

ヘキサブロモシクロドデカン (HBCD) の溶出・分解試験結果について

山崎隆博・吉川昌範

第 26 回環境化学討論会 (平成 29 年 6 月、静岡市)

河川の底質から水質への HBCD の溶出に関する知見を得ることを目的として溶出試験を実施した。また、難分解性とされている HBCD の環境中濃度を低減化する方法を検討するため、分解試験を実施した。

その結果、溶出試験では 3 異性体 (α, β, γ) での溶出率

が異なっていた。また、分解試験では紫外線などによる分解効果が確認され、紫外線+オゾンの試験により 60 分間で 70%以上の HBCD が減少し、紫外線のみでの試験でも 60%以上減少した。

RSV G 遺伝子の分子疫学

平野映子・佐藤かおり・酒井妙子・東方美保・大村勝彦
塚越博之*1・長澤耕男*2・梁明秀*3・黒田誠*4・木村博一*4

*1 群馬県衛生研究所 *2 千葉大学医学部小児科 *3 横浜市立大学医学部微生物学 *4 国立感染症研究所

衛生微生物技術協議会第 38 回研究会 (平成 29 年 6 月、東京都)

【背景と目的】RS ウイルス (Respiratory syncytial virus) は、主に乳幼児や高齢者に下気道炎 (気管支炎や肺炎) を引き起こす主要な病原体として認識されている。RSV は主要抗原の 1 つである G 蛋白 (attachment glycoprotein) をコードしている G 遺伝子の遺伝学的差異から、2 つのサブグループ (RSV-A と RSV-B)、さらに RSV-A は 14 種類、RSV-B は 20 種類の遺伝子型に再分類されている。特に、G 蛋白の C 末端をコードしている領域 (C 末端超可変領域) の進化速度は非常に速く、G 蛋白の多様性のみならず RSV の再感染にも関与している可能性がある。さらに、RSV-A の遺伝子型の 1 つである ON1 は、始祖遺伝子型 NA1 の C 末端超可変領域に 72 塩基の繰り返し配列が挿入された新しい遺伝子型であり、2010 年にカナダにおいて初めて報告されて以来、世界中で検出されている。今回、国内外で検出された NA1 型と ON1 型に関し、詳細な分子疫学・分子進化的解析を行った結果、若干の知見を得たのでその概要を報告する。

【材料と方法】2009 年 1 月から 2013 年 12 月に福井県内の医療機関において呼吸器症状を呈する患者から採取した鼻咽頭拭い液のうち RSV-A が検出された検体を材料とし、G 遺伝子 C 末端超可変領域の塩基配列を解析した。さらに、国内外の同遺伝子型の既登録株を加え、ON1 (93

株) と NA1 (125 株) についてベイジアン・マルコフ鎖モンテカルロ (MCMC) 法を用い、進化速度の推定、時系列系統解析を行うとともに、positive selection 解析を行った。

【結果】MCMC 法による時系列系統解析の結果、遺伝子型 NA1 は 2000 年、ON1 は 2005 年に、それぞれの共通始祖遺伝子型から分岐したことが推定され、ON1 の進化速度 (6.03×10^{-3} substitutions/site/year) は、NA1 (4.61×10^{-3} substitutions/site/year) に比し有意に速いことが示唆された。また、positive selection 解析により ON1 および NA1 において少数の positive selection site ($dS > dN$) と多くの negative selection site ($dS < dN$) が推定された。これらのことから、ON1 および NA1 の G 遺伝子 C 末端超可変領域において高い頻度でアミノ酸置換が生じていることが示唆された。

【まとめ】RSV-A の遺伝子型 ON1 は、その始祖遺伝子型 NA1 に比し、抗原変異を伴いながら非常に速い速度で進化していることが示唆された。また、上述したように G 遺伝子 C 末端超可変領域の変異は、RSV 感染症の再感染に寄与する可能性があるため、RSV の継続的なサーベイランスに基づき、当該遺伝子の分子疫学・分子進化的解析が必要であると考えられる。

福井県におけるヒト由来 CTX-M 型基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生大腸菌の傾向

外川佳奈・東方美保・岩崎理美・児玉 佳・大村勝彦

平成 29 年度獣医学術中部地区学会 (平成 29 年 8 月、富山市)

近年、ESBL 産生大腸菌の分離報告が増加している。ESBL 産生菌は第三、第四世代セファロスポリンに対して耐性を示し、これらが市中および院内感染の原因菌となった場合、広域セファロスポリンによる治療に抵抗性を示すことから、臨床現場でその動向が警戒されている。なかでも Cefotaxime (CTX) に対して高い耐性を示す CTX-M 型について、福井県内におけるヒト由来株を検索し、遺伝子型や多剤耐性状況などの傾向を調査した。

2013 年 4 月～2016 年 3 月に、福井県内の医療機関から提供を受けた大腸菌菌株について、薬剤感受性および薬剤耐性遺伝子を確認した。薬剤感受性試験は、CTX、Ciprofloxacin、Nalidixic acid、Ampicillin、Tetracycline、Streptomycin、Sulfisoxazole、sulfamethoxazole/Trimethoprim、Gentamicin、Kanamycin、Chloramphenicol および Fosfomycin の 12 種類の薬剤感受性試験用ディスク (BBL) を使用し、Kirby-Bauer 法により実施した。薬剤耐性遺伝子は、CTX-M 型の β-ラクタマーゼである *bla*_{CTX-M} 遺伝子をグループ分けする PCR

法で検出した。

3 年間に於いて提供を受けた菌株 474 株のうち、薬剤感受性試験で CTX 耐性と判定されたのは 80 株であった。この CTX 耐性株に、医療機関で ESBL 産生大腸菌として分離された株を加えた 203 株について *bla*_{CTX-M} 遺伝子を PCR 法で検索したところ、131 株が陽性で、CTX-M-1 グループ (以下、G) が 31 株 (23.7%)、CTX-M-2G が 13 株 (9.9%) および CTX-M-9G が 87 株 (66.4%) と分類された。O 血清型が判明した 66 株のうち、O25:H4 が 65.2% (43 株) を占め、その平均耐性薬剤数は 6.8 剤 (他 23 株については 5.6 剤) と高かったが、各年度で占める割合は 68.3%、63.2%、50.0% とやや低下傾向にあった。同一クローンで病原性を有する CTX-M-15 型の血清型 O25:H4 の伝播が関与している可能性が考えられる。また、福井県内での過去の調査で、2008 年までは確認されていなかった O1:H12 が 5 株確認され、CTX-M 型 ESBL 産生菌の血清型の変化が確認された。

管理型最終処分場における半金属の溶出特性

田中宏和・中村大充・大家清紀^{*1}・石垣智基^{*2}
・遠藤和人^{*2}・山田正人^{*2}・香村一夫^{*3}

*1 福井資源化工 (株) *2 (国研) 国立環境研究所 *3 早稲田大学

第 28 回廃棄物資源循環学会研究発表会 (平成 29 年 9 月、東京都)

管理型最終処分場の浸出水中に含まれる半金属濃度の経年変化を評価し、溶出特性とメカニズムを考察した。評価対象は B、As および Sb とした。これらの元素は経時的に連続した濃度変化を示した。埋立終了後の埋立廃棄物層内は嫌気状態になるため、多くの金属類が難溶性の硫化物を形成するといわれているが、B は指数関数的な濃度減少を示し、As と Sb は埋立開始から約 20 年後までは濃度

減少し、それ以降は濃度増加した。連続的な溶出挙動を示した原因として、これらの元素は重金属に比べて嫌気状態で硫化物を形成しにくく、水溶性の化合物形態となって溶出していることが推察された。As と Sb は同属元素であるため溶出特性が類似しており、20 年後以降にみられた濃度増加の要因として、硫化物が酸化して溶出しやすくなる可能性が考えられた。

福井県における PM_{2.5} 成分組成の地域特性について(3)

岡 恭子・藤田大介・吉川昌範

第 58 回大気環境学会 (平成 29 年 9 月、神戸市)

平成 28 年度までに福井県内で行った成分分析の結果から、県内における PM_{2.5} の地域特性について考察を行った。

その結果、福井平野内の地点では、質量濃度と成分組成は類似していた。自動車排出ガス測定局では、一般局と比べて EC(元素状炭素)の濃度が高かった。沿岸部や山間部は、市街地よりも質量濃度は低く、市街地での地域汚染の

影響が示唆された。

市街地と沿岸部・山間部を比べると、硫酸イオン濃度は市街地と沿岸部が同程度で、山間部のみが低かった。EC・OC(有機炭素)濃度は、沿岸部と山間部は同程度で、市街地のみが高く、その差分が市街地での地域汚染量と推測した。

福井県におけるヒト由来薬剤耐性菌の遺伝子解析と耐性遺伝子の伝播状況

東方美保・石畝 史・山本政弘・岩崎理美・外川佳奈・大村勝彦

第 45 回北陸公衆衛生学会 (平成 29 年 11 月、福井市)

細菌が薬剤耐性を獲得する機序のうち、AmpC 型 β-ラクタマーゼ過剰産生、基質スペクトル拡張型 β-ラクタマーゼ (Extended-Spectrum β-Lactamase: 以下、ESBL) の産生、カルバペネマーゼの産生等によりセフェム系やカルバペネム系の薬剤耐性が獲得されるなど、遺伝子変異や耐性遺伝子の獲得による薬剤耐性化が注目されている。特に多くの β-ラクタム系抗菌薬を分解するカルバペネマーゼ産生菌による感染症は治療が難航する傾向にあり、海外において NDM 型や KPC 型等の新たなタイプのカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: CPE) の拡散が報告される中、国内での検出動向に関心が集まっている。さらに、プラスミド性の遺伝子による耐性獲得の可能性がある ESBL、AmpC 型 β-ラクタマーゼ、カルバペネマーゼは、同一菌種間だけでなく、菌種間を超えて容易に伝播するとされる。そこで、ヒト由来薬剤耐性グラム陰性桿菌の複数の菌種について、福井県内における同時期の薬剤耐性状況を調査した。また、β-ラクタマーゼ遺伝子を検索し、薬剤耐性遺伝子の伝播状況を解析した。

平成 25 年 4 月～平成 26 年 4 月に福井県内の協力医療機関から提供されたヒト由来薬剤耐性菌(グラム陰性桿菌)187 株について、ドライプレート法で抗菌剤 (17 剤または 19 剤) についての最少発育阻止濃度を測定した。R (耐性)、I (中間)、S (感性) の判定は Clinical and Laboratory Standards Institute によるブレイクポイント規定文書 M100-S22 に準拠した。薬剤耐性遺伝子については、17 種類の β-ラクタマーゼ遺伝子 (カルバペネマーゼ: IMP-1 型、IMP-2 型、VIM-2 型、KPC 型、NDM 型、GES 型の 6 種類、AmpC 型 β-ラクタマーゼ: MOX

型、CIT 型、DHA 型、ACC 型、EBC 型、FOX 型の 6 種類、ESBL: CTX-M-1 group、CTX-M-2 group、CTX-M-9 group、TEM 型、SHV 型の 5 種類) を PCR 法で検索し、酵素阻害剤を用いたディスク法等で酵素産生の可能性が高い 32 株に絞り込んだ。多剤耐性を示す大腸菌 48 株 (平成 25 年 4 月～平成 28 年 10 月収集) と合わせた 80 株について、国立感染症研究所病原体ゲノム解析センターに依頼し次世代シーケンサー解析による網羅的遺伝子配列解析を行い β-ラクタマーゼ遺伝子検索を実施した。

薬剤耐性株の占める割合は、セファロsporin系第三世代のセフトジジムでは 55/187 株 (29.4%)、セファロsporin系第四世代のセフェピムでは 20/167 株 (12.0%) であり、カルバペネム系薬剤については、イミペネムで 32/167 株 (19.2%)、メロペネムで 20/167 株 (12.0%) となった。カルバペネム系薬剤耐性株の多くがシュードモナス属等のブドウ糖非発酵菌群であり、腸内細菌科細菌は 11 株のみであった。カルバペネマーゼ遺伝子としては IMP-1 型が 2 株確認されたが、最も警戒すべき CPE ではなく、また “スーパー耐性菌” などと呼ばれる海外由来の NDM 型や KPC 型ではなかった。他には、CTX-M 型 β-ラクタマーゼ遺伝子が延べ 53 種類、TEM 型 β-ラクタマーゼ遺伝子が延べ 18 種類、SHV 型 β-ラクタマーゼ遺伝子が延べ 6 種類、AmpC 型 β-ラクタマーゼ遺伝子が延べ 9 種類確認された。これらの β-ラクタマーゼ遺伝子については、菌種によって種類に偏りが見られ、腸内細菌科細菌の菌種を超えた水平伝播と推定されるような症例は見いだせなかった。また、多剤耐性を示す系統として世界的な広がりが問題となっている大腸菌 O25:H4(MLST が ST131 で *bla*_{CTX-M-15} 獲得) を 4 株確認した。

魚類へい死等の水質事故発生時に用いる多項目簡易分析法の検討

田中宏和・山崎慶子・荻野賢治*

* 京都市上下水道局

日本水処理生物学会第54回大会（平成29年11月、吹田市）

魚類へい死等の水質事故対応時に用いる農薬と金属類の分析方法として、前処理を簡略化した多項目分析の適用可能性を添加回収試験により評価した。農薬についてはLC/MS/MSを用い、通常はGC/MSを用いて分析する項目を含めた150項目以上で良好な回収率を得た。金属類

は50項目以上で良好な回収率を示したが、回収率が著しく低い、または高い項目も一部確認された。しかし、原因物質が高濃度で残留する水質事故時の緊急分析においては、今回評価した方法は十分に利用可能であると考えられた。

平成28年度に福井県で検出されたノロウイルスの遺伝子解析

佐藤かおり・酒井妙子・平野映子・東方美保

第45回北陸公衆衛生学会（平成29年11月、福井市）

ノロウイルス（以下NoV）は主に糞口感染により嘔吐および下痢等を引き起こし、調理従事者等を介した食中毒およびヒト-ヒト感染による感染症の集団発生の原因となることが知られている。また、近年NoVの新しい変異株が出現しており、変異株出現と胃腸炎大流行の関連性が指摘されている。そのためNoV流行状況の把握は、公衆衛生において非常に重要であり、当センターでもNoVの検査および遺伝子解析を実施している。

今回、平成28年度に福井県内で検出されたNoVの遺伝子解析の結果をまとめたので報告する。

平成28年度（平成28年4月～29年3月）に当センターへ行政検査依頼があった感染性胃腸炎の小児散発例20件20検体および集団発生事例27件257検体を対象とした。糞便および吐物は滅菌水で10%乳剤とし、遠心後の上清を試料とした。前処理後の試料から厚生労働省通知に準じ、リアルタイムPCR法を実施した。NoV陽性と判定した検体については、Kojimaらの方法に準じダイレクトシークエンス法によりCapsid領域（GI：295nt、GII：282nt）の塩基配列を決定し、遺伝子解析を実施した。

平成28年度に発生した小児散発例では20件中8件から、集団発生事例では27件中21件からNoVが検出された。小児散発例からはGII.2（5件）およびGII.4（3件）

が、集団発生事例からはGII.2（14件）、GII.3（1件）、GII.4（1件）およびGII.17（5件）が検出され、GIは検出されなかった。小児散発例、集団発生事例ともに最も多く検出されたのはGII.2であり、福井県では平成26年以来2年ぶりの検出となった。発生時期でみると平成28年4月～5月は昨年度に引き続きGII.17が検出され、12月以降はGII.2が主流となったが、平成29年3月には再度GII.17が検出された。複数の事例で検出された各々の遺伝子型について系統解析を実施したところ、GII.2は平成26年以前に検出された株とは異なるサブクラスターに分類された。またGII.4は、全て小児散発例で流行の主流となっているHu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AUと同じサブクラスターに、GII.17は平成26年に新たに報告されたHu/GII.P17_GII.17/Kawasaki323/2014/JPおよび時系列進化の観点からより新しいHu/GII.P17_GII.17/Kawasaki308/2015/JPと同じサブクラスターに分類された。

NoV感染では遺伝子型に特異的な防御反応が誘導される。今回、県内で検出されたNoVの遺伝子型に変遷が認められたため、今後も検出される遺伝子型に注視する必要があると考えられる。

PM_{2.5}成分の日内変動調査について

岡 恭子・藤田大介・竹内靖子・吉川昌範

第44回環境保全・公害防止研究発表会（平成29年11月、長崎市）

光化学反応による二次生成粒子の影響を見るため、市街地である福井局で、PM_{2.5}成分の日内変動調査を行った。光化学反応の影響を受けていると考えられる硫酸イオンは、濃度も組成比も昼間の方が夜間よりもやや高い傾向にあったが、大きな差はみられなかった。また、晴天時の平均濃度・組成についても同様の傾向にあった。

各昼間の成分濃度と、福井局近くの福井地方気象台の全天日射量との相関係数を求めた結果、OC濃度で相関係数が高かった。

昼夜別のPM_{2.5}濃度・組成は、日射量の差による光化学反応の差だけでなく、風向等も複雑に関係してくるため、二次生成の影響がみえにくかったと考えられた。

ヘキサブロモシクロドデカン（HBCD）の溶出・分解試験結果について

山崎隆博・吉川昌範

第32回全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部研究会（平成30年1月、奈良市）

平成26～27年度に河川および底質のHBCD濃度を県内32地点で調査した結果、水質3地点と底質5地点において比較的高い濃度で検出された。

底質から水へのHBCDの溶出試験およびHBCDの分解試験を実施した。

その結果、溶出試験では3異性体(α, β, γ)での溶出率が異なっていた。また、分解試験では紫外線などによる分解効果が確認され、紫外線+オゾンの試験により60分間で70%以上のHBCDが減少し、紫外線のみでの試験でも60%以上減少した。

福井県における平成29年食中毒発生状況および腸管系病原細菌検出状況

東方美保・岩崎理美・外川佳奈・児玉 佳

平成29年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部微生物部会（平成30年3月、岐阜市）

平成29年に福井県で発生した食中毒は10件、患者数は55名であった（平成28年は5件、162名）。病因物質の内訳は、ノロウイルスが4件（16名）、アニサキスが2件（2名）、ウェルシュ菌が1件（16名）、*Salmonella Thompson* および腸管出血性大腸菌O178の混合感染事例が1件（15名）、ロタウイルスが1件（3名）、病因物

質不明事例が1件（3名）であった。

三類感染症の発生は、腸管出血性大腸菌感染症のみであり、27件30名（有症者24名、無症者6名）であった（平成28年は19件29名）。患者数の内訳はO157が22件（25名）、O178が2件（2名）、O121が1件（1名）、O130が1件（1名）、O146が1件（1名）であった。

東海・北陸におけるウイルス性胃腸炎の発生状況とウイルスの検出状況

佐藤かおり・酒井妙子・平野映子・東方美保

平成 29 年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部微生物部会（平成 30 年 3 月、岐阜市）

平成 29 年 4 月 1 日から平成 30 年 1 月 31 日の期間に東海北陸地区で発生したウイルス性胃腸炎集団発生事例についてまとめ、報告した。

発生事例数は 48 事例であり、過去 5 年間で最も少ない事例数であった。例年、11 月から 1 月の発生数が多く全体の 5～7 割を占めるが、今年度は 3 割程度であった。発生施設は飲食店が過半数を占め、次いで幼稚園・保育園で

あった。検出されたウイルスは、ノロウイルス (44 事例)、サポウイルス (2 事例) および A 群ロタウイルス (2 事例) であった。検出されたノロウイルスの遺伝子型は G I が 12 事例、G II が 31 事例および G I と G II の重複検出が 1 事例であり、昨年度に比べ G I の占める割合が高かった。昨年度の G II の主流は G II.2 であったが、今年度は G II.4 Sydney 2012 となった。

福井県における 2017 年感染症発生動向調査について

佐藤かおり・酒井妙子・平野映子・東方美保

平成 29 年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部微生物部会（平成 30 年 3 月、岐阜市）

感染症発生動向調査において、2017 年に提出された 263 名の検体についてウイルス検査を実施し、226 名がウイルス検査陽性となった。主な疾患のウイルス検出状況は以下のとおりである。(2018 年 1 月 5 日現在)

インフルエンザは、143 名中 115 名からインフルエンザウイルスが検出された。その内訳は、AH3 型 (84 名)、B 型山形系統 (18 名)、AH1pdm09 型 (8 名) および B 型ビクトリア系統 (5 名) であった。なお、検査陰性となった 28 名について呼吸器ウイルスの検出を実施したところ、10 名が陽性となり、ライノウイルス (5 名) 等が検出された。

感染性胃腸炎は、49 名中 43 名がウイルス陽性となり、A 群ロタウイルス (12 名)、ノロウイルス G II (11 名)、アストロウイルス (8 名) 等が検出された。

咽頭結膜熱は、15 名中 13 名がアデノウイルス陽性とな

り、1 型 (5 名)、2 型 (5 名) 等が検出された。

流行性角結膜炎は、8 名中 8 名がアデノウイルス陽性となり、54 型 (3 名)、37 型 (2 名)、53 型 (2 名) および 3 型 (1 名) が検出された。

手足口病は、29 名中 25 名がウイルス陽性となり、A 群コクサッキーウイルス 6 型 (21 名)、エンテロウイルス 71 型 (3 名) および A 群コクサッキーウイルス 16 型 (1 名) が検出された。

ヘルパンギーナは、5 名中 5 名がウイルス陽性となり、A 群コクサッキーウイルス 6 型 (3 名) および A 群コクサッキーウイルス 10 型 (2 名) が検出された。

無菌性髄膜炎は、13 名中 6 名がウイルス陽性となり、エコーウイルス 9 型 (2 名)、エンテロウイルス 71 型 (2 名)、エコーウイルス 6 型 (1 名) および A 群コクサッキーウイルス 6 型 (1 名) が検出された。