

調 査 研 究

Ⅱ 学 会 ・ 学 術 誌 発 表 等

学会等発表

リアルタイム RT-PCR 法による RS ウイルス遺伝子の検出

横井 一、土井妙子、水村綾乃、木原顕子、都竹豊茂、三井良雄（千葉市環境保健研究所）

平成 24 年度（第 27 回）地研全国協議会
関東甲信静支部ウイルス研究部会

要旨：RS ウイルス（Respiratory Syncytial Virus : RSV）は乳幼児や高齢者における下気道感染症の原因ウイルスとして重要であり、G 蛋白の抗原性により 2 つのサブグループ（RSV-A と RSV-B）に分類される。今回、我々は RSV の検出とサブグループ型別を目的とする Real-time RT-PCR 法を開発したので報告する。

RSV の RNA 抽出は、RSV 分離株の培養上清から High Pure Viral RNA Kit（Roche）を使用して行った。ランダムプライマーによる逆転写反応を行った後、cDNA 2.5μl から QuantiTect Probe PCR Master Mix（Qiagen）を用いてリアルタイム PCR 法を行った。なお、リアルタイム RT-PCR 法の標的配列として、RSV の F 遺伝子を選択し、RSV-A と B の配列に共通の sense プライマーと antisense プライマー、並びに RSV をサブグループ別に検出するための TaqMan MGB プローブを 2 種類設計した。さらに、臨床検体における本法の有用性を検討するため、急性呼吸器症状を呈する患者から採取された 154 検体について Real-time RT-PCR 法と Nested PCR 法による検出感度等の比較も行った。

今回開発したリアルタイム RT-PCR 法は、RSV-A および B とともに 2.5×10^1 から 2.5×10^7 copies/tube の範囲で RSV 遺伝子の定量が可能であった。また、Real-time RT-PCR 法の検出限界は、Nested PCR 法と同等であり、他の呼吸器系ウイルス（A 型インフルエンザウイルス、B 型インフルエンザウイルス、メタニューモウイルス、麻疹ウイルス、コクサッキー A 群ウイルス、コクサッキー B 群ウイルス、エンテロウイルス 71、エコーウイルス、ムンプスウイルス、パラインフルエンザウイルス、およびライノウイルス）との交差反応は認められなかった。急性呼吸器症状を呈する患者から採取された 154 検体について Real-time RT-PCR 法により RSV の検出を行った結果、40 検体から RSV 遺伝子が検出された。また、本法で陽性となった 40 検体のうち、25 検体が RSV-A、15 検体が RSV-B であり、Nested PCR 法によるサブグループ型別の結果と一致した。

以上の結果から、今回開発した Real-time RT-PCR 法は、RSV 遺伝子の検出定量と同時にサブグループの型別も可能であり、RSV の遺伝子診断のみならず、集団感染事例における疫学調査や地域における流行状況調査にも有用であると考えられた。

学会等発表

千葉市内における RS ウイルスの分子疫学

水村綾乃、小林圭子、土井妙子、横井 一、木原顕子、都竹豊茂、三井良雄（千葉市環境保健研究所）

平成 24 年度（第 51 回）千葉県公衆衛生学会

要旨：RS ウイルス（Respiratory Syncytial Virus : 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、秋から冬に流行する。今回、2010 年 4 月から 2012 年 3 月における市内の RSV の流行状況と流行遺伝子型を明らかにするために分子疫学的解析を行った。

2010 年 4 月から 2012 年 3 月までの 2 年間に、市内小児科病原体定点である 1 医療機関において急性呼吸器感染症と診断された患者から採取された咽頭ぬぐい液 43 検体、鼻汁 409 検体および喀痰 1 検体の計 453 検体について、RSV の検索を行った。検体 200μL からウイルス RNA を抽出した後、N 遺伝子を標的とした RT-PCR を実施し、陽性検体について G 遺伝子を標的とした RT-PCR を実施した。得られた増幅産物の塩基配列を決定し、NJ 法により系統樹解析を行った。

系統樹解析の結果、サブグループ A（RSV-A）は全て遺伝子型 GA2 に分類され、サブグループ B（RSV-B）は全て遺伝子型 BA に分類された。また、検出株間の相同性は、GA2 が 94.0-100%（G 遺伝子上に 72 塩基の重複を有する変異株を除く）、BA が 91.5-100% とともに高かった。一方、RSV の検出は、2010/2011 および 2011/2012 シーズンともに、11 月から 1 月にかけてピークが認められた。また、同一シーズンに GA2 と BA の両方が検出されたが、各シーズンともに GA2 が優位を占めており、千葉市内で流行していた RSV の遺伝子型も海外と同様の傾向であることが明らかとなった。

RSV は同一シーズンに複数の遺伝子型が流行し、優位な流行遺伝子型の交替が起こることが世界各地から報告されている。しかしながら、今回の調査では遺伝子型 GA2 および BA の流行が認められたものの、2010/2011 および 2011/2012 シーズンともに GA2 が優位を占め、流行遺伝子型の交替は認められなかった。このことから、今後市内における流行遺伝子型の長期的な解析が RSV 感染症対策の一環として重要である。

一方、今回の調査で検出された RSV 株間の相同性は、遺伝子型 GA2 および BA とともに高かったが、GA2 に分類される変異株が 1 株検出された。この変異株は G 遺伝子上に 72 塩基の重複を有し、2012 年 4 月以降も同様に検出されている（これら変異株の塩基配列は 100%一致した）。このことから、細胞への吸着に関与する G 遺伝子の変異は、RSV の抗原性や病原性に大きく影響すると考えられ、今後も継続的な解析が必要である。

学会等発表

腸管出血性大腸菌 O157 による高齢者福祉施設での集団食中毒事例

奥島祥美、吉原純子、北橋智子、木村智子、木原顕子、都竹豊茂（千葉市環境保健研究所）

平成 24 年度（第 25 回）地研全国協議会 関東甲信静支部
細菌研究部会

要旨：2011 年 8 月、千葉市内の高齢者福祉施設（入所者 45 名、施設職員 30 名）において EHEC O157 による集団食中毒事例が発生したので、その概要を報告する。

患者は、8 月 1 日から 8 月 9 日にかけて 13 名、8 月 16 日に 1 名が発症し、8 日に発症した入所者 1 名が死亡した。施設関係者の検便及び保存検食について検査した結果、患者便、従事者便、提供されたメニューの 1 つである「卵サンドの具」から EHEC O157 : H7（VT1、VT2）が検出された。以上の調査結果から、千葉市保健所は食事を提供した飲食店を 3 日間の営業停止処分とした。糞便 63 検体（入所者 42 検体、介護職員 18 検体、調理従事者 3 検体）、拭き取り 3 検体及び保存検食 240 検体（9 日分）について EHEC O157 の検索を実施した。糞便検体はクロモアガー O157（TAM）及び CT-SMAC に塗布、培養し、EHEC O157 様コロニーについて抗血清による試し凝集、LAMP 法による VT 遺伝子検査を実施し、共に陽性を示したコロニーについて、生化学性状検査、血清型別試験、VT 検査を実施し、菌の同定を行った。更に、EHEC O157 と確定した菌株について、IS-printing 法及びパルスフィールドゲル電気泳動法（以下 PFGE）により、遺伝子解析を行った。糞便 63 検体のうち入所者 12 名、介護職員 4 名、調理従事者 1 名の合計 17 名及び検食 240 検体のうち「卵サンドの具」（7 月 31 日の夕食に提供）から EHEC O157 : H7（VT1、VT2）が検出された。IS-printing System において 18 菌株のパターンは完全に一致した。一方、PFGE において、17 株のパターンは完全に一致し、残り 1 株（介護職員由来）についてもパターンが 2 バンド異なっていたものの、17 株とほぼ同一のパターンを示した。

以上の結果から、EHEC O157 陽性となった 18 株は同一感染源由来であると考えられた。疫学調査と合わせ、卵サンドを原因食品とした食中毒と考えられたが、卵サンドの汚染経路は不明であった。ただし、EHEC O157 が検出された調理従事者 1 名については「卵サンド」を喫食しておらず洗い場専任であり、卵サンドと同時に提供されたローストビーフのみを試食していることからローストビーフからの感染が推測された。しかし、ローストビーフは保存検食として残されておらず、検査は実施できなかった。

学会等発表

高齢者福祉施設で発生した腸管出血性大腸菌 O157 による集団食中毒事例

吉原純子、奥島祥美、北橋智子、木原顕子、都竹豊茂、三井良雄（千葉市環境保健研究所）

平成 24 年度（第 51 回）千葉県公衆衛生学会

要旨：千葉市内の高齢者福祉施設にて腸管出血性大腸菌 O157（以下 EHEC O157）による集団食中毒事例が発生したので、その概要を報告する。

2011 年 8 月 10 日、千葉市保健所が高齢者福祉施設の入所者 45 名中 4 名および介護職員 30 名中 1 名が消化器症状を呈しており、うち入所者 1 名から EHEC O157 が検出されたとの報告があった。患者の発生状況は、8 月 1 日に 1 名（初発）、8 月 5～6 日をピークに 8 月 16 日まで 14 名が発症しており、症状は下痢 9 名、腹痛 7 名、軟便 4 名、嘔吐 1 名で、8 日に発症した入所者 1 名が死亡した。入所者、調理従事者、介護職員、合計 63 検体の検便を実施した結果、入所者 12 名、調理従事者 1 名、介護職員 4 名の合計 17 名から EHEC O157 (VT1&2) が検出された。なお、発症者 2 名からは当該菌は検出されなかった。共通する食事は当該施設内で調理提供された食事であったことから、7 月 26 日から 8 月 3 日までに提供された保存検食 240 検体を検査したところ、7 月 31 日の夕食に提供された「卵サンドの具」から EHEC O157 (VT1&2) が検出された。食材から検出された菌株を含めた合計 18 株についてパルスフィールド・ゲル電気泳動法 (PFGE) を実施したところ、17 株のパターンは完全に一致した。介護職員由来 1 株の PFGE パターンは 2 バンド異なっていたものの、他の 17 株と同じ由来の株であると考えられ、分離された 18 株は同一感染源由来であると考えられた。

本事例では、EHEC O157 が検出された 17 名中、調理従事者 1 名を除いた 16 名が卵サンドを喫食しており、その「卵サンドの具」から検出された EHEC O157 も遺伝子学的に一致したことから、卵サンドの具を原因食品とする食中毒と断定された。調理従事者 1 名については、卵サンドを喫食しておらず、同時に提供されたローストビーフのみを試食していたことから、ローストビーフからの感染が推測されたが、保存検食として残されておらず、検査は実施できなかった。このことから検食保存の必要性を改めて考えさせられた。本事例では各検食は少量しか残されておらず、菌分離が難しい状況であったが、検査項目を EHEC O157 のみに絞り、有効に増菌に利用したことで原因物質の特定につながった。当該施設は食品衛生法第 6 条第 3 号違反として処分された。

学会等発表

千葉市内における家庭菜園作物の放射性物質調査について

高梨嘉光、上村 勝、木原顕子、都竹豊茂、三井良雄
(千葉市環境保健研究所)

平成 24 年度（第 51 回）千葉県公衆衛生学会

要旨：平成 24 年度 7 月から平成 25 年 2 月までに千葉市内で栽培された家庭菜園作物を対象に、放射性物質（放射性セシウム）の検出について調査を行ったので、その結果を報告した。

本調査において、野菜 15 種 21 検体、果実 4 種 12 検体、種実類 2 種 3 検体、その他 2 検体の計 38 検体の検査を行ったが、野菜類についてはすべて検出限界値未満であった。検出限界値以上の放射性セシウムが検出された検体はみかん、ブルーベリー、かきおよびミョウガであり、検出範囲は 4.6～15Bq/kg であった。

今回の調査において家庭菜園作物から食品衛生法の基準値 100Bq/kg を超える放射性セシウムは検出されず、特に野菜類からは放射性セシウムは検出限界値以上の検出も見られなかった。これは千葉市域自体の汚染レベルが低いことに加え、家庭菜園であり、短期間で促成的に栽培された作物が多かったことも一因と考えられる。

また、同一の箇所で収穫されたブルーベリー、らっかせいに含まれる放射性セシウムを経年比較したところ、減少傾向を示していた。このことから、今後、新たな放射性物質の排出が無い限り、来年度以降についても、放射性物質のさらなる減少を期待できると考えられる。

学会等発表

流通食品（魚介類）中の微量金属検査について

上村 勝、高梨嘉光、木原顕子、都竹豊茂、三井良雄
(千葉市環境保健研究所)

平成 24 年度（第 51 回）千葉県公衆衛生学会

要旨：魚介類の微量金属検査として平成 7 年度から平成 23 年度までに実施したカドミウム、鉛、水銀、有機スズ化合物（TBTO（ビストリブチルスズオキシド）、TPT（トリフェニルスズ））の結果について魚種別の含有状況の概要を報告した。

カドミウムについては、ND～7.6 ppm の検出があり最大はホタテだった。検出率はカキからの検出率が最大で 100%だった。鉛については、ND～0.46 ppm の検出があり最大はカキだった。検出率はウナギが最大で 11.9%だった。水銀については、ND～0.77 ppm の検出があり最大はマグロだった。検出率はスズキ、タイ、ハマチ（ブリ）で 100%だった。有機スズ化合物については、TBTO について ND～0.40 ppm の検出があり最大はスズキだった。検出率はカキが最大で 50%だった。TPT について ND～0.11 ppm の検出があり最大はカキだった。検出率はスズキが最大で 12%だった。

カドミウムは貝から広く検出し、検出値も高い傾向にあった。鉛はウナギからの検出傾向があるが、その他の品種は検出率、検出値ともに低く、水銀は品種に限らず広く含有し、暫定規制値を超える検体があった。有機スズ化合物は含有する品種に偏りがある。有機スズ化合物はかつて殺菌剤、魚網防汚剤、船底塗料として使用されていたことから、その使用状況によって品種に偏りが生じていることが考えられた。今後は、水銀の暫定規制値を超える検体があること、現在は使用されていないにも関わらず有機スズ化合物の検出があることなどから、引き続き調査をしていく必要があると考える。また、今後の課題として部位別含有量の詳細調査や、採取海域、採取時期による品種毎の解析を実施して微量金属の含有状況の傾向を把握していきたい。

学会等発表

拡散サンプラーを用いた室内環境中の化学物質実態調査

坂元宏成¹、木原顕子¹、都竹豊茂¹、内山茂久²
(¹千葉市環境保健研究所、²国立保健医療科学院)

平成 24 年度（第 53 回）大気環境学会年会

要旨：幅広い化学物質について、一般室内環境中の実態を明らかにするため、オゾン及びアルデヒド同時測定用拡散サンプラー(DSD-BPE/DNPH)、揮発性有機化合物測定用拡散サンプラー(DSD-VOC)、酸性ガス測定用拡散サンプラー(DSD-TEA)、塩基性ガス測定用拡散サンプラー(DSD-NH₃)を用い、2012 年 1 月～3 月、千葉市周辺の 50 戸の屋内外におけるガス状化学物質の調査を行った。対象とした化学物質は、揮発性有機化合物 30 種、カルボニル化合物 19 種、酸性ガス 6 種、オゾン、アンモニアである。

結果、厚生労働省の濃度指針（ガイドライン）値を超過したのは、アセトアルデヒドで 2 戸、トルエンで 1 戸、パラジクロロベンゼンで 2 戸であった。また、環境基準値を超過したのは、ベンゼンで 9 戸、二酸化窒素で 25 戸であった。

ベンゼンについては、I/O 比（屋内濃度／屋外濃度）が比較的小さく、外気の影響が大きかった。

二酸化窒素については、環境基準値を超過した住宅のうち、18 戸で燃焼系暖房を使用しており、燃焼系暖房を使用している住宅の平均値が 510 µg/m³、非燃焼系暖房を使用している住宅の平均値が 58 µg/m³であった。このため、冬季の二酸化窒素の発生に燃焼が大きく寄与していると考えられた。

学会等発表

千葉市周辺における室内環境中の化学物質実態調査

坂元宏成¹、木原顕子¹、都竹豊茂¹、内山茂久²
(¹千葉市環境保健研究所、²国立保健医療科学院)

平成 24 年度（第 49 回）全国衛生化学技術協議会年会

要旨：平成 24 年度（第 53 回）大気環境学会年会に引き続き、拡散サンプラーを用いた千葉市周辺における室内環境中の化学物質実態調査について、結果の報告を行った。

厚生労働省の濃度指針値、または環境省の環境基準値を超過した住宅は、大気環境学会年会で発表した通りである。

また、カルボン酸の発生要因について検討を行った。酢酸濃度はアセトアルデヒド濃度と正の相関（ $r = 0.60$ ）があるため、発生過程の一つとしてアセトアルデヒドの酸化等が考えられた。一方、ギ酸濃度はホルムアルデヒド濃度依存性はなく（ $r = 0.16$ ）、燃焼系暖房を使用している住宅で大幅に高かった。また、二酸化窒素濃度に対して非常に強い正の相関（ $r = 0.97$ ）があることから、発生にはホルムアルデヒドの酸化よりも燃焼が強く寄与していると推測された。

学会等発表

本市における PFCs の検出状況について

遠藤ひとみ、金井祐貴、鈴木 新、大塚 大
(千葉市環境保健研究所)

平成 24 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：有機フッ素化合物（PFCs）は、撥水剤、界面活性剤など様々な用途に使われており、環境中で分解されにくく、人や野生生物の体内に蓄積されやすい性質があるなど、その環境残留性と毒性が問題となってきました。本市では、2008 年度から水環境中の PFOS 及び PFOA 測定を続けています。本研究では、本市内河川中の 17 種類の PFCs を測定し、その濃度分布及び同族体組成を明らかにすることを目的としました。

測定した PFOA、PFOS の値は前年度と比較しておおむね同範囲に入っていますが、全国の測定状況と比べると本市の PFOA、PFOS はやや高いレベルにありました。また、各河川の同族体組成は、そのパターンがばらばらで異なりました。

PFHxS は六方、動物公園の採水地点の間に発生源が存在することが考えられるため、詳細な調査が必要と考えます。

同族体を含めた測定は今年度が初めてで、分子量の大きい PFCs が測定できなかったため、測定条件等の再検討が必要です。

学会等発表

千葉市有害大気汚染物質について

小倉 洋、平山 雄一、宮本 廣
(千葉市環境保健研究所)

平成 24 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：環境省は健康に対するリスクが高いと考えられる化学物質 22 種を「優先取組物質」として選定した。これらの有害大気汚染物質の濃度は、直ちに人の健康に被害を与えるものではないが、「継続的に摂取される場合には人の健康を損なうおそれがある物質で大気の汚染の原因となるもの」と規定されている。2002 年度から 2011 年度までの 10 年間にわたって測定されたデータについて整理した結果、若干の知見を得た。

調査は「有害大気汚染物質測定の実際(環境省)」に基づき実施した。

測定項目は、揮発性有機化合物 10 種（アクリロニトリル、塩化ビニルモノマー、クロロホルム、1, 2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン、1, 3-ブタジエン、ベンゼン、酸化エチレン）、アルデヒド類 2 種（アセトアルデヒド、ホルムアルデヒド）、重金属類 6 種（水銀及びその化合物、ニッケル化合物、ヒ素及びその化合物、ベリリウム及びその化合物、マンガン及びその化合物、クロム及びその化合物）、多環芳香族炭化水素 1 種（ベンゾ（ α ）ピレン）の 19 種類を測定した。

環境基準が設定されている 4 物質のうち、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン及びジクロロメタンの 3 物質については環境基準をかなり下回っていた。ベンゼンは比較的濃度が高かったが、平成 18 年度以降は低下傾向で環境基準を達成してきたが平成 22、23 年度はわずかに増加している。テトラクロロエチレンが平成 18 年度に宮野木と市役所で前年度の約 3 倍の数値（ $0.77 \sim 0.86 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）となる比較的高濃度を示したが、それ以降は他地点と同様で低下傾向を示していた。

健康リスクの低減を図るための指針となる数値が設定されている 8 物質のうち、アクリロニトリル、塩化ビニルモノマー、水銀及びその化合物、ニッケル化合物、クロロホルム、1, 2-ジクロロエタン並びに 1, 3-ブタジエンの 7 物質はいずれも全地点で指針値を下回っていた。

学会等発表

環境大気中のアスベスト濃度測定結果について

高梨義雄、小倉 洋、海老原博行、宮本 廣、平山雄一
(千葉市環境保健研究所)

平成 24 年度 (第 51 回) 千葉県公衆衛生学会

要旨：アスベストは、繊維状の鉱物で耐熱性、耐薬品性等の優れた物性を数多く備えていることから、建材の断熱材等広範囲に利用されてきた。しかし、飛散したアスベストを吸入することにより、石綿肺、肺がん、中皮腫等が引き起こされることが明らかとなっている。環境大気中に浮遊するアスベスト粉じんによる人の健康への影響が懸念される中、千葉市は市民の安全と安心を確保するため、「千葉市のアスベスト問題への総合的な対応策」を策定し、環境保全、廃棄物対策及び健康対策等を行っている。その一環として、平成 18 年度から継続調査している環境大気中のアスベストの濃度について取りまとめ、その汚染状況を把握することとした。

調査は、市内の一般環境(住宅地域) 6 地点の四季及び一般環境(幹線道路周辺)2 地点の夏・冬季で実施した。その結果いずれも濃度は、0.070~0.36 (本/L) の範囲にあり低濃度レベルで推移している。アスベストに関する環境基準はないが、WHO は浮遊するアスベスト繊維の本数が大気 1 L 中 10 本を超えると健康被害が起きる可能性があるとの基準を示している。それと比較しても大幅に下回る状況であった。平成 24 年度も引き続きモニタリングを実施しているが、春、夏、秋の結果について、昨年度とあまり変化のない結果となっている。

一般環境のアスベスト濃度は、近年、濃度レベルが低下しており、総繊維でも概ね 0.5 f/L 以下のレベルで推移している。調査開始から 6 年を経過しているが、アスベストの濃度は低レベルながら検出されており、環境中のアスベスト濃度の推移を把握するために、今後も当面モニタリングを継続して、実施していくことが重要と思われる。

学術誌発表

老人ホームで発生した腸管出血性大腸菌 O157 による食中毒事例—千葉市

北橋智子¹、奥島祥美¹、吉原純子¹、木原顕子¹、
都竹豊茂¹、三井良雄¹、清田智子²、落合弘章²、
加曽利東子²、大山照雄²、西村正樹²、山本一重²、
池上宏²

(1 千葉市環境保健研究所、2 千葉市保健所)

掲載誌：病原微生物検出情報月報

Vol.33,121-122,2012

要旨：千葉市内の老人ホームにて腸管出血性大腸菌 O157 (以下 EHEC O157) を原因とする食中毒事例が発生したので、その概要を報告する。

平成 23 年 8 月 10 日、千葉市保健所に老人ホームの入所者 45 名中 4 名及び介護職員 30 名中 1 名が消化器症状を呈しており、内入所者 1 名から EHEC O157 が検出されたとの報告があった。

保健所が調査したところ、入所者 4 名が食中毒症状を呈しており、共通する食事は当該施設内で調理、提供された給食であった。また、これら入所者 4 名及び給食施設の調理従事者 1 名の検便から EHEC O157 (VT1,VT2) が検出されたことから、千葉市保健所は食品衛生法第 6 条第 3 号違反として 3 日間の食品営業停止処分とした。

患者の発生状況は、8 月 1 日に 1 名 (初発患者)、8 月 5 日から 6 日をピークに 8 月 16 日まで 14 名が発症しており、症状は下痢が 9 名、腹痛が 7 名、軟便が 4 名、嘔吐が 1 名で、8 日に発症した入所者 1 名が死亡した。

入所者、調理従事者、介護職員、合計 63 検体の検便を実施した結果、入所者 12 名、調理従事者 1 名、介護職員 4 名の合計 17 名から EHEC O157 (VT1,VT2) が検出された。なお、発症者 2 名 (入所者 1 名及び介護職員 1 名) からは当該菌は検出されなかった。次いで、7 月 26 日から 8 月 3 日までに提供された保存検食 240 検体を検査したところ、7 月 31 日の夕食に提供された「卵サンドの具」から EHEC O157 (VT1,VT2) が検出された。この「卵サンドの具」は、給食施設にて、卵を鍋で茹でた後、速やかに冷却、フードプロセッサーでマヨネーズと混ぜ合わせるという工程で調理され、その後ロールパンにはさみ卵サンドとして提供されていた。

食材から検出された菌株を含めた合計 18 株についてパルスフィールド・ゲル電気泳動法 (PFGE) を実施したところ、17 株のパターンは完全に一致した。介護職員由来 1 株の PFGE パターンは 2 バンド異なっていたものの、他の 17 株と同じ由来の株であると考えられ、分離された 18 株は同一感染源由来であると考えられた。

このことから卵サンドが原因食品であることが濃厚に

疑われ、調理従事者から菌が検出されていることを考慮すると、調理従事者が食材を汚染したことによる食中毒が疑われたが、この調理従事者は洗い場専任で調理には携わっていなかった。また、卵サンドも喫食しておらず、この調理従事者と食材を結び付けることはできないものと思われたが、更に疫学調査を進めていくと以下のことが明らかとなった。

卵サンドが提供された 7 月 31 日は施設の納涼祭が開催されており、メニューの 1 つにローストビーフがあった。このローストビーフは、給食施設にて和牛もも肉全体に食塩をすり込み冷蔵庫で 3 時間ねかせた後、オーブンで加熱後提供されていた。更に、このローストビーフを当該調理従事者が試食していたことも判明した。しかしながら、このローストビーフは検食として保存されておらず、検査した 240 検体には含まれていなかった。EHEC O157 は牛の腸管に存在すること、及び納涼祭当日はローストビーフ以外に牛由来の食品が提供されなかったことを考慮すると、卵サンドだけでなくローストビーフも原因食品であった可能性が示唆された。

以上のことから、ローストビーフ原材料の牛肉に付着していた EHEC O157 が加熱不足により生存し、調理従事者の手指又は調理器具を介して、卵サンドの具を二次汚染した可能性も推察された。

学術誌発表

G 遺伝子上に 72 塩基の重複を有する RS ウイルス変異株

田中俊光¹、横井 一¹、水村綾乃¹、木原顕子¹、
都竹豊茂¹、中台啓二¹、原木真名²

(1 千葉市環境保健研究所、2 まなこどもクリニック)

掲載誌：病原微生物検出情報月報
Vol.33, 99-100, 2012

要旨：RS ウイルス (RSV) 感染症は感染症発生動向調査事業における 5 類感染症の小児科定点把握疾患で、本邦においては冬季に流行がみられる急性呼吸器感染症である。RSV は表面蛋白のひとつである G 蛋白に対するモノクローナル抗体の反応性の違いなどから大きく A と B のサブグループに分けられ、さらにサブグループ A では遺伝子型 GA1 ～7、サブグループ B では遺伝子型 GB1 ～4、および BA などに分類されている。近年、本邦で検出されるサブグループ A の多くが遺伝子型 GA2、サブグループ B では遺伝子型 BA である。今回、我々は G 遺伝子上に 72 塩基の重複を有する遺伝子型 GA2 の変異株を検出したので報告する。

患者は 0 歳 9 カ月の男児で、2012 年 1 月 10 日に発病し、近医でジョサマイシン等を処方されたが解熱しなかったため、1 月 17 日に千葉市内の A こどもクリニックを受診した。

受診時の症状は発熱 (39.2℃)、咳嗽鼻汁、軽度の下痢で、血液酸素飽和度は 91% と低下、呼吸性ラ音を認めたが多呼吸などはみられなかった。受診時に鼻汁を市販 RSV 迅速診断キットで検査した結果は陰性であった。

なお、その後患者はネブライザーにより低酸素血症が改善されなかったため、他医療機関を紹介され、入院加療となっている。また、この医療機関での検査でインフルエンザ菌が検出されている。

A こどもクリニックで受診時に採取された鼻汁を検体として、RSV の G 遺伝子を標的とした RT-PCR 法¹⁾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 342bp について系統樹解析を行ったところ、サブグループ A の遺伝子型 GA2 に分類されたが、C 末端に 72 塩基の重複を有する変異株であった (Chiba-C_24031 : AB700370)。なお、同時に (RT-)PCR 法²⁻⁵⁾を実施したメタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス 1～3 型、ライノウイルス、ボカウイルスについては陰性であった。また、HEp-2、RD-18S、Vero-E6、CaCo-2、MDCK による分離培養も陰性であった。

入院した医療機関でインフルエンザ菌が検出されていることから、肺炎症状にどの程度この RSV 変異株が関与していたかは不明であるが、DDBJ の BLAST 検索の結果、本

検出株は 2011 年にカナダで登録された、同じく 72 塩基の重複を持つ株 ON67-1210A (JN257693)、ON138-0111A (JN257694) と高い相同性を示しており、海外の株と密接な関係にある可能性が示唆された。

RSV の G 遺伝子上に重複を伴う変異としては、サブグループ B で C 末端に 60 塩基の重複を有する遺伝子型 BA が報告されているが⁶⁾、現在、世界中で検出されている RSV のサブグループ B の多くが遺伝子型 BA である⁷⁻⁹⁾ように、細胞への吸着に関係している G 蛋白の変異は感染性への影響力が大きいものと考えられ、今後の動向が注目される。

学術誌発表

チクングニア熱の輸入症例－千葉市

横井 一¹、土井妙子¹、水村綾乃¹、木原頭子¹、
都竹豊茂¹、三井良雄¹、奥野友哉梨²、西郡恵理子²、
牧 みさ子²、長嶋真美²、佐藤ひとみ²、大塚正毅²、
池上 宏²、瀧口恭男³、秋葉容子³、駿河洋介³

（1 千葉市環境保健研究所、2 千葉市保健所、3 千葉市立青葉病院）

掲載誌：病原微生物検出情報月報
Vol.33, 239-240, 2012

要旨：ベトナム、カンボジア、タイに滞在し、帰国後に発熱、発疹、関節痛を認め、チクングニア熱と確定診断された輸入症例について報告する。

患者は千葉市在住 33 歳の日本人女性であり、観光のため 2012 年 7 月 3 日から 6 日までベトナム、6 日から 10 日までカンボジア、10 日から 13 日までタイに滞在し、7 月 13 日に帰国した。旅行中は宿泊先において蚊に刺されている。7 月 10 日頃から軟便の症状を呈し、帰国後の 7 月 14 日から発熱、水様性下痢の症状が出現し、同時に全身性の発疹、筋肉痛、関節痛を認めた。7 月 15 日に市内医療機関を受診し、胃腸炎の診断により抗菌薬を処方されたものの、40℃ 台の発熱が遷延したことから、17 日に千葉市立青葉病院を受診した。

受診時の主訴は、発熱と全身倦怠感、両手首と両膝の関節痛、及び両大腿部の筋肉痛であり、明らかな関節腫脹は認められなかった。7 月 17 日の血液検査において、WBC 3,170/μl、RBC 476 万/μl、Hb 12.6g/dl、Plt 22.2 万/μl、CRP 0.7mg/dl、AST 22U/l、ALT 14U/l であり、明らかな白血球数の減少が認められた（その後、白血球数は 7 月 20 日で 2,800/μl とさらに減少し、27 日に 5,810/μl と正常値まで回復した）。また、マラリア原虫塗抹検査は陰性、血液培養により *Salmonella* Typhi と *S. Paratyphi*-A も検出されなかった。患者の臨床症状、血液所見、及び海外渡航歴から、デング熱、若しくはチクングニア熱が強く疑われた。

7 月 17 日に採取した血清（3 病日目）についてデング熱、及びチクングニア熱の遺伝子検査を実施した。デングウイルス特異プライマー（Dus, Duc）を用いた Conventional RT-PCR 法（デングウイルス感染症診断マニュアル）により、ウイルス遺伝子は検出されなかった。また、免疫クロマトグラフィー法（Dengu Duo Cassette：Panbio 社）においても、デングウイルスに対する IgM 抗体、及び IgG 抗体は検出されなかった。

一方、チクングニアウイルス特異プライマー（Chik10294s, Chik10573c）を用いた Conventional

RT-PCR 法（チクングニアウイルス検査マニュアル）により 300bp のバンドが増幅され、ダイレクトシーケンシングにより PCR 産物の塩基配列を解析した結果、チクングニアウイルス遺伝子であることが確認された。

以上の臨床症状、並びに遺伝子検査の結果により、本症例はチクングニア熱の輸入症例であると確定診断された。また、患者は発熱、全身倦怠、関節痛、筋肉痛の他に、水様性の下痢を併発していたが、便培養により *Campylobacter jejuni* が検出されたことから、7 月 10 日頃から始まった一連の胃腸炎症状は当該菌によるものと推定された。なお、7 月 27 日の時点で患者における関節痛等の症状は消失し、回復している。

チクングニア熱の潜伏期間は 3～7 日で、患者の多くは発熱、全身倦怠、頭痛、筋肉痛、発疹、関節痛等の症状を呈するが、臨床症状のみではデング熱との鑑別が困難であり、東南アジアにおける流行地域もほぼ重なっていることから、確定診断のためには遺伝子検査等の実験室内診断が必要である。このことから、デング熱、チクングニア熱の流行地域を念頭に置いた海外渡航歴の問診は、患者の速やかな確定診断のために重要となる。本症例においても千葉市立青葉病院からの患者情報（海外渡航歴に基づくデング熱、若しくはチクングニア熱疑いの診断）が遺伝子検査を実施する上で極めて有用となった。

チクングニアウイルスの主な媒介蚊はネッタイシマ蚊とヒトスジシマ蚊であるが、ヒトスジシマ蚊は日本国内にも広く分布している。チクングニア熱患者の有熱期における血中ウイルス量は高く、患者を吸血したヒトスジシマ蚊が感染源となる可能性が高いと考えられる。すなわち、今回のような輸入症例を吸血したヒトスジシマ蚊がチクングニアウイルスを保有することにより、日本国内においてヒト－蚊－ヒトの感染環が成立し、チクングニア熱が流行する可能性がある。2007 年イタリア北東部におけるチクングニア熱の流行（患者約 300 人、死者 1 人）もインドからの輸入症例が原因であり、媒介蚊はヒトスジシマ蚊であると考えられている。また、日本でも、過去に西日本でヒトスジシマ蚊によるデング熱の流行があったことから、デングウイルスやチクングニアウイルスが国内に侵入した場合、流行の可能性は否定できない。

以上のことから、「チクングニア熱輸入症例の確定診断によるヒト－蚊－ヒト感染環の成立の防止」、及び、「海外渡航者に対する流行情報と媒介蚊対策の周知による感染リスクの低減」は、日本国内へのチクングニアウイルスの侵入・定着のリスク回避に重要である。

学術誌発表

Real-time RT-PCR 法によるRSV ウイルス遺伝子の検出とサブグループ型別

横井 一、田中俊光、水村綾乃、北橋智子

(千葉市環境保健研究所)

掲載誌：感染症学雑誌

Vol.86, 569-576, 2012

要旨：RSV ウイルス (Respiratory Syncytial Virus : RSV) の検出とサブグループ型別を目的とするReal-time RTPCR 法を開発した。RSV のF 遺伝子を標的配列として選択し、プライマーとTaqMan MGB プローブを新たに設計した。RSV サブグループA (RSV-A) およびB (RSV-B) (コントロールプラスミド) とともに 2.5×10^1 から 2.5×10^7 copies/tube の範囲でRSV 遺伝子の定量が可能であった。Real-time RT-PCR 法の検出限界は、Conventional RT-PCR 法と比べて10 倍から100 倍高く、Nested PCR 法と同等であることが確認され、他の呼吸器系ウイルス (インフルエンザウイルス、メタニューモウイルス、麻疹ウイルス、コクサッキーウイルス、エンテロウイルス、エコーウイルス、ムンプスウイルス、パラインフルエンザウイルス、およびライノウイルス) との交差反応は認められなかった。

急性呼吸器症状を呈する患者から採取された154 検体についてReal-time RT-PCR 法によりRSV の検出を行った結果、40 検体からRSV 遺伝子が検出された。また、Real-time RT-PCR 法で陽性となった40 検体のうち、25 検体がRSV-A、15 検体がRSV-B であり、Nested PCR 法によるサブグループ型別の結果と一致した。

以上の結果から、今回開発したReal-time RT-PCR 法は、RSV 遺伝子の検出定量と同時にサブグループの型別も可能であり、RSV の遺伝子診断に有用であると考えられた。

学術誌発表

NaI (TI) シンチレーションサーベイメータによる市内流通食品および給食食材の放射能スクリーニング検査

上村勝、高梨嘉光、木原顕子、都竹豊茂、三井良雄
(千葉市環境保健研究所)

食品衛生学雑誌

Vol.54(2),127-130,2013

要旨：NaI (TI) シンチレーションサーベイメータを使用し食品中の放射性セシウムのスクリーニング検査を実施した。検査は、250Bq/kg をスクリーニングレベルとし、このレベルを超える検体は外部検査機関に依頼してゲルマニウム半導体検出器による確定検査を実施することとした。さらに、スクリーニングレベルに達しない検体についても、その一部をゲルマニウム半導体検出器による確認検査を実施した。市内流通食品および学校給食や保育所給食に使用する食材を対象として 495 検体を検査した結果、確定検査が必要な検体は認められなかった。確認検査の結果においても、暫定規制値を超える検体は認められなかった。

著者等

平成 23 年度浮遊粒子状物質合同調査報告書 関東甲信静における PM2.5 のキャラクターゼーション (第 4 報)

小倉 洋、大塚 大
(千葉市環境保健研究所)

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 (1 都 9 県 7 市)

要旨：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、PM2.5 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、関東地方の自治体が共同して調査を行うこととしています。平成 20 年度からは、手法を見直して PM2.5 に着目した新たな調査を始めました。夏季の PM2.5 中の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、広域二次粒子汚染のメカニズムについて検討してきました。

前年度は平成 20 年度から 22 年度にかけて実施した調査結果をとりまとめており、この報告書では平成 23 年度に継続実施した夏季調査についての検討結果を記載しています。千葉市は一般環境（真砂公園）のサンプリングの他、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。