,27)}とは5～9歳の年齢群を除いてはきわめて近似の値にあるといえる。なお10歳未満と10歳以上の両年齢群の事例数とその比率を求めて比較を試みたところ、表7に示す結果が得られた。この場合においても、広島県の患者の年齢分布は西ドイツよりもむしろアメリカのそれに近い傾向にあるといえる。すなわち、西ドイツでは

乳幼小児の罹患率の高さもさることながら、成人層においても患者が多発しているのに反し、アメリカや広島では西ドイツよりも成人層の事例の低率なことが認められる。

いうまでもなく、サルモネラ症患者の確認には、*Salmonella* の検索、分離、同定、血清型別等の一連の精度の高い作業が必要であるが、この *Salmonella* の検策の前提条件となる臨床医のサルモネラ症の認識・関心の強弱、興味の大小がその地方の確認患者数に大きく反映するのは確かである。いうならばサーベイランスに対する熱意の強弱およびその精密度が地域別罹患率ならびに年齢別罹患率の高低を決定するのである。表8は西ドイツ各州における1976、1977の両年の分離事例数とその人口100,000あたりの比率を示したものである。事例数の大小は人口密度に大きく影響をうけるのは当然のこととしても、これを比率(罹患率)でみた場合にも32.7から114.8(1977年)までの大差が認められる。このような極端な地域差は例年認められているが、アメリカにおいても同様に毎年これがみられている^{20,25,28)} この点についてはいずれも真の罹患率の差とともに、前述の諸要因が大きく関与している点が指摘されている。

なお近年、わが国においてはコレラ、赤痢等とともにサルモネラ症の輸入事例の増加^{29,30)} が指摘されているが、西ドイツではいまのところわずかに1.3~1.8%程度¹⁾に過ぎず、ZÜBSの把握事例のほとんどすべては確実に国内感染事例であるとされている。これに反し、腸チフスは全事例のほぼ20%までが輸入事例³¹⁾である事実が確認されており、その増加傾向には充分な監視と対策が必要であると強調されている。

表6. 年齢階層別罹患率—広島^{a)}

年 齢	1978年		1979年	
	患者数	罹患率	患者数	罹患率
0 ~ 4	79	49.8	66	41.6
5 ~ 9	34	20.5	31	18.7
10 ~ 19	15	5.9	13	5.1
20 ~ 59	108	10.2	83	7.8
≥ 60	19	8.1	15	6.4
(不明)	(2)		(7)	
合 計 ^{b)}	255	13.6	208	11.1

a) 広島・呉・福山医療圏合計人口からその100000あたりの患者数を算出した。

b) 年齢不明事例を除いた患者数の合計。

表7. 乳幼小児と成人の事例数の比較—西ドイツ、アメリカ、広島

年 齢	患 者 数 (%)		
	西 ド イ ツ (1974~1977年)	ア メ リ カ ¹³⁾ (1977年)	広 島 (1978~1979年)
< 10	44141(32.0)	10450(49.7)	210(45.4)
≥ 10	94003(68.0)	10575(50.3)	253(54.6)
合計 ^{a)}	138144(100)	21025(100)	463(100)

a) 年齢不明事例を除外した患者数の合計。

表8. 州別 *Salmonella* 分離事例数およびその比率—西ドイツ

州	1976年		1977年	
	分 離 事例数	分離事/人口 例数/100000	分 離 事例数	分離事/人口 例数/100000
Bremen	779	109.7	807	114.8
Saarland	1056	97.0	725	67.1
Berlin (West)	1832	93.9	1565	81.2
Nordrhein-Westfalen	13907	81.5	13428	78.8
Baden-Württemberg	6528	71.6	5415	59.4
Niedersachsen	4999	69.2	4578	63.4
Rheinland-Pfalz	2254	61.8	2397	65.9
Hamburg	854	50.3	620	36.9
Schleswig-Holstein	1253	48.5	846	32.7
Bayern	4944	45.8	4237	39.2
Hessen	2261	40.8	1982	35.8
合 計	40667	66.2	36596	59.6

感 染 源

西ドイツでは全食物感染症のおよそ97%までがサルモネラ症であるといわれている。したがって種々様々な食品の汚染が関与しているわけである。しかしながらすでに前項で述べたごとく、西ドイツの患者の大部分は散発患者であって、この場合は小規模な家族内発症例も含め

表9. 感染源およびその頻度分布 — 西ドイツ

感 染 源	菌分離陽性者数(%)	
	1976年 ^{a)}	1977年 ^{b)}
食品		
サラダ(ジャガイモ, 鳥肉, 混合)	522(35.3)	120(11.3)
ミンチ肉	127(8.6)	122(11.5)
ソーセージ・罐詰肉	72(4.9)	69(6.5)
生肉	76(5.1)	65(6.1)
鶏肉	96(6.6)	96(9.0)
鳥肉	16(1.1)	21(2.0)
七面鳥肉	11(0.7)	9(0.8)
鶯鳥肉	1(0.1)	
生魚	43(2.9)	19(1.8)
魚肉罐詰	9(0.6)	10(0.9)
貝類(海産物)	6(0.4)	7(0.7)
牛乳加工品	66(4.5)	22(2.1)
牛乳	42(2.8)	2(0.2)
菓子類		96(9.0)
アイスクリーム	38(2.6)	47(4.4)
植物性食品	5(0.3)	8(0.8)
卵	1(0.1)	1(0.1)
卵加工品		12(1.1)
飲用水・表流水	18(1.2)	
不詳	155(10.5)	97(9.1)
小計	1306(88.3)	823(77.3)
接触		
ヒト	100(6.8)	177(16.6)
接触		
農耕用・屠殺用家畜	34(2.3)	53(5.0)
犬	9(0.6)	
鳥類	5(0.3)	
猫	3(0.2)	
小家畜	1(0.1)	
爬虫類(カメ)	2(0.1)	
テンジクネズミ	1(0.1)	
下水		11(1.0)
不詳	18(1.2)	
小計	73(4.9)	64(6.0)
合計	1479(100)	1064(100)

- a) 感染源判明率 = 3.6%, 集団発生事件についての判明率 = 39.7%.
- b) 感染源判明率 = 2.9%, 集団発生事件についての判明率 = 36.4%.

て原因食品の究明はいちじるしく困難である。大規模な集団発生事例とは異なって、「共通食品」なるものの存在の有無の探知およびその探索はまず不可能に近い。したがって ZÜBS の懸命の努力にもかかわらず、およそ患者30名に1名という比率(判明率: 2.9~3.6%)で感染源が究明されているに過ぎないと報告されている。しかし集団発生事件に限れば、認知された事件についての究明率は 36.4~39.7%と算出される。

1976年および1977年の事例についての ZÜBS の把握感染源およびその頻度は表9に示すとおりである。全体のほぼ80~90%近くまでが食物を感染源とするものであるが、その中でもとくにサラダ類の頻度の高い事実が目される。食物感染の40%(1976年)はこのサラダに起因する事例である。1977年にはサラダによる事例が減少し、ミンチ肉(11.5%)とはほぼ同率になっているがしかし、原因食品としては依然として他の食品よりもかなり高率である。サラダ以外ではミンチ肉(9~12%), 鶏肉(7~9%)等が上位を占めている(表9)。このほかに接触感染としてヒト(7~17%), 家畜やペットを含む動物(5~6%)等からの感染事例が認められている。

表10. 集団発生事例における感染源頻度分布 — イギリス, アメリカ, 日本

感 染 源	頻 度 (%) ^{a)}		
	イギリス ¹⁹⁾ (1973~ 1975年)	アメリカ ²¹⁾ (1966~ 1975年) ^{b)}	日本 ²³⁾ (1976~ 1978年)
家 禽 肉	45	24	} 27
牛・豚肉	25	18	
ミルク・クリーム	28	6	
卵		8	7
愛玩動物		4	
魚介類			23
穀類			8
複合調理食品			13
接触(ヒト)		14	
その他	1	26 ^{c)}	22 ^{d)}
[感 染 源] [判 明 率 (%)]	[19]	[72]	[41]

- a) 感染源の究明された事件についてのみの頻度分布(%)を示す。
- b) Silliker²¹⁾ の記載した数値から感染源の判明したものについて再計算して示した。
- c) 低頻度の50種以上の品目を含む。
- d) 野菜, 菓子等の低頻度のものおよびその他の品目の合計。

西ドイツにおけるこのような感染源およびその頻度をイギリス¹⁹⁾ アメリカ²¹⁾ およびわが国²³⁾の集団発生事例についてのそれと比較した場合、表10に示す分布表が得られた。イギリスとアメリカではいずれも食鳥肉がトップの座を占めているところが西ドイツとの大なる相違点のごとく思われる。すなわち西ドイツでは食鳥肉自体が感染源となる頻度は感染者の8.5～11.8%程度に過ぎないからである。しかしながら西ドイツのトップあるいは第2位の座にあるサラダ類には、食鳥肉を含んでいるものが圧倒的に多いことが示されている。したがって食鳥肉自体の頻度は低率ではあっても、これを材料とした食品からの感染事例はイギリスやアメリカと同様、きわめて高率に発生しているのである。

このような家禽肉を含むサラダが高率に感染源となる理由については、いうまでもなく材料となる食鳥肉自体の汚染がその根底にあるのは当然であるが、食品調理技術の近代化がとくにサラダのようないわゆる「調理済み食品」の集中的な同時大量生産とその広域流通化をもたらしたところにその主因があるとされている。近年、このようなサラダ類はチェーン店やセルフサービスショップで家庭用として莫大な量が販売されているのみならず、大規模企業の食堂等へも大量に流通しているといわれている。したがって製造時から消費者の手に渡るまでの時間的距離がいちじるしく延長され、調理過程や流通過程での他の汚染食品からの2次汚染とその後の増殖の可能性の高い点は決して無視しえないところであると強調されている。

一方、わが国においては1967～1976年の10年間の合計では魚介類が感染源としての首位の座を占め、肉類はその半数程度に過ぎなかったのである²²⁾。このように魚好きの国民性が端的に示されていたが、1976～1978年の3年間の統計²³⁾では肉類の頻度がわずかながら魚介類のそれを上回っているのである(表10)。近年の食生活における急速な欧米化がこのような結果をもたらしたのであろうと思われるが、その頻度としては欧米開発国に比してなおはるかに低率である。

すでに述べたように、西ドイツにおける患者発生の把握にはかなりの地域差がみられているが、この患者発生に関連しての感染源の究明にも、州ごとに大差のある事実が認められている。表11は1976年と1977年にZÜBSの把握した感染源の州別究明率を示したものである。この表からもわかるとおり、究明率0%という州もあり、また西ベルリンでは366事例につき1例という比率で解明されているのみである反面、Schleswig-Holstein州ではおよそ4名ごとに1名の割合〔判明率：14.4% (1977

年)〕で感染源が究明されている。この差はまさしく顕著であるというべきである。西ドイツの全事例(菌分離陽性者)についての感染源判明率は1975年が4.3%、1976年が3.6%、1977年が2.9%となっている。しかし集発事件についての判明率は1975年が50%、1976年が39.7%、1977年が36.4%となっている。

イギリスにおいても同様に、家庭内集発事例についてはわずかに2%程度が判明しているにすぎないが、家庭以外の施設での集団発生事例では19%まで究明されている¹⁹⁾。これからすれば、集発事件に限った場合、わが国の41%という究明率(1976～1978年)はアメリカの72%にははるかに及ばないとしても、イギリスよりはやや高く、ほぼ西ドイツなみといえそうである。

ところで、西ドイツにしてもアメリカにしても、さらに広島においても、1歳未満の乳児の罹患率のきわめて高率な事実が注目される場所であるが、この感染源および感染経路についてはほとんど論及されていない。西ドイツの感染源の王座にあるサラダあるいはミンチ肉を月齢2～3カ月の乳児が直接これを口にするのはまず考えられないところである。欧米開発国ではいずれも食鳥肉や牛・豚肉の高率な汚染が感染源としてもそのまま首位の座として明瞭に反映しており、また散発事例が大部分を占めるという事情からしても、家庭内での調理担当者、すなわち主婦の手指汚染が乳幼児への感染をもたらしているものと思われる。さらに乳幼児では成人に比してはるかに微量の菌で感染が成立するといわれている³²⁾ことも、この点を裏付けるものといえよう。この月齢2～3カ月の乳児では軽度の発症でも受診の頻度がい

表11. 州別感染源究明率——西ドイツ

州	1976年		1977年
	感染源究明事例数	全事例数 / 感染源究明事例数	感染源究明率〔%〕
Schleswig-Holstein	299	4.2	14.4
Hamburg	76	11.2	6.1
Saarland	71	14.9	0.0
Niedersachsen	295	16.9	6.3
Hessen	110	20.6	4.0
Baden-Württemberg	186	35.1	1.1
Nordrhein-Westfalen	382	36.4	2.9
Bremen	10	77.9	4.7
Bayern	36	137.3	0.7
Rheinland-Pfalz	9	250.4	0.1
Berlin (West)	5	366.4	0.1
合計	1479	27.5 ^{a)}	2.9

a) 究明率=3.6%.

ちじるしく高いという事情も、患児発見に大きく関与しているといえる。したがって西ドイツにおいてはサラダ類を、イギリスやアメリカでは食鳥肉をそれぞれ直接口にしての感染は、少なくとも乳幼児以外の年齢層に頻発しているものと判断される。

血清型分布

日本国内における血清型頻度分布に関する諸報告³³⁻³⁶⁾をみても、またアメリカ^{20,25-27)}イギリス^{18,19)}におけるそれをみても、いずれも患者分離株の首位の座を占めているのは *S. typhimurium* である。西ドイツにおいてもまた然りである。表12は ZÜBS の把握した年次別のヒト由来株の血清型頻度分布である。*S. typhimurium* と *S. panama* の1位と2位は1973年以来不動のものとなっているが、この両者の分離頻度にはおよそ4倍の開きが認められる。1974年以降は、この両者について *S. enteritidis* と *S. infantis* が3位および4位を占めている。5位以下は年ごとに変化しているが、近年、分離頻度の顕著な上昇傾向を示す血清型として *S. newport* と *S. hadar* がある。特異な現象として注目されている。なお *S. agona* は1974年(11位)を除いては10位以内に入っている血清型であるが、これはアメリカにおいても

1971年以降、急激に分離頻度の上昇を来した血清型である^{21,25)} またイギリスにおいては近年第2位の座を占めている¹⁹⁾ 著者らの広島散発患者についての調査においても、1979年の分離頻度は第4位となっている¹²⁾

表13は西ドイツの集団事例における原因菌についての血清型頻度分布を保健省発表の資料から集計したものである。全般的には表12に示す全事例のそれと大差のないものではあるが、集団事例では *S. heidelberg* が上位にあり、また *S. montevideo* も上位10位以内に入っているのに反し、散発事例を主体とした全事例における分布では6位にある *S. derby* が集団例では10位以内にはみあたらない。しかし前述のごとく、最近 *S. newport* と *S. hadar* による事例の増加が注目されているが、この両者は表12をみてもまた表13をみても、いずれも1976年に10位以内に入った血清型であることがわかる。集団例の多発がこの結果をもたらしたのであろうか——今後の動向がとくに注目されるところである。

西ドイツとの比較の意味で表14^{13,26,27)}と表15^{19,33,37)}にアメリカ、イギリスおよびわが国(東京、大阪)の近年のヒト由来株における血清型頻度分布を示した。西ドイツも含めていずれの国においても *S. typhimurium* が圧倒的な高頻度で首位の座を占めている事実についてはすでに述べたところである。しかし2位以下の血清型

表12. 血清型頻度分布(上位10血清型)——西ドイツ

血清型	分 離 菌 株 数 (%)			
	1974年 〔203血清型〕	1975年 〔224血清型〕	1976年 〔242血清型〕	1977年 〔240血清型〕
<i>S. typhimurium</i>	1 ^{a)} 12464 (41.7)	1. 18517 (43.8)	1. 16987 (41.8)	1. 15644 (42.7)
<i>S. panama</i>	2. 3840 (12.9)	2. 4926 (11.7)	2. 4299 (10.6)	2. 3579 (9.8)
<i>S. enteritidis</i>	3. 2215 (7.4)	3. 2912 (6.9)	4. 1969 (4.8)	3. 2179 (5.9)
<i>S. infantis</i>	4. 1693 (5.7)	4. 2233 (5.3)	3. 2478 (6.1)	4. 1571 (4.3)
<i>S. newport</i>			7. 1131 (2.8)	5. 1288 (3.5)
<i>S. derby</i>	7. 640 (2.1)	7. 1003 (2.4)	5. 1343 (3.3)	6. 1026 (2.8)
<i>S. brandenburg</i>	5. 1451 (4.9)	5. 1311 (3.1)	8. 867 (2.1)	7. 813 (2.2)
<i>S. hadar</i>			9. 862 (2.1)	8. 772 (2.1)
<i>S. agona</i>		8. 948 (2.2)	6. 1166 (2.9)	9. 728 (2.0)
<i>S. typhimurium</i> var. <i>copenhagen</i>	8. 592 (2.0)	9. 818 (1.9)	10. 835 (2.0)	10. 698 (1.9)
<i>S. heidelberg</i>	6. 665 (2.2)	6. 1234 (2.9)		
<i>S. typhi</i>	9. 579 (1.9)			
<i>S. braenderup</i>	10. 520 (1.7)	10. 757 (1.8)		
小 計	24659 (82.6)	34659 (82.1)	31937 (78.5)	28298 (77.3)
その他の血清型	5203 (17.4)	7575 (17.9)	8730 (21.5)	8298 (22.7)
合 計	29862 (100)	42234 (100)	40667 (100)	36596 (100)

a) 分離頻度順位。

は同一国においても年によって異なり、必ずしも固定的なものではないが、西ドイツではここ数年連続して2位を占めている *S. panama* はイギリスおよびアメリカでは10位以内にはみあたらない。これに反し、*S. enteritidis*, *S. infantis*, *S. newport*, *S. agona* 等はいずれもこれらの3国においては10位以内に入っており、*S. typhimurium* には及ばないにしても、世界的にきわめて広範囲に分布していることが理解される。なお *S. hadar* は西ドイツでは1976年にはじめて10位以内に入った血清型であ

るが、これがイギリスにおいてもほぼ同じような分離頻度で第9位に現れている。¹⁸⁾

わが国では現在のところ、残念ながら全国レベルでの集計が行なわれていない。もっとも届出の対象が食中毒に限定されており、実際にはそれをはるかに凌駕する散发患者の発生がありながら¹⁰⁻¹²⁾ その把握がまったくなされていないのがその最大の理由と思われる。したがって、地域的な分離菌株についての頻度分布は報告されているが、全国的な展望は現時点では望むべくもない。し

表13. 集団発生事例における血清型頻度分布——西ドイツ

血清型	事 件 数			合 計 (%)
	1975年	1976年	1977年	
<i>S. typhimurium</i>	9	15	12	36 (18.5)
<i>S. enteritidis</i>	8	8	11	27 (13.8)
<i>S. panama</i>	7	13	3	23 (11.8)
<i>S. heidelberg</i>	6	3	1	10 (5.1)
<i>S. infantis</i>	2	5	3	10 (5.1)
<i>S. hadar</i>		4	5	9 (4.6)
<i>S. newport</i>		5	3	8 (4.1)
<i>S. typhimurium</i> var. <i>copenhagen</i>		1	6	7 (3.6)
<i>S. monteideo</i>	2	2	2	6 (3.1)
<i>S. agona</i>	3	2		5 (2.6)
<i>S. braenderup</i>	1	1	3	5 (2.6)
そ の 他	12a)	19b)	18c)	49 (25.1)
合 計	50	78	67	195 (100)

a) *S. paratyphi B* による集発事例1例を含む。

b) *S. typhi* による集発事例1例を含む。

c) *S. typhi* および *S. paratyphi B* による集発事例各1例を含む。

表14. 血清型頻度分布——アメリカ^{13, 26, 27)}

順位	血清型	1979年	1978年	1977年
		分離菌株数(%)	順 位	順 位
1.	<i>S. typhimurium</i> ^{a)}	10153 (32.6)	1	1
2.	<i>S. enteritidis</i>	2633 (8.5)	3	4
3.	<i>S. heidelberg</i>	2490 (8.0)	2	3
4.	<i>S. newport</i>	1915 (6.2)	4	2
5.	<i>S. infantis</i>	1417 (4.5)	5	5
6.	<i>S. agona</i>	1103 (3.5)	6	6
7.	<i>S. saintpaul</i>	856 (2.8)	9	7
8.	<i>S. typhi</i>	647 (2.1)	8	8
9.	<i>S. monteideo</i>	613 (2.0)	7	9
10.	<i>S. oranienburg</i>	592 (1.9)	(<i>S. javiana</i>)	10
	小 計	22419 (72.1)	20754 (72.2)	19662 (71.6)
	そ の 他	8704 (27.9)	7994 (27.8)	7800 (28.4)
	合 計	31123 (100)	28748 (100)	27462 (100)

a) *S. typhimurium* var. *copenhagen* を含む。

かしながら、1980年1月から全国の衛生研究所と国立予防衛生研究所の共同事業として、病原微生物分離情報の収集が始められており、まもなくこれに病院での分離情報も加えられる見込みなので、近い将来、全国規模でのサルモネラ情報が公表されるものと思われる。その期待や大である。なお表15には東京³⁷⁾と大阪³³⁾の散発患者についての上位10血清型とその頻度を比較すべく表示した。欧米諸国の全国レベルでの集計成績との直接的な比較は困難としても、わが国の大都市における散発患者についての状況としてはある程度理解できるはずである。両都市とも *S. typhimurium*, *S. derby*, *S. thompson*, *S. enteritidis*, *S. infantis* 等が上位を占めており、これはわが国における一般的な傾向ではないかと推測される。これらの血清型の大部分は表12~15に示すように、欧米諸国においても10位以内に入っており、まさにわが国のサルモネラ症も世界の開発国の仲間入りをしたようである。なお坂崎ら³⁶⁾によれば、1978年に国立予防衛生研究所で型別された *Salmonella* 菌株(大部分はヒト由来)では半数近い数を *S. typhimurium* が占めているが、それにつぐものとして、*S. agona*, *S. enteritidis*, *S. thompson*, *S. cerro*, *S. panama*, *S. tennessee* 等となっている。とくに従来は稀な血清型であった *S. tennessee* と *S. cerro* の台頭とともに、一時はいちじるしく頻度の低下した *S. enteritidis* の最近の増加については、その病原性の点からも今後の十分な警戒が必要であると述

べている。この *S. tennessee* や *S. cerro* は最近は広島地方でもかなりの頻度で分離されている。現在のところ、国立予防衛生研究所での順位は地方からの型別困難な菌株についての型別依頼の頻度によってそれが決まると推察されるので、必ずしも全国的な傾向を表明しているとは思えないが、*S. agona* の世界的な急増の例もあり、*S. tennessee* や *S. cerro* についてはいうまでもなく、その他の稀な血清型についても、今後の動向に注目する必要性を指摘しているのは確かである。

臨床症状

ZÜBS では臨床症状の解析にも努力が払われている。表16は1976年と1977年にZÜBSで把握された症状別頻度分布についての公表資料から顕性患者を集計して、胃腸炎とチフス性疾患とに分けて比較したものである。*S. typhimurium* の感染事例は全顕性事例のほぼ半数を占めているが、この場合はほとんどすべてが胃腸炎を呈しているといえる。またこの *S. typhimurium* を主体とした全事例においてもほぼ同様の状態にあるといえる。しかし *S. typhi* による事例ではさすがにチフス性疾患の比率が圧倒的に大となり、また *S. paratyphi B* による事例においても、チフス性疾患がかなり高率となっている。しかし *S. typhi* の感染事例のうちのほぼ34~39%は胃腸炎型の症状を呈している点は注目すべき事実であ

表15. 血清型頻度分布——イギリス、日本(東京、大阪)

	分 離 菌 株 数 (%)	
	イギリス ¹⁹⁾ (1973~1975年: 229血清型)	東 京 ³⁷⁾ 大 阪 ³³⁾ 〔散発患者: 1967~1975年〕 〔桃山病院外来患者: 1970~1977年〕
1 ^{a)} <i>S. typhimurium</i>	8396 (31.6)	1. <i>S. typhimurium</i> 802 (48.2)
2. <i>S. agona</i>	3685 (13.9)	2. <i>S. thompson</i> 85 (5.1)
3. <i>S. enteritidis</i>	2602 (9.8)	3. <i>S. infantis</i> 84 (5.0)
4. <i>S. heidelberg</i>	1178 (4.4)	4. <i>S. enteritidis</i> 76 (4.6)
5. <i>S. anatum</i>	1009 (3.8)	5. <i>S. heidelberg</i> 58 (3.5)
6. <i>S. indiana</i>	931 (3.5)	6. <i>S. derby</i> 38 (2.3)
7. <i>S. newport</i>	908 (3.4)	6. <i>S. schwarzengrund</i> 38 (2.3)
8. <i>S. infantis</i>	698 (2.6)	8. <i>S. blockley</i> 33 (2.0)
9. <i>S. hadar</i>	512 (1.9)	8. <i>S. typhi</i> 33 (2.0)
10. <i>S. bredeney</i>	494 (1.9)	10. <i>S. anatum</i> 32 (1.9)
		1. <i>S. typhimurium</i> 111 (45.7)
		2. <i>S. derby</i> 25 (9.8)
		3. <i>S. thompson</i> 24 (9.4)
		4. <i>S. enteritidis</i> 15 (5.9)
		5. <i>S. infantis</i> 9 (3.5)
		5. <i>S. give</i> 9 (3.5)
		7. <i>S. montevideo</i> 8 (3.1)
		8. <i>S. potsdam</i> 7 (2.7)
		9. <i>S. litchfield</i> 5 (2.0)
		10. <i>S. bredeney</i> 4 (1.6)
		10. <i>S. java</i> 4 (1.6)
		10. <i>S. irumu</i> 4 (1.6)
小 計	20413 (76.8)	小 計 1279 (76.8)
その他の血清型	6161 (23.2)	その他の血清型 386 (23.2)
合 計	26574 (100)	合 計 1665 (100)
		小 計 231 (90.2)
		その他の血清型 25 (9.8)
		合 計 256 (100)

a) 分離頻度順位。

ろう。同様の集計を1975年の年次報告⁴⁾から行なった場合、*S. typhi* の顕性感染事例の27.3%は胃腸炎型に分類された。したがって西ドイツでは*S. typhi* の感染発症患者のほぼ30~40%程度は典型的な腸チフスとはならず、胃腸炎を呈しているといえよう。

わが国では食中毒事例のみが届出の対象となっている点についてはすでにくりかえし述べたところであるが、近年の散発例の増加につれ、サルモネラ症の病像もきわめて多彩なものとなっているといわれている。³³⁾ 桃山病院では最近とくに乳幼小児の重篤な事例によく遭遇するが、それらの症状としては上気道炎、髄膜炎、コレラ様症状等が注目されると報告している。³³⁾ そしてこの幼小児の重篤な事例は現在もっとも警戒すべき疾患のひとつであると強調している。

対 策

西ドイツ保健省から公表される年次報告には以上のほかにも、フェージ型頻度分布、血清型別分離菌株数の一覧表等が掲載してあるが、これらについては割愛し、「文明の悪疫」への対策の要約を紹介することとする。

現在のところ、西ドイツでは食物感染症の97%までがサルモネラ症患者で占められており、またそのほとんどが自国内感染である事実、ならびに0~4歳の低年齢層の罹患率が成人層に比していちじるしく高い事実等が明らかにされているが、防止対策としてもっとも重要な感染源および感染経路の究明率はきわめて低率に終わって

いる点が指摘されている。当然これらについての広範な疫学的追究が必要である。

同時に、最近の食品の流通の実態や製造法の進歩にも目をむける必要があるとされている。食肉用家畜・家禽類の大量飼育法にともなう汚染飼料の大量供給とその結果としての汚染肉の世界的な広域流通、さらには近年の動物性食品の集中的同時大量製造、その広域流通は、製造時から消費者の口までの時間的距離をいちじるしく長いものにしており、また一方ではサラダのごとき調理済み食品が大量に市販されている。これらの流通過程のいずれの段階をみても、2次汚染や増殖の可能性が考慮される現状にあるといえる。このような状況は単に西ドイツのみならず、世界的な難問題であり、いまだちに解決できるという見通しがあるわけではない。しかしながら、ZÜBSによる事業は従来はきわめて発見の困難であった局地的な散発例や小規模な流行例等についての把握を可能なものとしており、現在では全国的な視野での展望と解析に貢献している。したがってこれを基盤にして、これまでしばしば致命的な欠陥が指摘された食品の集中的な同時大量生産に関する適確な技術開発とその適用が何よりもまず必要であり、消費者の教育も含めて、医学と獣医学およびその他の関連分野との緊密な連携のもとに、予防にむけての研究が不可欠であると強調している。

西ドイツと同様に、イギリスやアメリカにおいても全国的な視野での解析がなされているが、アメリカでは顕性患者の1%程度のみが把握されているに過ぎないとい

表16. 臨床症状—西ドイツ

年	症 状	総事例数(%)	血清型別事例数 (%)		
			<i>S. typhi</i>	<i>S. paratyphi B</i>	<i>S. typhimurium</i> ^{a)}
1976年	胃 腸 炎	21731 (98.7)	63 (34.1)	93 (67.9)	10409 (99.4)
	チフス性疾患	281 (1.3)	122 (65.9)	44 (32.1)	68 (0.6)
	合 計	22012 (100)	185 (100)	137 (100)	10477 (100)
	無症状排菌者	8223	70	79	2421
	症状不詳	10432	39	69	4089
	総 計	40667	294	285	16987
1977年	胃 腸 炎	19362 (98.6)	66 (38.6)	198 (76.7)	9803 (99.3)
	チフス性疾患	280 (1.4)	105 (61.4)	60 (23.3)	74 (0.7)
	合 計	19606 (100)	171 (100)	258 (100)	9877 (100)
	無症状排菌者	8324	62	112	2808
	症状不詳	8666	55	99	3657
	総 計	36596	288	469	16342

a) *S. typhimurium* var. *copenhagen* を含む。

われている^{24,25,38)} しかしながら、たとえ1%の把握であっても、それはいかに膨大な数の患者が発生しているかを物語っているものであり、そしてこの経時的なデータの積み重ねとその解析は、サルモネラ症の実態把握へのアプローチとしてはきわめて有用なものであって、予防対策を考慮するうえで決して無駄にはならない点がかえりかえり指摘されている^{24,25,38)} さらにサルモネラ症の重要性にかんがみ、義務教育課程から一貫して教育カリキュラムの中にとり入れ、一般家庭での発生防止にそなえるとともに、食品メーカーおよび取扱者の徹底的な管理が不可欠なものとして提案されている。これを10年前に開始しておれば、少なくとも今日ほどの事態にはならなかったであろうし、また今ただちにこれを開始しなければ、20年後にはさらに悲惨な事態を招来することになるろうと Silliker²¹⁾ は強調している。

また Hobbs³⁹⁾ は、すでに1920年代から多くの動物が *Salmonella* のリザーバーとなっている点が認識されていたにもかかわらず、その知識が現在まで活用されなかったこと、すなわち現代科学の進歩とはうらはらに、おのおのの専門分野が互に協力し得なかった結果のもたらした典型が今日のこのサルモネラ症であると決めつけている。この反省にもとづいて彼女は病原微生物の生態と食品中での動態についての国民への教育の徹底が不可欠であると教えている。ZÜBS とまったく同趣旨の指摘である。

これに反し、わが国においてはサルモネラ症に対する認識は欧米開発国に比して決して高いとはいえず、対策にしても「食中毒届出」後のただか数日間の営業停止とこの間の若干の設備改善くらいのものであろう。患者の把握は何度もくりかえし指摘したごとく、あくまでも「食中毒患者」のみが対象であり、欧米諸国と同様に頻発していることが確実な散発患者¹⁰⁻¹²⁾ についてはようやくこれからといったところである。

ところで、わが国の顕性サルモネラ症患者は年間100万人は下るまいと推測されている⁴⁰⁾ しかしながら年間の届出サルモネラ食中毒患者はわずかに3,000名程度である²²⁾ しかもこれは大部分が男性の成人層であり、またほとんどすべて集発例であって、現行の届出食中毒原因菌別患者数ではもっとも男女差の大きいものとなっている²³⁾ 集団的な外食の機会の頻度差がこの大差を生み出しているものと判断される。これに反し、西ドイツその他の欧米開発国における最近の全国的規模での展望では、男女間に大差が認められたという報告はまったくないのである。このようにわが国の届出患者とは、西ドイツやイギリスにおける集発事例の患者に相当する10%程

度に過ぎず、患者の70%までを占めている散発例はまったく含まれていないのである。したがって厚生省から例年公表される事件数とその患者数は、わが国のサルモネラ症の実態からはまことにほど遠いものであるのは明白な事実である。

なお欧米開発国では感染源としての危険性の故に市販禁止の法的措置のとられている“ミドリガメ”やサル類が、わが国ではそれらからの乳幼児への感染が証明された後においても、依然として堂々と野放しの状態で大量にペット用として市販されている。まったく何らの感染防止対策もとられていないのである^{41,42)}

これらの例をみるまでもなく、サルモネラ症への対処は今ただちにスタートしたとしても決して早すぎるものではないのである。欧米開発国なみの実態把握の段階までに最低何年を要するのか、現状では予測は困難であるが、いずれにしても地研と予研の病原微生物検出情報に、病院その他のあらゆる検査機関からの情報の導入をはかり、精度の高いサーベイランス体制を確立し、全国的な視野での解析を可能とすることがまず何よりも急務である。また Silliker²¹⁾ が強調するように、義務教育年齢からの教育を今ただちに開始したとしても、実効が期待されるのは少なくとも10数年は先のことであろう。「今やまさに全力をあげてサルモネラ症に対処すべき時なのである」という Sir Howie の言⁴³⁾ はそのまま今日のわが国のサルモネラ症にもあてはまるものであって、決して遠い国のサルモネラ症のことではないのである。このように今やサルモネラ症はわが国においても難問中の難問なのであるが、欧米開発国とわが国との患者の把握およびそれへの対処の極端なまでの大差は、前述のペット対策の点でも触れたように、その大部分が行政分野における認識の欠除がもたらしたものであるのは確かであろう。年間100万人の患者を生み出すサルモネラ症という「文明の悪疫」の跋扈をこのまま許すか否かはまさに行政分野の対応の如何にかかっているといえよう。

結 語

サルモネラ症の顕性患者が100万人にも達するであろうと推測されるわが国にあっては、現在のところこの文明の悪疫に対する国レベルでの特別な対策は何ひとつとられていない。欧米開発国ではすでに1960年代初期には国レベルでの実態把握が開始されており、それなりに今日、膨大な資料の蓄積をみている。しかしこれをもってしても、ヒトの生活環境から *Salmonella* を完全に駆逐することはまず不可能であろうといわざるを得ない。菌

側の宿主域のきわめて広範な事実と適応力の強さが、ヒトの生活の近代化——とりわけ動物性食品の製造技術の進歩による集中的な大量生産、その広域流通化、調理済み食品の広範な普及等——にともなう今日のサルモネラ症の増大をもたらしたのは確かである。ここに食品の安全性の確保と経済性の調和をめざしての広範な研究が必要であるのはいうまでもないところであるが、同時に、欧米開発国で近年とくに強調されているように全国民に対する啓蒙と教育、とくに義務教育年齢からの学校教育と食品企業およびその流通過程に関与する全員についての十分な指導と管理は、わが国においても今ただちに着手すべき必須事項である。医学、獣医学、食品衛生(工)学等々の多くの関連分野での研究成果を行政的に最大限に活用することが何よりも不可欠である。躊躇は年々100万人もの患者を生み出すことになるのである。

文 献

- 1) Pöhn, H-P., Brandis, H. und Steidten, G. (1980): Salmonellose-Überwachung beim Menschen in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin (West) 1977. Bundesgesundheitsbl., 23:225-243.
- 2) Weise, H-J. (1976): Salmonellose—Zivilisationsseuche. Bundesgesundheitsbl., 19:17-20.
- 3) Popp, L. (1975): Salmonellen beim Menschen und in seiner Umwelt. Bericht über Beobachtungen aus einem Zeitraum von 21 Jahren (1954—1974 incl.). Öffentl. Gesundheitswesen, 37:650-663.
- 4) Pöhn, H-P., Brandis, H. und Hofmann, S. (1977): Salmonellose-Überwachung beim Menschen in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin (West) —Jahresbericht 1975. Bundesgesundheitsbl., 20:133-148.
- 5) Weise, H-J. (1977): Die aktuelle Bedeutung der Zoonosen im Rahmen meldepflichtiger Infektionskrankheiten des Menschen. Bundesgesundheitsbl., 20:353-362.
- 6) Weise, H-J. (1978): Salmonellosebekämpfung aus humanmedizinischer Sicht. Fleischwirtschaft, 58: 995-1000.
- 7) World Health Organization (1976): Microbiological aspects of food hygiene: report of a WHO Expert Committee with the participation of FAO. WHO Techn. Rep. Ser., No. 598, p. 9-15.
- 8) Delon, P. J. (1976): *Salmonella* surveillance in 1973. WHO Chronicle, 30:240-242.
- 9) World Health Organization (1978): Action to reduce human health hazards arising from animals. WHO Chronicle, 32:307-310.
- 10) 西尾隆昌, 宮崎佳都夫, 中森純三, 相坂忠一, 槇坪慎一, 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) 稲葉裕(1980): アメリカ合衆国におけるサルモネラ症(CDC報告). 公衆衛生, 44: 137-140.
- 14) 天野立爾(1965): イギリスおよびウエルズにおける1963年の食中毒. 食衛誌, 6: 466-472.
- 15) 天野立爾(1966): イングランドおよびウエルズにおける1964年の食中毒. 食衛誌, 7: 354-360.
- 16) 天野立爾(1967): イングランドおよびウエルズにおける1965年の食中毒. 食衛誌, 8: 358-366.
- 17) Weise, H-J., Pöhn, H-P. und Hofmann, S. (1974): Das Zentrale Überwachungsprogramm des Bundesgesundheitsamtes für Salmonellosen (einschl. Typhus und Paratyphus). Bundesgesundheitsbl., 17:89-91.
- 18) Vernon, E. and Tillett, H. E. (1974): Food poisoning and salmonella infections in England and Wales, 1969-1972. Publ. Health, Lond., 88:225-235.
- 19) Vernon, E. (1977): Food poisoning and salmonella infections in England and Wales, 1973-75: an analysis of reports to the Public Health Laboratory Service. Publ. Health, Lond., 91:225-235.
- 20) Aserkoff, B., Schroeder, S. A. and Brachman, P. S. (1970): Salmonellosis in the United States — a five-year review. Amer. J. Epidemiol., 92:13-24.
- 21) Silliker, J. H. (1980): Status of *Salmonella* — ten years later. J. Food Protect., 43:307-313.

- 22) 西尾隆昌(1979): 細菌性食中毒20年の軌跡. 広島大学医学雑誌, 27:217-234.
- 23) 厚生省環境衛生局食品衛生課(1980): 昭和53年全国食中毒事件録.
- 24) Fox, M. D., Loesenstein, M. S. and Martin, S. M. (1972): *Salmonella* surveillance - 1970. *J. Infect. Dis.*, 125:196-198.
- 25) Ryder, R. W., Merson, M. H., Pollard, R. A., Jr. and Gangarosa, E. J. (1976): *Salmonellosis* in the United States, 1968-1974. *J. Infect. Dis.*, 133:483-486.
- 26) Center for Disease Control (1980): Human *Salmonella* isolates - United States, 1978. *Morbid. Mortal. Week. Rep.*, 28:618-619.
- 27) Center for Disease Control (1980): Human *Salmonella* isolates - United States, 1979. *Morbid. Mortal. Week. Rep.*, 29:189-191.
- 28) Gould, K. L., Gooch, J. M. and Ching, G. Q. L. (1972): Epidemiologic aspects of salmonellosis in Hawaii. *Amer. J. Publ. Health*, 62:1216-1221.
- 29) 工藤泰雄(1979): 輸入感染性腸炎の実態とその検査. 臨床と細菌, 6:46-56.
- 30) 大関瑠子, 首藤栄治, 芦田博之(1979): 埼玉県の海外旅行者の腸管系病原細菌検索成績(昭和52年). 埼玉県衛研所報, 12(1978年):33-37.
- 31) Weise, H-J. (1976): *Tourismus und Infektionsrisiko*. *Münch. Med. Wochenschr.*, 118:1061-1068.
- 32) 坂崎利一(1975): *Salmonella* とサルモネラ症. 臨床と細菌, 2:339-342.
- 33) 青木隆一(1978): 最近のサルモネラ症 — とくに排菌持続例の解析と除菌機構を中心に. 感染症, 8:161-168.
- 34) 坂井千三, 加藤貞治(1978): 最近の感染性腸炎. モダンメディア, 24:577-586.
- 35) 斎藤誠(1979): サルモネラ症の最近の動向. 公衆衛生, 43:856-859.
- 36) 坂崎利一, 田村和満, 熊谷共枝(1979): サルモネラの分布に関する調査研究. 国立予研年報, 32(昭和53年度):60.
- 37) 伊藤武(1977): サルモネラ食中毒とその問題点. 東京都予防医学協会事業年報, 6(昭和50年度):106-111.
- 38) Black, R. T., Cox, R. C. and Horwitz, M. A. (1978): Outbreaks of food-borne disease in the United States, 1975. *J. Infect. Dis.*, 137:213-218.
- 39) Hobbs, B. C. (1977): Problems and solutions in food microbiology. *Food Technol.*, 31(1):90-96.
- 40) 善養寺浩(1979): 細菌性食中毒最近の趨勢. 臨床検査, 23:785-790.
- 41) 西尾隆昌(1979): ペットとサルモネラ症. 広島県衛研研究報告, 26:1-25.
- 42) 本庄重男(1979): 野生サル類の輸入に関する公衆衛生上の問題点. モダンメディア, 25:428-433.
- 43) Howie, J. (1976): The pattern of communicable diseases in the UK and abroad. *Brit. Med. J.*, ii:217-219.

新生児およびその哺育環境からの分離
緑膿菌の protease と elastase の産生性

西尾隆昌* 中森純三* 宮崎佳都夫*

Production of Protease and Elastase by *Pseudomonas aeruginosa*
Strains Isolated from Newborn Infants and Nursery Environments

TAKAMASA NISHIO, JUNZO NAKAMORI and KAZUO MIYAZAKI

(Received August 28, 1980)

Referring to strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from newborn infants, puerperants as well as environments of the newborn nursery in the obstetric department of seven general hospitals and three maternity clinics, the productivity of protease and elastase, which are known to be the markers of its pathogenicity, was compared with that of strains isolated from lesions of the inpatients.

It was found that regardless of the materials subjected to the isolation of *P. aeruginosa*, an overwhelming majority of those isolated strains produced both enzymes. Therefore, the strains of *P. aeruginosa* carried by the newborn infants and *P. aeruginosa* found in the environments of newborn nursery are completely same as those originated from lesions of the patients as far as the productivity of protease and elastase is concerned. Meanwhile, the strains examined were the varieties of serotype and pyocin type, among which it was clarified that in those classified as serotype E and pyocin type 10, the strains lacking in elastase productivity existed at a much higher rate than those in other types.

結 言

近年、緑膿菌感染症の増加傾向^{1,2)}とともに、その病原性の発現機序が注目され、種々の産生物質の発症への関与についての研究が多方面から行なわれている。³⁻¹²⁾ それらのうち protease, elastase および exotoxin A はいずれも菌側の病原因子としてはもっとも重要な存在であることが確認されている。³⁻¹²⁾ すなわち患者病巣由来株のほとんどすべてが上記の両酵素および毒素を産生することが観察されており、これらのいずれかあるいはすべての産生能を欠く菌株は動物モデルでの virulence に大差の認められることが報告されている。^{1,5,7,11)}

この緑膿菌は opportunistic pathogen ではあっても、

新生児に感染した場合にはこれがしばしば流行にまで拡大した例が過去に数多く認められている。¹³⁻²¹⁾ 著者らは新生児の病原細菌保菌の実態を追究する一環として、これまでに新生児、その産婦ならびに新生児哺育環境について緑膿菌を検索し、新生児への伝播経路の究明を行ってきた。²²⁻²⁵⁾ この過程で分離された緑膿菌は多彩な血清型、ピオシン型に分類された。しかしこれらの新生児やその哺育環境由来の菌株が患者病巣由来株と同様の virulence を有するものか否かについては明らかにされていない。そこでこれらの分離菌株について病原マーカーといわれる上記の protease と elastase の両酵素産生性を観察し、患者病巣由来株のそれと比較検討を行なった。

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

研究材料および方法

供試菌株：広島市内の総合病院（7病院）の産科および個人経営の産科医院（3医院）で出生した新生児の生後5～7日の糞便とその産婦（出産時あるいはその直前）の糞便から分離された610株²²⁻²⁵前記の7総合病院のうちの2病院の新生児哺育環境²²⁻²⁴からの分離菌株204株、ならびに総合病院（3院）から分与された入院患者病巣からの分離直後の107株²⁵の合計921株を供試した。この場合、同一検体から得られた2菌株について試験し、同時に行なった血清型別試験およびピオシン型別試験の結果がそれぞれ同一であればこれを1株として整理したので、実際の供試菌株数はほぼ2倍程度の数となる。血清型別試験は市販（東芝生研）の血清を用いて行ない、ピオシン型別試験は Gillies らの方法²⁶で行なった。

Protease 産生試験：緑膿菌研究会の方法²⁷に準拠して実施した。ただし普通寒天（日水製薬）に牛乳カゼイン（半井化学）を1%添加して滅菌後、別に滅菌しておいたCaCl₂水溶液を0.02Mの濃度になるように無菌的に添加して平板とした。これに被検菌を直径3mm程度の円状に接種して37°Cで20時間培養し、菌苔周辺の透明環の有無を観察して産生性を判定した。判定に際しては、東京大学医科学研究所の本間 遜教授より分与をうけたIFO3455 および NC-5 の両株を必ず供試株とともに接種し、これを基準として判定した。

Elastase 産生試験：粉末エラスチン（半井化学）を1%添加した普通寒天平板を用いる緑膿菌研究会²⁷の方法に従って実施した。この場合も IFO3455 および NC-5 の両株を必ず同時に接種して判定基準とした。判定は37°Cでの48時間培養後に行なった。

結 果

1975年12月から1979年10月までの実験期間中に得られた全菌株についての酵素産生性をその産生パターンによって整理した結果、表1に示す成績が得られた。この表に示すごとく、供試菌株はその由来に関係なくきわめて高率（80～93%）に protease と elastase を産生する菌株であることが確認された。

新生児からの分離菌株は産婦からのそれとは異なって、病院ごとに特定の菌型（血清型およびピオシン型）に集積する傾向が大であるが、この点については哺育環境に濃密に存在する菌型の伝播によるものであることを明らかにし²²⁻²⁵すでに報告したところである。表2はR病院における分離緑膿菌の菌型別分離頻度と酵素産生性の関係を示したものである。分離菌はその酵素産生パターン、血清型およびピオシン型の組合せで35の菌型に分類された。産婦由来株は14菌型に分散したが、新生児由来株は8菌型にとどまり、しかも E:10/P⁺E⁺, F:1/P⁺E⁺, F:10/P⁺E⁺ および E:10/P⁺E⁻ の菌型への集積が顕著であった。新生児哺育環境からは28菌型にも及ぶ菌株が分離され、きわめて多系統の緑膿菌の存在する事実が明らかになったが、新生児からとくに高率に分離された上記の4菌型は環境からもきわめて高頻度に分離されている。

このR病院における分離菌の場合、E:10と型別される菌株が新生児と環境のいずれからもっとも高率に分離されているが、この型の菌株は elastase 産生性の点で明らかに2群に分けられる事実が判明した。このE:10菌株については後に病院ごとに解析を試みることにするが、このR病院の環境に高率に存在する E:10/P⁺E⁻ 菌株の新生児への伝播によって、新生児由来株における elastase 産生株の頻度が他の病院の場合よりも低率となっている。なお E:10/P⁺E⁺ 菌株は主として研究期間

Table 1. Incidence of protease and elastase production by *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from various sources

Enzyme production ^{a)}	Number of isolates (%) from:			
	Feces of puerperants	Feces of newborns	Newborn nursery environments	Lesions of inpatients
P ⁺ E ⁺	147 (93.0)	405 (89.6)	163 (79.9)	96 (89.7)
P ⁺ E ⁻	7 (4.4)	41 (9.1)	38 (18.6)	8 (7.5)
P ⁻ E ⁻	4 (2.5)	6 (1.3)	3 (1.5)	3 (2.8)
Total	158 (100)	452 (100)	204 (100)	107 (100)

a) P⁺: protease-producing, P⁻: non-protease-producing, E⁺: elastase-producing, E⁻: non-elastase-producing

の前半に分離され、E:10/P⁺E⁻ 菌株は逆に後半に高率に分離されている。

表3はS病院で行なった同様な研究の結果を示したものである。新生児由来菌株中とくに多数を占めたI:5/P⁺E⁺ 菌株は既報²²⁻²⁴⁾ のとおり哺乳器具の高率な汚染を惹起していたが、その改善対策実施後には新生児からもその哺育環境からもまったく分離されていない。前述のR病院の場合は、環境由来株と新生児由来株の菌型頻度分布がよく並行した典型であるが、このS病院の場合はその逆の典型である。すなわち、新生児、環境両由来株の菌型頻度分布は前述のI:5 菌株を除いては明らかに

異なっている。新生児への伝播の源となっているリザーバ的存在が不明に終わった例といえる。しかし新生児と環境からの分離菌株の protease と elastase 産生性は前者が97.5%、後者は100%といずれもきわめて高率である。さきのR病院の場合はこれがS病院に比してかなり低率ではあったが、新生児、環境両由来株における酵素産生株の頻度はきわめて近似した値となっている(表2)。

新生児由来の452株のうちP⁺E⁺ は405株(89.6%)と産婦由来株における93%ときわめて近似の値であるが、新生児由来株はすでに述べたごとく病院ごとに菌型集積

Table 2. Sero-pyocin types and enzyme productivity of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Hospital R

Enzyme production ^{a)}	Sero-pyocin type ^{b)}	Number of isolates (%) from:		
		Feces of puerperants	Feces of newborns	Newborn nursery environments
P ⁺ E ⁺	B:1	1		8
	B:6	1		
	B:9	1		
	B:10	1		
	D:10		1	
	E:1	1		1
	E:3			2
	E:10		19	42
	F:1	1	10	13
	F:10		10	26
	F:13			8
	F:NT			9
	G:3	2		3
	H:1		2	
	I:5	1		1
	I:22	1		
	K:10			1
	NA:1	1		5
	NA:3	3		2
	NA:10		1	1
	NA:13			6
NA:17	1			
NA:33			1	
NA:NT	2		5	
Subtotal		17 (94.4)	43 (78.2)	135 (76.7)
P ⁺ E ⁻	B:3			2
	D:1			1
	D:NT			1
	E:3			1
	E:10	1	11	27
	NA:10			1
	NA:31			5
	NA:NT		1	
Subtotal		1 (5.6)	12 (21.8)	38 (21.6)
P ⁻ E ⁻	E:1			1
	E:31			1
	NA:NT			1
	Subtotal			3 (1.7)
Total		18 (100)	55 (100)	176 (100)

a) Refer to Table 1.

b) Expressed as "O-group:pyocin type"; NA:nonagglutinable (untypable), NT:nontypable.

率が高いので、その菌型の酵素産生性によって比率が変動するのは当然のことである。しかし各病院ごとに検討した結果、前述の E:10 という菌型の場合にのみ、elastase 産生能を欠く菌株が高頻度に存在する事実が確認された。

表 4 は E:10 型菌の分布場所(検体採取病院)と elastase 産生性を示したものである。全菌株とも protease を産生したが、elastase については病院間に大差が認められた。すなわち V 病院では 24 株中わずかに 2 株のみ

が elastase 産生性であったが、A 産科医院での分離株では新生児、産婦のいずれの由来株も 95~97% と大多数が産生株であった。さきに述べた R 病院の場合は、新生児とその哺育環境の両由来株とも 61~63% 程度が elastase 産生性であった。このように E:10 型菌株には分離直後においても elastase 産生能の欠除した菌株が他菌型に比してとくに高頻度に存在する事実が判明した。

同時に供試した入院患者病巣由来株の一部は分離後に一時的に凍結保存したものであるが、これを含めての供試 107 株は 31 の菌型に分類された(血清型:ピオシン型)。この中には E:10 型が 5 株(うち 3 株は凍結保存株)含まれていたが、いずれも protease と elastase を産生する菌株であることが確認された。なお E:10/P⁺E⁻ の菌株およびそれ以外の菌型の P⁺E⁻ の菌株はいずれも、P⁺E⁺ の菌株に比してカゼイン寒天平板上の透明環の直径が明らかに小さいという現象が観察された。

考 察

緑膿菌はいわゆる日和見感染の原因菌として近年とくに注目されているが、新生児にとっては古くから病原菌としての認識がなされていた菌であるのは確かである。著者らが今回の研究の対象とした病院産科および産科医院の新生児については、菌検索期間中には緑膿菌感染症と思われる患児の発生をみていない。したがって健康な新生児の場合には、院内環境からの高率な伝播による高率な保菌状態が惹起されても、これが直ちに発症あるいは流行に直結する可能性はきわめて低いものと思われる。しかし過去には新生児室における数多くの流行事例¹³⁻²¹⁾が報告されている。したがって新生児にとっても、緑膿菌は日和見感染菌であって、宿主側の要因がきわめて大きいといえるのは確かであろう。

今回、著者らが供試した緑膿菌はいずれも健康な産婦と健康な新生児、ならびにその哺育環境からの分離菌株

Table 3. Sero-pyocin types and enzyme productivity of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Hospital S

Enzyme production ^{a)}	Sero-pyocin type ^{b)}	Number of isolates (%) from:	
		Feces of newborns	Newborn nursery environments
P ⁺ E ⁺	B:5	1	
	B:NT	1	
	E:1	10	1
	E:6		1
	E:9	10	2
	E:18	3	
	E:31	18	
	G:3		6
	G:10		1
	G:NT		6
	I:5	71	2
	I:NT	1	
	NA:2		1
	NA:3		1
	NA:NT		7
Subtotal		115 (97.5)	28 (100)
P ⁺ E ⁻	B:NT	1 (0.8)	
P ⁻ E ⁻	B:10	2 (1.7)	
Total		118 (100)	28 (100)

For the legends refer to Tables 1 and 2.

Table 4. Elastase productivity of sero-pyocin type E:10 strains of *Pseudomonas aeruginosa*

Source	Number of strains tested	Number of strains (%) producing: ^{a)}		
		P ⁺ E ⁺	P ⁺ E ⁻	P ⁻ E ⁻
Newborns in Hospital V	24	2 (8.3)	22 (91.7)	0
Newborns in Hospital R	30	19 (63.3)	11 (36.7)	0
Newborn nursery environments of Hospital R	69	42 (60.9)	27 (39.1)	0
Newborns in Maternity Clinic A	79	75 (94.9)	4 (5.1)	0
Puerperants in Maternity Clinic A	30	29 (96.7)	1 (3.3)	0
Newborns in Maternity Clinic B	2	2	0	0
Puerperants in Maternity Clinic B	2	2	0	0

For the legend refer to Table 1.

であるが、それらは一部の菌型の菌株に elastase 産生能の欠除がみられ、またごく少数の菌株にのみ protease と elastase 産生能の欠除が認められたに過ぎず、他の大多数の菌株は血清型やピオシン型では多彩な菌型に分散しても、病原性のマーカーといわれる protease と elastase をともに産生する菌株であった。これは血清型とピオシン型では同様にきわめて多くの菌型に分類された入院患者の感染病巣由来の緑膿菌における protease, elastase 産生株の頻度とまったく同様に高率であった。したがって、新生児およびその哺育環境に存在する緑膿菌は、protease と elastase という病原マーカーについては、患者病巣株と異なるところはないといえる。

なお E:10 型菌株にはかなり高率に elastase 産生能の欠除した菌株の存在が認められたが、大井ら²⁸⁾も血清型 E 型の菌株にこのような傾向がみられる点を指摘している。また石川ら²⁹⁾も保存株の E 型菌について同様の結果を得ている。この理由については明らかにされていないが、今回の著者らの供試患者株には偶然の結果ではあろうが E:10/P⁺E⁺ という菌型は認められても、E:10/P⁺E⁻ 菌株は見当らなかった。これらの点から、血清型 E 型の菌株については今後の十分な検討が必要である。

最近、protease, elastase の両酵素とともに、exotoxin A が virulence に大きく関与する事実^{1,7-12)}が注目されている。今回の研究では著者らは exotoxin の産生性については検討していないが、Pollack ら³⁰⁾ および Bjorn ら³¹⁾によれば、患者病巣からの分離株 (P⁺E⁺) はほとんどすべてこの exotoxin を産生すると報告している。これからすれば、著者らの分離菌株が患者病巣からの分離菌株と P⁺E⁺ の点でまったく差がなかった事実はこれらの分離菌株の潜在的な virulence が患者病巣株と同様のものである可能性の高いことを示唆しているといえる。

一方、Sanai ら³²⁾によれば臨床分離株の大部分 (35/45) が protease, elastase および exotoxin の 3 者を産生したのに反し、病院内環境株でこれに該当するものはきわめて少数 (2/37) に過ぎず、多くは protease のみの産生株 (14/37) であったと報告している。彼らの環境由来供試株 37 株のうち、P⁺E⁺ は 6 株であったと示されており、今回の著者らの成績とは明らかに異なるものとなっている。Sanai らの供試環境株 (37 株) の由来および菌型は明示されていないが、著者らの供試した新生児哺育環境由来株はきわめて多数の菌型に分類され、また E:10 型の一部の菌株を除いては、大部分が P⁺E⁺ であった事実からすれば、種々様々な環境に分布する緑

膿菌にはきわめて多数の系統のものが混在しているものと思われる。そしてそれらは P⁺E⁺ に該当するものが多数を占めているのは確かであろう。しかしながら V 病院の新生児由来株、あるいは R 病院の環境由来株のごとく、elastase 非産生の E:10/P⁺E⁻ 菌株が高率に集積する例もあるので、環境由来株には elastase 産生株が少なく、さらに exotoxin 産生株は極度に低率であるという Sanai らの報告³²⁾は多数の臨床株と環境株についてのより詳細な検討の必要性を指摘しているといえる。

ところで、過去に報告された新生児の流行情例では多種多様な環境あるいは器具類がリザーバーを演じていた事実が明らかにされている^{15,16,18,19,33)} それらの流行株の病原マーカーについては明らかにされていないが、今回の著者らの成績では、新生児由来株も、またその哺育環境由来株も、protease と elastase の産生に関する限り患者由来株との差はまったく認められなかった。この点を考慮した場合、別報²²⁻²⁵⁾においても指摘したごとく、緑膿菌の新生児への伝播の遮断ならびに新生児哺育環境への緑膿菌の定着の防止には不断の努力が不可欠であるといえる。

要 約

総合病院産科 (7 院) および個人経営の産科医院 (3 医院) で出生した新生児とその産婦、ならびに新生児哺育環境から分離された緑膿菌菌株について、その病原マーカーとされている protease と elastase の産生性を入院患者感染病巣からの分離菌株のそれと比較検討を行った結果、菌株の分離材料に関係なく、きわめて高率に両酵素の産生が観察された。したがって、新生児が保菌する菌株およびその哺育環境に存在する菌株は、protease と elastase の産生に関しては患者感染病巣由来株とはまったく差がないといえる。なお供試菌株は血清型およびピオシン型できわめて多数の型に分類されたが、それらのうちで血清型 E 型、ピオシン型 10 型と型別される菌株には、elastase 産生能を欠除する菌株がかなり高率に存在する事実が知られた。

謝辞：この研究を開始するにあたり広島大学医学部産科婦人科学教室の藤原篤教授には多大な御援助をたまわり、また東京大学医科学研究所の本間遜教授には protease と elastase の産生、非産生各標準株の分与を頂いた。記して深甚なる謝意を表するしだいである。

なお本稿の内容については第 44 回日本感染症学会西日本地方会総会 (1979 年 12 月、広島市) において発表した。

文 献

- 1) 本間遜 (1977): 緑膿菌研究の進歩——特に病原性について. 日本医師会誌, 78: 275-286.
- 2) 薮内英子 (1979): 非発酵グラム陰性桿菌感染症 — その背景. 医学のあゆみ, 111: 833-837.
- 3) Morihara, K. and Tsuzuki, H. (1977): Production of protease and elastase by *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients. Infect. Immun., 15: 679-685.
- 4) Kawaharajo, K. and Homma, J. Y. (1977): Effects of elastase, protease and common antigen (OEP) from *Pseudomonas aeruginosa* on protection against burns in mice. Japan. J. Exp. Med., 47: 495-500.
- 5) Pavlovskis, O. R. and Wretling, B. (1979): Assessment of protease (elastase) as a *Pseudomonas aeruginosa* virulence factor in experimental mouse bum infection. Infect. Immun., 24: 181-187.
- 6) Morihara, K., Tsuzuki, H. and Oda, K. (1979): Protease and elastase of *Pseudomonas aeruginosa*: inactivation of human plasma α_1 -proteinase inhibitor. Infect. Immun., 24: 188-193.
- 7) Holder, I. A. and Haidaris, C. G. (1979): Experimental studies of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*: extracellular protease and elastase as in vivo virulence factors. Canad. J. Microbiol., 25: 593-599.
- 8) Iglewski, B. H., Liu, P. V. and Kabat, D. (1977): Mechanism of action of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A: adenosine diphosphateribosylation of mammalian elongation factor 2 in vitro and in vivo. Infect. Immun., 15: 138-144.
- 9) Saelinger, C. B., Snell, K. and Holder, I. A. (1977): Experimental studies on the pathogenesis of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*: direct evidence for toxin production during *Pseudomonas* infection of burned skin tissues. J. Infect. Dis., 136: 555-561.
- 10) Pollack, M. and Anderson, S. E., Jr. (1978): Toxicity of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A for human macrophages. Infect. Immun., 19: 1092-1096.
- 11) Snell, K., Holder, I. A., Leppla, S. A. and Saelinger, C. B. (1978): Role of exotoxin and protease as possible virulence factors in experimental infections with *Pseudomonas aeruginosa*. Infect. Immun., 19: 839-845.
- 12) Klinger, J. D., Straus, D. S., Hilton, C. B. and Bass, J. A. (1978): Antibodies to proteases and exotoxin A of *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis: demonstration by radioimmunoassay. J. Infect. Dis., 138: 49-58.
- 13) Barrie, D. (1965): Incubator-borne *Pseudomonas pyocyanea* infection in a newborn nursery. Arch. Dis. Childh., 40: 555-559.
- 14) Bassett, D. C. J., Thompson, S. A. S. and Page, B. (1965): Neonatal infections with *Pseudomonas aeruginosa* associated with contaminated resuscitation equipment. Lancet, i: 781-784.
- 15) 徐慶一郎 (1965): 緑膿菌による新生児中耳炎の多発について. メディヤサークル, 10: 272-280.
- 16) Rubbo, S. D., Gardner, J. F. and Franklin, J. C. (1966): Source of *Pseudomonas aeruginosa* infection in premature infants. J. Hyg., Camb., 64: 121-128.
- 17) Jellard, C. H. and Churcher, G. M. (1967): An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* (*pyocyanea*) infection in a premature baby unit, with observations on the intestinal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* in the newborn. J. Hyg., Camb., 65: 219-228.
- 18) Fierer, J., Taylor, P. M. and Gezon, H. M. (1967): *Pseudomonas aeruginosa* epidemic traced to delivery-room resuscitators. New England J. Med., 276: 991-996.
- 19) Thom, A. R., Cole, A. P. and Watrasiewicz, K. (1970): *Pseudomonas aeruginosa* infection in a neonatal nursery, possibly transmitted by a breastmilk pump. Lancet, i: 560-561.
- 20) Morehead, C. D. and Houck, P. W. (1972): Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a pediatric intensive care unit. Amer. J. Dis. Child., 124: 564-570.
- 21) Bobo, R. A., Newton, E. J., Jones, L. F., Farmer, L. H. and Farmer, J. J., III. (1973): Nursery outbreak of *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiological conclusions

- from five different typing methods. *Appl. Microbiol.*, 25: 414-420.
- 22) 中森純三, 宮崎佳都夫, 西尾隆昌, 平岡仁司(1977): 新生児の病原細菌保菌状況およびその伝播要因. 臨床と細菌, 4: 373-384.
- 23) 西尾隆昌, 藤原篤, 中森純三, 宮崎佳都夫, 平岡仁司(1978): 新生児の病原細菌保菌率とその伝播要因. 厚生省「心身障害発生予防の総合的研究」小児環境研究班: 心身障害の発生防止に関する小児環境学的研究, 昭和51年度研究報告書, p. 264-270.
- 24) 西尾隆昌, 中森純三, 宮崎佳都夫, 平岡仁司(1978): 新生児の院内感染症防止対策の研究: 新生児の病原細菌保菌率とその伝播要因. 厚生省心身障害研究周産期管理班: 周産期母児管理に関する研究, 昭和52年度研究報告書, p. 236-239.
- 25) 中森純三, 宮崎佳都夫, 西尾隆昌(1980): 新生児の病原細菌保菌状況およびその伝播要因(II). 臨床と細菌, 7: 506-512.
- 26) Gillies, R. R. and Govan, J. R. W. (1966): Typing of *Pseudomonas pyocyanea* by pyocine production. *J. Path. Bact.*, 91: 339-345.
- 27) 緑膿菌研究会(1976): プロテアーゼ, エラスターゼ産生株の検索法. 第10回緑膿菌研究会講演記録, p. 180.
- 28) 大井好忠, 川島尚志, 角田和之, 後藤俊弘(1977): 尿路感染症分離緑膿菌の群別, エラスターゼ, プロテアーゼ産生能とその起炎性. 第11回緑膿菌研究会講演記録, p. 24-26.
- 29) 石川周, 水野章, 高岡哲郎, 土井孝司, 西秀樹, 品川長夫, 藤井修照, 由良二郎, 柴田清人(1977): 各種臨床材料より分離された緑膿菌のプロテアーゼ, エラスターゼ産生について. 第11回緑膿菌研究会講演記録, p. 27-30.
- 30) Pollack, M., Taylor, N. and Callahan, L. T., III. (1977): Exotoxin production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Immun.*, 15: 776-780.
- 31) Bjorn, M. J., Vasil, M. L., Sadoff, J. C. and Iglewski, B. H. (1977): Incidence of exotoxin production by *Pseudomonas* species. *Infect. Immun.*, 16: 362-366.
- 32) Sanai, Y., Takeshi, K., Homma, J. Y. and Kamata, H. (1978): Production of exotoxin, protease and elastase of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients' and environmental specimens. *Japan. J. Exp. Med.*, 48: 553-556.
- 33) Brown, D. G. and Baublis, J. (1977): Reservoirs of *Pseudomonas* in an intensive care unit for newborn infants: mechanisms of control. *J. Pediatr.*, 90: 453-457.

Mycoplasma pneumoniae 分離用培地の性能の比較

金本 康生* 西尾 隆昌*

Evaluation of Four Media for Isolation of *Mycoplasma pneumoniae*

YASUO KANAMOTO and TAKAMASA NISHIO

(Received August 30, 1980)

SP-4-broth and -diphasic medium, which had been developed for isolation of *Spiroplasma* by Tully et al., were compared with conventional media (PPL0-broth and -diphasic) in regard to efficiency of isolation of *Mycoplasma pneumoniae*. Laboratory data showed that growth-supporting effect of SP-4-broth was apparently superior to others, and the highest isolation rate of *M. pneumoniae* was obtained with SP-4-broth from clinical specimens. It was concluded that SP-4-broth can be used for the isolation of *M. pneumoniae* in the clinical as well as research applications.

緒 言

1944年に Eaton¹⁾ は発育鶏卵の羊膜腔内接種により、いわゆる原発性異型肺炎の病原体と思われる agent (Eaton agent) を分離した。このものは Seitz の細菌濾過器を通過し、通常の細菌用培地には培養することが不可能であったため、当時はウイルスとして取り扱われた。しかし、Chanock ら²⁾ は1962年にこの agent が寒天培地上にコロニーを形成することを認めたことから、ウイルスではなくマイコプラズマであることが確認され、*Mycoplasma pneumoniae* という学名が与えられた³⁾ 以来今日まで、20年近く経過するが、原発性異型肺炎患者からの *M. pneumoniae* の分離は必ずしも容易ではなく、高性能分離培地の開発が望まれている。

1977年、Tully ら^{4,5)} は乳のみマウスに角膜炎を起こす *Mycoplasma* 科の *Spiroplasma* 属の1株 [suckling mouse cataract agent (SMCA)] をその考案になる培地 (SP-4) を用いてダニから分離した。その後この培地を *M. pneumoniae* の分離に使用し、よい結果を得たと報告している⁶⁾ しかし、SP-4培地は従来の慣用培地の組成とは大きく異なるほか、作製方法も複雑なために、*M.*

pneumoniae の分離用培地としての有効性はこれまでまったく検討されていない。

そこで著者らは、SP-4培地を自製し、*M. pneumoniae* の増殖態度を PPL0液体培地および重層培地におけるそれと比較検討するとともに、原発性異型肺炎患者の臨床材料を用いて分離性能の比較試験も併せ行なったのでその結果を報告する。

実験材料および方法

供試菌株：久留米大学細菌学教室・中村昌弘教授より分与された *M. pneumoniae* FH 株を用いた。

供試培地：SP-4培地は Tully らの報告⁶⁾ にもとづき自製した。SP-4液体培地の作成法は以下のとおりである。基礎培地として65 ml の蒸留水に *Mycoplasma* broth base (BBL) 0.4g、トリプトン (Difco) 1.0g、ペプトン (Difco) 0.6g、ブドウ糖 0.5g を溶解し、121°C で15分間滅菌したのちすみやかに冷却した。基礎培地に CMRL 1066 培地 (Gibco) 5 ml、25% イースト・エキス 5 ml、2% イーストレイト (Difco) 10 ml、牛胎児血清 (Gibco) 17 ml、100,000u のペニシリン G、2.5% 酢酸タリウム水溶液

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

1 ml, 0.4% フェノールレッド水溶液 0.5 ml をそれぞれ無菌的に加え, 1N の NaOH を用いて pH 7.8 に調整したのち, 小試験管に 2 ml あて分注した. SP-4 重層培地は, まず SP-4 液体培地に Bacto-agar (Difco) を 1.2g 加えた寒天培地を作成し, これを小試験管に 1 ml あて分注して固化したのち, 2 ml の SP-4 液体培地を重層したものである.

慣用培地としては Chanock らの培地⁷⁾を一部改変した PPLO 液体培地とその重層培地を使用した. PPLO 液体培地は, Mycoplasma broth base (BBL) 2.1g, ブドウ糖 0.5g を 70 ml の蒸留水に溶解し, 121°C 15 分間滅菌後冷却した基礎培地に, イースト・エキス 10 ml, 馬血清 (Gibco) 20 ml, 100,000u のペニシリン G, 2.5% 酢酸タリウム水溶液 1 ml, 0.4% フェノールレッド水溶液 0.5 ml を加え, pH 7.8 に調整したもので, これを小試験管に 2 ml あて分注して使用した. PPLO 重層培地は上記の SP-4 重層培地と同様にして作成した. なおコロニーの形態観察およびコロニー計算には PPLO 寒天培地を使用した. これは PPLO 液体培地の組成からブドウ糖とフェノールレッドを除き Bacto-agar (Difco) 1.2g を加えたものである.

イースト浸出液はニッテンドライ・イースト (ニッテン) 500g を 1500 ml の蒸留水とともに 30 分加熱後, 8,000 rpm で 20 分間遠沈し, その上清をさらに 15 分間加熱後, 再び遠沈し得られた上清を pH 7.8 に調整してメンブランフィルター (450 nm) で濾過滅菌して調整した. これを -20°C で凍結保存し, 必要量を解凍して使用した.

コロニー計算: Smith の方法⁸⁾を基礎とした. すなわち被検材料を PPLO 液体培地で 10 倍段階希釈し, 各希釈液の 0.01 ml あてを表面の乾燥した PPLO 寒天平板培地にスポットしてそのまま 37°C で培養した. 10 ~ 14 日後に 10 ~ 30 倍の弱拡大で鏡検してコロニー数を数え, colony forming unit (CFU/ml) を算出した.

臨床材料: 2 ml の保存培地 (5% Trypticase soy broth に馬血清を 10%, ペニシリン G 500u/ml を添加) に浸出させた原発性異型肺炎患者の咽頭ぬぐい液を *M. pneumoniae* の分離材料とした. 分離培地に接種するまではドライアイス-アセトンで凍結し, -80°C で保存した (なお一部の検体は -20°C で保存した). 培地への接種にあたっては, 凍結した検体をすみやかに融解し, 供試培地に 0.2 ml あて接種した.

Table 1. Evaluation of growth-supporting effect of media for isolation of *Mycoplasma pneumoniae*

Medium	Inoculum * (CFU/0.1ml)	No. of positive tubes at indicated day of cultivation				
		0	5	10	15	20(days)
SP-4 broth	4 × 10 ⁵		5			
	4 × 10 ⁴		5			
	4 × 10 ³		5			
	4 × 10 ²			5		
	4 × 10 ¹			3 1 1		
	< 10			2 1		
SP-4 diphasic	4 × 10 ⁵		5			
	4 × 10 ⁴		5			
	4 × 10 ³		5			
	4 × 10 ²			5		
	4 × 10 ¹			1	1 1	
	< 10					
PPLO broth	4 × 10 ⁵		5			
	4 × 10 ⁴		5			
	4 × 10 ³		5			
	4 × 10 ²			5		
	4 × 10 ¹				1 3	
	< 10					
PPLO diphasic	4 × 10 ⁵		5			
	4 × 10 ⁴		5			
	4 × 10 ³		5			
	4 × 10 ²			1 4		
	4 × 10 ¹				1 2	
	< 10					1

* Five-day broth culture (PPLO broth) of *M. pneumoniae* FH strain, containing 4 × 10⁶ CFU/ml, was diluted serially.

培養：分離培地にはゴム栓をして、また寒天培地は乾燥をふせぐため湿潤脱脂綿とともに 37°C で培養した。

M. pneumoniae の同定：コロニー形態⁹⁾ブドウ糖分解能¹⁰⁾および濾紙ディスク法¹¹⁾で同定した。すなわち黄色に変色した分離培地の一部を PPLO 寒天培地に移植培養後、桑の実状コロニーの出現の有無を観察した。最終的には抗 *M. pneumoniae* 血清を用いての発育阻止試験により、分離株が *M. pneumoniae* であることを確認した。

実験成績

1. SP-4 培地と PPLO 培地の発育支持能の比較。

M. pneumoniae (FH株)菌液の10倍段階希釈液をつくり各希釈度ごとにその 0.1 ml あてをそれぞれ 5 本の SP-4 液体培地, SP-4 重層培地, PPLO 液体培地および PPLO 重層培地に接種して 30 日間培養した (Table 1)。接種菌量が 10^3 以上の場合には培地間にほとんど差を認めなかったが、接種菌量を 40 CFU とした場合には、SP-4 液体培地では 5 本のすべてに、また SP-4 重層培地では 5 本中 3 本に発育が認められた。PPLO 液体培地と PPLO 重層培地では 5 本中 4 本にそれぞれ発育が認められた。接種菌量が 10 CFU 以下の場合には、SP-4 液体培地にのみ発育がみられた。

2. SP-4 液体培地および PPLO 液体培地における増殖

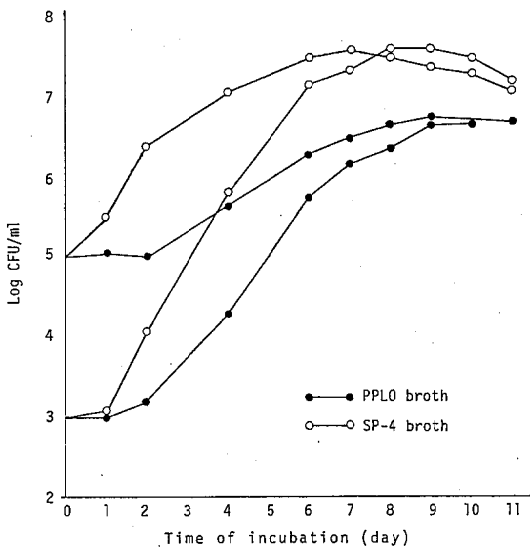


Fig. 1. Growth response of *Mycoplasma pneumoniae* FH in SP-4 broth and PPLO broth.

曲線。

SP-4 液体培地と PPLO 液体培地を 20 ml あて中試験管に分注し、これに PPLO 液体培養菌液から接種菌量が 10^3 CFU/ml および 10^5 CFU/ml となるようにそれぞれ移植して培養を行なった。その後連日、0.2 ml あてを採取し、その 10 倍段階希釈液の 0.01 ml を寒天培地でスポット培養して生菌数を算出し、増殖曲線を求めた (Fig. 1)。

SP-4 液体培地および PPLO 液体培地のいずれにおいても 1~2 日間の lag phase のちに指数的に増殖が認められ、培養 7~9 日で plateau に達した。SP-4 液体培地では接種菌量の多少に関係なく、最高発育菌数は PPLO 液体培地のそれよりも 1 オーダー高く、かつ plateau に達する日数も 1~2 日早いことが観察された。

3. 原発性異型肺炎患者からの *M. pneumoniae* の培地別分離率の比較。

1979年12月から1980年5月までの mycoplasma 性肺炎が疑われる小児科外来患者および内科外来患者 66 名の咽頭ぬぐい液を供試各培地に接種し、*M. pneumoniae* の分離率を比較した。

Table 2 に示すように、SP-4 液体培地での分離率が高くと高く、13 株 (20%) が分離されたのに対し、PPLO 液体培地とその重層培地ではそれぞれ 6 株 (9%) が分離されたにすぎなかった。また SP-4 重層培地ではわずか

Table 2. Isolation rate of *Mycoplasma pneumoniae* from throat washings of patients with primary atypical pneumonia

Culture medium	No. of positives/ No. of samples examined	% positive
SP-4 broth	13/66	20
Sp-4 diphasic	4/66	6
PPLO broth	6/66	9
PPLO diphasic	6/66	9

Table 3. Incubation time for recovery of *Mycoplasma pneumoniae* from throat washings of patients with primary atypical pneumonia

Incubation time (day)	Number of isolations			
	Sp-4 broth	SP-4 diphasic	PPLO broth	PPLO diphasic
1-10	9	1	1	2
11-20	4	3	4	3
21-30	0	0	1	1
Total	13/66	4/66	6/66	6/66

に4株(6%)の分離をみたのみであった。

つぎに、*M. pneumoniae*の増殖による供試培地の変色までの日数を比較し Table 3 に示した。13株が分離された SP-4 液体培地では接種後 20 日以内にすべて変色し、そのうちの 9 例では 10 日以内に変色がみられた。また SP-4 重層培地でも 4 株すべてが 20 日以内に陽性となった。これに対して、PPLO 液体培地とその重層培地では、SP-4 培地に比して変色までの経過が明らかに延長し、接種後 11 ~ 20 日の間に変色したものが過半数を占め、20 日以降に及んだものがそれぞれ 1 例あった。

考 察

Mycoplasma は他の細菌に比べて栄養要求が複雑であり¹²⁻¹⁵⁾ それだけに *M. pneumoniae* の分離も必ずしも満足すべき状態にあるとはいえない。1962 年の Chanock らによる初の分離以来、今日まで血清およびイースト・エキスを多量に含む培地が用いられている。現在は分離培地も市販されるにいたっているが、その組成には大きな変化はみられていない。1979 年、Tully らは Chanock らの培地組成とは大きく異なる自製培地の 1 種 (SP-4) が *Mycoplasma* の 1 種である SMCA のみならず *M. pneumoniae* の分離にも適用しうることを報告している。⁶⁾ 中村ら^{16,17)} は、Tully らが 1977 年に報告した SP-1 培地に含まれる α -ケトグルタル酸に注目し、マイコプラズマの発育に及ぼす TCA サイクルの基質について検討した結果、 α -ケトグルタル酸は優れたマイコプラズマ増殖支持能をもつと報告している。また Tully ら⁶⁾ の報告によれば、慣用培地による分離では陰性に終わった臨床検体について SP-4 培地を用いて再度分離を試みたところ、SP-4 重層培地では 200 検体中の 69 検体 (34.5%) から、また SP-4 液体培地では 50 検体中 18 検体 (36%) からそれぞれ *M. pneumoniae* が分離されたと述べている。

今回、著者らはこの SP-4 培地の有効性を多角的に検討する目的で、SP-4 液体培地とその重層培地を自製して従来の慣用培地との性能比較実験を行なった。*M. pneumoniae* 菌液の 10 倍段階希釈液を接種しての発育支持能の検討では SP-4 液体培地がもっとも優れており、SP-4 重層培地、PPLO 液体培地ならびにその重層培地の間には差が認められなかった。一般に重層培地は固形層(寒天)と液体層との中間に作り出される酸化還元電位がマイコプラズマの発育に適しており¹⁸⁾したがって性能が優れているといわれているが¹⁹⁻²¹⁾ 著者らの成績では重層培地の発育支持能は SP-4 液体培地のそれにははるかに及ばないものである点が確認された。さらに *M. pneumo-*

niae の SP-4 液体培地における増殖曲線を検討してみると、PPLO 液体培地でのそれに比して最高発育菌量に達するまでの時間が短かく、またその菌量も 10 倍程度多いことが確認された。したがって、この SP-4 液体培地は大量の *M. pneumoniae* 細胞を必要とする研究ならびに免疫抗原作成などに際しては、従来の慣用培地に比してはるかに有効な培地であるといえる。

原発性異型肺炎患者からの *M. pneumoniae* の分離についてみると、SP-4 液体培地の分離率が他の 3 者のそれに比して圧倒的に高いばかりでなく、分離に要する日数も短かかった。PPLO 液体培地とその重層培地の分離率は、SP-4 重層培地のそれと同程度であったが、分離に 20 日以上を要した事例が認められたことから、分離に際しては少なくとも 1 カ月間の観察が必要であるといえよう。したがって、ここに報告した SP-4 液体培地は *M. pneumoniae* の分離培地としてはきわめて優秀な性能をもつ培地であると結論できるが、SP-4 重層培地については Tully らの成績⁶⁾ とは相容れない結果が得られた。

要 約

Tully らが *Spiroplasma* の分離培地として開発し、また *M. pneumoniae* の分離にも好成绩を得たといわれる SP-4 培地(液体培地、重層培地)については、その後今日までこの培地を実際に臨床分野で応用したという報告はみあたらない。そこでこの SP-4 培地と従来の慣用培地(PPLO 液体培地、重層培地)を用いて *M. pneumoniae* の発育支持能および臨床材料からの分離率の比較検討を行なった。結果は以下のごとく要約される。

- 1) CFU 10 個以下の接種では供試した 4 種の培地のうち SP-4 液体培地のみ発育が認められ、とくに接種菌量の少ない場合に優れた発育支持性を示した。
- 2) SP-4 液体培地での発育速度は PPLO 液体培地に比べて速く、かつ最高発育菌量はその 10 倍程度に達した。
- 3) SP-4 重層培地および PPLO 重層培地の発育支持能は SP-4 液体培地に比してはるかに劣り、PPLO 液体培地の性能と差が認められなかった。
- 4) 原発性異型肺炎患者 66 名の咽頭ぬぐい液を材料として *M. pneumoniae* の分離を試みたところ、SP-4 液体培地では 13 株、SP-4 重層培地では 4 株、PPLO 液体培地では 6 株、PPLO 重層培地では 6 株がそれぞれ分離され、SP-4 液体培地での分離率ももっとも高く、かつ分離に要する日数も短かかった。

稿を終るにあたり *M. pneumoniae* FH 株の分与ならび

に有益な御助言をいただいた久留米大学医学部細菌学教室・中村昌弘教授および御指導，御校閲いただいた広島大学医学部細菌学教室・松尾吉恭教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Eaton, M. D., Meiklejohn, G. and van Herick, W. (1944) : Studies on the etiology of primary atypical pneumonia. A filtrable agent transmissible to cotton rats, hamsters and chick embryos. J. Exp. Med., 79 : 649 - 668.
- 2) Chanock, R. M., Hayflick, L. and Barile, M. F. (1962) : Growth on artificial medium of an agent associated with atypical pneumonia and its identification as a PPLO. Proc. Natl. Acad. Sci., 48 : 41 - 49.
- 3) Chanock, R. M., Dienes, L., Eaton, M. D., Edward, D. G. ff., Freundt, E. A., Hayflick, L., Hers, J. F. ph., Jensen, K. E., Liu, C., Marmion, B. P., Morton, H. E., Mufson, M. A., Smith, P. F., Somerson, N. L. and Taylor-Robinson, D. (1963) : *Mycoplasma pneumoniae*: proposed nomenclature for atypical pneumonia organism (Eaton agent). Science, 140: 662.
- 4) Tully, J. G., Whitcomb, R. F., Williamson, D. L. and Clark, H. F. (1976) : Suckling mouse cataract agent is a helical, wallfree prokaryote (spiroplasma) pathogenic for vertebrates. Nature, 259: 117-120.
- 5) Tully, J. G., Whitcomb, R. F., Clark, H. F. and Williamson, D. L. (1977) : Pathogenic mycoplasmas: cultivation and vertebrate pathogenicity of a new spiroplasma. Science, 195: 892-894.
- 6) Tully, J. G., Rose, D. L., Whitcomb, R. F. and Wenzel, R. P. (1979) : Enhanced isolation of *Mycoplasma pneumoniae* from throat washings with a newly modified culture medium. J. Infect. Dis., 139 : 478 - 482.
- 7) Chanock, R.M., Mufson, M. A., James, W. D., Fox, H. H., Bloom, H. H. and Forsyth, B. (1962) : Recovery of PPLO of atypical pneumonia on artificial agar medium. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 110: 543-547.
- 8) Smith, P. F. (1956) : Quantitative measurement of the growth of pleuropneumonia-like organisms. Appl. Microbiol., 4: 254-259.
- 9) Crawford, Y. E. (1970) : Recognition of *Mycoplasma pneumoniae* on agar media I and IA. In Blair, J. E., Lennette, E. H. and Truant, J. P. (ed): Manual of Clinical Microbiology, p. 255-256, American Society for Microbiology, Bethesda, Md.
- 10) Alutto, B. B., Wittler, R. G., Williams, C. O. and Faber, J. E. (1970) : Standardized bacteriologic techniques for the characterization of *Mycoplasma* species. J. System. Bacteriol., 20: 35-58.
- 11) Clyde, W. A. Jr. (1964) : *Mycoplasma* species identification based upon growth inhibition by specific antisera. J. Immunol., 92: 958-965.
- 12) Edward, D. G. ff. and Fitzgerald, W. A. (1951) : Cholesterol in the growth of organisms of the pleuropneumonia group. J. Gen. Microbiol., 5: 576-586.
- 13) Mardh, P. A. and Taylor-Robinson, D. (1973) : New approaches to the isolation of mycoplasma. Med. Mikrobiol. Immunol., 158: 259-266.
- 14) Washburn, L. R. and Somerson, N. L. (1979) : Lipoproteins as substitutes for serum in mycoplasma culture medium. J. Clin. Microbiol., 10: 586-589.
- 15) Rylance, H. J. (1979) : Growth factors for *Mycoplasma pneumoniae* in yeast and tissue extracts. J. Appl. Bacteriol., 47: 341-345.
- 16) 中村昌弘, 岡本鎮弥(1979) : 高性能マイコプラズマ培地の開発. 医学のあゆみ, 108 : 470 - 471.
- 17) 岡本鎮弥, 市丸弘子, 中村昌弘(1979) : マイコプラズマの発育促進物質の研究. 第6回マイコプラズマ研究会記録, p.44 - 50.
- 18) 佐々木正五, 尾形学, 中村昌弘(1975) : マイコプラズマ(第1版), p.157, 講談社, 東京.
- 19) Smith, C. B. and Chanock, R. M. (1967) : *Mycoplasma pneumoniae* infections in volunteers. Ann. New York Acad. Sci., 143: 471 - 483.
- 20) 新津泰孝, 長谷川純男, 久保田秀雄, 堀川雅浩, 小松茂夫, 末武富子(1968) : *Mycoplasma pneumoniae* の分離用選択重層培地の性能. 日胸, 27 : 635-641.
- 21) Craven, R. B., Wenzel, R. P., Calhoun, A. M., Hendley,

J. O., Hamory, B. H. and Gwaltney, J. M. Jr. (1976): Comparison of the sensitivity of two methods for isolation of *Mycoplasma pneumoniae*. J. Clin. Microbiol., 4 : 225 - 226.

下痢症患者からの *Vibrio* 様菌群 EF-6 (Group F) の分離

中森純三* 鬼村賢太郎** 羽原富夫**

Isolation of *Vibrio*-like Organism, EF-6 (Group F),
from a Patient with Acute Diarrhea

JUNZO NAKAMORI*, KENTARO ONIMURA**, and TOMIO HABARA**

(Received August 28, 1980)

A *Vibrio*-like halophilic organism was isolated from a patient with acute diarrhea in Hiroshima in July 1980. Bacteriologic data indicated that the characteristics of the isolate agreed with those of *Vibrio*-like group "Ef-6" ("Group F") organism. In this case, *Vibrio parahaemolyticus* was also detected and because of the prevalence of the organism in watery stool specimen, it was considered that *V. parahaemolyticus* was the etiologic agent, although the association of, or the mixed infection with, Ef-6 was not totally denied. Further studies in bacteriologic-, ecologic- and etiologic fields were needed.

緒 言

Vibrio 様菌群 EF-6 (以下 EF-6 と記す)は Family *Vibrionaceae* に属し、分類学的には *Vibrio cholerae* と *Aeromonas hydrophila* の中間に位置するものと考えられている菌群^{1,2)}で、Group F とも呼ばれている^{1,3)}この菌群についての研究は緒についたばかりで、分類学、生態学あるいは病因論の分野でも不明な点が多い。

1980年7月、広島市において1急性下痢症患者より本菌群に属する菌株が *V. parahaemolyticus* とともに分離されたのでその概要を報告する。

分離事例の概要

患者は広島在住の37才の男子で、本人およびその家族に特記すべき既往歴はなく、海外旅行の経験もない。

1980年7月28日より患者は家族4人で山口県萩市に旅行し、中途同月30日早朝より下痢、腹痛を訴えたが、市販薬の“下痢止め”を服用し一時小康を得た。同日夕刻広島鉄道病院で受診し、急性胃腸炎と診断された。他の家族には異状は認められなかった。

主要症状は下痢で、発症から受診に至るまでに10~20回タール色水様便を排泄し腹痛、腹部不快感を訴えた。しかし嘔気、嘔吐はなく、発熱も認められなかった。

同月31日早朝採取の便を培養に供したところ、TCBS寒天平板上に多数の *V. parahaemolyticus* (神奈川現象陽性)と少数の EF-6 の集落が出現した。他には病原菌と思われる集落は認められなかった。

この患者には主として輸液とセファロスポリン系抗生剤の投与がなされた結果、症状はすみやかに消退するとともに排菌の停止も確認され、8月5日に全治、退院した。

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

** 広島鉄道病院：Hiroshima Hospital of Japan National Railways

分離菌株の主要性状と薬剤感受性

分離菌株はグラム陰性、極単毛性の短桿菌で、その主要性状は Table 1 に示すごとくであった。すなわち、分離菌株はインドール産生、無塩ペプトン水での発育、アミノ酸の脱炭酸・加水分解の各性状で *V. cholerae* と異なり、好塩性、0/129 感受性が *A. hydrophila* のそれとは明らかに異なる。これらの性状は Huq ら²⁾ の EF-6 ならびに Lee ら^{1,3)} の Group F の性状に一致するものであり、また東京都立衛生研究所工藤泰雄博士より分与された Group F 菌株の性状にも一致するものであって、EF-6 (または Group F) と同定された。

分離菌株の主要薬剤に対する感受性は Ampicillin, Carbenicillin, Chloramphenicol, Tetracycline, Kanamycin, Gentamicin, cephaloridine, Colistin および Nalidixic acid の各薬剤にいずれも感受性を示した。

考 察

EF-6 (Group F) に関しては合衆国⁴⁾ や英国³⁾ におい

て散発下痢症患者より分離されて注目を集め、またバングラディッシュのダッカとその近郊における多数の散発下痢症患者から分離されて腸管病原菌としての疑いが強まっている²⁾。わが国では海外旅行帰国者6例(下痢症患者4名、健康者2名)の保菌が確認されている(東京都立衛生研究所、工藤泰雄博士:私信, 1980)が、他には報告例はないようである。

本報告の事例は多数の腸炎ビブリオ集落が同時に分離されたことから、主たる原因菌は腸炎ビブリオであったとみるべきであろうが、EF-6 の関与についても完全に否定することは不可能であろう。本菌群の腸管病原菌としての認知には、さらに詳細な病因論的、疫学的検討が必要と思われるが、本事例が国内分離事例であることから、今後は本菌をも念頭においての下痢症起因内菌の検索がなされるべきであろう。さいわいに本菌群は TCBS 寒天平板上で *V. cholerae* に酷似した外観を呈することから、少くとも平板上で見落すおそれはないように思われる。

本菌群の生態については殆んど明らかにされていないが、英国の沿岸海域や河口部水域に広く分布していることが知られており¹⁾ 海洋バクテリアもしくはそれに似た生態が推測される。

Table 1. Characteristics of the isolate

Test	Result
Gas from glucose	-
Acid from :	
d- Glucose	+
Lactose	-
d- Mannitol	+
Mannose	+
Sucrose	+
l- Arabinose	+
Motility	+
Urease production	-
Indole production	-
Methyl red	+
Voges-Proskauer	-
Hydrogen sulfide production in TSI agar	-
Growth in KCN broth	-
Gelatin liquefaction	+
lysine decarboxylase	+
Arginine dihydrolase	+
Ornithine decarboxylase	-
Growth in pepton water containing :	
0% NaCl	-
3% NaCl	+
7% NaCl	+
10% NaCl	-
Kanagawa test	-
Sensitivity to 0/129	+
Oxidase	+
Catalase	+
Nitrate to nitrite	+
Flagella	Monotrichous polar flagella

要 約

1980年7月広島市において、1下痢患者より好塩性の1菌株が分離された。この菌株の性状は *Vibrio* 様菌群“EF-6”(“Group-F”)の性状に一致した。本事例では多数の腸炎ビブリオが同時に分離されており、これが下痢の原因菌であったと思われるが、EF-6 についてもその関与もしくは混合感染が完全に否定された訳ではない。本菌群の腸管系病原菌としての認知にはさらに広範な細菌学的、生態学的、病因論的研究が必要と思われる。

稿を終えるにあたり、貴重な御助言をいただいた東京都立衛生研究所工藤泰雄博士ならびに御指導いただいた本研究所生物學部長西尾隆昌博士に厚く御礼申し上げる。

文 献

- 1) Lee, J. V., Donovan, T. J. and Furniss, A. L. (1978): Characterization, taxonomy, and emended description of *Vibrio metschnikovii*. Int. J. Syst. Bacteriol., 28: 91-111.

- 2) Huq, M. I., Alam, A. K. M. J., Brenner, D. J. and Morris, G. K. (1980): Isolation of *Vibrio*-like group, EF- 6, from patients with diarrhea. J. Clin. Microbiol., 11: 621-624.
- 3) Furniss, A. L., Lee, J. V. and Donovan, T. J. (1977): Group F: a new *Vibrio*? Lancet ii: 565-566
- 4) Huq, M. I., Davis, B. R., Weaver, R. E., Hollis, D. G., Martin, W. T. and Brenner, D. J. (1977): Abstr. 13th Joint Conf. on Cholera. [2]. Huq, M. I. et al から引用]

コプロスタノールを指標とする広島湾のし尿汚染
特にコプロスタノールとし尿汚染指標菌との関係

岡本 拓 岸本 敬之**

Investigation of Fecal Pollution of Sea Water in
Hiroshima Bay Using Coprostanol as an Indicator

TAKU OKAMOTO and TAKASHI KISHIMOTO

(Received September 2, 1980)

Fecal pollution of sea water in Hiroshima bay was investigated using coprostanol (5β -cholestan- 3β -ol) as an indicator compared with fecal bacteria.

Average concentration of coprostanol in water samples was 47 ng/l (max. 240 ng/l, min. 3 ng/l).

Concentration of coprostanol was inversely correlated with specific gravity of water samples ($r = -0.69$). Significant relationship, on the other hand, was found between coprostanol concentration and *Escherichia coli* MPN. These findings suggest that coprostanol can be used as an indicator of fecal pollution.

Equevalent concentration of coprostanol for *coliform* MPN 70 that is permissive for oyster farming is 13.5 ng/l in Hiroshima bay.

It seems effective for public health to check the distribution of fecal pollution using coprostanol and to check the bacteriological health hazards by *E. coli* MPN test together.

1 緒 言

し尿汚染の指標としては、従来大腸菌群検査法が広く用いられている。これは大腸菌が通常人畜の腸管内に生息するものであり、水中からこれを検出することは、その水が人畜のし尿などで汚染されていることを意味し、消化器系病原菌にも汚染されているおそれがあるとの基本認識によるものである。

しかし金政らは日本工業規格 JIS K-0102,あるいは上水道試験法で定められている LB-BGLB 法によって測定された大腸菌群数のうち、人畜由来の菌は10~50%にすぎず、その指標性に疑問があることを指摘している。すなわち、大腸菌群とはいわゆる *Coliform group* と呼

ばれるもので、*Coli-aerogenes group* を包括しており、これにはし尿由来菌以外に植物、水または土壌由来のものも含まれている。このため人のまったく出入りしていないと思われる山頂での水や植物からも、かなりの大腸菌群が検出されることがあり、水質汚濁防止法で定められた公共用水域の常時監視の際に、人畜による汚染のさして考えられない地点から異常に高い値が検出されることもある。そのため化学分析項目はすべて良好であるのに大腸菌群数のみが高いために環境基準を達成できない地点も多い。そこでこれらの問題を克服するために種々の細菌面からの検索法についてし尿汚染の指標性を高めるための検討が続けられている。²⁾

これに対し Murtaugh ら³⁾は1967年にし尿系大腸菌で

* 現広島県環境センター；

** 広島県衛生研究所；

Prenent Hiroshima Prefectural Research Center for Environmental Science
Hiroshima Prefectural Institute of Public Health

はなくて、し尿中に含まれているコプロスタノール(5 β -cholestan-3 β -ol)を測定することにより、し尿汚染を評価する方法を提案している。Fig.1 に構造を示したコプロスタノールは哺乳動物の腸管内でコレステロールが還元されて生ずるステロールであり、哺乳動物の糞便中のみ特異的に見出される。

その後環境濃度レベルの微量分析法が開発され^{4,5)} 河川、海域の調査が試みられているが、これまではし尿の有機物汚染といった環境化学、地球化学的立場からの調査が主であった^{6,7,8,9)}

著者らは1963年以來病原性腸内細菌によるカキの汚染を防止するため計画的な調査を行っており、既に岸本¹⁰⁾ によって広島湾において細菌学的に汚染が進みつつあることを警告している。今回、この調査に合わせてコプロスタノールの分布を調べ病原性腸内細菌汚染の指標とされている大腸菌群等の検査成績と対比し、公衆衛生的立場から検討を加えた結果、コプロスタノールが公共用水域のし尿汚染をは握するうえで有益な情報を与えることが認められたので報告する。

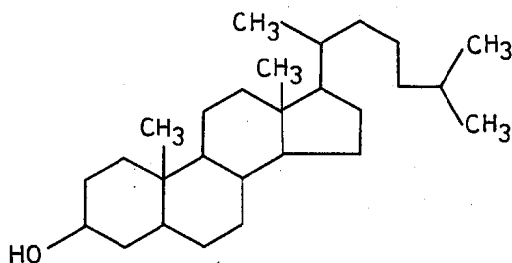


Fig. 1 Structure of Coprostanol

2 調査方法

2.1 調査地域の概況

広島湾は瀬戸内海の西部に位置し、昔からカキなどの養殖が盛んな代表的養殖漁場である。この水域の関係人口は約130万人で、主な流入河川は、広島市市街を5つのデルタに分割して流入する一級河川太田川を中心に、東に二級河川瀬野川、西に同じく二級河川八幡川がある。太田川河口の沿岸地域は自動車、造船等多数の企業が立地し、広島市周辺部はベッドタウンとして人口の増加が著しい。

2.2 試料採取

サンプリングは定期的に行なっている広島湾の衛生調

査に合わせて、1979年11月13日に小型船をチャーターして行なった。コプロスタノールについてはポリエチレン製容器で直接表層水を2~6ℓ採取した。また細菌検査用試料については専用の採水器を用いて水面下1mの海水をあらかじめ滅菌した250mlの共栓付細口びんに採取した。サンプリング地点はFig.2に示す20地点である。

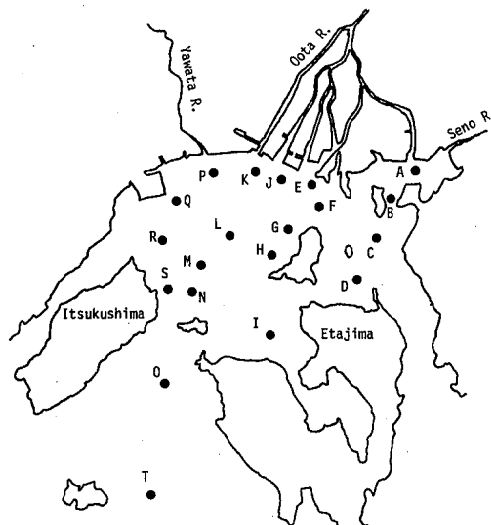


Fig. 2 Survey Area and Sampling Stations

2.3 分析法

コプロスタノールの分析法：立川らの方法に準じたが、今回はコレステロールを対象としなかったため、抽出液のアルカリ加水分解は行なわなかった。検水をn-ヘキサンで振とう抽出し、濃縮、乾固後、ジメチルホルムアミド(DMF)を溶媒として、ビス(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミド(BSTFA)によるトリメチルシリルエーテル誘導体化を行なった。DMFと過剰の

BSTFAを留去し、残渣をn-ヘキサンに溶解して定容にした後、ガスマスを用いてマスフラグメントグラフィーを実施した。ガスマスの条件をTable 1に示す。標準溶液も検水と同様にTMS誘導体化し、定量は絶対検量線法で行なった。原報ではTMS誘導体化に一夜放置しているが、著者らはFig.3に示すとおり、1時間で反応が終了することを確認した。また、n-ヘキサン溶液としたTMS誘導体は少くとも2週間は安定であった。

細菌検査法：検査項目は大腸菌群最確数(Coliform MPN), *Escherichia coli* 最確数(*E. coli* MPN)および一般生菌数(SPC)とし、これらの検査方法は食品衛生検

査指針(I)に準拠した。

3 調査結果と考察

調査結果を Table 2 に、コプロスタノールの濃度分布を Fig. 4 に示す。最高濃度は St. A の 240 ng/l、最低は St. T の 3 ng/l、平均値は 47 ng/l であった。

GC Condition	
Instrument :	Shimadzu-LKB 9000 equipped with multi-ion detector
Column :	2% OV-17 on Chromosorb W AW HMDS (80-100) mesh I. D. 3 mm X 2 m glass column
Temperature :	Column 240°C Injection 270°C Separator 270°C
Carrier gas :	He 30 ml/min
MS-MID Condition	
Accelerating voltage :	3.5 kV
Trap current :	60 uA
Ionization energy :	35 eV
Ion source temperature :	290°C
Mass setting :	m/z
Coprostanol :	370
:	355

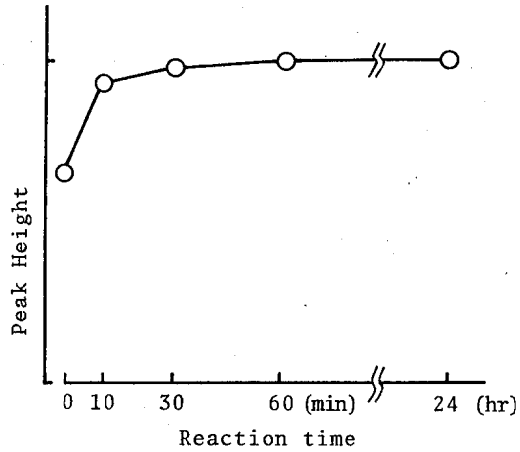


Fig. 3 Effect of Reaction Time on Silylation of Coprostanol

Table 2 Comparison of Coprostanol Concentration and Bacteriological Data from Sea Water (Hiroshima Bay)

St.	Coprostanol (ng/l)	Coliform MPN	E. coli MPN	SPC*	Water Temp.	Specific Gravity	pH
A	240	5400	460	700	17.0	1.0180	7.78
B	68	24000	1400	1000	18.0	1.0222	8.01
C	36	5400	490	600	19.4	1.0235	8.06
D	28	350	130	180	18.9	1.0226	8.03
E	48	5400	790	1200	18.8	1.0192	8.03
F	77	24000	490	1500	18.8	1.0215	8.04
G	32	920	49	150	18.6	1.0218	8.07
H	31	1400	79	160	18.5	1.0215	8.08
I	16	4.5	<1.8	13	19.0	1.0225	8.11
J	35	920	240	200	19.6	1.0208	8.02
K	119	35000	3500	1400	19.1	1.0207	7.97
L	20	540	46	62	18.0	1.0215	8.12
M	10	350	17	54	19.5	1.0225	8.13
N	7	79	7.8	31	19.0	1.0225	8.10
O	4	1.8	<1.8	8	20.1	1.0220	8.15
P	140	5400	1100	130	19.0	1.0220	7.80
Q	10	240	22	11	19.2	1.0225	7.88
R	9	240	22	69	19.5	1.0220	8.11
S	8	13	4.5	11	20.0	1.0225	8.14
T	3	<1.8	<1.8	1	20.3	1.0225	8.15

* SPC : Standard Plate Count

各測定項目間の相関係数を Table 3 に示した。

3 で明らかなように、コプロスタノール濃度は公衆衛生上し尿汚染の指標とされている細菌検査項目との間に危険率5%で有意の相関 ($n=20$ のとき $r > 0.44$) を示すことがわかる。また、海水の水温、比重、pH とコプロスタノール濃度に高い逆相関が認められた。このことから、本調査で検出されたコプロスタノールが主に広島湾に流入する河川水によってもたらされていることが推察できる。次にコプロスタノールとし尿との関係をより明確にするために、細菌のなかでもし尿汚染を反映するものとして最も信頼されている *E. coli* MPN とコプロスタノール濃度の関係を検討した。河口沿岸部の汚染が著しく、バラツキの大きい St. A, K, P の3ヶ所の値を除くと両者の関係は Fig. 5 に示したように相関係数0.84と高い相関を示し、両者が強い因果関係にあることが認

められた。またこれらの関係から *E. coli* MPN とコプロスタノール濃度について回帰式を求めると $\log Y = 0.04 X + 0.56$ (Y : コプロスタノール濃度, X : *E. coli* MPN) となる。

これまでの考察でコプロスタノールがし尿汚染の指標として有用であることがし尿汚染指標菌との関係からも認められたが、公衆衛生学的には、し尿の広がりとし尿系腸内細菌の分布を総合して評価することが必要と考えられる。そこで今回の調査成績を主成分分析によって解析を試みた。Table 4 に各項目の固有値、因子負荷量および累積寄与率を示した。それによると第3主成分まで、今回の調査から得られた情報の88.3%を記述することができ、また第2主成分まででも79.2%の情報が含まれていることがわかる。したがって、この第1と第2の2つの主成分だけで広島湾のし尿汚染をほぼ総合的に

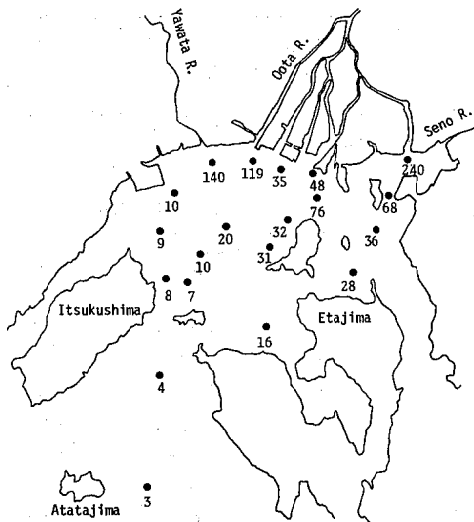


Fig. 4 Coprostanol Distribution in the Surface Sea Water of Hiroshima Bay (ng/l)

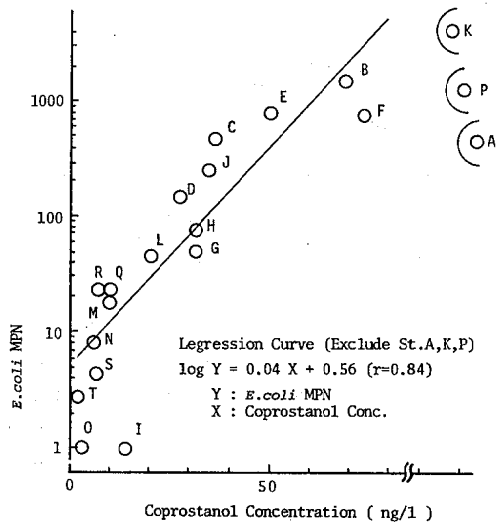


Fig. 5 Correlation of Coprostanol Concentration and *E. coli* MPN in Sea Water

Table 3 Correlation coefficient between each factor

	Coprostanol	Coliform MPN	<i>E. coli</i> MPN	SPC	Water Temp.	Specific Gravity	pH
Coprostanol	1.00	0.60*	0.65*	0.58*			
Coliform MPN	0.46	1.00					
<i>E. coli</i> MPN	0.52	0.86	1.00				
SPC	0.45	0.86	0.70	1.00			
Water Temp.	-0.65	-0.25	-0.17	-0.36	1.00		
S. Gravity	-0.69	-0.22	-0.28	-0.47	0.57	1.00	
pH	-0.82	-0.27	-0.39	-0.30	0.53	0.49	1.00

* Correlation between Coprostanol Conc. and Logarithm of Bacteriological Items

は握ることができると考えられる。第1主成分についてみると、因子負荷量がすべての項目について大きく、コプロスタノール濃度および細菌検査項目ではいずれも負の、水温、比重、pH は正の負荷を持っている。本来、海域のし尿汚染を評価する場合、比重や pH が高いほど河川水の影響が弱く、汚染の程度が低いと考えられるが、このことから第1主成分は総合的なし尿汚染に対する清浄度が集約されているとみなすことができる。また、第2主成分についてみると、細菌項目である *Coliform* MPN, *E. coli* MPN, SPC はいずれも第1主成分の場合と異なり、比重および pH と同じ正の因子負荷量を持っている。これに対しコプロスタノールは第2主成分においても比重、pH とは逆の因子負荷を維持している。したがってこの第2主成分の総括特性には生物学的因子が比較的強く表わされているものと考えられ、細菌とコプロスタノールの寄与の度合いの差を示すことができる。すなわち、海水中での細菌の消長は環境との生物学的なかわりあいによって左右されると考えられるが、コプロスタノールのそれはほとんど拡散という物理的要因にもとづくものと考えることができる。このことから海域におけるし尿汚染の実態を把握するための指標としてはコプロスタノールの方が大腸菌群等より優れた性質を持つと考えられる。

以上の考察からし尿汚染指標物質としてのコプロスタノールと大腸菌群等の間には相互に有意な相関を示しながらもそれぞれの指向に差があることがうかがえたので、主成分分析で得られた第1、第2主成分の各調査地点における因子得点を用いて調査海域のし尿汚染状況の考察をすすめるため Fig. 6 を作製した。各調査地点の因子得点の分布を第1主成分についてみると、ほぼ河口沿岸からの距離の大きさに順に一致しており、汚染の程度が河口沿岸に近づくにしたがって大きくなることを示して

いる。また第2主成分の地点別因子得点の分布が沖合の比較的汚染の少ない地点で、コプロスタノールよりも、し尿汚染指標菌の寄与が大きくなる傾向を示した。これらのことはし尿汚染指標菌の分布が必ずしもし尿汚染の程度と一致するとはかぎらず、し尿指標物質としての細菌類には若干不安定な要素を含むものと思料される。

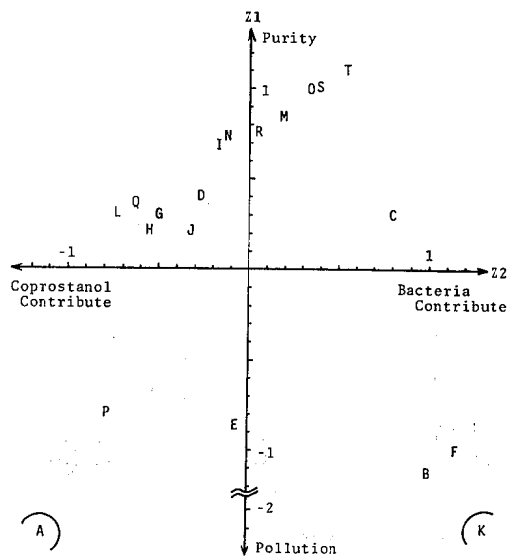


Fig. 6 Distribution of Each Station by the Scores of the First and Second Principal Components

以上の考察は高等動物の糞便起源であるコプロスタノールがし尿汚染の指標として優れた物質であることを示唆すると、ともに公衆衛生的には伝染性腸内細菌による危険性をチェックする必要を示しており、海域の衛生状態を正しくは握するためにはコプロスタノールを指標としてし尿汚染の拡がりを調べ、あわせてし尿汚染指標菌、中でも伝染性腸内細菌の指標性が高いとされる *E. coli* MPN で細菌学的汚染のチェックをおこなうことが最良の方法と考えられる。

広島県特産であるカキの養殖海域は食品衛生法によって規制されており、生食用のカキの養殖は厚生省告示で *Coliform* MPN 70 以下の海域でおこなうことが定められている。そこで今回の調査で得たデータから *Coliform* MPN とコプロスタノールの関係式を求め、*Coliform* MPN 70 に相当するコプロスタノール濃度を計算した。両者の関係は Fig 7 に示す回帰式で与えられる。この式から *Coliform* MPN 70 に対応するコプロスタノール濃度を求めると 13.5 ng/l の値が得られた。

Table 4 Factor Loading of Principal Component

	Z 1	Z 2	Z 3
Eisenvalue	3.99	1.55	0.63
Coprostanol	-0.89	-0.33	-0.18
<i>Coliform</i> MPN	-0.75	0.62	0.02
<i>E. coli</i> MPN	-0.76	0.53	-0.21
SPC	-0.81	0.42	0.29
Water Temp.	0.65	0.50	-0.27
S. Gravity	0.70	0.42	-0.38
pH	0.72	0.42	0.50
A. C. R.	57.1%	79.2%	88.3%

A.C.R.: Accumulated Contribution Rate

又、今回の調査で得られた広島湾におけるコプロスタンール濃度を瀬戸内海の他の海域の値^{7,9)}と比べてみると Table 5 に示したように、広島湾は平均値で大阪湾よりも若干低いレベルに位置するが、し尿汚染の影響の少ない周防灘に比べると約20倍の濃度であることがわかる。

4 要 約

し尿汚染指標としてコプロスタンールに注目して広島湾のし尿汚染を調査し、海水中のコプロスタンール濃度と従来からし尿汚染の指標として広く用いられているし尿汚染指標菌との関係について検討を加えた。

広島湾のコプロスタンールの平均濃度は 47 ng/l (最高値 240 ng/l, 最低値 3 ng/l) であり、高濃度地点は河口部に位置した。

海水中のコプロスタンール濃度と海水の比重との間に高い逆相関が認められ、コプロスタンールが河川経由で広島湾に供給されていることが推察された。

又、コプロスタンール濃度がし尿と最も関係が深いとされている *E. Coli* MPN との間に強い相関 ($r=0.84$) を持つことが認められた。

今回の調査データを主成分分析法で解析した結果コプロスタンールが海のし尿汚染分布を把握するうえで優れた指標となることが確認されるとともに、海の衛生を考えるためにはし尿汚染指標菌として最も信頼されている *E. Coli* MPN による調査を併せておこなう必要が認められ、このことによって公衆衛生的により有効な評価が期待できることが推察された。

又、生食用カキの養殖指定海域の基準である *Coliform* MPN 70 に相当するコプロスタンール濃度を今回の調査成績から求めると 13.5 ng/l の値が得られた。

文 献

- 1) 金政泰弘, 赤塚和也, 藤原清, 森康己: 文部省特定研究「海洋環境保全の基礎的研究」瀬戸内海の汚染と指標生物の動態に関する研究, p.82-88(1976).
- 2) 岸本敬之, 得能弘志, 小川博美: 広島県衛生研究所研究報告, No 24, 50 (1977).
- 3) Murtaugh, J. J. and R. L. Bunch: J. Water Poll. Contr. Fed., 30, 404-409 (1967)
- 4) 立川涼, 伊藤治郎, 脇本忠明: 農化 51, 315 (1977).
- 5) 松島肇, 脇本忠明, 立川涼: 分析化学 24, 342(1975).
- 6) P. G. Hatcher, L. E. Keister and P. A. McGilivray: Bull. Env. Contam. Tox., 17, 491 (1977)
- 7) 伊藤治郎, 立川涼: 地球化学 11, 70 (1977).
- 8) 小椋和子, 半谷高久: 用水と廃水 12, 84 (1970).
- 9) 伊藤治郎, 立川涼: 地球化学 12, 9 (1978).
- 10) 岸本敬之: 食品衛生研究 26, 38 (1976).

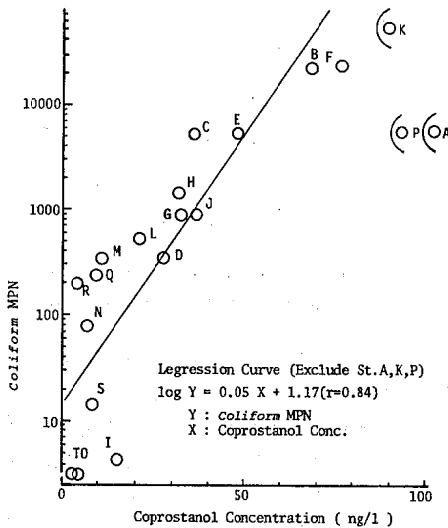


Fig. 7 Correlation of Coprostanol Concentration and Coliform MPN in Sea Water

Table 5. Average Concentration of Coprostanol in the Seto Inland Sea

area	number of samples	average (ng/l)	range (ng/l)
Hiroshima Bay	20	47	240 - 3
Osaka Bay*	17	53	150 - 9.3
Suoh-nada**	11	2.7	6.3 - 0.9

* Itoh and Tatsukawa (1978)

** Itoh and Tatsukawa (1977)

1978年および1979年広島県において分離されたA型インフルエンザウイルスの抗原分析

武井直巳* 徳本静代* 瀬川和幸*

Antigen Analysis of Influenza Virus Type A Strains
Isolated in Hiroshima Prefecture in 1978 and 1979

NAOMI TAKEI, SHIZUYO TOKUMOTO, and KAZUYUKI SEGAWA

(Received August 25, 1980)

はじめに

1978年のインフルエンザ¹⁾は全国的にH3N2型とH1N1型の両ウイルスの流行がみられ、ウイルスの分離状況から概ねH3N2型は1977年12月から1978年2月にかけて、H1N1型は1978年1月から3月にかけて流行したようである。

1979年²⁾はH1N1型の流行のほか、新潟県、熊本県等一部でB型ウイルスの分離もみられたが、大勢はH1N1型の流行で2～3月がピークであった。

広島県においても1978年は1月から、1979年は2月に入って本格的な流行をみたが、1978年はH3N2型とH1N1型の両型が、1979年はH1N1型ウイルスのみ分離され、近県の分離状況^{3,4,5)}と同様であった。

これらの流行状況、ウイルス分離状況等は別の機会に報告するつもりであるが、今回は1978年及び1979年の分離株について抗原分析を行ったのでその成績について報告する。

実験材料及び方法

1 供試ウイルス

1) 原型株 原型株として

H0N1型：(1) A/PR/8/34 (PR-8)

H1N1型：(2) A/FM/1/47 (FM-1), (3) A/大町/1/53

(大町), (4) A/USSR/92/77 (USSR), (5) A/Brazil/11/78 (Brazil), (6) A/福島/103/78 (福島), (7) A/熊本/37/79 (熊本)

H3N2型：(8) A/山梨/2/77 (山梨)

Hsw1N1型：(9) A/NJ/8/76 (X-53) (NJ) の9株いずれも予研インフルエンザセンター由来株を用いた。

2) 分離株 1978(78)年はH1N1型13株、H3N2型1株の計14株が分離された。そのうち供試株としてH1N1型：(10) A/広島/1/78 (78H-1), (11) A/広島/3/78 (78H-3), (12) A/広島/7/78 (78H-7), (13) A/広島/8/78 (78H-8), (14) A/広島/12/78 (78H-12) H3N2型：(15) A/広島/14/78 (78H-14) の計6株を供試した。

これらのうち78H-1及び78H-3株はそれぞれ別の集団発生例から分離されたものの1株で、他は定点観測調査の病院患者から分離されたものである。分離時期は78H-14株が78年1月、他は2月の分離である。

1979(79)年はH1N1型のみ24株分離された。供試株として

(16) A/広島/1/79 (79H-1), (17) A/広島/9/79 (79H-9), (18) A/広島/16/79 (79H-16), (19) A/広島/17/79 (79H-17), (20) A/広島/24/79 (79H-24) の5株を選んだ。

79H-1及び79H-17株はそれぞれ別の集団発生由来株である。また79H-1, 9及び16株は3月の、79

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

H-17 及び 24 株は 4 月に分離されたものである。

に模して図示し、各株間の近似性を検討した。

2 抗原の作製

各ウイルスは発育鶏卵 34℃ 72 時間培養の感染漿液を遠心精製⁶⁾し、適量の 0.02% Gelatin 加 PBS (+) に浮遊し、免疫用抗原は赤血球凝集価 1024~2048 倍としそのまま分注凍結保存した。赤血球凝集抑制 (HI) 反応抗原は等量の Glycerin を加え、4℃ に保存した。

3 ウサギ免疫血清の作製

白ウサギを用い図 1 に示すようなスケジュールで 4 週 3 回免疫を行った。

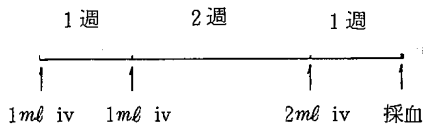


図 1 兎免疫血清の作製

全採血後えたウサギ血清は中村ら⁷⁾の方法に準じて硫酸塩析を行い、部分精製したものを免疫血清として用いた。

4 HI 試験

各免疫血清は常法通り RDE 処理及びニワトリ血球による吸収を行った。HI 試験はすべて microtiter 法で行った。

まず Line test によって各免疫血清の HI 価を求め、交差 HI 試験 (抗原分析) においてはホモ抗原に対する HI 価が 1:512 になるよう調整して用いた。血清希釈は 1:32 から始めた。

5 Archetti 及び Horsfall の式による r 値の算出

Robinson ら⁸⁾が示した Archetti 及び Horsfall⁹⁾の次式を用い、各免疫血清-ウイルス株間のクロス HI 価 (表 1) から各株間の r 値を求めた。

$$r = \sqrt{r_1 \times r_2}$$

$$r_1 = \frac{\text{titer of serum 1 with strain 2}}{\text{titer of serum 1 with strain 1}}$$

$$r_2 = \frac{\text{titer of serum 2 with strain 1}}{\text{titer of serum 2 with strain 2}}$$

ここでは r 値を 1.0~1.9, 2.0~3.9, 4.0~7.9 及び 8.0 以上の 4 段階に分け、Adanson¹⁰⁾の scheme

実験成績

1 免疫血清

硫酸塩析後概ね、HI 価 1:2048~1:4096 の免疫血清がえられた。

2 交差 HI 試験 (抗原分析)

各ウイルス株とそれらの免疫血清との交差 HI 試験 (抗原分析) の成績を表 1 に示した。

この成績から各株間の関係を順にみると、PR-8 免疫血清 1:512 のその他の供試株に対する HI 価はどれも 1:32 以下であった。

FM-1 免疫血清 1:512 は USSR 及び Brazil 株に対しては 1:128, 大町及び熊本株に対しては 1:32 及び 1:64 でそこには 3~4 管差が認められ、さらに福島株とは 1:32 以下であった。分離株では 78H-7, 12 及び 79H-1 の各株とは 1:256, 78H-1, 3, 8 及び 79H-16, 24 の各株とは 1:128 でこれらの株は USSR 及び Brazil 株と同じく、79H-9 及び 17 の 2 株とは 1:64 でこれらはむしろ熊本株のそれに似た。

大町免疫血清 1:512 は福島株に対して同じ 1:512 を示し両株の近似していることがうかがわれた。また FM-1 株に対しては 1:256 を示したが、前述のように FM-1 免疫血清-大町株間は 1:32 に過ぎなかった。これに対し USSR, Brazil 及び熊本株とのクロスは低く 1:32 であった。同様に 78H-14 株を除く分離株とも 1:64 ないし 1:32 であって、先の原型株を含むこれらの株は対大町免疫血清において似たクロスパターンを示した。また大町免疫血清は PR-8 及び NJ 株との間に 1:32 ないし 1:64 のクロスが認められた。

USSR 免疫血清 1:1024, Brazil 免疫血清 1:512 の時、この両株は相互に 1:512 でクロスし、またこの両免疫血清- FM-1 及び熊本株も 1:512 及び 1:1024 を示し、これらの株のお互い関連の深いことが示された。反面この両免疫血清-大町及び福島株は 1:128, そこには 2~3 管の差が認められた。分離株についてみると、この両免疫血清と 78H-14 株を除く分離株との間には 1:512 ないし 1:1024 の強いクロスが認められた。

福島免疫血清-大町株の場合も前述の大町免疫血清-福島株の場合と同様に 1:512 を示しこの両株は強くクロスした。またこの福島免疫血清は FM-1 株との間にも 1:256 のクロスが認められたが、逆の FM-1 免疫血清-福島株間は 1:32 であることから、両者の関係は

表1 各供試ウイルス(抗原)とそれらのウサギ免疫血清との交差 HI 試験成績(抗原分析)

抗原	免疫血清	A/PR/8/34	A/FM/1/47	A/大町/1/53	A/USSR/92/77	A/Brazil/11/78	A/福島/103/78	A/熊本/37/79	A/山梨/2/77	A/NJ/8/76	A/広島/1/78	A/広島/3/78	A/広島/7/78	A/広島/8/78	A/広島/12/78	A/広島/14/78	A/広島/1/79	A/広島/9/79	A/広島/16/79	A/広島/17/79	A/広島/24/79	
A/PR/8/34		512	<	32	<	<	64	32	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<
A/FM/1/47		<	512	256	1024	1024	256	512	<	<	1024	1024	2048	512	512	<	512	512	512	2048	512	512
A/大町/1/53		<	32	512	128	128	512	128	<	<	128	128	128	128	64	<	128	128	128	512	128	128
A/USSR/92/77		<	128	32	1024	512	64	256	<	<	256	512	512	256	256	<	512	256	256	1024	256	512
A/Brazil/11/78		<	128	32	512	512	64	128	<	<	512	512	512	128	256	<	512	256	512	2048	512	512
A/福島/103/78		<	<	512	128	128	512	128	<	<	128	128	128	<	64	<	128	128	128	1024	128	128
A/熊本/37/79		<	64	32	1024	512	128	512	<	<	512	256	512	256	256	<	256	256	256	1024	512	512
A/山梨/2/77		<	<	<	<	<	<	<	1024	<	<	<	<	<	<	512	<	<	<	<	<	<
A/NJ/8/76		<	<	64	<	<	<	<	<	512	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<
A/広島/1/78		<	128	32	512	512	64	256	<	<	512	512	512	512	512	<	512	512	512	1024	256	256
A/広島/3/78		<	128	32	512	512	64	256	<	<	512	512	512	256	256	<	256	128	256	512	256	256
A/広島/7/78		<	256	64	1024	1024	64	512	<	<	512	512	512	512	256	<	512	512	512	1024	512	512
A/広島/8/78		<	128	32	512	512	<	128	<	<	512	512	512	512	256	<	512	256	256	1024	256	256
A/広島/12/78		<	256	64	1024	512	32	512	<	<	512	512	512	512	512	<	512	512	512	1024	512	512
A/広島/14/78		<	<	<	<	<	<	<	256	<	<	<	<	<	<	512	<	<	<	<	<	<
A/広島/1/79		<	256	64	1024	1024	256	512	<	<	512	512	1024	256	512	<	512	512	512	2048	512	512
A/広島/9/79		<	64	64	512	512	128	256	<	<	256	512	512	128	256	<	512	512	512	1024	256	256
A/広島/16/79		<	128	64	1024	1024	128	512	<	<	512	512	512	128	256	<	512	256	512	1024	512	512
A/広島/17/79		<	64	32	512	512	128	256	<	<	256	256	512	128	256	<	256	256	256	1024	256	256
A/広島/24/79		<	128	32	1024	1024	128	512	<	<	512	256	512	128	256	<	512	256	512	2048	512	512

<: <32

one way と考えられた。これに対し USSR 及び Brazil の両株とは 1:64 の 3 管差, 熊本株とは 1:128 の 2 管差であった。一方分離株との関係についてみると, 78 年分離株に対してはいずれも 1:64 以下, 79 年分離株とは 1:128 ないし 1:256, これだけからみると 78 年分離株は, 78H-14 株は別として, USSR 株あるいは Brazil 株間とのパターンに似ており, 79 年分離株はむしろ対熊本株に近いパターンであった。

熊本免疫血清 1:512 は FM-1 株に対しては同じ 1:512, USSR 株に対してもそれに近い 1:256 を示したが, Brazil 株とは 1:128 を示したに止まった。また大町及び福島の両株とも 1:128 であった。78H-14 株以外の殆ど分離株に対しては 1:512 ないし 1:256 を示したが, 78H-8 株とのみは 1:128 であった。またこの免疫血清は PR-8 株と 1:32 のクロスが認められた。

山梨免疫血清 1:1024 は 78H-14 株とのみ 1:256 を示した。

NJ 免疫血清とその他の供試株間はいずれも 1:32 以下であった。

次に, 分離株免疫血清と供試各株との関係については,

これまでの成績と表裏をなす部分も多いので一括してその特徴だけをまとめた。

分離株免疫血清 - PR-8 及び NJ 株はいずれも 1:32 以下であった。また 78H-14 免疫血清は山梨株とのみ 1:512 を示した。

この 78H-14 株以外の分離株免疫血清 - FM-1 株は 1:512 ないしそれ以上を示し, FM-1 免疫血清 - 分離株の場合より全体的に高い値を示した。

一方分離株免疫血清 - 大町及び福島両株は 79H-17 免疫血清を除いていずれも 1:128 ないしそれ以下であって, 全体としてはクロスの程度は低かった。

また分離株免疫血清 - USSR, Brazil 及び熊本の 3 株間もまとまった成績を示し, 全体的に 1:256 ないし 1:512 でクロスした。ただし 79H-17 免疫血清はいずれに対してもそれより 1~2 管高いタイターを示した。

分離株免疫血清 - 分離株間のクロスは全体的に斉一なパターンを示し, 殆どがホモ株と同じかまたはそれに近い 1:256 ないし 1:512 を示した。ただそのなかで 78H-8 免疫血清 - 79H-9, 16, 17 及び 24 株間は 1:128 に止まった。またそれとは別に 79H-17 免疫血清は原型株, 分

菌株を問わずクロス株とのレスポンスが高く、他の免疫血清に較べ全般的に1~2管高いタイターを示した。

3 Archetti 及び Horsfall の r 値による解析

各供試株間の r 値を図2に scheme として示した。

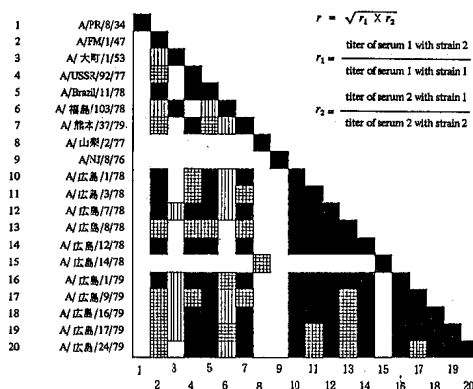


図2. Archetti 及び Horsfall の式による各供試インフルエンザウイルスの相互関係

■: $r = 1 \sim 1.9$ ▨: $r = 2 \sim 3.9$ ▩: $r = 4 \sim 7.9$ □: $r = > 8$

まず初めに、PR-8-その他の供試株及びNJ株-その他の供試株間の r 値はすべて8.0以上であった。また山梨株-78H-14株以外の供試株、同時に78H-14株-山梨株以外の供試株との r 値もまた8.0以上を示し、これらの株間の r 値は極めて高かった。

FM-1株と r 値が1.0~1.9の関係にあった株はBrazil株ならびに78H-1, 3, 7, 12および79H-1の各株であった。USSR株、熊本株ならびに78H-8, 79H-9, 16, 17および24の各株とは2.0~3.9、対するに大町及び福島株とは4.0~7.9であった。

大町株は福島株との r 値は1.0~1.9であったが、その他の供試株に対しては4.0以上の値を示した。

USSR株については、対福島株の r 値が8.0以上であったほかは、各供試株との r 値は1.0~1.9ないし2.0~3.9の範囲にあった。

Brazil株の対福島株の r 値は4.0~7.9; その他の供試株とは1.0~1.9ないしは2.0~3.9であって、この点USSR株と似たが、対分離株間の r 値は78H-8株を除いて全て1.9以下であった。

福島株-79H-1及び79H-17株間の r 値は2.0~3.9を示した。しかしその他の株との r 値はどれも4.0以上であって、福島株-供試株の r 値は大町株の場

合と同様に全般的に高い数値を示した。

熊本株-分離株の r 値はどれも1.0~3.9の範囲にあった。

分離株-分離株の r 値は前述の78H-14株を別として全て1.0~3.9の間にあった。

4 参考のために予研インフルエンザセンターにおける抗原分析^{1,11)} から、原型株についての関連部分を抜すいて表2-A, Bに掲げた。

表2-A 予研インフルエンザセンターにおけるH1N1型株の抗原分析

抗原	フェレット抗血清		
	A/PR/8/34	A/大町/1/53	A/FM/1/47
A/PR/8/34	1024		
A/大町/1/53	<16	1024	64
A/FM/1/47	<16	16	2048

表2-B 予研インフルエンザセンターにおけるH1N1型株の抗原分析

抗原	フェレット抗血清			
	A/USSR/92/77	A/福島/103/78	A/Brazil/11/78	A/熊本/37/79
A/USSR/92/77	512	<32	512	128
A/福島/103/78	64	2048	256	32
A/Brazil/11/78	128	<32	1024	512
A/熊本/37/79	64	<32	256	256

考 察

まず初めに供試原型株間の関係をわれわれの成績からまとめてみたい。

大町、福島及び熊本免疫血清-PR-8株、また大町免疫血清-NJ株間において1:32ないし1:64程度に認められたH抗原型にまたがるクロスは、H0, H1及びHsw1の各H抗原型間に存在する共通抗原¹²⁾によるものと思われる。この点に関してH0, H1及びHsw1をまとめてH1とする提案がすでにWHO¹³⁾からなされている。しかしPR-8及びNJ免疫血清-供試H1N1型株間には、共通抗原はあるが、一応それなりの違いはあるものと考えられる。

FM-1免疫血清1:512の時、対USSR及びBrazil株とは1:128でそこには2管差があるが、一方のUSSR及びBrazil免疫血清-FM-1株は1:1024の強いクロスが認められることから、FM-1, USSR及びBrazil

の各株はお互い関連の深い株と考えられる。

熊本株については、その免疫血清 - USSR 及び Brazil 株は 1:256 及び 1:128, 対する USSR, Brazil 免疫血清 - 熊本株はそれぞれ 1:1024 及び 1:512 であって、この 3 株が非常に近い株であることが解る。このうち Brazil 株と熊本株との関係について、予研の成績¹¹⁾ ではわれわれの成績と丁度逆のクロスパターンを示しているが、結果として両株間の関係はどちらでも同様と考えられる。また FM-1 株との関係については、前述の FM-1 株, USSR 及び Brazil 株の場合と本質的には同様であって、これらを総合してみると、USSR 株, Brazil 株及び熊本株は FM-1 株からはやや遠いが、抗原的には同一延長線上にある株とみなして差支えないものと思われる。

大町及び福島株については、その免疫血清は FM-1 株以外の H1N1 型株に対する場合も、大町及び福島株が他の H1N1 型免疫血清に対する場合も相互間のクロスタイターに 2 管あるいはそれ以上の差が認められ、この両株は他の H1N1 型株とはかなり異った株のようである。反面この両株は相互に全く同じクロスタイターを示すことから、両株は非常に近縁な株であることがわかる。

以上これらの関係については表 2-A, B に示した予研の成績からも推測しうるし、また大山¹⁴⁾も USSR 株と Brazil 株, 大町株と福島株との関係について同様の成績を示している。

一方、これらの関係は図 2 の Archetti 及び Horsfall⁹⁾ の r 値からも裏付けられる。この r 値については、 $r \geq 4$ の場合両株間には大きな抗原上の違いがあるとされている⁹⁾ ので、それに従えば r 値が 3.9 以下か、4.0 以上かを求めれば足りると思われるが、ここでは数値にある程度の内容を持たせる意味で一応 $r = 1.0 \sim 1.9$ (両者は同一か、極めて近い)、 $r = 2.0 \sim 3.9$ (両者は近縁で同一系統にある)、 $r = 4.0 \sim 7.9$ (両者は疎で抗原上ははっきりしたづれがある。または同一系統に属さない)、 $r \geq 8.0$ (両者の抗原上のづれは大きく、同一系統に属さない。または抗原型が異なる) の 4 段階に分けその近縁関係をみた。

PR-8 株は他の供試原型株間との r 値が全て 8.0 以上であって、その間には大きな相違が認められる。

FM-1 株, USSR 株, Brazil 株及び熊本株間の r 値はいずれも 3.9 以下の範囲にあり、これら 4 株は同一系統にあるものとみなされる。

大町株と福島株とは r 値が 1.0 ~ 1.9 にありこの両株は極めて近く、FM-1, USSR, Brazil 及び熊本の 4

株とはいずれも 8.0 以上の r 値を示すことから、大町及び福島株はこれら 4 株とは系統を異にする株と考えられる。

山梨及び NJ 株は供試いずれの原型株とも 8.0 以上の r 値を示した。山梨株は H3N2 型なのでこの r 値は当然といえるが、Hsw1N1 型である NJ 株も H1N1 型の 6 株とは一応はっきりした相違が認められる。

以上これまで述べてきた原型株間の関係を基にして分離株についてみると、78H-14 株は別として、H1N1 型の USSR, Brazil 及び熊本の各免疫血清 - 分離株, 分離株免疫血清 - これら H1N1 型株間のクロスタイターは 1:256 ~ 1:1024 の間で全体的に一致したパターンを示している。それはこれら株間の r 値がいずれも 3.9 以下であったことからわかる。したがって分離株はこれら H1N1 型の 3 株と同一タイプに属するものといえよう。また分離株 - FM-1 株については、FM-1 免疫血清 - 分離株の場合のタイターがその逆 (分離株免疫血清 - FM-1 株) の場合より 1 ~ 4 管低いが、 r 値は 3.9 以内におさまっていることから、分離株と FM-1 株は同一系統ではあるがやや遠いという解釈もできる。これに関連して、予研インフルエンザセンターでは 79 年の一部の分離株について熊本株と同型であるという成績¹¹⁾ を示している。これに異論はないが、今回の分離株と Brazil 及び熊本株とのクロスパターン及び r 値からは、供試分離株は Brazil 株タイプ、熊本株タイプのいずれともはっきり区別しえなかった。また同一タイプであっても 78H-3 あるいは 79H-17 株は他の分離株に較べ対 H1N1 型原型株のみならず、対分離株間の r 値も 1.0 ~ 1.9 でなく、2.0 ~ 3.9 を示す場合が多いのは、近縁性の問題よりむしろ抗体に対する親和性の問題とも考えられる。

78H-14 株は別であるが、分離株間の関係はそのクロスパターン及び r 値のうえからみて非常によく近似した株であると考えられる。

一方分離株 - 大町及び福島株とはクロスタイターも低く r 値も 4.0 以上を示し、分離株がこの両株の系統にはないことが解るが、その中において例外的に 79H-1 株は対福島免疫血清とのクロスタイターの関係から r 値が 2.0 ~ 3.9 となり福島株にも近いという結果がえられた。これからすれば 79H-1 株は Brazil 株タイプと福島株タイプの同方の性格を有することになるが、本株がこの両タイプ間の中間型なのか、あるいは橋渡的存在なのかは推測の域をでない。このような例は 1973 年の B 型の例¹⁵⁾ においても認められている。また 79H-17 株も福島株と r 値が 2.0 ~ 3.9 にあり前の 79H-1 株と同様のパ

ターンを示すが、79H-17株の場合はその免疫血清が供試いづれの株とも非常によくクロスし自身の株に対するよりむしろ高い場合が多く、これが原因で福島株に近い r 値を示したものと考えられ、79H-1株の場合とは本質的に異なる現象と考えられる。

78H-14株は山梨免疫血清とのみクロスすることからH3N2型と同定されるが、そのタイター間に2管差があり、 r 値も2.0～3.9に止まった。山梨株とは若干のずれがあるとも考えられるが、それには更に検討が必要である。

終りにインフルエンザウイルスの抗原分析について従来の交差HI試験を主とする方法においては、用いる免疫血清が非常に重要で、これには免疫抗原の作成、動物の種類、免疫方法等色々な問題があり、予研インフルエンザセンターで専らフェレットの感染免疫血清が用いられているほかは一定したものはないようである。この点についてわれわれはウサギ免疫血清について検討を加え、その硫酸塩析部分精製免疫血清を用い良好な成績をえたことを既に報告¹⁵⁾した。しかしインフルエンザウイルスが宿主細胞成分の一部をその粒子内に取込んでいる以上発育鶏卵由来のウイルスで動物を免疫し、同時に発育鶏卵由来抗原でその免疫血清とHI試験を行っている現状に全く問題がないかどうか疑問の余地もある。さらに動物の免疫においてわれわれは早期の血清に特異性の高いことを指摘¹⁶⁾したが、これらの点については更に総合的な検討が加えられなければならないと考える。

今回われわれはArchetti及びHorsfall⁹⁾の示した r 値を用いて簡単な解析をも試みたが、各株間の系列を知るうえで有用であると考えられ、従来のクロスタイター表に加えて用いられればより明瞭な成績が得られるものと思われる。しかし同時にインフルエンザウイルスの抗原分析については交差HI試験と共に大谷によって指摘されたように中島ら¹⁷⁾によるウイルスRNAのoligonucleotide mapによる分析が大きな意味をもつものと考えられ、今後その方面の検討が必要になってくるものと思われる。

ま と め

1978年及び1979年広島県において分離されたA型インフルエンザウイルスのなかから、1978年分離の6株、1979年分離の5株計11株について、A/PR/8/34, A/FM/1/47, A/大町/1/53, A/USSR/92/77, A/Brazil/11/78, A/福島/103/78, A/熊本/37/79, A/山梨/2/77及びA/NJ/8/76(X-53)の9株を対照原型株として、それぞれウサ

ギ免疫血清を作製し、交差HI試験による抗原分析を実施し概ね次のような成績をえた。

- 1 供試原型株のうちH1N1型株については、そのクロスパターン及び r 値からA/FM/1/47, A/USSR/92/77, A/Brazil/11/78及びA/熊本/37/79の4株はお互い関連が深く同一系統に属する株であり、他方A/大町/1/53株とA/福島/103/78株とは近縁であるが前4株とは別な系統をなすものであることが示された。
- 2 H1N1型のなかのA/大町/1/53, A/福島/103/78及びA/熊本/37/79免疫血清はHON1型のA/PR/8/34, Hsw1N1型のA/NJ/8/76(X-53)株と若干のクロスが認められたが、この両株の免疫血清とH1N1型株にはクロスはなく、株間の r 値も8.0以上を示し、A/PR/8/34株, A/NJ/8/76(X-53)株及び供試H1N1型株の間にはそれなりの違いが認められた。
- 3 分離株は、A/広島/14/78株を除いて、H1N1型のA/USSR/92/77, A/Brazil/11/78及びA/熊本/37/79の各株とほぼ同じパターンで強くクロスし、 r 値も3.9以内にあり、これらの3株と同一系統に属する株であることが示された。そのうち最も近い株型としてA/Brazil/11/78株及びA/熊本/37/79株が考えられたが、そのいづれともはっきりした特徴は見出せなかった。A/広島/14/78株はH3N2型であった。
- 4 A/広島/1/79株はA/Brazil/11/78株またはA/熊本/37/79株タイプと同定されたが、同時にそれとは系統を異にするA/福島/103/78株とも r 値が2.0～3.9を示した。これがこの両系統間の中間的存在なのかどうか今回明らかにできなかった。
- A/広島/17/79株免疫血清は供試株と全般的に親和性が高かった。
- 5 Archetti及びHorsfallの示した r 値はウイルス株間の型別のみならず、株型や系統を探るうえで有用であると考えられた。
- 6 硫酸塩析部分精製ウサギ免疫血清は充分抗原分析に用いることが確認された。

参 考 文 献

- 1) 福見秀雄, 武内安恵(1979): 1977～1978年におけるインフルエンザ流行の概要, インフルエンザワクチン研究会 第17回討論会記録(1977年度), 110～116, 細菌製剤協会
- 2) 武内安恵, 大谷 明, 薩田清明(1979): 1978年10月から1979年5月までのインフルエンザの流行より分離されたウイルスについて, 第27回日本ウイルス学

- 会総会 演説抄録, 106.
- 3) 持田 恭, 石原純子, 板垣朝夫, 伊藤義広(1977): 1977年~1978年に流行したインフルエンザについて, 島根県衛生公害研究所報, 19, 94~95.
 - 4) 持田 恭, 板垣朝夫, 石原純子, 伊藤義広(1978): 1978年11月~1979年6月に流行したインフルエンザについて, 島根県衛生公害研究所報, 20, 84~85.
 - 5) 小笠原光徳, 大瀬戸光明, 古茂田智恵子, 森 正俊, 高見俊才, 矢野 朱, 奥山正明, 山岡邦夫, 曾田研二(1978): 1979年の愛媛県内のインフルエンザの流行, 1979年の愛媛県立衛生研究所年報, 40, 25~28.
 - 6) 水谷裕迪(1972): インフルエンザウイルス, ウイルス実験学各論, 31~53, 国立予防衛生研究所学友会編, 丸善, 東京.
 - 7) 中村 弘, 尾上 薫(1974): 抗体の精製, 免疫の生化学, 181~196, 共立出版, 東京.
 - 8) Robinson, R. Q., and Dowdle, W. R. (1969): Influenza viruses, Diagnostic Procedures 4th Ed., 414~433, Amer. Public Health Assoc., New York.
 - 9) Archetti, I., and Horsfall, F. L., (1950): Persistent antigenic variation of influenza A viruses after incomplete neutralization in ovo with heterologous immune serum, J. Exp. Med., 92, 441~462.
 - 10) Sneath, P. H. A. (1957): The application of computers to taxonomy, J. Gen. Microbiol., 17, 201~226.
 - 11) 武内安恵(1980): 1979~1980年にかけてのインフルエンザの流行, インフルエンザワクチン研究会第18回討論会記録(1978年度), 97~106, 細菌製剤協会.
 - 12) 武内安恵(1979): A型インフルエンザウイルスの新しい抗原型の表記法に関連して: Hsw1N1株, HON1株, H1N1株の抗体産生の比較, 臨床とウイルス, 7(3), 98~101.
 - 13) Bull. WHO, 57(2), 227~233(1979): Reconsideration of influenza A virus nomenclature: a WHO memorandum.
 - 14) 大山 忍, 片桐 進, 本間守男(1980): 1979年春山形県に再び発生したH1N1型インフルエンザ流行とその背景, 臨床とウイルス, 8(1), 59~64.
 - 15) 清谷克寛, 武井直巳(1976): 1973年に広島県において分離されたB型インフルエンザウイルスの抗原分析について, 広島県衛生研究所・公害研究所研究報告, 23, 18~28.
 - 16) 清谷克寛, 武井直巳(1976): インフルエンザウイルスの免疫に関する研究 1 家兎における免疫過程の赤血球凝集抑制(HI)抗体価の推移, 日感染学誌, 50(12), 109.
 - 17) Nakajima, K., Desselberger, U., and Palese, P. (1978): Recent human influenza A (H1N1) viruses are closely related genetically to strains isolated in 1950, Nature, 274, 334~339.

都市下水の *Salmonella* : 患者株との血清型およびフェージ型の比較

宮崎佳都夫* 中森純三* 西尾隆昌*

Incidence of *Salmonella* in Sewage in an Urban Area:
Comparison of Serotype and Phage Type between Strains
Isolated from Sewage and from Human Patients

KAZUO MIYAZAKI, JUNZO NAKAMORI and TAKAMASA NISHIO

(Received August 28, 1980)

緒 言

近年, わが国においても食品や環境の広範かつ濃密な *Salmonella* 汚染の実態が明らかにされている^{1,2)} 食品, とりわけ食肉が食品衛生の大きな指標とされている^{2,3,4)} のに対し, 都市下水は生尿尿とともに生活廃水や産業廃水も含むところから, その地方の汚染の縮図ともいわれ, 多くの研究者の疫学的研究の対象とされている. 広島地方の都市下水についてはすでに中森ら⁵⁾ により多彩な血清型の大量の *Salmonella* 生菌の存在する事実が報告されている.

しかしながら, この都市下水における *Salmonella* とその地域住民のサルモネラ症との関連性についてはほとんど明らかにされていない. 今回, 著者らは都市下水中の腸チフス菌をも含めた *Salmonella* の検索を実施する機会を得たので, その検出菌株について, 同年の同地域の散发患者由来株との血清型およびフェージ型を比較検

討するとともに, 都市下水への *Salmonella* の流入の連続性についても観察を試みたので報告する.

調 査 方 法

1978年2月から3月にかけて約1週間の間隔で4回, 広島市内の3カ所の終末下水処理場に流入する都市下水をその流入口で採取して腸チフス菌および他の *Salmonella* の菌検索に供した.

腸チフス菌については検水300mlと等量の2倍濃度の変法セレナイト培地-L^{6,7)} を混合して増菌培養(37°C, 20hr)を行ったのち, bismuth sulfite 寒天培地(Difco)による分離培養(37°C, 20hr)を実施した. その平板上に出現した疑わしいコロニーは可及的多数を鑑別培養に供し, それらのうちで腸チフス菌と同定された分離菌株はすべて腸チフス中央調査委員会(国立予防衛生研究所, フェージ型別室)に送付してフェージ型別を依頼

Table 1. Incidence of salmonellae in sewage samples taken at three treatment plants.

<i>Salmonella</i> serotype	Number of samples examined	Number of samples positive (%)	Number of samples (%) containing indicated number of phage types or serotypes						Mean number of phage types or serotypes per positive sample
			1	2	3	4	5	6	
<i>S. typhi</i>	12	7 (58.3)	5 (41.7)	1 (8.3)	1 (8.3)				1.4
Others	12	11 (91.7)	2 (16.7)	2 (16.7)	1 (8.3)	2 (16.7)	1 (8.3)	3 (25.0)	3.6

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

した。

腸チフス菌以外の *Salmonella* については、検水 500 ml を等量の 2 倍濃度の SBG 培地 (日水製薬) に加えて増菌培養 (43°C, 20 hr) したのち、MLCB 寒天培地 (日水製薬) を用いて分離培養 (37°C, 20 hr) を行い、その平板上の黒色コロニーについて鑑別培養を試みた。また *Salmonella* と同定された菌株については、市販および供与を受けたサルモネラ診断用血清 (東芝化学) による血清型別試験を実施した。

成 績

都市下水網の流入系統を異にする 3 カ所の終末処理場でそれぞれ 4 回あて採取した 12 検体の都市下水についての菌検索結果を Table 1 に示した。腸チフス菌は 7 検体 (58.3%) から 6 型のフェージ型にわたる 10 株が分離された。なかにはわずか 300 ml の検水に 3 型のフェージ型

の相異なる菌株が認められた場合もあった。このような例を含めての陽性検体あたりの平均フェージ型数は 1.4 と算出された。

腸チフス菌以外の *Salmonella* は 11 検体 (91.7%) から 20 の血清型におよぶ 40 株が分離された。これらの 11 の *Salmonella* 陽性検体のうちの 10 検体までに、複数の血清型菌株が認められ、さらに 3 検体には最高の 6 血清型菌株の存在が観察された。これらの陽性検体についての平均血清型数は 3.6 と算出された。

検水採取地点における検出菌株の血清型およびフェージ型を 4 回の検索結果について経時的に観察したところ、腸チフス菌は定点 A においてフェージ型 53 の菌株が 3 回連続して検出され、また他の *Salmonella* も、いずれの定点においても数多くの血清型菌株が連続あるいは間歇的に分離された (Table 2)。すなわち定点 A においては *S. senftenberg*, *S. heidelberg* および *S. livingstone* の 3 血清型菌株がそれぞれ 2 回連続して分離された。定点 B

Table 2. *Salmonella* serotypes isolated from sewage samples — 1978

Sewage treatment plant	Serotype [phage type]	Date of isolation			
		Feb. 28	Mar. 7	Mar. 14	Mar. 22
A	<i>S. typhi</i> [53]		+	+	+
	<i>S. senftenberg</i>	+	+		
	<i>S. heidelberg</i>		+	+	
	<i>S. livingstone</i>		+	+	
	<i>S. java</i>		+		
	<i>S. infantis</i>	+			
	<i>S. london</i>	+			
	<i>S. cerro</i>	+			
	? : 1, v : 1, 5				+
	B	<i>S. typhi</i> [D1]			+
<i>S. typhi</i> [A degraded]				+	
<i>S. paratyphi B</i> [1]		+	+	+	
<i>S. senftenberg</i>		+	+	+	
<i>S. duesseldorf</i>		+	+	+	
<i>S. oranienburg</i>				+	+
<i>S. derby</i>		+			
<i>S. livingstone</i>		+			
<i>S. tennessee</i>			+		
<i>S. anatum</i>			+		
<i>S. meleagridis</i>			+		
<i>S. london</i>				+	
<i>S. clackamas</i>				+	
<i>S. typhimurium</i>					+
C	<i>S. typhi</i> [53]		+		
	<i>S. typhi</i> [A]			+	
	<i>S. typhi</i> [D1]			+	
	<i>S. typhi</i> [Untypable]			+	
	<i>S. typhi</i> [Vi(-)]				+
	<i>S. typhimurium</i>		+		+
	<i>S. livingstone</i>		+	+	
	<i>S. agona</i>				+
	<i>S. panama</i>				+
	<i>S. duesseldorf</i>				+
	<i>S. bovismorbificans</i>				+
<i>S. oranienburg</i>				+	

においても *S. paratyphi B* (フェージ型: 1), *S. senftenberg* および *S. duesseldorf* がそれぞれ連続3回, *S. oranienburg* も連続2回分離された。また定点Cでも *S. livingstone* と *S. typhimurium* が連続あるいは間歇的に分離された。

つぎに1978年に広島市内の病院や検査機関で確認された腸チフスおよび散発サルモネラ症患者⁸⁾からの分離菌株と今回の都市下水からの分離菌株について、血清型およびフェージ型を対比したところ、Table 3に示す結果が得られた。都市下水から検出された6型のフェージ型腸チフス菌のうち、D1, S3 および A degraded の3型は同年の広島市内の患者からも分離されている。腸チフス菌以外の *Salmonella* は都市下水で確認された20血清型 (*S. paratyphi B* についてはフェージ型を含む)のうちの11血清型がその年の広島市内の散発患者からも検出されている。

しかしながら Table 3 にみられるごとく、下水と患者からの菌型(血清型, フェージ型)別検出頻度はかならずしも並行しているとはいえない結果が得られている。散発患者由来株の41.9% (44/105) を占める *S. typhimurium* の下水からの検出頻度は *S. livingstone*, *S. senftenberg* および *S. duesseldorf* よりも低く, *S. oranienburg* や *S. london* と同様(6%)であった。逆に下水からの検出頻度の高かった *S. senftenberg*, *S. duesseldorf*, *S. oranienburg* は広島市内の患者からは分離されていない。また *S. typhimurium* に次いで患者から高頻度(11/105:10.5%)に検出された *S. virchow* は今回の都市下水調査では分離をみなかった。なお広島市を含む県西部地域の患者分離株における血清型頻度分布も参考資料として表示したが、この場合も下水分離株における血清型分布パターンとはかなり異なるものであった (Table 3)。

考 察

今回の調査はわずか3定点のしかも限られた期間の断面的なものであったが、腸チフス菌を含めての *Salmonella* の検出率は91.7%ときわめて高率であり、また検出菌型も26の血清型・フェージ型に拡がる50株が分離された。また陽性検体における平均血清型数も先の中森ら⁵⁾の成績とはほぼ同様の値となり、さらにこの期間中に数多くの血清型の *Salmonella* 菌株が各定点で連続してあるいは間歇的に分離され、多彩な血清型の *Salmonella* が間断なく都市下水に流入している実態が確認された。これらの *Salmonella* の汚染源を遡源的に考慮した場合、生尿からはヒトへ、生活廃水からは一般家庭の台所や

調理場の主として畜産品であろう食物残渣へ、産業廃水からは食品を中心とした処理・加工施設へとそれぞれ到達するのは明らかであり、したがって莫大な数にのぼる患者と保菌者の存在ならびにきわめて濃厚な食物汚染の実態が明示されている。

Salmonella による食中毒は現在の食生活様式からして今後増加の傾向をたどるものと思われる⁹⁾が、広島県におけるサルモネラ症散発患者の実態調査では、近年この散発患者が急増し、届出食中毒患者よりもはるかに多発している事実が明らかとなった¹⁰⁾

下水は地域住民の排出する病原菌の集約される場¹¹⁾とされており、*Salmonella* についても Rochら¹²⁾は下水と患者の両由来株の分離頻度のみならず、経年的な出現、消退の時期までもよく一致することを報告している。今回の著者らの調査では、下水からは患者からの分離菌型数にやや及ばないものの多彩な血清型が分離された。したがって下水は、その地域の患者の排出する病原菌を把握する有効な指標であるのは確かである。

しかしながら Rochら¹²⁾の成績とは異なって、今回の成績では下水、患者両由来株における血清型・フェージ型頻度分布が並行しているとはいえない結果が得られている。この点については、調査時期が2~3月という患者発生のもっとも少ない季節^{8,10)}に行われたこと、また調査定点がわずかに3点に過ぎず、さらに調査期間もごく短期間であったこと等が大きく関与しているものと考えられるが、同時に定点とした終末処理場への流入水がヒトの尿尿のみならず、都市廃水といわれる生活廃水や産業廃水をも大量に含むことも大きな要因となっているものと思われる。したがって、これらの *Salmonella* 汚染の菌型分布パターンが患者におけるそれとかなり異なったものとなるのは当然のことと思われ、下水の *Salmonella* 汚染は患者・保菌者のヒト由来の *Salmonella* よりも、むしろ畜産産業や食品産(工)業部門からの大量の廃水の濃厚な *Salmonella* 汚染を反映していると思われる。今回のわずか4回の検索においても、下水由来株には患者由来株にほぼ匹敵する多彩な血清型が認められた事実は、この点を裏付けているものといえよう。しかし腸チフス菌の58.3%という高率な分離率は、下水中の *Salmonella* にヒト由来のものが確実に存在することを明示している。腸チフス菌については明らかに汚染源はヒトと断定し得るものである。これに反し、腸チフス菌以外の血清型菌株についてはヒトとヒト以外の比率がいかなるものかは不明であるが、前述のごとく、ヒト以外に由来するものがはるかに多数を占めている可能性が高いのは確かであろう。

Table 3. Comparison of serotype and phage type between *Salmonella* strains isolated from sewage samples and from human sporadic patients.

O group	Serotype [phage type]	Number of isolates from :		
		Sewage	Patients in Hiroshima City	Patients in western district of Hiroshima Prefecture
B	<i>S. agona</i>	1	5	5
	<i>S. clackamas</i>	1		
	<i>S. derby</i>	1	1	1
	<i>S. heidelberg</i>	2	3	3
	<i>S. java</i>	1	7	10
	<i>S. paratyphi B</i> [1]	3		
	<i>S. paratyphi B</i> [3a]		1	3
	<i>S. typhimurium</i>	3	44	70
	B : ?		1	1
C1	<i>S. bareilly</i>		1	1
	<i>S. choleraesuis</i>		1	1
	<i>S. infantis</i>	1	4	4
	<i>S. isangi</i>		1	1
	<i>S. livingstone</i>	5	1	1
	<i>S. montevideo</i>			1
	<i>S. oranienburg</i>	3		1
	<i>S. potsdam</i>		1	1
	<i>S. tennessee</i>	1	1	2
	<i>S. thompson</i>		2	2
	<i>S. virchow</i>		11	26
C2	<i>S. bovismorbificans</i>	1		
	<i>S. duesseldorf</i>	4		
	<i>S. litchfield</i>		1	4
	<i>S. nagoya</i>		1	1
	<i>S. newport</i>		4	4
C3	<i>S. albany</i>		1	1
D1	<i>S. enteritidis</i>		4	5
	<i>S. javiana</i>		1	1
	<i>S. panama</i>	1		
	<i>S. typhi</i> [A]	1		
	<i>S. typhi</i> [D1]	2	1	1
	<i>S. typhi</i> [D2]		1	1
	<i>S. typhi</i> [E1]			1
	<i>S. typhi</i> [M1]		3	6
	<i>S. typhi</i> [53]	4	1	1
	<i>S. typhi</i> [A degraded]	1	6	7
	<i>S. typhi</i> [Vi (-)]	1		1
<i>S. typhi</i> [untypable]	1			
E1	<i>S. anatum</i>	1	1	1
	<i>S. london</i>	3	4	4
	<i>S. meleagridis</i>	1		
	<i>S. weltevreden</i>		2	2
E4	<i>S. senftenberg</i>	5		
K	<i>S. cerro</i>	1	2	2
?	? : 1, v : 1, 5	1		
	Total	50	118	177

ところで、下水からの腸チフス菌の高率な分離率、とくに同一検体からの3型のフェージ型菌株の同時分離の事実は、都市下水にきわめて濃密に腸チフス菌の存在することを明示するものである。この点はその下水系の上流域に多数の無症状永続排菌者が潜在していることを明確に示しており、9年間にわたる腸チフス菌を対象とした定点観測の結果にもとづいての『広島地方には今日なお年間の腸チフス患者の数倍の保菌者が潜在している』という西尾ら^{6,13,14)}および中森ら¹⁵⁾の指摘を再認識させるものである。

これらの腸チフス菌も含めた下水中の莫大な菌量の *Salmonella* が処理場内で多くの過程を経て、大量の有機物とともにいわゆる“処理”をされるわけであるが、この処理効率に関するこれまでの内外の報告の多くは機能の不完全性を指摘している。^{16,17,18,19,20,21)} ヒトのサルモネラ症への直接的な関与は下水汚染よりも食物汚染のそれがはるかに大であるのは確かであるが、しかし、現在のヒトの生活様式、食生活習慣からすれば、別報²²⁾ に述べた水系環境の *Salmonella* あるいは下水中の *Salmonella* がヒトのサルモネラ症の感染サイクルとはまったく無関係であるという保証はないといえる。したがって、*Salmonella* その他の病原微生物を大量に含む下水の処理には、さらに格段の機能向上が期待されるところである。同時に、下水道未整備地区からの環境汚染防止の重要性²²⁾ の点からも、早急に下水道およびより効率的な終末処理施設の整備が不可欠である。

なおわが国における顕性サルモネラ症患者は年間100万名は下るまいと推定されている。²³⁾ これらの感染源および感染経路の究明には、きわめて広範かつ精密な、そして長期にわたる多角的な研究が必要であろう。今回の研究の対象とした下水についても、さらに年間を通じての質的ならびに量的な *Salmonella* の汚染評価を行い、患者発生と環境との関連性をより詳細に追究する必要があるといえる。

要 約

1978年2月から3月にかけて約1週間の間隔で4回、広島市内の終末処理場3施設に流入する都市下水を採取して腸チフス菌を含む *Salmonella* の検索を行った。その結果、腸チフス菌は7検体(58.3%)から6型のフェージ型に及ぶ10株が分離され、わずかに300mlの検水中に相異なる3型のフェージ型菌株の存在も確認された。その他の *Salmonella* については11検体(91.7%)から20の血清型に分類される延40株が分離された。11の陽性検体

(500ml)のうちの10検体までに複数の血清型菌株が存在し、なかには6血清型にわたる *Salmonella* を検出した場合もあった。これらの *Salmonella* 陽性検体あたりの平均血清型数は3.6と算出された。

各定点における分離菌株の血清型・フェージ型の経時的推移を観察したところ、1フェージ型の腸チフス菌と他の数多くの *Salmonella* 血清型菌株が連続もしくは間歇的に分離されている事実が判明した。このように冬季における短期間のしかも数少ない定点での *Salmonella* 検索においても、この下水中には、多彩な血清型菌株が濃密に存在し、同じ年の腸チフス患者ならびに散发サルモネラ症患者由来株における血清型・フェージ型の約半数のものが含まれる事実が明らかにされた。

稿を終えるにあたり、貴重な型別血清の供与をいただいた東芝化学工業の寺田友次博士および分離菌株のフェージ型別をお引き受けいただいた国立予防衛生研究所の中村明子博士に深謝いたします。

文 献

- 1) 善養寺浩(1967):都市環境におけるサルモネラの生態とその食中毒。メディヤサークル, 12:437-446.
- 2) 鈴木昭(1980):輸入冷凍肉のサルモネラ汚染の現状。公衆衛生, 44:394-404.
- 3) 渡辺昭宜, 沖浦加智子, 檜山充, 加藤敏野, 野口謙一, 織田利昭(1970):市販生食肉におけるサルモネラの汚染状況。日獣会誌, 23:275-282.
- 4) 梅木富士郎, 小久保彌太郎, 春田三佐夫, 四宮栄(1973):市販ひき肉の細菌汚染の実態。日獣会誌, 26:20-23.
- 5) 中森純三, 西尾隆昌(1975):都市下水系における *Salmonella* の汚染実態。広島県衛生研究所・公衆衛生研究所研究報告, 22:22-25.
- 6) 西尾隆昌, 中森純三(1975):腸チフス潜在感染フォーカスの究明。I. セレナイト培地の選択性の強化と下水および小河川からの腸チフス菌の検出。日本公衛誌, 22:313-323.
- 7) 西尾隆昌, 中森純三(1975):セレナイト培地の選択性の強化。メディヤサークル, 20:237-242.
- 8) 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.
- 9) 西尾隆昌(1979):細菌性食中毒20年の軌跡。広島大学医学雑誌, 27:217-234.

- 10) 西尾隆昌, 宮崎佳都夫, 中森純三, 相坂忠一, 楨坪慎一, 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, 浜中芙紗子(1978): 広島地方のサルモネラ症: 散発患者の急増とその実態把握の必要性. 臨床と細菌, 5: 169-177.
- 11) Wilson, W. J. (1928): Isolation of *B. typhosus* from sewage and shellfish. Brit. Med. J., 1: 1061-1062.
- 12) Roch, K. und A. Kaffka (1979): Epidemiologische Beziehungen zwischen Verbreitung der Salmonellen in Oberflächen- und Abwasser und Salmonellose-Morbidität in Hamburg (1969-1978). Öff. Gesundheitswesen, 41: 454-460.
- 13) 西尾隆昌, 中森純三, 宮崎佳都夫(1979): 腸チフス潜在感染フォーカスの究明. III. 都市小河川からの腸チフス菌の分離によるその排菌者の追跡. 日本公衛誌, 26: 582-588.
- 14) 西尾隆昌(1977): 生活の近代化と腸チフス. 広島県衛生研究所・公害研究所研究報告, 24: 1-15.
- 15) 中森純三, 宮崎佳都夫, 西尾隆昌(1976): 腸チフス潜在感染フォーカスの究明. II. 都市下水・廃水系および小河川からの腸チフス菌の検出とその汚染源の究明. 日本公衛誌, 23: 737-742.
- 16) 篠川至, 池村謙吾(1970): 水洗便所放流水, 下水, 河川水等における *Salmonella* 検索. 感染症学誌, 44: 352.
- 17) 中森純三, 谷川実(1972): 下水処理場における *Salmonella* 検索成績. 広島県衛生研究所業務年報(昭和46年度), p.32.
- 18) 後藤功(1973): *Salmonella* の生態学的研究(第2報) — 河川, し尿消化槽, し尿浄化槽, 人から分離した *Salmonella*. 日本公衛誌, 20: 29-36.
- 19) Popp, L. (1973): Über die Elimination von Salmonellen durch biologische Abwasserbehandlung. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. B157:184-195.
- 20) Kampelmacher, E. H. and L. M. van Noorle Jansen (1976): *Salmonella* in effluent from sewage treatment plants, wastepipe of butcher's shops and surface water in Walcheren. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig., B162: 307-319.
- 21) Yaziz, M. I. and B. J. Lloyed (1979): The removal of salmonellas in conventional sewage treatment processes. J. Appl. Bact., 46: 131-142.
- 22) 宮崎佳都夫, 中森純三, 西尾隆昌(1980): *Salmonella typhi* の生態学的研究: 都市大規模河川・河口域ならびに沿岸海域についての *Salmonella typhi* の検索成績. 広島県衛生研究所研究報告, 27: 53-57.
- 23) 善養寺浩(1979): 細菌性食中毒: 最近の趨勢. 臨床検査, 23: 785-790.

**Salmonella typhi の生態学的研究：都市大規模河川・河口域
ならびに沿岸海域についての Salmonella typhi の検索成績**

宮崎佳都夫* 中森純三* 西尾隆昌*

Ecology of *Salmonella typhi*: Isolation of *Salmonella typhi* from
Rivers and Coastal Sea Water in an Urban Area

KAZUO MIYAZAKI, JUNZO NAKAMORI and TAKAMASA NISHIO

(Received August 29, 1980)

緒 言

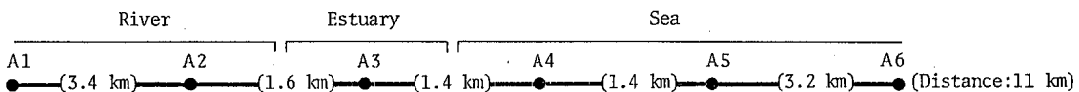
近年、わが国においては腸チフス患者数が激減し、その罹患率も0.2~0.3という低値となっている。しかしながら広島県においては依然として散発患者が多発し、罹患率も全国平均を大きく上回っている。この地方のこれらの患者が最近では冬期に多発するという特異な現象に注目した西尾ら¹⁾はその解析のための疫学的研究として都市下水・廃水系および小河川等の都市水系環境の腸チフス菌汚染調査に着手した。その結果、生尿尿を大量に含む都市下水からは年間を通して高頻度に腸チフス菌が検出され、また冬期には生尿尿を含まないはずの都市廃水や小河川にも腸チフス菌が存在することを明らかにするとともに分離菌株のファージ型の多彩な点からその調査地域内に多くの保菌者が潜在する事実を確認した^{2,3,4)}さらに詳細な追跡調査によって、冬期における都市小河川の汚染源が、その上流に設置されている尿尿浄化槽であることを究明する^{2,3,4)}とともに、その使用者について

の保菌者検索によって永続排菌者の発見に成功した⁵⁾。生活の近代化と称されて急速に普及したこの尿尿浄化槽について、西尾ら^{2,3,4,5)}は冬期にその放流水中に大量の腸チフス菌を認めたことから、細菌学的な処理機能の不備を指摘している。前述のごとく、冬期には尿尿浄化槽放流水中の腸チフス菌が小河川を経て大河川に合流する直前の地点に到達することがすでに確認されているが、それ以後の水系における消長はまだ明らかでない。そこで患者の冬期多発の感染源および感染経路をより詳細に解析するための疫学的資料とすべく、腸チフス菌に汚染された小河川が流入する大規模河川およびそれが沿岸海域に至るまでの連続した水系について腸チフス菌の生残の実態を追究した。

調 査 方 法

1977年11月中旬から1978年2月中旬までの冬期の約3ヵ月間に、広島市の市街地を経て海域に至る2つの大規模な

[Watercourse A]



[Watercourse B]

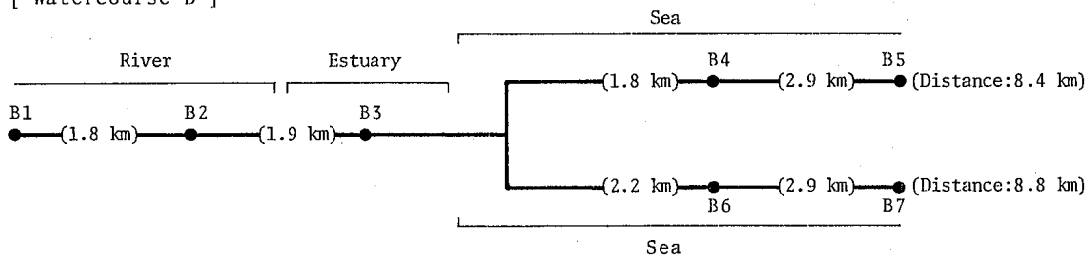


Fig. 1. Diagram of watercourse and sampling sites.

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

都市河川の流水系について、それぞれ6回にわたり腸チフス菌検索を実施した。Fig. 1に示すように、A水系の6定点(河川部2, 河口部1, 海域3)とB水系の7定点(河川部2, 河口部1, 海域4)の合計13定点で菌検索を行った。A水系ではA1からA3に至るまでの5 Kmが河川部, A3が河口部, A3からA6までの6 Kmが海域に該当し、最上流の調査定点であるA1から最終の調査定点であるA6までの調査水系の総延長は11 Kmである。一方のB水系ではB1からB3までの3.7 Kmが河川部, B3が河口部であるが, B3からはB4を経てB5に至る4.7 Kmの水系とB6を経てB7の海域に至る5.1 Kmの水系の2方向に分岐させて調査定点を設定した。それらの水系距離はB1からB5までが8.4 Km, B1からB7までが8.8 Kmである。しかし、分岐したこの両水系の最終定点であるB5とB7の定点の間が3 Kmの距離であることから、潮流の影響も考慮すれば両水系を厳密に区分することは困難といえる。

調査期間中に5 lあて採取した河川水(24検体), 河口水(12検体)および海水(42検体)は計78検体である。これらはメンブランフィルターを用いた濾過集菌法^{6,7)}によって集菌し、そのフィルターを変法セレナイト培地-L^{2,8)}(50 ml)に投入して増菌培養(37°C, 20 hr)を行った。分離培養には bismuth sulfite 寒天培地(Difco)を用い、その平板上に出現した黒色コロニーについて鑑別培養を行い、腸チフス菌と同定した。この分離菌株はすべて腸チフス中央調査委員会(国立予防衛生研究所, フェージ型別室)に送付し、フェージ型別を依頼した。またこの腸チフス菌検索時に分離された腸チフス菌以外の *Salmonella* についても参考資料とすべく血清型別試験を実施した。

成 績

今回の調査では、供試した78検体のうち15検体(19.2%)からフェージ型で7型におよぶ18株の腸チフス菌が検出された(Table 1)。検体別では河口水からの検出頻度が高かった。これを水系別にみた場合にもA水系では河口水(4/6:66.7%), 河川水(2/12:16.7%)および海水(2/18:11.1%), B水系でも同様に河口水(2/6:33.3%), 河川水(3/12:25.0%)および海水(2/24:8.3%)という検出頻度の順位であった。

A水系では、6カ所の定点から採取された36検体のうち8検体(22.2%)から9株の腸チフス菌が分離され、それらのフェージ型はD2, D6およびM1の3つの型に分類された(Table 2)。フェージ型M1の腸チフス菌(以下、腸チフス菌[M1]と略記する)は6定点のうち4定点においてのべ6回検出され、なかでも河口部のA3では6回の検索中3回(50%)というきわめて高い頻度で分離された。この腸チフス菌[M1]は最上流の河川部の定点A1から、その下流7.8 Kmに位置する海域の定点A5に至る5カ所の定点のうちA2を除く他のすべての定点で検出されている。また腸チフス菌[D2]は河川部のA2と河口部のA3の定点で、腸チフス菌[D6]も1回のみではあるが河口部から1.4 Km離れた海域の定点A4においてそれぞれ検出された。

一方、B水系においては7カ所の定点より採取した42検体のうち7検体(16.7%)から9株が検出され、それらのフェージ型はD1, D2, E1, E11, M1 および53の6型に分類

Table 1. Incidence of *Salmonella typhi* in watercourses A and B.

Watercourse	Sample	Number of samples examined	Number of samples positive (%)	Number of phage types among strains isolated
A	River water	12	2 (16.7)	2
	Estuarine water	6	4 (66.7)	4
	Sea water	18	2 (11.1)	3*
B	River water	12	3 (25.0)	4*
	Estuarine water	6	2 (33.3)	3*
	Sea water	24	2 (8.3)	2
Total	River water	24	5 (20.8)	6
	Estuarine water	12	6 (50.0)	7
	Sea water	42	4 (9.5)	5
Total		78	15 (19.2)	18

*Two different phage-type organisms were simultaneously isolated from one sample.

された (Table 3). 腸チフス菌 [M1] は最上流の河川部の定点 B1 とそれから 8.8 Km の距離にある海域の定点 B7 の 2 カ所において検出されたが、この B7 は河口部から 5.1 Km も沖合に位置する最終定点である。腸チフス菌 [E1] が河口部の B3 と海域の B4 で、また腸チフス菌 [53] も河川部の B2 と河口部の B3 のともに連続した定点においてそれぞれ 1 回ずつ検出された。この他にも腸チフス菌 [D2] が河川部の B1, 腸チフス菌 [E11] が河口部の B3 の定点でそれぞれ分離されている。

なお定点 A4 で M1 と D6, また定点 B2 で D1 と 53, さらに定点 B3 でも E1 と E11 という相異なるファージ型菌株がいずれもわずか 5 l の検水から検出された事実は注目すべき点であろう。

この腸チフス菌検索時には腸チフス菌以外にもファージ型 3a のパラチフス B 菌が A 水系の河口部から 6 Km 沖合の最終定点 A6 と B 水系の河川部の定点 B1 においてそれぞれ検出され、また他の *Salmonella* 菌株も少数ながら分離された (Table 2, 3)。A 水系においては 4 定点から *S. infantis*, *S. virchow*, *S. anatum*, *S. newport*, *S. agona*, *S. monteideo* および *S. heidelberg* の 7 血清型 (8 株) が検出された。これらのうち *S. virchow* 以外の菌株はすべて海域の定点で検出され、なかでも *S. infantis* は河口部から 1.4 Km の A4 とそれよりさらに 1.4 Km 沖合の海域の A5 の連続した定点において分離されている。また B 水系では 7 カ所のすべての定点から *Salmonella* が分離され、それらは *S. panama*, *S. bovismorbificans*, *S. infantis*, *S. monteideo*, *S. oranienburg* および *S. poona* の 6 血清型 (12 株) である。このうち *S. panama* は河川部の B1, B2 と河口部の B3 の 3 定点で、また *S. bovismorbificans* は河川部の B1 から海域の B4 までのうち B2 を除くいずれの定点からも検出された。さらに *S. infantis* と *S. monteideo* も海域における複数の定点で分離された。

考 察

前述のごとく、西尾らは広島地方の腸チフス患者の冬期多発の現象には、近年急増した個人尿尿浄化槽の細菌学的処理機能の不完全性による都市水系の腸チフス菌汚染^{2,3,4,5}が関与していることを指摘している。また滝沢らも同様に^{9,10}、腸チフス菌が尿尿浄化槽を通過して河川を汚染している事実を報告している。精度の高い終末処理施設を完備した地域の都市下水から腸チフス菌が自然環境へ排出されることはほとんど考えられない。しかしながら下水道網の未整備地域では潜在保菌者から排出された腸チフス菌が尿尿浄化槽の細菌学的な処理機能の欠陥に

よって放流水とともに都市廃水や小河川へ放出される可能性は現実のものとして証明され、^{2,3,4,5} 低温期に尿尿浄化槽を通過した腸チフス菌が都市廃水を経て小河川に流入し、その後大規模河川と合流する直前の地点まで生残することもすでに確認されている。^{2,3,4} しかし大河川に流入した後の腸チフス菌の消長については明らかにされてはいなかった。

今回、著者らが市街地を通過する大規模な都市河川から沿岸海域に至る最終の流水系を系統的に調査したところ、2 水系とも河川水、河口水および海水のいずれからも腸チフス菌が検出された。とくに河口水からは 50% と

Table 2. Isolation of salmonellae from samples of watercourse A.

Serotype [phage type]	River		Estuary		Sea	
	A1	A2	A3	A4	A5	A6
<i>S. typhi</i> [D2]		+a)		+		
<i>S. typhi</i> [D6]				+		
<i>S. typhi</i> [M1]	+		+++b)	+	+	
<i>S. paratyphi B</i> [3a]						+
<i>S. infantis</i>				+	+	
<i>S. virchow</i>		+				
<i>S. anatum</i>				+		
<i>S. newport</i>				+		
<i>S. agona</i>					+	
<i>S. monteideo</i>						+
<i>S. heidelberg</i>						+

a) *Salmonella* organism was isolated once in 6 consecutive repetitions of examination.

b) *Salmonella* organism was isolated three times in 6 consecutive repetitions of examination.

Table 3. Isolation of salmonellae from samples of watercourse B.

Serotype [phage type]	River		Estuary		Sea		
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7
<i>S. typhi</i> [D1]							+a)
<i>S. typhi</i> [D2]		+					
<i>S. typhi</i> [E1]			+	+			
<i>S. typhi</i> [E11]			+				
<i>S. typhi</i> [M1]		+					+
<i>S. typhi</i> [53]		+	+				
<i>S. paratyphi B</i> [3a]		+					
<i>S. panama</i>	+	+	+				
<i>S. bovismorbificans</i>	+		+	+			
<i>S. infantis</i>				+		+	
<i>S. monteideo</i>						+	+
<i>S. oranienburg</i>					+		
<i>S. poona</i>		+					

a) *Salmonella* organism was isolated once in 6 consecutive repetitions of examination.

きわめて高頻度に検出されたが、これは市街地を流下するにしたがって、この間に流入する都市廃水や小河川によってその汚染が累積された結果とみなされ、河口部の地理的要因によるところが大きいものと考えられる。また海水は河口水や河川水に比較して腸チフス菌の検出頻度が低率であったものの、42検体のうち4検体(9.5%)においてその生残が確認された。莫大な流量の都市大河川を経て海域に流入した腸チフス菌はその過程で無限に近い希釈がなされるものと推察されるが、検水としたわずか5ℓの海水から腸チフス菌が分離され、しかもその一部の検水中には複数のフェージ型菌株の存在が確認された。このことはもはや「偶然性」とは考えられず、都市水系環境の腸チフス菌汚染が海域にまで波及している事実を示すものである。下水、河川水および海水を用いてのモデル実験で西尾ら¹¹⁾は、これら水系環境における腸チフス菌の生残期間は夏期に比較して冬期には著しく延長されることを報告しているが、今回の著者らの時間的にもまた距離的にも非常に長い実際の水系での実験成績は、このことを現実のものとして明確に実証したものと見える。

この腸チフス菌汚染を水系別に観察した場合、数多くのフェージ型腸チフス菌が複数の定点あるいは連続した定点で検出されている。なかでも広島地方の患者からの検出頻度のもっとも高い腸チフス菌[M1]は、A水系では河川部から7.8km下流の沿岸海域までの5定点のうち4定点で、またB水系でも最上流の河川部定点とそれから8.8km離れた海域の最終定点の双方においてそれぞれ分離されている。この事実は、下水道未整備地域に潜在する保菌者から排出された腸チフス菌[M1]が尿浄化槽を通過し、都市廃水系や小河川を経て大河川に流入したのち沿岸海域へ到達したものであることを指摘しているといえる。このM1型以外のD2, 53, E1等のフェージ型の腸チフス菌もすべて広島地方の患者や保菌者から分離されている菌型で、腸チフス菌[M1]の場合と同様の推察が成り立つ。したがってConnら¹²⁾およびRotmannら¹³⁾が実証したように、汚染河川水そのものが感染源となる可能性のきわめて高いことを明示するものであり、また流水系の各過程で食物汚染に関与する可能性をも示唆するものであるといえる。

また、他の血清型の*Salmonella*については、検索法がこれを対象としたものでないことから、ごく部分的なデータではあるが腸チフス菌と同様に、河川から海域への汚染・拡散の事実が明らかにされた。この*Salmonella*については生活廃水や産業廃水が汚染の主流を占めるものとも考えられるが、その一部は後藤¹⁴⁾、篠川¹⁵⁾も指摘してい

るように機能の不完全な尿浄化槽を通過して水系環境へ排出され、腸チフス菌と同様、あるいはそれ以上の冬の生残性^{11,16)}によって調査海域に達したものであるのは確かであろう。このような*Salmonella*についての成績は、先の腸チフス菌に関する考察の信憑性を高め、その疫学的解析の意義を補足するものといえる。

要 約

1977年11月から1978年2月までの約3カ月間に広島市内の2系統の大規模河川について、それが沿岸海域に至るまでの流水系の腸チフス菌検索を行った。13カ所の調査定点から採取された78検体のうちの15検体(19.2%)からフェージ型で7型に及ぶのべ18株が分離され、検体別検出頻度は河口水(50.0%)、河川水(20.8%)、海水(9.5%)の順であった。また一部にはわずか5ℓの検水中に複数のフェージ型菌株の存在が確認された。腸チフス菌汚染を水系別に観察した場合、数多くのフェージ型腸チフス菌が複数の定点、あるいは連続した定点で検出されているが、とくに広島地方の患者からの分離頻度のもっとも高いフェージ型M1の腸チフス菌は、調査した2水系の河川から海域を連続的に汚染していることが確認された。この他にも患者や保菌者からかなり高率に分離されるD2, 53, E1等のフェージ型腸チフス菌株が検出され、広島地方に特異的な現象である患者の冬期多発については、調査水系の上流の下水道未整備地域に設置された多数の尿浄化槽が関与している可能性がきわめて高いものと判断された。また腸チフス菌以外の*Salmonella*についても河川から海域への汚染・拡散の事実が明らかとなった。

稿を終えるにあたり、分離菌株のフェージ型別をお引き受けいただいた国立予防衛生研究所の中村明子博士に深謝いたします。

文 献

- 1) 中森純三, 西尾隆昌(1973): 広島県における腸チフス流行の疫学的解析。広島県衛生研究所・公害研究所研究報告, 20: 1-8
- 2) 西尾隆昌, 中森純三(1975): 腸チフス潜在感染フォーカスの究明。I. セレナイト培地の選択性の強化と下水および小河川からの腸チフス菌の検出。日本公衛誌, 22: 313-323.
- 3) 中森純三, 宮崎佳都夫, 西尾隆昌(1976): 腸チフ

- ス潜在感染フォーカスの究明。II. 都市下水・廃水系および小河川からの腸チフス菌の検出とその汚染源の究明。日本公衛誌, 23: 737-742.
- 4) 西尾隆昌 (1977): 生活の近代化と腸チフス。広島県衛生研究所研究報告, 24: 1-15.
- 5) 西尾隆昌, 中森純三, 宮崎佳都夫 (1979): 腸チフス潜在感染フォーカスの究明。III. 都市小河川からの腸チフス菌の分離によるその排菌者の追跡。日本公衛誌, 26: 582-588.
- 6) 善養寺浩, 坂井千三, 工藤泰雄, 伊藤武, 斉藤クラ, 丸山務 (1969): 飲料水から赤痢菌を検出した集団発生例と菌検出のためのメンブランフィルターの応用について。日伝染会誌, 43: 175-183.
- 7) 西尾隆昌, 中森純三, 谷川実 (1973): メンブランフィルターによる家庭井水からの赤痢菌の検出。広島県衛生研究所・公害研究所研究報告, 20: 36-40.
- 8) 西尾隆昌, 中森純三 (1975): セレナイト培地の選択性の強化。メディアサークル, 20: 237-242.
- 9) 滝沢金次郎, 浅井良夫, 実方剛, 松島章喜, 宮本泰, 高橋武夫, 渡辺良一, 鈴木忠義, 吉田克己, 渡辺正 (1976): 湯河原町に発生した集団腸チフスにともなう細菌学的検査について。神奈川県衛生研究所年報, 25: 39-41.
- 10) 中塚繁, 実方剛, 浅井良夫, 松島章喜, 宮本泰, 滝沢金次郎, 鈴木忠義, 渡辺正, 大橋誠 (1976): 湯河原町集団発生にみられた腸チフス菌のフェージ型・生化学性状及び薬剤感受性。神奈川県衛生研究所年報, 25: 41-44.
- 11) 西尾隆昌, 中森純三 (1974): 都市水系および沿岸海水における腸チフス菌の生残。感染症学誌, 48: 426-434.
- 12) Conn, N. K., C. S. Heymann, A. Jamieson, J. M. McWilliam, and T. G. Scott (1972): Water-borne typhoid fever caused by an unusual Vi-phage type in Edinburgh. *J. Hyg., Camb.*, 70:245-253.
- 13) Rottmann, W., J. Albrecht und H. Kremp (1975): *Salmonella typhi* in bachwasser als Ursache zweier Typhuserkrankungen. *Bundesgesundheitsbl.*, 18:152-154.
- 14) 後藤功 (1976): *Salmonella* 属の生態学的研究。麻布獣医科大学研究報告, 31: 327-383.
- 15) 篠川至, 池村謙吾 (1970): 水洗便所放流水, 下水, 河川水等における *Salmonella* 検索。感染症学誌, 44: 352.
- 16) 西尾隆昌, 貴田正義, 下内啓万 (1971): 河川水における腸管系病原細菌の消長——モデル実験による観察。日本公衛誌, 18: 717-723.

流通段階における医薬品の安全性に関する調査研究(第Ⅲ報)¹⁾

アセトアミノフェン配合製剤の経時変化について

金森久幸* 山本博文** 本田茂樹**

Studies on the Stability of Pharmaceuticals on Distribution (Part 3)

On the Stability of Pharmaceuticals Containing Acetaminophen

HISAYUKI KANAMORI,* HIROFUMI YAMAMOTO**, and SHIGEKI HONDA**

(Received July 10, 1980)

結 言

調 査 方 法

医薬品の製造段階においては、種々の工夫により品質の向上の努力がなされている。しかし、薬剤の保管に際して温度、湿度、光などの環境因子が不適当であれば、品質の劣化を招くことがある。そこで、流通段階における保管条件と医薬品製剤配合薬品の安定性に関して調査を行っており、これまでに、水溶性ビタミンについて報告した^{1,2)}。今回は、かぜ薬・解熱鎮痛剤に主成分として使われていたピラゾロン系薬剤が、アレルギーショック事件^{3~5)}や、アミノピリンの亜硝酸による発ガン物質生成の問題などから使用できなくなり⁶⁾、これに替って広く使用されるようになったアセトアミノフェンについて調査したので報告する。

試料：試料はアセトアミノフェン含有の錠剤2種、散剤2種の計4品目とし、同一ロットのものを一括購入した。各試料製剤の処方を表1に示す。

保管条件：広島市内の薬局4店舗および衛生研究所の計5ヶ所を保管場所に指定し、表2に示すような比較的良好条件〔条件Ⅰ〕と比較的不好条件〔条件Ⅱ〕を設定した。

表2 保管条件

条 件 Ⅰ		条 件 Ⅱ	
薬 局	床上1 m以上の薬品棚	シ ー ウ イ ン ド ウ,	
衛 生 研 究 所	5℃の冷蔵庫	室 温 の 土 間	直 射 日 光 の 当 り 机 の 上

表1 供試製剤の処方

A 散 剤		B 散 剤	
成分(1包中)		成分(3包中)	
アセトアミノフェン	270 mg	アセトアミノフェン	900 mg
エテンザミド	100 mg	dl-塩酸 メチルエフェドリン	15 mg
カフェイン	60 mg	無水カフェイン	75 mg
グリセロリン酸 カルシウム	18 mg		
ノイレチンカルシウム	24 mg		
C 錠 剤		D 錠 剤	
成分(1錠中)		成分(9錠中)	
アセトアミノフェン	80 mg	アセトアミノフェン	0.45 g
エトキンベンズアミド	200 mg	フェナセチン	0.75 g
ブロムワレリル尿素	100 mg	ブロムワレリル尿素	0.20 g
無水カフェイン	25 mg	カフェイン	0.20 g
		グリセロリン酸 カルシウム	0.30 g

試料の配置と回収：一括購入した試料を指定した保管場所に、表2で示した保管条件Ⅰ、Ⅱのもとに分散配置し、6ヶ月経過ごとに回収し、分析に共した。

分析方法：薄層クロマトグラフィー-デンシトメトリーによる⁷⁾。

調査結果および考察

各試料中のアセトアミノフェンの定量値を表3に示した。

初含有量は：いずれの製剤とも100%に近く、10回くり返し測定した時の標準偏差も2%前後で、製剤の品質および定量法の精度は良好であった。

6, 12, 18ヶ月後の定量値は、保管条件の良いものも

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

** 広島県環境保健部薬部課：Environmental Health Department, Hiroshima Prefecture

表3 アセトアミノフェン含有量の経時変化

初含有量	6ヶ月後		12ヶ月後		18ヶ月後		
	条件 I	条件 II	条件 I	条件 II	条件 I	条件 II	
	*1)	*2)					
A	97.8 ± 3.3 %	96.8 %	96.8 %	99.0 %	98.1 %	97.6 %	98.7 %
B	99.5 ± 2.0	98.7	99.3	99.0	100.6	98.9	100.9
C	102.3 ± 2.2	101.9	102.1	100.0	101.2	101.4	103.2
D	102.1 ± 1.3	103.1	101.5	102.8	101.3	100.8	101.7

数値は表示量に対する百分率

*1) 10回測定の実値及び標準偏差

*2) 5ヶ所の平均値

悪いものも、ほとんどこの偏差内に入っており、剤型・アセトアミノフェンの相対含有量の多少にかかわらず、経時変化は認められなかった。また、衛生研究所の条件IIのように、さらきびしい条件下に配置した場合でも、外箱の印刷が変色したり、包装のセロハン紙がぼろぼろになるなどの変化はあったが、アセトアミノフェンの含有量に有意な差は認められなかった。

以上のように、アセトアミノフェンは、これまで行ってきたビタミン類に比べて安定な化合物であることが示された。しかし、水溶液中では H^+ 、 OH^- 濃度に関し、一次反応で分解するため、薬剤に应用するにはpHを5~6に保つことが必要⁸⁾とされており、我々も、酸性溶液中で、p-アミノフェノールの生成を確認している。また、アセトンおよびメタノール溶液中ではラジカル的に反応して二量体・三量体が生成することもわかり⁹⁾、光に対しても不安定であるので、保管についてはやはり、十分な配慮が必要である。

結 語

以上の調査結果より、錠剤・散剤中のアセトアミノフェンは、保管条件・含有量の相違にかかわらず、比較的安定であることがわかった。

本調査研究の実施にあたり御配慮いただいた本県業務課長大和至雄氏、薬事係長中川文雄氏、御協力いただいた広島県薬剤師会橋本健一氏、上原千秋氏、三原節二氏、野村好雄氏および小林富美子氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 広岡美津江, 庄野允干, 小島晋司, 石原長造: 広島県衛生研究所・公害研究所研究報告, 24, 57(1977)
- 2) 広岡美津江, 庄野允干, 小島晋司: 広島県衛生研究所・公害研究所研究報告, 23, 50(1976)
- 3) S. S. Mirvish: *Toxicology and Appl. Pharm.*, 31, 325 (1975)
- 4) G. Subba Rao and G. Krishna: *J. Pharm. Sci.*, 64, 1579 (1975)
- 5) B. Terracini et al: *J. Cancer*, 21, 559 (1967)
- 6) 厚生省: 薬発 525号
- 7) 金森久幸: 広島県衛生研究所研究報告, 25, 7(1978)
- 8) E. S. Rattie et al: *J. Pharm. Sci.*, 59, 1738 (1970)
- 9) 金森久幸: 広島県衛生研究所研究報告, 25, 12(1978)

他 誌 掲 載 論 文

(1979年1月～1980年8月)

- 西尾隆昌 (1979): 細菌性食中毒20年の軌跡. 広島大学医学雑誌, 27: 217-234.
- 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.
- 西尾隆昌, 中森純三, 宮崎佳都夫 (1979): 腸チフス潜在感染フォーカスの究明. III. 都市小河川からの腸チフス菌の分離によるその排菌者の追跡. 日本公衆衛生雑誌, 26: 582 - 588.
- Sakazaki, R., T. Karashimada, K. Yuda, S. Sakai, Y. Asakawa, M. Yamazaki, H. Nakanishi, K. Kobayashi, T. Nishio, H. Okazaki, T. Doke, T. Shimada and K. Tamura [Working Subcommittee on Hygienic Standard of Food Safety for *Vibrio parahaemolyticus*, Japan] (1979): Enumeration of, and hygienic standard of food safety for, *Vibrio parahaemolyticus*. Arch. Lebensmittelhyg., 30: 103-106.
- 中森純三, 宮崎佳都夫, 西尾隆昌 (1979): アカミミガメの *Salmonella* 保菌に関する実験的観察. メディアサークル, 24: 329 - 334.
- 武井直己, 徳本静代, 瀬川和幸, 山岡弘二 (1980): 広島県における豚のインフルエンザAウイルスに対する抗体調査. 日本獣医師会雑誌, 33: 327 - 332.
- 岸本敬之, 得能弘志, 小川博美, 佐々木実己子, 田村和満, 坂崎利一 (1979): 広島県下に発生した *Salmonella virchow* による食中毒2事例について. 食品衛生研究, 29 (1), 29 - 35.
- 小川博美, 得能弘志, 佐々木実己子, 岸本敬之 (1980): カキ生育環境における病原大腸菌分布—*E. coli* MPNと病原大腸菌汚染との関連性—. 食品衛生学雑誌, 21: 5 - 12.
- Seno, M., H. Umisa, H. Yamane, S. Fukuda and G. Chiba (1980): A case of malignant nodular lymphosarcoma in swine. Jpn. J. Vet. Sci., 42: 259-263.
- 中村寿夫, 森本一義, 乾正子, 石橋貞彦 (1980): カキの糖代謝に関する基礎的検討, ヘキソキナーゼの性状と同酵素に対する水銀化合物の影響. 衛生化学, 26: 174 - 180.
- 芦山辰朗, 徳岡昭治, 児玉哲朗, 赤木博史, 西田俊博, 江藤良三, 海佐裕幸, 中村寿夫, 児玉陽太郎 (1979): 昭和基地周辺のアザラシとペンギンの生体重金属とPCBの分析. 広島医学, 32: 50 - 53.

雑 報

●当研究報告のISSNコード化について.

当研究報告の検索と国際的な系に入れるため、国立国会図書館から、下記のようなISSNコード№を割当てていただきました。なお、当研究報告は誌名を変更して現在に至っていますので、それぞれ次のようなISSNコード№が与えられました。

ISSN 0439 - 1772 : 広島県衛生研究所報 [Report of the Laboratory of Public Health, Hiroshima Prefecture] 第1号 (1951年3月) ~ 第19号 (1969年12月)。

ISSN 0389 - 1372 : 広島県衛生研究所・公害研究所研究報告 [Bulletin of the Hiroshima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science] 第20号 (1973年5月) ~ 第24号 (1977年3月)。

ISSN 0389 - 1380 : 広島県衛生研究所研究報告 [Bulletin of the Hiroshima Prefectural Institute of Public Health] 第25号 (1978年9月)以降。

(1980年12月, 編集委員会)

編 集 委 員 会

委 員 長

森 本 一 義

委 員

表	敏 夫	金 森 久 幸
德 本 静 代	佐々木 実己子	
妹 尾 正 登		

研 究 報 告

第 27 号

1980年12月発行

発行所 広島県衛生研究所
広島市南区字品神田1丁目5番70号
〒734・TEL広島(0822)51-4371

印刷所 (有)高橋勝写堂
広島市中区千田町3丁目2-29
〒733・TEL広島(0822)44-1110(代)