

- intracellular accumulation of phagocytic and epithelial cells and the inhibitory effect on *Chlamydia* (Chlamydia) pneumoniae of Telithromycin and comparator antimicrobials. *Journal Chemotherapy*, 20: 428-430, 2008
- 4) Hisada H, Yamazaki T, Inoue M, Sato K, Ando S, Kishimoto T. In vitro Activity of Garenoxacin against *Chlamydia* spp. *Journal Chemotherapy*, 20: 282-284, 2008
 - 5) Matsui T., Nakashima K., Ohya T., Kobayashi J., Arima Y., Kishimoto T., Ogawa M., Cai Y., Shiga S., Ando S., Kurane I., Tabara K., Itagaki A., Nitta N., Fukushi H., Matsumoto A., and Okabe N. An outbreak of psittacosis in a bird park in Japan. *Epidemiology and Infection*, 136:492-5, 2008
 - 6) 岸本寿男、安藤秀二. クラミジア感染症. 新臨床内科学 (第9版) 1337-1339, 2008年12月
 - 7) 安藤秀二. 病原体の実験技術. バイオメディカルサイエンス研究会編集, バイオセーフティの辞典, みみずく舎/医学評論社, 2008年11月
 - 8) 岸本寿男、安藤秀二. クラミジア呼吸器感染症の血清診断. 日本胸部臨床 67 増刊: S9-S15, 2008年11月
 - 9) 安藤秀二、坂田明子、岸本寿男. 発疹熱、化学療法の領域、24: 1636-1640, 2008
 - 10) 佐藤梢、安藤秀二、岸本寿男、井上美由紀、山崎 勉. *Chlamydia trachomatis* に対する gatifloxacin の in vitro 抗菌作用および殺菌作用. あたらしい眼科 25: 85-87, 2008
2. 学会発表
- 1) 安藤秀二, リケッチア症の国内の現状と課題, 平成 20 年度希少感染症診断技術研修会, 2009年2月, 東京
 - 2) 安藤秀二, 病原体の輸送と感染症法, 第6回慶應 G-SEC バイオセキュリティワークショップ, 2009年2月, 東京
 - 3) 安藤秀二, 病原体輸送の現状と課題. 第8回日本バイオセーフティ学会, 2008年12月, 大阪
 - 4) Ando S. Biosafety Experience in Japan. Laboratory Biosafety. Dec 2008, Seoul Korea.
 - 5) 安藤秀二, 坂田明子, 宇根有美, 五箇公一, 藤田博己, 花岡 希, 高野 愛, 川端寛樹, 岸本寿男. 輸入爬虫類が病原体を持ち込むリスクに関する考察. 第26回日本クラミジア研究会・第15回リケッチア研究会合同学術集会. 2008年11月. 岐阜
 - 6) 安藤秀二. バイオリスク. 平成 20 年度バイオセーフティ技術講習会, 2008年10月, 東京
 - 7) 安藤秀二. ソフト面を中心としてバイオセーフティ平成 20 年度バイオセーフティ技術講習会, 2008年10月, 東京
 - 8) 安藤秀二, 検体の取扱、搬送方法, 第3回輸入感染症講習会, 2008年9月, 神奈川
 - 9) 安藤秀二, 坂田明子, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 花岡希, 高野 愛, 川端寛樹, 渡邊治雄, 岸本寿男. 鳥類に関連するマダニ類からのリケッチアの検出. 第146回日本獣医学会学術集会. 2008年9月. 宮崎
 - 10) 高野 愛, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 渡邊治雄. 野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討. 第146回日本獣医学会学術集会. 2008年9月. 宮崎
 - 11) 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 坂田明子, 武藤麻紀, 高野愛, 山内健生, 川端寛樹
 - 12) 安藤秀二, 岸本寿男. 鳥類外部寄生虫からの病原体の検出—鳥類標識調査を主とした外部寄生虫採集—. 日本鳥学会 2008 年度大会. 2008年9月. 東京
 - 13) 安藤秀二、重松美加, 病原体取扱に際してのバイオセーフティとその国際的な潮流, 第3回臨床検査学教育学会, 2008年8月福岡
 - 14) 安藤秀二、リスクアセスに基づくバイオリスク管理の基本、改正感染症法と輸送に関するワークショップ, 2008年7月29, 大阪
 - 15) 安藤秀二、バイオセーフティ概説と微生物実験室の安全管理、動物衛生研究所研修会, 2008年7月28, つくば
 - 16) 安藤秀二、リスクアセスに基づくバイオリスク管理の基本、改正感染症法と輸送に関するワークショップ, 2008年7月25, 富山
 - 17) 安藤秀二、発疹熱について、第4回国際感染症セミナー、2008年6月、東京
 - 18) Shigematsu M, Ando S, Sata T, Sugiyama K. Survey on Pathogen Transport among Public Health Laboratories in Japan. 13th International Congress on Infectious Diseases. June 2008, Kuala Lumpur Malaysia
 - 19) 山本正悟, 岩切章, 安藤秀二, 岸本寿男. 宮崎県南部における日本紅斑熱のベクター. 第82回日本感染症学会総会, 2008年4月, 島根

- 20) 安藤秀二、オウム病の現状と課題. 第 82 回
日本感染症学会総会, 2008 年 4 月, 島根
- 21) 安藤秀二, 小原真弓, 古屋由美子, 田原研司,
山本正悟, 本田俊郎, 坂田明子, 花岡希,
岸本寿男. 日本におけるリケッチア感染症
の現行検査法に関する検討. 第 82 回日本感
染症学会総会, 2008 年 4 月, 島根

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

出願番号: 特願 2008-304031 発明

の名称: リケッチア・ジャポニカ感染症の
診断方法

出願日: 平成 20 年 11 月 28 日

リケッチア感染症

種類	病原体	分布
紅斑熱群	<i>R. rickettsii</i>	ロッキー山紅斑熱 西半球
	<i>R. akari</i>	ツクシチア熱 アジア、中南米
	<i>R. conorii</i>	ボリス熱 地中海沿岸、アフリカ、南欧アジア、インド
	<i>R. sibirica</i>	シベリアチフス 西アジアから中国北部
	<i>R. australis</i>	オーストラリアチフス オーストラリア
免疫熱群	<i>R. japonica</i>	日本紅斑熱 日本
	<i>R. prowazekii</i>	免疫チフス 世界
	<i>R. typhi</i>	免疫熱 世界
つつが虫病	<i>Orientia tsutsugamushi</i> (旧名 " <i>R. tsutsugamushi</i> ")	恙虫熱 南西アジア、オーストラリア北部、太平洋の島

治療方法

- ・βラクタム抗生物質は無効
- ・テトラサイクリン系が有効

クラミジア感染症

種類	感染する動物
<i>Chlamidia trachomatis</i>	人間
<i>Chlamydia philipponum</i>	ウシ、ヒツジ
<i>Chlamydia psittaci</i>	人間、鳥類
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	人間

- ・βラクタム抗生物質は無効
- ・マクロライド系・テトラサイクリン系・ニューキノロン系が有効

- ・病原体の属が同定できれば治療方針を考えられる
- ・病原体の種が同定できれば治療方針及び対処法を考えられる

図1 リケッチア属、クラミジア属決定による治療方針の決定

リケッチア属、クラミジア属を決定することにより、治療方針や対処法が決定できる。

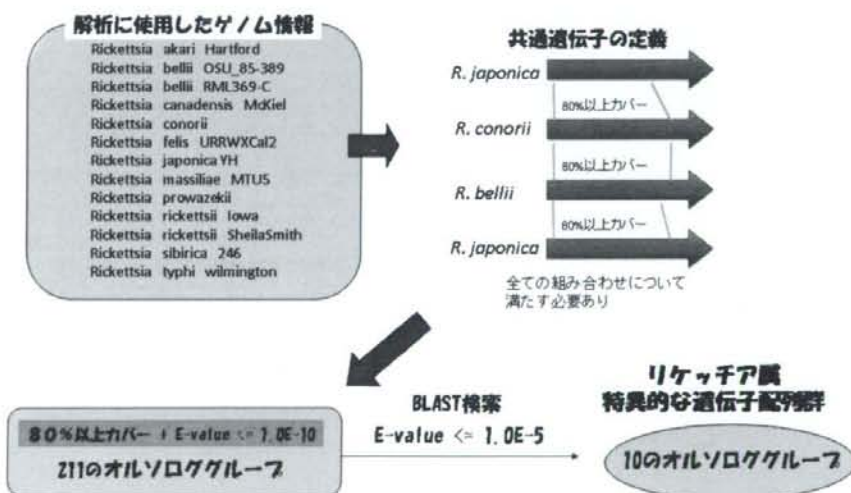


図2 オルソロググループ選抜概略

13 種のリケッチア菌のゲノム情報を用いて、全体及び同一性で、80%以上カバーしている ORF を抽出した。さらに、リケッチア属のみに高度に保存されているオルソロググループ柄を検討し、最終的に 10 のオルソロググループを選抜した。

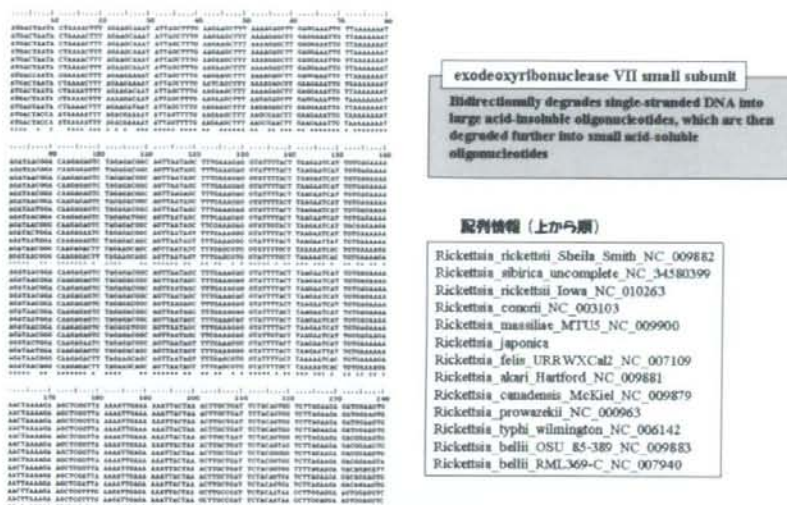


図3 オルソロググループのアライメント例

10のオルソロググループ内での13菌種間でのアライメント例。非常に同一性が高いことがわかる。

NCBI web上でのblast (Blastn) 結果



図4 リケッチア属検出部位選択例

図3で示した、ORFを用いたBlastNの結果より、断片的に他の生物のDNA配列を含んでいることがわかる。このような部分は検出部位としては適していない。

9. 超高速病原体ゲノム解読システムの構築と 包括的な核酸迅速診断法の確立

研究分担者	黒田 誠	国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター第三室 室長
研究協力者	芹澤 昌邦	(ヒューマンサイエンス振興財団 リサーチ・レジデント)
	関塚 剛史	(国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター第三室 研究員)
	井上 智	(国立感染症研究所獣医科学部第二室 室長)
	奥谷 晶子	(国立感染症研究所獣医科学部第二室 研究員)

研究要旨 未知病原体や変異病原体による新興感染症の汎発流行、そしてそれらを利用したバイオテロなどの危険性は近年社会的不安の一つとして認識されつつある。その危険性に対する確かな感染制御法及び捜査方法を立案、整備する上で、生物情報として完全に網羅的であるゲノム配列を迅速に解読することは最も確かなアプローチの一つと考えられる。次世代ゲノムシーケンサーが開発されたことで、今までは数年を要した全ゲノム解読作業は数週間で終了することが可能となった。この全ゲノム解読技術を効率的かつ安定的に運用する体制を整えることで、配列データ及び変異情報のデータベースを充実させリファレンス情報を増やし、有事において迅速に対応出来る体制を整えることを本研究課題は目標としている。

本年度は、WHO 指定バイオテロ病原菌である炭疽菌(*Bacillus anthracis*)の国内分離株 2 株及び炭疽症に対する第一選択薬剤となるキノロン系抗生剤シプロフロキサシンに耐性を持つ炭疽菌 3 株に関し全ゲノムシーケンスを行った。その結果、シプロフロキサシン耐性に関与すると思われる新たな SNP (一塩基多型)を検出することが出来た。また NCBI (National Center for Biotechnology Information) にて公開されている炭疽菌 17 株及び、本年度全ゲノムシーケンスを行った国内分離 2 株の配列情報を用いて全領域を対象とした SNP 探索を行った結果、合計 4,619 箇所 (ゲノム: 4,331 箇所、pX01: 164 箇所 pX02: 124 箇所) の SNP を抽出することが出来、その情報をデータベース化した。それら SNP を変異パターンによりグループ分けした結果、86 の tag-SNP に集約することが出来た。この tag-SNP を用いた系統分類解析の結果は汎用されている MLVA 法 (Multiple Loci Variable number tandem repeat Analysis) の結果と一致しており、必要最小限の SNP サイトの typing で系統分類解析が可能であることを明らかにした。この SNPs 解析法は、バイオテロ使用炭疽菌株の由来を特定する初動捜査法として極めて有効であると考えられる。迅速法と並行して、全ゲノム配列から全 SNP 情報を抽出し、より精度の高い株特定が可能になった。今年度の目標であるトレーサビリティに必須な全 SNP 情報を短期間で抽出する全ゲノム解読システムを整備した。

A. 研究目的

1) WHO 指定バイオテロ病原菌である炭疽菌の国内分離株の全ゲノムシーケンス

WHO 指定バイオテロ病原菌 (炭疽菌、野兔病、ペスト、ブルセラ症、鼻疽) の日本分離株の全ゲノム情報は皆無であり、早急に全ゲノムシーケンスとその情報整備を行うことが必要である。本年度は平成 20 年 10 月に導入したイルミナ社の次世代シーケンサー (illumina Genome analyzer II) を用い、炭疽菌国内分離株 2 株の全ゲノムシーケンスを行った。また、炭疽症に対する第一選択薬剤となるキノ

ロン系抗生剤シプロフロキサシンに耐性を持つ炭疽菌 3 株に関し同様に全ゲノムシーケンスを行い、その耐性能に関係すると思われる SNP の探索を行った。

2) 次世代ゲノムシーケンスの結果から得られた配列情報に対し SNP typing を行い系統分類解析に繋げるための作業フローの検討

有事の際、病原菌の出所、発生源そして感染経路の特定に次世代シーケンサーを用いるためには、そこから得られる極めて膨大な配列情報を効率的に

処理し系統分類解析に繋げるための作業フローの確立が必要不可欠である。そこで本年度は「炭疽菌」に関して、系統分類解析を行う上での基盤となる変異 (SNP) データベースの作成及び、次世代ゲノムシーケンスの結果から得られた配列情報に対し SNP データベースの情報に基づき SNP typing を行い系統分類解析に繋げるための作業フローの検討を行った。

B. 研究方法

1-1) 炭疽菌・日本分離株の株系統解析

株系統解析に汎用されている MLVA 法を用いて、日本分離株の株ごとのタイピングを行った。多数の変法が提案されているが、VNTR 25 ヶ所を使用する Lista *et al.* (2006)の方法に従って解析した。既報データベースに日本株情報を集約させ、UPGMA 法による系統樹作製を行い、日本分離株 (表 1)の類縁関係を他国分離株と比較検討した。

1-2) 炭疽菌の全ゲノムシーケンス

前項の MLVA 法による系統分類解析の結果、日本株は A3a 及び A3b の 2 タイプに分離されることがわかった。そこで、各タイプの代表株として、Ba103 株 (A3b タイプ) 及び Ba104 株 (A3a タイプ) を選択し、全ゲノムシーケンスを行うことにした (表 1)。シーケンス作業は全てイルミナ社のキット及び機器を使用し定法に従って行った。ゲノム DNA の断片化及びライブラリーの作成には Genomic DNA Sample Prep kit を用いた。フローセルへの DNA 断片の固定及び DNA クラスターの増幅には Cluster generation kit を用い、Cluster station 上にて反応を行った。シーケンスは illumina Sequencing kit を用い、illumina Genome analyzer II を用いてデータを取得した。付属のプログラムを用い、raw データを fastq フォーマットデータに変換し、その後の解析に用いた。

2-1) 炭疽菌の SNP の探索及び SNP データベースの作成

炭疽菌のような極めて配列保存性の高い菌種であっても、ゲノム及びプラスミドの配列の長さは株ごとに異なるため、単純に配列の比較を行うことは出来ない。そこで reference 配列を設定し、そこへ各菌株の断片した配列情報をマッピングすることで配列比較を行い、SNP を探索する方法を検討した。

Maq (Mapping and Assembly with Qualities; <http://maq.sourceforge.net/index.shtml>) は次世代シーケンサーの出力配列 (イルミナ社の場合 36 塩基からなる数百万配列のデータ) を reference 配列にマッピングし SNP の検出を行うための UNIX ベースのプログラムである。また公開されている既知の配列を 36 塩基ずつランダムに断片することで擬

似的な次世代シーケンサーの出力配列を作成し (疑似リードの作成)、そのデータを用いて同様の解析を行うことも可能である。この Maq プログラムを利用することで、各株の配列を reference 配列の長さに疑似的に合わせることが可能となり、株固有の領域は無視し、「炭疽菌」において保存的な配列を用い配列比較を行うことが可能となった。

今回はこの方法により、NCBI において配列情報が公開されている 17 株及び、本年度全ゲノムシーケンスを行った国内分離株 2 株 (Ba103, Ba104) について、総当たり戦での配列比較を行い、SNP の網羅的探索及びデータベース作成を行った。

2-2) 次世代ゲノムシーケンスの結果から得られた配列情報に対し SNP typing を行うための作業フローの検討

Maq プログラムを用い、reference 配列である Ames 0581 株の配列の長さに合わせた疑似ゲノム配列から特定の SNP ポジションの塩基を抜き出す Perl スクリプトを準備した。

まず炭疽菌の次世代シーケンスの結果を reference である Ames 0581 株の配列に Maq プログラムを用いてマッピングを行うことで配列の長さを整える。それを今回作成した Perl スクリプトを用いて処理する。その結果目的とする SNP の位置の塩基を抜き出すことが出来、すぐにその情報を系統分類解析に用いることが出来る。

C. 研究結果

1-1) 炭疽菌・日本分離株の株系統解析

分離年、場所の異なる炭疽菌 12 株 (表 1) の MLVA 解析結果を既報データベースに集約させ系統樹を作製した。日本株はオーストラリア、インド、中東で分離される A3a タイプに属するもの (7 株) と、実験標準株 Ames 0581 や動物用ワクチン株 Sterne の A3b タイプに属する (5 株) 2 つに大きく分類される事が分かった (図 1)。北米、ヨーロッパ大陸で頻繁に分離される A1a および B1, B2 タイプの株は検出されなかった。VNTR 8 ヶ所を使用した系統樹においては、中国大陸と類似したタイプ構成になっており、ユーラシア大陸経由と輸入動物による伝播が示唆された。

1-2) シプロフロキサシン耐性株のゲノムシーケンスと薬剤耐性に関与する新規 SNP の探索

DNA 複製阻害に働くキノロン系薬剤の標的酵素は DNA gyrase (subunit A, *gyrA*; subunit B, *gyrB*) 及び DNA topoisomerase IV (subunit A, *parC*; subunit B, *parE*) であり、様々な菌種のキノロン系薬剤耐性株においてそれら遺伝子上の変異が以前から報告されている。そこで、今回解析に用い

たシプロフロキサシン耐性炭疽菌 3 株において、それら 4 遺伝子上に新たな変異がないか調べた。その結果、シプロフロキサシンに対する耐性が 64 倍に上昇している Ba104_CIPr 株において *gyrA* 遺伝子内に炭疽菌においては新たな SNP (G256C, Ala-86-P10) を検出した (表 2)。この変異は保存性の高い QRDR (キノロン耐性決定領域) に含まれており、大腸菌において該当する変異が報告されていることから、この Ala-86-P10 の変異が BA104 のキノロン耐性化に関与しているものと考えられる。

2) 炭疽菌の SNP の探索及び SNP データベースの作成

標準株として認識されている Ames 0581 株を reference 配列に設定し、網羅的な SNP 探索を行った結果 9,766 箇所の SNP を抽出することが出来た。そこから VNTR 領域 (Variable Number Tandem Repeat) などの次世代シーケンサーの弱点でデータの正確性が低くなる可能性が高い繰り返し多型の部分やマッピング結果の信憑性が低い領域を除外した結果 4,331 箇所の SNP に絞り込むことができた。また同様の方法を用い SNP 探索を行った結果、炭疽菌のプラスミド pX01 には 164 箇所、pX02 には 124 箇所の SNP サイトを見出すことが出来た (図 2)。

今回の解析に用いた炭疽菌 19 株それぞれに関し、ゲノム上の 4,331 箇所の SNP サイトの塩基情報を集積し系統分類解析を行った。結果は汎用されている系統分類法である MLVA 法を用いてのグループ分けの結果とほぼ一致していた (図 3)。この結果は、次世代シーケンサーのデータを系統分類解析に用いる場合、SNP 情報を利用することが有効であることを示していると考えられる。

図 3 の系統分類解析では、4,331 箇所の SNP サイトの塩基情報を用いたが、この中には系統分類する上で意味を持たない SNP があると考えられる (変異パターンが同じ SNP が重複している)。そこで系統分類解析をより少ない SNP で実現出来るか検討した。少ない数の SNP サイトの typing による系統分類解析が可能となれば、低コストでかつ迅速な系統分類解析を行うことが出来ると考えられる。

まずゲノム上の SNP4,331 箇所、pX01 上の SNP164 箇所そして pX02 上の SNP124 箇所の近傍配列について炭疽菌内での保存性を BLAST 解析により検証した。その結果保存性が高い領域に存在する SNP (ゲノム:3,413 箇所、pX01:117 箇所、pX02:80 箇所) を抽出した。次に 2 種類の塩基で構成される bi-allele のサイトに関して、Major allele (ゲノムの場合は全 19 株中 10 株以上で typing された側の塩基) と minor allele の判別を行った後、各株の該当する位置の塩基が Major allele か minor allele か分類した。その結果を基に、SNP のパターン解析を行うと、ゲノムでは 43 グループ、pX01 で

は 24 グループそして pX02 では 19 グループに分類されることがわかった。各グループに属する SNP サイトのうち任意の 1 箇所の SNP をそのグループを代表する tag-SNP と選定した。それら合計 86 の tag-SNP を用いて系統分類解析を行った結果、MLVA 法を用いてのグループ分けの結果とほぼ一致した (図 4)。

D. 考 察

1) シプロフロキサシン耐性株においてキノロン系薬剤の標的酵素以外の遺伝子領域に新たな変異がないか、ゲノム及びプラスミド全領域をターゲットに探索を行う。特に、薬剤の取り込み及び排出ポンプなどをコードする遺伝子の領域内及びその上流域 (プロモーター領域) に新たな変異が出現していないか配列データの詳細な解析を行う必要がある。

2) 従来、炭疽菌の検出には炭疽菌の病原因子をコードする遺伝子 (protective antigen, *pagA*; lethal factor, *lef*; edema factor, *cyaA*; capsule biosynthesis protein, *capABC*) を PCR で検出する方法が用いられてきた。しかしながら炭疽菌の病原因子をコードする遺伝子 (*pagA*, *lef*, *cyaA*) を含むプラスミド pX01 に 99.6% の相同性を示す pBCX01 を保持する *B. cereus* G9241 株が報告されており、今後「炭疽菌の正確な検出」という点で従来法では不十分となる可能性がある。86 の tag-SNP の中には、SNP サイトの近傍領域を炭疽菌以外のセレウスグループ菌 (*B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis*) では PCR 増幅出来ない 37 SNPs (ゲノム上:12, pX01:13, pX02:12) が含まれている。今回選出した tag-SNP セットは炭疽菌の系統分類と同時にセレウスグループ内の種間分類を行うことが出来る可能性があり、より厳密な炭疽菌の検出法になるものと考えられる。現在、typing 方法の検討を含め実用化に向けシステムの検証を行っている (図 5)。

E. 結 論

1) 炭疽菌国内分離 2 株及びシプロフロキサシン耐性 3 株の全ゲノムシーケンスを行った。その結果、耐性が 64 倍に上昇している BA104_CIPr 株において *gyrA* 遺伝子内に炭疽菌においては新たな SNP (G256C, Ala-86-P10) を検出した。

2) NCBI にて公開されている炭疽菌 17 株及び、本年度全ゲノムシーケンスを行った国内分離株 2 株の配列情報を用いて SNP 探索を行った結果、ゲノム上に 4,331 箇所、pX01 上に 164 箇所そし

て pX02 上に 124 箇所の SNP を検出した。それら SNP を変異パターンによりグループ分けした結果、86 の tag-SNP に集約することが出来た。tag-SNP による系統分類解析の結果は MLVA 法の結果と一致しており、的確な選別方法を用いれば必要最小限の SNP サイトの typing で系統分類解析が可能であることを明らかにした。

本年度の研究により、炭疽菌によるバイオテロの際、大まかな株系統情報を提供できる迅速法の tag-SNP typing 法と、トレーサビリティのための絶対的な情報を提供出来る次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析法の両方を並行させることで、菌株追跡における迅速性と正確性を確保する道筋をつけることが出来た。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

- 1) 芹澤昌邦、関塚剛史、奥谷晶子、井上智、黒田誠「セレウスグループに属する各菌種における SNP の網羅的探索と種間比較におけるその利用」第 82 回日本細菌学会総会、平成 21 年 3 月 12-14、名古屋（演題採択済み）
- 2) 奥谷晶子、関塚剛史、黒田誠、井上智、山田章雄「日本で分離された炭疽菌の分子遺伝学的解析」第 82 回日本細菌学会総会、平成 21 年 3 月 12-14、名古屋（演題採択済み）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし

表1. 系統分類解析に用いた炭疽菌日本分離株のリスト

Strain number	Isolated place	Isolated animal	Isolated year	MLVA Cluster
Ba102	Miyagi	dairy cattle	1983	A3b
Ba103	Miyagi	beef cattle	1991	A3b
Ba104	Shizuoka	pig	1982	A3a
Ba105	Shizuoka	pig	1982	A3a
Ba106	Okinawa	unknown	1956	A3a
Ba107	Okinawa	pig	1982	A3a
Ba108	Shiga	dairy cattle	1987	A3b
Ba109	Mie	dairy cattle	1970	A3a
Ba110	Mie	unknown	1967	A3a
Ba111	Okayama	dairy cattle	1985	A3b
Ba113	Okayama	human	unknown	A3a
Ba115	Shizuoka	unknown	unknown	A3b

Ba103株、Ba104株は全ゲノムシーケンスを行った。

表2. シプロフロキサシン耐性炭疽菌において見られるDNA gyrase及びDNA topoisomerase IV遺伝子の変異

Parent	Mutant name	Selecting quinolone	MIC (μg/ml)				QRDR amino acid substitutions				Reference
			OFX	CIP	LVX	MXF	GyrA	GyrB	GtA (ParC)	GtB (ParE)	
Sterne	-	-	0.25	0.125	0.125	0.06	-	-	-	-	Best D J <i>et al.</i> J Antimicrob Chemother. 2004, 54:90-94
Sterne	STN-O30	OFX	64	8	64	32	Glu-89-Arg	-	Val-96-Ala	-	
	STN-C30	CIP	32	64	32	32	Glu-89-Lys	-	-	-	
	STN-L30	LVX	16	4	16	16	Glu-89-Gly	-	-	-	
	STN-M30	MXF	4	4	4	32	Ser-85-Leu Glu-89-Lys	-	Ser-81-Tyr	-	
STi	-	-	0.25	0.125	0.125	0.03	-	-	-	-	Chemother. 2004, 54:90-94
STi	STi-O30	OFX	32	16	32	32	Ser-85-Leu	-	-	Asp-430-Asn	
	STi-C30	CIP	8	64	32	16	Ser-85-Leu Glu-89-Gly	-	-	-	
	STi-L30	LVX	16	16	64	64	Ser-85-Leu Glu-89-Lys	-	Ser-81-Tyr	-	
	STi-M30	MXF	2	4	16	16	Glu-89-Gly	-	Asn-70-Lys Ser-81-Tyr	-	
Sterne	-	-	-	0.125	-	-	-	-	-	-	This study
	Sterne_CIPr	CIP	-	2	-	-	-	-	-	-	
Ba103	-	-	-	0.125	-	-	-	-	-	-	
	Ba103_CIPr	CIP	-	1.5	-	-	-	-	-	-	
Ba104	-	-	-	0.125	-	-	-	-	-	-	
	Ba104_CIPr	CIP	-	8	-	-	Ala-86-Pro	-	-	-	

OFX, ofloxacin; CIP, ciprofloxacin; LVX, levofloxacin; MXF, moxifloxacin

QRDR, quinolone resistance determining region

GyrA, DNA gyrase subunit A

GyrB, DNA gyrase subunit B

GtA (ParC), DNA topoisomerase IV subunit A

GtB (ParE), DNA topoisomerase IV subunit B

図1. MLVA法による炭疽菌・日本分離株の株系統分析 (25ヶ所のVNTRを検査対象とした)

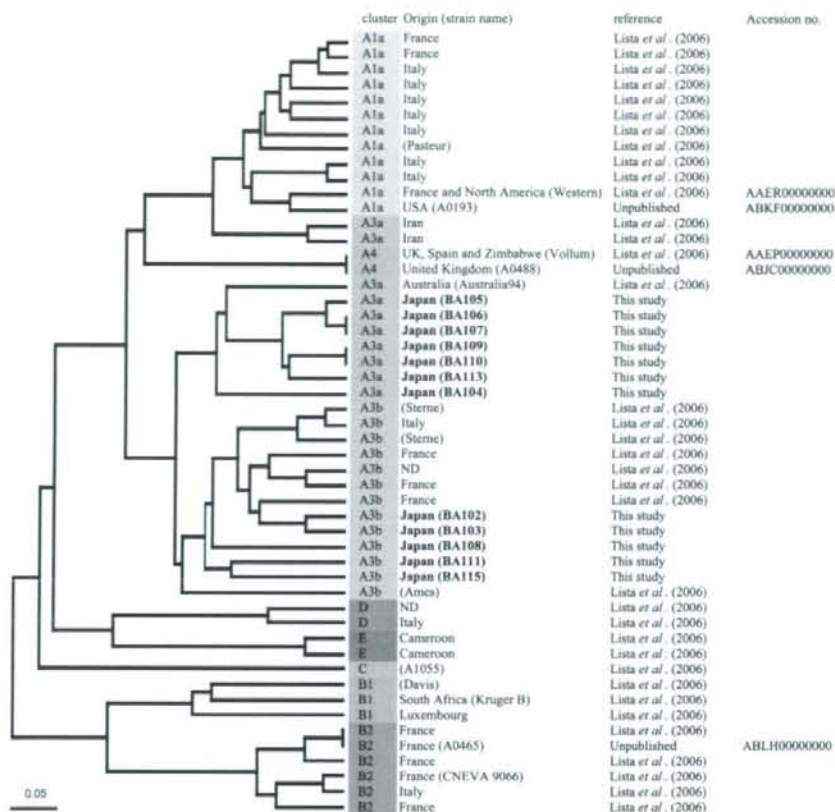


図2. 炭疽菌のSNPの探索及びSNPデータベースの作成

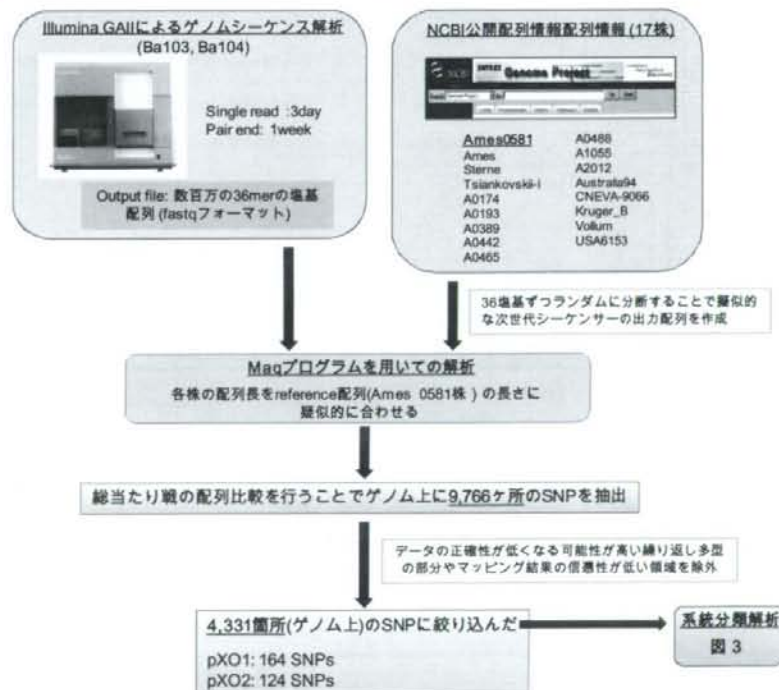


図3. ゲノム上の4,331SNPsを用いての系統解析の結果

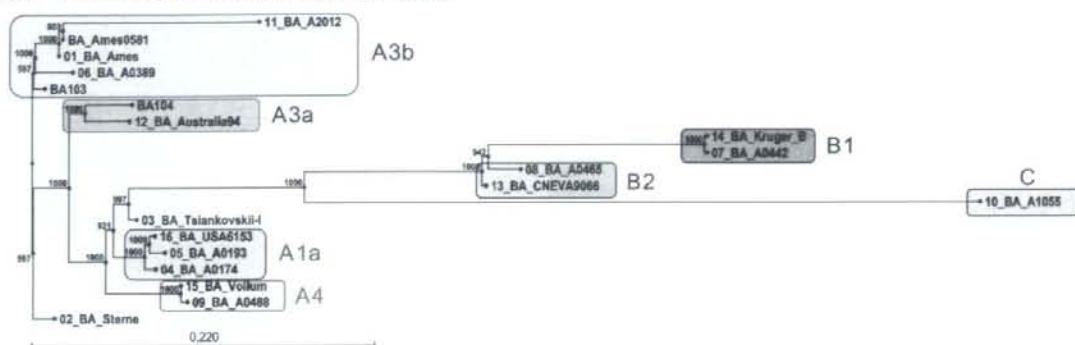


図4. 86のtag-SNPを用いての系統解析の結果

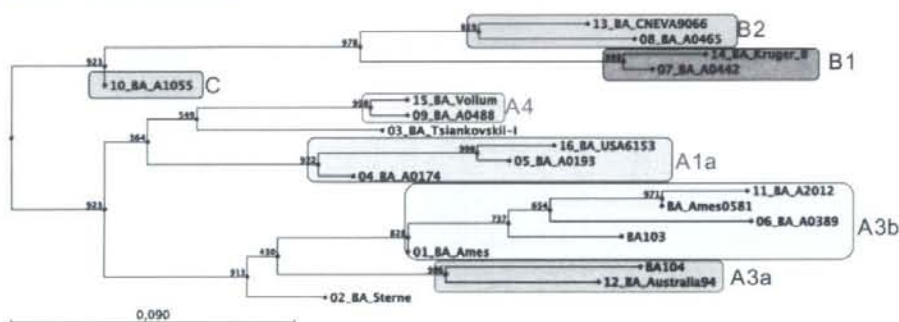


図5. tag-SNPを用いた株系統・セレウスグループの迅速SNPs診断法の検討例

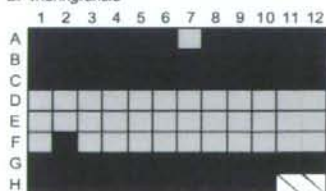
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1s
B	1s	1s	1s	1s	1s	1s	1s	1s	1s	1s	1s	1s
C	G6	Gs	Gs	Gs	Gs	Gs	Gs	Gs	Gs	Gs	Gs	Gs
D	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
E	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
F	G	G	G	G	G	G	2	2	2	2	2	2
G	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s	2s
H	2	2	LF	LF	EF	EF	PA	PA	C	C		

- 1 pXO1上のtag-SNP
- 1s pXO1上のtag-SNP(*B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis* 分離用)
- G genome上のtag-SNP
- Gs genome上のtag-SNP(*B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis* 分離用)
- 2 pXO2上のtag-SNP
- 2s pXO2上のtag-SNP(*B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis* 分離用)
- LF *lef*; lethal factor
- EF *cyaA*; calmodulin-sensitive adenylate cyclase (EF)
- PA *pagA*; protective antigen
- C *B. cereus* 検出

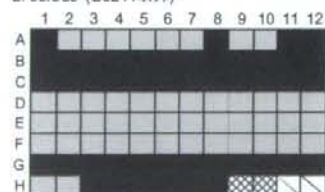
B. anthracis



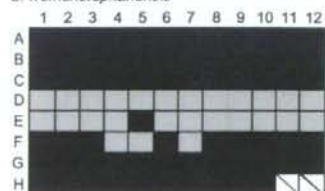
B. thuringiensis



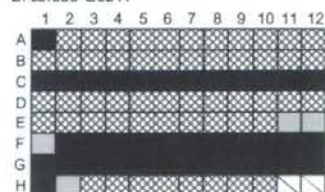
B. cereus (G9241以外)



B. weihenstephanensis



B. cereus G9241



PCR

- 増幅する
- 株により増幅する可能性がある
- 増幅しない

10. 検体調整法およびスクリーニング法の普及、 バイオテロ検査マニュアルの作製と検査担当者の育成

研究分担者 田中智之 堺市衛生研究所

研究協力者 矢野 公一 (札幌市衛生研究所)
岡田 峰幸 (千葉県衛生研究所)
黒木 俊郎 (神奈川県衛生研究所)
倉田 毅 (富山県衛生研究所)
小倉 肇 (岡山県環境保健センター)
岩切 章 (宮崎県衛生環境研究所)

研究要旨 バイオテロによる健康危機発生時に、全国地方衛生研究所(地衛研)が検査に関わる可能性は極めて高い。それらの特定病原体取り扱いの対応能力を把握するために、地衛研の現状をアンケート調査した。その結果、対応能力は備わっているものと判断されるものの、突然の健康危機に必要な迅速性、正確性を一層高く備えるには、ハード面の整備のみならず、技術面での向上のための研修、実技の習得が重要と考えられた。過去のバイオテロの教訓として、本邦における「白い粉事件」の集約をアンケート調査にて試みた。「白い粉事件」では 1,050 以上の検体を地衛研が取り扱った。事件の前後で、地衛研では、ハード面、ソフト面の整備のみならず感染研、各自治体との連携の強化、健康危機管理要領の作成、検査マニュアルの充実等、健康危機対応の機運が一段と高まった。過去の経験に基づいた危機意識の維持と新しい検査・診断技術の習得を図りつつ、バイオテロに向けた対応が今後も重要である。

A. 研究目的

健康危機を引き起こす要因として危惧されているバイオテロ(B テロ)には様々な特定の病原体が含まれている。炭疽菌、ボツリヌス菌(ボツリヌス毒素)、ペスト菌、野兔病菌といった細菌、ボックスウイルス(痘瘡ウイルス)、エボラおよびマールブルグ、ラッサ熱、クリミア・コンゴ出血熱ウイルスなどのウイルスがその対象微生物として挙げられている。一方、サリン、砒素、シアンといったケミカルテロ(C テロ)も重要な健康危機要素である。このような B テロ、C テロに対する国家的対策として、特に B テロは地方衛生研究所を中心とした研究機関が第一線に立ち、原因究明等の初動体制に重大な任務を果たしている。

それゆえ、全国地方衛生研究所(地衛研)は普段から検査体制の構築や検査診断能力を高め

ておくことは重要な使命である。

しかし、病原体の取り扱い、保管などに関する感染症法の改正等により、予算的な補助なく、地衛研には施設のみならず微生物取り扱い等バイオセキュリティの充実を求められることとなった。

このような現状であるが、B テロ等の健康危機対応のために地衛研の持つ特定病原体の検査能力の実態を把握し、課題の発掘とその対応方法に向けた資料を備えておくことは極めて重要なことである。

今回の研究課題として、まず特定病原体に対する地衛研の検査実態の把握を行った。併せて、感染症法改正以前の 2001 年、アメリカでは同時多発テロ時に炭疽菌による B テロが発生した。この B テロ或いは B テロ模倣事件、いわゆる「白い粉事件」は本邦においても 2001 年

10月に福島県、青森県で発生し、それ以降2000件以上の報告がなされた。勿論、当時の「白い粉」に対する対応は警察・科学捜査研究所であったが、検体検査の大半は地衛研で行われた。

当時のBテロに対して、地衛研がどのように対応したかの詳細な報告書が見られないため、今回、アンケート調査を行うことによって、当時の実態を検証し、Bテロ対応の試練を継承していくために、今後に資する資料となることを目的とした。

B. 研究方法

1) 特定病原体検査対応アンケート

特定病原体に対し全国地衛研の検査対応実態のアンケート調査を行った。アンケート内容は下記のとおりである。

- 1) どの病原体等の迅速検査が対応可能か
- 2) 迅速検査の具体的方法名（たとえば real-time PCR など）
- 3) 必要な市販キット名、メーカー名
- 4) 使用する機器名
- 5) 地衛研で検討に値する（検討のため配布できる）検査法の病原体名
- 6) 陽性陰性対照を同時に配布可能か
- 7) マニュアルの有無
- 8) 検体の種類（臨床検体：具体名、分離検体など）
- 9) 検体からの調整法

これらの質問に対してアンケートの回収を行い、解析し今後、特定病原体の検査対応に資すべき資料とした。

2) 地衛研がとった「白い粉事件」への対応

全国地衛研を対象に表4のようなアンケート調査を行った。

C. 研究結果

1) 特定病原体検査対応の実態調査

特定病原体調査の内容を表1に示した。それに基づいて、地衛研における検査状況を表2に示した。この中でPCR法、分離培養、細菌分離が検査の主流であることが窺えた。一類感染症では痘瘡ウイルスの検査が、PCR法、蛍光抗体法および電子顕微鏡で検査可能と答えた3地衛研があった。平成19年度厚生科学研

究補助金「健康危機発生時の地方衛生研究所における調査及び検査体制の現状把握と検査等の精度管理の体制に関する調査研究」研究課題：天然痘ウイルスの免疫学的迅速・簡便診断法と健康危機管理構築による研修がその理由と思われる。その他の一類感染症の検査は不能であった。使用機器は、遺伝子検出のTAKARA(TP600)・(TP3000)・(MP)等のPCR装置からABI310、2720、7900、7000、7500、970等の定量PCR装置、Veriti(ABI) Loopamp、COBAS TaqMan48、さらに光学・蛍光顕微鏡や電子顕微鏡まで種々の検出機器が回答された。検体検査に簡便な測定キットの有無についてみると(表3)、二類及び四類感染症の幾つかにキットの市販が認められているが、多くの病原体の測定キットは見られていない。当然のことながら一類では皆無で、三類にも4病原体に認められるのみである。

感染研から各地衛研に陽性・陰性のコントロール検体送付希望を尋ねた時に、多くの地衛研は対照検体の送付を希望しているのが分かった。また、検査マニュアルの送付希望も多く認められた。特定病原体の検査に当たり、そのマニュアルと陽性・陰性検体の必要性から判断すれば、当然の結果と思われるが、100%の希望でない点は、検査体制の確立にむけて、今後、詳細に解析しなければならない点とである。

検査検体は、喀痰、喀痰からの分離菌株、咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液、病変部、水疱内容、うがい液、血液、髄液、組織、糞便、便からの分離菌株、虫体、臨床検体、環境検体、水、白い粉、土壌等、食品、ウエストナイル熱媒介蚊、ウイルス株、菌株、ワクチン株、死菌株、培養液、遺伝子がある。検査検体は、遺伝子検出等の操作に進む前に、濃縮、加熱等による感染性の失活処理が求められる。或いは毒素検出や鏡検による直接病原体を検出する手段もとられる。例えば、検査検体の調整法は、DNA or RNA抽出、煮沸法、培養法、増菌液又は平板からのコロニースライプ液を集菌・加熱、便：沈殿法 水：ろ過濃縮法、毒素抽出、毒素or夾膜遺伝子、加熱処理、ショ糖遠心浮遊法、物理的濃縮、培養上清、精製・鏡検、毒素中和試験、切片・塗抹核酸抽出、その他および直接がある。

2) 地衛研における「白い粉事件」の対応

「白い粉事件」調査では 77 地衛研中 67 地衛研 (87%) の回答を得た。それらを表 5、図 1 にまとめた。概要としてまとめると、

- ・ 白い粉事件に関与した地衛研は 59 地衛研で、回答のない地衛研を含めると 77% の地衛研が検査を行った。検体搬入は警察官が最も多く、搬入前には何らかの連絡を受けていた。ただ、搬送容器は専用容器ではなく、ビニール袋に検体を入れて搬入している。
- ・ 取り扱った検体数は、事件発生時の 2001 年が最も多く平均約 16 検体であった。以後漸次減少しているが、2008 年においても数検体を検査している。総計で過去 8 年間に 1,052 検体数であった。
- ・ 炭疽菌検査体制は、当時既に 46 地衛研で可能であった。検査方法として、培養、鏡検、遺伝子検査が主要であった。遺伝子検査として、60 地衛研全てに PCR 機器が整備されていた。
- ・ 検査マニュアルは 80% の地衛研では「病原体検出マニュアル」(地衛研・感染研共同) が多く活用されていた。
- ・ 検査体制の連携については、約 70% の地衛研で連携体制をとっており、その 85% が感染研とであり、地衛研間相互、家畜保健衛生所、警察等もあった。
- ・ 検査実験室では、「白い粉事件」を契機に、実験室の整備・増設傾向が見られた。P1 では、増設 5 施設、検討中 5 施設であった。P2 では増設 11 地衛研 (17%)、増設予定 8 施設であった。P3 では 17 地衛研 (27%) が増設し、今後 6 施設が検討中、または作製予定であった。
- ・ 健康危機管理要領の作成に関しては、2001 年当時は 29 地衛研 (43%) が作成していたが、事件後は 34 地衛研が作製し、危機意識の向上が窺えた。作成した時期も、白い粉事件後、一年以内が約半数であった。
- ・ 連絡体制網の作成も、事件当時は 64% であったが、作成のなかった 24 地衛研も事件後に 92% が作成した。
- ・ 当時の連携先は警察、地衛研、他の自治体、その他、厚労省、感染研、家畜保健衛生所、

消防などであった。

- ・ 連携の窓口には、当時も現在も地衛研検査担当部長、検査担当者、所長が多かった。
- ・ 事件以降、地衛研相互、警察、近隣市、ブロック内などで、地衛研の約半数が連携のため協定書の締結が行なわれた。

D. 考 察

1) 特定病原体検査対応の実態調査

将来起こりえる可能性を持つ B テロに対し、地衛研が前線に対処するためには、ソフト面、ハード面の様々な整備、拡充が必要である。なかでも、特定病原微生物を取り扱うという観点に立てば、測定機器の整備のみならず、技術面の習熟度が極めて重要と考える。極言すれば、特定病原体の性状、取り扱い技術が備わっていなければ、対処できないこととなる。これらの点を改善、克服するための資料として地衛研の現状について調査した。その結果、ハード、ソフト両面の対応能力は「無」ではないことは判明した。B テロは予測して生じるものではなく、「突然性」に発生し、それに対し迅速かつ的確な対応が求められる。そのためには、検査技術の向上、特定病原体に対する深い知識が必要で、模擬訓練等を通して「意識」して行かなければならない。今回の調査結果を更に解析しつつ、次年度の実技研修に向けてより正確な実態把握に努めて行きたい。

2) 地衛研における「白い粉事件」の対応

白い粉事件」は 2001 年、アメリカの同時多発テロに追従して突然に発生し、世界を震撼とさせたバイオテロ事件である。多くは模倣事件とはいえ、当時の日本でも多数の事件報告があり、国民の健康危機に国を挙げて対処してきたテロ事件といえる。総数 2,000 件以上の検体を警察・科学捜査研究所、全国地衛研が昼夜を徹して検査してきた。

とくに、全国地衛研ではこれまで地道に培ってきた、試験検査、調査研究、公衆衛生情報の収集・解析・提供、研修指導といった所謂、地衛研の 4 本柱の成果がこの健康危機事例に遺憾なく発揮されたのではなかったかと考える。その一方で、この事件を契機として、国、自治体を含めて地衛研の機能整備・充実の必要性を

痛感させられた事件であったとも考える。

いつ、類似のバイオテロ健康危機事件がいつ起こるか知れない現在、地衛研が健康危機事件の前線に立って対処していかなければならないことは周知の事実である。この調査結果では、地衛研が対処した「白い粉事件」のほんの氷山の一角と考える。この事件には先達たちの苦労や検査への意気込みなど膨大な真実が隠されていると思われる。その意味で、この「白い粉事件」で地衛研が取った実態やその後の対応をさらに検証しつつ、今後の健康危機事件へ対応する必要があると考える。

(謝辞)

特定病原体検査対応および「白い粉事件」アンケートにご協力・ご回答いただきました全国地方衛生研究所関係各位に深謝いたします。

E. 結 論

特定病原体の検査・診断技術の習得は、バイオテロ対応には必須の事項である。現在の地衛研の施設設備、検査技術の向上は今後も継続していかなければならない。

過去の「白い粉事件」バイオテロ事件時に充実された危機意識、各機関の連携、健康危機管理要領やマニュアルの作成は、今後もアップグレードしながら活用し、健康危機発生時の迅速な対応に期さなければならない。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし

表 1 「特定病原体 調査内容」リスト (省略)

表 2 特定病原体検査状況

表 3 特定病原体検査キット状況

特定病原体 検査対象者の 数	検査法	特定病原体検査キット状況																
		PCR	分組 PCR	RPLA/RT- LAMP	イムノ クロマト	蛍光抗体・ ELISA	FA	DFA	スライ ド凝集	IF	免疫 染色・ 蛍光	ELISA ・HI	薄層免疫 クロマト	毒素検 出法	顕微鏡 子顕微 鏡	顕微鏡・ 電子顕 微鏡	ラテック ス法	マウス 試験・ 中和試験
1. 1 特定病原体等	PCR																	
2. 2 特定病原体等	PCR	31	3	22														
3. 3 特定病原体等	PCR	15	1															
4. 4 特定病原体等	PCR	14	8	1														
5. 5 特定病原体等	PCR	10																
6. 6 特定病原体等	PCR	31	22	10														
7. 7 特定病原体等	PCR	16	8															
8. 8 特定病原体等	PCR	15	1															
9. 9 特定病原体等	PCR	14	8															
10. 10 特定病原体等	PCR	10																
11. 11 特定病原体等	PCR	31	22	10														
12. 12 特定病原体等	PCR	16	8															
13. 13 特定病原体等	PCR	15	1															
14. 14 特定病原体等	PCR	14	8	1														
15. 15 特定病原体等	PCR	10																
16. 16 特定病原体等	PCR	31	22	10														
17. 17 特定病原体等	PCR	16	8															
18. 18 特定病原体等	PCR	15	1															
19. 19 特定病原体等	PCR	14	8															
20. 20 特定病原体等	PCR	10																
21. 21 特定病原体等	PCR	31	22	10														
22. 22 特定病原体等	PCR	16	8															
23. 23 特定病原体等	PCR	15	1															
24. 24 特定病原体等	PCR	14	8															
25. 25 特定病原体等	PCR	10																
26. 26 特定病原体等	PCR	31	22	10														
27. 27 特定病原体等	PCR	16	8															
28. 28 特定病原体等	PCR	15	1															
29. 29 特定病原体等	PCR	14	8															
30. 30 特定病原体等	PCR	10																
31. 31 特定病原体等	PCR	31	22	10														
32. 32 特定病原体等	PCR	16	8															
33. 33 特定病原体等	PCR	15	1															
34. 34 特定病原体等	PCR	14	8															
35. 35 特定病原体等	PCR	10																
36. 36 特定病原体等	PCR	31	22	10														
37. 37 特定病原体等	PCR	16	8															
38. 38 特定病原体等	PCR	15	1															
39. 39 特定病原体等	PCR	14	8															
40. 40 特定病原体等	PCR	10																
41. 41 特定病原体等	PCR	31	22	10														
42. 42 特定病原体等	PCR	16	8															
43. 43 特定病原体等	PCR	15	1															
44. 44 特定病原体等	PCR	14	8															
45. 45 特定病原体等	PCR	10																
46. 46 特定病原体等	PCR	31	22	10														
47. 47 特定病原体等	PCR	16	8															
48. 48 特定病原体等	PCR	15	1															
49. 49 特定病原体等	PCR	14	8															
50. 50 特定病原体等	PCR	10																

表4◆2001 年米国バイオテロに関連した「白い粉事件」について貴研究所の検査対応について
お伺いします。衛生研究所に関する設問については所全体のこととしてご回答ください。

Ⅱ「白い粉」検体の取り扱い

1. 貴研究所では、「白い粉」検体を取り扱ったことがありますか。

- ☐ 1. ある
☐ 2. ない

2. だれが検体を搬送しましたか。(複数回答可)

- ☐ 1. 保健所担当者
☐ 2. 警察官
☐ 3. 衛生研究所職員
☐ 4. その他()

3. 検体の搬入に際し、検体収集時の状況説明がありましたか。

- ☐ 1. あった
☐ 2. なかった
☐ 3. その他()

4. 検体収集時の状況説明はだれからありましたか。(複数回答可)

- ☐ 1. 保健所担当者
☐ 2. 警察官
☐ 3. 衛生研究所職員
☐ 4. その他()

5. 搬入に何を用品しましたか。(複数回答可)

- ☐ 1. 保健所公用車
☐ 2. 衛生研究所公用車
☐ 3. 警察車両
☐ 4. その他()

6. どのような容器を用いて搬送していましたか。(複数回答可)

- ☐ 1. WHO 基準の容器
☐ 2. その他()

7. 検査に要する日数は何日でしたか。

日

8. 結果報告に要する日数は何日でしたか。

日

9. 最終決裁者は誰でしたか。

- ☐ 1. 所長
☐ 2. 知事
☐ 3. その他()

10. 2001 年の米国における炭疽菌によるバイオテロ以降の「白い粉」
関連の検査件数を年度別に記入してください。

2001(平成 13)年度()	2005(平成 17)年度()
2002(平成 14)年度()	2006(平成 18)年度()
2003(平成 15)年度()	2007(平成 19)年度()
2004(平成 16)年度()	2008(平成 20)年度()

次のページ
問 11 へ

炭疽関連の「白い粉」検査体制

11. 検査をする体制はありましたか。

- ☐ 1. 当時既にあった
☐ 2. 現在はある
☐ 3. ない

12. 検査法は何を用いていますか。(複数回答可)

- ☐ 1. 鏡検
☐ 2. 遺伝子検査
☐ 3. 培養
☐ 4. その他()

13. 鏡検の染色法は何を用いますか。(複数回答可)

- ☐ 1. グラム染色
☐ 2. 芽胞染色
☐ 3. その他()

14. 遺伝子検査は何を用いますか。(複数回答可)

- ☐ 1. PCR
☐ 2. リアルタイム PCR
☐ 3. その他()

15. 培養法は何を用いますか。(複数回答可)

- ☐ 1. 直接培養
☐ 2. 増菌培養併用
☐ 3. その他()

16. 検査マニュアルはありますか。

- ☐ 1. ある
☐ 2. ない
☐ 3. 不明

17. どのような検査マニュアルを用いますか。
 (複数回答可)

- ☐ 1. 病原体検出マニュアル(国立感染症研)
☐ 2. 独自に作成したマニュアル
☐ 3. 成書
☐ 4. その他()

18. 参考になっているホームページ(HP)はありますか。

- ☐ 1. ある
☐ 2. ない
☐ 3. 不明

19. どのような HP を参考にしますか。
 (複数回答可)

- ☐ 1. バイオテロ対応 HP(国立感染症研)
☐ 2. CDC の HP
☐ 3. その他()

20. 検査機器は何がありますか。(複数回答可)

- ☐ 1. 顕微鏡
☐ 2. PCR 装置
☐ 3. リアルタイム PCR 装置
☐ 4. その他()

21. 検査体制について他機関と連携していますか。

- ☐ 1. している
☐ 2. していない
☐ 3. 不明

22. どの機関と連携していますか。
 (複数回答可)

- ☐ 1. 国立感染症研究所
☐ 2. 他の地方衛生研究所()
☐ 3. その他()

23. 検査を担当する人員は何人ですか。

人

24. 検査体制が確立されていないのはなぜですか。(複数回答可)

- ☐ 1. 事例がなかったから
☐ 2. 整備が遅れていたから
☐ 3. 民間委託したから
☐ 4. その他()

25. 検査体制を確立する予定はありますか。

- ☐ 1. ある
☐ 2. ない
☐ 3. その他()

26. 現在の状況は

- ☐ 1. 検討中
☐ 2. 確立予定
☐ 3. 確立中
☐ 4. その他()

27. いつまでに確立する予定ですか。

- ☐ 1. 早急に
☐ 2. 今年度内に
☐ 3. その他()

28. 検査体制は必要だと思いますか。

- ☐ 1. 思う
☐ 2. 思わない
☐ 3. その他()

次のページ

問 29 へ

『当時(2001年)と比べて増設した検査施設』

29. 生物系実験室で設置されているものを選んでください。(複数回答可)

- ☐ 1. P1 実験室
☐ 2. P2 実験室
☐ 3. P3 実験室

30. P1 実験室

- ☐ 1. 増設した
☐ 2. 増設していない

33. いくつありますか。
 室
 34. 今後設備を作る予定はありますか。
☐ 1. 検討中
☐ 2. 作製予定
☐ 3. 作製中
☐ 4. 予定はない
☐ 5. その他()

31. 増設前はいくつありましたか。
 室
 32. 増設後はいくつありますか。
 室

35. P2 実験室

- ☐ 1. 増設した
☐ 2. 増設していない

38. いくつありますか。
 室
 39. 今後設備を作る予定はありますか。
☐ 1. 検討中
☐ 2. 作製予定
☐ 3. 作製中
☐ 4. 予定はない
☐ 5. その他()

36. 増設前はいくつありましたか。
 室
 37. 増設後はいくつありますか。
 室

40. P3 実験室

- ☐ 1. 増設した
☐ 2. 増設していない

43. いくつありますか。
 室
 44. 今後設備を作る予定はありますか。
☐ 1. 検討中
☐ 2. 作製予定
☐ 3. 作製中
☐ 4. 予定はない
☐ 5. その他()

41. 増設前はいくつありましたか。
 室
 42. 増設後はいくつありますか。
 室

45. 現在、二種病原体取り扱い実験室はいくつありますか。

室

次のページ
 問 46 へ

自治体における危機管理体制の整備

46. 当時、健康危機管理要領はありましたか。

- ☐ 1. あった
☐ 2. なかった

49. 「白い粉事件」後、健康危機管理要領を作成しましたか。

- ☐ 1. した
☐ 2. しなかった

52. 作成しなかったのはなぜですか。(複数回答可)

- ☐ 1. 人員不足
☐ 2. 必要がないから
☐ 3. その他()

53. 危機管理要領を作成する予定はありますか。

- ☐ 1. ある
☐ 2. ない
☐ 3. その他()

56. 危機管理要領は必要だと思いますか。

- ☐ 1. 思う
☐ 2. 思わない
☐ 3. その他()

47. どの部署で作成されたものですか。(複数回答可)

- ☐ 1. 本課
☐ 2. 衛生研究所
☐ 3. その他()

48. その要領で「白い粉」に対応できましたか。

- ☐ 1. できた
☐ 2. できなかった
☐ 3. その他()

50. いつ作成されましたか。

- ☐ 1. 直後に
☐ 2. 1年以内に
☐ 3. その他()

51. どの部署で作成されたものですか。(複数回答可)

- ☐ 1. 本課
☐ 2. 衛生研究所
☐ 3. その他()

54. 現在の状況は

- ☐ 1. 検討中
☐ 2. 作成予定
☐ 3. 作成中
☐ 4. その他()

55. いつまでに作成する予定ですか。

- ☐ 1. 早急に
☐ 2. 今年度内に
☐ 3. その他()

57. 当時、連絡体制網はありましたか。

- ☐ 1. あった
☐ 2. なかった

58. どの部署で作成されたものですか。(複数回答可)

- ☐ 1. 本課
☐ 2. 衛生研究所
☐ 3. その他()

60. 連絡体制が確立されていなかったのはなぜですか。(複数回答可)

- ☐ 1. 事例がなかったから
☐ 2. 整備が遅れていたから
☐ 3. その他()

59. 連絡体制を例にならって記載してください。

(例)

- ① 通報
↓
② 警察署 ← 保健所
↓
③ 警察本部
↓
④ 県庁健康危機管理担当
↓
⑤ 衛生研究所企画部
(衛研側の窓口として)
↓
⑥ 検査担当
↓
⑦

- ① 通報
↓
②
↓
③
↓
④
↓
⑤
↓
⑥
↓
⑦

次のページ

問 61 へ

次のページ

問 70 へ

61. 「白い粉事件」後、連絡体制網を作成されましたか。

☐ 1. した

☐ 2. しなかった

62. いつ作成されましたか。

☐ 1. 直後に

☐ 2. 1年以内に

☐ 3. その他()

63. どの部署で作成されたものですか。(複数回答可)

☐ 1. 本課

☐ 2. 衛生研究所

☐ 3. その他()

64. 連絡体制を例にならって記載してください。

(例)

① 通報

通報

② 警察署 ← 保健所

③ 警察本部

④ 県庁健康危機管理担当

⑤ 衛生研究所企画部

(衛研側の窓口として)

⑥ 検査担当

⑦

① 通報

② ↓

③ ↓

④ ↓

⑤ ↓

⑥ ↓

⑦ ↓

65. 作成しなかったのはなぜですか。
(複数回答可)

☐ 1. 事例がなかったから

☐ 2. 人員不足

☐ 3. 必要がないから

☐ 4. その他()

66. 連絡体制網を作成する予定はありますか。

☐ 1. ある

☐ 2. ない

☐ 3. その他()

69. 連絡体制網は必要だと思いますか。

☐ 1. 思う

☐ 2. 思わない

☐ 3. その他()

67. 現在の状況は

☐ 1. 検討中

☐ 2. 作成予定

☐ 3. 作成中

☐ 4. その他()

68. いつまでに作成する予定ですか。

☐ 1. 早急に

☐ 2. 今年度内に

☐ 3. その他()

70. 当時、他機関との危機管理上の連携はありましたか。

☐ 1. あった

☐ 2. なかった

☐ 3. その他

()

71. 当時、どこと連携がありましたか。(複数回答可)

☐ 1. 警察

☐ 2. 他の自治体()

☐ 3. その他()

72. その後連携をとりましたか。

☐ 1. 連携をとった

☐ 2. 連携をとらなかった

☐ 3. その他()

73. その後、どこと連携がありますか。(複数回答可)

☐ 1. 警察

☐ 2. 他の自治体()

☐ 3. その他()

次のページ

問 74 へ