

ができた。計算値1 ppmの検体もメルコクアント シアン化物イオンテストでは陰性と判別が難しかったが、パックテストでは鮮やかな青色を呈し、判定は容易であった。

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。ヒ素のパックテストでは、食品中のAs濃度について計算値と一致した結果を出すことが難しかったが、遊離シアノのパックテストはそのようなこともなく、使いやすさが感じられた。

3) コリンエステラーゼ阻害剤検出キット:

Agri-Screen AT-10 (表5)

このキットでは、酵素反応を用いて、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ことができるとしている。アセチベーター液は2%臭素水である。

農薬、特に一般に市販されているものは乳化剤が含まれ、1000 ppm程度の濃度にすると、食品では白濁し独特の臭気を有した。陽性対照であるスミチオン溶液では0.5 ppmまで検出できたが、牛乳、コーンポタージュなどは希釀した検体では100 ppm以上でも陰性を示した。前処理として希釀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何らかの抽出操作が必要と考えられた。

3. 保健所等への毒劇物の簡易検査キットに関する研修の実施

県内7保健所担当者へのアンケートで要望の多かった研修であったが、平成15年度に簡易検査キットの反応特性や操作方法に関する知見について、実習も交えた研修を行った。対象者は保健所食品衛生監視員と食肉検査所職員の一部で、計19名に対して、講義1時間、実習2時間の研修を実施した。研修後の意見交換では、「改めて実習の必要性を感じた」という意見が13件あった。また、①キットの有効期限が短いものがあり、県内7保健所に常時準備しておくことは無駄が多い、②陰性対象など同時に分析したり、pHを測定したりする必要があるなどの点から最低限の実験器具類は必要であり、③(緊急時に煩雑になる)現場での測定は無理と考えられる等の理由から、本県では県内2カ所に集約されている保健所検査課に配備しておくことが適当であるという意見が8件あった。研修のやり方に対する希望が7件、検査キットに対する意見が6件、検査マニュアル改善の要望3件が出された。その他、・想定される毒劇物検査体制について保健所内で見直しが進んでいる、・担当職員による定期的な研修の機会を設けてほしい、・保健所・地研・警察の役割分担の明確化への要望、・確認検査の体制作りが必要、・簡易検査キットに限界がある等の多数の意見が出された。

本県の検査分析体制では、他県と同様に、大型高額の分析機器は地研に設置されており、複雑で精度の高い分析は地研が担当している。しかし環境検査が県内2

ヶ所の検査課と地研に集約されており、各保健所において簡易検査キットの存在意義は大きいと考えられたが、実際の健康危機管理事件の発生時には現場の担当職員に時間的な余裕がないと考えられることから、全ての保健所での対応を求めるることは無理であることが判明した。

E. 結論：

平成15年度は中国四国協議会で意見交換を行なうとともに、全国地研に対して毒劇物迅速検査キットおよび毒劇物検査体制に関するアンケート調査を行った。また、シアンおよびコリンエステラーゼ阻害剤検出キットについて、操作方法と反応特性の検証を行った。これにより、本県の毒劇物に関する検査マニュアル案(部分)を作成し、保健所担当者を対象に研修を行った。以上のことから、次のようなことが明らかになった。

1) 毒劇物簡易検査キットは、全国的に保健所の衛生部門もしくは検査部門で管理され、各種の苦情対応から毒物混入事件まで幅広く用いられていた。簡易検査キットに関する研修が全回答中3割を超えるところで望まれており、研修先としては地研を希望するところが大部分を占めていた。研修内容は実習を含めた研修が望まれていた。

2) アンケート調査の結果、健康危機管理における毒劇物検査体制では、毒劇物の緊急検査に果たす地研役割が大きいことが再度認識された。検査マニュアルの整備は進んでいたが、国等により一定の方針が出されることが望まれていた。

機器の整備も現行では不十分を感じている地研が多かった。実際の検査方法はマニュアルとともに経験者の判断によるところが大きいが、人材の育成は十分ではなく、国等による研修を望む声も多かった。緊急時検査担当部署の連携では半数以上で連携は必要との認識はあったが、実査に連携しているのは約3割であった。

- 3) 毒劇物迅速検査キットおよび水質用簡易検査キットは、基本的に水系試料の分析にむいており、食品によってはキットでの分析が難しいことが明らかになった。しかし、簡便な前処理で感度が上がる可能性もあり、引き続き簡易検査キットの反応特性や使用上の留意点を実分析によって明らかにする必要がある。
- 4) 簡易検査キットを使用する保健所担当者との研修会や情報交換会の開催の必要性は高く、可能であれば継続的に行なうことが望ましい。
- 5) 簡易検査(キット)の位置づけを明確にした健康危機対応マニュアルあるいは毒劇物分析マニュアルの作成と担当職員への周知と実習は重要であった。

F. 健康危険情報：該当事項なし

G. 研究発表：

- 1) 論文発表：該当事項なし
- 2) 学会発表：該当事項なし

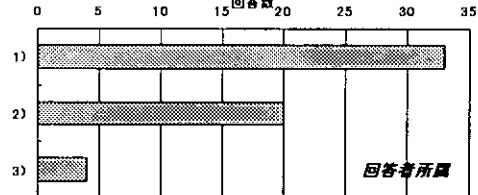
H. 知的所有権の出願・登録状況：該当事項なし

健康危機における検査体制に関するアンケート調査結果

選択肢のあるものについては、番号を回答欄にご記入ください。その他を選ばた方は具体的な記述をお願いします。

ご回答いただいた方の所属等お答えください

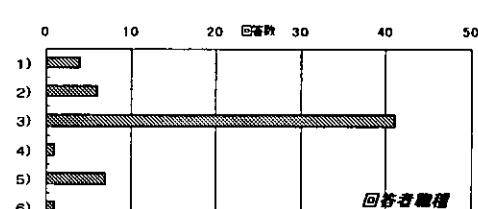
	回答数	%
1) 都道府県衛生研究所	33	57.9
2) 政令指定市及び中核市研究所	20	35.1
3) 保健所	4	7.0
計	57	



(複数回答あり)

	回答数	%
1) 事務系	4	7.0
2) 微生物系	6	10.5
3) 理化学系	41	71.9
4) 環境系	1	1.8
5) その他	7	12.3
6) 無回答	1	1.8

*その他 *企画調整(非事務系) *保健師



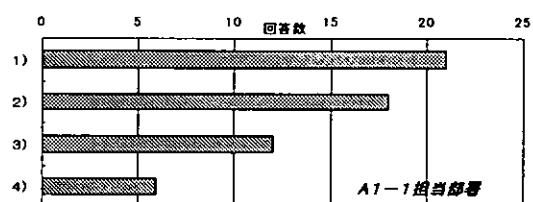
A. 毒物迅速検査キットについて

1. 平成 11 年 3 月 15 日付で厚生省(当時)から、都道府県市区の各保健所に、食品中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。

そのキットについて、保健所での使用状況等についてお尋ねします。判る範囲でお答えください。

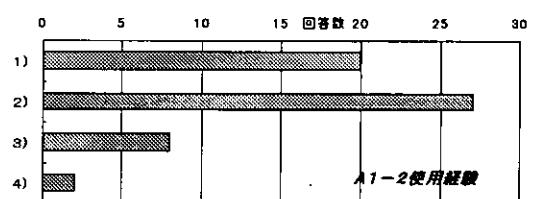
1-1. 使用・保管などは保健所のどこの課の所属になっていますか？

	回答数	%
1) 保健所衛生部門	21	36.8
2) 保健所検査部門	18	31.6
3) 地方衛生研究所	12	21.1
4) 不明	6	10.5



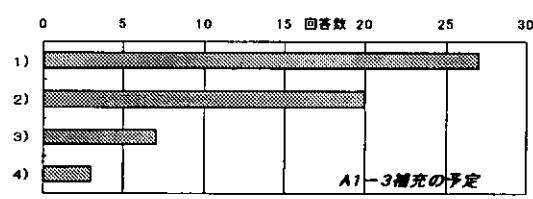
1-2. 保健所担当者に使用の経験はありますか？

	回答数	%
1) ある	20	35.1
2) ない	27	47.4
3) 不明	8	14.0
4) 無回答	2	3.5



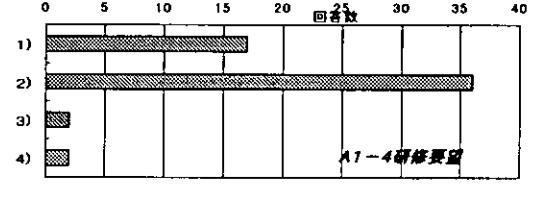
1-3. 使用期限が切れたら、補充の予定がありますか？

	回答数	%
1) ある	27	47.4
2) ない	20	35.1
3) 不明	7	12.3
4) 無回答	3	5.3



1-4. キットの使用について、保健所から研修の要望がありますか？

	回答数	%
1) ある	17	29.8
2) ない	38	63.2
3) 不明	2	3.5
4) 無回答	2	3.5



2. 「1-2.」で「1)ある」とお答えの方は、その使用事例を具体的に教えてください。
(複数事例お持ちの際は同じような形式でお答えください)

いつ	場所	概要	検体	検査結果
H11頃	A保健所	キャップシールのとれたペットボトル入り飲料水が、ホテルの冷蔵庫にあった。不審に思い、保健所に届けた。有症者なし。	ミネラルウォーター	不検出
ほぼ毎年	県内	食品苦情、飲料水	惣菜、弁当、乳飲料等	簡易検査結果を得る
H13. 6月頃	F県内	ウーロン茶(ペットボトル入)に係る異味苦情	ウーロン茶	すべて不検出 (ヒ素、シアノ、農薬)
不明	不明	農薬の収容自殺	農薬	
H11. 3	S県内	学校での集団嘔吐・下痢症	吐物、食品	不検出
H11. 9	イベント会場	イベントで提供する食品の毒物検査(陰性を確認するため)	食品(汁物)	陰性
適時	保健所	有症苦情の確認検査	食品	陰性
H14. 9	個人宅	味の変化	飲料水	検出せず
H13.5.7	スーパーで購入	容器に穴があいていた	そば	陰性
H13.5.21		煮魚の異臭	魚、煮汁	陰性
H14.7.22	スーパーで購入	変な味がした	ニンニク(漬物)	陰性
H15. 2.	F市	受水槽への毒物混入の疑い	水道水	不検出
H11	G県S市	健康食品まがい苦情品	清涼飲料水	ヒ素陽性
H14		シアノ	吐物	偽陽性(衛研で再検査、陰性)
		ヒ素	食品、飲料	陰性
		コリンエステラーゼ阻害	食品	陰性
		食品苦情(有機リン系農薬の有無)	果実	検出されず
H11	研究所	研修	未知検体	陽性、陰性
H13	家庭	疑い(被害者なし)	コーラ	判定不可能
H11年度	N市	牛乳に何か混入された	牛乳	AS、シアノなど
H11. 5.	保健所	川で魚が死んだ	川の水	検出せず
H12. 8.	I保健所管内	集団食中毒事件発生時	患者吐物	ヒ素(-), コリンエステラーゼ阻害剤(-)
H13. 10	K健康福祉センターからの依頼	小学校中庭の池でメダカと金魚が死滅した 原因調査	池の水	シアノ(-), As(-), NO3-(-), NO2-(-), コリンエステラーゼ阻害剤(-)
H12.	I保健所管内	食品衛生監視員の研修	オレンジジュース	シアノ(添加濃度は適当、陽性)
H11. 11	H保健所管内	学校給食用牛乳に異味があるという苦情	牛乳	シアノ(-), As(-), NO3-(-), NO2-(-), コリンエステラーゼ阻害剤(-)
H12. 12～H13. 2	H市、G市、M町など	外国文字の書かれたポリタンクが漏洩	ポリタンク内容物	NO(<10)
H13. 3	G市個人宅	みそ汁の苦情		シアノ(-), As(-), NO3-(-), NO2-(-), コリンエステラーゼ阻害剤(-)
H13. 10	H保健所管内河川	あゆの大量鰐死	河川水	シアノ(-), As(-), NO3-(-), NO2-(-), コリンエステラーゼ阻害剤(-)
H11. 6	M市バチンコ店	自販機で購入したジュースを飲んだところ、 5分後に気分が悪くなり、おう吐・下痢をした。 細菌検査、毒劇物検査をした。	缶ジュース	シアノ(-), As(-), NO3-(-), NO2-(-), コリンエステラーゼ阻害剤(-)

3. 「1-4.」で研修の要望があつたとお答えの方に、研修先、内容等について伺います。

3-1. 研修先としてはどこを希望されましたか？

	回答数	%
1) 国の研究機関	0	0.0
2) 地方衛生研究所	14	24.6
3) 大学	0	0.0
4) 民間の研究所	0	0.0
5) その他	3	5.3

*実施した

*メーカーで

*特に指定なし

3-2. 研修内容としてはどんなものを希望されましたか？（複数回答可）

	回答数	%
1) 健康危機管理全般	2	3.5
2) 検査マニュアル	6	10.5
3) 検査実習	17	29.8
4) その他	0	0.0

4. 以下の件に関して、この他ご意見・ご要望等ございましたら、お書きください。

検査キットは調査がでやすいので注意すべきである

平成11年に導入されて、使用期限等が考慮されずにそのままになっている

保健所には検査部門は設置しておりません、検査は当所が担当しています。

今後、健康危機管理に対する研修を実施する方向を検討

当市の保健所には検査設備がないため衛生研究所で検査キットの使用、保管を行っている

B. 健康危機管理における毒劇物の緊急時検査に関する事例

緊急時に対応できる検査機能を持つために、必要と考えられる次の事項について、ご回答ください。

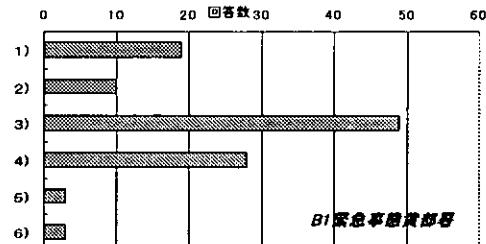
1. 県としての毒劇物にかかる緊急時検査の対応部署はどこですか？（複数回答可、その他の場合、担当部署をお答えください）

	回答数	%
1) 保健所検査課	19	35.8
2) 保健所その他	10	18.9
3) 地方衛生研究所	49	92.3
4) 警察鑑定	28	52.8
5) 大学	3	5.7
6) その他	3	5.7

*場合による(2)

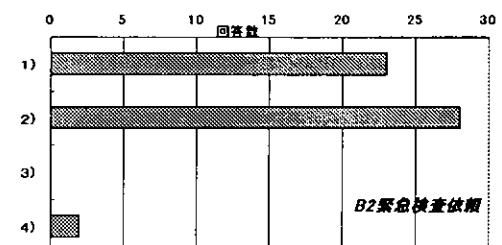
*市衛生試験所

*研究センター

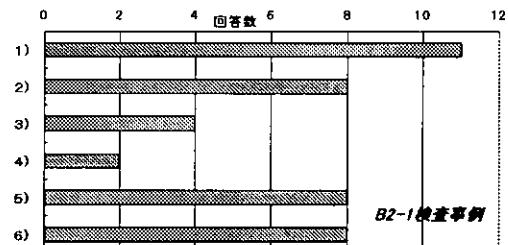


2. 緊急時検査対応部署に毒劇物の緊急検査依頼が過去3年間にありましたか？

	回答数	%
1) ある	23	43.4
2) ない	28	52.8
3) 不明	0	0.0
4) 無回答	2	3.8



	回答数	%
1) 化学性食中毒	11	20.8
2) 飲料が原因した事件	8	15.1
3) 石油漏出等環境汚染	4	7.5
4) 有毒ガス発生	2	3.8
5) 水質汚染	8	15.1
6) その他	8	15.1



その他の事例

*毒劇物混入疑い事例(内容:ヒ素、シアノ、アジ化ナトリウム)

*螢光灯のPCB使用コンデンサーが爆発し、液体が付着

*牛乳の異臭味による健康被害

*苦情

*

土壌汚染

3. 毒劇物に関する事件発生時の緊急検査対応マニュアルがありますか?

	回答数	%
1) ある	31	58.5
2) 検討中	13	24.5
3) ない	9	17.0
4) 必要ない	0	0.0
5) その他	0	0.0

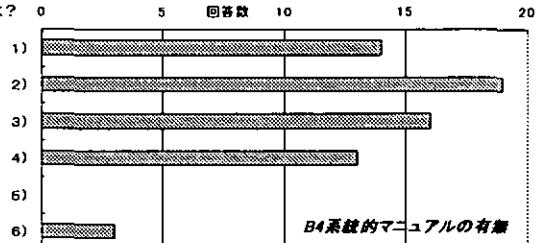
ただし毒劇物に限っていない(1) 担当部署で作成(1).

4. 検査項目の絞込み、試験方法の選択など系統的な検査マニュアルの整備は?

	回答数	%
1) 整備してある	14	28.4
2) 航空機の判断により検査	19	35.8
3) 検討中	16	30.2
4) 国等による作成を希望	13	24.5
5) 必要ない	0	0.0
6) その他	3	5.7

1)整備してある *簡易(1) *担当部署で作成(1)

6)その他 *整備はされていないが、必要がないとも言わない(1)



5. 過去の事例集が整備されていますか?(複数回答あり)

	回答数	%
1) 整備してある	4	7.5
2) 作成中	9	17.0
3) 照報告書として作成	5	9.4
4) 厚労省の全国集中事件簿を利用	25	47.2
5) 必要ない	0	0.0
6) その他	12	22.9

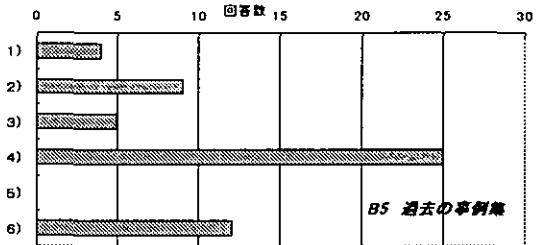
1)整備してある *苦情事例として

6)その他の事例

*整備はされていないが、必要がないとも言わない(1)

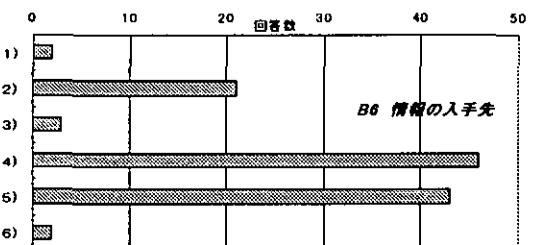
*大阪府公衛研ホームページ

*当所の報告書として



6. 試験法に関する情報の入手先(複数回答可)

	回答数	%
1) 情報システムを構築活用中	2	3.8
2) 中毒情報センター活用	21	39.6
3) 情報システムを構築中	3	5.7
4) 他の地域・国より入手	46	86.8
5) インターネット、文献検索情報を活用	43	81.1
6) その他	2	3.8



7. 機器の整備について

	回答数	%
1) 専用機器が整備されている	2	3.8
2) 業務使用のもので対応可能	20	37.7
3) 現行では不十分	31	58.5
4) 検討中	2	3.8

現有の機器でできるだけのことをする(2) 一部

LG/MS、蛍光X線、キャビラーガス泳動

	回答数	%
LG/MS	12	22.0
ICP/MS	8	15.1
蛍光X線装置	6	11.3
LC/MS/MS	4	7.5
キャビラーガス泳動	4	7.5
ICP	2	3.8
ケミカルハーディング	1	1.9
赤外顕微鏡	1	1.9

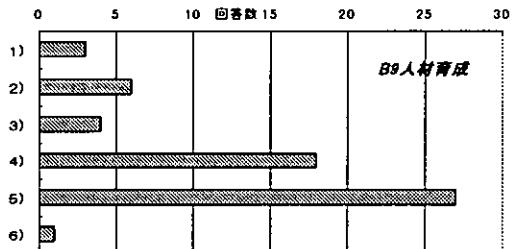
8. 緊急時検査担当部署にケミカルハザード対策実験室は整備されていますか?

	回答数	%
1) すでに整備されている	8	15.1
2) 検討中	0	0.0
3) ドラフトで対応	31	58.5
4) 白紙状態	12	22.6
5) その他	1	1.9
6) 無回答	1	1.9

必要であれば、他部署の安全実験室を使用

9. 事件発生時に対応できる人材育成

	回答数	%
1) 計画的に育成している	3	5.7
2) 検討中	6	11.3
3) 白紙状態	4	7.5
4) 現場職員で対応可能	18	34.0
5) 地研/國の研修が必要	27	50.0
6) その他	1	1.9



4) 現場職員で対応可能 *現場職員でできるだけのことを対応(2)

6) その他 *育成している

10. 緊急時検査担当部署は他の検査機関と連携していますか?

	回答数	%
1) 連携している	19	35.8
2) 連携していない	9	17.0
3) 連携の必要がある	27	50.0

10-1. どこと連携しているか、または連携する必要があるか (複数回答可)

	回答数	%
1) 他の地研	43	81.1
2) 県立環境	36	67.9
3) 国立研究機関	37	69.8
4) その他	4	7.5

その他の事例

*保健所(2) *状況によりどこでも

*県工業技術センター *科学検査研究所

11. 緊急時検査マニュアル作成時または分析時に参考になる書籍あるいはホームページなどありましたら、お知らせください。

和歌山市衛研HP

毒物分析実験ハンドブック

混入毒物の迅速測定法と人体中毒症状

毒物化学試験法と注解

福岡市保健環境研究所

大阪府公衆衛生研究所

中毒百科

衛生試験法注解

12. その他、ご意見あるいはご要望をお書きください。

- * 健康危機管理に対応するため、実際行った検査法をギブ＆テイクできるシステムが必要。
- * 食品Q & Aのように事例集を作成してほしい
- * 衛生研究所等は法律に定められた試験が多いため、定性試験を行う機器が不足している (IR, 蛍光X線, ICP等)
- * 健康危機管理における毒劇物の緊急時検査というのはどのような場合を想定しているのかはっきりしない。
毒劇物すべてについてマニュアルを作ろうとしているのですか。
毒劇物以外の化学物質はどうするのですか。(たとえばサリン・ソラン)
- * 毒物迅速検査キットは保健所の食品衛生監視員が独自に管理使用しているので実情把握は困難
- * アンケートがまとまりましたら是非ご回送ください。緊急時の体制整備の必要性を痛感し、現在検討中です
- * 1. 事件について警察・消防が最優先のため、連携の具体化が課題
2. 事故については、所管部署との直接連絡が最優先で現場情報の迅速入手が課題。
(過去の発生事例でその多くが正確な情報が入手できなかつた為に原因物質の特定に長時間要しているため、対応が遅れた)

簡易検査キットの分析の可否

表1. ヒ素 (パックテスト)

試 料	烏龍茶	緑 茶	オレンジ ジュース	グレープ ジュース	コーラ	ミルクコーヒー	カレー
判定の可否	○	○	×	×	×	×	×
前処理	希釀 10倍以上	希釀 10倍以上					
備 考			発色弱い		無添加でも強発色		

表2. ヒ素イオン (メルコクアントテスト)

試 料	烏龍茶	緑 茶	オレンジ ジュース	グレープ ジュース	コーラ	ミルクコーヒー	カレー
判定の可否	○	○	○	○	○	○	△
備 考	100倍以上希釀						*1)

*1) : 蒸留水希釀で判定不可、0.1%NaOH 希釀で判定可能

表3. シアン化物 (メルコクアントテスト)

試 料	グレープジュース	コーラ	牛 乳	ミルクコーヒー	みそ汁	吐瀉物*
判定の可否	○	○	○	○	○	×
前処理	pH調整、希釀 (100倍以上)					
備 考	1ppm は判定しにくい					

* : MERCK の商品案内による

表4. シアン化物イオン (パックテスト)

試 料	グレープジュース	コーラ	牛 乳	ミルクコーヒー	みそ汁
判定の可否	○	○	○	○	○
前処理	pH調整、希釀 (100倍以上)				
備 考					

表5. コリンエステラーゼ阻害剤 (Agri-Screen AT-10 キット)

試 料	緑茶	コーラ	牛 乳	ミルクコーヒー
判定の可否	○	○	×	×
前処理	pH調整、希釀 (100倍以上)			
備 考	希釀試料の 5ppm 以上から検出。 陰性対照必要。			

平成 15 年度 厚生労働科学研究費補助金（がん予防等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」

分担研究者 宮崎豊 愛知県衛生研究所長

IT 技術の導入に関する検討

研究協力者 鈴木 泉 宮崎県衛生環境研究所

岩城 詩子 宮崎県衛生環境研究所

研究要旨：

地方衛生研究所では、健康危機発生時に化学物質や微生物の試験検査を実施し、原因究明を行うことが重要な業務となっている。こうした試験検査に関する情報交換のための IT 技術の一つであるメーリングリスト（ML）について、地方衛生研究所の化学物質分野における利用状況と要望について調査し、ML の有用性と運用のあり方について検討した。

A. 研究目的

地方衛生研究所間において、迅速な試験検査技術の共有と情報の共有を図るために、IT 技術を利用する必要がある。今回、地方衛生研究所の化学分析実務者に対し、IT 技術の一つであるメーリングリスト（以下 ML）の利用状況と要望について調査し、既存の有用な ML について明らかにするとともに、情報交換・収集システムのあり方について検討した。

報交換方法 (2) ML 参加の有無 (3)

ML 不参加の理由 (4) 参加している
ML 数、タイトル、目的、利用状況、満足度、要望とした。

2. ML に関する調査

1 の調査の結果明らかになった全ての ML について、その概要、管理者、入会資格、入会方法等について、ホームページ、メール、電話、ファクシミリ等を用いて調査した。

B. 研究方法

1. アンケート調査の実施

全国 76 機関の地方衛生研究所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 日までの間、調査票（資料 1）を用いて実施した。調査票の送付は郵送とし、調査内容は、(1) 情

C. 研究結果

1. アンケート調査結果

アンケート調査に対して、76 機関中 66 機関（87 %）について、平成 15 年 11 月 26 日から 12 月 22 日までの間、ファクシミリ（64 機関）及びメール（2 機

関)で回答があった。

- (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%、「電話」85%、「ホームページ」61%、「メール」58%、「ファクシミリ」48%、「ML」35%、「その他」8%であった(図1)。その他としては「見学」、「派遣」などが挙げられた。
- (2) ML参加の有無については、「参加している」が全体の60%、「参加していない」が40%であった(図2)。
- (3) ML不参加の理由について、②で参加していないと答えた機関の担当者について回答を求めた(複数回答)。不参加であった機関の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」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(図3)。他の理由の最も多かったものは、「有用なMLに関する情報がないため」で全体の71%であった。
- (4) 参加しているMLについて
 - ① 参加しているMLの数は、1~7種類となり、1種類に参加が全体の66%で最も多く、2種類に参加が21%で、1~2種類のMLに加入している機関が主であった(図4)。
 - ② 参加しているMLのタイトルは26種類で、このうち地域的に限定されているMLが7種類あった。
 - ③ ML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(図5)。

- ④ ML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(図6)。
- 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%で、既存のMLに対する満足度は「満足」と「やや満足」を併せて約8割の機関で満足していた(図7)。
- 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MLのタイトルとして26種類あったが、調査の結果このうちの4種類はメールマガジンであった。そのためMLは22種類となり、このうち現在の運用について不明確なものが3種類、参加者の地域を限定しているものが7種類であった。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については、地方衛生研究所等の職員4種類、学会員2種類、分析・研究者4種類であった。

D. 考察

1. アンケート調査

情報交換方法については、実際に会って情報交換できる「会議や研修」を利用しておらず、「ML」によるものは35%であった。即ち、MLに参加しているが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わかった。MLに参加していない理由として、MLに関する情報がないため、どんなMLにどのように参加すればよいのかわからないといった回答が寄せられた。

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、有用なMLであるにもかかわらず活発な利用がなされずにいることがわかった。MLをより活発化させるためのひとつの方法として、情報を持つ研究者の参加が重要であると思われた。

2. MLに関する調査

調査票について回答のあったMLのうち地域限定MLと不明なMLを除くと、地方衛生研究所研究者の利用できるMLは12種類となった。この12種類のMLについて、MLのタイトル、概要、管理者、入会資格、入会方法についてまとめ、地方衛生研究所研究者がこれらの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HTMファイルを作成した（資料4）。また、12種類のMLの中には、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により今後の継続が困難なものもあった。こうしたことから、公的かつ継続的に運用できるMLの存在が必要であると思われた。

E. 結論

地方衛生研究所の化学分析実務者については、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に関する情報が不足しているため、どんなMLにどのように参加すればよいのかわからないのが現状であった。また、MLを活用している実務者も、参加者の少ないとおりML内での情報交換があまり活発ではなく、MLを有効に利用できていないと考えていることがわかった。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をより活発化することが必要であると考えた。そこで、調査の結果から得られたMLのうち、公開できる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などで紹介できるよう作成した。

今後は、ML一覧を地方衛生研究所ネットワークのHP等に掲載し地方衛生研究所の分析実務者に公開することで、MLへの参加と活用を促進し、既存のMLをより活性化していくことが、迅速な情報交換を行う上で必要であると思わ

れる。また、公的で継続的な ML の存在も必要であり、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
センターで準備され平成 16 年 2 月末運
用開始予定の「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思わ
れる。ML を運用する際は、今回の調査
結果を踏まえて、より多くの研究者が参
加できるよう 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・提供される情報の内容について定
期的に管理していくことが重要である。
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
のあった地方衛生研究所も 6 機関あつ
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、今後地方衛生研
究所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所以、早急な環境
整備を行う必要がある。

F. 健康危機情報：

なし。

G. 研究発表

なし。

H. 知的所有権の出願・登録状況

なし。

試料 1

貴機関名 _____

(1) 現在、どのような方法で、試験・検査に関する情報交換や相談を行っていますか？該当する番号を○で囲んでください(複数回答可)。その他の場合は、()に具体的な内容をご記入ください。

- ① 会議や研修に参加する
- ② 電話
- ③ ファクシミリ
- ④ ホームページ
- ⑤ メール
- ⑥ メーリングリスト
- ⑦ その他()

(2) 何らかのメーリングリスト(ML)に参加していますか？

- ① 参加している →(4)の質問に答えてください。
- ② 参加していない →(3)の質問に答えてください。

(3) MLに参加していない理由は何ですか？該当する番号を○で囲んで下さい(複数回答可)。その他の場合は、()に具体的な内容をご記入ください。

- ① 必要を感じないから
- ② 面識のない人とやりとりすることには不安があるから
- ③ 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
- ④ その他()

(4) メーリングリスト(ML)に参加している方にお尋ねします。

- ① 参加しているMLはいくつありますか？
* 参加しているMLごとに、下記についてご記入ください。
- ② MLのタイトル
- ③ MLに参加した目的
- ④ 現在の利用状況
(ア.毎日利用 イ.週に1回 ウ.月に1回 エ.ほとんど利用しない)
- ⑤ 参加しているMLに対する満足度
(ア.満足 イ.やや満足 ウ.やや不満足 エ.不満足)
- ⑥ 参加しているMLに対する要望

②MLのタイトル	③目的	④利用状況	⑤満足度	⑥要望

(5) 今後、情報交換や相談をより行いやすくしていくためは、どんな方法が必要だと思いますか？

[]

(6) アンケートの結果等についてのご連絡を、メールで受け取ることの可能な担当者の方は、下記にメールアドレスをご記入下さい。

() @ ()

*ご協力有難うございました。

試料2

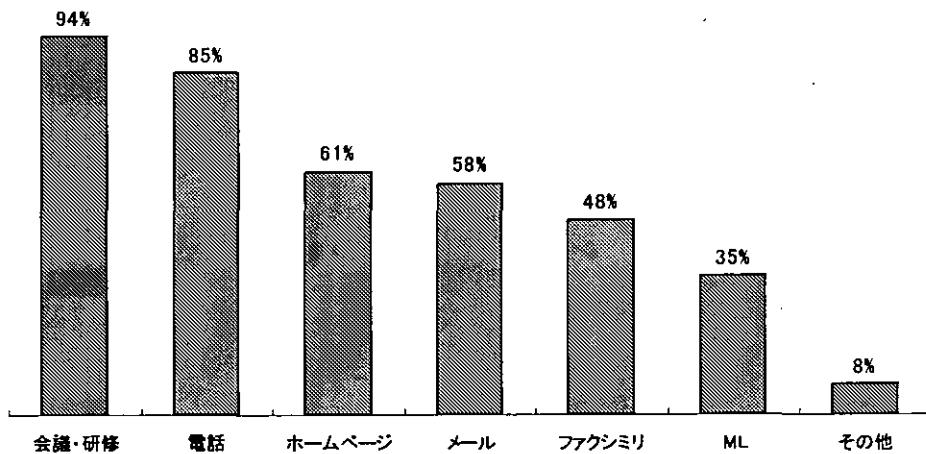


図1 情報交換方法(複数回答)

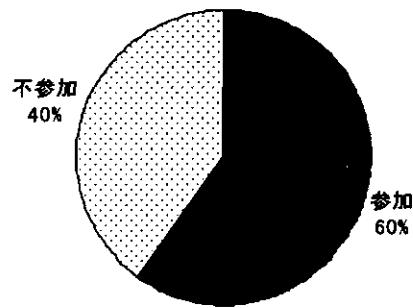


図2 ML参加の有無

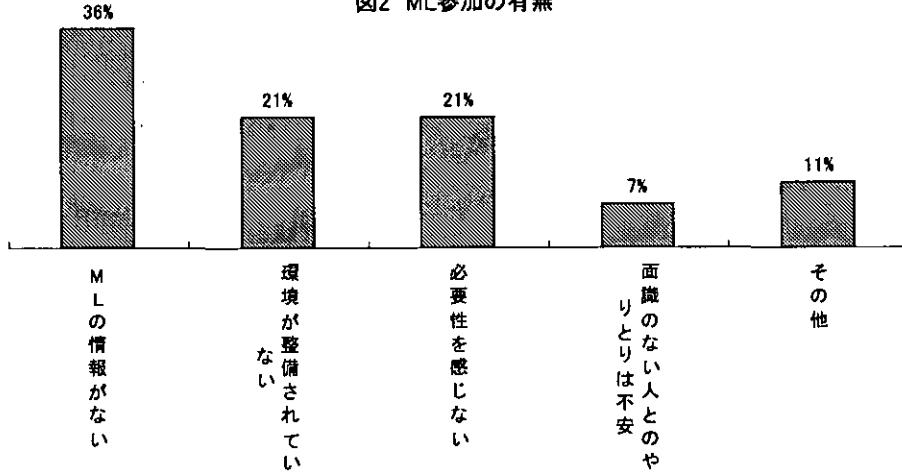


図3 不参加の理由(複数回答)

試料 3

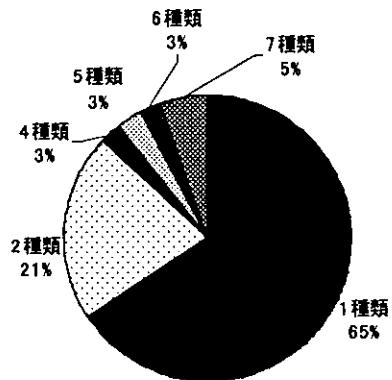


図4 参加ML数

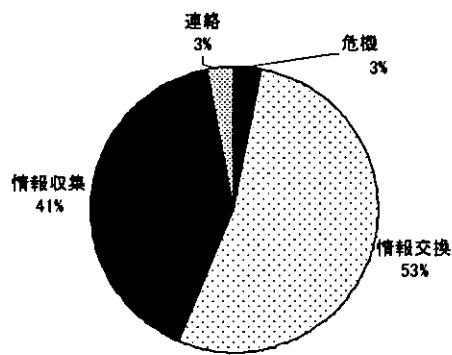


図5 参加目的

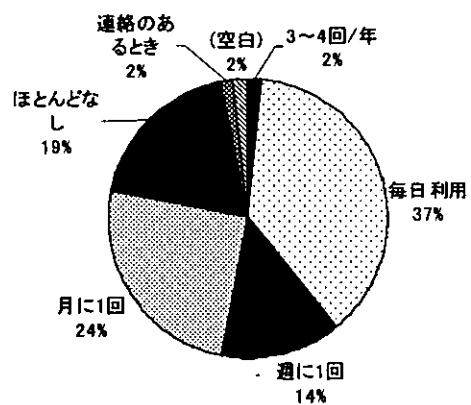


図6 利用状況

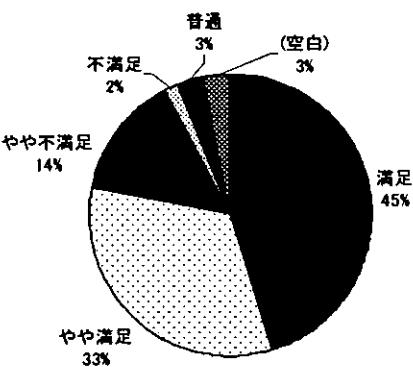


図7 満足度

試料 4



平成 15 年度 厚生労働科学研究費補助金（がん予防等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

「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」

(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 鈴木紀行 秋田県衛生科学研究所長

斎藤博之 秋田県衛生科学研究所主任研究員

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 SSCP（一本鎖高次構造多型）解析による同定支援法を開発した。開発した同定支援法を秋田県でのエンテロウイルス分離株の同定作業に対して導入し、日常のサーベイランス業務から特定のウイルスが流行といった危機管理局面に至るまでの効率化に関して検討した。平成15年度は秋田県での過去の保存株を利用して6年間にわたってさかのぼって検討を行い、当時本法が使えたならばどの程度の同定効率が見込めたかをシミュレーションした。さらに、本法の普及をはかる一環として8機関のウイルス担当者を集めて技術研修会を開催し、実際にSSCP解析に触れる機会を提供した。

A. 研究目的

夏季に多く分離されるエンテロウイルスは、その流行規模において冬季のインフルエンザウイルスと双璧を成している。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、しばしば全国的な大流行に発展している。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。

中和試験に代わって、遺伝子のシークエンスからの系統解析によって型別同定を行う試みが近年急速に発展してきているが、流行時に限られた人員でもって大量の検体を処理するためには、別の観点から同定作業を支援できるような検査手法の開発が望まれる。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、一塩基の違いでも鋭敏にパ

ーンが変動する特殊な電気泳動である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、試験検査機能の効率化を図ることを目的としている。

B. 研究方法

SSCP 解析による同定支援法の検討のため用いたエンテロウイルス分離株は秋田県において平成 10～15 年度に分離された 471 株と愛知県において平成 12～13 年度に分離された 49 株である。これらについて 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。本研究で開発した同定支援法は、図 1 に示したとおり、最初に同定しなければならない複数の分離株をエンテロウイルス共通プライマーで増幅するところから始まる。このとき使用するプライマーは 5'末端をビオチン化したもの要用いる。増幅部分は本研究では 5'ノンコーディング領域の 155bps を用いたが、100～400bps の範囲ならどのようなプライマーでも

かまわない。PCR 増幅産物を SSCP Buffer (95% フォルムアミド - 0.25% ブロムフェノールブルー - 0.25% キシレンシアノール) で 100 倍に希釈して 90 °C で 2 分熱変成した後、SSCP ゲル (8% アクリルアミド - 5% グリセロール - 1×TBE) にアプライし、24 °C のゲル温度を保ちながら 4 時間電気泳動する。ゲル温度の管理が重要であるが、本研究では泳動装置として ATTO 社製「ジェノケンサー SSCP」を用いている。また、泳動終了後にゲル中のビオチン化された PCR 産物を検出して SSCP パターンを出現させるために化学発光検出キットとして東洋紡社製「 Imaging high chemilumi 」を用いている。図 1 上段の写真ではさまざまな SSCP パターンが認められるが、同じパターン同士で並べ替えてみると下段のように 7 グループに分かれる。SSCP 解析の原理から、同じパターンの PCR 産物は同じ塩基配列であるとみなすことができるため、各グループから代表株を 1 つずつ抜き出して中和試験で同定すれば他の株も全て同定できることになる。図 2 は実際に中和試験を行った成績であるが、最も株数の多かったコクサッキーウィルス A 群 2 型の 1 グループでは 1 株だけ同定すれば 12 株を同定することができるため効率は 12 倍である。エンテロウィルスは変異を繰り返すため 1 つの血清型でも複数の SSCP パターンが現れる場合があるが、それぞれグループ化して代表株を同定すれば問題は無い。図 2 では合計で 7 種類の SSCP 型が出現したが、シーズン中に 2 回目の SSCP 解析を行う際に、この 7 種類の株を未知の株と一緒に電気泳動を行えば、パターン照合だけでほとんどの株は同定されてしまうことになる。パターンに一致しない株はあらためてグループ分けをして代表株を中和試験で同定すればよい (3 回目にはさらに照合用の株が増える) 。このように本法は、PCR 後の煩雑な処理もほとんど無く簡便ではあるものの独特の手技が含まれ

るため、平成 15 年 10 月に今後の普及に向けて 8 機関のウイルス担当者を集めて技術研修会を行った。

C&D. 研究結果、及び考察

表 1 に秋田県におけるエンテロウィルス分離株に関する成績をまとめた。分離ウィルスの血清型はコクサッキーウィルス A 群 (以下 CA と表記) が 5 種 (2 、 4 、 9 、 10 、 16 型) 、エコーウィルス (以下 Echo と表記) が 2 種 (6 、 9 型) 、及びエンテロウィルス 71 型であった。分離株数が 49 株であるのに対して SSCP 型は A ~ O の 15 種類であった。A ~ O 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、15 株の中和試験で 49 株を同定できる計算になり、分離株全体の同定効率は 3.3 倍となった。平成 15 年度は全国的な冷夏の影響でエンテロウィルスの大きな流行が見られなかったため同定効率は 14 年度の 5.3 倍 (14 年度報告書参照) と比べると低めであったが、個別のウイルスを見ると CA4 によるヘルパンギーナが比較的大きな流行となり株数も 29 株とまとまった数が分離されたため 9.7 倍と高い同定効率を示した。特に 29 株中 23 株までが同一の SSCP を示していたため、実質的な同定効率は 20 倍以上に相当すると考えられる。

秋田県の過去 6 年間に分離保存した 471 株を用いた成績では、SSCP によるグループ分けが 98 パターンであったため同定効率は 471/98 で 4.8 倍となった。これは 98 株について中和試験を行えば、471 株を同定することができるという意味になる。また、秋田県以外の株として、平成 12 ~ 13 年度に愛知県で分離された手足口病のウイルス 49 株に本法を適用したところ SSCP は 9 種類で同定効率は 49/9 で 5.4 倍であった。各年度によって流行規模は異なるが、おおむね単年度の SSCP の数は 10 ~ 20 であり、同定効率は 5 倍程度を期待できる (表 2 参照) 。本法は流

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 解析による同定効率は高くなることが予想される。実際に大規模な流行を見た事例では 10 ~ 数十倍の同定効率となっている(表 3 参照)。

図 3 に SSCP 解析をどのようにエンテロウイルスの同定作業に組み入れて効率化を図るかをまとめた。代表株を同定するには中和試験以外にもシークエンスによる系統解析でもよい。同定支援法の骨子はウイルスを具体的に同定することではなく、大規模な流行があったとしても見かけ上の株数を減らして同定作業を効率化するところにある。

SSCP 解析は簡便ではあるものの、独特の手技を含むため文章によるマニュアル化には限界があるとの考えから、8 機関からウイルス担当者を集めて技術研修を行い導入において重要なポイントとなる部分について実際に体験する機会を設けた。本法に関してはほぼ全員が初めてではあったが、不都合な点は見られず最終的にはしっかりとデータが得られたため、今後は徐々に裾野が広がってゆくことが期待される。

E. 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クエ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の同定を支援し、検査の効率化につなげることを目的に SSCP 解析を用いた。本法によって支援される同定作業は中和試験だけではなく、遺伝子系統解析の省力化にも適用できる。エンテロウイルスには皰膜炎を併せて重症化することも多い手足口病の病原体も含まれているため、平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

役立てることができると考えられた。

F. 健康危険情報

現在のところ無し。

G. 研究発表

1. 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.
2. 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
3. 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
4. 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
5. 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
6. 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
7. 斎藤博之、安部真理子、原田誠三郎、鈴木紀行. A 群コクサッキーウィルス 4 型の流行. 病原微生物検出情報、Vol.24、No.9、22-23、2003

H. 知的所有権の取得状況

現在のところ無し。

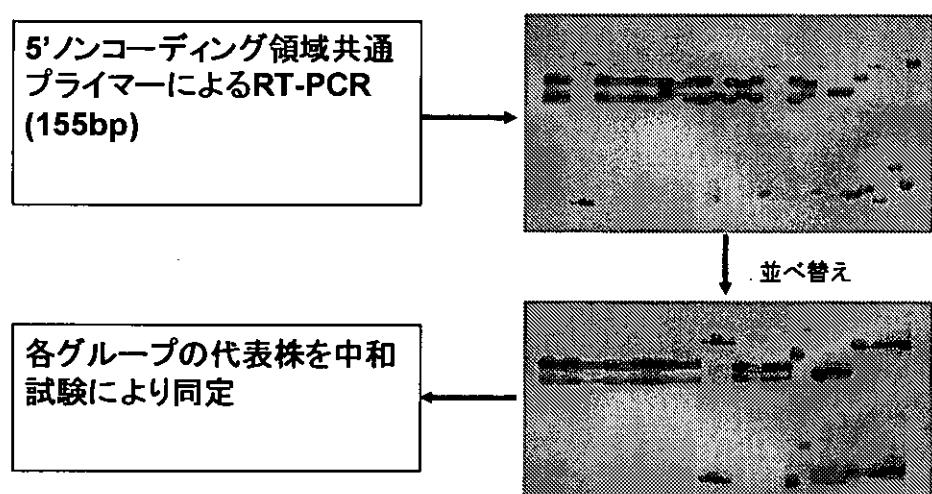


図1 SSCP解析によるエンテロウイルス同定の手順

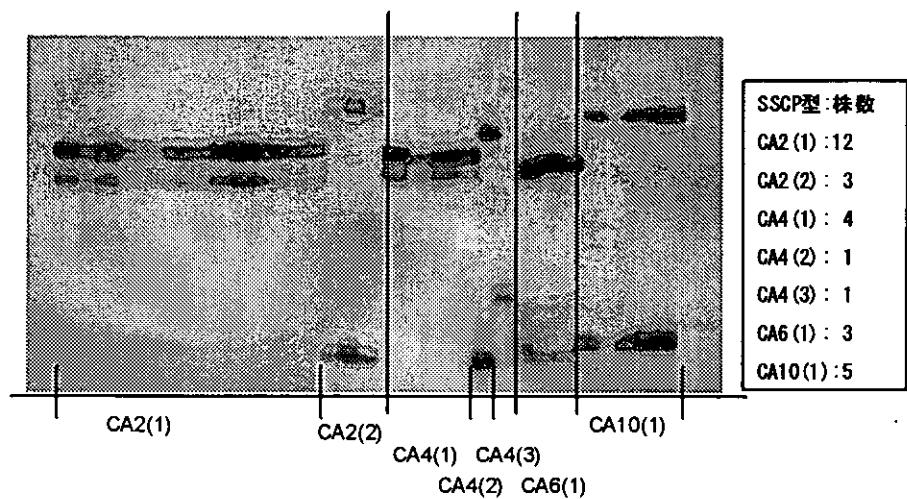


図2 SSCP解析によるエンテロウイルス同定結果