

千葉県で分離された結核菌のRestriction Fragment Length Polymorphismパターンのクラスター分析 岸田一則, 横山栄二, 内村眞佐子, 一戸真人: 感染症誌79: 672-679

多数の結核菌IS6110 restriction fragment length polymorphism (RFLP)パターンを、クラスター分析する方法を検討した。電気泳動用ゲル濃度は1.1%で、外部マーカーは、MWⅢを両端と中央の3レーンに配置することにより、ソフトウェアによるパターンの認識精度が向上した。千葉県内の患者由来74株のパターンを、類似度計算時のパラメーターとしてトレランス値0.8%, 最適化値0.5%に設定してクラスター分析したところ、8感染事例由来19株は事例ごとに類似度の高いクラスターに分類された。

2. 学会発表(口演, 示説等の抄録)

ビスフェノールA (BPA) の分解は鉄の種類, 硫酸イオン, 蛋白質に左右される 佐二木順子: 第7回環境ホルモンの学会 2004, 12, 14-15, 名古屋市

アルブミン (Al) 溶液中で鉄の種類 (ⅡまたはⅢ), 硫酸イオンの有無, 過酸化水素の有無がBPAの分解にどのような影響を及ぼすか検討した。Al 溶液中でのBPAの分解速度は、Fe(Ⅱ), Fe(Ⅲ) とともに H_2O_2 存在下で最も速かった。BPAの分解については、Fe(Ⅱ) 存在下では H_2O_2 が必須であったが、Fe(Ⅲ) 存在下では H_2O_2 がなくても Na_2SO_4 添加のみで生じた。Fenton 反応下のみならず、Fe(Ⅲ) と Na_2SO_4 との反応でも蛋白質の変性が生じた。ヒドロキシラジカルの発生は、Fenton 反応以外にFe(Ⅲ) の添加のみでも生じた。Al 溶液中で観察されたFe(Ⅲ) と Na_2SO_4 反応下でのBPAの分解は、Al とFe(Ⅲ) の反応によって生じるヒドロキシラジカルの発生と Na_2SO_4 による蛋白質の変性過程で生じるラジカル反応の相乗効果によるものと考えられた。

高速液体クロマトグラフィーによる健康食品中の乾燥甲状腺由来の甲状腺ホルモンの分析について 宮本文夫, 石井俊靖, 長谷川貴志, 矢崎廣久: 平成16年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部第17回理化学研究部会, 2005, 2, 25, 静岡市

健康食品中の乾燥甲状腺由来の 3,5,3'-トリヨード-L-チロニン (T3) 及びL-チロキシン (T4) をフォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフィーにより分析する方法について検討したところ、健康食品試料の半数近くが陽性を示し、試料由来の妨害ピークの影響の大きさが示唆された。そこで、この方法の試料前処理操作を改良し、試料の水洗処理及び強陰イオン交換カートリッジカラムによる精製操作を追加した結果、健康食品由来の妨害ピークをほぼ完全に除去することができ、また、T3とT4の回収率も向上し、より正確な分析が可能となった。更にこの改良法の試験溶液を濃縮し、移動相で溶解することにより高速液体クロマトグラフィー/質量分析法による確認も可能であった。

アレルギー物質を含む食品の検査について 橋本博之, 永田知子: 平成16年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部, 第17回理化学研究部会総会・研究会, 2005, 2, 25

平成16年度より特定原材料5品目の検査を開始した。本年度は

特定原材料5品目をそれぞれ16検体ずつ、合計80検体の検査を行った。本報告では容器包装詰加圧加熱食品及びたれ・つゆ類を検体とした小麦についてのスクリーニング検査及び確認検査結果を報告した。殺菌のために過度に加工処理された容器包装詰加圧加熱殺菌食品の場合、ELISA法で陽性であるがPCR法で陰性という検体が複数みられた。

アデノウイルス11型による集団発生事例 小川知子, 岡田峰幸, 窪谷弘子, 吉住秀隆, 篠崎邦子: 地方衛生研究所全国協議会第19回関東甲信静ウイルス研究会, 2004, 9, 30-10, 1, 横浜市

2004年5月県内の全寮制の職業学校において、発熱、咽頭痛、を主症状とする疾患の集団発生があり、検査の結果アデノウイルス11型 (Ad11) によるものであることがわかった。Ad11は急性出血性膀胱炎の起因ウイルスとして知られているが、呼吸器症状での集団発生の報告はほとんどなく、中和抗体価の測定を実施するとともに、この地区の小児におけるアデノウイルス (Ad) の流行状況を調査した。

アデノウイルス11型 (Ad11) による集団発生事例

小川知子, 岡田峰幸, 窪谷弘子, 吉住秀隆, 一戸真人, 篠崎邦子: 第13回千葉県公衆衛生学会, 2005, 2, 4, 千葉市

2004年5月、県内東部の職業学校および南部の高校においてアデノウイルスによる2事例の呼吸器症状での集団発生があり、検査の結果両事例ともにアデノウイルス11型 (Ad11) によるものであることがわかった。

Ad11は、急性出血性膀胱炎の起因ウイルスとして知られているが、呼吸器症状での集団発生の報告はほとんどない。2事例から検出されたウイルスのアミノ酸配列を比較したところ両ウイルスは、同年3月に分離された散発例にはないアミノ酸欠損を共通して持っていたが、2事例の関連は不明である。

ウシ乳頭におけるパピローマおよび健康な乳頭皮膚からのウシパピローマウイルスの検出

小川知子, 富田善身¹⁾, 岡田峰幸, 篠崎邦子, 窪谷弘子, 海保郁男²⁾, 白澤 浩¹⁾, 第52回日本ウイルス学会, 2004, 11, 21-23, 横浜市

ウシパピローマウイルス (BPV) では6種類の遺伝子型が同定されている。ウシの乳頭における乳頭腫および健康な乳頭皮膚からのBPVの検出を試みたところ、既知のものとともに新しいと考えられる遺伝子型が12種類検出され多様な遺伝子型のパピローマウイルスが複数種類で存在することが示された。また、今回検出された新しい遺伝子型のパピローマウイルスの多くは健康な乳頭皮膚に存在していることが示唆された。その1種類についてはLI遺伝子の全塩基配列を決定し系統解析を実施した。

- 1) 千葉大学大学院医学研究院分子ウイルス学 (E2)
- 2) 千葉県健康福祉部健康増進課

飲料水によるA群ロタウイルスの急性胃腸炎集団発生 篠崎邦子, 岡田峰幸, 小川知子, 海保郁男, 谷口孝喜¹⁾: 第52回日本ウイルス学会, 2004, 11, 21-23, 横浜市

2003年7月下旬県内のA高校において、体育館を利用した7名

ループに急性胃腸炎の集団発生がみられ、ウイルス検査によりA群ロタウイルスが検出され、検出ウイルスは全てG1P[8]であった。疫学調査の結果、体育館の冷水器の飲料水が原因と推測された。また、施設調査の結果、事件発生直前に校舎の給水管の工事のため全館断水しており、後日給水管に亀裂が見つかった。この亀裂部分から、隣接の汚水管から漏れ出し汚水が水道水に混入したのではないかと推定された。

1) 藤田保健衛生大学医学部ウイルス寄生虫学教室

ヘキソン領域の塩基配列に基づくアデノウイルス型別の試み 岡田峰幸, 小川知子, 窪谷弘子, 吉住秀隆, 篠崎邦子: 地方衛生研究所全国協議会第19回関東甲信静支部ウイルス研究部会, 2004. 9. 30-10. 1, 横浜市.

ヒトアデノウイルス (AdV) は、これまでに6種に分類され、51の血清型が知られている。ウイルス分離・中和反応による血清型同定は、時間がかかり、血清型によっては困難な場合がある。今回迅速な血清型別法として、型特異抗原エピトープを含むヘキソン蛋白高度可変領域 (HVR) のPCR/塩基配列解析法を試みた。DNAデータベースで入手可能な塩基配列をもとに、プライマーをデザインしPCRを実施した。入手できた6種20血清型の標準株は、すべてのサンプルで増幅が確認された。DNAデータベース上の利用可能な31血清型と今回新たに塩基配列を決定した5血清型を併せて36血清型の当該領域の核酸の解析では、ほぼ亜属ごとのクラスターを形成し、各血清型は明瞭な分岐を示し、型別に応用可能であることが示された。また、中和試験により血清型を決定した臨床分離株を用いて遺伝子解析による結果と併せて検討したところ、実施した株すべてで中和試験による血清型と遺伝子による型別の結果が一致した。本法により、ウイルス分離後に中和試験を行うことで時間と手間がかかっていたAdVの同定が、本法では早ければ検体搬入後2日程でAdVの検出および型別が可能であり有用な方法と思われる。

千葉県内における紅斑熱患者の発生状況 吉住秀隆, 小川知子, 岡田峰幸, 窪谷弘子, 篠崎邦子, 海保郁男¹⁾: 第43回千葉県公衆衛生学会, 2005. 2. 24, 千葉市

過去10年間の日本紅斑熱患者の発生状況を抗体検査により調査した結果、30人の患者発生が確認され、近年では2001~2003年は患者の発生はなかったが、2004年は5人が確認された。患者数に性差はなく、年齢は50歳以上が22人 (73.3%) であった。発生地域は夷隅郡大多喜町16人、勝浦市5人、君津市4人と県南部の一部地域に限局しており、1999年に調査されて以降、現在のところ感染地域の拡大は確認されなかった。また、発症時期は夏季が主であったが、5月上旬から10月上旬までみられ、2004年には5月12日に6歳女の発生があり (感染推定日は5月2日)、時期が早まっている点については今後注意する必要があると思われた。

1) 健康福祉部健康増進課

Variable Numbers of Tandem Repeat typingによる結核菌の遺伝子型別 横山栄二, 岸田一則, 一戸貞人: 第80回日本結核病学会 2005. 5.12-13, さいたま市

結核菌の遺伝子型別をVNTR法とRFLP法で比較し、RFLP法

より解像度の高いVNTR法を開発した。

腸管出血性大腸菌PFGEパターンの系統樹解析によるdiffuse outbreak発生監視システム構築 横山栄二: 平成17年度日本獣医公衆衛生学会 (関東地区) 2005. 9. 25, 横浜市
腸管出血性大腸菌のPFGEパターンを系統樹解析することで、diffuse outbreakの発生を早期把握するシステムを構築した。

VNTRとRFLPによる結核菌遺伝子型別の比較 横山栄二, 岸田一則, 一戸貞人: 第54回日本感染症学会 (東日本) 2005. 10. 27-28, 東京都

結核菌の遺伝子型別をVNTR法とRFLP法で比較し、RFLP法より解像度の高いVNTR法を開発した。

Variable Number of Tandem Repeat (VNTR) による結核菌の遺伝子型別 横山栄二, 岸田一則, 三瓶憲一, 一戸貞人: 第17回地研協議会関東甲信静支部細菌研究会 2005. 2. 17-18, 千葉市
結核菌の遺伝子型別をVNTR法とRFLP法で比較し、RFLP法より解像度の高いVNTR法を開発した。

酪農関係展示施設における動物との接触が発生原因となった腸管出血性大腸菌感染症 横山栄二: 第29回千葉県獣医学会 2005. 3. 6, 千葉市

県内の牧場訪問者に発生した腸管出血性大腸菌感染症の概要について報告した。

観光牧場における牛との接触により発生した腸管出血性大腸菌感染症の分子疫学的解析 横山栄二, 内村真佐子, 一戸貞人: 第9回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム 2005. 6. 23-24, 盛岡市

県内の牧場訪問者に発生した腸管出血性大腸菌感染症の分子疫学的解析を行った。

VNTR型別とRFLP解析による結核菌遺伝子型別の比較 横山栄二, 岸田一則, 一戸貞人: 第2回結核地域分子疫学研究会 2005. 9. 1, 東京都

結核菌の遺伝子型別をVNTR法とRFLP法で比較し、RFLP法より解像度の高いVNTR法を開発した。

variable numbers of tandem repeat typingによる腸管出血性大腸菌O157の型別 横山栄二, 内村真佐子: 第26回日本食品微生物学会 2005. 11. 10-11, 金沢市

腸管出血性大腸菌O157の遺伝子型別をVNTR法とPFGE法で比較検討した。

カンピロバクターによる集団食中毒について 依田清江, 内村真佐子: 第43回千葉県公衆衛生学会

近年カンピロバクターの検出数は散发例、集団発生例共に増加している。千葉県では、2003年に県外発生例を含め7例の集団発生があり、過去最高であった。タイプの異なる3事例について原因解析をし、カンピロバクター食中毒の特徴を検討した。

細胞空胞化とPCR法によるセレウス菌の嘔吐毒の検出

江下倉重, 内村眞佐子: 第43回千葉県公衆衛生学会

セレウス菌の嘔吐毒検出についてPCR法と細胞空胞化試験を行い、PCR法の有効性を検討した。

制限酵素 double-digestion法を用いたパルスゲル電気泳動 (PFGE) 法による *Campylobacter jejuni* 集団食中毒の疫学的解析

依田清江, 内村眞佐子: 第79回日本感染症学会

C. jejuni のPFGEに頻用される制限酵素のうち、2種類を組み合わせて酵素処理 (double digestion) したDNA切断パターンを系統樹解析することで、単独酵素処理の解析では判明しない菌株間の相同性の差異を検索することを試みた。実際の集団食中毒事例の解析で、この方法の有用性を示した。

イグアナが感染源と推定された乳児下痢症患者から分離されたサルモネラについて

依田清江, 内村眞佐子: 第54回日本感染症学会東日本地方会総会

生後3ヶ月の下痢症患者から、人からの分離は非常に希な血清型のサルモネラが分離され、生化学性状検査の結果 *Salmonella* (*S.*) *enterica* *subspecies houtenae* (IV) と同定された。患児は、自宅で飼育されているイグアナから感染したことが強く推定された。日本では初めての事例であった。

ふき取り法による市販鶏肉からの *Campylobacter* 検出—複数株による汚染の実態

依田清江, 内村眞佐子: 第26回日本食品微生物学会

市販鶏肉の *Campylobacter* 汚染状況を調べるため、より簡便な検出法を検討すると共に、検出された菌株の相同性をパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法で調べた。我々の考案したふき取り法は、操作が簡便であると共に検出感度が高く、市販鶏肉の *Campylobacter* 汚染率は80%以上であることが分かった。

また、鶏肉は複数の株で汚染され、その割合は様々であること、この状況は実際の食中毒事例で食品やヒトから分離される *Campylobacter* の状況に似ていることが分かり、原因解析の参考となった。

県内産小麦の赤かび病による汚染実態調査と赤カビ毒の選別除去

高橋治男, 第32回カビ毒研究連絡会シンポジウム

小麦13試料について赤カビ毒のデオキシニバレノール及びニバレノールの分析を行うとともに、近赤外領域波長を利用した選別機により選別を行い、赤カビ毒の減衰について調べた。それらのカビ毒汚染は菌の検出率とほぼ相関したが、基準値を超えるものは認められなかった。一部の試料を除けば、選別によりそれらのカビ毒の減少が顕著に認められた。

2004年に実施したRFLP分析成績について

岸田一則, 横山栄二, 内村眞佐子, 第43回千葉県公衆衛生学会

2004年に千葉県内の患者から分離された結核菌のRFLP分析を実施して疫学調査に利用した。検査した70株はRFLP分析で51パターンに分類された。そのうち12パターン (31株) は2株以上の菌株が分類された。異なるRFLPパターンに分類された菌株は、

疫学調査で関連は認められなかった。共通感染源の存在が疑われた9事例18株はRFLPパターンが100%一致した。しかし関連が認められなかった患者でも6事例11株でRFLPパターンが一致した。

3. 著 書

SAJKI JUNKO, 2000 OUTSTANDING SCIENTISTS OF THE 21ST CENTURY-2004, IBC, Cambridge CB2 3QP England

佐二木 順子ほか, ビスフェノールAの低用量影響評価データ集, 平成16年度厚生労働科学研究 (化学物質リスク研究事業), 監修 関澤 純, 平成17年3月