

## Molecular evolution of human respiratory syncytial virus attachment glycoprotein (G) gene of new genotype ON1 and ancestor NA1

Eiko Hirano, Miho Kobayashi<sup>\*1</sup>, Hiroyuki Tsukagoshi<sup>\*1</sup>, Lay Myint Yoshida<sup>\*2</sup>, Makoto Kuroda<sup>\*3</sup>, Masahiro Noda<sup>\*4</sup>, Taisei Ishioka<sup>\*4</sup>, Kuniyoshi Kozawa<sup>\*1</sup>, Haruyuki Ishii<sup>\*5</sup>, Ayako Yoshida<sup>\*6</sup>, Kazunori Oishi<sup>\*4</sup>, Akihide Ryo<sup>\*7</sup>, and Hirokazu Kimura<sup>\*4</sup>,

<sup>\*1</sup> Gunma Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences <sup>\*2</sup> Department of Pediatric Infectious Diseases, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University <sup>\*3</sup> Pathogen Genomics Center, National Institute of Infectious Diseases <sup>\*4</sup> Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases <sup>\*5</sup> Department of Respiratory Medicine, Kyorin University, School of Medicine <sup>\*6</sup> Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment <sup>\*7</sup> Department of Microbiology and Molecular Biodefense Research, Yokohama City University Graduate School of Medicine

Infection, Genetics and Evolution, 28, 183-191, (2014)

We conducted a comprehensive genetic analysis of the C-terminal 3rd hypervariable region of the attachment glycoprotein (G) gene in human respiratory syncytial virus subgroup A (HRSV-A) genotype ON1 (93 strains) and ancestor NA1 (125 strains). Genotype ON1 contains a unique mutation of a 72 nucleotide tandem repeat insertion (corresponding to 24 amino acids) in the hypervariable region. The Bayesian Markov chain Monte Carlo (MCMC) method was used to conduct phylogenetic analysis and a time scale for evolution. We also calculated pairwise distances (p-distances) and estimated the selective pressure. Phylogenetic analysis showed that the analyzed ON1 and NA1 strains formed 4 lineages. A strain belonging to lineage 4 of ON1

showed wide genetic divergence (p-distance, 0.072), which suggests that it might be a candidate new genotype, namely ON2. The emergence of genotype NA1 was estimated to have occurred in 2000 (95% of highest probability density, HPD; 1997–2002) and that of genotype ON1 in 2005 (95% HPD; 2000–2010) based on the time-scaled phylogenetic tree. The evolutionary rate of genotype ON1 was higher than that of ancestral genotype NA1 ( $6.03 \times 10^{-3}$  vs.  $4.61 \times 10^{-3}$  substitutions/site/year,  $p < 0.05$ ). Some positive and many negative selection sites were found in both ON1 and NA1 strains. The results suggested that the new genotype ON1 is rapidly evolving with antigenic changes, leading to epidemics of HRSV infection in various countries.

## 福井県における飛来物質の実態に関する研究 — 粒子状物質の簡易採取法の検討 —

吉川昌範・谷口佳文・福島綾子・高岡 大・酒井忠彰<sup>\*1</sup>・坪内 彰<sup>\*2</sup>・三浦 麻<sup>\*3</sup>

<sup>\*1</sup> 福井県安全環境部 <sup>\*2</sup> 福井大学地域環境研究教育センター <sup>\*3</sup> 福井大学教育地域科学部

福井大学地域環境研究教育センター研究紀要「日本海地域の自然と環境」No.21,25-30 (平成 26 年 11 月)

近年、微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) や黄砂などの粒子状物質の越境汚染が深刻な環境問題となっていることから、当センターでは、福井大学と連携して、県内に飛来する黄砂などの粒子状物質の分布状況や寄与割合を解明するための研究を実施している。

当該研究の第一段階として、粒子状物質 (TSP) を安価かつ簡易に採取するため、自動流量調整機能を有する吸引ポンプと積算流量計およびフィルターホルダー (アスベスト採取用) を用いた簡易なサンプリング装置 (簡易採取法)

を独自に作成し、当該装置の信頼性について検討した。

採取装置 (5 台) の平行試験を行った結果、装置間の変動幅は -8% ~ +11% の範囲にあり、信頼性のある装置であることが確認された。

また、TSP の採取法として一般に用いられているハイボリュームエアサンプラー法との比較試験を実施した結果、簡易採取法の方が僅かに高めの濃度 (+5% 程度) になるものの、両採取法で得られた TSP 濃度に強い相関関係が認められた。

誌上発表 (3)

## 経年変化から見た夏季三方五湖の水質評価

森山 充

水産技術、第7巻2号、105-111 (2015)

福井県が26年間モニタリングしてきたCODなどの物理化学的要素と植物プランクトン数のデータから、植物プランクトンの指標としての有用性を示し、三方五湖の水質を評価した。

三方湖、水月湖および久々子湖にそれぞれ定点を設け、8月に表層から採水し測定を行った結果、物理化学的要素は三方湖については変動が大きく環境基準値をほとんど上回った。一方、植物プランクトン数の経年変動パターン

については3地点とも類似し、本研究期間内の前期で増加傾向、後期で減少傾向が認められた。

2000年の下水道供用開始をピークとして植物プランクトン数は1988年程度と同水準に減少し、アオコ発生も2001年以降確認されていないことから、植物プランクトンを指標とすると三方五湖の水質は浄化に向かっていると考えられた。

学会発表 (1)

## 染料等汚染土壌のダイオキシン類迅速分析法 (第2報)

三木 崇・吉川昌範

第23回環境化学討論会 (平成26年5月、京都市)

土壌試料等のダイオキシン類のスクリーニング法として、高速溶媒抽出 (ASE) による迅速抽出、RH-12msカラムの1カラム簡易評価法、生物検定法による簡易評価について検討した。実用的な条件下においてASEは有効な手法と考えられ、1カラム簡易評価法では公定法と概ね同値となるTotal-TEQが得られた。生物検定法を土壌、底質および染料試料で検証した結果、試算結果と実測値の両

方で、GC/MS法より2~10倍ほど高い値となる傾向が認められたが、過小評価のリスクが低い汚染判定のスクリーニング法としては有効な手法といえる。また、生物検定法は媒体毎に反応直線性が維持されていることから、GC/MS法との並行測定による反応比補正を行うことで、生物検定法の結果をもとに実濃度の推定も可能と考えられる。

学会発表 (2)

## 福井県における有機フッ素化合物の排出源と挙動について

川下博之・福島綾子・三木 崇・吉川昌範

第23回環境化学討論会 (平成26年5月、京都市)

福井県内30河川における有機フッ素化合物調査において、PFOAが高濃度で検出された4河川について詳細調査を実施し、繊維染色加工事業所がPFOAの主な排出源と推定された。

事業所排水の調査を実施した結果、高濃度のPFOA等のPFCAsが検出され、これらの物質は事業所で使用している撥水剤に含まれるFTOHsから生成しているものと

考えられた。

また、水環境中での挙動を把握するためにFTOHsの分解試験を行った。その結果、河川水に添加した8:2FTOHは経時的に減少する一方で、PFOA等のPFCAs濃度が増加したことから、河川水中でのFTOHsの分解によって、PFOA等のPFCAsが生成されることが確認された。

## 西日本域の福井県で確認されたシモコシ型恙虫病、その後の展開

高田伸弘\*1・矢野泰弘\*1・池ヶ谷諭史\*1・岩崎博道\*1・石畝 史

\*1 福井大学医学部

第 32 回北陸病害動物研究会 (平成 26 年 6 月、富山市)

2012 年 4 月下旬に永平寺町で確認された恙虫病は、演者らが関わる厚労科研課題の中では「病原菌 *Orientia tsutsugamushi* (Ot) の型多様性と検査態勢」なる問題に係る症例であった。すなわち、患者血清につき通常は行われない 6 つの型の抗原を揃えた検査を試行することでようやく、西日本の福井県で初めてシモコシ型恙虫病 (東北地方に偏った分布とされていた) を診断し得たのであった。

そこで、その春から早速開始した感染環の調査は、本年までも機会あるごとに継続しているが、結果として、当該患者が常に腰を下ろして感染することになったスポットで捕獲した野鼠脾臓の PCR でシモコシ型 Ot 遺伝子を検出できたほか、その野鼠と生息土壌からヒゲツツガムシ *Leptotrombidium palpalis* を優先的に見出した。最近、本種は山形県でシモコシ型のベクターの可能性が提唱されたこともあり、本種は媒介種の有力候補と見なし得る。そこで演者らは本種の未吸着幼虫からシモコシ型の証明を

試みつつある。

ところで、この型の感染が永平寺町だけというのは不自然と考え、過去に県内さらには北陸などから検査依頼あった症例 30 例弱の血清抗体を調べ直したところ、いずれも春季のみに大野市で 4 例、高浜町で 1 例が本型であったことが判明した。さらに京都府ほかの野鼠からも本型抗体を検出し得たので、本型は東北のみならず北陸から近畿圏までも分布 (患者も潜在か?) することが強く示唆された。今春からは、濃厚感染地と思われた大野市の住民につき血清疫学を試行しつつある。

いずれにしろ、恙虫病は今後もわが国で最も発生数の多いリケッチア症であり続けるであろうから、その確実な診断と対応のためには、東北のみならず北陸から近畿圏ではシモコシ型までも配慮した検査法を普及させる必要があると思われる。

## 福井県内のマダニにおける重症熱性血小板減少症候群(SFTS) ウイルス遺伝子の検索

石畝 史・宇田晶彦\*1・森川 茂\*1・大村勝彦・矢野泰弘\*2・高田伸弘\*2

\*1 国立感染症研究所獣医科学部 \*2 福井大学医学部

平成 26 年度日本獣医公衆衛生学会 (中部) (平成 26 年 8 月、静岡市)

昨年来、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスの媒介者と指摘されたフタトゲチマダニ (H1) の生息域である低山帯を中心に、マダニ分布相の再調査を行い、マダニの SFTS ウイルス遺伝子検索も行った。

マダニの採集は 2013 年夏季 (5~7 月) に若狭地区 3 地点、越前地区 6 地点および奥越地区 6 地点の計 15 地点、また秋季 (9~10 月) には夏季調査で SFTS ウイルス遺伝子保有マダニが確認された 5 地点など計 6 地点、合計 16 地点でフランネル法で主に遊歩道や山道沿いで行った。ウイルスの遺伝子検索は、成虫は個別に、若虫および幼虫は 2~5 個体をプールして 1 検体とした。方法はマダニから抽出した RNA の 1/10 量を、SFTS ウイルスの S セグメントを標的とする MGB プローブを用いたリアルタイム RT-PCR 法で検査し、10 コピー/reaction 以上を陽性とした。

採集個体はチマダニ属では H1、キチマダニ (Hf)、オオトゲチマダニ (Hm) およびヒゲナガチマダニ (Hk) など 5 種類、マダニ属ではヤマトマダニおよびシュルツエマダニなど 3 種類、その他にタカサゴキララマダニ (At) およびタイワンカクマダニ (Dt) の計 4 属 10 種類の 985 個体であった。Hm は若狭地区で優勢で秋季には成虫が多

く、大型種の At と Dt は比較的広範囲で得られた。

SFTS ウイルス遺伝子は、夏季は H1 若虫 143 個体をプールした 30 検体中 1 検体 (以下、1/30/143 個体のように略す)、Hf 若虫 3/41/201 個体、Hm 若虫 1/14/66 個体、Hk 成虫 1/6 個体および Dt 成虫 1/19 個体で、計 5 種類の 7 検体から検出された。秋季は H1 若虫 2/2/4 個体、Hf 若虫 4/9/32 個体、Hm 若虫 4/17/77 個体、同成虫 12/34 個体で、計 3 種類の 22 検体から検出された。プール検体の若虫における SFTS ウイルス遺伝子保有率は、ヒト嗜好性の高い H1 の場合は夏季の若狭地区の 1 地点で 1.7~8.6%であった。陽性個体における SFTS ウイルス遺伝子保有コピー数/reaction は、夏季は全て 10<sup>2</sup> 未満であったが、秋季には H1 では 10<sup>2</sup> 台、Hf では 10<sup>2</sup> および 10<sup>3</sup> 台が各 2 検体、および Hm では 10<sup>3</sup> 台が 5 検体および 10<sup>4</sup> 台が 1 検体など、秋季の方が高い傾向をみた。福井県でも SFTS ウイルス遺伝子保有マダニが 5 種類も確認されたことから、感染発生の可能性には備えておくべきと思われる。

同様の内容を、第 32 回北陸病害動物研究会 (平成 26 年 6 月、富山市) および平成 26 年度獣医学術年次大会 (平成 27 年 2 月、岡山市) において発表した。

学会発表 (5)

福井県における PM<sub>2.5</sub> 成分組成および季節変動

福島綾子・吉川昌範

第55回大気環境学会 (平成26年9月、愛媛県)

PM<sub>2.5</sub>の発生源および環境中挙動の解明のため、県内2地点で年4季、各季2週間のPM<sub>2.5</sub>成分分析調査を行った。

その結果、2地点ともに全ての季節で硫酸イオンの割合が最も高く、主に硫酸アンモニウム粒子として存在していることが明らかとなった。

季節毎に比較すると、夏季に硫酸イオンの割合が最も高く、光化学反応による二次生成が寄与していることが示唆

された。また、冬季は他の季節と比較して炭素成分および硝酸イオンの割合が高かった。

2地点の成分分析データからCMB法を用いて発生源寄与割合を推定した結果、二次生成粒子の寄与が高く、一次粒子の中では自動車排ガスの寄与が最も高いことが明らかとなった。

学会発表 (8)

福井県定点調査地におけるマダニの季節的消長  
—重症熱性血小板減少症候群の媒介サイクルの解明に向けて—

矢野泰弘\*1・石畝 史・平野映子・大村勝彦・高田伸弘\*1

\*1 福井大学医学部

第69回日本衛生動物学会西日本支部大会 (平成26年11月、愛知県長久手市)

昨年実施した福井県内のマダニにおける重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス遺伝子の保有状況調査から、本県にもウイルス遺伝子保有マダニの生息を確認した。そこで、本年度から定点調査地を設定し、マダニ類の季節的消長と遺伝子保有状況を調査することとした。今回はその経過報告をおこなう。

定点調査地を若狭地区の若狭町三方石観世音と敦賀市野坂岳の登山道とし、本年5月、7月および9月にフランネル法により植生上のマダニを採集した。採集されたマダニ種はタカサゴキララマダニ (At)、タイワンカクマダニ (Dt)、キチマダニ (Hf)、ヤマアラシチマダニ (Hh)、ヒゲナ

ガチマダニ (Hk)、フタトゲチマダニ (Hl)、オオトゲチマダニ (Hm) およびヤマトマダニ (Io) の4属8種であった。At, Hf, Hl および Hm はいずれの時期にも採集され、調査地の優占種と考えられた。Hk 成虫は5月のみに採集され、同時期 Hl と Hm の若虫の採集個体数が多かった (計248個体)。一方、9月には Hl と Hm の幼虫塊がフランネルに多数付着した。これまでに SFTS 遺伝子検出には5月採集分を供したが、すべて陰性であった。

なお、今年主に関西・中四国地方から当研究室に持ち込まれたマダニ刺咬症14例の種同定を行った。At♂2例 At若虫9例、Hf♀1例およびHl♀2例であった。

## 福井県南部で初確認できた紅斑熱の速報、 若狭湾地方の環境要因と症例比較から

高田伸弘\*1・清水達人\*2・五十嵐一誠\*2・小村一浩\*2・林百合香\*3・矢野泰弘\*1・石畝 史

\*1 福井大学医学部 \*2 市立敦賀病院 \*3 公立豊岡病院

第 69 回日本衛生動物学会西日本支部大会 (平成 26 年 11 月、愛知県長久手市)

福井県三方郡美浜町在住で本年 2014 年 9 月中旬に発症して重症化するも救命し得た熱性発疹性の 1 例が、免疫ペルオキシダーゼ染色法にて有意な血清抗体の上昇をみて紅斑熱と診断できた。今のところ、病原 *Rickettsia* の分離ないし刺し口皮膚の PCR もできていないが、数種紅斑熱抗原での反応性からは日本紅斑熱 (*R.japonica* 起因) と判断される。本県では既に奥越地方の荒島岳で感染した紅斑熱が欧州共通 *R.helvetica* 起因性として報告 (2004) されているが、今回の症例は本県南部として初めてのもの

になる。そこで 10 月上旬に推定感染地 (若狭湾に突き出た敦賀半島) の環境要因の視察およびベクター候補マダニの採集を試みたところ、既に周辺市町でみていると同様にチマダニ属中心のマダニ相であった。一方、本例に先立つ 8 月上旬、兵庫県北部の日本海沿いで夫婦同時感染の紅斑熱症例を検査診断しているの、やや巨視的に捉えれば、若狭湾地方は本病発生リスクを抱えた地域として充分認識せねばならない。今後の詳細な調査も要する。

## 福井県における呼吸器ウイルスの検出

平野映子・野田 希・小和田和誠・大村勝彦・青木保憲

第 47 回北陸信越薬剤師学術大会 (平成 26 年 11 月、福井市)

かぜの約 7 割はウイルスに起因するといわれている。その起因ウイルスとして種々のウイルスが知られているが、当センターでは RS ウイルス (HRSV)、ヒトメタニューモウイルス (HMPV)、ライノウイルス (HRV)、ヒトボカウイルス (HBoV) 等の検出を実施している。

今回は、2013 年 4 月から 2014 年 3 月の間に県内で採取された検体から検出した呼吸器ウイルスの詳細について報告する。

2013 年 4 月から 2014 年 3 月の間にインフルエンザ以外の呼吸器症状を呈した小児から採取された鼻咽頭拭い液 376 検体 (患者平均年齢: 2.55 歳) を用いて、RT-PCR 法および PCR 法により HRSV、HMPV、HRV および HBoV の検出を実施した。これらのウイルスが確認された患者情報について年齢、症状等の疫学解析を実施した。

376 検体中 87 検体から HRSV、24 検体から HMPV、67 検体から HRV、7 検体から HBoV が検出された。HRSV は 4 月を除く全ての月で検出され、8 月から 10 月にかけての検出数が多かった。HMPV は主に 3 月から 8 月にかけて多く検出された。HRV は通年で検出され、8 月から 1 月にかけて多く検出された。HBoV は 5 月から 8 月にかけてと 1 月に検出された。これらの呼吸器ウイルスはインフルエンザ以外の呼吸器感染症に通年で関与していることが示唆された。

ウイルスが検出された患者の年齢は 0 歳から 2 歳が約 8 割を占めており、患者の症状は気管支炎、細気管支炎および肺炎等の下気道炎の割合が高かった。今回、検出を実施した呼吸器ウイルスは福井県内における乳幼児の呼吸器感染症において主要な起因ウイルスとなっており、重症化にも関与していることが示唆された。

## 福井県内のマダニにおける重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス遺伝子の検索 (2014年調査)

平野映子・石畝 史・大村勝彦・矢野泰弘\*1・高田伸弘\*1

\*1 福井大学医学部

第42回北陸公衆衛生学会学術集会 (平成26年11月、福井市)

2013年に、中国にて重症熱性血小板減少症候群(SFTS) ウイルスの媒介者と指摘されたフタトゲチマダニ(HI)などの生息域である低山帯を中心に、福井県内の16地点でマダニ分布相の再調査を行い、さらにマダニのSFTS ウイルス遺伝子検索も行った。その結果、4地点のチマダニ属のキチマダニ(Hf)、HI、オオトゲチマダニ(Hm)およびヒゲナガチマダニ(Hk)、および1地点のタイワンカクマダニ(Dt)からSFTS ウイルス遺伝子が検出された。そこで今回は、2013年の調査でチマダニ属のマダニから陽性個体が確認されなかった地点を中心に、補充を目的として再調査を実施したのでその概要を報告する。

マダニの採集は2014年5~6月に若狭地区の鯖街道および三十三間山、越前地区の鬼ヶ岳、日野山、越知山および浄法寺山、奥越地区の六呂師高原、飯降山、荒島岳および取立山の計10地点で、いずれもフランネル法で主に遊歩道や山道沿いで行った。成虫は1~3個体、若虫および幼虫は2~5個体をプールして1検体とし、SFTS ウイルス遺伝子の検索を実施した。国立感染症研究所が示した「マダニからのSFTS ウイルス検出マニュアル」に従い、マダニからRNAを抽出した後、SFTS ウイルスのSセグメントを標的としたリアルタイム RT-PCR 法を実施し、

10コピー/reaction以上を陽性とした。

得られたマダニ類は、チマダニ属の5種(Hf、HI、Hm、Hk、ヤマトチマダニ)、マダニ属の4種(ヤマトマダニ、ヒトツトゲマダニ、タネガタマダニ(In)、シュルツエマダニ)、カクマダニ属のDtおよびキララマダニ属のタカサゴキララマダニ(At)の計4属11種512個体であった。マダニの分布パターンをみると、昨年Hkは若狭地区のみの確認であったが、今回は越前地区の3地点で、また、昨年奥越地区では確認されなかったHIが今回は荒島岳で確認された。さらに、昨年未確認のInが越前地区の2地点で確認できた。

SFTS ウイルス遺伝子検査結果は、204検体は全て陰性であった。2014年の調査では新たな地点から陽性マダニを確認することはできなかった。

西日本でSFTS ウイルス遺伝子の保有が確認されているAt、および陽性個体が未だ明らかにされていないマダニ種などの更なる調査が必要である。また、2013年の調査において5種類のマダニからSFTS ウイルス遺伝子が検出されており、中でもヒト嗜好性の高いHIおよびHfから身を守ることが重要である。

## 近年の福井県における エンテロウイルス系疾患からの病原体検出

小和田和誠・平野映子・野田 希・大村勝彦

第 42 回北陸公衆衛生学会学術集会 (平成 26 年 11 月、福井県福井市)

エンテロウイルス (EV) は、不顕性感染や熱性疾患、発疹性疾患および中枢神経疾患など、多種多様な疾患に関与することが知られており、EV の流行動態の把握は保健衛生上重要である。そこで、EV 関連疾患疑い患者からの病原体検出を実施し、近年の流行動態を調査した。

検査対象は、当センターに検査依頼があった県内在住の EV 関連疾患疑い患者で、平成 22~25 年度 (平成 22 年 4 月~26 年 3 月) に採取された計 165 名、228 検体 (糞便 64 検体、髄液 57 検体、咽頭拭い液 107 検体) とした。検査方法は CODEHOP VP1 RT-seminested PCR (Nix. et al. 2006) を用い、EV 遺伝子の検出を実施した。得られた VP1 領域について、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、BLAST 検索で遺伝子型を決定した。さらに、EV71 については、決定した塩基配列からプライマー配列を除いた領域 (324nt) の系統樹解析を実施した。

検査の結果、無菌性髄膜炎の患者 40 名については、B 群コクサッキーウイルス (CoxB) 2、CoxB3 およびエコーウ

イルス (Echo) 6 が各 4 名、CoxB1、Echo7 および EV71 が各 2 名、A 群コクサッキーウイルス (CoxA) 9 および CoxB5 が各 1 名から検出された。手足口病の患者 30 名については、CoxA6 が 16 名、EV71 が 5 名、CoxA10 および CoxA16 が各 2 名から検出された。ヘルパンギーナの患者 11 名については、CoxA6 が 4 名、CoxA4、CoxA5、CoxA8 および CoxA10 が各 1 名から検出された。その他の EV 関連疾患疑い患者 84 名については、CoxA4、CoxB3、Echo6 およびライノウイルス (HRV) が各 3 名、CoxA9 および EV71 が各 2 名、CoxA2、CoxA6、CoxA10、CoxB5、Echo25 および EV68 が各 1 名から検出された。

本調査で 9 名 11 検体から検出された EV71 について系統樹解析を実施した結果、平成 22 年度検出株は Subgroup C、平成 24 年度および平成 25 年度検出株は Subgroup B に分類され、さらに平成 24 年度検出株と平成 25 年度検出株では異なるクラスターを形成した。EV71 は、疾患の違いに関わらず、年々変化して流行している可能性が示唆された。

## 福井県におけるインフルエンザ流行状況

野田 希・平野映子・小和田和誠・大村勝彦

第 42 回北陸公衆衛生学会学術集会 (平成 26 年 11 月、福井県福井市)

福井県における過去 6 シーズン (08/09~13/14 シーズン) のインフルエンザ流行状況について報告した。

検査材料として、県内の医療機関にてインフルエンザと診断された患者から採取された検体を用い、インフルエンザウイルスの分離、型の同定および薬剤耐性サーベイランス等の性状解析を行った。インフルエンザ様疾患の定点あたり患者報告数については、県内の 32 の定点医療機関から報告のあったインフルエンザの患者情報について、National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases (NESID) 内の感染症発生動向調査システムの数値を用いて集計を行った。

本県では毎シーズン、複数の亜型が検出されており、08/09 シーズンは A ソ連型、09/10 および 10/11 シーズン

は AH1pdm09、11/12 および 12/13 シーズンは A 香港型、13/14 シーズンには AH1pdm09 が流行の主流であった。主流となるウイルスの亜型が前のシーズンとは異なるときに、インフルエンザの定点あたり患者数が増加する傾向がみられた。このことから、定点あたり患者数がシーズン毎に大きく異なる要因の一つとして、流行する亜型の違いが影響している可能性が示唆される。

また、県内ではタミフル耐性 AH1pdm09 ウイルスが 09/10 および 13/14 シーズンに各 1 株確認され、全国においても 09/10 シーズン以降、タミフル耐性ウイルスの出現率がわずかながら増加しており、今後もその発生動向を把握することが重要である。

学会発表 (15)

## 福井県における微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) の挙動

泉 宏導・谷口佳文・福島綾子

第6回 福井大学地域環境研究教育センター研究発表会 (平成26年12月、福井市)

平成21年に環境基準が定められたPM<sub>2.5</sub>について、平成22年から平成25年度までのデータをもとに、福井県でのPM<sub>2.5</sub>の実態について解析を行った。

通年測定を行った福井局の日平均濃度は、22年度は環境基準非達成、23、24年度は達成となったが、25年度は福井局を含め通年測定した県内すべての局で非達成となった。

季節変動については、22～24年度の3年間では、高濃度は冬から春にかけて多くみられたが、25年度は夏に多く出現しており、これは全国的な傾向であった。

また、県内各地の日平均濃度変動パターンは類似しており、またその相関も高くPM<sub>2.5</sub>は広域性が強い汚染物質であると考えられる。

平成26年2月に福井県で初めての注意喚起となった高濃度事例では、日本海側を中心に広域的に注意喚起レベル70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えており、これは高気圧の動きに合わせ、北東アジアからの越境汚染の影響が原因の可能性が高い。

環境基準を超える高濃度の事例では、全国的に値が高くなっており、その原因として黄砂や煙霧を含め越境汚染による広域汚染が影響している可能性が示唆された。

学会発表 (16)

## 福井県における光化学オキシダントの越境汚染に関する海沿いの高地での調査

谷口佳文・福島綾子・川下博之・泉 宏導

第6回 地域環境研究センター研究発表会 (日本海地域の自然と環境) (平成26年12月、福井市)

近年、福井県において西寄りの風の日に県内全域でオキシダント(Ox)濃度が高くなる傾向が観測され、福井県でも越境汚染の影響を受けている可能性があることから、福井県における越境汚染の影響を探る調査を行っている。今回は、昨年を引き続き、平成25年の調査結果について報告を行った。

国見岳 (標高640m)、越前岬 (同220m) および六呂師高原 (同550m) で同時調査を行い、常時監視測定局の福井局 (同10m)、大野局 (同170m) での測定値との比較を行うことで、水平および垂直方向での解析をおこなった。

オキシダント (ポテンシャルオゾン) の日平均値 (期間

平均) は隣接する測定局よりも高い傾向が、日最高値 (期間平均) は、隣接する測定局と同程度以下であった。

海岸からの距離別では、日平均値、日最高値ともに内陸に向かうに従って低くなる傾向であったが、標高別では明確な傾向は認められなかったことから、海沿いの方が移流の影響を強く受けている可能性が考えられた。

時刻別濃度推移では、標高が高いほど夜間に各測定局との濃度差が大きくなる傾向にあったことから、標高が高くなるほど対流の影響を受けにくくなると考えられた。

また、国見岳のみ夜間の濃度上昇が見られたことから、国見岳は移流の影響を受けやすく、越境汚染の影響の観測に適していると考えられた。

## 福井県における有機フッ素化合物の排出源と挙動について

川下博之・福島綾子・三木 崇・吉川昌範

第 41 回環境保全・公害防止研究発表会（平成 26 年 12 月、神戸市）

PFOA が高濃度で検出された河川の排出源と推測された事業所を調査した。その結果、使用している撥水剤から高濃度で検出された前駆体の FTOHs が、活性汚泥処理中に分解され、PFOA 等の PFCAs を生成していることが示唆された。

また、当該事業所の撥水剤の変更によって、撥水剤中に含まれる FTOHs および事業所排水中の PFCAs が短鎖側へシフトし、環境中へ排出される PFOA 濃度は大きく減少した。

また、高濃度河川の底質調査を行った結果、繊維染色加工事業所の下流側の PFCAs 濃度は上流側に比べ数十倍高い値であった。

底質の PFCAs 組成は、河川水と大きく異なっており、河川水で低濃度である長鎖の PFCAs が、底質中では比較的高濃度で検出された。その要因の一つとして、長鎖の PFCAs は疎水性が高いため、底質に吸着しやすいと考えられた。

## 白色腐朽菌を用いたダイオキシン類低減化に関する研究（実証化試験）

三木 崇・吉川昌範

第 29 回全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部研究会（平成 27 年 1 月、四日市市）

ダイオキシン類分解処理システムの実証化に向けて、フラスコ内での基礎試験、バイオリアクターの設計検討、分解効率の改善、分解メカニズムの検討およびリアクター試験などを行った。実証化に近い条件として、ダイオキシン類以外の汚染物も含む実際の汚染土壌抽出液に対して、変異菌のフラスコ試験で 4~7 割、ふくひら 2 号のリアクタ

ー試験で 6 割程度の分解効率を確認した。また、リアクター試験では染料など高濃度の多環芳香族化合物に対する分解処理能力も確認できた。リアクター槽の材質など分解条件に改善の余地が認められたが、難分解性有機物等に対する分解処理技術としての応用は十分可能であると考えられる。

学会発表 (20)

## テトラサイクリン系抗生物質の LC/MS/MS 分析の検討

平井知里・五十嵐麻衣・山岸 浩

平成 26 年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部 衛生化学部会 (平成 27 年 2 月、富山市)

テトラサイクリン系抗生物質は幅広い抗菌スペクトルを持つことから国内外での使用量が多く、検疫所が実施する畜水産食品のモニタリング検査において度々基準違反が見られる。当センターでは、オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリンおよびテトラサイクリンの 3 種類のテトラサイクリン系抗生物質 (以下「TCs」) について厚生労働省の通知試験法に準拠し、蛍光検出器付き HPLC を用いて検査を行っており、ピークが検出された場合は LC/MS を用いて確認することになっている。

そこで今回は、TCs が検出された場合の確認試験法の確立および LC/MS/MS 分析への移行を目的として畜産物中 TCs の LC/MS/MS 分析の検討を行った。

MS の最適化プログラムを使用して TCs の MRM 条件を決定した後、ショートカラムおよび PP 製バイアルを用いて LC/MS/MS 分析条件を検討した。その結果、1-50ppb の範囲で良好な検量線が得られた。

次に、はちみつ、牛乳、鶏卵および鶏肉を試料とし、

TCs について 0.02ppm および 0.1ppm の 2 濃度で添加回収試験 (n=6) を行った。各試料 5g を EDTA 含有クエン酸緩衝液で抽出し、抽出液の一部 (試料 0.5g 相当) を Inertsep PLS2 ミニカラムで精製した後にメタノールで 5mL に定容し、メンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

添加回収試験の結果は、平均回収率 70~120%、室内精度 20%未満を目標値として評価した。はちみつ、牛乳および鶏卵については、全ての TCs で 70~120%の良好な回収率を得た。鶏肉についてはマトリックスによる影響が大きく、マトリックス検量線を用いても回収率は 70%を下回った。

今回検討した試験法は濃縮操作のない簡便な方法であり、スクリーニング試験法や確認試験法としては十分に適用可能であった。しかし定量法としては改善が必要であることから、今後は、精製法の改良や内標準物質による定量を検討したいと考えている。

学会発表 (21)

サロゲートを用いた農産物中  
残留農薬スクリーニング分析の検討 (第 2 報)

酒井康行・山岸 浩

平成 26 年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部 衛生化学部会 (平成 27 年 2 月、富山市)

昨年に続けて、GC/MS/MS データベースを用いた残留農薬スクリーニング分析の有用性について評価した。

ほうれんそう、ばれいしょ、キャベツ、玄米、いんげん、オレンジおよびトマトから通知法に準じて抽出・精製した溶液に試料中濃度で 20ng/g となるよう PL2005 農薬混合標準液 I~VI、7 を添加したマトリックス標準溶液 (313 項目) について、1 日 1 回 (2 併行) を 2 日間測定した。得られた測定値から真度および室内精度を算出し、任意に設定した基準 (真度 50~200%以内、精度 30%以下) を満たす項目数を調査した。

基準を満たした項目数は、品目別ではそれぞれ、ほうれ

んそう 243 項目、ばれいしょ 270 項目、キャベツ 266 項目、玄米 267 項目、いんげん 252 項目、オレンジ 270 項目、トマト 276 項目であったが、品目共通としては 224 項目であった。このことから、224 項目については品目に限らず全ての検体で信頼性のある半定量が可能であると判断した。また、不可能と判断された 89 項目のうち 61 項目については品目を限定することで信頼性のある半定量が可能であると考えられた。

本スクリーニング法は、危機管理時における速やかな原因物質の特定やモニタリング調査等に活用したいと考えている。

## 福井県における平成26年食中毒発生概要 および腸管系病原細菌検出状況

大村勝彦・東方美保・山岸麗子・山本政弘・青木保憲

平成26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27年3月、名古屋市）

平成26年に福井県で発生した食中毒は11件で、患者数は51名であった（前年は11件、81名）。病因物質の内訳はノロウイルスが4件、サポウイルスが1件、腸管出血性大腸菌が3件、クドア、ソラニン類およびキノコ毒が各1件であった。

腸管出血性大腸菌感染症は20件で、感染者数は38名（有症者26名、無症者12名）であった。感染者数の内訳はO26が19名（5件）、O157が16名（12件）、O111が2名（2件）およびO153が1名（1件）であった。また、他の三類感染症の発生届出はなかった。

## 感染症発生動向調査（2014年 福井県）

平野映子・野田 希・小和田和誠・大村勝彦

平成26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27年3月、名古屋市）

感染症発生動向調査（インフルエンザ以外）において、2014年1～12月に採取された589検体（578名）についてウイルス検査を実施した。12月末時点で312検体（310名）がウイルス検査陽性となった。

呼吸器系（上気道炎、下気道炎等）疾患については451検体（451名）中239検体（239名）からウイルスが検出された。RSウイルス（74名）、ヒトメタニューモウイルス（45名）、ライノウイルス（43名）、アデノウイルス（3型：26名、4型：15名、2型：14名、1型：13名、5型：3名、6型：3名）、A群コクサッキーウイルス（2型：3名、4型：4名）およびB群コクサッキーウイルス（4型：6名、5型：1名）等が検出された。

感染性胃腸炎については52検体（52名）中30検体（30名）からウイルスが検出された。ノロウイルス GII（11名）、ロタウイルス A（7名）、サポウイルス（5名）およびアデノウイルス（41型：3名、2型：1名、6型：1名）

等が検出された。

咽頭結膜熱については24検体（24名）中11検体（11名）からウイルスが検出された。アデノウイルス（3型：4名、4型：4名、2型：1名、6型：1名）およびライノウイルス（2名）が検出された。

流行性角結膜炎については26検体（26名）中21検体（21名）からウイルスが検出された。アデノウイルス（4型：7名、3型：6名、19型：3名、37型：2名、56型：2名、1型：1名）が検出された。

エンテロウイルス系疾患（無菌性髄膜炎、手足口病等）については36検体（25名）中11検体（9名）からウイルスが検出された。A群コクサッキーウイルス（2型：2名、5型：1名）、ライノウイルス（3名）、B群コクサッキーウイルス4型（1名）およびエコーウイルス（1名）等が検出された。

## 福井県におけるインフルエンザの流行（2014/2015 シーズン）

野田 希・平野映子・小和田和誠・大村勝彦

平成26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27年3月、名古屋市）

感染症発生動向調査においてインフルエンザの定点あたり患者数は、2014年第48週に流行の目安である1.0人に達し、流行期に入った。その後も定点あたり患者数の増加が続き、2015年第2週には34.06人となったため、警報が発令された。

集団かぜの初発は2014年第48週であり、2015年第7週現在で219施設、患者数2,202人、欠席者数2,048人であった。

病原体検出は、2015年2月17日までにAH3型が78

件、分離・検出された。分離できた67株のうち59株でHI試験を実施できたが、8株はHA価が十分に上がらなかったため、細胞培養上清を用いてPCRを実施した。今シーズンの同定キット抗A/New York/39/2012血清（ホモ価2,560）に対してHI価160が16株、HI価320が25株、HI価640が14株およびHI価1,280が4株と、HI価の低い傾向がみられた。分離できず臨床検体からPCRにより検出した検体は11件であった。

## 所内発表(4)

## RSV-A の G 遺伝子超可変領域における分子進化

平野映子 (保健衛生部)

RS ウイルス (RSV) は呼吸器感染症の主要なウイルスである。特に、RSV は乳幼児に気管支炎、細気管支炎や肺炎を引き起こすことが示唆されている。

福井県内で2009年1月~2013年12月に呼吸器感染症患者より採取した鼻咽頭ぬぐい液559検体を用いてRSウイルスの検索を行い、主要抗原をコードしているG遺伝子のC末端超可変領域について Bayesian Markov Chain Monte Carlo 法による時系列系統解析および進化速度の計算を行い、分子進化の解析を行った。

供試検体559検体中110検体からRSウイルスが検出された。そのうちの80検体はサブグループA (RSV-A)

に、30検体はサブグループBに分類された。RSV-A 80検体のうち58検体は遺伝子型NA1に分類された。22検体は遺伝子型NA1のG遺伝子のC末端超可変領域に72塩基(24アミノ酸)が挿入された変異型であるON1に分類された。

検出されたRSV-AにGenebank登録株を加え、G遺伝子のC末端超可変領域における分子進化の解析を行ったところ、遺伝子型NA1は2000年頃、遺伝子型ON1は2005年頃に分岐したことが示唆された。また、ON1はNA1に比べ速い速度で進化していることが示唆された。

## 所内発表(6)

## 危険ドラッグの検査について

山岸 浩 (保健衛生部)

当センターでは、これまで指定薬物を含有する危険ドラッグを疑われる製品についての検査には着手してこなかった。また、指定薬物標準品も所有していないため、現時点では直ちに危険ドラッグおよび指定薬物の検査、分析に対応することはできない状況であるが、国立医薬品食品衛生研究所にて開催された平成26年度指定薬物分析研修会に参加し、分析に関する最新の知見の取得には努めている。今後、危険ドラッグに係る検査の必要性が高まる中、指定薬物を分析する上で注意すべき点についてまとめたので報告する。

- ・合成カンナビノイド (Tetramethylcyclopropyl) は GC-MS 分析すると熱により、分析上紛らわしい分解物が生成する。(例: UR-144、XLR-11、FUB-144 等)
- ・フェネチルアミン類 (非規制薬物) から麻薬、指定薬物

が生成する(例: 25I-NBOH から 2C-I、25C-NBOH から 2C-C 生成)

- ・フェネチルアミン類 (4-APDB、2C-C など) はメタノール中で、注入口の温度 (220°C) により M+12 の物質が生成する。
- ・合成カンナビノイド (Carboxylate) はメタノール中で分解、あるいはメチルエステル体に変化するものがある。・GC-MS 分析では分解されて検出されないため、LC-MS、HPLC で標品と比較同定する必要がある。(例: BiPICANA、CHMINACA-BA)
- ・PCP 誘導体は GC-MS 分析で分解物がメインの検出物になる事例がある。分解物のスペクトルデータが必要な場合は個別に問合せる必要がある。(例: 4-MeO-PCP、3-MeO-PCP)

## 福井県における人由来多剤耐性菌の遺伝子解析と耐性遺伝子の伝播および流行状況に関する研究

東方美保・山本政弘・檀野由季子・大村勝彦（保健衛生部）

近年、多剤耐性菌の出現が公衆衛生上、非常に問題となっており、国内における侵淫状況および検出動向が注目されている。耐性遺伝子は腸内細菌科の菌種間を超えて容易に伝播されることが確認されているため、複数の菌種について県内における同時期の多剤耐性状況を調査した。

県内の協力医療機関（7機関）から提供された薬剤耐性菌株 143 株 (*Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia merrcescens* 等)について、ドライプレート法により抗菌薬 17 剤に対する MIC(最少発育阻止濃度)を測定し、R(耐性)、I(中間)、S(感性)の判定を CLSI2012 (M100-22) に準拠して行い、中間以上を示す株が占める割合を耐性度とした。セフェム系薬剤では、セファマイシン系のセフメタゾールに対する耐性度が 72.6%と高いのに対し、セファロsporin系薬剤の第三世代のセフトラジジムおよびセフトチゾキシムに対する耐性度はそれぞれ 30.1%および 33.6%、第四世代のセフェピムに対する耐性度は 13.0%であり、新しい薬剤ほど耐性獲得が進んでいないことが改めて確認された。カルバペネム系薬剤に対する耐性度は、イミペネムでは

16.6%、メロペネムでは 12.2%であった。なお、カルバペネム系薬剤耐性株のほとんどが *Pseudomonas aeruginosa* であり、腸内細菌科内の菌種間を超えたカルバペネム系薬剤耐性遺伝子伝播は確認されなかった。

また、病原大腸菌およびサルモネラ属菌について、血清型別および薬剤感受性試験(KB法)を実施した。病原大腸菌については、O25:H4 が 32/147 株と高い割合を占めており、耐性薬剤数 4 剤以上の株が 25/32 株(78.1%)と他の血清型 {O25:H4 以外では 27/115 株(23.5%)} と比較して耐性薬剤数が多い傾向を示した。サルモネラ属菌については、耐性薬剤数 4 剤以上の株は 2/12 株(16.7%)と少なかった。

今後、ドライプレート法により特に強い薬剤耐性を確認した株については、薬剤耐性遺伝子検出検査(PCR)および薬剤耐性確認(ディスク法またはE-test)を行う。また、PCR で陽性となった株については、シーケンス解析等のより詳細な遺伝子解析を行っていく。

## HBCD 分析条件に関する検討

三木 崇（環境部）

福井県内河川における臭素系難燃剤 HBCD による汚染実態を把握するため、河川水 HBCD 分析法の効率化と LC-MS/MS 機器条件について検討した。II 型共同研究の水質試料分析法を基に条件検討し、分析所要時間の短縮のため、最終濃縮溶媒にアセトニトリルを採用した。また、5 種類の HBCD 異性体 ( $\alpha$  体、 $\beta$  体、 $\gamma$  体、 $\delta$  体、 $\epsilon$  体)

を対象とした LC-MS/MS 定量条件について検討を行い、最適なグラジエント条件と機器パラメータを設定した。これらの分析諸条件を基に、平成 26 年 10 月に県内全域の 29 河川 31 地点で採取した河川水を分析した結果、3 地点から、環境省の化学物質環境実態調査結果 (H23) の最大値を超える高濃度の HBCD が検出された。

所内発表(10)

CMB法によるPM<sub>2.5</sub>の発生源寄与割合の解析

高岡 大 (管理室)

PM<sub>2.5</sub>の環境基準の達成に資する知見を得るため成分分析の観測が進められているが、この観測結果により汚染機構や発生源寄与を評価するためには、レセプターモデルや化学輸送モデルなどの手法による解析が必要である。

今回、代表的なレセプターモデルの一種であるCMB (Chemical Mass Balance)法により発生源寄与割合の解析を試みた。CMB法は、1組の観測データといくつかの発生源の排出成分組成セット(発生源プロファイル)を計算モデルに投入し、物質収支から各発生源の寄与割合を導き出す手法である。

当センターの解析に当たっては、大気汚染測定局福井局において平成25年春から平成26年冬の期間中に観測された55データを解析対象とし、発生源プロファイルは東京都微小粒子状物質検討会報告書で使用されたものを用いた。ただし、二次生成粒子由来の割合が高いNO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、OCは発生源プロファイルから除外し、これらの二次生成粒子の寄与は一次生成として割り当てられた計算値と実測値の差から算出した。

解析の結果、年間を通してSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>系二次生成粒子の寄与が最も高く、春夏季に比べて秋冬季にNO<sub>3</sub><sup>-</sup>系二次生成粒子の寄与が高くなることが分かった。

次に同じレセプターモデルの一つであるPMF (Positive Matrix Factorization)法による解析結果と比較したところ、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>系二次生成粒子の寄与が高いことは共通していたが、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、OCを総じた二次生成粒子群の発生源全体に対する割合について大きな差が見られた。その差は、PMF法では23%~46%であったのに対しCMB法では59%~70%であった。この原因は、CMB法における二次生成粒子の算出方法が解析ソフトから直接導き出された一次生成粒子と実測値の差から求めていることに起因していると考えられた。

今後のCMB法による解析の課題としては、一次生成粒子と二次生成粒子を同じウェイトで計算する必要があると考えられる。このため、二次生成粒子を発生源として含むプロファイルを用いて引き続き解析を行っていく予定である。

所内発表(11)

## 福井県初の日本紅斑熱発生地等におけるマダニ調査速報

石畝 史 (管理室)

平成26年10月に福井県で初となる日本紅斑熱患者の発生届けがあったことから、平成26年10月中旬~11月中旬に、媒介マダニ種の調査のために患者発生地周辺(以下、A地点)を含む若狭湾沿岸の計6箇所において、3回マダニ採集を行った。A地点ではチマダニ属のヤマアラシチマダニ(Hh)、フタトゲチマダニ(HI)、キチマダニ(Hf)、タカサゴチマダニ、オオトゲチマダニ(Hm)およびヒゲナガチマダニの他に、タイワンカクマダニ(Dt)、タカサゴキララマダニおよびアカコッコマダニ(It)の4属9種の245個体が採集できた。その他の地点では、Dtおよび

Itを除く3属7種の257個体が採集できた。媒介有力種のHhはA地点および敦賀半島の1地点で、同じく有力種のHIはA地点およびその他の4地点で集できたが、ほとんどが幼虫であった。主要分布種はHfおよびHmで、合わせて70.6%を占めた。

そのうち3属8種の成虫27個体、若虫191個体および幼虫57個体の計275個体について、リケッチア分離を試みたが、すべて分離できなかった。ただし、Hhは若虫1個体および幼虫8個体、HIは幼虫3個体と検査個体数が極めて少なく、年間を通した調査が必要である。