

他誌掲載論文抄録

(平成19年4月～平成20年3月)

Mycoplasma pneumoniae isolated from patients with respiratory infections in Kanagawa prefecture in 1976-2006: Emergence of macrolide-resistant strains

(神奈川県における1976～2006年の肺炎マイコプラズマ分離状況：特にマクロライド耐性株の出現について)

岡崎則男, 大屋日登美 (神奈川県衛研), 佐々木次雄 (国立感研), Jpn. Infect. Dis., 60, 325-326 (2007)

神奈川県において, 1976～2006年までに検査した咽頭スワブ2,414件中, 肺炎マイコプラズマ分離陽性は585件(陽性率24.2%)で, 1990年代前半まで見られた肺炎マイコプラズマ分離数と分離率の4年周期性ピークは, それ以降消失した。1986年～2006年に分離された肺炎マイコプラズマのEM, JM, TCおよびMINOに対する感受性を調べた結果, 1998年以前の分離株296株中にこれらの薬剤に対する耐性菌は認められなかったが, 2003年以降, EMおよびJM等のマクロライド系薬剤に耐性を示す株が分離され始めた。2003年～2006年までの分離株85株中15株(17.6%)がマクロライド耐性で, これらの耐性株の23S rRNA遺伝子ドメインV領域の塩基配列を調べたところ, 2063位あるいは2064位のアデニンがグアニンに置換する点変異(A2063GまたはA2064G)が認められた。神奈川県以外の地域でも, 2000年以降マクロライド耐性肺炎マイコプラズマが分離されている(3,4)ことから, 国内では2000年以降, このような耐性菌が急増したものと推察される。

VNTR法を利用した*Legionella pneumophila*の遺伝子型別

渡辺祐子 大屋日登美 高橋智恵子 岡崎則男 (神奈川県衛研) 感染症誌, 81, 669-674 (2007)

髄膜炎菌性髄膜炎は全国の年間届け出数が10～20例と少なく, 稀な感染症のため菌株の収集が難しく薬剤感受性に関する報告が少ない。そこで1990年から2004年までに収集した髄膜炎菌100株の薬剤感受性を主要治療薬12薬剤について調査した。その結果, PC系薬剤に対して中等度耐性を示す株が2株検出されたが耐性株は検出されなかった。しかし, 予防内服に使用されるCPFXに耐性株が3株検出された。これらの結果から今後とも, 薬剤感受性調査の動向把握が必要と考えられた。

HIV検査相談体制について—HIV即日検査の導入から普及まで—

今井光信, 嶋 貴子, 須藤弘二, 宮崎裕美, 近藤真規子 (神奈川県衛研) 保健医療科学, 56(3), 203-209, 2007

HIV検査相談は, 効果的なエイズ対策を進めるうえで極めて重要な役割を担っている。しかしながら, 保健所等の行政機関で行われている検査数は, 1990年代半ばより減少し続け, 大きな問題となっていた。我々は各行政機関との協力により, 今までの検査体制に加え, 休日検査, 夜間検査, 即日検査等のより受けやすいHIV検査相談の導入と普及に努めている。HIV即日検査は2003年1月に保健所検査に初めて試験的に導入され, 大幅な受験者増に繋がることが実証された。その後即日検査を実施する保健所が徐々に増え, 2006年末には全体の45%の保健所で実施されるまでに普及した。その結果, 長年にわたり減少または横這いの状況が続いていた受験者数が2003年以降は増加傾向に転じ, 2006年末の受験者数は2002年のおよそ2倍にまで増加した。しかし, 受験者数が増加傾向に転じたとはいえ, HIV検査相談体制の今後の課題も明らかになってきている。本論文ではより効果的なHIV検査相談体制の確立のために行ってきたこれまでの取り組みと, 今後の課題について論じている。

日本におけるHIV-1遺伝子型薬剤耐性検査のコントロールサーベイ

藤崎誠一郎, 藤崎彩恵子, 伊部史朗, 金田次弘 (名古屋医療センター) 浅 黄司, 伊藤俊広(仙台医療センター), 吉田 繁 (北海道大学病院検査部), 小池隆夫 (北海道大学医学部), 大家正泰(新潟大学), 渡邊香奈子 (新潟保健環境科学研究所), 正兼亜季, 上田幹夫 (石川県立中央病院), 瀧永博之, 岡 慎一 (国立国際医療センター), 松田昌和 (国立感染研), 貞升健志, 長島真美 (東京都健康安全センター) 岡田清美 (北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所), 近藤真規子 (神奈川県衛研), 秦 眞美(愛知県衛研), 溝上泰司, 白坂琢磨 (大阪医療センター), 森 治代 (大阪府公衛研), 南 留美(九州医療センター), 杉浦 互(国立感染研)

日本エイズ学会誌, 9, 136-146 (2007)

HIV感染者において薬剤耐性検査は, 有効な薬剤治療

を行うために重要であり、HIV遺伝子の薬剤耐性変異を解析するgenotype検査が2006年4月より保険適用されるようになった。我々は、日本で薬剤耐性検査を実施している主な施設、15施設について、検査手順の精度と信頼性を調べることを目的としてバリデーションを実施した。その結果、HIV-1遺伝子型薬剤耐性検査の質は、正解率が97.3%と、非常に高いことが明らかとなった。エラーの原因は、不適切なプライマーの使用、エレクトロフォレグラムの乱れ、人為的エラーが存在することがわかった。日本で実施されているHIV-1遺伝子型薬剤耐性検査の水準をより一層向上させる為に、今回明らかになった問題に対してトラブルシューティングを提案した。

インフルエンザの迅速診断—「鼻かみ液」検体の可能性

三田村敬子（永寿総合病院）、清水英明（川崎市衛研）、渡邊寿美（神奈川衛研）、川上千春（横浜市衛研）、菅谷憲夫（けいゆう病院）、臨床検査、52、41-45（2008）

インフルエンザ迅速診断キットの検体として、患者に鼻をかませて採取した「鼻かみ液」が使用可能かどうか検討した。ウイルス分離と比較した感度は、鼻咽頭拭い液に比べてやや低いが、A型で86%、B型で77%と良好な数値であった。鼻かみ液の量が少ない場合には検出率が低くなるため、検体量の確認をすることが必要である。鼻かみ液の採取は、侵襲もなく痛みも伴わないため採取は円滑に行われ、有用な検体であると考えられる。

蛍光酵素免疫測定法による新しいHIV抗原抗体同時検出試薬（第4世代）の検討

嶋 貴子、須藤弘二、近藤真規子、今井光信（神奈川衛研）、倉井華子、相楽裕子（横浜市立市民病院）
感染症学雑誌、81(5)、562-572（2007）。

ELFA法を原理とした第4世代のHIV抗原抗体同時検出試薬バイダスアッセイキットHIVデュオII（以下バイダスデュオII）の評価を行った。HIV抗体陽性血漿95検体、HIV陰性血漿1228検体を検討した結果、感度100%、特異性99.8%であった。各ジェノタイプとの反応性はHIV-1グループMに含まれるサブタイプA、B、C、D、A/E、F、G、B/D、グループO、HIV-2は全て検出可能であった。HIV-1p24抗原検出感度は5pg/mlであり、他の抗原抗体同時検出試薬に比べ高いことがわかった。感染初期セロコンバージョンパネル血清での検討により、バイダスデュオIIは他の抗原抗体同時検出試薬と同等あるいはより早い時期からの検出が可能であった。また、バイダスの従来品では検出できなかった抗IgM抗体の検出も可能となり、セカンドウィンドウ期が解消されている

ことが確認できた。以上の結果から、バイダスデュオIIはHIVスクリーニング検査法として十分な感度、特異性を有するとともに感染初期検出にも優れており、有用であることが分かった。

Enterovirus detection status of patients with herpangina and hand, foot and mouth disease in epidemic season 2007, Kanagawa Prefecture, Japan （2007年神奈川県におけるヘルパンギーナ、手足口病患者からのエンテロウイルス検出状況）

佐野貴子、齋藤隆行、近藤真規子、渡邊寿美、尾上洋一（神奈川衛研）、近内美乃里、佐藤善博、折原直美（神奈川県感染症情報センター）、Jpn.J.Infect.Dis., 61、162-163（2008）

2007年の神奈川県域（横浜市、川崎市を除く）におけるヘルパンギーナの週別患者報告数は、第25週に定点当たり1.0人を超え、第30週に6.82人とピークを迎えたが、第35週においても1.35人と流行が続いている。一方、手足口病の週別患者報告数は、第27週に定点当たり1.0人を越え、第30週に3.05人と比較的中規模なピークを迎え、第33週には定点当たり1.0を下回った。しかし地域によって局地的流行が見られ、小田原地区では第17週から定点当たり1.0人前後と継続的に流行が見られ、第30週には8.50人とピークを迎えた。ヘルパンギーナ患者からは、コクサッキーウイルス（C）A10型が14株、A5型が2株、A16型が1株、B2型が1株、B5型が2株、エンテロウイルス以外では単純ヒトヘルペスウイルス1型（HSV-1）が2株分離された。このことから今シーズンのヘルパンギーナ流行の主因ウイルスはCA10と推測された。手足口病患者検体からは、エンテロウイルス（EV）71型が19株、CA16が10株、CA10が4株、CA5が1株、エンテロウイルス以外ではCA16との重複感染でアデノウイルス2型が1株、ワクチン接種後に分離されたポリオウイルス1型が1株分離された。このことから今シーズンの手足口病流行はEV71とCA16による混合流行と推測された。

Detection of the rotavirus A genome from the cerebrospinal fluid of a gastroenteritis patient :A case report

（胃腸炎患者髄液からのA群ロタウイルス遺伝子検出：一症例）

古屋由美子、片山 丘、宮原香代子（神奈川衛研）、小林明日香、船曳哲典（藤沢市民病院）、Jpn.J.Infect.Dis., 60、148-149（2007）

2006年4月に感染性胃腸炎を発症後、脳炎症状を示し

た症例があった。この患者の便、髄液および咽頭ぬぐい液を調べたところ、すべてからA群ロタウイルス遺伝子が検出され、血清型はG3であった。また便の電子顕微鏡観察によりロタウイルス粒子が確認された。これらの結果と患者の症状および経過から、この症例はロタウイルスによる急性脳炎と診断された。髄液中にロタウイルスRNAが認められた急性脳炎・脳症のうち、多くの場合は後遺症なく軽快しているが、発達障害や麻痺を残すなど重篤な神経学的後遺症を残した例も報告されており、A群ロタウイルスが流行している時期の胃腸炎発症後の髄膜炎患者について、髄液のA群ロタウイルス検査が必要であると思われた。

食品添加物の不溶性鉱物性物質から食品擬似溶媒への重金属元素の溶出挙動

藤巻照久（神奈川衛研）、天笠高志（星葉大）、堀江正一（埼玉衛研）、伊藤理恵、斉藤貢一、中澤裕之（星葉大）、分析化学、56、1197-1203（2007）

試料として活性白土、酸性白土、グリーンタフ、花こう斑岩、タルク、ベントナイト、珪藻土、パーライトの8種類の既存添加物を用い、材質試験及び溶出試験を行った。不溶性鉱物性物質を構成する主要な元素は、Siで約7割の含有量であった。次いでAl、Fe、Na、Caなどが比較的多く存在していた。また、タルク以外の不溶性物質からAs、Pb、Cdの含有が認められた。

エタノール及び酢酸を含有する食品擬似溶媒を用いてAs、Pb、Cr、Cd、及びHgの溶出試験を検討した結果、いずれの不溶性鉱物性物質との組合せにおいてもCd及びHgは検出されなかった。

液状食品の製造工程で珪藻土を濾過助剤として使用する場合、AsやPb等の溶出が示唆された。しかし、今回の検討では特に食品衛生上、問題ないと考えられた。

畜水産物中動物用医薬品スクリーニング分析法としての高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法の検討

甲斐茂美、赤星猛、藤巻照久、伊藤伸一（神奈川県衛生研究所）、金澤秀子（共立薬科大学）、分析化学、56、12、1105-1113（2007）

畜水産物中に残留する動物用医薬品のスクリーニング分析について、イオントラップ機能を有する高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析装置（LC/MS/MS）の活用を検討した。MS/MS条件はポジティブ及びネガティブモード、LC条件はカラムにCadenzaCD-C18を、移動相に0.1%ギ酸-アセトニトリル系を用いて分析した。試料はアセトニトリル/アセトニトリル飽和n-ヘキサンで

抽出し、OasisHLBカートリッジカラムにより精製した。44種の動物用医薬品を対象に検討を実施したところ、高感度プロダクトイオンキャン（EPI）分析により同定の指標として有効な化合物の構造情報が得られ、またマルチプルリアクションモニタリング（MRM）分析により高感度な分析が可能となった。ポジティブリスト制度施行に際し、高感度で構造情報を得ることができるイオントラップLC/MS/MSによる分析は有用な手段であり、動物用医薬品のスクリーニング検査に適用できることがわかった。

HPLCによる食品中の9種保存料の分析

岸 弘子、山田利治（神奈川衛研）

食品衛生学雑誌、48、58-63（2007）

食品中の保存料9種の分析法の検討を行った。固体食品はメタノールで抽出し、5 mmol/Lクエン酸緩衝液（pH 4.0）を加えてOasis HLBに負荷し、メタノール溶出液を安息香酸、ソルビン酸およびデヒドロ酢酸測定用試験溶液とした。さらに、メタノール溶出液の一部をBond Elut PSAに負荷し、その通過液をパラオキシ安息香酸エステル類測定用試験溶液とした。液体食品は5mmol/Lクエン酸緩衝液を加えてOasis HLBに負荷し、以下同様に操作した。10種類の食品に各保存料を0.01および0.10 g/kgとなるように添加したときの回収率は76.4~107.4%、定量限界は各々0.005g/kgであった。

Indicated detection of two unapproved transgenic rice lines contaminating vermicelli products

（ビーフン中に混入した安全性未承認の遺伝子組換え米の検出）

穂山浩（国立衛研）、佐々木伸大（東京農工大）、坂田こずえ（国立衛研）、大森清美（神奈川衛研）、豊田安基江（広島県総技研）、菊池裕、渡邊敬浩（国立衛研）、古井聡、橘田和美（国立食総研）、米谷民雄（国立衛研）、Journal of Agricultural and Food Chemistry、vol.55、No.15、5942-5947（2007）

我々は、4種のビーフンから抽出したDNAフラグメントの分析を行った。殺虫活性を示すBacillus thuringiensis (Bt) 米は、GM Shanyou 63系統と類似したコンストラクトをもつ。このBt系統はいくつかのビーフン中で検出され、CryIAcタンパク質のコード領域配列とNOS terminator配列の境界領域およびコメActin I promoter 配列とCryIAcタンパク質のコード領域配列の境界領域が特定された。加えて、我々は異なるBtコメ系統を、いくつかのビーフン中で、トウモロコシubiquitin promoter と cry 1 Ab の境界領域およびcauliflower

mosaic virus 35S promoterとhygromycin phosphotransferaseの境界領域で検出した。したがって、我々は、ビーフサンプルの中に、2種の遺伝子組換えBtコメ系統のコンタミネーションをはじめて検出した。更に、我々は、duplex real-time PCR法を用いて、両Btコメ系統を同時に検出する方法を開発した。

トウモロコシ加工食品からのイオン交換樹脂タイプキットを用いたDNA抽出精製法の検討

大森清美, 土屋久世 (神奈川衛研), 渡邊敬浩, 穂山浩, 米谷民雄 (国立衛研), 山田利治, 伊藤伸一, 佐藤修二 (神奈川衛研), 食品衛生学雑誌, 49, 45-50 (2008)

安全性未審査の遺伝子組換えトウモロコシCBH351の検知法において、DNA回収が困難なトウモロコシ加工食品からのイオン交換樹脂タイプキットを用いたDNA抽出精製法を検討した。コーンフレークおよびジャンボコーンについては、粉碎試料4gを採取し、KNG-Gtip法を用いてDNAの抽出精製を行うことにより、現行法である厚生労働省通知法またはJAS分析試験ハンドブック法に比べDNA試料原液の濃度は増大し、Zein遺伝子の検出率も向上した。

Rapid and sensitive determination of tryptophan, serotonin and psychoactive tryptamines by thin-layer chromatography/fluorescence detection.

(迅速で高感度な蛍光検出による薄層クロマトグラフィーのトリプトファン、セロトニン及び幻覚系トリプタミン化合物の分析法)

Kato N*, Kojima T, Yoshiyagawa S*, Ohta H*, Toriba A*, Nishimura H*, Hayakawa K*.

* : 神奈川県警察本部科学捜査研究所

J Chromatogr A. 2007; 1145 (1-2) : 229-233.

トリプタミン、セロトニン及び幻覚系トリプタミン化合物の迅速、簡易、高感度の分析法を蛍光検出による薄層クロマトグラフィーで検討した。これらの化合物は塩酸、過酸化水素や塩化第2鉄試液を噴霧し加熱後、紫外線 (365nm) 照射により青色系蛍光を発する。トリプタミン、セロトニン及び幻覚系トリプタミン化合物の検出限界は 0.01から0.06マイクログラムであった。本法は幻覚系トリプタミン化合物の粉末や乱用者の尿サンプルに応用できる。

Determination of (R)-xanthoanthrafil, a phosphodiesterase-5 inhibitor, in a dietary supplement promoted for sexual enhancement

(強壮・強精効果を標榜した健康食品より検出された(R)-キサントアントラフィルの分析)

熊坂謙一, 土井佳代, 小島尚(神奈川衛研), 川原信夫, 合田幸広(国立医薬品食品衛生研究所), Chem. Pharm. Bull., 56, 227-230 (2008)

強壮・強精効果を標榜する健康食品より初めて検出された、キサントアントラフィルの分析事例を報告する。当該製品のメタノール抽出液について、薄層クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー及び液体クロマトグラフィー-質量分析計により、含有医薬品成分の分析を行った。その結果、既存の医薬品成分とは異なる化合物の含有が推定された。そのため、本成分を単離・精製し、NMR測定、旋光度の測定を行った結果、過去に医薬品として開発過程にあり、また、ホスホジエステラーゼ-5阻害作用を有する化合物FR226807であることが判明した。また、本化合物の名称について、新たに「(R)-キサントアントラフィル ((R)-xanthoanthrafil)」と命名した。

Microbial degradation of cyanobacterial cyclic peptide (ラン藻由来の環状ペプチドの微生物分解)

加藤 創, 今西 進 (名城大学), 辻 清美 (神奈川衛研), 原田健一 (名城大学), Water Research 41, 1754-1762 (2007)

津久井湖より単離されたミクロシスチン分解菌B-9によるラン藻由来の環状ペプチドの分解性を検討した。B-9株抽出液による環状ペプチドとノジュラリンについて分解挙動をLC/ITMSを用いて観察した。B9株はペプチド結合の加水分解により、これらの環状ペプチドを分解した。この細菌は構造的に異なる環状ペプチドに対しても加水分解活性を有していることが判明した。これは有害な環状ペプチドの無毒化に効果的であることが示された。