

ハイブリ液 ^{#3} :	3 倍 1.5 M NaCl buffer	1.35 ml	この混合液をプレートに 80 μ l 入れてたのち、 プローブを加える。
	DDW	1.26 ml	
	ホルムアミド*	4.5 ml	
	10% Tween 20	0.09 ml	

8. 6で作製したプローブコントロールはB列に、G1プローブはC列に、G2プローブはD列に20 μ l 入れる。

↓

9. プレートにシールし、42° C 恒温槽に重しをして沈める。ハイブリの時間は6時間以上行う（通常は1夜置く）。

↓

10. シールを剥がし（液が飛び散らないようにゆっくりと行う）プレートをPBS-Tween で可能な限り素早く3回洗浄する。この時に用いるPBS-Tween は42° C に温めておく。

↓

11. ストレプトアビジン標識ペルオキシダーゼ(1%BSA+PBS-Tween^{#5}で希釈したもの)を全ての穴に100 μ l 入れ、室温で1時間置く（弱く振動させると良い）。

↓

12. プレートをPBS-Tween で4回洗浄する。

↓

13. 全ての穴に発色液を100 μ l 入れ、15分間室温に静置（プレートは遮光する）。
 (TMB 1 Tabを1ml のDMSOで溶解し、次いで0.1M Citrate /Acetate Buffer(pH5.5)を9 ml入れる。使用直前に30% H_2O_2 を2 μ l 加える、但し古い H_2O_2 の時には量を増やす。

↓

14. 停止液(4N H_2SO_4)を全ての穴に50 μ l 入れる

↓

15. 450nmで吸光度を測定し、対照に比べOD値が2倍以上で、かつ0.2以上の差が認められた時に陽性とする。（OD値が低い時にはPCR産物を2から4レーン泳動し、それを合

わせて再度 DNAの抽出を行う。DNAのバンドが多すぎる時には抽出 DNAを希釈して行うとOD値が高くなる)

機器等

マイクロ遠心器(冷却付きが望ましい)

サーマルサイクラー

恒温槽(2台)

UV照射写真撮影装置、カメラ

UV防御めがね

電気泳動装置

ヒートブロック

マイクロプレート・ミキサー

マイクロプレート洗浄器

ボルテックス

マイクロピペット (20、200、1000 μ l 用)

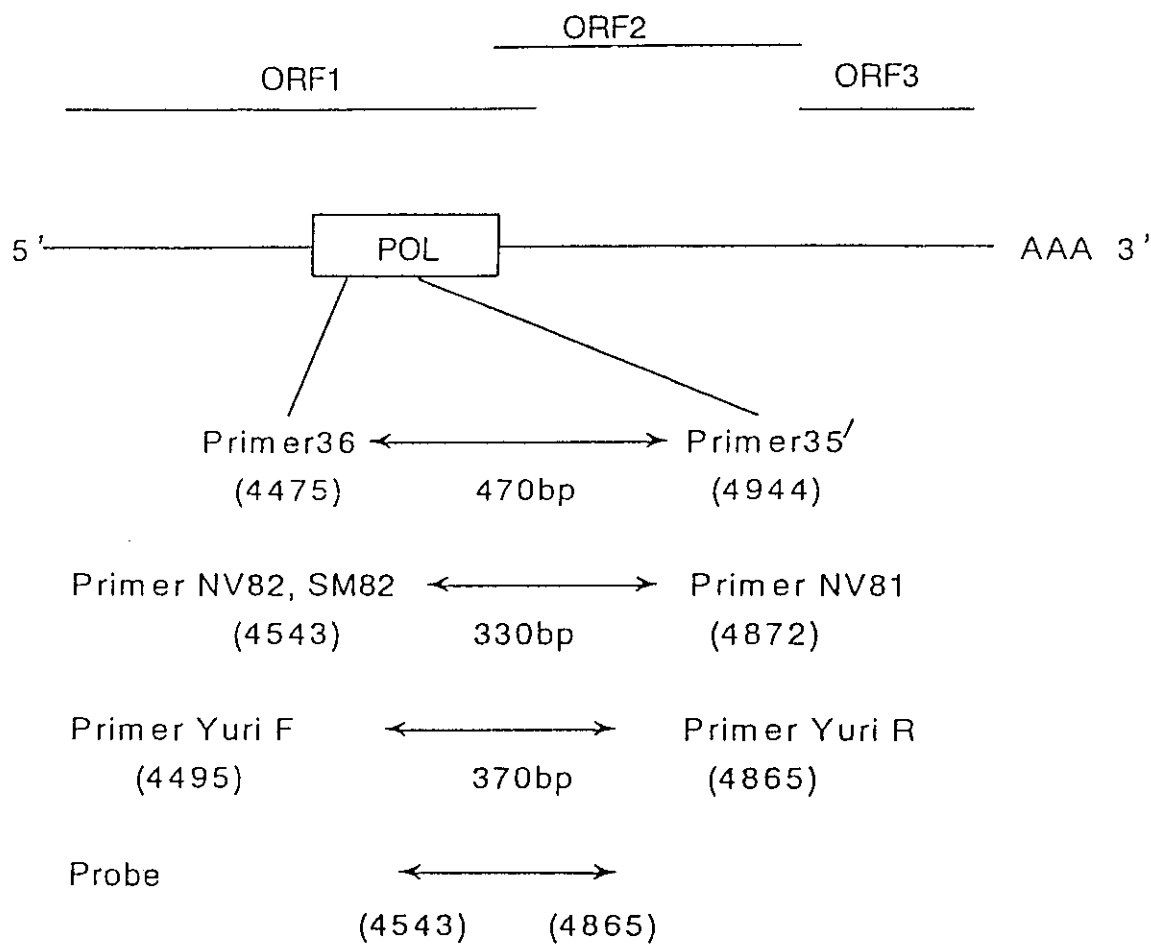
マイクロチューブ (2.0ml, 1.5ml, 0.5ml)

マイクロピペットチップ(20, 200, 1000 それぞれ綿栓付きとなし)

ピペットマン

5ml, 10mlピペット

マイクロプレート吸光度リーダー



Primer 35' 5' -CTTGTTGGTTTGAGGCCATA- 3' (20mer)
 Primer 36 5' -ATAAAAGTTGGCATGAACA- 3' (19mer)
 Primer NV81 5' -ACAATCTCATCATCACCATA- 3' (20mer)
 Primer NV82 5' -TCATTTTGGATGCAGATTA- 3' (18mer)
 Primer SM82 5' -CCACTATGATGCAGATTA- 3' (18mer)
 Primer SB2 F1 5' -AGCAAGCACCGTATTGAGCC 3' (20mer)
 Primer SB2 R1 5' -GTTTCATGTCTGCTCCGTCTG 3' (21mer)

マイクロプレートハイブリダイゼーション

PCR産物の電気泳動で目的バンドを切り出す



GenElute™ Minus EtBr Spin Columns^{#1}でDNAを抽出



抽出DNAを固定化液^{#2}で希釈し、マイクロプレートに固定する

↓ 37° C、2時間

ハイブリ液^{#3}で希釈したG1,G2プローブでハイブリダイゼーションする

↓ 42° C、一夜

ストレプトアビジン標識ペルオキシダーゼを加える



発色試薬を入れる



停止液を加え、OD値を測定



判定

- # 1 GenElute™ Minus EtBr Spin Columns : SUPELCO, Cat.No. 56501
- # 2 固定化液: 3倍濃度 1.5 M NaCl buffer { 4.5 M NaCl, 30リン酸 2 Na (pH 7.0), 30mM EDTA}, 抽出DNAを加え、1倍の 1.5 M NaCl buffer 濃度にする。
- # 3 ハイブリ液: プローブを加え、最終濃度 0.75 M NaCl buffer, 50% ホルムアミド、サケDNA 1 μg/ml, Tween20を0.1%にしたもの

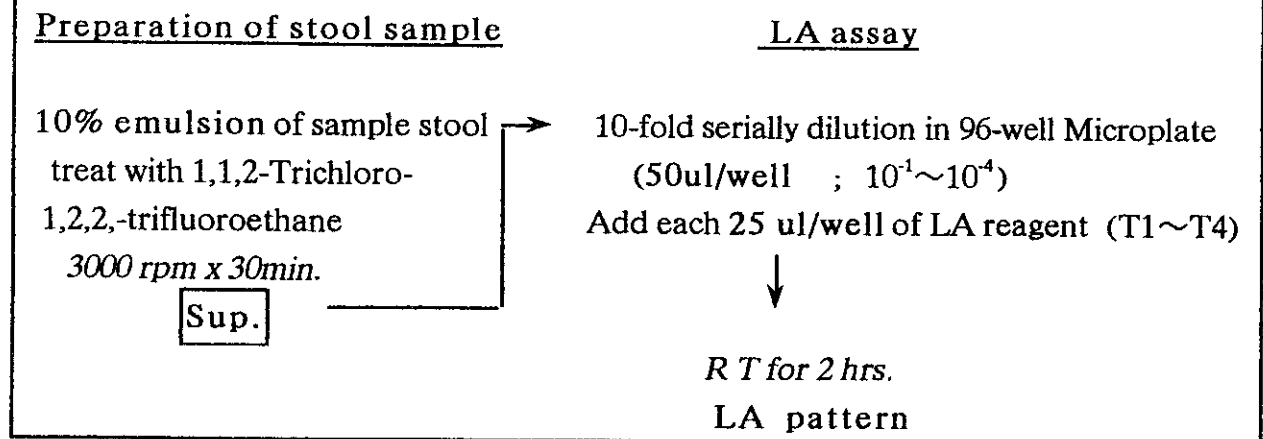
ウイルス性食中毒原因究明のためのラテックス凝集反応（L A 法）法を用いた
簡便なアストロウイルス抗原検出法の開発及びフィールド調査への応用
国立感染症研究所
宇田川悦子

ウイルスが原因と考えられる食品媒介性食中毒は毎年世界各国で報告がなされてきている。わが国では平成7年終結したわれわれの研究班の報告書に記載した通り、毎年原因不明として処理されてきた食中毒事件の原因の大多数が小型球形ウイルス（SRSV）であることを報告した。これらの結果を踏まえて、平成9年5月30日付けで厚生省は食品衛生法の改正を行い、食中毒の中へウイルスが起因するものも含めて報告するよう法律改正を行った。このようにウイルス性食中毒という今までのカテゴリーの中に入らなかった領域が食中毒の概念のなかへ入れられることになった。しかしながら、現状ではこれらのSRSVを簡便で再現性よく検出できる検査法及び確認試験法が無いということが大きな問題として浮上してきた。即ち、今回の食品衛生法改正で食中毒事件が発生した場合起因ウイルスの検出報告が義務づけられている。がしかし、前述の通り、簡便で再現性のよいSRSV検査方法はいまのところ全く無いと言わざるを得ない現状にある。このため、各地の衛生研究所、保健所等の検査機関は簡便でしかも再現性よくSRSVを検出する検査法の開発研究を待ち望んでいる。

今回、私はSRSVの一つであるアストロウイルスに注目して本研究を開始した。アストロウイルスはカリシウイルスに近縁ではあるがアストロウイルス科に分類され、そのウイルス粒子は直径が約30nmで核酸はシングルストランドのRNAウイルスである。血清型によりアストロウイルスは1型から7型（最近8型が報告されてきているがわが国ではいまのところウイルス抗原は入手されていない。）に分類されている。アストロウイルスによる嘔吐下痢症の臨床症状はロタウイルス（乳幼児）よりも感染する年齢層が高いこともあって（児童、学童から成人にまで至る）比較的軽少ではあるが、しかし大規模な流行が発生している。また、現在までのアストロウイルス疫学調査の結果を見ると、院内感染、集団食中毒事件等多岐に渡っている。事実、他のSRSVに比較して非常に大規模な流行がアストロウイルスで引き起こされたことが1991年大阪府で報告されている。このアストロウイルスによる食中毒流行事件では、4,000人以上もの人が発症した事が報告されている。一般的に食中毒の場合、生カキ等の二枚貝を喫食した後に多く発生しているようであるが、この時のアストロウイルスによる流行は学校給食が原因と考えられた。残念ながら原因食の特定は出来なかった。

また、アストロウイルスはSRSVの中で唯一細胞により培養できる小型球形ウイルスであるが、血清型7つの型のうち特に嘔吐下痢症、食中毒等に関連が高いと報告されている型は1型から4型までであることから（検出されたアストロウイルスのうち約80%）、これらの4型について簡便で再現性の良いラテックス凝集反応によるアストロウイルス抗原検出法の開発と基礎的研究を検討した。

アストロウイルス簡便検査法（ラテックス法）フローチャート



検査法；

- 1、便材料の処理
10%乳剤をトリフロロトリクロロエタンで処理下遠心上清を使用する。
- 2、検体の希釈
上記処理済10%乳剤50ulをマイクロプレート上で4穴ずつ10倍から10,000倍まで添付の希釈液で希釈する。
- 3、試薬の添加
各型特異ラテックス試薬をそれぞれの希釈検体50ulへ25ulずつ滴下し、攪拌後室温静置。
- 4、判定
添付の各型標準株の反応パターンとの比較で陽性を判定する。

試薬及び機材；

- 1、アストロウイルス1型～4型抗原検出用ラテックス試薬（LA reagents）
栄研科学（非売品）
- 2、Non-Statistic-Charge Plate 96U-R（バイオテック株 Cat. No. M-000-1）

研究発表

- 1、宇田川悦子他：ラテックス凝集反応（LA）法を用いたアストロウイルス検出法の開発、第37回臨床ウイルス学会、1996年5月（宮崎市）
- 2、宇田川悦子他：ラテックス凝集反応法を用いたアストロウイルスの疫学、第37回臨床ウイルス学会、1996年5月（宮崎市）
- 3、Utagawa E.T. et al：Detection of serotypes 1-4 human astrovirus in faeces by a new latex agglutination method. 30th Joint Working Conference of Viral Diseases Japan-US Cooperative Medical Science Program. 1996/Aug. Sapporo.

資料編

研究方針と実施要領

研究課題	ウイルス性食中毒原因の遺伝子検査標準法確立と 全国行政対応整備に関する研究（H10-特別-039）
研究班名	厚生科学全国ウイルス性食中毒研究班
研究費	厚生科学特別研究事業助成金 国庫補助金17,000,000円也
研究班	名簿・研究班組織 別添 主任研究者1名、分担研究者19名、協力研究者約38名

研究方針

本研究班は、人の「食品による直接健康被害」と「食の安全」、「環境」を守るべく「ウイルス性食中毒」と「自然感染たるウイルス性胃腸炎」の患者診断や食品安全検査法開発とその標準化、厚生・地方食品衛生行政における対策対応整備などについて検討を行う。

また、ヒト・食品・環境の疫学三要素の平時モニタリングや緊急時対応、ウイルス汚染制御も将来研究の範疇にとらえ検討を行う。

研究内容

本研究では下記項目（各報告要領）について研究成果をまとめ報告すること。

- A ウイルス性食中毒SRSV検査法の適正標準化
- B 各分担者所管地域のウイルス性食中毒・胃腸炎実態の解明
- C SRSV検出遺伝子シーケンス解析と広域比較分布解析
- D ウイルス性食中毒対策と行政対応整備にむけた提案
- E 食品・環境のウイルス汚染制御に向けた研究提案

研究成果報告

- 1 分担研究者は上記のA、B、D、Eを基本報告として別記様式にて報告下さい。
- 2 SRSVシーケンスが可能な分担研究者は遺伝子配列決定配列（既に解読済のものをも含む）について上記のCの調査票2をご報告下さい。
なお、分担研究者で各所属にてシーケンスが出来ない場合、国立感染症研究所・ウイルス2部の宇田川先生にPCR産物をご送付頂ければシーケンスします。また、シーケンスの外注ではタカラなど試薬メーカーとご相談下さい。
- 3 各分担研究者が学会・論文等で成果発表される場合、主任研究者および関連分担研究者・研究協力者の併記に加え、末尾には「本研究（の一部）は厚生省厚生科学特別研究事業（平成9または10年度）による」と記して下さい。

A) ウイルス性食中毒S R S V検査法の適正標準化

各研究分担者は、独立の立場で推奨される検査法を分かり易く簡単なフローチャートと実験プロトコールを作成し、班長まで平成10年12月中旬までにご送付を願います。

なお、各分担研究者からお送り頂きましたフローチャートとプロトコールはできればそのまま印刷原稿とさせていただきます。

プロトコールには引用文献・学会発表・原著等のレファレンスを末尾に挿入頂けますれば幸いです。

様式

- 1) フローチャート A4 縦・横書・右肩に分担研究者名、所属機関名を記し書式は自由ですができるだけ1枚以内に納めて下さい
- 2) プロトコール A4 縦・横書き・右肩に分担研究者名、所属名記入使用試薬類、反応液組成、機器等コメントも加えて下さい。制限はありませんが枚数は少ない方がよい

プリントアウトしたもの一編とその保存フロッピー

例 ファイル名 A-1カサ.JBW
A-2カサ.JBW

なお、これらは全て「一太郎」Ver6.3かそれ以下ファイルしご送付ください。

特記 (班長よりお願い)

下記研究機関の先生方には次の内容につきお纏めとご報告のお願いを申し上げます。

大阪府公衛研山崎先生とその研究協力者にはご協議の上、S R S Vとアストロウイルスの一括R T - P C R検査システムのフローチャートなどを、国立公衆衛生院西尾先生にはS R S V確認法と新プローブ設計を含むハイブリ改良確認法を、国立感染症研究所宇田川先生には公表可能な限りにおいてアストロウイルス簡易検査法を、愛知衛研山下先生には特にA i c h i ウイルス検査法(食品衛生法にアイチウイルス検査指針も加えるべきか否かも併せ愛知衛研内にてご検討を頂きご意見もコメントされたい)をお願いいたしたく存じます。

秋田衛科研の斎藤先生には、プロトコールなどR T - P C Rは勿論ですが、生かきなどからのウイルス抽出、各核酸抽出キットの効率比較、ユリ株レファレンスと塩基配列使用条件などをまとめて頂きたいと存じます。

何卒、宜しくお願い申し上げます。

B) ウイルス性胃腸炎下痢症発生・検査状況調査

平成7年10月から平成10年2月末までのウイルス性食中毒と感染性(サーベイ)胃腸炎等でのSRSV検査対象をまとめ調査票1の様式(入力参考用)にて情報を分担研究者は出力帳票とファイル(FD)でご提出願います。

できますれば、ロータス123で拡張子はWJ3以下となるバージョンを使用されたい

例 ファイル名 B7777.WJ3 (ロータス)

なお、各分担研究者の所管地域での食中毒・自然感染(多くが乳幼児で感染症サーベイ対象)発生状況、それらの検査対応状況、SRSV検出などウイルス関与の実態を計量的に把握し班検討会議資料と厚生科学研究報告書にまとめるためであります。

- 調査票1(様式サンプル)を参考に、各自で共通データセルを設定し各々データを入力して下さい。
- 各分担研究者のデータシートはそのままリンクし計算します。縦横の項目と配列の設定は同一のものとしてご入力下さい。

次頁 調査票1 (様式サンプル)発生・検査研究状況調査

調査票1 発生調査

各行列のセルの文字数長さはデフォルト（10桁）のままで結構です。

セル行列番	A	B	C	D	E	F	---
1	分担研究者		1995		1996		1998
2	衛研略名	県・市名	OCT	NOV	DEC	JUN	FEB MAR --- FEB
3	食中毒事例数	県・市名	数値				←左は総件数
4	検査対応件数	県・市名	数値				←左は総件数
5	電顕法	県・市名	数値				←左は陽性件数数
6	RT-PCR	県・市名	数値				←左は陽性件数数
7	ハイブリッド	県・市名	数値				←左は陽性件数数
8	SRSV G1	県・市名	数値				←左は陽性件数数
9	SRSV G2	県・市名	数値				←左は陽性件数数
10	遺伝子型判別不能	県・市名	数値				←左は陽性件数数
11	空白ブランク行						
12	空白ブランク行						
13	以下は、感染症サーベイについてです。						
14	検査対応件数	県・市名	数値				←左は総件数
15	電顕法	県・市名	数値				←左は陽性件数
16	RT-PCR	県・市名	数値				←左は陽性件数
17	ハイブリッド	県・市名	数値				←左は陽性件数
18	SRSV G1	県・市名	数値				←左は陽性件数
19	SRSV G2	県・市名	数値				←左は陽性件数
20	遺伝子型判別不能	県・市名	数値				←左は陽性件数
21	エンテロ分離同定	県・市名	数値	←左は陽性件数	または	ブランク	可
22	RT-PCR	県・市名	数値	←左は陽性件数	または	ブランク	可
23	A ロタキット	県・市名	数値	←左は陽性件数	または	ブランク	可
24	A RT-PCR	県・市名	数値	←左は陽性件数	または	ブランク	可
25	C ロタキット	県・市名	数値	←左は陽性件数	または	ブランク	可
26	C RT-PCR	県・市名	数値	←左は陽性件数	または	ブランク	可
27	アデノキット	県・市名	数値	←左は陽性件数	または	ブランク	可
28	ADV RT-PCR	県・市名	数値	←左は陽性件数	または	ブランク	可
29	その他		数値	←左は陽性件数	または	ブランク	可
30	所管地域人口		数値	←（このセルのみ記入）			
31	特記		文字	←（このセルのみ記入）			

C) 国内SRSV検出遺伝子塩基配列の比較解析

全国各地のSRSV遺伝子情報を集積し総合比較解析することについて、昨年度本研究班会議(2日目)で大山先生(道立衛研)から提案され、その後、対応を検討しました。また、このことは第10回ウイルス性下痢症研究会(日本ウイルス学会総会前日10/11/98国立感染症研究所講堂で90名以上が参加し開催)でも当班でまとめ解析して欲しいとの多数会員からのご要望がありました。そこで、それらのご要望を受け、研究班でデータベースを作成し遺伝子情報の解析と班内提供をもってお応えすることを公式に提案をさせて頂きました。

○ ウイルス性食中毒と胃腸炎関連のヒト検体、食品、環境試料等から検出されたSRSVシーケンス情報の統合ファイルを本班として現時点でひとまず作成することとします。

○ データベースとしてリンクした全データは全分担研究者へ還元したいと存じます。班としてデータベースを完成し解析等直接作業をご依頼する分担研究者や協力研究者には班長がご依頼を申し上げます。

○ 調査票2の様式はテキスト形式で作成してください。
見本は入力参考です。各分担研究者は打ち出しサンプルと共にフロッピー(FD)でご提出下さい。

調査票2 入力記載要領

- 1 ファイル項目構成形式は全分担研究者の報告が共通として後のリンクが全て速やかにできる様、ファイル名称も統一をはかりたいと存じます。
- 2 遺伝子情報は必ず1件1ファイル単位でご収録下さい。
複数の場合は下記ファイル名に番号を加えます。

例えば、シーケンスが5件ある場合、独立した5個のファイルとしてください。

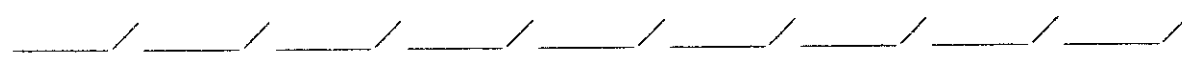
***SQ01.TXT ~ ***SQ05.TXT

調査票2 入力要領

この部分は入力しません。入力項目名称の参照です。

↓
↓ ↓ 項目該当にデータの無い場合は全てリターンキーを押し改行。
↓ ↓ この部分のみ順次入力し各項目ごと必ずリターンキーを押し。
↓ ↓

- | | | |
|-------------|---|-----------|
| 1 報告者 | 川本尋義 (主任・分担・協力研究者名) | |
| 2 研究機関名 | 岐阜県保健環境研究所 | |
| 3 所属 | 保健科学部 | |
| 4 補職名 | 部長研究員 | この部分はお知らせ |
| 5 〒 | 500-8226 | など整理にも活用し |
| 6 所在地 | 岐阜県岐阜市野一色4-6-3 | します。 |
| 7 電話 | 058-246-1101 | |
| 8 F A X | 058-246-1104 | |
| 9 e-mail | 確実にメールを届けられる名称を記入 | |
| 10 検体の種類 | 生かき (例) 「糞便、咽頭スワブ、吐物、生かき、野菜、給食、拭き取り、上水、下水、海水、その他」から選択11 | |
| 11 検体採取 | 19980215 (例) | |
| 12 由来 | 食中毒、感染症サーベイ、試買、監視、不明 からお選び下さい。 | |
| 13 発生 | 三重県 (例) など摂食や産地が異なる場合も記載して下さい。 | |
| 続 調査票2 | 記述要領 | |
| 14 発生状況 | 集団、散発のいずれか。 | |
| 15 疾患状況 | 胃腸炎または無症状 ←ヒトの場合のみ | |
| 16 潜伏時間 | 38.5 ←ヒトの場合のみ | |
| 17 RT-PCR | コメント ←ご記入自由 | |
| 18 増幅部位 | ORF 1, 2, 3 または特定エリア | |
| 19 センスプライマー | 名称 | |
| 20 配列 | 小文字 agtc で記載 | |
| 21 アンチセンス | 名称 | |
| 22 配列 | 小文字 agtc で記載 | |
| 23 遺伝子配列 | 小文字 agtc で記載、
200ベースでも 500ベースでも続け、最後にリターンキーを押し。 | |
| 24 遺伝子バンク登録 | 有または無 | |
| 25 アクセション番号 | zzzzzzzzzzzz | |
| 26 公開可否 | 可または否 | |
| 27 条件 | 論文発表を完了後など ←ご記入自由 | |
| 28 特記 | メモ・コメントなど ←ご記入自由 | |



お送り頂く時、プリントアウトされた用紙もご添付下さい。

D) 厚生省への政策提言(全国行政対応整備)に先立ち、以下のことについて現状分析を行います。なお、本案件の纏めに際しては、特定の縣市名も機関名も記載する積もりは有りませんのでご理解とご協力を下さいませ。

1 地方衛生研究所ウイルス性食中毒対策対応状況

- ・ 機 関 名 _____
- ・ 担 当 部 門 _____
- ・ マンパワー 研究職 _____ 名、 _____ 職 _____ 名
- ・ 予算

行政依頼検査費	年度概算方式		円
	随時令達方式		円
研 究 費			円
	種類		

各自治体のS R S V行政検査費概算/検体

- ・ 検査量

年間	事例	検体数	件
----	----	-----	---
- ・ 検査費

電顕	E M	円/件
	I E M	円/件
	R T - P C R	円/件
	確認検査	円/件
- ・ 季節対応状況 (四季比率/全体 100対比%)

春	夏	秋	冬
割合			

2 衛生行政主管部局との業務協定・定義等の協議 有 無

衛生行政の食中毒対応検査の衛研の位置づけ等をコメント下さい

3 検査と研究等比率現況 全体100%

依頼検査 %、 行政検査 %、 研究 %

4 依頼・行政検査の外部委託等の可否と理由について伺います。

可 否 : 理由 _____

以上にご記入下さい。ご提出はプリントとファイルでファイル名例は[功研研.JBW]

E 将来構想

私としては、近い将来、ウイルスとヒトとの環境生態的実態解明をもとに効果的なウイルス制御に向けた科学技術開発研究へとシフトしたいと考えています。

研究の進めかたについても分担研究者の皆様にご意見を伺います。研究班のあり方、新班構成と枠組み、予算規模、奇抜なアイデア展開など何でも結構ですのでご意見をお寄せ下さい。A4縦・1枚のみ・横書き、右肩に分担研究者名、を記して、以下のご意見やお考えは自由記述でお送り下さい。

研究班組織

本研究班は、下記の表のように主任研究者と全国17都道府県衛生研究所研究職員、国立感染症研究所、国立公衆衛生院衛生微生物学部の分担研究者19名と各研究機関協力研究者38名を含む58名からなる北海道から沖縄県までを網羅する全国縦断の広域研究体制組織である。

平成10年度厚生科学全国ウイルス性食中毒研究班体制

平成11年3月31日現在

研究者	分担する研究項目	所属(研究実施場所)	所属 職名
川本尋義 林菜穂子 神山恵理奈 猿渡正子	研究班長・代表総括 研究協力者 研究協力者 研究協力者	岐阜県生物産業技術研究所 同上 同上 岐阜県保健環境研究所	部長研究員 主任技師 技師 主任専門研究員
沢田春美 大山 徹 吉澄志磨 玉手直人	北海道地域担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者 シークエンス解析 協力研究者 協力研究者	北海道立衛生研究所 同上 同上 同上	疫学部主任 研究員 生物工学家長 疫学部 疫学部医薬検査専門員
斎藤博之	東北地域担当 ウイルス検出・解析研究	秋田県衛生科学研究所	主任
三上稔之	東北地域担当 ウイルス検出・解析研究 沿岸養殖モニター	青森県環境保健センター	主任研究員
秋山和夫 沖村容子 有田富和	東北地域担当 ウイルス検出・解析研究 沿岸養殖モニター 協力研究者 協力研究者	宮城県保健環境センター 同上 同上	上席主任研究員 研究員 技師
篠川旦 西川 真	関越地域担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者	潟県保健環境科学研究 同上	ウイルス科長 専門研究員
関根大正 平田一郎 中村敦子 佐々木由紀子 森 功次 長島真美	東京都担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者 協力研究者 協力研究者 協力研究者 協力研究者	京都立衛生研究所 同上 同上 同上 同上 同上	ウイルス研究科長 副参事研究員 研究員 研究員 研究員 研究員
野口有三 宗村徹也 宇宿秀三	京浜地域担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者 協力研究者	横浜市衛生研究所 同上 同上	検査研究課担当係長 技術吏員 技術吏員

研究者	分担する研究項目	所属(研究実施場所)	所属 職名
杉枝 正明	静岡中部地域担当 ウイルス検出・解析研究、SRSV培養系開発	静岡県環境衛生科学研究所	主幹
柴田 伸一郎	名古屋地域担当 ウイルス検出・解析研究	名古屋市衛生研究所	研究員
山下 照夫 鈴木 康元 栄 賢司 小林 慎一	東海愛知県地域担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者 協力研究者 協力研究者	愛知県衛生研究所 同上 同上 同上	主任 ウイルス部長 第一ウイルス科長 主任
松本 和男 東方 美保	北陸福井地域担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者	福井県衛生研究所 同上	総括研究員 技師
春木 孝祐 勢戸 祥介 入谷 展弘	近畿大阪市地域担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者 協力研究者	大阪市立環境科学研究所 同上 同上	保健学課長 研究主任 研究員
山崎 謙治 依田 知子 左近 直美	近畿大阪府地域担当 ウイルス検出・解析研究、シーケンス解析 協力研究者 協力研究者	大阪府立公衆衛生研究所 同上 同上	主任研究員 研究員 研究員
池田 義文 阿部 勝彦	中国広島地域担当 ウイルス検出・解析、研治岸養殖モニター 協力研究者	広島市衛生研究所 同上	専門員 技師
大瀬戸 光明 近藤 玲子 高橋 一博 吉田 紀美	四国愛媛地域担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者 協力研究者 協力研究者	愛媛県立衛生環境研究所 同上 同上 同上	微生物試験 室長 ウイルス科長 主任研究員 主任研究員
大津 隆一 梶原 淳睦 村上 光一	九州地域担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者 協力研究者	福岡県保健環境研究所 同上 同上	ウイルス 課長 同課 研究員 病理細菌課 研究員
大野 惇 糸数 清正 中村 正治	沖縄地域担当 ウイルス検出・解析研究 協力研究者 協力研究者	沖縄県衛生環境研究所 同上 同上	主任研究員 主任研究員 研究員
宇田川 悦子	全国情報集配事務 班総括助務・シーケンス解析	国立感染症研究所 ウイルス第2部	主任研究官
西尾 治	輸入食品のウイルス学的汚染調査 検出ウイルス確認試験プローブ調製供給	国立公衆衛生院 衛生微生物学部	ウイルス室 長

厚生科学特別全国ウイルス性食中毒研究班 成果解析評価検討会議

次 第

開催場所： 沖縄県那覇市 沖縄県庁中央保健所3階 会議室
 月日： 平成11年2月20日(土曜日)
 時間： 午前9時15分～午後5時30分(昼食・休憩時他禁足)

議事次第：

- | | | |
|-------------------------------|-----------------------------------|-----|
| 司会進行 | 国立感染研 | 宇田川 |
| 開会挨拶 | 班長 | 川本 |
| | 沖縄県福祉保健部薬務衛生課長
沖縄県衛生環境研究所微生物部長 | |
| 1) 平成10年度厚生科学特別研究事業概要報告 | 班長 | 川本 |
| 研究班方針、戦略、経緯、概要 | | |
| 2) ウイルス性食中毒遺伝子検査法標準化策提案 | 班長 | 川本 |
| 研究班分担・協力研究者全体討論 | 座長 | 大石 |
| まとめ | | 同 |
| 昼食・休憩 | | |
| 3) 国内検出SRSV遺伝子解析 | 座長 | 川本 |
| 解析成果報告 | 道立衛研 | 大山 |
| 同 | 大阪公衛研 | 山崎 |
| ウイルス検出遺伝子分類とユニバーサルプライマー設計案提示 | | |
| 分担・協力研究者全体討論・まとめ | 座長 | 川本 |
| 小休止(コーヒーブレイク) | | |
| 4) ウイルス性食中毒検査体制
対策対応整備全体討議 | 班長 | 川本 |
| 5) 研究班総括 | 班長 | 川本 |
| 6) 研究班研究将来計画提示 | 班長 | 川本 |
| 閉会 | | |
| 連絡事務 | 担当 | 宇田川 |

出席者： リスト次頁

平成10年度厚生科学特別全国ウイルス性食中毒研究班会議出席者名簿

日時：平成10年2月20日（土曜日）午前9時30分～午後4時30分

場所：沖縄県中央保健所 会議室

主任研究者（研究班長）川本尋義

所 属 施 設	研究 者 名	職 名	備 考 欄
岐阜県生物産業技術研究所 （岐阜県保健環境研究所）	川本尋義	部長研究員	
	堀 成明	事務局担当	
北海道立衛生研究所	沢田春美	疫学部主任研究員	
	大山 徹	生物工学室長	
	吉澄志磨	疫学部研究職員	
	玉手直人	疫学部医療検査専門員	
秋田県衛生科学研究所	斉藤博之	主任研究員	
青森県環境保健センター	三上稔之	主任研究員	
宮城県保健環境センター	秋山和夫	上席主任研究員	
新潟県保健環境科学研究所	西川 真	専門研究員	
東京都立衛生研究所	佐々木由紀子	研究員	
横浜市衛生研究所	野口有三	検査研究課担当係長	
	宇宿秀三	技術吏員	
静岡県環境衛生科学研究所	杉枝正明	主幹	
名古屋市衛生研究所	柴田伸一郎	研究員	
愛知県衛生研究所	山下照夫	主任	
福井県衛生研究所	松本和夫	総括研究員	
	東方美保	技師	
大阪市立環境科学研究所	勢戸祥介	研究主任	
大阪府立公衆衛生研究所	大石 功	課長	
	山崎謙治	主任研究員	
広島市衛生研究所	池田義文	専門員	
愛媛県立衛生環境研究所	大瀬戸光明	微生物試験室長	
福岡県保健環境研究所	大津隆一	ウイルス課長	
国立感染症研究所	宇田川悦子	主任研究官	
厚生省生活衛生局食品衛生課			
沖縄県福祉保健部業務衛生課	宮城朝光	課長	
	平安常寛	主任	
沖縄県衛生環境研究所	金城喜榮	所長	
	徳村勝昌	衛生科学部長	
	安里龍二	微生物室長	
	大野 惇	主任研究員	
	系数清正	主任研究員	
	中村正治	研究員	
	久高 潤	研究員	
	島袋泰俊	研究主幹	
沖縄県中央保健所	平川宗隆	生活環境課長	
	沖山隆雄	生活環境課主幹	
	久高直治	生活環境課技師	
その他関係機関出席者			

調査成果総括

1 ウイルス性食中毒の疫学（調査票B抜粋）

○データ集計対象地域は9地域（都道府県）を選定、27ヶ月間分の報告を基礎に1995年10月～1998年2月を算定した。

ウイルス性食中毒総件数は359例、検査対応総件数は902検体。

ウイルス性食中毒発生指数 0.48件／10万人／年
（大都市・地方県の平均）
1.45 1.52
（東京都） （大阪市）

ウイルス検査対応件数（検体数） 45検体／県単位／年

電顕観察法 検出率 55%
RT-PCR 検出率 58%

ハイブリグレーション実施率 44%（RT-PCR陽性検体100%）

SRSV G1出現率 0.4%
G2出現率 57.1%

遺伝子群型別不能率 42.5%

ウイルス未検出率 30%・・・従来法による

国内SRSVウイルス検出率は、6割弱で未検出が3割ほどある現状が明らかとなった。今回、国内SRSV170株の遺伝子解析と照合した結果、検出用プライマーの適合性の問題が強く示唆された。従って、国内株を捕捉できるユニバーサルプライマー設計の必要性を強く感じた。

2 検査対応整備について（調査票D抜粋）

1) 行政検査費（年間） 最少 50千円 ～ 最高2,500千円
平均751千円／施設

検査料算定基礎

RT-PCR 最低 2千円 ～ 最高140千円
平均 8千円／件

但し これらは当該施設整備、検査機器材等充実差によると考える

2) 研究費（年間） 最少500千円 ～ 最高3,000千円
平均 782千円／施設

3) 検査対応人員 最少 1名 ~ 最多 7名
 平均 3名/施設

4) 業務内容分布

	平均値
依頼検査	8%
行政検査	57%
研究	35%

5) 食中毒原因究明ウイルス検査対応の季節分布

	平均値
春	16%
夏	9%
秋	13%
冬	62%

ウイルス性食中毒、感染症サーベイランス、不明疾患対策、インフルエンザ流行対応など、ウイルス検査需要の近年の激増により各機関職員は忙殺されている。これらの状況はどの地方衛生研究所も同様であり、そのような環境でも時間を工面し研究を行っている研究職員の業務合理化または人員増が切望される。

食中毒関連業務の民間委託も一部希望する向きもあったが、行政措置の必要な業務の安易な外注は混乱を招きかねない。従って、厚生省は地衛研の現状を十分理解し定数増や検査経費の国内定義を明確化する責務があると考えらる。

生鮮魚介類食品食材ことに生食用生かきの輸入自由化を向かえ、水際のウイルス検査体制整備充実と安全チェックが必要であり、多くは航空便にて国内に持ち込まれることから従来は一部の港湾検疫（横浜・神戸の2箇所のみウイルス検査対応）のみならず空港・港湾検疫にてウイルス検査ができる組織編成対応が望ましい。