

8) 他誌発表・学会発表・著書等 他誌発表

(1) Production and contamination of ochratoxin by *Penicillium* species

Takahashi, H. Yazaki, H. *Mycotoxins* (2007) : 7(1) 57-63

オクラトキシン産生ペニシリウム分離株を最新の分類同定法にもとづいて再同定した。また、オクラトキシン産生の温度特性を調べ、5℃以下でも産生されることから、低温環境下での食品保存ではこのカビの挙動に注意を要する。

(2) *Aspergillus ochraceus* の carrier としての衛生害虫

川上裕司、高橋治男 *マイコトキシン* (2007) : 57(1) 47-55

タバコシバムシなどが、その体表に公衆衛生問題となる細菌や真菌を体表に付着して運搬していることを走査電顕で明らかにした。真菌でも特にオクラトキシン産生菌種である *A. ochraceus* の分布量が比較的多く、それらの分離株のオクラトキシン A 産生性を調べたところ、いずれの分離株も高い産生性を示した。

(3) 食品の微生物検査法と食中毒発生時の疫学調査法：チフス菌・パラチフスA菌。

依田清江、内村真佐子。防菌防黴誌 (2007) : 35(9) 609-619.

チフス症は全身性の疾患であり、かつて伝染病として分類されていたが紛れもなく経口感染症であり、現在は厚生労働省の食中毒統計に計上される。しかし、チフス症研究の長い歴史上、疫学的には原因となる水や食品が推定されても、実際に起因菌である *Salmonella* Typhi あるいは *S. Paratyphi* A が分離された事例は調べた限り無く、食品や環境からの菌分離の困難さを示している。現状で考えられる最良の方法を記載した。また、千葉県で発生したパラチフスの集団発生事例で分子疫学的解析の有用性を示した。

(4) Prevalence and Genetic Properties of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium Definitive Phage Type 104 Isolated from *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus* House Rats in Yokohama City, Japan.

Yokoyama E, Maruyama S, Kabeya H, Hara S, Sata S, Kuroki T, Yamamoto T. *Appl Environ Microbiol* 73 : 2624-2630

横浜市の雑居ビルに生息するイエネズミから *Salmonella* Typhimurium DT104 が分離され、分子疫学的解析を行ったところ、全世界的に pandemic している clone と同一由来であることが確認された。

(5) Improved differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* strains, including many Beijing genotype strains, using a new combination of variable number of tandem repeats loci.

Yokoyama E,

Kishida K, Uchimura M, Ichinohe S. *Infect Genet Evol* 7 : 499-508

結核菌の分子疫学的解析法について検討したところ、世界標準法として提唱されている Supply らの optimized miru 15 領域だけでは Beijing genotype が多く分布する我が国での型別には不十分であることが明らかとなった。RFLP 解析を用いずに VNTR 解析だけで十分な型別を行うためには、さらに8領域を追加する必要がある。

(6) Improved molecular epidemiological analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains using multi-locus variable number of tandem repeat typing.

Yokoyama E, Kishida K, Ichinohe S *Jpn J Infect Dis* 60 : 235-236

結核菌の RFLP 解析と VNTR 解析による分子疫学的解析結果を比較すると、VNTR 解析のほうがより詳細な型別が可能であり、今後は VNTR 解析を用いた積極疫学的サーベイランスにより結核防疫対策を行うことが重要である。

(7) Variable number of tandem repeats and pulsed-field gel electrophoresis cluster analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* serovar O157 strains.

Yokoyama E, Uchimura M. *J Food Prot* 70 : 2583-2588

腸管出血性大腸菌 O157 の分子疫学的解析法について PFGE と VNTR で比較すると、VNTR 解析のほうが詳細な型別が可能であったが、PFGE と併用することで最大の型別が行えることが明らかとなった。

(8) 豚の肝白斑病変における腸内常在菌の分離と免疫組織化学的検出

村上覚史、東量三、横山栄二、近江弘明、大場剛実、鈴木伸一、高崎興平 *日獣会誌* 60 : 295-298

豚の肝白斑病変における町内常在菌を調査したところ、肝白斑病変が存在する肝臓は存在しない肝臓に比べて *Escherichia coli* が有意に多く分離された。さらに、*E. coli* 抗原が肝臓から免疫組織化学的検出によって確認された。

(9) Complete genome and phylogenetic position of bovine papillomavirus type 7.

Tomoko Ogawa, Yoshimi Tomita¹⁾, Mineyuki Okada, and Hiroshi Shirasawa¹⁾. *Journal of General Virology* (2007) : 88,1934-1938.

ウシのパピローマウイルスは BPV1-6 と 16 の新しいと考えられるタイプが報告されている。このうちの一つについて multiple-primed rolling-circle amplification kit を用いて全塩基配列を決定し、その特徴と系統樹解析によりパピローマウイルス科の新しい種に分類され BPV-7 同定とした。

1) 千葉大学医学研究院

(10) **Complete genomes and phylogenetic positions of bovine papillomavirus type 8 and a variant type from a European bison.** Tomita Y¹⁾, Literak I²⁾, Ogawa T, Jin Z¹⁾, Shirasawa H¹⁾. *Virus Genes* (2007) : 35, 243-249.

日本のウシのパピローマの抽出物から全塩基配列を決定し、その特徴と系統樹解析により、ウシのパピローマウイルス8型 (BPV-8) と同定された。さらにこのタイプはヨーロッパバイソンのパピローマからも検出され、BPV-8 のバリエーションであることが分かった。BPV-8 はトランスフォーミングの可能性も示唆された。

- 1) 千葉大学医学研究院
- 2) University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences

(11) **2007/08シーズンのインフルエンザウイルス AH1亜型の分離—千葉県** 小川知子、丸ひろみ、吉住秀隆、岡田峰幸、篠崎邦子、小倉誠、齊加志津子、三瓶憲一 病原微生物検出情報 (2007) : 28,324-324

千葉県では、2007年第41週 (10/8~10/14) 以降に採取された検体から10月末現在 AH1 亜型のインフルエンザウイルスが7株分離された。千葉県感染症情報センターによると、第42集の時点で過去5年間では最も早い分離である。今回分離されたインフルエンザウイルス AH1 亜型の抗原性は、2007/08シーズンのワクチン株である A/Solomon Island/3/2006 から HI 試験で16~32倍の違いが見られ、ワクチン株とは大きく異なっていた。

(12) **サポウイルス感染症** 岡田峰幸、篠崎邦子 公衆衛生 第71巻第12号 998-1000、2007

サポウイルスには現在、遺伝子学的に5つの遺伝子群 (Genogroup I-V) の存在が知られており、そのうちヒトから検出されるものは4つの遺伝子群 (GIII除く) である。ヒト由来のサポウイルスは、ノロウイルス同様、細胞培養系、実験動物系での増殖ができず、検査は遺伝子検出で行われる。ウイルスは患者の糞便、嘔吐物中に排泄され、これらを介して広がると考えられている。サポウイルスは、散發的発生の感染性胃腸炎からの検出報告が多く、これまでのところ集団発生事例の報告はあまり多くないが近年報告が見られるようになった。千葉県における散發性胃腸炎事例におけるサポウイルスの検出率はおよそ8%程度である。

(13) **Concentrations of bisphenol A, bisphenol A diglycidyl ether and the derivatives in canned foods in Japanese markets** Jun Yonekubo¹⁾²⁾, Kazuichi Hayakawa²⁾, and Junko Sajiki J. *Agric. Food Chem.*, 56 : 2041-2047 (2008)

わが国で販売されている缶詰食品38検体について、ビスフェノール A (BPA)、BPA ジグリシルエーテル (BADGE) および BADGE の誘導体を LC/MS、LC/MS/MS を用いて測定した。検出された BPA 濃度は

1日摂取許容量 (ADI) を、BPA ジグリシルエーテル (BADGE) および BADGE の誘導体については特定移行成分限界値 (SML) を超えるものではなかった。缶詰中に検出される主たる BADGE 誘導体は BADGE・2H₂O および BADGE・HC1・H₂O であった。BADGE 標品を用いた加熱実験 (120℃、30分) で、NaCl 添加は BADGE から BADGE・HC1・H₂O の生成を促し、酢酸はこの反応をさらに加速させた。BADGE から BPA の生成は認められなかった。これら結果から、缶詰食品中に検出される BPA は BADGE 由来のものではなく、缶内面材に不純物として混入したものと考えられた。

- 1) 日本ウォーターズKK、2) 金沢大学薬学部

(14) **Effects of bisphenol A on the development, growth and sex ratio of the housefly, *Musca domestica*** Nanae Izumi, Ryoko Yanagibori, Shinichi Shigeno, and Junko Sajiki *Environ. Toxicol. Chem.*, 27 : 1343-1353 (2008)

ビスフェノール A (BPA) がイエバエにどのような影響を与えるかについて調べた。ハエの卵期と幼虫期に BPA を暴露させた (1000 μg/kg を5世代、100 μg/kg を7世代にわたり) ところ、蛹の重量に100 μg/kg 群で増加が、1000 μg/kg 群で減少が認められた。BPA 100 μg/kg 群では3令幼虫数/卵数、蛹数/幼虫数の減少、羽化時間の遅れが観察された。幼弱ホルモンレベルは有意に増加した。以上の結果から、イエバエを BPA に暴露させると、ホルモン攪乱作用によると思われる異常を生じることが明らかになった。

(15) **Multiplex PCR 法を用いた食品中の特定原材料の検出** 橋本博之、眞壁祐樹、長谷川康行、佐二木順子、宮本文夫 *食品衛生学雑誌*, 48(5) : 132-138 (2007)

食品中の特定原材料を検出するために Multiplex PCR (M-PCR) 法を開発した。植物および特定原材料 (小麦、そば、落花生) を同時検出する M-PCR 法を確立するために、植物 DNA 検出用プライマー対を4対設計した。設計した4種のプライマー対および公定法のプライマー対について、特定原材料3種に対する適用性を検討した。その結果、設計したプライマー対の Plant01-5' と Plant01-3' (増幅バンド長; 161bp) が植物検出用プライマー対として最適であった。この植物検出用プライマー対および公定法の特定原材料検出プライマー対を用い、特定原材料由来ゲノム DNA を鋳型とし、同一チューブ内で M-PCR を行った。その結果、植物および特定原材料に特異的な4つの増幅バンドが検出され、それらは互いに区別可能であった。加工食品への適用性を検討した結果、表示特定原材料が良好に検出された。本法は簡便、迅速かつ安価に植物および特定原材料の遺伝子の検出が可能であった。

(16) **ネステッドPCR法を用いた食品中の特定原材料（小麦）の検出** 橋本博之、眞壁祐樹、長谷川康行、佐二木順子、宮本文夫 食品衛生学雑誌、49(1)：23-30 (2008)

食品中の特定原材料（小麦）を検出するためにネステッドPCR法を開発した。加圧加熱食品ではDNAが低分子化し、検出できないことが多い。そこで、加工食品における小麦DNAの検出限界バンド長を検討したところ、加圧加熱加工食品に適用するためにはプライマー対はおおよそ100bp以下で設定することが必要と考えられた。加圧加熱食品での検出感度を向上させるため、ネステッドPCR用プライマー対を設計した。PCR反応試薬を変更して1回目のPCRを実施し、その反応液を用いて2回目のPCRを実施したところ、通知法では7試料中4試料のみ検出できたが、ネステッドPCR法ではすべての試料で検出可能であった。今回確立したネステッドPCR法は、高度に低分子化した加圧加熱食品のDNAが検出可能であったことから、レトルト食品、ハイレトルト食品を含む加工食品において有効な検査法と考えられる。

学会発表

(1) **通常の細菌検査法では培養困難なCampylobacter spp.による集団食中毒.** 依田清江、岸田一則、内村眞佐子. 日本感染症学会第81回総会 (2007)：京都.

高校生2グループに細菌が原因と推定される食中毒が発生したが、通常の検査で病原細菌は検出されなかった。また、下痢症の原因となるウイルスも検出されなかった。Campylobacter属及び種を対象にした患者便のPCR産物をRFLP法と塩基配列で調べたところC.concisus rRNA geneに一致した。

(2) **Salmonella Typhi および S. Paratyphi A の増菌、分離に関する知見.** 依田清江. 地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会第20回総会 (2008)：千葉.

近年、チフス症の症状・病態が変化しており、特に下痢を伴って発症する症例が多いことが分かった。しかし、発症初期に便を検査しても起因菌であるSalmonella TyphiあるいはS. Paratyphi Aが検出される例は稀であった。S. Typhi および S. Paratyphi Aの保存株について、便の検査に一般的に使用される増菌あるいは選択分離培地の効果を検討したところ、培養困難な株が少なからずあることが分かった。これらの株は血液の検査に使用される非選択性の血液寒天培地では容易に培養された。チフス症の起因菌検索の検体は便ではなく血液を供することが肝要と考えられる。

(3) **千葉県における「食品の食中毒菌汚染実態調査」の結果と解析.** 依田清江、江下倉重、横山栄二、橋本ルイコ. 千葉県公衆衛生学会第46回年会 (2008)：千葉

千葉県における流通市販食品の食中毒菌汚染実態を10年間調査した。野菜類440検体、肉類582検体および魚介類120検体について、食中毒起因菌のうちサルモネラおよび腸管出血性大腸菌O157を検査したところ25株のサルモネラが検出された。うち17株はSalmonella Infantisで、特に鶏肉での汚染が拡大していることが分かった。鶏肉由来株と本調査実施期間中に下痢症患者および保菌者から分離されたS. InfantisをPFGE法で解析したところ、鶏肉由来のS. Infantisで実際にヒトが発症したり保菌したことが示唆された。鶏肉の喫食による食中毒防止対策が早急に必要である。

(4) **食品中のサルモネラの検出法について.** 橋本ルイコ、依田清江. 千葉県公衆衛生学会第46回年会 (2008):千葉

日本におけるサルモネラの検査法に公定法は無く、現在、地方自治体が実施している「食品の食中毒菌汚染実態調査」についても、厚生労働省(旧厚生省)から複数の方が提示されている。そこで現行のサルモネラ検査法を検討した。増菌培地はテトラチオネート(TT)とラバポート(RV)(接種菌量0.1mlまたは0.2ml)、分離培地はDHLとクロモアガーサルモネラ(CAS)を比較したところ、RV(接種菌量0.2ml)-CASの組み合わせが特異性、感度共に高かった。

(5) **Sorting of deoxynivalenol and nivalenole contaminated wheat grains by a new sorting machine with infrared rays** Itoh, Y. Takahashi, H. International Symposium of Mycotoxicology (2008) Bangkok

赤カビ毒、デオキシニバレノールとニバレノールで汚染された小麦粒を近赤外線を用いた新型の選別機を用いて選別した。一定の濃度までは、濃度依存的に効率よく除去され、それらのカビ毒は減衰した。

(6) **Occurrence of Aspergillus flavus and storage fungi in nutmeg** Ichinoe, M., Takahashi, H., Ikeda, N., Kanai, Y., Kiraku, Y. International Symposium of Mycotoxicology (2008) Bangkok

ナツメグはしばしばA. flavusの侵害を受けアフラトキシンに汚染される。そこで、インドネシアにおける輸出前の汚染の実態調査を行った。その結果、昆虫による食害や水分の管理を行うことが汚染防除に重要であることがわかった。

(7) **Protection of deoxynivalenol contamination with specific inhibitors for its production** Yaguchi, A., Takahashi, H., Nakajima, T., Konishi, Y., Nagasawa, H., Sakuda, S International Symposium of Mycotoxicology (2008) Bangkok.

赤カビ病菌がつくるカビ毒、デオキシニバレノールの生産阻害物質の検索を、増殖阻害物質は耐性菌を生じや