

## 学会等発表

### 仕出し弁当を原因とした黄色ブドウ球菌集団食中毒事例

北橋智子、木村智子、岩撫晴子、野口喜信  
(千葉市環境保健研究所)

平成 22 年度(第 23 回)地研全国協議会  
関東甲信静支部細菌研究部会

**要旨:**平成 22 年 10 月 5 日、保健所は国体運営の関係者が食中毒様症状を呈して緊急搬送されたとの通報を受理し、調査を開始したところ S 施設が製造した弁当を喫食した国体関係者 1,096 名のうち 114 名が発症していることが判明した。S 施設が提供した弁当は A (1,200 個)、B (300 個)の 2 種類で、患者は A 弁当を喫食した者に限られていた。

A 弁当残品 2 検体、検食 6 検体(10 月 3~5 日に提供された A 及び B 弁当) 原材料 6 検体、拭き取り 15 検体、患者便 10 検体、従事者便 15 検体の計 54 検体について常法により食中毒菌の検索を実施した。

その結果、患者便 7 検体、A 弁当残品 2 検体、検食 2 検体(10 月 5 日に提供された弁当 A 及び B)からコアグラゼ型、EntA 産生の黄色ブドウ球菌が検出された。分離されたコアグラゼ型、EntA 産生の黄色ブドウ球菌の PFGE パターン、及び POT 型は全て一致した。A 弁当残品 1 検体、検食 2 検体(A 及び B 弁当)の「鶏の照焼き」から、当該菌が  $10^8$ /g、 $10^2$ /g、 $10^3$ /g 検出され、また、RPLA 法によっても直接 EntA が検出された。

以上のことから「鶏の照焼き」が原因であることが強く疑われたが、汚染経路を特定するまでにはいたらなかった。保健所は S 施設を原因施設とする食中毒と断定し処分を実施した。

## 学会等発表

### 新型インフルエンザウイルス A/H1N1pdm におけるリアルタイム RT-PCR によるオセルタミビル耐性マーカーのスクリーニング

横井一、田中俊光、小林圭子、岩撫晴子、野口喜信、三井良雄、岡本明  
(千葉市環境保健研究所)

平成 22 年度(第 25 回)関東甲信静支部ウイルス研究部会

**要旨:**新型インフルエンザウイルス A/H1N1pdm (以下 AH1pdm) 株のノイラミニダーゼ(以下 NA)における H275Y のアミノ酸置換(以下 H275Y 耐性マーカー)の有無を臨床検体からスクリーニングするためのリアルタイム RT-PCR について検討した。

感度と特異性の検討には、当所において分離同定した AH1pdm 感受性株と千葉県衛生研究所から分与された AH1pdm 耐性株を使用した。また、H275Y 耐性マーカーのスクリーニングには、AH1pdm 株が分離同定された臨床検体 112 検体を使用した。一方、他の呼吸器ウイルスとの交差反応性の検討には、当所にて分離同定された季節性 A/H1N1、季節性 A/H3N2、RS ウイルス、麻疹ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、エコーウイルス、A 群コクサッキーウイルスの分離培養液、および感染研より配布された高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 の RNA を用いた。

リアルタイム RT-PCR に用いた TaqMan MGB プローブについては、Chutinimitkul らの報告を参考にオセルタミビル感受性株検出用と耐性株検出用の 2 種類を設計した。QuantiTect Probe RT-PCR Kit (QIAGEN) によるリアルタイム RT-PCR を行い、感受性株と耐性株それぞれの増幅曲線(蛍光シグナル)と Ct 値を確認した。

本法では、感受性株に対しては  $10^7$  倍希釈まで、耐性株では  $10^6$  倍希釈までのサンプルに対して増幅曲線(蛍光シグナル)が認められた。また、臨床検体 112 検体において、リアルタイム RT-PCR による H275Y 耐性マーカーのスクリーニング結果と NA 遺伝子の部分塩基配列解析による耐性マーカーの検索結果は、両者ともに全て感受性(H275H)であり完全に一致した。しかしながら、感受性株検出用プロブが耐性株に交差反応し、耐性株に対しては 2 種類の蛍光シグナルが認められた。本法における他の急性呼吸器ウイルスとの交差反応について検討した結果、高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 にのみ反応が認められた。

以上の結果から、今回検討したリアルタイム RT-PCR は、耐性株に対して交差反応が認められるものの、耐性株が地域社会に拡大していない現時点において、オセルタミビル耐性マーカーの有無のスクリーニング法として有用であると考えられる。

## 学会等発表

### リアルタイム RT-PCR 法による胃腸炎患者からのアストロウイルスの検出

小林圭子、横井一、田中俊光、北橋智子、岩撫晴子、野口喜信、三井良雄、岡本明  
(千葉市環境保健研究所)

平成 22 年度(第 49 回)千葉県公衆衛生学会

**要旨:** コンベンショナル RT-PCR 法(以下、RT-PCR 法)はアストロウイルス遺伝子を感度良く検出することが可能だが、電気泳動およびダイレクトシークエンスによる増幅産物の確認が必要であり、迅速性に欠ける。アストロウイルス遺伝子を高感度かつ迅速に検出可能なリアルタイム PCR 法を開発した。

アストロウイルスの陽性コントロールプラスミドの調製には、愛媛県立衛生環境研究所から分与された血清型 1~7 型のウイルス株、および当所において分離した血清型 8 型のウイルス株を使用した。

一方、臨床検体における本法の有用性と他の下痢症ウイルスとの交差反応の有無を検討するために、平成 17 年 4 月~平成 22 年 8 月に市内医療機関等において採取された胃腸炎患者の糞便、直腸ぬぐい液、および吐物 534 検体を使用した。

センスプライマー 3 種類、アンチセンスプライマー 1 種類、および TaqMan MGB プローブ 1 種類を設計し、アストロウイルス分離株の培養上清、または 10%糞便乳剤に対し QuantiTect Probe PCR Master Mix(Qiagen)を用いてリアルタイム PCR を行った。さらに、既報の RT-PCR 法も併せて行った。

今回開発したリアルタイム PCR 法は、1~8 型の各血清型において、30 コピー/tube 以上の遺伝子が存在すれば、アストロウイルス遺伝子の検出と定量が可能であることが確認できた。また、胃腸炎患者の糞便等 534 検体のうち 18 検体からアストロウイルス遺伝子が検出された(1 型: 12 検体、2 型および 6 型: 1 検体、3 型: 2 検体、4 型: 2 検体、8 型: 1 検体)。なお、他の下痢症ウイルス(ノロウイルス、サボウイルス、A 群ロタウイルス、およびアデノウイルス)との交差反応もなく、高い特異性を有することが明らかとなった。本法の検出感度についても、既報の RT-PCR 法に比べ感度が高いことが確認された。

今回開発したリアルタイム PCR 法は RT-PCR 法と比べ、高感度かつ迅速にアストロウイルス 1~8 型の各血清型の遺伝子検出と定量が可能であることから、食中毒や感染性胃腸炎の集団発生時における行政検査だけでなく、アストロウイルスの流行状況等に関する疫学調査、および臨床検査等にも極めて有用であると考えられる。

## 学会等発表

### 室内空气中化学物質検査の変遷について

高梨嘉光、近藤文、山口玲子、木原顕子、宮本廣、三井良雄、岡本明  
(千葉市環境保健研究所)

平成 22 年度(第 49 回)千葉県公衆衛生学会

**要旨:** 平成 12 年度より当研究所は千葉市保健所環境衛生課が行っている個人住宅のシックハウス相談の空气中化学物質測定を担当してきた。今回、平成 12 年から平成 22 年までのシックハウス検査について空气中化学物質測定データについて取りまとめた。

**結果:** 検査件数は建築基準法が改正された平成 15 年を境に減少に転じ、現在は年間 10 件前後で推移している。検査件数に伴い指針値超過数も減少・横ばいの状態であるが、指針値超過率は減少傾向を示していない。

各項目の指針超過率をみると、パラジクロロベンゼン 11.9%、ホルムアルデヒド 6%、アセトアルデヒド 5.5%、トルエン 0.6%の順であり、その他の項目では指針値超過はなかった。また月別の指針値超過傾向では、ホルムアルデヒド指針値超過は 6 月~10 月、平均室温 24 以上かつ相対湿度 50%以上の時に検出されていた。パラジクロロベンゼン指針値超過は 8、9 月の高温期および 12、1 月の厳寒期以外に広く検出された。アセトアルデヒド指針値超過は 5 月~11 月の平均室温 18~28 の温暖期に検出されていたが、8、9 月の高温期にはみられなかった。

## 学会等発表

### 畜水産物中の動物用医薬品一斉分析法の検討

山下範之、張能太郎\*、木原顕子、宮本廣、三井良雄、  
岡本明

(千葉県環境保健研究所、千葉県環境規制課\*)

平成 22 年度 (第 49 回) 千葉県公衆衛生学会

**要旨:** ポジティブリスト制の施行後、800 項目以上の農薬等に基準値が設定された。動物用医薬品にも施行前の 33 項目から 200 項目以上に基準値が設けられ、従来の個別分析から同時に多成分を測定できる一斉分析への取り組みが多く見られるようになった。現在、高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS/MS) で 16 項目について一斉分析を行っており、今後は行政検査依頼が増加していくことが予想される。標準品調製の際の手間を軽減するため、市販の混合標準液に当所で分析を行なっている項目を加え 55 項目について条件検討を行なった。さらに、実際の検体を用いてイオン化法の検討および添加回収試験を行ない、当所での適用を検討した。

動物用医薬品の一斉分析は厚生労働省通知の一斉分析法に基づいて操作し、異なるイオン化法 (ESI および APCI) で添加回収試験を行なった結果、ESI の方が感度良く定量できた。さらにマトリクス検量線を用いると、最大で 9 割以上の項目について回収率 70~120 %を満たすことができた。

## 学会等発表

### 千葉市の湧水の状況について

鈴木新

(千葉県環境保健研究所)

平成 22 年度全国環境研協議会関東甲信静支部水質専門部会

**要旨:** 平成 18 年度から 21 年度にかけて行われた市内湧水の現地踏査による分布状況、水量及び水質調査の結果について整理した。

過去の調査結果と比べると湧水の確認数は大きく変化していないが、分布は西部の都市化が進んだ地域から、東部の市街化調整区域を主とした地域へ移っていた。

季節により湧水量は大きく変動したが、増減傾向はそれぞれの湧水によって異なり、一定の傾向を示していない。

水質については、湧水量と異なり季節が変わってもイオンの組成に変化が無く、湧水が通過する地下経路の安定していることが示唆される。また、それぞれの湧水の組成に差は小さく、千葉市の地理、地形条件に起因するものと思われる。

## 学術誌発表

### A型肝炎ウイルスによる食中毒事例 - 千葉市

横井一<sup>1</sup>、田中俊光<sup>1</sup>、小林圭子<sup>1</sup>、岩撫晴子<sup>1</sup>、野口喜信<sup>1</sup>、三井良雄<sup>1</sup>、岡本明<sup>1</sup>、若岡未記<sup>2</sup>、西郡恵理子<sup>2</sup>、渡部展彰<sup>2</sup>、清田智子<sup>2</sup>、加曾利東子<sup>2</sup>、大山照雄<sup>2</sup>、西村正樹<sup>2</sup>、本橋忠<sup>2</sup>、小川さやか<sup>2</sup>、小山大雅<sup>2</sup>、長嶋真美<sup>2</sup>、大野喜昭<sup>2</sup>、大塚正毅<sup>2</sup>、中台啓二<sup>2</sup>、池上宏<sup>2</sup>、石井孝司<sup>3</sup>、野田衛<sup>4</sup>

( 1 千葉市環境保健研究所、2 千葉市保健所、3 国立感染症研究所、4 国立医薬品食品衛生研究所 )

掲載紙：病原微生物検出情報月報

Vol.32,78-79,2011

**要旨：**2011 (平成 23) 年 1 月に千葉市内の飲食店 (寿司店) を原因施設とする A 型肝炎ウイルス (HAV) による食中毒事例が発生したのでその概要について報告する。

なお、本事例は、患者の共通食が当該寿司店によって提供された食事に限られていること、患者及び調理従事者の便から HAV が検出されたこと、患者を診察した医師から食中毒患者等届出票が提出されたことから、寿司店を原因施設とする食中毒と断定し、2011 年 1 月 28 日～1 月 30 日までの 3 日間の営業停止処分となった。

2 月 7 日における感染症法に基づく A 型肝炎発生届患者は 36 名であり、千葉市保健所は感染経路等の詳細な調査を現在も継続中である。

2011 年 1 月 21 日、4 件の A 型肝炎発生届が市内医療機関から千葉市保健所にあり、同保健所は食品や井戸水等の同一感染源を介した集団発生を疑い調査を開始した。その後、複数の市内医療機関から A 型肝炎発生届があり、1 月 28 日における届出患者は合計 20 名となった。

調査の結果、患者 20 名は 1 月 8 日から 1 月 21 日にかけて全身倦怠感、発熱、黄疸等の肝炎症状を呈していることが明らかとなった。また、これらの患者に共通の食事や利用施設等を特定するために、2010 年 11 月下旬から 12 月中旬 (A 型肝炎の潜伏期間 (2~7 週間) を考慮) における喫食状況等の調査を実施したところ、患者は市内寿司店で調理、提供された食事を喫食していたことが明らかとなった。

保健所が採取した患者 15 名の糞便検体についてリアルタイム PCR 法 (平成 21 年 12 月 1 日付食安監発 1201 第 2 号「A 型肝炎ウイルスの検出法について」) による HAV 遺伝子 (5'UTR 領域) の検出を行ったところ、患者 15 名中 15 名から HAV 遺伝子が検出された (糞便 1g 当たりの RNA コピー数は  $3.0 \times 10^5 \sim 8.7 \times 10^9$  表は省略)。同様に寿司店の従事者 34 名の糞便検体について遺伝子の検出を行ったところ、従事者 34 名中 3 名から HAV 遺伝子が検出

された (糞便 1g 当たりの RNA コピー数は  $5.3 \times 10^4 \sim 3.5 \times 10^{11}$ )。

また、患者家族への二次感染の有無を把握する目的で、協力が得られた家族 27 名の糞便検体について検査を行った結果、1 名から HAV 遺伝子が検出された (糞便 1g 当たりの RNA コピー数は  $1.1 \times 10^8$ )。その後の調査により、この 1 名は寿司店を利用していることが判明した。

一方、寿司店における参考食品 5 検体、及び拭き取り 6 検体についてもリアルタイム PCR 法を実施したが、HAV 遺伝子は検出されなかった。

なお、HAV 遺伝子が検出された寿司店の従事者 3 名のうち 2 名は調理を担当し、うち 1 名 (糞便 1g 当たりの RNA コピー数は  $1.4 \times 10^7$ ) は、2010 年 12 月 19 日から発熱や全身倦怠感等の症状を呈したことから、12 月 22 日に医療機関を受診し、同日に入院していた (後日 A 型肝炎と診断)。2011 年 1 月 7 日に退院した後、1 月 16 日から再び調理に従事していた。

リアルタイム PCR 法によって HAV 遺伝子が検出された患者 15 名、従事者 3 名、及び患者家族 1 名の合計 19 検体について、VP1/2A 領域の PCR 産物 (HAV+2799/HAV-3273 プライマーを使用) の塩基配列をダイレクトシーケンス法により決定し、その一部約 300bp について clustalX (1.83) を用いた多重アライメントを行った。分子系統樹は Neighbor joining 法 (NJ 法) により作成し、今回得られた遺伝子配列の解析を行った。

その結果、解析可能であった 18 検体 (従事者 1 名を除く) は全て genotype A に分類され、そのクラスターの 1 つである A-1 に属し、2010 年に日本で広域的に流行した A-2 や A に属する株とは異なることが明らかとなった。また、2010 年 6 月に千葉市内での散発事例から検出された 1 株とは異なる塩基配列を有していた。A-1 クラスターは、2006 年に滋賀や新潟で小流行した株と類似しており、2001 年から継続して検出されていることが報告されている (IASR31 : 287-289, 2010)。このことから、本事例で検出された株は、国内に常在していた株であると考えられた。また、その遺伝子配列は患者 1 検体 (99.7%) を除く 17 検体が 100% 一致し、同一感染源に由来する株であることが強く示唆された。なお、DDBJ における BLAST 検索では HAJ04-3 (accession no. AB258604) に最も高い相同性を示した。

A 型肝炎の潜伏期間は長く、感染源や感染経路の特定が極めて困難である。従って、患者や調理従事者から検出された HAV の分子疫学的解析結果が疫学調査等の方向性を決定するための重要な情報 (ウイルス株間の関連性や感染地域の推定) となり、原因究明や感染拡大の防止に寄与するものと考えられた。

## 学術誌発表

### インドネシアからの G3 型麻疹ウイルス輸入症例 - 千葉市

田中俊光<sup>1</sup>、横井一<sup>1</sup>、小林圭子<sup>1</sup>、岩撫晴子<sup>1</sup>、野口喜信<sup>1</sup>、三井良雄<sup>1</sup>、岡本明<sup>1</sup>、小川さやか<sup>2</sup>、小山大雅<sup>2</sup>、長嶋真美<sup>2</sup>、大野喜昭<sup>2</sup>、大塚正毅<sup>2</sup>

( 1 千葉市環境保健研究所、 2 千葉市保健所 )

掲載紙：病原微生物検出情報月報

Vol.32,79-80,2011

**要旨：**2011 年 2 月に、千葉市内の医療機関で麻疹と診断された患者から G3 型麻疹ウイルス遺伝子が検出されたので報告する。

患者は 28 歳女性で麻疹ワクチン接種歴および麻疹既往歴はなく、2011 年 1 月 31 日からインドネシアに滞在し 2 月 9 日に帰国した。2 月 14 日から咳、微熱などの風邪様症状を認め、19 日に近医を受診し風邪と診断された。2 月 20 日に顔面に発疹が出現し、翌日には頸部まで拡大したため、22 日に他医療機関を受診したところ、発熱( 39 )、咳、結膜充血、コプリック斑、発疹などの臨床症状から麻疹が疑われ入院措置がとられた。

2 月 23 日に採取された患者の血液を検体として、麻疹ウイルス N 遺伝子を標的とした RT-nested PCR 法を実施し、得られた増幅産物についてダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。決定した塩基配列の一部 456bp について系統樹解析を行ったところ遺伝子型 G3 に分類された。また、DDBJ の BLAST 検索の結果、2010 年にイギリスで検出された株 ( MVs/Watford.GBR/40.10 ) と 99.8% ( 455bp/456bp ) の相同性を示した。

G3 型麻疹ウイルスはインドネシアや東ティモールなどに分布しているが、本邦で確認されたのは今回が初めてであり、本症例は患者の渡航歴からインドネシアからの輸入例であると考えられた。

なお、患者は 3 月 2 日に退院予定であり、3 月 2 日現在、渡航に同行した者の発症、及び患者周囲での二次感染例は確認されていない。国内での麻疹患者の発生数の減少に伴い、2011 年に入っても海外に由来する D9 型や D4 型などの検出例が相次いでいることから、輸入例の鑑別に有用な遺伝子型別による検査室診断が重要になってきているものと考えられる。

## 学術誌発表

### 小学校におけるノロウイルス G の集団感染事例 - 千葉市

横井一<sup>1</sup>、小林圭子<sup>1</sup>、田中俊光<sup>1</sup>、岩撫晴子<sup>1</sup>、野口喜信<sup>1</sup>、三井良雄<sup>1</sup>、岡本明<sup>1</sup>、小川さやか<sup>2</sup>、小山大雅<sup>2</sup>、長嶋真美<sup>2</sup>、大野喜昭<sup>2</sup>、大塚正毅<sup>2</sup>

( 1 千葉市環境保健研究所、 2 千葉市保健所 )

掲載紙：病原微生物検出情報月報

Vol.32,19-19,2011

**要旨：**2010 年 11 月 8 日、教育委員会から「市内の A 小学校において下痢、嘔吐等の症状を呈して欠席した児童が多数いる」旨の連絡が千葉市保健所にあった。保健所の調査の結果、発症者は 4 年生と 5 年生にのみ認められ、その多くが 4 年生に集中し、殆どが 11 月 5 日発症していた。4 年生では 11 月 2 日に 4 年生男子トイレの便器に汚物( 下痢便 ) が付着していたことが判明しており、汚物は 4 年 2 組の担任が水で流したが消毒等の処理を実施していなかった。汚物を処理した担任は 11 月 6 日に発症していた。

一方、5 年生では 11 月 5 日に 5 年 1 組の教室内で児童 1 名が嘔吐し、その吐物が付着した座布団を 5 年 1 組の担任が消毒等を実施せずに処理していたことが確認されており、この担任は 11 月 6 日に発症していた。11 月 1 日以降に 4 年生と 5 年生の児童同士が交流する共通行事はなく、また、給食の調理従事者を対象に 11 月 2 日から 2 週間遡って健康調査を実施したところ、体調不良を呈する職員はいなかった。

本事例の患者数は 4 年生 2 クラス 48 名中 42 名、5 年生 1 クラス 36 名中 6 名、担任( 職員 ) 3 名の計 51 名であり、千葉市環境保健研究所において、発症者 51 名中 4 名( 4 年 1 組の児童 2 名、4 年 2 組担任、5 年 1 組担任 ) についてリアルタイム PCR 法による NV 遺伝子の検出を行った結果、4 名全員から NVG が検出され、糞便 1g 当たりの NV 遺伝子コピー数は  $10^6 \sim 10^{10}$  コピーであった。系統樹解析を実施したところ、NV 遺伝子の配列は一致し、遺伝子型は G / 3 であることが明らかとなった。

以上の結果から、本事例は NVG / 3 を原因とする感染性胃腸炎の人 人感染による集団発生であり、4 年生では 11 月 2 日の男子トイレ汚物から感染が拡大し、5 年生では 11 月 5 日の教室内における吐物から感染が拡大したことが示唆された。

2010 年 10 月以降、市内の小学校や保育所等における NVG / 3 の集団感染事例は 12 件発生しており、市内の感染性胃腸炎患者から検出される NV も全て G / 3 であることから、今後の NV の遺伝子型の動向( 流行する遺伝子型の変化 ) が注目される。

## **学術誌発表**

### **関東におけるPM2.5のキャラクタリゼーション (第2報)**

大塚 大、小倉潔 (千葉市環境保健研究所)

掲載紙：関東地方大気環境対策推進連絡会浮遊粒子状物質  
調査会議 平成 21 年度浮遊粒子状物質合同調査報告書  
(1 都 9 県 6 市)

要旨：平成 21 年度に実施した浮遊粒子状物質の共同調査  
結果についてとりまとめたものです。平成 19 年度までと  
は調査内容を変更し、3 年計画の初年度として実施した平  
成 20 年度に引き続き、その 2 年目として微小粒子状物質  
の夏期における二次生成粒子の高濃度化現象に焦点をあ  
て、広域的な濃度レベルの把握に加え、二次生成粒子成分  
濃度とその前駆物質であるガス状物質濃度を同時に観測  
し比較することにより、夏期における広域二次粒子汚染の  
メカニズムについて検討しています。なお、この報告書は、  
関東地方環境対策推進本部大気環境部会の浮遊粒子状物  
質調査会議で計画、実施した調査を、その計画、調査を引  
き継いだ関東地方大気環境対策推進連絡会の浮遊粒子状  
物質調査会議が取りまとめたものです。千葉市は本編 4 調  
査結果 4.金属元素成分濃度の執筆を担当しました。