

地方衛生研究所の地域における健康危機管理の在り方に関する研究報告書
分担研究「健康危機管理のための試験検査技術の充実・普及に関する研究」
分担研究者 宮崎 豊 愛知県衛生研究所 所長

保健所と地研の試験検査技術の向上のための連携の検討

研究協力者 関 龍太郎 島根県保健環境科学研究所 所長
犬山 義晴 同・生活科学科 科長
岸 亮子 同・生活科学科 主任研究員
糸川 浩司 同・感染症疫学科 主任研究員

研究要旨：健康危機事例として食品あるいは環境中への劇毒物混入を想定し、保健所に緊急配備された劇毒物のスクリーニング検査用簡易キットの、配備後3年間の状況を保健所担当にアンケート調査したところ、使用事例もあり使用経験も蓄積されつつあるが、使用方法等についての研修の希望とキット使用に関する情報の要望も多かった。

今後、簡易検査キットの反応特性等を検証、危機管理マニュアルを整備し、並行して各種分析機器による定性定量分析を行いデータベース化していく。また、保健所と合同の研修等の開催や情報交換等の連携を検討する。

A. 研究目的

和歌山カレー毒物混入事件発生後、当時の厚生省から都道府県市区の各保健所に対して、劇毒物のスクリーニング検査用の簡易キットが緊急配備された。しかし、簡易キットは疑似反応や食品中の夾雑物による影響を受けやすく判断に迷いが生じやすいため、最終的には機器による分析に頼らざるを得ないと予想される。このため、キットの反応特性を把握するための検討と、当所配備の蛍光X線分析装置等を使用して食品中の重金属成分の分析を行い、データベース化を検討する。あわせて、保健所配備の検査キットについてのアンケートを行い、配備後3年間の状況を把握するとともに研修等の必要性も検討する。

B. 研究方法

1) アンケート（平成13年度～）

平成13年度は、保健所配備の検査キットの使用について県下8保健所の担当者にアンケート（資料1）を行い、保健所担当者の意

識を確認するとともに、当研究所で可能な協力体制を検討する。

また、これを基に平成14年度以降、中国四国地域の各保健所の情報も収集し、意見交換をする。

2) 簡易検査キットの検証（平成13年～）

13年度のアンケートをもとに14年度は、過去の事例において毒物混入が発生したことのある清涼飲料（お茶、コーヒー等）、カレー等の種々の食品に既知量の砒素、亜鉛等の金属類を添加し、保健所配備の簡易検査キットや市販の水質検査キットで検出が可能であるかを検証する。

15年度は引き続きヒ素、亜鉛以外の重金属について検討行う予定である。

3) 蛍光X線分析装置による定性定量分析

（平成13年度～）

簡易検査キットと同様の検体で蛍光X線分析装置による定性定量分析を行い、チャート

のデータベースを作成する。

この蛍光X線分析装置による測定では少量の試料でも分析可能であり、分析後他の試験にも利用できるという特徴がある。

14年度は簡易検査キットの検証とあわせてヒ素、亜鉛等の重金属について検討し、それ以外の重金属等については15年度に検討を予定する。

4) 保健所と連携方法の検討

(平成14年度～)

研究所と保健所の連携方法を近年の事例をもとに検討する。保環研と保健所との合同の研修会開催も検討する。

C. 研究結果及び考察

1) 結果

① アンケート結果

毒劇物簡易検査キットに関するアンケートの結果は資料2のとおりであった。

② 簡易検査キットによる分析

③ 蛍光X線分析装置による分析

②、③については、平成13年度は測定準備をするにとどまった。

④ 保健所と研究所の連携方法の検討

島根県では、事件性を有する劇毒物検査は警察、微生物検査は保健所もしくは地方研究所とされる傾向があるが、近年の事例をみても両者が区別できず依頼者の意向で警察ではなく保健所で対応した事例(資料3 事例1, 4, 8)がある。また、保健所からさらに研究所に検査を依頼された事例(事例1)もあり、保健所もしくは研究所で分析ができる体制を準備しておく必要がある。

2) 考察

① 毒物迅速検査キットに関するアンケート

保健所に配備された毒物迅速検査キットは、亜硝酸、シアン、硝酸、ヒ素、コリンエステラーゼ阻害剤(有機リン系およびカーバメイト系殺虫剤の検出)の検査をするもので、その存在は、島根県下のいずれの保健所でも検

査課あるいは衛生指導課で認識されており、保管場所は検査室が多かった。ほとんどの保健所で冷蔵保存されており、適正に保管されていることがうかがわれたことは好ましい。

使用法について、「知っている」という回答がある一方、「知らない」という回答も見られ、キット使用に関する研修の希望が多いことと考え併せても、研修の必要性が感じられる。使用事例としては疑食中毒事件が1件あるほか、苦情対応かと思われる事例が多い。食品衛生監視員の研修に使用したところも1件あった。非常時に対応するためにも、通常業務内あるいは研修その他で使用経験しておくことは重要であろう。また、使用実績を積むことでその必要性が認知されると、補充の予算措置などが講じやすくなる一面も見逃せない。苦情、その他の対応などに汎用されていることから、理化学検査が県内2ヶ所の検査課と保環研に集約されている本県で、緊急時に第一線機関となる各保健所での簡易検査の存在意義は大きいことを、担当者ともども再認識したい。疑食中毒事件の事例ではキットが唾液成分に反応して疑陽性反応を示したことが記入されており、今後の検証が必要である。

数カ所の保健所に問い合わせたところ、有効期限は一定していなかったが、すでに有効期限を切れているか、14年度中には切れるものと推察された。有効期限切れを前にすでに更新、発注しているところが1カ所あった。一方、有効期限の終了後の補充は「ない」との回答もあり、このキットの必要性や使用頻度、使用目的が担当部局で明確になっていないことが予算措置の講じられない理由になっているのではないかと考察する。

キット使用に関する研修の要望は多かった。当研究所でもキットを購入し、今後使用方法やキットの検査特性の検討を行ったうえで、保健所担当職員との合同研修を行えばキットの効果的使用が可能となろう。

健康危機管理に関して担当者に自由意見を求めたところ、危機管理一般についての意見

を1件、キットの使用を含めた意見を3件、計4件の意見をいただいた。

県としても、また保環研としての危機管理マニュアルはすでに作成されているが、このような簡易検査、簡易検査キットの位置づけは明確にされていない。キットの使用も含めた初動体制の在り方を整理し、健康危機管理体制全体がより充実していく方向を模索していくべきであろう。これには当研究所と保健所等第一線機関との情報交換と研修などの連携を通常時より深めていることが重要と考えられた。

参考までに資料4として島根県下の「各健康福祉センター（保健所を含む）での健康危機管理への24時間対応について」を添付する。このような情報が整理され、県下で共有していけることが望まれる。

以上、簡易検査キットの使用について、担当職員のアンケート調査の結果から検討を試みたが、次年度以降、実際にキットを使用し、さらに詳細に有効性、使用方法の留意点等について検討したい。

また、キットの使用事例について中四国各県の状況について把握するとともに、保健所担当者を含めた合同研修会を開催する必要がある。

平成13年度の研究班では、手足口病、クリプトスポリジウムの事例が詳細に研究されているが、著者らはオウム病、日本紅斑熱の事例を経験したので、保健所と地研の試験検査技術の向上のための連携を検討したい。

D. 結論

平成13年度は、平成10年度に配備された簡易検査キットについてアンケートにより調査し、結果の解析から次のようなことが必要であった。

- 1) 健康危機管理時における簡易検査の位置づけを、対応マニュアル等で明確にする。
- 2) キットの反応特性の検証
- 3) 保健所担当者との合同研修会の開催
- 4) 中国地区各県の状況も情報収集に努める。

劇毒物検査について検討し、平成13年度は保健所と地研の試験検査技術の向上について全体の把握、平成14年度、15年度は毒物についてさらに詳細な検討を行うとともに、オウム病、日本紅斑熱についても検討を行いたい。

E. 健康危険情報

該当事項なし

F. 研究発表

該当事項なし

G. 知的所有権の取得状況

該当事項なし

資料 2

毒物迅速検査キットについてのアンケート結果

8 保健所を対象とした

() 内の数字が回答数

問 1

平成 11 年 3 月 15 日付で当時の厚生省から都道府県市区の各保健所に食品からの毒劇物検出のために「毒劇物迅速検査キット」が緊急配備されましたが、ご存じですか？

1. 知っている…………… (8)
2. 知らなかった…………… (0)

問 2

各保健所に配備されているキットについて、お尋ねします。

2-1. どこに保管されていますか？

検査室…………… (7)

内訳：冷蔵庫… (5)、室内… (1)、

保存温度や毒劇物等各々分類して適所に保存… (1)

冷蔵庫…………… (1)

2-2. 使い方をご存じですか？

1. 知っている…………… (4)
2. 知らない…………… (4)

2-3. 使用の経験はありますか？

1. ある…………… (2)
2. ない…………… (6)

2-4. 2-3. で「ある」と答えた方は、その事例を具体的に差し支えのない程度に教えてください。(複数回答)

現在までのところ、キットを使用するような事例がない。… (5)

平成 12 年度にセンター内で担当者の研修として使用…………… (1)

H12.8 疑食中毒事件の際、患者の吐物を検査

(疑陽性が出たが、人の唾液は陽性に出ることを知らなかった)(1)

H13.10 池の金魚が死んだ事例で池の水の検査…………… (1)

- 川で魚（アユ）が大量死したときの河川水の検査(H13)……………（1）
漂着物（ポリタンク）の水の検査(H12,H13)……………（1）
食品の苦情（牛乳、みそ汁）の時の検査(H11)……………（1）

2－5. 使用期限が切れたら、補充の予定がありますか？

1. ある……………（5）
2. ない……………（3）

2－6. キットの使用について、研修の要望がありますか？

1. ある……………（7）
2. ない……………（1）

問3

健康危機管理について、何かご意見がありましたら記入してください。
（以下、原文のまま）

1)

- ①職員の意識改革－担当部局及び職員によって健康危機管理に対する意識の温度差がある。
- ②保健所・保環研の検査に関する連携と各々の機能強化

2)

- ・「毒劇物迅速検査キットによる危機管理では限界あり。
- ・同キットの実用性は検体が液体の場合にはあると思われるが、原因となる物質が不明な場合（あるいは残っていない場合）、患者からの検体では夾雑物が多く正確な結果が得られない。
- ・保健所においては同キットを使用すべき職員がそのキットの使い方を熟知せず、はてはキットの場所さえ知らない場合もあり得る。（管理体制があいまい）

3) 危機発生時のキット使用方法や検体採取方法の県下統一的な研修の提供を望みます。

4) キットの使い方の他に疑陽性が出やすい事例など教えてほしいです。

資料 3

毒物迅速検査キット使用についての調査

事例 1

日時 平成 12 年 8 月
地域 I保健所管内
概要 集団食中毒様事件発生直後に（キットによる検査を）行った
検体 吐物
結果 ヒ素（－） コリンエステラーゼ阻害剤（－）

事例 2

日時 平成 13 年 10 月
地域 K健康福祉センターからの依頼による
概要 小学校中庭の池で、メダカと金魚が死滅した原因調査
検体 池の水 1 検体
結果 CN^- （ND）、 As （ND）、 NO_3^- （ND）、 NO_2^- （ND）、
コリンエステラーゼ阻害剤（ND）

事例 3

日時 平成 12 年
地域 I保健所
概要 食品監視員の研修
検体 オレンジジュース
検査項目 シアン（添加濃度は適当）

事例 4

日時 平成 11 年 11 月
地域 H保健所管内学校
概要 学校給食用牛乳に異味があるという苦情
検体 牛乳
結果 ヒ素イオン（0） 硝酸イオン（0）
コリンエステラーゼ阻害剤（0） シアン化物イオン（0）
亜硝酸イオン（0）

事例 5

日時 平成12年12月～平成13年2月
地域 H市、G市、M町
概要 外国文字の入ったポリタンクが漂着
検体 ポリタンク内容物
結果 硝酸イオン (<10)

事例 6

日時 平成13年3月
地域 G市内 個人
概要 苦情
検体 みそ汁
結果 ヒ素イオン (0) 硝酸イオン (0)
コリンエステラーゼ阻害剤 (0) シアン化物イオン (0)
亜硝酸イオン (0)

事例 7

日時 平成13年10月
地域 H保健所管内河川
概要 あゆの大量へい死
検体 河川水
結果 ヒ素イオン (0) 硝酸イオン (0)
コリンエステラーゼ阻害剤 (0) シアン化物イオン (0)
亜硝酸イオン (0)

事例 8

日時 平成11年6月
地域 M市パチンコ店
概要 自販機で購入した缶ジュースを飲んだところ、5分後に気分が悪くなり、嘔吐、下痢をした。細菌検査とともに毒物検査もした。
検体 缶ジュース
結果 ヒ素イオン (陰性) 硝酸イオン (陰性)
コリンエステラーゼ阻害剤 (陰性) シアン化物イオン (陰性)
亜硝酸イオン (陰性)
他に細菌検査も実施したが、陰性だった。

資料 4

健康危機管理対応資料
1/2〔長寿社会課から提供〕

健康福祉センターでの健康危機管理への24時間対応について

所属	勤務時間外の対応	市町村等関係機関の周知の状況	第1対応者
松江健康福祉センター	テープによる留守番電話で警備会社を知らせ、警備会社から職員へ連絡	関係機関には、連絡方法を周知	状況により第1対応者が異なる
出雲 "	テープによる留守番電話で警備会社を知らせ、警備会社から職員へ連絡	関係機関は、24時間対応できる体制を承知	状況により第1対応者が異なる
木次 "	テープによる留守番電話で警備会社を知らせ、警備会社から職員へ連絡。 但し、合庁代表番号の時は、警備員から職員へ連絡	関係機関には、連絡体制を周知	状況により第1対応者が異なる
川本 "	守衛から職員に連絡できる体制（各課への直通電話には対応できていない）	関係機関は、24時間対応できる体制を承知	状況により第1対応者が異なる
浜田 "	守衛から職員に連絡できる体制	市町村には、連絡体制を周知 警察との連携は今後の課題	健康安全係長
益田 "	守衛から職員に連絡できる体制（各課への直通電話には対応できていない）	関係機関は、24時間対応できる体制を承知	衛生指導課長
隠岐健康福祉局	守衛から職員に連絡できる体制	関係機関は、24時間対応できる体制を承知	状況により第1対応者が異なる

地方衛生研究所の地域における健康危機管理の在り方に関する研究報告書
分担研究「健康危機管理のための試験検査技術の充実・普及に関する研究」

分担研究者 宮崎 豊 愛知県衛生研究所 所長

IT 技術の導入に関する検討

研究協力者 堤 俊明 長崎県衛生公害研究所長 所長
平山 文俊 同・衛生部長

研究要旨:健康危機に備えて、事前に検査体制を準備・点検するための情報、健康危機発生に備えた原因物質等の物性及び検査法に関する情報を体系的に整理した「健康危機管理・検査マニュアル」を内容とするコンテンツを作成し、毎年、最新の知見を加えてバージョンアップして情報を蓄積し、充実を図ることは、健康危機管理を支援するために有効なものであると考えられ、その作成方法について検討した。

A. 研究目的

健康危機発生時に原因物質(病原体)の確定を適切に行うためには、あらかじめ予想されるあらゆる事態を想定し、それらに対応できる検査体制を整備し、実際に危機が発生した時に役立つ情報を収集し、迅速に検索できるように体系的な整理を行って、健康危機の発生に備える必要がある。

本研究は、①健康危機の原因になると想定する検査項目の設定、②検査項目に対する対応能力の点検、③各検査項目に関する物性、検査法等の情報収集、④それらを体系的に集約した「健康危機管理・検査マニュアル(デモ版)」を内容とするコンテンツの作成、⑤メーリングリスト等の地研間の情報ネットワークを活用して、地研が協力してデモ版の内容を修正・充実し、バージョンアップを重ねることによって、地研の持つ健康危機の検査に関する知識を集積し、共同利用ができるバイブル的な電子図書「健康危機管理・検査マニュアル」を作成する方法について検討することを目的とする。

B. 研究方法

平成 13 年度は、健康危機が想定される検査項目の設定、想定された検査項目への対応能力の点検を行うための点検表を作成する。また既存図書や研修等で使用された健康危機に関する文献を収集し、電子化する。

平成 14 年度は、引き続き文献の収集と電子化を行い、情報を体系化した「健康危機管理・検査マニュアル(デモ版)」を作成する。また情報収集・意見交換のためにメーリングリストを開設し、地研の研究者の意見を収集しコンテンツの内容を充実する方法について検討する。

C. 研究結果及び考察

1. 健康危機の原因と想定する検査項目

(1) 化学物質

緊急医療が対応する化学物質による健康被害の

場合は、消防、警察、救急医療によって救急活動が行われ、治療に役立てるための原因物質の特定は、警察あるいは保健所が担当することになっている。また、化学物質による健康被害の場合は、原因と被害の関係が分かりやすく、犯罪性が強いいため、科学警察研究所が担当し、地研は高度な分析技術を必要とする血液、吐しゃ物等の検査要請があった場合に検査を行うことで整理されている。しかしながら、健康危機の場合、大量発生等の不測の事態も予想されるので、地研においても検査ができる体制を整備しておく必要がある。

一方、カネミ油症事件、森永砒素ミルク事件のように被害が一度に発生せず、第一報が医療機関から届けられるような場合、対応は衛生部門が行うことになり、検査は地研で行うようになっている。また、牛乳異臭味事件のような健康に直接影響しないが、住民に不安を与えるような事態が発生した場合、その原因究明のための検査は地研に求められる。

このように地研が受け持たなければならぬ検査は、急性毒性をあらわす項目に限定することができず、亜急性の毒性をあらわすもの、異常な事態をあらわす物質など非常に幅広い物質と形態のものが対象になると考えておく必要がある。しかしながら、全ての検査に必要な試薬等を事前に準備しておくことは不可能に近いことから、本研究では特に緊急性が高いと思われる物質に限定して検査項目を想定した。

なお、現に症状をあらわしていないが、長期的視点にたつて予防対策が必要な変異原性、発がん性、内分泌攪乱作用等の慢性毒性が疑われている物質については、健康危機管理が破綻する事態になり難いものと考え、健康危機の対象から除外することが適切であると判断した。

(2) 生物

生物による健康危機が発生した場合は、大半が医療機関からの届出によって探知され、感染防止が第一に必要なことから衛生部門が対応し、テロが疑われる場合、情報が警察に送られることになっている。したがって、生物による健康危機が発生した場

合、大半の原因究明のための検査は地方衛生研究所が担当することになってくる。また医療機関、民間検査機関において一部の病原体検査ができる状況にあるが、一度に大量の検査が必要となる緊急時に対応できる保証はないため、医療機関、民間検査機関で検査が可能なものであっても地研で緊急時の体制を整備しておく必要があると考えた。

検査の具体的な対象としては、「感染症の予防及び感染症の患者の医療に関する法律」に規定する第一類から第四類の感染症病原体、食中毒に関連する病原体、テロに使われると想定される病原体を検査対象とする必要があると考えた。また、将来的には新型コロナウイルスも検査対象として定め、検査ができなくても、その取り扱いについての措置方法を定めておく必要がある。

2. 検査能力の点検

各地研が、健康危機の原因と想定する全ての項目について、検査能力を備えることは、限られた人材、資金等の制約下に現実的には不可能なことである。したがって、希少感染症に関する地研、国の機関の役割分担・連携及び検査の緊急性等を考慮して、各地研が検査能力を備えるべき項目を設定し、さらに現時点における能力の点検を行う必要がある。

本研究では、危機管理の責任者が、事前に所管する部門の検査能力を点検するために使用する「点検表」を研究協力が者が考えた検査義務の必要性等と共に別表1のとおり作成した。以前できていた検査であっても、人事異動、機器の老朽化、試薬の補充ができていない等の理由から、検査能力を失うこともあるので、危機管理の責任者は毎年、点検表によって検査能力を確認し、問題点がある場合、改善を図ることが必要になる。また義務があるのに検査ができない場合、できる状態にする措置が必要になる。このように点検表の作成は健康危機管理に関する検査体制の方針を定めるうえで重要な役割を果たすものである。さらに行政、地研の所長から担当者までが点検表を共有することによって、健康危機管理のための予算措置、施設整備、技術研修が進み、危機管理体制の確立に貢献できるものと考えた。

3. 情報収集

健康危機に関連する書籍はいくつか出版されているが、健康危機に関連する情報全てを網羅した総合図書は実在しない。しかしながら、健康危機という緊急事態に対応しなければならない特殊性を考慮すると総合図書「健康危機管理・検査マニュアル」に匹敵するものがあれば便利なものと考えられる。そこで、原稿締め切り時間に制限がない、紙数に制限が無い、情報の保管・検索が容易である、等の書籍にはできない IT の特長を生かして、物性、検査法等の情報を網羅した総合誌に匹敵する電子図書の作成について検討した。

印刷物をスキャナーで電子化し IT 上で扱うことについて、最近ではスキャナー機能も向上し、ネットワークによって情報を一箇所に集積し、自動的に整理して共同で活用するシステムも登場しているため、現時点で伝送速度が遅いという難点（ハードの進歩によって早い時期に解決できる見込み）を除けば、技術は一定の水準に達しているものと評価される。むしろ電子

図書の内容という本質が充実したものであるかが問われることになる。したがって、内容を充実する手段の検討が重要な課題である。

印刷物の形で発行する従来の図書を作る場合、編集委員会を組織して専門分野ごとに担当を決め、執筆を依頼し、編集するのが一般的であったが、電子メールのような情報伝達手段が発達し、だれからも情報を簡単に得られ、皆で意見を交わすことができるようになった現在、従来にない編集の方法も検討されてよいと思われる。

本研究は当面、文献、研修等で提供された情報を集め、全体的な構成が体系的に一括して見られるような電子図書「健康危機管理・検査マニュアル(デモ版)」を作成し、それを CD に搭載する。15 年度を目標に、地研の全研究者がメーリングリスト等を利用する方法で執筆、編集に参加し、デモ版 CD をたたき台として、優れた検査法の掘り起こし、質疑等の情報交換を行い、内容を徐々に充実してバージョンアップを行い、バージョンアップを重ねることによって内容を充実する方法について検討することが 14 年度の課題と考えられた。

コンテンツの搭載内容は既存の図書と変わらないものと考え、次の内容で編集することとした。

1. 総論

- (1) 検査体制の点検
- (2) 検査法概論
 - a. 検査法
 - b. 検体採取
 - c. 安全性
 - d. 廃棄物処理
- (3) 関連例規集

2. 個別項目

- (1) 形状・性状
- (2) 症状
- (3) 検査法

D. 結論

「健康危機管理のための試験検査技術の充実・普及に関する研究」における「IT 技術の導入に関する検討」研究において、先ず第一に検査体制を事前に点検しておくことは健康危機管理上非常に必要なことと考えられたことから、検査体制の点検を適切に行うために検査義務の有無等を考慮した点検表を作成した。

この点検表に沿って各地研で健康危機管理に関する検査の実施をマニュアルにより実施していくためには、IT 技術を利用して紙数や時間等の制約がない電子総合図書「健康危機管理・検査マニュアル」を作成することが健康危機管理に大いに貢献するものと考えられた。

また、情報を集積し共同で利用できる IT のメリットを考慮すると、地研の全研究者が参加し、執筆者・編集者となって電子総合図書「健康危機管理・検査マニュアル」のデモ版(Ver.1)を先ず作成する必要があると考えられた。そこで、来年度の研究では「健康危機管理・検査マニュアル」のデモ版をたたき台とし

てを完成させる方法の検討、及びその完成を目指す
こととした。

E.健康危険情報

該当なし。

F.研究発表

該当なし。

G.知的所有権の取得状況

該当なし。

表1

緊急時対応検査能力点検表

○：実施義務あり

△：他研究所に検体送付ができる

×：義務は無い

区分	疾病(病原体、トキシン)	検査義務	検査能力	検査能力が無い理由			備考
				施設	技術	試薬	
化学	シアン	○					
化学	砒素	○					
化学	有機リン	○					
化学	アジカナトリウム	○					
一類	エボラ出血熱	△					国感研
一類	クリミア・コンゴ出血熱	△					国感研
一類	ペスト	△					国感研
一類	マールブルグ病	△					国感研
一類	ラッサ熱	△					国感研
二類	急性灰白髄炎	○					
二類	コレラ	○					
二類	細菌性赤痢	○					
二類	ジフテリア	○					
二類	腸チフス	○					
二類	パラチフス	○					
三類	腸管出血性大腸菌感染症	○					
四類	アメーバ赤痢	○					
四類	咽頭結膜炎	○					
四類	インフルエンザ	○					
四類	ウイルス性肝炎A	×					医療機関等
四類	ウイルス性肝炎B	×					医療機関等
四類	ウイルス性肝炎C	×					医療機関等
四類	ウイルス性肝炎E	×					医療機関等
四類	A群溶血性連鎖球菌咽頭炎	○					
四類	エキノкокクス症	△					国感研
四類	黄熱	△					国感研
四類	オウム病	△					国感研
四類	回帰熱	△					国感研
四類	感染性胃腸炎(細菌性)	○					
四類	感染性胃腸炎(アデノ)	○					

四類	感染性胃腸炎(ロタ)	○					
四類	感染性胃腸炎(SRSV)	○					
四類	急性出血性結膜炎	○					
四類	急性脳炎(日本脳炎を除く)	○					
四類	Q熱	△					国感研
四類	狂犬病	△					国感研
四類	クラミジア肺炎(オウム病を除く)	○					
四類	クリプトスポリジウム症	○					
四類	クロイツフェルト・ヤコブ病	×					医療機関等
四類	劇症溶血性連鎖球菌感染症	○					
四類	後天性免疫不全症候群	○					
四類	コクシジオイデス症	△					国感研
四類	細菌性髄膜炎	○					
四類	ジアルジア症	○					
四類	腎症候性出血熱	△					国感研
四類	水痘	○					
四類	髄膜炎菌性髄膜炎	○					
四類	性器クラミジア感染症	×					医療機関等
四類	性器ヘルペスウイルス感染症	×					医療機関等
四類	成人麻疹	○					
四類	尖形コンジローム	×					医療機関等
四類	先天性風疹症候群	○					
四類	炭疽	○					
四類	ツツガムシ病	○					
四類	手足口病	○					
四類	デング熱	△					国感研
四類	伝染性紅斑	△					国感研
四類	突発性発疹	○					
四類	日本紅斑熱	○					
四類	日本脳炎	○					
四類	乳児ボツリヌス症	○					
四類	梅毒	○					
四類	破傷風	○					
四類	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	○					
四類	ハンタウイルス肺症候群	△					国感研

四類	Bウイルス病	○				
四類	百日咳	○				
四類	風疹	○				
四類	ブルセラ症	○				
四類	ペニシリン耐性肺炎球菌 感染症	×				医療機関等
四類	ヘルパンギーナ	○				
四類	発疹チフス	○				
四類	マイコプラズマ肺炎	×				医療機関等
四類	麻疹(成人麻疹を除く)	○				
四類	マラリア	○				
四類	無菌性髄膜炎	○				
四類	メチシリン耐性黄色ブドウ球 菌感染症	○				
四類	薬剤耐性緑膿菌感染症	○				
四類	ライム病	○				
四類	流行性角結膜炎	○				
四類	流行性耳下腺炎	○				
四類	淋菌感染症	×				医療機関等
四類	レジオネラ症	○				
食中毒	サルモネラ菌	○				
食中毒	ブドウ球菌	○				
食中毒	ボツリヌス菌	○				
食中毒	腸炎ビブリオ	○				
食中毒	腸管出血性大腸菌	○				
食中毒	ウエルシュ菌	○				
食中毒	セレウス菌	○				
食中毒	エルシニア・エンテロコリチカ	○				
食中毒	カンピロバクター	○				
食中毒	ナグビブリオ	○				
食中毒	小型球形ウイルス	○				
食中毒	エンテロトキシン	○				
テロ等	西ナイル脳炎	○				
テロ等	スモールポックス(天然痘)	△				国感研
テロ等	野兔病	○				
テロ等	バルトネラ	△				国感研
テロ等	結核	○				

地方衛生研究所の地域における健康危機管理の在り方に関する研究報告書
分担研究「健康危機管理のための試験検査技術の充実・普及に関する研究」

分担研究者 宮崎 豊 愛知県衛生研究所 所長

手足口病の病原体を中心としたエンテロウイルスの同定支援

研究協力者 宮島嘉道 秋田県衛生科学研究所 所長
齋藤博之 同・微生物部

研究要旨：夏季に流行する主要な病原体の1つであるエンテロウイルスについて、これまでの煩雑な同定作業を緩和し、流行状況を迅速に把握することを目的に一本鎖高次構造多型（SSCP）解析による同定支援法を開発した。平成13年度に秋田県で分離された47株を用いて本法の有用性を検討したところ、同定効率は全てを中和試験で同定した場合と比べて3.9倍であった。本年度は大規模な流行が認められなかったが、エンテロウイルスはその流行規模が大きいほど特定のウイルスが広まる傾向にあることから、大規模な流行が発生するとSSCPを用いた解析による同定効率はさらに向上することが期待される。今後は引き続き多くの流行局面において本法の有用性を検証し、その技術の充実を図るとともに、併せて全国的な普及に向けた研修体制についても検討してゆく予定である。

A. 研究目的

夏季に多く分離されるエンテロウイルスは、冬季のインフルエンザウイルスと並んで、地方衛生研究所における感染症発生動向調査の病原体検査で分離される主要なウイルスの1つである。エンテロウイルスによって引き起こされる疾患は、夏かぜをはじめとして、手足口病、ヘルパンギーナ、発疹症、無菌性髄膜炎、感染性胃腸炎と広範囲にわたっており、夏季に流行するウイルス性感染症の大部分を占めている。エンテロウイルスは分離こそ比較的容易であるものの、多くの血清型が存在するため、中和試験による最終同定に至るには相応の手間と時間を要しているのが実情である。地方衛生研究所では感染症発生動向調査事業の一環として地域医療機関に対して患者発生動向や病原体検出情報の提供を行っているが、こうした事情によって細かく型別されたエンテロウイルス検出情報の迅速な提供は困難な状況となっている。

中和試験に代わる型別方法として、これまでにハイブリダイゼーション法や制限酵素法といった遺伝子診断法がいくつも試みられてきている。しかし、同定対象となる群（ポリオやコクサッキーの一部）が限定されているうえに、エンテロウイルスは遺伝子変異が激しいため対照株の設定が困難であり普及には至っていない。本研究では全てのエンテロウイルスに対して有効な手法として、一本鎖高次構造多型（SSCP）解析を用いた同定支援法を開発し、流行実態の早期把握と病原体検出情報の迅速提供につなげることを目的としている。

B. 研究方法

本研究の骨子は、中和試験そのものは存続させ、それにかかる手間と時間を大幅に軽減させることにある。それはエンテロウイルスの型別が中和試験をもとに分類されたものであることと、少数の分離株の中和試験だけならば困難は生じないからである。また、SSCP解析

の特徴として、同じ SSCP パターンを示す DNA 断片の配列は100%同じであって、1塩基の違いであってもパターンが鋭敏に変化することがあげられる。分離株から DNA 断片を得る手法としては全てのエンテロウイルスを増幅できる共通プライマー(5' ノンコーディング領域)を用いた PCR 法がすでに報告されているためそれを利用する。以上の手法を組み合わせることで遺伝子変異の問題を克服し、エンテロウイルスの同定作業を大幅に軽減させることが可能になるが、次にその具体的な原理と手順を説明する。

分離株が 30 株あると仮定した場合、最初にそれらの株から 5' ノンコーディング領域に設定された共通プライマーで DNA 断片を増幅する。得られた増幅断片について SSCP 解析を行い、そのパターンによってグループ分けをする。同じグループに属する株は SSCP 解析の原理から同じ塩基配列をもつものとみなすことができる。従って、それぞれのグループ中の任意の1株について中和試験を行い型別すれば、他の株は同じ型とみなすことができる。仮に SSCP 解析の結果 3 グループに分かれたとすると実際に中和試験を行うのは 3 株だけで済み、30 株全てを中和試験によって同定した場合と比べると 10 倍の効率となる。もし、再び別の分離株で SSCP 解析を行う際には、この 3 株を対照株として同時に解析すれば、そのパターンを照合することによって一部の株についてはただちに型別が判明することが期待できる。対照株と一致しなかった株についてはあらためてグループ分けをして、その中から任意の1株を中和試験すればよい。SSCP 解析は PCR に引き続いて簡便に行うことができ、2 日間で終了する。また、一般に市販されている電気泳動槽(シーケンス用泳動槽)を利用できるため同時に 50 検体程度の解析が可能である。

平成 13 年度は、当該シーズンに乳飲みマ

ウスと HEAJ 細胞を用いて分離されたエンテロウイルス 47 株について、SSCP によるグループ分けと中和試験による確認を行い、本法の有用性について検討した。

C. 研究結果、及び考察

表 1 に本年度分離株に関する成績をまとめた。分離ウイルスの血清型はコクサッキーウイルスA群(以下CAと表記)が4種(2、4、5、16型)、コクサッキーウイルスB群(以下CBと表記)が2種(3、5型)、及びエコーウイルス6型であった。分離株数が47株であるのに対してSSCP型はA~Lの12種類であった。「研究方法」で述べたとおり、A~Lの各グループから1株ずつ抽出して中和試験により同定すれば、12株の中和試験で47株を同定できる計算になり、分離株全体の同定効率は 3.9 倍となる。個別のウイルスを見ると、比較的多数分離されたウイルス CA16 の 12 株、CB5 の 7 株は、いずれもそれぞれ1つの SSCP 型であった。したがって、手足口病の病原体である CA16 について、12 倍という高い同定効率が得られた。これは、1 株だけ中和試験で同定すれば、他の 11 株も同時に型が判明することになるからである。

代表株の同定手段としては中和試験以外にもシーケンス系統解析を用いることも可能である。しかしながら、一般に流行規模が大きくなるほど特定のウイルスが多く分離される傾向があるため、SSCP 解析による同定法はその同定効率がより高くなるものと予想され、検査室での同定作業は大幅に軽減されるものと期待される。また、この表以外にもポリオウイルス分離例が 5 例あったが、セービン株との SSCP パターン照合によってワクチン由来であることを迅速に証明できた。野生型ポリオは 2 類感染症であり、感染症発生動向調査でポリオウイルスが分離された場合は必ずワクチン歴を確認する必要があるが、様々な事情

で確認が困難なケースがある。こうした場合であっても本法を用いることで分離株がワクチン由来(セービン株)かどうかを判定できるため、危機管理の一環として有用であると考えられる。

D. 結論

SSCP 解析は、複数の DNA の塩基配列が同じかどうかをシーケンスせずに簡便に確認できる手法であり、応用範囲は極めて広い。本研究では応用手法の一つとしてエンテロウイルス同定のための試験検査技術の充実・普及を目的として、本法の有用性を検討した。その結果、今回対象とした47株については、SSCP 解析によるエンテロウイルスの同定効率は従来法である中和試験法と比し約3.9倍であった。また、SSCP を用いた検査法は迅速且つ比較的容易、安価に実施できることから、その試験法の充実・普及は髄膜炎の合併などにより重症化することも多い手足口病の病原体であるエンテロウイルス流行状況の早期把握を通して、健康危機管理にも大いに役立つものと考えられた。

E. 健康危険情報

現在のところ無し。

F. 研究発表

斎藤博之, 原田誠三郎, 佐藤宏康. SSCP 解析によるエンテロウイルス同定支援法の検討. 第 49 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪, 2001.

G. 知的所有権の取得状況

現在のところ無し。

表1 平成13年度のエンテロウイルス分離同定成績

中和	SSCP型	株数	同定効率
CA2	A	2	×2
CA4	B	9	×5
	C	1	
	D	5	
CA5	E	1	×2.3
	F	6	
	G	1	
	H	1	
CA16	I	12	×12
CB5	J	7	×7
CB3	K	1	×1
Echo6	L	1	×1
総合		47	×3.9

同定効率：分離株数をSSCP型の数で割ったもの。
 CA4の場合は株数が15、SSCP型がBCDの3種類であるから、同定効率は15/3で5倍になる。

厚生科学研究費補助金(健康科学総合研究事業)

地方衛生研究所の地域における健康危機管理の在り方に関する研究報告書
分担研究「健康危機管理のための試験検査技術の充実・普及に関する研究」

分担研究者 宮崎 豊 愛知県衛生研究所 所長

手足口病の病原体を中心としたエンテロウイルスの同定支援

研究協力者 山下照夫、栢島由佳、伊藤 雅、栄 賢司

愛知県衛生研究所・微生物部

研究要旨: 我々はエンテロ 71 型ウイルス(EV71)の迅速同定法として遺伝子の塩基配列を用いることに注目し、遺伝子配列による EV71 の迅速同定法を全国の地方衛生研究所で導入することを目的として、エンテロウイルスの同定検査法の充実・普及について検討を加えた。 比較する EV71 の遺伝子領域は翻訳開始部位から 400 塩基(VP4 全域と VP2 の一部、これを VP0 とする)とし、i) この領域に関するエンテロウイルス全 63 血清型の遺伝子データベースを作製した。22 種類の血清型については公的データベースから、残りの 44 種類の血清型については平成 13 年度の本研究によりその塩基配列を決定した。ii) 作製したデータベースを使用して、2000 年及び 01 年に手足口病患者から分離された 38 株について同定を試みた。

その結果、2000年の分離株は全株がEV71標準株のクラスターに、01年の分離株は全株がCA16標準株のクラスターに収束し、それぞれこれらの血清型に同定された。 また、これらのクラスターに分類された株の塩基配列は他のCA群標準株とは大きく離れており、VP0領域の遺伝子解析による血清型別分類法はエンテロウイルスの診断において有効な手段となりうると考えられた。 今後はシークエンスが可能な地方衛生研究所に対する同定支援として、このデータベースの有効性について検討する予定である。