

総説

健康危機管理時における緊急検査対応 について ー農薬による野鳥斃死事例を中心にー

甲斐茂美

Emergency inspection correspondence during health crisis management ーFocusing on the mortality cases of wild birds by pesticidesー

Shigemi KAI

Key Words : health crisis management,
emergency inspection correspondence,
pesticide, LC/MS/MS,

はじめに

公衆衛生の拠点である地方衛生研究所の使命は住民の安全と健康を守ることである。

地方衛生研究所は明治時代にコレラなどの感染症対策のために設置された衛生試験所等がその起源となっている。神奈川県においては、明治35年（1902年）に横浜市に開設されたペスト検査所が当所の前身である。昭和23年（1948年）に「地方衛生研究所設置要綱」が定められ、地方の細菌検査所や衛生試験所等の衛生関係試験検査機関が統合整備され、地方衛生研究所の設置が図られた¹⁾。社会情勢の変化に伴い、平成9年（1997年）には「地方衛生研究所の機能強化について」が通知され、地方衛生研究所の設置目的である、公衆衛生の向上と増進を図るため、関係各行政部局との連携の下、調査研究、試験検査、研修指導及び公衆衛生情報の収集・解析・提供を行うことが示された²⁾。

厚生労働省の所管する健康危機管理とは、「医薬品、食中毒、感染症、飲料水その他何らかの原因により生じる国民の生命、健康の安全を脅かす事態に対して行われる健康被害の発生予防、拡大防止、治療等に関する業務」を指す³⁾。平成13年（2001年）には、地下鉄サリン事件、阪神・淡路大震災、和歌山カレー事件等、住民の安

全・安心を脅かす事例の発生を契機に「地域における健康危機管理について～地域健康危機管理ガイドライン」が定められた⁴⁾。これにより健康危機管理における地方衛生研究所の役割として、被害の拡大を防ぐための緊急時の迅速な原因物質の究明・疫学解析、日常の調査研究による被害発生の未然防止等が求められるようになった。さらに、平成24年（2012年）には、「地域保健対策の推進に関する基本的な指針の一部改正について」が示され、地方衛生研究所は地域の衛生行政全般における科学的かつ技術的に中核となる機関として位置づけられるようになった⁵⁾。地域住民の安全・安心の確保のためには、地方衛生研究所は公衆衛生全般を網羅した機能強化が必須である。このため平常時から情報収集、分析法開発などに努め、調査研究の機能を強化するとともに、迅速な検査体制の確立と検査精度の向上を図ることは、我々研究員の責務となっている。

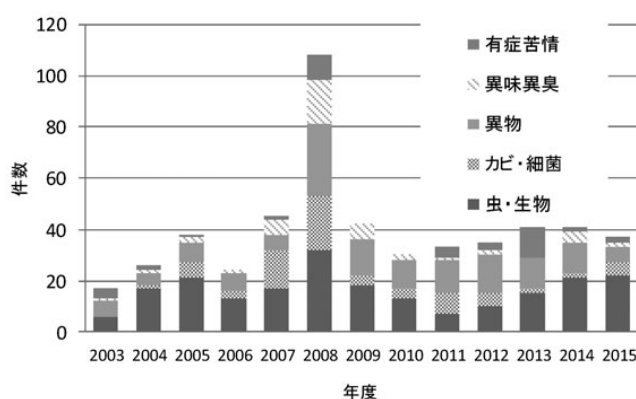


図1 食品への苦情事例の変遷（2003年度～2015年度）

県民からの衛生研究所への要望の一例として、当所の平成15年（2003年）から平成27年（2015年）における食品への苦情事例の変遷について図1に示した。例年、虫や異物の混入事例が多く寄せられる中、冷凍食品への農薬混入事件が発生した平成20年（2008年）は、他の年度に比べ食品への苦情事例件数が2倍以上寄せられた。また、苦情内容も異味異臭の原因究明に対する依頼の件数が増大した。食品の安全・安心を脅かす事例が発生したことで、県民の食品の安全性への関心が高まること、また原因究明を衛生研究所に期待していることが推測された。このような要望に対し当所では、海外で発生した炭疽菌によるバイオテロを模倣した不審物送付事件や野鳥大量斃死等、健康危機事案への拡大が懸念される事例が発生した際には、日頃の研究の中で培われた技術を駆使し、衛生研究所全体で異物の鑑定や原因の究明に尽力し、健康危機管理時における検査体制を整えてきた。

そこで、本稿では神奈川県衛生研究所の健康危機管理時における緊急検査対応について、農薬分析などの理化学検査を中心とした検査体制の概要と事例について述べる。

緊急検査体制について

健康危機管理事例として野鳥の斃死事例での当所の検査体制の一例を図2に示した。鳥インフルエンザへの対応が定められてからは、野鳥の斃死事例の発生時には環境農政局が初動で検査をすることになった。鳥インフルエンザ発生の可能性がない場合に、保健福祉事務所等の要請により、原因究明の理化学検査を実施した。野鳥の斃死の場合はまず解剖・剖検により病変の有無について検査した。剖検結果から顕著な病変が認められなかった場合、薬剤等の摂取による急性毒性での死亡が疑われることから、原因物質探索のための農薬等の分析を実施した。

1. 農薬分析

農薬のうち有機リン系農薬は、神経伝達物質のアセチルコリンを分解する酵素であるアセチルコリンエステラーゼの活性中心であるセリン水酸基をリン酸エステル化して阻害する。同様に、*N*-メチルカーバメート系農薬はセリンのカルバモイル化によりアセチルコリンエステラーゼを阻害する。そのため、アセチルコリンが異常に蓄積し、副交感神経興奮により鳥類や哺乳類に毒性を示す。これらの農薬は、大量投与により痙攣、麻痺、呼吸不全などの急性症状を引き起こすことが知られている⁶⁻⁸⁾。そこで、健康危機管理対応の検査対象として、当所では有機リン系農薬及び*N*-メチルカーバメート系農薬を分析対象とした。平成16年度までは有機リン系農薬を中心に分析しており、分析機器整備が整った平成17年度からは*N*-メチルカーバメート系農薬についても分析項目に加えた⁹⁾。

健康危機管理対応時の原因究明には迅速性が最も重要

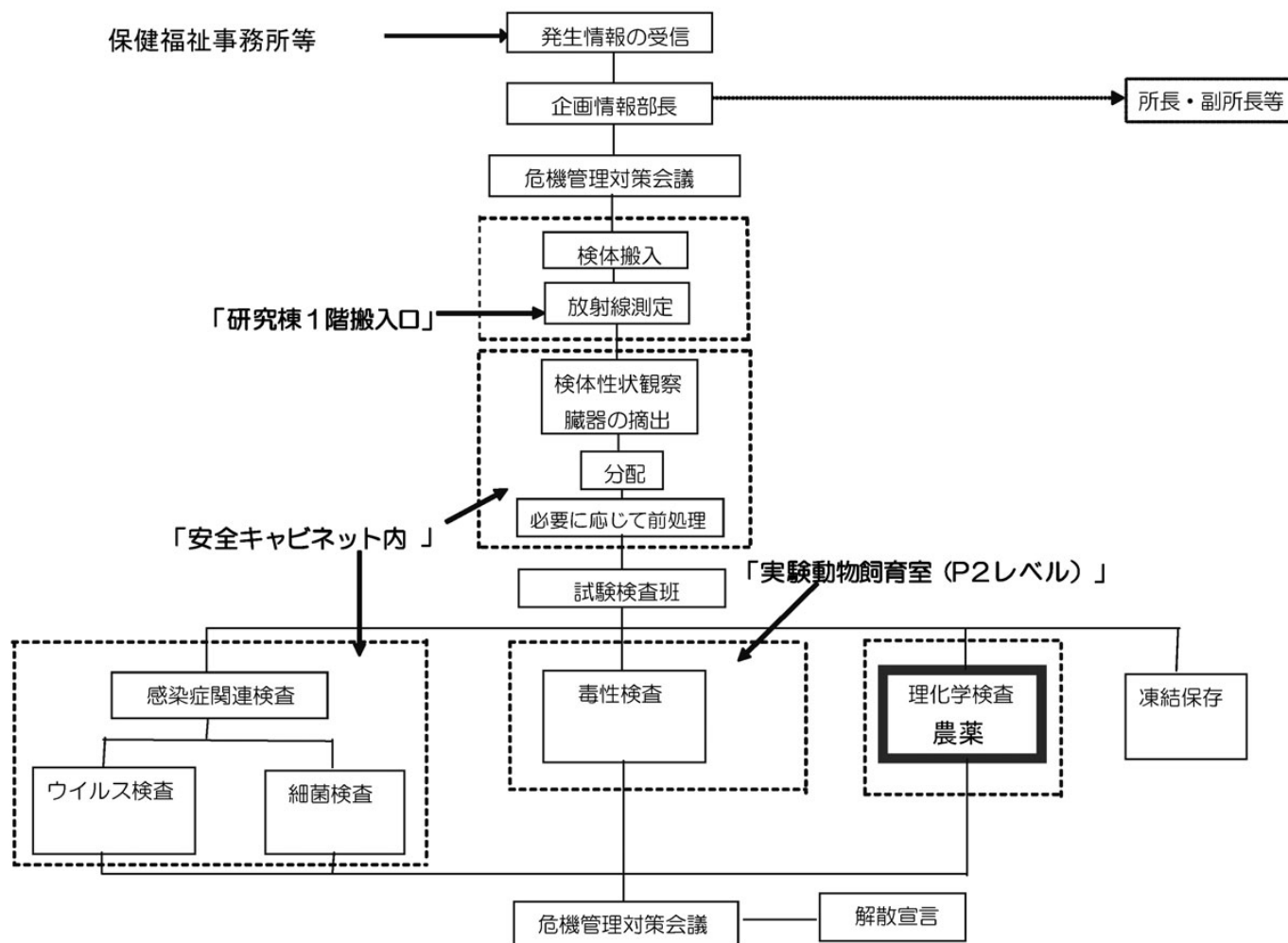


図2 健康危機管理時の検査体制の一例

となる。そこで、検査時間の短縮のため、有機リン系農薬と*N*-メチルカーバメート系農薬の同時抽出を試みた。青果物の有機リン系農薬の分析では、農薬の極性に応じて、アセトン、酢酸エチルによる抽出法が知られている^{10,11)}。一方、青果物の*N*-メチルカーバメート系農薬の分析ではジクロロメタンによる抽出法が示されているが¹⁰⁻¹²⁾、近年、分析者の健康被害や環境への影響を考慮し、毒性の強いジクロロメタンに替え、酢酸エチルを用いた分析法が用いられるようになった¹³⁾。そこで我々は、有機リン系及び*N*-メチルカーバメート系農薬を同時に抽出するために、抽出溶媒には青果物中の高極性有機リン系農薬分析法に準じて酢酸エチルを選択した。有機リン系農薬測定には、酢酸エチル抽出液をそのまま供し、

N-メチルカーバメート系農薬測定用には、溶媒をメタノールに置換し分析に供した。有機リン系農薬の分析には、リン化合物に対し選択性の高い蛍光光度検出器付きガスクロマトグラフィー法（GC-FPD）で定量し、ガスクロマトグラフィー/質量分析法（GC/MS）でスペクトルを確認した。*N*-メチルカーバメート系農薬の分析には液体クロマトグラフィー/質量分析法（LC/MS）または液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法（LC/MS/MS）を用いて分析した。

近年普及したLC/MS/MSはGC/MSに比べ、熱に不安定な成分の測定が可能のため、適用範囲が広く汎用性が高い。また、MS/MSは質量によるイオン選択を2度行うことができるため、高感度で選択性の高い分析能を有

表1 野鳥の大量不審死事例（1999年～2013年）

発生年月			主な野鳥	検査結果		
				放射能	感染症	農薬
1999(平成11)年	1月	カラス・ヒヨドリ・ツグミ	n/a	陰性	EPN	
2002(平成14)年	3月	ドバト・カラス・ヒヨドリ	n/a	陰性	フェニトロチオン	
	10月	ハト	陰性	陰性	DDVP	
	10月	カラス	陰性	陰性	不検出	
2003(平成15)年	2月	ヒヨドリ・ツグミ	陰性	陰性	シアノホス	
	7月	カラス	陰性	陰性	n/a	
	10月	カラス	n/a	陰性	不検出	
2004(平成16)年	2月	カラス	n/a	陰性	n/a	
	4月	カラス	陰性	陰性	シアノホス	
	5月	カラス	陰性	陰性	パラチオン	
	5月	カルガモ	陰性	陰性	ダイアジノン	
	5月	カラス	n/a	陰性	n/a	
	11月	カラス	n/a	陰性	n/a	
2005(平成17)年	3月	カラス	陰性	陰性	シアノホス	
	5月	ハシボソミズナギドリ	陰性	陰性	n/a	
	6月	ハト	陰性	陰性	メソミル	
	12月	トビ	陰性	陰性	フェニトロチオン	
2007(平成19)年	2月	カラス・ヒヨドリ	陰性	陰性	メソミル	
	2月	ヒヨドリ	陰性	陰性	メソミル	
	3月	ハト	陰性	陰性	n/a	
	3月	カラス	n/a	陰性	n/a	
	3月	ヒヨドリ	陰性	陰性	フェニトロチオン	
	12月	インコ	n/a	陰性	n/a	
2009(平成21)年	4月	カラス	n/a	n/a	不検出	
2012(平成24)年	6月	ハト・スズメ	n/a	n/a	不検出	
2013(平成25)年	10月	スズメ	n/a	n/a	メソミル	

n/a : 当該検査を実施せず

する装置である¹⁴⁾。N-メチルカーバメート系農薬の分析方法は、ポストカラム反応槽付き高速液体クロマトグラフ (HPLC) での蛍光誘導体化による方法等が知られている¹⁰⁻¹²⁾。しかし、ポストカラム-HPLC法では、特殊な機能を持つHPLCの装備が必要であり、反応液の準備やサンプルの精製等の操作が煩雑であるため、緊急検査時の迅速な対応には適していない。そこで、N-メチルカーバメート系農薬の緊急検査にLC/MS/MSの導入を試みた。その結果、N-メチルカーバメート系農薬は、蛍光誘導体化等を経ず分析することが可能となり、高感度で選択性の高い分析法を構築することが出来た。

2. 農薬の検出事例

平成10年度～平成25年度に当所に対応した、野鳥の斃死事例の検査結果を表1に示した。野鳥等の斃死事例は26件発生しており、いずれの事例とも放射能検査及びウイルス等の感染症検査では異常は認められなかった。このうち残留農薬等の理化学分析を実施した事例は18例であり、14例について農薬を検出した。検出された農薬はメソミル4例、シアノホス3例、フェニトロチオン3例、他にEPN、DDVP、ダイアジノン、パラチオンであった。代表的な検出事例について、概要を示す。

事例1 ヒヨドリの斃死事例

郊外の民家周辺でヒヨドリ約30羽の死体が発見され、このうち状態のよいヒヨドリ3羽が衛生研究所に搬入された。検体は搬入後インフルエンザの簡易検査を行い、陰性であることを確認した後に外観を観察した。外観観察の結果、全検体とも外傷や出血は認められず、下痢等による羽毛の汚れもなく、異常は認められなかったことから、さらに解剖して胸腔及び腹腔内臓器を観察した。摘出した食道から筋胃および内容物にも目視では異常がなかったため、これらを試料とし農薬検査を行った。その結果、N-メチルカーバメート系等農薬の分析では、分析対象とした8種ともすべて不検出であった。有機リン系等農薬33種を分析したところ、FPD-GCでの分析で検査に供したヒヨドリの胃及び胃内容物のすべてから、殺虫剤のフェニトロチオン0.09～0.43 mgを検出し、GC/MSのマスペクトルが標準品と一致したことから、フェニトロチオンを確認した。フェニトロチオン以外の32種の有機リン系農薬は不検出であった。

フェニトロチオン標準溶液及び胃内容物抽出液のGC-FPDのクロマトグラム及びGC/MSのマスペクトルを図3及び4に示した。

事例2 ヒヨドリ、カラスの斃死事例

県内市街地の住宅街でカラス7羽、近接地でカラスとヒヨドリの各1羽の死骸及び輪切りのミカンが発見された。警察を通して、カラス、ヒヨドリ各1羽及びミカンの検査が依頼された。

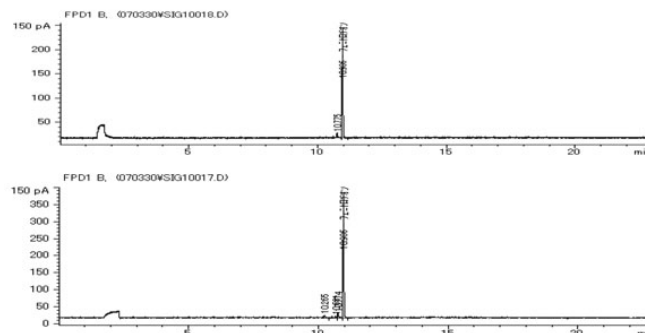


図3 FPD-GCによるクロマトグラム

上段：フェニトロチオン標準溶液 (0.5 µg/mL)

下段：ヒヨドリの胃内容物抽出液

装置：島津GC-2010i

カラム：HP-5 (Agilent) 長さ30m、内径0.32mm、膜厚0.25 µm

注入口温度：220℃

検出器温度：280℃

カラム温度：50℃ (2分保持) - 20℃/分 - 280℃ (10分保持)

キャリアーガス：ヘリウム1.33mL/min

注入モード：スプリットレス

注入量：2 µL

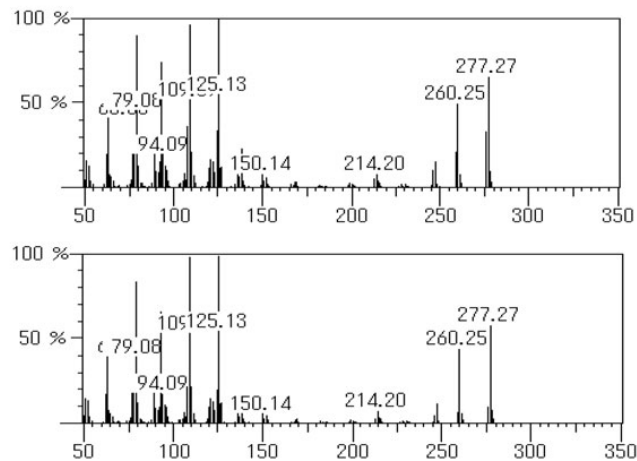


図4 GC/MSによるマスペクトル

上段：フェニトロチオン標準溶液 (1.0 µg/mL)

下段：ヒヨドリの胃内容物抽出液

装置 MS部：日本電子Automass150

GC部：アジレントAgilent6890

カラム：DB-5MS (J & W) 長さ30m、内径0.25mm、膜厚0.25 µm

注入口温度：220℃

イオン源・インターフェイス温度：250℃

カラム温度：50℃ (1分保持) - 10℃/分 - 280℃ (10分保持)

キャリアーガス：ヘリウム1.2mL/min

注入モード：スプリットレス

注入量：2 µL

MSモード：スキャンモード

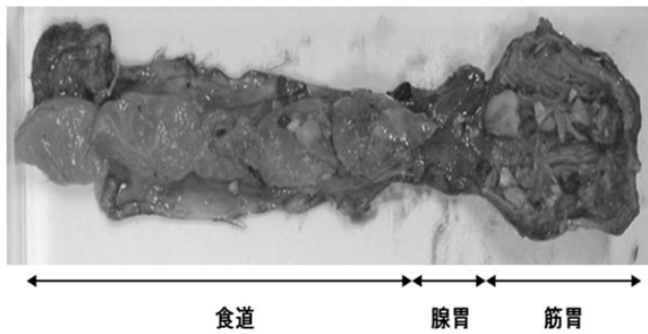


図5 カラスの食道から筋胃にかけての内容物（事例2）

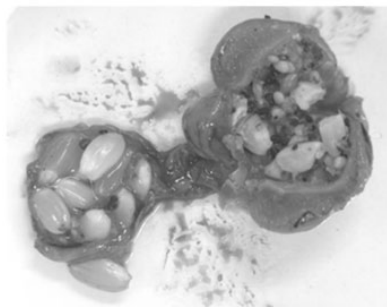


図6 スズメの胃内容物（事例3）

外観観察の結果、いずれも外傷や出血は認められず、下痢等による羽毛の汚れもなく、異常は認められなかった。いずれも栄養状態は良好であった。剖検の結果、2検体とも胸腔および腹腔内臓器に著変は認められず、死後変化も少なかった。カラスでは、咽頭直下から腺胃直前の食道全域でミカンのじょうのう（房）が充満していた（図5）。筋胃には、ミカンの果肉の他、植物の種子様物質等が確認された。消化管粘膜に出血等の変化は認められなかった。ヒヨドリでは食道から胃にかけて内容物はほとんどなかったが、筋胃内でミカンの果肉が散見された。2例とも栄養状態は良好で臓器に著変が認められなかったことから、衰弱死したものではないと考えられた。現場から採取したミカン、カラスにおいては食道または胃内容物を、ヒヨドリでは内容物を含む筋胃を試料とし農薬検査を実施した。その結果、分析したすべての検体から*N*-メチルカーバメート系農薬のメソミルを検出した。カラスにおいては、筋胃内容物からのメソミル検出量が0.04 mgであるのに対し、食道内容物からの検出量は0.55 mgと高い値を示した。また、現場から採取したミカン一房からは2.4 mgのメソミルを検出した。

事例3 スズメの斃死事例

管内のサトイモ畑で110羽程度のスズメの大量死が発見された。インフルエンザの簡易検査を行い、陰性であることを確認した後に、15羽が衛生研究所に搬入され、

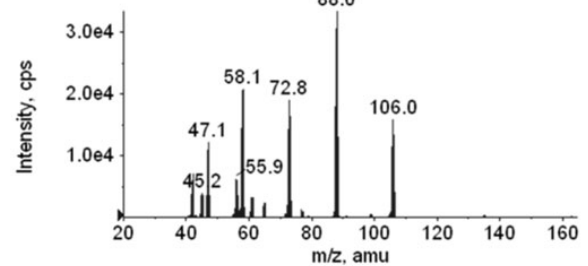
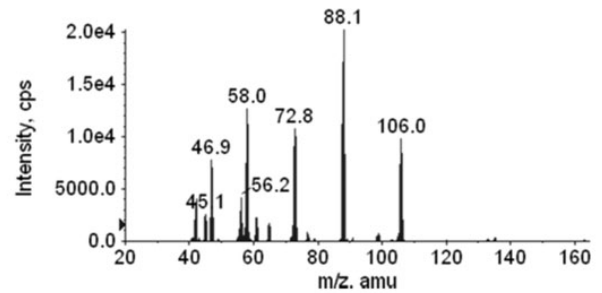


図7 LC/MS/MSによるプロダクトイオンキャンスペクトル

上段：メソミル標準溶液（1 μ g/mL）

下段：スズメ胃内容物 抽出液

装置：API3000

カラム：X-Terra MS 2.1mm i.d. $\times$ 150mm 3 μ m

カラム温度：40℃

移動相：A：5mM酢酸アンモニウム溶液

B：5mM酢酸アンモニウムメタノール溶液のグラジエント

流量：0.2mL/min

注入量：5 μ L

イオン化法：ESI(+)

死因調査を行った。

外観観察の結果、くちばしに土の付着が15検体中4検体で観察された。全個体とも外傷や出血は認められず、下痢等による羽毛の汚れもなく、異常は認められなかった。いずれも栄養状態は良好であった。5羽を選び剖検した結果、5検体とも胸腔および腹腔内臓器に著変は認められず、死後変化も少なかったことから、衰弱死したものではないと考えられた。

全検体で筋胃内には摂取物が充満しており、その中には未消化の米粒が確認された検体もあった（図6）。また、4検体では嗉嚢にも未消化の米粒が貯留していた。全検体の食道から筋胃及びその内容物を分析試料として採材した。農薬について分析したところ、殺虫剤のメソミルが分析した各検体から3.5～18.4 μ g検出された。有機リン系農薬61種及びメソミル以外の*N*-メチルカーバメート系農薬8種については不検出であった。メソミル標準溶液及び胃内容物抽出液のLC/MS/MSのプロダクトイオンキャンスペクトルを図7に示した。

事例1で検出したフェニトロチオンの鳥類に対する経口投与による半数致死量（LD50）は23.6～1,190 mg/kg

との報告がある¹⁵⁾。また事例2及び3で検出したメソミルは鳥類に対する感受性が高く、鳥類に対する経口投与によるLD50は10～50 mg/kgである¹⁶⁾。各事例とも検出された農薬の量はこれらの値に比べ低く、特に事例3では1/10以下であったが、実際に野鳥が摂取した農薬の量は致死量に達しており、一部はすでに代謝されていたものと推測された。

いずれの事例も、野鳥を撃退するために野鳥の餌に人為的に農薬を付着させたものが原因であったことが推測された。市街地や民家に隣接した農耕地等、人の往来がある場所では、農薬を付着させた餌等をベットとして飼育されている犬や猫が誤食したり、幼児が誤って手にするなど、人の健康を害する可能性も懸念された。

平成21年（2009年）4月8日に施行された毒物及び劇物指定令の一部改正により、メソミル及びこれを含有する製剤は毒物に指定された。しかし、メソミルの含有量が45%以下の場合は、農薬用品目販売者が取り扱うことができる劇物に指定される。これらはインターネット販売等でも園芸用として販売されているため、健康被害の原因物質となりうる薬剤も一般の人が容易に入手できる。今回報告した野鳥の斃死事例は、野鳥による作物への被害防止のため、野鳥を駆除する目的で農薬を使用したことが原因であると推測された。住宅地が隣接している都市近郊の農耕地でのこのような行為は、近隣住民に健康被害を及ぼす可能性がある。そのため事故防止の観点から、本事例のような行為の危険性について、住民に対し啓発する必要があると考えられた。

おわりに

健康危機管理時の検査体制を整え、被害状況把握を目的とした調査を実施するためには、日頃の調査研究の中で新たな技術を習得し、これを活用する必要がある。近年、我々は新たな分析手法として、広く普及するようになったLC/MS/MSを調査研究や日常検査に取り入れた。そこで健康危機管理時の理化学検査にもLC/MS/MSを導入し、野鳥の斃死事例に対する農薬検査体制を構築した。この結果、斃死の原因物質の一つがN-メチルカーバメート系農薬のメソミルであることを突き止め、健康被害の拡大を未然に防ぐことができた。さらに、当所では本事例を契機に健康危機管理時の農薬検査を強化し、加工食品への農薬混入に対処するための分析法の整備を開始した。このことにより、その後平成26年（2014年）に発生した国産冷凍食品への農薬混入事件の際には、迅速に検査体制を整備し製品検査を実施することが可能となり、県内流通製品の安全性を確認することができた。また平成20年（2008年）に発生した中国産乳製品へのメラミ

ンの混入事例など、農薬以外の化学物質による汚染事例でも、LC/MS/MSによる分析法を整備し汚染実態調査を実施し、県内流通製品の安全性を確認することができた。このように、我々の生活を取り巻く世の中の動きを視野に入れた調査研究や、日々の技術の研鑽により得られた知見を緊急検査に導入することにより、健康危機管理体制の充実に繋げることができたと考える。

衛生研究所では、平常時にはレギュラトリーサイエンスの概念に基づき、公衆衛生の分野において科学技術を人と生活に適用させるための調整（ルールづくり）を実施し、公衆衛生行政を支えるための調査研究を進めている。一方、健康危機管理時に迅速に検査体制を整え、原因究明と危害防止に努めることは、衛生研究所の重要な責務である。平常時の調査研究で培われた技術や経験は、健康危機管理時の迅速かつ多角的な原因究明に資するため必要不可欠なものと思われる。今後も日々の調査研究の中で新たな技術の導入や分析精度の向上に努めることにより、健康危機管理時の対応に備えることが必要である。

謝辞

稿を終えるにあたり、ともに緊急検査及び調査研究に携わった、理化学部食品化学グループ並びに薬事毒性・食品機能グループの皆様に深謝します。

参考文献

- 1) 厚生省3局長，地方衛生研究所設置要綱，日厚生省発予第20号，昭和23年4月7日。
- 2) 厚生事務次官，地方衛生研究所の機能強化について，厚生省発健政第26号，平成9年3月14日。
- 3) 厚生省，健康危機管理基本指針，厚生省発厚第1号，平成9年1月9日。
- 4) 厚生労働省，地域における健康危機管理について～地域健康危機管理ガイドライン，平成13年3月。
- 5) 厚生労働省健康局長通知，地域保健対策の推進に関する基本的な指針の一部改正について，健発0731第8号，平成24年7月31日。
- 6) 衛生試験法・注解2015：日本薬学会編，pp466-480，金原書店，東京（2015）。
- 7) 植村振作，河村宏，辻万千子，富田重行，前田静夫：農薬毒性の事典pp130，三省堂，東京（1998）。
- 8) 清宮幸男，古川岳大，佐々木幸治ほか：野鳥のコリンエステラーゼ阻害剤中毒，日本産業動物獣医師会会誌，60，191-195（2007）。
- 9) 藤巻照久，佐藤久美子，岸美智子：へい死野鳥の農

薬分析法について，神奈川県衛生研究所報告，33，83-88（2003）

- 10) 厚生労働省通知，食品に残留する農薬・飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について，食安発第0227004号，平成19年2月27日
- 11) 食品衛生検査指針 残留農薬編2003：厚生労働省監修，pp60-75,163-173，広川書店，東京（2003）
- 12) 永山敏廣，小林麻紀，塩田寛子，森野雅世，伊藤正子，田村行弘：農産物中のN-メチルカーバメート系農薬分析法，食品衛生学雑誌，35，470-478（1994）
- 13) 後藤智美：食品中の残留化学物質の理化学的分析法に関する研究－カーバメート系農薬の迅速分析法について－，薬学雑誌，130，999-1010（2010）
- 14) 望月直樹：食の安全におけるLC-MS/MS分析の問題点，薬学雑誌，131，1019-1025（2011）
- 15) EXTOXNET PIP-FENITROTHION
<http://extoxnet.orst.edu/pipps/fenitrot.htm>
 （2017/6/30アクセス）
- 16) EXTOXNET PIP-METHOMYL
<http://extoxnet.orst.edu/pipps/methomyl.htm>
 （2017/6/30アクセス）

Emergency inspection correspondence during health crisis management － Focusing on the mortality cases of wild birds by pesticides－

Shigemi KAI

This review summarized the emergency inspection correspondence in case of health crisis management in Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, focusing on chemical analysis.

We established an inspection system for acute toxic pesticides to investigate the causes of wild bird suspicious death. The organophosphorus pesticides were analyzed using gas chromatography-flame photometric detector (GC-FPD) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The N-methyl carbamate pesticides were analyzed using liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS) or liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS).

From 1999 to 2013, we conducted a simultaneous analysis for pesticides to investigate the causes of 18 cases of wild bird suspicious death. According to the investigation, there were cases where acute toxic pesticides such as Fenitrothion and Methomyl were detected.

It was considered that crops were contaminated intentionally by pesticides to repel wild birds.

It is an important role of the institute for hygiene research to establish an inspection system quickly when health crisis management occurs, to investigate the cause and to prevent harm.