

#### 4. 他誌発表・学会発表・著書等

##### 1) 他誌発表

(1) **Comparison between agarose gel electrophoresis and capillary electrophoresis for variable numbers of tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*** Yokoyama E, Kishida K, Uchimura M, Ichinohe S J Microbiol Methods 65:425-431

結核菌のVNTR型別法の際に重要となるPCR増幅産物の測定方法の違いの影響を調べた。アガロース・ゲル電気泳動法で行った場合、再現性の問題で良好な結果が得られないことがあった。一方、キャピラリー電気泳動法では再現性が高く、良好な結果が得られた。

(2) **Optimal settings of fingerprint type analyzing computer software for the analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* pulsed-field gel electrophoresis patterns** Yokoyama E, Uchimura M Epidemiol Infect 134:1004-1014

腸管出血性大腸菌のPFGEパターンをクラスター解析ソフトウェアで解析する際の条件設定について検討した。PFGEパターンの類似度算出を汎用されているDice法で行った場合、良好な結果が得られなかった。一方、ピアソンの積率相関係数で類似度算出を行った場合には良好な結果が得られた。その際に最適化パラメーターを0.5%で設定する必要があった。

(3) **結核集団感染における分子疫学的解析** 横山 栄二、岸田一則 病原微生物検出情報 27:262-263.

結核の集団感染の裏付けとして、従来から実施されてきたRFLP解析と、近年開発されたVNTR法を比較検討した。VNTR法はRFLP解析と比較して、疫学的関連性不明患者由来株がクラスターを形成する割合が少なく、集団感染の裏付けに有用であることが示唆された。

(4) **学校の調理実習で発生した *Campylobacter jejuni* による集団食中毒の原因解析—千葉県.(2006).** 依田清江、内村眞佐子. 病原微生物検出情報. 27:171-172.

千葉県内高校で発生した複数の集団下痢症は、調理実習過程で発生した *Campylobacter jejuni* による食中毒であることが分かった。分離菌を解析したところ、食中毒の原因は食品の2次汚染であることが推定された。

(5) **制限酵素 double-digestion 法による pulsed-field gel electrophoresis 法を用いた *Campylobacter jejuni* 集団食中毒の分子疫学的解析例 (2006)**

依田清江、横山栄二、内村眞佐子. 感染症学雑誌. 80:694-700.

2種類の制限酵素を組み合わせることでDNAを処理する double-digestion 法を pulsed-field gel electrophoresis 法に応用した。この方法で *Campylobacter jejuni* 集団食中毒

由来株を解析したところ、血清型別、flagellin genotyping および疫学調査結果とよく相関した。本法は *Campylobacter* による集団食中毒の分子疫学的解析法として単独酵素処理による PFGE 法より有用であることが分かった。

(6) **An outbreak of *Campylobacter jejuni* food poisoning caused by secondary contamination in cooking practice at a high school. (2006)**

Kiyoe Yoda and Masako Uchimura. Jpn. J. Infect. Dis., 59:408-409.

千葉県内高校で発生した複数の集団下痢症は、調理実習過程で発生した *Campylobacter jejuni* による食中毒であることが分かった。分離菌を解析したところ、食中毒の原因は食品の2次汚染であることが推定された。

(7) **蜂窩織炎を伴う敗血症患者の血液から検出された *Helicobacter cinaedi* 一分離・同定法に関する知見. (2007)** 依田清江、内村眞佐子、伊東高広、松田幸博、室谷典義. 病原微生物検出情報. 28:16-18.

蜂窩織炎を伴う敗血症患者の血液から検出された *Campylobacter* 様細菌を *Helicobacter cinaedi* と同定した。本菌の培養法を検討した。同定はPCR-restriction fragment length polymorphism が有効であった。

(8) **Genetic analysis of noroviruses associated with fatalities in healthcare facilities.** Mineyuki Okada, Tomoyuki Tanaka, Mitsuaki Oseto, Naokazu Takeda, Kuniko Shinozaki. Arch. Virol. 151: 1635-1641 (2006)

2004～5年のシーズンに、老人福祉施設におけるノロウイルスによる胃腸炎の大きな流行と、死亡事例が報告されて注目を集めた。本報では、老人福祉施設でのノロウイルスによる集団胃腸炎事例において発生した3例の死亡例から得られた検体から検出したノロウイルスの遺伝子解析を行った。3つの地域的に離れた事例において得られた3死亡例から検出されたノロウイルスはウイルスゲノムほぼ全長にわたり99%以上相同性を持ちきわめて似たウイルスであり、遺伝子型はGII-4であった。これらは2002年、2004年にヨーロッパで報告された変異株とも異なる新しい変異株であった。

(9) **Genetic variability in the sapovirus capsid protein** Mineyuki Okada, Yasutaka Yamashita, Mitsuaki Oseto, Tomoko Ogawa, Ikuo Kaiho, Kuniko Shinozaki. Virus Genes 33: 157-161, 2006

サポウイルスは5つの遺伝子グループに分類され、そのうち4つの遺伝子グループがヒトに感染する。これら4つの遺伝子グループはノロウイルス同様にさらに多くの遺伝子型に分類される。当所で検出されたサポウイルス15株についてウイルス遺伝子の3'末端2kbを解析し、遺伝子型の分類を試みた。その結果GIで6つ、GIIで4

つの遺伝子型に分類され、県内にも多様なサポウイルス存在することが明らかになった。

#### (10) The detection of human sapoviruses with universal and genogroup-specific primers.

Mineyuki Okada, Yasutaka Yamashita, Mitsuaki Oseto, Kuniko Shinozaki Arch. Virol. 151: 2503-2509 (2006)

ヒトの胃腸炎に関連するサポウイルスは4つの遺伝子グループに分類されている。これまで、これらの型別はシークエンス解析が必要であり、高度な技術と解析機器が必要とされた。本報では、4遺伝子グループを共通に増幅可能なユニバーサルプライマーと、各遺伝子グループごとに異なる大きさの増幅産物を生成し、電気泳動により遺伝子グループの分類が可能となる型別プライマーをデザインし報告した。これにより、シークエンサーを持たない研究所においてもサポウイルスの遺伝子グループの解析が可能となり、サポウイルスの分子疫学的情報の解析、蓄積に有用である。

#### (11) Detection and sequence-based typing of human adenoviruses using sensitive universal primer sets for the hexon gene

Mineyuki Okada, Tomoko Ogawa, Hiroko Kubonoya, Hidetaka Yoshizumi, Kuniko Shinozaki Arch. Virol. 152; 1-9 (2007)

アデノウイルスはヒトの様々な疾患に関与するウイルスで、6種、51の血清型が知られている。本報では、遺伝子データベースに登録されている6種のアデノウイルスの塩基配列から多くの血清型の検出と型別を目的として、プライマーのデザインを行った。今回、アデノウイルスのヘキソン蛋白をコードする遺伝子領域に設定したプライマーにより、6種、20血清型のウイルスで遺伝子増幅を確認し、当該領域のシークエンスに基づく系統解析により、血清型の推測が可能であることを示した。本方法によって臨床検体から直接アデノウイルスの検出、型別が可能となり、種々のアデノウイルス感染症の迅速な診断に有用である。

#### (12) 家族内感染の中から発症が確認されたインフルエンザ脳症の1例

新井ひでえ<sup>1)</sup>、小俣卓<sup>1)</sup>、小川知子、窪谷弘子、岡田峰幸、吉住秀隆、篠崎邦子、病原微生物検出情報、28-1、15-16 (2007)

2006年7月12日から発熱等のインフルエンザ症状を示し、その後脳症を発症した3才男児の咽頭ぬぐい液よりA/H1N1亜型のインフルエンザウイルスを分離した。ほぼ同時期の7月10日～12日に姉が、7月15日～16日に母が発熱し、インフルエンザ迅速抗原検査でA型陽性の診断を受けている。千葉県では2006年5月～7月にかけてインフルエンザウイルスを8株分離した。夏季においても、インフルエンザウイルスの動向を知ることは診断に必要であると考えられた。

1) 千葉県こども病院神経科

#### (13) Bisphenol A (BPA) and its source in foods in Japanese markets.

Sajiki J., Miyamoto F., Fukata H.<sup>1)</sup>, Mori C.<sup>1)</sup>, Yonekubo J.<sup>2)</sup>, Hayakawa K.<sup>3)</sup> : Food Additives and Contaminants, 24(1):103-112 (2007)

缶詰食品48検体についてBPAの測定を行った。LC/ECDによる全食品中のBPA値は0-842.3ng/gであり、輸入缶詰のBPA値は国内産に比べ高値を示した。内径の類似した6種の缶から水、グリシン緩衝液(pH, 8とpH11)へのBPAの温度による溶出を調べた結果、60℃以下での缶からの移行量は水とグリシン緩衝液(pH, 8とpH11)で差はなかった。80℃以下での缶から水へのBPA移行は少ないが、高温(121℃)下では著しく、BPAの溶出には溶出時間や溶媒の種類より温度の関与が大きいものと考えられた。BPAの溶出量は缶の種類により異なった。121℃20分処理でのエポキシ樹脂缶から水溶液へのBADGEの溶出量はBPAの溶出量に比べると著しく低かった。121℃20分でのBADGEからのBPA分解はみられないことから、エポキシ樹脂缶からのBPA溶出はBADGEが高温下で分解されたものではなく、樹脂に混入している添加物あるいは不純物に起因するものと思われた。

- 1) 千葉大学大学院医学研究院
- 2) 日本ウォーターズKK
- 3) 金沢大学大学院自然科学研究科

#### 2) 学会発表

##### (1) 結核菌のVNTR型別における樹形図作成法の比較

横山栄二、岸田一則、一戸真人 第81回日本結核病学会

結核菌のVNTR型別に最適な類似度計算法および樹形図作成法を比較検討した。その結果、系統樹作成法は検討した方法のいずれを用いても差がなかったが、類似度算出法としては、ピアソンの積率相関係数を用いることが最適と考えられた。

##### (2) 食品からの腸管出血性大腸菌O157及びO26の検出法に関するコラボレイティブ・スタディの実施概要について

土屋禎、小西典子、森本洋、畠山敬、磯部順子、横山栄二、浅井良夫、川森文彦、塚本定三、田中忍、小沼博隆、工藤由起子、高鳥浩介 第27回日本食品微生物学会

腸管出血性大腸菌O157およびO26の検出法の検討を、全国の地方衛生研究所のコラボレイティブ・スタディで行った概要を解説した。

##### (3) variable numbers of tandem repeat typing (VNTR) 型別のクラスター解析による腸管出血性大腸菌O157の型別

横山栄二、内村眞佐子 第10回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム

LindstedtらのVNTR型別法を用いて腸管出血性大腸菌O157の型別を行い、PFGEによる型別で得られた結