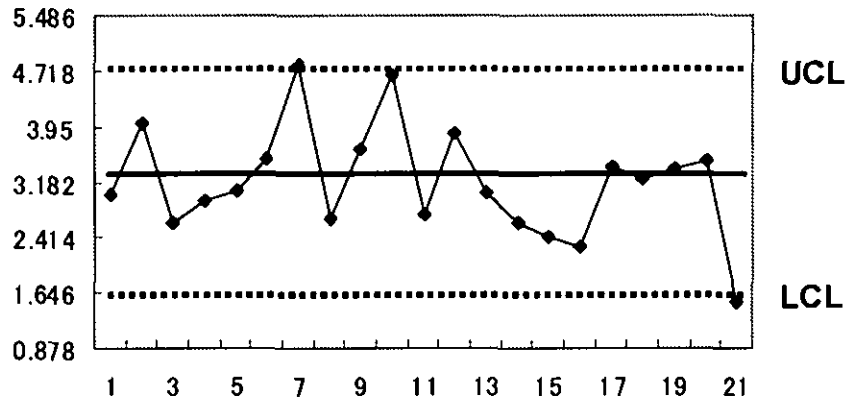
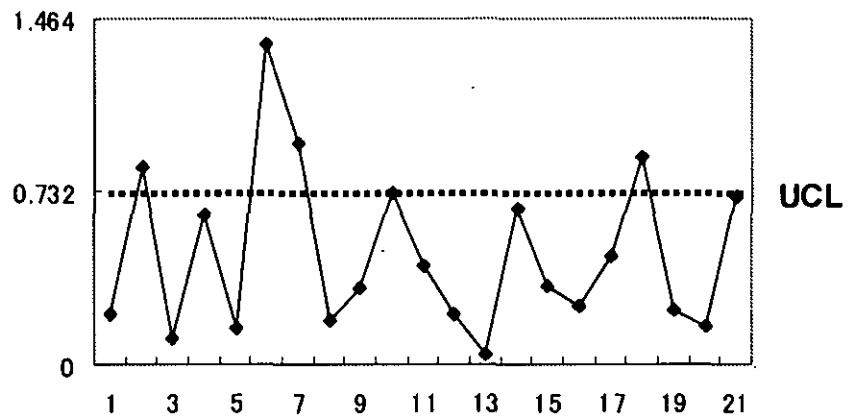


Xbar(2.50%混入試料)



R(2.50%混入試料)



Z値(2.50%混入試料)

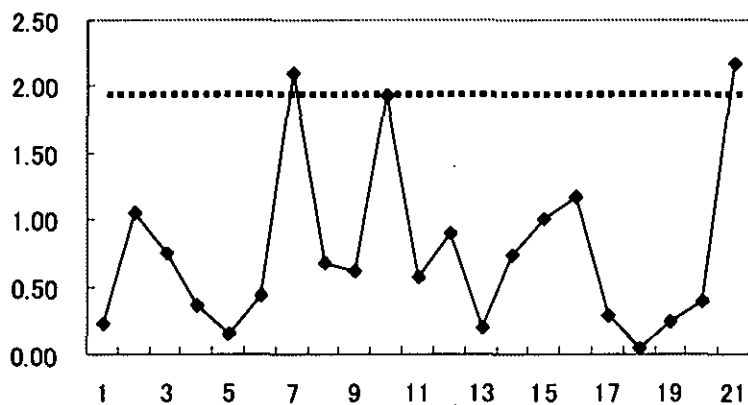


図3 遺伝子組換え大豆2.50%混入試料の分析値のXbar-R管理図及びZ値

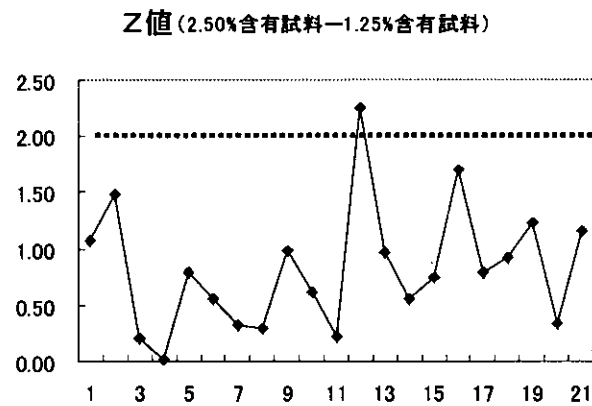
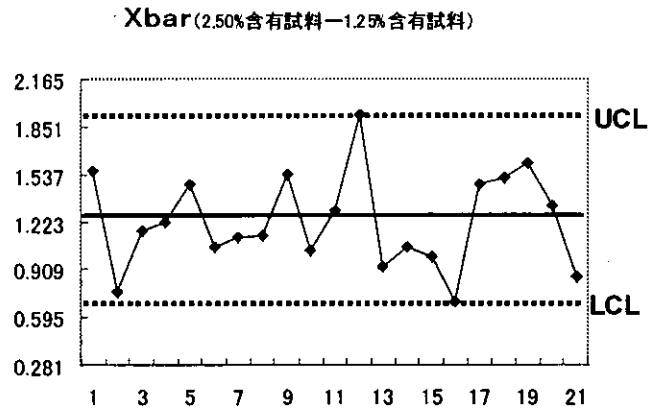


図4 遺伝子組換え大豆2.50%混入試料と1.25%混入試料の分析値の差のXbar管理図及びZ値

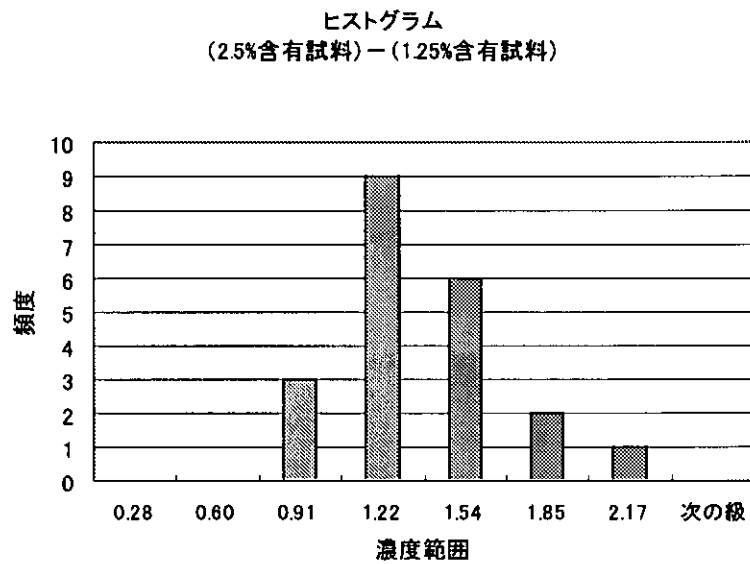


図5 遺伝子組換え大豆2.50%混入試料と1.25%混入試料の分析値の差のヒストグラム

## II バイオテロ関連の遺伝子検査用プライマーの調査と開発

### A. 研究目的

米国における同時多発テロ以後、世界を揺るがす健康危機事例は枚挙に遑が無い。感染症に限っても、米国の炭疽菌事件やウエストナイル熱、アジアを中心とした SARS、高病原性トリインフルエンザと、その度にわが国は対応を迫られている。昨年感染症法の見直しが行われ、人獣共通感染症対策を念頭に対象疾患が追加されたが、わが国においては、1類感染症のすべてと4類感染症の半数は一人の患者も発生していない。従って、今の日本は、経験したことが無い（検査のための病原体も入手できない）多くの感染症に対して検査体制の整備が求められているといえる。海外からの感染症の進入に対しても、病原体検査の前線として能力に応じた対応が期待されている地方衛生研究所であるが、検査対象である病原体に関する情報が限られている状況では、検査体制の整備や検査技術の向上に限界がある。

平成 15 年度は、情報検索や国立感染症研究所等への問い合わせを通じて、感染症やバイオテロ領域で危険度が高く、かつ地方衛生研究所での検査整備が遅れている病原体の遺伝子検査用プライマーの検討を行った。

### B. 研究方法

1. イラクへの自衛隊派遣後、わが国も米国に対するテロ攻撃と同質の攻撃を受ける危険が高まってきた。このことを鑑み、インターネットを使い、米国の CDC が作成しているバイオテロ危険度の分類に沿って、記載されている病原体の検出に関する情報を検討した。また、多くの関係者からメールや電話、面談を通じて情報収集をし、平均的な地方衛生研究所が備えるべき最低の検査体制整備を検討した。

2. 米国で猛威をふるうウエストナイル熱の報道は、日本脳炎の常在するわが国への進入を現実的な脅威にまで高めており、すでに死亡カラスのサーベイランスを始めた自治体もある。両ウイルスは血清学的に交差がみられるほど近縁であるため、血清学的に同定するには慎重を要する。今回、2003 年 9 月 3 日現在の両ウイルスのレフ

アレンスシーケンス（日本脳炎ウイルス 28、ウエストナイルウイルス 22）を ClustalX 1.8、Genetyx 6.0～7.0 で解析し、有用な遺伝子検査用のプライマーが作成できないか検討をした。

### C. 研究結果及び考察

1. CDC によるバイオテロ危険度の分類を表 1 に示す。米国の実情を基盤に、易播種性、ヒトからヒトへの伝播性、死亡率の高さ、大衆へのパニックなど社会的混乱の大きさ、特別な準備の必要性などの基準に基づいて、危険度の高い順に、カテゴリー A から C に分類されている。今回は、文献的に検討した。迅速検査法としては、スクリーニング的な市販の迅速キットとより精度の高い PCR 法が知られており、衛生研究所における主流は PCR 法である。カテゴリー A に分類されている感染症（病原体）をみると、炭疽（プライマー配布済み）、ペスト、出血熱に関しては、国立感染症研究所と地方衛生研究所で作成した「病原体検査マニュアル」に、標準検査法と共に PCR 検査に必要なプライマーの標準的なシーケンスが載せてあり、ボツリヌスについても市販のプライマーが入手可能であり、対応は各地研に任されている。また、野兔病についてもマニュアル作りが開始され、遺伝子検査に必要な情報は載せられる予定である。しかし、最も恐れられている天然痘ウイルスに関しては、遺伝子検査に必要な遺伝子情報が悪用を恐れ公表されておらず、簡単には入手できない状況にある。

天然痘ウイルスを除く病原体に対する標準検査用プライマーの情報は入手できるようになり、地方衛生研究所にとっては危機管理上大きな進捗であるが、陽性コントロールである適当な抗原（病原体）が入手できない場合が多く、実地の検証と技術訓練に関して課題を残している。

2. ウエストナイルウイルスおよび日本脳炎ウイルスに関しては、両ウイルスを同一のプライマーペアで検出することができ、かつ増幅された PCR 産物の大きさにより両ウイルスを判別できるプライマーペアを 2 種類作成することができた。

感染症研究所より分与された、ウエストナイルウイルス（g2266 株、FCG 株）、及び日本脳炎ウイルス（Beijing 株、JaGar 株）の感染力価に基づく希釈液を作成し、その希釈液に対する検出感度を調べたところ、図 1 に示すとおり  $10^1 \sim 10^2$  PFU/ml であった。

このプライマーに関しても、厳密に言えば今米  
 国で猛威をふるっているウエストナイルウイルス  
 を同じ感度で検出できるかは病原体の入手困難の  
 ため未検証であり、その努力を続けている。

今回、健康危機管理の観点から、事務局（分担  
 研究者：大阪市）において、本プライマーについ  
 て配布希望の機関を調査し、68機関に配布し、利  
 用に供した。

**D. 結論**

バイオテロに関する情報を広く検索したとこ  
 ろ、天然痘ウイルスを除く多くの病原体に対する  
 遺伝子検査用の情報は入手可能になっており、設  
 備と対応次第で地方衛生研究所の貢献できる道は  
 広がっている。また、日本脳炎ウイルスとウエ

ストナイルウイルスを PCR 産物の大きさによ  
 り判別できる有用なプライマーを開発したが、地  
 方衛生研究所においては、天然痘を含め話題に上  
 がっている多くの病原体の入手が困難であるため、  
 遺伝子検査用プライマーを用意しても技術の検証  
 はできないでいる。

**E. 健康危険情報**

なし。

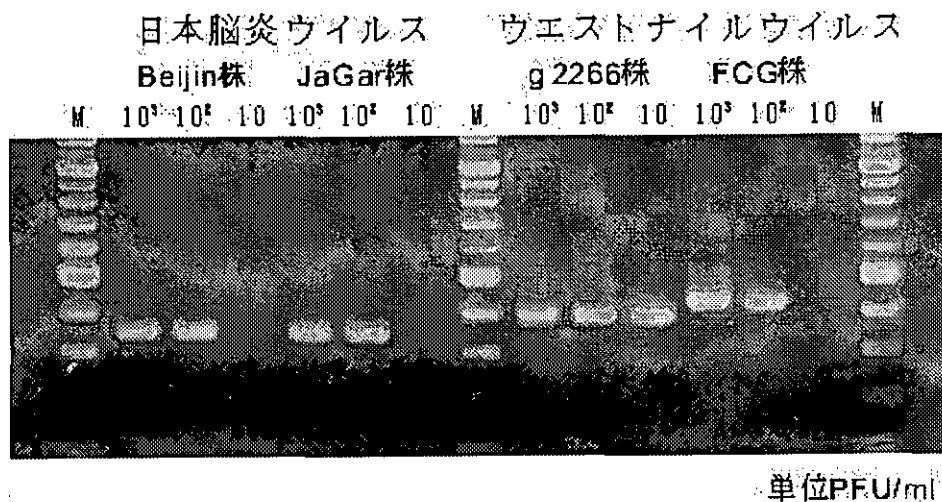
**F. 研究発表**

第 52 回日本ウイルス学会に発表予定

**G. 知的所有権の取得状況**

該当なし。

## 日本脳炎ウイルスとウエストナイルウイルスの検出



# バイオテロ危険度の分類(CDC)

## Category A

- Anthrax (*Bacillus anthracis*)
- Botulism (*Clostridium botulinum* toxin)
- Plague (*Yersinia pestis*)
- Smallpox (*variola major*)
- Tularemia (*Francisella tularensis*)
- Viral hemorrhagic fevers (filoviruses [e.g., Ebola, Marburg] and arenaviruses [e.g., Lassa, Machupo])

## Category B

- Brucellosis (*Brucella* species)
- Epsilon toxin of *Clostridium perfringens*
- Food safety threats (e.g., *Salmonella* species, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella*)
- Glanders (*Burkholderia mallei*)
- Melioidosis (*Burkholderia pseudomallei*)
- Psittacosis (*Chlamydia psittaci*)
- Q fever (*Coxiella burnetii*)
- Ricin toxin from *Ricinus communis* (castor beans)
- Staphylococcal enterotoxin B
- Typhus fever (*Rickettsia prowazekii*)
- Viral encephalitis (alphaviruses [e.g., Venezuelan equine encephalitis, eastern equine encephalitis, western equine encephalitis])
- Water safety threats (e.g., *Vibrio cholerae*, *Cryptosporidium parvum*)

## Category C

- Emerging infectious diseases such as Nipah virus and hantavirus

### Ⅲ 食品GLP体制アンケート調査

#### A. 研究目的

平成9年に地方衛生研究所等公的機関が実施する食品検査にGLPが導入され7年が経過し、定着し、充実してきた。それとともに、GLPを進める上での問題点などが明確になってきた。平成10～12年度の厚生科学研究において地研の共同研究として内部精度管理の実情や問題点が検討され地研の実情に応じた内部精度管理（案）が提案された。本研究は、信頼性の確保に視点を置き、各自治体の「信頼性確保部門の体制」、「内部点検」、「内部精度管理」、「外部精度管理」について各機関の状況や工夫している点などについてのアンケート調査を行うことにより、地研の実情を把握し、問題点の解決のための情報交換などを目的としている。

#### B. 研究方法

平成16年2月20日、地研協議会会員機関（76機関）の代表メールアドレスにアンケートを送り、メール等で回答を得た。

#### C. 結果

68機関から回答を得た（回収率89%）。主な項目の結果を以下に示す。

##### 1. 信頼性確保部門の設置について

地研単独（12機関、18%）、地研に自治体全体の信頼性確保部門を設置（16機関、21%）、自治体内各機関から信頼性確保部門指定職員を出して設置（10機関、15%）、本庁に設置（29機関、43%）、その他（1機関、1%）と、本庁に設置している自治体が多かった。信頼性確保部門体制についての問題点や改善点についての意見を表1に示した。

表1 信頼性確保部門体制について主な意見  
(組織及び検査部門との連携)

- 信頼性確保のためには検査部門との日常的な連携による評価が欠かせないが両部門の独立と連携との調和をどのようにはかるかが課題である。
- 食品検査を担当していない部門（疫学情報、環境など）が対応。
- 信頼性確保部門が本庁にあり検査部門との連携は難しい。

- 地研に信頼性確保部門担当者がいないので日常的な内部点検ができない。
  - 少ない検査員でいかに効率的にGLP運用していくかが課題である。
  - 専従職員の確保
  - 収去部門と検査部門の一部の職員が、お互いの信頼性確保部門として機能しているのが現状である。今後、信頼性確保部門を独立させる必要がある。
  - 日常的な内部点検の実施者は検査部門の責任者や検査区分責任者が実質的には行っている。それを信頼性確保部門責任者が定期的確認点検しているのが現状である。したがって、両部門の「連携・調和」は十分図れるが、その反面、両部門の「独立」性としては不十分である。
  - QAU責任者が当衛生環境研究所の次長であり、衛生環境研究所長が検査部門責任者であることから職務上QAU責任者の指摘事項等を部門責任者に納得させる等の課題がある。
  - 信頼性確保部門は、地研内部ではなく、外部（他局）に設置されているため、協議と調整を行うため、信頼性確保部門と検査部門の責任者で構成する「業務管理委員会（GLP委員会）」を設置し、年に複数回、GLP委員会を開催し、連携を図っている。
  - 信頼性確保部門が行政に置かれており、連携がスムーズでない面があるので、情報交換等を通じ連携強化を図る。
  - 地研独自で、信頼性確保部門を設置すべきである。
  - 地研に設置し、自治体全体を見られるような人事組織が必要である。
  - 現在、試験所内で組織の体制をとっているが、今後は、信頼性確保部門を独立して外部の所管へ移管した体制づくりが課題である。
- (専門性)
- 信頼性確保に関して専門的に従事できる人的な手当がなされる必要がある。
  - 信頼性確保部門の職員は理化学検査、微生物検査、動物を用いる検査のそれぞれに理解の深い職員が必要。
  - 信頼性確保部門責任者及び指定職員は、食品衛生業務や食品検査業務の従事経験者が望

ましく、そのための人事体制の構築が課題である。

○信頼性確保部門、検査部門共に人の異動が多く、エキスパートが育ちにくい。

○信頼性確保部門に検査業務経験者が配置されていないので、形式だけの評価になりやすい。また、検査部門との意志の疎通が十分に図れない。

(あり方)

○自治体内の GLP 対象機関の技術水準の標準化、精度向上のためのシステムづくり、そのために地研が主導的役割を果たすという位置づけが課題である。

○試料の採取の段階から始まり、検査値、測定値の報告までの各段階にわたることと、試料の保存、検査法、試薬など標準化の見直し、検査値、測定値による各種の数値的管理法を具体的な事例に基づき評価を目指す。

○不適事項確認の際の改善指導等、信頼性確保部門として GLP 業務を如何に適正に推進して行くかが課題である。

○検査等に係わる訴訟問題が発生したときに、どのような部分が問題点として指摘されるかという想定と現実の記録の煩雑さの間にギャップがあり、どのような形で運用することが証拠としての能力があるのかについて検査担当職員との間で十分協議されていない。

○検査結果の適正さを第三者に提示できるシステムとして運用していくためには、検査担当職員を教育するとともに、システムを検証することができる、専任のシステムが必要と思われる。

○信頼性を確保し、かつ検体に応じた GLP 対応について (GLP 対応を 2 ないし 3 段階に区分設定し、検体に応じて使い分ける等)、信頼性確保部門と調整することが課題である。

○組織が小さい場合のあり方はどうすべきか課題である。

○内部点検は、信頼性確保部門指定者と点検対象検査区分以外の責任者又は検査員でチームを編成し実施しているが、検査区分の職員が他の検査区分の活動状況を点検することにより、自区分の品質活動に参考となるような活動状況を把握することができ、有効な点検が行われていると考えています。

○食品検査に拘らず、全ての検査業務に GLP の導入を行っていくべきである。

## 2. 内部点検について

内部点検の状況についての主な記述を表 2 示した。

表 2 内部点検について主な意見

(実施)

○内部点検は年 1 回信頼性確保部門指定職員が各 SOP や報告書等の書類でチェックを行っている。

○点検回数を増やす。

○年間計画による内部点検に加え、検査結果に疑義が生じた場合はもちろんのこと、ボーダーラインの場合も、検査部門、本庁担当課、信頼性確保部門が情報を共有する体制を強化した。

○事前の連絡なしに不定期に実施するとか、実際の検査実施中に点検を行う等、より実効性のある点検の実施が必要である。

○内部点検に時間がかかる。点検頻度がどのくらいが適切か。

○信頼性確保部門の職員が兼務であるため、内部点検を頻繁に実施することは不可能であり、内部点検の一部については、検査機関同士の相互点検 (点検者は検査機関の職員) で代用している。

○信頼性確保部門が検査部門と離れているため、日常的な連携がとれない。

(内容)

○点検マニュアル内容の充実

○記録の定期点検。特に、検査に付随する洗浄、保管、試薬類の管理記録。検査野帳記載方法の改善。

○SOP の改訂作業や改訂された SOP への内部点検が必要である

○検査操作の点検を充実させる必要がある。

○実際の検査中に検査工程をチェックするのは難しい。

○計画に沿ったものだけでなく、検査結果までの手続で疑問が発生した場合は、随時実施。

○検査に関して試料採取、分析、成績書発行までの、一連の作業を通した点検実施が不十

分で課題としている。

- 検査室環境の整備の点検。
- 機器のメンテナンス費用が年々増大し確保に苦慮する。
- 施設や環境については改築等の予算の関係上、改善が困難である。
- 多額の予算を必要とする改善点については、早急な対策が出来ず問題がある。
- 近年の微生物検査は、PCRなどの遺伝子検査を行うことが多くなっているが、これに対応できるGLP体制をどう構築すればよいか困っている。(バイオハザードの問題などすべて予算に絡むため)
- 改善指摘事項のうち予算措置を伴うものは、本庁の担当部長宛その旨を報告し、改善を図る。
- 日常から検査担当者との会話の機会を多く設けて、検査状況の把握に努める。
- 内部点検実施時に、検査担当職員だけでなく、区分責任者に対して、GLPの必要性を認識させることにより事故の発生を未然に防止する。
- 毎年すべてを点検するのは業務量や時間などから難しい。

### 3. 内部精度管理について

内部精度管理については、地研が管理試料を調製し、自治体の全機関の内部精度管理を行っているところもあったが、信頼性確保部門による管理試料の調製の困難さや市販の管理試料への要望が述べられていた。内部精度管理についての意見を表3に示した。また、内部精度管理要領(案)の利用については、利用している(4機関、6%)一部変更して利用している(19機関、28%)、利用していない(42機関、62%)、記述なし(3機関、4%)であり、一部変更も含め約1/3の機関が利用していることがわかった。またそれ以外の大部分は機関はガイドライン法によっていた。

表3 内部精度管理について主な意見

(管理試料の調製)

- 陰性対照の入手が難しいものがある。(グレープフルーツの防カビ剤など)
- 固体に添加した場合の均一性。
- 真値を伏せた精度管理試料の作成について

は、信頼性確保部門が担当することが適当と思われるが、そのための設備もなく、人員も足りない。

- 検査担当者が作成
- コンタミの危険
- 病原菌(サルモネラ等)の標準株の入手が困難。
- 実施項目、実施頻度の増加(データ管理)
- 回収率70~120%が難しいものがある。
- ZスコアからXbar-R管理に変える。
- 微生物検査の精度管理では、評価方法が確立されていない。(実施)
- 内部精度管理を充実することにより精度の向上をはかることが課題。
- 労力を要する。人的手当を。
- 管理試料を地研で作成し、自治体内他機関に配布している。
- 外部精度管理との併用化
- 機器のメンテナンス費用が年々増大し確保に苦慮する。(その他)
- リファレンスマテリアルの入手が困難である。
- 市販管理試料についての情報を地研協議会などでとりあげてほしい。

### 4. 外部精度管理について

外部精度管理については、項目数の増加、実試料に近い形態、実施時期への要望など実施機関への要望が多く述べられていた。

表4 外部精度管理について主な意見

(要望)

- 項目の増加。
- 安価に提供できないか。
- 報告書を早く出してほしい。
- アンケート結果の還元。
- もう少し早期に次年度募集をしてほしい。(業務計画に間に合うように)。
- 年度当初から1回/2月ペースに改善できない
- 悪い結果の出た場合についての原因解明と対処法を提示してほしい。



(管理試料について)

- 実サンプルに近い形の試料提供をしてほしい。
- 標準品も同時に配布してほしい。
- 検体を充分量送ってほしい。
- 内部精度管理に利用できる管理試料の頒布の項目をもっと増やして欲しい。
- 混入菌を明らかにしない試料についても実施してはどうか。

#### D. 結論

アンケートの結果、食品検査のGLPは地研に定着しつつあるが、実効ある内部点検とその反映、精度管理用試料の調達などいくつかの問題点が明確になってきていることがわかった。また、外部精度管理についても、実施機関への要望が出された。

#### E. 健康危険情報

なし。

#### F. 研究発表

なし

#### G. 知的所有権の取得状況

なし。

研究要旨：平成15年度も前年度までと同様に「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」として

- 1) 研修情報システムとリファレンス情報データベースの作成、
- 2) 情報システム上での遠隔研修の検討、
- 3) 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、
- 4) IT技術の導入に関する検討、
- 5) 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の5課題について研究を実施した。

その結果、1)に関しては、前年度までの本研究で作成した入力様式に従い入力した愛知県衛生研究所及び神戸市環境保健研究所の食品中残留農薬検査データに加え、東京都立健康安全研究センター、大阪府立公衆衛生研究所、兵庫県立環境科学研究所のデータを加え、検査対象農薬、対象作物の国内産、外国産の区別、検査年、検出濃度等を情報として含む検査総数285,029件、検出農薬件数としては1,479件に及びデータベースを完成させ、最近の食品中残留農薬の検出状況、作物と農薬残留の関連等を明らかにした。この情報データベースは地方衛生研究所(地研)ホームページの健康危機管理情報コーナーに平成15年度末に掲載した。

2)に関しては、原虫性下痢症による健康危機管理に備えた遠隔研修を、ビジュアルで詳細な検査手引書を地研ホームページに掲載して実施することを目的として、昨年度までの本研究で、検査時の同定・鑑別に有用となるように厳選した多数の写真等を用いた手引書の原案を作成した。本年度の研究では、検査試薬、器材、検査工程の写真を新たに撮影すると共に、写真の解像度の調節、利便性の改良などを加え、平成16年1月末には約10日間一時的に地研ホームページにアップロードし、広く全国的に地研関係者からの意見を求め最終的な改定を行ない、平成16年3月末には地研ホームページに相談可能な専門家リストと共に掲載し、情報システム上での遠隔研修を実施可能とした。

3)に関しては、前年度までと同様に平成11年度に全国の保健所に緊急配備された“毒劇物スクリーニング検査用簡易キット”に関する「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」として、毒劇物の検査体制についてのアンケート調査を全国の地研を対象に実施すると共に、本研究により実施・検証した“簡易キット”の特性を考慮した検査マニュアルを作成し、そのマニュアルを用いた実習、研修を県内の保健所検査担当者を対象として実施し、健康危機管理時の毒劇物検査技術の向上及び連携の強化を図った。

4)に関しては、化学物質による健康危機発生時に地研に求められる原因究明に関連した情報交換のためのメーリングリストの利用状況と現場担当者の要望について全国の地研を対象にアンケート調査を実施し、メーリングリストの有用性、運用のあり方について検討した。アンケート調査の結果明らかとなった26の全メーリングリストについて、その概要、管理者、入会資格等を調査した結果、地研の研究者が利用可能なメーリングリストは12種類存在することが判明したので、その一覧をHTMLファイルに変換し、地研ホームページに平成15年度末に掲載した。

5)に関しては、全国の地研におけるエンテロウイルス(EV)の迅速同定を支援する目的で、i)前年度までの本研究で報告している一本鎖高次構造多型(SSCP)解析を用いたEVの同定作業緩和効率の検証を、秋田県で平成15年度に分離された49株、及び、平成10～15年度の保存株471株を用いて行なった。その結果、全ての株を中和試験で同定した場合と比較すると全体では4.8倍となり、前年度までの結果と総合すると一般的には日常的なサーベイランスにおいて約5倍の同定効率が得られることが再確認された。一方、平成14年度のエコー13型による無菌性髄膜炎の流行時には、十倍から数十倍の同定効率が得られるなど、同一血清型が多数分離された場合には、その同定効率は顕著に向上することが確認された。また、従来の個別来訪研修に加え、今年度は東海北陸地域の8地研の担当者を対象としてSSCP解析研修を実施し、同検査法の普及を図った。

ii)EVの遺伝子塩基配列の決定による血清型別分類の検討及びその普及に関する研究を実施しているが、本年度は、本研究で作成したデータベース、解析ソフトの入手法及び本研究で作成した日本語版ソフトを前年度配布した全国13の地研で実際に本検査法を実施した結果を集計解析した。その結果、全検体134件のうち43件は中和試験では同定不能であったが、本法での同定を試みたこれら43件を含む49件は全株が同定可能であったばかりでなく、同定までに要した時間も培養により多量なウイルスを必要とする中和法が平均21.3日であったのに対し少量のウイルスで同定可能な本法では平均3.3日(シーケンスを外部委託した一機関を除く)と有意に短時間に同定がなされており、本法の有用性が確認された。

研究協力者

鈴木紀行 秋田県衛生科学研究所 所長  
丹野瑛喜子 埼玉県衛生研究所 所長  
伊藤正寛 神戸市環境保健研究所 所長  
関 龍太郎 島根県保健環境科学研究所 所長  
鈴木 泉 宮崎県衛生環境研究所 所長

A. 研究目的：

1. 様々な技術レベルを持つ全国の地研が健康危機管理に直面した場合、可能な限り多数の地研で迅速かつ信頼性の高い試験検査結果の提供が可能となることを目的として、「健康危機管理のための試験検査技術の充実・普及」を図るため、試験検査技術の充実・普及、遠隔研修方法の確立、及び研修支援システムの構築を目指して今年度も引き続き研究を実施した。

(課題1)では、健康危機管理に不可欠な平時における食品中の農薬検出に関する情報を全国の地研でも独自に加工・利用可能なリファレンス情報データベースとして作成・公表すること、(課題2)では、全国の地研を対象とした情報システム上での遠隔研修を可能とするため、原虫性下痢症の病原体の検出検査法に関する検査手引き書を作成し、専門家リストと共に地研全国協議会のホームページ(以下、地研ホームページ)に掲載とすること。さらに、(課題3)では、平成11年に厚生労働省から全国の保健所に緊急配備された“スクリーニング用毒劇薬検査キット”の特性を検討し、健康危機の発生現場で業務にあたる保健所と地研が同キットを含めた簡易検査キットの特性の検討により、試験検査技術の向上を図るための連携について検討を加える。

(課題4)では、IT技術の導入に関する検討として、「健康危機管理のための試験検査技術の充実・普及」のうち特に化学物質の検査に関して、ITを利用した検査技術情報の獲得及び専門家へのアクセス等について最適の方法に関して検討を加える。さらに、(課題5)では、エンテロウイルスの迅速同定検査法として、(課題5-1)一本鎖高次構造多型(SSCP)解析と呼ばれる新たな検査法の有用性の再確認及び同法の普及、(課題5-2)遺伝子の塩基配列を用いた同定法の検討、及び同法を用いた全国の地研に対する同定支援及び同法の普及など「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」を実施している。

B. 研究方法：

(課題1) 研修情報システムとリファレンス情報データベースの作成

研究協力者：  
神戸市環境保健研究所 伊藤正寛 所長  
同 田中敏嗣、貫名正文、小松 均  
愛知県衛生研究所 斎藤 勲、山本 功、  
櫻井博貴、松本 浩

前年度までの本研究で作成した入力様式に従い、Windows 対応のデータベースソフト「アクセス」に、既に入力済みの愛知県

衛生研究所及び神戸市環境保健研究所の食品中残留農薬検査データに加え、データベースとして20万件ほどの件数を目標として、東京都立健康安全研究センター、大阪府立公衆衛生研究所、兵庫県立環境科学研究センターのデータを加え、データベースとして完成させることを目標とする。また、リファレンス情報として有効に活用できるような方策を検討、データベースの開示を行なうことを目標とする。

(課題2) 情報システム上での遠隔研修の検討

研究協力者：  
埼玉県衛生研究所 丹野瑛喜子 所長  
同 山本徳栄

本年度は、昨年度の本研究で作成した原虫性下痢症検査手引書の原案に、検査試薬、器材、検査工程の写真を撮影して加えると共に、写真の解像度の調節、利便性の改良などを加え、手順書を完成させることを目標とする。また、最終的に地研ホームページに掲載する前に、一時的にアップロードし、広く地研関係者からの意見・要望を求め、これらに対応した形で最終的検査手引き書を完成させ、相談可能な専門家リストを加えて地研ホームページに掲載し、情報システム上での遠隔研修を実施可能とすることを目標とする。

(課題3) 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：  
島根県保健環境科学研究所  
関 龍太郎 所長  
同 犬山義晴、岸 亮子、糸川浩司

1). 全国の地研を対象に毒劇物簡易検査キット及び毒劇物迅速検査に関するアンケート調査を実施し、使用実態、緊急時の連携体制等を調査した。また、2). 簡易検査キットの検証として、過去に毒劇物が混入されたことのある清涼飲料(お茶、コーヒー、ジュース等)やカレー等の食品に、今年度は既知量のシアン、有機リン系農薬を添加し、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分析を実施した。それに、3). 簡易検査キットについての検査マニュアルを作成し、保健所担当者を対象にマニュアルを用いた実地研修を実施し、健康危機管理時の毒劇物検査技術の向上及び連携の強化を図った。

(課題4) IT技術の導入に関する検討

研究協力者：

宮崎県衛生環境研究所

鈴木 泉 所長

同 岩城詩子

化学物質による健康危機発生時に地研に求められる原因究明に関連した情報交換のため、IT技術の一つであるメーリングリストの利用状況等についてアンケート調査を実施し、全国の地研における現状把握を実施し、メーリングリストの有用性、運用のあり方について検討した。アンケート調査の結果明らかとなった26の全メーリングリストの概要、管理者、入会資格等を調査した。地研におけるメーリングリストに関する認識度、利用度等に関して大きな差が判明したことから、それぞれの地研における必要度、利用度に応じた参加、利用が可能となるよう、その一覧をHTMファイルに変換し、地研ホームページに平成15年度末に掲載した。

(課題5) 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

(課題5-1) 一本鎖高次構造多型 (SSCP) 解析による同定支援法の開発

研究協力者：

秋田県衛生科学研究所 鈴木紀行 所長  
同 齋藤博之

(課題5-2) 遺伝子の塩基配列を用いたエンテロウイルスの同定支援に関する研究

研究協力者：

愛知県衛生研究所 榮 賢司、藤浦 明、  
山下 照夫、椛島由佳

(課題5-1) では、一本鎖高次構造多型 (SSCP) 解析を用いたエンテロウイルス (EV) の同定効率向上に関して、今年度は秋田県で平成15年度に分離された49株及び過去6年間 (平成10~15年度) の保存株471株を用いて再検証を実施した。

(課題5-2) では、昨年度までの本研究で構築したEVの遺伝子塩基配列データベース及び解析用ソフトの入手方法、それに本研究で作成した日本語版マニュアルを配布した13地研を対象に、実際に遺伝子解析による同定を実施した結果を調査し、同法の有効性を検証した。過去の研究報告書でも述べているが、(課題5-1) の研究の骨子は、中和試験そのものを廃止するもの、廃止可能とするものではなく、中和試験にかかる手間と時間を大幅に軽減させることにより、「健康危機管理のための試験検査技術の充実・普及」として迅速同定を図るものである。それはEV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大した困難を生じることはないことによる。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%同一で、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EVの遺伝子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ことから、本研究においても当該プライマーを使用することとした。

(課題5-2) では、遺伝子の塩基配列を用いたエンテロウイルスの同定法の普及に応募した13地研に対し、同定結果、従来法と比較した迅速性、利便性、問題点などをアンケート調査し、同法の信頼性、利便性、迅速性等を確認すると共に、本法を用いる同定法がどの程度の地研で実際に実施された、または、実施可能となったかを確認した。また、ウイルスキャプシド領域のうちVP1領域、VP0領域 (含VP4全領域とVP2の約1/3の領域) 及びVP4領域のいずれの領域を用いた解析が最も信頼性が高いかについてもアンケート調査の結果から検討を加えた。

## C&D. 研究結果及び考察

(課題1) 研修情報システムとリファレンス情報データベースの作成

今年度新たに東京都立健康安全研究センター (66,411件)、大阪府立公衆衛生研究所 (37,668件)、兵庫県立健康環境科学研究所 (83,490件) の平成13、14年度の日常業務における残留農薬検査データを入力した。その結果、前年度及び今年度に入力した愛知県衛生研究所 (89,990件) 及び神戸市環境保健研究所 (7,470件) のデータと合わせると、総計285,029件の検査データベースが作成された。大阪府、神戸市のデータは国立医薬品食品衛生研究所の汚染物モニタリング調査のエクセル入力方式で入力されていたデータが愛知衛研に送付され、愛知衛研で検体番号、検体名、採取年度、輸入・国産の別、検査 (検出) 農薬名、検出濃度のデータを選択してアクセスのデータベースに入力した。また、東京都、兵庫県のデータは検出事例の一覧表で送付されてきたので、上記と同様のエクセルの表に変更し、アクセスに入力した。そして、入力されたアクセスデータベースを用いて、検出農薬、濃度、食品群との関係などを検索した。その結果、総分析件数 (285,029件) に対する検出農薬件数の割合は0.52%、また、総検体 (2012件) あたりの農薬検出率は38.9%で、国内産検体では41.4%、輸入品検体では36.2%の検出率であった。また、もっとも高頻度に検出されたのは防カビ剤であるイマザリルで計90回 (全てが外国産物から)、次いで、クロルピリホスが計80回 (国内産から15回、外国産から65回)、イプロジオンが計77回 (国内産から45回、外国産から32回) などであった。

検出された農薬のうち食品衛生法で基準が設定されている農薬が67%を占めていたが、残り33%には農薬取締法の登録保

留基準として規定されているが、食品衛生法上は当該農産物には基準値が設定されていない農薬や、一部には農薬取締法の適用作物ではない作物への残留事例も見られた。

しかしながら、検出された農薬の残留濃度は、食品衛生法の残留基準値との比較では、一部に基準値を超える検体もあったが、残留濃度の中央値は基準値の2.8%と、残留はしていたものの概ね低い濃度であった。

検出頻度の高い農薬と作物との関連では、オレンジなどの輸入柑橘類ではポストハーベストで使用されるイマザリル、チアベンダゾールの他、輸入冷凍ほうれん草で問題となったクロルピリホス等の検出頻度が高かった。具体例としては、キュウリではプロシミドン、クロルフェナピル、ほうれん草ではシペルメトリン、キャベツではアセフェートとその分解物であるメタミドホス、ピーマンではプロシミドン、クロルフェナピルの検出頻度が高かった。また、果実では、リンゴでカルバリル、キャプタン、プロパルギトの検出頻度が高く、梨では平成14年度無登録農薬として社会的にもその使用が問題となったダイホルタンは検出されなかったが、類似構造のキャプタンやシペルメトリン、カルバリル、プロモプロピレート等の検出頻度が高かった。検出濃度に関しては、パセリ、シソ、コマツナ等葉菜類やマイナー作物と呼ばれる作物で高濃度残留が見られた。

今回完成したデータベースの検索から、検出された農薬総数は115農薬で、5回以上検出された農薬は56種類であった。現在農薬として登録使用されている数は500を超えるといわれているが、実際に使用され検出される農薬は限られており、作物と検出農薬の関連などを考慮することにより有効かつ効率的な検査法を確立できるものと思われる。

本研究において5ヶ所の衛生研究所が保有する残留農薬データを集計し、入力処理を行なう上で問題となったのは、①多数の入力処理データを想定してアクセスで処理を行なったが、最高値、最低値、平均値については通常の処理で計算可能であるが、農薬のように残留濃度が大きく異なる集団ではその評価に中央値が必要となるが、アクセスでは計算不能である。したがって、中央値の算出にはエクセルを使用した。また、集計したデータは各地研にはエクセルのファイルとして返送した。②入力項目をデータのプライバシーなどを考慮して最小限の入力項目としたが、農薬名が和名と英名の混在など今後入力データの統一を図る必要があった。

今回集計して得られた残留農薬のデータの概要は、地研ホームページの健康危機管理情報の欄に掲載し、健康危機事例発生時のリファレンスデータやポジティブリストに向け大きく変化する食品中残留農薬規制に迅速に対応する情報として有効活用可能なシステムを構築していく計画である。

## (課題2) 情報システム上での遠隔研修の検討

### 1. 原虫類の写真撮影と画像の加工

各種原虫類について、生鮮、固定標本、染色標本などの写真を新たにデジタルカメラで撮影し、また、既に有するスライドや写真は、デジタル化するためにスキャナーを用いてパソコンに取り込み、解像度を下げるなど加工した。多数の写真の中から検査時の同定・鑑別に有用と考えられる赤痢アメーバ39枚、ジアルジア33枚、クリプトスポリジウム32枚、その他の原虫類の写真54枚をビジュアルで詳細な検査手引書用写真として最終的に厳選した。

### 2. 試薬、器材、検査工程の撮影と画像の加工

原虫類の各種染色キットなど市販の製品を撮影し、その構成や検査方法、特徴などをまとめた。また、器材や検査工程の写真も撮影し、解像度を下げるなど加工を施した。

### 3. ホームページビルダーV7.0による検査手引書の作成

原虫類は13種類について解説を載せ、そのうち10種類については複数の写真を掲載した。カラーアトラスはサムネールまたはポップアップにして、拡大可能となるよう工夫を加えた。また、それぞれの検査方法は相互にリンクを張るなどの工夫を施した。このサイトはファイル数50枚、原虫の写真158枚、試薬、器材、検査工程の写真178枚によって構成され、ビジュアルで詳細な検査手引書となっている。

### 4. 地方衛生研究所全国協議会保健情報疫学部会の承認

地研全国協議会のホームページに本コンテンツを掲載するために、仮にアップロードを実施すると共に、地研全国協議会保健情報疫学部会に申請書を提出し、承認を得た。

### 5. クリプトスポリジウムの塩基配列の解析

ネコ由来のオーシスト7検体についてDNAを抽出し、塩基配列を解析した。18SrRNA: 18S ribosomal RNAをターゲットとするプライマー18SiF, 18SiR (Morgan *et al.*, 1997)を用い、約300bpのPCR産物についてダイレクトシークエンス法を行なった。そして、これまでに集積した21検体について、GENETYX-WIN Ver. 5 (ソフトウェア開発(株))を用いて相同性を検討し、ヒト株間では99.6%~86.1%の相同性が、また、ヒト-ネコ株間でも

98.8%~84.1%の相同性が存在し、特にネコ由来株と相同性が高かったヒト由来株一株はそのシーケンス解析により、ヒト由来のC. felisであることが確認された。このようなクリプトスポリジウムの遺伝子塩基の解析は感染ルートの解明に重要であることから、基礎的データとして今後も活用可能なものと考えられる。

## 6. 専門家とのネットワークの構築

この検査手引書を参考とした検査の迅速化、検査体制・検査内容の正確化にも限界があると考えられることから、不明な点がある場合に専門家の意見が求められるようにネットワークを構築した。原虫検査・疾患等に造詣の深い大学の研究者、臨床家を含む7名の同意を得、健康危機管理時に適切なアドバイスが得られる研究者として、この検査手引書の中に氏名及び連絡先のリストを掲載した。なお、このリストの閲覧にはパスワードを要求するようにし、専門家に多大な負荷がかからないように配慮した。

(課題3) 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

### 1. アンケート調査

平成15年6月13日付で全国の74地研に対して、“毒劇物簡易検査キット”および毒劇物迅速検査に関するアンケート調査をメールにて実施し、4保健所を含む57機関から回答が得られた。その結果、既に使用経験「あり」の機関が35.1% (20機関)、「なし」の機関が47.7%であった。また、今後の補充の予定については、「なし」の機関が35.1%存在していた。検査キットの使用法等についての研修の要望は「あり」の機関が29.8% (17機関) で、そのほとんど (14/17機関) が地研での研修、特に検査実習研修を希望していた。

### 2. 簡易検査キットの検証

過去に劇毒物混入の事例発生のある清涼飲料 (お茶、コーヒー、ジュース等)、カレー等の食品に既知量の有害化学物質 (シアン、有機リン系農薬) を添加して、保健所配備の簡易検査キットまたは市販の水質検査キットでの分析を実施した。

#### 1) 検体の作成

市販のウーロン茶、コーラ、グレープジュース、ミルクコーヒー、ポタージュース、みそ汁および緑茶に、有害化学物質 (KCN、スミチオン乳剤) が既知濃度となるように溶解した。

#### 2) 簡易検査キットは次のものを使用した。

パックテスト 遊離シアン  
メルコクアント シアン化物テスト  
Agri-Screen AT-10 (または25) Kit

結果:

#### i) シアン検査

1) メルコクアント シアン化物イオン

## テスト

このキットの測定範囲は1~30 ppmであった。添付の容器に検体を入れ、pHを調整後、試薬1 (第三リン酸)、試薬2 (ピリジン) を入れ、試験紙を30秒間浸し、検体から出したら直ちに (10秒以内に) 濃度の判定をするようになっていた。

吐瀉物を除き、清涼飲料水、牛乳、ミルク、コーヒー、みそ汁などでは、濃度 (計算値)

1 ppmの検体では判定が困難であったが、pHの調節 (pH6~7) と100倍以上の希釈により判定可能であった。ただ、10秒、30秒という操作時間の区切りから、一人で複数検体を処理することは非常に困難だと考えられた。

## 2 簡易水質分析製品 パックテスト

遊離シアン0~2ppmの判定ができることになっている。コーラや烏龍茶などの色の濃い検体では、100倍以上の希釈により、高感度な測定が可能であった。前出メルコクアントでは判別困難であった計算値1 ppmの検体でも、パックテストでは鮮やかな青色を呈し容易に判定できた。

添付の容器があり、複数の検体を測定する際は、共洗いしながら連続的に測定するようになっているが、実験室の小試験管で十分に代用可能であり、複数検体の同時測定にも向いていた。

一般に、パックテストは取り扱いが簡便で安価なことから、初心者にも使いやすい。また、水質検査においては、現場で測定値が判定できて目安になりうる点から汎用されている。昨年度検討したヒ素のパックテストでは、食品中に添加したヒ素の計算値と一致するデータを得ることはできなかったが、遊離シアンの検出に関しては、パックテストは非常に使いやすく、かつ、検査の信頼性も高いと考えられた。

## ii) コリンエステラーゼ阻害剤検出キット : Agri-Screen AT-10

このキットは、2%臭素水をアクティベーターとした酵素反応により、主に有機リン系・カーバメイト系農薬を定性的に判定するものである (陰性対照存在下5ppm以上から検出)。一般に市販されている農薬には乳化剤が含まれおり、1000ppm程度の濃度になると食品は白濁し独特の臭気を発した。陽性対照であるスミチオン溶液では0.5ppmまで検出できたが、牛乳、コーンポタージュなど希釈した検体では100ppm以上でも陰性を示した。前処理として希釈だけでは測定が難しく、特に固形食品・半固形食品の場合、感度をよくするためには何らかの抽出操作が必要と考えられた。

## 3. 保健所職員を対象とした簡易検査キットの作成及び研修の実施

上記データ及び過去2年間の本研究成果を基に簡易検査キットについて検査マニュアル (部分) を作成し、島根県内の保健所検査担当者を対象に実習も含めた研修を実施した。

#### (課題4) IT技術の導入に関する検討

健康危機発生時に原因究明へ向けて地研で行なう化学物質の試験検査に関する情報交換において、IT技術の一つであるメーリングリスト(ML)の地研における利用の現状と要望に関してアンケート調査を実施し、既存で有用なMLを明らかにするとともに、MLを用いた情報交換・収集システムのあり方について検討を加えた。

#### 1. アンケート調査の実施

全国76地研の化学分析実務担当者を対象に、平成15年11月26日から12月22日にかけて調査票を郵送し、66機関(87%)から回答が得られた。

その結果、(1)情報交換方法については(複数回答)、「会議や研修に参加する」が最も多く全体の94%、次いで、「電話」85%、「ホームページ」61%、「メール」58%、「ファクシミリ」48%などで、「ML」は35%の6位であった。しかしながら、(2)MLには「参加している」が60%と過半数を超えていた。(3)ML不参加の理由(複数回答)については不参加機関の54%から回答があり、その結果、「必要を感じないから」が全体の21%、「職場に電子メールやインターネットのできる環境が整っていないから」が21%で、「面識のない人とやり取りするには不安があるから」7%、「その他」50%であった。「その他」の中で最も多かったものは、「有用なMLに関する情報が少ないため」で全体の71%であった。また、(4)参加しているMLについては、①参加しているMLの数は、1種類に参加が全体の66%で最も多く、2種類に参加が21%と、ほとんどの機関が1~2種類のMLに加入していた。

②参加しているMLのタイトルとしては総計26種類であったが、このうち地域に限定されているMLが7種類あった。

③MLに参加した目的は、「情報交換」が全体の53%、「情報収集」41%、「危機管理のため」3%、「連絡のため」3%であった。

④MLの利用状況は、「毎日利用」が全体の38%で最も多く、「月に1回」25%、「ほとんどなし」19%、「週に1回」14%であった。

⑤参加しているMLへの満足度は、「満足」が全体の45%、「やや満足」33%、「やや不満足」14%、「不満足」2%と、既存のMLに約8割の機関が満足していることが判明した。

⑥参加しているMLに対する要望は、「フリーメール利用のためCM情報が多く読みづらい。CM情報を減らして欲しい」、「参加者が少なく情報交換があまりないため参加者を増やして欲しい」、「参加者名簿が更新されていないので定期的な確認調査を実施して欲しい」などがあげられた。

#### 2. MLに関する調査

調査票に記載のあった26種類のタイトルのMLを調査した結果、4種類はメールマガジンであった。残る22種類のうち現在の運用が不明確なものが3種類、また、参加者の地域を限定しているものが7種類あった。全国的に参加できるMLは12種類で、このうち入会資格を問わないMLは2種類、入会資格を規定しているMLでは、地研等の職員4種類、学会員2種類、分析・研究者4種類であった。

以上のことから、地研の化学検査担当者における情報交換の現状としては、主として実際に会って情報交換できる「会議や研修」を利用しており、「ML」によるものは35%であった。MLに参加(60%)していても情報交換としては使用していない機関が6割を超え、現在のところ情報交換の方法としてMLはあまり活用されていないことが判明した。MLに参加していない理由として、MLに関する情報が少ないため、どんなMLにどのように参加すればよいかわからないといった回答が寄せられていた。一方、MLに参加している機関では、情報交換と収集のために1~2種類のMLに参加しており、全体の約4割で毎日利用しているが、あまり利用していない機関も4割を占めていた。このことから、MLに参加してはいるが、参加者が少なく情報交換のできる機会の少ないため、MLが活発に利用されていないことが判明した。ML活性化の一つの方策として、現場情報を持つ地研の研究者の参加が重要であると思われる。

#### 3. HTMLファイル作成

調査票から、地研の研究者が利用可能な12種類のMLが判明したので、これら12種類のMLについて、そのタイトル、概要、管理者、入会資格、入会方法等を調査した。その結果をまとめ、地研の研究者がこれらのMLに参加しやすいよう一覧表を作成した上で、HPなどで公開できるようにHTMLファイルを作成した。これら12種類のMLには、個人で運用されているものや、公的に運用されているものの管理者や予算の問題などから今後の継続が困難と考えられるものも存在したことから、公的かつ継続的に運用可能なMLが必要と考えられた。

#### 4. 考察

地研の化学分析実務者においては、MLをうまく活用することができれば、迅速な情報交換が可能であろうことは認識しているが、MLに関する情報不足から、どんなMLにどのように参加すればよいかわからないという現状が明らかとなった。また、MLを活用している実務者も、参加者が少ないことからML内での情報交換が活発でなく、MLを有効に利用できていないと考えていることが判明した。これらのことから、有用な情報を持つ参加者を増やし、既存のMLを活性化することが必要であると考え、調査から得られた12種類の関連ML

について、そのタイトル、概要、管理者、入会資格、入会方法などを記載した一覧表を HTM ファイルに変換し、HP などで紹介可能な型で作成した。今後は、この関連 ML 一覧を地研ホームページに掲載し、地研分析実務者のこれら ML への参加と活用を促進し、既存 ML を活性化し、迅速な情報交換を行なえる体制を構築することとする。また、公的で継続的な ML として、現在、厚生労働科学研究の分担研究「健康危機管理情報ネットワーク構築に関する研究」（分担研究者：金田麻里子東京都健康安全研究センター所長）の一環として東京都健康安全研究センターで平成 15 年度末に運用が開始された「理化学分野の ML」にその役割を担ってもらうことが可能と考えられる。また、ML の運用に際しては、今回の調査結果を踏まえ、より多くの研究者が参加可能となるよう ML の目的や入会方法などをホームページなどで明確に提供し、交換・提供される情報内容については定期的に管理していくことが重要と考えられる。また、調査時に「電子メールやインターネットを使用できる環境がない」と回答のあった地研も 6 機関あったが、電子メールやインターネットによる情報交換と収集は、今後地研において試験検査を実施していく上で必須になると思われるので、早急な環境整備が強く望まれる。

#### （課題 5）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

##### 課題 5-1) 一本鎖高次構造多型 (SSCP) 解析による同定支援法の開発

平成 15 年度に秋田県で分離された 49 株につ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 3.3 倍となった。また、過去の保存株を用いて 6 年間 (平成 10～15 年度: 471 株) の同定効率を検討したところ 4.8 倍となり、日常的なサーベイランス業務においては各年とも 5 倍程度の同定効率が期待できる手法と考えられた。個別の流行株に着目すると、平成 14 年度の Echo13 による無菌性髄膜炎流行事例のように大規模な流行時には、同定効率が十～数十倍と大きく向上することが確認され、少ない労力で多くの分離株を同定できることになり、危機管理局面においても本法が有用であると考えられた。また、本法は簡便ではあるものの独特の手技が含まれるため、いわゆる文章によるマニュアルでは普及に限界があると考えられたため、8 機関からウイルス担当者を集めて技術研修を実施し、本法の普及を図った。

##### （課題 5-2）遺伝子の塩基配列を用いたエンテロウイルス (EV) の同定支援に関する研究

昨年度応募した全国 13 の地研で実際に本法を用いた EV の同定を実施してもらい、その結果を調査し、検査の信頼性、迅速性、利便性、問題点などについて従来法

と比較検討した。また、VP4 領域、VP0 領域、および VP1 領域をプライマーとして使用した場合の解析評価も実施した。その結果、これら 13 地研で手足口病から分離され、同定に供された株数は 134 株で、このうち 43 株は中和法では同定不能であった。これに対し、遺伝子の塩基配列を用いた本法による同定では、同定が試みられたこれら 43 株を含む 49 株全株が同定された。この結果から、本法は中和試験法より優れた同定法であることが示唆されただけでなく、従来の中和試験法による同定不能株が増加している現状での健康危機管理時の検査法としても非常に有用なものであることが強く示唆された。また、同定までの時間としては、培養により多量なウイルスを増殖させる必要がある中和法が平均 21.3 日であったのに対し、少量のウイルスで同定可能な本法では平均 3.3 日 (シークエンスを外部委託した一機関を除く) と、約 1/7 と大きく短縮され、同法の優位性が示された。プライマーとして使用した領域は VP1 領域が 6 機関、VP0 領域が 4 機関、VP4 領域が 2 機関であり、使用しやすかった領域としてもこの順序であったとの報告がなされていた。さらに、これらの機関 (10 機関) では同法を手足口病以外の EV の同定にも既に使用しており、同法の普及が確実に進んでいることが確認された。

#### E. 結論

##### （課題 1）研修情報システムとリファレンス情報データベースの作成

リファレンス情報データベースとして検査総数 285, 029 件、検出農薬件数としては 1, 479 件に及ぶデータベースを完成させ、地研ホームページに平成 15 年度末に掲載した。

##### （課題 2）情報システム上での遠隔研修の検討

原虫性下痢症の検査手順書として、ファイル数 50 枚、原虫の写真 158 枚、試薬、器材、検査工程の写真 178 枚によって構成されるビジュアルで詳細な検査手引書を完成し、地研ホームページに掲載し、遠隔自己研修を可能なものとした。

##### （課題 3）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

“毒劇物簡易検査キット”を検証し、その結果を基に検査マニュアルを作成し、保健所と地研の健康危機管理時のキットを用いた検査技術の向上及び連携の強化を図った。

##### （課題 4）IT 技術の導入に関する検討

化学物質検査に関わる情報入手に関連してメーリングリストの利用状況を調査し、その結果に基づき地研の研究者が利用可能なメーリングリスト一覧を HTM ファイルに変換し、地研ホームページに平成 15 年度末



に掲載した。

(課題5) 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

課題5-1) 一本鎖高次構造多型(SSCP)解析による同定支援法の開発

SSCP解析により、手足口病の病原体となるエンテロウイルスの同定が正確になされること、及び、中和試験を全検体に対して実施した場合と比較し、通常のサーベイランス時においては約5倍程度の、流行時には10倍以上の同定効率が得られることが明らかとなった。平常時の検査のみならず流行状況の早期把握を通して危機管理に役立つと考えられるSSCP解析法の普及を図るため、東海北陸地区8衛研を対象に技術研修会を実施した。

(課題5-2) 遺伝子の塩基配列を用いたエンテロウイルス(EV)の同定支援に関する研究

昨年度応募した全国13地研で手足口病から分離され、同定に供された134株のうち43株は中和法では同定不能であった。これに対し、遺伝子の塩基配列を用いた本法では、同定が試みられたこれら43株を含む49株全株が多量のウイルスを必要とする中和法の平均21.3日に対し約1/7の平均3.3日の速さで同定され、本法の優位性が示唆された。また、従来の中和試験法による同定不能株が増加している現在、健康危機管理時の検査法としても非常に有用だと考えられた。

F. 健康危機情報：  
なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

山本徳栄、他：水試料に添加したクリプトスポリジウムのオーシストの回収率についての検討。埼玉県衛生研究所報 No. 35, 70-75, 2001 (課題2)

斎藤博之、安部真理子、原田誠三郎、鈴木紀行：A群コクサッキーウイルス4型の流行。病原微生物検出情報、Vol.24、No.9、22-23、2003 (課題5-1)

### 2. 学会発表

斎藤利和、小山雅也、山本徳栄：埼玉県内における犬、猫に関する寄生虫の保有状況 切第2報 切。第3回埼玉県健康福祉研究発表会。2002. 3. 15. (課題2)

斎藤利和、板屋民子、山本徳栄、砂押克彦、高柳保、山口正則：埼玉県内における犬、猫に関する寄生虫の保有状況 切第3報 切。第4回埼玉県健康福祉研究発表会。2003. 3. 11. (課題2)

前野直弘、藤原二郎、大畑佳代子、小山雅也、町田敏治、深井正之、板屋民子、篠宮哲彦、大澤浩、川田廣、名雪博二、山本徳栄、山口正則：埼玉県内全域における犬、猫に関する寄生虫の保有状況 切第1報 切。第5回埼玉県健康福祉研究発表会。2004. 3. 19. (課題2)

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. (課題5-1)

斎藤博之、安部真理子、佐藤宏康：SSCP解析による病原体サーベイランス検査の効率化。第43回日本臨床ウイルス学会、2002、秋田(課題5-1)

斎藤博之、安部真理子、佐藤宏康：SSCP解析によるエンテロウイルス同定の効率化。第56回日本細菌学会東北支部総会、2002、盛岡(課題5-1)

斎藤博之、安部真理子、佐藤宏康：SSCP解析による平成13年度エンテロウイルス流行状況の検討。第50回日本ウイルス学会学術集会、2002、札幌(課題5-1)

斎藤博之、安部真理子、佐藤宏康、原田誠三郎：平成14年度のエンテロウイルス流行状況とSSCP解析による同定の効率化。第57回日本細菌学会東北支部総会、2003、秋田(課題5-1)

斎藤博之、安部真理子、佐藤宏康：SSCP解析によるエンテロウイルス同定支援法の過去5年間の総括。第51回日本ウイルス学会学術集会、2003、京都(課題5-1)

H. 知的所有権の出願・登録状況：  
なし。

## 平成15年度研究報告書

地方衛生研究所の地域における健康危機管理のあり方に関する研究

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

1. 健康危機管理のための研修情報システムとリファレンス情報データベースの作成

協力研究者 齋藤勲、櫻井博貴、松本浩（愛知県衛生研究所）

田中敏嗣、貫名正文、伊藤正寛（神戸市環境保健研究所）

### 【要旨】

平成15年度は新たに東京都立健康安全研究センター、大阪府立公衆衛生研究所、兵庫県立健康環境科学研究所の平成13,14年度の日常業務における残留農薬検査データを入力した。その結果、前年度及び今年度に入力した愛知県衛生研究所、神戸市環境保健研究所のデータと合わせると総計28万5千件の検査データベースが作成された。大阪府、神戸市のデータベースは国立医薬品食品研究所(以下、国立衛研)の汚染物モニタリング調査のエクセル入力方式で入力されていたデータが愛知衛研に送付され、愛知衛研で検体番号、検体名、採取年度、輸入・国産の別、検査(検出)農薬名、検出濃度のデータを選択してアクセスのデータベースに入力した。また、東京都、兵庫県のデータは検出事例の一覧表として送付されてきたので、上記と同様のエクセルの表に変更し、アクセスを入力した。そして、入力されたデータベースを用いて、検出農薬、濃度、食品群との関係等を検索した。その結果、総分析件数(285,029件)に対する検出農薬数の割合は0.52%、総検体(2,012件)あたりの農薬検出率は38.9%で、国内産検体では41.4%、輸入品検体では36.2%の検出率であった。検出された農薬は115種あり、検出頻度の高い農薬は、柑橘類に防かび剤として使用されるイマザリルで計90回(全てが外国産物から)、次いでクロルピリホスが計80回(国内産15回、外国産から65回)、イプロジオンが計77回(国内産から45回、外国産から32回)等であった。検出農薬と食品群との関係では、オレンジ、グレープフルーツ、レモンなどの柑橘類では、イマザリル、クロルピリホス、エチオン、メチダチオンの他、2,4-D、国内では食品添加物として取り扱われる防カビ剤チアベンダゾール、オルトフェニルフェノールの検出頻度が高かった。検出事例の多かった野菜果実としては、果実のリンゴでは、カルバリル15回、キャプタン12回、プルパルギト8回、フェンパスリン6回等が、梨では、キャプタン8回、シペルメトリン6回、カルバリル及びプロモプロピレート各4回等が高頻度に検出されていた。野菜としては、ほうれん草からシペルメトリン13回、メタミドホス3回、アセフェート2回等が、ピーマンからはプロシミドン8回、クロルフェナピル5回等が、キャベツではアセフェート7回、メタミドホス3回、キュウリではプロシミドン17回、クロルフェナピル10回、アセタミプリド4回等が高頻度に検出された。

### A. 研究目的：

1. 各地方衛生研究所(以下、地研)の健康危機管理マニュアルでは、平常時の対策として、調査研究の成果及び試験検査データを事故発生あるいはその恐れがある場合に有効に活用、又は検索できる様にデータの蓄積整理(データベース化)を行なうことが求められている。健康危機事例等が発生した場合、調査・検査により検出された化学物質及びその含有量が通常の検出頻度、検出量と比べて異常か否かの判断を適確且つ迅速に行なうためのリファレンスデータ

ベースとして、地研が日常的に分析収集している農薬等の汚染物質の分析データを有効活用することを目的とする。また、入力されたデータは各地研独自でも、又全国的にも利用できるシステムとし、成績書など他の目的にも対応可能なものとする。

2. データ入力方法としては、Windows対応のデータベースソフト「アクセス」を使用し、従来の国立衛研の汚染物モニタリングデータ入力と異なり、データ入力した各地研自身でも自由にそのデータを活用できるようにする。入力されたデータ

の中から、個別情報は除いて共通項目をホストコンピュータに送り、集計データベースを作成する。データベースは各種キーワード（化学物質名、作物・食品別、検出頻度、検出範囲、地域別等）から多角的に検索可能なように加工す

る。集積されたデータベースは、地衛研間ネットワーク研究会のホームページの健康危機管理情報の項目にリンクし、全国地研でリファレンスデータとして有効活用可能なものとする。

図1 本研究のタイムスケジュール

検討項目	平成13年	平成14年	平成15年
DB入力システム開発	既存システムの変更	入力業務の中での変更、修正	
データ入力	入力テスト	日常業務データ入力及び操作チェック	全国数ヶ所の協力によるDB作成
インターネットHPへのリンク			データベースの地研HPへのリンク

#### B. 平成14年度までの研究結果

平成14年度は、平成13年度に検討した入力フォームにしたがって、愛知県衛研と神戸市環保研の食品中残留農薬検査データ約2900検体分、データ数約7万件を、エクセルに入力してあるデータからデータベースソフトのアクセスに転送集計した。

入力項目については、検体の採取年月、品名、国産輸入の区別、検査項目と検出濃度の5項目に限定してのデータ提供に限定し、データ入力を行なった。

なお、平成13年度にその使用実態が社会的問題となった無登録農薬のダイホルタン（キャプタホール）は、これら2地研での検出事例はなかった。

検出された農薬の内、食品衛生法の基準が設定されている農薬が57%で、残り43%は農薬取締法上の登録農薬ではあるが食品衛生上は当該農産物には基準値の設定されていない農薬や、一

部には適用作物ではない作物での残留事例もあった。

またこれら農薬の残留濃度は、食品衛生法の残留基準値の1%～15%に相当する残留量であった。野菜果実のうち、ほうれん草では、残留基準値が設定されているシペルメトリン、それに、適用作物外使用に該当するEPNの検出頻度が高かった。梨では、同年無登録農薬で問題となったダイホルタンの類似農薬であるキャプタン検出されていた。しかし、梨の場合、農薬の大部分は皮の部分に残留していることが確認されており、日常的な喫食では問題ないと考えられた。

検出濃度は全体としては低かったが、検出濃度の高い事例としては、パセリなどの葉菜類・ツマもの類でEPNが2.7ppm、プロシミドンが2.7ppm検出された検体もあった。

#### C. 平成15年度検討事項及び結果

入力項目としては、個々のデータのプライバシー

一保護の観点から、分析年、採取時期、品名、国産輸入の区別、農薬分析値等、一般的に利用できるデータのみを入力した。

厚生労働省(国立衛研)が平成6年度より平成11年度までの全国の食品中残留農薬検査データを集計し公表しているが、従来より、その公表までには長い時間がかかっており、現時点(平成16年2月末)では平成12年度以降の全国の食品中残留農薬検査データは公表されていない。

我々が構築を図っているリファレンスデータの利点としては、

1. 毎年国立衛研が行なっている厚生労働科学研究費補助金による「食品中の有害物質の評価に関する研究」の中の汚染物モニタリング調査研究に、各地研が報告している農薬データ(エクセル形式)の中の必要な項目を利用してそのまま入力できる。
2. 国が収集している全国データはその公表までに一般的に3年以上もかかっていたが、このデータベースは入力と同時に食品中残留農薬実態を把握でき、全国の地研で必要ならば利用可能である。
3. 農薬分析に経験豊富な全国の主要な地研からの分析結果に基づくデータベースであること

入力した5衛生研究所のデータは以下のとおりである。

#### 5ヶ所の地方衛生研究所残留農薬分析件数

	分析年	国内・輸入	検体数	分析農薬数	検査総数	小計
東京都立健康安全研究センター	平成13年	国内	63	182	11466	66411
		輸入	297	185	54945	
大阪府立公衆衛生研究所	平成12年	国内	162	78	12636	37668
		輸入	87	78	6786	
			57	1	57	
	平成13年	国内	130	78	10140	
			15	1	15	
		輸入	101	78	7878	
		52	3	156		
兵庫県立健康環境科学研究所	平成13年	国内	113	242	27346	83490
		輸入	50	242	12100	
	平成14年	国内	99	242	23958	
		輸入	83	242	20086	
神戸市環境保健研究所	平成13年	国内	41	83	3403	

からその信頼性は高い。

4. アクセスのフォームでもエクセルのフォームでもデータ利用は可能であり、また、データ内容をヒストグラムなど加工して図式化することも可能である。

本年度は3年計画の最終年度として、東京都健康科学研究センター、大阪府立公衆衛生研究所、兵庫県立健康環境科学センター、神戸市環境保健研究所、愛知県衛生研究所の5地研の主に平成12年、13年、14年のデータを中心に食品中残留農薬検査の結果を集計した。大阪府、神戸市のデータは、国立衛研の汚染物モニタリング調査のエクセル入力方式で入力されたデータが愛知県衛研に送付され、愛知県衛研で検体番号、検体名、採取年度、輸入・国産別、農薬名、検出濃度等のデータを選択して、アクセスのデータベースに入力した。東京都、兵庫県のデータは検出事例の一覧表として送付されたので、愛知県衛研で上記と同様のエクセルの表に変更し、アクセスに入力した。また、愛知県のデータはエクセルで入力保存しているデータを利用したが、農薬名が英語で入力されているため農薬名の日英対応シソーラスを用いて変換し、アクセスに入力した。