

広島県衛生研究所研究報告

第 32 号

1985 年 12 月

目 次

原 著

- 生肉より分離したブドウ球菌のエンテロトキシン A,
B および C 産生性
福田 伸治, 岸本 敬之..... 1
- 高速液体クロマトグラフィーによる羊毛製品中の防虫加
工剤 DTTB 及びディルドリンの同時定量
崎池昭二三, 穂下 誠彦, 坂本 征則..... 7

資 料

- 倉橋町における腸チフス患者の多発とその感染源の探索
西尾 隆昌..... 11
- 愛玩用のミドリガメとゼニガメの *Salmonella* 保菌状況
榊 美代子, 宮崎佳都夫, 西尾 隆昌..... 25
- 看護学生を対象にした風疹定期予防接種効果に関する考察
徳本 静代, 武井 直巳, 瀬川 和幸,
妹尾 正登, 古前 敏明..... 29
- 煮干しの変質について
高垣 和子, 田邊 圭二..... 33
- 他誌掲載論文要約 (1984年11月~1985年10月)..... 35

広島県衛生研究所

[734] 広島市南区宇品神田 1 丁目 5-70



生肉より分離したブドウ球菌の エンテロトキシンA, BおよびC産生性

福田 伸治^(a) 岸本 敬之*

Enterotoxins A, B and C Production of Staphylococci Isolated from Raw Meats

SHINJI FUKUDA AND TAKASHI KISHIMOTO

Sixty-six strains of coagulase-negative staphylococci and 26 *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw meats were tested for production of enterotoxins A, B and C in sac and broth cultures. Of 66 coagulase-negative strains, 8 produced enterotoxins in sac cultures, of which 5 produced enterotoxins A and C, one produced types A, B and C, one only type A, and one only type C. Only one strains produced detectable amounts of enterotoxin C in broth culture.

Of 26 *S. aureus* strains, 22 produced enterotoxins in sac and broth cultures. Many of the enterotoxigenic strains were enterotoxins A, B and C producers.

Key words: Coagulase-negative staphylococci, Enterotoxins, Sac culture, Broth culture.

緒 言

現在, *Staphylococcus* 属は20菌種と4亜種に分類されているが〔1〕, その中でも食品衛生上の細菌検査の対象とされているのは *S. aureus* であり, これのエンテロトキシン産生性についてはよく知られている。

しかし, 近年 *S. aureus* 以外の菌種のエンテロキシン産生性について研究され, *S. intermedius*〔2-4〕およびコアグラゼ陰性ブドウ菌 (CNS)〔5, 6〕も *S. aureus* と同様のエンテロトキシンを産生することが報告されている。

これらのことから, 著者らは *S. aureus* 以外の菌種についてもエンテロトキシン産生性を把握することは, 食品衛生上重要であると考え, 生肉より分離したブドウ球菌について, CNSを中心にエンテロトキシン産生性を

検討し, また, エンテロトキシン産生株とその生化学的性状について検討を加えたので報告する。

材料および方法

1. 供試菌株

市販の生肉 (牛, 豚および鶏肉) から分離した CNS 66株および *S. aureus* 26株の計92株を用いた。なお, 供試菌株の分離は7%食塩加普通ブイヨンにより増菌培養後, 3%卵黄加マンニット食塩寒天培地により行い, グラム陽性, カタラーゼ陽性およびブドウ糖発酵陽性のものをブドウ球菌として以下の試験に用いたが, 同一検体より同一性状を示す株が複数分離された場合には, その中から無作為に1株を選んで用いた。

2. 生化学的性状試験

1) 耐熱性 DNase 産生: Kamman ら〔7〕の方法

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

(a) 現在広島県環境保健部環境衛生課: (a) Present address: Environmental Sanitation Division, Environmental Health Department, Hiroshima Prefecture.

に準じて行った。

2) コアグラゼ産生：ウサギ血漿を用いて試験管法により行い〔8〕, 72時間まで観察した。

3) 溶血毒産生：Heart infusion 寒天培地 (BBL) に5%の割合に牛赤血球を加えて行った。

4) 硝酸塩還元：Kloosら〔9〕の記載した方法に従って行った。

5) 炭水化物の好氣的分解：フルクトース、ガラクトース、マンノース、キシロース、アラビノース、リボース、マルトース、ラクトース、シュウクロース、トレハロース、マンニトおよびキシリトールについて実施した。なお、基礎培地としては糖分解試験用基礎培地 (栄研) を用いた。

6) ノボビオシン感受性 (2 μg/ml)：感受性測定用寒天培地 (日水) に2 μg/mlの割合にノボビオシンを加えて行った。

7) アセトイン産生：VP半流動培地 (栄研) を用いて行った。

3. エンテロトキシン産生試験

1) Sac culture 法による産生試験

Donnellyら〔10〕の方法により振とう培養 (37°C, 24時間) し、その遠心上清 (14000 rpm, 20分間) を用いて逆受身ラテックス凝集反応 (RPLA, デンカ生研) によりエンテロトキシンの検出を試みた。

2) Broth culture 法による産生試験

Sac culture 法によりエンテロトキシンの産生が認められた株について実施した。Brain heart infusion (BHI, BBL) 7 mlの入った試験管 (18×180mm) に菌を接種し、振とう培養 (37°C, 24時間) 後、その遠心上清 (14000rpm, 20分間) を用いてRPLAにより行った。

4. 生化学的性状による分類

CNSについて、溶血毒産生性、硝酸塩還元性、ガラ

クトース、マンノース、キシロースまたはアラビノースリボース、マルトース、ラクトース、シュウクロース、トレハロース、マンニトおよびキシリトールの好氣的分解性、ノボビオシン感受性およびアセトイン産生性の14種の生化学的性状を用いてクラスター分析を行った。

結 果

1. エンテロトキシン産生性

CNSについては、Sac culture 法により66株中8株 (12.1%) にエンテロトキシンの産生が認められ、そのエンテロトキシン型はA (1株), C (1株), A+C (5株) およびA+B+C (1株) であった。Broth culture においては、Sac culture 法によりエンテロトキシンの産生が認められた8株のうち1株のみにエンテロトキシンCの産生が認められた。

一方、*S. aureus* については、Sac culture 法により26株中22株 (84.6%) にエンテロトキシンの産生が認められ、そのエンテロトキシン型はB (1株), C (5株) およびA+B+C (16株) であり、A単独産生株は認められなかった。また、これはBroth culture 法においてもほぼ同様な結果であった (Table 1)。

2. CNSの生化学的性状とエンテロトキシン産生性

14種の生化学的性状により、クラスター分析を行い、5グループに分類したところ (Fig. 1), リボース(-), トレハロース(-), マンニト(-), ノボビオシン感受性(+)およびアセトイン産生(+)を特徴とするグループ (クラスター3) と硝酸塩還元(+), リボース(+), およびノボビオシン感受性(+)を特徴とするグループ (クラスター5) に各4株づつエンテロトキシン産生株が分類された (Table 2, 3)。

Table 1. Occurrence of enterotoxigenic staphylococci

Organism	No. of strains tested	No. of enterotoxigenic strains ² (%)	Enterotoxin type									
			Sac culture ³					Broth culture				
			A	B	C	AC	ABC	A	B	C	AC	ABC
CNS ¹	66	8(12.1)	1 ⁴	—	1	5	1	—	—	1	—	—
<i>S. aureus</i>	26	22(84.6)	—	1	5	—	16	—	1	5	1	15

¹ Coagulase negative staphylococci.

² No. of enterotoxigenic strains by sac culture technique.

³ Sac culture technique of Donnelly et al.

⁴ No. of strains.

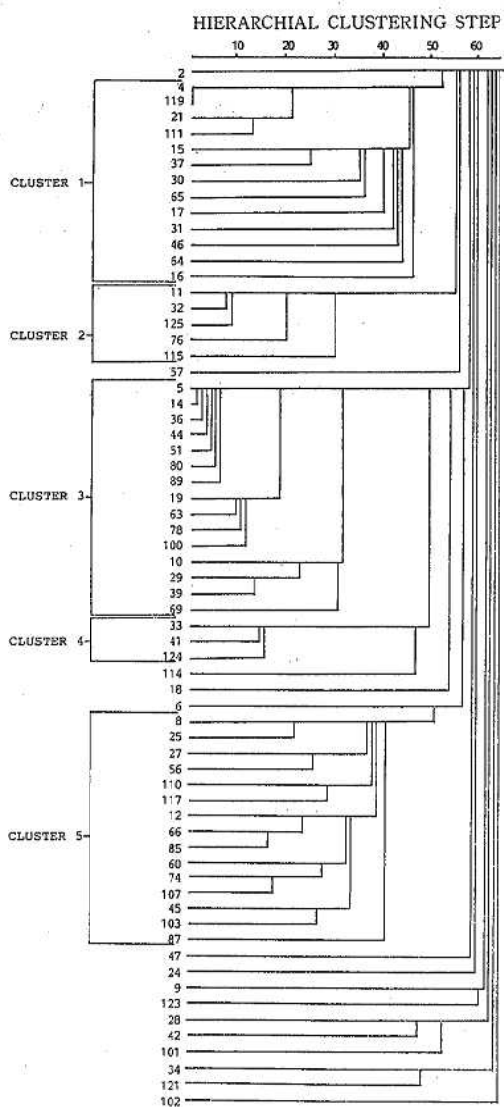


Fig. 1. Dendrogram.

3. *S. aureus* のコアグララーゼ型とエンテロトキシン型

コアグララーゼ型はⅠ型を除くⅡ～Ⅷ型が認められ、Ⅱ型(7株)が最も多く、次いでⅦ型(5株)であったが、コアグララーゼ型とエンテロトキシン型には一定の関連性は認められなかった (Table 4).

考 察

Danielsson ら [5] は CNS の 7% にエンテロトキシン産生株が存在することを報告し、また、Olsvik ら

[6] は *Micrococcus* 属とコアグララーゼ陰性ブドウ球菌 117 株について検討し、12 株 (11%) にエンテロトキシン A, B および C の産生を認めている。著者らの今回の研究においても同様、CNS 66 株中 8 株 (12.1%) にエンテロトキシン A, B および C の産生を認め、CNS も *S. aureus* と同様のエンテロトキシンを産生する潜在的な能力を有することが推察された。

Lotter ら [11] は 8 株のコアグララーゼ陰性、エンテロトキシン産生球菌およびコアグララーゼ弱陽性、エンテロトキシン産生球菌 1 株について検討を加え、種々の試験データからこれらの株は *S. aureus* の変異株としての可能性の高いことを示唆しているが、著者らが今回使用した株は、彼等の使用した株とは耐熱性 DNase 陰性の点で異っていた。

CNS の分類同定には Kloos ら [9] の簡易同定法あるいは簡易同定キットが広く用いられている。また、Devriese ら [12] も家畜および人由来の CNS の簡易同定法について報告している。しかし、CNS の同定は数種の糖の分解性を中心として行われており、糖の分解性の組合せにより同定することは不安定となる要素も多く、さらに、食品衛生上の立場からしても細分類の必要性はないものと思われることから、今回の研究においては、エンテロトキシン産生 CNS の特徴を確認するために、クラスター分析を行い、5 グループに分類した。エンテロトキシン産生株の所属するグループは、リボース(-)、トレハロース(-)、マンニト(-)、ノボビオン感受性(+)およびアセチン産生(+)を特徴とするもの(エンテロトキシン産生株 4 株)と硝酸塩還元(+)、リボース(+)およびノボビオン感受性(+)を特徴とするもの(エンテロトキシン産生株 4 株)であったが、各クラスターに分類される菌株数が少ないこともあって、エンテロトキシン産生 CNS の特徴については今後さらに検討しなければならない点であると考えられる。

食品衛生上の観点からブドウ球菌を見ると、*S. aureus* が最も重要で危険性の高い菌種であるが、次いで犬等に常在する *S. intermedius* がエンテロトキシン産生の面で危険性の高い菌種と考えられ [2-4]、さらに *S. hyicus* subsp *hyicus* にもエンテロトキシン A~E 型以外の毒性物質を産生する株が存在することが認められている [13] ことから、コアグララーゼ陽性および耐熱性 DNase 陽性の性状は食品細菌の検査の上で重要であると考えられる。一方、CNS の危険性については、食中毒発生事例 [14-16] および今回の研究からそれが指摘されたが、エンテロトキシン産生株は 1 株を除いて、エンテロトキ

Table 2. Phenotypic profiles of coagulase negative strains of 5 clusters

Property	% of strains positive					
	Cluster 1 (n=13)	Cluster 2 (n=5)	Cluster 3 (n=15)	Cluster 4 (n=3)	Cluster 5 (n=15)	Other (n=15)
Thermonuclease	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Coagulase (Rabbit)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Haemolysin (Bovine)	46.2	0.0	0.0	0.0	6.6	26.7
Nitrate reduction	30.8	0.0	33.3	0.0	100.0	46.7
Aerobic acid from :						
Fructose	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Galactose	0.0	80.0	100.0	100.0	100.0	60.0
Mannose	7.7	0.0	26.7	0.0	33.3	33.3
Xylose and/or Arabinose	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.6
Ribose	38.5	0.0	0.0	0.0	86.7	33.3
Maltose	100.0	100.0	100.0	100.0	46.7	53.3
Lactose	0.0	0.0	100.0	100.0	93.3	53.3
Sucrose	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	73.3
Trehalose	100.0	100.0	6.6	100.0	100.0	80.0
Mannitol	69.2	100.0	0.0	0.0	46.7	46.7
Xylitol	0.0	20.0	0.0	0.0	0.0	13.3
Novobiocin sensitivity (2µg/ml)	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	60.0
Acetoin	46.2	100.0	100.0	100.0	33.3	26.7
Enterotoxin production	0.0	0.0	26.7	0.0	26.7	0.0

Table 3. Characteristics of coagulase negative enterotoxigenic staphylococci

Property	Strains							
	44	60	63	66	74	89	100	107
Pigment	—	—	—	—	—	+W	—	—
Coagulase (Rabbit)	—	—	—	—	—	—	—	—
Haemolysin (Bovine)	—	—	—	—	—	—	—	—
Nitrate reduction	—	+	+W	+	+	—	+W	+
Aerobic acid from :								
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	—	—	—	—	+	—	—	+
Xylose and/or Arabinose	—	—	—	—	—	—	—	—
Ribose	—	+	—	+	+	—	—	+
Maltose	+	—	+	—	—	+	+	—
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose	—	+	—	+	+	—	—	+
Mannitol	—	+	—	+	+	—	—	+
Xylitol	—	—	—	—	—	—	—	—
Novobiocin sensitivity (2µg/ml)	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetoin	+	—	+	—	—	+	+	—
Enterotoxin type	A C	A C	A C	A C	ABC	A	C	A C
Cluster No.	3	5	3	5	5	3	3	5

+, positive; —, negative; w, weak reaction.

Table 4. Coagulase and enterotoxin types of *S. aureus*

Coagulase type	No. of strains	Enterotoxin type												
		Sac culture ¹						Broth culture						
		A	B	C	AC	ABC	Neg.	A	B	C	AC	ABC	Neg.	
I														
II	7	—	—	2 ²	—	3	2	—	—	2	1	2	2	
III	4	—	—	—	—	4	—	—	—	1	—	3	—	
IV	3	—	—	3	—	—	—	—	—	3	—	—	—	
V	2	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	2	—	
VI	1	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—	
VII	5	—	—	—	—	4	1	—	—	—	—	4	1	
VIII	4	—	1	—	—	2	1	—	1	—	—	2	1	

¹ Sac culture technique of Donnelly et al.

² No. of strains.

Neg., negative.

シンを最大限に回収できる方法、すなわち Donnelly ら [10] の Sac culture 法を使用しのみエンテロトキシンの産生が確認できたことから、その産生量はかなり少ないものと推察される。また、ヒトの発症に必要な量は 1μg 程度であること [17] から、CNS の危険性は低いものと考えられる。

食品衛生細菌検査においては、コアグララーゼ陽性および耐熱性 DNase 陽性菌を中心に行えばよいことになるが、CNS はヒトの手指、動物の体表等の自然界により広く分布していることから、これの病原性あるいは汚染指標菌としての研究も今後行わなければならないことであると考える。

今回の研究では、CNS のエンテロトキシン産生性の検討を主題としたため、同時に供試した *S. aureus* 菌株は少数にとどめた。それらは食中毒分離株に多くみられるエンテロトキシン A 単独産生株 [19—24] は認められなかったが、食中毒分離株の特徴であるコアグララーゼ II, III, M および VII 型 [18] が全体の 65.4% を占めていた。

要 約

生肉より分離した 66 株のコアグララーゼ陰性ブドウ球菌と 26 株の *Staphylococcus aureus* のエンテロトキシン A, B および C 産生性について検討した。エンテロトキシン産生は Sac culture 法および Broth culture 法を用いて行った。Sac culture 法においては、コアグララーゼ陰性株 66 株中 8 株にエンテロトキシンの産生が認められ、これらはエンテロトキシン A + C 産生株が 5 株、エンテロトキシン A + B + C 産生株が 1 株、A および C 単独産

生株が各 1 株であった。Broth culture 法において、エンテロトキシンの産生が認められたのはわずか 1 株であり、そのエンテロトキシンは C 型であった。

S. aureus は 26 株中 22 株にエンテロトキシン産生が認められたが、そのほとんどはエンテロトキシン A + B + C 産生株であった。

終わりに、この研究のクラスター分析に際し、御指導をいただいた広島大学原爆放射能医学研究所生物統計学部門山本脩博士に深謝いたします。

本論文の要旨は昭和 59 年度日本獣医公衆衛生学会年次総会 (1985 年 1 月、東京) において発表した。

文 献

- [1] 春田三佐夫, 宇田川俊一編 (1985): 生活と衛生微生物, p.222—231, 東京, 南山堂.
- [2] Kato, E., Kaji, Y., and Kaneko, K. (1978): Enterotoxigenic staphylococci of canine origin. Amer. J. Vet. Res., 39, 1771—1773.
- [3] Kaji, Y. and Kato, E. (1980): Occurrence of enterotoxigenic staphylococci in household and laboratory dogs. Jpn. J. Vet. Res., 28, 86—94.
- [4] Fukuda, S., Tokuno, H., Ogawa, H., Sasaki, M., Kishimoto, T., Kawano, J., Shimizu, A., and Kimura, S. (1984): Enterotoxigenicity of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from dogs. Zbl. Bakt. Hyg., A 258, 360—367.
- [5] Danielsson, M.-L. and Hellberg, B. (1977):

- The biochemical activity of enterotoxin and non-enterotoxin producing staphylococci. *Acta. Vet. Scand.*, 18, 266—273.
- [6] Olsvik, ϕ ., Fossum, K., and Berdal, B.P. (1982): Staphylococcal enterotoxin A, B, and C produced by coagulase-negative strains within the family *Micrococcaceae*. *Acta. Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. B*, 90, 441—444.
- [7] Kamman, J.F. and Tatini S.R. (1977): Optimal conditions for assay of staphylococcal nuclease. *J. Food Sci.*, 42, 421—424.
- [8] Subcommittee on taxonomy of staphylococci and micrococci. (1965): Recommendations. *Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon.*, 15, 109—110.
- [9] Kloos, W.E. and Schleifer, K.H. (1975): Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *J. Clin. Microbiol.*, 1, 82—88.
- [10] Donnelly, C.B., Leslie, J.E., Black, L.A., and Lewis, K.H. (1967): Serological identification of enterotoxigenic staphylococci from cheese. *Appl. Microbiol.*, 15, 1382—1387.
- [11] Lotter, L.P. and Genigeorgis, C.A. (1975): Deoxyribonucleic acid base composition and biochemical properties of certain coagulase-negative enterotoxigenic cocci. *Appl. Microbiol.*, 29, 152—158.
- [12] Devriese, L.A., Schleifer, K.H., and Adegoke, G.O. (1985): Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 58, 45—55.
- [13] Hoover, D.G., Tatini, S.R., and Maltais, J.B. (1983): Characterization of staphylococci. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46, 649—660.
- [14] Omori, G. and Kato, Y. (1959): A staphylococcal food-poisoning caused by a coagulase negative strain. *Biken J.*, 2, 92.
- [15] Bergdoll, M.S., Weiss, K.F., and Muster, M.J. (1967): The production of staphylococcal enterotoxin by a coagulase-negative microorganism. *Bact. Proc.*, 12.
- [16] Breckinridge, J.C. and Bergdoll, M.S. (1971): Outbreak of food-borne gastroenteritis due to a coagulase-negative enterotoxin-producing *Staphylococcus*. *New. Eng. J. Med.*, 284, 541—543.
- [17] Bergdoll, M.S. (1973): Enterotoxin detection. In *The Microbiological Safety of Food*. eds. Hobbs, B.C. & Christian, J.H.B., p. 287—292, New York & London, Academic Press.
- [18] 善養寺浩, 寺山 武, 潮田 弘, 五十嵐英夫, 丸山務, 坂井千三 (1971): ブドウ球菌食中毒に関する研究 (第1報) 東京都において発生した本食中毒の原因食品の種類と原因菌のコアグラゼ型について. *食衛誌*, 12, 311—314.
- [19] Šimkovičová, M. and Gilbert, R.J. (1971): Serological detection of enterotoxin from food-poisoning strains of *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.*, 4, 19—30.
- [20] Osváth-Marton, A. and Domján, J. (1974): Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* strains in Hungary. *J. Hyg. Epidem. (Praha)*, 18, 289—292.
- [21] 品川邦汎 (1974): ブドウ球菌エンテロトキシンの検査. *日細菌誌*, 29, 336—344.
- [22] Wieneke, A.A. (1974): Enterotoxin production by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from foods and human being. *J. Hyg., Camb.*, 73, 255—262.
- [23] Mochmann, H., Richter, U., Karsch, W., Witte, W., and Meyer, W. (1976): Untersuchungen über die Enterotoxin-Bildung von *Staphylococcus aureus*-Stämmen unterschiedlicher Herkunft. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig.*, A234, 434—449.
- [24] 寺山 武 (1977): ブドウ球菌食中毒. *食衛誌*, 18, 142—148.

(受稿: 1985年10月31日)

高速液体クロマトグラフィーによる羊毛製品中の 防虫加工剤 DTTB 及びディルドリンの同時定量

竊池昭二三* 穂下 誠彦** 坂本 征則**

Simultaneous Determination of DTTB and Dieldrin in Wool Fabrics by High Performance Liquid Chromatography

AKIFUMI MOCHIIKE*, NOBUHIKO HOSHITA** AND IKUNORI SAKAMOTO**

A simultaneous analysis of DTTB (4,6-Dichloro-7-(2,4,5-trichlorophenoxy)-2-trifluoromethylbenzimidazole, Mitin LA) and dieldrin (1,2,3,4,10,10-Hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-endo, exo-1,4:5,8-dimethanonaphthalene), which had been used as mothproofing agents in wool fabrics, was described. Both compounds were extracted with ether and hexane from 10% sodium hydroxide solution of woolen yarn, purified by Sep Pak C₁₈ cartridge and determined by high performance liquid chromatography on TSK gel ODS-120T. The solution of 75% methanol was used as a mobile phase, the flow rate 0.8 ml/min, and wave length of detector 235 nm. The detection limits of DTTB and dieldrin were 5 ng and 20 ng, respectively. The recoveries of both compounds from woolen yarn averaged 98-99%.

Keywords: DTTB, Mitin LA, dieldrin, mothproofing agent, wool fabrics,
woolen yarn, high performance liquid chromatography, Sep Pak C₁₈

緒 言

DTTB (4,6-dichloro-7-(2,4,5-trichlorophenoxy)-2-trifluoromethylbenzimidazole, Mitin LA) 及びディルドリン (1,2,3,4,10,10-hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-endo, exo-1,4:5,8-dimethanonaphthalene) (Fig. 1) は、羊毛製品の防虫加工剤として使用されており、当該物質で防虫加工された繊維製品から経口的に、又経皮的に人体に摂取されて健康被害を起こす虞れがあることから、家庭用品への使用が実質的に禁止され、規制基準 (いずれも 30 ppm 以下) が設定された [1]。この両化合物の定量はガスクロマトグラ

フィー (GLC) による方法 [2, 3] が一般的に行われているが、いずれの方法も操作が複雑で、特に DTTB 分析の場合、メチル化試薬として毒性の強いジメチル硫酸を使用しなければならない。萩原等 [4] は DTTB の定量に蛍光検出器付高速液体クロマトグラフィー (HPLC-PF) を使用して GLC 法と同等の検出感度を得ている。この HPLC 法も精製法がかなり複雑なため、著者等は Sep Pak C₁₈ カートリッジによる精製を試み、分析時間の短縮と、良好な検出感度を得ることができた。更に、ディルドリンの HPLC 法への応用を試み、DTTB と同等の結果が得られ、両者の同時分析が可能なることを明らかにした。

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

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

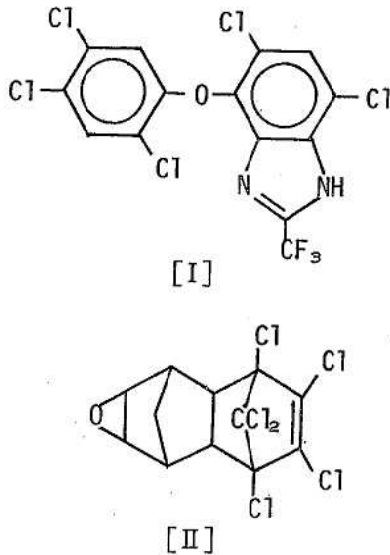


Fig. 1. Chemical Structures of DTTB (I) and Dieldrin (II).

実験方法

1. 試料

1983—1985年に県内の小売店から収集した羊毛製品(毛糸)を試料とした。

2. 試薬

DTTB; 家庭用品試験用標準品, ディルドリン; 残留農薬試験用標準品, 溶媒及び無水硫酸ナトリウム; 残留農薬試験用品, Sep Pak C₁₈ カートリッジ; ウォーターズ社製, その他の試薬; 試薬特級。

3. 装置

高速液体クロマトグラフ; 東洋曹達製, HLC-803D型, 検出器; 東洋曹達製 UV-8 model II 検出器。

4. 試験溶液の調整

試料0.5gを50ml容量の遠心管にとり, 10% NaOH 水溶液10mlを加え, 3時間放置後, エーテル10mlで3回振とう抽出する。さらに水層をn-ヘキサン10mlで2回振とう抽出し, エーテル層, n-ヘキサン層を合せ, 無水硫酸ナトリウムを加えよく振り混ぜた後, ろ過する。ろ液を100mlのナス型フラスコに入れ, ロータリーエバポレーターを用いて40°Cで約3mlに減圧濃縮した後, 室温下, 窒素気流中で乾固する。残留物にメタノール10mlを加え超音波洗浄器を用いて溶解した後, あらかじめ, 水, 次いでメタノールで洗浄し湿潤しておいた Sep

Pak C₁₈ カートリッジに流しこみ, 25ml容量ナン型フラスコに溶出する。40°Cでメタノールを減圧留去後, 残留物に一定量(通常2ml)のメタノールを加え, 超音波溶解したものをHPLC試験溶液とする。以上の操作はかっ色のガラス器具を用いて行った。

5. HPLC 条件

カラム; TSK gel ODS-120 (i.d.6×250mm), 移動相; メタノール-水 (75:25), 流速; 0.8ml/分, カラム温度; 室温, 検出器波長; 235nm, 感度; 0.02 AUFS, 試料注入量; 10μl。

6. 検量線の作成

DTTB は1μg/mlから4μg/mlの範囲で, ディルドリンは3μg/mlから12μg/mlの範囲で濃度を変えた標準液を調整し, 検量線を作成したところ, Fig. 2に示すような良好な直線性が得られた。

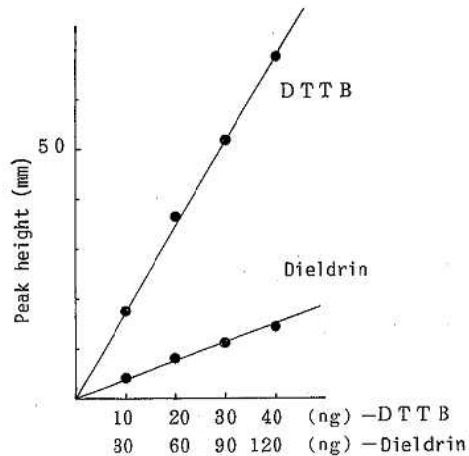


Fig. 2. Calibration Curves of DTTB and Dieldrin.

実験結果及び考察

1. HPLC 条件の検討

(1) 測定波長の選択

検出器の波長選択はFig. 3に示すUV吸収曲線からディルドリンは235nm付近で, DTTBは300nm付近で測定することが望ましい。しかしながら, ディルドリンは250nm以上に吸収がなく, 一方 DTTB は235nmにかなりのUVを吸収することから, DTTB及びディルドリン両者の同時定量を行うため測定波長を235nmとした。この時の最小検出量は DTTB が5ng, ディルドリンが20ngであった。

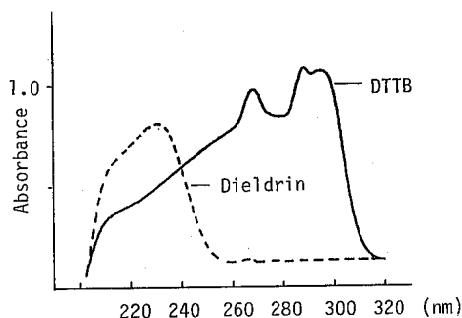


Fig. 3. Absorption Spectra of DTTB and Dieldrin (10 μ g/ml).

(2) カラム及び移動相

固定相として TSK gel ODS-120T を用い、移動相としてアセトニトリル-水系、メタノール-水系を用いて DTTB 及びディルドリンのクロマトグラム挙動を検討した。Fig. 4 に示すように移動相にメタノール-水 (75:25) を用いて良好な結果を得た。なお、この条件下では DTTB 及びディルドリンの保持時間内に他の防虫加工剤 (オイラン U-33, ミチン F F) の溶出は認められず、両者の定量を妨害しなかった。

2. クリーンアップの検討

試料の抽出液を HPLC に直接注入すると妨害ピークのため分離が悪く定量が困難であった。この妨害ピークは Sep Pak C₁₈ カートリッジによるクリーンアップ操作で除去でき、Fig. 4 に示すようなクロマトグラムを得た。萩原等 [4] の方法によるシリカゲルクロマトグラフィーによっても同等の結果を得たが、本法に比べ操作が繁雑で、ディルドリンの回収率も低下する傾向にあった。

3. 添加回収実験及び応用

試料 0.5g に DTTB を 20ppm、ディルドリンを 60ppm の濃度になるように添加し、前述定量操作に従って回収実験を行った。その結果は Table 1 に示すように 98~99% であった。また、この方法により市販羊毛製品 5 検体について定量したところ、いずれの検体からも DTTB 及びディルドリンは検出されなかった。本法はディルドリンの検出感度が GLC 法 [2, 3] に比べ劣るが、DTTB との同時分析が可能であり、routine work での家庭用品の分析には十分有用な方法である。

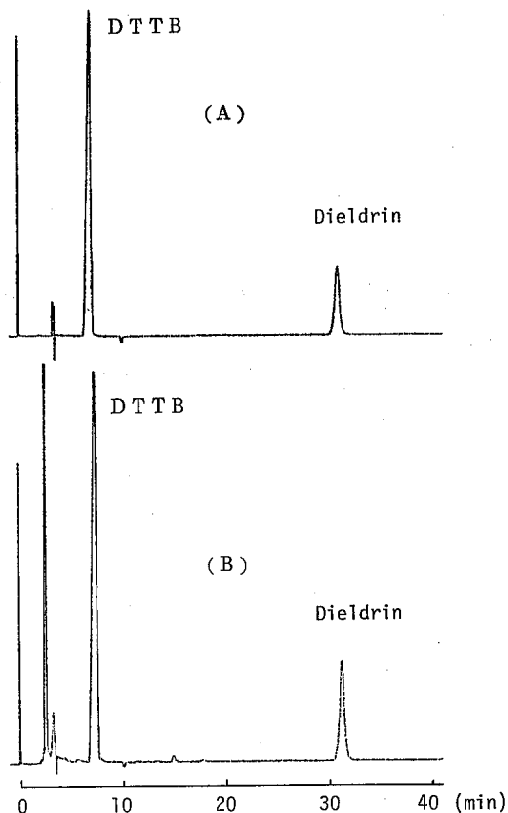


Fig. 4. High Performance Liquid Chromatograms of DTTB and Dieldrin.

(A): Standard; (B): DTTB and Dieldrin added to Woolen Yarn.

HPLC conditions: column, TSK gel ODS-120T (4.6mm i.d. \times 250mm); mobile phase, MeOH-H₂O (75:25); flow rate, 0.8ml/min; detection, 235nm, 0.02AUFS.

Table 1. Recoveries of DTTB and dieldrin added to woolen yarns (%)

Samples	DTTB	Dieldrin
A	98	98
B	100	99
C	102	100
D	96	99
E	94	100
Average	98	99

ま と め

本実験で確立した HPLC による DTTB 及びディルドリンの同時定量法は、いずれも98%以上の回収率を示し、操作も簡便であり短時間で分析できるので、日常のスクリーニング法として十分適用できるものと思う。本法の検出限界は DTTB が 0.01 ppm, ディルドリンが 0.04 ppm であった。

文 献

〔1〕 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律

(昭和48年10月12日法律第112号)

- 〔2〕 鹿庭正昭, 毛利潤子, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 大場琢磨, 衛生化学, 23, 7, 1977.
- 〔3〕 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 佐藤洋子, 衛生化学, 25, 80, 1979.
- 〔4〕 萩原輝彦, 寺島 潔, 奥本千代美, 長嶋真知子, 秋山和幸, 衛生化学, 28, 155, 1982.

(受稿: 1985年10月3日)

倉橋町における腸チフス患者の多発と その感染源の探索

西 尾 隆 昌*

Endemic Typhoid Fever in Kurahashi-cho

TAKAMASA NISHIO

緒 言

広島地方においては従来から腸チフス罹患率が高く、しかも患者が冬期に集中するという特異な現象が続いていた〔1-4〕。安芸郡倉橋町では1960年代から1970年代にかけては腸チフス患者の発生はきわめて稀で、1971年にわずかに1名の届出があったのみであった。しかしながら1975年を境にして、それ以降は毎年患者・保菌者が確認され、1979年と1981年の両年には町内の一部の地域で流行の発生をみている。分離菌株のフェージ型はいずれもM1型であった。このように1975年以降、倉橋町ではM1型菌によるエンデミックな状態が続いているといえる〔4〕。

広島県環境保健部では、倉橋町における1976年の5名の散発患者の発生を重視し、患者発生地区の住民について逐次保菌者検索を実施することを決定していた。1979年1月にまず室尾地区で開始したが、同年秋に町内で地域流行の発生があったため、以後、室尾、尾立、鹿島の3地区を重点的に毎年、それらの地区の全住民を対象とした保菌者調査（特別住民健康調査）を実施している。これまでに合計19名の「保菌者」が発見され、いずれも除菌に成功している。1982年以降は患者の発生は稀となり、流行も認められていない。エンデミックが始まって10年が経過したが、この機会に、このエンデミックとそれへのこれまでの対応をあらためて回顧し、今後の課題について検討した。

倉橋町の概要

倉橋町は広島県の最南端に位置し、1981年3月31日当

時の人口は11,298人（男：5,292人、女：6,006人；倉橋町提供資料）、平野に乏しく、急傾斜地での柑橘類を主体とした農業と、漁業・水産業がおもな産業の町である。このほか工業としては、規模は大きくはないが造船と石材産出がある〔5〕。

表1. 腸チフス患者発生状況

年	広 島 県		倉 橋 町	
	患者数	保菌者数	患者数	保菌者数
1967	28	1	—	—
1968	29	3	—	—
1969	38	1	—	—
1970	17	—	—	—
1971	21	4	1	—
1972	19	4	—	—
1973	16	—	—	—
1974	14	1	—	—
1975	22	3	1	—
1976	16	4	5	1 ^{b)}
1977	6	2	—	1 ^{b)}
1978	22	4	1	1 ^{b)}
1979	28	11	13	7
1980	9	7	4	4
1981	25	13	17	11
1982	8	4	—	2
1983	16	1	2	—
1984	4	1	—	—
1985〔8〕 ^{a)}	8	—	2	—

a) 1985年は8月までの集計。

b) 同一人（永続保菌者）。

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

近年、上水道が敷設されたが、その高料金と長年にわたる井戸水の使用習慣とから、上水の利用はきわめて低率である。下水道はなく、尿処理は農地での自家処理と業者委託がほとんどで、浄化槽設置世帯はごく少数である。

なお倉橋島にあって倉橋町に隣接する音戸町では、倉橋町での患者多発時にも1名の患者の発生もなく、15年以上にわたって患者・保菌者の発生をみていない。

患者・保菌者発生状況

1. 年次推移

広島県環境保健部と倉橋町の資料によれば、倉橋町で

は1943年(患者36名)と1945年(患者31名)の両年に、いずれも全町的な流行が発生しているが、この両年を除いては、1960年までは例年1~2名(稀に6名)の患者発生に終わっている。1961年以降は患者はきわめて稀となり、1963年と1971年に各1名の発生をみたのみであった。

しかしながら1975年からは、表1に示すごとく患者発生が持続している。1979年から1981年の3年間はとくに患者が多発し、広島県下の患者・保菌者の大半を占めている。表2は地区別の患者発生状況ならびに保菌者発見状況を整理したものである。

表2. 倉橋町における腸チフス患者・保菌者発生状況

地区	事例番号	年齢	性	患・保 ^{a)}	発症年月日 ^{b)}	フェージ型	備	考 ^{c)}
室尾	M-1	27	F	P	1975.12.?	M1		
	M-2	58	F	P	1976.4.8	M1		
	M-3	9	F	P	1978.10.30	M1		
	M-4	52	F	C	1979.1.20	M1	特別。胆石 ⁺ 。	
	M-5	7	F	P	1979.4.18	M1		
	M-6	52	F	C	1979.5.8	M1	接触：M-5の伯母。	
	M-7	68	F	C	1979.6.1	M1	特別。胆石 ⁺ 。	
	M-8	58	M	C	1979.11.16	M1	家族：娘(広島市在住)が発症。	
	M-9	65	M	C	1979.11.29	A	特別。胆石 ⁺ 。	
	M-10	26	F	P	1979.12.10	M1		
	M-11	65	M	C	1980.2.7	M1	経過：M-9と同一人。	
	M-12	65	M	C	1980.2.14	A	経過：M-9, M-11と同一人。	
	M-13	27	M	P	1980.5.26	M1		
	M-14	11	F	P	1980.5.30	M1		
	M-15	9	F	C	1980.10.24	M1	特別。	
	M-16	12	M	P	1981.4.15	M1		
	M-17	8	M	P	1981.4.23	M1		
	M-18	68	M	C	1981.5.28	M1	特別。	
	M-19	62	F	C	1981.5.28	M1	特別。	
	M-20	44	F	C	1981.5.28	M1	特別。	
	M-21	51	M	C	1981.6.4	M1	特別。	
	M-22	38	M	P	1985.4.13	M1		
鹿島	K-1	53	M	P	1976.12.30	M1		
	K-2	55	F	P	1979.3.16	M1		
	K-3	53	F	P	1979.7.?	M1	} 夫婦。	
	K-4	53	M	P	1979.7.16	M1		
	K-5	53	F	P	1979.10.23	M1		
	K-6	21	F	P	1979.10.25	M1	K-29の母。	

表2. (つづき)

地区	事例番号	年齢	性	患・保 ^{a)}	発症年月日 ^{b)}	フェージ型	備	考 ^{c)}	
鹿島	K-7	12	M	P	1979.10.27	M1	} 夫婦と息子.		
	K-8	47	M	P	1979.10.27	M1			
	K-9	46	F	P	1979.10.27	M1			
	K-10	48	M	P	1979.10.28	M1		K-12の父.	
	K-11	61	M	P	1979.10.30			臨床決定.	
	K-12	14	M	P	1979.10.31	M1		K-10の息子.	
	K-13	72	F		C	1979.11.29	M1		特別.
	K-14	12	M		C	1980. 2. 1	A		経過: K-7と同一人.
	K-15	70	F	P		1980. 6. 6	M1		
	K-16	58	F	P		1981. 4.27	M1		K-24の妻.
	K-17	65	F	P		1981. 4.27			臨床決定.
	K-18	10	M	P		1981. 4.30	M1		
	K-19	9	F	P		1981. 5. 1	M1		K-23のいとこ.
	K-20	47	F	P		1981. 5. 2	M1		
	K-21	64	M	P		1981. 5. 5	M1		K-28の父.
	K-22	79	F		C	1981. 5. 5	M1		家族: K-16の義母, K-24の母.
	K-23	14	F	P		1981. 5. 7	M1		K-19のいとこ.
	K-24	52	M	P		1981. 5. 7	M1		K-16の夫, K-22の息子.
	K-25	48	M		C	1981. 5.21	M1		特別.
	K-26	49	M		C	1981. 5.22	M1		特別: K-10と同一人.
	K-27	48	F		C	1981. 5.22	M1		特別. } 夫婦.
K-28	33	M	P		1981. 8.17	M1		K-21の息子.	
K-29	3	M	P		1983. 3.28	M1		K-6の息子.	
K-30	64	F	P		1983. 9. 5	M1			
K-31	23	F	P		1985. 4.20	M1			
尾立	O-1	59	M	P	1976. 9. 3	M1			
	O-2	30	F	P	1980.10.20	M1			
	O-3	49	F	P	1981. 6.19	M1		娘(広島市在住)も発症.	
	O-4	54	F	P	1981. 6.25			臨床決定.	
	O-5	55	F		C	1981. 7. 9	M1		接触: O-3, O-4の友人. 胆石+.
	O-6	68	M		C	1981.10.15	A deg.		特別. 胆石+.
	O-7	55	F		C	1982. 1.12	M1		経過: O-5と同一人.
	O-8	69	M		C	1982. 6.10	A deg.		経過: O-6と同一人.
本浦	H-1	12	M	P	1976. 2.12			臨床決定.	
	H-2	84	F		C	1976. 3. 6	M1		家族: H-1の祖母. 胆石+.
	H-3	61	F	P	1981. 7.23			臨床決定.	
海越	KA-1	14	M	P	1981. 4.24	M1			
	KA-2	24	F	P	1981. 5. 6	M1			
尾曾郷	OS-1	14	M	P	1976. 4. 8			臨床決定.	
宇和木	U-1	2	M	P	1981. 4.20			臨床決定.	

a) P:患者; C:保菌者. b) 保菌者については発見年月日.
 c) 特別:特別住民健康調査; 家族:家族検便; 接触:接触者検便; 経過:経過者検便.

2. 地域分布

患者は広島地区に25名ともっとも多発し、以下室尾の10名、尾立の4名、海越の2名とつづいているが、菌検出診定患者に限定すれば、患者は倉橋町の東半分に限局して発生している(図1)。それらの患者からの分離株のフェージ型はすべてM1型である(フェージ型別試験は国立予防衛生研究所で行なわれた)。

保菌者は表2、図1に示すとおり、室尾地区では12事例(10名)ともっとも多く、次いで鹿島で6事例(6名)、尾立で4事例(2名)、本浦で1名がそれぞれ発見されている。分離菌株のフェージ型はA型の3株、A deg. の2株を除いて他はすべてM1型であった。

3. 月別患者発生状況

菌検出診定患者38名の発症日を月単位でみた場合、1月、2月、11月を除く月にはすべて分布している。そのうち4月と10月にはそれぞれ9名ともっとも多くの患者が発生し、5月の8名がこれに次いでいる。このような集積は、1979年10月と1981年4～5月の2度にわたる広島地区の流行によるのである。

広島県下では、1960年代後半から1978年までは例年、患者が冬期に集中して発生するという特異な現象が続いていた[1-4]が、倉橋町においてはこのような傾向はまったく認められていない。

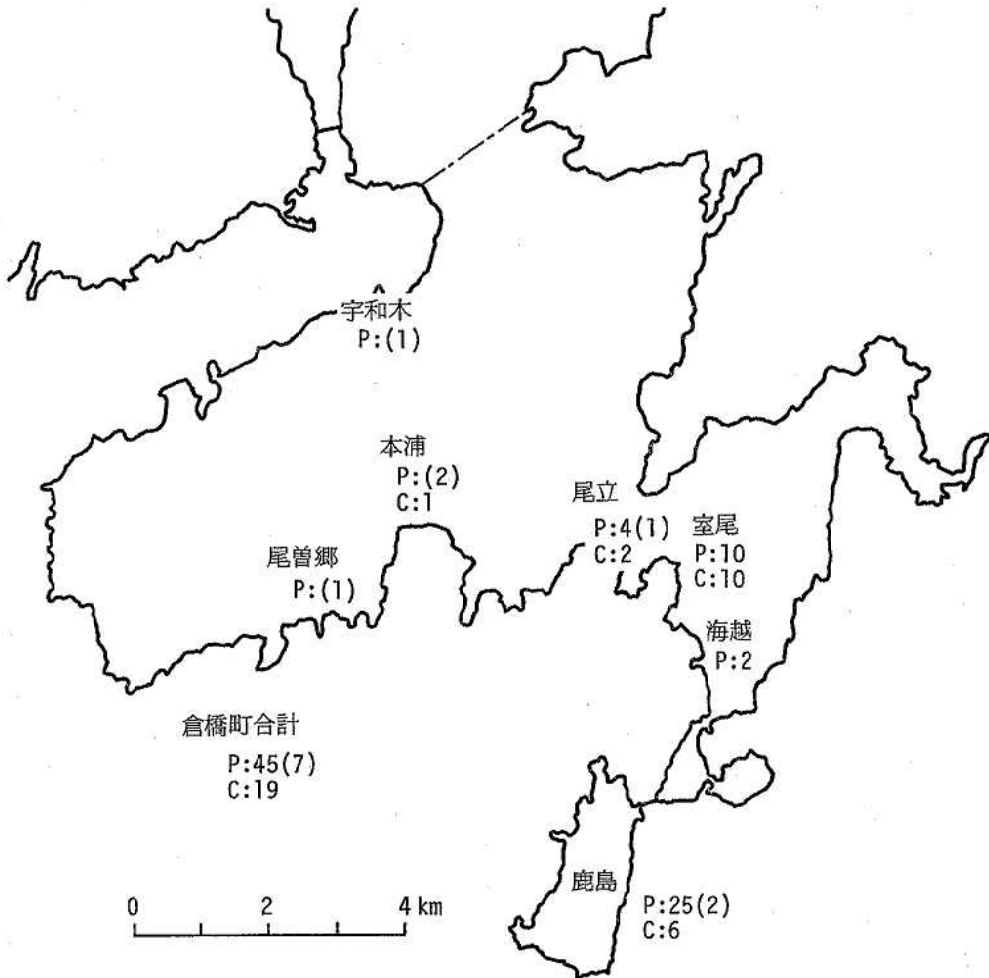


図1. 倉橋町における腸チフス患者・保菌者の地理的分布 (1975年1月～1985年8月)。
P:患者; C:保菌者; 括弧内は臨床決定患者(再掲)。

4. 年齢分布

菌検出診定患者の男女別年齢分布は表3に示すとおりである。室尾では若年層が多いのに対し、鹿島では全年齢層に発生しているが、高齢者に多発しているのが目立

表3. 患者の年齢分布 (菌決定患者)

年齢	患者数										
	室尾		鹿島		尾立		海越		合計		
	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	
0-9	1	2	1	1					2	3	5
10-19	1	1	3	1			1		5	2	7
20-29	1	2		2				1	1	5	6
30-39	1		1			1			2	1	3
40-49			2	2		1			2	3	5
50-59		1	3	4	1				4	5	9
60-69			1	1					1	1	2
70-				1						1	1
合計	4	6	11	12	1	2	1	1	17	21	38

表4. 保菌者の年齢分布

年齢	保菌者数										
	室尾		鹿島		尾立		本浦		合計		
	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	
0-9		1								1	1
10-19			1							1	1
20-29											
30-39											
40-49		1	2	1					2	2	4
50-59	2	2*				1*			2	3	5
60-69	2*	2*			1*				3	2	5
70-				2				1*		3	3
合計	4	6	3	3	1	1		1	8	11	19

* 胆石保有者 (各1例)。

つところである。

図2に示すごとく、鹿島では患者の年齢分布と年齢別人口比がよく平行しているが、室尾では様相がいちじるしく異なっている。この事実は、両地区での感染源と感染経路の相異を示唆していると思われる。

5. 性別分布

患者の性別については男女比=1:1.2とやや女性が多い傾向にあるが、この比率は患者発生地区における人口の男女比に一致している。

保菌者は高齢者が多く(表4)、その6名に胆石の保有が認められている(国立呉病院栗村統博士提供資料)。男女比は1:1.4で、女性がやや多い。しかしこの比は、広島県下で1967年以降に発見された保菌者における1:2.6〔4〕に比して明らかに低値である。倉橋町の保菌者については、地域流行の発生と住民の保菌調査の時期が重複したことから、当然、相当数の軽症あるいは不顕性感染事例が含まれていると考えられる(後述)。

6. 家族集積性

同一家族に複数のM1型菌検出患者(あるいは保菌者)の発生した事例は8例であるが、そのうちの6例までが鹿島で認められている(表5)。室尾では、1979年10月に広島市在住の女性が発症し(M1型菌を分離)、その家族検便で父親(M-8)のM1型菌排出が確認されたのが唯一の事例である(後述)。

鹿島と室尾の患者の家族集積性の相違は、両地区における前述の患者の年齢分布の相違の事実と同様、腸チフス菌の伝播経路が両地区で異なっていることを示しているように思われる。

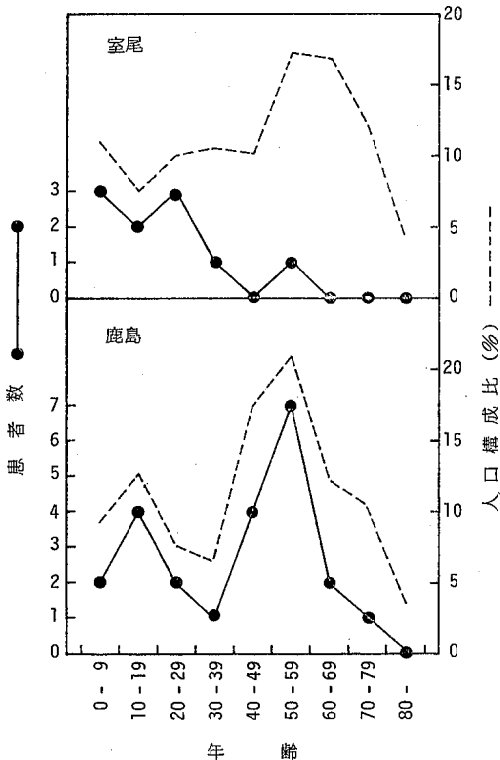


図2. 室尾と鹿島の年齢階層別腸チフス患者数の比較。年齢別人口は1980年10月の国勢調査資料による。

表5. 家族内複数患者発生事例

地 区	事例番号(年齢)	発症年月日	診定年月日	関 係
鹿 島	K-3 (53)	1979. 7. ?	1979. 7. 9	夫婦
	K-4 (53)	1979. 7.16	1979. 8. 1	
	K-7 (12)	1979.10.27	1979.11. 6	夫婦と息子
	K-8 (47)	1979.10.27	1979.11. 6	
	K-9 (46)	1979.10.27	1979.11. 6	
	K-10 (48) ^{a)}	1979.10.28	1979.11. 7	父と息子
	K-12 (14)	1979.10.31	1979.11. 7	
	K-16 (58)	1981. 4.27	1981. 5. 1	夫婦と母
	K-24 (52)	1981. 5. 7	1981. 5.10	
	K-22 (79)	保 菌 者	1981. 5. 5	
K-21 (64) ^{c)}	1981. 5. 5	1981. 5. 9	父と息子	
K-28 (33)	1981. 8.17	1981. 8.19		
K-26 (49) ^{b)d)}	保 菌 者	1981. 5.22	夫婦	
K-27 (48)	保 菌 者	1981. 5.22		
尾 立	O-3 (49)	1981. 6.19	1981. 7. 3	母と娘 (広島市在住)
	T. T. (25)	1981. 7. 1	1981. 7. 9	
室 尾	T. K. (28)	1979.10.25	1979.11. 9	父と娘 (広島市在住)
	M-8 (58)	保 菌 者	1979.11.16	

a), b) 同一人.

c), d) 井戸を共用している.

表6. 腸チフス患者における *Salmonella typhi* の検出材料

材 料	患者数(%)
血 液	26 (68)
便	9 (24)
尿	2 (5)
胆 汁	1 (3)
合 計	38

表7. 腸チフス患者の発症から診定(菌決定)までの日数^{a)}

診定までの日数	患者数(%)
~ 5	6 (17)
6 ~ 10	13 (36)
11 ~ 15	12 (33)
16 ~ 20	5 (14)
合 計	36

a) 発症日不詳の2名を除外した.

また発症後2日以内の診定患者2名を除外しての幾何平均値は10.4日と算出された.

7. 腸チフス菌分離材料

腸チフス患者については、7例の臨床決定を除く38例(84%)が菌検出による診定である。この割合は県下全域のそれ〔4〕とほぼ同率であるが、全国集計(95%)〔6〕に比してかなり低率である。

腸チフス菌の分離された検査材料としては血液がもっとも多く、26事例(68%)を数えている。血液以外では便の9事例(24%)がこれにつき、尿と胆汁からも少数ではあるが分離をみている(表6)。このような分布は、県下全域の患者の場合とほぼ同様である〔4〕。

8. 発症から診定までの期間

患者の発症日から診定までの日数を菌検出診定患者について整理したところ、表7に示す結果がえられた。過半数の患者(53%)が10日以内に診定されており、15日を超えているのは5例(14%)のみであった。診定までの日数の幾何平均値は10.4日と算出された。これは1967年以降の県下の患者についての年別平均値(12~20日)〔4〕ならびに最近の全国平均値(15日)〔6〕よりも短い日数となっている。

1981年10月の鹿島の流行時には、多くの患者が10日以内に診定されており、倉橋町の地域流行という特殊事情がこの数値に反映しているといえよう。

保菌者検索

I. 特別住民健康調査

1975年から1978年の4年間に7名の患者と1名の保菌者の発生をみたことから、広島県環境保健部では患者発生地区の全住民についての保菌調査(特別住民健康調査)の実施を決定し、これを1979年1月に開始した。

まず町と地区役員とで実際に居住している住民の名簿が作製され、所轄の海田保健所と町とで全世帯に調査の趣旨説明文が配布された。同時に、広島県公衆衛生課、倉橋町、海田保健所、県衛生研究所で検便実施要領を取り決め、腸チフス菌検索は海田保健所と衛生研究所で行なうこととした。糞便検体はCary-Blair培地に自然排便を採取し、これを変法セレナイト培地〔7, 8〕で増菌培養したのち、亜硫酸ビスマス寒天平板で分離培養した。検出した *Salmonella typhi* 菌株はすべて国立予防衛生研究所へ送付し、フェージ型別試験を依頼した。

1. 室尾地区

保菌者検索は、1975年以降3名の菌決定患者の発生している室尾地区住民について、1979年1月に開始された。同年の1～2月に1350名(対象者の91.6%)から提出された糞便検体を培養に供した結果、1名の無症状排菌者(M-4, 52歳, 女性, 胆石保有; 表2)を発見した。その分離菌株のフェージ型はM1型であり、鮮魚販売という職業から、感染源となっていた可能性はきわめて高いと判断され、この時点で保菌調査は中断された。

しかしながら1979年4月中旬に同じ室尾地区で1名の患者(M-5)が発生し、5月はじめに菌検出により診定された。その直後の家族・接触者検便で患者の伯母が保菌者(M-6)と診定された。両者からの分離菌株のフェージ型はともにM1型であった。この両名は前記の1～2月の保菌調査の際には糞便を提出しており、いずれも腸チフス菌不検出となっていた。このようなことから検便未実施者(124名)についての保菌調査が重要視され、同年5月末から6月にかけてこれが実施された。その結果さらに1名の排菌者(M-7, 68歳, 女性, 胆石保有)が発見された。分離菌株のフェージ型はM1型であった(表2)。

その後4か月間は室尾では患者の発生はなく、1979年10月には予定通り室尾、鹿島の全住民を対象とする検便が開始された。室尾ではまた1名の無症状排菌者(M-9, 65歳, 男性, 胆石保有)が新たに発見されたが、その分離菌株のフェージ型はA型であった。なおこの住民検便と機を一にして、鹿島では地域流行といえる患者の

多発をみたが、室尾では12月に1名の患者が発生したのみであった。

翌1980年10～12月の保菌調査でも室尾ではまた1名のM1型菌排菌者(M-15)が発見されたが、それは9歳の女子小学生であった。そして1981年4月には室尾と鹿島でもまたM1型菌による流行が発生したことから、5月に住民検便が開始された。その際には、室尾で4名がM1型菌の保菌者と診定された。いずれも高齢者であったが、胆石の保有は認められなかった(表2)。

1981年秋にも保菌調査は実施され、その後も、1985年1月まで毎年行なわれたが、この間には1名の排菌者も発見されなかった。しかし1985年4月には、室尾で1名のM1型菌による患者が発生している。したがって、なお永続排菌者の潜在する可能性は否定しえないのである。

2. 鹿島地区

鹿島においても1976年12月から1979年3月の間に2名の患者が発生したことから、1979年秋から全住民について、室尾の住民とともに保菌調査を実施することが決定していた。その検便開始前の7月に2名(夫婦)の患者が発生し、また検便の開始とともに鹿島では患者が多発して地域流行の様相を呈した(表2)。したがってこの時点では、保菌者検索と患者家族・接触者検便、食品取扱者検便がいずれも並行して実施された。その結果、特別住民健康調査の対象者のなかから食品・雑貨販売店およびお好み焼店を営む72歳の女性(K-13)がM1型菌の無症状排菌者であることが判明した(表2)。胆石の保有は認められなかったが、家業からして感染源になっていた可能性は高いと判断された。鹿島ではこの保菌調査の終了とともに、流行は一応終息した。

1980年には10月から12月にかけて保菌調査が実施されたが、排菌者は発見されなかった。しかしその年の6月には、1名のM1型菌による患者が発生している。

翌1981年4月には、室尾とともに流行の発生をみたことから、鹿島では連続2回の保菌者検索が実施された。特別住民健康調査の対象者からは3名の排菌者が発見され、その分離菌はいずれもM1型であった。なおこの3名中の1名(K-26)は1979年10月の流行時に罹患した経歴がある(K-10)。そしてもう1名はその妻であった。

1981年8月、同年11月、1982年11月、1984年1月ならびに1985年1月にも鹿島では保菌調査が行なわれたが、排菌者はまったく認められなかった。しかしながら前述の室尾と同様、1985年4月にM1型菌による患者が1名発生している。その際の家族・接触者検便では永続排菌

者の発見にいたっていないが、なおその潜在の可能性は高いといえる。

3. 尾立地区

尾立地区でも1976年9月から1981年7月の間に、臨床決定1名を含む4名の患者と1名の保菌者の発生をみたことから、1981年9月に第1回目の保菌調査が実施された。その結果、胆石を保有する68歳の男性が保菌者と認められたが分離菌株のフェージ型はA deg.であった。

1982年11月、1984年1月、1985年1月にも全住民を対象とした検便が実施されたが、新たな保菌者は発見されていない。また1981年7月以降には患者も発生していない。

4. その他の地区

過去に患者発生があった本浦、海越、宇和木の各地区の住民についても、それぞれ1回検便が実施されたが、保菌者は発見されていない。またこれらの地区においては、1981年8月以降患者は発生していない。

II. 患者家族および接触者調査

患者発生時にはつねにその家族、接触者についての保菌調査が行なわれているが、1979年10月の流行時には町内のすべての飲食店、鮮魚店、食肉店、その他の食品販売店などを含めて、食品取扱者の検便が実施された。また1981年4～5月の流行の際にも、民宿、給食関係者、学校関係者、隣家等も含めての広範な保菌調査が行なわれた。とくに家族については連続3回、また接触者についても2～3回にわたって検便が繰り返された。1979年から1985年8月の間のこれらの延べ被検人員は、患者家

族・接触者が1,112名、食品取扱関係者が999名に及んでいる。

室尾地区では広島市在住患者についての家族検便で1名(M-8)、また接触者検便で1名(M-6)の排菌者がそれぞれ発見された。分離菌株のフェージ型はいずれもM1型であった。鹿島では家族検便で1名(K-22)、尾立では接触者検便で1名(O-5)のM1型菌排菌者がそれぞれ認められた。本浦地区では1976年2月に、1名のM1型菌の永続排菌者(H-2)が家族検便で発見された。胆石を有する84歳の女性で、当初は入院治療によっても除菌をみず、その後も入退院を繰り返していたが、1981年6月に除菌が実現した。その後のたび重なる検便においても、排菌は認められていない。

III. 経過者調査

広島県では以前から、腸チフス特別対策事業として罹患者および保菌者については退院後一定期間、追跡検便を実施している。倉橋町の事例については、退院後6か月間は国立呉病院によって毎月1回の検便が実施されている。その後は原則として3か月ごとに2回、1年を超えたものについては毎年1回、3年間にわたって保健所によって検便が行なわれている。

1975年以降の倉橋町の経過者について、海田保健所が実施した延べ被検人員は256名に達している。この調査で確認された再排菌事例は5例である(表8)。再排菌発見までの期間は最短16日から最長1年6か月にわたっている。

室尾の保菌者M-9については、その発見時の分離菌株のフェージ型はA型であった。しかしその後の経過者検

表8. 再排菌事例

事例番号 〔フェージ型〕 ^{a)}	発症年月日	診定年月日	(A) 退院年月日	(B) 再排菌発見日	A～Bの期間
K-7 [M1] K-14 [A]	1979.10.27	1979.11.6	1980.1.16	1980.2.1	16日
K-10 [M1] K-26 [M1]	1979.10.28	1979.11.7	1979.12.13	1981.5.22	1年6か月
M-9 [A] M-11 [M1]	保菌者	1979.11.29	1980.1.9	1980.2.7	29日
O-5 [M1] O-7 [M1]	保菌者	1981.7.9	1981.8.12	1982.1.12	5か月
O-6 [A deg.] O-8 [A deg.]	保菌者	1981.10.15	1981.11.13	1982.6.10	7か月

a) 分離菌株のフェージ型。

便では、1980年2月7日にM1型菌(M-11)が、その翌週には再度A型菌(M-12)がそれぞれ分離されている。また鹿島のK-7においては、発症時にはM1型菌が分離されたが、1980年2月1日にはA型菌(K-14)が分離されている。その直後の調査で、この両名は入院治療中にとくに親密になり、およそ40日間にわたって病棟内でしばしば濃厚に接触し、また飲食をともにしていたことが判明した。したがってこの両者には、院内で交差伝播が成立したものと判断された。

なお1943年と1945年の両流行時の罹患者で、その後もひきつづき倉橋町に居住している住民、ならびに1975年以前の罹患住民については、特別住民健康調査の対象者として保菌調査が実施されているが、排菌者は発見されていない。

患者と保菌者との関係

特別住民健康調査、家族・接触者検便、ならびに経過者検便によって室尾で10名、鹿島で6名、その他の地区で3名、合計19名のいわゆる保菌者が発見されている。前にも触れたように、この「保菌者」のなかには軽症事例や不顕性感染事例が含まれており、19例のすべてが永続排菌者であったとは考えがたいのである。

1979年1月以降の検便名簿によって、検便時期と腸チフス菌検出時期の追跡を試みた結果、室尾のM-4、M-7、鹿島のK-13、尾立のO-5、O-6の5名は、いずれも初回の検便で腸チフス菌陽性の成績が得られている。また室尾のM-6、M-9、M-15の3名は初回検便は陰性であったが、2回目の検便で陽性となっている。以上の8名と本浦の永続排菌者H-2、鹿島の病後排菌者K-14、同じく鹿島の再排菌者K-26を除く8名については、保菌者として発見される以前に少なくとも2回以上、多くは5回の検便を受け、いずれも陰性の結果がでているのである。そしてこれらの8名はすべて患者多発時に並行して実施された住民検便の際に、保菌者と診定されているのである。

保菌者検索に採用されている腸チフス菌検出法は、広島県衛生研究所で開発した増菌培養法〔7, 8〕で、現在もっとも鋭敏な方法と考えられている。永続排菌者については、これまでの経験では1回の検索で腸チフス菌の検出をみているので、倉橋町の場合も糞便検体が適量提出されておれば、おそらく初回検便時に腸チフス菌は検出されていると思われる。前述のM-4、M-7、K-13、O-5、ならびにH-2の場合は、いずれも第1回の検便でM1型の腸チフス菌が検出されており、また疫学的にも

H-2以外はすべて感染源となっていた可能性がきわめて高いと考えられる事例である。また同様に永続排菌者であったと思われるM-9ならびに感染源となっていた可能性が考えられるM-6の両例では、ともに第2回目の検便で陽性結果がえられている。

一方、M-18、M-19、M-20、M-21、K-22、K-25、K-27の場合には、上述のごとく発見前の2～5回の検便ではすべて陰性の結果がでている。M-9の例を考慮して、連続的な2回の検便で腸チフス菌が検出されると仮定してもM-18、M-19、M-20、M-21、K-22、K-25、K-27の場合には永続排菌者であったとは考えがたく、また疫学的にも、軽症あるいは不顕性感染事例であった可能性が高いと思われる。

M-8は既述のとおり、広島市在住患者の家族検便で保菌者とされた例であって、その患者との接触の頻度は高く、M-8を感染源とする推測も一応は可能であろう。しかしながらM-8についての過去の検便成績をみた場合、この事例もまた軽症もしくは不顕性感染であった可能性を否定しえないのである。またM-15についても、永続排菌者であったとは考えがたく、疫学的にも感染源となっていた可能性はきわめて低いと思われる。

なおM-9とO-6ははもとに永続排菌者であったと考えられるが、フェージ型AおよびA deg.の両菌による患者の発生は、これまでのところ倉橋町では皆無である。したがって感染源になっていたであろうという可能性は否定される。また本浦のH-2は確かに永続排菌者であって、1976年の家族内感染事例には関与した可能性は高いといえる。しかし本例の場合、永続排菌者と認知されてから1981年5月までは排菌は持続したが、高齢でもあり、この間外出することはほとんどなく、また専用の便所を設けており、さらに地理的条件も加わって、この保菌者がその後の患者多発に関与したとは考えられない。

他方、腸チフス経過者についてはその5%程度に治療後ある期間を経て再排菌が始まり、これが永続的に持続してもっとも重要な感染源になることが明らかにされている〔9—11〕。鹿島の流行時にも、病後保菌者の関与が強く疑われる事例が発生している。K-10とK-12は父子で、1979年10月末にあいついで発症し、いずれもM1型菌が分離されている。治療後の1979年末から1980年11月にかけての経過者検便および住民の保菌調査ではすべて陰性であった。しかし1981年4～5月の鹿島地区での流行時の保菌調査ではK-26(K-10)およびその妻(K-27)の両者から腸チフス菌が検出され、そのフェージ型はともにM1型であった。この夫婦の事例の場合、1979

年末から1980年11月7日の間の5回の保菌調査は上記のごとくすべて陰性であったが、その後6か月を経過した1981年5月22日に K-26 から M1 型菌が検出されている(表 8)。この6か月の間には検便は行なわれていない。K-26 を再排菌事例とすれば、この6か月間は感染源になっていた可能性はきわめて高いと思われる。次ぎの事実、その傍証といえよう。K-21 夫妻は K-10 (K-26) ・ K-27 夫妻とは親戚で、K-10 (K-26) の妻 (K-27) と K-21 の妻は姉妹である。K-10 (K-26) が M1 型菌の再排菌者と診定されるおよそ1か月前の1981年4月末から、鹿島では患者の発生が続いていたが、K-21 はその流行の最中の5月4日に発症し、M1 型菌が分離されている。しかもこの両家は井戸を共用している。鹿島地区での患者多発には、このような井戸の共用がその背景になっていると考えられるのである(後述)。

以上の諸点から、現在までに19名のいわゆる保菌者が発見されているが、1975年以降の M1 型菌による患者多発との関連性が高いのは、このうちの6名 (M-4, M-6, M-7, K-13, K-26, O-5) ではないかと思される。倉橋町の患者の多発については、1943年からの町内の流行によってかなりの永続排菌者を生じ、以後散発事例、軽症・不顕性事例などの持続によって保菌者が徐々に蓄積し、これが1975年以降のエンデミックな状態を招来したものと考えられる。

M1 型菌による島外患者との関係

1975年1月以降の M1 型菌による県下の患者・保菌者のうち、居住地を倉橋島以外とする事例は33例(患者29名、保菌者4名)で、その地理的分布は図3に示すとおりである。このうち倉橋町との関連性が明確にされてい

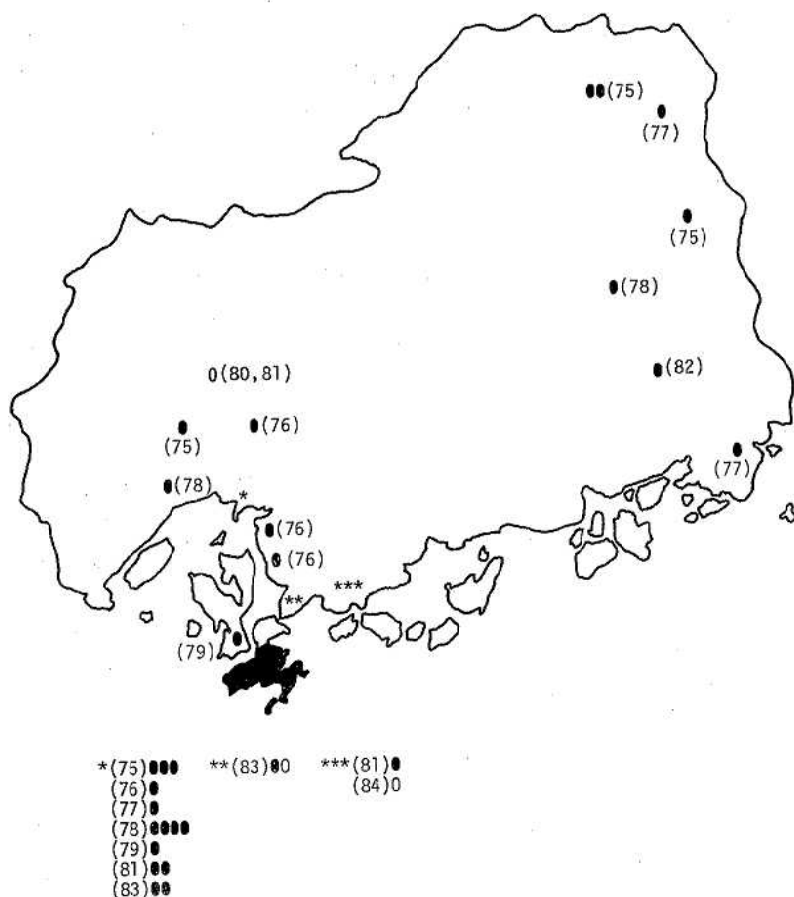


図3. 倉橋町以外で発生した M1 型菌による患者の地理的分布 (1975年1月～1985年8月)。黒点は患者、白点は保菌者で、括弧内は発生年を示す。

るのは、1979年10月の広島市の患者（M-8の娘、28歳）と1981年7月の広島市の患者（O-3の娘、25歳）の2事例である。

両事例とも親が倉橋町内に居住しており、患者（娘）は帰島する機会が多かったとされている。両事例とも、広島市での発症日が倉橋町での患者多発の時期に一致している。1979年10月の患者（M-8の娘）の場合は、室尾に居住する父親がその直後に保菌者と診定されている。この父親については前項で、軽症あるいは不顕性感染事例であった可能性を指摘した。1981年7月の患者の場合は尾立に居住する母親（O-3）も発症しており、この事例についてはO-3およびその娘の共通の接触者として、永続排菌者と考えられるO-5が発見されている。この3名は他の近隣者3名（うち1名発症、臨床決定：O-4）とともに6月初旬から中旬にかけて、地区の選挙事務所を炊事を担当していた。

この2事例の他に、倉橋町との関連性の推測される2名の患者が発生している。1981年8月中旬に発症した広島市在住の35歳の患者（男性）は、同年6～8月上旬に10回ほど木材に関する商用で鹿島に向かっている。いずれも日帰りであるが、昼食は倉橋町で喫食している。またしばしば活魚を購入して持ち帰り、生食したという。また呉市在住の10歳の男子小学生が1981年4月中旬に発症しているが、本例の場合は同年3月末から4月上旬にかけて鹿島の祖母（1人住まい）のところに滞在している。この両事例については、疫学的にもまた細菌学的にも調査が行なわれたが、感染源および感染経路はいずれも不明に終わっている。

以上の4事例以外の29例については、倉橋町との関連性は認められていない。

飲 用 水

1. 上水と井戸水の使用状況

倉橋町には本土側から上水送水管が敷設され、室尾、尾立には1979年8月1日に、鹿島には1981年4月1日にそれぞれ給水が開始された。

倉橋町提供資料と広島県の水道資料〔12〕により、倉橋町における1世帯および1人あたりの月間使用量を、音戸町ならびに広島市のそれと対比して表9に示した。上水道敷設後まだ日が浅いとはいえ、倉橋町における上水使用量は隣接の音戸町のそれのおよそ1/3にとどまっている。生活に必要な水量は、1人あたり月間8～9tといわれている。したがって倉橋町では上水給水以前と同様、飲用水も含めての生活用水の大部分を井戸水に頼

表9. 上水使用状況 (1982年1月31日)

地 区	普及率 (%)	使用量(t)/月		料 金 ^{a)} (円/10t)
		1世帯	1人	
倉 橋 町	86.5	8.0	2.7	2,000
室 尾	87.9	6.7	2.5	2,000
鹿 島	93.9	7.5	2.8	2,000
音 戸 町	92.5	20.1	6.4	1,350
広 島 市	92.6		12.0	400

a)1982年1月当時の料金。

っているといえる。このことは、1982年1～3月に実施した住民の意識調査の結果〔13〕からも明白であるが、井戸水を使用する最大の理由が経済性にあるのは確かである。なおこれらの井戸は、海岸沿いの住居密集地にある浅井戸で、背後の傾斜地に展開する畑地よりも低い位置にある。多くは共同井戸である。

2. 井戸水の検査成績

1979年5月から1984年3月にかけて、室尾、鹿島両地区の患者と保菌者宅の井戸、ならびに患者宅の隣家あるいは周辺の井戸について、井戸中の原水と住居内の管末水の両者を対象として14回、延べ264検体の飲料適否試験が海田保健所で実施された。飲料適と判定されたのは44検体(16.7%)に過ぎず、220検体(83.3%)までが細菌汚染によって不適とされている。なお原水と管末水との間に差は認められていない。

1979年秋の流行を機に、鹿島地区から12箇所の井戸を選出して、井戸水についての腸チフス菌およびその他の*Salmonella*の検索を開始した。これは衛生研究所で行なった。原則として降雨の翌日に、同一井戸から5ℓ容器2本に合計10ℓ採水し、このうちの5ℓを腸チフス菌の検索に、残りの5ℓをその他の*Salmonella*の検索に供した。検水は孔径0.45μのメンブランフィルターにプレフィルターを装着して濾化し、2～8枚の集菌フィルターとプレフィルターをまとめて60mlの変法セレナイト培地〔7,8〕に投入して腸チフス菌の増菌培養を行なった。その他の*Salmonella*についてはSBG培地で増菌培養を行なった。1979年11月から1982年12月の間に(夏期を除く)20回、延べ216検体について検索を試みた。腸チフス菌は検出されなかったが、*S. ajio*(G群)が3検体から、*S. surat*(H群)が2検体から、亜属Ⅲの*Salmonella*(群不明)が同じく2検体からそれぞれ分離された。

検水には往々にして混濁がみられ、時にミジノコ様動

物あるいは環形動物様の小形虫体が認められた。

尿尿処理状況

1979年秋の腸チフスの流行直後には、表10に示す方法と頻度で尿尿処理が行なわれていたことが町と保健所の調査で判明している。

鹿島における自家処理率は、他地区のそれよりも明らかに高率である。この鹿島においては鹿島下地区でのそれがとくに高く、92世帯中の81世帯(88.0%)までが畑地に散布・埋没処理をしている。これに次ぐのが鹿島中地区で、97世帯中の59世帯(60.8%)が自家処理に頼っている。

表10. 尿尿処理状況 (1980年3月)

地 区	世帯数	該 当 世 帯 数 (%)		
		自家処理	業者依託	浄化槽
室 尾	580	163(28.1)	342(59.0)	75(12.9)
鹿 島	255	158(62.0)	50(19.6)	47(18.4)
尾 立	489	111(22.7)	342(69.9)	36(7.4)
海 越	183	55(30.1)	112(61.2)	16(8.7)

表11は室尾、鹿島両地区の患者の使用水と尿尿処理方法との関係を示したものである。室尾では、患者10名中8名が井戸水を使っていたが、尿尿の自家処理患者は2名のみであった。一方、鹿島では25名の患者全員が井戸水を使用しており、そのうちの10名は尿尿自家処理世帯であった。

鹿島では室尾よりも人口は少ないのに患者は多発し、しかもそれは流行の様相を呈しており、家族集積性が大きい。多数の尿尿自家処理世帯の存在、ならびに井戸水の大量使用は、ともに患者多発と決して無縁ではないと思われる。1979年10月下旬からの流行においては、患者発生(初発確認患者)の9日前に台風による集中的な降雨(123mm)があり、また1981年4月下旬からの流行においても、その4月には初頭から月末まで断続的に降雨のあったことが記録されている。尿尿投棄の畑地に降った雨水の井戸水汚染は、当然、確実視されるところである[14]。1979年には3月、7月にすでに患者が発生しており、その後も1981年春の流行時までさらに1名の患者が発生している。患者、軽症患者、不顕性感染者、保菌者の尿尿の自家処理による共同井戸の汚染が、流行の背景をなしていた可能性は充分考えられるのである。鹿島地区の流行については、このように井戸水汚染の関与

表11. 患者・保菌者の使用水と尿尿処理方法

地 区	使 用 水	該 当 患 者 数				合 計
		自家処理	自家処理 ^{a)} 業者依託	業者依託	浄化槽	
室尾・患者	上 水		1	1		2
	上水・井戸水			3		3
	井 戸 水		1	4		5
	合 計		2	8		10
室尾・保菌者	上 水			2		2
	上水・井戸水			4	1	5
	井 戸 水	1	1	1		3
	合 計	1	1	7	1	10
鹿島・患者	上 水					
	上水・井戸水		4	5		9
	井 戸 水	4	2	8	2	16
	合 計	4	6	13	2	25
鹿島・保菌者	上 水					
	上水・井戸水		2	1		3
	井 戸 水		2			2
	合 計		4	1		5

a) 汲取り業者にも依託しているが、主として自家処理を行なっている。

が強く推測されるのであるが、室尾の患者発生については偶発的な接触による伝播が重きをなしているのではないかと推考されているものの詳細は明らかではない。

課 題

腸チフス菌は宿主特異性のもっとも高い菌種であって、ヒトのみがこれを保有するところから、腸チフス対策の基本は保菌者対策にあるとされている。最近の倉橋町のエンデミックな状態は、明らかに永続排菌者の蓄積にその因があるといえる。

1979年秋と1981年春には不幸にして流行が発生し、地元の社会的ならびに経済的被害は甚大であった。エンデミックへの対応策として、1979年1月に住民の保菌調査が開始され、これまでに延べ30,081名について腸チフス菌検索が実施された。その結果、19名の排菌者が発見されたが、現在、いずれも除菌治療が成功している。したがって感染フォーカスは、1981年以前に比して格段に減少しているのは確かであろう。関係者の撲滅運動の成果といえよう。

1982年以降、確かに患者は激減している。しかしながら、この間の4名の患者からの分離菌株のフェージ型はすべてM1型である。いまなおM1型菌の永続排菌者の潜在が確実視されるところである。これまでの定期的な保菌調査は、いくつかの感染フォーカスの消滅に大きく貢献したが、初期の100%という検便実施率は年とともに低率となり、最近(1985年1~2月)では87%と大幅に低下している。しかも1982年の2名の保菌者の発見後は、M1型菌による4名の患者の発生がありながら、それらに関連のあると思われる排菌者の発見にはいたっていない。そこで当然のことながら、これまでの定期的な検便に洩れている居住者についての保菌調査が重要課題といえる。

経過者については毎年100%の検便実施率が維持されている。これによって現在までに5例の再排菌事例が確認されている。退院後1年半を経過して再排菌の認められた事例の場合には、同時に同一家族内に新たな保菌者が発見されている。この事実は、最近の罹患者についてはその家族も含めての追跡検便が必要であることを指摘している。

1983年以降の保菌調査では、前述のごとく排菌者は発見されていない。しかしながら患者は少数とはいえ発生している。従来は検便に洩れていた住民を確実に含めての、精度の高い保菌者検索が今後とも不可欠である。医療機関を訪れない軽症患者や不顕性感染事例から生ずる

永続的な排菌者は、この住民の保菌調査以外では発見不能であるからである。それには啓蒙と教育によって、検便実施率を再度向上させることが必須条件であり、それが保菌者の蓄積を防止する唯一の手段である。

倉橋町に隣接する音戸町では、すでに述べたように長年にわたって腸チフス患者の発生をみていない。住民の上水使用量以外には、両町の町勢に大差はないといわれている。倉橋町では音戸町よりも10年以上も遅れて上水道が敷設され、また水道料金は音戸町に比して大幅に高価である。この経済的負担が、井戸水の大量使用を招いているのは確かである。倉橋町では1979年の上水供給開始以来、腸チフス対策とともに再三、再四、住民に上水使用の必要性が強調されている。しかしいまなお、上水使用量はいちじるしく低く、しかも生活上上水のみを使用する家庭はきわめて稀である。これらのことから、実効的であるのは10年先のことではあっても、現在の小学校年代の幼児を対象とした衛生教育の展開に期待が持たれ、その具体化が勧められている。これと並行しての成人層への啓蒙をより効率の高いものにする不断の努力は、いうまでもなく必要である。

患者の多発をみた鹿島地区では尿尿の自家処理家庭が多く、また井戸水使用率もきわめて高い。これらの井戸はいずれも尿尿投棄の場となる畑地よりも低位置にある浅井戸である。多くは共同井戸であり、糞便汚染指標菌の恒常的な汚染が確認されている。尿尿の農地への投棄はやむを得ないとしても、適切な処理方法の強力な指導は急務である。

いまなお一部に残る患者・保菌者に対する偏見は、患者発生時にもっとも必要な疫学調査の隘路となっている。腸チフス対策の推進には、何よりも腸チフスという糞口伝染病についての住民の正しい理解が不可欠なのである。

要 約

倉橋町では室尾、鹿島の両地区を中心に1975年以降、腸チフスのエンデミックな状態が持続しており、1979年と1981年には地域流行の発生をみた。1985年までの菌決定患者は38名で、分離菌株のフェージ型はすべてM1型である。1979年1月から毎年、定期的に住民の保菌調査が行なわれ、これまでに延べ30,081名についての菌検索によって19名の排菌者が発見されているが、エンデミックとの関連性が高いと考えられるのはこのうちの6名であった。室尾、鹿島の両患者多発地区においては、患者の年齢分布、家族集積性の点でいちじるしく様相が異なる。

っており、腸チフス菌の伝播様式は同一ではないと考えられる。永続排菌者の蓄積とともに、糞便汚染指標細菌の常在する井戸水の大量使用、多数の尿尿自家処理世帯の存在などが、エンデミックの背景をなしていると思われる。

本稿の内容については衛生微生物技術協議会第4回研究会(1983年7月、松江市)において発表した。

謝辞

倉橋町における腸チフス特別対策事業の推進にあたっては、腸チフス中央調査委員会から貴重な御助言と現地調査を含めての多くの御指導を頂いており、また国立呉病院、国家公務員共済組合呉共済病院では多くの患者の診定を、また安芸地区地域保健対策協議会には患者の診定ならびに地区住民に対する保健指導の御援助を頂いている。厚く御礼申しあげる所である。なお本特別対策は、倉橋町、広島県公衆衛生課、浜田保健所および広島県衛生研究所の共同事業としてなお進行中であるが、現在ではすでに退職あるいは転任された関係者もぎわめて多い。ここに万謝の意を表して稿を終える。

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. 広島県衛研・公害研研究報告, 20: 1—8.
[2] 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.
[3] 西尾隆昌 (1977): 生活の近代化と腸チフス. 広島県衛研・公害研研究報告, 24: 1—15.
[4] 西尾隆昌 (1982): 広島地方の腸チフス15年の軌

跡. 広島県衛研研究報告, 29: 47—55.

[5] 広島県商工会青年部連合会 (1984): 広島県ガイドブック, p.92—95.
[6] 腸チフス中央調査委員会 (1980): 腸チフス・パラチフスの管理報告——1977年の患者発生状況と分離菌株のフェージ型別の結果. 感染症誌, 54: 560—566.
[7] 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.
[8] 西尾隆昌, 中森純三 (1975): セレナイト培地の選択性の強化. メディヤサークル, 20: 237—242.
[9] Weise, H.-J. (1968): Zum Typhusbakterienausscheider-Problem in Berlin (West). I. Teil: Epidemiologische Aspekte. Bundesgesundheitsbl., 11: 249—254.
[10] Weise, H.-J. (1969): Zum Typhusbakterienausscheider-Problem in Berlin (West). II. Teil: Sozialmedizinische, pathogenetische und ökologische Aspekte. Bundesgesundheitsbl., 12: 33—40.
[11] Wilson, G.S. and Miles, A.A. (1975): Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology and immunity, 6th ed., vol. 1, p. 918—955; vol. 2, p. 2005—2039, Edward Arnold, London.
[12] 広島県環境保健部(1982): 広島県の水道の現況.
[13] 安芸地区地域保健対策協議会 (1983): 腸チフス散发地帯の倉橋町室尾・鹿島地区健康調査について. 広島医学, 36: 235—242.
[14] 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. 広島県衛研・公害研研究報告, 20: 36—40.

(受稿: 1985年9月30日)

愛玩用のミドリガメとゼニガメの *Salmonella* 保菌状況

榎 美代子* 宮崎佳都夫* 西尾 隆昌*

Salmonella Excretion by Pet Turtles

MIYOKO SAKAKI, KAZUO MIYAZAKI AND TAKAMASA NISHIO

緒 言

わが国初の愛玩“ミドリガメ”関連サルモネラ症として、中森ら〔1〕が1975年に広島県下で確認した事例の発生から10年が経過した。そのカメ関連事例の数か月前には、呉市内の産院で新生児の集団感染事例〔2〕が発生し、サルモネラ症についての関心が高まっていた時期であった。カメ関連事例については広島地方で大きく報道されたこともあって、カメはしばらくの間は店頭から姿を消していた。しかしその翌年にはふたたび店頭に見われ、その後のペットブームにも乗って、現在では初夏の頃からいたるところで大量に市販されている。

ヒトのカメ関連サルモネラ症は、アメリカ合衆国での Hersey ら〔3〕の報告以来にわかに注目をあびた。その後、全米の年間のサルモネラ症事例の14%に相当する28万人がペットのカメからの感染であるという Lamm ら〔4〕の詳細な疫学的研究、さらに子供のサルモネラ症の約23%までがカメ関連事例であるとの Altman ら〔5〕の指摘によって、愛玩用のカメの危険性が確認され、アメリカ合衆国政府は1975年に国内での出荷・販売を禁止した〔6〕。カナダにおいても翌年同様の措置が構じられている〔7〕。一方、わが国では上述の初の確認事例〔1〕、ならびに国内で市販されているミドリガメの高率な保菌〔8〕、排菌の長期持続〔9〕、飼育水における生菌の大量蓄積〔8—10〕の事実が指摘された後も、国民への啓蒙はなく、また法的措置もとられないまま現在も野放し状態で市販が続けられている。この市販のミドリガメは、アメリカ合衆国南部地域で養殖されており〔11〕、米国内では市販禁止措置がとられても、国

外への輸出にはこれが適用されていないことに因るのである。米国内では *Salmonella*-free のカメの養殖の研究〔6, 11〕が続けられているようであるが、今回わが国で市販されているアメリカ産のミドリガメの *Salmonella* 保菌の実態を改めて追究し、わが国在来種のゼニガメのそれと比較検討した。

実験材料および方法

実験材料

実験に供したカメは、1985年7月20日に広島市内のペット店（3店）、デパート（2店）、露店（1店）でそれぞれ2個体あて購入した12個体である。種類の内訳はミドリガメ、ゼニガメ各6個体である。前者はアカミミガメ (*Pseudemys scripta-elegans*) の幼体で、後者はイシガメ (*Clemmys japonica*) の幼体であって、いずれも体長3～5cmであった。餌は糸ミズを乾燥させた市販の「カメの餌」を用いた。

飼育方法

あらかじめ飼育用の水（水道水）、容器（直径約10×深さ約10cm）と小石、餌をそれぞれ滅菌（121°C, 15分）し、カメは1個体ごとに100mlの水と小石を入れた容器に入れ、室温で飼育した。餌は3～5日間隔で与えた。

Salmonella の検索用の飼育水のサンプルはカメを移し入れた直後（0日）、1日後、4日後にそれぞれ採取した。なお飼育水採取直後に同量の滅菌水を補給した。

Salmonella の検出方法

Salmonella の検出（定量）は前報と同様、SBG培地による増菌培養（43°C, 18h）ののちMLCB寒天培地を用いて分離培養（37°C, 24h）を行ない、最確数法

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

(5本法)により *Salmonella* の生菌数を計測した。菌の鑑別にあたっては、MLCB 寒天平板上の *Salmonella* と推定される黒色の集落を、その発生したすべての平板からTSI 培地とLIM培地に接種して、生化学性状を観察し、*Salmonella* の性状に一致したものについて血清型別試験を行なった。分離された菌株の薬剤感受性はカナマイシン (KM)、クロラムフェニコール (CM)、テトラサイクリン (TC)、アンピシリン (PcA)、ナリジクス酸 (NA) およびコリスチン (CL) の6剤について3濃度ディスクを用いて判定した。

結 果

ペット用のカメ12個体についての *Salmonella* 検索の結果、表1に示すようにミドリガメでは供試全個体が陽性であったが、ゼニガメは1個体のみが陽性であった。*Salmonella* 保菌の確認されたカメ7個体のうち、4個体はそれぞれ単一の血清型を保有していたが、他の3個体には複数の血清型が認められ、うち1個体からは6菌型が分離された。分離菌株は表2に示すように、亜属Iが7種類、亜属IIIが1種類の血清型に分かれた。ミドリガメは *S. poona* を全個体が保有していたが、*S. gatow* は2個体から、*S. litchfield*, *S. minnesota*, *S. huttingfoss*,

表1. ペット用のカメの *Salmonella* 保菌状況

供試個体数	血清型数別保菌個体数			
	1	2	3	6
ミドリガメ(P1~6) 6	3	1	1	1
ゼニガメ(C7~12) 6	1	0	0	0
合 計 12	4	1	1	1

表2. ペット用のカメから分離された *Salmonella* 菌株の血清型

亜属	O群	血清型	保有個体数	保有個体番号
I	C 1	<i>S. gatow</i>	2	P 4, P 6
	C 1	<i>S. thompson</i>	1	P 6
	C 2	<i>S. litchfield</i>	1	P 4
	G 1	<i>S. poona</i>	6	P 1~P 6
	I	<i>S. huttingfoss</i>	1	P 6
	L	<i>S. minnesota</i>	1	P 6
	?	?:b:e, n, x	1	P 6
III	?	?:1,v:1,5	2	P 3, C 7

S. thompson, 亜属Iの血清型不明株、および亜属IIIの血清型不明株はそれぞれ1個体から分離された。ゼニガメからは亜属IIIの菌株のみが分離された。しかしこれらの菌型は検索の都度毎回分離されたのではなく、1回のみ分離された株もあるが、供試全ミドリガメが *S. poona* を排出し、それは今回分離した325株のうちの88%を占めた。またゼニガメ1個体は亜属IIIの菌を排出し続け、分離された27株はすべて亜属IIIの菌株であった。

表3は飼育水における *Salmonella* 生菌の蓄積状況を示したものである。飼育4日後の菌密度は、ミドリガメでは $10^3 \sim 10^5/100ml$ のMPN値が計測されたが、ゼニガメでは4日後でもわずかに23/100mlの菌量であった。

薬剤感受性は、同一個体由来の同一血清型菌株を1菌株として整理した16株について観察した。ミドリガメ1個体(P6)より分離された *S. poona* の1株のみがTC単独耐性で、他はすべて6薬剤に感受性であった。

考 察

1975年の広島での確認事例発生後、宮崎らおよび中森らによってミドリガメの飼育実験が行なわれ、(1) *Salmonella* 保菌率は94~100%と著しく高いこと、(2)飼育水中にはしばしば $10^7 \sim 10^8/100ml$ /4日後という莫大な数の *Salmonella* 生菌が蓄積すること、(3)その大部分がヒトのサルモネラ症に関連性のある亜属Iの菌であること、(4)排菌の持続が長期間(>250日)にわたること〔8-10〕、また(5)ミドリガメのみならずその成体のアカミミガメでも、*Salmonella* の保菌は餌や環境から容易

表3. ペット用のカメの飼育水における *Salmonella* 生菌数の推移

カメ個体番号	<i>Salmonella</i> 生菌数 (MPN/100ml)		
	0日 (定性培養)	1日	4日
P 1	+	2.4×10^2	2.4×10^3
P 2	+	1.3×10^2	2.4×10^3
P 3	+	0	7.0×10^5
P 4	+	1.7×10	3.3×10^4
P 5	+	1.7×10^3	2.4×10^3
P 6	+	4.9×10^2	1.3×10^3
C 7	+	0	2.3×10
C 8	-	0	0
C 9	-	0	.*
C 10	-	0	.
C 11	-	0	0
C 12	-	0	0

* カメ斃死のため検出不能。

に成立し、これが長期間(最長57週)持続すること〔12〕などが明らかにされている。

以上の事実に基づいて、感受性の高い幼児がペットとしてカメを一般家庭や集団の中で長期間飼育することの危険性、ならびに感染防止対策の必要性を機会あるごとに強調しているが、前述のように、現在は何らの対策もとられていない。

供試ミドリガメの6個体すべてが *Salmonella* を保菌していたという今回の結果からも明らかなように、アメリカ合衆国からわが国に輸入されているミドリガメがきわめて高率に *Salmonella* を保菌しているのは確かである。輸出元のアメリカ合衆国では、*Salmonella*-free のカメを養殖する研究〔6, 11〕が行なわれているが、現在なお *Salmonella* を高率に保菌するカメがわが国に輸入されていることは否定しえない。今回、ミドリガメの全個体から *S. poona* が分離されたが、この事実は同一の輸入商から同一時期にカメが多くの小売店へ流されていることを示唆している。

分離された菌株は血清型で8菌型にわたるが、そのなかの *S. thompson* と *S. litchfield* は、最近の広島地方のサルモネラ症散発患者にごく普遍的にみられる血清型である〔13〕。*S. poona* も現在、ヒト散発事例にまれながら認められている〔13〕。10年前のカメ関連事例の原因菌は *S. muenchen* であった。当時はこれがヒトの症例から分離されるのはきわめてまれなことであったが、1985年においては、広島県下のヒト散発症例からかなりの頻度で分離されており、いまや決してまれな菌型とはいえない。このことがペットのカメに起因するのか否かは明らかではないが、1960年代末から1970年代初期にかけてのアメリカ合衆国における広範な研究成果は、前述のごとく、ペットのカメからの幼児感染事例が著しく多数にのぼることを明示している。またごく最近のプエルトリコにおける Tauxe ら〔14〕の研究においても、不法に出荷されたミドリガメの乳幼児症例への高い関与が明らかにされている。今回の著者らの調査はきわめて小規模ではあるが、アメリカからわが国へ輸入されるミドリガメの *Salmonella* 保菌の実態は、10年前のわが国初のカメ関連確認事例当時のそれとまったく変わっていないことを明示している。

わが国においてはサルモネラ症散発事例の詳細な国レベルでの把握は行なわれていない。したがって現在、乳幼児に夏期を中心として多発している散発事例のなかに、どの程度のカメ関連事例が存在するのか明らかではない。しかしながら年間120万個体以上のミドリガメが

毎年輸入され続けている現状からすれば〔14〕、これを原因とする乳幼児症例は、かつてのアメリカ合衆国なみに発生している可能性がきわめて高いといえよう。危険性の啓蒙と行政的措置は急務である。

結 語

今回の飼育実験によるペット用のカメの *Salmonella* 検索から次の結果を得た。

1. 実験に供した市販のミドリガメ6個体、ゼニガメ6個体のうちミドリガメのすべてとゼニガメ1個体が *Salmonella* を保菌していた。
2. 分離菌株の大部分はヒトのサルモネラ症と関係の深い亜属 I に属するものであった。
3. *Salmonella* を保菌するカメの約半数に複数の血清型を認め、6血清型の保有の確認された個体もあった。
4. ミドリガメの飼育水中には、飼育開始4日後に *Salmonella* 生菌数は $10^3 \sim 10^5/100\text{ml}$ に達した。

ミドリガメのサルモネラ症の感染源としての危険性の啓蒙と販売規制措置の必要性が強調される。

文 献

- 〔1〕 中森純三, 宮崎佳都夫, 西尾隆昌, 述 徹太郎, 松尾権一, 小玉 大, 土井秀之, 田村和満, 坂崎利一 (1976): 愛玩“ミドリガメ”関連サルモネラ症: わが国初の確認事例とその疫学的背景。臨床と細菌, 3: 88—94.
- 〔2〕 西尾隆昌, 中森純三, 宮崎佳都夫, 松尾権一, 小玉 大, 土井秀之 (1976): *Salmonella havana*: その産院関連新生児集団感染症。広島県衛研・公害研究報告, 23: 29—36.
- 〔3〕 Hersey, E.F. and Mason, D.J. (1963): *Salmonella hartford*. Communicable Disease Center Salmonella Surveillance Report No. 10, Atlanta, Georgia, US Public Health Service, p.22—24 [Lamm et al., 1972(4) より引用].
- 〔4〕 Lamm, S.H., Taylor, A., Jr., Gangarosa, E.J., Anderson, H.W., Young, W., Clark, M.H. and Bruce, A.R. (1972): Turtle-associated salmonellosis. I. An estimation of the magnitude of the problem in the United States, 1970—1971. Amer. J. Epidemiol., 95: 511—517.
- 〔5〕 Altman, R., Gorman, J.C., Bernhardt, L.L. and Goldfield, M. (1972): Turtle-associated salmonellosis. II. The relationship of pet turtles

- to salmonellosis in children in New Jersey. Amer. J. Epidemiol., 95: 518—520.
- [6] Michel-Marler, S., Brown, M.L. and Siebeling, R.J. (1983): Eradication of *Arizona hinshawii* from artificially infected turtle eggs. Appl. Environ. Microbiol., 45: 748—754.
- [7] D'Aoust J.Y., Lior, H. (1978): Pet turtle regulations and abatement of human salmonellosis. Canad. J. Public Health, 69: 107—108.
- [8] 宮崎佳都夫, 中森純三, 西尾隆昌 (1976): 愛玩用ミドリガメの *Salmonella* 保菌率とその飼育水における *Salmonella* 生菌の蓄積. 広島県衛研・公害研究報告, 23: 1—8.
- [9] 宮崎佳都夫, 中森純三, 西尾隆昌 (1977): 愛玩用ミドリガメ: その *Salmonella* 排菌の長期持続と飼育水における *Salmonella* の生菌密度. 臨床と細菌, 4: 59—67.
- [10] 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. メディヤサークル, 24: 139—143.
- [11] Siebeling, R.J., Caruso, D. and Neuman, S. (1984): Eradication of *Salmonella* and *Arizona* species from turtle hatchlings produced from eggs treated on commercial turtle farms. Appl. Environ. Microbiol., 47: 658—662.
- [12] 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. メディヤサークル, 24: 329—334.
- [13] 広島県臨床細菌研究会 (1983): 広島地方のサルモネラ症: 1978—1982年の散発患者発生状況. 臨床と細菌, 10: 227—235.
- [14] Tauxe, R. V., Rigau-Pérez, J.G., Wells, J.G. and Blake, P.A. (1985): Turtle-associated salmonellosis in Puerto Rico: hazards of the global turtle trade. J. Amer. Med. Assoc., 254: 237—239.

(受稿: 1985年9月30日)

看護学生を対象にした風疹定期予防接種 効果に関する考察

徳本 静代* 武井 直巳* 瀬川 和幸*
妹尾 正登* 古前 敏明**

Sero-epidemiology of Rubella in Nurses' Training School Students

SHIZUYO TOKUMOTO*, NAOMI TAKEI*, KAZUYUKI SEGAWA*,
MASATO SENO* AND TOSHIAKI KOMAE**

緒 言

わが国の風疹ワクチンの定期接種は、先天性風疹症候群の発生防止を目的として、1977年8月に中学生女子生徒を対象に開始された。接種対象は風疹ウイルス未感染者群であるが、厚生省の「風しん定期予防接種の実施に関する施行通知」によると、感染の有無にかかわらずワクチンの接種は可能であり、抗体価の低い場合のブースター効果も期待されている。しかし、問題とされるのは風疹既往歴の誤認により、定期予防接種を受けなかった

風疹感受性者群であり、これまでの調査では年平均約10%のものがこれに該当すると思われる〔1〕。

われわれは広島県看護専門学校を定点とする風疹感受性調査を継続実施している。今回1976～1985年の入学生の風疹HI抗体保有状況を精査し、風疹定期予防接種の効果について検討したのでその概要を報告する。

対象および方法

1. 調査対象者および血清の採取

表1に調査対象の内訳を示した。1976～1985年の10年

表1. 年次別検体の内訳

入学年	年次別血清数 (調査: 5月下旬～6月上旬)										ペア血清数	血清数	
	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985		看護学生	商船学生
1976	41		41								41	82	0
1977		129		36							36	72	93
1978			40		40						40	80	0
1979				41		41					41	82	0
1980					32		32				32	64	0
1981						39		39			39	78	0
1982							133		41		41	82	92
1983								140		42	42	84	98
1984									128			39	89
1985										139		37	102
計	41	129	81	77	72	80	165	179	169	181	312	700	474

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

**広島県立広島病院小児科: Department of Pediatrics, Hiroshima Prefectural Hiroshima Hospital.

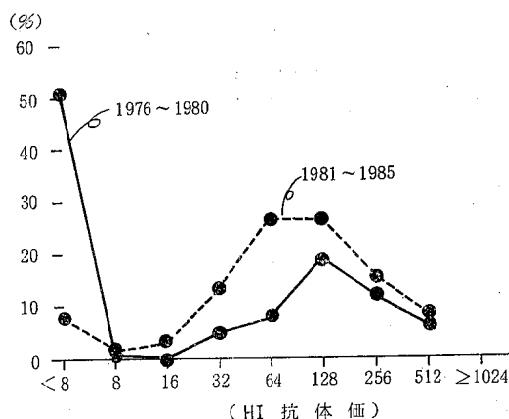


図1. 看護学生の1) 1976~1980年の間と1981~1985年間の風疹HI抗体価の分布パターン。
1): 18歳, 女子.

間にわたって、広島県看護専門学校(臨床看護学科)の学生(看護学生)1年生計388名(18歳,女子)の風疹HI抗体を検索した。このうち312名については3年生(20歳)時に再検査を実施した。また、1977年と1982~1985年の5年間は広島商船高等専門学校学生(商船学生)の1年生計474名(15歳,男子)についても同様の調査を行った。血清は毎年5月下旬~6月上旬の間に採取した。

2. HIテスト

マイクロプレート法でカオリン処理〔2〕された血清について市販風疹HA抗原(デンカ生研)とガチョウ赤血球を用い、予研法〔3〕に従ってHI抗体価を測定した。HI抗体価<8倍を陰性(感受性者)とした。

結 果

1. 最近10年間の看護学生の風疹HI抗体保有状況と風疹ワクチン接種率

保有風疹HI抗体価の分布は、表2、図1に示したように1976~1980年の期間と1981~1985年の期間とは異なるパターンを示した。抗体価<8倍の感受性者は1980年までは51%も認められたが、1981年からは大きく減少し1985年には約8%にまで低下した。したがって逆に抗体保有率は1980年までは低く、1981年以降はそれだけ高率となった。抗体価の分布の上からみれば、抗体価8~64倍では約3~3.8倍、 ≥ 128 倍では約1.3倍、それぞれ1980年までの期間より高率であった。しかしながら、抗体保有例のうちの ≥ 128 倍の例は1980年までが74.2%(69/93)であるのに対して、1981年以降は53.6%(98/

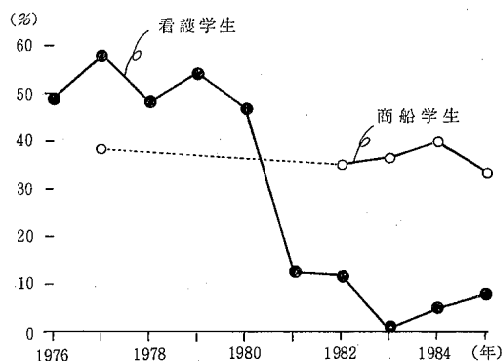


図2. 看護学生(18歳,女子)と商船学生(15歳,男子)の風疹感受性率¹⁾の年次推移。

1): HI抗体価<8倍.

183)と低下しており、1980年までの抗体保有例の約34%のものは ≥ 128 倍のHI抗体を保有していたことが判明した。

風疹定期予防接種率は1981年の入学生では46.2%であったが、1985年には91.8%の高い接種率となった。

2. 調査期間内の風疹HI抗体陽転例の検出

ペア血清で検索しえた312名のうち、表3に示すようにそのうちの11名が抗体陽転例であり、自然感染によるものが2名、ワクチン接種によるものが9名であった。

3. 風疹感受性率の性別比較

看護学生の風疹感受性率はすでに説明したとおり1981年以降は著しい低率となっているが、図2に示したように商船学生のそれは1982年以降においても約35~40%で推移して、前者と較べ際立った差がみられた。

考 察

最近のわが国における風疹の全国的流行は1975~1977年と1980~1982年にみられている。特に1975~1977年の流行はかつて例をみない程の大規模なものであり、社会的にも風疹感受性妊婦に不安を与える等問題を提起した。

本調査定点の広島県看護専門学校においては、1975~1977年の流行時には散発性患者が認められたが〔4〕、その後は患者発生をみていない。この間に風疹ワクチンの定期接種が開始され、1981年の入学生からはこの被接種者がみられるようになった。入学生における風疹定期予防接種率は年々高率化の傾向がみられ、1985年には90%を超えている(表2)。これは血清学的にも確認されたところであり、1980年までの約50%のHI抗体保有率が1985年には約90%と激増して(表2)、全国的傾向に一致

表2. 看護学生1年生の年次別風疹HI抗体価の分布と風疹ワクチン接種状況

年	検体数	H I 抗 体 価 (%)									ワクチン ¹⁾ 接 種 (%)
		<8	8	16	32	64	128	256	512	1024	
1976	41	20 (48.8)	0	0	2 (4.9)	2 (4.9)	6 (14.6)	6 (14.6)	5 (12.2)	0	0
1977	36	21 (58.3)	0	0	0	1 (2.8)	8 (22.2)	3 (8.3)	3 (8.3)	0	0
1978	40	19 (47.5)	1 (2.5)	0	3 (7.5)	3 (7.5)	8 (20.0)	3 (7.5)	3 (7.5)	0	0
1979	41	22 (53.7)	0	0	3 (7.3)	6 (14.6)	6 (14.6)	4 (9.8)	0	0	0
1980	32	15 (46.9)	0	0	1 (3.1)	2 (6.3)	8 (25.0)	6 (18.8)	0	0	0
計	190	97 (51.1)	1 (0.5)	0	9 (4.7)	14 (7.4)	36 (18.9)	22 (11.6)	11 (5.8)	0	0
1981	39	5 (12.8)	1 (2.6)	4 (10.3)	8 (20.5)	9 (23.1)	10 (25.6)	2 (5.1)	0	0	18 (46.2)
1982	41	5 (12.2)	0	1 (2.4)	4 (9.8)	11 (26.8)	13 (31.7)	5 (12.2)	2 (4.9)	0	24 (58.5)
1983	42	0	0	0	3 (7.1)	10 (23.8)	11 (26.2)	10 (23.8)	7 (16.7)	1 (2.4)	26 (61.9)
1984	39	2 (5.1)	1 (2.6)	0	7 (17.9)	14 (35.9)	6 (15.4)	7 (17.9)	2 (5.1)	0	20 (51.3)
1985	37	3 (8.1)	1 (2.7)	1 (2.7)	3 (8.1)	8 (21.6)	12 (32.4)	6 (16.2)	3 (8.1)	0	34 (91.9)
計	198	15 (7.6)	3 (1.5)	6 (3.0)	25 (12.6)	52 (26.3)	52 (26.3)	30 (15.2)	15 (7.6)	1 (0.5)	122 (61.6)

1): 風疹定期予防接種。

した〔5〕。このことは風疹定期予防接種事業が確実に定着してきていることを明示するものであろう。

ところで、風疹定期予防接種の目的が先天性風疹症候群の発生防止であることからすると、接種対象者の風疹ワクチンに対する関心は他のワクチンに較べて高いと考えられる。しかしながら今回の調査でも、1981年以降の風疹感受性者約8%を認めたが、われわれのこれまでの調査〔1〕から推測して殆んど風疹既往歴の誤認によって定期予防接種から外れた例ではないかと考えている。

これらの風疹感受性者はその定期予防接種の拒否理由からすると未接種のまま経過する可能性が極めて高いと思われる。したがって、定期予防接種を受けない対象者については、血清検査による確認をするように指導するなど細かい配慮が必要であろう。

また、風疹定期予防接種は抗体価の低い場合のブースター効果も期待されている。今回の調査結果からすると、8~16倍の低いHI抗体価を示す例の比率は1975~1980年の自然感染の時代よりもむしろ1981年以降のワ

クチン定期接種の時代に入ってからの方が高率となっている。今回の調査対象は1975~1977年の、1980~1982年の流行の波も被っており、このことだけでブースター効果には言及できないが、少なくとも自然感染の場合の方が抗体レスポンスがより高いことが推測された。ブースターを必要とされる低い抗体価は、HIテストでは8~16倍と考えられるが〔6〕、そのような例は、われわれの自然感染例についての調査ではせいぜい1%前後である(表2)。

今回の調査期間内の風疹HI抗体陽転例は11名であったが(表3)、そのうちの2名は自然感染例で、9名はワクチン接種によるものであった。前者2名は、1975~1977年の流行時に風疹患児を感染源とする病院実習中のり患であり〔4〕、後者の9名は当学校内で臨時に実施された風疹感受性例を対象にした風疹ワクチンの任意接種によるものである。本調査対象の年齢層での風疹ウイルスの水平感染については先の調査〔4〕でも詳細に検討したが、その成立は稀なようである。われわれは別の調

表3. 看護学生 312名における風疹H I 抗体陽転例

1 年生	風疹H I 抗体価		抗体陽転例 の抗原刺激
	3 年生		
	< 8	≥ 8	
< 8 (107)	96	11	2……自然感染 9……ワクチン接種
≥ 8 (205)	0	205	
計	96	216	

査〔7〕からワクチンによる抗体獲得率は100%という結果を得ている。ワクチン接種が最も合理的な風疹抗体の獲得方法であることは言うまでもない。

一方、風疹ワクチン非接種群である男子商船学生の風疹感受性率が1977年あるいは1982年以降常に約35~40%の推移であることをみると(図2)、前述の看護学生の1981年以降の著しい感受性率の低下は風疹ワクチンによるものであることを裏付けている。

このように、今回の調査で、われわれは現行の風疹定期予防接種の効果について、血清学的に定期予防接種対象者における風疹感受性率の低下という現象で把握することができた。現行の定期予防接種の対象には集団接種が容易であり、たちまち妊娠には関係なく、しかも妊娠可能に近い年齢であることから選択された年齢層であると考えられるが、疫学的には“とり残された風疹感受性例”の存在が依然として指摘された。

今回の調査では風疹抗体保有者への風疹定期予防接種状況について明確には言及できないが、1980年までの風疹感受性率と1981年以降の定期予防接種率からすれば、1981年以降では風疹抗体保有者へのワクチン接種率は、当然高くなっていると推測される。その中には、前述の≥128倍の高いH I 抗体価を保有するものも含まれていることは十分考えられる。理想的には風疹ワクチン接種対象者は、抗体検査をして選択されるべきであるが、現行の方法が最も現実的なものなのであろう。“とり残された風疹感受性者”をなくするためには、前述のとおり、定期予防接種拒否者に風疹抗体検査を委ねることが現実的方法と考える。

要 約

広島県看護専門学校女子学生計 388 名を対象として、1976~1985年の間の風疹H I 抗体保有状況と風疹定期予防接種状況の調査を実施し、感受性率の経年的推移とワクチン効果について検討した。また、対照として風疹ワクチン非接種群の広島商船高等専門学校男子学生計 474 名についても同様に調査した。

看護学生の風疹感受性率(抗体価<8倍)は風疹定期予防接種率を強く反映しており、1981年以降は著しい下降傾向を示し、それまでの約50%から1985年には約8%にまで低下した。

看護学生の風疹H I 抗体保有例のうち、≥128倍の高い抗体価を示す例は1981年以降よりも1980年までに高率に検出され、ワクチン刺激より自然感染の方が抗体レスポンスは高いと推測された。

商船学生の風疹感受性率は約35~40%で推移しており、看護学生に認められた1981年以降の風疹感受性率の急激な低下がワクチンによるものであることを裏付けた。

文 献

〔1〕 徳本静代、武井直巳、瀬川和幸(1982)：看護専門学校女子学生における1978~1982年の風疹感受性者の推移。広島県衛生研究所研究報告, 29: 37-42.
 〔2〕 井上栄(1976)：風疹H I 試験のための血清カオリン処理のマイクロ化。臨床とウイルス, 特別号: 82-83.
 〔3〕 国立予防衛生研究所(1972)：マイクロタイター法による風疹H I 試験の術式指針。
 〔4〕 徳本静代、武井直巳、瀬川和幸、金本康生(1978)：看護学生を対象にした風疹の流行に関する血清疫学的検討。広島県衛生研究所研究報告, 25: 1-6.
 〔5〕 厚生省公衆衛生局保健情報課、国立予防衛生研究所血清情報管理室(1984)：風疹、昭和58年度伝染病流行予測調査報告書, 55-71.
 〔6〕 風疹の胎児に及ぼす影響に関する研究班(1976)：風疹抗体価の判断の基準等について。臨床とウイルス, 特別号: 62-63.
 〔7〕 未発表。

(受稿：1985年10月26日)

煮干しの変質について

高垣 和子* 田邊 圭二*

Deterioration of Dried Small Sardines

KAZUKO TAKAGAKI* AND KEIJI TANABE*

はじめに

煮干しには、多量の高度不飽和脂肪酸が含まれている〔1〕。この不飽和脂肪酸は、空気中で容易に酸化分解されることから、煮干し変敗の大きな要因となっている。

田辺ら〔2〕は、カタクチイワシ中に多量に含まれる高度不飽和脂肪酸ドコサヘキサエン酸 ($C_{22:6}$) が、煮干し製造の工程で急減し、製品になった後は、室温でゆるやかに減少することを報告している。また、庄野ら〔3〕は、生の魚肉を低温保存中に、高度不飽和脂肪酸、特に $C_{22:6}$ が一週間で半減することから、この $C_{22:6}$ の減少率が脂質酸化の一指標となり得ることを示唆している。

今回、実験室で調製した酸化防止剤ブチルヒドロキシルアニソール (BHA) 添加及び無添加の煮干しを用い、脂肪酸組成の変化と変敗の関係について検討し、若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 煮干しの調製

新鮮な小イワシを水洗し、3%食塩水で10分間煮沸した後、水切りを行ない、乾燥機中で 50°C 8時間送風乾燥させ煮干しを調製した。また、BHA添加煮干しは、BHAを0.35%添加した3%食塩水で同様に調製した。

2. 脂肪酸の定量

試料1gに2Nアルコール性水酸化カリウム溶液15mlを加え、水浴中で1時間還流した後、15mlの蒸留水を加えて放冷した。この水溶液を6N塩酸で酸性とし、エーテル30mlで3回抽出し、エーテル層を合わせ、30mlの蒸留水で水洗し、無水硫酸ナトリウムで脱水後減圧乾固した。残渣を少量のエーテルに溶解しジアゾメタンのエーテル溶液を加え、室温に30分間放置してメチルエステル

とした後、ガスクロマトグラフィー (GLC) により定量分析を行なった。なお脂肪酸組成はステアリン酸メチルを基準とし、各々のピーク面積比より算出した。

GLCは島津製FID検出器付GC-7A型装置を用い、以下の条件下で行なった：カラムは Unisole 3000 (60~80メッシュ, i.d. 3mm×3m), カラム温度 225°C , 注入口温度 250°C , 窒素ガス流量 $55\text{ml}/\text{min}$ 。

3. BHAの定量

BHAは精油定量器を用いて抽出し〔4〕, GLCにより定量を行なった。装置は脂肪酸分析と同じものを用い、カラムは5%SE-30 (60~80メッシュ, i.d. 3mm×2.1m), カラム及び注入口温度はそれぞれ 160°C 及び 250°C , 窒素ガス流量は $50\text{ml}/\text{min}$ の条件下で分析を行なった。

4. 酸価 (AV) 及び過酸化値 (POV) の定量

食品衛生検査指針〔5〕に記載されている方法に従って行なった。

実験結果及び考察

新鮮な小イワシから実験室内で加工製造した煮干しを、開放系で昼間日照射し、その脂肪酸組成及びBHA量の経日変化をGLCで調べた。煮干しの原料であるイワシ中に多量に含まれる不飽和脂肪酸、リノール酸 ($C_{18:2}$), リノレン酸 ($C_{18:3}$), アラキドン酸 ($C_{20:4}$), エイコサペンタエン酸 ($C_{20:5}$) 及びドコサヘキサエン酸 ($C_{22:6}$) の総和をPUとし、 $C_{12}\sim C_{24}$ の飽和脂肪酸の総和をSAとした時の(PU/SA)×100(PS比)の経日変化を図1に示した。BHA無添加の煮干しのPS比は、製造直後に78%となり、その後約2週間で直線的に約30%に急減し、以後ゆるやかに減少して15週以後はPUは検出されなくなった。これに対し、BHAを添加し

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

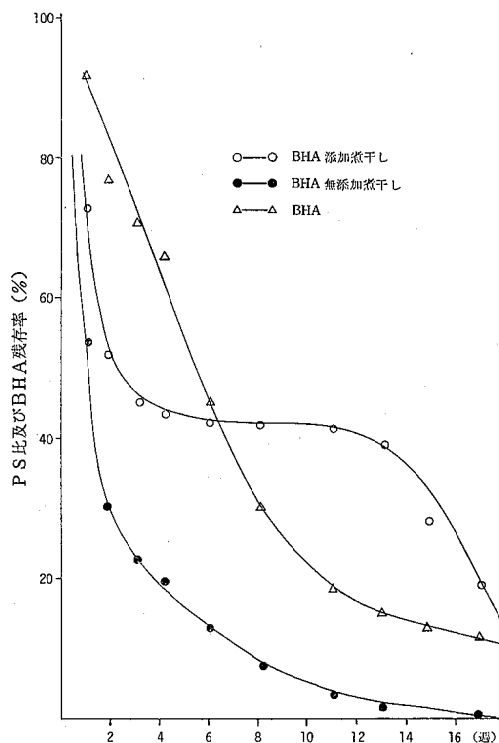


図1. 煮干し中のP S比及びBHA残存率.

た煮干しのP S比は、無添加の場合と同様2週間は急減したが、その減少は約50%にとどまり、以後11週まではほとんど変化せず、酸化防止剤の効果が認められた。

また官能的にも酸化防止剤の効果が認められた。BHA無添加の煮干しは製造後約2週間で黄変が見られ、4週間で降はそれが著しくなり、煮干し特有の臭気も消えていった。これに対しBHAを添加した煮干しは、約14週間後に黄変が始まった。このことは、P S比30%付近から黄変が始まることを示唆している。

一方、田辺ら〔2〕は、カタクチイワシ中のC_{22:6}を分析した結果、煮干し製造工程ですでに75%まで減少し、以後31日間室温保存でゆるやかに減少したと報告している。この減少傾向の違いは、今回、酸化防止剤の影響をよりはっきりさせるため、試料の保存条件を開放系で昼間日光照射したためと思われる。

BHAは非水溶媒（ベンゼンまたは食用油）中紫外線照射により3～4日で半減するが〔6〕、煮干し中では図1に示すように、その減少量は日光の照射時間に比例し、半減期は約40日であった。

同時に測定した酸価(AV)、過酸化物価(POV)を

表1に示したが、官能的な変色度との関係は認めがたく、煮干しの変質指標としてAV、POVは適当でないと思われる。

表1. 煮干しいりこのAV及びPOVの経日変化

週*	AV		POV	
	無添加**	添加**	無添加**	添加**
0	8.1	8.0	30	29
4	13.6	7.0	63	20
8	18.4	7.5	129	253
13	24.7	—	39	—

* 煮干しいりこの加工製造後の週数。

** BHAを加工工程時に添加したか否かを表わす。

庄野ら〔3〕は、煮干しの変敗の指標としてC_{22:6}の減少率で表わすことを提案しているが、煮干しとして製品化される魚種にはC_{22:6}以外にもC_{20:5}等の多くの高度不飽和脂肪酸を含有するものがあり〔1〕、ここに示したP S比を変敗の指標とするほうが一般的であろう。また、本法による煮干しの変質試験法は、多量の試料を必要とするAVやPOVに比べ、少量の試料ですみ、且つ操作も簡単であることから、日常の検査法として、より有用な方法であると思われる。

おわりに、本実験に際し、御協力、御助言を頂いた広島県衛生研究所理化学部長坂本征則博士並びに同研究所研究員穂下誠彦博士、海田保健所主任納池昭二三氏並びに同保健所主任技師高田久美代氏に深謝いたします。

文 献

- 〔1〕 科学技術庁資源調査会編：日本食品成分表三訂補、医歯薬出版、1981、P.200.
- 〔2〕 田辺 伸、滝口明秀、堀口辰司、千葉県水産試験場研究報告：第42号、83、1984.
- 〔3〕 庄野寿彦、豊水正道：日本水産学雑誌、37、912、1971.
- 〔4〕 丸山武紀、村上千秋、兼松 弘、新谷 勘、今村正男：食品衛生学雑誌、18、3、1977.
- 〔5a〕 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針Ⅰ、日本食品衛生協会、1978、P.121.
- 〔5b〕 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針Ⅱ、日本食品衛生協会、1973、P.351.
- 〔6〕 呉地伝夫、千田浩子：衛生化学、23、267、1977.

(受稿：1985年10月3日)

他誌掲載論文要約 (1984年11月～1985年10月)

徳本静代, 武井直己, 瀬川和幸, 毛利久夫*, 古前敏明** : 看護学生の Hepatitis B Virus 水平感染に関する血清学的追跡調査. 感染症誌, 59 : 381—388, 1985.

1976～1983年の間, 広島県の一看護学校に在籍した女子学生941名(延1,939名, 18～24歳)を対象に各年1回HBV関連抗原・抗体を追跡調査し, HBV感受性者の動向と健康者集団でのHBV水平感染の実態を血清学的に検討した.

延対象のHBs抗原陽性率(RPHA法, EIA法)は1.7%, HBs抗体陽性率(PHA法)は14.7%で, これらを3カ年移動平均でみると前者が1.4～2.1%の間でほぼ横ばいの, 後者が18.7～10.4%で年々1～2%の減少の傾向を示した. 学科別では第2臨床看護学科(夜間部で昼間は医療業務に従事)のHBs抗体陽性率19.1%は臨床看護学科の11.0%に比較して有意に高率(χ^2 test, $P < 0.01$)であった.

1学年時のHBs抗体陽性率は調査前半(1976～1979年)が16.3%, 後半(1980～1983年)が9.3%で, 入学前のHBV感染状況は減少の傾向を示した. 学科別では第2臨床看護学科が有意な低下(χ^2 test, $P < 0.05$)を示していた.

一方, HBe抗原陽性 carrier は6名認められた. しかしながら対象内のHBV水平感染については, 調査期間中に3例(0.4%, 1:265)の新感染例を確認したがそれらが対象集団内における水平感染であるとする証拠は血清学的な追跡からも, 在籍調査からも得られなかった.

なお, 200倍希釈血清におけるHBc抗体価(EIA法)はcarrierではIH%90%以上であり, 感染初期ではIH%30%以下であった.

*広島鉄道病院小児科.

**広島県立広島病院小児科.

武井直己, 瀬川和幸, 徳本静代, 稲葉博*, 石川幸* : 広島県における日本脳炎中和抗体保有状況調査 : 1981年～1982年. 広島医学, 37 : 99—103, 1984.

広島県の感染症予防に関する事業計画に基づいて1981年と1982年の両年住民の日本脳炎中和抗体の保有状況を調査した.

県西部, 東部及び北部の19歳以上(年齢階層: 19～29, 30～39, 40～49, 50～59, 60歳以上の5階層)の住民

を対象に1981年は計295名, 1982年は計318名合計631名について日本脳炎中和抗体を測定した. 実験方法はこれまでと同様, 初代鶏胎児細胞—JaGAR#⁶¹株—50%ブラック減少法によった.

19～29歳, 30～39歳は調査年, 地区によって40%台から80%台の陽性率を示したが, 調査两年を合わせた成績では, 19～29歳は西部が50%台, 北部は60%台の陽性率で, 30～39歳はいずれの地区とも60%台の陽性率であった. 40歳以上の年齢層では調査年, 地区を問わず概ね70%以上の陽性率を示した. 抗体価の分布についてみると, 各地区とも40歳代までの年齢層では, いずれもその50%以上が100倍未満(10倍以下を含む)の域にあり, 今後その増減及びその中に占める陰性(抗体価10倍以下)割合の動向が注目される.

金本康生 : 泌尿生殖器マイコプラズマの研究. I. 妊婦および新生児のマイコプラズマについて. 広島大学医学雑誌, 33 : 415—422, 1985.

妊婦の泌尿生殖器に分布するマイコプラズマが新生児にどのような影響を与えるかを調査する目的で, 妊婦114名, 新生児84名について *Mycoplasma hominis* と *Ureaplasma urealyticum* の検索を行った. 妊婦については妊娠末期の尿および頸管スワブを, 新生児では出生後6日以内の尿をそれぞれ分離材料とした. *U. urealyticum* は妊婦から73.7%, 新生児から17.9%, また *M. hominis* は妊婦から8.8%, 新生児から1.2%にそれぞれ分離された. 妊婦では出産経歴が増すにしたがって分離率が低下する傾向がみられた. *U. urealyticum* の新生児への伝播は男子に比べて明らかに女子に高い傾向がみられたが, 妊婦尿中の菌密度と新生児への伝播との間には相関はみられなかった. *U. urealyticum* 陽性の新生児の尿中には既に成人と同程度(平均 10^4 ccu/ml)の高密度にこれが存在した. 妊婦および新生児からのマイコプラズマの分離の有無ないし程度と在胎週数, 出生時体重との間に有意の差は認められなかった.

金本康生 : 泌尿生殖器マイコプラズマの研究. II. 男性不妊症とマイコプラズマについて. 広島大学医学雑誌, 33 : 543—550, 1985.

精液中のマイコプラズマが精子および受胎にどのような影響を与えるかを調査する目的で, 男性不妊症患者

117名, 正常者10名, 非配偶者間人工授精 (artificial insemination of donor: AID) の精子提供者23名について精液中の *Ureaplasma urealyticum* と *Mycoplasma hominis* の検索を行い, 以下の結論を得た.

1) *U. urealyticum* は不妊症患者の45.3%, 正常者の40.0%, また *M. hominis* は不妊症患者の14.5%, 正常者の20.0%からそれぞれ分離された. 不妊症患者を unexplained infertility 群と explained infertility 群とに分けた場合, 両群間にこれらのマイコプラズマの分離率に差は認められなかった.

2) 不妊症患者の精子奇形率, 精子活性率, 精液量および精液 pH の相違等の精液の parameter と *U. urealyticum* の分離率ならびに菌密度との間には有意差は認められなかった.

3) AID に供する精液の約半数に *U. urealyticum* が存在していた. しかしながら, これによる泌尿生殖器感染症の発例は1例もなく, また本菌陽性精液と同陰性精液による妊娠成功率に差は認められなかった.

Fukuda, S., H. Tokuno, H. Ogawa, M. Sasaki, T. Kishimoto, J. Kawano*, A. Shimizu* and S. Kimura*: Enterotoxigenicity of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from dogs. Zbl. Bakt. Hyg. A 258: 360—367, 1984.

犬100頭について, エンテロトキシン産生株の保有状況を調査したところ, 43頭 (43.0%) の犬の鼻腔からエンテロトキシン産生株が分離された. 分離したエンテロ

トキシン産生株50株中23株 (46.0%) はエンテロトキシンAを, 17株 (34.0%) はエンテロトキシンA+Cを, 8株 (16.0%) はエンテロトキシンCを産生し, エンテロトキシンA+B産生株はわずか2株 (4.0%) であった.

エンテロトキシンA産生株 (17株) のBHI 軟寒天培地上でのエンテロトキシン産生量は10~160ng/mlであり, 食中毒分離株 (*S. aureus*) のわずか1/10~1/100であった.

* 神戸大学農学部.

Kanamori, H., I. Sakamoto, M. Mizuta and O. Tanaka: Studies on the Mutagenicity of Swertiae Herba II. Quantitative Analysis of Mutagenic Compounds by Thin Layer Chromatograph Densitometry. Chem. Pharm. Bull., 32: 4942—4945, 1984.

センプリ中の変異原物質である7種のキサントン誘導体は, シリカゲルプレートを用いる薄層クロマトグラフィー (TLC) により良好に分離することができた. そこで, TLC—デンストメトリーによるこれらキサントン誘導体の定量分析を検討し, 市販のセンプリのキサントン誘導体の含有量および熱湯抽出量の分析を行った. また, キサントン誘導体の含有量と変異原性の関係についても論じた.

* 広島大学医学部総合薬学科.

編 集 委 員 会

西 尾 隆 昌 (委 員 長)
妹 尾 正 登 (生 物 学 部)
水 田 満 里 (病 理 学 部)
穂 下 誠 彦 (理 化 学 部)
小 川 博 美 (食 品 衛 生 部)
島 津 江 俊 弘 (総 務 部)

広島県衛生研究所研究報告

第 32 号

1985年12月発行

発行所 広島県衛生研究所

広島市南区宇品神田1丁目5-70

〒734・電話(082)251-4371

印刷所 (株)柳盛社印刷所

広島市中区東白島町8-23

〒730・電話(082)221-2148