

また、抗体価が減少しても追加免疫することで以前より高い抗体価を短時間に誘導できることから、初回免疫後は約3ヶ月おきの追加免疫で十分高い抗体価を維持できると思われる。米国で使用されているヒト用炭疽ワクチンは、4週間隔で2回筋注して初回免疫を誘導し、6, 12, 18ヶ月後に追加の皮下接種を行う。その後は1年毎の追加免疫という煩雑で外科的侵襲性のある接種プロトコルである。今回の我々の粘膜ワクチンにおいても抗体価の維持には約3ヶ月毎の追加免疫が必要であることが示唆されたが、経鼻免疫は簡便で被接種者にストレスがなく、状況によっては自分で接種することも可能である。今後は、持続的に接種部位の免疫応答を刺激できるような除放性キャリアを利用することで投与間隔の延長や効果的な免疫誘導を検討する必要がある。

また PA 単独免疫では肺炭疽の発症が予防できないことが以前から指摘されていたが、今回の検討においても同様の結果が得られた。おそらく、PA を標的とした免疫応答では、体内に侵入した炭疽菌芽胞の発芽と栄養体の増殖を抑制することができないため、増殖した菌により産生される毒素量を十分に中和できる抗体価が誘導されていない場合、毒素の作用を完全に阻害することが難しいと思われる。一方で、EA1 は単独免疫で炭疽菌感染に対する有意に優れた防御効果を示した。EA1 の経鼻免疫は粘膜および全身免疫を刺激し、気道内に侵入した炭疽菌を効果的に排除することで、感染個体における炭疽の発症を予防したと考えられる。

#### D-3. コレラ毒素に対するイムノクロマトの精度検定

コレラ菌の中でコレラ毒素を産生する株のみが病原性を発揮するため、コレラが疑われる患者に対する検査においては菌の検出に加え、検出された菌の毒素産生性を明らかにする事が重要となる。本年度の研究においてはコレラ毒素に対する免疫学的迅速検査法を開発しその特異性および感度の検証を行った。開発された方法は、大腸菌の易熱性下痢毒素(コレラ毒素と80%以上の相同性を持つ)とコレラ毒素を10倍以上の感度で判定可能な非常に特異性の高い方法であった。感度においては10 ng/ml程度を検出限

界としており食品や糞便からのコレラ毒素の直接検出に十分な感度とは言い難かった。今後、培養法との併用を含め開発されたイムノクロマト法の使用法および用途についての検討が必要である。

#### D-4. 患者糞便からのシガ様毒素直接検出

腸管出血性大腸菌を原因とする食中毒事件は大きな社会問題となる事が多く、また過去の事例では風評被害などの問題もみられるなど、より慎重な原因物質の特定が求められる場合が多い。本年度の研究では実際に本邦において大きな社会問題となった食中毒事件の患者より分離された株を用いた検査を行い、複数の検査法を用いて原因物質の特定することの重要性を示した。本研究で用いたBead-ELISA法は免疫学的検出系の中でも特に高い検出感度(数十~数百pg/ml程度)を実現する事が可能となっており、前述のCDCが指定する生物兵器に使われる可能性の高い蛋白毒素に対する検出系の構築も可能である。我々は現在様々なタンパク毒素に対する特異的抗体の構築を進めており、今後、作出される抗体を用いた高感度免疫学的検出系の構築を進めていく予定である。

#### D-5. 複数の病原体を検出できる核酸クロマトの開発

単独プライマーは高感度であるが、複数の病原体を一つ一つ増幅して検査しなければならず、手間と時間がかかる。複数の病原体を同時に調べる方法として multiplex PCR 法があるが、プライマーの組み合わせに制限があり、単独プライマーに比べ感度は劣る。本技術では多種類のプライマーを混合しても単独プライマーと同等の感度を達成でき、かつ特異的増幅を DNA クロマトで目視により5分で確認できるため、増幅の有無に高価なリアルタイム PCR 装置や面倒な電気泳動などを必要としない(図9)。そのため本システムは生物剤の現場での検出に適用できるだけでなく、検査や感染症の集団発生時にも利用できる。

#### E. 結論

1. 天然型リシンの認識が可能と思われる抗リシン B サブユニット特異抗体を作製し

た。

2. マウス肺炭疽モデルにおいて EA1 は現行ワクチンの主成分である PA 単独に比べ優れた防御効果を示した。
3. 粘膜中の EA1 抗体価を維持するためには 2-3 ヶ月毎の追加免疫が必要である。
4. コレラ毒素に対して特異性の高いイムノクロマト法を開発した。
5. 腸管出血性大腸菌感染症患者便から免疫学的迅速同定法 (Bead-ELISA法) により直接、シガ様毒素の検出を行った。
6. 現場や野外で使用できる迅速・簡便な核酸クロマト法を開発した。

F. 健康危険情報  
特になし。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Firew Kassa Esho, Budbazar Enkhtuya, Akiko Kusumoto and Keiko Kawamoto. Microbial assessment and prevalence of foodborne pathogens in natural cheeses in Japan, *BioMed Research International*. 2103: 205801, 2013.
2. Hayashi M, Natori T, Kubota-Hayashi S, Miyata M, Ohkusu K, Kawamoto K, Kurazono H, Makino S, Ezaki T. A new protocol to detect multiple foodborne pathogens with PCR dipstick DNA chromatography after six-hour enrichment culture in a broad-range food pathogen enrichment broth. *BioMed Research International*. 2103: 295050, 2013.
3. Kusumoto A, Miyashita M, Kawamoto K. Deletion in the C-terminal domain of ClpX delayed entry of *Salmonella enterica* into a viable but non-culturable state. *Res Microbiol*. 164(4):335-41, 2013.
4. Ohji S, Yamazoe A, Hosoyama A, Tsuchikane K, Ezaki T, Fujita N., The Complete Genome Sequence of *Pseudomonas putida* NBRC 14164T Confirms High Intraspecies Variation. *Genome Announc.* ; 2(1). pii: e00029-14, 2014.
5. Mori S, Imamura F, Koga Y, Uramoto H, Ezaki T, Sugimoto M., Pulmonary Mycobacterium abscessus disease in a patient receiving low-dose methotrexate for treatment of early rheumatoid arthritis. *J Infect Chemother*. 19(6):1146-51, 2013.
6. Ogura M, Yano H, Sato M, Nakamura A, Wakimoto Y, Ohkusu K, Ezaki T., Comparative analysis of MRSA strains isolated from cases of mupirocin ointment treatment in which eradication was successful and in which eradication failed. *J Infect Chemother*. 19(2):196-201, 2013.
7. Zaw MT, Yamasaki E, Yamamoto S, Nair GB, Kawamoto K, Kurazono H: Uropathogenic specific protein gene, highly distributed in extraintestinal uropathogenic *Escherichia coli*, encodes a new member of H-N-H nuclease superfamily. *Gut Pathog*. 5: 13, 2013
8. Nitaya Indrawattana, Orawan Sungkhachat, Nitat Sookrung, Manas Chongsa-nguan, Anchalee Tungtongchitt, Supayang Piyawan Voravuthikunchai, Thida Kong-ngoen, Hisao Kurazono and Wanpen Chaicumpa: *Staphylococcus aureus* clinical isolates: Antibiotic susceptibility, molecular characteristics and ability to form biofilm. *BioMed Research International*, 2013: 314654, 2013.
9. Eiki Yamasaki, Ryuta Sakamoto, Takashi Matsumoto, Fumiki Morimatsu, Hiroko Toyoi, G. Balakrish Nair, Hisao Kurazono and Takayuki Kurazono: Development of an immunochromatographic test strip for detection of cholera toxin. *BioMed Research International*. 2103: 679038, 2013.
10. Shin Sukegawa, Yasuhiro Ihara, Kaoruko Yuge, Shengbin Rao, Kentaro Oka, Fumihiro Arakawa, Tatsuya Fujimura, Hiroshi Murakami, Hisao Kurazono, Motomichi Takahashi, Fumiki Morimatsu: Effects of oral administration of heat-killed *Enterococcus faecium* strain NHRD IHARA in post-weaning piglets. *Animal Science Journal*, in press, 2014.

H. 知的財産の出願・登録状況  
特になし

Group	Antigen	Adjuvant	n
A	None	+	8
B	PA	+	8
C	EA1	+	6
D	PA + EA1	+	8

表1 粘膜免疫の投与群 (n=6-8)

検体番号	性別	年齢	症状	分離株	Stx conc. (ng/ml)	
					Stx1	Stx2
OB1	女	30代	下痢、腹痛、血便、嘔吐	O157:H7 ( <i>stx1</i> ) O157:H7 ( <i>stx1, stx2</i> ) O111:H8 (-)	10.44	2.75
OB2	女	40代	腹痛、血便、HUS	O111:H8 (-)	U.D.	U.D.
OB3	男	10代	下痢、腹痛、HUS	O157:H7 ( <i>stx1, stx2</i> ) O111:H8 ( <i>stx2</i> ) O111:H8 (-)	1.71	51.61
OB4	男	20代	下痢、腹痛、血便、嘔吐、要透析	未検出	0.71	U.D.
OB5	女	10歳以下	下痢、腹痛、血便、HUS	O157:H7 ( <i>stx1, stx2</i> ) O111:H8 ( <i>stx2</i> ) O111:H8 (-)	U.D.	U.D.
OB6	男	10代	下痢、腹痛、血便	O111:H8 ( <i>stx2</i> )	U.D.	12.88
OB7	女	10代	下痢、腹痛、血便、嘔吐	O157:H7 ( <i>stx1, stx2</i> ) O111:H8 ( <i>stx2</i> ) O111:H8 (-)	0.71	3.22
OB8	男	30代	下痢、血便	O111:H8 (-)	U.D.	U.D.
OB9	女	20代	下痢、腹痛、嘔吐、HUS、脳症	未検出	U.D.	U.D.

U.D.: Undetectable

表2 高感度免疫学的迅速同定法(Bead-ELISA)を用いた患者糞便からの直接的なStxタンパク質の定量的検出

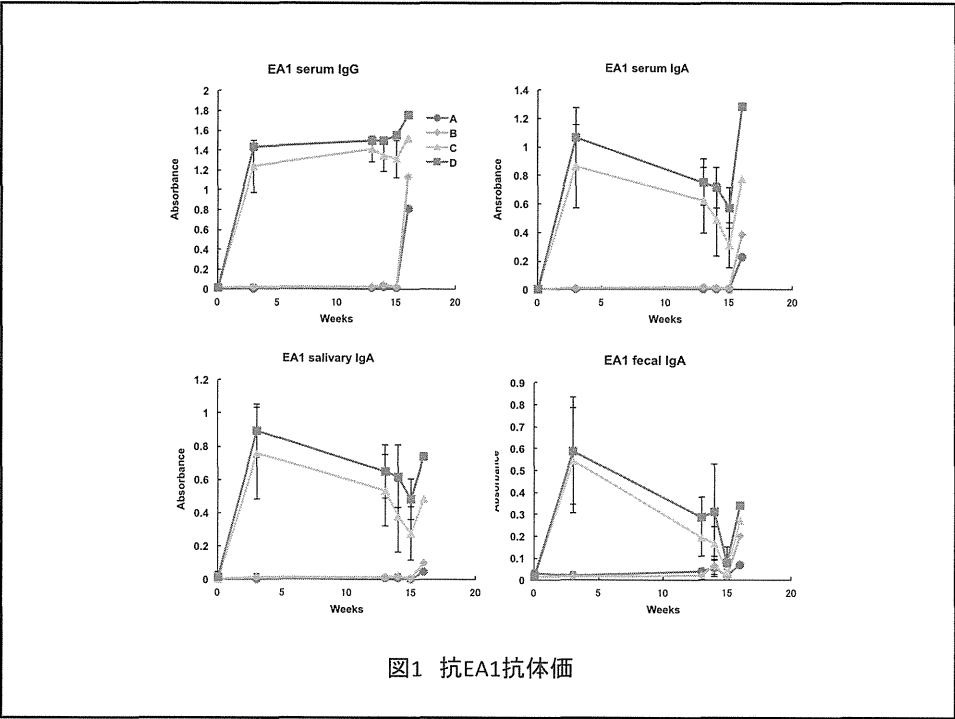


图1 抗EA1抗体価

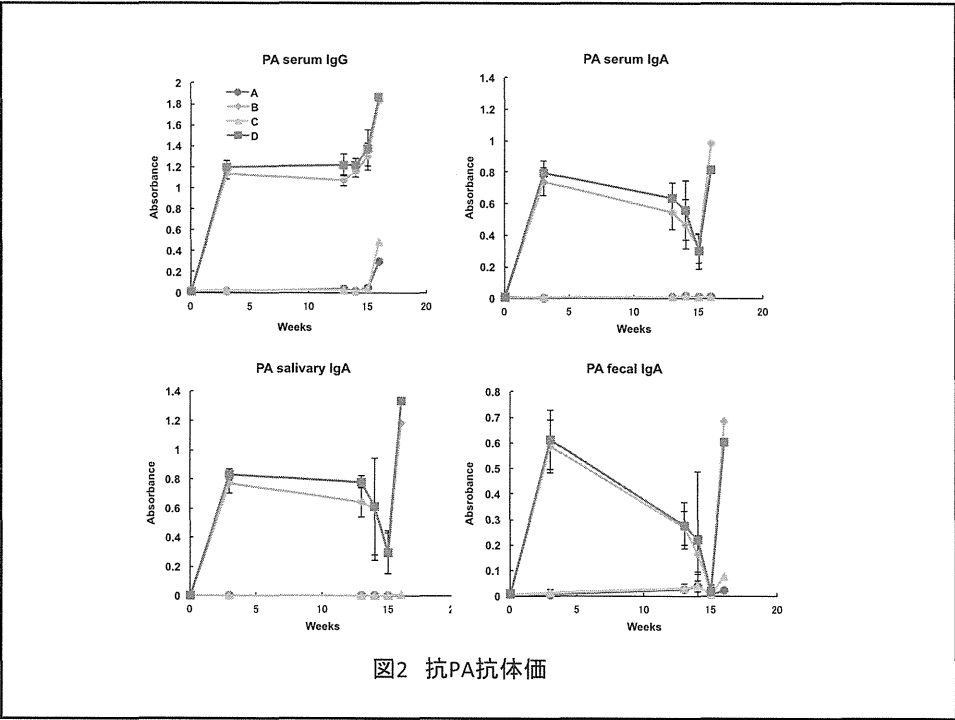
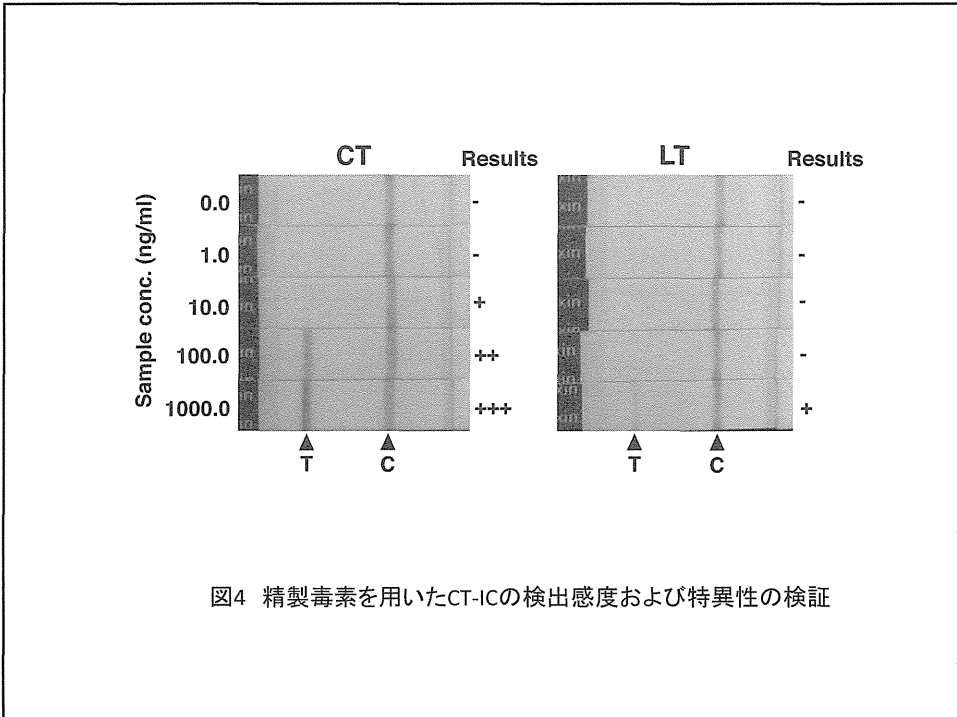
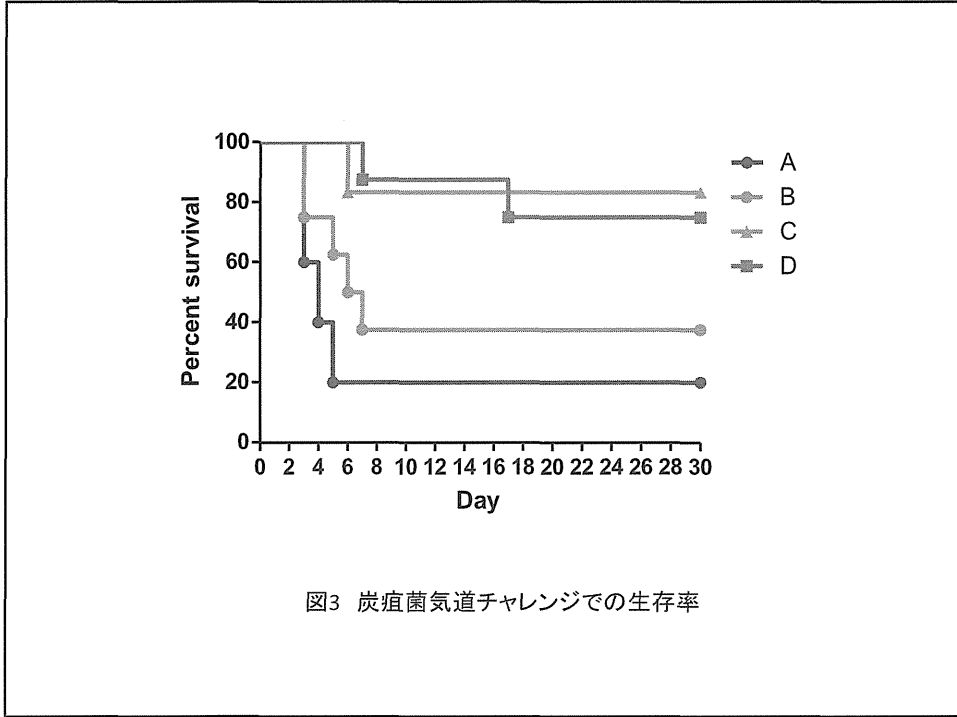


图2 抗PA抗体価



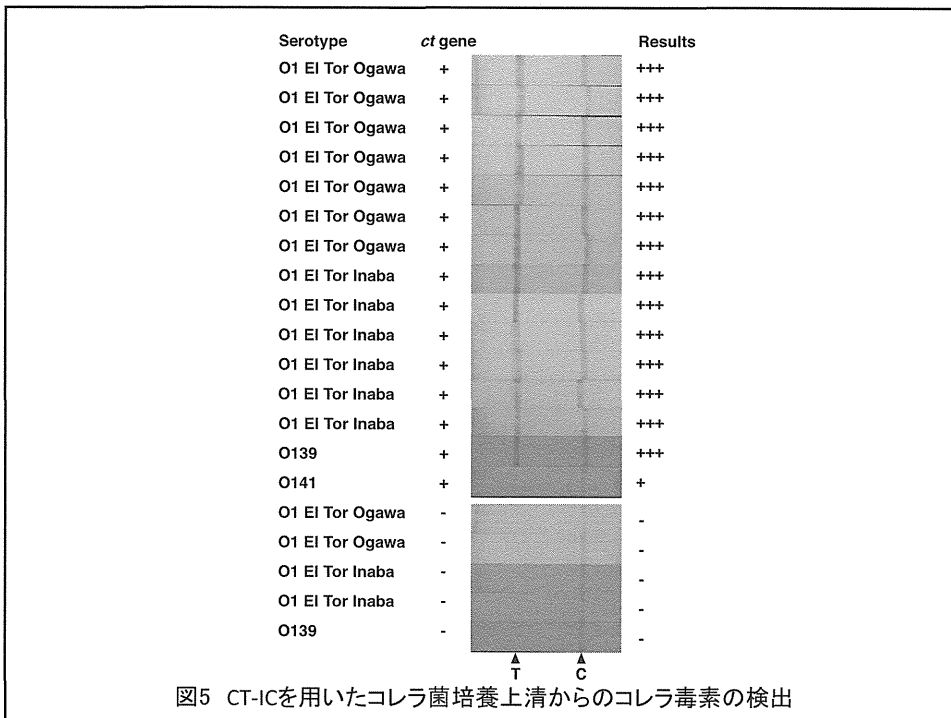


図5 CT-ICを用いたコレラ菌培養上清からのコレラ毒素の検出

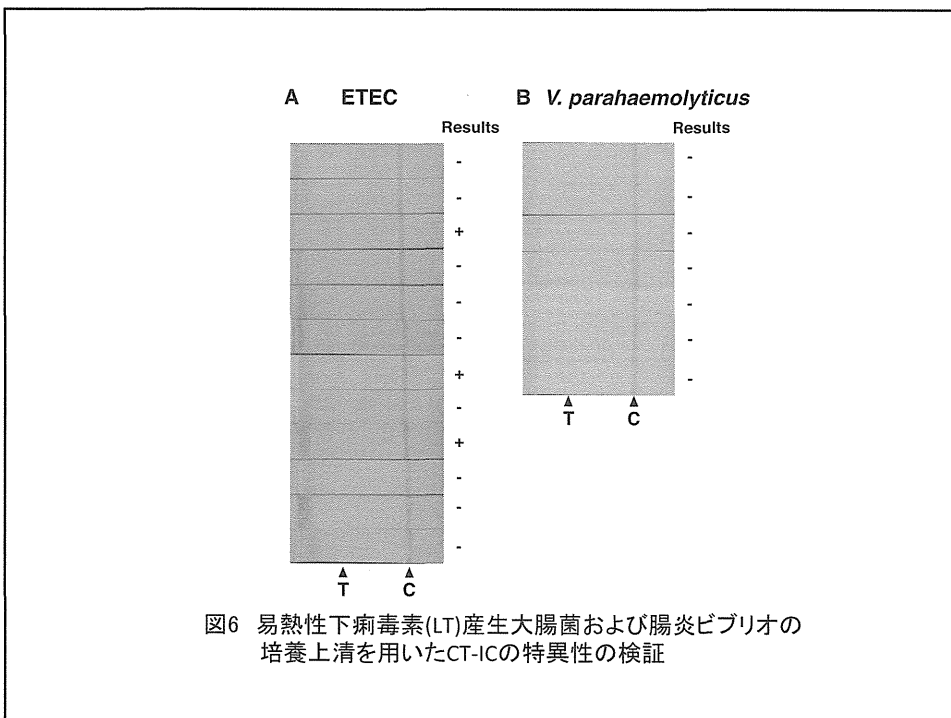
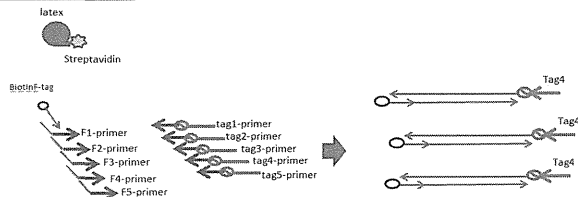


図6 易熱性下痢毒素(LT)産生大腸菌および腸炎ビブリオの培養上清を用いたCT-ICの特異性の検証

タグプライマーによるPCR



核酸クロマト

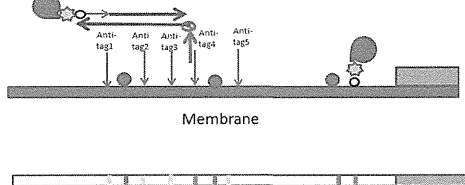


図7 核酸クロマトの原理

Tube	Cocktail Name	Organism	Target	Tag
1	Botulinum screening	<i>C. botulinum</i> ABF proteolytic group	dnaj	Tag4
		<i>C. botulinum</i> BEF nonproteolytic group	dnaj	Tag3
		<i>C. botulinum</i> CD group	dnaj	Tag2
		<i>C. argentinensis</i> Toxin G	16S rDNA	Tag1
2	Botulinum ABF proteolytic	<i>C. botulinum</i> ABF proteolytic group	dnaj	Tag4
		<i>C. botulinum</i> A	toxin A	Tag3
		<i>C. botulinum</i> B	toxin B	Tag2
		<i>C. botulinum</i> F	toxin F	Tag1
3	Botulinum BEF nonproteolytic	<i>C. botulinum</i> BEF nonproteolytic group	Tag4	Tag4
		<i>C. botulinum</i> B	toxin B	Tag3
		<i>C. botulinum</i> E	toxin E	Tag2
		<i>C. botulinum</i> F	toxin F	Tag1
4	Botulinum CD	<i>C. botulinum</i> CD group	dnaj	Tag4
		<i>C. botulinum</i> C	toxin C	Tag2
		<i>C. botulinum</i> D	toxin D	Tag1
		<i>C. argentinensis</i> G 16S rDNA	16S rDNA	Tag4
5	Botulinum EFG	<i>C. argentinensis</i> G	toxin G	Tag3
		<i>C. butyricum</i> E	toxin E	Tag2
		<i>C. baratii</i> F	toxin F	Tag1

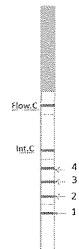


図8 ボツリヌス菌検出用核酸クロマト

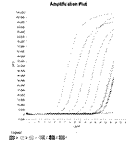
これまで開発した  
方法(検査室用)

肺炎患者の病原  
体を迅速スクリー  
ニング法



各95L3の病原体のPrimer  
を凍結乾燥して保存  
(炭疽、野兔病、ブルセラ、  
ペスト、類鼻疽、Q熱、シシ  
オネラ)。

有事にRealtime PCRでscreening



新しい方法  
(野外用)



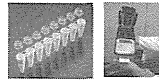
画像 Discarthur gntm-a

検査材料を加熱  
あるいはヒート処理

迅速PCR



20-30分



5分で  
判定



図9 新規検査法の流れ



厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法と標準化に関する研究  
分担研究報告書

「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	堺市衛生研究所長
研究協力者	千葉 一樹	福島県衛生研究所
	小林 慎一	愛知県衛生研究所
	杉浦義紹	神戸市環境保健研究所
	山下育孝	愛媛県立衛生環境研究所
	飯塚 節子	島根県保健環境科学研究所
	小河正雄	大分県衛生環境研究センター
	三好 龍也	堺市衛生研究所
研究分担者	宮崎 義継, 梅田 隆	国立感染症研究所
研究代表者	倉根一郎	国立感染症研究所

研究要旨:

バイオテロに使用される病原体の可能性のある真菌属、なかでも *Coccidioides* によるバイオテロを含めた健康危機対応のため、(1). に病原体検出技術向上を計った。各ブロックの研究協力者が技術的な指導的立場の構築のため、検査技術の習熟・徹底を目指し実技研修を行った。(2). これらの実技研修から得られた技術・知識を、真菌検査に馴染みのない地方衛生研究所がバイオテロ対象真菌検査に取り組める事を目的とした真菌検査マニュアルの作成を行った。このマニュアルは全国地方衛生研究所に配布予定である。

A. 研究目的

バイオテロによる健康危機は時、場所を選ばず発災する。これまで、国におけるバイオテロ対策の一環として、この研究班を通して健康危機対応のモチベーションを高めてきた。2008 年度米国における炭疽菌芽胞によるバイオテロ事件から発生した本邦での「白い粉事件」健康危機事例における地方衛生研究所が検査技術領域で示した役割の再認識を始めとし、そ

の後、バイオテロ関連特定病原体の中のウイルス、さらに細菌の網羅的スクリーニング検査検出キットの評価を行った。平成23年度からはバイオテロ特定病原体の対象である真菌類の同定スクリーニング検査検出キット活用の習熟を目的に、一般的な真菌類を検査対象にし、検査技術の習得を試みた。

次年度はバイオテロ対象の真菌類の中

で致死率の極めて高い*Coccidioides*属の検出を試みた。国立感染症研究所作製の*Coccidioides*属検出キット(プロトコール)に則り、プロトコールに基づいた技術的対応と共に検出技術の客観的な評価を試みた。

しかし、測定結果には、良、可、非がみられ、今年度、改めて*Coccidioides*属検出のための実技研修を行った。

## B. 研究方法

### [1] 検査技術習熟実技研修

#### 1) *Coccidioides*属検出実技研修概要

開催日時: 平成 25 年 11 月 18 日(火)

10:00 AM~

開催場所: 神戸市環境保健研究所

研修内容:

#### (1) *Coccidioides* 属の基礎的な教育講演。

##### ① コクシジオイデス症の遺伝子診断法

講師: 宮崎義継

輸入真菌感染症の概要を説明され、そのなかで最も危険性の高い

*Coccidioides* 菌を中心に菌の特徴、分布、国内感染者数、検査方法と診断法、および菌の取り扱い上の注意点について解説。

##### ② 実技内容: 「PCR によるコクシジオイデス菌の検出」

講師: 梅山 隆

コクシジオイデスの DNA を真菌検出の共通領域であるリボゾーム RNA 遺伝子領域 (18S-5.8S-26S) のうち ITS-NL 領域を増幅するプライマー対、コクシジオイデス菌の選択的検出プライマー対を用いた PCR 法による遺伝子検出。

#### (2) 前年度班会議で評価したコクシジオイデス遺伝子検出実技再検討

#### (3) PCR 試薬反応過程で、真菌鏡検実習。

不活化された真菌標本について顕微鏡下で観察、それぞれの菌種の形態的な特徴について受講し確認を計る。

対象真菌: コクシジオイデス、ヒストプラズモーシス、クリプトコッカス。

#### (4) 電気泳動による PCR 増幅産物の確認、評価、確認できない場合は原因究明。

18:30 実技研修、評価・反省会終了

### 2) 検体、試薬の調整・調達

検体は国立感染症研究所真菌部にて調達された。試薬、ピペット類、遺伝子増幅機器等の検査機器類等は神戸市環境保健研究所で可能な限り準備した。

### [2] 「バイオテロ対策病原性真菌検査マニュアル」の作製

以下の目次で作製に臨んだ。

1. 真菌について(総説)
2. バイオテロの対象となるヒト病原真菌
3. 臨床検体の検査に関する注意事項
4. 検査方法
  - 1) 臨床検体(サンプル)
  - 2) 分離培養
  - 3) 分子生物学的手法による病原真菌の同定
5. 感染症法届出基準
6. 参考文献
7. 研究分担者および協力者

(倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

## C. 研究結果

## [1] コクシジオイデス遺伝子検出実技研修結果

ITS/NL系PCRでは、全ての実施者でポジティブコントロール(PC)のバンド(約500bp)がみられ、ネガティブコントロール(NC)ではバンドはみられなかった。しかし、サンプル(Sample 1: C.posadasii DNA、Sample 2: C.immitis DNA)では、目的のバンド(約1.2kbp)薄い場合やバンドがみられない場合があり、非特異反応のバンドもみられた。

Coi 9系PCRでは、全ての実施者でSample 1、2、PCで目的の大きさのバンド(Sample 1:約560bp、Sample 2:約500bp、PC:約240bp)がみられ、NCではみられなかった。

全ての実施者でITS/NL系、Coi 9系ともPCの反応がみられ、コンタミネーションもなく結果が得られ、実施者の検査手技の習得は確認できた。しかし、ITS/NL系ではサンプルを用いた場合、反応性が悪く、アニーリング温度の設定、検査試薬の変更など反応条件の検討が必要と考えられ再検討を行った。

### [2] マニュアルの作製

「バイオテロ対策病原性真菌の検査マニュアル」が編集されている。平成26年3月31日発行予定である。

## D. 考察

前年度は国立感染症研究所作製の*Coccidioides*属検出キット(プロトコール)に則り、地衛研の客観的な検出技術の評価と共に、検出キットの相対的な評価を試みた。その結果は必ずしも完璧な同定技術をえられたものではなかった。

そのため、今年度は研究協力員一堂に会しコクシジオイデス遺伝子検出のための実技研修を行った。

昨年度と異なり、全ての実施者でITS/NL系、Coi 9系ともPCRの反応がみられ、コンタミネーションもなく結果が得られ、実施者の検査手技の習得は確認できた。しかし、ITS/NL系ではサンプルを用いた場合、反応性が悪く、アニーリング温度の設定、検査試薬の変更など反応条件のさらなる検討が必要な局面にも遭遇した。改良点を確認できているため、次回からは正確な反応系の遂行が行えるものと考えられる。一つの連係プレーの一例としたスキームを図4に掲げた。

一方、「バイオテロ対策病原性真菌の検査マニュアル」の作製は最終校正の段階に入り、予定通りの発行である。

この真菌検査マニュアルが病原性真菌による健康危機発生時に迅速な対応が行える一助として活用が望まれる。

## E. 結論

1. コクシジオイデス遺伝子検出実技研修結果、すべての実技研修実施者に陽性コントロールの反応が確認できた。しかし、サンプル検体では目的バンドの薄い場合、見られない場合等があり、PCR条件設定の再検討、修正を行った。
2. 「バイオテロ対策病原性真菌の検査マニュアル」が編集されている。病原性真菌による健康危機対応時の検査マニュアルとして一助となることが期待される。

## F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kushiro M, Saitoh H, Sugiura Y, Aoki T, Kawamoto S, Saito T. Experimental infection of *Fusarium proliferatum* in *Oryza sativa* plants; fumonisin B<sub>1</sub> production and survival rate in grains. *Int J Fd Microbiol.* 156:204-208, 2012.
- 2) Sugiura Y. *Fusarium* species: mycotoxin production, and plant and murine pathogenicity. *Mycotoxins.* 62: 49-61, 2012.
- 3) Sato N, Sugiura Y, Nukuzuma S, Udagawa S, Tanaka, T. Two rare contaminants, *Helicostylum pulchrum* and *Scopulariopsis flava*,

found in a white natural cheese, and the effect of their presence. *Jpn J Fd Microbiol.* 30:15-20, 2013.

2. 学会発表

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

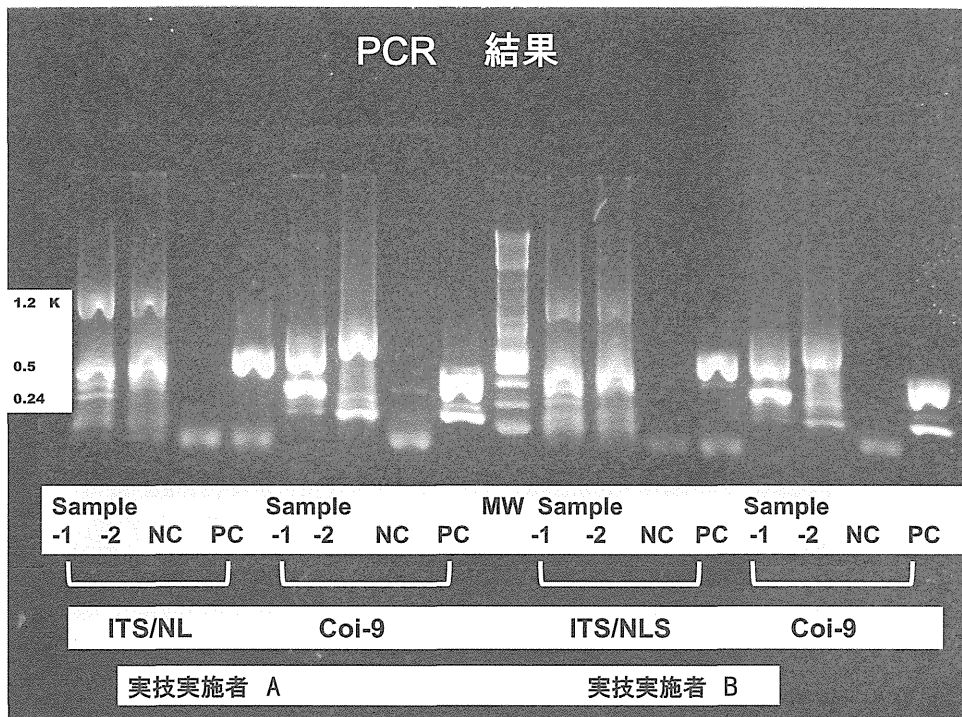


図 1. 実施者 A, B による *Coccidioides* 遺伝子検出例

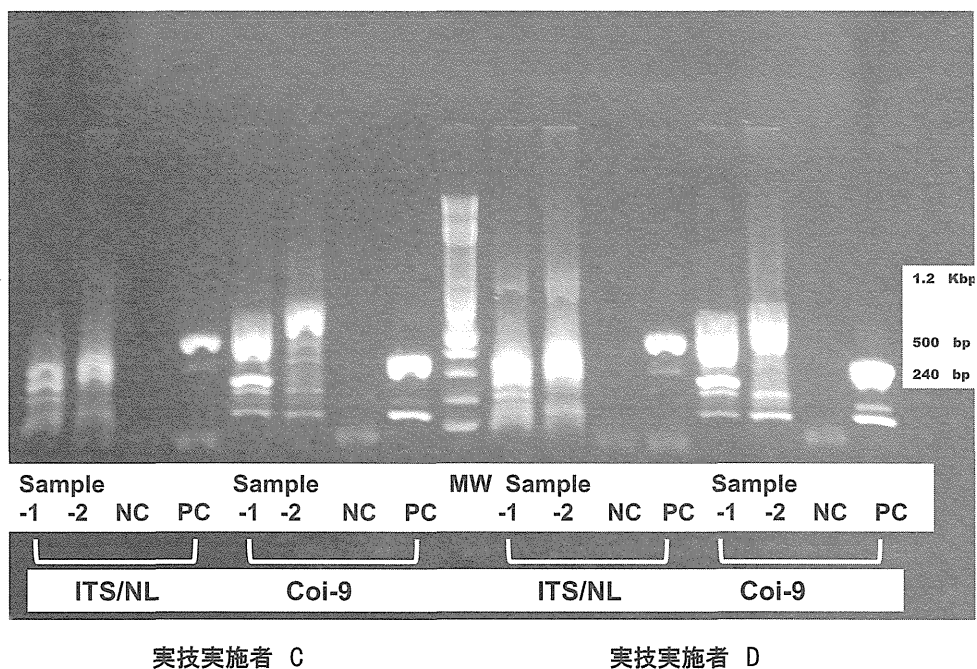
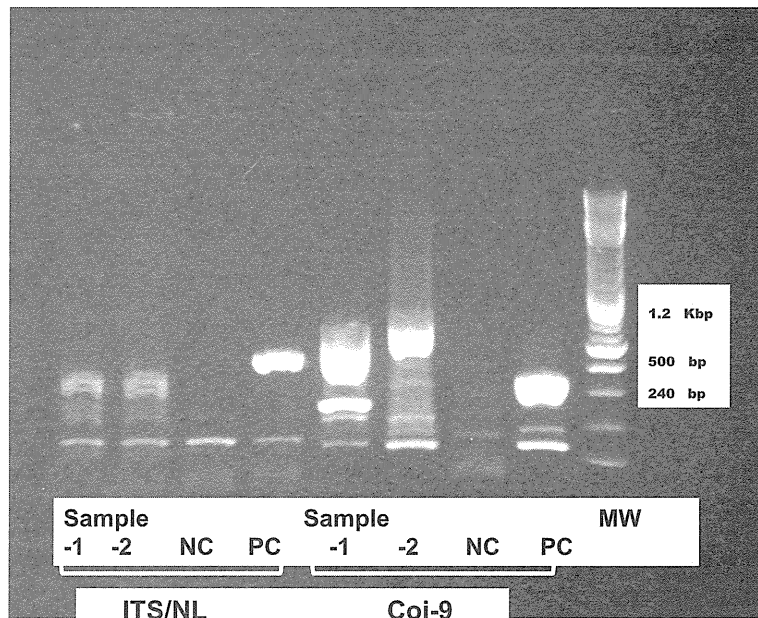


図 2. 実施者 C, D による *Coccidioides* 遺伝子検出例 (D) と非検出例 (C)



実技実施者 E

図 3. 実施者 E による *Coccidioides* 遺伝子非検出例

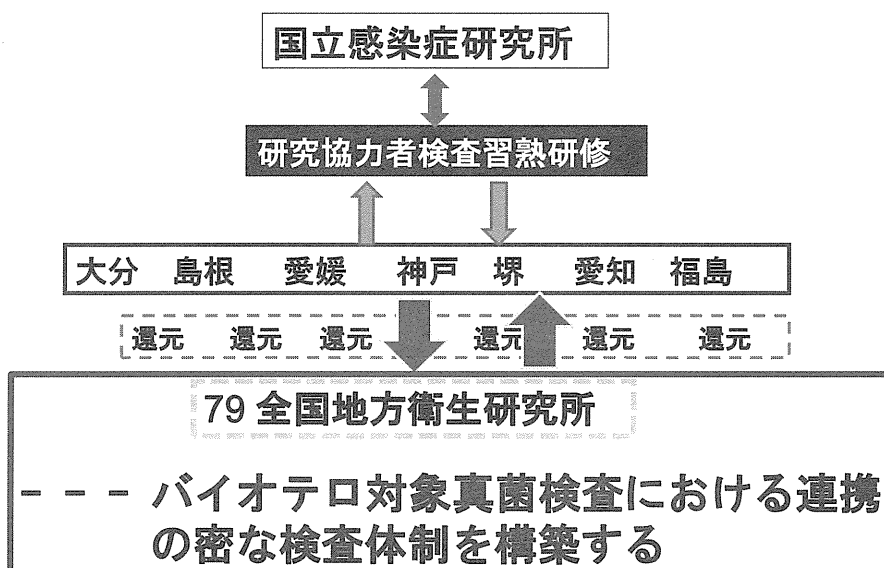


図 4. 病原性真菌による健康危機発生時の研究協力者の役割

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法と標準化に関する研究  
分担研究報告書

バイオテロ関連疾患の臨床診断支援方法の開発  
バイオテロ関連感染症の臨床診断と治療

研究分担者	岩本 愛吉	東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 感染症研究分野
研究協力者	西條 政幸	国立感染症研究所 ウイルス第一部
	安藤 秀二	国立感染症研究所 ウイルス第一部
	藤井 毅	東京医科大学八王子医療センター 感染症科
	鯉渕智彦	東京大学医科学研究所附属病院 感染免疫内科

研究要旨 生物テロに関連する疾患について、インターネット上で手軽に情報を得ることを目的とした『生物テロ関連疾患の診断・検査・治療マニュアル』のホームページを改訂した。昨年度までに、感染症法に基づく特定病原体等のうち、一種、二種および三種に含まれる計 35 種類のバイオテロ関連疾患に関する情報を掲載していたが、今年度は新たに特定病原体等に指定された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）を含む 2 疾患を追加した。これにより一種から三種の病原体すべてと四種病原体の大部分を網羅することができた。今後とも各病原体（疾患）の最新情報の追加などを行い、ホームページの更新作業を進めていく方針である。さらにバイオテロ診断支援の一環として、関連各施設・機関との連携体制の構築について具体的方法を検討した。

#### A. 研究目的

生物テロに用いられる可能性のある病原微生物は多彩で、その多くは極めて稀でかつ重篤な疾病を引き起こす。すなわち、感染拡大防止と生命予後改善のためには、生物テロ関連疾患の臨床診断、検査材料および検査方法の選択、治療法の選択について、多くの医療従事者が正確な知識を、インターネットなどを通じて手軽に得られることが大切である。本研究においては、最新のデータに基づいた、インターネット上で広く利用できる臨床診断および治療マニュアルの作成をおこなった。その内容を入れた CD-ROM を作成・配布や、新たに立ち上げた改訂専用のホームページを通じて、専門家の意見を取り入れながら修正とアップデートをおこなってきた。新たな疾患も追加して、より内容の充実した、使いやすいマニュアルを作成し、最終的に一般の医療従事者にとっても有用なホームページを

公開することを目的とする。

#### B. 研究方法

すでに作成していた 35 種類のバイオテロ関連疾患情報の妥当性・正確性等について確認するとともに、新たに特定病原体に指定された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）など、2 疾患を追加した。

（倫理面への配慮）

特になし

#### C. 研究結果

2010 年までに本研究において作成していた 15 疾患（(1) ウイルス性出血熱、(2) ウエストナイル熱・脳炎、(3) Q 熱、(4) 狂犬病、(5) コクシジオイデス症、(6) SARS、(7) 消化管感染症、(8) 多剤耐性結核、(9) 炭疽、(10) 天然痘、

(11) 鼻疽・類鼻疽、(12) ブルセラ症、(13) ペスト、(14) ボツリヌス症、(15) 野兔病)に加え、さらに2011～12年には20疾患(1)西部ウマ脳炎、(2)東部ウマ脳炎、(3)ベネズエラウマ脳炎、(4)ダニ媒介性脳炎、(5)ヘンドラウイルス感染症、(6)リッサウイルス感染症、(7)日本脳炎、(8)南米出血熱、(9)ハンタウイルス感染症、(10) (11) Bウイルス症、(12)ニパウイルス感染症、(13)レプトスピラ症、(14)発疹チフス、(15)チクングニア熱、(16)ロッキー山紅斑熱、(17)サル痘、(18)黄熱、(19)回帰熱、(20)デング熱)を追加した。今年度は、2013年に新たに感染症法に基づく特定病原体(三種病原体等)に指定された重症熱性血小板減少症候群(SFTS)をホームページに追加し、また、三種病原体等の中で掲載がなかった日本紅斑熱リケッチアも加えた。これにより一種から三種病原体のすべてを網羅した。

#### D/E. 考察・結論

バイオテロに利用される恐れのある病原微生物によって引き起こされる疾患は、現在のわが国ではみることのないものがほとんどであり、臨床医の多くがそれらの病態に対する知識はなく、また診療疾患対象としての関心も有していないのが現状であると思われる。一方で、病原診断法やワクチンの開発に関しては、主に基礎系の研究者によって研究開発が国内外で行われている。したがって、本ホームページの作成にあたっては、一般の臨床医が容易に理解できるような工夫をおこなうとともに、広い見識を有する感染症専門家から最新の知見を加えながら常に最新の情報を提供することが重要である。これまで国内のインфекションコントロールドクター(ICD)を対象としたアンケート調査結果に基づく改訂作業に加え、全国の感染症専門家によって組織された研究協力者からの意見を参考した改訂作業を実施してきたが、今年度は新たに重症熱性血小板減少症候群(SFTS)など2疾患を追加した。SFTSのような新興感染症についても迅速にホームページ上に掲載することができ、より利便性のある情報源へと整備することができた。診断支援ツールの一環として、ホームページの整備が必要な状況はこれか

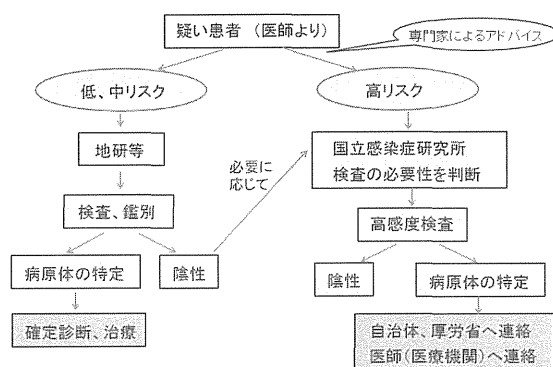
らも続くと考えられる。今後とも最新の情報を追加し、利用者の利便性を考えたホームページの改善を目指す必要がある：

(<http://bt.sfc.wide.ad.jp>)。

また、バイオテロ診断支援の一環として、関連各施設・機関との連携体制の構築も重要な課題である。

このようなシステムの構築のためには、国内の施設で可能な臨床診断支援方法を把握しておくことが有用と思われる。これらの情報入手が可能となるよう今後も検討を進めていく必要がある。

疑い患者発生時の連携体制の構築(案)



	対応可能疾患	臨床検体	検査法など
A 研究室	炭疽菌	血液	LAMP法
B 県衛生研究所	ボツリヌス菌・毒素	...	毒素遺伝子の塩基配列解析
C 大学	ウイルス性出血熱	...	...

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  
発表なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)  
該当なし



厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法と標準化に関する研究  
分担研究報告書

各医療機関のバイオテロ対策を支援するための方策

研究分担者 松本 哲哉 東京医科大学微生物学講座 教授

研究要旨 国内の医療機関の多くは感染防止対策加算の新設に伴い、院内感染対策にさらに力を注ぐようになってきている。しかしバイオテロに関する準備状況はまだ十分とは言えず、さらなる対応策が必要と考えられる。そこで本研究においては、医療機関向けのバイオテロ対策のガイドラインを作成し、具体的な対策の指針を示すことを主な目的としている。昨年度の研究では、バイオテロ対策ガイドラインの基本骨格を作成し研究班における意見を求めた。今年度は高病原性インフルエンザ対策に向けたBCP作成のガイドライン等を参考にして、さらにたたき台となる案を作成することができたが、感染症診療に関するガイドラインが数多く存在しているため、関連する部分においては相互の内容に矛盾が生じないように、確認する必要があり、さらに詳細を詰めていく必要がある。

A. 研究目的

世界の政情が不安定な状況において、テロ行為のリスクは高まっている。国内においてもバイオテロが起こる可能性は否定できず、各医療機関において対策を行う必要性がある。ただしバイオテロが起こった際に想定される状況は多様であり、国内においてもその準備に関する具体的な指針がないのが現状である。そこで、本研究においては、各医療機関が今後、バイオテロに対する準備を行う上で必要なガイドラインを作成することを目的としている。

B. 研究方法

平成24年度はバイオテロに関する国内外の各種資料を入手し、それらを参考にして日本の医療現場の現状に合わせたガイドラインの基本骨格を作成した。平成25年度はそれを受けてさらに具体的な内容の検討を行った。

C. 研究結果

医療機関におけるバイオテロ対策ガイドラインの作成

バイオテロ対策のガイドラインについては、現在の医療機関が置かれた状況を考慮した上で、より実践的で効率的な内容にすることを目指している。

昨年作成したガイドラインの骨格に肉付けする形で、各項目の内容についてさらに検討を行っ

た。その主な内容としては、以下の通りである。

1) 医療機関のバイオテロの準備に向けた薬剤等の準備

バイオテロの病原体は多様であり、それらに用いられる薬剤も各病原体に適したものが必要となる。ただし特殊な薬剤をバイオテロ対策のためだけに各医療機関が在庫として準備しておくことは難しいと考えられるため、基本的に一般的な診療で用いられる薬剤を中心として、病原体別にリストを作成した(表1)。なお、薬剤の表記方法については、わかりやすいように商品名で記載するようにした。

2) 医療機関のバイオテロの準備に向けた个人防护具等の準備

バイオテロ対策において、対応する医療従事者を感染のリスクから守るためには、个人防护具(PPE)の準備は欠かせない。しかし个人防护具も薬剤と同様にバイオテロ対策に限定した物品を備えておくことは現実的に困難と考えられるため、日常診療で使用される物品を中心にリストを作成した。これについては、各医療機関で在庫の状況を把握しておくことが必要と思われるため、インフルエンザ対策のガイドライン等にならって、商品名、定数在庫、使用期限、取扱業者を予め記入しておけるようにリストを作成した(表2)。なお、このスタイルは文献1を参考に作成した。

### 3) 準備状況を把握するためのチェックリストの作成

各医療機関において、基本的に対応していただきたい項目を推奨アクションとして列記し、実施検討、実施中、実施済の3項目に分けて確認できるようにした。なお、このスタイルはWHOによる「パンデミック・インフルエンザに対する病院管理体制チェックリスト パンデミック (H1N1) 2009 を中心に (翻訳版)」を参考に作成した (文献 2)。

### 4) バイオテロ患者の診療フローチャート

バイオテロの患者は最初からそれが疑われる状況で医療機関を受診するとは限らず、逆に原因不明の疾患として扱われる場合が多いと考えられる。そのため、急性感染症の可能性が考えられる患者を対象として、バイオテロを念頭として考えた場合の一般的なフローチャートを作成した (図 1)。

## D. 考察

現在、国内の各医療機関では、診療改定に伴う感染対策に対する加算の実施に伴い、院内感染対策面で人的および設備等の充実がはかられるようになってきている。またインフルエンザについても、新型あるいは高病原性のインフルエンザの流行を見据えて、国や自治体の後押しも加わって、各医療機関における BCP (business continuity plan : 事業継続計画) の作成が行われている。

まだ上記の対策が軌道に乗ったとは言えない現在の状況において、さらにバイオテロ対策の必要性について各医療機関に啓発したとしても、実際の準備を行って頂ける施設はかなり限定されるものと思われる。

そこで本研究においては、院内感染対策やインフルエンザ対策と個別に行うのではなく、それらの対策の延長線上として対応してもらうことを念頭に置いている。

本ガイドラインについては、まだ細部の点において修正を行う必要があるため、今後、まずは本研究班の中で引き続き検討を行い、さらに公開可能な状況になった場合は、本研究班の岩本愛吉先生を分担研究者とするグループで作成されているバイオテロ対策ホームページ上にアップしていただき、一般からのパブリックコメントを募る予定としている。

## E. 結論

各医療機関がバイオテロ対策を実施する上での参考となるガイドラインの作成を計画し、今年度はさらに具体案の作成を行った。検討した内容は主に新型インフルエンザ等の各種ガイドラインを参考にし、バイオテロに当てはめて作成したものが中止であり、今後、さらにそれらのガイドラインとともに活用できるような内容に修正を行っていく必要がある。

## 参考文献

1. 新型インフルエンザ等発生時の診療継続計画作りの手引き 成 24 年度 厚生労働科学研究費補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 「新型インフルエンザ発生時の公衆衛生対策の再構築に関する研究」 分担研究「新型インフルエンザ等発生時の診療継続計画作りに関する研究」 分担研究者 吉川 徹

[http://www.virology.med.tohoku.ac.jp/pandemicflu/i/tool/sinryou\\_tebiki.pdf](http://www.virology.med.tohoku.ac.jp/pandemicflu/i/tool/sinryou_tebiki.pdf)

2. WHO「パンデミック・インフルエンザに対する病院管理体制チェックリスト パンデミック (H1N1) 2009 を中心に (翻訳版)」平成 24 年度 厚労科研費新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「新型インフルエンザ発生時の公衆衛生対策の再構築に関する研究」(研究代表者：押谷 仁)

<http://www.virology.med.tohoku.ac.jp/pandemicflu/i/tool/focusonpandemic09.pdf>

## 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  
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  
特許取得なし
2. 実用新案登録  
登録なし
3. その他  
なし

表 1. バイオテロに使用される代表的な治療薬の一覧

	推奨商品名 (用法用量)	代替商品名 (用法用量)	備考
炭疽	シプロキサシ (1回 300mg 1日 2回 点滴静注)	レボフロキサシ (1回 500mg 1日 1回, 点滴静注)	ダラシン S, バンコマイシン、チエナム、ペニシリン G も有効。
ブルセラ症	ビブラマイシン (100mg、2錠 分2) + ゲンタマイシン注 (1回 5mg/kg 1日 1回 筋注, 7日間)	ビブラマイシン (100mg、2錠 分2) + リファジン (150mg、4-6 カプセル 分1)	内服薬はいずれも 42 日間の投与を推奨
コレラ	クラビット (500mg、1錠 分1 3日間)	ビブラマイシン 100mg、2錠 分2 3日間)	輸液が基本。抗菌薬は排菌期間の短縮を目的として使用
鼻疽	セフトラジウム (1日 4g 分2 ~4 点滴静注)	ゲンタマイシン (1日 80~120mg 分2~3 筋注・点滴静注)	イミペネム、シプロフロキサシ、ST 合剤なども有効
類鼻疽	セフトラジウム (1日 4g 分2 ~4 点滴静注)	チエナム (1日 2g, 分4 点滴静注)	アモキシシリン/クラブラン酸、メロペネムなども有効
ペスト	硫酸ストレプトマイシン (1回 1g 1日 2回 筋注)	シプロキサシ (1回 400mg 1日 2回 静注)	ゲンタシンやビブラマイシンも有効
野兔病	ゲンタマイシン (1日 80~120mg 分2~3 筋注・点滴静注) + ミノサイクリン (1日 200mg 分2 内服)	硫酸ストレプトマイシン (1回 1g 1日 2回 筋注) + ミノサイクリン (1日 200mg 分2 内服)	GM+MINO は 7~14 日間継続
Q 熱	ミノマイシン (1回 100mg 1日 2回 点滴静注)	クラビット (500mg 1錠 分1 2週間)	重・中等症例はミノマイシン静注を推奨
コクシジオイデス症	アンビゾーム (1日 1回 2.5mg/kg, 点滴静注)	ジフルカン (1回 400mg 1日 1回 静注)	治療期間はジフルカンでは 6 か月以上
ボツリヌス毒素	乾燥ボツリヌス抗毒素注射用 (1V 注射用水 20 mL に溶解し静注または点滴静注)		症状が軽減しないときは 3~4 時間ごとに追加

表 2. バイオテロへの対応に必要な

	商品名	定数在庫	使用期限	取扱業者
	サージカルマスク			
	N95 マスク			
	手袋 (プラスチック)			
	手袋 (ニトリル)			
	ガウン			
	エプロン			
	フェイスシールド			
	キャップ			
	シューズカバー			
	擦式手指消毒剤			
	エタノール			
	次亜塩素酸ナトリウム			
	4 級アンモニウム			

表 3. 医療機関のバイオテロの準備に向けたチェックリスト

推奨アクション	実施検討	実施中	実施済
バイオテロを想定したマニュアルを作成している。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
バイオテロに関連した院内の委員会を組織している。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
必要な個人用防護具(PPE)を確認し、確保している。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
必要な治療薬を確認し、確保している。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
バイオテロの想定訓練を実施している。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
バイオテロに関する院内の勉強会等を実施している。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>