番号	21-追跡-001 報告年度					平成 21	年度	
研究課題名	アレルギー食品及び遺伝子組換え食品に関する調査研究							
研究機関	保健環境セ	保健環境センター(保健研究部)						
研究期間	平成 15年	度~17 年度	夏(3カ年	)				
連携機関	国立医薬品	食品衛生研	究所					
TT 00 47 #	【研究費】			【人件費】			【合計】	
研究経費 		5,038 千	円	12,750 千円			17,788 千円	
		実施年度	県民ニ	ーズ	技術的達成度	-	事業効果	総合点
これまでの	事前評価	14 年度	60		58	58		59
評価結果	中間評価	16 年度	3.3		2.8	3.3	3	継続(要修正)
	事後評価	18 年度	3.3	3.3 3.8 3.5			3.5	
研究概要	アレルギー食品:厚生労働省通知の方法に従い特定原材料の定性及び定量法の検討を行い、加工食品検査への適用可否について調査を行う。 遺伝子組換え食品:加工食品中の組換え遺伝子の検知効率の向上及び組換え 遺伝子混入率測定の検討を行う。							

# 1 研究成果

- (1) アレルギー食品
  - ① ELISA 法による市販食品の実態調査

ELISA 法では、特定原材料(そば、乳、卵、小麦、落花生)の検知効率が低く、偽陰性となる食品が存在することを確認し、厚生労働省の通知法に従った ELISA 法によるスクリーニング判定では誤認する食品があることを明らかにした。

② ELISA 法とウェスタンブロット法による検出効率の比較

各種の模擬食品(卵,スキムミルク等を混合・発酵させた生地を,5種類の加熱条件で作製した食パン)について、ELISA 法及びウェスタンブロット法による検知効率を比較検討した結果、ウェスタンブロット法は、ELISA 法で偽陰性を示す食品でも検知可能であった。

③ PCR 法における DNA 抽出法の比較

定性 PCR 法 (そば、小麦及び落花生の確認法) に記載された 3 つの抽出方法のうち、イオン交換樹脂タイプのキットが、模擬食品(小麦、そば粉等を混合して生麺としたものを、5 種類の加熱調理方法で作製)など幅広い食品から高濃度・高純度の DNA を抽出できる方法であることを確認した。

④ 通知法に追加された ELISA 法の検証

抗原タンパク質の抽出効率を改善した新 ELISA キットと旧 ELISA キットの検知効率について検証を行ったが新・旧両キット間に差は認められなかった。新キットを用いた場合でも、ウェスタンブロット法及び定性 PCR 法による確認で、ELISA 法を補完する必要があることを明らかにした。

# (2) 遺伝子組換え食品

① ダイズを用いた加工食品中に含まれる遺伝子組換え食品の検出調査 安全性審査を終了した遺伝子組換え作物のうち、遺伝子組換え食品の表示が義務付けられ ているダイズを用いた加工食品を対象とし、加工食品中に含まれる遺伝子組換え食品の検出 を行い流通実態の調査を行った。

② 遺伝子組換え食品の精度管理

厚生労働省通知に規定されている定量 PCR 法による測定値の品質あるいは正当性の保証を行うために、精度管理に参加した。

③ LightCycler system を用いた遺伝子組換えダイズ及びトウモロコシ定量分析法の改良 平成 15 年度に実施された外部精度管理試験の結果として、LightCycler system を用いる ことにより真値とは異なる分析結果が得られる場合があり、また結果の安定性にも問題があることが指摘された。

このため、当センター保有の LightCycler system を用いて公定分析法とは異なる DNA 抽出法の適用及び定量 PCR 試薬の変更も含め、I PCR 反応温度条件の改良、II 新試薬を用いた PCR 反応組成の検討、II 標準プラスミドと抽出ゲノム DNA における PCR 効率の比較、IV Light Cycler における RRS 内標比の決定、V 擬似混入試料及び EU 標準品(遺伝子組換え大豆)を用いた定量測定のバリデーションを実施し、従来法よりも定量性の優れた分析法を確立した。

#### 2. 開発技術の移転状況

(1)研究開始当初の移転目標

ア 技術移転先

- · 健康福祉局保健医療部生活衛生課食品衛生室
- 県内民間検査機関
- 地方衛生研究所等

#### イ 移転方法

- ・ 行政検査として検査を開始
- ・ 食品衛生検査施設の業務管理基準 (GLP) に基づく検査体制の導入

- ・ 食品衛生監視員等研修会議等において報告
- ・ 学術雑誌,学会,保健環境センター業績発表会において報告
- ・ 民間検査機関等を対象とした技術指導及び技術研修の実施

#### (2) 開発技術の移転方法と移転状況

ア 食品の安全確保対策事業や輸入食品等対策事業における検査体制の導入

本研究により得られた知見や技術を活用して平成 16 年度より行政検査を実施し、更に 18 年度からは GLP に基づいた検査体制を導入した。当センターでは、検査の結果、アレルギー食品については、平成 16 年度に 1 製品、17 年度に 1 製品、18 年度に 2 製品、19 年度に 1 製品の表示違反食品を発見した。この結果を、食品衛生室を通じて県のホームページに掲載して速やかに県民に情報提供した。

# イ 学会, 論文投稿等による技術移転

平成 18 年度報告書を作成して関係機関へ提供するとともに、各種会合、報告会、学会、業績発表会及び論文にまとめ、当該技術を移転した。

主なものを以下に示す。

#### ①投稿論文

- 1. Quantification of genetically modified soybeans using a combination of capillary-type real-time PCR system and a plasmid reference standard. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 70(4), 821-827, 2006
- 2. Rapid quantification methods of genetically modified maize contents using genomic DNAs pretreated by sonication and restriction endonuclease digestion for a capillary-type real-time PCR system with a plasmid reference standard. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 70(12), 2965-73,2006

その他研究協力によるもの

·Indicated detection of two unapproved transgenic rice lines contaminating vermicelli products. J.Agric.food Chem. 55(15),5942-5947,2007

# ②学会発表等

- 1 キャピラリー型定量 PCR 装置による遺伝子組換えトウモロコシの定量条件の検討 第 92 回日本食品衛生学会 2006 年 10 月 愛知県
- 2 キャピラリー型定量 PCR 装置による遺伝子組換えトウモロコシの定量条件の検討 日本農芸化学会中四国支部第 18 回講演会(例会)2007 年 5 月 広島市
- 3 模擬食品中の特定原材料の検知について 第41回全国衛生化学技術協議会年会 2004年11月 山梨県
- 4 遺伝子組換え食品の検知法について (ダイズおよびトウモロコシの定量 PCR) 保健環境センター業績発表会 2008 年 1 月

その他研究協力によるもの

- ・ビーフンから安全性未審査の遺伝子組換え米の同定と検出 日本薬学会第127年会 2007年3月 富山県
- ・加工食品における中国産安全性未審査遺伝子組換え米の同定と検知法について 日本食品化学学会 2007 年 5 月 東京都
- ・遺伝子組換えトウモロコシの粒検査法の妥当性確認試験について 日本食品化学学会 2009年5月 東京都

# ③報告会等

保健環境センター業績発表会において研究成果を報告するとともに, 食品衛生監視員等研修会や新任食品衛生監視員研修会等の各種会合において講師を務めている。

ウ 関係機関への技術指導及び技術研修

遺伝子組換え食品の検査技術については、平成15年度に㈱生体分子計測研究所(東広島市)

に技術指導を、アレルギー食品の検査技術については、平成15年に高知県衛生研究所、平成17,18年度に県立保健所の食品衛生監視員に対して技術研修を行った。

#### (3)移転目標の達成度

研究成果を学会等を通じて広く公表するとともに、行政事業における GLP 検査に導入した。本 県における県内流通食品の実態を調査し、アレルギー食品及び遺伝子組換え食品の表示の適否に ついて関係機関等を通じて、県民に情報提供した。さらには、検査技術の導入を検討している県 内民間検査機関(㈱生体分子計測研究所)や GLP に基づいた行政検査の導入を検討していた高知 県衛生研究所に技術移転を行う等、十分達成できた。

# (4)上記の状況となった理由

平成 15 年度から開始した当該研究は、生産者及び消費者団体から県議会に対して提出された「食品の安全に対する請願」(平成 13 年 2 月 27 日)に基づき、消費者、生産者、事業者、学識経験者及び市町村の代表者で構成する「食品の安全に関する基本方針等検討協議会」において策定された「食品の安全に関する推進プラン」(平成 16 年 3 月)に、「遺伝子組換え食品、アレルギー物質等食品の安全に関する調査研究等の推進」として盛り込まれた。

平成 18 年 3 月に策定された県の次期「食品の安全に関する推進プラン(平成 21 年度~平成 23 年度)」においても、食品等の試験検査の強化として、「遺伝子組換え食品及びアレルギー物質を含む食品の検査」が引き続き盛り込まれた。

#### (5)今後の移転計画

「平成 21 年度食品衛生監視指導計画」及び「食の安全に関する推進プラン(平成 21~23 年度)」においても、行政が実施する施策として「アレルギーを含む食品及び遺伝子組換え食品の検査」が盛り込まれたことから、今後も引き続き行政事業における食品等の安全・安心対策に当該技術を活用していくとともに、平成 21 年度から実施している研究事業「自然毒等を原因とする食中毒に関する調査研究」に応用する。また、今後も引き続き各種会合、報告会等の機会を捉えて技術移転を図る予定である。

#### 3 知的財産権等の状況

特になし。

# 4. 研究成果の波及効果

(1)経済的波及効果又は県民生活上の波及効果(選択項目)

平成 16 年度から開始した行政検査により、毎年表示違反食品を発見し、関係機関に速やかに連絡した。これにより、自主回収、表示の見直し等の措置がとられ、当該食品による健康危害を未然に防ぐことが可能となった。また、食品製造業者への指導による意識啓発も行えた。

#### (2)技術の推進への波及効果

- ① 平成 18 年度~19 年度に、「モダンバイオテクノロジー応用食品の安全性確保に関する研究」(厚生労働科学研究(分担研究者:米谷民雄(国立医薬品食品衛生研究所))、平成 20 年度からは、引き続いて「モダンバイオテクノロジー応用食品の安全性確保に関する研究」(厚生労働科学研究(分担研究者:穐山 浩(国立医薬品食品衛生研究所))において、研究協力の依頼を受けて、遺伝子組換え食品の検知法の開発及びバリデーション実証研究に参画している。これらの成果が厚生労働省通知法の改正に反映されている。
- ② 平成 19 年度に、香川県環境保健研究センターにアレルギー物質を含む食品の検査に係る技術研修を実施した。
- ③ 平成 20 年度に,第 45 回全国衛生化学技術協議会のパネルディスカッションにおいて,話題提供の依頼を受け、パネリストとして「アレルギー表示及び遺伝子組換え食品の検査について」の演題で情報提供を行った。

# 個別評価(各センター記入欄)

1. 研究の達成度
■A:成果は移転できるレベル □B:一部の成果は移転できるレベル □C:成果は移転できるレベルではない
2. 成果移転の目標達成度
□A:目標以上に達成 ■B:ほぼ目標どおり達成 □C:目標を下回っている □D:移転は進んでいない
3. 知的財産権の活用状況
□ A: 実施許諾し, 事業化されている □B: 実施許諾を行っている ■C: 実施許諾は行っていない
4. 研究成果の波及効果
□A:波及効果は大きい ■B:波及効果は認められる □C:波及効果はほとんど認められない
備考:
w ^ = /= /= /= + =
総合評価(評価委員会記入欄)
□S:研究成果が十分に活用され、効果は当初見込みを上回っていると認められる。
□A:研究成果が活用され、効果は当初見込みをやや上回っていると認められる。
■B:研究成果が活用され、効果は当初見込みどおりであると認められる。
□C:研究成果の活用が不十分で、効果は当初見込みをやや下回っていると認められる。
□D:研究成果の活用が不十分で、効果は当初見込みを下回ると認められる。
備考:

番号	21-		幹	<b>设</b> 告年度		平成 21	年度	
研究課題名	日本脳炎ウイルス及びウエストナイルウイルスの流行予測に関する研究							
研究機関	保健環境	保健環境センター(保健研究部)						
研究期間	平成 16 年月	度~17 年度	(2カ年	.)				
連携機関								
TH 65 47 #	【研究費】   【人件費】   【合計】					計】		
研究経費 		1,174千	円	6,800 千円 7,9				7,974千円
		実施年度	県民ニ	ーズ	技術的達成度	F Z	事業効果	総合点
これまでの	事前評価	15 年度	3.5	6	3.56		3.33	3.48
評価結果	中間評価	-	l		_			-
	事後評価	18 年度	18 年度 3.7 3.0 3.3 3.3				3.3	
研究概要	日本脳炎ウイルス(JEV)の広島県産ブタ由来株の性状解析を行った。また、日本 脳炎ウイルスとウエストナイルウイルス(WNV)に対する県民の抗体保有状況および 蚊の発生動向を調査し、疫学的な解析を行うことによって広島県における両ウイル スの流行の予測を行った。							

## 1 研究成果

(1) JEV の広島県内分離株の性状解析

1998~2004 年に広島県産のブタから JEV を分離し、解析を行った。ウイルスはすべて遺伝子 I 型でありエンベロープ領域の塩基配列の解析では 1998 年と1999 年, 2000~2002 年, そして 2004 年の 3つのクラスターに分けられた。抗原性、マウスに対する病原性にほとんど差異は認められなかった。 国内では 1990 年代はじめに国内分離ウイルスが遺伝子 Ⅲ型から遺伝子 I 型にシフトしたと推定されているが、広島県でもシフトが起こっていることが実証された。

(2) 県民のJEVとWNVの抗体保有状況調査

JEV に対する県民の抗体保有率を調べたところ、ワクチン株と同じ遺伝子Ⅲ型に対する保有率が45%、遺伝子Ⅰ型に対する保有率は36%と低く、県民のJEVに対する感染リスクが高まっていると考えられた。また、WNV に対する抗体保有率を調べたところ0%であり、WNV が国内に侵入している兆候は見出せなかった。県民が抗体を全く保有していないため、今後WNV が国内に侵入した場合の県民の感染リスクは高いと考えられた。

# (3) 蚊の発生動向調査

県内では、WNV 媒介能を持つ蚊が 4~11 月の間に認められた。広島市内の市街地ではアカイエカ群とヒトスジシマカのみが認められたのに対し、三次市内の田園地帯ではコガタアカイエカ、シナハマダラカ、カラツイエカ、オオクロヤブカ、ヤマトヤブカ、キンイロヤブカも認められた。国内にWNV が侵入した場合、迅速な感染源対策が必要であり、これらの媒介種をターゲットとした防除計画が必要である。

## 2. 開発技術の移転状況

- (1)研究開始当初の移転目標
  - ア 技術移転先
  - ○行政ニーズ 福祉保健部保健対策室 福祉保健部保健対策室の業務のうち、予防接種に関すること、及びその他予防衛生に関する業務。
  - ○県民ニーズ 全県民 全県民が対象となるが、特に免疫力の弱い高齢者、子供、免疫疾患のある人。
  - イ 移転方法
  - ○行政ニーズ 防疫訓練会議,講習会,研修会および学会発表など。
  - ○県民ニーズ 講演会, 当初ホームページによる。
- (2)開発技術の移転方法と移転状況
  - ア 掲載論文等による技術移転

研究成果を学会, 研究会, 業績発表会等で発表した。また, 海外の専門誌に投稿した。

- ・平成 16 年 11 月, 第 52 回日本ウイルス学会で発表 「小児無菌性髄膜炎患者からの日本脳炎ウイルス遺伝子の検出」
- ・平成 17 年 3 月, アメリカ CDC の「Emerging Infectious Diseases (Vol. 11, No. 3, March 2005)」 に論文が掲載「Japanese Encephalitis Virus in Meningitis Patients」
- ・平成17年4月,第79回日本感染症学会で発表 「小児無菌性髄膜炎患者からの日本脳炎ウイルス遺伝子の検出」
- ・平成18年1月,平成17年度保健環境センター業績発表会で成果を発表 「日本脳炎ウイルスとウエストナイルウイルスの流行予測」
- ・平成 19 年 1 月, 平成 18 年度保健環境センター業績発表会で成果を発表 「広島県における感染症媒介蚊の生息状況」
- ・平成 19 年 10 月, Journal of General Virology (88(Pt 10), Oct 2007)に論文が掲載

Molecular epidemiological analyses of Japanese encephalitis virus isolates from swine in Japan from 2002 to 2004

- ・平成19年1月, Epidemiology and Infection(135(6), Aug 2007)に論文が掲載「Detection of antibodies to Japanese encephalitis virus in the wild boars in Hiroshima prefecture, Japan」
- イ 医師会の依頼講演による技術移転

広島市、松山市(愛媛県)の小児科医会からの依頼で講演を行った。

- ・平成17年6月,広島県小児科医会の依頼で講演
- 「日本脳炎は過去の病気か?広島県における日本脳炎の現状と小児の無菌性髄膜炎からの日本脳炎ウイルス検出例」
- ・平成18年9月,愛媛県の松山小児科会の依頼で講演 「日本脳炎は過去の病気か?広島県における日本脳炎の現状と小児の無菌性髄膜炎からの 日本脳炎ウイルス検出例」
- ウ 国立感染症研究所への技術移転

国立感染症研究所の行う日本脳炎ウイルス国内サーベイランスへ参加協力を行った。

エ 中国四国地方の衛生研究所への技術移転 中国四国地方の衛生研究所の連携の一環として、ウエストナイル熱患者発生時の抗体検査を広 島県が担っている。

オ 県民への技術移転

データや啓発資料を広島県感染症情報センターのホームページに掲載した。

#### (3)移転目標の達成度

感染症対策、特に媒介動物を介した感染症については地域の流行環境の実情を把握し、適切な防除措置を講ずる必要がある。今回の研究で広島県内の実態を把握し、感染症対策に資する基礎資料を行政、医療、県民等に提供することができた。

## (4)上記の状況となった理由

日本脳炎ワクチンについては副反応で重症例が出たため、2004 年から接種勧奨が控えられている。このため行政・医療分野などで感染リスクの上昇、患者発生が懸念されており、流行対策への関心が高くなっている。また、昨今の感染症のグローバル化に伴い、ウエストナイル熱の国内への侵入が懸念されており、侵入の際には迅速な対策が求められているため、感染源対策の基礎資料が求められていた。

# (5)今後の移転計画

媒介動物による感染症はその発生が気候変動や環境の変化に左右されるため、継続的にデータを収集しつつ、国や他自治体の衛生研究所と連携を取りながら対策に活きる資料を社会に提供していく必要がある。今後は国及び県の感染症流行予測調査事業によるブタでのウイルス流行状況の監視、同じく国及び県の感染症発生動向調査事業による患者サーベイランスによる監視、平成 20 年~21 年度調査研究「広島県における節足動物媒介感染症の実態調査」等において、得られた成果を活かしつつ新たな知見を得て社会に還元していく。

## 3 知的財産権等の状況

特になし

# 4. 研究成果の波及効果

- (1)経済的波及効果又は県民生活上の波及効果(選択項目)
  - ア 県民へのワクチン接種の推奨 (新しいワクチンが承認された場合) や媒介蚊対策の推進などの啓発活動の科学的根拠となり、JEVと WNV の感染予防に寄与する。
  - イ 行政の感染予防対策、媒介蚊対策等の基礎資料となる。

ウ 医療者が診断・治療・患者への啓発を行うための基礎資料となる。

# (2)技術の推進への波及効果

ア 県内流行ウイルスを監視することで、国やワクチンメーカーに情報を提供することができる。

イ 蚊を媒介動物とする感染症(デング熱やマラリアなど)が国内に侵入した際, 県内の蚊の生息実態のデータは防除(感染源対策)や流行予測, 感染リスク評価に大きく寄与することとなる。

ウ 平成 20 年~21 年度調査研究「広島県における節足動物媒介感染症の実態調査」等において、 本研究で得られた成果を活かし、更なる継続的な調査、基礎資料の収集等を行う。

# 個別評価(各センター記入欄)

1. 研究の達成度
■A:成果は移転できるレベル □B:一部の成果は移転できるレベル □C:成果は移転できるレベルではない
2. 成果移転の目標達成度
□A:目標以上に達成 ■B:ほぼ目標どおり達成 □C:目標を下回っている □D:移転は進んでいない
3. 知的財産権の活用状況
□ A: 実施許諾し, 事業化されている □B: 実施許諾を行っている ■C: 実施許諾は行っていない
4. 研究成果の波及効果
□A:波及効果は大きい □B:波及効果は認められる ■C:波及効果はほとんど認められない
備考:
総合評価(評価委員会記入欄)
□S:研究成果が十分に活用され,効果は当初見込みを上回っていると認められる。
□A:研究成果が活用され,効果は当初見込みをやや上回っていると認められる。
□B:研究成果が活用され,効果は当初見込みどおりであると認められる。
■C:研究成果の活用が不十分で,効果は当初見込みをやや下回っていると認められる。
□D:研究成果の活用が不十分で,効果は当初見込みを下回ると認められる。
備考:

番号	21-追跡-003				<b>设告年度</b>		平成 21	年度	
研究課題名	酸素透過膜	酸素透過膜を用いた省エネルギー排水処理技術開発に関する研究							
研究機関	保健環境セ	保健環境センター(環境研究部)							
研究期間	平成 15 年月	度~17 年度	(3カ年)						
連携機関	広島工業大	学, 広島大	学,ほか	企業数	女社				
7.F. ch. 4.F. #	【研究費】			【人件費】			【合計】		
研究経費 		7,620 千	円		25,500 千	·円	33,120		
		実施年度	県民ニ	ーズ	技術的達成度	Ę	事業効果	総合点	
これまでの	事前評価	H14	65	)	63		61	63	
評価結果	中間評価	Н16	3.	7	3.2		4.0	継続(要修正)	
	事後評価	H18	3.0	3.0 3.6 2.8 3.1					
研究概要	排水処理に必要な酸素を,酸素透過膜を用いて供給する手法を検討し,従来,曝気に頼っていた排水処理に代えて,電力を用いず,有機物及び窒素を除去し,かつ,汚泥発生量の少ない排水処理技術を開発する。								

# 1. 研究成果

排水処理機能:BOD 除去率 90%以上, 全窒素除去率 70%の処理能力を確認 (下水を用いた現場実験, BOD 面積負荷  $2g/m^2/day$ , HRT1 日)

- ○汚泥発生量:従来の好気性処理法(約50%)に比べ汚泥発生量が少ない(10%以下)。
- 〇メンテナンス: 曝気量, 汚泥量等の管理が不要であり, 維持管理の簡素化が可能。
- ○運転コスト:酸素供給のための曝気エネルギー(電力)が不要であり,運転コスト削減が可能。

#### ○その他

- ・膜素材:シリコン樹脂が最も酸素透過能が高い(シリコンの種類による透過能の差は少ない)。
- ・排水処理機能影響因子:温度(水温 15℃以上が好ましい), BOD 負荷, 水理学的滞留時間により影響を受ける。
- ・単位膜面積当りの処理能力:BOD2g/m²/day(下水排水を処理する場合)
- ・従来技術との比較

	処理方法 標準活性汚泥法		生物膜処理法	酸素透過膜処理法	
割	平価項目 一	好気処理	好気処理	好気、嫌気併用処理	
酸素	方法	ブロワー	ブロワー or 散水ろ床、回転円板	空気中からの拡散	
供給	相対送気量	1	1	< 1/20	
不白	酸素供給効率	5%	5%	100%	
処 機	BOD除去率	90%以上	90%以上	90%以上	
理能	T-N除去率	20~40%	30~50%	70%	
処	(BOD容積負荷) (kg/m <sup>3</sup> /日)	0.3~0.8	0.1~0.7	_	
理容量	(BOD膜面積負荷) (g/m²/日)	_	〈 8(散水濾床) 〈 12(回転円板)	2(実験値)	
量	滞留時間(HRT)	0.5日 (処理槽)	0.5日 (処理槽)	1日(実験値) (膜処理部)	
維	消費電力	0.14kw時∕m³	0.05~0.14kw時╱m³	電力不要	
持 管	(二次処理のみ)	(1. 4円/m³)	(0.5~1.4円/m³)	(0円/m³)	
理	技術的難易度	専門知識を要す	簡易	極めて簡易	
	汚泥転換率 (汚泥発生量/除去BOD量) 40~60%		15~30%	10%以下 (嫌気性処理と同等)	
建設コスト (二次処理のみ)		6,000円∕m³	3,500~6,000円╱m³	未確定 酸素透過膜コストに依存	

#### 2. 開発技術の移転状況

# (1)研究開始当初の移転目標

開発された技術は、排水処理メーカー、下水処理事業者、地方自治体等へ技術移転される。

# (2)開発技術の移転方法と移転状況

ガス透過機能を持つ膜の製造に関しては、膜製造企業(大阪府)に技術移転可能であるものの、排水処理施設設計・製造を担う企業として当初参加予定であった排水処理企業が辞退したため、技術移転が滞っている。

しかし、(財)広島県下水道公社において本技術を用いた実験装置で窒素除去試験を継続しており、現場の技術移転ニーズは高い状況にあるだけでなく、技術の応用範囲が拡大している。

## (3)移転目標の達成度

ガス透過性膜の開発, 作成およびそれを用いた排水処理機能の確認, 評価により, 既存の排水処理方式と同等以上の機能を持ち, 且つ, コスト削減が可能な実用的処理方式を確立するなど研究の最終目標

は達成した。技術移転については、広島県下水道室の協力のもと、(財)広島県下水道公社で現場実証 試験が継続して行われているなど、下水道事業者、地方自治体への移転が進みつつある。

# (4)上記の状況となった理由

本技術は、省エネルギー技術であることや、汚泥発生量が少ないこと、メンテナンスが不要であるなど、現在の循環型社会の要請に応え得る技術として評価(日本下水道事業団)されていることなどから、現場ニーズが高い。

# (5)今後の移転計画

下水道事業者,自治体等への移転については現状のまま、実証試験を継続する。また、排水処理メーカーへの技術移転については、引き続き装置の設計・製造を担う企業の探索を継続する。

#### 3 知的財産権等の状況

特願 2006-222192,「貧酸素化水質環境の改善処理方法及び改善処理装置」, H18.8.17 出願, 審査請求中

なお,本課題は,特許第 3743771 号,「無動力排水処理方法」, H17.12.2 を基盤技術として研究を実施した。

# 4 研究成果の波及効果

(1)経済的波及効果又は県民生活上の波及効果(選択項目)

下水道事業者で実証試験が行われ、ランニングコストの低減化を図る試みがなされており、将来に向けた経済的波及効果が期待される。

# (2)技術の推進への波及効果

ガス透過性膜に関する様々な知見や技術シーズが蓄積されたことにより、環境改善技術への応用(湖 沼等における水質環境改善技術の開発, H18~20 年度経常研究)や, 新たな研究展開(高分子薄膜の 水蒸気透過能を利用する低エネルギー型の清浄水製造システムの開発, H22 新規開発研究~提案中) が可能となった。

膜分離技術の中でも、省エネルギー技術である本技術開発ができたことで、地球温暖化防止、排水処理技術の見直しに向けた技術開発、応用に貢献できる。

# 個別評価(各センター記入欄) 1. 研究の達成度 ■A:成果は移転できるレベル □B:一部の成果は移転できるレベル □C:成果は移転できるレベルではない 2. 成果移転の目標達成度 □A:目標以上に達成 □B:ほぼ目標どおり達成 ■C:目標を下回っている □D:移転は進んでいない 3. 知的財産権の活用状況 □A:実施許諾し、事業化されている □B:実施許諾を行っている ■C:実施許諾は行っていない 4. 研究成果の波及効果 □A:波及効果は大きい ■B:波及効果は認められる □C:波及効果はほとんど認められない 備考: 本研究は、今後成果が期待できるため、3 年後の再追跡評価を希望する。

総合評価	(評価委	昌会記入	楣)
	WIЩタ.	$\bowtie$ $\bowtie$ $\bowtie$	• TPMJ /

□S:研究成果が十分に活用され、効果は当初見込みを上回っていると認められる。
□A:研究成果が活用され、効果は当初見込みをやや上回っていると認められる。
□B:研究成果が活用され、効果は当初見込みどおりであると認められる。
■C:研究成果の活用が不十分で、効果は当初見込みをやや下回っていると認められる。
□D:研究成果の活用が不十分で、効果は当初見込みを下回ると認められる。
備考:

番号	21-追跡-004 <b>報告年度</b> 平成 21 年度					年度		
研究課題名	生活環境	生活環境水の宿主アメーバを用いたレジオネラ検出法に関する研究						
研究機関	保健環境	保健環境センター(保健研究部)						
研究期間	平成 16 年月	度~17 年度	(2カ年	1)				
連携機関	国立感染	国立感染症研究所,地方衛生研究所						
TT 00 42 #	【研究費】   【人件費】   【合計】				計】			
研究経費 		1, 260 千	円	13, 600 千円 14, 8				14,860 千円
		実施年度	県民ニ	ーズ	技術的達成度	芝	事業効果	総合点
これまでの	事前評価	15 年度	3.4	4	3.2		3.0	3.2
評価結果	中間評価	_	_		-			İ
	事後評価	18 年度	3.3	3.3 3.4 3.8 3.5				
研究概要	宿主アメーバを用いた高感度なレジオネラ検出法を検討し、現行法では分離できない極めて低濃度の菌量のレジオネラ及び環境中で生存しているが分離培養できないレジオネラ(VBNC: Viable but nonculturable)の検出法を開発する。あわせて温水(環境)中のアメーバの分布調査を実施する。							

# 1 研究成果

(1) アメーバを用いたレジオネラの高感度検出(分離)法の開発

従来法では検出不可能な極微量(1 個未満/ml)のレジオネラを 3 日間アメーバの細胞内で増殖させ(10³~5CFU/ml)高感度に検出(分離)する方法を開発した。

(2) アメーバ細胞内でのレジオネラ増殖後の遺伝子検出による高感度迅速検出法

アメーバの細胞内でレジオネラを大量増殖させた後、レジオネラ遺伝子を検出することにより高感度で迅速な検出を可能にした。

(3) アメーバによる高感度検出法の遺伝子解析への影響

従来法とアメーバによる高感度検出法の分離菌とは、パルスフィールド電気泳動法による遺伝子学的な差異が認められず、事案発生時の遺伝子解析に応用可能であることを明確にした。

(4) アメーバ分布調査

県内 14 施設の浴槽水 30 検体の内, 7施設12検体から5種類のアメーバ Platyamoeba, Vexillifera, Hartmannella, Vannella, Naegleria が検出され, レジオネラ増殖の可能性を明らかにした。

## 2. 開発技術の移転状況

- (1)研究開始当初の移転目標
  - ア 技術移転先
    - •福祉保健部生活衛生室
    - ·地域保健所環境衛生監視員
    - •地方衛生研究所
    - •民間検査所
  - イ 移転方法
    - ・行政の主催する環境衛生監視員研修会又は発表会で報告する。
    - ・当所の発行、発信する機関誌等により保健所や県民に周知する。
    - ・学会発表や学会誌への論文投稿を行い公表する。

## (2)開発技術の移転方法と移転状況

ア 掲載論文等

研究成果は研究会等及び海外の専門誌等に投稿した。

# 投稿論文(和文)

- 温水環境における恒温耐性アメーバ類一特にネグレリア類の実態調査.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 温泉・公衆浴場,その他の温水環境におけるアメーバ性髄膜脳炎の病原体 Naegleria fowleri の疫学と病原性発現に関する研究 総括・分担研究報告書,11-90(2004).
- ・ 温泉・公衆浴場, その他の温水環境におけるアメーバ性髄膜脳炎の病原体 Naegleria fowleriの疫学と病原性発現に関する研究. 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総合研究報告書, 1-22(2004).
- Legionella pneumophila serogroup 1の Acanthamoeba castellanii 増殖を用いた高感度検出. 広島県保健環境センター研究報告, 13, 27-30 (2005).
- ・ Legionella pneumophila SG 1の遺伝子解析について . 厚生労働科学研究費補助金新興・再興 感染症研究事業「食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究」平 成17年度総括・分担研究報告書, 141-144(2006).

# 投稿論文(英文)

• Effective proliferation of low level *Legionella pneumophila* serogroup 1 cells using coculture procedure with *Acanthamoeba castellanii*. J. Microbiol. Methods; 66, 564-567 (2006).

学会発表等(口頭)

- ・アメーバを用いた高感度検出法について. 第14回広島県保健環境センター業績発表会 (2006.1.24).
- ・ Legionella pneumophila SG 1の遺伝子解析について.「食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究」平成17年度分担研究班会議(中四国ブロック)(2006.2.17 松山市).
- イ チェコ共和国国立公衆衛生研究所レジオネラレファレンス研究部(レジオネラ症に関するヨーロッパワーキンググループ)への技術移転

広島県が開発したアメーバとのコカルチャー法はルーチン検体,特に臨床検体に有効であり,通常の検査所の一般的な方法となると考えられ検討している。(2008年3月)

ウ アメリカ合衆国環境保護局検査室への技術移転

広島県が開発したアメーバとのコカルチャー法を環境保護局の検査室で取り入れ実施したいとして器材等の詳細について検討中である。(2009年3月)

#### (3)移転目標の達成度

当初の目標は達成されていないが、当該技術は国際的専門誌等により広く公表している。 従って、国際的な評価もされつつある。今後、レジオネラ症の発生防止及び拡大防止に役立つ ものと考えられる。

# (4)上記の状況となった理由

アメーバの培養には安全キャビネットが必要である。また、細菌の検査担当者は、細胞培養の技術を日常的に使用する経験がないことから、一般の細菌検査室への技術移転に至っていない。なお、当該技術はアメーバの細胞内増殖を利用しているばかりでなく、検体を 5ml使用する(従来法は 0.1ml) ことができる独創的な方法を取り入れた高感度検出法である。さらにアメーバの細胞内増殖を利用していることから、VBNC (Viable but nonculturable) 状態のレジオネラをも検出できる。これらの特徴を有する先進的な当該技術は、世界の研究室が注目している。

# (5)今後の移転計画

当該技術に関する世界の研究所等からの問い合わせについて、各研究室での検査が可能となるように技術のノウハウ等を地道に指導し技術移転を推し進める。

#### 3 知的財産権等の状況

特になし

# 4 研究成果の波及効果

(1)経済的波及効果又は県民生活上の波及効果(選択項目)

レジオネラ症の危機事案発生時に、温泉水等からのレジオネラの迅速高感度な検出(分離)体制を構築した。

事案発生時には温泉水等の検体採取前に次亜塩素酸ナトリウムによる消毒が行われる場合がある。この場合、通常の方法では障害となりレジオネラの検出は不可能なことが多いが、当該技術の応用で検出(分離)の可能性が大きく向上した。また、その後の患者からの分離菌と温泉水等からの分離菌との遺伝子学的解析による比較により、因果関係を明らかにすることが可能となった。このことから、県から生活衛生に関する事務移譲をされた市町においてレジオネラ症に関する事案が発生した場合、これら市町からの緊急の依頼検査の要請に対しても、迅速な行政対応が可能となっており、県民生活の安全・安心に大きく貢献している。

#### (2)技術の推進への波及効果

国際的な技術指導をこれまでと同様に継続し、当該技術の使用を推進することにより、レジオネラ症の発生防止及び拡大防止に役立て公衆衛生に寄与する。

世界各国でコカルチャー法の優位性が実証されれば、今後国際的な標準の方法として認知され、この技術が広く使用されると思われる。

# 個別評価(各センター記入欄)

1. 研究の達成度
■A:成果は移転できるレベル □B:一部の成果は移転できるレベル □C:成果は移転できるレベルではない
2. 成果移転の目標達成度
□A:目標以上に達成 □B:ほぼ目標どおり達成 □C:目標を下回っている ■D:移転は進んでいない
3. 知的財産権の活用状況
□ A:実施許諾し,事業化されている □B:実施許諾を行っている ■C:実施許諾は行っていない
4. 研究成果の波及効果
□A:波及効果は大きい ■B:波及効果は認められる □C:波及効果はほとんど認められない
備考:
総合評価(評価委員会記入欄)
□S:研究成果が十分に活用され、効果は当初見込みを上回っていると認められる。
□A:研究成果が活用され、効果は当初見込みをやや上回っていると認められる。
□B:研究成果が活用され、効果は当初見込みどおりであると認められる。
■C:研究成果の活用が不十分で、効果は当初見込みをやや下回っていると認められる。
□D:研究成果の活用が不十分で、効果は当初見込みを下回ると認められる。
備考: