

200942007B

厚生労働科学研究費補助金

健康安全・危機管理対策総合研究事業

地域における健康危機に対応するための  
地方衛生研究所機能強化に関する研究

平成 19 年度～ 21 年度 総合研究報告書

研究代表者 吉村 健清

平成 22 年 3 月

# 目 次

I. 総合研究報告	
地域における健康危機に対応するための地方衛生研究所機能強化に関する研究	
吉村 健清	1
II. 分担研究報告	
1. 健康危機関連化学物質の迅速スクリーニング法の有効性の評価	
織田 肇	13
2. リアルタイム PCR 法を用いた食水系感染症原因細菌の網羅的検査法の検討	
長井 忠則	60
3. Simultaneous Screening of 24 Target Genes of Foodborne Pathogens in 35 Foodborne Outbreaks Using Multiplex Real-time SYBR Green PCR Analysis	
Hiroshi Fukushima	85
4. 原因不明感染症に対する迅速な包括的診断法の開発と有効性の評価	
織田 肇	115
5. 地衛研の疫学機能強化に関する研究	
小澤 邦寿	123
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	146
IV. 研究成果の刊行物・別刷	148

# I . 総合研究報告

地域における健康危機に対応するための地方衛生研究所機能強化に関する研究

研究代表者

吉村 健清 福岡県保健環境研究所長

#### 研究要旨

本研究では、健康危機管理のため地方衛生研究所（地衛研）が準備すべき網羅的かつ迅速な検査法について、細菌、ウイルス、化学の各部門で対象を選定し、それぞれの手法を確立した。さらに、その有効性について評価するとともに、地衛研の疫学機能の強化を目的とした。

細菌部門では、我が国で多く見られる食水系感染症原因菌について、リアルタイムPCR機器を用いて網羅的迅速検査法の確立を目指し、複数の地衛研において実証試験を実施した。検査対象菌種は食中毒原因菌を含む食水系感染症原因菌で、24種の病原遺伝子について検討した。24病原遺伝子を網羅的に検出する系を開発し、保存菌株ならびに事例試料から抽出したDNAを用いて検出感度ならびに検査結果の精度を検討した。その結果、従来の分離培養法では5～7日を要していたものが、この方法では1日以内で妥当な結果を得ることが可能となり、迅速かつ網羅的な検査法であることが実証された。

ウイルス部門では、健康危機発生時に、地衛研において実施すべきウイルス検査について、特に、呼吸器系、消化器系や中枢神経系症状を主徴とする原因不明感染症の患者検体を対象に、迅速性、網羅性を考慮した最適な手法を確立することを目的とした。この目的を達成するために開発した呼吸器系ウイルスを検出するためのマルチプレックス RT-PCR法は、9属、約230種の呼吸器系ウイルスを同時に、また高感度で迅速（5時間）に検出することができた。また、エンテロウイルスのPCR法による迅速な検出及び同定型別法の検討を行い、検査開始後24時間以内に速報を行う可能性が示された。さらに、これらの方法を用いて、実際の事例の検体から、その原因と推定されるウイルスを検出でき、健康危機管理上その有効性が認められた。

化学部門では、健康危機管理上優先順位が高い重金属（ヒ素、カドミウム、鉛、水銀）を対象とし、種々の試料（食品、水、生体試料）に適用できる標準的な重金属の迅速分析法を確立した。第1は、試料を酸および水で希釈してろ過し、誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP-AES）あるいは誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS）により測定する方法である（酸希釈法）。第2は、試料をマイクロ

ウェーブ分解装置で処理し、ICP-MSあるいは還元気化水銀分析法により測定する方法である（マイクロウェーブ分解法）。さらにマニュアルを作成し、健康危機発生時には、構築した迅速分析法を的確に適用できるようにした。

疫学部門では、地衛研における疫学機能のあり方、求められる疫学機能と機能強化方法を検討することを目的として、1) 疫学機能のあり方および推進強化する具体的方策の検討、2) 地衛研の研究体制と人材育成との関連について事例報告調査等からの探求 3) 期待される疫学機能の抽出と新型インフルエンザ対応における疫学機能の評価を実施した。その結論として、保健所の実地疫学調査を支援し、患者情報と検査情報を包括して捉える疫学チーム（疫学機能を専管的に執行する組織）を地衛研に設置することを提案した。また、過去の事例について、疫学部門と検査部門の活動を検証したところ、これら2部門の連携が重要なことが明らかであった。さらに、感染症疫学部門の設置状況には、自治体で多様な格差が存在していたことがわかった。このため、地衛研の実施すべき疫学機能の標準的モデルを提示することにより、本庁・保健所に対して、地衛研の重要性について認識を高めるとともに、自治体間の格差を是正させるための一定のルールを定めることが必要であると考えられた。

以上、地衛研の主要な4部門において、それぞれ研究を実施してきたが、ここで得られた成果によって、地衛研の健康危機発生時に対応する機能の強化を計ることができた。

#### 研究分担者

長井忠則	北海道立衛生研究所長
前田秀雄	東京都健康安全研究センター 前所長
小澤邦寿	群馬県衛生環境研究所長
織田 肇	大阪府立公衆衛生研究所長

#### A. 研究目的

地域における健康危機管理体制の一端を担う立場として、地衛研の機能強化が求められている。そこで、本研究は健康危機発生時に対応するため、微生物（細菌、ウイルス）、化学物質を網羅的かつ迅速に分析する手法を検討し、それぞれの検査手法の有効性を疫学的に評価

することと、地衛研の疫学機能における課題と対策を明らかにし、その機能強化を図ることを目的とした。

研究は、細菌、ウイルス、化学、疫学の4部門で実施した。

細菌部門では、食水系感染症原因菌について、インターカレーター法によるリアルタイムPCR法を、健康危機発生時の網羅的迅速検査法として確立し、地衛研への導入について検討することを目的とした。

ウイルス部門では、原因不明感染症に対して網羅的かつ高感度な迅速鑑別同定法の開発・改良を行い、行政機関に迅速な検査結果の提供を行うことを目的とした。具体的には呼吸器系および腸管系ウイルスの診断を目的に、マルチプ

レックス法も含めた RT-PCR 法による網羅的診断法を確立し、その有効性を評価した。

化学部門では、健康危機管理上優先順位が高い重金属（ヒ素、水銀、カドミウム、鉛）を検査項目とし、食品、水、生体試料を検査対象として、標準的な重金属の迅速スクリーニング分析法を新たに構築し、マニュアル化することを目的とした。

疫学部門では、今後の地衛研に必須である疫学機能のあり方、およびそれを推進強化する具体的方策を検討し、地域健康危機管理対策の一助とすることを目的とした。

## B. 研究方法

### B-1（細菌部門）リアルタイム PCR 法を用いた食水系感染症原因細菌の網羅的検査法の検討

最初に、各地衛研に導入されている異なる機種の実用性について、リアルタイム PCR 装置や試薬について、細菌が正確に検出できるかを検討した。検出対象とした菌種は、*Salmonella Enteritidis*、*Escherichia coli* O157、*Campylobacter jejuni*、*Staphylococcus aureus*、*Clostridium perfringens*、*Vibrio parahaemolyticus*、*Bacillus cereus* 及び *astA* positive *E. coli* の 8 種類であった。次に、検出対象とした菌種を拡大し、主要な食中毒原因菌である *Salmonella spp*、*Vibrio parahaemolyticus*、enterotoxigenic *Bacillus cereus*、emetic toxin producing *B. cereus*、*Campylobacter jejuni*、*C. coli*、*Staphylococcus aureus*、*Clostridium perfringens*、*astA* positive *Escherichia coli*、enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC)、enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)、enteropathogenic *E. coli* (EPEC)、enteroinvasive *E. coli* (EIEC)、enteroaggregative *E. coli* (EAEC)、diffusively adhesive *E. coli* (DAEC)、*Shigella spp.*、*V. cholerae*、*Plesiomonas shigelloides*、*Aeromonas hydrophila*、*Yersinia enterocolitica*、*Y.*

*pseudotuberculosis*、*Listeria monocytogenes*、*Providencia alcalifaciens* の 24 種を対象に加えた。検出方法は、SYBR Green を用いたリアルタイム PCR 法であった。同法について、検出感度を検討するとともに、実際の 24 事例の食中毒、感染症集団発生事例について、同法の有効性を検証した。また、福島らが、24 菌種を同時に検出できる網羅的検査キット(Rapid Foodborne Bacteria Screening 24: 以下、RFBS24)を開発したので、その検証試験も行った。

### B-2. (ウイルス部門) 原因不明感染症に対する迅速な包括的診断法の開発と有効性の評価

#### B-2-1. 呼吸器ウイルスについての網羅的迅速検査法の検討

呼吸器系ウイルスのうち、Influenzavirus A,B、及びC、RS virus、human Metapneumovirus、Rhinovirus、Enterovirus、Coronavirus、Parainfluenza virus、Bocavirus B、Adenovirus の 9 属、約 230 種を検出するマルチプレックス PCR 法を作製し、原因不明感染症の集団発生事例や個別発生事例について本開発法を応用し、その有効性を検討した（大阪府立公衆衛生研究所、福岡県保健環境研究所）。

#### B-2-2. 腸管系ウイルス遺伝子の検出システムの開発及び同定法の最適化

複数の PCR 検査法に関して、Enterovirus 分離株を用いて検討を行った。また、感染症発生動向調査事業により搬入された検体について、直接 PCR 検査及び direct sequence による遺伝子塩基配列に基づく血清型別の適用を実施した。また、同法を脳炎脳症疑い糞便検体に実施するとともに、検出範囲拡大のため Enterovirus 以外の胃腸炎ウイルスについても検討し、さらに搬入検体を用いた評価を行った（愛知県衛生研究所）。

### B-3. (化学部門) 健康危機関連化学物質の迅速スクリーニング法の有効性の評価

#### B-3-1. 地衛研検査マニュアルの精査

全国の地衛研で設定されている化学物質健康危機対応検査マニュアルを収集し、ヒ素、水銀、カドミウム、鉛の分析法について、特徴の把握を行い、迅速分析法構築の観点から精査・評価した。

#### B-3-2. 酸希釈法による ICP-AES 法および ICP-MS 法

各種食品、水道水・河川水および尿にヒ素、カドミウム、鉛および水銀を添加して試料とし、食品は硫酸と水で希釈し、ろ過後、誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-AES) で、水と尿は硝酸と水で希釈し、ろ過後、誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) で測定して、分析法の評価を行った。

#### B-3-3. マイクロウェーブ分解を用いた迅速分析法の検討

ヒ素、鉛、カドミウムの ICP-MS 測定条件の検討と試薬のブランクテストを行った。また、食品試料 (玄米、清涼飲料水) 及び生体試料 (頭髮) におけるマイクロウェーブ分解条件の検討を行った。次に、マイクロウェーブ分解を用いた迅速分析法を用いて、予め濃度が値付けされている認証値付きの環境標準試料 (玄米及び頭髮) を定量し、分析法の検証を行った。さらに試料に標準液を添加して添加回収試験 (n=4~5) を行った。

#### B-3-4 マニュアルの作成

健康危機発生時に、構築した分析法を的確に適用できるように、分かりやすいマニュアルを作成した。

### B-4. (疫学部門) 地衛研の疫学機能強化に関する研究

#### B-4-1 地衛研疫学機能のあり方及びその強化に必要な政策の探求

既の実施されている各地研の疫学機能事例を保健行動モデルを用いて分析し、地衛研疫学機能のあり方及びその強化に必要な政策を探求し、提案する。具体的な保健行動モデルとしては、Green らによる PREDEED-PROCEED Model (以下 P P モデル) を用いた。調査対象事例は、群馬県、東京都、埼玉県、神戸市、愛媛県の先進事例を対象とした。また、自治体の疫学機能強化のために、「リスクの探知」、「リスクの同定」、「リスクの応用」の3段階の各工程における具体的な推進策を、特に、地衛研の研究体制、人材育成との関連について、事例報告調査等から探求した。

#### B-4-2 疫学機能部門の設置状況の調査

地衛研における疫学部門の設置状況とその業務内容を全地衛研を対象に調査し、先進的な部門の設置・活動を実施している自治体を把握した。さらに、設置状況や業務内容について詳細に解析した。

#### B-4-3 期待される疫学機能の抽出と新型インフルエンザ対応における疫学機能の評価

平時において地方感染症情報センター (IDSC) に求められる機能と、新型インフルエンザ対応において IDSC に求められる機能について、5つの地方自治体において、本庁・保健所と地衛研職員に対して質問票調査を実施した。

#### (倫理面への配慮)

本研究においては、検査手法の疫学的評価が主になっているため、倫理面への対応は、特に必要ないものと思われる。

## C. 研究結果

C-1. (細菌部門) リアルタイム PCR 法を用いた食水系感染症原因細菌の網羅的検査法の検討  
Single primer を用いた試験では、SYBR<sup>®</sup> Premix Taq<sup>™</sup> および SYBR<sup>®</sup> Premix TaqII<sup>™</sup> (Takara Bio) を使用した場合、Applied Biosystems (ABI) 7000、7700、7500FAST で条件設定を行うことにより標的遺伝子が増幅された。DNA 濃度、機器により T<sub>m</sub> 値に差がみられた。T<sub>m</sub> 値の変動は±0.5〜1.0°C程度であり、この範囲を超えた T<sub>m</sub> 値設定を行うことにより multiplex PCR が可能になると考えられた。SYBR<sup>®</sup> Premix Taq<sup>™</sup> は primer dimer が SYBR<sup>®</sup> Premix TaqII<sup>™</sup> に比較し濃い濃度で確認された。

Power SYBR<sup>®</sup> Green PCR Master Mix (ABI) を使用した場合、指定の annealing 温度で試験した結果、*S. Enteritidis*、*V. parahaemolyticus* ならびに *B. cereus* で ampricon の増幅がみられなかった。annealing 温度を変更すると *S. Enteritidis* で増幅がみられたが、陰性対照に非特異的増幅がみられた。7500FAST では、SYBR<sup>®</sup> Premix TaqII<sup>™</sup> を使用し、通常モードで行った試験が良好な結果を示すことが分かった。以上のことから single primer の場合は、試薬に SYBR<sup>®</sup> Premix TaqII<sup>™</sup> を選択し条件設定することにより良好な結果が得られることが分かった。

比較的 T<sub>m</sub> 値の離れた菌種を検出するため duplex primer とし、リアルタイム PCR を行った。サイクル数を増やすと陰性対象に非特異反応が現れることから PCR 反応は 30〜35 サイクルが望ましいことが分かった。また、SYBR Green 法はプローブを必要としないため、primer 設計を自由に行える利点があった。

実際に発生した事例を用いた検証では次の結果を得た。*C. perfringens* もしくは *B. cereus* 食

中毒事例の糞便試料ならびに食品試料から抽出した DNA では、対象とする遺伝子部位が増幅され、培養法により数日かけて得られた結論と同じ結論を1日以内に出せることが確認された。行政的には原因が不明であった事例について astA 遺伝子が 89% の検体から検出された例があった。培養検査では *Campylobacter* のみ検出されたが、リアルタイム PCR により EPEC および *Aeromonas* も関与していると推察された例があった。リアルタイム PCR で原因菌の遺伝子が先行検出され、培養検査により同一原因菌が分離された例があった。また、単一の原因と結論づけられたが、他の菌の関与が推定された例等があった。

次に、24 病原遺伝子を同時に検出する RFBS24 を作成し、事例に適用した。検出感度は増幅が 30 サイクルであること、1 反応系に 4 種の primer を用いるため single primer 使用時に劣るものの、一度に多数の遺伝子を確認することができ、事例発生時にスクリーニングとして使用することが有用であることが確認された。

## C-2. (ウイルス部門) 原因不明感染症に対する迅速な包括的診断法の開発と有効性の評価

### C-2-1. 呼吸器系ウイルスについての網羅的迅速検査法の検討

(1) 開発した multiplex PCR 法の各ウイルスに対する最小検出感度は、通常の各感染症で検出同定が可能な感度であった。また、高齢者施設における原因不明の呼吸器疾患の集団発生 1 事例に対して本診断法を応用したところ、原因ウイルスは Rhinovirus と同定できた。また、RS virus 感染を疑う個別発生事例 117 例において、約 9 割の症例でウイルスを同定可能であった。なお、約半数の症例で

複数のウイルスが検出された（大阪府立公衆衛生研究所）。

(2)呼吸器系ウイルスを迅速に網羅的に検出できる multiplex one-step RT-PCR 法による呼吸器系ウイルスの検査法を確立した。確立した本検査法について、平成 18～20 年度に感染症発生動向調査事業により搬入された 108 検体について、培養法を用いたウイルス分離同定試験の結果と比較した。その結果、培養細胞を用いた分離同定法（32 検体から分離同定）と本検査法（30 検体から検出）の陽性一致率は 77.1%であった。分離陽性で PCR 法陰性が 5 検体、逆に分離陰性、PCR 法でエンテロウイルスが検出されたものが 3 検体（2.8%）あった。また、県内の小児科より搬入された 90 検体について本法を適用した結果、Rhinovirus が 32 検体、Parainfluenza virus が 18 検体、human Metapneumovirus が 16 検体、Adenovirus が 3 検体、Bocavirus が 1 検体から検出された。この結果から、実際の臨床検体に適用しても包括的な迅速診断法としてその効果を十分に発揮することが期待できた（福岡県保健環境研究所）。

#### C-2-2. 腸管系ウイルス遺伝子の検出システムの開発及び同定法の最適化

Enterovirusを検出する3種類のPCR手法について、ウイルス分離株を用いて検討を行った。プロトコルAは検討した全てのウイルス型を検出可能であったが、感度は他のプロトコルより低かった。PCR産物の塩基配列決定による血清型別は容易であった。プロトコルBは polio virus をのぞく検討した全てのウイルス型をAよりも高感度に検出し、PCR産物を用いる型別が可能であった。プロトコルCは全てのウイルス型を高感度に検出したが、PCR産物からの型別は一部困難

であった。

次に、これらの検査法を実際の検体へ適用した。A群 coxsackie virusについては3者ともほぼ同程度検出可能であったが、enterovirus 71 についてはプロトコルAでは6検体全て陰性、同Bは50%、同Cは100%陽性と結果が分かれた。

また、RT-PCR法を用いたEnterovirus 及び Adenovirus 迅速検出システムの評価・検討も行った。20年度はPCR及び分離陽性4例、PCR陰性分離陽性2例（adeno 3、adeno 5各1例）、PCR及び分離陰性14例であったが、21年度は Adenovirus PCR法を加えPCR陽性分離陰性7例（Adeno 3 2例、Cox. A2、A6、Echoll、Adeno 6 各1例、CoxA16 及び Adeno 3 検出1例）、PCR陰性分離陽性1例（Influenzavirus）、PCR及び分離陰性24例とPCRの感度が改善した（愛知県衛生研究所）。

#### C-3. (化学部門) 重金属の迅速検査法の確立

##### C-3-1. 地方衛生研究所検査マニュアルの精査

入手できた 26 地衛研の健康危機対応検査マニュアル類から分析法を抽出し、精査・評価した結果、目指すべき迅速分析法は「試料中の重金属を酸および水で希釈して抽出し、遠沈ろ過後、誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP-AES）あるいは誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS）により測定する方法」となった。

##### C-3-2 酸希釈法による ICP-AES 法および ICP-MS 法

食品での添加回収試験では、平均回収率は 78～107%、変動係数は 1～13%と良好な結果が得られた。また、水道水・河川水での添加回収試験では、ヒ素、カドミウム、鉛については、平均回収率 97～113%、変動係数 1.9～2.9%と良好な結果が得られた。水銀については、平均回収率は 123%、91%と比較的良好な結果が得

られたが、変動係数が9.6%、12%とやや高い値を示した。そこで、水銀について定性分析を行ったところ、1試料あたり約5分という短時間で、未知試料における水銀の有無の確認が可能であることが分かった。尿での添加回収試験では、ヒ素、カドミウムおよび鉛の平均回収率は84~100%、変動係数は1.8~3.8%と良好であった。一方、水銀は、尿中からの検出は可能であるが、定量は困難であると判断された。ただし、高濃度の場合は確認できるため、健康危機管理時に対応可能と判断できた。

#### C-3-3. マイクロウェーブを用いた迅速分析法の検討

ICP-MS測定条件を検討し、ヒ素、カドミウム、鉛について1-100ppbの範囲で検量線を作成したところ、いずれの元素も良好な直線性が得られた。また、マイクロウェーブ分解装置を用いた食品(玄米及び清涼飲料水)及び生体試料(頭髮)の前処理条件を検討した。清涼飲料水は0.5gの試料に硝酸の量は8mLとし、1回の分解プログラムで無色透明な分解液が得られた。玄米は1回の分解では不十分であったため、さらに過酸化水素0.5mLと硝酸2mLを加えて2回目の分解を行うこととした。頭髮は0.1gの試料を用いることとした。

さらに、環境標準試料(認証値付き試料)の定量及び添加回収試験を行い、分析法の検証を行った。その結果、頭髮中のヒ素、鉛については認証値付きの試料においてやや高めの値であったが、その他はほぼ良好な結果であった。健康危機発生時の検査として適用可能であると考えられた。

#### C-3-4 マニュアルの作成

迅速分析法のマニュアルを作成したが、その構成は、I. 試薬類、II. 装置、III. 器具等、IV. 試料溶液および標準液の調製、V. 定性・

定量、VI. 計算式、VII. 判定、VIII. 文献、IX. フロアシートになった。

#### C-4. (疫学部門) 地衛研の疫学機能強化に関する研究

##### C-4-1 地衛研疫学機能のあり方及びその強化に必要な政策の探求

PPモデルに基づいて地衛研の疫学機能を推進する要因について分析した。

1) 地衛研の活動における前提要因としては、①地方自治体の疫学機能に対する必要性の高まり、②優れた試験検査機能・実績、③本庁・保健所との役割分担の見直しが明らかとなった。

2) 地研活動における実現要因としては、①ジョブ・ローテーションによる人材育成、②多職種の職員配置による組織の広角化、③実務的疫学研修の履修による基盤強化、④疫学業務専管組織の配置、⑤試験検査部門と疫学情報部門の連携体制の強化、⑥政策的方向性の明確化が明らかとなった。

3) 地研活動における強化要因としては、①厚生労働科学研究等研究助成事業への参加、②保健所・市町村との交流、③関係機関との連携、④マスコミからの取材、⑤地衛研ネットワークの交流が明らかとなった。

4) 環境要因を検討したところ、地衛研の疫学機能が推進される自治体においては①属人的要因(指導能力のある所属長の在籍等)、②財政的要因(所属自治体の財政が健全)、③組織風土(開明的な組織運営等)等の地衛研固有の条件が存在していることが分かった。

次に、事例分析に基づき実施主体別の疫学機能推進方策を検討した結果は次のとおりであった。

##### 1) 各地衛研の実施すべき方策

①試験検査機能のブラッシュアップ

②研修情報提供相談等による市町村・保健所との関係性の強化

### ③関係機関との連携の強化

#### 2) 地衛研全国協議会の実施すべき方策

##### ①地衛研機関間のネットワークの強化

##### ②研究助成事業及び研修事業を通じた研究体制の強化

##### ③自治体・地研の疫学機能に関する提言

#### 2) 本庁

##### ①活性化のための人事計画

##### ②疫学機能を所管する組織の設置

#### 3) 厚生労働省

##### ①自治体の疫学機能の推進の政策的誘導

##### ②地衛研の位置づけの強化

さらに、自治体の疫学機能の、「リスクの探知」、「リスクの同定」、「リスクの応用」の3段階の各工程における具体的な推進策を探索した。「リスクの探知」は、健康危機管理のための疫学機能の基盤である。今回の検討を通じて、感染症法に基づいて地方感染症情報センターに集積される発生動向情報等から感染症アウトブレイクの早期探知が可能であることが明らかとなった。「リスクの同定」においては、試験検査機能の高度化に伴い、発生状況に応じた精緻な検査が可能となっていることから、疫学部門と検査部門は密接な連携により検査部門が事前から実地疫学情報を踏まえると、非定型的な健康危機事例においても実効性ある検査プロトコルの設計が可能である事が事例から示された。「リスクの応用」においては、健康危機が規模、形態とも多様化しており、一人一人の職員が全体的な知識経験を持つことは不可能となっているため、拠点施設へ知見及び専門職員を集積することによる疫学機能の強化が必要である。このため、地衛研内への独立した疫学情報部門の設置が自治体としての疫学機能強化のために効率的かつ効果的と考えられる。

#### C-4-2 疫学機能部門の設置状況の調査

全ての地衛研を対象に実施した質問票調査では、回答が得られた51ヶ所（回答率：72%）のうち、41ヶ所で疫学・情報事業を実施しており、この41ヶ所すべてにおいて、感染症に関連する事業が実施され、多くで感染症発生動向調査が実施されていた。しかし、感染症疫学を担当する専門部門が設置されていたのは、19ヶ所と少なかった。また、感染症疫学を担当する専門部門に設置されている備品や予算には自治体間で大きな相違があった。

#### C-4-3 期待される疫学機能の抽出と新型インフルエンザ対応における疫学機能の評価

5つの地方自治体の本庁・保健所と地衛研職員に対して実施した調査では、本庁・保健所と地衛研が考える、感染症疫学部門に必要な業務を「優先設置業務」と「設置推奨業務」に分類した。その結果、保健所職員が設置するべきと考えているIDSCの機能と、地衛研職員が設置するべきと考えている疫学機能との間に、相違が存在する可能性があることが明らかになった。情報を発信するIDSCは、情報を受け取る保健所や本庁の期待に適切に対応することも、本部門の機能強化としても重要な事柄であると考えられる。一方、平時と新型インフルエンザ対応時において、IDSCに求められる業務内容に大きな相違は特定されなかった。

#### D. 考察

細菌部門の検討の結果、SYBR Greenを用いたリアルタイムPCRは、使用した機器で動作が確認され、導入する意義は高いと考えられた。Multiplex PCRとした場合、single primer時より検出感度は落ちるものの、増幅産物の確認にTm値を用いるため分別は可能である。また、24種の遺伝子を同時に検出する系を作出したが、実際に事例の検体について検証したところ、

この方法を事例発生時に導入することは有用と考えられた。

また、インターカレーター法によるリアルタイム PCR 法を実際の事例に適用して検証を行った結果から、次のことが明らかになった。(1)食中毒発生時にリアルタイム PCR を用いることにより、迅速な結果が得られ、従来法の実施に関して効率の対応を可能にする、(2)迅速に複数の病原遺伝子を検出するため、原因物質の特定について重層的な解析を可能にし、原因究明に資することが可能となる、(3)原因不明の事例について網羅的に検査することにより、原因推定を可能にすることができ、事例発生時に迅速な対応が可能となると考えられる。

ウイルス部門において開発した、呼吸器ウイルスを対象とするマルチプレックス PCR 法は 9 属、約 230 種のウイルスを同時に、また高感度で比較的迅速（5 時間）に検出することができた。さらに、分離同定法と比較しても遜色なく、呼吸器感染症の集団、また個別事例において、その原因ウイルスを診断でき、健康危機管理上その有効性が認められる。

Enterovirus を対象とする、網羅的で高感度とされる新たなプロトコル A による PCR 法は、過去 4 年間に分離されたウイルス株に対して検出感度は従来法に劣っていたが、陽性検体の型別に関する情報量は多く有用であった。致死的脳脊髄炎の集団発生を起こす Enterovirus 71 や polio virus の検出に問題があり、VP2-4 領域を標的とした新たなプロトコル検討を行った。また、各年度 20 症例以上を検討し、Adenovirus を対象とした PCR 法の併用によりウイルス分離より感度が向上した。

化学部門では、今回構築した酸希釈法では、食品の場合、いずれの重金属でも適切に測定できることがわかった。また、水および尿の場合、

ヒ素、カドミウムおよび鉛では適切に測定できることがわかった。水銀については、定量は困難であるが、健康危機時のように高濃度の場合には確認できるため、使用できることがわかった。これらの検討により、酸希釈法を用いれば、測定時間を 2 時間程度に短縮できるとともに、操作も簡便化できることがわかった。さらにマニュアルを作成したので、健康危機発生時には、構築した迅速分析法を的確に適用できると考えられる。

また、食品試料及び生体試料の迅速な前処理装置として、マイクロウェーブを用いた方法の検討を行った。食品試料として玄米と清涼飲料水を、生体試料として頭髪を用い、環境標準試料（認証値付き試料）の定量及び添加回収試験により分析法の検証を行った結果、ほぼ良好な結果が得られ、健康危機発生時の検査法として適用できることがわかった。検査時間については、これまでの湿式分解/原子吸光法の半分以下の時間で検査が可能であり、一日以内で結果を出すことが可能であると考えられた。健康被害発生時のスクリーニング検査法として非常に有用な方法と考えられた。

疫学部門が検討した各事例では、地研のあり方の再検討、組織体制の強化、連携の推進等の様々な推進要因が複合的に作用して事業が推進されていることが明らかとなった。そして、それらの具体的な推進要因は、地衛研自身だけでなく、所属自治体、地衛研全国協議会等が連携して積極的に地衛研の機能強化に取り組むことによって実現される。すなわち、地方自治体は、多様化・複雑化する健康危機に迅速的確に対応し、事前予防型政策を推進するために、疫学機能を組織的に強化することが必要である。そのために、新たな保健所・本庁・地衛研の役割分担を再検討した結果、多くが地方感染症

情報センター機能を有し、試験検査部門と疫学調査部門の密接な連携が可能である、地衛研へ疫学機能を集約化することが、最も効率的かつ効果的であると考えられた。また、自治体間格差を是正させるためには、本部門の設置に対して一定のルールを定めることが重要であると考えられた。

#### E. 結論

健康危機に対応するためには、地衛研の機能強化が必要であるが、本研究においては、病原微生物（細菌、ウイルス）、有害化学物質の迅速診断法を検討し、食水系感染症原因細菌、呼吸器系ウイルス、中枢神経系ウイルス、重金属

についての検査法について、実用化が可能と考えられる方法を確認した（表1）。そして、さらに実証的な検討を行い、一部検査の条件等を改良し、地方衛生研究所全体へ普及できる方法を提示することができた。

また、疫学的機能の強化については、現在の地衛研の疫学機能について解析を行い、地方自治体における疫学機能を地衛研に集約するとともに、保健所に対する疫学機能の支援、地衛研内で疫学部門と検査部門の日常的な連携を図ることなどが重要であり、さらに感染症疫学部門の設置を制度的に定めることが必要であることを明らかにした。

表1. 各部門において確立した網羅的、迅速検査法

部門	検査対象	種類	新たな検査方法	従来法	改善点
細菌	食水系感染症原因菌	24種	インターカレーター法によるリアルタイムPCR法	分離培養法	時間:5~7日(分離培養)→1日以内 作業量、使用培地の減少
ウイルス	呼吸器ウイルス、 中枢神経系ウイルス	230種 180種	マルチプレックスPCR法	分離培養法	時間:1週間以上(分離培養)→1~2日 作業量の減少
化学	重金属	4種	①酸希釈法によるICP-AES及びICP-MS法 ②マイクロウェーブ分解によるICP-MS法	湿式分解法による原子吸光分析	時間:2~3日(湿式分解法) →6時間(マイクロウェーブ分解) 多元素同時分析が可能

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Fukushima, H., Katsube, K., Tsunomori, Y., Kishi, R., Atsuta, J. and Akiba, Y.: Comprehensive and Rapid Real-Time PCR Analysis of 21 Food-borne Outbreaks., Int. J. Microbiol., epub article ID917623, 2009, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2775201/pdf/IJMB2009-917623.pdf>.
- 2) 伊藤雅、山下照夫、都築秀明、栂島由佳、藤浦明、長谷川晶子、長谷聡子、榮賢司、皆川

- 洋子: Human parechovirus の検出ならびに同定方法の検討. 愛知県衛生研究所報 58:1-8, 2008.
- 3) 山下照夫、伊藤雅、水谷絵美、藤原範子、皆川洋子: 無菌性髄膜炎からのエンテロウイルス検出状況、2004~2008年. 病原微生物検出情報 30(1):6-8, 2009.
- 4) 山下照夫、伊藤 雅、川口まり子、田中正大、秦 真美、小林慎一、皆川洋子: 感染性胃腸炎および流行性角結膜炎患者からのアデノウイルス検出状況-愛知県. 病原微生物検出

情報 29(4):96-98, 2008.

5) 野村千枝, 尾花裕孝, 織田肇: 健康危機対応を目的とした食品中有害重金属等の迅速分析法の検討, 食品衛生学雑誌, 50(5), 253-255 2009.

6) 芦塚由紀, 岡本華菜, 山本重一, 中川礼子: マイクロウェーブ分解装置を用いた重金属の迅速分析法の検討, 福岡県保健環境研究所年報, 36:61-66, 2009.

## 2. 学会発表

1) 福島博: SYBR green リアルタイム PCR 法による食中毒 21 事例からの原因菌の迅速スクリーニング. 第 29 回食品微生物学会学術総会, 広島, 2008 年.

2) 福島博: Multiplex Real-time SYBR Green PCR による食中毒原因菌 24 標的遺伝子の同時スクリーニング法の開発, 第 30 回日本食品微生物学会学術総会, 東京, 2009 年.

3) 福島博: Multiplex Real-time SYBR Green PCR による食中毒原因菌 24 標的遺伝子の同時スクリーニング法の開発, 平成 21 年度日本獣医公衆衛生学会, 宮崎, 2010 年.

4) 福島博: Multiplex Real-time SYBR Green PCR による食中毒原因菌 24 標的遺伝子の同時スクリーニング法の開発, 第 84 回日本感染症学会総会, 東京, 2010 年.

5) 伊藤雅, 山下照夫, 皆川洋子: 愛知県におけるヒトパレコウイルス (HPeV) の検出状況. 第 49 回日本臨床ウイルス学会, 愛知県犬山市, 2008 年.

6) 山下照夫, 伊藤 雅, 川口まり子, 小林慎一, 皆川洋子: ノロウイルス等胃腸炎ウイルスの発生動向とパレコウイルスおよびコブウイルス. 第 49 回日本臨床ウイルス学会, 愛知県犬山市, 2008 年.

7) 伊藤 雅, 山下照夫, 藤浦明, 長谷川晶子, 秦 眞美, 小林慎一, 榮 賢司, 皆川洋子: ヒトパレコウイルス (Human parechovirus: HPeV) 感染症について. 衛生微生物技術協議会第 30 回研究会シンポジウム III 堺市 2009 年.

8) 小林慎一, 伊藤 雅, 山下照夫, 皆川洋子: 平成 20 年度の愛知県におけるノロウイルスとサポウイルスの検出状況. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会 東京都 2009 年.

9) 伊藤 雅, 山下照夫, 皆川洋子: 臨床検体から検出されたカルディオウイルス属 Saffold virus について. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会 東京都 2009 年.

10) 野村千枝, 北川幹也, 尾花裕孝: 食品中に混入された重金属の迅速簡易分析法の開発. 第 96 回日本食品衛生学会学術講演会, 神戸, 2008 年.

11) 芦塚由紀, 岡本華菜, 山本重一, 中川礼子: マイクロウェーブ分解装置を用いた食品中重金属の迅速測定法について. 第 30 回九州衛生環境技術協議会, 大分, 2009 年.

12) 塩野雅孝, 鈴木智之, 塩原正枝, 森田幸雄, 加藤政彦, 小澤邦寿, 木村博一: 群馬県における麻しんの発生事例と対応, ウイルス部会 (関東地区) 水戸市 2007 年.

13) 鈴木智之, 塩野雅孝, 塩原正枝, 森田幸雄, 加藤政彦, 小澤邦寿: 2007 年群馬県の麻しん流行と麻しんサーベイランスの評価, 第 26 回群馬県臨床検査技師会学術発表会 前橋市 2008 年.

14) 灘岡陽子, 梶原聡子, 池田一夫, 阿保満, 神谷信行他: 東京都におけるインフルエンザ定点追加指定とサーベイランス結果への影響. 第 22 回公衆衛生情報研究協議会研究会, 2009 年.

15) 塩原正枝、鈴木智之他：群馬県感染症発生動向調査で報告された百日咳に対する医療機関へのアンケート調査結果（ワクチン接種歴と診断方法）。第22回公衆衛生情報研究協議会研究会、2009年。

16) 八幡裕一郎：ルーモアサーベイランスによるアウトブレイクの探知と対策。第22回公衆衛生情報研究協議会研究会、2009年。

17) 岸本剛他：埼玉県におけるコレラ菌食中

毒事例について。第22回公衆衛生情報研究協議会研究会、2009年。

18) 川本薫、岸本剛他：0157等原因調査事業による県内散発患者間の共通性の検討。第22回公衆衛生情報研究協議会研究会、2009年。

## G. 知的所有権の取得情報

### 1. 特許取得

特許出願中（細菌部門、福島博）

## Ⅱ. 分担研究報告

平成 19—21 年度厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）  
総合研究報告書

地域における健康危機に対応するための地方衛生研究所機能強化に関する研究

分担報告書

健康危機関連化学物質の迅速スクリーニング法の有効性の評価

主任研究者	吉村健清	福岡県保健環境研究所	所長
分担研究者	織田 肇	大阪府立公衆衛生研究所	所長
協力研究者	熊谷信二	大阪府立公衆衛生研究所	衛生化学部長
	尾花裕孝	大阪府立公衆衛生研究所	衛生化学部食品化学課長
	足立伸一	大阪府立公衆衛生研究所	衛生化学部生活環境課長
	吉田俊明	大阪府立公衆衛生研究所	衛生化学部生活環境課主任研究員
	野村千枝	大阪府立公衆衛生研究所	衛生化学部食品化学課研究員
	安達史恵	大阪府立公衆衛生研究所	衛生化学部生活環境課研究員
	中川礼子	福岡県保健環境研究所	保健科学部生活化学課長
	芦塚由紀	福岡県保健環境研究所	保健科学部生活化学課研究員
	山本重一	福岡県保健環境研究所	環境科学部大気課主任技師

**研究要旨**

健康危機優先順位が高い重金属（ヒ素、カドミウム、鉛、水銀）を対象とし、種々の試料（食品、水、生体試料）に適用できる標準的な重金属の迅速分析法を確立した。第 1 は、試料を酸および水で希釈してろ過し、誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP-AES）あるいは誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS）により測定する方法である（酸希釈法）。第 2 は、試料をマイクロウェーブ分解装置で処理し、ICP-MS あるいは還元気化水銀分析法により測定する方法である（マイクロウェーブ分解法）。さらにマニュアルを作成し、健康危機発生時には、構築した迅速分析法を的確に適用できるようにした。

**第 1 部. 酸希釈法**

**A. 研究目的**

平成 10 年 7 月に和歌山市で発生した「カレー毒物混入事件」後、同事件を教訓とし、地域における健康危機に際し、地方衛生研究所が迅速かつ

的確にその原因究明を行うことが被害の拡大防止や治療法の決定のために重要であると認識された。そのためには、健康危機管理要領の策定、資材・設備・機器等の整備、検査に係わる人材の

育成・研修、定期的な訓練に加え、迅速で簡便な検査法のマニュアルの整備が必要である。このため、この研究では、健康危機管理上優先順位が高い重金属、すなわち米国CDC（疾病管理予防センター）のATSDR（毒物疾病登録局）の優先順位リスト上位化合物であるヒ素、水銀、カドミウムおよび鉛に関する迅速で簡便な分析法を確立し、マニュアルを作成する。

## B. 研究方法

### B-1. 地方衛生研究所検査マニュアル等の精査

全国の地方衛生研究所が作成している化学物質健康危機対応検査マニュアルの中で、食品および水試料中のヒ素、水銀、カドミウム、鉛の分析法を抽出し、分析操作性などを基準に簡易法、スクリーニング法、確認・定量法に分類した。さらに、各分析法について、特徴の把握を行い、迅速スクリーニング法構築の観点から精査・評価した。尿中のヒ素、水銀、カドミウム、鉛の分析法については、文献検索サービスPubMedにより関連文献を抽出し、食品・水と同様に精査・評価した。

### B-2. 新たな迅速分析法の検討

#### B-2-1. 食品

試料は冷凍食品を中心に、そばめし、ハヤシライス、大粒肉焼売、五目春巻き、豚カルビ焼肉、海老焼売、ホワイトシチュー、ビーフシチュー、お好み焼き、餃子、中華丼の具、レトルトカレー、牛乳、乳飲料、コーヒー、ジュースを用いた。これらを均質化した後、0.25 gを採り、ヒ素、カドミウム、鉛および水銀 25  $\mu\text{g}$  を添加後（添加濃度 100  $\mu\text{g}/\text{g}$ ）、濃硫酸で 10 g にした。ホモジナイズ後、その内 4 g を採り 1%硝酸で 50 mL に定容した（500 倍希釈、0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）。これをろ過（0.45  $\mu\text{m}$ 、PTFE）して試験溶液とし、誘導結合プラズマ発光分光分析計（ICP-AES、島津製作所製 ICPS-7510）により各金属濃度を測定した。

#### B-2-2. 水

当所水道水（大阪市）および河川水（大阪府内河川表流水）に、ヒ素、カドミウムおよび鉛は 50

mg/L になるように、水銀は 20 mg/L になるように添加して試料とした。次に、試料液を希釈して、各金属濃度が誘導結合プラズマ質量分析計（ICP-MS）の測定濃度範囲になるよう調製するとともに、ヒ素、カドミウムおよび鉛については、硝酸濃度が 1%に、水銀については硝酸濃度が 5% となるよう硝酸を添加した。また、低濃度の水銀溶液は揮発する傾向があるため、揮発防止の目的で塩化金を添加した。そして ICP-MS（島津製作所製 ICPM-8500）により各金属濃度を測定した。

#### B-2-3. 尿

健康人 5 名の尿 40 mL に硝酸 8 mL を加えて、遠心分離した後、上澄み液をろ過（0.45  $\mu\text{m}$ 、PTFE）して酸処理尿を得た。ヒ素、カドミウムおよび鉛については、この酸処理尿 1.5 mL を分取し、硝酸 0.5 mL、水 28 mL を加え試料溶液とした。また、回収率の検討のため、酸処理尿 1.5 mL に硝酸 0.5 mL、標準溶液 0.3 mL（1%硝酸中にヒ素 10 mg/L、カドミウムおよび鉛 100  $\mu\text{g}/\text{L}$  含有するように調製）、水 27.7 mL を加え試料溶液を調製した。水銀については、酸処理尿 0.6 mL を分取し、硝酸 2.4 mL、水 27 mL を加え試料溶液とした。また、回収率の検討のため、酸処理尿 0.6 mL に硝酸 2.3 mL、標準溶液 1.2 mL（5%硝酸中に水銀 10  $\mu\text{g}/\text{L}$  含有するように調製）、水 25.9 mL を加え試料溶液を調製した。そして ICP-MS（島津製作所製 ICPM-8500）により各金属濃度を測定した。

#### B-3. 分析マニュアルの作成

今回確立した食品、水および尿中重金属の迅速分析法のマニュアルを作成した。

## C. 結果

### C-1. 地方衛生研究所検査マニュアル等の精査

#### C-1-1. 食品・水

##### ①ヒ素

地方衛生研究所の 15 機関が簡易法を設定し、メルコクアントカパックテストのキット法を採用している場合が多かった。7 機関がスクリーニ

ング法を設定していた。試料の抽出では、水または希硝酸により抽出し、ICP-MS、ICP/AES、水素化原子吸光で定量的に測定しているが、前処理にほとんど手をかけずに蛍光 X 線により定性的に検出する機関もあった。21 機関が確認・定量試験を設定している。前処理には湿式灰化を採用している機関が多いが、マイクロウェーブ処理を採用している機関もあった。検出系はスクリーニング法と同じような手法が多いが、ジエチルジチオカルバミン酸銀法により比色測定する例もあった。マイクロウェーブ処理以外の方法では、灰化には時間を要するので本研究で求められる迅速性には適していない。また、カレーに添加したヒ素を水抽出して測定する方法でも十分な回収率が得られたとする報告もあり、本研究の方向性を考える上で有用な情報と考えられた。

## ② 水銀

地方衛生研究所の 2 機関が簡易法を設定し、1 機関がヨシテスト水銀を採用しているが、当該キットは現在市販されていないようである。4 機関がスクリーニング法を設定していた。主な手法は、試料を水抽出後、金アマルガム捕集原子吸光測定する方法、試料を希硝酸抽出後 ICP-MS により測定する方法などがあった。17 機関が確認・定量試験を設定していた。一部機関でマイクロウェーブ灰化抽出を行う以外は、スクリーニング法と同じような方法を組み合わせて定量・確認法として位置づけている機関が多かった。

## ③ カドミウム

地方衛生研究所の 2 機関が簡易法を設定し、いずれもヨシテストカドミウムを採用しているが、市販されていることを確認できなかった。6 機関がスクリーニング法を設定している。主な手法は、試料を水や希硝酸抽出後、原子吸光や ICP-MS により測定する方法などがある。定性的には蛍光 X 線測定も設定されている。18 機関が確認・定量試験を設定している。鉛と同様にスクリーニング法と確認・定量試験の違いは、確認・定量試験では試料の灰化抽出をほとんどの機関が採用していること、灰化後さらに溶媒 (DDTC-MIBK) 抽出

を追加、検出系にフームレス原子吸光の採用などである。

## ④ 鉛

地方衛生研究所の 1 機関だけが簡易法を設定していた。6 機関がスクリーニング法を設定している。主な手法は、試料を水や希硝酸抽出後、原子吸光や ICP-MS により測定する方法などである。定性的には蛍光 X 線測定も設定されている。18 機関が確認・定量試験を設定していた。スクリーニング法と確認・定量試験の違いは、確認・定量試験では試料の灰化抽出をほとんどの機関が採用していること、灰化後さらに溶媒 (DDTC-MIBK) 抽出を追加、検出系にフームレス原子吸光の採用などである。

## C-1-2. 尿

尿中金属の分析法の検索では 28 の文献が検出された。前処理法として様々なものが記載されており、例えば、㉑尿を硝酸で希釈する（酸性調整する）、㉒尿を硝酸・塩酸で希釈する（酸性調整する）、㉓尿を鉍酸で加熱湿式分解後、水で希釈、㉔尿を遠心分離後、上澄み液を超純水で希釈する、㉕尿を遠心分離後、上澄み液をろ過し、硝酸で希釈する、㉖尿を pH1.0 - 1.1 に調整し活性炭を加えて過熱し、さらに APCD と反応させた後、MIBK 抽出し、蒸発乾固後、硝酸・過酸化水素で溶出する、㉗尿を塩酸・重クロム酸カリウム溶液で希釈、などの方法が記載されていた。

また、水銀およびヒ素については、無機・有機を分離して測定する方法、あるいはイオン価により分離して測定する方法も示されている。例えば、㉘尿に塩酸および  $\text{NaBH}_4$  を添加し、ヘリウムでバブリングして、生じたガスを乾燥用チューブを通した後、液化窒素でトラップし、さらにガスクロマトグラフで分離して最後に ICP-MS で検出する、㉙尿を遠心分離後、ろ過し、内部標準を添加後、イオンクロマトグラフあるいは高速液体クロマトグラフで分離して、最後に ICP-MS で検出する、などである。

## C-2. 新たな迅速分析法

### C-2-1. 食品

濃硫酸による希釈法を用いて、13食品について添加回収試験(添加濃度 100 µg/g)を行った結果、平均回収率は 78~107%、変動係数は 1~13%と良好な結果が得られた(表 1)。

ヒ素については、添加濃度を 20 µg/g として、同様の方法で前処理および測定を行ったが、12食品について、平均回収率は 71~106%、変動係数は 3~11%と良好な結果が得られた(表 2)。

表 1. 食品における硫酸希釈法による平均添加回収率 (%)

添加濃度 100 µg/g の場合 (n=5)				
試料	As	Hg	Cd	Pb
牛乳	88±3	99±2	97±2	92±3
そばめし	98±4	93±5	95±1	102±4
ハヤシライス	93±7	94±11	94±4	96±8
大粒肉焼売	100±2	79±9	91±2	93±5
五目春巻き	98±3	78±8	90±3	92±5
豚カルビ焼肉	91±8	79±6	92±3	98±9
海老焼売	82±4	102±12	97±5	97±4
初イシュー	96±5	85±9	91±4	90±5
ビーフシュー	97±9	84±8	95±4	96±5
お好み焼き	96±6	80±5	93±5	99±6
餃子	83±7	106±13	97±4	96±6
中華丼の具	99±3	88±9	96±2	99±4
レトルトカレー	87±5	107±8	102±3	97±5

表 2. 食品における硫酸希釈法による

平均添加回収率 (%)

添加濃度 20 µg/g の場合 (n=5)

試料	As
牛乳	90±8
そばめし	100±5
ハヤシライス	102±6
大粒肉焼売	106±4
五目春巻き	101±3
豚カルビ焼肉	74±9
ホワイトシチュー	96±6
ビーフシチュー	92±11
お好み焼き	92±6
餃子	71±8
中華丼の具	99±3
レトルトカレー	84±5

### C-2-2. 水

添加回収試験の結果を表 3 に示す。ヒ素、カドミウム、鉛については、平均回収率は、水道水では 101~103%、河川水では 97~113%と良好であった。変動係数は水道水では 2.1~2.9%、河川水では 1.9~2.2%であった。

水銀は測定濃度範囲が低いため、イオン強度が相対的に低く、バックグラウンドに影響されやすく、測定の安定性が失われやすい傾向がある。このため、洗浄時間を長くする、硝酸濃度を上げる等の対策が必要である。平均回収率は水道水では 123%、河川水では 91%となった。変動係数は水道水では 9.6%、河川水では 12.3%と少し大きかった。

表 3. 水における添加回収試験結果 (n=5)

		As	Cd	Pb	Hg
		回収率(%)	101	102	103
水道水	CV(%)	2.2	2.9	2.1	9.6
河川水	回収率(%)	113	97	100	91
	CV(%)	2.1	2.2	1.9	12.3

添加量: 水中濃度として 50mg/L (ヒ素、カドミウム、鉛)および 20mg/L (水銀)

### C-2-3. 尿

健康人 5 名より尿を採取し、各元素の尿中濃度を分析した結果を表 4 に示した。ヒ素、カドミウム、鉛については、平均値はそれぞれ 180 µg/L、4.8 µg/L、1.8 µg/L であり、過去に報告されている結果とほぼ一致した。水銀については、5 名の尿中濃度はいずれも定量下限(尿中濃度として 6 µg/L)以下であり、過去の報告と矛盾しなかった。

添加回収試験の結果を表 5 に示した。回収率はヒ素 79~107%、カドミウム 82~87%、鉛 96~105%であり、変動係数はヒ素 1.0~5.9%、カドミウム 1.0~3.6%、鉛 1.2~9.3%であった。ヒ素および鉛の回収率は、1 名のヒ素を除き、95%以上であり、健康時の 5~10 倍程度の尿中濃度レベルにおいて概ね正確な定量が可能であると考えられた。一方、カドミウムの回収率は平均 84%であるが、被験者間の差が小さいため、回収率で補正すれば定量可能と考えられた。水銀については、回収率は 67~136%、変動係数は 11~55%であ