

調 査 研 究

Ⅱ 学 会 ・ 学 術 誌 発 表 等

学会等発表

高齢者福祉施設で発生した細菌性赤痢の SYBR Green real-time PCR 法を用いたスクリーニング

島村亮子¹、鈴木信一¹、大木旬子¹、北橋智子¹
元吉まさ子¹、都竹豊茂¹、山本一重¹、吉原純子²
(¹環境保健研究所、²保健所)

平成 27 年度(第 54 回)千葉県公衆衛生学会

要旨：平成 26 年 11 月、千葉市内の高齢者福祉施設において赤痢患者が発生した。感染拡大を防止するため SYBR Green real-time PCR 法（以下、『SYBR-qPCR』）を用いたスクリーニングを行い、迅速に感染者を特定することができたので、概要を報告する。

入所者40名、介護職員53名及び食品従事者11名の合計104名の糞便を検査材料とし、DHL平板培地と白糖加SSS平板培地に直接塗抹し、37℃で20～24時間培養した。並行して、ノボピオシン加mEC培地（以下N-mEC）に加え、42℃で18～24時間増菌培養した。

直接塗抹・培養したDHL平板培地をコロニースイープした菌苔から遺伝子をアルカリ抽出し、赤痢菌の病原遺伝子 *vizA* を標的にした SYBR-qPCR 法を実施した。陽性検体の増菌培養液を各平板培地に塗抹し、37℃で20～24時間培養した。増菌培養・塗抹した平板、または直接塗抹・培養した平板から糖非分解コロニーを釣菌し確認培養した後、赤痢菌免疫血清（デンカ生研）を用いて分離菌株の血清型を同定した。

SYBR-qPCRでは2検体が陽性で、ともに *S.flexneri* 6 型が分離された。融解曲線の Tm 値は、陽性コントロール (*S.sonnei*) は 79.2℃、陽性検体は 80.6℃であった。一連の検査において、陽性コントロールと陽性検体の Tm 値の差は 0.6～1.4℃の範囲であった。

Tm 値の差（検査ごとの Tm 値のバラツキ）は菌種による違いが影響していると思われた。SYBR-qPCR は、陽性コントロールと陽性検体の Tm 値に差が認められる場合に注意を要するが、多くの調査対象を短時間でスクリーニングする際に有用であることが確認できた。

学会等発表

高齢者福祉施設で発生した細菌性赤痢の SYBR Green real-time PCR 法を用いたスクリーニング

北橋智子¹、島村亮子¹、鈴木信一¹、大木旬子¹
元吉まさ子¹、都竹豊茂¹、山本一重¹、吉原純子²
(¹環境保健研究所、²保健所)

平成 27 年度(第 28 回)地衛研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会

要旨：（省略）

平成 27 年度（第 54 回）千葉県公衆衛生学会にて同一演題を発表

学会等発表

RS ウイルス ON1 の流行状況について

水村綾乃¹、西川和佳子¹、坂本美砂子¹、土井妙子²

田中俊光²、横井一³、元吉まさ子¹、都竹豊茂¹

山本一重¹

(¹ 環境保健研究所、² 保健所、³ 動物保護指導センター)

平成 27 年度(第 30 回)地衛研全国協議会関東甲信静支部
ウイルス研究部会

要旨: RS ウイルス (RSV) は急性呼吸器感染症の主な原因ウイルスの一つであり、表面蛋白の一つである G 遺伝子の塩基配列に基づき、サブグループ A (RSV-A) は 11 遺伝子型、サブグループ B (RSV-B) は 20 遺伝子型に分類される。RSV-A の遺伝子型 ON1 は RSV-NA1 の G 遺伝子上に 72 塩基の重複を有する新しい遺伝子型である。今回、我々は市内で初めて RSV-ON1 を検出した 2012 年 1 月から 2015 年 5 月までの期間における RSV-ON1 流行状況を把握することを目的として解析を行った。病原体定点医療機関で採取された急性呼吸器感染症患者の咽頭ぬぐい液等計 972 検体について、RSV の G 遺伝子を標的とした RT-PCR を実施し、ダイレクトシークエンスにより各サブグループの遺伝子型を決定した。972 検体のうち 232 検体から RSV 遺伝子が検出され、系統樹解析が可能であった 75 検体が RSV-NA1、91 検体が RSV-ON1 に分類されたがそのうち 3 検体から RSV-NA1 と ON1 の 2 つの遺伝子型が同時に検出された。RSV-B は 65 検体ですべて RSV-BA に分類され、市内で流行している RSV 遺伝子型は近年国内外で流行している主要な遺伝子型と同様の傾向が示された。RSV-ON1 は 2012 年から 2013 年までは夏から秋に限定されて検出されたが、2014 年は夏から秋の検出ピーク以降 2015 年に入ってから毎月継続して検出された。さらに、RSV 遺伝子陽性検体のうち RSV-ON1 の占める割合も 2012 年以降は増加傾向にあり、現在では RSV-A の主要な遺伝子型となっている。2010 年にカナダで検出されて以降マレーシア等からの報告もあり、今後国内外に拡大する可能性が示唆された。また、RSV-ON1 は細胞への付着に關与する G 蛋白のアミノ酸配列に変異が認められたことから、RSV の感染性や抗原性に影響する可能性を視野に入れ、今後の発生动向を監視する必要があると考えられた。

学会等発表

千葉市におけるインフルエンザウイルスの検出状況について

坂本美砂子、水村綾乃、西川和佳子、元吉まさ子

都竹豊茂、山本一重 (環境保健研究所)

平成 27 年度(第 54 回)千葉県公衆衛生学会

要旨: 2012/13 (2012 年 36 週～2013 年 35 週)、2013/14 (2013 年 36 週～2014 年 35 週)、2014/15 (2014 年 36 週～2015 年 35 週) シーズンの本市におけるインフルエンザウイルスの検出状況を報告する。

材料は感染症発生动向調査事業で搬入されたインフルエンザまたはインフルエンザ様疾患の患者から採取した鼻汁、咽頭ぬぐい液等 1062 検体とした。ウイルス分離は MDCK 細胞を用いた。分離したウイルスは、国立感染症研究所から配布された標準抗血清とモルモット血球を用いた赤血球凝集阻止試験で同定した。

2012/13 シーズンは 59 検体から検出され、AH3 型 50 検体、B 型ビクトリア系統 4 検体、B 型山形系統 3 検体、AH1pdm09 が 1 検体、A 型(亜型不明) 1 検体であった。48 週から 24 週まで検出され、年齢群別で多く検出されたのは 5～9 歳が 19 検体、0～4 歳が 18 検体であった。

2013/14 シーズンは 64 検体から検出され、AH1pdm09 が 29 検体、AH3 型 19 検体、B 型山形系統 11 検体、B 型ビクトリア系統 3 検体、B 型(系統不明) 2 検体であった。47 週から 20 週まで検出され、5～9 歳が 32 検体で 50% を占め、次いで 10～14 歳が 13 検体であった。

2014/15 シーズンは 77 検体から検出され、AH3 型 68 検体、B 型山形系統 4 検体、AH1pdm09 が 2 検体、A 型(亜型不明) 2 検体、B 型ビクトリア系統 1 検体であった。43 週から 19 週まで検出され、5～9 歳が 41 検体で 53% を占め、次いで 0～4 歳が 14 検体であった。

また、AH1pdm09 分離株についてオセルタミビル耐性株のスクリーニングを実施したところ、耐性株は検出されなかった。

2012/13 シーズンから 3 シーズンのインフルエンザウイルスの流行は、AH3 型、AH1pdm09、AH3 型と推移した。また、2014/15 シーズンは過去 2 シーズンより約 1 ヶ月早い時期から検出され、検出数が最も多かった。

学会等発表

千葉市におけるデングウイルス及びチクングニアウイルスの検出状況について

西川和佳子、水村綾乃、坂本美砂子、元吉まさ子
都竹豊茂、山本一重（環境保健研究所）

平成 27 年度(第 54 回)千葉県公衆衛生学会

要旨：平成 26 年夏に約 70 年ぶりにデング熱が国内で発生した。発生及び拡大防止には、迅速かつ正確な検査体制の構築が重要であることから、検査開始から現在に至るまでのデングウイルス（DENV）及びチクングニアウイルス（CHIKV）の検出状況を解析した。

患者検体は、平成 22～26 年度に採取された血液 47 検体（うち CHIKV は 24 検体で実施）で、遺伝子検査（DENV は抗体、抗原検査も実施）により検索した。蚊は、平成 27 年 6～10 月に市内で採取されたヒトスジシマカ 21 検体（94 匹）で、遺伝子検査により検索した。

遺伝子検査はリアルタイム RT-PCR 法または RT-PCR 法、抗体及び抗原検査はイムノクロマト法により実施した。

患者検体では、DENV は輸入感染例 11 検体、国内感染例 2 検体の計 13 検体、CHIKV は輸入感染例 2 検体が陽性となった。DENV では遺伝子が 11 検体、抗体が 7 検体、抗原が 6 検体から検出され、血清型内訳は 1 型 7 検体、3 型 1 検体、4 型 2 検体、型不明 3 検体であった。

DENV 陽性患者の症状の出現頻度は、発熱 100%、発疹及び筋肉痛 62%、関節痛及び血小板減少症 38%であった。蚊からは、全ての検体で DENV、CHIKV 遺伝子は検出されなかった。

DENV 陽性患者の中には、発熱と下痢のみと典型的な症状とは異なるケースも見られ、症状の他に渡航歴、流行地域での屋外活動歴や蚊の刺咬歴の聴取が必要と考えられた。DENV では 4 つの血清型間で症状に差が見られない。他の血清型に再感染した場合にデング出血熱を引き起こすとの報告があるため、血清型別が重要であるが、抗体または抗原を検出したものの血清型を判別する遺伝子検査で検出されなかったもの等があることから、検査方法等の検討を今後の課題としたい。蚊から DENV、CHIKV 遺伝子は検出されず現時点ではこれらウイルス

の定着はないと考えるが、再び国内感染が発生する可能性があることから、継続して監視することが必要である。

学会等発表

清涼飲料水に関する試験法の妥当性確認について

上村勝、高梨嘉光、元吉まさ子、都竹豊茂、山本一重
(環境保健研究所)

平成 27 年度(第 54 回)千葉県公衆衛生学会

要旨：清涼飲料水（茶）についてマイクロウェーブ分解し、その分解液を誘導結合プラズマ質量分析計（ICP-MS）で測定する試験法に関して妥当性の確認を行った。

今回、前処理の大部分を占める分解時間が 1 時間程度ですむマイクロウェーブ分解を行い、その分解液を測定する方法を試みた。

金属検査では ICP-MS に加え誘導結合プラズマ発光分光分析計（ICP）による測定も主流となっているが、予備試験でより好結果を得た ICP-MS による測定とした。また、対象検体はマイクロウェーブ分解が糖類やタンパク質などの含有量が少ない検体に対して有効であったことから茶を検体として、鉛、ヒ素、スズの検査を行った。

検査は 1 名 2 施行 5 日間で行った。測定に際し内部標準法を用い、それぞれの強度比から濃度を算出した。それぞれに真度（%）、併行精度（RSD%）、室内精度（RSD%）を求め、ミネラルウォーター類試験法の真度及び精度の目標値（真度 90～110、併行精度<15、室内精度<15）を充たしているか否かにより試験法の妥当性を確認した。

その結果、対象物質ごとに、真度、併行精度、室内精度の順に示すと、鉛については、99、2.8、5.1、ヒ素については、96、2.7、3.2、スズについては、99、4.2、5.8 となり、いずれも目標値を充たしているため妥当性が確認できた。

学会等発表

妥当性評価不適合農薬の基準値超過事例について

高梨 嘉光、 山口玲子、元吉 まさ子、都竹 豊茂
(環境保健研究所)

平成 27 年度地衛研全国協議会関東甲信静支部
理化学研究部会

要旨：平成 27 年 7 月に搬入された検査検体のうち、こまつなから有機リン系殺虫剤 EPN が 0.3ppm 検出された（基準値 0.01ppm）。当研究所の検査法において EPN は妥当性評価不適合品目であったが、健康被害防止の観点から確認検査の後、依頼元に結果の参考値報告を行った。結果報告後、当該品目についての緊急の妥当性再評価を試みた。対策部品を使用した検査機器を使用し、EPN の 3 試行再試験を行った結果、繰り返し精度は 2.6%と良好であった。そこで検査法は従来法のまま、EPN を含まないこまつなを使用し、ガイドラインに従い基準値添加で検査員 1 名による 2 試行 5 日間の試験法妥当性の再評価を行った。その結果、各妥当性評価値は真度 106%（目標値 70～120%）、室内精度 6.3%（目標値<25%）、併行精度 6.3%（目標値<30%）と要件を満たした。よって検査法の妥当性評価は適合と判断され、再検査により当該検体の検査結果は正式に採用となった。

本事例では妥当性評価不適合の問題点が事前検討済みであったため、基準値超過問題の発覚から検査値確定まで滞りなく対応することができた。

また、農薬等の一斉試験法で精度パラメーターに問題のある検査品目については機器の整備や条件設定の変更により再評価が可能になることが示唆された。妥当性再評価については時間もかかり、コスト負担も重いため、今後も必要性を見極めながら、進めていきたいと考えている。

学会等発表

1,4-ジオキサンを含む VOCs 同時分析条件に関する検討

鈴木瑞穂
(環境保健研究所)

平成 27 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：1,4-ジオキサンは近年水質汚濁防止法の一般排水基準及び下水道法の下排水排除基準に追加されており、分析の機会が増えている状況である。本研究所では、1,4-ジオキサンと他の VOCs は、感度の違いによりヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析 (HS-GC/MS) 法で別々に測定している。これを同時分析することで、分析を効率化することを考えた。

そこで、1,4-ジオキサンと他の VOCs を HS-GC/MS 法で同時分析するにあたり、塩析剤の種類や添加量等適した条件について検討を行った。

炭酸カリウム及び硫酸ナトリウムを塩析剤として用いることで、1,4-ジオキサンについて塩化ナトリウム使用時よりも高いピーク面積を得ることができ、定量下限値を引き下げることができた。

その他の VOCs との同時分析については、炭酸カリウムではその他の VOCs のピーク面積に変動が大きく、安定した定量については今後検討する必要がある。硫酸ナトリウムは、塩化ナトリウムの場合と比べて 1,4-ジオキサンの感度を上昇させることができ、その他の VOCs についても同程度の感度が得られた。また、添加回収試験においても良好な結果が得られた。以上から、硫酸ナトリウムは、同時分析するにあたって、より良い塩析剤である。

学会等発表

ヘッドスペース - ガスクロマトグラフ質量分析法による 1,4-ジオキサン分析条件の検討

坂元宏成、鈴木瑞穂、平山雄一
(環境保健研究所)

第 50 回日本水環境学会年会

要旨：1,4-ジオキサンは、平成 21 年に水質汚濁防止法及び地下水の水質汚濁に係る環境基準に追加されるなど、分析の重要性が増してきているが、水との親和性が高く、HS-GC/MS 法では他の VOCs と比べ低感度である。そこで今回、1,4-ジオキサンを HS-GC/MS 法で分析するにあたり、塩析剤の種類や添加量等適した条件について検討を行った。

種々の塩析剤を飽和量添加し、1,4-ジオキサンのピーク面積を調べたところ、塩化ナトリウム使用時と比べると、塩化カリウム及び塩化カルシウムでは概ね同程度、炭酸ナトリウム、硫酸ナトリウムでは数倍程度であったが、炭酸カリウムでは 80 倍以上であった。

1,4-ジオキサンの定量下限値は、塩析剤に塩化ナトリウムを使用した場合 1.4 µg/L であったが、炭酸カリウムを使用することで、11 ng/L に引き下げることができた。また、河川水を用いた添加回収試験でも良好な結果が得られ、河川水や地下水のモニタリングに有用な分析法であると考えられる。

本方法を用いて、千葉市内河川水中の 1,4-ジオキサン濃度の測定を行ったところ、68~3,100 ng/L の濃度レベルであった。すべて環境基準値 (50 µg/L) の 10 分の 1 未満であり、有害性のないレベルであるが、他調査と比べるとやや高濃度の地点も見られた。

学会等発表

千葉市内の河川における有機フッ素化合物類の実態調査

天野知宏、坂元宏成、五木田正、平山雄一
(環境保健研究所)

平成 27 年度(第 54 回)千葉県公衆衛生学会

要旨：ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) をはじめとする有機フッ素化合物類 (PFCs) は環境中で分解されにくく、環境残留性や生物蓄積性等が指摘されている。PFOS とペルフルオロオクタン酸 (PFOA) に関しては環境調査によりその汚染実態が明らかになりつつあるが、PFCs 全般に関しては未だ不明な部分が多い。本研究では、平成 20 年度から千葉市内河川での PFCs の実態調査を行っているが、今回は過去 3 ヶ年分の報告を行った。また、特に PFCs 濃度が高い葭川の動物公園前と六方調整池間で追加調査を行ったので、その報告も併せて行った。

国内河川の PFOS 及び PFOA 濃度の調査としては Saito らによるものがあるが、これによると関東地方の河川 14 か所の PFOS 及び PFOA の幾何平均は、それぞれ 3.69 ng/L 及び 2.84 ng/L と報告している。本調査では、PFOS の最大値が 23.3 ng/L (動物公園前)、PFOA の最大値が 37.8 ng/L (六方調整池) であり、Saito らの調査による平均値は上回っているが、米国における飲料水の暫定健康勧告値 (PFOS : 200 ng/L、PFOA : 400 ng/L) を大きく下回っており、健康被害を与えるような汚染はないことを確認した。

また、葭川での追加調査により、PFOA は六方調整池より上流に発生源があり、PFOS 及び PFHxS は六方調整池から下流約 300 m までの範囲に発生源があると推測された。

学会等発表

千葉市における降下ばいじん分析結果

岡本誓志¹、小倉洋¹、高梨義雄²、平山雄一¹
(¹ 環境保健研究所、² 環境保全部環境規制課)

平成 27 年度全国環境研協議会関東甲信静支部
大気専門部会

要旨：降下ばいじんとは、大気中に存在する固体粒子が、自重や雨により降下したものであり、発生源は工業活動等の人工的なものから、土壌や堆積物の吹き上げ等の自然的要因まで幅広く存在している。特に製鉄所等の金属を扱う工場の周囲における降下ばいじん分析は、これまでに多くの報告がされている。目に見える程度に粒子が大きいものが多いことから、外壁や、室外に干した洗濯物等に付着し、市民からの苦情が発生している。

千葉市では以下に示す環境目標値を掲げ、分析を行っている。

- ・ 月間値の年平均値が 10 t/km²/月を超えないこと。
- ・ 月間値が 20 t/km²/月を超える地点がないこと。

平成 20 年度から平成 26 年度までの 7 年間における、降下ばいじん量、降下ばいじん試料中の溶解性成分、不溶解性成分の解析結果より、溶解性降下ばいじんは測定地域全体を覆う要因の寄与が大きく、局所的な要因による寄与は小さいと考えられた。一方で、不溶解性降下ばいじんは海岸から離れるとその構成成分比に差が出てくることから、局所的な要因による寄与が大きいと考えられた。特に不溶性降下ばいじんについて、この 7 年間で不明成分の割合が増加していることから、炭素成分の分析等を行うことで、発生源の解析、粉塵対策への一助となると考えられる。平成 27 年度より、測定地点を市内一円に広げている。これに伴い、今後海岸からの距離に対する成分比の比較等の解析を行っていく予定である。

広域的な大気汚染対策は重要である。一方、降下ばいじん分析のように簡便で、測定地点近傍に由来する大気汚染状況を把握できるという手法は、市民に密着した、局所的な大気汚染対策を行っていくうえで重要であることから、今後も継続して調査を行う。

学術誌発表

平成 26 年度浮遊粒子状物質合同調査報告書 関東における PM_{2.5} のキャラクタリゼーション (第 7 報)

岡本誓志、平山雄一
(環境保健研究所)

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

要旨：本浮遊粒子状物質調査会議では、広域的な課題である微小粒子状物質（以下、PM_{2.5} という）に対する取り組みの一環として、その汚染実態や発生源等を把握し、今後の対策に資することを目的に、東京都、千葉県、埼玉県、群馬県、静岡県、栃木県、長野県、神奈川県、茨城県、山梨県の各都県及び横浜市、川崎市、相模原市、千葉市、さいたま市、静岡市、浜松市の 1 都 9 県 7 市が共同して調査を行った。千葉市は無機元素成分濃度の解析を行った。調査期間は平成 26 年の夏季コア期間（7 月 28 日から 8 月 6 日）を含む 7 月 23 日から 8 月 6 日の 14 日間とした。特に 7 月 23 日から 26 日は、調査地点ほぼ全域で数日間 PM_{2.5} 濃度の日平均値が 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を越える高濃度事象として、詳細に解析を行った。PM_{2.5} 調査に加え、一部自治体においてはフィルターパック法により捕集される、二次生成粒子の主な前駆物質についての調査も実施した。

調査期間における PM_{2.5} 濃度の全地点平均値は、7 月 23 日が最大であり、27 日に大きく減少した。29 日に濃度が再度上昇したが、その後減少傾向が続き、8 月 4 日が最低濃度となった。水溶性イオン成分は東京都、埼玉県、神奈川県、静岡県（富士）で他の地域と比べて高かった。有機炭素成分は沿岸部と内陸部で濃度の推移に違いがあった。元素炭素成分は地点により特異的な高濃度が見られた。水溶性有機炭素成分は広域で同様の挙動を示し、特に高濃度時に顕著であった。無機元素成分は、関東地方を中心に濃度が高いが、地点毎に濃度の高い元素が異なっていた。濃度変動は地域ごとに同じような推移が見られたが、スパイク状の変動も多く見られた。高濃度時には PM_{2.5} 濃度と Cu、Zn、Sb、Pb の間に強い相関が見られ、自動車及び廃棄物焼却の影響が示唆された。

学術誌発表

第 5 次酸性雨全国調査報告書(平成 26 年度)

岡本誓志、小倉洋、平山雄一
(環境保健研究所)

全国環境研協議会
酸性雨広域大気汚染調査研究部会

要旨：本調査は、日本全域における酸性沈着による汚染実態を把握することを目的として平成 3 年度から実施されている。平成 26 年度の調査には、全国環境研協議会 52 機関が参加し、湿性沈着及び乾性沈着のモニタリングを行い、酸性雨広域大気汚染調査研究部会がデータを取りまとめ報告書を作成した。

千葉市は湿性沈着の通年モニタリングを行い、pH、電気伝導度、硫酸イオン、硝酸イオン、塩素イオン、アンモニウムイオン、ナトリウムイオン、カリウムイオン、カルシウムイオン、マグネシウムイオンを測定した。