

茨城県衛生研究所年報

第 30 号

Annual Report of Ibaraki Prefectural
Institute of Public Health

1 9 9 2

茨城県衛生研究所

はじめに

当衛生研究所も改築移転して約1年過ぎました。移転先の笠原町に因んで、私たちは1991月年を笠原元年と規定しました。笠原元年から二年にかけて、研究所のスタッフも充実し、研究、行政の分野での活動も活発になってきたと思います。

当研究所をもちたてて行く研究者の数は決して多いとはいえません。しかし少数精鋭主義を旗印として、全職員がその業務に精励すれば、いつかは世界に誇り得る業績をあげることもできるでしょう。研究機関として備えるべき設備も次第に整ってきました。衛生研究所は県の生命科学研究の最前線にあることを改めて確認し、めぐまれた設備をフルに活用して、茨城県といわず、世界の生命科学の発展に寄与して行くことを、笠原二年以後の私たちの努力目標としたいと思います。

目標は高く掲げて、焦らず、ためらわず、各種の学会や研究会にできるだけ積極的に出席、参加して、研究成果を発表しましょう。千里の道も一歩から、今こそその一歩を踏み出す時ではないでしょうか。

平成4年10月

茨城県衛生研究所

所 長 美譽志 康

目 次

第1章 総 説

1	沿 革	3
2	組織と業務内容	4
3	職員の配置	4
4	平成3年度歳入歳出決算書	6
5	重要な機械及び機具等	7
6	庁舎平面図	11

第2章 業務の概要

1	微生物部	15
2	環境保健部	19
3	食品薬品部	20
4	生活環境部	23

第3章 調査研究

1	水戸・県西地区に発生した集団赤痢について	27
	Outbreak of Bacillary Dysentery in Jurisdiction of Mito Health Center and West Area of Ibaraki Prefecture	
	久保田かほる・根本治育・関 貴代・深谷節子・村田輝喜	
2	日本脳炎感染源調査(平成3年度)	32
	Epidemiologic Survey of Japanese Encephalitis in Ibaraki Prefecture 1991	
	深谷節子・根本治育・久保田かほる・関 貴代・村田輝喜	
3	1991年茨城県における無菌性髄膜炎の流行について	36
	Epidemiological Studies of Aseptic Meningitis in Ibaraki Prefecture 1991	
	深谷節子・根本治育・久保田かほる・関 貴代・村田輝喜	
4	MMR・ムンプスワクチン接種後の無菌性髄膜炎患者の発生状況について	40
	Cause to rise of Aseptic Meningitis Patients after inoculation of MMR・Mumps - Vaccine 1989~1991	
	深谷節子・根本治育・久保田かほる・関貴代・村田輝喜	
5	高速液体クロマトグラフ・質量分析計による動植物中の	46
	還元型グルタチオン定量の検討	
	Determination of Reduced Glutathione in Biological Samples by High - Performedanced Liquid Chromatography - Mass Spectrometry	
	上野清一・大曾根圭子・石崎陸雄	

6	アルミニウム投与による脳内神経伝達物質の変動とリズム変化に関する研究	50
	The Effect of Aluminium lactate on the Rhythmus of the Locomoter Activity in Rats, and the Time Course of the Distrifution of Total Aluminium and Nerepinephrine Activity in Various Brain Regions	
	石田弓子・牛田等・新井淑弘・田島静子・大曾根圭子・上野清一・石崎睦雄・下條信弘	
7	Clostridium perfringensによる食中毒について	58
	Outbreaks of Food Poisoning due to Clostridium perfringens	
	神谷隆久・長峰さつき・山本和則・鹿島恭子・村上りつ子・一条悟朗・佐藤秀雄	
8	真空包装ブロック牛肉のガス発生について	63
	Studies on The Identification of Psychrophilic Bacteria Causative of Gas Production in the Vacuum - packaged Beef	
	山本和則・村上りつ子・長峯さつき・神谷隆久・鹿島恭子・一条悟朗	
9	利根川の浮遊性藻類について	67
	Succession of phytoplankton in River Tone	
	杉浦則夫・小山田則孝・黒沢豊彦・鈴木八重子・齊藤匡男	

第4章 多誌掲載論文要約等

(原著論文)

1	アオコを分解する鞭毛虫類	77
	杉浦則夫・稲森悠平・一条悟朗・須藤隆一	
2	Metylation of Inorganic Selenium Compounds by Freshwater Green Algae, <i>Ankistrodesmus sp.</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> and <i>Selenastrum SP.</i>	78
	N.Oyamada, G.Takahashi and M.Ishizaki	
3	鞭毛虫類によるアオコの分解	79
	杉浦則夫・稲森悠平・須藤隆一	

(学会発表)

1	真空包装ブロック牛肉のガス発生について	80
	山本和則・村上りつ子・長峰さつき・神谷隆久・鹿島恭子・一条悟朗	
2	新しく分離した藍藻による霞ヶ浦のカビ臭発生	81
	杉浦則夫・稲森悠平・須藤隆一	
3	霞ヶ浦のカビ臭発生の原因	82
	杉浦則夫・稲森悠平・須藤隆一	

第 1 章 総 説

1. 沿革

- 昭和30年12月 厚生省通達に基づき、それまで衛生部に設置されていた細菌検査所及び衛生試験所（昭和6年頃警察部衛生課所属設置）の2機関が統合されて、茨城県衛生研究所として設立された。（所在地水戸市三の丸県庁構内、建物鉄筋コンクリート二階建）
- 昭和34年4月 庶務、細菌、化学及び食品衛生の4部制が敷かれる。
- 昭和38年4月 庶務、微生物、化学、食品薬品及び放射能の5部制となる。
- 昭和40年10月 水戸市愛宕町4番1号庁舎竣工、移転
- 昭和47年6月 放射能部が環境局公害技術センターに移管され、4部制となる。
- 昭和53年6月 組織改正により、庶務、微生物、環境保健、食品薬品及び生活環境の5部制となる。
- 平成3年5月 水戸市笠原町993-2新庁舎完工、移転

「施設の概要」

所在地 水戸市笠原町993-2
敷地 (いばらき予防医学プラザ22,418m²内)
建設 平成元年10月26日着工
平成3年3月31日竣工
建物 庁舎 鉄筋コンクリート3階建
2,916.73m²

「歴代所長」

根津 尚光 (昭30.11~昭37.6)
斎藤 功 (昭37.7~昭47.5)
野田 正男 (昭47.6~昭52.5)
藤崎 米蔵 (昭52.6~昭56.9)
野田 正男 (昭56.10~昭60.9)
美譽志 康 (昭60.10~)

2. 組織と業務内容

所 長	庶務部	庶務、財務会計事務、公有財産の管理及びその他に属しない業務
	微生物部	病原性微生物の検査、血清学的検査、病理組織検査等臨床検査、疾病予防及び疫学の調査研究、保健所等試験検査機関に対する技術的指導及び援助
	環境保健部	生体中化学物質、家庭用品中有害物質、医薬品・医療用具、環境試料中有害物質及び衛生動物・害虫の試験検査並びにこれらの調査研究、保健所等試験検査機関に対する技術的指導及び援助
	食品薬品部	食品衛生試験検査（食品細菌、食品化学、栄養分析、食品添加物、容器包装、食中毒、貝毒等）及び医療品等（医薬品、医療用具、保存血液）の細菌学的試験検査（動物試験を含む）並びにこれらの調査研究、保健所等試験検査機関に対する技術的指導及び援助
	生活環境部	飲料水、下水道水、衛生処理施設水、河川、温泉及び室内環境衛生の試験検査並びにこれらの調査研究、保健所等試験検査機関に対する技術的指導及び援助

3. 職員の配置

(1) 部別職員数

区分	職種 事務 吏員	技 術 吏 員							計	臨時 職員	合計
		医師	獣医師	薬剤師	臨床検査技師	化学	農芸化学	技師 (技労)			
所 長		1							1		1
庶 務 部	2							1	3	1	4
微 生 物 部			1		3	1			5	1	6
環 境 保 健 部				4		(1)			4 (1)		4 (1)
食 品 薬 品 部			3			2	1		6	1	7
生 活 環 境 部				3			1	1	5	1	6
計	2	1	4	7	3	3 (1)	2	2	24 (1)	4	28 (1)

(注) () 書は兼務職員を外書きで示

(2) 職員一欄 (平成4.4.1現在)

所 長	美譽志 康	主 任	大曾根 圭子
○庶務部		(兼)主 任	久保田 かほる
主査兼部長	樋口 四郎	○食品薬品部	
係 長	西野 省二	首席研究員兼部長	佐藤 秀雄
技 師	篠原 光男	主任研究員	村上 りつ子
臨時職員	神山 ヒロ子	主任研究員	鹿島 恭子
○微生物部		主任研究員	神谷 隆久
首席研究員兼部長	武田 正	主 任	山本 和則
主任研究員	根本 治育	主 任	長峰 さつき
主 任	久保田 かほる	臨時職員	岡野 道子
主 任	関 貴代	○生活環境部	
技 師	深谷 節子	首席研究員兼部長	斉藤 匡男
臨時職員	佐藤 弘子	主任研究員	小山田 則孝
○環境保健部		主任研究員	杉浦 則夫
部 長	石崎 睦雄	主 任	黒沢 豊彦
主任研究員	上野 清一	技 師	鈴木 八重子
主 任	山田 しげり	臨時職員	南 美恵子

(3) 人事異動

◎転出 (平成4.4.1)

主査兼庶務部長	井上 勇	(長生園主査兼庶務課長へ)
微生物部長	村田 輝喜	(環境衛生課主査へ)
食品薬品部長	一条 悟朗	(県北食肉衛生検査所検査主査へ)
技 師	石田 弓子	(中央病院技師へ)

◎転入 (平成4.4.1)

主査兼庶務部長	樋口 四郎	(友部みどり学園主査兼庶務課長から)
首席研究員兼微生物部長	武田 正	(潮来保健所監視指導課長から)
首席研究員兼食品薬品部長	佐藤 秀雄	(環境衛生課主査から)
主 任	山田 しげり	(中央病院主任から)

4. 平成3年度歳入歳出決算書

(1) 歳 入

(単位：円)

科 目	決 算 額	備 考
使用料及び手数料	4,937,286	
使 用 料	3,500	電柱敷地使用料2件
手 数 料	4,908,300	試験検査手数料1,459件
諸 収 入	25,486	証明1件
雑 入	25,486	臨時職員雇用保険料, 通勤手当誤払い戻入

(2) 歳 出

(単位：円)

科 目	決 算 額	備 考
総 務 費	5,877	
一 般 管 理 費	5,877	赴任旅費
社 会 福 祉 費	503,300	
外務移住費	503,300	海外技術員研修
医 薬 費	8,220,403	
医 務 総 務 費	203,000	B型肝炎ワクチン接種
医 事 費	6,083,763	
薬 事 費	1,933,640	
環 境 衛 生 費	7,181,212	
食 品 衛 生 指 導 費	3,081,855	
水 道 施 設 指 導 費	4,099,357	
公 衆 衛 生 費	45,353,446	
公 衆 衛 生 総 務 費	50,000	
予 防 費	4,975,046	
衛 生 研 究 所 費	40,328,400	
農 林 水 産 業 費	508,999	
水 産 振 興 費	508,999	貝類毒化調査費
一 般 会 計 計	61,773,237	
流域下水道事業費	4,502,709	
常南流域下水道管理費	4,502,709	利根浄化センター放流水質調査
特 別 会 計 計	4,502,709	
合 計	66,275,946	

5. 重要な機械及び器具等 (平成3年度末現在)

100万円以上

種別	機械器具名	構造の内容	取得年度	用途
戸棚箱類	ラボ保管システム	モーベルA特	平2	微生物検査
電気機械	低温槽	レプコULT-1154	51	検査材料の保存
◇	低温恒温槽	FH-60LA	51	低温細菌の分離同定
◇	超低温槽	ESL-300	54	検査材料の保存
◇	レプコ超低温槽	ULT-300ULT-12100	55	ウイルスの保存
◇	サーミスター式体温自動集録装置	K-923	57	動物の発熱試験の測定
◇	超低温槽	日本フリーザCL-3500	63	細胞・ウイルスの保存
◇	ラビットフリーザ	日本フリーザBFU-310	平2	微生物検査
◇	冷凍機	日立フリーザCL-500	◇2	検査材料の保存
◇	キルビネーター	日立RS-D32UR	◇2	微生物材料の保存
◇	蒸留水製造装置	GS-200	◇2	蒸留水の製造
◇	◇	GRS-500	平3	◇
◇	テーハー式CO2培養器	ヒラサワCPD-170W(a)	◇	微生物の培養
◇	電気低温度恒温器	ヒラサワHL-1S	◇	◇
◇	オートスチール	ヤマトWA73	◇	蒸留水の製造
◇	冷凍庫	日本フリーザCL-50U	◇	検査材料の保存、菌株の保存、試薬の保存
◇	冷凍冷蔵庫	◇FR-120W	◇	検査材料、分別保存
◇	低温恒温槽	タイテックM210	◇	低温微生物の分離同定
◇	プログラムフリーザー	日本フリーザ-TNP-87G	◇	微生物の保存、前処理
産業機械	高速冷却遠心器	20PR-52	54	試料の分離分取
◇	大容量冷却遠心器	KR-50FA型	56	検査材料の前処理
◇	冷却遠心器	05PR-22	56	試料の分離分取
◇	自動混合希釈装置	SPR-2型	57	血清反応の希釈
◇	分離用超遠心機	SCP70H型	58	ウイルスの分離
◇	日立パーティカルローター	RPV65T	59	同上
◇	日立スイングローター	RPS40T	59	同上
◇	日立アングルローター	RP70T	59	同上
◇	パーティカルローター	RPV-50T-321	60	同上
◇	アングルローター	RP-65T-236	60	同上
◇	シュリーレン装置	ASD型	60	ウイルスの観測
◇	多本架冷却遠心機	日立CR-5DL	元	試料の分離
◇	ソースレス抽出装置	F三田村FE-AT-6A	平2	食品中の脂質の抽出装置
◇	ドラフトチャンバー	GPA(HC)-1800	◇2	有害ガス排気
◇	ドラフトチャンバー	GPA(HC)-1800	◇2	同上
◇	ドラフトチャンバー	GPA(HC)-2500	◇2	同上
◇	ドラフトチャンバー	GPA(HC)-2500	◇2	同上
◇	ドラフトチャンバー	GAV-2500HC	◇2	同上
◇	ドラフトチャンバー	GAV-2100HC	◇2	同上
◇	ドラフトチャンバー	FS-120S	◇2	有害ガス排気
◇	ドラフトチャンバー	FHP-180PA	◇2	同上
◇	ドラフトチャンバー	FW-180S	◇2	同上
◇	ドラフトチャンバー	FS-180S	◇2	同上

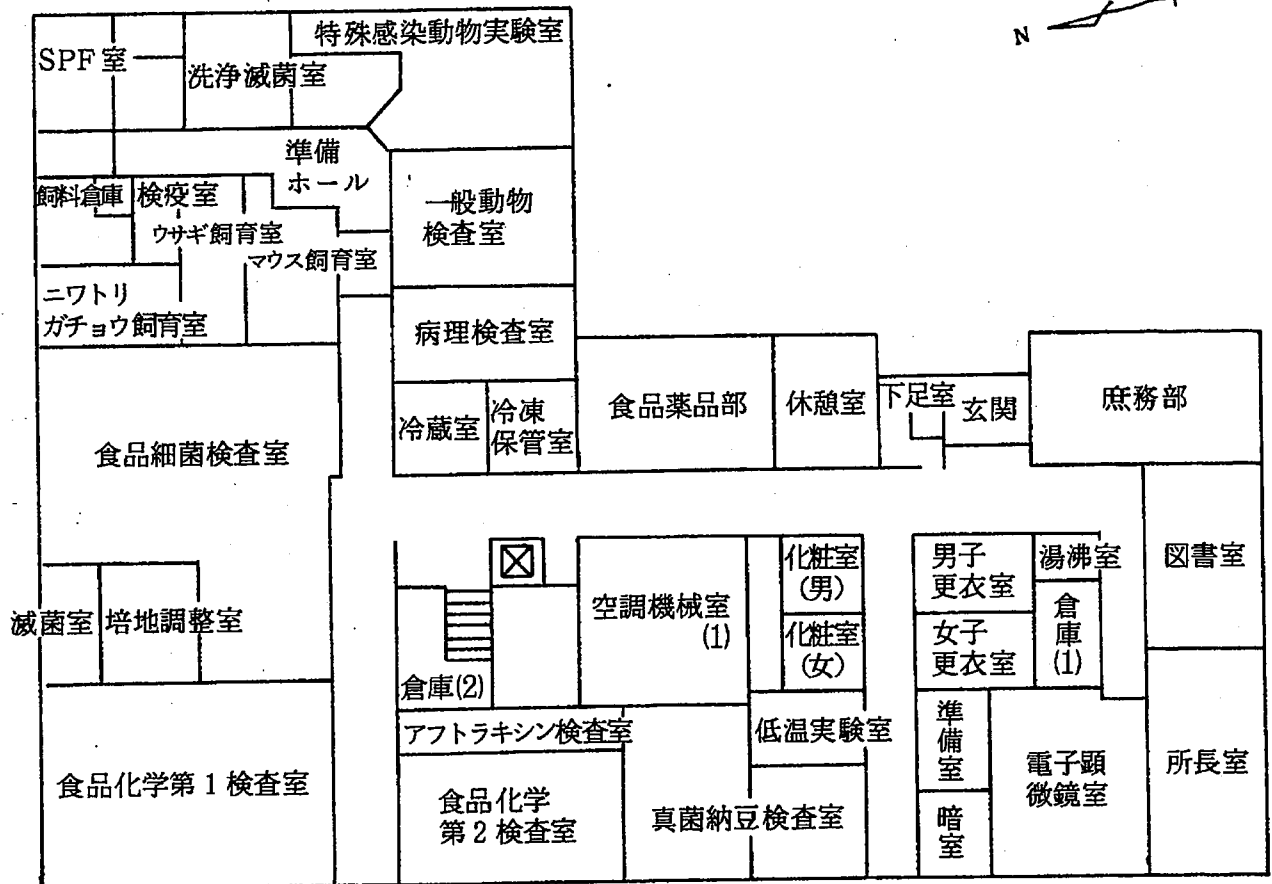
種別	機械器具名	構造の内容	取得年度	用途
産業機械	ドラフトチャンバー	ヤマトFHL-180L	平3	有害ガス排気
	ドラフトチャンバー	ヤマトFHM-180L	◇	◇
	卓上多本架遠心機	日立CT-50L	◇	検査材料の前処理
	分離用超速心機	日立CS-120	◇	微生物の分離分取
医療機械	アナエロボックス	ANB-1	55	嫌気性細菌の分離同定
	クリーンベンチ	日立ECV-1601BNK	55	細胞の維持継代
	温度勾配バイオフィォトレコーダー	TN-110型	56	細菌の発育温度域の測定
	超音波洗浄装置	MU-623型	59	器具の洗浄
	クロマトスキヤナ	CS-930	59	薄層クロマト定量
	クリーンアイソレーター	F-215	59	感染動物の飼育
	安全キャビネット	SCV1300EC11B	60	微生物検査
	エイズ抗体検査装置	アトー製	62	エイズ抗体検査
	クリーンベンチ	日立SCV1903EC11B	62	微生物検査
	全自動高圧蒸気滅菌装置	HSM-722E平沢	63	器具、培地の滅菌
	微炭酸ガス細胞培養器	平沢CP2-171	元	ウイルスの培養
	アイソレーション	ICT-10	平2	特殊感染動物室
	SPF動物飼育装置	トキワT-BCC-M	◇2	動物棟
	グローブボックス	GRI-90	◇2	
	安全キャビネット	SCV-1903EC2	◇2	微生物検査
	安全キャビネット	SCV-1303EC2	◇2	同上
	嫌気性培養装置	ヒラサワANX-1	◇2	(テーハー式アナエロボックス)
	冷凍乾燥機	ラブルLL-12SF	◇2	微生物検査
	安全式キャビネット	日立SCV-1300ECⅡW	◇2	同上
	安全キャビネット	日立SCV-1300ECⅡL	◇2	同上
	高圧蒸気滅菌器	サクラFLC-B09B3T	◇2	特殊感染動物室
	高圧蒸気滅菌器	サクラFLC-B09B3T	◇2	バイオハザード室
	透過型電子顕微鏡	日立H-7100	◇2	微生物検査理化学検査
	走査型電子顕微鏡	日立S-2500CX	◇2	同上
	クリーンベンチ	日立PCV-1303BGN3	◇2	微生物検査
	安全キャビネット	SCV-1303EC2	◇2	同上
	安全キャビネット	SCV-1302EC2	◇2	同上
	安全キャビネットクリーンベンチ	SCV-1303C2	◇2	同上
	密閉式自動固定包埋装置	CCV-1301EC	◇2	無菌検査室
	自動染色装置	サクラEPT-120BV	平3	病理組織標本のパラフィン固定
	凍結切片作製装置	サクラDRS-601A	◇	◇ 切片の自動染色
	CO ₂ インキュベーター	サクラCM-501	◇	◇ 標本の凍結結切片の作製
乾燥器	日立CH-161	◇	微生物培養検査	
オートクレーブ	平山SW-100	◇	器具の乾燥	
オートクレーブ付流し台	平山HSM-722E	◇	器具・培地の滅菌	
	日立VS-500	◇	感染防止滅菌処理	
試験及び測定器	ダブルビーム分光光度計	日立124	45	比色分析
	顕微鏡	日本光学機	45	細菌真菌の観察
	ガスクロマトグラフ	日立073	47	微量有機物質の分離定量
	けい光光度計	MPF-3	47	けい光物質の定量

種別	機械器具名	構造の内容	取得年度	用途
試験及び測定器	クーローメーター	15R-F64	47	BOD自動連続測定装置
〃	赤外線分光光度計	日立215	48	有機化合物の構造確認
〃	ガスクロマトグラフ	日立063 (FPD付)	49	有機リン化合物の分離測定
〃	自動分注器	ビベッター243	50	微生物検査
〃		ダイリユーター276		
〃	原子吸光光度計	日立170	52	金属元素の測定
〃	ゼーマン原子吸光光度計	日立170-70	53	同上
〃	自記分光光度計システム	日立200-0100	54	比色定量分析
〃	ガスクロマトグラフ	日立163-5112	54	有機物質の分離定量
〃	細管式等速電気水動分析装置	1P-2R	56	有機物質の分離定量
〃	高感度導電率検出器	ウエスキヤン213A	57	有機物質の検出器
〃	全有機炭素分析計	TOC915-B	57	水の有機炭素測定
〃	自記紫外線吸収計	イスコUVモニター	57	タンパク質分離精製
〃	2波長マイクロプレート光度計	MTP-12A形	57	血清検査
〃	高速液体クロマトグラフ	655型	58	有機物質の分離定量
〃	オリンパス落射蛍光顕微鏡	HBS-RFK-AI	59	リケッチア、クラミジア検査
〃	日立ガスクロマトグラフ	263-80型	60	有機物質の分離定量
〃	グラジェインオンクロマトグラフ	MODEL-402I	61	無機・有機イオン化合物の分離定量
〃	倒立型システム顕微鏡	オリンパスIMT-2-21	61	細胞培養検査
〃	島津ガスクロマトグラフ質量分析計	GCMS-QP1000A	62	有機物質の分離・構造確認・定量
〃	ガスクロマトグラフ付属品	島津	63	同上
〃	水銀測定専用装置	マーキュリーSP-3	63	水・食品・土中の水銀の定量
〃	高速液体クロマトグラフ質量分析計	島津STP-1000	元	有機物質の分離・構造確認・定量
〃	微炭酸ガス細胞培養器	平沢CP02-171	元	ウイルスの培養
〃	蛍光光度計	F-4010	平2	蛍光物質の定量測定
〃	原子吸光光度計	Z-6100	平2	金属元素の測定
〃	黒鉛炉原子吸光光度計	SAS-760-715	平2	微量元素の測定
〃	分光光度計	U-3410	平2	化学物質の定量
〃	高速液体クロマトグラフ	島津LC-10AD	平3	有機物質の分離定量
〃	ガスクロマトグラフ	島津GC-14A	平3	〃
〃	サンプル前処理装置	マイクロウエーブMDS-2000	〃3	有機物質の灰化
〃	自動滴定装置	三菱化GT-05	〃3	PH、硬度測定
〃	GMサーベイメーター	アロカTGS-121	〃3	放射能測定
〃	全有機炭素計	島津TOC-500	〃3	水中有機炭素測定
〃	ハンドフットクロスモニター	アロカMBR-51	〃3	放射能測定
〃	オートウェルガンマシステム	アロカARC-301B	〃3	〃
〃	ラジオクロマナイザー	アロカJTC-601	〃3	〃
〃	液体シンチレーションシステム	アロカLSC-3500	〃3	〃
〃	微量水分測定装置	平山AQ-6	〃3	薬品中微量水分測定
〃	赤外分光光度計	堀場FT-200	〃3	有機物質の定性量
〃	微分干渉顕微鏡	BHB-353N	〃3	病理組織の無染色標本の観察
〃	顕微鏡	オリンパスAHBS3-514	〃3	嫌気性細菌等の観察、撮影
〃	写真付顕微鏡	オリンパスBHS-324	〃3	病理標本等の写真撮影
〃	倒立顕微鏡	オリンパスTMT2-21	〃3	細胞培養検査

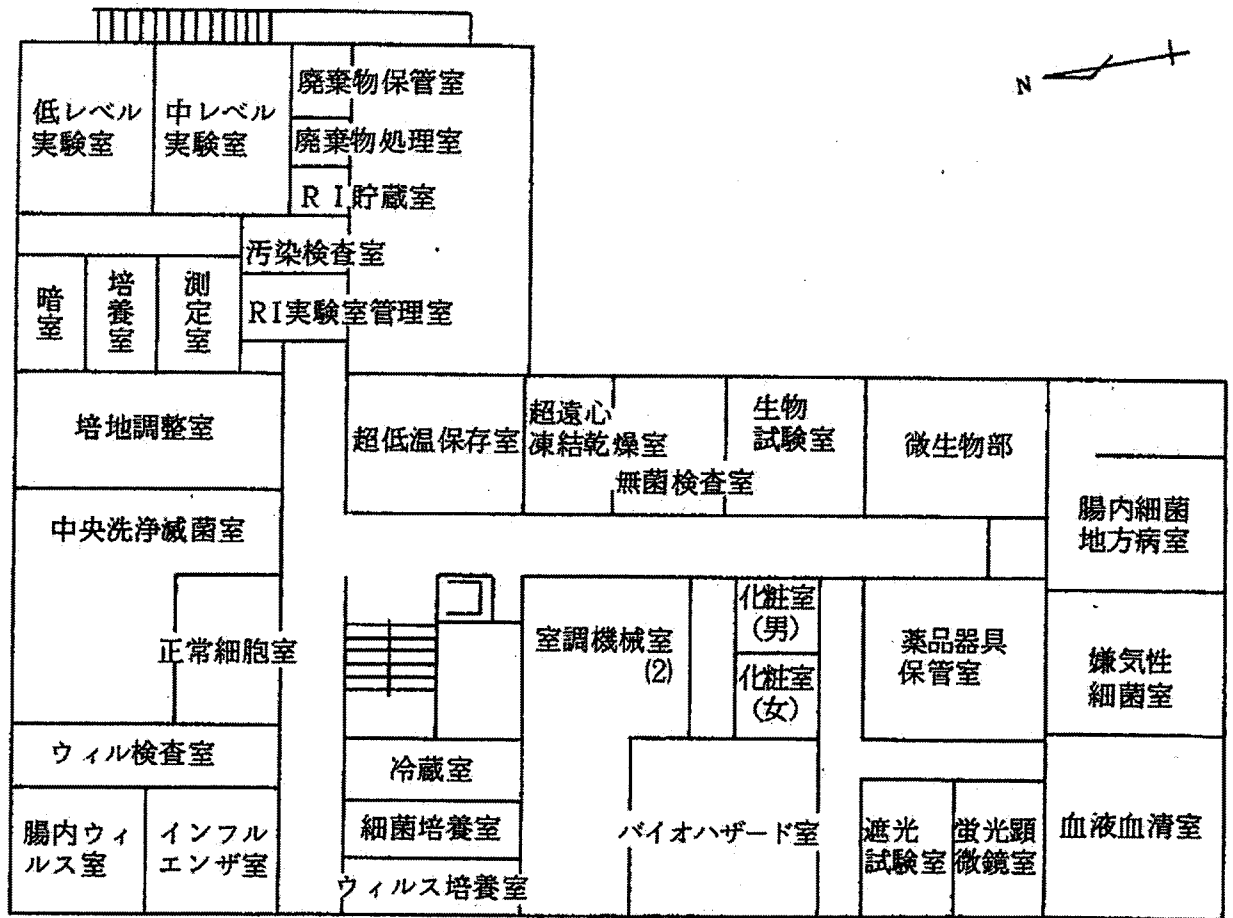
種 別	機械器具名	構造の内容	取得 年度	用 途
雑器類	デバイドベータ	N-2	平3	小動物乾燥器
〃	ゼットクラッシャー	NA-111C	〃3	小動物粉碎器
〃	放射性有機廃液焼却装置	千代田保安用品、トリスタン	〃3	放射性有機物を含んだ 有機溶媒の焼却

6. 新庁舎平面図

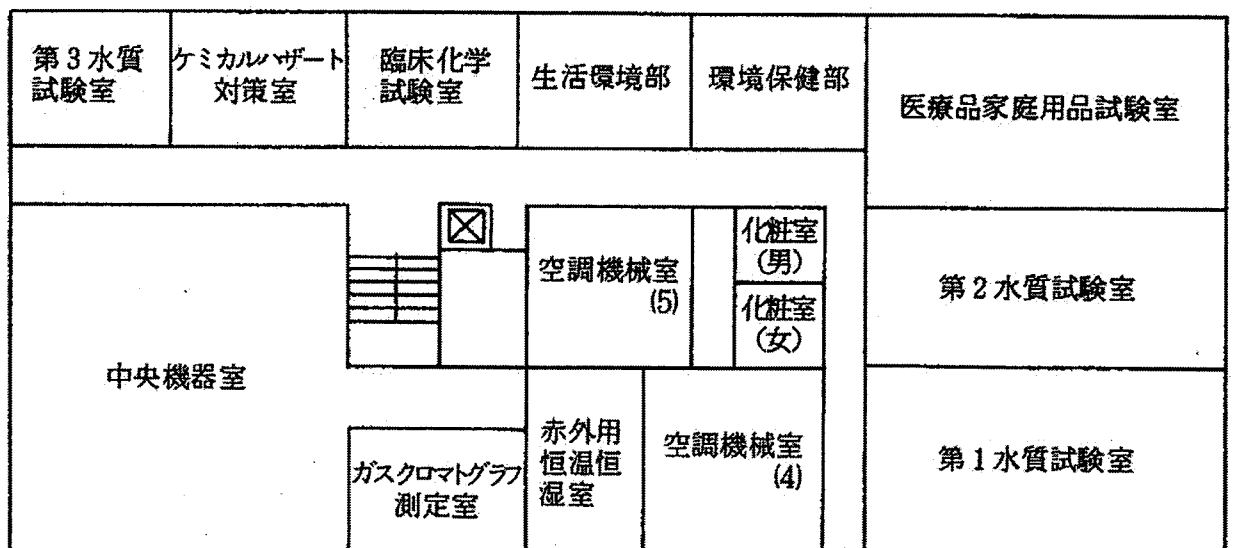
1階 1,044.79m²



2階 1,047.31m²



3階 824.63m²



第 2 章 業務の概要

1. 微生物部

1 試験検査の概況

平成3年度試験検査実施状況は、別表に示すとおりであり、その検査の内容は、次のとおりである。

(1) 行政検査

ア 細菌分離同定検査

保健所からの検査依頼による783件について、赤痢菌・腸チフス菌・コレラ菌等の分離同定を行った。

イ ウイルス、クラミジア、及びリケッチアの分離同定検査

保健所からの検査依頼によるインフルエンザ、流行性角結膜炎等の検体168件についてウイルスの分離同定を行った。また、泌尿生殖器由来の検体125件について、クラミジアの検出を行った。

平成3年12月中旬、及び平成4年1月下旬の、インフルエンザ様疾患集団発生の2事例からのウイルス分離は、A/ソ連型インフルエンザウイルス(H₁N₁)1株を分離した。検査定点からのインフルエンザウイルスの分離は、A/ソ連型(H₁N₁)8株、A/香港型(H₂N₂)1株を分離した。

MMRワクチン接種による無菌性髄膜炎患者の髄液5件からのウイルス分離は、ムンプスウイルス1件を分離した。分離したウイルス株は、ワクチン由来のものであった。

無菌性髄膜炎患者の流行があり、県内各病院から提出された髄液46件についてウイルス分離を実施し、エコー30型ウイルス31株を分離した。

ウ ウイルス、リケッチア及び細菌の血清反応検査

(ア) ウイルス血清反応検査

保健所からの検査依頼による2696件について、B型肝炎・AIDS・日本脳炎・インフルエンザウイルス等の血清反応検査を行った。

(イ) 梅毒血清反応検査

保健所からの検査依頼による119件について、血清反応検査を行った。

(ウ) その他の血清反応検査

保健所からの検査依頼による恙虫病12件、検病アメーバ14件及びウイダール1件の計25件について抗体検査を行った。

エ 医動物の同定検査

保健所からの検査依頼による赤痢アメーバの保菌検査14件について検査を行った。

オ その他の試験検査

平成3年2月、3月に社会福祉施設を中心として発生したソネ赤痢菌による赤痢の集団発生(水戸・下館・古河保健所管内等)に伴い、各保健所から検査依頼のあった赤痢菌株について、コリシン型別、薬剤感受性試験等の性状検査を行った。集団発生の分離赤痢菌のコリシン型は、12型であった。

古河保健所管内における、平成4年6、8月のJ学園(社会福祉施設)、及び9月のH学園(社会福祉施設)のソネ赤痢菌による集団発生に伴い、コリシン型別、薬剤感受性試験等を実施した。コリシン型は、J学園が12型、H学園が9A型であった。

カ 伝染病流行予測調査

平成3年度伝染病流行予測調査について、衛生部長の依頼によって次のとおり実施した。

(ア) 日本脳炎感染源調査

7月から9月までの期間のうち7月2回、8月及び9月3回の計8回、茨城協同食肉株式会社土浦営業所（と畜場）に集荷された生後5月から8月までの県内産の豚を検査し、毎回20頭採血して、豚血清中の日本脳炎赤血球凝集抑制抗体価（HI抗体価）の測定を160件実施した。

なを、HI抗体価が1:40以上のものについて2ME感受性抗体の測定を行った。

(イ) インフルエンザ感染源調査

平成3年4月から6月までの3ヶ月間及び平成3年10月から平成4年3月までの6ヶ月間に、県立中央病院で、インフルエンザ様患者から採取したうがい液及び血液についてウイルス分離と赤血球凝集抑制抗体価（HI抗体価）の測定を行った。

(ウ) 結核・感染症サーベイランス事業

感染症の監視体制によって、検査定点医療機関（45定点）からの検体136件について、ウイルス及びクラミジアの分離同定を行った。

(2) 依頼試験検査

ア 細菌性感染症

総合検診協会等から121件のサルモネラ菌等の腸内細菌の同定依頼があった。

イ ウイルス性感染症

市等から風疹及びB型肝炎等の検査依頼が232件あり、風疹HI抗体価、HBs抗原及びHBs抗体価の測定を行った。

2 調査研究

- (1) 茨城県におけるインフルエンザの流行について
- (2) 日本脳炎浸淫度調査
- (3) STDにおけるクラミジアの浸淫調査
- (4) 百日咳の疫学及びワクチンの有効性について

3 学会、論文等発表

- (1) MMR ワクチン由来による無菌性髄膜炎患者からのウイルス分離状況
地研関東甲信静支部第6回ウイルス研究会 横浜市 平成3年6月20～21日
- (2) 社会福祉施設における集団赤痢
地研関東甲信静支部第4回細菌研究会 甲府市 平成4年2月20～21日
- (3) ウイルス肝炎対策に伴う地域保健医療の展望
医学検査 40巻8号 1409-1412 1991

4 研修指導

国際交流課の依頼により、アルゼンチンの海外研修生（中角モニカ）を受け入れウイルス検査の技術研修を行った。（平成3年6月～4年3月）

保健所の衛生関係職員に対し必要に応じて、関係業務の技術的指導及び情報の提供を行った。

5 学会・研究会等出席状況

学会等の名称	開催地	年月日	人員
第40回日本臨床衛生検査学会	金沢町	3. 4.28~30	1
北関東三県衛生研究所会議	大洗町	3.11.14~15	4
地研関東甲信静支部第6回ウイルス研究部会	横浜市	3. 6.20~21	2
衛生微生物技術協議会第12回研究会	神戸市	3. 7.18~19	1
第5回エイズ学会総会	吹田市	3.12. 4~ 5	2
地研関東甲信静支部第3回細菌研究部会	甲府市	4. 2.20~21	2
第22回嫌気性菌感染症研究会	東京都	4. 2.21~22	2
ELISA研究会	東京都	4. 3. 7	1
腸管出血性大腸菌迅速検査法技術研修会	東京	3.11.21~22	1
HIV検出法(PCR)技術講習会	東京	4. 1.20~22	1
希少感染症診断技術研修会	東京	4. 1.30~31	2

別表

平成3年度試験検査実施状況

項目		検査件数			
		行政検査	有料検査	計	
細菌の分離同定	サルモネラ	1	112	113	
	赤痢	(大便)	264	0	264
		(その他)	453	0	453
	腸内細菌	52	9	61	
	結核	13	0	13	
	小計	783	121	904	
ウイルス、リケッチア及びクラミジア分離同定	インフルエンザ	105	0	105	
	流行性耳下腺炎	0	0	0	
	心筋症	1	0	1	
	咽頭結膜熱	0	0	0	
	流行性角結膜炎	11	0	11	
	無菌性髄膜炎	50	0	50	
	無菌性脳脊髄膜炎	1	0	1	
	クラジミア(EIA)	125	0	125	
	小計	293	0	293	
ウイルス血清反応	日本脳炎	160	0	160	
	インフルエンザ	63	0	63	
	風疹	62	227	289	
	ムンプス	1	0	1	
	B型肝炎	1,746	4	1,750	

項 目		検 査 件 数		
		行政検査	有料検査	計
ウイルス血清反応	A 型 肝 炎	1	0	1
	A I D S (E I A)	644	1	645
	A I D S (W ・ B 法)	16	0	16
	A I D (I F A)	16	0	16
	デ ン グ 熱	2	0	2
	小 計	2,711	232	2,943
梅毒血清反応	ガ ラ ス 板 法	0	0	0
	緒 方 法 (定 性)	50	0	50
	T P H A 法 (定 性)	69	0	69
	小 計	119	0	119
その他の血清反応	恙 虫 病	12	0	12
	赤 痢 ア メ ー バ	12	0	12
	腸チフス (ウイダール)	1	0	1
	小 計	25	0	25
医動物の同定	赤 痢 ア メ ー バ	14	0	14
	小 計	14	0	14
そ の 他	コ リ シ ン 型 別	206	0	206
	糖 分 解 能 試 験	206	0	206
	薬 剤 感 受 性 試 験	2,472	0	2,472
	小 計	2,884	0	2,884
合 計		6,829	353	7,182

2. 環境保健部

1 試験検査の概況

平成3年度試験検査実施状況は次表のとおりである。

平成3年度試験検査実施状況

項 目	検 査 件 数		
	行政検査	有料検査	計
医薬品・医療用具検査	465	39	504
化粧品検査	9	—	9
家庭用品検査	224	—	224
計	698	39	737

行政検査

(1) 医薬品検査・医療用具検査

薬務課から送付された医薬品一斉取締り検査品29件、医療用具24件、医薬品原料339件、及び県内製造医薬品73件について検査を実施した。

(2) 化粧品検査

薬務課から送付された化粧品9件について検査を実施した。

(3) 家庭用品検査

薬務課から送付された家庭用品224件について有害物検査を実施した。

2 調査研究

(1) 糖鎖を用いた環境中癌原性物質検索法の検討

(2) 脳内アルミニウムと痴呆症との関係

(3) 液体クロマトグラフィー・質量分析計を用いた医薬品成分試験法の検討

3 論文・著書

(1) 食品添加物の変異原性試験 (X), 変異原試験1, 46 - 52, 1992

(2) 衛生試験法注解, 日本薬学会編 (分担執筆)

4 学会、研修会等出席状況

学 会 等 の 名 称	開 催 地	年 月 日	人 員
腫瘍マーカー検索法研修	大阪府	3. 6. 9~15	1
関東甲信静地区地研所長会	川崎市	3. 7. 11~12	1
HPLC学会	東京都	3. 10. 29~31	1
日本薬学会	福岡県	4. 3. 28~30	1

3. 食品薬品部

1 試験検査の概況

平成3年度試験検査実施状況は次表のとおりである。

平成3年度試験検査実施状況（検体数）

種別／区分		行政検査	有料検査	計
食品衛生検査	細菌学	88	393	481
	化学分析	138	104	242
	栄養成分		1	1
	抗菌抗生物質	170		170
	食中毒毒	620		620
貝毒	17		17	
小計		1033	498	1531
医薬品等検査	無菌検査	7	12	19
	動物試験	3	16	19
	小計	10	28	38
計		1043	526	1569

(1) 行政検査

ア 食品細菌検査

9保健所で7月に収去した当54検体について、細菌数、大腸菌群、黄色ブドウ球菌、サルモネラ及び腸炎ビブリオの5項目の検査を行った。結果として、大腸菌群が37件、黄色ブドウ球菌が4件、このうち両方とも陽性であったもの4件であった。その他の検体として、菌株の同定が52件であった。

イ 食品化学検査

(ア) 残留農薬検査

保健所が青果市場で収去した、いちご、レタス等25品目50検体19農薬（有機塩素系7、有機リン系12）について検査を行った。いずれも基準以下であった。

(イ) PCB検査

7保健所が魚市場で買い上げた、スズキ、カレイ等20品目30検体について検査を行った。いずれも暫定規制値以下であった。

(ウ) 添加物検査

ごぼう等野菜の亜硫酸で31検体、柑橘類の防ばい剤ジフェニル等8検体、漬物のサッカリンNa4検体、漬物、魚練り等のソルビン酸4検体、菓子の着色料3検体、肉の発色剤2検体、天然添加物の重金属等5検体で、計57検体の検査を行った。

ウ 抗菌抗生物質

各保健所が食肉販売店から収去した170検体（豚肉50、鶏肉50、鶏卵50、鯉10、蜂蜜10）について、抗生物質及び合成抗菌剤11項目の検査を行った。いずれも不検出であった。

エ 食中毒検査

食中毒及びその疑いの発生件数29件620検体（食品168、便228、拭き取り202、水21、菌株1）の検査を行った。病因物質としては、便から67検体（病原大腸菌5、カンピロバクター16、腸炎ビブリオ31、黄色ブドウ球菌7、サルモネラ8）、食品から6検体（腸炎ビブリオ6）が検出された。

オ 貝毒検査

水産試験場が本県沿岸から採取した17検体（ムラサキイガイ7、チョウセンハマグリ10）について、麻痺性貝毒10件、下痢性貝毒9件の検査を行った。ムラサキイガイ2件から規制値を越える麻痺性貝毒が検出された。

(2) 有料検査

ア 食品細菌検査

食肉製品の成分規格検査155検体、納豆及びその容器の大腸菌群検査230検体、その他8検体の検査を行った。

イ 食品化学検査

食肉製品の添加物含有量検査100検体、その他4検体の検査を行った。

ウ 栄養分析

塩分、蛋白質等の検査を行った。

エ 医薬品等検査

血液製剤、医療用具等28検体の無菌試験及び発熱性試験を行った。

2 調査研究

- (1) ソルビン酸添加食品のマロンアルデヒド含量について
- (2) 県内で水揚げされる貝類の毒性と消長及び特性
- (3) 嫌気性菌の簡易化学同定
- (4) ウェルシュ菌の病原性と疫学に関する研究
- (5) 食中毒由来腸炎ビブリオの生化学性状について

3 学会等

- (1) 真空包装ブロック牛肉のガス発生について
日本食品衛生学会 富山市 H.3.10.24 - 10.25
- (2) Salmonella Enteritidisによる食中毒事例について
地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会 H.4.2.20 - 2.21

4 研修、指導

新採、新任食品衛生監視員（4人）、食品関係業者M社に対して食品検査技術研修を行った。又、食品衛生監視員に対して、適宜技術指導及び情報提供を行った。

5 学会、研修会出席状況

学 会 等 の 名 称	開 催 地	年 月 日	人 員
第62回日本食品衛生学会	富山市	H.3.10.24-25	4
第66回日本細菌学会関東支部総会	栃木県	H.3.11. 7- 8	1
第39回日本食品工業学会	東 京	H.4. 3.27-28	3
日本魚病学会春季大会	東 京	H.4. 3.30-30	2

4. 生活環境部

1 試験検査の概況

平成3年度における有料試験検査及び保健所等からの依頼による行政試験検査の実施状況は、次表のとおりである。

平成3年度試験検査実施状況

種別/区分		行政検査	有料検査	計
飲	水道原水	80		80
	水道水	81		81
料	井戸水（理化学）	800		800
	〃（細菌）	800		800
	〃（特定項目）	193		193
水	水質試験（54項目）	60		60
	底質試験（14項目）	36		36
河	小 分 析			
	中 分 析			
泉	衛生処理水・放流水		268	268
	下 水	12		12
合 計		2,062	268	2,330

2 主なる調査事業

1) 井戸水水質サンプル

水道普及促進事業の一環として、県内における水道の普及促進に資する目的で、11保健所管内、23市町村について、800箇所の水質サンプル調査を実施した。

2) 水道水衛生管理強化水質実態調査

平成3年度水道水衛生管理強化事業実施要領に基づき、水道施設7施設15地点72検体について、理化学検査16項目の水質調査を実施した。

3) 利根川水質調査

常南流域下水道水の利根川放流による同河川水質への影響を把握するため、利根川5地点の水質及び底質、並びに同下水道放流水について定期的分析調査を実施した。

3 調査研究

1) 地下水（井戸水）の実態調査

2) 利根川水質底質調査

3) 3県地下水汚染対策要領に基づく水質調査協力

4) 生活環境における有害物質に関する研究

4 学会、論文

(論文)

- 1) Methylation of Inorganic Selenium Compounds by Freshwater Green Algae, Ankistrodesmus sp., Chlorella vulgaris and Selenastrum sp.

衛生化学、37 (2), 83 - 88, 1991.

- 2) アオコを分解する鞭毛虫類

日本水道協会雑誌、60 (5), 2 - 9, 1991.

- 3) 鞭毛虫類によるアオコの分解

用水と廃水、33 (8), 19 - 24, 1991.

(学会)

- 1) 新しく分離した藍藻による霞ヶ浦のカビ臭発生

日本水処理生物学会第28回大会 神戸市 3.11.6~8

- 2) 霞ヶ浦のカビ臭発生の原因

第26回日本水環境学会 東京都 4.3.17~18

5 研修指導

県内の保健所及び市町村の衛生関係職員等に対して、必要に応じ、関係業務の技術的指導及び情報の提供を行った。

6 学会等出席状況

学会等の名称	開催地	年月日	人員
日本水処理生物学会第28回大会	神戸市 (舞子ビラ)	3.11. 6~ 8	1
第3回計測合シンポジウム「先端計測'92」	東京都(日本学術会議)	4. 3.16~17	1
第26回日本水環境学会	東京都 (東京大学)	4. 3.17~18	2
日本薬学会第112年会	福岡市 (九州大学)	4. 3.29~31	2

第 3 章 調 査 研 究

水戸・県西地区に発生した集団赤痢について

久保田かほる、根本治育、関 貴代、深谷節子、村田輝喜
(茨城県衛生研究所)

Outbreaks of Bacillary Dysentery in Jurisdiction of Mito Health Center
and West Area of Ibaraki Prefecture

Kaoru KUBOTA・Haruyasu NEMOTO・Takayo SEKI・Setsuko FUKAYA・
Teruyoshi MURATA

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

(1) 目 的

1991年2月12日から同年3月16日まで水戸保健所管内の社会福祉施設を中心とした集団と、1991年3月15日から下館保健所管内の社会福祉施設を中心とした県西地区において集団で赤痢が発生した。

両集団とも幼稚園児を初発患者として発展し、発生患者数は水戸地区51名、県西地区235名であった。内訳は表-1、2のとおりであり、

また、有症者については表-3のと通りの発症状況であった。

これらの患者から分離された菌株248株と、患者宅等の浄化槽などから分離された菌株9株について、感染経路の究明と、同一菌による感染であるか否かを確認するために、糖分解能、薬剤耐性、コリシン型別の検査を実施したので報告する。

表-1 水戸地区職業別発生状況

	幼稚園関係	小学校関係	中学校関係	社会福祉施設関係		計
				園 児	その他	
施設職員					6	6
団体職員	1					1
大 学 生					1	1
高 校 生				1	1	2
中 学 生			1	7		8
小 学 生		2		12	2	16
養護学生					1	1
園 児	3			3		6
乳 幼 児				10		10
計	4	2	1	33	11	51

表-2 県西地区職業別発生状況

	幼稚園関係	小学校関係	中学校関係	養護学校 関係	社会福祉施設関係		計
					下館	古河	
施設職員	6	1			11	2	20
大学生					1		1
入所者					88	21	109
児童・生徒	14		2	2	2		20
園児	36				1		37
乳幼児	10						10
会社員	8			1	1	2	12
飲食業	4						4
自営業	2	1					3
農業				1			1
無職	17			1			18
計	97	2	2	5	104	25	235

表-3 主要症状

	水戸			県西		
	(人)	(%)	(%)	(人)	(%)	(%)
合計	51		100.0	235		100.0
発熱	31		60.8	145		61.7
	31	100.0		145	100.0	
	37℃	12	38.7	37℃	39	26.9
	38℃	7	22.6	38℃	43	29.7
	39℃	10	32.3	39℃	37	25.5
	40℃	2	6.2	40℃	12	8.3
				不明	14	9.7
下痢	27		52.9	171		72.8
	27	100.0		171	100.0	
	1~3回/日	11	40.7	1~3回/日	41	24.0
	4~6回/日	13	48.1	4~6回/日	29	17.0
	7~9回/日	2	7.4	7~9回/日	5	2.9
	10~13回/日	1	3.7	10~13回/日	6	3.5
				14回/日	7	4.1
			不明	83	48.5	
腹痛	27		52.9	55		23.4
嘔吐	7		13.7	38		16.2
頭痛	0		0.0	16		6.8
血便	0		0.0	11		4.7
悪寒	0		0.0	6		2.6
関節炎	0		0.0	1		0.4
倦怠感	0		0.0	10		4.3

(2) 検査方法

ア. 保菌検査

各保健所で分離した赤痢菌は、図-1の手順に従って確認した。

イ. 食品検査

各保健所から搬入されたものについて、検査を実施した。検体の殆どが、発生施設における調理室の検食であったので検食用容器入りであった。1容器の中が9区画に細分画されていたので、1区画全量を最少量の生理食塩水と共にストマッカーで粉碎したものを試料とした。試料3白金耳をSS寒天平板培地、DHL寒天平板培地に塗抹し、図-1の手順に従って検査を実施した。増菌培養は、10mℓのセレナイト培地に試料1mℓを加え培養し図-1の手順に従って検査を実施した。

ウ. 抜き取り検査

公定法に従ってふきとってきた検体について、3白金耳をSS寒天平板、DHL寒天平板培地に塗抹し、図-1の手順に従って実施した。増菌培養はイ、と同様に行った。

エ. 飲料水および下水検査

被検水は2ℓとし、孔径が45μmの滅菌メンブランフィルターで濾過し、濾過面をSS寒天平板培地、DHL寒天平板培地に接触させ、培地の接触面を生理食塩水で湿らせた白金耳で拡散し分離培養し、取り除いたメンブランフィルターは増菌培養に供し、図-1に従って検査を行った。

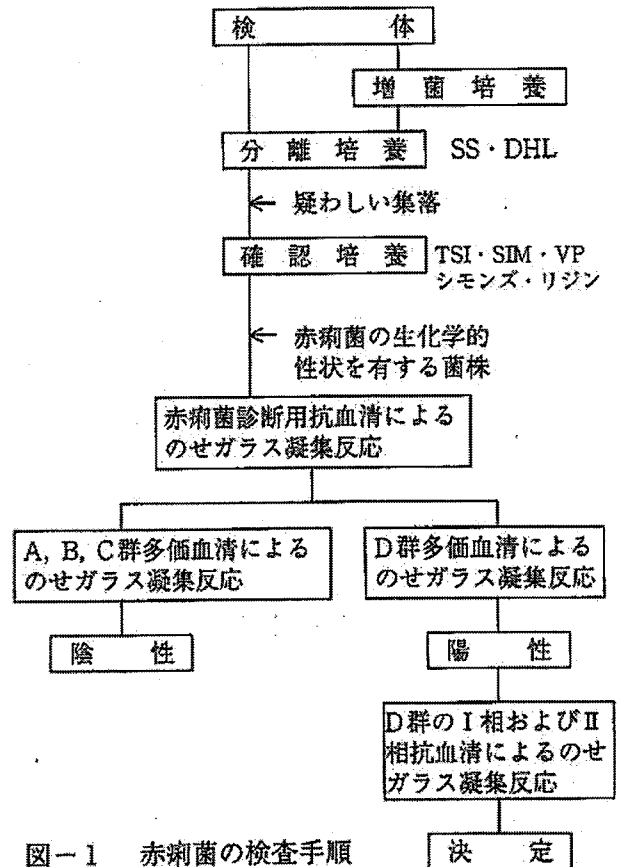


図-1 赤痢菌の検査手順

下水（浄化槽水）などメンブランフィルターで濾過不可能な検体については、3000rpm.で遠心沈殿させ沈渣を検査に供した。

オ. 糖分解能検査

確認した赤痢菌株について、N-IDテスト・EB-20（ニッスイ）を用い糖分解能検査を実施した。簡易ではあるが、感染経路の目安の一つとして実施した。

表-4 薬剤耐性検査結果（昭和ディスクー濃度法）

薬 剤 名	結 果	MIC	水 戸	県 西
Ka：カナマイシン	—	3.13	100.0 %	100.0 %
S：ストレプトマイシン	—	100	75.0 %	88.2 %
Na：ナリジキシックアシッド	—	3.13	100.0 %	100.0 %
Mno：ミノサイクリン	—	25.0	100.0 %	100.0 %
Tc：テトラサイクリン	+	≥ 100	100.0 %	91.0 %
C：クロラムフェニコール	+	≥ 200	100.0 %	91.0 %
Pd：アミノペンジルペニシリン	+	≥ 50	100.0 %	100.0 %
Pam：アモキシリン	—	3.13	100.0 %	98.1 %
Cr：セファロリジン	—	6.25	100.0 %	99.1 %
Cmz：セフメタゾールナトリウム	—	1.56	100.0 %	100.0 %
Ofx：オフロキサシン	—	0.39	100.0 %	100.0 %
Jm：ジョサマイシン	+	≥ 50	100.0 %	100.0 %

カ. 薬剤耐性検査

確認した赤痢菌株について、薬剤耐性検査を行った。被検菌液を感性ディスク用倍地-N (ニッスイ) に塗布し、表-4に示した薬剤の1濃度ディスク (昭和) を使用して行った。

キ. コリシン型別検査

確認した赤痢菌株について、コリシン型別試験を行った。試験法は、厚生省監修の微生物検査必携に準じて行った。

(3) 検査結果

各保健所から搬入される菌株および当所で検出された菌株については、その都度、生化学的性状、抗血清凝集反応検査、糖分解能検査、薬剤耐性検査、コリシン型別検査をただちに実施した。

ア. 保菌検査

各保健所から搬入された菌株は、すべて赤痢菌D群ソネ菌と確認された。相別抗血清凝集反応検査でもI相菌と確認された。

イ. 食品検査

実施件数は表-5のとおりである。すべて陰性であった。

ウ. 拭き取り検査

実施件数は表-5のとおりである。すべて陰性であった。

エ. 飲料水および下水検査

実施件数は表-5のとおりである。下段数字は、菌陽性数である。その他は陰性であった。

表-5 検査実施状況

保健所名	保菌者	食品	拭き取り	飲料水	下水
水戸	48 43	26	32	5	16 1
下館	184 178	38	239	83	44 3
古河	25 25	44	113	5	9 4
笠間	1 1				
水海道				1	1
下妻				1	2 1
高萩	2				
大子	9				
竜ヶ崎	1 1				
那珂湊	1				
合計	271 248	108 0	384 0	95 0	72 9

菌陽性検体は、患者宅または患者発生施設の浄化槽から検出された。

オ. 糖分解能検査

N-IDテスト・EB-20 (ニッスイ) を使用した検査ではあったが、97.6%の菌において、同じ糖分解能パターンを示した。糖分解能パターンは、表-6に示すとおりであった。その他の2.4%については、白糖を分解していた。

表-6 生化学的検査および糖分解能検査結果 (ニッスイIDテストEB-20)

項目	結果	項目	結果
硫化水素	-	ウレアーゼ	-
エクスリン	-	マロン酸	-
フェニルアラニンデアミナーゼ	-	アドニット	-
インドール	-	イノシット	-
VP	-	ラフィノース	-
クエン酸	-	ラムノース	+
リジンデカルボキシラーゼ	-	ソルビット	-
アルギニンジヒドロラーゼ	-	白糖	-
オルニチンデカルボキシラーゼ	-	マンニット	+
β-ガラクトシダーゼ	+	アラビノース	+

カ. 薬剤耐性検査

表-4については、全体的に共通する薬剤耐性パターンと、地区ごとに薬剤に対する共通性を百分率で示した。表-4の菌株ごとについての説明は以下に述べるとおりである。

水戸および県西地区の全被検菌の257株のうち、同じ薬剤耐性パターンを示したのは196株であり、Tc, C, Pd, Jmに対して耐性を示した。257株共通して耐性を示した薬剤は、Pd, Jmだけであった。

水戸地区においては、被検菌44株すべてがTc, C, Pd, Jmに対して耐性を示し、そのうち25.0%の11株が、わずかながらSに対しても耐性を示した。

県西地区においては、被検菌213株のうち水戸地区と同じ4剤に対してだけ耐性を示したのは、163株の76.5%であった。その4剤のうちTc, Cに感受性を示したものは19株8.9%であった。

4剤すべてに耐性を示しPamにも耐性を示した株は4株で、そのうち2株はCrにも耐性を示し、1株はSにも耐性を示した。4剤とSにわずかながら耐性を示したものは24株で、11.3%であった。

キ. コリシン型別検査

すべての菌株において12型であった。

(4) 考 察

今回の集団発生は、水戸および県西地区共に社会福祉施設を中心にして発生した。両地区とも糖分解能およびコリシン型が同一であり、薬剤耐性にも共通性が見られるにもかかわらず接点無く、同一の集団ともみなせず、またそれぞれの感染経路も解明できず不明のままであったが万全の防疫体制によって終息することができた。

また、コリシン12型は国内株でも海外由来株でも発生頻度は同じ位であり、さらに薬剤耐性の結果も考え合わせて見ても、国内株なのか海外由来株なのかは判断出来なかった。

今回の集団発生が、これほどまでに大規模に発展したのは、「おなかにくる風邪」の発熱、下痢という症状と似ていたために軽視され、1カ月位くすぶっていたのが原因ではないかと思われる。

日本脳炎感染源調査

深谷節子、根本治育、久保田かほる、関 貴代、村田輝喜
(茨城県衛生研究所)

Epidemiologic Survey of Japanese Encephalitis in Ibaraki Prefecture 1991

Setsuko FUKAYA, Haruyasu NEMOTO, Kaoru KUBOTA, Takayo SEKI and
Teruyoshi MURATA

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

I. はじめに

本調査は、流行予測調査の一環として、1965年より、わが国独自の方法として開始された。豚が日本脳炎ウイルスの増幅動物である事から、日本脳炎の流行時期である夏季に飼育豚の血清中の日本脳炎ウイルスに対するHI抗体価を測定する。感染抗体及び新鮮抗体の保有状況から日本脳炎ウイルスの侵淫度を追跡し、日本脳炎の流行状況を推定することで、日本脳炎の予防対策の基礎的役割を果たしている。

本報では、茨城県における平成3年度(1991年度)の調査結果について報告する。

II. 調査方法

1. 調査時期及び回数

平成3年7月23日(第1回採血)～9月24日(第8回採血)の各旬、合計8回。

2. 調査対象

土浦と畜場(茨城県共同食肉株式会社)に集まる県内産で生後5～8ヶ月の豚について、毎回19～20頭、合計158頭。

3. 調査内容

豚血清中の日本脳炎ウイルスに対するHI抗体(赤血球凝集抑制抗体)を測定した。HI抗体価1:10以上をHI抗体陽性とし、HI抗体価1:40以上を示した場合、新鮮感染であるかどうかの判定の為、2ME(2-メルカプトエタ

ノール)感受性抗体(IgM抗体)の測定を実施した。

調査豚のHI抗体陽性率が50%を越え、かつ2ME感受性抗体が検出されたとき、日本脳炎ウイルス汚染推定地区に指定される。

III. 検査方法

検査術式は、厚生省伝染病流行予測調査術式に基づき行った。抗原は、デンカ生研株式会社・JaGAr # 01株乾燥抗原を使用した。

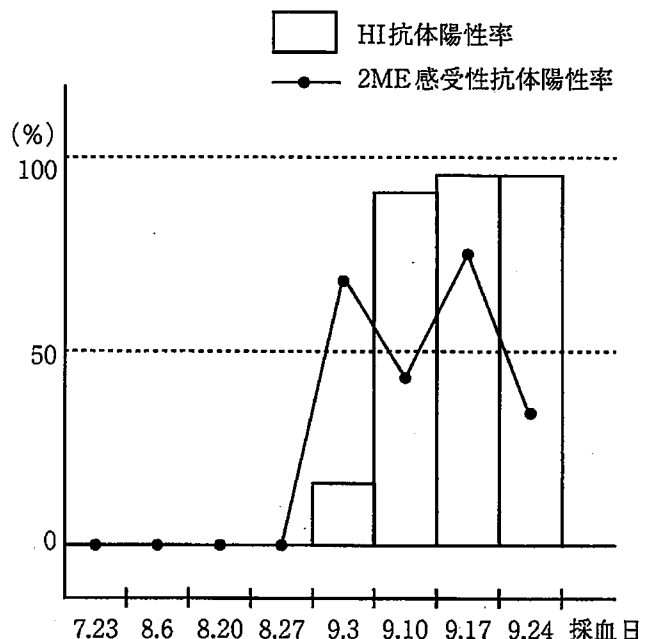


図1 平成3年度と畜場豚の日本脳炎ウイルスに対するHI抗体陽性率及び2ME感受性抗体陽性率の推移(土浦と畜場)

表1 平成3年度と畜場の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況（土浦と畜場）

回数	採血 月日	検査 頭数	HI抗体価								HI抗体陽性		2ME感受性			養豚場所	
			<10	10	20	40	80	160	320	640	≥1280	頭数	%	検査数	陽性数		%
1	7月23日	20	20									0	0	0	0	0	江戸崎町、 つくば市（桜）
2	8月6日	20	20									0	0	0	0	0	新治村
3	8月20日	20	20									0	0	0	0	0	石岡市
4	8月27日	19	19									0	0	0	0	0	石岡市
5	9月3日	20	17		1		1	1			3	15	3	2	67	石岡市	
*6	9月10日	20	2			1	1	9	3	2	2	18	90	18	8	44	石岡市
*7	9月17日	19	1			1	1	2	8	4	2	18	95	18	14	78	石岡市
*8	9月24日	20	1				1	7	8	3		19	95	19	5	26	石岡市
計		158	100		1	2	4	19	19	9	4	58		58	29		

*：日本脳炎汚染推定地区に指定

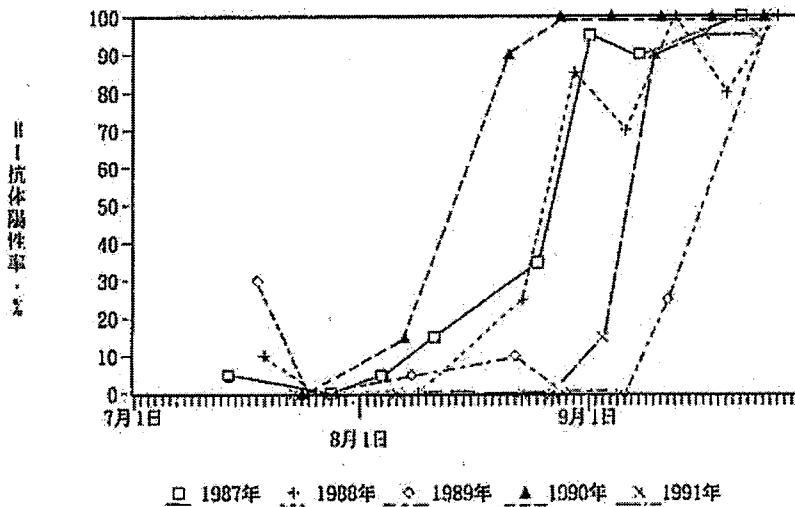


図2 豚HI抗体陽性率年次推移

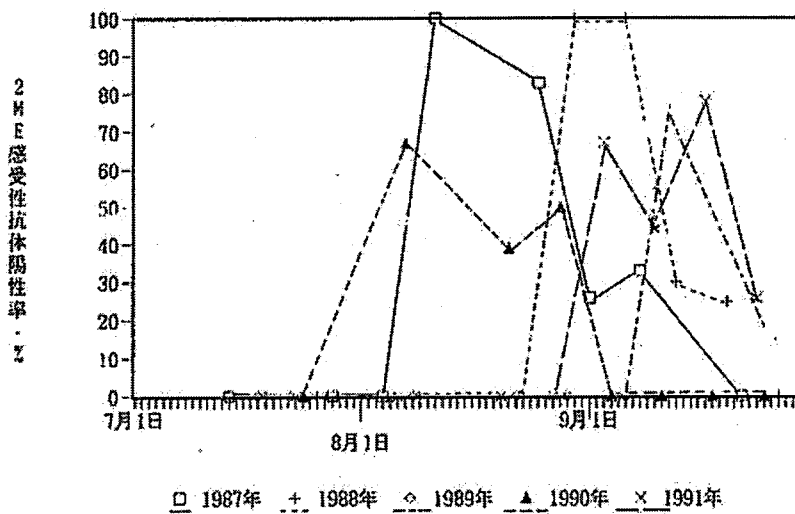


図3 豚2ME感受性抗体陽性率年次別推移

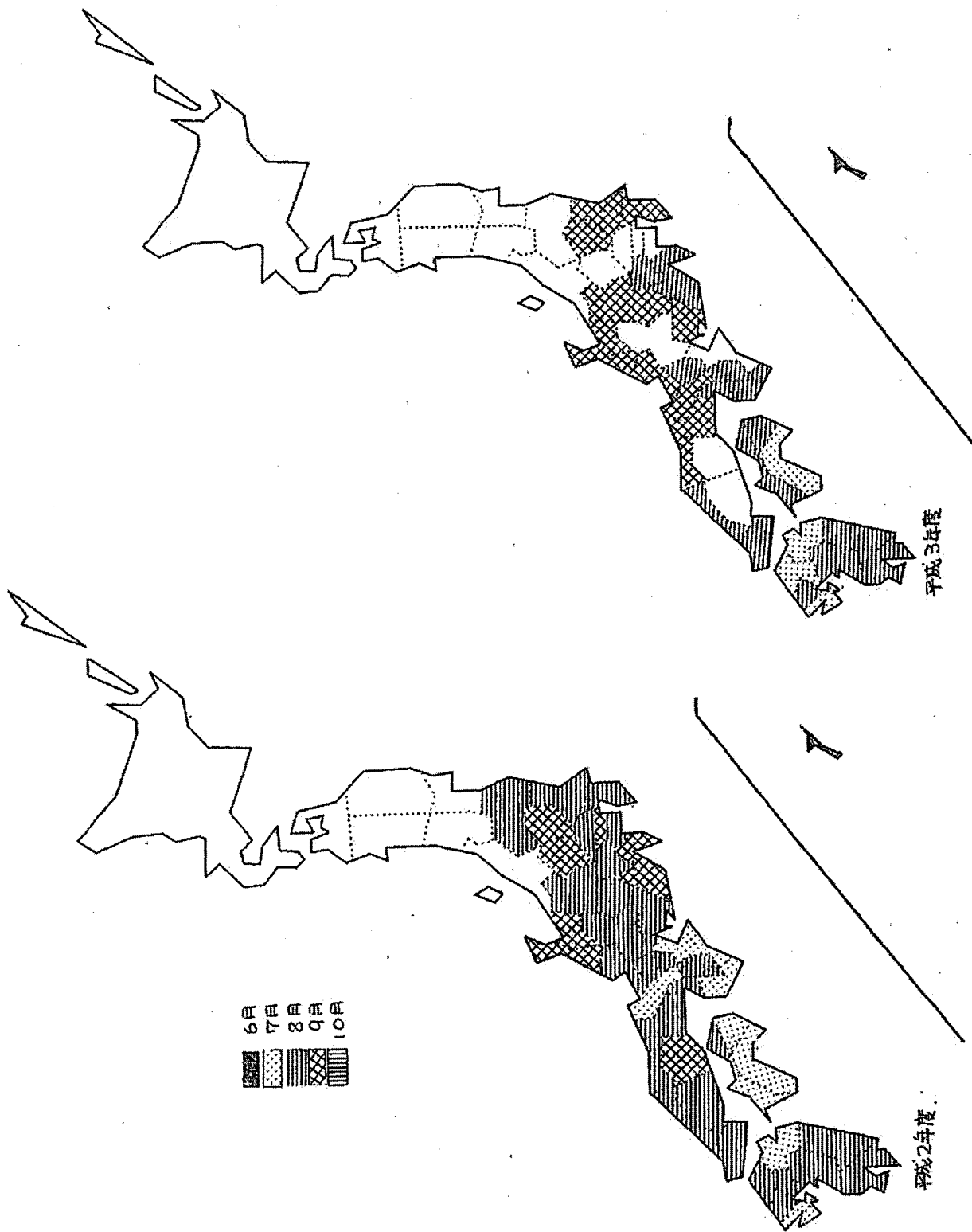


図4 日本脳炎ウイルス汚染推定地域

表2 日本脳炎患者発生状況 (全国)

	真 性		疑 似	
	患者	死者	患者	死者
平成3年度 (1991.11.26 集計)	9	2	3	1
平成2年度 (1990.11.26 集計)	50	8	7	2
平成元年度 (1989.12.2 集計)	32	3	1	1
昭和63年度 (1988.12.2 集計)	30	3	2	1

*全国日本脳炎情報 (厚生省) より抜粋

IV. 結果及び考察

平成3年度の調査結果は、表1及び図1のとおりである。8月27日(第4回採血)までHI抗体保有は無かった。9月3日(第5回採血)にHI抗体陽性率が15%と上昇し、2ME感受性抗体も検出され新鮮感染が認められた。9月10日(第6回採血)時にHI抗体陽性率90%、2ME感受性抗体陽性率44%を示し、日本脳炎ウイルス汚染推定地区に指定された。通常茨城県が日本脳炎ウイルス汚染推定地区に指定されるのは8月中旬から9月初旬であること、また、新鮮抗体の上昇・下降が9月中であることから、本年度の日本脳炎ウイルスの浸淫は例年よりも少し遅かったと考えられる(図2・図3)。

全国日本脳炎情報によると日本脳炎ウイルス汚染推定地区に指定された県は、少なかった(図4)。関東地区で汚染推定地区に指定されたのは、茨城・栃木・千葉の3県で、指定された時期も遅かった。また、東北地区以北での指定はなかった。厚生省発表の全国患者発生状況を見ても患者発生数は少なかった(表2)。以上から、全国的にはウイルスの浸淫の度合が比較的小さかったのではないかと推測する。

V. まとめ

平成3年度日本脳炎感染源調査で7月~9月の期間に158頭の飼育豚から採血し、HI抗体価を測定して次の結果を得た。

1. 9月3日(第5回採血)に陽転化始まり、9月10日(第6回採血)に抗体陽性率90%、2ME感受性抗体陽性率44%となり日本脳炎ウイルス汚染推定地区に指定された。
2. 陽転時期は、例年よりも遅かった。

参考文献

1. 厚生省：伝染病流行予測調査報告書、平成2年度、1989年
2. 厚生省：伝染病流行予測調査検査術式、平成3年度、1991年
3. 厚生省：全国日本脳炎情報、平成3年度、1991年
4. 深谷節子他：茨城県衛生研究所年報27、31、1989
5. 深谷節子他：茨城県衛生研究所年報28、28、1990

1991年茨城県における無菌性髄膜炎の流行について

深谷節子、根本治育、久保田かほる、関 貴代、村田輝喜
(茨城県衛生研究所)

Epidemiological Studies of Aseptic Meningitis in Ibaraki Prefecture 1991

Setsuko FUKAYA, Haruyasu NEMOTO, Kaoru KUBOTA, Takayo SEKI and
Teruyoshi MURATA

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

I. はじめに

無菌性髄膜炎 (Aseptic Meningitis 以下 AM) は、例年6~9月の夏季に多発する急性感染症である。AMの原因ウイルスとしてエンテロウイルスが多く検出されている。病原微生物検出情報による全国の状況は、1989年、1990年、1991年と3年連続してエコーウイルス30型 (以下 E30) 中心の流行となった。特に1991年においては、全国的に規模の大きな流行となった。茨城県における例年のAMの発生数は少なく、医療機関からのAMに関する検体の提出は稀であった。1991年は、茨城県に感染症サーベイランス始まって以来多数のAM患者が発生し、その検体を得ることが出来たので、茨城県におけるAMの発生状況及びウイルス分離状況についての結果を報告する。

II. 材料と方法

医療機関においてAMと診断された患者から採取した髄液をウイルス分離材料とした。

ウイルス分離の為に、RD18S・HeLa・Vero細胞を用いた。RD18S細胞は、24穴プレートで微炭酸下で静置培養を行った。HeLa・Vero細胞はローラーチューブで回転培養を行った。3細胞とも検査材料接種後35℃3代継代培養し、細胞変性効果 (CPE) を指標として分離を試みた。

分離ウイルス株の同定には、中和反応 (NT) を実施し、シュミット式プール血清 (国立予防衛生研究所分与) 又は、E30単身抗血清 (デンカ生研) を使用した。

III. 結果及び考察

1. 茨城県におけるAM患者発生状況 (図1)

茨城県感染症サーベイランス患者情報によると、例年患者発生数は少なく、発生のピークがなく、夏季に多発する傾向は無かった。1991年における状況は、例年と異なり全国同様7月に患者発生のピークを示し、多数の患者発生を記録して、サーベイランス情報からもAMの流行があったことがうかがえた。

2. 月別検体数とウイルス分離状況 (図2)

検査材料 (髄液) の提出状況は、1991年6月から順次増加し9月にピークを示し、その後少し12月に終息した。この期間中46名の患者から31株のウイルスを検出した (分離率67.4%)。検出したウイルスは全てE30であり、RD18Sのみからの分離であった。サーベイランス情報の患者発生数のピークと検体提出のピークとは、一致しなかった。

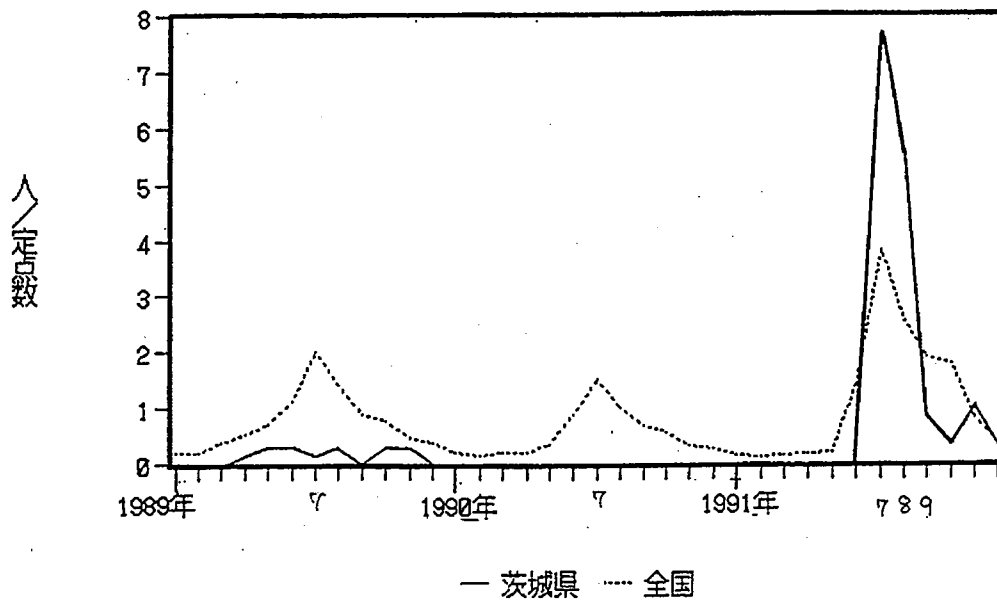


図1 定点当り患者発生数の変化

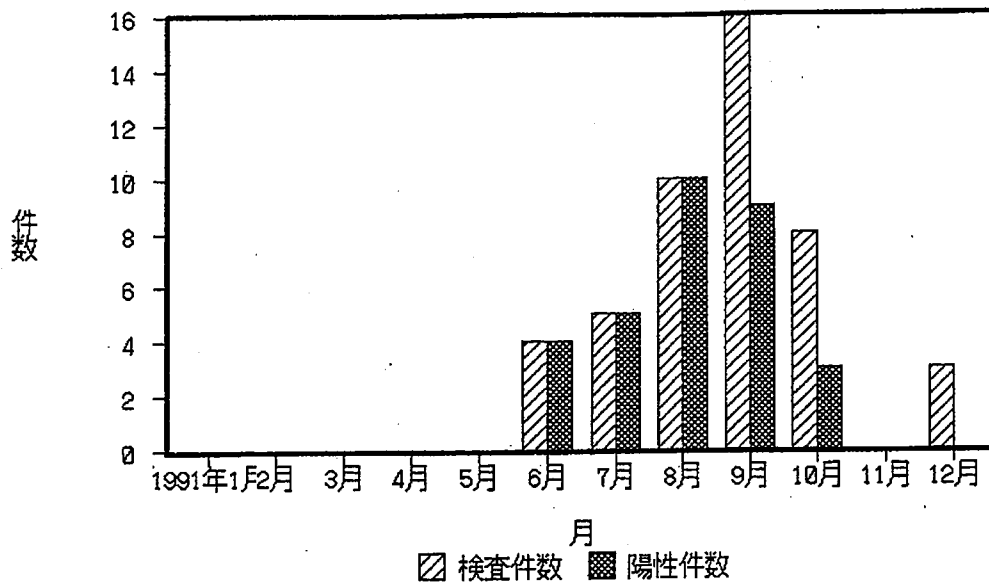


図2 月別ウイルス分離状況

3. 医療機関別ウイルス分離状況 (図3・表1)

検査材料の提出のあった医療機関の位置を図3に、医療機関別検出状況を表1に示した。A病院 (県北地区) からは、12件提出がありE30を12株検出した。B病院 (中央地区) からは19件中13株、C病院 (県西地区) からは14件中5株、D病院からは1件中1株、それぞれE30を検出した。

4. 男女別、年齢別ウイルス分離状況 (図4・図5)

検査を実施した患者46名中男性は21名 (45.7%)、女性は25名 (54.3%) であった。

また、E30検出者31名中男性は13名 (41.9%)、女性は18名 (58.1%) とAMの発生に男女差はあまりみられなかった。患者の年齢は、生後9カ月から38歳に及んだが、3歳~6歳にかけて多く集中する傾向がみられた。3歳~6歳の占める割合は、患者全体の60.9%、E30検出者の51.6%であった。

5. AM患者の臨床症状

E30を検出した患者31名中臨床情報が得られた23名について臨床症状をみると、発熱87.7%、嘔吐91.3%、頭痛78.3%であり、その他頸部硬直・下痢・関節痛がみられた。

表1 医療機関別ウイルス分離状況

	使用細胞			分離率	分離 ウイルス名
	HeLa	Vero	RD18S		
A	0/12	0/12	12/12	100%	E30(12)
B	0/19	0/19	13/19	68.4%	E30(13)
C	0/14	0/14	5/14	35.7%	E30(5)
D	0/1	0/1	1/1	100%	E30(1)
合計	0/46	0/46	31/46	—	E30(31)

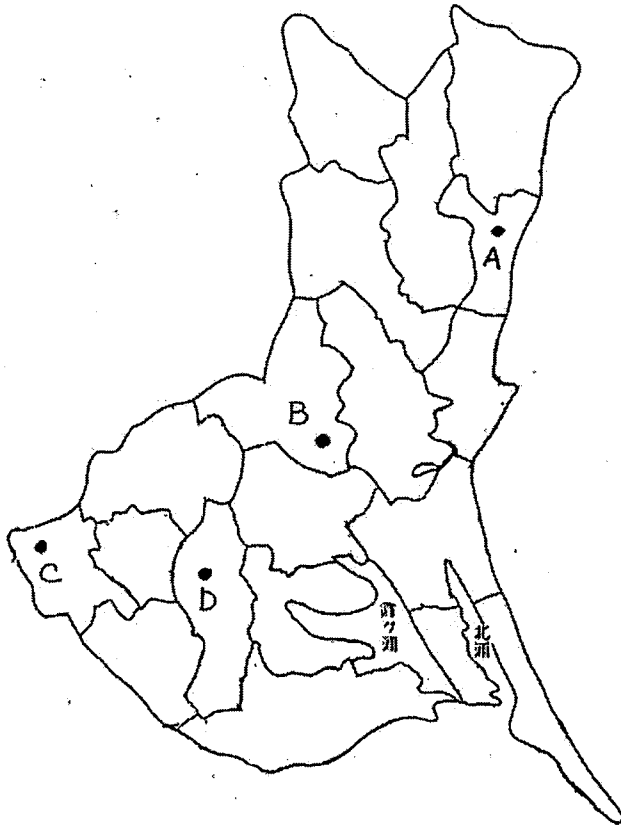


図3 検体提出医療機関分布図

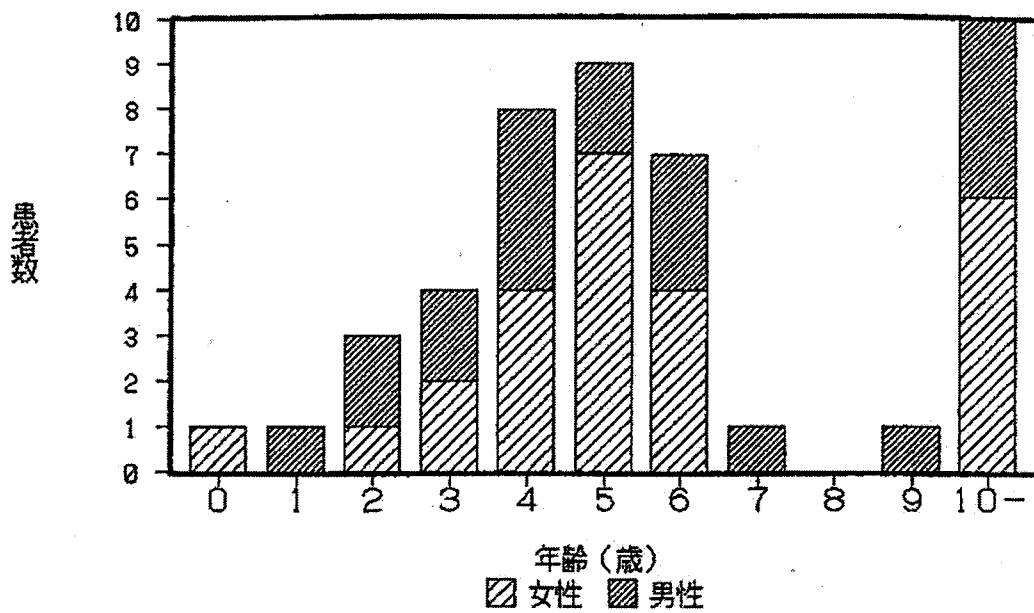


図4 無菌性髄膜炎患者の性年齢別分布

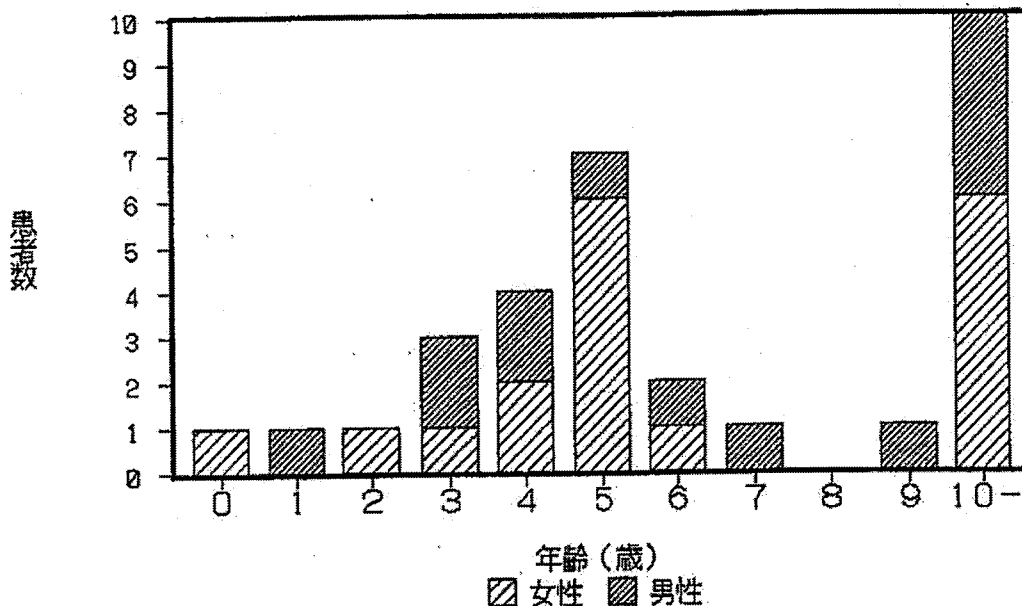


図5 ウイルス分離患者の性年齢別分布

IV. まとめ

茨城県内の医療機関から提出のあった髄液46件を検査して次の知見を得た。

1. 無菌性髄膜炎患者採取の髄液から検出したウイルスから、1991年茨城県に流行のあった無菌性髄膜炎の起因ウイルスは、エコーウイルス30型であったと考えられる。
2. 検査材料は鹿行地区を除いた全地区から集まったので、無菌性髄膜炎の流行は茨城県全体にあったと推測される。
3. 無菌性髄膜炎は、3歳～6歳に好発し、その発生に男女差はみられなかった。
4. 無菌性髄膜炎患者は、無菌性髄膜炎の主症状である発熱・嘔吐・頭痛が認められた。

無菌性髄膜炎患者のなかには、家族内感染の認められる者おり、今後ウイルスの検出を高める為に髄液の他に咽頭ぬぐい液・便からの分離も試みる必要があると思われる。また、低年齢中心の流行であったので、園児による集団発生が危惧されたが、その報告は無かった。無菌性髄膜炎の主要起因ウイルスであるエンテロウイルスは毎年型が変わるので、今後の動向に注目していきたい。

稿を終えるにあたり、RD18S細胞の分与を賜った群馬県衛生公害研究所保健科学部ウイルス課の各位に深謝いたします。また、検査材料の採取及び臨床データの提出に御協力頂きました各医療機関の先生方に深謝いたします。

参考文献

1. 国立予防衛生研究所編：病原微生物検出情報
2. 国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学各論 第二版、丸善、東京、1982
3. 厚生省監修：微生物検査必携、ウイルス・リケッチア・クラミジア検査、第3版、日本公衆衛生協会、1987
4. 北村敬著：ウイルス検査のための組織培養技術、近代出版、東京、1976

MMR・ムンプスワクチン接種後の 無菌性髄膜炎患者の発生状況について

深谷節子、根本治育、久保田かほる、関 貴代、村田輝喜
(茨城県衛生研究所)

Cause to rise of Aseptic Meningitis Patients after inoculation of
MMR・Mumps—Vaccine in Ibaraki Prefecture 1989~1991

Setsuko FUKAYA, Haruyasu NEMOTO, Kaoru KUBOTA, Takayo SEKI
and Teruyoshi MURATA

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

I. はじめに

MMR (Measles.Mumps.Rubella) ワクチンは、新三種混合ワクチンとして、平成元年(1989年)4月に統一株ワクチンとして導入された。導入当初、MMRワクチンの副反応である無菌性髄膜炎の発生頻度は数万人にひとりと言われていた。導入後、副反応とみられる無菌性髄膜炎患者が多発し、全国からの報告が相次いだ。事態の状況を把握する為、厚生省は全国の実体調査を実施し、その結果ワクチン接種後の無菌性髄膜炎の発生は約1200人にひとりの割合でおきている事が確認された。その後、MMRワクチンは保護者の希望接種となり、平成3年(1991年)10月にはワクチンメーカー3社による自社株ワクチンも導入された。

以上のような状況下で、茨城県においてもMMRワクチン由来と考えられる無菌性髄膜炎患者の発生が認められたのでその状況及びウイルス分離状況について、また、ムンプスワクチン由来と考えられる副反応(無菌性髄膜炎・耳下腺炎)の発生も認められたのであわせて報告する。

II. 材料と方法

1. 材 料

ムンプスワクチン及びMMRワクチン接種後に髄膜炎を発症した患者の髄液を検査材料とした。ムンプスワクチン接種後に耳下腺炎を発症した患者は、咽頭拭い液を検査材料とした。

2. 方 法

検査手順は図1に示すとおりである。細胞は、ムンプスウイルスに感受性のあるVero細胞を用いた。培養はローラーチューブを用いた検査材料接種後35℃で回転培養を実施した。細胞変性効果(CPE)が認められたものについては、ムンプスウイルス抗血清で中和反応(NT)を行った。CPE陰性時には、CPEを起こさないウイルス株の存在も考慮し、培養細胞の一部をスライドグラスにとり蛍光抗体直接法(FA)でムンプスウイルスの存在を確かめた。CPE・FAいずれも陰性の場合3代盲継代培養して結果とした。

NT用抗血清はデンカ生研のムンプスウイルスNT用抗血清を、FAはデンカ生研のウイルス蛍光抗体直接法用試薬を使用した。

ムンプスウイルス分離株は、ワクチンとの因果関係を探る為国立予防衛生研究所に解析を依頼した。

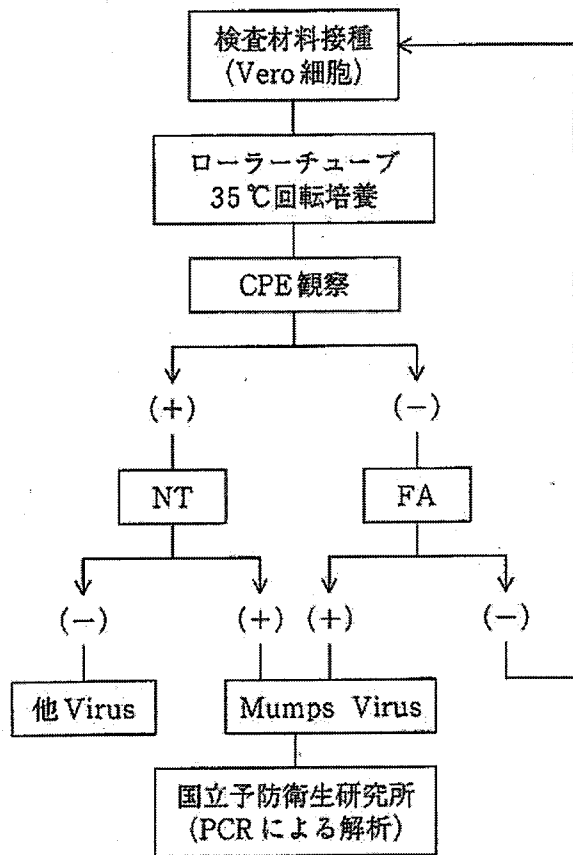


図1 検査手順

Ⅲ. 結果及び考察

1. 患者発生状況及び発生率

平成元年（1989年）10月から平成3年（1991年）3月までの患者発生状況及びウイルス分離状況を表1に示す。

MMR ワクチン接種後に発生した無菌性髄膜炎患者数は、ワクチン導入年である平成元年（1989年）に13名、平成2年度（1990年度）に6名、平成3年度（1991年度）に5名、合計25名であった。ムンプスワクチン接種後に発生した副反応は、無菌性髄膜炎患者が1名、耳下腺炎患者が1名であった。

MMR ワクチン接種後の無菌性髄膜炎患者の発生率は、平成元年度0.099%（1006人に1人の割合）、平成2年度0.126%（796人に1人の割合）、平成3年度0.158%（632人に1人の割合）、平均0.114%（873人に1人の割合）であった（表2）。全国の平均は1200人に1人の割合であったので、茨城県における発生頻度は、全国平均値より高かった。

表2 MMR・ムンプスワクチン接種後副反応発生状況

	無菌性髄膜炎		分離数	由 来		MMR 接種人員
	MMRワクチン	ムンプスワクチン		ワクチン株	野生株	
平成元年度	7/13*	0/1	7	7	・	12,073
平成2年度	5/6	・	5	4	1	3,979
平成3年度	1/5	・	1	1	・	3,162
合 計	13/24	0/1	13	12	1	19,214

	耳 下 腺 炎		分離数	由 来	
	MMRワクチン	ムンプスワクチン		ワクチン株	野生株
平成元年度	・	1/1	1	1	・
平成2年度	・	・	・	・	・
平成3年度	・	・	・	・	・
合 計	・	1/1	1	1	・

*分離数/患者数

表1 MMR・Mumpsワクチン接種後の無菌性髄膜炎患者からのウイルス分離状況(1)

番号	性	年月日	ワクチンの種類	ワクチン lot. no.	ワクチン 接種日	発病	臨床診断名	臨床症状				ウイルス分離状況			住所地
								発熱	嘔吐	頭痛	痙攣	その他	採取材料	採取日	
1	女	S63.03.01	MMR	MMR02 (北研)	89.10.9 1才7カ月	89.10.26(17日) 1才7カ月	無菌性髄膜炎	○	○			髄液 髄液	89.10.26 89.10.31		日立市
2	男	S63.03.31	MMR	MMR08 (北研)	89.10.18 1才6カ月	89.11.04(17日) 1才7カ月	無菌性髄膜炎	○	○	○		髄液	89.11.06		日立市
3	男	S63.04.15	MMR	MMR08 (北研)	89.10.18 1才6カ月	89.11.04(17日) 1才6カ月	ウイルス性 髄膜炎	○	○	○		髄液	89.11.09		勝田市
4	男	S62.07.12	MMR	H007 (武田)	89.10.20 2才3カ月	89.11.07(18日) 2才3カ月	無菌性髄膜炎	○	○	○		髄液	89.11.09	Mumps Virus (ワクチン株)	水海道市
5	女	S63.02.11	MMR	H006 (武田)	89.10.14 1才8カ月	89.11.07(24日) 1才8カ月	ウイルス性 髄膜炎	○	○			髄液	89.11.10		大宮町
6	男	S62.07.15	MMR	H007 (武田)	89.10.16 2才3カ月	89.11.08(23日) 2才3カ月	無菌性髄膜炎	○	○			髄液	89.11.11	Mumps Virus (ワクチン株)	水海道市
7	男	S61.09.03	MMR	H007 (武田)	89.10.20 3才1カ月	89.11.09(20日) 3才2カ月	無菌性髄膜炎 耳下腺炎	○	○			髄液	89.11.11	Mumps Virus (ワクチン株)	水海道市
8	女	S63.10.16	MMR	H007 (武田)	89.10.25 1才1カ月	89.11.15(21日) 1才2カ月	無菌性髄膜炎	○	○			髄液	89.11.16	Mumps Virus (ワクチン株)	水戸市
9	男	S62.10.31	MMR	H007 (武田)	89.10.19 1才11カ月	89.11.13(25日) 2才	無菌性髄膜炎	○	○			髄液	89.11.16		常陸太田市
10*	男	S63.09.25	MMR	MMR05 (微研)	89.11.24 1才1カ月	89.12.12(18日) 1才2カ月	無菌性髄膜炎	○	○			髄液	89.12.13	Mumps Virus (ワクチン株)	勝田市 *川崎市で実施
11	男	S61.12.16	MMR	009 (微研)	90.03.06 3才2カ月	90.03.26(14日) 3才3カ月	無菌性髄膜炎	○	○			髄液	90.03.28		日立市
12	男	S62.01.03	Mumps	MU317 (微研)	90.03.28 3才2カ月	90.04.13(16日) 3才3カ月	髄膜炎	○	○			髄液 咽頭拭液	90.04.16 90.04.16		八郷町
13	男	S60.10.06	Mumps	MU317 (微研)	90.03.28 4才5カ月	90.04.12(15日) 4才6カ月	耳下腺炎	○				咽頭拭液	90.04.16	Mumps Virus (ワクチン株)	八郷町

表1 MMR・Mumpsワクチン接種後の無菌性髄膜炎患者からのウイルス分離状況(2)

番号	性	年月日	ワクチンの種類	ワクチン lot. no.	ワクチン接種日	発病	臨床診断名	臨床症状				ウイルス分離状況				住所地
								発熱	嘔吐	頭痛	痲痺	その他	採取材料	採取月日	分離ウイルス	
14	女	S62.09.22	MMR	001 (微研)	90.03.20 2才5カ月	90.04.12(22日) 2才6カ月	無菌性髄膜炎	○	○	○	髄液	90.04.12 90.04.16	Mumps Virus (ワクチン株)	日立市		
15	女	S58.12.23	MMR	H008 (武田)	90.03.27 6才3カ月	90.04.17(21日) 6才3カ月	髄膜炎	○	○		髄液	90.04.17 90.04.24	Mumps Virus (ワクチン株)	日立市		
16	女	H01.03.29	MMR	A0049 (北研)	90.10.23 1才6カ月	90.11.06(14日) 1才7カ月	無菌性髄膜炎	○	○		髄液	90.11.08	Mumps Virus (ワクチン株)	竜ヶ崎市		
17	男	S62.04.23	MMR	H008 (武田)	90.11.16 3才6カ月	90.12.08(22日) 3才7カ月	無菌性髄膜炎	○	○		髄液	90.12.10		高萩市		
18	男	H01.05.15	MMR	MMR-18 (北研)	91.01.19 1才8カ月	91.02.07(19日) 1才8カ月	髄膜炎	○	○		髄液	91.02.08	Mumps Virus (ワクチン株)	日立市		
19	男	H01.06.07	MMR	0014 (微研)	91.02.25 1才8カ月	91.03.18(21日) 1才9カ月	髄膜炎	○	○	○	髄液	91.03.20	Mumps Virus (ワクチン株)	八郷町		
20	女	S63.12.06	MMR	MMR-16 (北研)	90.09.06 1才9カ月	90.10.02(26日) 1才9カ月	ムンプス髄膜炎	○	○		髄液	90.10.04	Mumps Virus (ワクチン株)	つくば市 **北研にて分離		
21	男	H01.04.12	MMR	BMMR0015 (微研)	91.05.01 2才	91.05.22(21日) 2才1カ月	髄膜炎	○	○		髄液	91.05.23		土浦市		
22	男	H01.01.28	MMR	BMMR0015 (微研)	91.05.28 2才4カ月	91.06.18(21日) 2才4ヶ月	無菌性髄膜炎	○	○	○	髄液	91.06.20 91.07.02	Mumps Virus (ワクチン株)	つくば市		
23	男	H01.02.09	MMR	H103 (武田)	91.02.15 2才	91.03.04(18日) 2才	無菌性髄膜炎	○	○		髄液	91.03.04	Mumps Virus (ワクチン株)	日立市		
24	男	H01.01.14	MMR	D007-016 (微研)	91.10.01 2才8カ月	91.10.17(16日) 2才9カ月	無菌性髄膜炎	○	○	○	髄液	91.10.18 91.11.01		つくば市		
25	男	H01.05.05	MMR	MPR103 (北研)自社株	91.11.29 2才6カ月	91.12.16(17日) 2才7カ月	無菌性髄膜炎	○	○		髄液	91.12.18		水戸市		
26	男	S63.03.26	MMR	MPR101 (北研)自社株	92.01.23 3才9カ月	92.02.12(20日) 3才10カ月	無菌性髄膜炎	○	○		髄液	92.02.13		勝田市		

(北研)：北里研究所 (武田)：武田薬品工業株式会社 (微研)：阪大微生物病研究会

表3 現在使用されているMMRワクチン

		ワクチン株			備考
		麻疹	風疹	おたふくかぜ(ムンプス)	
統	株	AIK-C	TO-336	占部AM-9	認可
自 社 株	阪大微生物病研究会	田 辺	松 浦	占部AM-9	
	北里研究所	AIK-C	高 橋	星 野	
	武田薬品工業株式会社	SchwarzFF8	T0-336	鳥 居	
	千葉血清研究所	TD97	TCRB19	NK-M46	認可申請中

2. 患者情報

無菌性髄膜炎患者25名中24名がMMRワクチンを、1名がムンプスワクチンを接種していた。耳下腺炎患者1名は、ムンプスワクチン接種者であった。MMRワクチンはほとんどが統一株であるが、平成3年11月からは自社株MMRワクチンによる無菌性髄膜炎患者の発生も認められた。ムンプスワクチン2件はいずれも阪大微研のものであった。現在使用可能なワクチンを表3に示した。

ワクチン接種から発病までの日数は14日から26日(平均19日)であり、この期間はムンプスウイルス感染時の潜伏期間と一致している。

無菌性髄膜炎患者の臨床症状は発熱(100%)、嘔吐(100%)、髄膜刺激症状(40%)、頭痛(32%)、耳下腺腫脹(8%)、頸部硬直(4%)であり、発熱・嘔吐が主症状であることがうかがわれる。

無菌性髄膜炎患者の性別発生状況は男子18名女子7名(男子2.5:女子1の割合)であり、女子より男子に多く発生する傾向がみられた。

3. ウイルス分離状況

MMRワクチン及びムンプスワクチン接種後発生した無菌性髄膜炎患者25名から13件ムンプスウイルスを分離した(分離率52%)。また、ムンプスワクチン接種後耳下腺炎をおこした患者の咽頭拭い液からは、ムンプスウイルスを1株分離した。分離したムンプスウ

イルス14株は、国立予防衛生研究所に解析依頼し、13株がワクチン由来、1株が野生株という結果を得た(表2)。野生株が分離された患者(症例番号23)は、MMRワクチン接種後18日で発病していることから接種した時期と自然感染した時期とが偶然重なったと推測する。

検査材料の採取日とウイルス分離の関係についてみると、発病後0~2日の検体で分離率60%(陽性件数12件/検査件数20件)、3~5日の検体で分離率33%(陽性件数2件/検査件数6件)と採取日が早いほど分離率は高かった。

IV. まとめ

MMR・ムンプスワクチン接種後発病した無菌性髄膜炎患者から採取した髄液25件、及び、ムンプスワクチン接種後耳下腺炎をおこした患者から採取した咽頭拭い液1件を検査して次の結果を得た。

1. MMRワクチン接種後発生した無菌性髄膜炎患者の発生率は、平成元年度0.099%、平成2年度0.126%、平成3年度0.158%、平均0.158%と873人にひとりの割合で発生し、全国の平均値(1200人にひとりの割合)より多かった。
2. 接種後副反応をおこしたワクチンの大部分がMMRワクチンであり、統一株と自社株の比率は11:1であった。平成3年10月

より自社株の使用が認められたことから、今後MMRワクチン自社株による副反応の件数も多くなると推測する。

無菌性髄膜炎患者は、発熱・嘔吐が主症状でその他髄膜刺激症状・頭痛・耳下腺炎・頸部硬直を伴った。

ワクチン接種から発病までの日数は平均19日であり、ムンプスウイルスの潜伏期間と一致していた。

無菌性髄膜炎患者の性別による発生比は、女子に比べて男子が2.5倍多かった。

3. 無菌性髄膜炎患者からムンプスウイルス13株、耳下腺炎患者からムンプスウイルス1株、合計14株を分離した。国立予防衛生研究所の解析の結果13株がワクチン由来、1株が野生株であった。

検査材料の採取日とウイルス分離の関係は、採取日が発病から早いほどウイルスの検出率が高かった。

ワクチン接種後の無菌性髄膜炎患者の予後は全員良好だったが、入院を要するなど社会的影響が大きいため、今後起因ウイルスの検出を高めワクチンとの因果関係の解明に努めると共に、安全なワクチンの開発などの対応が望まれる。

参考文献

1. 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室長通知：昭和63年12月19日
2. 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室長通知：平成元年10月25日
3. 厚生省保健医療局結核・感染症対策室予防接種係長通知：平成3年10月11日
4. 国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学、各論、第二版、丸善、東京、1987

高速液体クロマトグラフ・質量分析計による動植物中の還元型グルタチオン定量の検討

上野清一・大曾根圭子・石崎睦雄
(茨城県衛生研究所)

Determination of Reduced Glutathione in Bio-Logical Samples by
High-Perfomanced Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

Seiichi UENO, Keiko OZONE, and Mutsuo ISHIZAKI

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

I. 緒言

グルタチオンは動植物組織や酵母などに広く分布し、生体内における酸化還元反応や解毒代謝に重要な役割を果たしている。細胞内でのグルタチオンは通常還元型 (GSH) で維持され、酸化型 (GSSG) ではわずか5%以下しか存在しないとされている¹⁾。

一方、GSHの定量には従来から酵素的方法や化学的方法が多く用いられてきたが、これらの手法は特異性、検出感度、操作の煩雑さなどいずれかの点に問題を有している²⁾。このため、近年では、上記の方法よりも分離能、精度、再現性に優れた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) が生体試料中のGSHの定量に適用されるようになってきたが、この方法には定性能力にやや難点がある。

そこで、今回著者らは、HPLCよりも定性能力がはるかに優れた高速液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC/MS) による生体試料中のGSHの定性定量分析を検討したので報告する。

II. 実験方法

1. 試料

ラット肝臓及びトマトを実験に供した。

2. 試薬

トリフルオロ酢酸及びアセトニトリルは高速液体クロマトグラフィー用、その他の試薬は市販の特級品を使用した。

3. 装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ・質量分析計：島津製作所製サーモスプレー LC/MS-QP1000

カラム：Shim-pack CLC-ODS (6.0mm ϕ × 15cm)

移動相：0.1%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル (98:2)

流速：1ml/min

イオン源ブロック温度：270℃

プローブチップ温度：300℃

4. 分析法

試料約5gを採り、0.1M過塩素酸溶液でホモジナイズし、約20mlにメスアップ後、10,000rpmで10分間遠心分離する。上澄液を0.45 μ mのディスポーザブルフィルターユニット (DISMIC-13cp, ADVANTIC製) に通し、ろ液を試験液とした。この液20 μ lをLC/MSに注入した。

III. 実験結果及び考察

1. 分析条件の検討

(1) 移動相 一般に、HPLCによるGSHの分析では、移動相としてリン酸塩緩衝液²¹⁻²³⁾ やトリフルオロ酢酸溶液²⁴⁾ が用いられている。しかし、前者は難揮発性であり、ベイパライザープローブを詰まらせたり、イオン源ブロックを汚染するため、LC/MS分析には不適とされる⁶⁾。このため、揮発性溶媒であるトリフルオロ酢酸の0.1%溶液98に対し、アセトニトリル2を加えた溶液を移動相とした。

(2) LC/MS イオン源設定温度 サーモステーで生成されるイオン強度は、ベイパライザープローブ温度に強く依存する。このため、GSHにプロトンの付加した擬分子イオン (MH^+ , $m/z=308$) のイオン強度に及ぼすベイパライザー先端温度の影響をマスフラグメントグラフィー (MF) で検討した。その結果、先端温度が約230℃前後でピーク面積が最大を示した。そこで、ベイパライザー先端温度

を230℃に設定し実験を行った。なお、ベイパライザーの最適温度は個々のベイパライザープローブ間で異なる場合もあり、これを交換した場合には、最適温度を設定し直す必要がある。また、ベイパライザー先端温度ほどではないが、ブロック温度もイオン強度に影響を及ぼす⁶⁾ ため、 MH^+ のイオン強度に及ぼすブロック温度の影響についてもMFで検討した。その結果、ブロック温度が270℃近辺で MH^+ のピーク面積が最も高い値を示したので、イオン源ブロック温度は270℃に設定した。

2. 検量線及び再現性

Fig.1にGSHのマススペクトルを示したが、 $m/z=308$ のプロトン付加イオンがベースピークとして認められた。そこで、 $m/z=308$ のプロトン付加イオンで検量線を作製した。その結果をFig.2に示したが、0.001~0.1 mg/mlの範囲でほぼ原点を通る直線が得られた。また、0.01 mg/mlの標準溶液 (20 μ l) を MH^+ を用いたMFで7回連続して測定した場合の相対標準偏差は2.4%と良好な再現性が得られた。

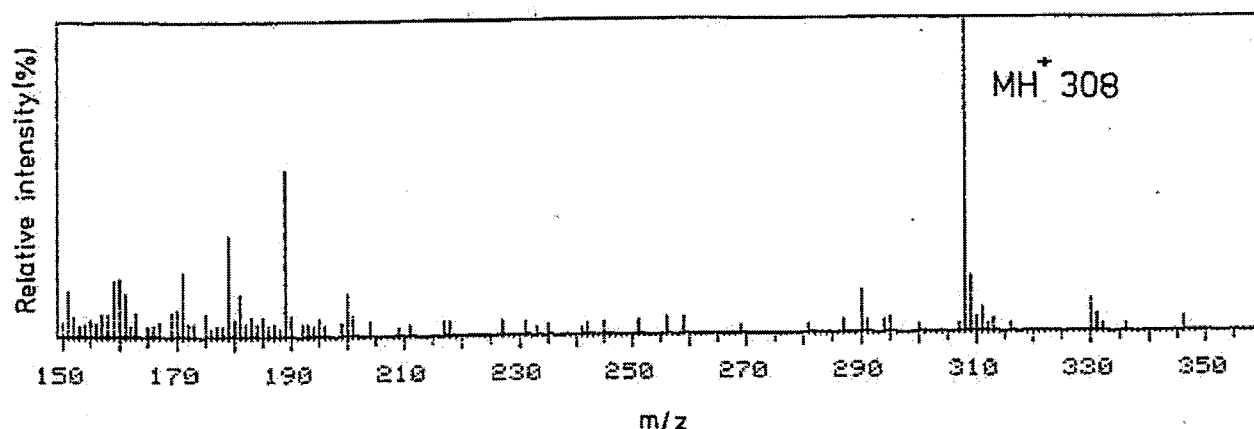


Fig.1 Mass Spectrum of Reduced Glutathione

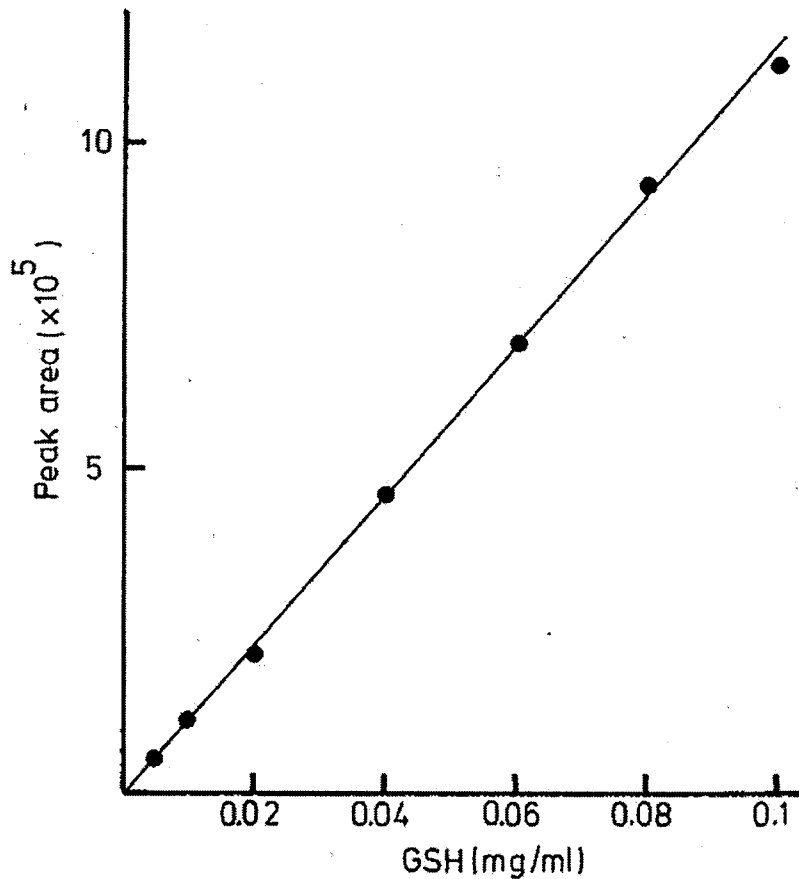


Fig.2 Calibration Curve for Glutathione

3. 実試料への応用

Fig.3にラット肝抽出液(II-4)の方法で調整した抽出液を0.1M過塩素酸で10倍に希釈した。)の全イオンクロマトグラム(TII)及びMH⁺でのマスクロマトグラム(MC)を示す。この図から、TII上の保持時間約4.5分のピークがGSHのものと推定された。実際、このピークのマスマスペクトル及びMC上のMH⁺のピークの保持時間も標準のそれと一致したので、TII上の保持時間約4.5分のピークはGSHであると確認できた。なお、MH⁺によるMFを実施し、この肝臓中のGSH濃度を測定したところ、4.9 $\mu\text{mol/g}$ 湿重量と計算された。

Fig.4はトマト抽出液のTII及びMH⁺によるMFを示したものである。この図からわかるように、TII上のGSHの保持時間約4.5分の位置にはピークが出現しておらず、また、MC上からもMH⁺のピークは確認されなかった。しかし、Fig.4のMF上ではMH⁺のピークを確認することができ、トマト中のGSH濃度は45 $\mu\text{g/g}$ 湿重量と計算された。

Table1はラット肝抽出液からのGSHの回収率を検討した結果であるが、99%と良好な値が得られた。

以上の検討結果から、本法は動植物中にGSHの確認定量法として十分実用に供し得るものと考えられる。

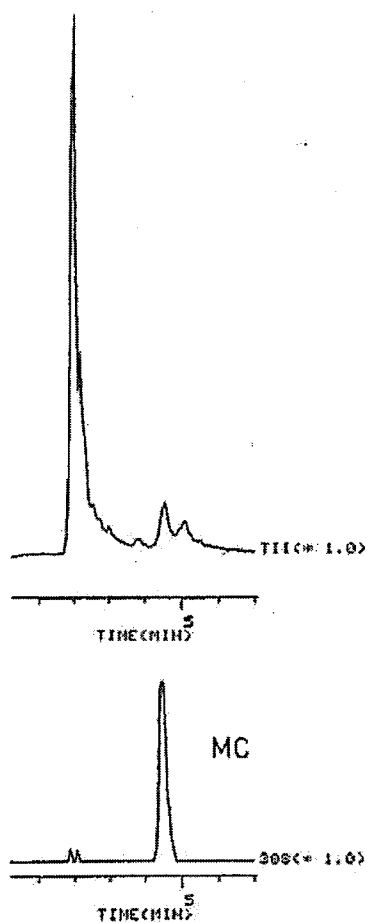


Fig.3 Total Ion Chromatogram and Mass Chromatogram of Rat Liver Extract

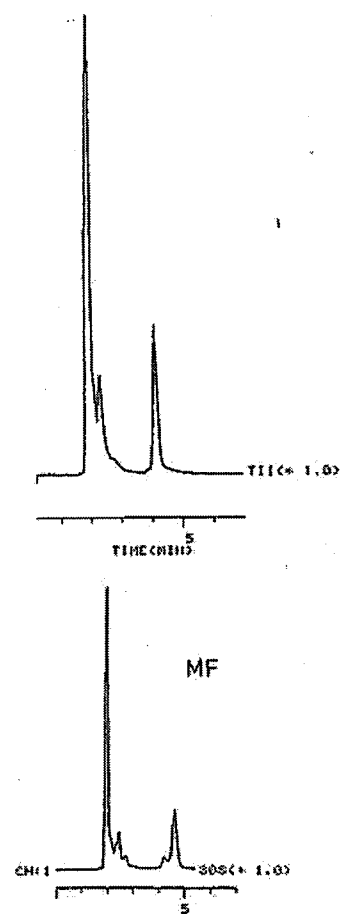


Fig.4 Total Ion Chromatogram and Mass Fragmentgram of Tomato Extract

Table1 Recovery of Added GSH from Rat Liver Homogenates

Sample	GSH Expected (ug)	GSH Added (ug)	GSH Found (ug, n = 3)	C. V. (%)	Recovery (%)
Rat liver					
0.50mg		0	0.752	1.2	
0.25mg	0.376	1	1.367	2.4	99.1

引用文献

- 1) 立石紀子, 東胤昭, 谷口直之、蛋白質核酸酸素, 33 (9), 1358 (1988)
- 2) 芝田英生, 古谷榮助, 田川邦夫, 同上、33 (9), 1392 (1988)
- 3) L.Mefford, R.N.Adams, Life Sci., 23 (11), 1167 (1978)
- 4) C.G.Honegger, H.Langemann, W.

Krenger, A.Kempf, J.Chromatogr., 487, 463 (1989)

- 5) M.Yoshiura, T.Iwamoto, T.Lee, S. Oinuma, K.Iriyama, Jikeikai Med.J., 35, 249 (1988)
- 6) 堀江正一, 斉藤貢一, 星野庸二, 能勢憲英, 寺正成, 橘和丘陽, 中澤裕之, 山根靖弘, 衛生化学, 36 (4), 283 (1990)

アルミニウム投与による脳内神経伝達物質の 変動とリズム変化に関する研究

石田弓子¹, 牛田等², 新井淑弘², 田島静子², 大曾根圭子¹, 上野清一¹, 石崎睦雄¹, 下條信弘²

(* 1 茨城県衛生研究所 * 2 筑波大学社会医学系)

The Effect of Aluminium lactate on the Rhythmus of the Locomotor Activity in Rats, and the Time Course of the Distrifution of Total Aluminium and Norepinephirine Activity in Various Brain Regions

Yumiko ISHIDA^{*1}, Hitoshi Ushida^{*2}, Yoshihiro ARAI^{*2}, Shizuko TAJIMA^{*2}, Keiko OZONE^{*1}, Seiichi UENO^{*1}, Mutsuo ISHIZAKI^{*1}, Nobuhiro SHIMOJO^{*2}

(* 1 Ibaraki Prefectual Instute of Public Health * 2 Insitute of Social Medicine, University of Tsukuba)

The present study was under taken to investigate the effects of aluminum lactate on the rhythms of the locomotor activity in rats. and then, we determined the time course of the distribution of total aluminum and norepinephrine activity in various brain regious after the lateral vlentricular single injection each of aluminum lactate and lactic acid. The locomotor activities of Al-treated and control rats were determined using an ANIMEX - A in light - dark (12 : 12) cycles and calculated with spectral analysis (by fast Fourien trans form).

The following results were obtained : Norepinephrine levels decreased only the hypothlamus and hippocampus. But to changes were shown in other regious. Aluminum levels were decreased significantly in hippocampus, cerebellum, pons - medulla and hempcyts. Another one, the most characteristic change was the

significant invreased in the hipothlamus.

Thus, it may be suggested the regional and temporal differences in accumulation could explain the changes of biogenic norephirine and aluminum levels in aluminum administered rats.

In locomotor activity, 12 - and 8 - hr ultradian rhythms were increased in the power spectrum of the aluminum treated rats. These results indicate that the increase of 12 - and 8 - th rhythms in the power spectrum in a sign of aluminum poisoning and the analysis of ultradian rhythms might be useful in the stydy o metal toxicology.

I. 目 的

アルミニウムは生物組織中の含有量も少なく、しかも生物学的意義も明らかでない。しかし、土壌中のアルミニウム濃度が高いグアム、マリア諸島では原因不明の中樞神経疾患がみられており、アルミニウムとの関係が指摘されている。¹⁾

一方、水浄化法に硫酸アルミニウムが使用された時期と透析痴呆患者の発生時期が一致し、脱イオン水に変更した後は発生がみられなくなったことが報告されている。⁹⁾ このようにアルミニウムは生活環境中のある特定経路によって生体内に侵入して中枢神経系に対して作用発現することが明らかになった。しかしながら両者間に因果関係を証明するまでの研究は少なく、またその実験的研究も乏しい。

本研究は中枢神経に対するアルミニウムの影響を解明するために、モデル実験としてラットの側脳室にアルミニウム化合物を直接投与して、脳各部位に分布するアルミニウムの動態と、それに伴って変動する脳内の神経伝達物質の活性変動を求めた。更にその影響指標として、アルミニウム投与ラットの自発行動量と日内リズム変化を解明して、アルミニウムの中枢神経への影響を明らかにすることを目的とした。

II. 実験方法

1. 実験動物：Wister系雄性ラット（7週齢，日本クレアK.K）を購入し、室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ，湿度約50%の飼育室で1週間飼育したのち実験を行った。飼料（CE-2，日本クレアK.K）と飲水（精製水）は自由摂取させた。

2. 投与物質および投与方法

飼育室内で環境に馴化させた8週齢のラットはネンブータルで麻酔下に頭皮を開いた後、脳固定装置に固定し、Bregmaから左方1mm，後方1.5mmの位置に穴を開け、ビニールチューブと接続したL字カニューレを側脳室に挿入し、デンタルセメントで固定した後、切開部位を縫合糸を用いて縫合した。1週間後にマイクロシリンジでA1群には $0.37 \mu\text{mole}$ の乳立アルミニウムを、対照群には同量の乳酸をそれぞれ側脳室に1回ずつ投与した。

3. アルミニウムの測定

A1群は投与前日並びに投与後、1，4，8，12および16日目にそれぞれ5匹ずつエーテルで深麻酔下，開胸して心採血を行ったのち、生理

食塩水で心臓灌流をして脱血後、脳、肝、腎を摘出した。脳はGlowinski - Iversenの方法に従って、前頭葉，中頭葉，後頭葉，視床，視床下部，線条体，海馬，中脳，延髄一橋，小脳，嗅結節の11部位に分画した。血液は3,000rpmで10分間遠心分離して赤血球と血漿に分けた。これら試料はそれぞれ30mg精秤して10%-HNO₃0.1mを加え、サンプル前処理装置MDS-2000（アテックスK.K）で湿式灰化をしたのち、フレイムレス原子吸光（SAS7500原子吸光分光光度計，セイコー電子工業K.K）でアルミニウムを測定した。

4. ノルエピネフィリンの測定

A1群は投与前日、投与後1，4および12日の一定時刻（PM2:00-4:30）に断頭によって屠殺し、氷水中で脳砂摘出、クールボックス内で同様に前頭葉，後頭葉，視床下部，海馬，延髄・橋，小脳に6分画してノルエピネフィリン測定用試料とした。試料は -80°C で測定日まで凍結保存した。試料に0.4N-過塩素酸 $130 \mu\text{l}$ とジヒドロキシベンジルアミン $100\text{ng}/10 \mu\text{l}$ を $10 \mu\text{l}$ 加えて超音波処理した。次にCHCl₃ $50 \mu\text{l}$ を加え 4°C の低温室で遠心分離（10,000rpm，10min）して上清とCHCl₃層とに分けた。水層 $35 \mu\text{l}$ に1.5M-Tris·HCl（PH8.5） $45 \mu\text{l}$ ，0.02M-EDTA $10 \mu\text{l}$ ，活性アルミナ5mgを加えて20分攪拌し、水層を除去した後、dist-H₂O $120 \mu\text{l}$ で2回洗浄した。0.4N-過塩素酸 $60 \mu\text{l}$ を加えて20分間振盪し、水層 $5 \mu\text{l}$ を分取してノルエピネフィリン測定試料とした。ノルエピネフィリンの測定は電気化学検出器（Chulochm 5100A，INC，USA）を接続した。高速液体クロマトグラフィー（Beckam mode 1114）を使用した。

5. 自発行動量の測定

L字カニューレを固定したラットはそれぞれをポリカーボネートのケージに入れ、実験動物運動量測定装置ANIMEX-3A（島津製作所）でラットの自発行動量を1週間連続して

測定した。その後、対照群には乳酸を、A1群には乳酸アルミニウムを側脳室にそれぞれ0.37 μ moleずつ1回投与して同装置で10日間連続して自発行動量を測定した。ANIMEX-3Aで測定したラットの自発行動量は、接続したプリンターPT-2 (島津製作所) へデジタル出力すると共に連動したコンピュータFM-8 (富士通) のフロッピーに入力させた。なお、実験者の入室した時間帯と退室後30分間の自発行動量のデータは解析から削除した。

6. 自発行動量およびリズム解析

自発行動量は15分間隔で記録し、それを明期、暗期および全日に集計し、各群の投与前を1%とした相対行動量を経日的に表した。また自発行動量のデータは高速フーリエ変換 (FFT) し、2.6日毎のパワースペクトルを求め、サーカディアンリズム (24h rhythm), ウルトラディアンリズム (12h

rhythm, 8h rhythm) の経日変化を調べた。リズム解析には和田のFFTプログラムを一部修正して用いた。

III. 結 果

1. 臓器および血液中のA1濃度

乳酸アルミニウムを脳室内に投与後、1, 4, 8, 12および16日目の臓器および血液中のA1濃度を Table1 に示した。

投与後1日目にA1濃度が最大値を示した臓器および血液成分は、後頭葉、嗅結節、肝、腎、全血、血球、血漿であった。これらのうち嗅結節のみは16日に最低値となったが、その他はいずれも8日に最低値となった。A1濃度を投与後1日と比較した場合、血球のみは4, 8, 12および16日にいずれも有意差 ($P < 0.05$) で低下したが、他の臓器および血液成分のA1濃度には有意の差がみられなかった。

Table1. 乳酸アルミニウム投与後の臓器および血液成分中の経日的A1濃度

	1日	4日	8日	12日	16日
前頭葉	1.415 \pm 0.118	1.077 \pm 0.611	0.923 \pm 0.671	0.949 \pm 0.534	2.215 \pm 1.722
中頭葉	1.181 \pm 0.598	0.958 \pm 0.565	0.536 \pm 0.276	0.724 \pm 0.293	1.902 \pm 0.850
後頭葉	0.891 \pm 0.573	0.792 \pm 0.285	0.459 \pm 0.173	0.589 \pm 0.422	0.721 \pm 0.174
視床下部	1.154 \pm 0.484	2.035 \pm 0.713	5.458 \pm 0.770**	7.423 \pm 2.897*	4.369 \pm 4.744
線条体	1.143 \pm 0.762	0.516 \pm 0.159	0.525 \pm 0.293	2.270 \pm 0.873	2.206 \pm 1.113
海馬	1.278 \pm 0.401	0.511 \pm 0.202*	0.938 \pm 0.524	1.333 \pm 0.377	2.327 \pm 1.382
黒質	1.109 \pm 0.059	0.757 \pm 0.635	0.784 \pm 0.164*	1.242 \pm 0.477	0.814 \pm 0.377
延髄・橋	1.057 \pm 0.373	0.470 \pm 0.166*	0.708 \pm 0.236	1.301 \pm 0.863	0.519 \pm 0.306
小脳	1.414 \pm 0.088	0.325 \pm 0.188**	1.045 \pm 0.300	1.547 \pm 1.021	0.641 \pm 0.333*
嗅結節	1.617 \pm 1.086	1.212 \pm 1.178	1.249 \pm 0.826	0.848 \pm 0.316	0.842 \pm 0.498
視床	1.577 \pm 1.146	0.439 \pm 0.320	0.909 \pm 0.208	1.747 \pm 0.249	0.631 \pm 0.372
肝臓	1.164 \pm 0.837	0.506 \pm 0.348	0.302 \pm 0.146	0.435 \pm 0.196	0.354 \pm 0.127
腎臓	0.638 \pm 0.148	0.399 \pm 0.072	0.369 \pm 0.315	0.592 \pm 0.308	0.459 \pm 0.172
血漿	0.698 \pm 0.460	0.287 \pm 0.134	0.110 \pm 0.069	0.274 \pm 0.106	0.271 \pm 0.146
全血	0.449 \pm 0.218	0.248 \pm 0.085	0.136 \pm 0.072	0.230 \pm 0.089	0.248 \pm 0.159
血球	1.102 \pm 0.619	0.246 \pm 0.201*	0.145 \pm 0.146*	0.180 \pm 0.081*	0.109 \pm 0.065*

1日との比較, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

視床下部, 線条体, 黒質, 延髄・橋, 小脳, 視床の脳画分のA1濃度は12日に最大値となり、視床下部は1日に最低値を示し、その他の脳画分中のA1濃度は4日が最低値であった。1日のA1濃度と経日的に比較した場合、視床下部は8月 ($p < 0.01$) と12日 ($p < 0.05$) に有意の差で上昇した。黒質は8日 ($p < 0.05$) に有意

の差で低下した。延髄・橋は4日 ($p < 0.05$) に有意の差で低下した。小脳は4日 ($p < 0.01$) と16日 ($P, 0.05$) に有意の差で低下した。前頭葉と中頭葉は8月に最低値となり、16日が最も高くなった。また海馬は4日に1日よりも有意の差 ($P < 0.05$) で低下したが、16日に最大値を示した。

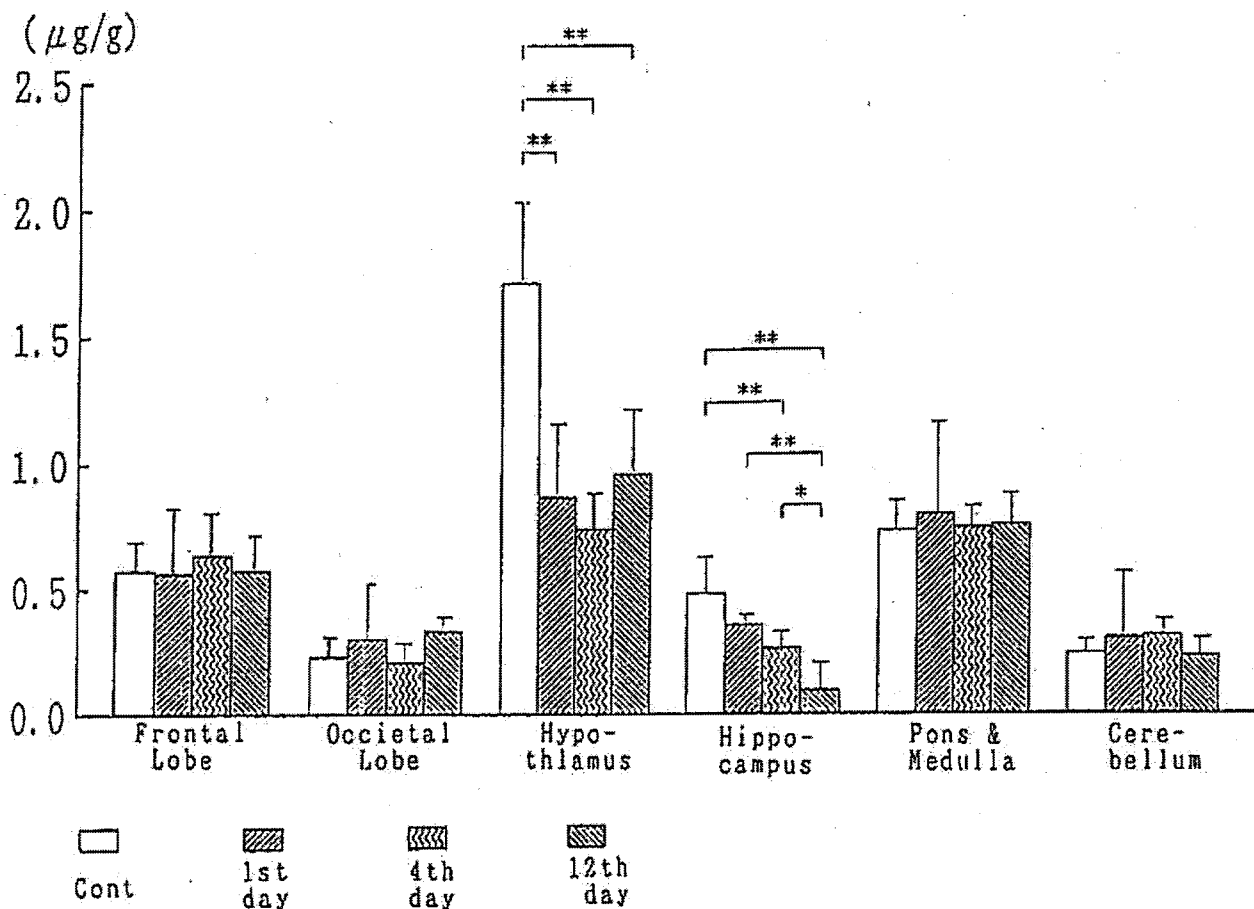


Fig. 1. 脳室に乳酸アルミニウムを投与する前と後の脳画分中ノルエピネフィリン濃度の経日変化. * : $P > < 0.05$, ** : $P < 0.01$

2. 脳内ノルエピネフィリン (NE) 濃度変化
 乳酸アルミニウムを投与する前と投与後1, 4, 12日における脳画分中のNE濃度をFig1に示した。

投与前における前頭葉のNE濃度は 0.583 ± 0.088 であり、A1投与後もほぼ同じ値で有意の差はみられなかった。投与前の後頭葉のNE

濃度は、 0.234 ± 0.055 であり、12日目には最大値 (0.334 ± 0.044) となったが、経日的に比較した場合、有意の差はみられなかった。視床下部では投与前 (1.716 ± 0.252) が最も高く、A1投与後は $0.749 \sim 0.966$ の濃度範囲で推移し、対照群に比べていずれも有意の差 ($P < 0.05$) で低下した。海馬のNE濃度は投

与前 (0.484 ± 0.124) が最も高く、投与前と比べて8日 ($P < 0.01$), 12日 ($P < 0.01$) に有意の差で低下し、12日の値と比較した場合4日 ($P < 0.01$), 8日 ($P < 0.05$) に有意の差で低下した。延髄・橋のNE濃度はA1投与後も投与前 (0.731 ± 0.092) とほぼ同じ値であった。小脳のNE濃度は投与前 (0.240 ± 0.030) であり、1日と4日に約0.310まで上昇したが、12日には投与前とほぼ同じ値になった。

脳画分中のA1濃度とNE濃度との間に量一反応関係はみられなかった。

3. 自発行動量変化

乳酸を投与した対照群と乳酸アルミニウムを投与したA1群の投与前日の行動量をそれぞれ1としたときの相対行動量を経日変化として、全日、明期、暗期に分けてFig2に示した。

全日および暗期の行動量は対照群、A1群い

ずれもほぼ一定値で推移しており、投与後10日間の平均値でみると、全日の対照群 1.134 ± 0.941 , A1群 1.216 ± 1.091 であり、暗期の対照群 1.130 ± 0.906 , A1群 1.198 ± 0.989 であった。乳酸の投与によって全日と暗期のいずれも13%程度の行動量の上昇がみられ、乳酸アルミニウムの投与によって全日と暗期のいずれも20%程度の行動量が上昇した。一方、明期の相対行動量は全日・暗期と同様にA1群の方がやや高値であり、投与後10日間の平均値は対照群 1.148 ± 1.158 , A1群 1.308 ± 1.269 であった。即ち、明期行動量は乳酸の投与によって全日・暗期行動量とほぼ同様に15%の行動量の上昇をみたが、乳酸アルミニウムを投与した場合、30%の行動量が上昇した。しかし、全日・暗期・明期における相対行動量を対照群とA1群で経日的に比較した場合、いずれも有意の差はみられなかった。

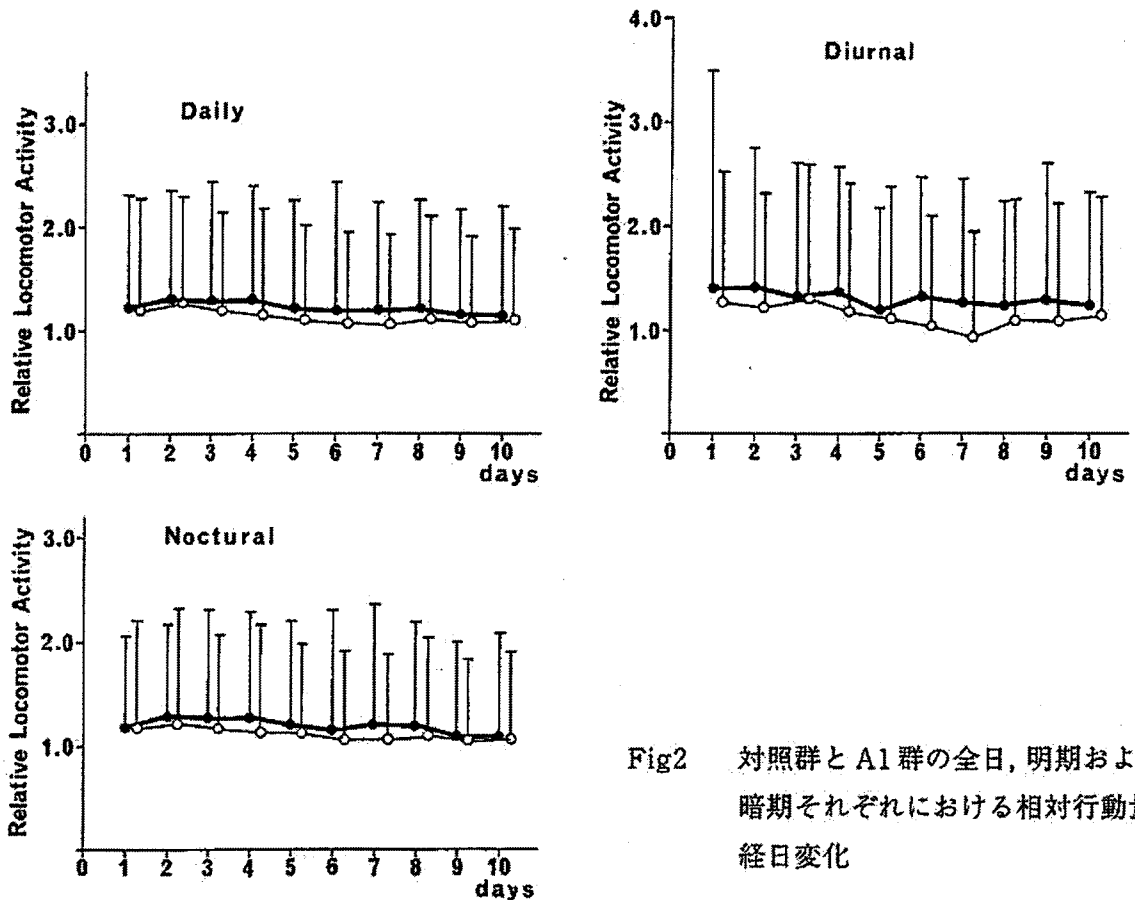


Fig2 対照群とA1群の全日、明期および暗期それぞれにおける相対行動量の経日変化

4. リズムパワー変化

投与前と投与後10日間の対照群とA1群のサーカディアンリズム (24hr) とウルトラディアンリズム (12hr, 8hr) をリズムパワーとして Fig3 に示した。

24hrリズムパワー値は対照無, A1群いずれも投与前とほぼ同じ値で推移し投与後10日間の平均値は対照群 10.855 ± 3.77 , A1群 12.463 ± 3.73 であり、両群のリズムパワーを経日的に比較した場合も投与後10日間の平均値で比較した場合も有意の差はみられなかった。

A1群の12hrリズムパワーは経日的に増減をくり返して低下した。一方、対照群のリズ

ムパワーは投与後3日に投与前の53%まで低下し、この時点においてはA1群よりも有意の差 ($P < 0.05$) で低値となった。しかし5日には 1.220 ± 0.97 まで回復した。また投与後10日間の平均値は対照群 (0.956 ± 0.65) はA1群 (1.196 ± 0.90) の80%であったが両群間に有意の差はみられなかった。

8hrリズムパワーは対照群で8日目に最低値の 1.280 ± 0.71 となり、A1群の 2.370 ± 1.57 よりも有意の差 ($P < 0.05$) で低値となった。しかし、8hrリズムパワーを10日間の平均値で見るとA1群 2.286 ± 1.32 , 対照群 1.933 ± 1.42 であり、両群間に有意の差はみられなかった。

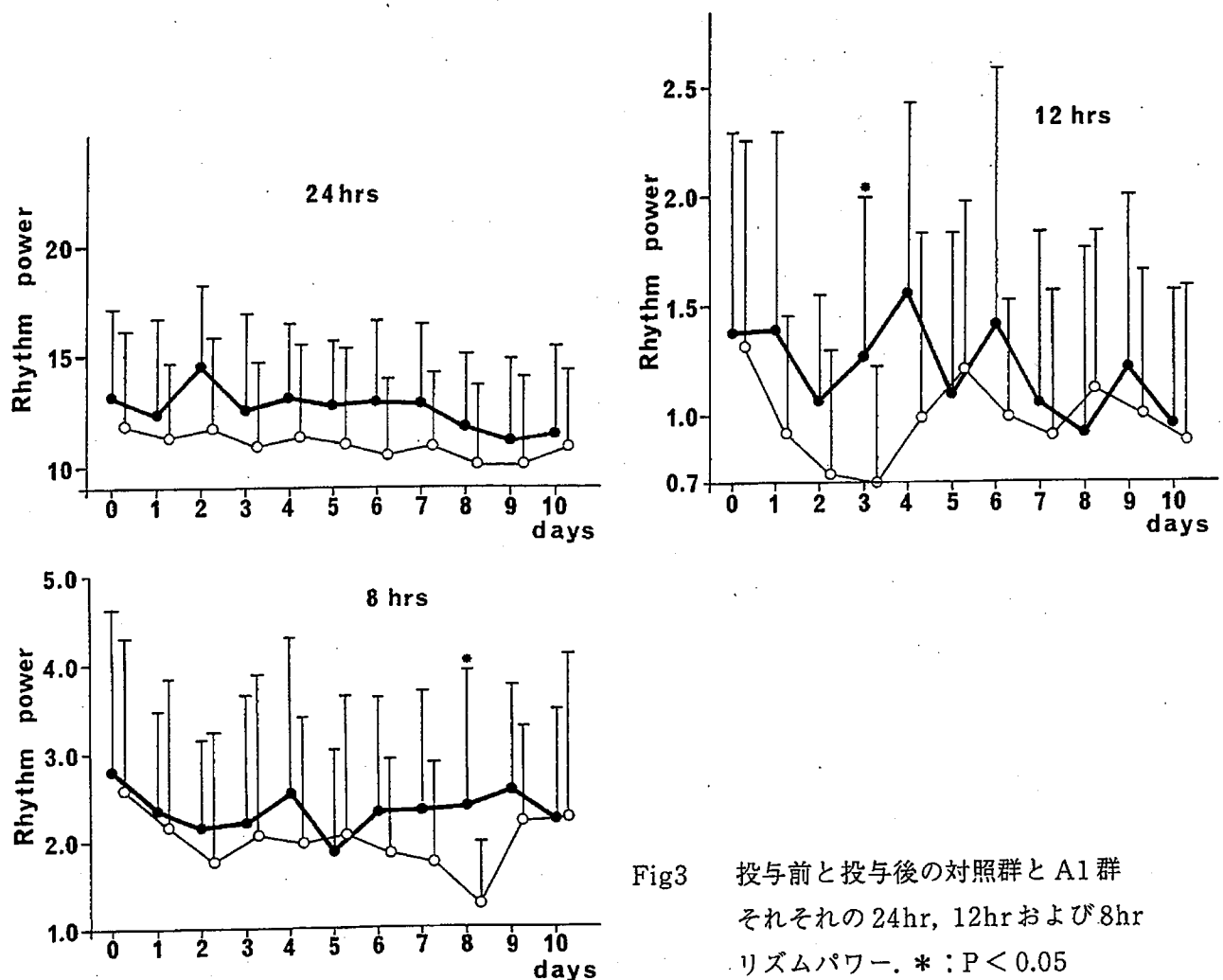


Fig3 投与前と投与後の対照群とA1群それぞれの24hr, 12hrおよび8hrリズムパワー。* : $P < 0.05$

IV. 考 察

1965年、Klatzoら³⁾はA1を投与したウサギの脳内神経原繊維変化が人間のそれと非常に類似していることから、アルツハイマー性痴呆症の実験モデルに優れていることを発表して以来、多くの実験報告がある。⁴⁾アルツハイマー病の代表的な症状として記憶・学習障害があり、これら記能に関与している大脳皮質、海馬を奏効臓器とした研究成果がある。⁵⁾アルミニウムを投与した動物の条件回避反応の遅延や、学習行動の低下が報告されている⁶⁾。

側脳室内投与による脳内各部位におけるA1の蓄積量および経日的蓄積に相違がみられた。前頭葉、中頭葉、後頭葉の大脳皮質は共通して8日まで減少するが、その後16日まで増加する傾向であった。また線条体、黒質、延髄・橋、小脳、視床はいずれも4日が最低値となり、その後12日を最大値として16日には減少した。一方、視床下部は投与後から12日までのA1の蓄積を続け、16日は減少し、海馬は4日を最低値として16日まで上昇した。嗅結節は1日を最大値として経日的に16日まで減少を続けた。

ラットにA1を腹腔内投与した場合、前頭葉、線条体⁷⁾および後頭葉⁸⁾でその傾向がみられている。本結果では脳画分中で視床下部が最も高く(7.423 ± 2.987 (12日) $\mu\text{g/g}$)、1日より有意の差 ($P < 0.05$) で上昇している。次いで高い部位は海馬、線条体、視床、嗅結節、小脳等であった。この結果の相違は投与部の違いによるものと考えられ、側脳室に投与したA1の一部が投与後1日に髄液から血液に流出し、更に肝、腎に移行し、これら組織および血液成分から代謝されたものと考えられた。

A1投与後のラットの自発行動量は、明期、暗期および全日のいずれにおいても対照群とA1群間で経日的に有意差はみられなかったが、実験時期を通して常にA1の方が高い値であった。同様に全日、明期の行動量はそれぞれ7%、6%でA1群の方が高い値であった。

Bowdlerら⁹⁾は、A1を経口的に投与したラッ

トのオープンフィールドテストで、投与量に依存して行動量が増加した事を報告している。本結果は統計的な差はみられなかったけれども支持する結果であった。

動物の行動は、一定の周期を持ちながら変動して行動リズムを形成している。ラットでは24, 12, 8, 4.8時間の比較的安定してリズムを持つ¹⁰⁾。行動リズムを司っている系として振動系、同調系、結合系があり、自発行動量に関係があるのは前2者の系である。カテコールアミンが関与しているのは結合系である。カテコールアミンの中でもNEは中枢系の行動、特に摂食行動と密接な関係がある¹¹⁾。本結果では、A1群の視床下部のNE濃度が対照群の1日で58.3%、4日で43.7%、12日で56.3%であり、いずれも有意の差 ($P < 0.01$) で低下した。また海馬では4日で59.9%、12日で20.3%といずれも有意の差 ($P < 0.01$) で低下した。

24hrリズムは実験期間を通してA1群と対照群とで有意の差はみられておらず、視交叉上核の乳酸アルミニウムによる破壊はみられなかったものと考えられた。一方、12hrリズムは3日に、8hrリズムは8日にそれぞれA1群が対照群よりも有意の差 ($P < 0.05$) で高くなっていることから、視床下部、海馬でのNE活性の低下による影響が反映されたものと考えられる。しかし、これらリズムへの影響はわずか10日間で12hr、8hrリズムでそれぞれ1日のみにみられており、またNEの細胞体である延髄・橋や終末である前頭葉、後頭葉、小脳中での活性変動がみられず、更にA1蓄積量とNE量との間に量-反応関係がみられないことから、より高濃度のA1を投与した実験や長期暴露実験で検討する必要がある。

文 献

- 1) Yoshimasu, F., et al: Studies on amyotrophic lateral sclerosis by neutron activation analysis. *Folia. Psych. Neurol. Jap.*, 30, 49, 1676.

- 2) Yase, Y., et al: Amyotrophic lateral sclerosis. Proc.Japan.Acad., 50, 401, 1974.
- 3) I.Kkatzo, H.Wisniewski and E. Streicher.: Experimental production of neurofibrillary degeneration.1.Light Microscopic Observations. J.Neuropath. Exp. Neurol. 24 : 187 - 199.1995.
- 4) 田中政春: 動物の神経原繊維変化の実験的研究—とくにその発現部位について—, 神経進歩, 10 : 737 - 743.1966.
- 5) K.Gulya, Z.Rakonczay and P.Kasa.: Cholinotoxic Effects of Aluminum in Rat Brain. Journal of Neurochemistry. 54 : 1020 - 1026.1990
- 6) J.J.Lipman, S.P.Colowick, P.L. Lawrence and N.N.Abumrad.: Aluminum Induced Encephalopathy in the Rat. Life Science.42 : 863 - 875. 1987.
- 7) D.R.Grappier.: Alterations in Short-Term Retention, Conditioned Avoidance Response Acquisition and Motivation Following Aluminum Induced Neuro-fibrillary Degeneration. Physiologh and Behavior.10 : 925 - 933.1973.
- 8) P. Szerdahelyi and P.Kasa.: Interventricular administration of the cholinotoxin AF64A increases the accumulaton of alminum in the rat parietal cortex and hippocampus, but not in the frontal cortex. Brain Research.444 : 356 - 360.1987.
- 9) Noelle C.Bowdler, et al.: Behavioral Effects of Aluminum Ingestion on Animal and Human Subjects. Pharmacology Biochemistry & Behavior.10 : 505 - 512. 1978.
- 10) 山口誠哉, 下條信弘, 佐野憲一, 渡辺博且: ラットの自発行動量日内リズムに対するメチル水銀およびセレンの影響, 水俣病に関する統合的研究, (財)日本公衆衛生協会, 1987.
- 11) 本間研一: 生体リズムの研究, 北海道大学図書出版会, 1989.

Clostridium perfringens による食中毒について

神谷隆久¹ 長峰さつき¹ 山本和則¹ 鹿島恭子¹
村上りつ子¹ 一条悟朗² 佐藤秀雄¹

(1. 茨城県衛生研究所 2. 県北食肉衛生検査所)

Outbreaks of Food Poisoning due to Clostridium perfringens

Takahisa KAMIYA¹, Satsuki NAGAMINE¹, Kazunori YAMAMOTO¹, KYOKO KASIMA¹, Ritsuko MURAKAMI¹, Goro ICHIJO² and Hideo SATOU¹

(1. Ibaraki Prefectural Institute of Public Health 2. Kenhoku Meat Inspection Office, Ibaraki Prefecture)

1. はじめに

C.perfringensは人や動物の腸管内、土壌、食品など自然界に広く分布している有芽胞嫌気性菌であり、食中毒の原因菌として1953年にHobbsら¹⁾により疫学的、実験的に証明され、Duncanら²⁾によりC.perfringensがエンテロトキシンを産生することが明らかにされた。C.perfringensによる食中毒は欧米では多く重要な食中毒であるが日本では少ない。しかし学校給食など大規模な食中毒が多く、茨城県でも数件の発生があるが患者数が多く影響が大きい。そこで今回3例の食中毒の概要と分離菌の性状を検査したので報告する。

2. 方 法

(1) C.perfringensの分離同定、血清型別、エンテロトキシンの検出

常法に従い分離同定し、Hobbs型はデンカ生研の耐熱性A型ウェルシュ菌診断用免疫血清を用いた。TW型は都衛研に依頼した。エンテロトキシンの検出はデンカ生研のウェルシュ菌エンテロトキシン検出用キットを用いた。菌株はDS培地又はCarlos培地を用い24時間嫌気培養後、遠心分離しその上清を用い、便、食品は10

倍希釈液を3000rpm20分遠心分離し上清を用いエンテロトキシンの検出をした。

(2) 分離菌の耐熱性

DS培地又は、Carlos培地を用い37℃24時間嫌気培養後、TGC培地2本に1ml接種し100℃10分、100℃60分加熱後急冷し耐熱性の有無を判定した。

(3) 分離菌の薬剤感受性試験

培地はGAM寒天培地を使い1濃度ディスク法(昭和ディスク)でテトラサイクリン、ナリジクス酸、クロラムフェニコール、クリンダマイシン、エリスロマイシン、アンピシリン、スルファモノメトキシンの7薬剤を検査した。

3. 結 果

(1) 疫学的調査結果

事例1

昭和58年12月24日にA寺院において葬儀が行なわれた際、前日に寺院車庫内で調理し室温で保存された昼食を喫食した参会者約450名中40名が発症した。症状は下痢(40名)腹痛(28名)が主であり嘔吐(1名)発熱はなかった。潜伏時間は12時間以内が29名13~24時間が9名であった。治癒までの時間は1日以内25名、1~2日8名、2日以上4名であった。細菌検査の

結果10⁵台のC.perfringensが検出された煮しめを原因食品とした。

事例2

平成元年5月14日15:00結婚披露宴が行なわれ出席し喫食した147名中79名が発症した。症状は下痢(77名)腹痛(68名)が主であり嘔吐(5名)発熱(4名)はすくなかった。次の日のAM3:00頃から発症した者が20~30名いたので潜伏時間は12~24時間前後は思われる。食品31検体の細菌検査をしたがC.perfringensは検出されず原因食品は不明であった。

事例3

平成4年4月15日学校給食(夕食)を食べた92名中82名が発症した。症状は下痢(78名)腹痛(72名)が主であり嘔吐、発熱はなかった。潜伏時間は3~12時間が47名、13~18時間が35名であり、症状は軽くほとんど24時間以内に治癒した。原因食品は若鳥のクリーム煮と思われるが残品がなく細菌検査は行なえなかったが、前日に調理されたことや喫食調査よりみて原因食品と推定された。

表1 事件の概要

		事 例 1	事 例 2	事 例 3
発生年月日		S.58.12	H.元.5	H.4.4
摂食者数		450	147	92
患者数		40 9%	79 54%	82 89%
症 状	下 痢	40 100%	77 97%	78 95%
	腹 痛	28 70%	68 86%	72 88%
	嘔 吐	1 2.5%	5 6%	0
	発 熱	0	4 5%	0
潜 伏 時 間	~12	29 73%	推 定 12~24時間	47 57%
	13~24	9 23%		35 43%
	24~	0		0
		煮しめ	不 明	若鳥のクリーム煮

(2) 細菌学的検査結果

a. C.perfringensの分離状況と血清型とエンテロトキシンの産生能

事例1 食品15検体中8検体、便12検体中12検体からC.perfringensが検出され、血清型は食品、便共にHobbs11型、TW26型であった。Hobbs11型は15株中13株、TW26型は12株中9株エンテロトキシンを産生した。

事例2 食品31検体、拭き取り41検体、水1検体からは検出されず、便54検体中41検体からHobbs7型が検出された。その41検体中40検体のHobbs7型がエンテロトキシンを産

生した。

事例3 拭き取り18検体、水1検体からは検出されず、食品11検体中1検体からHobbs13型、便91検体中90検体からHobbs型に凝集しない型別不明株が検出された。Hobbs13型と90検体中88検体の型別不明株がエンテロトキシンを産生した。

b. 患者便中のエンテロトキシン検出

事例1 12検体中7検体から検出されエンテロトキシン量は約0.32~5.1 μg/gであった。

事例2 17検体を選び検査した結果、10検体から検出されエンテロトキシン量は約0.16

~1.2 μg/gであった。

事例3 便91検体中87検体から検出され

エンテロトキシン量は約0.04~5.1 μg/gであ

った。

表2 C.perfringensの分離状況、血清型、エンテロトキシン産生

菌 の 分 離	事 例 1		事 例 2	事 例 3
	食 品	煮しめ 5.0 × 10 ⁵		陰 性
患 者 便	12/12 100 %		41/54 76 %	90/91 99 %
血 清 型	H11 型 TW26 型		H7 型	型別不明
Ent 産 生	H11 型 13/15 87 % TW26 型 9/12 75 %		40/41 98 %	88/90 98 %
患者便から Ent 産生	7/12 58 %		10/17 59 %	87/91 96 %

c. 分離菌の耐熱性

事例1 Hobbs11型、TW26型共に100℃
60分の耐熱性はなく一部の株が100℃10分に
耐熱性であった。

事例2 Hobbs 7型は100℃60分、100℃
10分に耐熱性はなかった。

事例3 Hobbs13型、型別不明株ともに100
℃60分、100℃10分に耐熱性があった。

表3 分離菌の耐熱性

	事 例 1		事 例 2	事 例 3
	H11 型	TW26 型	H7 型	型別不明
100℃ 10分	3/15 20 %	3/12 25 %	0/3 0 %	90/90 100 %
100℃ 60分	0/15 0 %	0/12 0 %	0/3 0 %	90/90 100 %

d. 分離菌の薬剤感受性

事例1のHobbs11型、TW26型、事例2の
Hobbs7型、事例3のHobbs13型、型別不明
株にスルファモノメトキシニンに耐性でテトラ

サイクリン、ナリジクス酸、クロラムフェニコー
ル、クリンダマイシン、エリスロマイシン、ア
ンピシリンに感受性であった。

表4 分離菌の薬剤感受性

	事 例 1		事 例 2	事 例 3
	H11型	TW26型	H7型	型別不明
テトラサイクリン	+++	+++	+++	+++
ナリジクス酸	++	++	++	++
クロラムフェニコール	+++	+++	+++	+++
クリンダマイシン	+++	+++	+++	+++
エリスロマイシン	+++	+++	+++	+++
アンピシリン	+++	+++	+++	+++
スルファモノメトキシ	-	-	-	-

4. 考察とまとめ

(1) 疫学的調査結果

今回3事例共に腹痛、下痢を主症状として嘔吐、発熱は少なく比較的軽く大部分が1日で治癒し、潜伏時間も3~24時間であり典型的なC. perfringens 食中毒様の症状を示していた。

(2) 分離菌のエンテロトキシン産生能、血清型

今回3事例ともエンテロトキシン産生菌であったが血清型は事例1はHobbs11型、TW26型2つの血清型の混合型であり、事例2はHobbs7型単独であり、事例3はHobbs型には一致しなかったがエンテロトキシンを産生し、すべての株が100℃60分に耐熱性があり、薬剤感受性も同じなので同一の菌型であろうと思われる。C. perfringensの食中毒の血清型は全国食中毒事件録(s60~s63)から型別不能、Hobbs13型、Hobbs5型が多く、その他様々な血清型が検出され特徴は見られず、本県の場合もそれぞれ違う血清型によるものだった。

(3) 患者便からのエンテロトキシン検出状況

患者便から直接エンテロトキシン検出をした結果、3事例共高率にエンテロトキシンが検出されC. perfringens 食中毒が確認された。C. perfringensは便に常在し健康人からも検出されるためC. perfringensの分離だけでは食中毒の原因菌とはならず血清型、エンテロトキシン産生

能を調べ、決定まで時間がかかる。しかし、便から直接エンテロトキシンの検出をすれば1日で結果がわかり食中毒の決定ができる。

(4) 耐熱性

一般的にC. perfringens食中毒は耐熱性菌によるものが多く易熱性菌は加熱により死滅しやすいため少ない。今回3事例中2事例が易熱性菌による食中毒だったが易熱性C. perfringens食中毒は中津川ら³⁾数名により報告されているだけで耐熱性菌に比べきわめて少ない。

(5) 薬剤耐性

食中毒原因菌C. perfringensの薬剤耐性を調べた例はほとんどなく今回調査した結果サルファ剤以外の薬剤に感受性だった。人や動物の糞便、鳥肉から分離されるC. perfringensの多くはテトラサイクリンに耐性があり^{4) 5)}今回検査した株はテトラサイクリンに感受性であり事例1、2では人や動物の糞便、豚肉、鶏肉由来のC. perfringensではない可能性が強い。

文 献

- 1) Hobbs..B.C, Smith.M.E, Oakley.C.L., Warrack.G.H, and Crrickshank.J.C: J.Hyg. 51, 75 - 101 (1953)
- 2) Duncan.C.L, and Strong.D.H: Infec. & Immun, 3.167 - 170 (1971)

3) 中津川修二ほか：食衛誌.13.6 (1972)

4) 神谷隆久ほか：食衛誌.28.3 (1987)

5) 市川意子ほか：嫌気性菌感染症研究.13.134

- 137 (1983)

真空包装ブロック牛肉のガス発生について

山本和則 村上りつ子 長峰さつき

神谷隆久 鹿島恭子 一条悟朗

(茨城県衛生研究所)

Studies on The Identification of Psychrophilic Bacteria Causative
of Gas Production in the Vacuum-packaged Beef.

Kazunori YAMAMOTO, Ritsuko MURAKAMI,

Satsuki NAGAMINE, Takahisa KAMIYA,

Kyoko KASHIMA and Goro ICHIJO

はじめに

県内A社より真空包装されたブロック牛肉が、流通過程で1週間以内にガス発生し、膨満する原因について解明を求められた。

その原因について調査したので、1事例として報告する。

方 法

A社で処理された真空包装ブロック牛肉を流通過程と同じ温度である冷蔵庫(5℃)に放置し、ガス発生を確認後、表面各部位を滅菌ガーゼで10cm角ずつ拭い、100mlの滅菌生理食塩水に溶かした。各希釈液を0.1mlずつ標準寒天培地、GAM寒天培地、ダントマイシン含有GAM寒天培地、デソキシコレート寒天培地に塗抹接種した。生菌数及び大腸菌群数は、常法によりもとめた。また、ゲンタマイシン含有GAM寒天培地は、嫌氣的条件で、デソキシコレート寒天培地は、好氣的条件で、標準寒天培地とGAM寒天培地は、両条件で、それぞれ7℃、10日間培養した。標準寒天培地及びGAM寒天培地に出現した集落を無作為に釣菌分離後、パージー・マニュアル・システムチック バクテリ

オロジュー¹⁾等²⁾に従って、形態、グラム染色性、生化学的性状、ペプチドグリカンのジアミノ酸型及び糖類、ナメキノンの存否等を決定し、属レベルでの同定を行った。

すなわち、カタラーゼ反応陽性、チトクロームオキシダーゼ反応陰性のグラム陽性通性嫌気性桿菌で、ペプチドグリカンにメソ型のジアミノピメリン酸及び細胞壁に多量のアラビノースを含み、メナキノンが存在するものをCorynebacteriumとした。カタラーゼ及びチトクロームオキシダーゼ反応陰性のグラム陽性通性嫌気性桿菌で、ペプチドグリカンにリジン又はメソ型のジアミノピメリン酸を含み、主要発酵産物が乳酸であり、メナキノンが存在しないものをLactobacillusとした。カタラーゼ及びチトクロームオキシダーゼ反応陰性のグラム陽性通性嫌気性球菌で、主要発酵産物が乳酸とエタノールであり、メナキノンが存在しないものをLeuconostocとした。あわせて、発育温度域についても調べた。

発成ガス成分の分析については、アクチブ・カーボン及びガスクロパック54を充填剤とし、カラム温度40℃、注入温度100℃、キャリア・ガス

は、ヘリウムを40ml/minで流し、TCD及びPID検出器を用いたガスクロマトグラフィーにより、標準物質との溶出時間の比較により決定した。

結果及び考察

ガス膨満後のブロック牛肉の色は、新鮮な血液色であり、また、脂肪も白色のままで、見た目には品質は、真空包装時と変化していないように思えた。ただ、表面はネトが発生し、糸を引いていた。冷蔵庫で10日間放置後の真空包装ブロック牛肉の細菌数をTable.1.に示した。生菌数が 10^6 台、大腸菌群数が 10^3 台であった。低温細菌数では、標準寒天培地で、好気的條件、嫌氣的條件共に 10^7 台、GAM寒天培地で、 10^8 台であった。デソキシコレート寒天培地には 10^3 台の菌が発生してきたが、ゲンタマイシン含有GAM寒天培地に発育した菌はなかった。これらの結果から真空包装ブロック牛肉の低温細菌は、大腸菌群以外の通性嫌氣性菌が大部分を占めていると考えられた。

Table.2.に真空包装ブロック牛肉の低温細菌の種類を示した。全体としては、約半数がCorynebacteriumで占められ、ヘテロ型

Lactobacillusが30%、Leuconostocが10%であった。標準寒天培地に発育した菌について見れば、好氣的條件では、Corynebacteriumが73%と大多数を占めているが、嫌氣的條件で培養すると26%に激減し、変わって、ヘテロ型Lactobacillusが過半数強を占めるようになり、Lauconostocが、10%ほど発育してきた。

Table 1. Bacterial Counts in Vacuum-packaged Beef on the Used Various Media.

Bacterial counts	Medium	Aerobic	Anaerobic
Viable	SMA	4.6×10^6	—
Coliform	Deso	2.3×10^5	—
Psychro-trophic	SMA	3.6×10^7	4.2×10^7
	Deso	2.2×10^3	—
	GAM	1.8×10^6	3.1×10^6
	GAM with G	—	0

SMA : Standard Method Agar

Deso : Desoxycholate Agar

GAM : GAM Agar

GAM with G : GAM Agar with Gentamicin

Table.2 Types of Psychrotrophic Bacteria on the Used Various Media.

Genus	SMA Medium			GAM Medium			Total
	Aerobic	Anaerobic	Subtotal	Aerobic	Anaerobic	Subtotal	
Corynebacterium	73.3 %	26.3 %	47.1 %	66.7 %	40.9 %	50.4 %	49.3 %
Lactobacillus	13.4 %	57.9 %	38.2 %	20.0 %	27.3 %	24.3 %	31.0 %
Leuconostoc	0 %	10.5 %	5.9 %	0 %	22.7 %	13.5 %	9.9 %
other-unknown	13.3 %	5.3 %	8.8 %	13.3 %	9.1 %	10.8 %	9.8 %

平均的には、Corynebacteriumが47%、ヘテロ型Lactobacillusが38%、Leuconostocが6%であり、これら3属で91%を占めた。また、GAM寒天培地に発育した菌について見れば、好氣的培養條件では、Corynebacteriumが67%を、ヘテロ型Lactobacillusが20%占めていた。

嫌氣的條件で培養すれば、Corynebacteriumが41%、ヘテロ型Lactobacillusが27%、Leuconostocが24%であった。

平均的には、Corynebacterium、50%、ヘテロ型Lactobacillus、24%、Leuconostoc、13.5%であり、この3属で、90%を占めていた。

Leuconostocは、標準寒天培地、GAM寒天培地とも、嫌氣的条件で培養した場合にのみ検出された。また、ヘテロ型Lactobacillusも嫌氣的条件で培養した方が、両培地とも高質に検出された。嫌氣的条件で培養した標準寒天培地から分離した低温細菌叢は、他の場合と異なり、ヘテロ型Lactobacillusが最も多く検出された。このように、培養条件、使用培地により低温細菌叢が異なるが、冷蔵庫に放置された真空包装ブロック牛肉の低温細菌叢は、GAM寒天培地での低温細菌数が最も高いこと、真空包装された物である事の2点から、嫌氣的条件で培養されたGAM寒天培地の細菌叢が、最も近いと考えられる。

Tableにはないが、培地に関係なく嫌氣的条件と好氣的条件での培養に分けて分類してみると、好氣的培養では、Corynebacterium70%、ヘテロ型Lactobacillus16.7%、Leuconostoc, 0%になる。一方、嫌氣的培養では、好氣的培養と比較して、Corynebacteriumは、約半数の35.9%に激減し、ヘテロ型Lactobacillusが約3倍の43.6%を占め第一位となる。

また、Leuconostocも17.9%を占めるようになる。

Table.3.に、真空包装ブロック牛肉中の低温細菌の発育温度域を示した。

Table.3 Growth Characteristics of Psychrotrophic Bacteria in Vacuum — packaged Beef.

Genus	Incubation Conditions				
	0°C for 14days	5°C for 10days	10°C for 7days	15°C for 4days	20/25/30/35°C for 2days
Corynedacterium	54.3 %	85.7 %	91.4 %	100 %	100 %
Lactobacillus	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Leuconostoc	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
other-unknown	28.6 %	57.1 %	85.7 %	100 %	100 %

Corynebacteriumの場合、0°C、14日間、5°C、10日間及び10°C、7日間培養では、それぞれ54%、86%、91%した発育できなかった。ヘテロ型Lactobacillus及びLeuconostocは、これらの条件でも全ての菌株が発育できた。

冷蔵庫で10日間放置後の真空包装ブロック牛肉のガス成分を分析した結果をTable.4.に示した。ガス成分のほとんど全てを二酸化炭素が占め、メタンと硫化水素が、ごく微量検出された。以上の結果より、いくつかのCorynebacteriumは、低温域で発育できないが、他のCorynebacterium、ヘテロ型Lactobacillus、Leuconostocは、0°C~10°Cの低温域で発育可能であるので、これらの菌が、真空包装ブロック牛肉のガス発生の原因菌であると考えられる。しかし、これらの菌種のどれが、主要氏因菌で

あるかは、培養条件、培地の種類により同定される属の割合が異なってくるので、はっきりとは決定できないが、一応、菌数的には、Corynebacteriumが、クックドミート培地でのガス発生量的には、ヘテロ型LactobacillusとLeuconostocである。(ガス発生量そのものは、あまり多くない。)

また、これらの菌種は、硫化水素を産生しないのに、硫化水素が検出されるという事は、菌数的に少数であるが低温性大腸菌群も真空包装ブロック牛肉のガス発生に関与していると考えられる。5°Cで発育できる低温細菌のほとんど全ての菌株は、0°Cでの培養でも、2週間以内に発育できたので、屠殺・解体から真空包装までの初期における低温細菌数をより少なくする事が重要であると思われる。

Table 4 Gas Patterns of Vacuum packaged Beef Stored at 5°C for 10 days.

Gas	Result
Methan	+
Ethan	-
Propane	-
n - Butane	-
iso - Butane	-
Carbon monoxide	-
Carbon dioxide	+++
Hydrogen sulfide	+
Air	-

要 約

冷蔵庫に放置された真空包装ブロック牛肉は、4日目より発生ガスが確認でき、7~10日目で真空包装がガス充填包装様に変化した。その肉質には変化がなく、表面にネトが発生していた。その低温細菌の種類やガス成分を調べた結果、以下のようなことが判った。

- ① ガス膨満後の生菌数が 10^6 台、大腸菌群数が 10^3 台であった。
- ② 低温細菌数では、標準寒天培地で、好氣的及び嫌氣的条件とも 10^7 台、GAM寒天培地で、 10^8 台であった。また、デソキシコレート培地には 10^3 台の菌が発育してきたが、ゲンタマイシン含有GAM寒天培地には発育した菌はなかった。
- ③ 低温細菌の種類では、Corynebacteriumが約半数を占め、ヘテロ型Lactobacillusが31%、Leuconostocが10%であり、この3属で

90%以上を占めていた。しかし、培養条件、培地の種類等により、この3属の割合に変動があった。

- ④ ヘテロ型Lactobacillus、Leuconostocとも、嫌氣的条件で培養した方が、高率に検出された。
- ⑤ 低温細菌の発育温度域試験では、Corynebacteriumの場合、0°C、14日間、5°C、10日間及び10°C、7日間培養では、それぞれ54%、86%、91%しか発育できなかった。しかし、ヘテロ型Lactobacillus、Leuconostocは、これらの条件でも全ての菌株が発育できた。
- ⑥ 冷蔵庫で10日間放置後の真空包装ブロック牛肉のガス成分を分析した結果、二酸化炭素がほとんど全てを占め、メタンと硫化水素が、極微量検出された。

以上の結果から、5°Cで発育できる低温細菌のほとんどすべての菌株は、0°C培養でも、2週間以内に発育できたので、屠殺・解体から真空包装までの初期における低温細菌数をより少なくする事が重要であると思われる。

文 献

- 1) Sneath, P.H.A., N. S. MAIR, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (ed.) : "BERGEY'S MANUAL OF Systematic Bacteriology Volume 2" p1208~1434, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, (1986)
- 2) 厚生省生活衛生局 監修: "食品衛生検査指針 微生物編" p235~238, 社団法人日北食品衛生協会 (1990)

利根川の浮遊性藻類について

杉浦則夫、小山田則孝、黒沢豊彦、鈴木八重子、齊藤匡男
(茨城県衛生研究所)

Succession of phytoplankton in River Tone

Norio SUGIURA, Noritaka OYAMADA, Atsuhiko KUROSAWA

Yaeko SUZUKI, Tadao SAITO

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

1. はじめに

藻類は水環境中で単独あるいは群体を形成し、浮遊または付着性の生活体制をとり、生態系において一次生産者として物質循環の基本的な機能を果たしている重要な生物である。しかし、近年、水質の汚濁の進行とともに特定種の異常増殖が起こり、各地で“水の華”の形成、異臭味の発生等が認められるようになった^{1)~3)}。藻類は生息水域の環境状態を反映することからよく汚濁の指標生物として利用されている^{4) 5)}。そこで本調査では、上記の点を踏まえ利根川の茨城県に係る水系について浮遊性藻類の種の組成、現存量の変遷に検討を加えたので報告する。

2. 実験方法

- 1) 調査期間：1982年4月から1991年3月までの9年間とし、調査頻度は月1回とした。
- 2) 方法：試料の採水は、利根川と小貝川の合流地点から約2km下流の栄橋(St.1)及びその下流約10km(St.2)の2地点で実施した。採水後、直ちに生試料を光学顕微鏡を用いて観察した。すなわち、試料0.05mlを界線付スライドグラスに滴下して観察し、分類・計数した。この操作を3回繰り返して平均し、1ml当たりの細胞数に換算した。なお、群体を形成する藻類は、Microcystis以外は、1群体を1個体として計数した。

3. 結果及び考察

栄橋地点(St.1)に出現した藻類相を属レベルで調べ、出現頻度順にTable1に示した。本地点では珪藻類が24属で最も多く、ついで緑藻類の16属、藍藻類5属の順であり、なかでも珪藻Cyclotella属、Nitzschia属、Navicula属の出現が目立った。また通常、河川では観察されないタイプの藍藻Phormidium属、Myxosarcina属が認められたがこれは沼、貯水地等の止水系からの流入の影響によるものと考えられる。一方、St.2地点においてもTable2に示すように、St.1地点とほぼ同様に出現種数は、珪藻が最も多く、20属であり、緑藻類は15属、藍藻類は6属であった。出現頻度に関しては、St.1地点と同様にCyclotella属、Nitzschia属、Navicula属の順であった。各種類の構成は、Fig.1に示すようにSt.1地点では珪藻類が通年、圧倒的に多く、最大で95%、最小で85%以上であった。緑藻類は近年やや増加傾向にあるが最大でも15%に達しなかった。St.2地点についても1989年度以外はいずれの種類もSt.1地点とほぼ同様の構成比であった。次に、両地点の総細胞数の現存量の変遷を調べた(Fig.2)。St.1地点では4~6月に毎年ピークが認められ、St.2地点についてもほぼ類似傾向が見られた。この時期の増殖がどの種類によるものか観察したところ、Cyclotella属に由来することから、この藻類の

現存量の変遷を調べた (Fig.3)。St.1 地点では 4~6 月にピークが見られ 10 月から翌年の 3 月頃までは減衰期となりほぼ一定のパターンをとり、St.2 地点についても同様の傾向を示した。以上のように両地点共に藻類の種類、構成比、現存量及び優占種がほぼ類似していた。

藻類の増殖には環境中の物理的・化学的・生物学的な諸要因が様々な形で関与しているが汚濁の指標となる窒素、リンとは殆ど関連性がみられなかった。しかし、Cyclotella 属の現存量と水温の関係に注目すると Fig.4 に示すように St.1 地点では、26~30℃ の範囲で顕著なピークが認められた場合もあるが 14~18℃ 付近に収束している。St.2 地点では St.1 地点に比べ更にこの水温の範囲で収束分布が明瞭であった。従って、水温が 14℃ を超える時期になると Cyclotella 属が増加するものと思われる。水質汚濁の状況は、浮遊性藻類相のみでは一義的に評価することは困難であるが、一つの試みとして Sramek - Husek の Saprobiensystem 法⁹⁾ を用いて両地点を診断すると本調査期間中はいずれの地点も β - 中腐水性に相当した。

4. まとめ

1982 年 4 月から 1991 年 3 月までの過去 9 年間、利根川の栄橋 (St.1) 及びその下流約 10km 地点 (St.2) の 2 地点を対象として浮遊性藻類相の調査を実施した。

1) St.1 地点に出現した珪藻類は 23 属、緑藻類の 16 属、藍藻類 5 属であり、出現頻度は珪藻類では Cyclotella 属、Nitzschia 属、Navicula 属緑藻類では Scenedesmus 属が多かった。

St.2 地点では珪藻類は 20 属、緑藻類の 15 属、藍藻類 6 属であり、出現頻度は St.1 と同様であった。

2) 各種藻類の構成比は、St.1 地点では珪藻類が最大で平均 94.6%、緑藻類が平均 3.9%、藍藻類が最小で平均 0.3% であった。

3) 藻類の現存量は、St.1 地点、St.2 地点共に毎年 4~6 月頃に増加する傾向が見られ、Cyclotella 属に大きく依存した。

4) 優占種 Cyclotella 属の増殖は両地点とも水温が約 14~18℃ の時期に認められた。

引用文献

- 1) 渡辺真利代, 大石真之, 松本浩一: 藍藻 Microcystis の毒性、東京都立衛生研究所年報, 29, 389 - 391 (1978)
- 2) 須藤隆一: 霞ヶ浦における水の華に関する研究、陸水学雑誌, 41, 3, 124 - 131 (1980)
- 3) 八木正一: 水の味とにおい、水道協会雑誌, 52, 11, 65 - 79 (1983)
- 4) 水野寿彦: 池沼の生短学, 築地書館, p.52 (1972)
- 5) 津田松苗: 汚水生物学, 北隆館, p68 (1986)

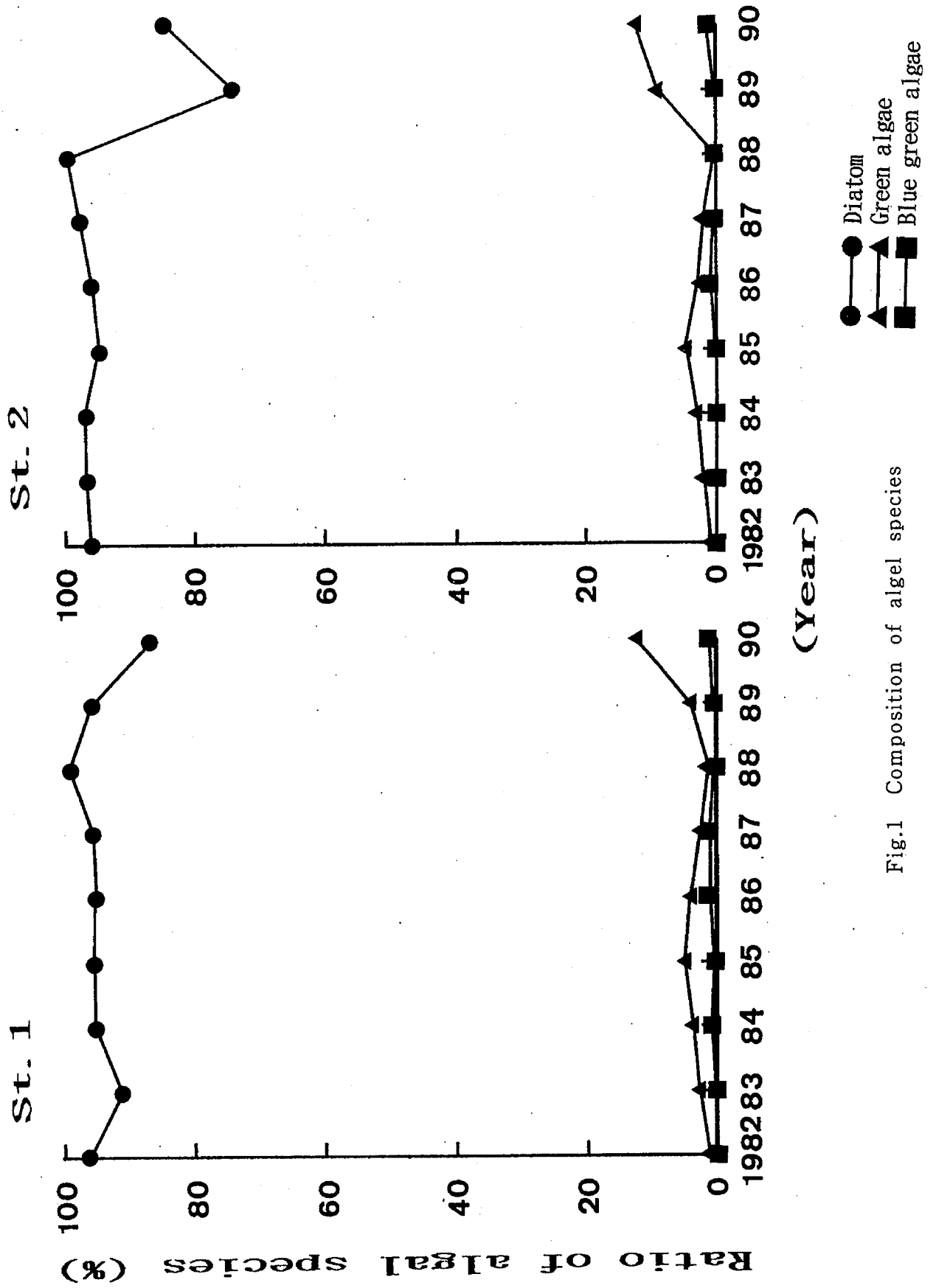


Fig.1 Composition of algal species

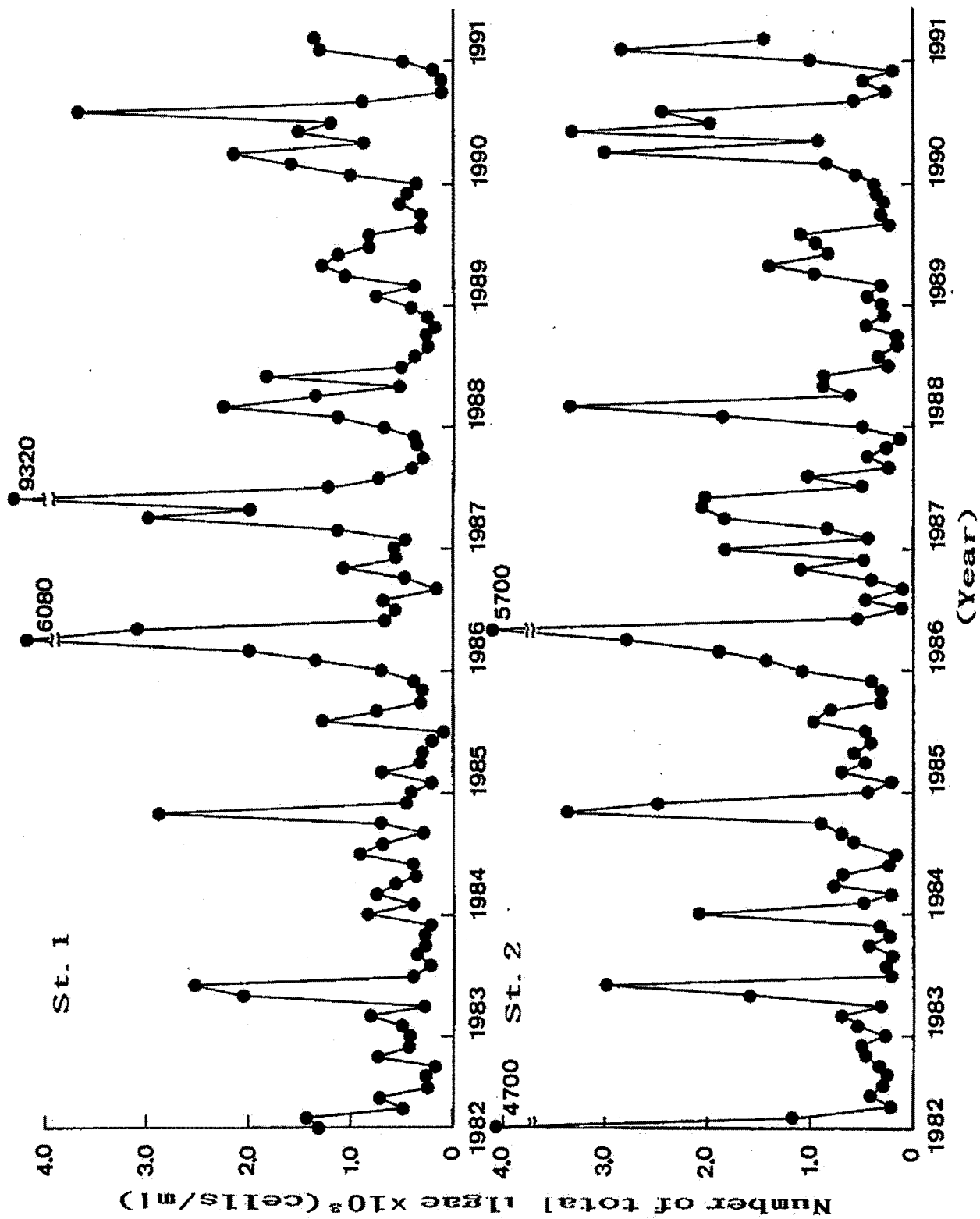


Fig.2 Succession of total algae

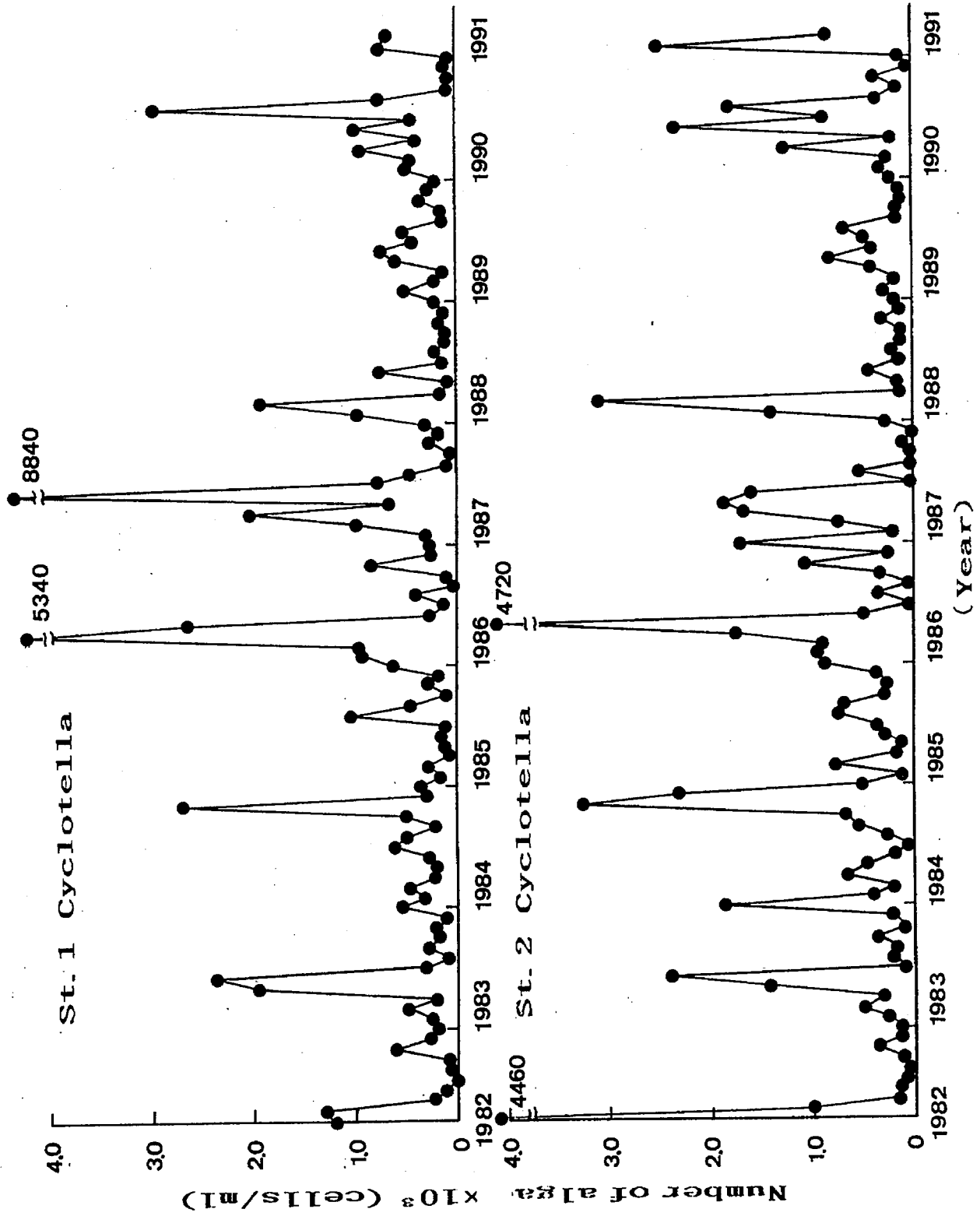


Fig.3 Succession of dominant algae

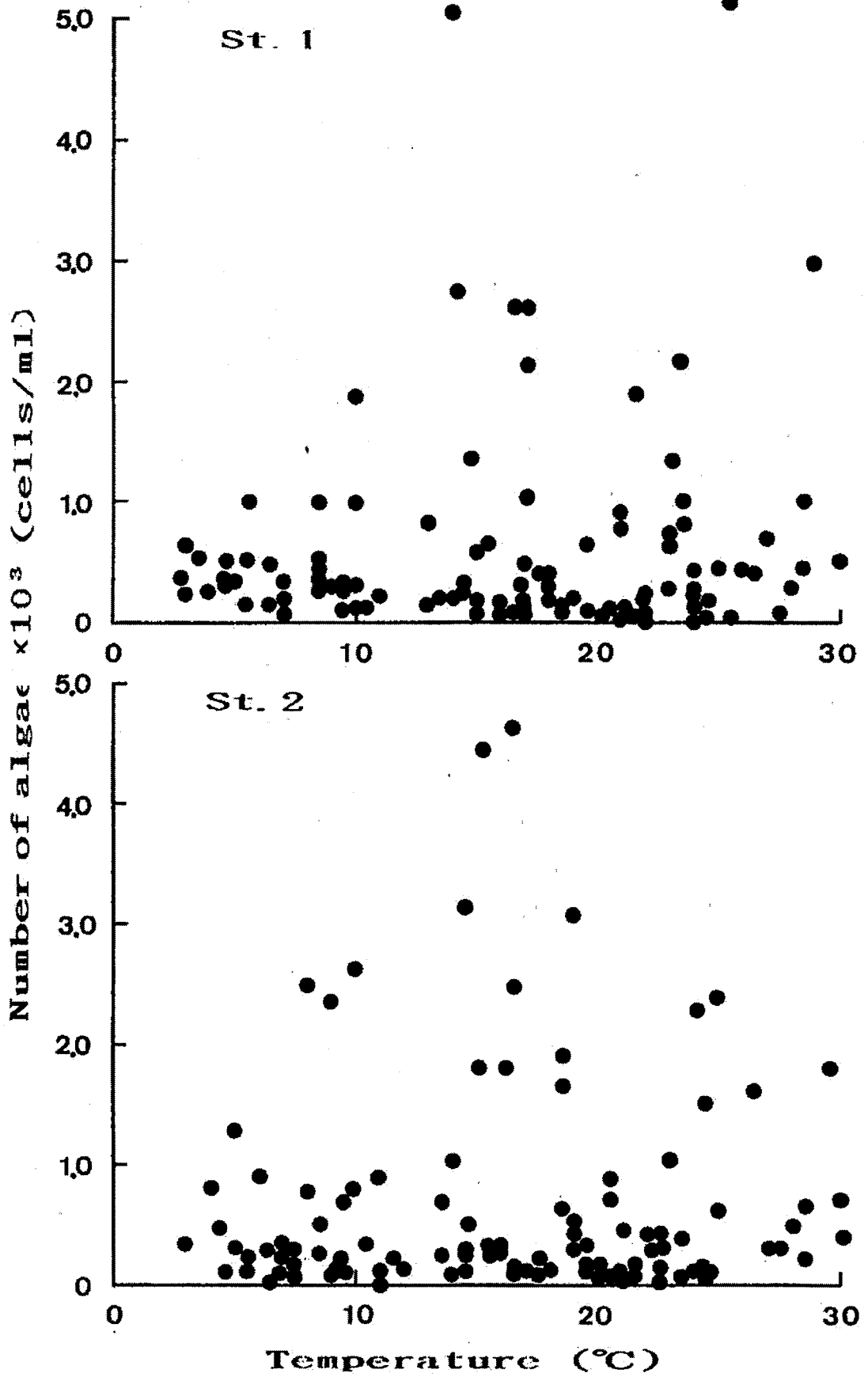


Fig.4 Correlation between standing crop of cyclotella and temperature.

Table 1. Composition of algal flora in River Tone (St.1)

Diatom	Green algae	Blue green algae
Cyclotella	Scenedesmus	Phormidium
Nitzschia	Micractinium	Oscillatoria
Navicula	Dictyosphaerium	Chroococcus
Synedra	Chlamydomonas	Merismopedia
Melosira	Golenkinia	Myxosarcina
Achnanthes	Hormidium	
Gomphonema	Actinastrum	
Cymbella	Ankistrodesmus	
Asterionella	Oocystis	
Bacillaria	Tetraedron	
Pinnularia	Quadrigula	
Fragilaria	Chodatella	
Hantzschia	Closterium	
Eunotia	Treubaria	
Cocconeis	Coelastrum	
Stauroneis	Pediastrum	
Ceratoneis		
Coscinodiscus		
Attheya		
Gyrosigma		
Diatoma		
Caloneis		
Neidium		

Genus of algae was arranged in order of frequency.

Table 2. Composition of algal flora in River Tone (St.2)

Diatom	Green algae	Blue green algae
Cyclotella	Scenedesmus	Phormidium
Nitzschia	Micractinium	Oscillatoria
Navicula	Dictyosphaerium	Chroococcus
Melosira	Chlamydomonas	Microcystis
Synedra	Golenkinia	Myxosarcina
Bacillaria	Actinastrum	Dactylococcopsis
Cymbella	Hormidium	
Gomphonema	Ankistrodesmus	
Asterionella	Oocystis	
Pinnularia	Kirchneriella	
Fragilaria	Mougeotia	
Hantzschia	Coelastrum	
Achnanthes	Quadrigula	
Ceratoneis	Closterium	
Stauroneis	Pediastrum	
Diatoma		
Gyrosigma		
Cymatopleura		
Coscinodiscus		
Attheya		

Genus of algae was arranged in order of frequency.

第 4 章 他誌掲載論文要約等

アオコを分解する鞭毛虫類

杉浦則夫*、稲森悠平**、一条悟朗*、須藤隆一***

水道協会雑誌、Vol.60、No.5、2-9、1991

概 要

べん毛虫類 *Monas guttula* による各種 *Microcystis* 属の分解特性に検討を加えた。*M. guttula* は *M. aeruginosa* を食物源にした場合、比増殖速度が $\mu = 4.0$ (day^{-1})、倍加時間 $t_g = 4.0$ (hr)、最大増殖速度 $\mu_{\max} = 4.4$ (day^{-1})、

飽和定数 $K_s = 2.4$ (mg/l) であり、その他有毒の *M. viridis*、*M. wesenbergii* も有効な食物源として利用できた。

* 茨城県衛生研究所

** 国立環境研究所

*** 東北大学

Methylation of Inorganic Selenium Compounds by Freshwater Green Algae, *Ankistrodesmus* sp, *Chlorella vulgaris* and *Selenastrum* sp.

N.Oyamada, Genshin Takahashi and M.Ishizaki

EISEI KAGAKU, Vol.37, No.2, 83 - 88, 1991

概 要

3種の緑藻 *Ankistrodesmus* sp., *Chlorella vulgaris* および *Selenastrum* sp. を用いて、セレンのメチル化生成物に検討を加えた。無機態のセレンは緑藻類によって代謝され、ジメチルセレンおよび、トリメチルセレンを生成した。

また、藻体内においてトリメチルセレンが生成されることが明らかとなった。培地中にヒ素が存在すると藻類中のジメチルセレンの生成が抑制された。緑藻によるセレンのメチル化合物生成は生態系におけるセレンの無毒化過程の一つと考えられる。

鞭毛虫類によるアオコの分解

杉浦則夫*、稲森悠平**、須藤隆一***

用水と廃水、Vol.33、No.8、19-24、1991

概 要

べん毛虫類 *Monas guttula* を用いて各種 *Microcystis* 属および *Phormidium* 属の除去・分解特性および水質浄化能の影響に検討を加えた。*M. guttula* は *M. aeruginosa* を始め、*M. wesenbergii*、有毒の *M. viridis* およびカビ臭産生藻の *P. tenue* を極めて有効に捕食し、分解できた。連続培養系の生物反応槽を用いた *M.*

guttula の *M. aeruginosa* に対する浄化能を調べたところ、濁度、クロロフィル a、COD、TOC はいずれも有効的に除去され、接触ろ材充填系は充填しない系に比較し、各パラメーターは2~3倍の除去効果が認められた。

* 茨城県衛生研究所

** 国立環境研究所

*** 東北大学

真空包装ブロック牛肉のガス発生について

茨城県衛生研究所 食品薬品部

山本和則 村上りつ子 長峰さつき 神谷隆久 鹿島恭子 一条悟朗

真空包装ブロック牛肉は、4日目より発ガスが確認でき、7～10日目で真空包装が、ガス充填包装様に変化した。その肉質には変化がなく、表面にネトが発生しただけであった。その時点での低温細菌数は、デソキシコレート培地で 10^3 /ml、標準寒天培地で 10^7 /ml、GAM寒天培地で 10^8 /ml、ゲンタマイシン含有GAM寒天培地で 0 /mlであり、偏性嫌気性菌は存在せず大腸菌群以外の通性嫌気性菌が大部分を占めているものと考えられた。ガスクロマトグラフィーによるガス成分分析では、二酸化炭素が顕著に認めら

れ、他の成分は、不検出又は痕跡程度しか検出されなかった。低温細菌叢は、Corynedacterium、ヘテロ型Lactobacillus、Leuconostocの3属で90%以上を占めた。発育温度域試験の結果から5℃で発育可能な菌株は、0℃でも2週間以内に発育可能であるので、屠殺・解体から真空包装までの初期における低温細菌数をより少なくする事が重要であると思われる。

日本食品衛生学会第62回学術講演会（平成3年10月24～25日：富山）に於いて口演発表

新しく分離した藍藻による霞ヶ浦のカビ臭発生

杉浦則夫*、稲森悠平**、須藤隆一***

概 要

1989年から1990年にかけて、霞ヶ浦湖水で強いカビ臭が発生した。原因を調査したところ、付着性藍藻類の *Phormidium viscosum*, *Lyngbya allorgei*, *Oscillatoria splendida* お

よび *Phormidium uncinatum* が生成する geosmin が関与していることが明らかとなった。

* 茨城県衛生研究所

** 国立環境研究所

*** 東北大学

霞ヶ浦のカビ臭発生の原因

杉浦則夫*、稲森悠平**、須藤隆一***

概 要

1970年代から、霞ヶ浦におけるカビ臭発生の原因を調査してきた。カビ臭発生の原因は3通りのパターンがあることがわかった。1つは、四季と無関係に湖水中で増殖し、2-メチルイソボルネオールを生成する藍藻 *Phormidium tenue* であり、第2は、底泥中で藻由来の炭素源を利用して増殖し2-メチルイソボルネオールおよびジスオスミンを生成する放線菌であること、第3は、石れきや底泥表面に付着し、増殖してジ

オスミンを生成する藍藻の *Phormidium viscosum*, *Lyngbya allorgei*, *Oscillatoria splendida* および *Phormidium uncinatum* であることが明らかにされた。

第26回日本水環境学会（東京都）平成4年3月17～18日

* 茨城県衛生研究所

** 国立環境研究所

*** 東北大学

平成4年度編集委員

樋口 四郎 根本 治育 神谷 隆久

杉浦 則夫 大曾根圭子

茨城県衛生研究所年報 第30号

平成4年10月1日発行

編集兼発行 茨城県衛生研究所

水戸市笠原町993-2

電話 0292-41-6652

印刷 日立高速印刷株式会社

日立市東成沢町3-4-8

電話 0294-35-3511

