

オーストリアの獣医大学における動物ウイルスの管理・保管システムに関する調査を行い、この調査結果を元に、我々が開発した病原体一括管理システム（ICBS システム）が導入可能であるか、またその有用性について検討を行った。

※1：OIE リストA：伝播が速く、国境を越えて流行し、社会的・経済的及び公衆衛生上特に深刻な事態を招くと同時に、家畜・畜産物の国際防疫にとっても重要な疾病

※2：OIE リストB：国内的に社会的・経済的及び公衆衛生上重要で、かつ家畜・畜産物の国際防疫にとって重要な疾病

B. 研究方法

第12回国際ニドウイルス学会（2011年6月4～8日、シカゴ州、米国）に参加し、オーストリアの獣医大学（ユトレヒト大学（Utrecht）・獣医学部・免疫感染症学部門）及び韓国の獣医大学（チュンナン国立大学（CNU）・獣医学部・感染症学部門）の研究者（特に実際に日常業務として病原体を取扱っている研究者）に対して、各研究室における、病原体の管理・保管システムに関する情報収集及びアンケートを行った。

（倫理面への配慮）

特記すべきこと なし

C. 研究結果

(1) BSL 及び取扱い病原体

各研究室のバイオセーフティーレベル及び取扱い病原体を表1に示す。両研究室ともにWHOの研究室マニュアルに基づいた一定基準のレベルを満たしており、OIE リスト疾病[A]及び[B]を引き起こす病原体を取扱っている。

表1:BSL 及び取扱い病原体

	ユトレヒト大（蘭）	チュンナン大学（韓）
バイオセーフティーレベル	BSL3	BSL2
取扱い病原体	約10種	約8種
OIE リストA 病原体	鳥インフルエンザウイルス	ニューカッスルウイルス 豚コレラウイルス
OIE リストB 病原体	馬動脈炎ウイルス 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス	豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス

(2) バイオセーフティ・バイオセキュリティプログラム

両大学共に、研究室バイオセーフティ・バイオセキュリティのための規定があり、大学が作成した独自の病原体取り扱い安全規定が存在する。

また、病原体取扱者に対するバイオセーフティ・バイオセキュリティに関する説明または講習会が定期的に行われる。

(3) 研究室バイオセーフティに関する情報収集とアンケート

各研究室の研究室バイオセーフティに関する情報収集とアンケート結果を表2に示す（但し両大学共にBSL2研究室に関する回答）。両研究室共に病原体を取り扱う際の研究室バイオセーフティは高度に担保されているようである。両研究室は共に二重扉構造となっており、またCNU（チュンナン大学）では、動物性病原体を取扱う際には、二重手袋を使用している。

表 2: 両研究室の研究室バイオセーフティー(両研究室共に BSL2)

A. The labs have the following biosafety features.		
	Utrecht	CNU
Physical isolation of laboratory	■ Yes	■ Yes
Double-door entry	■ Yes	■ Yes
Fire protection system	■ Yes	
Hand washing sink near lab exit	■ Yes	■ Yes
Anteroom		
Anteroom with shower		
Ability to monitor people		
• Window	■ Yes	■ Yes
• Close-circuit television		
B. The labs use or perform the following biosafety measures		
	Utrecht	CNU
Decontaminating waste before disposal	■ Yes	■ Yes
Segregating waste	■ Yes	■ Yes
Use of Biological Safety Cabinet for work with infectious materials	■ Yes	■ Yes
Gloves	■ Yes	■ Yes
Double gloves when handling infectious material		■ Yes
Closed toes shoes		■ Yes
Lab coats, lab gowns	■ Yes	■ Yes
Respirator		

(3) 研究室バイオセキュリティに関する情報収集とアンケート

各研究室の研究室バイオセキュリティに関する情報収集とアンケート結果を表 3 に示す。両研究室共に病原体を取り扱う際の研究室バイオセーフティーに関しても高度に担保されているようである。両大学共に施設入口は ID システムによって管理されており、施設及び研究室は必要に応じてロックされる。ただし、両研究室は共に BSL2 レベルの病原体に関しては、病原体を保存する冷蔵庫に通常は鍵をかけていない。パーソナルセキュリティとしては、両施設とも、管理区域へアクセスできる者が限られており、ユトレヒト大学では、所属学生

でも、ある程度のキャリアがない限りは、アクセスキーが発行されない。

表 3: 両研究室の研究室バイオセキュリティ

C. The labs use or perform the following physical security measures.		
	Utrecht	CNU
Electric access control devices	■ Yes	■ Yes
Guard at building entrance(s)	■ Yes	
Intrusion sensor and alarms		■ Yes
Locked cabinets		■ Yes
Locked doors to building	■ Yes	■ Yes
Locked doors to laboratory room	■ Yes	■ Yes
Locked refrigerators		
Security patrol		■ Yes
Self-closing door		
Video monitors		
D. The labs use or perform the following personal security measures.		
	Utrecht	CNU
Back ground screening for potential employees	■ Yes	
Biosecurity training for new employees	■ Yes	■ Yes
Building escorts for non-employees		
List of employees who have access to restricted areas	■ Yes	■ Yes
Identification badges		■ Yes
Records of Keycard		■ Yes
Restricted access to laboratory areas	■ Yes	■ Yes
E. The labs use or perform the following information security measures.		
	Utrecht	CNU
Computer/network security maintained	■ Yes	■ Yes
Computer is password protected	■ Yes	■ Yes

(4) 病原体管理に関する情報収集とアンケート

病原体管理を行うには、病原体の基礎情報（病原体名称・BSL・採取日・採取者）及び、保存場所・保存日・数量などの情報を適切に記録する必要がある。また、これらの病原体がどのように使用されたか、また、どこに移動または廃棄されたかを記録する

ことが必要である。表 4 は、各研究室の病原体管理記録に記載される情報を示した。情報収集上のトラブルのため、ユトレヒト大学の輸送記録に関する情報が欠如しており、また、取扱い病原体の全てを同様に管理しているのか、特定の病原体のみに適応しているのか不明な点があり、現在さらに情報収集を継続している。一部情報が利用できないものの、全体的には両研究室共に、必要最低限の情報を記録しているようである。

病原体の輸送に関しては、ユトレヒト大学においては、病原体の輸出入の際には国内の法律によって規制されており、法に従

って輸送が行われている。CNU では輸出入及び国内輸送の際には、国の規制に従って輸送される。

各研究室は、表 4 の記録以外にも、各研究室が取扱う病原体の目録 (Inventory) があり、定期的に照合を行っている。CNU では、使用しなくなった病原体に関しては定期的に廃棄を行っているようだ。

それぞれの記録は、ユトレヒト大学では、記録用紙に記録され、一部はコンピュータに情報が入力されている。CNU では主にコンピュータによってこれらの記録が管理されている。

表 4: 両研究室の病原体管理記録

F. Records of pathogens								
	Information of each tube's label		Storage		Transfer		Destroying	
	Utrecht	CNU	Utrecht	CNU	Utrecht	CNU	Utrecht	CNU
Pathogen name	■ Yes	■ Yes	■ Yes	■ Yes	Unknown	■ Yes		■ Yes
BSL of pathogen					Unknown	■ Yes		■ Yes
Collection/isolation date	■ Yes	■ Yes			Unknown			
Amount			■ Yes	■ Yes	Unknown	■ Yes		■ Yes
Handling Date	■ Yes	■ Yes	■ Yes	■ Yes	Unknown	■ Yes		■ Yes
Person who handles pathogens	■ Yes		■ Yes	■ Yes	Unknown	■ Yes		■ Yes

D. 考察

家畜に疾病を引き起こす病原体は、世界各国で、様々な種類が蔓延しており、特に、わが国の周辺国である中国・韓国・東南アジアの国々では、現在も口蹄疫、高病原性鳥インフルエンザ、豚コレラなどが発生している。これらの病原体が国内に持ち込まれないように、水際の防御が必須であるが、これらの病原体を取扱う施設は病原体が漏れ出さないよう、また悪意ある目的で使用されないように、病原体を適切に管理・保

管する事が重要である。

本研究では、OIE リスト疾病[A]及び[B]を引き起こす病原体を取扱う、オーストリア及び韓国の獣医大学の各研究室における研究室バイオセーフティー・バイオセキュリティ及び病原体の保管・管理記録に関する包括的な調査を行った。この結果、各研究室ともにハード面及びソフト面の両方において国際的にみても高い水準にあると言えよう。

しかしながら、研究者に『非公式な』情

報収集を行うと、異なる側面も見えてくる。研究者によると「BSL2の病原体は共有のデータベースを見れば、ウイルスがどこにあるか誰でも調べる事ができるが、データベース通りに保管されてない事もしばしばある。」らしい。このため「病原体の目録 (Inventory) の定期的な照会時には、数量があわないため、しばしば『つじつま』合わせをする」事もあるそうだ。これらの事は、国内の研究室でも記載ミスや記入漏れが原因で、しばしばみられる光景といえよう。

また、「ポケットに病原体のチューブを入れて持ち出すことは可能か」の質問に対しても「可能である」との回答であった。これも、病原体を取扱う国内の研究者の殆どは同様の回答をするであろう。さらに、動物ウイルスには、ヒトに症状を引き起こさないものも数多くあるため、取扱いに慣れた研究者ほど、その取扱いに慎重さを欠く可能性があり、人為的なミスによる「悪意のない」病原体の拡散の危険性も考えられる。

この様に、各研究室ともにハード及びソフト面において高い水準にあるにもかかわらず上記に挙げたような「穴」が、依然、存在しており、これらの問題点は、現状の管理システムの限界を顕著に示すものである。

我々が開発した病原体一括管理システム (ICBS システム) は、病原体の保管・輸送・廃棄をサンプルチューブ 1 本単位で管理することが可能であり、また、個人の意思または人為的なミスによる、病原体の持ち出しを完全にブロックすることのできる新しいシステムである。従って、このシステム

を導入すれば、上記の問題点を全て解決することが可能となる。

OIE リスト[A]疾病を引き起こす病原体は、ひとたび蔓延すると、国境を越えて流行し、社会的・経済的及び公衆衛生上、大きな混乱を引き起こす。このため、国内だけでなく国外においても ICBS システムを導入することが可能になれば、世界的な公衆衛生に広く貢献できるであろう。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. [Ujike M](#), Huang C, Shirato K, Matsuyama S, Makino S, Taguchi F. (2012) Two palmitylated cysteine residues of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein are critical for S-incorporation into virus-like particles, but not for M-S co-localization. *J Gen Virol.* (in press)
2. Shirato K, [Ujike M](#), Kawase M, Matsuyama S. (2012) Increased replication of respiratory syncytial virus in the presence of cytokeratin 8 and 18. *J Med Virol.* 84(2):365-70
3. Shirato K, Maejima M, Matsuyama S, [Ujike M](#), Miyazaki A, Takeyama N, et al. (2011) Mutation in the cytoplasmic retrieval signal of porcine epidemic diarrhea virus spike (S) protein is responsible for enhanced fusion activity.

Virus Res. 161(2):188-93.

4. Shirato K, Matsuyama S, Ujike M, Taguchi F. (2011) Role of proteases in the release of porcine epidemic diarrhea virus from infected cells. *J Virol.* 85(15):7872-80.

5. Sriwilaijaroen N, Kadowaki A, Onishi Y, Gato N, Ujike M, Odagiri T, et al. (2011) Mumefural and related HMF derivatives from Japanese apricot fruit juice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic influenza A (H1N1) virus *Food Chem* 127:1-9

6. Nakauchi M, Ujike M, Obuchi M, Takashita E, Takayama I, Ejima M, et al. (2011) Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -susceptible 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay. *J Med Virol.* 83(7):1121-7.

7. Ujike M, Ejima M, Anraku A, Shimabukuro K, Obuchi M, Kishida N, et al. Monitoring and characterization of oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, Japan, 2009-2010. *Emerg Infect Dis.* 17(3):470-9.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

9. 国際細菌内毒素および自然免疫会議で知見したヨーロッパ各国での 病原体管理事情

研究協力者：山本 明彦 国立感染症研究所 細菌第二部 主任研究官

研究要旨 カナダ・バンクーバー市において、2010年10月7日から10月9日の期間に開催された2010年国際細菌内毒素および自然免疫会議（Annual Meeting of The Society for Leukocyte Biology & The International Endotoxin and Innate Immunity Society）に出席した。同学会では、参加した主にヨーロッパの研究者を通して、Biosafety と Biosecurity に関する European Biosafety Association (EBSA) なる組織の存在を知り、意見交換を行った。EBSA は WHO をはじめとして世界各地の機関との連携を図って International Biosafety and Biosecurity Laboratory Standard Development Initiative を組織している。EBSA の活動内容を知り、日本においても病原体管理の重要性を認識し、特に Biosecurity への対応が早急に望まれることが明らかとなった。この Biosecurity を担保可能な当研究の進めている病原体管理の一括システムの必要性が明らかとなった。

A, B. 研究目的及び研究方法

カナダ・バンクーバー市において、2010年10月7日から10月9日の期間に開催された2010年国際細菌内毒素および自然免疫会議（Annual Meeting of The Society for Leukocyte Biology & The International Endotoxin and Innate Immunity Society）に出席した。ヨーロッパや北アメリカの国からの参加者が大半を占めた同学会では、参加した主にヨーロッパの研究者を通して、Biosafety と Biosecurity に関する European Biosafety Association (EBSA) なる組織の存在を知った。そこで、この EBSA なる組織の概要と当研究班で検証しているの病原体管理システムの意義を記述する。

C, D. EBSA の役割と活動研究結果・考察
1996年に Biosafety と関連する問題を議論する場として設立された非政府非営利団体である。その構成員はヨー

ロッパ各国の国立研究機関で Biosafety や Biosecurity を担う立場の人や WHO 活動を行う人など広い範囲の専門家である。現在ヨーロッパ地域 25カ国の中から 374 人のメンバーとヨーロッパ以外の 7カ国から 19 人の参加がある。EBSA は実験室内の Biolisk 管理に関する履行文書について The European Committee for Standardization (CEN) からの委託を受ける。

EBSA はヨーロッパ地域における Biosafety と Biosecurity に関する知識と理解を進める使命を持ち、域内の病原体管理や移送に関する実施上の法律原案の策定も担っている。その活動は主に、1) Information and Communication Working Group、2) Conference Program Working Group、3) Education and Training Working Group および 4) Transport Task Group の 4 つのグループに分かれて行われている。毎年各地で

総会を開き新知見とその啓蒙を行っている。

さらに、EBSA はヨーロッパ地域に限らず WHO をはじめとして世界各地の機関との連携を図って International Biosafety and Biosecurity Laboratory Standard Development Initiative を組織している。

翻って、今回 EBSA の活動内容を知る機会を得て、当研究班で検証している病原体管理システムの意義を考察する。現在の世界の交通の発達を考慮すると、欧州や米国での出来事は、数時間後には日本に影響を及ぼす状態である。ある国で Bioterror が発生した場合、その情報を世界各地の機関との連携を図って得て速やかに対処する必要がある。このような状況から、日本においても病原体管理が重要であり、欧州や米国との国際協調が特に必要である。特に Biosecurity への対応が早急に望まれることが明らかとなった。当研究班の進めている病原体等の登録、保管、輸送、廃棄に関する一括システムは、この Biosecurity を担保可能な要件を満たしていると考えられ、今後日本国内の多くの機関で使用されてゆく必要性が明らかとなった。

F. 健康危険情報
特記すべきことなし。

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)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

10. 第7回ボツリヌス及び破傷風毒素の基礎と治療に関する国際会議および
第48回米国ボツリヌス菌学会年次総会で知見した
病原体管理事情と病原体管理システムの必要性

研究協力者：山本 明彦 国立感染症研究所 細菌第二部 主任研究官

研究要旨 米国サンタフェ市において、2011年10月2日から10月7日の期間に開催された第7回ボツリヌス及び破傷風毒素の基礎と治療に関する国際会議および第48回米国ボツリヌス菌学会年次総会（7th International conference on basic and therapeutic aspects of Botulinum and Tetanus toxins、48th Interagency botulism research coordinating committee）に出席した。同学会では、参加した主に米国の研究者を通して、米国でのボツリヌス菌およびボツリヌス毒素の所持・保管は大変厳しく管理されていた。この Biosecurity を担保可能でしかも容易に扱うことのできる特徴を持つ当研究の病原体管理の一括システムの必要性が明らかとなった。

A, B. 研究目的及び研究方法

米国 Santa Fe において開催された、The 7th Triennial Basic and Therapeutic Aspects of Botulinum and Tetanus Toxins 及び 48th Interagency botulism research coordinating committee に参加し、同会議において、当課題の研究テーマであるわが国の破傷風菌の新たな疫学分類法の提案と、現況に向けた取り組みについて、その進捗状況の発表及び当該菌などの取り扱いに際するバイオセーフティ（安全取り扱い）ならびにバイオセキュリティ（病原体管理）に関する情報収集を行った。

本会議は、世界各国より、細菌研究者が一堂に会し、神経毒の基礎生物学の最新の知見等について発表、討論、情報交換を行うことを目的として開催された。会議中、ワクチン、抗毒素、分子疫学を含むボツリヌス菌、毒素全般にわたる基礎から臨床応用までの幅広い議論が集中的に討議された。

当分担は、本研究班においてボツリヌス菌の登録・保管・輸送・廃棄に関する管理システムの検証を担当しているが、米国での管理システムの現状を調査する上で、米国内外のボツリヌス研究者が集う当会議は、短期間に多くの情報を収集できる格好の場であり、大変目的にかなったものであった。

C, D. 研究結果及び考察

米国でのボツリヌス菌およびボツリヌス毒素の管理の現状

米国での、CDC、カリフォルニア州立公衆衛生研究所、ロスアラモス国立研究所、診断薬企業及びカリフォルニア大学の研究者にボツリヌス菌およびボツリヌス毒素の管理の現状について問い合わせた。毒素の神経作用を研究しているカリフォルニア大学の研究者は、規制レベル以下のボツリヌス毒素のみを扱っているため、その管理は一般化学物質と同様であった。

しかし、CDCをはじめとしてボツリヌス菌と毒素を扱う研究所では、大変厳しい管理を行っていた。CDCでの例を示すと、1) ボツリヌス菌およびボツリヌス毒素は、取り扱いのための専用区域で、立ち入りの許可を得たヒトのみが入室できる所に保管されている。2) さらにカギのかかる冷凍庫に保管されている。この鍵は個人のIDカードと指紋認証キーとで解錠できる。3) ボツリヌスを扱う人は、BiosafetyやBiosecurityを担う部門の主催する講義と実習を含めた講習を受けて初めて許可が下りる。4) 保管内容に関しては、1,2カ月ごとにBiosafetyやBiosecurityを担う部門によるチェックを受けている。5) 菌や毒素の輸送に関しては、毒素は0.5mg以下の量のみ運搬が可能であるが、IATAのルールにのっとり相手先の研究所、FBI、地元の警察に許可を取るための大量の書類の提出が必要である。

このような米国でのボツリヌス菌およびボツリヌス毒素の管理の現状を知る機会を得て、当研究班で検証している病原体管理システムの意義を考察する。米国のボツリヌス菌およびボツリヌス毒素の管理体制は、本邦で行われている体制と比較すると、指紋認証による個人識別は行われていないものの、ほぼ同様の管理体制が敷かれている。しかし、それぞれの専門部門に多くの人を配した組織を持つ米国に比べて、本邦では少人数で同様の管理をなさなければならない現状がある。当研究班の進めている病原体管理システムは、その特徴として、個々の病原体バイアルの二次元バーコードによる識別、その保管状況を特定の許可された管理者が扱うコンピュータ

ープログラムにより、登録、保管、輸送、廃棄等と層別して管理していて、その扱いがたいへん容易である。このような一括管理システムは、米国に比べて少人数で同様の管理をなさなければならない現状を考慮すると大変有用であり、今後日本国内の多くの機関で使用されてゆく必要性が明らかとなった。

(倫理面への配慮)

特記すべきものなし

E. 結論

国際学会に参加した研究者の情報から、米国でのボツリヌス菌およびボツリヌス毒素の所持・保管は大変厳しく管理されていた。当研究班で進める病原体管理のシステム導入の必要性を感じた。

F. 健康危険情報

特記すべきものなし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 大橋一孝、河合裕美、渡邊美菜子、山本詩子、岡崎恵美、高野由喜子、早川希威、佐藤敏夫、大花昇、山本夏男、今福裕司、塚田泰彦、須釜久美子、小黒祐子、山本明彦、高橋元秀、金光敬二、日本臨床微生物学雑誌、21, 35-39, 2011.
- 2) Toru Hifumi, Akihiko Yamamoto, Kazunori Morokuma, Tomoko Ogasawara, Nobuaki Kiriu, Ei ju Hasegawa, Junichi Inoue, Hiroshi Kato, Yuichi Koido, and Motohide Takahashi,

Surveillance of the Clinical Use of Mamushi (*Gloydius blomhoffii*) Antivenom in Tertiary Care Centers in Japan. Vol. 64 No. 5, P. 373-376, 2011

- 3) Chihiro Katsukawa, Takako Komiya, Hiroaki Yamagishi, Atsushi Ishii, Shunji Nishino, Shinya Nagahama, Masaaki Iwaki, Akihiko Yamamoto, Motohide Takahashi : Prevalence of *Corynebacterium ulcerans* among dogs in Osaka, Japan. J. Medical Microbiology. Vol. 61, 266-273, 2012.
- 4) 中野朋美、中村進一、山本明彦、高橋元秀、宇根有美：飼育下ニホンザル (*Macaca Fuscata*) 群における破傷風の集団発生、獣医畜産新報、64 (10)、809-811、2011.
- 5) Michiyo Kataoka, Masaki Ochiai, Akihiko Yamamoto and Yoshinobu Horiuchi : A need for careful evaluation of endotoxin contents in acellular pertussis-based combination vaccines. Biologicals. Vol. 10(1), 49-54, 2012.

2. 学会発表

- 1) 三井一賢、伏見拓矢、吉澤定子、細野なつ絵、舘田一博、山本明彦、小原明、舘野昭彦、関根孝司、山口恵三、佐地勉：明らかな外傷歴がなく診断に苦慮した破傷風の幼児例、第85回日本感染症学会総会、東京、2011年4月
- 2) Yamamoto A, Kenri T, Iwaki M, Komiya T, Takahashi M and Shibayama K: *Clostridium tetani* clones

identified by multilocus variable-number tandem-repeat analysis, 7th International conference on basic and therapeutic aspects of Botulinum and Tetanus toxins, Santa fe, NM, Oct. 2011.

- 3) 一二三亭, 山本明彦, 金村剛宗, 長谷川栄寿、加藤宏、井上潤一、小井土雄一、高橋元秀、まむし咬傷の臨床像と治療薬の有効性に関する調査報告 日本救急医学会 2011, 10, 18 東京
- 4) 水野泰孝、竹下 望、金川修造、高崎智彦、山本明彦、小宮貴子、高橋元秀：海外渡航者における年齢別に見た破傷風及び日本脳炎ワクチン追加接種の効果、第15回日本ワクチン学会学術集会、東京、2011年12月

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

11. 炭疽菌の管理システムの有用性調査（平成 21 年度）

研究分担者：奥谷 晶子 国立感染症研究所 獣医科学部 研究官

研究協力者：井上 智 国立感染症研究所 獣医科学部 室長

研究要旨 平成 22 年 2 月 4 日から 5 日に群馬県前橋市で開催された、「平成 21 年度 地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会」の総会および研究会に出席して参加自治体の地方衛生研究所（地研）の細菌担当者と地研に於ける特定病原体を含む細菌菌株の保管およびその管理システムについて情報収集と交換を行った。今回、感染症法で二種病原体等に指定されて法に基づく厳重な保管管理が求められている炭疽菌について実際に保管・管理および取り扱いを行っている国立感染症研究所で実質的な知見を集積して炭疽菌の管理システム等を構築することは、危機管理の視点から自治体（地研）での検査等で炭疽菌が陽性となった場合に感染症法に基づいた分離菌株の届け出、保管、輸送、廃棄を迅速かつ適切、確実に行われるために大変重要でありかつ強く望まれている研究であると考えられた。

A. 研究目的

炭疽は炭疽菌を原因とする人および動物に重篤な疾病をもたらす人獣共通感染症である。我が国では、人で平成 6 年（1994）、動物で平成 12 年（2000）を最後に国内での炭疽発生は見られない。しかしながら、炭疽菌の取り扱い等についてはバイオセキュリティ上の観点から、世界的にもバイオリスク管理が強く求められている。我が国では感染症法により二種病原体等に指定されており、法に基づく厳重な保管管理が必要とされている。

本研究は、「平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金：病原体等の登録、保管、輸送、廃棄に関する一括管理システムの開発と検証」において開発を進めている「情報収集端末、管理ソフト、サーバーシステム等」を我が国の炭疽菌管理システムの確立に応用・活用することが可能であることを検証することが目的である。

B. 研究方法

平成 22 年 2 月 4 日から 5 日に群馬県前橋市で開催された、「平成 21 年度 地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会」の総会および研究会に出席して、参加自治体の地方衛生研究所（地研）の細菌担当者と地研に於ける特定病原体を含む細菌菌株の保管およびその管理システムについて情報収集と交換を行うこととした。

（倫理面への配慮）

特に必要はない。

C. 結果

今回、我が国でバイオテロ関連を含む炭疽事例が発生した場合に対応が必要となる地研の担当者と各自治体における炭疽菌の取り扱いの現状と保管状況、管理システムについて情報交換を行った。

我が国における家畜およびヒトでの炭疽

の発生は極めてまれとなったが、平成 13 年（2001）に米国で起きた 9.11 テロ事件以降、これに触発された「白い粉事件」のようなテロ疑い事例が頻発して炭疽菌の検査がしばしば求められている。

現時点まで、公衆衛生領域で炭疽菌が検出されてテロが特定された事例の報告は無い。しかしながら、危機管理の視点から自治体（地研）で炭疽菌が陽性となった場合に感染症法に基づいた分離菌株の届け出、保管、輸送、廃棄が迅速かつ適切、確実に行われるためには普段取り扱わない特定病原体の間違いのない確実・正確な管理システムが望まれる。

しかしながら、感染症法で二種病原体等に指定されて法に基づく厳重な保管管理が求められている炭疽菌を、実際に保管・管理および取り扱いを行っている施設等は限られており、炭疽菌の管理システム等を構築するためには二種病原体等である炭疽菌の所持について厚生労働大臣の許可を受けている国立感染症研究所において実際的な知見を集積することは重要であり強く望まれていると考えられた。

D. 考察

現在までのところ、我が国では平成 13 年（2001）以降に公衆衛生領域で炭疽菌が検出されてテロが特定された事例の報告は無いが、危機管理の視点から自治体（地研）で炭疽菌が陽性となった場合に感染症法に基づいた分離菌株の届け出、保管、輸送、廃棄が迅速かつ適切、確実に行われるための事前対応は必要と考えられる。

自治体の地研担当者が病原微生物の取り扱いに熟練しているとはいえ、万が一の場

合には組織的な管理が求められかつ、普段取り扱わない特定病原体を正しく、正確かつ迅速に取り扱う必要に迫られる。したがって、確実・正確な病原体の管理システムは通常の微生物管理システムと併存して準備・維持されることが望まれると考えられた。

特に、感染症法で二種病原体等に指定されて法に基づく厳重な保管管理が求められている炭疽菌については、実際に保管・管理および取り扱いを行っている国立感染症研究所において実際的な知見を集積して、炭疽菌の管理システム等を構築することは重要でありかつ強く望まれていると考えられた。

E. 結論

現時点まで、公衆衛生領域で炭疽菌が検出されてテロが特定された事例の報告は無い。しかしながら、危機管理の視点から自治体（地研）で炭疽菌が陽性となった場合に感染症法に基づいた分離菌株の届け出、保管、輸送、廃棄が迅速かつ適切、確実に行われるためには普段取り扱わない特定病原体の間違いのない確実・正確な管理システムが望まれる。

しかしながら、感染症法で二種病原体等に指定されて法に基づく厳重な保管管理が求められている炭疽菌を、実際に保管・管理および取り扱いを行っている施設等は限られており、炭疽菌の管理システム等を構築するためには二種病原体等である炭疽菌の所持について厚生労働大臣の許可を受けている国立感染症研究所において実際的な知見を集積することは重要であり強く望まれていると考えられた。

D. 考察

現在までのところ、我が国では平成 13 年（2001）以降に公衆衛生領域で炭疽菌が検出されてテロが特定された事例の報告は無いが、危機管理の視点から自治体（地研）で炭疽菌が陽性となった場合に感染症法に基づいた分離菌株の届け出、保管、輸送、廃棄が迅速かつ適切、確実に行われるための事前対応は必要と考えられる。

特に、感染症法で二種病原体等に指定されて法に基づく厳重な保管管理が求められている炭疽菌については、実際に保管・管理および取り扱いを行っている国立感染症研究所において実地的な知見を集積して、炭疽菌の管理システム等を構築することは重要でありかつ強く望まれていると考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Akiko Okutani, Tsuyoshi Sekizuka, Bazartseren Boldbaatar, Akio Yamada, Makoto Kuroda, Satoshi Inoue.
Phylogenetic typing of *Bacillus anthracis* isolated in Japan by multiple locus variable-number tandem repeats and the comprehensive single nucleotide polymorphism.
Journal of Veterinary Medical Science
72(1) 93-97, Jan. 2010
2. Ben Hatano, Takayuki Maki, Takeyuki Obara, Hitomi Fukumoto, Kohsuke

Hagisawa, Yoshitaro Matsushita, Akiko Okutani, Boldbaatar Bazartseren, Satoshi Inoue, Tetsutaro Sata, Harutaka Katano.
LAMP using a disposable pocket warmer for anthrax detection, a highly mobile and reliable method for anti-bioterrorism.

Japanese Journal of Infectious Disease
63:36-40, Jan. 2010

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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
なし

12. 炭疽菌の管理システムの有用性調査（平成 22 年度）

研究分担者：奥谷 晶子 国立感染症研究所 主任研究官

研究協力者：井上 智 国立感染症研究所 室長

研究要旨 炭疽菌の保管・管理にシステムが有効に機能するかについて、類縁菌の検体管理にシステムを用いたところ、容易な情報入力・管理が可能となることが明らかとなった。

A. 研究目的

炭疽は人および動物で重篤な疾病をもたらす人獣共通感染症である。病原体である炭疽菌は、感染症法では二種に分類される特定病原体であり、法に基づく厳重な保管管理が必要とされる。特定病原体としての管理運用に必要なシステム整備を行うとともに、環境中からの類縁菌の分離方法の最適化を行うことが目的である。

B. 研究方法

平成 22 年 5 月 24 日から 26 日に鹿児島県鹿児島市で開催された衛生微生物技術協議会第 31 回研究会と、平成 23 年 2 月 17 日から 18 日に栃木県宇都宮市で開催された平成 22 年度 地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会の総会および研究会に出席し、参加者である地研の細菌検査担当者に地研に於ける特定病原体を含む細菌菌株の保管および管理方法の調査協力および土壌等の環境検体の収集の協力をお願いした。
(倫理面への配慮)

C. 結果

沖縄県、徳島県の衛研担当者より収集していただいた土壌を送付していただき炭疽菌類縁菌との鑑別分離培養を行っている。

その際に得られたサンプルチューブに関して管理システムを導入を行い検体管理を行っている。

D. 考察

検体管理に必要な情報を一覧できるサンプル入力フォームを作成することで検体管理が容易となった。

E. 結論

炭疽菌の検体管理を模擬的に行うために類縁菌の検体管理にシステムを導入を行い容易な情報入力が可能となることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. Serizawa M, Sekizuka T, Okutani A, Banno S, Sata T, Inoue S, Kuroda M.
Genomewide screening for novel genetic variations associated with ciprofloxacin resistance in *Bacillus anthracis*.
Antimicrob Agents Chemother. 2010
54(7):2787-92.
2. Kuroda M, Serizawa M, Okutani A,

Sekizuka T, Banno S, Inoue S.
Genome-wide SNP-typing method for
species-strain identification of *Bacillus
anthracis* among *B. cereus* group species.
Journal of Clinical Microbiology 2010
48(8):2821-2829
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

13. 炭疽菌の管理システムの有用性調査（平成 23 年度）

研究分担者：奥谷 晶子 国立感染症研究所 主任研究官

研究協力者：井上 智 国立感染症研究所 室長

研究要旨 炭疽菌は、病原体等のリスク群分類を基準にしてバイオセーフティレベル 3（BSL3）に分類される病原体であり、これに対応する実験手技と安全機器及び実験室の設備を適用して病原体取扱者と関連者の安全が確保されている。しかしながら、米国における 2001 年 9 月の同時多発テロ、同年 10 月の炭疽菌混入郵便物による死亡者を含む健康被害等を契機に、生物テロを含めたテロ防止対策が、国際的に行われて、わが国でも感染症法の改正によって 2007（平成 19）年 6 月 1 日から、病原体等の管理体制の確立に必要な規定が新たに加わり、病原体等の所持、輸入、運搬その他の取り扱いについて、法令で定めるところとなった。これ以降、炭疽菌は二種病原体等に分類され、バイオセキュリティレベルの高い病原体管理（保管菌株数、保管リスト等の厳重な管理）が法律上求められている。

今年度、セキュリティレベルの高い病原体管理を容易にするため、法律に基づいて BSL3 管理区域内に保管されている炭疽菌株のより簡易な登録・保管および閲覧を可能にするソフトウェアの開発において、特定病原体の専門家として助言とシステムの試行による開発支援を行った。具体的には、実験室内でシミュレーションを繰り返して、二重グローブ、マスク、ガウンなどの PPE を装着して行う BSL3 施設内で業務の負荷となる入力機器の画面等操作をより簡略化し、安全性を損なわずに病原体管理のセキュリティレベルを維持できるコマンド等の割り付けや配置、手順等を、特定病原体取扱者の着想からシステム開発者と共同して行った。この改良によって、当該病原体の登録と長期保管に特化したデータベース運用が、作業者の精神的・肉体的負荷を軽減し、かつ、高いセキュリティレベルを維持したまま行えるようになった。また、昨年度に引き続き、土壌検体から分離された炭疽菌の近縁菌種である *Bacillus cereus* group 菌種群菌株の登録・管理を行い、保管菌株が増加する登録・保管作業の効率も高めることができた。さらに、炭疽発生国であるモンゴルにおける菌株管理の現状と課題を視察して、わが国において、バイオテロを含めた炭疽発生時に想定される現場での安全かつ高度に管理された分離炭疽菌株の簡便かつ一元的な登録・保管システムを確立するためには、当該諸国との共同研究体制を敷いて、発生国の実際的な経験と知見に基づく開発を行う必要があることが明らかとなった。

A. 研究目的

炭疽は人および動物で重篤な疾病をもたらす人獣共通感染症であり、病原体である炭疽菌は、感染症法では二種に分類される特定病原体である。そのため、感染症法に基づく厳重な保管管理が必要であり、特定病原体としての管理運用に必要なシステム整備が求められている。

国内では炭疽の発生はこの十数年みられないため、登録および保管菌株の変動はない。しかしながら、上記のように法律上厳重な管理が求められていることから現在当部で保管されている菌株を簡便な方法で登録し、必要に応じた管理記録簿の作成が必要である。本年度は登録の簡略化と保管管理リストの作成をより簡便に行うことができるソフトウェア操作画面の改良を依頼した。

また、昨年度から行っている環境中から分離される炭疽菌の近縁菌種の菌株の保管と登録の最適化も求められる。

さらに、炭疽が毎年発生しているモンゴルでの菌株管理法の視察も行い、より実用的な運用を行うための共同研究体制の強化を図った。

B. 研究方法

1. ソフトウェア操作画面の改良

炭疽菌の場合、新たな発生がない限り、菌株の登録作業は行われない。しかしながら、特定病原体である炭疽菌の登録・保管状況を報告するために、

- 既に BSL3 の保管用 -80°C の冷凍庫に保管されている菌株の登録・保管状況を一覧できること
- 試験研究用に一時的に利用した菌株が

きちんと保管し直されていること、

- その使用状況が記録されていることを毎年報告する必要がある。これまでに使用していた登録・保管のためのソフトウェアは、日々増加する病原体をいかに効率良く登録していくかに主眼がおかれた操作画面であったため、上記のような炭疽菌の事情にそぐわない面があった。そのため、本年度は

- 登録作業の簡便化
- 試験研究用のための一時的利用の記録に適した操作が可能となるように操作画面の改良を依頼した。

2. 環境から分離された菌株の登録・保管

昨年度に引き続き、日本全国各地で採取した土壌から芽胞形成細菌の分離同定を行った。

培養前の冷蔵処理に引き続き、選択培地と生化学性状検出培地を組み合わせることで効率良く炭疽菌の近縁菌種群を分離することが可能となった。一つの地域につき、6菌株を目安に菌株データベースを作成しており、それに伴う菌株の登録・保管作業に上記の改良版システムを利用した。

3. 発生国での菌株管理法の視察

毎年ヒトおよび家畜で炭疽が発生しているモンゴル国において、人獣共通感染症を含む感染症対策に関する国際会議が開催され、シンポジストとして参加した。モンゴル国内で分離される炭疽菌を取り扱うモンゴル国立機関である National Center for Infectious Diseases with Natural Foci (NCIDNF) での炭疽菌の保管方法および

実験施設の視察を行い、菌株の登録及び保管方法に関する問題点の検討を行った。

C. 研究結果

1. 操作画面の改良について

炭疽菌株の登録を行う際に必要な、登録用ボタン（一次容器と二次容器）のみを初期画面に配置することで、操作上迷うことなく簡便に登録作業を行えるようになった。また一次容器に貼付するラベル印刷も一つのボタンで簡単に行えるようになったため、作業効率が向上した。

2. 環境から分離された菌株の登録・保管

土壌検体から分離された炭疽菌の近縁菌種である *Bacillus cereus* group 菌種群の菌株管理に、上記の改良ソフトウェアを用いた。登録および保管する菌株が増えていく場合にも効率良く登録作業が行えるようになり、保管菌株リストの作成が容易となった。

3. 発生国での菌株管理方法の視察

モンゴルの炭疽菌・研究機関である NCIDNF のある首都ウランバートル市内では石炭による火力発電による電力供給が行われている。電力供給は安定しないこともあり、停電を見越した保管用冷凍庫や試験研究用機器の電源管理のための設備投資が喫緊の課題である。モンゴルでは炭疽菌株は毎年分離されていることから、一元的な菌株登録・保管システムの必要性はあるものの、現状では菌株の登録および保管システムは基本的に書類ベースで行われていることが明らかとなった。

D. 考察

炭疽菌は、病原体等のリスク群分類を基準にしてバイオセーフティレベル 3 (BSL3) に分類される病原体であり、これに対応する実験手技と安全機器及び実験室の設備を適用して病原体取扱者と関連者の安全が確保されている。しかしながら、米国における 2001 年 9 月の同時多発テロ、同年 10 月の炭疽菌混入郵便物による死亡者を含む健康被害等を契機に、生物テロを含めたテロ防止対策が、国際的に行われて、わが国でも感染症法の改正によって 2007 (平成 19) 年 6 月 1 日から、病原体等の管理体制の確立に必要な規定が新たに加わり、病原体等の所持、輸入、運搬その他の取り扱いについて、法令で定めるところとなった。これ以降、炭疽菌は二種病原体等に分類され、バイオセキュリティレベルの高い病原体管理（保管菌株数、保管リスト等の厳重な管理）が法律上求められている。

今年度、セキュリティレベルの高い病原体管理を容易にするため、法律に基づいて BSL3 管理区域内に保管されている炭疽菌株のより簡易な登録・保管および閲覧を可能にするソフトウェアの開発において、特定病原体の専門家として助言とシステムの試行による開発支援を行った。具体的には、実験室内でシミュレーションを繰り返して、二重グローブ、マスク、ガウンなどの PPE を装着して行う BSL3 施設内で業務の負荷となる入力機器の画面等操作をより簡略化し、安全性を損なわずに病原体管理のセキュリティレベルを維持できるコマンド等の割り付けや配置、手順等を、特定病原体取扱者の着想からシステム開発者と共同して行った。この改良によって、当該病原体の

登録と長期保管に特化したデータベース運用が、作業者の精神的・肉体的負荷を軽減し、かつ、高いセキュリティレベルを維持したまま行えるようになった。また、昨年度に引き続き、土壌検体から分離された炭疽菌の近縁菌種である *Bacillus cereus* group 菌種群菌株の登録・管理を行い、保管菌株が増加する登録・保管作業の効率も高めることができた。さらに、炭疽発生国であるモンゴルにおける菌株管理の現状と課題を視察して、わが国において、バイオテロを含めた炭疽発生時に想定される現場での安全かつ高度に管理された分離炭疽菌株の簡便かつ一元的な登録・保管システムを確立するためには、当該諸国との共同研究体制を敷いて、発生国の実際的な経験と知見に基づく開発を行う必要があることが明らかとなった。

E. 結論

日本における炭疽菌株の登録・保管システムについて実用性を伴ったソフトウェアの運用が可能となった。土壌から分離された炭疽菌の近縁菌種の登録・保管作業においても作業効率は向上した。今後も長期的な登録作業に用いて改良点があれば対応していきたい。

また、炭疽発生国であるモンゴルでは、現状では菌株の安定した保管のためのインフラ整備の優先順位が高い。一元的な菌株登録・管理システムの必要性はあるので、今後の検討課題として引き続き長期的な共同研究体制を構築していく必要があると考える。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

A Okutani, H Tungalag, B Boldbaatar, A Yamada, D Tserennorov, I Otgonchimeg, A Erdenebat, D Otgonbaatar, and S Inoue. Molecular Epidemiological Study of *Bacillus anthracis* Isolated in Mongolia by Multiple-Locus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis for 8 Loci (MLVA-8) Japanese Journal of Infectious Diseases 2011;4:345-348.

2. 学会発表

A. Okutani, T. Sekizuka, B. Bazarsuren, M. Kuroda, S. Inoue. Phylogenetic typing of *Bacillus anthracis* isolated in Japan. International Scientific Conference of Current Issues on zoonotic disease, 80th anniversary of establishment of the national center for Infectious Disease with Natural Foci in Mongolia, Ulaanbaatar, 15th September 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

14. 病原体管理システムの実用化に際しての検証 (インフルエンザサーベイランス)

研究分担者：篠原 克明 国立感染症研究所 バイオセーフティ管理室 主任研究官
氏家 誠 国立感染症研究所
インフルエンザウイルス研究センター第一室 主任研究官
徐 紅 国立感染症研究所
インフルエンザウイルス研究センター第一室 主任研究官
白倉 雅之 国立感染症研究所 ウイルス第三部 研究官
研究協力者：早川 成人 ヤマトシステム開発 (株)

研究要旨 本システム (ICBS システム) は、サンプルチューブ (以下、1次容器) 一本を病原体管理最小単位とし、各容器やラック (以下、2次容器) に IC タグやバーコードを付すことによって、サンプル1個単位での管理を可能とし、マニュアル管理では困難であった大量一括処理を可能とする。パンデミックインフルエンザ等の対応の際、検査検体、病原体の安全保管、および大量サンプルの一括処理に大きな力を発揮すると考える。本年度は、本システムのインフルエンザ対応業務 (インフルエンザサーベイランス、およびパンデミックインフルエンザ対策) における、実用性、有用性の検証による、改良点・問題点の収集・分析を行うことを目的とした。

A. 目的、およびB. 方法

大量サンプルの一括処理が必要となるパンデミックインフルエンザ対策、およびインフルエンザサーベイランスを主な対象業務として、本病原体等管理システム (ICBS システム) の有用性と実用性について、実地調査とシステムの検証を行い、有効なフィードバックを実施した。

C. 実証実験プロセス

本年度の実証実験は、実運用に向けて使用可能なプロトタイプとして開発した病原体管理システムについて、(1) 国内外のインフルエンザサーベイランスにおける、サンプル管理に関する実用性 (操作性、安全性) およびサンプル情報の一元管理、共有

化に関する妥当性、情報セキュリティ (情報の機密性、完全性、可用性) の検証、そして (2) パンデミック時を想定した大量の検査試料の管理、および試料情報の一元管理、共有化に関する応用性の検証を行った。

以下は、実地調査での検証項目である。

1. 一括数量管理への対応

本システムでは、昨年度までに、容器底面にマイクロバーコードをエッジングした1次容器による一括容器識別の読取機器を開発し、また、前々年度には、IC タグを取り付けた1次容器による一括読取機器を開発している。

本年度は、あらためてこれらの一括読取